

Fotosyntéza

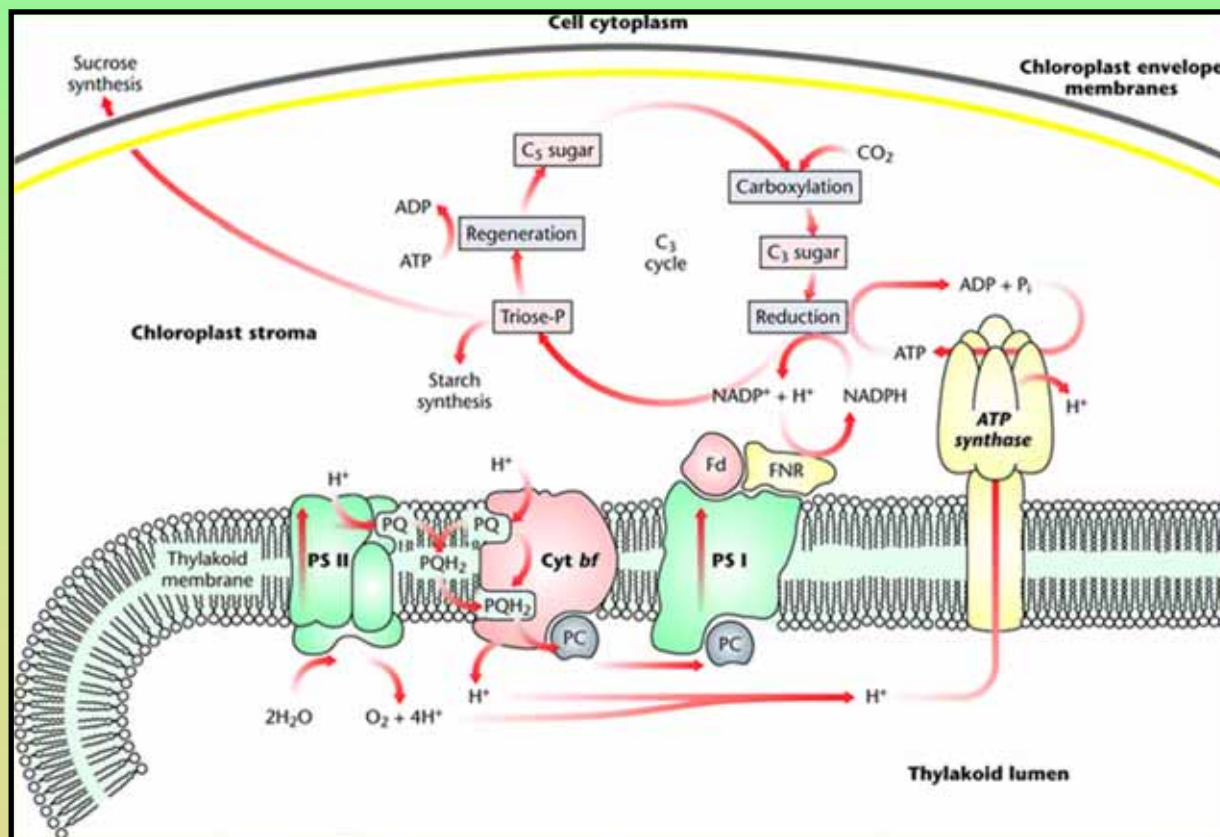
4

Ondřej Prášil

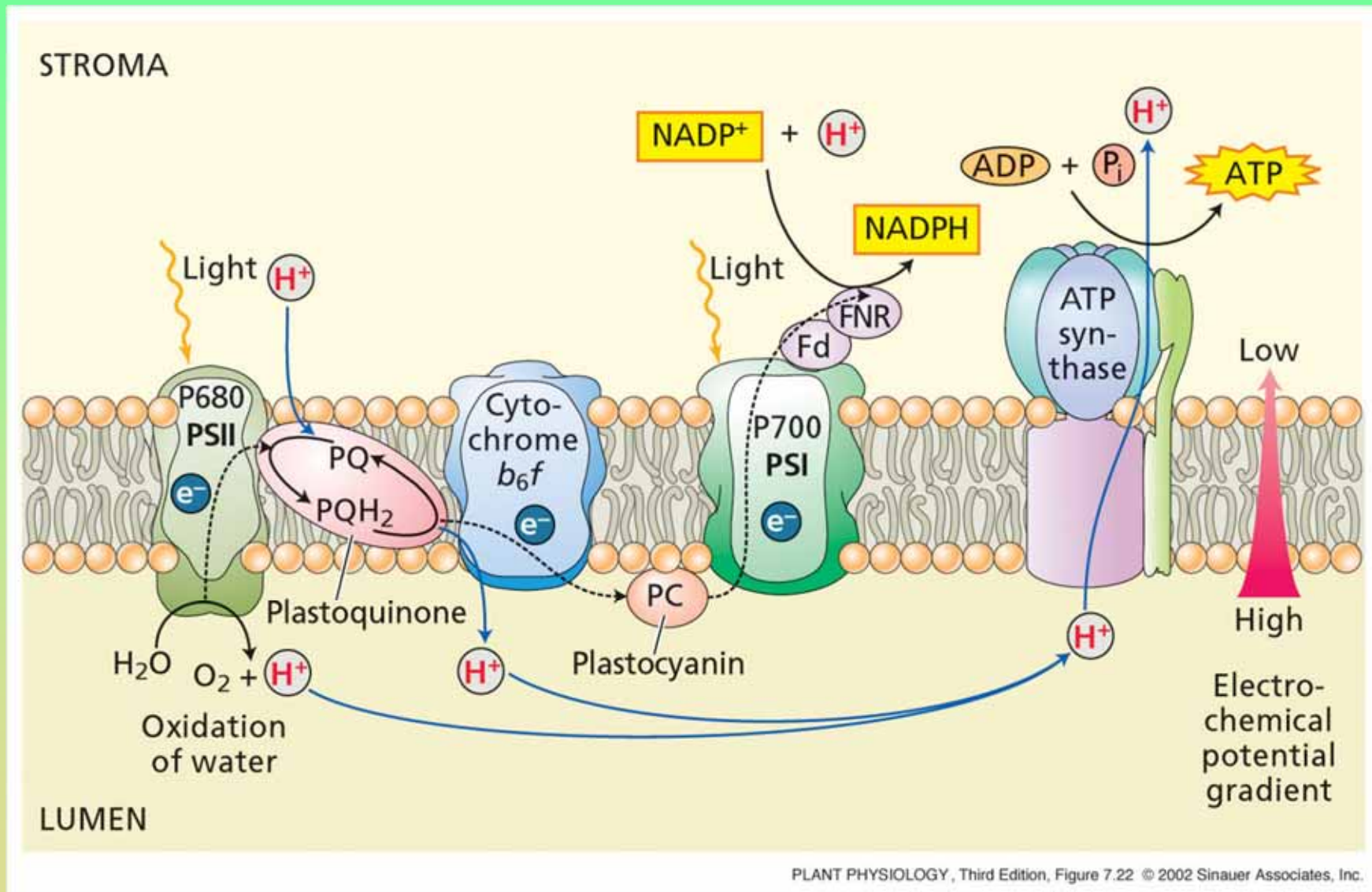
prasil@alga.cz
384-340430

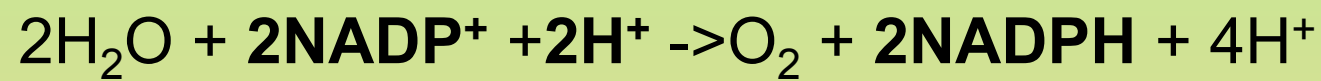
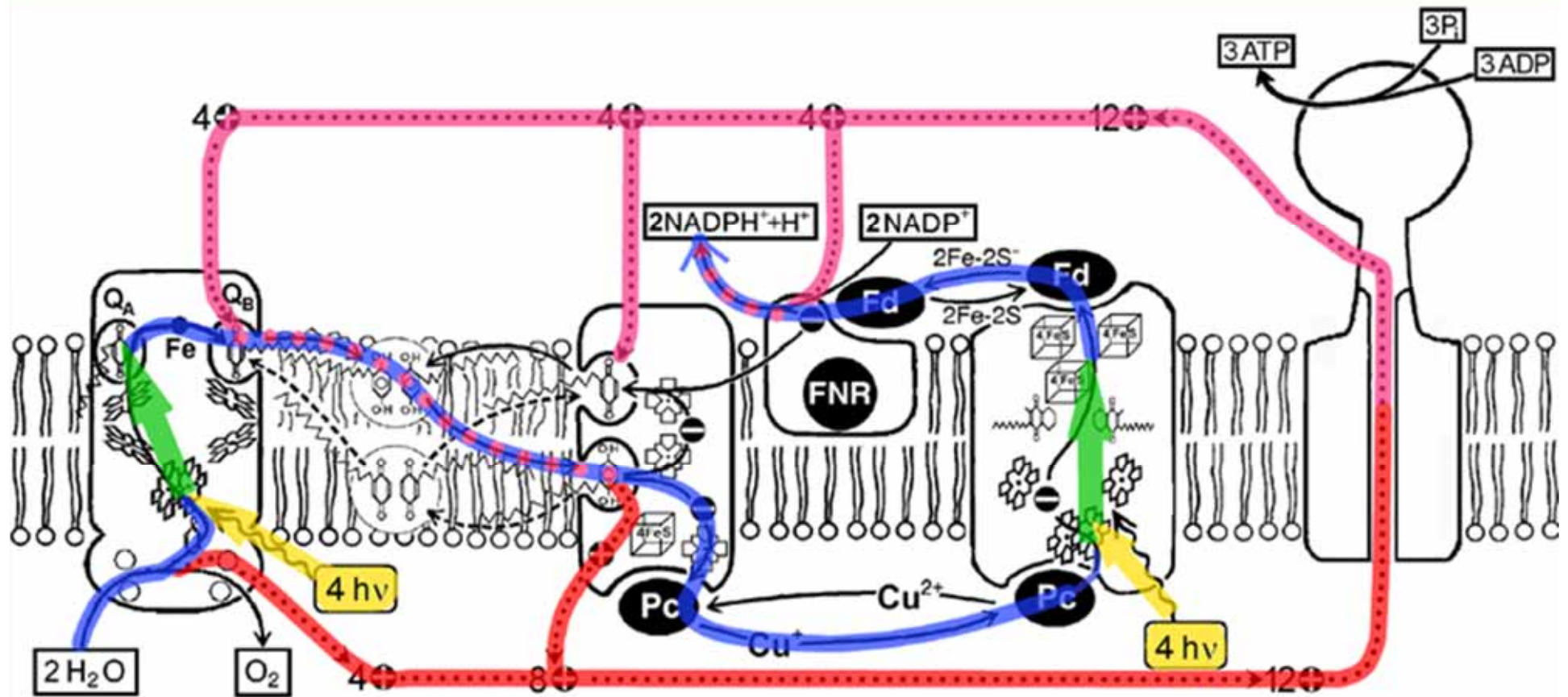
Čtyři fáze procesu přeměny energie ve fotosyntéze

1. absorpce světla a přenos energie v anténních systémech
2. primární rozdělení nábojů a přenos elektronů v reakčních centrech
3. stabilizace energie v sekundárních procesech
4. syntéza a export stabilních produktů



Vektoriální přenos elektronů a protonů





Přeměna energie

Světelné reakce v thylakoidech

$h\nu$, O_2 , elektrony, H^+

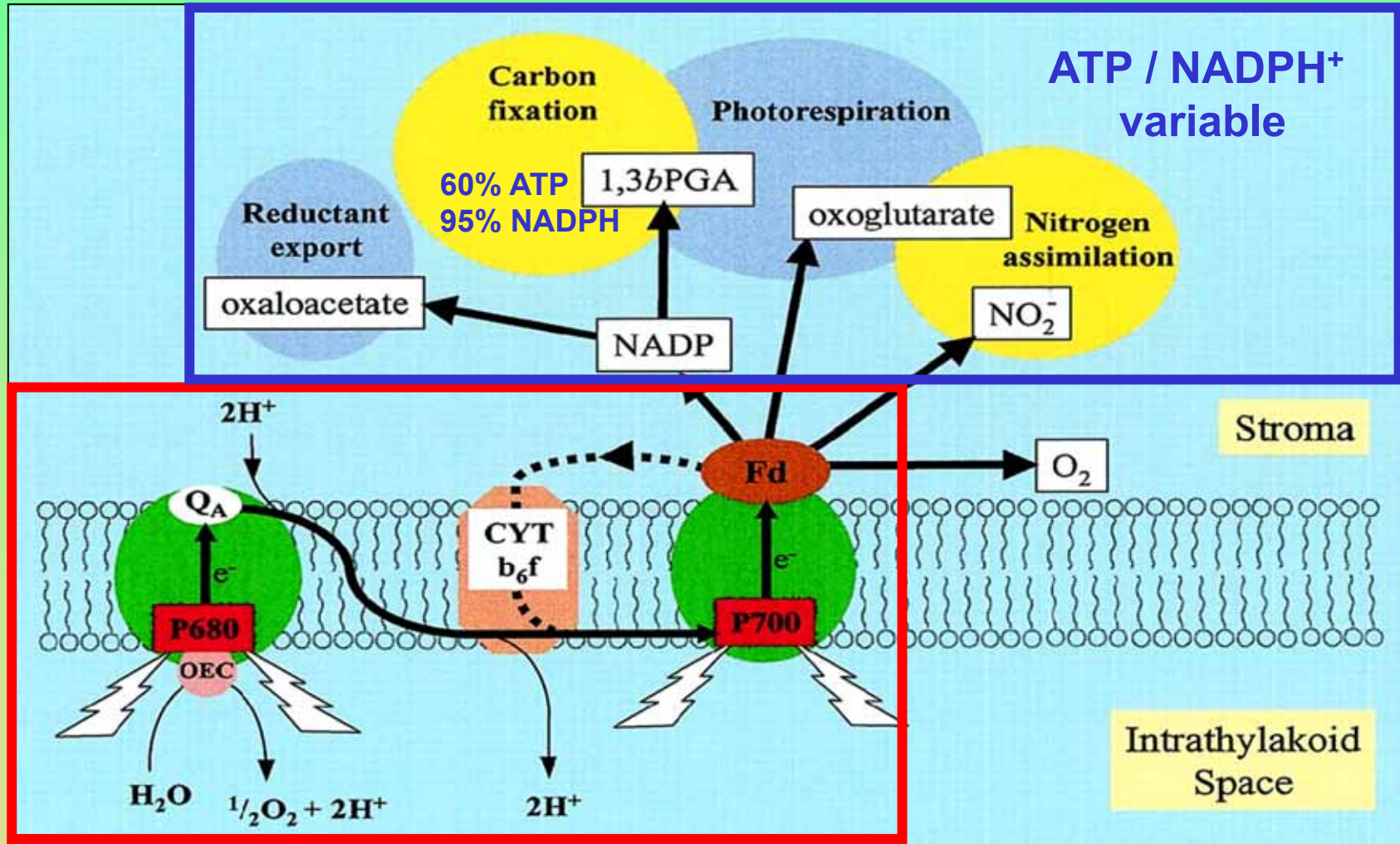
ATP

NADPH·H⁺

Temnotní reakce ve stromatu

$CO_2 \rightarrow \text{org. C}$

Multiple pathways for spending the photosynthetic currency



ATP / NADPH $^+$ ~ 1.5

Noctor and Foyer 2000

ETM (membrány přeměny energie)

Přeměny energie:

Energie fotonů

$$h\nu$$

Excitační energie chlorofylu a

Energie elektronů na různých redoxních potenciálech:
membránové elektronové řetězce

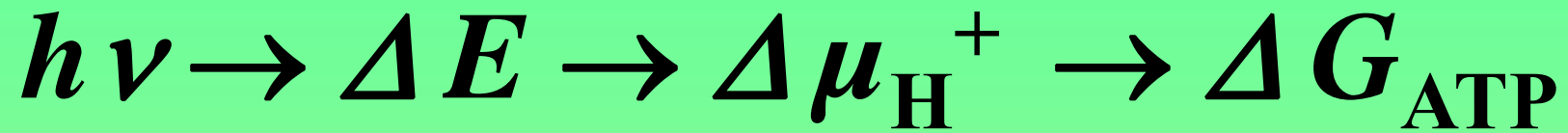
$$\Delta E$$

Energie koncentrací iontů na membráně

$$\Delta \mu_{\text{H}^+}$$

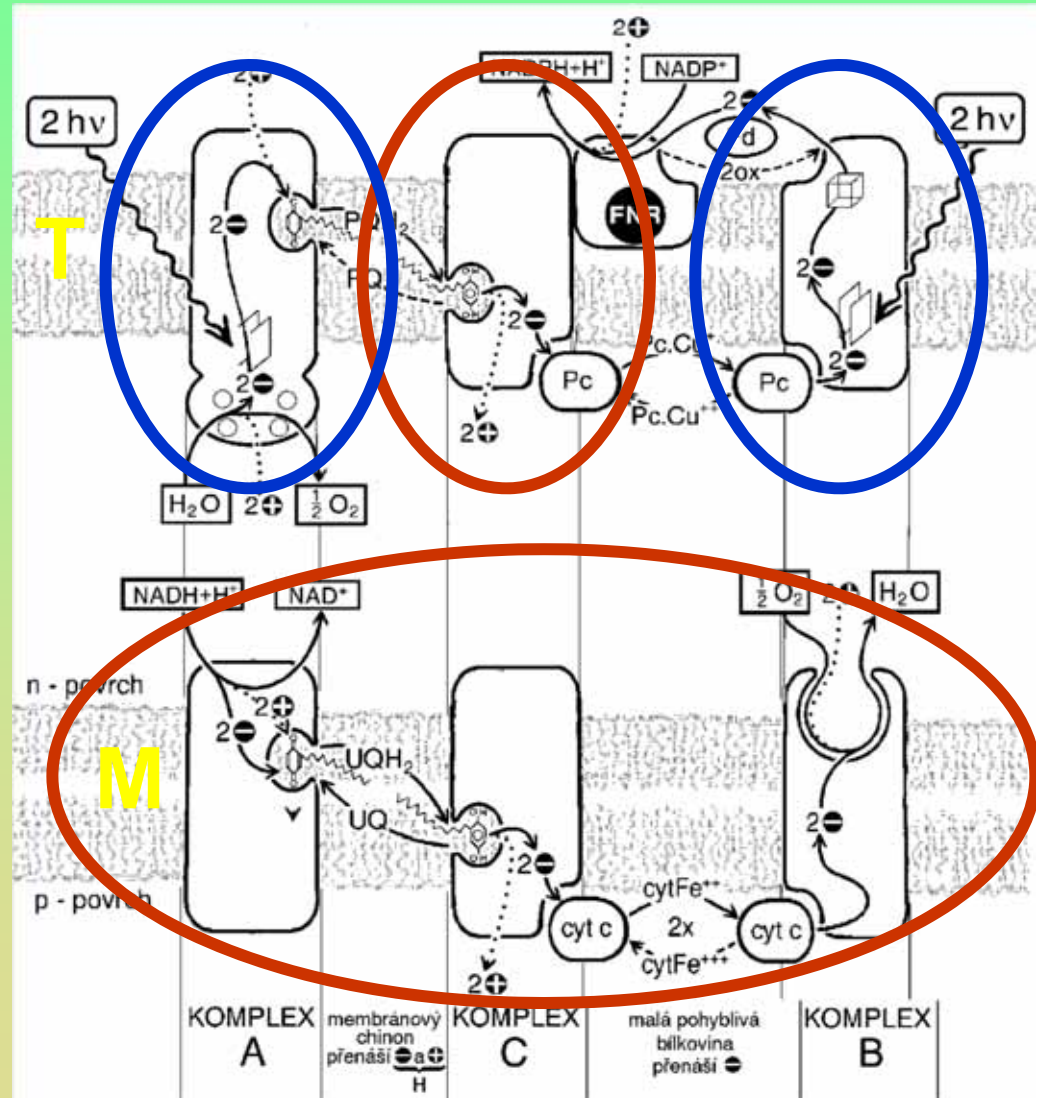
Energie anhydridové chemické vazby ATP

$$\Delta G_{\text{ATP}}$$

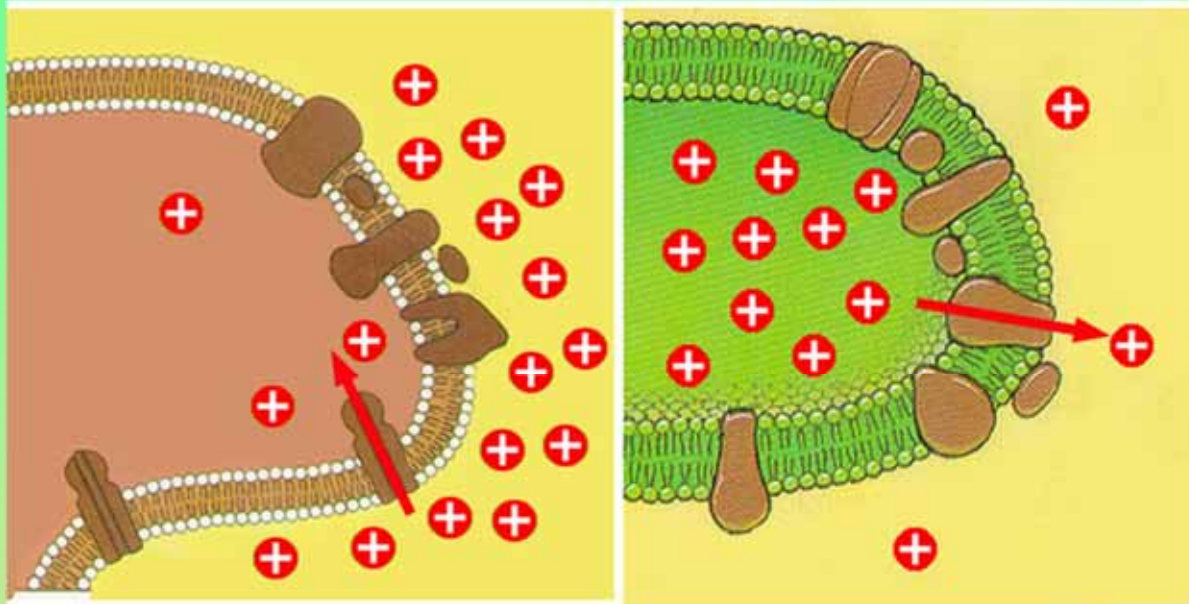


1. Generátory chemického potenciálu $\Delta \mu_{\text{H}^+}$

2. Generátory oxidačně redoxního potenciálu ΔE
 $h\nu \rightarrow \Delta E$



Vztah mezi různými formami volné energie

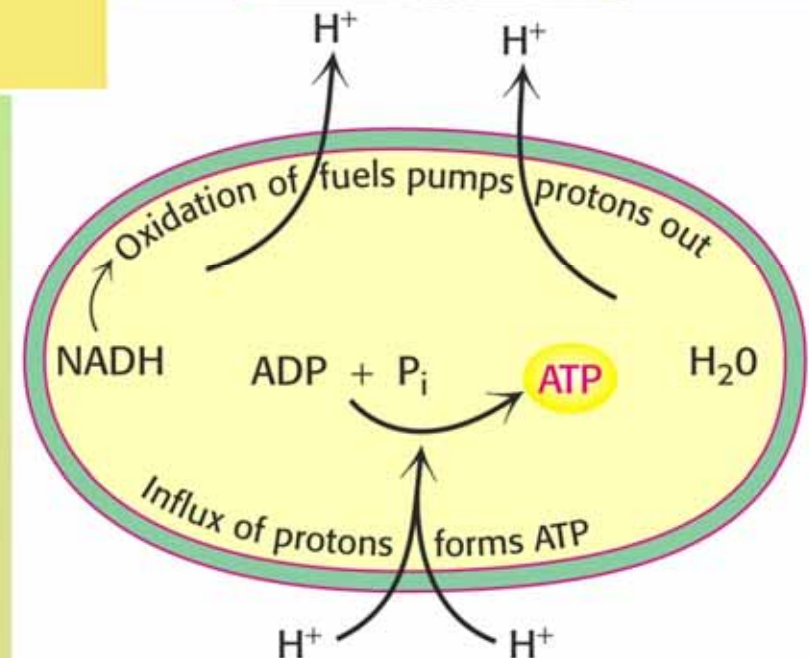


Peter Mitchell - Nobelova cena 1978

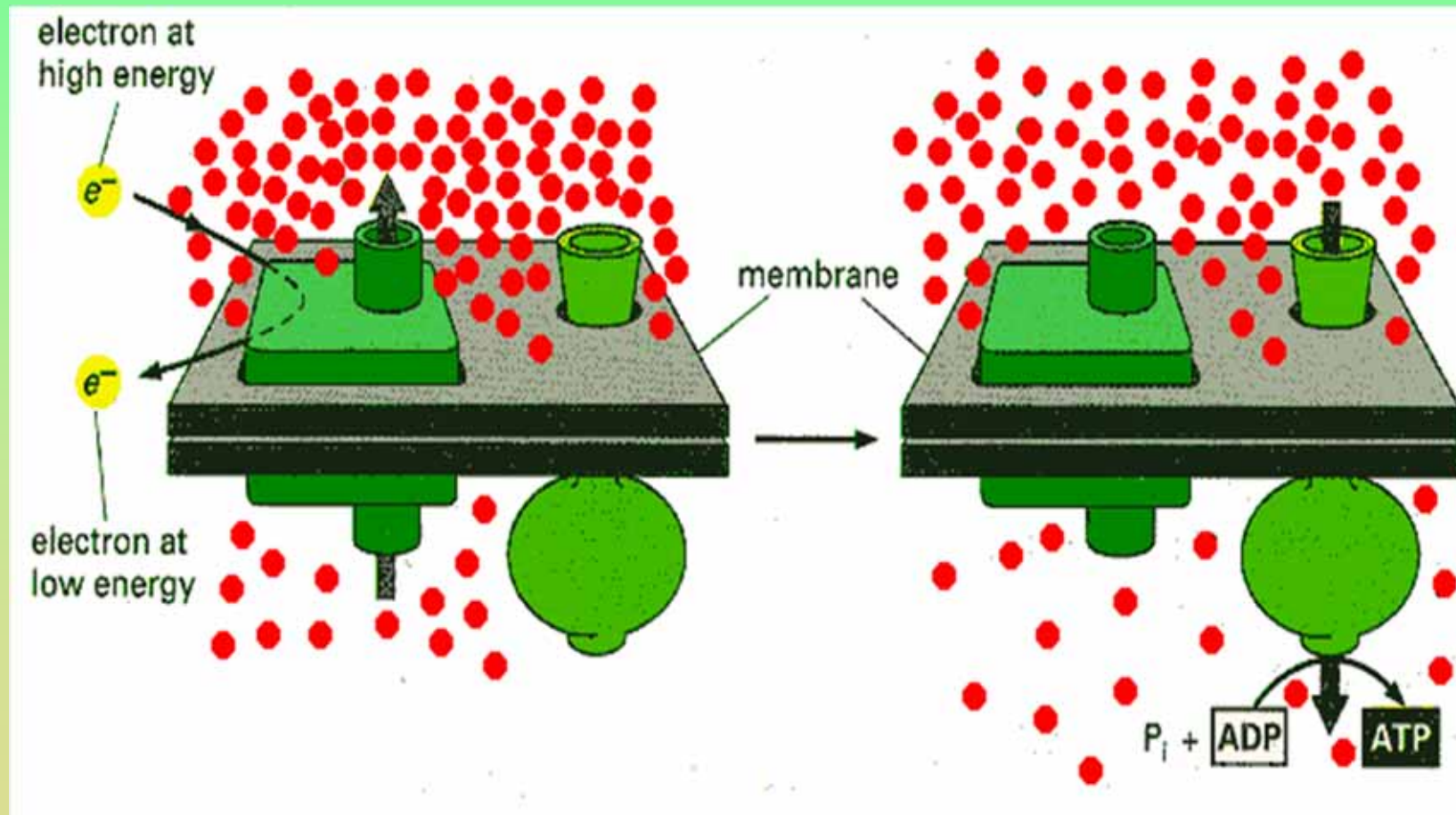
John Walker – Nobelova cena 1997

Paul Boyer – Nobelova cena 1997

- Rozdíl koncentrace iontů na membráně
- Protonmotorická síla ($\Delta\mu_{\text{H}} = \Delta\text{pH} + \Delta\psi$)

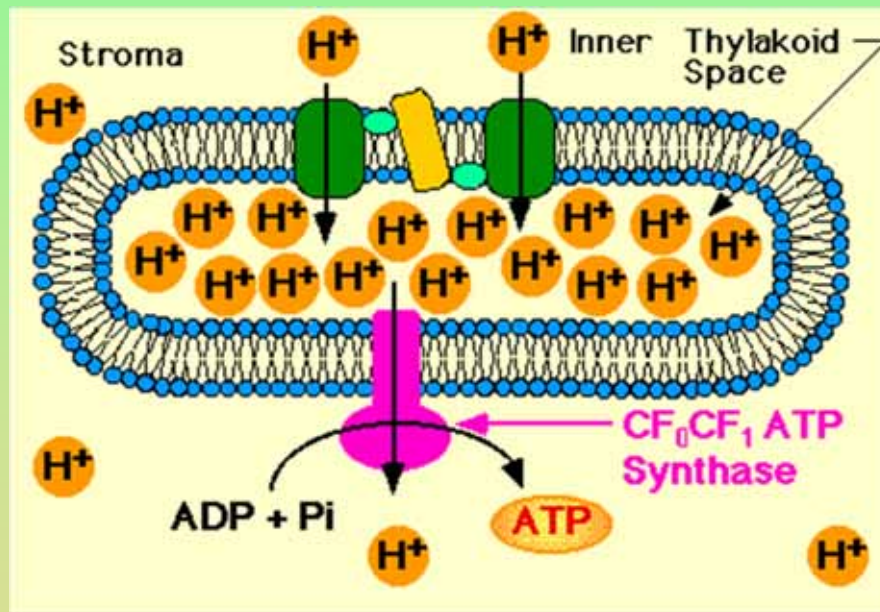


Principal of the ATP generation on the membrane



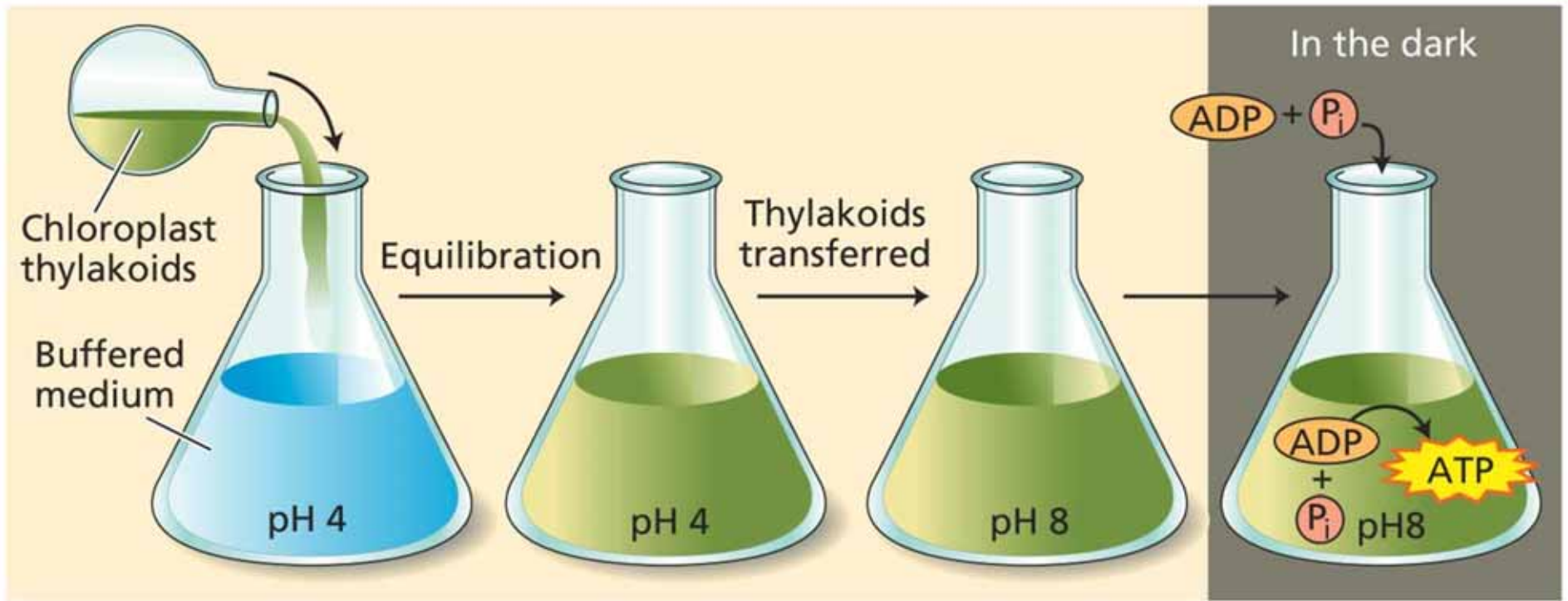
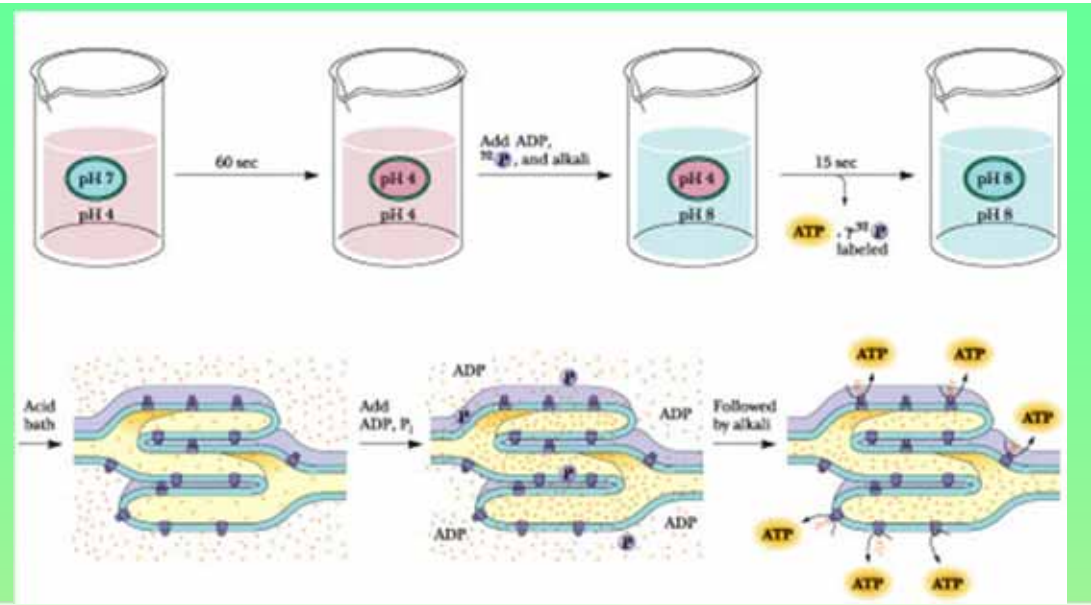
Chemiosmotic hypothesis

$$\Delta\mu_{H^+} = F \Delta\Psi - 2.3 RT \Delta pH$$



$\Delta\Psi$ electrochem. potential
 ΔpH proton potential
F Faraday constant
R gas constant
T temperature (in K)

Tvorba ATP v chloroplastech i v nepřítomnosti světla



$$\Delta p = \Delta \Psi - 59 \Delta \text{pH}$$

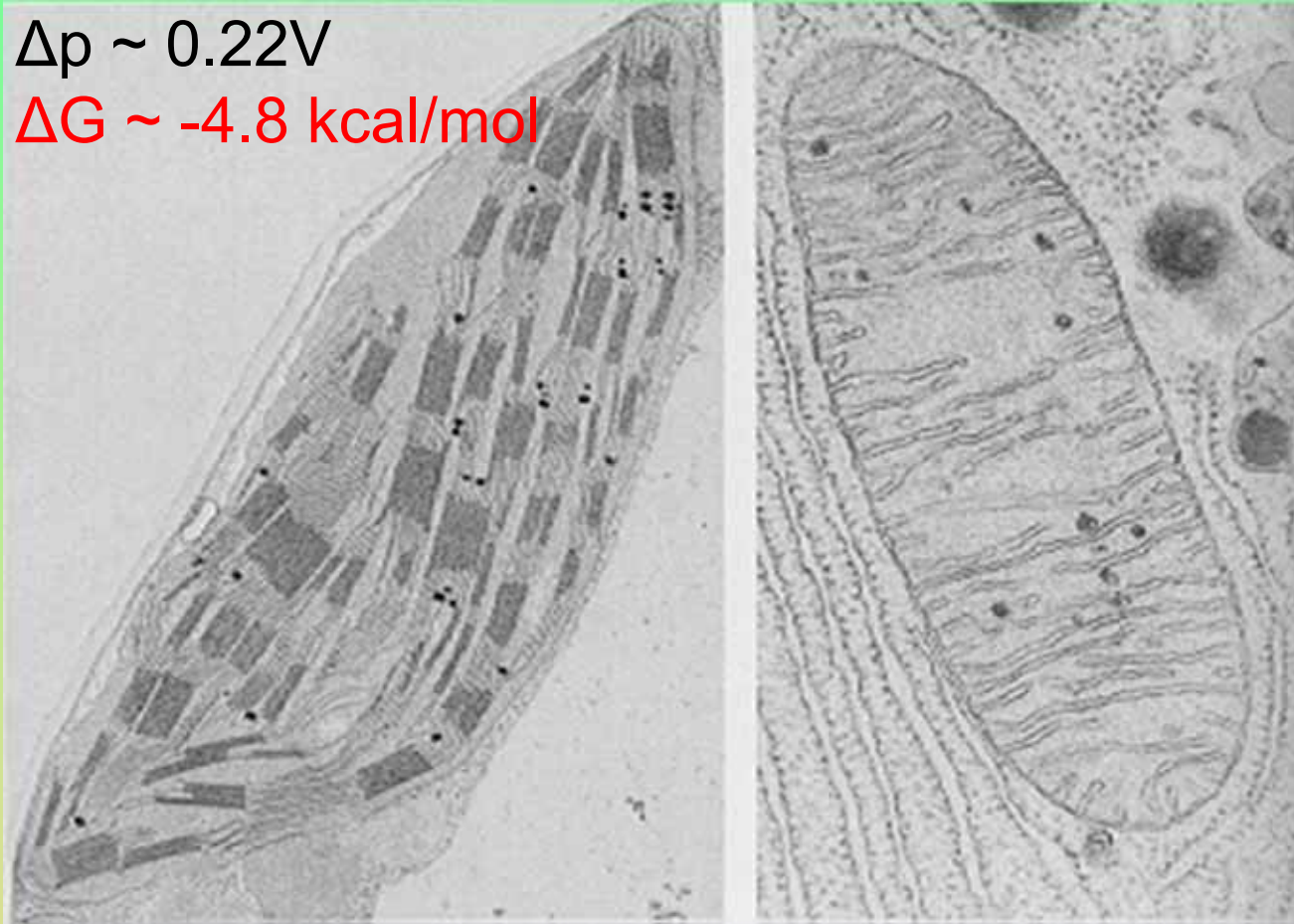
$$\Delta \text{pH} > 3$$

$$\Delta p = \Delta \Psi - 59 \Delta \text{pH}$$

$$\Delta \psi > 180 \text{ mV}$$

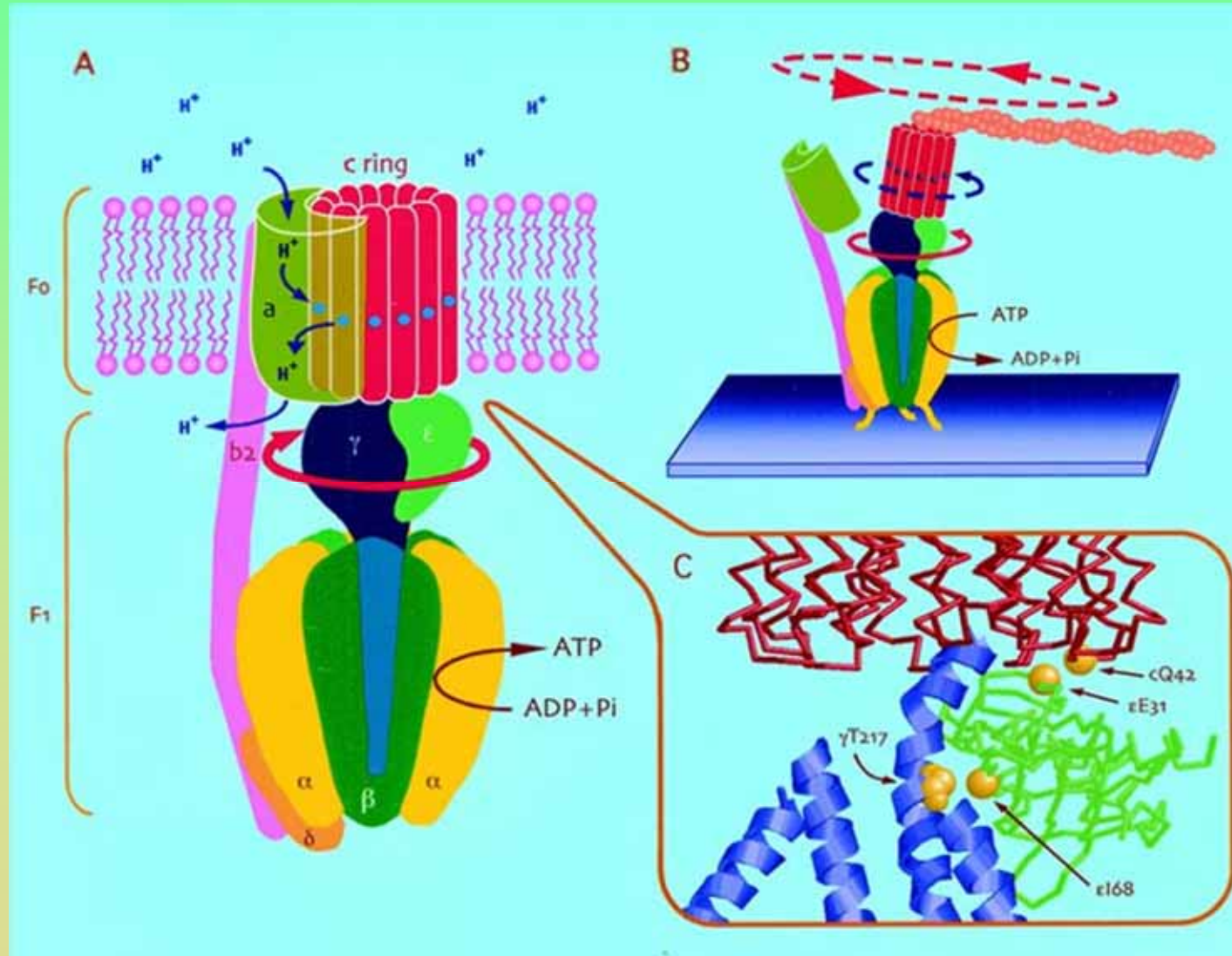
$$\Delta p \sim 0.22 \text{ V}$$

$$\Delta G \sim -4.8 \text{ kcal/mol}$$

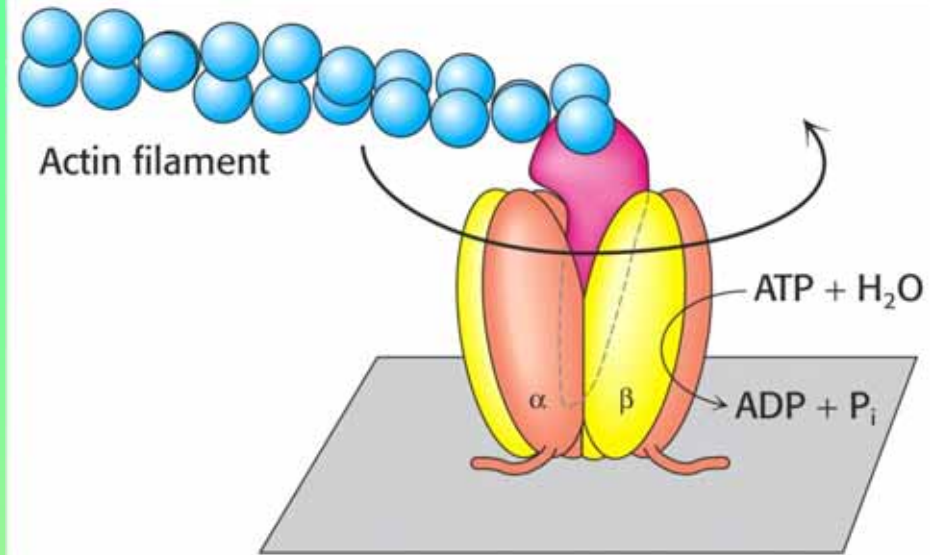


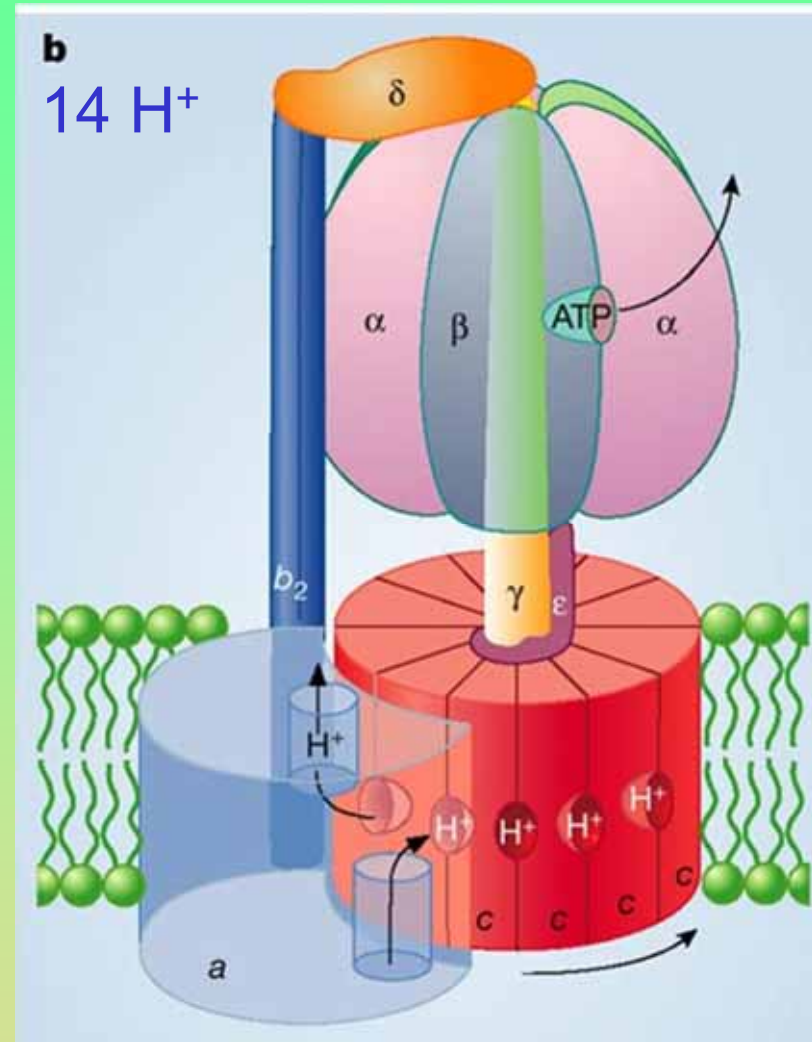
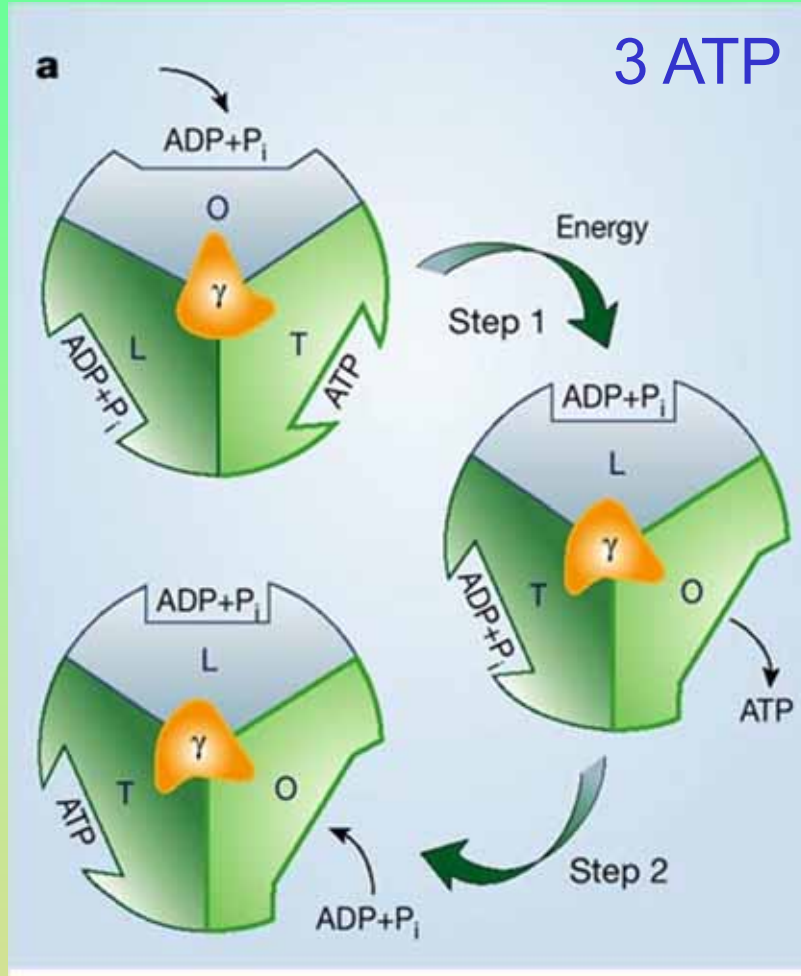
Difference due to thylakoid membrane permeability to Cl^- and Mg^{2+}

F_1 subunits α , β and δ together with F_0 subunits a and b comprise the stator while remaining χ , ϵ of F_1 and c ring of F_0 form the rotor during rotational synthesis of ATP. One ATP is formed during single rotation of the rotor that is related to the transfer of 3 H^+ .

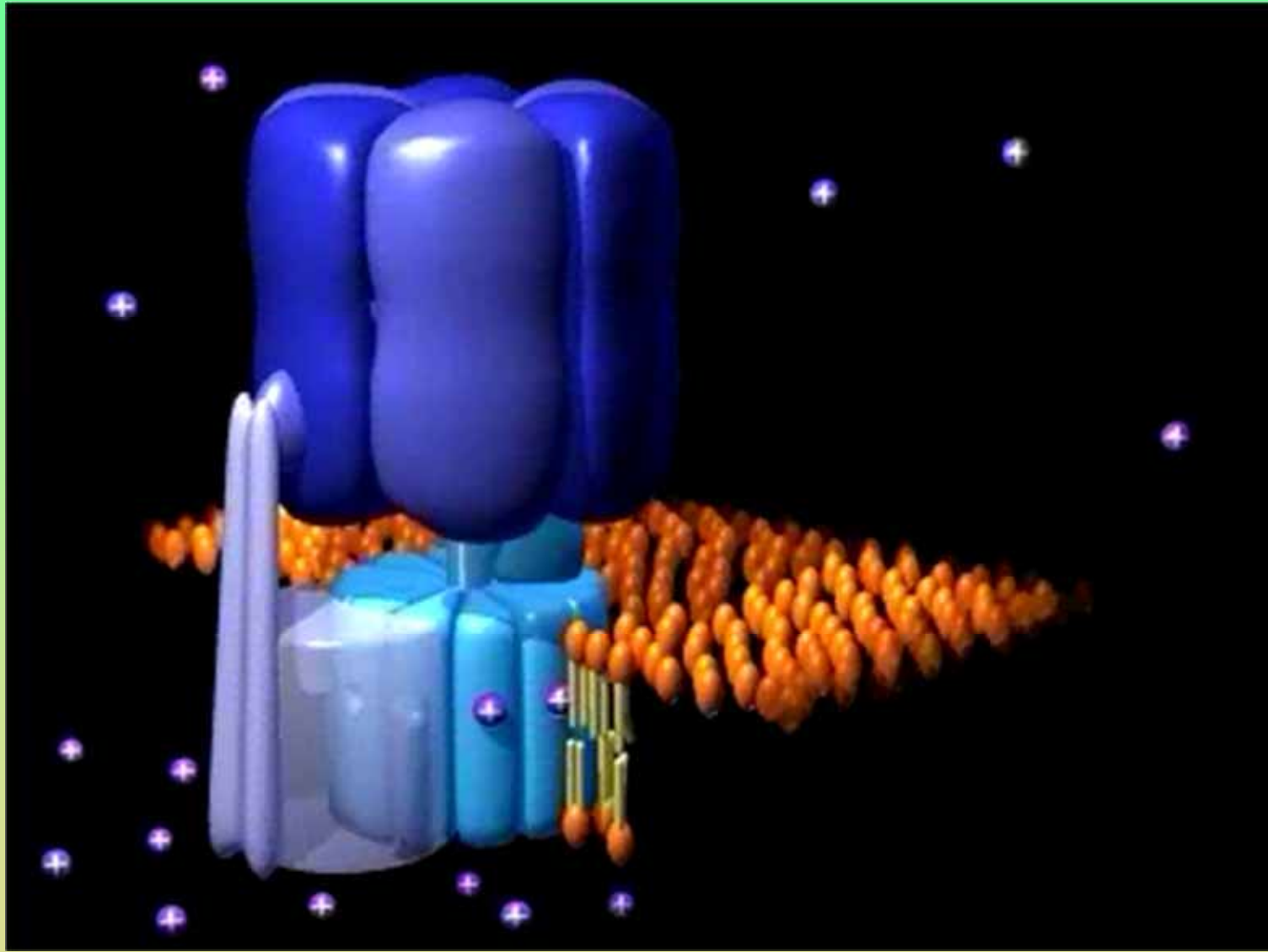


Videorecord of the $\chi_{\varepsilon}F_1cF_0$ rotation during the ATP synthesis





„binding change mechanism“ (P.Boyer)



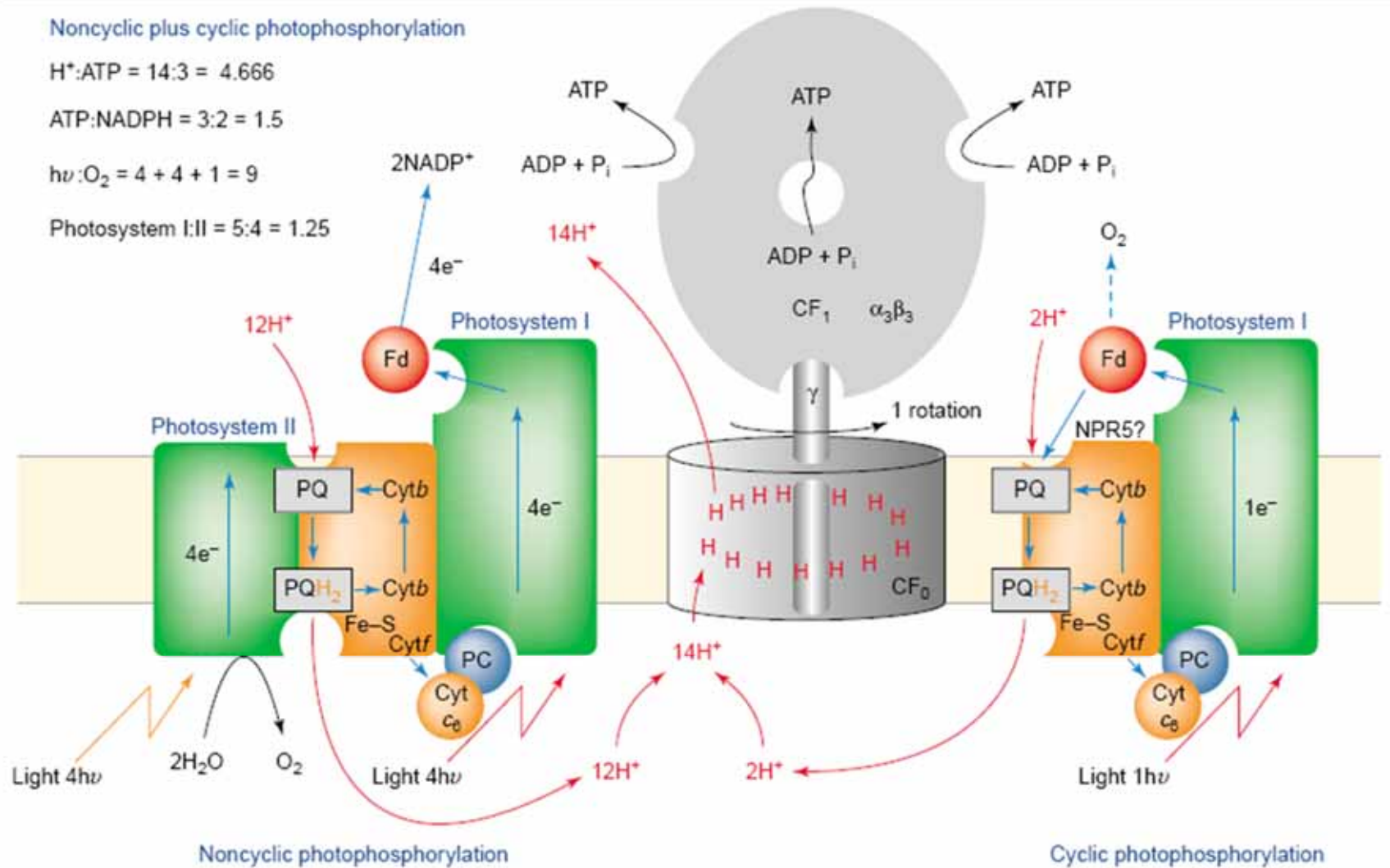
Noncyclic plus cyclic photophosphorylation

$H^+ : ATP = 14 : 3 = 4.666$

$ATP : NADPH = 3 : 2 = 1.5$

$h\nu : O_2 = 4 + 4 + 1 = 9$

Photosystem I:II = 5:4 = 1.25



Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO₂**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO₂**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**



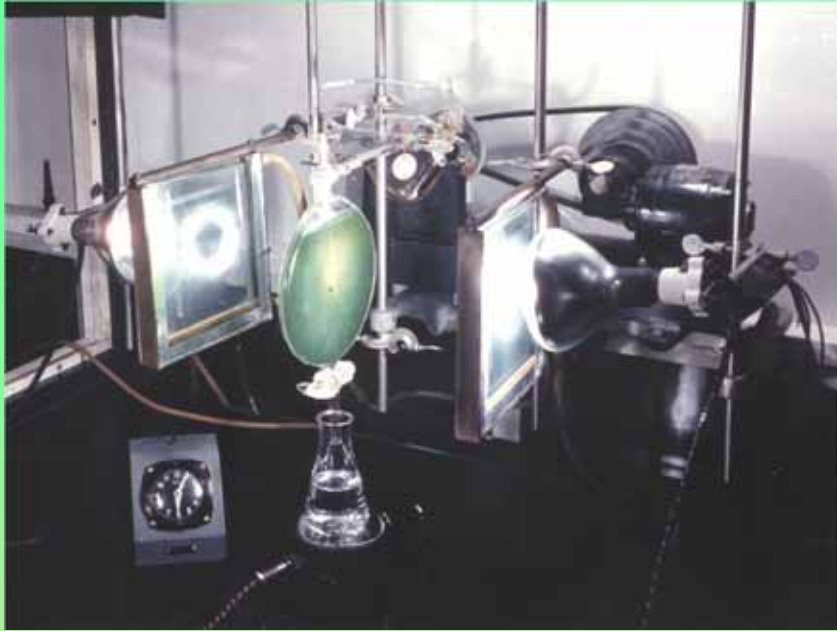
Melvin Calvin

Nobel 1961



Andrew Benson

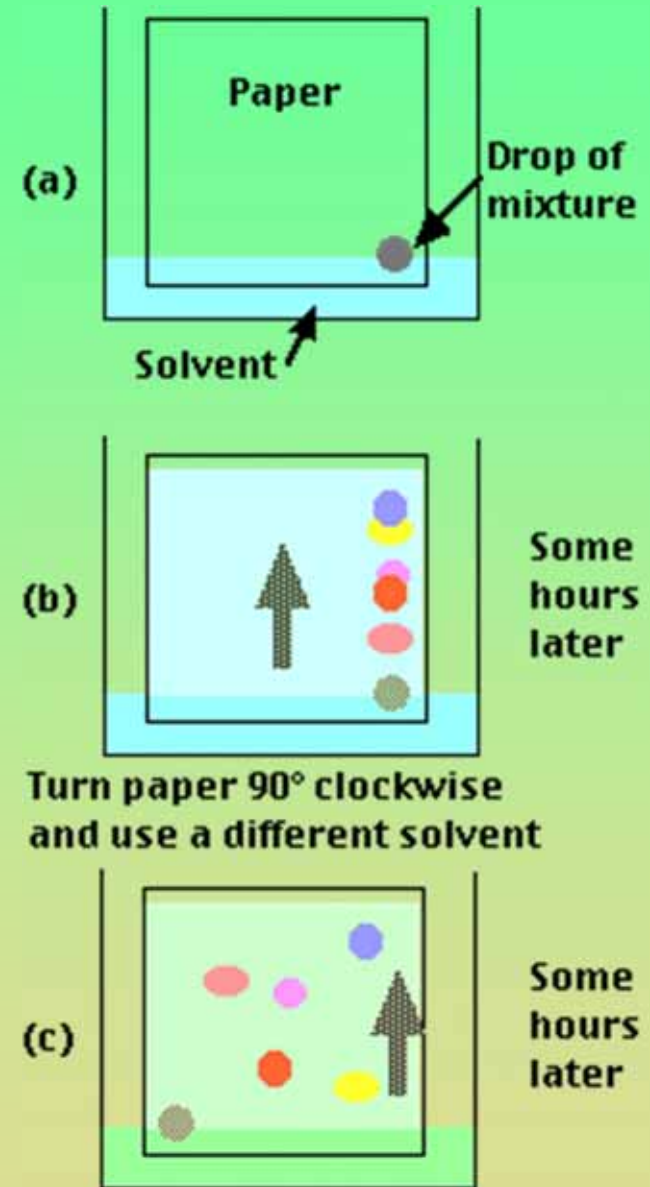
Calvinův, Calvin-Bensonův, Redukční pentosový cyklus, **C₃ cesta**

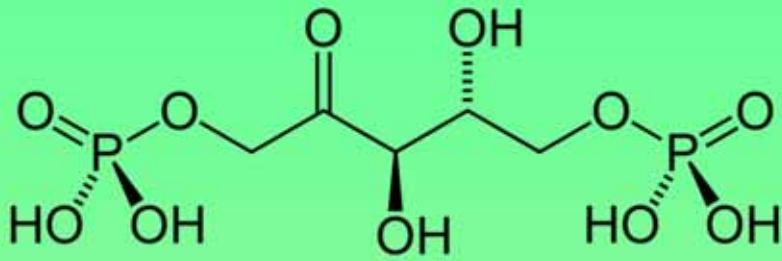


značení $^{14}\text{CO}_2$

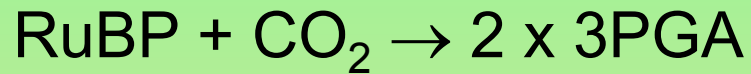
2D papírová chromatografie
autoradiografie

akumulace substrátu
při limitaci CO_2



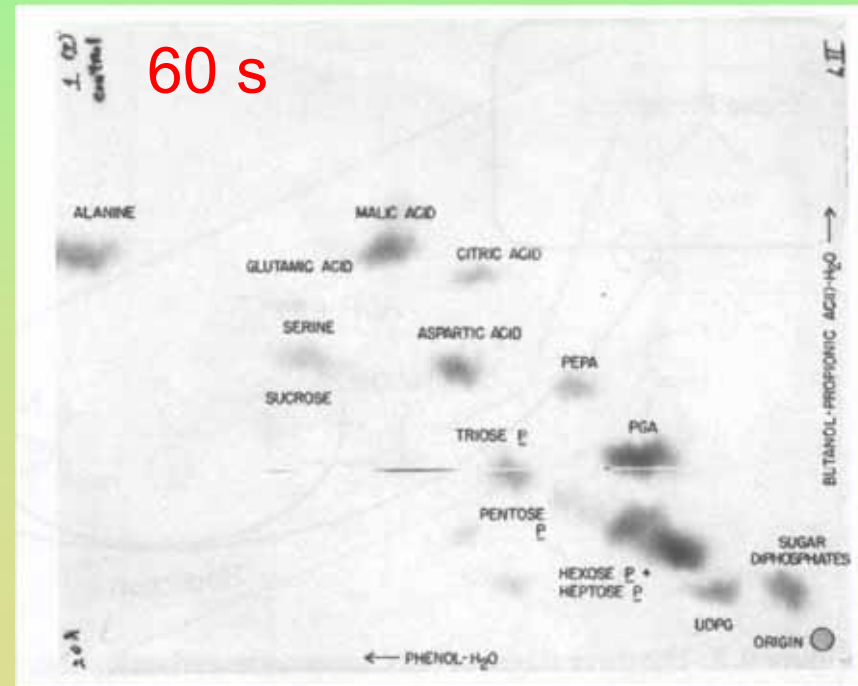
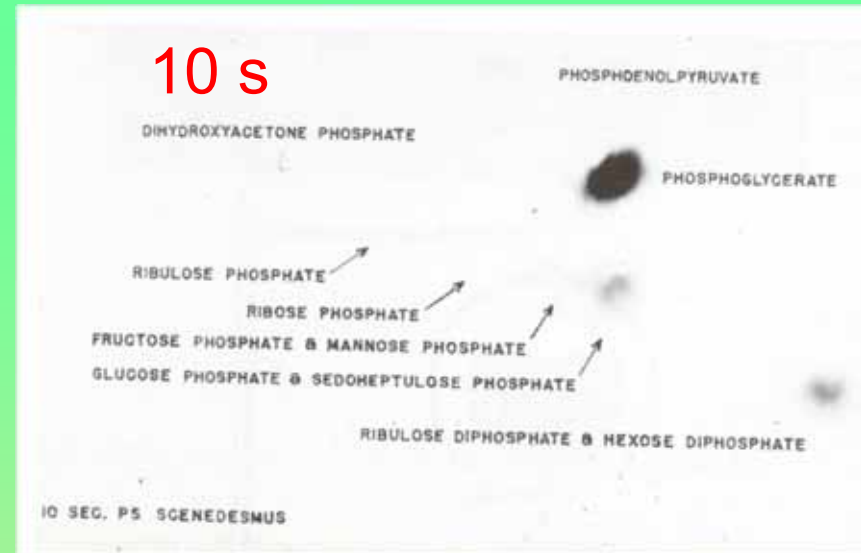


ribulosa-1,5-bisfosfát (RuBP)
fosfoglycerát PGA



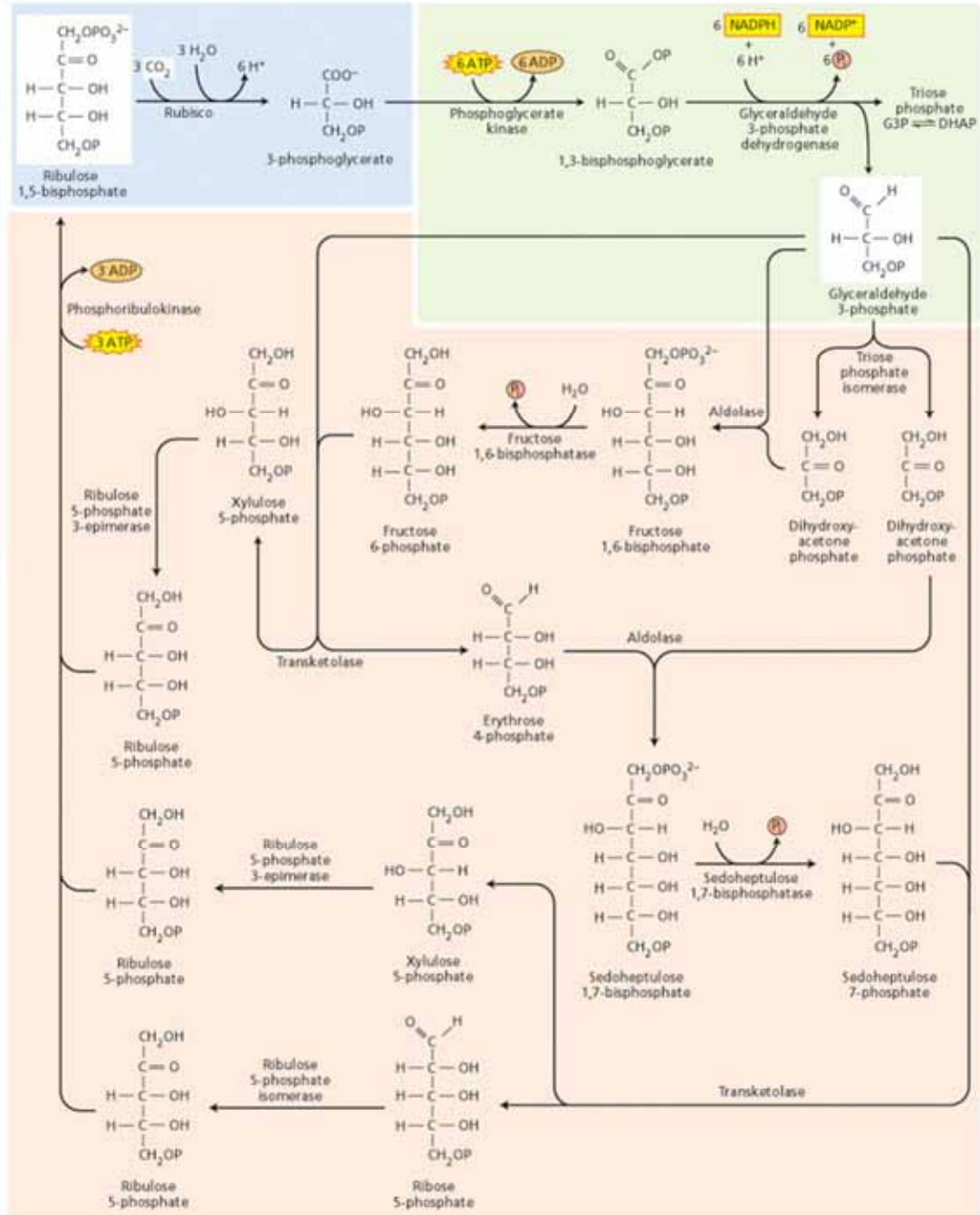
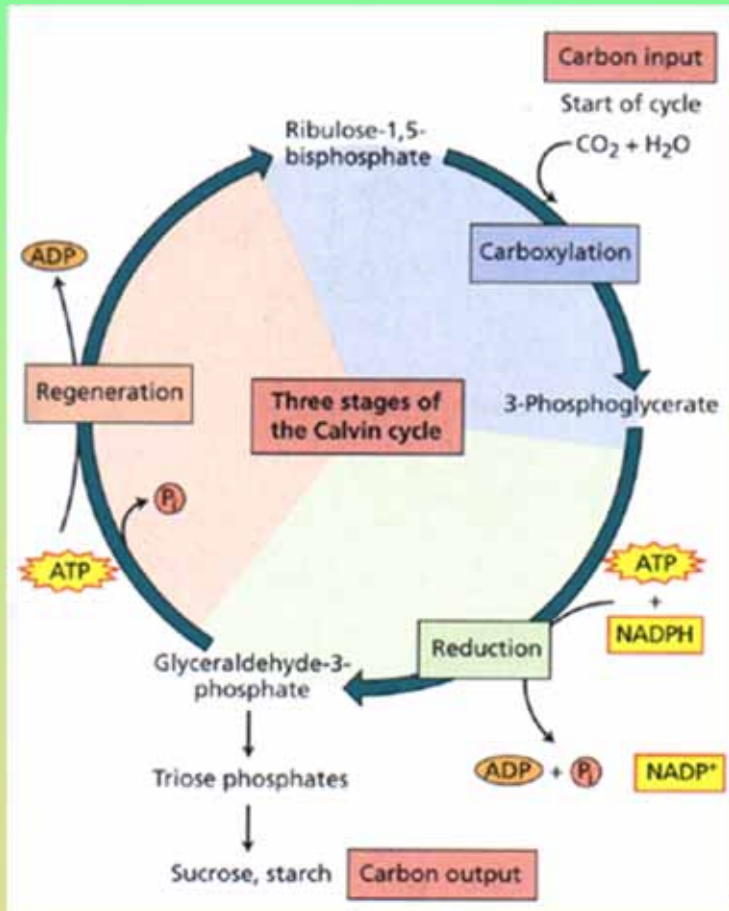
Rubisco = karboxydismutáza
RuBP karboxyláza/oxygenáza

Karboxylace není reduktivní



Calvinův cyklus:

celkem 12 reakcí
autokatalytický

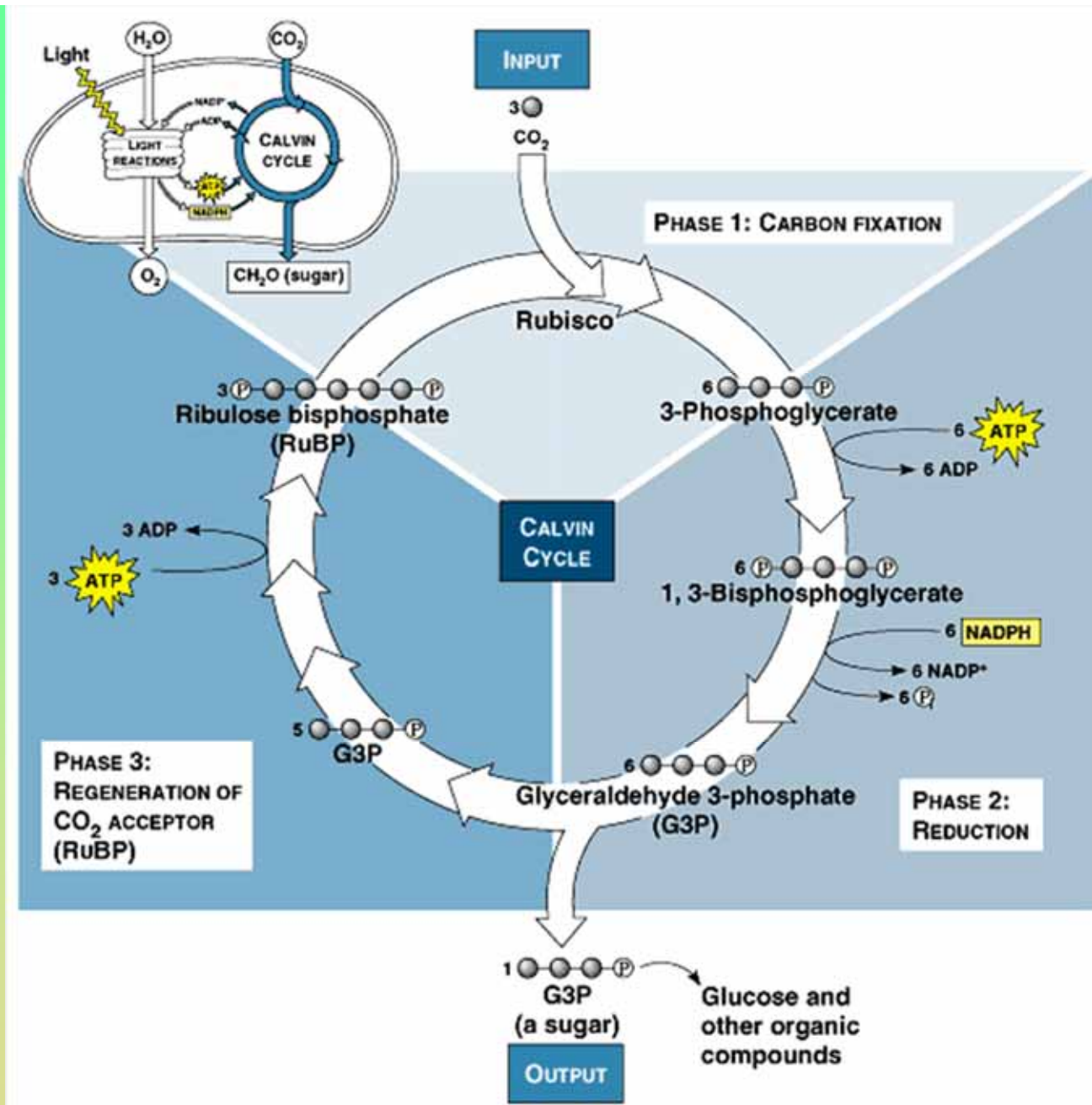


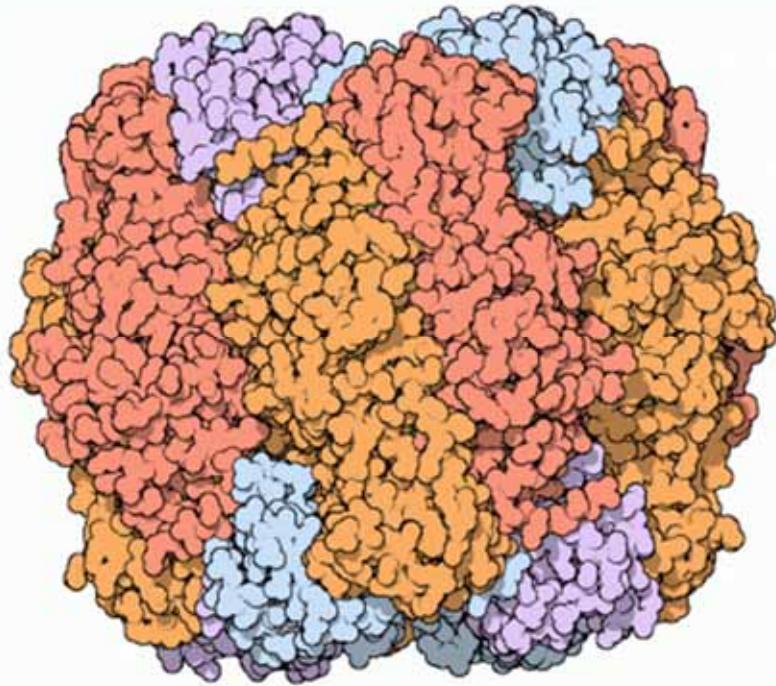
Calvinův cyklus:

celkem 12 reakcí
autokatalytický

Karboxylace:

- $-\Delta G$ karboxylace
- velká afinita CO_2 k Rubiscu





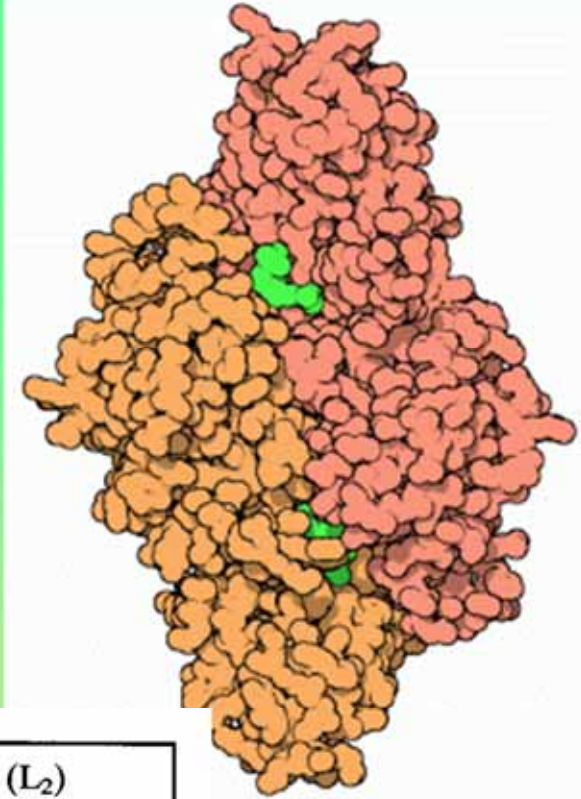
Rubisco

velký enzym
pomalý
(3 CO₂ za sec)

Nejpočetnější...

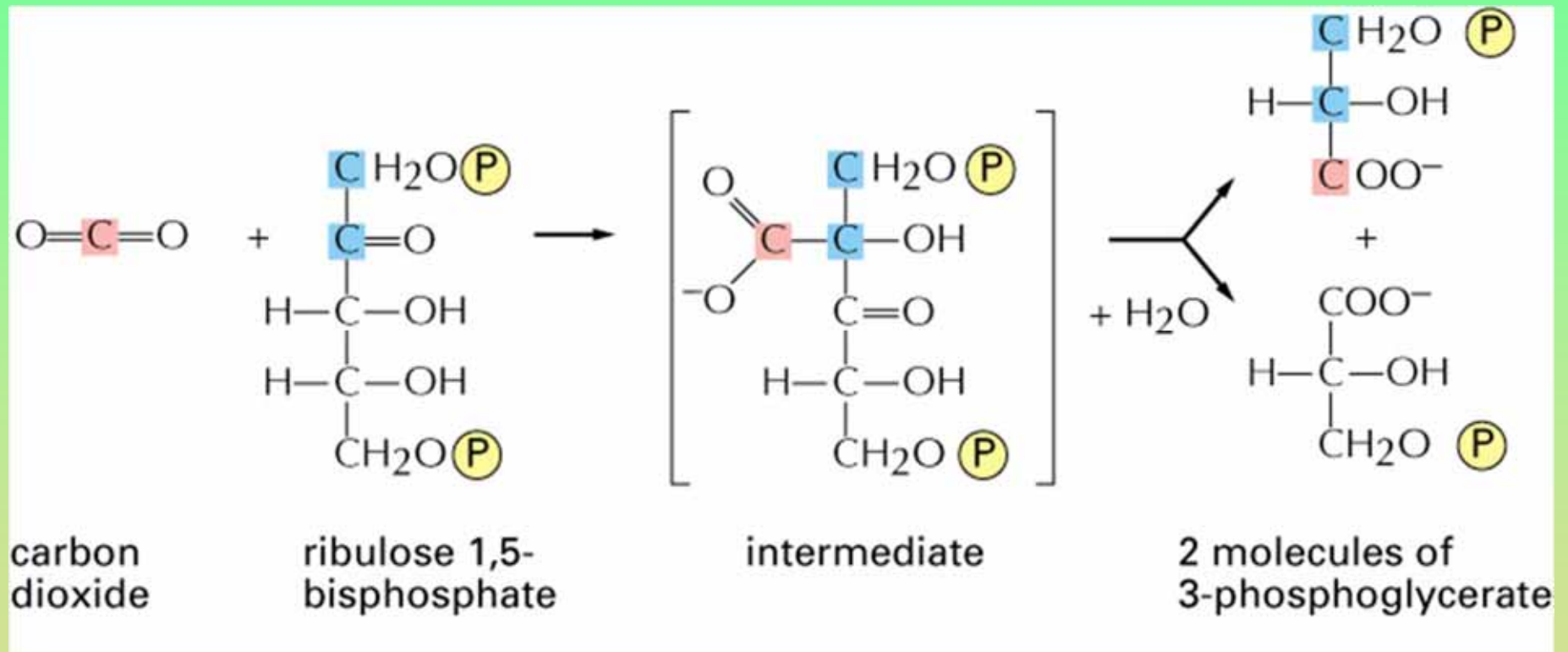
nespecifický (O₂)

Aktivní část: L2

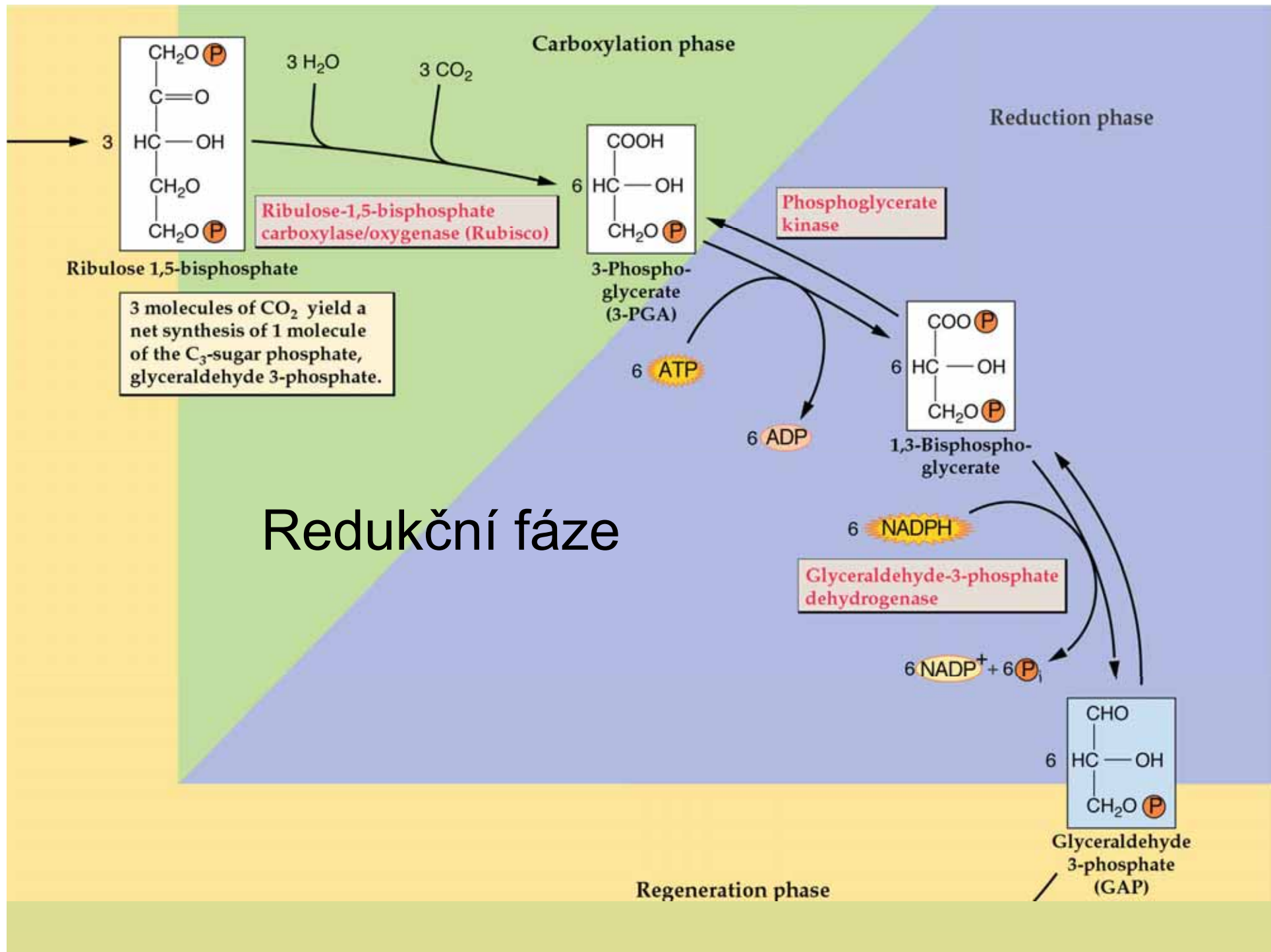


Form (subunit organisation)	Form I (L ₈ S ₈)		Form II (L ₂)
Origin	Cyanobacterial	β-Proteobacterium	α-Proteobacterium
Taxa	Form 1B (green type) Cyanobacteria	Form 1D (red type) Rhodophyta Cryptophyta Haptophyta Heterokonta Bacillariophyceae Chrysophyceae Diophyta	Dinophyta
Location of gene	Chloroplastic <i>rbcL</i> Nuclear <i>rbcS</i>	Chloroplastic <i>rbcL</i> Chloroplastic <i>rbcS</i>	Nuclear <i>rbcL</i>

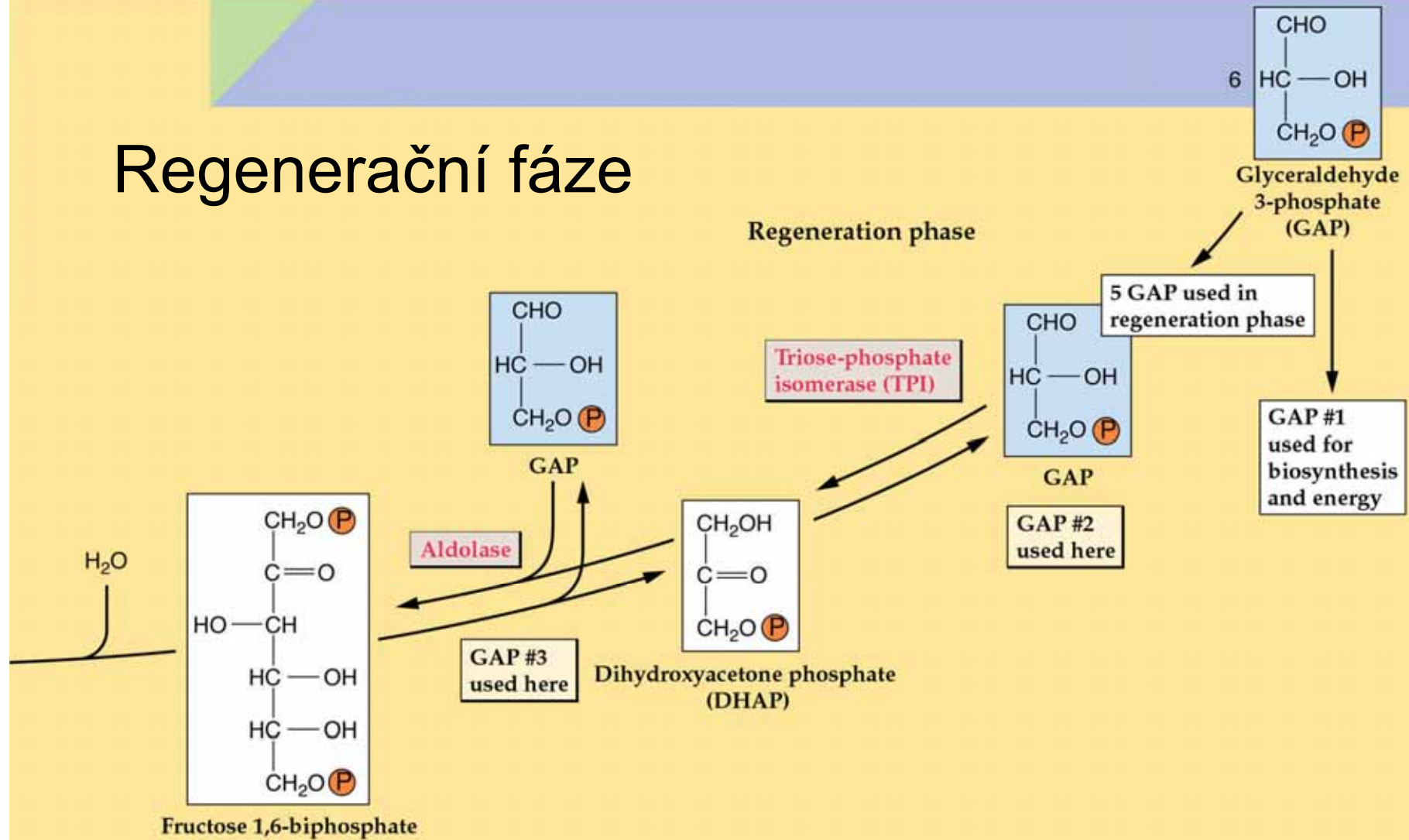
Rubisco – karboxylace RuBP

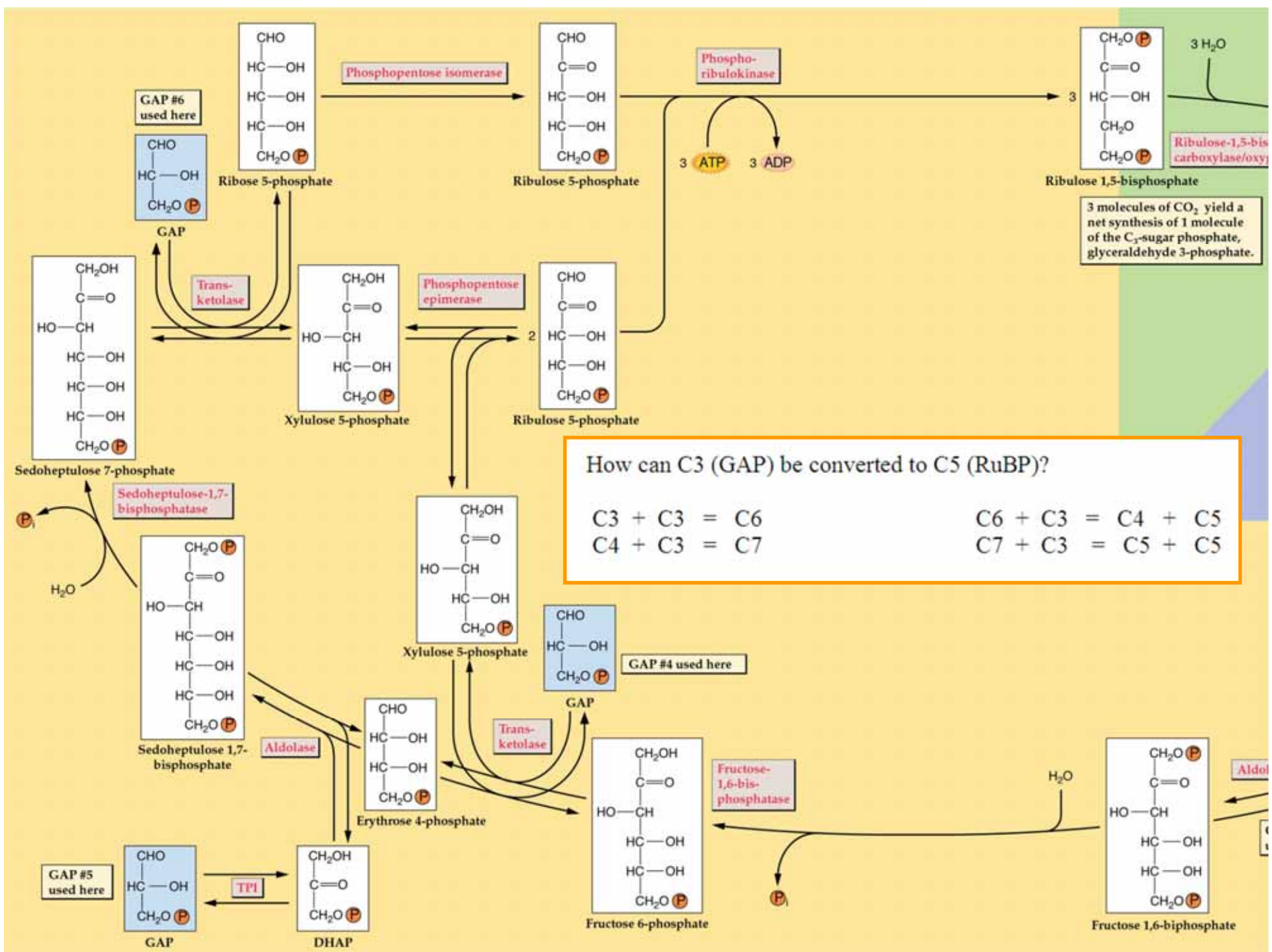


Karboxylační fáze



Regenerační fáze





How can C₃ (GAP) be converted to C₅ (RuBP)?

$$C_3 + C_3 = C_6$$

$$C_6 + C_3 = C_4 + C_5$$

$$C_4 + C_3 = C_7$$

TABLE 8.1
Reactions of the Calvin cycle (Part 1)

Enzyme	Reaction
1. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase	$6 \text{ Ribulose-1,5-bisphosphate} + 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 12 \text{ (3-phosphoglycerate)} + 12 \text{ H}^+$
2. 3-Phosphoglycerate kinase	$12 \text{ (3-Phosphoglycerate)} + 12 \text{ ATP} \rightarrow 12 \text{ (1,3-bisphosphoglycerate)} + 12 \text{ ADP}$
3. NADP:glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	$12 \text{ (1,3-Bisphosphoglycerate)} + 12 \text{ NADPH} + 12 \text{ H}^+ \rightarrow 12 \text{ glyceraldehyde-3-phosphate} + 12 \text{ NADP}^+ + 12 \text{ P}_i$
4. Triose phosphate isomerase	$5 \text{ Glyceraldehyde-3-phosphate} \rightarrow 5 \text{ dihydroxyacetone-3-phosphate}$
5. Aldolase	$3 \text{ Glyceraldehyde-3-phosphate} + 3 \text{ dihydroxyacetone-3-phosphate} \rightarrow 3 \text{ fructose-1,6-bisphosphate}$
6. Fructose-1,6-bisphosphatase	$3 \text{ Fructose-1,6-bisphosphate} + 3 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 3 \text{ fructose-6-phosphate} + 3 \text{ P}_i$
7. Transketolase	$2 \text{ Fructose-6-phosphate} + 2 \text{ glyceraldehyde-3-phosphate} \rightarrow 2 \text{ erythrose-4-phosphate} + 2 \text{ xylulose-5-phosphate}$

Note: P_i stands for inorganic phosphate.

PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Table 8.1 (Part 1) © 2002 Sinauer Associates, Inc.



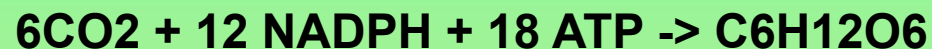
Regenerace součástí Calvinova cyklu

Ve tmě je nízká koncentrace meziproductů C cyklu

Na světle se musí nejprve regenerovat meziproducty – indukční perioda

Energetická bilance Calvinova cyklu

Množství energie na syntézu hexósy \geq energie oxidace (spálení) 1 molu hexosy = 2804 kJ



Spotřebuje se 3126 kJ na oxidaci 12 molů NADPH (12 x 217) a na hydrolýzu 18 molů ATP (18 x 29 kJ)

Termodynamická účinnost je tedy **90%** (2804/3126)

Většina (83%) energie jde na redukční proces

1 CO₂ ~ min. 8 fotonů

Celková termodynamická účinnost:

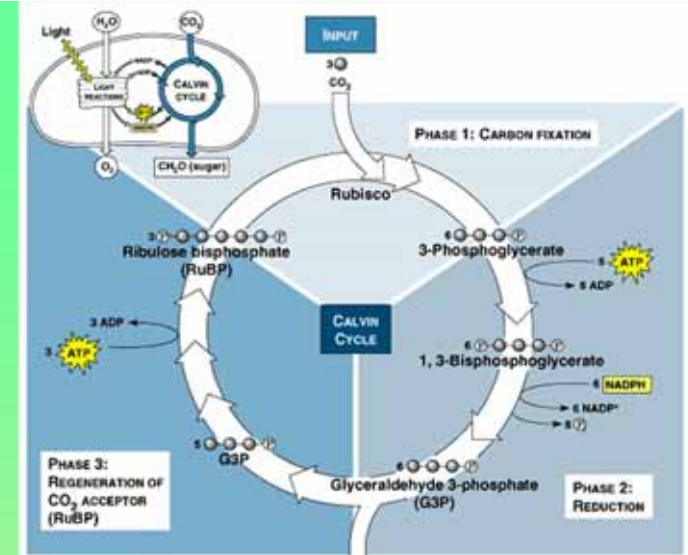
6 x 8fotonů x 175 kJ(energie 680nm) = 8400 kJ

Celkem maximální účinnost **33%** (2804/8400)

Velká část energie se ztratí při tvorbě NADPH a ATP

Reálná účinnost přeměny světelné energie je **0.1 – 0.4%**, optimálně **2%**

Regulace Calvinova cyklu



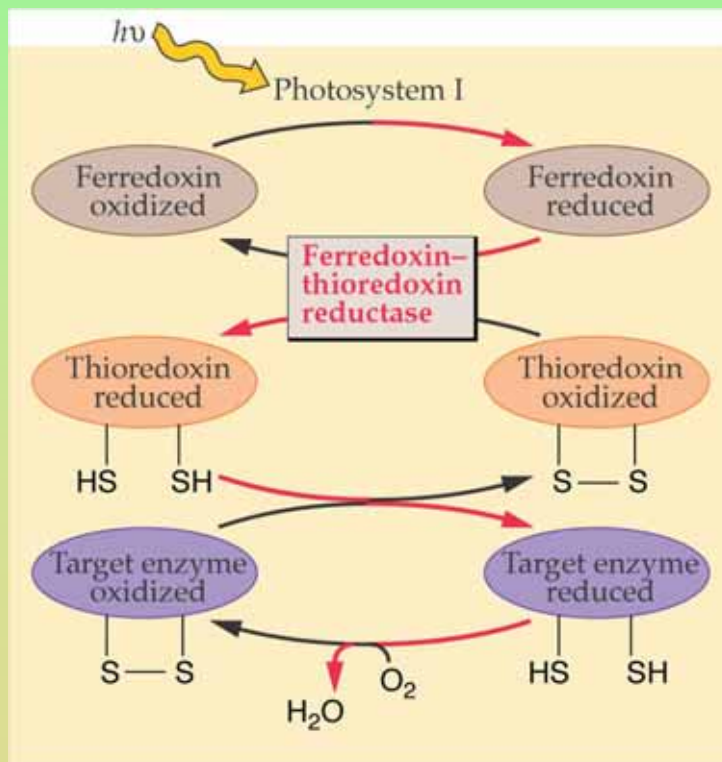
- regulace – na úrovni syntézy proteinů (signály jádro – chloroplast). Anterográdní regulace (J → Ch). Pomalé (hod)...
- posttranslační modifikace – rychlé změny aktivity během minut
 - změny v kovalentních vazbách (disulfidické vazby, karbamace)
 - nekovalentní modifikace (vazba metabolitů, změny v pH)

Aktivace cyklu fixace uhlíku

Fotochemické změny

Table 1 Stromal conditions of darkened and illuminated chloroplasts

	Dark	Light
pH	7.0–7.3	8.0–8.5
Mg ²⁺ (mM)	1–3	3–6
ATP/ADP ratio	0.2–1.0	1–5
Thioredoxin (% reduced)	8–30	62–67

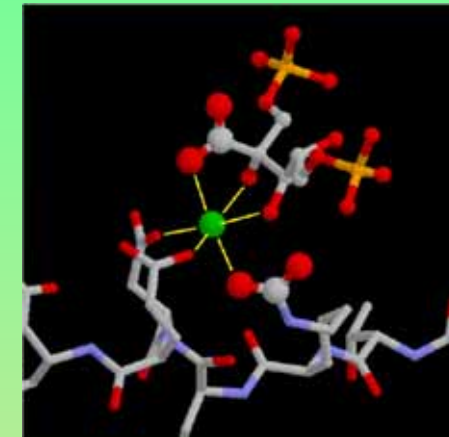
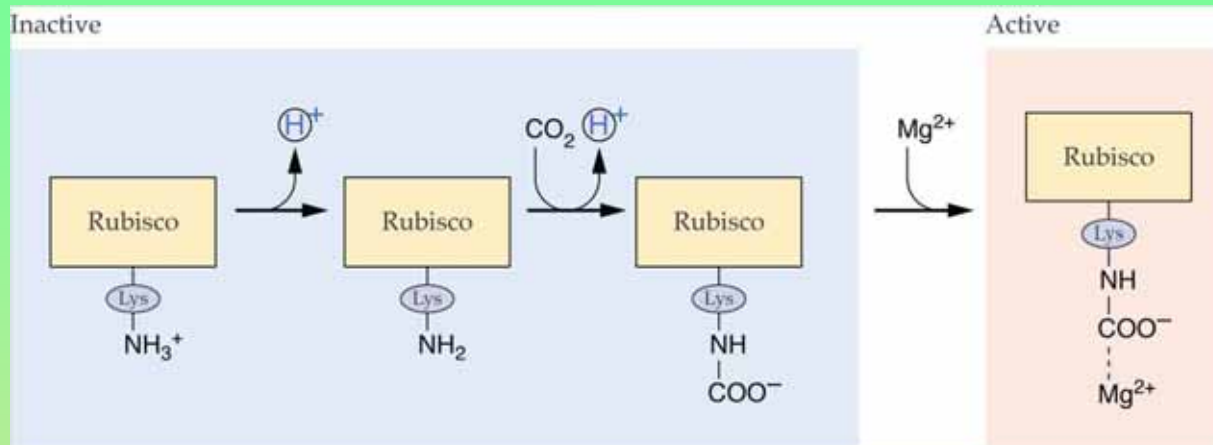


Aktivace 4 enzymů CC systémem ferredoxin – thioredoxin

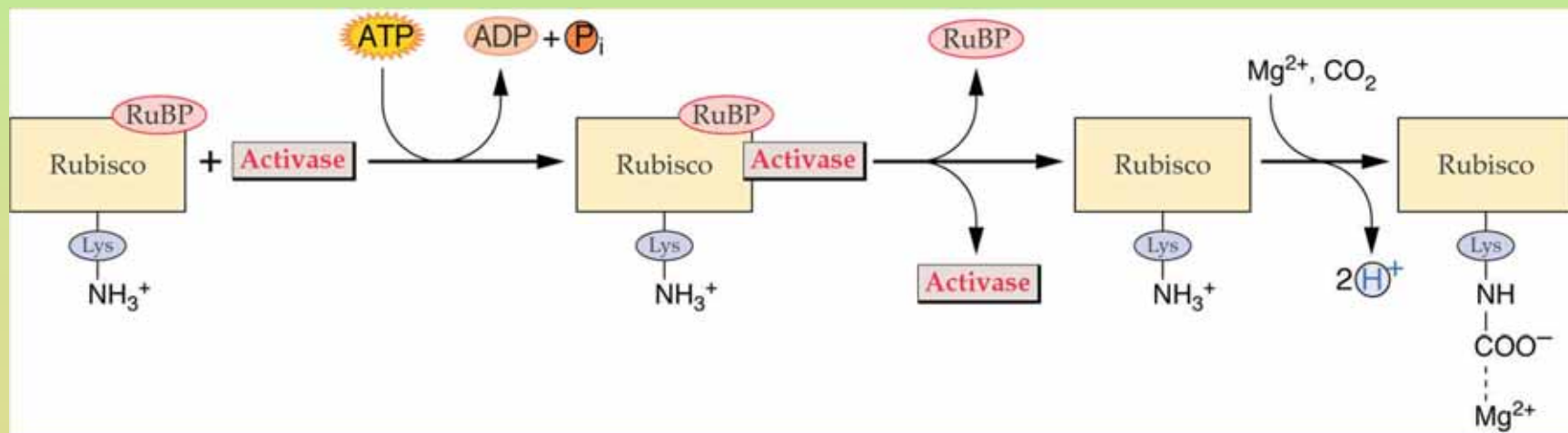
(inhibice katabolických procesů)

Aktivace cyklu fixace uhlíku - Rubisco

Karbamylace Lys²⁰¹ probíhá lépe za zvýšení Mg²⁺ a pH



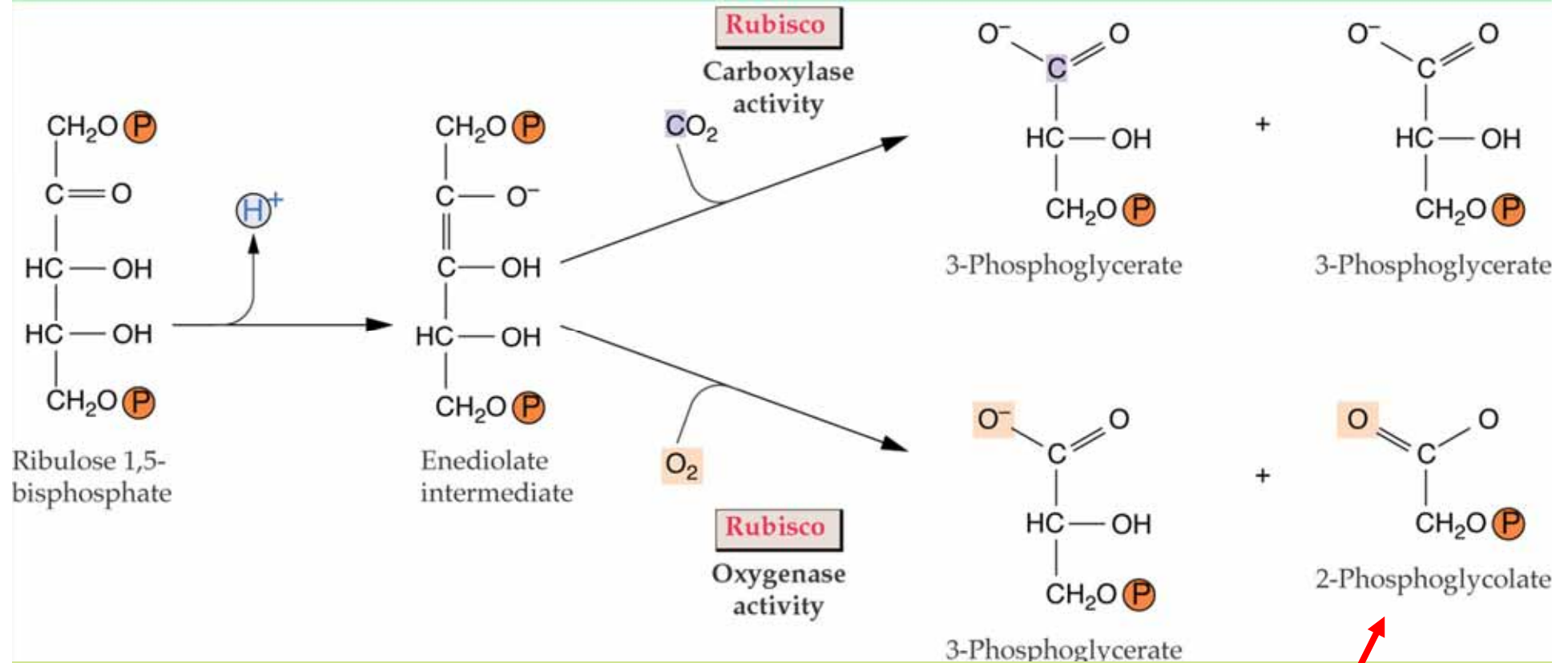
Rubisco aktiváza odstraní pevně navázané cukry



Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO₂**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO₂**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**

Fotorespirace – oxygenázová aktivita rubisca

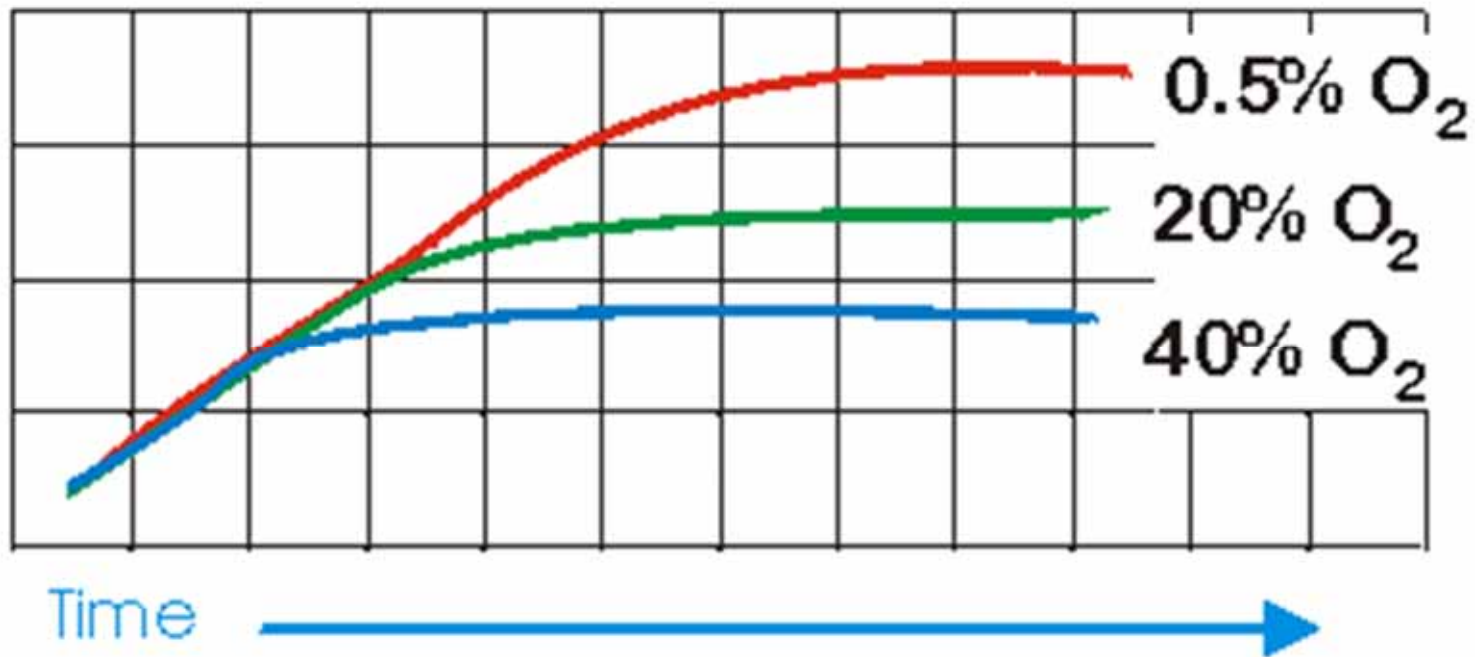


RUBISCO vzniklo v době, kdy nebyl O₂ v atmosféře

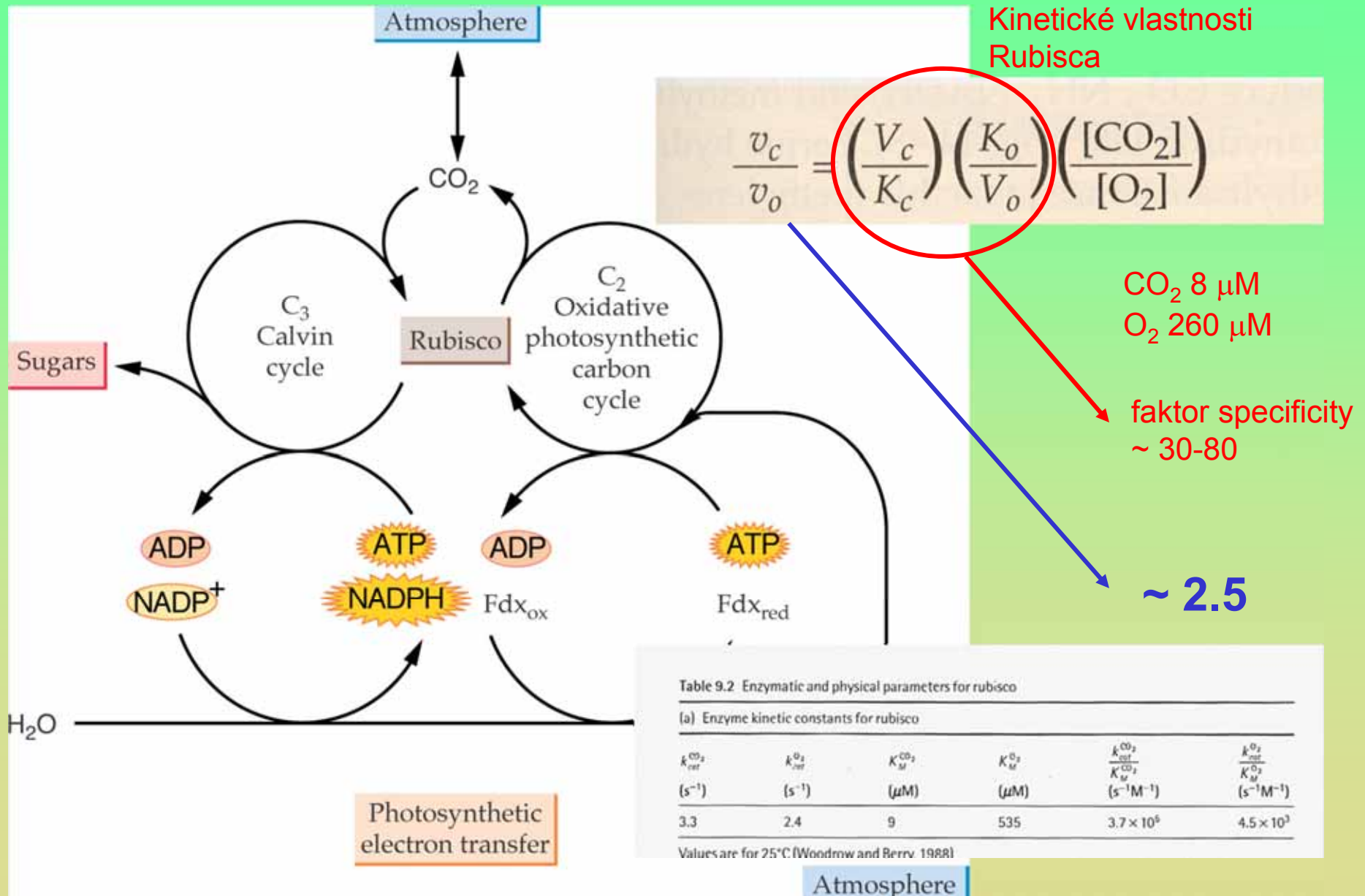
inhibuje rubisco

Fotorespirace snižuje fixaci uhlíku při vyšších koncentracích kyslíku

Rate of photosynthesis



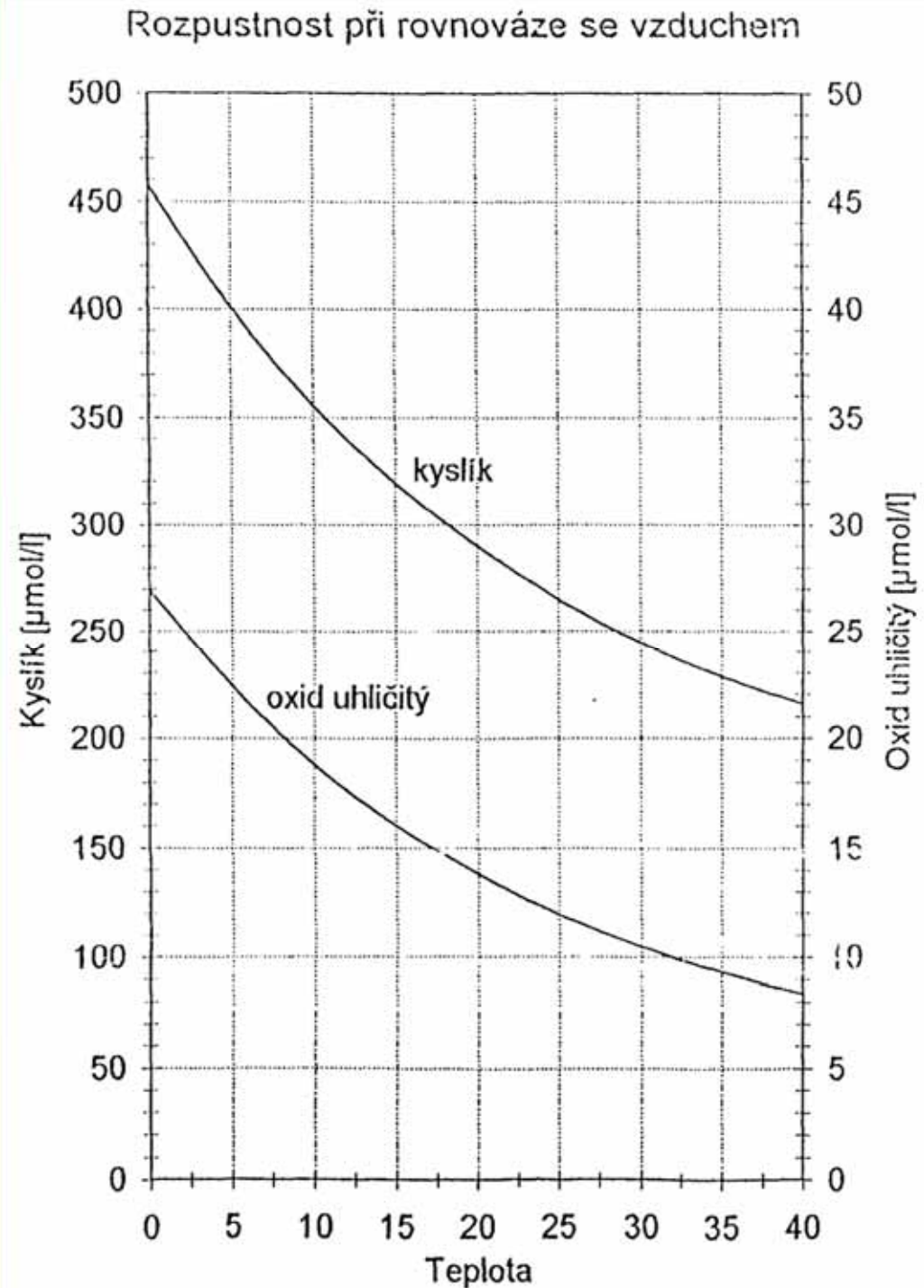
Co určuje poměr fotosyntézy a fotorespirace?



Vliv teploty na oxygenázovou aktivitu

rozpustnost O_2 a CO_2

kinetiku a aktivitu Rubisca



C2 oxidativní fotosyntetický cyklus

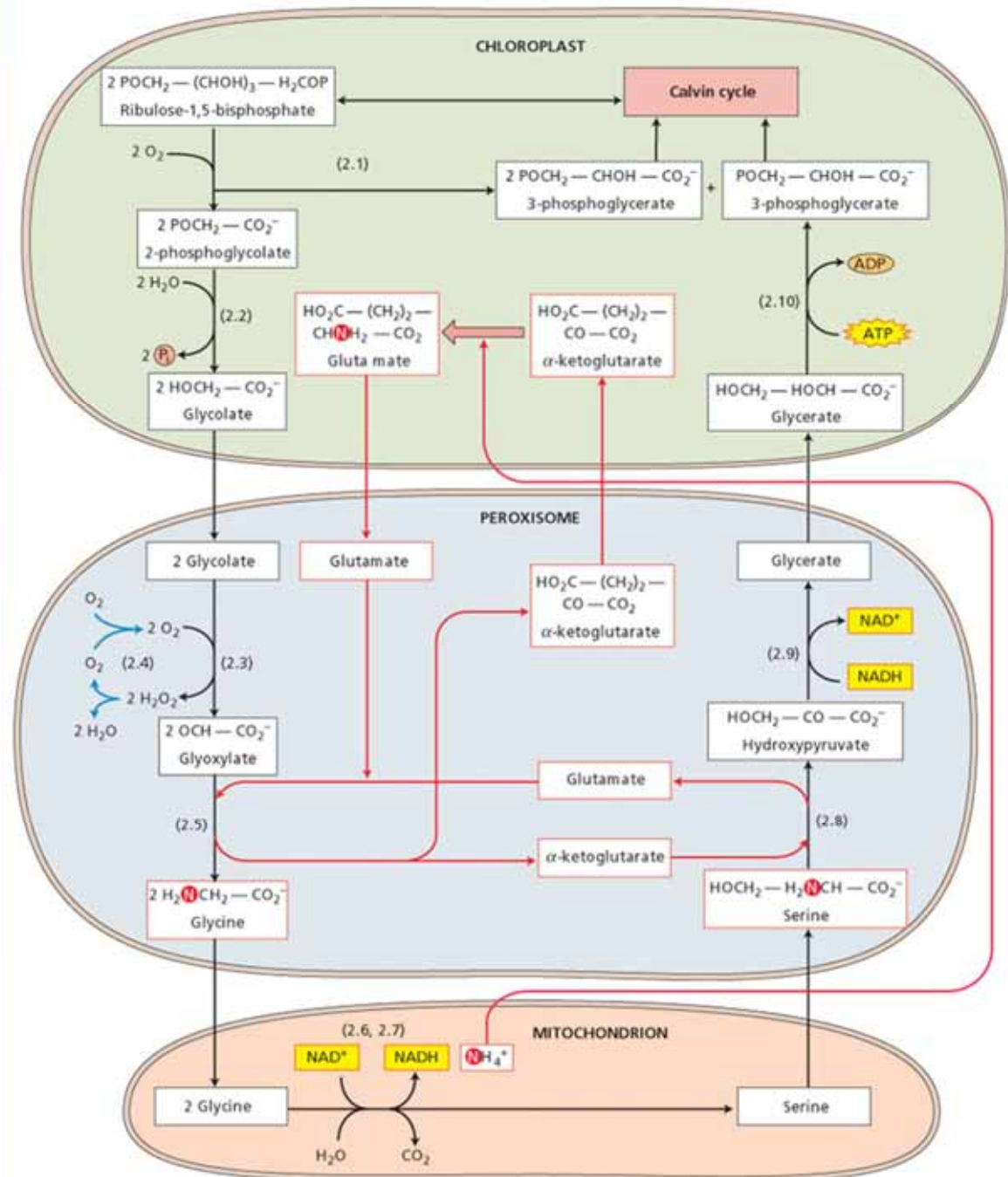
sníží ztráty fixovaného C způsobené fotorespirací – oxygenázovou aktivitou Rubisca

kooperace 3 organel:
chloroplast
peroxisom
mitochondrie

~50% energie spotřebované na karboxylaci

2 Pglycolate → 1 Pglycerate

4C → 3C (25% C loss)

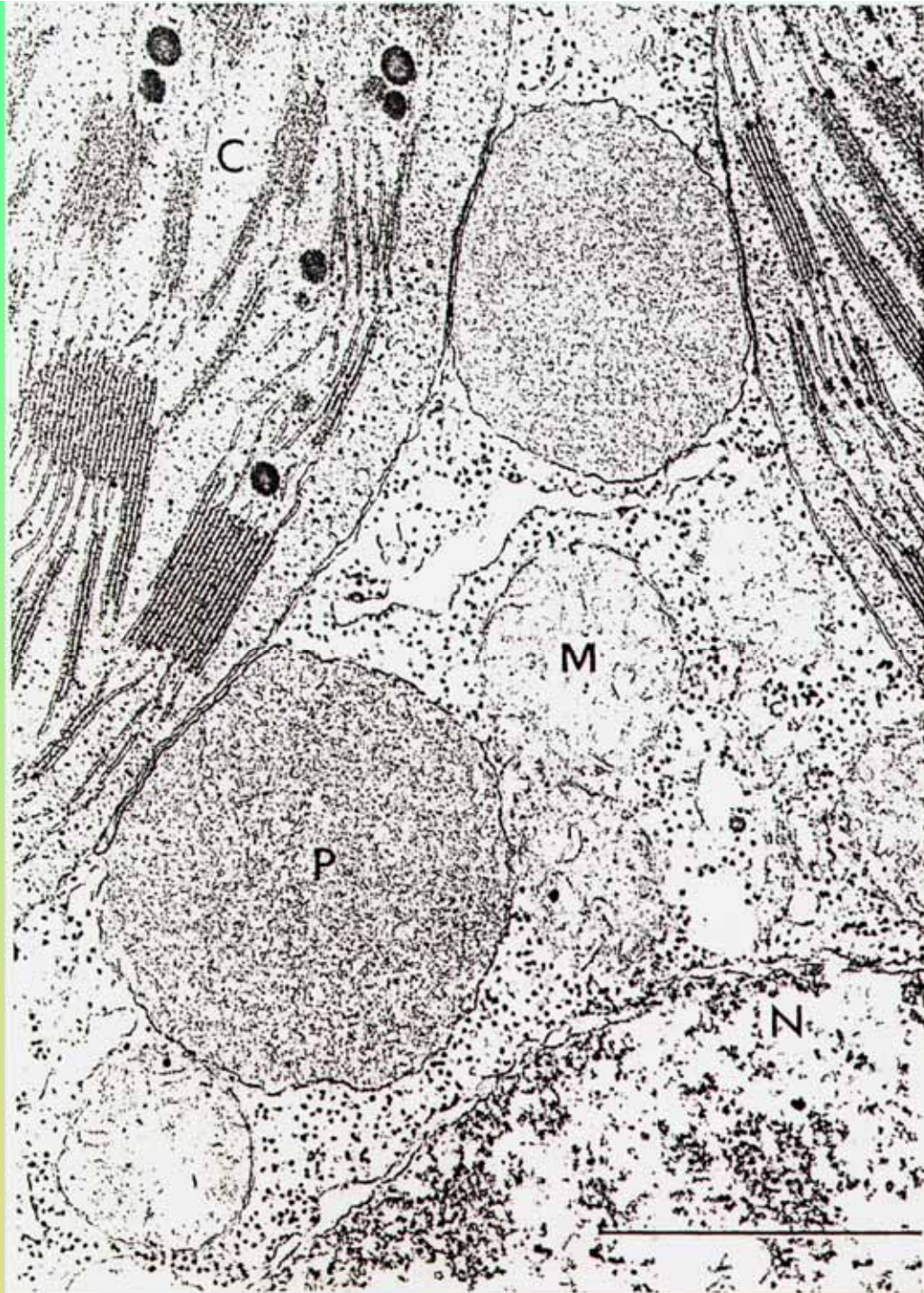


C2 oxidativní fotosyntetický cyklus

Elektronově mikroskopický
snímek rostlinné buňky

kooperace 3 organel:

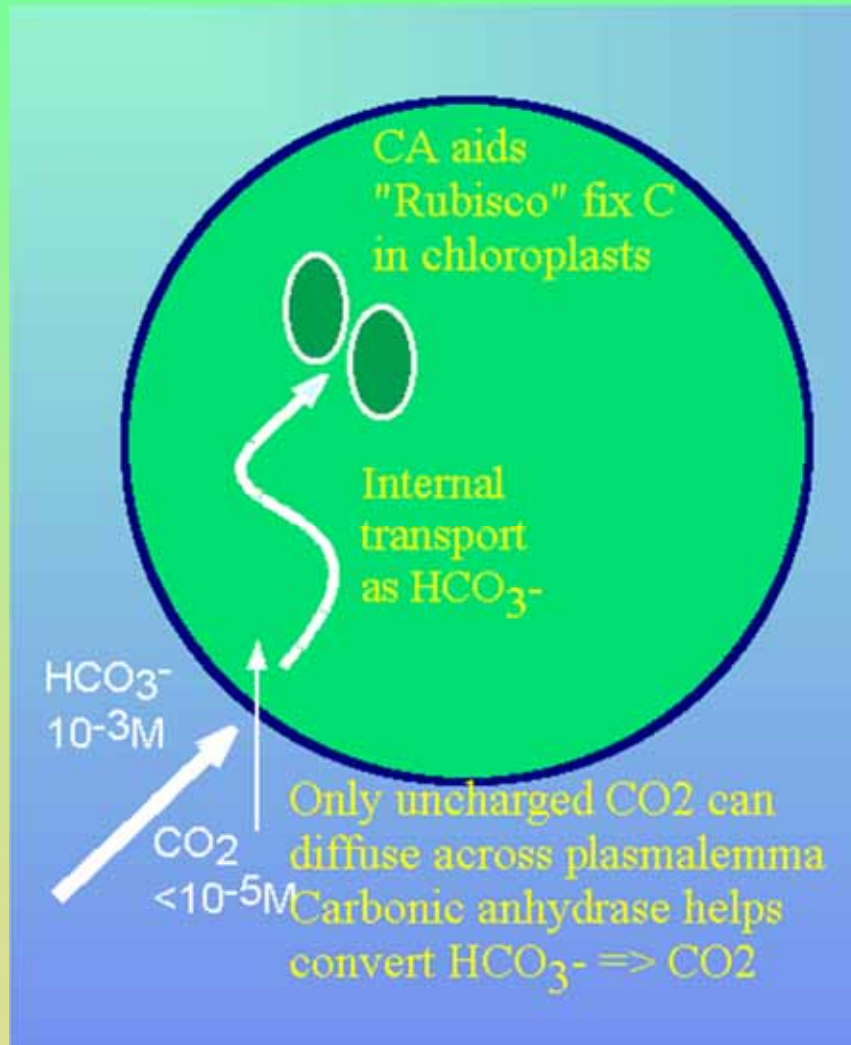
chloroplast (C)
peroxisom (P)
mitochondrie (M)



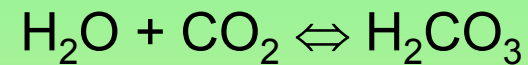
Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO₂**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO₂**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**

CCM – mechanismus koncentrace uhlíku v řasách



Reverzibilní hydratace CO_2



pomalá bez katalýzy

CA = karbonátdehydratáza

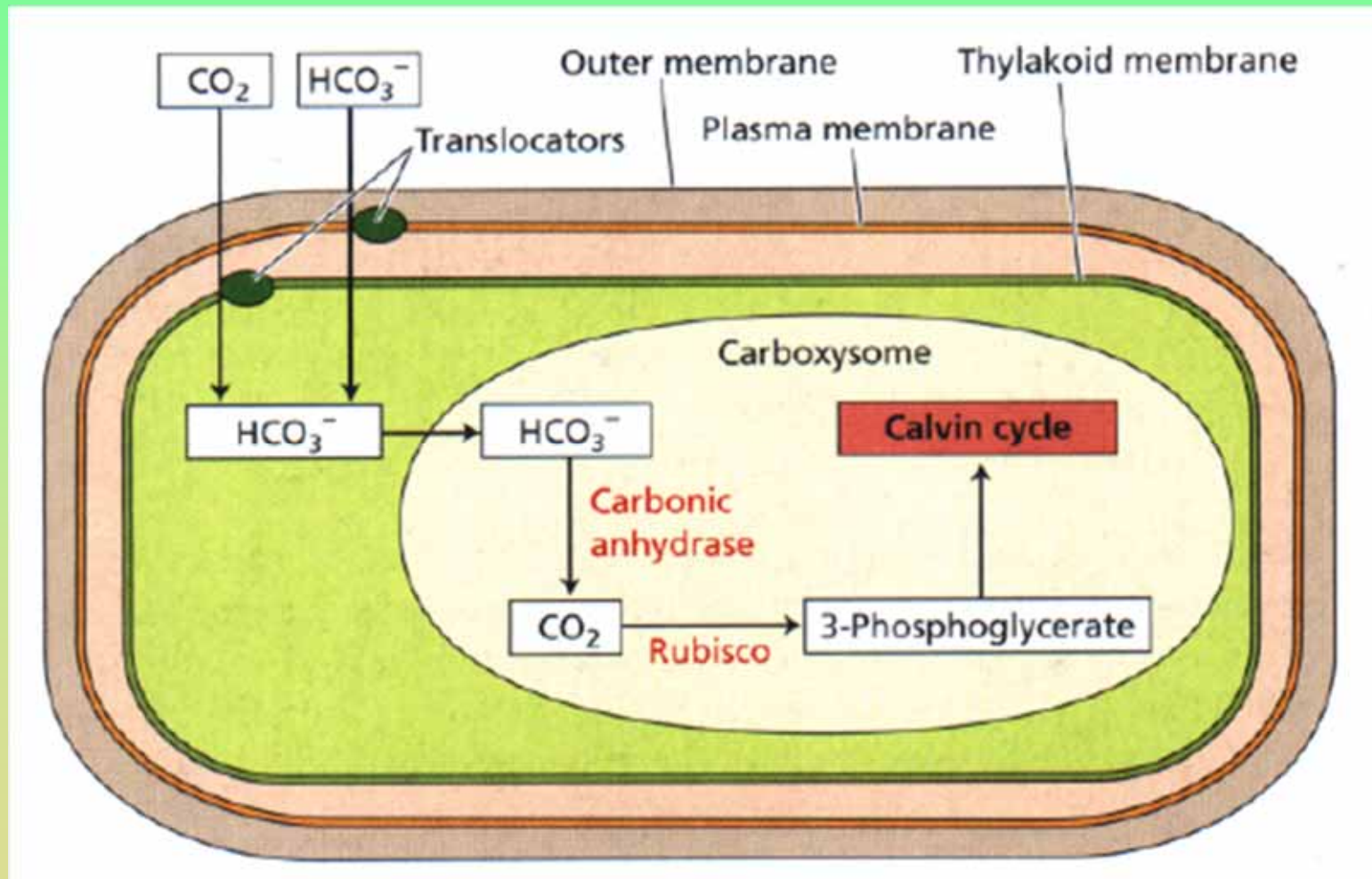
Až 600000 s^{-1}

jeden z nejrychlejších enzymů

CCM spotřebovává ATP

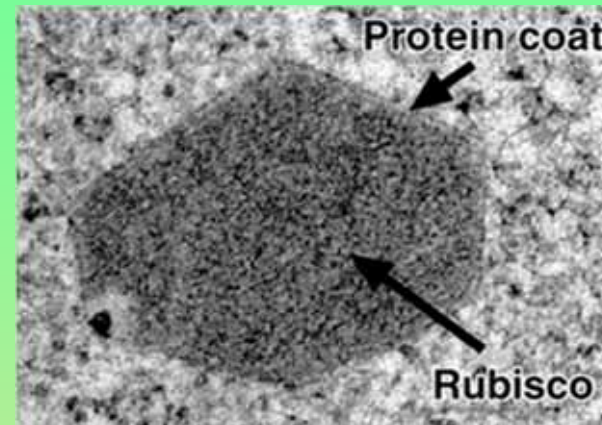
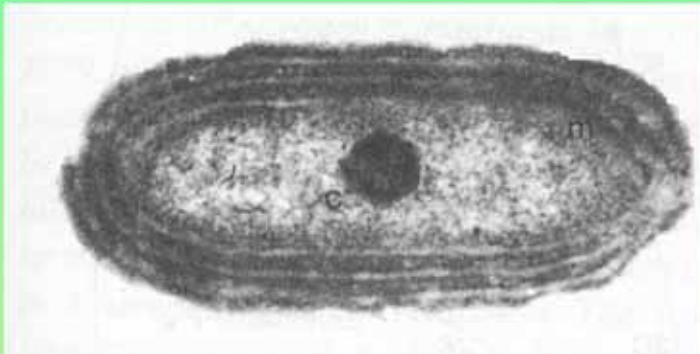
Pumpy CO_2 v cytoplasmatické membráně

vodní rostliny, řasy, sinice

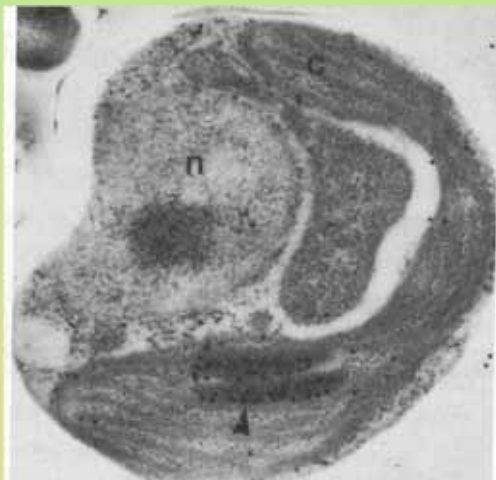


Strukury, ve kterých dochází k fixaci uhlíku

Sinice: karboxysomy



Řasy: pyrenoid



Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO₂**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO₂**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**

Jak se mohou adaptovat cévnaté rostliny?

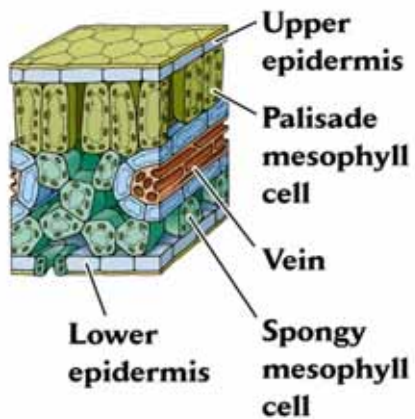
C3 rostliny

Věčtitá anatomie C4 rostlin –
velké buňky pochev cévních svazků
max. 2-3 vrstvy mesofylních buňek

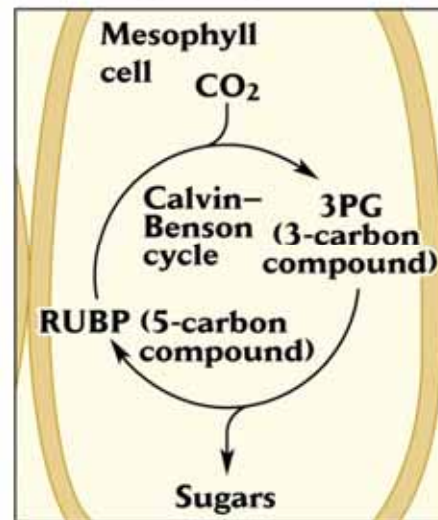
(a) C₃ PLANT



C₃ cell arrangement



C₃ photosynthesis

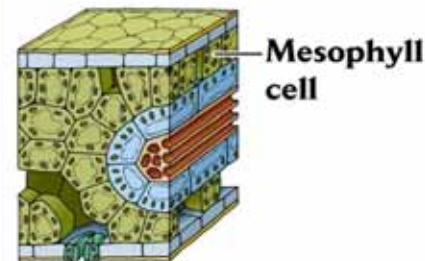


(b)

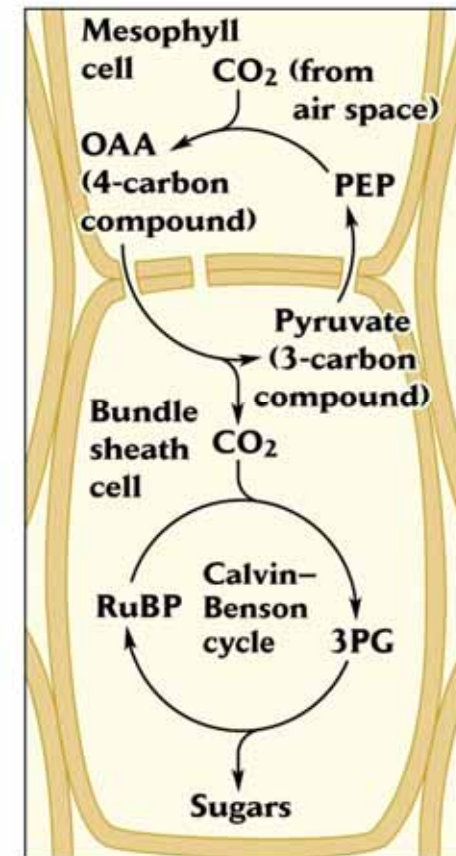
C₄ PLANT



C₄ cell arrangement

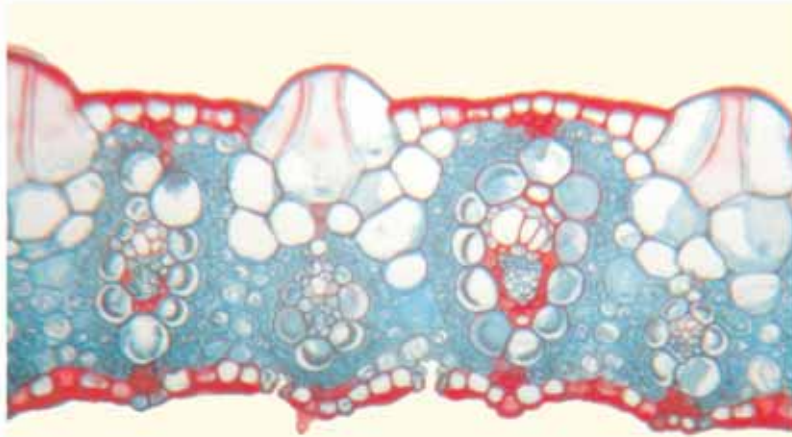


C₄ photosynthesis



(A)

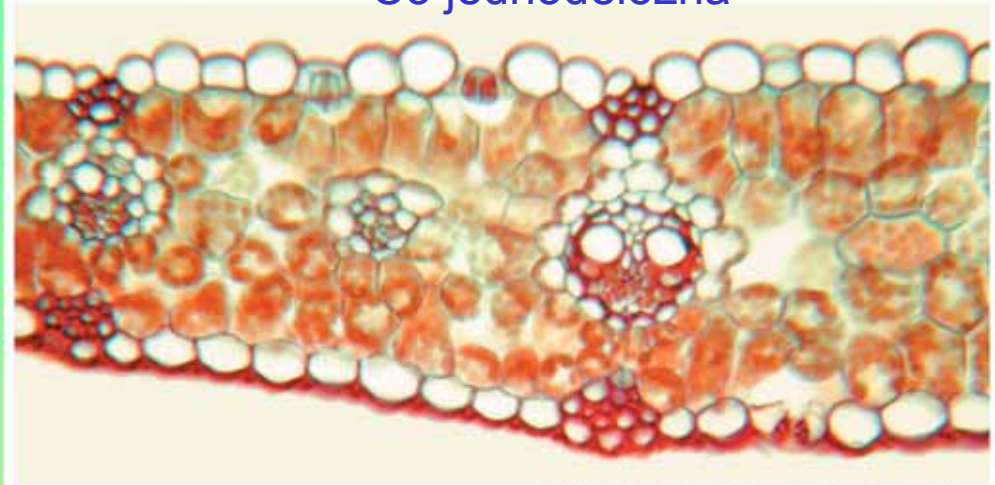
C4 jednoděložná



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.9 (Part 1) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

(B)

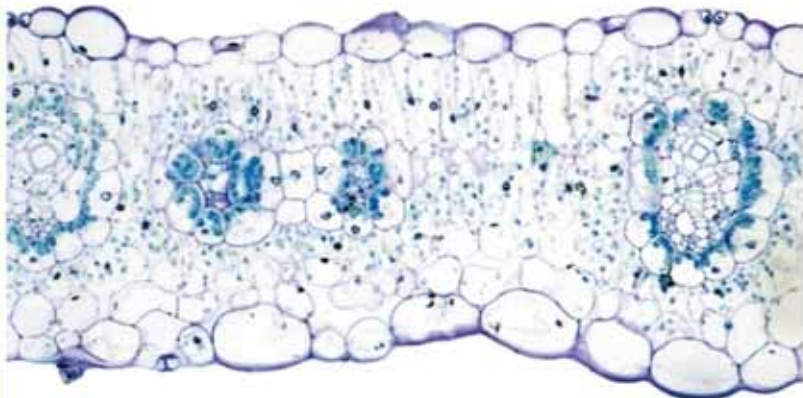
C3 jednoděložná



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.9 (Part 2) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

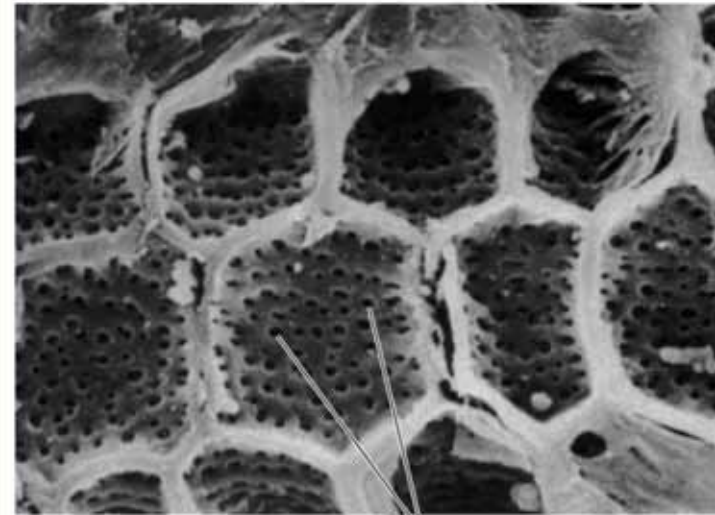
(C)

C4 dvouděložná



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.9 (Part 3) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

(E)



Plasmodesmata pits

PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.9 (Part 4) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

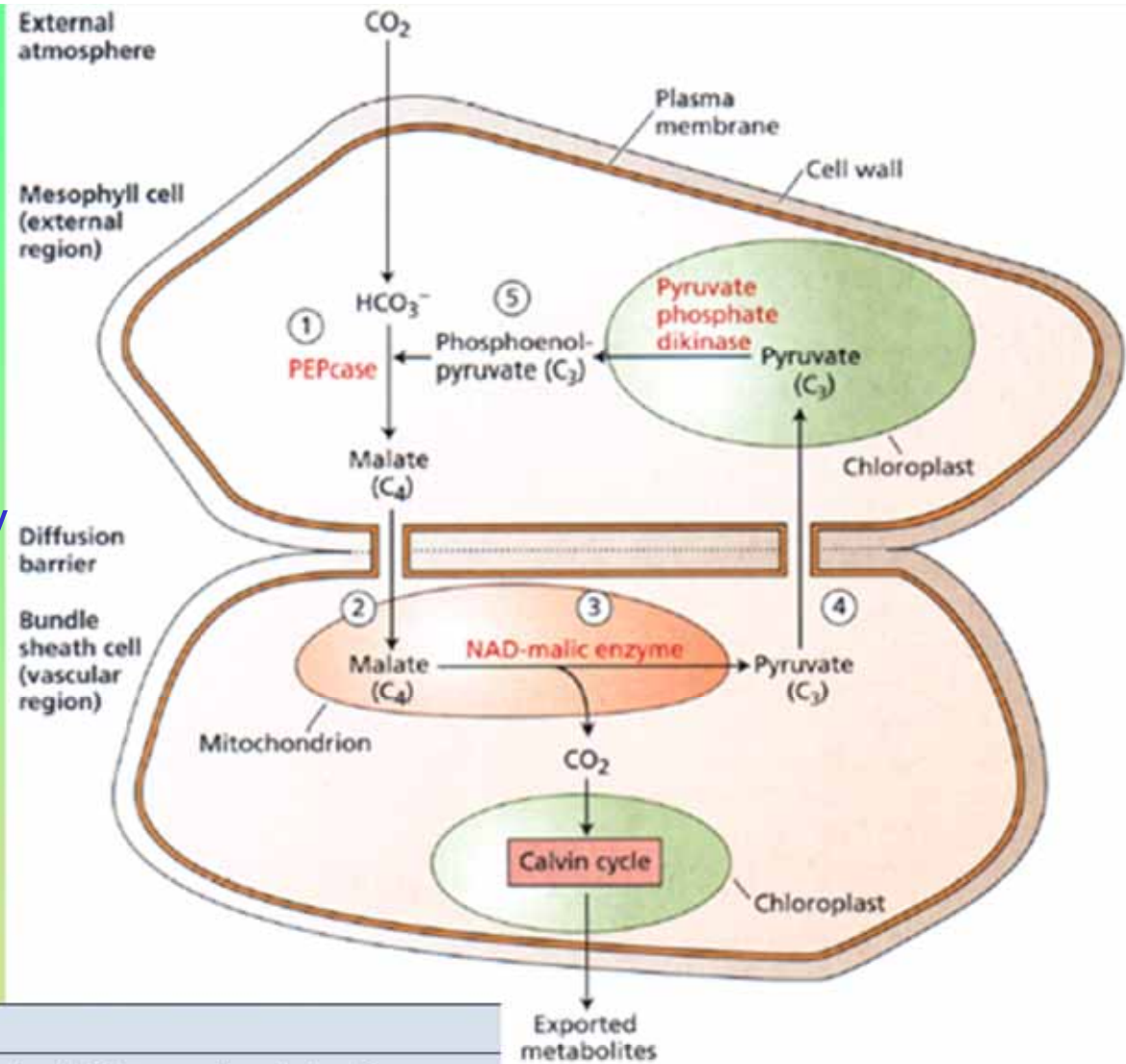
C4 cyklus

mesofilní buňky
buňky pochev cévních svazků

eliminace oxygenázové aktivity

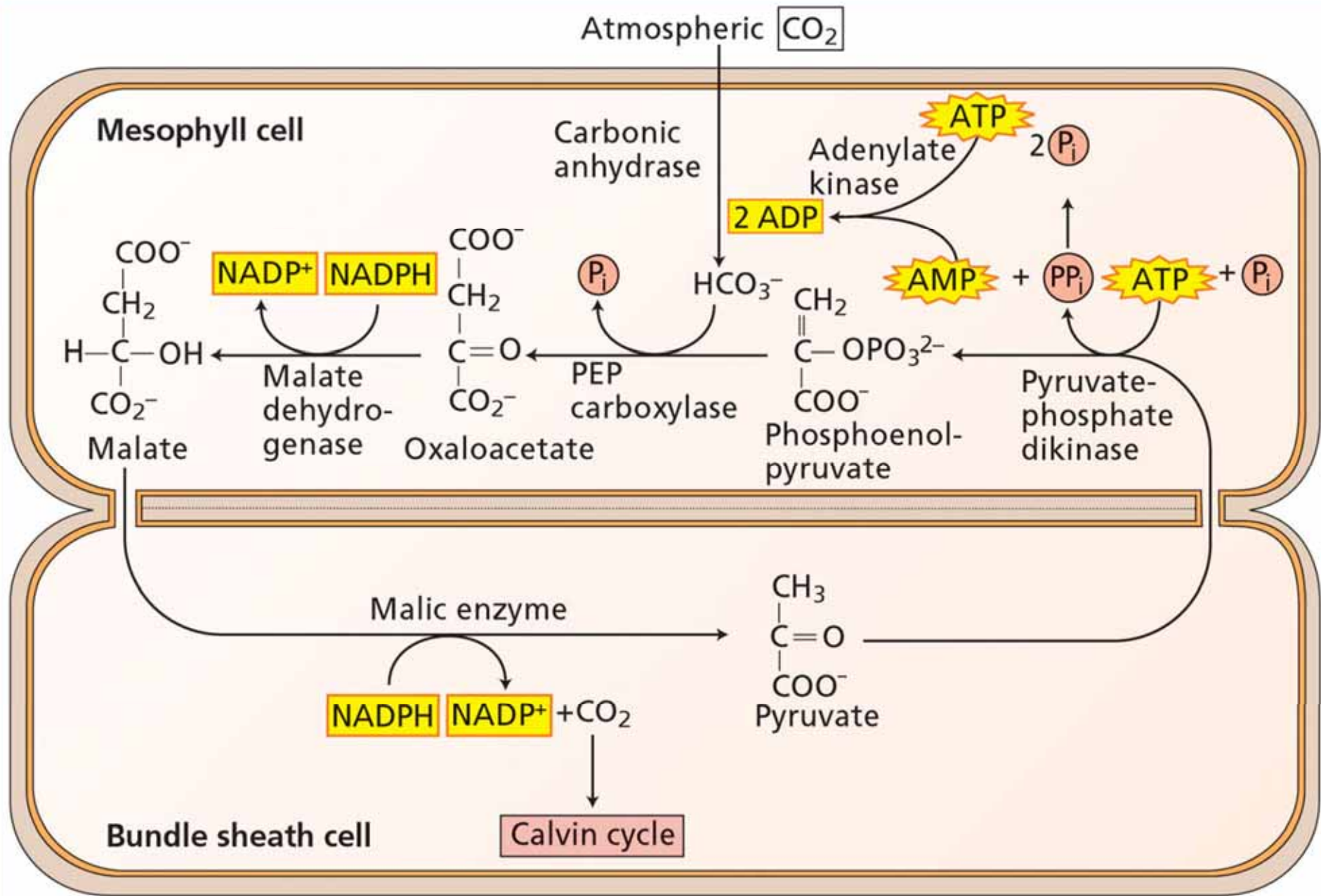
koncentrace $\text{CO}_2 \sim 15x$

z 5 na $70 \mu\text{M}$



Enzyme	Reaction
1. Phosphoenolpyruvate (PEP) carboxylase	$\text{Phosphoenolpyruvate} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{oxaloacetate} + \text{P}_i$
2. NADP:malate dehydrogenase	$\text{Oxaloacetate} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{malate} + \text{NADP}^+$
3. Aspartate aminotransferase	$\text{Oxaloacetate} + \text{glutamate} \rightarrow \text{aspartate} + \alpha\text{-ketoglutarate}$
4. NAD(P) malic enzyme	$\text{Malate} + \text{NAD(P)}^+ \rightarrow \text{pyruvate} + \text{CO}_2 + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+$
5. Phosphoenolpyruvate carboxykinase	$\text{Oxaloacetate} + \text{ATP} \rightarrow \text{phosphoenolpyruvate} + \text{CO}_2 + \text{ADP}$

Exported metabolites



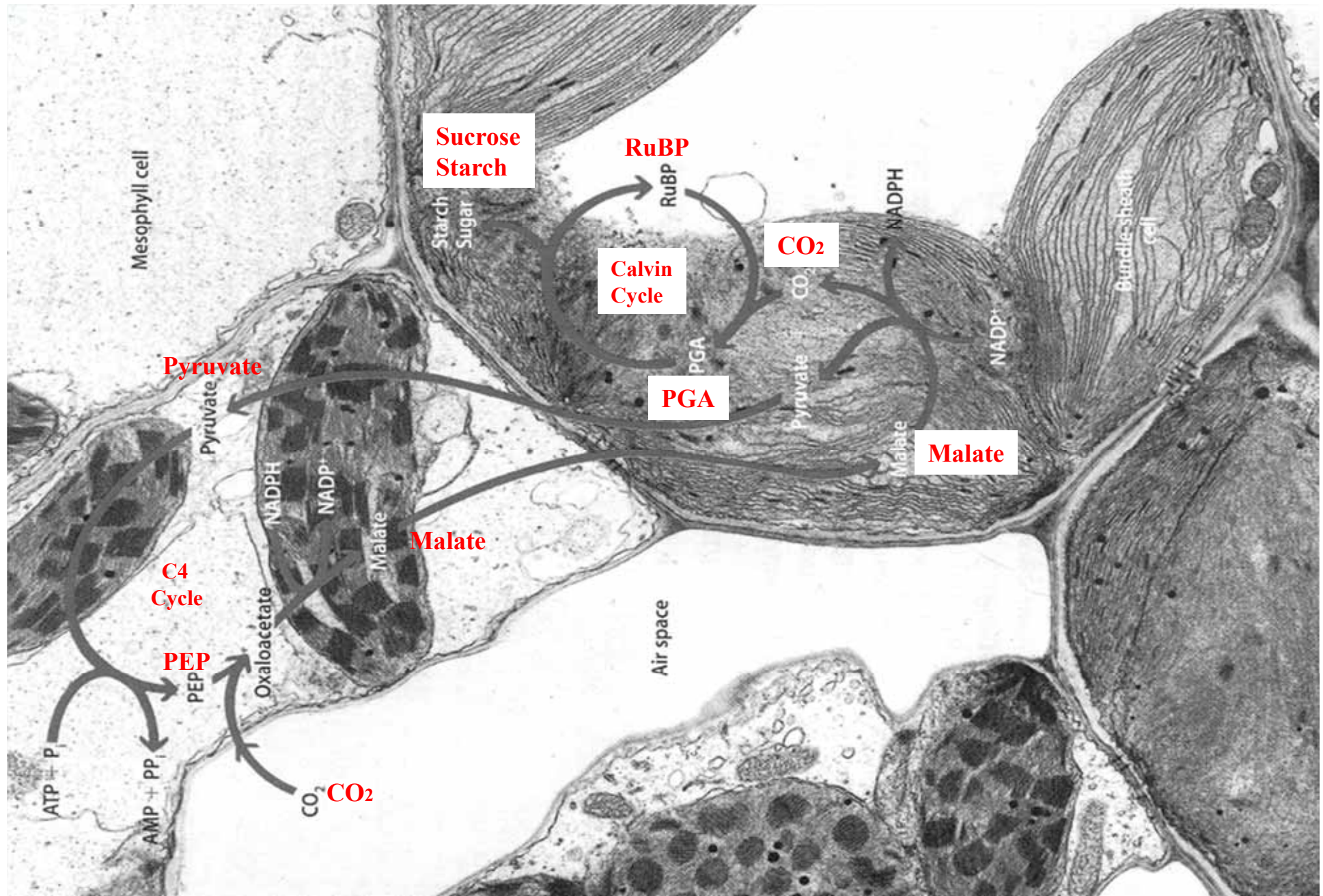


Figure 7-24

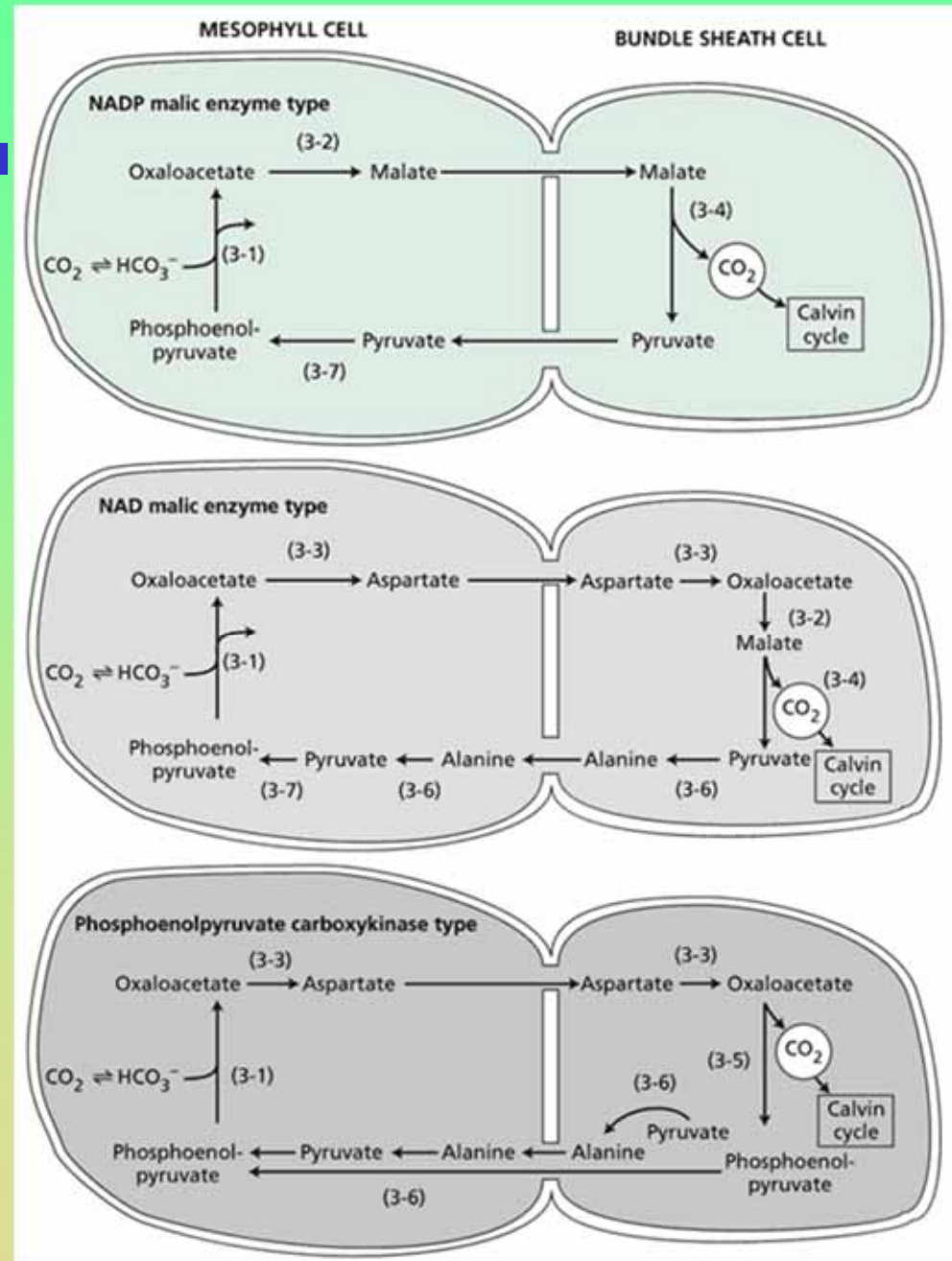
3 varianty C4 metabolismu

liší se podle C4 kyseliny, která přenáší C do věnčitých buněk a podle dekarboxylační reakce

NADP- malát

NAD malát

PEP karboxykináza



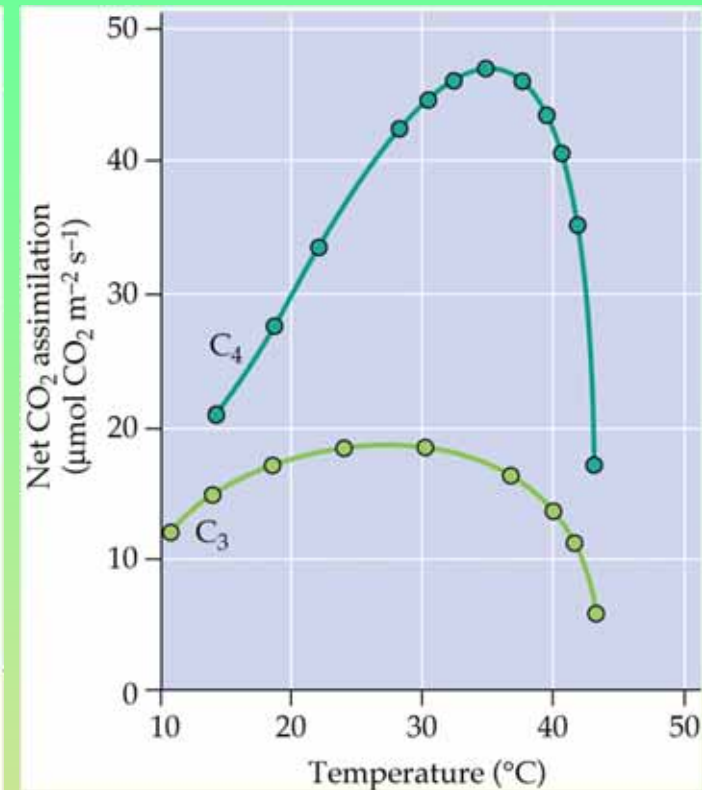
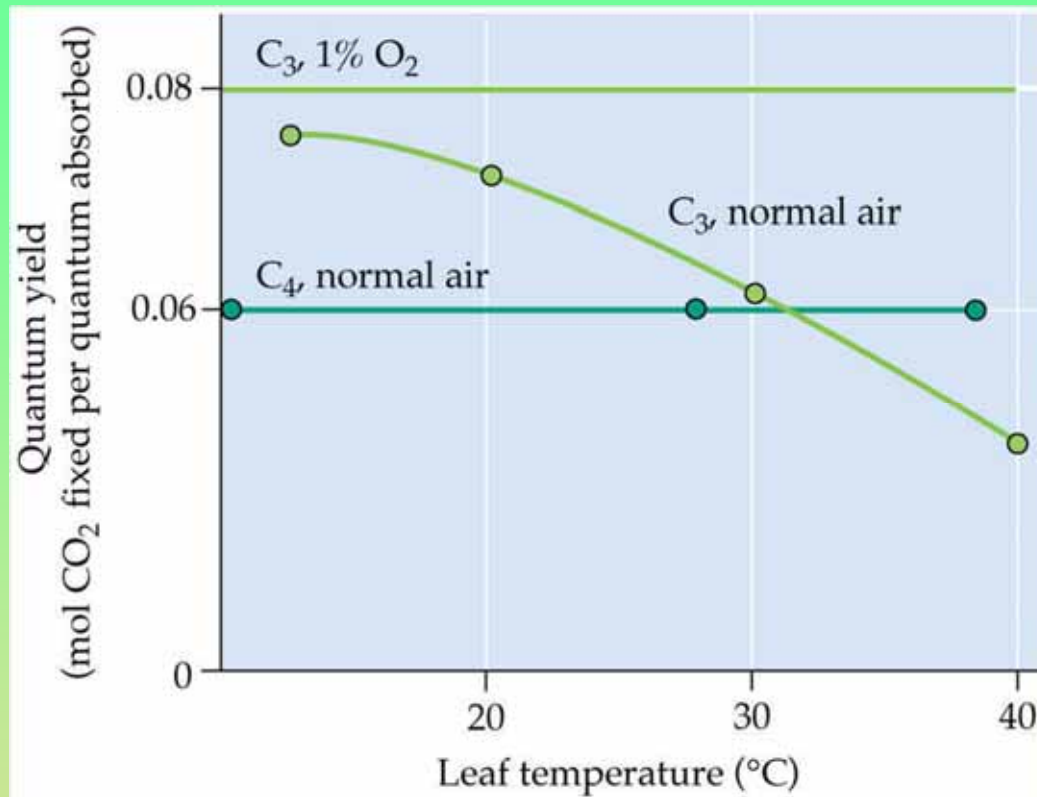
C4 cykly mají větší spotřebu energie než C3

TABLE 8.4
Energetics of the C₄ photosynthetic carbon cycle

Phosphoenolpyruvate + H ₂ O + NADPH + CO ₂ (mesophyll)	→	malate + NADP ⁺ + P _i (mesophyll)
Malate + NADP ⁺	→	pyruvate + NADPH + CO ₂ (bundle sheath)
Pyruvate + P _i + ATP	→	phosphoenolpyruvate + AMP + PP _i (mesophyll)
PP _i + H ₂ O	→	2 P _i (mesophyll)
AMP + ATP	→	2ADP
Net: CO ₂ (mesophyll) + ATP + 2 H ₂ O	→	CO ₂ (bundle sheath) + 2ADP + 2 P _i

Cost of concentrating CO₂ within the bundle sheath cell = 2 ATP per CO₂

	NADP-ME	NAD-ME	PEPCK
ATP Required			
C4 Cycle	2	2	3
PCR Cycle	3	3	3
Total ATP	5	5	6
NADPH Required			
C4 Cycle	1	0	0
PCR Cycle	1	2	2
Total NADPH	2	2	2



Díky substrátové specifitě PEPC pro HCO₃⁻ nedochází ke kompetici s O₂ (oxygenaci) za vyšších teplot

Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO₂**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO₂**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**
- **Syntéza cukrů a škrobu**

CAM = crassulacean acid metabolism

metabolismus kyselin u tučnolistých

aridní rostliny „rostliny CAM“

charakteristické jsou silné kutikuly, velké vakuoly, malá stomata

CAM rostliny:

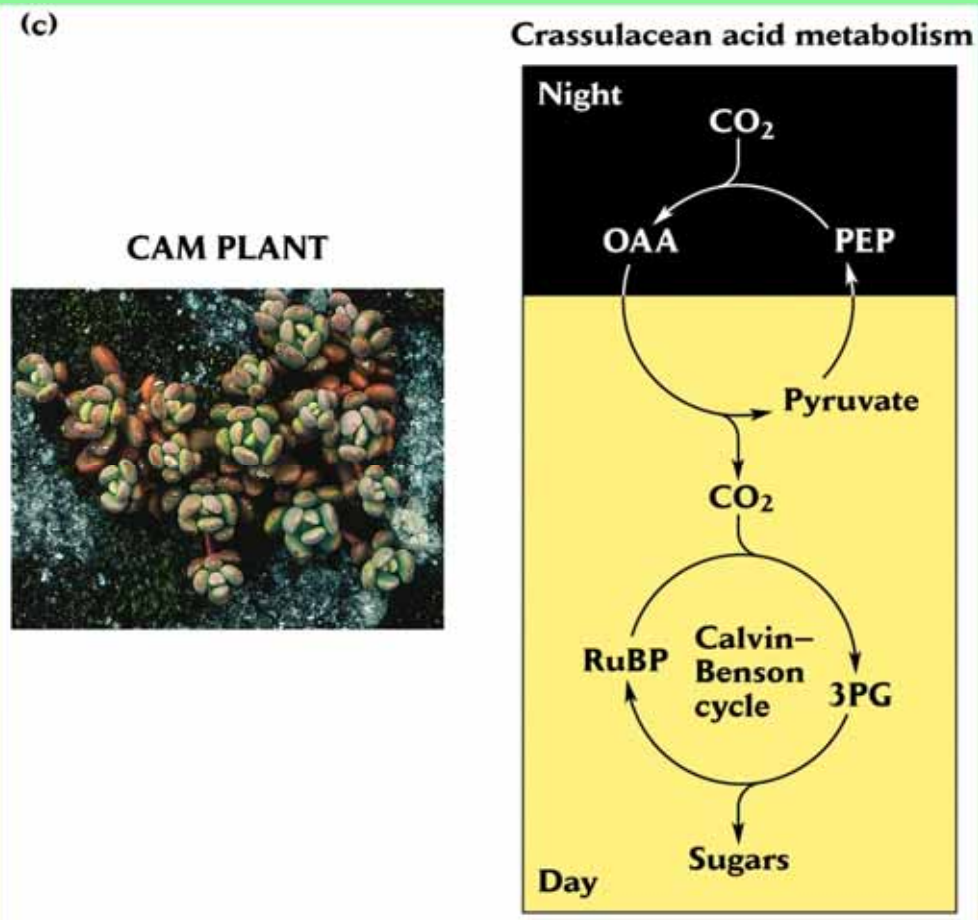
50 -100 g H₂O na 1 g fixovaného CO₂

C4 rostliny

250 – 300 g H₂O

C3 rostliny

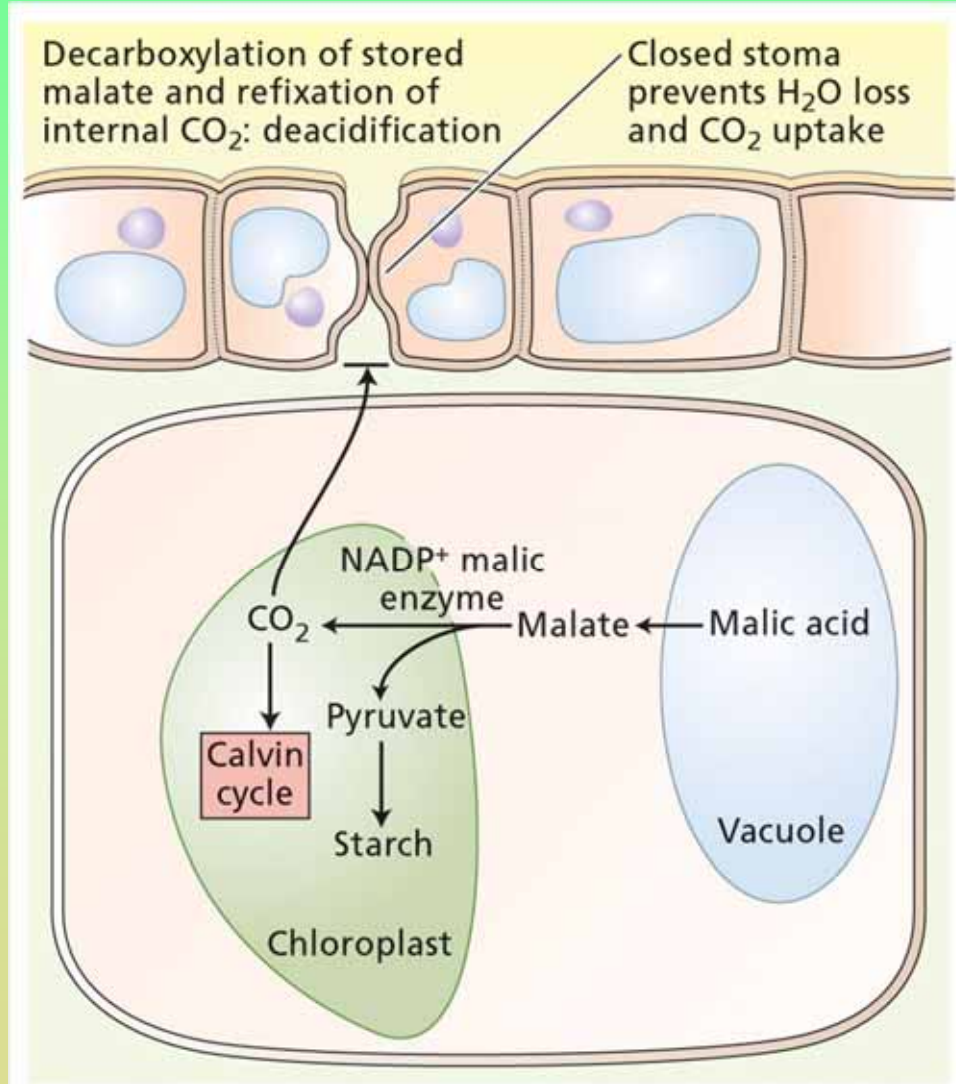
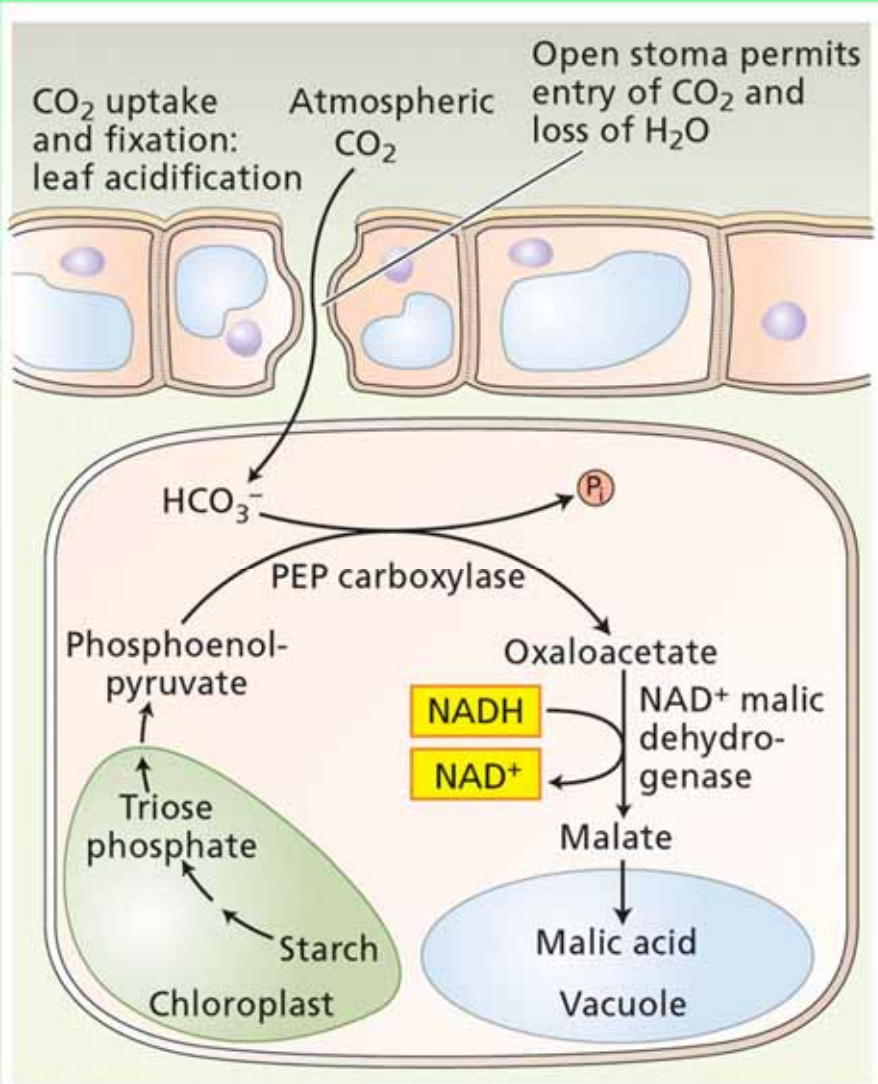
400 - 500 g H₂O



CAM metabolismus

tma

světlo



Konec