Phototropie et métabolisme des plantes

(Bilal Camara)

I) La photosynthèse

Tous les métabolismes des plantes dérivent de cette activité primaire qu'est la photosynthèse.

2

Les plantes ont besoin d'une source lumineuse et les plantes peuvent utiliser celle-ci de différentes façons. Elle peut être utilisée comme système informationnel, la lumière va réguler la croissance de la plante. Certaines radiations lumineuses permettent donc de réguler les développements de la plante. Dans le bleu, la plante s'allonge, dans d'autres cas comme dans le vert et le jaune permettent de donner la morphologie de la figure du milieu. Ce sont les molécules pigmentaires qui captent la lumière et ce sont des molécules qui possèdent un chromophore (doubles liaisons conjuguées qui permettent grâce aux électrons π très mobiles qui captent l'énergie lumineuse). Dans le cas de la photosynthèse ce ne sont pas ces pigments qui seront utilisées pour absorber l'énergie lumineuse et la transformer en énergie chimique (ATP, NADP, NADPH) mais d'autres pigments.

3

Les organismes vivants sont subdivisés en deux catégories, les autotrophes et hétérotrophes. Les autotrophes peuvent produire leurs constituants à partir de molécules très simples tels que l'ATP ou le CO_2 , c'est le cas des plantes et de quelques microorganismes, et les plantes sont aussi phototrophes. On les oppose aux hétérotrophes comme les animaux qui produisent leur énergie à partir de molécules complexes élaborées en général par d'autres organismes. Il y a une première phase durant laquelle les organismes vont récupérer l'énergie lumineuse pour la transformer en ATP et pouvoir réducteur (énergie chimique), c'est la phase claire ou lumineuse de la photosynthèse. La seconde étape de la photosynthèse la lumière n'est plus essentielle, les organismes utilisent l'énergie produite précédemment pour produire des glucides ou autres métabolites complexes. Les organismes ont développé des photosystèmes qui permettent d'arracher des électrons et les donner à des molécules réceptrices, c'est le cas de l'eau H_2O , du sulfure d'hydrogène H_2S qui peuvent facilement donner des électrons et aussi produire de l'oxygène et du soufre, il y a donc une photosynthèse qui libère de l'oxygène et une qui n'en libère pas et c'est la seconde la première apparue sur terre et qui est toujours pratiquée par des bactéries photosynthétiques mais pas chez les plantes ou les algues. Des transporteurs d'électrons permettent d'utiliser les électrons pour former plus d'ATP, du pouvoir réducteur sous la forme de NADPH.

4

Cette activité a débuté avec des bactéries primitives et sans dégagement d'oxygènes, puis les algues bleues (cyanobactéries) ont commencé à utiliser la molécule d'eau comme source d'électrons et de protons ce qui a généré une quantité importante d'oxygène dans l'atmosphère puis cette activité a été reléguée aux algues uni et multicellulaire puis aux plantes qui continuent cette photosynthèse oxygénique. A partir de là les animaux ont pu apparaître avec la respiration oxygénique.

5

Cette photosynthèse peut être facilement mise en évidence avec des plantes aquatiques éclairées.

6

Il est nécessaire de disposer de lumière, cette énergie lumineuse peut être définie physiquement par le comportement d'un « corps noir », c'est un corps qui peut supporter des températures très élevées (>700°C) et ainsi libèrera spontanément de la lumière plus ou moins visible par l'œil humain. Ces températures peuvent être réduites par certaines propriétés physiques comme en faisant le vide (cas de certaines lampes).

7

Pour le soleil la situation est comparable à un corps noir car dans les parties les plus profondes il y a en permanence des réactions thermonucléaires par la transformation d'hydrogène en hélium (700M de tonnes d'H converties en 695M de tonnes d'He, 5M de tonnes d'énergies libérées sous forme de rayonnement vers la périphérie). Dans la zone périphérique la température est de 6000°C et génère spontanément de la lumière blanche visible, cette couche s'appelle la photosphère et c'est ce rayonnement que les plantes utilisent pour la photosynthèse. Cette lumière va se propager dans l'atmosphère et se reprendre sur le sol avec des UV et des IR.

8

Cette propagation est définie par les physiciens, on considère que c'est un mouvement de particules, des photons, qui se déplace de façon sinusoïdale sur deux plans, un plan électrique et un plan magnétique (onde électromagnétique). L'énergie de cette particule peut être évaluée entre deux maxima et deux minima et donne l'équation $E(\lambda)$.

9

Ces radiations sont visibles du rouge jusqu'au violet, certaines sont très efficaces pour la photosynthèse (rouge ou jaune au violet) alors que le vert très peu.

10

Tableau de la quantité d'énergie de ces radiations. Les UV ont une énergie très importante et peuvent atteindre le sol mais lors de la propagation une bonne partie du rayonnement UV est neutralisée par le CO₂, l'ozone, et la vapeur d'eau.

11

On voit que très peu d'IR et UV arrivent au sol et la majeure partie arrivant au sol va du violet au rouge.

12

Cette onde électromagnétique de la lumière visible est une petite partie de la gamme d'ondes électromagnétiques qui nous entourent, il y a par exemple les rayonnements gamma, les microondes, ondes radio, etc.

13

Pour que la lumière visible puisse jouer son rôle il est nécessaire que l'énergie qui s'y trouve soit captée, ceci se fait grâce aux molécules pigmentaires qui couvrent très largement la gamme du rayonnement visible. Ce sont principalement les chlorophylles (des différents types) mais aussi par les caroténoïdes et des phycobilines. Ces molécules possèdent toutes un chromophore (doubles liaisons conjuguées). Les caroténoïdes et chlorophylles se rencontrent chez tous les organismes photosynthétiques et seules quelques algues (en particulier les algues rouges) et quelques cyanobactéries possèdent des phycobilines.

14

Quelques structures de ces molécules. En haut à droite la chlorophylle (chromophore plus chaîne phytol pour intégration dans les membranes biologiques). Chez les caroténoïdes, c'est

la partie centrale le chromophore, il y a deux catégories de caroténoïdes, les carotènes qui n'ont pas d'oxygène et les xanthophylles qui elles ont des oxygènes.

15

Le troisième type de pigment qu'est les phycobilines possède aussi un chromophore et contrairement aux deux précédents elles sont reliées de façons covalentes à des protéines. La solubilité sera donc celle des protéines, elles sont donc en général solubles dans des solutions aqueuses.

16

Permet de voir les radiations les plus intéressantes pour la photosynthèse, soit le violet-bleu et le rouge. Pour les cyanobactéries et surtout pour les algues rouges, le vert est aussi très efficace.

17

Dans les serres on utilise des sources lumineuses artificielles choisies de façon à ce que leur spectre se rapproche de celui du soleil. Ici la meilleure lampe est la powerstars HQI.../N car grand pic dans le bleu et dans le rouge.

18

19

Il faut que cette lumière puisse être absorbé par les molécules pigmentaires au niveau des chromophores avec leurs électrons Pi. Ces électrons sont très facilement excitable et sont en permanence en mouvement dans ces molécules. Ces électrons gravitent sur des orbitales avec des niveaux d'énergies bien spécifiques défini par la mécanique quantique. Lorsque deux électrons sont sur une même orbitale leur sens de gravitation est opposé, spins opposés. Ils peuvent interagir avec les photons (avec comme énergie un quantum), lorsqu'ils sont heurté par des photons, l'énergie de ces dernier peuvent permettent des sauts d'orbitales (état excité singlet) et peut aussi changer d'orbitale et changer de sens de rotation (état excité triplet). Pour que l'électrons retourne sur son orbitale de départ il doit libérer de l'énergie qui dans les systèmes photosynthétique est récupéré efficacement.

20

Des photons excitent les électrons de molécule pigmentaire et excite ces dernières, son état naturel est désexcité et va y revenir en libérant de l'énergie à son voisinage par résonance et ainsi de suite jusqu'à un pigment-centre réactionnel (1 à 2% des molécules pigmentaire). Ces molécules placées en profondeur de la membrane, ne vont pas une fois excitée transférer l'énergie mais vont s'oxyder en perdant un électron (perte de charge) et cet électron va être récupéré par des accepteurs d'électrons et qui va constituer un courant pour fabriquer l'ATP. La molécule pigmentaire-centre réactionnelle est la même chimiquement que les pigment du même type de l'antenne collectrice, la seule différence se fait en faisant des mesures d'absorptions (700 ou 680nm qui ne sont pas présentes chez les autres molécules pour les chlorophylles par exemple). Cette molécule doit aussi être régénérée et le fera en cassant une molécule d'eau, c'est donc comme si les molécules pigmentaires arrachaient des électrons à l'eau.

21

Tous cela est compartimenté quel que soit l'organisme photosynthétique considéré. Chez la bactérie photosynthétique les transporteurs d'électrons sont sur la membrane plasmique. Cette organisation peut être primitive mais conduit à ce que les transporteurs d'électrons vont être utilisé pour d'autres activité métaboliques chez les bactéries. Chez les bactéries vertes, un peu plus évoluées et qui accumule un peu plus de chlorophylle, une partie se trouve

au sein de la membrane plasmique et une autre partie forme une vésicule reliée à la MP qu'on appelle le chlorosome (essentiellement constitué de pigments qui vont jouer le rôle d'antenne collectrice). Enfin si on considère les cyanobactéries ou algues bleu qui font la photosynthèse oxygénique (pas les deux précédents), on a ici la membrane plasmique et un appareil photosynthétique séparé de la membrane, il rappelle les thylakoïdes des algues et plantes supérieures.

22

Chez les algues, au cours de l'évolution, des cyanobactéries ont été phagocytées par une cellule eucaryote, puis une série de remaniements a fait que les cyanobactéries ont donné les plastes qui sont entourés d'une double membrane comme les mitochondries.

23

Les chloroplastes sont donc apparus dans l'évolution, leur nombre par cellule est fixé génétiquement selon les plantes et est compris entre 50 et 100 chloroplastes par cellule et occupe environ 10% du volume de la cellule végétale. Il existe des mutations qui augmentent le nombre ou la taille des chloroplastes. Il existe d'autres plastes qui ne sont pas photosynthétiques mais qui occupent d'autres activités métaboliques (ex : amyloplast qui synthétisent l'amidon). Lorsque la tomate mûrit, les chloroplastes se différencient en chromoplastes. Si on cultive des plantes dans l'obscurité, on observe des étioplastes qui peuvent se différencier en chloroplaste lorsqu'on éclaire la plante.

24

Les plastes semblent communiquer entre eux grâce à des structures appelées des stromules et découvertes grâce aux mutants GFP. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que comme les bactéries qui émettent des pili pour communiquer entre elles, alors on peut que les plastes étant d'« anciennes » bactéries puissent faire une activité équivalente.

25

Lorsqu'on regarde la structure des plastes on peut voir deux types d'entité, une entité membranaire et une fraction soluble. C'est dans les thylakoïdes que seront localisés les transporteurs d'électrons mais également la plupart des pigments photosynthétiques. Les membranes thylakoïdales délimitent une cavité qu'on appelle le lumen. Cette cavité fait des replis qu'on appelle le système granaire et c'est cette cavité qui permet la synthèse d'ATP. L'enveloppe possède des transporteurs qui permettent l'exportation des produits de la photosynthèse dans le cytoplasme. La fraction liquide des plastes s'appelle le stroma. Le stroma contient de très nombreuses enzymes et notamment la ribulose diphosphate carboxylase. On y trouve aussi l'ADN du plaste qui est différent de l'ADN nucléaire et ne code que pour très peu de protéines plastidiales, donc la plupart des protéines chloroplastiques sont nucléaires et transportées vers le plaste. Ce transport est possible car ces protéines sont synthétisées avec une séquence d'adressage placée dans la partie N-terminale de la protéine.

26

Cette figure montre quelques transporteurs de l'enveloppe du chloroplaste (membrane externe) et également la membrane interne avec de très nombreux transporteurs sur celle-ci. Un des premiers transporteurs caractérisés est le transporteur du phosphate (triose-P/Pi). Ce sont souvent des transporteurs qui fonctionnent comme des antiports et il y a une neutralité des charges. Le phosphate absorbé au niveau du sol est transporté à l'intérieur du chloroplaste où l'ATP est synthétisé et un triose-P sort lorsqu'une molécule de P entre. Les trioses phosphate vont par exemple participer à la synthèse de saccharose. Le transporteur de carbonate (HCO_3^-) pour permettre l'entrée de CO_2 dans le plaste qui sera utilisé par la ribulose diphosphate carboxylase. Il y a aussi la nitrite réductase. Tous ces transporteurs sont

synthétisé dans le cytoplasme et sont acheminé vers les plastes grâce à la séquence d'adressage.

27

Selon le type de plaste, certains transporteurs seront plus ou moins actifs.

28

Dans d'autres cas les transporteurs vont être impliqué dans le transport de l'acide glutamique, synthétisé exclusivement par les plastes chez les plantes même si utilisé ailleurs. Ces transporteurs sont donc nécessaires.

29

Un autre exemple d'activité de ces transporteurs.

30

Impliqué dans la synthèse des nucléotides.

31

Impliqué dans le transport du glucose 6P, il fait entrer dans le plaste du G6P et sera surtout actif chez les plantes faisant beaucoup d'amidon.

32

Au niveau du cytoplasme la synthèse va mettre une séquence d'adressage sur les protéines qui s'appelle le peptide de transit et qui permet d'être acheminé vers le plaste, en général elles sont très riches en acides aminés comme la sérines ou thréonine. Pour adresser vers les mitochondries, séquence avec beaucoup d'arginine (chargé +). Le contrôle n'est pas absolue a 100% et des protéines peuvent aller soit dans les plastes, soit des les mitochondries sans que l'on sache pourquoi. Dans l'enveloppe il y a une grande famille de protéine caractérisées qui forment dans certaines cas un canal et dans d'autres cas un récepteur et qui permettent l'entrée de des protéines dans le plaste. La protéine sera coupée par des protéases dans la séquence d'adressage lorsqu'elle rentre dans le plaste. Si on prend un gène de cyanobactérie (ex: glutamate synthase qui synthétise l'acide glutamique, si on la prend chez une cyanobactérie, il y a de fortes homologues de séquences jusqu'à 40%, cependant il n'y aura pas de séquences d'adressage dans les séquences des gènes des cyanobactéries).

33

Dans cette entité membranaire sont localisé les complexes photosynthétiques et notamment les thylakoïdes. Les pigments et les transporteurs associés ne sont pas disposés de manière aléatoire. En utilisant l'électrophorèse en conditions dénaturantes (avec SDS) on dissociera toutes les protéines non liées covalaments, mais il ne faut pas trop dénaturer pour ne pas dissocier les chlorophylles des apoprotéines on utilise donc des détergents non chargés comme le triton ou le tween. On peut voir des bandes qu'on a pas forcément besoin de colorer, grâce à la couleur de la chlorophylle. La chlorophylle seule ne peut pas se déplacer seule dans un champ électrique donc est liée à des protéines. On peut faire un gradient linéaire de densité dans un tube (glycérol ou saccharose) pour séparer les différents complexes par centrifugation, puis les complexes vont atteindre leur densité d'équilibre. On récupère les bandes puis électrophorèse en conditions très dénaturantes avec du SDS pour analyser tous les polypeptides de chacune de bandes.

On a des protéines associées au centre réactionnel (RC), en contact a celui ci on a des protéines associées aux caroténoïdes qui joue le rôle d'antenne collectrice (CC) et d'autres pigments comme autres chlorophylles vont aussi jouer le rôle d'antenne collectrice (LHC) mais pas directement en contact avec le centre réactionnel, tout ceci forme un photosystème.

Chez les plantes il existe deux types de photosystèmes selon la chlorophylle du centre réactionnel (P-700 ou P-680).

34

L'organisation des complexes photosynthétiques peut être comparée au cours de l'évolution. Chez les bactéries pourpres, le point noir constitue le centre réactionnel et autour de lui dans la membrane l'antenne collectrice. Chez les bactéries vertes, à nouveau la membrane avec le plasmalemme, toujours un centre réactionnel et le chlorosome qui joue le rôle d'antenne. Chez les cyanobactéries plusieurs centres réactionnels, et donc deux photosystèmes comme tous les autres organismes photosynthétiques oxygénique et une antenne collectrice constituée par le phycobilisome qui contient des phycobilines. Puis les plantes et algues vertes, deux photosystèmes, le PSI et PSII et des antennes collectrices proches ou plus éloignées (qui permettent de mieux capter l'énergie lumineuse ou éviter l'excès d'énergie).

35

L'organisation des pigments est bien régulée, il y a des complexes impliqués dans la photosynthèse (impliqués dans le transfert d'électrons ou dans la synthèse d'ATP) mais qui n'ont pas d'activité photochimique, d'autres complexes ont des activités photochimiques directes. Le PSII est uniquement localisé dans les accolements granaires et très peu de plastes ont des accolements granaires. Alors que le PSI est localisé dans les zones avec ou sans accollement granaire. Le complexe ATP synthase est localisé aussi bien dans les zones d'accolement et de non accollement. Le complexe associé au PSII qui se trouve pratiquement dans le lumen et qui n'est pas photochimique, c'est le complexe de photolyse de l'eau.

36

Une vue éclatée d'un thylakoïde, la chlorophylle 680 est dans le PSII, LHC et CP4 joue le rôle d'antenne, et au contact du PSII le complexe de photolyse de l'eau. Puis le PSI défini par son centre réactionnel qui est la chlorophylle 700 et de par et d'autre des complexes qui jouent le rôle d'antenne. À côté de ce complexe il y a le complexe ATP synthase avec le canal à protons dont ses activités sont couplées. Le cytochrome B6/f a une capacité d'oxydoréduction mais pas photochimique. Il y a les transporteurs d'électrons associés, la plastocyanine (peptide contenant du cuivre qui intervient dans le transfert d'électrons en s'oxydant ou se réduisant), la ferrédoxine (peptide qui possède du fer qui va permettre le transfert d'électrons en s'oxydant ou se réduisant).

37

La chlorophylle 680 est localisée sur les deux apoprotéines avec deux antennes collectrices de part et d'autre. Lorsque P680 excitée, elle va céder un électron à la phéophytine et cheminer vers le PSI, l'électron perdu sera régénéré par la photolyse de l'eau.

38

Le PSI possède la P700 associée à des protéines et qui une fois excitée va céder un électron qui va arriver à réduire la ferrédoxine et sera réoxydée par la ferrédoxine oxydoréductase. Ce centre réactionnel est régénéré par les électrons du PSII grâce à la plastocyanine.

39

PQ = plastoquinone

L'absorption de l'énergie lumineuse va déclencher le processus de transfert d'électrons avec les deux PS excités de manière indépendante par l'énergie de deux photons. Une fois la P680 excitée elle va pouvoir s'oxyder et céder un électron ce qui va porter le potentiel de cette chlorophylle à la valeur de l'échelle à gauche car plus on monte sur l'échelle plus la molécule peut céder facilement des électrons. L'électron cédé sera récupéré par la phéophytine qui est légèrement placée en dessous de la P680 excitée donc la transition est facilitée, la phéophytine

joue le rôle de transporteur d'électrons et ce sont des dérivés de chlorophylle (sans l'atome de Mg) et va à son tour céder l'élection à un autre transporteur à Q_A (quinone A) puis cédé à la plastoquinone. La plastoquinone joue un rôle important car ses propriétés d'oxydo-reductions sont responsables du déroulement des transferts d'électrons.

40

Structures des plastoquinones. Elles ont des fonctions quinones au niveau du noyau et une chaîne latérale relativement longue et extrêmement hydrophobe qui joue également un rôle important. La partie responsable du transfert d'électron est la fonction quinone, la chaîne latérale permet le déplacement de la molécule dans la membrane grâce à sa hydrophobicité. Lorsque la molécule présente une fonction quinone, il est nécessaire de passer par une fonction alcool par acquisition d'un proton et d'un électron pour avoir une réduction totale. Sur celle de la figure il y a deux fonctions quinones sur la plastoquinone donc il faut deux électrons et deux protons. A ce stade la chlorophylle 680 sera régénérée par une tyrosine d'une de ses apoprotéines et qui sera elle-même régénérée par la photolyse de l'eau. Lorsque la plastoquinone entièrement réduite elle va se positionner au niveau du complexe cytochrome b_6/f grâce à sa queue hydrophobe, ce complexe va catalyser la réaction inverse et va oxyder la PQ réduite et va libérer les électrons et les protons qui ont réduit la PQ et réoxyder cette dernière, les électrons et les protons vont être envoyés dans la cavité du lumen et les électrons vont être récupérés par la plastocyanine (transporteur) et va les transférer au centre réactionnel du PSI. En même temps que le PSII a fonctionné le PSI a fonctionné aussi de manière indépendante et a permis le transfert d'élection à partir de la P700 jusqu'à la ferrédoxine → ferrédoxine réduite (avec un pouvoir réducteur) et une enzyme à proximité de la celle-ci qui est la ferrédoxine oxydoréductase va réoxyder la ferrédoxine pour récupérer le pouvoir réducteur de la ferrédoxine qui venait d'être réduite. Cette dernière enzyme fonctionne avec du NADP et donc va devenir du NADPH. La P700 va récupérer son électron grâce à la plastocyanine. Ce chemin du PSII vers le PSI est appelé le chemin en « Z ».

La ferrédoxine peut utiliser directement la ferrédoxine réduite sans NADP comme par exemple la nitrite réductase (nitrite → ammonium), la glutamate synthase (synthèse acide glutamique), dans ces cas l'activité de l'enzyme est photorégulée et donc ne peut se faire que lors de la phase lumineuse alors que dans les racines l'enzyme n'est pas photorégulée puisque pas de photosynthèse.

41

La deuxième forme d'énergie chimique est l'ATP, sa formation est très simple à comprendre, on a ici un thylakoïde schématisé avec une cavité (Lumen) et il y a une ATP synthase reliée à des protéines qui forment un canal à protons qui permet la sortie contrôlée des protons qui s'accumulent dans le lumen. On voit ici représenté le PSII et PSI et les plastoquinones impliqués dans les transferts d'électrons et de protons. La plastoquinone réduite puis réoxydée va libérer 2 protons dans le lumen grâce au complexe cytochrome b_6/f et les électrons seront récupérés par la plastocyanine. La plastoquinone se comporte donc comme une pompe qui importe des protons dans le stroma pour les injecter dans le lumen. Lorsque l'eau est dégradée par la photolyse de l'eau elle va également libérer des protons dans le lumen et provoque aussi la libération d'oxygène photosynthétique. Lors de la phase lumineuse, le lumen des thylakoïdes se charge en protons et le pH s'acidifie (jusqu'à 4 alors que dans le stroma il y a alcalinisation). La différence de pH entre les deux phases de la membrane représente une énergie, qui sera utilisée pour synthétiser de l'ATP du moment qu'il y a de l'ADP et du P_i (précurseurs).

42

On peut évaluer l'énergie stockée en utilisant le potentiel électrochimique ou chimique associé aux électrons (grandeur thermodynamique qui permet d'évaluer l'énergie potentielle dans les thylakoïdes). Pour réaliser la synthèse de l'ATP il faut 50kJ et donc dès que 3 protons

sortent de la ATP synthase de l'ATP pourra être formé ($20,8 \times 3 > 50\text{KJ}$). Si on utilise des substances qui induisent la formation de pores au niveau des thylakoïdes, elles abolissent la synthèse d'ATP (utilisé par certains champignons avec certaines toxines contre les plantes).

43

Si on réalise une expérience sans lumière avec des thylakoïdes + ADP + Pi mais avec un gradient de pH du milieu extérieur, on peut faire de la synthèse d'ATP et notamment lorsque le pH du milieu extérieur des thylakoïdes est fort. Donc relation entre concentration en protons et le niveau de synthèse de l'ATP, c'est un mécanisme relativement général et lorsqu'on fait des gradients de protons on observe en général des synthèses d'ATP et notamment très utilisés par les bactéries. C'est la théorie de Mitchell.

44

Une fois qu'on a de l'ATP et du pouvoir réducteur on peut passer à la phase sombre ou la lumière n'est plus nécessaire et on va assister à l'assimilation du CO_2 avec essentiellement des réactions enzymatiques. Des expériences préliminaires ont été réalisées pour voir comment le CO_2 est assimilé. On utilise du carbonate ou du bicarbonate qui sont des réserves de CO_2 qui de plus sont solide et soluble dans l'eau ou bien des levures chimiques (alors qu'avec du carbone 14 il faudrait matériel lourd car gaz). Dans le récipient de la figure on peut mettre des chloroplastes mais on utilise préférentiellement des algues unicellulaires que l'on éclaire et on injecte dans le milieu du carbonate et on regarde comment le CO_2 du carbonate est métabolisé. On réalise une chromatographie sur plaque de silice pour séparer les molécules du milieu que l'on concentre préalablement. Puis on fait un film d'autoradiographie qui va révéler la radioactivité par cassure des sels d'argents lors de la dégradation radioactive par le rayonnement produit par cette dernière. On a obtenu les deux profils de séparation et a vu à peu près les voies que suivent le CO_2 au cours de son assimilation et a été réalisé par Calvin. C'est notamment grâce à la ribulose diphosphate carboxylase (Rubisco) localisé dans le stroma que se fait cette incorporation et qui catalyse la formation de deux triose-phosphate.

45

Le cycle de Calvin va permettre de régénérer la Rubisco et une partie du pouvoir réducteur et de l'ATP vont être utilisés au niveau du plaste et du cytoplasme. Au niveau du plaste le CO_2 incorporé sera utilisé pour la synthèse de constituants métaboliques et une autre partie va être exportée dans le cytoplasme pour former entre autre le saccharose qui sera utilisé par les organes qui ne font pas la photosynthèse et faire par exemple la synthèse d'amidon.

46

La Rubisco n'est pas seulement une carboxylase, elle peut aussi utiliser l'oxygène et donc une activité oxygénase. Ce phénomène peut être très important et dans ce cas elle n'a plus de fonction carboxylase mais une activité oxygénase, si on tient compte des K_m de la Rubisco pour ses substrats : pour le CO_2 il est de 12 μM alors que pour l'oxygène de 250 μM ; elle est donc plus forte pour le CO_2 cependant la teneur en CO_2 dans l'atmosphère est beaucoup plus faible que pour l'oxygène donc compétition entre les deux molécules.

Le peroxyosome appelé comme cela au niveau des feuilles, s'appelle le glyoxyosome au niveau des graines et qui accumule des lipides. Les peroxyosomes sont entourés d'une simple membrane contrairement aux mitochondries et aux chloroplastes. La plante va fixer de l' O_2 et va libérer du CO_2 au niveau de la mitochondrie qui est liée au fonctionnement de la Rubisco qui devient une oxygénase et va entraîner une réaction en cascade jusqu'à la mitochondrie. Le phosphoglycolate va être transformé en aldéhyde qui sera utilisé pour la synthèse d'acides aminés comme la glycine dans les peroxyosomes et qui sera exportée dans la mitochondrie où se trouve un complexe enzymatique activé par la lumière (complexe glycine décarboxylase), elle fait interagir deux glycines pour donner de la sérine et de l'ammoniaque et libérer du CO_2 dit

« photorespiratoire » qui n'a rien à voir avec le CO₂ classique de la respiration, et les plantes où cette activité est importante sont caractérisées comme ayant une photorespiration. C'est le cas chez la plupart des plantes des pays tempérés et ce sont des plantes en C3. 20-25 000 gènes chez *A. thaliana* répartis sur 5 chromosomes. Ils ont testé des séquences animales et procaryotes pour voir si des séquences homologues aux gènes de GK mais pas trouvé de séquence homologues (80% d'homologies sont en général nécessaire pour conduire à dire que c'est le même gène). Donc soit le gène n'existe pas, soit il est très différent. Ils ont purifié l'enzyme par différentes étapes pour pouvoir remonter au gène. Ils ont donc broyé des feuilles, on centrifuge, on regarde si l'activité enzymatique est dans le surnageant on continue avec cette partie et sinon la protéine est membranaire. Si la protéine est dans le surnageant, on doit concentrer les protéines en les précipitant avec des sels comme le sulfate d'ammonium (on peut aussi faire cela avec du polyéthylène glycol = PEG) et on centrifuge pour accélérer la précipitation. Puis ils ont fait une chromatographie sur colonne de phényl-sepharose (chromatographie d'interaction hydrophobe), d'autant plus efficace lorsqu'il y a présence de sels (1,3M de sulfate d'ammonium, il baisse l'activité spécifique aussi). Pour détacher les protéines on diminue la concentration en sels de manière linéaire et donc la séparation se fait sélectivement. Ils prennent la fraction récupérée auparavant avec le plus d'activité et font une colonne DEAE-fractogel. C'est donc maintenant une chromatographie échangeuse d'ion et donc ce sont les charges et le point isoélectrique qui sont importants. Au dessous du point isoélectrique la charge nette est positive et donc il faudra une colonne échangeuse de cations et si pH au dessus du point isoélectrique alors charge nette de la protéine négative et il faudra une colonne échangeuse d'anions. Dans les deux cas pour éluer les protéines il suffit d'augmenter la concentration en NaCl de manière linéaire. Ensuite ils ont fait une chromatographie d'affinité Affi-gel-bleu qui est n'est pas spécifique de cette enzyme mais les colorants bleu contenus dans celle-ci ont des structures proches des nucléotides or l'enzyme fonctionne avec des nucléotides, donc permet de bien purifier l'enzyme mais toujours pas suffisant. Pour finir ils ont fait une Matrex-green A qui est un support avec un colorant vert donc la structure rappelle les nucléotides aussi, cette chromatographie d'affinité permet de purifier encore plus la protéine, ils ont utilisé du KCl pour éliminer les protéines contaminantes et ensuite de l'ATP car co-substrat de la kinase. Ils n'obtiennent en électrophorèse en condition dénaturante qu'une seule bande donc pure et la masse moléculaire est estimée à 39kDa. Ils ont ensuite cherché la séquence peptidique de la protéine et ils ont trouvé une séquence qu'ils peuvent déduire le gène chez *Arabidopsis*. Ils ont ensuite fait une expression hétérologue en transformant un autre organisme avec le gène que l'on étudie. Ils ont utilisé la levure et la bactérie. Chez les bactéries pas de modifications post-traductionnelles mais faciles à cultiver et facilement transformable. La levure palie au problème de modifications post-traductionnelles (l'idéal est des cellules d'insecte pour ce problème). Les mutants d'insertions sont intéressants car on connaît les bordures du T-DNA mais on ne contrôle pas le site d'insertion et ne se fait pas dans tous les gènes. Les mutants issus de mutations par agents chimiques tel que l'EMS (éthylméthane sulfonate), les mutations sont souvent ponctuelles, on sature le génome, cependant on ne sait pas où les mutations sont mises en place. Une fois les T-DNA reçus, elles sont hétérozygotes, il faut utiliser les homozygotes.

47 : Article 1

C'est un article sur la glycerate kinase, ils ont introduit le sujet en parlant de la photorespiration, déclenché par la compétition entre l'O₂ et le CO₂ sur la Rubisco et les plantes essayent de récupérer le carbone qui risque d'être perdu sous forme de CO₂. Au cours de la décarboxylation dans la mitochondrie il y a formation d'une sérine qui peut être récupérée pour former du glycerate dans le peroxysoxe. Puis transporté dans le plaste il peut grâce à une kinase transformer le glycerate en PGA et ainsi limiter la perte de carbone.

Il existe des plantes où ce phénomène est atténué, c'est le cas du maïs ou des certaines graminées comme la canne à sucre. Dans le cas de ces plantes il y a en fait une différenciation anatomique qui permet de faire en sorte que des chloroplastes qui ont un stade de différenciation différents puissent fonctionner de manière coopérative et c'est ce qui caractérise la structure de Kranz. Il y a au centre les vaisseaux conducteurs et qui sont entourés par des cellules. On trouve dans ces cellules des chloroplastes qui ne sont pas différenciés de la même façon. Dans le parenchyme les accollements granaires sont bien différenciés et donc la photochimie y est efficace, ils sont cependant dépourvus de la Rubisco. Ceci a pu être montré par immuno-marquage ou par hybridation in situ des ARNs de la Rubisco. En revanche les cellules qui bordent les gaines vasculaires sont peu différenciées et ont peu d'accolements granaires mais elles possèdent la Rubisco. Donc pour que le CO₂ soit assimilé, les deux types de cellules doivent coopérer, ceci est représenté sur le schéma du dessous. La première réaction à laquelle on va assister est une réaction qui fait agir une enzyme cytoplasmique qu'est la phosphoenol pyruvate carboxylase (PEPC), qui en présence de CO₂ et de phosphoenol pyruvate (PEP) va donner de l'acide oxaloacétique (OAA) qui à 4 carbones d'où plantes C₄. Cette dernière réaction se déroule dans le cytoplasme. Puis dans les chloroplastes l'OAA est transformé en malate grâce à une enzyme qu'est la malate déshydrogénase (par oxydo-réduction), le malate reste toujours un acide à 4C et va être transporté grâce aux plasmodesmes vers les cellules de la gaine. Puis dans ces plastes, le malate va représenter une réserve de CO₂ qui grâce à l'enzyme malique va transformer en pyruvate + CO₂. Le CO₂ sera ensuite utilisé par la Rubisco présente dans ces cellules en présence de RuBP₂ (ribulose biphosphate) et va donner 2 trioses-P. Ces plantes ont donc une activité photorespiratoire réduite. Le PEP est régénéré par le pyruvate qui est transformé par l'enzyme pyruvate phosphate dikinase. Il est possible de regarder dans les fossiles si ancienne plante C₃ ou C₄ par le rapport inscrit en dessous.

49

Ces types de chloroplastes qui appartiennent à des cellules différentes et qui coopèrent pour effectuer la photosynthèse peuvent également être observés dans la même cellule.

50

Observation plus détaillée de ces chloroplastes. Les chloroplastes de la périphérie ont des thylakoïdes mais très peu d'empilement granaires et donc très peu de PSII, donc la photosynthèse est très peu efficace dans ces chloroplastes. Ce sont les chloroplastes centraux qui assurent la photochimie.

51

Des études ont été réalisées pour comparer les performances des plantes C₃ et C₄ dans différentes conditions. Les plantes C₃ consomment beaucoup plus d'eau que les plantes C₄ par rapport à la quantité de carbone fixée. Si on quantifie la teneur en CO₂ dans ces plantes, on voit que la teneur en CO₂ chez les plantes C₃ autour de la Rubisco est de 6 μM alors que chez les plantes C₄ la teneur en CO₂ dans les chloroplastes avec la Rubisco est de 70 μM. Donc les plantes C₄ arrivent à concentrer grâce à l'acide malique de forte concentration en CO₂ tout en empêchant la photorespiration.

52

Si on fait varier les paramètres de la photosynthèse, d'une façon générale les plantes C₄ ont un rendement supérieur quel que soit l'éclairement. On pourrait améliorer le rendement des plantes C₃ en augmentant de 10% la teneur en CO₂ et arriver à un rendement quasi comparable à celui des plantes C₄ (trait GRAS et pointillé). Les plantes C₄ sont apparues au cours de l'évolution à un moment où la teneur en CO₂ a baissé de façon importante, la

température était plus élevée et ou la teneur en eau à diminuée. On les trouve encore fortement dans des régions tropicales.

53

La dernière possibilité pour diminuer l'activité photorespiratoire se trouve chez des plantes CAM qui poussent dans des conditions très arides (cactae, agaves, ...). Chez ces plantes le stress hydrique est permanent et qui accumule la nuit des quantité importante d'acide malique (d'ou le métabolisme acide). Il y a aussi un phénomène de compartimentation mais temporelle entre le jour et la nuit. Elle ouvrent leurs stomates la nuit et absorbent du CO₂ récupéré par la PEPC pour donner de l'OAA puis du malate (grâce à la malate déshydrogénase) qui est transporté dans la vacuole. Le jour, les stomates se ferment et l'acide malique va être exporté vers les chloroplastes qui va généré du CO₂ et sera directement utilisé par la Rubisco.

II) Polymères glucidiques

2

Au cours de la photosynthèse une partie du CO₂ assimilé est transformé en glucides et transformé en polymères tels que l'amidon par exemple. On les rencontre en quantité importante dans les céréales et les tubercules. Ici on a une structure classique de céréale, dans ces derniers, l'amidon occupe la majeure partie (en bleu). La couche d'aleurone est très importante car l'amidon doit être dégradé en molécules plus simples, ceci se fait par des enzymes contenus dans cette couche d'aleurone. Ce sont des amylases qui sont synthétisées par cette couche cellulaire et cela se passe de la manière suivante : l'embryon va synthétiser les gibbérellines qui vont activer les cellules de cette couche et vont déclencher l'expression des gènes qui codent pour les amylases et sont ensuite excrétée dans la zone où s'accumule l'amidon.

3

Au niveau des cellules de graines on peut voir des réserves de diverses natures et l'utilisation de ces réserves est contrôlée par des hormones et notamment l'ABA.

4

Les céréales sont les principales sources d'amidon, mais il y a aussi les légumineuses qui ont des amidons avec des caractéristiques spéciales et aussi de l'amidon de tubercule de pommes de terres. Si on regarde la localisation de l'amidon dans ces organes, il s'accumule en général dans l'endosperme (albumen)

5

L'amidon qui s'accumule dérive de l'activité photosynthétique des feuilles. En général on parle d'organe source (feuilles) et d'organe puits (tubercules et graines, qui n'effectuent pas la photosynthèse).

6

ADPG = ADP glucose.

HexP = Hexose phosphate.

7

Les produit de la photosynthèse au niveau des feuilles permet de produire du saccharose qui est transporté vers les cellules des graines qui ne possèdent pas de chloroplastes et celui ci est métabolisé par la saccharose synthase ou sucrose synthase qui donne de l'UDP glucose + fructose. L'UDP glucose est transformé en G1P ou en ADPG. C'est l'ADPG qui est directement utilisé pour la synthèse d'amidon, cet amidon sera synthétisé par des enzymes appelé des amidon-synthases qui vont catalyser des branchements linéaires pour l'amylose et avec des liaisons 1-6 qui forment des ramifications pour l'amylopectine.

8

Dans le cas des tubercule il y a une différence au niveau des précurseurs mais sinon très forte ressemblance. Pour les tubercules, le précurseur essentiel est le G6P.

9

L'ADP glucose est associé à un reste d'amidon à n résidus très peu défini pour démarrer une nouvelle chaîne à n+1 résidus d'amylose. En dessous on voit comment l'amylopectine est formée à partir de plusieurs chaînes d'amylose.

L'amidon peut être coloré par une coloration bleu (liée à la présence de l'amylose) ou par une coloration brune (liée aux ramifications).

10

Article 2 :

ADP-glucose = précurseur essentiel de l'amidon.

Pour réduire l'activité de l'ADP-glucose pyrophosphorylase ils ont utilisé une construction antisens, cependant ils ont prit un promoteur constitutif et aurai du prendre un promoteur spécifique des tubercules.

11

L'amidon sera synthétisé grâce à une série d'enzymes (enzymes de synthèse d'amylose et enzymes de branchements) avec plusieurs familles de gènes.

12

L'amylose est linéaire et forme une sorte d'hélice avec à l'extrémité un résidu réducteur. L'iode colore en bleu car se fixe dans l'hélice et brune dans l'amylopectine.

13

Ces deux polymères sont organisés de telle sorte dans l'amidon qu'on a dans une coupe de céréale des stries avec des zones amorphes ou des zones cristallines.

14

L'amidon est donc une association de résidus glucidiques une partie des résidus hydroxyles sont modifiées de façon covalente et notamment par une phosphorylation. Chez des mutant pour le GWD, l'amidon se dégrade très mal dans les feuilles comme il devrait se faire normalement, ce sont des mutant Sex (Starch excess). A température ambiante, l'amidon n'est pas soluble, il faut chauffer jusqu'à 100°C en passant par un stade gélatineux (emplois d'amidon). Lorsque l'amidon est phosphorylé la température de solubilisation diminue. Les amidons phosphorylés sont aussi relativement translucides. Lorsque l'amidon est solubilisé et qu'on le laisse refroidir, son comportement est variable, en général il libère de l'eau (phénomène de rétrogradation) et n'est en général pas voulu en industrie, ce phénomène est aussi diminué lorsque amidon phosphorylé. Le comportement de l'amidon phosphorylé est également meilleur face aux variations de pH.

15

La concentration de ces deux polymères au sein de l'amidon détermine le type d'amidon. On trouve donc du phosphate dans les amidon et celui de la pomme de terre est le plus phosphorylé. Cela contribue à rendre l'amide plus translucide et plus clair, résistance au pH et limite le phénomène de rétrogradation. Dans certains cas l'amidon est associé à des lipides mais cette association ne semble pas covalente. Il est aussi associé à des protéines de manières plus ou moins spécifique (lipides et protéines diverses).

16

On a ici quelques caractéristiques des empois d'amidon. Selon la composition des amidons des différentes plantes, on a des amidons plus ou moins troubles. Le mutant Waxy (cireux) maïs, l'amidon est relativement clair et ceci est due à sa richesse en amylose. On voit aussi le degré de rétrogradation.

17

En rapport avec ces caractéristiques de l'amidon on peut noter ici le rapport qu'il y a entre la proportion d'amylose dans l'amidon et les températures de gélatinisation (température finale à partir de laquelle l'amidon se solubilise).

18

Une fois solubilisée l'amidon est sujette à ce phénomène de rétrogradation si on le refroidit. Il y a floculation et l'eau qui avait servi à solubiliser l'amidon est rejetée. On utilise donc des amidons modifiés (pommes de terre ou manioc ou sélection génétique). Lorsque pauvre en amylose il y a diminution de ce phénomène de rejet de l'eau.

19

Expérience réalisée avec des pommes de terres transgéniques modifiées sur les gènes qui codent pour l'amidon synthase. Par rapport au plantes témoins, les pommes de terres modifiées et qui produisent plus d'amylose, la température de 100°C ne suffit pas à gélatiniser l'amidon totalement.

20

L'amidon est très largement utilisé mais pas sous forme d'amidon, on utilise essentiellement les produits qui dérivent de l'hydrolyse de l'amidon. Pour le maïs, les épis sont broyés et soumis à centrifugation pour récupérer le germe qui sera utilisé pour fabriquer l'huile de germe de maïs, on récupère aussi des fragments de la paroi très riches en protéines utilisé pour la nourriture du bétail, dans le surnageant se trouve un extrait blanchâtre qu'est l'amidon. Il sera ensuite traité par des amylases (nécessite ajustement de pH et de calcium). Cette première opération est appelée l'étape de liquéfaction, les amylases attaquent les polymères d'amidons (endo et exoamylases) et qui donnent naissance à des polymères complexes appelé des maltodextrines (la réaction n'est donc pas totale). La réaction va continuer par une étape de saccharification grâce à des glucanases (digèrent les liaisons 1-4) et des pullulanases (digèrent les liaisons 1-6 préférentiellement). Si on avait que des glucanases on aurait que des isomaltoses, alors qu'avec que les pullulanases on obtiendrait des maltoses, avec les deux on obtient à la fin du glucose. Une dernière étape est faite pour transformer une partie du glucose en fructose, étape d'isomérisation, réalisé par une cétol-isomérase. Toutes les enzymes utilisées sont d'origine microbiennes et résistes à des grandes températures. 0 la fin on a une solution de glucose-fructose.

21

Dans l'industrie on peut suivre la réaction en direct en regardant la quantité de glucoses formés grâce aux longueurs d'ondes d'absorption du glucose et du maltose. Cette technique est très sensible et ceci est montré par le tableau en dessous du graphe.

22

Ici on voit les différentes étapes de l'hydrolyse de l'amidon avec les termes des solutions utilisé par l'industrie. Le niveau dextrose est une appellation professionnelle qui indique le nombre de présence de fonctions réductrices. L'amidon n'est pas réducteur (sauf les deux glucoses aux extrémités), au fur et à mesure de la dégradation il y a libération des glucose et donc la proportion de fonctions réductrices (aldéhydiques) du glucose dans la solution.

23

Les produits qui dérivent de l'hydrolyse de l'amidon présentent différentes propriétés qui fait qu'on peut les utiliser pour différentes utilités. Lorsque l'amidon est dégradé, le dextrose augmente, la viscosité sera réduite, le pouvoir liant sera diminué également, augmentation de la saveur sucrée, augmente l'hygroscopicité. Le pouvoir anticristallisant est utilisé pour éviter le phénomène de cristallisation (sirop de glucose). On utilise aussi le caractère brunissant (en pâtisserie notamment) pour la couleur voulue. On peut aussi jouer sur la température de congélation ou pour rehausser des arômes (retient les arômes) et enfin la fermentescibilité (accélération de la fermentation).

24

Quelques exemples de l'utilisation des produits de l'hydrolyse de l'amidon dans différents types d'industries. A partir de l'amidon on peut aussi faire différents produits comme l'acide citrique (résulte de la fermentation du glucose par voie industrielle) qui est utilisé dans de très nombreuses préparations, de même pour l'acide gluconique.

25

Les produits dérivés de l'amidon peuvent aussi être utilisés pour fabriquer des polymères par oxydation par exemple pour ouvrir les molécules de glucoses et de les transformer en des dérivés avec des fonctions acides à une des extrémités et à partir de là on peut les faire réagir avec des diamines (ou dérivés aminés) et on aura des polymères linéaires liés à des fonctions amines. Ce type de polymère est biodégradable et cette technologie est utilisée notamment pour les sachets « bioplastiques » biodégradables.

26

Les dérivés de l'amidon sont aussi utilisés pour fabriquer des cyclodextrines (sortes de cages circulaires avec une cavité hydrophobe et une partie externe hydrophile). On peut donc insérer des molécules hydrophobes et les insérer dans la cage pour ensuite les solubiliser dans un milieu aqueux. Utilisés en pharmacie ou pour réaliser des réactions enzymatiques (substrats hydrophobes qui deviennent hydrophiles et bonne réaction), utilisés aussi en parfumerie.

Une autre utilisation de ces dérivés de l'hydrolyse de l'amidon est la fabrication de détergents qui sont en général très polaires et hydrophobes, ils sont en général plus doux que les détergents classiques car plus de sels ou de potasse. L'amidon est utilisé dans la construction dans la fabrication de mortier de brique, car en ajoutant on a des matériaux beaucoup plus compressibles.

27

L'amidon (et ses dérivés) est également très utilisé pour fabriquer d'autres polymères glucidiques.

28

Comme exemple on a ici des marchés de ces polymères, dans le cas du Japon, dans ces polymères un est très intéressant, c'est le tréhalose. Les plantes peuvent le synthétiser mais il l'est de façon très cosmétique et qu'en conditions de stress.

29

Les enzymes bactériennes vont transformer les liaisons 1-4 en liaisons 1-1 par isomérisation à partir des maltodextrines pour donner du tréhalose.

30

Dans l'industrie, c'est un sucre qui résiste à des températures très élevées, qui est très soluble dans l'eau et son pouvoir sucrant est inférieur seulement de moitié à celui du saccharose (disaccharide) mais qui est aussi très stable aux variations de pH. C'est pour cela que le tréhalose est très utilisé dans de nombreuses préparations.

31

On a aussi un effet protecteur de ce sucre, on l'observe au niveau des plantes déjà, lorsque les plantes sont en conditions de stress hydrique très prononcé qui peut s'accumuler dans les graines et ainsi avoir une longévité très élevée. Dans l'industrie aussi, on achète des levures ou des bactéries lyophilisées avec du tréhalose pour les protéger. On regarde l'oxydation de l'acide linoléique (deux doubles liaisons qui peuvent facilement être oxydées), lorsque cette oxydation a lieu on obtient des dérivés aldéhydiques tel que le 2,4-décadienal. Le maltitol dérive aussi des dérivés de l'amidon et a aussi une activité protectrice.

32

Cet effet protecteur a été étudié par des techniques de RMN. LA = acide linoléique. Si on considère les différents carbones avec ou sans LA, on a des différences d'interactions entre les différents carbones du tréhalose.

33

Des études ont été réalisées chez le rat en rapport avec l'ostéoporose. Chez des rates ovariectomisées, il y a induction de l'ostéoporose et lorsqu'on traite les rats avec des solutions de tréhalose il y a protection des os.

34

Utilisation des biotechnologies pour différentes applications industrielles.

35

Ici on a essayé d'augmenter la teneur en amylose de l'amidon de pomme de terre par génie génétique en réduisant l'expression des enzymes de branchements formant l'amylopectine. On peut mettre un ADNc cloné en sens inverse (3'→5') et va conduire à la formation d'ARNm qui va s'hybrider à l'ARNm endogène pour l'interférer sur l'expression du gène voulu. On peut aussi utiliser des ARNi. Chez la pomme de terre dans ce cas, l'amidon est accumulé dans les tubercules et donc les promoteurs doivent être spécifiques des tubercules (s'expriment à 98% dans les tubercules) et la construction d'ADN inverse a été introduit dans la plante. Ils ont analysé leur construction et ont réalisé des western-blot et des ELISA avec des anticorps dirigés contre l'enzyme de branchement (avec deux sous unités SBE A et B). Ils ont aussi fait des gels filtration (car des molécules/polymère de masse moléculaire importante) et ont pu voir que l'amidon sauvage et des pommes de terres transformés ne sont pas les mêmes. Donc l'amidon a été modifié et la teneur en amylose dans ces lignés est fortement augmentée alors que l'activité des enzymes de branchement est fortement réduite. Cela augmente aussi la teneur en phosphate dans la pomme de terre.

36

Cette expérience modifie les propriétés physiques de l'amidon.

37

L'amidon est une forme de réserve des glucides et lorsque la plante en a besoin (germination des céréales) l'amidon est dégradé pour être utilisé par les futures plantules. Chez les plantes l'hydrolyse de l'amidon est catalysée par plusieurs types d'enzymes dont les amylases qui coupent à différents niveaux (exoamylase sur les extrémité et endoamylase dans la molécule, amidon phosphorylase qui produit du G1P, ...).

38

Electrophorèse en conditions native et dans ce gel il y a de l'amidon incorporé et à été utilisé pour séparer des extraits de plantes contenant des enzymes dégradant l'amidon.

39

Lors de l'hydrolyse il y a des amylases qui forment du maltose, d'autres du G1P. Le maltose peut être hydrolysé en glucose par des glucosidases. Une bonne partie de l'amidon dégradé est dans le plaste mais très forte exportation de ces composés dans le cytosol par des transporteurs.

40

Lors de la photosynthèse le CO₂ est assimilé dans les chloroplastes et formation d'amidon dans les feuilles et en fait l'amidon est transformé en maltose pour être exporté au niveau du

cytoplasme pour former du saccharose (sucrose) et qui sera métabolisé pour fabriquer le l'amidon dans les tubercules ou dans les graines de céréales.

41

Article 3 :

42

43

44

Le saccharose dérive du maltose et est métabolisé par des enzymes dont une pas représentée ici qu'est l'invertase (qui coupe entre le glucose et le fructose dans le cytoplasme). La sucrose P synthase est une enzyme réversible qui conduit à la synthèse de saccharose-P.

45

Analogie entre le saccharose et le tréhalose. Le tréhalose est synthétisé avec des malto-dextrines plus des enzymes bactériennes en industrie. Les plantes synthétisent aussi du tréhalose en situation de stress (mais en quantité moindre), dans ces conditions, la tréhalose phosphate synthase va condenser le glucose6P et de l'UDP-glucose pour donner du tréhalose-6P. De même le fructose-6P et de l'UDP-glucose sont utilisé pour former du saccharose-6P. Il y a aussi des analogies au niveau de l'hydrolyse de ces deux composés.

46

Le saccharose s'accumule dans la vacuole de façon importante. Le saccharose peut alors servir à la formation de polymère de fructose appelé fructane.

47

Toutes les voies de synthèse du fructanes et d'autres formes de stockages de sucres.

49

Mode de synthèse des fructanes. Les fructanes sont des glucides sans effet calorique comme le saccharose et qui n'est pas digéré par l'homme ou animaux, seules des bactéries le peuvent.

50

Surtout chez les lilianes et astérales.

51

Chez certaines plantes ces fructanes s'accumulent de façon importantes, c'est la cas chez l'ail, l'oignons, l'asperge, l'endive et la chicorée. Les fructanes favorisent le développement de la flore intestinale et assure l'équilibre de cette flore et ceci peut se faire par des molécules pharmaceutiques qui miment l'activité de ces fructanes. Les produits dégradés par les bactéries leur permettent de produire leur énergie et de métaboliser certains produits.

52

On a essayé de faire métaboliser les fructanes chez d'autres plantes qui n'en produisent pas et notamment chez la pomme de terre. Les niveaux de fructanes restent très bas par rapports aux plantes qui en accumulent naturellement.

53

Pas des fructanes utilisé mais on aurait eut les mêmes résultats avec des fructanes. Les produits permettent de stimuler la flore bactérienne et de produire des acides gras à courte chaîne.

54

Lorsqu'on consomme des produits végétaux contenant des fructanes et ne sont pas digérée par notre intestin mais sont utilisé dans le gros intestin et vont produire des acides pour fabriquer de l'énergie.

III) Caroténoïdes et prenylipides

Les prenylipides sont des dérivés des caroténoïdes comme la chlorophylle, plastoquinone, phylloquinone, apocaroténoïdes, etc.

2

Si on considère une cellule végétale avec ses compartiments dans lesquels sont métabolisés différentes molécules. Dans les plastes on a les caroténoïdes, la chlorophylle, les tocophérols, la phylloquinone et aussi début de synthèse des terpènes. Il y a aussi une quantité importante de molécules qui composent les huiles essentielles (monoterpène par exemple) synthétisée dans les plastes, il y a aussi l'isoprène qui est synthétisé en quantité importante qui est libéré dans la nature lorsqu'il fait très chaud et permet de réguler la température de ces arbres.

Dans le cytoplasme on assiste à la synthèse d'isoprénoïdes et notamment des stérols.

Enfin dans la mitochondrie il y a synthèse d'isoprénoïdes comme les ubiquinones qui interviennent dans les transferts d'électrons et sont utilisés dans des préparations cosmétiques (Co-Enzyme Q).

3

Les terpènes les plus simples sont les isoprènes avec 5 atomes de carbones. Puis il y a les monoterpènes (10C) qui résultent de la condensation de 2 isoprènes. Puis il y a les sesquiterpènes (15C), ces sesquiterpènes peuvent être condensés pour former des triterpènes (30C) (exemple : stérol). Les diterpènes (20C) (exemple : taxol, gibbérellines) sont issus de 4 condensations d'isoprènes. Il y a aussi les tétraterpènes (40C) sont issus de la condensation de 8 diterpènes et forment essentiellement les caroténoïdes.

4

Tous ces terpènes sont synthétisés à partir d'un dérivé appelé l'IPP (isopentenyl diphosphate) à 5C. Chez les animaux où il y a la synthèse de terpènes aussi, l'IPP est synthétisé uniquement par la voie de gauche qui passe par la formation de mévalonate. L'hydroxy-méthyl-glutaryl CoA (HMG-CoA) est très importante car transformé en mévalonate grâce à l'HMG-CoA réductase et permet la synthèse de cholestérol et cette enzyme est inhibée par les médicaments anti-cholestérol. Le DMAPP est aussi un C5 et est un primer sur lequel viennent s'associer des IPP. Chez les plantes il existe une autre voie dans le plaste et dans de nombreuses bactéries qui démarrent du pyruvate et du glycéraldéhyde-6P et on assiste aussi bien à l'IPP et au DMAPP alors que chez les animaux le DMAPP fabriqué à partir d'IPP. Il y a donc un rapport entre l'évolution des plastes et des cyanobactéries. Les inhibiteurs de la seconde voie n'ont rien à voir avec les inhibiteurs de la première voie et donc on pourrait imaginer des antibiotiques contre la deuxième voie.

6

On a bloqué un des gènes de la voie plastidiale par transformation transitoire et on voit que les feuilles présentent un aspect blanchâtre.

7

Ce sont des molécules avec des capacités à absorber de nombreuses longueurs d'ondes du visible.

8

La coloration des fruits et légumes et quelques animaux (crevettes) est due aux caroténoïdes.

9

La première étape consiste en l'isomérisation de l'IPP en DMAPP, puis 3 IPP sont condensés par une prenyltransférase pour former du GGPP avec un squelette à 20C qui sera utilisé pour

la synthèse des caroténoïdes ou la chaîne latérale des chlorophylles. Pour les caroténoïdes cette molécule sera modifiée en phytoène par ajout d'un GGPP. Le phytoène n'est pas coloré car il n'a que 3 doubles liaisons conjuguées.

10

On a ensuite d'autres réactions et notamment des désaturations par des désaturases qui vont induire des liaisons conjuguées et ce jusqu'au stade du lycopène. Le lycopène est le pigment qui s'accumule chez la tomate rouge et est fortement désaturé et ce système de désaturations est appelé le chromophore.

Puis il y a des hybridations avec formation de cycle pour former le beta-carotène, c'est à partir du zeta-carotène que la couleur apparaît et va ensuite s'intensifier jusqu'au beta.

Toutes ces molécules sont des hydrocarbures et sont appelés des carotènes (caroténoïdes n'étant constitué que d'hydrocarbures).

11

Il peut aussi y avoir des introductions de fonctions hydroxygénées et catalysé par des hydroxylases. L'oxygène peut être introduite sous forme d'époxyde ou hydroxyde. Dans les systèmes chlorophylliens on va retrouver la lutéine qui est le caroténoïde majoritaire, puis la viola- et néoxanthine dans les feuilles et pour les carotènes on trouvera majoritairement le beta carotène. Les autres molécules seront retrouvées majoritairement dans des systèmes non chlorophylliens (fleurs, racine, etc.).

12

Lors de la maturation des fruits et des fleurs la composition en caroténoïde est beaucoup plus variée.

13

La plus grande diversité se rencontre chez les algues, cela peut se mettre en rapport avec le fait que les algues vivent dans des milieux aquatiques où la lumière pénètre de manière beaucoup moins efficace dans l'eau et donc possèdent des chromophores avec meilleure absorption de l'énergie lumineuse.

14

Une grande partie des gènes des caroténoïdes a été identifiée et ont été caractérisés, pour se faire des techniques de complémentations ont été utilisées. Par exemple pour cloner une désaturase du phytoène qui désature le phytoène et induit la coloration. On trouve d'abord le précurseur. On a un plasmide avec la GGPP synthase et on introduit aussi l'enzyme qui induit la dimérisation des GGPP pour donner naissance au phytoène. Le fait de mettre 2 gènes dans un même plasmide est possible mais il faut insérer un motif entre les deux gènes pour que le ribosome puisse redémarrer la synthèse du second gène d'une seconde traduction. Ici la bactérie a comme marqueur de sélection le chloramphénicol. Donc la phytoène synthase est fonctionnelle mais on veut désaturer le phytoène. On fait donc une complémentation avec un second plasmide qui possède elle un second marqueur de sélection et le gène de la désaturase.

15

Les chromoplastes chez la tomate accumulent au cours de la maturation du lycopène. Chez des mutants de tomates, c'est le beta-carotène qui s'accumule (tomates jaunes).

16

Pour le poivron, au cours de la croissance jusqu'à sa taille adulte, on a pratiquement la même chose que chez la tomate et au cours de la maturation on assiste à l'induction d'une voie qui utilise les précurseurs des caroténoïdes pour les synthétiser en caroténoïdes jaunes/rouge.

17

Chez le poivron, lorsque le fruit est vert on a des chloroplastes alors que lorsque le fruit est rouge, les chloroplastes se sont transformé en chromoplaste (perte de thylacoïde et différencient d'autres structures comme des globules) dans lesquels sont séquestrer les caroténoïdes.

18

Les caroténoïdes sont très souvent esterifiés par des acides gras ce qui rend ces molécules encore plus hydrophobes.

19

Montre les niveaux d'esterification des fruits, selon le type de fruit, le phénomène peut être très élevé ou très faible. Chez les tomates le lycopène ne peut pas être estérifié car pas une xanthophylle.

20

Accumulation de caroténoïdes dans des globules lipidiques. Chez la jonquille les caroténoïdes synthétisés sont séquestrés dans les membranes.

21

22

23

24

L'éthylène permet de stimuler la synthèse des caroténoïdes.

25

L'étape de désaturation des caroténoïdes bloque la synthèse de betacarotène et donc ces molécules photo-protectrices ne peuvent plus remplir leurs rôle → chlorose.

26

Explique le rôle protecteur des caroténoïdes en fonction de la photo-oxydation.

27

Au niveau des feuille il existe le cycle des xanthopylles époxydes.

28

Quel que soit le cycle des caroténoïdes considérés, à chaque fois il y a des intermédiaires chargées positivement (carbocation).

29

30

31

32

33

34

L'ABA est synthétisé d'abord dans les plastes et se fait à partir de xanthophylles époxydées (néo- et violaxanthine). DE la xanthoxine est synthétisée et est transportée dans le cytoplasme pour former l'ABA qui sera utilisé pour les mouvements d'ouverture/fermeture des stomates mais aussi la dormance des semences (favorise la dormance contrairement aux gibbérellines). Lorsque des graines sans ABA → graines vivipares.

35

Article 5

36

Lors de la mycorhization des racines on observe une accumulation importante des caroténoïdes qui sont ensuite glycosylés comme par exemple la bluménine. Une nouvelle catégorie d'hormones appelé les strigolactones pourraient dériver de ces métabolismes et impliquant des apocaroténoïdes (parties coupées des caroténoïdes).

37

Lorsque l'algue n'est pas stressée elle synthétise des productions qui rappelle la production en caroténoïde qui rappelle celle des feuilles. Si l'algue est stressée, elle change son métabolisme et synthétise de l'astaxanthine et d'autres caroténoïdes qui vont s'accumuler en quantité importante et au sein de globules lipidiques. C'est ce pigment qui donne la couleur à la chair du saumon qui est utilisé par des entreprises pour produire des lyophilisat de ce caroténoïde pour nourrir les saumons d'élevage. L'astaxanthine limite le développement d'helicobacter pylori et donc utilisé aussi en médication aussi.

38

56

Il existe d'autres enzymes peu spécifiques qui catalysent les mêmes réactions, il y a la xanthine oxydase qui oxyde le chromophore des caroténoïdes pour y lier un aldéhyde et donne naissance à des apocaroténoïdes. La xanthine oxydase est une enzyme très stable Il existe également d'autres possibilité pour avoir ces dérivés apocaroténoïques.

57

En utilisant par exemple la lipoxygénase, elle transforme les acides gras insaturés mais si on ajoute des caroténoïdes, ils seront dégradés en molécules plus petites (apocaroténoïdes), volatile avec une caractéristique aromatique. Cette lipoxygénase peut fonctionner dans des milieux très extrêmes et notamment très secs.

58

59

Les enzymes de clivage des caroténoïdes chez les animaux est responsable de la formation de la vitamine A (à partir du bêta-carotène issu de l'alimentation) aussi appelée acide rétinoïque.

60

Dans une alimentation dépourvue de bêta-carotène conduit à la cécité.

61

Certaines caroténoïdes issues de l'alimentation comme la lutéine (50% des caroténoïdes d'une feuille) ou la zéaxanthine (lorsque feuilles stressées) s'accumulent dans les feuilles mais n'ont aucune activité vitamine A mais s'accumulent dans la région maculaire de l'œil et joue certainement des rôles photoprotecteurs.

62

Certains caroténoïdes s'accumulent dans certains tissus humains, le lycopène est le pigment rouge de la tomate et s'accumule dans les ovaire et les testicules et si peut de lycopène plus de risque de cancer de la prostate.

63

Certains caroténoïdes favorisent les communications cellulaires, c'est le cas pour le bêta-carotène, la canthaxanthine ou la lutéine. Ceci n'est pas spécifique du pouvoir antioxydant ou de l'activité vitamine A.

64

On trouve des caroténoïdes également dans la peau.

65

Construction utilisée pour faire l'expérience d'après. Promoteur de la napine (promoteur spécifique des graines) devant le gène CRT B.

66

Lorsque surproduction de caroténoïdes dans la graine de colza

IV) Les prényllipides

1

Les prényllipides sont des lipides qui contiennent des groupements prényl. Il y a par exemple la vitamine K, E, plastoquinone, chlorophylles. Une partie de la molécule dérive du métabolisme des acides aminés et qui constitue les noyaux et cela est manifeste avec le noyau des vitamines E ou K ou celui des chlorophylles (acide glutamique). Les prényltransférases sont des enzymes qui transfèrent un chaînon isoprénique à ces noyaux.

2

Dans le cas des chlorophylles le noyau est formé à partir de l'acide glutamique selon un mécanisme assez rare représenté ici, cela passe en fait un tRNA glutamate qui donnera de l'acide amino lévulinique qui constitue le noyau des chlorophylles. 2 acides amino lévuliniques sont condensés.

3

Cela formera le porphobilinogène.

4

Puis d'autres enzymes vont condenser les noyaux précédents pour former une structure macrocyclique (tétrapyrrolique) des chlorophylles.

5

6

7

Il existe différentes sortes de chlorophylles et cela est dû à des modifications d'une partie du noyau, la chaîne phytyl reste toujours identique.

8

Lorsqu'on met des plantes avec de la soude, le phytyl est retiré du noyau, lorsqu'il reste uniquement le noyau on appelle cette chlorophylle de la chlorophyllide. La phéophytine est de la chlorophylle qui a perdu son atome de Mg. La phéophorbide est de la phéophytine sans sa chaîne latérale.

9

les chlorophylles peuvent absorber la lumière et cette dernière peut être transmise et si cela ne se fait pas au moment de la photosynthèse cela peut faire une réaction secondaire de dégradation de molécules non saturées. Donc lorsque les plantes entrent en sénescence elle dégradent la chlorophylle en éliminant la chaîne phytyl par une chlorophyllase et donc donne naissance à la chlorophyllide, puis cette dernière perd son magnésium (phéophorbide) puis est attaquée par des oxygénases qui dégradent tout le cycle en des groupements très simples qui n'absorbent plus la lumière et sont incolores.

10

11

Lorsque cuivre à la place du magnésium, chlorophylle.

12

17

18

Chlorophylle qui contiennent du zinc peuvent être utilisées pour traiter des légumes, pour augmenter la couleur verte.

19

Nous allons parler maintenant des tocophérols ou vitamines E, la synthèse démarre à partir d'un noyau qui dérive des acides aminés, puis une chaîne isoprénoïque est accroché a ces noyaux pour donner naissance à cette famille des vitamines E.

20

D'une façon plus détaillée, au départ le noyau acide homogentisate qui est prénylé par une prenyltransférase, il sera ensuite modifié par des méthyltransférase qui vont ajouter des méthyl puis il y aura une cyclisation et une réméthylation pour donner naissance par exemple à l'alpha-tocophérol. Seules les cyanobactéries, les plantes et les algues sont capables de synthétiser la vitamine E. Le gamma tocophérol n'est pas totalement méthylé sur son noyau. La prényltransferase peut utilise le GGPP qui lui est insaturé contrairement au phytylPP, dans ce cas des tocotriénols seront formés, leur synthèse est ralisée uniquement chez certaines plantes.

21

Différents tocophérols avec les deux cycles, le noyaux plus ou moins méthylé. Dans la partie A que des vitamines E et dans la partie B que des tocotrienols. Les tocotriénols sont définis par rapport aux tocophérols selon leur niveau de méthylation.

22

La vitamine E est un excellent antioxydant dans les systèmes lipophiles (par exemple les membranes biologiques), l'alpha tocophérol réagit avec les radicaux hydroperoxydes pour donner naissances à des intermédiaires oxydé jusqu'à l'état de quinones.

23

Article 6 Isolation of an Arabidopsis mutant lacking vitamin E...

Article 7 Wheat lipoxygenase activity induces greater loss of carotenoids than vitamin E during breadmaking

24

L'activité anti-oxydante des tocophérols est en fait intégrée dans un cycle, les tocophérols interagissent avec des formes activées d'oxygènes et doivent être régénérés de par l'action de la vitamine C puis la vitamine C oxydée sera régénéré par des thiol et des glutathion reductases.

25

Différents isomères du tocophérols, seule la première configuration a une activité de 100%, c'est la forme naturelle, la majeure partie des tocophérols du commerce ne sont pas des tocophérols actifs car produire la 1^{ière} molécule est très cher à produire.

26

Activités biologiques qui correspondent aux autres formes par rapport à la forme naturelle et qui sont utilisé dans les produits alimentaires, cosmétiques, cette forme est souvent acétylé, les lipases pour éliminer l'acétyle pour libérer la fonction hydroxyle.

27

Les tocophérols consommés à partir de l'alimentation jouent son rôle via une protéine de transport. Elles sont acheminées au niveau de foie, la alpha-TTP est le transporteur du tocophérol vers tous les tissus de l'organisme présente chez tous les animaux. Cette protéine peut être mutée et donc mauvaise utilisation de la vitamine E et donc pas de rôle antioxydant pas joué. Ceci ne concerne que le ALPHA tocophérol. Les tocophérols acétate du commerce ont très peu d'activité avec cette protéine. L'alpha-tocotrienol à une activité de 12% pour cette protéine. Le trolox est un antioxydant synthétisé chimiquement qui ressemble à la vitamine E.

28

Répartition des tocophérols dans différents tissus. Les tocophérols peuvent occuper la moitié de l'épaisseur de la membrane.

29

Les tocophérols sont dégradés par les animaux et en particulier les formes non actives qui sont oxydées par l'organisme via un système enzymatique qui fait intervenir le clivage séquentiel de la chaîne latérale, on retrouve ensuite ces formes oxydées dans les urines.

30

Des tocophérols modifiés peuvent réagir avec des nitrites et neutralisent l'effet de ces nitrites utilisé pour préserver la couleur rouge de la viande (conservateur), le gamma tocophérol est le plus efficace. Le gamma tocophérol est moins méthylé que l'alphatocophérol, ils s'accumulent essentiellement dans les graines et dans les feuilles par exemple il y en a très peu (90% d'alpha-tocophérol dans les feuilles).

31

Montre que les tocophérols ont en plus de leur activité anti-oxydante régulent la fluidité membranaire, expérience réalisée avec des sondes fluorescence pour mesurer la fluidité membranaire avec des variations de fluorescences. Une des raisons pour laquelle on introduit des tocophérols dans les produits cosmétiques.

32

En plus de ces rôles, l'alpha-tocophérol en particulier, ont des rôles non anti-oxydantes, il permet de réduire la prolifération cellulaire en cas de cancer notamment car utilisation de Phorbol myristate (cancérigène) dans l'expérience. C'est la protéine kinase qui entraîne la cascade de phosphorylation qui entraîne la prolifération cellulaire, son activité est fortement réduite par l'alpha-tocophérol alors que pour le trolox et le beta-tocophérol quasi pas de changement.

33

Effet de l'alpha-tocophérol sur la phospholipase A2. Certains lipides membranaires sont attaqués par des phospholipase qui va dégrader des acides gras qui vont induire une cascade de réaction qui vont augmenter la température ou induire la douleur. En regard de l'activité de la vitamine E sur ces phospholipase, activité inhibante en fonction de la concentration et ce phénomène est spécifique car le beta-tocophérol à très peu d'activité.

34

On cherche le rôle des tocotriénols en regardant l'activité HMG-CoA réductase, par mesure du taux de cholestérol chez des rats. On a trouvé deux composés qui réduisent l'activité de l'HMG-CoA réductase et que ces deux composés sont des tocotriénols. Donc les tocotriénols régulent la teneur en cholestérol.

35

Expériences complémentaires réalisées en observant l'incorporation de l'acétate qui donne l'acide mévalonique, puis de l'IPP et puis le cholestérol. On a pris du foie de rat et on a introduit des tocotrienols, les tocotriénols réduisent l'incorporation de l'acétate alors que avec tocophérol pas cette activité.

36

Lova = lova statine qu'on peut trouver en pharmacie. Dans le cas de la Lova statine on a une bande très importante car stimulation de l'activité des gènes de la synthèse de l'enzyme. Avec gamma tocotrienol, très faible donc protéolyse de l'enzyme, cette protéolyse est atténuée par l'ajout de lova statine.

38

D'autres sources de tocotriénol → huile de graine de riz.

40

Activité plus ou moins faible selon les différents cas de cancers.

41

FarnesylPP est un squelette à 15C qui peut se dimériser pour former le squalène qui peut donner via une série de réaction du cholestérol. Chez l'homme l'activité de synthèse de cholestérol est régulée via un mécanisme transcriptionnel qui inclut le cholestérol. En présence de tocotrienol, le farnesylPP est déphosphorylé en farnesol et donc est désactivé car ne peut plus donner de squalène. Le farnesol va déclencher la protéolyse de l'HMG-CoA reductase.

42

Les récepteurs LDL qui permettent de récupérer le cholestérol vont être internalisés et vont être protéolysés et donc plus de cholestérol pour les différents organes.

44

Autre résultat observé chez *C. elegans* qui ont montré que les tocotriénols augmentent la durée de vie de ces vers. Plus la longévité est faible plus les carbonyles sont faibles.

V) Acyllipides et Glycérolipides

2

Ces glycérolipides sont toujours représenté par un glycérol acylé. Dans le cas des lipides membranaires on a faire à des lipides polaires (phosphate, base, etc). Cette partie polaire va permettre d'orienter ces lipides dans els systèmes biologiques. Par endroit des structure ou la chaine carboné est coudée → due à une double liaison. Les triglycérides n'ont pas de groupement polaire donc sont extrêmement hydrophobes.

3

La polarité due à la présence de sucre et la polarité à la présence de phosphate. Pour les sucres ce sont notamment des galactoses. Les glycolipides sont les lipides majeurs de chloroplastes. Dans certains cas les glycolipides contiennent du soufre → sulfolipides. Lorsque polarité induite par phosphate → phospholipides.

4

Les lipides de réserves s'accumulent dans les graines des oléagineux et sont essentiellement constitués de triglycérides. La synthèse de ces lipides est réalisées au niveau du RE, lorsque la plante commence à synthétiser ces lipides ont observe un bourgeonnement qui va se remplir de lipides de réserve et former des oléosomes. Ces oléosomes vont à long terme remplir le cytoplasme de la cellule, au départ ils sont constitué de la moitié de la bicouche lipidique et va se refermer sur elle même. On assiste aussi à la synthèse d'une protéine spéciale dans les oléosomes → oléosines qui stabilise la structure des oléosomes et empêche la fusion des différents oléosomes. Dans certains cas, cela s'accumulent juste dans certaines cellules de la graines mais chez certaines plantes il y a deux sites de séquestration de ces oléosomes, un site dans la graine et un site dans les organes qui entourent la graine → huile de palme et huile de palme rougeatre.

5

Les réserves s'accumulent soit au niveau du cotylédons, soit au niveau de l'endosperme (albumen).

6

La teneur en triglycéride s'accroît en fonction du temps dans la graine, au départ que des lipides polaires (glycolipides) puis triglycérides augmente fortement.

7

Beaucoup de CoA pour les condensations qui sont les équivalents des pyrophosphates des isoprénoïdes pour leur condensation. L'acétyl CoA est essentiel qui va devenir du malonylCoA. L'acyl-carrier protein est la protéine qui transporte des acides gras.

8

Chez la plupart des plantes il y a accumulation d'acide palmitique, oléique, stéarique, linoéique, linoléique comme produit final de la chaine de synthèse.

9

Les acides gras peuvent êtres désaturés par des désaturases. Les plastes constituent le site de synthèse de novo et une fois synthétisé, ils ne s'accumulent jamais en l'état, soit dans le plaste, soit exporté dans le cytoplasme pour participer à la synthèse des triglycérides ou des autres lipides (phospholipides), ils doivent donc sortir du plaste et sont donc transporté dans le compartiment extraplastidial, mais juste avant de sortir les acides gras vont êtres réactivé (car sinon aucune activité biologique si pas cette étape) par des acylCoAsynthétase qui vont introduire des acylCoA. Ces acides gras aux niveau du cytoplasme vont être utilisé pour la

synthèse des lipides membranaires ou des lipides de réserves (triglycérides) ou des réactions d'élongation pour faire des chaînes d'acides gras beaucoup plus longues. Une enzyme glycérol 3phosphate acyltransférase (G3PAT) va transférer sur le glycérol3P un acide gras activé au préalable avec l'acylCoA et on aura un lysophospholipide.

12

Les étapes de synthèse des acides gras se font dans les plastes et se retrouvent dans les procaryotes de types cyanobactéries.

14

Les acides gras dans le cytoplasme vont être utilisés pour fabriquer les lipides de réserves, au niveau du RE donne naissance des oléosomes dans lesquels seront stockés les triglycérides.

19

Les acides gras à chaîne courte sont en général utilisés dans la création de savons.

20

Si on se place uniquement dans la biologie des plantes, ces lipides sont des substances de réserves utilisés lors de la germination. On assiste lors de la germination à la néoglucogénèse. Chez les plantes quelle que soit les réserves accumulées elles vont être transformées en glucides (glucose par exemple à partir d'amidon). Les triglycérides TAG s'accumulent dans les oléosomes et vont être hydrolysés par des lipases qui vont couper la liaison entre le glycérol et l'acide gras de façon à libérer les acides gras, ils vont être transportés dans des organites qui appartiennent à la famille des péroxysomes (différents noms selon leurs localisations). Les acides gras vont être réoxydés par des β -oxydation. ICL = isocitrate lyase, MS = malate synthase.

21

Péroxysomes représentés ici, le glyoxysome est aussi un peroxysome. Ce sont des organites entourés d'une simple membrane, selon les tissus ils ont des spécialisations, dans les graines, glyoxysomes car il y a la β oxydation à l'intérieur.

22

ICL est l'enzyme qui transforme isocitrate en glyoxylate et malate. Le saccharose formé sera utilisé par la plantule durant les premiers jours de la germination. Il en est de même pour la malate synthase. Ces deux enzymes sont des marqueurs de la germination et de la néoglucogénèse (formation de glucide à partir de réserve lipidique qui avait été réalisée à partir des glucides via la photosynthèse à la base).

23

Il est nécessaire que ces acides gras après hydrolyse puissent être transportés vers les glyoxysomes, deux hypothèses existent. La première énonce le fait qu'il y a un transporteur qui transporte les acides gras activés avec du CoA et une fois dans le péroxysome il sera à nouveau activé avec du CoA pour effectuer la β oxydation. L'hypothèse B implique un transporteur qui récupère directement la forme activée de l'acide gras et en plus un transporteur de LCFA direct (long chain fatty acid).

24

Figure qui montre ce qui se passe lors de la néoglucogénèse, dans le cas normal, la graine possède des TAG comme acides gras de réserve, donc lipase pour attaquer les TAG pour libérer les acides gras, ils sont transportés dans le glyoxysome (péroxysome de graine) dans lequel se déroule la β oxydation en démarrant à partir de l'acylCoA qui va donner naissance à des acétylCoA qui participent à la synthèse d'acide malique avec la malate synthase

et l'ICS et vont aussi produire du sucrose (saccharose). Lorsque la plante devient photosynthétique au bout de quelques jours, les chloroplastes de la plantule vont assimiler le CO₂ qui va permettre la synthèse de saccharose de la plante.

25 - 26

Comment tester la fonctionnalité de la beta oxydation ?

On peut vérifier que la beta oxydation est fonctionnelle et donc si la graine pourra germer.

IBA = acide indole butyrique

2,4 DB= acide dichlorophenoxy butyrique

Ces molécules n'existent pas chez la plante, si on les fait absorber par les plantes elles sont transportées dans le péroxysome. Une fois coupées dans le péroxysome, le 2,4 DB devient toxique (trop forte quantité d'auxine) et va inhiber le développement des racines et aboutit à la mort de la plante. Avec IBA, libération d'acylCoA et donc libération d'auxine et la plante va mourir. Si la beta oxydation n'est pas fonctionnelle les graines vont pousser normalement.

27

Les acides gras jouent un rôle dans la formation des revêtements chez les plantes (cires, cutines, etc).

28

Figure qui montre quelques aspects de ce phénomène d'élongation, d'oxydation, etc, et finalement export vers la cuticule.

29

Mutant d'Ara identifié grâce au T-DNA qui présente mutation dans la synthèse de ces acides gras qui participe à la formation des cires. En effet une plante dépourvue de cire va perdre plus facilement son eau et sera plus facilement infecté par des pathogènes.

30

A Sauvage, épiderme supérieur

B mutant

C Sauvage, épiderme inférieur

D mutant

31

Ces gènes fonctionnent essentiellement au niveau des épidermes. Utilisation du gène rapporteur GUS (glucuronidase) couplé aux élongases.

32

Dans le cas de ces mutant on a regardé la capacité à libérer la chlorophylle plus ou moins facilement par ces mutant. On a coupé des feuilles en morceaux et plongé dans hexane (solvant apolaire) et on regarde si l'hexane se colore. Les feuilles de plantes sauvages libèrent peu de chlorophylle (un peu car feuilles coupés donc structure détruites) malgré le fait que hexane solvant peu efficace pour solubiliser la chlorophylle, dans le cas des mutant, beaucoup plus de chlorophylle diffuse dans l'hexane.

33

Une autre conséquence est sur ces vues au microscope à balayage lorsque l'on met du pollen sur les feuilles que le pollen peut germer car ils sont facilement hydratés sur le mutant. Donc la cuticule limite l'évapotranspiration. On peut comparer ces grains de pollen à des spores de champignons.

A Sauvage épiderme sup

B Sauvage, épiderme inf

C mutant sup

D mutant inf

Pour avoir plus d'efficacité dans les herbicides on y ajoute des détergents pour que les molécules actives passent les barrières lipidiques.

34

Effet nénuphar → très peu d'eau stagne à la surface des nénuphar.

35

Les lipides dans les systèmes biologiques peuvent aussi faire spontanément ce rôle de « membrane » → MP.

En haut à gauche le lait (huile dans de l'eau) et à droite du beurre (eau dans de l'huile).

36

Dans le cas du chocolat on veut quelque chose de solide à température ambiante mais qui fond rapidement. Il y a une quantité importante d'acide gras dans le chocolat et c'est surtout de l'acide palmitique, stéarique et oléique.

POP = TAG avec palmitique, oléique, palmitique

POS = TAG avec palmitique, oléique, stéarique

...

LLL = TAG avec 3 acides lauriques

LLM = TAG avec 2 acides lauriques et un myristique

...

37

Les teneurs en lipides des farines est très contrôlée car affecte la panification.

38

Donc sélection variétale des dérivés lipidiques pour la structure du pain. Les isophospholipides se comportent comme des détergents, et selon leurs compositions dans la farine on obtient des textures plus ou moins aérées, qui fond plus facilement dans la bouche etc.

39

Les acides gras « trans » conduisent à des effets indésirables et délétères. Les acides gras trans ne sont pas synthétisés par les plantes mais dérivent des technologies liées aux lipides. Les lipides réagissent facilement avec l'oxygène (notamment les insaturés) → rancissement (« Chilling injury »). On utilise donc des acides gras saturés pour éviter ce phénomène.

43

Pour la préparation des huiles alimentaires, des techniques d'extraction existent avec des solvants mais ces techniques font qu'il reste du solvant dans l'extrait donc on utilise des fluides supercritiques. Par exemple CO₂ liquide utilisé et CO₂ s'évapore donc plus de trace dans l'extrait.

45

On peut aussi fabriquer des bioplastiques qui sont réalisés grâce à des enzymes bactériennes pour certaines étapes. On a de l'acylCoA qu'on condense avec la bêta-ketothiolase puis on réduit la molécule et avec la PHB polymérase (enzyme de *Pseudomonas*) qui polymérise les unités pour former un polymère biodégradable. Cela se fait dans des compartiments où il y a beaucoup d'acylCoA donc dans les plastes ou dans les peroxyosomes. Dans les plastes très facile car une solution pour que cela fonctionne est de mettre une séquence d'adressage avant les gènes des enzymes bactériennes.

46

Dans les peroxysomes il y a aussi des séquences d'adressages mais elles ne sont pas aussi évidentes que pour le chloroplaste.

47

PhaC1 = polyhydroxyalkandate synthase

PHAG = transacylase

Article 12

49

On exploite aussi le métabolisme des lipides avec leurs propriétés réactives acide/base. On peut produire des produits qui sont quasiment pas synthétisable chimiquement. L'intérêt pratique par exemple avec l'acide ascorbique (vitamine C, polaire) que l'on peut modifier pour y introduire un acide gras pour le rendre lipophile.

50

On peut utiliser les lipides pour la fabrication de détergents ou de savons. Un savons classique est un dérivé de la saponification des lipides (lipide + soude ou potasse → acides gras libéré sous forme de sel). On a des indices de saponification des lipides. On multiplie cet index par les quantité en acides gras pour savoir la quantité de soude a mettre.

51

Il existe des savons doux liquides, il y a soit un acides gras ou molécule qui y ressemble beaucoup et il n'y a plus de sels mais il y a des molécules aussi polaires que sodium ou potassium comme du fructose par exemple.

52

Utilisé dans l'industrie des polymère pour faire des peintures, du nylon par modification des acides gras.

En A acides issus du colza et en B des acides issus du coriandre.

53

Agent de revêtement (peinture par exemple) → avec des pigments, des catalyseurs pour que les réseaux puisse se former (les parties triangulaires de la molécule du diapo réagit avec les doubles liaisons de polymères (des triglycérides ou autres). Ces substances sont relativement toxiques et on cherche des molécules naturelles qui peuvent induire des réseaux de la même façon, les acides gras peuvent permettre d'éliminer ce type de molécule → triglycéride de droite. On cherche des huiles enrichies en triglycérides insaturées pour réaliser ces réactions et ces fonctions. L'huile de lin est fortement utilisée dans ce cadre car contient forte proportion de C18 :3. On peut déterminer l'indice d'iode car il se combine avec les doubles liaisons et donc plus une huile aura de double liaison et donc plus d'iode va se fixer dessus et donc plus l'indice d'iode sera élevé.

54

On a pu retrouver les gènes impliqué dans l'introduction des doubles liaisons ou des fonctions hydroxy ou époxydes pour chercher a produire des huiles plus intéressante pour l'industrie de la peinture.

55

Enzymes qui permet de faires ces réactions qui sont commercialisées.

Article 13

57

Les acides gras s'accumulent essentiellement sous forme de triglycérides de réserves, lorsque les plantes sont attaquées par un autre organisme, les lipides membranaires vont être transformés par des lipases puis des lipoxygénases pour donner de l'acide jasmonique qui va induire les réactions de défenses.

59

Lorsque attaqué par des insectes les plantes synthétisent de l'acide jasmonique déclenché par un éliciteur qui est synthétisé du fait de l'attaque grâce à certains aminés (volicitines synthétisé dans la salive de l'insecte). Des défenses indirectes sont induites par l'acide jasmonique qui induit l'activation de gènes qui synthétise des produits volatils qui attirent des prédateurs de l'insecte. L'acide jasmonique peut être méthyle par les plantes et devient très volatil aussi et lorsqu'atteint une autre plante active les réactions de défenses des autres plantes non attaquées.

60

Les acides anacardiques sont des acides gras à longues chaînes (C22, C24) synthétisés dans le cytoplasme mais ils sont cyclisés pour donner naissance aux acides anacardique qu'on rencontre en très grande quantité chez les anacardiées (noix de cajou) et qui produisent dans les trichomes ces substances et sont donc plus résistantes aux insectes.

61

Lorsque le sol est pauvre en phosphate les plantes ont du mal à solubiliser le phosphate et donc problème de synthèse des phospholipides qui structurent les membranes biologiques. Les groupements phosphates que les plantes ont du mal à synthétiser sont remplacés par des galactolipides (qui en général ne sont que dans les plastes) et des sulfolipides.

VI) Protéines et peptides de réserves

2

Les rapports varient selon les pays. Ces protéines sont essentiellement dans les céréales et les légumineuses.

3

Ces protéines qu'on rencontre dans les céréales et les légumineuses majoritairement, chez les légumineuses, les teneurs en méthionines sont faibles et en lysines sont acceptables, au niveau des céréales, les teneurs en méthionines sont acceptables alors qu'en lysines sont faibles, donc il faut manger des deux.

4

Alimentation de porc il faut 1,6% de méthionines dans le total des acides aminés.

5

Gluténine responsable de la viscoélasticité. Le blé en contient le plus et c'est pour cela qu'on fabrique le pain avec de la farine de blé.

11

Dans le RE il y a introduction de certaines molécules glucidiques qui sont incorporé à la protéine.

12

Chez les plantes l'ammonium est utilisé quand il peut être absorbé au niveau du sol et est absorbé. Le sucrose va être transformé en acide oxaloacétique qui va être le support de condensation de l'amine avec des molécules comme l'aspartate amino transférase, la glutamine synthétase permet la synthèse de la glutamine avec l'ammonium et la GOGAT (glutamate synthase=glutamate oxoglutarate amino synthétase) utilise la glutamine (réserve d'azote) pour fixer une fonction amine sur l'acide oxoglutarate et former ainsi du glutamate. L'AspAT va ensuite utiliser le glutamate pour transférer l'azote sur l'acide oxaloacétique et former de l'aspartate. L'aspartate qui est un acide à 4C et avec une fonction amine peut ensuite permettre la fixation de l'azote grâce à l'asparagine synthétase qui va récupérer l'amine de la glutamine et le fixer sur l'aspartate est ainsi former de l'asparagine et du glutamate.

13

(La glutamine synthétase est toujours plastidiale ou mitochondriale.)

14

La lysine et la méthionine sont des acides aminés essentiels, ces acides aminés sont synthétisés dans le chloroplaste chez les plantes et ce à partir de l'aspartate.

15

Cette voie de biosynthèse est aussi synthétisée dans le plaste et dans le cytoplasme → obtenue à partir de mutant de plantes.

16

L'aspartate permet d'arriver à plusieurs acides aminés essentiels → famille de l'aspartate. Ce métabolisme est très fortement régulé par un phénomène de rétroinhibition, la lysine rétroinhibe sa propre synthèse et c'est pourquoi cet acide aminé ne s'accumule pas fortement chez la plante et pour en stocker mutant qui sont touchés sur la rétroinhibition. La méthionine est le précurseur de la S-adénosylméthionine qui est essentiel pour méthylé les molécules

dans l'organisme, elle stimule la synthèse de la thréonine qui elle inhibe la voie de synthèse de la lysine.

17

La lysine induit aussi sa propre stimulation via LKR et SDH qui est une enzyme bifonctionnelle, la lysine cetogutarate réductase et saccharopine déshydrogénase.

19

Chez le maïs des gènes « opaque » spécifiques qui sont activés en présence de calcium et qui active l'enzyme qui peut alors cataboliser la lysine pour former de l'acylCoA et de l'acide glutamique.

CK = caséine kinase (substrat utilisé pour tester les kinases).

22

23

On a introduit chez *Arabidopsis* une lysine dihydropicolinate synthase (enzyme bactérienne, avantage niveau de régulation différents entre deux eucaryotes alors la pas de problèmes). K/O est un mutant de LKH-SDH.

La voie des acides aminés est dans certains cas un cible pour les herbicides : Round-up et Basta (phosphinotricine). Ils bloquent la synthèse des acides aminés aromatiques et ou de la glutamine synthétase respectivement.

L'acide phytique s'accumule en quantité importante dans les graines et est une réserve de phosphate et lors de la germination les plantes ont beaucoup de mal à absorber le phosphate du sol et donc l'acide phytique est hydrolysé par la plantule pour synthétiser de l'ATP, pour cela elles activent des phytases pour activer ces liaisons phosphate. L'acide phytique est une substance qui attire beaucoup de minéraux, de vitamines et donc on doit se débarrasser de cet acide phytique lorsqu'on prépare des préparations. Dans l'alimentation de certains animaux comme le porc il est nécessaire de fournir des phytases. Pour l'homme également cela fait partie des critères de sélection des plantes.

Les isoflavonoïdes sont aussi des molécules de réserves, ils peuvent être en très fortes concentrations chez les légumineuses par exemple le soja. Ces molécules sont des phytoestrogènes.

Avec du sulfate d'ammonium on fait précipiter les protéines, en premier les protéines hydrophobes et graduellement jusqu'aux protéines les plus hydrophiles.

De nombreuses protéines sont des lectines qui sont des protéines très souvent glycosylées qui reconnaissent des motifs oligosaccharidiques. Très utilisées en laboratoire pour agglutiner des protéines ou pour détecter des pathogènes (pour les sucres de leurs parois), dans les graines de légumineuse, une lectine : la concanavine et reconnaît le motif saccharidique de l'invertase. On peut aussi utiliser certaines lectines pour reconnaître le virus de sida = la jacaline, la ricine est aussi très surveillée car peut être mortelle.

Certaines protéines ont des propriétés édulcorantes comme l'aspartame avec des pouvoirs sucrants beaucoup plus importants que le saccharose.

VII) Utilisation industrielle des algues

2

Figure qui montre l'apparition de ces algues, on part des cyanobactéries, puis algues rouges qui ont des caroténoïdes qui leur donne cette couleur rouge et possèdent aussi des phycobillines), puis les algues vertes qui ressemblent beaucoup aux plantes supérieures et enfin les algues brunes qui apparaissent par recombinaisons entre algues vertes et rouges et enfin les plantes supérieures.

3

Un groupe particulier, le groupe des dinophycées qui possèdent également des pigments particuliers, elles produisent des quantités très importantes de toxines.

4

Les algues ont différentes utilisations, nutrition par consommation directe, industries alimentaire, pharmaceutiques ou autres sous formes de colloïdes et dans d'autres cas pour amender les sols (enrichir).

5

Les phycobiliprotéines des algues rouges et cyanobactéries sont des molécules utilisées pour leurs propriétés colorantes mais également pour leurs propriétés biologiques, en effet elle sont fluorescentes.

6

Chlorella produit de fortes quantités de lutéine qui est un caroténoïde très répandue chez les plantes supérieures dont la synthèse chimique est très difficile.

7

Auxotrophie, croissance des algues basé sur l'utilisation de CO₂ → intérêt industriel car pas d'utilisation de sucre.

Hétérotrophie, avec utilisation d'acides organiques comme source de carbone.

Mixotrophie, on commence par source de carbone puis on alimente avec du CO₂.

8

Autre exemple d'une algue chlorophyllienne qui peut pousser dans des milieux très riches en sel et lorsqu'on la stress elle synthétise des globules de bêta carotène et de glycérol. Production de bêta-carotène industrielle.

10

Autre application des phycobilines, elles sont antioxydantes.

11

Les toluquinols sont produits par les algues et sont aussi des antioxydants, leurs structures rappelle la structure des premières étapes de synthèse du tocophérol. Ces molécules sont uniquement synthétisées par les algues.

12

Dans ce cas les cultures d'algues d'espèces différentes ont été testées pour comparer les activités anti-oxydantes en utilisant le système lipoxygénase – acide linoléique qui est une réaction radicalaire.

13

Une autre possibilité de test couramment utilisé consiste à utiliser la molécule du DPPH qui dérive de la synthèse chimique et qui peut être réduite par les anti-oxydantes, au départ elle est rouge et est incolore quand réduite.

14

Montre l'intérêt des algues avec certains stress oxydatifs. Chlamydomonas est une algue verte qui est capable de pousser sur la glace et si lumière intense, coloration rouge. Les composés phénoliques sont aussi utilisés comme anti-oxydant.

15

Les algues bleue/verte sont des sources importantes d'engrais azotés car elles sont capable de réduire directement l'azote atmosphérique en ammonium.

16

Les algues sont aussi utilisées séchées pour amender les sols (Maërl). Surtout utilisé sur les sols très pauvres ou dans les sols trop acides ou trop alcalins.

19

Les algues sont utilisé pour produire des anti hyaluronidases qui ralentit le vieillissement de la peau.

22

Les algues produisent de nombreuses molécules toxiques et très puissantes car sont libéré dans l'eau en milieu naturelle et donc fonctionne à des concentration extrêmement faibles.

23

Des animaux aquatiques renferme des algues pour obtenir la défenses synthétiser par celles ci, le tableau indique différentes molécules avec leurs effets.

24

L'utilisation des algues est soumise à des normes de toxicités, ici les françaises, elle tient compte des quantités importantes de métaux lourd et des bactéries.

25

La majeure partie de l'utilisation concerne des molécules plus complexes que sont les colloïdes comme les agar, es alginates et les carraghénanes.

26

Les alginates sont des colloïdes extraits à partir des parois des algues, pour les alginates ils sont issus des algues brunes.

27

Les alginates sont aussi synthétisés par des bactéries qui appartiennent au genre Azotobacter et la plupart des connaissances sur les alginates viennent des recherches sur ces bactéries. Les bactéries s'entourent d'une couche d'alginates pour se protéger des effets néfastes de l'oxygène sur la nitrogénase.

28

Les alginates sont issu du mannose de 2 types (acide mannuronique et acide guluronique).

29

Schéma de la biosynthèse bactérienne qu'on pense applicable aux algues brunes.

31

Ces polymères d'acide alginiques possèdent des zones avec des intérêts particuliers en particulier la zone centrale qui peut fixer des ions bivalents comme le calcium. Ce calcium forme donc des ponts entre les différents polymères ce qui donne naissance à ces structures en boîte à œuf.

32

En présence d'ion monovalent les alginates sont solubles, on parle donc d'alginates de sodium ou potassium solubles.

On utilise les alginates pour faire des épaississants alimentaires, éponges, couches culottes et pansements, vernis (E403 soluble avec de l'ammoniac puis à l'air il s'évapore et le calcium va former des ponts et laisse une couche d'alginate). Pour des produits reconstitués (viandes, cerises, pommes, olives), accélération de la sédimentation, affinage d'argenterie, films protecteurs (alginates triéthanolamine), renforcement des pellicules photos, alginate de béryllium (tenues antifeu), stabilisation des bordures d'autoroutes.

34

Objectif ici est d'assurer la coagulation du lait pour faire du yaourt, il faut des bactéries mais à la fin il faut s'en débarrasser, on les emprisonne pour s'en débarrasser facilement, on mélange alginate de sodium + bactéries soluble, une fois dans milieu avec calcium → calcium prend la place du sodium et solidification de billes qui peuvent être utilisées pour la fermentation du lait.

35

Alginates pour soulager des ulcères d'estomac ou sensibilité stomacale, en générale sensibilité dues au projection acides de l'estomac, on essaye donc de réduire l'effet de cette acidité. Lorsqu'on consomme cette poudre, l'alginate de sodium va libérer le sodium et l'alginate seul va être poussé vers le haut car carbonate de sodium dans la préparation → dégage du CO₂ quand contact avec H₂O. Cela va former un coussinet qui réduit les projections acides dans la zone sensible.

37

Méthode d'extraction des alginates, elle est en plusieurs étapes mais est très simple, elles sont séchées et ensuite des étapes de pré-lavages avec du formol ou d'autres agents qui réduisent le niveau de contamination des MO et l'acidification enlève les métaux lourds. On traite avec du carbonate de sodium pour avoir de l'alginate de sodium, etc.

39

Les agars sont également des colloïdes d'algues et constituent les E406, ils sont produits par les algues rouges.

40

La proportion en sulfate est très faible dans les agars.

41

Ils sont utilisés pour leurs capacités gélifiantes, lorsque chauffé on empêche la polymérisation et lorsqu'on refroidit, formation de liaisons hydrogènes entre les galactoses et les résidus sulfates interagissent avec l'eau et ne gêne pas la gélification.

42

Les algues avec peu de sulfates sont des bon gélifiants. Les galactanes sont des agars avec plus de sulfates.

43

Méthode de préparation des agars.

47

On peut éliminer l'agar avec de la soude ou avec des enzymes capables d'éliminer les liaisons sulfates.

51

Les carraghénanes sont aussi issus des algues rouges.

53

La polymérisation est plus difficile dans le cas des lambda-carraghénanes, on ajoute dans le milieu des ions divalents (calcium).

Article 9 :

Dans ce cas le but est de faire des plantes qui accumulent de l'acide laurique, or les plantes n'accumulent pas cette molécule. On agit au niveau des thioesterases, on cherche une plante qui coupe activement les dérivés ACP à 12C. Ils ont introduit la thioestérase d'une plante de la famille des lauracées et l'ont introduit dans *A. thaliana* et regarde si apte à accumuler de l'acide laurique. 2 constructions avec deux promoteurs différents. Il faut choisir un site d'accumulation, on sait que ces lipides s'accumulent dans les graines, c'est ce qu'ils ont fait dans le premier cas avec le promoteur de la napine (protéine de réserve), on y a fusionné la thioestérase pour donner naissance à de l'acide laurique. Ils ont aussi utilisé le promoteur 35S dans un second temps car pas spécifique d'un tissu et est constitutifs. Ces deux constructions ont été introduites chez *thaliana*. Ils ont observé au niveau des graines et des feuilles les contenus en acides lauriques. Ils ont regardé les activités thioestérase de ces plantes et pour cela ont utilisé un acide gras à 12 et à 18C qui est fixé à son ACP et la thioestérase coupe cette liaison. Lorsque 12C-ACP la thioestérase est capable de couper la liaison mais avec une activité plus faible que C18. AU niveau des feuilles on a une accumulation très faible d'acide laurique, ce qui montre que les feuilles n'accumulent pas de lipides de réserve mais si sous 35S l'activité est fortement augmenté de la thioestérase, cependant au niveau des graine cette augmentation est moins marqué car on sait que le promoteur 35S est plus actif dans les parties végétatives. Avec le promoteur de la napine, le taux d'acide laurique et l'activité thioestérase ont été fortement augmenté. Puis ils ont regardé des activités complémentaires pour voir ce qu'il se passe pour voir si des activités acylCoA oxidase. Ils ont trouvé que parallèlement à l'activité de la thioestérase il y a une augmentation de la betaoxydation qui clive l'acide laurique. Lorsqu'il teste l'activité avec une autre acylCoA, on a des activités mais les variations ne sont pas différentes du témoin. Pour conforter cette hypothèse ils ont réalisé d'autres analyses et ils ont regardé, pour suivre la dégradation des acides gras, la néoglucogénèse avec les deux enzymes clés qui permettent de récupérer les produits d'oxydation des acides gras pour les transformer en sucres. Les activités de ces deux enzymes sont très élevées. Donc la néoglucogénèse est activée par la surexpression de la thioestérase. Ils ont aussi mis les plantes transformé en présence d'acétate, les plantes normale l'utilise pour former des lipides, avec les mutants, l'acétate est plus faiblement incorporé et une bonne partie de la radioactivité reste dans le milieu aqueux avec l'acétate. Voir feuille supplémentaire ensuite.

Article 10

Dans ce cas le but est d'analyser le rôle des oléosines, ce sont des protéines que l'on rencontre au niveau des oléopores et qui jouent un rôle important car les triglycérides sont entourés de

lipides et d'oléosines et font en sorte que les globules lipidiques ne fusionnent pas entre eux. Ils ont choisi 5 stratégies, à chaque fois il s'agit de réduire l'activité des oléosines. Ils ont utilisé des ARNs interférents dans 3 stratégies, et aussi des T-DNA pour les deux autres. Ils ont utilisé une construction antisens, c'est la première stratégie, on introduit la séquence des oléosines. D'autres techniques sont beaucoup plus efficaces et qui consiste à réaliser des boucles d'ARNm qui vont induire chez la plante la dégradation de ces ARNm. On peut le faire de deux façons, en reprenant une séquence qu'on met en 5'-3' et à la suite 3'-5' qui va former des boucles. On peut aussi faire une boucle plus volumineuse si on met un intron avec de part et d'autre de l'intron une partie codante de l'oléosine en sens opposé pour qu'ils s'hybrident. Pour montrer que le phénotype était due à la construction ils ont restauré le phénotype en insérant oléosines de maïs.

Article 11

Identification d'un transporteur des réserves lipidiques. Ils ont pris des graines qui germent très mal car n'arrivent pas à utiliser leurs réserves lipidiques. La protéine est sûrement péroxysomale car pour que les lipides soient dégradés il faut les transporter dans le péroxysome pour cela on utilise une molécule rapportrice ou des anticorps. Ils ont fait un gradient de saccharose dans un tube à centrifuger et ils ont centrifugé tout le lysat de cellules et les péroxysomes vont se placer à une certaine hauteur du tube. Catalase enzyme spécifique des péroxysomes. On peut voir l'importance des oléopores, dans le cas des mutants les réserves lipidiques ne sont pas utilisées car le transporteur n'est pas fonctionnel.

Article 12

Seuls des gènes bactériens sont capables de faire cette réaction et ils ont introduit cela dans *Thalassiosira weissflogii*. Ils ont choisi des gènes de kétiothiolase, d'acétoacétyl CoA réductase et PHB synthase (3 gènes d'enzymes alcaligènes). On part de gènes bactériens et pour faire ce polymère il faut se placer dans un compartiment cellulaire où il y a beaucoup d'acylCoA, donc les plastes et les péroxysomes. Dans le cas présent ils les ont introduits chez les plastes en ajoutant une séquence d'adressage. Ils ont ajouté une séquence de protéine mature issue de la rubisco.

Article 13

Toutes les plantes ne les synthétisent pas et ces acides gras possèdent un intérêt dans l'industrie des polymères pour faire des condensations.