

Fotosüntees toimub rohelises lehes (ka vetikates ja mõnedes bakterites, aga meie tegeleme ainult lehtedega). Leht on suure pindalaga, õhuke, seest poorne struktuur, mis on kahelt poolt piiratud tiheda epidermiga, milles on vaid üksikud õhulõhed. Niisugune ehitus kindlustab valguse neelamise ja gaasivahetuse laialt pinnalt pluss gaaside kiire difusiooni lehe sisemuses. Kloroplastid, milles toimubki fotosüntees, on raku sees asuvad organellid, mis on tihedasti surutud vastu raku välismembraani, et CO<sub>2</sub> difusioonitee raku vedelikus oleks võimalikult lühike (joonis).



Joonis: Lehe sise-ehtus.

Kloroplast on umbes 3-5 µm mõõduga neerukujuline organell, mis on ümbritsetud kahekordse membraaniga ja mille sees on väga tihe membraanstruktuur, nn tülakoidid.

Joonis: Buchanan 12.1

### **Pimereaktsioonid. CO<sub>2</sub> liikumine õhust lehte.**

Süsihappegaasi on õhus väga vähe. Tema kontsentratsioon on ainult umbes 15 µM, samal ajal kui enamik rakusiseseid metaboliite esineb millimolaarsetes kontsentratsioonides. Seetõttu on CO<sub>2</sub> kättesaamine õhust üks peamisi fotosünteesi kiirust piiravaid protsesse.

CO<sub>2</sub> siseneb lehte difusiooni teel õhulõhede kaudu.



Õhulõhe pikkus on umbes 10 ja laius 3-6  $\mu\text{m}$ . Õhulõhesid on 5000-10000 tükki  $\text{cm}^2$  kohta ja kuigi nad moodustavad lehe pinnast ainult 1-2%, võimaldavad nad piisavalt kiiret difusiooni (kui avade pidala suurendada 5 –10%-ni, jääb difusiooni piiravaks juba pinnalähedane piirkiht). Jõudnud lehe sisse, difundeerub  $\text{CO}_2$  kiiresti laiali rakkudevahelistes õhuruumides, mida on 30 – 50% lehe ruumalast.  $\text{CO}_2$  liikumise viimane etapp hõlmab lahustumise rakuseina vedelikus ja difusiooni vedelas faasis kuni ensüümini, mis  $\text{CO}_2$  seob ja muudab taandamiseks valmisolevateks vaheproduktideks. Kiire fotosünteesi korral moodustab  $\text{CO}_2$  kontsentratsiooni langus

Õhulõhe kaheidulehelisel difusiooniteel poole või rohkem kogu kontsentratsioonist, nii et  $\text{CO}_2$  siduv ensüüm töötab 5-7  $\mu\text{M}$   $\text{CO}_2$  kontsentratsiooniga. Meie labori üks esimesi saavutusi oli  $\text{CO}_2$  difusioonitingimuste täpne arvestmine, mis võimaldas  $\text{CO}_2$  kontsentratsiooni rakkude sees, ensüümi aktiivsaite lähedal, välja arvutada. Teades tegelikku  $\text{CO}_2$  kontsentratsiooni oli edaspidi võimalik teha kineetilist analüüsi, kus reaktsiooni kiirus (s.o. fotosünteesi kiirus) seoti substraadi, (s.o.  $\text{CO}_2$ ) kontsentratsiooniga.

### **Rubisco**

Rubisco on  $\text{CO}_2$  siduv ensüüm. Oma nime on ta saanud lühendina pikemast: *ribuloosbisfosfaadi karboksülaas-oksügenaas*. Rubisco on väga suur ensüüm. Ta koosneb 8 suuremast (56 kDa) ja 8 väiksemast (14 kDa) subühikust, mis kokku annavad molekulmassiks 560 kDa.

Joonis: Buchanan 12.39

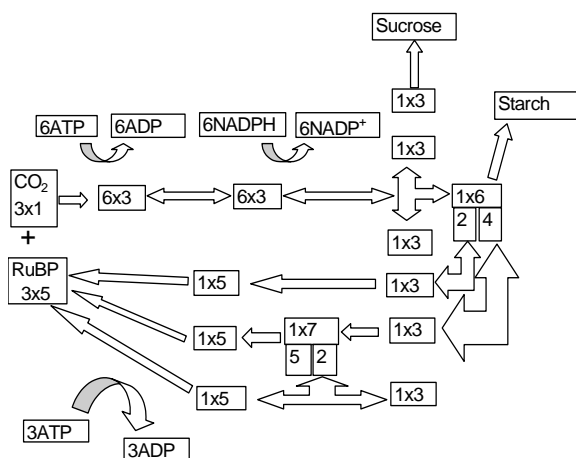
Kuigi tal on ka 8 aktiivsaiti, on ta siiski väga aeglane ensüüm, tehes umbes 3–6 reaktsiooni sekundis saidi kohta. Arvestades ka CO<sub>2</sub> ülimadalat kontsentratsiooni ei ole imestada, et vähegi mõistliku CO<sub>2</sub> sidumise kiiruse saavutamiseks peab ensüümi väga palju olema. Taimelhtedes moodustab Rubisco tihti 30–50% lahustuvast valgust ja 14–25% koguvalgust. Seetõttu on Rubisco uurijad uhkeldanud, et nende objekt on universumi kõige hulgalisemalt levinud valk.

Karboksüülimine tähendabki CO<sub>2</sub> sidumist substraadile, mille nimi on ribuloosbisfosfaat. See on kahekordselt fosforüülitud (kahe lisatud fosforhappe jäägiga) viiesüsinikuline suhkur, millele reaktsiooni käigus lisandub veel üks süsinik CO<sub>2</sub> näol. Tekkinud kuuesüsinikuline produkt laguneb otsekohe kaheks kolmesüsinikuliseks, mis oma taandusastmelt on orgaanilised happed. Need ongi elektrone vastuvõtva substraadiks, et saada muudetud kolmesüsinikuliseks suhkruks. Siinkohal tuleb meelde, et ühekaupa ei saa CO<sub>2</sub> taandada, kuna vaheprodukt sipelgahappe aldehüüd on mürgine ja ebastabiilne. Seetõttu ongi kogu CO<sub>2</sub> taandamise biokeemia üles ehitatud 3-5 süsinikulistele vaheühenditele.

CO<sub>2</sub> sidumise biokeemilist tsüklit e. nn. Calvini tsüklit võib mõtteliselt jagada kolmeks osaks: CO<sub>2</sub> aktseptori karboksüülimine (CO<sub>2</sub> sidumine), taandamine (suhkru moodustamine) ja aktseptori regeneratsioon.

Joonis Buchanan 12.40

Joonisel on ka näha, et lisaks taandavale (elektrone üle kandvale) jõule (NADPH) vajatakse reaktsioones veel ATP, mis valmistab karboksüülimise produktid (orgaanilised happed) ette taandamiseks ja regenereerib kaks korda fosforüülitud aktseptori. Regeneratsiooniosa tsüklit on suhteliselt keeruline, sest siin tehakse viiest kolmesüsinikulisest kolm viiesüsinikulist suhkrut.



Kõrvaloleval joonisel on skemaatiliselt kujutatud CO<sub>2</sub> taandamise tsüklis toimuvad süsinikuskeleti muundumised koos NADPH ja ATP manulusel toimuvate reaktsioonidega.

Fotosünteesi kiirus on looduses väga sageli piiratud CO<sub>2</sub> madala difusioonikiirusega, mis juhtub eriti siis, kui õhulõhed on veepuudusel vähe avatud. Niisuguses olukorras Rubisco funktsioneerib oma kineetilise kõvera algsas, kus CO<sub>2</sub> siumise kiirus on veel proportsionaalne tema kontsentratsiooniga. RuBisco  $K_m$  (CO<sub>2</sub>) on umbes 10 μM, tüüpiline rakusisene CO<sub>2</sub> kontsentratsioon on 5 μM.

### Fotohingamine

Lisaks vähendab tegelikku CO<sub>2</sub> sidumise kiirust veel see, et lisaks CO<sub>2</sub>-le võib Rubisco abil ribuloosbisfosfaadile liituda ka hapnik, O<sub>2</sub>. Seetõttu kutsutaksegi ensüümi karboksülaas-oksügenaasiks. Kuigi reaktsioonikonstant O<sub>2</sub> ga on umbes 2000 korda aeglasem kui CO<sub>2</sub> ga, on O<sub>2</sub> kontsentratsioon vastavalt jälle suurem, nii et umbes kolmandikul juhtudel toimubki reaktsioon O<sub>2</sub>-ga. Seejuures tekivad viiesüsinikuline produkt laguneb 2 ja 3-süsinikuliseks. Viimane taandatakse, nagu ikka fotosünteesis, kahe süsinikuline produkt (fosfoglükolaat) aga viiakse metabolismiahelasse, kus kaks molekuli liidetakse kokku, saades 4C ühendi, ja siis eraldatakse CO<sub>2</sub>, nii et järele jääb 3C ühend. Viimane muudetakse jällegi fotosünteesimehhanismis taandatavale kujule, CO<sub>2</sub> aga väljub lehest (või reassimileeritakse). Niisugune fotosünteesiga samaaegselt toimuv CO<sub>2</sub> eraldumine sai nimeks fotohingamine, sest ta toimub ainult siis kui toimub fot süntees. Fotohingamise tulemusena ei lähe fotosünteesi kiirus nulli mitte siis kui CO<sub>2</sub> läheb nulli, vaid juba kõrgema CO<sub>2</sub> kontsentratsiooni juures. See nn kompensatsioonipunkt on proportsionaalne O<sub>2</sub> kontsentratsiooniga.

