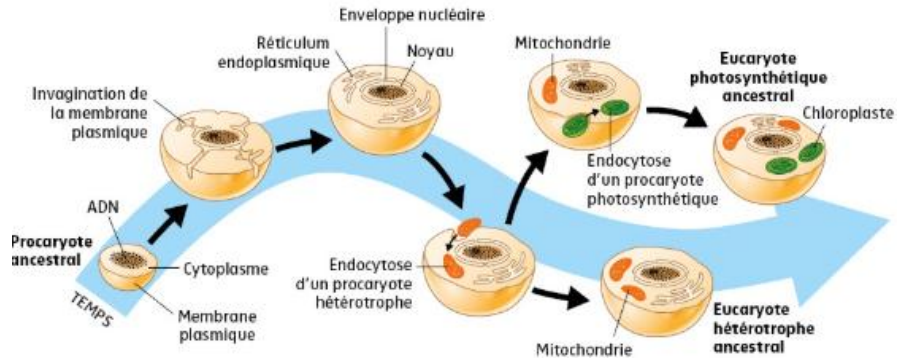


TP1 ORIGINE ENDSYMBIOTIQUE DES CHLOROPLASTES

Les cellules eucaryotes se caractérisent par la présence, à l'intérieur de leur cytoplasme, de compartiments délimités par des membranes. On parle d'**organites** : noyau, réticulum, appareil de Golgi... Les **mitochondries** sont présentes dans toutes les cellules eucaryotes, où elles jouent un rôle clé dans l'approvisionnement en énergie. Les **chloroplastes** sont le siège de la photosynthèse dans certaines cellules des plantes vertes. Ces organites ont la particularité de contenir un génome. Dans les années 1960, la biologiste Lynn Margulis proposa une théorie selon laquelle les organites énergétiques (mitochondrie et chloroplastes) seraient des « descendants » de bactéries (procaryote) devenus, après phagocytose et **endosymbiose** avec des cellules eucaryotes primitives, des composants permanents des cellules eucaryotes.



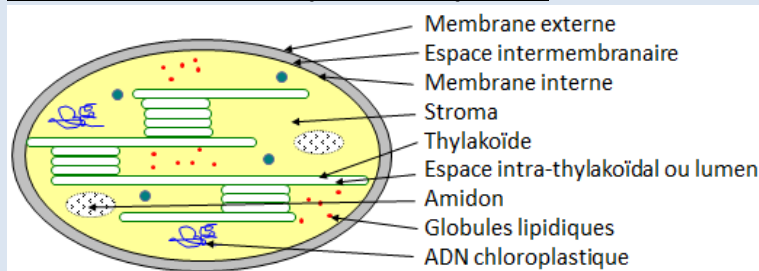
Document: Représentation schématique de la théorie d'endosymbiose

Objectifs :

- montrer expérimentalement que les chloroplastes des eucaryotes sont d'anciennes cyanobactéries.
- relever l'ensemble des arguments en faveur de cette théorie d'endosymbiose.

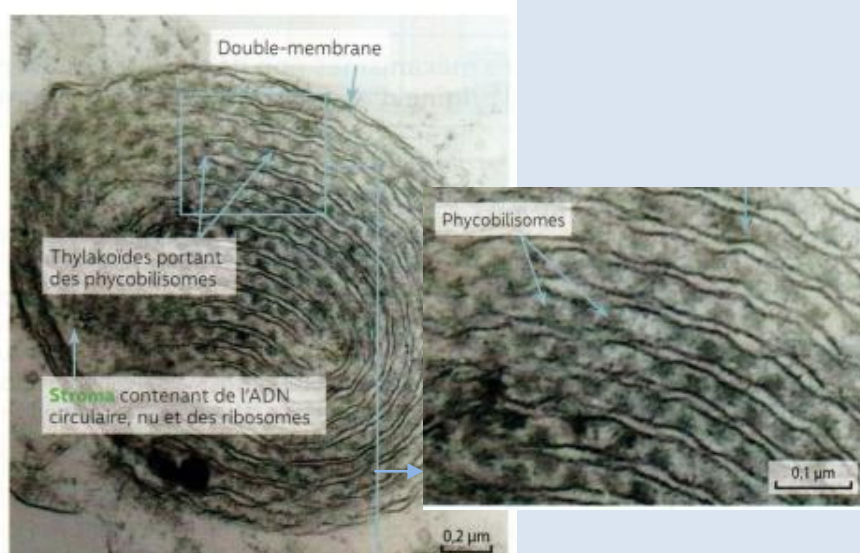
Ressources

Document 1 : Qu'est-ce qu'un chloroplaste ?

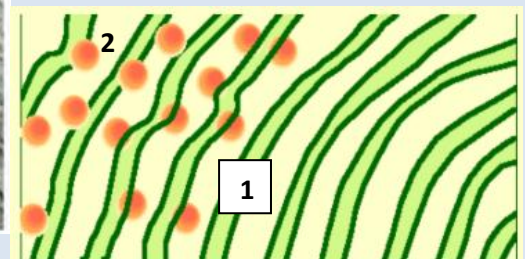


- Taille : 1 à 10 μm .
- Limité par une double membrane.
- ADN sans protéines associées, formant un chromosome circulaire, en de nombreux exemplaires identiques, codant la synthèse de certaines protéines (d'autres sont codées par des gènes nucléaires) et d'ARN.
- Présence de compartiments en forme de sacs (les Thylakoïdes) dont la membrane renferme des pigments permettant la photosynthèse
- Division par étranglement médian comme les bactéries

Chloroplaste d'un eucaryote, l'algue rouge, observé au microscope électronique à transmission (MET)



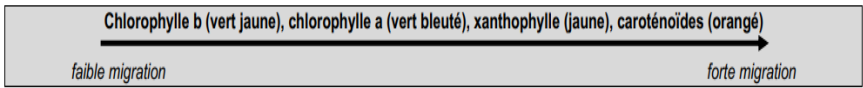
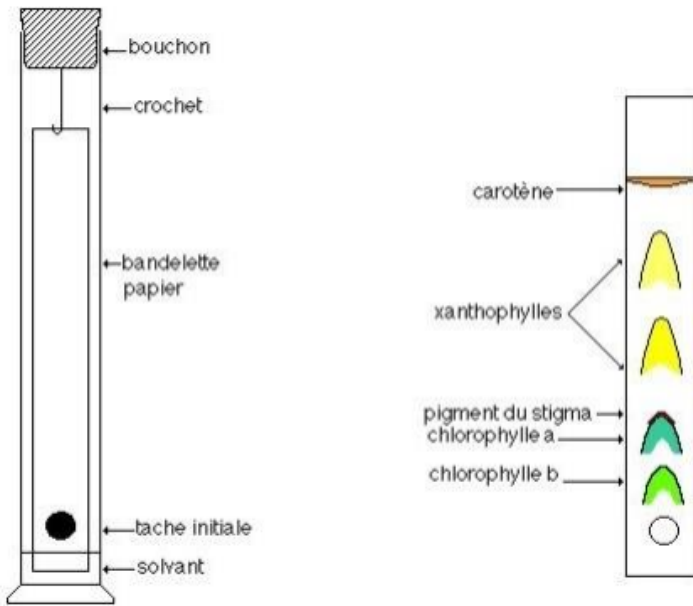
- 1 : Thylakoïdes (contiennent de la chlorophylle a et des caroténoïdes)
- 2 : Phycobilisomes à la surface des membranes des thylakoïdes (contiennent des pigments rouges: les phycoérythrine)



Ressources

Document 3: Ordre de migration des pigments photosynthétiques dans un solvant organique

Les pigments photosynthétiques solubles dans le solvant migrent sur le papier de chromatographie et se répartissent de la façon suivante



Vocabulaire:

**Endosymbiose : association à bénéfice réciproque de deux organismes (=symbiose) dont l'un (endosymbiote) est situé à l'intérieur des cellules de l'autre (hôte).*

**La phagocytose est la capacité pour une cellule d'internaliser une particule ou un microorganisme de taille supérieure au micromètre.*

**Les thylakoïdes sont des structures membranaires contenant dans leur membrane les pigments photosynthétiques.*

**Un phycobilisome est un complexe formé de pigments de type phycobiliprotéines bleues ou rouges.*

**Le stroma correspond au liquide contenu dans le chloroplaste où baignent les thylakoïdes.*

- MATERIEL :**
- cyanobactéries sous forme de comprimés de spiruline
 - Fragments d'algues rouges ou végétal chlorophyllien
 - microscope optique, lames, lamelles

ETAPE A-1: CONCEVOIR UNE STRATEGIE POUR RESOUDRE UN PROBLEME

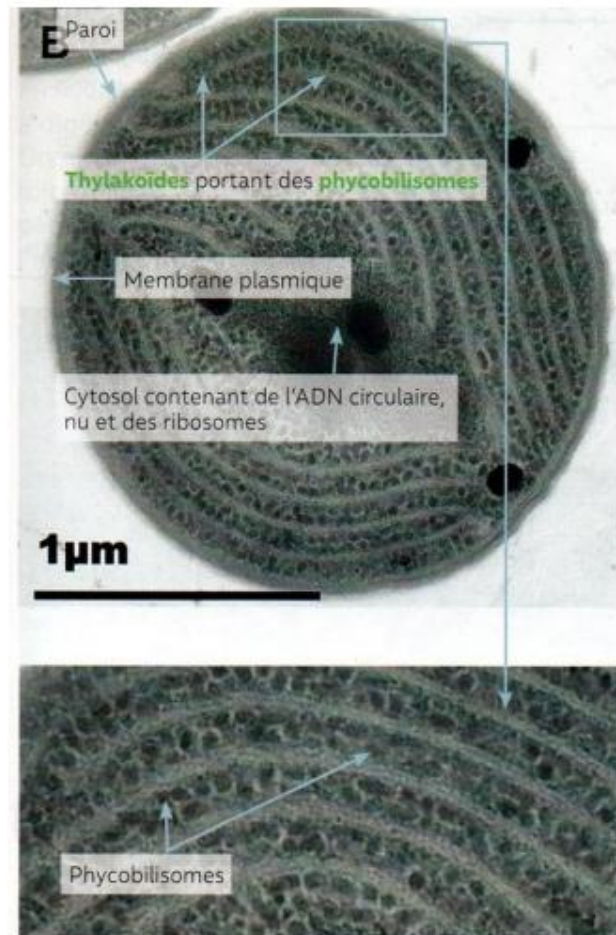
Concevoir une stratégie réaliste pour montrer que les chloroplastes pourraient être d'anciennes cyanobactéries qui auraient été phagocytées par des cellules ancestrales avec lesquelles elles auraient établie des relations de symbiose.

Cette étape ne doit durer que 15min maximum. On attend du candidat qu'il s'inscrive dans une démarche d'investigation en disant:

- **le principe de ce qu'il cherche (quoi?)**
- **comment il le fait (comment?)** - pas de protocole détaillé mais capacité à élaborer une stratégie de résolution!
- **ce qu'il attend comme résultats** (conséquences vérifiables)




	Auto-évaluation	Evaluation professeur	
Ce que je cherche à montrer			/1
Qu'est ce que je fais et comment (les grandes lignes)			/2
Ce que je m'attends à trouver comme résultats			/2

Document: Cyanobactérie observée au microscope électronique à transmission



Les thylacoïdes contiennent de la chlorophylle a, des carotenoïdes.
On trouve également des pigments dans les phycobilisomes à la surface des membranes des thylacoides : des phycocyanines qui donnent la couleur bleue à ces organismes

ETAPE A-2: METTRE EN OEUVRE UN PROTOCOLE EXPERIMENTAL

<p>Matériel</p> <ul style="list-style-type: none">- Des gélules de spiruline (cyanobactérie)- Bandes de papier Wattman- Éprouvettes à chromatographie avec solvant et cache noir- Mortier et pilon - Bécher - Entonnoir- Règle et crayon de papier (non fournis)- Alcool- Tube capillaire- Sèche-cheveux- Papier filtre- Chronomètre- 1 bouchon avec crochet de suspension- Fiche technique chromatographie.	<p>Dans cette étape le candidat est évalué sur sa capacité à mettre en oeuvre un protocole et à gérer son poste de travail. Cette étape doit être réalisée en 30min.</p> <p>Le candidat peut faire appel à l'examineur qui peut lui fournir une ou plusieurs aides mineures ou majeures.</p> <p>L'AUTONOMIE EST PRIVILEGIEE! Le niveau d'évaluation dépendra du niveau d'aide apportée</p> <p>- Réaliser une chromatographie de partage des pigments chlorophylliens d'une cyanobactérie: la spiruline pour pouvoir la comparer à celle d'une algue rouge (ou autre eucaryote: algue verte, brune...).</p> <p>- Réaliser une préparation microscopique d'une suspension de spiruline pour ensuite l'observer au microscope.</p>	
<p>Sécurité (logo et signification)</p>  <p>SGH 05 Corrosifs SGH 06 Toxiques aigus SGH 05 Attention SGH 05 Danger pour la santé</p>	<p>Précautions de la manipulation Chromatographie sous hotte aspirante</p> 	<p>Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)</p> 

ETAPE B-1: TRAITER LES DONNEES BRUTES (durée recommandée B1+B2 : 20 minutes)

Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données obtenues pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème

ETAPE B-2: EXPLOITER LES RESULTATS POUR REpondre A LA PROBLEMATIQUE

Grâce aux résultats obtenus et aux observations faites, validez l'hypothèse...

Texte extrait d'un article du site évolution biologique : histoire du vivant

« L'ADN du chloroplaste de la mousse *Marchantia* est lui aussi circulaire et contient 121 000 paires de bases codant pour 128 gènes. C'est peu comparé aux 1345 protéines identifiées dans le chloroplaste ou au génome d'une cyanobactérie puisque celui-ci contient 1,75 millions de paires de bases codant pour 1900 gènes (Dufresne et al 2003). Les protéines dont l'information génétique n'est pas contenue dans l'ADN des organites sont produites dans le cytosol et leur information génétique est contenue dans l'ADN du noyau. Après leur synthèse elles traversent la membrane externe et la membrane interne de l'organite à l'aide de protéines spécialisées (protéines tic toc du chloroplaste). L'activité de ces protéines de transfert permet de contrôler le développement de l'organite.

... En comparant la séquence de ces protéines avec celles de protéines d'Eucaryotes ou de Procaryotes actuellement connues et archivées dans les bases de données, on s'est aperçu que près de la moitié ressemblait à des protéines de procaryotes mais aussi qu'un tiers était semblable à celles d'Eucaryotes. On a la juxtaposition de deux génomes, l'un hérité de la bactérie symbiotique (les protéines procaryotes) et l'autre postérieur à la symbiose et nécessaire à celle-ci (les protéines eucaryotes). La présence de "protéines procaryotes" dans le génome de l'hôte montre qu'il y a eu un transfert massif des gènes de la bactérie symbiotique vers le génome du noyau de l'hôte, »

Fiche technique : « Réaliser une chromatographie des pigments photosynthétiques sur papier »

Rôle des pigments dans la photosynthèse : Chez les organismes photosynthétiques, l'utilisation de l'énergie lumineuse est rendue possible par l'existence de pigments, molécules capables d'interagir spécifiquement avec certaines longueurs d'onde de la lumière. Cette propriété confère aux pigments une couleur déterminée due à l'absorption de certaines longueurs d'onde lorsqu'ils sont éclairés par de la lumière blanche.

Principe de la chromatographie sur papier : On effectue un dépôt de pigments bruts sur une feuille de papier en écrasant des fragments de végétaux (et en séchant entre deux si la tache est trop humide). On place la feuille de papier dans un récipient hermétique dans lequel on a placé un solvant approprié. Le tout est placé à l'abri de la lumière. Le solvant monte dans la feuille par capillarité en entraînant les pigments de manière différentielle selon leur affinité avec le solvant. On obtient ainsi une chromatographie des différents pigments séparés les uns des autres

Réaliser la chromatographie :

- 1- Tracer un trait au crayon pour marquer l'emplacement du dépôt (au moins 1 cm au-dessus du solvant).
- 2- Pour la spiruline, ouvrir une gélule dans un mortier, écraser le contenu avec très peu d'eau et filtrer. Déposer, sur la bande de papier, à l'aide du tube capillaire, plusieurs gouttes de filtrat en séchant entre deux gouttes avec un séchoir à cheveux réglé sur froid entre chaque dépôt : l'objectif étant de concentrer les pigments. La tache de pigments doit être aussi petite et foncée que possible.
- 3- Pour l'épinard, écraser quelques feuilles dans un mortier avec un peu d'alcool. Filtrer. Déposer, sur la bande de papier, à l'aide du tube capillaire, plusieurs gouttes de filtrat en séchant entre deux gouttes. La tache de pigments doit être aussi petite et foncée que possible.
- 4- Sous la hotte, prendre le papier uniquement par les bords ou le haut pour éviter de poser les doigts sur la zone de migration (ou le saisir avec une pince). Le placer dans l'éprouvette (le papier devra tremper d'un demi à 1 cm dans le solvant mais pas le dépôt initial qui doit se trouver au-dessus du niveau du solvant).
- 5- suspendre le papier Wattman (ou le déposer dans la cuve cylindrique) en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et fermer.
- 6- Recouvrir les éprouvettes d'un cache noir et laisser migrer le solvant à l'obscurité. Après 15 minutes, surveiller régulièrement la migration et l'arrêter avant que les pigments n'arrivent en haut du papier.
- 7- Sortir le papier. Laisser sécher

