

BIOENERGEETIKA 2

2. METABOLISMI ENERGEETIKA

2.1. Bioloogilise energiaringe potentsiaaliskaala

Bioloogiline energiaringe algab fotosünteesiga ja lõpeb hingamisega. Fotosünteesi ja hingamise põhivalemid on vastavalt (1 ja 2)



Fotosünteesi käigus kahest vee molekulist eraldatakse neli e^- ja antakse edasi CO_2 molekulile, järelejäänud $\text{O}+\text{O}$ moodustavad O_2 . Seejuures iga e^- kohta kasutatakse järjestikku kahe punase valguskvandi energiat, mis kumbki ergastavad e^- 1.8 V võrra negatiivsemale potentsiaalile, kollaste, roheliste ja siniste kvantide energia on suuremgi, aga fotosünteesi mehhanism lõikab lühemalaineliste kvantide energia maha ja muudab selle soojuseks, jättes fotokeemiliselt aktiivseks ainult punase kvandi energia. Ühe mooli punaste kvantide energia on $96500 \cdot 1.8 = 173700 \text{ J mol}^{-1} = 173.7 \text{ kJ mol}^{-1}$. See on 71.3 korda suurem RT -st (keskmise soojusliikumise energia) väärtusest toatemperatuuril. Kujutledes, et punase kvandiga ergastatud klorofüll on energiaringe kõrgeim punkt ja $\text{CO}_2+\text{H}_2\text{O}$ selle madalaim punkt, võiks keemilise tasakaalu valemist rakendada kogu ahela pöörduvuse arvutamiseks

$$\frac{173.7}{2.436} = \ln \frac{B}{A} \quad \text{kust} \quad \frac{B}{A} = e^{71.3} = 9.2 \cdot 10^{30}$$

Nii suure vaba energia muutusega reaktsioonide ahel on summaarselt pöördumatu. See tulemus näitab, et metabolism on nagu kõrgmäestikust laskuv jõgi, mida ei saa peatada tammide ehitamisga kuhugi allavoolu, vaid veevoolu saab reguleerida ainult kõige kõrgemast kohast, voolu algpunktist. See üldine tulemus selgitab, miks metabolismi regulatsioon toimub tavaliselt jadade (pathways) alguses, reguleeritav on tavaliselt jada kõige esimene ensüüm.

??Joonis järjestikuste niisutusalaadega mäenõlval

Organismide metabolismi võib illustreerida ka veevoolu ja ühendatud anumate abil, kujutledes, et iga anum (Joonis ??) on metaboliit, anumaid ühendavad torud aga ensüümid, mis seovad metaboliite üks teisega.

??Joonis ühendatud anumatega

Horisontaalselt paigutatud ühendatud anumate reas on vesi kõigis võrdsel kõrgusel ja ühendustorus vool puudub (Joonis ??A). See olukord tähistab vaba energia languse puudumist, sellega seoses ka metabolismi puudumist. Sellises olukorras elu ei ole võimalik.

Elusat organismi illustreerib olukord, kus vesi voolab niisamasuguse ühendatud anumate rea kaudu kõrgemal asetsevast suurest reservuaarist madalamal asetsevasse

reservuaari (Joonis ??B). Ühendatud anumate rida sümboliseeriks siis erinevaid metaboliite, mis asetsevad ahelas erineval energeetilisel (kõrguse) nivool. Võib ette kujutada, et vee nivoo igas anumal, seega vastava metaboliidi kontsentratsiooni, määrab nüüd takistuste suhe anumasse sisse ja sellest väljavoolu-ahelas. Takistused veevoolule on aga analoogiks vastavate ensüümide töökiirusele. Seega, ensüümide hulk ja nende aktivatsioonitase nii mingi aine sünteesi kui selle tarbimise ahelates määrab, kui palju seda metaboliiti koguneb (missugune on veetase vastavas anumal). Ensüümide hulga ja aktiivsuse regulatsioon ongi metabolismi, seega elutegevuse regulatsioon, mida võib sümboliseerida teatud 'elujõu' kujul, mis tähistab seda väga keerulist ja arusaamatut, mille nimeks on "elu". Ensüümide hulga kontroll allub transkriptsiooni ja translatsiooni seaduspärasustele, ensüümide aktivatsioonitase aga metaboolika seaduspärasustele.

Energia, mille kaks punast kvanti annavad elektronile fotosünteesiprotsessi alguses (3.6V), muundub edasise metabolismi käigus umbes järgnevalt (Joonis ??).

Joonis ?? elu energiabilansi kohta

Kõigepealt kulub umbes üks kolmandik kummastki kvandist ($0.6+0.6=1.2V$) lihtsalt selleks, et e^- lahkuks klorofüllilt ja kukuks allapoole, alustamaks oma teed CO_2 suunas. Umbes 0.6 V langus kindlustab ATP sünteesi CO_2 sidumise metabolismi tarbeks. Umbes 0.6 V langeb e^- teel fotoreaktsioonidest CO_2 ni. Seega fotosünteesi produkti, CH_2O , jõuab elektron $3.6 - 1.2 - 0.6 - 0.6 = 1.2 V$ võrra kõrgemal energiatasemel kui ta oli algseisus, $CO_2 + H_2O$ (kuna e^- on negatiivse laenguga, siis öeldakse, et suhkrus on redokspotentsiaal 1.2V võrra *madalam* kui vees, seega madalam potentsiaal tähendab kõrgemat energiat). Sellest üldisest energiabilansist johtub ka fotosünteesi *maksimaalselt võimalik* energeetiline kasutegur, $1.2/3.6 = 0.33$. Tegelik kasutegur on sellest väiksem, kuna protsess on sageli piiratud väliste faktorite poolt.

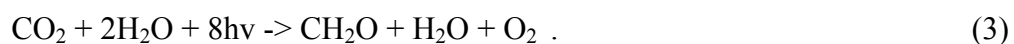
Heterotroofid kasutavad hingamise substraadina suhkrut, osüdeerides selle fotosünteesi pöördprotsessis (valem 2), nii et tulemuseks on H_2O ja CO_2 . Energeetilisest aspektist tähendab hingamine elektronide liikumist allapoole (positiivsemas suunas) 1.2 V võrra. Seega, hingamine on elektrivool, mille tugevust saab hinnata organismi üldisest võimsusest lähtudes. Inimese kehasoojuse säilitamiseks on vaja pidevalt umbes 100 W soojendusvõimsust. Pingel 1.2 V annab see voolutugevuseks 83 A. Amper on kulon sekundis, meid huvitab aga keemiline ühik mooli sekundis, $83/96500=8.6 \times 10^{-4} = 860 \mu\text{mol s}^{-1}$. Niisugune peab olema keskmine elektronide vool läbi hingamisahela, et kindlustada inimorganismi energiavajadus rahu-olekus.

Järgnevalt vaatleme fotosünteesi ja hingamise biokeemilisi protsesse detailsemalt.

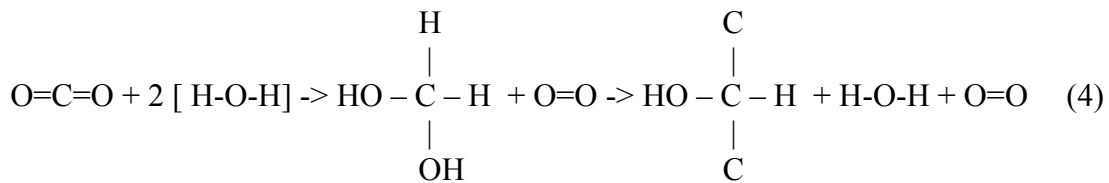
2.2. Fotosüntees

2.2.1. Fotosünteesi üldskeem

Fotosünteesi käigus luuakse madala siseenergiaga H_2O ja CO_2 molekulidest uus elektronide-prootonite kombinatsioon CH_2O , mille siseenergia (keemiline potentsiaal) on kõrgem kui algkomponentidel. Valem 1 on küll laialt kasutatav, kuid eksitav, näidates, nagu eralduks fotosünteesis O_2 CO_2 koosseisust. Tegelikult eraldub O_2 veest ja korrektsem kirjaviis on järgmine.



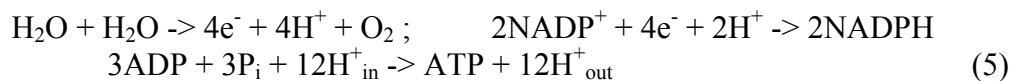
Struktuurvalemina oleks reaktsioon teoreetiliselt järgmine



Valemi 4 parempoolne osa on C-ühikute polümerisatsioonil toimuv vee eraldumine, milles energeetilist efekti praktiliselt ei ole. CO₂ taandamiseks kasutatakse 4 elektroni energia, mille abil kaksiksidemetega struktuur kujundatakse ümber tetraeedriliseks struktuuriks. Tekkiva suhkru koosseisu jääb neljast elektronist kaks, kaks eralduvad veena, olles oma energeetilise ülesande täitnud, lõhkudes C-O sideme ja asendades selle C-C sidemega, eemaldades sellega CO₂ koosseisust ühe O.

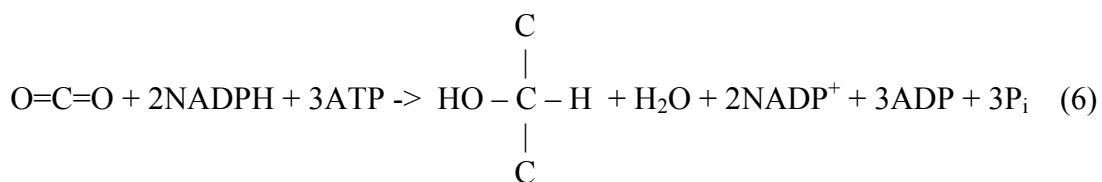
Piltlikult on elektronide orbitaalid CH₂O + O₂ seisundis kokkuvõttes tuumadest kaugemal kui CO₂ + H₂O seisundis, potentsiaalide vahe on umbes 1.2 V. Reaktsiooni (4) on küll lihtne kirjutada kuid raske teostada, sest reaktsiooni ei saa teostada ühe CO₂ kaupa, kuna ühend CO₂H₄ ei ole stabiilne, vaid polümerisatsioon 6(CH₂O) kujule tuleb teostada otsekohe reaktsiooni käigus. Seetõttu ongi fotosünteesi CO₂ taandamise reaktsioonide tegelik mehhanism keeruline.

Kogu fotosünteesi protsessi jagatakse kaheks osaks, “valgusreaktsioonid” ja “pimereaktsioonid”. “Valgusreaktsioonides” lagundatakse vesi, kuid CO₂ taandava jõuna ei eraldu mitte vesinik, sest see lenduks, vaid universaalne bioloogiline e⁻ kandja NADPH:



Valgusreaktsioonide hulka loetakse ka ATP süntees, kuigi see vahetult valgust ei vaja, vaid on seotud e⁻ ja H⁺ transpordiga tülakoidi membraani siseküljelt välisküljele ilma valguse abita. NADPH kannab kahte e⁻ ja ühte H⁺. Teine H⁺ haaratakse vajadusel keskkonnast.

Fotosünteesi “pimereaktsioonides” NADPH ja ATP kasutatakse CO₂ taandamiseks



Nagu öeldud, on ka see reaktsioon tegelikkuses palju keerulisem, sest vaheprodukt CO₂H₄ (valem 4) ei ole stabiilne vaid polümerisatsioon 3CH₂O ja edasi 6CH₂O kujule toimub otsekohe. Selleks seotakse CO₂ kõigepealt 3-C ühendiks, mis seejärel taandatakse. Ega seegi toimu otseselt nii, sest 2-C aktseptorit, millel oleks piisavalt vaba energiat, ei ole leida (2-C ühend on liiga lühike kahekordseks fosforüülamiseks, mis annaks reaktsiooniks piisavalt energiat). Seetõttu loodus kasutab hoopiski 5-C aktseptorit,

millel kahekordselt fosforülituna on piisav vaba energia reserv CO₂ pöördumatuks sidumiseks. Suurim probleem sellises süsteemis on 5-C aktseptori tagasisaamine.

2.2.2. Fotosünteesi “pimereaktsioonid”, Calvini tsükkel

Fotosüntees toimub taimelehe (Joon. ??) mesofüllirakkudes paiknevates kloroplastides (Joon. ??). Kloroplast on ümbritsetud kahekordse välismembraaniga ja kloroplasti sees on ulatuslikud membraanstruktuurid, mida nimetatakse *tülakoidideks*. CO₂ sidumine ja taandamine fotosünteesis toimub Calvini tsükli (Nobeli preemia 1951), mis funktsioneerib kloroplasti *stroomas*, see on elektronmikroskoobis struktureeritud ala mis asetseb tülakoidide vahel. See on biokeemiliselt ilus tsükkel, milles sünteesitakse suhkrutasele taandatud 3-C ja 6-C ahelaid ja regenereeritakse 5-C aktseptor. Tsükli töö põhineb 5-C ühendi karboksüülimisel (CO₂ lisamisel), tekib 6-C ühend aga laguneb otsekohe kaheks 3-C fragmendiks, mis kumbki taandatakse ja siis polümeriseeritakse 6-C ühendiks (Joonis ??). 5-C aktseptori resüntees toimub 2-C fragmentide ülekande teel 3-C ühenditele. 6-C ühendilt 2-C fragmendi eemaldamisel järelejääv 4-C ühend aga polümeriseeritakse 3-C ühendiga ja järjekordne 2-C fragment eraldatakse 7-C ühendilt, sest 4-C ühendilt 2-C fragmendi eemaldamisel järelejääv 2-C ühend ei oleks edasikasutatav. Calvini tsükli tegelik skeem on esitatud Joonisel ??.

Joonis ??. Calvini tsükli põhimõtteskeem.

Joonis ??. Calvini tsükli tegelik skeem.

2.2.3. ATP roll metabolismis

Fotosünteesi “pimereaktsioonide” baasil on hästi näha, millist rolli mängib ATP süsinikühendite metabolismis. Nagu Jooniselt ?? (ühend. Anumad) näha, on metabolismi latusaks toimumiseks vajalik, et iga järgnev süsinikühend oleks energeetiliselt veidi madalamal nivool eelnevaga võrreldes, siis on reaktsioonid piisavalt kiired ja ei tõuse mõne ühendi kontsentratsioon liiga kõrgeks. Metaboliitide süsinikskeletid aga sageli ei vasta sellele tingimusele ja mõned reaktsioonid peaksid toimuma ‘ülesmäge’.

Reaktsioonide suunamiseks kasutatakse ATP võimet kanda fosfaatrühm mõne teise aine, näit, suhkru külge. Kui niisuguse fosforülitud suhkruga reaktsioon organiseerida nii, et koos süsinikskeleti muutumisega vabastatakse ka fosfaatrühm, siis selle seose-energia lisandub reaktsiooni üldisele vaba energia muutusele ja kui C-skeleti muutus nõudis energiat juurde, võis fosfaadi vabastamisel eralduv energia selle kompenseerida.

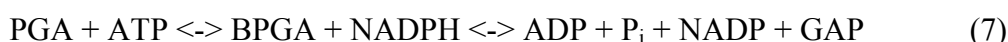
Ühekordselt fosforülitud (ühe fosfaadiga) suhkrute defosforüülimisel toimuv vaba energia muutus on siiski suhteliselt väike (Joonis ??). Suurem on see siis, kui fosfaatrühm lisada molekuli kahte otsa. Mõlemad fosfaadid on tugevasti ioniseerunud ja nende negatiivsed laengud tõukuvad, püüdes molekuli kaheks rebida. Seisund on sarnane ATP energiarikkale sidemele. Calvini tsükli kasutatakse reaktsiooni “tõukamiseks” just bisfosfaadi seose-energiat, kas lagundades bisfosfaadi kaheks osaks või eraldades ühe fosfaadi paralleelselt süsinikskeleti muutmisega.

Kuigi tegemist on kinnise tsüklioga, võib selle algpunktiks lugeda CO₂ sidumise, kus ribuloosbisfosfaadi karboksülaasi (Rubisco) abil seotakse ribuloosbisfosfaadi (lüh. RuBP) külge CO₂. Reaktsioon on keeruline ja energeetiliselt ei saa toimuda ribuloosi või ribuloos-monofosfaadi baasil (Joonis ??).

Joonis. ?? Rubisco reaktsioon.

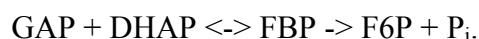
Reaktsiooni toimumiseks peab moodustuma ribuloosi enoolvorm, mis on energeetiliselt kõrgem kui keto-vorm ja mis suunaks reaktsiooni tasakaalu kaugele tagasisuunas. Selle ületamiseks laguneb moodustunud 6-C vaheühend fosfaatühemate tõukejõu toimel kiiresti kaheks võrdseks tükiks, mis kumbki kannavad ühte fosfaati (fosfoglutseerhape, PGA). Tulemusena toimub RuBP karboksüülimine praktiliselt pöördumatult, suure vaba energia langusega.

Järgmine ATP abi vajav reaktsioon on PGA taandamine fosfoglutseeraldehüdiks (GAP) NADPH abil. PGA otsene taandamine on tugevasti endergooniline (keskkonna soojust vajav, energiat neelav). Selleks, et reaktsioon toimuks vajaliku väikesegi vaba energia langusega PGA kõigepealt fosforüülitakse ATP abil bisfosfoglutseeraadiks (BPGA) ja seejärel taandatakse, samaaegselt ka defosforüülides:



Vaatamata bisfosfaadi defosforüülimisele on reaktsioon siiski veel hästipöörduv, nii et seda saab kasutada ka ATP sünteesiks glükolüüsiahelas.

Tekkinud 3-C suhkrufosfaat on siiski veel liiga väike, näiteks tärklise ja tselluloosi süntees vajab 6-C suhkrut glükoosi. Kahe 3-C monofosfaadi (GAP ja DHAP) kondenseerimine 6-C bisfosfaadiks (FBP) on aga energeetiliselt raske fosfaatühemate tõuke tõuke tõttu. Probleem lahendub jällegi koos sama-aegse defosforüülimisega:



Viiesüsinikuline CO₂ aktseptor moodustub 2-C ketorühmade ülekande abil 3-C monofosfaadile. 5-C bisfosfaadi RuBP sünteesiks vajatakse aga ATP osalust, et kanda teine fosfaat 5-C suhkru teise otsa. Kokkuvõttes kulubki 3 ATP ühe CO₂ neeldumise kohta, kaks PGA taandamiseks ja üks RuBP taastekitamiseks.

Pangem tähele, et ATP sise-energias suur osa vabaneb ikkagi soojusena reaktsioonides, mille pöördumatust ATP tagab. Ainult PGA taandamisel ATP energiast suur osa läheb üle GAP kosseisu, mille tulemusena kogu reaktsioon jääb pöörduvaks.

2.2.4. Osmootse rõhu regulatsioon organellides: fosfaadi roll.

Rakus on organellid, nagu mitokondrid, kloroplastid jne., mis on ümbritsetud membraaniga. Metabolismi käigus võib organellide sees molekulide arv muutuda, näit. intensiivse fotosünteesi ajal tõuseb kloroplastis Calvin tsükli vaheproduktide kontsentratsioon kõrgele. Vastavalt kontsentratsioonile muutub ka osmootne rõhk, mille tõttu organell võib punduda või kokku tõmbuda. Niisugused muutused rikuvad organelli sisestruktuuri ja membraani seisundit ja neid tuleb vältida, stabiliseerides sisemise osmootse rõhu sõltumatuks metabolismi kiirusest.

Kloroplastis täidab fosfaat osmootse rõhu regulaatori rolli. Nimelt on kloroplasti välismembraanis fosfaadi translokaator, mis vahetab fosforestreid ja P_i –d, nii et summaarne fosfori hulk kloroplasti sees säilib konstantsena (millal see välja kujuneb ja millega määratud on, pole veel selge). Kuna kõik Calvin tsükli vaheproduktid on fosfaadid, siis võib fosfor olla kas seotud või vaba P_i kujul, kuid summaarne molekulide

hulk on ikkagi määratud P_i hulgaga. Muutus võib olla ainult nii suur, kui palju muutub bisfosfaatide ja monofosfaatide suhe, mis aga ei ole suur muutus.

Ainuke mittefosfaat, mis kloroplasti koguneb, on tärklis. See aga koguneb polümeerina, et mitte mõjutada osmootset rõhku. Varuainete salvestumine polümeeridena on paratamatu, vastasel korral tõstaksid nad oluliselt osmootset rõhku. Näiteks taimedes hea lämmastiktootumuse korral rakud varuvad taandatud lämmastikku animohapetesse, kuid need tuleb polümeriseerida valkudeks. Kuna spetsiaalset varuvalku lehtedes ei ole (on küll seemnetes), siis sünteesitakse suuremas koguses ensüüme, kuid neid ei aktiveerita. Nii tekib hea lämmastiktootumuse korral aktiveerumata ensüümide fond, millest vajaduse korral osa aktiveeritakse, teine osa võib aminohapeteks tagasi lagundatud saada, et mõnda hetkel puuduvat valku sünteesida.

Mitokondris, hingamise organellis, töötab Krebse tsükkel. Selle tsükli vaheproduktid ei ole fosfaadid ja siin osmootse rõhu konstantsust ei tagata molekulide summaarse arvu kaudu. Mitokondris on aga olukord teine kui kloroplastis. Kõigepealt on hingamise kiirus ainult väike murdosa fotosünteesi kiirusest, seega on metabolism mitokondris aeglasem, vaheprodukte vähem. Teiseks, Calvini tsükkel on ise-regenereeruv, tema vaheproduktid akumulatsiooniga ja omakorda viivad fotosünteesi kasvule. Krebse tsükkel ei ole iseregeneeruv, vaid tema kiirus on määratud mitokondrisse siseneva substraadi hulgaga, mis on kontrollitav koensüüm A töö kiirusega. Tarvitseb vaid substraadi sisenemine viia negatiivsesse sõltuvusse osmootsest rõhust ja viimane stabiliseerubki.

Rakutuumas domineerivad on kõrgmolekulaarsed ühendid ja nende metabolism ei tekita suuri osmootse rõhu muutusi.

2.2.5. Fotosünteesi “valgusreaktsioonid”

“Valgusreaktsioonideks” kutsutakse kogu elektroni liikumise teed H_2O -lt kuni NADPH- ni, kuigi selles ahelas nõuavad valgusenergiat otseselt ainult kaks reaktsiooni. Fotosünteesiline elektronide transpordi ahel paikneb tülakoidi membraanides, kus osa e^- kandjaid moodustavad valk-kompleksid, osa aga difundeeruvad membraani lipiidosa sees (Joon. ??). Valk-komplekse on kolm: *fotosüsteem II* (PSII), *tsütokroom b_6f* (Cyt b_6f) ja *fotosüsteem I* (PSI). Vee lagundamine ja esimene elektroni energeetiline tõstmine toimub PSII-s, mida võiks nimetada vesi-plastokinoon oksido-reduktaasiks, sest selle oksüdeeritavaks substraadiks on vesi ja redutseeritavaks produktiks *plastokinoon* (PQ). PQ difundeerub Cyt b_6f kompleksini, kus PQ oksüdeeritakse, viies e^- üle kompleksis sisalduvatele tsütokroomidele Cyt f ja Cyt b_6 , nendelt aga edasi madalamolekulaarsele valgule *plastotsüaniinile* (PC). Viimane ei asu mitte membraani lipiidkehas, vaid veekeskonnas tülakoidi membraani poolt moodustatud kotikese (*luumeni*) sisemuses. PC on tihedas kontaktis PSI –ga ja annab e^- kiiresti sellele edasi. PSI aitab elektronil teist korda oma energiat täiendada, kandes ta üle väga negatiivse potentsiaaliga vahekandjate kaudu veel suhteliselt negatiivse potentsiaaliga aktseptorile ferredoksiinile (Fd). Sama kompleksi koosseisus on ka ferredoksiin-NADP oksido-reduktaas, mis kannab e^- üle NADP⁺ -le.

Ülalkirjeldatud e^- ülekandeprotsesside jada näeb redokspotentsiaalide skaalas välja N tähe kujuline (Joon. ??), kutsutakse teda aga Z-skeemiks, sest esmakordselt esitas selle R. Hill külilipööratuna.

Teel PSII lt PSI-le elektroni potentsiaal tõusis (energia langes) umbes 0.7 V võrra.