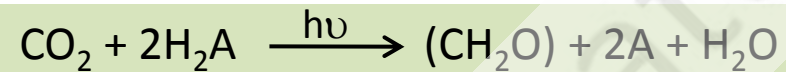


Fotosyntéza

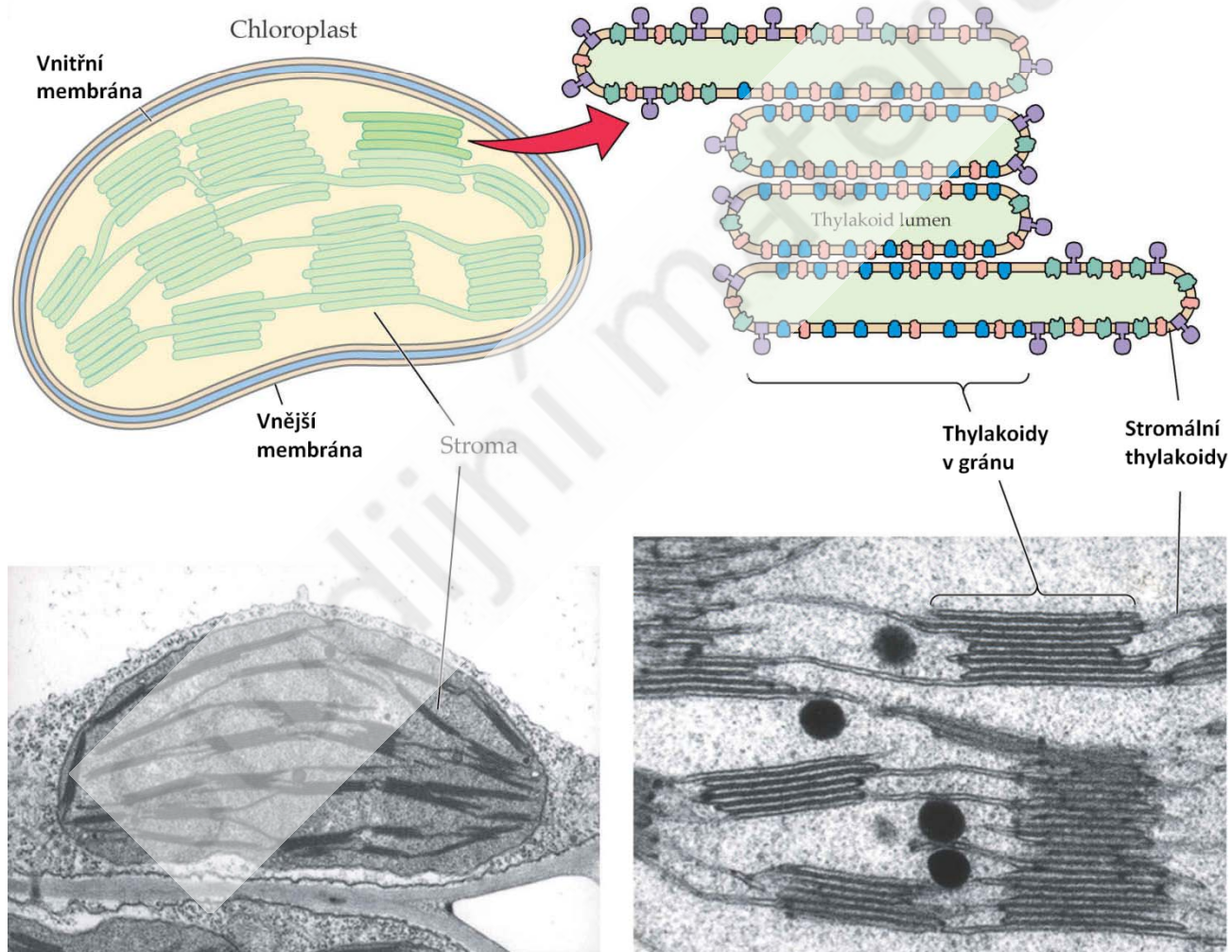


- Využití světla k syntéze organických látek z anorganických (redukce)
- Je to oxidačně-redukční proces, kdy CO_2 slouží jako akceptor elektronů a látka H_2A jako donor elektronů



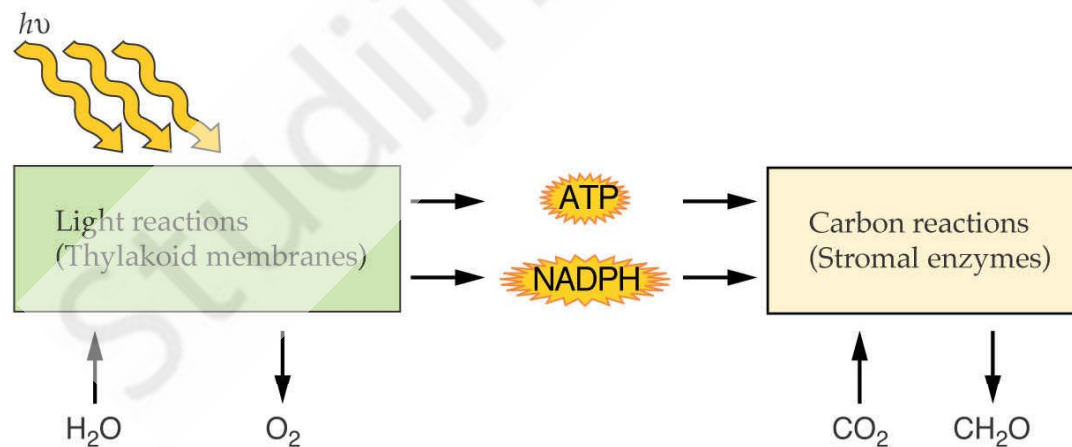
- Jedná se o endergonický děj, kdy na 1 mol glukosy připadá $\Delta G = 2840$ kJ
- Celá řada prokaryontických organismů provádí anoxygenní elektroforézu, kdy jako donor elektronů je např. sirovodík.
- Fotosyntéza probíhá ve specializovaných plastidech – chloroplastech
- Chloroplasty rostlin zřejmě vznikly endo-symbiotickou asociací proto-eukaryontní buňky a fotosyntetické bakterie (*cyanobacteria*)

Struktura chloroplastu



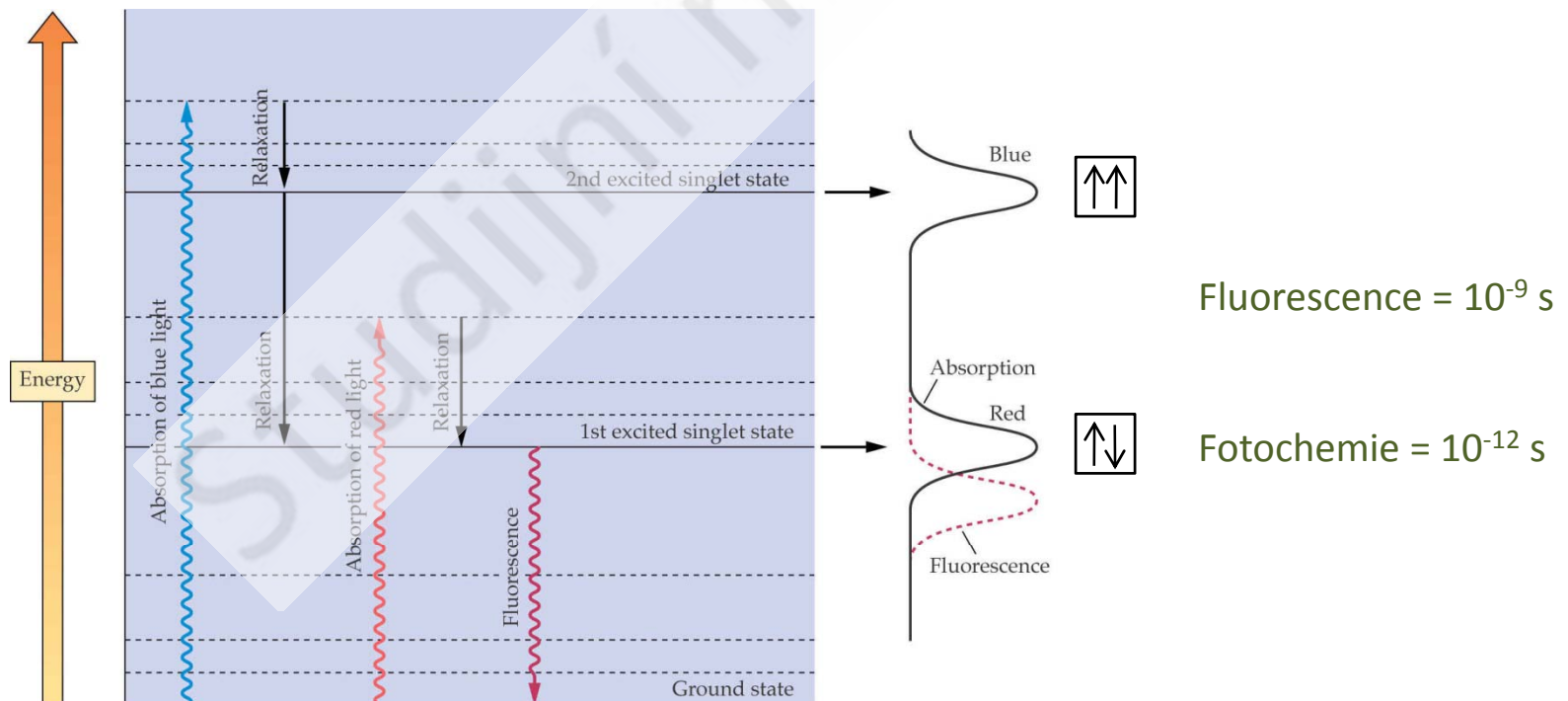
Proces fotosyntézy má dvě fáze

- Tzv. světelná fáze, při které se generuje O_2 , ATP a NADPH
- Tzv. Calvinův cyklus, při kterém se spotřebovává ATP a NADPH při redukci CO_2 a cukry
- Obě dvě fáze se uskutečňují v odlišných částech chloroplastů:
 - světelná fáze na thylakoidní membráně
 - Calvinův cyklus ve stromatu
- I při Calvinově cyklu je nutná přítomnost světla pro regulaci



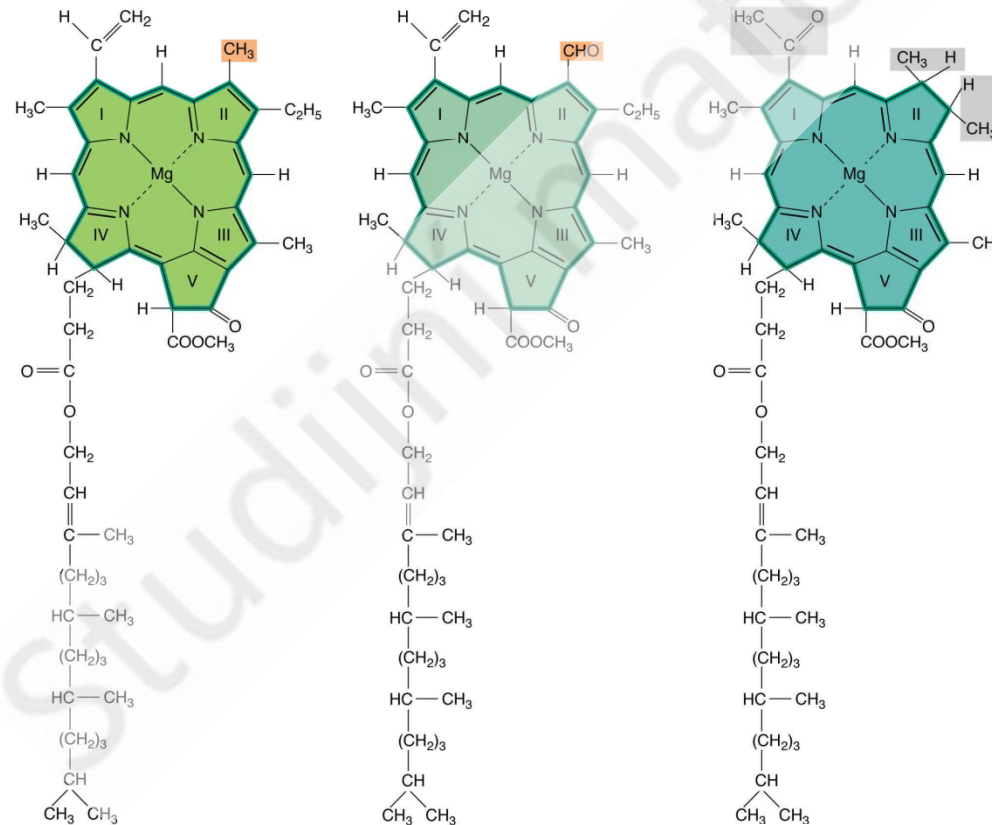
Absorpce světla

- světlo má vlastnosti jak světla, tak vlnění
- 1 foton má energii = hc/λ
 - 1 mol fotonů o vl. Délce 490 nm = 240 kJ
 - 1 mol fotonů o vl. Délce 700 nm = 170 kJ
- světlo je absorbováno pigmenty, kdy absorpce světla vede k excitaci pigmentu



Absorpce světla

- Téměř všechny fotosyntetické organismy obsahují pigmenty chlorofyly
- Anaerobní fotosyntetické bakterie syntetizují bakteriochlorofyl



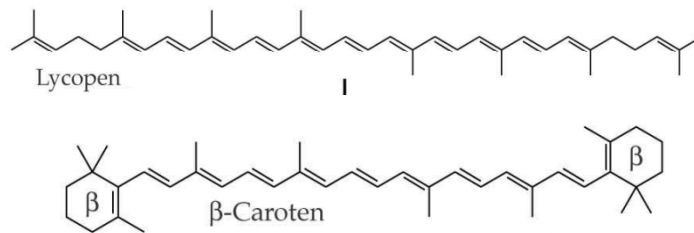
Chlorofyl a

Chlorofyl b

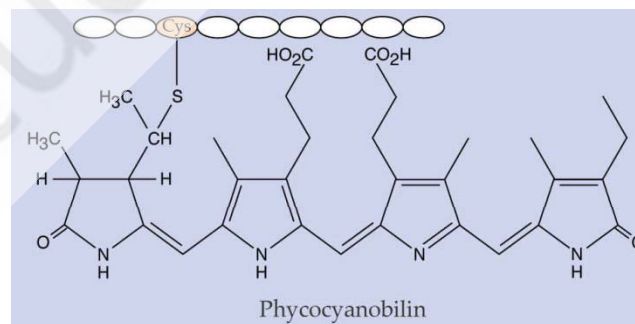
Bakteriochlorofyl b

Absorpce světla

- další pigmenty účastníci se absorpcí světla jsou karotenoidy

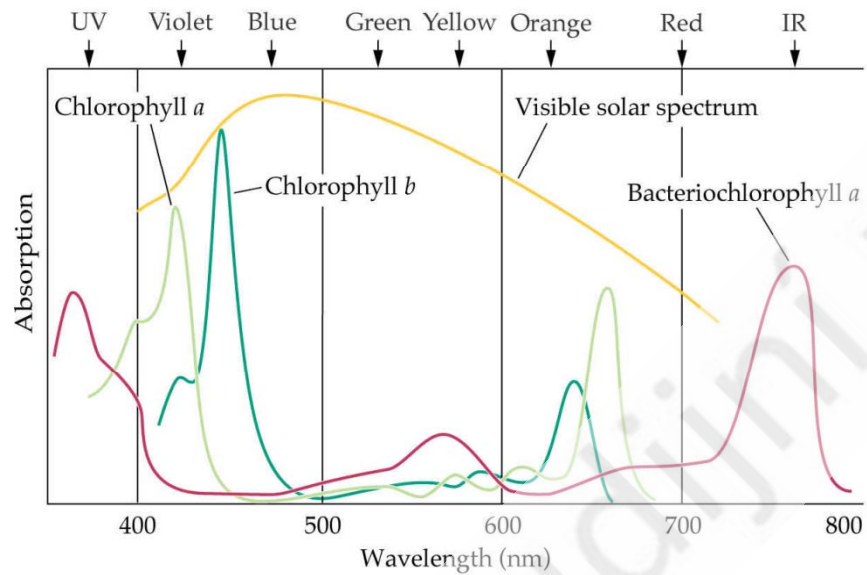


- karotenoidy absorbují světlo mezi 400 a 500 nm a jejich hlavní funkcí je ochrana fotosyntetického centra před fotooxidačním poškozením - fotoinhibicí, především singletovým kyslíkem
- Červené řasy a cyanobakterie obsahují fykobiliny organizované do komplexní struktury fykobilisomů

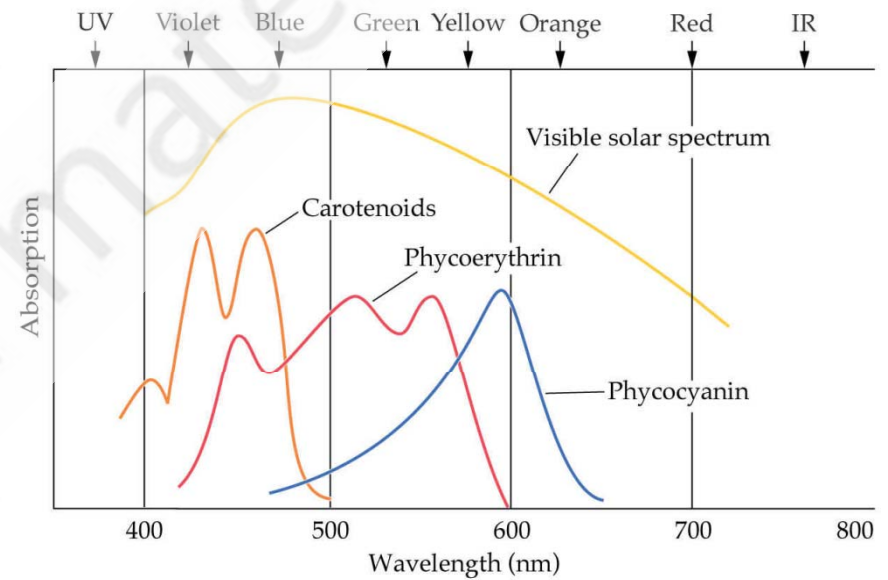


Absorpce světla

Chlorofyly



Ostatní pigmenty



Fotochemická reakční centra

- všechny organismy produkující kyslík obsahují dva různé komplexy fotochemických center, Fotosystém I (PSI) a Fotosystém II (PSII)
- fotosyntetická centra se liší složením molekul přenášejících elektrony:

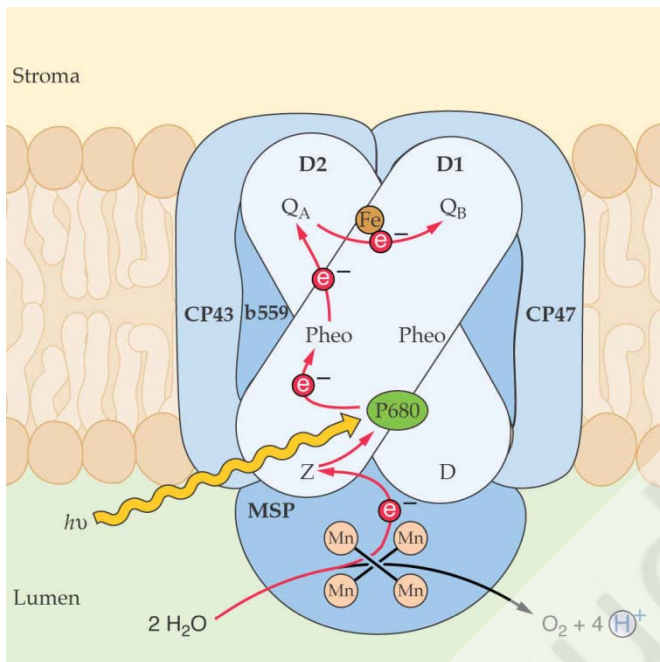
Přenašeč	PSI	PSII
Reakční centrum s chlorofyly	P700	P680
A ₀	Chlorofyl a	Feofytin a
A ₁	Fylochinon	Plastochinon (Q _A)
A ₂	Fe-S centrum	Plastochinon (Q _B)



- každý fotosystém mimo reakčního centra obsahuje tzv. antény zodpovědné za “sběr” světla
- anténa většinou obsahuje kolem 250 molekul chlorofylu a,b, kdy hlavní funkcí je sběr a přenos energie do centra

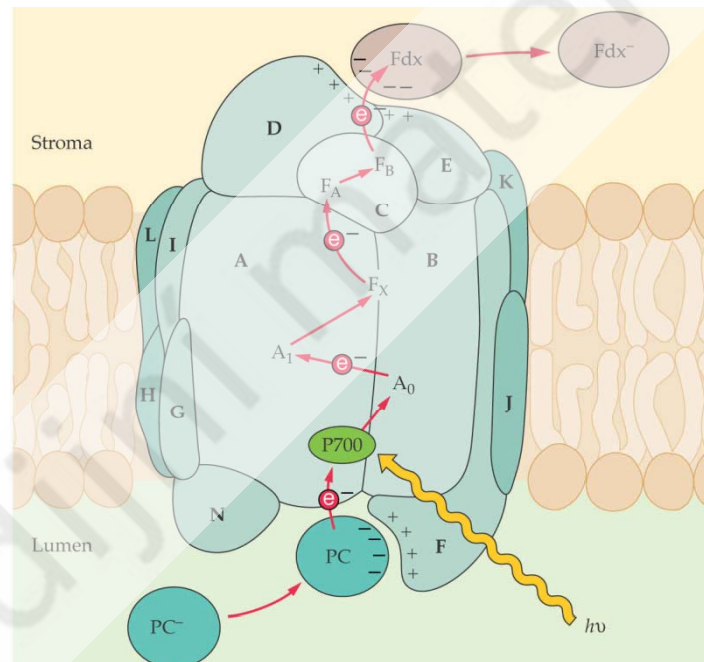
Struktura fotochemických center

PSII centrum

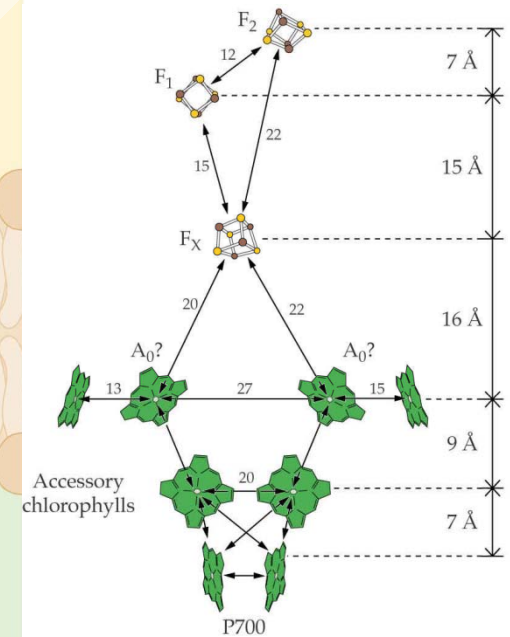


Q_A, Q_B - Plastochinon

PSI centrum



F_x, F_A, F_B – Fe-S klastr

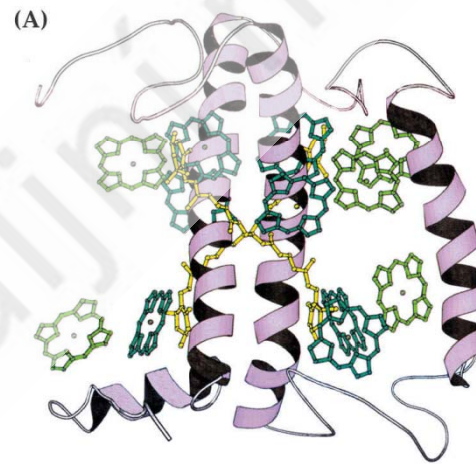


Sběr světla

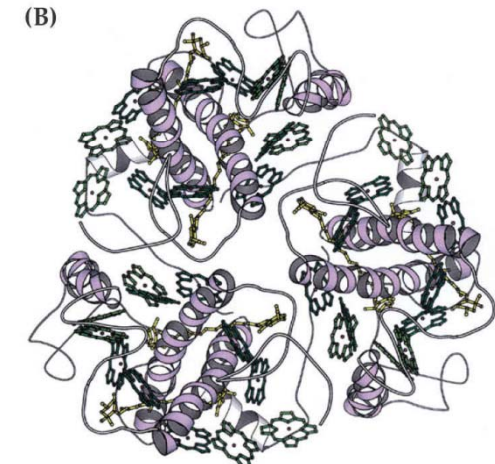
- hlavním proteinem vázající pigment v membráně chloroplastů je light-harvesting complex II (LHC-II)
- LHC-II komplex tvoří přibližně 50% proteinů thylakoidní membrány, váže 12 molekul chlorofylu a,b a 2 molekuly karotenoidů

Struktura LHCII centra

Komplex	Poměr Chl a/b
LHC komplexy asociované s PSI	
LHCIIa	2-3.1
LHCIIb	2.2-4.4
LHC komplexy asociované s PSII	
LHCIIa	4.0
LHCIIb	1.35
LHCIIc	2.9
LHCIIId	1.51



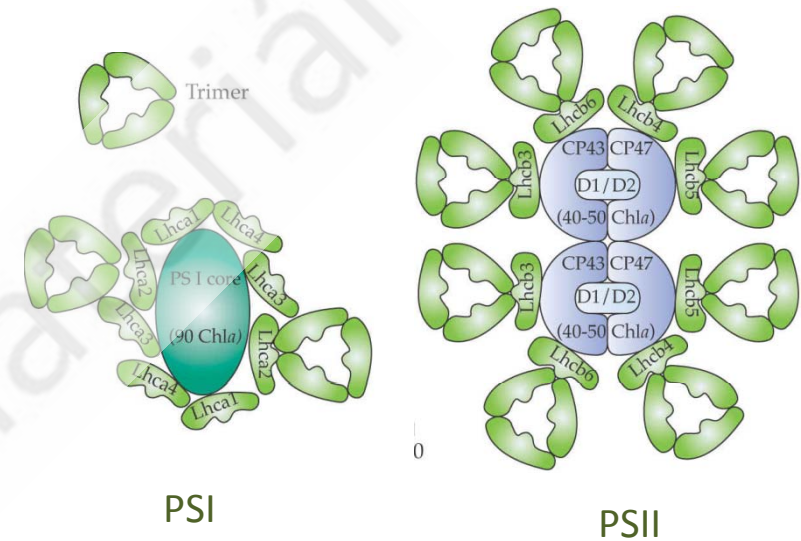
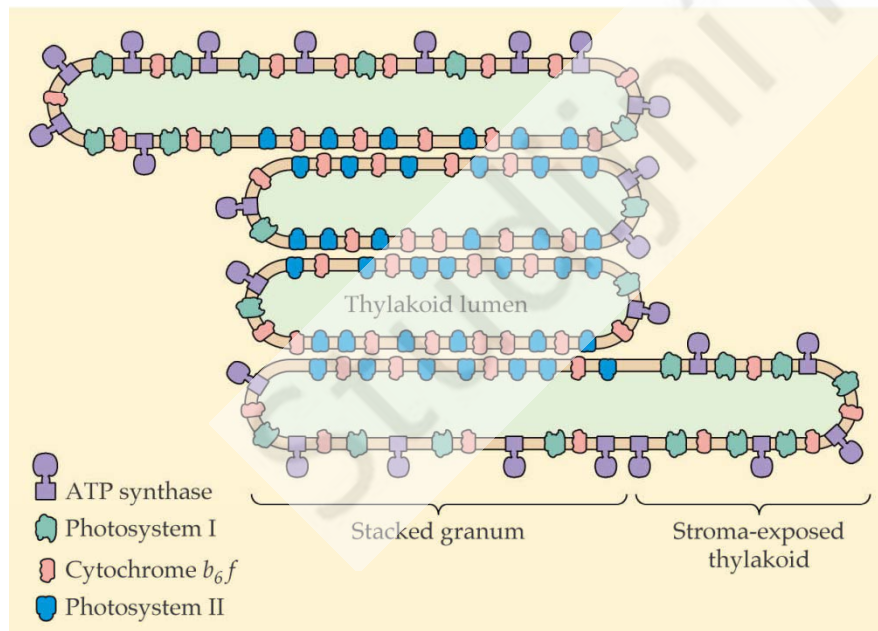
Monomer



Trimer

Lokalizace komplexů na thylakoidní membráně

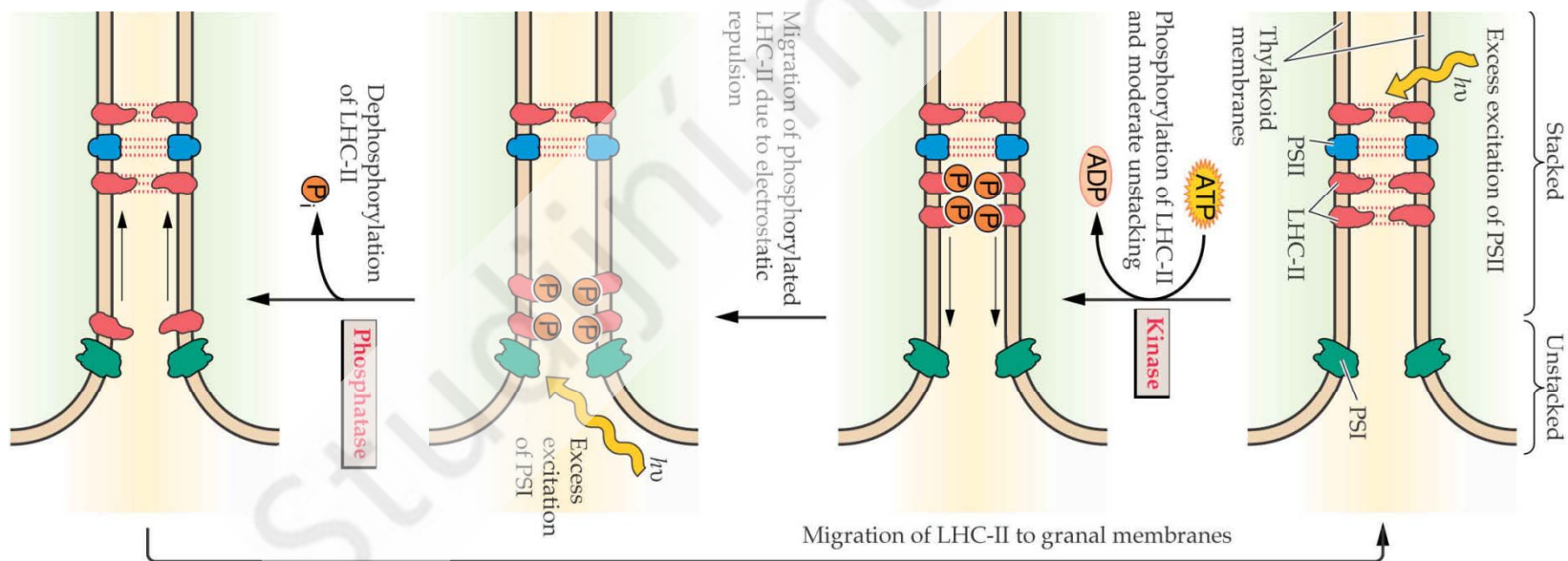
- PSI systém se nalézá především na neposkládané membráně vystavené do stromy
- PSII systém se nalézá především na poskládané nebo-li granální části membrány



Složka	Grana	Stroma
PSII	85	15
PSI	10	90
Cytochrom b_6f komplex	50	50
LHCII	90	10
ATP syntasa	0	100
Plastocyanin	40	60

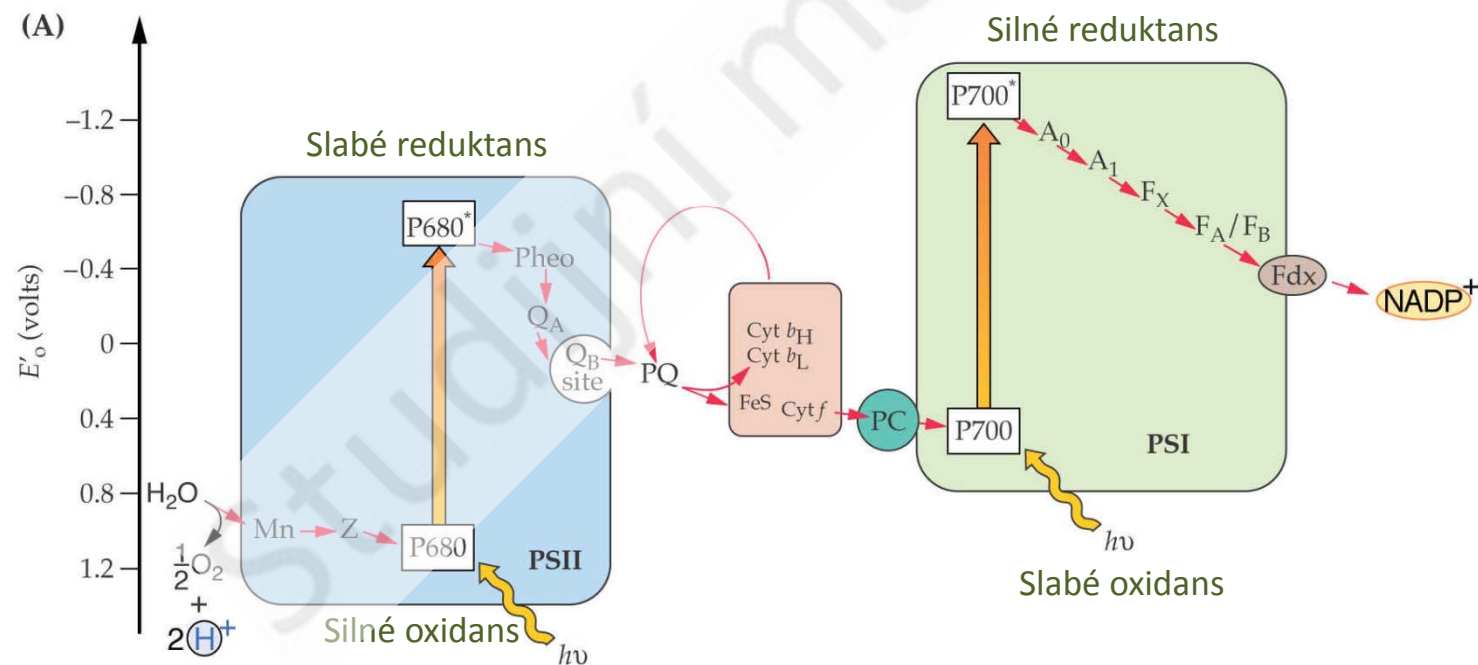
Regulace distribuce energie mezi PSI a PSII

- regulace se účastní redox-aktivovaná kinasa fosforylující LHCII komplex
- kinasa fosforyluje LHCII pouze pokud je vysoký obsah redukováného plastochinonu
- po fosforylaci migruje LHCII z granální části membrány do stromální



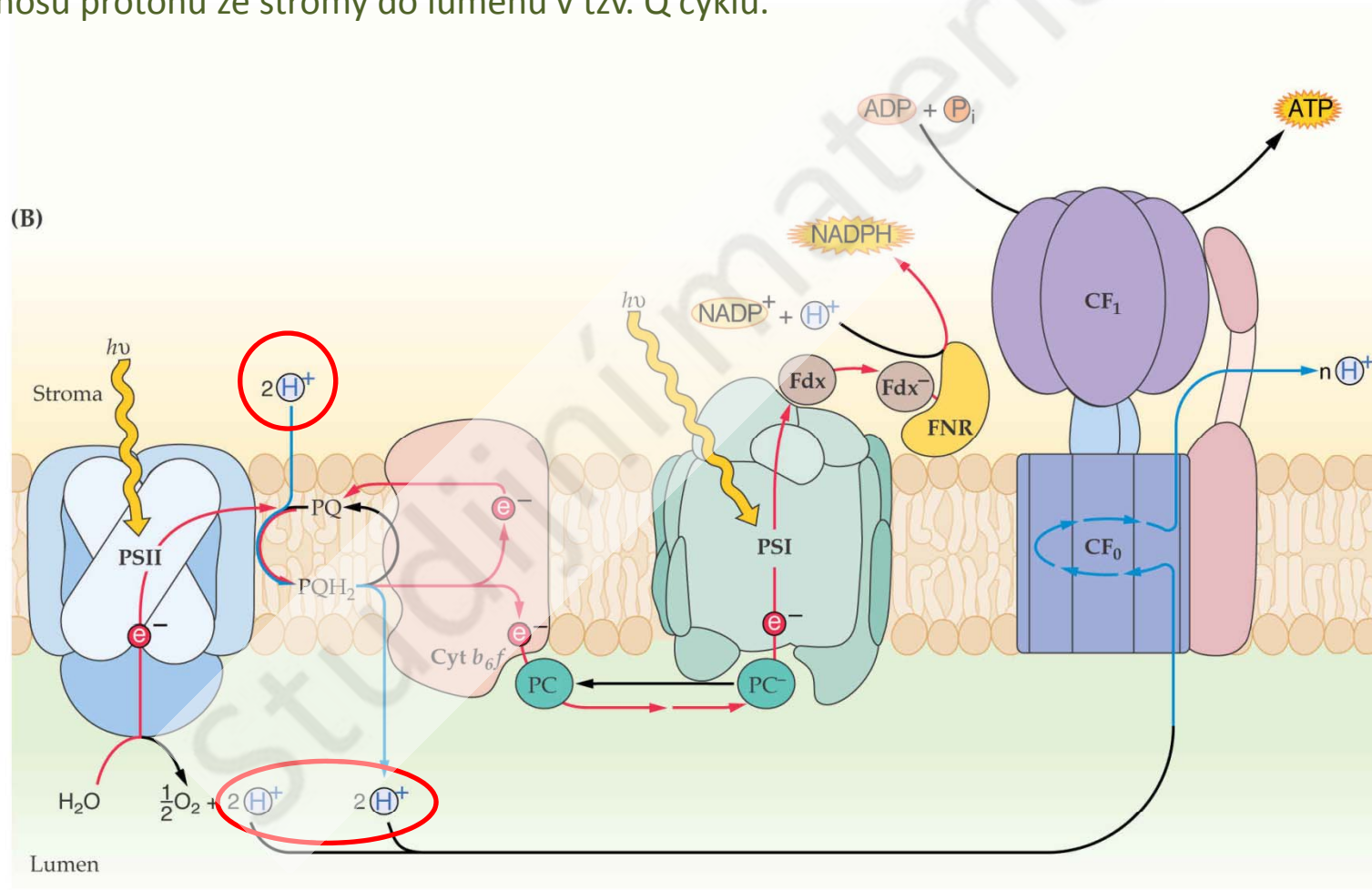
Ne-cyklický transport elektronů produkující O₂, NADPH a ATP

- model přenosu elektronů mezi jednotlivými komplexy při ne-cyklickém transportu udává tzv. Z-schéma
- oxidace vody a exergonický proces přenosu elektronů vedou k vytvoření protonového gradientu, který je využit pro tvorbu ATP



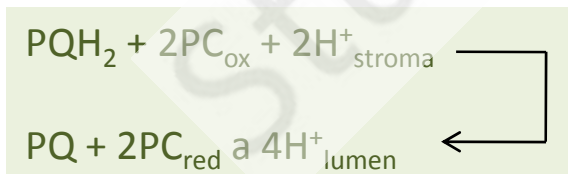
Z - schéma

- PSII systém přenáší elektrony z vody na plastochinon, kdy při redukci plastochinonu dochází k přenosu protonů ze stromy do lumenu v tzv. Q cyklu.

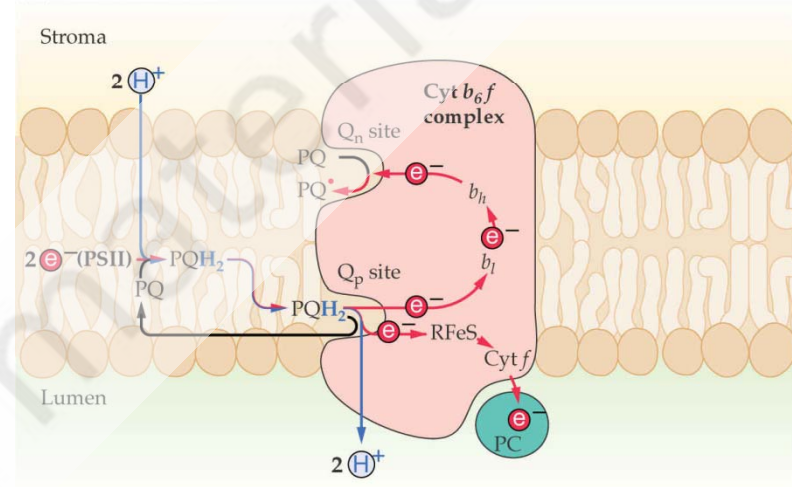


Q cyklus

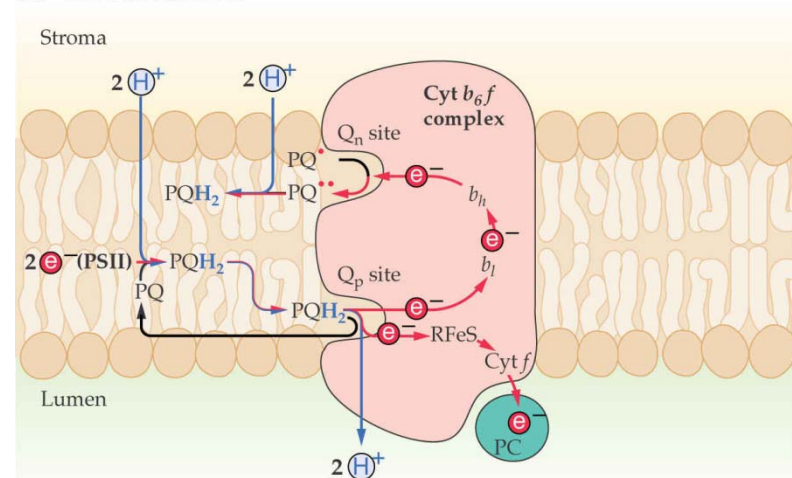
1. Elektron je uvolněn z P680 a přenesen na Q_A^- za tvorby Q_A^-
2. Následně je elektron přenesen na Q_B^- , kdy vzniká semichinon Q_B^- a Q_A^- se vrací na Q_A
3. Poté je uvolněn z P680 druhý elektron a přenesen na Q_A^- za tvorby Q_A^-
4. Druhý elektron je přenesen na semichinon Q_B^- za tvorby plně redukovaného chinonu Q_B^{2-}
5. Nakonec chinon Q_B^{2-} váže dva protony ze stromální strany membrány za tvorby plastochinolu $Q_B H_2$



(A) First turnover

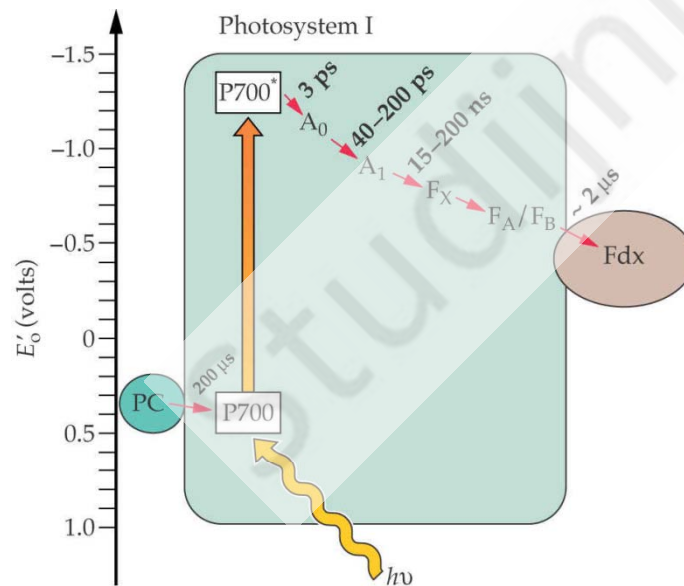


(B) Second turnover

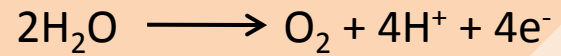


Fotosystém 1 (PS1)

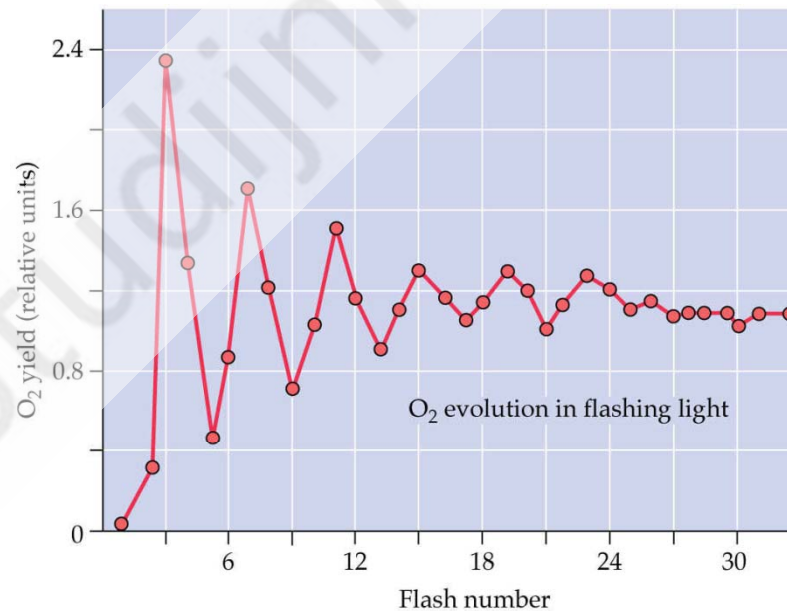
- Přenos elektronů mezi fotosystémem I a II zprostředkovává plastocyanin obsahující měď
- PSI komplex obsahuje asi 15 proteinových podjednotek účastnících se vazby a přenosu elektronu a vazby ferredoxinu
- Elektrony z PSI jsou přenášeny na ferredoxin (2Fe-2S) lokalizovaný ve Stromatu
- Redukce NADP^+ probíhá přes ferredoxin-NADP⁺ reduktasu (FNR) obsahující FAD



Oxidace vody na kyslík

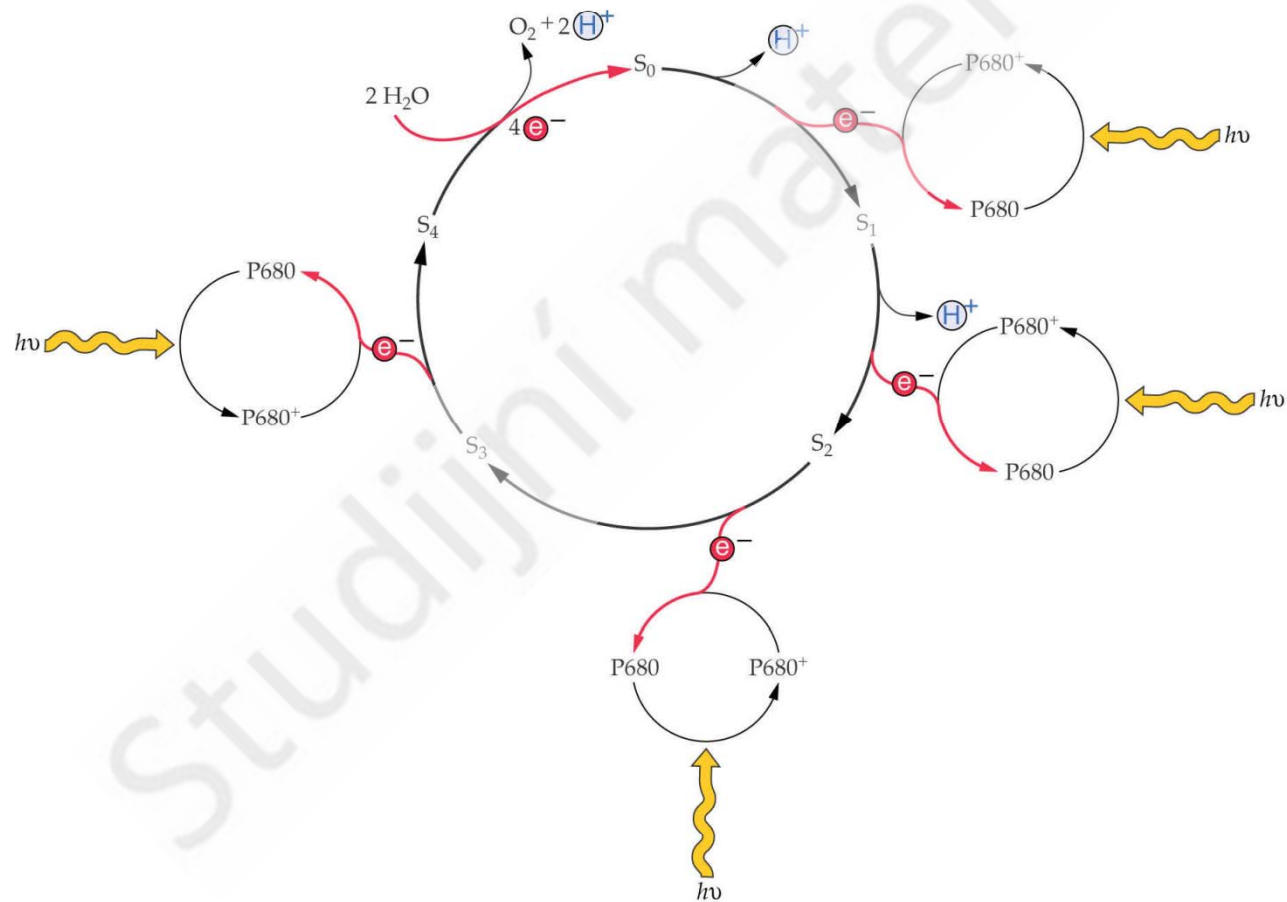


- Reakční centrum PSII se po absorpci světla stává silným oxidans (+820mV) schopným provést 4 elektronovou oxidaci vody na kyslík.
- při jedno-elektronovém transportu by vznikaly velmi reaktivní formy kyslíku, systém musí akumulovat elektrony
- Mechanismus produkce O_2 byl sledován během série krátkých záblesků



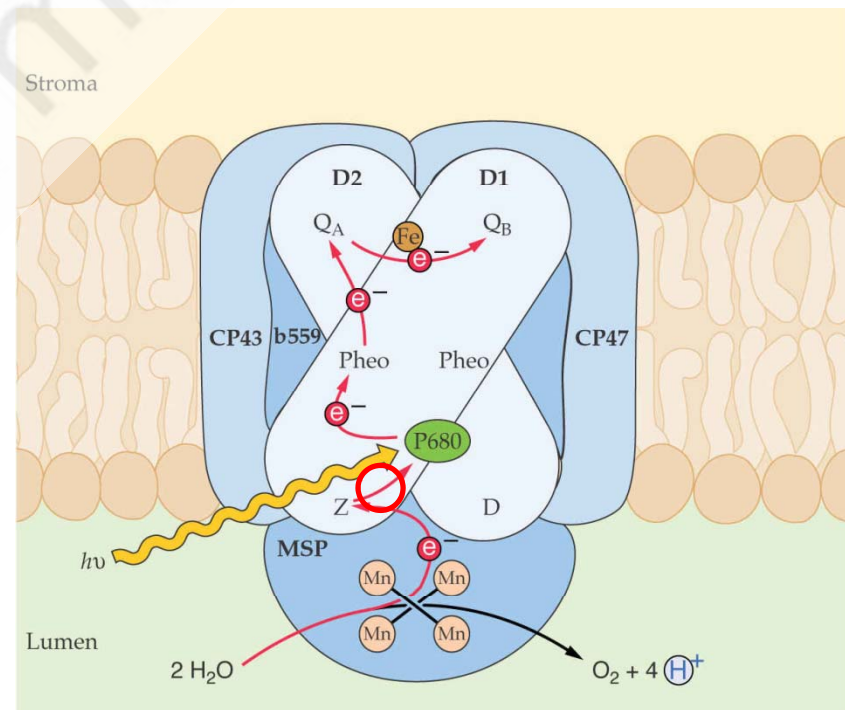
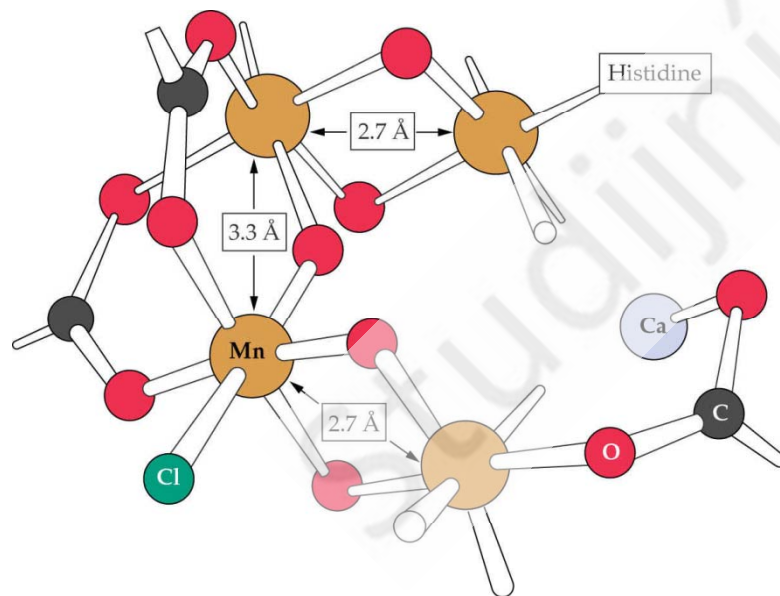
Oxidace vody na kyslík

- Výsledkem pokusů bylo navržení tzv. S-modelu

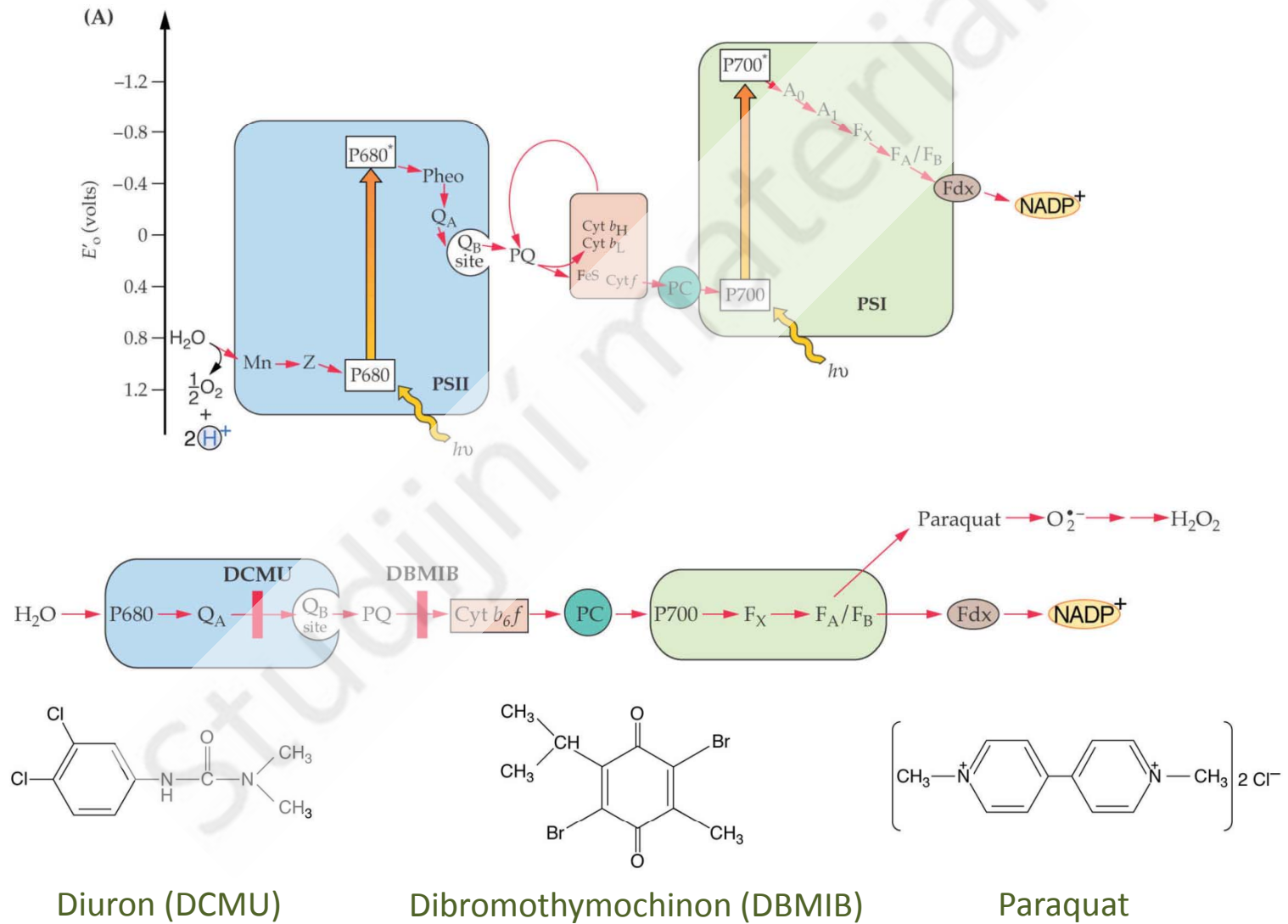


Oxidace vody na kyslík

- Komplex oxidující vodu na kyslík (S-klastr) obsahuje mangan (studie na řasách rostoucích při nedostatku manganu)
- Později byli identifikovány ještě dva další kofaktory, atom chlóru a vápníku
- Spojku mezi S-klastrem a centrem P680 zprostředkovává přenašeč nazvaný "Z" (zbytek Tyr).

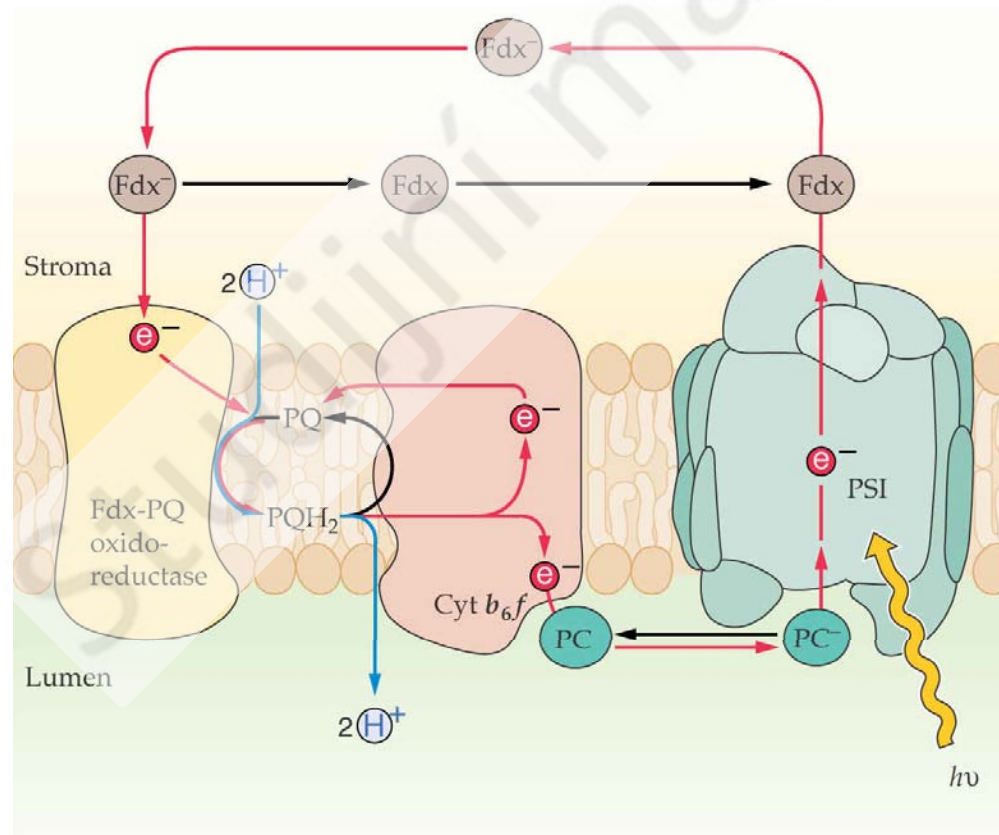


Inhibitory fotoszintézy



Cyklický transport elektronů

- Cyklického transportu elektronů se účastní pouze fotosystém PSI a produktem je pouze ATP
- Je vyžadován kofaktor – feredoxin a enzym Fdx-plastochinon oxidoreduktasa
- Role tohoto systému *in vivo* je nejasná, byl prokázán *in vitro* pomocí inhibitorů



Syntéza ATP v chloroplastech

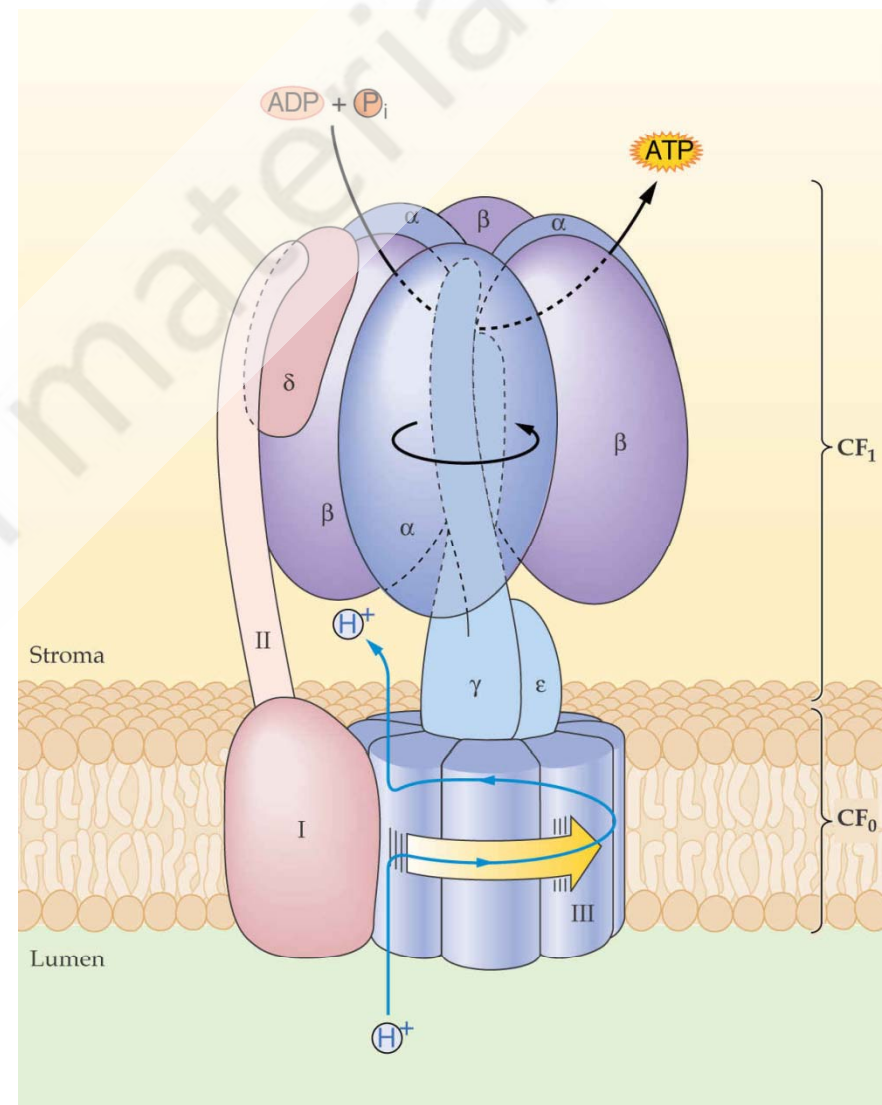
- Syntéza ATP závisící na světle je nazývána fotofosforylací a je velmi podobná oxidační fosforylaci v mitochondriích
- Syntéza ATP je energeticky spřažena s transportem protonů
- Na každé 2 protony přenesené z vody na NADP⁺ připadá 1 molekula ATP (necyklická fotofosforylace)
- Syntéza ATP je vysvětlena chemi-osmotickým modelem (Mitchell, 1960s) využívající iontový gradient ne semi-permeabilní membráně.
- U chloroplastu se akumulují protony v luménu, kdy výsledný gradient vytváří proton-motivní sílu (pmf)

$$\text{pmf} = \Delta\text{pH} + \Delta\psi / 96,5 \text{ KJ}\cdot\text{V}^{-1}\text{mol}^{-1}$$

- chemiosmotický model predikuje přesnou stechiometrii H⁺ / ATP, kdy je pravděpodobně 4H⁺/ATP

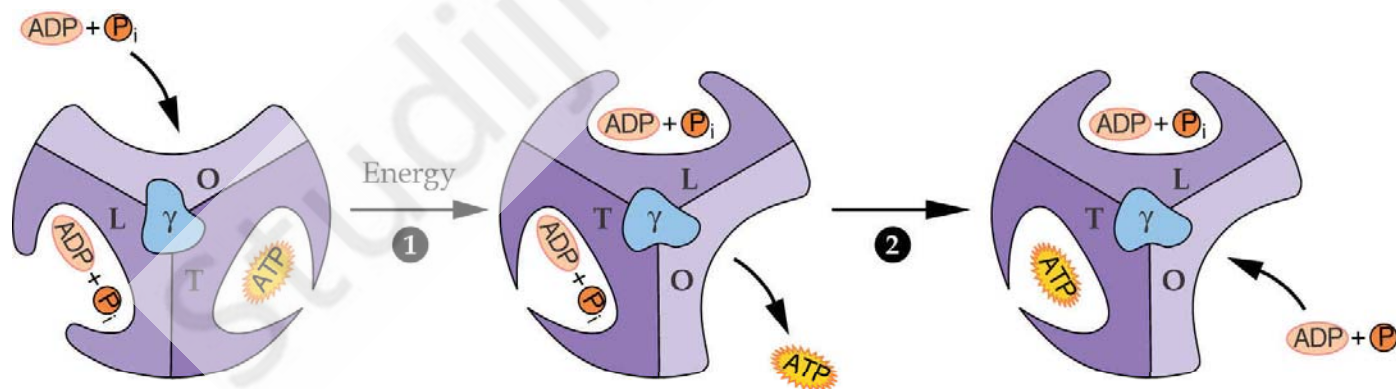
ATP syntáza

- skládá se ze dvou částí, CF_0 a CF_1
- skládá se z devíti různých podjednotek
- α a β podjednotky váží ADP a P_i
- δ podjednotka spojuje CF_0 a CF_1 část
- γ podjednotka kontroluje tok protonů a je regulována ferredoxin/thioredoxin mechanismem
- ATP syntáza může mít rovněž ATPasovou aktivitu



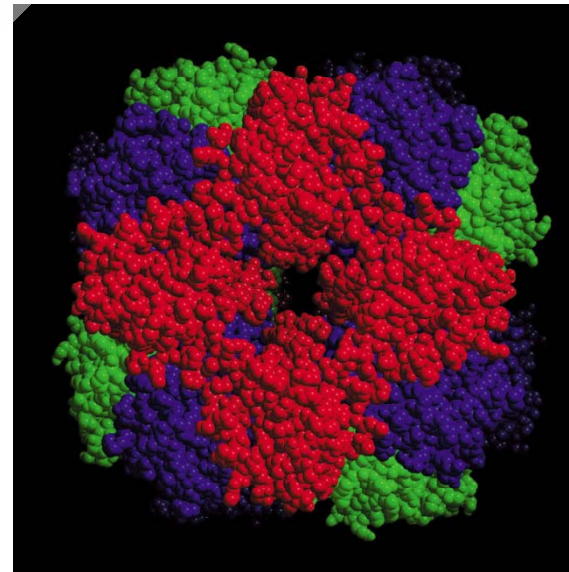
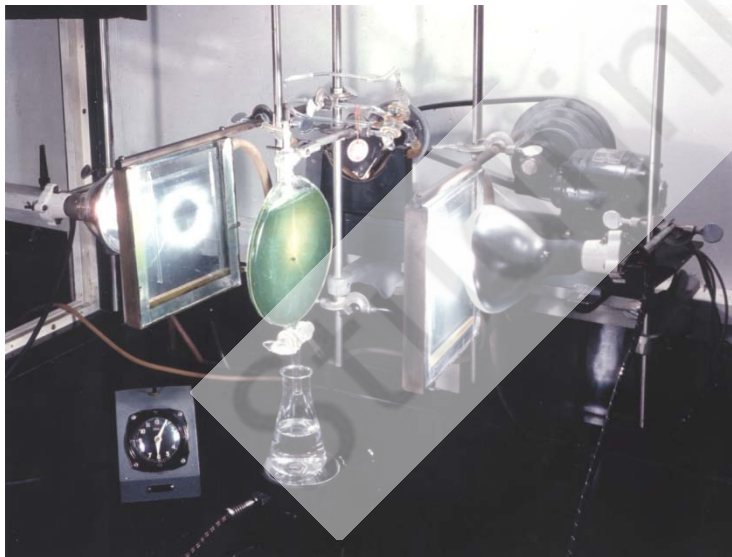
ATP syntáza

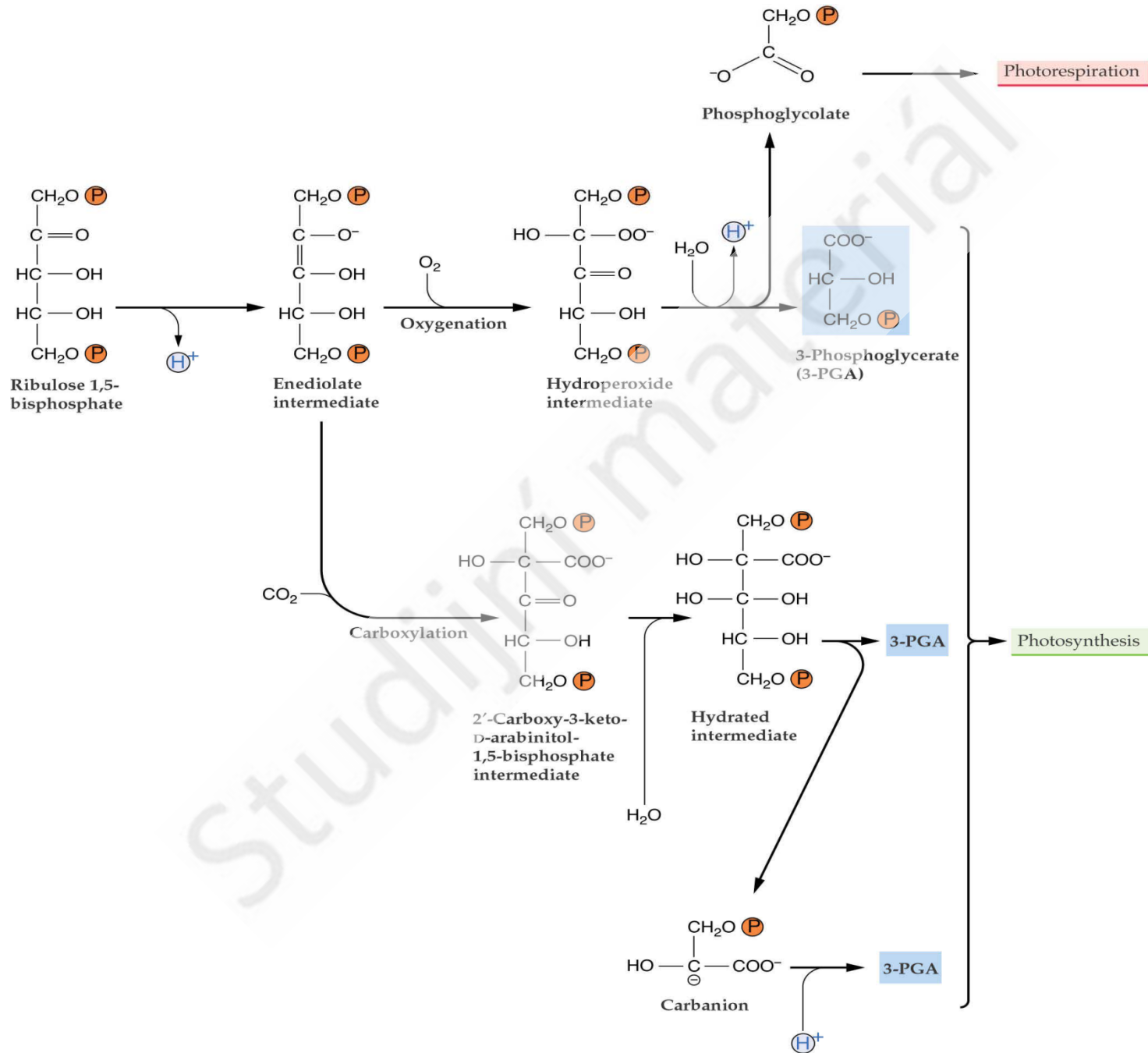
- ATP je syntetizováno podle vazebně-výměnného mechanismu
- Energie protonového gradientu je využita k uvolnění ATP z komplexu
- CF1 podjednotka má tři vazné místa pro nukleotidy:
 - L – volné
 - T – vazající nukleotid
 - O – otevřené
- Při přechodu protonů z Lumenu do Stromy dochází k pohybu γ podjednotky, což způsobuje konformační změny ve vazných místech.



Asimilace uhlíku

- většina rostlin tvoří jako první stabilní látku 3-fosfoglycerát (C_3 rostliny)
- C_3 dráha fixace CO_2 u rostlin byla poprvé popsána Melvinem Calvinem
- CO_2 reaguje prvně s cukrem ribulosa 1,5-bisfosfát v reakci katalyzované enzymem RUBISCO
- RUBISCO je nejhojnějším enzymem v biosféře



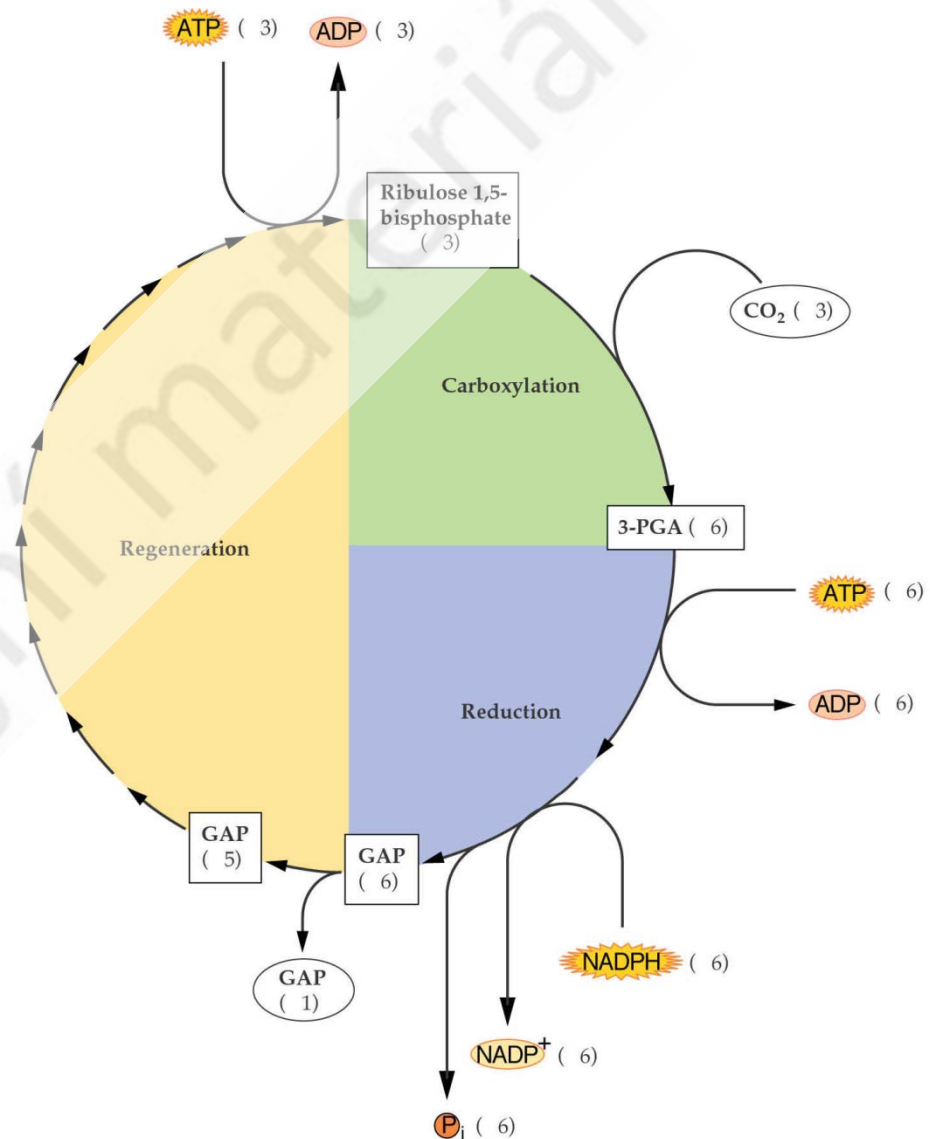


Calvinův cyklus

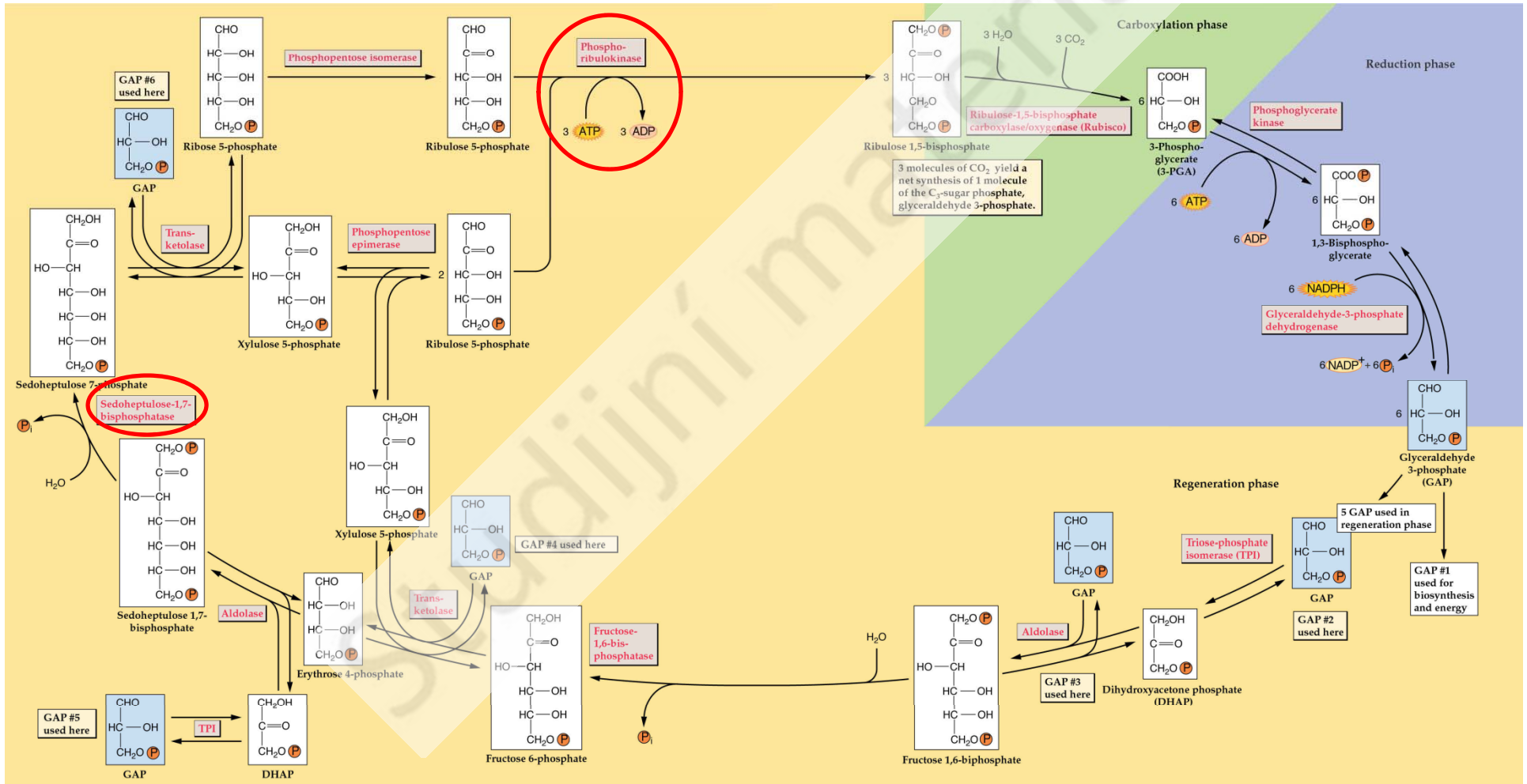
- skládá se ze třinácti kroků rozdělených do tří fází:

karboxylace
redukce
regenerace

- na každý cyklus potřebujeme 3 ATP a 2 NADPH
- účinnost Calvinova cyklu za fyziologických podmínek je kolem 80%

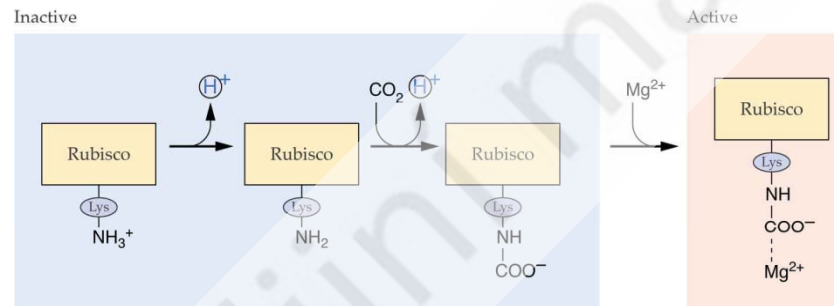


Calvinův cyklus

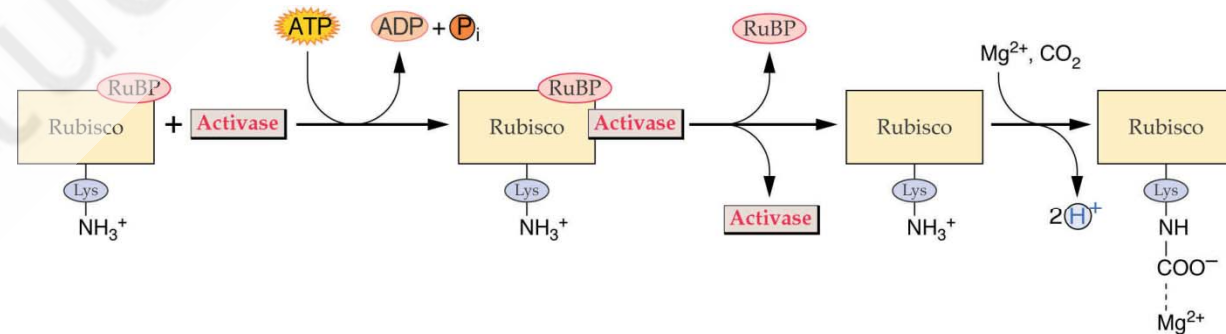
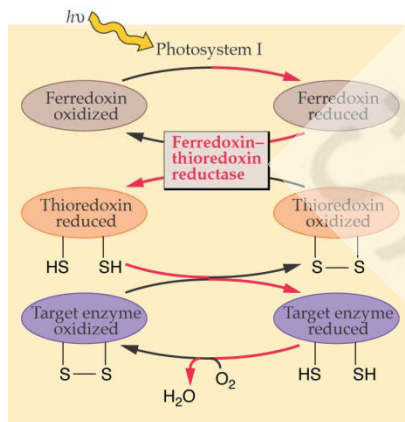


Regulace Calvinova cyklu

- celá řada enzymů v Calvinově cyklu katalyzuje jak syntézu, tak degradaci sacharidů
- pro zachování vysoké účinnosti je nutná velmi přesná regulace
- změny v pH stromatu a koncentrace hořčíku regulují enzymy: RUBISCO, fosforibulokinasa, bisfosfatasa
- aktivace RUBISCO zahrnuje tvorbu karbamátového komplexu

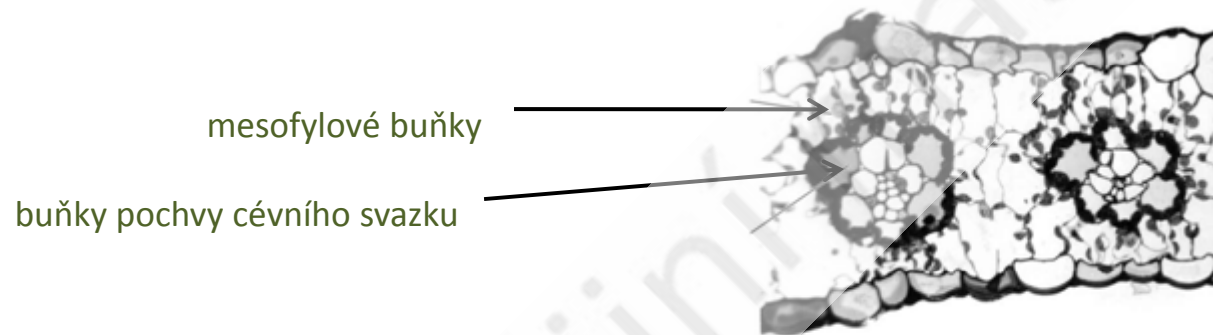


- dalším regulačním systémem je redoxní regulační systém, který závisí na světle: RUBISCO aktiváza, NADP⁺ GAPD, ...

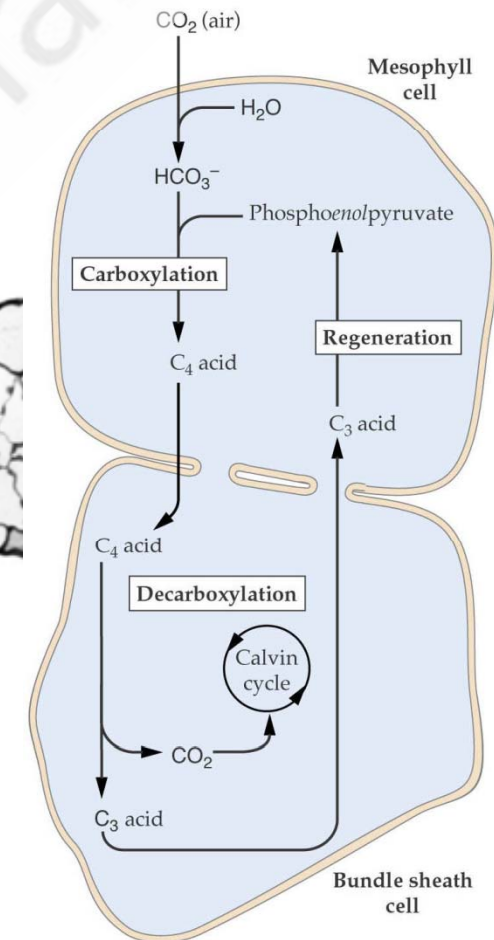


C₄ fixační dráha

- u některých rostlin byl jako první detekována 4 uhlíková látka místo 3 uhlíkové
- listy těchto rostlin vykazují neobvyklou anatomii, dvě různé skupiny buněk obsahující chloroplasty:



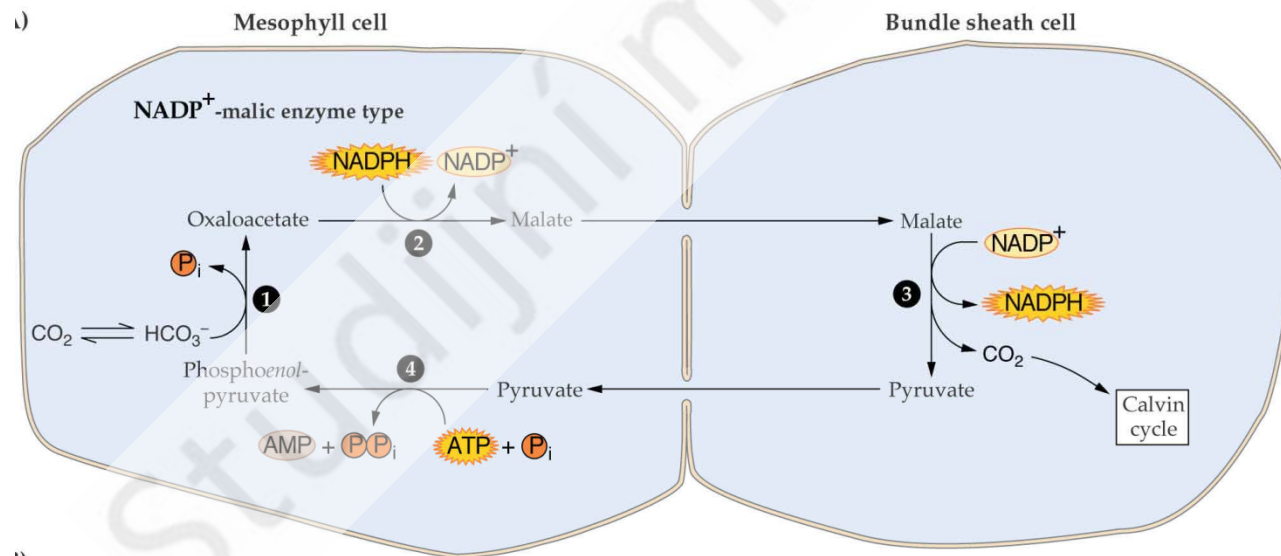
- při vyšší teplotě dochází k upřednostnění oxygenasové aktivity
- možnost uzavření průduchů ve dne omezuje ztrátu vody
- tento způsob fixace je energeticky náročnější, na 1 CO₂ připadá 5 ATP a 2 NADPH



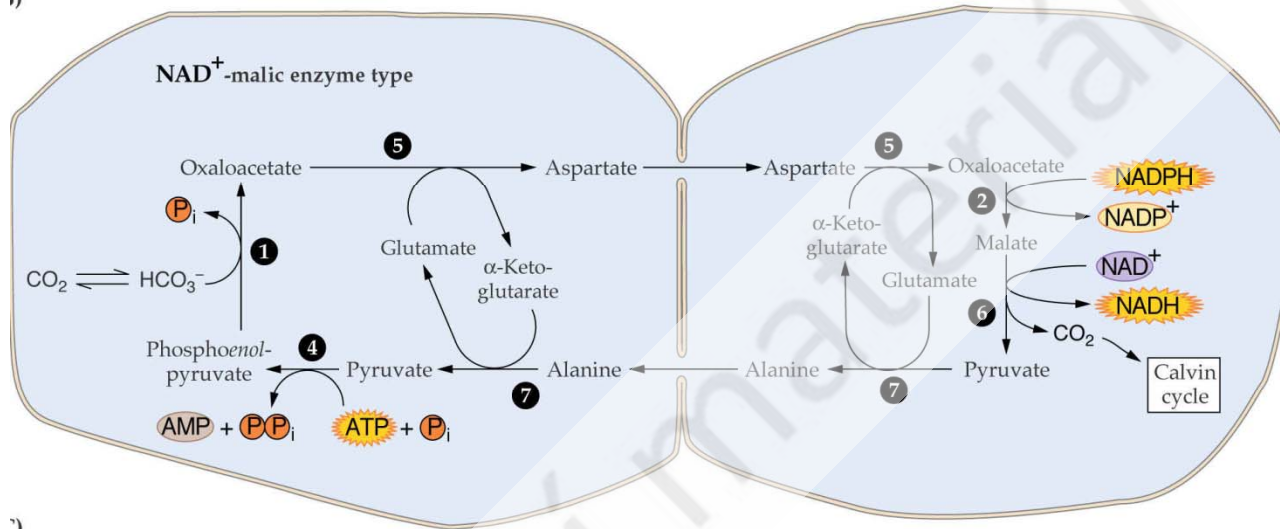
C₄ fixační dráha

- fixační dráha C₄ rostlin začíná v mesofylu přeměnou PEP na oxalacetát, následný metabolismus se liší:

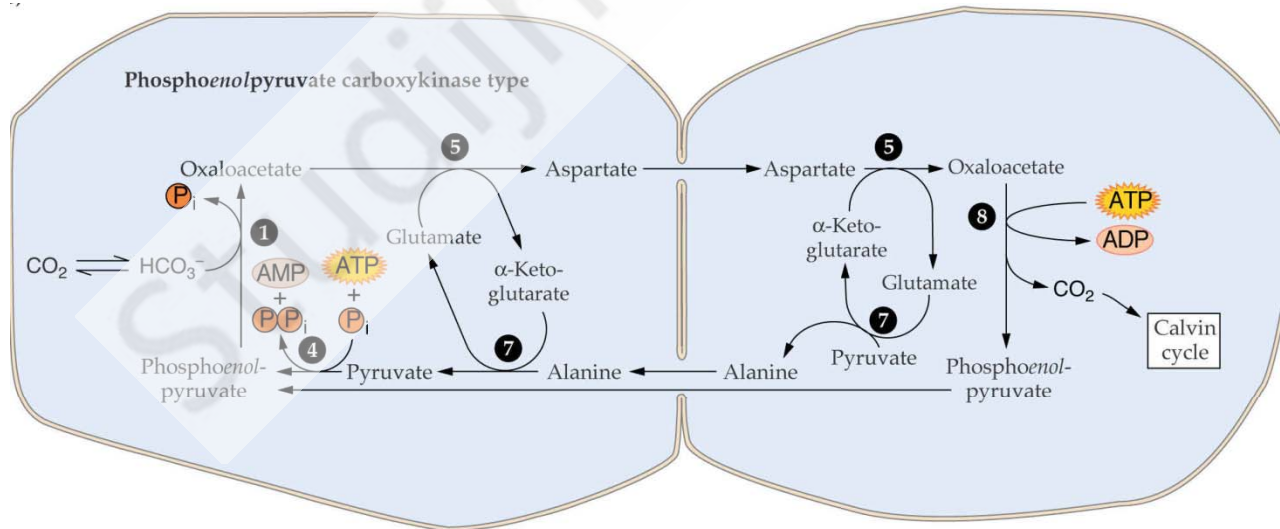
Malát - kukuřice



Apartát - proso

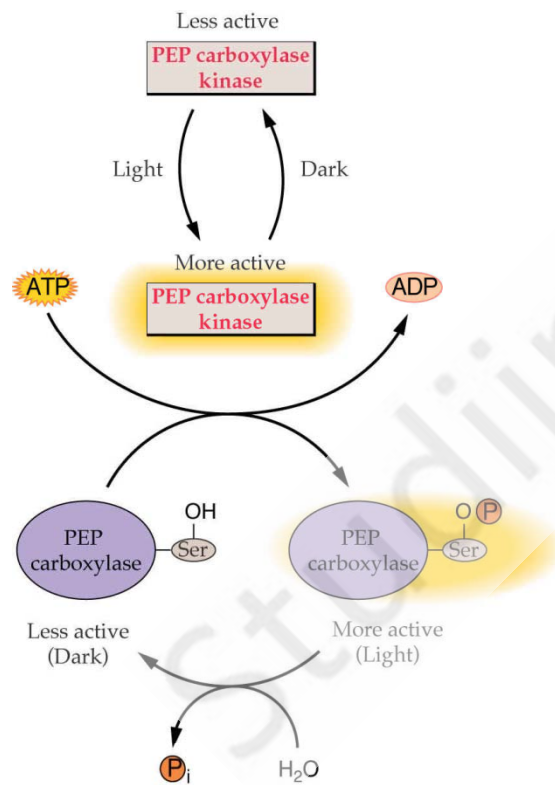


Apartát - proso



C₄ fixační dráha - regulace

- regulace PEP světlem



- CAM rostliny (kaktusy)

