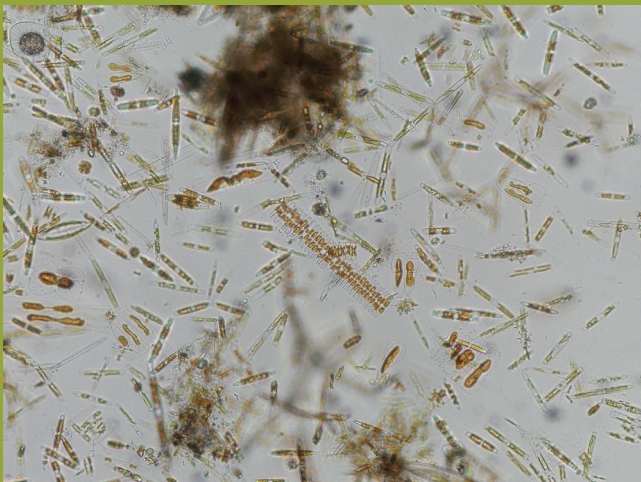




ΚΕΦΑΛΑΙΟ 19

Φωτοσύνθεση

Οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί αναπτύσσονται οπουδήποτε είναι διαθέσιμο το φως. Τα φύκια, τα οποία ζουν στους πάγους της Αρκτικής Θάλασσας, μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική ενέργεια που γίνεται τροφή για άλλους οργανισμούς.

Περιεχόμενα Κεφαλαίου

1. Χλωροπλάστες

- A. Οι φωτεινές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στη μεμβράνη του θυλακοειδούς
- B. Τα μόρια χρωστικών απορροφούν φως

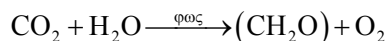
2. Οι φωτεινές αντιδράσεις

- A. Η φωτεινή ενέργεια μετατρέπεται σε χημική ενέργεια
- B. Η μεταφορά ηλεκτρονίων στα φωτοσυνθετικά βακτήρια ακολουθεί μια κυκλική οδό
- Γ. Η μεταφορά ηλεκτρονίων δύο κέντρων είναι η γραμμική οδός που παράγει O_2 και NADPH
- Δ. Η βαθμίδωση πρωτονίων καθοδηγεί τη σύνθεση του ATP με φωτοφωσφορυλίωση

3. Οι σκοτεινές αντιδράσεις

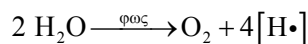
- A. Ο κύκλος του Calvin δεσμεύει CO_2
- B. Τα προϊόντα του κύκλου του Calvin μετατρέπονται σε άμυλο, σουκρόζη και κυτταρίνη
- Γ. Ο κύκλος του Calvin ελέγχεται έμμεσα από το φως
- Δ. Η φωτοαναπνοή ανταγωνίζεται τη φωτοσύνθεση

Η ιδέα ότι τα φυτά λαμβάνουν τροφή από τέτοιες άυλες πηγές, όπως το φως και ο αέρας, δεν είχε επαληθευτεί μέχρι τον δέκατο όγδοο αιώνα. Η ένδειξη ότι τα φυτά παράγουν μια ουσία ζωτικής σημασίας, το O_2 , δεν είχε ληφθεί μέχρι το 1771, όταν ο Joseph Priestly παρατήρησε ότι ο αέρας μέσα σε ένα βάζο στο οποίο είχε καεί ένα κερί μπορούσε να «αποκατασταθεί» εισάγοντας ένα μικρό φυτό μέσα στο βάζο. Στην παρουσία του ηλιακού φωτός, τα φυτά και τα κυανοβακτήρια καταναλώνουν CO_2 και H_2O και παράγουν O_2 και «καθηλωμένο» άνθρακα υπό τη μορφή υδατάνθρακα:

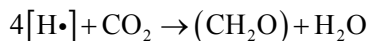


Η **φωτοσύνθεση (photosynthesis)**, στην οποία η ηλιακή ενέργεια καθοδηγεί την αναγωγή του άνθρακα, είναι ουσιαστικά αντίστροφη του οξειδωτικού μεταβολισμού των υδατανθράκων. Οι υδατάνθρακες που παράγονται φωτοσυνθετικά επομένως χρησιμεύουν ως πηγή ενέργειας για τον οργανισμό που τους παράγει, καθώς επίσης και για τους μη φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που άμεσα ή έμμεσα καταναλώνουν φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Επιπλέον, η φωτοσύνθεση ανά τους αιώνες δημιούργησε όλο το οξυγόνο στην ατμόσφαιρα της γης (υπενθυμίζεται ότι η πρώτη ατμόσφαιρα της γης παρουσίαζε έλλειψη O_2 , Ενότητα 1–1A). Εκτιμάται ότι η φωτοσύνθεση δεσμεύει ετησίως $\sim 10^{11}$ τόνους άνθρακα, ποσότητα η οποία εκφράζει την αποθήκευση ενέργειας πάνω από 10^{18} kJ. Περίπου η μισή από αυτήν τη δραστηριότητα διεξάγεται από **φυτοπλαγκτόν**, κυρίως **κυανοβακτήρια** (παλιότερα, γνωστά ως μπλε-πράσινα φύκια, αν και είναι προκαρυώτες). Η διαδικασία με την οποία η φωτεινή ενέργεια μετατρέπεται σε χημική έχει τις ρίζες της στις αρχές της εξέλιξης, και η πολυπλοκότητά της είναι συνεπής με τη μακρά ιστορία της. Η συζήτησή μας εστιάζει αρχικά στα μωβ φωτοσυνθετικά βακτήρια λόγω της σχετικής απλότητας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού τους, και στη συνέχεια στα φυτά, των οποίων οι χλωροπλάστες αποτελούν τη θέση φωτοσύνθεσής τους.

Στις αρχές του εικοστού αιώνα, υπήρχε η λανθασμένη άποψη ότι το φως που απορροφούνταν από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές ανήγαγε απευθείας το CO_2 , το οποίο στη συνέχεια συνδυαζόταν με το νερό σχηματίζοντας υδατάνθρακα. Στην πραγματικότητα, η φωτοσύνθεση στα φυτά είναι μια διαδικασία δύο βημάτων, στην οποία η ηλιακή ενέργεια αξιοποιείται για την οξείδωση του H_2O :



Τα ηλεκτρόνια που λαμβάνονται με αυτόν τον τρόπο ανάγουν ακολούθως το CO_2 :



Τα δύο στάδια της φωτοσύνθεσης αναφέρονται παραδοσιακά ως **φωτεινές αντιδράσεις (light reactions)** και **σκοτεινές αντιδράσεις (dark reactions)**:

1. Στις φωτεινές αντιδράσεις, τα εξειδικευμένα μόρια χρωστικής δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια και συνεπώς οξειδώνονται. Η σειρά αντιδράσεων μεταφοράς ηλεκτρονίων, οι οποίες ολοκληρώνονται με την αναγωγή του NADP^+ σε NADPH , δημιουργούν μια διαμεμβρανική βαθμίδωση πρωτονίων της οποίας η ενέργεια αξιοποιείται για τη σύνθεση του ATP από $\text{ADP} + \text{P}_i$. Τα οξειδωμένα μόρια χρωστικής ανάγονται από το H_2O , δημιουργώντας επομένως το O_2 .
2. Οι σκοτεινές αντιδράσεις χρησιμοποιούν το NADPH και το ATP για την αναγωγή του CO_2 και το ενσωματώνουν στους προδρόμους των υδατανθράκων, που περιέχουν τρία άτομα άνθρακα.

Όπως θα δούμε, και οι δύο διαδικασίες συμβαίνουν στο φως και επομένως περιγράφονται καλύτερα ως εξαρτώμενες από το φως αντιδράσεις και ως μη εξαρτώμενες από το φως αντιδράσεις. Μετά την περιγραφή των χλωροπλαστών και των περιεχομένων τους, θα εξετάσουμε τις φωτεινές αντιδράσεις και τις σκοτεινές αντιδράσεις.

1. Χλωροπλάστες

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

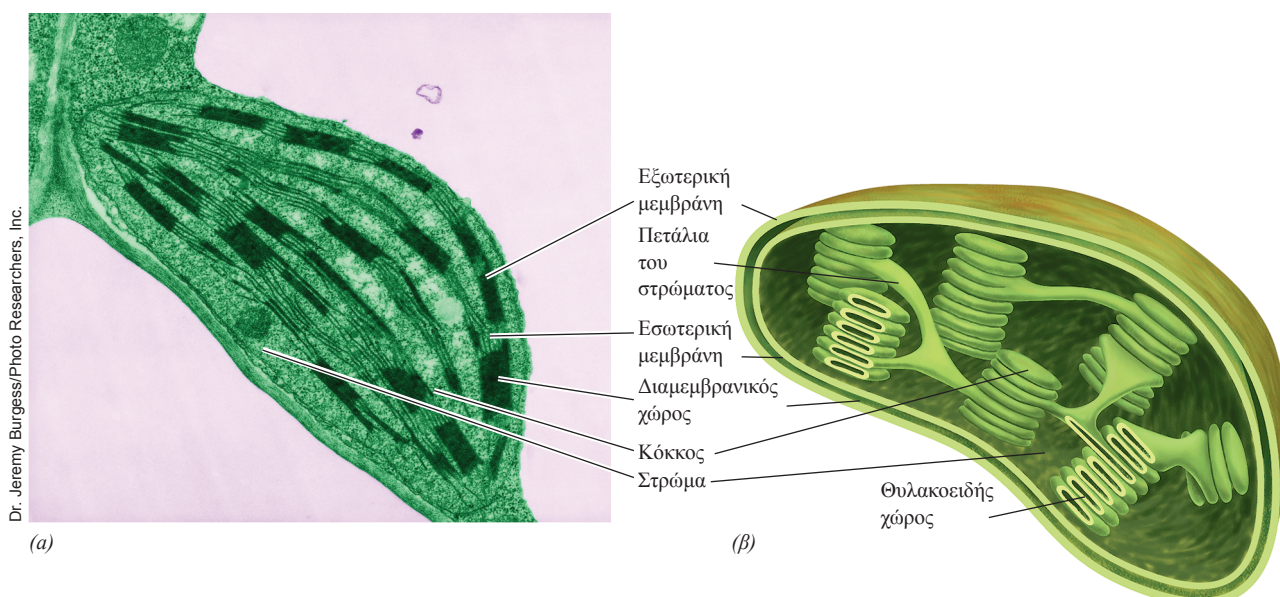
- Η μεμβράνη του θυλακοειδούς των χλωροπλαστών αποτελεί τη θέση απορρόφησης του φωτός.
- Τα μόρια χρωστικής, που ορισμένα είναι διατεταγμένα στα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα, απορροφούν το ορατό φως.

Η θέση της φωτοσύνθεσης στους ευκαρυώτες (φύκια και ανώτερα φυτά) είναι ο **χλωροπλάστης (chloroplast)**. Τα κύτταρα περιέχουν από 1 έως 1000 χλωροπλάστες, οι οποίοι ποικίλλουν σημαντικά σε μέγεθος και σχήμα, αλλά συνήθως είναι ελλειψοειδείς μήκους 5 μm . Αυτά τα οργανίδια πιθανότατα εξελίχθηκαν από τα φωτοσυνθετικά βακτήρια.

A. Οι φωτεινές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στη μεμβράνη του θυλακοειδούς

Όπως τα μιτοχόνδρια, με τα οποία μοιάζουν με πολλούς τρόπους, οι χλωροπλάστες διαθέτουν μια εξαιρετικά διαπερατή εξωτερική μεμβράνη και σχεδόν μια αδιαπέραστη εσωτερική μεμβράνη που διαχωρίζεται από έναν στενό διαμεμβρανικό χώρο (**Εικόνα 19–1**). Η εσωτερική μεμβράνη περικλείει το **στρώμα (stroma)**, ένα συμπυκνωμένο μίγμα ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων αυτών που απαιτούνται για τη σύνθεση των υδατανθράκων. Το στρώμα επίσης περιέχει το DNA, το RNA και τα ριβοσώματα που εμπλέκονται στη σύνθεση διάφορων πρωτεϊνών των χλωροπλαστών.

Το στρώμα, με τη σειρά του, περιβάλλει έναν τρίτο μεμβρανικό χώρο, το **θυλακοειδές (thylakoid)** [από την ελληνική λέξη: *θύλακας* (σάκος)]. Το θυλακοειδές είναι πιθανότατα ένα άκρως αναδιπλωμένο μεμονωμένο κυστίδιο, παρόλο που στους περισσότερους οργανισμούς φαίνεται να αποτελείται από στοιβές σάκων δισκοειδούς μορφής, που ονομάζονται **κόκκοι ή θυλακοσωρός (grana)** και συνδέονται μεταξύ τους με μη στοιβαγμένα **πετάλια στρώματος (stromal lamellae)**.



ΕΙΚΟΝΑ 19–1 Χλωροπλάστης από καλαμπόκι. (α) Μια ηλεκτρονική μικρογραφία. (β) Σχηματικό διάγραμμα.

? Ποιες είναι οι ομοιότητες των χλωροπλαστών με τα μιτοχόνδρια; Ποιες είναι οι διαφορές τους;

Ένας χλωροπλάστης συνήθως περιέχει από 10 έως 100 κόκκους. Οι μεμβράνες του θυλακοειδούς προκύπτουν από εγκολπώσεις της εσωτερικής μεμβράνης των αναπτυσσόμενων χλωροπλάστων και ως εκ τούτου μοιάζουν με τις μιτοχονδριακές ακρολοφίες. Η μεμβράνη του θυλακοειδούς περιέχει πρωτεϊνικά συμπλέγματα που σχετίζονται με τη συλλογή της ηλιακής ενέργειας, μεταφέροντας ηλεκτρόνια και συνθέτοντας ATP. Στα φωτοσυνθετικά βακτήρια, ο μηχανισμός για τις φωτεινές αντιδράσεις είναι τοποθετημένος στην πλασματική μεμβράνη, η οποία συχνά σχηματίζει εγκολπώσεις ή πολυστιβαδωτές δομές που μοιάζουν με κόκκους.

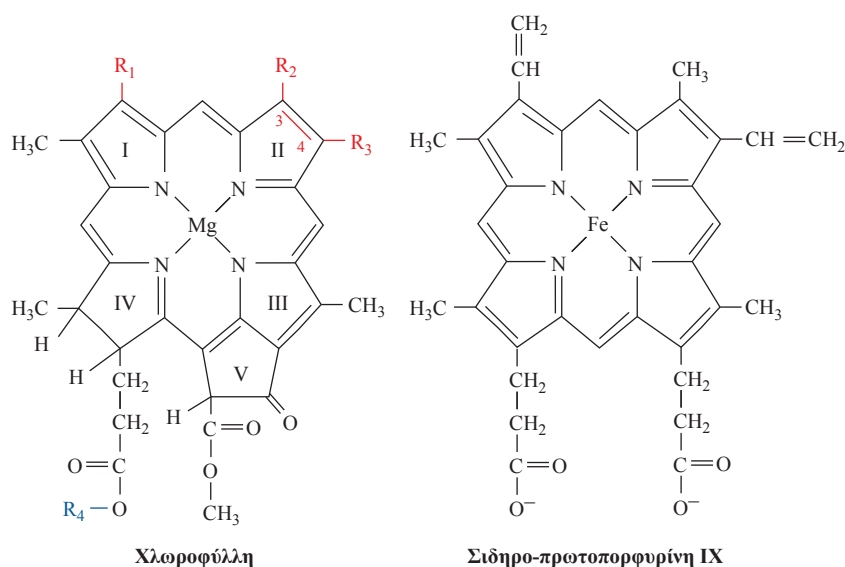
B. Τα μόρια χρωστικών απορροφούν φως

Ο κυριότερος φωτοϋποδοχέας στη φωτοσύνθεση είναι η **χλωροφύλλη (chlorophyll)**. Αυτό το κυκλικό τετραπυρόλιο, όπως η ομάδα αίμης των σφαιρινών και των κυτοχρωμάτων (Ενότητα 7–1 Α και Πλαίσιο 18–1), προέρχεται βιοσυνθετικά από την πρωτοπορφυρίνη IX. Ωστόσο, τα μόρια της χλωροφύλλης διαφέρουν από την αίμη από πολλές απόψεις (**Εικόνα 19–2**). Στη χλωροφύλλη, το κεντρικό μεταλλικό ιόν είναι το Mg^{2+} αντί για τον $Fe(II)$ ή $Fe(III)$, και ο δακτύλιος κυκλοπεντανόνης, ο δακτύλιος V, που συγχωνεύεται με τον πυρρολικό Δακτύλιο III. Οι κυριότερες μορφές χλωροφύλλης στα φυτά και στα κυανοβακτήρια, η **χλωροφύλλη α (Chl a)** και η **χλωροφύλλη β (Chl b)**, και οι κυριότερες μορφές στα φωτοσυνθετικά βακτήρια είναι η **βακτηριοχλωροφύλλη α (BChl a)** και η **βακτηριοχλωροφύλλη β (BChl b)**, που διαφέρουν στον δακτύλιο της αίμης αλλά και η μία από την άλλη ως προς τον βαθμό κορεσμού των δακτυλίων II και IV και ως προς τους υποκαταστάτες των Δακτυλίων I, II και IV.

Τα εξαιρετικά συζευγμένα μόρια χλωροφύλλης, μαζί με τις άλλες φωτοσυνθετικές χρωστικές, απορροφούν ισχυρά το ορατό φως (την πιο έντονη μορφή της ηλιακής ακτινοβολίας που φθάνει στην επιφάνεια της Γης, **Εικόνα 19–3**). Οι σχετικά μικρές χημικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων χλωροφυλλών επηρεάζουν σημαντικά το φάσμα απορρόφησής τους.

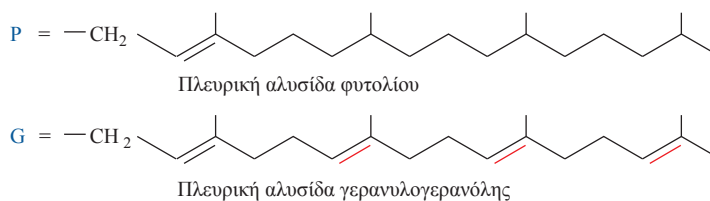
Τα φωτοσυνθετικά σύμπλοκα περιέχουν πολλαπλές χρωστικές. Οι πρωταρχικές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, όπως εξηγείται στην Ενότητα 19–2B, λαμβάνουν χώρα στα **κέντρα φωτοσυνθετικών αντιδράσεων (photosynthetic reaction centers)**. Ωστόσο, οι φωτοσυνθετικές μονάδες περιέχουν πολύ περισσότερα μόρια χλωροφύλλης από όσα περιέχονται στα κέντρα των αντιδράσεων. Αυτό συμβαίνει, επειδή τα περισσότερα μόρια χλωροφύλλης δεν συμμετέχουν απευθείας στις φωτοχημικές αντιδράσεις, αλλά προορίζονται για τη συλλογή φωτός, δηλαδή λειτουργούν ως κεραίες που συλλέγουν φως. Οι **χλωροφύλλες-κεραίες (antenna chlorophylls)** μεταβιβάζουν την ενέργεια των απορροφηθέντων **φωτονίων (photons)** (μονάδων φωτός) από μόριο σε μόριο, μέχρι να φτάσει σε ένα φωτοσυνθετικό κέντρο (**Εικόνα 19–4**).

Η μεταφορά της ενέργειας από το σύστημα κεραίας σε ένα κέντρο αντίδρασης (RC) πραγματοποιείται σε $<10^{-10}$ s με απόδοση $>90\%$. Αυτή η υψηλή απόδοση εξαρτάται από τα μόρια της χλωροφύλλης που έχουν τις κατάλληλες αποστάσεις και τους κατάλληλους σχετικούς προσανατολισμούς.

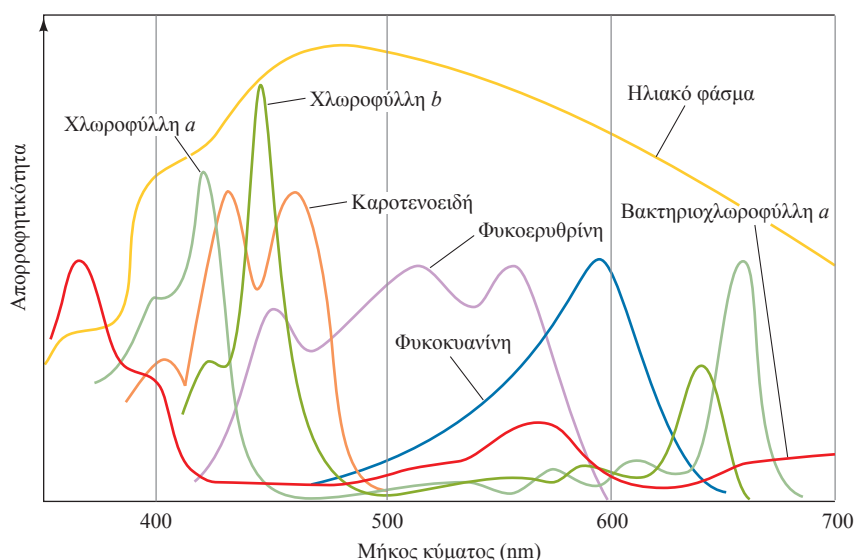


	R_1	R_2	R_3	R_4
Χλωροφύλλη α	$-\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	P
Χλωροφύλλη β	$-\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{C}(=\text{O})-\text{H}$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	P
Βακτηριοχλωροφύλλη α	$-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3^a$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3^a$	P or G
Βακτηριοχλωροφύλλη β	$-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3^a$	$=\text{CH}-\text{CH}_3^a$	P

^a Κανέναν διπλό δεσμό μεταξύ των θέσεων C3 και C4.

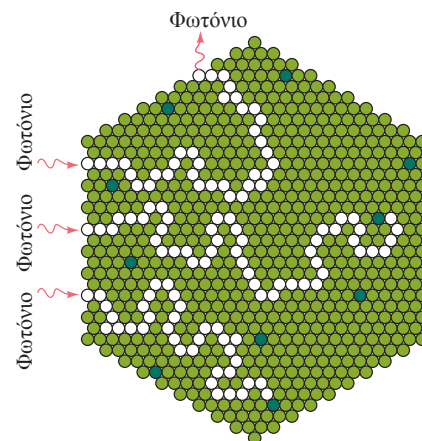


ΕΙΚΟΝΑ 19–2 Οι δομές της χλωροφύλλης. Οι μοριακοί τύποι των χλωροφυλλών α και β και των βακτηριοχλωροφυλλών α και β συγκρίνονται με αυτών της σιδηρο-πρωτοπορφυρίνης IX (αίμη). Οι ουρές ισοπρενικού φυτολίου και γερανυλογερανόλης πιθανότατα αυξάνουν τη διαλυτότητα της χλωροφύλλης σε μη πολικό μέσο.



ΕΙΚΟΝΑ 19-3 Φάσμα απορρόφησης διαφόρων φωτοσυνθετικών χρωστικών. Οι χλωροφύλλες έχουν δύο ζώνες απορρόφησης, μια στο κόκκινο (μεγάλου μήκους κύματος) και μια στο μπλε (μικρού μήκους κύματος). Η φυκοερυθρίνη απορροφά το μπλε και το πράσινο φως, ενώ η φυκοκυανίνη απορροφά το κίτρινο φως. Μαζί, αυτές οι χρωστικές απορροφούν το περισσότερο από το ορατό φως στο ηλιακό φάσμα. [Σύμφωνα με ένα σχέδιο από Govindjee, University of Illinois.]

? Τι χρώμα έχει καθεμία από αυτές τις χρωστικές;

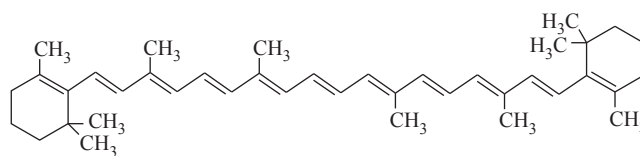


ΕΙΚΟΝΑ 19-4 Η ροή ενέργειας μέσω ενός φωτοσυνθετικού συμπλόκου-κεραία. Η ενέργεια που έχει απορροφηθεί από ένα φωτόνιο μεταναστεύει τυχαία μεταξύ αυτών των μορίων του συμπλόκου-κεραία (ανοιχτόχρωμοι πράσινοι κύκλοι), μέχρις ότου να φτάσει σε ένα κέντρο αντίδρασης χλωροφύλλης (σκουρόχρωμοι πράσινοι κύκλοι) ή λιγότερο συχνά να διαχυθεί (φθορισμός).

Ακόμη και σε έντονο ηλιακό φως, ένα RC ανακτά μόνο ~1 φωτόνιο ανά δευτερόλεπτο, ένας μεταβολικά σημαντικός ρυθμός. Επομένως, είναι απαραίτητο ένα σύμπλοκο από χρωστικές-κεραίες ή **φωτοσυλλεκτικό σύμπλοκο (light-harvesting complex, LHC)**.

Τα LHCs αποτελούνται από συστοιχίες συνδεδεμένων με τη μεμβράνη υδρόφοβων πρωτεϊνών, όπου η καθεμία περιέχει πολυάριθμα, συχνά συμμετρικά διατεταγμένα μόρια χρωστικής. Για παράδειγμα, η **LH-2** από το μωβ φωτοσυνθετικό βακτήριο *Rhodospirillum rubrum* είναι η ενσωματωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη που αποτελείται από οκτώ α-υπομονάδες και οκτώ β-υπομονάδες διατεταγμένες σε δύο οκταπλάσιους συμμετρικούς ομόκεντρους δακτυλίους, μεταξύ των οποίων στριμώχνονται 32 μόρια χρωστικής (**Εικόνα 19-5**). Άλλα LHCs ποικίλλουν ευρέως ως προς τις δομές τους και ως προς τη συμπληρωματικότητα των φωτοσυνθετικών χρωστικών. Ο αριθμός και η διάταξη των μορίων χρωστικής σε κάθε LHC έχουν προφανώς βελτιστοποιηθεί για την αποδοτική μεταφορά της ενέργειας σε όλο το LHC. Πράγματι, τα 16 μόρια Bchl *a* του δακτυλίου στην LH-2 (χαμηλότερο σημείο της Εικόνας 19-5β) είναι τόσο στενά συνδεδεμένα που απορροφούν την ακτινοβολία σχεδόν ως μια ενιαία μονάδα.

Τα περισσότερα LHCs περιέχουν άλλες φωτοσυλλεκτικές ουσίες εκτός από τη χλωροφύλλη. Αυτές οι **επικουρικές χρωστικές (accessory pigments)** «συμπληρώνουν» τα φάσματα απορρόφησης των συμπλόκων-κεραίας, που καλύπτουν τις φασματικές περιοχές όπου οι χλωροφύλλες δεν απορροφούν ισχυρά (**Εικόνα 19-3**). Για παράδειγμα, τα **καροτενοειδή (carotenoids)**, τα οποία είναι γραμμικά πολυένια όπως το **καροτένιο (carotene)**,

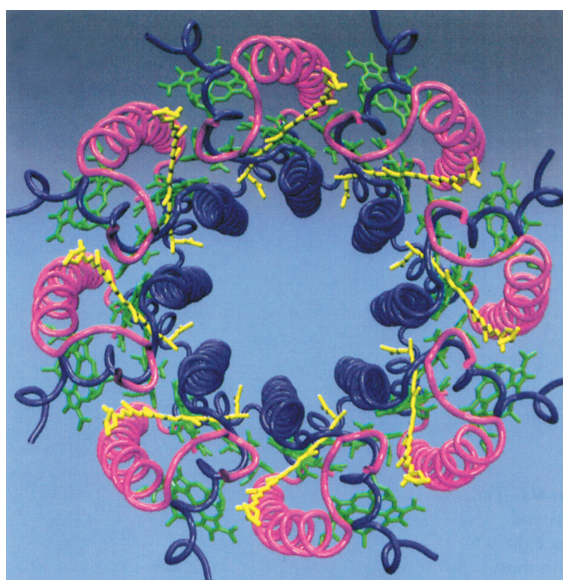


β-Καροτένιο

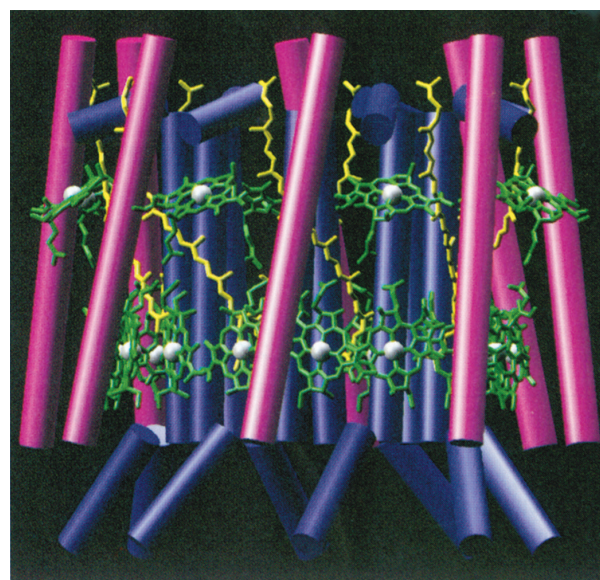
είναι συστατικά όλων των πράσινων φυτών και πολλών φωτοσυνθετικών βακτηρίων και άρα είναι οι πιο κοινές επικουρικές χρωστικές. Σε μεγάλο βαθμό, είναι υπεύθυνα για τα χρώματα που παίρνουν τα φύλλα των φυλλοβόλων δέντρων και για το πορτοκαλί χρώμα των καρότων (από το οποίο έχουν λάβει την ονομασία τους).

ΣΗΜΕΙΟ ΕΜΠΕΔΩΣΗΣ

- Συνοψίστε τα γεγονότα των φωτεινών αντιδράσεων και των φωτοεξαρτώμενων αντιδράσεων.
- Περιγράψτε τη δομή του χλωροπλάστη.
- Γιατί οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί περιέχουν διάφορους τύπους μορίων χρωστικής;
- Ποια είναι η λειτουργία των φωτοσυλλεκτικών συμπλόκων;



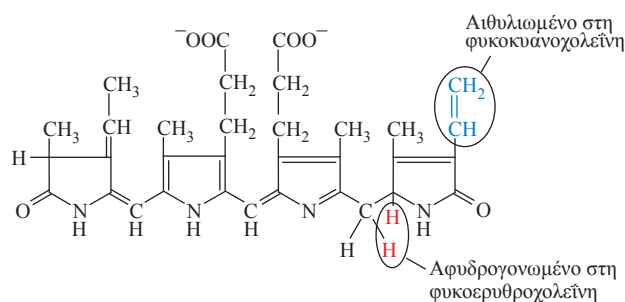
(α)



(β)

ΕΙΚΟΝΑ 19–5 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X ενός φωτοσυνθετικού συμπλόκου LH–2 από *Rs. Molischianum*. (α) Προβολή κάθετη προς τη φωτοσυνθετική μεμβράνη που δείχνει ότι οι α–υπομονάδες (μπλε χρώμα, 56 κατάλοιπα) και οι β–υπομονάδες (μωβ χρώμα, 45 κατάλοιπα), όπως αντιπροσωπεύονται από τις ραχοκοκαλιές C_α, είναι διατεταγμένες σε δύο ομόκεντρους οκταπλάσιους συμμετρικούς δακτυλίου. Εικοσιπέντε βακτηριοχλωροφύλλες α (BChl α, πράσινο χρώμα) και οκτώ μόρια **λυκοπενίου (lycopene)** (ένα καροτενοειδές, κίτρινο χρώμα) βρίσκονται ανάμεσα στους πρωτεϊνικούς δακτύλιους. (β) Προβολή από το επίπεδο της μεμβράνης, χρησιμοποιώντας τα ίδια χρώματα όπως στο Μέρος α, στην οποία τα τμήματα της α–έλικας των πρωτεϊνών συμβολίζονται με κυλίνδρους και τα ιόντα Mg²⁺ συμβολίζονται με λευκές σφαίρες. Παρατηρήστε ότι οκτώ από τα μόρια BChl α είναι συνδεδεμένα κοντά στην κορυφή του συμπλόκου με τα συστήματα των δακτυλίων τους να είναι σχεδόν κάθετα προς το επίπεδο της μεμβράνης. Αυτή η διάταξη, μαζί με τη διάταξη των μορίων λυκοπενίου, πιθανότατα βελτιστοποιεί την ικανότητα απορρόφησης του φωτός και την ικανότητα μετάδοσης της διέγερσης του συστήματος κεραίας. PDBid 1LGH.

Οι υδρόβιοι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί περιέχουν επιπλέον άλλους τύπους επικουρικών χρωστικών. Αυτό συμβαίνει, επειδή το φως με μήκος κύματος εκτός του εύρους 450–550 nm (μπλε και πράσινο φως) απορροφάται σχεδόν πλήρως, όταν διέρχεται από περισσότερα από 10 m νερού. Στα κόκκινα φύκια και τα κυανοβακτήρια, η Chl α επομένως αντικαθίσταται ως μια χρωστική–κεραία από ένα σύνολο γραμμικών τετραπυρρολίων, ιδίως την κόκκινη **φυκοερυθροχολεΐνη (phycoerythrobilin)** και τη μπλε **φυκοκυανοχολεΐνη (phycocyanobilin)** (τα φάσματά τους όταν συνδέονται στις πρωτεΐνες φαίνονται στην Εικόνα 19–3).



Φυκοερυθροχολεΐνη και φυκοκυανοχολεΐνη

2. Οι φωτεινές αντιδράσεις

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

- Η απορροφώμενη ηλιακή ενέργεια μπορεί να διαχέεται με εσωτερική μετατροπή, φθορισμό, μεταφορά εξιτονίου και φωτοοξειδωση.
- Το ειδικό ζεύγος των μωβ βακτηριακών φωτοσυνθετικών κέντρων αντίδρασης υφίσταται φωτοοξειδωση, και μια αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων επιστρέφει ηλεκτρόνιο στο ειδικό ζεύγος.
- Στα φυτά και στα κυανοβακτήρια, δύο φωτοσυστήματα, το κυτόχρωμα *b₆f* και οι κινητοί φορείς ηλεκτρονίων σχηματίζουν αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων που περιγράφεται με το σχήμα Z.
- Το φωτοσύστημα II ανάγει το φωτοοξειδωμένο ειδικό ζεύγος του με ηλεκτρόνια που προέρχονται από το νερό.
- Τα ηλεκτρόνια που ταξιδεύουν από το φωτοσύστημα II μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος *b₆f* υπόκεινται σε έναν κύκλο Q που δημιουργεί διαμεμβρανική βαθμίδωση πρωτονίων.
- Τα ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται από τη φωτοοξειδωση του φωτοσυστήματος I ανάγουν το NADP⁺ ή επιστρέφουν στο σύμπλοκο του κυτοχρώματος *b₆f*, του οποίου η δραστηριότητα συνεισφέρει στη βαθμίδωση των πρωτονίων.
- Το ATP παράγεται με φωτοφωσφορύλιωση.

Η φωτοσύνθεση είναι διαδικασία στην οποία ηλεκτρόνια από διεγερμένα μόρια χλωροφύλλης διέρχονται από μια σειρά δεκτών που μετατρέπουν την ηλεκτρονική ενέργεια σε χημική ενέργεια. Συνεπώς, μπορούμε να θέσουμε δύο ερωτήματα:

(1) Ποιος είναι ο μηχανισμός της μεταγωγής ενέργειας; (2) Πώς τα φωτοοξειδωμένα μόρια χλωροφύλλης ανακτούν τα χαμένα ηλεκτρόνια τους;

A. Η φωτεινή ενέργεια μετατρέπεται σε χημική ενέργεια

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία διαδίδεται ως διακριτά **κβάντα (quanta)** (φωτόνια) των οποίων η ενέργεια E δίνεται από τον **νόμο Planck**:

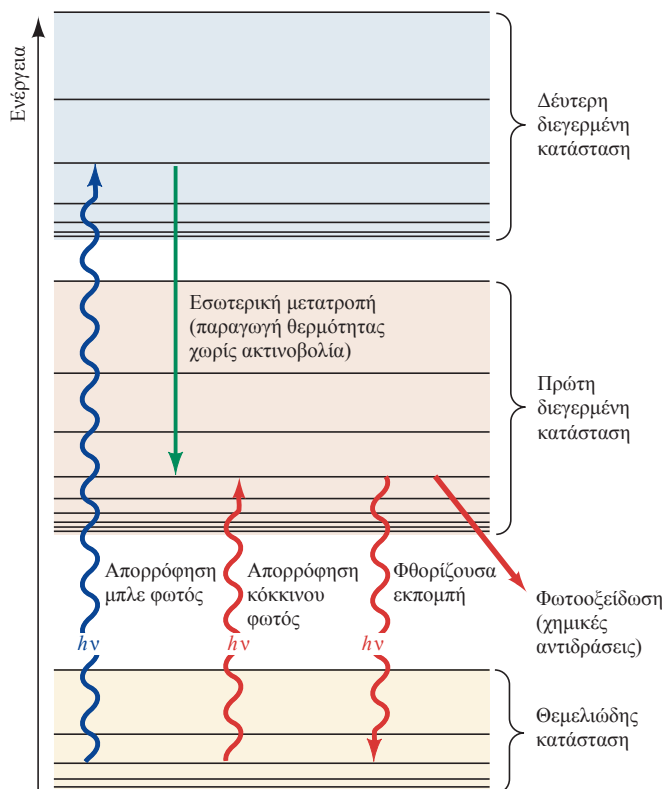
$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

όπου h είναι η **σταθερά Planck** ($6,626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$), c είναι η ταχύτητα του φωτός στο κενό ($2,998 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$), ν είναι η συχνότητα της ακτινοβολίας και λ είναι το μήκος κύματός της.

Όταν ένα μόριο απορροφά ένα φωτόνιο, ένα από τα ηλεκτρόνια του προωθείται από το μοριακό τροχιακό θεμελιώδους κατάστασης (χαμηλότερης ενέργειας) σε ένα υψηλότερης ενέργειας. Ωστόσο, ένα δεδομένο μόριο μπορεί να απορροφά φωτόνια μόνο συγκεκριμένου μήκους κύματος διότι, όπως απαιτείται από τον νόμο διατήρησης της ενέργειας, η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο καταστάσεων πρέπει να συνδυάζει ακριβώς την ενέργεια του απορροφώμενου φωτονίου.

Ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο μόριο μπορεί να διαχέει την ενέργεια διέγερσής του με αρκετούς τρόπους (**Εικόνα 19–6**):

- 1. Η εσωτερική μετατροπή (internal conversion)**, ένας κοινός τρόπος απόσβεσης, στον οποίο η ηλεκτρονική ενέργεια μετατρέπεται στην κινητική ενέργεια της μοριακής κίνησης, δηλαδή σε θερμότητα. Πολλά μόρια ηρεμούν με αυτό τον τρόπο στις θεμελιώδεις καταστάσεις τους. Ωστόσο, τα μόρια χλωροφύλλης συνήθως αναπαύονται μόνο στις χαμηλότερες καταστάσεις διέγερσής τους. Συνεπώς, η φωτοσυνθετικά εφαρμόσιμη ενέργεια διέγερσης ενός μορίου χλωροφύλλης που έχει απορροφήσει ένα φωτόνιο στη ζώνη μικρού μήκους κύματος, η οποία αντιστοιχεί στη δεύτερη κατάσταση διέγερσής του, δεν είναι διαφορετική από το εάν είχε απορροφήσει ένα φωτόνιο στη χαμηλότερη ενεργειακά ζώνη του μήκους κύματός του.
- 2. Ο φθορισμός (fluorescence)**, στον οποίο ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο μόριο επανέρχεται στη θεμελιώδη κατάσταση του με την εκπομπή ενός φωτονίου. Φωτόνιο που εκπέμπεται μέσω του φθορισμού κυρίως έχει μεγαλύτερο (χαμηλότερης ενέργειας) μήκος κύματος από αυτό που απορροφάται αρχικά. Ο φθορισμός αντιπροσωπεύει τη διάχυση μόνο του 3 με 6% της ηλιακής ενέργειας που απορροφάται από τα ζωντανά φυτά.
- 3. Η μεταφορά εξιτονίου (exciton transfer) —επίσης γνωστή ως μεταφορά ενέργειας συντονισμού (resonance energy transfer)**— στην οποία ένα διεγερμένο μόριο μεταφέρει απευθείας την ενέργεια διέγερσής του στα γειτονικά μη διεγερμένα μόρια με παρόμοιες ηλεκτρονικές ιδιότητες. Αυτή η διαδικασία συμβαίνει μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μοριακών τροχιακών των συμμετεχόντων μορίων. Η φωτεινή ενέργεια διοχετεύεται στα RCs μέσω της μεταφοράς του εξιτονίου μεταξύ των χρωστικών-κεραίες. Η ενέργεια (διέγερση) παγιδεύεται στις χλωροφύλλες RC, επειδή έχουν ελαφρώς χαμηλότερες ενέργειες κατάστασης διέγερσης σε σχέση με τις χλωροφύλλες-κεραίες (**Εικόνα 19–7**). Αυτή η διαφορά ενέργειας χάνεται ως θερμότητα.
- 4. Η φωτοοξείδωση (photooxidation)**, στην οποία ένα φωτοδιεγερμένο μόριο δότη οξειδώνεται μεταφέροντας ένα ηλεκτρόνιο σε ένα μόριο-δέκτη, το οποίο στη συνέχεια ανάγεται. Αυτή η διαδικασία συμβαίνει, επειδή το μεταφερόμενο ηλεκτρόνιο είναι λιγότερο ισχυρά συνδεδεμένο στον δότη στην κατάσταση διέγερσής του σε σχέση με τη θεμελιώδη κατάστασή του. Στη φωτοσύνθεση, η διεγερμένη χλωροφύλλη (Chl^*) είναι ένας τέτοιος δότης. Η ενέργεια του απορροφώμενου φωτονίου μεταφέρεται επομένως χημικά στο φωτοσυνθετικό σύστημα αντίδρασης. Η φωτοοξειδωμένη χλωροφύλλη, Chl^+ , μια κατιοντική ελεύθερη ρίζα, τελικά επιστρέφει στην ανηγμένη κατάστασή της, οξειδώνοντας ορισμένα άλλα μόρια.

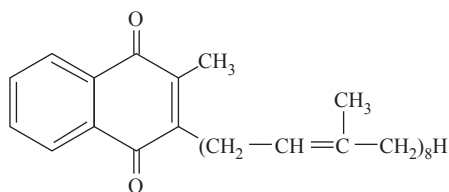


ΕΙΚΟΝΑ 19–6 Ένα διάγραμμα ενέργειας που υποδεικνύει τις ηλεκτρονικές καταστάσεις της χλωροφύλλης και τους πιο σημαντικούς τρόπους αλληλομετατροπής τους. Τα κινούμενα βέλη αντιπροσωπεύουν την απορρόφηση φωτονίων ή τη φθορίζουσα εκπομπή τους. Η ενέργεια διέγερσης μπορεί επίσης να επιμεριστεί σε διαδικασίες χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας, όπως είναι η εσωτερική μεταφορά (παραγωγή θερμότητας) και οι χημικές αντιδράσεις.

Β. Η μεταφορά ηλεκτρονίων στα φωτοσυνθετικά βακτήρια ακολουθεί μια κυκλική οδό

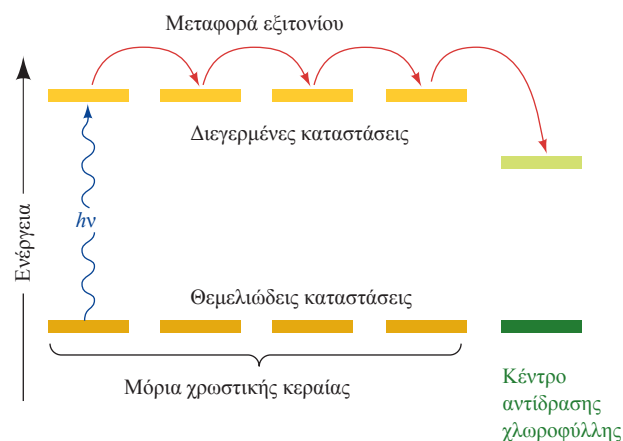
Στα μωβ φωτοσυνθετικά βακτήρια, το συνδεδεμένο με τη μεμβράνη σύμπλοκο βακτηριοχλωροφύλλης υφίσταται φωτοοξείδωση, όταν φωτίζεται με κόκκινο φως. Το διεγερμένο ηλεκτρόνιο μεταφέρεται κατά μήκος μιας σειράς μεταφορέων, μέχρι να επιστρέψει στο αρχικό σύμπλοκο βακτηριοχλωροφύλλης. Κατά τη διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων, τα κυτταροπλασματικά πρωτόνια μεταφέρονται κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης. Η κατανομή των βαθμιδώσεων πρωτονίων που προκύπτουν καθοδηγεί τη σύνθεση του ATP. Το σχετικά απλό RC των μωβ φωτοσυνθετικών βακτηρίων (**PbRC**) απεικονίζει ορισμένες γενικές αρχές των φωτοχημικών γεγονότων που συντελούνται στα πιο σύνθετα φωτοσυνθετικά συστήματα των φυτών και των κυανοβακτηρίων (Ενότητα 19–2Γ).

Το PbRC είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη. Τα RCs που προέρχονται από διάφορα είδη μωβ φωτοσυνθετικών βακτηρίων περιέχουν το καθένα τρεις υδρόφοβες υπομονάδες που είναι γνωστές ως H, L και M. Οι υπομονάδες L και M προσδένουν συλλογικά τέσσερα μόρια βακτηριοχλωροφύλλης, δύο μόρια **βακτηριοφαιοφυτίνης (bacteriopheophytin, BPheo)** —μια βακτηριοχλωροφύλλη στην οποία το ιόν Mg^{2+} αντικαθίσταται από δύο πρωτόνια— ένα ιόν $Fe(II)$ και δύο μόρια του οξειδοαναγωγικού συνενζύμου ουβικινόνη (Εικόνα 18–10β) ή ένα μόριο ουβικινόνης και ένα μόριο της σχετικής **μενακινόνης (menaquinone)** (βιταμίνη K, Ενότητα 9–1Ζ):

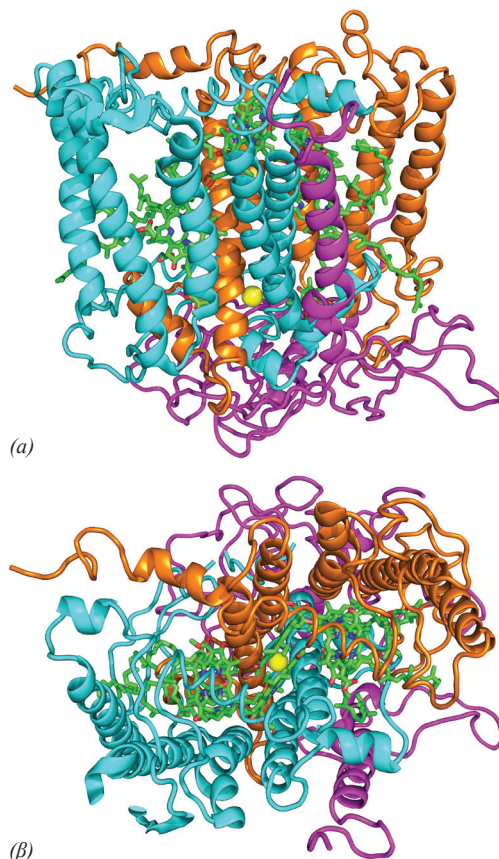


Μενακινόνη

Το PbRC από το *Rhodobacter (Rb.) sphaeroides* είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη με 11 έλικες που διατρέχουν τη μεμβράνη (**Εικόνα 19–8**). Η διάθεση των προσθετικών ομάδων στην ομόλογη πρωτεΐνη από το *Rhodospseudomonas (Rps.) viridis* φαίνεται στην **Εικόνα 19–9**. Η πιο εντυπωσιακή πτυχή του PbRC είναι ότι οι ομάδες είναι διατεταγμένες με σχεδόν τέλεια διπλή συμμετρία. Δύο από τα μόρια BChl, το λεγόμενο **ειδικό ζεύγος**, είναι στενά συνδεδεμένα· είναι σχεδόν παράλληλα και έχουν μια απόσταση $Mg-Mg$ της τάξης των $\sim 7 \text{ \AA}$. Το ειδικό ζεύγος ονομάζεται σύμφωνα με το μήκος κύματος (σε νανόμετρα) στο οποίο η απορρόφησή του μειώνεται στο μέγιστο στη φωτοοξείδωση [**P870** ή **P960**, ανάλογα με το αν αποτελούνται από BChl *a* και BChl *b*. Τα μωβ φωτοσυνθετικά βακτήρια τείνουν να κατοικούν σε σκοτεινές στάσιμες λίμνες όπου το ορατό φως (400–800 nm) δεν διεισδύει απαιτούν ένα είδος χλωροφύλλης που σχεδόν απορροφά τις υπέρυθρες]. Κάθε μέλος του ειδικού ζεύγους, εδώ P960, έρχεται σε επαφή με ένα άλλο μόριο BChl που, με τη σειρά του, συνδέεται με ένα μόριο BPheo.



ΕΙΚΟΝΑ 19–7 Η παγίδευση της ενέργειας διέγερσης από το φωτοσυνθετικό κέντρο αντίδρασης. Η φωτεινή ενέργεια που έχει διέλθει μεταξύ των μορίων χρωστικής με μεταφορά του εξιτονίου παγιδεύεται από το κέντρο αντίδρασης της χλωροφύλλης, διότι η χαμηλότερη κατάσταση διέγερσής της έχει μικρότερη ενέργεια από αυτήν των μορίων της χρωστικής-κεραίας.



ΕΙΚΟΝΑ 19–8 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής του φωτοσυνθετικού κέντρου αντίδρασης από το *Rb. sphaeroides*. (α) Οι υπομονάδες H, M και L της πρωτεΐνης, όπως προβάλλεται από το εσωτερικό του επιπέδου της πλασματικής μεμβράνης (κυτταρόπλασμα στο κάτω μέρος) είναι χρωματισμένες με φούξια, κυανό και πορτοκαλί χρώμα, αντίστοιχα. Οι προσθετικές ομάδες είναι σχεδιασμένες με μορφή ράβδου με το C να έχει πράσινο χρώμα, το N μπλε και το O κόκκινο. Το άτομο $Fe(II)$ συμβολίζεται με μια κίτρινη σφαίρα. Οι 11 κατά βάση κάθετες έλικες που σχηματίζουν το κεντρικό τμήμα της πρωτεΐνης αποτελούν τη διαμεμβρανική περιοχή της. (β) Προβολή από την εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης. Παρατηρήστε πώς τα διαμεμβρανικά τμήματα των υπομονάδων L και M σχετίζονται από έναν ψευδοδιπλό άξονα που διέρχεται μέσω του ιόντος $Fe(II)$ και ότι οι προσθετικές ομάδες στριμώνονται μεταξύ των δύο υπομονάδων. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τη Marianne Schiffer, Argonne National Laboratory. PDBid 2RCR.]

Η μενακινόνη είναι κοντά στην υπομονάδα L της BPheo *b* (Εικόνα 19–9, δεξιά), ενώ η ουβικινόνη συνδέεται με την υπομονάδα M της BPheo *b* (Εικόνα 19–9, αριστερά). Ο Fe (II) είναι τοποθετημένος μεταξύ των δακτυλίων μενακινόνης και ουβικινόνης. Περιέργως, τα δύο σύνολα προσθετικών ομάδων που σχετίζονται με τη συμμετρία δεν είναι λειτουργικά ισοδύναμα: τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται σχεδόν αποκλειστικά μέσω της υπομονάδας L (οι πλευρικές αλυσίδες των Εικόνων 19–8 και 19–9 στα δεξιά). Αυτή η επίδραση αποδίδεται γενικά σε λεπτές δομικές και ηλεκτρονικές διαφορές μεταξύ των υπομονάδων L και M.

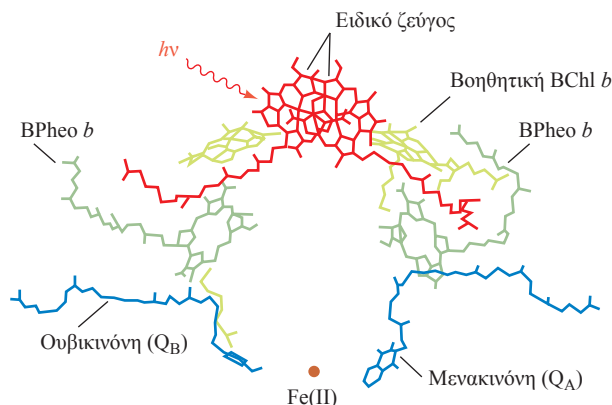
Η απορρόφηση ενός φωτονίου φωτοοξειδώνει ταχύτατα το ειδικό ζεύγος. Τα φωτοχημικά γεγονότα τα οποία υποβοηθούνται από το PbRC λαμβάνουν χώρα ως εξής:

1. Το πρωταρχικό φωτοχημικό γεγονός της βακτηριακής φωτοσύνθεσης είναι η απορρόφηση ενός φωτονίου από ένα ειδικό ζεύγος (π.χ. P960). Το διεγερμένο ηλεκτρόνιο απεντοπίζεται σε αμφότερα τα μόρια BChl.
2. Το P960*, η διεγερμένη κατάσταση του P960, δεν είναι παρά μια φευγαλέα ύπαρξη. Εντός ~3 πικοδευτερολέπτων (ps ή 10^{-12} s), το P960* μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο στο BPheo στα δεξιά της Εικόνας 19–9 αποδίδοντας P960⁺ BPheo ⁻ [η παρεμβαίνουσα ομάδα BChl πιθανότατα παίζει ρόλο στη μεταφορά ηλεκτρονίων, αν και δεν ανάγεται από μόνη της: γι' αυτό είναι γνωστή ως **επικουρική BChl (accessory BChl)**].
3. Κατά τη διάρκεια των επόμενων 200 ps, το ηλεκτρόνιο μεταναστεύει στη μενακινόνη (ή, σε πολλά είδη, στη δεύτερη ουβικινόνη), που ορίζεται ως Q_A, προς σχηματισμό της ανιοντικής ρίζας ημικινόνης Q_A⁻. Όλες αυτές οι μεταφορές ηλεκτρονίων, όπως απεικονίζεται στην **Εικόνα 19–10**, είναι στις προοδευτικά χαμηλότερες ενεργειακές καταστάσεις, γεγονός που καθιστά τη διαδικασία σημαντική αλλά μη αντιστρεψίμη.

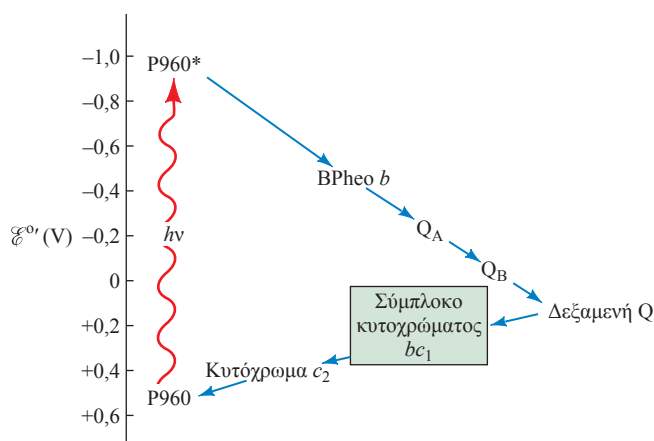
Η ταχεία αφαίρεση του διεγερμένου ηλεκτρονίου από την περιοχή του P960⁺ είναι ένα ουσιώδες χαρακτηριστικό του PbRC: αυτό παρεμποδίζει την επιστροφή του ηλεκτρονίου στο P960⁺, γεγονός που θα οδηγούσε στην άσκοπη εσωτερική μετατροπή της ενέργειας διέγερσής του σε θερμότητα. Στην πραγματικότητα, η μεταφορά του ηλεκτρονίου στο PbRC είναι τόσο αποδοτική που η συνολική **κβαντική απόδοση (quantum yield)** (η αναλογία των μορίων που αντιδρούν ως προς τα φωτόνια που απορροφώνται) είναι ουσιαστικά 100%. Καμία τεχνητή συσκευή δεν έχει προσεγγίσει αυτό το επίπεδο απόδοσης.

Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στο φωτοοξειδωμένο ειδικό ζεύγος μέσω μιας αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η Q_A⁻, η οποία καταλαμβάνει έναν υδρόφοβο θύλακα στο PbRC, μεταφέρει το διεγερμένο ηλεκτρόνιό της στην περισσότερο εκτεθειμένη προς τον διαλύτη ουβικινόνη, Q_B, προς σχηματισμό της Q_B⁻• (το ιόν Fe που βρίσκεται μεταξύ των Q_A και Q_B δεν συμμετέχει απευθείας σε αυτές τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής). Η Q_A δεν γίνεται ποτέ εντελώς ανηγμένη: μετακινείται μεταξύ της οξειδωμένης μορφής και της μορφής ημικινόνης της.

Όταν το PbRC διεγείρεται ξανά, μεταφέρει ένα δεύτερο ηλεκτρόνιο στην Q_B⁻• προς σχηματισμό της πλήρως ανηγμένης Q_B²⁻. Αυτή η ανιοντική κινόλη λαμβάνει δύο πρωτόνια από την κυτταροπλασματική όψη της πλασματικής μεμβράνης προς σχηματισμό της Q_BH₂. Έτσι, η Q_B είναι ο μοριακός μετατροπέας που μετατρέπει δύο φωτοκαθοδηγούμενες διεγέρσεις ενός ηλεκτρονίου σε μια χημική αναγωγή δύο ηλεκτρονίων.



ΕΙΚΟΝΑ 19–9 Η διάθεση προσθετικών ομάδων στο βιοσυνθετικό κέντρο αντίδρασης του *Rps. viridis*. Επισημαίνεται ότι οι δακτύλιοί τους, όχι όμως οι αλειφατικές πλευρικές αλυσίδες τους, είναι διατεταγμένοι κοντά στη διπλή συμμετρία. Οι προσθετικές ομάδες οι οποίες προσδένονται από την υπομονάδα L είναι στα δεξιά και αυτές οι οποίες προσδένονται από την υπομονάδα M στα αριστερά. Τα φωτόνια απορροφώνται από το ειδικό ζεύγος των μορίων BChl *b* (κόκκινο χρώμα).



ΕΙΚΟΝΑ 19–10 Το φωτοσυνθετικό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μωβ φωτοσυνθετικών βακτηρίων. Τα ηλεκτρόνια που ελευθερώνονται από την απορρόφηση φωτονίων από το P960 διέρχονται μέσα από την BPheo *b* και την Q_A, πριν φτάσουν στην Q_B, η οποία ανταλλάσσεται με μια δεξαμενή ελεύθερης ουβικινόνης. Τα ηλεκτρόνια από την QH₂ διέρχονται από το κυτόχρωμα bc₁ στο κυτόχρωμα c₂, το οποίο κατόπιν ανάγει το P960⁺. Σημειώνεται ότι δύο φωτόνια απαιτούνται για την αναγωγή δύο ηλεκτρονίων της Q σε QH₂ και ότι το κυτόχρωμα c₂ μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο κάθε φορά πίσω στο PbRC. Η συνολική διαδικασία είναι ουσιαστικά μη αναστρέψιμη, διότι τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται σε προοδευτικά χαμηλότερες ενεργειακές καταστάσεις (περισσότερο θετικά πρότυπα δυναμικά αναγωγής).

? Εκτιμήστε τη μεταβολή στο δυναμικό αναγωγής του P960 που εμφανίζεται, όταν απορροφάται φως.

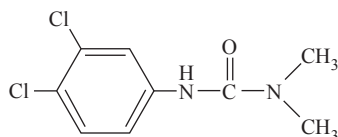
Τα ηλεκτρόνια που έχουν ληφθεί από την Q_BH_2 επιστρέφουν τελικά στο $P960^+$ μέσω μιας αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Εικόνα 19–10). Οι λεπτομέρειες αυτής της διαδικασίας εξαρτώνται από το είδος. Οι διαθέσιμοι φορείς οξειδοαναγωγής περιλαμβάνουν συνδεδεμένη με τη μεμβράνη δεξαμενή μορίων ουβικινόνης, ένα **σύμπλοκο κυτοχρώματος bc_1** και το **κυτόχρωμα c_2** (των οποίων η δομή φαίνεται στην Εικόνα 6–32β). Η οδός μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί από την Q_BH_2 μέσω της δεξαμενής ουβικινόνης, με την οποία ανταλλάσσεται η Q_BH_2 , στο κυτόχρωμα bc_1 και στη συνέχεια στο κυτόχρωμα c_2 . Το ανηγμένο κυτόχρωμα c_2 , το οποίο μοιάζει αρκετά με το μιτοχονδριακό κυτόχρωμα c , μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο πίσω στο $P960^+$. Το PbRC κατόπιν ανάγεται και ετοιμάζεται να απορροφήσει ένα άλλο φωτόνιο.

Δεδομένου ότι η μεταφορά ηλεκτρονίων στα μωβ βιοσυνθετικά βακτήρια είναι κυκλική διαδικασία (Εικόνα 19–10), δεν οδηγεί σε καθαρή οξείδωση–αναγωγή. Ωστόσο, όταν η QH_2 μεταφέρει τα ηλεκτρόνια της στο κυτόχρωμα bc_1 , τα πρωτόνια της μετατοπίζονται κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης. Το κυτόχρωμα bc_1 είναι ένα σύμπλοκο διαμεμβρανικής πρωτεΐνης που περιέχει μια πρωτεΐνη σιδήρου–θείου [$2Fe-2S$], το κυτόχρωμα c_1 και το κυτόχρωμα b που περιέχει δύο αίμες, b_H και b_L (όπου το H και L αντιστοιχούν στο υψηλό και το χαμηλό δυναμικό, αντίστοιχα). Σημειώνεται ότι το κυτόχρωμα bc_1 είναι εντυπωσιακά όμοιο με το Σύμπλοκο III των μιτοχονδρίων που μεταφέρει τα ηλεκτρόνια (το οποίο ονομάζεται επίσης κυτόχρωμα bc_1 , Ενότητα 18–2Ε). Στην πραγματικότητα, η μεταφορά ηλεκτρονίων από την QH_2 (ένας φορέας δύο ηλεκτρονίων) στο κυτόχρωμα c_2 ως δέκτη ενός ηλεκτρονίου λαμβάνει χώρα σε έναν κύκλο δύο σταδίων, ακριβώς όπως συμβαίνει στη μιτοχονδριακή μεταφορά ηλεκτρονίων (Εικόνα 18–15). Το καθαρό αποτέλεσμα είναι ότι για κάθε δύο ηλεκτρόνια που μεταφέρονται από την QH_2 στο κυτόχρωμα c_2 , τέσσερα πρωτόνια εισέρχονται στον περιπλασματικό χώρο. Έτσι, η απορρόφηση φωτονίων από το PbRC δημιουργεί διαμεμβρανική βαθμίδωση H^+ . Η φωτοεξαρτώμενη σύνθεση του ATP καθοδηγείται από την ανακατάταξη αυτής της βαθμίδωσης (Ενότητα 19–Δ).

Γ. Η μεταφορά ηλεκτρονίων δύο κέντρων είναι η γραμμική οδός που παράγει O_2 και NADPH

Στα φυτά και στα κυανοβακτήρια, η **φωτοσύνθεση είναι μη κυκλική διαδικασία που χρησιμοποιεί την αναγωγική δύναμη που δημιουργείται από τη φωτοκαθοδηγούμενη οξείδωση του H_2O για την παραγωγή του NADPH**. Αυτή η διαδικασία πολλαπλών βημάτων περιλαμβάνει δύο φωτοσυνθετικά κέντρα αντίδρασης, που το καθένα παρουσιάζει αξιοσημείωτη ομοιότητα με τα PbRCs. Αυτά τα RCs είναι το **φωτοσύστημα II (photosystem II, PSII)**, το οποίο οξειδώνει το H_2O , και το **φωτοσύστημα I (photosystem I, PSI)**, το οποίο ανάγει το $NADP^+$. Κάθε φωτοσύστημα ενεργοποιείται ανεξάρτητα από το φως, με τα ηλεκτρόνια να ρέουν από το PSII στο PSI. Το PSII και το PSI επομένως λειτουργούν σε ηλεκτρικές σειρές για να συνδέουν την οξείδωση του H_2O με την αναγωγή του $NADP^+$.

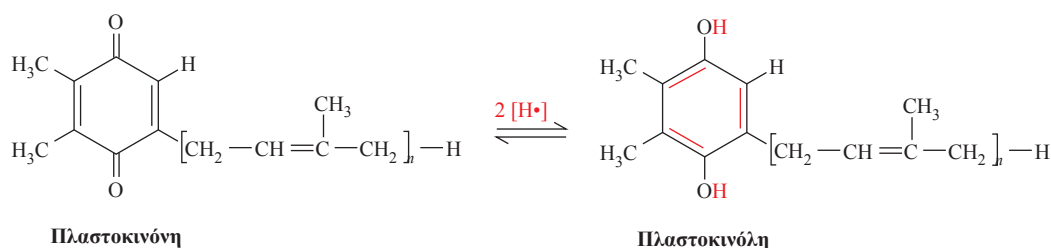
Οι ενδείξεις για την ύπαρξη δύο φωτοσυστημάτων προέκυψαν από τις παρατηρήσεις ότι παρουσία τόσο του κόκκινου φωτός (το οποίο ενεργοποιεί μόνο το PSI) όσο και του κιτρινοπράσινου φωτός (το οποίο ενεργοποιεί το PSII), τα φυτά παράγουν O_2 (δηλαδή οξειδώνουν το H_2O) με ρυθμό μεγαλύτερο από το άθροισμα των ρυθμών του κάθε φωτός που δρα από μόνο του. Το ζιζανιοκτόνο **3-(3,4-διχλωροφαινυλο)-1,1-διμεθυλοουρία [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea, DCMU]**

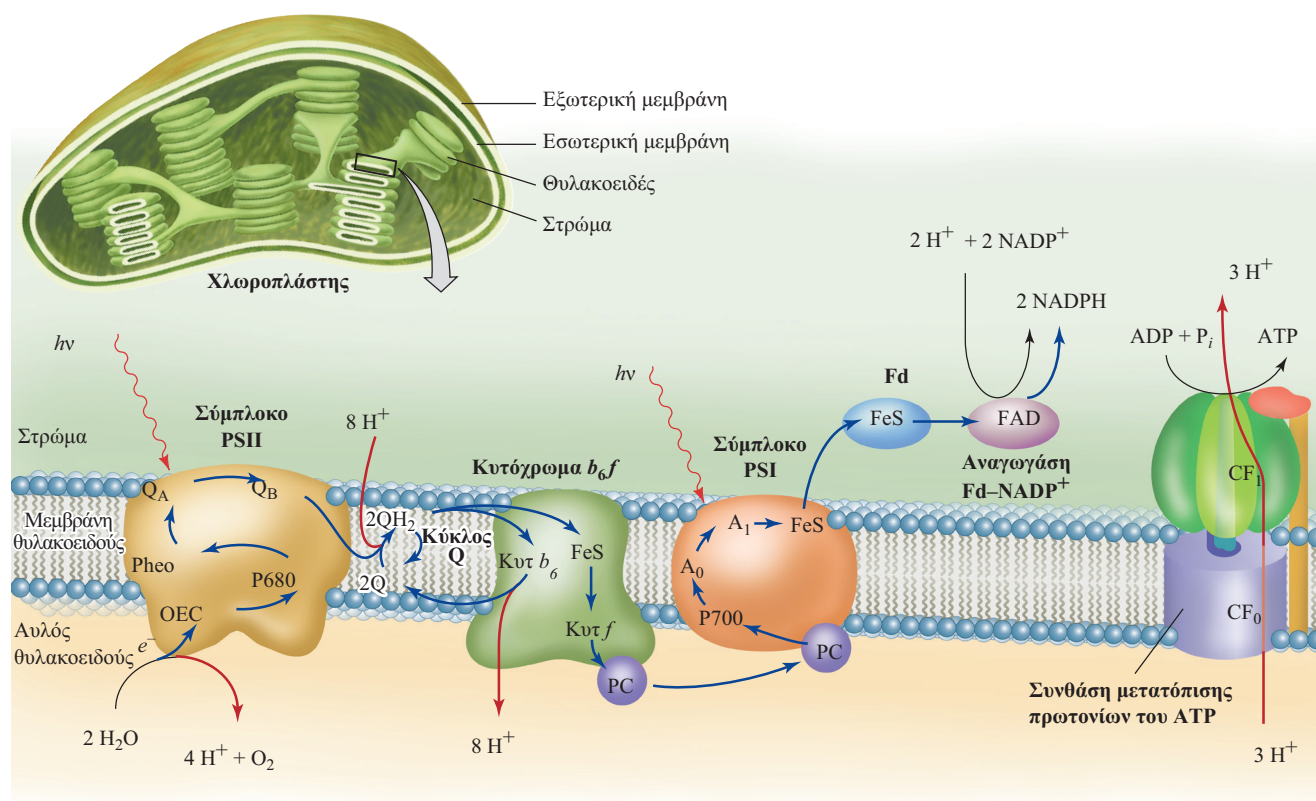


3-(3,4-Διχλωροφαινυλο)-1,1-διμεθυλοουρία (DCMU)

παρεμποδίζει τη ροή ηλεκτρονίων από το PSII στο PSI έτσι ώστε ακόμη και με επαρκή φωτισμό (δηλαδή ενεργοποίηση αμφοτέρων του PSI και του PSII), το PSI να μην εφοδιάζεται με ηλεκτρόνια, το PSII να μην μπορεί να επανοξειδωθεί και η φωτοσυνθετική παραγωγή του οξυγόνου να σταματά.

Η οδός της μεταφοράς ηλεκτρονίων στον **χλωροπλάστη** είναι πιο περίτεχνη από αυτή των μωβ φωτοσυνθετικών βακτηρίων. Τα συστατικά που εμπλέκονται στη μεταφορά ηλεκτρονίων από το H_2O στο $NADPH$ είναι σε μεγάλο βαθμό οργανωμένα εντός τριών σωματιδίων που είναι συνδεδεμένα με τη μεμβράνη του θηλακοειδούς (Εικόνα 19–11): Το PSII, ένα σύμπλοκο του **κυτοχρώματος b_6f** και το PSI. Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται μεταξύ των συμπλόκων μέσω κινητών φορέων ηλεκτρονίων, λίγο πολύ όπως συμβαίνει στην αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Το ανάλογο της ουβικινόνης, η **πλαστοκινόνη (plastoquinone, Q)**, μέσω της αναγωγής της σε **πλαστοκινόλη (plastoquinol, QH_2)**, συνδέει το PSII στο σύμπλοκο του κυτοχρώματος b_6f , το οποίο, με τη σειρά του, αλληλεπιδρά με το PSI μέσω της κινητής περιφερειακής μεμβρανικής πρωτεΐνης **πλαστοκυανίνης (plastocyanin, PC)**.





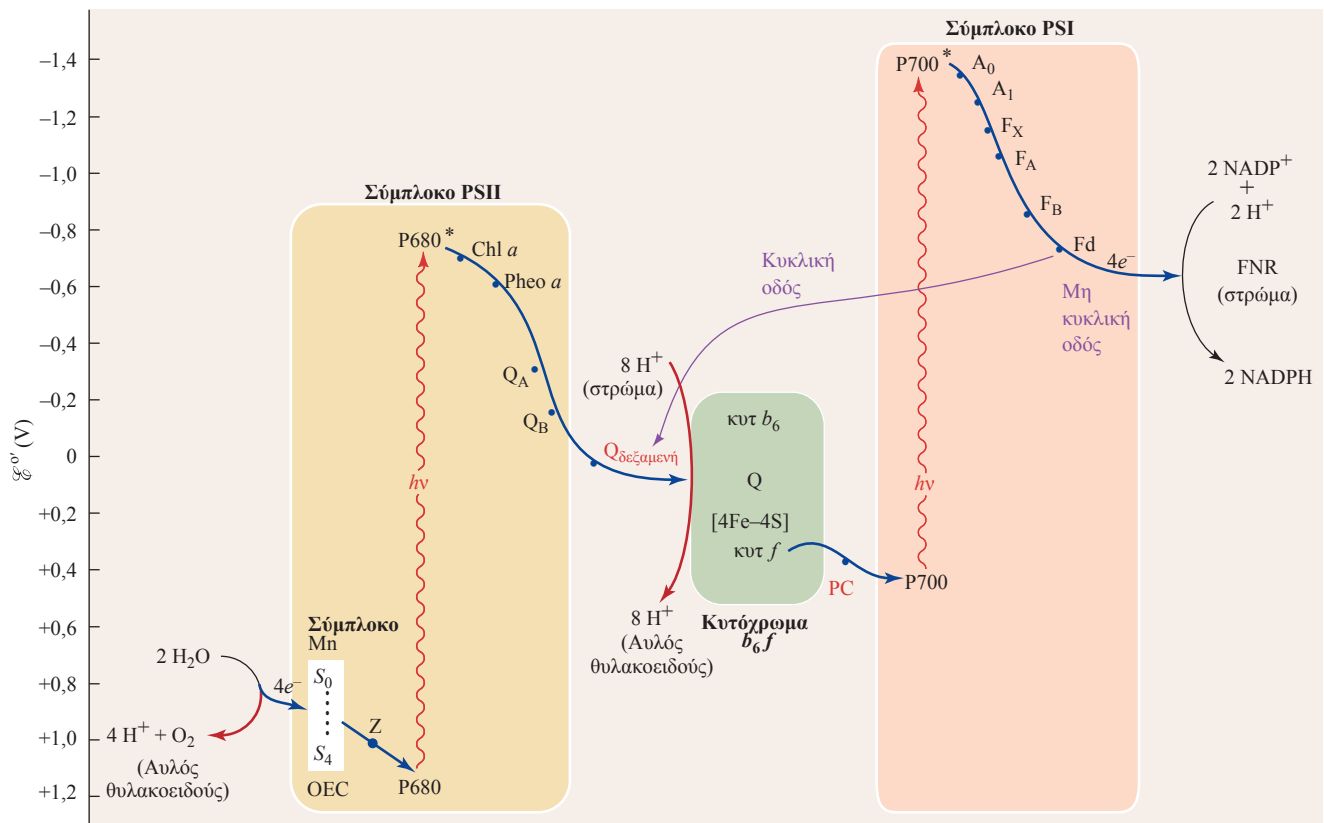
ΕΙΚΟΝΑ 19-11 Μοντέλο της μεμβράνης του θυλακοειδούς. Το σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων αποτελείται από τρία πρωτεϊνικά σύμπλοκα: το PSII, το σύμπλοκο του κυτοχρώματος b_6f και το PSI, τα οποία «συνδέονται» ηλεκτρικά με διάχυση των φορέων ηλεκτρονίων πλαστοκινόνη (Q) και πλαστοκυανίνη (PC). Η φωτοκαθοδηγούμενη μεταφορά ηλεκτρονίων (μπλε βέλη) από το H_2O στο $NADP^+$ κινητοποιεί τη μεταφορά πρωτονίων (κόκκινα βέλη) στον αυλό του θυλακοειδούς. Τα πρόσθετα πρωτόνια διαχωρίζονται από το νερό από το κέντρο παραγωγής οξυγόνου (OEC), αποδίδοντας O_2 . Η προκύπτουσα βαθμίδωση πρωτονίων ενισχύει τη σύνθεση του ATP από τη συνθήση μετατόπισης πρωτονίων του ATP CF_1CF_0 . Η μεμβράνη επίσης περιέχει φωτοσυνθετικά σύμπλοκα (που δεν απεικονίζονται), των οποίων οι επιμέρους χρωστικές μεταφέρουν τις διεγέρσεις τους στο PSII και στο PSI. Η Fd αντιπροσωπεύει τη φερρεδοξίνη. [Κατά Ort, D.R. and Good, N.E., *Trends Biochem. Sci.* **13**, 469 (1988).]

? Πόσα γεγονότα απορρόφησης φωτονίων απαιτούνται για την αναγωγή του $NADP^+$ σε $NADPH$; Πόσα πρωτόνια μετατοπίζονται κατά μήκος της μεμβράνης του θυλακοειδούς κατά τη διάρκεια της διαδικασίας;

Τα ηλεκτρόνια τελικά φτάνουν στην **αναγωγή της φερρεδοξίνης- $NADP^+$ (ferredoxin- $NADP^+$ reductase, FNR)**, όπου χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του $NADP^+$. Η οξείδωση του νερού και η διέλευση ηλεκτρονίων μέσω ενός κύκλου Q δημιουργεί μια διαμεμβρανική βαθμίδωση πρωτονίων, με τη μεγαλύτερη $[H^+]$ να βρίσκεται στον αυλό του θυλακοειδούς. Η ελεύθερη ενέργεια της βαθμίδωσης πρωτονίων παγιδεύεται από τη συνθήση του ATP του χλωροπλάστη.

Οι διάφορες προσθετικές ομάδες του φωτοσυνθετικού συστήματος των φυτών μπορούν να οργανωθούν σε ένα διάγραμμα που είναι γνωστό ως **σχήμα Z** (Εικόνα 19-12). Όπως και σε άλλα συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων, τα ηλεκτρόνια ρέουν από τα χαμηλά προς τα υψηλά δυναμικά αναγωγής. Η ζιγκ-ζαγκ φύση του σχήματος Z εκφράζει τους δύο τόπους των χημικών γεγονότων (έναν στο PSII και έναν στο PSI) οι οποίοι απαιτούνται για την καθοδήγηση των ηλεκτρονίων από το H_2O στο $NADP^+$.

Το PSII μοιάζει με το PbRC. Το PII που προέρχεται από το θερμοφίλο κυανοβακτήριο *Thermosynechococcus elongates* αποτελείται από 19 υπομονάδες, 14 από τις οποίες καταλαμβάνουν τη φωτοσυνθετική μεμβράνη. Αυτές οι διαμεμβρανικές υπομονάδες περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες **D1 (PsbA)** και **D2 (PsbD)** των κέντρων αντίδρασης, τις υπομονάδες-εσωτερικές κεραίες που περιέχουν χλωροφύλλη **CP43 (PsbC)** και **CP47 (PsbB)**, και το **κυτόχρωμα b_{559}** . Η δομή αυτού του PSII (Εικόνα 19-13), όπως προσδιορίστηκε ανεξάρτητα από τους James Barber και Wolfram Sanger με χρήση ακτίνων X, αποκαλύπτει ότι η πρωτεΐνη 340 kD είναι ένα συμμετρικό διμερές, του οποίου οι πρωτομερείς μονάδες περιέχουν η καθεμία 35 διαμεμβρανικές έλικες. Κάθε πρωτομερές, το οποίο έχει ψευδο-διπλή συμμετρία προσδένει 36 Chl *a*, 2 **φαιοφυτίνες *a* (pheophytin *a*, Pheo *a*)** (Chl *a* με το Mg^{2+} αντικαταστημένο από δύο πρωτόνια), 1 αίμη β , 1 αίμη c , 2 πλαστοκινόνες, 1 μη αιμικός Fe, 7 ολο-τρανς καροτενοειδή που θεωρείται ότι είναι το β -καροτένιο, 2 ιόντα HCO_3^- και 1 σύμπλοκο Mn_4CaO_5 που είναι γνωστό ως **κέντρο παραγωγής οξυγόνου (oxygen-evolving center, OEC)**. Στα ανώτερα φυτά, το πρωτομερές PSII περιέχει ~25 υπομονάδες και σχηματίζει ένα διαμεμβρανικό υπερσύμπλοκο ~1000 kD με αρκετές πρωτεΐνες-κεραίες. Η διάταξη των 5 διαμεμβρανικών ελίκων τόσο στην D1 όσο και στην D2 μοιάζει με αυτή των υπομονάδων L και M του PbRC (Εικόνα 19-8). Πράγματι, τα δύο σύνολα υπομονάδων έχουν παρόμοιες αλληλουχίες, υποδεικνύοντας συνεπώς ότι προέρχονται από έναν κοινό πρόγονο.

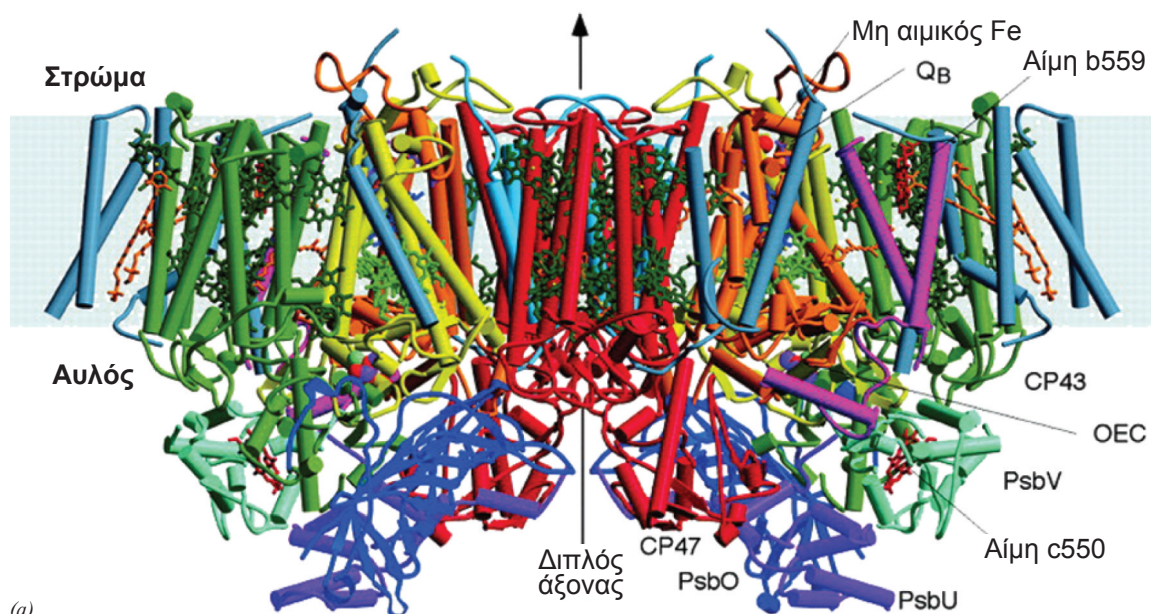


ΕΙΚΟΝΑ 19–12 Το σχήμα Z της φωτοσύνθεσης. Τα ηλεκτρόνια που εκπέμπονται από το P680 στο PSII με απορρόφηση φωτονίων αντικαθίστανται με τα ηλεκτρόνια που αντλούνται από το H_2O από ένα σύμπλοκο που περιέχει Mn (το κέντρο παραγωγής του οξυγόνου, OEC), σχηματίζοντας έτσι O_2 και 4H^+ . Κάθε ηλεκτρόνιο που εκπέμπεται διέρχεται μέσω μιας αλυσίδας φορέων ηλεκτρονίων σε μια δεξαμενή μορίων πλαστοκινόνης ($\text{Q}_{\text{δεξαμενή}}$). Η προκύπτουσα πλαστοκινόλη, με τη σειρά της, ανάγει το σύμπλοκο του κυτοχρώματος b_6f (πράσινο πλαίσιο) με την ταυτόχρονη μετατόπιση των πρωτονίων στον αυλό του θυλακοειδούς. Το κυτόχρωμα b_6f κατόπιν μεταφέρει τα ηλεκτρόνια στην πλαστοκυανίνη (PC). Η πλαστοκυανίνη ανάγει το φωτοοξειδωμένο P700 στο PSI. Το ηλεκτρόνιο που εκπέμπεται από το P700, μέσω της διαμεσολάβησης μιας αλυσίδας φορέων ηλεκτρονίων, ανάγει το NADP^+ σε NADPH με μη κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων. Εναλλακτικά, το ηλεκτρόνιο μπορεί να επιστρέψει στο σύμπλοκο του κυτοχρώματος b_6f με μια κυκλική διαδικασία που μετατοπίζει τα πρόσθετα πρωτόνια στον αυλό του θυλακοειδούς. Τα δυναμικά αναγωγής αυξάνονται καθοδικά έτσι ώστε τα ηλεκτρόνια να ρέουν αυθόρμητα σε αυτή την κατεύθυνση.

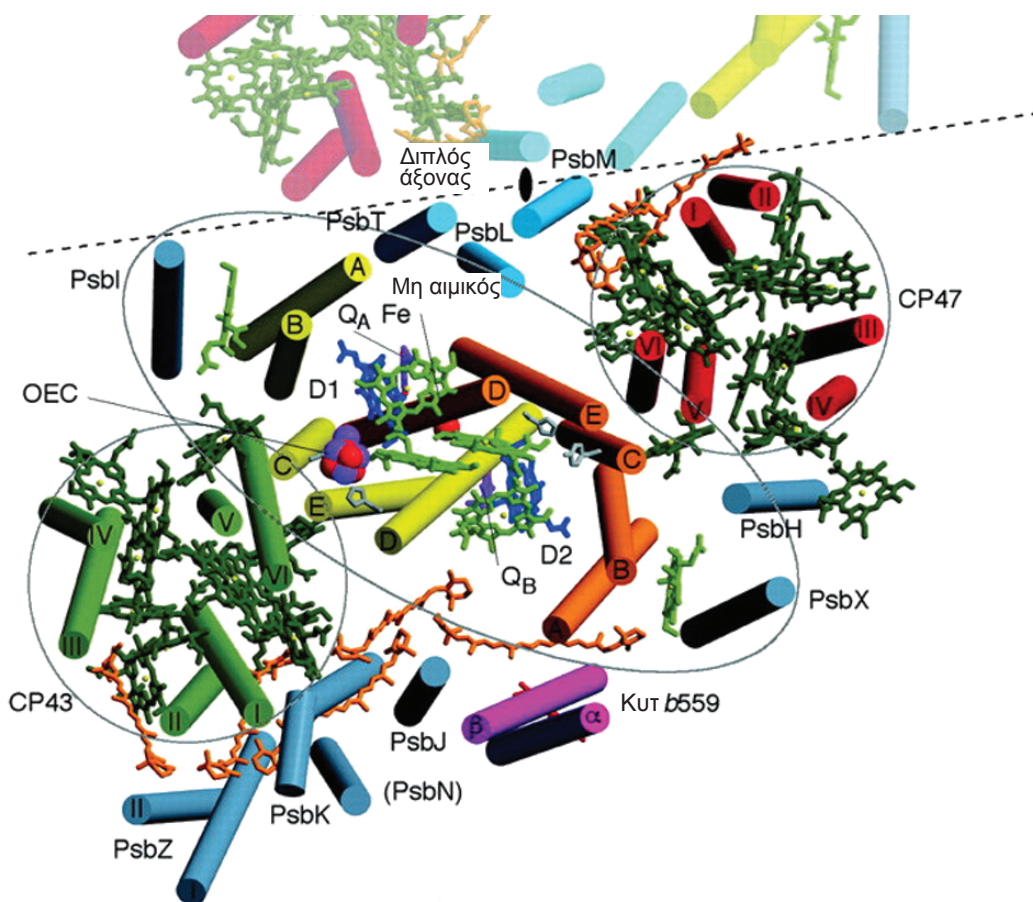
? Γράψτε μια χημική εξίσωση για το σχήμα Z.

Οι συμπράγοντες RC του PSII (Εικόνα 19–14) είναι οργανωμένοι όμοια με αυτούς του βακτηριακού συστήματος (Εικόνα 19–9): έχουν ουσιαστικά τα ίδια συστατικά (με την Chl *a*, την Pheo *a* και την πλαστοκινόνη να αντικαθιστούν την BChl *b*, την BPheo *b* και τη μενακινόνη, αντίστοιχα) και είναι συμμετρικά οργανωμένοι κατά μήκος του ψευδο-διπλού άξονα του συμπλόκου. Οι δύο δακτύλιοι Chl *a* που είναι σημασμένοι ως P_{D1} και P_{D2} στην Εικόνα 19–14 είναι τοποθετημένοι ανάλογα προς τις BChl *b* του «ειδικού ζεύγους» του P960 και επομένως θεωρείται ότι σχηματίζουν τον πρωταρχικό δότη ηλεκτρονίων του PSII, το **P680** (που ονομάστηκε έτσι από το μήκος κύματος στο οποίο η απορρόφησή του μειώνεται στο μέγιστο στη φωτοοξειδωση). Το ηλεκτρόνιο που εκπέμπεται από το P680 ακολουθεί μια παρόμοια ασύμμετρη διαδρομή όπως αυτή στο PbRC, μολονότι τα δύο συστήματα λειτουργούν σε διαφορετικά εύρη αναγωγικού δυναμικού (συγκρίνετε τις Εικόνες 19–10 και 19–12). Όπως υποδεικνύεται από το κεντρικό μέρος της Εικόνας 19–12, το ηλεκτρόνιο μεταφέρεται σε ένα μόριο Pheo *a* (Pheo_{D1} στην Εικόνα 19–14), πιθανότατα μέσω ενός μορίου Chl *a* (Chl_{D1}), και κατόπιν σε μια προσδεσμένη πλαστοκινόνη (Q_A). Το ηλεκτρόνιο μεταφέρεται διαδοχικά σε ένα δεύτερο μόριο πλαστοκινόνης, Q_B , το οποίο μόλις λάβει ένα δεύτερο ηλεκτρόνιο με όμοιο τρόπο, λαμβάνει δύο πρωτόνια στην επιφάνεια του στρώματος (κυτταροπλασματική επιφάνεια στα κυανοβακτήρια) της μεμβράνης του θυλακοειδούς. Η προκύπτουσα πλαστοκινόλη, $\text{Q}_\text{B}\text{H}_2$, κατόπιν ανταλλάσσεται με μια δεξαμενή μορίων πλαστοκινόνης συνδεδεμένη με μεμβράνη. Το DCMU, καθώς επίσης και πολλά άλλα ευρέως χρησιμοποιούμενα ζιζανιοκτόνα, συναγωνίζονται με την πλαστοκινόνη για τη θέση πρόσδεσης Q_B στο PSII, γεγονός που εξηγεί πώς αναστέλλουν τη φωτοσύνθεση.

Το O_2 παράγεται από την αντίδραση διάσπασης νερού πέντε σταδίων. Το ηλεκτρόνιο που εκπέμπεται με φωτοοξειδωση του P680 αντικαθίσταται από ένα ηλεκτρόνιο που προέρχεται από το H_2O μέσω του OEC. Το OEC του PSII είναι επίσης γνωστό ως **ένζυμο διάσπασης του νερού (water-splitting enzyme)**, διότι διασπά δύο μόρια νερού σε O_2 , τέσσερα πρωτόνια και τέσσερα ηλεκτρόνια. Η γνώση αυτής της διαδικασίας εξασφαλίστηκε από τους Pierre Joliet και Bessel Kok, οι οποίοι ανέλυσαν την παραγωγή του O_2 από προσαρμοσμένους στο σκοτάδι χλωροπλάστες που εκτέθηκαν σε μια σειρά σύντομων αναλαμπών φωτός. Το O_2 εξελίχθηκε με ένα ιδιόμορφο μοτίβο ταλαντώσεων (Εικόνα 19–15).

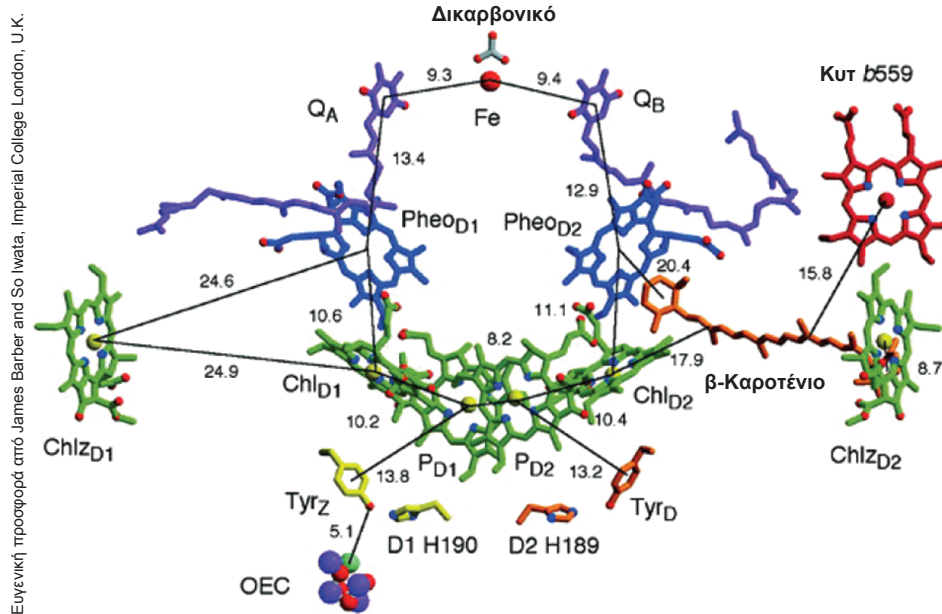


(α)



(β)

ΕΙΚΟΝΑ 19-13 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής του PSII από το *T. elongatus*. (α) Το διμερές PSII προβάλλεται από το εσωτερικό επίπεδο της μεμβράνης. Οι διαμεμβρανικές υπομονάδες του περιλαμβάνουν την D1 (κίτρινο), την D2 (πορτοκαλί), τη CP47 (κόκκινο), τη CP43 (πράσινο) και το κυτόχρωμα b_{559} (φούξια). Άλλες διαμεμβρανικές υπομονάδες είναι χρωματισμένες με ανοιχτόχρωμο μπλε και μπλε-γκρι. Οι εξωτερικές πρωτεΐνες του είναι η PsbO (σκούρο μπλε), η PsbU (πορφυρό) και η PsbV (ανοιχτό πράσινο). Οι διάφοροι συμπαραγόντες είναι σχεδιασμένοι με μορφή ράβδου με τις χλωροφύλλες του κέντρου αντίδρασης D1/D2 να έχουν ανοιχτό πράσινο χρώμα, τις χλωροφύλλες των συμπλόκων-κεραίες σκούρο πράσινο, τις φαιοφυτίνες σκούρο μπλε, τις αίμες κόκκινο, τα β-καροτένια πορτοκαλί, τις Q_A και Q_B μωβ, και τον μη αιμικό Fe να συμβολίζεται με μια κόκκινη σφαίρα. Η τεκμαιρόμενη θέση της μεμβράνης υποδεικνύεται από τη ζώνη με χρώμα ανοιχτό μπλε. (β) Προβολή ενός πρωτομερούς PSII κάθετη προς τη μεμβράνη από τον αυλό του θυλακοειδούς που προβάλλει μόνο τα διαμεμβρανικά τμήματα του συμπλόκου και χρωματίζεται όπως στο Μέρος α. Ένα τμήμα του άλλου πρωτομερούς στο διμερές PSII απεικονίζεται με απαλά χρώματα με τη διακεκομμένη γραμμή να υποδεικνύει την περιοχή των αλληλεπιδράσεων μονομερούς-μονομερούς. Ο ψευδο-διπλός άξονας, ο οποίος είναι κάθετος προς τη μεμβράνη και διέρχεται μέσω του μη αιμικού Fe, συσχετίζει τις διαμεμβρανικές έλικες του ετεροδιμερούς D1/D2, τη CP43 και τη CP47, τη PsbI και τη PsbX, όπως υποδεικνύεται από τις μαύρες γραμμές που περιβάλλουν τις υπομονάδες. PDBid 1S5L.



ΕΙΚΟΝΑ 19–14 Η διάταξη των συμπαραγόντων μεταφοράς ηλεκτρονίων στο PSII από το *T. elongatus*. Το σύμπλοκο προβάλλεται κατά μήκος του επιπέδου της μεμβράνης με τον αυλό του θυλακοειδούς παρακάτω. Οι συμπαραγόντες είναι χρωματισμένοι όπως στην Εικόνα 19–13, αλλά το Mg^{2+} χρωματίζεται με κίτρινο χρώμα, το N με μπλε και το O με κόκκινο. Οι ουρές φυτολίου των χλωροφυλλών και των φαιοφυτινών παραλείπονται για λόγους σαφήνειας. Οι πλευρικές αλυσίδες της Tyr_Z (D1 Tyr 161) και D1 His 190 είναι κίτρινες και αυτές της Tyr_D (D2 Tyr 160) και D2 His 189 είναι πορτοκαλί. Το OEC είναι σχεδιασμένο με χωροπληρωτική μορφή με το Mn να έχει μωβ χρώμα, το Ca^{2+} κυανό και το O κόκκινο. Τα νούμερα υποδεικνύουν τις αποστάσεις από κέντρο σε κέντρο, σε $\text{\AA}$, μεταξύ των συμπαραγόντων που εκτείνονται από τις συνοδευτικές λεπτές μαύρες γραμμές.

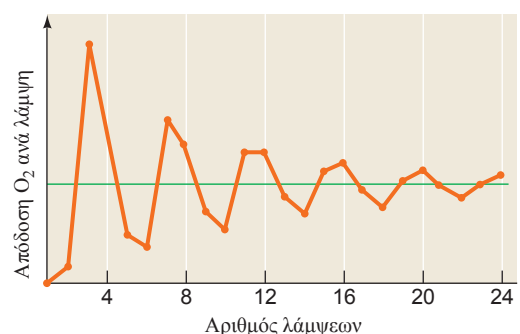
? Συγκρίνετε αυτό το σχέδιο με την Εικόνα 19–9 (η οποία είναι σχεδιασμένη ανάποδα σε σχέση με αυτό το σχήμα).

Στην πραγματικότητα, δεν υπάρχει O_2 που να εξελίσσεται στις πρώτες δύο λάμψεις. Η τρίτη λάμψη οδηγεί στη μέγιστη απόδοση του O_2 . Έπειτα, η ποσότητα του O_2 παράγει κορυφές ανά κάθε τέταρτη λάμψη, μέχρις ότου οι ταλαντώσεις να σταματήσουν σε μια πρότυπη κατάσταση. Η περιοδικότητα υποδεικνύει ότι το OEC πρέπει να υποβληθεί σε τέσσερις φωτοεξαρτώμενες αντιδράσεις —δηλαδή τέσσερις μεταφορές ηλεκτρονίων— πριν από την απελευθέρωση του O_2 .

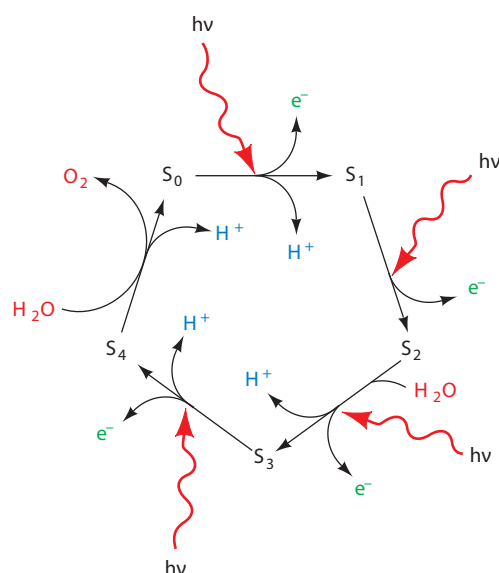
Το OEC θεωρείται ότι επαναλαμβάνεται κυκλικά μέσω πέντε διαφορετικών καταστάσεων, S_0 έως S_4 (Εικόνα 19–16). Το O_2 απελευθερώνεται κατά τη μετάβαση μεταξύ S_4 και S_0 . Η παρατήρηση ότι η εξέλιξη του O_2 κορυφώνεται στην τρίτη και όχι στην τέταρτη λάμψη υποδεικνύει ότι η κατάσταση ανάπαυσης του OEC είναι κυρίως η S_1 παρά η S_0 . Οι ταλαντώσεις σταδιακά σταματούν, επειδή μια μικρή ποσότητα RC αποτυγχάνει να διεγερθεί ή διεγείρεται διπλά από μια δεδομένη λάμψη φωτός, έτσι ώστε τα RC τελικά να χάσουν τον συγχρονισμό. Η ολοκληρωμένη αλληλουχία της αντίδρασης απελευθερώνει ένα σύνολο τεσσάρων πρωτονίων προερχόμενων από το νερό στον εσωτερικό χώρο του θυλακοειδούς με έναν σταδιακό τρόπο. Αυτά τα πρωτόνια συνεισφέρουν στη διαμεμβρανική βαθμίδωση των πρωτονίων.

Δεδομένου ότι το OEC αποσπά ηλεκτρόνια από το H_2O , τα πέντε στάδιά του πρέπει να έχουν εξαιρετικά υψηλά δυναμικά αναγωγής (υπενθυμίζεται από τον Πίνακα 14–4 ότι η ημιαντίδραση O_2/H_2O έχει ένα πρότυπο δυναμικό αναγωγής ίσο με 0,815 V). Το PSII πρέπει επίσης να σταθεροποιήσει τα εξαιρετικά αντιδραστικά ενδιάμεσα για εκτεταμένες περιόδους (κατά προσέγγιση λεπτά) σε άμεση γειτνίαση με το νερό.

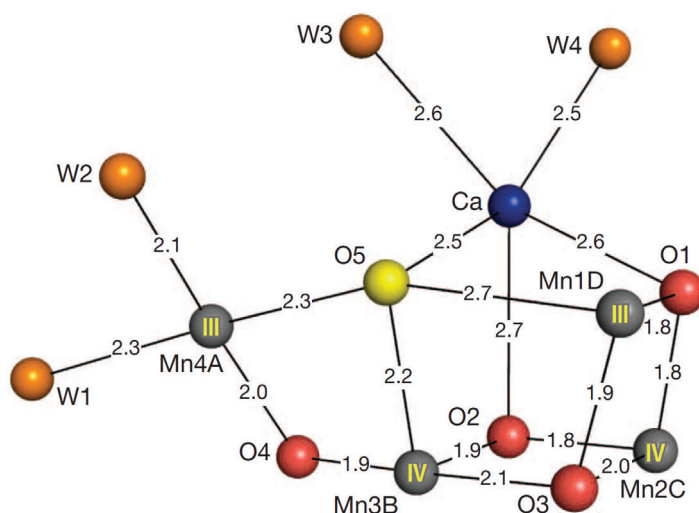
Το OEC, το οποίο είναι τοποθετημένο στην επιφάνεια του αυλού της υπομονάδας D1 (Εικόνα 19–14), είναι ένα σύμπλοκο Mn_4CaO_5 , στο οποίο τα άτομα O γεφυρώνουν τα γειτονικά άτομα Mn. Η δομή του OEC ήταν δύσκολο να προσδιοριστεί, επειδή αποσυντίθεται γρήγορα, όταν εκτίθεται στις ακτίνες X που τυπικά χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνικών δομών. Το πρόβλημα ξεπεράστηκε με τη χρήση ενός λέιζερ ακτίνων X άνευ ηλεκτρονίων (X-ray free-electron laser), που παράγει μια δέσμη ακτίνων X με τόσο μεγάλη ένταση ώστε εξαερώνει οτιδήποτε στο πέρασμά του. Ωστόσο, η δέσμη εμφανίζεται με παλμούς μόνο μερικών femtoseconds (fs, 10^{-15} s), μια τιμή που είναι τόσο μικρή ώστε τα άτομα ενός πρωτεϊνικού κρυστάλλου να μπορούν να μετακινηθούν όχι περισσότερο από ένα κλάσμα ενός $\text{\AA}$ κατά τη διάρκεια του παλμού. Επομένως, το καταγεγραμμένο μοτίβο περιθλασης είναι αυτό ενός αδιατάρακτου κρυστάλλου (ένας νέος κρύσταλλος ή ένα νέο τμήμα κρυστάλλου πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά από κάθε παλμό ακτίνων X.)



ΕΙΚΟΝΑ 19–15 Η απόδοση του O_2 ανά λάμψη σε προσαρμοσμένους στο σκοτάδι χλωροπλάστες που προέρχονται από το σπανάκι. Παρατηρήστε ότι η απόδοση κορυφώνεται στην τρίτη λάμψη και μετά σε κάθε τέταρτη λάμψη, μέχρι η καμπύλη τελικά να προσεγγίσει τη μέση τιμή της. [Κατά Forbush, B., Kok, B., and McGloin, M.P., *Photochem. Photobiol.* **14**, 309 (1971).]



ΕΙΚΟΝΑ 19–16 Σχηματικός μηχανισμός της δημιουργίας O_2 στους χλωροπλάστες. Τέσσερα ηλεκτρόνια απογυμνώνονται, ένα τη φορά, στις φωτοκαθοδούμενες αντιδράσεις ($S_0 \rightarrow S_4$), από δύο προσδεμένα μόρια νερού. Στο βήμα ανάκαμψης ($S_4 \rightarrow S_0$), το οποίο είναι φωτοεξαρτώμενο, απελευθερώνεται O_2 . Τέσσερα από τα πέντε βήματα απελευθερώνουν πρωτόνια μέσα στον αυλό του θυλακοειδούς.



ΕΙΚΟΝΑ 19–17 Ένα μοντέλο του OEC στην κατάσταση S_1 που προέρχεται από το κυανοβακτήριο *T. vulcanus*. Το σύμπλοκο Mn_4CaO_5 απεικονίζει τα ιόντα Mn να έχουν γκρι χρώμα, το Ca^{2+} να έχει μπλε χρώμα, το O κόκκινο χρώμα, εκτός από το O5 που είναι κίτρινο, και τα δομικά άτομα οξυγόνου του νερού (W) να έχουν πορτοκαλί χρώμα. Οι αποστάσεις μεταξύ των μεταλλικών ιόντων και των γεφυρωτικών ατόμων οξυγόνου δίνονται σε Ångströms. Οι προτεινόμενες καταστάσεις οξείδωσης των ιόντων Mn, όπως συνάγονται από φασματοσκοπικά και δομικά δεδομένα, υποδεικνύονται με λατινικούς αριθμούς. Οι αλληλεπιδράσεις με τις πρωτεϊνικές πλευρικές αλυσίδες (κυρίως Asp, Glu και His) δεν απεικονίζονται. [Ευγενική προσφορά από Jian-Ren Shen, Okayama University, Japan. PDBid 4UB8.]

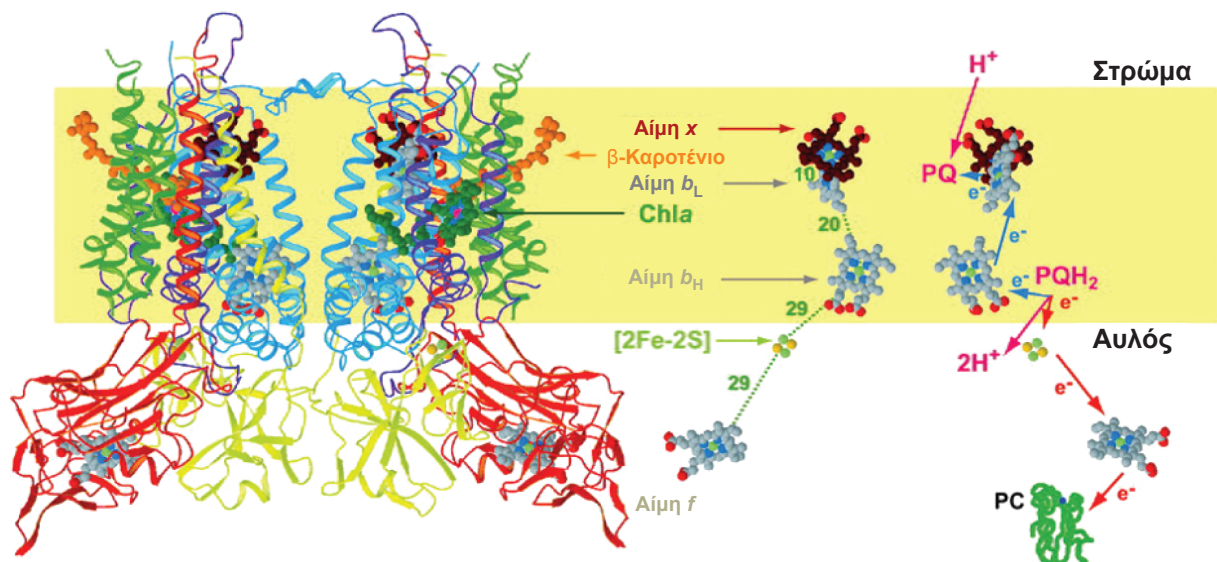
Η **Εικόνα 19–17** παρουσιάζει τη δομή του φυσικού OEC στην κατάστασή του S_1 στη δομή ακτίνων X του PSII *Thermosynechococcus vulcanus* η οποία προσδιορίστηκε από τους Masaki Yamamoto, Hideo Ago και Jian-Ren Shen με χρήση λέιζερ ακτίνων X άνευ ηλεκτρονίων. Καθένα από τα τέσσερα ιόντα Mn του OEC συντονίζονται με αριθμό συναρμολής 6 από άτομα O και πρωτεϊνικές πλευρικές αλυσίδες (μη εμφανές στην Εικόνα 19–17). Οι σημαντικά μακρύτεροι δεσμοί Mn—O που περιλαμβάνουν O5, σε σύγκριση με τα άλλα γεφυρωτικά άτομα O, υποδηλώνουν ότι το O5 είναι ένα OH^- αντί για ένα δυανιόν οξυγόνου (O^{2-}). Αυτό, επίσης, υποδεικνύει ότι, στην κατάσταση S_0 , το O5 είναι μέρος ενός μορίου νερού που απελευθερώνει ένα πρωτόνιο μεταβαίνοντας στην κατάσταση S_1 (Εικόνα 19–16).

Η αντίδραση της διάσπασης του νερού, μια αντίδραση που είναι ουσιώδης για τη συντήρηση των περισσότερων οργανισμών, καθοδηγείται από τη διέγερση του RC του PSII. Μια ποικιλία ενδείξεων υποδεικνύει ότι τα ιόντα Mn στις πέντε καταστάσεις S του OEC (Εικόνα 19–16) επαναλαμβάνονται κυκλικά μέσω εξειδικευμένων συνδυασμών των Mn(II), Mn(III), Mn(IV) και Mn(V), ενώ αποσπούν πρωτόνια και ηλεκτρόνια από δύο μόρια H_2O αποδίδοντας O_2 , το οποίο απελευθερώνεται στον αυλό του θυλακοειδούς. Ωστόσο, αν και έχουν παρουσιαστεί διάφορες προτάσεις για τον χημικό μηχανισμό μέσω του οποίου το OEC οξειδώνει το νερό, καμία δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά.

Τα ηλεκτρόνια που αποσπώνται από το νερό με OEC προωθούνται, ένα τη φορά, στο $P680^+$ από μια οντότητα που αρχικά ονομαζόταν Z (Εικόνα 19–12). Οι φασματοσκοπικές μετρήσεις ταυτοποίησαν το Z ως μια παροδική ουδέτερη ρίζα τυροσίνης (TyrO•) τοποθετημένη στην Tyr 161 της D1 (γνωστή ως Tyr_Z), η οποία είναι τοποθετημένη μεταξύ του OEC και του P680 (Εικόνα 19–14). Υπενθυμίζεται ότι η ρίζα τυροσίνης έχει επίσης εμπλακεί στην αναγωγή του O_2 σε $2 H_2O$ από την οξειδάση του κυτοχρώματος c (Σύμπλοκο IV) στην αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ενότητα 18–2Z).

Η μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f δημιουργεί βαθμίδωση πρωτονίων. Από τη δεξαμενή πλαστοκινόνης, τα ηλεκτρόνια διέρχονται μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f . Αυτό το συγκρότημα ενσωματωμένης πρωτεΐνης μοιάζει με το κυτόχρωμα bc_1 , το μωβ βακτηριακό ομόλογό του (Ενότητα 19–2B), καθώς επίσης και με το Σύμπλοκο III της μιτοχονδριακής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ενότητα 18–2E). Η ροή ηλεκτρονίων μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f πραγματοποιείται μέσω του κύκλου Q (Εικόνα 18–15). Με ανάλογο τρόπο, δύο πρωτόνια μετατοπίζονται κατά μήκος της μεμβράνης του θυλακοειδούς για κάθε ηλεκτρόνιο που μεταφέρεται. Τα τέσσερα ηλεκτρόνια που αποσπώνται από $2 H_2O$ με το OEC οδηγούν συνεπώς στη μετατόπιση οκτώ H^+ από το στρώμα του αυλού του θυλακοειδούς. Η μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f δημιουργεί αρκετή από την ηλεκτροχημική βαθμίδωση πρωτονίων που καθοδηγεί τη σύνθεση του ATP στους χλωροπλάστες.

Η δομή ακτίνων X του κυτοχρώματος b_6f (Εικόνα 19–18) προσδιορίστηκε ανεξάρτητα από την Janet Smith και τον William Cramer και από τον Jean-Luc Polpot και τον Daniel Picot. Το κυτόχρωμα b_6f είναι ένα διμερές πρωτομερών ~ 109 kD, όπου το καθένα περιέχει τέσσερις μεγάλες υπομονάδες (18–32 kD) οι οποίες εμφανίζουν αντίστοιχες στο κυτόχρωμα bc_1 : το **κυτόχρωμα b_6** , ένα ομόλογο του ήμισυ N–τελικού του κυτοχρώματος b · την **υπομονάδα IV**,



ΕΙΚΟΝΑ 19–18 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f που προέρχεται από το θερμόφιλο κυανοβακτήριο *Mastigocladus laminosus*. Ένα διάγραμμα κορδέλας του διμερούς συμπλόκου είναι σχεδιασμένο στα αριστερά με το κυτόχρωμα b_6 να έχει μπλε χρώμα, την υπομονάδα IV μωβ χρώμα, το κυτόχρωμα f κόκκινο χρώμα, την πρωτεΐνη σιδήρου–θείου (ISP) κίτρινο χρώμα και τις άλλες υπομονάδες πράσινο χρώμα. Η τεκμαιρόμενη θέση της λιπιδικής διπλοστιβάδας υποδεικνύεται με μια κίτρινη ζώνη. Οι οδοί μεταφοράς ηλεκτρονίων και πρωτονίων μέσω του συμπλόκου και οι αποστάσεις, σε ångstroms, μεταξύ των κέντρων οξειδοαναγωγής απεικονίζονται στα δεξιά. [Τροποποίηση από ένα σχέδιο των William A. Cramer and Janet Smith, Purdue University. PDBid 1UM3.]

? Συγκρίνετε αυτή την εικόνα με την Εικόνα 18–14 (που είναι ανάποδα σε σχέση με αυτή την εικόνα) και συνοψίστε τις ομοιότητες και τις διαφορές.

ένα ομόλογο του ήμισυ C–τελικού του κυτοχρώματος b_6 το **κυτόχρωμα f** (f από το *feuille* που στα γαλλικά σημαίνει φύλλο), ένα κυτόχρωμα τύπου c που είναι λειτουργικά ανάλογο του κυτοχρώματος c_1 , παρόλο που δεν έχουν καμία σχέση μεταξύ τους ως προς τη δομή και την αλληλουχία· και μια πρωτεΐνη σιδήρου–θείου Riekse (ISP), η οποία είναι επίσης παρούσα στο κυτόχρωμα bc_1 . Επιπλέον, το κυτόχρωμα b_6f έχει τέσσερις μικρές υδρόφοβες υπομονάδες που δεν έχουν ισοδύναμο στο κυτόχρωμα bc_1 . Κάθε πρωτομερές περιέχει 13 διαμεμβρανικές έλικες, τέσσερις στο κυτόχρωμα b_6 , τρεις στην υπομονάδα IV και μια σε καθεμία από τις υπόλοιπες υπομονάδες. Το κυτόχρωμα b_6f προσδένει τους συμπαράγοντες που είναι τα ισοδύναμα όλων αυτών στο κυτόχρωμα bc_1 : την **αίμη f** , μια αίμη τύπου c που προσδένεται από το κυτόχρωμα f · ένα σύμπλεγμα $[2Fe-2S]$ προσδεδεμένο από την ISP· τις αίμες b_H και b_L · ένα μόριο πλαστοκινόνης που καταλαμβάνει είτε τη θέση Q_I (η θέση πρόσδεσης της κινόνης στην οποία η πλήρως ανηγμένη κινόνη αναγεννάται κατά τη διάρκεια του κύκλου Q · Ενότητα 18–2Ε) είτε τη θέση Q_o . Επιπλέον, το κυτόχρωμα b_6f προσδένει αρκετούς συμπαράγοντες που δεν έχουν αντίστοιχους στο κυτόχρωμα bc_1 : μια Chl a , ένα β–καροτένιο και, απρόσμενα, μια διαφορετική αίμη που ονομάζεται **αίμη x** (εναλλακτικά, **αίμη c_1**), η οποία είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένη με την πρωτεΐνη μέσω ενός μεμονωμένου θειοεστερικού δεσμού στη Cys 35 του κυτοχρώματος b_6 , και της οποίας ο μοναδικός αζονικός προσδέτης είναι ένα μόριο νερού (συγκρίνετε με τις αίμες a , b και c στο Πλαίσιο 18–1).

Η πλαστοκυανίνη μεταφέρει ηλεκτρόνια από το κυτόχρωμα b_6f στο PSI. Η μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ του κυτοχρώματος f , του τελικού φορέα ηλεκτρονίων του συμπλέγματος του κυτοχρώματος b_6f και του PSI υποβοηθάται από την πλαστοκυανίνη (PC), μια περιφερειακή μεμβρανική πρωτεΐνη που βρίσκεται στην επιφάνεια του αυλού του θυλακοειδούς (Εικόνα 19–11). Το κέντρο οξειδοαναγωγής αυτού του κινητού μονομερούς, το οποίο περιέχει Cu, επαναλαμβάνεται κυκλικά μεταξύ των καταστάσεων οξειδωσής του Cu(I) και Cu(II). Η δομή ακτίνων Χ της PC από φύλλα λεύκας δείχνει ότι το άτομο Cu συντονίζεται με μια αποδιατεταγμένη τετραεδρική γεωμετρία από ένα κατάλοιπο Cys, ένα κατάλοιπο Met και δύο κατάλοιπα His (Εικόνα 19–19).

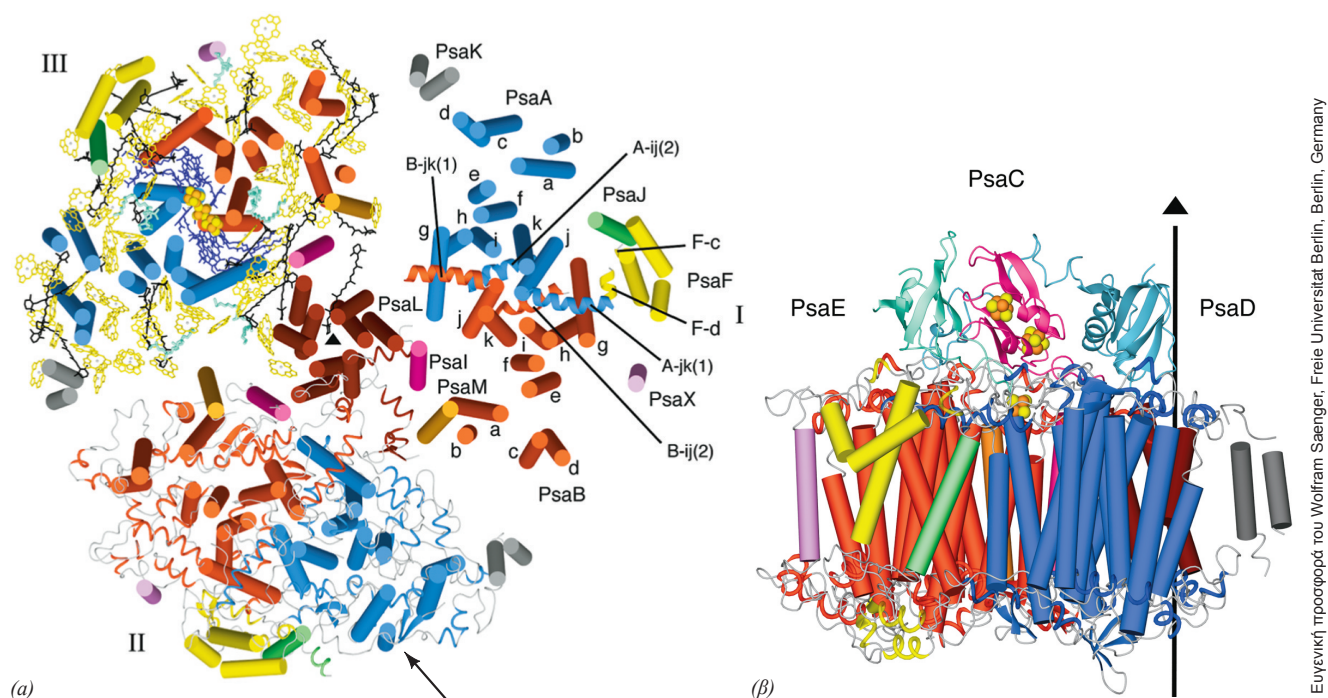


ΕΙΚΟΝΑ 19–19 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής της πλαστοκυανίνης που προέρχεται από τα φύλλα λεύκας. Αυτή η μονομερής πρωτεΐνη 99 καταλοίπων, που είναι μέλος της οικογένειας των **μπλε πρωτεϊνών χαλκού (blue proteins copper)**, αναδιπλώνεται σε ένα β–σάντουιτς. Το άτομο Cu της (*πορτοκαλί σφαίρα*), το οποίο εναλλάσσεται μεταξύ των καταστάσεων οξειδωσής του Cu(I) και Cu(II), είναι τετραεδρικά συντονισμένο από τις πλευρικές αλυσίδες των His 37, Cys 84, His 87 και Met 92, που απεικονίζονται με μορφή ράβδου με τα άτομα C, N και S να έχουν πράσινο, μπλε και κίτρινο χρώμα. Τα επτά συντηρημένα κατάλοιπα Asp και Glu που σχηματίζουν μια αρνητικά φορτισμένη περιοχή στην κυτταρική επιφάνεια έχουν χρώμα κόκκινο. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων Χ από τους Mitchell Guss και Hans Freeman, University of Sydney, Australia. PDBid 1PLC.]

Τα σύμπλοκα Cu(II) με τέσσερις προσδέτες φυσιολογικά υιοθετούν μια τετράγωνη επίπεδη γεωμετρία συντονισμού, ενώ τα σύμπλοκα Cu(I) είναι συνήθως τετραεδρικά. Προφανώς, η ένταση του τετραεδρικού συντονισμού του Cu(II) στην PC ο οποίος επιβάλλεται από την πρωτεΐνη προωθεί την αναγωγή του σε Cu(I). Αυτή η υπόθεση αντιπροσωπεύει το υψηλό πρότυπο δυναμικό αναγωγής της PC (0,370 V) σε σύγκριση με αυτό της φυσιολογικής ημιαντίδρασης Cu(II)/Cu(I) (0,158 V) και απεικονίζει πώς οι πρωτεΐνες μπορούν να διαμορφώσουν τα δυναμικά αναγωγής των κέντρων οξειδοαναγωγής τους. Στην περίπτωση της πλαστοκυανίνης, αυτό διευκολύνει τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το σύμπλοκο του κυτοχρώματος *b₆f* στο PSI.

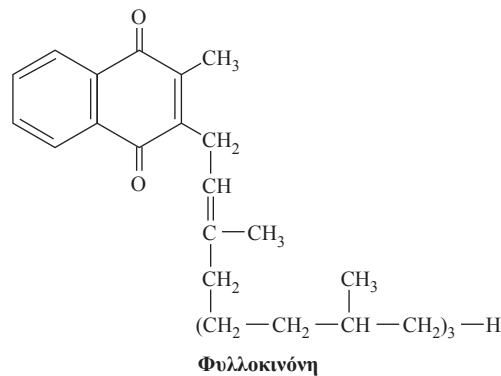
Οι δομές του κυτοχρώματος *f* και της PC δηλώνουν πώς συνδέονται οι πρωτεΐνες. Η Lys 187 του κυτοχρώματος *f*, ένα μέλος μιας συντηρημένης ομάδας πέντε θετικά φορτισμένων καταλοίπων στην επιφάνεια της πρωτεΐνης, μπορεί να διασυνδεθεί χημικά με την Asp 44 στην PC, η οποία καταλαμβάνει μια συντηρημένη αρνητικά φορτισμένη περιοχή της επιφάνειας. Είναι πολύ πιθανόν οι δύο πρωτεΐνες να συνδέονται μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, όπως το λειτουργικό αντίστοιχο του κυτοχρώματος *c* της PC αντιδρά με τους οξειδοαναγωγικούς εταίρους στη μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ενότητα 18–2Ε).

Το RC του PCI μοιάζει τόσο στο RC του PSII όσο και στο PbRC. Τα PSI των κυανοβακτηρίων είναι τριμερή πρωτομερών με το καθένα να αποτελείται από τουλάχιστον 11 διαφορετικές πρωτεϊνικές υπομονάδες που συντονίζουν >100 συμπράγοντες. Η δομή ακτίνων X του PSI που προέρχεται από το βακτήριο *T. elongatus* (Εικόνα 19–20), όπως έχει προσδιοριστεί από τον Saenger, αποκαλύπτει ότι καθένα από τα πρωτομερή της μεγέθους 356 kD περιέχει εννέα διαμεμβρανικές υπομονάδες (**PsaA, PsaB, PsaF, PsaI–M** και **PsaX**) και τρεις υπομονάδες στρώματος (**PsaC–E**) (κυτταροπλασματικές υπομονάδες στα κυανοβακτήρια), οι οποίες συλλογικά προσδένουν 127 συμπράγοντες που αποτελούν το 30% της μάζας του PSI. Οι συμπράγοντες που σχηματίζουν το RC του PSI είναι όλοι προσδεσμένοι από τις ομόλογες υπομονάδες PsaA (755 καταλοιπών) και PsaB (740 καταλοιπών), των οποίων οι 11 διαμεμβρανικές έλικες είναι η καθεμία διατεταγμένη κατά τρόπο που μοιάζει με τις έλικες των υπομονάδων L και M του PsRC (Εικόνα 19–8) και των υπομονάδων D1 και D2 του PSII (Εικόνα 19–13), υποστηρίζοντας έτσι την ιδέα ότι όλα τα RC προέρχονται από έναν κοινό απόγονο. Τα PsaA και PsaB, μαζί με άλλες διαμεμβρανικές υπομονάδες, προσδένουν επίσης τους συμπράγοντες του κεντρικού συστήματος κεραίας (βλ. παρακάτω).



ΕΙΚΟΝΑ 19–20 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής του PSI από *T. elongatus*. (α) Προβολή του τριμερούς συμπλόκου κάθετη προς τη μεμβράνη από την επιφάνεια του στρώματος του. Οι υπομονάδες τους στρώματος παραλείπονται για λόγους σαφήνειας. Ο τριπλός άξονας συμμετρίας του PSI συμβολίζεται με ένα μικρό μαύρο τρίγωνο. Απεικονίζονται διαφορετικά δομικά στοιχεία για καθένα από τα τρία πρωτομερή (I, II και III). Το I δείχνει τη διάταξη των διαμεμβρανικών ελίκων (κύλινδροι), που χρωματίζονται διαφορετικά για κάθε υπομονάδα. Οι διαμεμβρανικές έλικες τόσο του PsaA (μπλε χρώμα) όσο και του PsaB (κόκκινο χρώμα) ονομάζονται από α έως κ από τα N–τελικά έως τα C–τελικά τους. Οι έξι έλικες στις εξωκυττάριες περιοχές βρόχων είναι σχεδιασμένες ως σπείρες. Το II δείχνει τις διαμεμβρανικές έλικες ως κυλίνδρους μαζί με όλους τους συμπράγοντες. Το RC της Chl *a* και οι κινόνες, που παρουσιάζονται με μορφή ράβδου, είναι μπλε, τα άτομα Fe και S των συμπλεγμάτων [4Fe–4S] παρουσιάζονται ως πορτοκαλί και κίτρινες σφαίρες, το σύστημα–κεραία της Chl *a* (του οποίου οι πλευρικές αλυσίδες έχουν απομακρυνθεί για λόγους σαφήνειας) είναι κίτρινο, τα καροτενοειδή είναι μαύρα και τα προσδεσμένα λιπίδια είναι ανοιχτό πράσινο. (β) Ένα πρωτομερές προβάλλεται παράλληλα προς τη μεμβράνη κατά μήκος του βέλους στο Μέρος α με το στρώμα από πάνω. Οι διαμεμβρανικές έλικες είναι χρωματισμένες όπως στο Μέρος α με τις υπομονάδες του στρώματος PsaC, PsaD και PsaE να έχουν ροζ, κυανό και ανοιχτό πράσινο χρώμα, αντίστοιχα. Η κάθετη γραμμή και το τρίγωνο σηματοδοτούν τον τριπλό άξονα συμμετρίας του τριμερούς. [Ευγενική προσφορά από τον Wolfram Saenger, Freie Universität Berlin, Germany. PDBid 1JBO.]

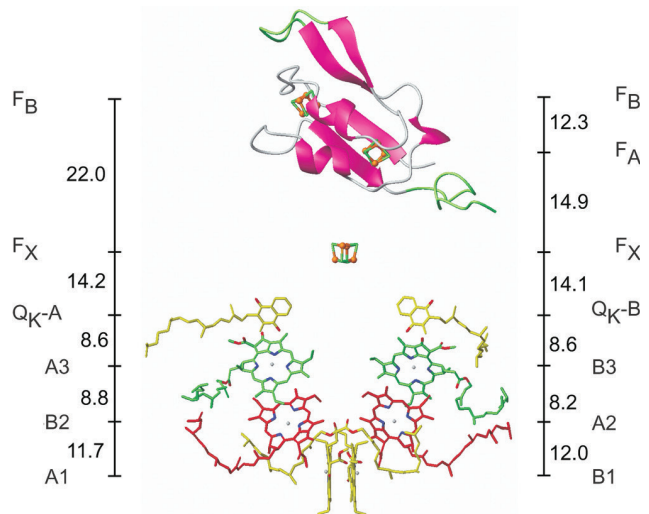
Η Εικόνα 19–21 υποδεικνύει ότι τα RC του PSI αποτελούνται από 6 Chl *a* και δύο μόρια φυλλοκινόνης (phylloquinone),



η οποία έχει την ίδια πλευρική αλυσίδα φυτυλίου όπως και οι χλωροφύλλες (Εικόνα 19–2), όλες διατεταγμένες σε δύο ψευδοσυμμετρικά συσχετιζόμενες διακλαδώσεις, συνοδευόμενες από τρία συμπλέγματα [4Fe–4S]. Ο πρωταρχικός δότης ηλεκτρονίων του συστήματος, **P700**, αποτελείται από ένα ζεύγος παράλληλων Chl *a*, A1 και B1, των οποίων τα ιόντα Mg^{2+} διαχωρίζονται από 6,3 Å, και ως εκ τούτου μοιάζουν με το ειδικό ζεύγος στο PbRC. Η A1 ακολουθείται στην αριστερή διακλάδωση της Εικόνας 19–21 από δύο επιπλέον δακτυλίους Chl *a*, B2 και A3, και η B1 ακολουθείται από την A2 και τη B3 στη δεξιά διακλάδωση. Ένα ή και τα δύο από τα μόρια της Chl *a* του τρίτου ζεύγους, A3 και B3, πιθανότατα σχηματίζουν τον φασματοσκοπικά ταυτοποιημένο πρωταρχικό δέκτη ηλεκτρονίων A_0 (δεξιά πλευρά της Εικόνας 19–12). Τα ιόντα Mg^{2+} της A3 και της B3 είναι το καθένα αξονικά προσδεδεμένο από τα άτομα S ενός κατάλοιπου Met παρά τις πλευρικές αλυσίδες His (σχηματίζοντας συνεπώς τα μοναδικά βιολογικά παραδείγματα συντονισμού Mg^{2+} —S). Τα ηλεκτρόνια περνούν από την A3 και την B3 στις φυλλοκινόνες, Q_k –A και Q_k –B, οι οποίες είναι σχεδόν βέβαιο ότι αντιστοιχούν στον φασματοσκοπικά ταυτοποιημένο δέκτη ηλεκτρονίων A_1 . Φασματοσκοπικές έρευνες υποδεικνύουν ότι, σε αντίθεση με την περίπτωση του PbRC, τα ηλεκτρόνια διέρχονται μέσω και των δύο διακλαδώσεων του RC του PSI, αν και σε διαφορετικούς ρυθμούς. Πράγματι, το RC του PSI σχετίζεται περισσότερο με το RC των **πράσινων βακτηρίων θείου (green sulfur bacteria)** (μια δεύτερη τάξη φωτοσυνθετικών βακτηρίων), που είναι ένα πραγματικό ομοδιμερές.

Μέχρι αυτό το σημείο, το RC του PSI μοιάζει με αυτά του PSII και των μωβ φωτοσυνθετικών βακτηρίων. Ωστόσο, αντί οι ανηγμένες μορφές του Q_k –A ή του Q_k –B να διαχωριστούν από το PSI, αμφότερες οι κινόνες μεταφέρουν απευθείας το φωτοδιεγερμένο ηλεκτρόνιο τους σε μια αλυσίδα τριών φασματοσκοπικά ταυτοποιημένων συμπλεγμάτων [4Fe–4S] που ορίζονται ως F_X , F_A και F_B (δεξιά πλευρά της Εικόνας 19–12). Το F_X , το οποίο βρίσκεται στον ψευδο–διπλό άξονα που συσχετίζει το PsaA και PsaB, συντονίζεται με δύο κατάλοιπα Cys από καθεμία από τις υπομονάδες. Τα F_A και F_B είναι συνδεδεμένα στην υπομονάδα του στρώματος PsaC, η οποία δομικά μοιάζει με τις βακτηριακές φερροδοξίνες που περιέχουν δύο συμπλέγματα [4Fe–4S] (Εικόνα 19–22). Η παρατήρηση ότι αμφότερες οι διακλαδώσεις των οδών μεταφοράς ηλεκτρονίων του PSI είναι ενεργές, σε αντίθεση με τη μια ενεργή διακλάδωση στο PSII και το PbRC, δικαιολογείται από την παρατήρηση ότι οι δύο κινόνες στα άκρα κάθε διακλάδωσης είναι λειτουργικά ισοδύναμες στο PSI αλλά λειτουργικά διαφορετικές στο PSII και στο PbRC.

Το κεντρικό σύστημα κεραίας του PSI αποτελείται από 90 μόρια Chl *a* και 22 καροτενοειδή (Εικόνα 19–20α). Η χωρική διάταξη αυτών των κεραίων της Chl *a* μοιάζει με αυτή των κεντρικών υπομονάδων–κεραίες CP43 και CP47 του PSII (Εικόνα 19–13). Πράγματι, οι N–τελικές περιοχές του PsaA και του PsaB είναι παρόμοιες στην αλληλουχία με αυτές των CP43 και CP47 και αναδιπλώνονται σε παρόμοιες δομές οι οποίες περιέχουν η καθεμία έξι διαμεμβρανικές έλικες.



ΕΙΚΟΝΑ 19–21 Οι συμπράγοντες του RC του PSI και του PsaC.

Η προβολή είναι παράλληλη προς το επίπεδο της μεμβράνης με το στρώμα να είναι από πάνω. Η Chl *a* και τα μόρια φυλλοκινόνης είναι διατεταγμένα σε δύο ψευδοσυμμετρικούς δακτυλίους. Τα Chl *a* είναι σημειωμένα ως A ή B υποδεικνύοντας ότι τα ιόντα Mg^{2+} τους είναι συνδεδεμένα από τις πλευρικές αλυσίδες του PsaA ή PsaB, αντίστοιχα. Οι φυλλοκινόνες ονομάζονται Q_k –A και Q_k –B. Το PsaC απεικονίζεται με μορφή κορδέλας με τα μέρη που μοιάζουν με τα τμήματα των βακτηριακών φερροδοξινών $2[4Fe-4S]$ να είναι ροζ και τις προσθήκες και τις επεκτάσεις να είναι πράσινες. Τα τρία συμπλέγματα [4Fe–4S] απεικονίζονται με μορφή σφαίρας και ράβδου και σημαίνονται σύμφωνα με τις φασματοσκοπικές ταυτότητες F_X , F_A και F_B . Οι αποστάσεις μεταξύ των συμπαραγόντων από κέντρο σε κέντρο (κάθετες μαύρες γραμμές) δίνονται σε ångstroms. [Ευγενική προσφορά του Wolfram Saenger, Freie Universität Berlin, Germany 1JBO.]

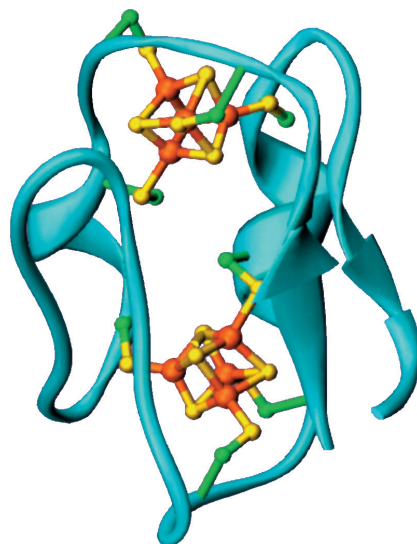
? Συγκρίνετε αυτή την Εικόνα με τις Εικόνες 19–9 και 19–14.

Τα καροτενοειδή, τα οποία είναι κυρίως β-καροτένια είναι θαμμένα βαθιά στη μεμβράνη, όπου είναι σε επαφή μέσω των αλληλεπιδράσεων van der Waals με δακτυλίους της Chl *a*. Αυτό επιτρέπει την αποτελεσματική μεταφορά της ενέργειας από τα φωτοδιεγερμένα καροτενοειδή στην Chl *a*.

Τα PSI που προέρχονται από τα ανώτερα φυτά είναι μονομερή και όχι τριμερή όπως είναι τα PSI των κυανοβακτηρίων. Παρ' όλα αυτά, η δομή ακτίνων Χ του PSI που προέρχεται από τα μπιζέλια αποκαλύπτει ότι οι θέσεις και οι προσανατολισμοί της χλωροφύλλης και στα δύο είδη των PSI είναι σχεδόν ίδιοι, ένα αξιοθαύμαστο εύρημα λαμβάνοντας υπόψη τα >1 δισεκατομμύριο χρόνια που πέρασαν από τότε που οι χλωροπλάστες διαφοροποιήθηκαν από τους κυανοβακτηριακούς προγόνους τους. Ωστόσο, το PSI που προέρχεται από τα μπιζέλια έχει τέσσερις πρωτεΐνες-κεραίες που δεν είναι παρούσες στο PSI των κυανοβακτηρίων και οι οποίες είναι διατεταγμένες σε μια διαμεμβρανική ζώνη σχήματος ημισελήνου γύρω από κάθε πλευρά του RC και συλλογικά προσδένουν 56 μόρια χλωροφύλλης.

Τα ενεργοποιημένα από το PSI ηλεκτρόνια μπορεί να ανάγουν το NADP⁺ ή να ενεργοποιούν τον σχηματισμό της βαθμίδωσης πρωτονίων. Τα ηλεκτρόνια που εκπέμπονται από την F_b στο PSI μπορούν να ακολουθήσουν μια από τις δύο εναλλακτικές οδούς (Εικόνα 19–12):

1. Τα περισσότερα ηλεκτρόνια ακολουθούν μη κυκλική οδό ανάγοντας τη διαλυτή πρωτεΐνη ~100 καταλοίπων που ονομάζεται **φερρεδοξίνη (ferredoxin, Fd)** (Εικόνα 19–22) και περιέχει [2Fe–2S], και η οποία είναι τοποθετημένη στο στρώμα. Η ανηγμένη Fd, με τη σειρά της, ανάγει το NADP⁺ σε μια αντίδραση που υποβοηθάται από μια μονομερή αναγωγάση φερρεδοξίνης–NADP⁺ (FNR) που περιέχει FAD και αποτελείται από ~310 κατάλοιπα (Εικόνα 19–23) αποδίδοντας το τελικό προϊόν των φωτεινών αντιδράσεων των χλωροπλάστων, το NADPH. Δύο ανηγμένα μόρια Fd παραδίδουν διαδοχικά ένα ηλεκτρόνιο σε κάθε FAD του FNR, το οποίο κατά αυτό τον τρόπο λαμβάνει διαδοχικά την κατάσταση ουδέτερης ημικίνωσης και την πλήρως ανηγμένη κατάσταση, πριν μεταφέρει τα δύο ηλεκτρόνια και το ένα πρωτόνιο στο NADP⁺ μέσω αυτού που θεωρείται επίσημα μεταφορά ιόντων υδριδίου.
2. Ορισμένα ηλεκτρόνια επιστρέφονται από το PSI, μέσω του κυτοχρώματος b_6 , στη δεξαμενή πλαστοκινόνης, διασχίζοντας επομένως μια κυκλική οδό που μετατοπίζει τα πρωτόνια κατά μήκος της μεμβράνης του θυλακοειδούς. Ένας μηχανισμός που έχει προταθεί για αυτή τη διαδικασία είναι ότι η Fd μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο στην αίμη *x* του κυτοχρώματος b_6 (Εικόνα 19–18) παρά στο FNR. Δεδομένου ότι η αίμη *x* έρχεται σε επαφή με την αίμη b_L στην περιφέρεια της θέσης Q_i του κυτοχρώματος b_6/f , ένα ηλεκτρόνιο που εισάγεται στην αίμη *x* θα αναμενόταν να ανάγει την πλαστοκινόνη μέσω ενός μηχανισμού που μοιάζει με τον κύκλο Q (Εικόνα 18–15). Σημειώνεται ότι η κυκλική οδός είναι ανεξάρτητη της δράσης του PSII και ως εκ τούτου δεν οδηγεί στην εξέλιξη του O₂. Αυτό αντιπροσωπεύει την παρατήρηση ότι οι χλωροπλάστες απορροφούν περισσότερα από οκτώ φωτόνια ανά μόριο O₂ που αναπτύσσεται.



ΕΙΚΟΝΑ 19–22 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής της φερρεδοξίνης που προέρχεται από το *Peptococcus aerogenes*. Αυτή η μονομερής πρωτεΐνη που αποτελείται από 54 κατάλοιπα, περιέχει δύο συμπλέγματα [4Fe–4S]. Τα άτομα C_β των τεσσάρων καταλοίπων Cys που συνδέουν κάθε σύμπλεγμα έχουν πράσινο χρώμα, τα άτομα Fe έχουν πορτοκαλί και τα άτομα S κίτρινο. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων Χ από τους Elinor Adman, Larry Sieker και Lyle Jensen, University of Washington. PDBid 1FDX.]



ΕΙΚΟΝΑ 19–23 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής της αναγωγάσης φερρεδοξίνης–NADP⁺ (FNR) που προέρχεται από τα μπιζέλια και είναι σε σύμπλοκο με το FAD και το NADP⁺. Αυτή η πρωτεΐνη 308 καταλοίπων έχει δύο περιοχές: η N–τελική περιοχή (χρυσάφι χρώμα), η οποία σχηματίζει τη θέση πρόσδεσης του FAD, αναδιπλώνεται σε ένα αντιπαράλληλο β-βαρέλι, ενώ η C–τελική περιοχή (φούξια χρώμα), η οποία παρέχει τη θέση πρόσδεσης του NADP⁺, σχηματίζει μια αναδιπλωμένη που προσδένει το δινουκλεοτίδιο (Ενότητα 6–2Γ). Το FAD και το NADP⁺ απεικονίζονται με μορφή ράβδου με το C του NADP⁺ να έχει πράσινο χρώμα, το C του FAD κυανό, το N μπλε, το O κόκκινο και το P κίτρινο. Οι δακτύλιοι φλαβίνης και νικοτιναμιδίου είναι απέναντι από τον C4 του δακτυλίου νικοτιναμιδίου και τον C5 του δακτυλίου φλαβίνης σε απόσταση 3,0 Å, μια διάταξη που είναι συνεπής με την απευθείας μεταφορά του υδριδίου, όπως επίσης συμβαίνει στη διυδρολιπούλο–αφυδρογονάση (Εικόνα 17–8). [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων Χ από Andrew Karplus, Cornell University. PDBid.1QFY.]

ΠΛΑΙΣΙΟ 19-1 Προοπτικές στη βιοχημεία Ο διαχωρισμός του PSI και του PSII

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία αποκάλυψε ότι τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα της μεμβράνης του θυλακοειδούς έχουν χαρακτηριστικές κατανομές (βλ. εικόνα).

1. Το PSI εμφανίζεται κυρίως στα μη στοιβαγμένα πετάλια του στρώματος, που βρίσκονται σε επαφή με το στρώμα, όπου έχει πρόσβαση στο NADP⁺.
2. Το PSII είναι τοποθετημένο σχεδόν αποκλειστικά μεταξύ των στενά στοιβαγμένων κοκκίων, μακριά από κάθε άμεση επαφή με το στρώμα.
3. Το κυτόχρωμα b_6f είναι ανομοιόμορφα κατανεμημένο σε όλη τη μεμβράνη.

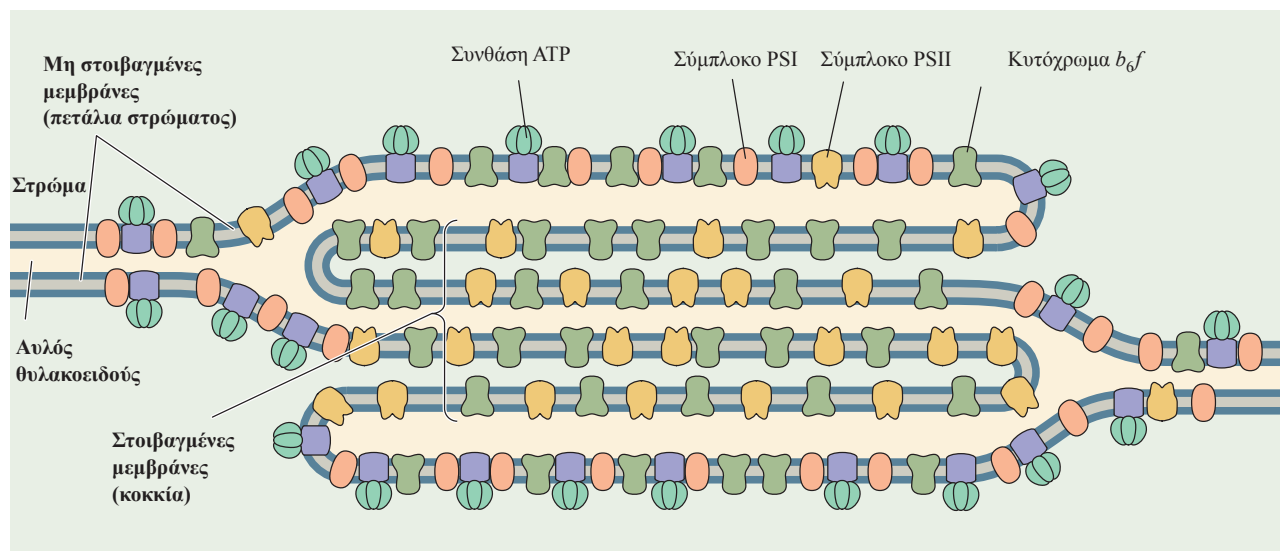
Οι υψηλές κινητικότητες της πλαστοκινόνης και της πλαστοκυανίνης, των φορέων ηλεκτρονίων που μεταφέρουν ηλεκτρόνια μεταξύ αυτών των σωματιδίων, επιτρέπουν στη φωτοσύνθεση να εξελιχθεί με έναν λογικό ρυθμό.

Ποια λειτουργία εξυπηρετείται από τον διαχωρισμό του PSI και του PSII; Εάν τα δύο φωτοσυστήματα ήταν σε στενή γειτνίαση, η υψηλότερη ενέργεια διέγερσης του PSII (P680 έναντι P700) θα το ανάγκαζε να περάσει ένα μεγάλο μέρος των απορροφημένων φωτονίων του στο PSI μέσω της μεταφοράς εξιτονίου, δηλαδή το PSII θα δρούσε ως μια φωτοσυλλεκτική κεραία για το PSI. Ο διαχωρισμός των σωματιδίων κατά περίπου 100 Å εξαλείφει αυτή τη δυσκολία.

Ο φυσικός διαχωρισμός του PSI και του PSII επιτρέπει επίσης στον χλωροπλάστη να ανταποκρίνεται στις αλλαγές του φωτισμού.

Οι σχετικές ποσότητες του φωτός που απορροφάται από τα δύο φωτοσυστήματα ποικίλλουν με τον τρόπο με τον οποίο τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα κατανέμονται μεταξύ των στοιβαγμένων και μη στοιβαγμένων μερών μεμβράνης του θυλακοειδούς. Υπό υψηλό φωτισμό (φυσιολογικά στο άμεσο ηλιακό φως, το οποίο περιέχει υψηλό ποσοστό μπλε φωτός μικρού μήκους κύματος), το PSII απορροφά περισσότερο φως από ό,τι το PSI. Το PSI συνεπώς δεν είναι σε θέση να δεχθεί ηλεκτρόνια τόσο γρήγορα όσο το PSII μπορεί να τα εφοδιάσει, οπότε η πλαστοκινόνη βρίσκεται κυρίως στην ανηγμένη μορφή της. Η ανηγμένη πλαστοκινόνη ενεργοποιεί την κίνηση των πρωτεϊνών για να φωσφορυλιώσει τα εξειδικευμένα κατάλοιπα Thr των LHC, τα οποία, ως απόκριση, μεταναστεύουν στις μη στοιβαγμένες περιοχές της μεμβράνης του θυλακοειδούς, όπου συνδέονται με το PSI. Ένα μεγαλύτερο ποσοστό του προσπίπτοντος φωτός διοχετεύεται στη συνέχεια στο PSI.

Υπό χαμηλό φωτισμό (συνήθως σε θαμπό φως, το οποίο περιέχει ένα υψηλό ποσοστό κόκκινου φωτός μεγάλου μήκους κύματος), το PSI δέχεται ηλεκτρόνια πιο γρήγορα από όσο το PSII μπορεί να τα εφοδιάζει έτσι ώστε η πλαστοκινόνη να λαμβάνει κυρίως την οξειδωμένη της μορφή. Τα LHC είναι συνεπώς αποφωσφορυλιωμένα και μεταναστεύουν στις στοιβαγμένες περιοχές της μεμβράνης του θυλακοειδούς, όπου συνδέονται με το PSII. Ο χλωροπλάστης επομένως διατηρεί την ισορροπία μεταξύ των δύο φωτοσυστημάτων του με έναν φωτοενεργοποιημένο μηχανισμό ανάδρασης.



Η κυκλική ροή των ηλεκτρονίων πιθανότατα εξυπηρετεί την αύξηση της ποσότητας του ATP που παράγεται σε σχέση με αυτή του NADPH και έτσι επιτρέπει στο κύτταρο να προσαρμόζει τις σχετικές ποσότητες των δύο ουσιών που παράγονται σύμφωνα με τις ανάγκες του. Ωστόσο, ο μηχανισμός που επιμερίζει τα ηλεκτρόνια μεταξύ των κυκλικών και των μη κυκλικών οδών είναι άγνωστος. Η τελειοποίηση των φωτεινών αντιδράσεων εξαρτάται επίσης από τον διαχωρισμό του PSI και του PSII σε διακριτά τμήματα της μεμβράνης του θυλακοειδούς (Πλαίσιο 19-1).

Δ. Η Βαθμίδωση πρωτονίων καθοδηγεί τη σύνθεση του ATP με φωσφορυλίωση

Οι χλωροπλάστες δημιουργούν το ATP με τον ίδιο τρόπο όπως τα μιτοχόνδρια, δηλαδή συνδυάζοντας τη βαθμίδωση πρωτονίων με την ενζυμική σύνθεση του ATP (Ενότητα 18-3). Αυτή η φωτοεξαρτώμενη διαδικασία είναι επίσης γνωστή ως **φωσφορυλίωση (phosphorylation)**. Όπως η οξειδωτική φωσφορυλίωση, απαιτεί μια ανέπαφη μεμβράνη του θυλακοειδούς και μπορεί να αποσυνδεθεί από τη φωτοκαθοδηγούμενη μεταφορά ηλεκτρονίων με ενώσεις όπως η 2,4-δινιτροφαινόλη (Εικόνα 18-29).

Οι ηλεκτρονικές μικρογραφίες των επιφανειών του στρώματος της μεμβράνης του θυλακοειδούς και των εσωτερικών επιφανειών της βακτηριακής πλασματικής μεμβράνης αποκαλύπτουν δομές των οποίων η μορφή μοιάζει με γλειφιτζούρι (Εικόνα 19-24). Αυτές μοιάζουν πολύ με τις μονάδες F_1 της συνθάσης του ATP που μετατοπίζει πρωτόνια στα μιτοχόνδρια (Εικόνα 18-21). Στην πραγματικότητα, η συνθάση του ATP του χλωροπλάστη, επίσης γνωστή ως σύμπλοκο CF_1CF_0 (το C ως αρχικό του *chloroplast*) είναι εντυπωσιακά όμοια με το μιτοχονδριακό σύμπλοκο F_1F_0 . Για παράδειγμα:

1. Αμφότερες οι μονάδες F_0 και CF_0 είναι υδρόφοβες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που περιέχουν έναν διάυλο μετατόπισης πρωτονίων.
2. Αμφότερες οι μονάδες F_1 και CF_1 είναι υδρόφιλες περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες με σύσταση υπομονάδων $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$, κ των οποίων η β είναι αντιστρέψιμη ΑΤΡάση.
3. Αμφότερες οι συνθήκες του ΑΤΡ αναστέλλονται από την ολιγομυκίνη και το δικυκλοεξυλοκαρβοδιϊμίδιο (DCCD).

Σαφώς, η συνθήση του ΑΤΡ που μετατοπίζει τα πρωτόνια πρέπει να έχει εξελιχθεί πολύ νωρίς στην ιστορία της κυτταρικής ζωής. Ωστόσο, επισημαίνεται ότι, ενώ η συνθήση του ΑΤΡ του χλωροπλάστη μετατοπίζει πρωτόνια έξω από τον χώρο του θυλακοειδούς εντός του στρώματος (Εικόνα 19–11), η μιτοχονδριακή συνθήση του ΑΤΡ τα μεταφέρει από τον διαμεμβρανικό χώρο εντός του χώρου της μήτρας (Εικόνα 18–20). Αυτό συμβαίνει, επειδή το στρώμα είναι τοπολογικά ανάλογο προς τη μιτοχονδριακή μήτρα.

Η φωτοσύνθεση με μη κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων παράγει περίπου ένα ΑΤΡ ανά φωτόνιο που απορροφάται. Σε κορεσμένες εντάσεις φωτός, οι χλωροπλάστες δημιουργούν βαθμίδωσεις πρωτονίων ίσες περίπου με 3,5 μονάδες pH κατά μήκος των θυλακοειδών μεμβρανών ως αποτέλεσμα δύο διαδικασιών:

1. Η εξέλιξη ενός μορίου O_2 από δύο μόρια H_2O απελευθερώνει τέσσερα πρωτόνια εντός του αυλού του θυλακοειδούς.
2. Η μεταφορά των απελευθερωμένων τεσσάρων ηλεκτρονίων μέσω του συμπλόκου του κυτοχρώματος b_6f συμβαίνει με τη μετατόπιση οκτώ πρωτονίων από το στρώμα στον αυλό του θυλακοειδούς.

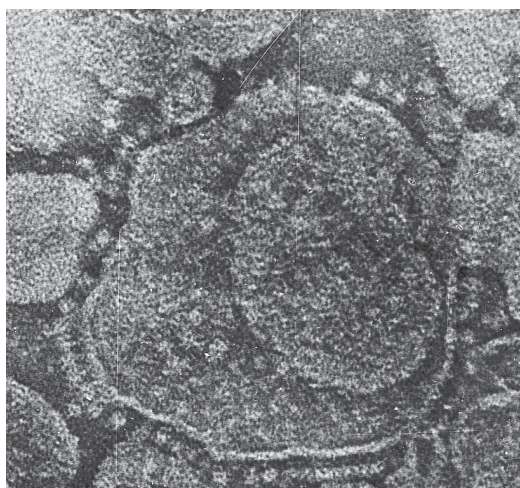
Συνολικά, περίπου 12 πρωτόνια εισέρχονται στον αυλό ανά μόριο O_2 που παράγεται με μη κυκλική μεταφορά πρωτονίων.

Η μεμβράνη του θυλακοειδούς, σε αντίθεση με την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, είναι διαπερατή σε ιόντα όπως το Mg^{2+} και το Cl^- . Η μετατόπιση πρωτονίων και ηλεκτρονίων κατά μήκος της μεμβράνης του θυλακοειδούς συνεπώς συνοδεύεται από τη διέλευση αυτών των ιόντων έτσι ώστε να διατηρείται ηλεκτρική ουδετερότητα (Mg^{2+} έξω και Cl^- μέσα). Αυτό σχεδόν εξαλείφει το μεμβρανικό δυναμικό. Η ηλεκτροχημική βαθμίδωση στους χλωροπλάστες είναι επομένως σχεδόν ολοκληρωτικά ένα αποτέλεσμα της βαθμίδωσης pH (συγκέντρωσης).

Η συνθήση του ΑΤΡ του χλωροπλάστη, σύμφωνα με τις περισσότερες εκτιμήσεις, παράγει ένα ΑΤΡ για κάθε τρία πρωτόνια που μεταφέρει από τον αυλό του θυλακοειδούς στο στρώμα. Η μη κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων στους χλωροπλάστες οδηγεί επομένως στην παραγωγή $\sim 12/3 = 4$ μορίων ΑΤΡ ανά μόριο O_2 που αναπτύσσεται (η κυκλική μεταφορά πρωτονίων δημιουργεί περισσότερο ΑΤΡ, επειδή περισσότερα πρωτόνια μεταφέρονται στον αυλό του θυλακοειδούς μέσω του κύκλου Q που υποβοηθείται από το κυτόχρωμα b_6f).

Η μη κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων, φυσικά, αποδίδει επίσης NADPH (2 NADPH για κάθε 4 ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται από 2 H_2O με το OEC). Κάθε NADPH έχει την ελεύθερη ενέργεια να παράγει 2,5 ΑΤΡ (Ενότητα 18–3Γ, αν και το NADPH δεν χρησιμοποιείται στην καθοδήγηση της σύνθεσης του ΑΤΡ), για ένα σύνολο 5 επιπλέον ισοδύναμων του ΑΤΡ ανά O_2 που παράγεται. Συνεπώς, συνολικά δημιουργούνται 9 ισοδύναμα του ΑΤΡ ανά O_2 που παράγεται.

Ευγενική προσφορά του Peter Hinkle, Cornell University



ΕΙΚΟΝΑ 19–24 Ηλεκτρονική μικρογραφία των θυλακοειδών. Τα «γλειφιτζούρια» CF_1 των συνθασών του ΑΤΡ τους προεκτείνονται από τις επιφάνειες του στρώματός τους.

? Συγκρίνετε αυτή την ηλεκτρονική μικρογραφία με την Εικόνα 18–21.

ΣΗΜΕΙΟ ΕΜΠΕΔΩΣΗΣ

- Πώς τα μόρια διαχέουν την απορροφημένη ενέργεια; Ποιος μηχανισμός είναι ο πιο σημαντικός για τη φωτοσύνθεση;
- Περιγράψτε τα γεγονότα που λαμβάνουν χώρα μετά την απορρόφηση ενός φωτονίου από το ειδικό ζεύγος του P680.
- Εξηγήστε γιατί η μεταφορά ηλεκτρονίων στα μωβ φωτοσυνθετικά βακτήρια ακολουθεί μια κυκλική πορεία.
- Περιγράψτε την επίδραση της φωτοοξειδωτικής στις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής που συνοψίζονται στο σχήμα Z.
- Ποια είναι η σημασία της αντίδρασης διάσπασης του νερού για τη φωτοσύνθεση;
- Τι επιτυγχάνει ο κύκλος Q στη φωτοσυνθετική μεταφορά ηλεκτρονίων στα φυτά και στα βακτήρια;
- Ποια πρωτεΐνη του χλωροπλάστη είναι το λειτουργικό ανάλογο του μιτοχονδριακού κυτοχρώματος c ;
- Ποιες είναι οι συνέπειες της κυκλικής και της μη κυκλικής μεταφοράς ηλεκτρονίων στο PSI;
- Συγκρίνετε και αντιπαραθέστε τη φωτοφωσφορυλίωση και την οξειδωτική φωσφορυλίωση.
- Εξηγήστε πώς η ενέργεια ενός φωτονίου μετατρέπεται στην ενέργεια ενός ΑΤΡ.
- Ποια είναι η σχέση μεταξύ του αριθμού των απορροφημένων φωτονίων και της παραγόμενης ποσότητας O_2 .

Απαιτούνται τουλάχιστον δύο φωτόνια για κάθε ηλεκτρόνιο που διασχίζει το σύστημα από το H_2O στο NADPH , δηλαδή οκτώ φωτόνια ανά O_2 που παράγεται. Αυτό επιβεβαιώνεται με πειραματικές μετρήσεις οι οποίες υποδεικνύουν ότι τα φυτά και τα φύκια απαιτούν από 8 έως 10 φωτόνια ορατού φωτός για την παραγωγή ενός μορίου O_2 . Έτσι, η συνολική απόδοση των φωτεινών αντιδράσεων είναι 9 ATP/8–10 φωτόνια ή κατά προσέγγιση ένα ATP ανά φωτόνιο που απορροφάται.

3. Οι σκοτεινές αντιδράσεις

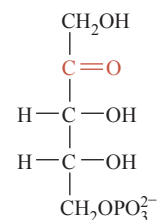
ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

- Ο κύκλος του Calvin καρβοξυλιώνει μια πεντόζη, μετατρέπει τα προϊόντα σε 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη και δημιουργεί εκ νέου την πεντόζη, χρησιμοποιώντας το ATP και το NADPH που παράγονται από τις φωτεινές αντιδράσεις.
- Τα προϊόντα του κύκλου του Calvin μετατρέπονται σε υδατάνθρακες (πολυμερή γλυκόζης).
- Τα ένζυμα του κύκλου του Calvin είναι πιο αντιδραστικά στο φως.
- Τα φυτά υφίστανται φωτοαναπνοή, η οποία καταναλώνει O_2 και παράγει CO_2 .

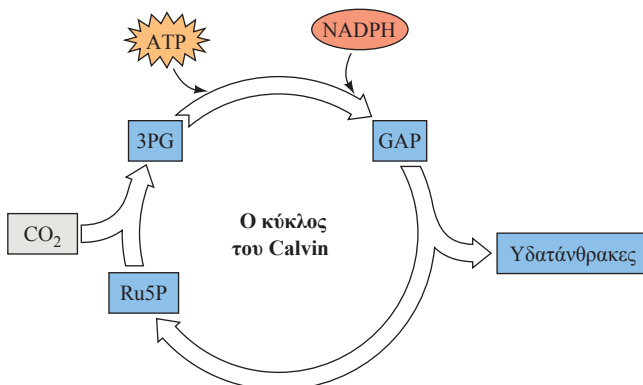
Στην προηγούμενη ενότητα, είδαμε πώς τα φυτά συλλέγουν τη φωτεινή ενέργεια για να παράγουν ATP και NADPH . Σε αυτή την ενότητα, θα συζητήσουμε πώς αυτά τα προϊόντα χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση υδατανθράκων και άλλων ουσιών από το CO_2 .

A. Ο κύκλος του Calvin δεσμεύει CO_2

Η μεταβολική οδός με την οποία τα φυτά ενσωματώνουν CO_2 στους υδατάνθρακες αποσαφηνίστηκε μεταξύ του 1946 και 1953 από τους Melvin Calvin, James Bassham και Andrew Benson. Το κατάφεραν εντοπίζοντας τη μεταβολική τύχη της ραδιενεργής σήμανσης του $^{14}\text{CO}_2$ σε καλλιέργειες κυττάρων που προέρχονταν από φύκια. Μερικά από τα πρώτα πειράματα του Calvin υπέδειξαν ότι τα φύκια που είχαν εκτεθεί στο $^{14}\text{CO}_2$ για ένα λεπτό ή και περισσότερο συνέθεταν ένα σύνθετο μείγμα από σημασμένους μεταβολίτες, συμπεριλαμβανόμενων των σακχάρων και των αμινοξέων. Ωστόσο, η ανάλυση των φυκιών εντός των πρώτων 5 s από την έκθεσή τους στο $^{14}\text{CO}_2$ απέδειξε ότι η πρώτη σταθερή ραδιενεργή ουσία που σχηματίζεται είναι το 3-φωσφογλυκερινικό (3-phosphoglycerate, 3PG), που αρχικά επισημάνθηκε μόνο στην καρβοξυλική ομάδα τους. Αυτό το αποτέλεσμα αμέσως υποδήλωσε ότι το 3PG σχηματίστηκε από την καρβοξυλίωση μιας ένωσης C_2 . Ωστόσο, κανένας τέτοιος πρόδρομος δεν είχε ανακαλυφθεί. Η πραγματική αντίδραση καρβοξυλίωσης εμπλέκει μια πεντόζη που προέρχεται από την 5-φωσφορική ριβουλόζη (ribulose-5-phosphate, Ru5P) (στα δεξιά). Το προκύπτον προϊόν C_6 χωρίζεται σε δύο ενώσεις C_3 , οι οποίες αμφότερες φαίνεται να είναι 3PG. Το ATP και το NADPH , τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων, απαιτούνται για τη μετατροπή του 3PG σε 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη (GAP), η οποία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση υδατανθράκων, καθώς επίσης και για τον ανασχηματισμό της Ru5P (Εικόνα 19–25). Ολόκληρη η οδός, η οποία περιλαμβάνει την καρβοξυλίωση της πεντόζης, τον σχηματισμό των προϊόντων των υδατανθράκων και την αναδημιουργία μιας πεντόζης, είναι γνωστή ως κύκλος του Calvin (Calvin cycle) ή αναγωγικός κύκλος των φωσφοπεντοζών (reductive pentose phosphate cycle).



5-Φωσφορική ριβουλόζη (Ru5P)



ΕΙΚΟΝΑ 19–25 Επισκόπηση των σκοτεινών αντιδράσεων. Τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων καταναλώνονται μετατρέποντας το CO_2 σε υδατάνθρακες με μια διαδικασία η οποία ονομάζεται κύκλος του Calvin.

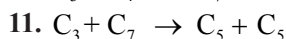
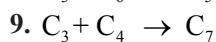
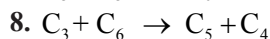
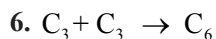
ΣΧΟΛΙΑ Μεταμόρφωση ενέργειας

Η ενέργεια δεν μπορεί ούτε να δημιουργηθεί ούτε να καταστραφεί, αλλά μπορεί να μεταμορφωθεί. Στη φωτοσύνθεση, η φωτεινή ενέργεια η οποία απορροφάται από τα φωτοσυστήματα μεταμορφώνεται στη χημική ενέργεια των ανηγμένων συμπαραγόντων. Ένα μέρος της ενέργειας χρησιμοποιείται για τη δημιουργία μιας βαθμίδωσης φωτονίων η οποία στη συνέχεια μεταμορφώνεται στη μηχανική ενέργεια της συνθάσης του ATP. Τελικά, η χημική ενέργεια υπό τη μορφή του ATP και του NADPH μεταμορφώνεται στη χημική ενέργεια των ανηγμένων ατόμων άνθρακα στους υδατάνθρακες.

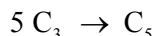
Κατά τη διάρκεια της έρευνας για το υπόστρωμα της καρβοξυλίωσης, ταυτοποιήθηκαν ορισμένα άλλα φωτοσυνθετικά ενδιάμεσα και αποσαφηνίστηκαν τα πρότυπα σήμανσής τους. Για παράδειγμα, η εξόξη 1,6-διφωσφορική φρουκτόζη (FBP) επισημαίνεται αρχικά μόνο στις θέσεις C3 και C4, αλλά στη συνέχεια επισημαίνεται σε μικρότερο βαθμό στα άλλα άτομα της. Η εξέταση της ροής του σημασμένου άνθρακα μέσω των διάφορων φωσφορικών τετροζών, πεντοζών, εξοζών και επτοζών οδήγησε σε ένα ορόσημο της μεταβολικής βιοχημείας, τη διατύπωση του κύκλου του Calvin, όπως απεικονίζεται στο διάγραμμα της **Εικόνας 19–26**. Η ύπαρξη πολλών από τις υποτιθέμενες αντιδράσεις του επιβεβαιώθηκε τελικά από *in vitro* μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν καθαρισμένα ένζυμα.

Ο κύκλος του Calvin δημιουργεί GAP από το CO₂ μέσω διαδικασίας δύο σταδίων. Ο κύκλος του Calvin μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει δύο στάδια:

- Στάδιο 1.** Η φάση παραγωγής (η πάνω γραμμή της Εικόνας 19–26), στην οποία τρία μόρια της Ru5P αντιδρούν με τρία μόρια CO₂ αποδίδοντας έξι μόρια 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεϋδης (GAP) με τη δαπάνη εννέα μορίων ATP και έξι μορίων NADPH. Η κυκλική φύση ολόκληρης της οδού καθιστά αυτή τη διαδικασία ισοδύναμη με τη σύνθεση μιας GAP από τρία μόρια CO₂. Σε αυτό το σημείο, η GAP μπορεί να εξαερωθεί από τον κύκλο για χρήση στη βιοσύνθεση.
- Στάδιο 2.** Η φάση ανάκαμψης (οι κάτω γραμμές της Εικόνας 19–26), στην οποία τα άτομα άνθρακα των πέντε GAPs που απομένουν, ανακατατάσσονται σε μια αξιοθαύμαστη σειρά αντιδράσεων, παρόμοιων με αυτές της οδού των φωσφορικών πεντοζών (Ενότητα 15–6) για να ανασχηματιστούν οι τρεις Ru5Ps με τις οποίες αρχίζει ο κύκλος. Αυτό το στάδιο μπορεί να αποσυντεθεί εννοιολογικά σε τέσσερα είδη αντιδράσεων (με τους αριθμούς να αναφέρονται στις αντίστοιχες αντιδράσεις στην Εικόνα 19–26):



Η συνολική στοιχειομετρία για τη διαδικασία είναι επομένως

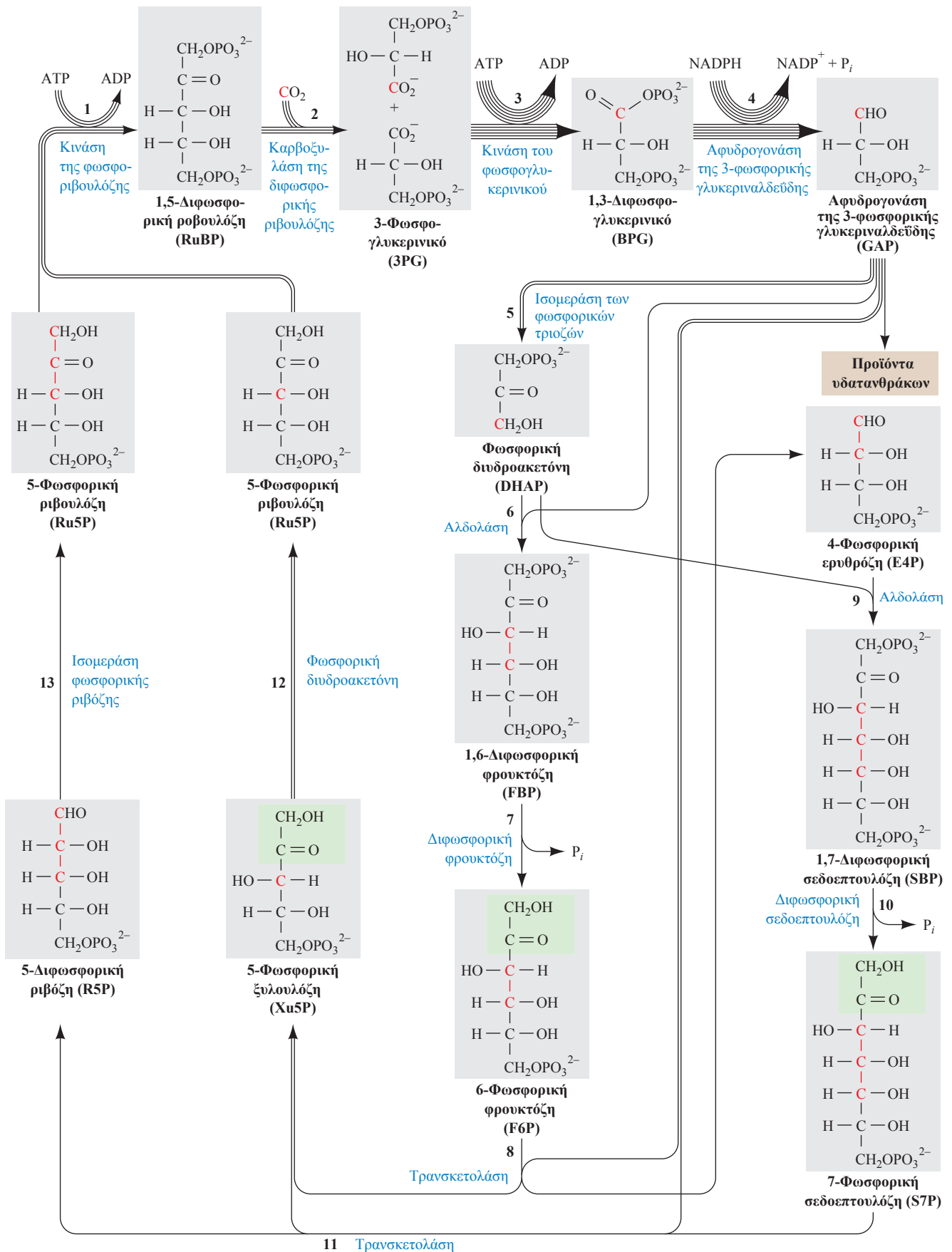


Σημειώνεται ότι αυτό το στάδιο του κύκλου του Calvin λαμβάνει χώρα χωρίς περαιτέρω συμβολή ελεύθερης ενέργειας (ATP) ή αναγωγικών ισοδυνάμων (NADPH).

Η πρώτη αντίδραση του κύκλου του Calvin είναι η φωσφορυλίωση της Ru5P από την **κινάση της φωσφοριβουλόζης (phosphoribulokinase)** προς σχηματισμό της **1,5-διφωσφορικής ριβουλόζης (ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)**. Μετά την καρβοξυλίωση της RuBP (Αντίδραση 2, όπως θα συζητηθεί παρακάτω), η προκύπτουσα 3PG μετατρέπεται πρώτα σε 1,3-διφωσφο-γλυκερινικό (BPG) και μετά σε GAP. Η τελευταία ακολουθία είναι αντίστροφη των δύο διαδοχικών γλυκολυτικών αντιδράσεων (Ενότητα 15–2H και 15–2Z) με τη διαφορά του ότι η αντίδραση του κύκλου του Calvin χρησιμοποιεί NADPH και όχι NADH.

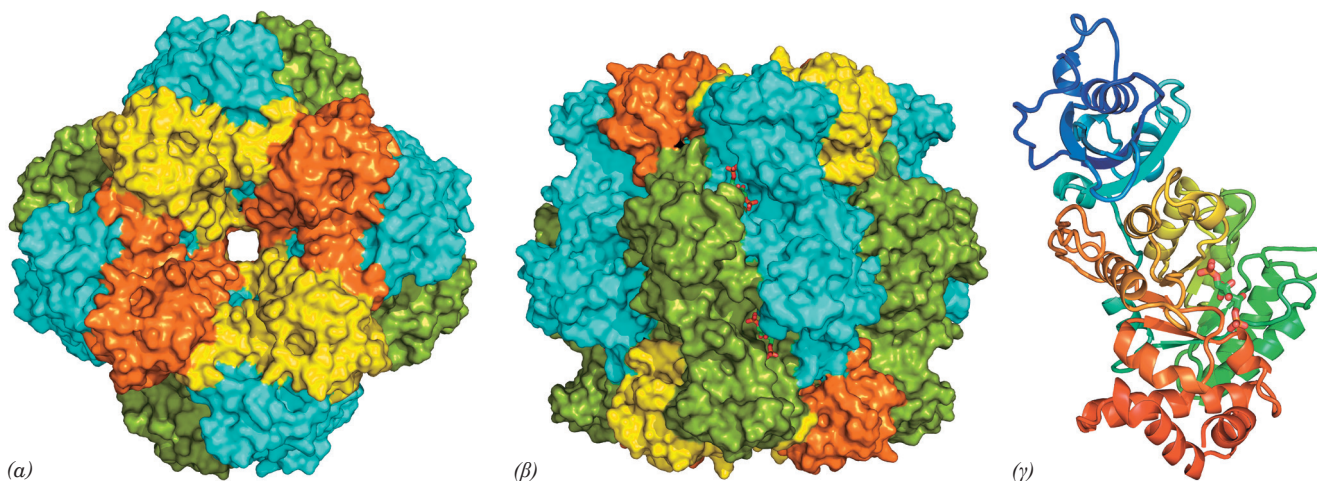
Το δεύτερο στάδιο του κύκλου του Calvin αρχίζει με την αντιστροφή μιας οικείας γλυκολυτικής αντίδρασης, τον ισομερισμό της GAP σε φωσφορική διυδροξυακετόνη (DHAP) από την ισομεράση των φωσφορικών τριοζών (Ενότητα 15–2E). Μετά από αυτό, η DHAP κατευθύνεται κατά μήκος δύο ανάλογων οδών: των Αντιδράσεων 6 έως 8 ή των Αντιδράσεων 9 έως 11. Οι Αντιδράσεις 6 και 9 είναι αλδολικές συμπυκνώσεις που καταλύονται από την αλδολάση στις οποίες η DHAP συνδέεται σε μια αλδεϋδη. Η Αντίδραση 6 είναι επίσης η αντίστροφη μιας γλυκολυτικής αντίδρασης (Ενότητα 15–2Δ). Οι Αντιδράσεις 7 και 10 είναι αντιδράσεις υδρόλυσης του φωσφορικού που καταλύονται, αντίστοιχα, από τη διφωσφορική φρουκτόζη (FBPάση, Ενότητα 15–4B) και τη **διφωσφορική σεδοεπτοουλόζη ή SBPάση (sedoheptulose biphosphatase, SBPase)**. Οι υπόλοιπες αντιδράσεις του κύκλου του Calvin καταλύονται από ένζυμα που συμμετέχουν επίσης στην οδό των φωσφορικών πεντοζών. Στις Αντιδράσεις 8 και 11, που αμφότερες καταλύονται από την τρανσκετολάση, μια κετομονάδα C₂ (σκιασμένη με πράσινο χρώμα στην Εικόνα 19–26) μεταφέρεται από μια κετόζη στην GAP προς σχηματισμό της 5-φωσφορικής ξυλουλόζης (Xu5P), αφήνοντας τις αλδόζες 4-φωσφορική ερυθρόζη (E4P) στην Αντίδραση 8 και 5-φωσφορική ριβόζη (R5P) στην Αντίδραση 11. Η E4P που παράγεται από την Αντίδραση 8 τροφοδοτεί την Αντίδραση 9. Η Xu5P που παράγεται από τις Αντιδράσεις 8 και 11 μετατρέπεται σε Ru5P από την **επιμεράση των φωσφοπεντοζών (phosphopentose epimerase)** στην Αντίδραση 12. Η R5P από την Αντίδραση 11 μετατρέπεται επίσης σε Ru5P από την **ισομεράση της φωσφορικής ριβόζης (ribose phosphate isomerase)** στην Αντίδραση 13, συμπληρώνοντας επομένως μια σειρά του κύκλου Calvin. Μόνο 3 από τα 11 ένζυμα του κύκλου του Calvin —η κινάση της φωσφοριβουλόζης, το ένζυμο καρβοξυλίωσης καρβοξυλάση της διφωσφορικής ριβουλόζης και η SBPάση— δεν έχουν ισοδύναμα στους ζωικούς ιστούς.

Η καρβοξυλάση RuBP καταλύει τη δέσμευση του CO₂. Το ένζυμο το οποίο καταλύει τη δέσμευση ή καθήλωση του CO₂, η καρβοξυλάση της διφωσφορικής ριβουλόζης (**καρβοξυλάση RuBP**), αποτελεί αναμφισβήτητο το πλέον σημαντικό ένζυμο του κόσμου, δεδομένου ότι σχεδόν όλη η ζωή στη γη τελικά εξαρτάται από τη δράση του.



ΕΙΚΟΝΑ 19–26 Ο κύκλος του Calvin. Ο αριθμός των γραμμών σε ένα βέλος υποδεικνύει τον αριθμό των μορίων που αντιδρούν σε αυτό το βήμα για μια μεμονωμένη σειρά του κύκλου που μετατρέπει τρία μόρια CO₂ σε ένα μόριο GAP. Για λόγους σαφήνειας, τα σάκχαρα απεικονίζονται όλα στις γραμμικές μορφές τους, αν και οι εξόζες και οι επτόζες υπάρχουν κυρίως στις κυκλικές μορφές τους. Τα ¹⁴C-σημασμένα πρότυπα που παράγονται σε μια σειρά του κύκλου μέσω της χρήσης του ¹⁴CO₂ υποδεικνύονται με κόκκινο χρώμα. Σημειώνεται ότι δύο από τα προϊόντα Ru5P είναι σημασμένα μόνο στον C3, ενώ η τρίτη Ru5P είναι εξίσου σημασμένη στους C1, C2 και C3.

? Γράψτε την καθαρή εξίσωση για τη διαδικασία που φαίνεται εδώ.



ΕΙΚΟΝΑ 19–27 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής της καρβοξυλάσης RuBP που προέρχεται από τον καπνό και βρίσκεται σε σύμπλοκο με τη μεταβατική κατάσταση του αναστολέα 1,5–διφωσφορική–2–καρβοξυαραβινιτόλη. Η πρωτεΐνη L_8S_8 έχει συμμετρία D_4 (η συμμετρία ενός τετραγωνικού πρίσματος; Εικόνα 6–34β). (α) Διάγραμμα επιφάνειας που προβάλλεται κατά μήκος του τετραπλού άξονα της πρωτεΐνης και (β) κατά μήκος του διπλού άξονά της. Τα Μέρη α και β συσχετίζονται με μια περιστροφή 90° γύρω από τον οριζόντιο άξονα. Οι επιμήκεις μονάδες L μπορεί να θεωρηθεί ότι συνδέονται ως δύο αλληλοσυνδεόμενα τετραμερή, με αυτό που εκτείνεται από την κορυφή του Μέρους β να έχει κυανό χρώμα και αυτό που εκτείνεται από τη βάση να έχει πράσινο χρώμα. Οι υπομονάδες S, οι οποίες σχηματίζουν τετράγωνα τετραμερή που καλύπτουν την κορυφή και τη βάση του συμπλόκου, είναι εναλλάξ κίτρινες και πορτοκαλί. Η 1,5–διφωσφορική–2–καρβοξυαραβινιτόλη απεικονίζεται με μορφή ράβδου με το C να έχει πράσινο χρώμα, το O κόκκινο και το P πορτοκαλί. (γ) Διάγραμμα κορδέλας μιας υπομονάδας L που είναι προσανατολισμένη όπως είναι η κεντρική πράσινη υπομονάδα στο Μέρος β και χρωματισμένη με τη σειρά των χρωμάτων του ουράνιου τόξου από το N–τελικό της (μπλε χρώμα) έως το C–τελικό της (κόκκινο χρώμα). Η 1,5–διφωσφορική–2–καρβοξυαραβινιτόλη είναι προσδεσμένη στη θέση πρόσδεσης του υποστρώματος στο στόμιο του α/β–βαρελιού του ενζύμου. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων Χ από τον David Eisenberg, UCLA.PDBid 1RLC.]

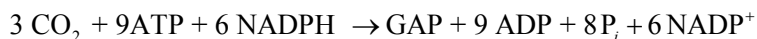
Αυτή η πρωτεΐνη, πιθανότατα ως συνέπεια της χαμηλής καταλυτικής απόδοσής της ($k_{\text{cat}} \approx 3 \text{ s}^{-1}$), αντιπροσωπεύει μέχρι το 50% των πρωτεϊνών των φύλλων και είναι επομένως η πιο άφθονη στη βιόσφαιρα. Η καρβοξυλάση RuBP των ανώτερων φυτών και οι περισσότεροι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί αποτελούνται από οκτώ μεγάλες (large, L) υπομονάδες (477 κατάλοιπα στα φύλλα καπνού) που κωδικοποιούνται από το DNA του χλωροπλάστη, και οκτώ μικρές (small, S) υπομονάδες (123 κατάλοιπα) που εξειδικεύονται από ένα πυρηνικό γονίδιο (η καρβοξυλάση RuBP ορισμένων φωτοσυνθετικών βακτηρίων είναι ένα διμερές L_2 του οποίου η υπομονάδα L έχει κατά 28% ταυτότητα αλληλουχίας με αυτή του ενζύμου L_8S_8 και είναι δομικά όμοια με αυτήν). Οι μελέτες ακτίνων Χ από τον Carl-Ivar Brändén και τον David Eisenberg απέδειξαν ότι το ένζυμο L_8S_8 έχει τη συμμετρία ενός τετράγωνου πρίσματος (Εικόνα 19–27α,β). Η υπομονάδα L είναι κατασκευασμένη από μια περιοχή β–ελάσματος και μια περιοχή α/β–βαρελιού που περιέχει την καταλυτική θέση του ενζύμου (Εικόνα 19–27γ). Η λειτουργία της υπομονάδας S είναι άγνωστη. Οι προσπάθειες που καταβλήθηκαν για να αποδειχτεί ότι έχει έναν ρυθμιστικό ρόλο, σε αναλογία με άλλα ένζυμα, απέβησαν άκαρπες.

Ο αποδεκτός μηχανισμός της καρβοξυλάσης RuBP, η οποία διατυπώθηκε σε μεγάλο βαθμό από τον Calvin, υποδεικνύεται στην Εικόνα 19–28. Η απόσπαση του πρωτονίου C3 της RuBP, το βήμα της αντίδρασης που καθορίζει τον ρυθμό, δημιουργεί ένα ενοδιολικό που επιτίθεται πυρηνοφίλικά στο CO_2 . Το προκύπτον β–κετοξύ δέχεται ταχύτητα επίθεση στη θέση του C3 από το H_2O για να αποδώσει ένα προϊόν προσθήκης που διαχωρίζεται, με μια αντίδραση όμοια με τη διάσπαση της αλδόζης, αποδίδοντας τα δύο προϊόντα μόρια 3PG. Η κινητήρια δύναμη της συνολικής αντίδρασης, η οποία είναι εξαιρετικά εξεργονική ($\Delta G^\circ = -35,1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), παρέχεται από τη διάσπαση ενός ενδιάμεσου κετοξέος αποδίδοντας μια σταθεροποιημένη με συντονισμό πρόσθετη καρβοξυλική ομάδα.

Η δραστηριότητα της καρβοξυλάσης RuBP απαιτεί Mg^{2+} , το οποίο πιθανότατα σταθεροποιεί τα αναπτυσσόμενα αρνητικά φορτία κατά τη διάρκεια της κατάλυσης. Το Mg^{2+} είναι, εν μέρει, προσδεσμένο στο ένζυμο με μια καταλυτικά σημαντική καρβαμδική ομάδα ($-\text{NH}-\text{COO}^-$) που δημιουργείται από την αντίδραση ενός μη υποστρωματικού CO_2 με την ε–αμινομάδα της Lys 201. Αυτή η ουσιώδης αντίδραση καταλύεται *in vivo* από το ένζυμο «ενεργοποιητάση» της RuBP καρβοξυλάσης σε μια καθοδηγούμενη από το ATP διαδικασία.

B. Τα προϊόντα του κύκλου Calvin μετατρέπονται σε άμυλο, σουκρόζη και κυτταρίνη

Η συνολική στοιχειομετρία του κύκλου του Calvin είναι



Η GAP, το πρωταρχικό προϊόν της φωτοσύνθεσης, χρησιμοποιείται σε ποικιλία βιοσυνθετικών οδών, τόσο στο εξωτερικό όσο και στο εσωτερικό του χλωροπλάστη. Για παράδειγμα, μπορεί να μετατραπεί σε 6–φωσφορική φρουκτόζη με την περαιτέρω δράση των ενζύμων του κύκλου του Calvin και μετέπειτα σε 1–φωσφορική γλυκόζη (G1P) από την ισομεράση της φωσφογλυκόζης και τη φωσφογλυκομουτάση (Ενότητα 16–1Γ). Η G1P είναι ο πρόδρομος των υδατανθράκων ανώτερης τάξης που χαρακτηρίζουν τα φυτά.

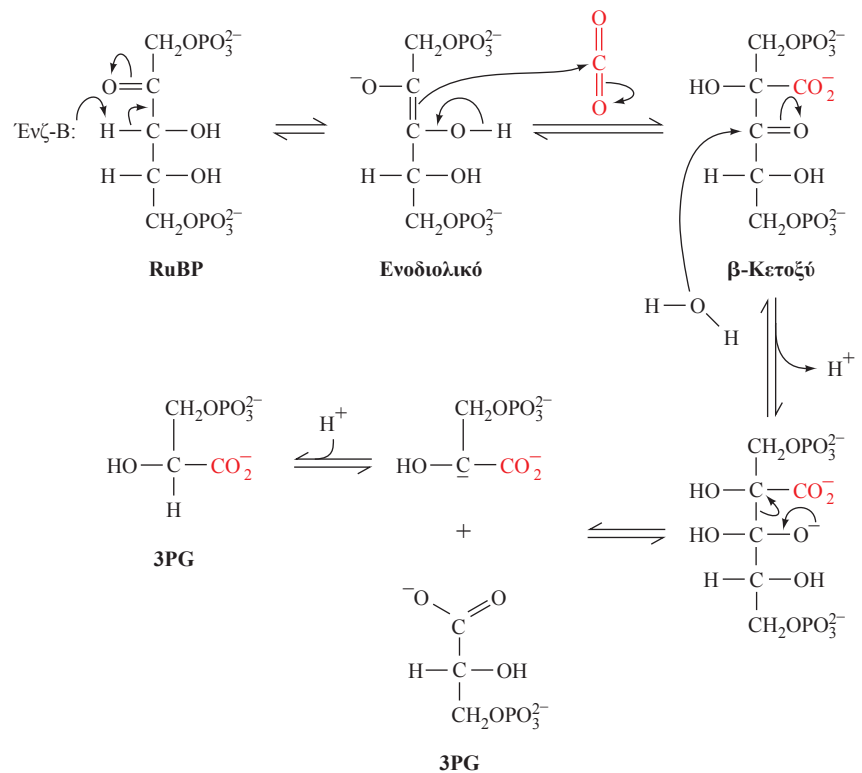
Ο πολυσακχαρίτης α-αμυλόζη, ένα κύριο συστατικό του αμύλου (Ενότητα 8-2Γ), συντίθεται στο στρώμα του χλωροπλάστη ως μια προσωρινή αποθήκη για τις μονάδες της γλυκόζης. Συντίθεται επίσης ως μόριο μακροπρόθεσμης αποθήκευσης οπουδήποτε αλλού στο φυτό, συμπεριλαμβανομένων των φύλλων, των σπόρων και των ριζών. Η G1P ενεργοποιείται πρώτα από την αντίδρασή της με το ATP σχηματίζοντας την ADP-γλυκόζη, όπως καταλύεται από την **πυροφωσφορυλάση ADP-γλυκόζης (ADP-glucose pyrophosphorylase)**. Η **συνθάση του αμύλου (starch synthase)** κατόπιν μεταφέρει το κατάλοιπο γλυκόζης στο μη αναγωγικό άκρο ενός μορίου α-αμυλόζης, σχηματίζοντας έναν νέο γλυκοσιτικό δεσμό (**Εικόνα 19-29**). Η συνολική αντίδραση καθοδηγείται από την εξεργονική υδρόλυση του PP_i που απελευθερώνεται κατά τον σχηματισμό της ADP-γλυκόζης. Μια παρόμοια αντίδραση αλληλουχίας εμφανίζεται στη σύνθεση του γλυκογόνου, η οποία χρησιμοποιεί την UDP-γλυκόζη (Ενότητα 16-2).

Η σουκρόζη, ένας δισακχαρίτης της γλυκόζης και της φρουκτόζης (Ενότητα 8-2Α), είναι το κυριότερο σάκχαρο μεταφοράς για την παράδοση υδατανθράκων στα μη φωτοσυνθετικά κύτταρα και ως εκ τούτου είναι το κύριο φωτοσυνθετικό προϊόν των πράσινων φύλλων. Αφού η σουκρόζη συντίθεται στο κυτοσόλιο, είτε η 3-φωσφορική γλυκεριναλδεϋδη είτε η φωσφορική διυδροξυακετόνη μεταφέρεται έξω από τον χλωροπλάστη με έναν αντιμεταφορέα που ανταλλάσσει φωσφορικό για μια φωσφορική τριόζη. Δύο τριόζες συνδυάζονται για να σχηματίσουν την 6-φωσφορική φρουκτόζη (F6P) και ακολούθως την 1-φωσφορική γλυκόζη (G1P), η οποία στη συνέχεια ενεργοποιείται από την UTP προς σχηματισμό της UDP-γλυκόζης. Στη συνέχεια, η 6-φωσφορική σουκρόζη παράγεται στην αντίδραση που καταλύεται από τη **συνθάση σουκρόζης-φωσφορικού (sucrose-phosphate synthase)**. Τελικά, η 6-φωσφορική σουκρόζη υδrolύεται από τη **φωσφατάση σουκρόζης-φωσφορικού (sucrose-phosphate phosphatase)** αποδίδοντας τη σουκρόζη (στα δεξιά), η οποία στη συνέχεια εξάγεται σε άλλους φυτικούς ιστούς.

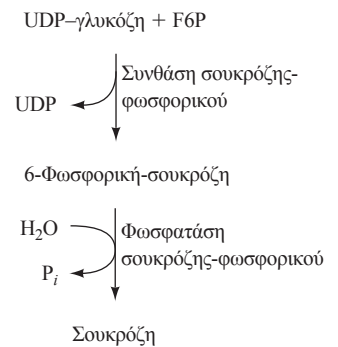
Η κυτταρίνη, η οποία αποτελείται από μακριές αλυσίδες β(1→4)-συνδεδεμένων μονάδων γλυκόζης και είναι ο κυριότερος πολυσακχαρίτης των φυτών, συντίθεται επίσης από την UDP-γλυκόζη. Τα τοιχώματα των φυτικών κυττάρων αποτελούνται από σχεδόν κρυσταλλικά καλώδια που περιέχουν ~36 αλυσίδες κυτταρίνης, όλες ενσωματωμένες σε μια άμορφη μήτρα άλλων πολυσακχαριτών και λιγνίνης (Ενότητα 8-2Β). Σε αντίθεση με το άμυλο στα φυτά ή το γλυκογόνο στα θηλαστικά, η κυτταρίνη συντίθεται από σύμπλοκα ενζύμων πολλαπλών υπομονάδων στην πλασματική μεμβράνη του φυτού και εξωθείται στον εξωκυττάριο χώρο.

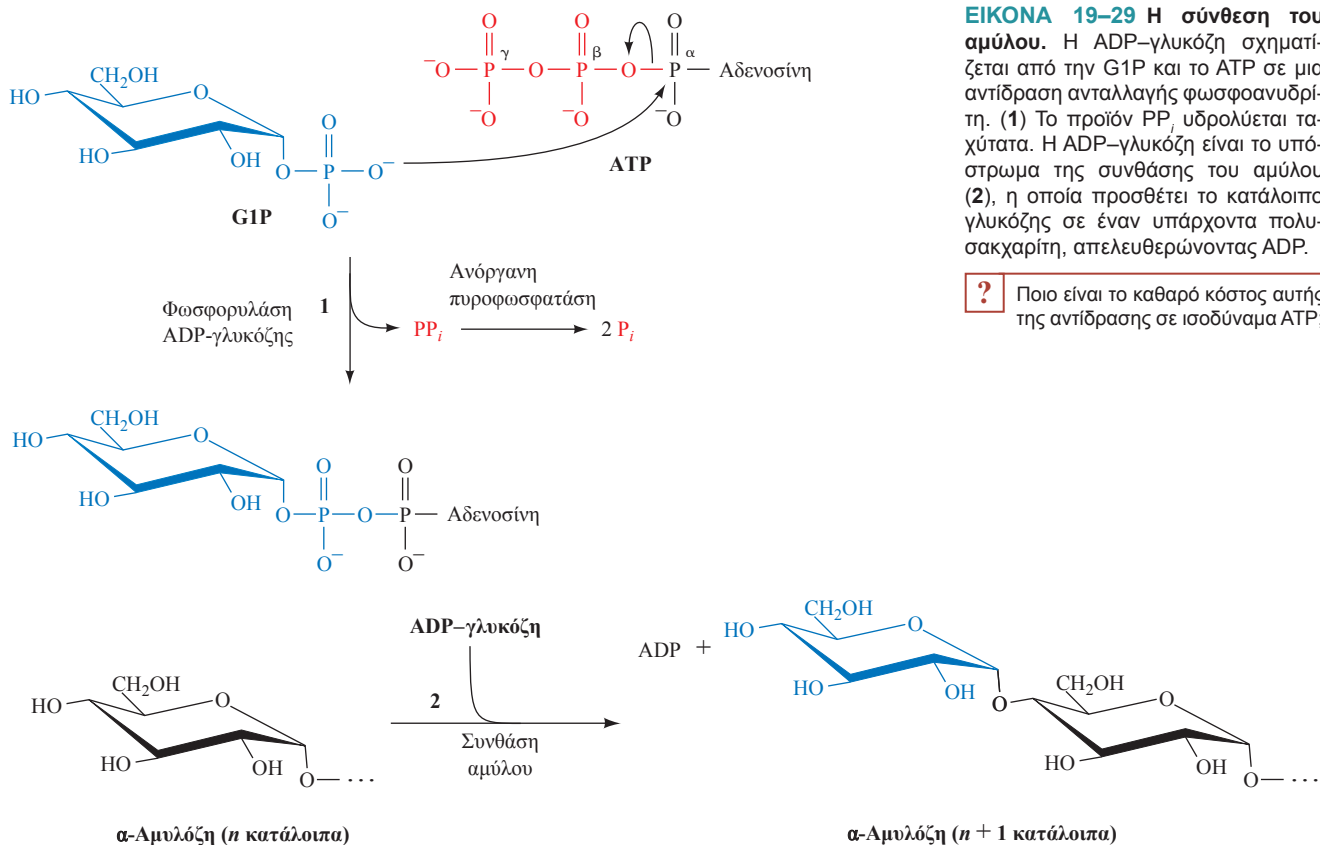
Γ. Ο κύκλος του Calvin ελέγχεται έμμεσα από το φως

Κατά τη διάρκεια της μέρας, τα φυτά ικανοποιούν τις ανάγκες τους μέσω των φωτεινών και των σκοτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης. Τη νύχτα, όπως άλλοι οργανισμοί, πρέπει να χρησιμοποιήσουν τα ενεργειακά τους αποθέματα για τη δημιουργία του ATP και του NADPH μέσω της γλυκόλυσης, της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και της οδού των φωσφορικών πεντοζών. Δεδομένου ότι το στρώμα περιέχει τα ένζυμα της γλυκόλυσης και της οδού των φωσφορικών πεντοζών, καθώς επίσης και αυτά του κύκλου Calvin, τα φυτά πρέπει να διαθέτουν έναν φωτοευαίσθητο μηχανισμό έλεγχου για να εμποδίσουν τον κύκλο του Calvin να καταναλώσει αυτό το καταβολικά παραγόμενο ATP και το NADPH σε έναν δαπανηρό ανώφελο κύκλο.



ΕΙΚΟΝΑ 19-28 Ο μηχανισμός της αντίδρασης της καρβοξυλάσης RuBP. Η αντίδραση εξελίσσεται μέσω ενός ενδιάμεσου ενοδιόλης, το οποίο πυρηνοφιλικά επιτίθεται στο CO₂ προς σχηματισμό του β-κετοξέος. Το ενδιάμεσο αυτό αντιδρά με το νερό αποδίδοντας δύο μόρια 3PG.

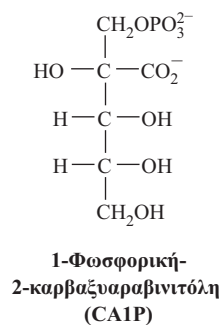




Όπως έχουμε δει, ο έλεγχος της ροής στη μεταβολική οδό λαμβάνει χώρα στα ενζυμικά βήματα που είναι αρκετά μακριά από την ισορροπία (μεγάλη αρνητική τιμή της ΔG). Η εξέταση του **Πίνακα 19–1** υποδεικνύει ότι οι τρεις καλύτεροι υποψήφιοι για τον έλεγχο της ροής στον κύκλο του Calvin είναι οι αντιδράσεις που καταλύονται από την καρβοξυλάση RuBP, η FBPάση και η SBPάση (Αντιδράσεις 2, 7 και 10 της Εικόνας 19–26). Στην πραγματικότητα, οι καταλυτικές αποδόσεις αυτών των τριών ενζύμων ποικίλλουν όλες *in vivo* με το επίπεδο φωτισμού.

Η δραστηριότητα της καρβοξυλάσης RuBP ανταποκρίνεται σε τρεις φωτοεξαρτώμενους παράγοντες:

1. Το pH. Στον φωτισμό, το pH του στρώματος αυξάνεται από ~7,0 σε ~8,0, καθώς τα πρωτόνια αντλούνται από το στρώμα στον αυλό του θυλακοειδούς. Η καρβοξυλάση RuBP έχει μια απότομη βέλτιστη τιμή pH κοντά στο 8,0.
2. Τη $[Mg^{2+}]$. Υπενθυμίζεται ότι η φωτοαναγόμενη εισροή πρωτονίων στον αυλό του θυλακοειδούς συνοδεύεται από την εκροή του Mg^{2+} στο στρώμα (Ενότητα 19–2Δ). Αυτό το Mg^{2+} διεγείρει την καρβοξυλάση RuBP.
3. Το ανάλογο μεταβατικής κατάστασης **1–φωσφορική–2–καρβοξυαραβινιτόλη (2-carboxyarabinitol-1-phosphate, CA1P)**. Πολλά φυτά συνθέτουν αυτή την ένωση, η οποία αναστέλλει την καρβοξυλάση RuBP, μόνο στο σκοτάδι. Η «ενεργοποιητάση» της RuBP καρβοξυλάσης διευκολύνει την απελευθέρωση της ισχυρά προσδεσμένης CA1P από την καρβοξυλάση RuBP, καθώς επίσης και την κατάλυση της καρβαμυλίωσής της (Ενότητα 19–3Α).



Η FBPάση και η SBPάση ενεργοποιούνται επίσης από το αυξημένο pH και $[Mg^{2+}]$, καθώς επίσης και από το NADPH. Η επίδραση αυτών των παραγόντων συμπληρώνεται από ένα δεύτερο σύστημα ρύθμισης που ανταποκρίνεται στο δυναμικό οξειδοαναγωγής του στρώματος. Η **θειορεδοξίνη (thioredoxin)**, μια πρωτεΐνη που περιέχει ~105 κατάλοιπα και υπάρχει σε πολλούς τύπους κυττάρων, περιέχει μια αναστρέψιμη αναγωγική ομάδα δισουλφιδίου. Η ανηγμένη θειορεδοξίνη ενεργοποιεί τόσο την FBPάση όσο και την SBPάση με αντίδραση ανταλλαγής δισουλφιδίου (**Εικόνα 19–30**). Το επίπεδο οξειδοαναγωγής της θειορεδοξίνης διατηρείται από ένα δεύτερο ένζυμο που περιέχει δισουλφίδιο, την **αναγωγάση φερρεδοξίνης–θειορεδοξίνης (ferredoxin-thioredoxin reductase)**, η οποία ανταποκρίνεται άμεσα στην κατάσταση οξειδοαναγωγής της διαλυτής φερρεδοξίνης στο στρώμα. Αυτό με τη σειρά του διαφέρει ανάλογα με το επίπεδο του φωτισμού. Το σύστημα θειορεδοξίνης επίσης απενεργοποιεί τη φωσφοφρουκτοκινάση (PFK), το κύριο ένζυμο δημιουργίας ροής της γλυκόλυσης (Ενότητα 15–4Α). Έτσι, στα φυτά, το φως διεγείρει τον κύκλο του Calvin τη στιγμή που απενεργοποιεί τη γλυκόλυση, ενώ το σκοτάδι έχει την αντίθετη επίδραση (δηλαδή οι λεγόμενες σκοτεινές αντιδράσεις δεν πραγματοποιούνται στο σκοτάδι).

ΠΙΝΑΚΑΣ 19–1 Πρότυπες και φυσιολογικές αλλαγές της ελεύθερης ενέργειας για τις αντιδράσεις του κύκλου του Calvin.

Βήμα ^a	Ένζυμο	$\Delta G^{\circ\prime}$ (kJ·mol ⁻¹)	ΔG (kJ·mol ⁻¹)
1	Φωσφοριβουλοκινάση	-21,8	-15,9
2	Καρβοξυλάση διφωσφορικής ριβουλόζης	-35,1	-41,0
3+4	Κινάση φωσφο-γλυκερινικού + αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεϋδης	+18,0	-6,7
5	Ισομεράση των φωσφορικών τριοζών	-7,5	-0,8
6	Αλδολάση	-21,8	-1,7
7	Διφωσφορική φρουκτόζη	-14,2	-27,2
8	Τρανσκετολάση	+6,3	-3,8
9	Αλδολάση	-23,4	-0,8
10	Διφωσφορική σεδοεπτουλόζη	-14,2	-29,7
11	Τρανσκετολάση	+0,4	-5,9
12	Επιμεράση φωσφοπεντοζών	+0,8	-0,4
13	Ισομεράση της φωσφορικής ριβόζης	+2,1	-0,4

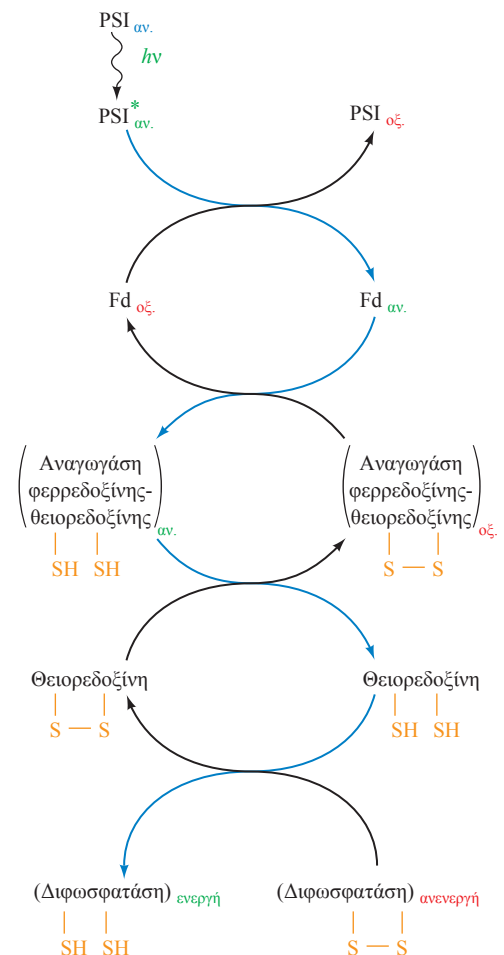
^a Αναφορά στην Εικόνα 19-26.

Πηγή: Bassham, J.A. and, B.B., in Govindjee (Ed.), Photosynthesis, Vol.II, p.155, Academic Press (1982).

Δ. Η φωτοαναπνοή ανταγωνίζεται τη φωτοσύνθεση

Είναι γνωστό από τη δεκαετία του 1960 ότι τα φωτιζόμενα φυτά καταναλώνουν O_2 και αναπτύσσουν CO_2 σε μια οδό ξεχωριστή από την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Στην πραγματικότητα, σε χαμηλά επίπεδα CO_2 και σε υψηλά επίπεδα O_2 , αυτή η διαδικασία **φωτοαναπνοής (photorespiration)** μπορεί να ξεπεράσει τη φωτοσυνθετική δέσμευση του CO_2 . Η βάση της φωτοαναπνοής ήταν μη αναμενόμενη: το O_2 ανταγωνίζεται με τη δέσμευση του CO_2 ως ένα υπόστρωμα για την καρβοξυλάση RuBP —γι' αυτό η καρβοξυλάση RuBP ονομάζεται επίσης **καρβοξυλάση-οξυγενάση της RuBP (RuBP carboxylase-oxygenase, RuBisCO)**. Στην αντίδραση της οξυγενάσης, το O_2 αντιδρά με το άλλο υπόστρωμα του ενζύμου, RuBP, προς σχηματισμό της 3PG και του **2-φωσφογλυκολικού (2-phosphoglycolate)** (Εικόνα 19–31). Το 2-φωσφογλυκολικό υδρολύεται σε **γλυκολικό (glycolate)** από τη **φωσφατάση του φωσφογλυκολικού (phosphoglycolate phosphatase)** και, όπως περιγράφηκε παρακάτω, οξειδώνεται μερικώς αποδίδοντας CO_2 με μια σειρά ενζυμικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στο **υπεροξειδίσωμα (peroxisome)** και στο μιτοχόνδριο. Έτσι, η φωτοαναπνοή είναι φαινομενικά σπάταλη διαδικασία που αναιρεί ορισμένες από τις εργασίες της φωτοσύνθεσης. Σε αυτή την ενότητα, θα ασχοληθούμε με τη βιοχημική βάση της φωτοαναπνοής και τον τρόπο με τον οποίο ορισμένα φυτά καταφέρνουν να αποφύγουν τις δυσμενείς επιδράσεις της.

Η φωτοαναπνοή διαχέει το ATP και το NADPH. Η οδός της φωτοαναπνοής σκιαγραφείται στην Εικόνα 19–32. Το γλυκολικό εξάγεται από τον χλωροπλάστη στο υπεροξειδίσωμα (που επίσης ονομάζεται γλυοξύσωμα, Ενότητα 17–5Γ), όπου οξειδώνεται από την **οξειδάση του γλυκολικού (glycolate oxidase)** σε γλυοξυλικό και H_2O_2 . Το H_2O_2 , ένας δυνητικά επιβλαβής παράγοντας οξείδωσης, μετατρέπεται σε H_2O και O_2 από το ένζυμο καταλάση που περιέχει αίμη (Ενότητα 18–4B). Το γλυοξυλικό μπορεί να μετατραπεί σε γλυκίνη σε μια αντίδραση τρανσαμίνωσης, όπως θα συζητηθεί στην Ενότητα 21–2Α, και εξάγεται στο μιτοχόνδριο. Εκεί, δύο μόρια γλυκίνης μετατρέπονται σε ένα μόριο σερίνης και ένα μόριο CO_2 . Αυτή είναι η **προέλευση του CO_2 που δημιουργείται με φωτοαναπνοή**. Η σερίνη μεταφέρεται πίσω στο υπεροξειδίσωμα, όπου μια αντίδραση τρανσαμίνωσης τη μετατρέπει σε **υδροξυπυροσταφυλικό (hydroxypyruvate)**.



ΕΙΚΟΝΑ 19–30 Ο φωτοδιεγειρόμενος μηχανισμός της FBPάσης και της SBPάσης. Το φωτοδιεγειρόμενο PSI ανάγει τη διαλυτή φερρεδοξίνη (Fd), η οποία ανάγει την αναγωγή του ζεύγους φερρεδοξίνης-θειορεδοξίνης, η οποία, με τη σειρά της, ανάγει τον δισουλφιδικό δεσμό της θειορεδοξίνης. Η ανηγμένη θειορεδοξίνη αντιδρά με τις ανενεργές διφωσφατάσες με την ανταλλαγή του δισουλφιδίου, ενεργοποιώντας επομένως τα ένζυμα που ελέγχουν τη ροή του κύκλου του Calvin.

Αυτή η ουσία ανάγεται σε **γλυκερινικό (glycerate)** και φωσφορυλιώνεται στο κυτοσόλιο σε 3PG, η οποία εισέρχεται εκ νέου στον χλωροπλάστη και μετατρέπεται εκ νέου σε RuBP στον κύκλο του Calvin. Το καθαρό (απόλυτο) αποτέλεσμα αυτού του σύνθετου κύκλου φωτοαναπνοής είναι ότι ορισμένη ποσότητα από το ATP και το NADPH που δημιουργείται από τις φωτεινές αντιδράσεις διαχέεται χωρίς όφελος και το προηγούμενως δεσμευμένο CO₂ χάνεται.

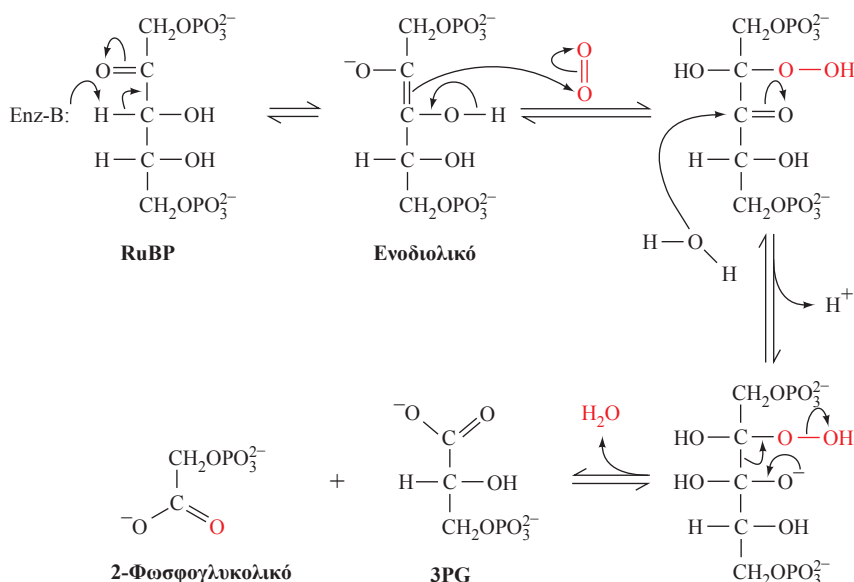
Παρόλο που η φωτοαναπνοή δεν έχει καμία γνωστή μεταβολική λειτουργία, οι καρβοξυλάσες της RuBP, από μια τεράστια ποικιλία φωτοσυνθετικών οργανισμών που έχουν εξεταστεί μέχρι στιγμής, παρουσιάζουν όλες δραστηριότητα οξυγενάσης, που εκτιμάται ότι οδηγεί σε 30% απώλεια της φωτοσυνθετικής απόδοσης. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια των αιώνων, οι δυνάμεις της εξέλιξης πρέπει να έχουν βελτιστοποιήσει τη λειτουργία αυτού του σημαντικού ενζύμου. Η φωτοαναπνοή μπορεί να παρέχει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα προστατεύοντας τη φωτοσυνθετική συσκευή από τη φωτοοξειδωτική καταστροφή, όταν διατίθεται ανεπαρκές CO₂ για να μπορέσει διαφορετικά να διαχύσει την ενέργεια του απορροφώμενου φωτός. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από την παρατήρηση ότι όταν οι χλωροπλάστες ή τα κύτταρα των φύλλων φωτίζονται έντονα κατά την απουσία CO₂ αλλά και O₂, η φωτοσυνθετική τους ικανότητα χάνεται ταχύτατα και μη αναστρέψιμα. Επιπρόσθετα, διαφορετικοί τύποι φωτοσυνθετικών οργανισμών έχουν αναπτύξει διάφορες στρατηγικές για την ελαχιστοποίηση της φωτοαναπνοής συγκεντρώνοντας CO₂ κοντά στη rubisco.

Η φωτοαναπνοή μπορεί να παρέχει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα προστατεύοντας τη φωτοσυνθετική συσκευή από τη φωτοοξειδωτική καταστροφή, όταν διατίθεται ανεπαρκές CO₂ για να μπορέσει διαφορετικά να διαχύσει την ενέργεια του απορροφώμενου φωτός. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από την παρατήρηση ότι όταν οι χλωροπλάστες ή τα κύτταρα των φύλλων φωτίζονται έντονα κατά την απουσία CO₂ αλλά και O₂, η φωτοσυνθετική τους ικανότητα χάνεται ταχύτατα και μη αναστρέψιμα. Επιπρόσθετα, διαφορετικοί τύποι φωτοσυνθετικών οργανισμών έχουν αναπτύξει διάφορες στρατηγικές για την ελαχιστοποίηση της φωτοαναπνοής συγκεντρώνοντας CO₂ κοντά στη rubisco.

Τα φυτά C₄ συγκεντρώνουν CO₂. Σε μια ζεστή, φωτεινή ημέρα, όταν η φωτοσύνθεση έχει εξαντλήσει το επίπεδο του CO₂ στον χλωροπλάστη και έχει αυξήσει αυτό του O₂, ο ρυθμός της φωτοαναπνοής πλησιάζει τον ρυθμό της φωτοσύνθεσης. Αυτό το φαινόμενο είναι ένας πολύ σημαντικός περιορισμός στην ανάπτυξη των φυτών και είναι επομένως ένα σημαντικό αγροτικό πρόβλημα που αντιμετωπίζεται μέσα από τις μελέτες της γενετικής μηχανικής —καμία από τις οποίες δεν ήταν μέχρι τώρα επιτυχής. Ωστόσο, ορισμένα είδη φυτών, όπως το *ζαχαροκάλαμο*, το *καλαμπόκι* και κυρίως τα *φύκια*, έχουν έναν μεταβολικό κύκλο που συγκεντρώνει CO₂ στα φωτοσυνθετικά κύτταρά τους, εμποδίζοντας κατά αυτόν τον τρόπο σχεδόν εντελώς τη φωτοαναπνοή. Τα φύλλα των φυτών που έχουν αυτόν τον λεγόμενο **κύκλο C₄** έχουν μια χαρακτηριστική ανατομία. Οι λεπτεπίλεπτες φλέβες τους περιβάλλονται ομόκεντρα από μια μεμονωμένη στιβάδα των λεγόμενων **κυττάρων δεσμικού κολεού (bundle-sheath cells)**, τα οποία με τη σειρά τους περιβάλλονται από μια στιβάδα **κυττάρων μεσοφύλλου (mesophyll cells)**.

Ο κύκλος C₄ (Εικόνα 19–33) αποσαφηνίστηκε στη δεκαετία του 1960 από τον Marshall Hatch και τον Rodger Slack. Αρχίζει όταν τα κύτταρα μεσοφύλλου, τα οποία στερούνται της καρβοξυλάσης RuBP, προσλαμβάνουν το ατμοσφαιρικό CO₂ συμπυκνώνοντάς το ως HCO₃⁻ με το φωσφοενολπυροσταφυλικό (PEP) για να αποδώσουν το οξαλοξικό. Το οξαλοξικό ανάγεται από το NADPH σε μηλικό, το οποίο εξάγεται στα κύτταρα δεσμικού κολεού (το όνομα C₄ αναφέρεται σε αυτά τα οξέα τεσσάρων ατόμων άνθρακα). Εκεί, το μηλικό αποκαρβοξυλιώνεται οξειδωτικά από το NADP σχηματίζοντας το CO₂, το πυροσταφυλικό και το NADPH. Το CO₂, το οποίο έχει συγκεντρωθεί από αυτή τη διαδικασία, εισέρχεται στον κύκλο του Calvin. Το πυροσταφυλικό επιστρέφει στα κύτταρα του μεσοφύλλου, όπου φωσφορυλιώνεται δημιουργώντας εκ νέου το PEP. Το ένζυμο που υποβοηθάει αυτή την αντίδραση, η **δικινάση πυροσταφυλικού–φωσφορικού (pyruvate–phosphate dikinase)**, έχει την ασυνήθιστη δράση να φωσφορυλιώνει ταυτόχρονα το πυροσταφυλικό και το P_i με τις φωσφορυλικές ομάδες β και γ του ATP, αντίστοιχα. Η οδός C₄ επομένως συγκεντρώνει CO₂ στα κύτταρα δεσμικού κολεού δαπανώντας 2 ισοδύναμα ATP. Συνεπώς, η φωτοσύνθεση στα φυτά C₄ καταναλώνει ένα σύνολο 5 ATP ανά CO₂ που δεσμεύεται έναντι των 3 ATP που απαιτούνται από τον ίδιο τον κύκλο του Calvin.

Τα **φυτά C₄** εμφανίζονται κυρίως σε τροπικές περιοχές, επειδή αναπτύσσονται γρηγορότερα σε ζεστές και ηλιόλουστες συνθήκες σε σχέση με άλλα, τα λεγόμενα **φυτά C₃** (που ονομάζονται έτσι, επειδή αρχικά δεσμεύουν το CO₂ υπό τη μορφή οξέων τριών ατόμων άνθρακα). Σε ψυχρότερα κλίματα, όπου η φωτοαναπνοή έχει μικρότερη βαρύτητα, τα φυτά C₃ είναι σε πλεονεκτική θέση, διότι απαιτούν λιγότερη ενέργεια για τη δέσμευση του CO₂.



ΕΙΚΟΝΑ 19–31 Πιθανός μηχανισμός της αντίδρασης της οξυγενάσης που καταλύεται από το ζεύγος καρβοξυλάσης–οξυγενάσης. Παρατηρήστε την ομοιότητα αυτού του μηχανισμού με αυτόν της αντίδρασης της καρβοξυλάσης που καταλύεται από το ίδιο ένζυμο (Εικόνα 19–28).

Τα φυτά CAM αποθηκεύουν CO_2 μέσω μιας παραλλαγής του κύκλου C_4 . Μια παραλλαγή του κύκλου C_4 που διαχωρίζει την πρόσληψη του CO_2 και τον κύκλο του Calvin στον χρόνο παρά στον χώρο εμφανίζεται σε πολλά παχύφυτα που ζουν στην έρημο. Εάν αυτά τα φυτά άνοιγαν τα στόματά τους (πόροι των φύλλων) την ημέρα για να προσλάβουν CO_2 , όπως κάνουν τα περισσότερα φυτά, θα έχαναν μη αποδεκτές ποσότητες νερού από την εξάτμιση. Για να ελαχιστοποιηθεί αυτή η απώλεια, αυτά τα παχύφυτα απορροφούν CO_2 μόνο τη νύχτα και χρησιμοποιούν τις αντιδράσεις της οδού C_4 (Εικόνα 19–33) για να το αποθηκεύσουν ως μηλικό. Αυτή η διαδικασία, γνωστή ως **μεταβολισμός οξέων κατά Κρασσουλίδες (crassulacean acid metabolism, CAM)**, ονομάστηκε έτσι επειδή ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στα φυτά της οικογένειας των Κρασσουλιδών. Η μεγάλη ποσότητα PEP που είναι απαραίτητη για την αποθήκευση της ημερήσιας παροχής CO_2 λαμβάνεται από τη διάσπαση του αμύλου μέσω της γλυκόλυσης. Κατά τη διάρκεια της ημέρας, το μηλικό διασπάται σε CO_2 , το οποίο εισέρχεται στον κύκλο του Calvin, και πυροσταφυλικό, το οποίο χρησιμοποιείται για την ανασύνθεση του αμύλου. Τα φυτά CAM είναι επομένως σε θέση να φέρουν εις πέρας τη φωτοσύνθεση με την ελάχιστη απώλεια νερού.

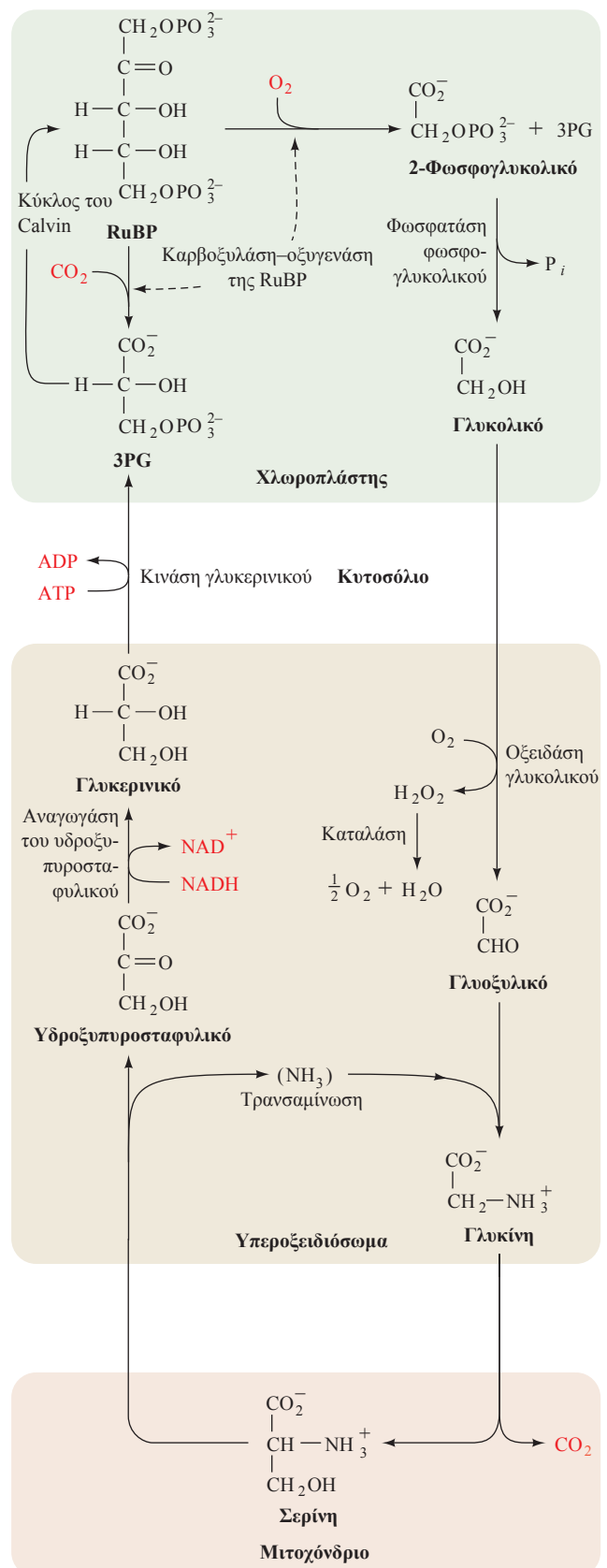
ΣΗΜΕΙΟ ΕΜΠΕΔΩΣΗΣ

- Εξηγήστε τη σχέση μεταξύ των φωτεινών και των σκοτεινών αντιδράσεων.
- Συνοψίστε τα δύο στάδια του κύκλου του Calvin.
- Πόσοι διαφορετικοί τύποι αντιδράσεων (π.χ. φωσφορλίωση, ισομερισμός) υπάρχουν στον κύκλο του Calvin;
- Περιγράψτε τη χημεία της αντίδρασης της καρβοξυλάσης RuBP.
- Περιγράψτε πώς η GAP που παράγεται από τον κύκλο του Calvin μετατρέπεται σε σουκρόζη, άμυλο και κυτταρίνη.
- Πώς το pH, το Mg^{2+} και η φερρεδοξίνη συνδέουν τις φωτεινές αντιδράσεις με τον έλεγχο του κύκλου του Calvin;
- Συγκρίνετε τους μηχανισμούς της καρβοξυλίωσης και της οξυγόνωσης της RuBP.
- Ποιο είναι το προφανές πλεονέκτημα που έχει η φωτοαναπνοή;
- Πώς τα φυτά ελαχιστοποιούν τη φωτοαναπνοή;

Περίληψη

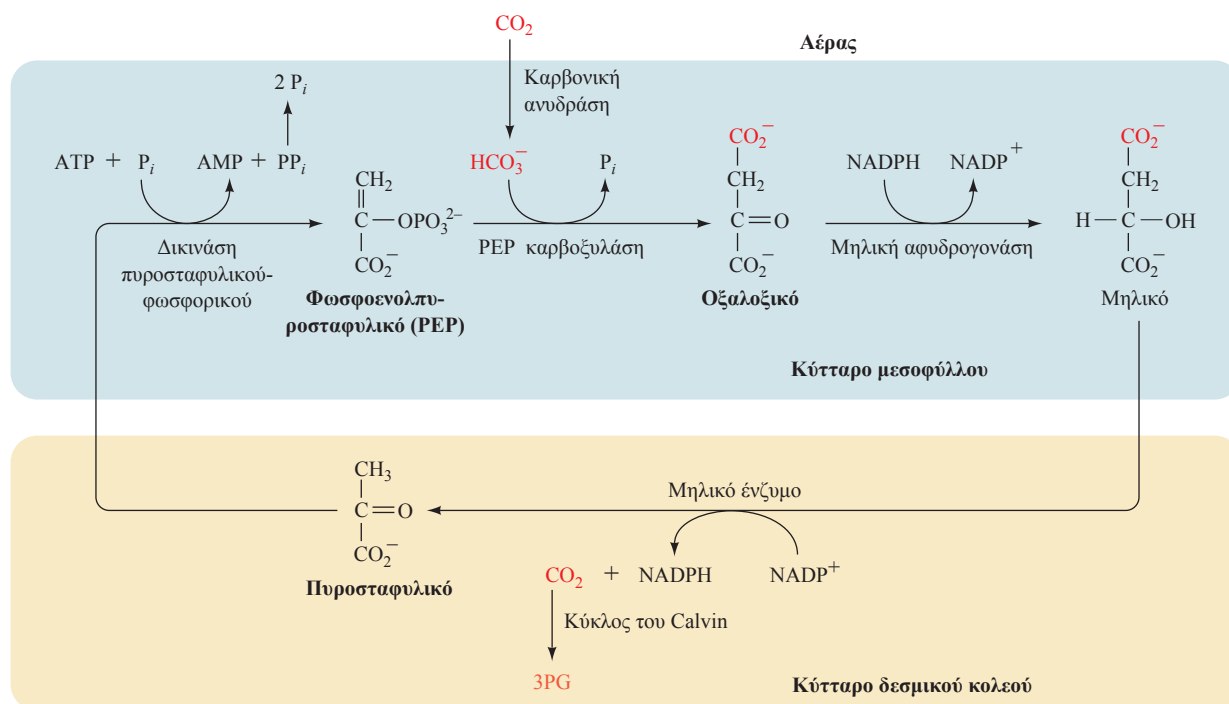
1. Χλωροπλάστες

- Η φωτοσύνθεση είναι η διαδικασία διά της οποίας η φωτεινή ενέργεια καθοδηγεί την αναγωγή του CO_2 προς απόδοση υδατανθράκων. Στα φυτά και στα κυανοβακτήρια, η φωτοσύνθεση οξειδώνει το νερό σε O_2 .
- Στα φυτά, η φωτοσυνθετική μηχανή αποτελείται από πρωτεϊνικά σύμπλοκα που είναι ενσωματωμένα στη μεμβράνη του θυλακοειδούς και από ένζυμα που είναι διαλυμένα στο στρώμα των χλωροπλάστων.
- Η χλωροφύλλη και άλλες χρωστικές που απορροφούν φως είναι οργανωμένες σε φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα που διοχετεύουν την ενέργεια του φωτός στα κέντρα της φωτοσυνθετικής αντίδρασης (RC).



ΕΙΚΟΝΑ 19–32 Φωτοαναπνοή. Αυτή η οδός μεταβολίζει το φωσφογλυκολικό που παράγεται από την καρβοξυλάση RuBP, η οποία καταλύει την οξείδωση της RuBP. Οι αντιδράσεις συμβαίνουν, όπως υποδεικνύεται, στον χλωροπλάστη, στο υπεροξειδίσωμα, στο μιτοχόνδριο και στο κυτοσόλιο. Σημειώνεται ότι απαιτούνται δύο γλυκόνες για τον σχηματισμό σερίνης + CO_2 .

? Γράψτε μια χημική εξίσωση για τη φωτοαναπνοή.



ΕΙΚΟΝΑ 19–33 Η οδός C₄. Το CO₂ συγκεντρώνεται στα κύτταρα μεσοφύλλου και μεταφέρεται στα κύτταρα δεσμικού κολεού για είσοδο στον κύκλο του Calvin.

2. Οι φωτεινές αντιδράσεις

- Το κέντρο της φωτοσυνθετικής αντίδρασης των μωβ βακτηρίων (PbRC) υφίσταται φωτοοξείδωση, όταν απορροφά ένα φωτόνιο. Το διεγερμένο ηλεκτρόνιο διέρχεται από μια σειρά φορέων ηλεκτρονίων, πριν να ανάγει την ουβικινόνη. Η ανηγμένη ουβικινόνη οξειδώνεται εκ νέου από το κυτόχρωμα *bc₁*, το οποίο στη διαδικασία μετατοπίζει τέσσερα πρωτόνια από το κυτοσόλιο στον περιπλασματικό χώρο μέσω του κύκλου Q. Το ηλεκτρόνιο έπειτα επιστρέφει στο PbRC μέσω μιας αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγώντας σε μια μη καθαρή αντίδραση οξειδοαναγωγής.
- Στα φυτά και στα κυανοβακτήρια, τα φωτοσυστήματα I και II (PSI και PSII) λειτουργούν σε ηλεκτρικές σειρές σε μια διάταξη που είναι γνωστή ως σχήμα Z. Η οξείδωση του νερού από κέντρο παραγωγής του οξυγόνου (OEC) που περιέχει Mn καθοδηγείται από τη φωτοοξείδωση του PSII.
- Τα ηλεκτρόνια που απελευθερώνονται από τη φωτοοξείδωση του PSII μεταφέρονται, μέσω της πλαστοκινίνης, στο σύμπλοκο του κυτοχρώματος *b₆f*, το οποίο υποβοηθά έναν κύκλο Q που μετατοπίζει πρωτόνια, ενώ διοχετεύει τα ηλεκτρόνια στην πλαστοκυανίνη.
- Η φωτοοξείδωση του PSI καθοδηγεί τα ηλεκτρόνια που λαμβάνονται από την πλαστοκυανίνη στη φερρεδοξίνη και μετά στο NADP⁺ προς παραγωγή του NADPH. Ωστόσο, στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων, τα ηλεκτρόνια επιστρέφουν στο κυτόχρωμα *b₆f* παρακάμπτοντας έτσι την ανάγκη για φωτοοξείδωση του PSII.
- Τα κέντρα αντίδρασης του PbRC, του PSII και του PSI έχουν παρόμοιες δομές και μηχανισμούς και επομένως φαίνεται να έχουν προκύψει από έναν κοινό πρόγονο.
- Στη φωτοφωσφορλίωση, τα πρωτόνια που απελευθερώνονται από την οξείδωση του H₂O και η μετατόπιση πρωτονίων εντός του αυλού του θυλακοειδούς δημιουργούν μια διαμεμβρανική βαθμίδωση πρωτονίων που αξιοποιείται από τη συνθάση του ATP του χλωροπλάστη για την καθοδήγηση της φωσφορλίωσης του ADP. Μια παρόμοια διαδικασία εμφανίζεται στα μωβ φωτοσυνθετικά βακτήρια.

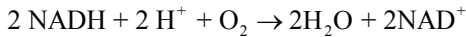
3. Οι σκοτεινές αντιδράσεις

- Οι σκοτεινές αντιδράσεις χρησιμοποιούν το ATP και το NADPH που παράγονται στις φωτεινές αντιδράσεις για την τροφοδότηση της σύνθεσης υδατανθράκων από το CO₂. Στην πρώτη φάση του κύκλου του Calvin, το CO₂ αντιδρά με την 1,5-διφωσφορική ριβουλόζη (RuBP) για να αποδώσει τελικά 3-φωσφορική γλυκεριναλδεϋδη (GAP). Οι υπόλοιπες αντιδράσεις του κύκλου αναγεννούν τον δέκτη RuBP του CO₂.
- Η καρβοξυλάση RuBP, το ένζυμο-κλειδί των σκοτεινών αντιδράσεων, ρυθμίζεται από το pH, την [Mg²⁺] και την ανασταλτική ένωση 1-φωσφορική 2-καρβοξυαραβιτιτόλη (CAIP). Οι δύο διφωσφατάσες του κύκλου του Calvin ρυθμίζονται από την κατάσταση οξειδοαναγωγής του χλωροπλάστη μέσω αντιδράσεων ανταλλαγής δισουλφιδίου που υποβοηθούνται εν μέρει από τη θειορεδοξίνη.
- Η φωτοαναπνοή, στην οποία τα φυτά καταναλώνουν O₂ και αναπτύσσουν CO₂, χρησιμοποιεί το ATP και το NADPH που παράγονται από τις φωτεινές αντιδράσεις. Τα φυτά C₄ ελαχιστοποιούν τη δραστηριότητα της καρβοξυλάσης RuBP (RuBisCO) συγκεντρώνοντας CO₂ στα φωτοσυνθετικά τους κύτταρα. Τα φυτά CAM χρησιμοποιούν έναν σχετικό μηχανισμό για τη διατήρηση του νερού.

Προβλήματα

ΑΣΚΗΣΕΙΣ

1. Η καθαρή αντίδραση για την οξειδωτική φωσφορυλίωση μπορεί να γραφτεί ως



Γράψτε μια ανάλογη αντίδραση για τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης.

2. Τα πράσινα θειικά βακτήρια χρησιμοποιούν H_2S ως δότη ηλεκτρονίων για τη φωτοσύνθεση. Γράψτε μια εξίσωση που περιγράφει τη φωτοσύνθεση σε αυτούς τους οργανισμούς.

3. Η «κόκκινη παλίρροια» αναφέρεται στον τεράστιο πολλαπλασιασμό ορισμένων ειδών φυκών που κάνει το θαλασσινό νερό να αποκτήσει ένα εμφανώς κόκκινο χρώμα. Περιγράψτε τα φασματικά χαρακτηριστικά των φωτοσυνθετικών χρωστικών που κυριαρχούν στα φύκια.

4. Εξηγήστε γιατί οι χλωροφύλλες των φωτοσυλλεκτικών συμπλόκων πρέπει να απορροφούν φως μικρότερου μήκους κύματος από το φως που θα διέγειρε απευθείας το ειδικό ζεύγος του PSI και του PSII.

5. Υπολογίστε την ενέργεια ενός γραμμομορίου φωτονίων κόκκινου φωτός ($\lambda = 700 \text{ nm}$).

6. Πόσα γραμμομόρια ATP θα μπορούσαν θεωρητικά να συντεθούν σε πρότυπες συνθήκες χρησιμοποιώντας την ενέργεια των φωτονίων στο Πρόβλημα 5;

7. Τα τρία σύμπλοκα μετατόπισης ηλεκτρονίων της μεμβράνης του θυλακοειδούς μπορούν να ονομαστούν οξειδοαναγωγή πλαστοκυανίνης–φερρεδοξίνης, οξειδοαναγωγή πλαστοκινόνης–πλαστοκυανίνης και οξειδοαναγωγή νερού–πλαστοκινόνης. Ποιες είναι οι κοινές ονομασίες αυτών των ενζύμων και με ποια σειρά δρουν;

8. Το H_2^{18}O προστίθεται σε ένα εναιώρημα χλωροπλαστών ικανό να φωτοσυνθέτει. Πού εμφανίζεται η σήμανση, όταν το εναιώρημα εκτίθεται στο ηλιακό φως;

9. Περιγράψτε τις λειτουργικές ομοιότητες μεταξύ του φωτοσυνθετικού κέντρου αντίδρασης των μωβ βακτηρίων και του PSI.

10. Υπολογίστε τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας για τη μεταφορά δύο ηλεκτρονίων από τη δεξαμενή της κινόνης στο κυτόχρωμα c_2 στη φωτοσυνθετική μεταφορά ηλεκτρονίων των μωβ βακτηρίων. Υποθέστε ότι το δυναμικό αναγωγής του κυτοχρώματος c_2 είναι παρόμοιο με αυτό των κυτοχρωμάτων τύπου c .

11. Εκτιμήστε τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας όταν το P960 υφίσταται φωτοοξείδωση.

12. Υπολογίστε τη $\Delta\mathcal{G}^\circ$ και τη ΔG° των φωτεινών αντιδράσεων στα φυτά, δηλαδή την οξείδωση τεσσάρων ηλεκτρονίων του H_2O από το NADP^+ .

13. Αν και η καθαρή εξίσωση της φωτοσύνθεσης υποδεικνύει ότι η διαδικασία μπορεί να μετρηθεί σε όρους είτε παραγόμενου O_2 είτε δεσμευόμενου CO_2 , στην πράξη, αυτές οι μετρήσεις δεν είναι απαραίτητα ισοδύναμες. Εξηγήστε.

14. Γιατί είναι πιθανό για τους χλωροπλάστες να απορροφούν πολύ περισσότερα από 8–10 φωτόνια ανά μόριο O_2 που αναπτύσσεται;

15. Προβλέψτε την επίδραση της προσθήκης μυξοθειαζόλης, ενός αναστολέα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μιτοχονδριακό Σύμπλοκο III, σε ένα εναιώρημα χλωροπλαστών που εκτίθεται στο φως. Θα επηρεαζόταν η παραγωγή του ATP ή του NADPH;

16. Γιατί η καταστροφή ενός γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την αποκορεσμάση των λιπαρών οξέων του χλωροπλάστη (ένα ένζυμο που εμπλέκεται στη σύνθεση λιπαρών οξέων που περιέχουν τρεις διπλούς δεσμούς) αυξάνει τον ρυθμό της φωτοσύνθεσης στους 40°C , μια θερμοκρασία στην οποία η φωτοσύνθεση κανονικά θα έπρεπε να επιβαρυνθεί;

17. Υπολογίστε τη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας για τη μετακίνηση ενός πρωτονίου από τον αυλό του θυλακοειδούς στο στρώμα όταν $\Delta\text{pH} = 3,4$, $\Delta\psi = 0$ και $T = 25^\circ\text{C}$.

18. Η συνθάση του ATP του χλωροπλάστη περιέχει 14 c -υπομονάδες. Πόσα πρωτόνια πρέπει να μετατοπιστούν στον αυλό του θυλακοειδούς για την υποστήριξη της σύνθεσης ενός ATP;

19. Προβλέψτε την επίδραση ενός αποσυζεύκτη όπως η δινιτροφαινόλη (Εικόνα 18–29) στην παραγωγή του ATP σε έναν χλωροπλάστη.

20. Προβλέψτε την επίδραση ενός αποσυζεύκτη όπως η δινιτροφαινόλη (Εικόνα 18–29) στην παραγωγή του NADPH σε έναν χλωροπλάστη.

21. Οι χλωροπλάστες του *Arabidopsis thaliana* περιέχουν έναν διάλυτο K^+ στα πετάλια του στρώματος του θυλακοειδούς. Προτείνετε μια λειτουργία για αυτόν τον διάλυτο.

22. Η δραστηριότητα του διαλύτου K^+ του *A. thaliana* που περιγράφεται στο Πρόβλημα 21 θα αυξανόταν ή θα μειωνόταν ως απόκριση σε μια αύξηση pH στον αυλό του θυλακοειδούς;

23. Οι χλωροπλάστες φωτίζονται, μέχρις ότου τα επίπεδα των ενδιάμεσων του κύκλου του Calvin να φτάσουν σε μια πρότυπη κατάσταση. Το φως στη συνέχεια απενεργοποιείται. Πώς μεταβάλλεται το επίπεδο της RuBP μετά από αυτό το σημείο;

24. Για τους χλωροπλάστες που περιγράφονται στο Πρόβλημα 23, πώς μεταβάλλεται το επίπεδο της 3PG, όταν απενεργοποιείται το φως;

25. Τα κυανοβακτήρια περιέχουν καρβοξυσώματα, τα οποία αποτελούνται από μια πρωτεϊνική στιβάδα που περικλείει την καρβοξυλάση RuBP και είναι διαπερατή σε μικρά ανιόντα όπως το HCO_3^- . Εξηγήστε γιατί η καρβονική ανυδράση είναι επίσης ένα συστατικό του καρβοξυσώματος.

26. Η στιβάδα του καρβοξυσώματος των κυανοβακτηρίων η οποία περιγράφηκε στο Πρόβλημα 25 είναι σχετικά αδιαπέραστη σε O_2 . Γιατί αυτό θα ήταν ωφέλιμο για τα βακτήρια;

27. Σε μια προσπάθεια να αυξηθεί η απόδοση της φωτοσύνθεσης στα καλλιεργούμενα φυτά, οι ερευνητές έχουν τροποποιήσει γενετικά τα φυτά καπνού (έναν πρότυπο οργανισμό) ώστε να εκφράζουν την καρβοξυλάση RuBP των κυανοβακτηρίων, η οποία έχει μικρότερη δραστηριότητα οξυγενάσης. Ωστόσο, η ανάπτυξη των φυτών καπνού δεν βελτιώθηκε, παρά μόνο όταν τα φυτά τροποποιήθηκαν επίσης ώστε να εκφράζουν τα γονίδια των κυανοβακτηρίων που είναι υπεύθυνα για τους μεταφορείς διττανθρακικού. Εξηγήστε.

28. Περιγράψτε τις επιδράσεις της αύξησης της πίεσης του οξυγόνου στις σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης.

29. Τα φύλλα ορισμένων ειδών φυτών της ερήμου έχουν ξινή γεύση νωρίς το πρωί, όμως καθώς περνά η μέρα, γίνονται άγευστα και κατόπιν πικρά. Εξηγήστε.

30. Τα φυτά πρέπει να λαμβάνουν CO_2 , αλλά να αποφεύγουν την απώλεια H_2O με εξάτμιση. Ποια θα ήταν η επίδραση της αυξημένης ατμοσφαιρικής $[\text{CO}_2]$ στη φωτοσύνθεση; Η επίδραση θα ήταν η ίδια για τα φυτά C_3 και τα φυτά C_4 ;

31. Πώς η αύξηση της ατμοσφαιρικής $[\text{CO}_2]$ θα επηρέαζε την κατανάλωση νερού στα φυτά;
32. Τα φυτά C_4 συλλέγουν CO_2 στα κύτταρα μεσοφύλλου, τα οποία βρίσκονται κοντά την επιφάνεια των φύλλων, έπειτα το μεταφέρουν στα κύτταρα δεσμικού κολεού, τα οποία είναι πλούσια σε καρβοξυλάση RuBP και περιβάλλουν τις «φλέβες» που παραδίδουν νερό στους ιστούς των φύλλων. Τα φυτά C_3 επιτελούν ολόκληρο τον κύκλο

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ

33. Η χλωροφύλλη *f*, η οποία εμφανίζεται σε ορισμένα είδη κυανοβακτηρίων που αναπτύσσονται υπό χαμηλό φωτισμό, έχει ένα μέγιστο απορρόφησης στα 706 nm, ενώ άλλοι τύποι χλωροφυλλών παρουσιάζουν το μέγιστο απορρόφησης σε μικρότερα μήκη κύματος. Γιατί είναι επωφελές για τα κυανοβακτήρια να παράγουν χλωροφύλλη *f*;
34. Το κυανοβακτήριο *Oscillatoria sancta* εμφανίζεται με κοκκινο-καφέ χρώμα, όταν αναπτύσσεται υπό πράσινο φως, αλλά μεταβάλλει τα πρότυπα της γονιδιακής του έκφρασης και γίνεται μπλε-πράσινο, όταν αναπτύσσεται υπό κόκκινο φως. Εξηγήστε αυτή την παρατήρηση.
35. Χρησιμοποιήστε τις λύσεις των Προβλημάτων 19–5 και 19–12 για να υπολογίσετε πόσα γραμμομόρια φωτονίων κόκκινου φωτός ($\lambda = 700 \text{ nm}$) απαιτούνται θεωρητικά για την καθοδήγηση της οξειδωσης τεσσάρων ηλεκτρονίων του H_2O από το NADP^+ σε πρότυπες συνθήκες για την παραγωγή ενός γραμμομορίου O_2 .
36. Χρησιμοποιήστε τη λύση του Προβλήματος 19–12 για να υπολογίσετε πόσα γραμμομόρια φωτονίων φωτός UV ($\lambda = 220 \text{ nm}$) θα απαιτούνταν για την καθοδήγηση της οξειδωσης τεσσάρων ηλεκτρονίων του H_2O από το NADP^+ σε πρότυπες συνθήκες για την παραγωγή ενός γραμμομορίου O_2 .
37. Σε συνθήκες πολύ υψηλής έντασης φωτός, η περίσσεια της απορροφημένης ηλιακής ενέργειας διαχέεται με τη δράση των φωτοπροστατευτικών πρωτεϊνών στη μεμβράνη του θυλακοειδούς. Εξηγήστε γιατί είναι ωφέλιμο για αυτές τις πρωτεΐνες να ενεργοποιούνται από την αύξηση της βαθμίδωσης των πρωτονίων κατά μήκος της μεμβράνης.
38. Ποιος από τους μηχανισμούς διάχυσης της φωτεινής ενέργειας που φαίνονται στην Εικόνα 19–6 θα προστάτευε

με τον καλύτερο τρόπο τα φωτοσυστήματα από την υπερβολική φωτεινή ενέργεια;

39. Υπολογίστε τη δαπάνη ενέργειας του κύκλου του Calvin σε συνδυασμό με τη γλυκόλυση και την οξειδωτική φωσφορυλίωση, δηλαδή την αναλογία της ενέργειας που δαπανάται κατά τη σύνθεση του αμύλου από το CO_2 και του φωτοσυνθετικά παραγόμενου ATP ως προς την ενέργεια που παράγεται με πλήρη οξείδωση του αμύλου. Υποθέστε ότι κάθε NADPH που παράγεται είναι ενεργητικά ισοδύναμο με 2,5 ATP και ότι η βιοσύνθεση και η διάσπαση είναι από άποψη μηχανισμού παρόμοιες με τη σύνθεση και τη διάσπαση του γλυκογόνου.
40. Το έλαιο είναι το κυριότερο μόριο αποθήκευσης ενέργειας στους περισσότερους σπόρους. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των σπόρων σε ορισμένα φυτά, το έλαιο (τριακυλογλυκερόλες) συντίθεται χρησιμοποιώντας το ακετυλο-CoA που προέρχεται από τη σουκρόζη. Η ανάπτυξη του σπόρου περιέχει επίσης την καρβοξυλάση RuBP, αν και ο κύκλος του Calvin δεν είναι ενεργός. (α) Πώς η καρβοξυλάση μεγιστοποιεί την απόδοση της μετατροπής του αμύλου σε έλαιο; (β) Οι σπόροι που περιέχουν καρβοξυλάση RuBP είναι πράσινοι, υποδηλώνοντας ότι συλλέγουν ορισμένη φωτεινή ενέργεια. Εξηγήστε γιατί η συλλογή ορισμένης ενέργειας θα ήταν χρήσιμη στην ανάπτυξη του σπόρου.
41. Μια πτυχή της κλιματικής αλλαγής είναι ότι οι μέσες νυχτερινές θερμοκρασίες έχουν αυξηθεί περισσότερο από όσο έχουν αυξηθεί οι μέσες ημερήσιες θερμοκρασίες. Δεδομένου ότι οι ρυθμοί των μεταβολικών διαδικασιών, συμπεριλαμβανομένων της φωτοσύνθεσης και της κυτταρικής αναπνοής, εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, πώς θα μπορούσε η κλιματική αλλαγή να επηρεάσει την ανάπτυξη των φυτών;
42. Πειράματα που μελετούν την απόκλιση ημέρας-νύχτας στην υπερθέρμανση (βλέπε Πρόβλημα 41) υποδεικνύουν ότι η κλιματική αλλαγή έχει αναστείλει την ανάπτυξη των φυτών σε θερμές ξηρές περιοχές περισσότερο από ό,τι σε ψυχρές υγρές περιοχές. Εξηγήστε αυτή την παρατήρηση.
43. Εάν ένα φυτό C_3 και ένα φυτό C_4 τοποθετηθούν μαζί σε ένα σφραγισμένο κουτί υπό φωτισμό με επαρκή υγρασία, το φυτό C_4 θα ευδοκιμήσει, ενώ το φυτό C_3 θα αδυνατίσει και τελικά θα πεθάνει. Εξηγήστε.

ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΠΡΟΣ ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ

Έχουν περιγραφεί πέντε διακριτές οδοί για τη δέσμευση του CO_2 —δηλαδή για την ενσωμάτωσή του σε βιολογικά μόρια. Σε ποια είδη οργανισμών εμφανίζονται οι διαφορετικές οδοί; Ποια είναι η πηγή της ελεύθερης ενέργειας για τη δέσμευση του άνθρακα σε κάθε περίπτωση; Ποια από τις διαδικασίες μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι η φωτοσύνθεση;

Βιβλιογραφία

- Amunts, A., Drory, O., and Nelson, N., The structure of plant photosystem I at 3.4 Å resolution, *Nature* **447**, 58–63 (2007).
- Busch, A., Hippler, M., The structure and function of eukaryotic photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta* **1807**, 864–77 (2011).
- Evans, J.R., Improving photosynthesis, *Plant Physiol.* **162**, 1780–93 (2013).
- Fromme, P. (Ed.), *Photosynthetic Protein Complexes. A Structural Approach*, Wiley–Blackwell (2008).
- Guskov, A., Kern, J., Gabdulkhakov, A., Broser, M., Zouni, A., and Saenger, W., Cyanobacterial photosystem II at 2.9-Å resolution and the roles of quinones, lipids, channels, and chloride, *Nature Struct. Mol. Biol.* **16**, 334–342 (2009).
- Heathcote, P., Fyfe, P.K., and Jones, M.R., Reaction centres: the structure and evolution of biological solar power, *Trends Biochem. Sci.* **27**, 79–87 (2002).

- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H.T., Klukas, O., Saenger, W., and Krauss, N., Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature* **411**, 909–917 (2001).
- Koepeke, J., Hu, X., Muenke, C., Schuler, K., and Michel, H., The crystal structure of the light-harvesting complex II (B800–850) from *Rhodospirillum rubrum*, *Structure* **4**, 581–597 (1996).
- Kurusu, G., Zhang, H., Smith, J.L., and Cramer, W.A., Structure of the cytochrome b_6f complex of oxygenic photosynthesis: Tuning the cavity, *Science* **302**, 1009–1014 (2003); and Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J.-L., and Picot, D., An atypical haem in the cytochrome b_6f complex, *Nature* **426**, 413–418 (2003).
- Suga, M., et al., Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses, *Nature* **517**, 99–103 (2015).
- Vinyard, D.J., Ananyev, G.M., and Dismukes, G.C., Photosystem II: the reaction center of oxygenic photosynthesis, *Annu. Rev. Biochem.* **82**, 577–606 (2013).