

# Reforma a rozvoj výuky Biofyziky pro potřeby 21. století

Číslo výzvy: **IPo - Oblast 2.2 (výzva 15)**

Reg. č. projektu: **CZ.1.07/2.2.00/15.0215**



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# Fotosyntéza

4

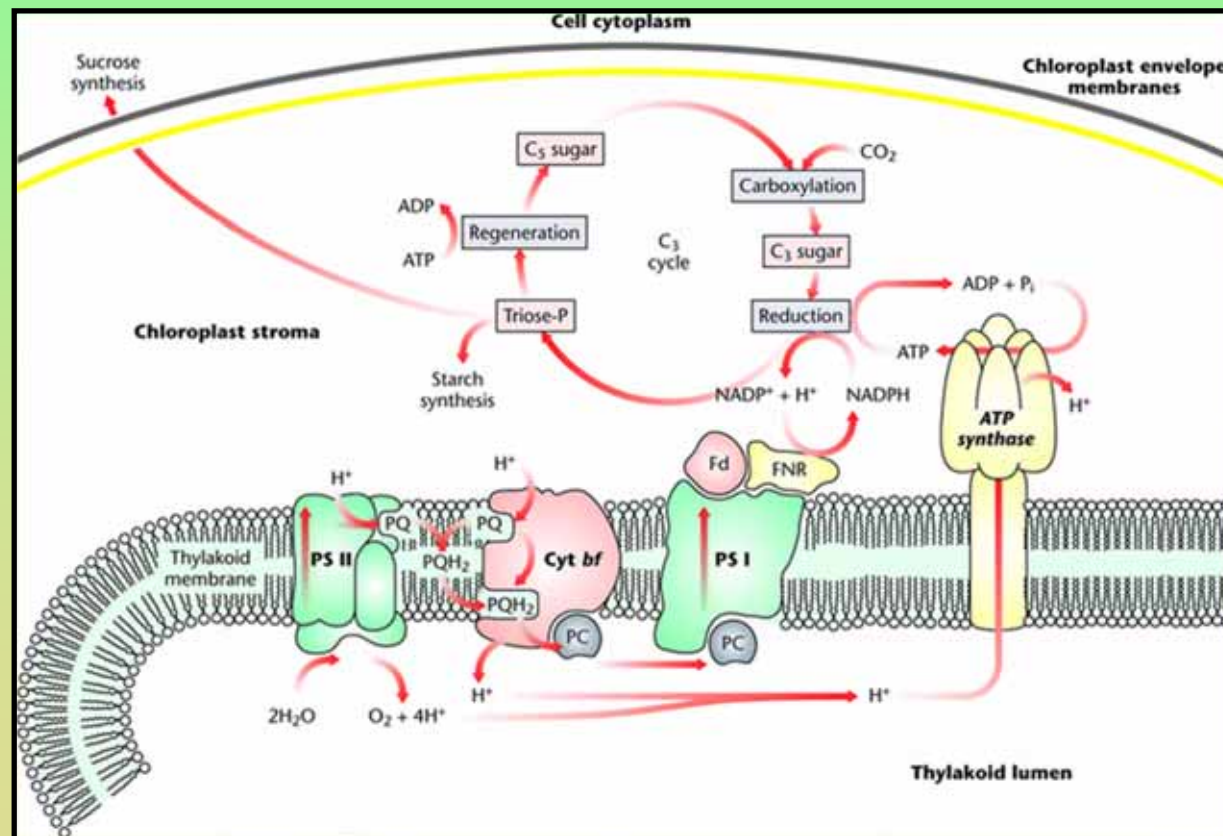
*Ondřej Prášil*

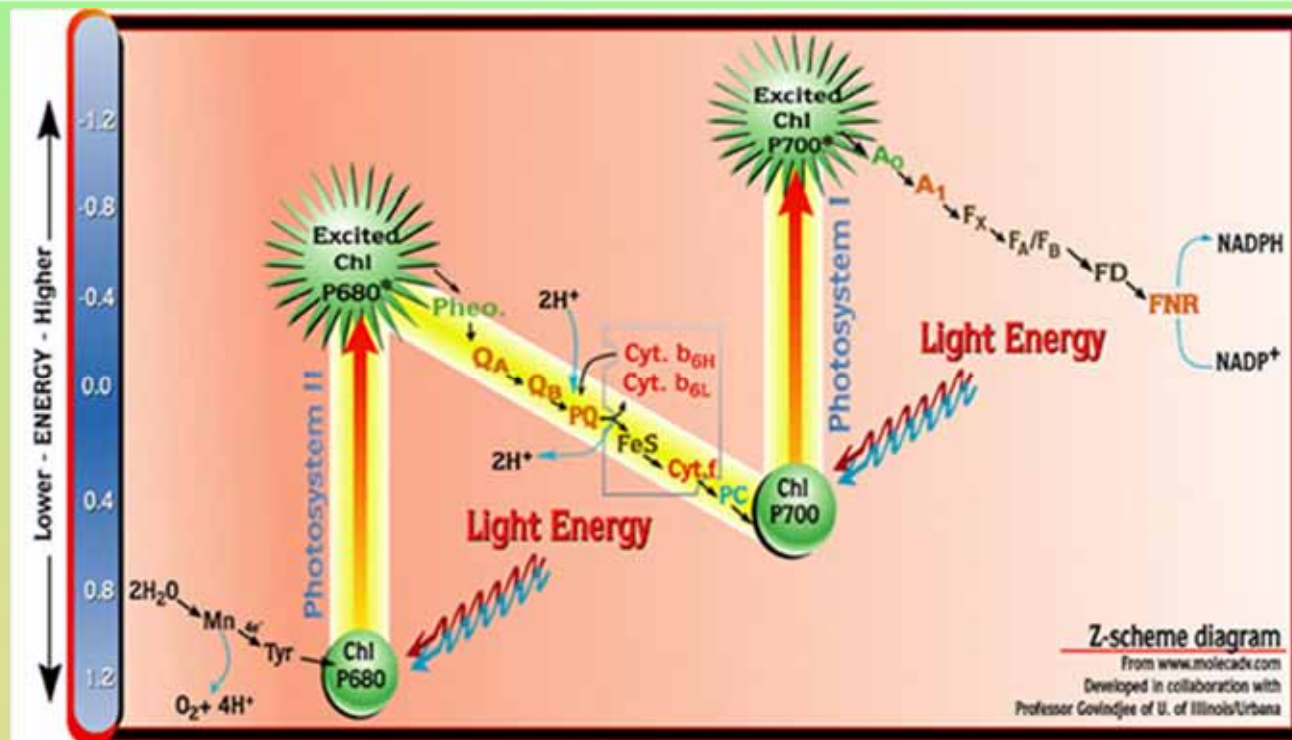
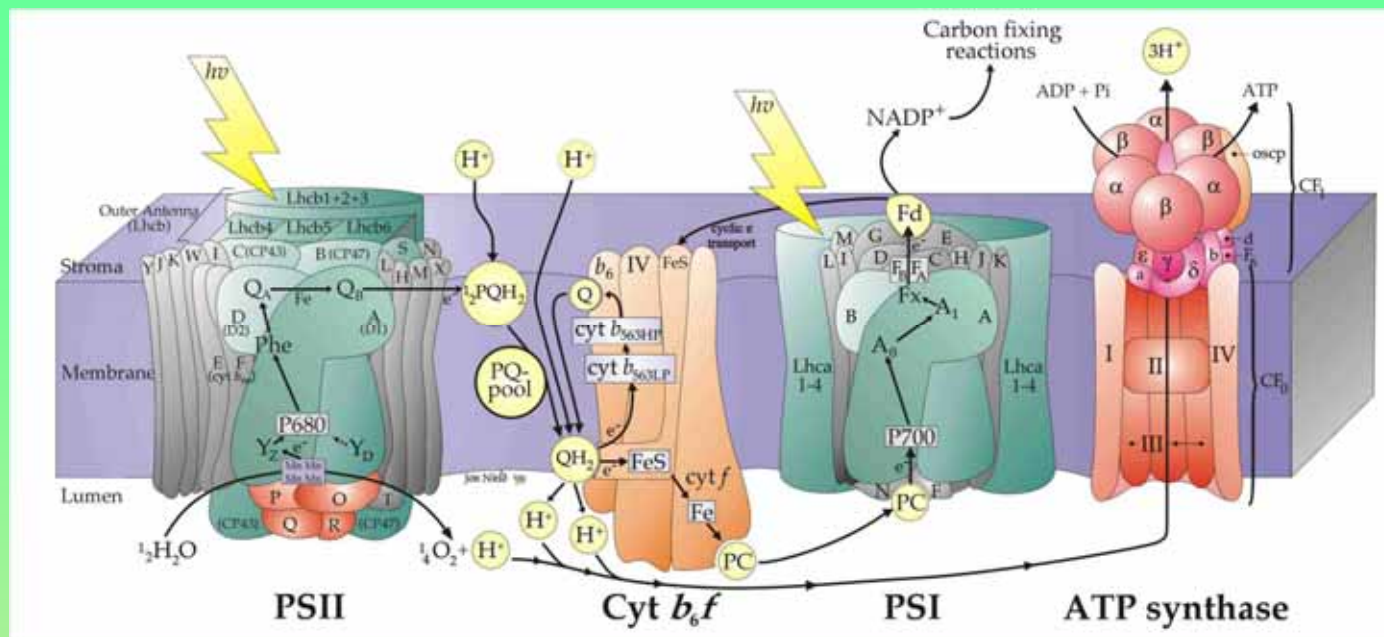
prasil@alga.cz

384-340430

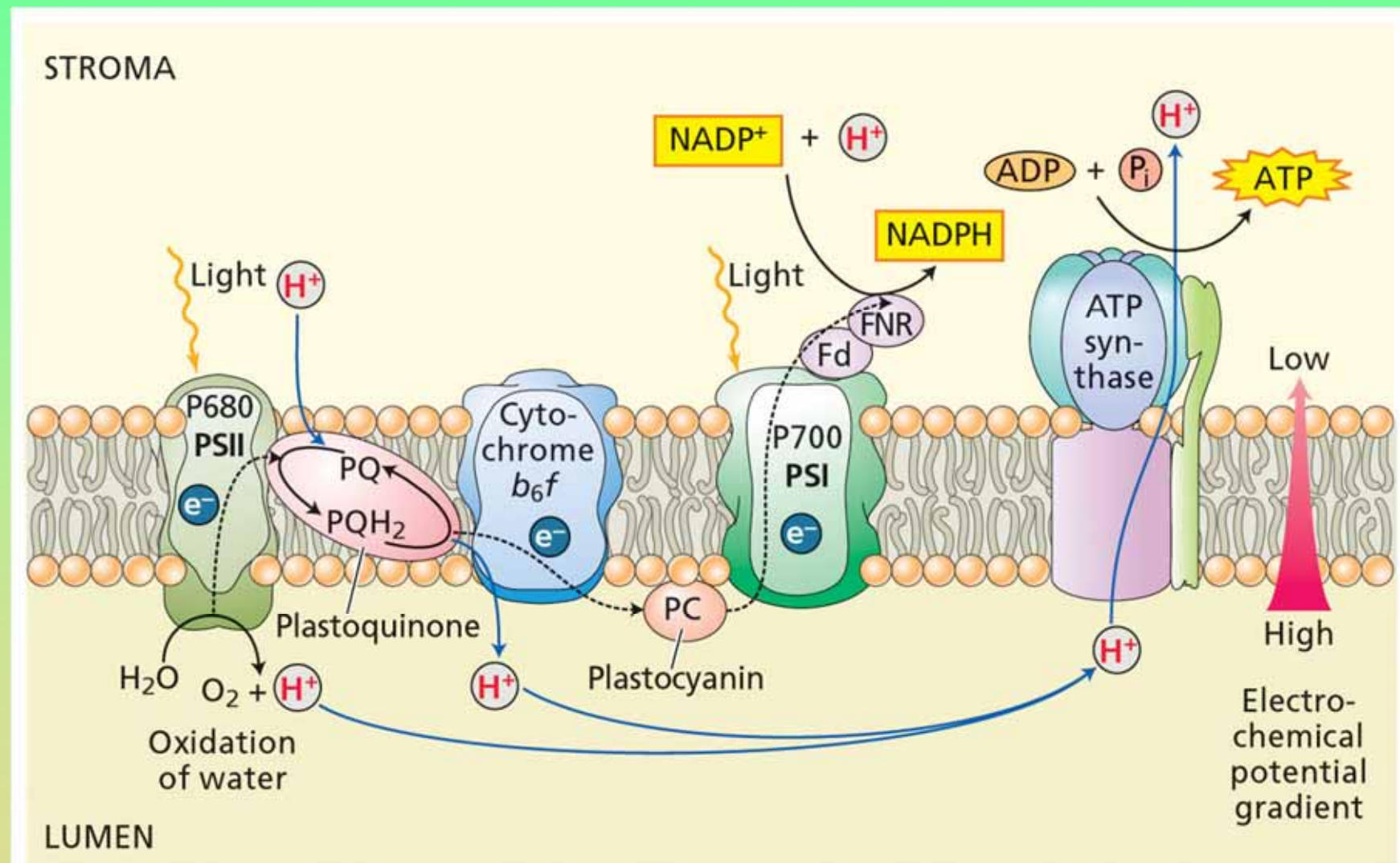
# Čtyři fáze procesu přeměny energie ve fotosyntéze

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

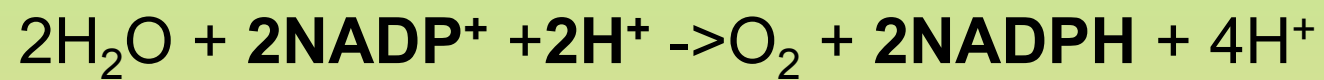
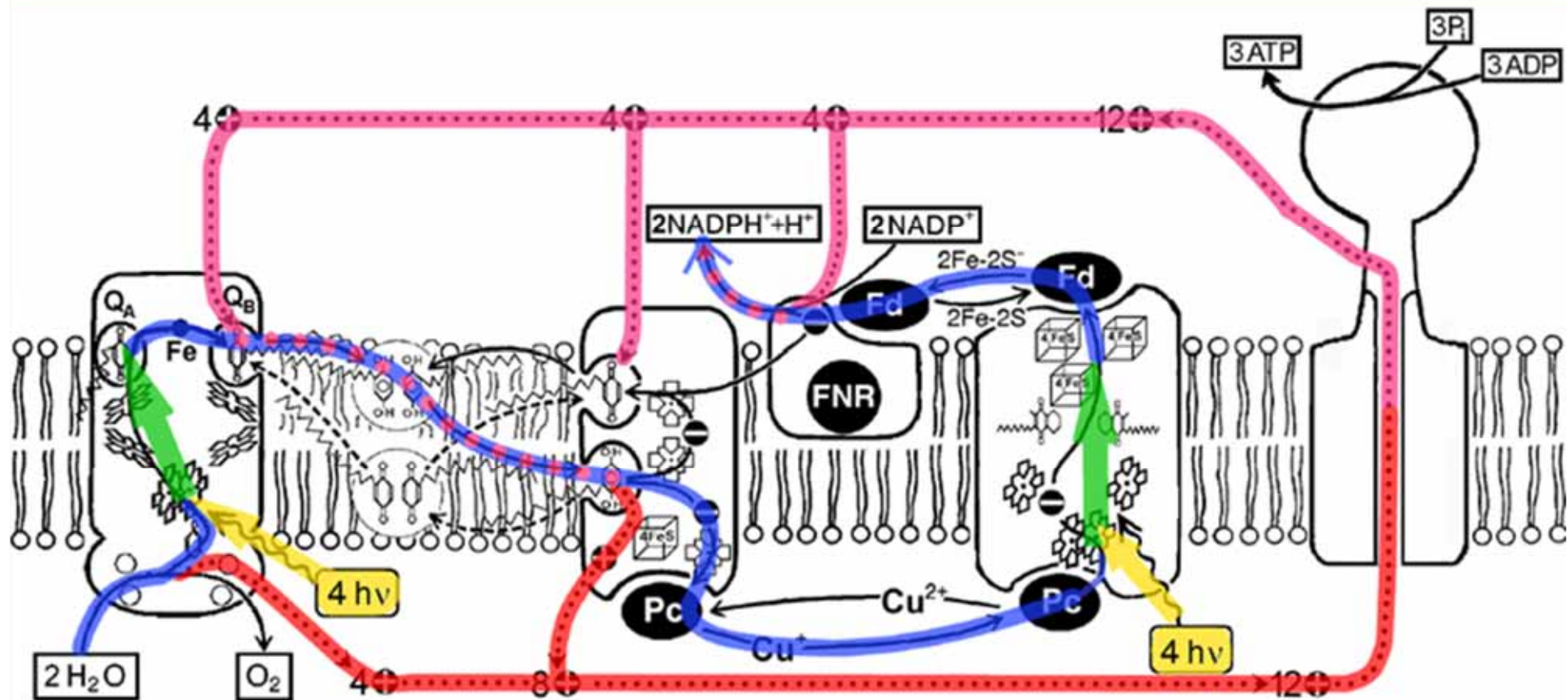




# Vektoriální přenos elektronů a protonů







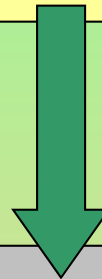
# Přeměna energie

## Světelné reakce v thylakoidech

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

**ATP**

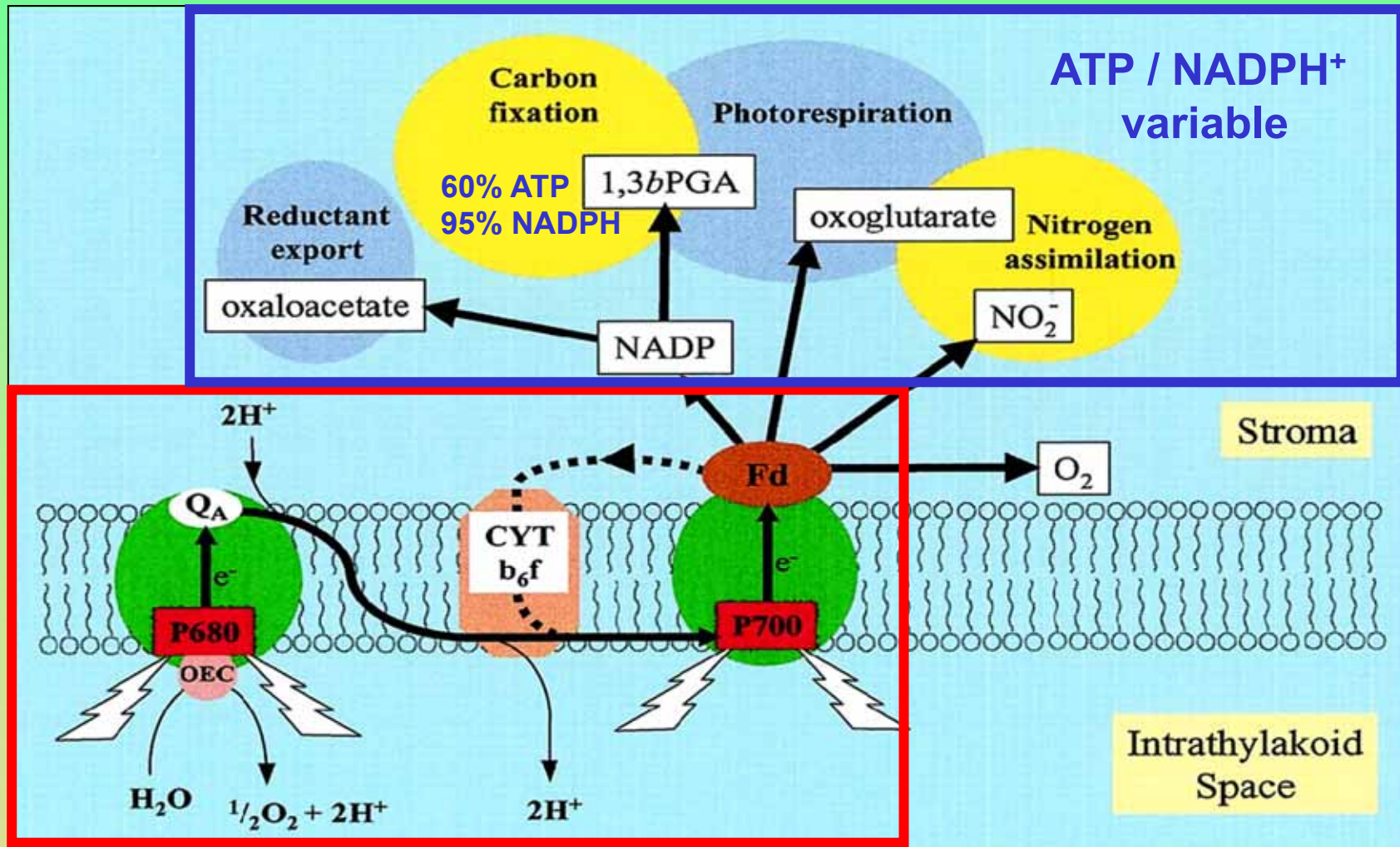
**NADPH·H<sup>+</sup>**



## Temnotní reakce ve stromatu

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

# Multiple pathways for spending the photosynthetic currency



ATP / NADPH<sup>+</sup> ~ 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

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

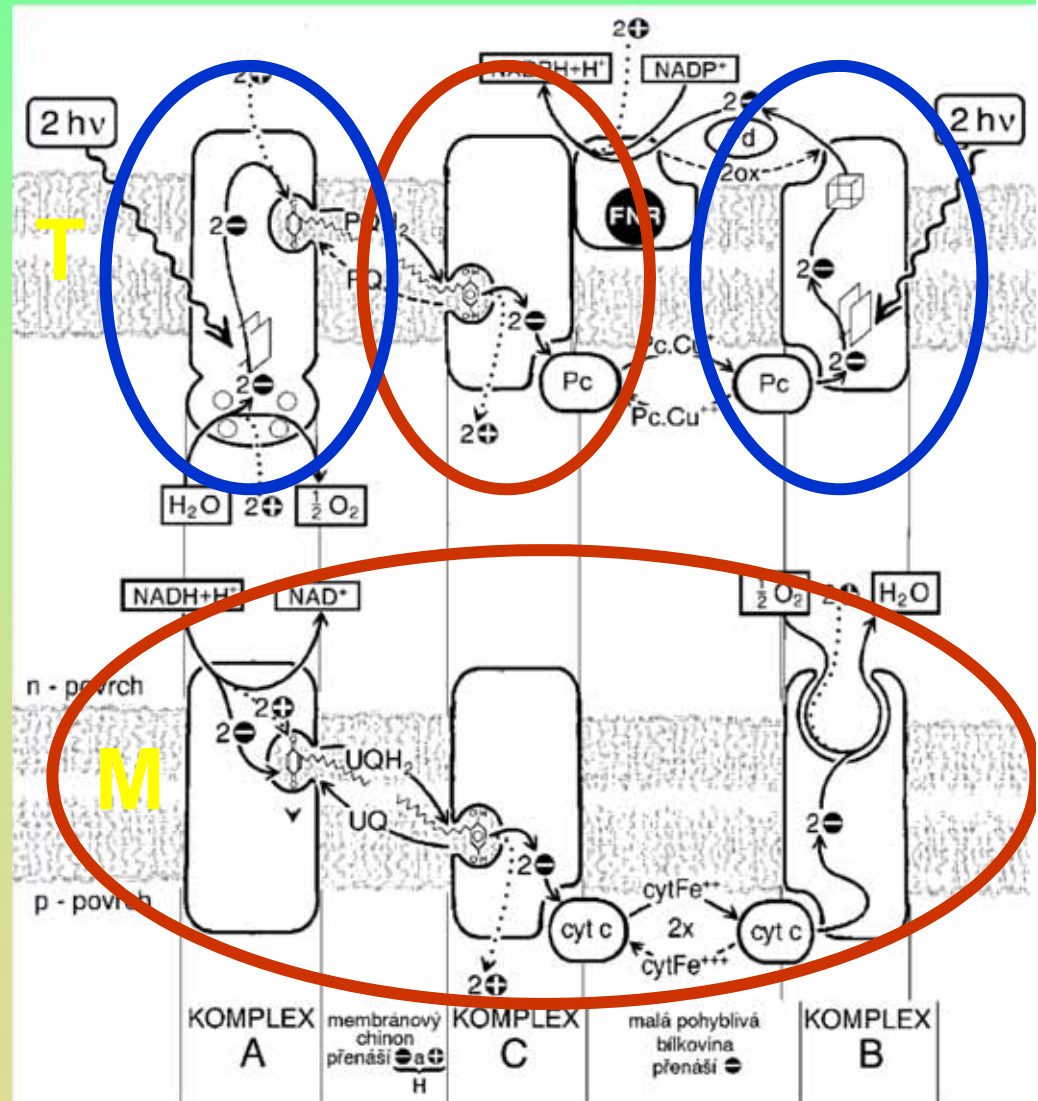
Energie anhydridové chemické vazby ATP

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

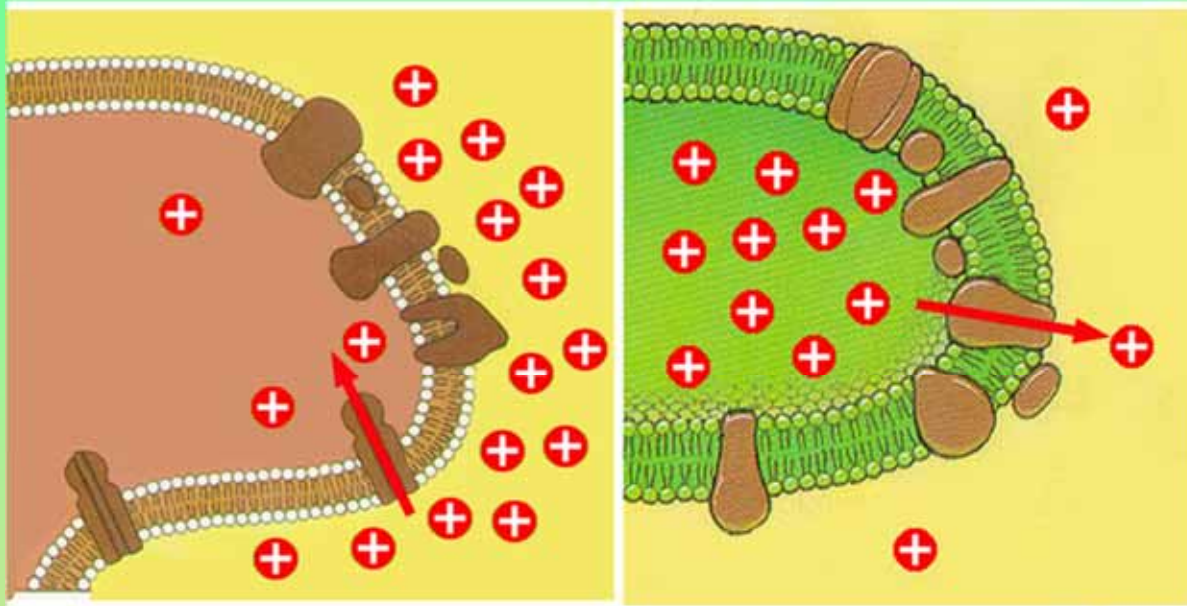
$$h\nu \rightarrow \Delta E \rightarrow \Delta \mu_{\text{H}^+} \rightarrow \Delta G_{\text{ATP}}$$

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

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



## Vztah mezi různými formami volné energie

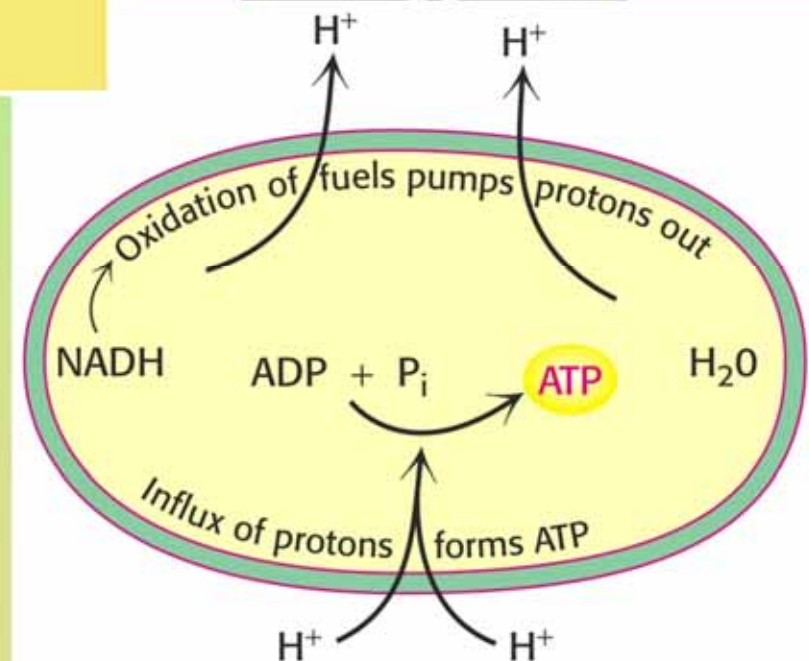


Peter Mitchell - Nobelova cena 1978

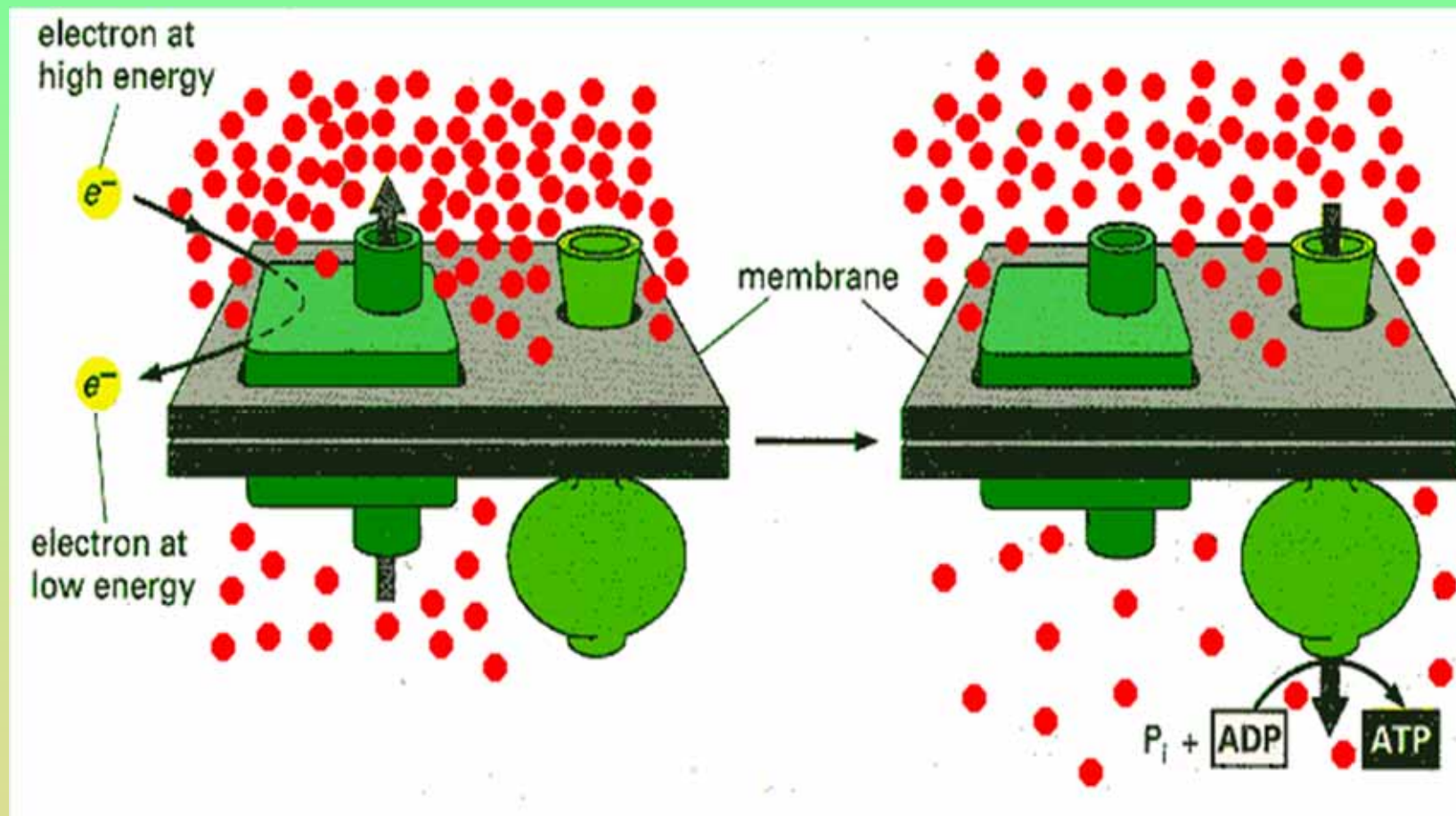
John Walker – Nobelova cena 1997

Paul Boyer – Nobelova cena 1997

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



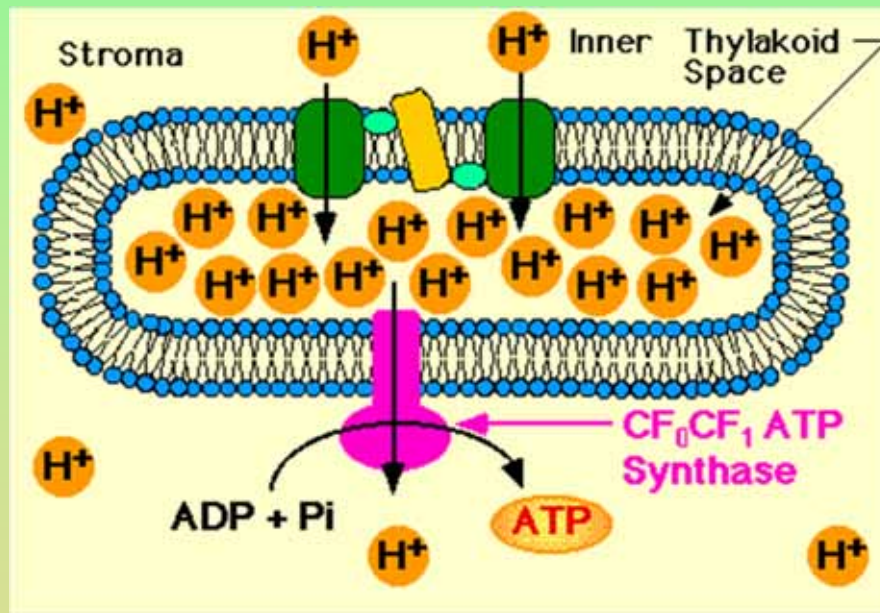
## Principal of the ATP generation on the membrane





# Chemiosmotic hypothesis

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



$\Delta\Psi$

electrochem. potential

$\Delta pH$

proton potential

F

Faraday constant

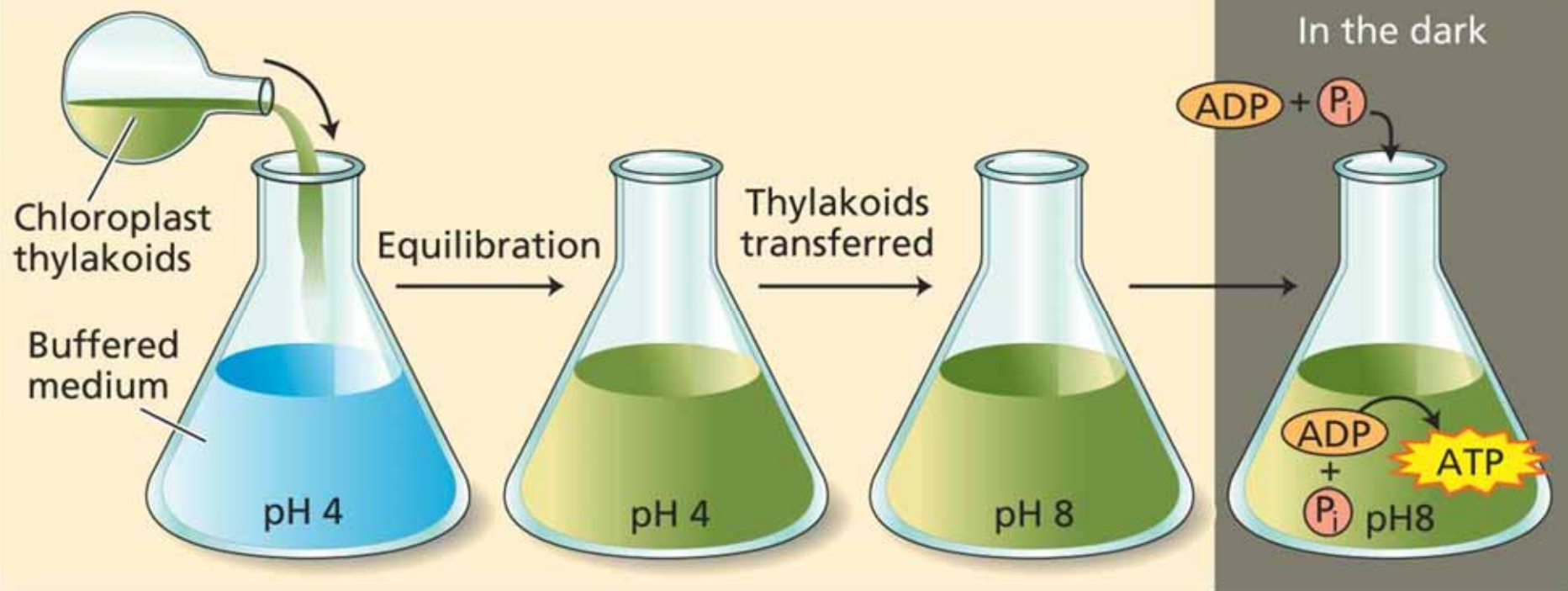
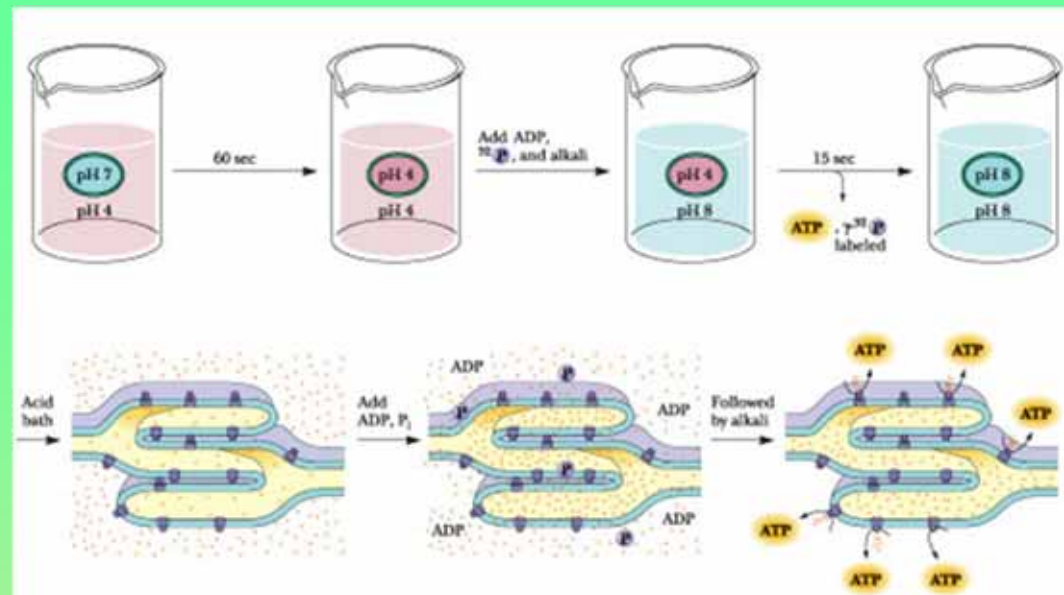
R

gas constant

T

temperature (in K)

# Tvorba ATP v chloroplastech i v nepřítomnosti světla



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

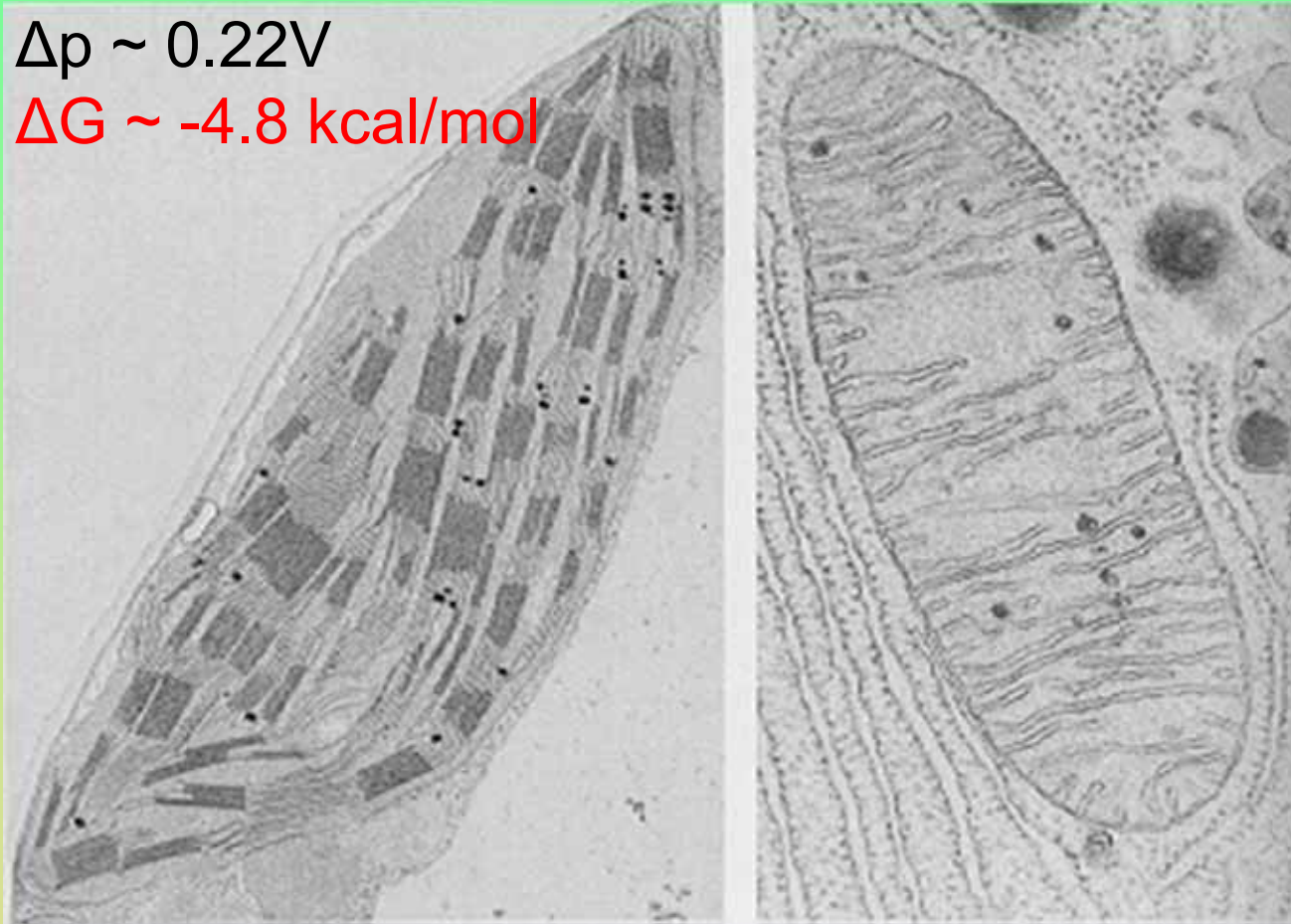
$$\Delta \text{pH} > 3$$

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

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

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

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



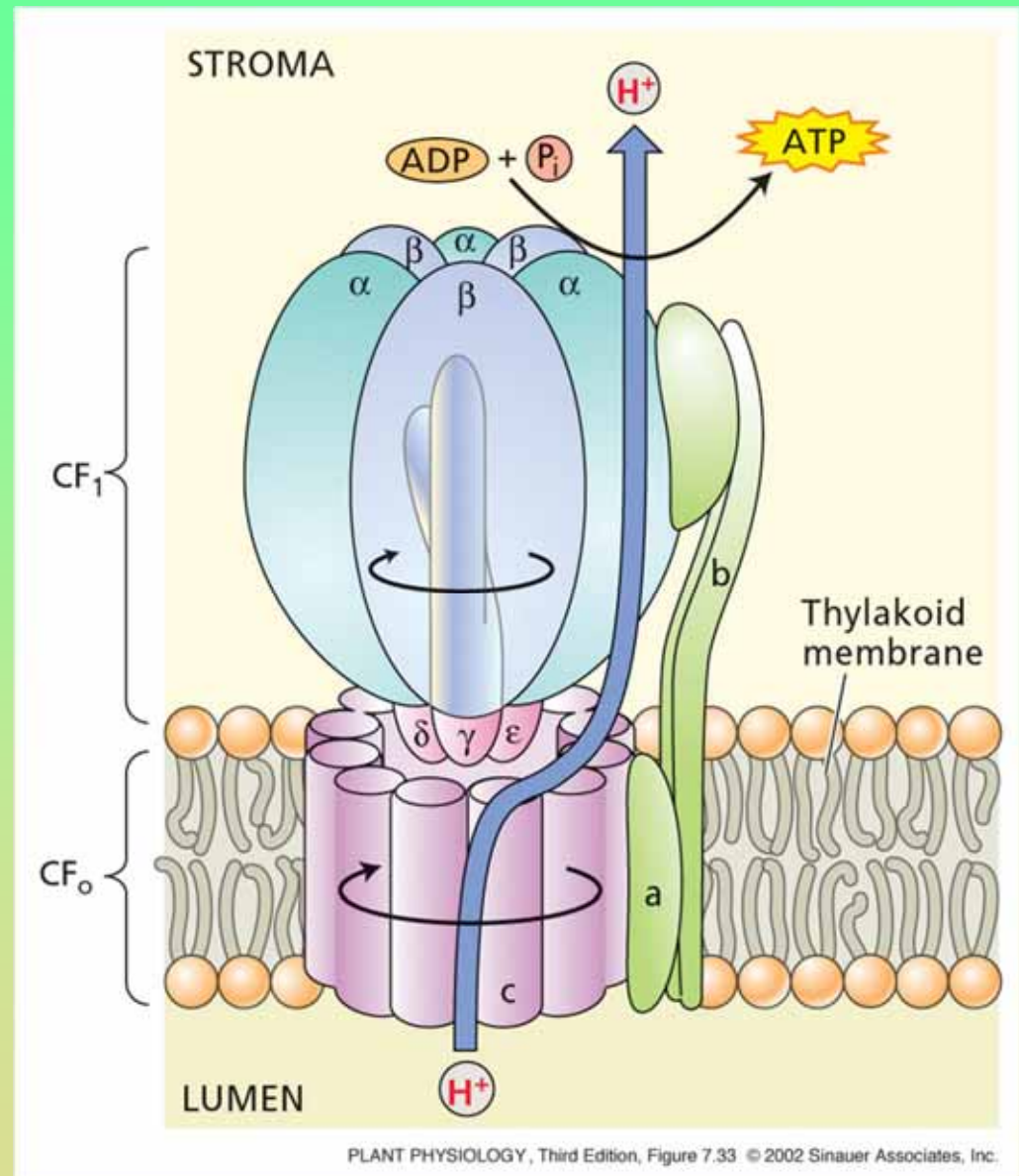
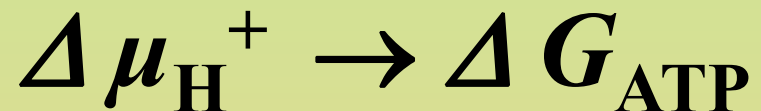
Difference due to thylakoid membrane permeability to  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Mg}^{2+}$

# CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub> ATPáza (reverzibilní protonová)

10-13 c podjednotek CFo  
spojeny s  $\gamma$  podjednotkou CF1  
= rotor

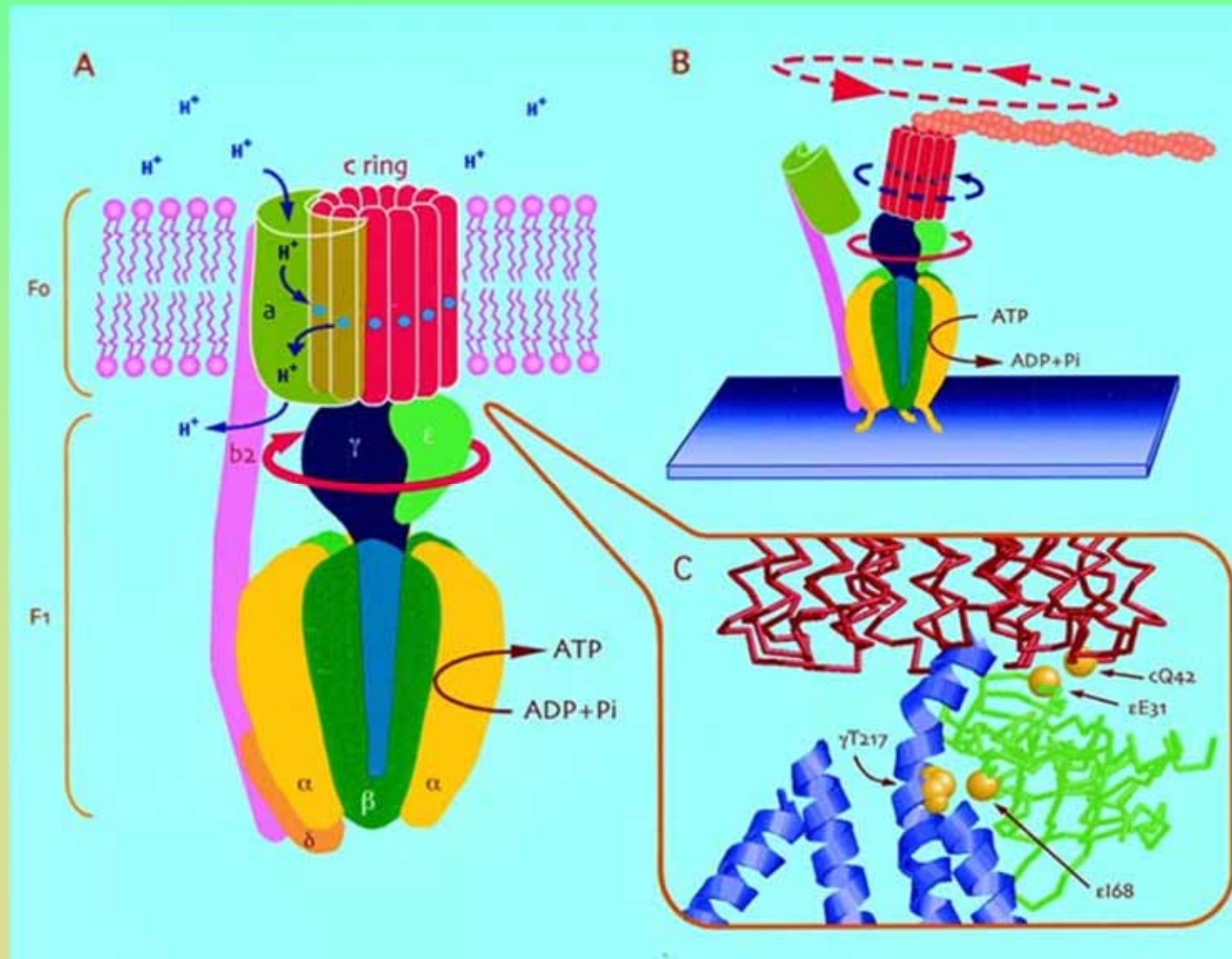
zbytek = stator

brzda = disulfidické můstky

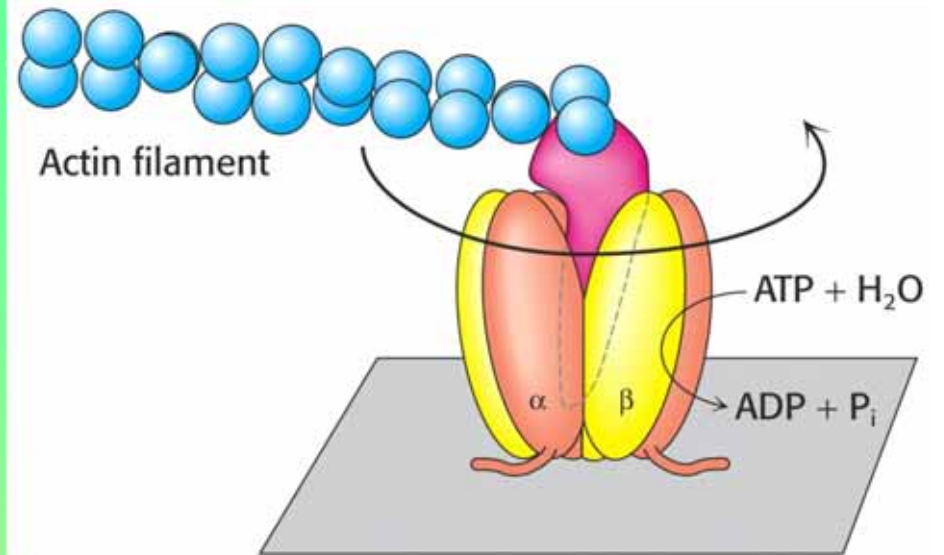




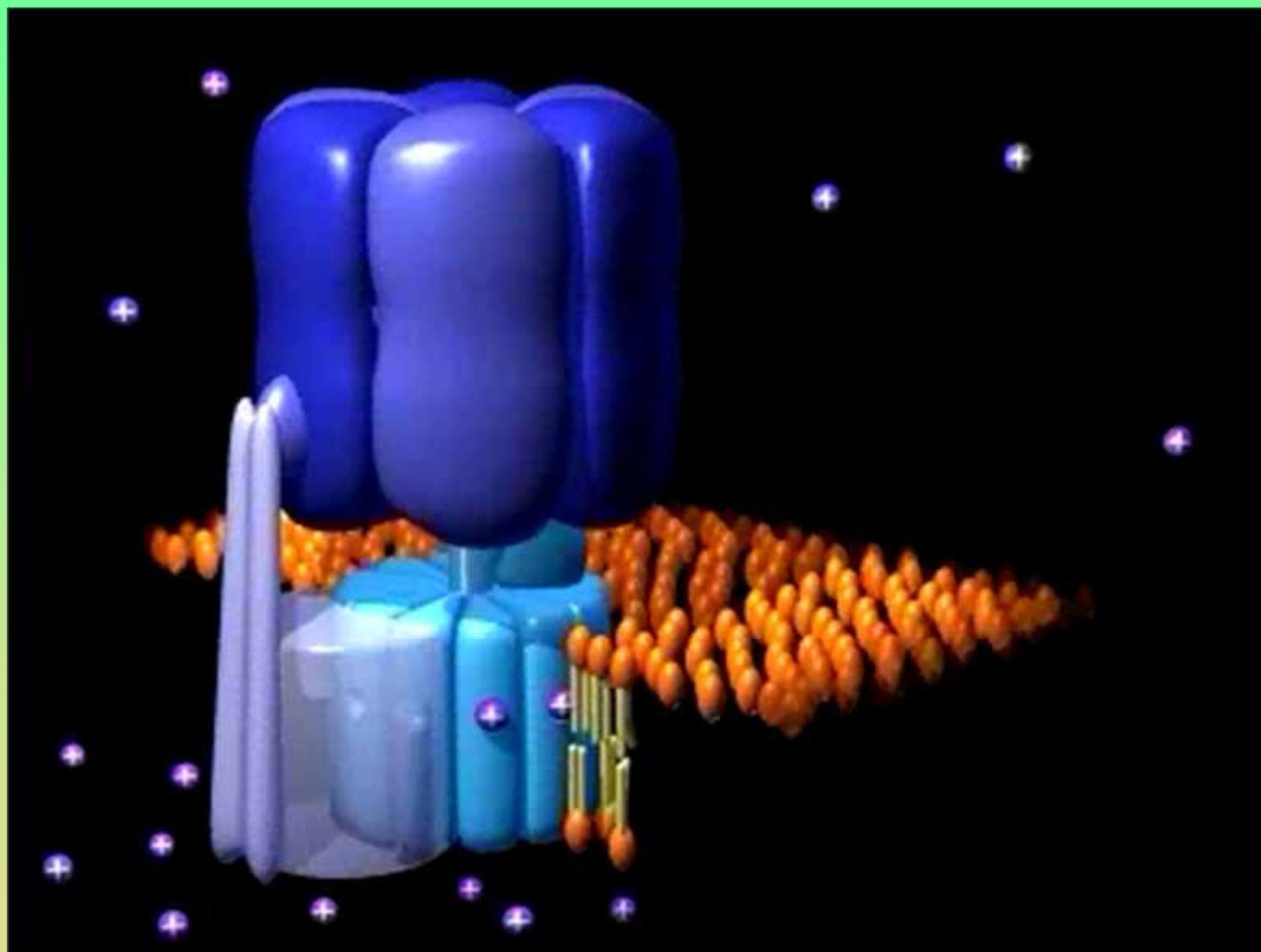
$F_1$  subunits  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\delta$  together with  $F_0$  subunits  $a$  and  $b$  comprise the stator while remaining  $\chi$ ,  $\epsilon$  of  $F_1$  and  $c$  ring of  $F_0$  form the rotor during rotational synthesis of ATP. One ATP is formed during single rotation of the rotor that is related to the transfer of 3  $H^+$ .



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









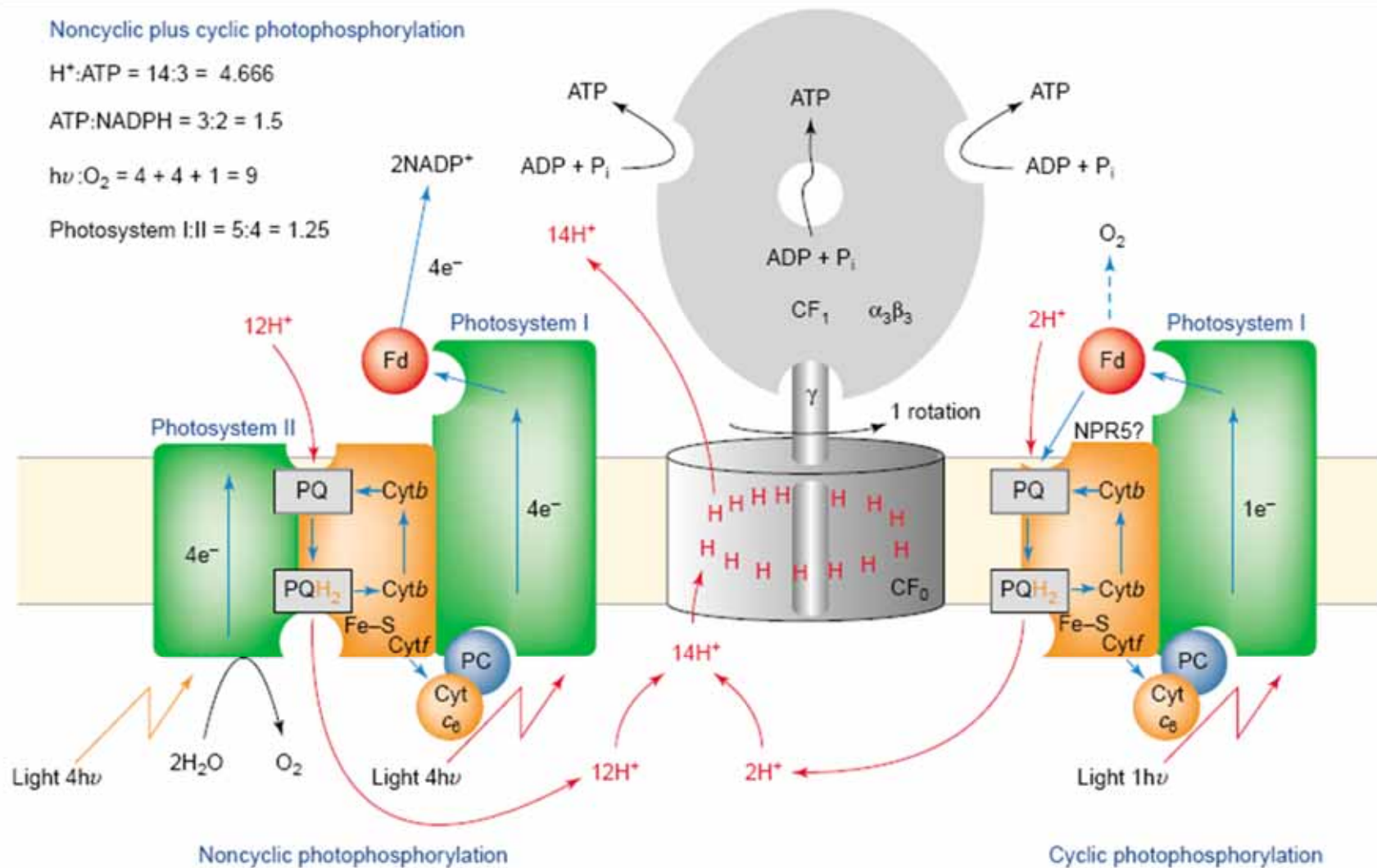
# Noncyclic plus cyclic photophosphorylation

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

$$ATP:NADPH = 3:2 = 1.5$$

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

$$\text{Photosystem I:II} = 5:4 = 1.25$$



---

## Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO<sub>2</sub>**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO<sub>2</sub>**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**



Melvin Calvin

Nobel 1961



Andrew Benson

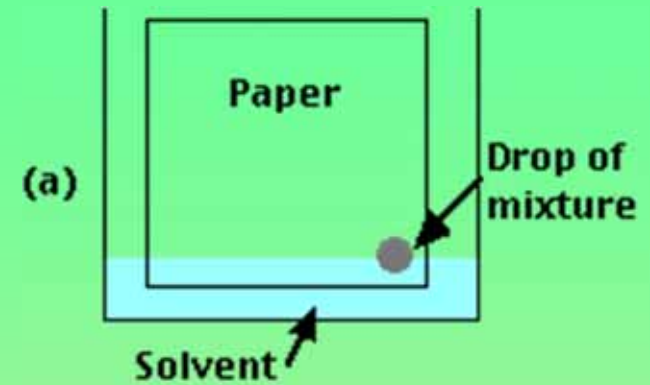
Calvinův, Calvin-Bensonův, Redukční pentosový cyklus, **C<sub>3</sub> cesta**



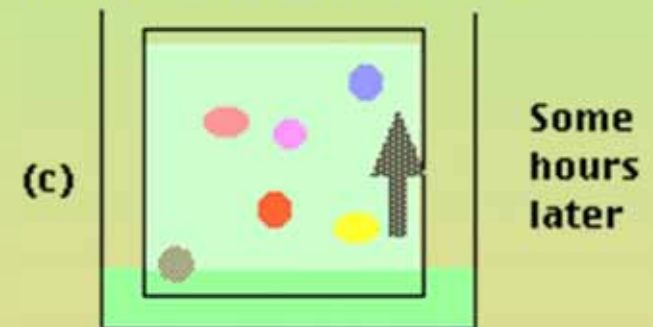
značení  $^{14}\text{CO}_2$

2D papírová chromatografie  
autoradiografie

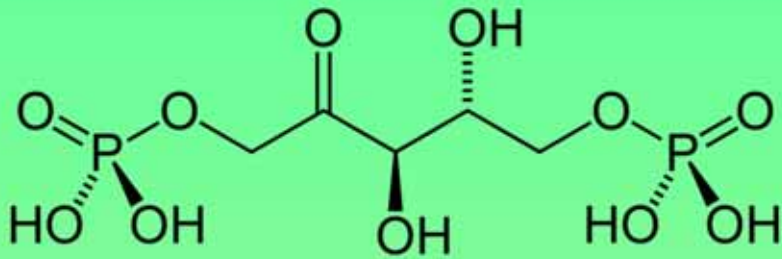
akumulace substrátu  
při limitaci  $\text{CO}_2$



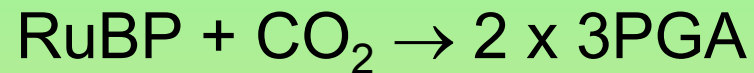
Turn paper 90° clockwise  
and use a different solvent





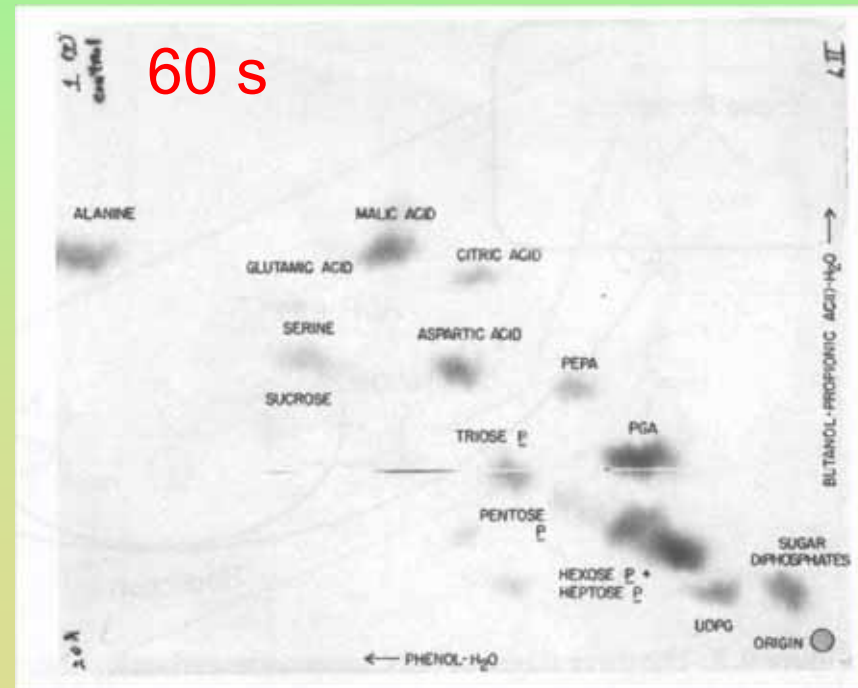
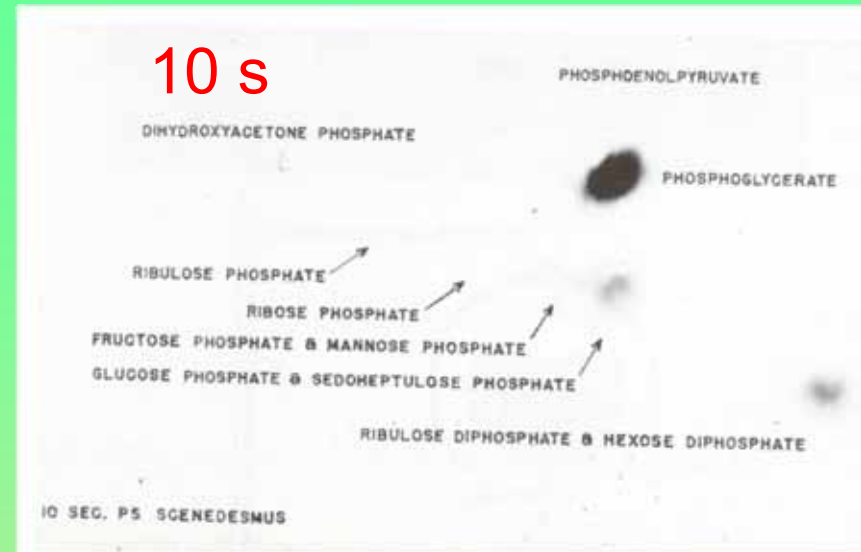


ribulosa-1,5-bisfosfát (RuBP)  
fosfoglycerát PGA



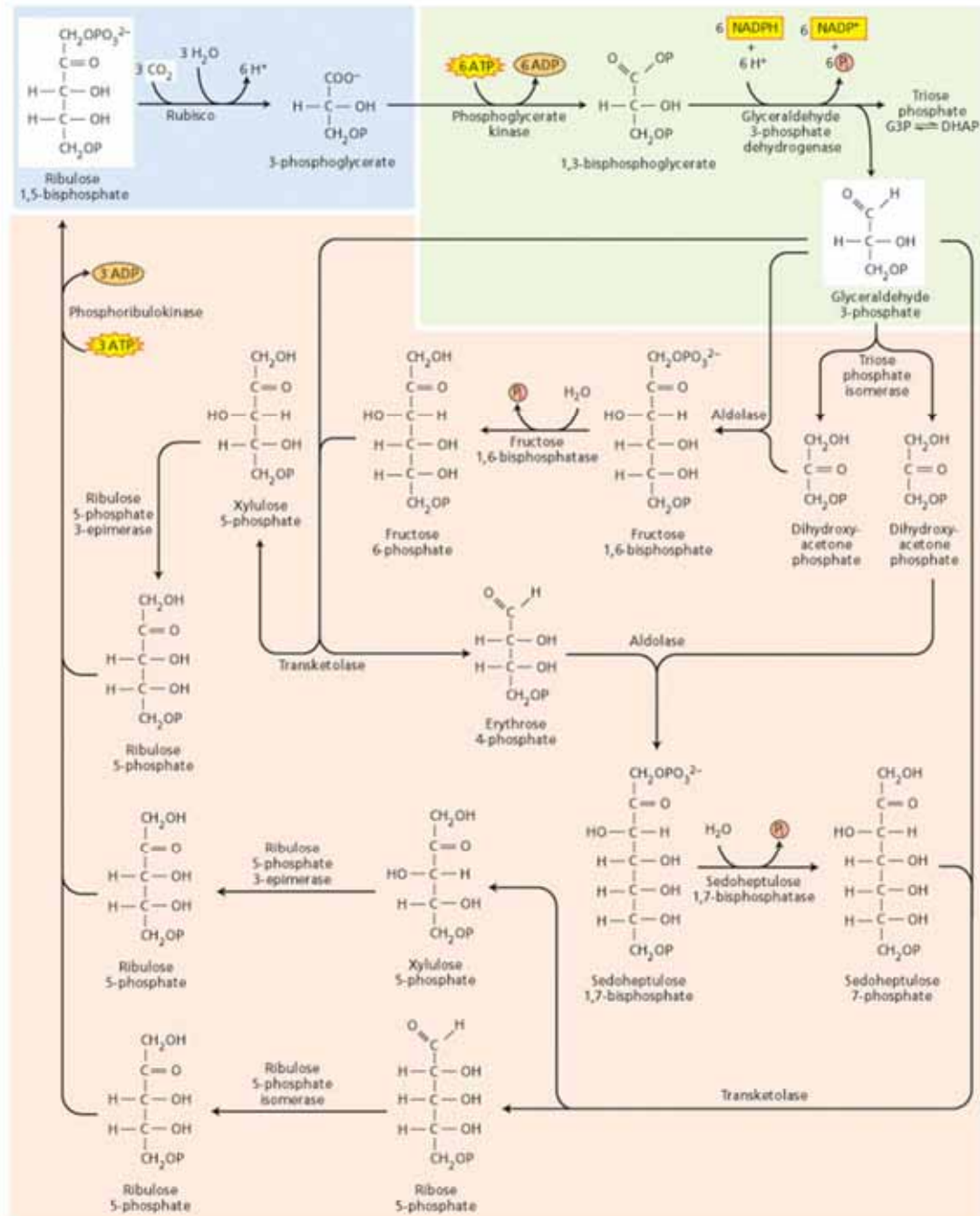
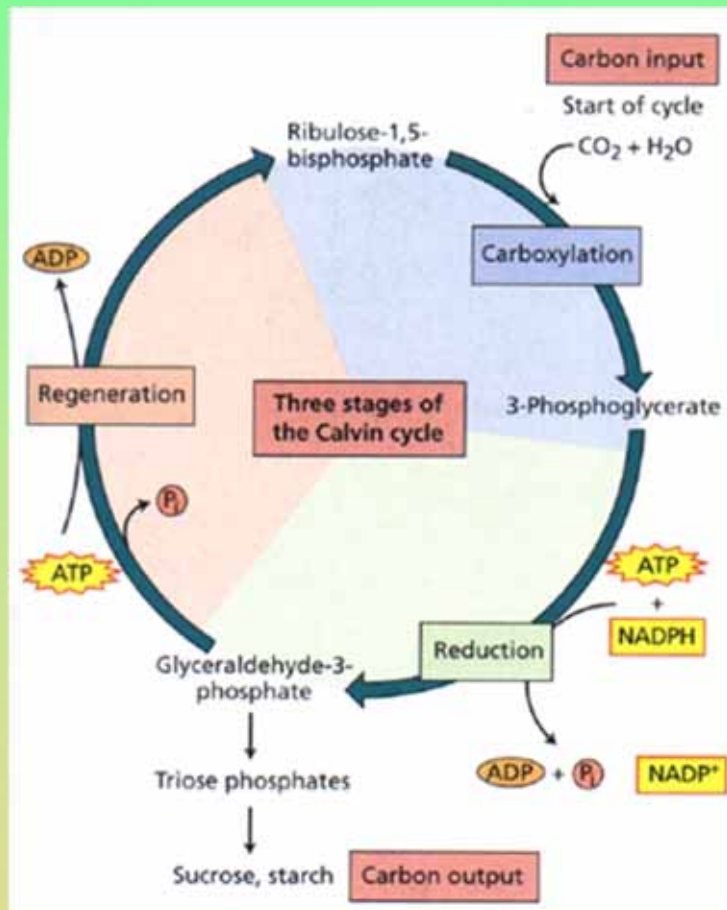
Rubisco = karboxydismutáza  
RuBP karboxyláza/oxygenáza

Karboxylace není reduktivní



# Calvinův cyklus:

celkem 12 reakcí  
autokatalytický

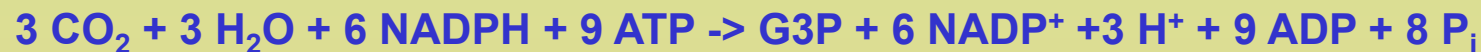
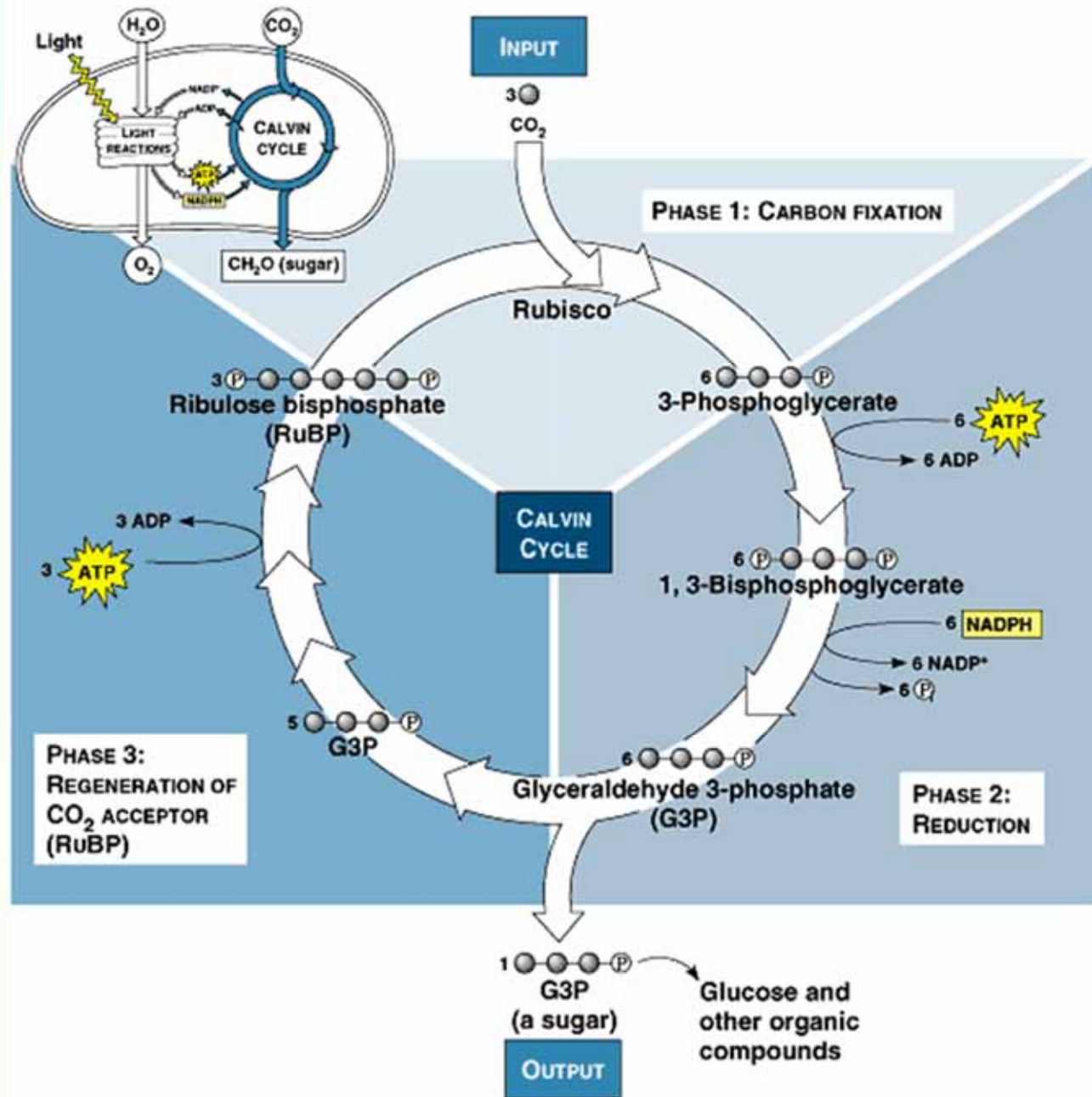


# Calvinův cyklus:

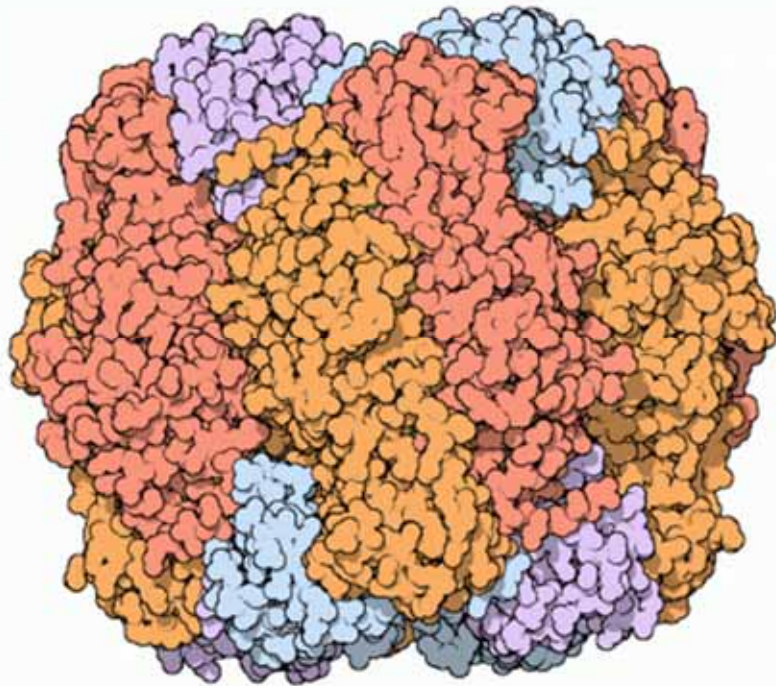
celkem 12 reakcí  
autokatalytický

*Karboxylace:*

- $-\Delta G$  karboxylace
- velká afinita  $\text{CO}_2$  k Rubiscu







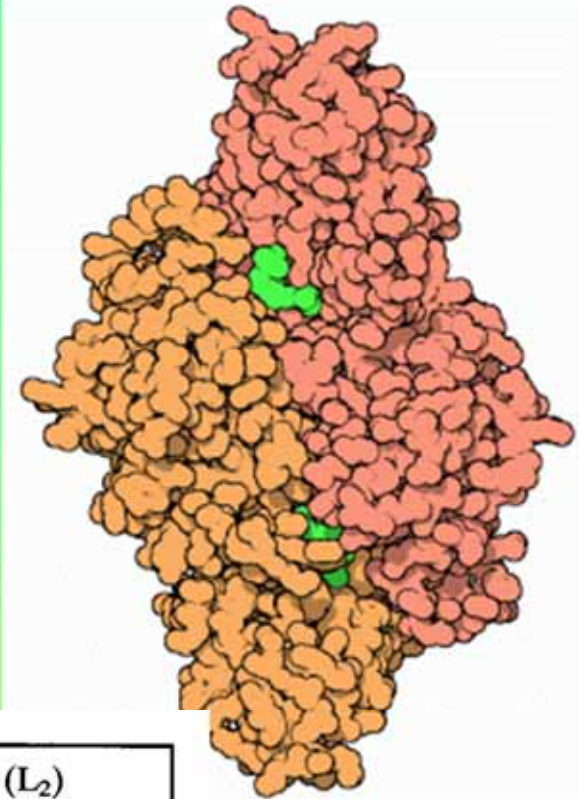
## Rubisco

velký enzym  
pomalý  
(3 CO<sub>2</sub> za sec)

Nejpočetnější...

nespecifický (O<sub>2</sub>)

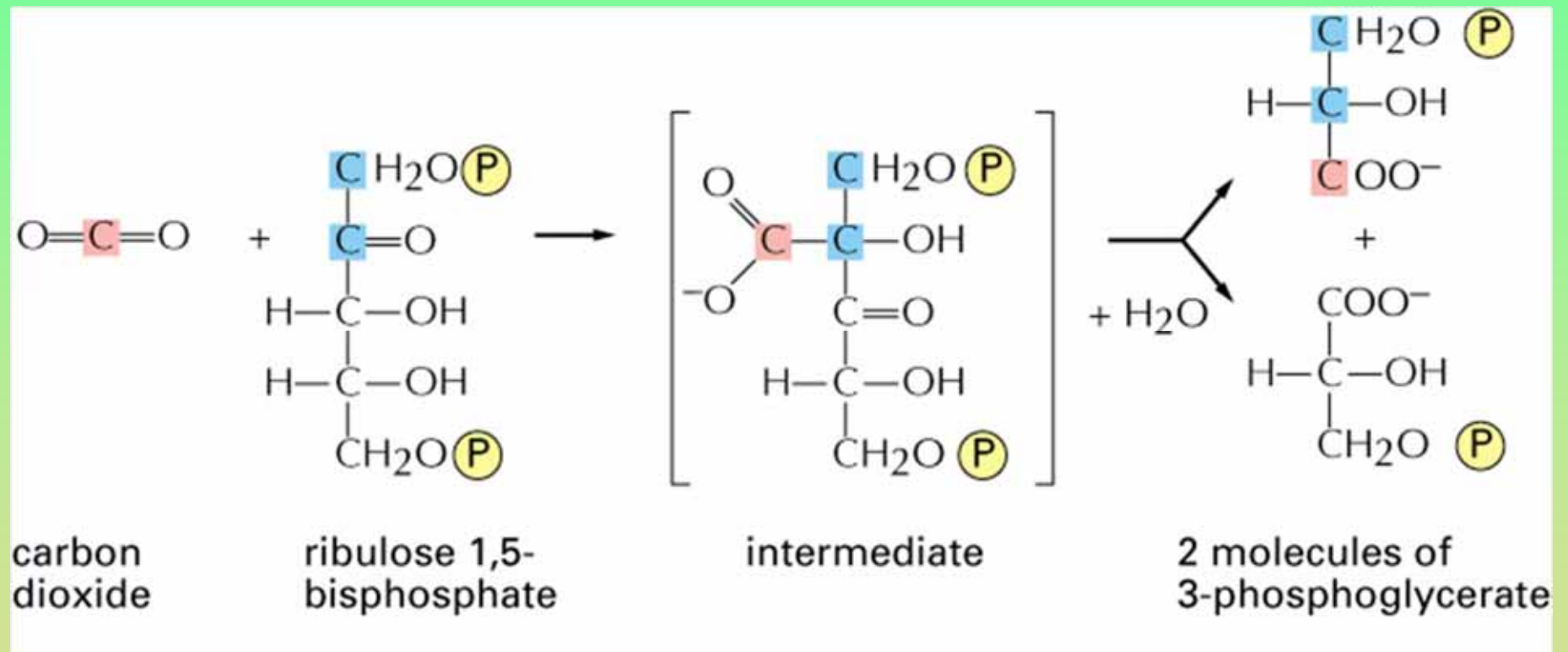
Aktivní část: L2



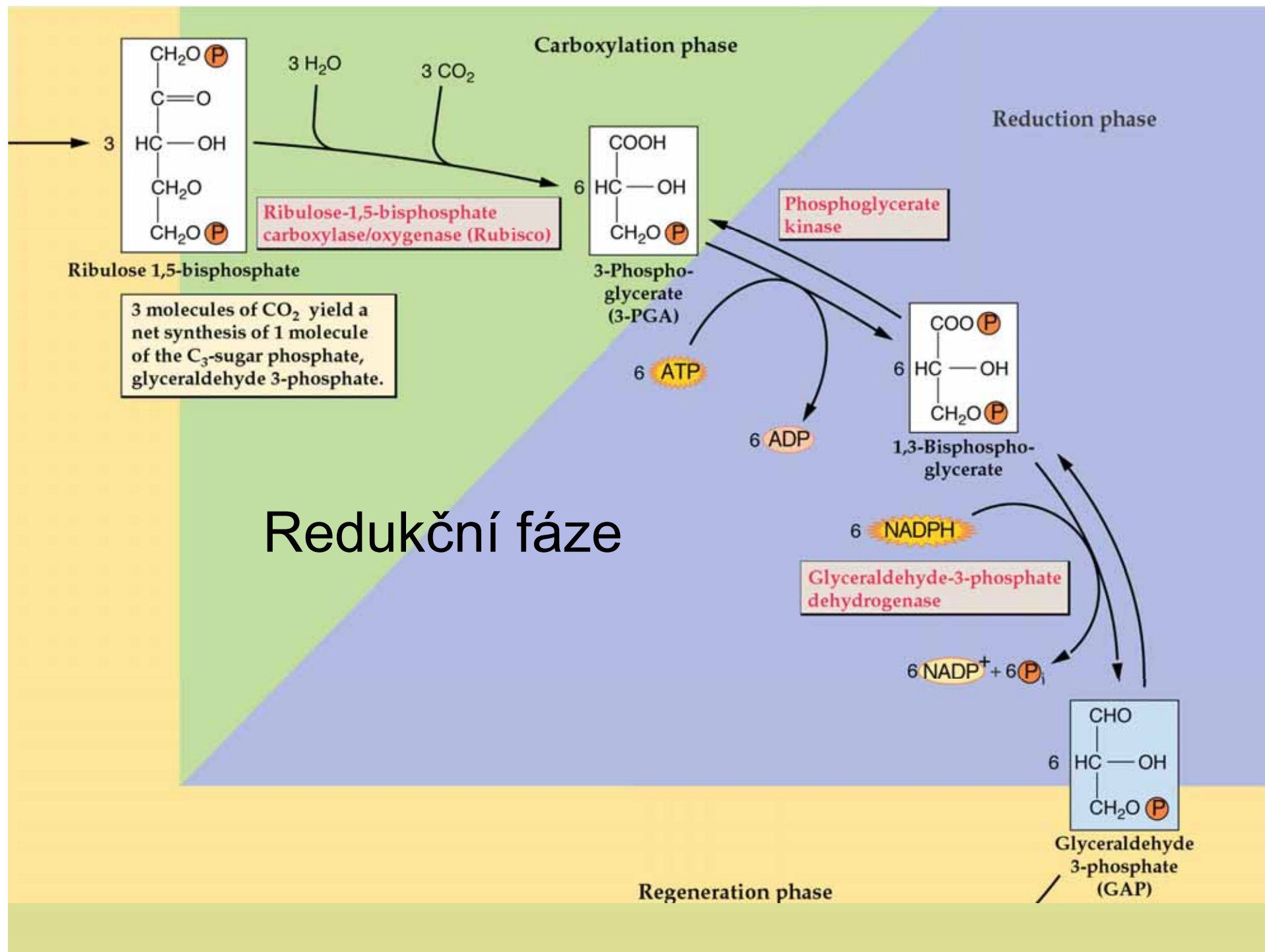
Form (subunit organisation)	Form I (L <sub>8</sub> S <sub>8</sub> )		Form II (L <sub>2</sub> )
Origin	Cyanobacterial	β-Proteobacterium	α-Proteobacterium
Taxa	Form 1B (green type) Cyanobacteria  Chlorophyta Chlorophyceaea Prasinophyceae Eugleophyceae	Form 1D (red type) Rhodophyta Cryptophyta Haptophyta Heterokonta Bacillariophyceae Chrysophyceaea 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>



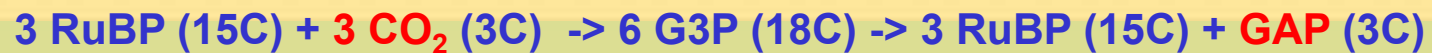
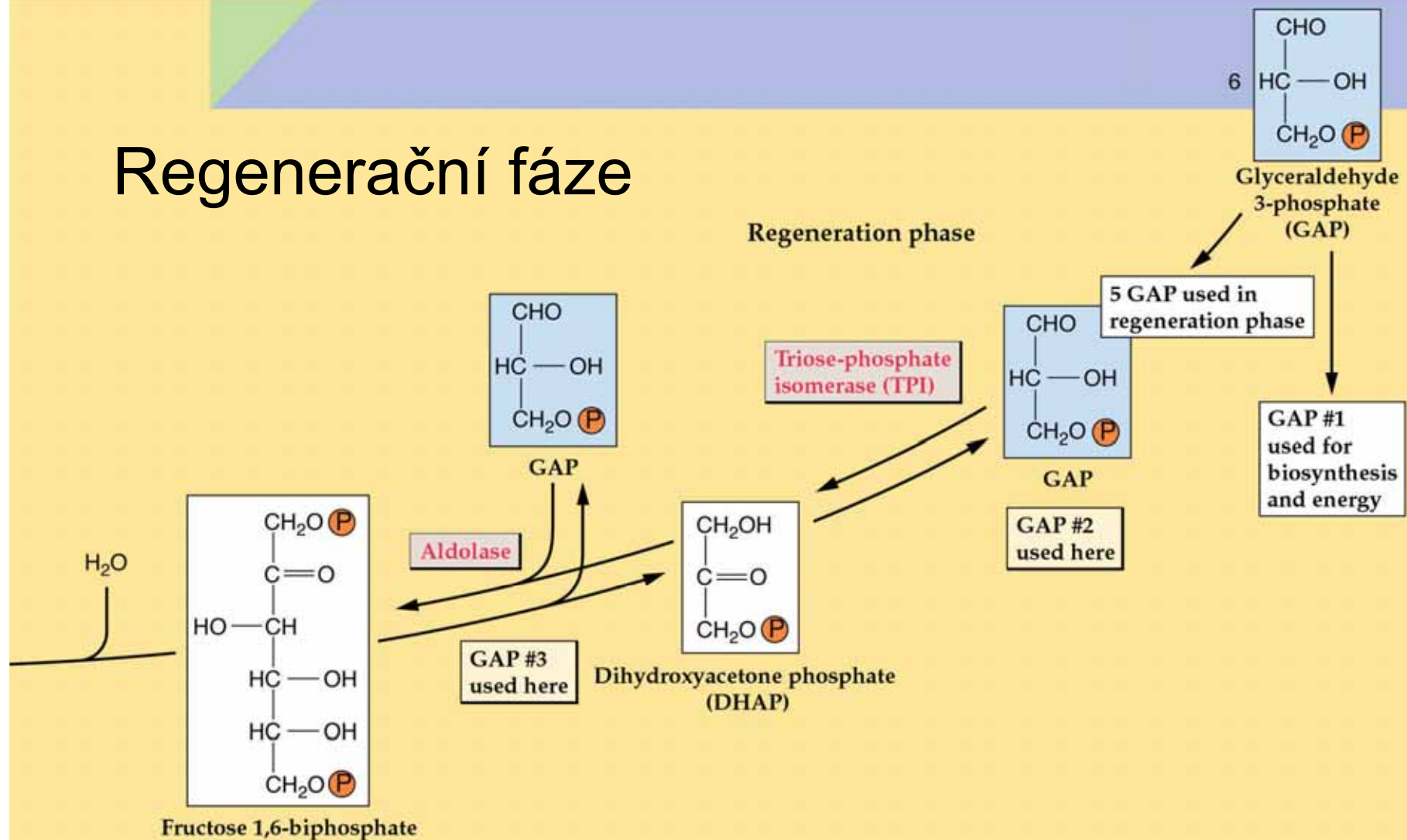
## Rubisco – karboxylace RuBP

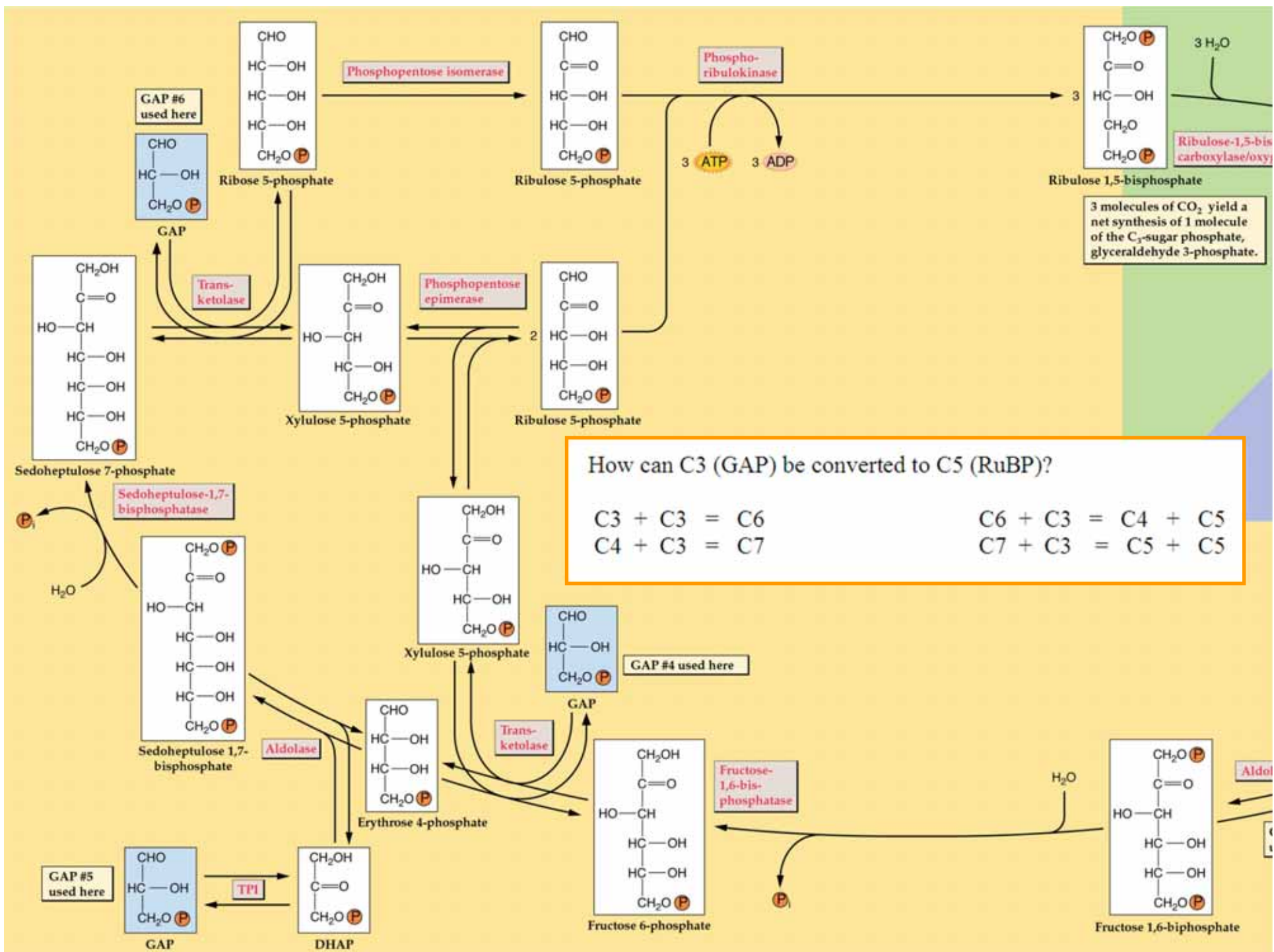


Karboxylační fáze



# Regenerační fáze







**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:  $\text{P}_i$  stands for inorganic phosphate.

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



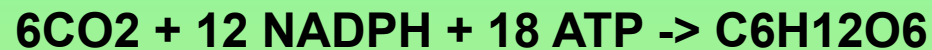
## Regenerace součástí Calvinova cyklu

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 CO<sub>2</sub> ~ min. 8 fotonů

Celková termodynamická účinnost:

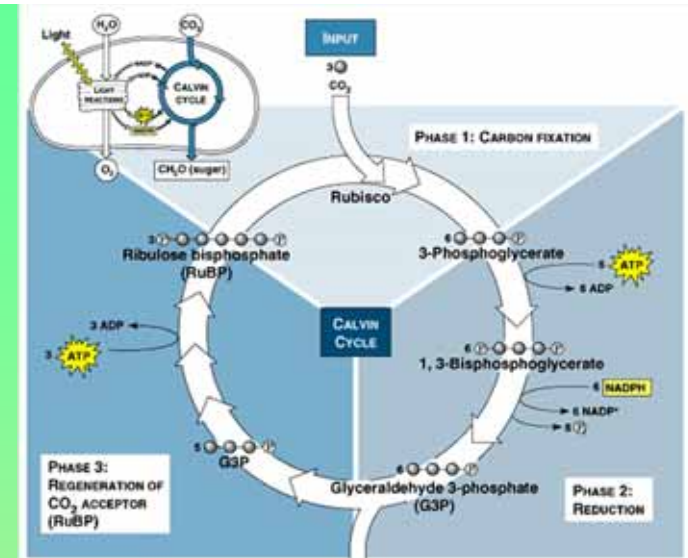
6 x 8fotonů x 175 kJ(energie 680nm) = 8400 kJ

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%**

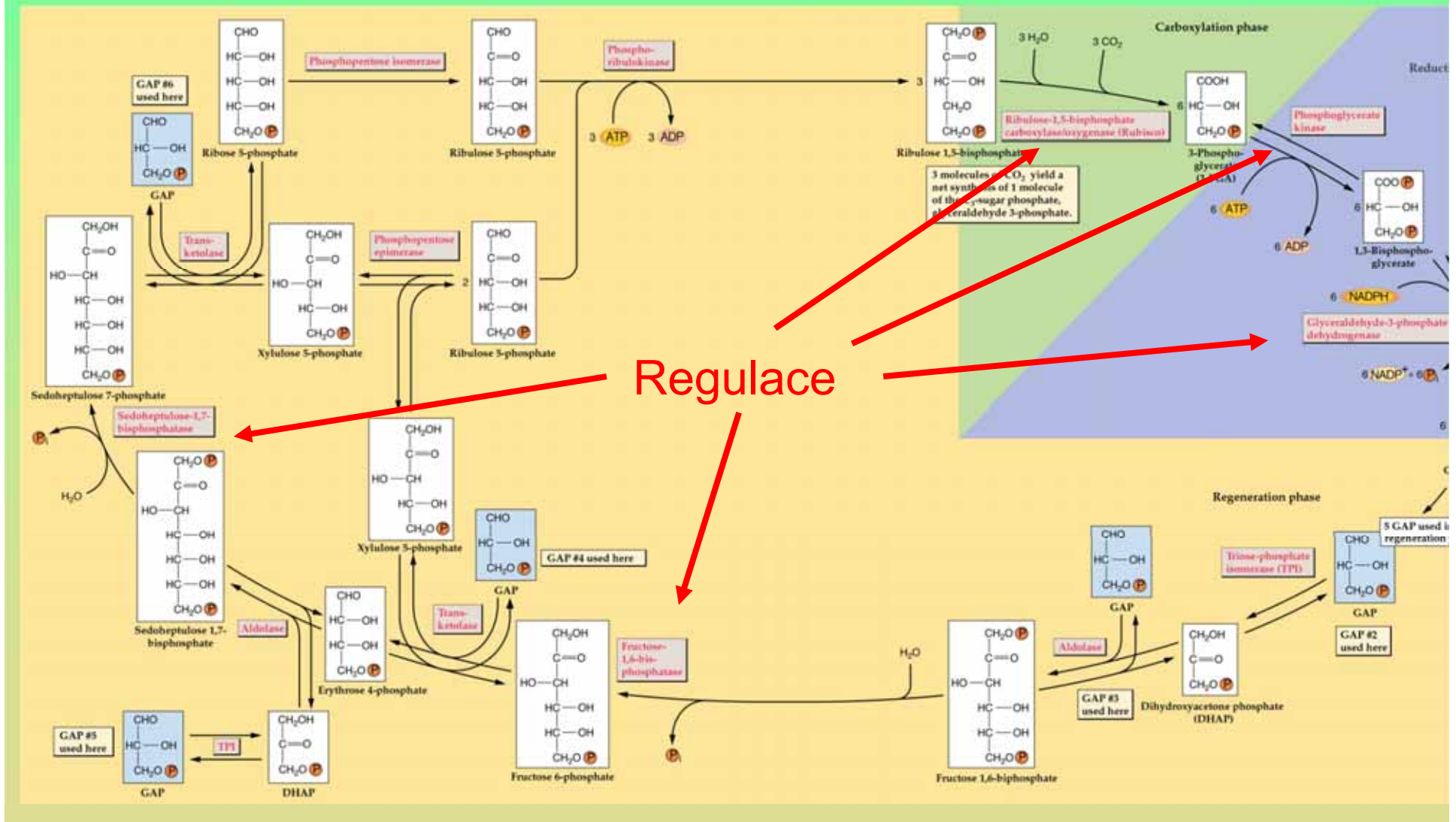
# Regulace Calvinova cyklu



- 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)

# Regulace světlem

Moduluje aktivitu enzymů v závislosti na přenosu elektronů



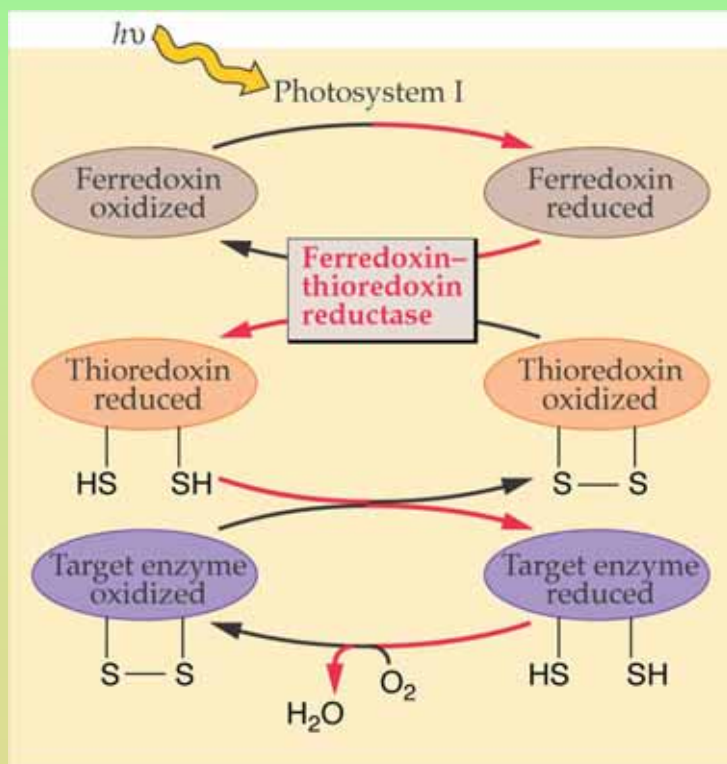


# Aktivace cyklu fixace uhlíku

## Fotochemické změny

**Table 1** Stromal conditions of darkened and illuminated chloroplasts

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

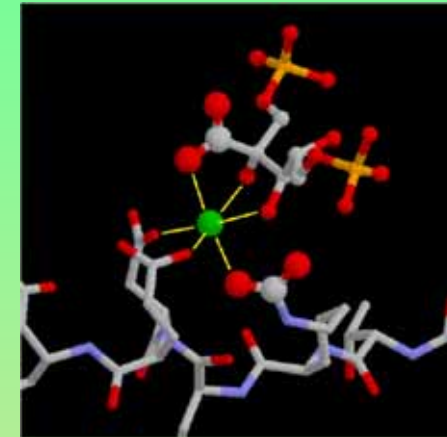
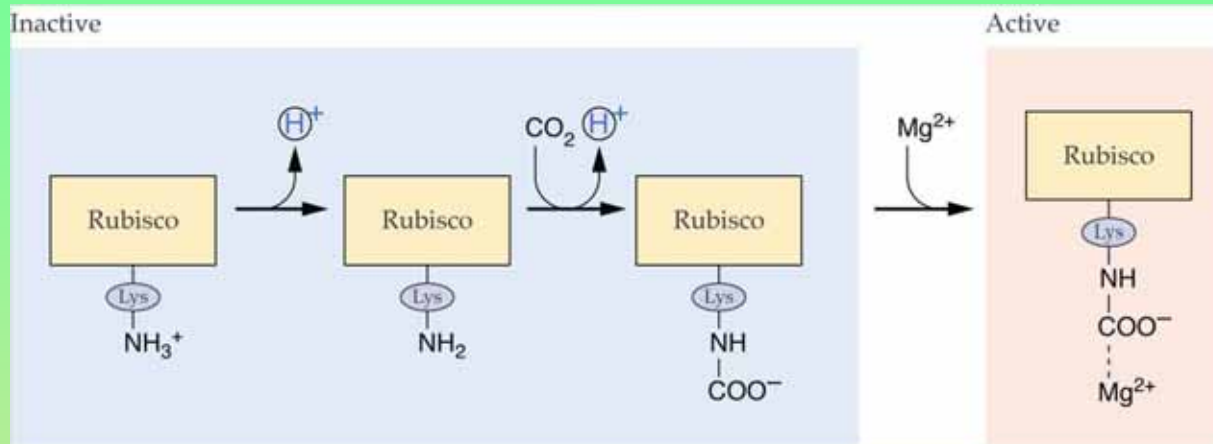


Aktivace 4 enzymů CC systémem ferredoxin – thioredoxin

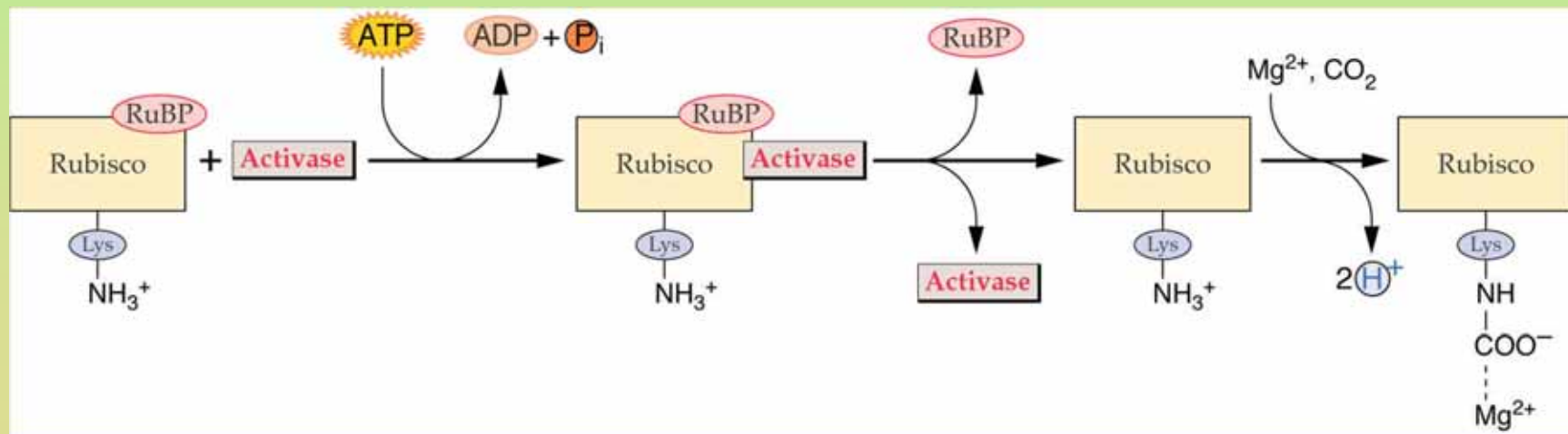
(inhibice katabolických procesů)

## Aktivace cyklu fixace uhlíku - Rubisco

Karbamylace Lys<sup>201</sup> probíhá lépe za zvýšení  $\text{Mg}^{2+}$  a pH



Rubisco aktiváza odstraní pevně navázané cukry

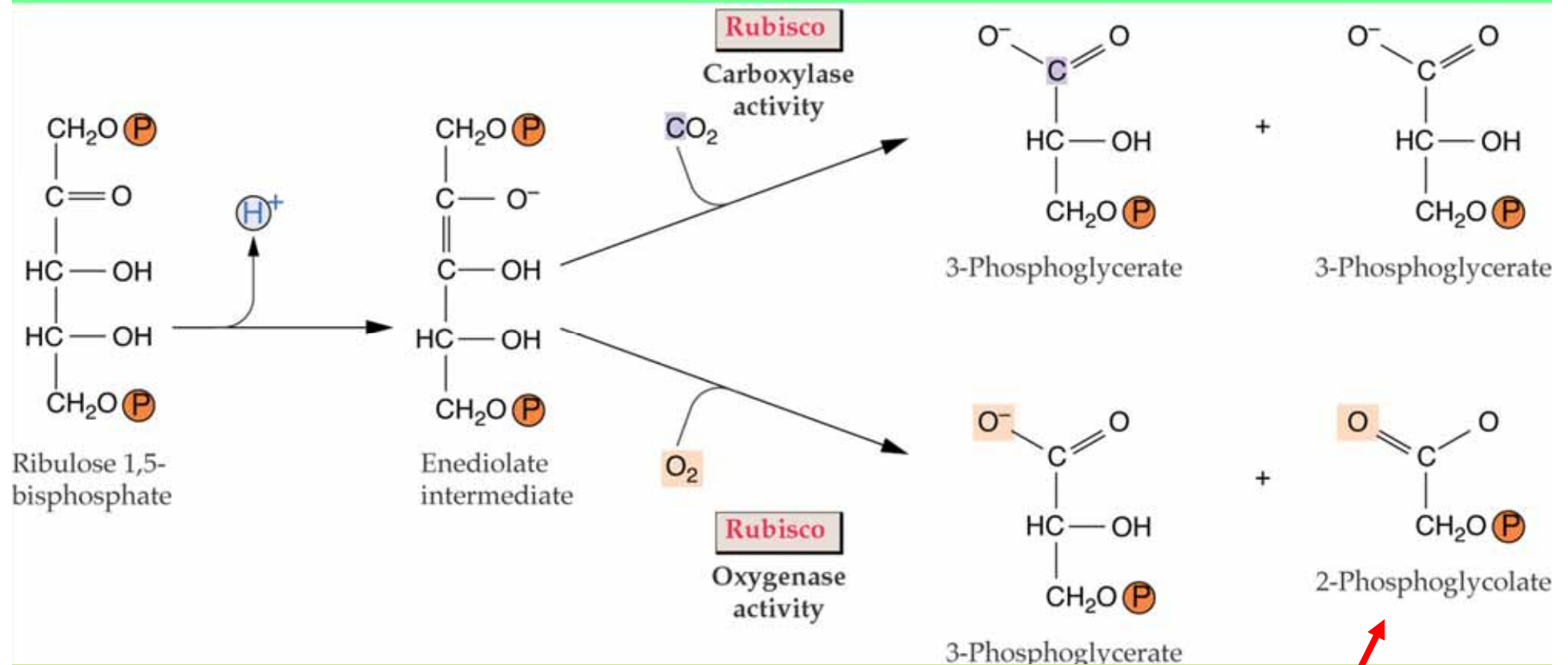


---

## Obsah přednášky

- C3 dráha: fixace a redukce CO<sub>2</sub>
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- mechanismy koncentrace CO<sub>2</sub>
- C4 metabolismus
- CAM metabolismus

# Fotorespirace – oxygenázová aktivita rubisca



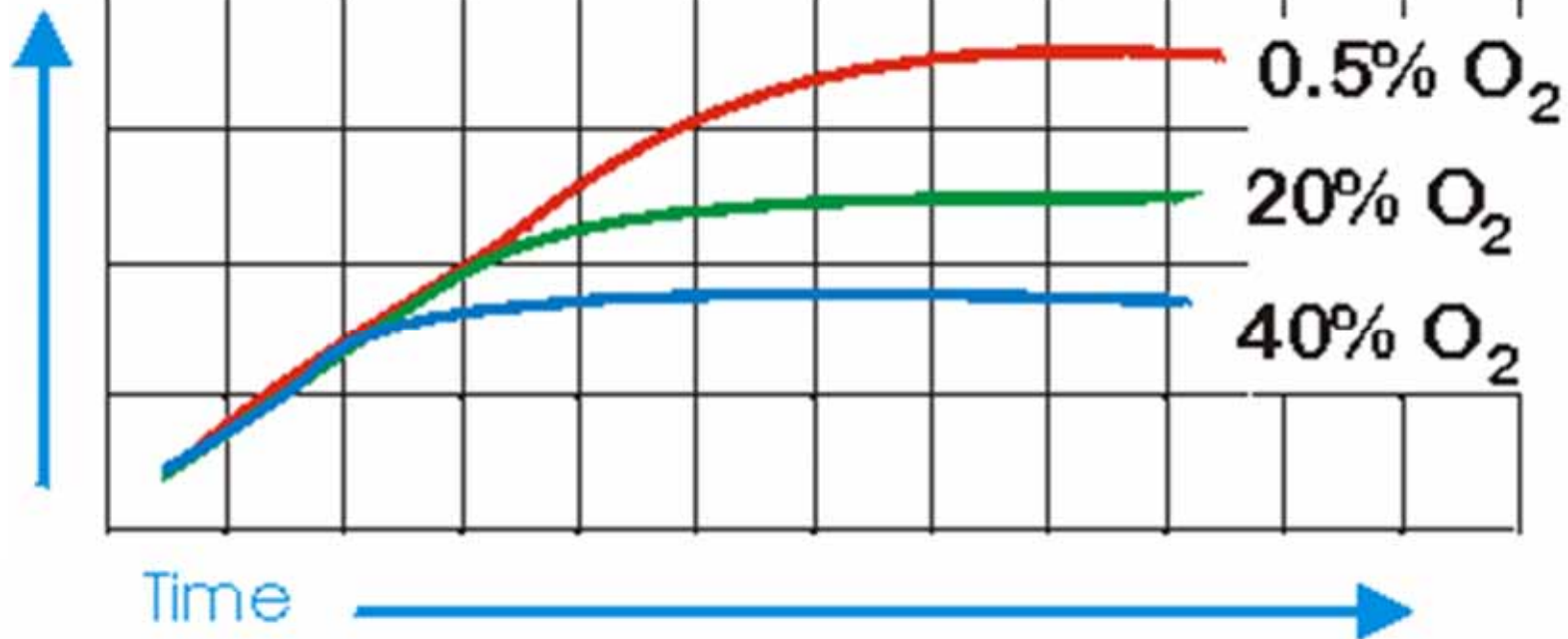
RUBISCO vzniklo v době, kdy nebyl  $\text{O}_2$  v atmosféře

inhibuje rubisco

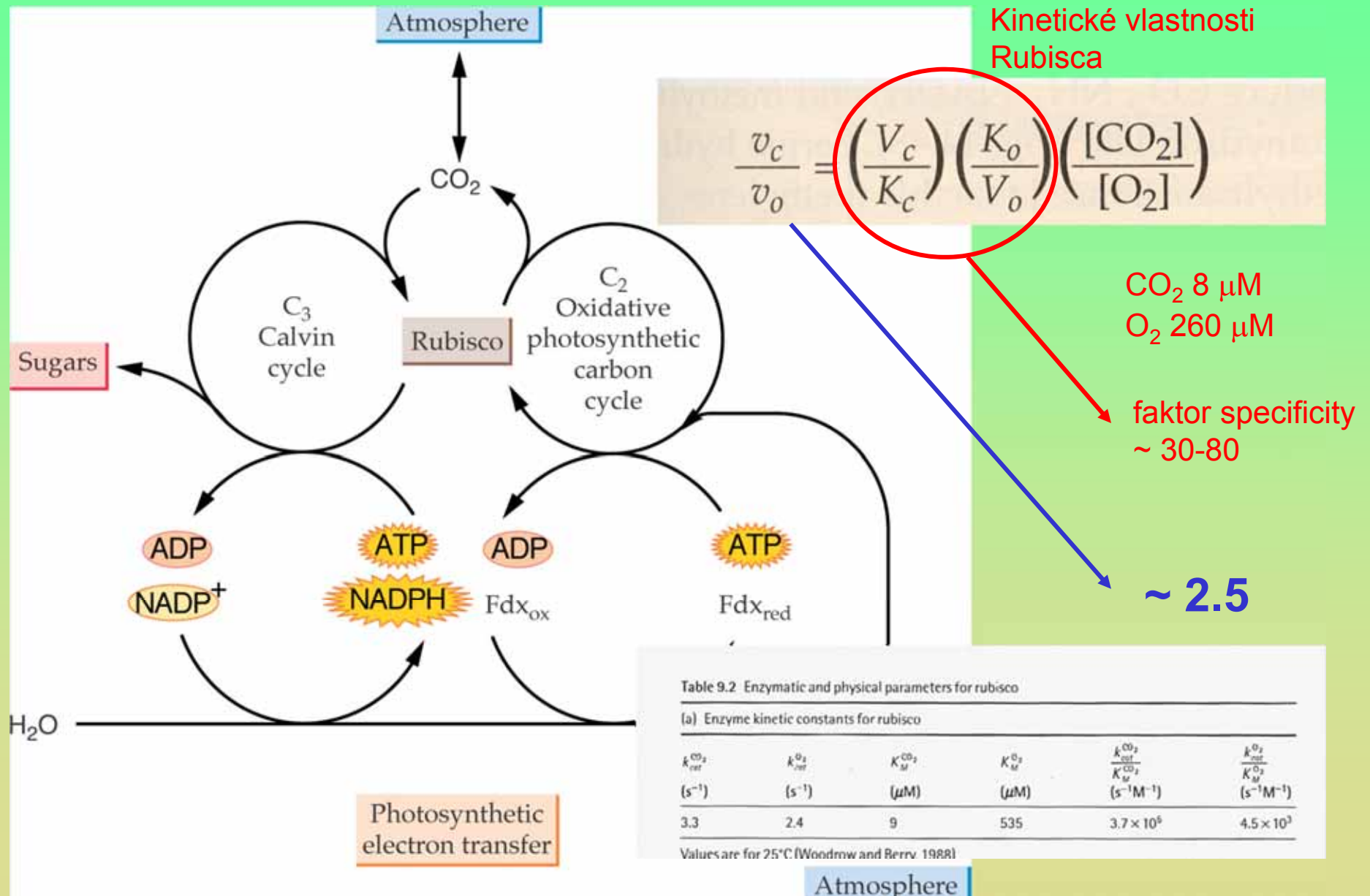


Fotorespirace snižuje fixaci uhlíku při vyšších koncentracích kyslíku

Rate of photosynthesis



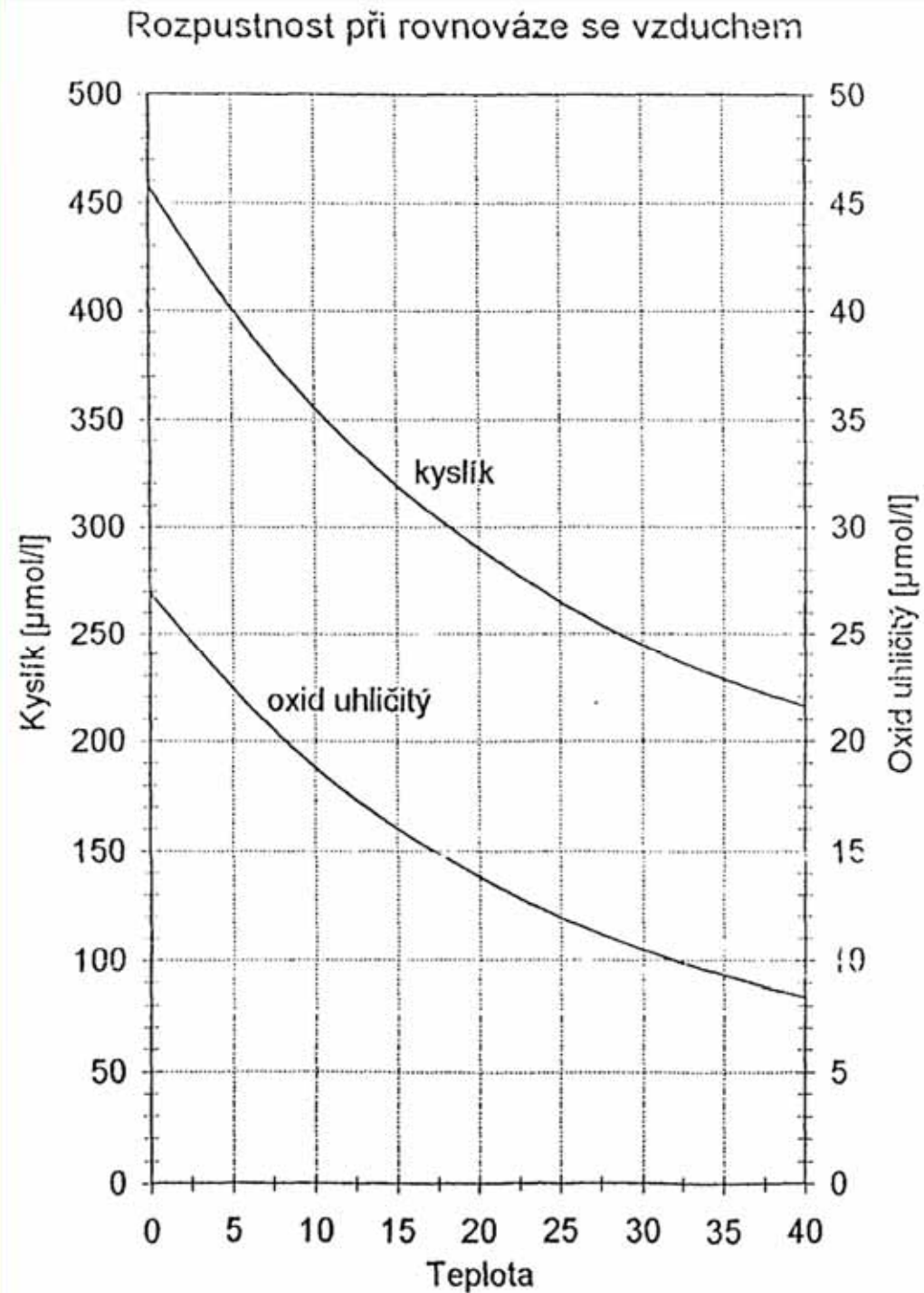
# Co určuje poměr fotosyntézy a fotorespirace?



## Vliv teploty na oxygenázovou aktivitu

rozpustnost  $O_2$  a  $CO_2$

kinetiku a aktivitu Rubisca



# C2 oxidativní fotosyntetický cyklus

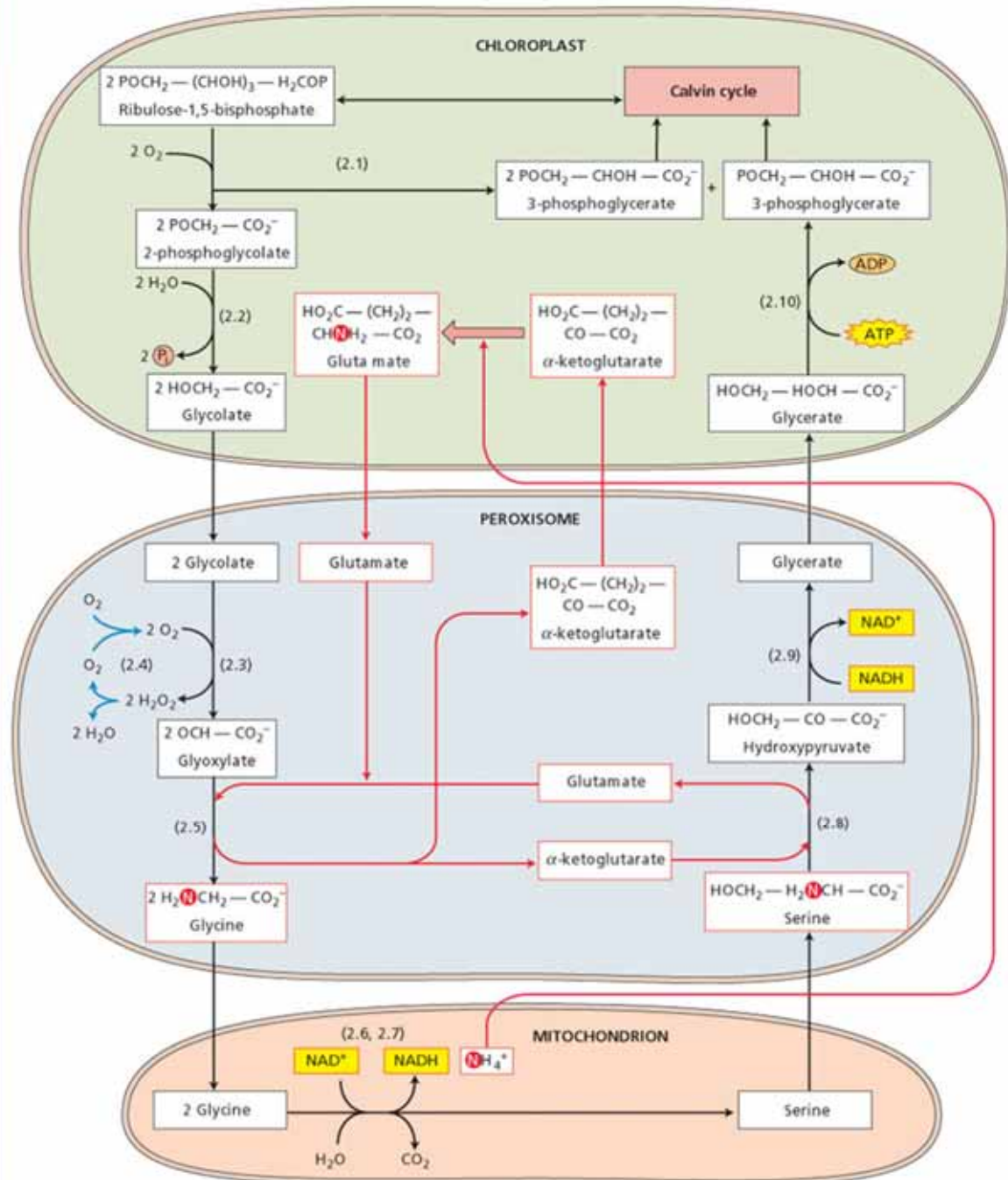
sníží ztráty fixovaného C způsobené fotorespirací – oxygenázovou aktivitou Rubisca

kooperace 3 organel:  
chloroplast  
peroxisom  
mitochondrie

~50% energie spotřebované na karboxylaci

2 Pglycolate → 1 Pglycerate

4C → 3C (25% C loss)



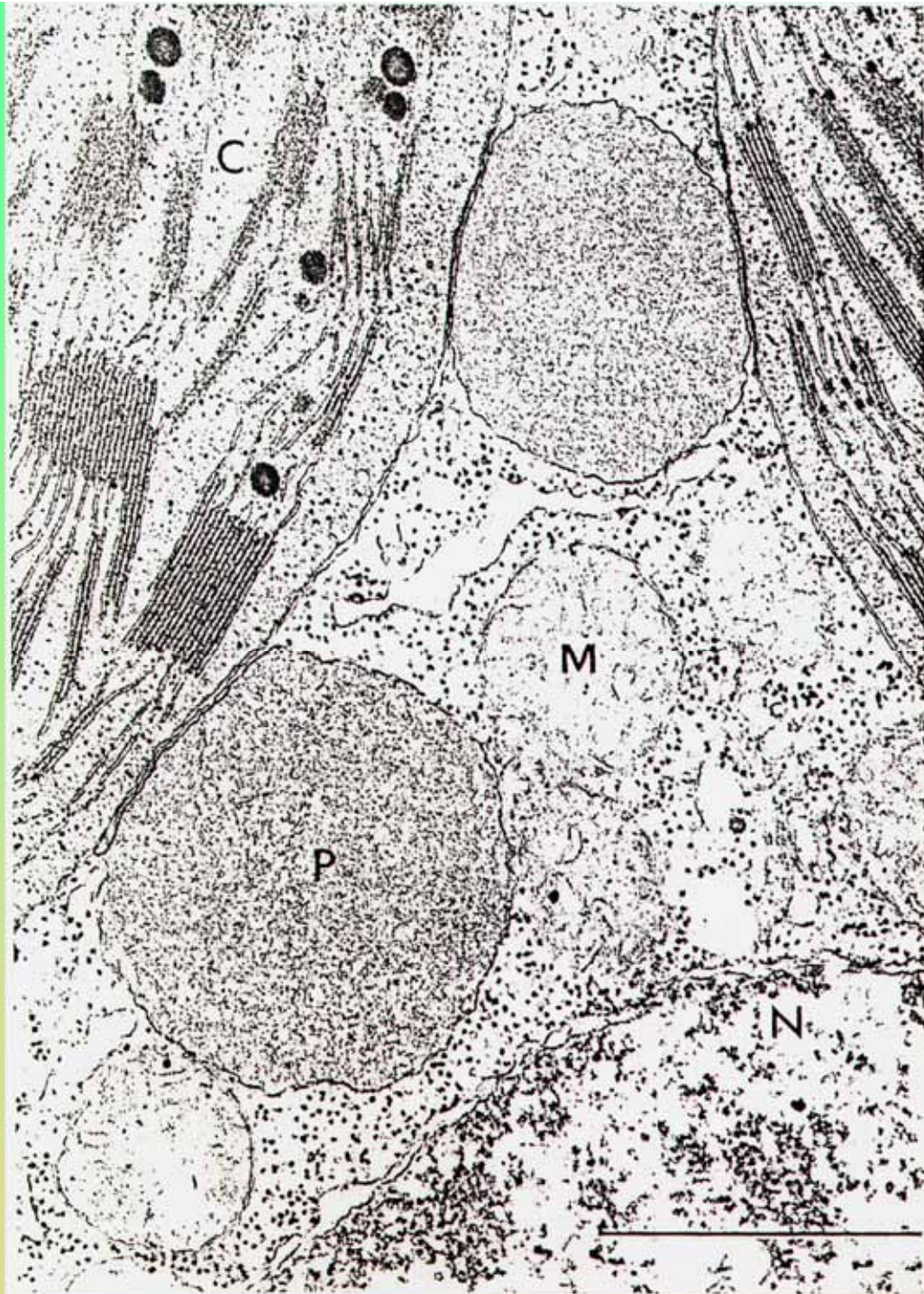


# C2 oxidativní fotosyntetický cyklus

Elektronově mikroskopický  
snímek rostlinné buňky

kooperace 3 organel:

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

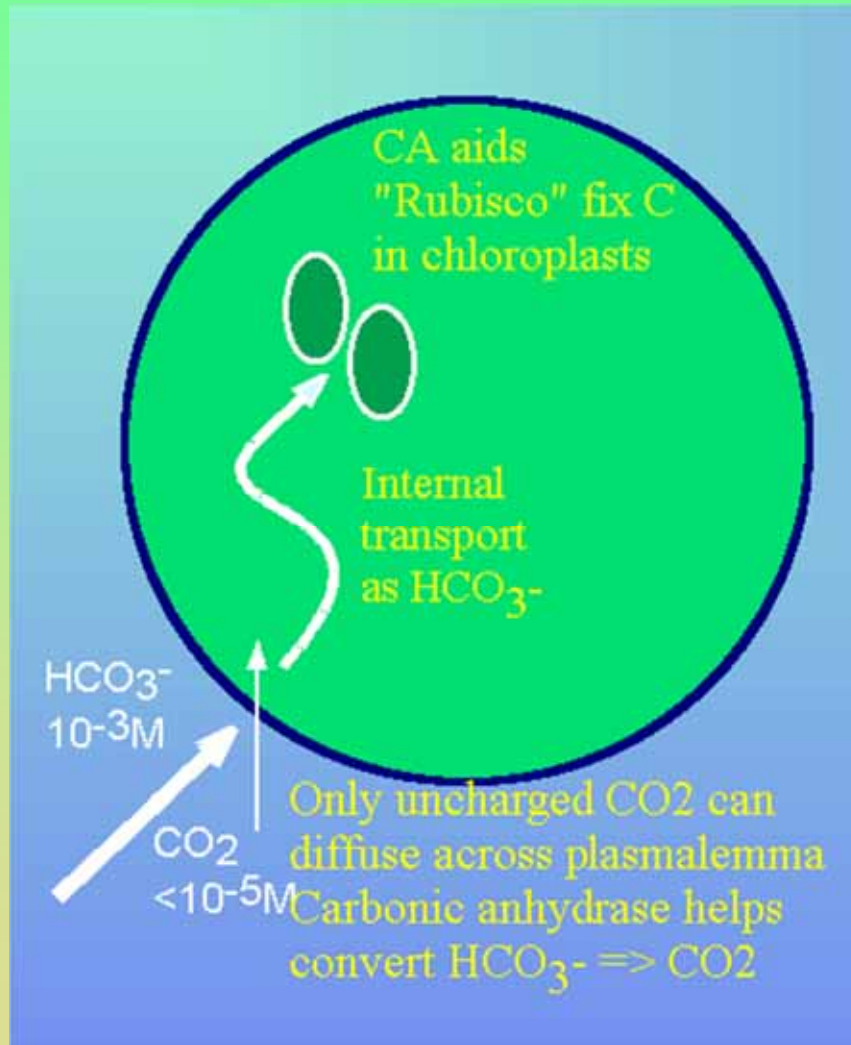


---

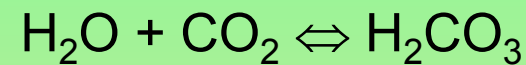
## Obsah přednášky

- C3 dráha: fixace a redukce CO<sub>2</sub>
- Fotorespirace a C2 dráha
- **mechanismy koncentrace CO<sub>2</sub>**
- C4 metabolismus
- CAM metabolismus

## CCM – mechanismus koncentrace uhlíku v řasách



Reverzibilní hydratace CO<sub>2</sub>



pomalá bez katalýzy

CA = karbonátdehydratáza

Až 600000 s<sup>-1</sup>

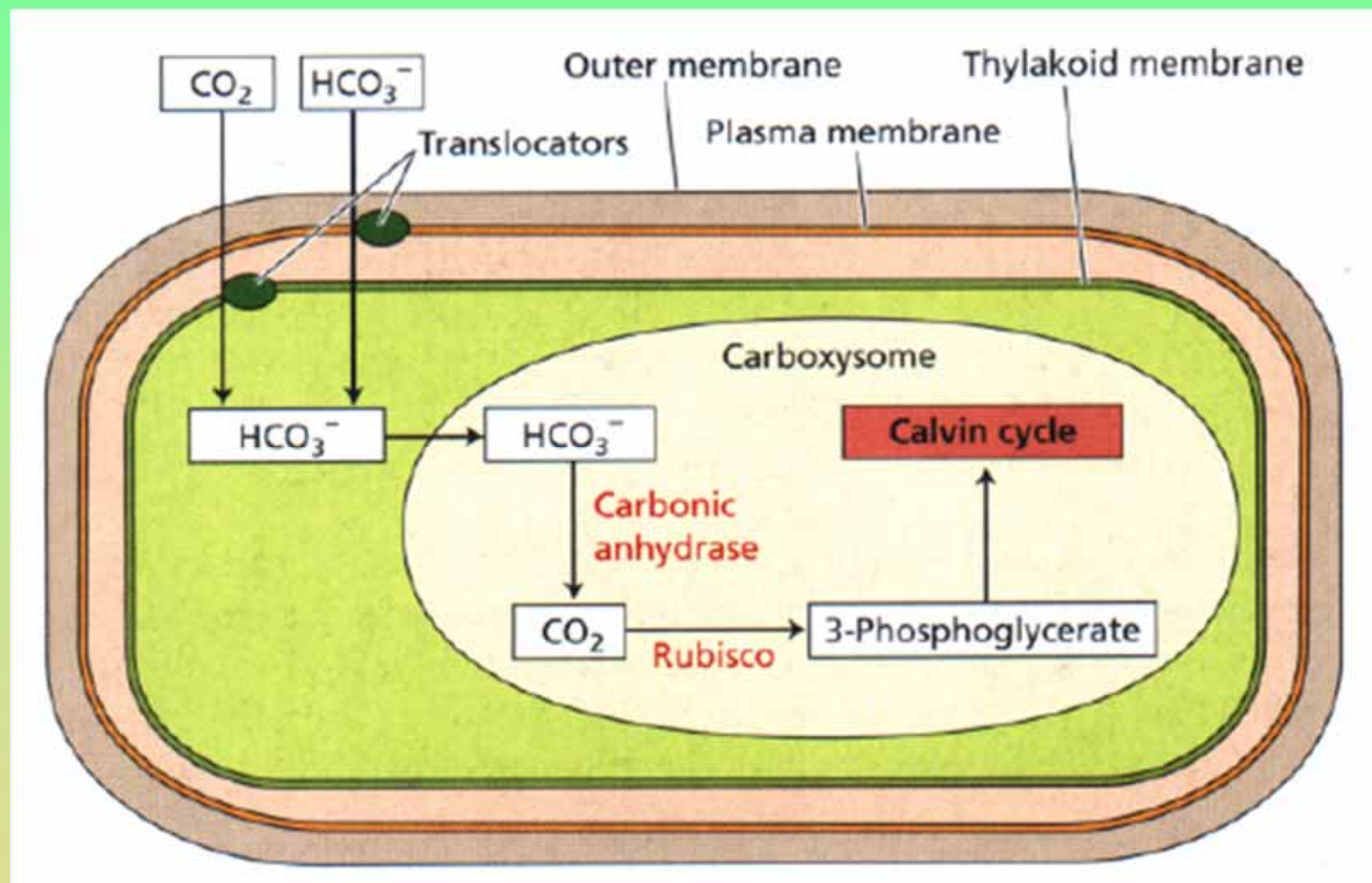
jeden z nejrychlejších enzymů

CCM spotřebovává ATP



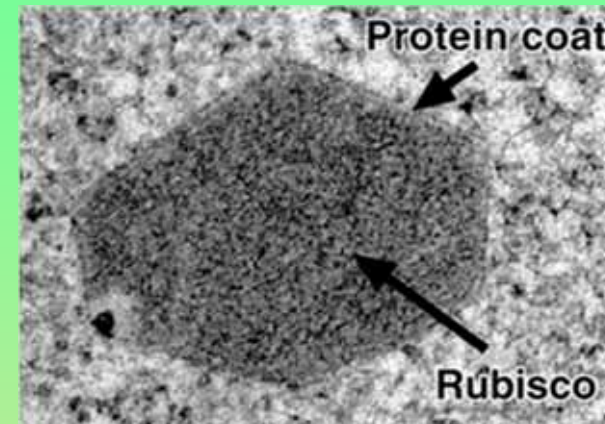
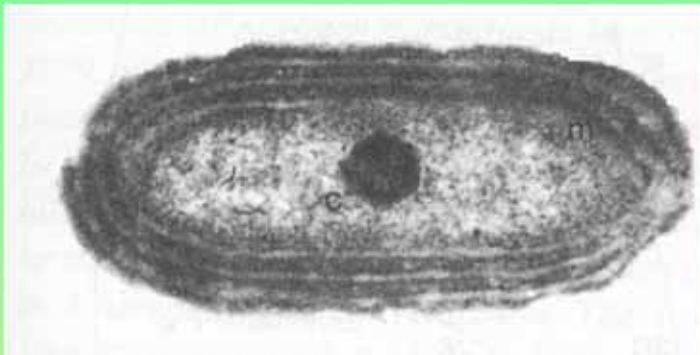
# Pumpy $\text{CO}_2$ v cytoplasmatické membráně

vodní rostliny, řasy, sinice



## Strukury, ve kterých dochází k fixaci uhlíku

Sinice: karboxysomy



Řasy: pyrenoid





---

## Obsah přednášky

- **C3 dráha: fixace a redukce CO<sub>2</sub>**
- **Fotorespirace a C2 dráha**
- **mechanismy koncentrace CO<sub>2</sub>**
- **C4 metabolismus**
- **CAM metabolismus**

# Jak se mohou adaptovat cévnaté rostliny?

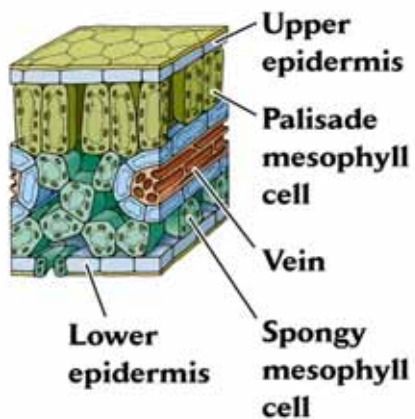
C3 rostliny

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

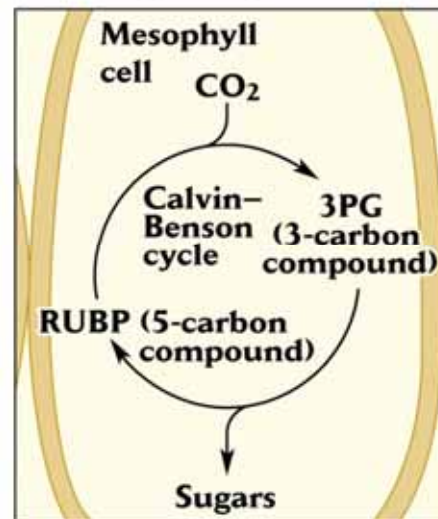
(a) C<sub>3</sub> PLANT



C<sub>3</sub> cell arrangement



C<sub>3</sub> photosynthesis

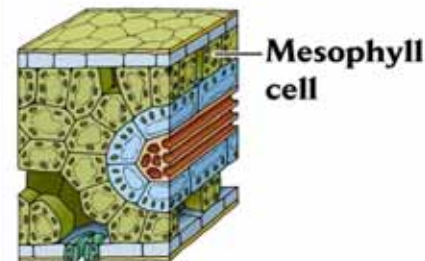


(b)

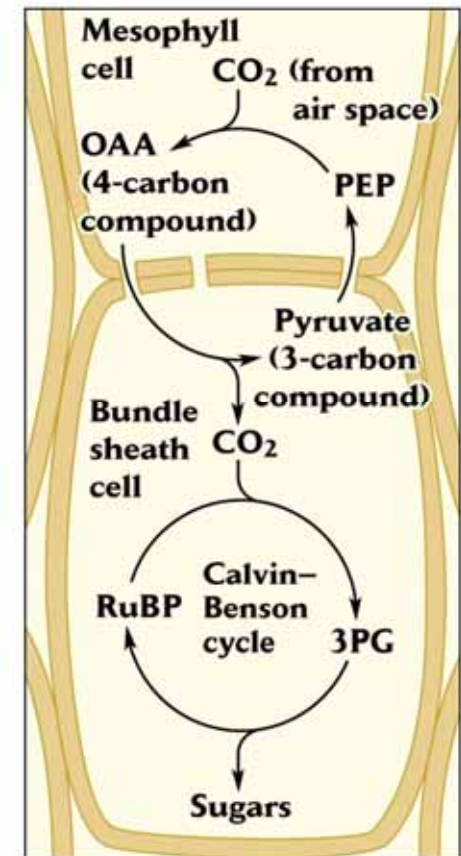
C<sub>4</sub> PLANT



C<sub>4</sub> cell arrangement

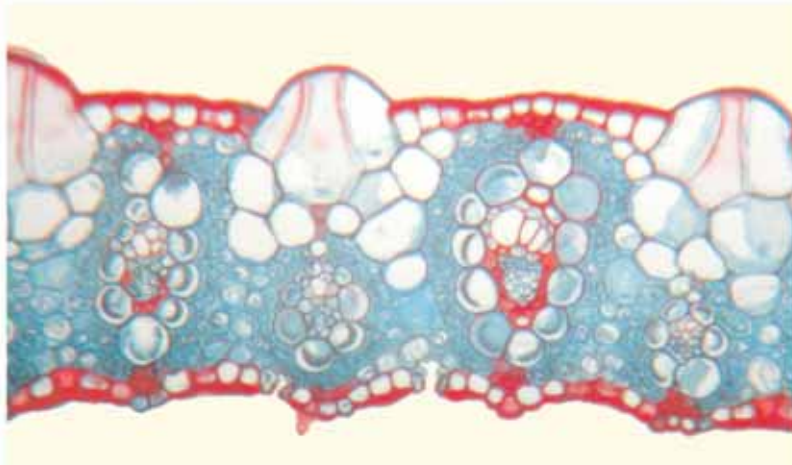


C<sub>4</sub> photosynthesis



(A)

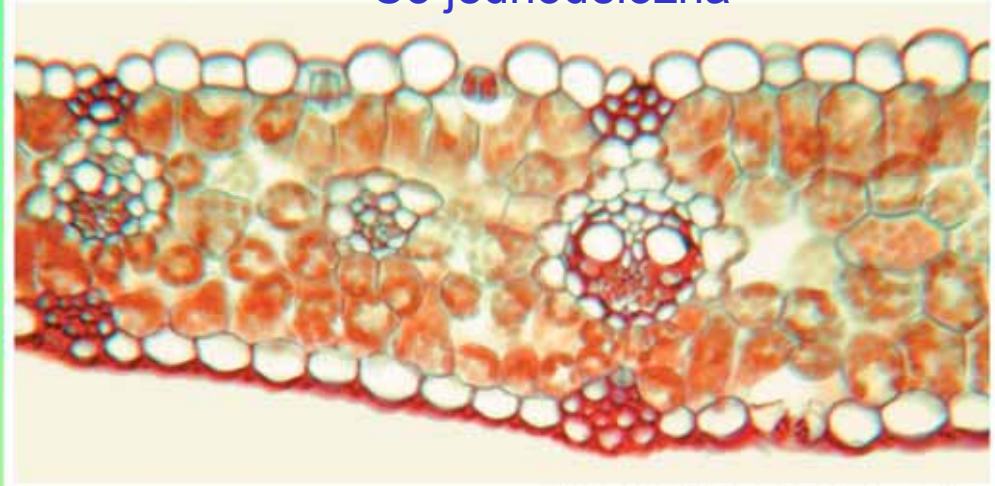
## C4 jednoděložná



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

(B)

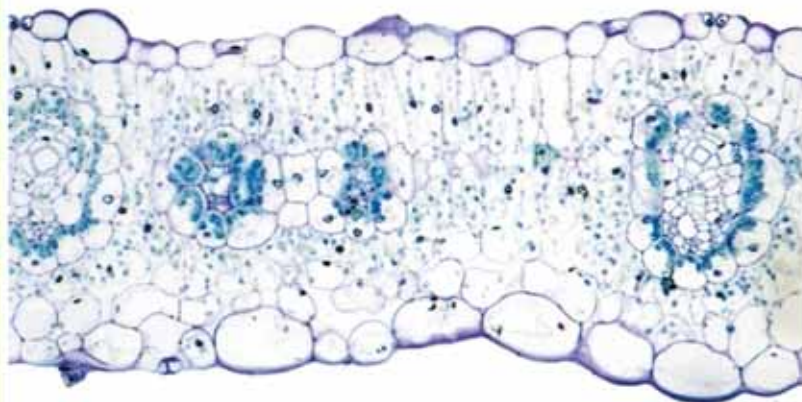
## C3 jednoděložná



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

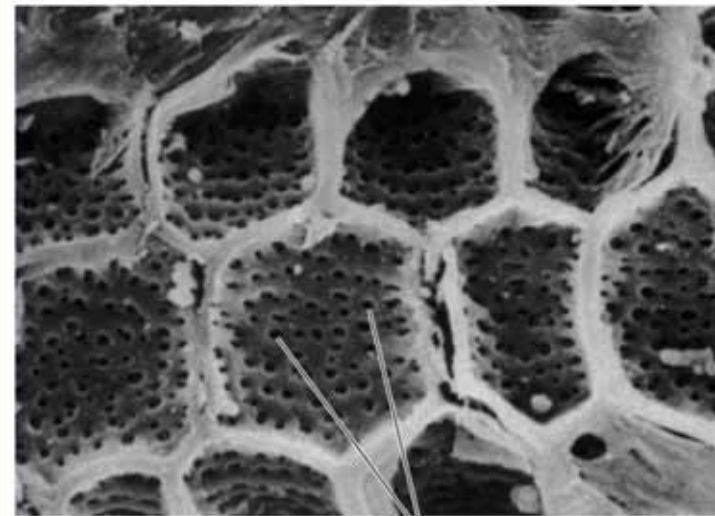
(C)

## 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 5) © 2002 Sinauer Associates, Inc.



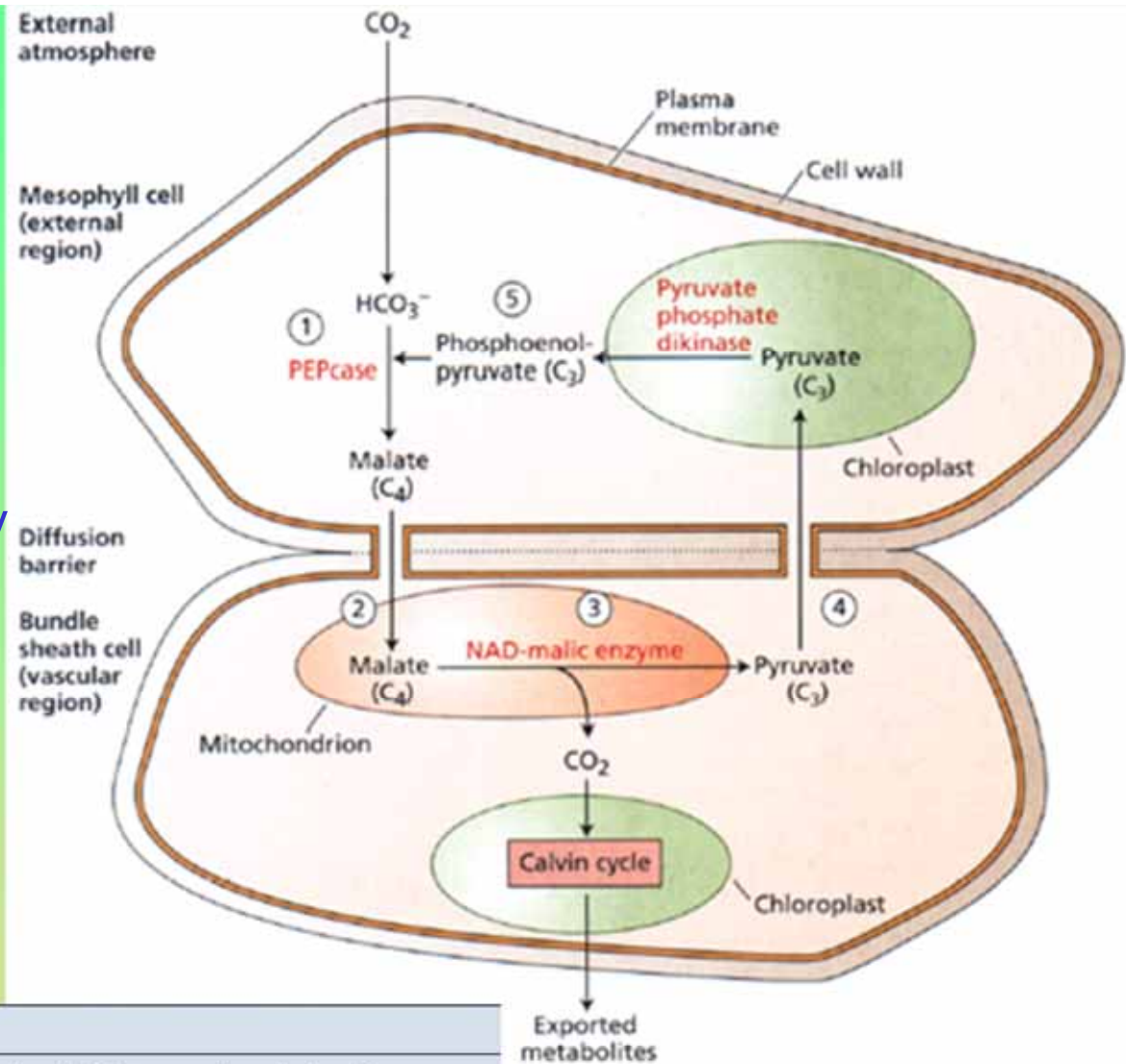
# C4 cyklus

mesofilní buňky  
buňky pochev cévních svazků

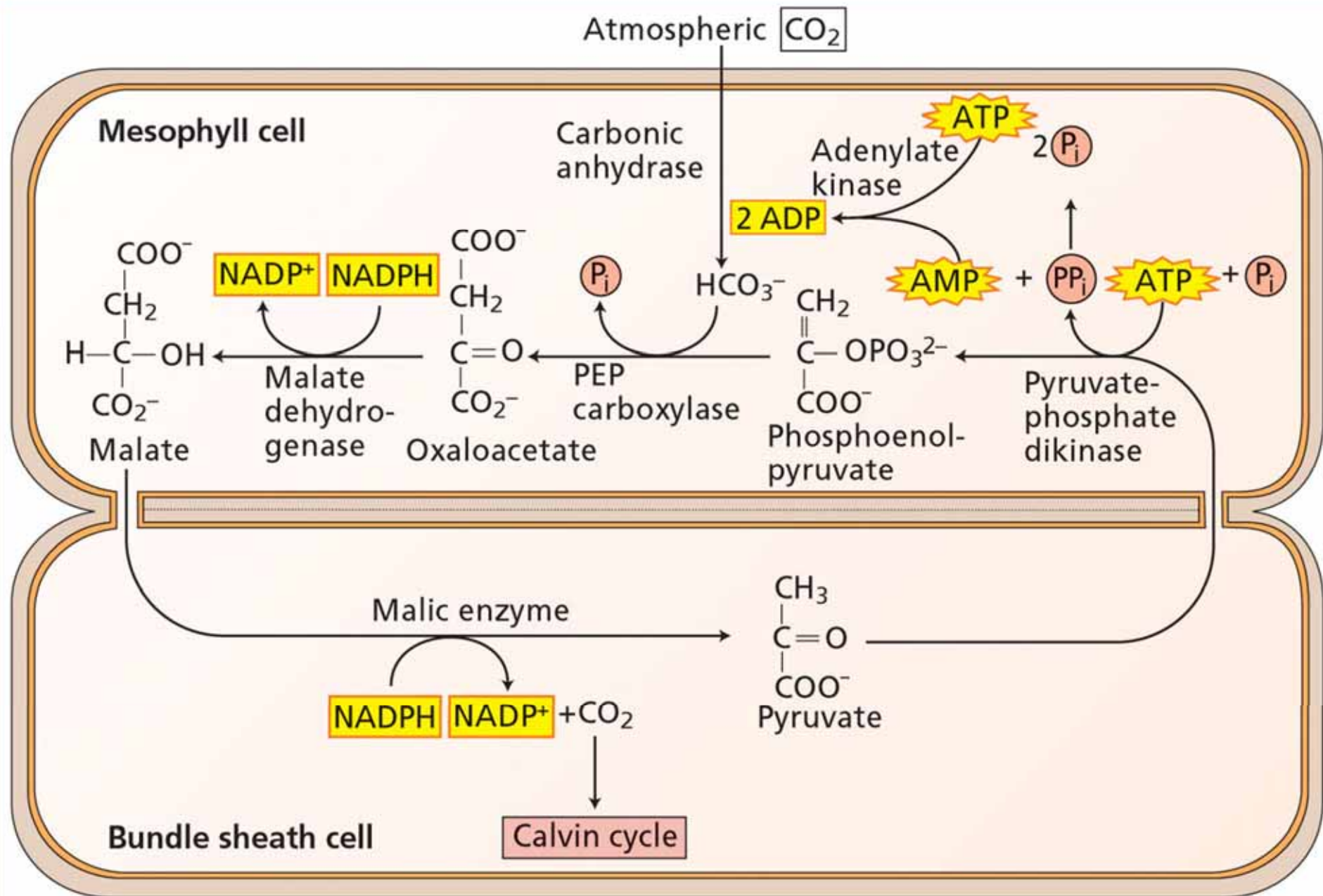
eliminace oxygenázové aktivity

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

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	$\text{Oxaloacetate} + \text{ATP} \rightarrow \text{phosphoenolpyruvate} + \text{CO}_2 + \text{ADP}$





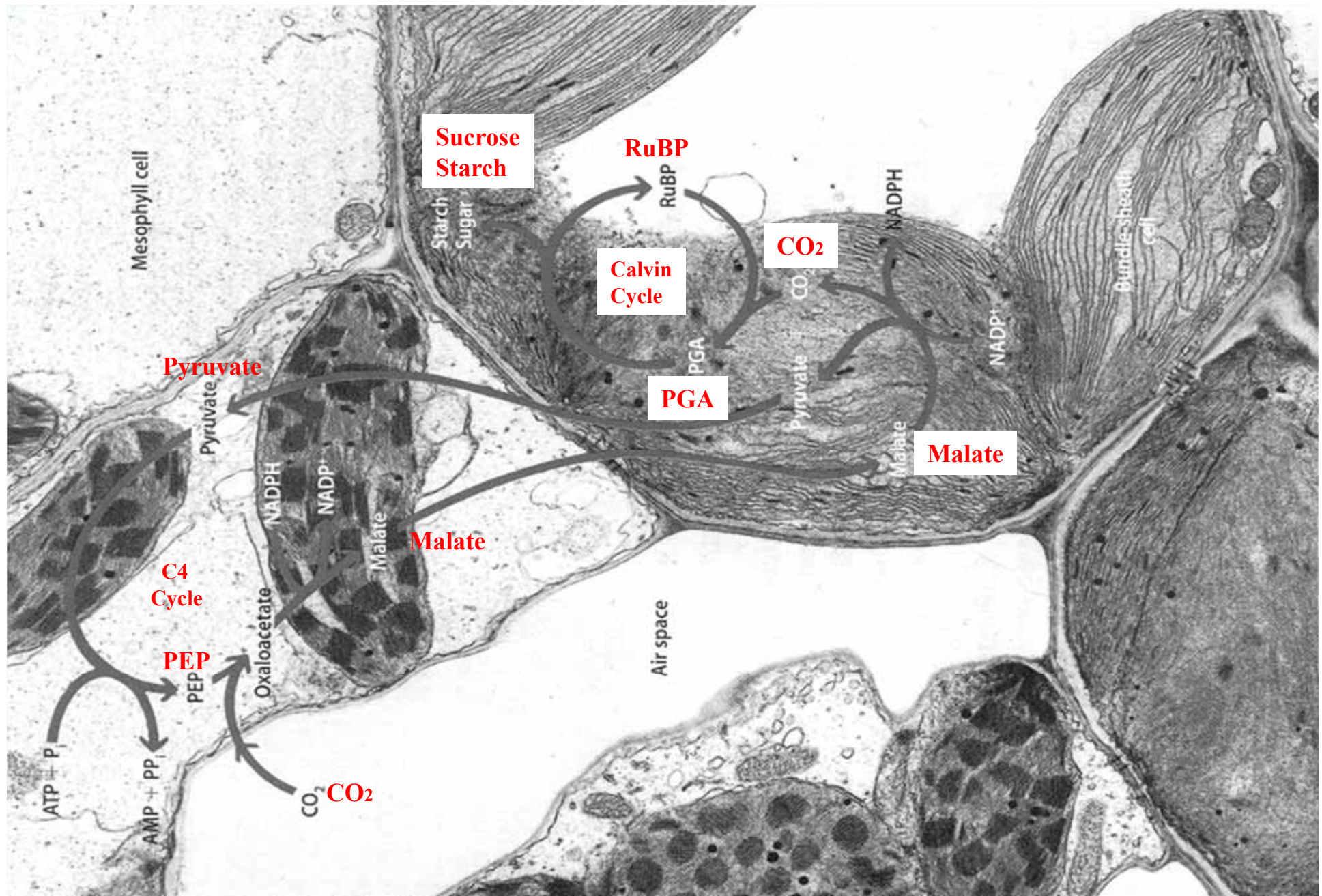
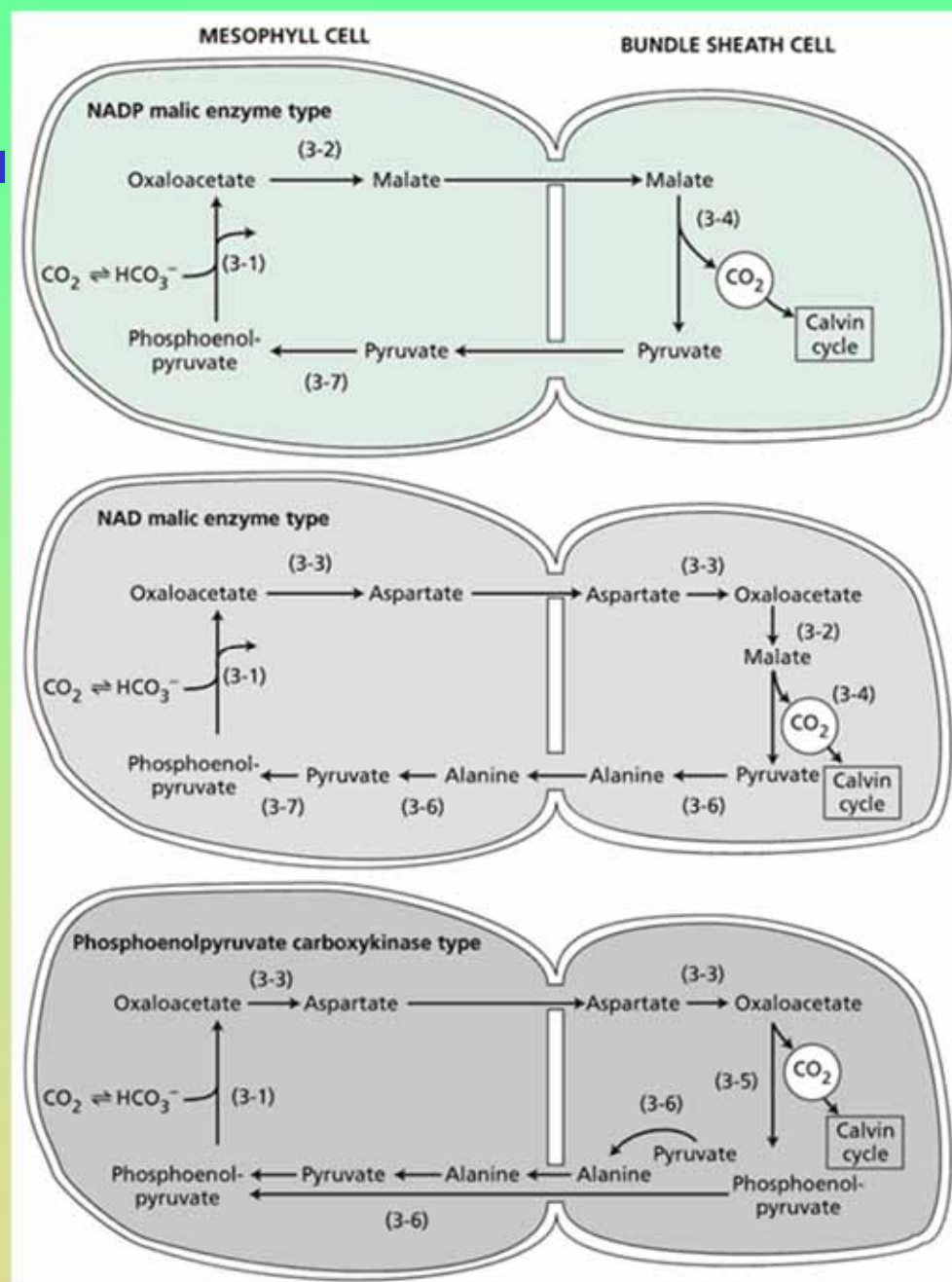


Figure 7-24



# C4 cykly mají větší spotřebu energie než C3

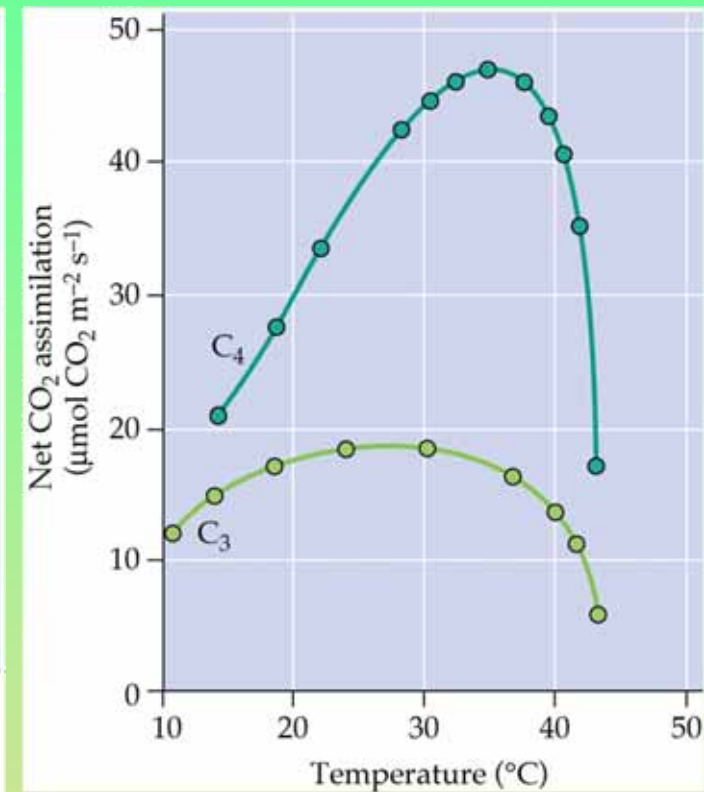
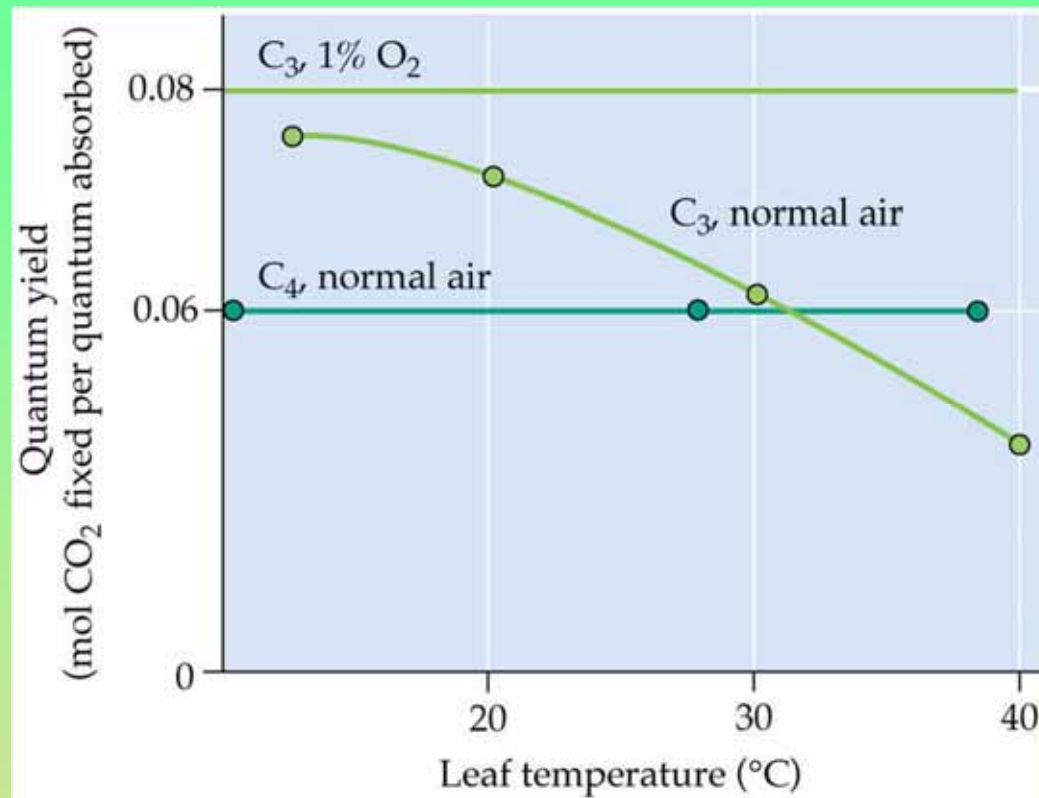
**TABLE 8.4**  
Energetics of the C<sub>4</sub> photosynthetic carbon cycle

Phosphoenolpyruvate + H <sub>2</sub> O + NADPH + CO <sub>2</sub> (mesophyll)	→	malate + NADP <sup>+</sup> + P <sub>i</sub> (mesophyll)
Malate + NADP <sup>+</sup>	→	pyruvate + NADPH + CO <sub>2</sub> (bundle sheath)
Pyruvate + P <sub>i</sub> + ATP	→	phosphoenolpyruvate + AMP + PP <sub>i</sub> (mesophyll)
PP <sub>i</sub> + H <sub>2</sub> O	→	2 P <sub>i</sub> (mesophyll)
AMP + ATP	→	2ADP
Net: CO <sub>2</sub> (mesophyll) + ATP + 2 H <sub>2</sub> O	→	CO <sub>2</sub> (bundle sheath) + 2ADP + 2 P <sub>i</sub>

Cost of concentrating CO<sub>2</sub> within the bundle sheath cell = 2 ATP per CO<sub>2</sub>

	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 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> nedochází ke kompetici s O<sub>2</sub> (oxygenaci) za vyšších teplot

---

## Obsah přednášky

- C3 dráha: fixace a redukce CO<sub>2</sub>
- Fotorespirace a C2 dráha
- mechanismy koncentrace CO<sub>2</sub>
- 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:

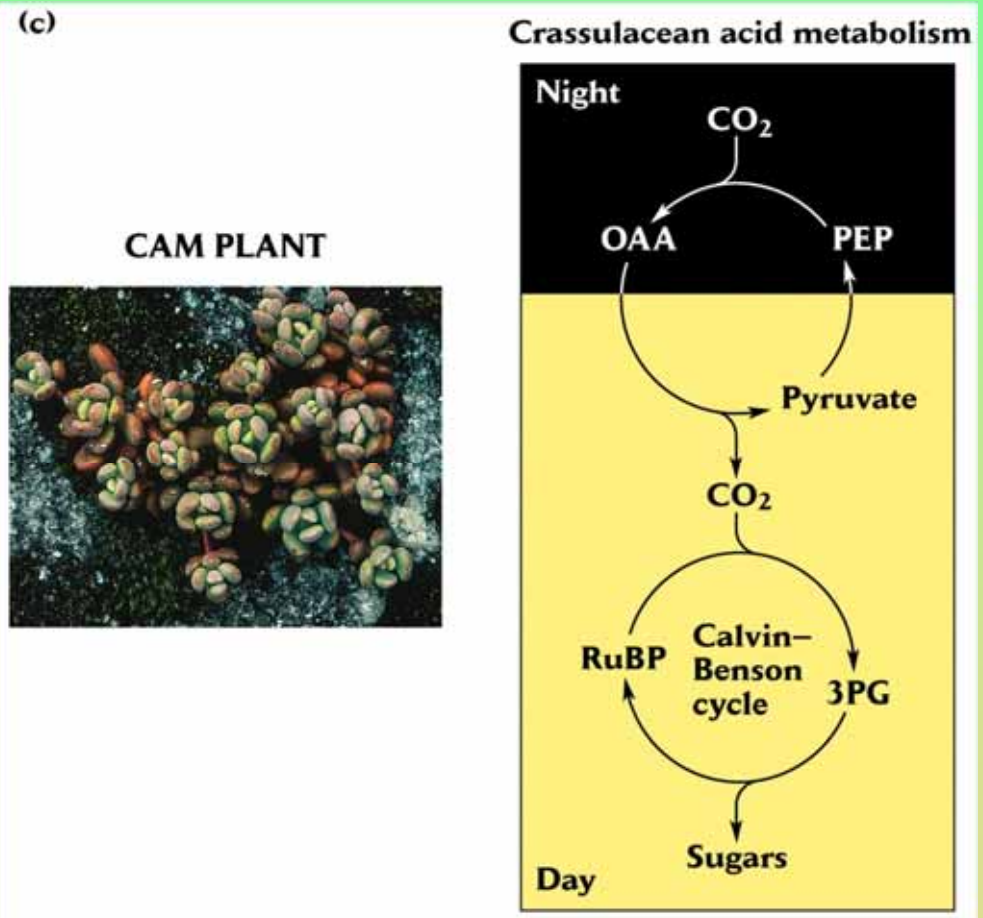
50 -100 g H<sub>2</sub>O na 1 g fixovaného CO<sub>2</sub>

C4 rostliny

250 – 300 g H<sub>2</sub>O

C3 rostliny

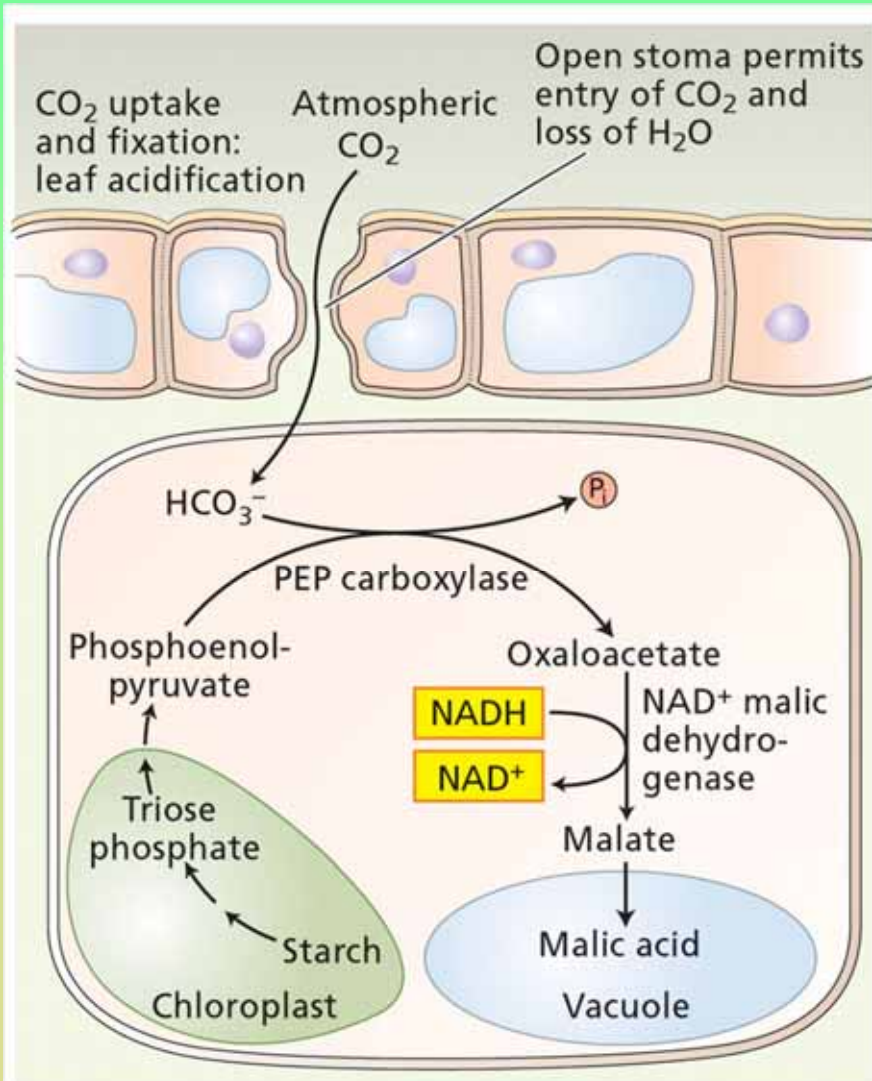
400 - 500 g H<sub>2</sub>O



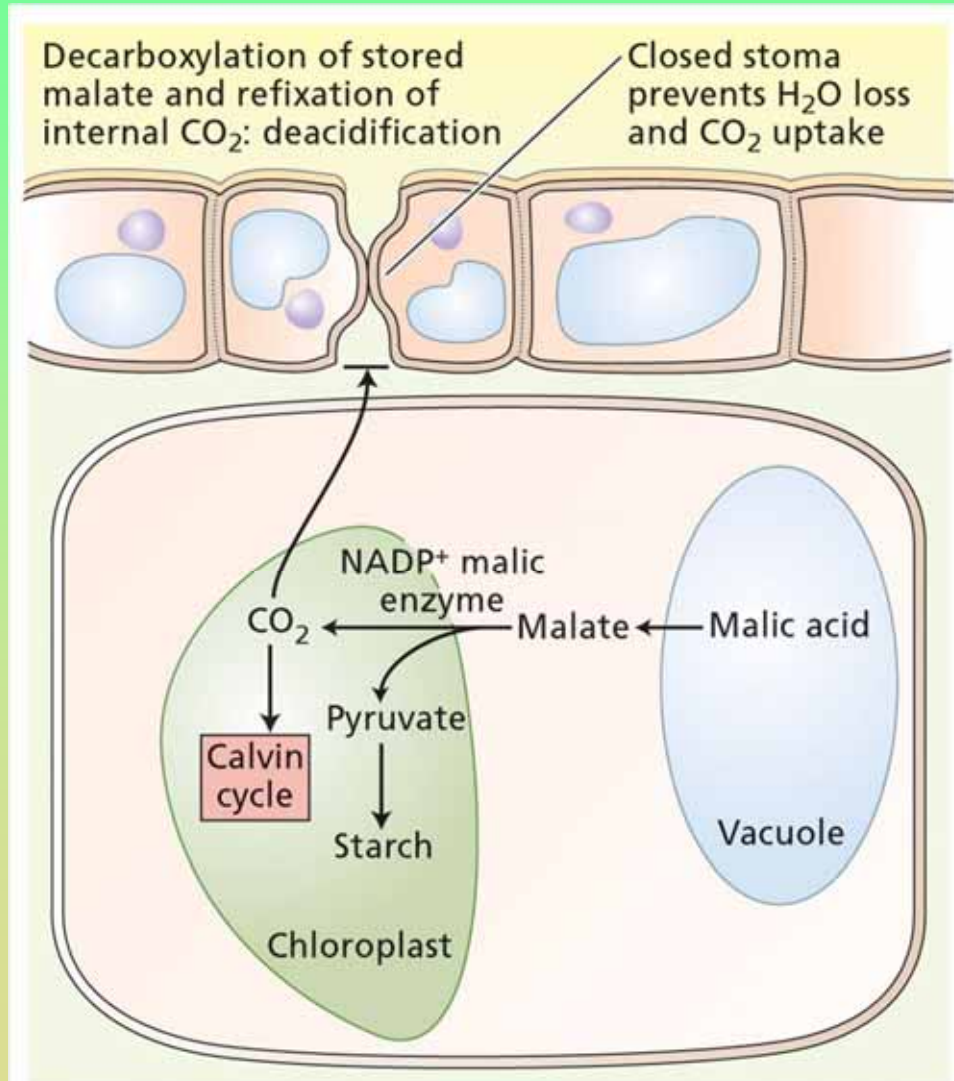
# CAM metabolismus

tma

světlo



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.12 (Part 1) © 2002 Sinauer Associates, Inc.



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 8.12 (Part 2) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

**Konec**