

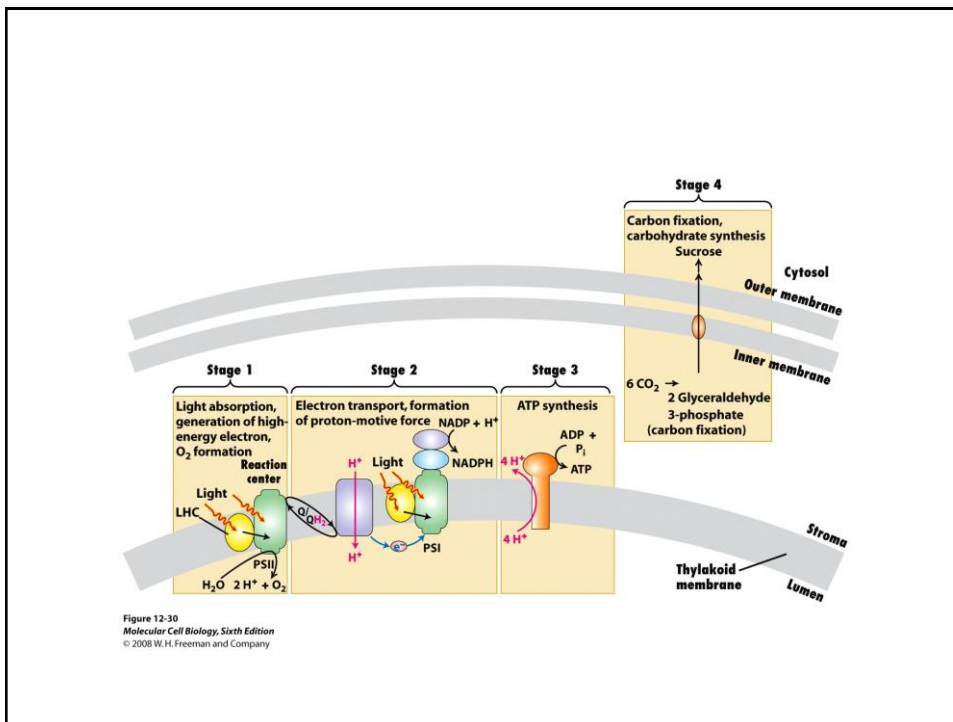
Reakcije fotosinteze neovisne o svjetlosti Calvinov ciklus

B. Mildner

U reakcijama fotosinteze ovisnim o svjetlosti nastaju ATP i NADPH.

Drugi dio fotosinteze, su reakcije koje ne ovise o svjetlosti. Calvinov ciklus, opisuje kako se molekula CO_2 , jedini izvor atoma ugljika, reducira i veže u šećere (heksoze).

Calvinovim ciklusom u žive se organizme ugrađuju atomi ugljika.



Chapter 20 Opener part 1
Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

Prašume su mjesta gdje dolazi do najvećeg vezanja CO_2 . Oko 50 % ugljika na Zemlji potječe iz prašuma.

Uništavanje prašuma je jedan od razlog zašto dolazi do povećanja CO_2 u atmosferi.

Calvinovim ciklusom sintetiziraju se heksoze iz CO_2 i H_2O

- Calvinov ciklus odvija se u stromi kloroplasta.
- U Calvinovom ciklusu, iz molekula plina CO_2 nastaje organski spoj 3-fosfoglicerat koji može biti preteča mnogim spojevima.
- Calvinov ciklus odvija se u tri faze:
 - Vežanjem CO_2 za ribuloza-1,5-bisfosfat nastaju 2 molekule 3-fosfoglicerata, spoja koji je međuprodukt glikolize i glukoneogeneze.
 - Redukcijom 3-fosfoglicerata započinje sinteza heksoza.
 - Regenerira se ribuloza-1,5-bisfosfat kako bi se ponovno mogla vezati molekula CO_2 .

Calvinov ciklus

Calvinov ciklus odvija se u tri stupnja:

Prvi stupanj je vežanje ugljik dioksida karboksilacijom ribuloza-1,5-bisfosfata.

Stupanj dva je redukcija vezanog ugljika kako bi započela sinteza heksoza.

Stupanj tri je regeneracija početnog spoja, ribuloza-1,5-bisfosfata.

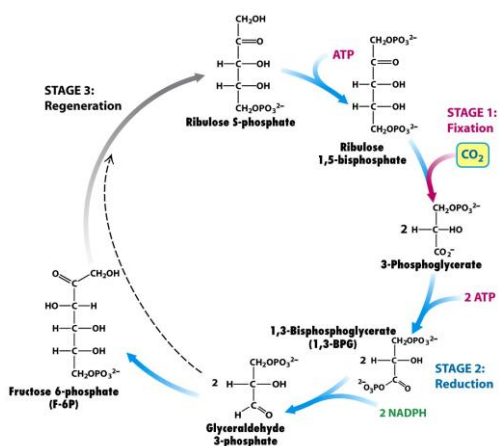
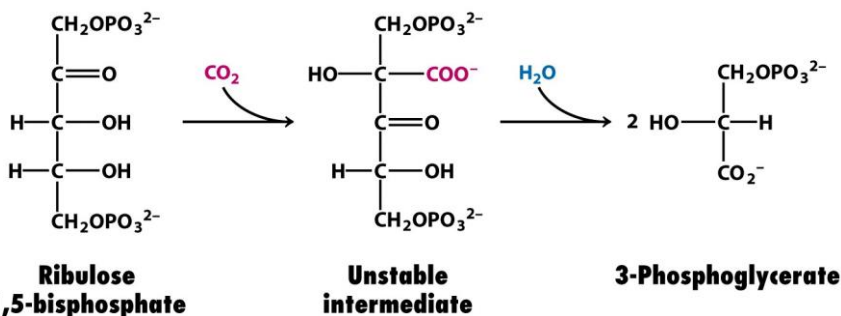


Figure 20-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

CO₂ reagira s ribuloza-1,5-bisfosfatom te nastaju dvije molekule 3-fosfoglicerata



Unnumbered figure pg 567
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Ovu vrlo egzergonu reakciju, $\Delta G'^0 = -51,9$ kJ/mol, katalizira **ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza**, enzim koji se naziva **rubisco**. Enzim se nalazi na površini tilakoidnih membrana i orijentiran je u prostor strome kloroplasta.

Vežanje CO₂ provodi **rubisco** (ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza)

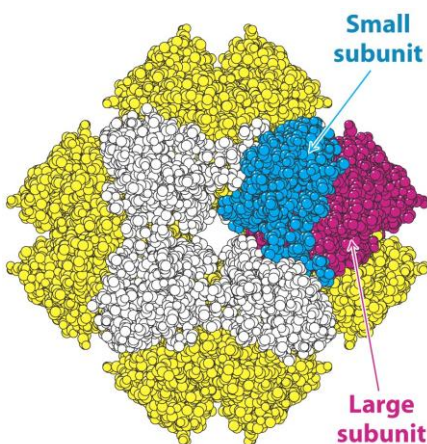
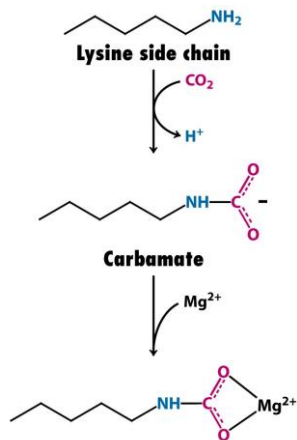


Figure 20-3
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Vežanje CO₂ na ribuloza-1,5-bisfosfat katalizira rubisco. Ova reakcija je reakcija koja određuje brzinu sinteze heksoza. U kloroplastima rubisco je izgrađen od 8 velikih (L, 55 kd) podjedinica i 8 malih (S, 13 kd) podjedinica. Svaka L podjedinica ima katalitičko i regulacijsko mjesto. (Na slici, jedna L podjedinica prikazana je crvenom, a ostale L podjedinice prikazane su žutom bojom). Male, S, podjedinice pojačavaju djelovanje enzima. Enzim je vrlo rasprostranjen u kloroplastima i čini 16 % ukupnih proteina kloroplasta. Za vežanje CO₂ potrebne su velike količine enzima jer je rubisco vrlo neefikasan enzim i njegova maksimalna brzina pretvorbe je 3 mol s⁻¹.

Za katalizu, rubiscu su potrebne dvije molekule CO₂.



Unnumbered figure pg 568
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Osim za pretvorbu CO₂, enzimu je potrebna dodatna molekula CO₂.

CO₂ u aktivnom mjestu rubisca stvara karbamat s lizinom 201 velike podjedinice.

Karbamat veže Mg²⁺-ione koji su potrebni za katalitičku aktivnost enzima.

Mehanizam vezanja CO₂ na ribuloza-1,5-bisfosfat i nastajanje 3-fosfoglicerata

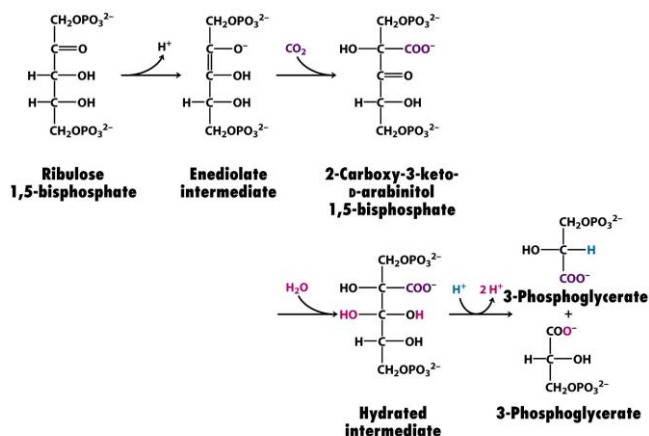


Figure 20-5
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Heksozafosfati nastaju iz fosfoglicerata (2. stupanj Calvinovog ciklusa)

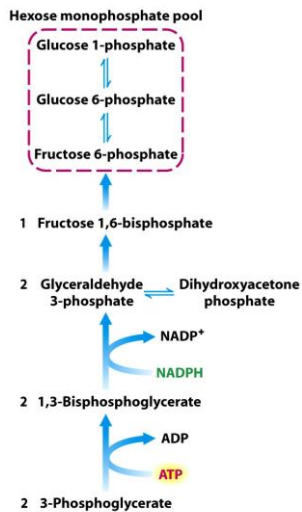


Figure 20-9
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

U drugom stupnju Calvinovog ciklusa 3-fosfoglicerat pretvara se u heksoza fosfate. Reakcije su identične reakcijama glukoneogeneze, osim što se u kloroplastima umjesto NADH koristi NADPH.

Calvinovim ciklusom nastaju heksoza-monofosfati – glukoza-1-fosfat, glukoza-6-fosfat i fruktoza-6-fosfat – ovi monofosfati heksoza mogu se lako pretvarati jedan u drugog.

Isto tako, gliceralhid-3-fosfat može se iz kloroplasta transportirati u citoplazmu, te reakcijama glukoneogeneze može nastati glukoza.

Regeneracija ribuloza-1,5-bisfosfata

Reakcije kojima se obnavlja ribuloza,1,5-bisfosfat kataliziraju enzimi puta pentoza fosfata, transketolaze i transaldolaze.

Regeneracija ribuloza-1,5-bisfosfata

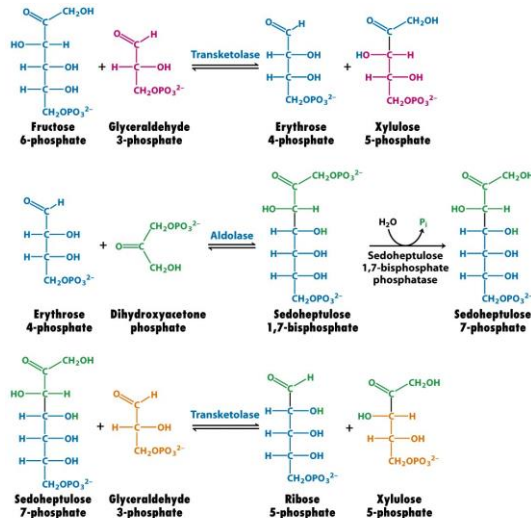


Figure 20-10
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Regeneracija ribuloza-1,5-bisfosfata

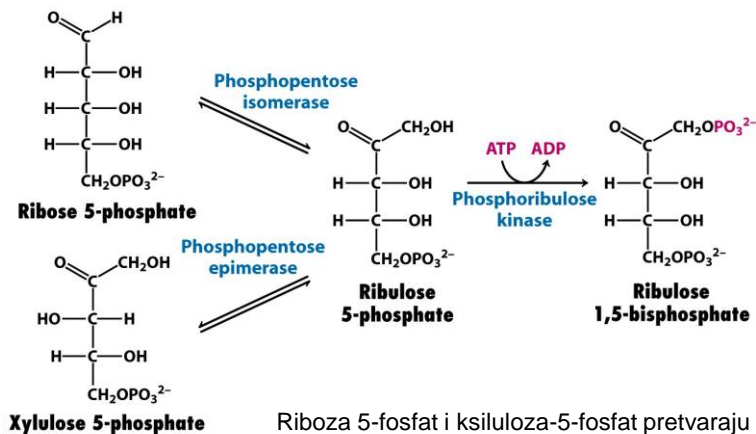
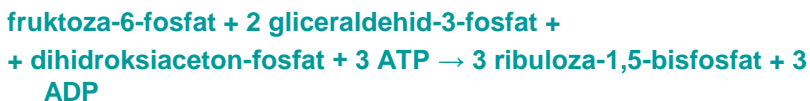


Figure 20-11
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Riboza 5-fosfat i ksiluloza-5-fosfat pretvaraju se u ribuloza-5-fosfat koja se tada fosforilira te nastaje ribuloza-1,5-bisfosfat

Regeneracija ribuloza-1,5-bisfosfata

Sumarna reakcija kojom se regenerira ribuloza-1,5-bisfosfat:



Stehiometrija Calvinovog ciklusa

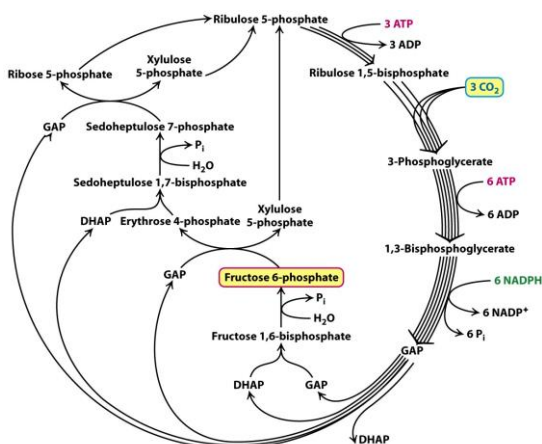


Figure 20-12
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Dijagram prikazuje reakcije kako se 3 molekule CO_2 pretvaraju u jednu molekulu dihidroksiaceton fosfata (DHAP). 2 molekule DHAP pretvaraju se u jedan od heksoza-monosfata, što je ovdje prikazano kao sinteza fruktoza-6-fosfata.

Ciklus nije tako jednostavan kao što je bio prikazan ranije, jer na ovom prikazu prikazane su i reakcije koje drugim putovima dovode do sinteze glukoza-6-fosfata (fruktoza-6-fosfata) i regeneracije ribuloza-1,5-bisfosfata.

Stehiometrija Calvinovog ciklusa

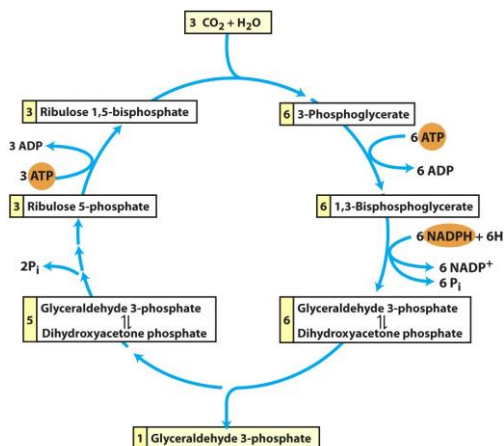


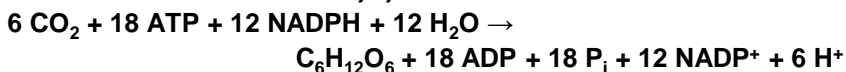
Figure 20-14
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Za tri asimilirane molekule CO_2 nastaje šest molekula trioza-fosfata (gliceraldehid-3-fosfat) a utroše se 9 molekula ATP i 6 molekula NADPH.

3 molekule ATP i 2 molekule NADPH koriste se za redukciju CO_2 na oksidacijsku razinu heksoza

Energija utrošena da se sintetizira heksoza:

Potrebna su 6 okreta Calvinovog ciklusa budući da se svakim ciklusom reducira jedan C-atom. 12 molekula ATP se utroši za fosforilaciju 12 molekula 3-fosfoglicerata u 12 molekula 1,3-bisfosfoglicerat a 12 molekula NADPH se utroši za redukciju 12 molekula 1,3-bisfosfoglicerata u 12 molekula gliceraldehid-3-fosfata. Dodatno, utroši se 6 molekula ATP za regeneraciju ribuloze-1,5-bisfosfata. Sumarna reakcija je:



Prema ovoj jednadžbi, za svaki atom ugljika koji potječe od CO_2 potrebno je utrošiti 3 molekule ATP i dvije molekule NADPH kako bi se sintetizirala heksoza. Sinteza glukoze iz CO_2 energetski je skupa, ali izvor energije – sunce – je dostupno (i besplatno!)

Škrob i saharoze glavne su rezerve ugljikohidrata biljnih stanica

- Kao rezerve ugljikohidrata, heksoza monofosfati se koriste za sintezu škroba ili saharoze.
- Škrob se sintetizira u kloroplastima u obliku amiloze ili u obliku razgranatog amilopektina.
- Disaharid saharoza, sintetizira se u citoplazmi. Saharozu se iz listova transportira u različite biljne stanice, između ostalog i u korijenje.

Škrob i saharoze glavne su rezerve ugljikohidrata biljnih stanica

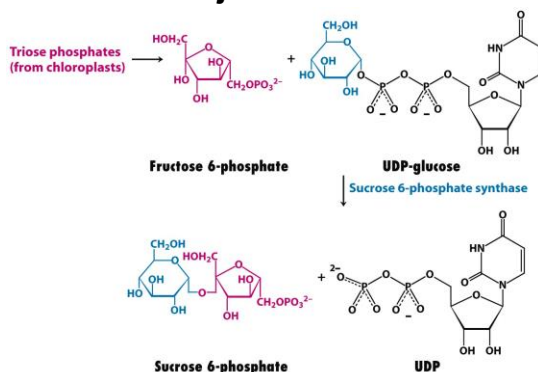


Figure 20-13
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Škrob se pojavljuje u dva oblika kao amiloza (polimer $\alpha 1 \rightarrow 4$) i amilopektin polimer od $\alpha 1 \rightarrow 4$ i $\alpha 1 \rightarrow 6$ međusobno povezanih glukoza. Škrob se sintetizira i pohranjuje u kloroplastima. Za razliku od škroba, saharoza se sintetizira i čuva u citoplazmi. Povezivanjem fruktoza-6-fosfata i UDP-glukoze nastaje saharoza-6-fosfat koja se hidrolizira u saharozu. Saharozu se transportira iz lista po svim dijelovima biljke, a neke biljke čuvaju saharozu u korijenu (šećerna repica, šećerna trska).

Okoliš regulira Calvinov ciklus

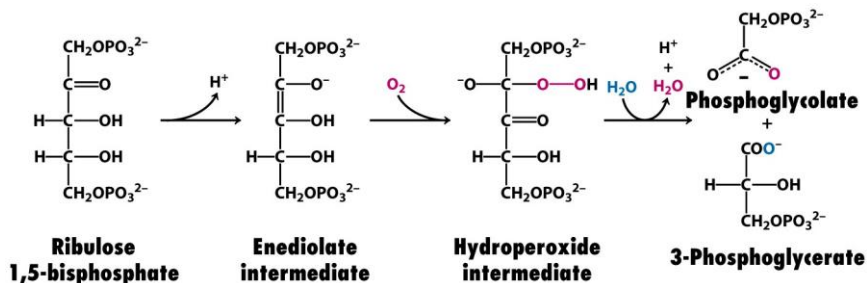


Figure 20-6
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Ponekad, rubisco reagira s O_2 umjesto s CO_2 i pri tome nastaje hidroksiperoksidni međuspoj koji se razlaže u 3-fosfoglicerat i fosfoglikolat. Kako se fosfoglikolat ne može pregrađivati mnogobrojnim reakcijama dolazi do njegovog razlaganja i do otpuštanja jedne molekule CO_2 . **Ovaj se proces naziva fotorespiracijom zbog sličnosti sa staničnim disanjem jer se u ovoj reakciji troši O_2 , a otpušta CO_2 .** Fotorespiracija je štetna reakcija budući da se ugljik fosfoglikolata pretvara u CO_2 a pri tome ne dolazi do sinteze ATP ili NADPH ili nekog drugog energijom bogatog spoja.

Put razgradnje fosfoglikolata

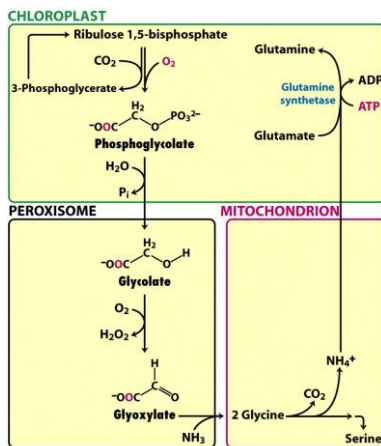


Figure 20-7
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Oksigenazna aktivnost rubisco povećava se s temperaturom, a karboksilazna aktivnost rubisco nije ovisna o temperaturi.

U tropskim biljkama, put C_4 ubrzava fotosintezu tako da se koncentrira CO_2

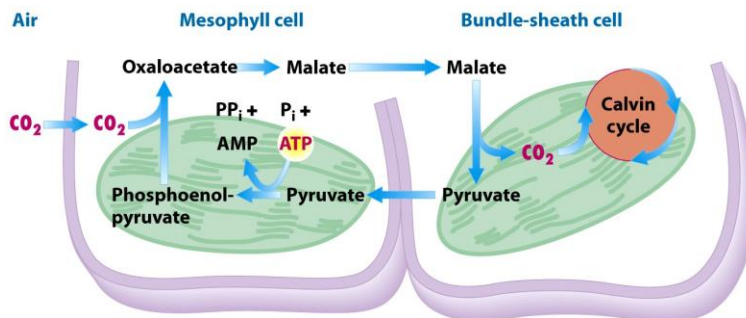


Figure 20-17
 Biochemistry, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

Osnova C_4 puta je da spojevi s 4-C atoma (npr. oksaloacetat) prenose CO_2 iz mezofilnih stanica koje se nalaze na površini lista u fotosintetske, "bundle sheath" stanice u kojima se odvija fotosinteza. Ovim se putom CO_2 koncentrira u – fotosintetskim "bundle sheath" stanicama a pri tome se utroši ATP. Dekarboksilacijom C_4 spoja, malata, održava se visoka koncentracija CO_2 u fotosintetskim "bundle sheath" stanicama u kojima se odvija Calvinov ciklus.

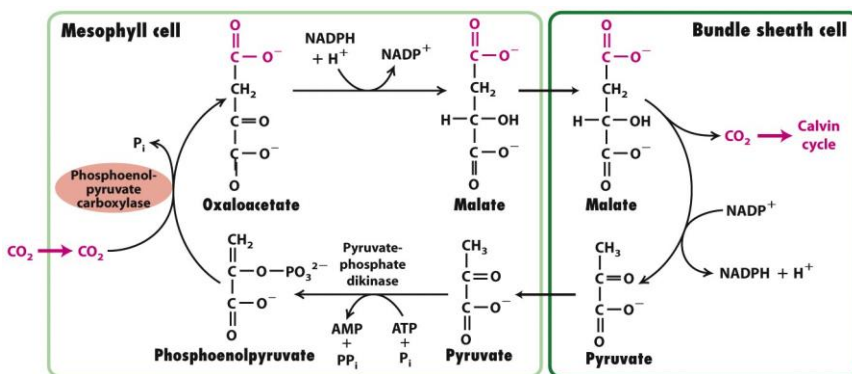


Figure 12-46b
 Molecular Cell Biology, Sixth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

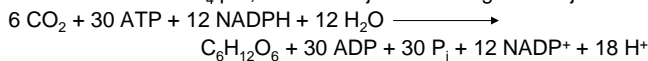
U tropskim biljkama, put C_4 ubrzava fotosintezu tako da se koncentrira CO_2

Sumarna reakcija C_4 puta od piruva i CO_2 do malata je:



U osnovi, C_4 je aktivni transport kojim se pumpa CO_2 u fotosintetske stanice a pri tome se utroši ATP. Koncentracija CO_2 u fotosintetskim stanicama tropskih biljaka može biti i do 20 puta veća nego u mezofilnim stanicama.

Kada se koristi C_4 put, stehiometrija Calvinovog ciklusa je:



Zbog toga tropske biljke imaju malo reakcija fotorespiracije, odnosno zbog velike koncentracije CO_2 rubisco provodi reakcije karboksilacije, a ne oksigenacije.

Geografska distribucija biljaka s C_4 putom (C_4 biljke) i onih koji nemaju taj put (C_3 biljke) može se razumjeti zbog toga što C_3 biljke koriste samo 18 molekula ATP za sintezu molekule heksoze, dok C_4 biljke iako troše 30 molekula ATP efikasnije koriste Calvinov ciklus pri višim temperaturama.

Krasulaceae mogu preživjeti u suhim uvjetima

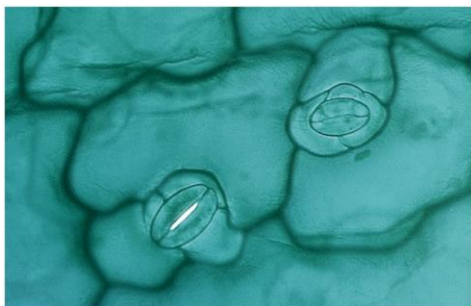


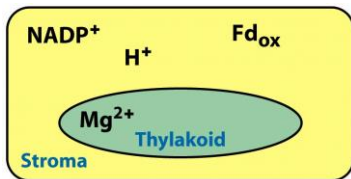
Figure 20-18
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Tijekom dana, zbog vrućine ne dolazi do akumulacije CO_2 . Sav potreban CO_2 CAM biljke apsorbiraju tijekom noći.

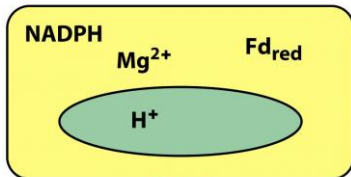
CAM (crassulacea acid metabolism) omogućava fotosintezu u vrlo suhim uvjetima. CO_2 se fiksira C_4 putom u malat koji se čuva u vakuolama biljaka. Tijekom dana malat se dekarboksilira i CO_2 se može (tijekom noći) koristiti u Calvinov ciklusu.

Za razliku od C_4 biljaka CAM biljke odjeljuju akumulaciju CO_2 od korištenja CO_2 ovisno o vremenu a ne ovisno o prostoru.

Aktivnost rubisca aktivira se reakcijama ovisnim o svjetlosti, tako što dolazi do promjena koncentracija protona i iona magnezija



DARK



LIGHT

Figure 20-14
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

U osnovi, regulacija se zasniva na promjenama koncentracija iona strome što uzrokuju reakcije svjetlosti.

Reakcije ovisne o svjetlosti prenose elektrone iz lumena tilakoida u stromu, a protone prenose iz strome u lumen tilakoida. Posljedica ovih reakcija je da su koncentracije NADPH, reduciranog feredoksina i Mg²⁺ veće u stromi tijekom reakcija svjetlosti nego tijekom reakcija koje se provode u tami. Svaka promjena koncentracije ovih iona pomaže da se reakcije Calvinovog ciklusa povežu s reakcijama ovisnim o svjetlosti.

Uloga tioredoksina u regulaciji Calvinovog cilusa

Reducirani feredoksin i NADPH reguliraju enzime Calvinovog ciklusa tako što kontroliraju oksidacijsko stanje tioredoksina.

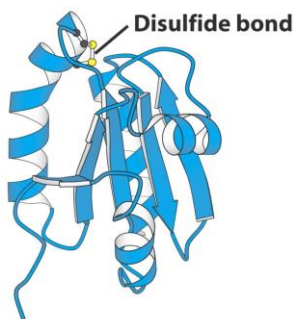
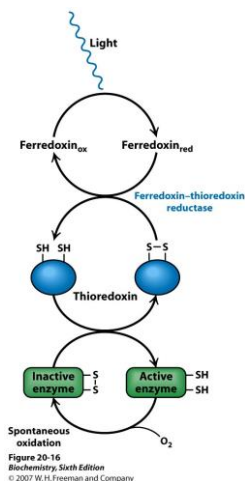


Figure 20-15
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Oksidirani oblik tioredoksina sadržava disulfidnu vezu. Kada se oksidirani tioredoksin reducira s reduciranim feredoksinom, disulfidna veza se pretvara u dvije slobodne SH-skupine. Reducirani tioredoksin može cijepati disulfidne veze u enzimima te ih ili aktivirati (enzimi Calvinovog ciklusa) ili deaktivirati (neke razgradne enzime).

Uloga tioredoksina u regulaciji Calvinovog cilusa



U kloroplastima oksidirani tioredoksin se reducira feredoksinom, a reakciju katalizira feredoksin-tioredoksin reduktaza.

Reducirani oblik tioredoksina aktivira rubisco i druge enzime Calvinovog ciklusa.

Koordinaciju aktivnosti između reakcija ovisnih o svjetlosti i reakcija tame (Calvinov ciklus) provodi prijenos elektrona s feredoksina na tioredoksin a tada se reguliraju i drugi enzimi koji imaju oksidirane sulfidne skupine (disulfidne mostove).

Uloga tioredoksina u regulaciji Calvinovog cilusa

TABLE 20.1 Enzymes regulated by thioredoxin

Enzyme	Pathway
Rubisco	Carbon fixation in the Calvin cycle
Fructose 1,6-bisphosphatase	Gluconeogenesis
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	Calvin cycle, gluconeogenesis, glycolysis
Sedoheptulose 1,7-bisphosphatase	Calvin cycle
Glucose 6-phosphate dehydrogenase	Pentose phosphate pathway
Phenylalanine ammonia lyase	Lignin synthesis
Ribulose 5'-phosphate kinase	Calvin cycle
NADP ⁺ -malate dehydrogenase	C ₄ pathway

Table 20-1
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Transportni sustavi prenose trioza fosfate iz kloroplasta a unose fosfat

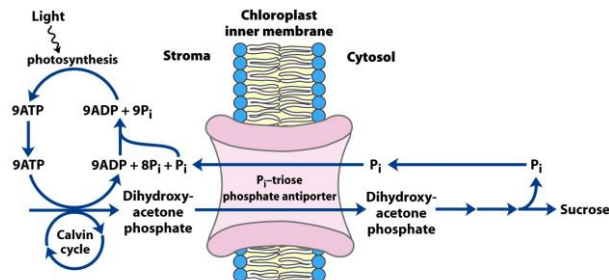


Figure 20-15
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Transporter P_i -trioza fosfat antiporter omogućava izmjenu citoplazmatskog P_i za dihidroksiaceton fosfat sintetiziran u stromi. Produkti asimilacije ugljika prenose se u citosol gdje služe kao preteče za sintezu saharoze, a P_i iz citosola prenosi se u stromu budući da je tamo potreban za odvijanje reakcija fotofosforilacije. Isti transporter može prenositi i 3-fosfoglicerat te može služiti u transportu ATP i reducirajućih ekvivalenata. (vidjeti narednu sliku)

Transportni sustavi prenose trioza fosfate iz kloroplasta a unose anorganski fosfat

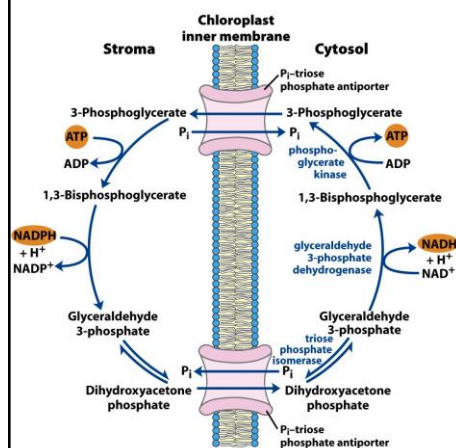


Figure 20-16
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Uloga P_i -trioza fosfat transportera u transportu ATP i reducirajućih ekvivalenata.

Dihidroksiaceton fosfat izlazi iz kloroplasta i pretvara se u glicerinaldehid-3-fosfat u citosolu. Djelovanjem citoplazmatske glicerinaldehid-3-fosfat dehidrogenaze i fosfoglicerat kinaze nastaju NADH, ATP i 3-fosfoglicerat. 3-fosfoglicerat ponovno se transportira u kloroplast gdje se ponovno reducira u dihidroksiaceton-fosfat, te se ovime zatvara kružni tok kojim se efikasno prenose ATP i reducirajući ekvivalenti iz kloroplasta u citoplazmu.

Integracija metabolizma ugljikohidrata u biljaka

- Biljne stanice mogu sintetizirati šećere iz acetyl-CoA koji se dobiva razgradnjom masnih kiselina. Ovu sintezu omogućavaju gliksilatni ciklus i put glukoneogeneze.

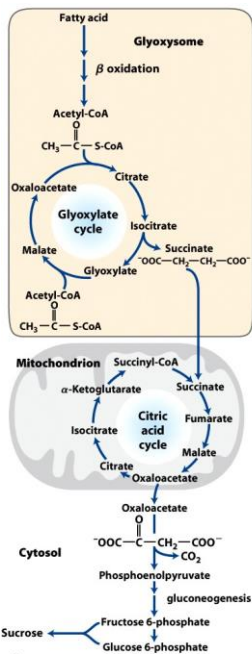
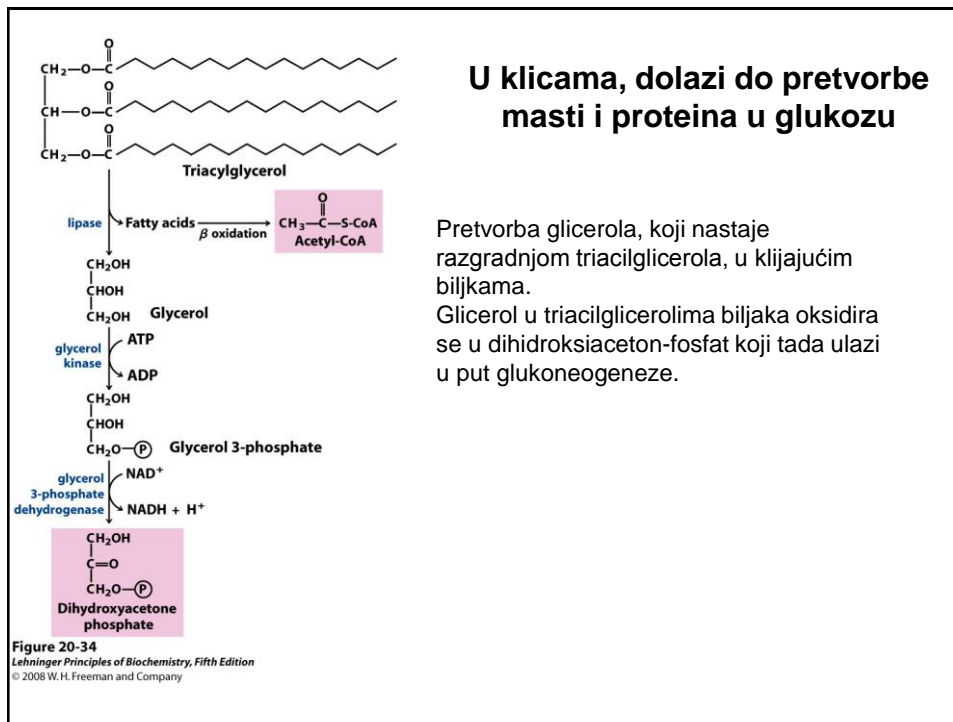


Figure 20-33
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

U klicama, dolazi do pretvorbe masti i proteina u glukozu

Pretvorba rezervi masti u saharozu u klicama biljaka.

Put pretvorbe započinje u gliksisomima. Nastali sukcinat prenosi se u mitohondrije gdje se razlaže do oksaloacetata pomoću enzima citratnog ciklusa. Oksaloacetat odlazi u citosol te služi kao ishodni metabolit glukoneogeneze i sinteze saharoze. Saharozu je oblik šećera kojeg biljka transportira.



Rezerve (poolovi) zajedničkih međuprodukata povezuju metaboličke putove različitih organela

- Pojedinačni metabolički putovi ugljikohidrata u biljaka značajno se podudaraju.
- Ovi metabolički putovi dijele međusobno rezerve (poolove) metabolita kao što su to heksoza fosfati, pentoza fosfati i trioza fosfati.
- Transporteri u membranama kloroplasta, mitohondrija i amiloplasta kontroliraju kretanje šećernih fosfata između pojedinih organela.
- Smjer kretanja metabolita mijenja se ovisno o tome da li je dan (svjetlost) ili noć (tama).

Rezerve (poolovi) zajedničkih međuprodukata povezuju metaboličke putove različitih organela

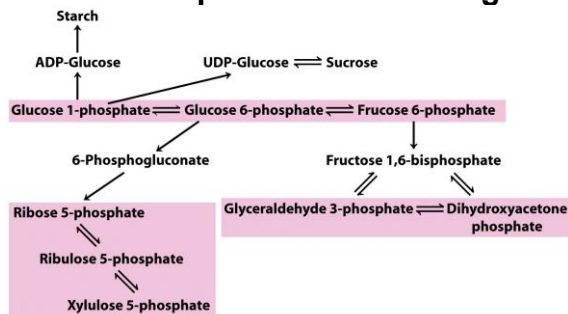


Figure 20-35
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Poolovi heksoza fosfata, pentoza fosfata i trioza fosfata.

Spojevi u svakom poolu međusobno se pretvaraju pomoću reakcija koje imaju male promjene slobodne energije. Kada se pool metabolita u jednom odjeljku privremeno isprazni, nova ravnoteža brzo se uspostavlja. Kretanje šećernih fosfata između staničnih odjeljaka je ograničeno i zbog toga se na membranama moraju nalaziti specifični transporter.