

Laura HOUILLE
25 Septembre 2012
14h30

IBPC
UMR 7141
13 rue Pierre et Marie Curie
75005 PARIS

PTOX2 et Chlororespiration

Etude d'un transfert d'électrons alternatif à la photosynthèse chez *Chlamydomonas reinhardtii*

La photosynthèse est une fonction métabolique essentielle chez les organismes végétaux, qui, de part son intégration à une grande diversité des voies de transfert d'électrons, recèle encore aujourd'hui quelques mystères.

Nous avons mis au point une stratégie reposant sur des mesures de fluorescence afin d'isoler des mutants de *Chlamydomonas reinhardtii* affectés dans des voies alternatives ou régulatrices de la photosynthèse. C'est ainsi qu'est apparu le premier mutant K.O. de *PTOX2*, codant pour une oxydase chloroplastique, maillon essentiel de la chlororespiration, chaîne de transfert d'électrons sur la chaîne photosynthétique.

L'analyse fonctionnelle du mutant *ptox2* nous a permis d'estimer le flux chlororespiratoire maximal comme étant de 5 s^{-1} lorsque *PTOX2* est active, et de 0.4 s^{-1} en son absence. Ces quantifications, ainsi que l'attribution de l'activité oxydase résiduelle à l'homologue *PTOX1*, montrent que *PTOX2* joue un rôle prédominant au sein du métabolisme chlororespiratoire chez *Chlamydomonas*.

Tirant parti des outils génétiques qu'offre *Chlamydomonas reinhardtii*, un double mutant *ptox2/nda2*, présentant une seconde mutation sur l'enzyme *NDA2* partenaire chlororespiratoire de *PTOX2*, a été créé. L'analyse fonctionnelle comparée de ces différents mutants nous a permis de caractériser les activités respectives des quinones réductases et oxydases et, surtout, de mettre en évidence leur intrication métabolique et d'éclairer ainsi d'une nouvelle lumière la chlororespiration.

Par ailleurs, nous avons commencé à disséquer les possibles régulations susceptibles de modifier les taux d'accumulation de *PTOX* et donc l'activité chlororespiratoire. Différentes conditions phototrophes ou de stress induites par différentes intensités lumineuses ou des carences en azote ou en CO_2 ont été étudiées et montrent que l'activité *PTOX* est l'objet d'importantes régulations dont les mécanismes restent à élucider.

Laura HOUILLE
September 25th 2012
2.30 pm

IBPC
UMR 7141
13 rue Pierre et Marie Curie
75005 PARIS

PTOX2 and Chlororespiration

Study of an electron transfer alternative to photosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*

Photosynthesis is a highly important metabolic process that has been first identified more than 50 years ago. Still, its complexity and the diversity of its components and electron transfer pathways have, until now, hindered its full understanding.

A new screen based on fluorescence time-courses has been developed to select clones of *Chlamydomonas reinhardtii* impaired in alternative electron transfer or regulatory pathways. It led to the identification of a K.O. mutant of *PTOX2*, a gene encoding a thylakoid oxidase known to be part of an alternative pathway to the photosynthetic electron transfer: chlororespiration.

Functional characterization of the *ptox2* mutant indicates a maximum chlororespiratory flux of 5 s^{-1} through PTOX2 and a remaining flux of 0.4 s^{-1} in its absence. These estimates, together with the assignment of the residual oxidase activity to the homolog oxidase PTOX1, allows one to identify PTOX2 as being the major oxidase involved in chlororespiration in *Chlamydomonas*.

In parallel, genetic tools allowed the construction of a double mutant *ptox2/nda2* strain, devoid of the PTOX partner in chlororespiration in *Chlamydomonas*: NDA2. Functional analyses provided new insights into the dynamics of chlororespiratory fluxes in the dark and shed a new light on the interplay between the different players involved in chlororespiration.

Moreover, biochemical studies of PTOX2 expression patterns in phototrophic or nitrogen starvation conditions provide cues for the understanding of molecular processes involved in the plastidial oxidase regulation.