

## Základy biochemie KBC/BCH

# Fotosyntéza

**Inovace studia biochemie prostřednictvím e-learningu**

CZ.04.1.03/3.2.15.3/0407



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem  
a státním rozpočtem České republiky.

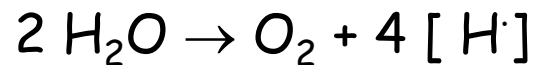


## Osnova

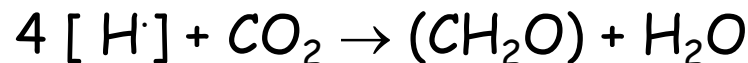
- Úvod
- Chloroplasty
- Světlo absorbující pigmenty
- Světelná reakce
- Calvinův - Bensonův cyklus (RUBISCO)
- Fotorespirace
- Rostliny  $C_4$  a CAM

## Fotosyntéza - úvod

- Fotosyntéza fixuje ročně asi  $10^{11}$  tun uhlíku, což reprezentuje  $10^{18}$  kJ energie.
- Fotosyntéza u rostlin je dvoustupňový proces, při kterém se světelná energie využívá k oxidaci  $H_2O$ :



- Současně získané elektrony se využívají k redukci  $CO_2$ :



- Dva stupně fotosyntézy se tradičně uvádí jako **světelná fáze** a **temnostní fáze**.
- Místem fotosyntézy u eukaryot (vyšší rostliny a řasy) jsou **chloroplasty**. Buňky obsahují 1 až 1000 chloroplastů tvaru elipsoidu o rozměrech asi 5  $\mu m$  délky.

## Chloroplast kukuřice

Vnější  
membrána

Lamela

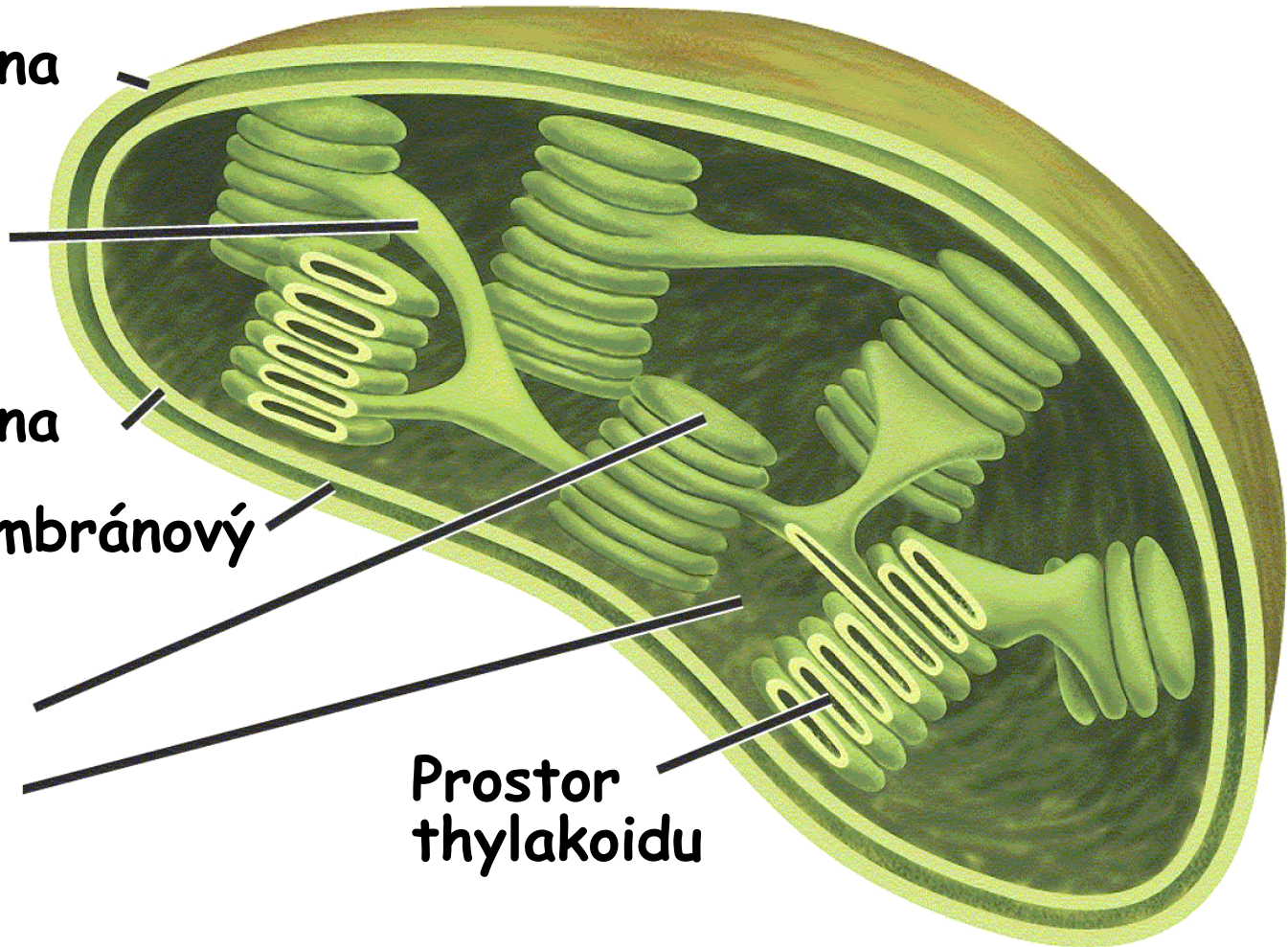
Vnitřní  
membrána

Mezimembránový  
prostor

Grana

Stroma

Prostor  
thylakoidu





Fotosyntetizující cyanobakterie *Anabaena* (zvětšení 450 x).  
Předkové, kteří se evolučně přetvořili na současné chloroplasty.

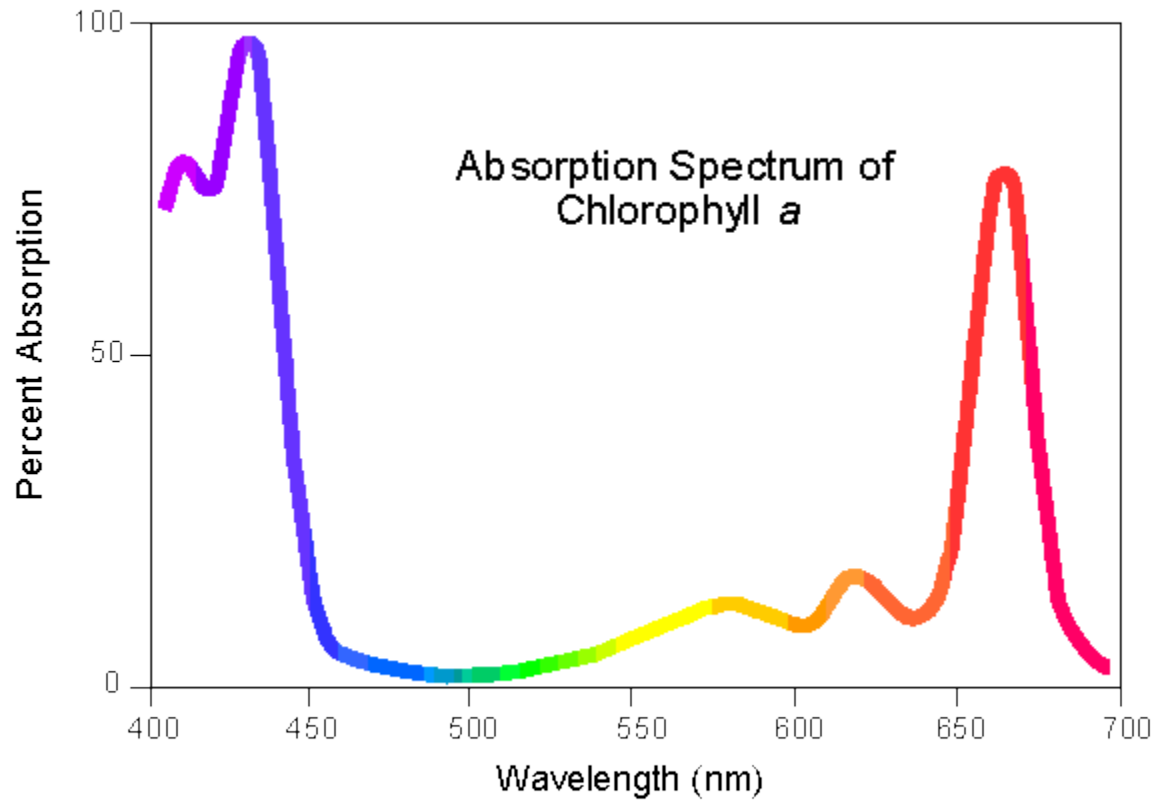


## Světlo absorbující pigmenty

- **Chlorofyl** - cyklický tetrapyrrol s centrálním atomem  $Mg^{2+}$ . Prekurzorem je stejně jako u hemu protoporfyrin IX.
- Hlavní formy chlorofylu u rostlin a cyanobakterií jsou: chlorofyl a (Chl a) a chlorofyl b (Chl b), u fotosyntetizujících bakterií jsou to bakteriochlorofyl a (BChl a) a bakteriochlorofyl b (BChl b).
- Chlorofyly jako vysoce konjugované sloučeniny silně absorbují viditelné světlo. Malé rozdíly v chemické struktuře silně ovlivňují jejich spektra.
- Fotosystémy I a II, obsahující mimo jiné chlorofyly, jsou lokalizovány v thylakoidní membráně chloroplastů.
- **Fotosystém I (PS 700)** je transmembránový multipodjednotkový komplex (10), absorbuje světlo kratší vlnové délky než 700 nm. Vytváří NADPH.
- **Fotosystém II (PS 680)**, transmembránový komplex 20 podjednotek, přenos elektronů z vody na plastochinon (plastochinol). Absorbuje světlo vlnových délek kratších než 680 nm.
- **Cytochrom *bf*** (obdoba komplexu III mitochondrií!!!). Cytochrom *bf* generuje protonový gradient přes thylakoidní membránu, což vede ke tvorbě ATP.

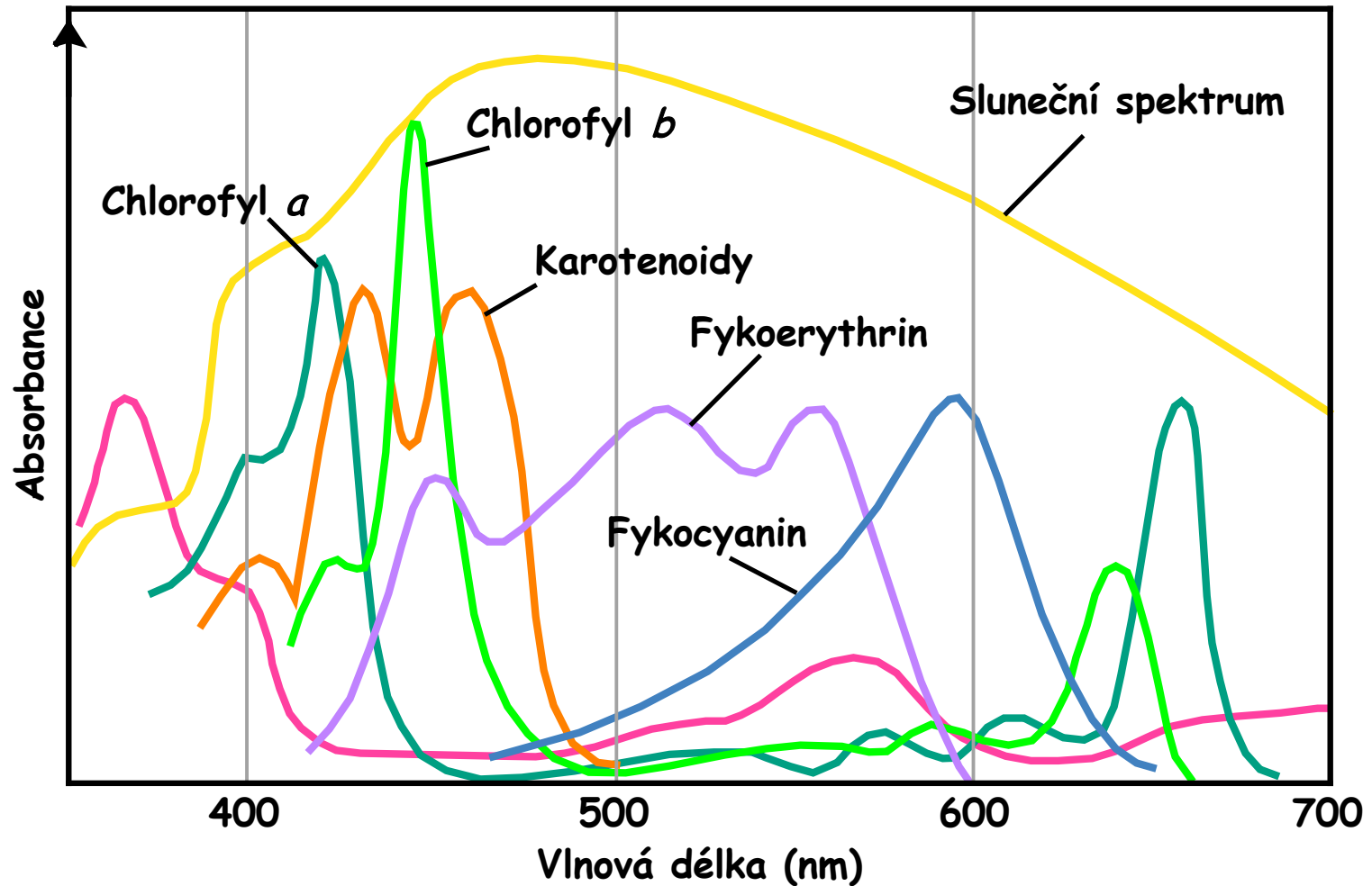


# Absorpční spektrum chlorofylu **a**



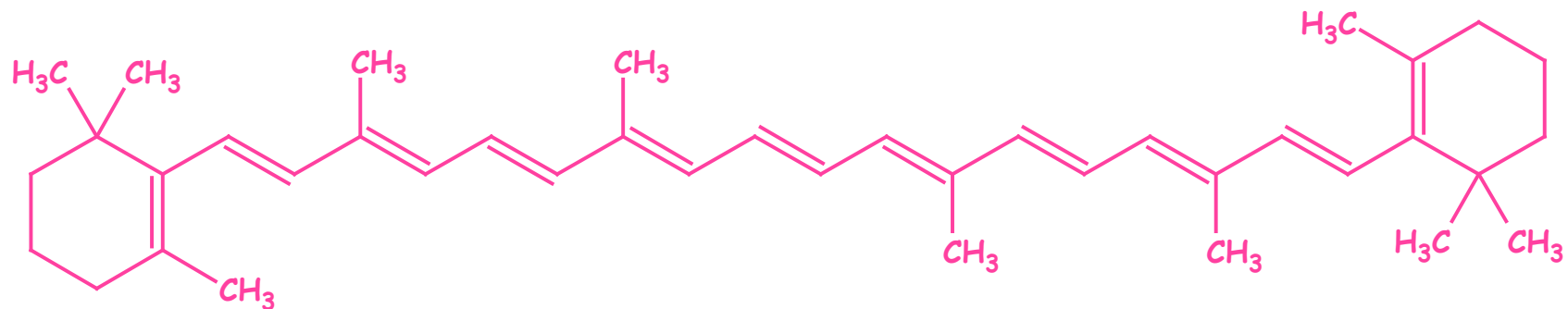


# Absorpční spektra různých fotosyntetických pigmentů



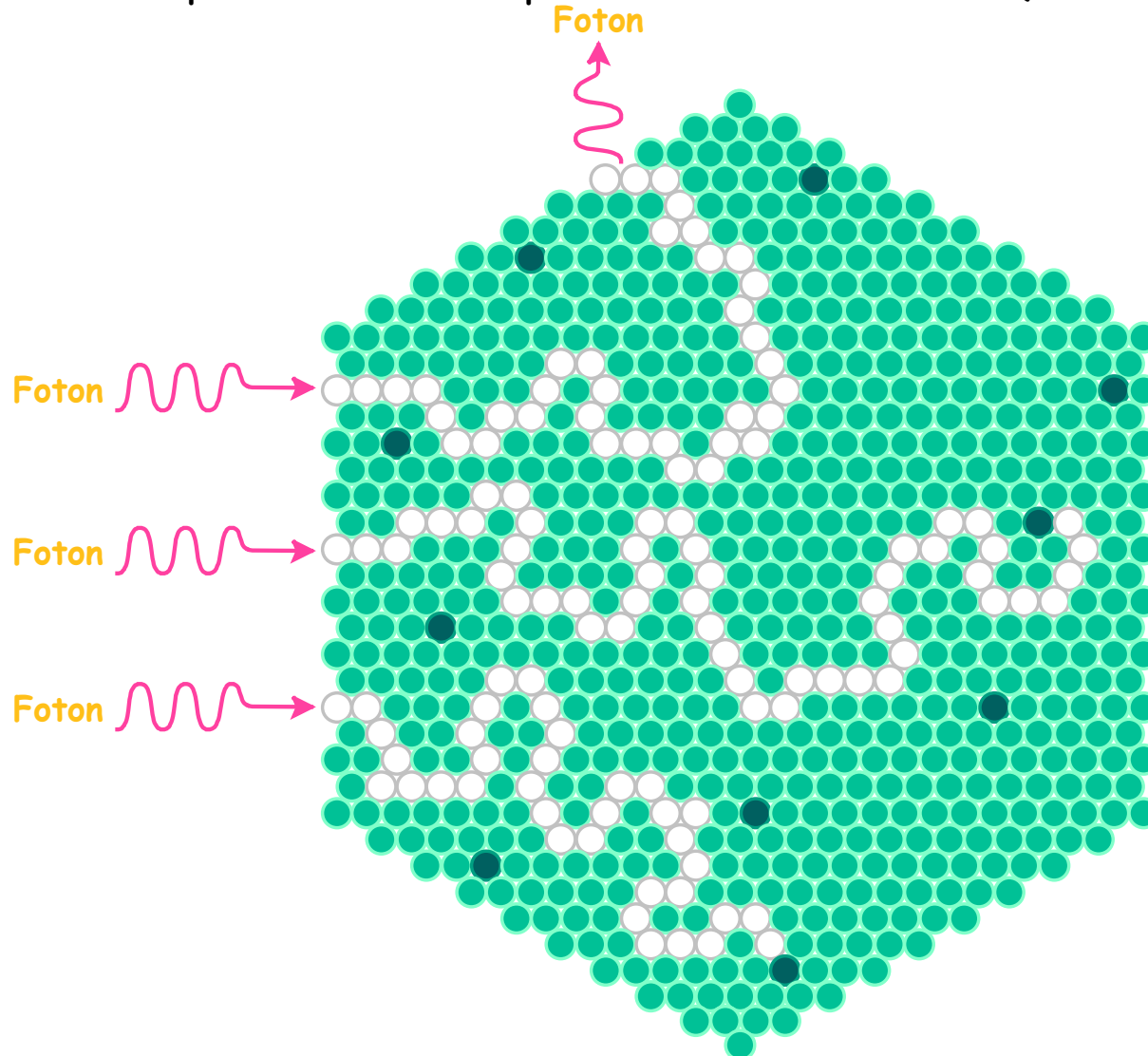
## Světloběrné komplexy

- Světloběrné komplexy obsahují fotosyntetická reakční centra - místa, kde se odehrává primární reakce světelné fáze fotosyntézy a anténní komplex obsahující další chlorofyly a přídatné pigmenty jako jsou karotenoidy, např.  $\beta$ -karoten.



$\beta$ -Karoten

**Fotosyntetický anténní komplex.** Zachycené fotony náhodně migrují anténním komplexem až vstoupí do **reakčního centra** (tmavě zelené).



## Světelné reakce

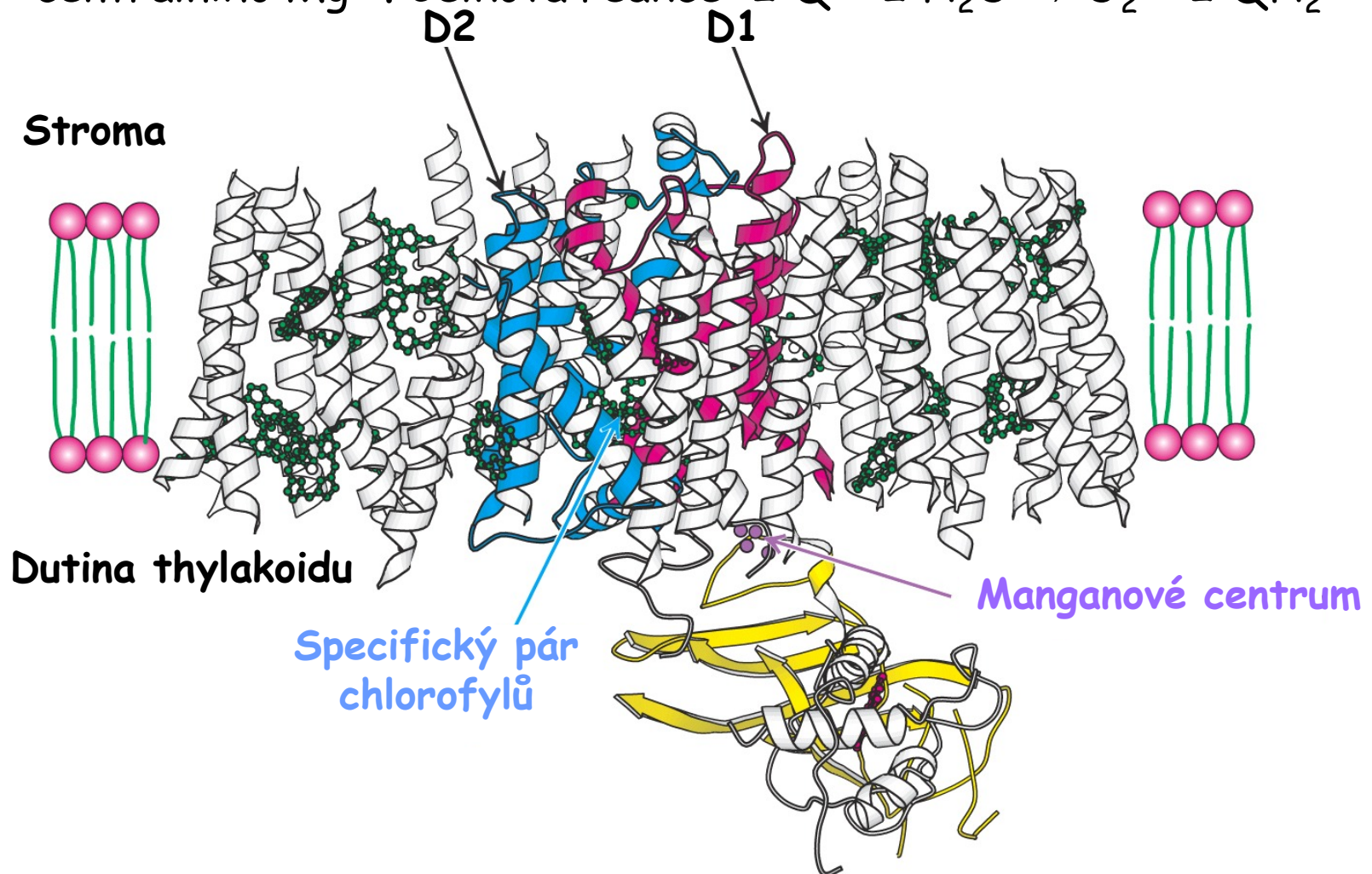
- Elektrony excitovaná molekula může uvolnit excitační energii několika způsoby:
- a) **Vnitřní konverze** - na kinetickou energii, pohyb molekul, teplo. U molekul chlorofylu k těmto stavům nedochází.
- b) **Fluorescence**, je emitován foton o vyšší vlnové délce (nižší energie). U rostlin jen asi 3 až 6 % absorbované světelné energie.
- c) **Excitační transfer**, excitovaná molekula přenáší excitační energii na sousední molekuly chlorofylu s nižší excitační energií než anténní chlorofyly.
- d) **Fotooxidace**, světlem excitovaná donorová molekula je oxidována přenosem elektronu na akceptorovou molekulu. Takovým donorem je excitovaný chlorofyl. Fotooxidovaný chlorofyl, kationtový radikál, se vrací do původního stavu oxidací jiné molekuly.

## Reakční centrum

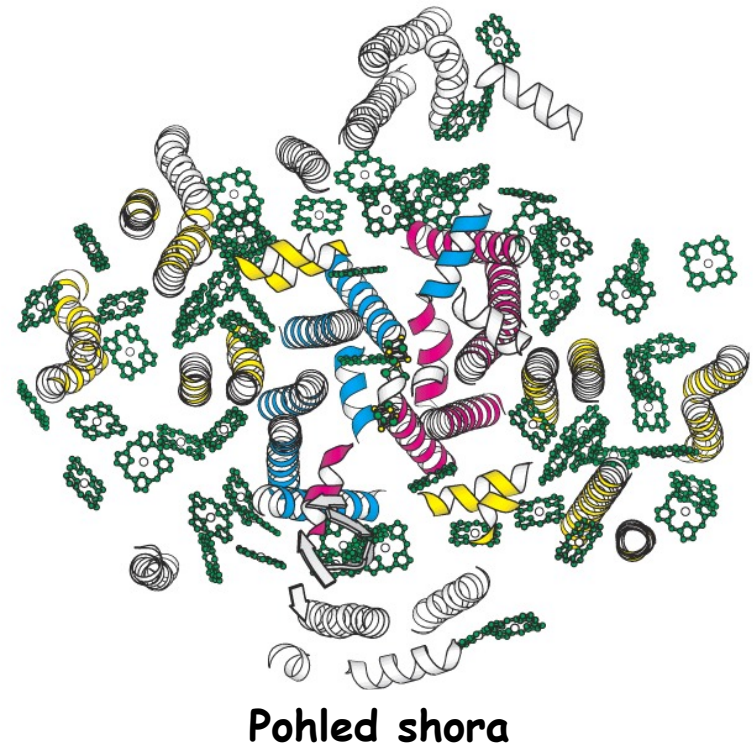
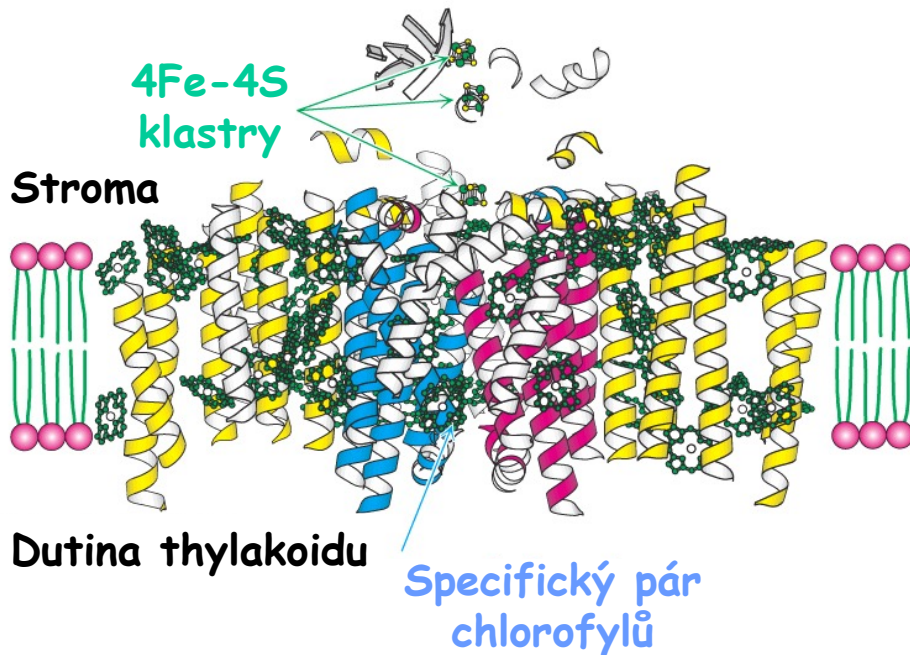
- Fotoindukované oddělení nábojů probíhá v **reakčním centru**.
- Elektrony extrahované z počáteční sloučeniny jsou excitované a představují redukční sílu - mohou redukovat další sloučeniny a skladovat tak světelnou energii ve formě chemických sloučenin.



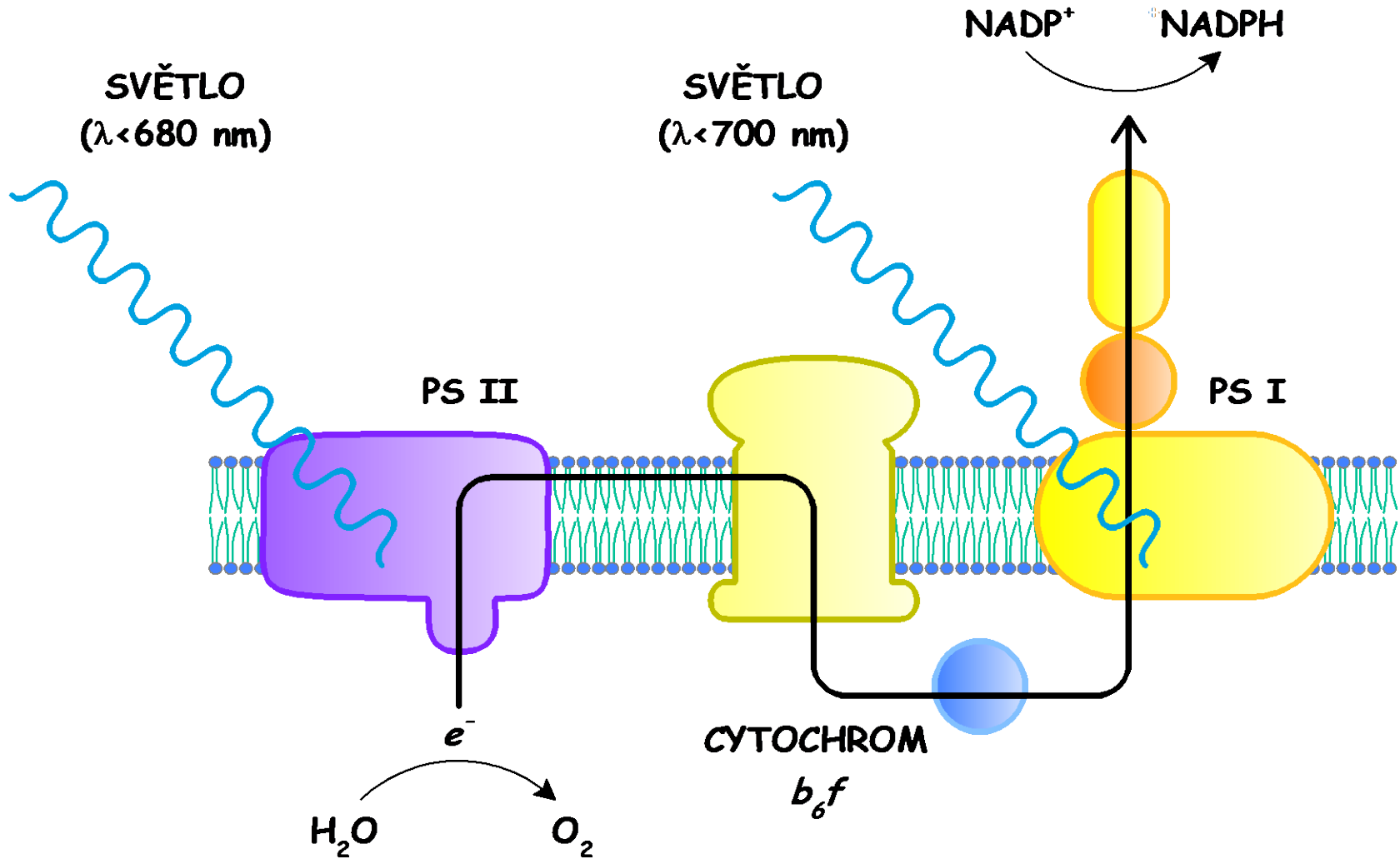
**Struktura fotosystému II.** D1 a D2 podjednotky (32kd) navázaný dva chlorofyly (speciální, také P680)-přenos elektronů na **feofytin**, poté na plastochinony. **Feofytin**-chlorofyl se dvěma  $H^+$  namísto centrálního  $Mg^{2+}$ . Celková reakce:  $2 Q + 2 H_2O \rightarrow O_2 + 2 QH_2$



**Struktura fotosystému I.** Dvě podjednotky psaA a psaB jsou žlutě a části obdobné PS II jsou červeně a modře, chlorofyly včetně speciálního páru zeleně, vyznačeny klastry Fe-S.

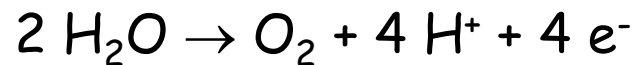


## Dva fotosystémy



## Fotolýza vody - tvorba kyslíku

- Součástí PS II (P680, fotosystém II) je centrum uvolňující kyslík (oxygen evolving center - OEC).
- V tomto komplexním útvaru dochází působením světelných kvant (fotonů) k rozkladu molekul vody na kyslík, čtyři protony a čtyři elektrony.

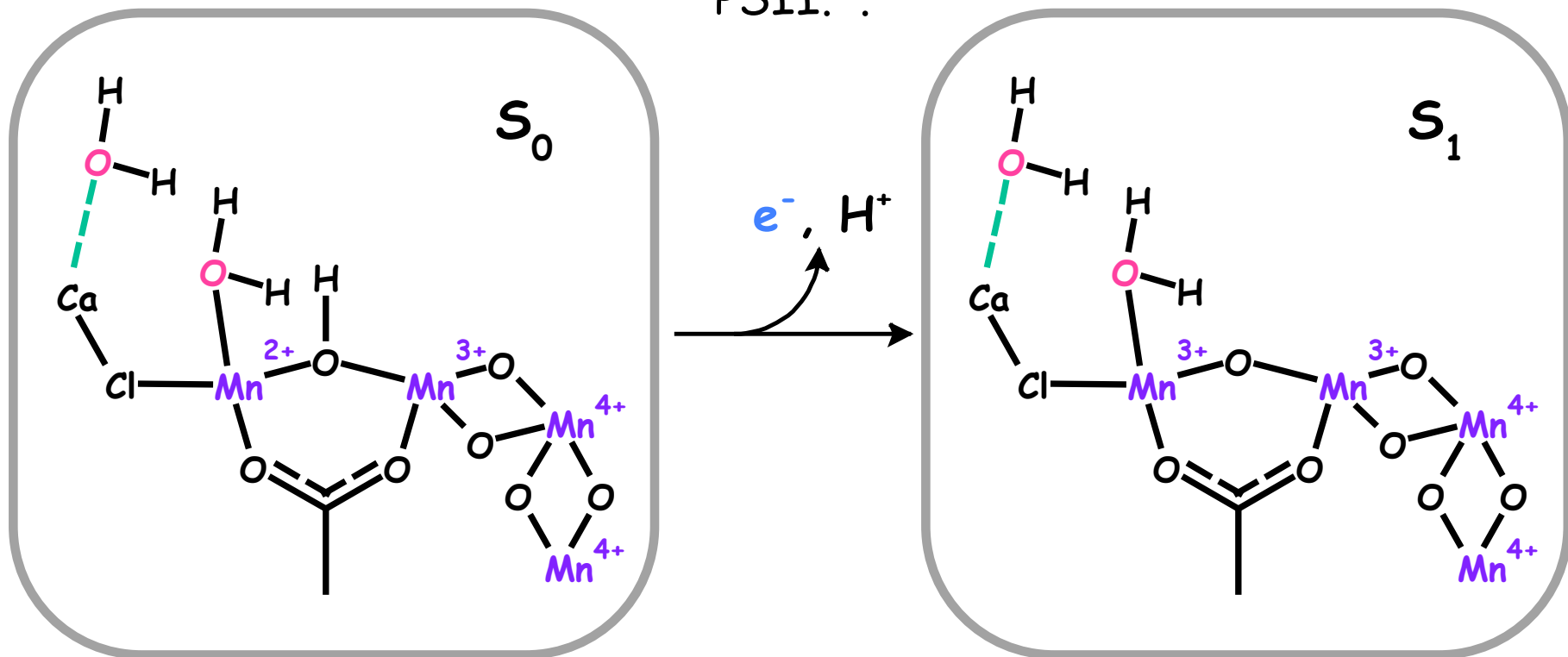


- Elektrony uvolněné z vody vstupují do PSII, kde jsou světelnými kvanty uvedeny excitací do vyšších energetických hladin označený P680\* a posléze putují řetězcem přes QH<sub>2</sub>.

## Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku ze dvou molekul vody v Mn centru

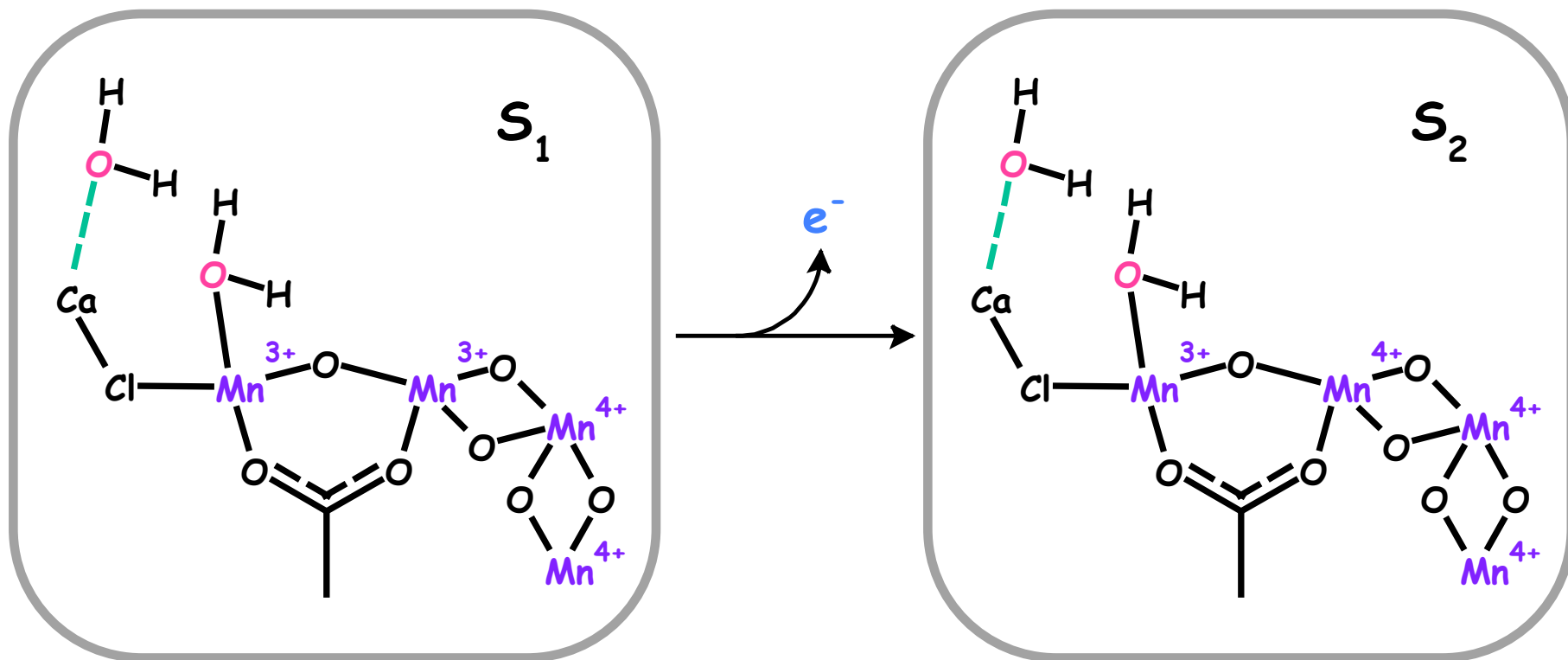
Hlavní roli hrají 4 ionty Mn v různém oxidačním stavu, vážící silně kyslíkaté sloučeniny, jeden  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Cl}^-$ .

$\text{S}_0$  až  $\text{S}_4$  - vždy jednoelektronová oxidace - elektrony vstupují do PSII. .

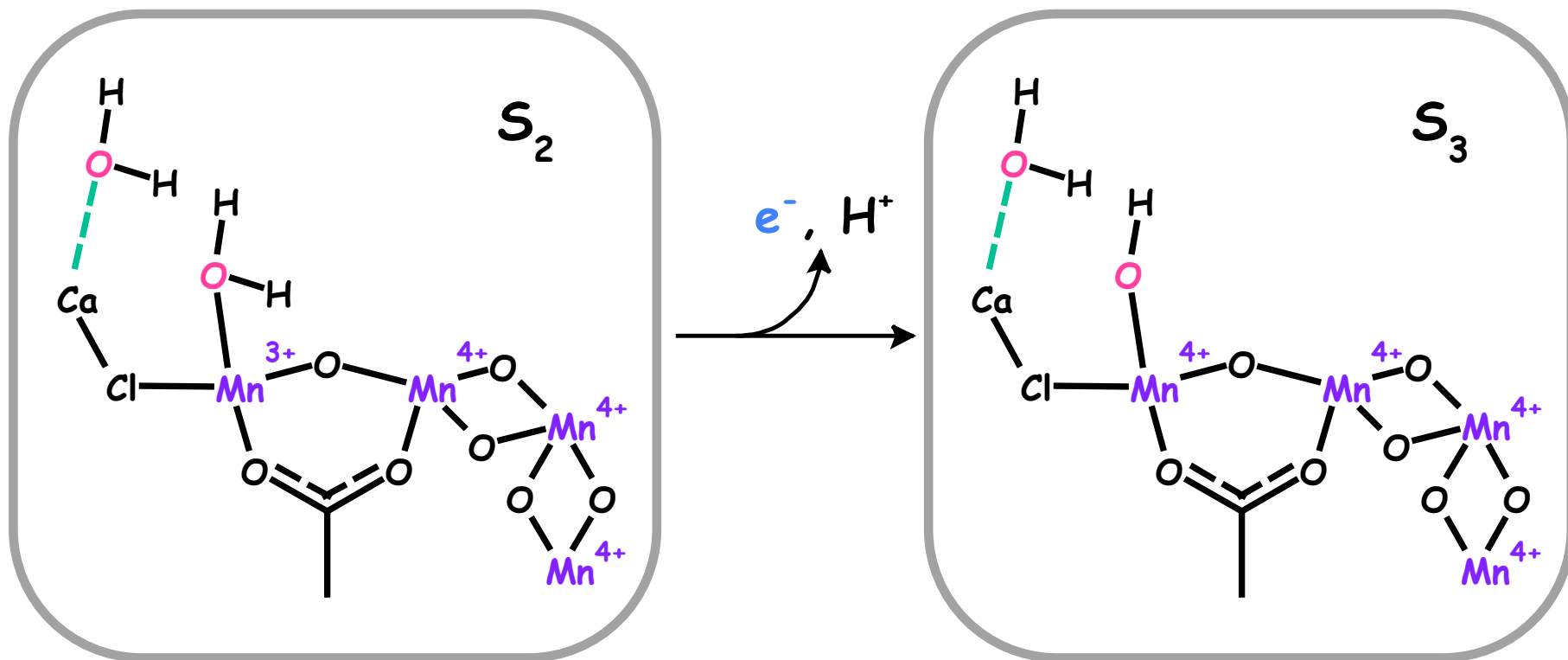




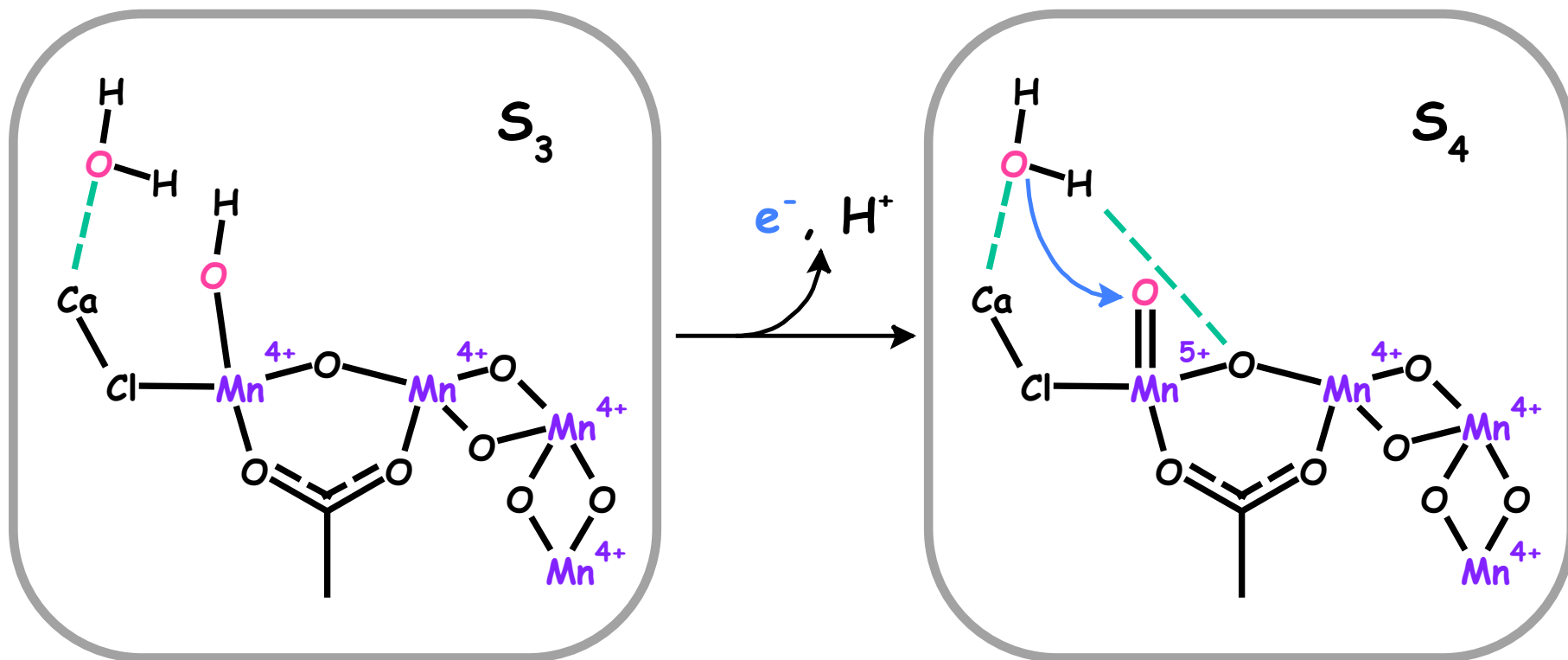
## Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku v Mn centru



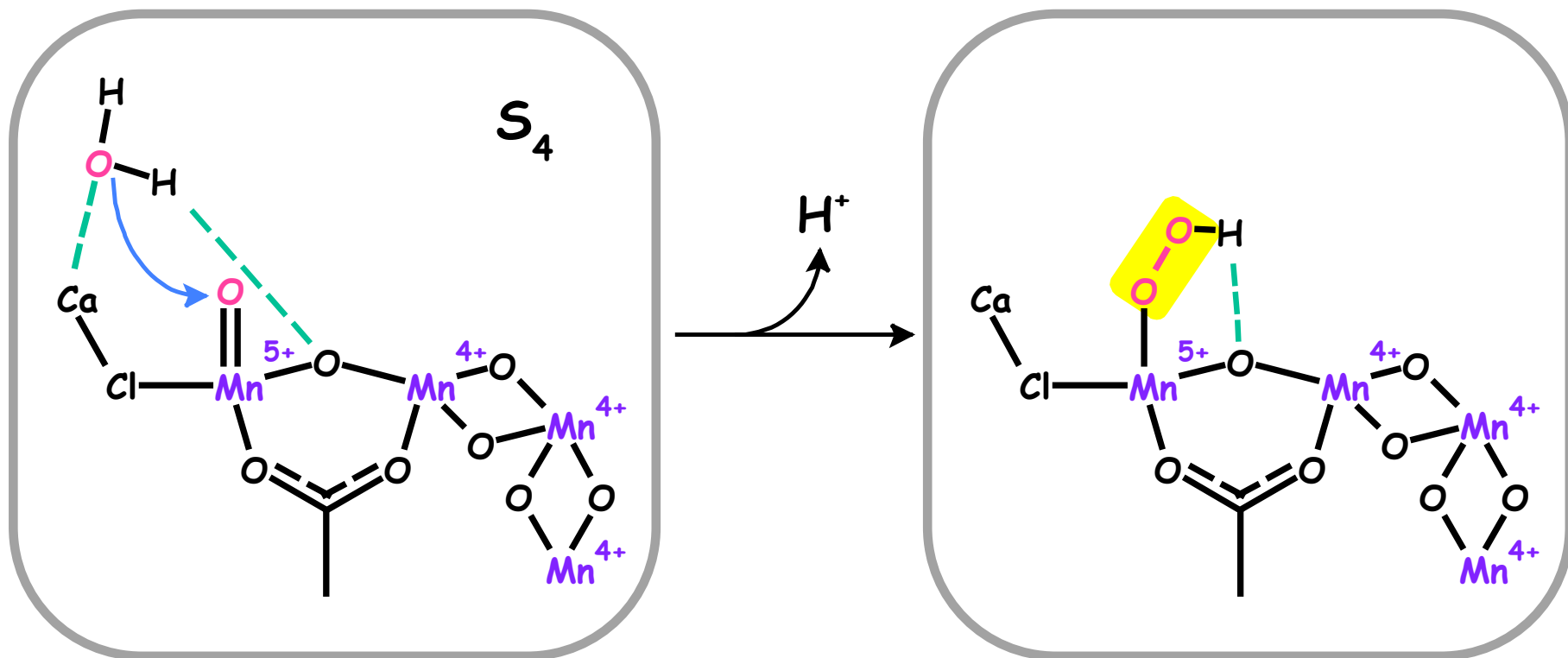
## Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku v Mn centru



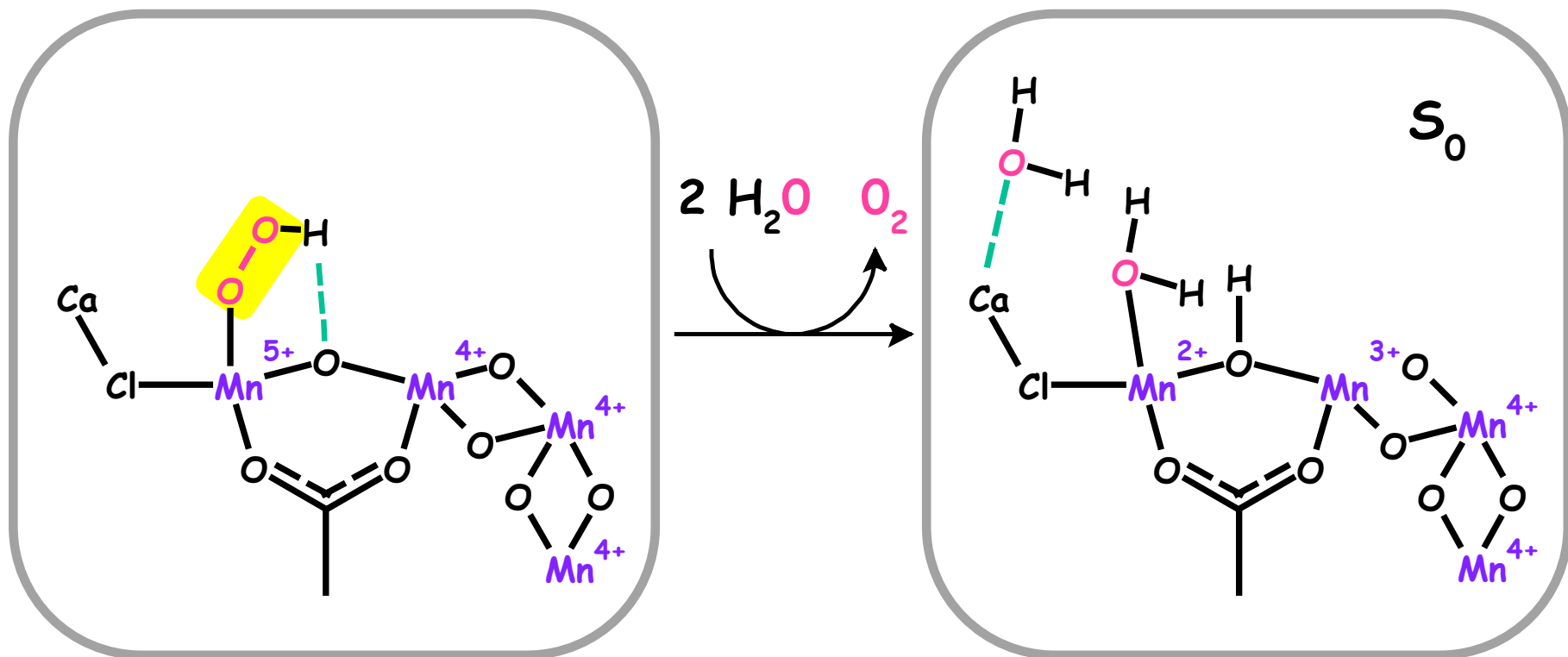
## Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku v Mn centru



## Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku v Mn centru

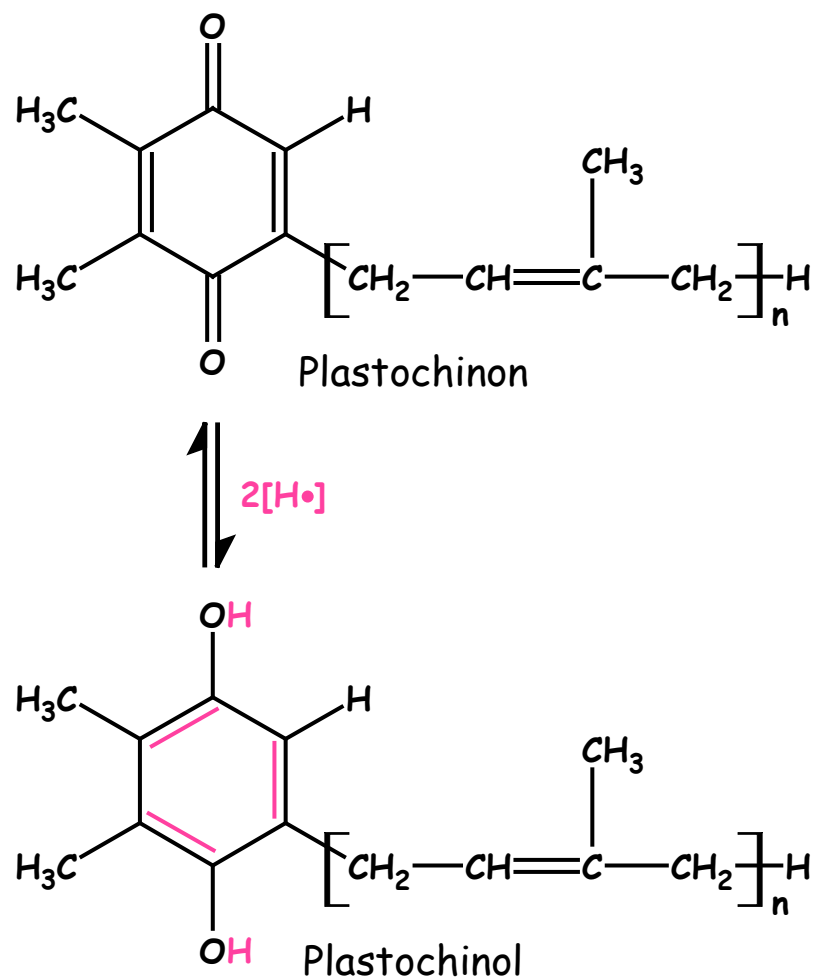


Pravděpodobné schéma uvolnění kyslíku v Mn centru  
K uvolnění  $O_2$  je nutná oxidace 2  $H_2O$ .





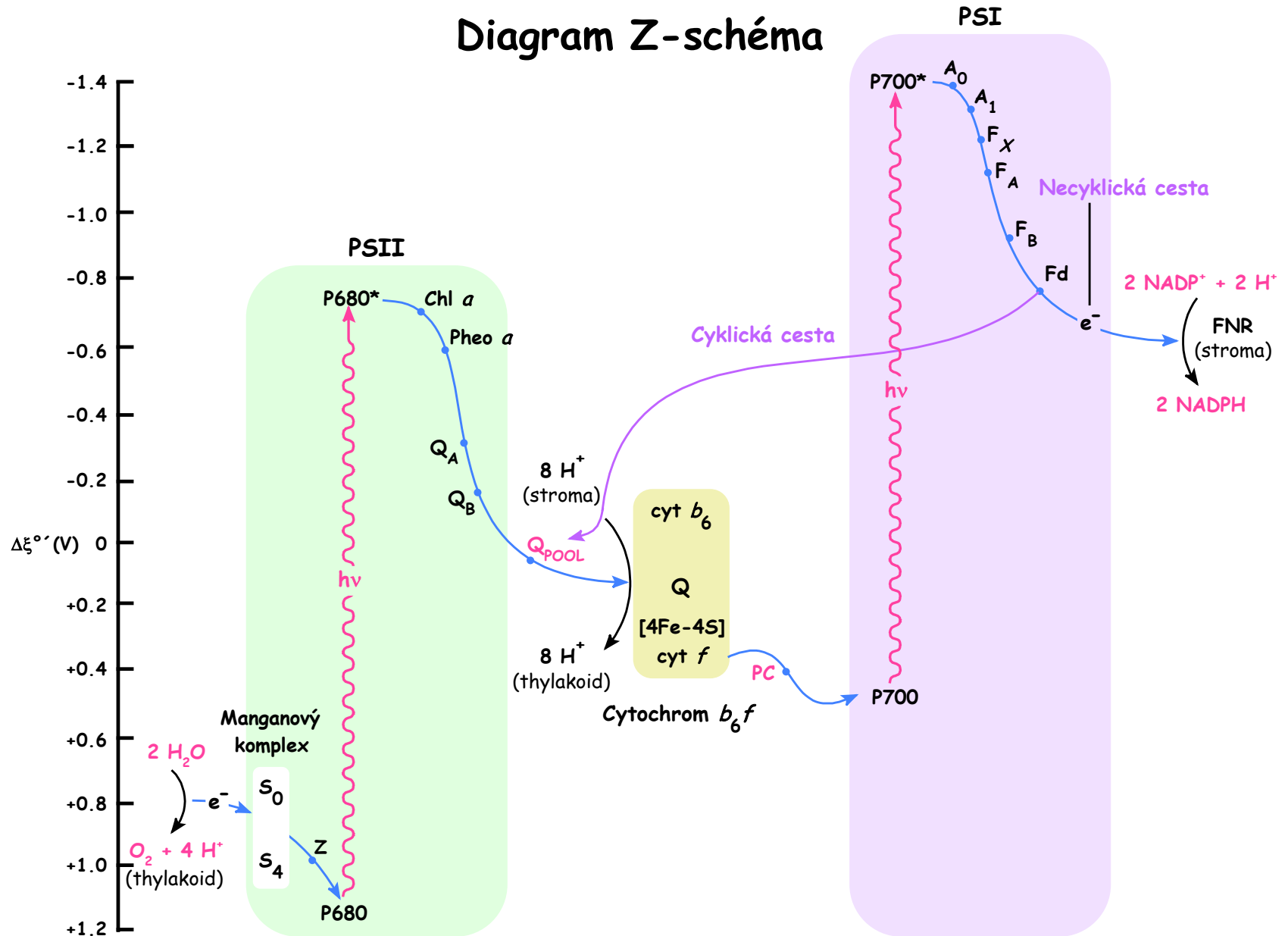
## Plastochinon (Q) - plastochinol (QH<sub>2</sub>) (n = 6-10)



## Z-schéma světelné fáze fotosyntézy

- Elektrony mohou dosáhnout na ferredoxin-NADP<sup>+</sup>reduktasu (FNR), která katalyzuje redukci NADP<sup>+</sup>.
- Oxidace vody a tok elektronů přes Q cyklus generuje transmembránový protonový gradient s vyšší koncentrací protonů na straně thylakoidní dutiny (lumen - uvnitř). Energie gradientu se uplatňuje při tvorbě ATP.
- Různé prosthetické skupiny fotosyntetického aparátu rostlin mohou být seřazeny podle **redukčního potenciálu** v diagramu zvaném **Z-schéma**.
- Elektrony uvolněné z P680 po absorpci fotonů jsou nahrazovány elektrony z fotolýzy vody. Každý elektron prochází řetězcem přenašečů do hotovosti plastochinonových molekul. Vytvořený redukovaný plastochinol redukuje cytochrom  $b_6f$  komplex za současného transportu protonů do thylakoidů. Cytochrom  $b_6f$  přenáší elektrony na plastocyanin (PC) a ten regeneruje fotooxidovaný P700 v PSI. Elektrony emitované z PSI redukují přes řetězec přenašečů NADP<sup>+</sup> na NADPH. Necyklický proces. V cyklickém procesu se elektrony vrací zpět na cytochrom  $b_6f$  a přitom se přenášejí další protony do thylakoidu.

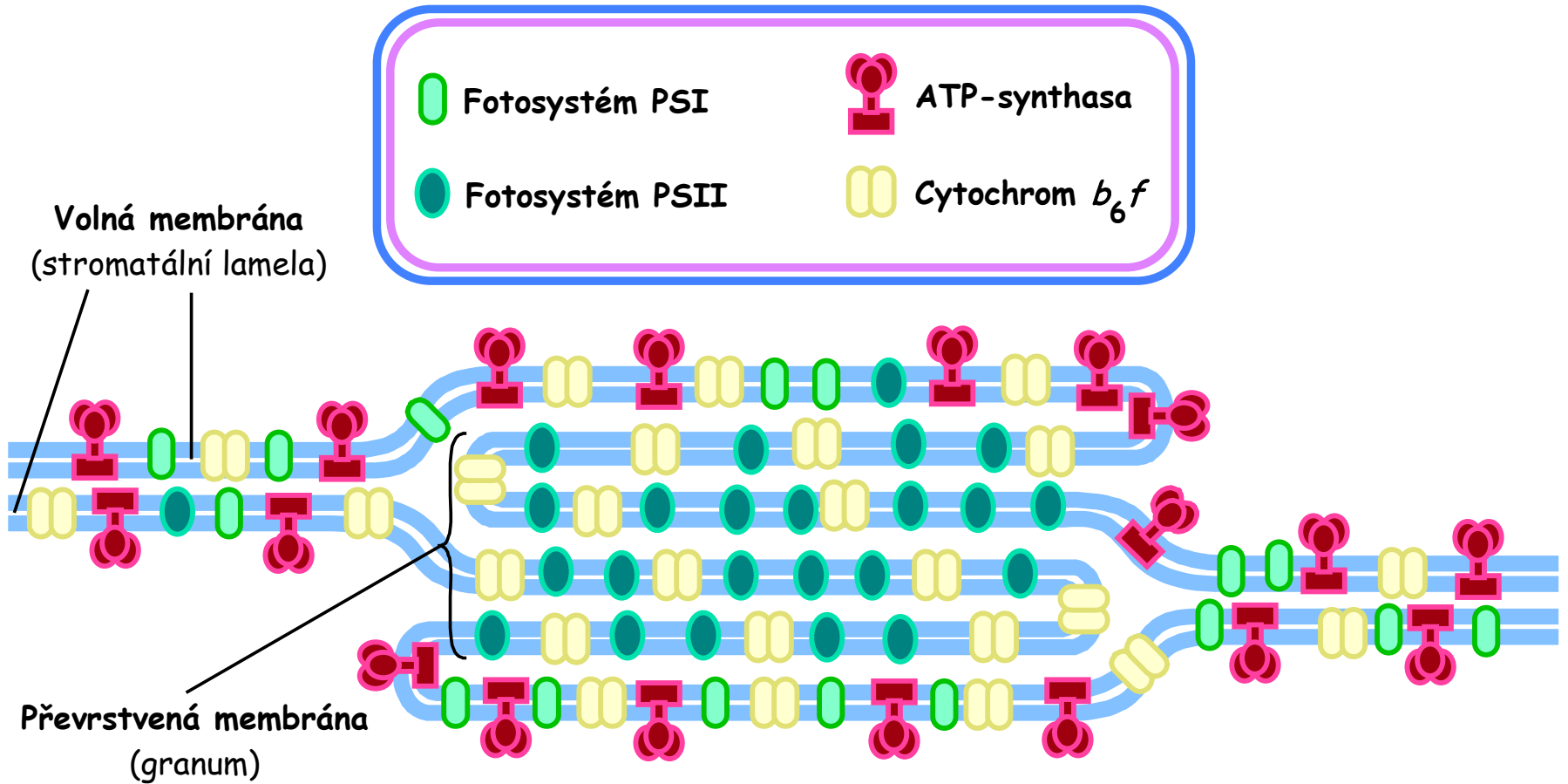
# Diagram Z-schéma



## Cytochrom $b_6f$ komplex a plastocyanin (PC)

- Cytochrom  $b_6f$  komplex** je integrální membránový proteinový komplex obsahující řadu složek analogicky jako např. mitochondriální komplex III a cytochrom  $bc_1$ . Elektrony z cytochrom  $b_6f$  komplexu putují Q cyklem (viz mitochondrie!!). Při transportu jednoho elektronu se translokují dva protony do thylakoidu. Tedy čtyři elektrony z 2  $H_2O$  vedou k translokaci 8 protonů.
- Plastocyanin (PC)** - periferní membránový protein (99 aminokyselin) - člen skupiny modrých měďnatých proteinů lokalizovaný na vnitřní straně thylakoidů. Oxidační stavy redoxních center cyklují mezi  $Cu^{2+}$  a  $Cu^+$  stavy.

## Lokalizace systémů PSII, PSI, cytochromu $b_6f$ a ATP-synthasy na thylakoidech

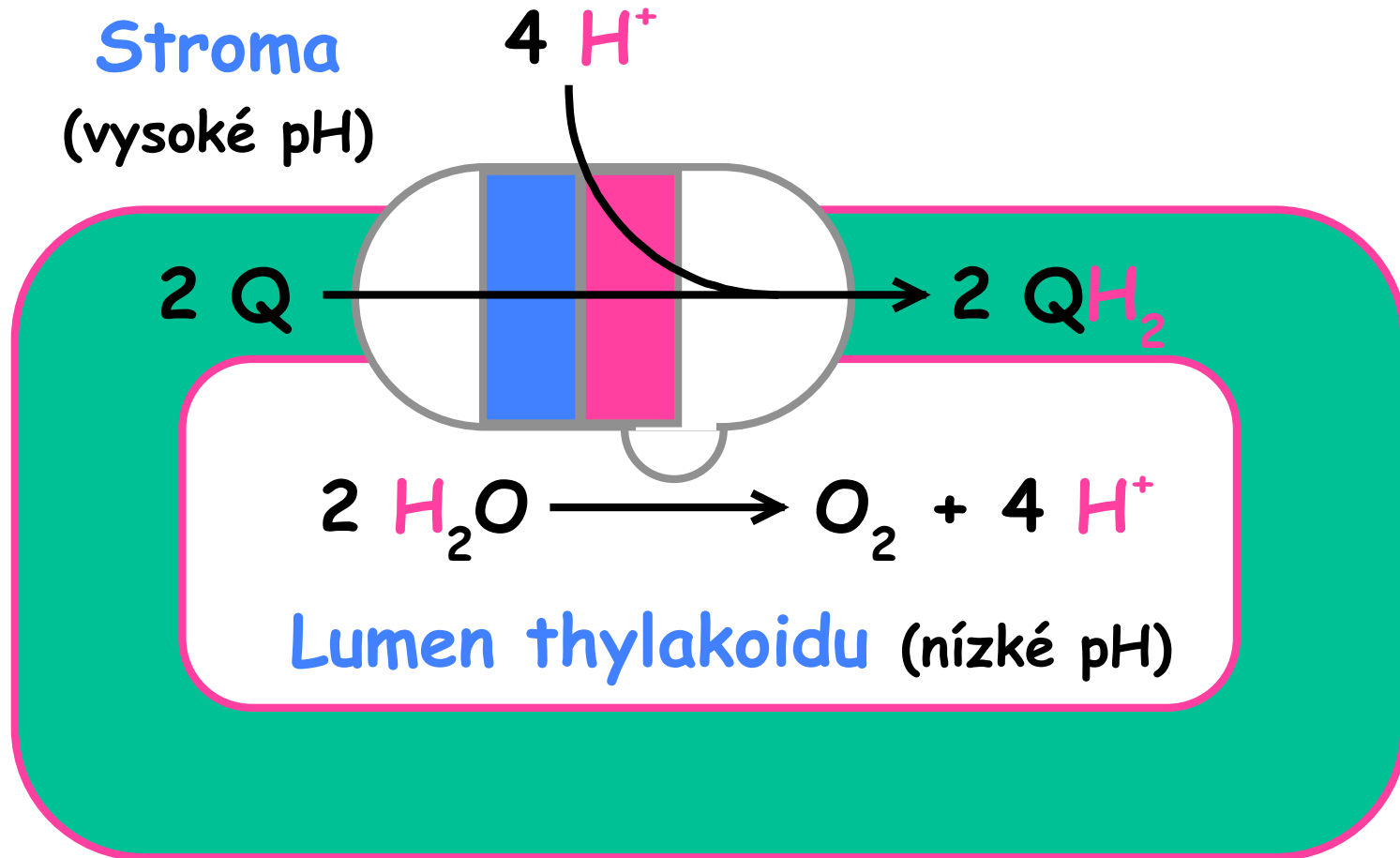




## Lokalizace systémů PSII, PSI, cytochromu $b_6f$ a ATP-synthasy

- PSI se nachází na neuzavřených stromatálních lamelách v dotyku se stromatem, kde je k dosažení  $\text{NADP}^+$ .
- PSII je lokalizován většinou mezi uzavřenými složenými grany, mimo přímý kontakt se stromatem.
- Cytochrom  $b_6f$  je rovnoměrně distribuován v celé membráně.
- ATPasa je lokalizována na vnější straně membrány.

## Směr protonového gradientu fotosystému II



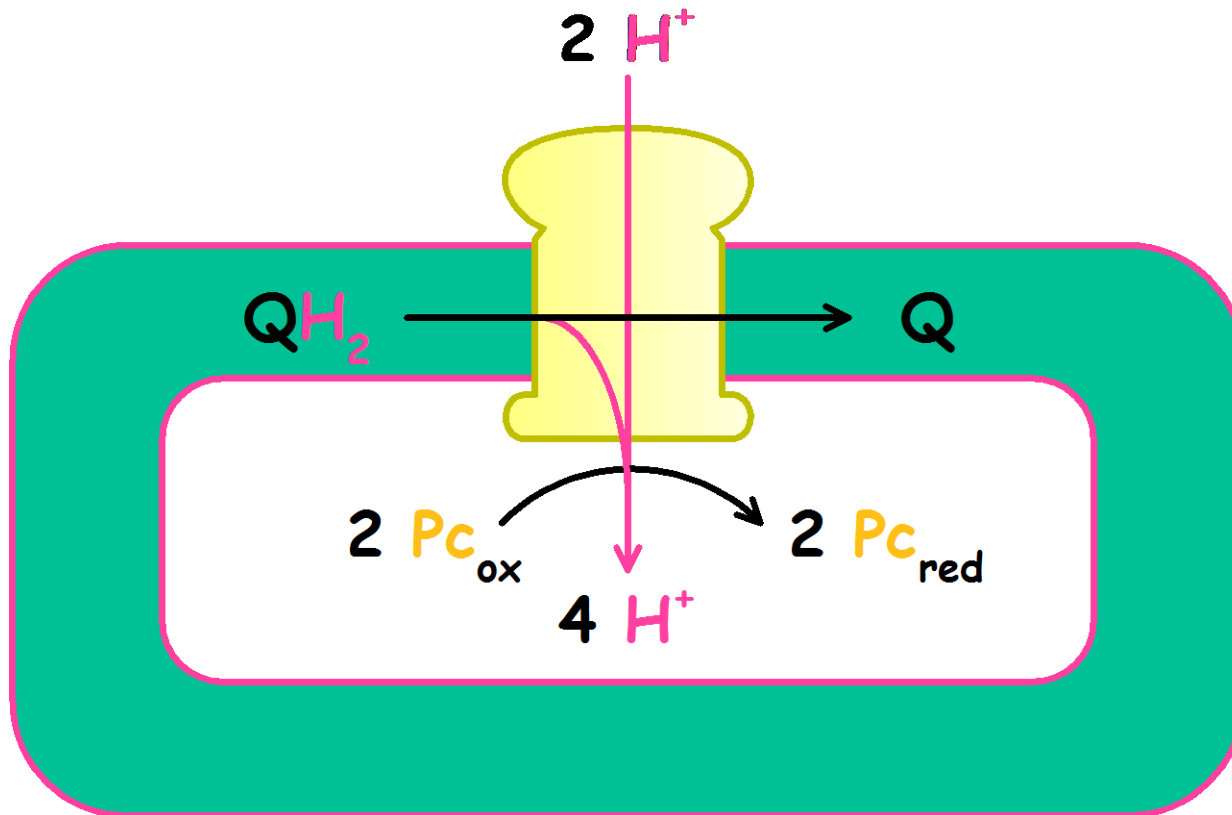
## Cytochrom *bf*

V každém Q cyklu jsou přes cytochrom *bf* transportovány 4 protony.

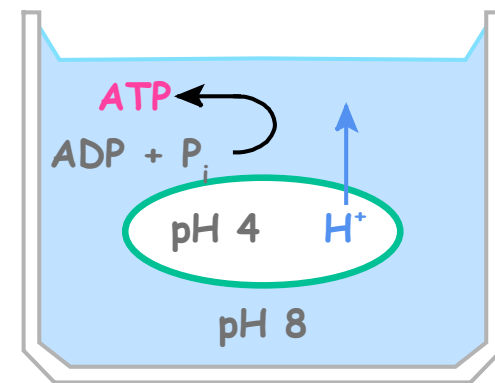
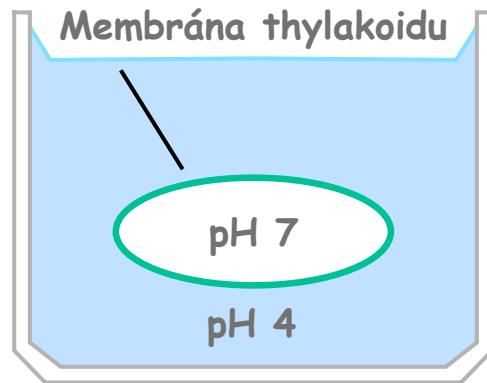
1. část:  $\text{QH}_2 + 2 \text{Pc}(\text{Cu}^{2+}) = \text{Q} + 2 \text{Pc}(\text{Cu}^+) + 2 \text{H}^+$  (v thylakoidu)

2. část: Cyt.*bf* (redukuje) + Q (z poolu) =  $\text{QH}_2$  (protony ze stromatu)

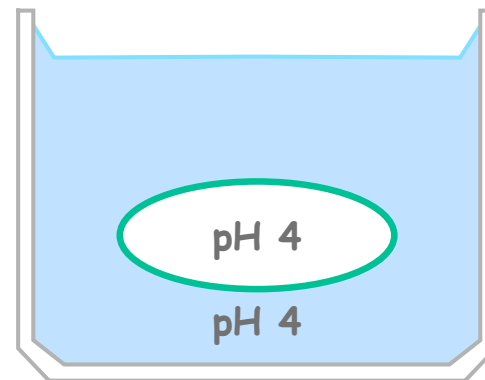
Po reoxidaci  $\text{QH}_2$  se protony uvolní do thylakoidu.



# Jagedorfův pokus. Syntéza ATP jako důsledek pH gradientu.



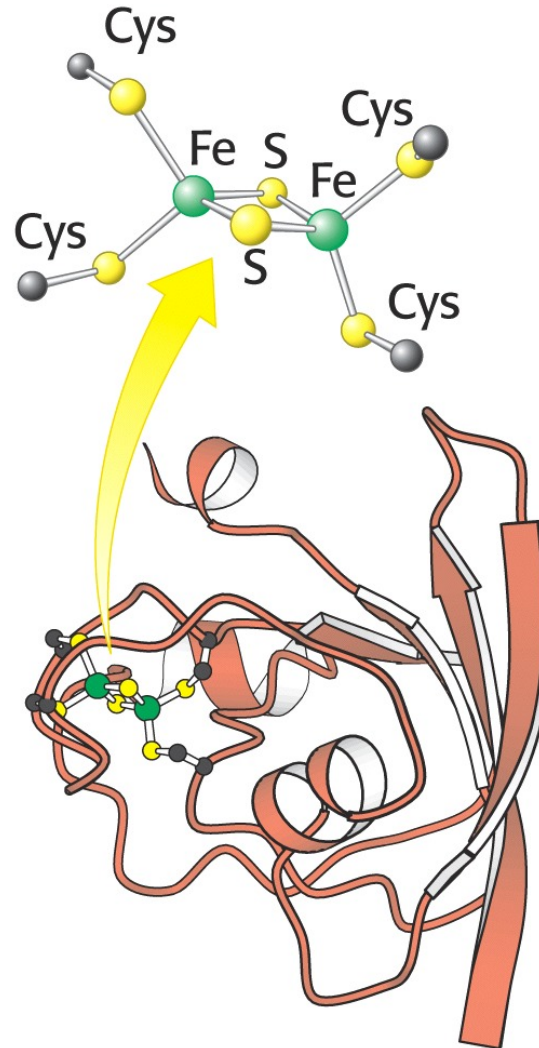
Inkubace po dobu  
několika hodin



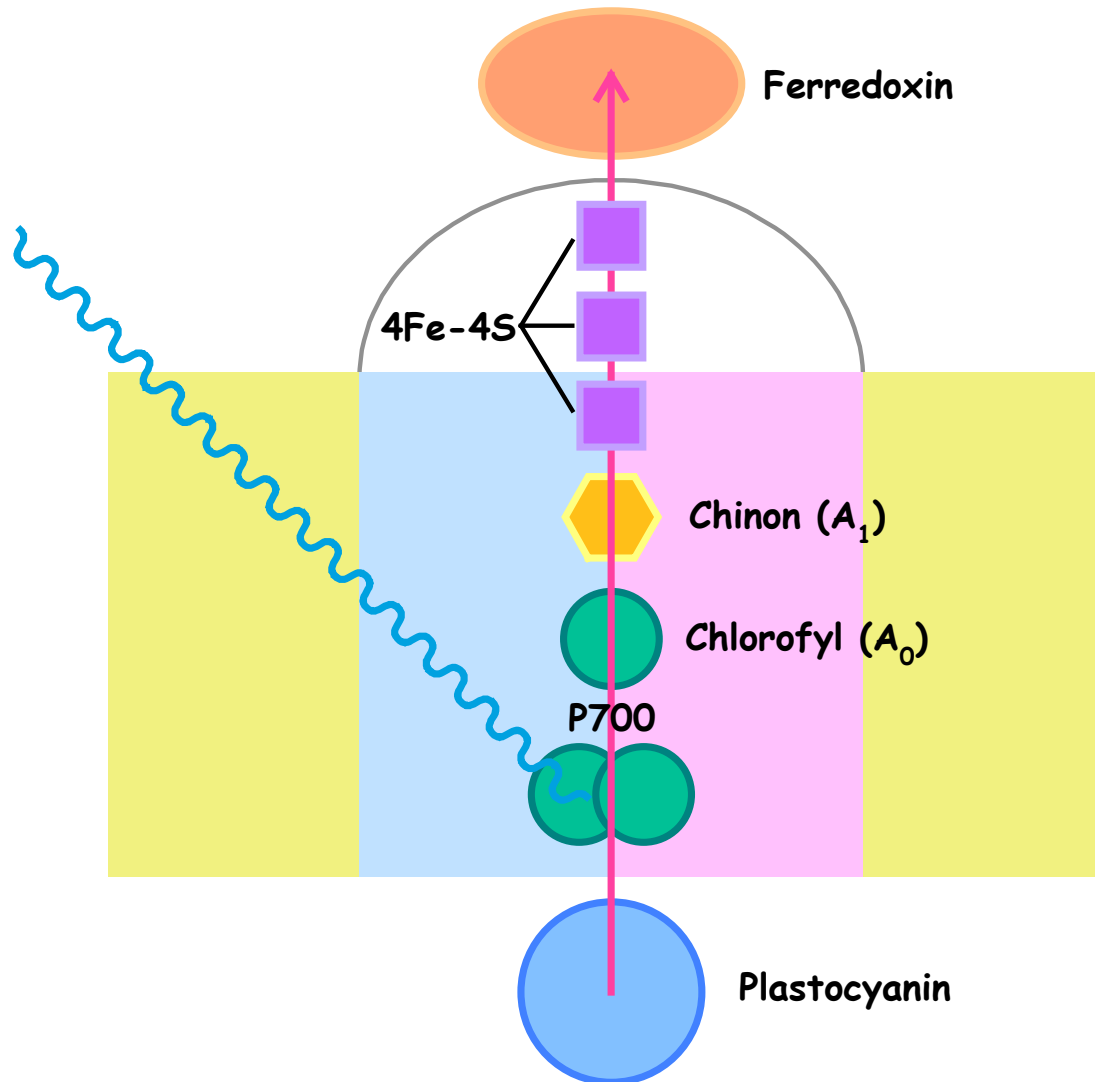
Náhlá změna externího pH  
a přidavek ADP a P<sub>i</sub>



Fotosystém I využívá světelnou energii k tvorbě **redukováného ferredoxinu** - silného redukčního činidla (obsahuje 2Fe-2S). Elektrony jsou přenášeny na ferredoxin-NADP reductasu.

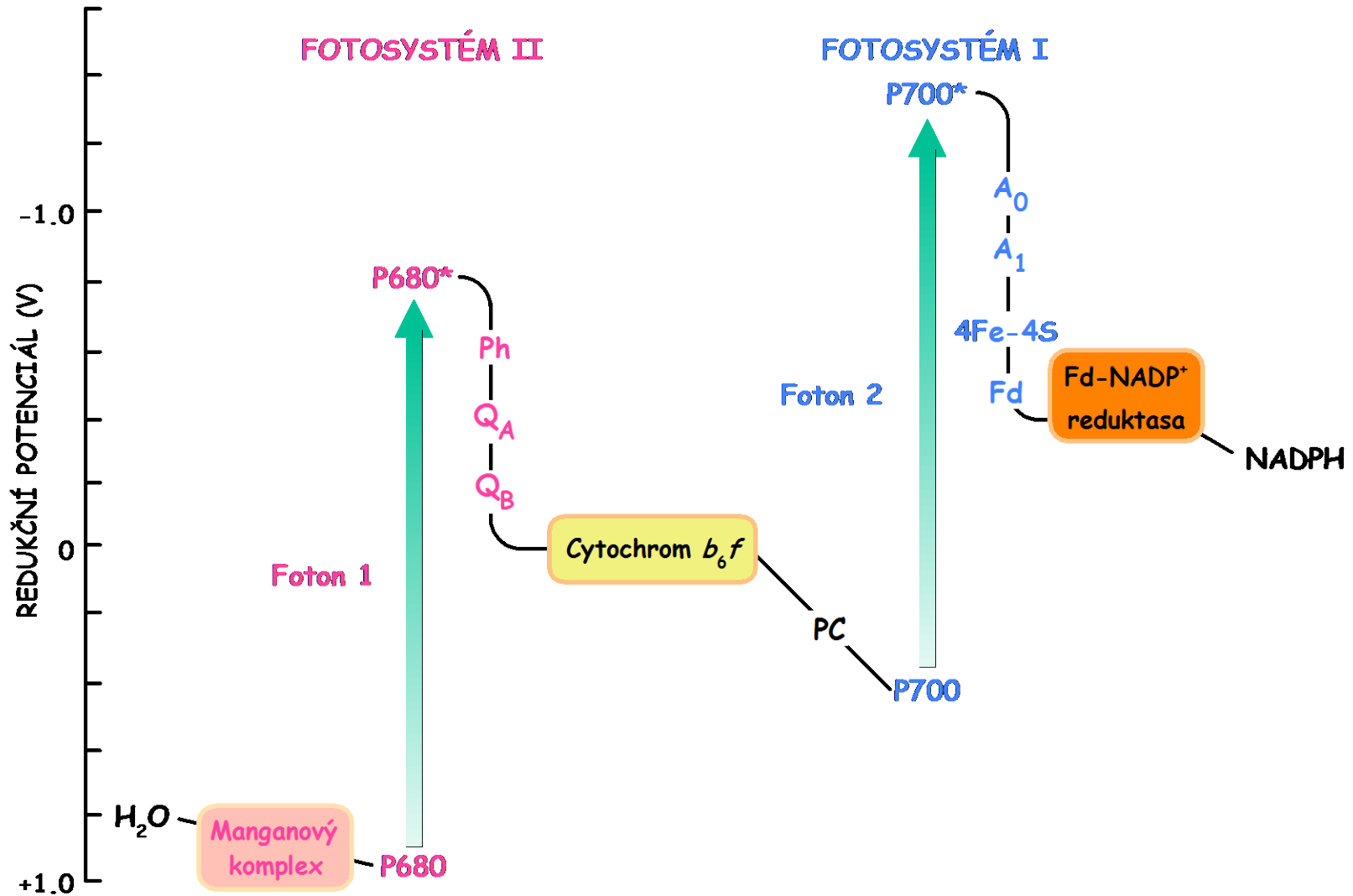


# Tok elektronů fotosystémem I na ferredoxin. Pozitivní náboj P700 se doplňuje elektrony z plastocyaninu

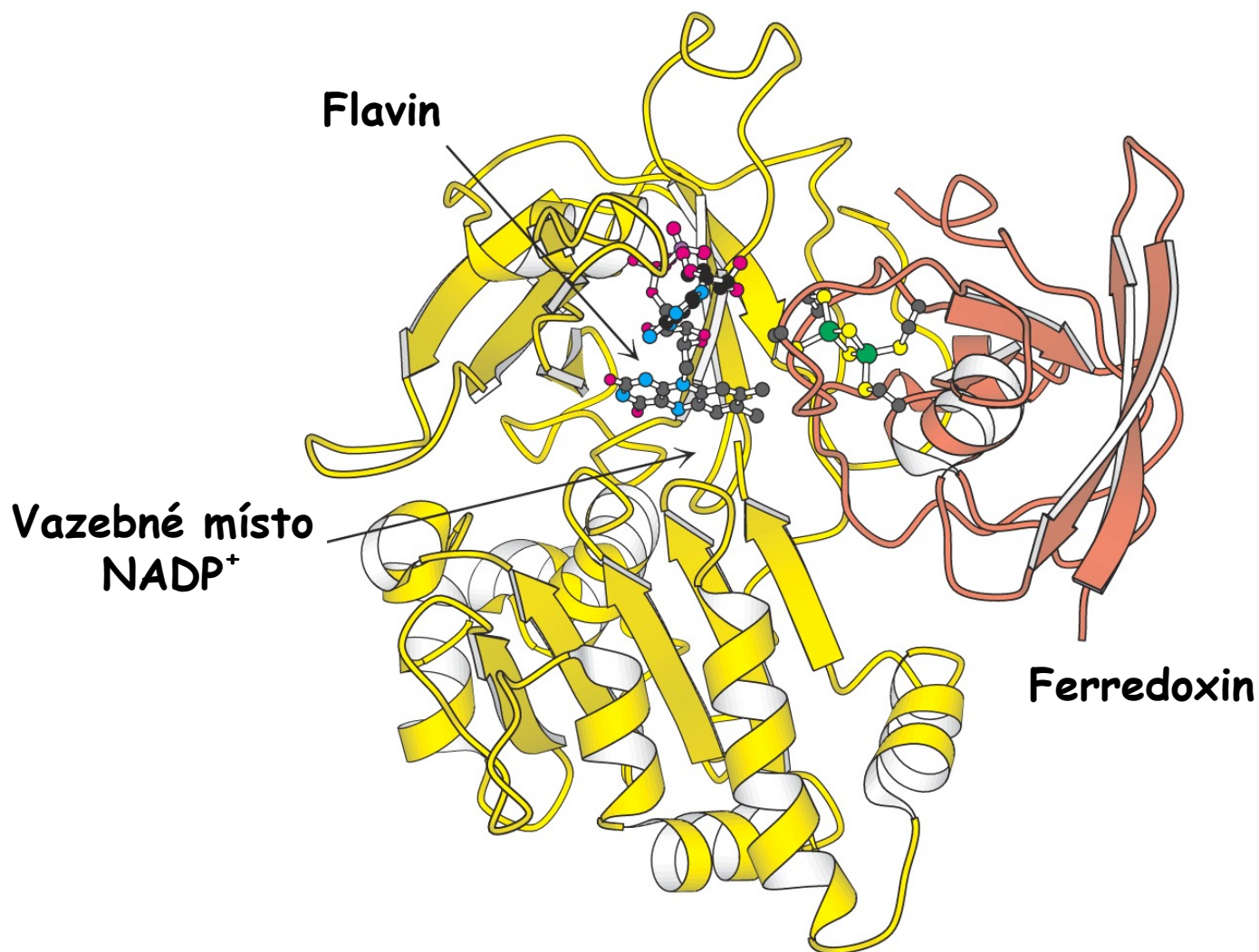




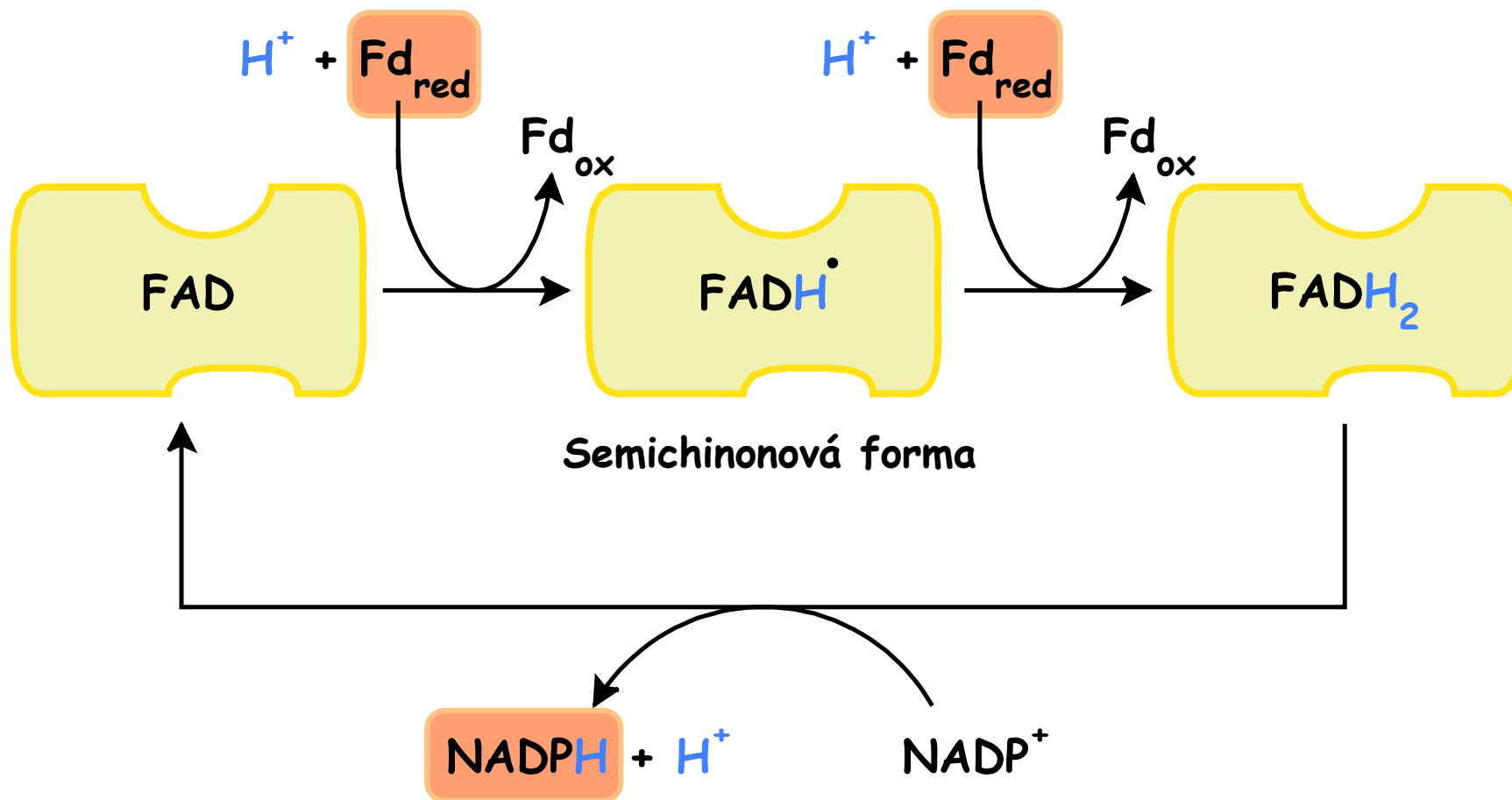
# Dráha elektronů z vody na NADP<sup>+</sup> při fotosyntéze



## Struktura ferredoxin-NADP<sup>+</sup>reduktasy



## Ferredoxin NADP<sup>+</sup>reduktasa - mechanismus



## Energetický výtěžek světelné (primární) fáze fotosyntézy

- Absorpce 4 fotonů PSII generuje 1 molekulu  $O_2$  a uvolní se 4 protony do dutiny thylakoidu.
- Dvě molekuly plastochinolu jsou oxidovány komplexem *b<sub>f</sub>* za uvolnění 8 protonů do dutiny thylakoidu (lumen).
- Elektrony ze 4 molekul redukovaného plastocyaninu jsou za účasti dalších 4 absorbovaných fotonů předány na ferredoxin.
- Čtyři molekuly redukovaného ferredoxinu **generují 2 molekuly NADPH**.
- Celková reakce tvorby NADPH:
- $2 H_2O + 12 NADP^+ + 10 H^+_{stroma} = O_2 + 12 NADPH + 12 H^+_{lumen}$
- Dvanáct protonů v lumen vstupuje do cATPsynthasy (chloroplastová).  
**Tvoří se celkem 3 molekuly ATP.**
- Celková reakce fotofosforylace:
- $2 H_2O + 12 NADP^+ + 10 H^+_{stroma} = O_2 + 12 NADPH + 12 H^+_{lumen}$
- $3 ADP^{3-} + 3 P_i^{2-} + 3 H^+ + 12 H^+_{lumen} = 3 ATP^{4-} + 3 H_2O + 12 H^+_{stroma}$
- **$2 NADP^+ + 3 ADP + 3 P_i + H^+ = O_2 + 2 NADPH + 3 ATP + H_2O$**

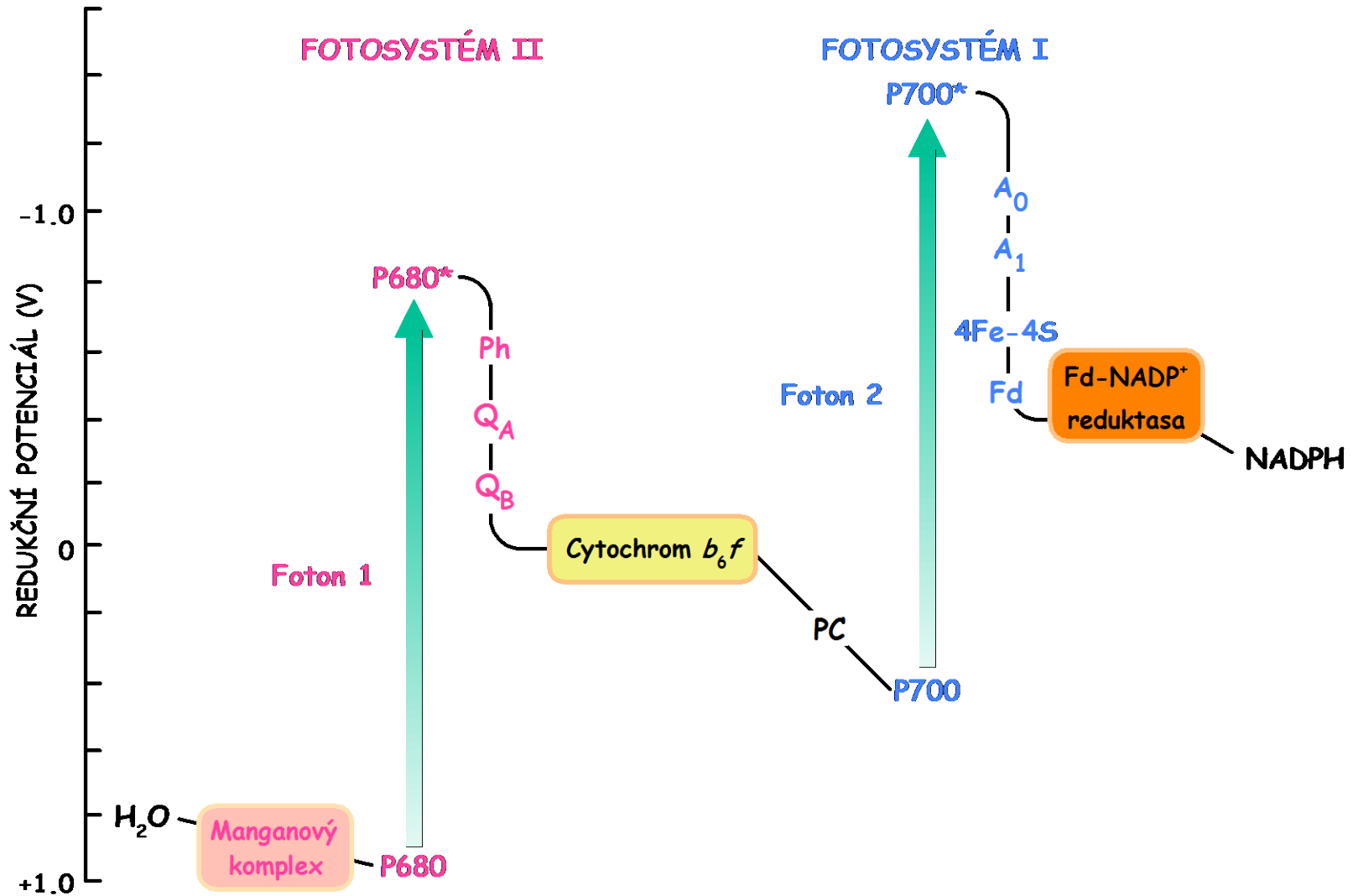
## Cyklická fotofosforylace

- **Cyklická fotofosforylace je alternativní drahou fotosyntézy.**
- Elektrony redukovaného ferredoxinu mohou být převedeny na cytochrom *b<sub>f</sub>* komplex namísto na NADP<sup>+</sup>.
- Elektrony prochází zpět *b<sub>f</sub>* komplexem, redukuje plastocyanin, který je posléze reoxidován P700<sup>+</sup>. Cyklus se uzavírá.
- Výsledkem je pumpování protonů komplexem *b<sub>f</sub>*. Vzniklý protonový gradient pohání syntézu ATP.
- Tvoří se jen ATP a ne NADPH! **Proces je aktivní za situace, kdy je nadbytek NADPH, prakticky nedostatek NADP<sup>+</sup>.**
- Cyklická fotofosforylace je ve smyslu zisku ATP produktivnější než necyklická. **Dva absorbované fotony poskytují 1 molekulu ATP, kdežto při necyklické je třeba na 3 ATP 8 fotonů.**
- Na procesu se nepodílí fotosystém II, netvoří se kyslík fotolýzou vody.

## Temnostní (sekundární) fáze fotosyntézy Calvin - Bensonův cyklus

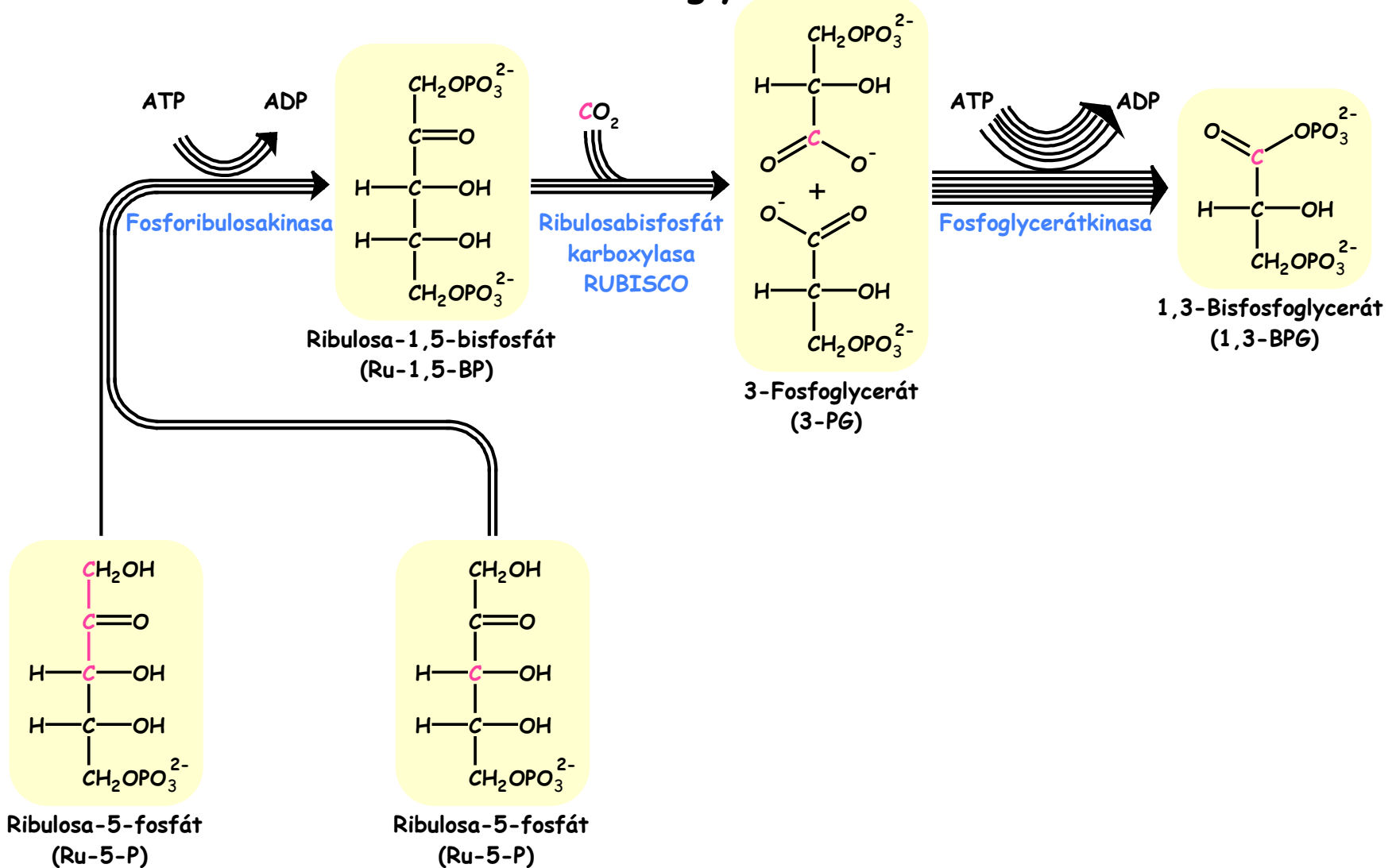
- Metabolická dráha, ve které rostliny inkorporují  $\text{CO}_2$  a tvoří sacharidy, byla objasněna mezi léty 1946 až 1953 M. Calvinem a A. Bensonem.
- Pracovali s buňkami řas a zkoumali produkty vstupu značeného  $^{14}\text{CO}_2$ . Analýzou buněk řas po 5 s po expozici značeným  $^{14}\text{CO}_2$  zjistili, že jediným produktem je 3-fosfoglycerát (3PG) s označeným karboxylem.
- Dále zjistili, že akceptorem  $\text{CO}_2$  je pentosa - ribulosa-1,5-bisfosfát a enzymem podílejícím se na reakci je ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxylasa (RUBISCO).
- Calvin-Bensonův cyklus **probíhá ve stromatu chloroplastů** a lze ho rozdělit na dvě části:
- **Produkční** - ve které tři molekuly ribulosa-1,5-bisfosfát reagují se třemi molekulami  $\text{CO}_2$  za tvorby šesti molekul glycerinaldehyd-3-fosfátu (GAP) za spotřeby 9 molekul ATP a 6 molekul NADPH. Cyklický charakter procesu činí dráhu ekvivalentní tvorbě jedné molekuly GAP ze tří molekul  $\text{CO}_2$ . GAP se může využít k biosyntéze.
- **Regenerační** - ve které uhlíkové atomy zbylých pěti GAP jsou přeměněny v procesu podobném pentosafosfátové dráze na tři ribulosa-5-fosfáty, které proces zahajovaly.

# Dráha elektronů z vody na NADP<sup>+</sup> při fotosyntéze

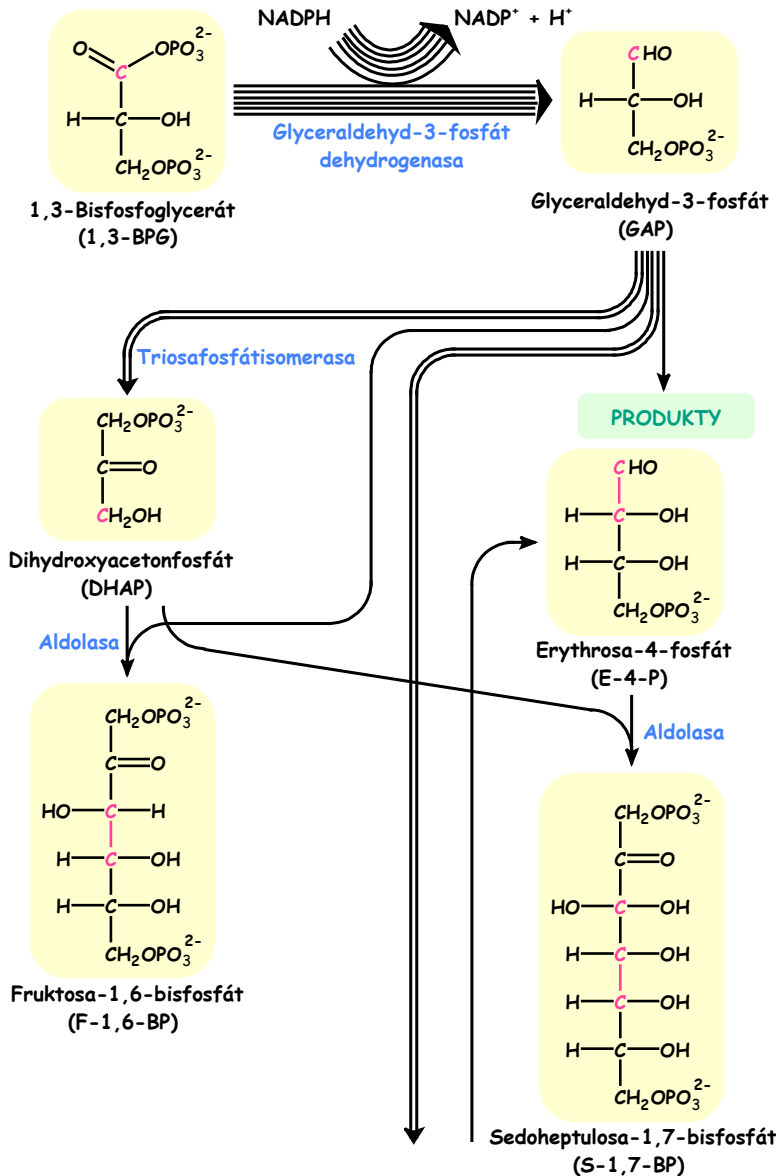




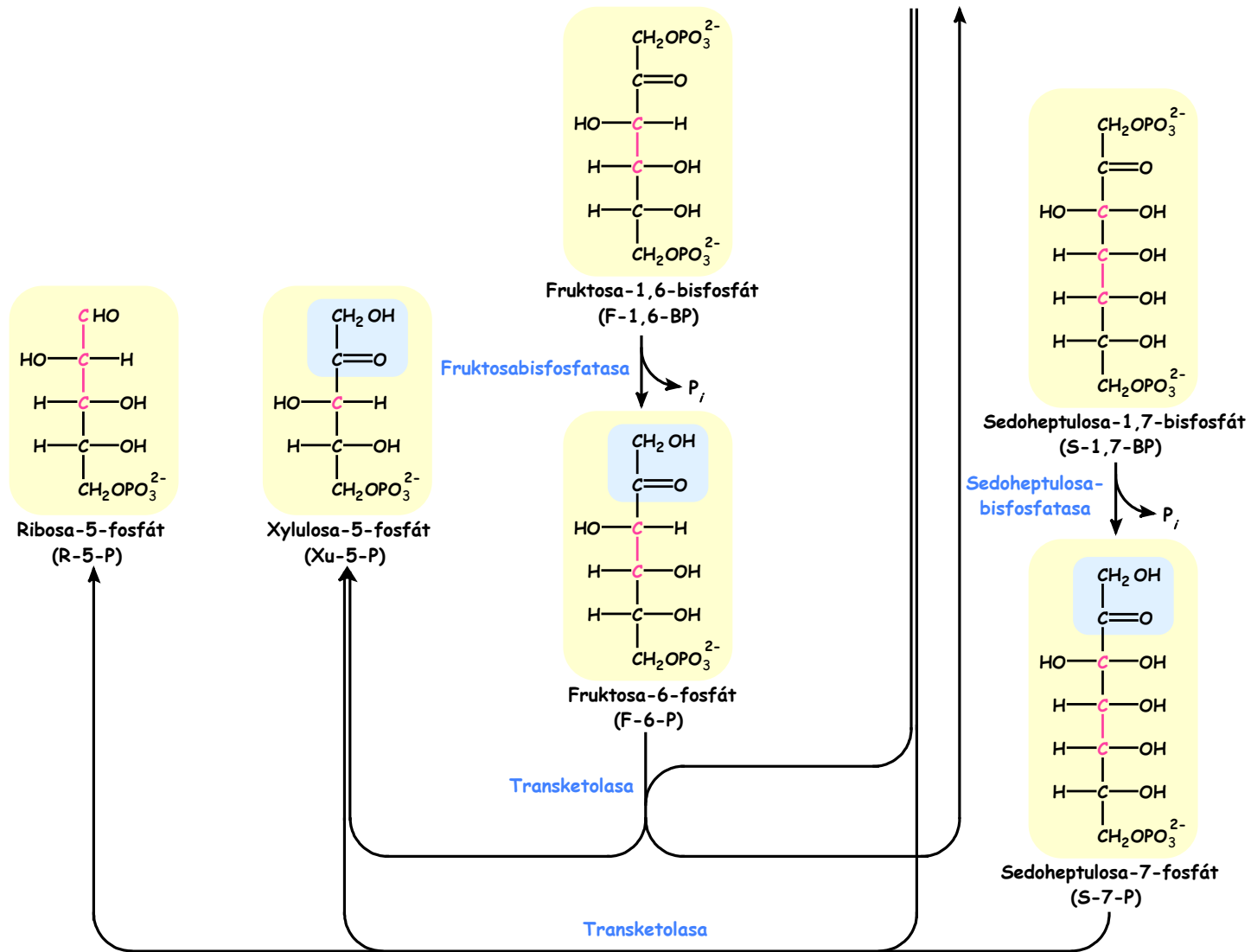
## Fosforylace tří ribulosa-5-fosfátů, vstup tří $\text{CO}_2$ -karboxylace (RUBISCO), tvorba šesti 3-fosfoglycerátů a šesti 1,3-bisfosfoglycerátů



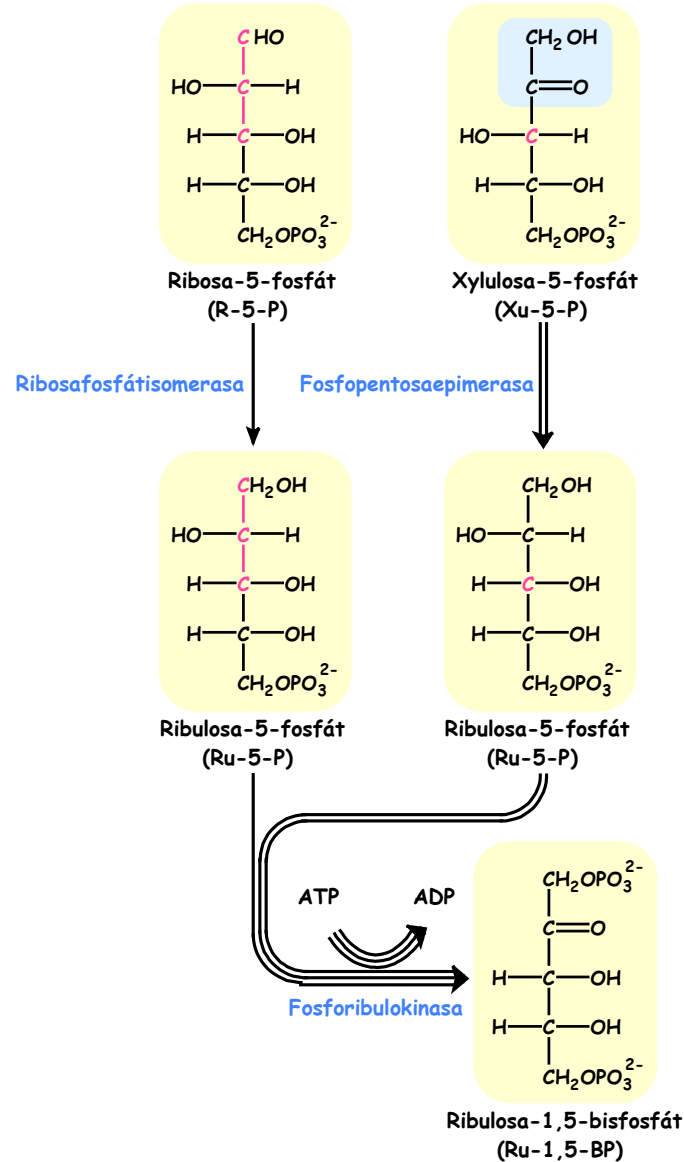
# Redukce šesti 1,3-bisfosfoglycerátů na glyceraldehyd-3-fosfát a start regenerační fáze



## Pokračování regenerační fáze



## Závěr regenerační fáze - tvorba ribulosa-1,5-bisfosfátu



## Jednotlivé reakce Calvin - Bensonova cyklu

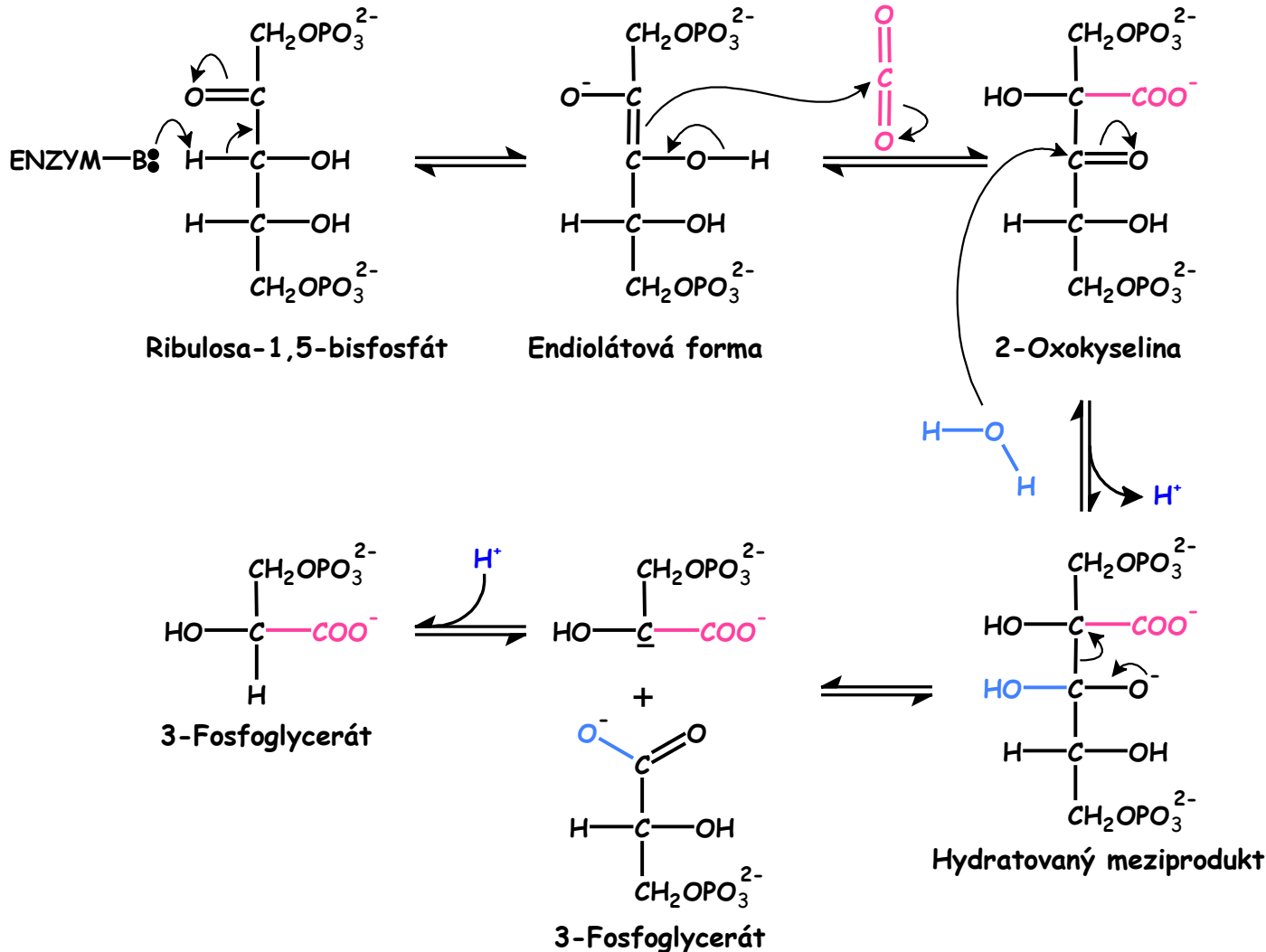
- Osm, z celkového počtu jedenácti reakcí Calvin-Bensonova cyklu, je zvratem glykolýzy nebo reakcí glukoneogeneze známé z biochemie živočichů.
- Jediné tři reakce z jedenácti jsou katalyzovány enzymy, které se v živočišné říši nevyskytují:
- **Fosforibulosakinasa** katalyzující tvorbu ribulosa-1,5-bisfosfátu z ribulosa-5-fosfátu.
- **Ribulosabisfosfátkarboxylasa** katalyzující vstup  $\text{CO}_2$  do sacharidu.
- **Sedoheptulosabisfosfatasa (SBPasa)** katalyzující odštěpení fosfátu ze sedoheptulosa-1,7-bisfosfátu na sedoheptulosa-7-fosfát.

## Ribulosabisfosfátkarboxylasa (RuBP karboxylasa)

- **RuBP karboxylasa** je nejdůležitější enzym na Zemi. Vyznačuje se nízkou aktivitou ( $k_{\text{cat}} = 3 \text{ s}^{-1}$ ), ale jeho obsah v zeleném listu přesahuje 50 % všech proteinů. Je tedy i nejrozšířenějším proteinem biosféry.
- **RuBPkarboxylasa** z vyšších rostlin a většiny fotosyntetických mikroorganismů je složena z osmi velkých podjednotek kódovaných chloroplastovou DNA (L je složena ze 477 aminokyselin) a osmi malých podjednotek (S složených z 123 aminokyselin) kódovaných jadernou DNA.
- K aktivitě **RuBP karboxylasa** je nutný  $\text{Mg}^{2+}$  vázaný na katalyticky významnou karbamátovou skupinu ( $-\text{NH}-\text{COO}^-$ ), která se vytváří reakcí **nesubstrátového  $\text{CO}_2$**  s  $\epsilon$ -aminoskupinou Lys 201.
- Reakci *in vivo* katalyzuje **RuBP karboxylasaaktivasa** za spotřeby ATP.

## Mechanismus katalýzy ribulosabisfosfátkarboxylasy

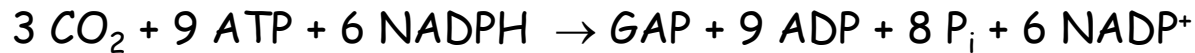
Reakce je silně exergonní ( $\Delta G^{\circ} = -35,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), dáno štěpením 2-oxokyseliny na dva stabilní 3-fosfoglyceráty.





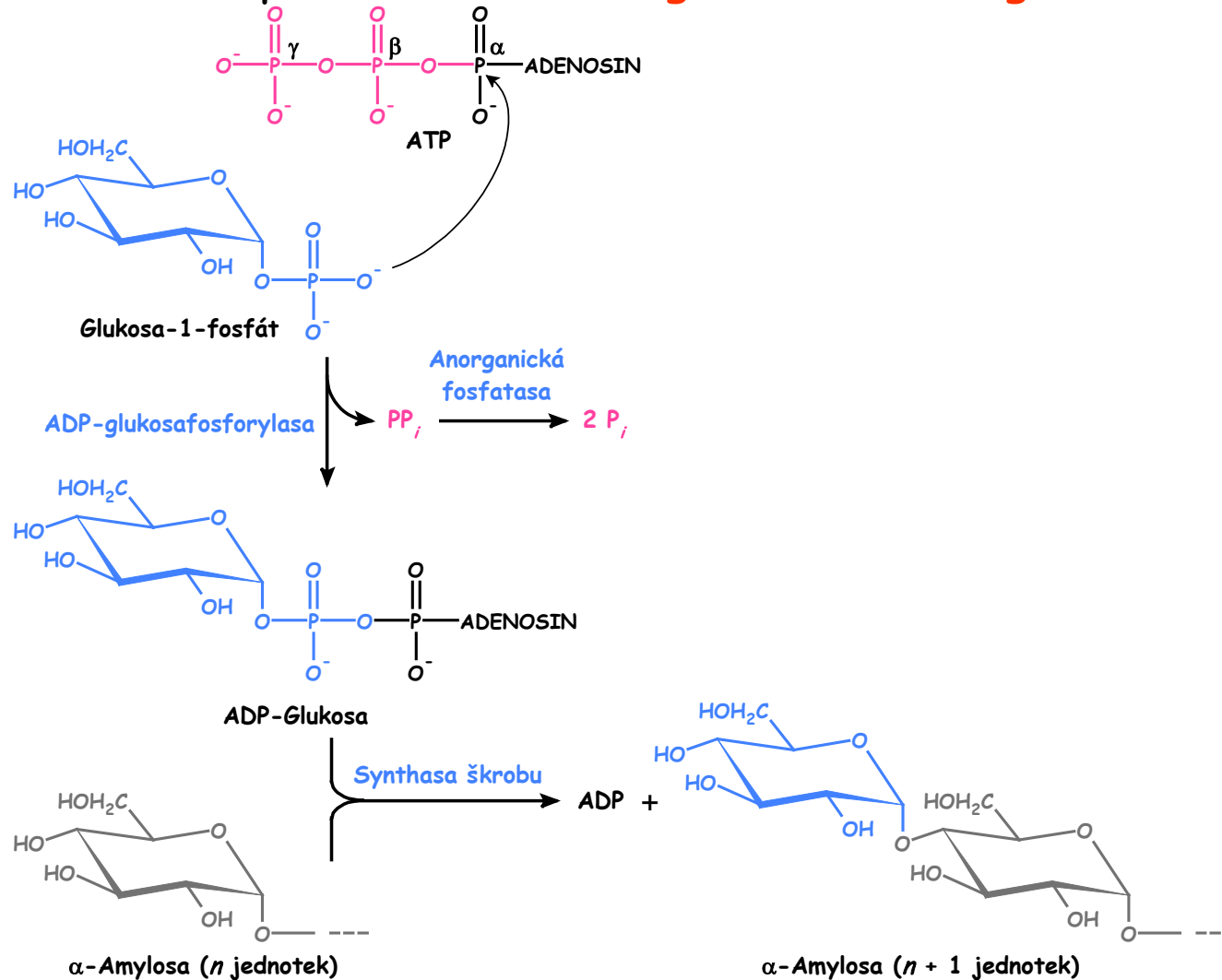
## Biosyntéza sacharidů

- Celková stechiometrie Calvin-Bensonova cyklu ( $GAP = \text{glyceraldehyd-3-fosfát}$ )

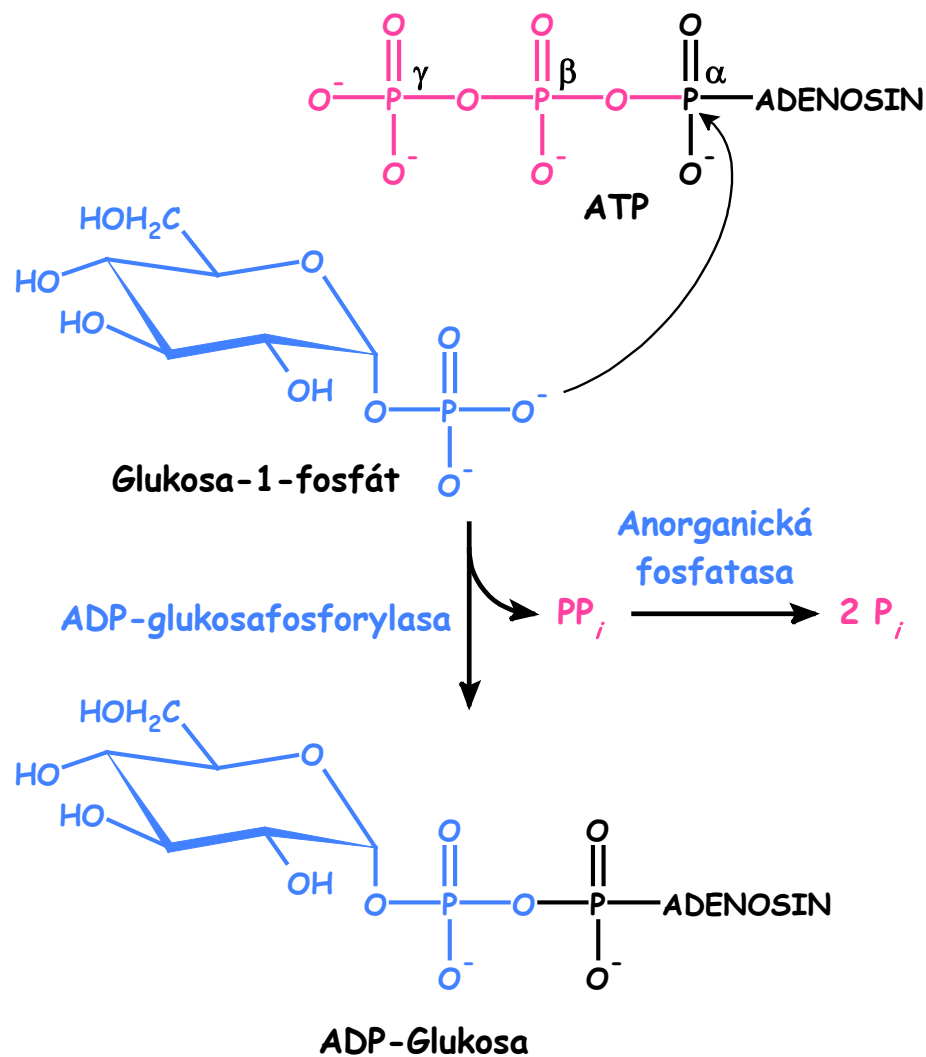


- Vytvořený  $GAP$  může být využit k řadě biosyntéz, buď vně nebo uvnitř chloroplastu. Může být převeden na fruktosa-6-fosfát dalším postupem cyklu a poté na **glukosa-1-fosfát ( $G1P$ )** (fosfoglukosaisomerasa a fosfoglukosamutasa).
- $G1P$  je prekurzor všech dalších sacharidů rostlin.
- Hlavní složka škrobu,  **$\alpha$ -amylosa**, je syntetizována ve stromatu chloroplastu jako dočasná skladovatelná forma glukosy.
- **$\alpha$ -Amylosa** je také syntetizována jako dlouhodobá skladovatelná forma v jiných částech rostlin jako jsou listy, semena a kořeny.
- **Celulosa** tvořena dlouhými řetězci  $\beta(1 \rightarrow 4)$ -vázanými glukosovými jednotkami je hlavním polysacharidem rostlin. Je syntetizována z  $UDP\text{-glukos}$  v rostlinné plasmové membráně a vylučována do extracelulárního prostoru.

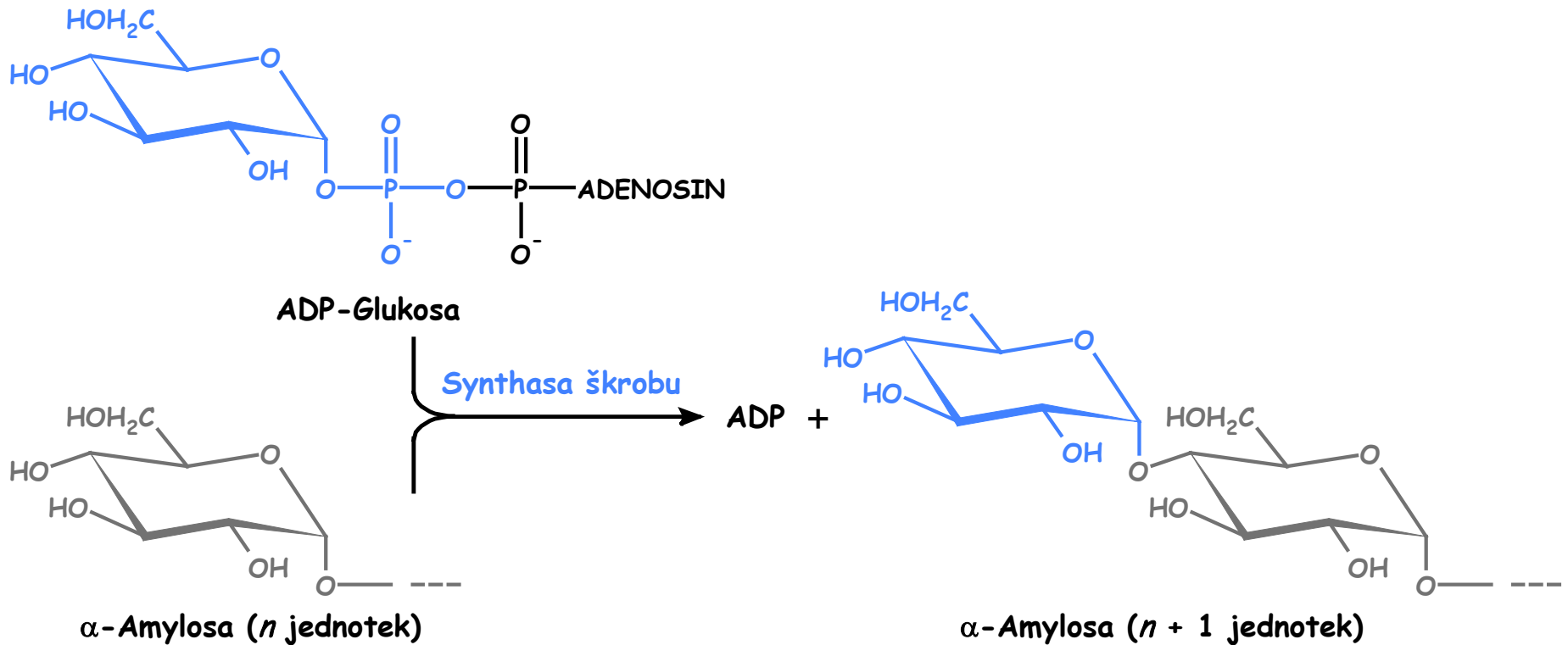
**Syntéza škrobu.** Škrob je méně větvený než glykogen. Celkově je reakce poháněna hydrolýzou  $PP_i$ . Škrob je syntetizován a skladován v chloroplastech. **Aktivní glukosa = ADP-glukosa.**



## První část syntézy $\alpha$ -amylosy Aktivace (fosforylace) glukosa-1-fosfátu.



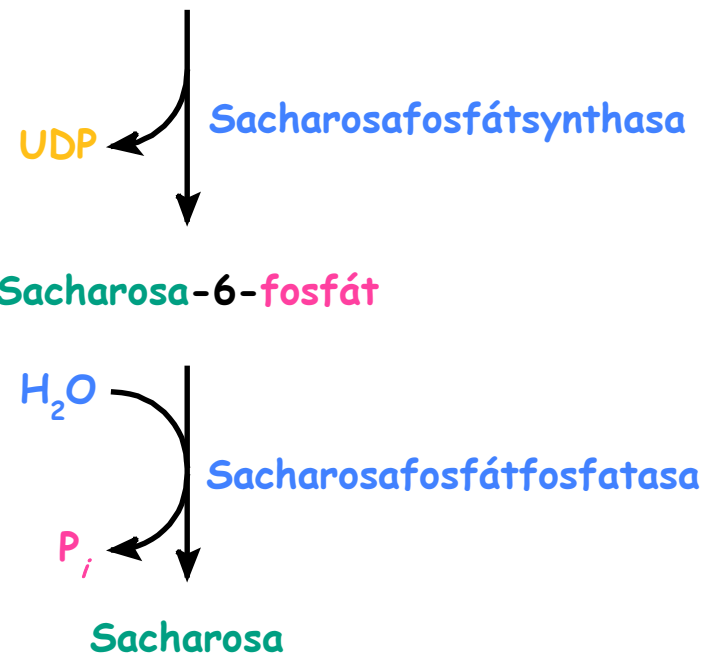
## Druhá část syntézy $\alpha$ -amylosy. Prodlužování řetězce na neredukujícím konci molekuly $\alpha$ -amylosy. Enzym: Synthasa škrobu



## Sacharosa - hlavní transportní sacharid pro nefotosyntetizující buňky - **nejdůležitější produkt fotosyntézy**

- **Sacharosa je syntetizována v cytosolu** a proto musí být její dvě komponenty (G3P a DHA) transportovány z chloroplastu systémem antiporter s fosfátem.
- Dvě triosy se kombinují za tvorby fruktosa-6-fosfátu, která se následně převede na glukosa-1-fosfát.
- G1P je aktivován UTP (uridintrifosfát) na UDP-glukosu. Sacharosa-6-fosfát se tvoří za katalýzy enzymem **sacharosafosfátsynthasa**. Odštěpení fosfátu se uskutečňuje sacharosafosfátfosfatasou.

UDP-Glukosa + Fruktosa-6-fosfát



## Regulace Calvin - Bensonova cyklu

- Kontrolní body každé metabolické dráhy jsou na enzymových stupních vzdálených od rovnováhy (velká negativní hodnota  $\Delta G$ ).
- Enzymy katalyzující reakce s velkou změnou volné energie:
  - Ribulosabisfosfátkarboxylasa;  $\Delta G$  (kJ.mol<sup>-1</sup>) = - 41, 0
  - Fruktosabisfosfatasa;  $\Delta G$  (kJ.mol<sup>-1</sup>) = - 27, 2
  - Sedoheptulosabisfosfatasa;  $\Delta G$  (kJ.mol<sup>-1</sup>) = - 29, 7
- Katalytická účinnost těchto enzymů je silně ovlivňována osvětlením!!
- Aktivita RUBISCA je ovlivňována těmito dvěma na světle závislými faktory:
  - pH . Po osvětlení se zvyšuje pH ve stromatu z hodnoty  $\approx 7, 0$  na hodnotu  $\approx 8, 0$ . Protony jsou pumpovány ze stromatu do dutin thylakoidů.  
**RUBISCO má ostré pH optimum 8, 0!!**
  - [Mg<sup>2+</sup>] Vstup protonů do thylakoidů je kompenzován transportem Mg<sup>2+</sup> do stromatu.

## Standardní a fyziologické změny volné energie reakcí Calvin-Bensonova cyklu

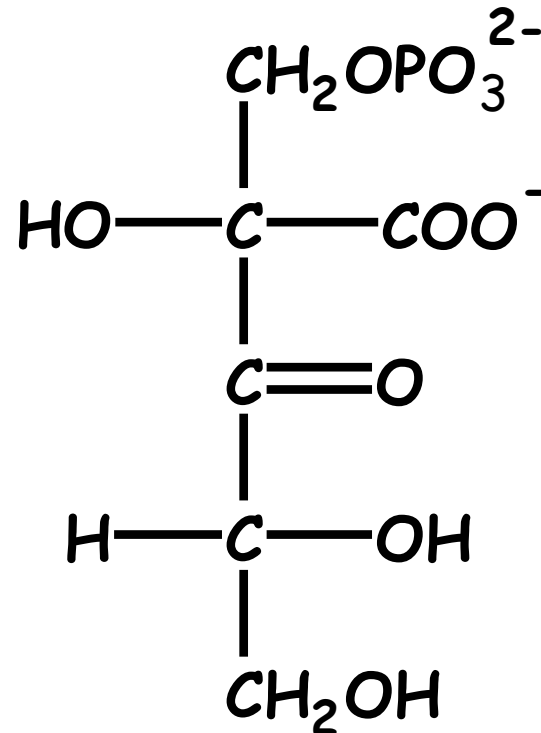
Stupeň	Enzym	$\Delta G^\circ$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ.mol <sup>-1</sup> )
• 1.	Fosforibulokinasa	- 21, 8	- 15, 8
• 2.	<b>Ribulosabisfosfátkarboxylasa</b>	<b>- 35, 1</b>	<b>- 41, 0</b>
• 3. + 4.	Fosfoglycerátkinasa + glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasa	+ 18, 0	- 6, 7
• 5.	Triosafosfátisomerasa	- 7, 5	- 0, 8
• 6.	Aldolasa	- 21, 8	- 1, 7
• 7.	<b>Fruktosabisfosfatasa</b>	<b>- 14, 2</b>	<b>- 27, 2</b>
• 8.	Transketolasa	+ 6, 3	- 3, 8
• 9.	Aldolasa	- 23, 4	- 0, 8
• 10.	<b>Sedoheptulosabisfosfatasa</b>	<b>- 14, 2</b>	<b>- 29, 7</b>
• 11.	Transketolasa	+ 0, 4	- 5, 9
• 12.	Fosfopentosaepimerasa	+ 0, 8	- 0, 4
• 13.	Ribosafosfátisomerasa	+ 2, 1	- 0, 4
•			



## Regulace Calvin - Bensonova cyklu

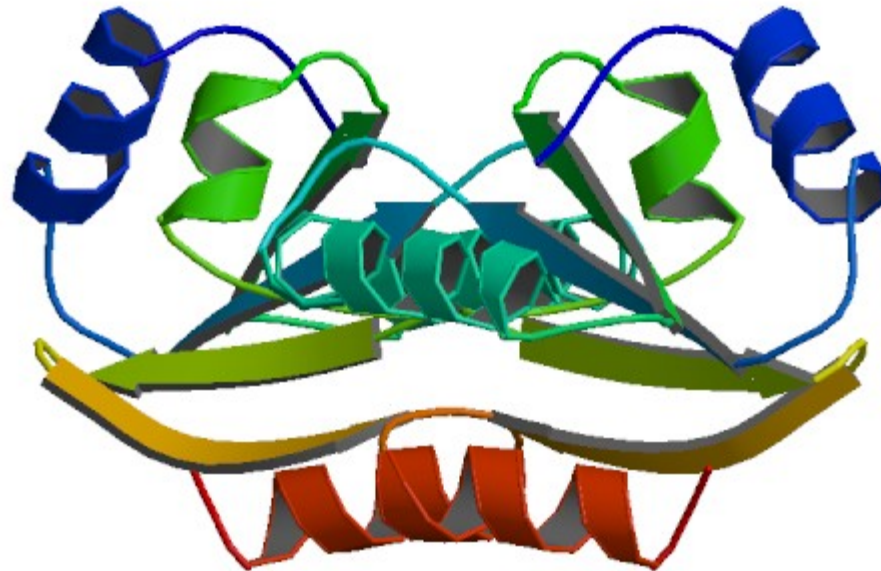
- Analog přechodového stavu (katalytického mechanismu RUBISCa) **2-karboxyarabinitol-1-fosfát (CA1P)**. Tuto látku, která inhibuje RUBISCO, syntetizuje řada rostlin pouze za tmy. Blokuje se tak aktivita RUBISCA ve tmě.
- Oba další enzymy jsou také aktivovány zvýšením pH a  $[Mg^{2+}]$ . Navíc jsou ovlivňovány NADPH. To je druhý regulační systém závislý na redoxním potenciálu stromatu.
- **Thioredoxin**, protein obsahující 105 aminokyselin, má redukovatelnou disulfidovou skupinu. Redukovaný thioredoxin aktivuje jak fruktosabisfosfatasu, tak sedoheptulosabisfosfatasu.
- Redoxní hladina thioredoxinu závisí na systému ferredoxin-thioredoxinreduktasy. Jeho redoxní stav závisí na osvětlení.
- Thioredoxin deaktivuje fosfofruktokinazu - klíčový enzym glykolýzy.
- Závěr:
- **Světlo stimuluje Calvin-Bensonův cyklus a deaktivuje glykolýzu, kdežto tma má opačný efekt.**

## CA-1-P - inhibitor ribulosabisfosfátkarboxylasy (tma)

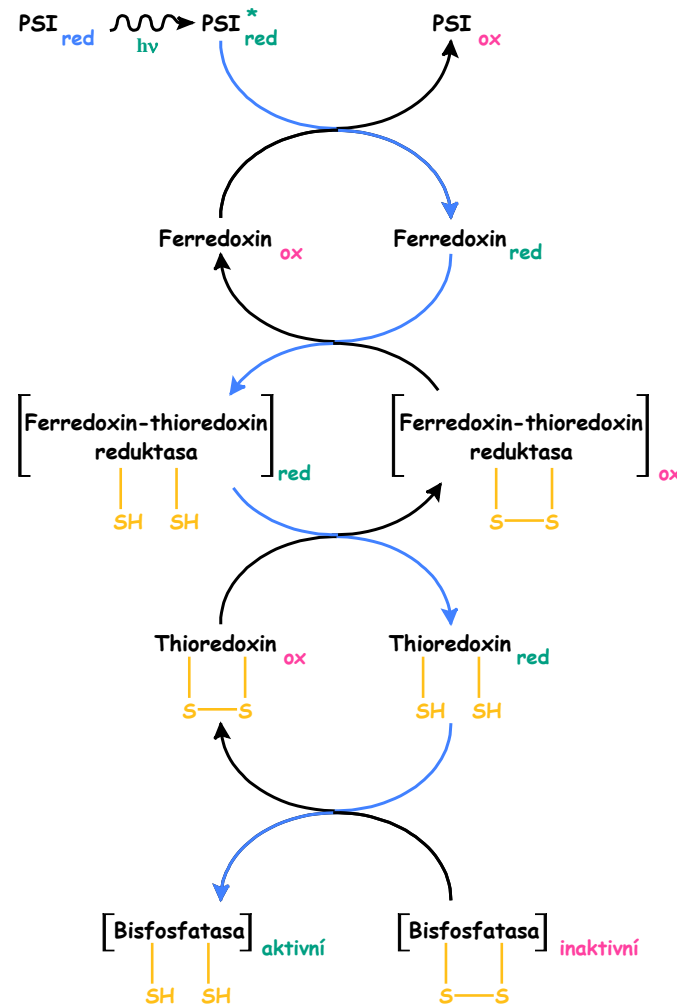


2-Karboxyarabinitol-1-fosfát  
(CA-1-P)

Thioredoxin je 12-kD oxidoreduktasa - enzym obsahující dithiol-disulfid v aktivním místě, antioxidant) Je přítomen téměř ve všech organismech - pro život savců je esenciální.



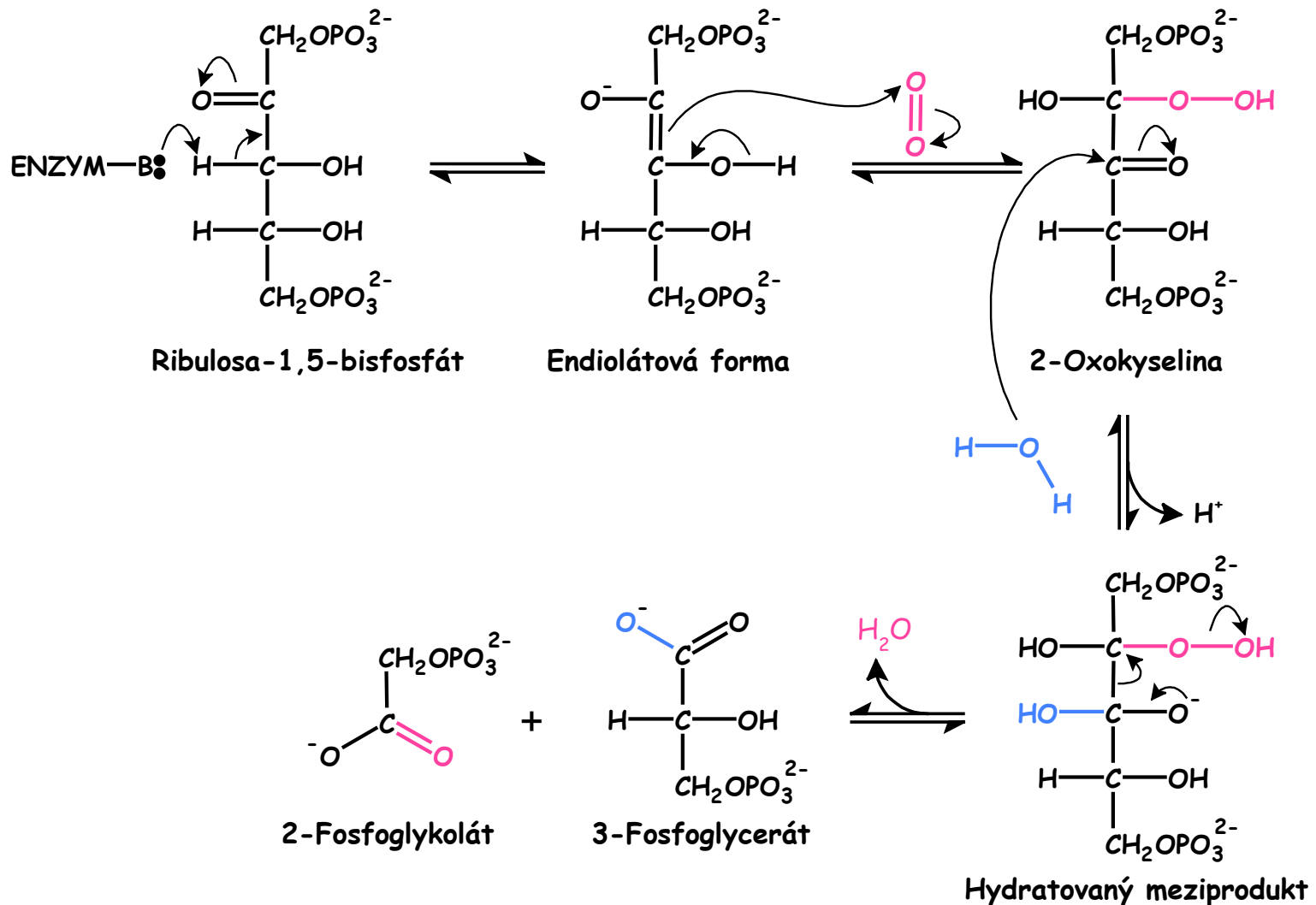
# Světlem indukovaná funkce ferredoxin-thioredoxinreduktasy. Redukovaný thioredoxin aktivuje řadu enzymů Calvinova cyklu.



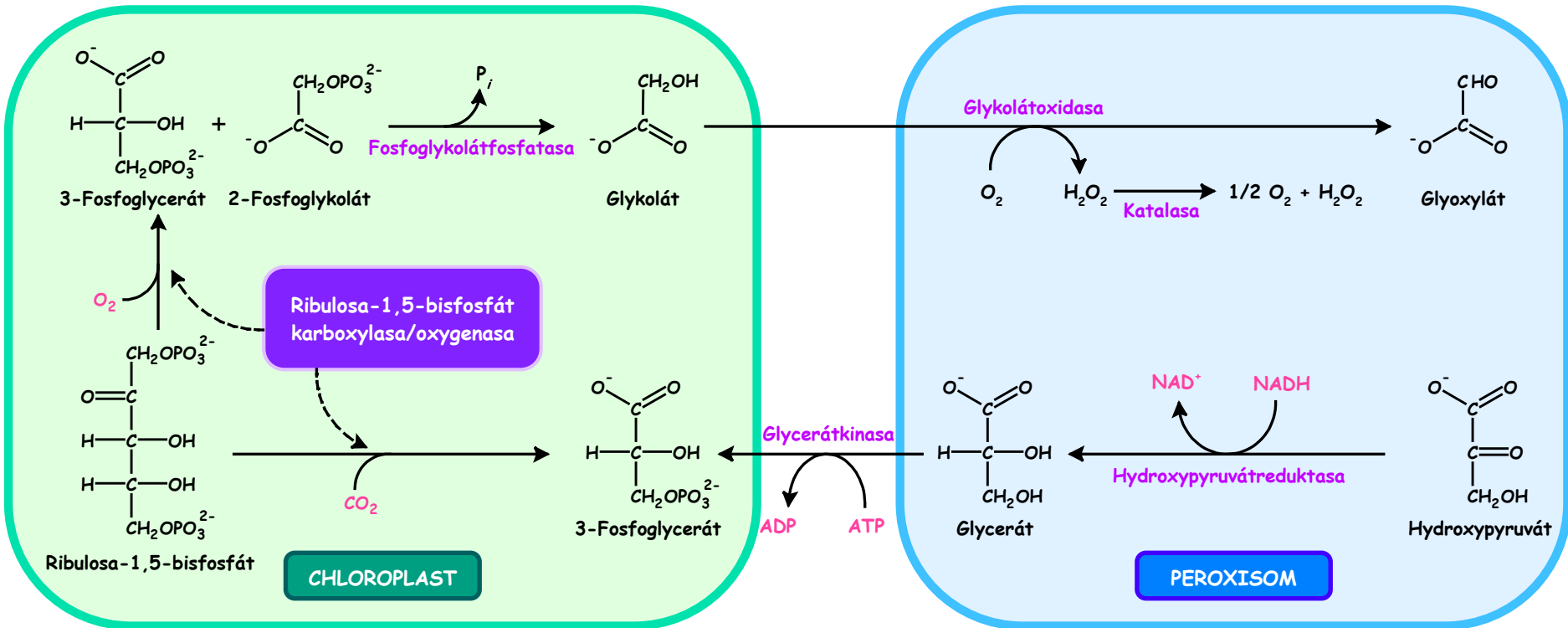
## Fotorespirace

- Od roku 1960 je známo, že osvětlené rostliny spotřebovávají kyslík a uvolňují  $\text{CO}_2$  drahou odlišnou od oxidativní fosforylace.
- Při nízkých hladinách  $\text{CO}_2$  a vysokých  $\text{O}_2$  může proces fotorespirace převládnout nad fixací  $\text{CO}_2$ .
- Překvapení: kyslík kompetuje s  $\text{CO}_2$  jako substrát RUBISCa.
- Přesnější název: ribulosabisfosfátkarboxylasa-oxygenasa (**RUBISCO**).
- Při oxygenasové reakci se vytváří z RuBP 3-fosfoglycerát a 2-fosfoglykolát. 2-Fosfoglykolát je hydrolyzován na glykolát a ten je oxidován za tvorby  $\text{CO}_2$  v sérii enzymových reakcí v peroxisomech a mitochondrii.
- Fotorespirace je devastující proces jehož výsledkem je neúčinná spotřeba světlem vytvořeného NADPH a ATP!!

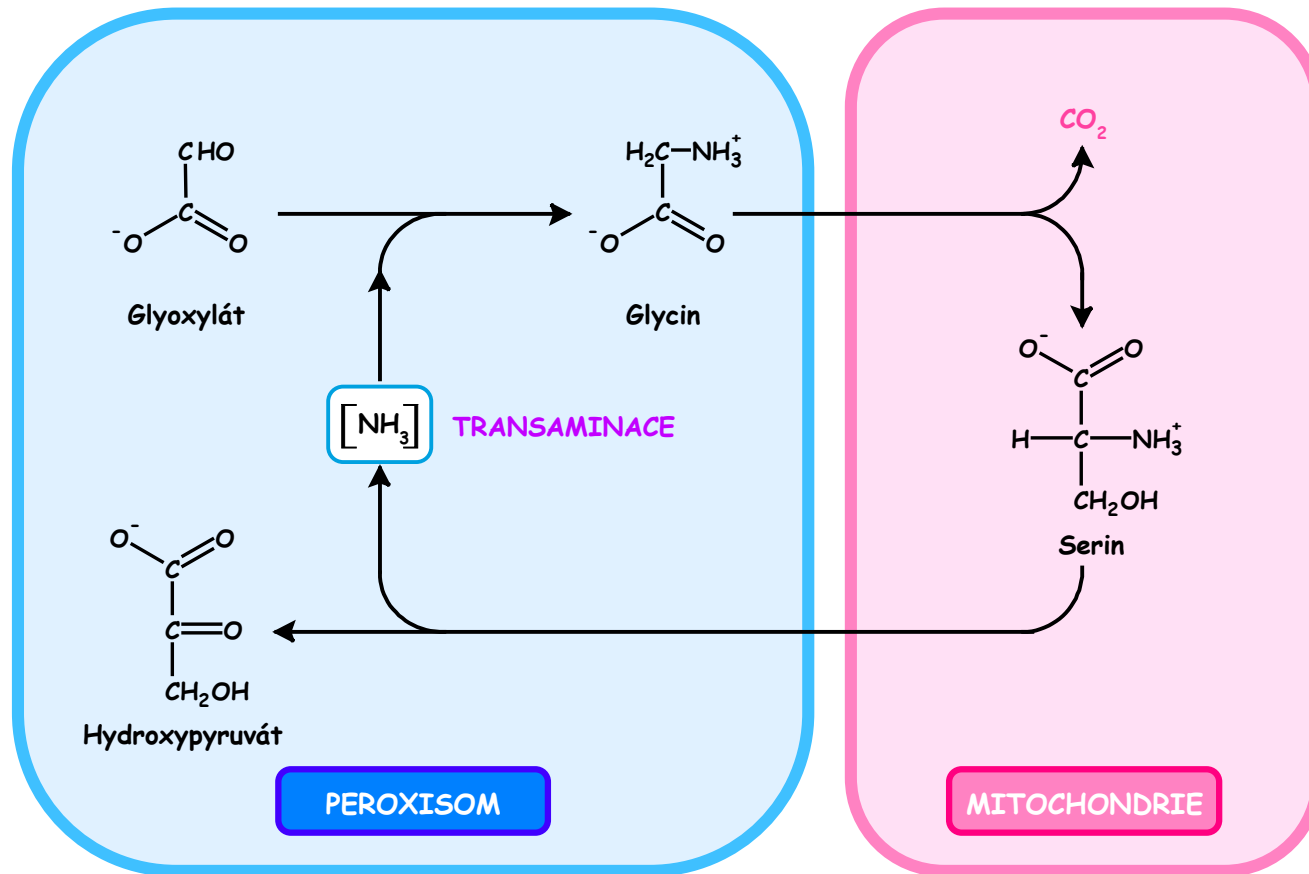
# Pravděpodobný mechanismus oxygenasové reakce RUBISCA



# Oxygenasová reakce RUBISCA. Chloroplast - peroxisom (glyoxysom)



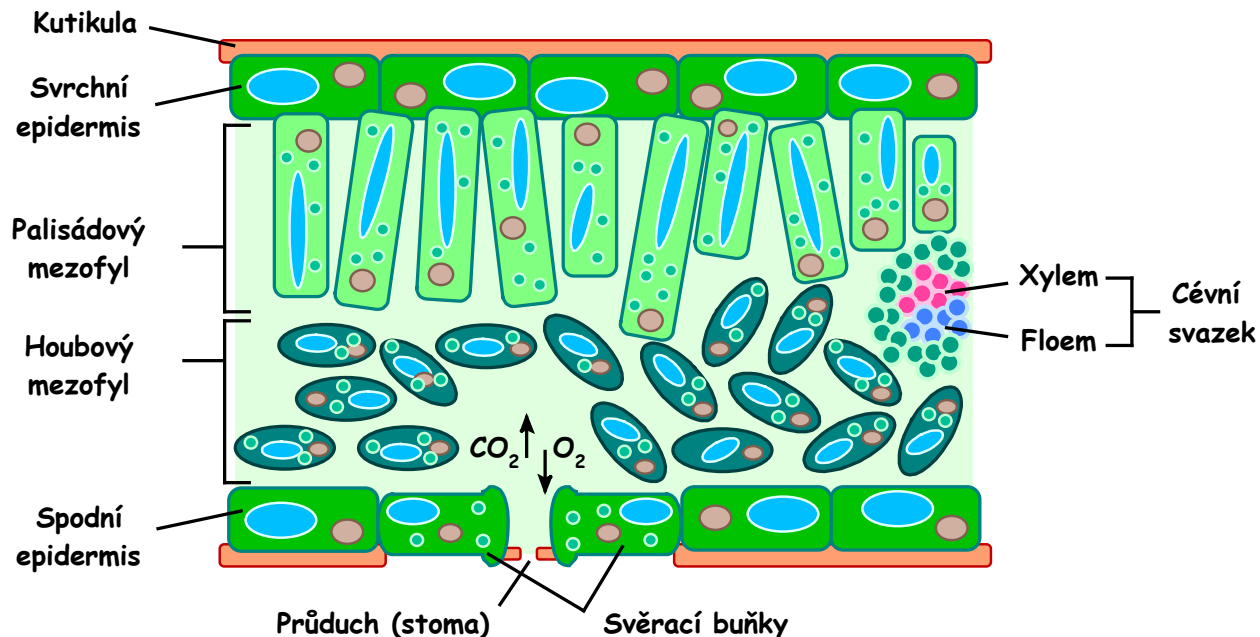
# Oxygenasová reakce RUBISCA. Peroxisom - mitochondrie





## Rostliny $C_4$ koncentrují na povrchu listu $CO_2$ .

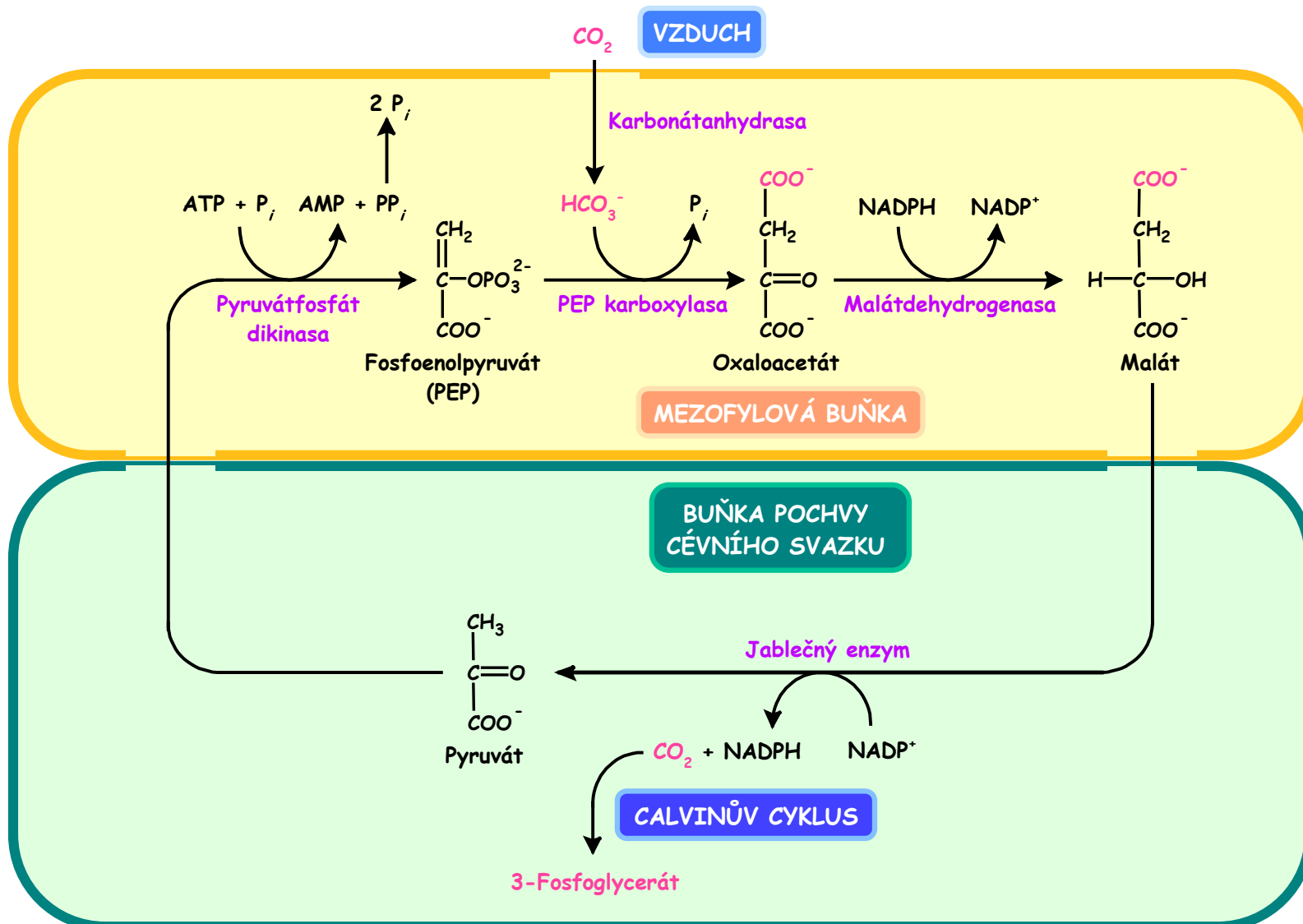
- Řada rostlin se evolučně přizpůsobila kolísání koncentrace  $O_2$  a  $CO_2$  tak, že koncentrují ve fotosyntetických buňkách  $CO_2$  a zabraňují fotorespiraci. Např. cukrovka, cukrová třtina, kukuřice a mnoho plevelných rostlin. Typické pro tropické oblasti.
- List má charakteristickou anatomii - pod vrstvou buněk tzv. mezofylu jsou soustředěny žilky cévních svazků. V mesofylových buňkách není ribulosabisfosfátkarboxylasa!



## Cyklus $C_4$ - M. Hatch a R. Slack (1960)

- V mesofylu reaguje vstupující  $CO_2$  ve formě  $HCO_3^-$  s fosfoenolpyruvátem za tvorby oxaloacetátu (čtyři uhlíky, proto  $C_4$ ). Oxaloacetát je redukován NADPH na malát, který je transportován do buněk cévních svazků, kde je oxidativně dekarboxylován na  $CO_2$ , pyruvát a NADPH. Takto koncentrovaný  $CO_2$  vstupuje do Calvinova cyklu.
- Pyruvát je transportován zpět do mesofylu, kde je fosforylován za katalýzy **pyruvát-fosfátdikinas**y za tvorby fosfoenolpyruvátu. Při aktivaci přechází ATP na AMP +  $PP_i$ .  $PP_i$  je posléze hydrolyzován všudepřítomnou pyrofosfatasou na  $2 \times P_i$ .
- Oxid uhličitý je koncentrován v buňkách cévních svazků na úkor spotřeby 2 ATP/ $CO_2$ .
- Fotosyntéza  $C_4$  rostlin spotřebovává celkem 5 ATP na rozdíl od  $C_3$  rostlin, které spotřebují 3 ATP.

# Metabolická dráha C<sub>4</sub> rostlin. Mezofyl - buňky pochvy cévních svazků



## CAM rostliny jako varianta rostlin $C_4$

- Dráha byl poprvé popsána u tučnolistých rostlin a odtud název **CAM** - **crassulacean acid metabolism**.
- U CAM rostlin je časově oddělen záchyt  $CO_2$  a Calvin-Bensonův cyklus.
- CAM rostliny otevírají stomata (póry v listech) v noci a zachycují  $CO_2$  drahou  $C_4$  ve formě malátu.
- Pro zachycení  $CO_2$  je nutné velké množství fosfoenolpyruvátu. To se získává štěpením škrobu a glykolýzou.
- Během dne je malát štěpen za tvorby  $CO_2$  vstupujícího do Calvin - Bensonova cyklu a pyruvátu použitého na resyntézu škrobu.
- Celý tento proces je realizován také z důvodu zabránění ztrátě vody!!!
- Stejnou drahou probíhá fotosyntéza u sukulentů.