

Fotosyntéza.

Dýchání a fotosyntéza, struktura a funkce antén a reakčních center, energetika transportu elektronů a protonů.

Šárka Gregorová, 2013

Poznámka: protože se tyto dvě státnicové otázky z velké části překrývají, zpracovala jsem je dohromady. První část se týká fotosyntézy, buněčné dýchání je zařazené na konci.

Úvod

Fotosyntéza je proces, při němž živé organismy získávají světelnou energii ze slunce a uchovávají ji ve formě chemické energie, kterou dále používají jako pohon svých buněčných procesů.

Kromě obvyklé fotosyntézy založené na redoxních reakcích (tzv. e-fotosyntéza, o které bude celý tento text) existuje i fotosyntéza založená na *cis/trans* konformačních změnách (p-fotosyntéza), která nevyužívá chlorofyly, ale bakteriorhodopsin. Tento typ fotosyntézy provozuje několik druhů z domény *Archaea* a některé bakterie z kmene *Proteobacteria*.

Vznik a vývoj fotosyntetických organismů

Země vznikla -4,6 mld let, do přibližně -4 mld let byla bombardovaná natolik, že je uchování života prakticky vyloučeno. V hornině 3,8 mld let staré bylo nalezeno více izotopu ¹²C než kolik je v neživé přírodě – důkaz života (???, mohlo vzniknout nebiologickými procesy!). -3,5 mld let – útvary zvané stromatolity (obrázek 1), které v dnešním světě vytvářejí sinice, důkaz fotosyntetizujícího života (???). V 2,5 mld let starých horninách byly nalezeny organické látky, které se nacházejí pouze v sinicích (biomarkery sinic) – definitivní důkaz přítomnosti sinic. Od přibližně -2,5 mld let začíná růst koncentrace kyslíku v atmosféře a naopak klesá obsah CO₂, viz obrázek 2.

Nejstarší biomarkery eukaryot byly nalezeny v horninách starých 2,7 mld let, přibližně 2,1 mld let jsou staré nejstarší mikrofosílie fotosyntetizujících eukaryot, endosymbióza chloroplastů tedy musela proběhnout dříve. Všechny chloroplasty pravděpodobně mají společného předka příbuzného sinicím. Mnoho druhů řas (eukaryota) vzniklo sekundární endosymbiózou (tj. endosymbiózou s organismem, který už jednu endosymbiózu prodělal).

Reakční centra fotosyntetického aparátu mají pravděpodobně všechna jednoho společného předka, zatímco antény vznikly několikrát nezávisle na sobě.

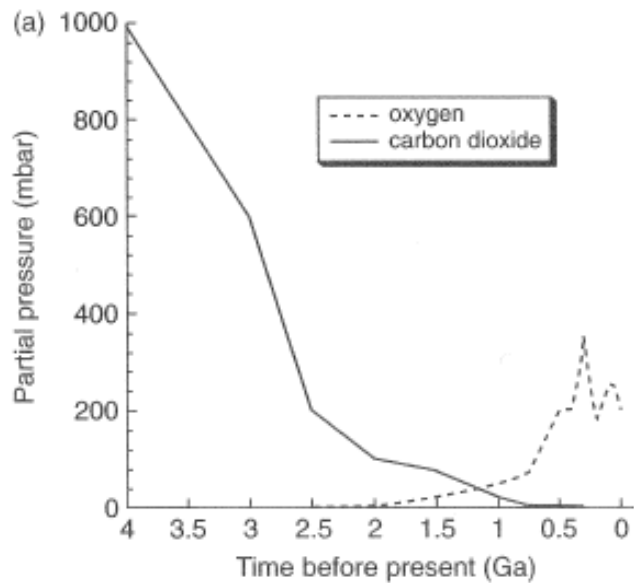
Fotosyntetické organismy

V doméně *bacteria* jsou fotosyntetické organismy zastoupeny v kmenech *Firmicutes*, *Proteobacteria* (z nich skupina zvaná purpurové bakterie), *Chlorobi* (zelené sírné bakterie), *Chloroflexi* (zelené nesírné bakterie), *Cyanobacteria* (sinice) a *Acidobacteria*. Z nich pouze sinice při fotosyntéze vyvíjejí kyslík a mají oba fotosystémy.

V doméně *eukarya* fotosyntetizují příslušníci říše rostlin (ta zahrnuje i řasy).



Obrázek 1: Stromatolit



Obrázek 2: Vývoj koncentrace O₂ a CO₂ v atmosféře

Některá důležitá třídění organismů

Na základě užívaného zdroj energie:

- **fototrof** – světlo,
- **chemotrof** – chemická energie
 - **chemoorganotrof** – zdrojem energie jsou organické látky
 - **chemolithotrof** – zdrojem energie jsou anorganické látky

Na základě zdroje uhlíku:

- **autotrof** – stačí mu pouze CO₂ jako jediný zdroj C,
- **heterotrof** – zdrojem uhlíku mu jsou organické látky.

Tyto pojmy lze kombinovat (např. chemolithoheterotrof) a mohou být buď fakultativní (může si vybrat) nebo obligátní (musí).

Podle toho, zda je schopen růst za přítomnosti kyslíku:

- **aerob** – je,
- **anaerob** – není.

Další důležitý pojem je **(an)oxygenní** fotosyntéza – při ní je (není) vyvíjen kyslík.

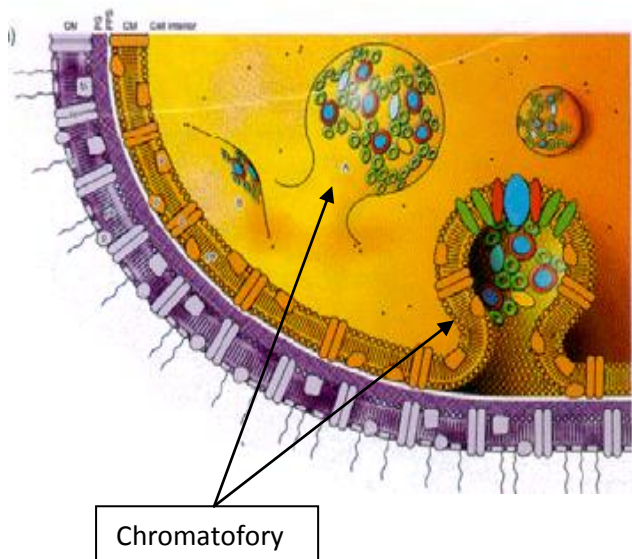
Fotosyntetický aparát

U prokaryot (kromě sinic) probíhá fotosyntéza na cytoplasmatické membráně, která je různě zprohýbaná do měchýčků zvaných **chromatofory**, viz obrázek 3.

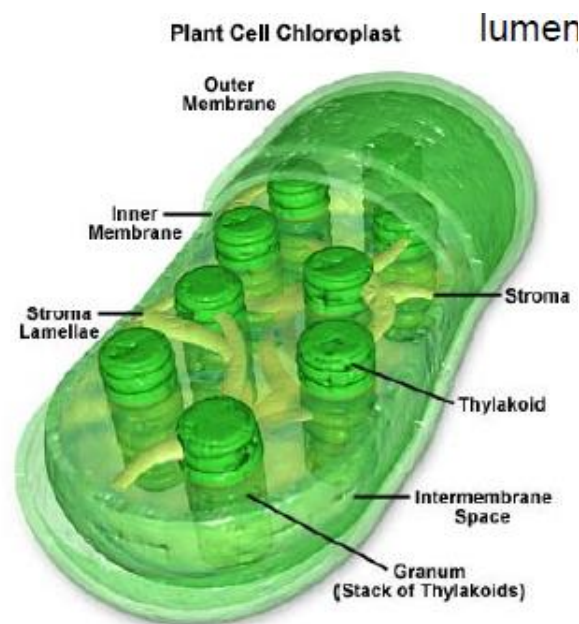
Sinice mají pod cytoplasmatickou membránou ještě další tzv. **thylakoidní membránu/y**, na které/ých probíhá fotosyntéza.

U eukaryot probíhá fotosyntéza v **chloroplastech** (viz obrázek 4), které vznikly z endosymbiotických fotosyntetizujících bakterií příbuzných dnešním sinicím. Chloroplasty mají vlastní cirkulární chromosom a proteosyntetický aparát, ale většina genů pro proteiny chloroplastů je obsažena v jaderné DNA (cca 80 proteinů kódovaných v chloroplastu proti cca 3000-5000 genům pro chloroplastové proteiny kódovaným v jádře).

Chloroplasty mají na povrchu **dvě membrány** a uvnitř ve **stromatu** další membránový systém, který tvoří tzv. **thylakoidy**. Ty se skládají do sloupečků zvaných **grana**, pospojovaných tzv. **lamelami**. Vnitřek tylakoidu se nazývá **lumen**.



Obrázek 3: schéma prokaryotního fotosyntetického aparátu



Obrázek 4: schéma chloroplastu

Celkový průběh fotosyntézy

Foton je absorbován **fotosyntetickým pigmentem** ve **světlosběrné anténě** fotosystému. Excitace je přenesena do **reakčního centra** na speciální pigmentový **dimer**. Ten se v excitovaném stavu stává **redukčním činidlem** (má záporný redoxní potenciál) a odevzdává elektron **primárnímu akceptoru**. Dále je elektron rychle předáván na další akceptory, aby došlo k **separaci náboje** a nedocházelo k zpětné výměně elektronu mezi primárním akceptorem a dimerem, což by nakonec vedlo pouze ke vzniku tepla. Elektron je předáván v kaskádě mezi jednotlivými látkami a přitom jsou přenášeny H^+ ionty přes thylakoidní (eukaryota a sinice) resp. cytoplasmatickou (ostatní prokaryota) membránu do lumenu resp. do periplasmy. Konečným příjemcem elektronu může být buď opět dimer reakčního centra (**cyklická fotosyntéza**) nebo jiný příjemce (**necyklická fotosyntéza**), pak je třeba dimer redukovat jiným zdrojem elektronů. U eukaryot a sinic je konečným příjemcem elektronů $NADP^+$, vzniká z něj $NADPH$.

Rozdíl koncentrace protonů na opačných stranách membrány je pomocí enzymu **ATP syntázy** využit k tvorbě ATP. Toto ATP a případně i vzniklé $NADPH$ je využito ke tvorbě organických látek ze vzdušného CO_2 v tzv. **Calvinově cyklu**.

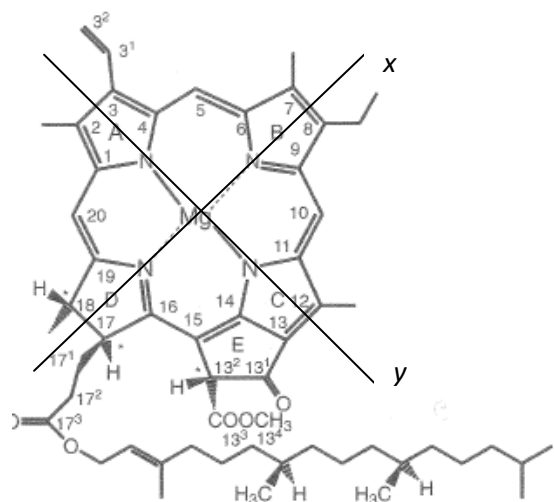
Fotosyntetické pigmenty

Jsou součástí světlosběrných antén (absorpce fotonů a přenos excitační energie), reakčního centra (separace náboje, přenos elektronu) a dále mají ochranné a strukturální funkce. Jejich absorpční spektra závisí na okolí, lze je „ladit“ proteiny, které je obklopují.

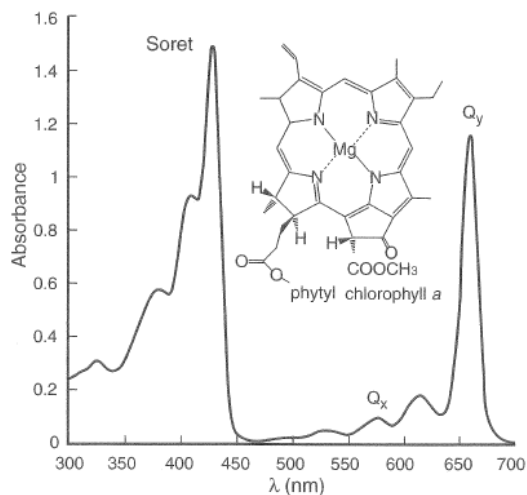
Chlorofyly a bakteriochlorofyly (Chl a BChl)

Jsou odvozeny od tetrapyrrolového kruhu (tj. porfinu), který má přidaný pátý kruh, na sobě navěšené různé substituenty a uprostřed je Mg^{2+} . Ztratí-li Mg^{2+} , nazývají se

(bakterio)feofytin. Kruh D a případně i B má oproti porfinu redukovanou dvojnou vazbu. Přes esterovou vazbu substituentu na kruhu D je připojen dlouhý nepolární „fytolový ocásek“ (phytol tail). Chlorofyl existuje v typech *a-d*, bakteriochlorofyl v typech *a-g*. Struktura chlorofylu *a* včetně značení kruhů a standardního značení os je na obrázku 5 a jeho absorpční spektrum na obrázku 6. Pás Q_x resp. Q_y odpovídá přechodu s dipólovým momentem přechodu ve směru osy *x* resp. *y*, Soretův pás odpovídá několika přechodům. Všechny pásy odpovídají $\pi-\pi^*$ přechodům.



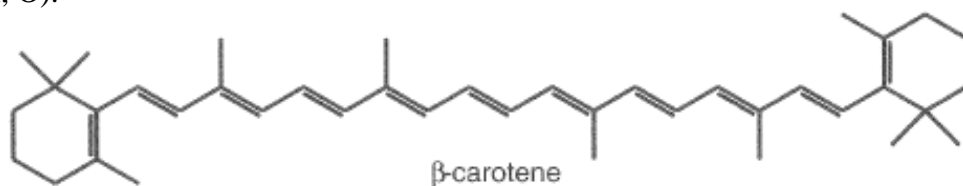
Obrázek 5: Chlorofyl *a*



Obrázek 6: Absorpční spektrum chlorofylu *a*

Karotenoidy

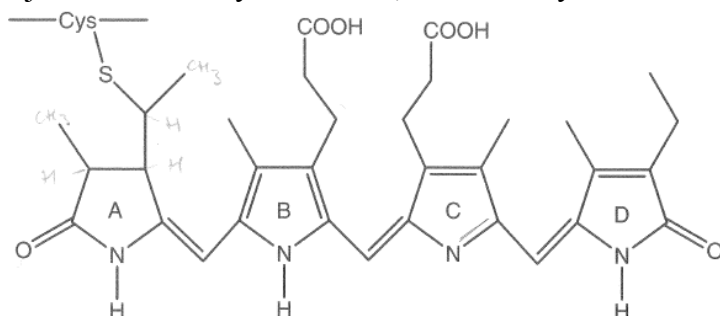
Karotenoidy mají kromě úlohy absorbovat světlo hlavně strukturní (tvoří „kostru“ pigment-proteinových komplexů) a ochrannou úlohu (zhašení tripletního stavu chlorofylů a singletního kyslíku). Absorbují přibližně v oblasti 400 až 550 nm, kde chlorofyly neabsorbují. Jejich struktura je tvořena několika jednotkami izoprenu (2-metylbut-2-en), které mají na konci často připojenou nějakou další skupinu. Existuje jich mnoho druhů a mohou mít *all-trans* nebo *cis* konfiguraci. Dělí se na karoteny (obsahují pouze C a H atomy) a xantofyly (atomy C, H, O).



Obrázek 7: Betakaroten

Fykobiliny

Jejich základem je bilin, tj. nocyklický tetrapyrrol. Absorbují v oblasti 550 – 650 nm a jsou zejména součástí fykobilisomů, světlosběrných antén sinic a červených řas.



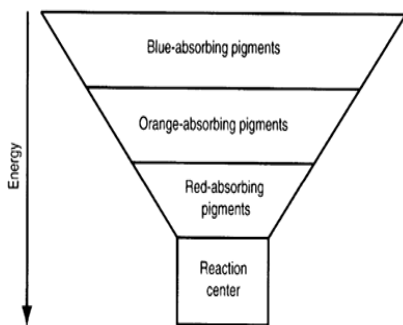
Obrázek 8: Fykocyanobilin

Světlosběrné antény

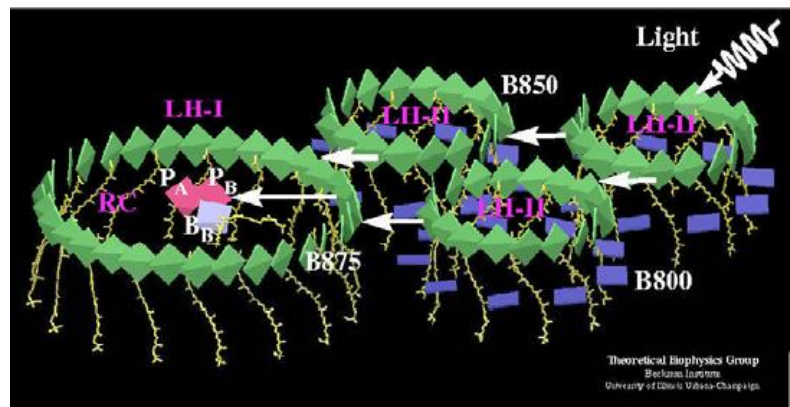
Jsou to pigment-proteinové komplexy, jejichž úlohou je zvýšit efektivitu dodávání excitační energie do reakčního centra. Samotné reakční centrum bez antén by zhruba 99% času pasivně čekalo na foton a jen 1% času provozovalo fotochemii. To by obrazně odpovídalo situaci, kdy složité a drahé tovární zařízení 99% času nečinně stojí a čeká na dodávku levné základní suroviny. Systém antén proto dodává reakčnímu centru excitace, takže může provádět fotochemii mnohem častěji. Antény jsou uspořádány tak, že pigmenty s vyšší energií excitace jsou dále od reakčního centra (RC). Když se excitace předává z jednoho pigmentu na druhý, pravděpodobněji půjde po energetickém spádu, a bude se tedy pohybovat spíše k RC než od něj („**princip trychtýře**“). To ale neznamená, že excitace nemůže přecházet proti směru energetického spádu odebráním části tepelné energie, pravděpodobnost je ale menší. Část energie fotonu je tedy ztracena ve prospěch usměrnění pohybu excitace.

Dělení antén:

- **Periferní** – neprocházejí membránou: fykobilisomy, chlorosomy
- **Membránové** – procházejí membránou, jsou v ní ukotveny
 - **Neoddělitelné od RC** – například RC fotosystému 1
 - **Vlastní antény RC** – pevně spojeny s RC, to ale může fungovat i bez nich: LH1
 - **Přídavné** – LH2, LHC I, LHC II
- **LH 1** je anténa purpurových bakterií, která obsahuje kruh z chlorofylů B875 (to znamená, že mají absorpční maximum na vlnové délce 875 nm) a uprostřed je RC.
- **LH 2** je též anténa purpurových bakterií, jejíž součástí jsou dva kruhy z chlorofylů B800 a B850.



Obrázek 9: „Princip trychtýře“



Obrázek 10: Uspořádání chlorofylů (zelené, modrofialové a růžové čtverce) v anténách LH1 a LH2. Růžové jsou v reakčním centru.

- **Fykobilisomy** jsou antény sinic a červených řas, obsahují tzv. biliproteiny, tedy proteiny s kovalentně vázanými fykobiliny. Přemisťují se mezi fotosystémem 1 a 2 podle toho, kde se zrovna nedostává excitační energie.
- **Chlorosomy** jsou antény bakterií kmenů *Chlorobi*, *Chloroflexi* a *Acidobacteria*. Od ostatních antén se liší tím, že se nejedná o pigment-proteinové komplexy, nýbrž jsou tvořeny převážně samoorganizujícími se agregáty bakteriochlorofylu a karotenoidů. Jsou velmi efektivní a umožňují fotosyntézu i v hloubkách 100 m pod hladinou, kde je intenzita světla 10^6 x nižší než na povrchu.

- **LHC II** je přídavná anténa fotosystému (FS) 1 nebo 2 u vyšších rostlin. U nich je FS 1 umístěn v lamelách tylakoidu a FS 2 v granech. Nestíhá-li FS 1 odebrat elektrony od FS 2, je LHC II fosforylována a přemísťuje se (možná pouze vlivem elektrostatických sil, možná je ot regulovaná i jinak) z gran do lamel k FS 1. Až 50% chlorofylů světa je obsaženo v anténách LHC II.
- **LHC I** je vlastní anténa rostlin, je obdobná LHC II.

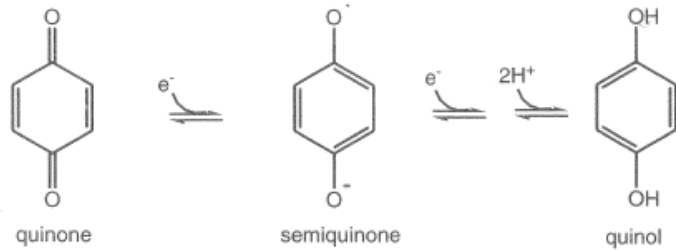
Reakční centra

Reakční centra jsou pigment-proteinové komplexy, v nichž je speciální dimer (bakterio)chlorofylů excitován buď zachycením fotonu anebo přenosem excitace z antén, excitovaný se stává redukčním činidlem a odevzdává elektron akceptorové molekule. Dělení:

- **Podle typu přenašečů elektronu**
 - **Typ 1:** Fe-S přenašeče, např. fotosystém 1 (FS1)
 - **Typ 2:** přenašeči jsou chinony, např. fotosystém 2 (FS2)
- **Podle toho, zda může excitace uniknout zpět ze speciálního dimeru do antén**
 - **Hluboká past** – RC vždy zhasí excitaci, (téměř) nikdy není přenesena zpět, například fotosystém purpurových bakterií
 - **Mělká past** – z RC může excitace několikrát uniknout zpět do antény, FS1
 - **Extrémně mělká past** – i po separaci náboje může dojít k zpětné rekombinaci a přenesení excitace do antény, FS2
- **Podle limitace přenosu excitační energie na separaci náboje**
 - **Diffusion limited** – limitující je přenos excitace mezi jednotlivými pigmenty v anténě, týká se periferních antén, např. fykobilisomů
 - **Transfer-to-trap limited** – pro hlubokou past, limitující je přenos excitace na RC
 - **Trap limited** – pro mělkou a extrémně mělkou past, limitující je schopnost RC udržet si excitaci

RC typu 2:

RC purpurových bakterií je integrální součástí antény LH1 a jedná se o hlubokou past. Jedná se o heterodimer, s pravděpodobností 100:1 přenosu elektronu po jedné části dimeru (k čemu to je, se neví, ale většina RC jsou heterodimerní). Speciální pár je tvořen BChl a (870 nm) nebo BChl b (960 nm). Elektron je z dimeru předáván přes jiný BChl na bakteriofeofytin (3 ps), poté je přenesen na Q_A (vzniklo z *quencher*, tedy zhasič, ale naštěstí se chemicky jedná o chinon neboli *quinone*) (200 ps), takže z něj vzniká semichinon a dále na Q_B (50 μs). Ten je v semichinonové formě relativně stabilní a čeká, než je na něj díky druhé excitaci přenesen další elektron, vzniká tak chinol (viz obrázek 11.) Poté je chinol uvolněn a putuje membránou k cytochromu bc_1 . Jeho místo nahradí jiný chinon. Q_B tedy funguje jako převodník mezi jednofotonovým procesem absorpce a dvouelektronovými procesy dále. Při redukci chinonu na chinol jsou odebrány dva protony z cytoplasmy (resp. v případě FS2 eukaryot, který je podobný, ze stromatu). Typem chinonu je ubiquinon.



Obrázek 11: Přeměna chinonu na chinol

Fotosystém 2 je fotosystém typu 2 eukaryot a sinic, obsahuje tzv. *oxygen evolving complex* (OEC), který je schopný oxidovat vodu. Jádru RC je heterodimer, tvoří ho D_1 a D_2 protein, přičemž protože je silným oxidačním činidlem, lze ho špatně chránit karotenoidy před singletním kyslíkem (vytrhával by z nich elektrony) a tudíž je často ničen (výměna D_1 , po kterém převážně reakce běží, min. 2x za hodinu). Dimer obsahuje pár chlorofylů a P680. Dále elektron běží podobně jako u RC purpurových bakterií, použité chinony jsou v tomto případě plastochinony a místo cytochromu bc_1 je cytochrom b_6f . OEC obsahuje klastr čtyř manganů, který pracuje jako převodník mezi jednoelektronovým procesem redukce $P680^+$ a čtyřelektronovým procesem oxidace vody podle rovnice $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$. Mn klastr obsahuje též atomy O, Cl a Ca a předává elektron tyrosinu Y_Z na OEC a ten ho předává $P680^+$.

RC typu 1:

Fotosystém 1 obsahuje dimer P700 chlorofylu a , který je v excitovaném stavu silným redukčním činidlem, takže ve výsledku (přes kaskádu) redukuje $NADP^+$ na NADPH. Jedná se opět o heterodimer, ale průchod e^- je stejně pravděpodobný oběma větvemi. Primárním akceptorem je taky chlorofyl a , dalšími akceptory jsou chinon a tři FeS klastry, které předávají elektron na protein ferredoxin a dále je redukováno $NADP^+$. Elektron je na $P700^+$ dodáván cytochromem c nebo plastocyaninem a při necyklické fotosyntéze pochází z FS2.

Fotosystém siriých bakterií a helicobakterií je podobný FS1, jedná se však o homodimer (unikát mezi fotosystémy).

Elektronová kaskáda

Elektron je předáván mezi jednotlivými přenašeči a energie, která je při tom uvolňována, je využita na přenášení protonů přes membránu thylakoidu do lumenu. Tvoří se tak gradient pH. Systém je na konci třeba uvést do původního stavu, tedy redukovat excitovaný dimer⁺. To lze udělat buď cyklicky, kdy se elektron po průchodu kaskádou mezi přenašeči vrátí zpět svému původci, tedy dimeru RC, anebo necyklicky, kdy je dimer redukován jiným zdrojem elektronů, viz obrázek 12.

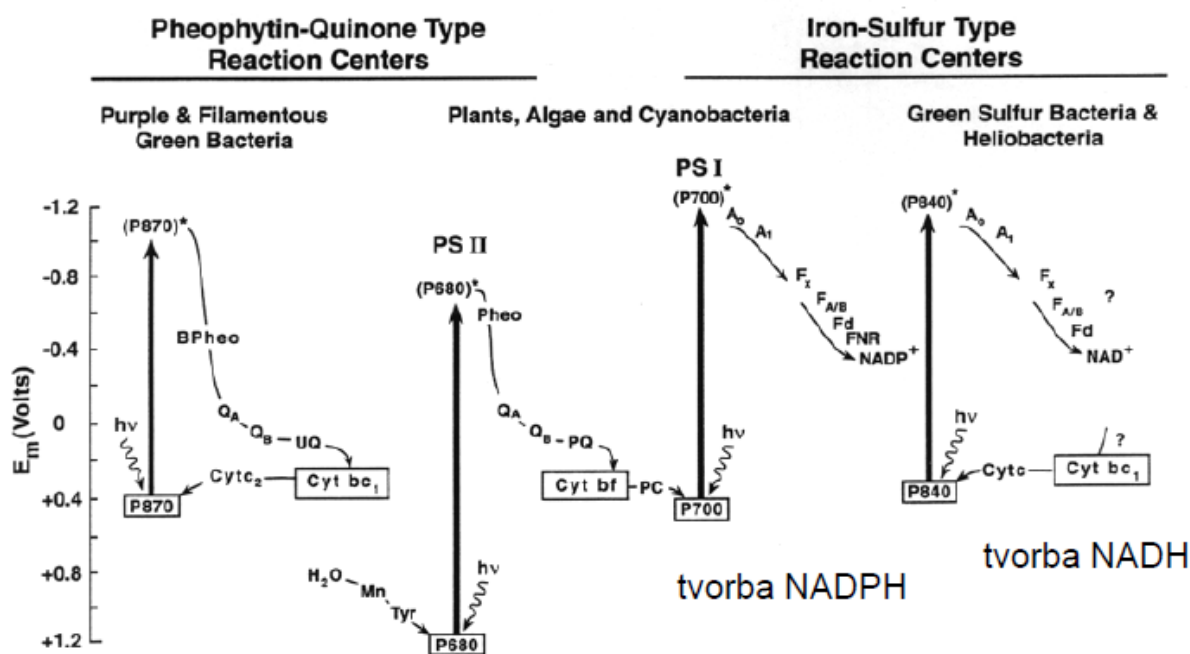
Vztah mezi změnou Gibbsovy volné energie ΔG a rozdílem redoxních potenciálů ΔE je $\Delta G = -nF\Delta E$, kde n je počet přenesených elektronů a F je Faradayova konstanta. Vidíme tedy, že je-li ΔE kladné, je ΔG záporné a reakce je spontánní.

Necyklický přenos elektronu se vyskytuje u oxygeních organismů (sinice a eukaryota). Jeho průběh vyjadřuje tzv. **Z-schéma** (obrázek 12 uprostřed), kde na svislé ose je redoxní potenciál (záporný nahoře) a na vodorovné ose je naznačen průběh přenosu elektronu.

Elektron ve FS2 jsme opustili v cytochromu *b₆f*. Z něj je předáván na cytochrom *c* nebo plastocyanin. Cytochrom *c* je malý rozpustný protein obsahující hem, který putuje v lumen k FS1. Plastocyanin obsahuje Cu^{2+} , které je redukováno na Cu^{1+} a také putuje lumenem k FS1, kde elektronová kaskáda pokračuje tak, jak je popsáno výše v části Reakční centra, až je finálně redukováno NADP^+ na NADPH.

Necyklický přenos se dále vyskytuje i u některých bakterií, které mají RC typu 1, ale nemají k němu připojené RC typu 2. Elektrony jsou pak získávány nikoliv z vody (voda nemůže být oxidována, na to RC typu 1 nestačí), ale z jiných látek (H_2S , HSO_3^- , H_2 , laktát, pyruvát, aminokyseliny, cukry...). Takové bakterie pak umí redukovat NADP^+ .

Cyklický přenos elektronu některých bakterií je zobrazen na obrázku 12 vlevo a vpravo. Cyklický přenos elektronu probíhá za určitých podmínek ale i ve FS 1 a 2 sinic a eukaryot. Je-li nedostatek elektronů od FS2, pracuje FS1 cyklicky, vzniká protonový gradient, ale nikoliv NADPH. Je-li nedostatek elektronů z vody, pracuje cyklicky FS2 – to je důležité kvůli ochraně FS2, neboť P680^+ je silné oxidační činidlo, které, když není včas nakrmeno elektronem, oxiduje všechno, co mu přijde do cesty!



Obrázek 12: Schéma cyklického (po stranách) a necyklického (uprostřed) přenosu elektronu. V levé části jsou reakční centra typu 2 – RC purpurových bakterií a fotosystém 2 (PS II), v pravé části jsou reakční centra typu 1 – fotosystém 1 (PS I) a RC zelených sírných bakterií a helicobakterií. Prostřední část představuje tzv. Z-schéma, necyklický přenos elektronu z FS2 na FS1 a na NADP^+ .

Syntéza ATP

ATP vzniká z ADP a fosfátu v reakci $\text{ADP}^{3-} + \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{ATP}^{4-} + \text{H}_2\text{O}$. Změna Gibbsovy volné energie vychází za fyziologických podmínek přibližně 52 kJ/mol (P_i označuje fosfát a koncentrace vody a protonů je zahrnuta do $\Delta G_0 = 30$ kJ/mol)

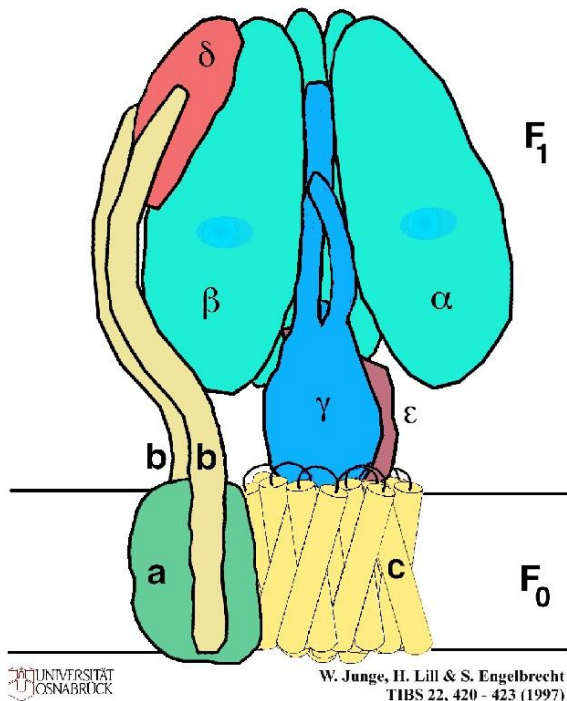
$$\Delta G = \Delta G_0 + RT \ln \frac{[ATP]}{[ADP][P_i]}$$

Elektrochemický potenciál, který vzniká díky rozdílu koncentrace protonů na opačných stranách membrány thylakoidu, má dvě komponenty: chemický potenciál (protony se chtějí dostat z místa, kde je jich víc, do místa, kde je jich míň) a elektrický potenciál (protony se chtějí dostat do „zápornějšího“ prostředí). Rozdíl potenciálu na stranách membrány (*inside* a *outside*) tedy můžeme vyjádřit takto:

$$\Delta\mu = \mu_i - \mu_o = RT \ln [H^+]_i - RT \ln [H^+]_o + zF(\psi_i - \psi_o) = RT \ln \frac{[H^+]_i}{[H^+]_o} + F\Delta\psi$$

kde z je náboj protonu, tedy 1, a F je Faradayova konstanta. Protonmotorická síla Δp je

$$\Delta p = \frac{\Delta\mu}{F} = \Delta\psi - \frac{\ln(10)RT}{F} \Delta pH = \Delta\psi - 59\Delta pH.$$



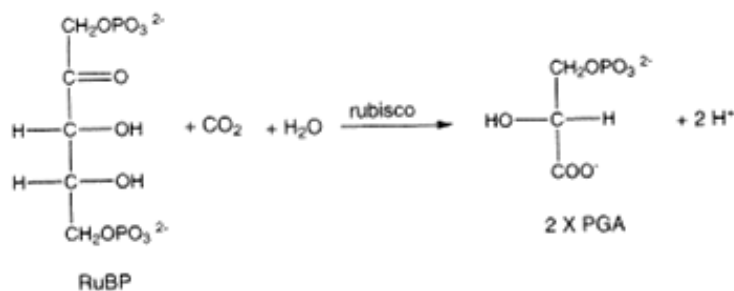
ATP syntáza má dvě části: membránovou část (**F₀**) a část čnící do stromatu (**F₁**). F₀ se skládá z několika (cca devíti až čtrnácti) transmembránových podjednotek *c*, podjednotek *a* a 2x *b*. Podjednotky *c* jsou spojeny s částí γ F₁, ta dále obsahuje 3 podjednotky α , 3 β , 1 δ a 1 ϵ . Části *c*, γ a ϵ tvoří „rotor“ ATP syntázy, ostatní části pak „stator“. Proton se váže na glutamát z *c*, dojde ke konformační změně a pootočení rotoru. To vyvolá přes γ konformační změnu α a β , což katalyzuje syntézu ATP z ADP a P_i. Zpětné rotaci je zabráněno elektrostatickým odpuzováním H⁺ a argininu⁺ na *a*. Poté, co dokončí otáčku, je H⁺ vypouštěn do stromatu. Na jednu kompletní otáčku (tj. 9 až 14 H⁺) vznikají 3 ATP, tedy je třeba 3 až 4,67 H⁺ na ATP. Oxidace cysteinů na cystin v γ inaktivuje ATP syntázu, nedochází tak ke ztrátám zpětných chodem (spotřebou ATP za vzniku pH gradientu) ve tmě.

Obrázek 13 : ATP syntáza

Fixace uhlíku – Calvinův cyklus, C₄ a CAM cyklus

Tato fáze fotosyntézy bývá označována jako temnostní, neboť při ní není třeba světlo. Ve většině organismů ale probíhá nejvíce za světla, protože je nejvyšší koncentrace substrátu. CO₂ ze vzduchu je fixován za spotřeby ATP a NADPH, vyrobených ve světelné fázi fotosyntézy, v cyklu reakcí, který se nazývá **Calvinův** podle Melvina Calvina, který jej objevil pomocí izotopického značení a 2D chromatografie. Calvinův cyklus probíhá ve **stromatu** resp. cytoplasmě prokaryot a lze ho rozdělit na tři části

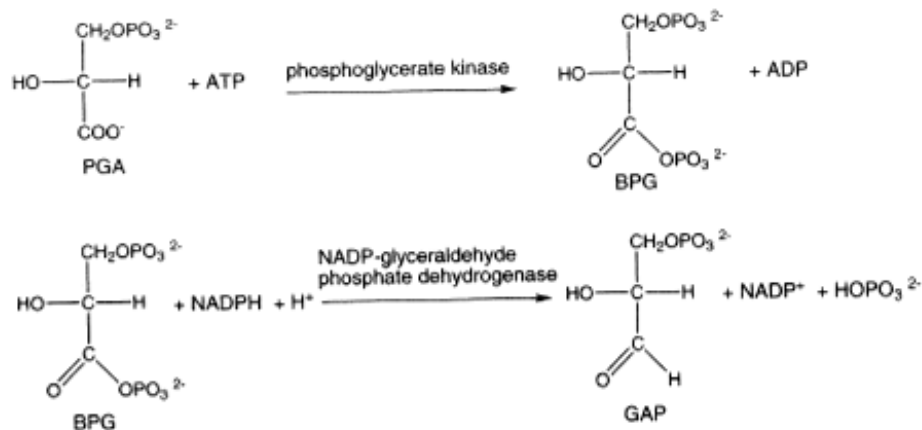
1. Fixace uhlíku



Ribulóza-1,5-bisfosfát reaguje s CO_2 a vodou za vzniku dvou tříuhlíkatých molekul **fosfoglycerátu**. Nestabilním meziproduktem této reakce je šestiuhlíkatá sloučenina.

Tuto reakci katalyzuje enzym ribulóza-1,5-bisfosfát-karboxyláza/oxygenáza neboli **RuBisCO**. Ten je složen z osmi L (large) podjednotek kódovaných v chloroplastu a osmi S (small) podjednotek, kódovaných v jádře. Katalytickou aktivitu mají dimery L (a v některých bakteriích se vyskytují místo celého RuBisCO). Jedná se zřejmě o světově nejvíc rozšířený enzym ze všech.

2. Redukce



Fosfoglycerát je fosforylován na bisfosfoglycerát za spotřeby ATP, ten je dále redukován na glyceraldehyd-3-fosfát za spotřeby NADPH. Vidíme, že se jedná vlastně o reakce 7 a 6 glykolýzy, jdoucí v opačném směru. Těž enzymy jsou podobné a pocházejí z enzymů glykolýzy.

3. Regenerace

Ze šesti molekul glyceraldehydfosfátu ($6 \times 3 = 18 \text{ C}$) vzniknou tři molekuly ribulózabisfosfátu ($3 \times 5 = 15 \text{ C}$) a jedna tříuhlíkatá molekula je dále využitelná v dalším metabolismu na syntézu zásobních látek (škrobu v chloroplastech, sacharózy v cytoplasmě). Systém reakcí je podobný pentózofosfátovému cyklu a částečně i využívá podobné enzymy.

Fotorespirace je ztrátový proces fotosyntézy. Jak už název napovídá, RuBisCO nekatalyzuje pouze karboxylaci, ale také oxygenaci, při níž reaguje ribulóza bisfosfát s O_2 . Vzniká pak jeden fosfoglycerát a jeden 2-fosfoglykolát ($\text{PO}_3^{2-}\text{-OCH}_2\text{-COO}^-$), jehož odbourávání je složité a účastní se ho (v eukaryotech) chloroplast, mitochondrie a peroxysom. Afinita RuBisCO k CO_2 je sice asi 80x větší než k O_2 , za současných podmínek velkého nadbytku kyslíku proti CO_2 v atmosféře je ale CO_2 využíván pouze asi 3x častěji než O_2 , vznikají tak velké ztráty. Některé organismy si proto vyvinuly mechanismy, jak koncentrovat CO_2 poblíž RuBisCO, aby se omezily ztráty fotorespirací – tzv. **C_4** neboli **Hatch-Slackův cyklus** nebo **CAM cyklus**. Rostlinám, které mají pouze Calvinův cyklus, se říká **C_3 rostliny**. Za podmínek, kdy

fotosyntéza vznikla, bylo v atmosféře mnohem více CO_2 a méně O_2 (viz obrázek 2), RuBisCO tedy fungovalo mnohem lépe.

C₄ (Hatch-Slackův) cyklus

Tyto organismy mají dva typy buněk. **Mezofilní** buňky fixují CO_2 reakcí s fosfoenolpyruvátém za vzniku oxaloacetátu, z toho vznikne malát. Ten je transportován do **buněk pochvy cévního svazku**, kde se z něj stává pyruvát a uvolní se CO_2 . Ten je zpracováván RuBisCO. Pyruvát putuje zpět do mezofilní buňky, kde se z něj stává opět fosfoenolpyruvát. Na přepravu mezi buňkami jsou spotřebovány 2 ATP, výhodou ovšem je, že buňky pochvy cévního svazku nemusí mít otevřené průduchy, takže se do nich nedostává kyslík, čímž se zamezí fotorespiraci. Navíc se tak šetří vodou. Tento cyklus provozují rostliny zejména z oblastí, kde je hodně světla, zejména z tropů, například kukuřice, agáve, ananas.

CAM cyklus

Na rozdíl od C₄ cyklu jsou zde odděleny pohlcení CO_2 a Calvinův cyklus nikoliv místně, ale časově. V noci, kdy fotosyntéza neprobíhá, jsou otevřené průduchy a ve vakuolách je akumulován CO_2 ve formě malátu. Ve dne jsou průduchy zavřeny, CO_2 je uvolňován a probíhá fotosyntéza. Dochází také k výrazné úspoře vody – až desetinásobné oproti C₃ rostlinám. Tento cyklus provozují rostliny suchých oblastí, pojmenován byl podle čeledi Crassulaceae (Crassulacean acid cycle). Nevýhodou je, že takové rostliny nedokáží zpracovat tolik CO_2 jako C₃ rostliny, rostou proto velmi pomalu, jako například mexické kaktusy saguaro (viz obrázek 15).

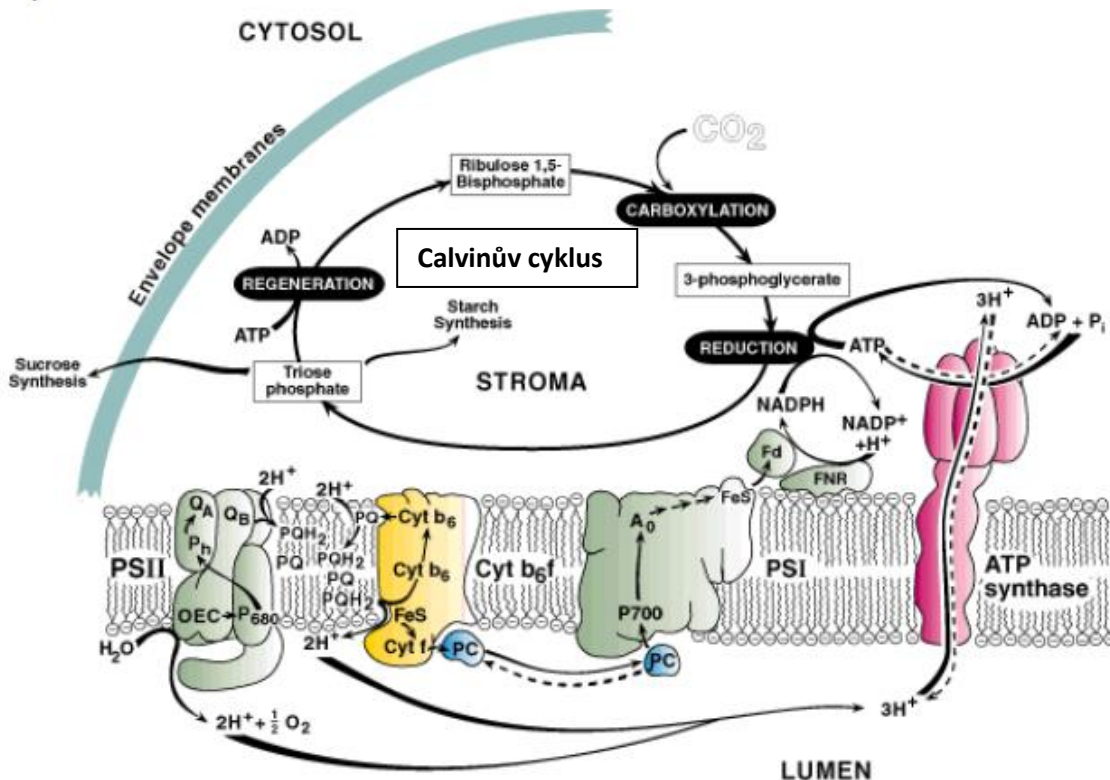


Obrázek 14: *Crassula capitella* z čeledi Crassulaceae



Obrázek 15: *Carnegiea gigantea* neboli saguaro může být až 18 m vysoký a až 250 let starý

Obrázková rekapitulace fotosyntézy oxygenních organismů



Obrázek 16: Fotosyntetické procesy v chloroplastu oxygenních organismů

Buněčné dýchání (oxidativní fosforylace)

Buněčné dýchání je proces, při němž jsou elektrony z NADH a FADH₂, vzniklých při glykolýze a dalších katabolických procesech, předávány v redoxní kaskádě na kyslík za vzniku vody a zároveň vzniká protonový gradient na membráně mitochondrií (obrázek 19). Tento protonový gradient je podobně jako ve fotosyntéze využit k tvorbě ATP.

Buněčné dýchání bylo umožněno vzrůstem kyslíku v atmosféře vlivem oxygenní fotosyntézy (viz obrázek 2).

Mitochondrie je organela eukaryotních buněk, která vznikla endosymbiózou s bakterií příbuznou dnešním α -proteobakteriím. Mitochondrie ve všech současných eukaryotech mají společného předka, který vzniknul dříve než před 2 mld let. Mitochondrie obsahuje vlastní cirkulární chromozom a proteosyntetický aparát, většina genů pro tvorbu mitochondriálního aparátu byla stejně jako v případě chloroplastů přenesena do jádra (600 – 1000 genů oproti zhruba 40 genům v mitochondrii). Mitochondrie je stejně jako chloroplast obalena dvěma membránami, z nichž vnitřní membrána tvoří záhyby – kristy. Vnitřek mitochondrie se nazývá matrix. Protony jsou přenášeny z matrix do periplasmy.

Elektronový transportní řetězec se skládá z proteinových komplexů I až IV. Energetické a redoxní schéma přenosu elektronu je znázorněno na obrázku 17 a schéma přenosu elektronů na obrázku 18. Komplexy I, III a IV jsou integrální membránové proteiny, komplex II je periferní na matrixové straně membrány.

Komplex I neboli **NADH dehydrogenáza**. 2 elektrony jsou z NADH + H⁺ přeneseny na flavinmononukleotid (FMN), dále na FeS klastr a na chinon za vzniku chinolu. Přitom jsou 4 H⁺ z matrix přemístěny do cytoplasmy.

Komplex II neboli **sukcinát dehydrogenáza**. FADH_2 je oxidováno na FAD , současně je chinon redukován na chinol. Chinoly z komplexu I a II putují membránou do komplexu III.

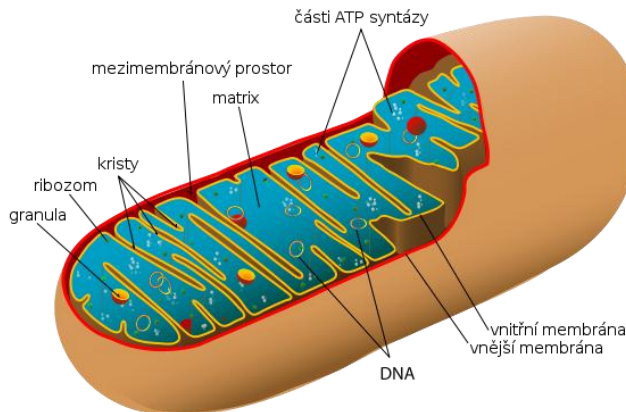
Komplex III neboli bc_1 komplex neboli **ubichinol-cytochrom *c* reduktáza**. Obsahuje 2 cytochromy *b*, jeden cytochrom c_1 a dva FeS klastry. Elektrony jsou z chinolu přeneseny na cytochrom *c*, což je malý protein rozpustný ve vodě, vyskytující se v periplasmě. Současně jsou 4 H^+ přečerpány do periplasmy.

Komplex IV neboli **cytochrom *c* oxidáza**. Cytochrom *c* dodifunduje ke komplexu IV a předá elektron kyslíku za vzniku vody. Dva protony jsou přečerpány do periplasmy.

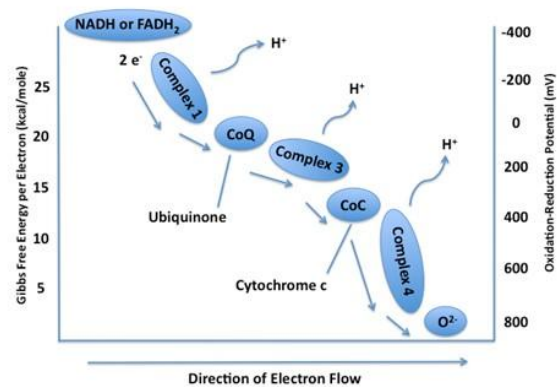
Protonový gradient je využitý ATP syntázou k tvorbě ATP. Mitochondriální ATP syntáza je velmi podobná ATP syntáze v chloroplastu, viz obrázek 13.

V glykolýze se z jedné molekuly glukózy získá 10 $\text{NADH} + \text{H}^+$ a 2 FADH_2 , což odpovídá přibližně 34 ATP (má-li ATP syntáza 10 *c* podjednotek). K tomu vznikají v glykolýze ještě 2 ATP a 2 GTP, tedy dohromady dostaneme 38 ATP z 1 glukózy.

Buněčné dýchání je proces opačný k fotosyntéze v tom smyslu, že ve fotosyntéze vznikají redukované sloučeniny (NADPH a z něj dále organické látky), k čemuž je oxidována voda, naproti tomu při dýchání je kyslík redukován a redukované látky (NADH a FADH_2) jsou oxidovány za vzniku energie. Fotosyntéza je tedy proces anabolický, dýchání proces katabolický. V obou procesech vzniká ATP.

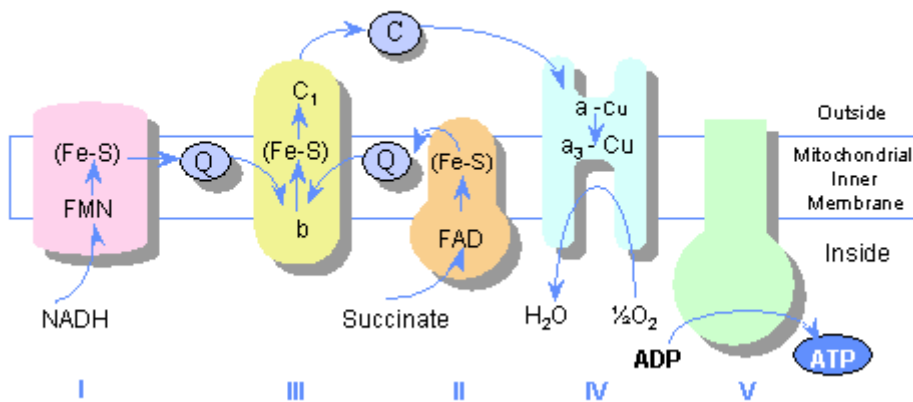


Obrázek 17: Mitochondrie



Obrázek 18: Gibbsova energie a redoxní potenciál e^- transportního řetězce

Mitochondrial Electron Transport Chain



Obrázek19: Schéma elektronového transportního řetězce v mitochondriích