

### Fotosüntees. Peatükk 3.

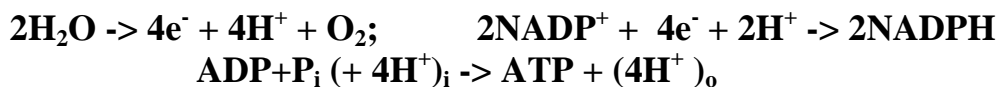
Fotosünteesiprotsess on keerulisem kui lihtne üldvõrrand, sest valguse energiat ei saa otse H<sub>2</sub>O seose-elektronidele anda ja neid otse CO<sub>2</sub>-le üle kanda. Seetõttu vaadeldakse eraldi

- a) valgusenergia püüdmist
- b) elektroni ülekannet H<sub>2</sub>O -> NADPH
- d) ATP sünteesi
- e) CO<sub>2</sub> difusiooni
- f) CO<sub>2</sub> taandamist

#### 3.1. “Valgusreaktsioonid” ja “pimereaktsioonid”

Kokkuleppeliselt nimetatakse valguse neeldumise ja elektronide ülekandega seotud reaktsioone “valgusreaktsioonideks”, CO<sub>2</sub> sidumise ja taandamise reaktsioone aga “pimereaktsioonideks”. Valgusreaktsioonide käigus kvant neeldub pigmendis, selle energia abil viiakse pigmendi elektron kõrgemale energiatasemele, see eraldub pigmendi molekulist ja vastavate ülekandeahelate abil viiakse lõpuks ühendile, millelt see on valmis CO<sub>2</sub>-le üle minema. Elektroni kaotanud pigment aga võtab uue elektroni vee lagundamisest. Valgusreaktsioonides toimub valguse abil tegelikult ainult elektroni ergastumine pigmendil. Ülejäänud reaktsioonid tegelikult valgust ei vaja, kuid tinglikult on kogu elektronide ülekandeahelat hakatud nimetama valgusreaktsioonideks. Ka CO<sub>2</sub> sidumises obligatoorne energeetiline kofaktor ATP sünteesitakse valgusreaktsioonide käigus, paralleelselt elektronide ülekandega.

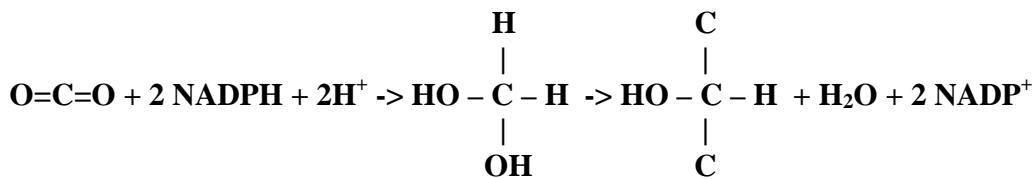
*Valgusreaktsioonid* on lühidalt järgmised



NADPH on universaalne elektronikandja, “nikotiinamiid adeniin-dinukleotiid fosfaat”. Nukleotiid-osa täidab äratundmisfunktsiooni, võimaldades rakus paralleelselt funktsioneerida kahel redoks-süsteemil, NADPH ja NADH seoselisel. Vesinikioonidel on eriline roll ATP sünteesis, kus need, liikudes läbi membraani kontsentratsioonigradiendi ja elektripotentsiaalide vahe mõjul, annavad ATP sünteesiks vajaliku energia. Siin indeksid i ja o tähistavad ‘in’ ja ‘out’, st. reaktsiooni käigus H<sup>+</sup> liigub läbi membraani, kuid ei osale keemiliselt ATP sünteesis. ATP on universaalne bioloogiline energiarikka fosfaatrühma kandja. ATP

energiarikkus seisneb selles, et fosfaatrühmad on O kaudu seotud valentsidemega, kuid samal ajal on tugeva tõukejõu mõju all. Hüdrolüüsides side katkeb ja  $\text{HPO}_3$  lendab umbes püssikuuli kiirusega mõne teise molekuli koosseisu, viies osa energiat kaasa.

*Pimereaktsioonides* seotakse  $\text{CO}_2$  ja taandatakse suhkruks. Ühe C jaoks on võrrand järgmine, kuid, nagu öeldud, on tegelikult reaktsioon keerulisem, sest toimub korraga vähemalt 3C ühendites:



Paralleelselt süsiniku taandamisega suhkruks tarbitakse 3 ATP iga taandatud C kohta



## Valgusreaktsioonid

Valguse neeldumise tulemusena tõuseb elektron klorofüllü molekulis kõrgemale energianivoole. Valgus on elektromagnetiline lainetus, milles elektriväli ja magnetväli vahetpidamata muutuvad teineteiseks, ja mis levib ruumis valguse kiirusega  $300000 \text{ km s}^{-1}$ . Valgus ei ole pidev, vaid koosneb portsjonitest, kvantidest, mis kiirguvad ja neelduvad korraga. Valguskvandi neeldumisel mingis molekulis selle elektron omandab kvandi energia ja tõuseb vastavalt kõrgemale energianivoole, s.t. liigub tuumast kaugemale. Tavalistes "valgetes" keemilistes ainetes neelduvad hästi lühilainelised, ultravioletsed kvandid, nähtava valguse kvandid mitte. Pikemalainelise nähtava valguse neelamiseks on loodus konstrueerinud molekulid, milles esinevad pikad konjugeeritud sidemete ahelad (resonantsahelad), nn. pigmendid. Taimede fotosünteesi osalev tähtsaim pigment on klorofüll.

Klorofülle on mitut alaliiki, kuid nende ehitus on üsna sarnane.

Kvanti neelates ergastub nn.  $\pi$ -elektron konjugeeritud ahelate ringis, mis on tähistatud roheline värviga. Kõrgemetes taimedes kasutatavad klorofüllid a ja b neelavad peamiselt punases ja sinises spektriosas, bakterioklorofüll aga kaugpunases ja violetis. Klorofüllis halvasti neelduva roheline püüavad taimed kätte saada pigmendi hulka suurendades ja lisades mõnesid teisi pigmente, mis neelavad rohelist valgust. Lisaks kahte sorti klorofüllü kasutamisele nihutab neeldumisspektrit veel viis ja tugevus, kuidas klorofüll

on valguga seotud. Füüsikas nimetatakse seda neeldumisribade mittehomoenseks laienemiseks. Lõpptulemusena saavutatakse lehes küllaltki ühtlane neeldumine üle valgus-spektri, kuid rohelises siiki madalam kui punases ja sinises.

Klorofüllidel on kaks tugevamat neeldumisriba. Rohelistes klorofüllides Chla ja Chlb on need punases (650-680 nm) ja sinises valguses (430-470 nm, nn Soret riba). Sinise valgusega ergastumisel kukub elektron kiiresti punase riba energiale ja ainult seda saab kasutada fotosünteesiks. Punase riba ergastusenergia on 1.8 V. Kui fotosünteesi ei toimu, kiirgub energia fluorestsentsina. Bakterites esineb bakterioklorofüll, mille esimene ergastus on 780 nm juures. Kui klorofüllis neeldub sinine kvant (nn Soret riba), siis ergastus relakseerub ülikiiresti (femtosekundid) esimesele ergastusnivoole. Seega fotoünteesi energieetiline efekt on määratud ainult punase kvandi energiaga, siniste kvantide kõrgem energia lihtsalt "lõigatakse maha". Klorofüllil molekulis on esimese nivoo ergastuse eluiga seevastu ebatavaliselt pikk: lahustes umbes 5 ns, antennistruktuurides valkudega seotult umbes 2 ns. Sellest tingituna on klorofüllil fluorestsentsisaagis väga kõrge ja fluorestsentsisignaali saab kasutada ergastuse ülekande uurimiseks.

Et kasutada ka klorofüllis väheneelduvat rohelist ja kollast valgust, on kloroplastides nn abipigmendid, nt. karotenoidid. Xantofüllidel nimega violaxantiin ja zeaxantiin on veel eriline roll, sest nad aitavad vajadusel ka ülearust ergastust kustutada.

Vetikatel ja tsüanobakteritel (sinivetikatel) on veel mitmeid teisi abipigmente, nagu fükobiliinid, kuid kõik need annavad oma ergastuse edasi klorofüllile, fotosünteesi energiakonversiooni viib läbi ikkagi klorofüll

Valgust püüdvates kompleksides moodustavad klorofüllid ja karotenoidid valkudega kompleksi, mis määrab kindlaks pigmentimolekulide orientatsiooni ja vahekauguse. Viimane on tähtis, sest ergastusenergia efektiivne ülekande on võimalik ainult üsna kindlatel vahekaugustel. Peamine füüsikaline probleem siin on, missuguste mehhanismide abil ergastus kandub naabrilt naabrile ja lõpuks tabab tsentriklorofüllil. Siin kombineeruvad kaks mehhanismi: valgustneelava kompleksi sees ja bakteriaalses antenniringis on klorofüllid sedavõrd ligistikku, et võib moodustuda nagu üks ergastus üle kogu süsteemi. See on nn eksitonmehhanism ja oma olemuselt on see sarnane kella helisemisele: heliseb (võngub kogu kell koos, mitte selle üksikud aatomid eraldi). Selge, et eksitonmehhanism tagab ülikiire ergastuse kandumise üle kogu antenni, praktiliselt on võimatu rääkida ergastuse liikumise ajast. Aeglasem on nn Försteri resonantsmehhanism, kus ühe molekuli ergastus võib kustudes üle

minna teise molekuli ergastuseks molekulide tugeva omavahelise mõju (lainefunktsioonide ülekattumise) tõttu. See töötab ilmselt ergastuse ülehüpetel erinevate monomeeride ja erinevate Chl- Valk-komplekside vahel. Siiski on ka Försteri resonantsmehhanism piisavalt kiire, et ergastuse elueast palju lühema aja jooksul läbi käia sadu Chl molekule, seejuures tsentrimolekuli isegi mitu korda külastades.

Fotosüsteemi keskosa aga koosneb kahest valgust D1 ja D2 ning neid ümbritsevatest, ka klorofüllid siduvatest proteiinidest CP43 ja CP47 (nende ümber paiknevad LHC-d näitamata). Vett lagundav kompleks on fotosüsteemiga ühendatud tülakoidi luumenipoolsel küljel. Selle koosseisus on tähtsad neli Mn aatomit. PSII-s on elektrone transportivate tsentrivalkudega otseselt seotud vaid tsentripigment P680 ja accessor-pigmendid, kokku 6 Chl (joonisel on PSII kujutatud homodimeerinä, seotult kaks ühesugust kompleksi). Tsentrivalkude lähedal aga on mitu Chl-Valku CP43, CP47, CP26 ja CP29 (joonisel tähistatud Lhcb3,4,5,6). Kõige kaugemal asuvad valgust püüdvad kompleksid LHCII, mis omakorda on trimeerid (kolmikud). Kokku kujuneb iga tsentri ümber umbes 200 Chl-st koosnev antennisüsteem, mis kõik neelavad valgust. Kõrgemate taimede Chl-antennisüsteemid ei ole kuigi sümmeetrilise ehitusega. Neis on klorofüllid paigutatud kogu membraani paksuses umbes kahe kihis, keskmise servast-serva vahekaugusega 10-15 Å.

Ergastus liigub suunatult madalama energiatasemega Chl suunas kui antennisüsteemis on erineva spektriga Chl-d organiseeritult asetatud. Näiteks, taimede PSII perifeerselt asetsevates valgustpüüdvates trimeer-kompleksides on rohkesti lühemalainelist Chl b –d , samal ajal kui tsentrit ümbritsevates CP43 ja CP7 valkudes on peamiselt pikemalaineline Chl a. Vastavalt liigubki eksiton LHCII-st kiiresti CP43-47 alasse. Tsentriklorofüll P680 on aga praktiliselt sama energianivooga kui need tsentraalsed antennid. Seetõttu hakkab eksiton CP43-47 alal juhuslikult ringi ekslema, külastades seejuures ka P680. Viimaselt võib ergastunud elektron 1 ps jooksul isegi edasi liikuda feofütiinile (ilma Mg-ta Chl, mis osales elektroni ülekandes), kuid seal edasi lõppaktseptorile, kinoonile  $Q_A$  pääseb alles 200 ps jooksul, kinoonile  $Q_B$  aga alles 200  $\mu$ s sooksul.

On tõenäone, et enne kui  $e^-$  kukub  $Q_A$ -le, liigub ta P680-le tagasi (P680 ja  $Q_A$  energiavahe on väike) ja relakseerub seal põhiniivoole, suunates eksitoni antenni tagasi. Tänu laengute lõpliku eraldumise suhteliselt aeglasele kiirusele võib ergastus iga mõne ps järel jälle ja jälle tsentrit külastada, kuni lõpuks juhuslikult toimub lahutatud laengute lõplik stabiliseerumine  $Q_A$ -l. Selle mudeli kohaselt jääb laengute lahutamise kiirust

määrama üleminek feofütiinilt  $Q_A$  peale, eksiton aga liigub pidevalt antenni ja tsentri vahet, mistõttu seda mudelit nimetatakse “trap-limited”.

Vastupidine võimalus on niisugune, kus piiravaks on ergastuse ringihüplemise kiirus ja kui see juba ükskord tsentriini jõuab, siis ka fotoreaktsioon toimub. Nende erinevate mudelite vahel saab vahet teha uurides ergastuse liikumist klorofüllide erinevate vormide vahel, näiteks mõõtes fluorestsentsi ajalisi käike erinevates lainepikkustes, ja see ongi füüsikute tööpõld fotosünteesi alal.

Elektronmikrograafia, eriti aga röntgendifraktsioonanalüüsi abiga on praeguseks õnnestunud välja selgitada peaaegu kõigi nede komplekside sisestruktuur umbes 2Å lahutusvõimega, seega praktiliselt aatomi tasemel. Joonisel on PSII struktuur (see on bakteril *Rhodospseudomonas viridis*, millel vee lagundamise kompleks puudub, see on asendatud nelja heemiga, mis kannavad elektrone orgaanilistelt substraatidelt).

Niisugused pildid annavad täpsed distantid PSII ja PSI komplekside sees asuvate elektroni ülekandes osalevate molekulide vahel, mis näiteks PSI –s on suurusjärgus 7 – 15 Å (joonis). Teades distantse on võimalik hinnata, millist rada mööda elektroni ülekande saab toimuda. Skemaatilisel on elektroni teekond fotosüsteemis näidatud joonistel

Torkab silma, et mõlemas fotosüsteemis liigub elektron luumeni poolt strooma poole risti läbi membraani. Elektron eraldub nn tsentripigmentilt, mis PSII-s on P680 ja PSI-s P700 (tähistatud vastavalt lainepikkusele). Tsentripigment on tegelikult klorofüllide paar, ehk ‘dimeer’. Lisaks on läheduses veel nn. accessory Chlorophylls ja PSII-s feofütiin (ilma Mg-ta klorofüll). Lõpuks aga elektron stabiliseerub aktseptorpoolel kinooni molekulil ( $Q_A$  ja  $Q_B$  PSII-s,  $A_0$  ja  $A_1$  PSI-s). Huvitav, et teel risti läbi membraani on elektronil valida kahe sarnase raja (haru) vahel nii PSII-s kui ka PSI-s, kuid paistab, et seni teadmata põhjusel töötab aktiivselt ainult üks kahest harust.

Elektroni edasine teekond on fotosüsteemides erinev. PSII-s redutseerunud plastokinoon  $Q_B$  eraldub ja difundeerub membraani sees (kinoon lahustub lipiidis), seda asendab teine, oksüdeerunud kinoon. Redutseerunud kinoon difundeerub Cyt  $b_6f$  kompleksini, kus oksüdeerub andes elektroni edasi Cyt  $b_6f$  kompleksis olevatele heemidele Cyt f ja Cyt b. PSI-s liigub elektron edasi seotud FeS kandjatel  $F_x$ ,  $F_A$  ja  $F_B$  PSI valk-kompleksi sees, kuni jõuab samuti FeS tüüpi kandjale nimega *ferredoksiin*. See on esimene stroomas (väljaspool tülakoidi membraane) lahustuv elektronikandja, aga mõnedel andmetel osaleb elektrontranspordis aktiivselt

ainult tema seotud vorm. Lõplikuke elektroni aktseptoriks on siiski NADP, mis redutseerub ferredoksiinilt vastava Fd-NADP reduktaasi kaudu (Joonis 12.22)

Fotosüsteemid moodustavad tandemi. PSII lagundab vett, kannab elektroni plastokinoonile, see neutraliseerub sidudes stroomast prootoni, difundeerub tsütokroom  $b_6f$  kompleksile, kus oksüdeerub andes elektroni Cyt f kaudu plastotsüaniinile (PC), viimane difundeerub PSI juurde ja annab elektroni valgusenergia abiga ferredoksiinile (Fd) ja sealt edasi NADP -le. Prootonid eralduvad Cyt  $b_6f$  juures luumenisse, sest tsütokroomis  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$  ilma  $H^+$  kaasamata.

Fotosünteesi valgusreaktsioonide ahelas on järgmised tähtsad lülid

- 1) Elektroni ülekande PSII doonorpigmendilt P680 aktseptorkinoonidele  $Q_A$  ja  $Q_B$
- 2) Vee lagundamine ja oksüdeerunud P680 taasredutseerumine
- 3) Prootoni liitmine, plastokinooni  $QH_2$  eraldumine PSII-lt ja difundeerumine tsütokroom  $b_6f$  (Cyt  $b_6f$ ) kompleksi juurde
- 4) Q-tsükkel: Elektroni ülekande läbi Cyt  $b_6f$  koos sellega paardunud  $H^+$  vabanemisega tülakoidi luumenis.
- 5) Elektroni liikumine Cyt f -lt plastotsüaniinile (PC) ja sellelt PSI doonorpigmendile P700, (eelnevalt valguse poolt oksüdeeritud)
- 6) Elektroni ülekande läbi PSI ferredoksiinile (Fd) ja sealt NADP-le

Peaaegu kõikidel etappidel ülekantavate elektronide arv doonoris ja

aktseptoris on erinev, mis nõuab vastavate “akumulaatorite” olemasolu.

### **Vee lagundamise aparaat**

Kui klorella suspensiooni valgustati 5 mikrosekundiliste ksenoonvälkudega, siis  $O_2$  eraldus iga neljanda ajal, alguses aga kolmandal välgul. See tähendab, et neli elektroni kantakse ühekaupa üle mingist akumulaatorist, ja siis ühekorraga lagundatakse kaks vee molekuli, nii et eraldub  $O_2$ . Pimedas on esimene positsioon juba oksüdeeritud,  $O_2$  eraldub pärast esimest kolme välku.

Elektronid eemalduvad ühekaupa iga välgu ajal niisugusest 4 Mn kompleksist, mis akumuleerib 4 positiivset vakantsi, mis siis korraga täituvad 2  $H_2O$  oksüdeerimisel. Neid akumuleeruvaid  $e^-$  vakantse nimetatakse s-seisunditeks (s-states). On näidatud ka histidiin, mille kaudu  $e^-$  liiguvad P680+ re-redutseerima

### **Elektroni aktseptorid PSII-s**

Fotosüsteemis II on elektroni aktseptoriks plastokinoon. Kinooni molekuli taanduv/oksüdeeruv osa on sümmeetriline benseeni ring. Molekul on stabiilne olles kahelt poolt oksüdeeritud või taandatud (kinoon/kinool). Ühe elektroni taandades tekib semikinoon, milles hapniku vaba radikaal on ebastabiilne, energeetiliselt kõrgemal tasemel kui kinoon/kinool. Seega, kinoon on kahe elektroniline elektronikandja.

Fotosüsteemi II aktseptorpoolel on kaks kinooni,  $Q_A$  ja  $Q_B$ .  $Q_A$  on valgus kinni ja annab elektroni  $Q_B$ -le. Kui  $Q_B$ -l koguneb kaks elektroni, lisanduvad stroomast prootonid, neutraalne kinoon vabaneb ja difundeerub membraani lipiidfaasis (kinoonil on hügrofoobne saba) tsütokroom  $b_6f$  kompleksile, kus oksüdeerub, andes elektroni tsütokroomi rauale, prootonid vabanevad luumenisse

### Q-tsükkel

Q-tsükkel kasutab kinooni molekuli sümmeetria-omadust, mis võimaldab sobiva struktuurse organisatsiooni olemasolul  $e^-/H^+$  transpordisuhte kahekordistada.

Kinooni molekul on stabiilne (madalas energiaseisundis) olles redutseeritud/oksüdeeritud benseeni-ringi mõlemast küljest. Molekul on ebastabiilsem (negatiivsema redokspotentsiaaliga) kui redutseeritud on vaid üks külj. Tsütokroom võtab aga korraga vastu vaid ühe elektroni. Tekkiv ühepoolset redutseeritud semikinoon oleks võimeline redutseerima mõnda suhteliselt negatiivse redokspotentsiaaliga aktseptorit, kui niisugune oleks lähedal. Niisugune aktseptor ongi tsütokroom  $b_6f$  kompleksis olemas tsütokroom  $b_6$  näol. Tsütokroom  $b_6f$  kompleks on suur valk-kompleks mis sisaldab, lisaks suhteliselt positiivse redokspotentsiaaliga otsesele elektron-aktseptorile tsütokroom  $f$  (Cyt  $f$ ) veel kaks suhteliselt negatiivsema redokspotentsiaaliga tsütokroomi  $b_6$ . Cyt  $f$  asub membraani luumeni-külje lähedal, Cyt  $b_6$  asuvad aga teisel, strooma-poolisel küljel. Kui kinoonilt esimene elektron liigub Cyt  $f$  -le, siis otsekohe teine elektron redutseerib ühe Cyt  $b_6$ , mõlemad prootonid aga eralduvad luumenisse. Sama juhtub järgmise kinooniga, sest Cyt  $f$  on vahepeal oksüdeerunud, andes elektroni plastotsüaniinile, teine kahest Cyt  $b_6$ -st on aga veel elektronita ja redutseerub nüüd. Kaks Cyt  $b_6$  koos redutseerivad ühe oksüdeeritud kinooni, ja kuna see toimub strooma-küljel, siis prootonid kaasatakse stroomast. Selleks on Cyt  $b_6f$  kompleksis vastav strooma-poolne aktiivsait. See kinoon vabaneb ja sarnaselt iga teise topeltredutseeritud kinooniga oksüdeerub Cyt  $b_6f$  luumenikülgses saidis, andes ühe elektroni Cyt  $f$  -le ja teise jällegi Cyt  $b_6$  -le. Kokkuvõttes käib üks elektron ühe, teine kaks ja kolmas isegi kolm korda

läbi Cyt  $b_6f$  kompleksi, kandes igakord kaasa prootoni. Keskmiselt kannab Cyt  $b_6f$   $2H^+/e^-$  ehk  $8 H^+/4e^-$ . Lisades ka veel  $4 H^+/4e^-$  mis eraldusid vee lagundamisel, koguneb luumenisse  $12H^+/4e^-$ . Kui ATP sünteesiks tarbitakse  $12H^+/3ATP$ , siis nendest prootonitest jätkub täpselt  $3ATP/4e^-$  stöhhiomeetria hoidmiseks. Kui prootonikulu an aga  $14 H^+/ATP$  (mis on uute struktuuriandmete järgi võimalik), siis on ikkagi vajalik täiendav prootonite ülekanne.

Üks võimalusi täiendavaks prootonite ülekandeks on tsükliline elektrontransport. Selle käigus elektron ei liigu PSI aktseptorpoolelt mitte edasi ferredoksiinile ja NADPH-le, vaid pöördub tagasi, redutseerides veel kordokinooni. *Tsüklilise elektrontranspordi mehhanism ei ole selge, selge ei ole isegi mitte see, kui suure kiirusega ta tegelikult toimub.*

### **ATP süntaas**

Nagu öeldud, prootonid pumbatakse stroomast luumenisse elektrontranspordiga paaris, tagasi stroomasse ringlevad nad aga läbi ATP süntaasi, mis kasutab prootongradiendi energiat ATP sünteesiks. ATP süntaasi – täpsemalt  $CF_0$ - $CF_1$  ATPaasi - energiakonverter on tõepoolest sarnane lihtsa vesiveskiga, või pigem elektrimootoriga, mis ühe täispöörde kohta sünteesib 3 ATP molekuli. Prootonite kulu täispöörde kohta võib aga olla erinev sõltuvalt  $CF_0$  kompleksi moodustavate subühikiute arvust.

Membraanis asub tsentraalsümmeetriline süsteem,  $CF_0$  subkompleks, mis kaasaegse struktuur-analüüsi valguses koosneb 9 kuni 14-st ühesugusest subühikust, mis moodustavad ringikujulise prootonkanali, nii et igas subühikus on üks protoneeruv rühm. Et luumenist stroomasse pääseda, läbivad prootonid ridamisi kõik subühikud, tehes terve ringi. Ringi keskel on aga valk (nn.  $\gamma$ -proteiin), mis on samuti seotud prootonitega, aidates neid subühikute vahel edasi kanda nt. sel viisil, et vahepeal seob prootonid enda külge ja siis annab edasi  $CF_0$  kompleksi järgmisele subühikule. Tulemusena see valk pöörleb koos prootonite läbiliikumisega nagu elektrimootori rootor, tehes täispöörde kas 9, 12 või 14  $H^+$  läbimisel, vastavalt sellele, mitu subühikut on staatoris ( $CF_0$  kompleksis). Kui prootoneid kandev staator on uputatud membraani sisse, siis rootor ( $\gamma$ -valk) ulatub üht otsa pidi membraanist välja selle stroomapoolsel küljel. See ongi energiaülekande võll, mis ühendab prooton-mootorit tegeliku ATP süntaasiga.

Tegelik ATP süntees toimub strooma-küljele väljaulatuvas enam-vähem kerakujulises valk-kompleksis  $CF_1$ , milles on kuus subühikut paigutatud nagu apelsinilõigud. Kolm neist on aktiivsed ATP süntaasi ensüümid, kolm aga lihtsalt vahede täiteks, et täisringi moodustada. Rotorivõll ( $\gamma$ -valk) ulatub selle “apelsini” sisse, olles kontaktis kõikide



subühikutega. Ainult et mitte ühte viisi, vaid kontakt igaühaga kolmest ATP süntaasist on erinev, mõjutades erinevalt ATP süntaaside koformatsiooni. Üks neist on avatud aktiivtsentriga, mis on ootamas substraatide ADP ja Pi saabumist, mis suure afiinsusega seostuvad tsentri erinevates osades. Teine on oma aktiivtsentri juba sulgenud ja substraadid teineteisele nii tugevasti lähendanud, et ATP süntees on toimunud. See reaktsioonifaas on siiani kõige mõistatuslikum, arvatavasti neutraliseeritakse tugevad negatiivsete laengute vahelised tõukejõud valgu positiivsete rühmade sobiva asetuse abil, mis aga tekkinud ATP ensüümiga tugevasti seob. Kolmas tsenter on uuesti avanemas, et ATP sellest eralduks. Selleks on aga vajalik positiivsed laengud ATP negatiivsetest eemaldada, mis aga nõuab energiat. Just see on faas, milles tekkinud ATP muutub makro-energiliseks, kus fosfaatidevahelised tõukejõud enam positiivsete laengute poolt neutraliseeritud ei ole.

Rootori pidevalt pööreldes läbib iga ATP süntaas ühe täispöörde jooksul kõik kolm faasi, mille tulemusena 3 ATP-d sünteesitakse kas 9, 12 või 14 H<sup>+</sup> läbiminekul. Senised struktuuriuuringud näitavad mitokondriaalses ATP süntaasis kas 9 või 12, kloroplastis aga kas 12 või 14 subühikut staatoris. Seega on vastav ka prootonite kulu 3 ATP kohta.

ATP süntaas on pöörduv masin. Pöördreaktsioonis ATP-d hüdrolüüsides hakkab rootor pöörlema ja pumpab prootoneid stroomast luumenisse. Substraatide piisava kättesaadavuse korral on otse- ja pöördreaktsioonid elektrokeemilise prootongradiendiga termodünaamilises tasakaalus:

$$\Delta G_0 + RT \ln \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}][\text{P}_i]} = n \left( RT \ln \frac{[\text{H}_i]}{[\text{H}_s]} + F\Delta E \right), \quad (1)$$

kus  $n$  on ATP kohta kuluv prootonite arv,  $F$  Faraday arv ja  $\Delta E$  elektriline potentsiaalide vahe. Seos (1) tähendab, et suurema ATP/ADP suhte arendamiseks on vaja ka suuremat prootongradienti. Vastavalt sellele, kuidas metabolismi käigus muutub ATP/(ADP P<sub>i</sub>) suhe, muutub ka sellega tasakaalus olev prootongradient, vastavalt siis ka prootonite vasturõhk elektroni/prootoni ülekandele läbi Cyt b<sub>6</sub>f kompleksi. Seega, piirangud ATP tarbimise kiiruses põhjustavad ATP/(ADP P<sub>i</sub>) suhte tõusu ja sellega vastavuses ka tõuseb prootonite elektrokeemiline gradient. Tasakaaluline kontrollimehhanismi mudel eeldab, et prootonite elektrokeemiline gradient takistab omakorda elektronide voogu läbi Cyt b<sub>6</sub>f kompleksi, nii et elektronide voo kiirus PSII -> PSI vahel on keemilises tasakaalus ATP/ADP suhtega ja selle kaudu võimaliku CO<sub>2</sub> assimilatsiooni kiirusega. Nagu näeme, on siin üsna suur analoogia tasakaalulise hingamise kontrolli

mudeliga, kus arvatakse, et lihaspinge on tasakaalus lõppkokkuvõttes elektronide rõhuga Cyt  $b_6c$  kompleksil mitokondris.

Fotosünteesis on aga eriti huvitav niisugune olukord, kus kas ADP või  $P_i$  kontsentratsioon on nii madal, et substraati ootavasse ATP süntaasi aktiivtsentrisse seda ei saabu. Sellisel juhul loomulikult ATP süntes ei toimu, kuid rootor pöörleb ikkagi ja prootonid voolavad sellest läbi.

*Niisuguses äärmuslikus olukorras võib prootonite kulu ATP kohta suurenedada, millega kaasnevad ka probleemid  $3ATP/4e^-$  suhte hoidmisel. Sellisel juhul peab teatud osa elektrontranspordist töötama ainult ATP puudujäägi katmiseks, mitte aga taandama süsinikku.*

## 2.7 Üldine ja kanaliseeritud prootontransport

Valemis (1) esinevad prootonite kontsentratsioonid luumenis ja stroomas,  $H_1$  ja  $H_s$ , mida tavaliselt väljendatakse vastavate pH väärtuste kaudu. Katsed on näidanud, et ATP süntees reageerib üllatavalt kiiresti elektrontranspordi muutusele, nii nagu prootoneid mahutav luumeni ruumala oleks väga väike. Ongi selgunud, et kanaliseeritud prootonite ülekanne valkude protoneeritavate rühmade vahel ei toimu mitte ainult ATP süntaasi  $CF_0$  subühiku staatoris, vaid ka Cyt  $b_6f$  prootoneid eraldavatelt saitidelt (tõenäoselt ka PSII vett lagundavatelt saitidelt) otse ATP süntaasidele. Prootonid liiguvad kanaliseeritult piki membraani luumenipoolset külge, kusjuures  $Ca^{2+}$  sillad katavad kanaleid, takistades prootonite eraldumist kanalist ja tasakaalustumist luumeni keskmise pH-ga. Selle tulemusena on tekkiv prootonite vasturõhk ATP süntaasil praktiliselt otsekohe seesama ka Cyt  $b_6f$  -il. Teatud tingimustel, näiteks kui prootonite rõhk kanalisis on suurem kui ülevoolu piiri,  $Ca^{2+}$  sillad katkevad ja prootonid väljuvad luumenisse. *Seda nähtust vaadeldakse siiani lihtsalt kui kõrgest  $H^+$  rõhust tingitud ülevoolu nähtust, meie katsetest aga hakkab selguma, et sellel protsessil võib olla keerukam regulatoorne iseloom.* Luumeni keskmine pH nimelt reguleerib, klorofüllil hoidvate valkude protoneerumise kaudu, valgus-ergastuse sattumist fotosüsteemi tsentripigmendile. *Ei ole välistatud, muuseas, et samasugune süsteem võib reguleerida elektron-transpordi kiirust ka mitokondrites, sest andmeid  $Ca^{2+}$  osaluse kohta mitokondriaalse elektrontranspordi regulatsioonis on olemas.*

Nagu nägime, on membraanis neli suuremat kompleksi: fotosüsteemid II ja I (PSII ja PSI), nende vahel elektrone piki membraani edasiandev ja samal ajal prootoneid risti membraani läbi kandev tsütokroom  $b_6f$  (Cyt  $b_6f$ ) ja, lõpuks, ATP süntaas, mis prootonid uuesti välja laseb ja nende energia arvel ATP-d sünteesib. PSII ja Cyt  $b_6f$  vahel kannab elektrone membraani sees

difundeeruv plastokinoon, Cyt  $b_6f$  ja PSI vahel aga kannab elektrone luumenis difundeeruv plastotsüaniin. Need kaks liikuvat elektronikandjat asuvad erinevates kompartmentides, et mitte 'lühist' tekitada, s.t. mitte võimaldada elektronidel Cyt  $b_6f$  kompleksist mööduda.

Kokku jääb iga elektroni kohta luumenisse kolm prootonit ( $3H^+/e^-$ ), millest üks eraldus vee lagundamisel ja kaks seoses plastokinooli oksüdeerimisega Cyt  $b_6f$  kompleksil. Nelja elektroni kohta transporditakse  $12 H^+$ , mis võimaldavad sünteesida 3 ATP. Niiviisi, koos nelja elektroni jõudmisega transportahela lõppu (2 NAPH sünteesiga) sünteesitakse paralleelselt ka 3 ATP, stöhiomeetriliselt vajalik hulk ühe  $CO_2$  sidumiseks.

NADPH ja ATP sünteesiga lõpevad nn valgusreaktsioonid. Neid kofaktoreid kasutatakse nn. pimereaktsioonides, milles toimub  $CO_2$  taandamine, suhkru ja tärklise süntees. Aktseptorpoolel taandatakse NADPH vahendusel bisfosfoglutseraati (BPGA). Viimane aga tekib  $CO_2$  assimilatsioonil fosfoglutseerhapest (PGA), mis fosforüülitakse ATP abil.