

Световые и темновые реакции фотосинтеза

На прошлой лекции:

Фотосинтез – это биологическое превращение энергии света в химически связанную энергию, которая запасается в виде органических веществ. Состоит из трех основных этапов: (1) улавливание световой энергии; (2) перевод световой энергии в энергию химических связей; (3) запасание энергии в виде органических веществ.

Световые реакции фотосинтеза?

1. Улавливание световой энергии, передача энергии на специализированные структуры - реакционные центры (РЦ).

Осуществляет: Светособирающий комплекс (ССК) - АНТЕННА

2. Первичное разделение зарядов, перевод световой энергии в энергию химических связей.

Осуществляет: РЦ и фотосинтетическая электронтранспортная цепь

Улавливание световой энергии

Природа света:

СВЕТ - дискретное электромагнитное излучение.

Свет – поток

фотонов

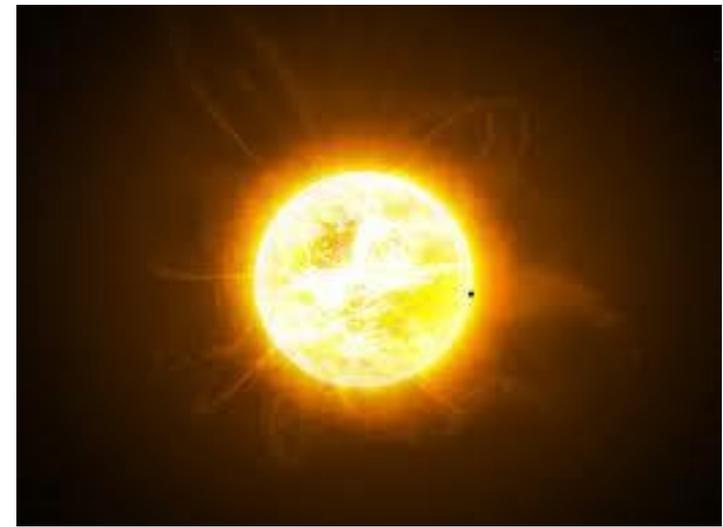
ФОТОН - частица с нулевой массой, обладающая определённой энергией

Энергия фотона $\varepsilon = h\nu$

h - константа Планка, ν - частота волны.

Скорость фотона $c = \lambda\nu$, где λ - длина волны.

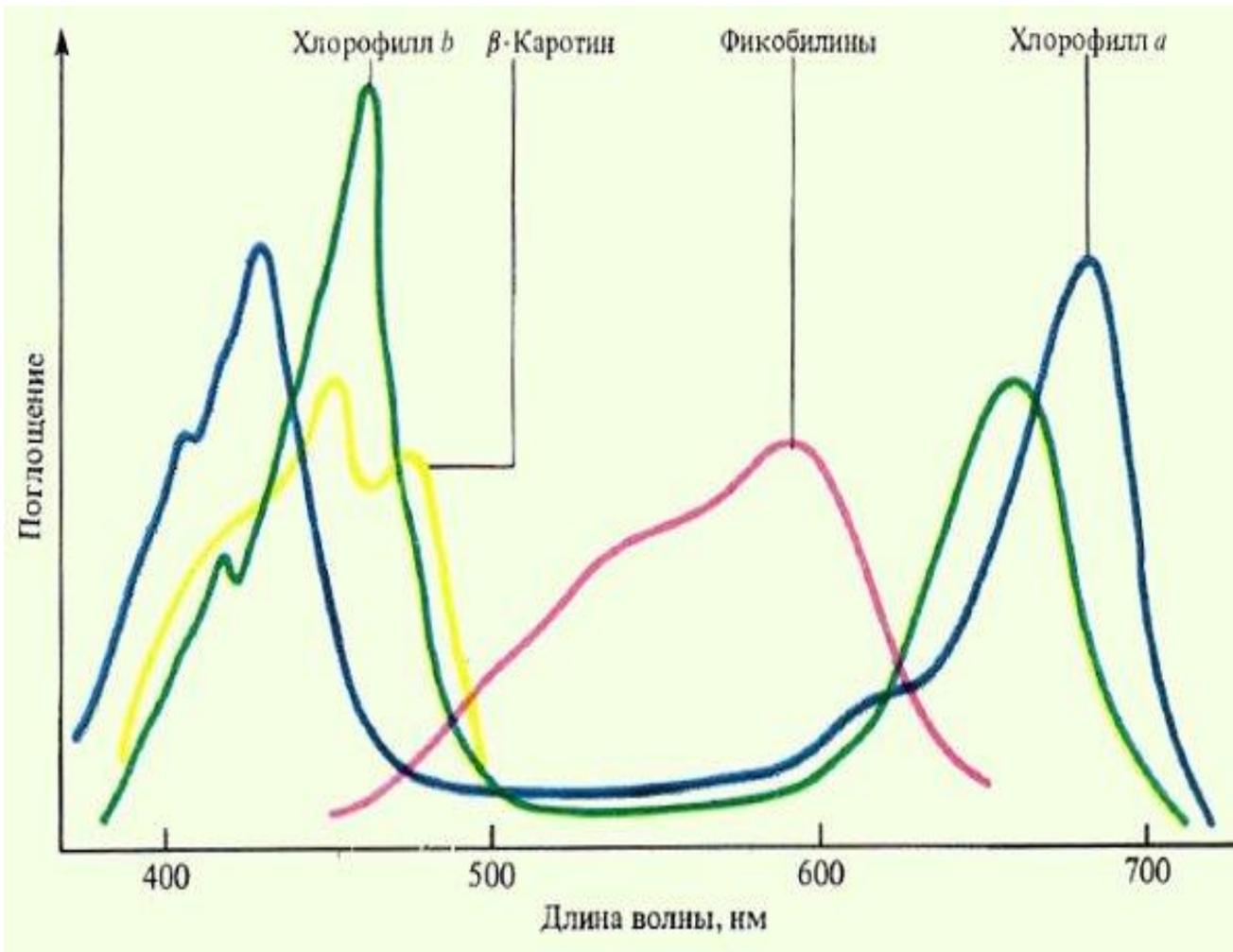
Соответственно, $\varepsilon = hc/\lambda$





Видимая часть спектра

Цвет	Диапазон длин волн, нм	Диапазон частот, ТГц	Диапазон энергии фотонов, эВ
<u>Фиолетовый</u>	380—440	680—790	2,82—3,26
<u>Синий</u>	440—485	620—680	2,56—2,82
<u>Голубой</u>	485—500	600—620	2,48—2,56
<u>Зелёный</u>	500—565	530—600	2,19—2,48
<u>Жёлтый</u>	565—590	510—530	2,10—2,19
<u>Оранжевый</u>	590—625	480—510	1,98—2,10
<u>Красный</u>	625—740	400—480	1,68—1,98



Спектры поглощения пигментов



**Солнечная
радиация,
достигающая
атмосферы Земли**

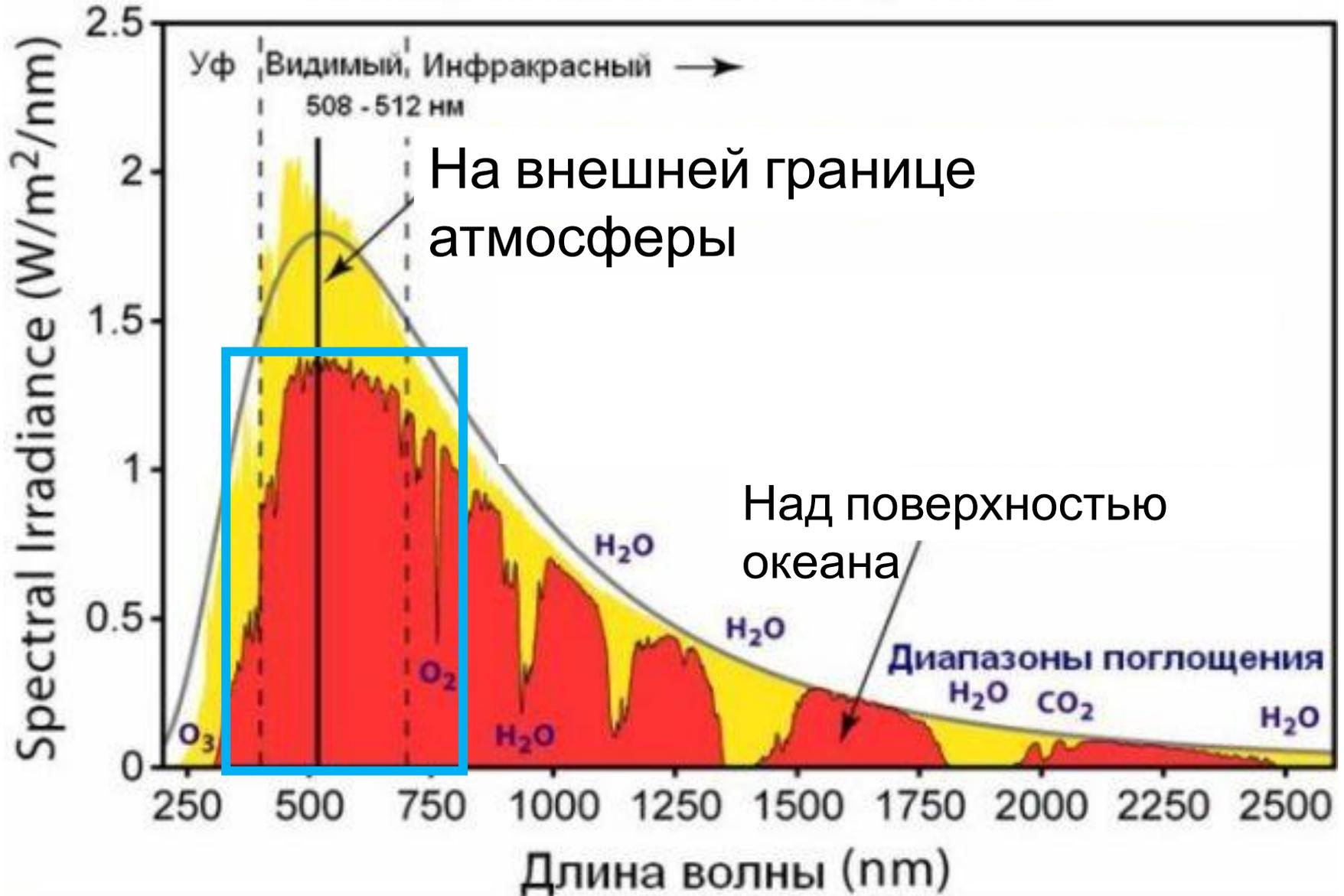
Рассеивание

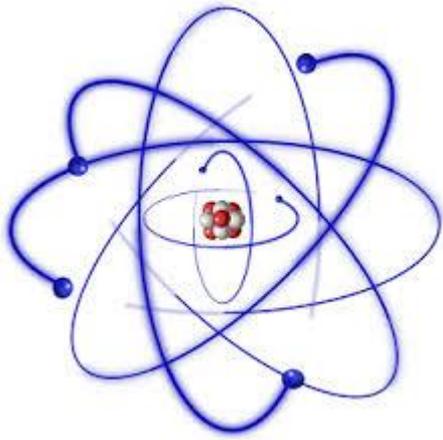
Поглощение

**Солнечная
радиация над
поверхностью
Океана**



Спектр солнечного излучения

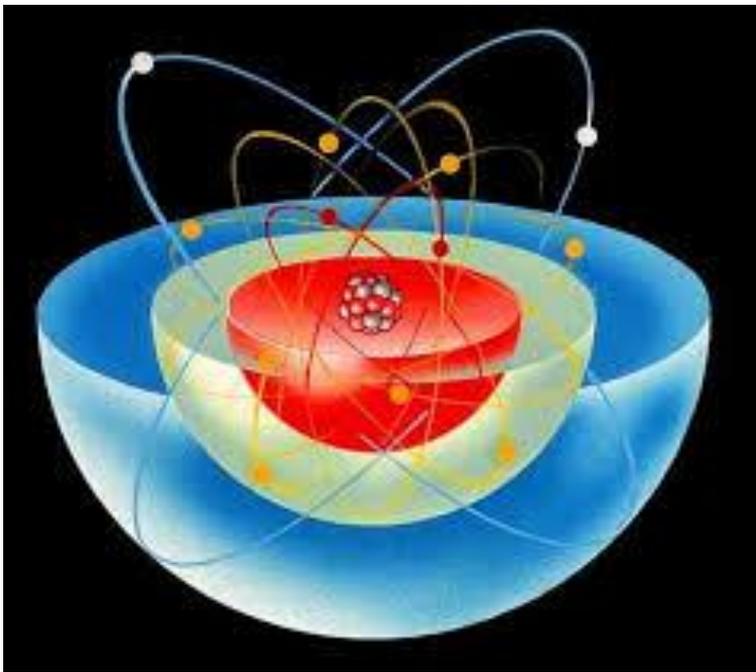




Улавливание энергии фотонов (света)

В любой молекуле электроны (\bar{e}) расположены на орбиталях (S, p, d, f и т.д.). На каждой орбитали фиксированное число \bar{e} .

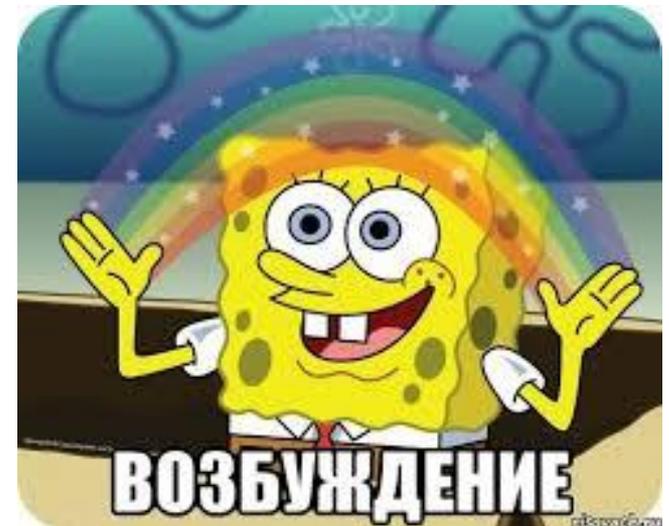
Энергетический разрыв между орбиталями фиксирован. Более низкий энергетический уровень (ϵ_0) - более стабилен.

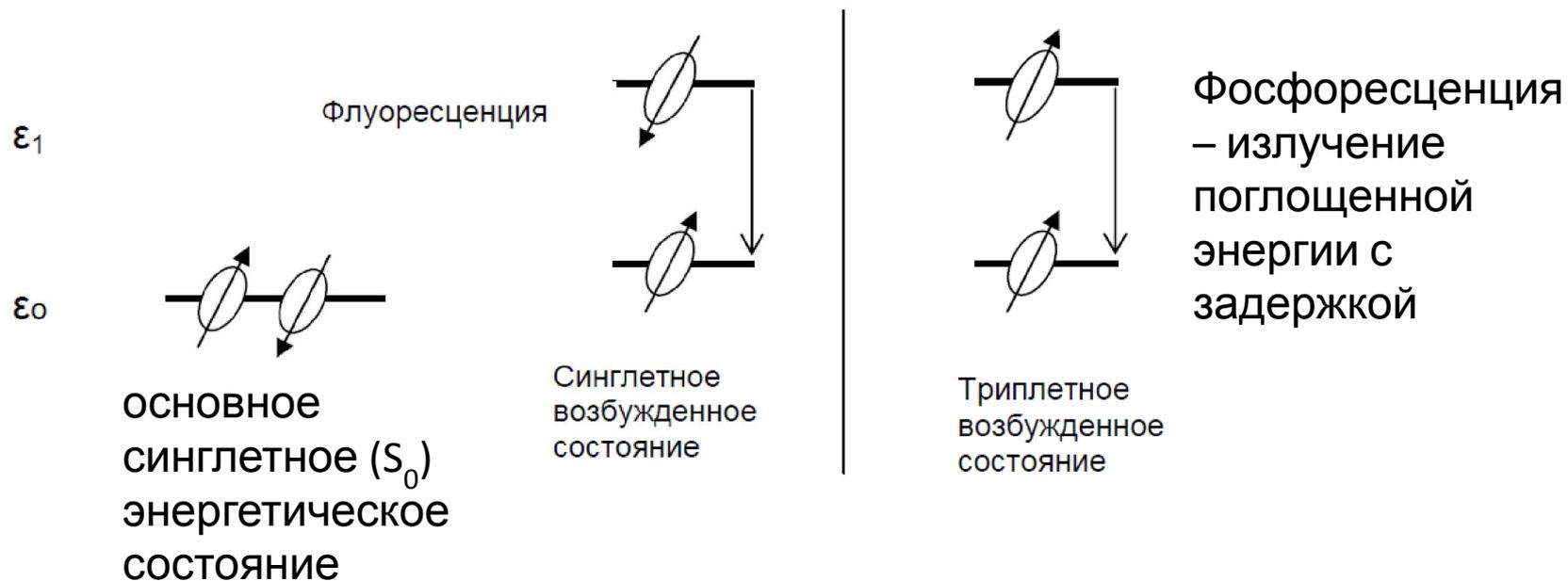


\bar{e} могут переходить на более высокий энергетический уровень (ϵ_1), если

- (а) там есть вакансия;
- (б) \bar{e} получит дополнительную энергию.

Фотоны с энергией, равной $\epsilon_1 - \epsilon_0$, поглощаются и \bar{e} переходит с ϵ_0 на ϵ_1 - возбужденное состояние молекулы.

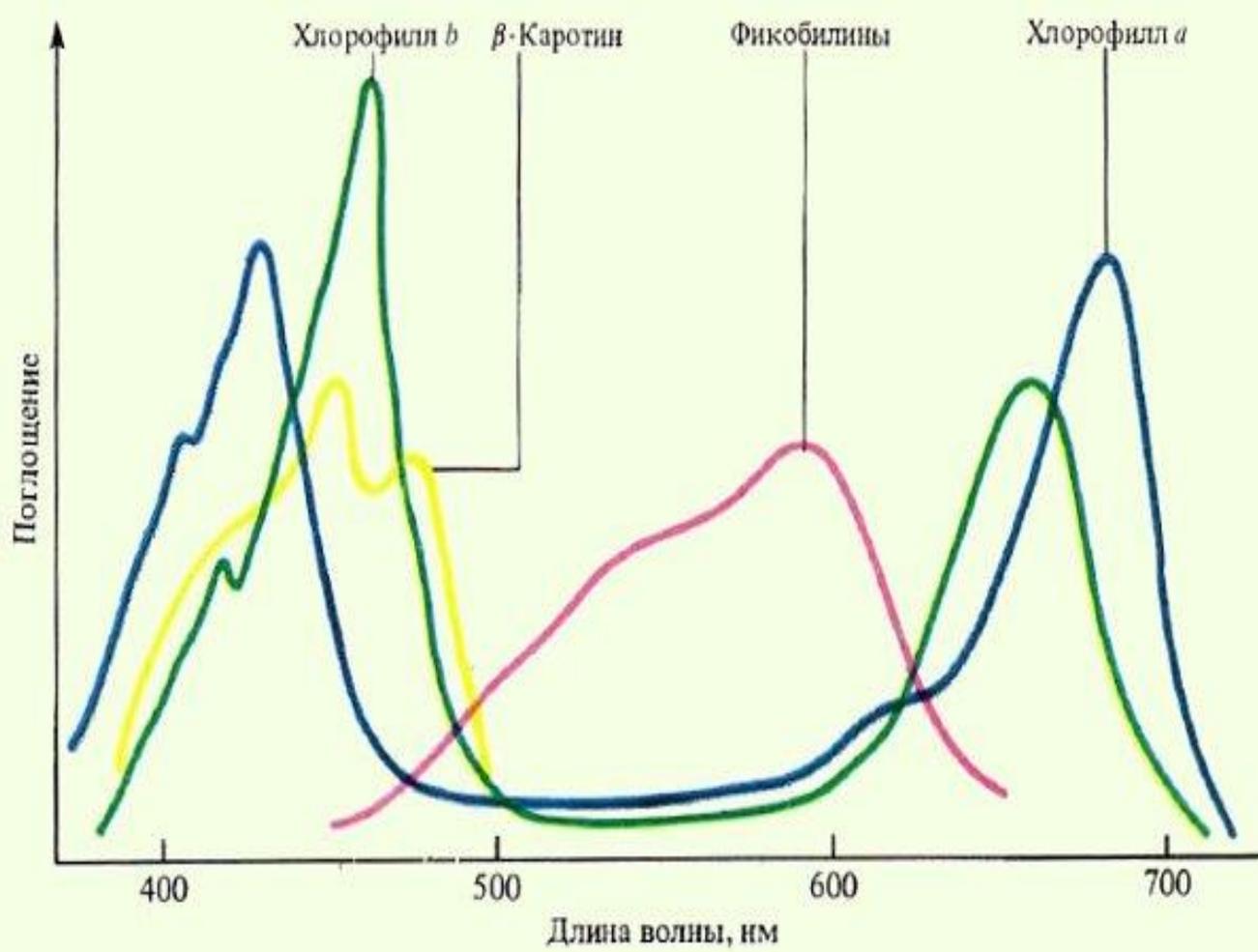




Вещества, способные к переходу в возбужденное состояние за счет поглощения энергии фотона - хромофоры.

Фотосинтетические пигменты - хромофоры.

Свет с какой длиной волны поглощают фотосинтетические пигменты?



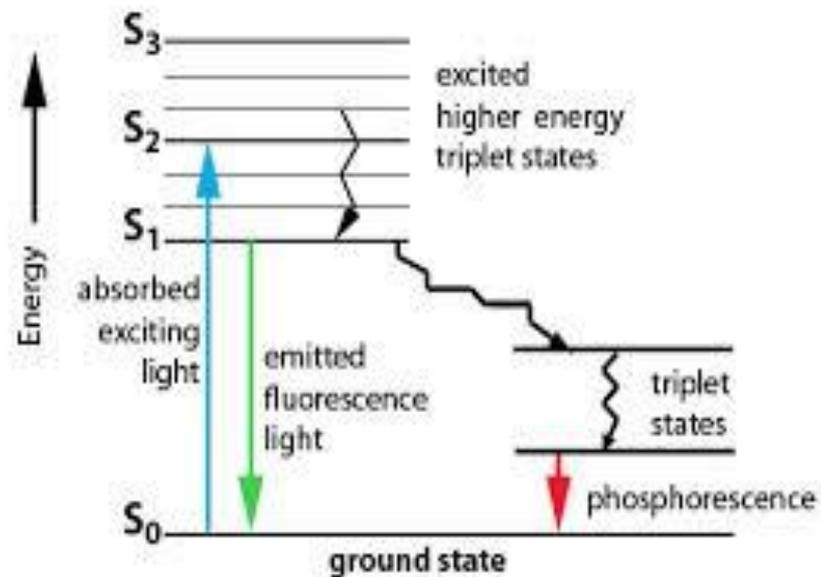
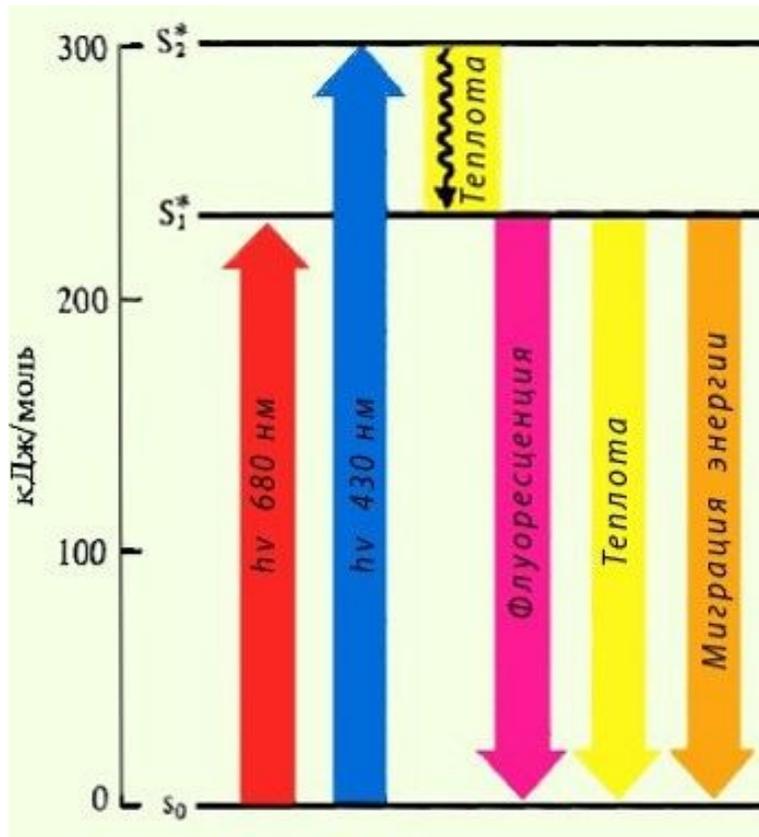
Спектры поглощения пигментов

	Максимумы поглощения		
	Хл а	Хл в	Хл с
В участок (область Соре) – голубой свет	430	435	432
Q участок – красный свет	675	655	630

Пигментный состав Prasinophyceae

Pigment	Absorption maxima
Unknown chl <i>c</i> ₃ -like	453, 583, (623)
Mg-24-divinyl pheoporphyrin a ₅ monomethyl ester	440, 627
Uriolide	451, 477
Violaxanthin-derivative	423, 444, 473
Siphonaxanthin	467, (448)
Neoxanthin	412, 439, 467
Prasinoxanthin	468, (448)
Violaxanthin	442, 472, (416)
Micromonal	471, (448)
Unidentified Z1	444, 466
Unidentified Z2	444, 466
Antheraxanthin	446, 476, 424
Zeaxanthin	452, 479
Lutein	447, 476
Dihydrolutein	431, 457
Siphonaxanthin-derivative A1	469, (448)
Siphonaxanthin-derivative B1	468, (448)
Siphonaxanthin-derivative A2	467, (448)
Siphonaxanthin-derivative B2	467, (448)
Loroxanthin-derivative	448, 477
Chl <i>b</i>	464, 648
Chl <i>a</i>	432, 664
γ-Carotene-like	465, 493, (442)
Unidentified M1	440, 466, (412)
α-Carotene	446, 476
β-carotene	454, 480

Энергетические состояния молекулы хл и переходы между ними

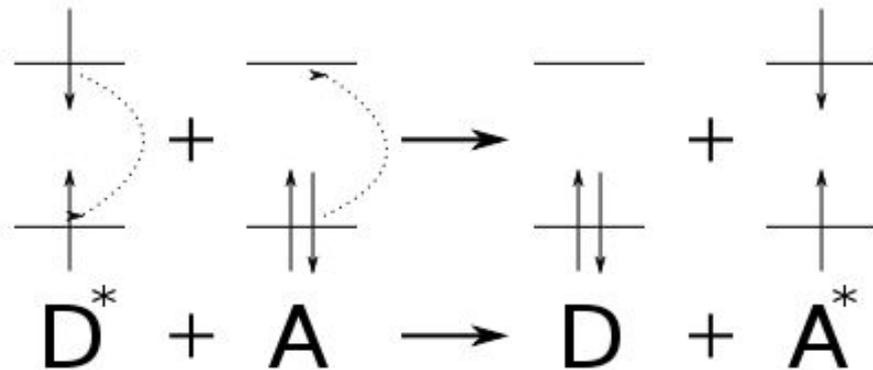


Выделение энергии в виде тепла при переходе молекулы из синглетного возбужденного состояния в метастабильное триплетное (с обращением спина). Из триплетного состояния молекула может вернуться в основное, излучив еще более длинноволновый (чем в случае флуоресценции) квант света – фосфоресценция (тип фотолюминесценции).

Передача энергии возбуждения от одной молекулы к другой идет за счет механизма индуктивного резонанса (Фёрстеровский перенос энергии).

Необходимо:

- перекрытие спектров излучения энергии молекулы донора и спектра поглощения энергии молекулы акцептора.
- близкое расположение взаимодействующих молекул (не более 10 нм).

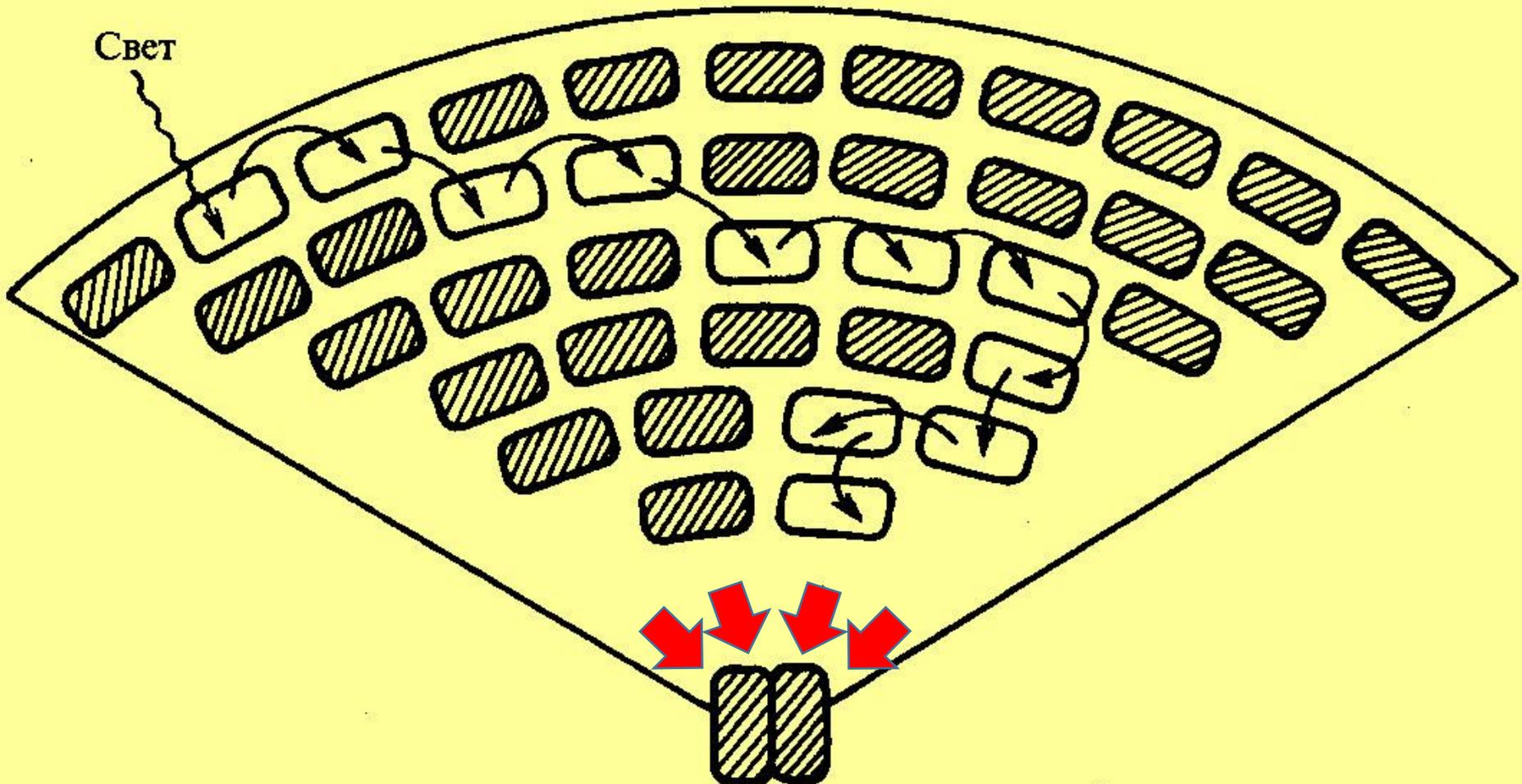


Например: каротиноиды \rightarrow хлорофилл *b* \rightarrow хлорофилл *a* \rightarrow хлорофилл *a* реакционных центров

А также:

- механизм миграции экситона;
- обменно-резонансного механизма Теренина-Декстера
- вибранный (колебательный) механизм передачи энергии

Светособирающие пигменты



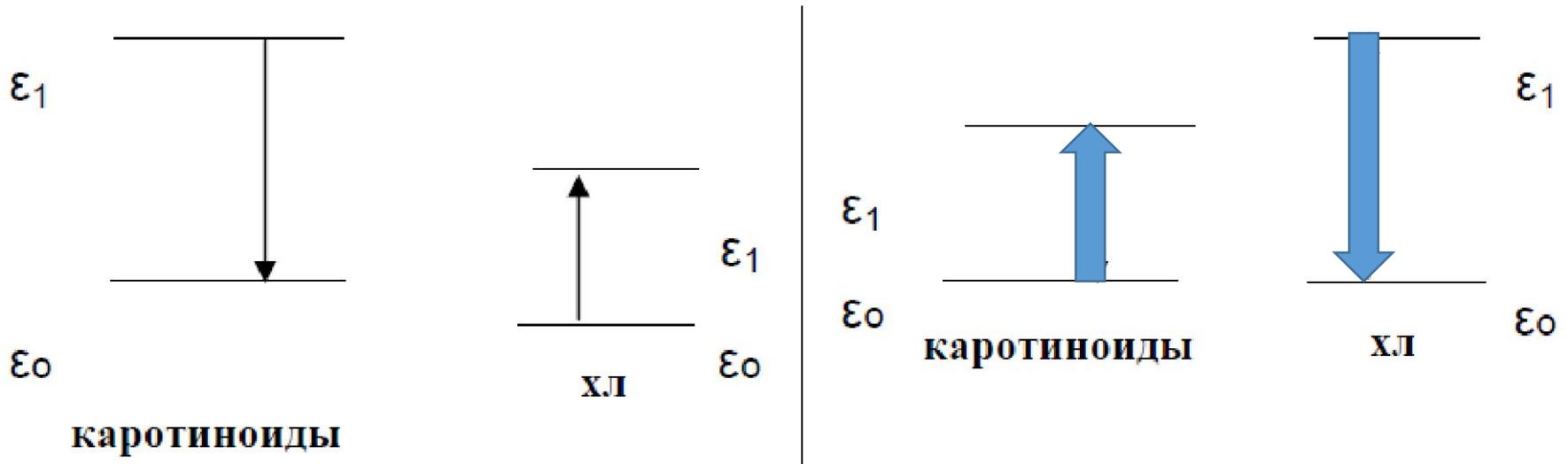
Реакционный центр

Схема передвижения энергии возбуждения по светособирающему комплексу к реакционному центру (P) (по А.Н. Тихонову)

КАРОТИНОИДЫ в зависимости от структуры молекулы:

передают поглощенную энергию на хл

принимают энергию, поглощенную хл а, и рассеивают ее в виде тепла. Этот механизм запускается, когда на антенну поступает избыток световой энергии



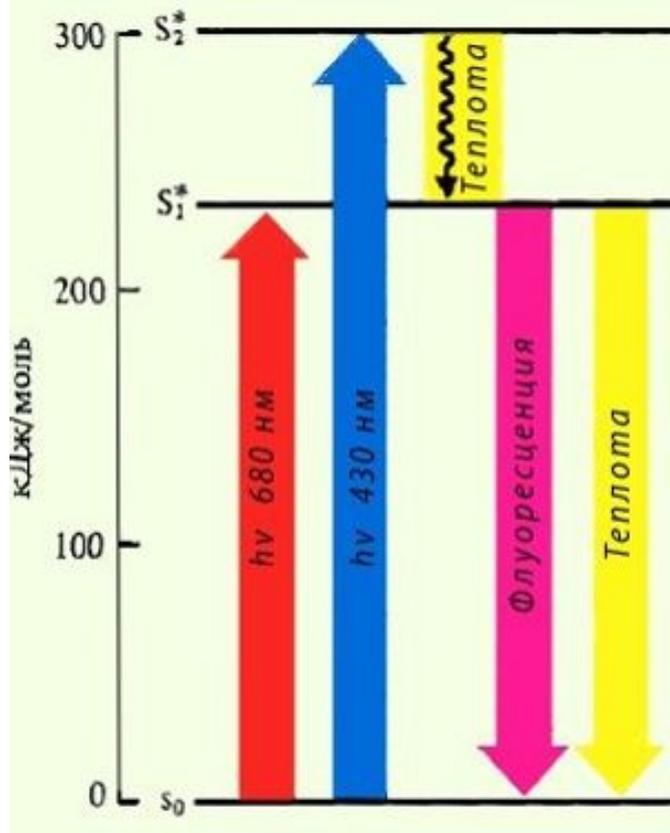
По ССК (антенне) в РЦ передается **только ЭНЕРГИЯ** возбуждения,
электрон НЕ передается

Что происходит в РЦ?

В состав РЦ фотосистем входят особые молекулы хлорофилла (модификации молекул хлорофилла *a*): РЦ ФС2 - молекула Р680
РЦ ФС1 - молекула Р700

В РЦ за счет полученной из антенны энергии молекулы Р680 и Р700 приходят в возбужденное состояние.

Структура возбужденных молекул Р680 и Р700 изменяется настолько, что \bar{e} может перейти от них (доноров) к первичным акцепторам – фотохимические реакции

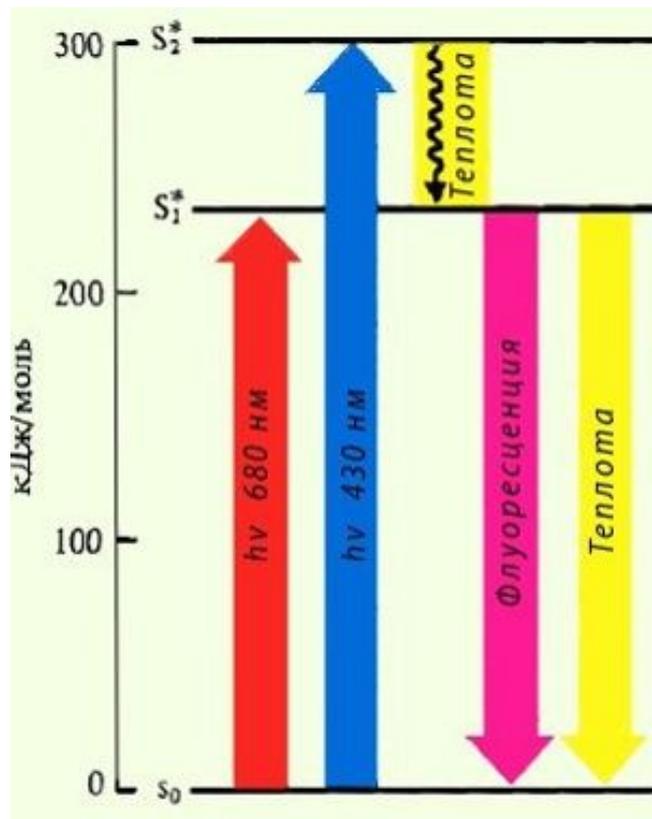


Чтобы энергия могла быть использована в РЦ для фотохимических реакций:
 скорость фотохимических реакций должна быть выше, чем скорость рассеивания в виде тепла и в виде фотонов (флуоресценции)

Максимальная эффективность использования энергии для фотохимических реакций двумя фотосистемами составляет **35%** (от уловленной ССК).

Потери в виде флуоресценции: 2 – 5%

Остальное (около 60%) – в виде тепла



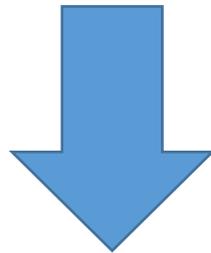
Основные потери энергии в виде флуоресценции – из РЦ ФС2 – «мелкая» ловушка.

РЦ ФС1 – «глубокая» ловушка. Из нее при комнатной температуре энергия в виде флуоресценции НЕ рассеивается

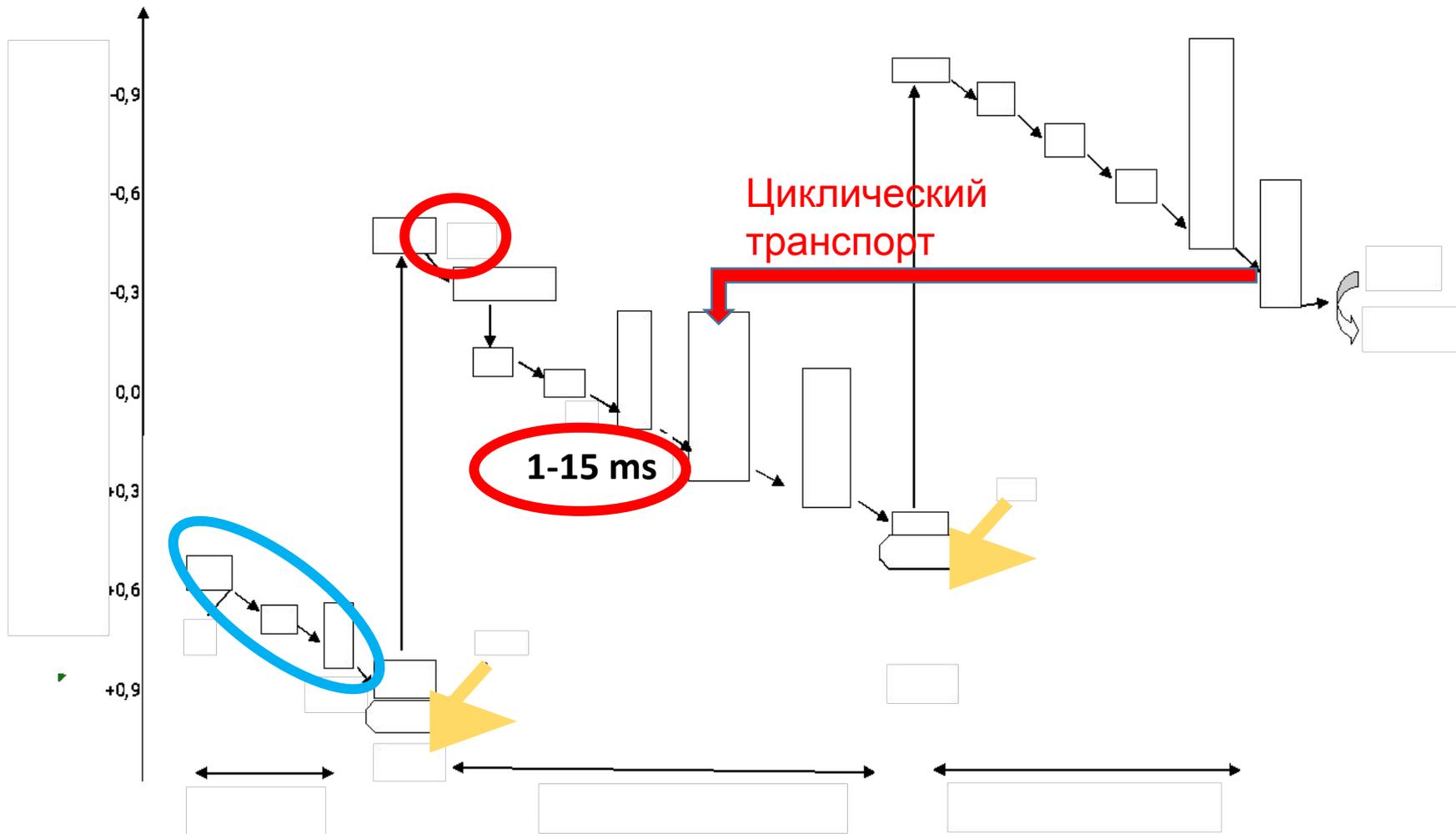
В РЦ фотосистем происходят фотохимические реакции: окисление P680 и P700 и восстановление первичных акцепторов

В РЦ ФС2 отдавшая e^- (окисленная) молекула P680 – самый сильный окислитель из известных на Земле.

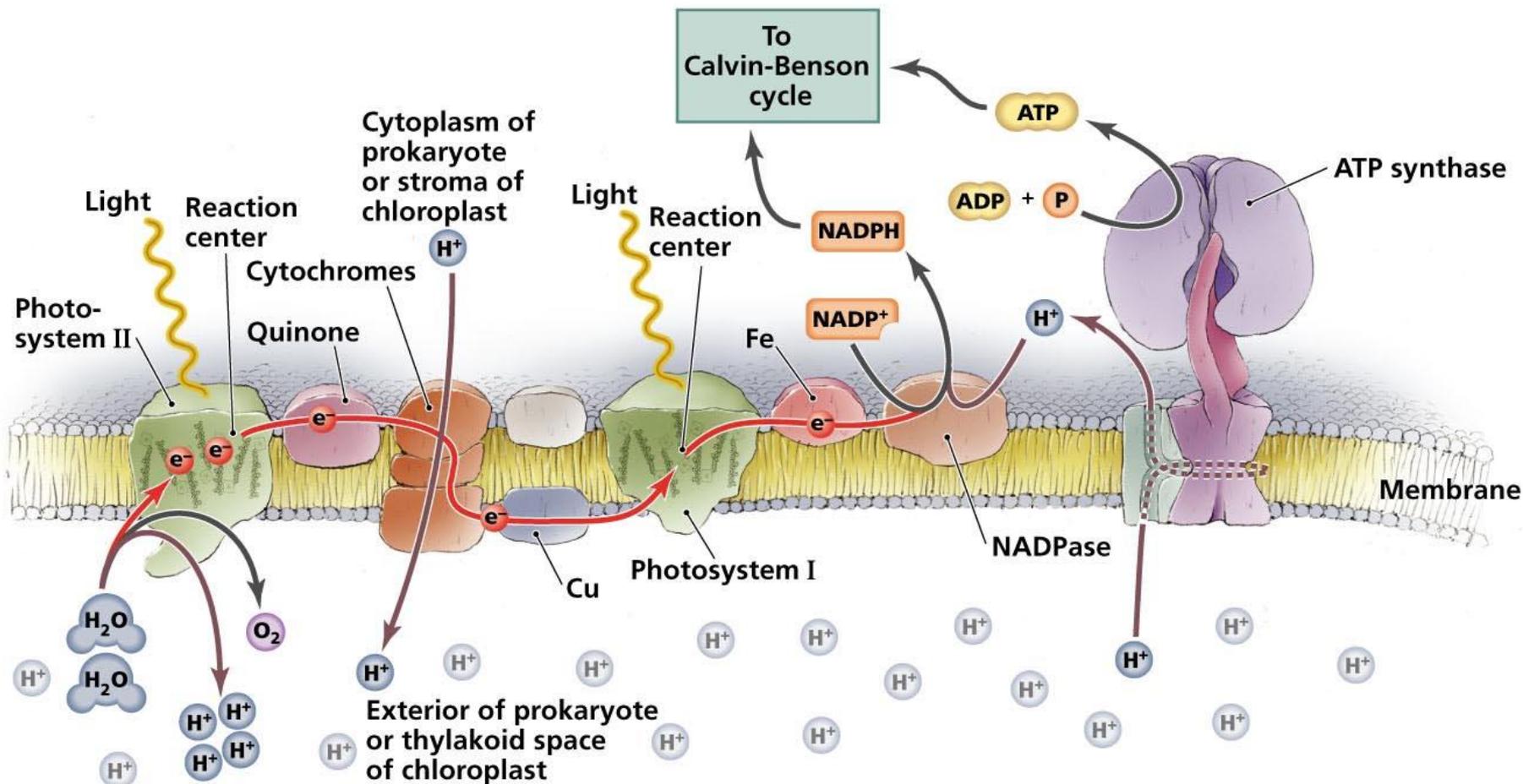
Откуда окисленная молекула P680 берет e^- , чтобы закрыть «электронную дыру»?



**От водоокисляющего
комплекса – от воды**



Z-схема потока электронов



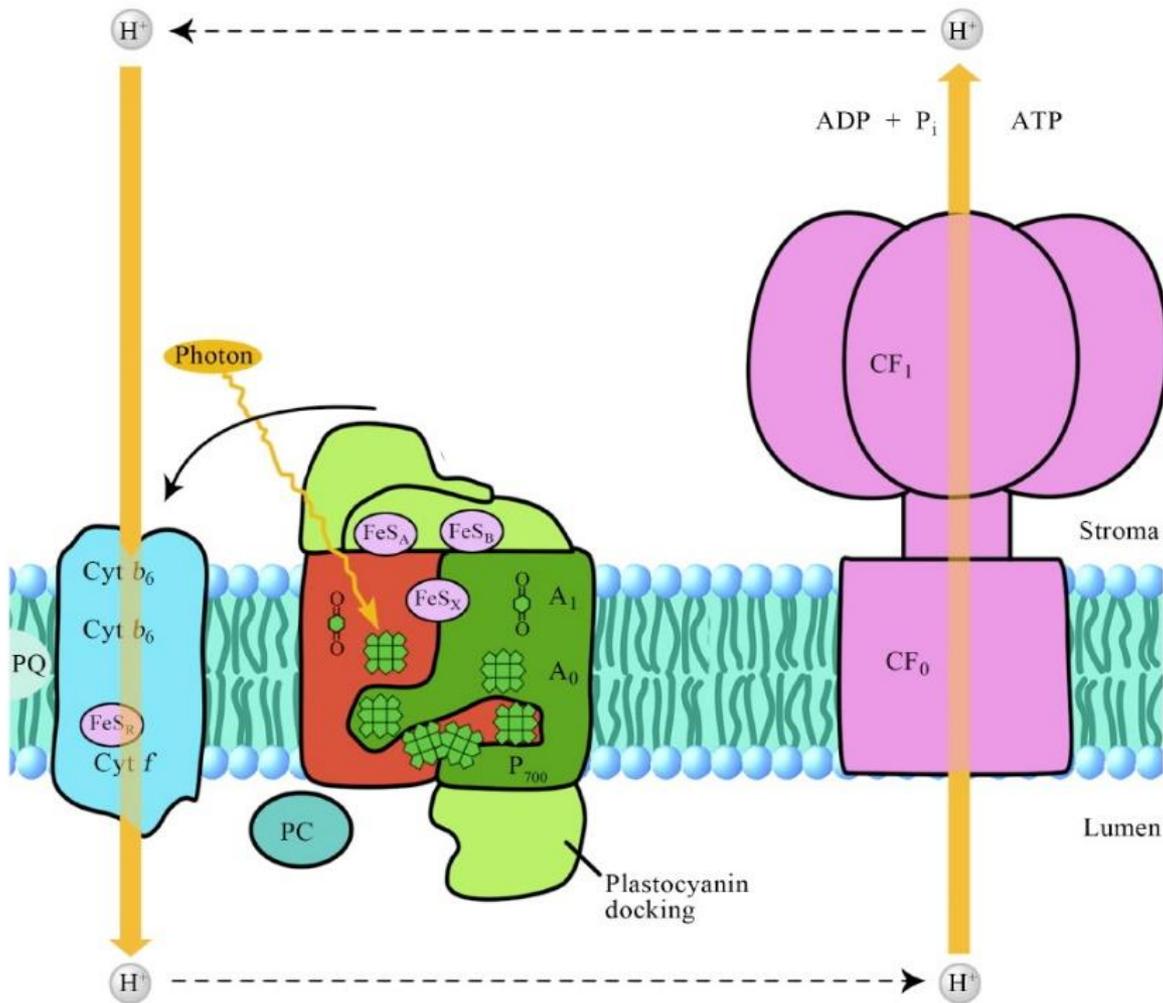
(b) Noncyclic photophosphorylation

Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Нециклическое фотофосфорилирование

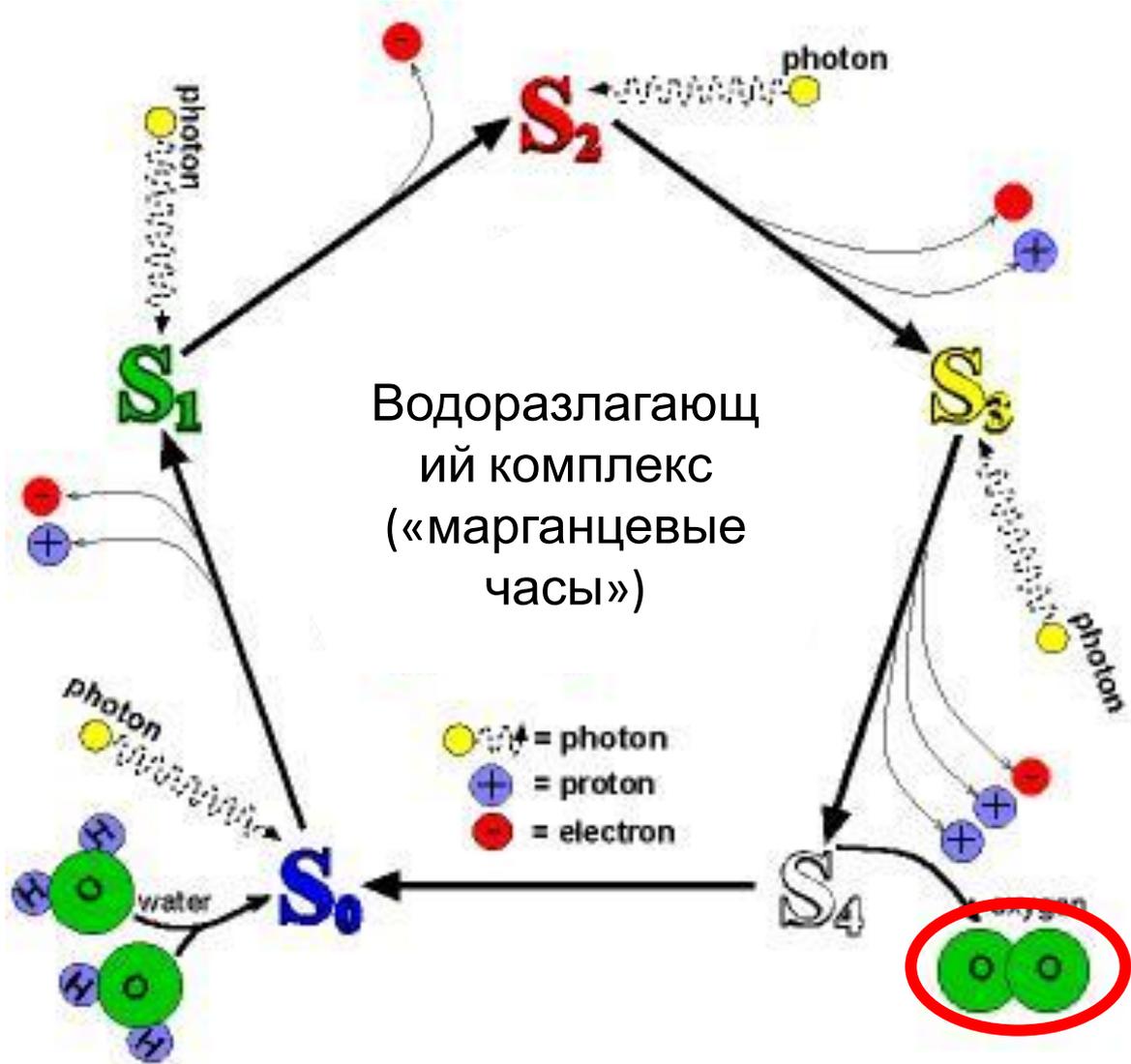
2 молекулы АТФ и одна молекула



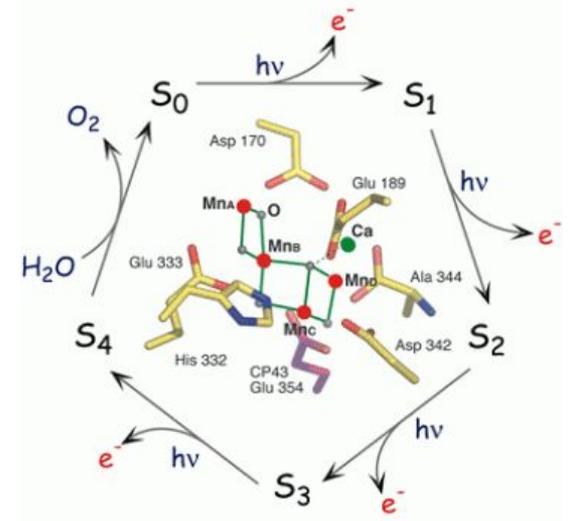


Циклическое фотофосфорилирование

Значимость возрастает (до 20%) при недостатке света для увеличения количества АТФ

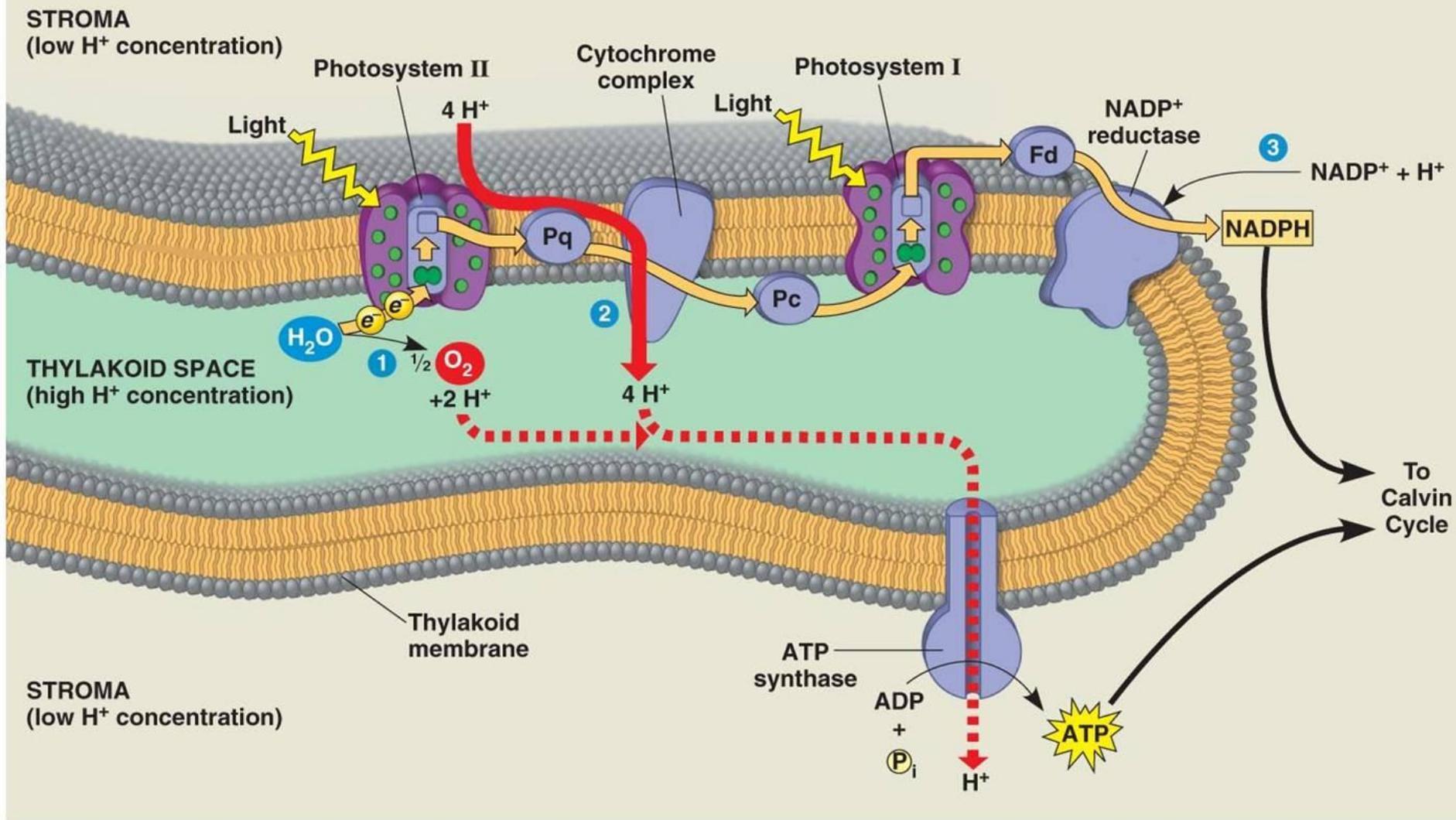


Водоразлагающий комплекс («марганцевые часы»)



Когда удалены 4 e⁻, из 2 молекул воды образуется молекула кислорода

Для окисления 2 молекул воды требуется 4 фотона (по фотону на e⁻). В люмен выделяется 4 протона



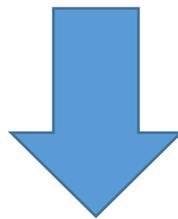
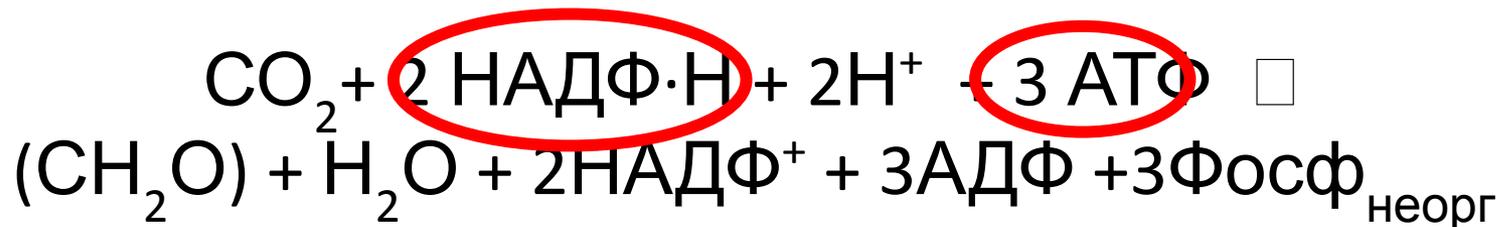
Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Продукты световых реакций фотосинтеза: АТФ, восстановитель НАДФ·Н и кислород (побочный продукт)

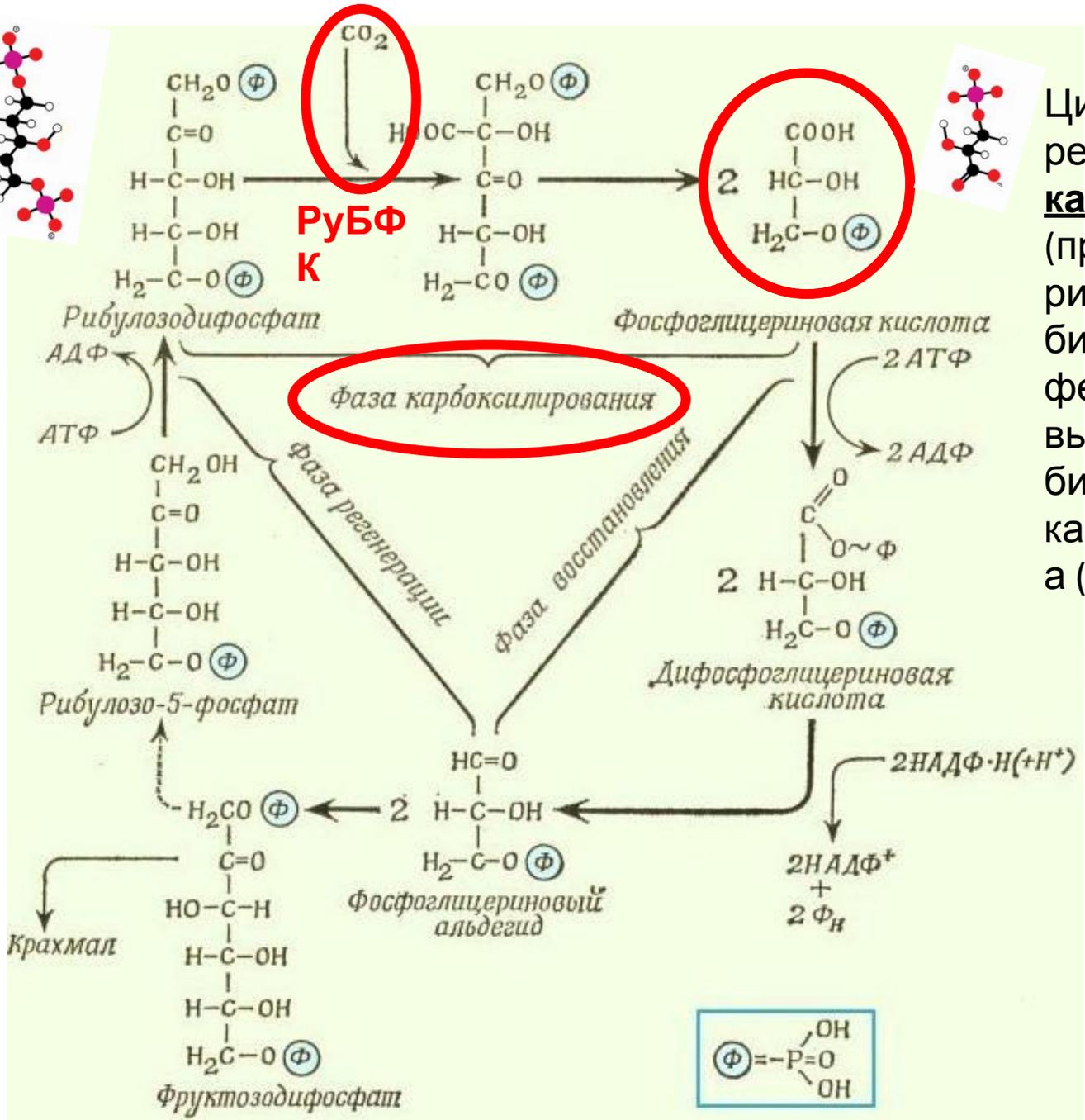
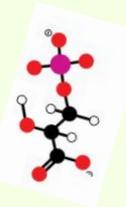
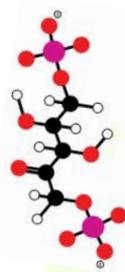
Темновые реакции

фотосинтеза

≈95% НАДФ•Н и ≈60% АТФ, образованных в ходе световых реакция фотосинтеза (фотогенерированные), идут на фиксацию неорганического углерода (CO₂)



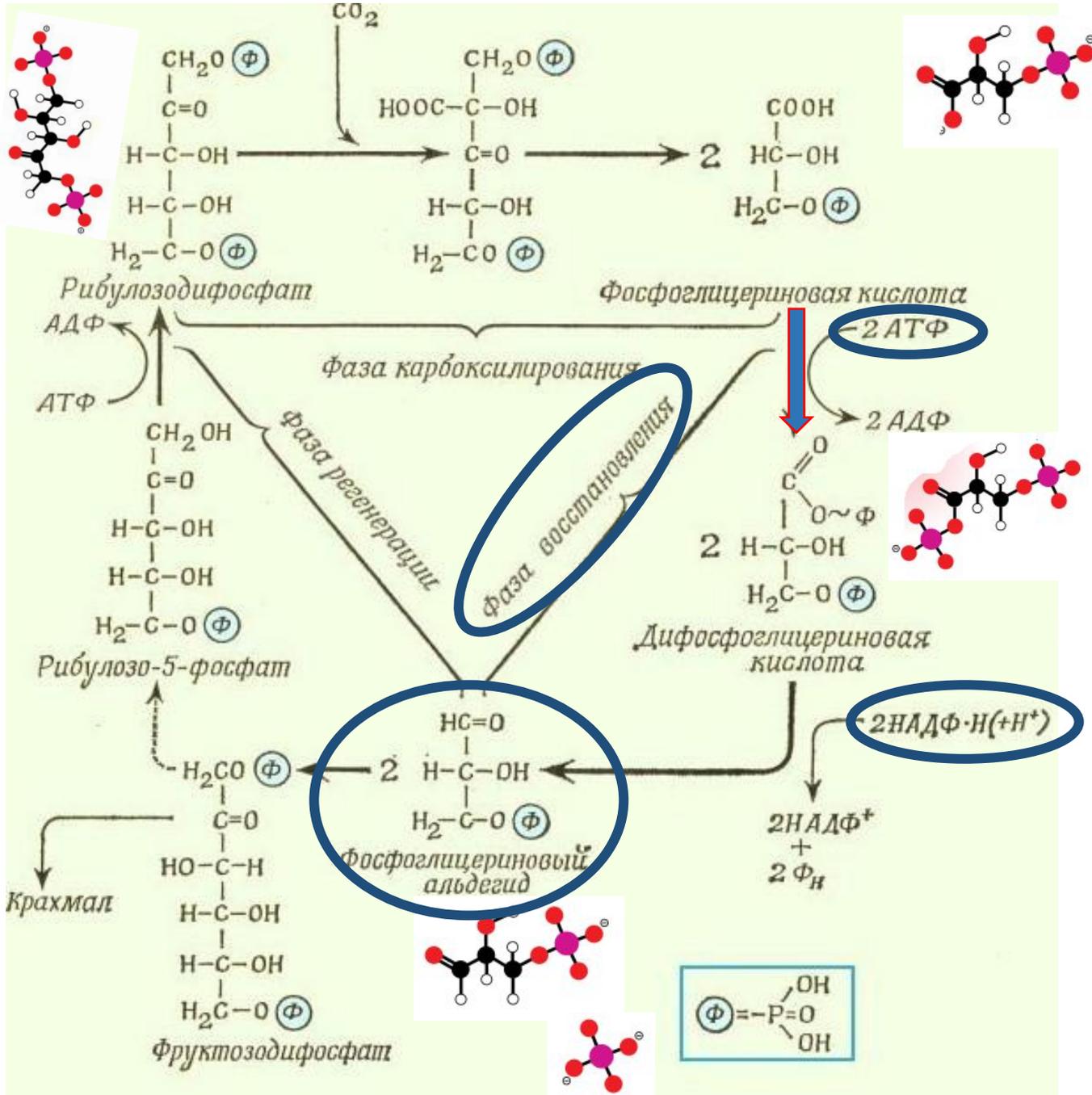
Цикл Кальвина-Бенсона



Цикл начинается с реакции **карбоксилирования** (присоединения CO_2) рибулозо-1,5-бисфосфата (РубФ), ферментом в которой выступает рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназа (РубФК/О).



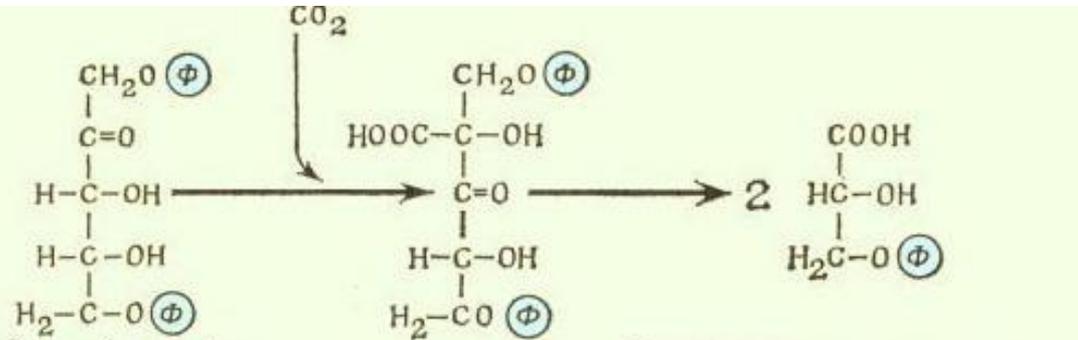
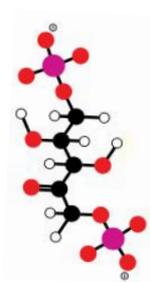
Образуются две молекулы фосфоглицериновой кислоты



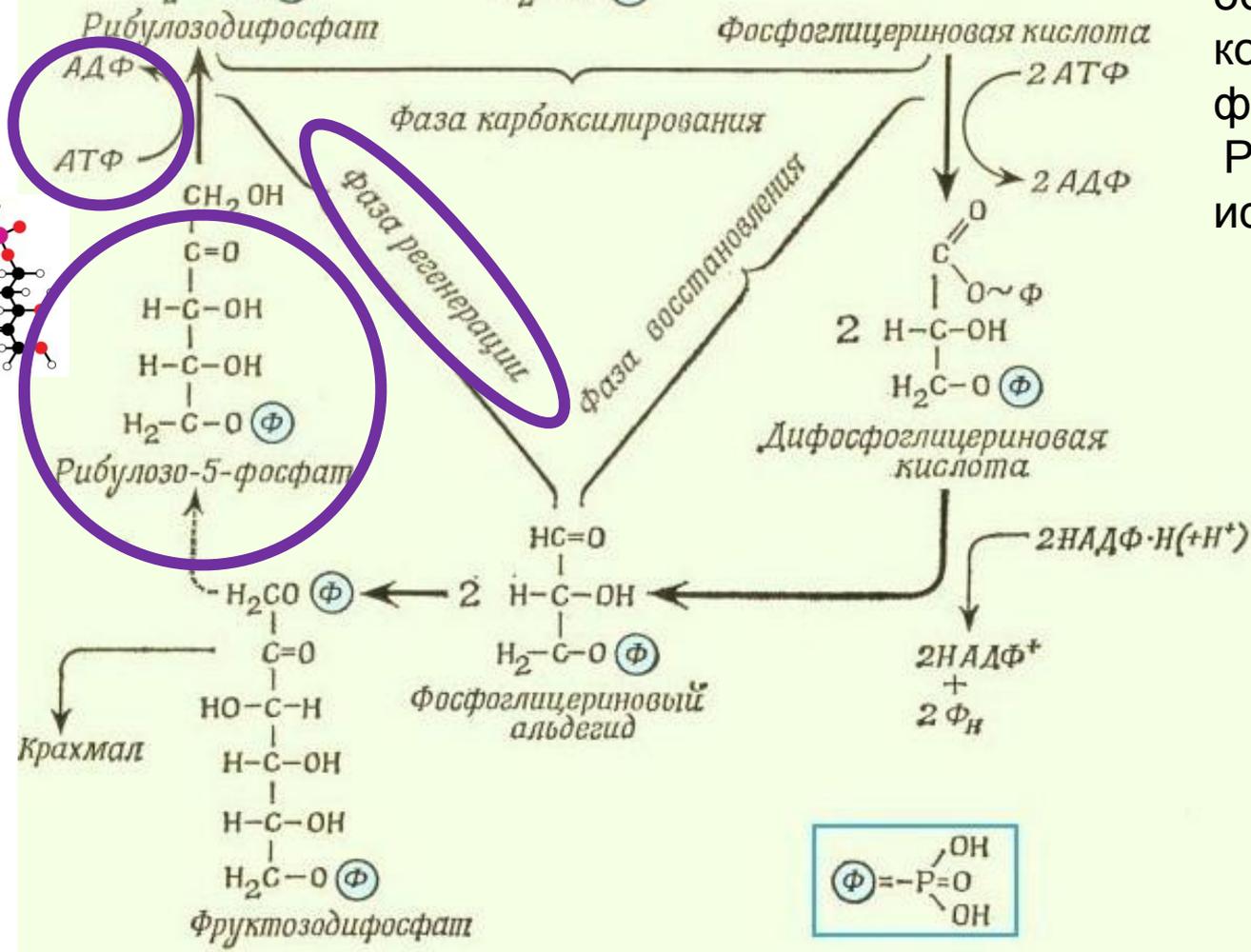
Фаза **ВОССТАНОВЛЕНИЯ** идет с расходом АТФ и восстановителя. Образуются две молекулы фосфоглицеринового альдегида

~1/6 фосфотриоз изымается из цикла и идет на запасные вещества и синтез различных компонентов

~5/6 фосфотриоз идет на регенерацию РуБФ



Фаза **регенерации**:
 из двух молекул
 фосфоглицеринового
 альдегида
 образуется РуФ,
 который затем
 фосфорилируется до
 РуБФ с
 использованием АТФ



Ферменты цикла Кальвина-Бенсона

Реакции цикла и ферменты, их катализирующие, могут быть разделены на три основные группы:

- I группа (использование фотогенерированных АТФ и восстановителя)
- II группа (необратимые)
- III группа (без использования фотогенерированных АТФ и восстановителя, обратимые).

Снижение активности ферментов I и II группы в темноте:

- Из-за уменьшения количества фотогенерированных АТФ и восстановителя. Не работают за счет АТФ и восстановителя, образованных при митохондриальном окислении (т.е. за счет дыхания).
- Из-за модификации молекул фермента в результате аллостерических взаимодействий (взаимодействие с веществом, не являющимся субстратом в реакции цикла).

Важно: активность ферментов падает до того момента, когда субстрат исчерпывается полностью. Это обеспечивает быстрое и эффективное восстановление работы цикла на свету.

Активность ферментов I и II группы в темноте снижается, на свету увеличивается

Активность ферментов III группы одинакова в темноте и на свету.

Звено, лимитирующее скорость функционирования цикла

Кальвина-Бенсона

Субстраты цикла – CO_2 (субстрат РубФК/О) и фотогенерированные АТФ и восстановитель.

(1) Если CO_2 – лимитирующая концентрация, а свет – не лимитирует (свет на уровне насыщения, образуется максимально возможное количество АТФ и восстановителя). В такой ситуации активность РубФК/О лимитирована недостатком CO_2



Это приведет к снижению концентрации фосфоглицериновой кислоты, и увеличению концентрации РубФ.

(2) Если CO_2 – не лимитирует, а свет – лимитирует. Нехватка АТФ и восстановителя



Это приведет к увеличению концентрации 3-фосфоглицериновой кислоты, и снижению концентрации фосфотриоз.

(3) Если и CO_2 , и свет не лимитируют?



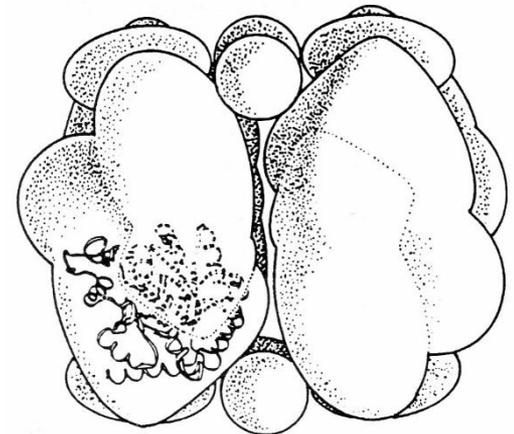
Скорость работы всего цикла будет ограничиваться максимально возможной скоростью работы самого фермента РубФК/О.

V_{\max} РубФК/О – 80 моль CO_2 /(моль РубФК/О в секунду) – гораздо меньшая активность по сравнению с другими карбоксилазами.

Поэтому в клетках много РубФК/О:

- 1-10% клеточного углерода
- 2 – 10% суммарного клеточного белка.
- При высокой освещенности в клетке может быть РубФК/О в 5 раз больше, чем хлорофилла.

**РубФК/О – фермент,
количество которого самое
большое на планете**

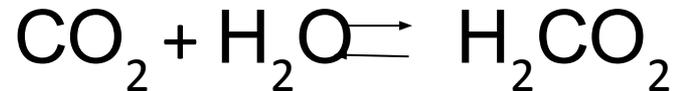


Первый шаг в фиксации неорганического углерода:

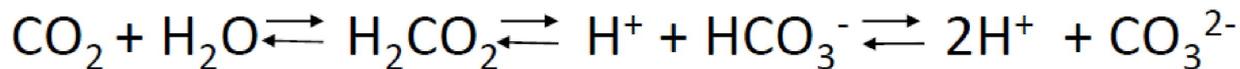
$\text{CO}_2 + \text{РyБФ}$, катализируется РyБФК/O
откуда берется?

Рибулозобисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа

В водном растворе при взаимодействии молекулы воды и CO_2 образуется слабая кислота - угольная кислота



Угольная кислота диссоциирует на ионы бикарбоната и карбоната



Равновесие реакции сдвигается вправо при высоких pH и влево при низких pH

% от суммарного
содержания
неорганического углерода

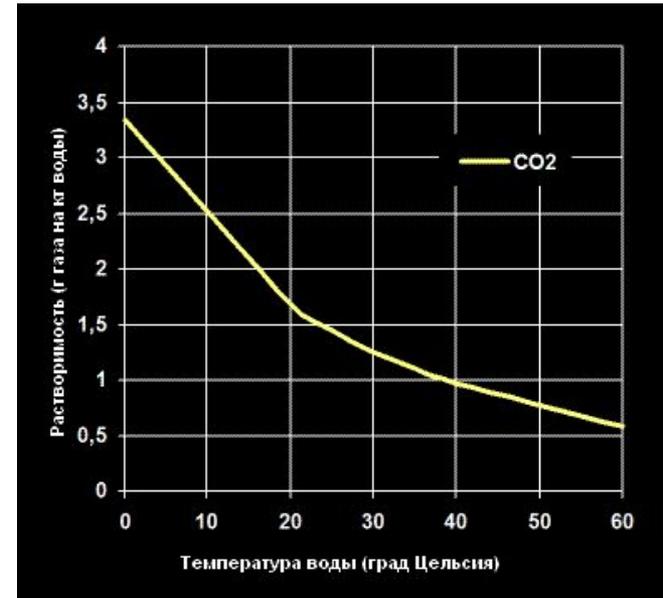


**Формы неорганического углерода при разных
уровнях pH**

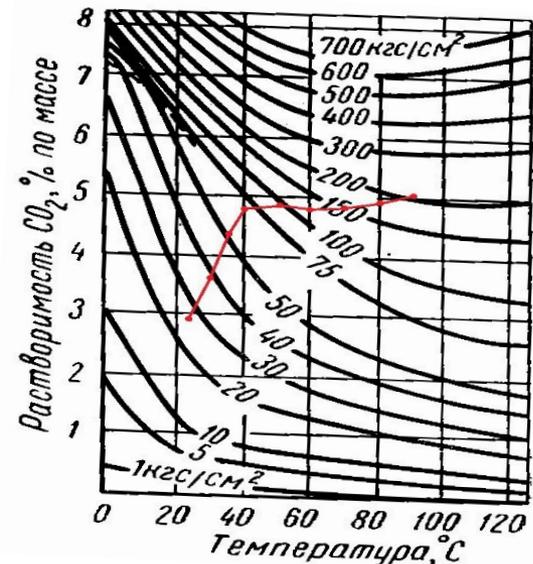
Концентрация CO_2 в воде зависит от его растворимости

Растворимость CO_2 зависит от температуры.

Концентрация CO_2 в поверхностных морских водах с $\text{pH} \approx 8.3$ (равновесная с концентрацией в воздухе) при $0^\circ\text{C} \approx 23 \text{ мкМ}$, при $20^\circ\text{C} \approx 13 \text{ мкМ}$ ($0.5 - 1.0 \text{ CO}_2 \text{ мг /л}$).



Также концентрация CO_2 зависит от солености и атмосферного давления.



Концентрация бикарбонатов существенно больше, чем углекислого газа. Но!

- для иона HCO_3^- клеточная мембрана непроницаема
- для РубК/О субстратом является CO_2

Как CO_2 поступает в клетку?

Диффузия, по градиенту концентрации, идет без затраты энергии.

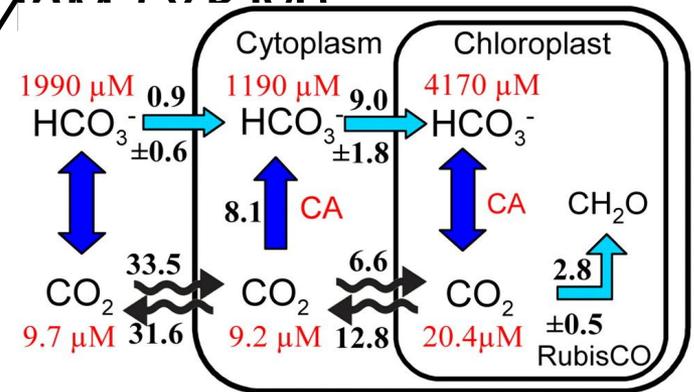
Поскольку CO_2 может свободно проникать через клеточные мембраны, то для того, чтобы газ не «уходил» обратно, надо поддерживать концентрацию CO_2 внутри клетки ниже, чем снаружи, и в строме хлоропластов ниже, чем вне хлоропласта.

Это достигается за счет растворения CO_2 в липидной фазе внутри клетки и в строме хлоропласта.

У ряда одноклеточных водорослей и макрофитов поступление неорганического углерода в клетки идет только за счет диффузии. У других, как показали расчеты и эксперименты, одна диффузия не может обеспечить потребности клетки в CO_2 .

Водоросли в процессе эволюции выработали углерод концентрирующий механизм

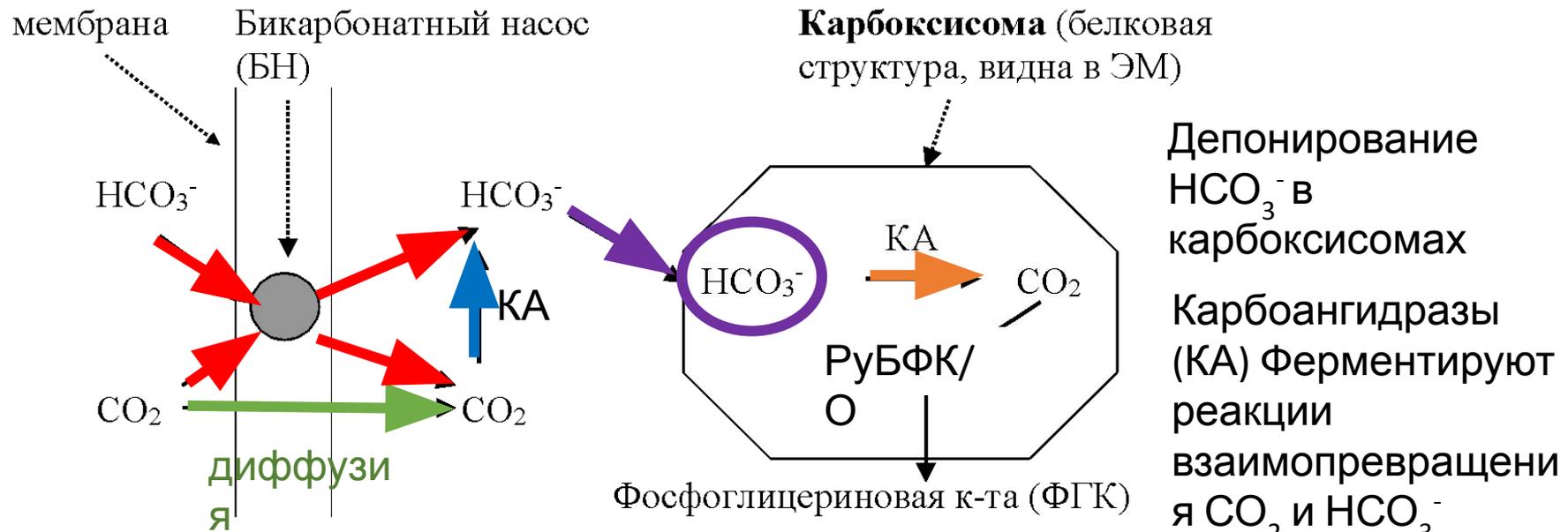
Активный транспорт CO_2 и HCO_3^- в клетку (с затратами энергии)



- УКМ – очень эффективный, увеличивает количество CO_2 , доступное для РБФК/О в 40 (эукариоты) – 4000 (некоторые цианобактерии) раз.
- УКМ – эффективный, но энергетически довольно «затратный» механизм – 16 фотонов на 1 моль CO_2 .
- Гены, кодирующие транспортеры неорганического углерода, до настоящего времени не найдены. Существуют концептуальные схемы УКМ.

Цианобактерии:

CO_2 – диффузия и/или активный транспорт,
 HCO_3^- - активный транспорт



БН – активный транспорт с расходом энергии.

Поскольку возможна диффузия CO_2 из клетки, он переводится в HCO_3^- («захлопывание» - для HCO_3^- мембрана непроницаема).

В карбоксисомах – солокализация двух ферментов – карбоангидраз (КА) и РyБФК, чтобы CO_2 не диффундировал от РyБФК.

Карбоангидразы

(КА):

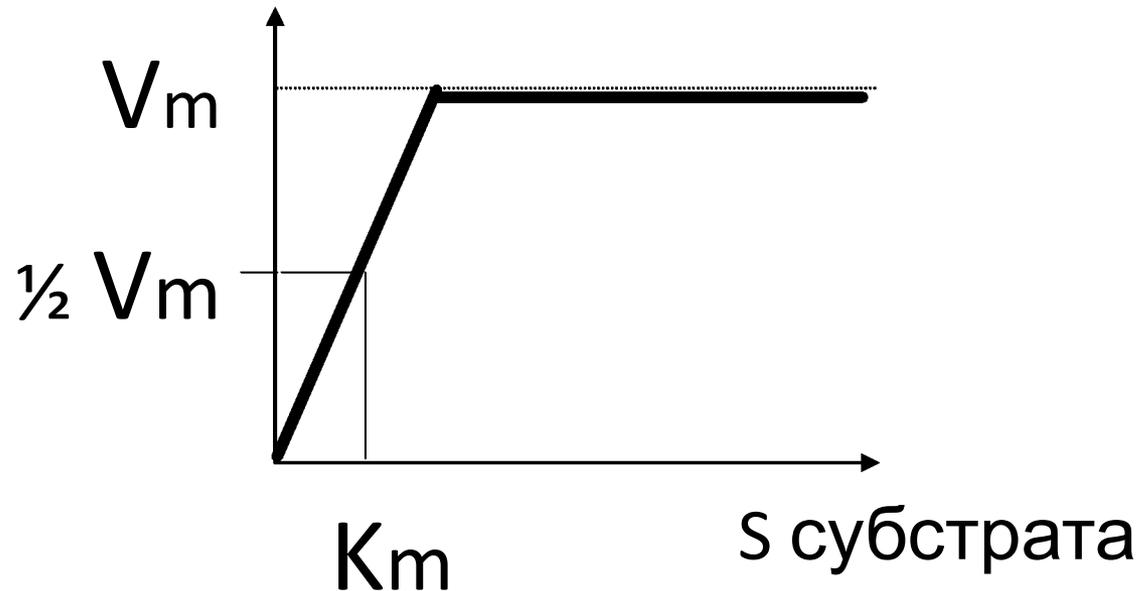
Ферментируют реакции взаимопревращения CO_2 и бикарбоната, например сдвигают диссоциацию HCO_3^- в сторону образования CO_2

- Гетерогенная по происхождению и строению группа ферментов.
- Карбоангидразы есть внеклеточные и внутриклеточные.
- Внутриклеточные КА сконцентрированы в местах локализации РубФК/О, для обеспечения РубФК/О субстратом - CO_2 . Кроме этого, карбоангидразы обнаружены в различных местах внутри клеток, где они способствуют снабжению других карбоксилаз необходимыми формами неорганического углерода.

Карбоангидразы (КА):

- В молекуле есть Zn.
- Высокая скорость оборота – до 600 000/сек.
- $K_m = 5 - 10 \text{ мМ HCO}_3^-$?

Кинетические параметры ферментативных реакций



V_m – максимальная скорость реакции;

K_m – константа полунасыщения, характеризует сродство к субстрату;

S – концентрация субстрата;

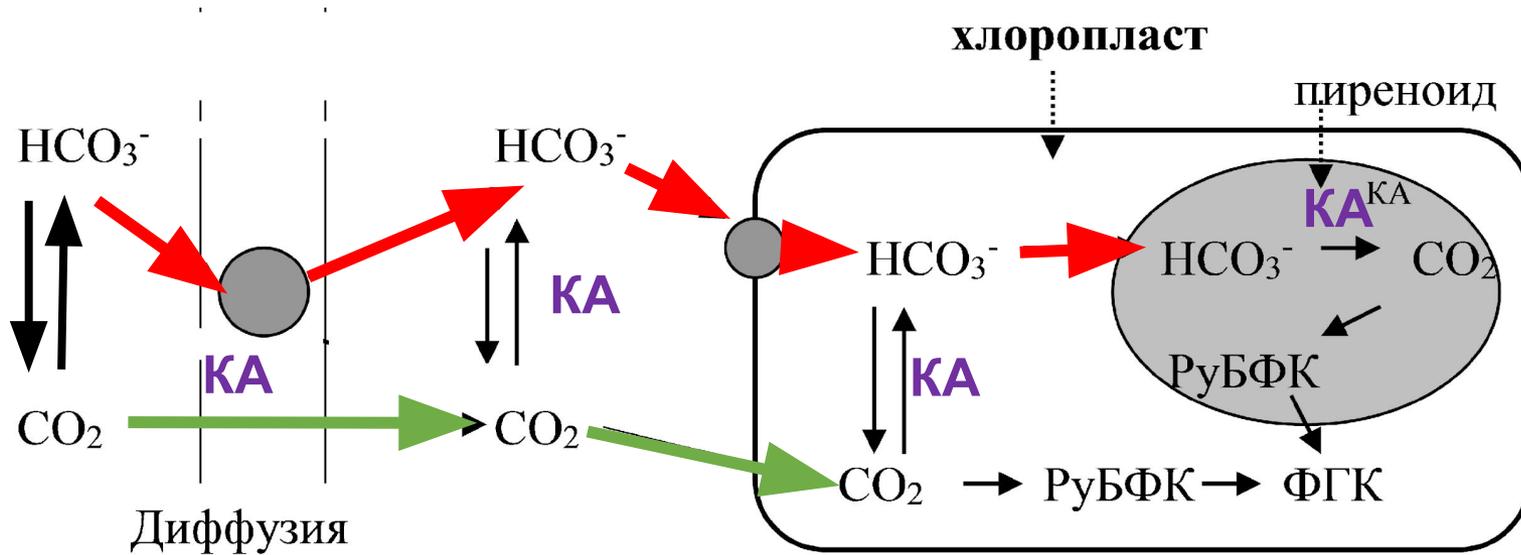
V – скорость реакции при концентрации субстрата S .

$$V = \frac{V_m \cdot S}{K_m + S}$$

r – скорость оборота фермента (в единицу времени).

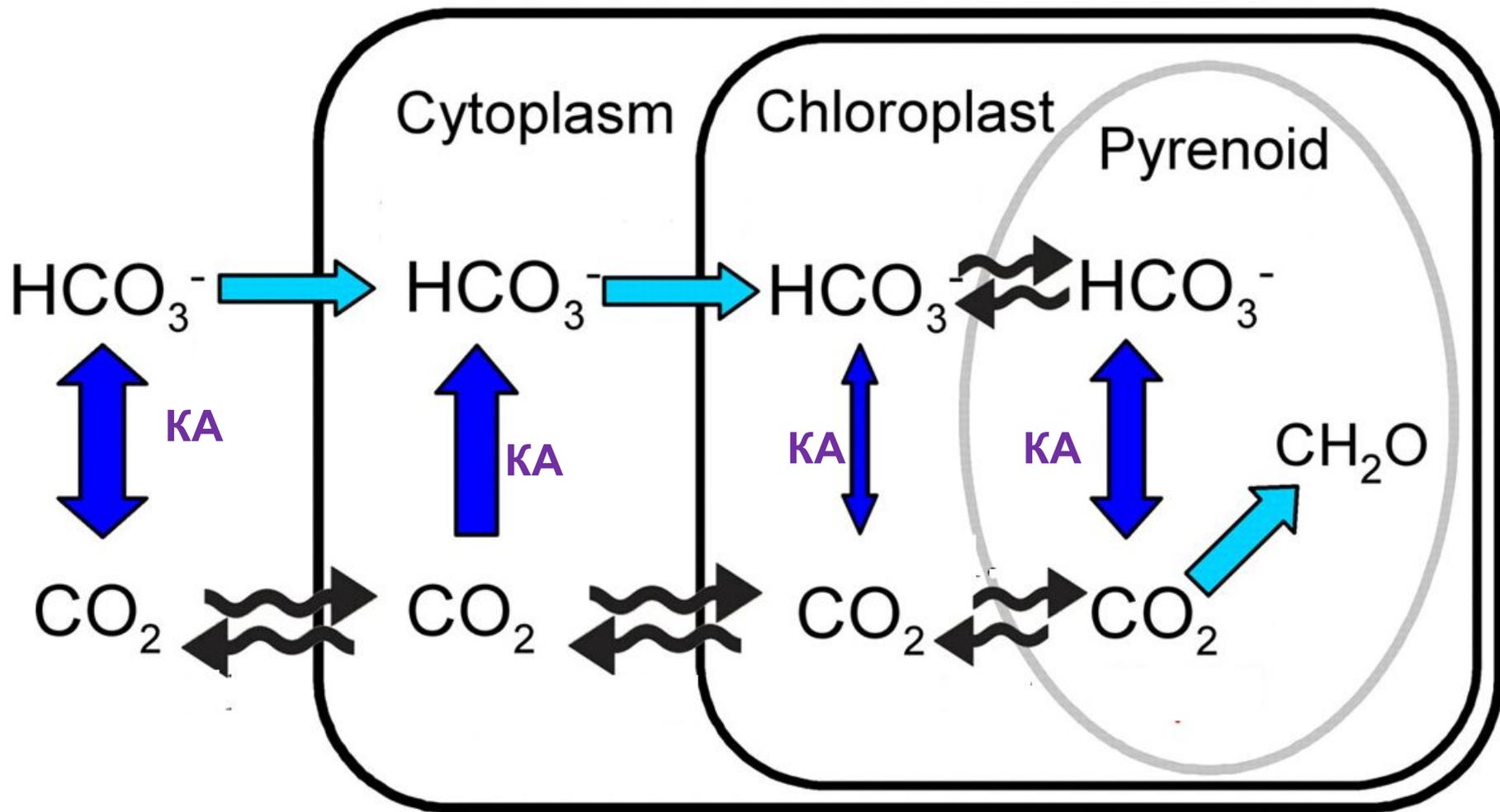
$$r = \frac{S}{V}$$

УКМ у эукариотных водорослей

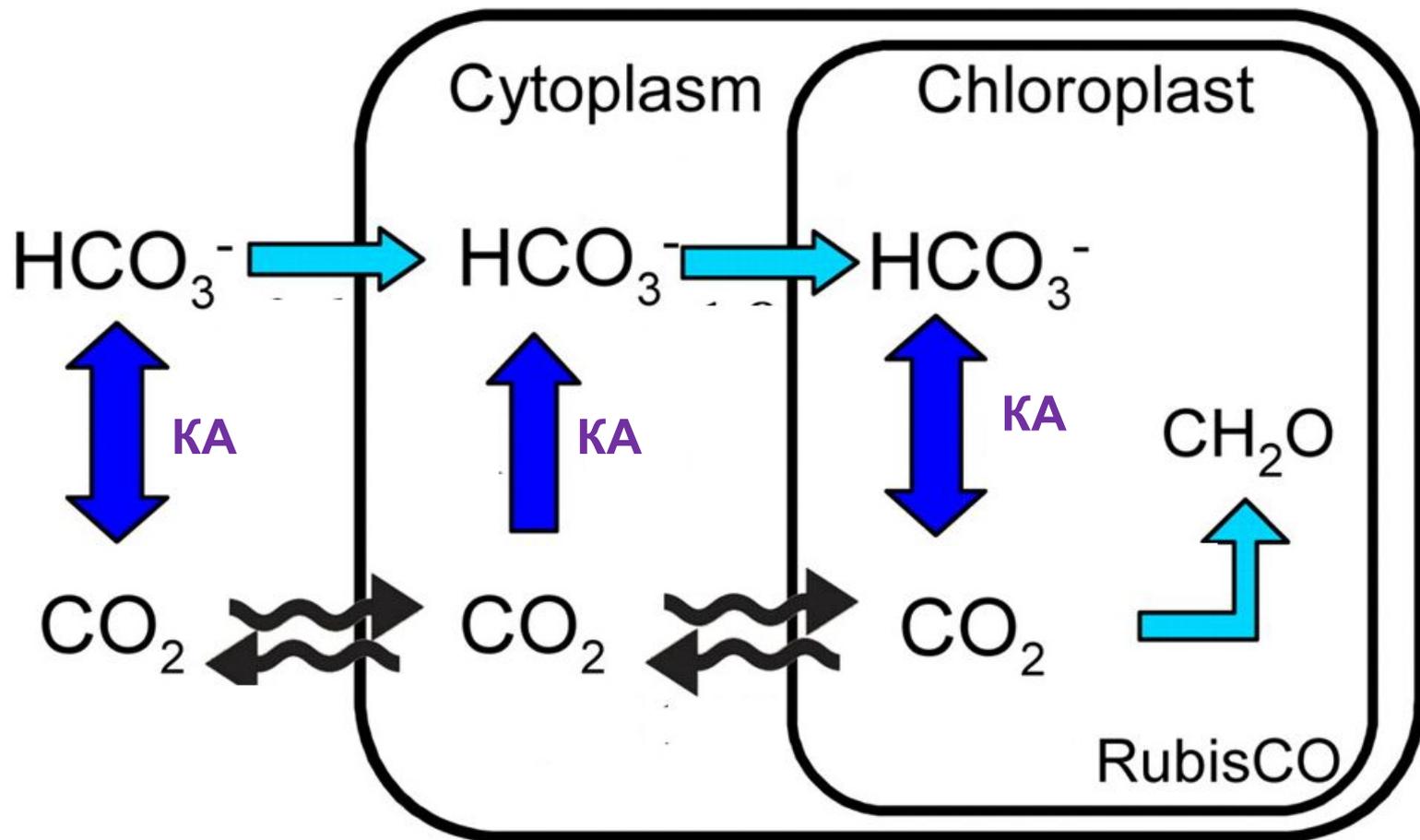


Внеклеточные КА (может не быть) – локализованы в периплазматическом пространстве, конститутивные или индуцибельные

Внутриклеточные КА – цитоплазма, пиреноид (может не быть), в тилакоидах (мембраны и, или люмен)



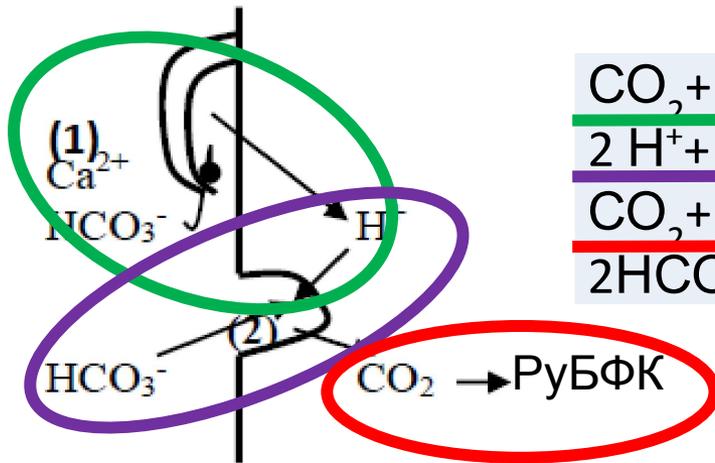
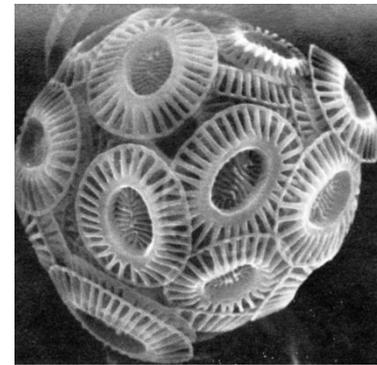
УКМ у эукариот с пиреноидом



УКМ у эукариот без пиреноида

УКМ у кокколитофорид

Основан на выделение протонов (подкисление) при образовании кокколит



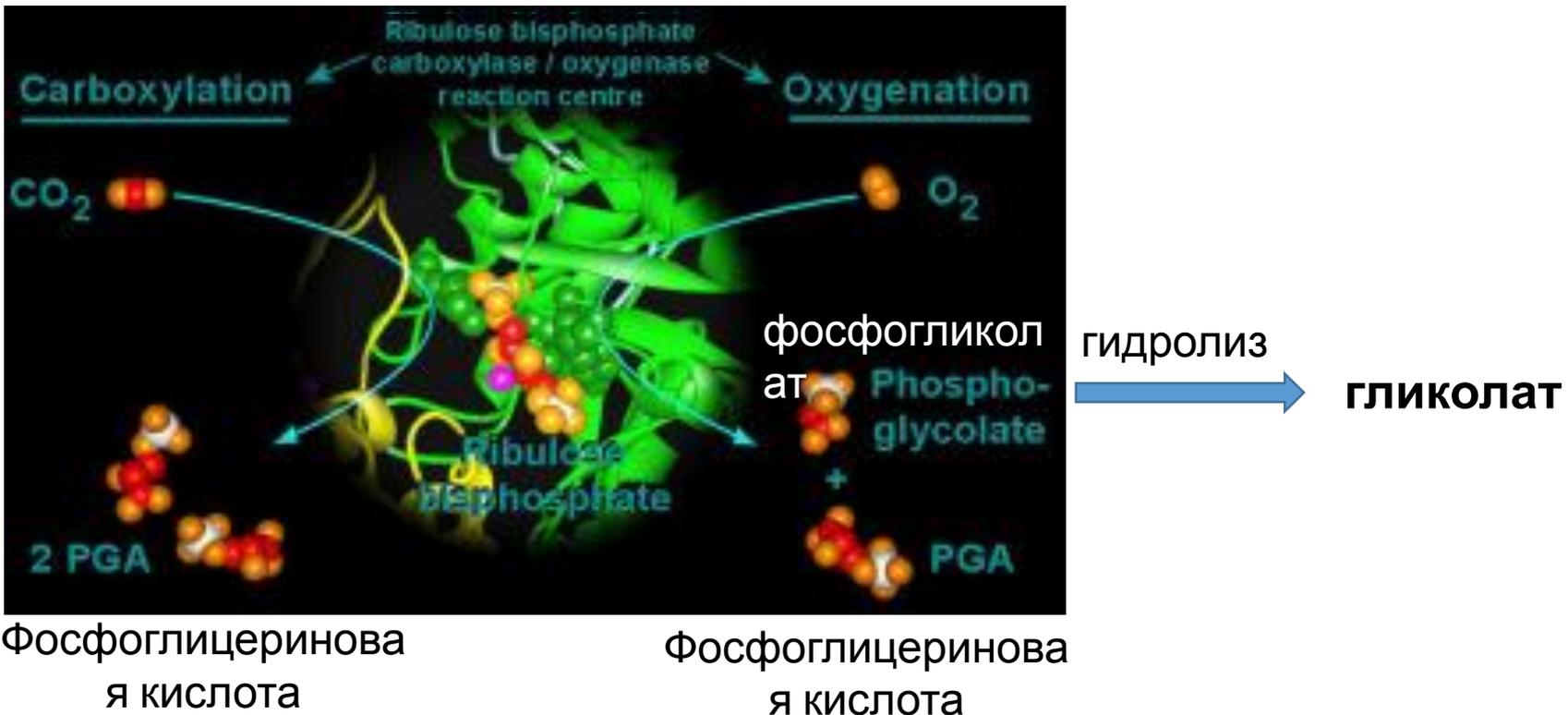
У океанических кокколитофорид – только УКМ, связанный с выделением протона.

У неритических (*Emiliana hixleyii*) – плюс еще внеклеточные КА

ФОТОДЫХАНИЕ

РубФК/О помимо карбоксилазной активности, может осуществлять и оксигеназную – присоединение молекулы кислорода. Т.е. CO_2 и кислород – конкурирующие субстраты для РубФК/О, чем выше концентрация кислорода, тем выше оксигеназная активность РубФК/О.

Светозависимое потребление кислорода в результате оксигеназной активности с последующей цепью реакций гликолатного метаболитного пути называется ФОТОДЫХАНИЕМ.



Выделение гликолата в виде экзометаболитов – результат фотодыхания. Как правило, у водорослей фотодыхание незначительное, у наземных – до 25 % от фиксированного углерода идет на фотодыхание.

Почему такой важный фермент такой

«несовершенный»?
Карбоксилирование у ферментом RuБФК возникло, когда в атмосфере и океане было мало кислорода. По мере увеличения концентрации O₂ водоросли столкнулись с проблемой необходимости снижения оксигеназной активности RuБФК (фотодыхания).

Эволюционные пути адаптации к увеличению концентрации O₂:

- (1) Изменения структуры RuБФК для уменьшения константы полунасыщения K_m[CO₂] и увеличения селективного фактора (S_{rel})

$$S_{rel} = \frac{V_{max} [CO_2] K_m [O_2]}{V_{max} [O_2] K_m [CO_2]}$$

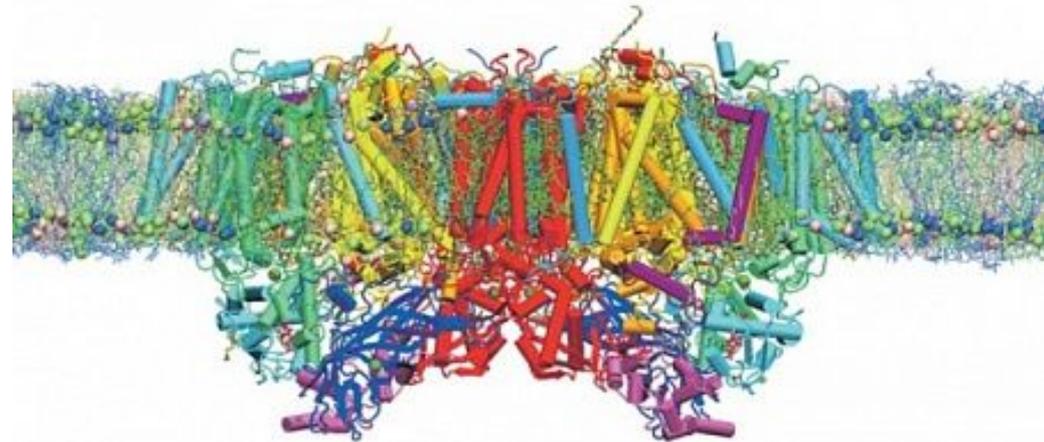
(2) Выработка углерод концентрирующего механизма, включая выработку активного транспорта HCO_3^- (более обильной в водной среде формы неорганического углерода) в клетки.

(3) Предотвращения потерь фосфогликолата, вовлечение его в метаболизм. Пути трансформации различаются у разных отделов водорослей, что свидетельствует о неоднократном возникновении путей трансформации в ходе эволюции (разные ферменты - гликолат оксидазы, гликолат дегидрогеназы).

Выход на сушу, где скорость диффузии CO_2 в 10000 раз выше, чем в водной среде.

На следующей лекции:

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ФОТОСИНТЕЗА



Контрольная работа:
Световые и темновые стадии
фотосинтеза



Спасибо за внимание!