

Thèse : Alizée MALNOË

Sujet de la thèse :

A genetic suppressor approach to the biogenesis, quality control and function of photosynthetic complexes in *Chlamydomonas reinhardtii*

Thèse de doctorat de l'université Paris Sud XI

Spécialité Biologie - Ecole Doctorale Sciences du Végétal (SDV145)

Préparée sous la direction de Catherine de Vitry au Laboratoire de Physiologie

Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste CNRS UMR 7141 – UPMC Paris 6

Résumé

Le cytochrome **b6f** est un complexe majeur de la chaîne photosynthétique oxygénique de par son activité quinol : plastocyanine oxydoréductase, qui contribue à la formation d'ATP via un transfert d'électrons couplé à un transfert de protons. La présence d'un hème **c** particulier lié par une seule liaison covalente, l'hème **ci**, au sein du site de réduction de quinone **Q_i** du cytochrome **b6f** constitue une différence notable en comparaison avec son homologue de la chaîne respiratoire, le cytochrome **bc1**. Un cytochrome **b6f** dépourvu d'hème **ci** est dégradé, sa faible accumulation ne permet pas une croissance photosynthétique. Cette observation a donné lieu à une recherche de suppresseurs permettant une plus grande accumulation de cytochrome **b6f** dont la fonction même altérée, serait suffisante pour assurer une croissance photosynthétique.

Cette approche génétique de recherche de suppresseur a été entreprise chez **Chlamydomonas reinhardtii**. Ce travail de thèse a permis l'isolation et la caractérisation d'un mutant de la protéase FtsH1 (mutation R420C qui affecterait l'activité ATPasique). Le mutant **ftsh1-1** s'est révélé être un outil puissant pour l'étude fonctionnelle de complexes mutés autrement dégradés. Une approche multidisciplinaire combinant expériences de génétique, biochimie, physiologie et biophysique a démontré notamment que : (i) le mutant **Q_iKO**, dont le complexe **b6f** est dépourvu des hèmes **bh** et **ci**, peut pousser de manière phototrophique malgré un Q-cycle interrompu, (ii) l'absence d'hème **ci** lié covalamment, pour le mutant **Rccb2**, génère une photosensibilité exacerbée en présence d'oxygène, ce qui sous-tend un rôle pour l'hème **ci** dans un environnement riche en oxygène, (iii) la protéase FtsH exerce un contrôle qualité global des complexes de la chaîne photosynthétique.

Abstract

Central in oxygenic photosynthesis, the cytochrome **b6f** complex couples electron transfer to proton translocation across the thylakoid membrane via its quinol:plastocyanin oxidoreductase activity, contributing to ATP formation. The cytochrome **b6f** complex differs from its respiratory homolog, the **bc1** complex, by the presence of an additional heme, heme **ci** located within the quinone reduction site **Q_i** and attached by a unique thioether bond. Mutants lacking heme **ci** show low accumulation of partially functional **b6f** complex and, hence, cannot grow phototrophically. This grounded a screen for suppressor mutations that would restore higher accumulation of **b6f** complexes whose function, even if compromised, would sustain phototrophic growth. The genetic suppressor approach undertaken in **Chlamydomonas reinhardtii** during this PhD thesis led to the isolation and characterisation of the **ftsh1-1** protease mutant (mutation R420C which should affect ATP hydrolysis). The mutant **ftsh1-1** proved to be a versatile tool for the functional study of otherwise degraded proteins. The combination of genetic, biochemical, physiological and biophysical experiments demonstrated notably that: (i) a **Q_iKO** mutant, whose **b6f** complexes are devoid of both **bh** and **ci** hemes, can grow phototrophically despite a broken Q-cycle, (ii) the absence of covalently bound heme **ci**, in the **Rccb2** mutant, triggers photosensitivity enhanced in the presence of O₂ supporting a role for heme **ci** in oxygen rich environment, (iii) FtsH is involved in the maintenance of the main complexes of the photosynthetic chain.