



### Box 1 | The discovery of photosynthesis

In 1772, Joseph Priestley described how oxygen is consumed by combustion or by respiration using a burning candle, or a live mouse, in a closed glass jar. His discovery predated the term oxygen, which was coined by Lavoisier<sup>20,21</sup>. The results were reported in a paper entitled 'Observations on Different Kinds of Air':

"...I flatter myself that I have accidentally hit upon a method of restoring air which has been injured by the burning of candles, and that I have discovered at least one of the restoratives

which nature employs for this purpose. It is vegetation. In what manner this process in nature operates, to produce so remarkable an effect, I do not pretend to have discovered; but a number of facts declare in favour of this hypothesis...

"One might have imagined that, since common air is necessary to vegetable, as well as to animal life, both plants and animal had affected it in the same manner; and I own that I had that expectation, when I first put a sprig of mint into a glass-jar, standing inverted in a vessel of water; but when it had

continued growing there for some months, I found that the air would neither extinguish a candle, nor was it at all inconvenient to a mouse, which I put into it.

"...Accordingly, on the 17th of August 1771, I put a sprig of mint into a quantity of air, in which a wax candle had burned out, and found that, on the 27th of the same month, another candle burned perfectly well in it. This experiment I repeated, without least variation in the event, not less than eight or ten times in the remainder of the summer." J.F.A. & W.M.

## NEWS & VIEWS FEATURE

### EVOLUTIONARY BIOLOGY

# Out of thin air

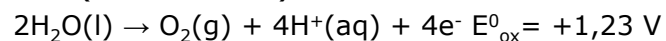
John F. Allen and William Martin

The invention of oxygenic photosynthesis was a small step for a bacterium, but a giant leap for biology and geochemistry. So when and how did cells first learn to split water to make oxygen gas?

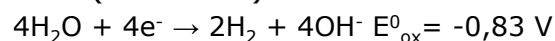
## Decomposizione dell'acqua

- La decomposizione dell'acqua in idrogeno ed ossigeno in condizioni standard è una reazione sfavorita in termini termodinamici, poiché entrambe le semireazioni che intervengono hanno potenziali negativi

Anodo (ossidazione):

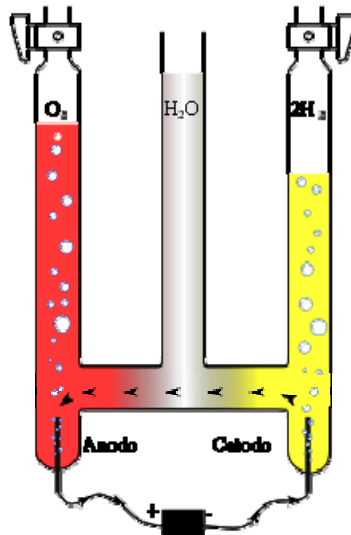


Catodo (riduzione):



- Utilizzando l'equazione  $\Delta G = -nFE$ , l'energia libera di Gibbs per il processo in condizioni standard vale 474.4 kJ, il che traduce la non spontaneità della reazione.

## Decomposizione dell'acqua

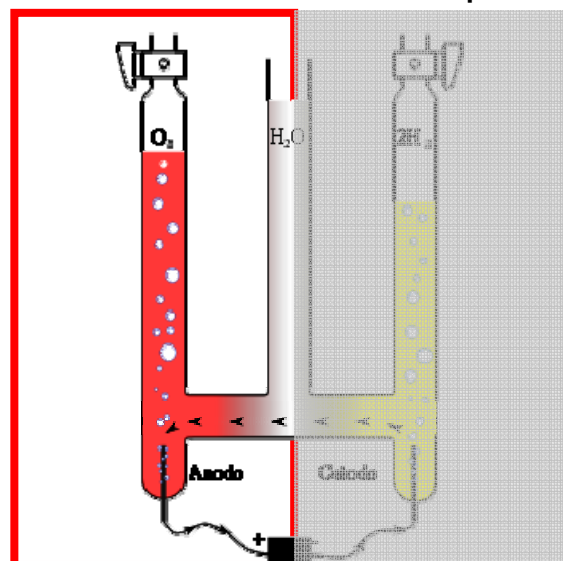


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 5 -

## Ossidazione dell'acqua

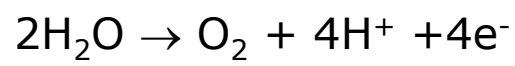


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

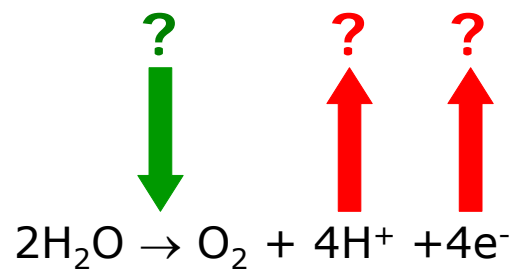
- 6 -

## Ossidazione dell'acqua



$$\Delta G^\circ = + 474.4 \text{ kJ}$$

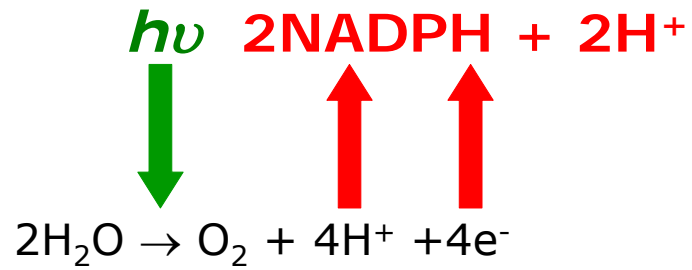
## Ossidazione dell'acqua



$$\Delta G^\circ = + 474.4 \text{ kJ}$$



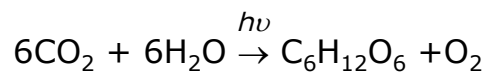
## Ossidazione dell'acqua



$$\Delta G^\circ = + 474.4 \text{ kJ}$$

## Fotosintesi

È il processo che permette di formare carboidrati da  $\text{CO}_2$  a spese dell'energia luminosa.



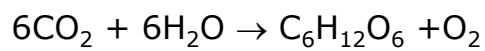
FISSAZIONE DELL'ANIDRIDE CARBONICA

# Fotosintesi

- La fotosintesi viene assimilata alla fissazione della CO<sub>2</sub>,

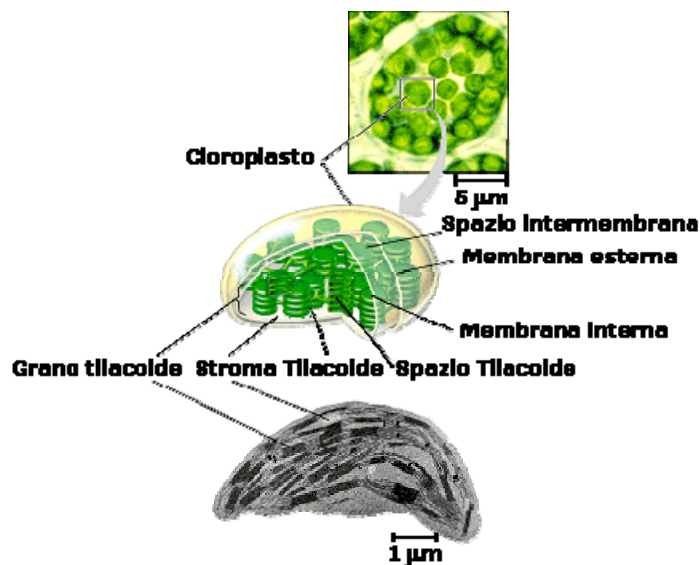
- L'energia chimica derivata dall'energia luminosa può essere utilizzata per altri processi cellulari (assimilazione di azoto e zolfo).

- Il processo

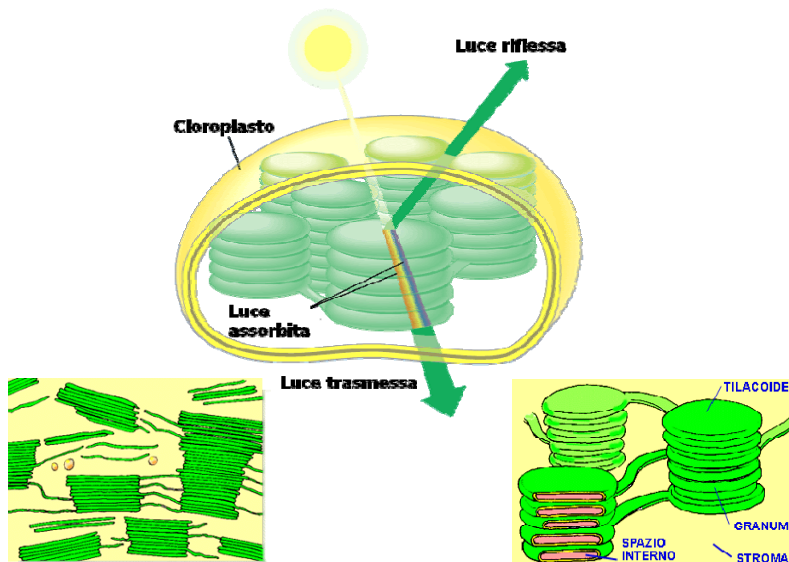


- È il contrario del metabolismo dei carboidrati,
- È un processo endoergonico che avviene nei cloroplasti.

# Cloroplasti



# Cloroplasti



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 13 -

# Cloroplasti

- La fotosintesi avviene all'interno del tilacoide,
- La membrana del tilacoide è come la membrana mitocondriale
  - Impermeabile a ioni e molecole
- Come i mitocondri i cloroplasti hanno un proprio DNA, RNA e ribosomi

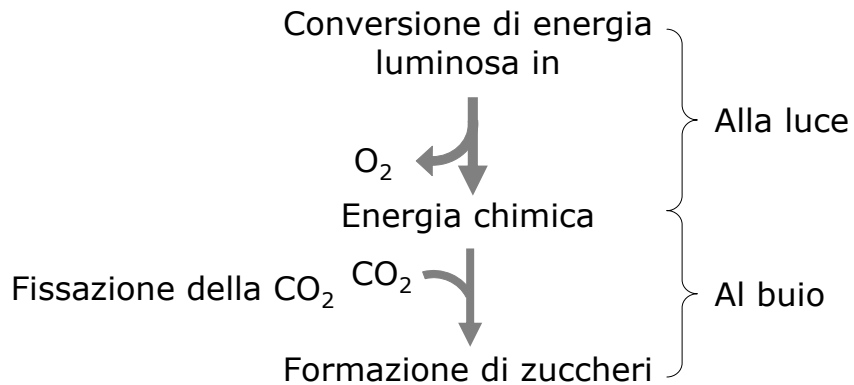
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 14 -

## Processo fotosintetico

- La fotosintesi è un processo che è formato da due serie di reazioni:



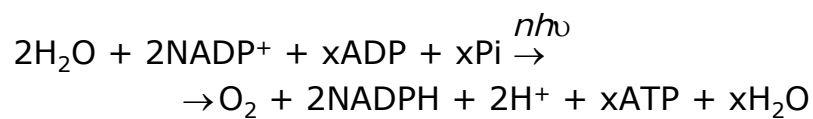
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

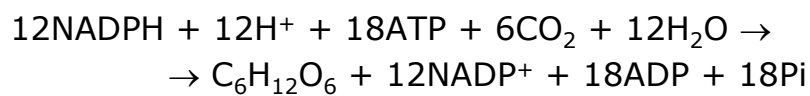
- 15 -

## Processo fotosintetico

### Fase luminosa



### Fase buia



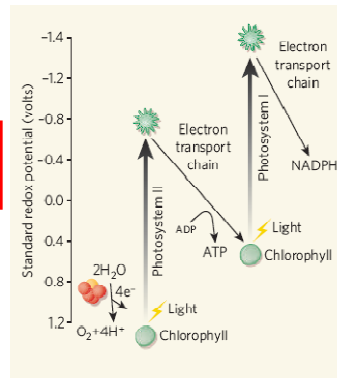
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 16 -

The oxygen that gives us the breath of life is renewed by sunlight falling on plants, algae and a particular class of bacterium called cyanobacteria — all of which produce molecular oxygen (O<sub>2</sub>) as a waste product of photosynthesis (Fig. 1). Biologists agree that cyanobacteria invented the art of making oxygen<sup>2</sup>, but when and how this came about remain uncertain.

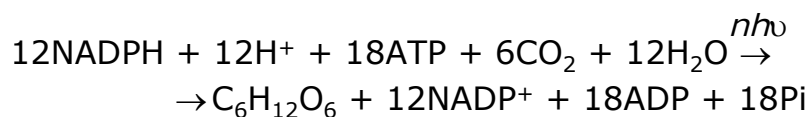
Oxygenic photosynthesis involves about 160 proteins that are highly ordered within the photosynthetic membranes of the cell. The main players are two molecular machines, photosystem I and photosystem II, that act as electrochemical solar cells. With the help of chlorophyll (the pigment that makes plants green), they transform sunlight into electrical current (Fig. 1). Photosystem II generates an electrochemical potential of +1.1 volts, enough to remove two electrons from each of two water molecules, making a molecule of O<sub>2</sub> at a cost of four photons — one for each electron moved. Photosystem II performs this remarkable feat only when photosystem I is present to dispose of the electrons. Photosystem I grabs the four electrons and uses four more photons to deposit them, in two pairs, on an electron carrier called NADP<sup>+</sup>. NADP<sup>+</sup> ultimately transfers the electrons to carbon dioxide, thereby providing the



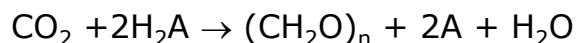
energy to make carbon-based sugars and the other molecules of life: light makes life and oxygen out of water and thin air.

## Processo fotosintetico

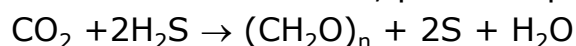
Fase buia



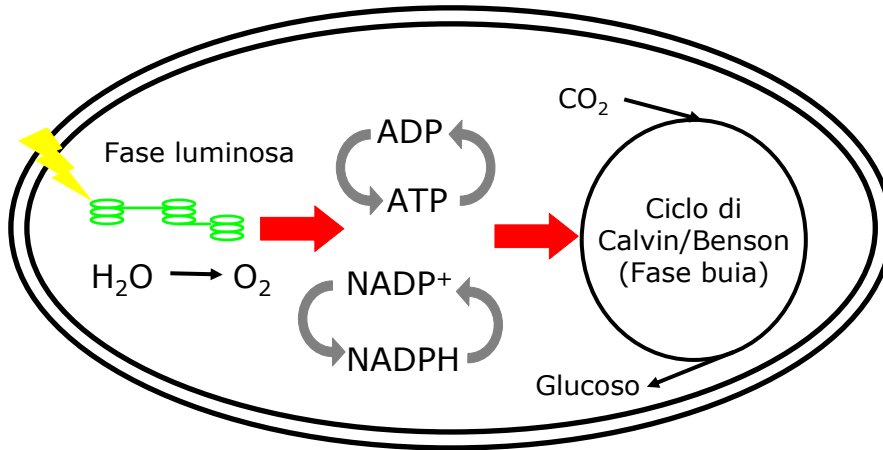
- In questo caso è l'acqua il donatore finale di elettroni, più in generale:



- Nei solfobatteri fotosintetici, per esempio:



# Fotosintesi



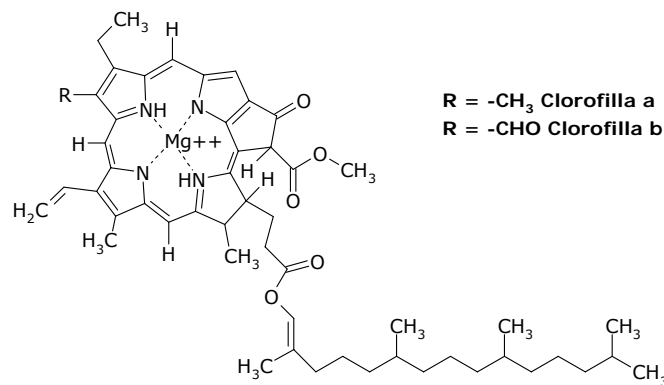
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 19 -

# Clorofilla

- I pigmenti fotosintetici in grado di assorbire luce sono, principalmente, le clorofille:



R = -CH<sub>3</sub> Clorofilla a  
R = -CHO Clorofilla b

Catena laterale idrofobica di fitolo

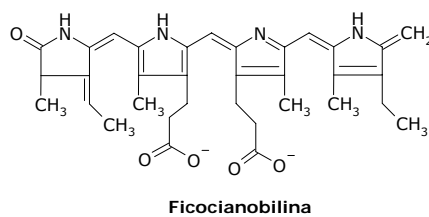
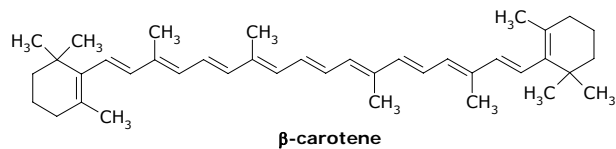
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 20 -

## Pigmenti accessori

- Ci sono poi altri pigmenti fotosintetici "accessori" che permettono una maggiore efficienza dell'assorbimento:

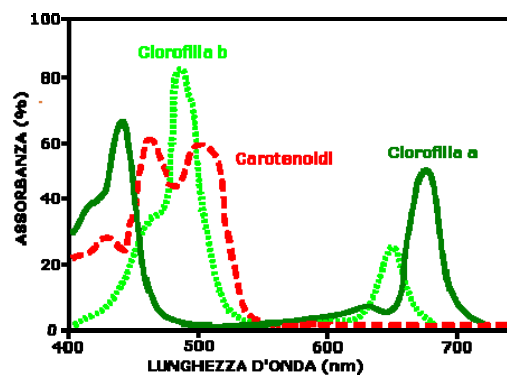


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 21 -

## Spettri di assorbimento



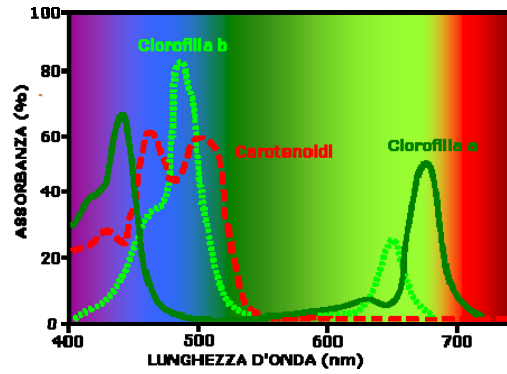
- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 22 -

## Spettri di assorbimento



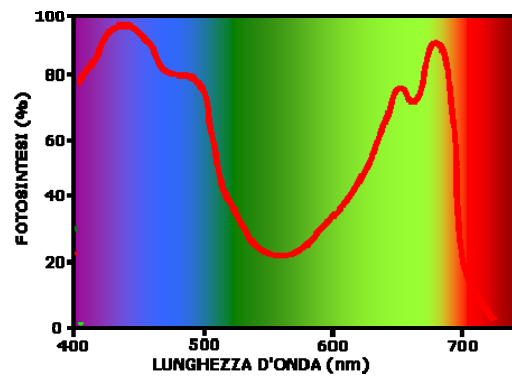
- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 23 -

## Spettri di assorbimento



- L'efficienza della fotosintesi è massima alle estremità dello spettro della luce visibile

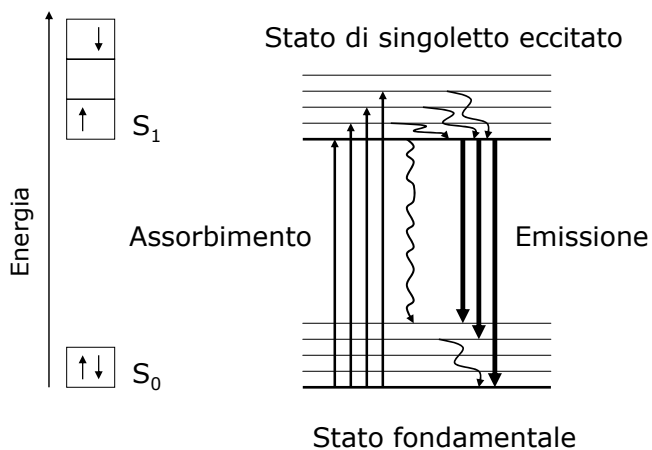
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 24 -



# Le transizioni elettroniche

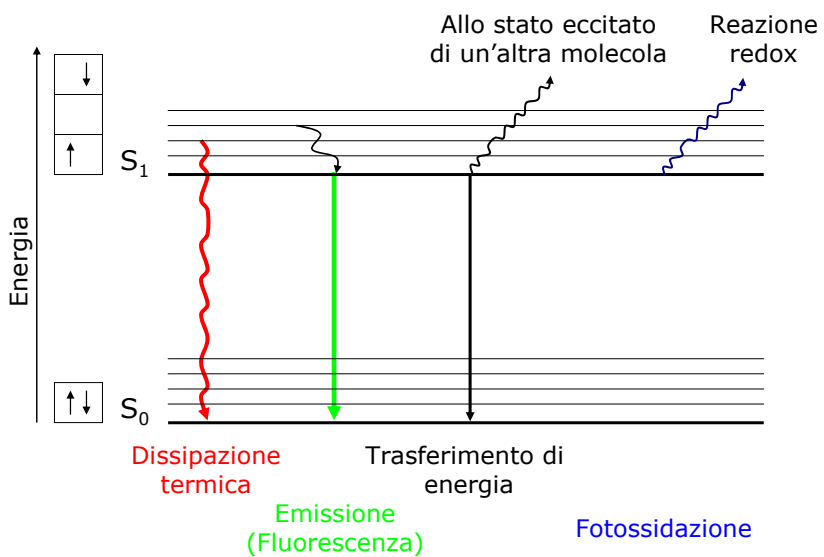


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 25 -

# Disattivazione dello stato eccitato



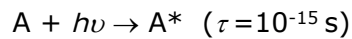
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 26 -

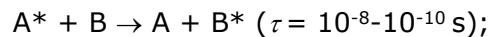
## Reazioni allo stato eccitato

- Assorbimento, formazione dello stato eccitato:

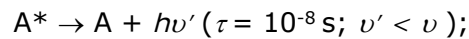


- Disattivazione dello stato eccitato:

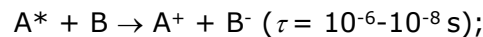
- Energy transfer:



- Emissione di luce (fluorescenza):



- Reazione redox:



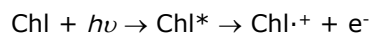
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

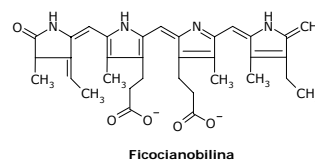
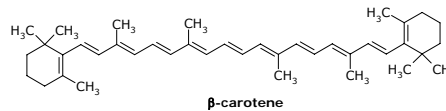
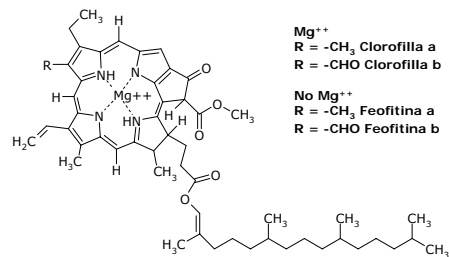
- 27 -

## Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di sistemi elettronici  $\pi$  coniugati.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:



- Il  $\text{Mg}^{++}$  non cambia numero di ossidazione.



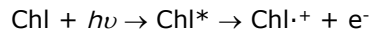
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

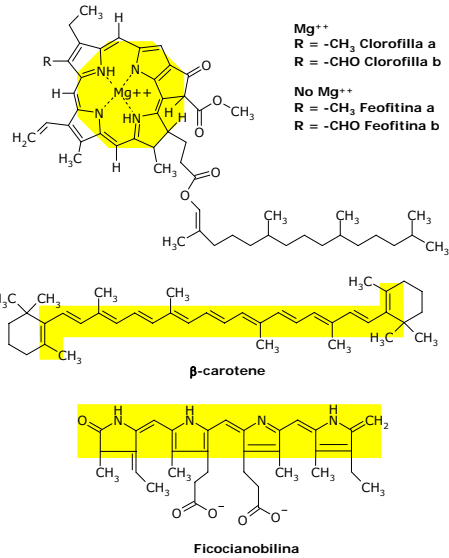
- 28 -

## Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di sistemi elettronici  $\pi$  coniugati.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:



- Il  $\text{Mg}^{++}$  non cambia numero di ossidazione.



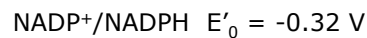
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

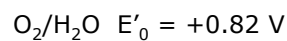
- 29 -

## Riduzione e ossidazione

- La fotosintesi consiste nella riduzione del  $\text{NADP}^+$  a spese degli  $e^-$  ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il  $\text{NAD}^+$  è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .



- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .

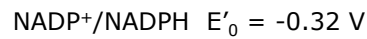
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

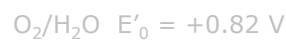
- 30 -

## Fotosistema I (PSI)

- La fotosintesi consiste nella riduzione del  $\text{NADP}^+$  a spese degli  $e^-$  ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il  $\text{NAD}^+$  è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .



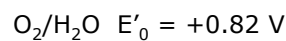
- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .

## Riduzione e ossidazione

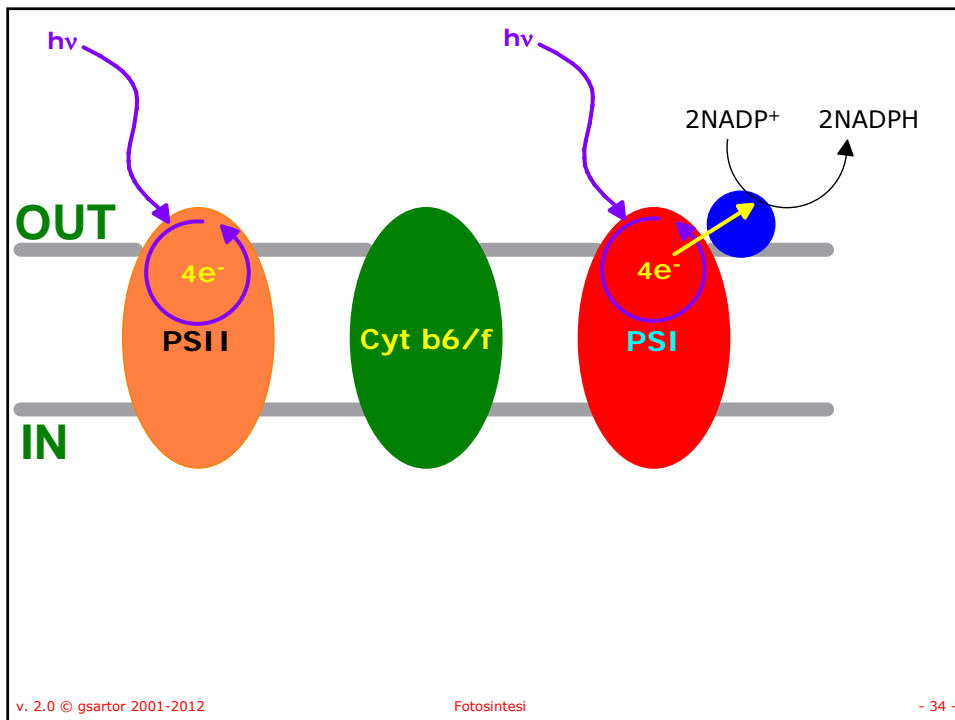
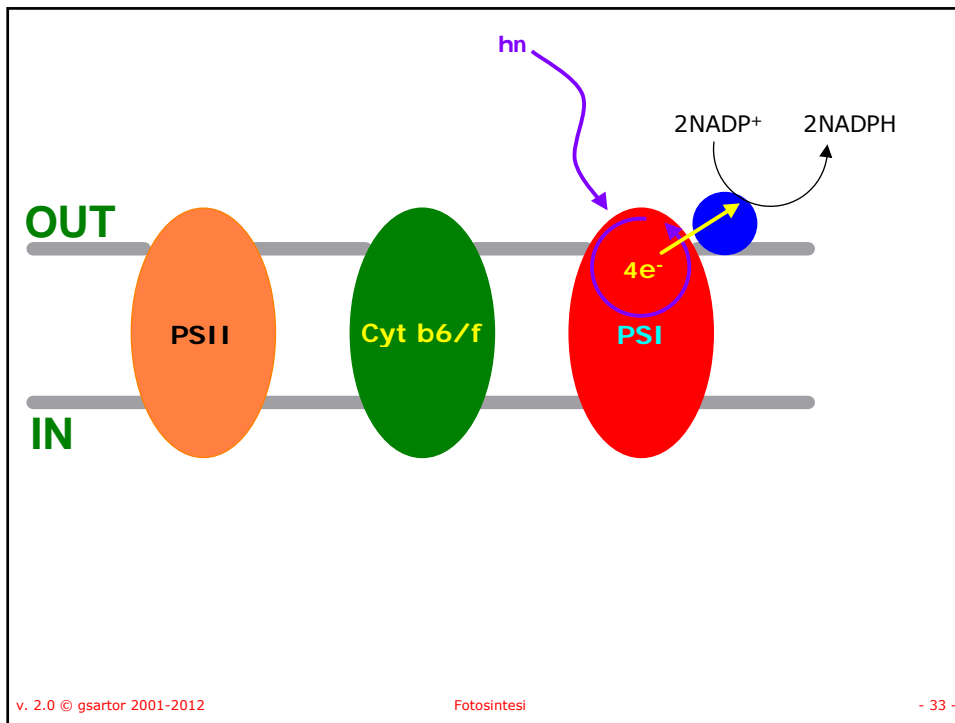
- La fotosintesi consiste nella riduzione del  $\text{NADP}^+$  a spese degli  $e^-$  ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.

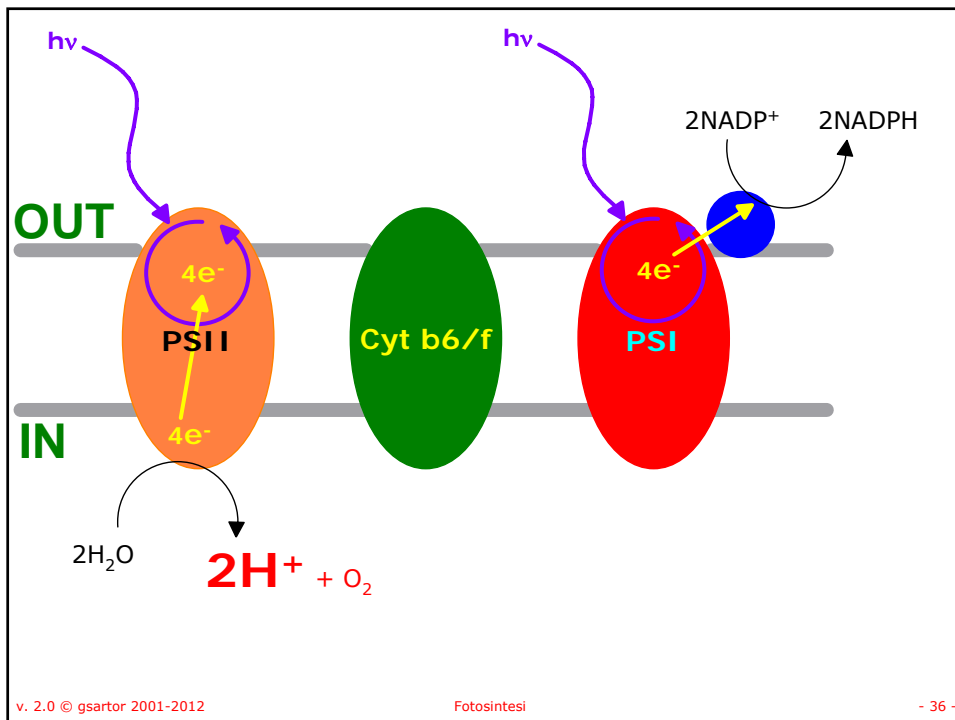
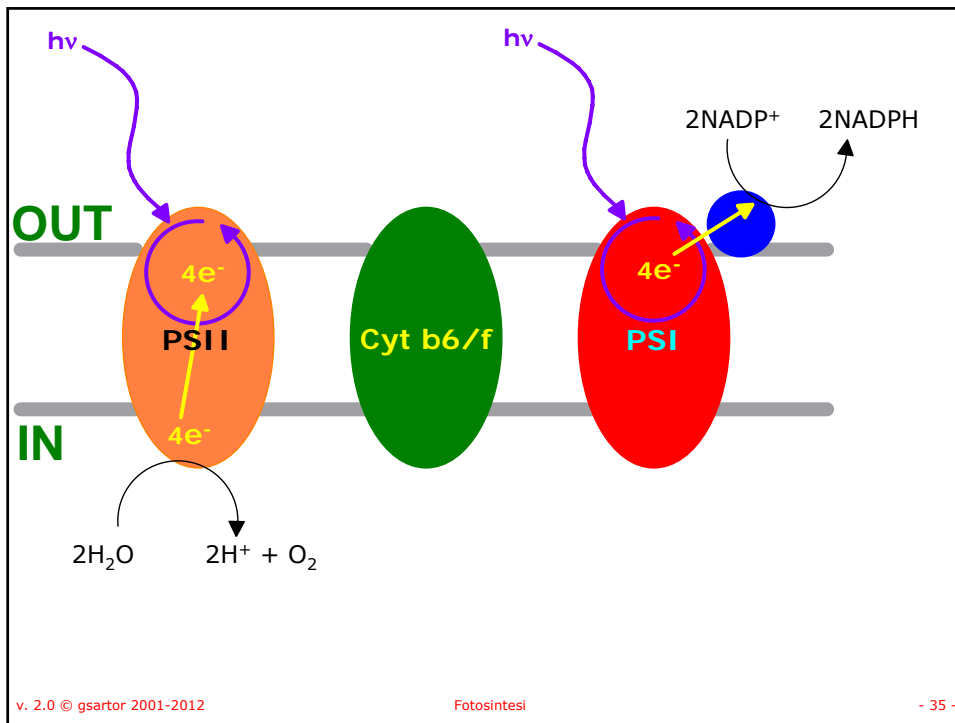
## Fotosistema II (PSII)

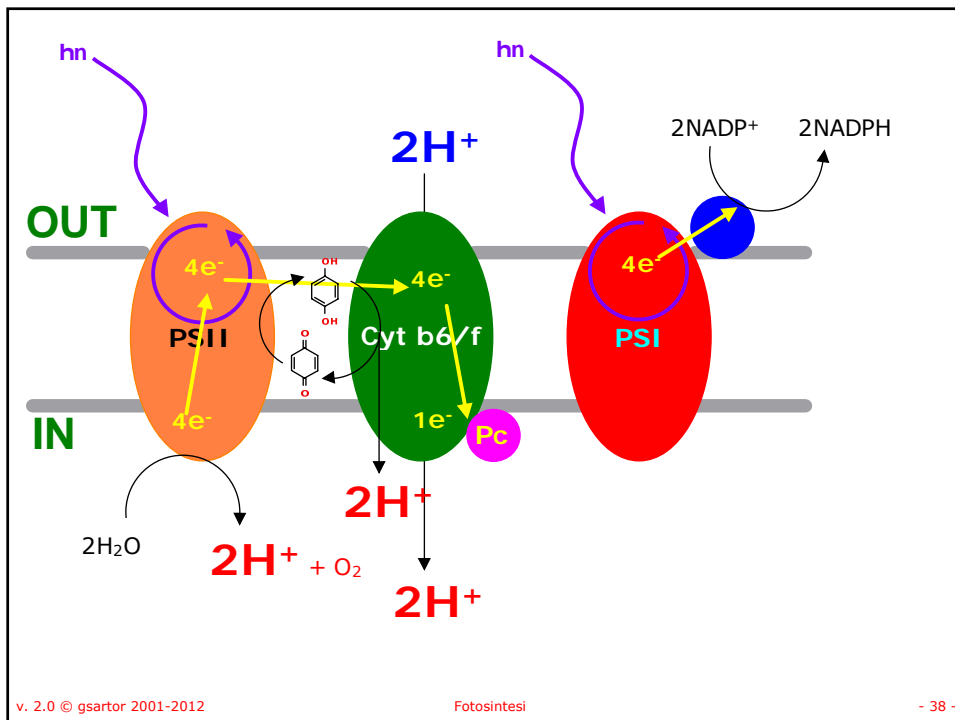
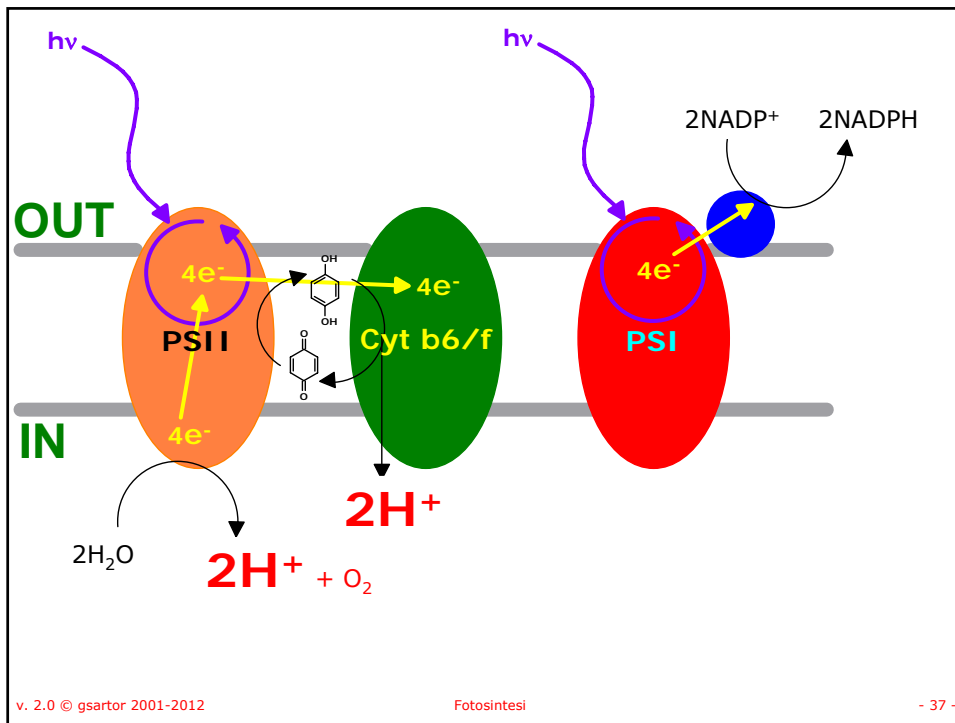
- Per ridurre il  $\text{NAD}^+$  è necessario un riducente con  $E'_0 < -0.32 \text{ V}$ .

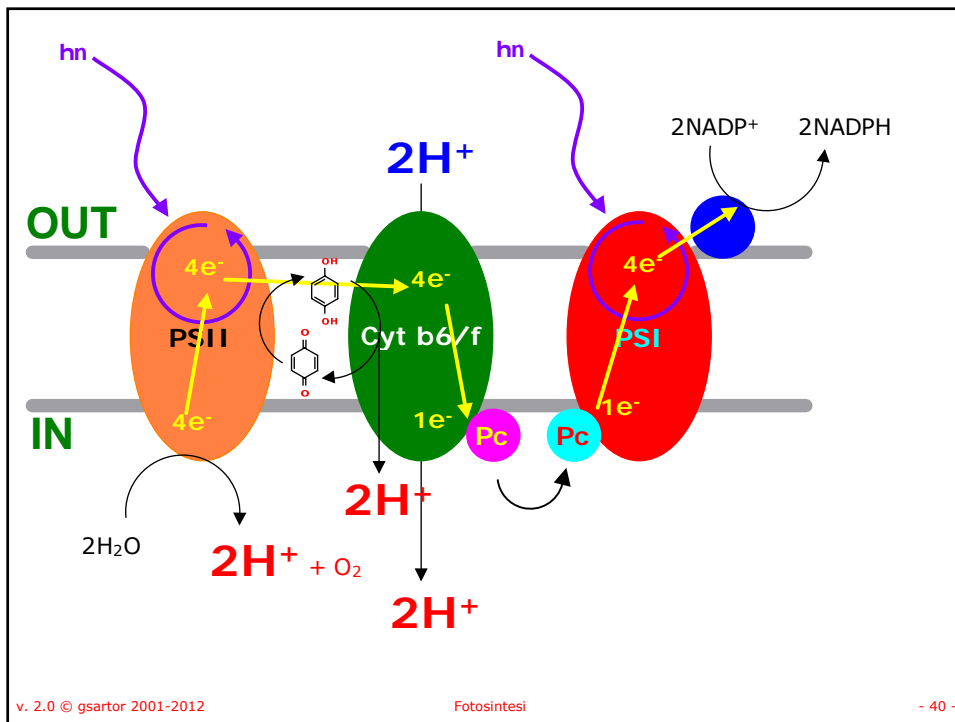
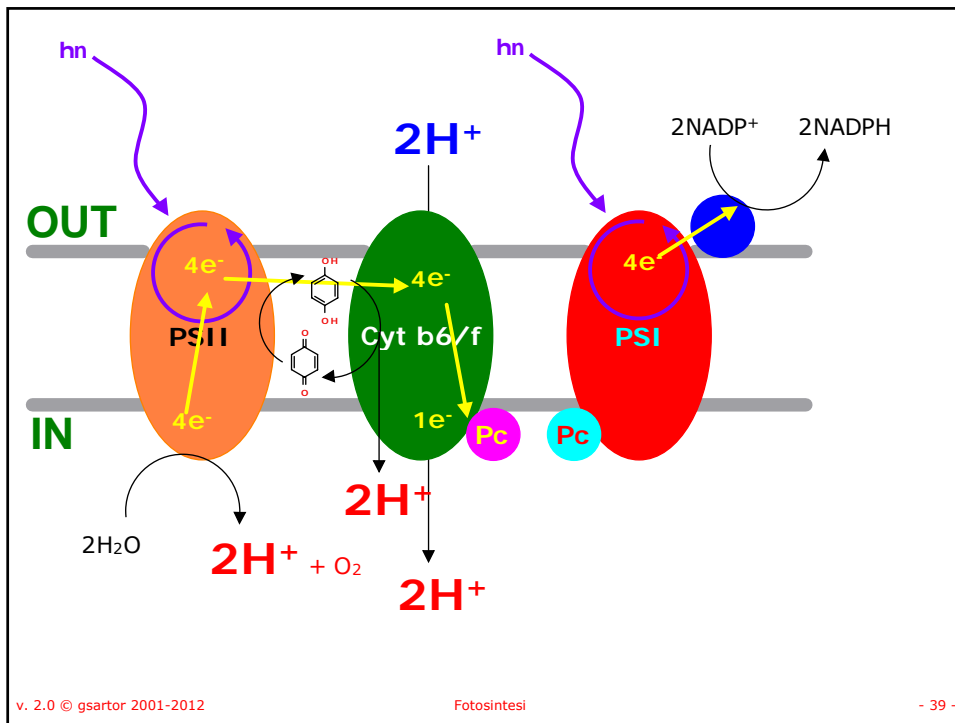


- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con  $E'_0 > 0.82 \text{ V}$ .

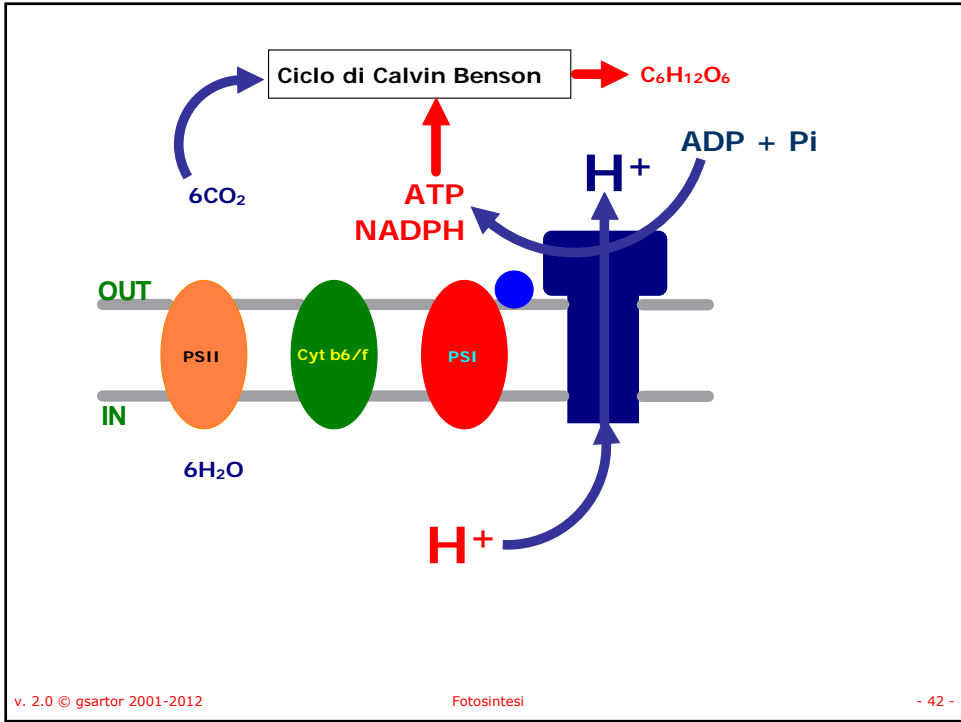
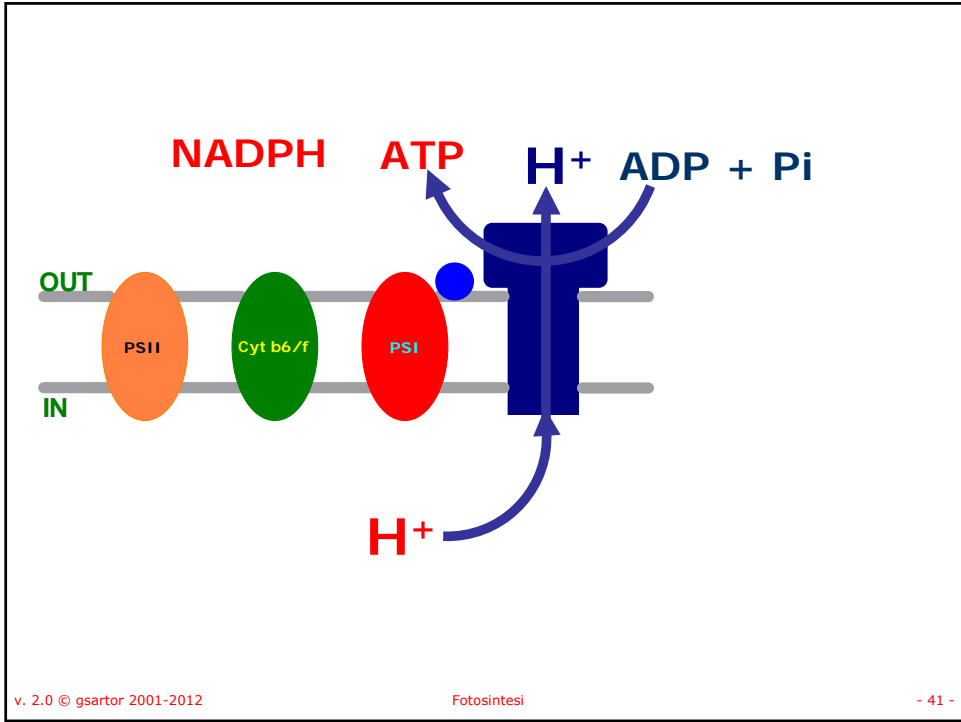


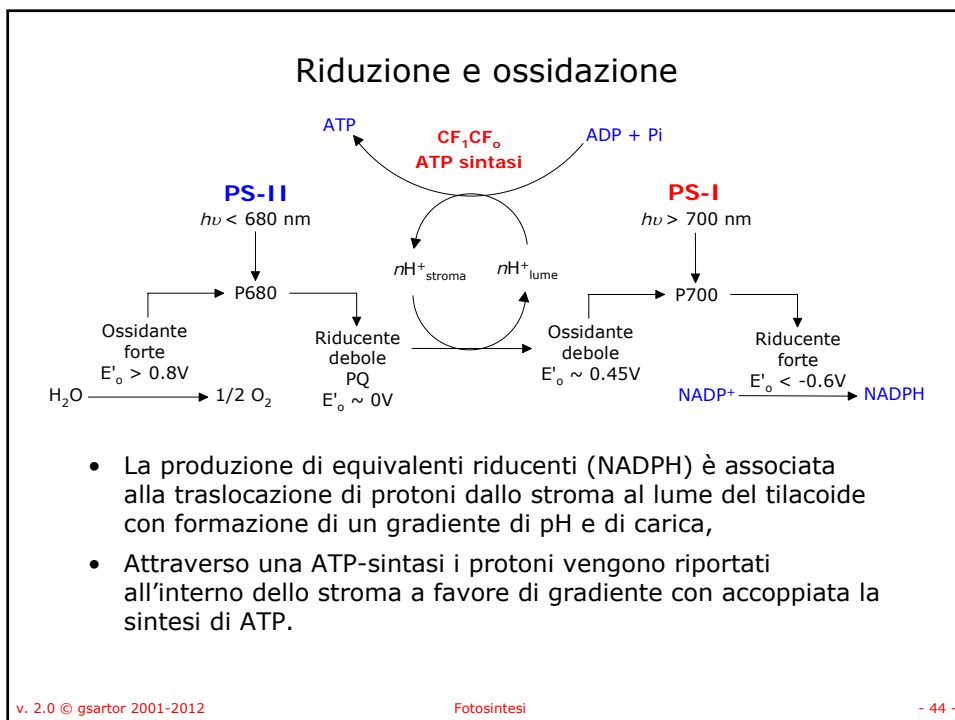
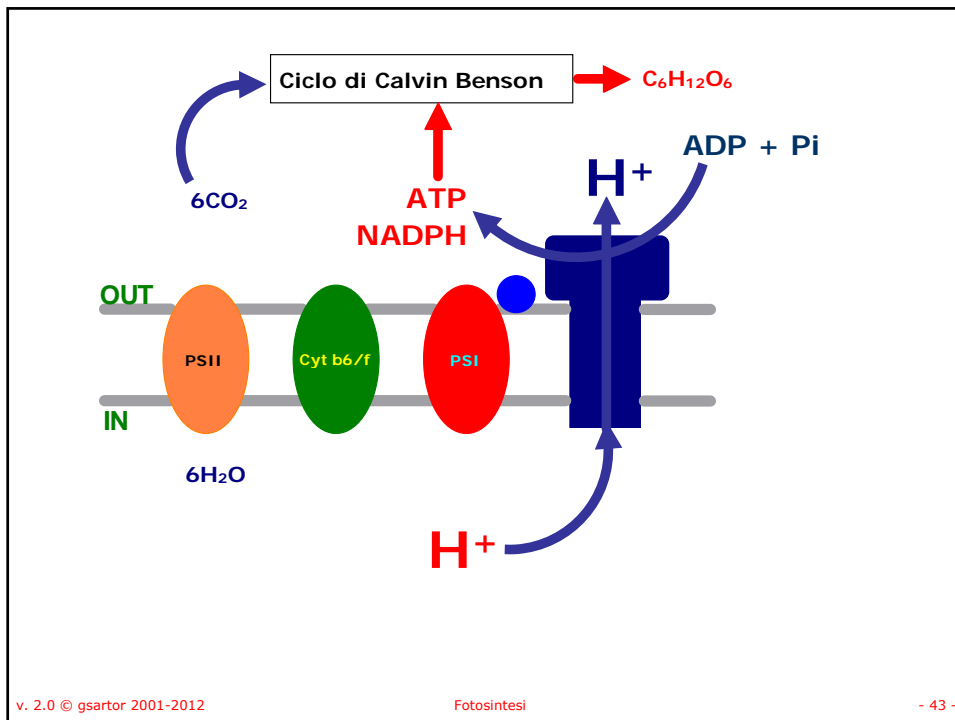




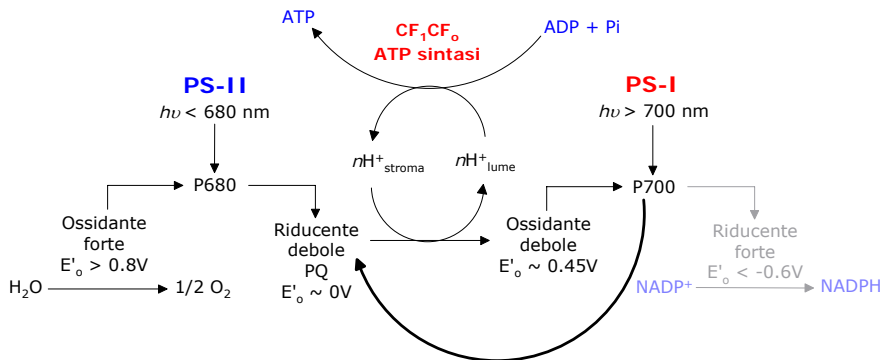






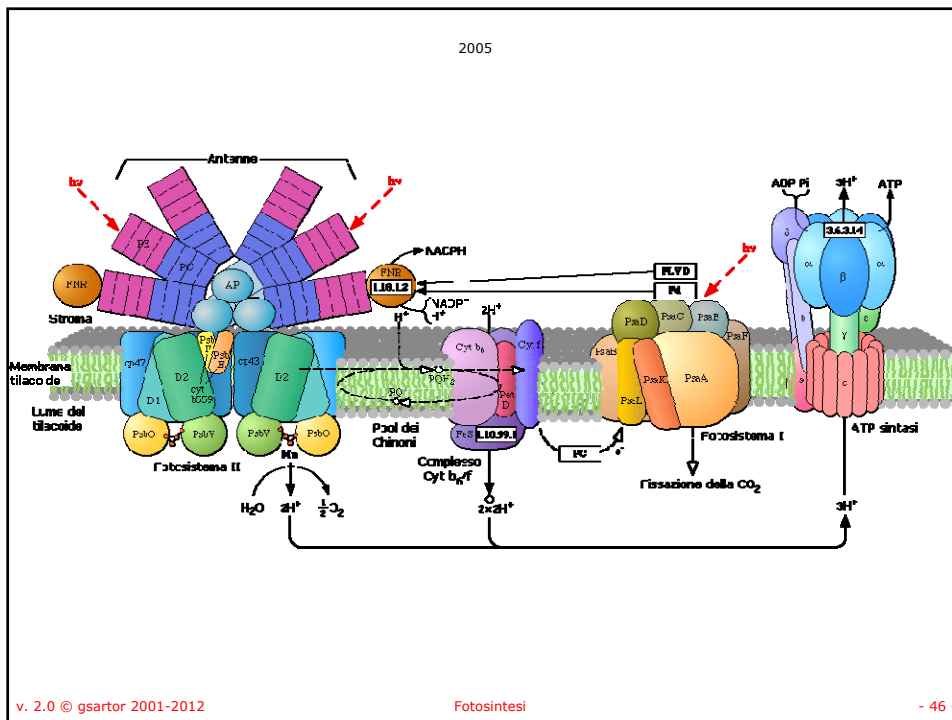


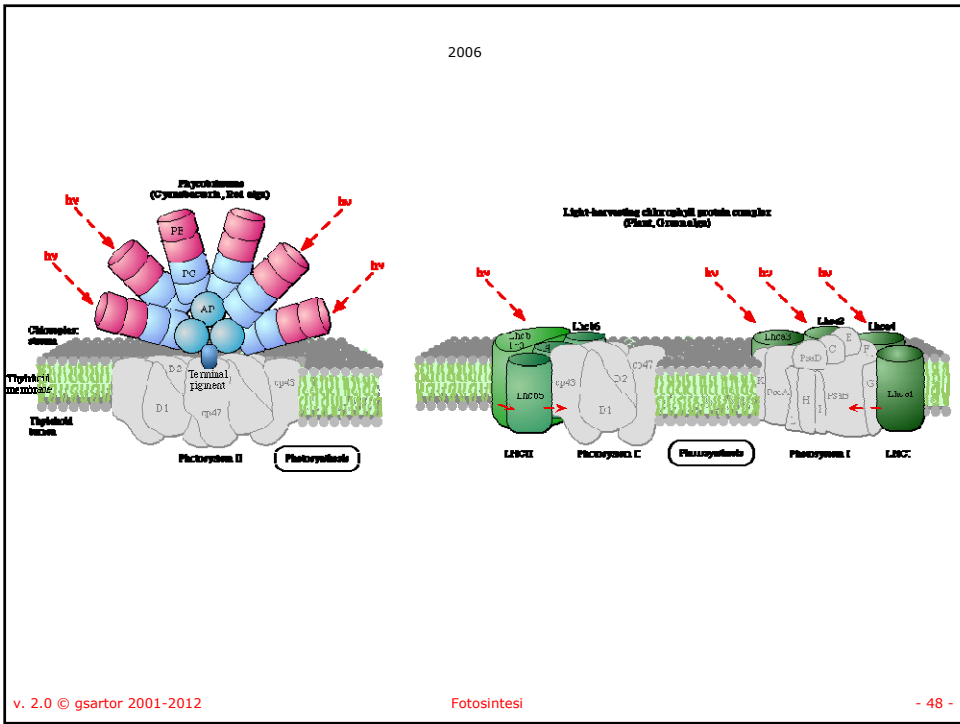
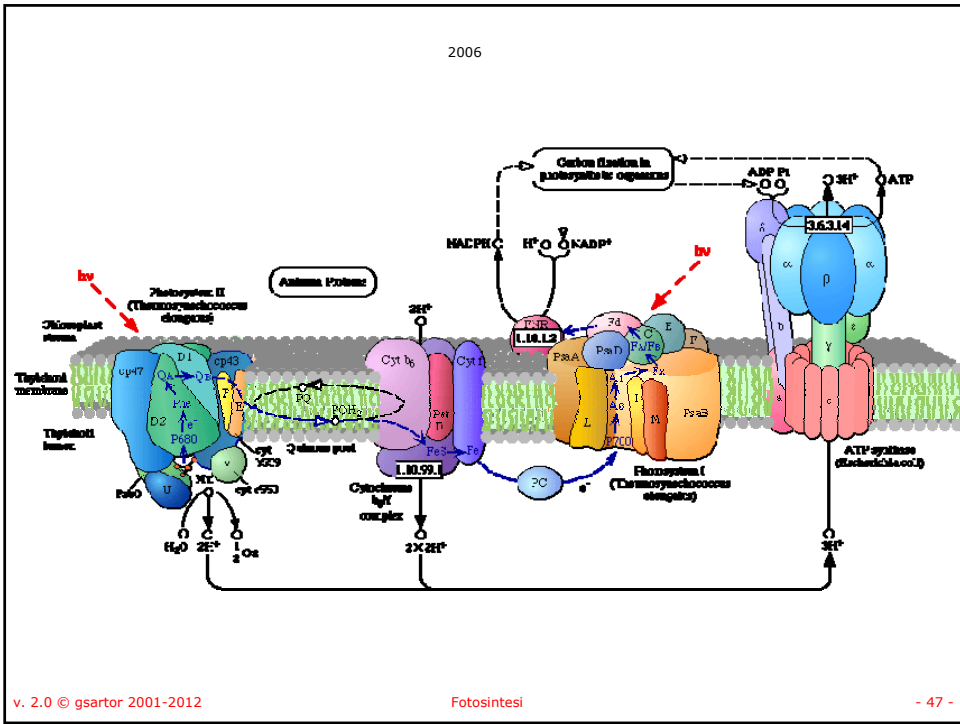
## Riduzione e ossidazione



- In alcuni casi invece di procedere alla riduzione del NADP<sup>+</sup>, P700 viene "cortocircuitata" per la produzione di gradiente protonico.

2005



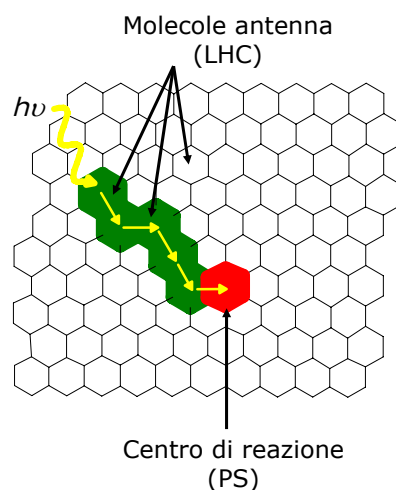


# La fotosintesi e fotofosforilazione

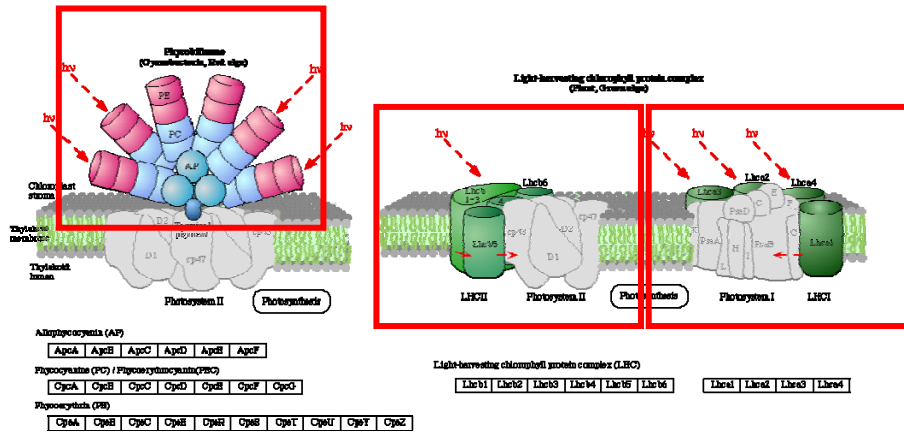
Dalla luce all'ATP e NADPH

## Unità fotosintetica

- Non tutte le molecole di clorofilla svolgono la funzione di donatori di elettroni allo stato eccitato.
- Il trasferimento di energia tra le molecole antenna al centro di reazione avviene per risonanza (energy transfer).



## Light harvesting complex



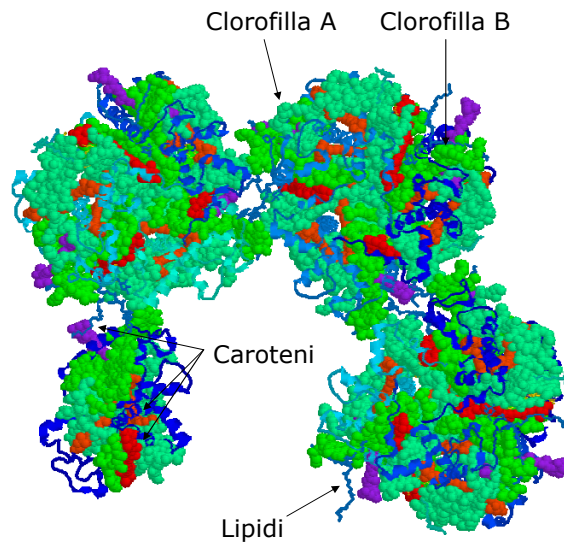
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 51 -

## Light harvesting complex

- La luce viene raccolta dal sistema antenna (Light harvesting complex) attraverso i pigmenti:
  - Clorofille (A e B)
  - Caroteni
- L'energia luminosa viene trasferita via energy transfer al centro di reazione.

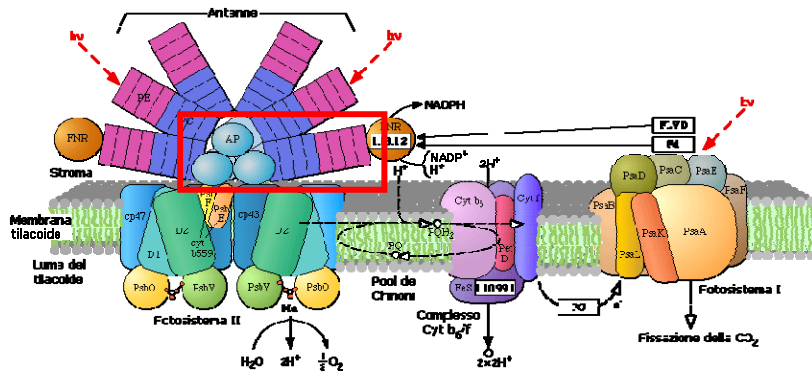


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 52 -

## Ficocianobilina

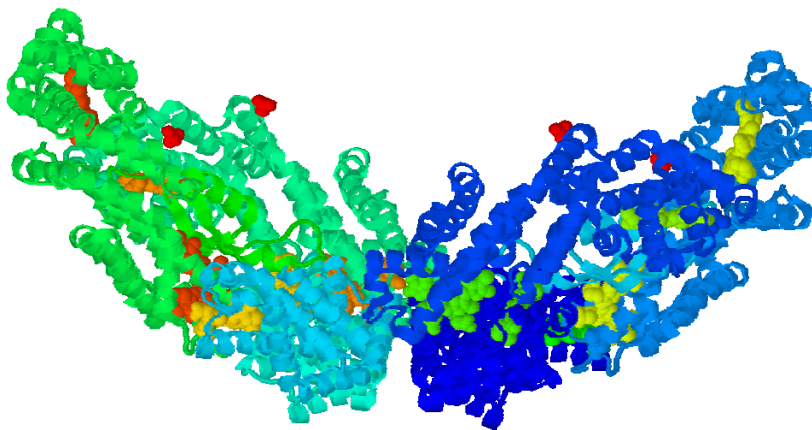


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 53 -

## Ficocianobilina



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 54 -

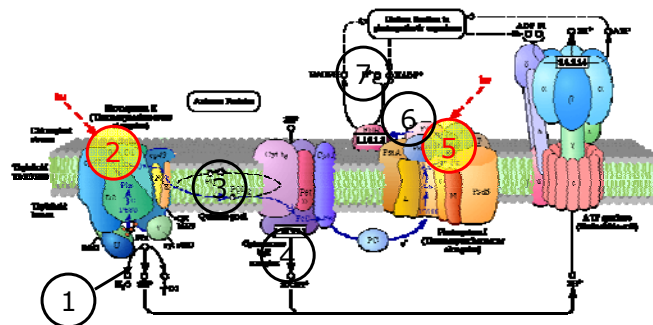
## Centri di reazione

- Negli eucarioti esistono due diversi centri di reazione: PS-I e PS-II
- Nei due fotosistemi avvengono reazioni diverse.
- I due fotosistemi hanno diversa sensibilità alla luce .
- In uno dei due (PS-II) avviene l'ossidazione dell'acqua ad ossigeno.
- La clorofilla nelle cellule vegetali è associata a proteine integrali della membrana del tilacoide.

## Potenziali redox

- I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall' $H_2O$  al  $NADP^+$ :

1.  $E'_0 = + 0.85 \text{ V}$
2.  $E'_0 = + 1.20 \text{ V}$
3.  $E'_0 \approx 0 \text{ V}$
4.  $E'_0 = + 0.40 \text{ V}$
5.  $E'_0 = + 0.75 \text{ V}$
6.  $E'_0 = - 1.20 \text{ V}$
7.  $E'_0 = - 0.70 \text{ V}$

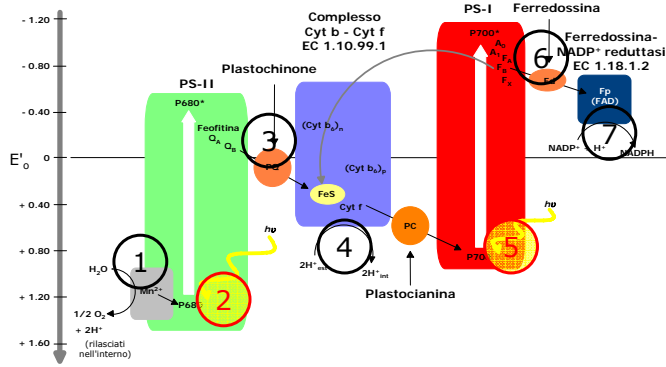




# Potenziali redox

• I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall'H<sub>2</sub>O al NADP<sup>+</sup>:

1.  $E'_o = + 0.85 \text{ V}$
2.  $E'_o = + 1.20 \text{ V}$
3.  $E'_o \approx 0 \text{ V}$
4.  $E'_o = + 0.40 \text{ V}$
5.  $E'_o = + 0.75 \text{ V}$
6.  $E'_o = - 1.20 \text{ V}$
7.  $E'_o = - 0.70 \text{ V}$

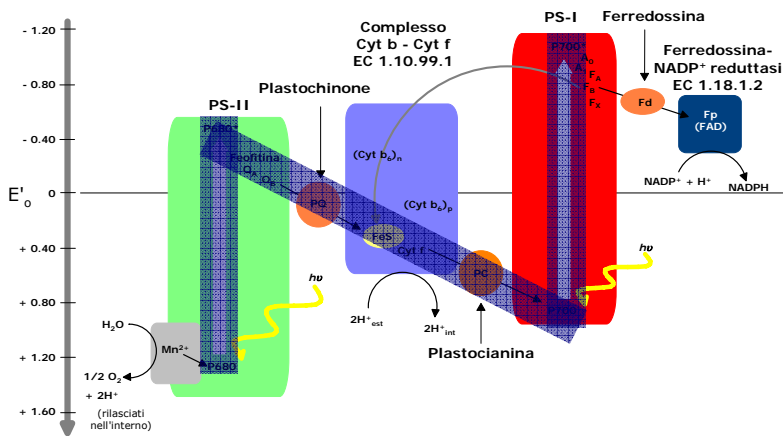


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 57 -

# Schema a Z



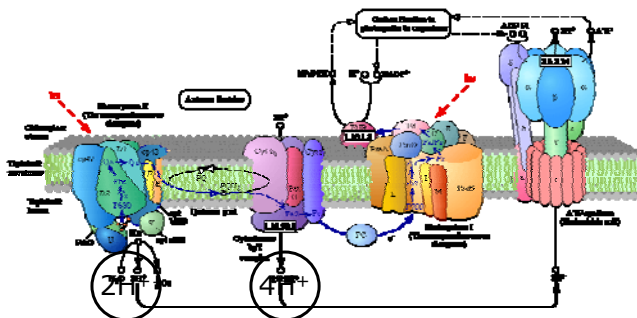
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 58 -

## Trasporto di H<sup>+</sup>

- Nel trasporto di elettroni dall'acqua al NADP<sup>+</sup> vengono anche trasportati 4H<sup>+</sup> nel lume del tilacoide (all'interno) dalla cavità stromale (dall'esterno).
- 2H<sup>+</sup> vengono prodotti nel lume a seguito della ossidazione dell'acqua.

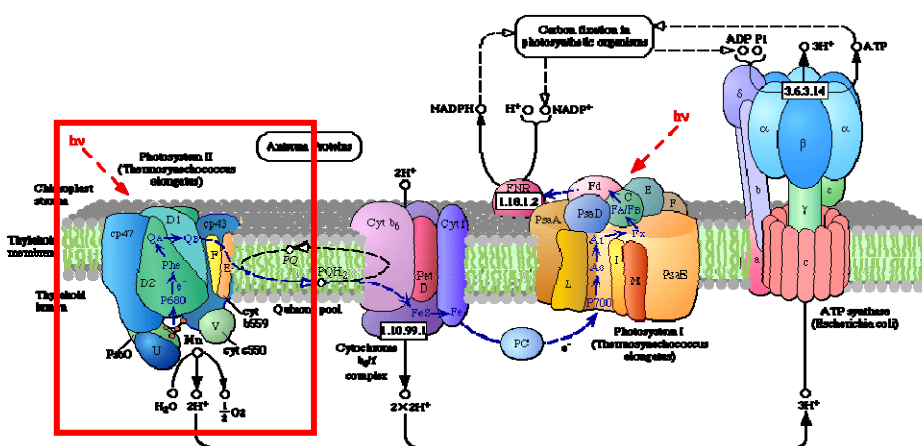


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 59 -

## Fotosistema II (PS-II)



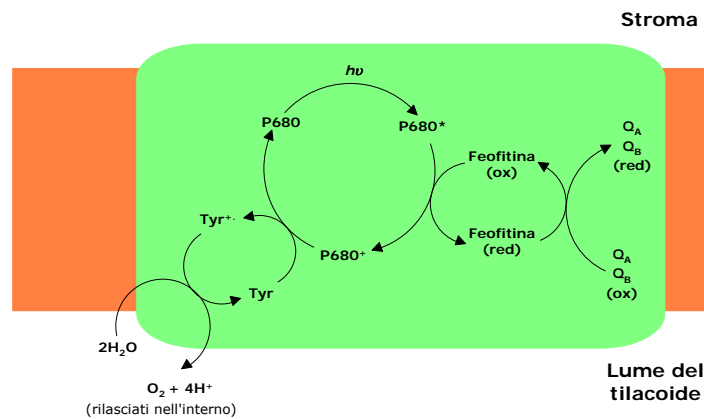
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 60 -

## PS-II

- I due elettroni vengono trasferiti al plastochinone legato al PS-II attraverso una serie di reazioni redox di gruppi prostetici.



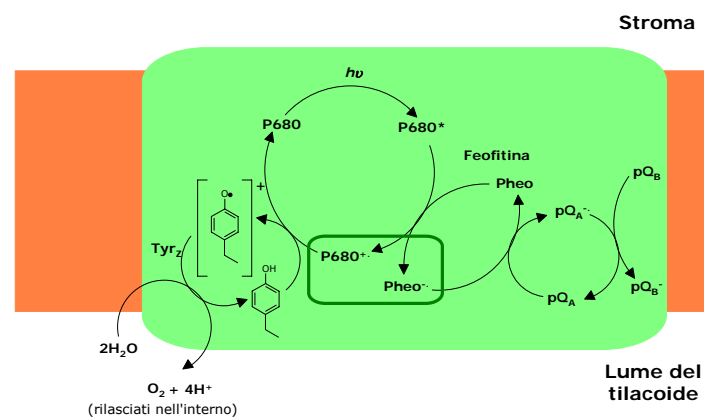
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 61 -

## PS-II

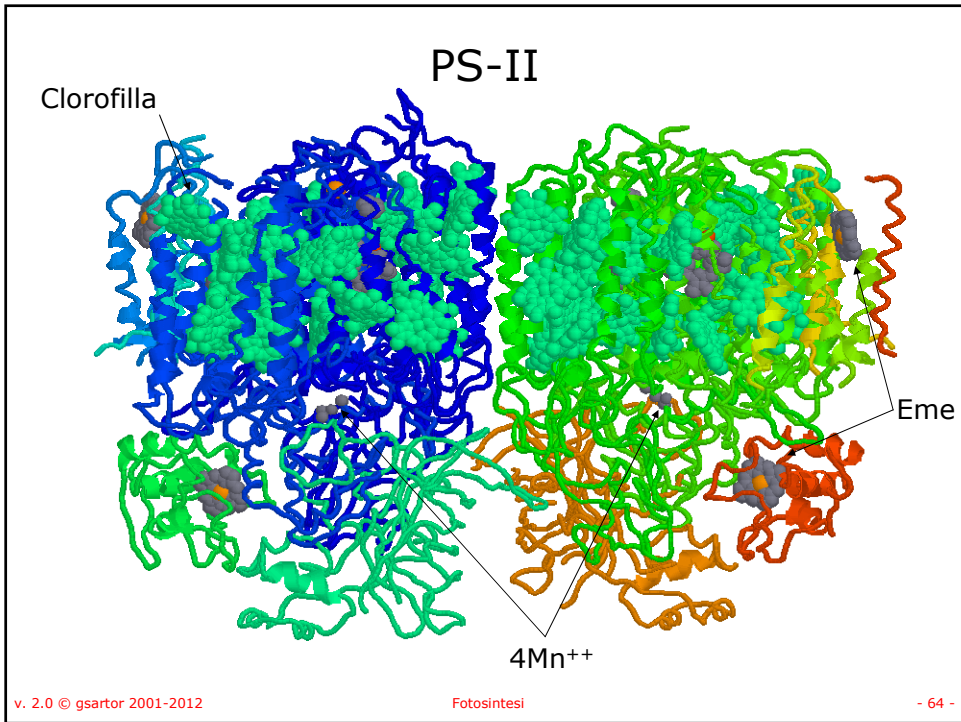
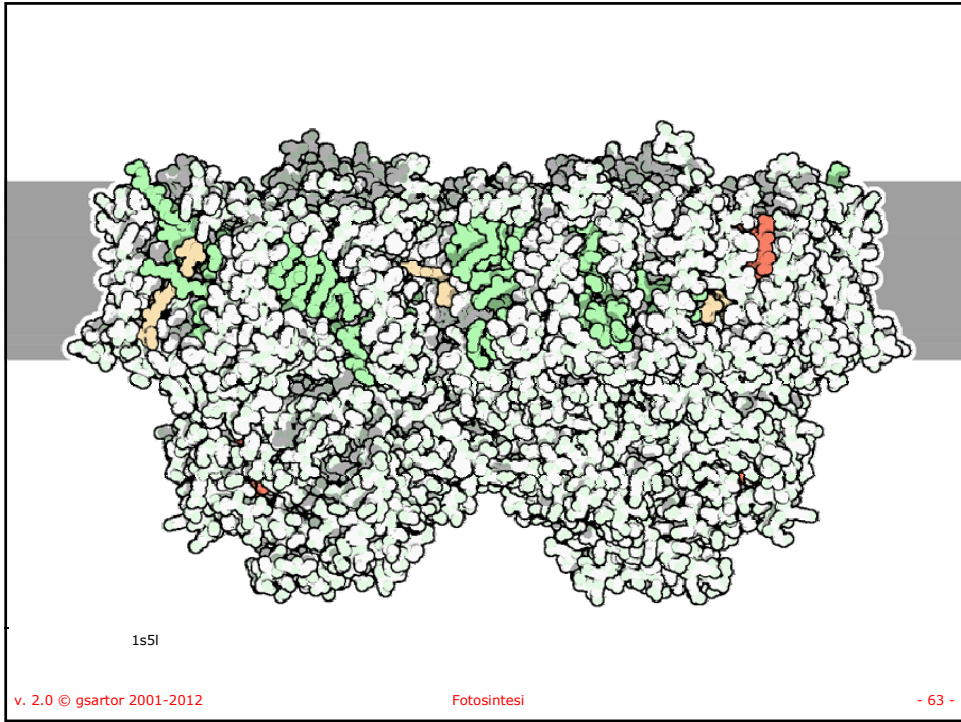
- I due elettroni vengono trasferiti al plastochinone legato al PS-II attraverso una serie di reazioni redox di gruppi prostetici.

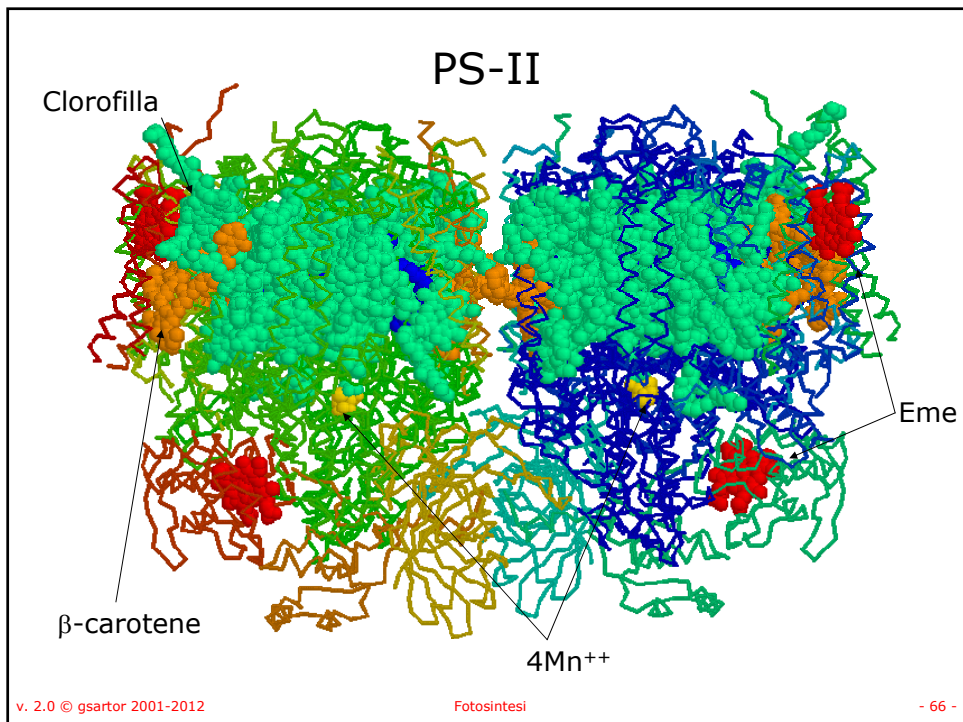
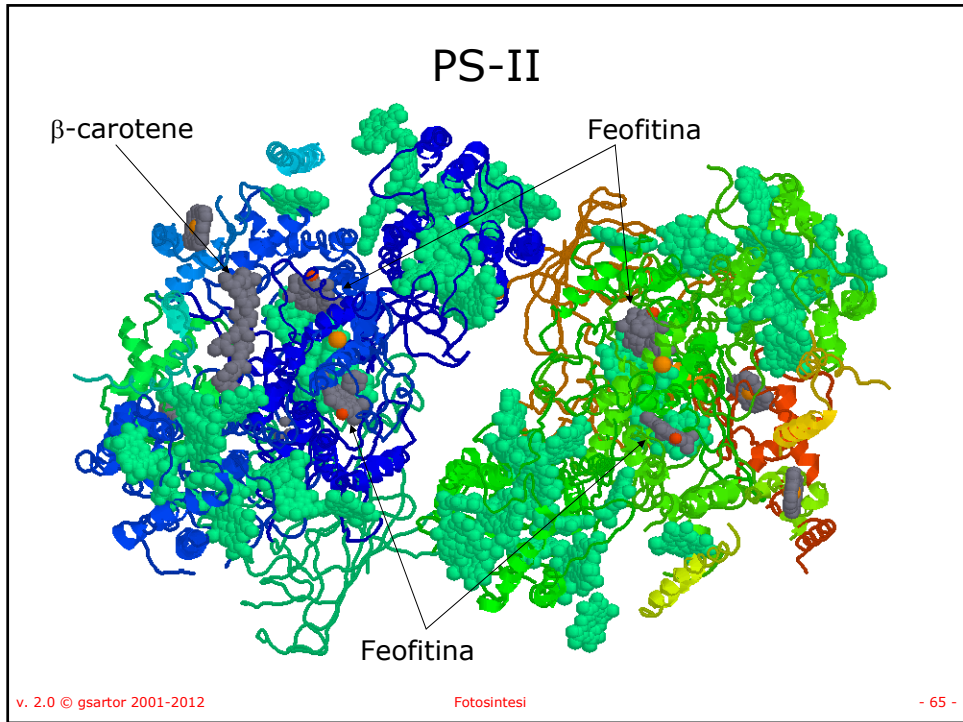


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

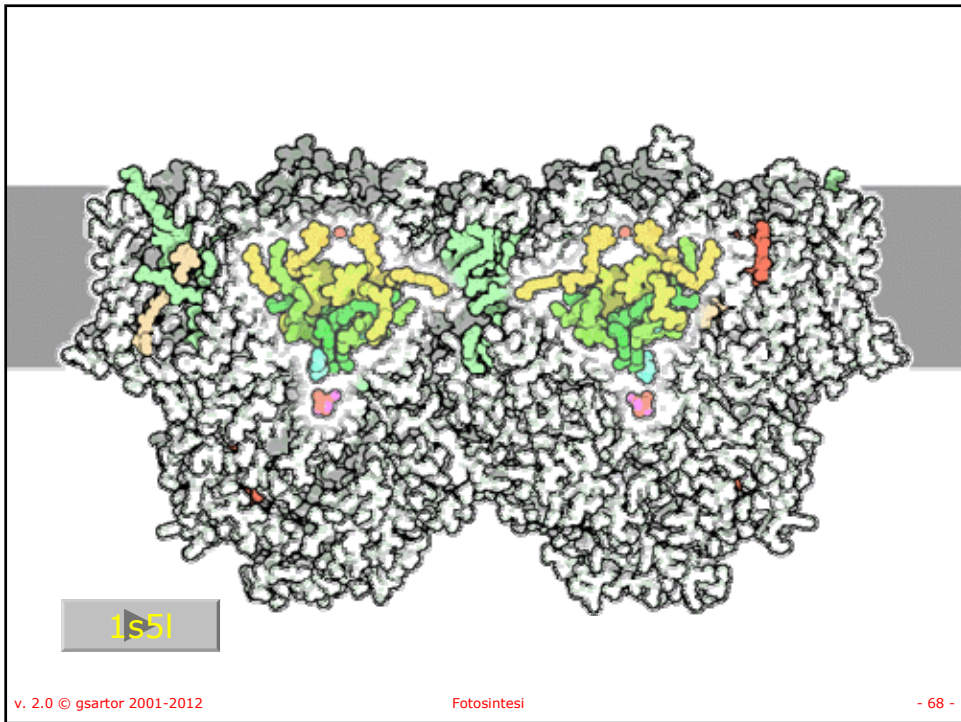
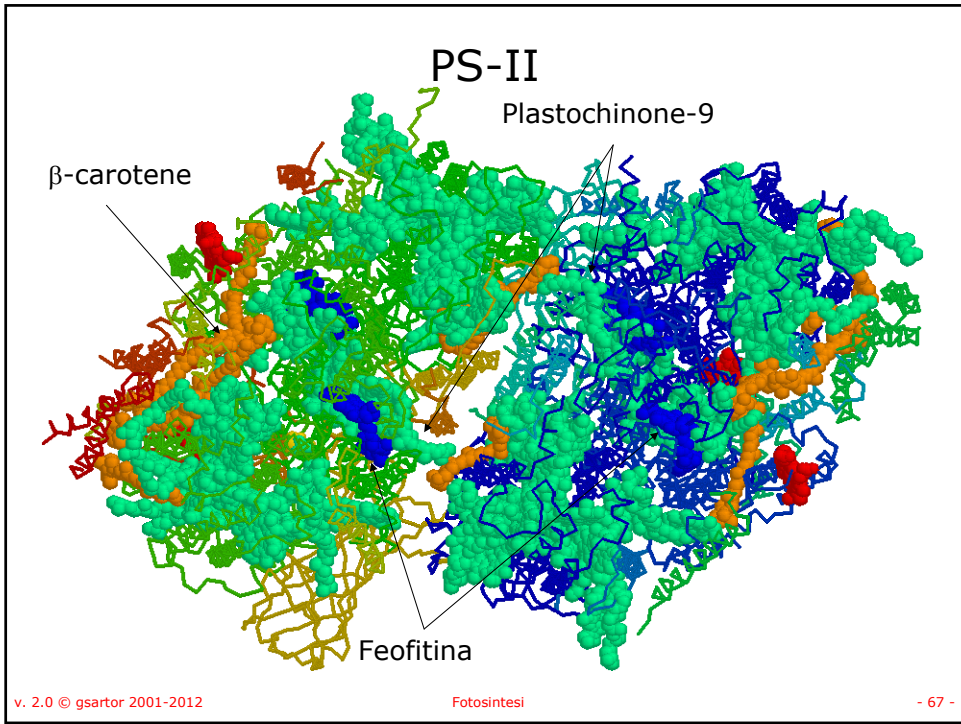
Fotosintesi

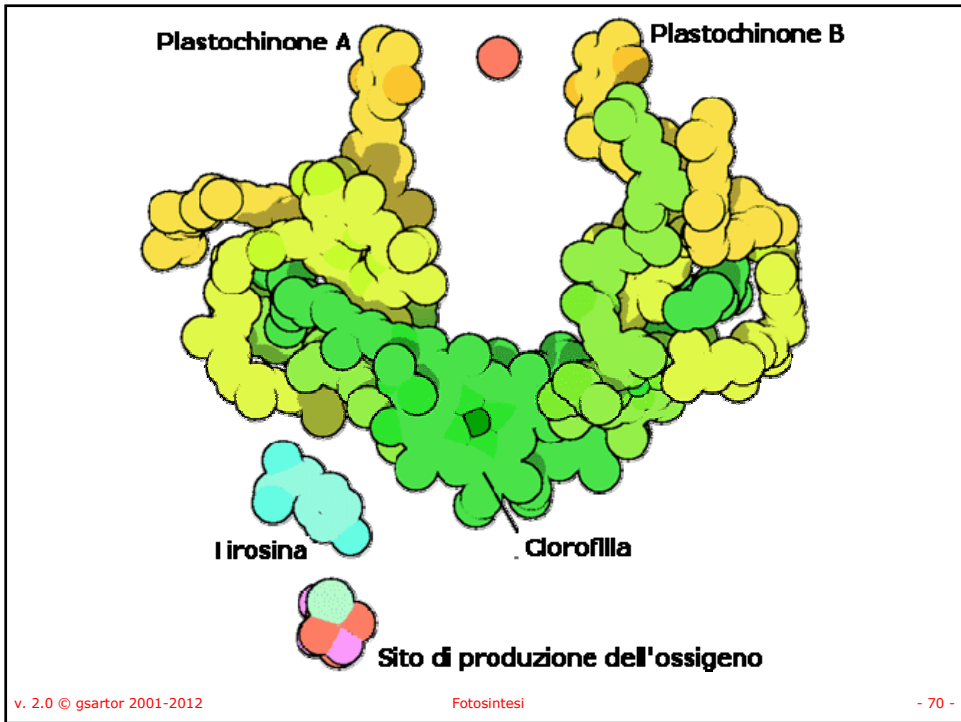
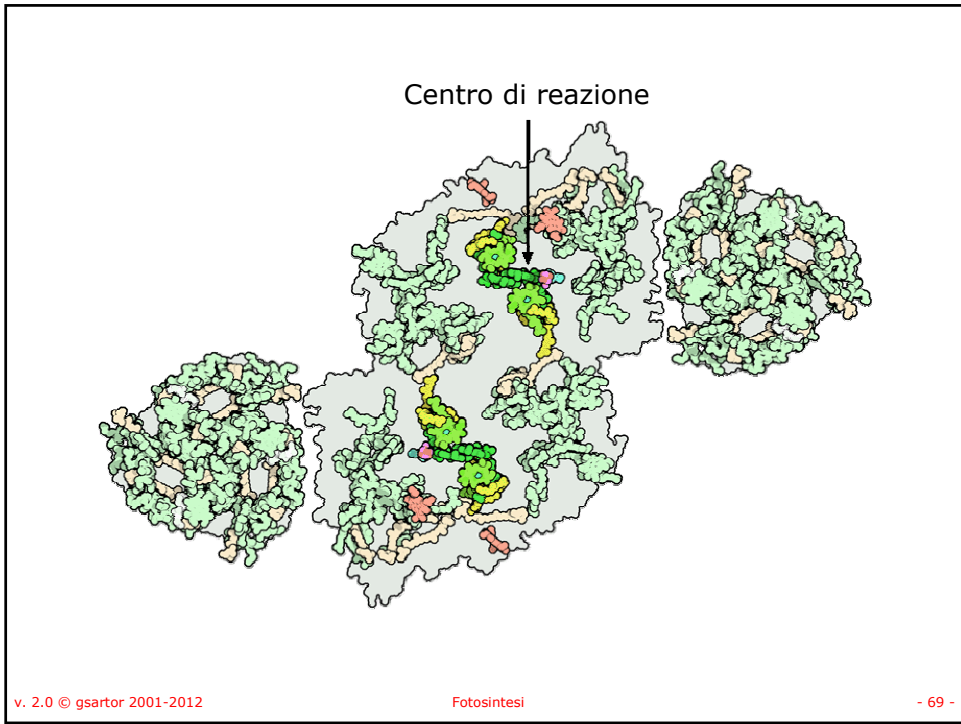
- 62 -

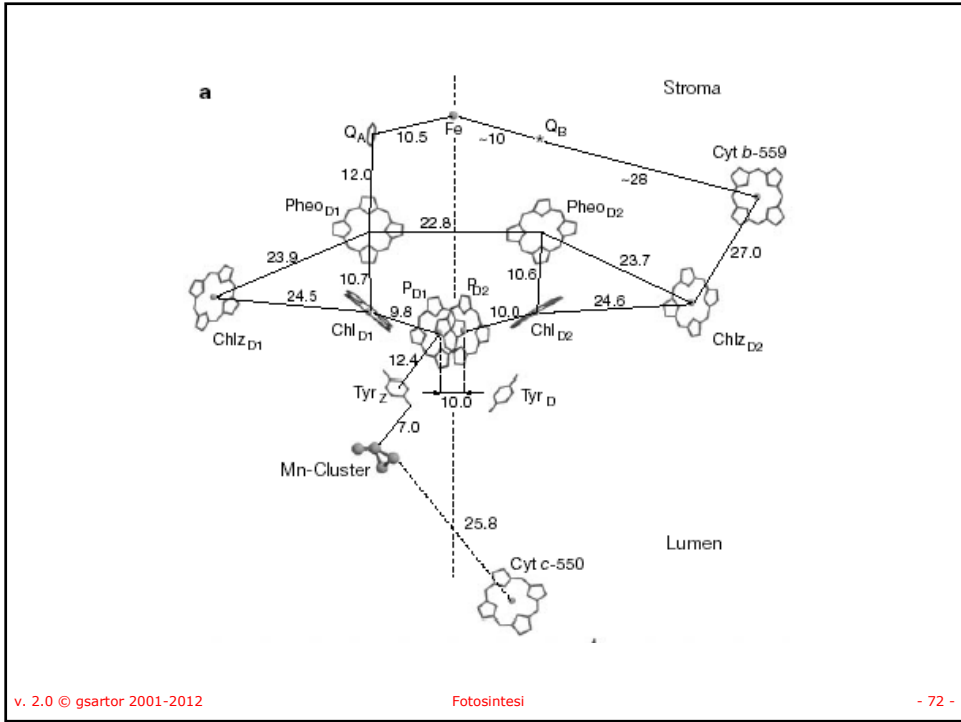
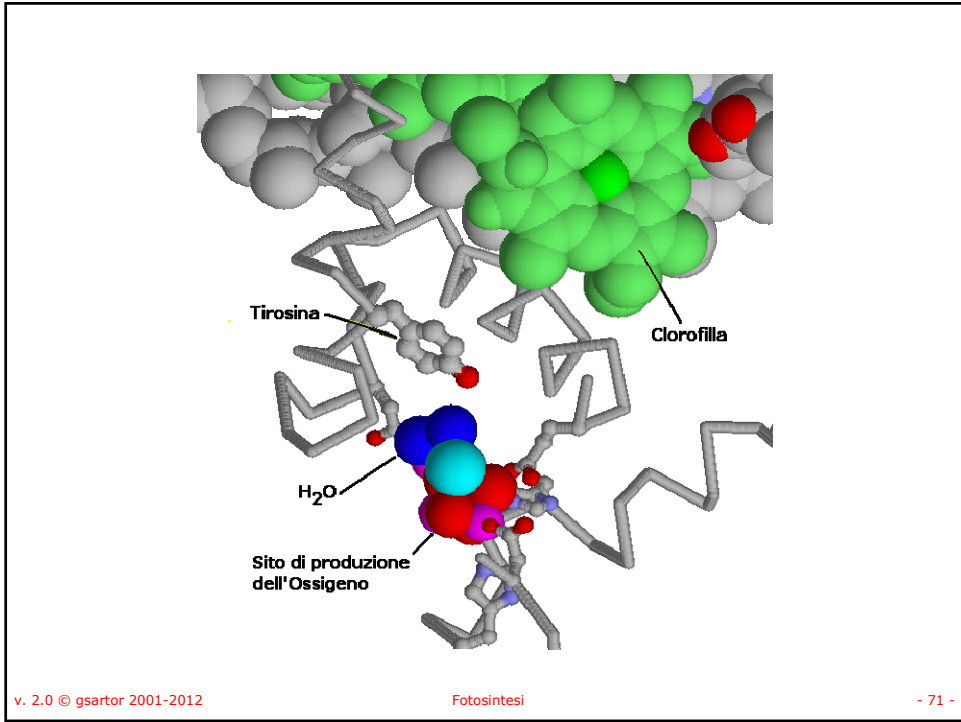




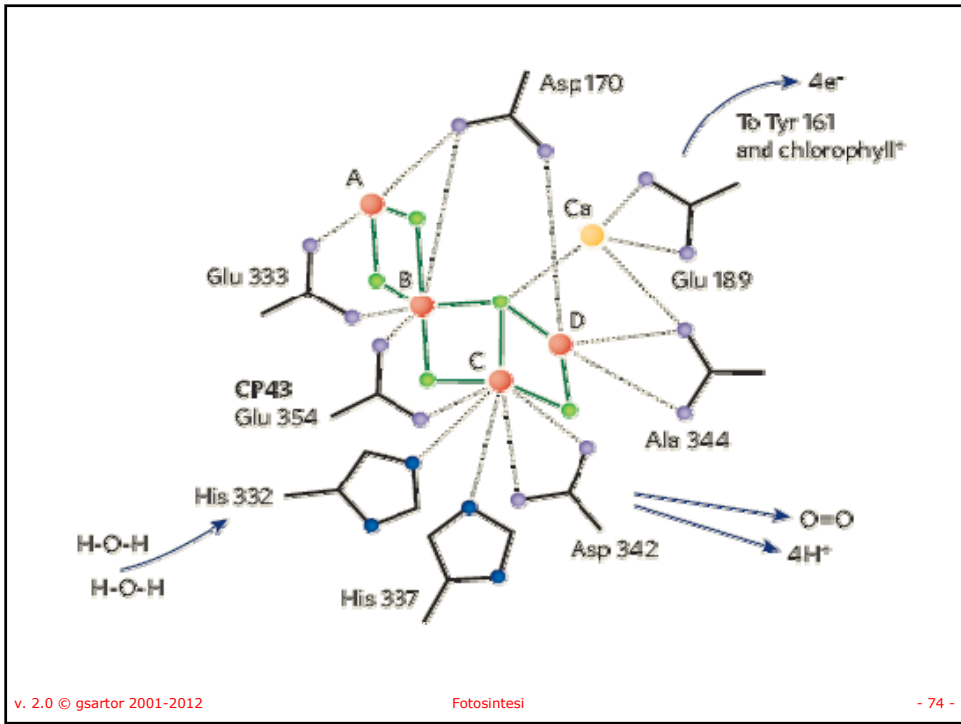
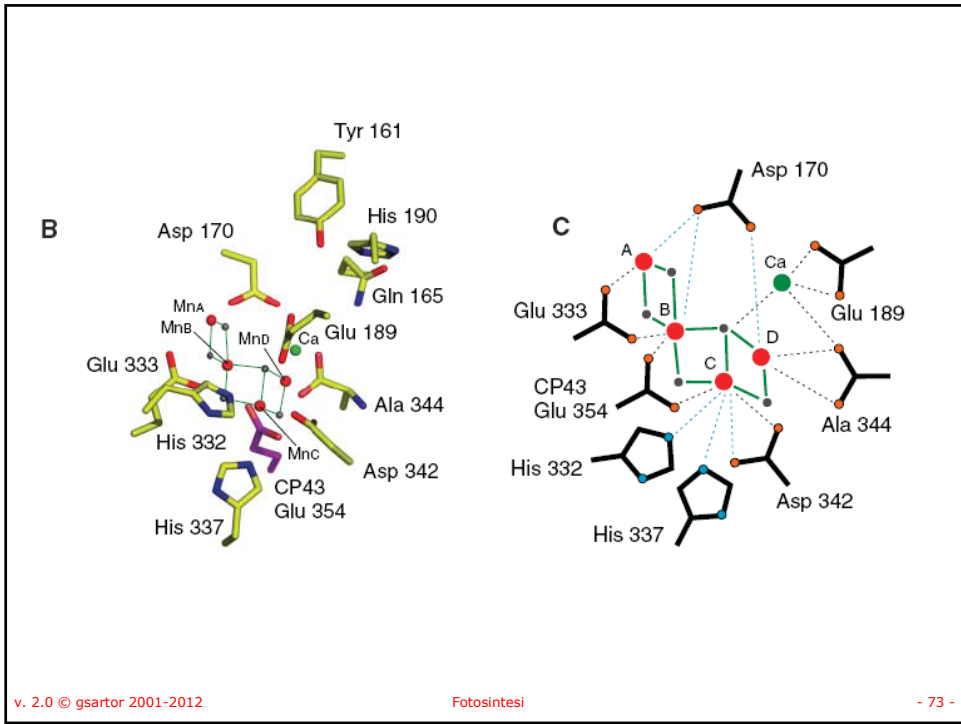






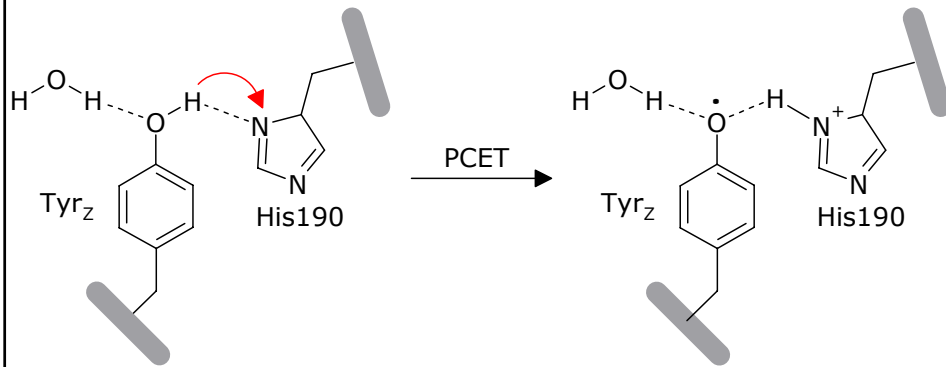






## PCET

- Proton-coupled electron transfer



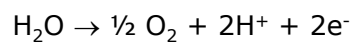
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

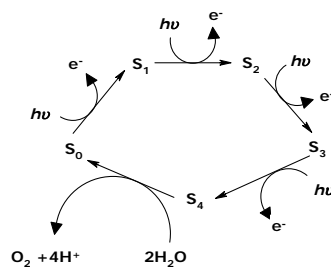
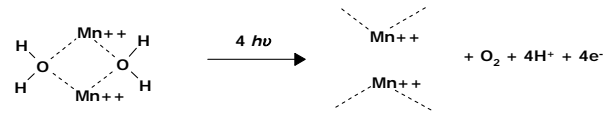
- 75 -

## PS-II Complesso Manganese

- È il sito dove avviene la reazione:



- I due elettroni vengono trasportati al P680<sup>+</sup> (attivato dal P680 per assorbimento di un fotone)

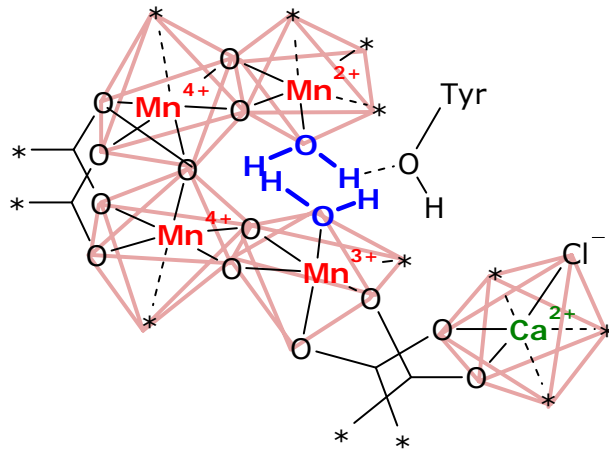


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 76 -

## PS-II Complesso Manganese

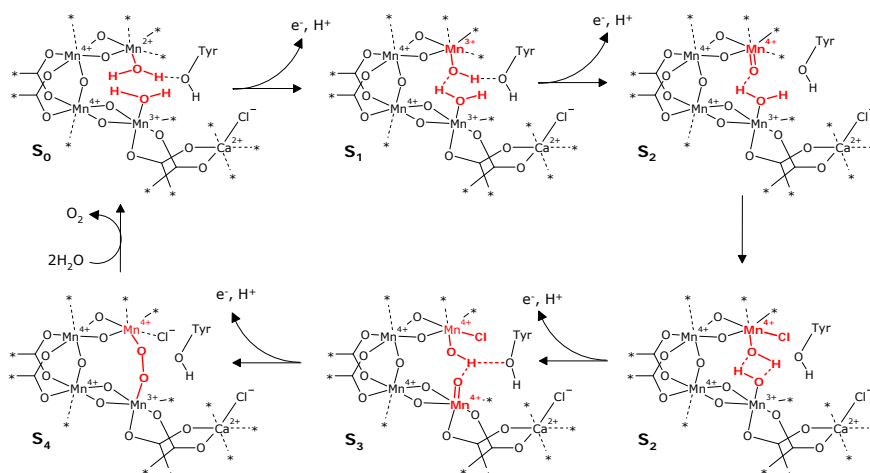


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 77 -

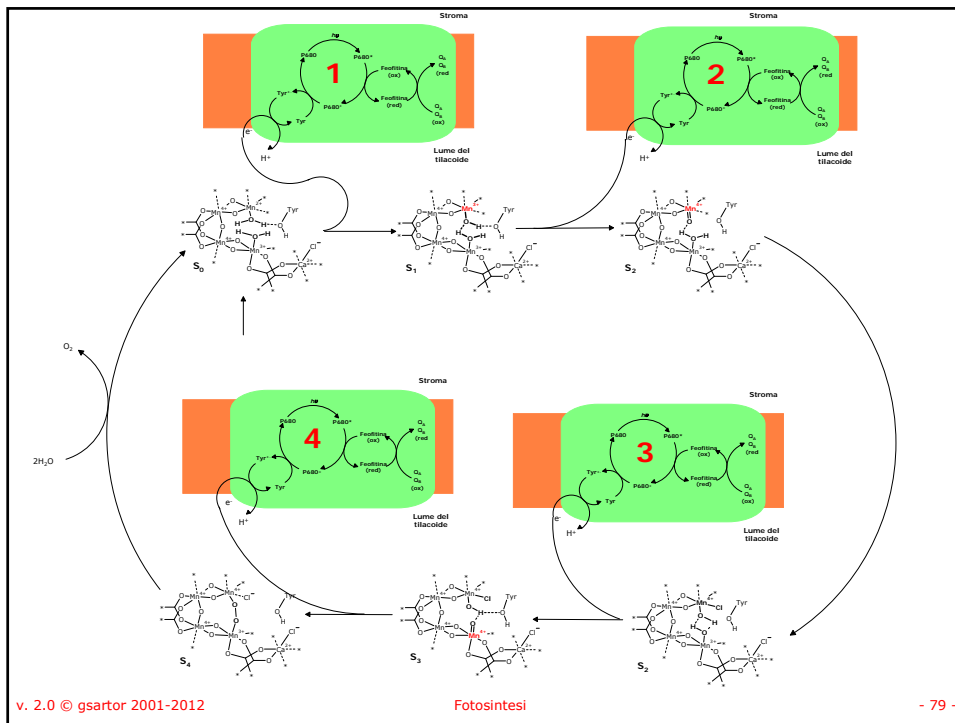
## PS-II Complesso Manganese



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

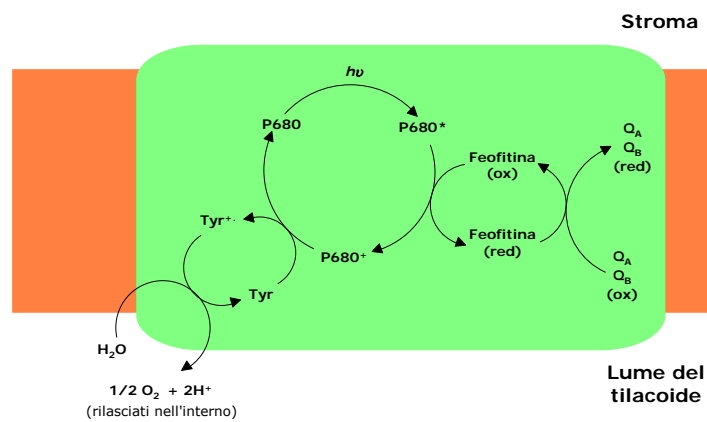
Fotosintesi

- 78 -

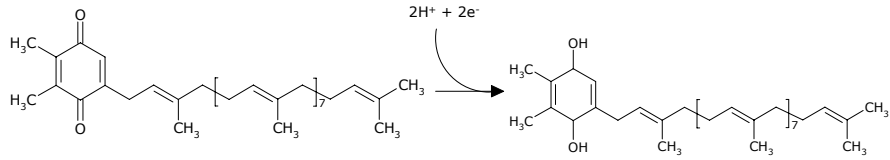


## PS-II

- I due elettroni vengono trasferiti al plastochinone legato al PS-II attraverso una serie di reazioni redox di gruppi prostetici.



## Plastochinone



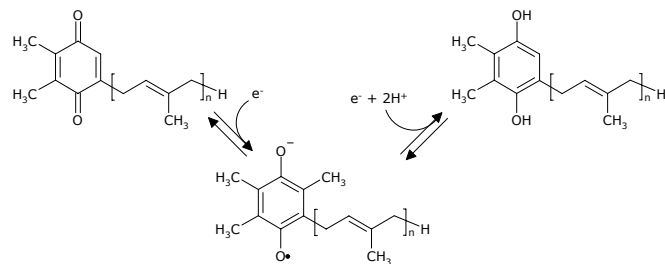
- Il plastochinone 9 (nove unità isoprenoidi) è un trasportatore mobile di elettroni,
- Due molecole di plastochinone 9 ( $Q_A$  e  $Q_B$ ) sono legati al PS-II e sono l'ultimo anello della catena redox interna al PS-II.
- Gli elettroni vengono quindi trasferiti al pool di plastochinone che funziona come il CoQ nei mitocondri:

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 81 -

## Plastochinone



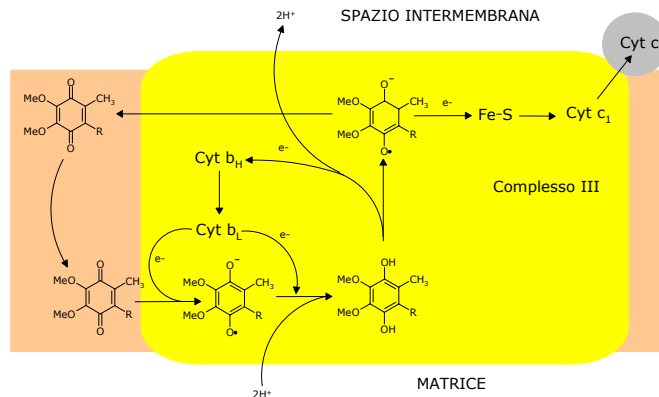
- Quando è legato al proprio sito il PQ può accettare un  $e^-$  per formare un radicale semichinone ( $PQ\cdot^-$ ).
- Quindi il PQ, come FMN, può trasferire uno o due  $e^-$  fra donatori e accettori.
- Il PQ funziona come un trasportatore mobile di  $e^-$  all'interno della membrana.

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 82 -

## Q cycle



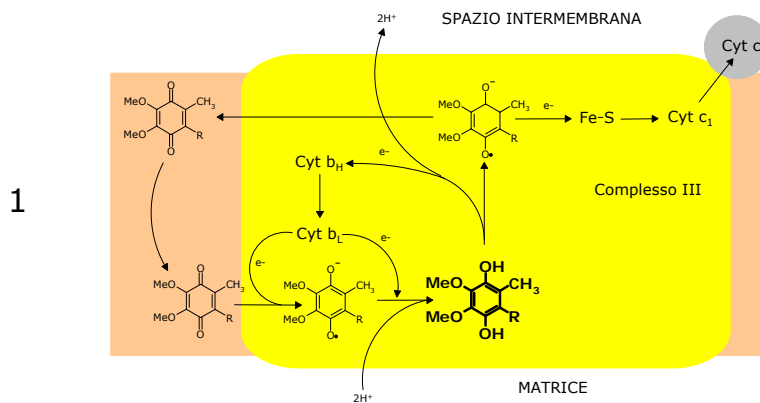
- Il "Q cycle" è il meccanismo con il quale avviene la ossidoriduzione del CoQ e dipende da:
  - La mobilità del CoQ nella membrana
  - L'esistenza di un sito di legame che stabilizza il radicale semichinonico CoQ $\cdot^-$ .

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 83 -

## Q cycle



- Il CoQH<sub>2</sub> è legato al proprio sito nella proteina.

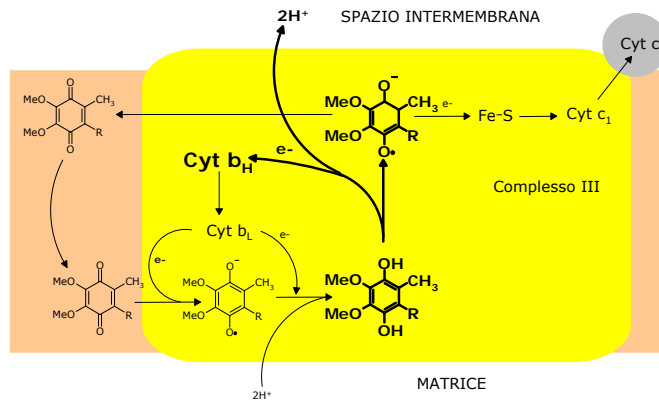
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 84 -

## Q cycle

2



- Il CoQH<sub>2</sub> cede un e<sup>-</sup> al Fe<sup>+++</sup> dell'eme b<sub>L</sub>
- Si forma il semichinone carico negativamente
- 2 H<sup>+</sup> sono rilasciati nello spazio intermembrana.

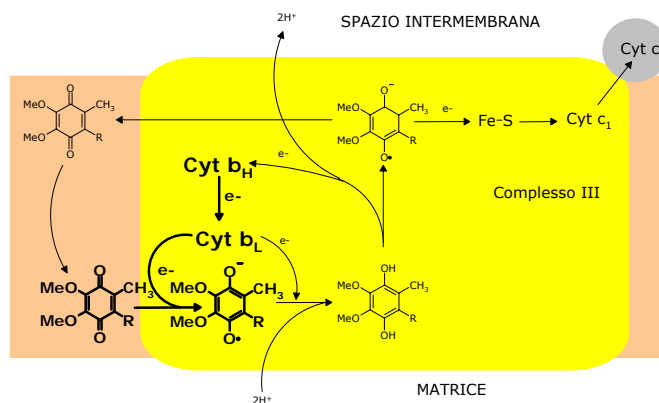
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 85 -

## Q cycle

3a



- Un e<sup>-</sup> passa dal Fe<sup>++</sup> del gruppo eme b<sub>H</sub> al Fe<sup>+++</sup> del gruppo eme b<sub>L</sub>.
- L'e<sup>-</sup> va quindi a ridurre un CoQ ossidato (proveniente dal pool dei chinoni) a semichinone

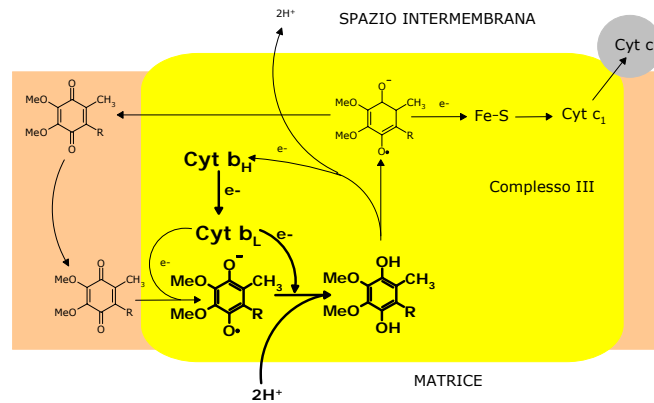
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 86 -

## Q cycle

3b



- Un  $e^-$  passa dal  $\text{Fe}^{++}$  del gruppo eme  $b_H$  al  $\text{Fe}^{+++}$  del gruppo eme  $b_L$ .
- In alternativa (secondo le necessità) l'  $e^-$  va quindi a ridurre un  $\text{CoQ}^-$  per riformare il  $\text{CoQH}_2$  con due  $H^+$  provenienti dalla matrice.

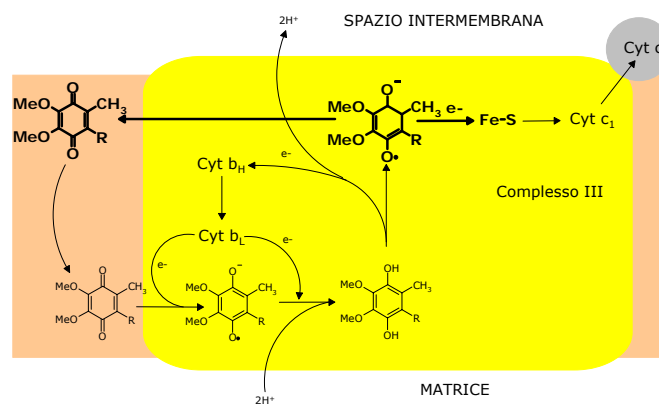
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 87 -

## Q cycle

4



- Il  $\text{CoQ}^-$ , formato per semiossidazione al passo 2, cede un  $e^-$  al  $\text{Fe}^{+++}$  del complesso Fe-S.
- Si forma il  $\text{CoQ}$  ossidato che va a confluire nel pool.

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

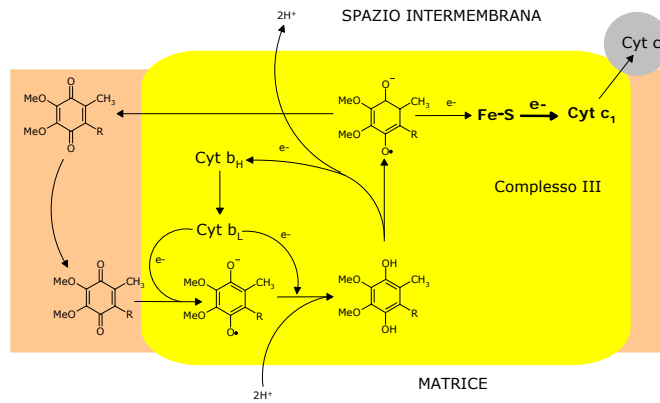
Fotosintesi

- 88 -



## Q cycle

5



- Il  $Fe^{++}$  del complesso Fe-S cede un  $e^-$  al  $Fe^{+++}$  del cit  $c_1$  legato alla proteina.

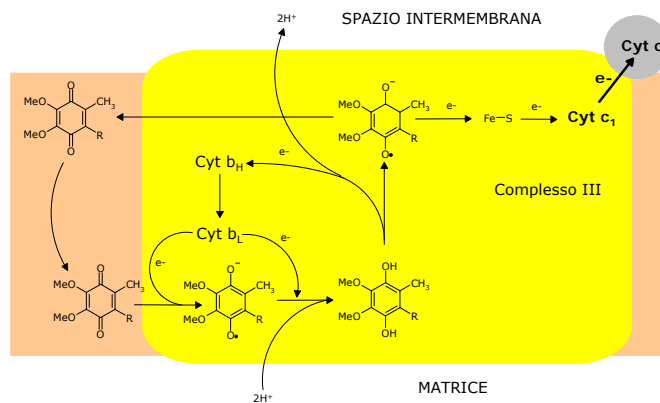
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 89 -

## Q cycle

6



- Il  $Fe^{++}$  del cit  $c_1$  legato alla proteina cede un  $e^-$  al  $Fe^{+++}$  del cit c mobile.

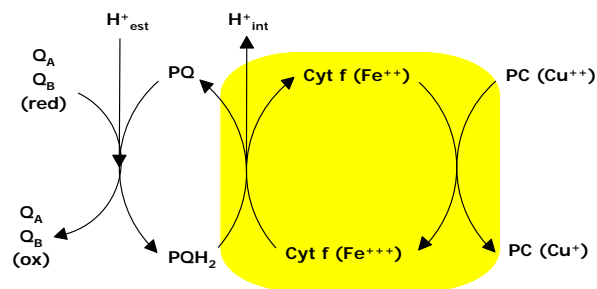
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 90 -

## Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

- Gli elettroni provenienti dal pool dei chinoni vengono trasferiti al complesso Cyt b<sub>6</sub>/f che contiene due gruppi eme: Cyt b<sub>6</sub> ( $E'_0 = -0.06 \text{ V}$ ) e Cyt f ( $E'_0 = +0.365 \text{ V}$ ).
- Gli elettroni vengono quindi convogliati alla plastocianina.
- In alcune situazioni il Cyt b<sub>6</sub> serve per "cortocircuitare" il P700\* per produrre gradiente protonico aggiuntivo piuttosto che NADPH.

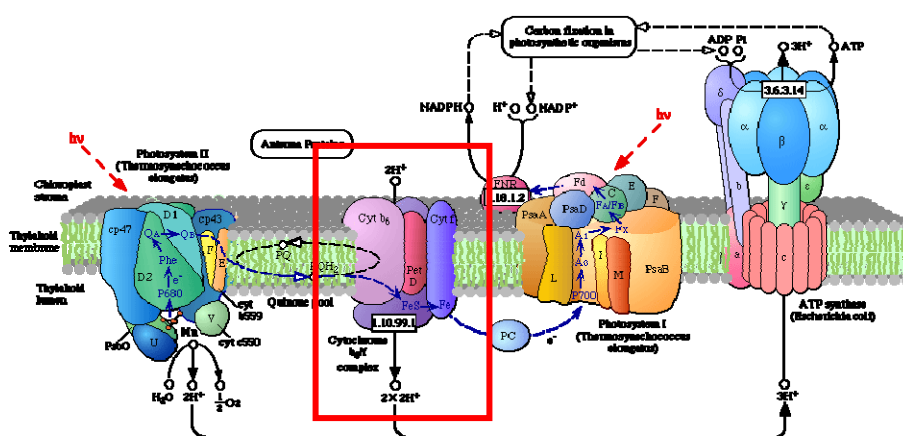


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 91 -

## Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

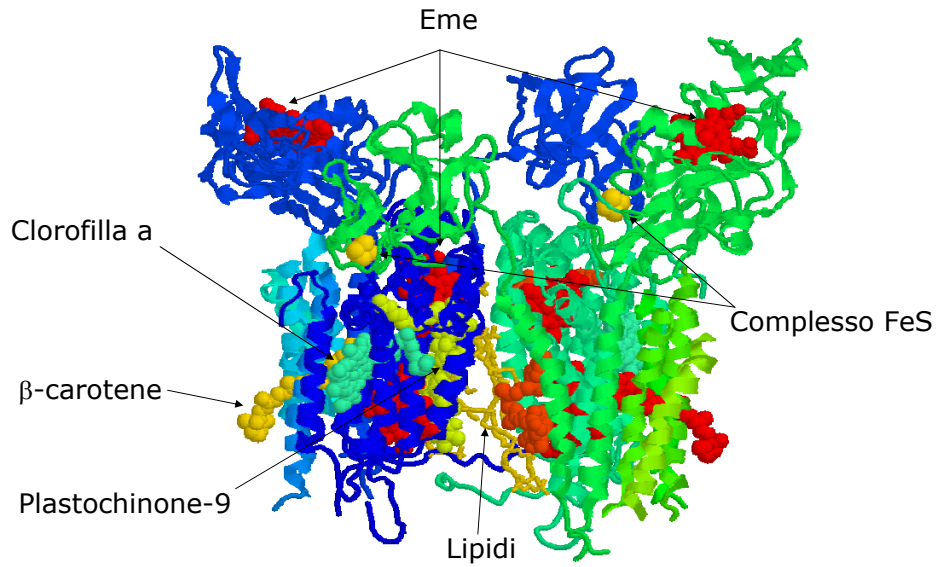


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 92 -

### Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

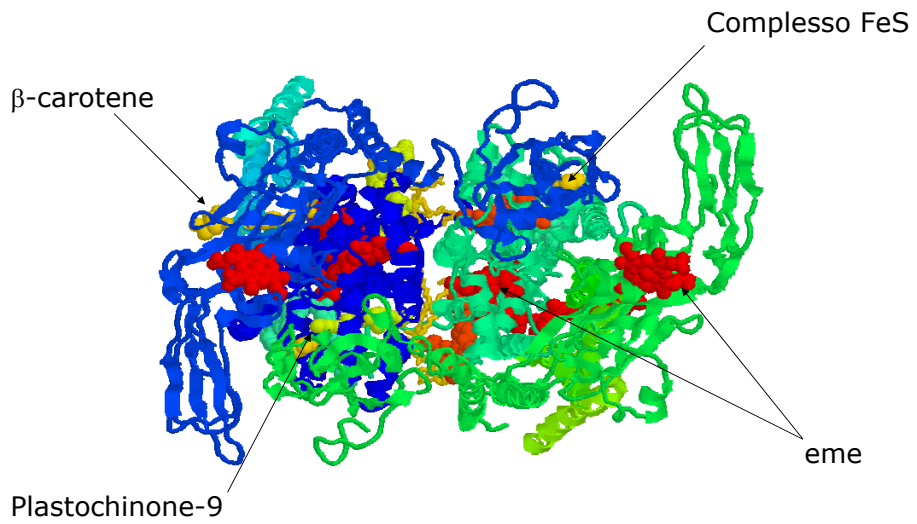


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 93 -

### Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

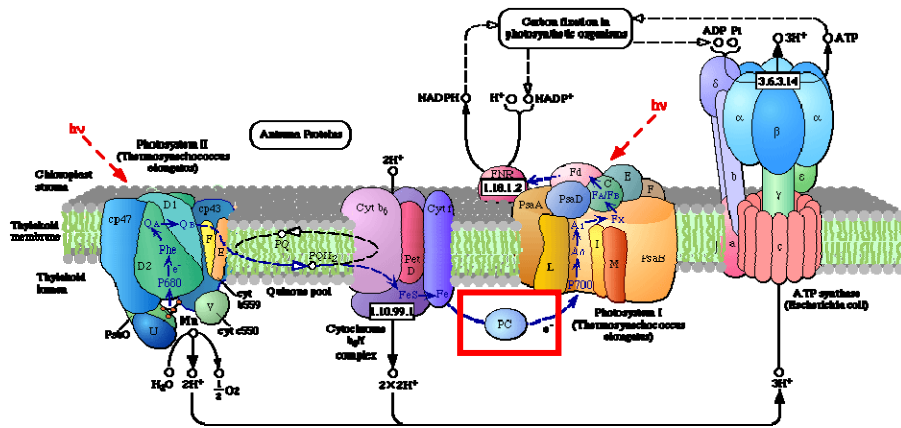


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 94 -

## Plastocianina



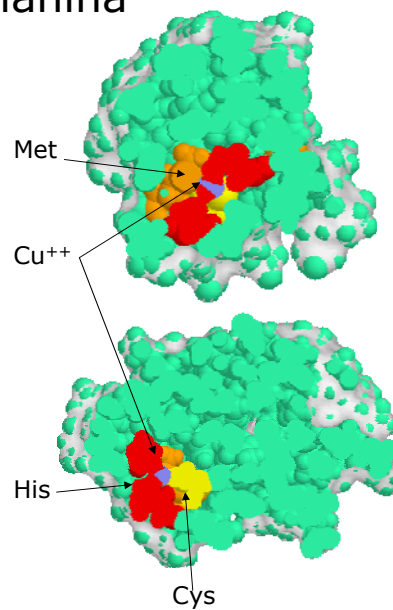
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 95 -

## Plastocianina

- La plastocianina è un trasportatore mobile di elettroni (un elettrone per volta) simile al Cyt c nella catena respiratoria.
- L'elettrone viene trasportato dallo ione rame che si presenta nella forma ossidata ( $\text{Cu}^{++}$ ) e ridotta ( $\text{Cu}^+$ ).



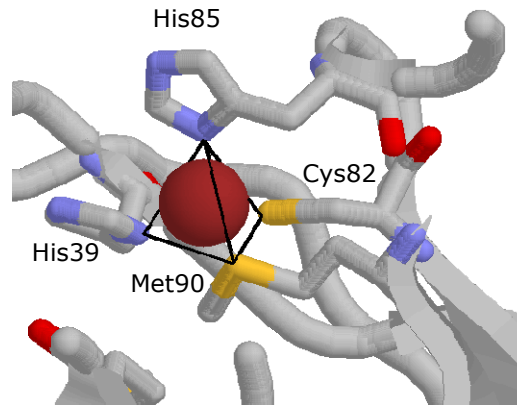
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 96 -

## Plastocianina

- Lo ione rame è legato alla proteina da quattro legami di coordinazione ( $sp^3$ ) che coinvolgono gli atomi di azoto di due residui di His adiacenti e gli atomi di zolfo di un residuo di Cys e di un residuo di Met.

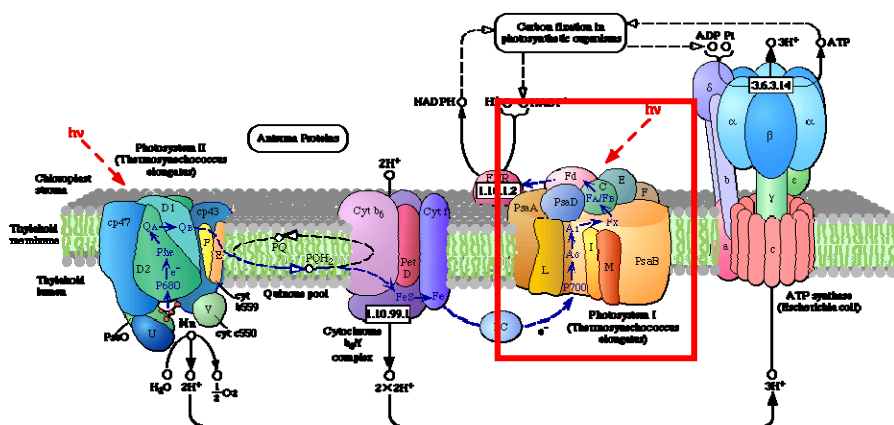


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 97 -

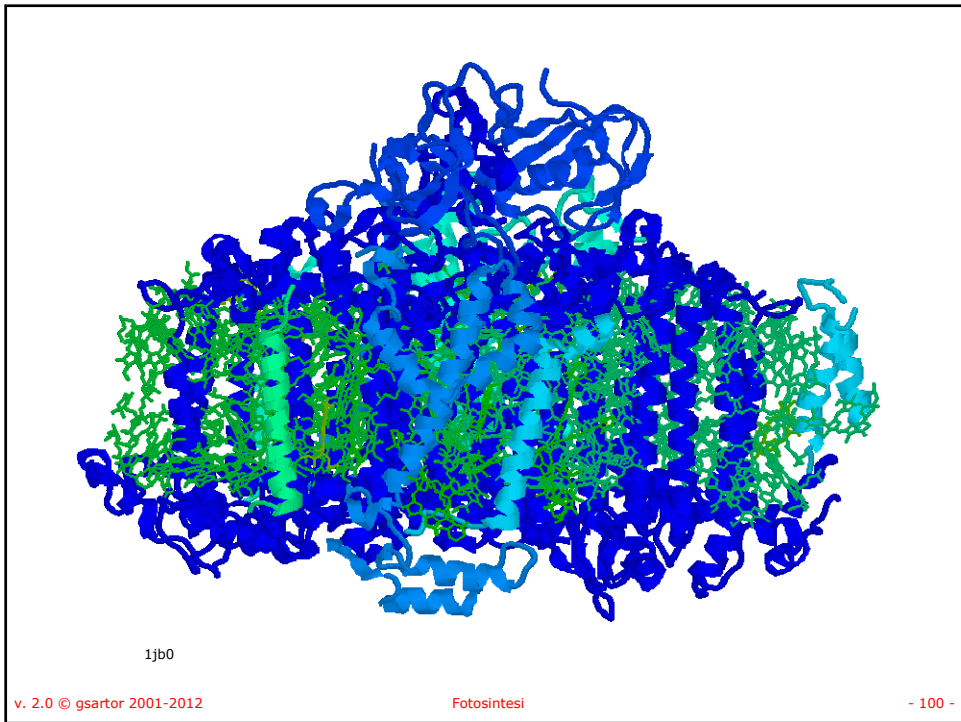
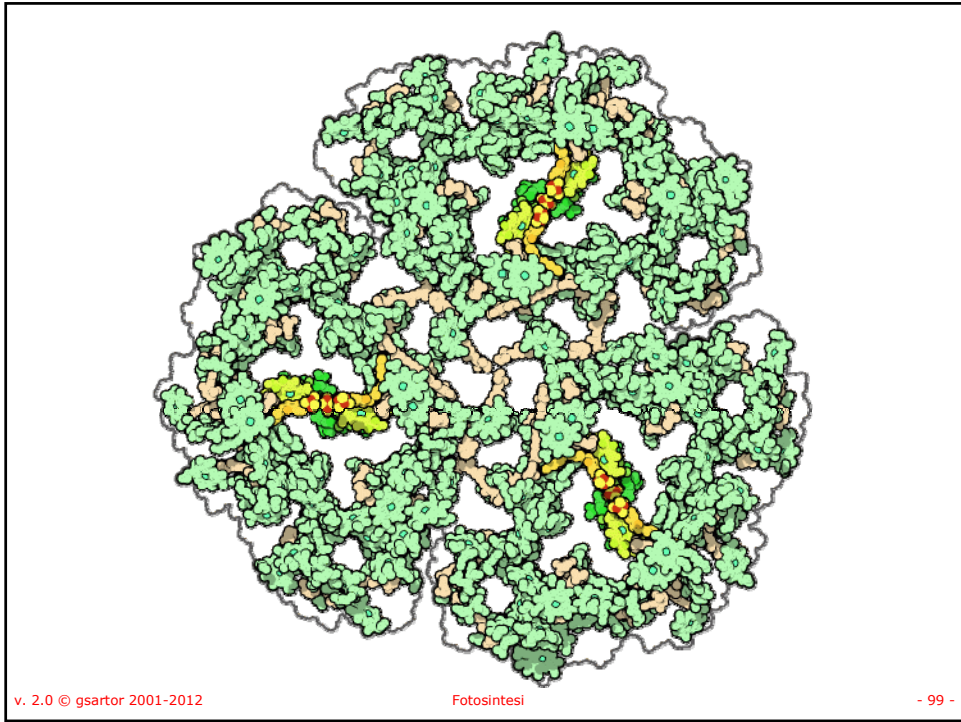
## Fotosistema I (PS-I)

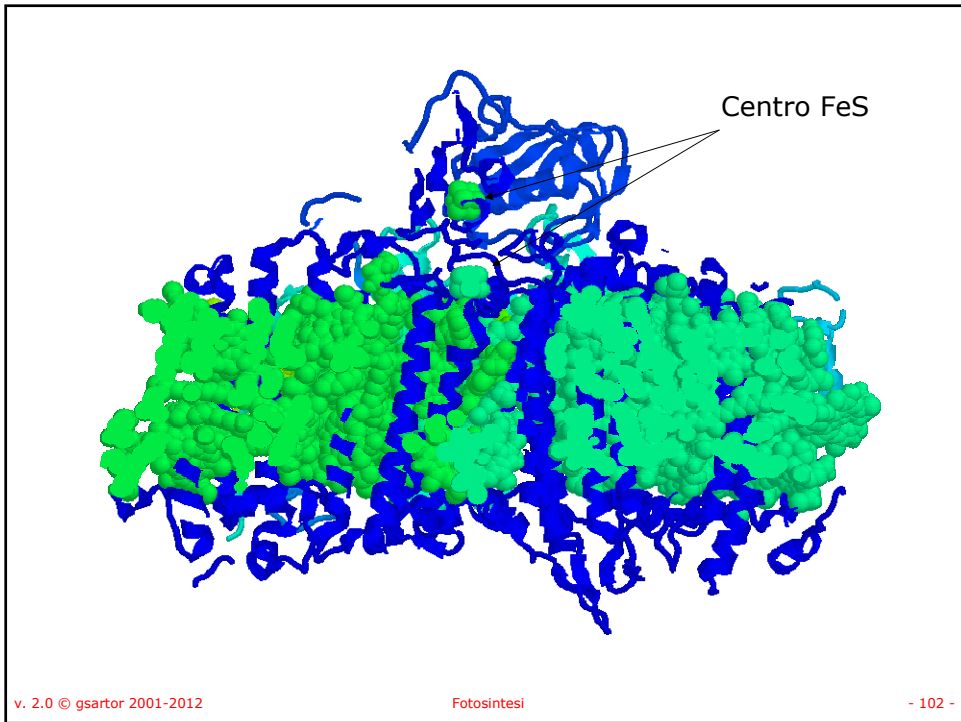
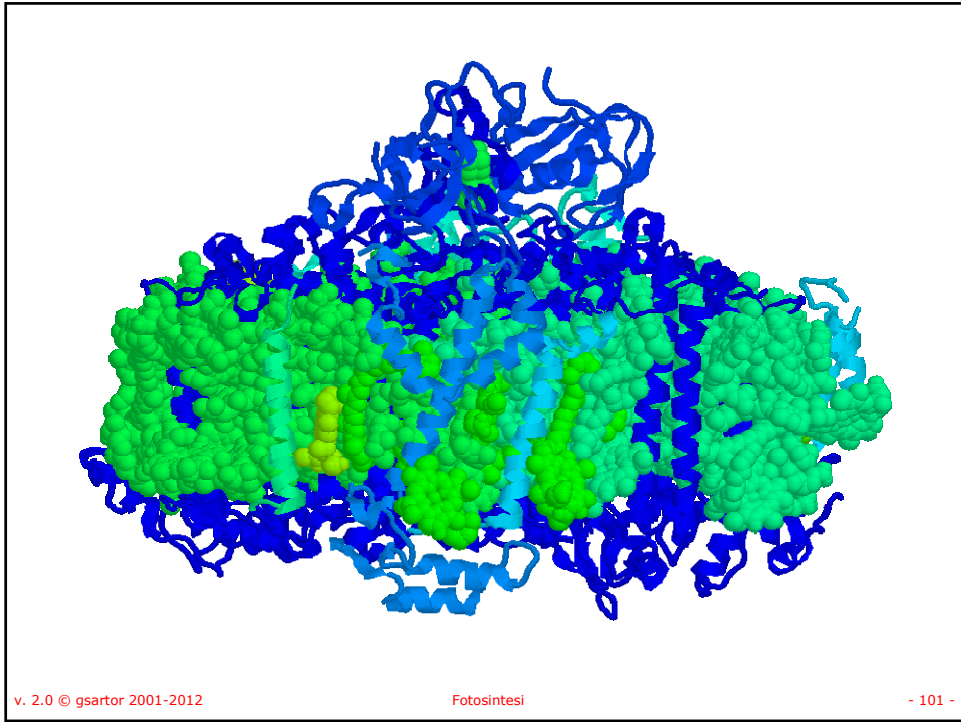


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

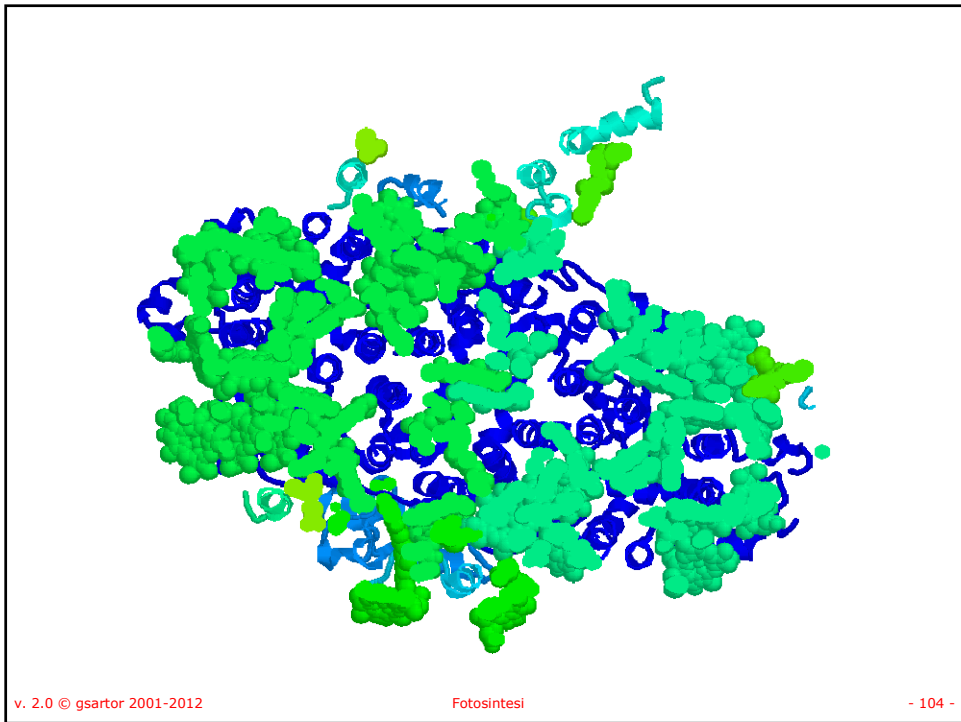
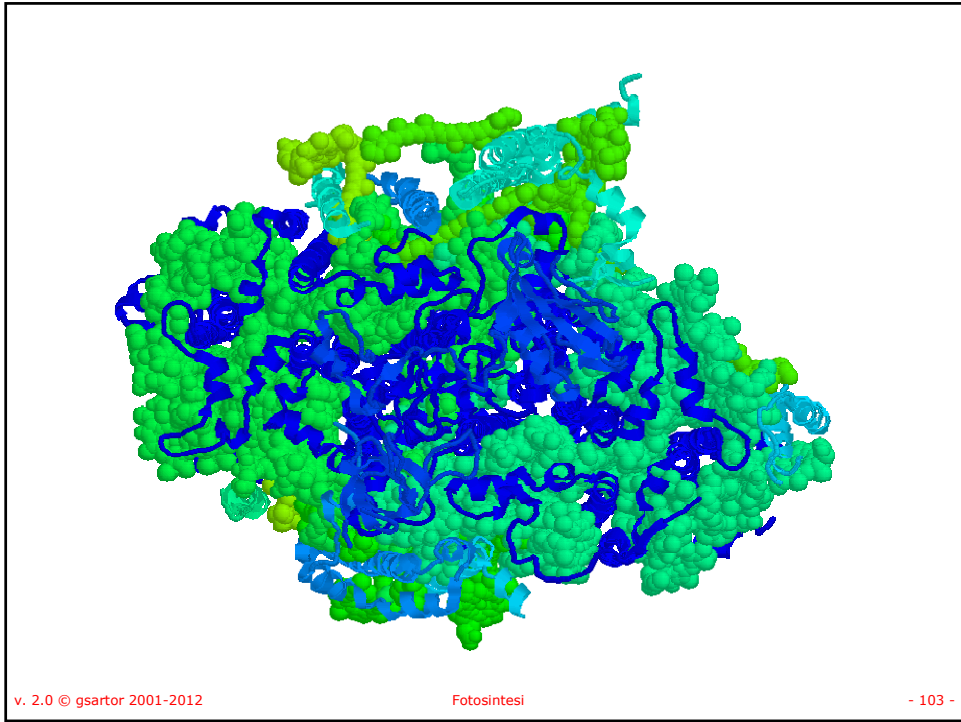
Fotosintesi

- 98 -

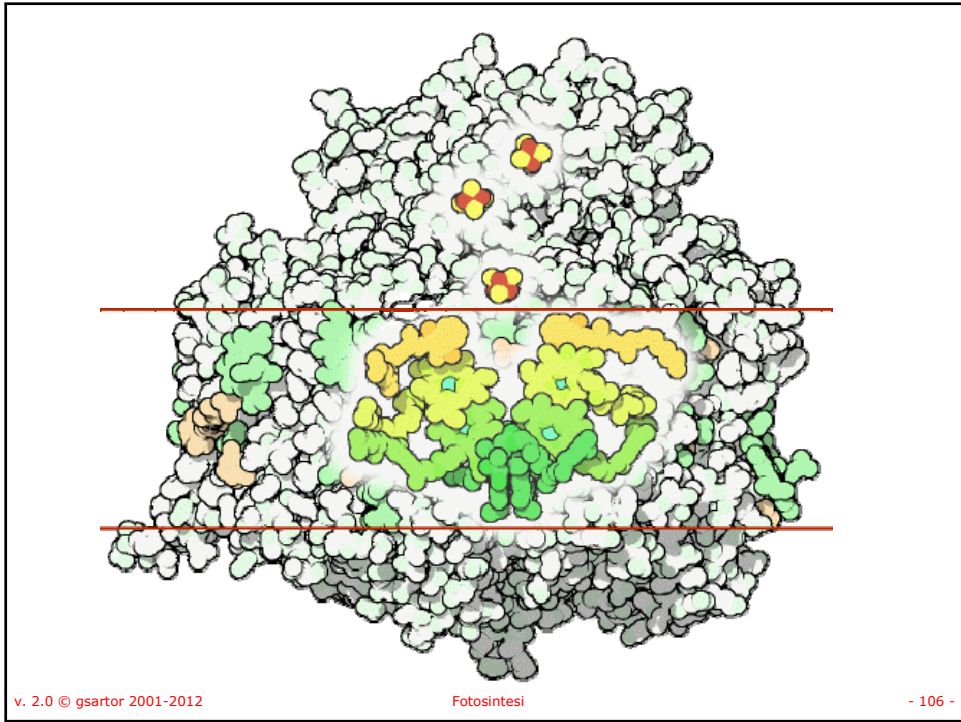
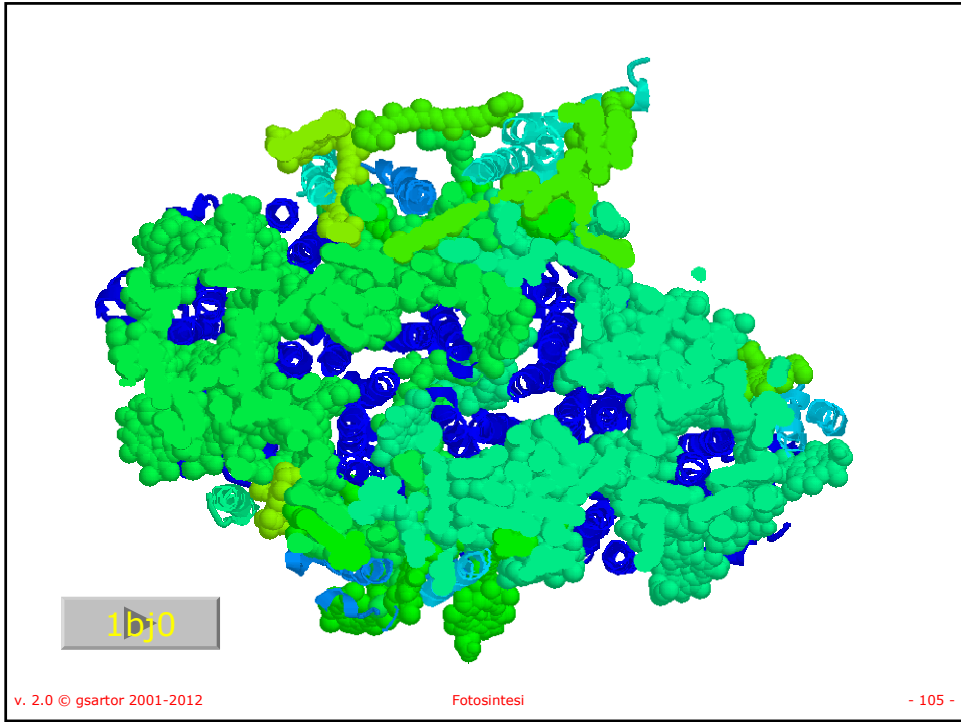


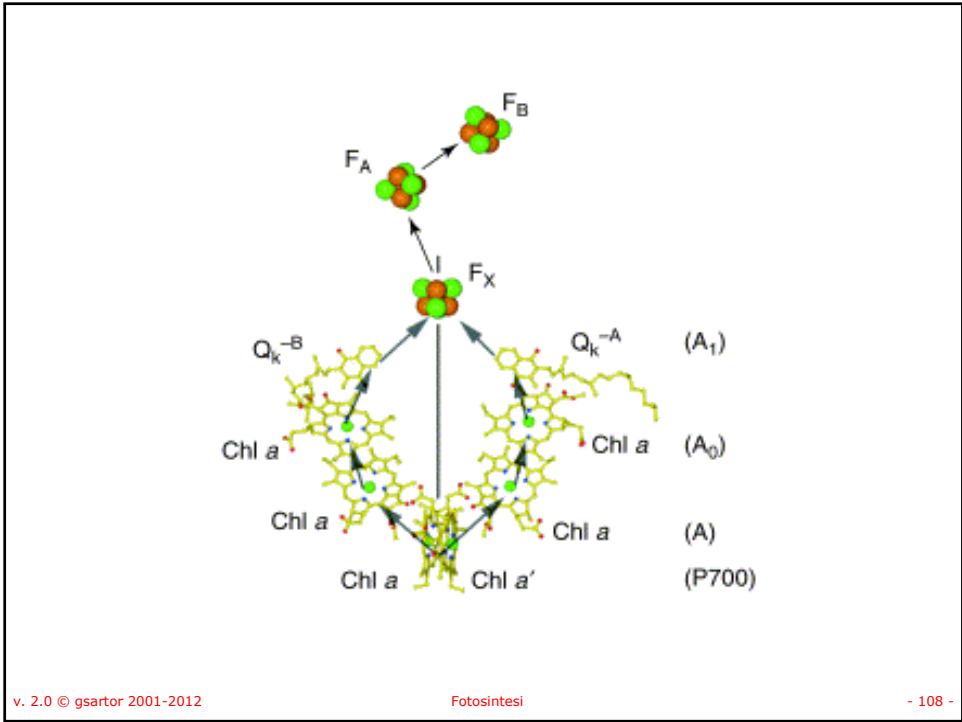
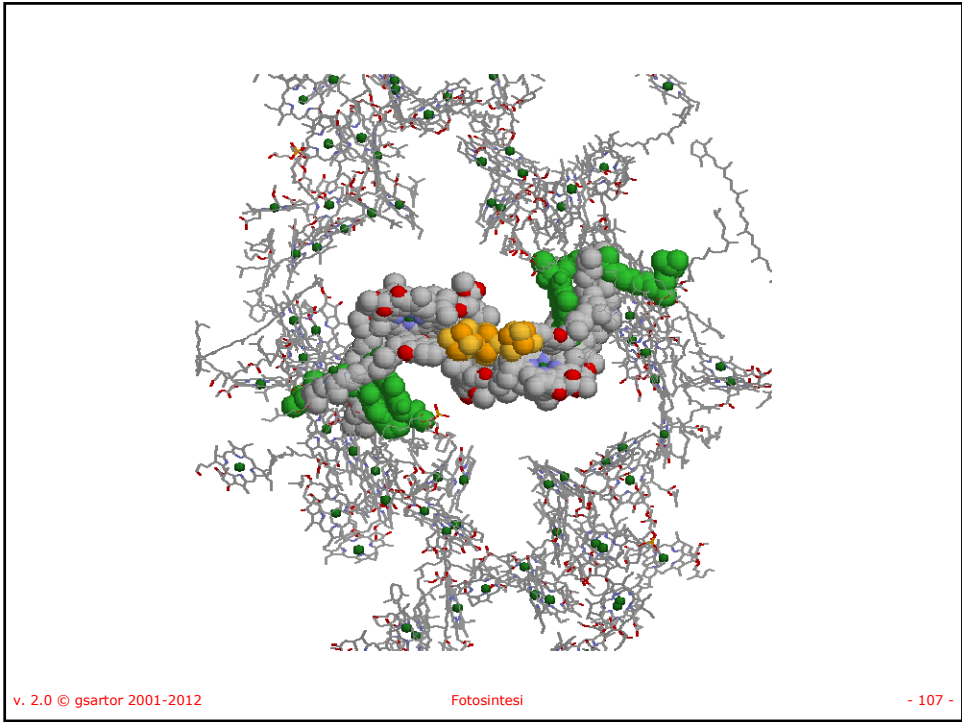


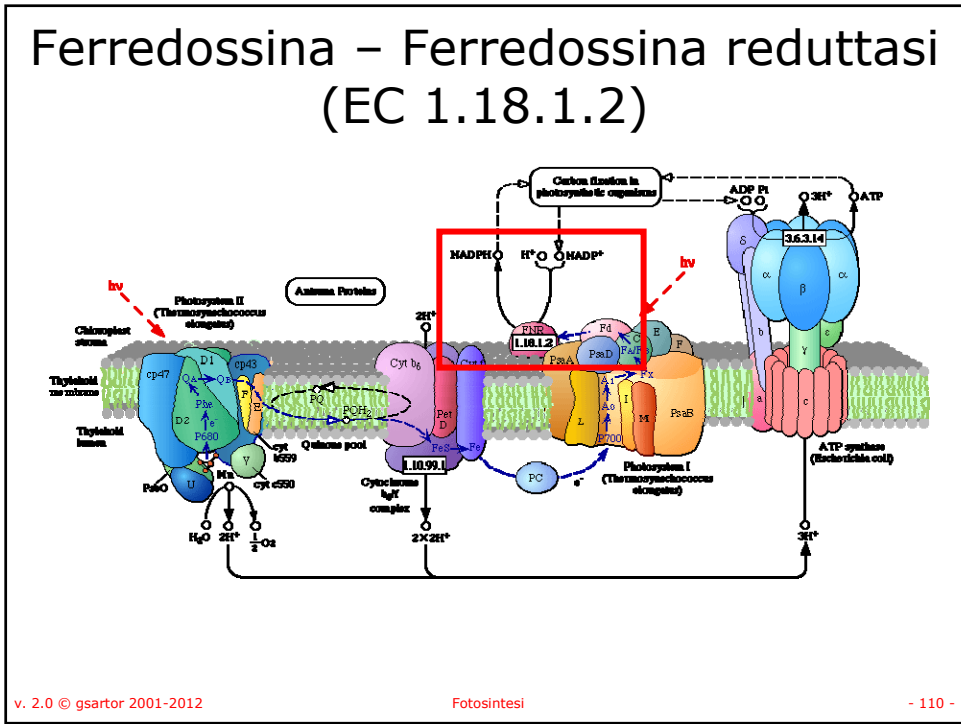
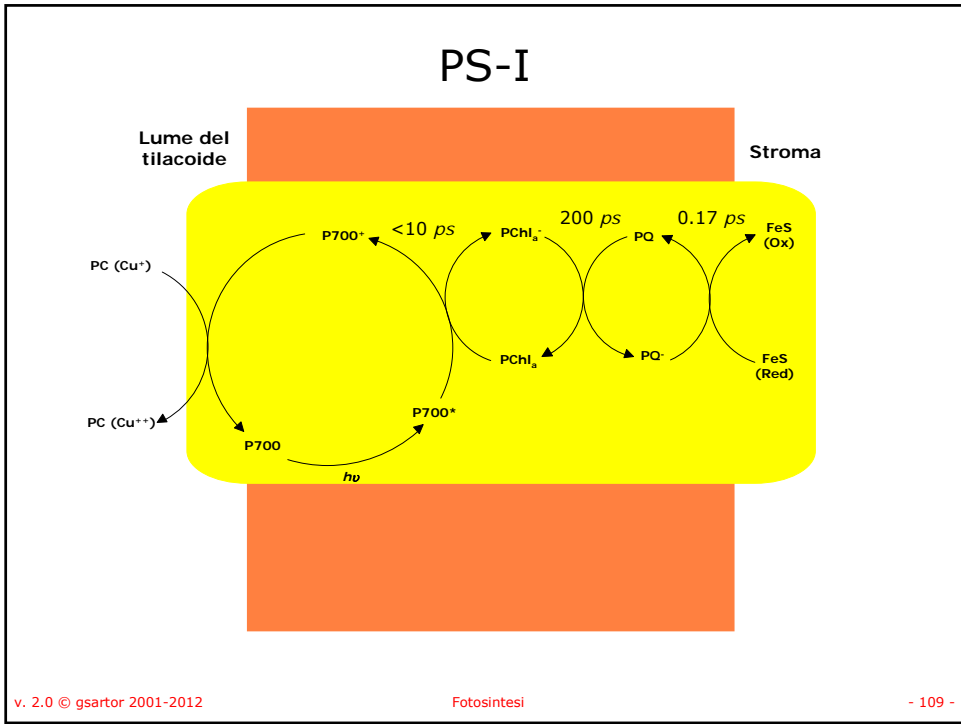






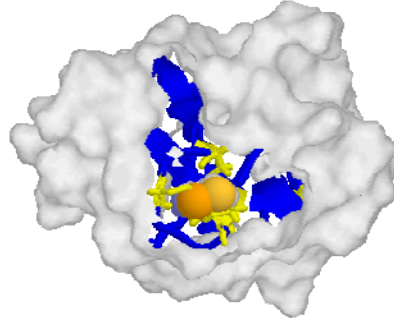






## Ferredossina

- La ferredossina è un trasportatore mobile di elettroni che sfrutta la presenza di un cluster  $\text{Fe}_2\text{S}_2$ .
- La ferredossina accetta un elettrone dal PS-I e lo trasferisce al  $\text{NADP}^+$ .



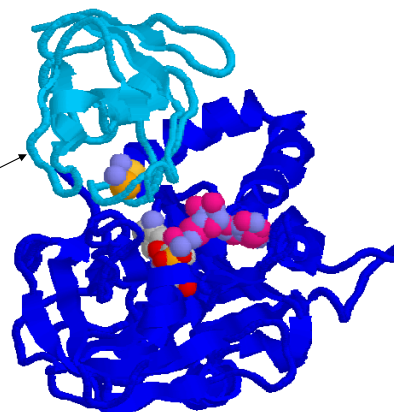
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 111 -

## Ferredossina riduttasi (EC 1.18.1.2)

- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al  $\text{NADP}^+$  è catalizzato da una ferredossina-riduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata.
- Il FAD è convertito in  $\text{FADH}_2$ .
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al  $\text{NADP}^+$  nello stroma.



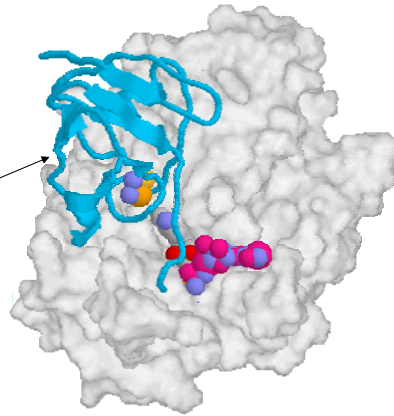
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 112 -

## Ferredossina riduttasi (EC 1.18.1.2)

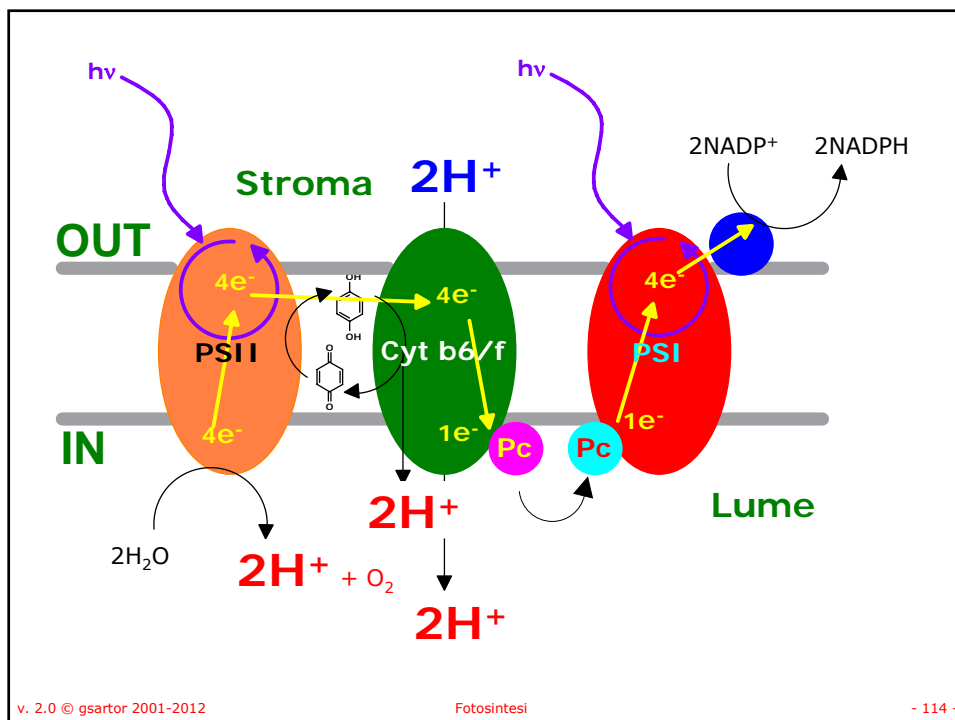
- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al NADP<sup>+</sup> è catalizzato da una ferredossina-riduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata.
- Il FAD è convertito in FADH<sub>2</sub>.
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al NADP<sup>+</sup> nello stroma.



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

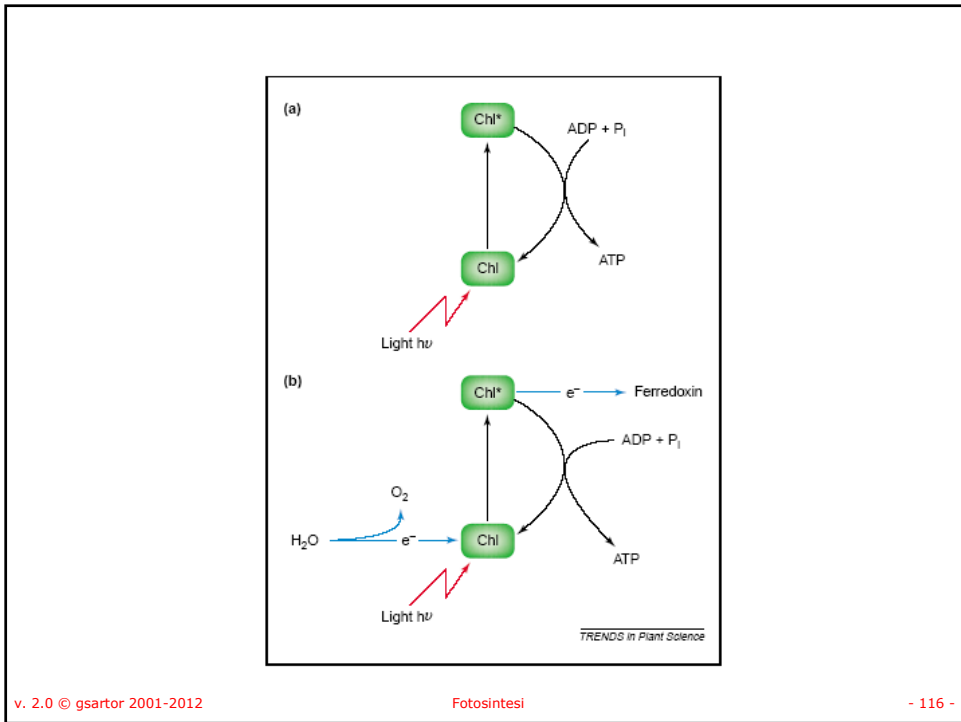
- 113 -

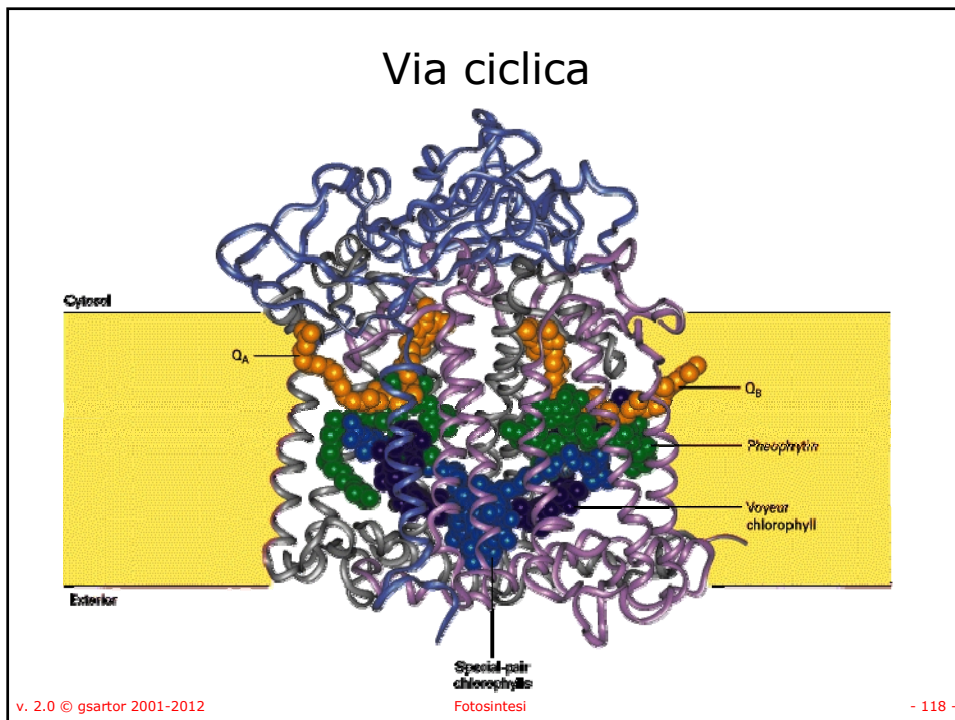
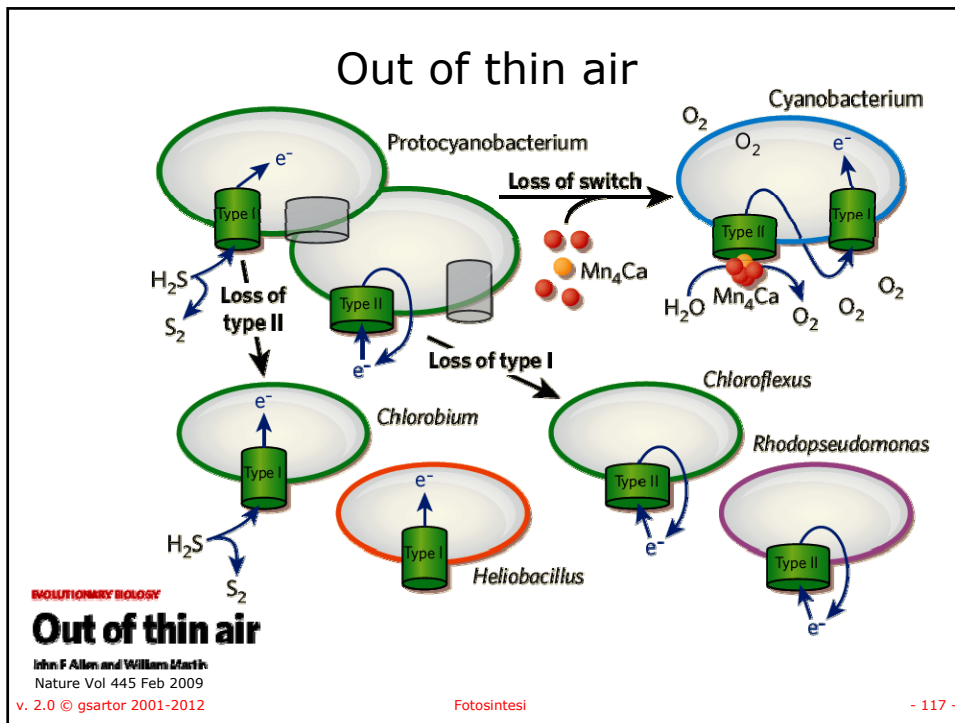


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

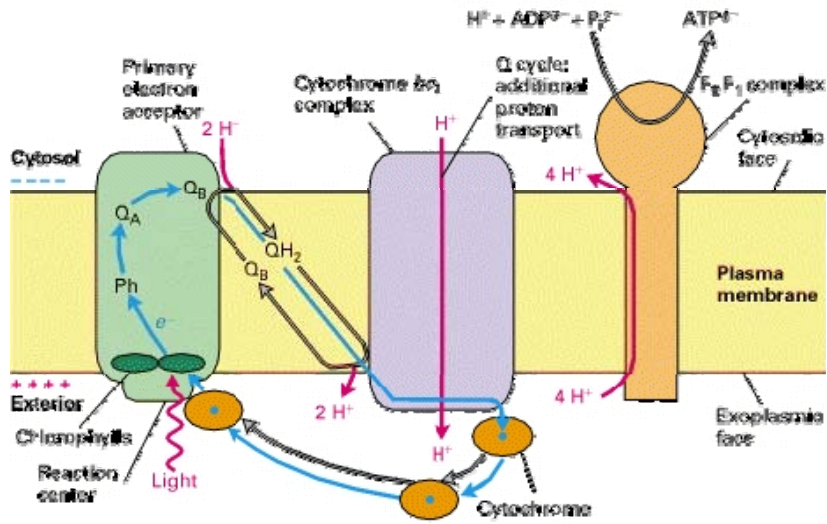
Fotosintesi

- 114 -





## Via ciclica nei *Rhodobacter*

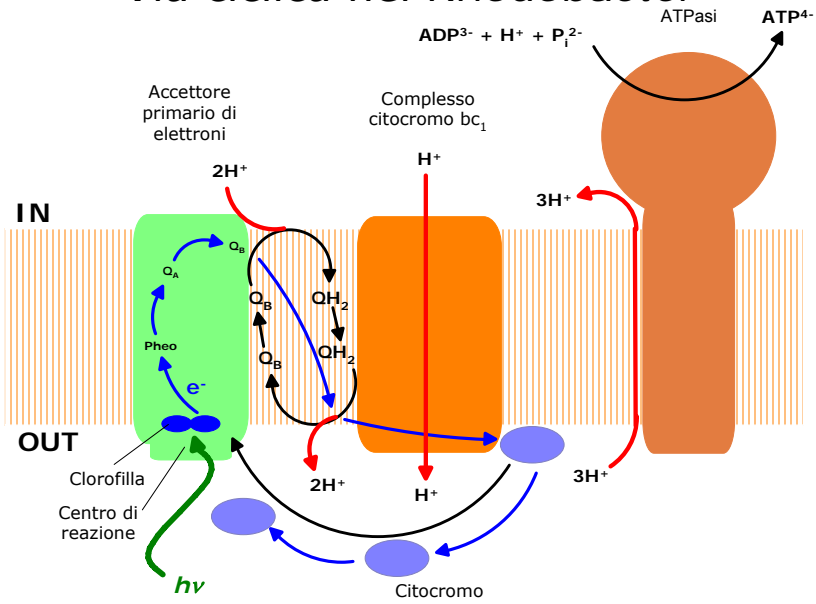


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 119 -

## Via ciclica nei *Rhodobacter*



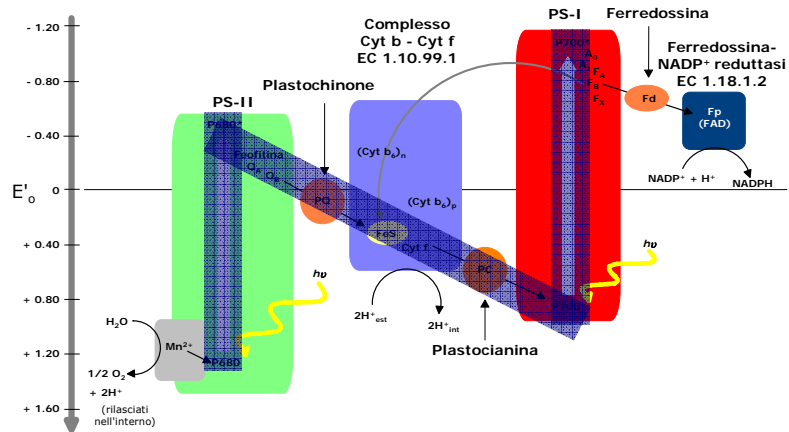
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 120 -



## Schema a Z

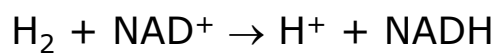
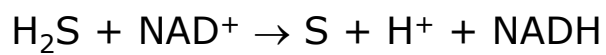
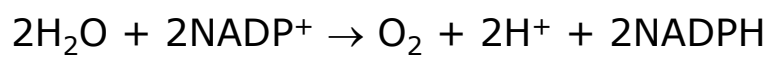


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 121 -

## Via fotosintetica non ciclica



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 122 -

# cF<sub>1</sub>F<sub>o</sub> ATP Sintasi

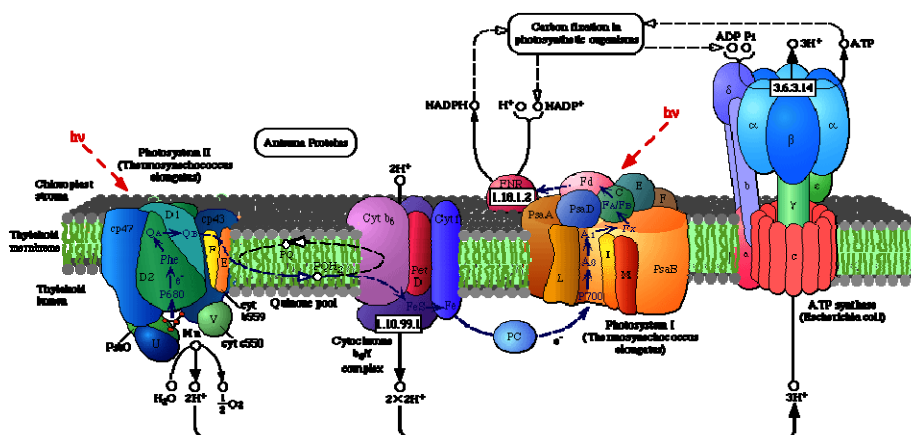
## Meccanismo della sintesi di ATP

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 123 -

## ATP sintasi

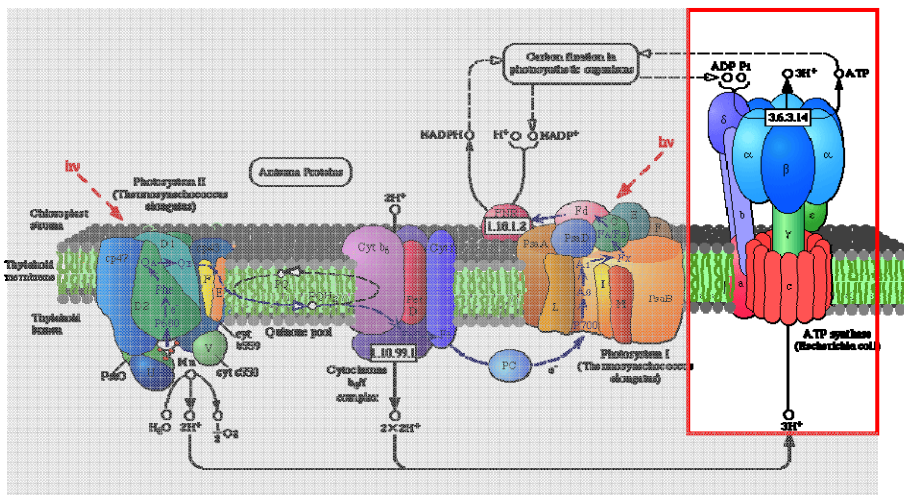


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 124 -

## ATP sintasi



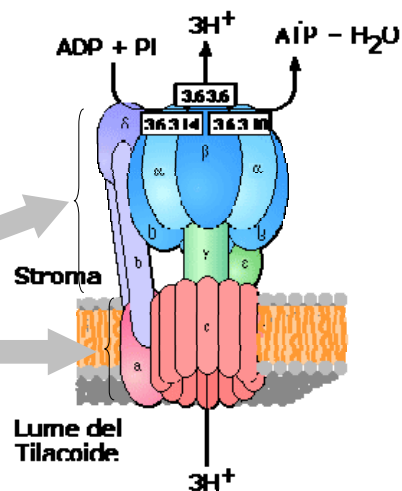
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 125 -

## ATP sintasi

- La ATP sintasi, presente nella membrana del tilacoide.
- È composta di sue principali unità catalitiche:
  - $F_1$ : costituita da cinque polipeptidi con stechiometria  $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ .
  - $F_0$ : proteina di membrana che gestisce il trasporto di protoni.



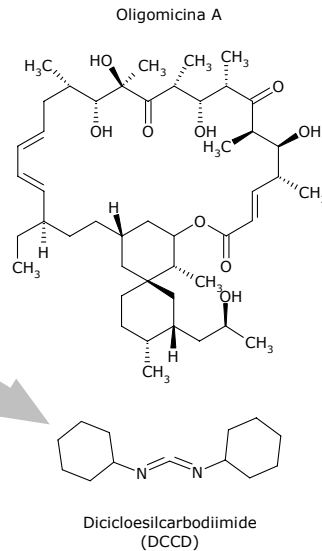
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 126 -

## Inibitori ATP sintasi

- Bloccano il trasporto di  $H^+$  accoppiato alla sintesi o all'idrolisi di ATP.
  - Oligomicina A, un antibiotico.
  - Diciolesilcarbodiimide (DCCD) è un reagente dei gruppi carbonilici in ambiente idrofobico per formare un addotto covalente.
- Entrambi bloccano il flusso di  $H^+$  nella membrana inibendo la sintesi di ATP attraverso l'interazione con  $F_o$ .

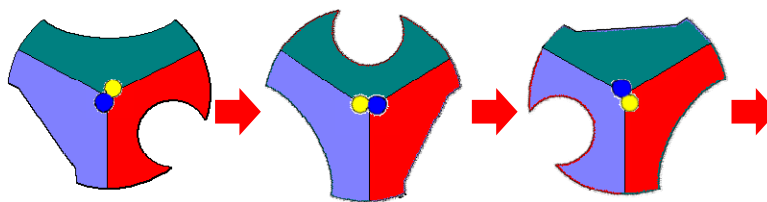


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 127 -

## Meccanismo di sintesi



- Il meccanismo di legame e di sintesi accoppiata è stata proposta da Boyer e Walker (Nobel).
- Per semplicità sono riportate solo le subunità catalitiche  $\beta$ .
  - È stato proposto che una struttura proteica di forma irregolare ( $\gamma$ ) sia legata a  $F_o$  e ruoti relativamente alle tre subunità catalitiche  $\beta$ .
  - La rotazione di  $\gamma$  è pilotata dal flusso protonico attraverso  $F_o$ .

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 128 -

# Meccanismo di sintesi

The Nobel Prize in Chemistry 1997

"for their elucidation of the enzymatic mechanism underlying the synthesis of adenosine triphosphate (ATP)"

"for the first discovery of an ion-transporting enzyme, H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase"



Paul D. Boyer



John E. Walker



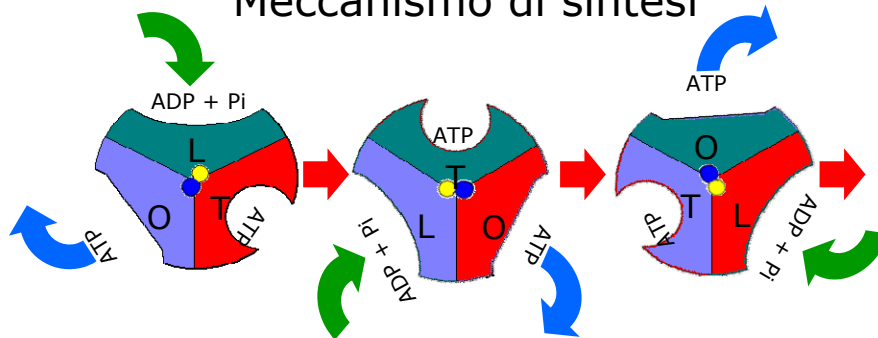
Jens C. Skou

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 129 -

# Meccanismo di sintesi



- La conformazione di ogni subunità catalitica  $\beta$  cambia sequenzialmente a seguito dell'interazione con la subunità  $\gamma$  che ruota (al centro).
- Ogni subunità catalitica  $\beta$  ha una conformazione diversa per ogni passo del ciclo catalitico
- Per esempio la subunità verde è sequenzialmente:
  - In conformazione L (loose) nella quale il sito attivo lega debolmente ADP + Pi
  - In conformazione T (tight) nella quale il substrato è legato fortemente e si forma ATP.
  - In conformazione O (open) nella quale viene rilasciato l'ATP.

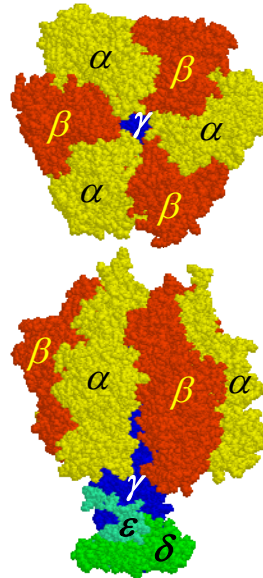
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 130 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- F<sub>1</sub> consiste di cinque polipeptidi con stechiometria  $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \varepsilon$  (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità  $\alpha$  e  $\beta$  sono omologhe.



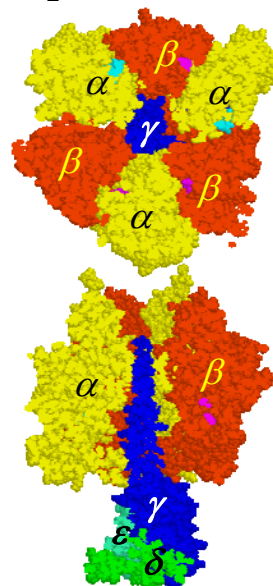
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 131 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- F<sub>1</sub> consiste di cinque polipeptidi con stechiometria  $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \varepsilon$  (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità  $\alpha$  e  $\beta$  sono omologhe.



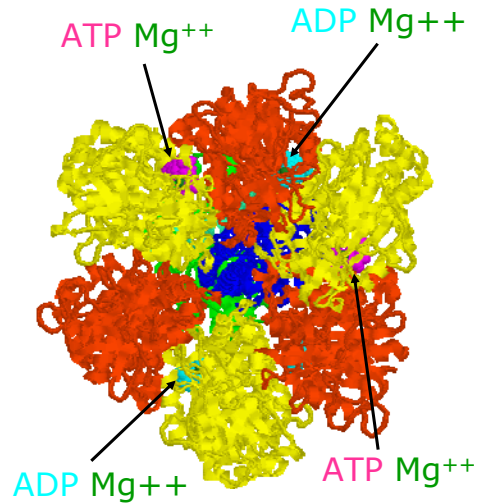
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 132 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce  $\alpha\beta$  con predominanza nella subunità  $\beta$ .
- Ognuna delle tre subunità  $\alpha$  contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità  $\alpha$  e  $\beta$  complessati con  $Mg^{++}$ .



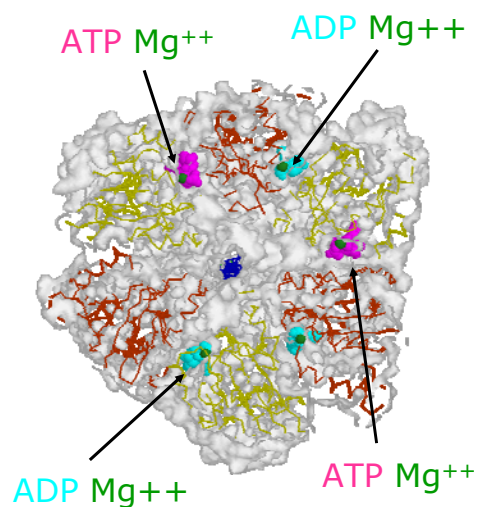
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 133 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce  $\alpha\beta$  con predominanza nella subunità  $\beta$ .
- Ognuna delle tre subunità  $\alpha$  contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità  $\alpha$  e  $\beta$  complessati con  $Mg^{++}$ .



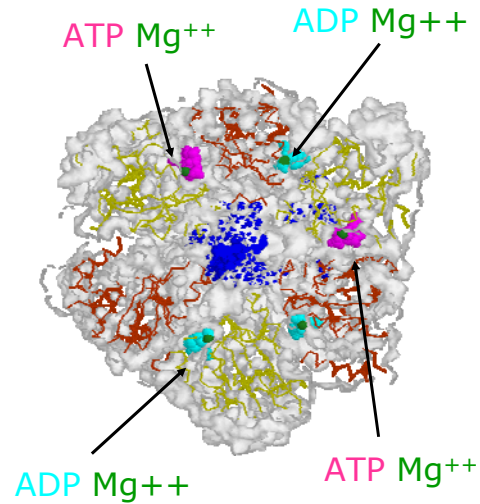
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 134 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce  $\alpha\beta$  con predominanza nella subunità  $\beta$ .
- Ognuna delle tre subunità  $\alpha$  contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità  $\alpha$  e  $\beta$  complessati con  $Mg^{++}$ .



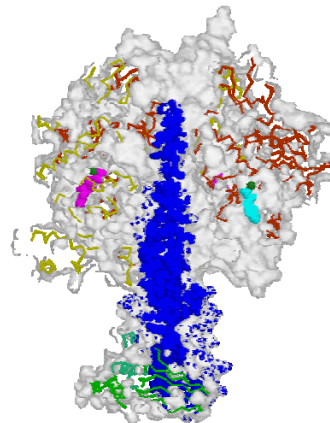
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 135 -

## Struttura di F<sub>1</sub>

- La subunità  $\gamma$  include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

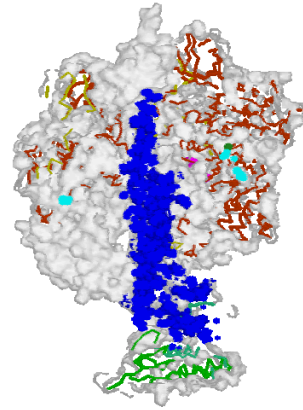
Fotosintesi

- 136 -



## Struttura di F<sub>1</sub>

- La subunità  $\gamma$  include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .

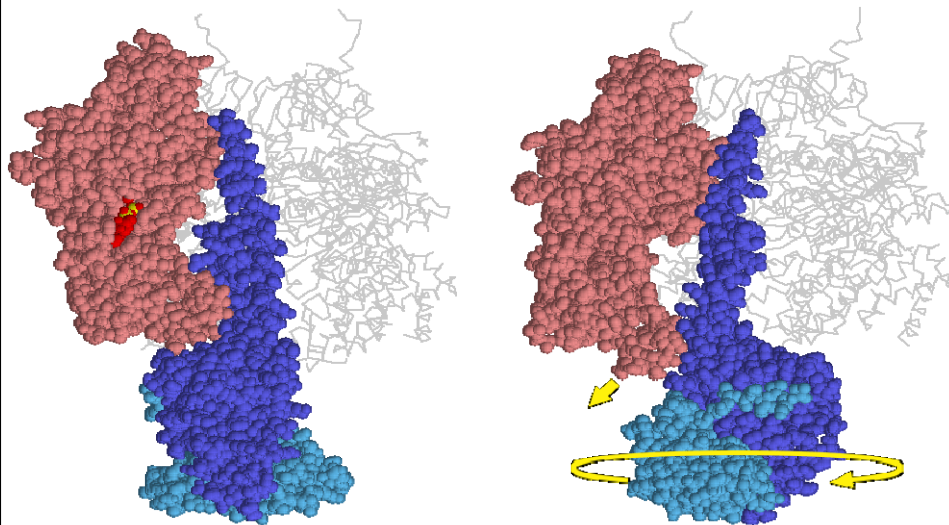


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 137 -

## F<sub>1</sub>



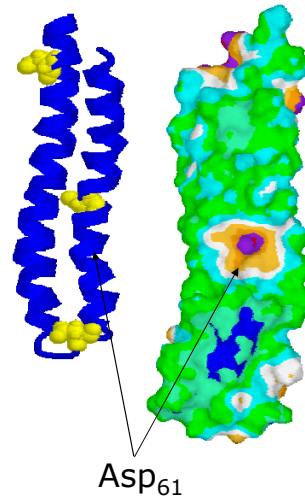
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 138 -

## Subunità F<sub>o</sub>

- La subunità c di F<sub>o</sub> ha una struttura ripiegata (hairpin) con due  $\alpha$ -eliche transmembrana connesse da un corto loop.
- È un peptide molto idrofobico.
- Una delle due  $\alpha$ -eliche ha un residuo acido (Asp o Glu) che è il sito di reazione del DCCD.
- Tale residuo è essenziale per il trasporto dei H<sup>+</sup> attraverso F<sub>o</sub>.

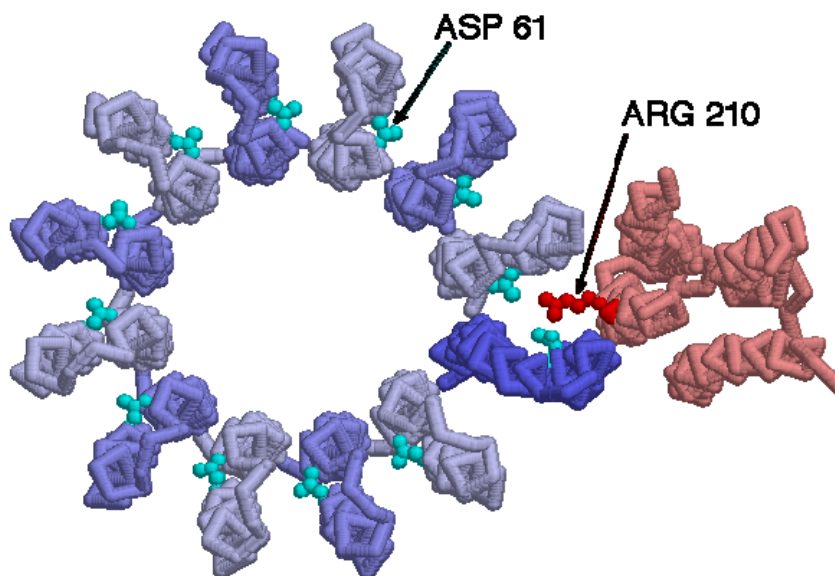


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 139 -

F<sub>o</sub>



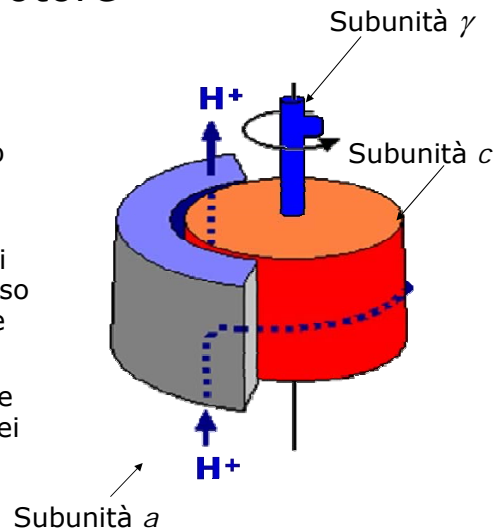
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 140 -

## Il rotore

- È stato proposto che la subunità  $a$  di  $F_0$  formi due mezzi canali per il trasporto dei protoni.
- Il trasporto avverrebbe attraverso la ionizzazione di gruppi ionizzabili o attraverso molecole d'acqua contenute nei canali.
- La variazione di ionizzazione (Asp61 in  $c$ ) al passaggio dei protoni indurrebbe il movimento rotatorio del rotore trasmesso poi, attraverso  $\gamma$  a  $F_1$ .



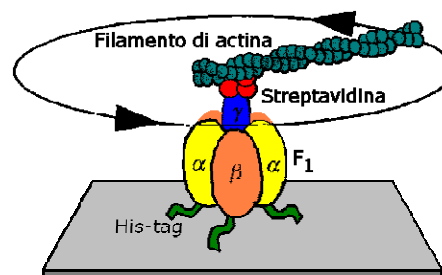
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 141 -

## Motori molecolari

- Che la rotazione di una parte della proteina avvenga in seguito all'idrolisi di ATP è stato dimostrato sperimentalmente:
  - Le subunità  $\beta$  di  $F_1$  sono state "saldate" ad una superficie.
  - Un filamento di actina opportunamente marcato con colorante fluorescente è stato legato alla porzione di  $\gamma$  che protrude dalla  $F_1$ .
  - Fornendo ATP nella soluzione si ha la rotazione (visibile) del braccio di actina in senso antiorario.



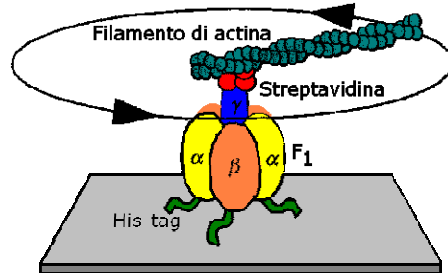
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 142 -

## Motori molecolari

- Alcune osservazioni indicano che la rotazione indotta da ATP avviene in passi discreti di  $120^\circ$  con pause tra un passo e l'altro.
- Sembra inoltre che ogni passo di  $120^\circ$  avvenga con sosta in sottopassi di  $90^\circ$  e  $30^\circ$  intervallati da pause più brevi.
- È stato proposto che questi sottopassi siano connessi a passaggi del ciclo catalitico come il legame di ATP e il rilascio di ADP e  $P_i$ .



- [http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main\\_.html](http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main_.html)

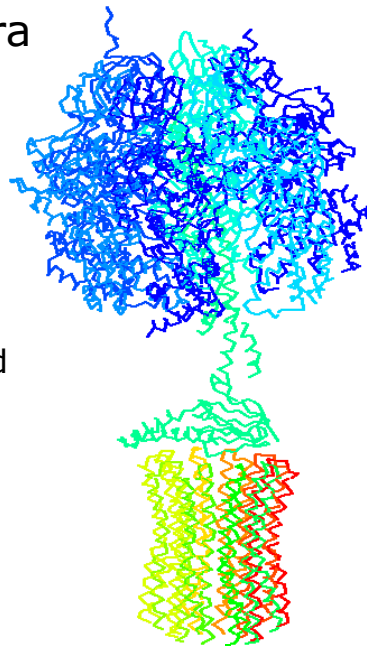
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 143 -

## Struttura

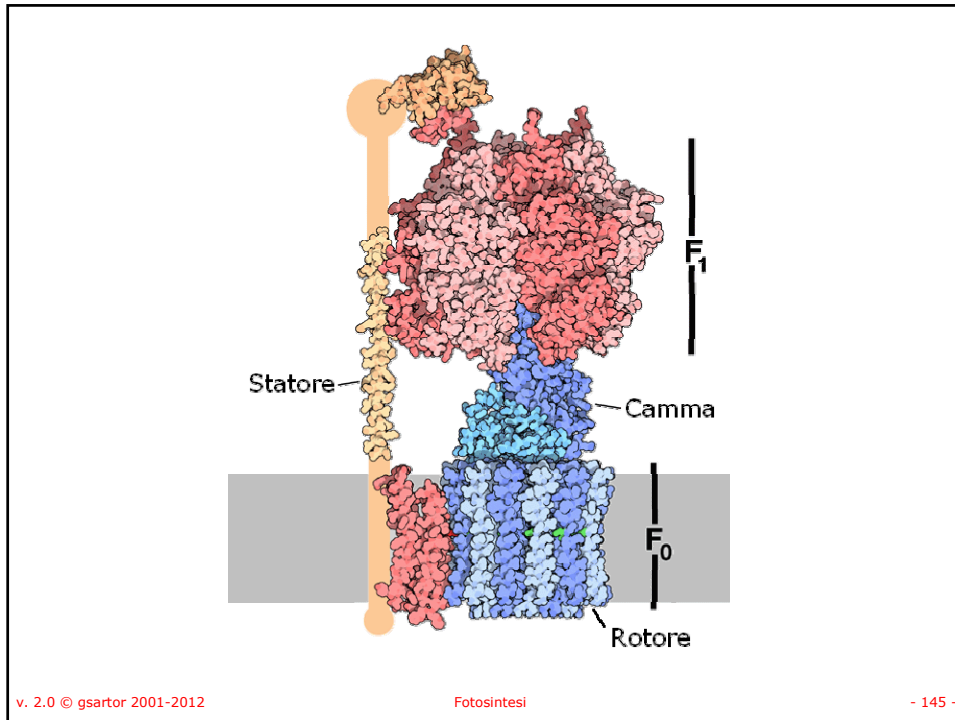
- Questo è il massimo di risoluzione ottenuta fino ad ora della definizione della intera struttura dell'ATP sintasi.



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

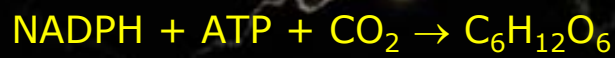
Fotosintesi

- 144 -



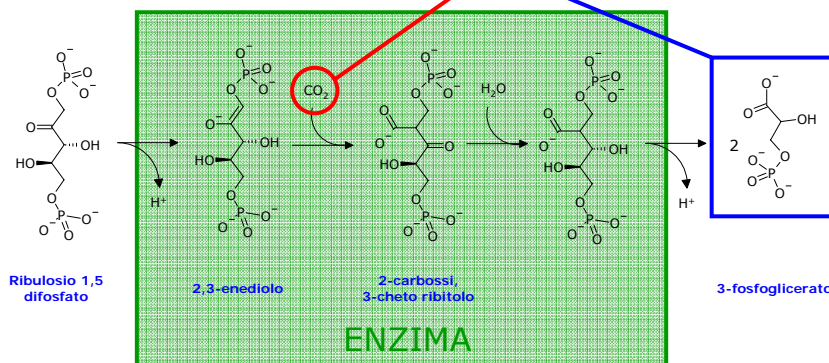
# FASE BUIA

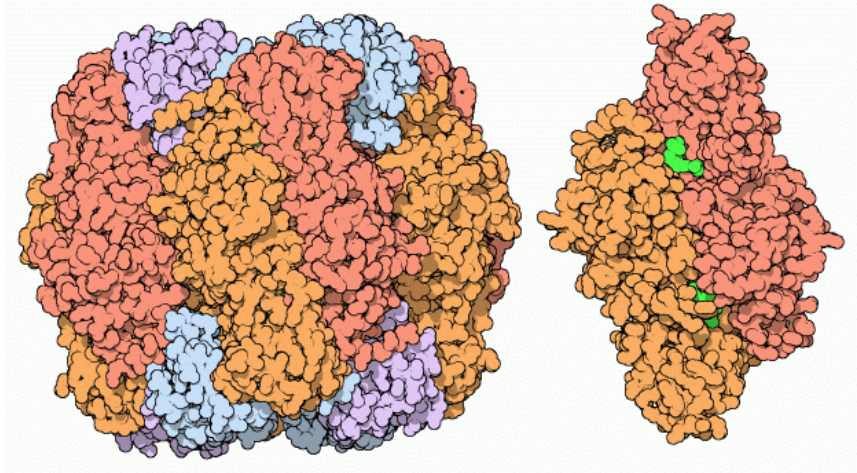
# FASE BUIA



## Fissazione della $\text{CO}_2$

- Solo gli organismi fototrofi possono fissare la  $\text{CO}_2$ , gli animali, pur potendo legare la  $\text{CO}_2$  in molecole più complesse, non sono in grado di accumulare composti organici da  $\text{CO}_2$ .
- Nelle piante e nei batteri fotosintetici la  $\text{CO}_2$  viene convertita, in prima istanza, in 3-fosfoglicerato.





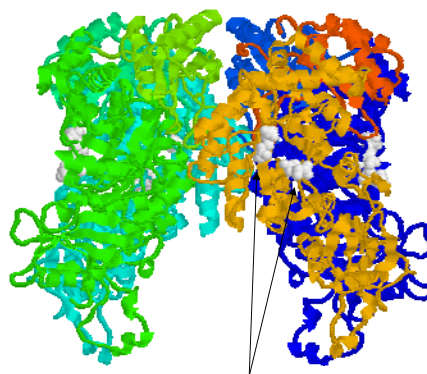
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 149 -

## Fissazione della CO<sub>2</sub>

- Queste reazioni sono catalizzate dall'enzima: D-ribuloso 1,5-difosfato carbossilasi (EC 4.1.1.39), RUBISCO.
- Un enzima stromale dal peso molecolare di 550kD ( $\alpha_8\beta_8$ ).
- Si ritiene che sia l'enzima maggiormente presente sulla terra.
- Responsabile della selezione isotopica.



3-fosfoglicerato

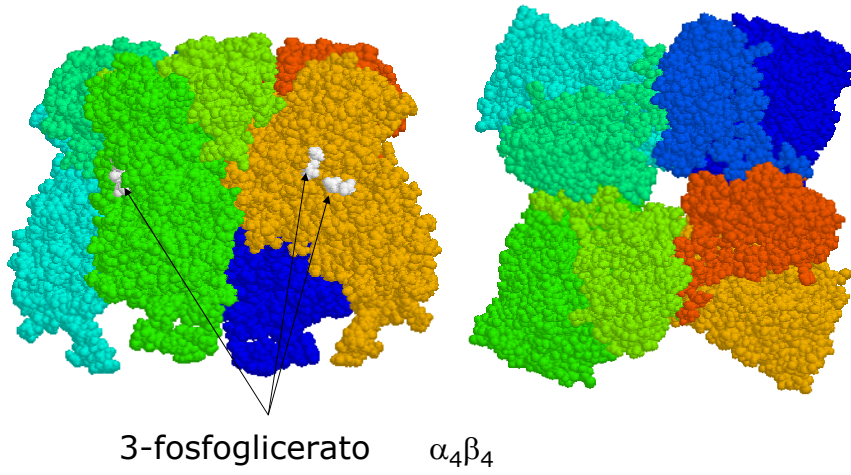
$\alpha_4\beta_4$

v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 150 -

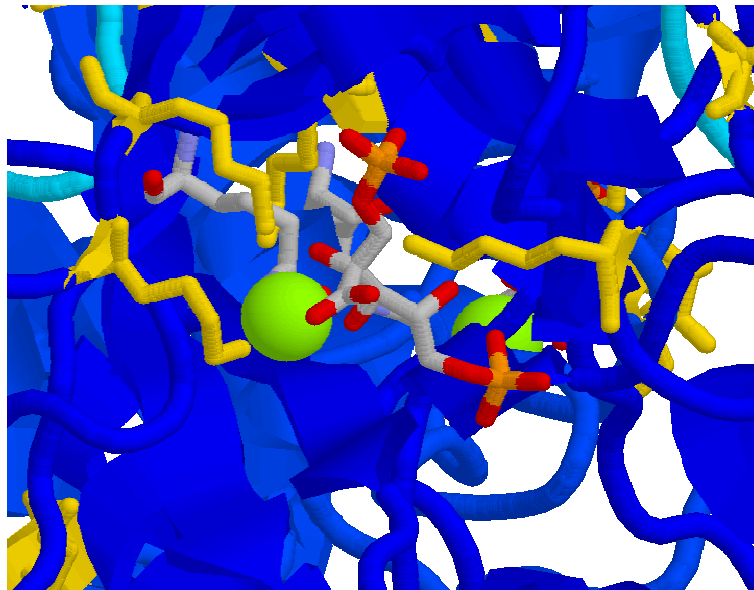
# Rubisco (EC 4.1.1.39)



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 151 -

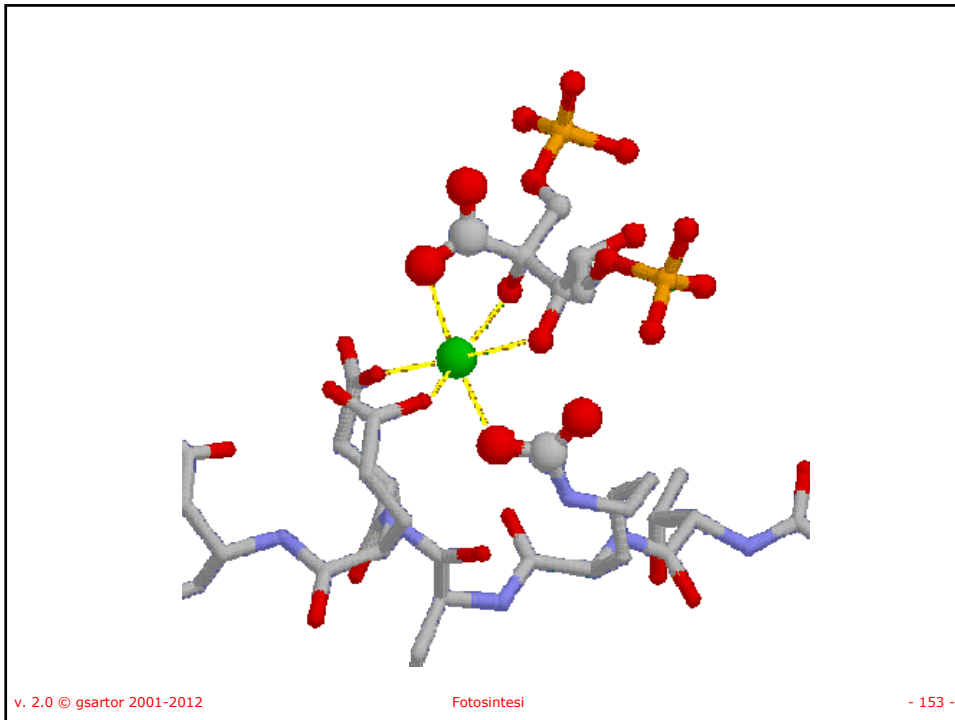


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 152 -





## Ciclo di Calvin-Benson

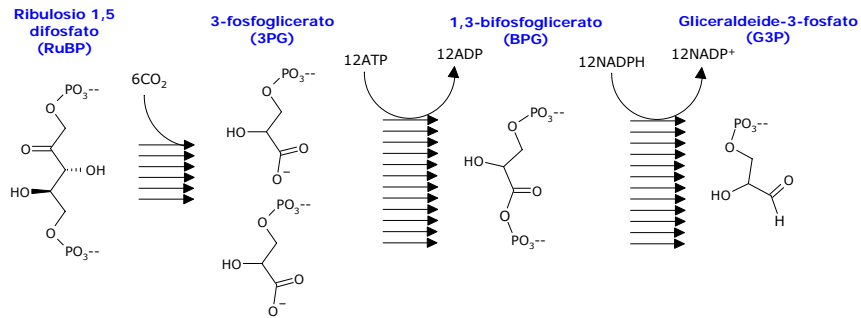
*"for his research on the carbon dioxide assimilation in plants"*



**Melvin Calvin**

The Nobel Prize in Chemistry 1961

## Ciclo di Calvin-Benson

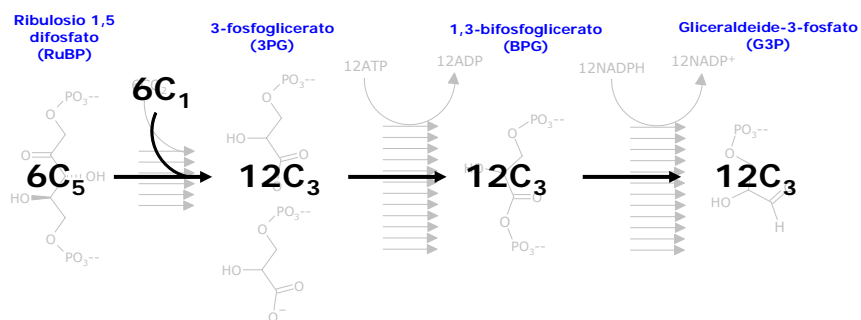


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 155 -

## Ciclo di Calvin-Benson

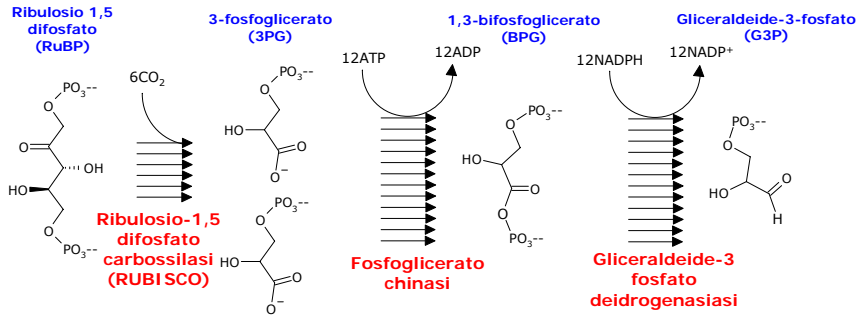


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 156 -

# Ciclo di Calvin-Benson

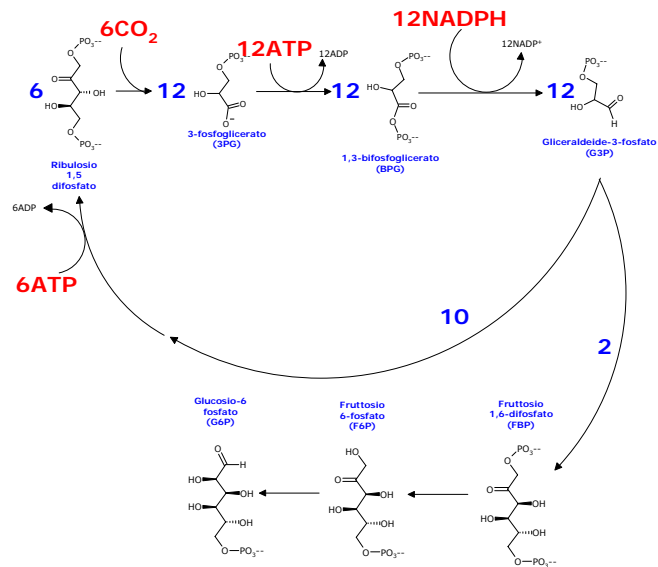


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 157 -

# Ciclo di Calvin-Benson

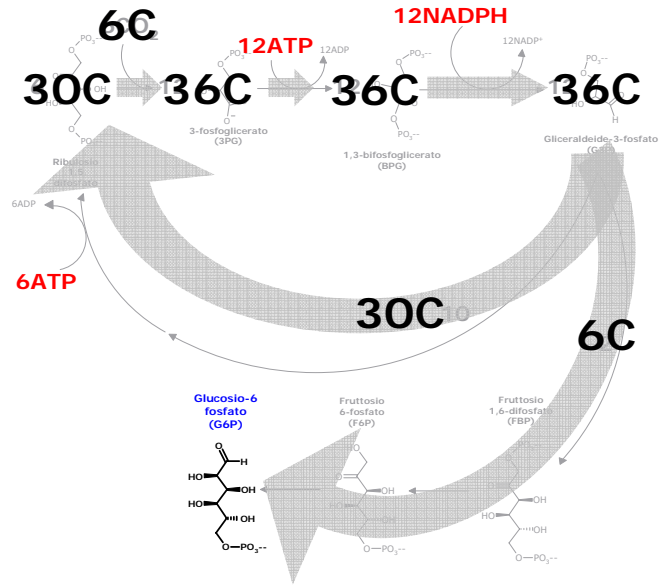


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 158 -

# Ciclo di Calvin-Benson

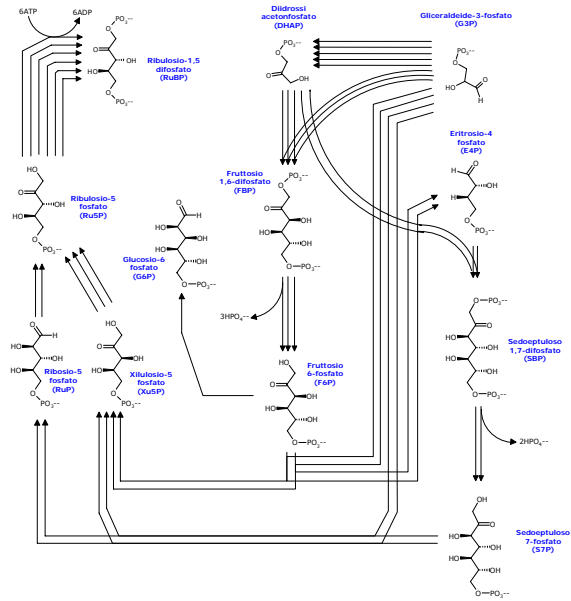


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 159 -

# Ciclo di Calvin-Benson

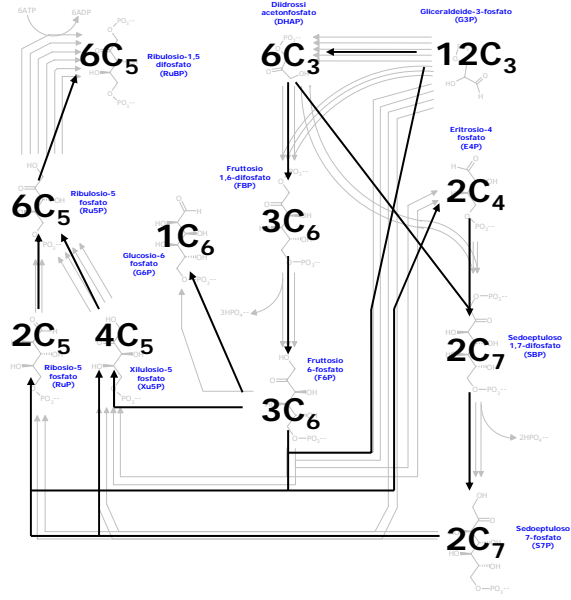


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 160 -

# Ciclo di Calvin-Benson

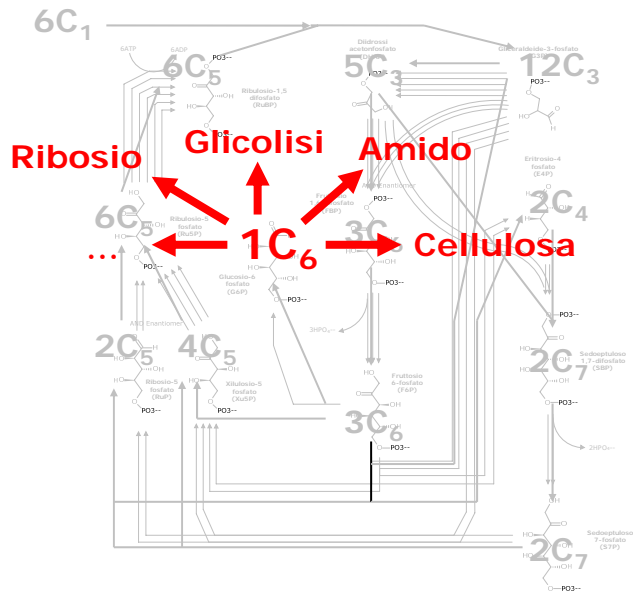


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 161 -

# Ciclo di Calvin-Benson

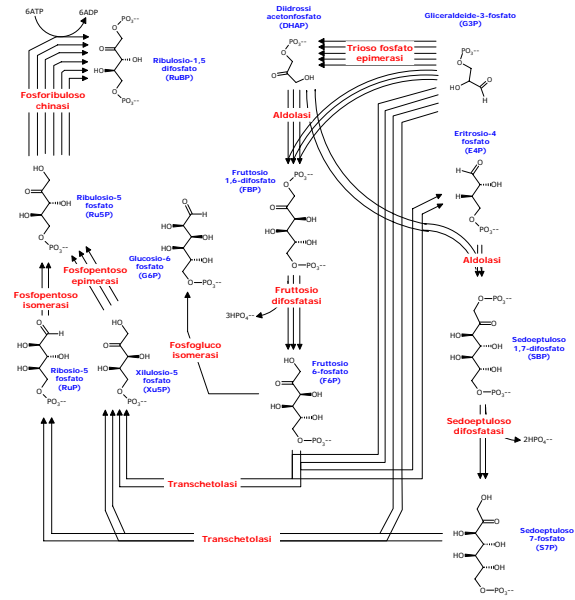


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 162 -

# Ciclo di Calvin-Benson

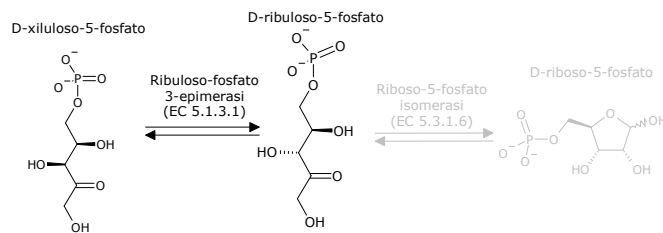


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

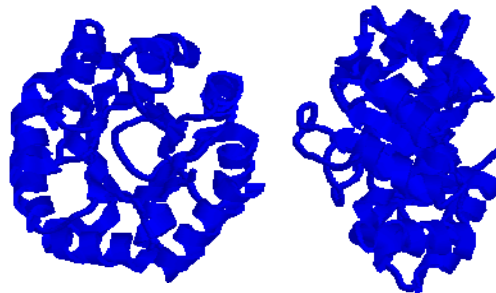
Fotosintesi

- 163 -

# Epimerasi (EC 5.1.3.1 )



Struttura ad "α-β barrel"

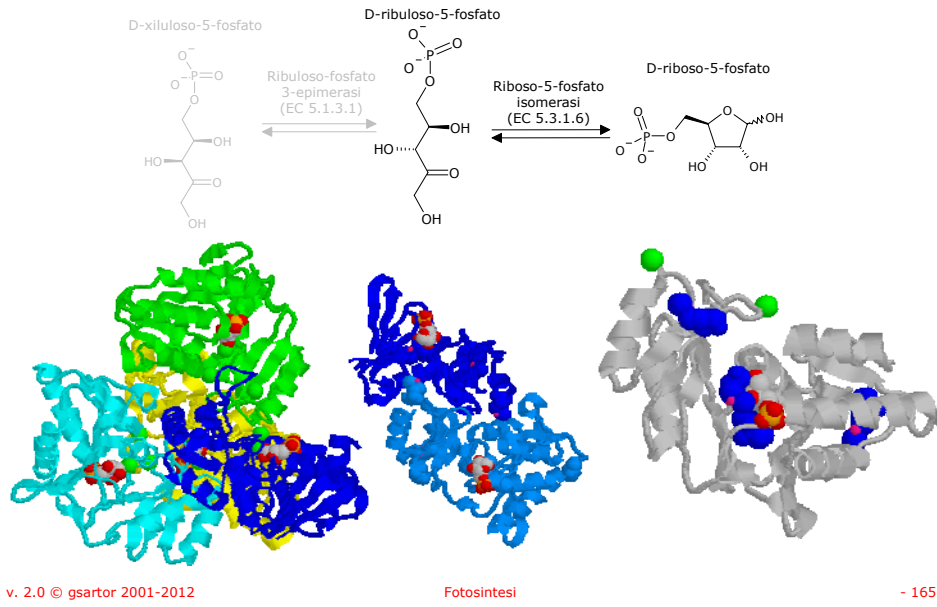


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

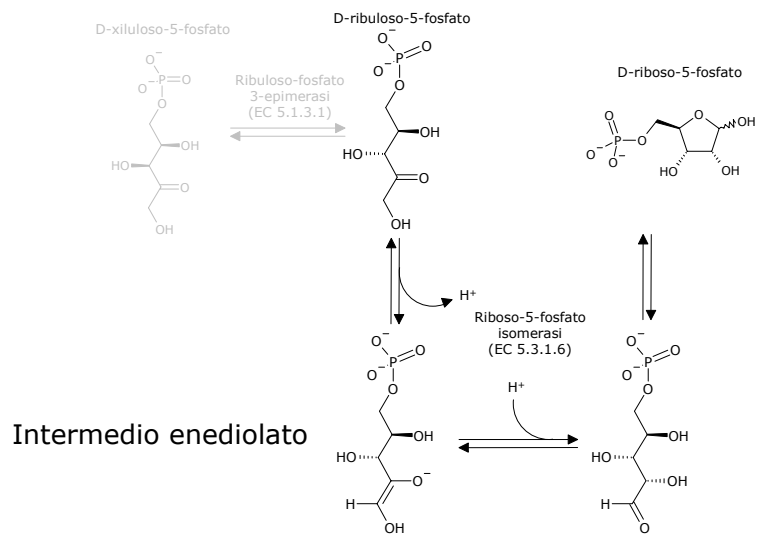
Fotosintesi

- 164 -

## Isomerasi (EC 5.3.1.6)

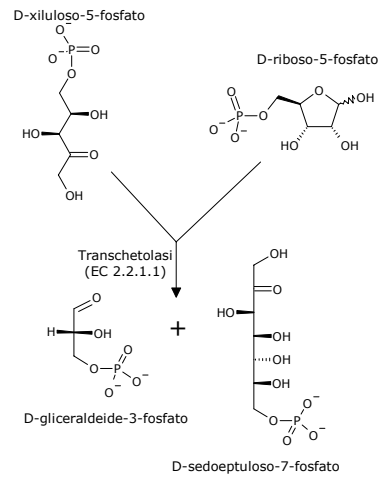


## Isomerasi (EC 5.3.1.6)



## Transchetolasi (EC 2.2.1.1 )

- Le transchetolasi e le transaldolasi catalizzano, rispettivamente, il trasferimento di frammenti di due o tre atomi di carbonio da un chetoso donatore ad un aldoso accettore.
- La transchetolasi trasferisce un frammento 2-C dal xiluloso-5-fosfato (chetoso) sia al riboso-5-fosfato che all' eritroso-4-fosfato (aldosi).

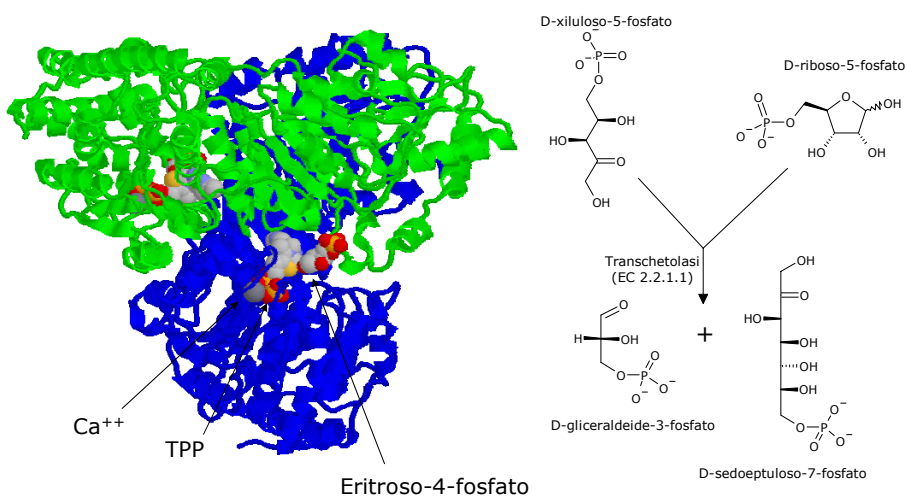


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 167 -

## Transchetolasi (EC 2.2.1.1 )



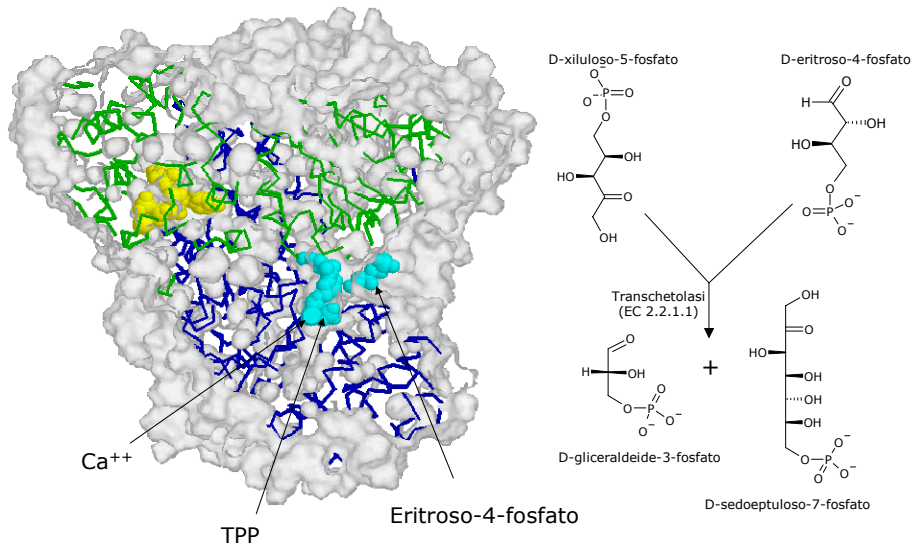
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 168 -



## Transchetolasi (EC 2.2.1.1 )



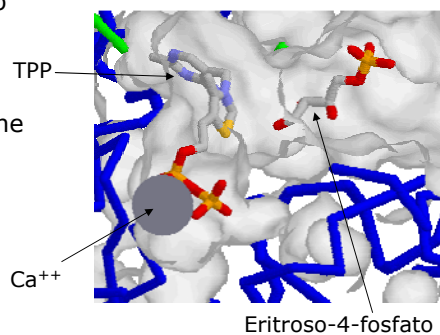
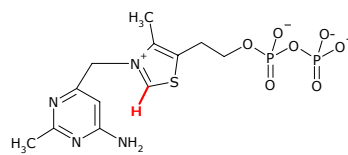
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 169 -

## Tiaminapirofosfato

- La transchetolasi utilizza come gruppo prostetico il TPP (tiaminapirofosfato) derivato dalla vitamina B<sub>1</sub>.
- Il TPP si lega nel sito attivo piegato a "V".
- Il protone tra gli atomi di azoto e zolfo nell'anello tiazolico è acido e dissocia.
- Il gruppo aminico dell'anello aminopiridino è vicino al protone dissociabile e serve come accettore (base).
- Il trasferimento del protone è favorito dalla presenza di un residuo di Glu adiacente all'anello pirimidinico.



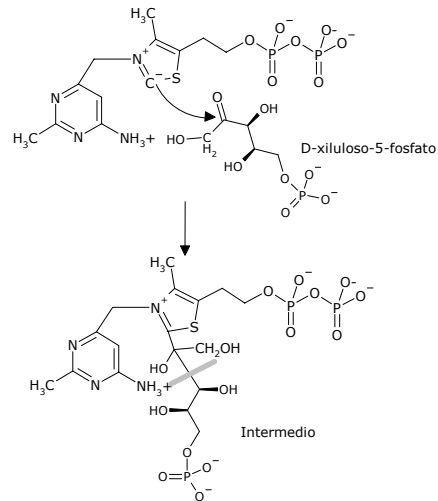
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 170 -

## Tiaminapirofosfato

- Il carbanione attacca il carbonile del xiluloso-5-P per formare un intermedio di addizione.
- Il N<sup>+</sup> nell'anello tiazolico agisce come un accettore di elettroni favorendo la rottura del legame C-C.



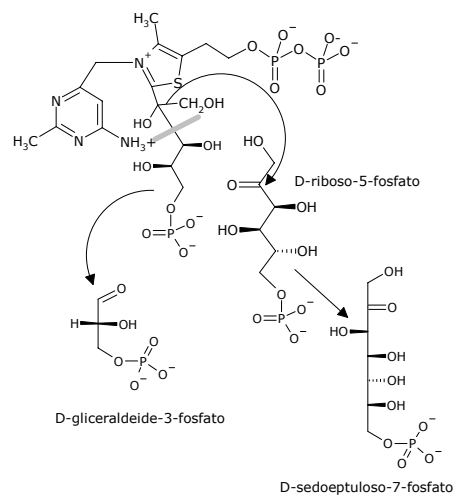
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 171 -

## Tiaminapirofosfato

- Si forma l'aldoso a tre atomi di carbonio gliceraldeide-3-P che viene rilasciato, il frammento a 2-C rimane legato al TPP.
- Il frammento 2-C condensa con un aldoso (eritroso-4-P o riboso-5-P) per formare un chetoso-P.
  - Il trasferimento del frammento 2-C sul riboso-5-P forma il sedoepuloso-7-fosfato.



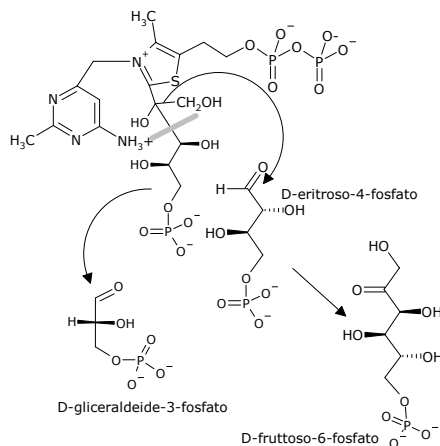
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 172 -

## Tiaminapirofosfato

- Si forma l'aldoso a tre atomi di carbonio gliceraldeide-3-P che viene rilasciato, il frammento a 2-C rimane legato al TPP.
- Il frammento 2-C condensa con un aldoso (eritroso-4-P o riboso-5-P) per formare un chetoso-P.
  - Il trasferimento del frammento 2-C sul eritroso-4-P forma il fruttosio-6-7-fosfato.



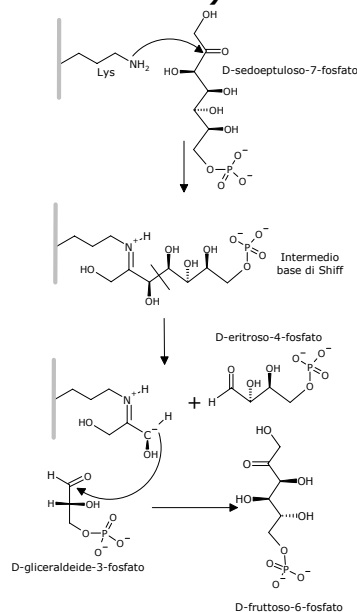
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 173 -

## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi trasferisce la porzione 3-C (diidrossiacetone) dal sedoeptuloso-7-fosfato alla gliceraldeide-3-fosfato.
- Il gruppo  $\epsilon$ -aminico della transaldolasi reagisce con il carbonile del sedoeptuloso-7-fosfato.
- Si forma la base di Schiff protonata.
- Si libera l'eritroso-4-fosfato. La base di Schiff stabilizza il carbanione in C3.
- La reazione prosegue con l'attacco del carbanione al carbonile della gliceraldeide-3-fosfato per formare fruttosio-6-fosfato.



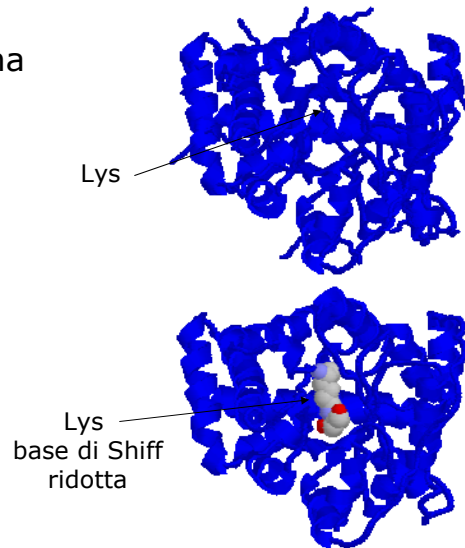
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 174 -

## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura  $\alpha,\beta$  barrel.



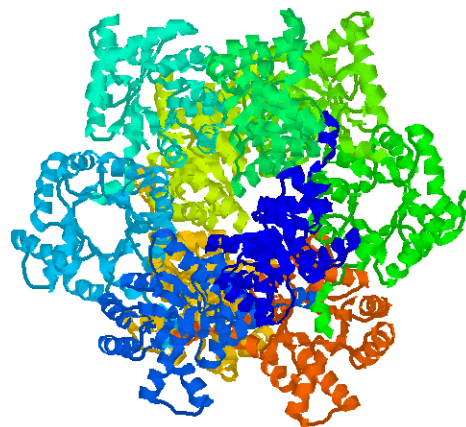
v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 175 -

## Transaldolasi (EC 2.2.1.2)

- La transaldolasi ha una struttura  $\alpha,\beta$  barrel.



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 176 -

## Bilancio

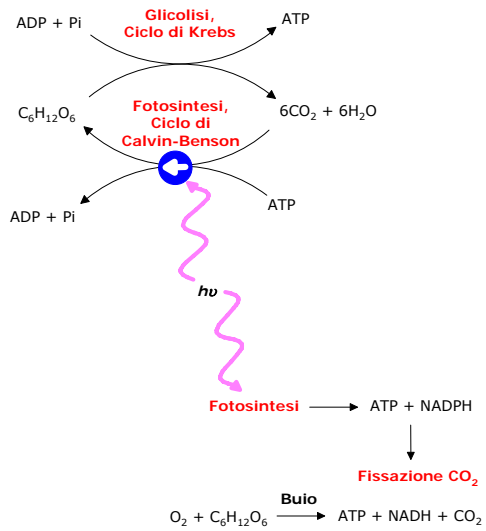
- Delle 18 molecole di ATP 12 sono usate per la fosforilazione 12 (6x2) molecole di 3PG e 6 per ricostituire 6 molecole di RuBP.
- Le 12 molecole di NADPH servono per ridurre il BPG a G3P.
- Quasi tutti gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson sono comuni con la glicolisi e con il ciclo dei pentosi, una differenza è che la gliceraldeide - 3-fosfato deidrogenasi è NADPH specifica mentre nella glicolisi è NAD<sup>+</sup> dipendente.

## Bilancio

- Da un punto di vista termodinamico il ciclo di Calvin-Benson è una reazione favorita.
- La reazione aldolasi nella glicolisi ha un  $\Delta G'_{\circ}$  di +24 kJ·mole<sup>-1</sup>, nel ciclo di Calvin-Benson avviene in senso opposto.
- Nella fase buia avvengono anche la glicolisi, il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa per produrre energia.

## Bilancio

- Non è un ciclo futile.
- Futile è produrre  $C_6H_{12}O_6$  scindendo ATP per rigenerarlo consumando ATP.
- Gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson rispondono indirettamente alla luce: sono attivati quando le cellule sono illuminate.

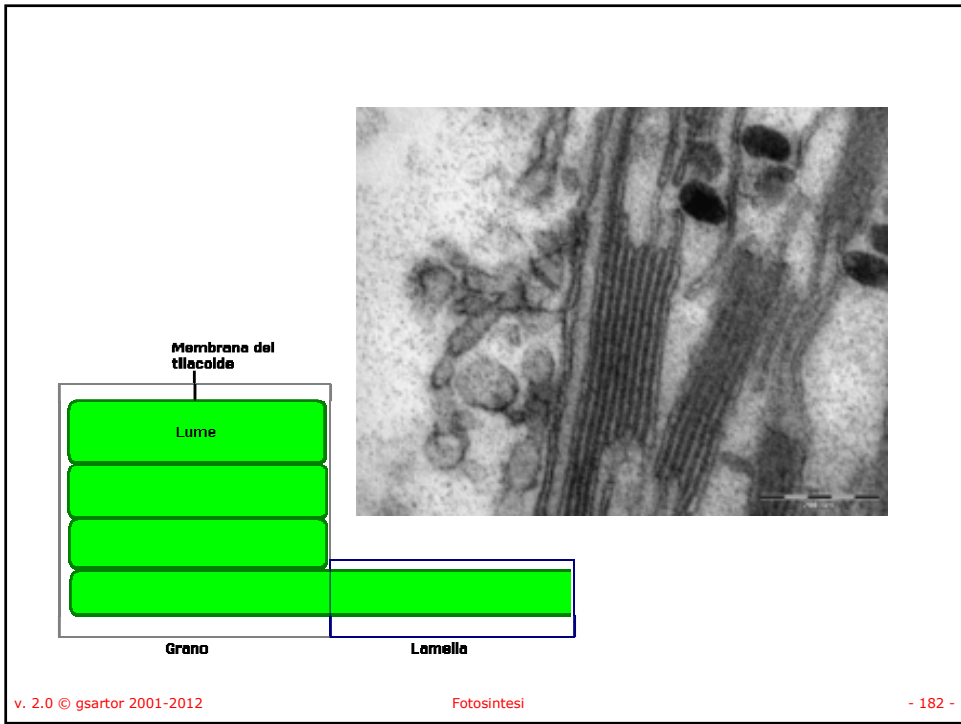
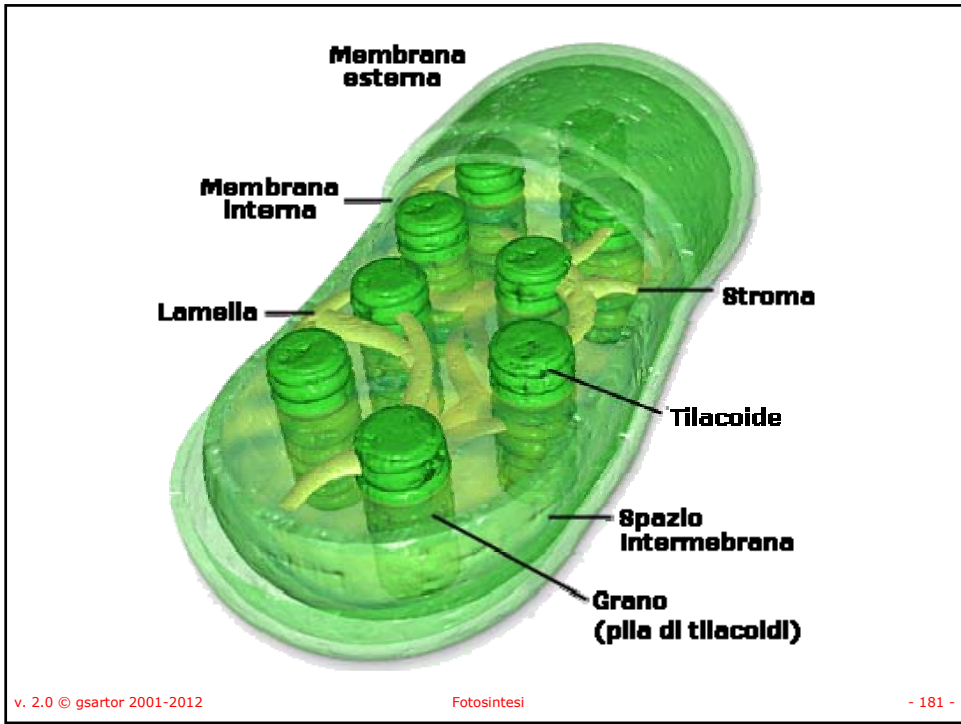


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

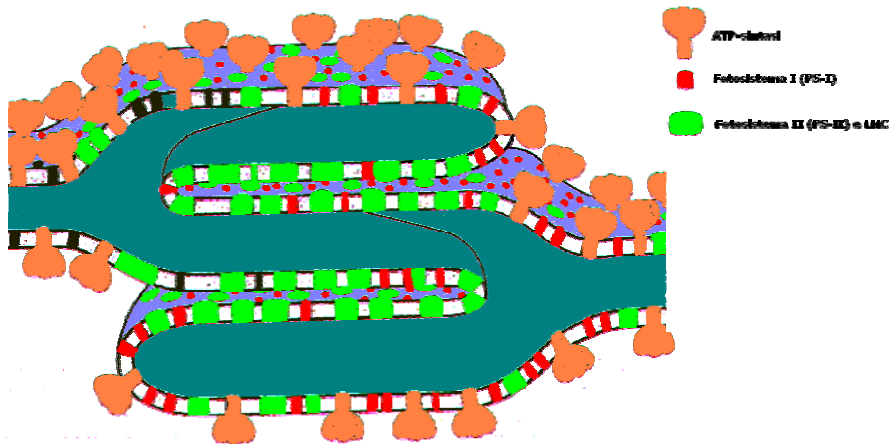
Fotosintesi

- 179 -





## Organizzazione delle membrane

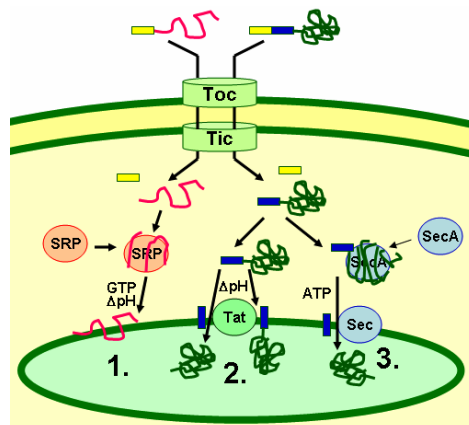


v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 183 -

- Le proteine del tilacoide sono etichettate al loro bersaglio da un peptide segnale e da una via secretoria nel cloroplasto.
- Molte delle proteine del tilacoide sono codificate dal genoma nucleare e necessitano di due segnali per raggiungere il bersaglio: un **segnale N-terminale** e un **segnale per il bersaglio** all'interno del tilacoide.



v. 2.0 © gsartor 2001-2012

Fotosintesi

- 184 -



## Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
  - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] – Zanichelli
  - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
  - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
  - VOET Donald , VOET Judith G. , PRATT Charlotte W. FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] – Zanichelli
  - Jeremy N BERG, John L TYMOCZKO, Lubert STRYER BIOCHIMICA Sesta edizione 2008
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
  - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
  - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
  - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
  - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:  
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/> oppure da <http://www.gsartor.org/>

Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

**Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor**

Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - [giorgio.sartor@unibo.it](mailto:giorgio.sartor@unibo.it)