

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

2

Ondřej Prášil

prasil@alga.cz
384-340430

Fotosyntéza: světlem indukované oxidačně redukční reakce

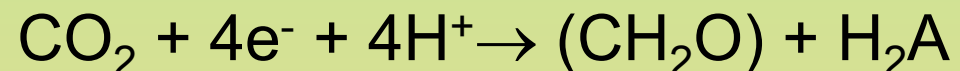
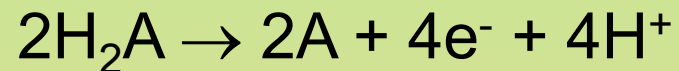


Cornelius van Niel, 30.léta 20.století

Holandský mikrobiolog, Stanford University, Kalifornie



2 oddělené redoxní reakce

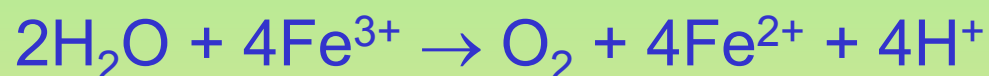


Robert Hill, Cambridge 1930

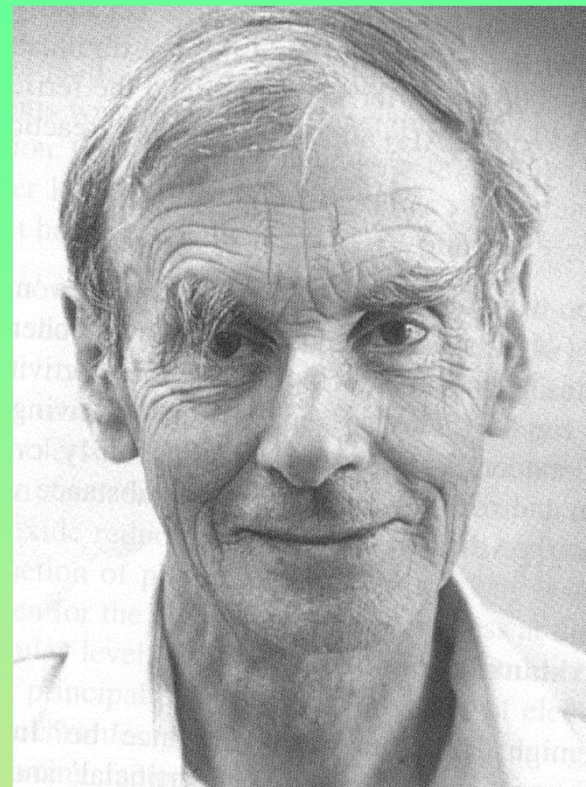
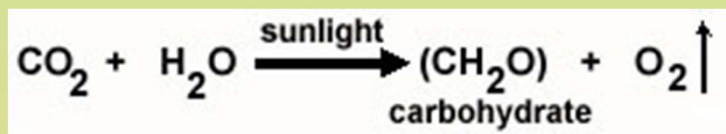
Obnovení fotosyntetických aktivit v izolovaných chloroplastech po přidání akceptorů elektronů

Fotosyntéza je **redoxní** reakcí

Kyslík pochází z oxidace vody, ne z CO₂



Měřil kyslík změnou barvy hemoglobinu



Maximální kvantový výtěžek vývoje kyslíku

Proč je důležitý?

- stanovuje maximální možnosti
- ukazuje na omezení ve využití světla



Otto Warburg

definice Φ = moly produktu / moly absorbovaných fotonů

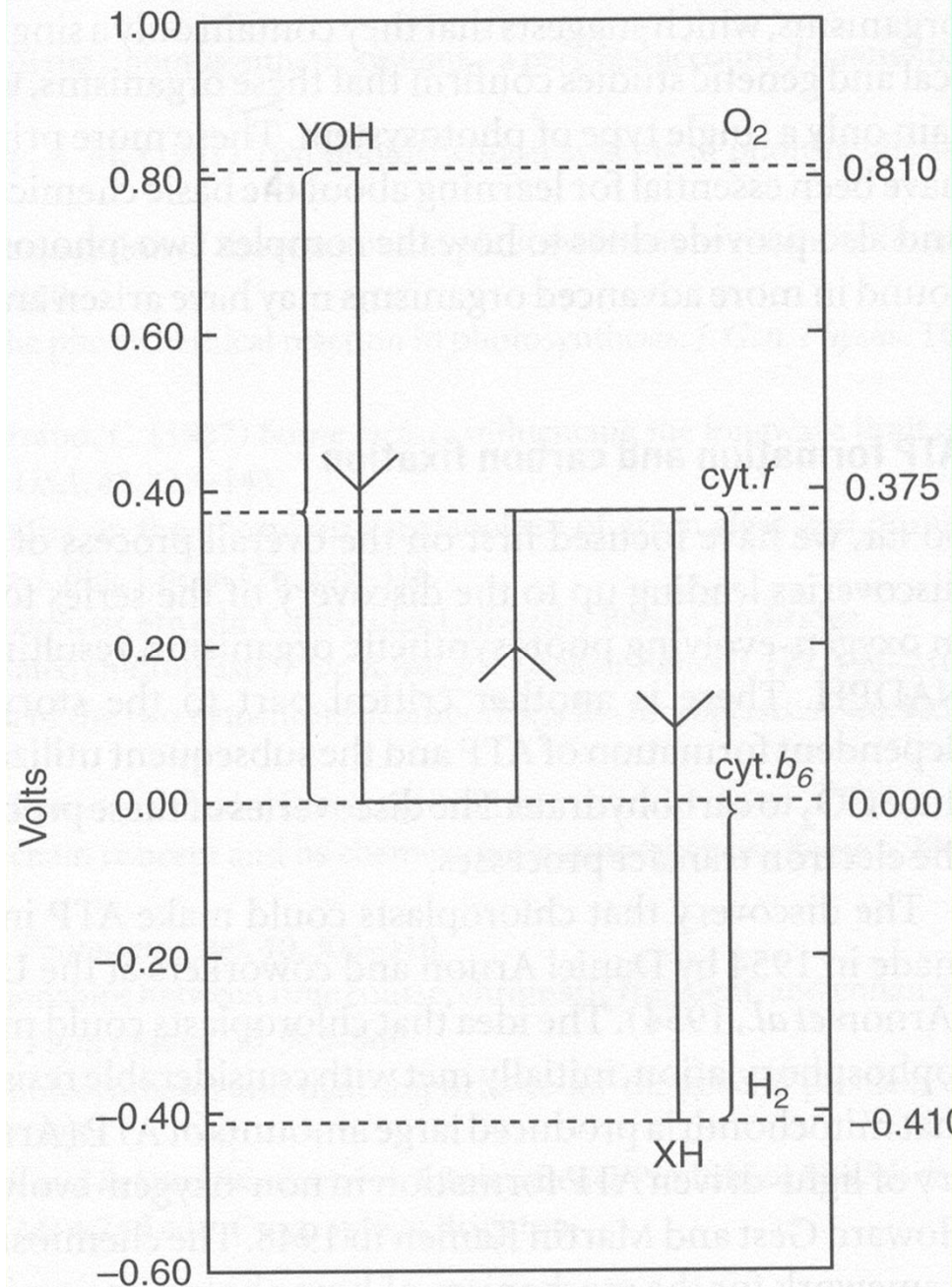
kvantový požadavek = $1/\Phi$

kvantová účinnost (λ) : energie uložená v produktu / energie absorbovaná

Maximální kvantový výtěžek

Otto Warburg, 20.léta: $\Phi = 0.25 \text{ q/CO}_2$ (4 fotony, jedna fotoreakce)

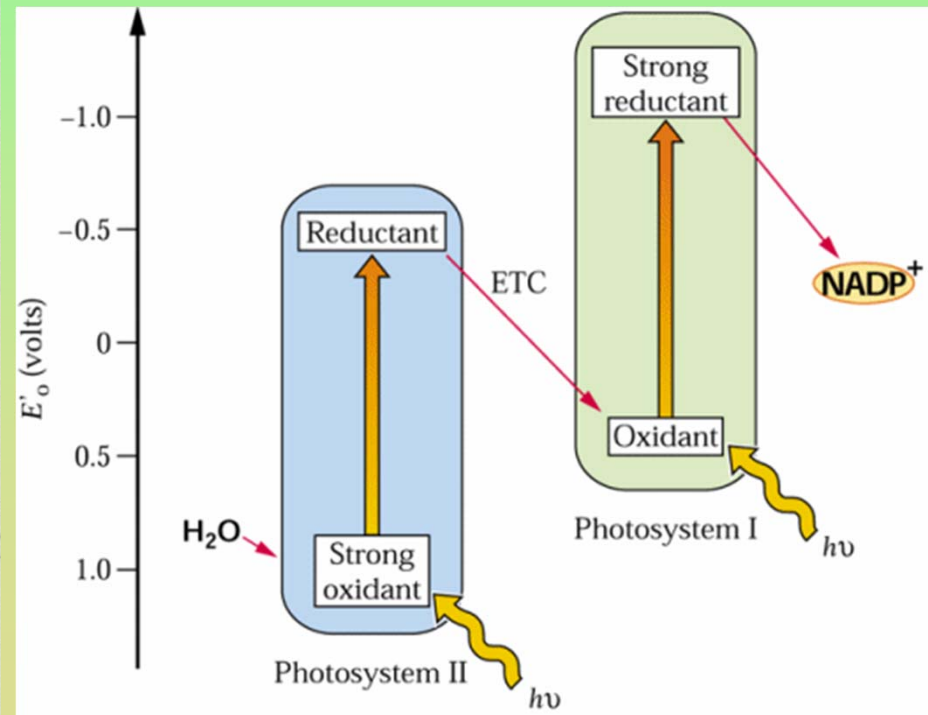
Emerson, 50.léta: $\Phi = 0.12 - 0.10 \text{ q/CO}_2$ (8 fotonů, 2 fotosystémy)

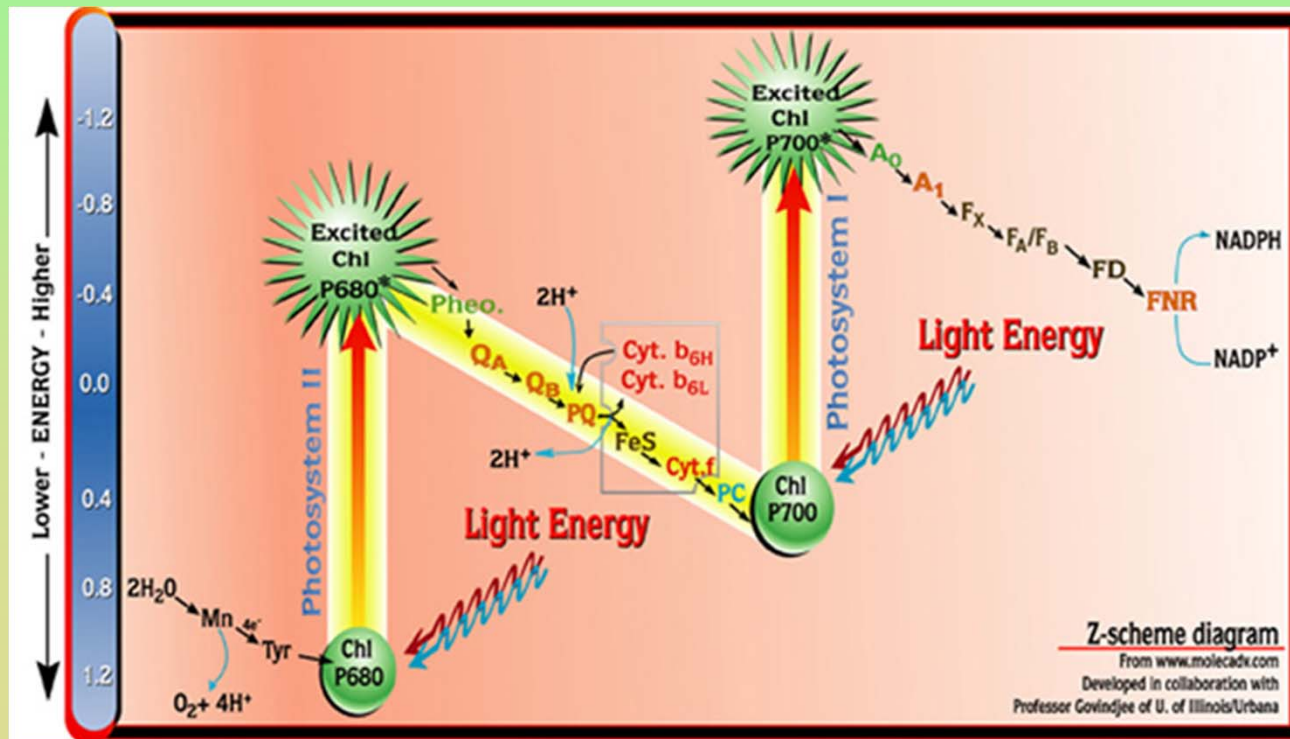
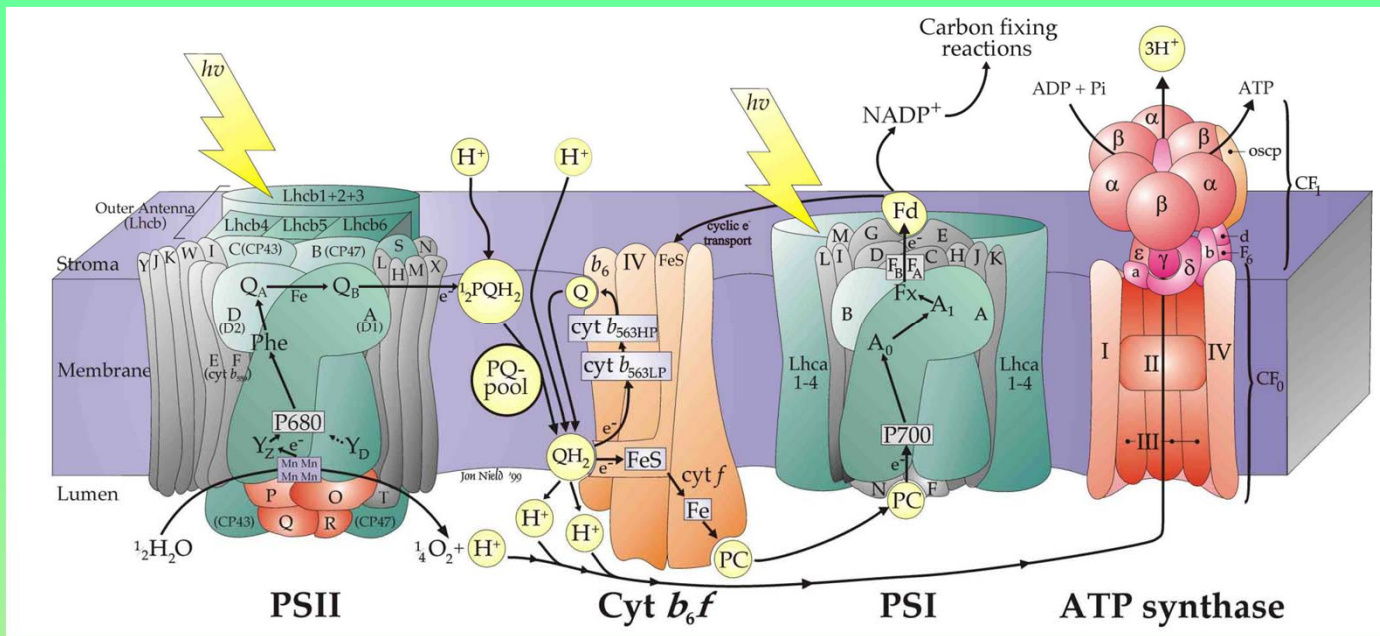


Z (zig-zag) schéma fotosyntézy

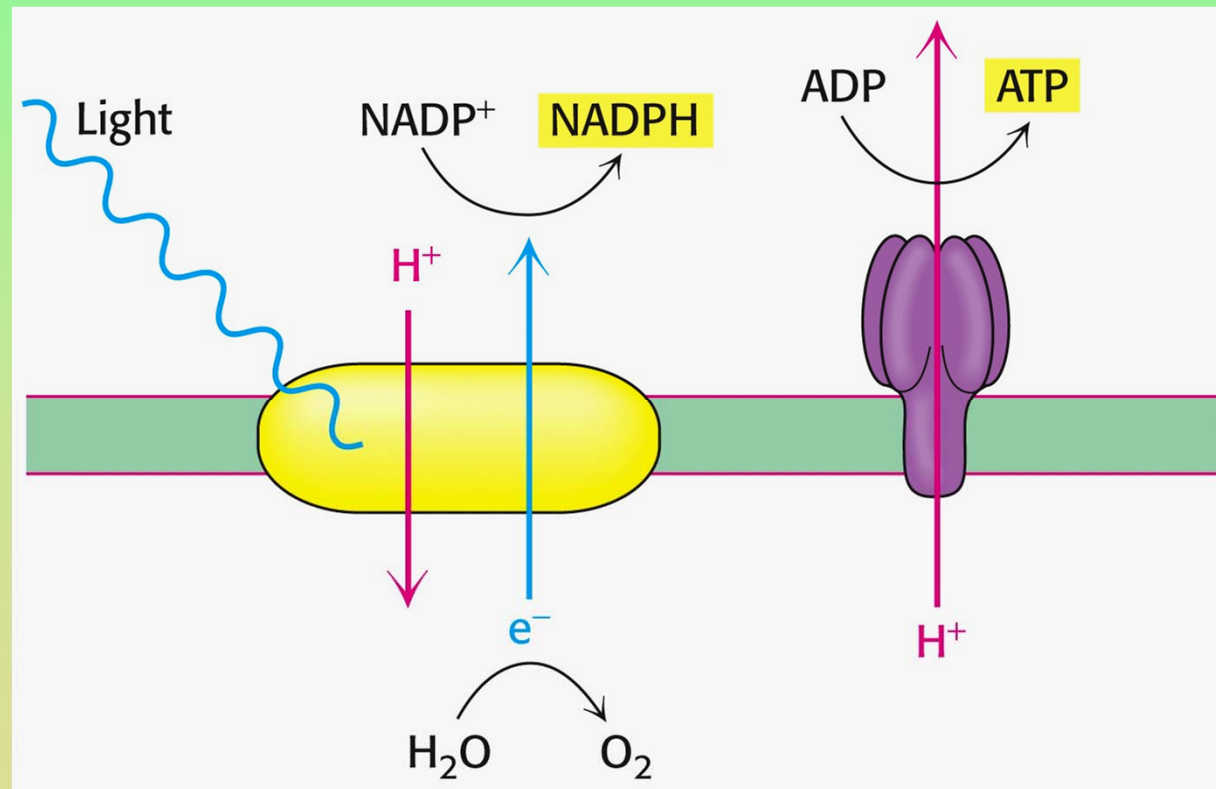
Robert Hill a Fay Bendall, 1960
Duysens 1961

2 reakce v tandemu

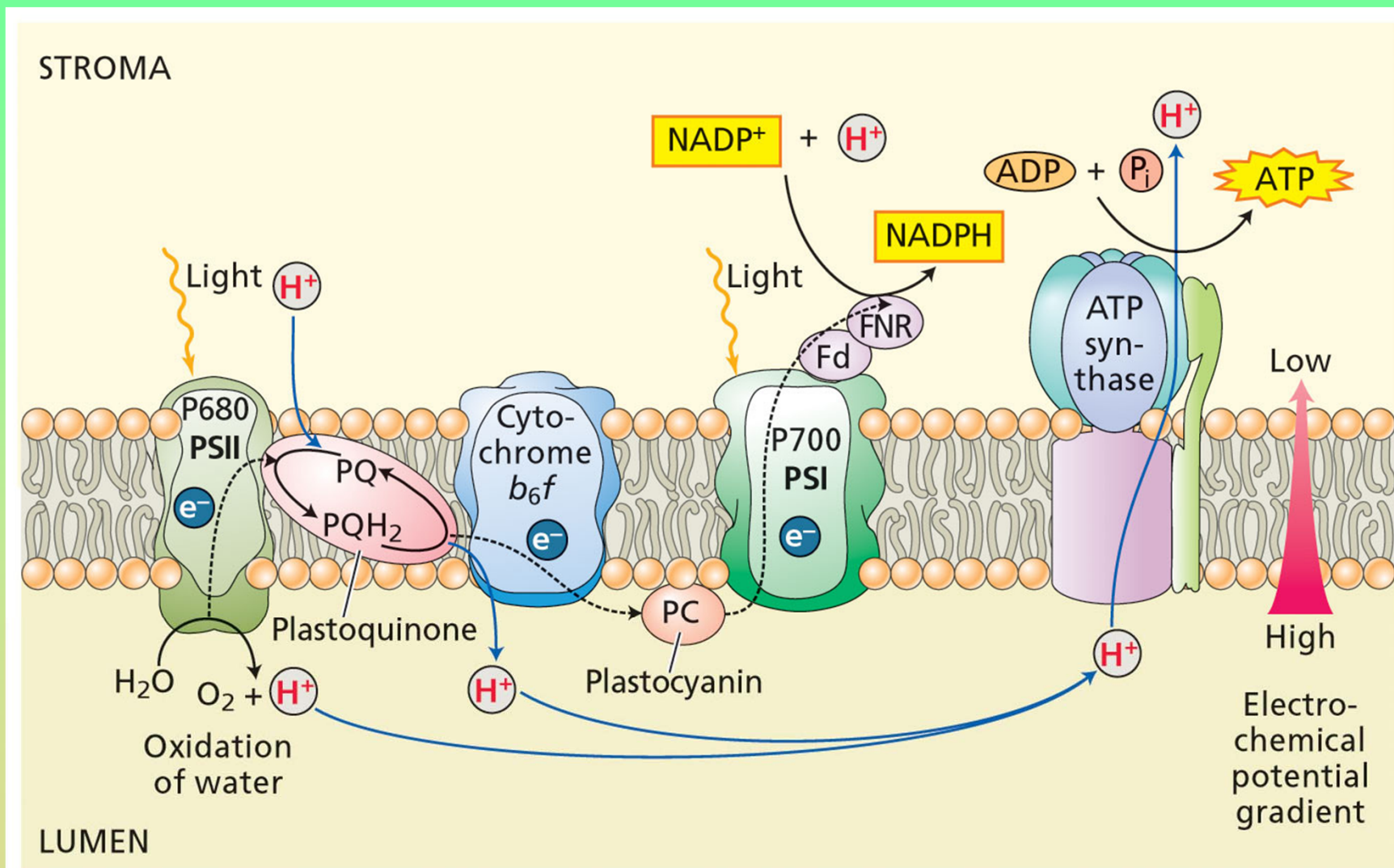




během „světelných“ reakcí fotosyntézy je energie pohlčená pigmenty transformována do energie elektronů a využita k redukci universálního nosiče redukčních ekvivalentů NADP a k tvorbě univerzálního buněčného paliva ATP

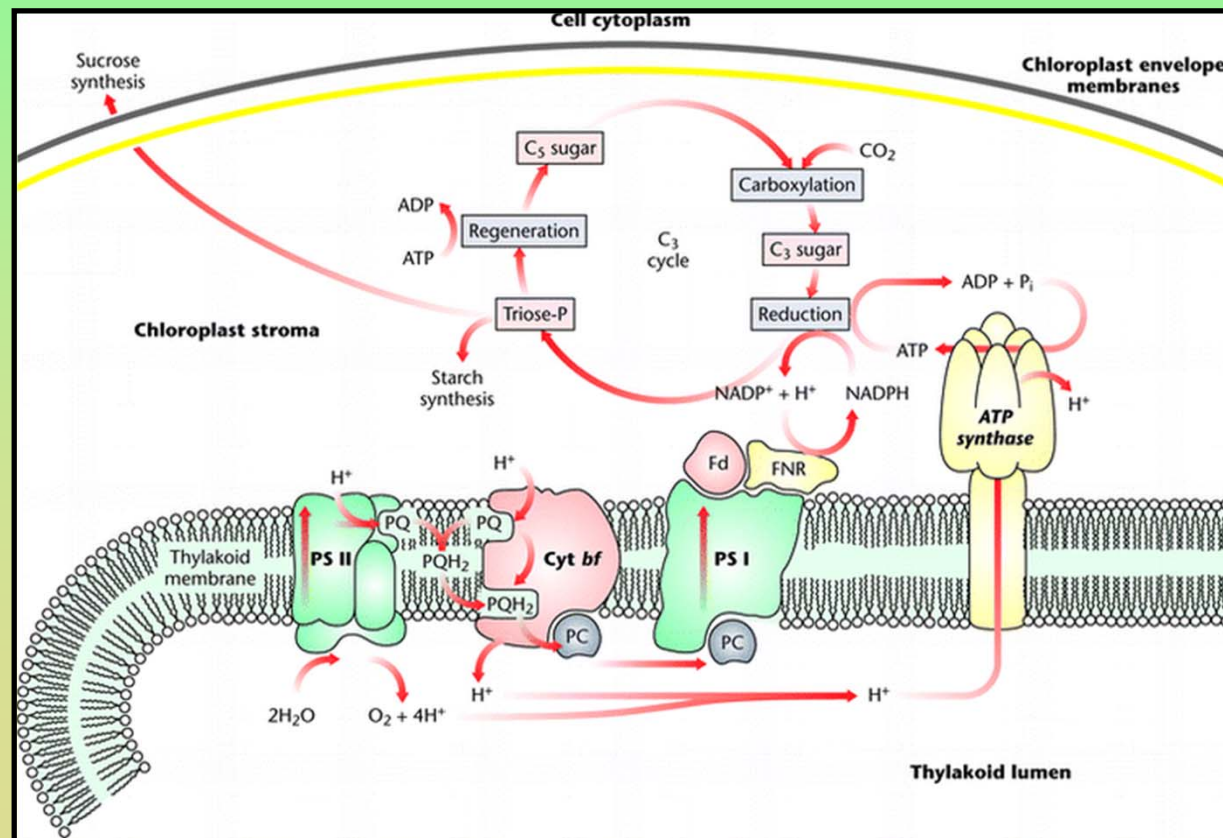


Vektoriální přenos elektronů a protonů

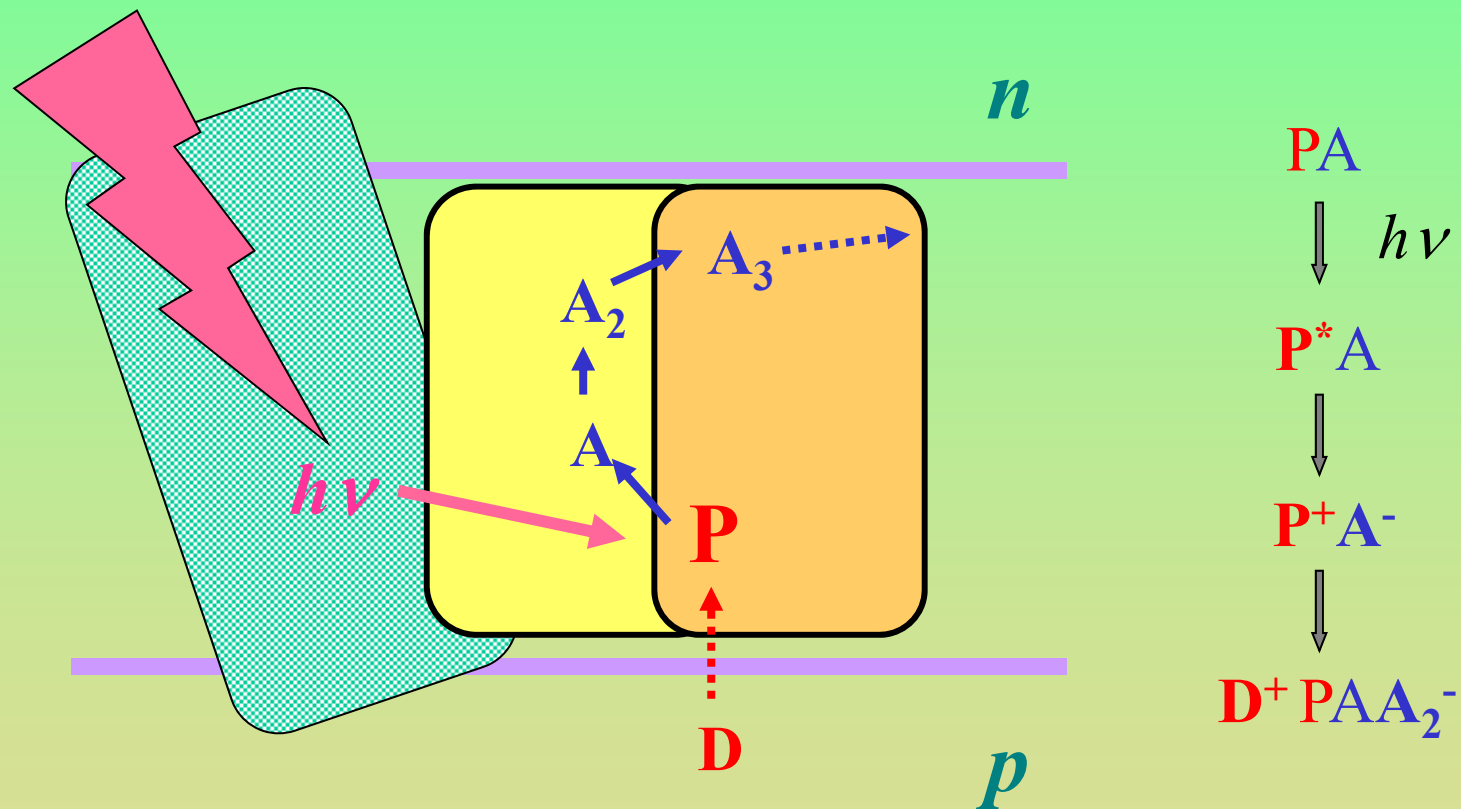


Čtyři fáze procesu přeměny energie ve fotosyntéze

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



Reakční centra



P primární donor, D sekundární donor, A akceptor elektronů

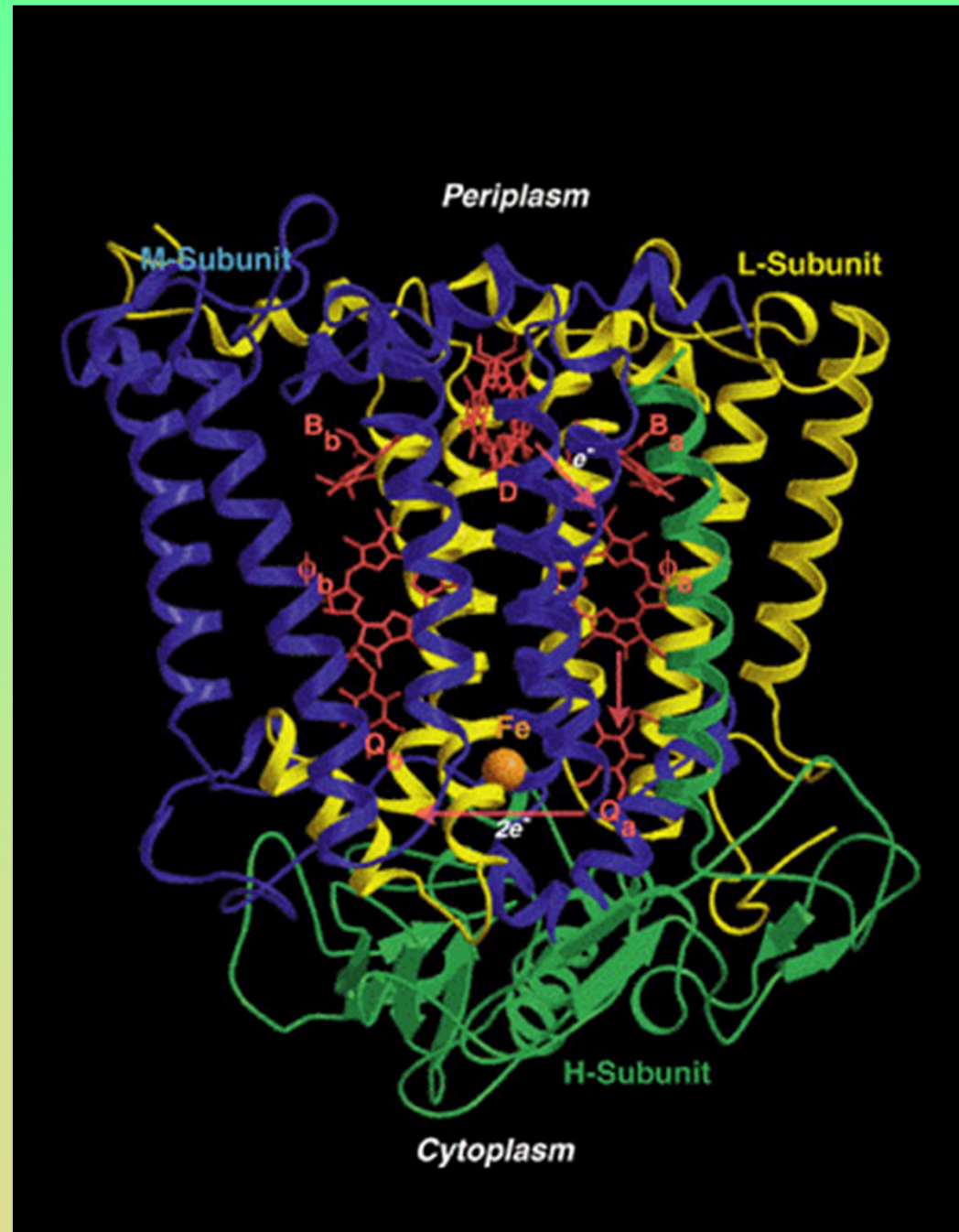
Obecné vlastnosti reakčních center

integrální membránové
pigment-proteinové
komplexy

vektoriální orientace v
membráně

světlem indukované
přenosy elektronů,
rozdělení nábojů

některá RC pumpují protony



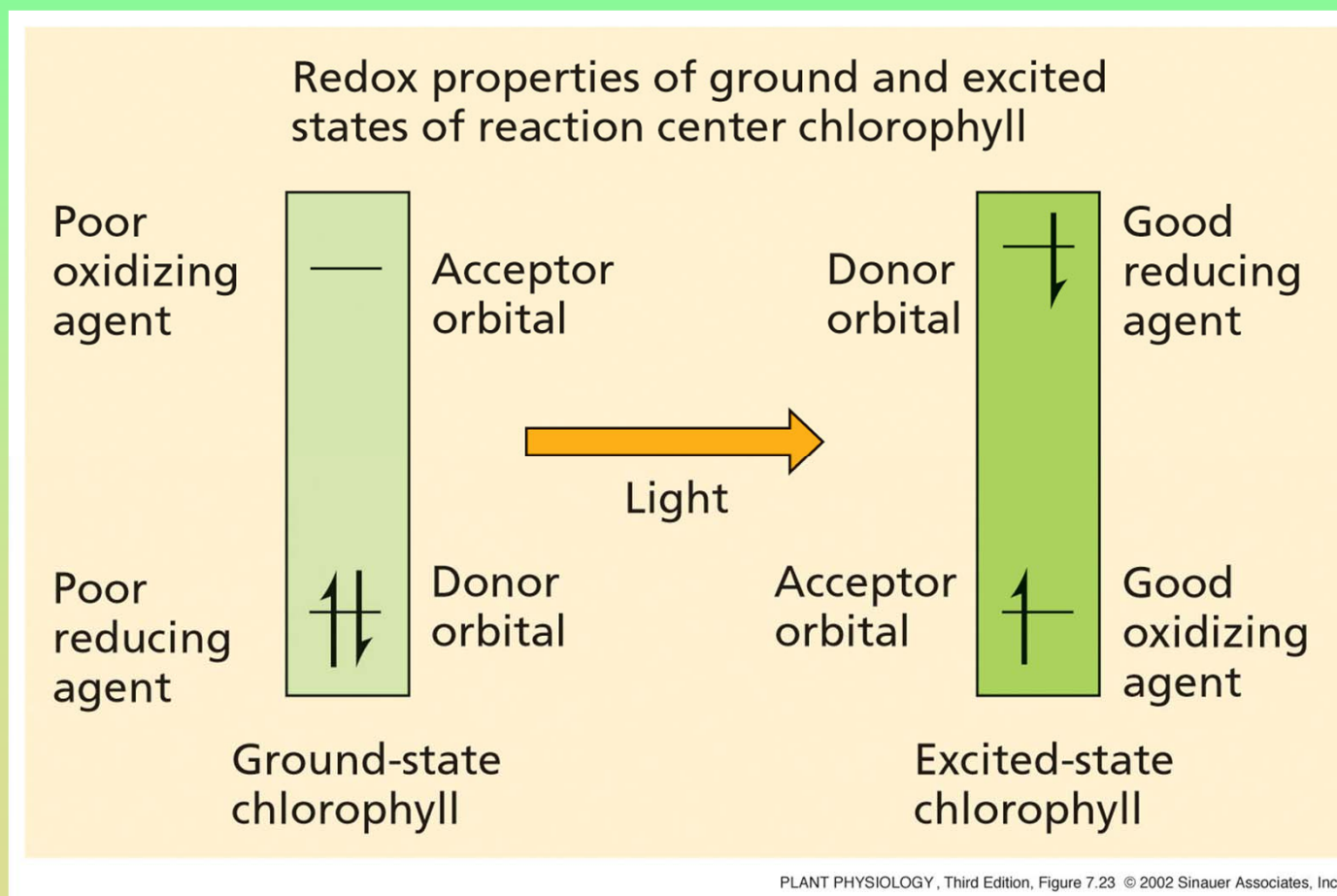
Chemické vlastnosti pigmentů v excitovaném stavu

jsou odlišné od molekuly v základním stavu

redoxní potenciál excitovaného stavu je jiný než stavu základního

LUMO

HOMO



Střední redoxní potenciál excitovaného stavu

$$E_m(P^+/P^*) = E_m(P^+/P) - E(P/P^*)$$

$E(P/P^*)$ je rozdíl energie mezi excitovaným a základním stavem

Table A2 Midpoint redox potentials for reactions of interest in photosynthesis

Redox reaction	E_m' (V) ^a
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{NADPH}$	-0.324
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+0.816
$\text{P700}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P700}$	+0.49
$\text{P870}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P870}$	+0.45
$\text{P680}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P680}$	~1.1
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$	-0.414
$\text{UQ} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{UQH}_2$	+0.060
$\text{Chl}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Chl}$	+0.78
$\text{BChl}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{BChl}$	+0.64

^a All values refer to the standard state of 298 K and pH 7.

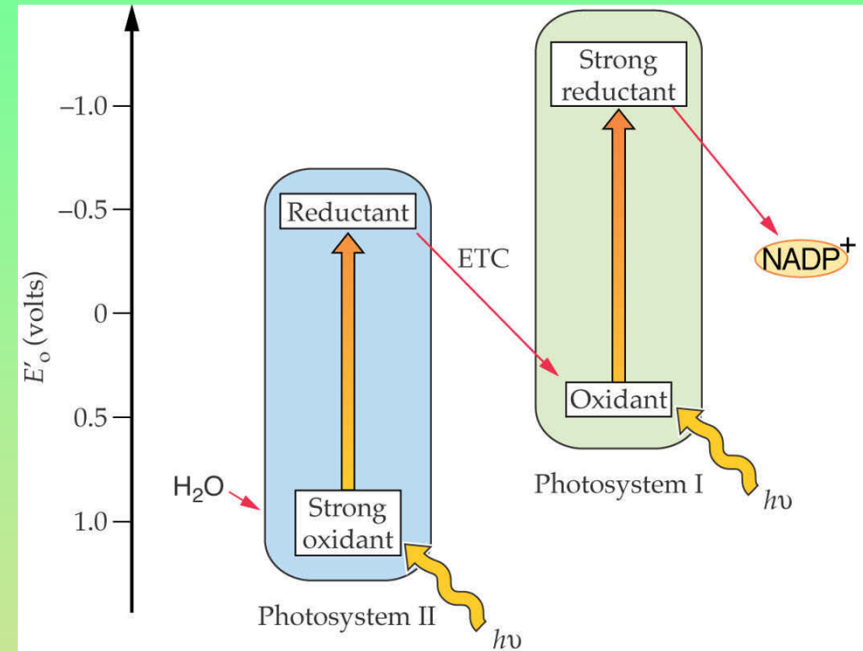
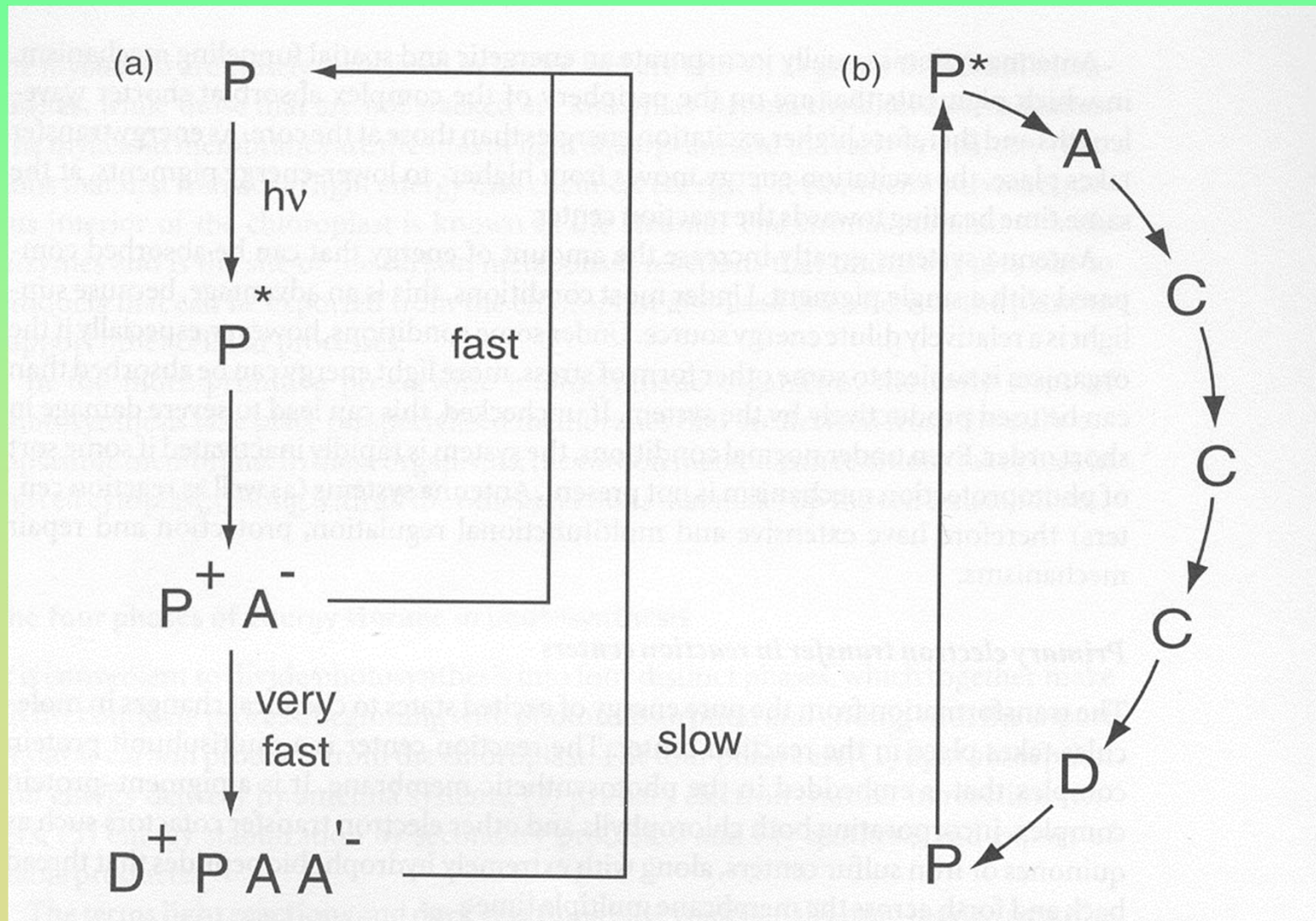


Table A3 Excited state redox potentials and excitation energies

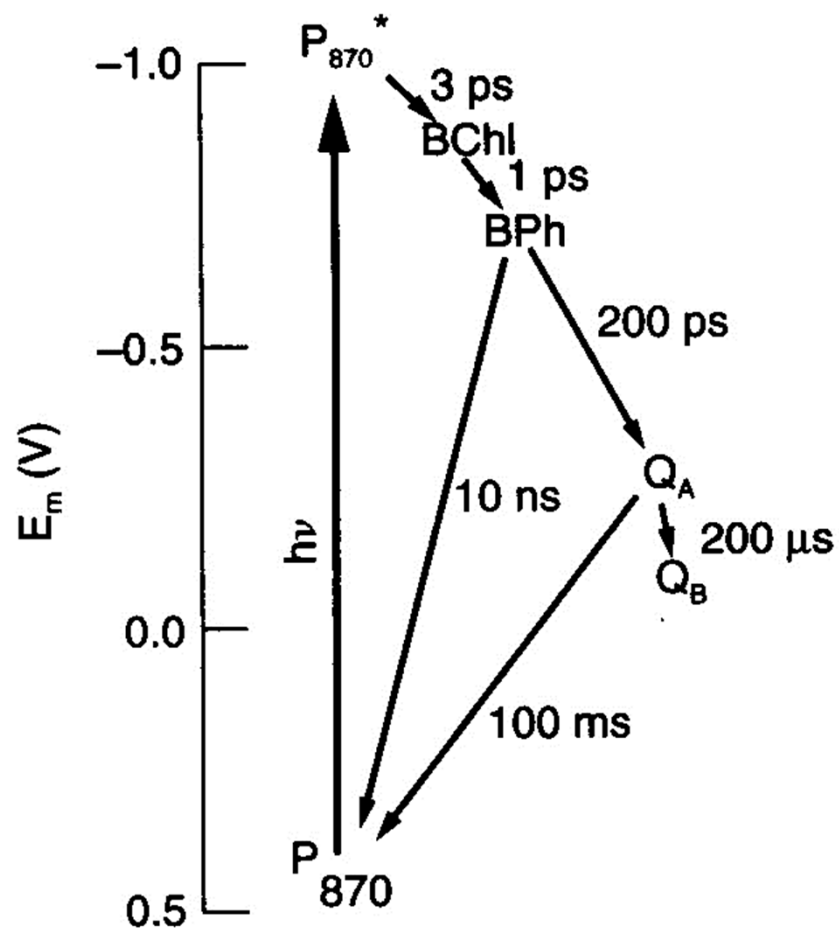
Redox or excitation process	$E_m(P^*/P^+)$ (V) ^a	$E_{0-0}(P/P^*)$ (eV) ^b
$\text{P700}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P700}^*$	-1.26	1.75
$\text{P870}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P870}^*$	-0.94	1.39
$\text{P680}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{P680}^*$	~-0.7	1.80
$\text{Chl}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Chl}^*$	-1.07	1.85
$\text{BChl}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{BChl}^*$	-0.94	1.58

Principy stabilizace nábojů v RC



Kinetika přenosu elektronů a rekombinace v RC

rekombinace je >50x
pomalejší než přenos
elektronů



Popis mechanismu přenosu elektronů v biologických systémech

Rudolph Marcus

Nobelova cena za chemii 1992

přenos elektronů jako nezářivý relaxační proces



Fermiho zlaté pravidlo – rychlostní konstanta k_{et}

$$k_{\text{et}} = 2\pi / \hbar | \langle \Psi_i | V | \Psi_f \rangle |^2 \delta(E_i - E_f)$$



Vychází z Franck-Condonova principu. V je energie

$$k_{\text{et}} \sim V_e^2 FC$$

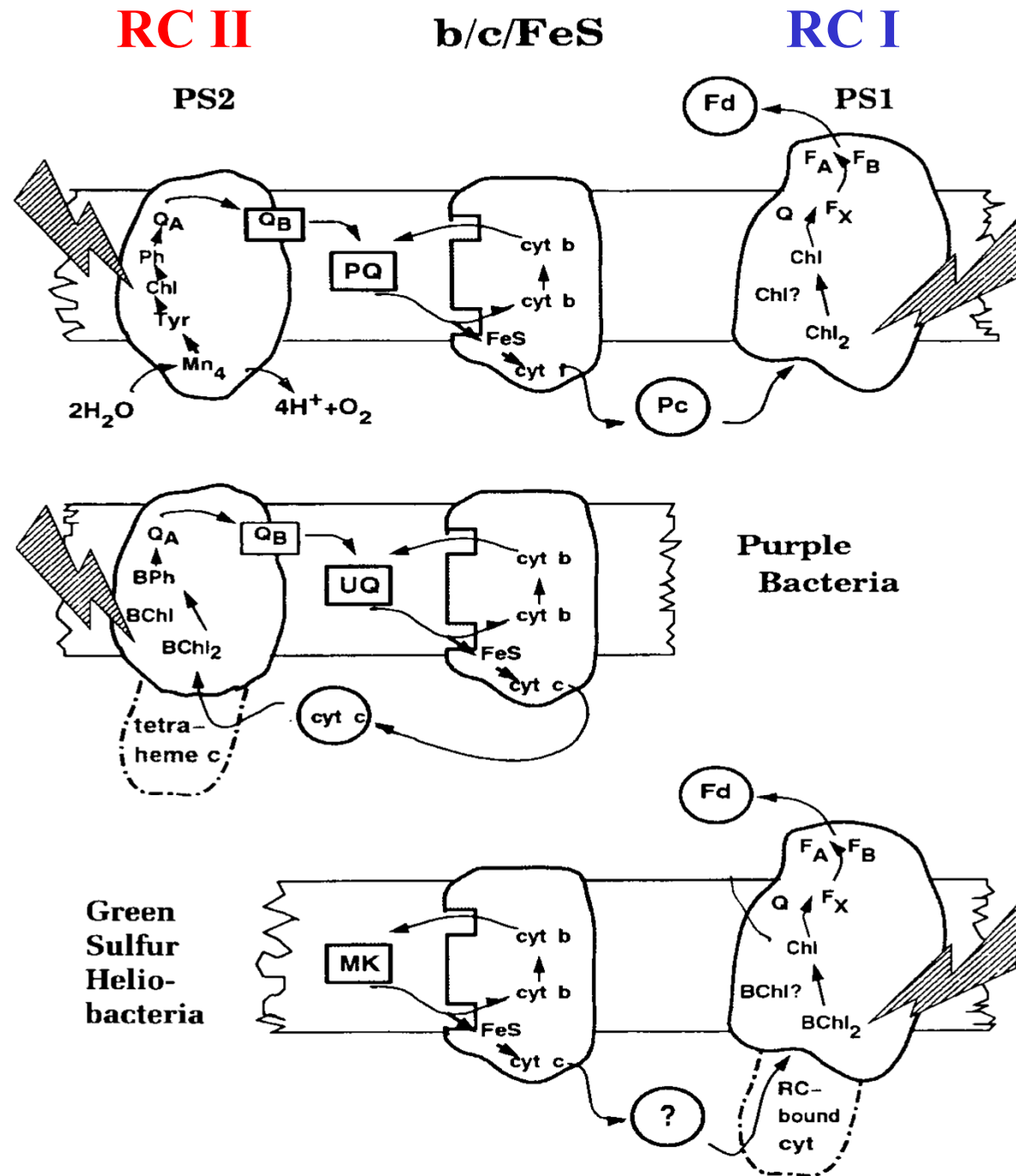
V_e^2 závisí na vzdálenosti a orientaci A a D

$V_e^2 \sim \exp(-d)$ klesá exponenciálně se vzdáleností

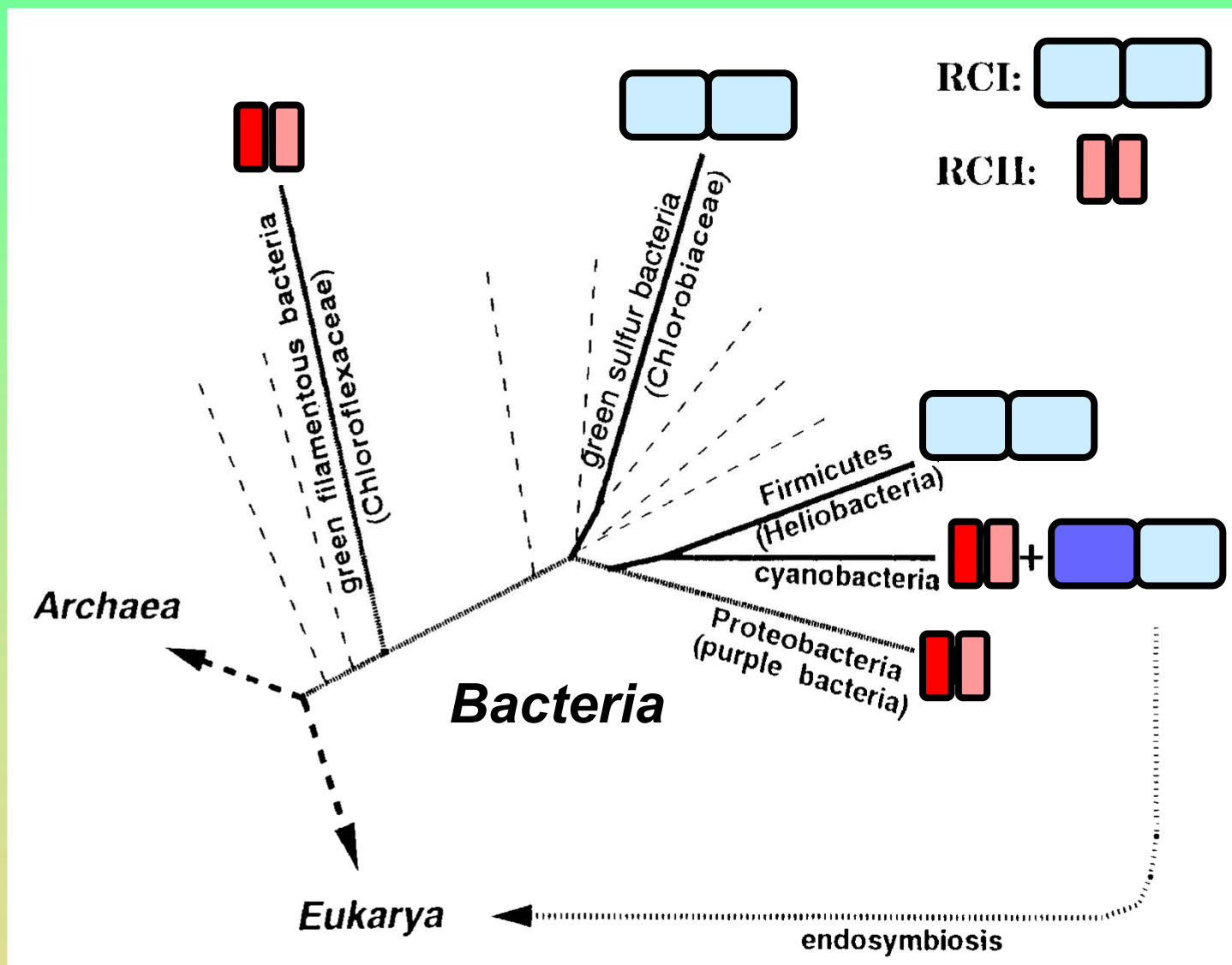
Dva typy RC:

chinonové
(vysokopotenciálové)

FeS
(redukční)

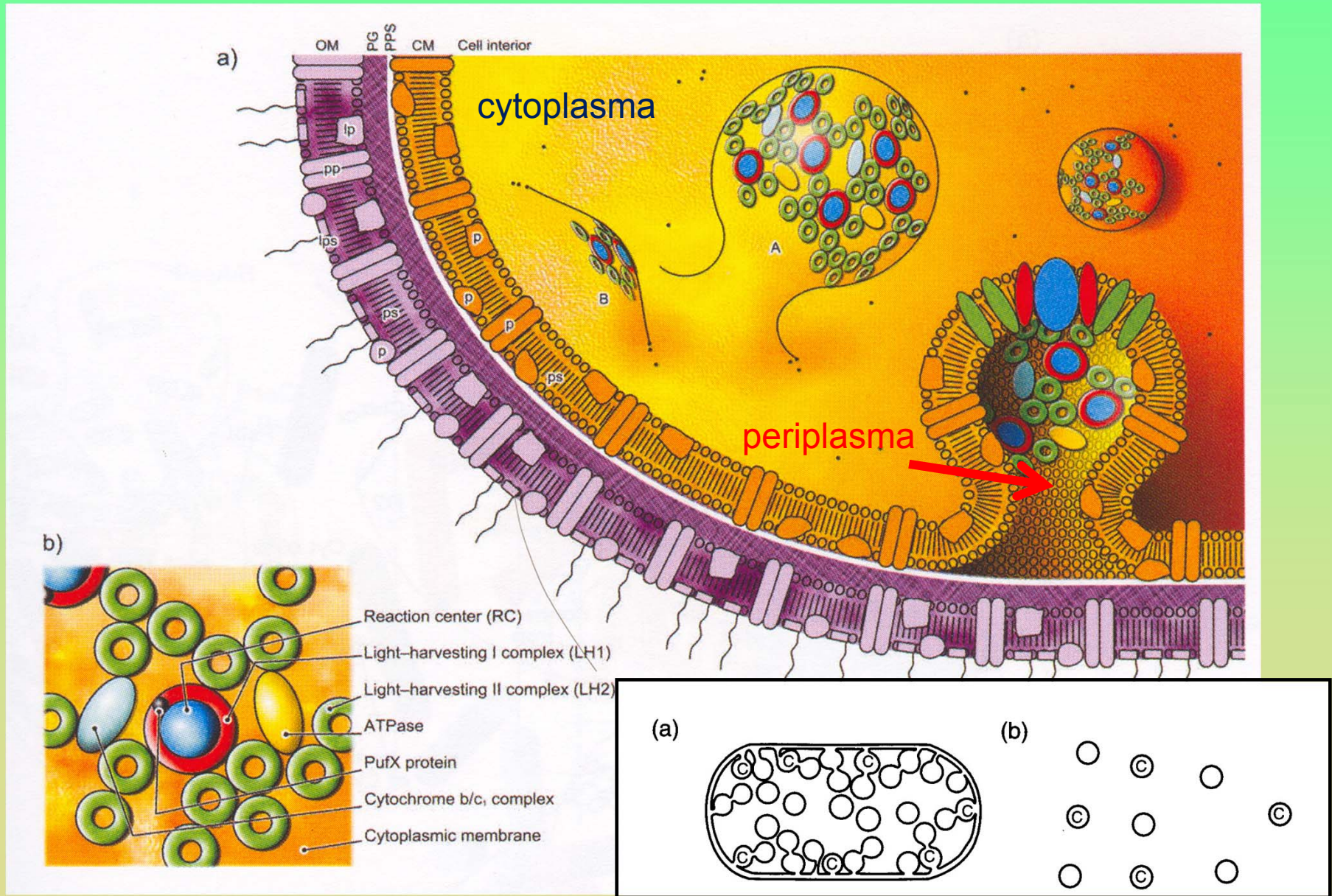


Zastoupení typů RC u prokaryot

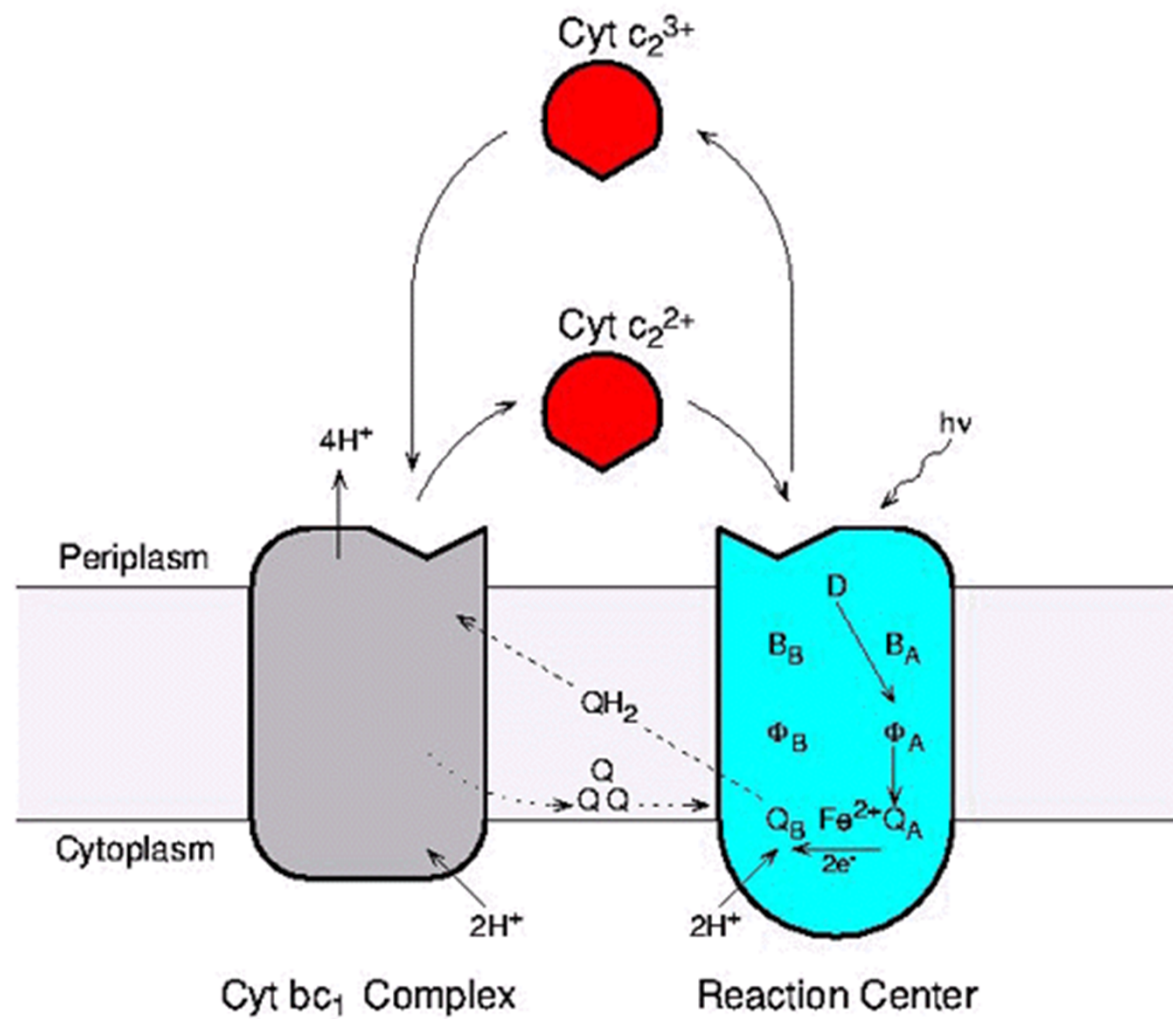


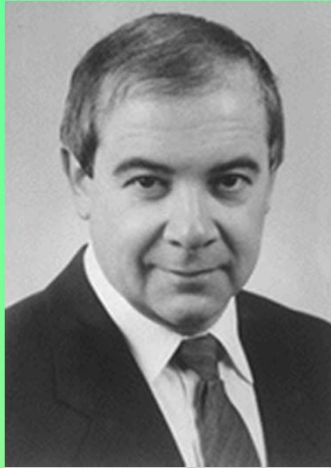
Fotosyntetická membrána purpurových bakterií

chromatofory ve vnitřní cytoplasmatické membráně



Schematic of Cyclic Electron Transfer in Photosynthetic Bacteria





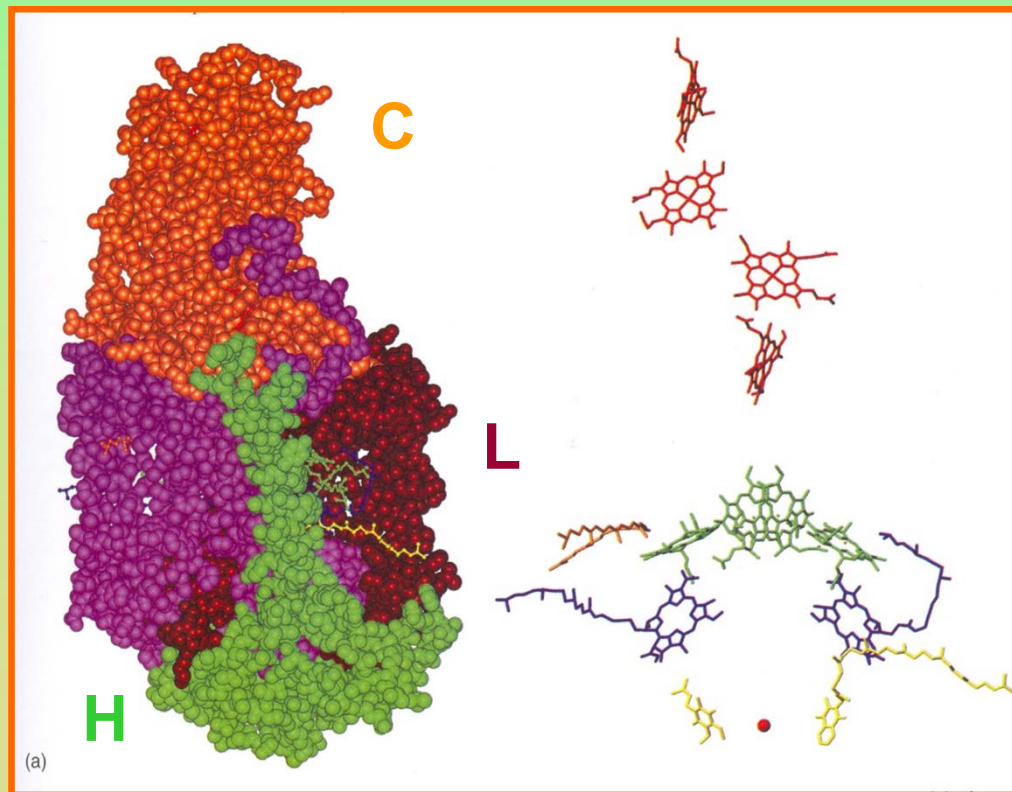
Hans Deisenhofer



Robert Huber



Hartmut Michel



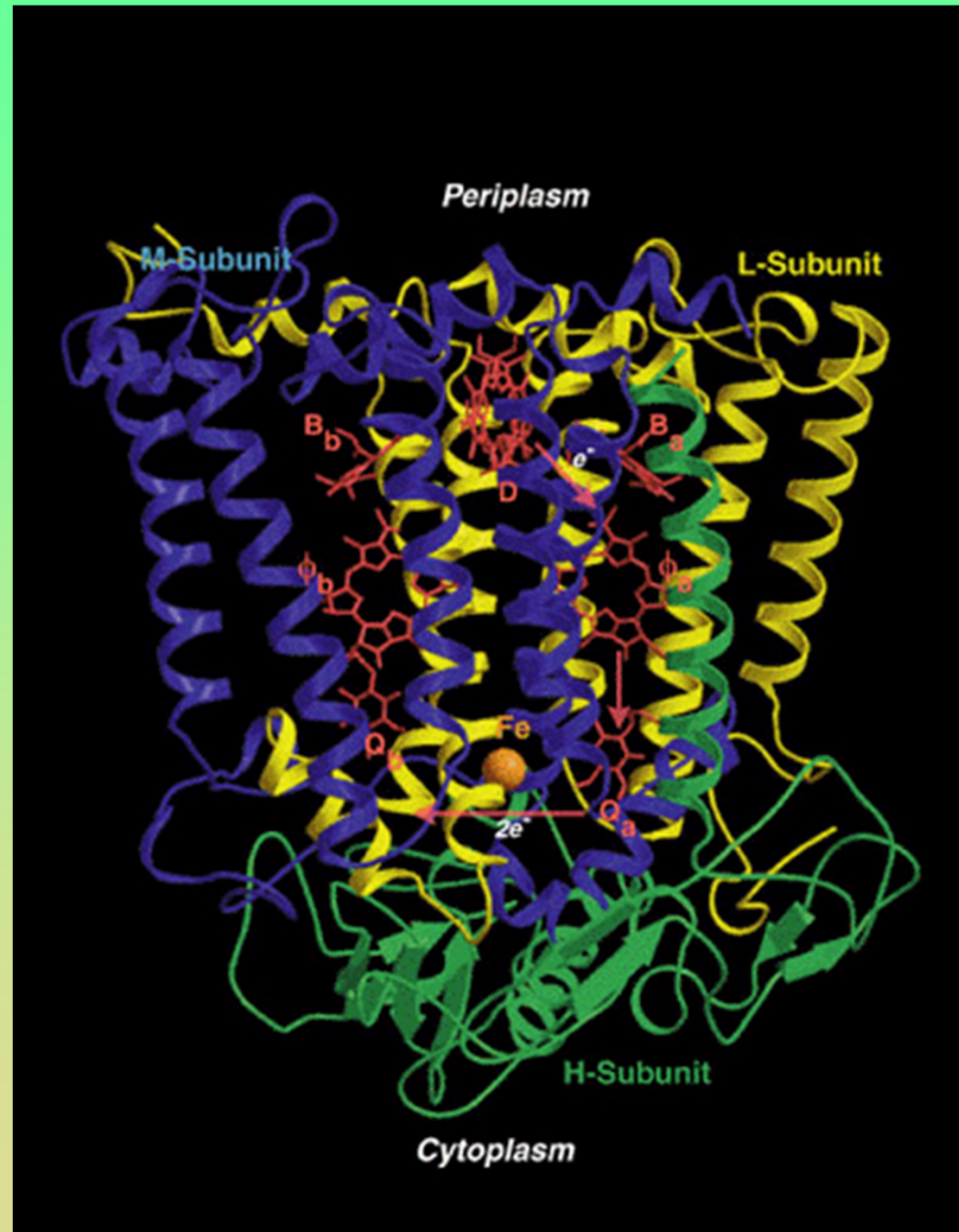
Nobelova cena
1988

L & M podjednotky:

5 transmembránových
 α šroubovic, které tvoří
hydrofóbní
aminokyseliny

Pseudo-dvoučetná
symetrie

L a M podjednotky jen
30% sekvenční
identita



Redoxní kofaktory BRC

elektronový transport jen po větvi A
P865 – λ maxima absorbce
bakteriochlorofylu a

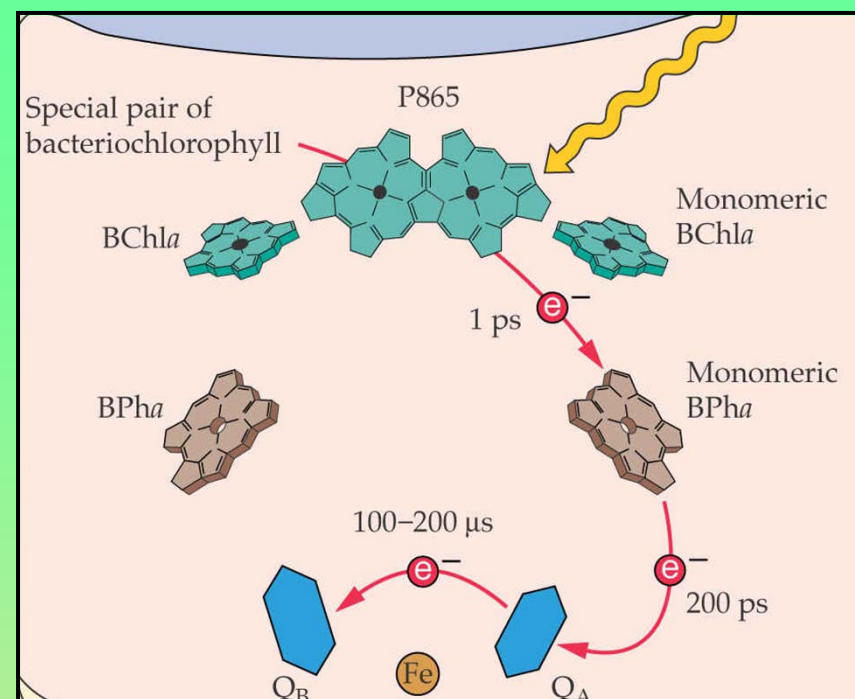
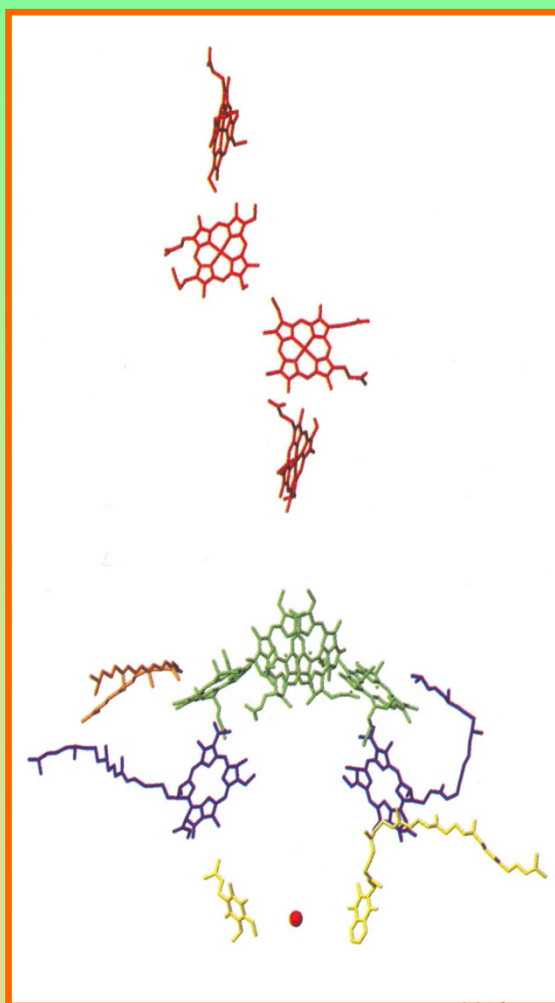


Table 6.1 Chemical composition of bacterial reaction centers

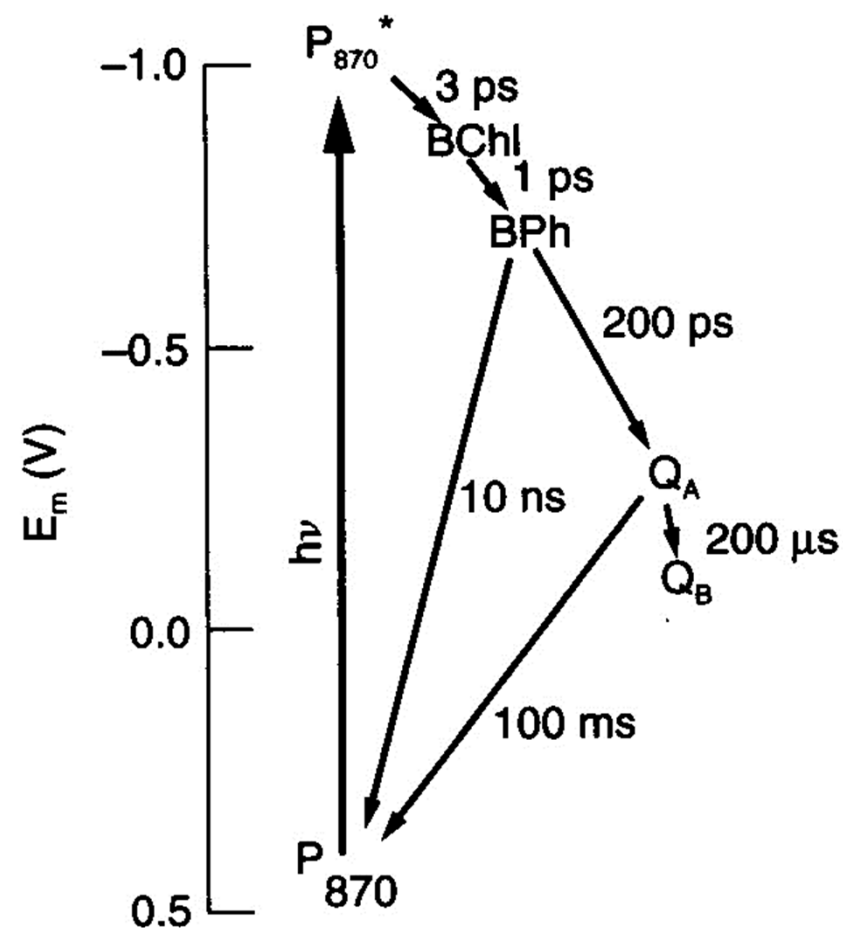
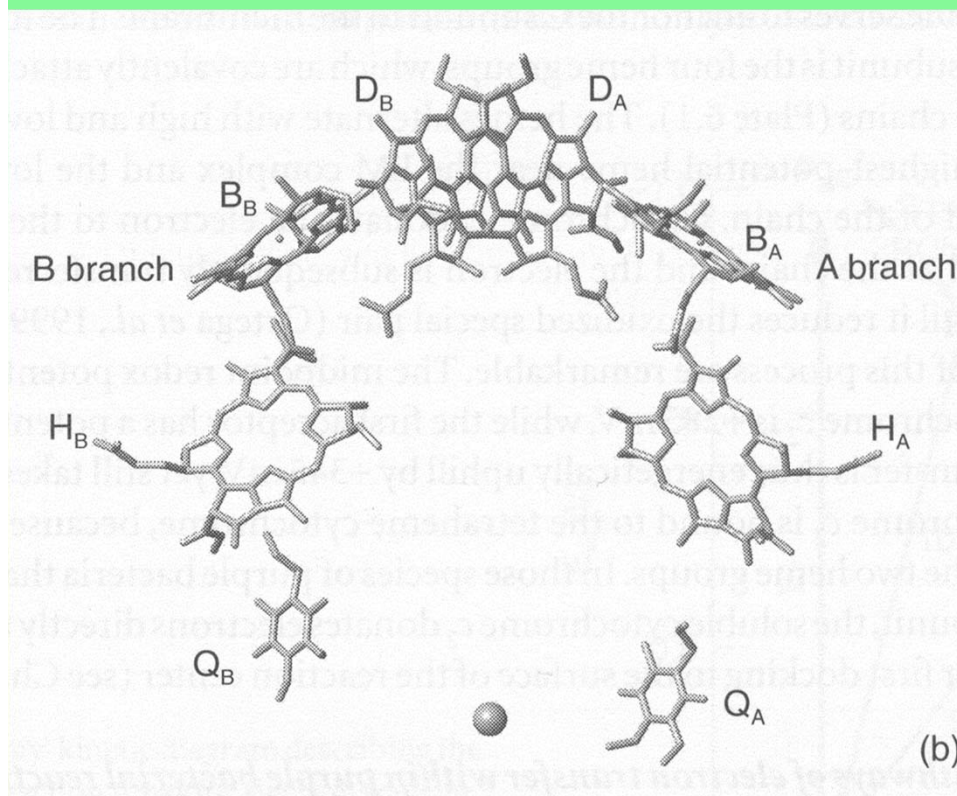
Organism	BChl	BPh	Protein subunits ^a	Ubiquinone	Menaquinone	Metal	Carotenoid
<i>Rhodospseudomonas viridis</i> ^b	4	2	LMHC	1	1	Fe	1
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	4	2	LMH	2	0	Fe ^c	1
<i>Chromatium vinosum</i>	4	2	LMHC	1	1	Fe	1
<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	3	3	LM (C) ^d	0	2	Mn	0

^a Molecular masses (from gene sequences) of the subunits are approximately L-31, M-34, H-28, C-41 kDa.

^b *Rhodospseudomonas viridis* contains BChl *b* and BPh *b*, whereas all the others contain BChl *a* and BPh *a*.

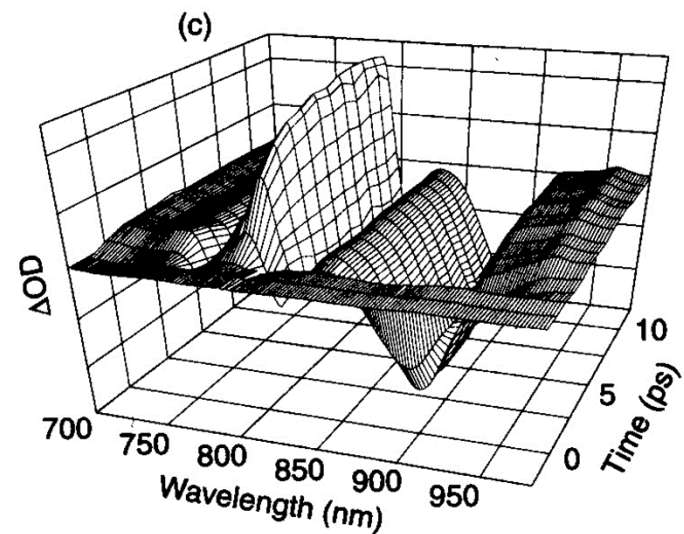
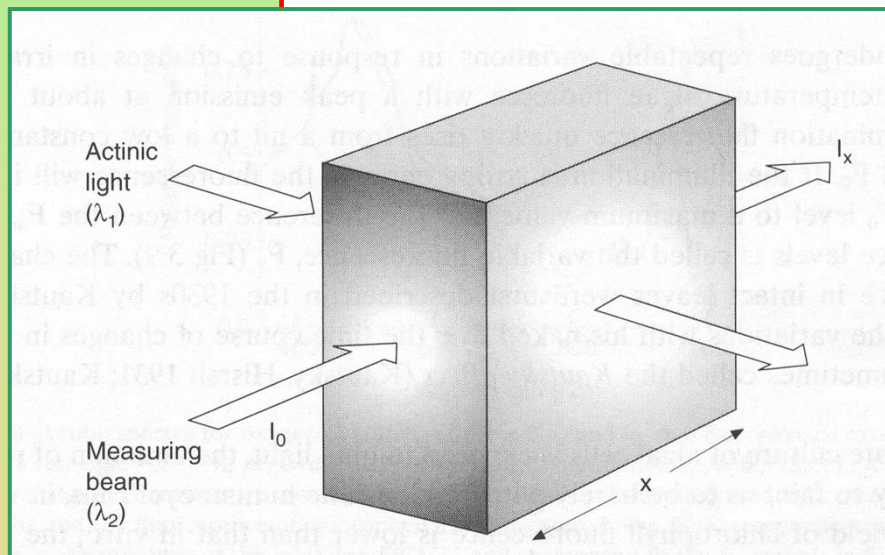
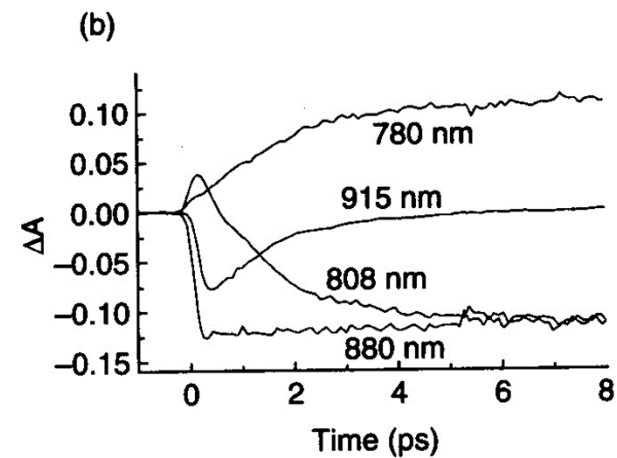
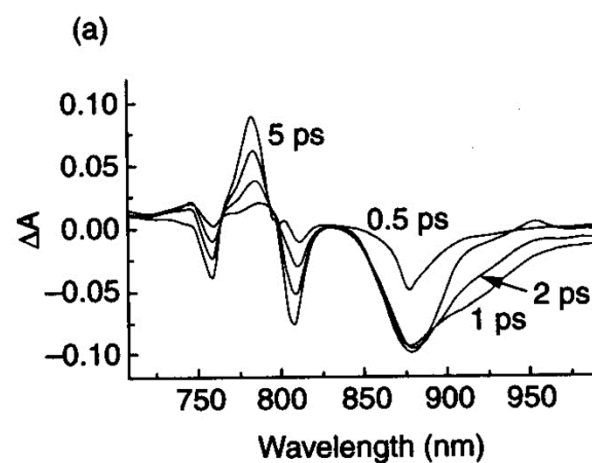
^c Certain strains of this organism contain Mn.

Primární procesy v BRC

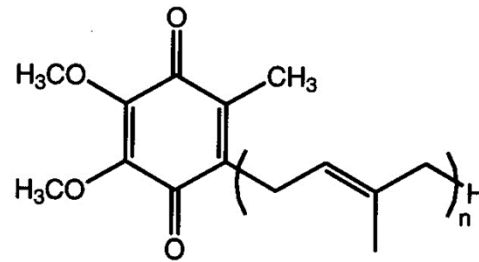


Elektron oxidovanému P_{870}^+ je dodán cytochromem $\sim 100 \mu$ sec

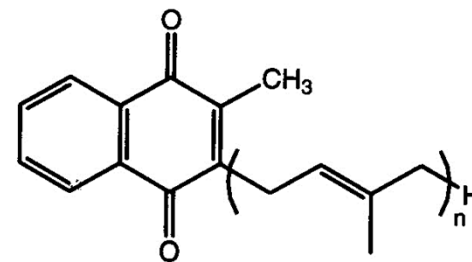
Kinetická absorbce – procesy s rychlostí od ps do ms



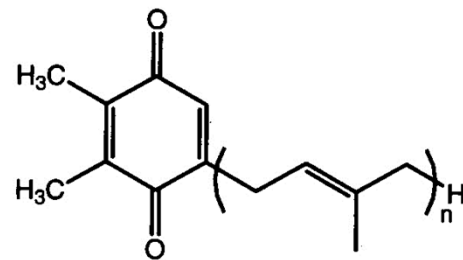
Chinony



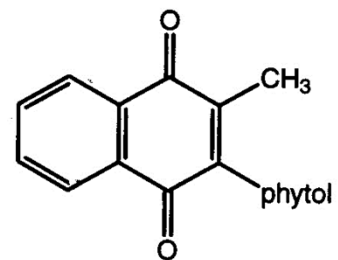
ubiquinone



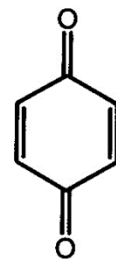
menaquinone



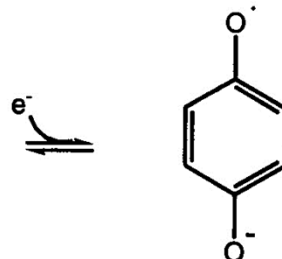
plastoquinone



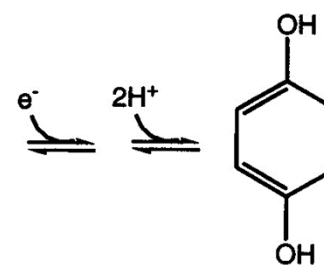
phyloquinone



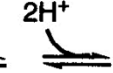
quinone



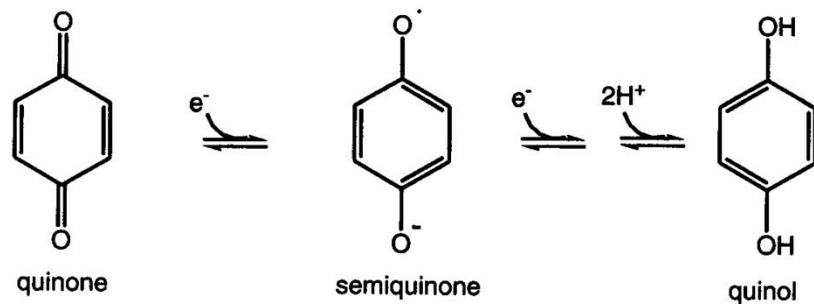
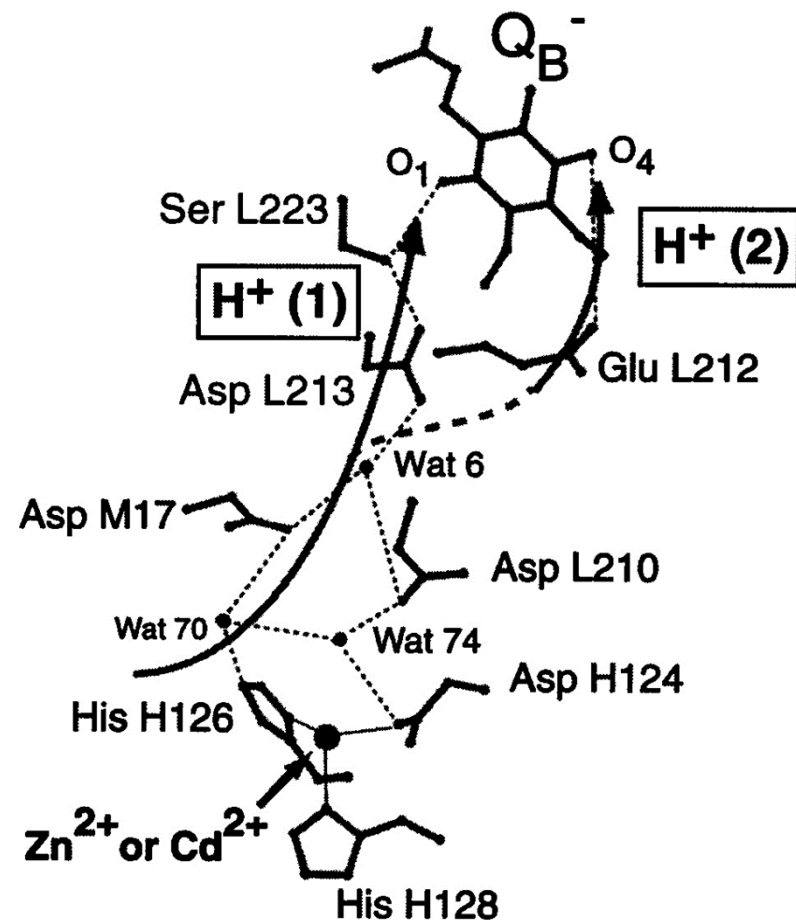
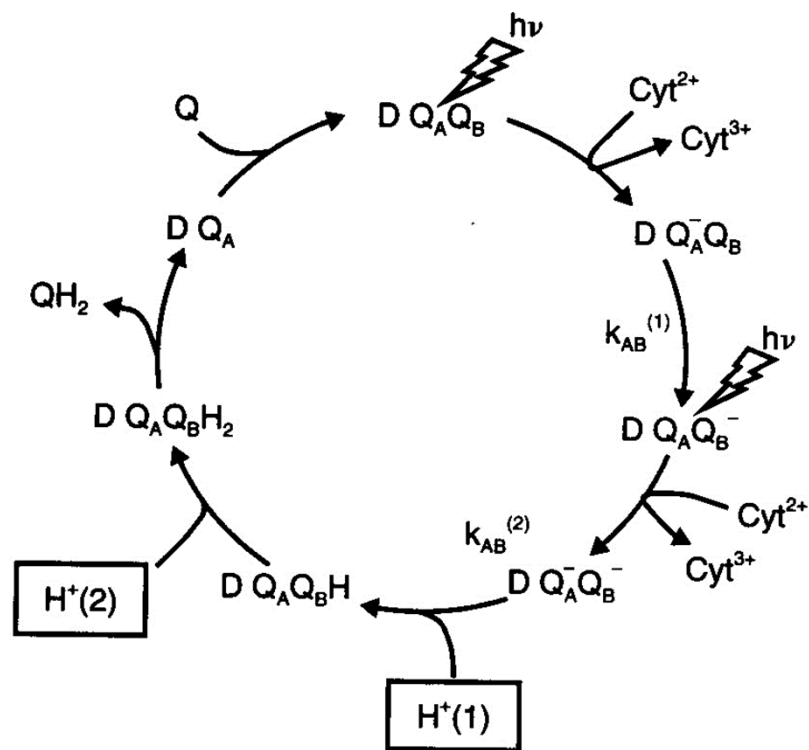
semiquinone

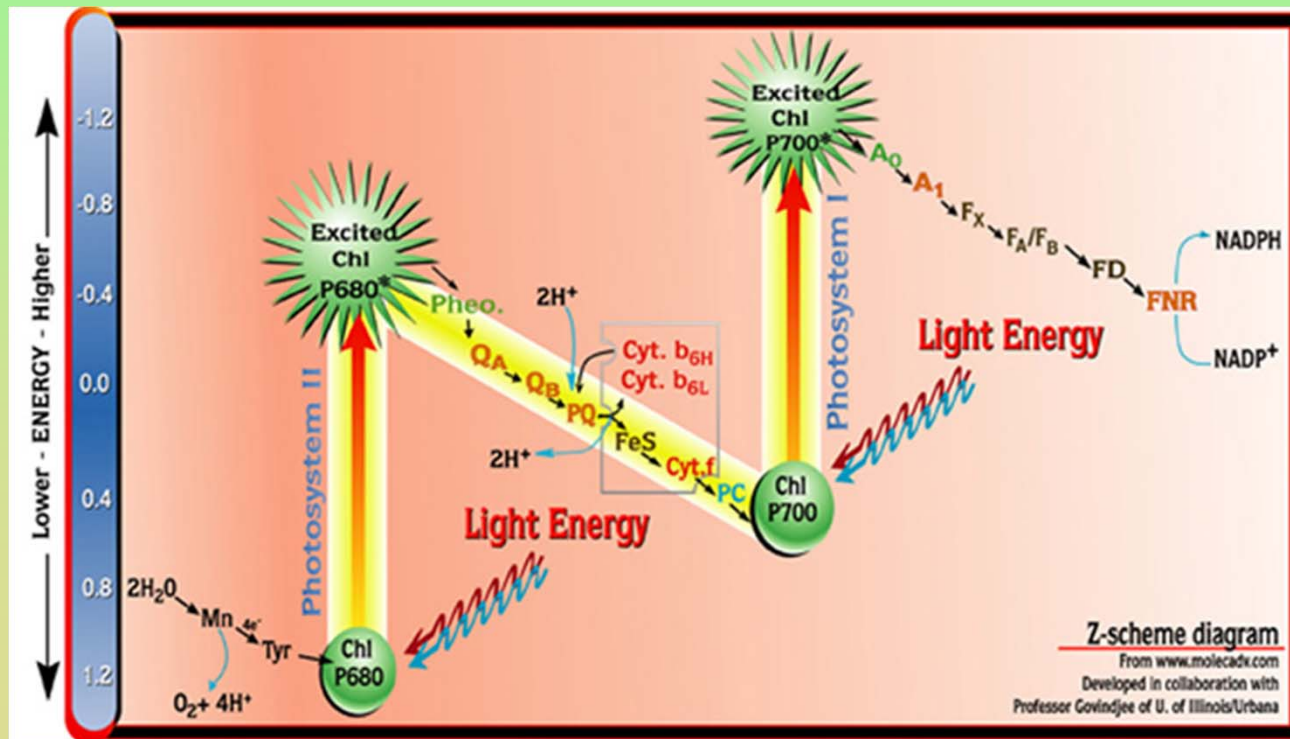
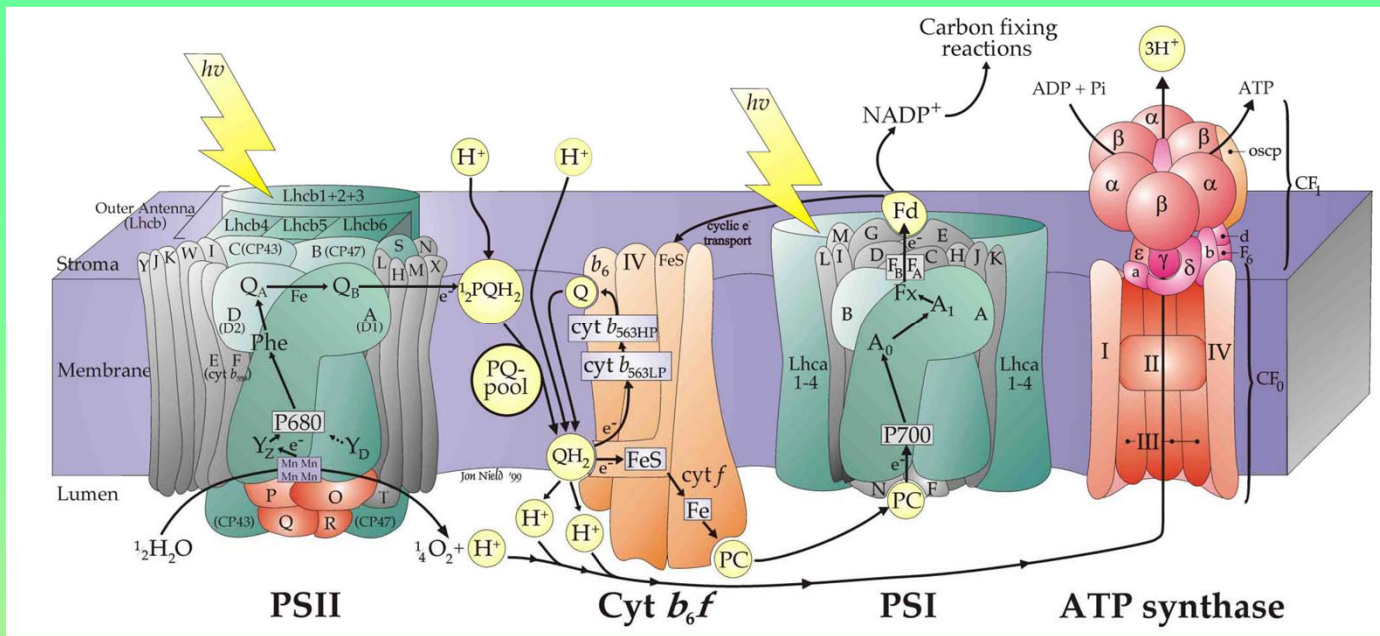


quinol

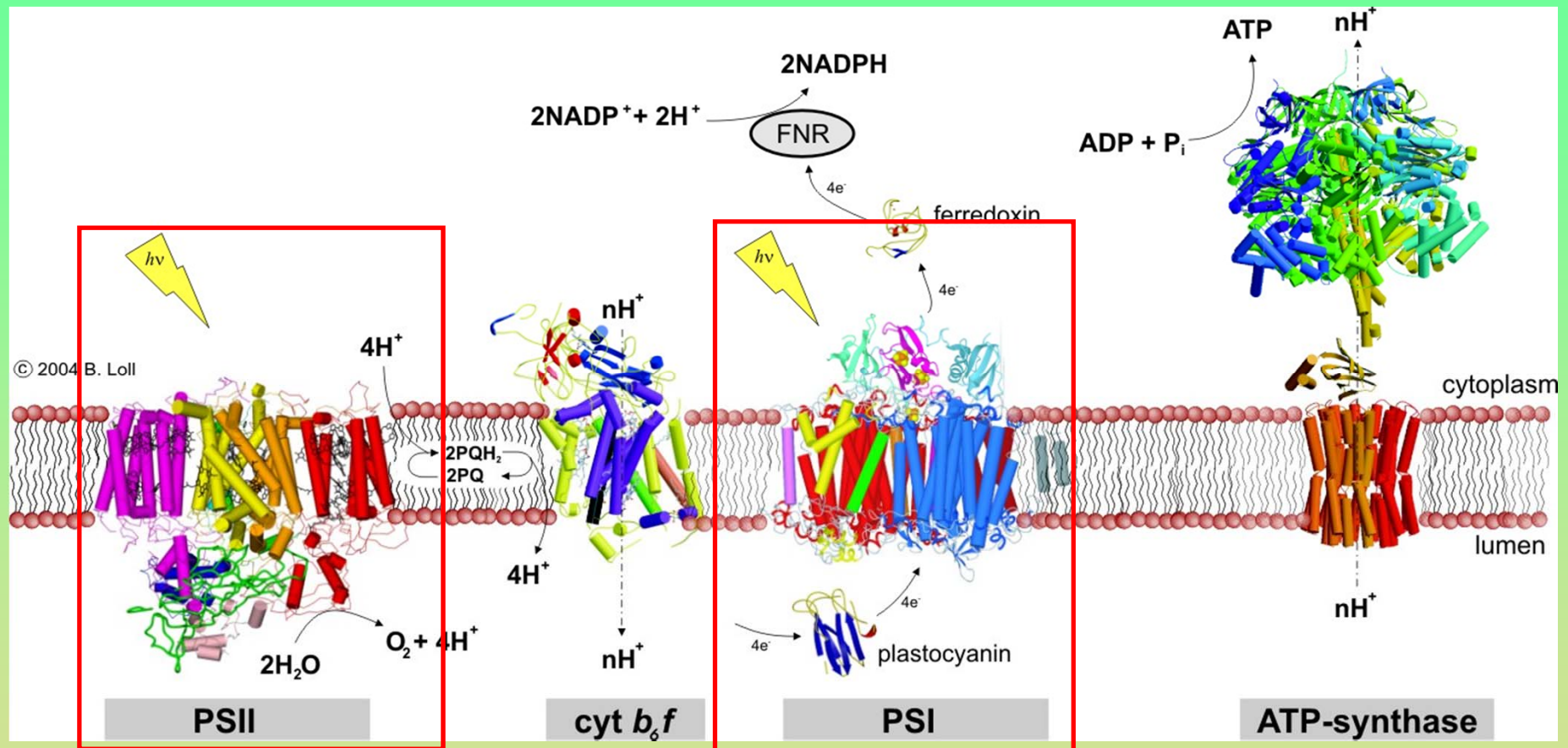


„Dvouelektronová brána“ a protonace chinonů





Detailní struktury obou fotosystémů u sinic jsou známy s rozlišením 2.5- 3 Å, u rostlin pouze PSI s rozlišením 3.4 Å



T. elongatus, Dimer,
3.8 Å, Zouni et al, *Nature* **409**,
739-43 (2001), 1FE1

3.5 Å, Ferreira et al, *Science*
303, 1831-8 (2004), 1S5L

3.0 Å, Loll et al, *Nature* **438**,
1040-44 (2005), 2AXT

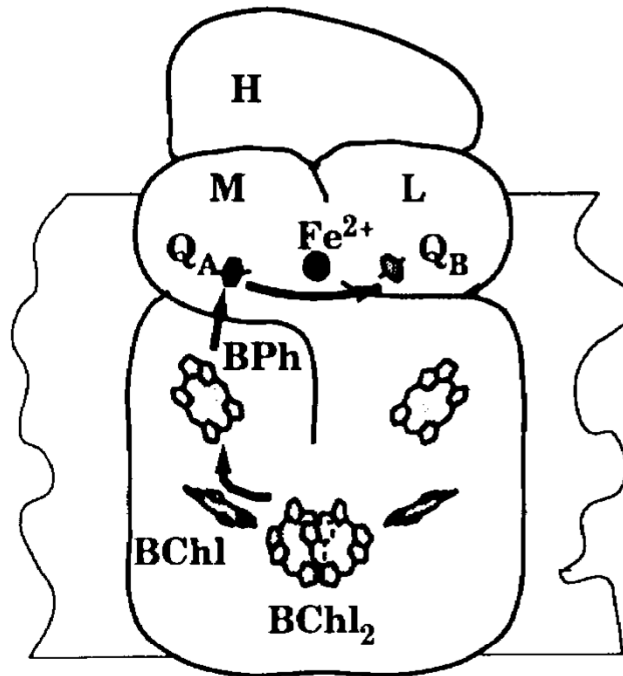
P. laminosus: Dimer, 3.0 Å,
Kurisu et al, *Science* **302**,
1009-14 (2003), 1VF5

C. reinhardtii: Dimer, 3.1 Å,
Stroebel et al, *Nature* **426**,
413-8 (2003), 1Q90

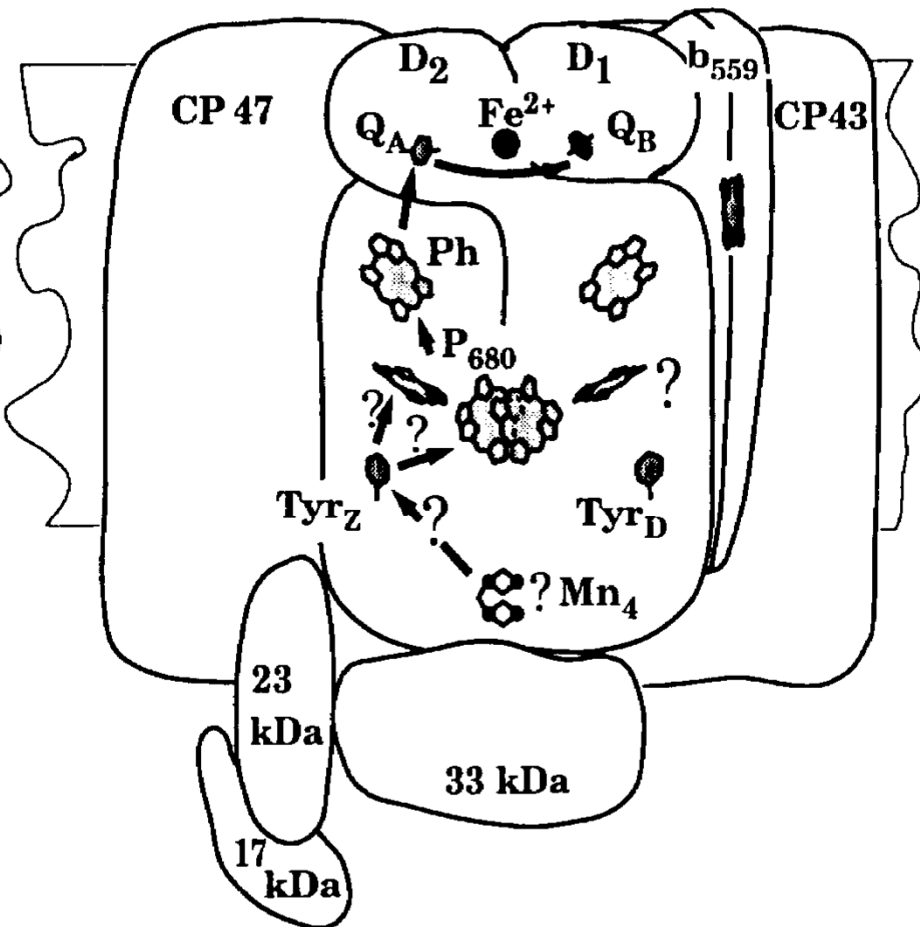
T. elongatus Trimer, 2.5 Å,
Jordan et al, *Nature* **411**, 909-17
(2001), 1JBO

Pea, Monomer, 4.4 Å, Ben-
Shem, et al. *Nature* **426**, 630-5
(2003), 1QZV; 3.4 Å *Nature*
(May 2007)

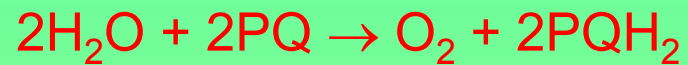
Purple bacterial reaction center



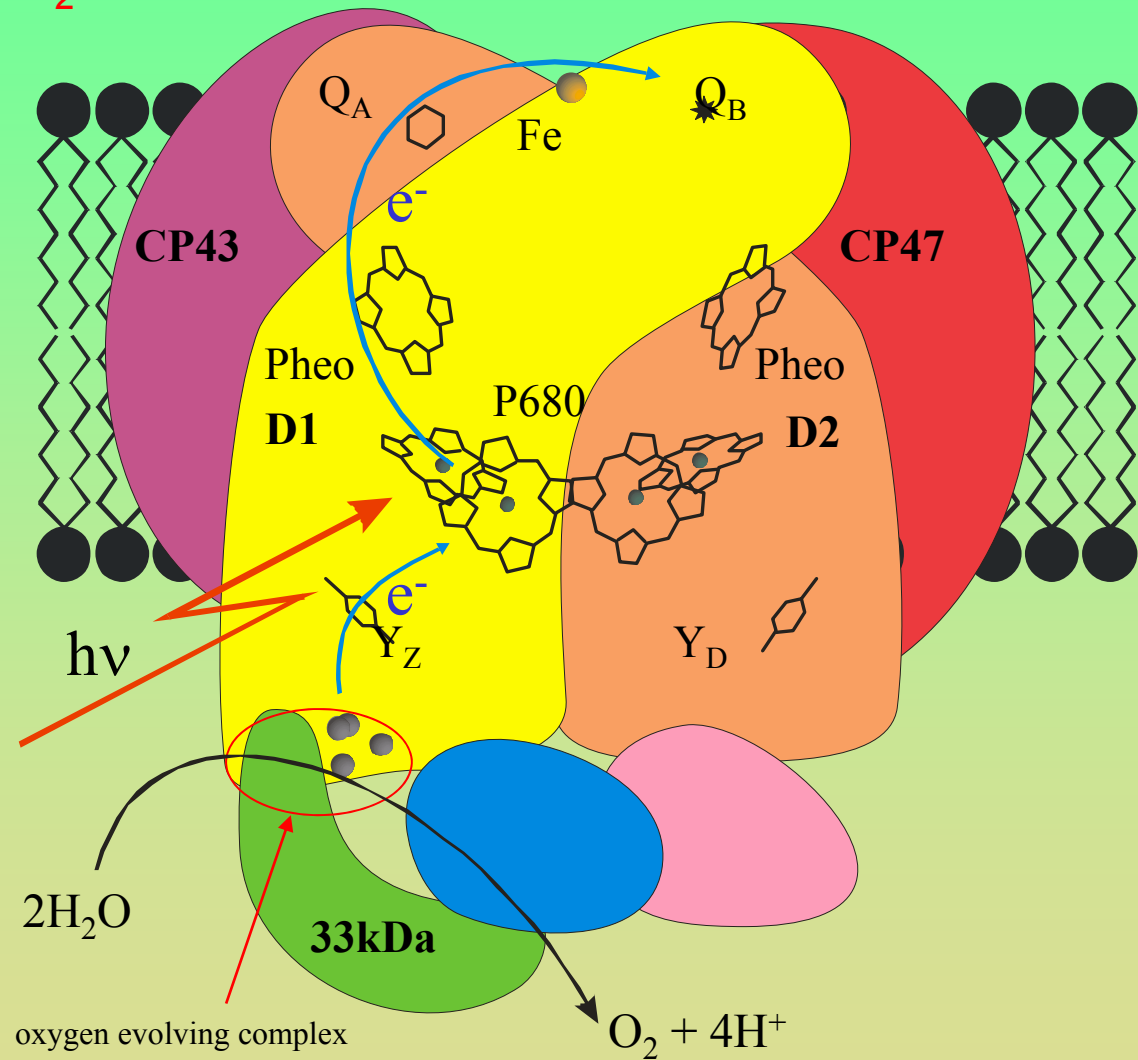
Photosystem 2 reaction center



Fotosystém II

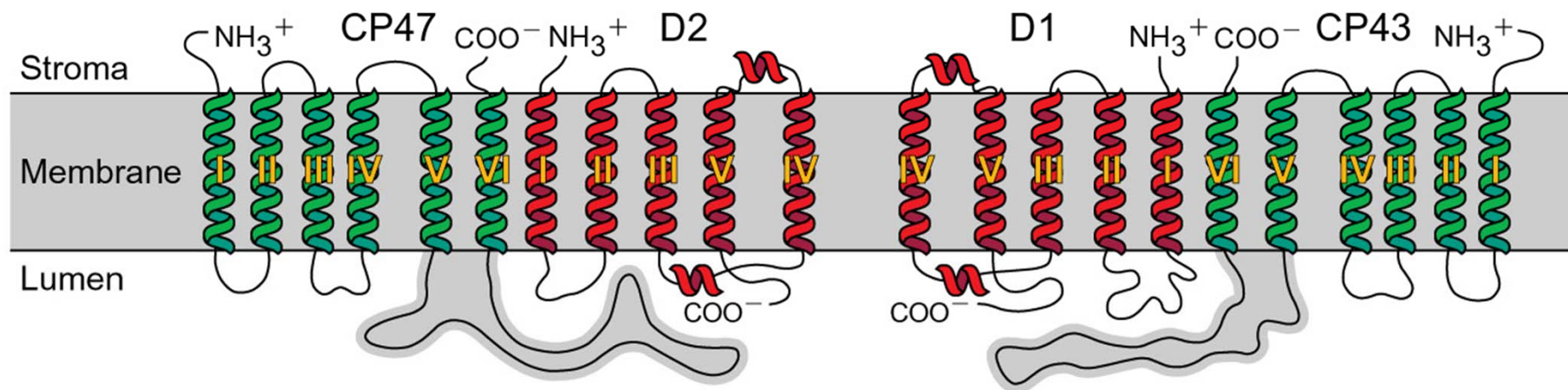


- z hlediska enzymové aktivity je to voda:plastochinon oxidoreduktáza
- složitější než BRC, PSII má až 30 podjednotek (nutnost regulace a ochrany před kyslíkem?)

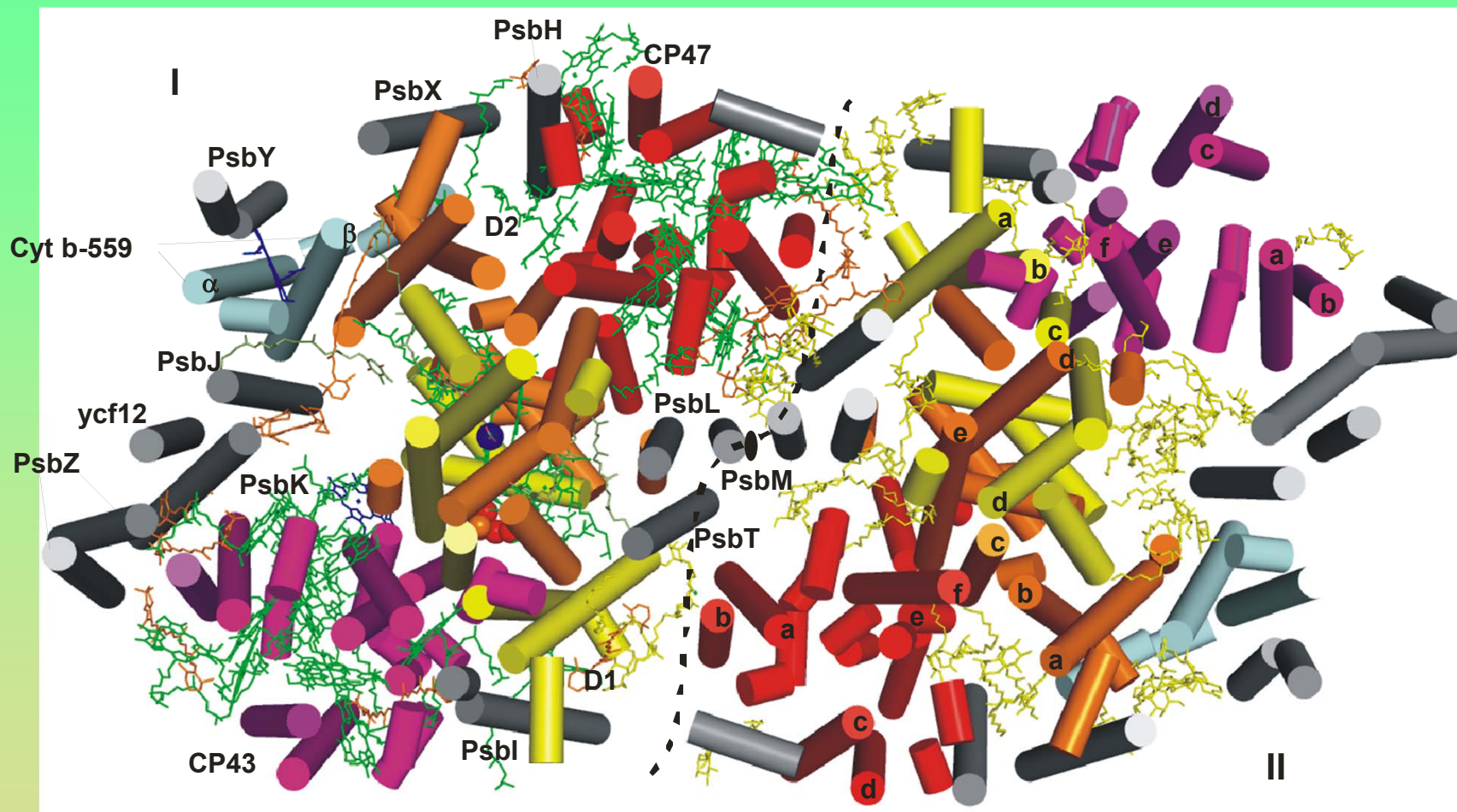


Velké proteinové podjednotky fotosystému II

- u fotosystému II váží pigmenty reakčního centra homologní membránové podjednotky D1 a D2, zatímco anténní pigmenty jsou vázány symetricky vázanými proteiny CP47 a CP43



Struktura fotosystému II z *Thermosynechococcus elongatus* s rozlišením 3.0 Å (Kern et al., Nature 2005)



Oligomerní stav, velikost:

dimer, 750 kDa

Počet podjednotek na monomer :

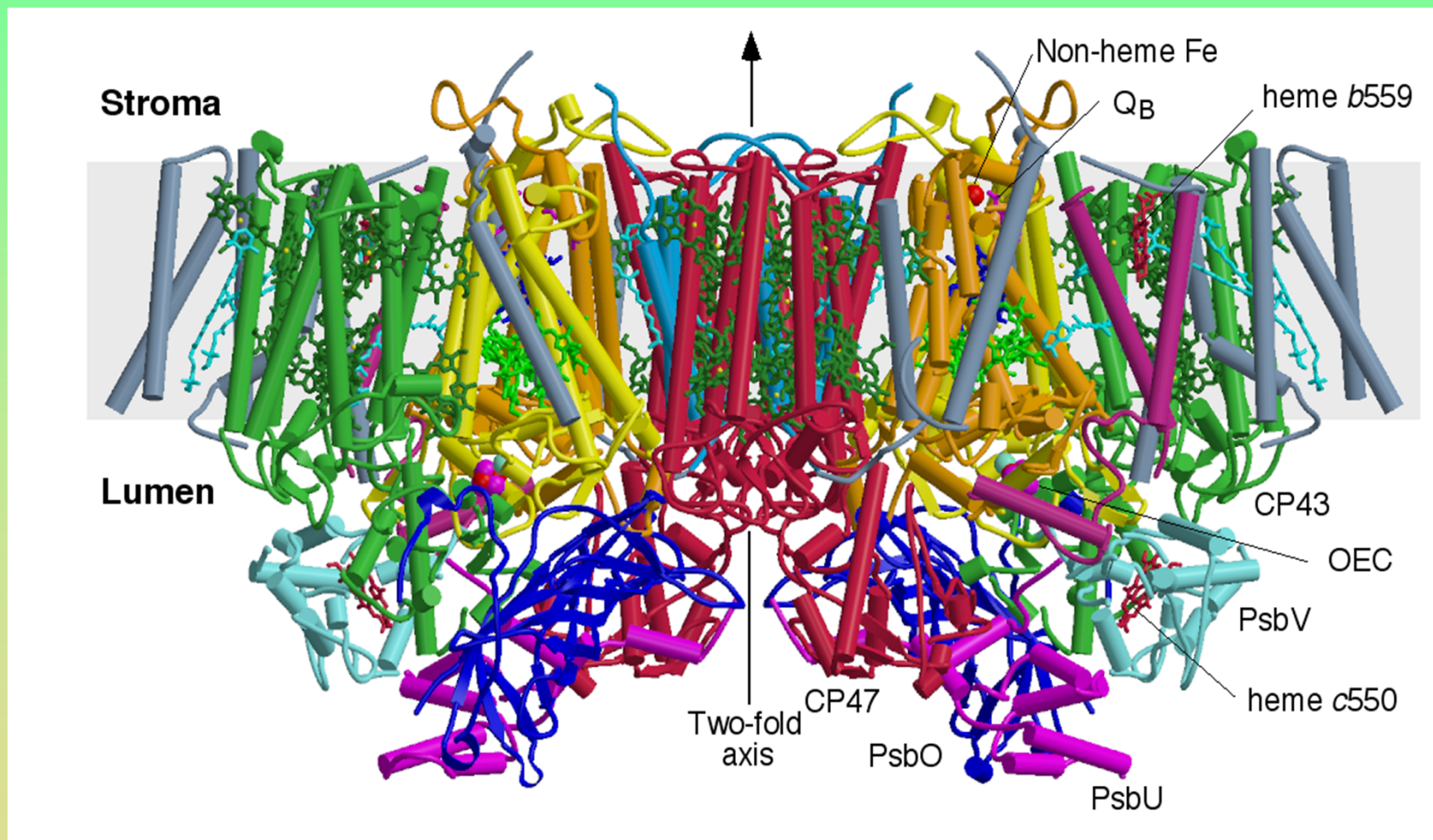
20 obsahující 36 TMH

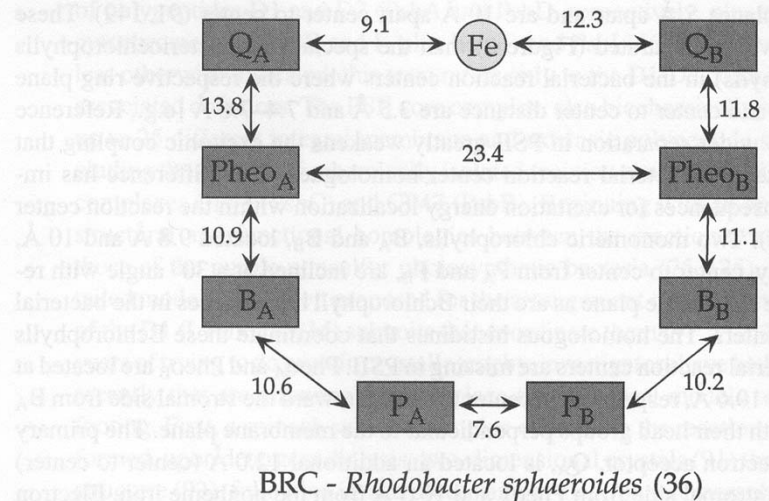
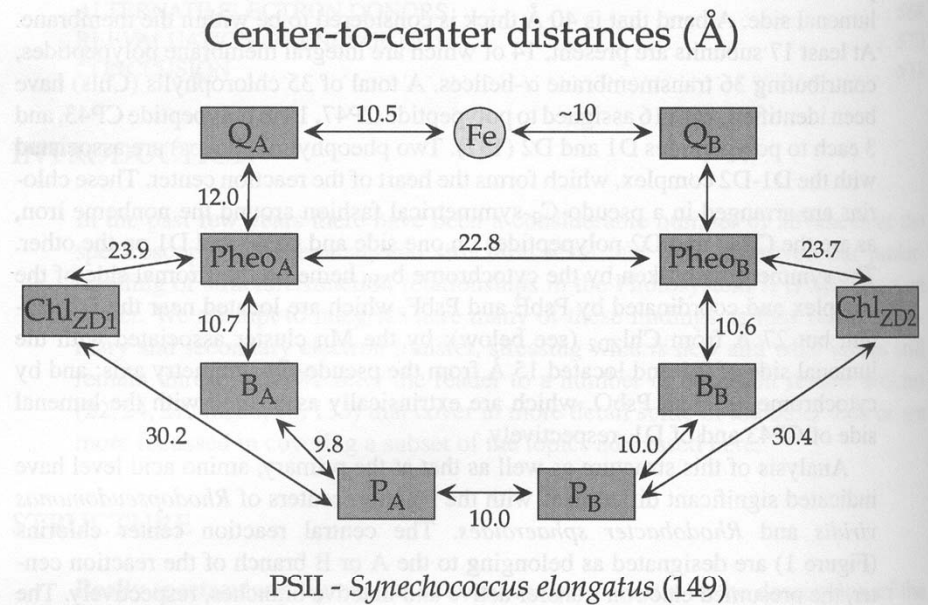
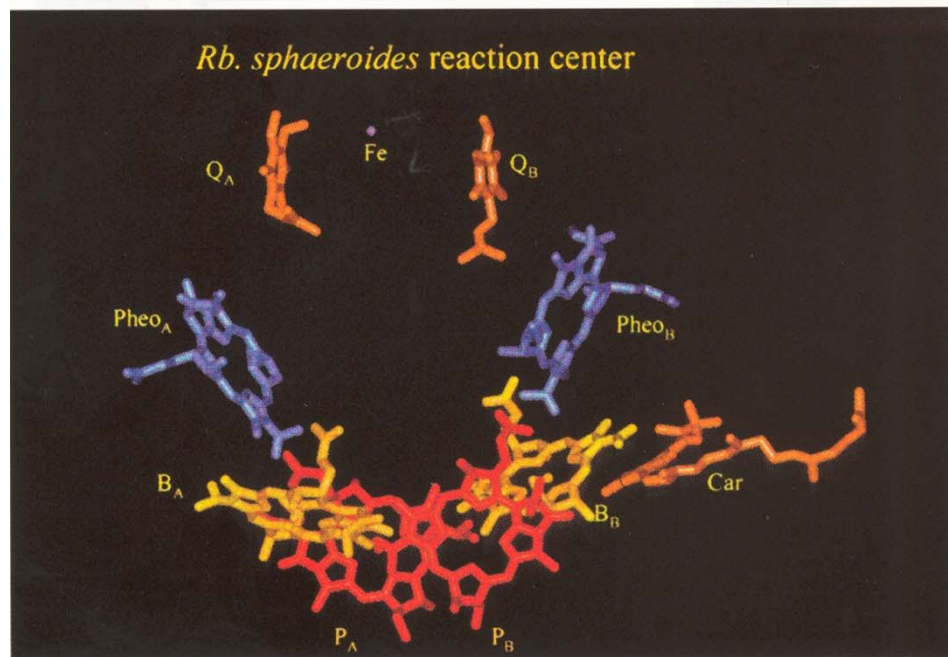
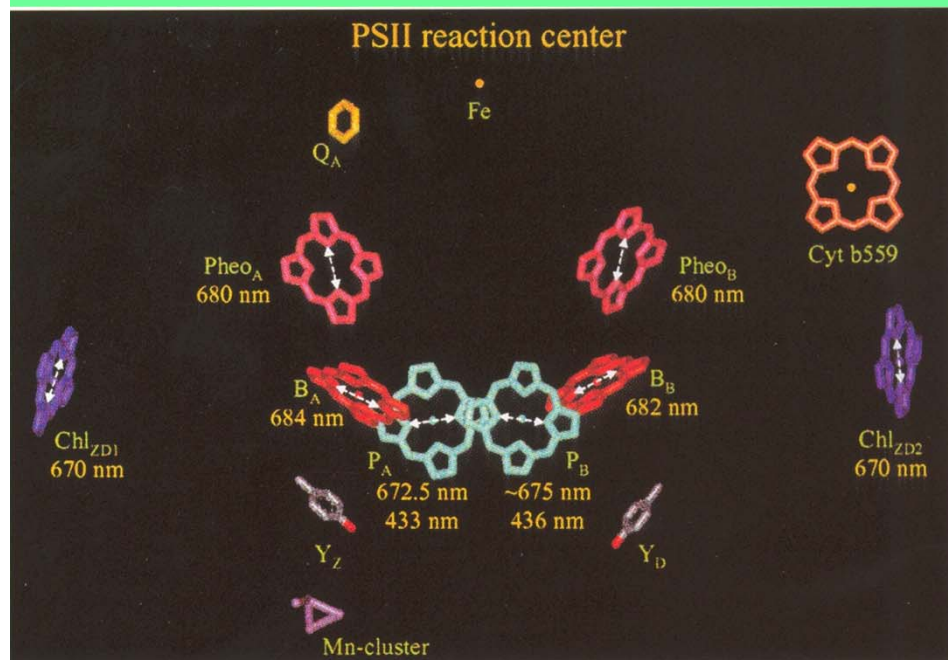
Počet kofaktorů na monomer :

89 z toho:

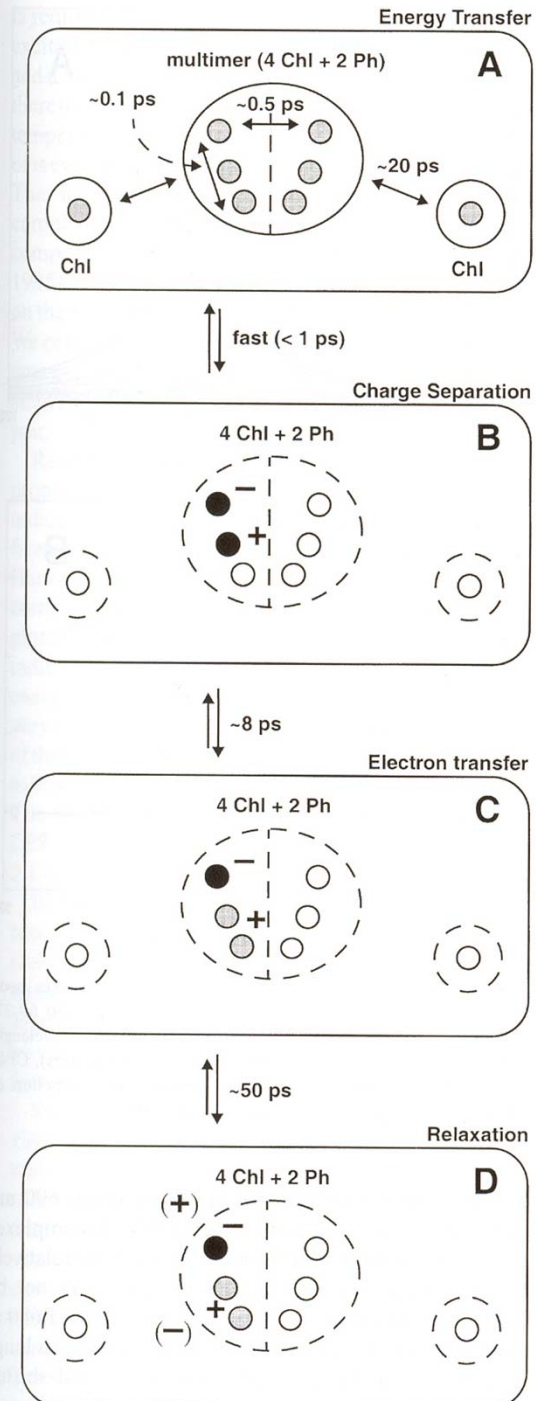
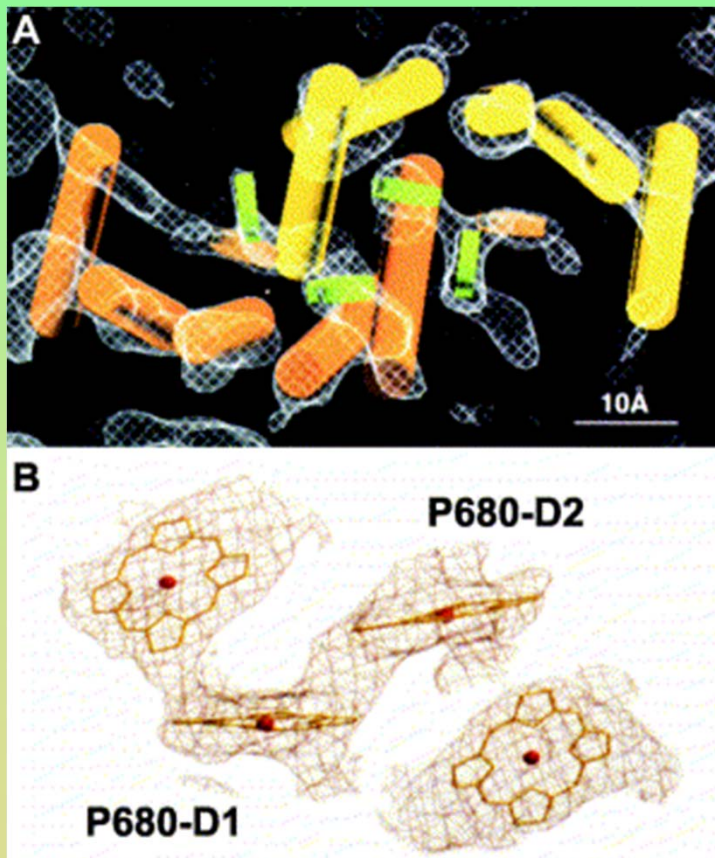
35 Chl_a, 12 Car, 25 lipidů, 3 PQ, 2 hem, 2 Pheo, 1 bicarbonát,
Fe²⁺, Mn₄Ca, Cl⁻, 2 Ca⁺² (a 7 DM)

Na lumenální straně fotosystému II je vázán kyslík
vyvíjející Mn clastr s 3 stabilizujícími proteiny
PsbO, PsbV a PsbU

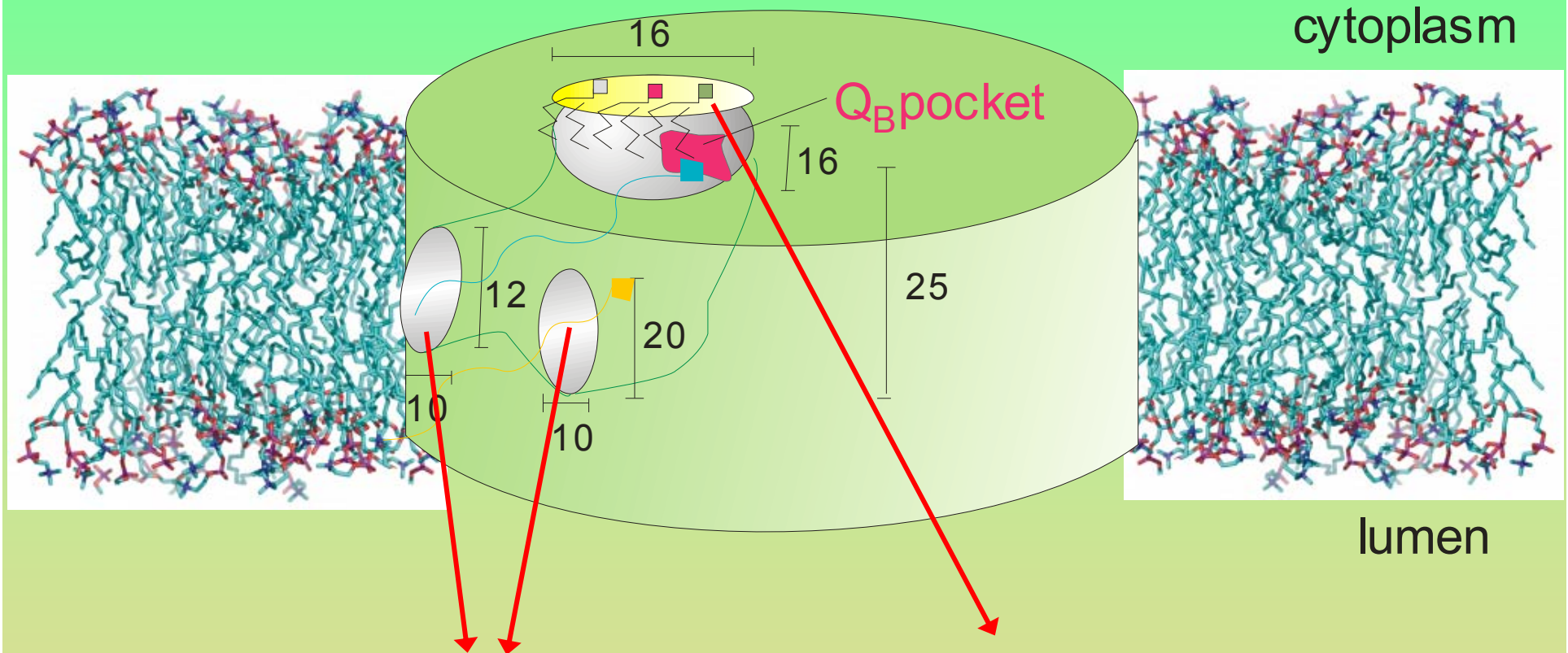




Na separaci nábojů se podílí
multimer molekul chlorofylu
 P680



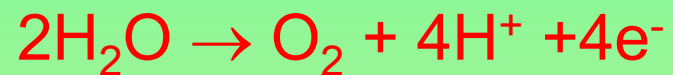
Struktura Q_B kapsy: kromě chinonu Q_B i vazba dalšího chinonu Q_C



2 kanály spojují Q_B kapsu s membránou, v jednom je Q_B , v druhém Q_C

přístup ke Q_B kapse z cytoplazmy je blokován lipidy

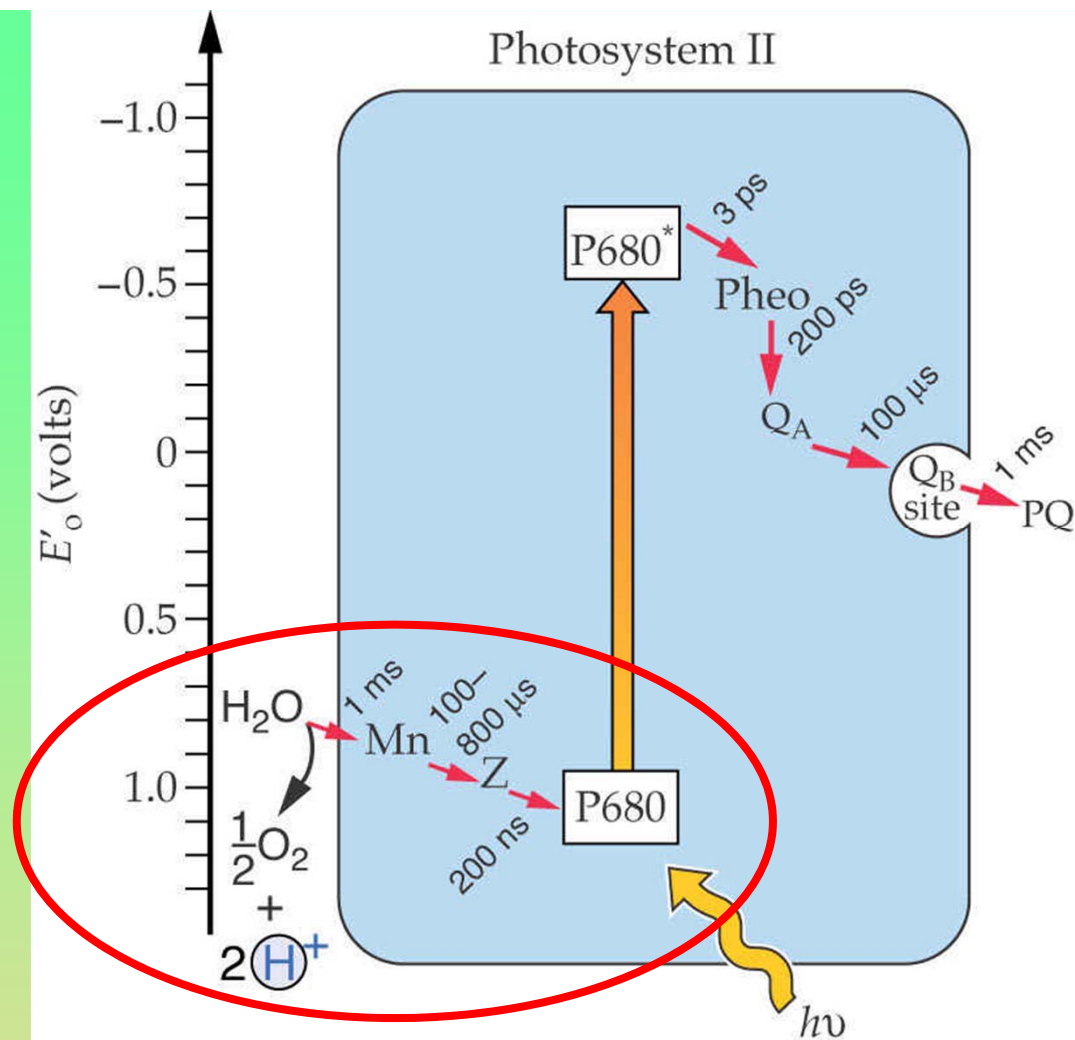
Vývoj kyslíku v PSII

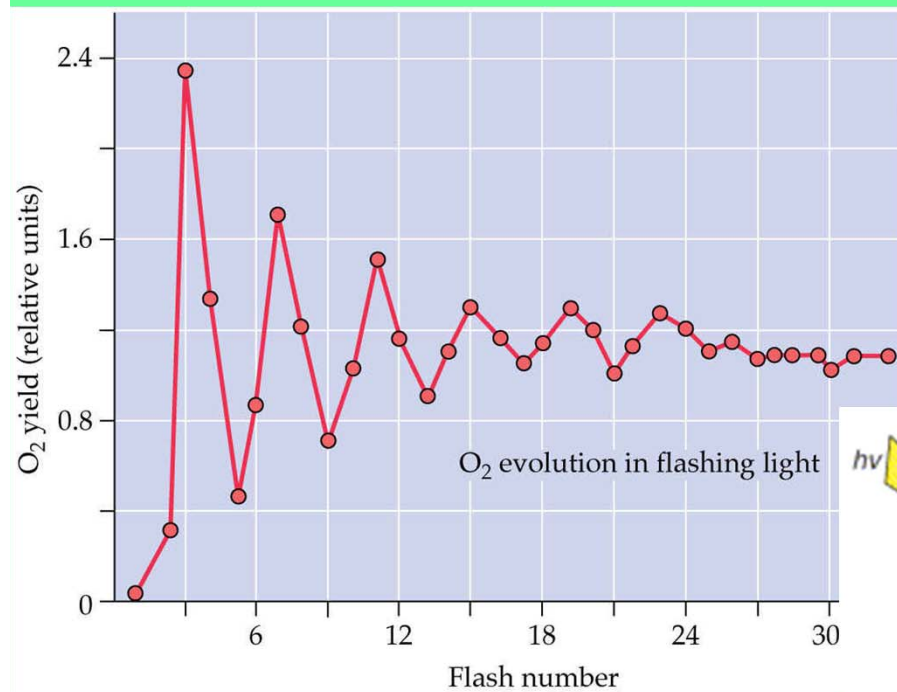


$$E_m = + 0.82 \text{ V}$$

P680^+

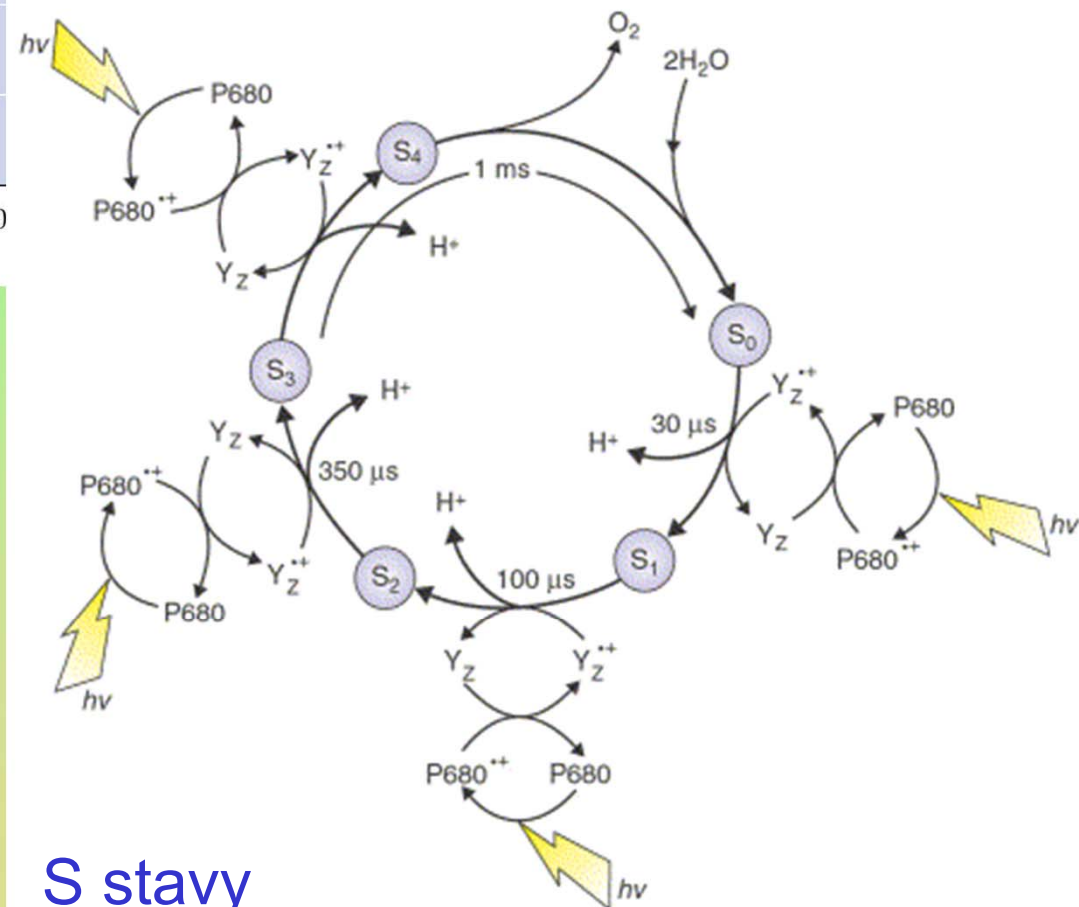
$$E_m = + 1.2 \text{ V}$$





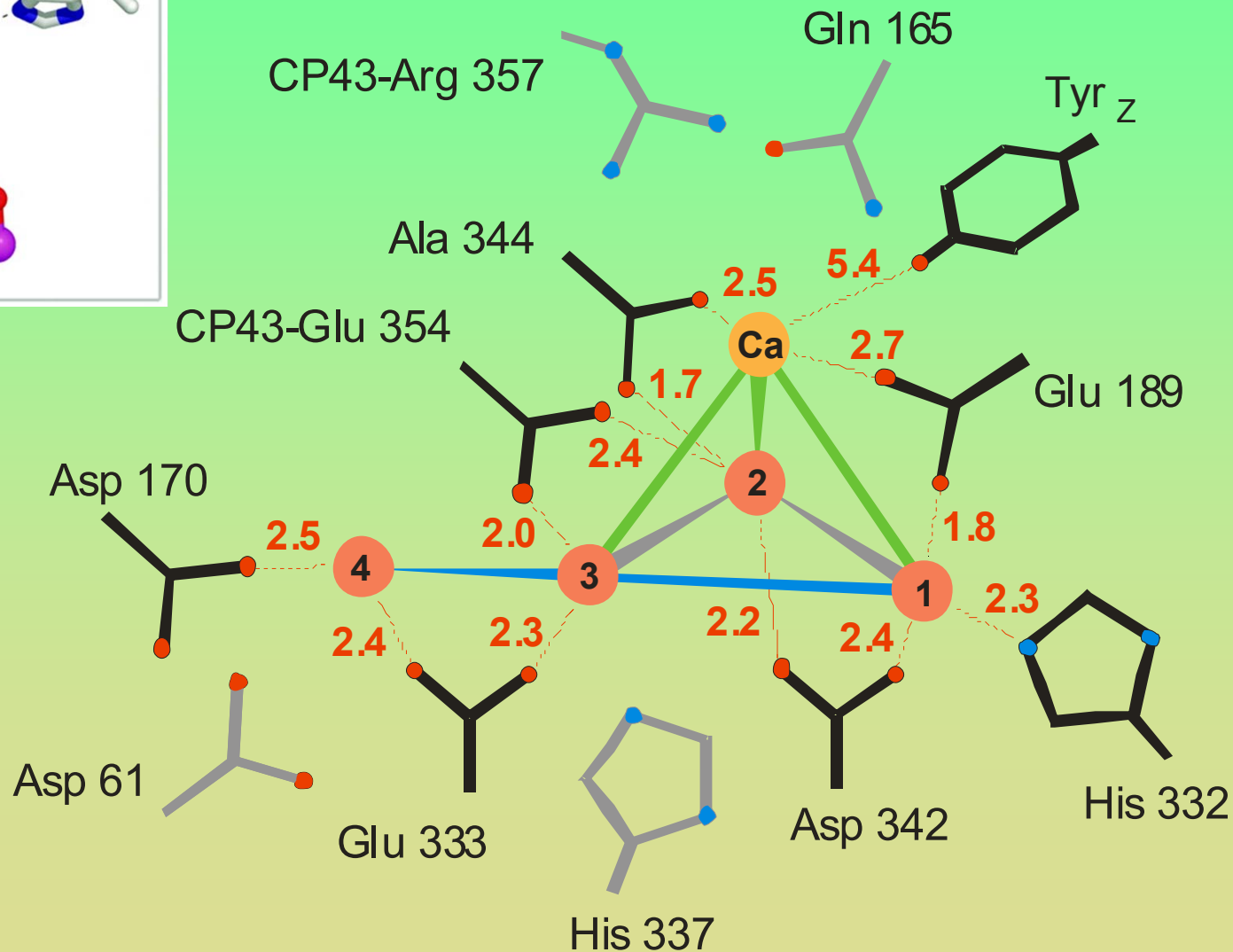
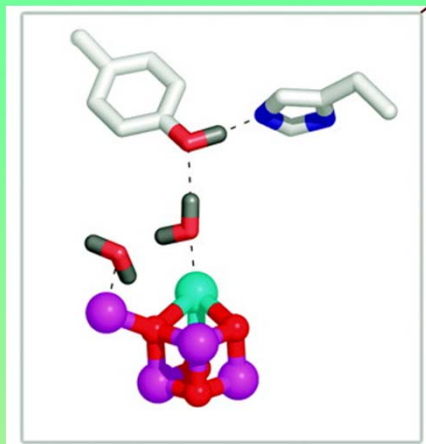
4 e⁻ ale jen 1 foton ??

P.Joliot a B.Kok, 1970

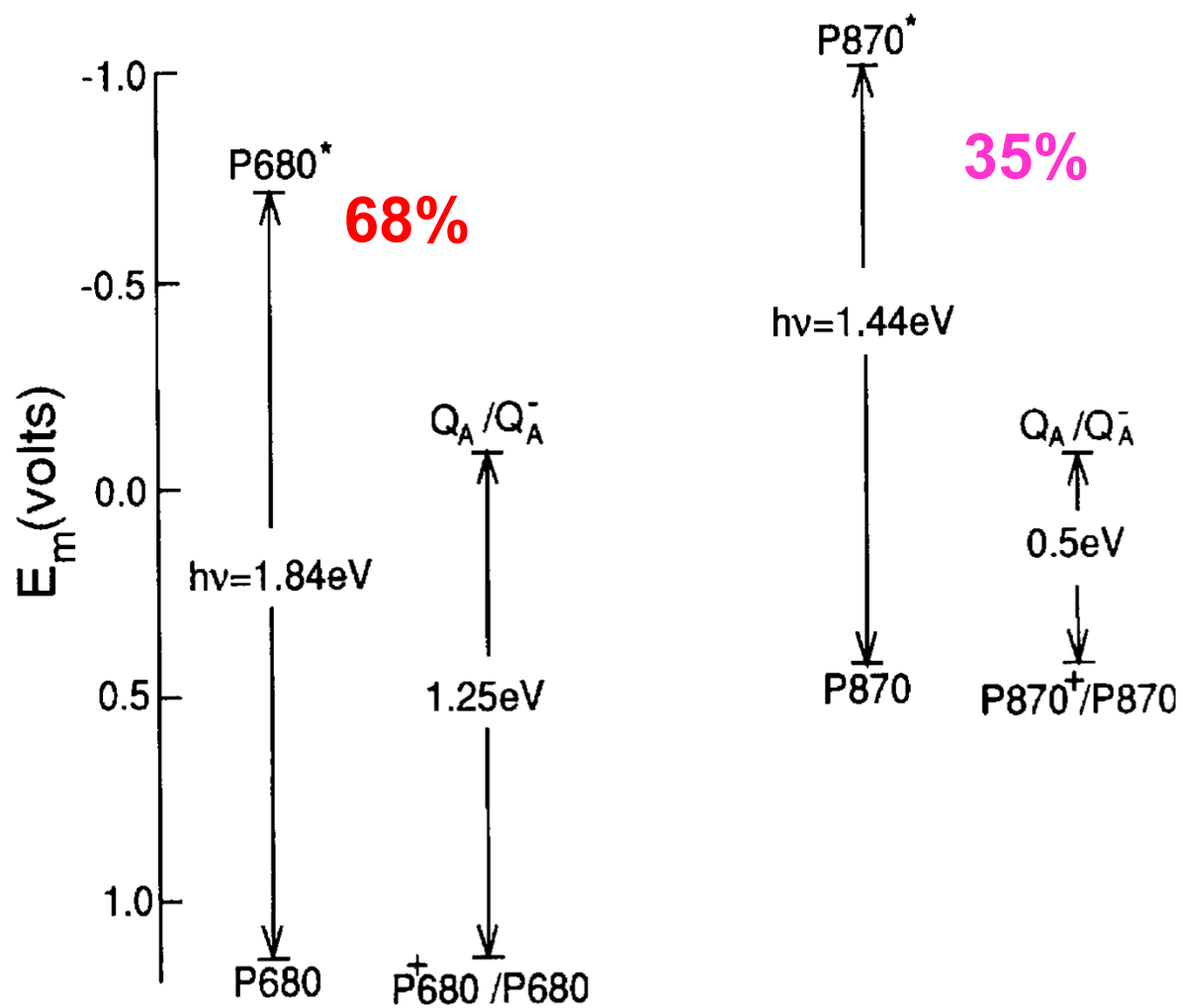


S stavy

Struktura klastru Mn_4Ca a jeho vazba ve fotosystému II



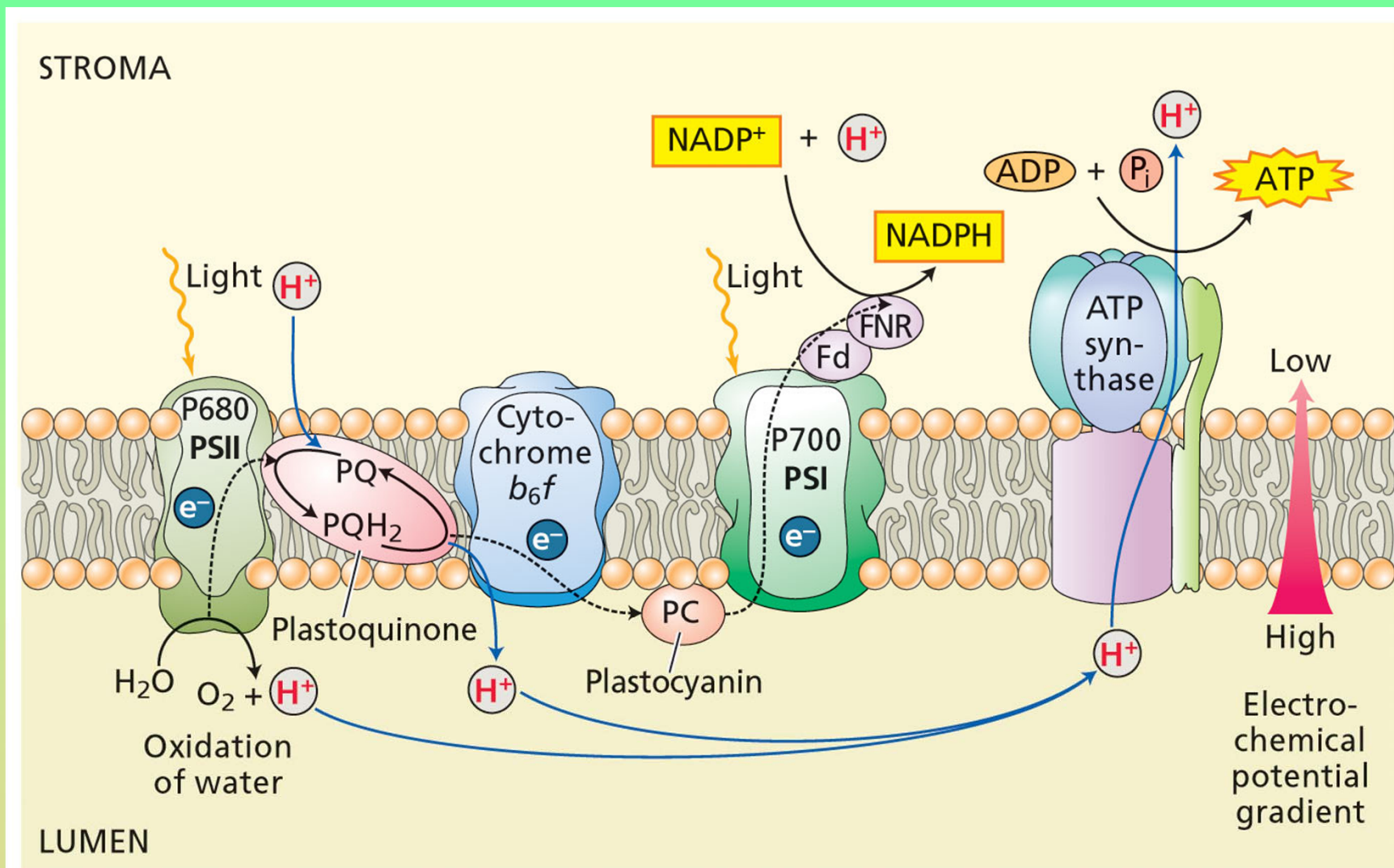
Srovnání termodynamické účinnosti BRC a PSII



(a) Photosystem II

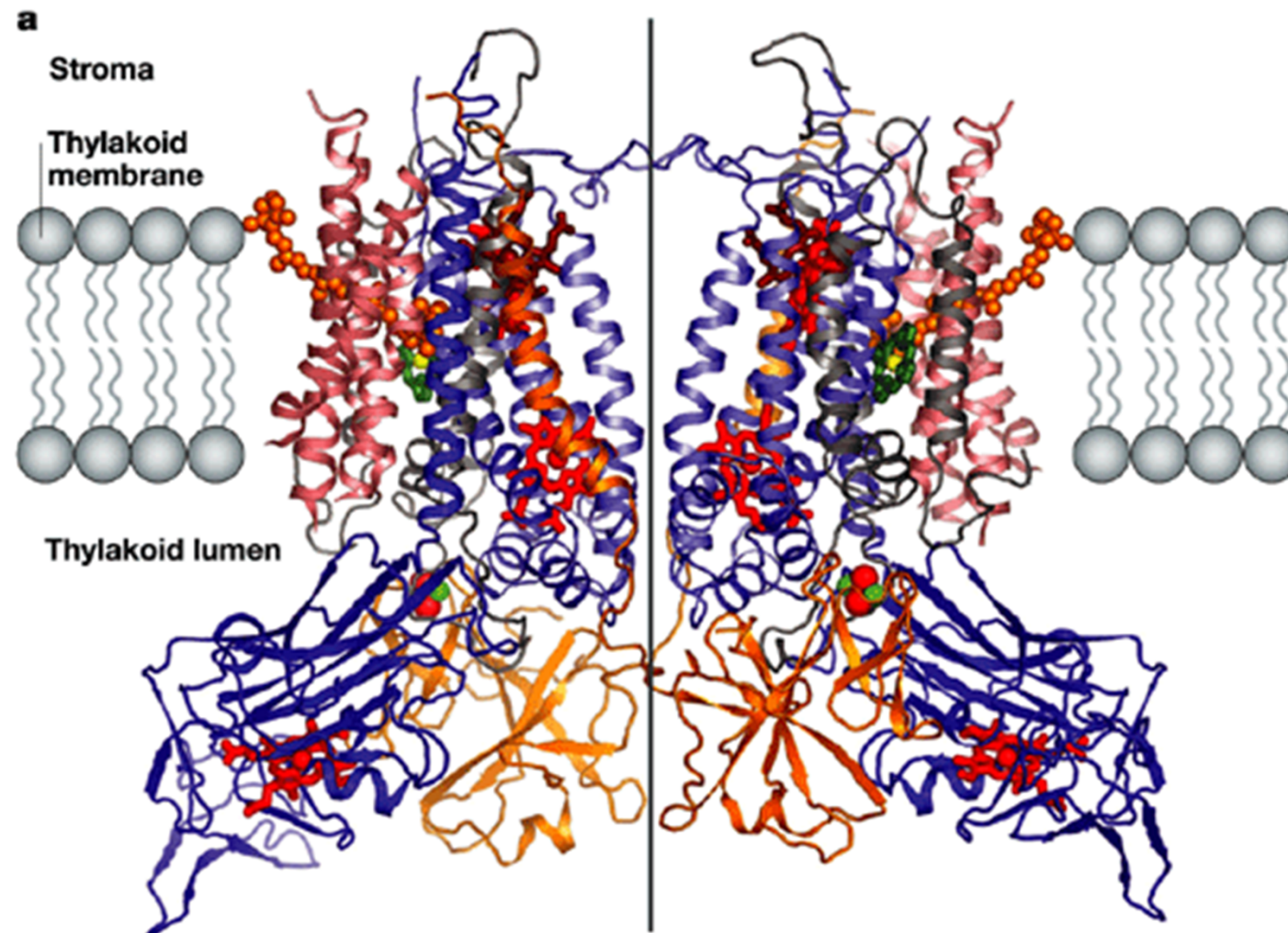
(b) Bacterial RC
(sphaeroides)

Vektoriální přenos elektronů a protonů



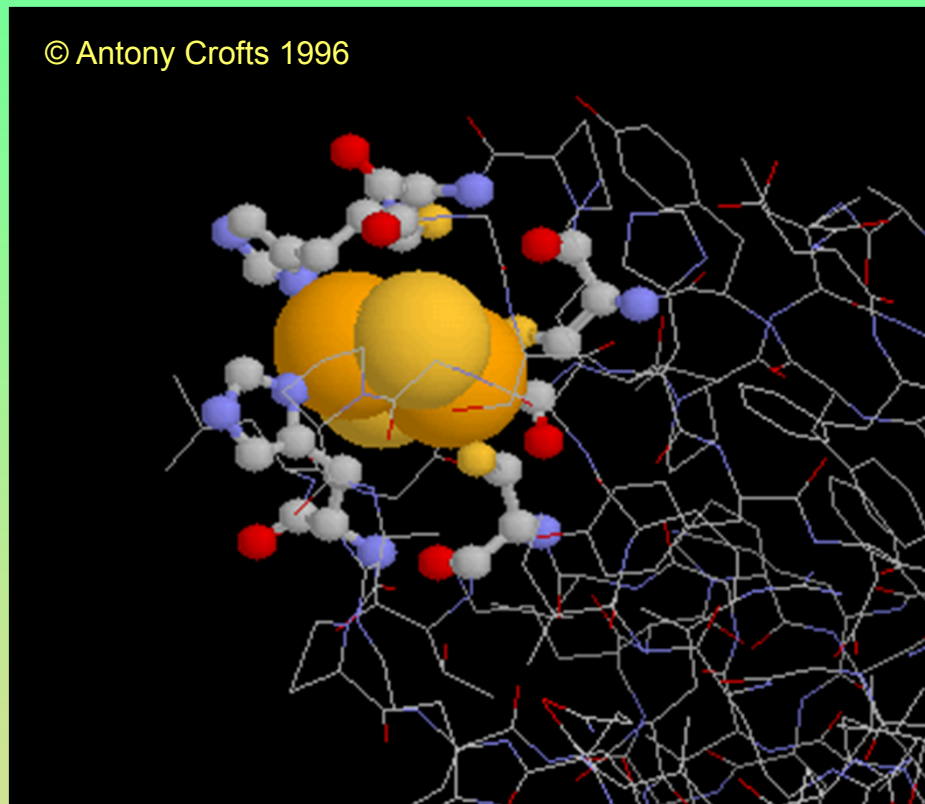
Komplex cyt b6/f

dimer: cyt bf, Rieske Fe-S + ~5 proteins

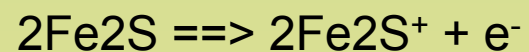


Rieske 2Fe-2S protein

© Antony Crofts 1996

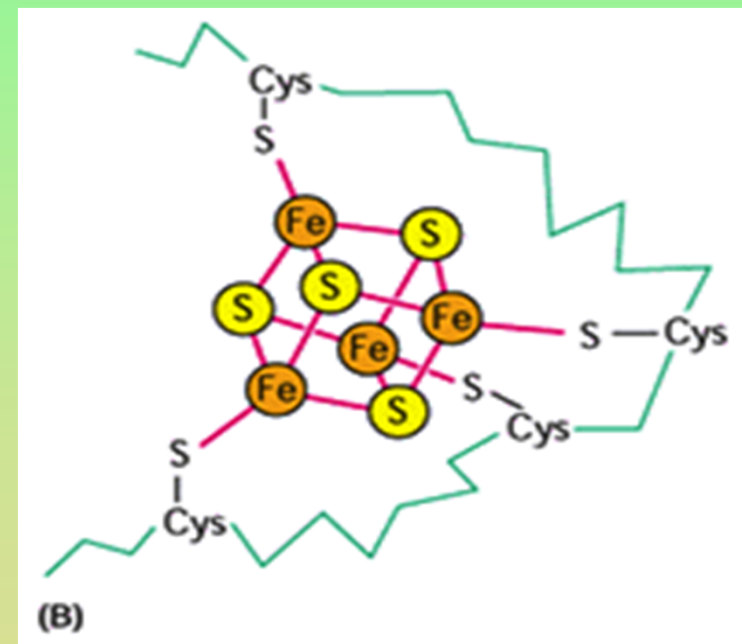
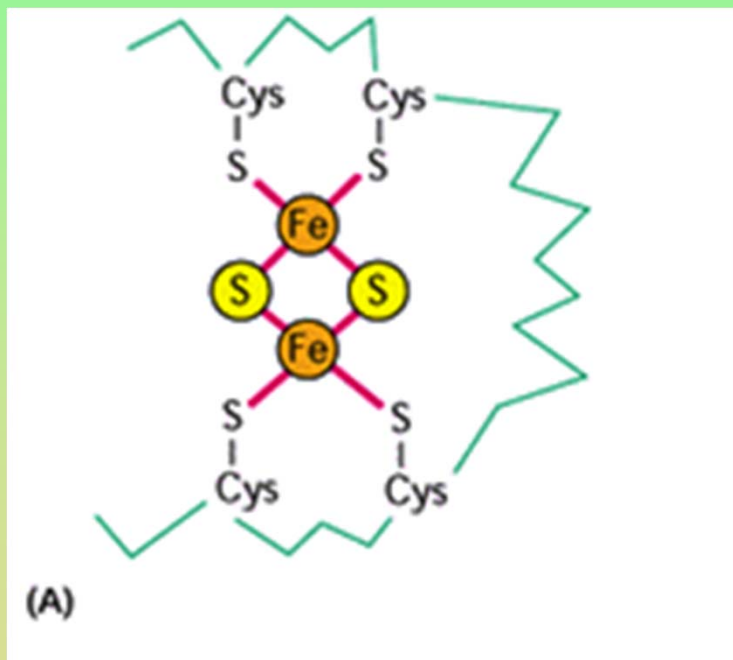


2Fe.2S iron sulfur center from Rieske protein of the bc_1 -complex



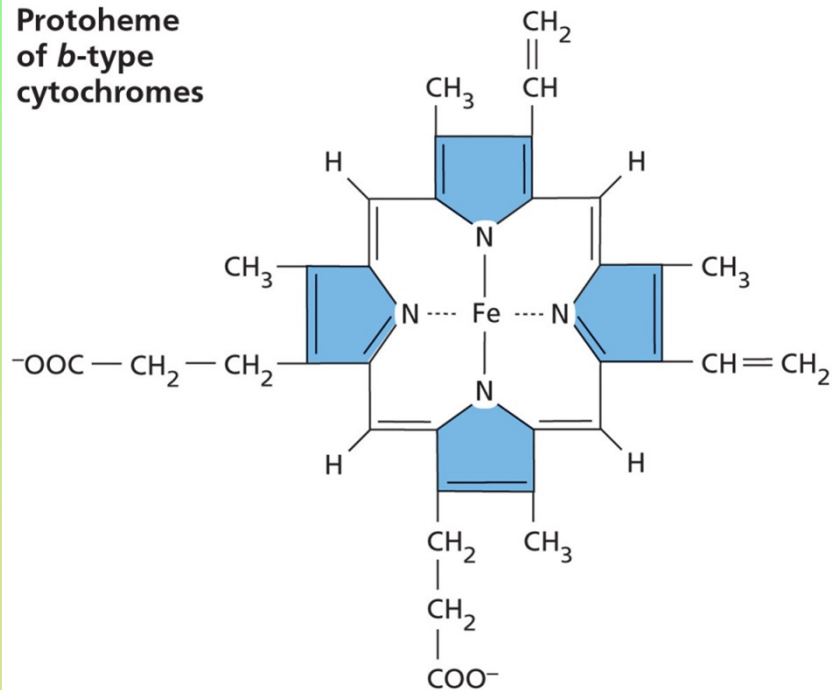
Midpoint redox potential: $E_{m, pH\ 7} = 290\ mV$

The structures of two types of iron-sulfur centers. (A) A center of the 2Fe2S type. (B) A center of the 4Fe4S type. Although they contain multiple iron atoms, each iron-sulfur center can carry only one electron at a time. There are more than six different iron-sulfur centers in the respiratory chain.



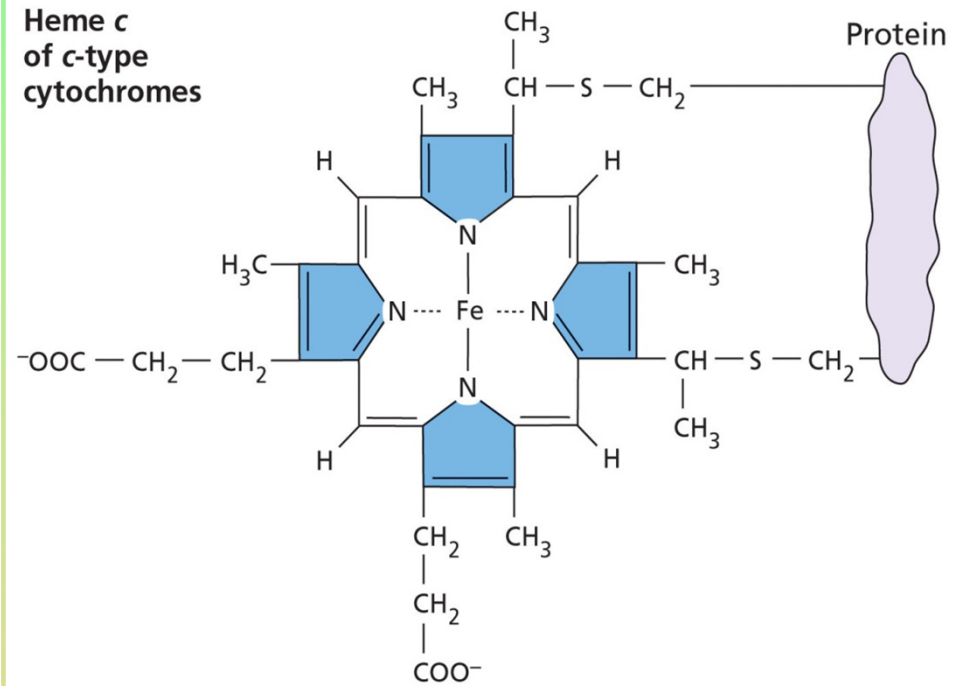
Hemy – integrální součást cytochromů

Protoheme
of *b*-type
cytochromes



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 7.28 (Part 1) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

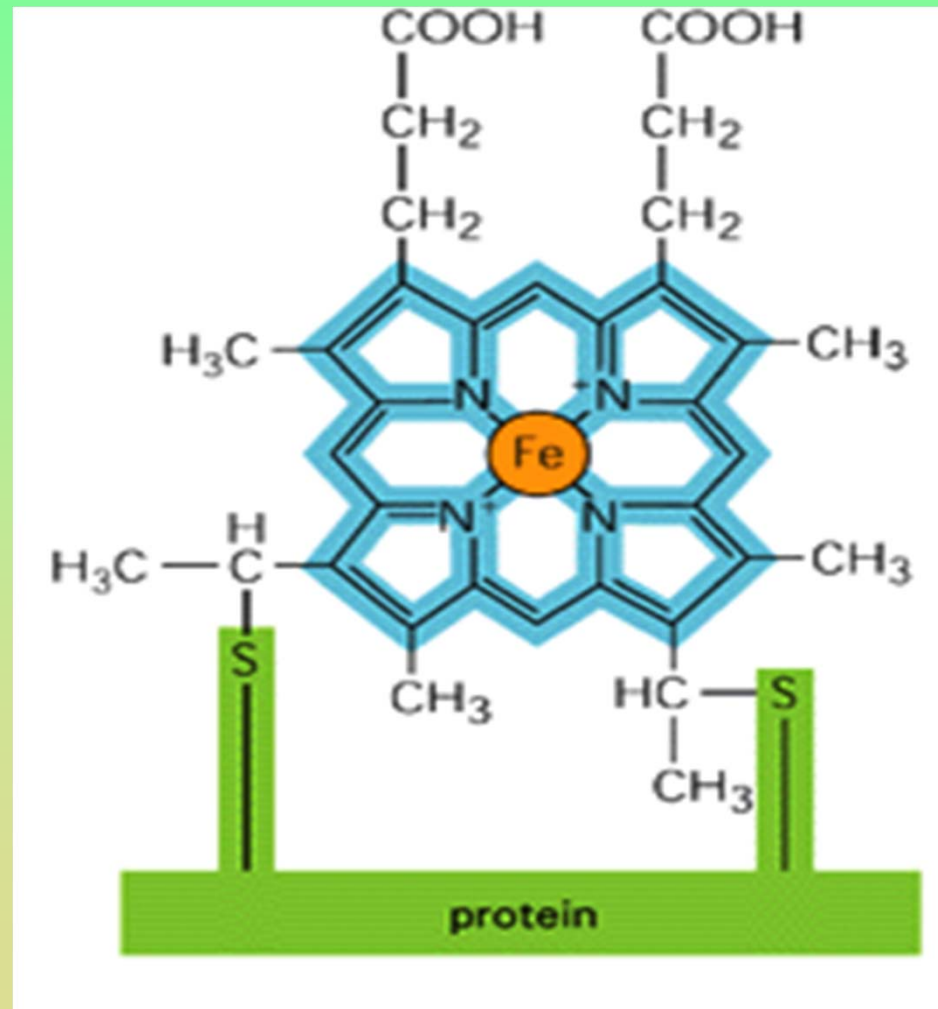
Heme *c*
of *c*-type
cytochromes



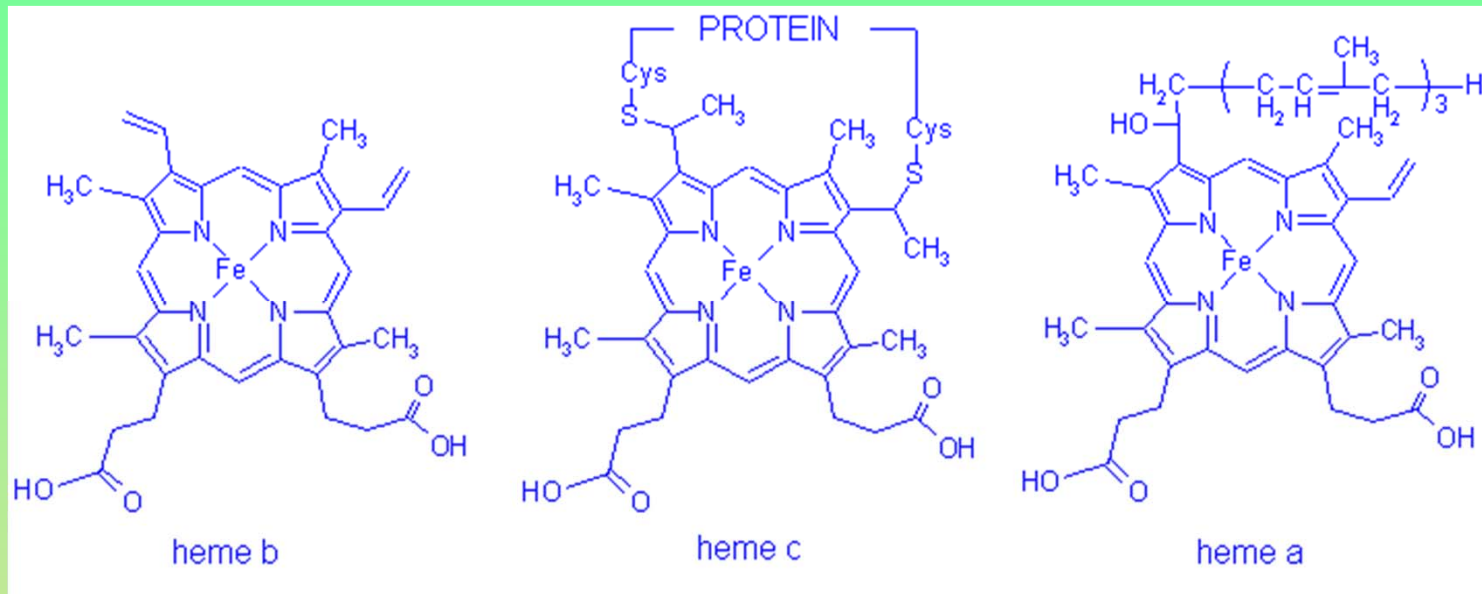
PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 7.28 (Part 2) © 2002 Sinauer Associates, Inc.

The structure of the heme group attached covalently to cytochrome c.

The porphyrin ring is shown in blue. There are five different cytochromes in the respiratory chain. Because the hemes in different cytochromes have slightly different structures and are held by their respective proteins in different ways, each of the cytochromes has a different affinity for an electron.



Cytochromes



Position of α - band

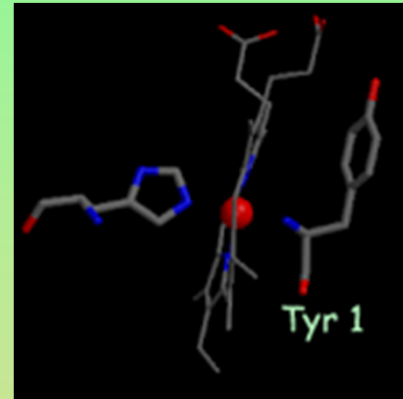
cyt *a* ~ 600 nm

cyt *b* ~ 560 nm

cyt *c* ~ 550 nm

Cytochrome *f*

c - type cytochrome, transfers electrons to plastocyanin

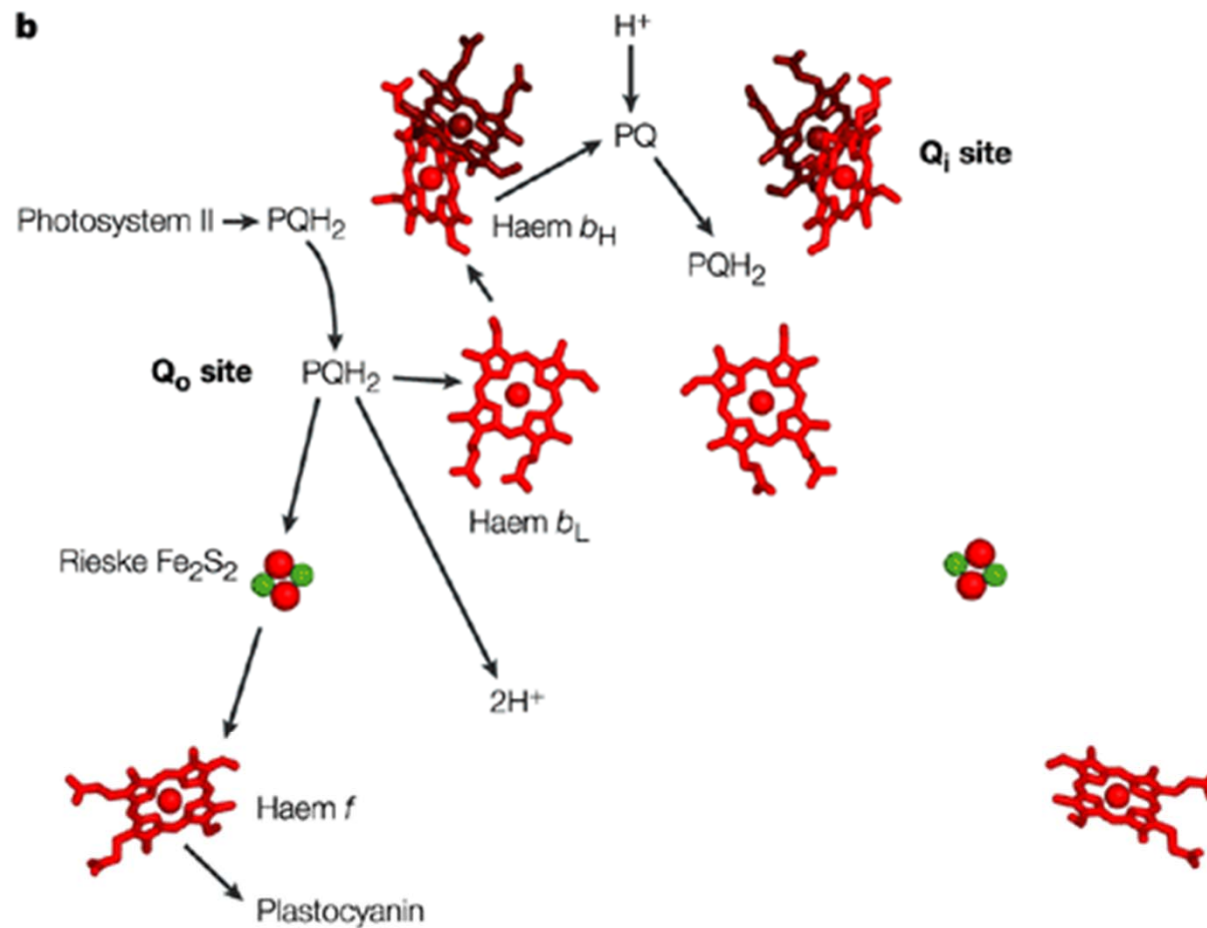


Heme c, with two cysteine ligands

ferrocytochrome c \Rightarrow ferricytochrome c⁺ + e⁻

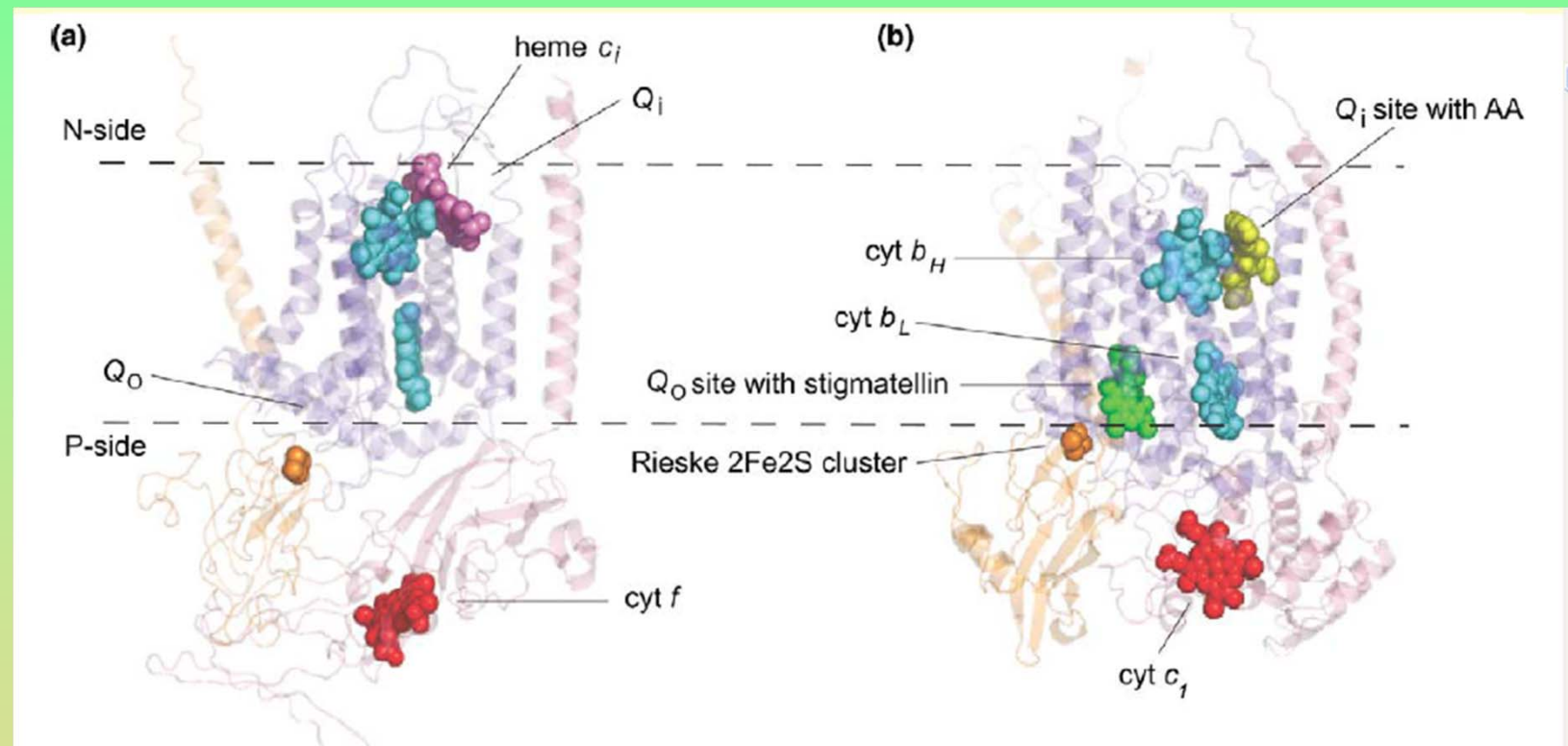
Midpoint redox potential: $E_{m, \text{pH } 7} = 350\text{mV}$

Komplex cyt b6/f
dimer: cyt bf, Rieske Fe-S + ~5 bílkovin

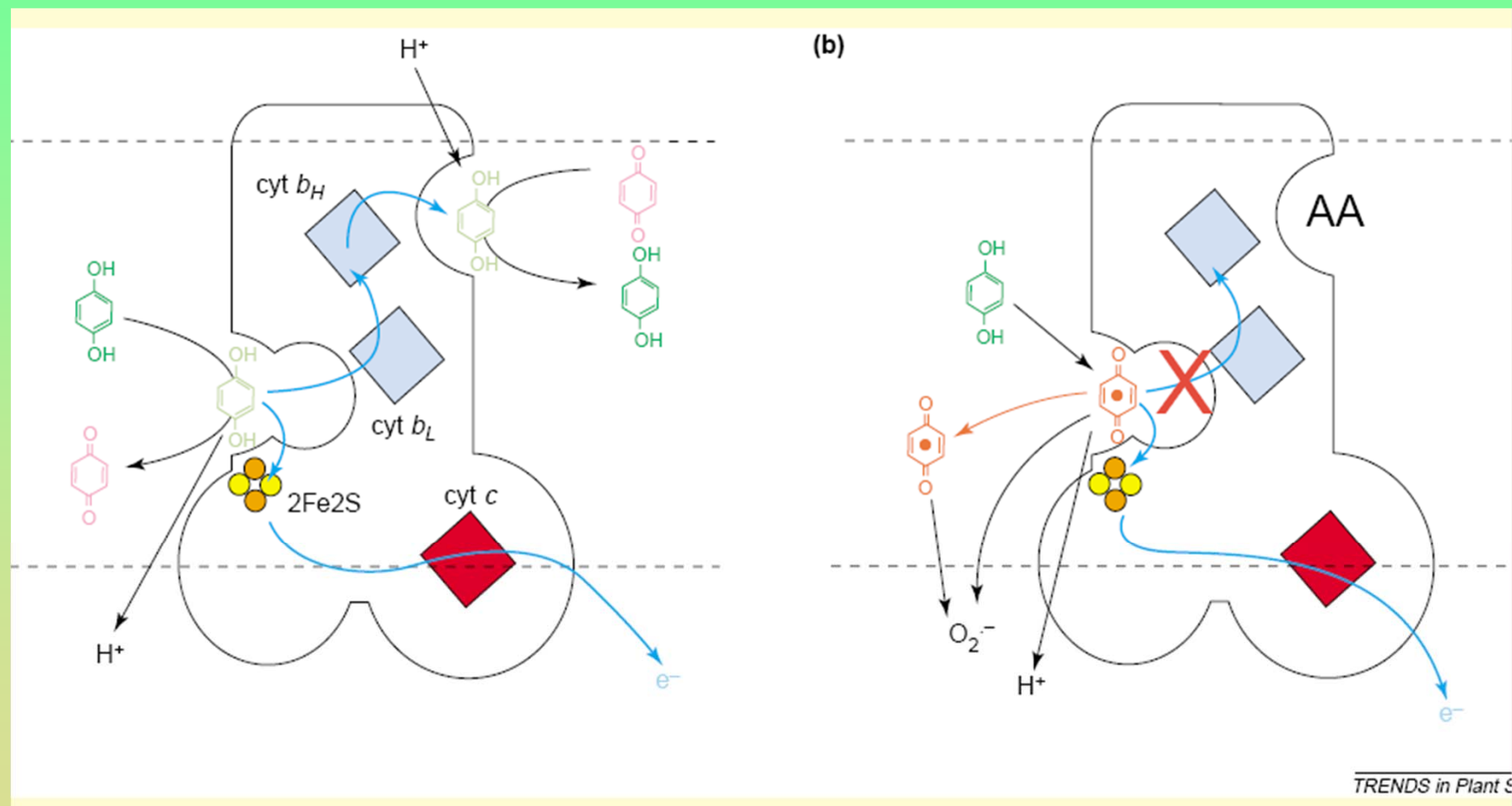


cyt b6/f

cyt bc

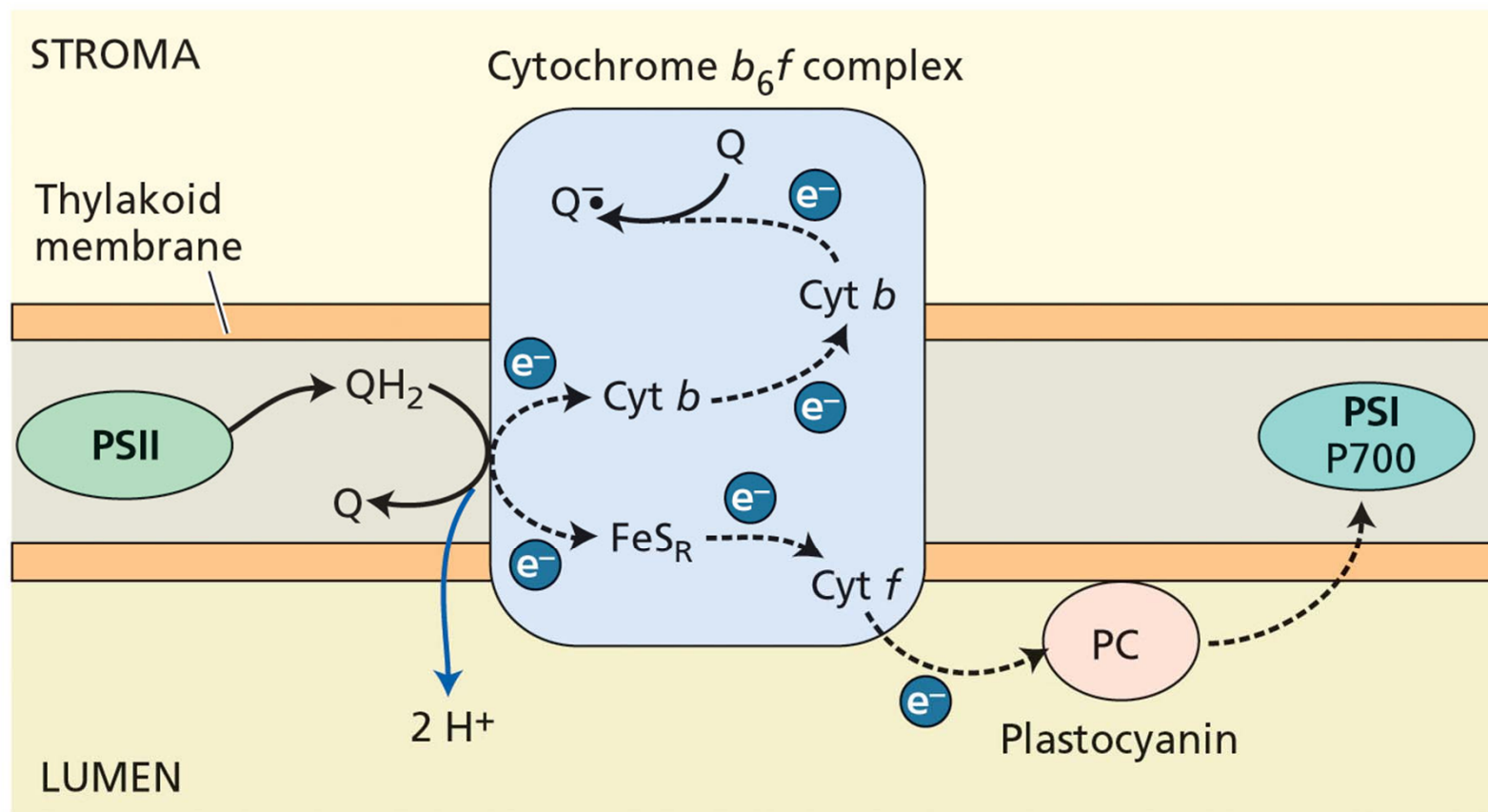


Q cyklus



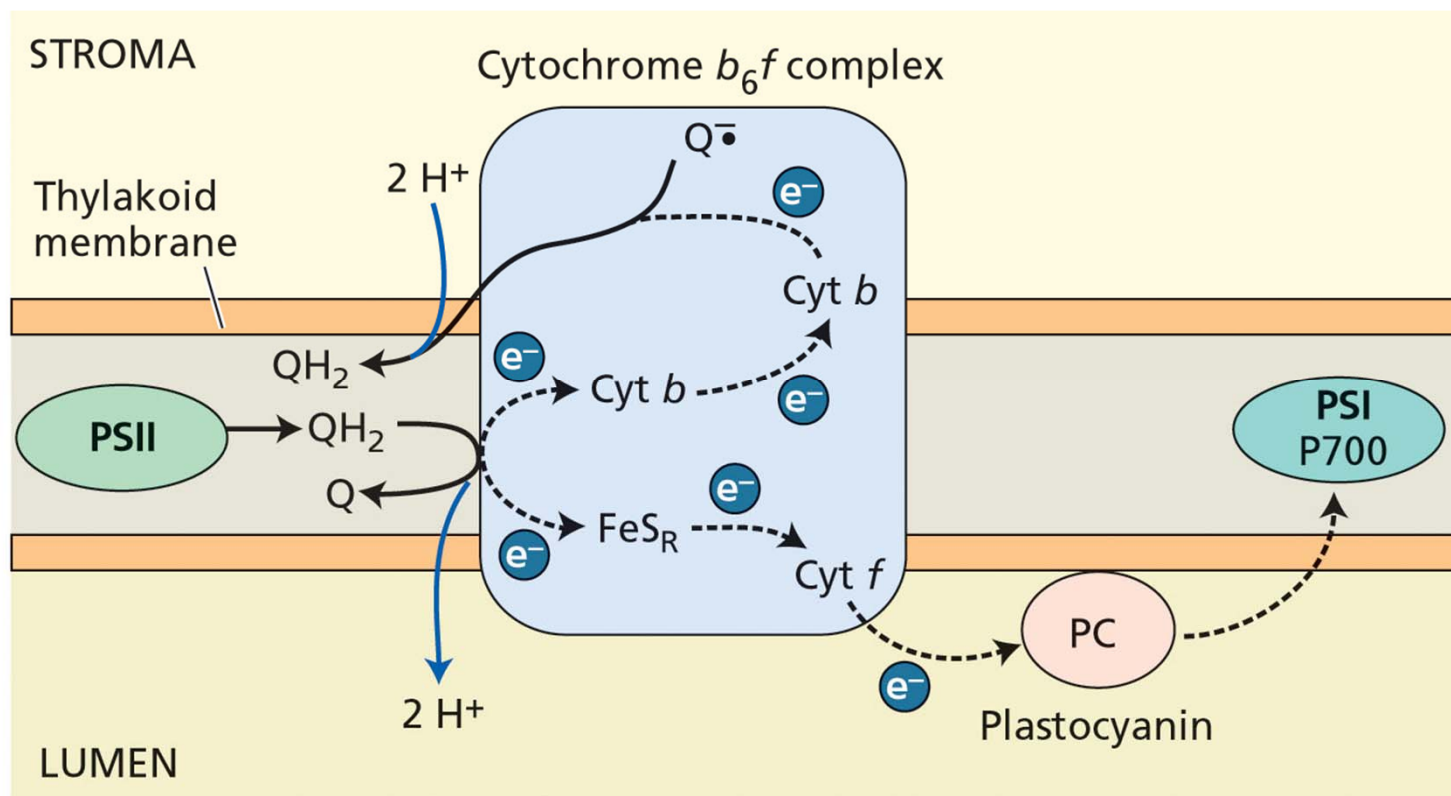
Q cyklus přenosu elektronů v $\text{cyt}b_6/f$

(A) First QH_2 oxidized

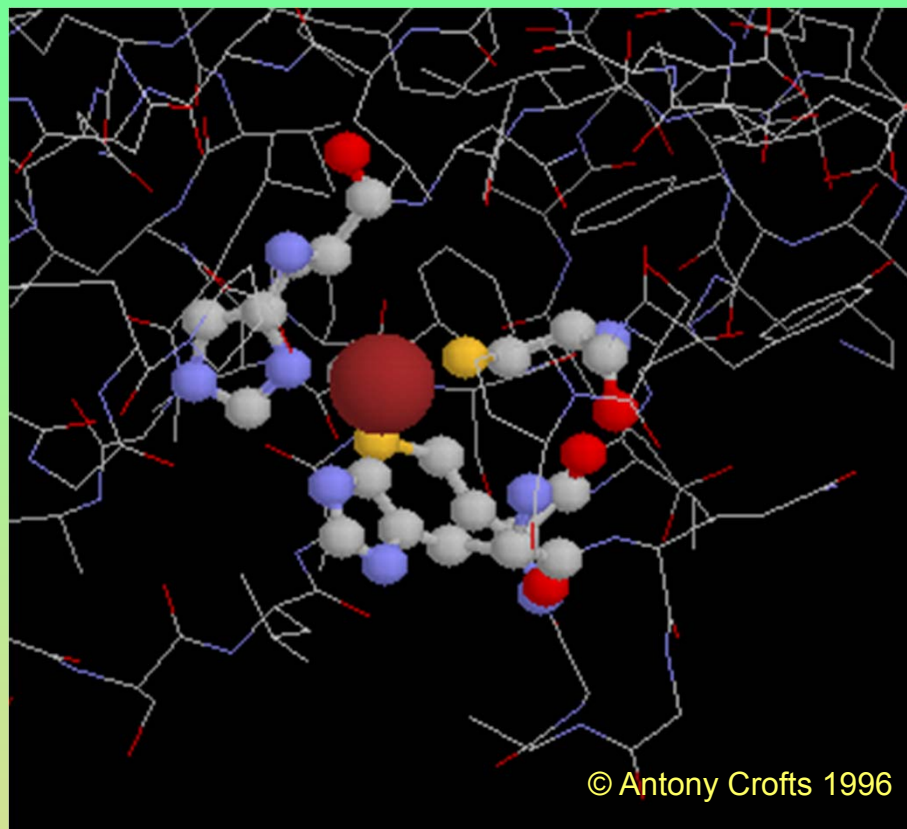


Q cyklus přenosu elektronů v $\text{cyt}b_6/f$

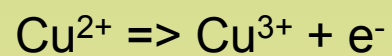
(B) Second QH_2 oxidized



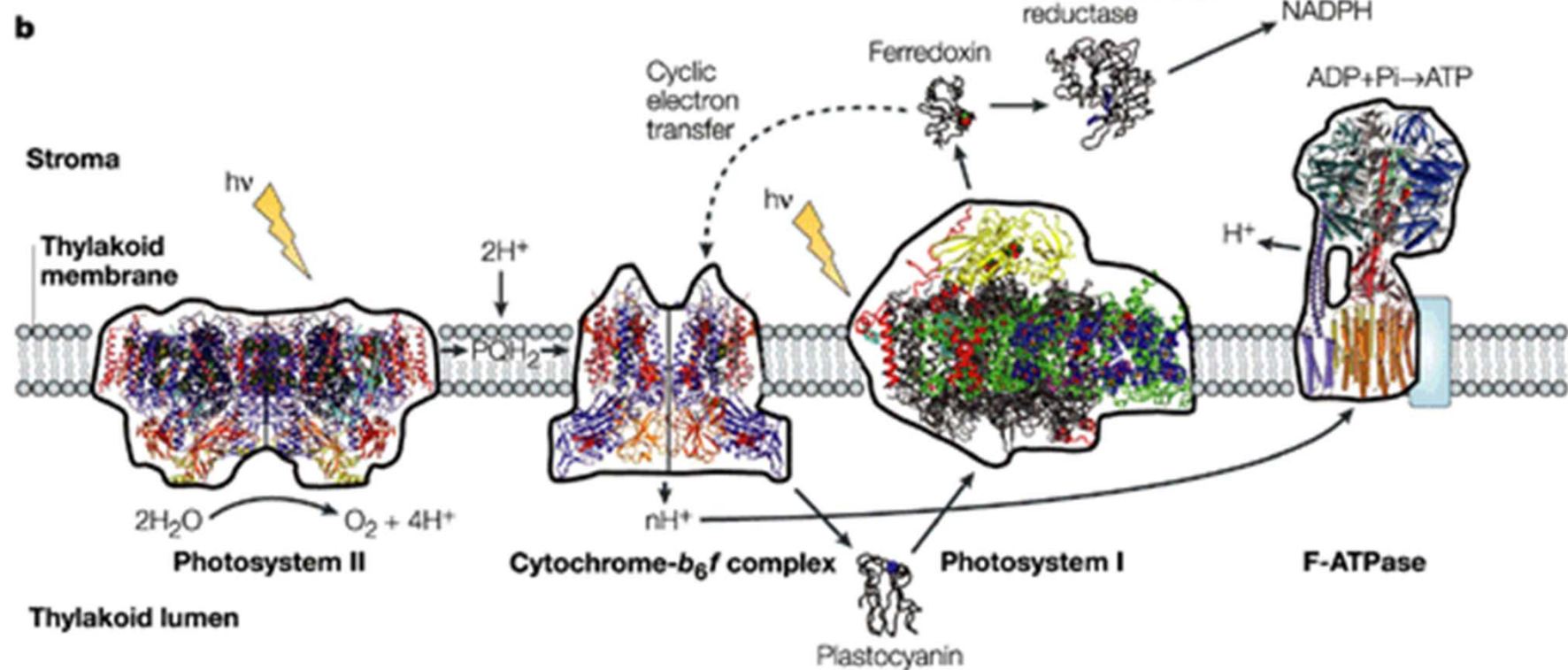
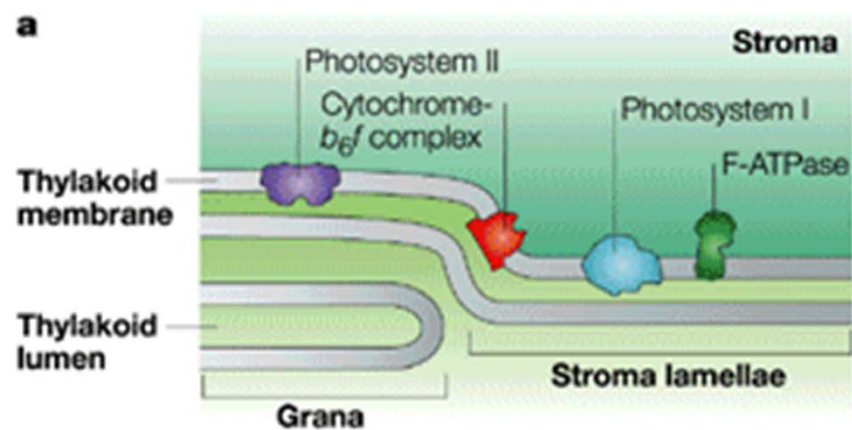
Plastocyanine



Cu center of plastocyanin

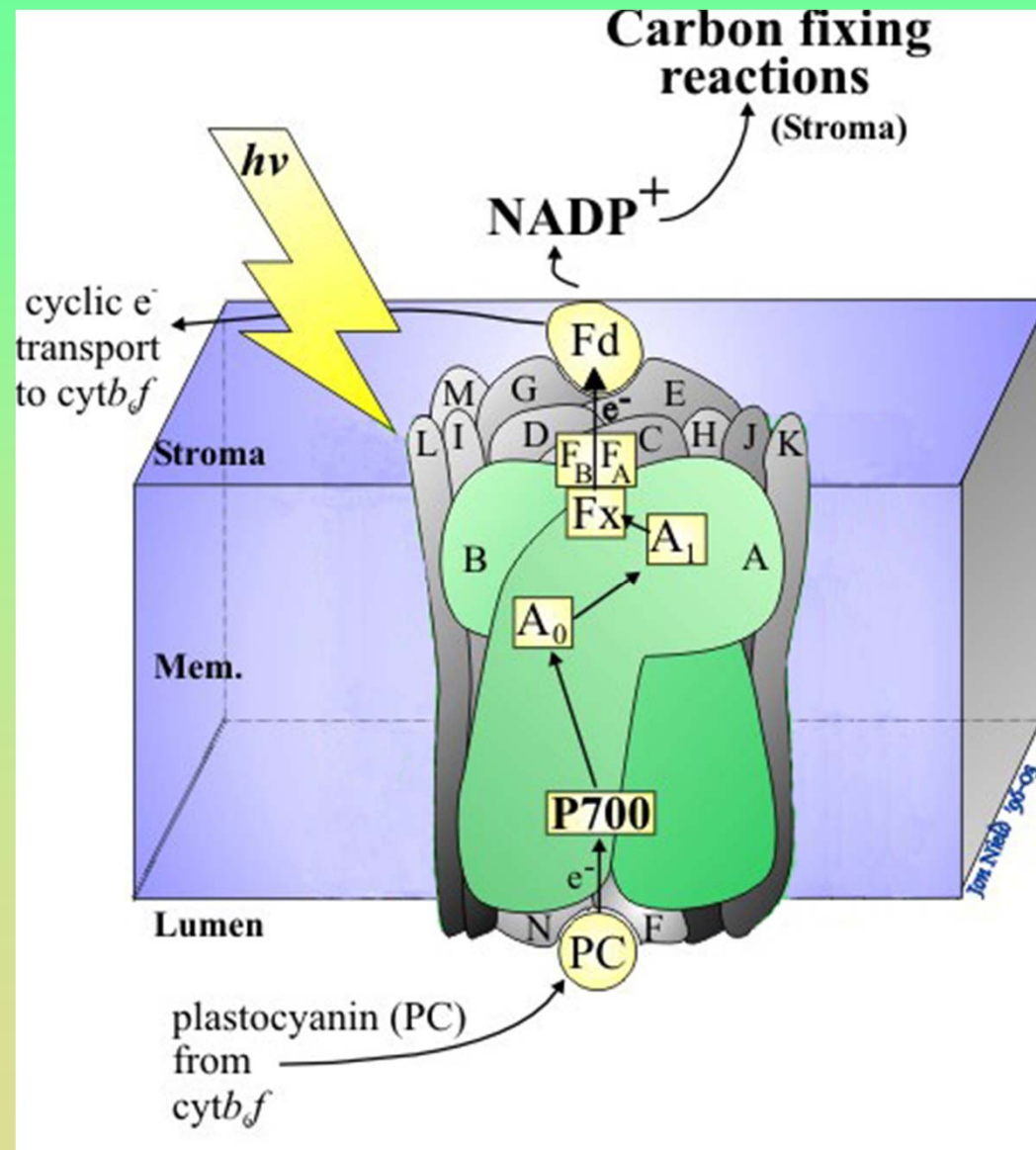


Midpoint redox potential: $E_{\text{m, pH 7}} = 360 \text{ mV}$



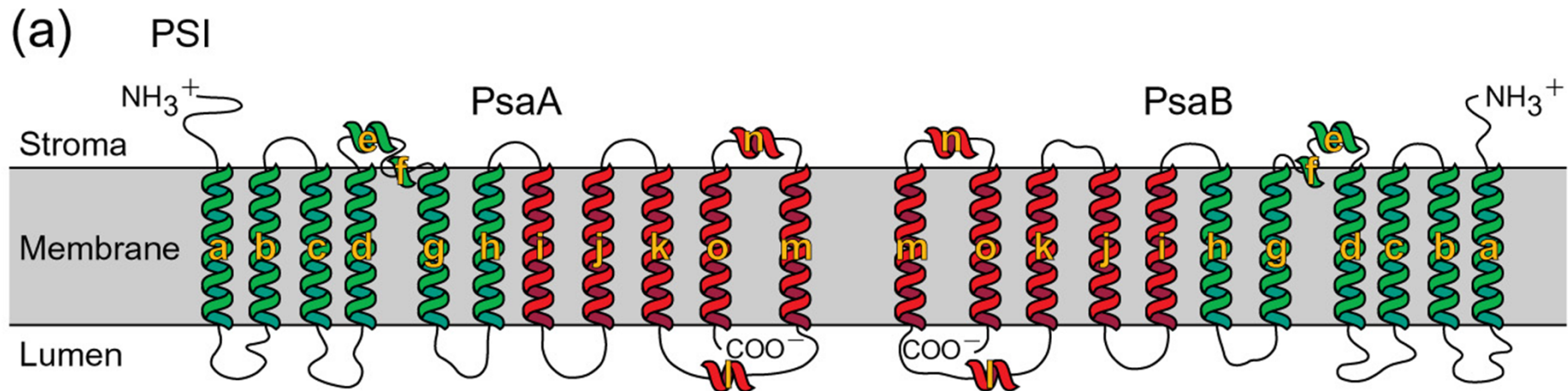
Fotosystém I

- z hlediska enzymové aktivity je to plastocyanin:ferredoxin oxidoreduktáza

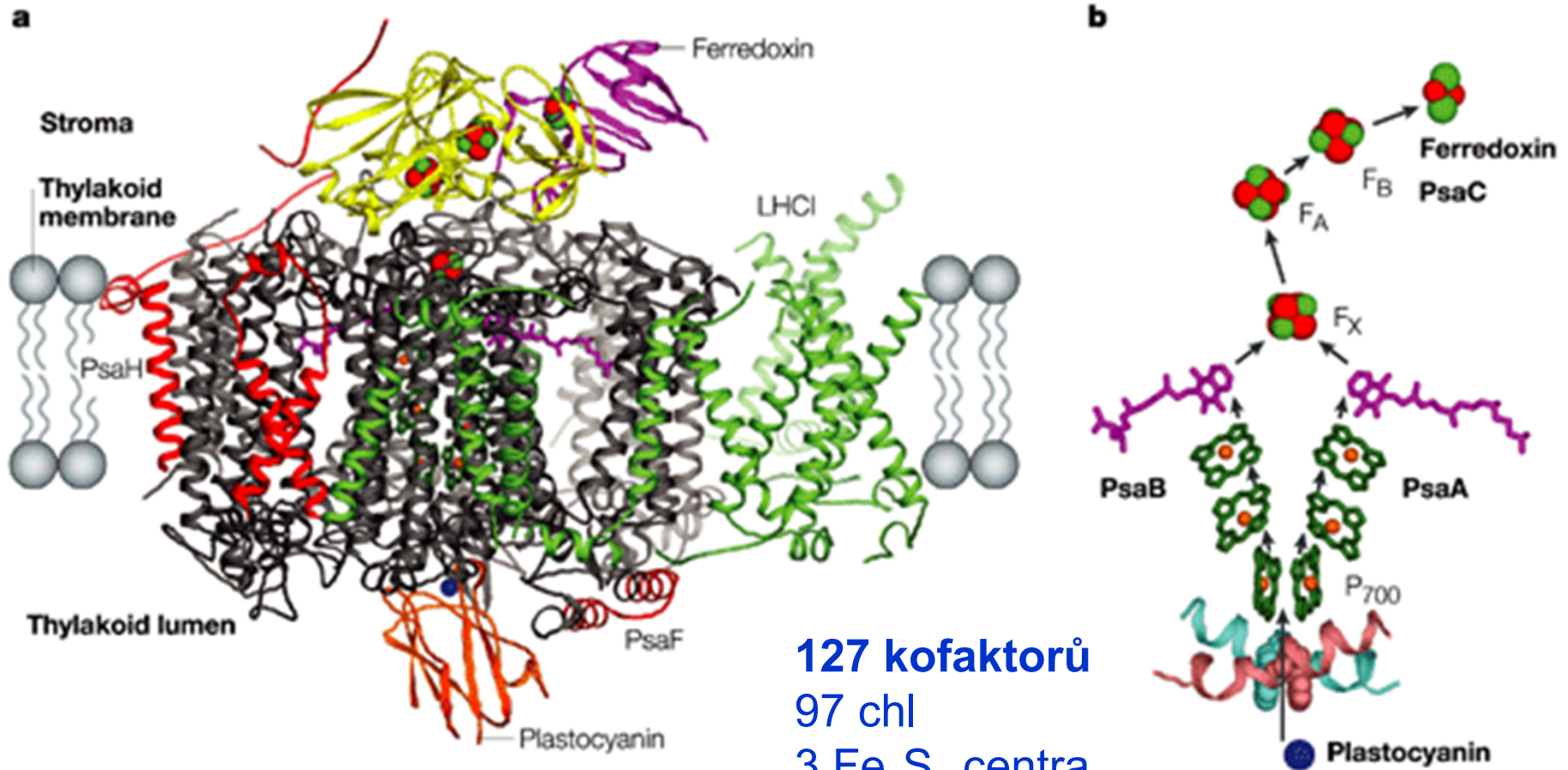


Velké membránové proteiny fotosystému I

- velké membránové podjednotky PSI označované jako PsaA a PsaB váží jak pigmenty reakčního centra, tak světlosběrné pigmenty

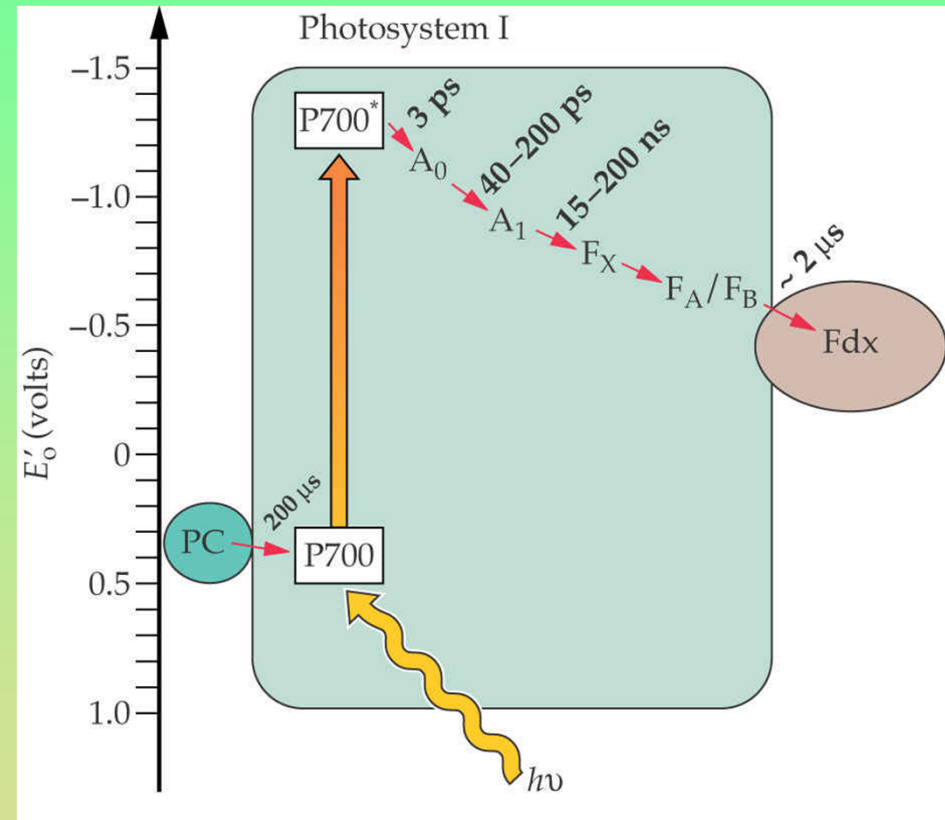
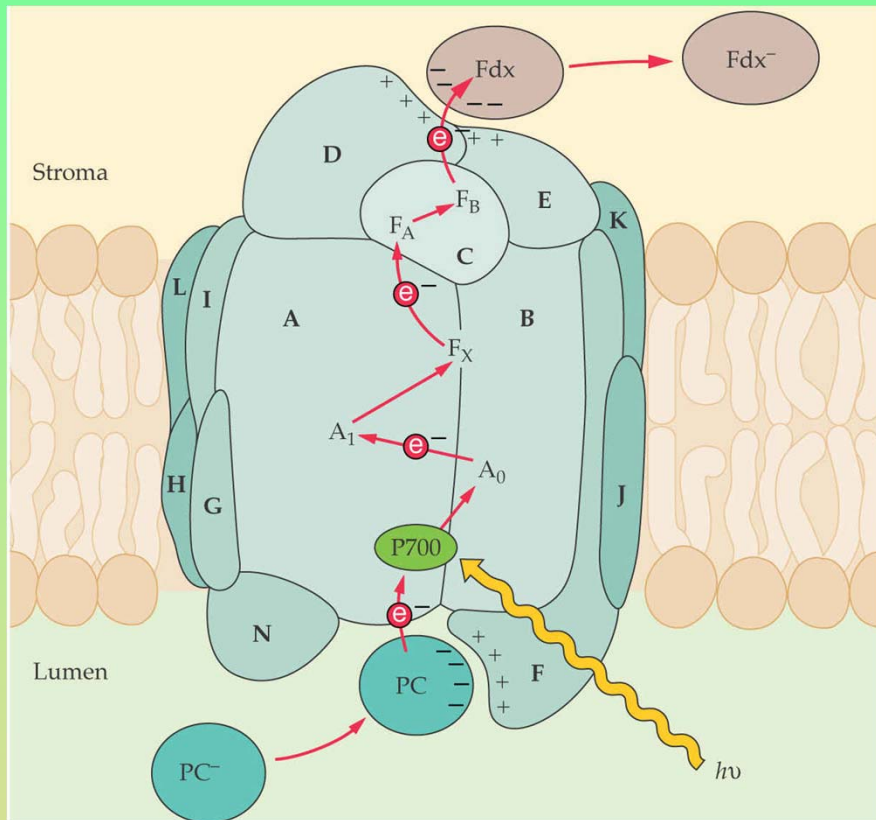


Fotosystém I



127 kofaktorů
97 chl
3 Fe_4S_4 centra
2 fylochinony
22 karotenoidy
4 lipidy

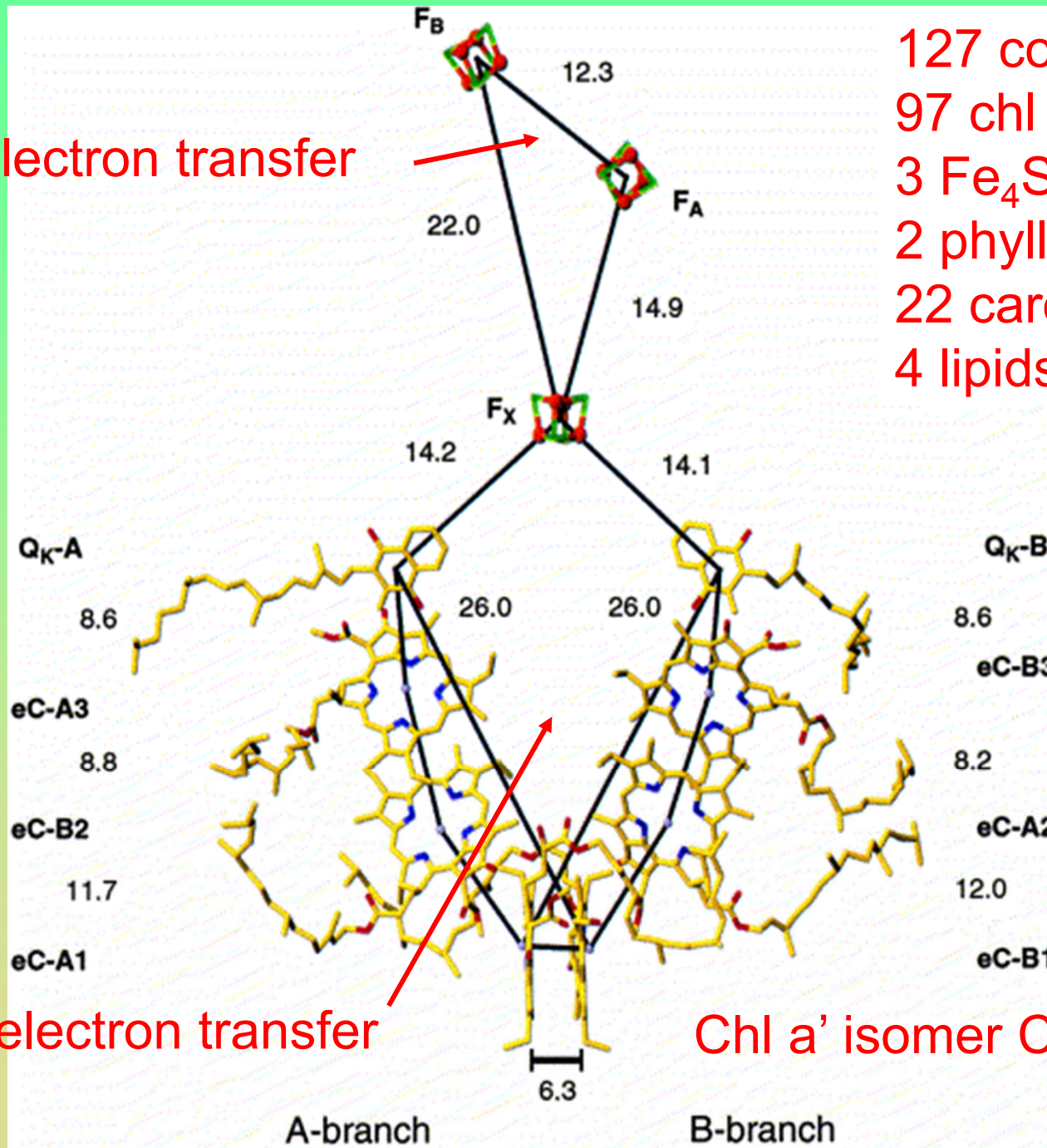
Fotosystém I



silný reduktant, slabý oxidant..

Uphill electron transfer

127 cofactors:
97 chl
3 Fe_4S_4 centers
2 phylloquinons
22 carotenoids
4 lipids



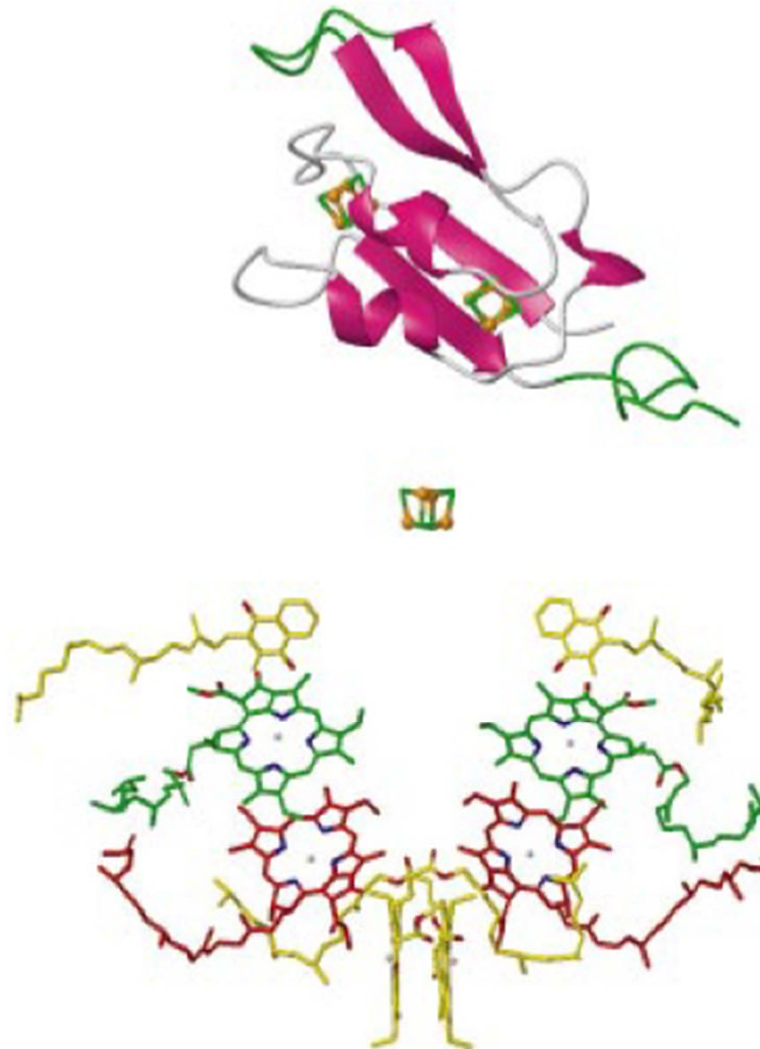
Parallel electron transfer

Chl a' isomer C13

Elektron-transportní řetězec fotosystému I: obě větve funkční (Jordan et al., Nature 2001)

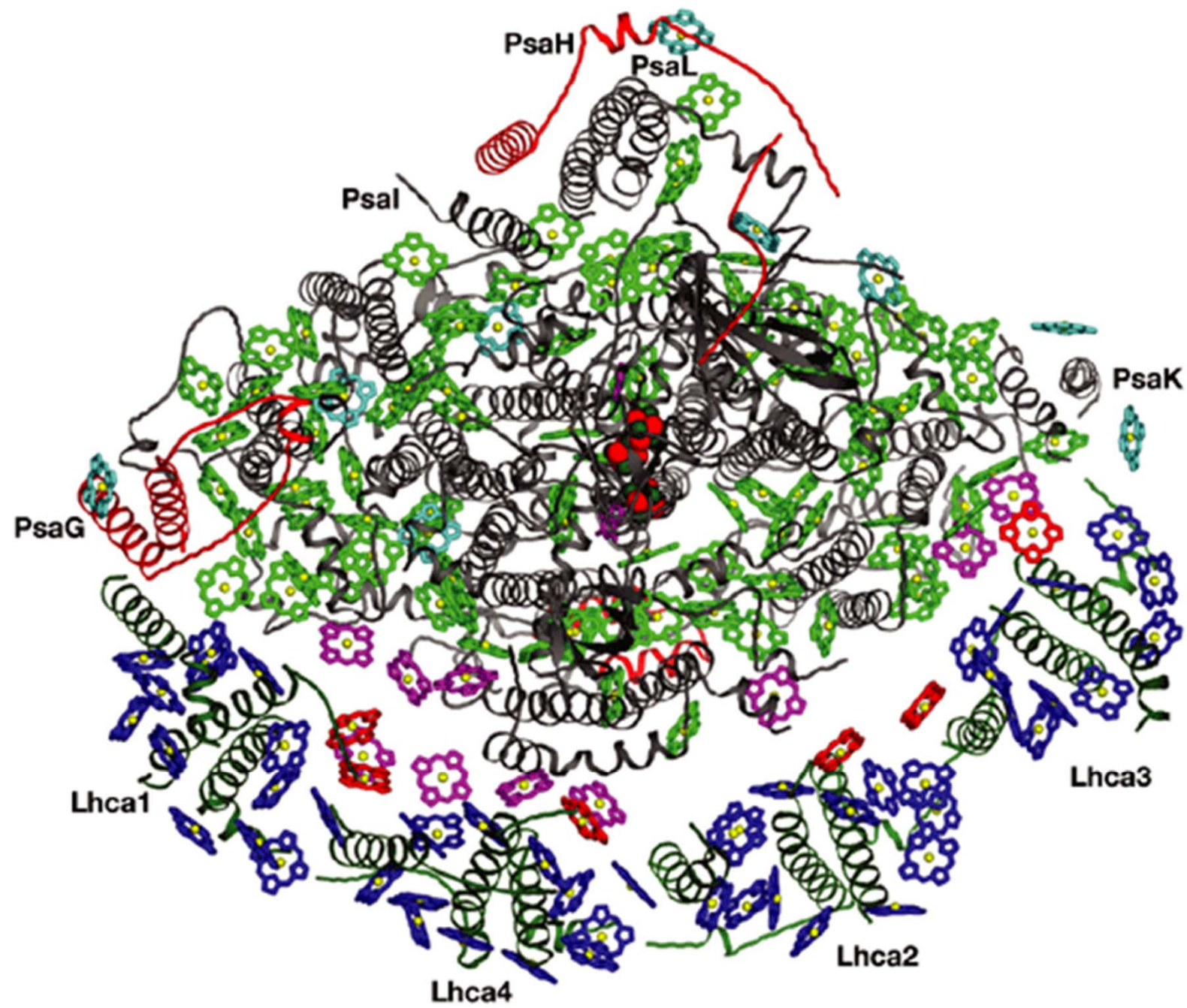
A_1
 A_0
P700

F_B
22.0
 F_X
14.2
 Q_K-A
8.6
 $eC-A3$
8.8
 $eC-B2$
11.7
 $eC-A1$

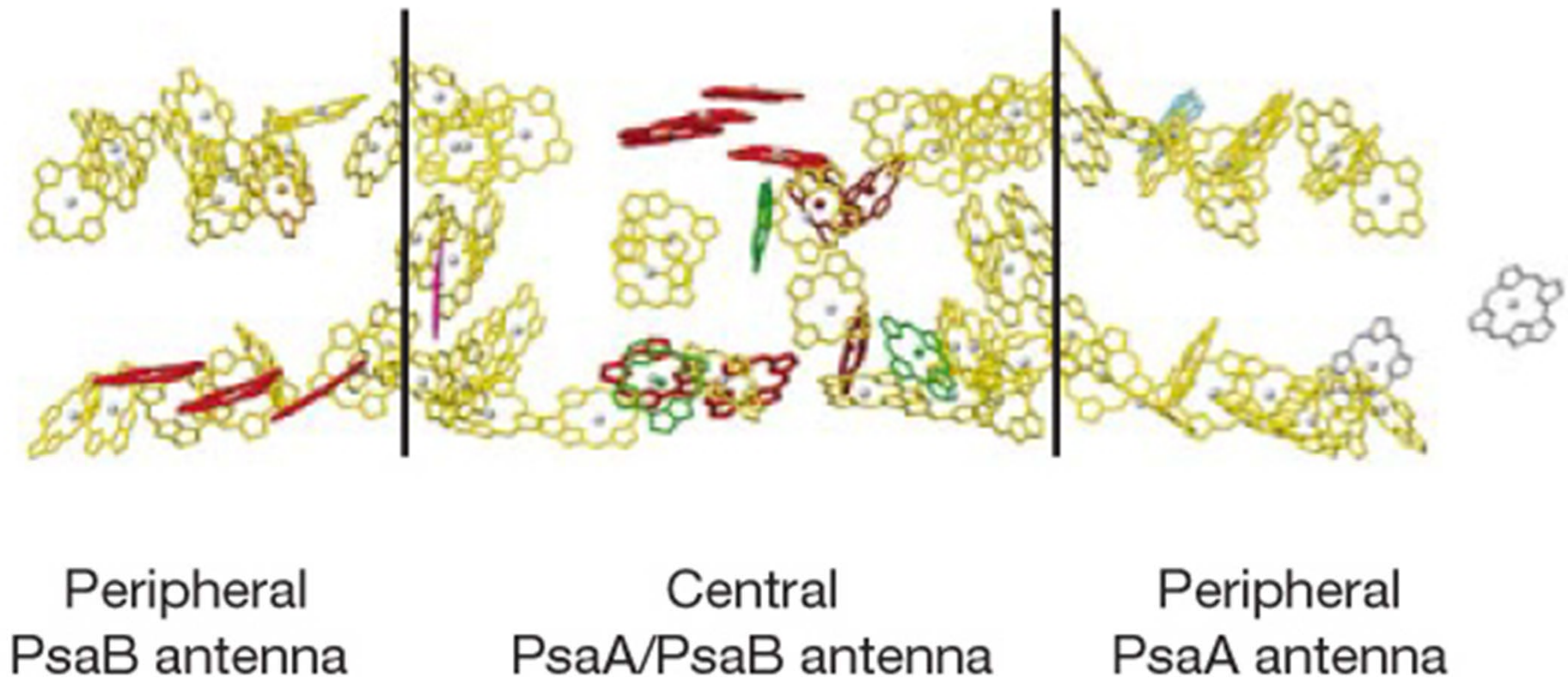


F_B
12.3
 F_A
14.9
 F_X
14.1
 Q_K-B
8.6
 $eC-B3$
8.2
 $eC-A2$
12.0
 $eC-B1$

A_1
 A_0
P700

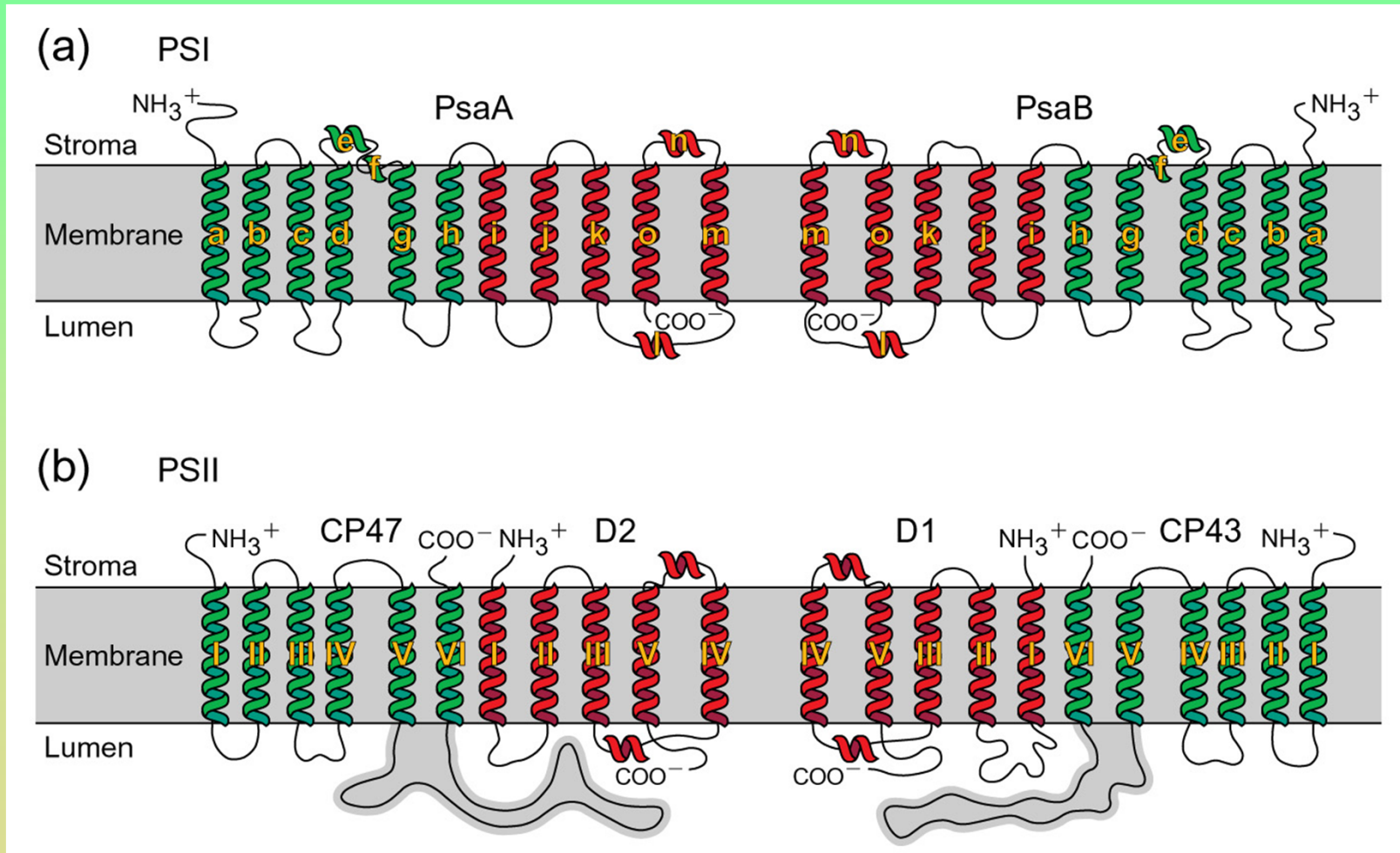


Uspořádání molekul chlorofylu v PSI:
na periferii dvě vrstvy pigmentů, v centrální části také
velký počet anténních molekul (25) plus pigmenty RC
P700 a A_0 (Jordan et al., Nature 2001)

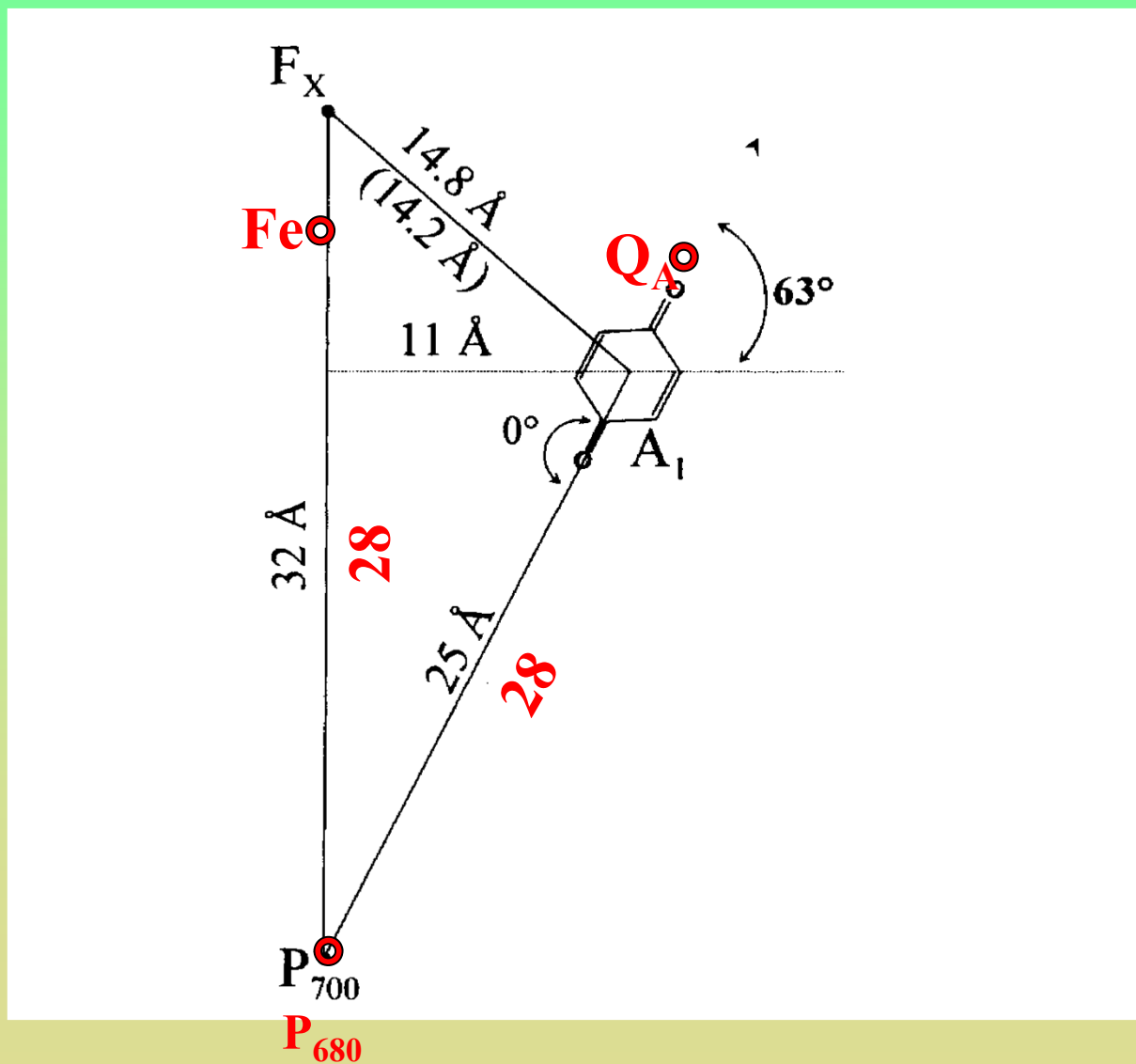


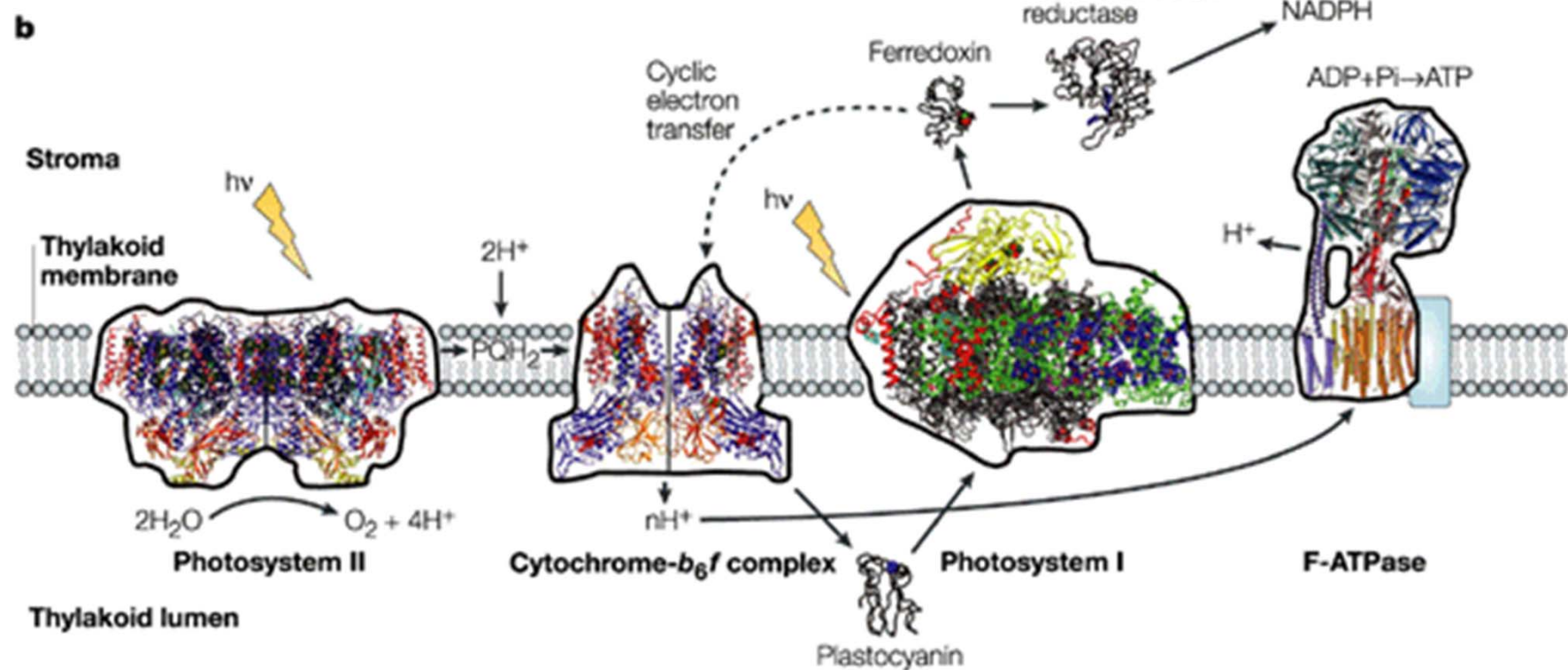
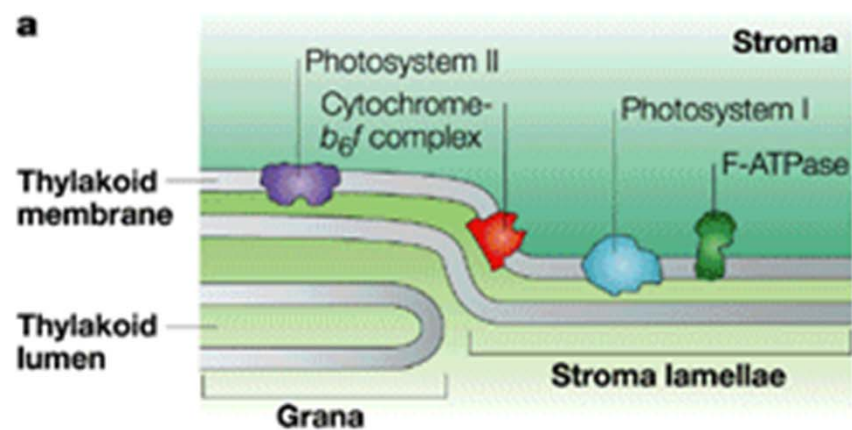
Proteiny fotosystému II

- velké membránové podjednotky PSII D1, D2, CP47 a CP43 lze získat hypotetickým rozštěpením obou velkých podjednotek fotosystému I PsaA a PsaB

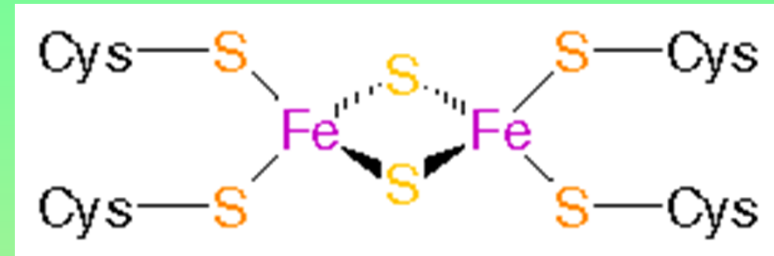
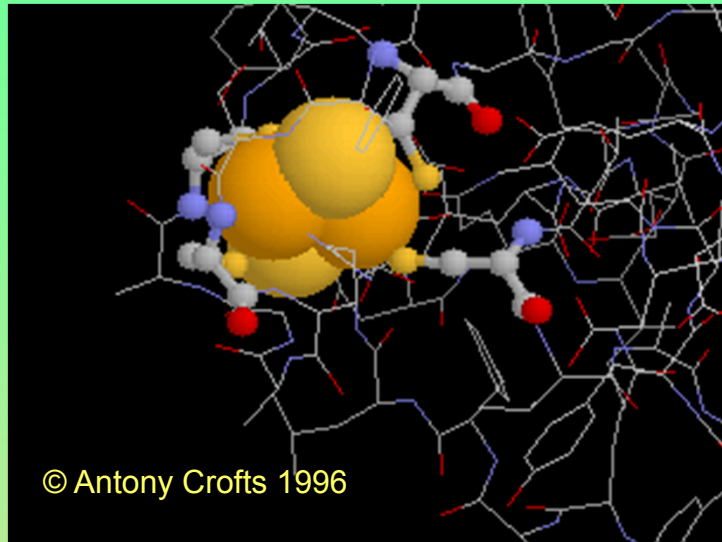


Location of primary acceptors in RCI and RCII



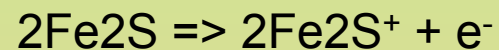


Ferredoxin



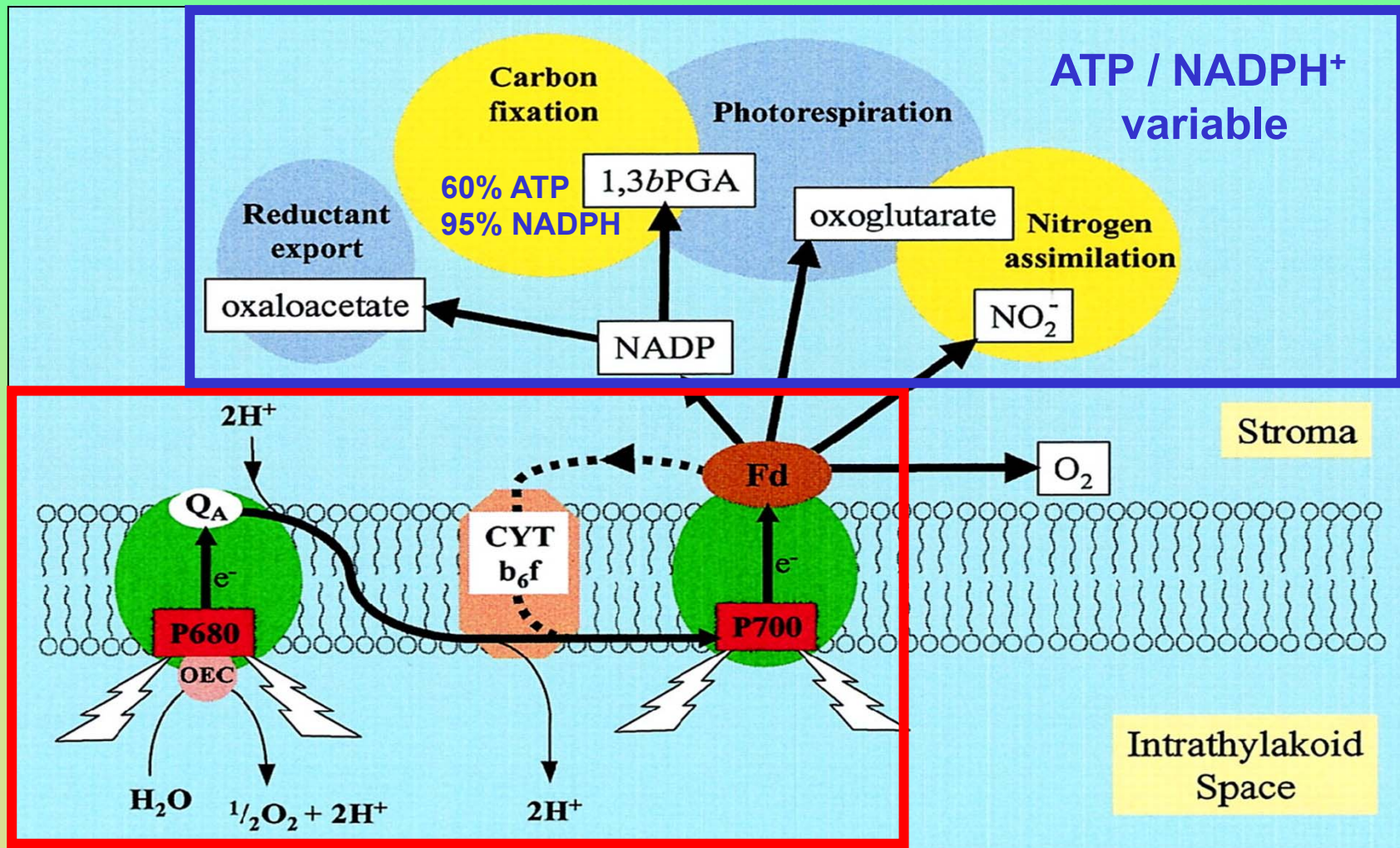
Plant like

2Fe.2S iron sulfur centers ferredoxin



Midpoint redox potential: $E_{\text{m, pH } 7} = -290 \text{ to } -400\text{mV}$

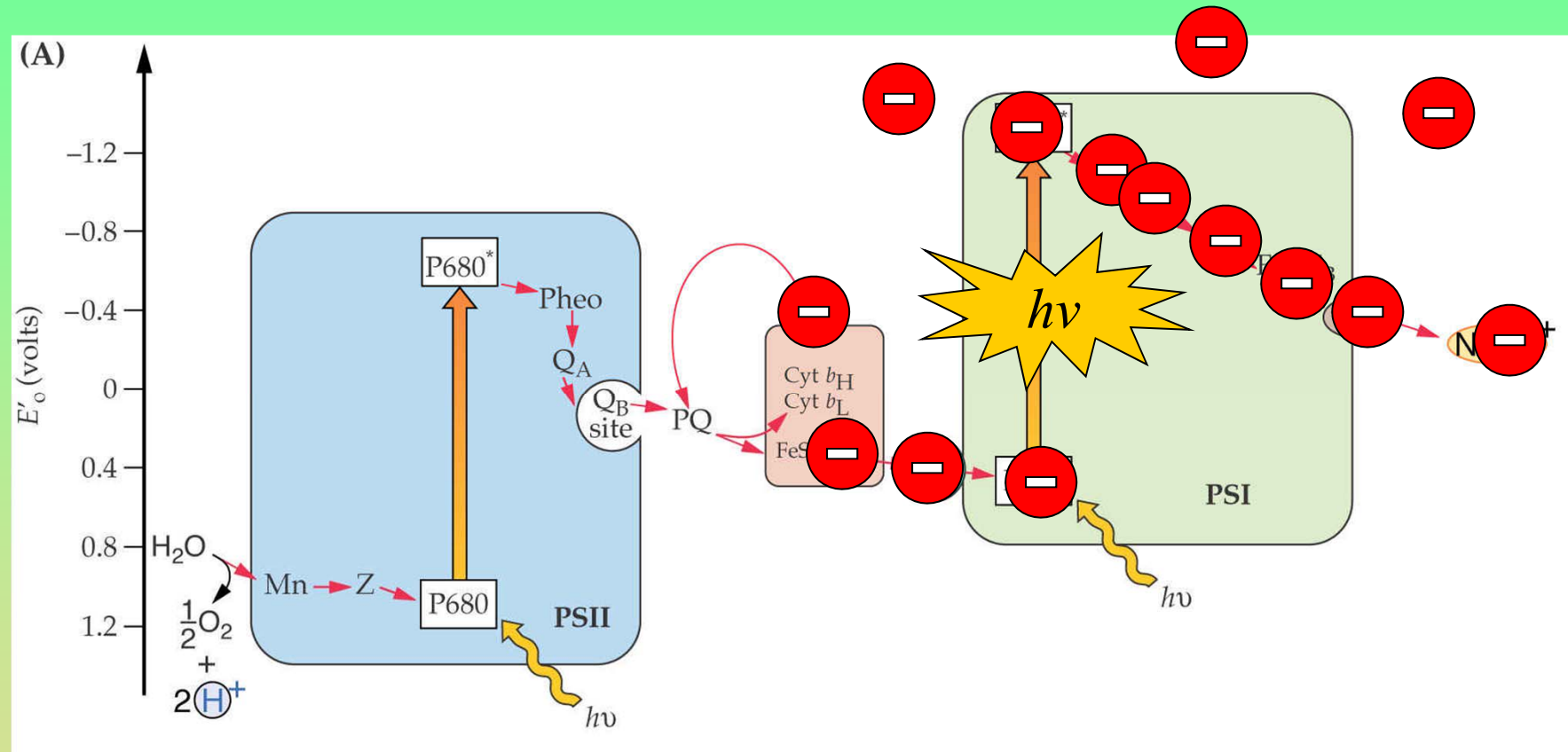
Multiple pathways for spending the photosynthetic currency



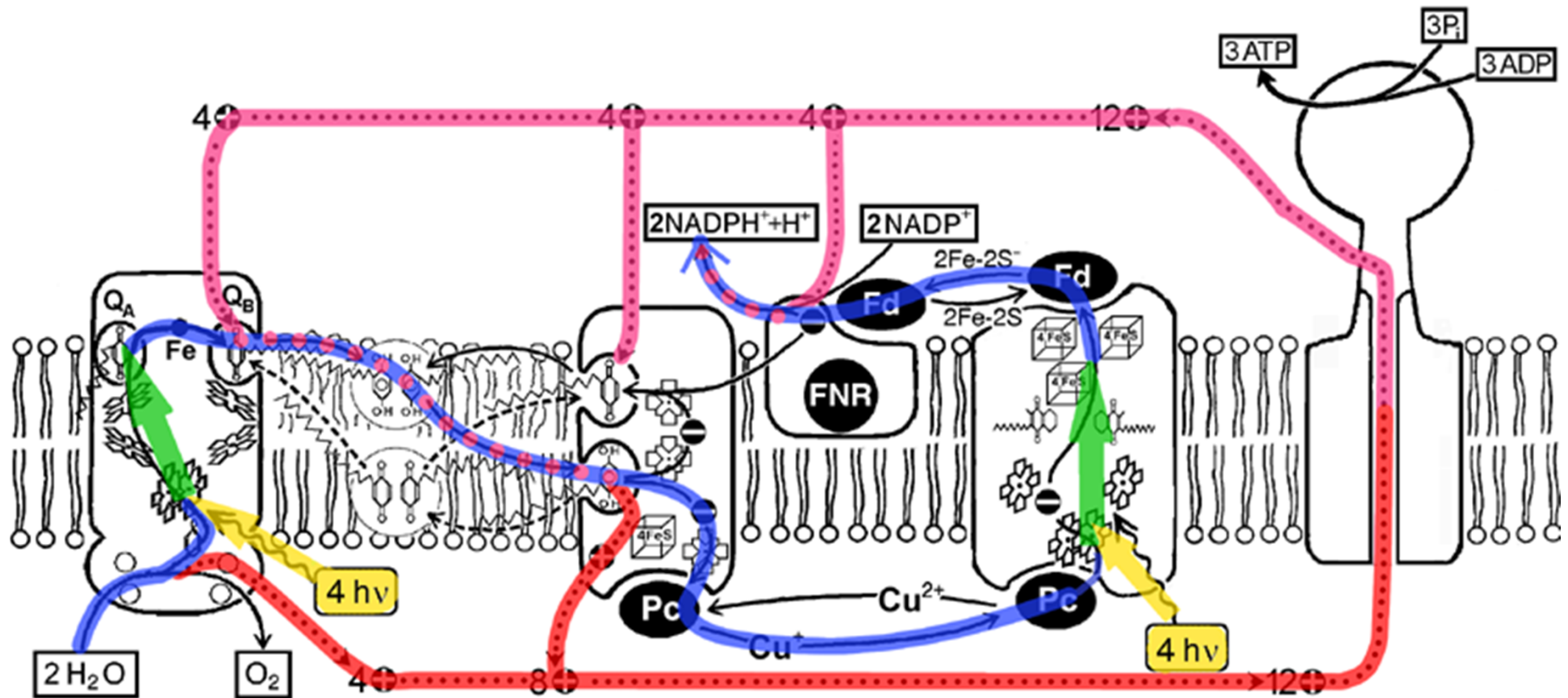
ATP / NADPH⁺ ~ 1.5

Noctor and Foyer 2000

Cyclic electron transport



$1 h\nu \rightarrow 0 e^-$



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

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

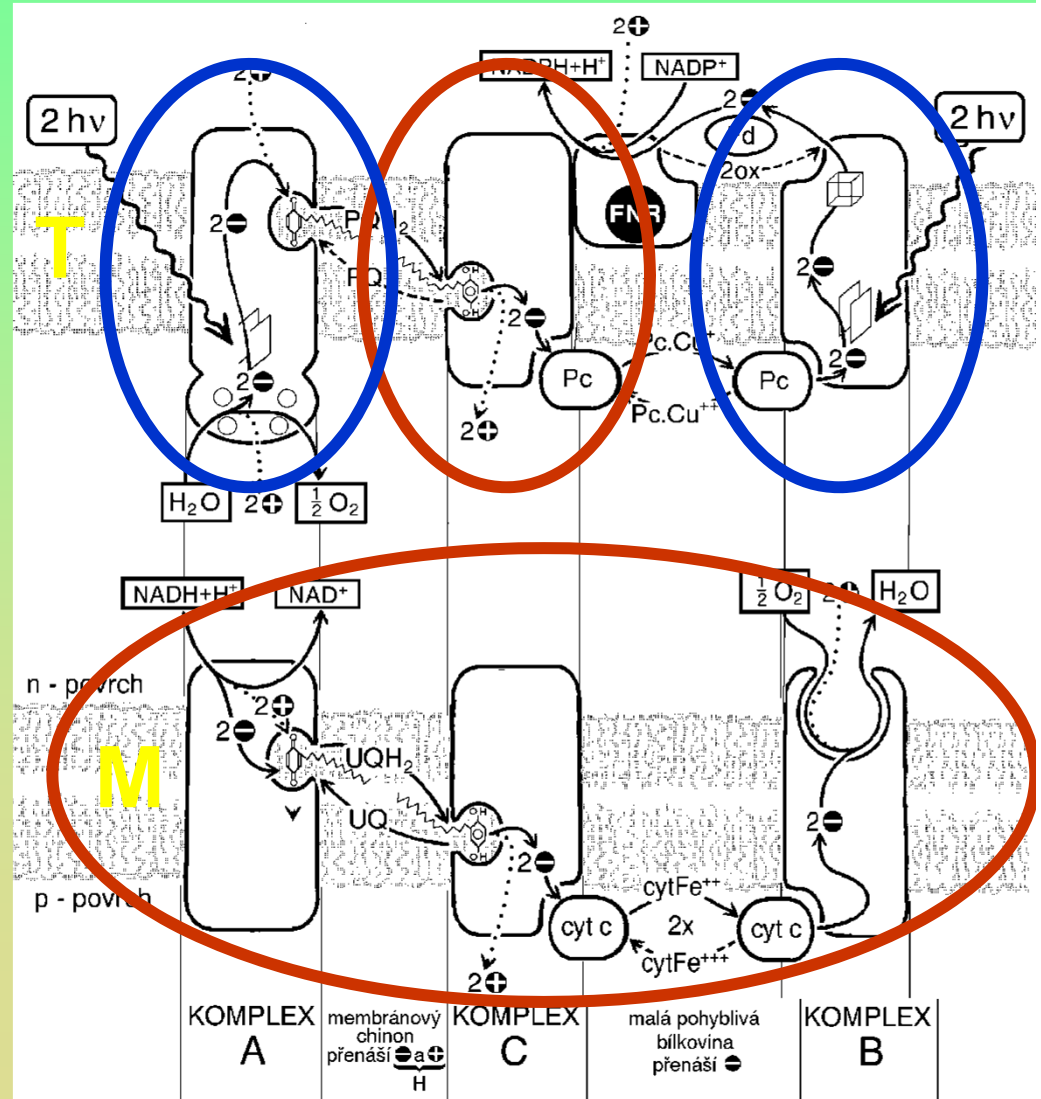
Energie anhydridové chemické vazby ATP

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

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

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

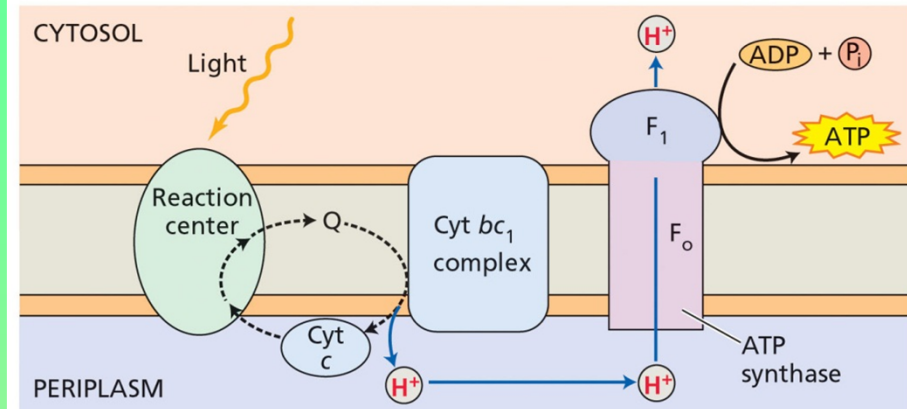
2. Generátory oxidačně redoxního potenciálu ΔE
 $h\nu \rightarrow \Delta E$



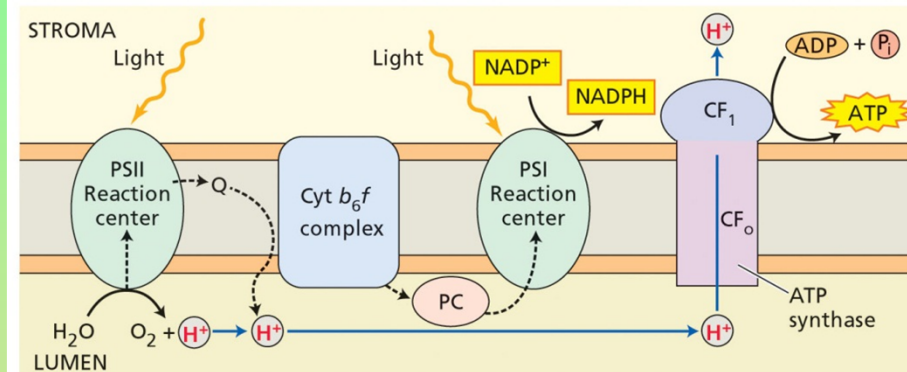
Podobnosti v uspořádání
fotosyntetických a
respiračních procesů

spřažení toku elektronů a
protonů

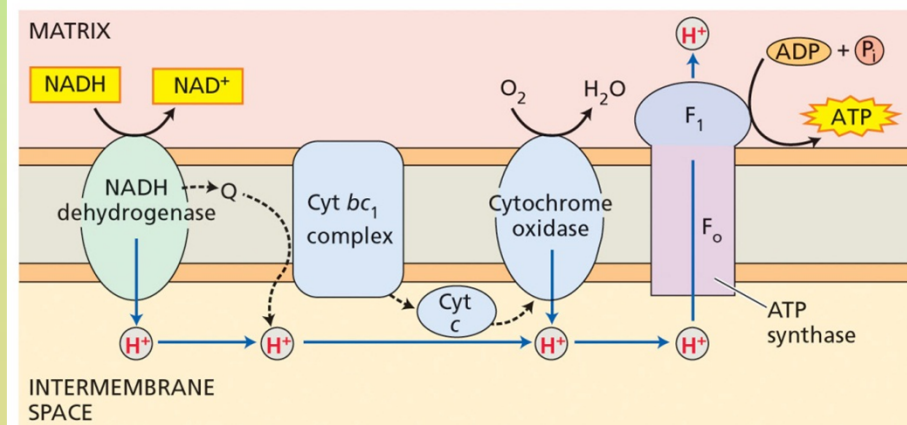
(A) Purple bacteria



(B) Chloroplasts



(C) Mitochondria





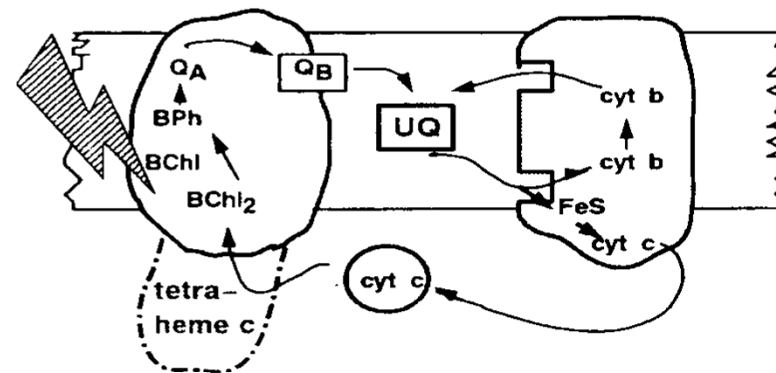
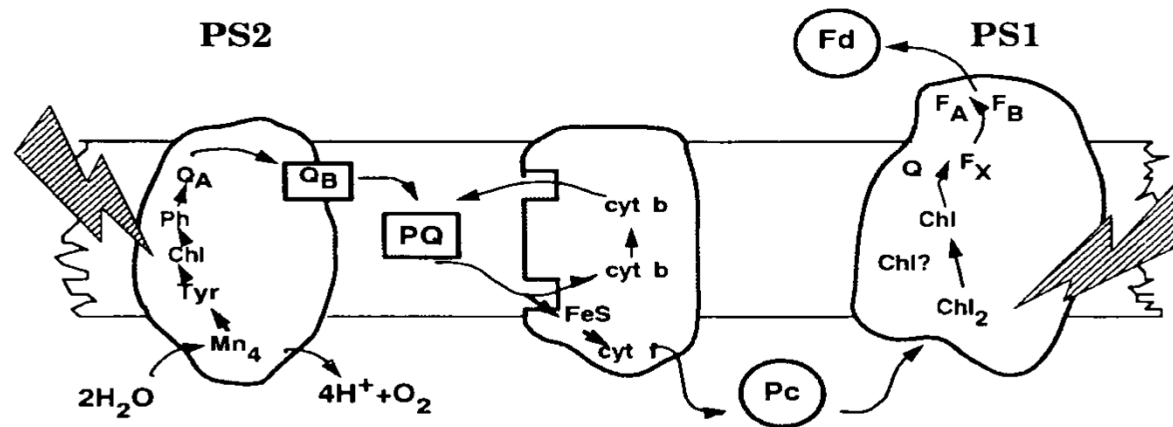
RC II

b/c/FeS

RC I

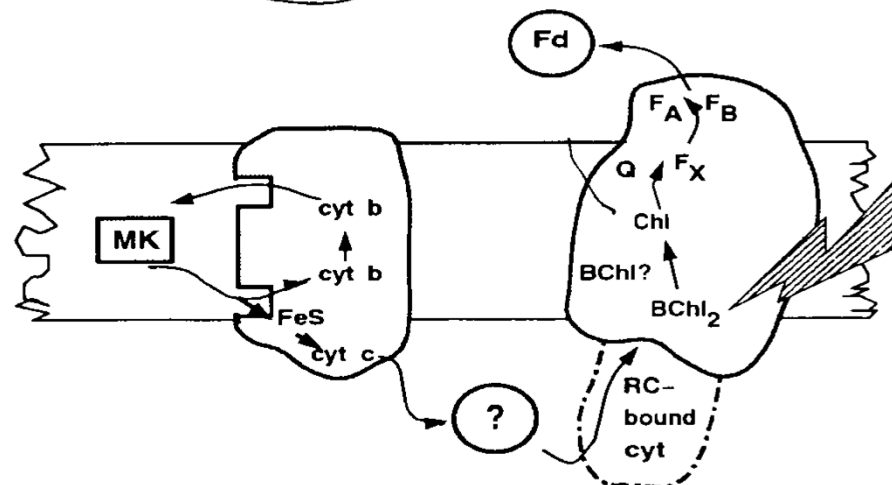
PS2

PS1

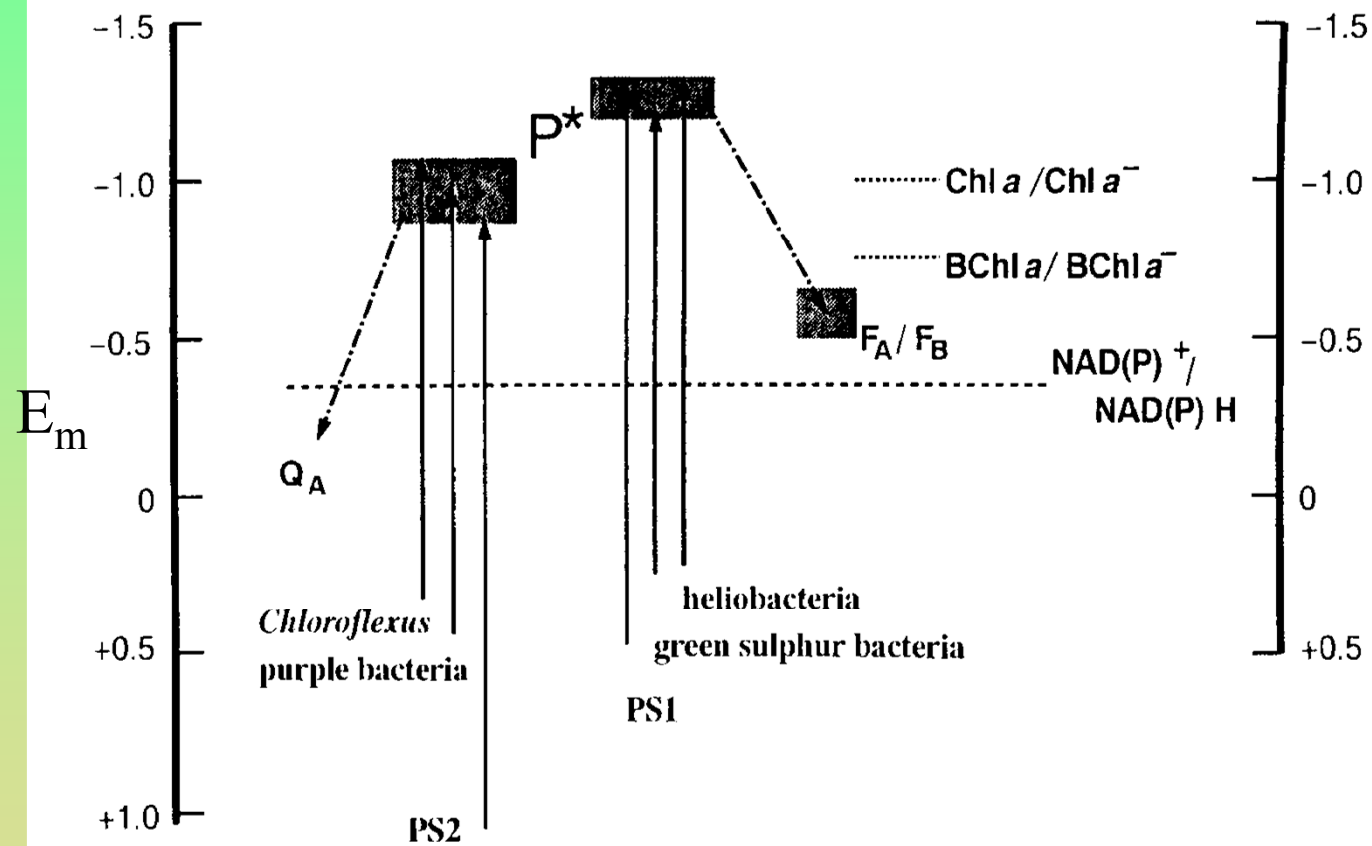


**Purple
Bacteria**

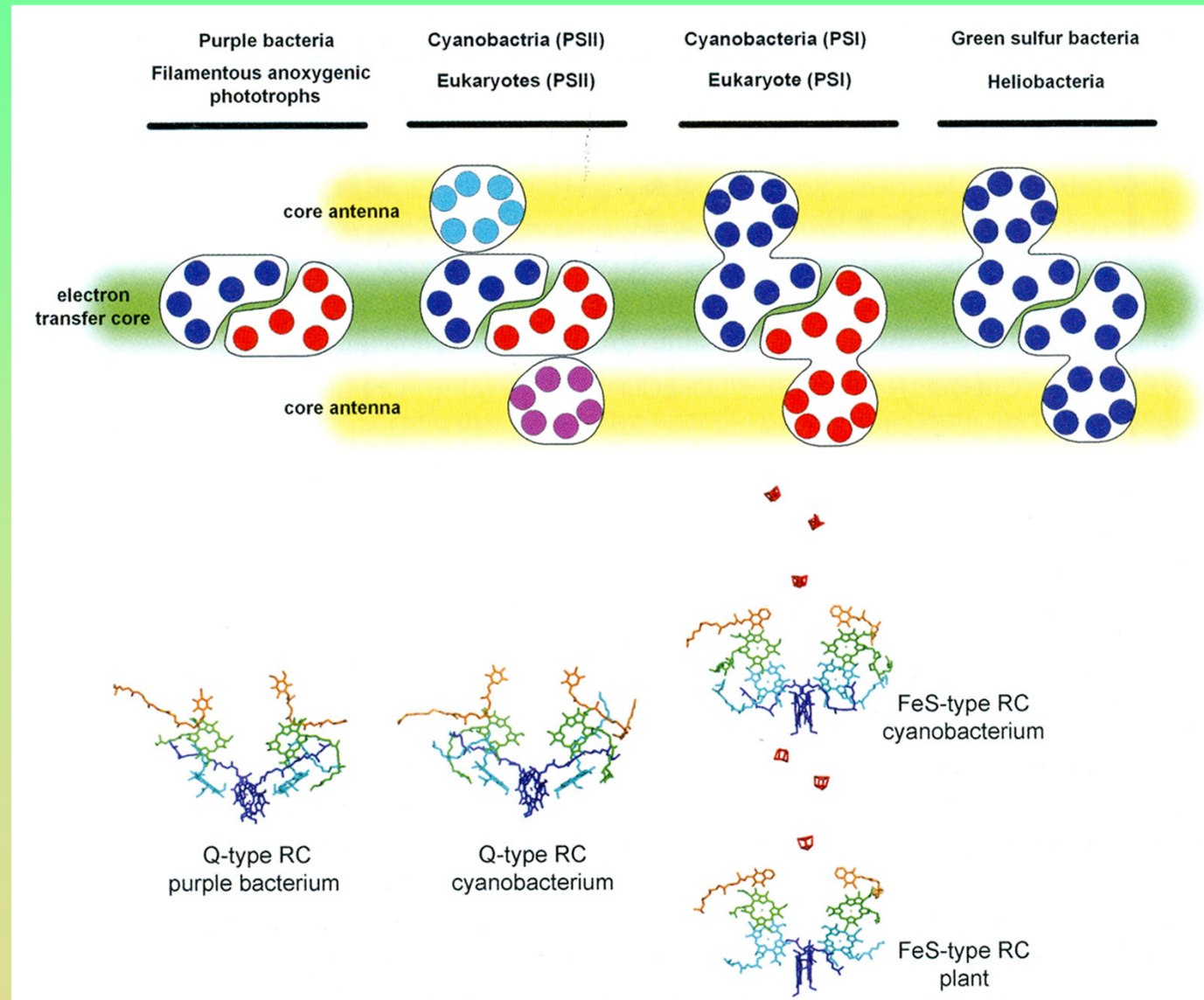
**Green
Sulfur
Helio-
bacteria**

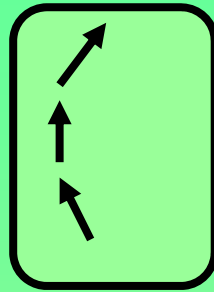


RC II RC I



Vztah mezi hlavními podjednotkami RC různých fotosyntetických RC naznačuje společného prapředka

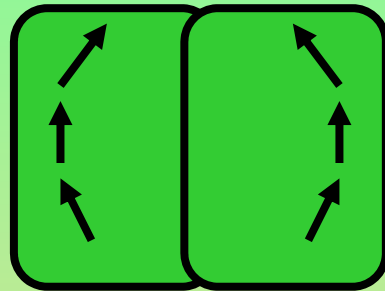




**Monomeric
Reaction
Center**



Evolutionary change



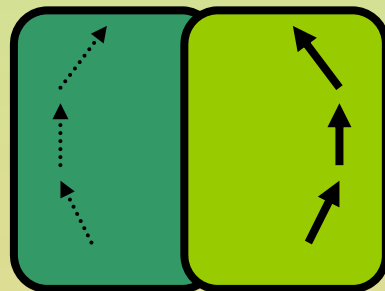
**Homodimeric
Reaction
Center**



Gene duplication



Divergence



**Heterodimeric
Reaction
Center**

RC II

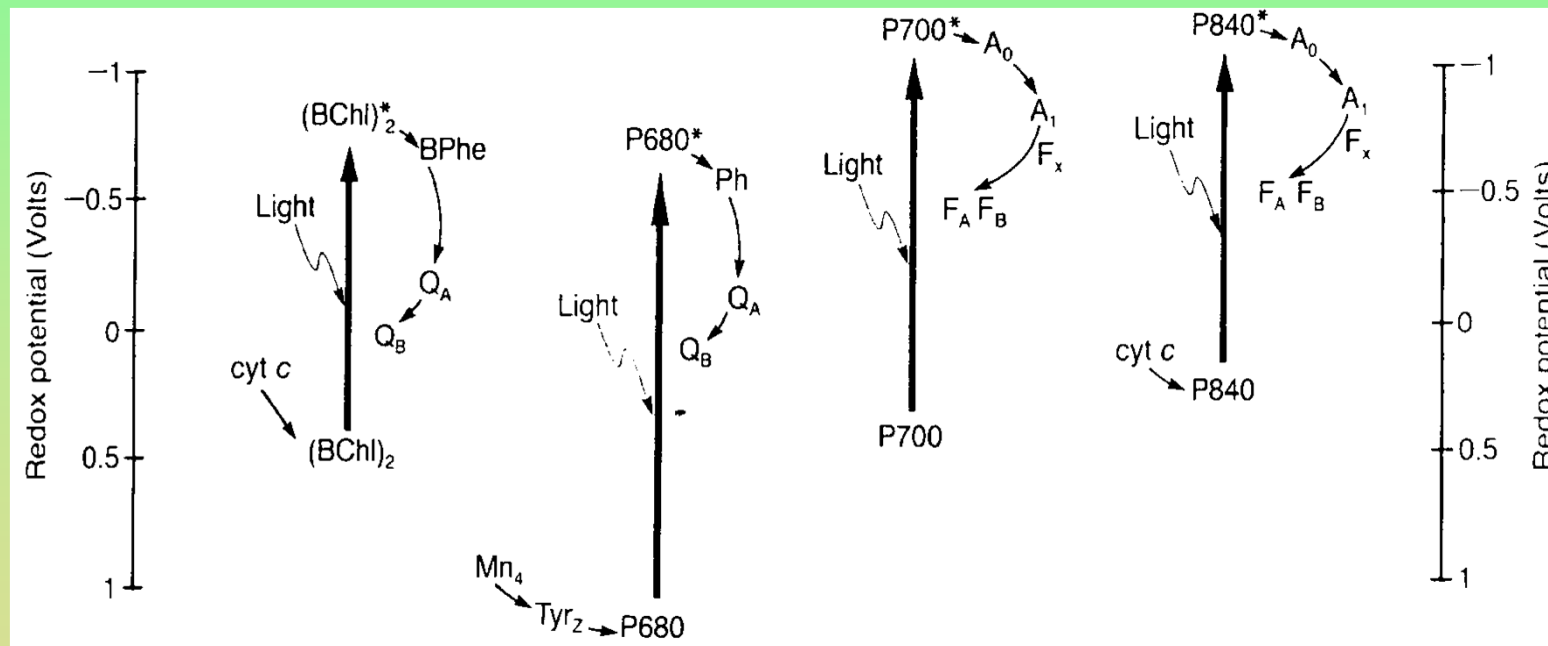
Purple bacteria

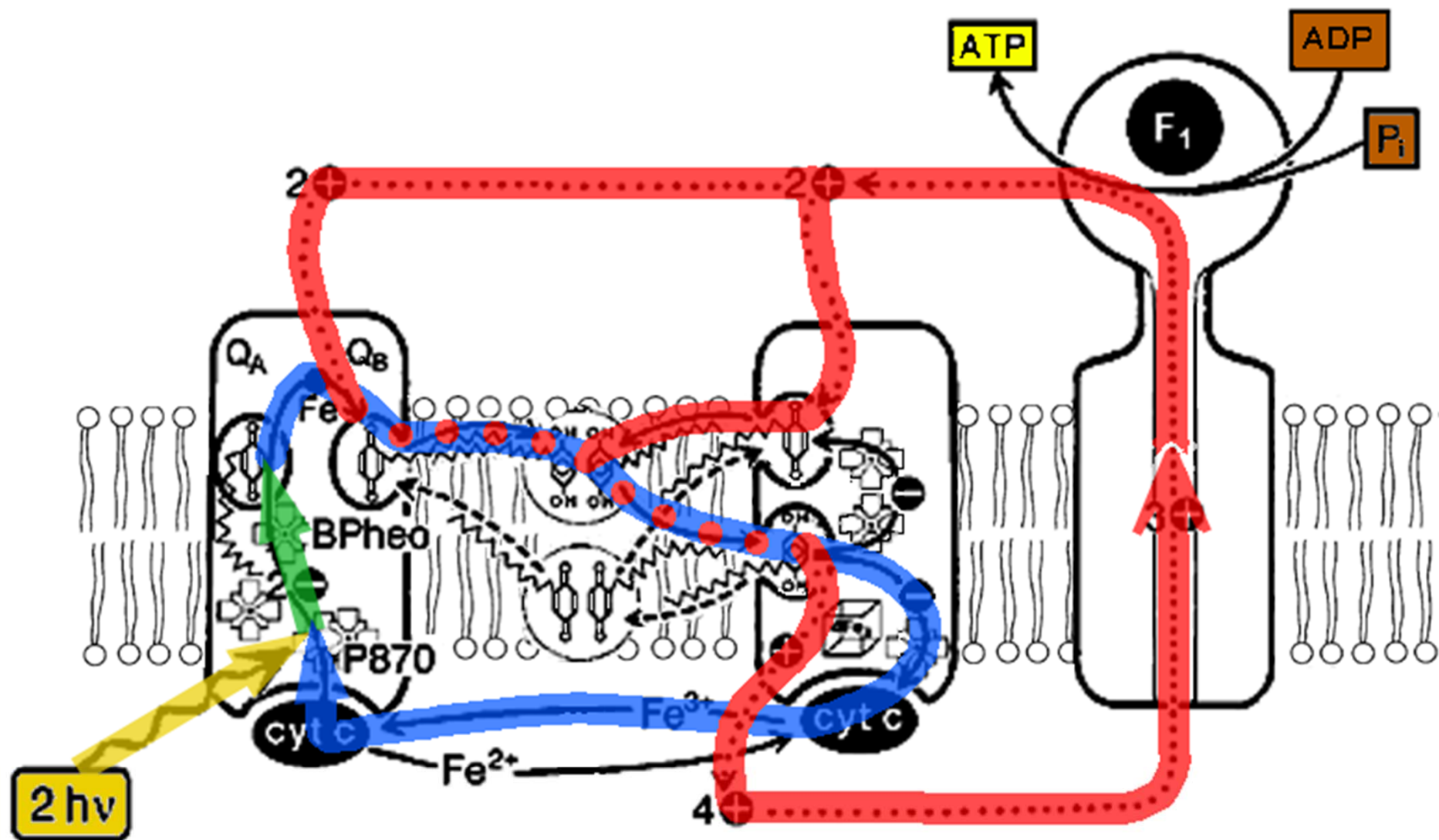
Photosystem II

RC I

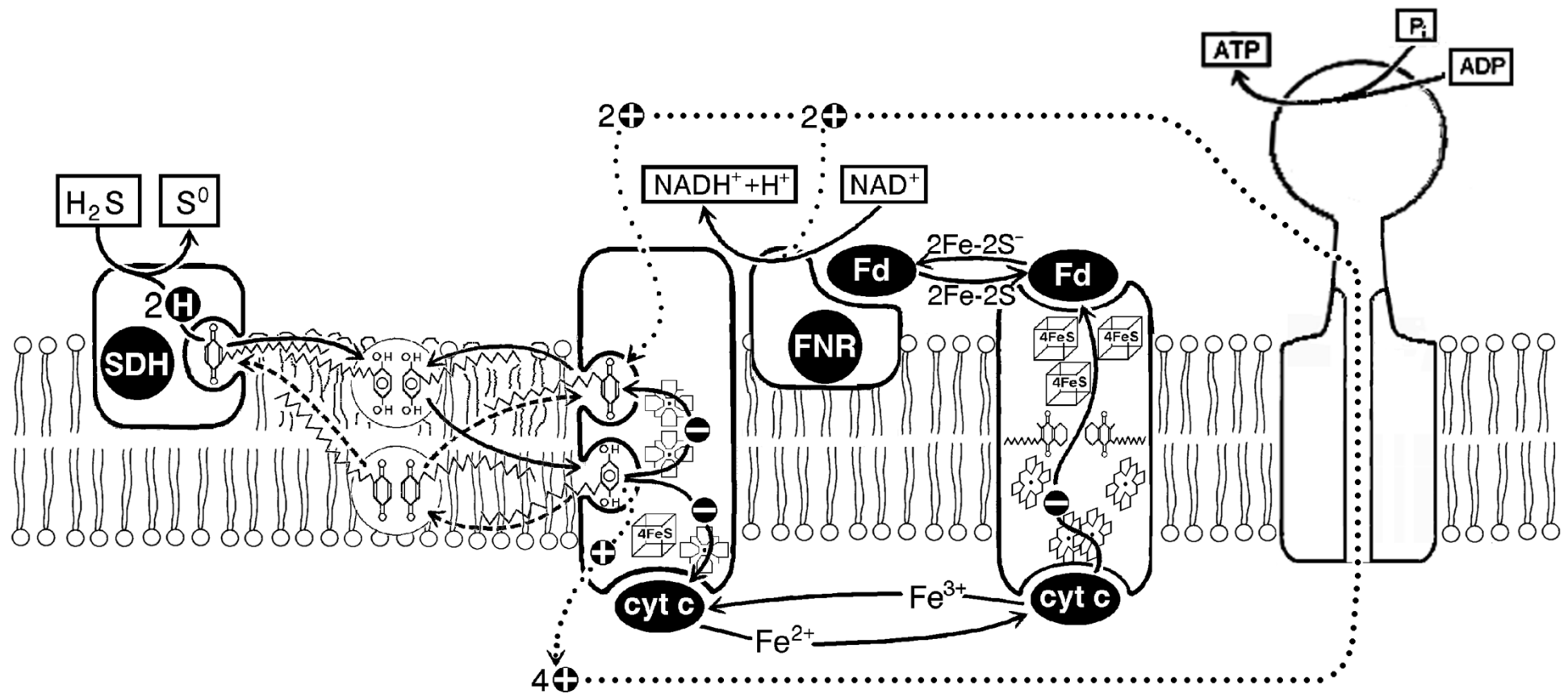
Photosystem I

Green sulfur bacteria





Purpurové bakterie



Zelené sirné bakterie

Konec