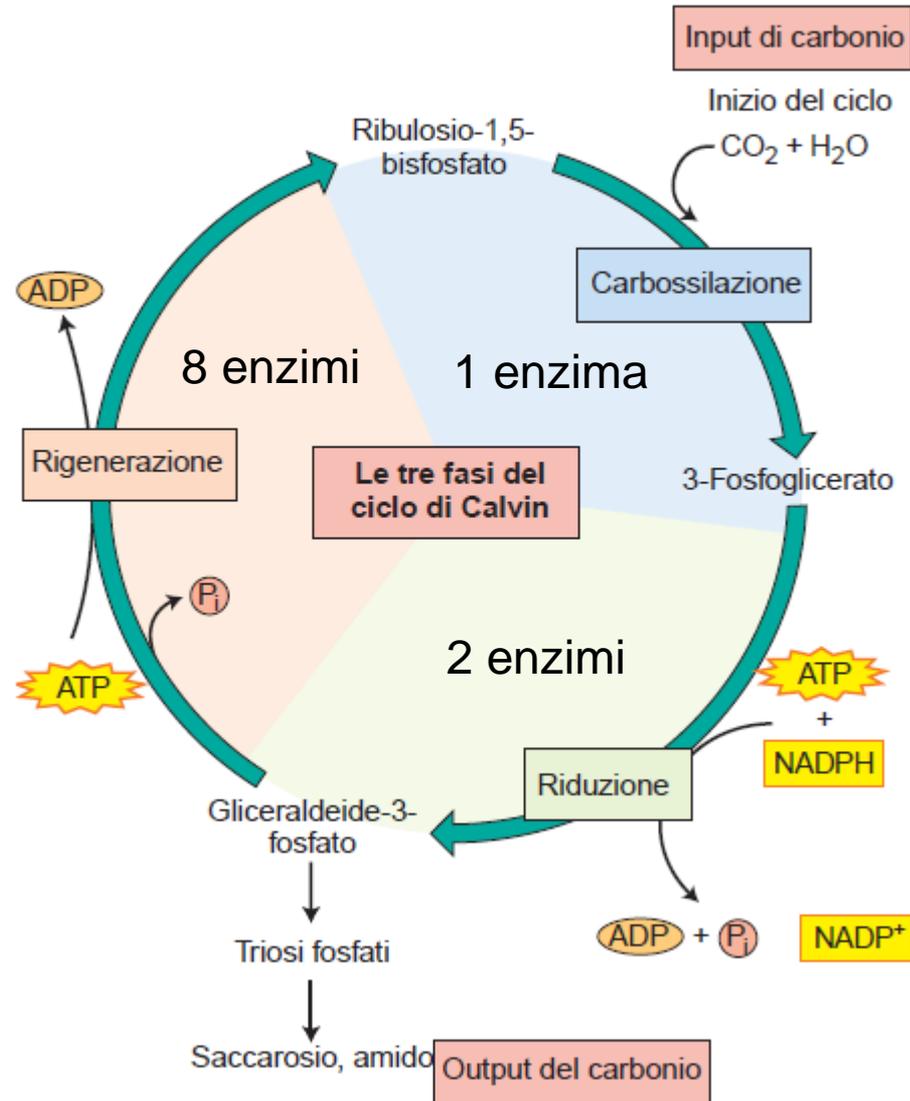
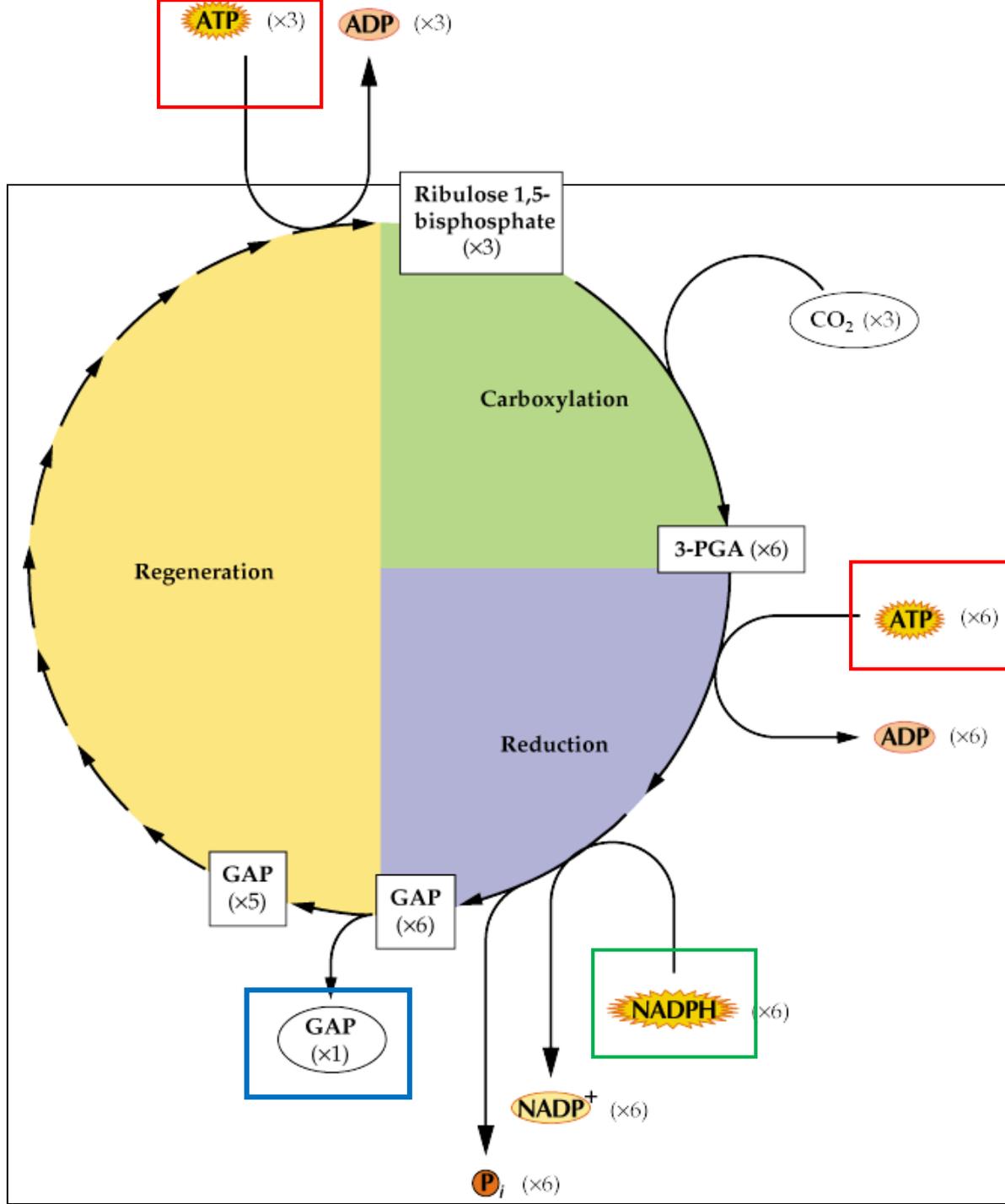


Gli enzimi del ciclo di Calvin sono proteine solubili che si trovano nello stroma dei cloroplasti





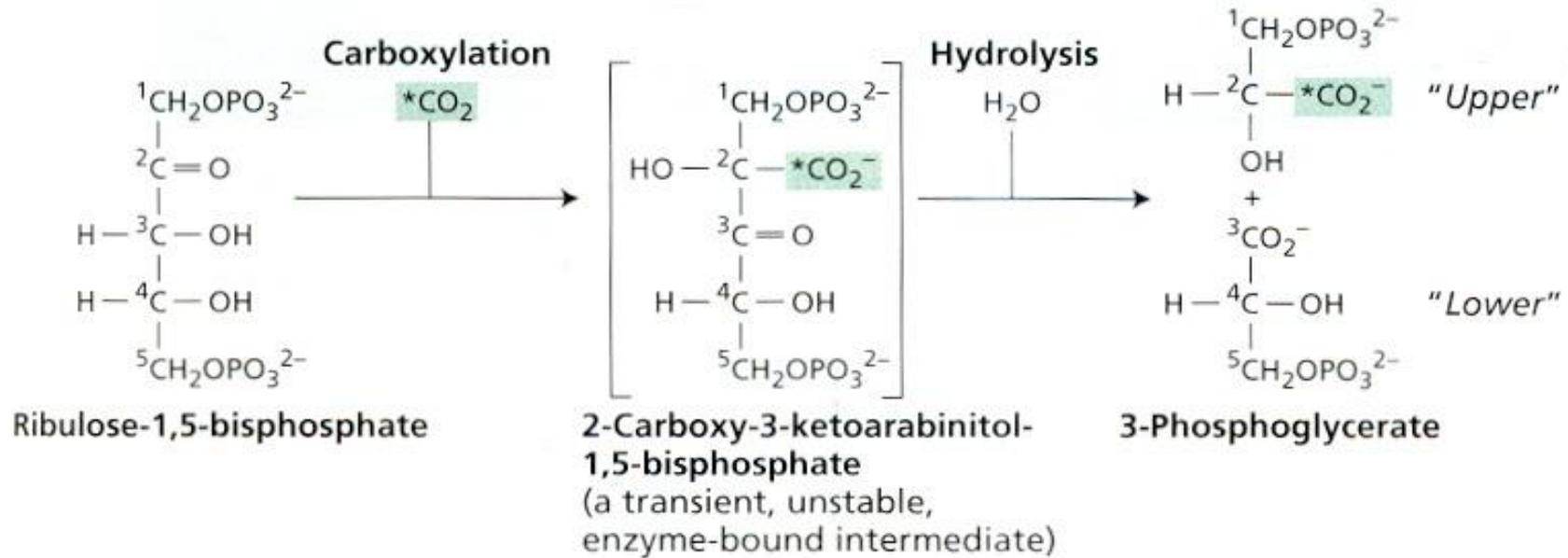
Per un guadagno netto di **1 GAP** (gliceraldeide-3-P):

3 CO₂ fissati

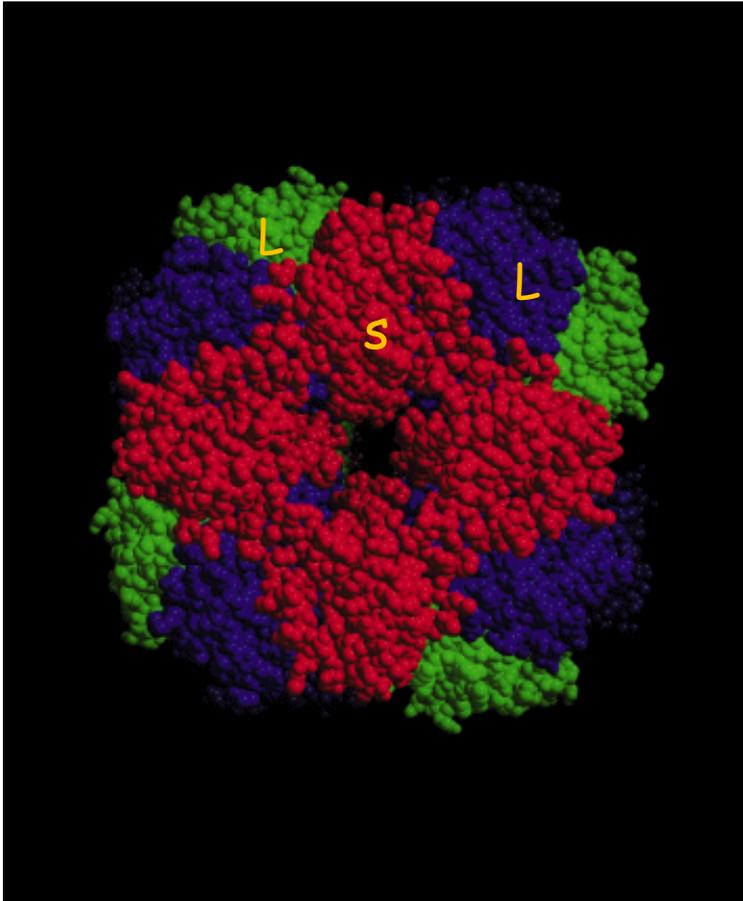
9 (6+3) ATP

6 NADPH

La reazione di carbossilazione



Rubisco: Ribulosio 1,5 bifosfato carbossilasi/ossigenasi



Enzima multimerico: L_8S_8

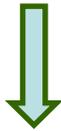
560 kDa

8 subunità grandi (55 kDa)

8 subunità piccole (14 kDa)

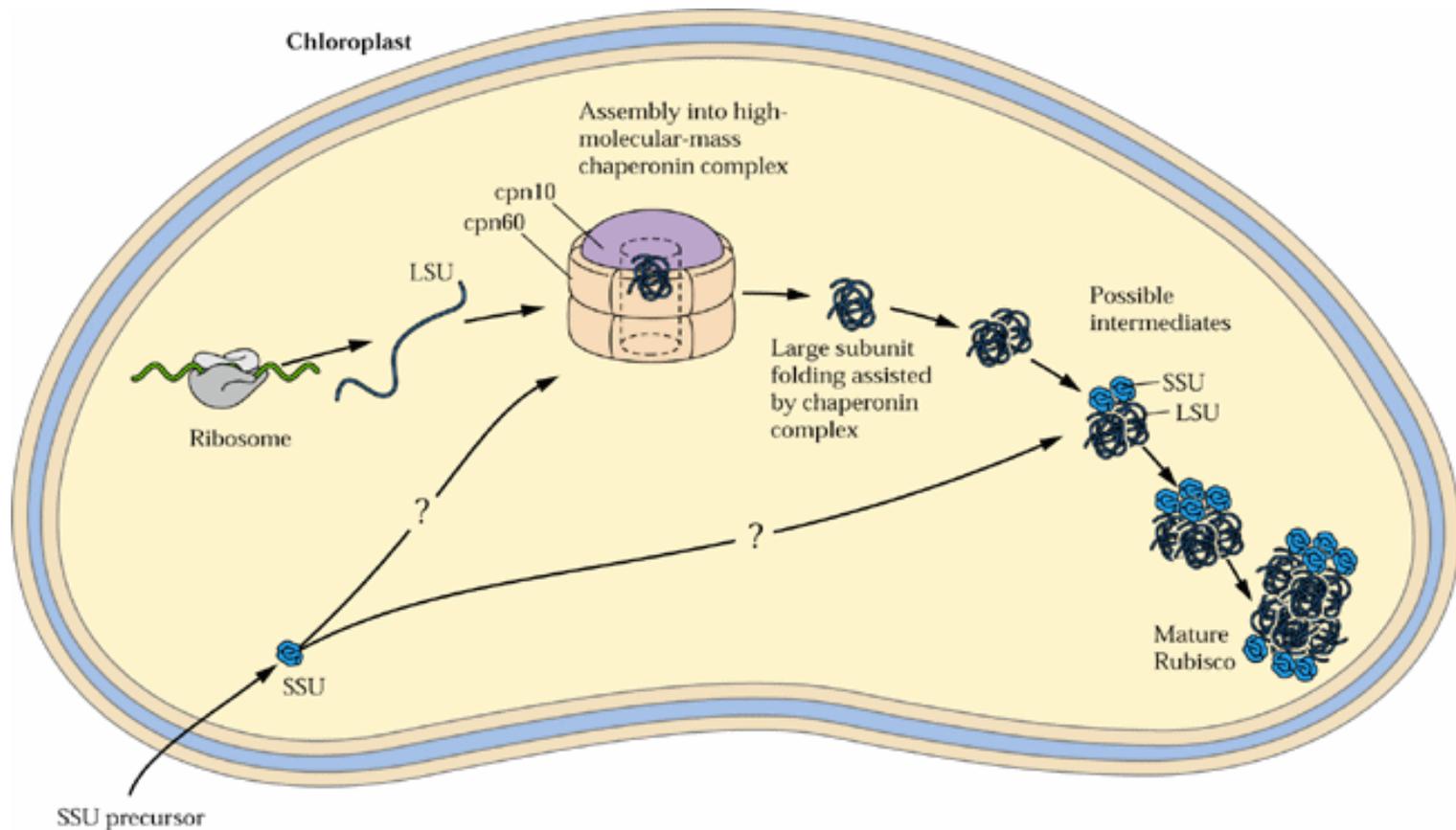
In alcuni batteri fotosintetici = L_2

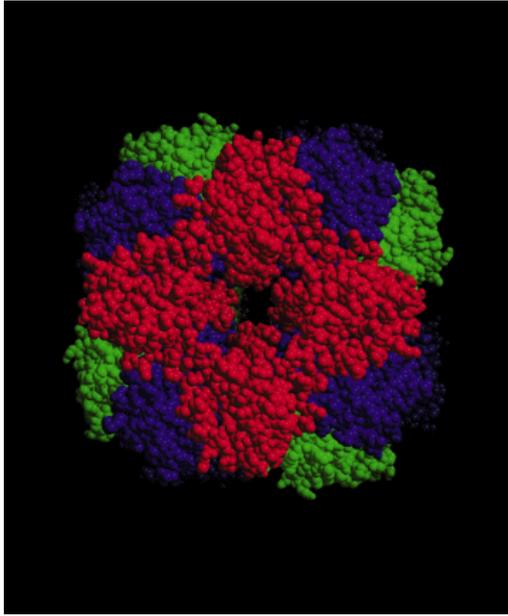
Luce



Genoma nucleo → rbcS (precursore subunità piccola)

Genoma cloroplasto → rbcL (subunità grande)





Costanti cinetiche della RUBISCO (a 25 °C)

$$K_m (\text{CO}_2) = 8\text{-}25 \mu\text{M}$$

$$K_m (\text{O}_2) = 360\text{-}650 \mu\text{M}$$

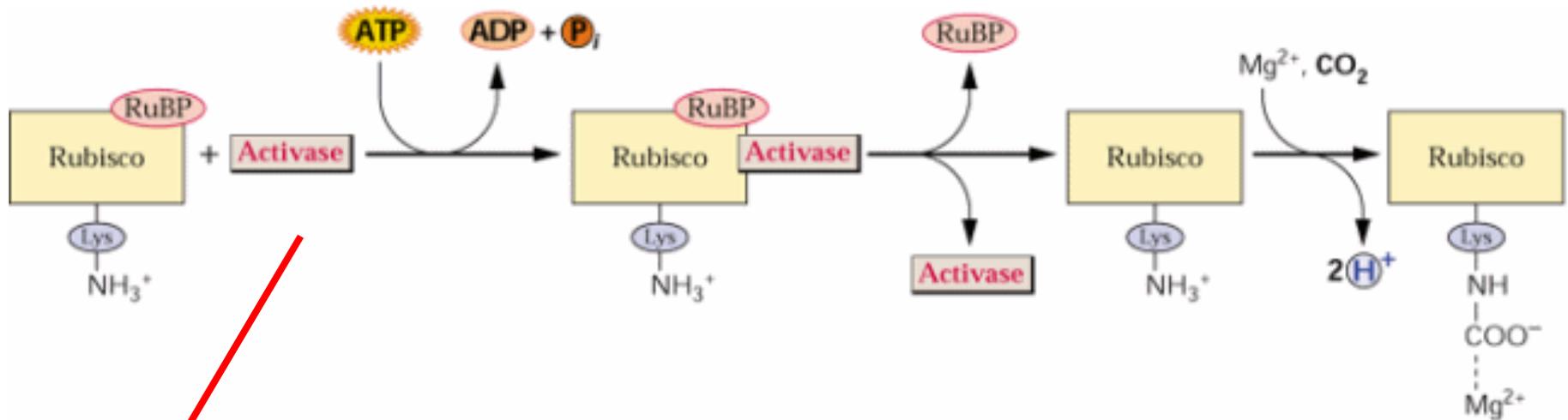
CO_2 in aria (0.04%) = CO_2 in soluzione ($\sim 12 \mu\text{M}$)

O_2 in aria (21%) = O_2 in soluzione ($\sim 265 \mu\text{M}$)

La Rubisco è un enzima molto lento: carbossila solo tre molecole al secondo!

La cellula supplisce a ciò aumentando le copie di enzima: concentrazione nello stroma da 4 a 10 mM (fino al 50% del totale delle proteine della foglia)

Meccanismo di attivazione della Rubisco



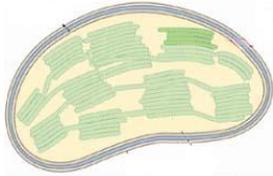
Rubisco attivasi: membro di una famiglia di proteine che mostrano attività ATPasica associata a funzioni di chaperone molecolare

Da 14 a 16 polipeptidi si associano alla Rubisco → idrolisi ATP e induzione di modificazioni conformazionali che portano al rilascio degli zuccheri fosfati → carbammilazione → enzima attivo

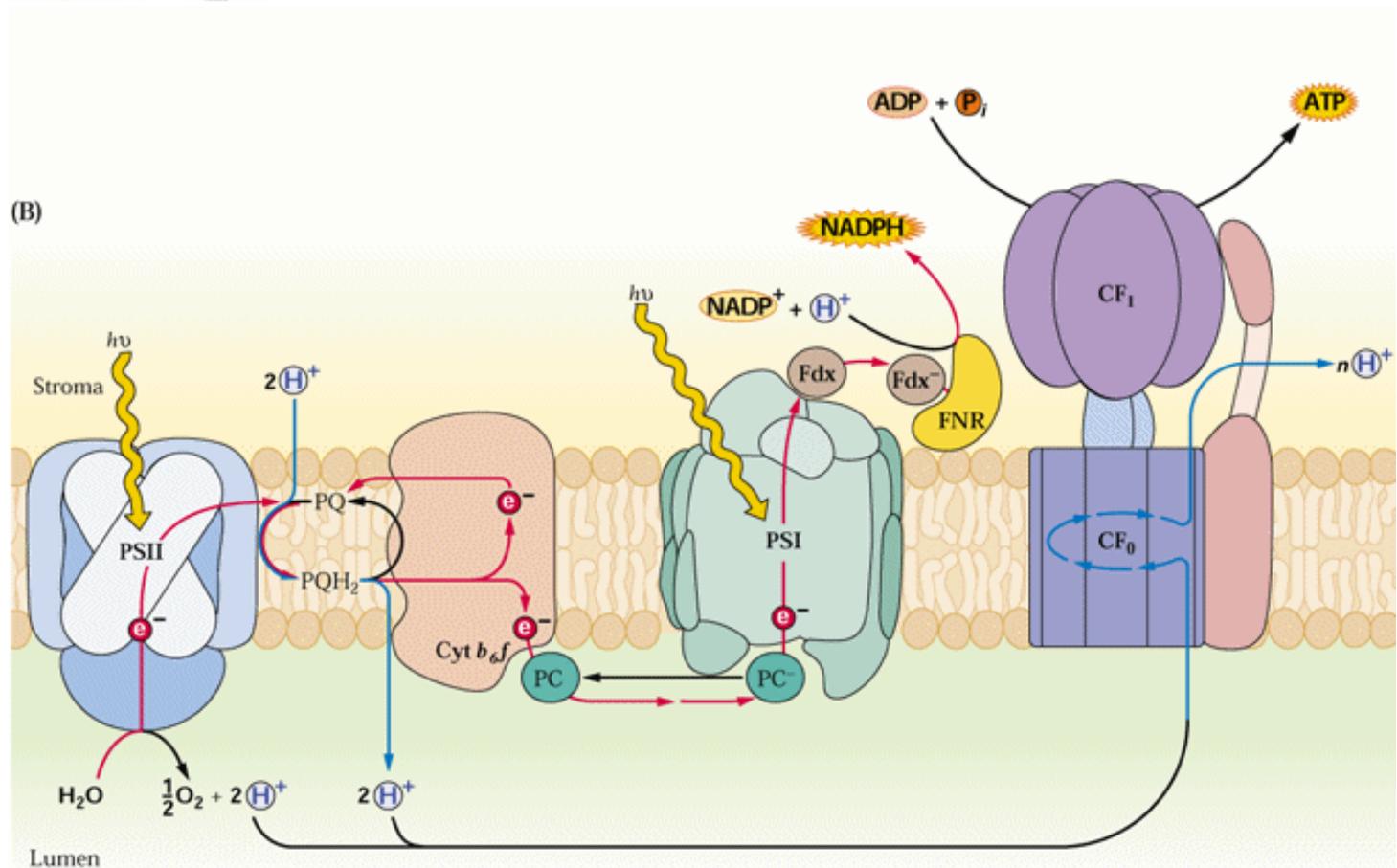
A sua volta, la Rubisco attivasi viene attivata dalla luce!

A seguito dell'azione della Rubisco attivasi, una molecola di CO₂ reagisce con la Lys 201 nel sito attivo, con la formazione di un gruppo carbammile che viene stabilizzato dal legame con Mg²⁺

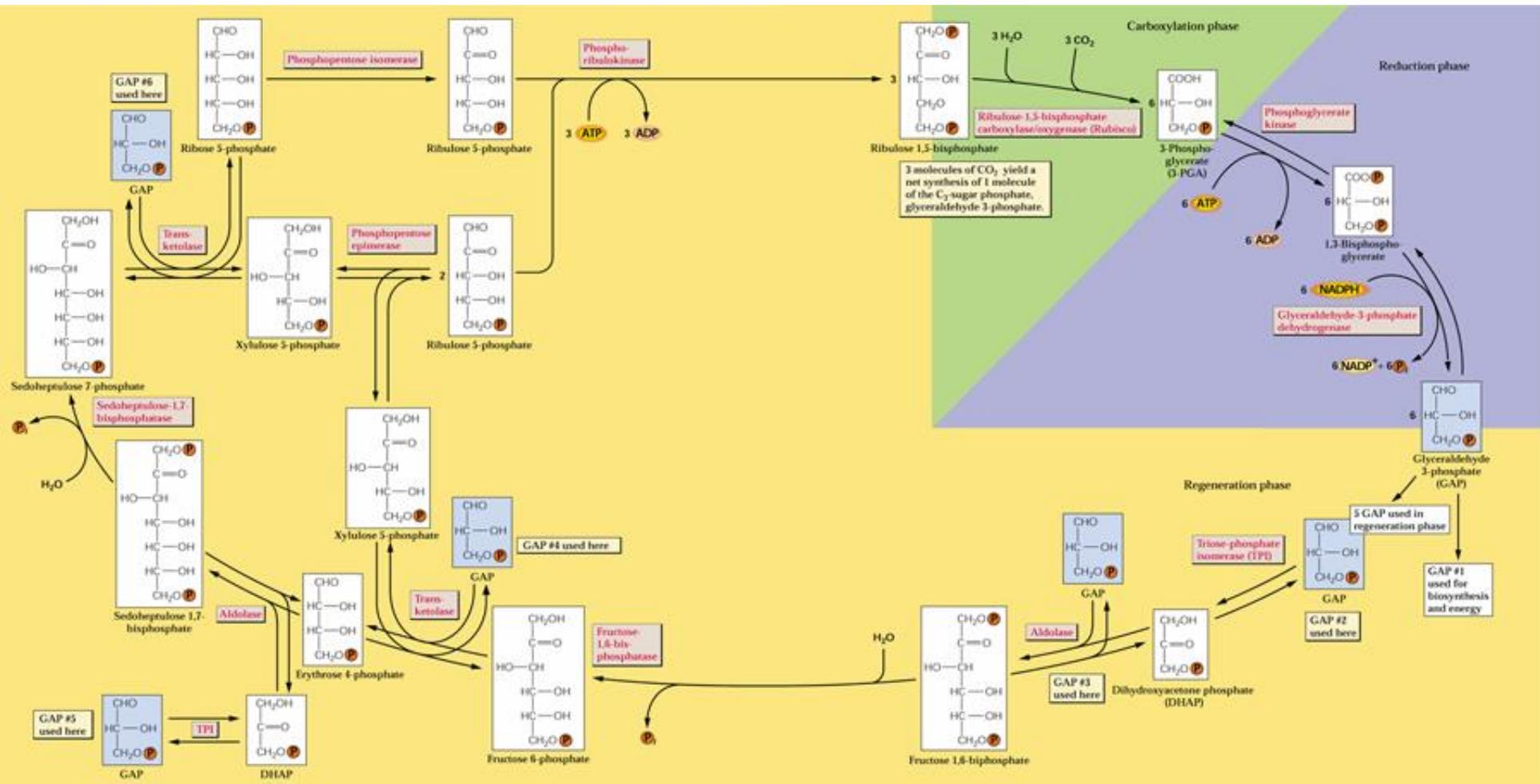
Reazione favorita dall'aumento di pH e da aumento di concentrazione di Mg²⁺



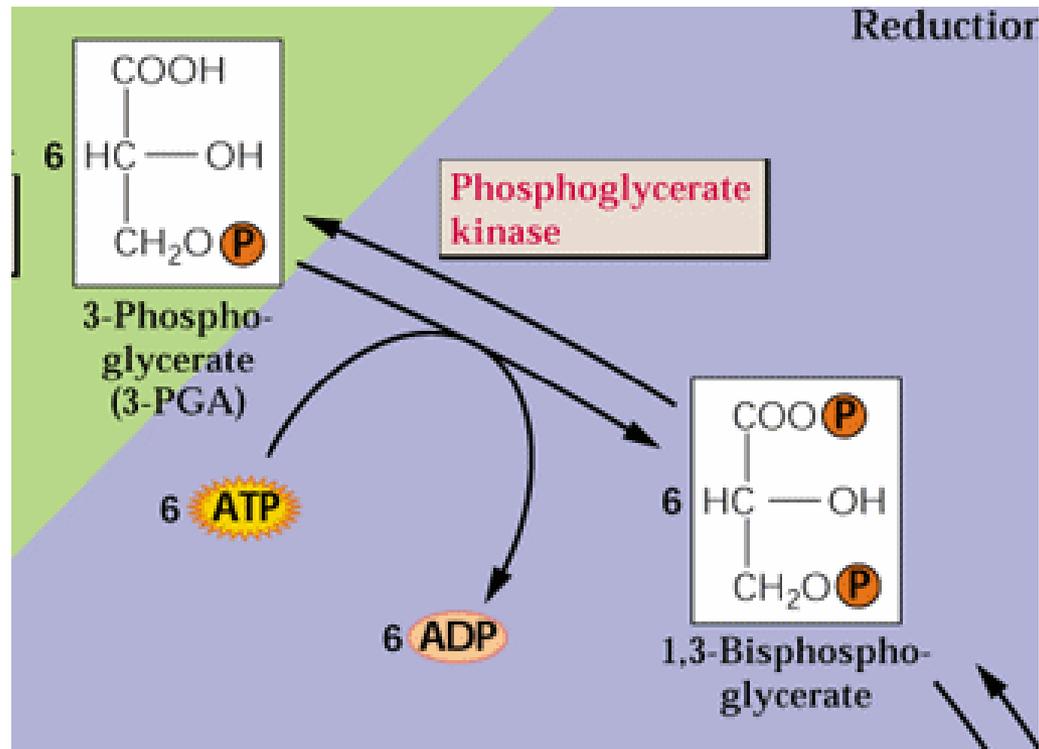
pH 7 \rightarrow 8
[Mg²⁺] 1-3 mM \rightarrow 3-6 mM



Le reazioni del ciclo di Calvin



RIDUZIONE

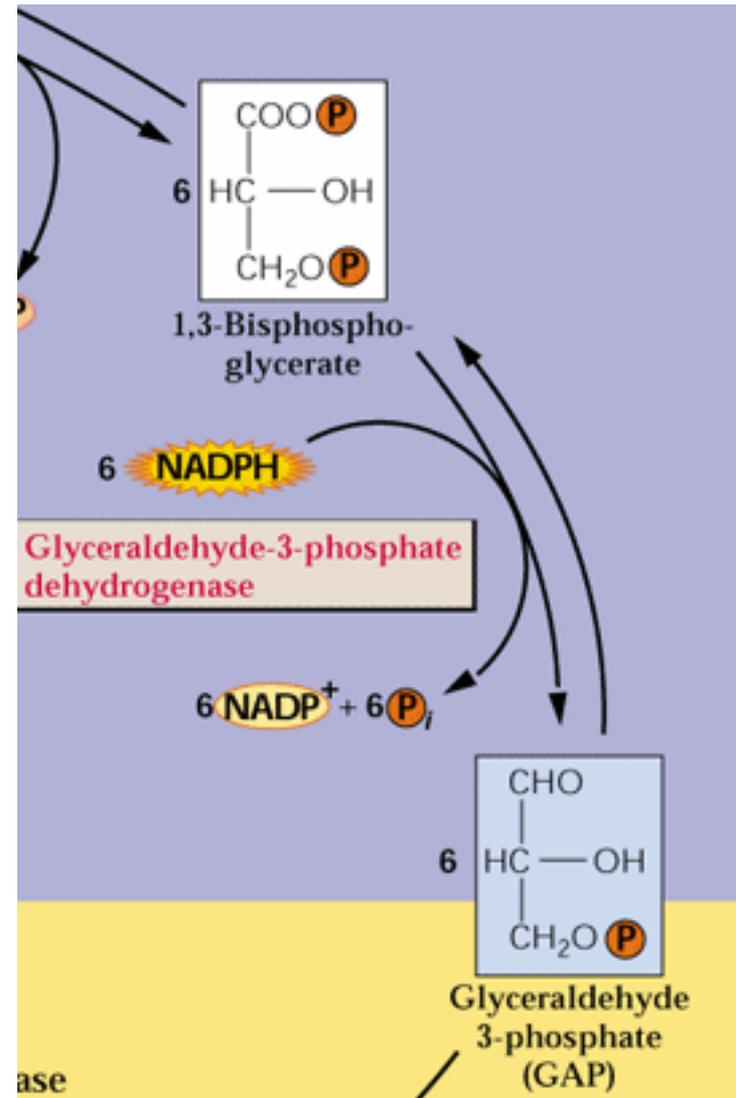


La **fosfoglicerato chinasi** fosforila il 3-fosfoglicerato consumando ATP
Produzione di 1,3-bifosfoglicerato

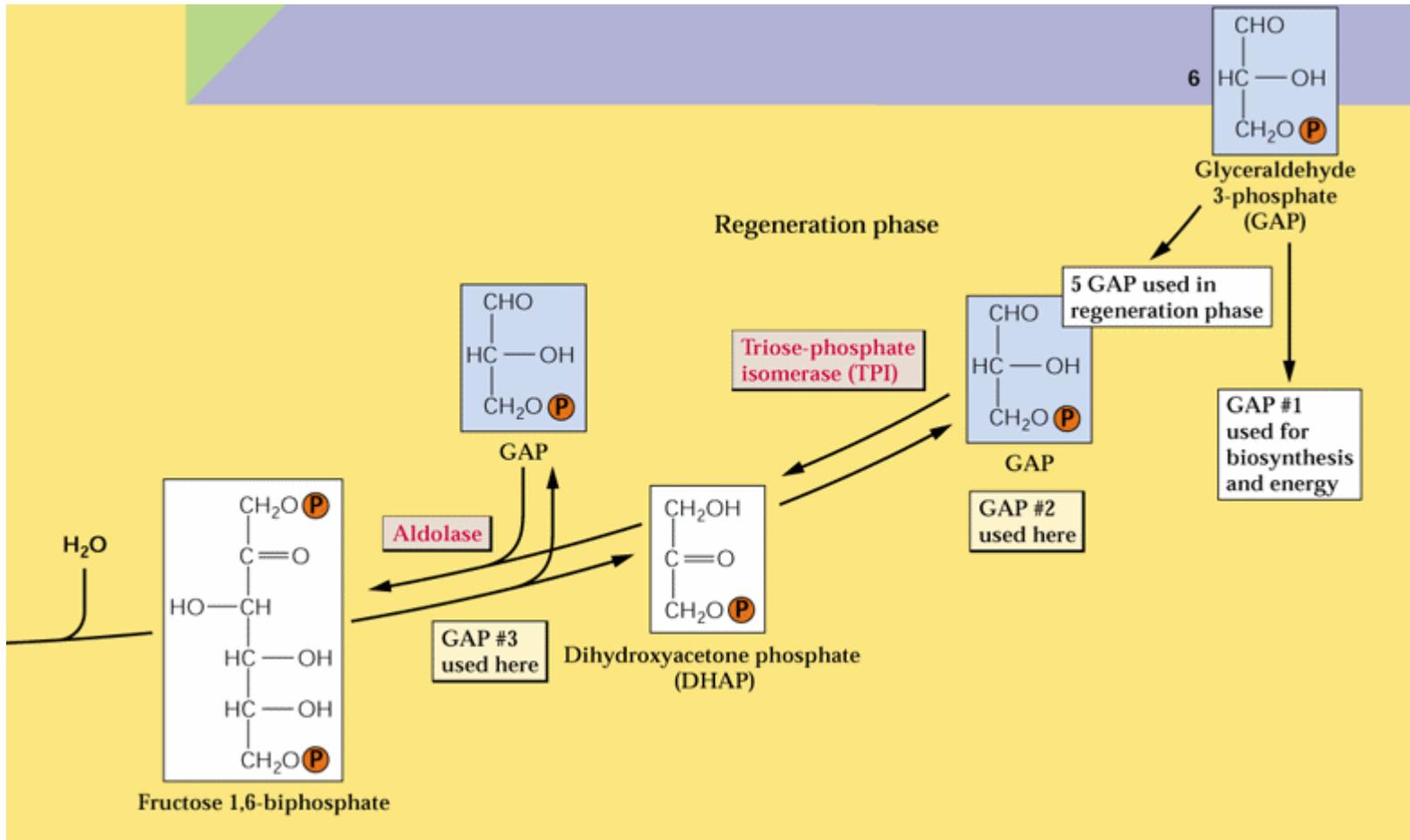
RIDUZIONE

La **Gliceraldeide 3-P deidrogenasi** riduce
1,3 bisfosfoglicerato consumando NADPH

Produzione di gliceraldeide 3-fosfato

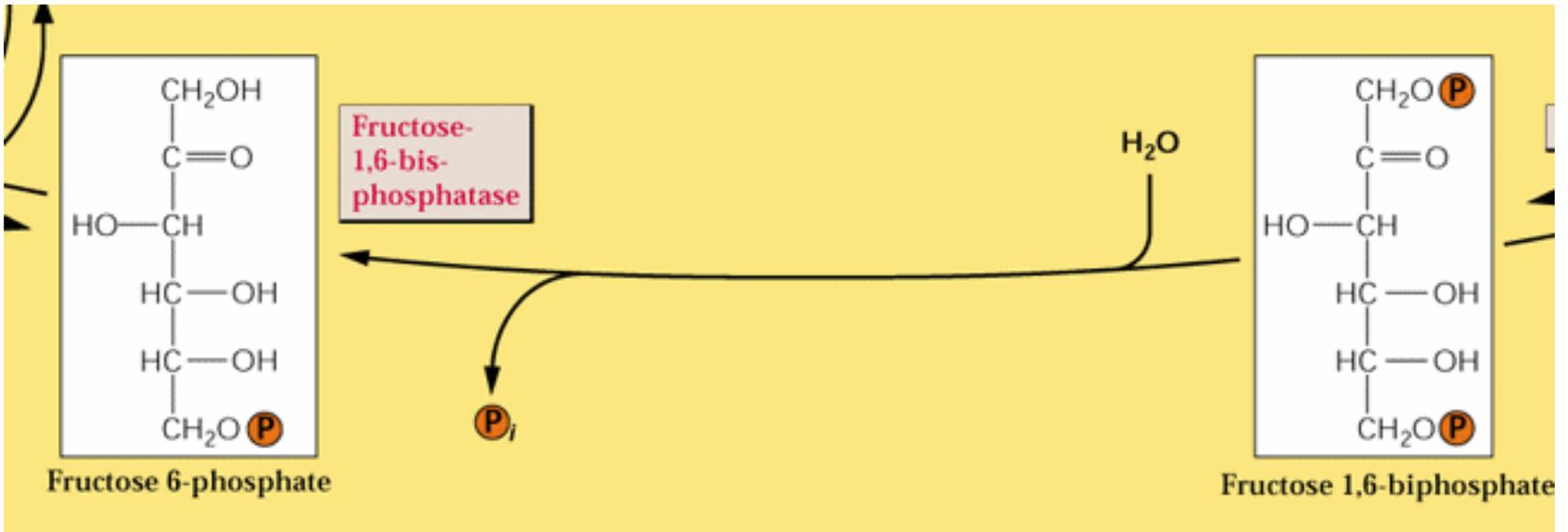


RIGENERAZIONE



Il diidrossiacetone-P e la gliceraldeide 3-P vanno incontro a condensazione aldolica catalizzata dall'**aldolasi**
 Produzione di fruttosio 1,6-bifosfato

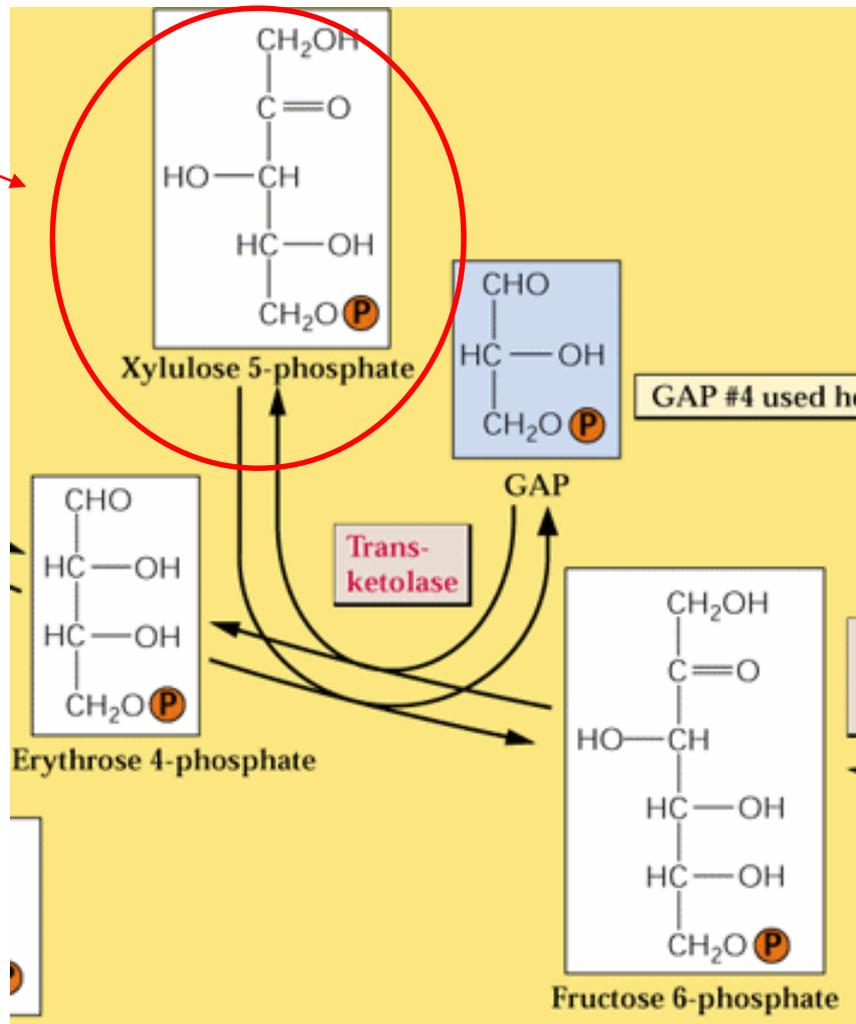
RIGENERAZIONE



Il fruttosio 1,6 bifosfato viene defosforilato: **fruttosio 1,6 bifosfatasi**
Produzione di fruttosio 6-fosfato

RIGENERAZIONE

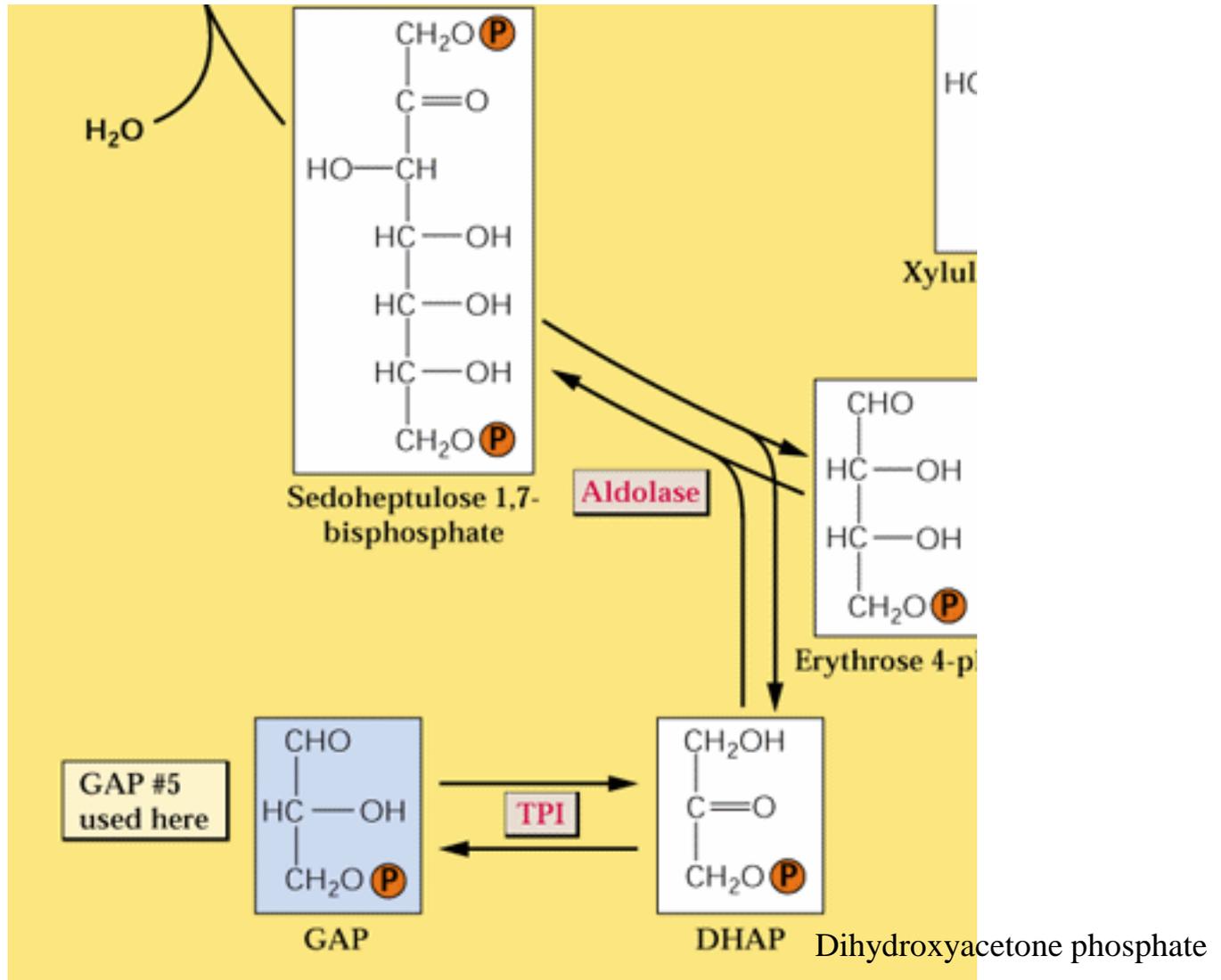
1° pentoso



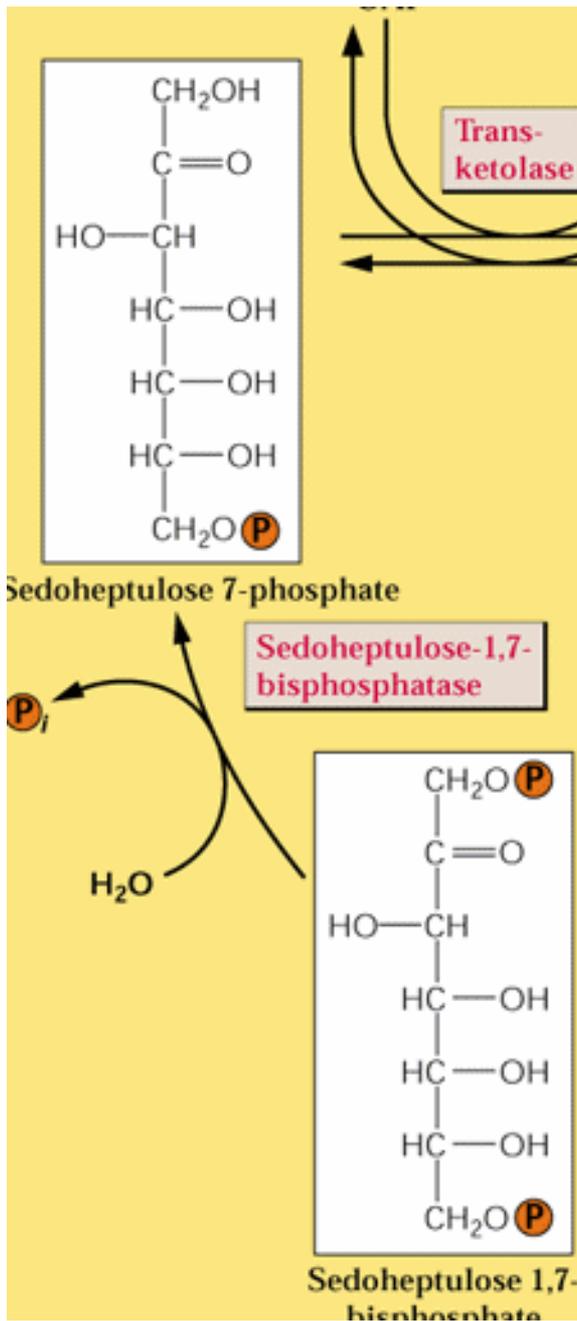
Il fruttosio 6-fosfato e un'altra molecola di gliceraldeide 3-P si combinano:
reazione catalizzata dalla **transchetolasi**

Produzione di Eritrosio 4-fosfato e xilulosio 5-fosfato

RIGENERAZIONE



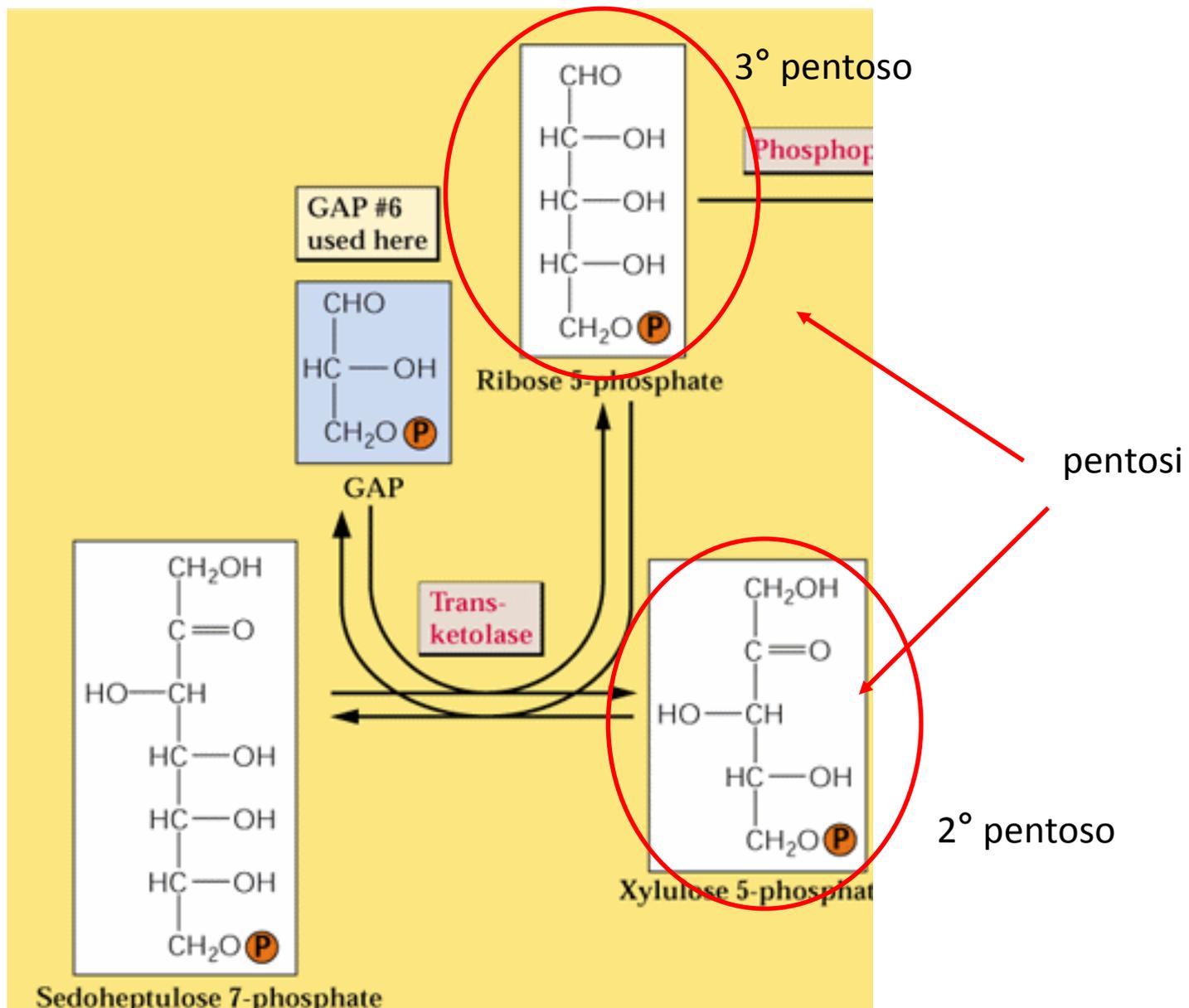
Condensazione aldolica tra eritrosio 4-P e un'altra molecola di gliceraldeide 3-P: **aldolasi**.
Produzione di sedoheptulosio 1,7-bisfosfato



Il sedoepulosio 1,7 bifosfato
viene defosforilato:

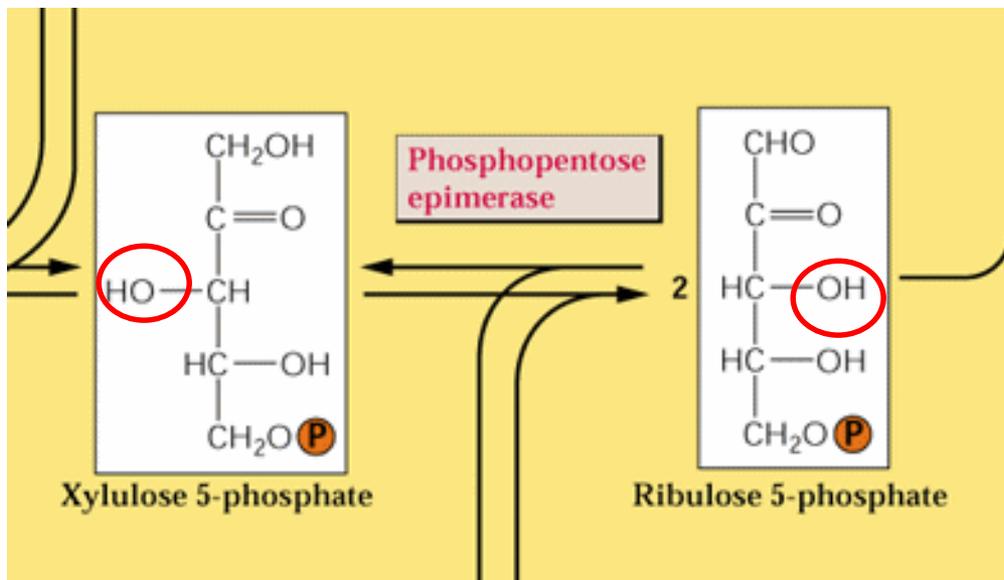
sedoepulosio 1,7 bifosfatasi

Produzione di sedoepulosio 7-fosfato



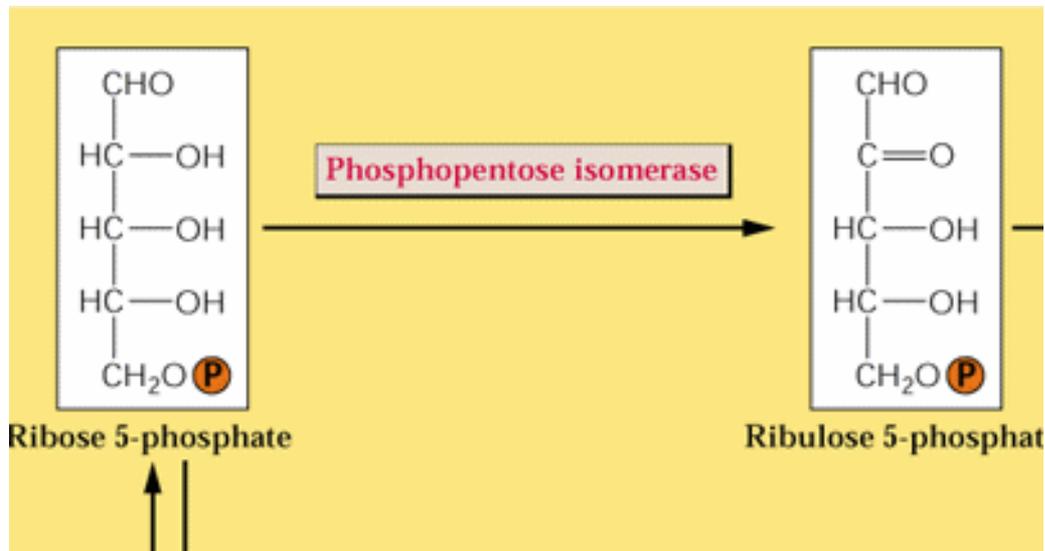
Il sedoheptulosio 7-fosfato reagisce con l'ultima molecola di GA3-P formando 2 pentosi: **transchetolasi**. Produzione di xilulosio 5-fosfato e ribosio 5-fosfato

2x



Epimerasi

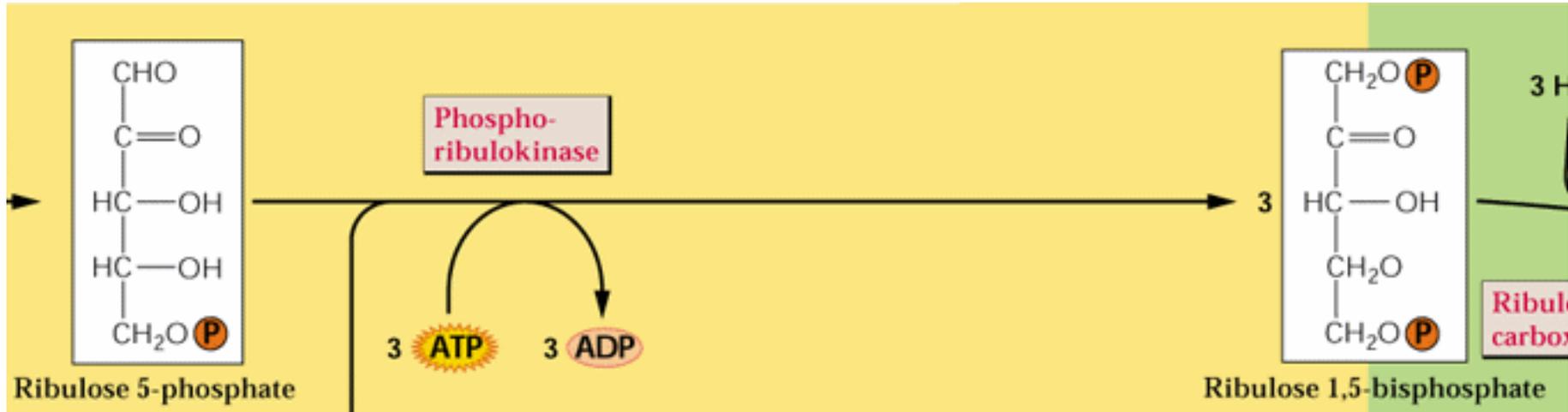
1x



Isomerasi

I pentoso-P vengono convertiti in Ribulosio 5-P

3x



La **fosforibulochinasi** rigenera l'acceptore (Ribulosio 1,5 bisfosfato) consumando ATP

Per la fissazione di 1 CO₂ servono 2 NADPH e 3 ATP

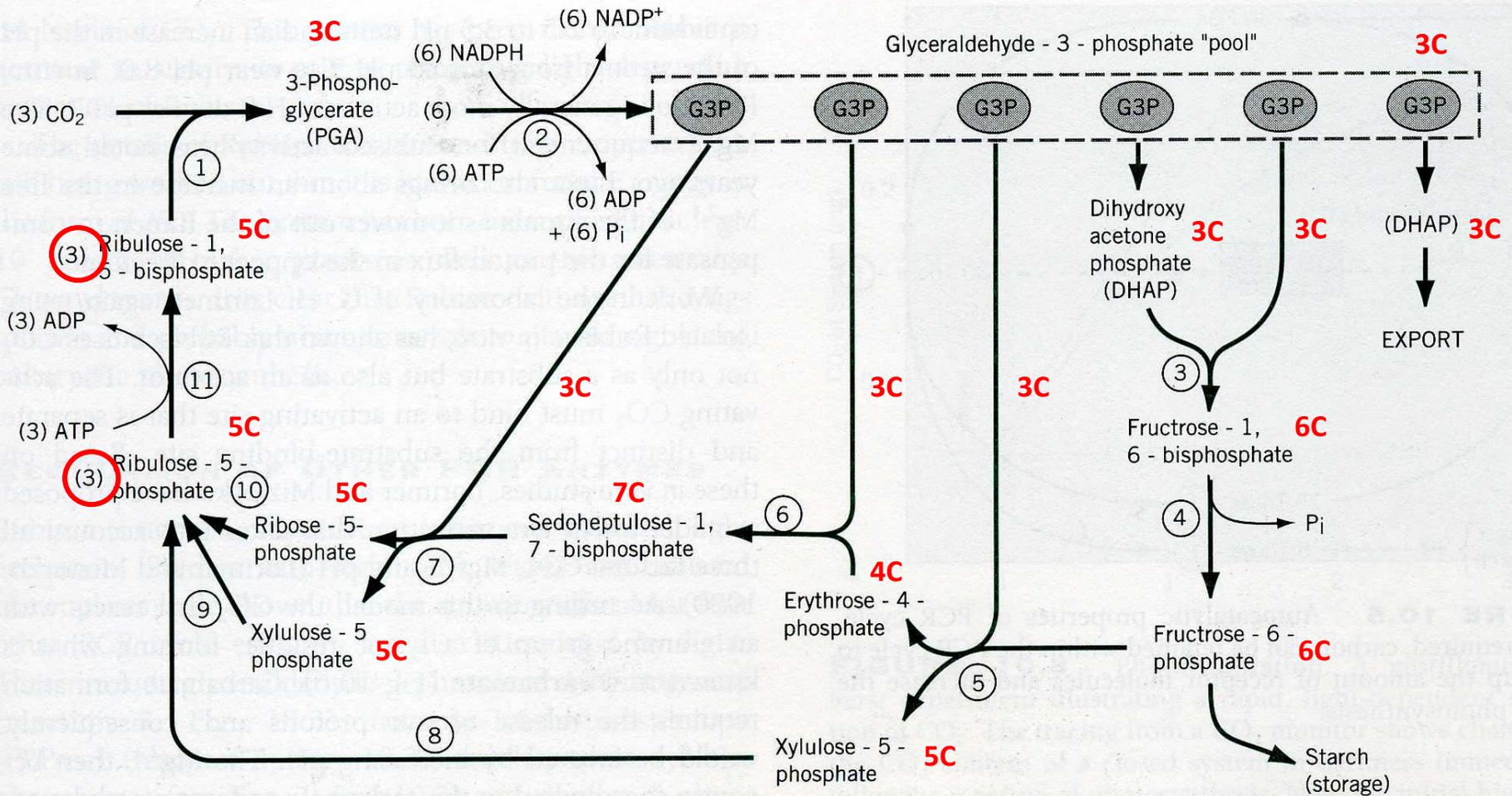


FIGURE 10.3 The photosynthetic carbon reduction (PCR) cycle. Numbers in brackets indicate stoichiometry. Enzymes, indicated by circled numbers are: (1) ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco); (2) 3-phosphoglycerate kinase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; (3) aldolase; (4) fructose-1,6-bisphosphatase; (5) transketolase; (6) aldolase; (7) sedoheptulose-1,7-bisphosphatase; (8, 9) ribulose-5-phosphate epimerase; (10) ribose-5-phosphate isomerase; (11) ribulose-5-phosphate kinase.

Alcuni enzimi del ciclo di Calvin (oltre a Rubisco)
sono attivi solo alla luce (aumento pH e Mg^{2+}):

Gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi

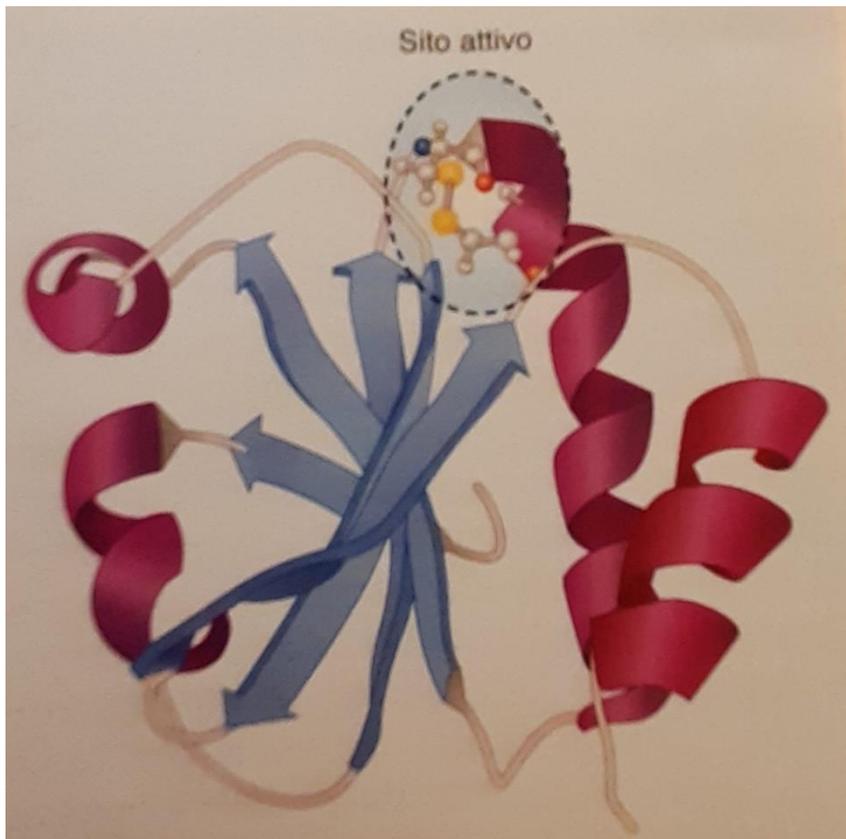
Fruttosio 1,6-bifosfatasi

Sedoeptulosio 1,7-bifosfatasi

Fosfo-ribulo-chinasi

Rubisco attivasi

TIOREDOSSINA (12 kDa)



Sito attivo con due cisteine:

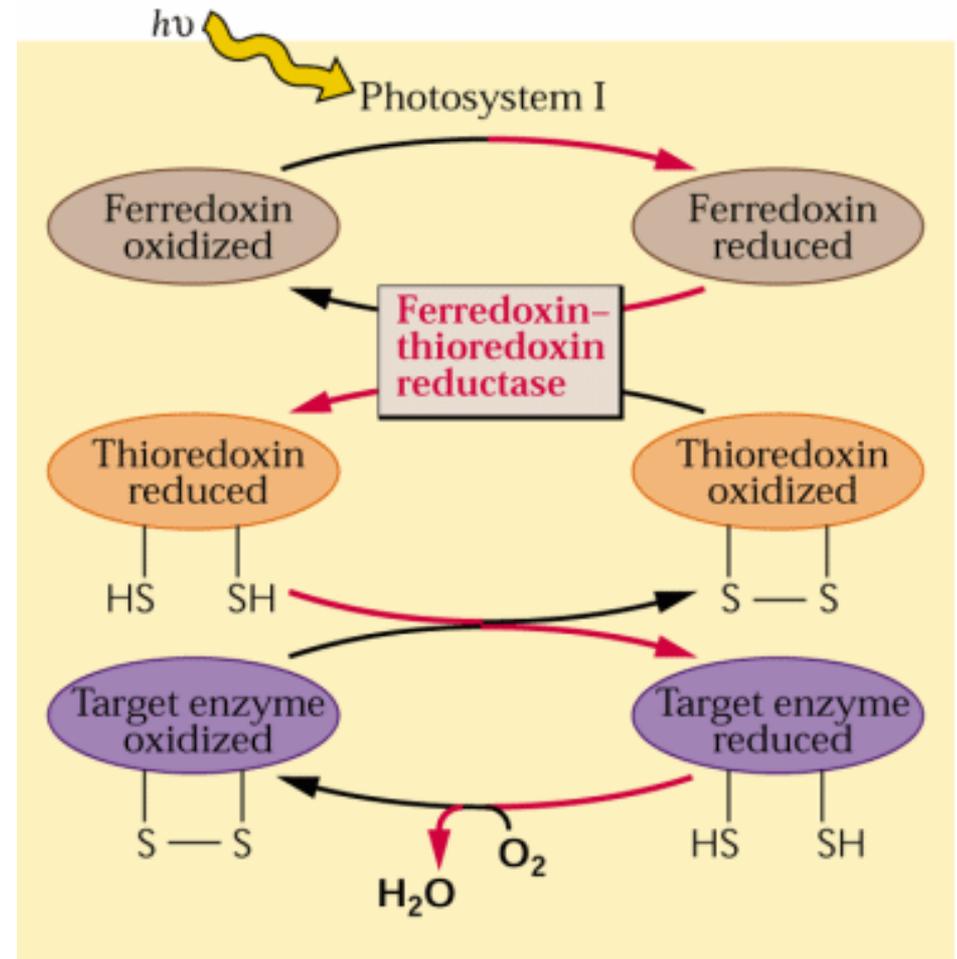
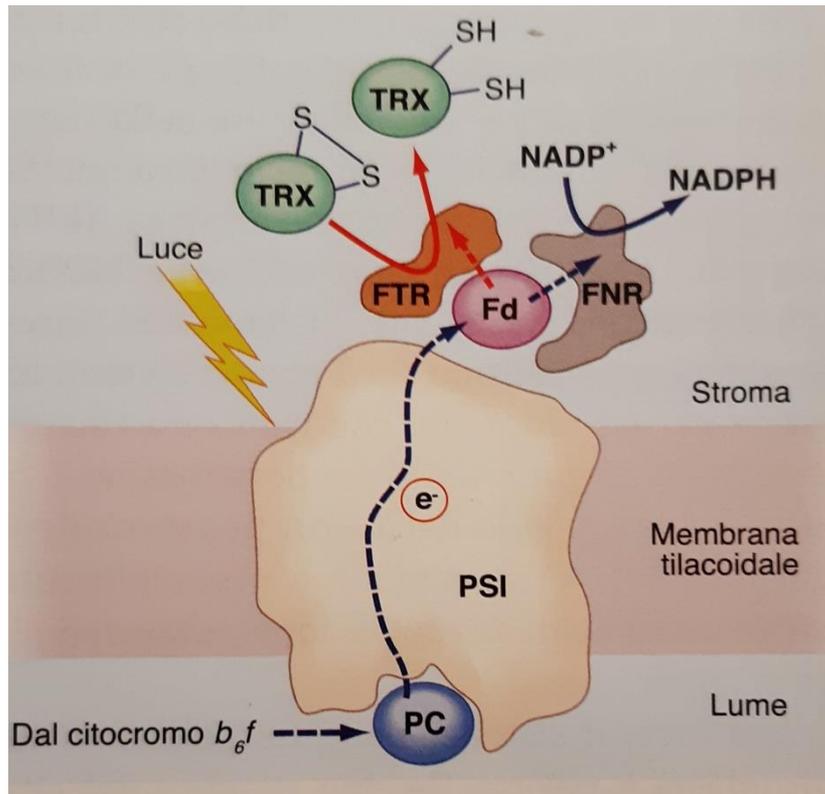
Al buio:

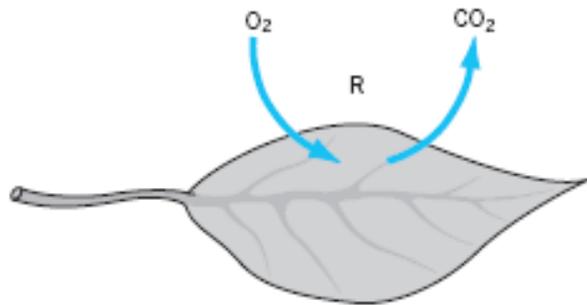
Ponte disolfuro (-S-S-) -> forma ossidata

Alla luce:

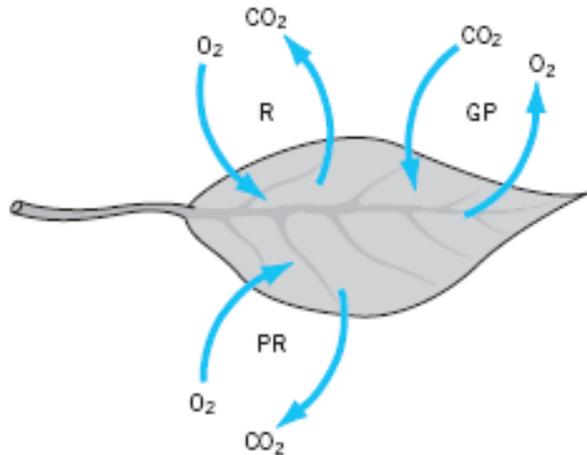
Forma tiolica (-SH HS-) -> forma ridotta

SISTEMA FERREDOSSINA-TIOREDOSSINA





A. Buio



B. Luce

FIGURA 5.16 Scambi gassosi in una foglia C3 al buio (A) e alla luce (B). GP, fotosintesi lorda; PR, fotorespirazione; R, respirazione mitocondriale.

$$\text{Fotosintesi netta} = \text{GP} - \text{R}$$

Esperimenti con isotopi del carbonio:
aumento significativo della quantità di CO₂
rilasciata durante il giorno

Fenomeno che prende il nome di
fotorespirazione

$$\text{Fotosintesi netta} = \text{GP} - (\text{R} + \text{PR})$$

LA FOTORESPIRAZIONE

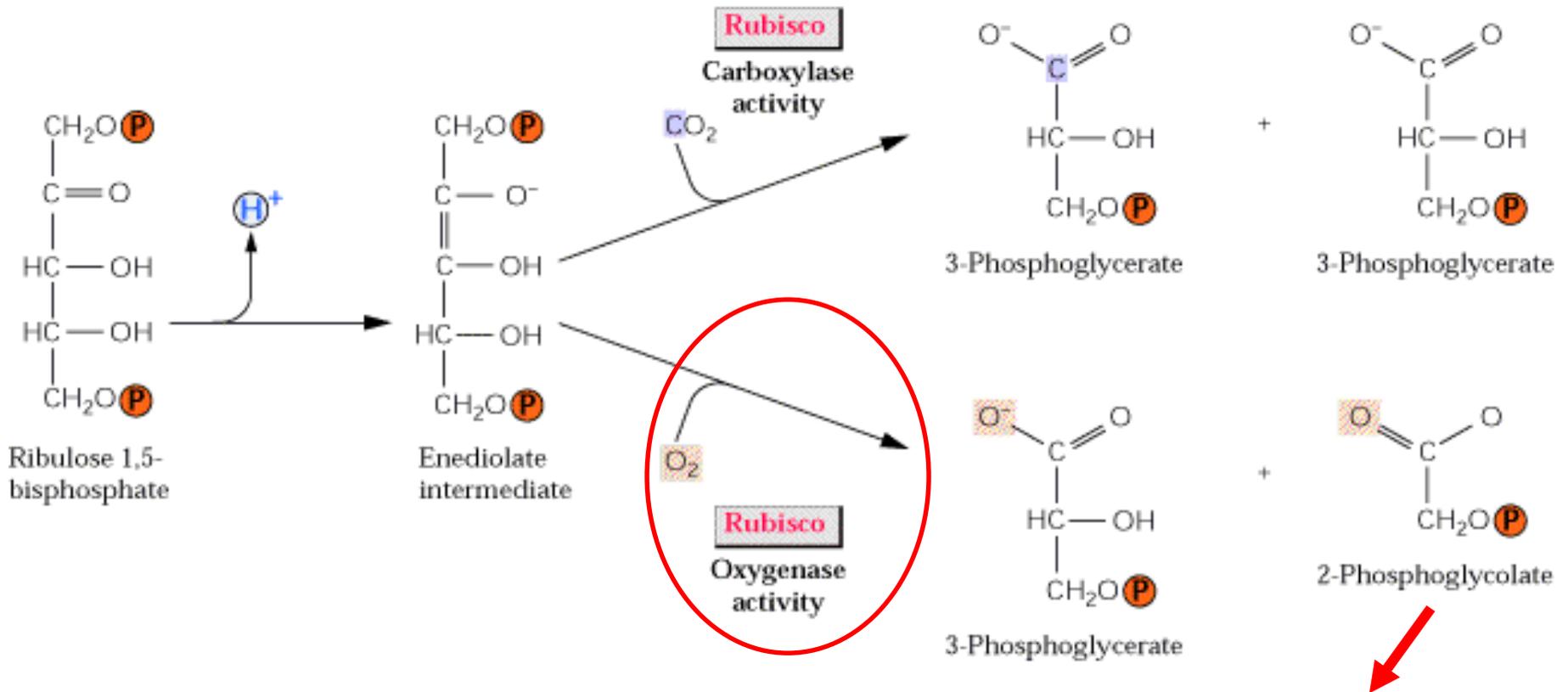
L'ossigeno molecolare inibisce la fotosintesi

$[O_2]$ 21% → 42% → -50% velocità fotosintesi

$[O_2]$ 21% → 2% → +100% velocità fotosintesi

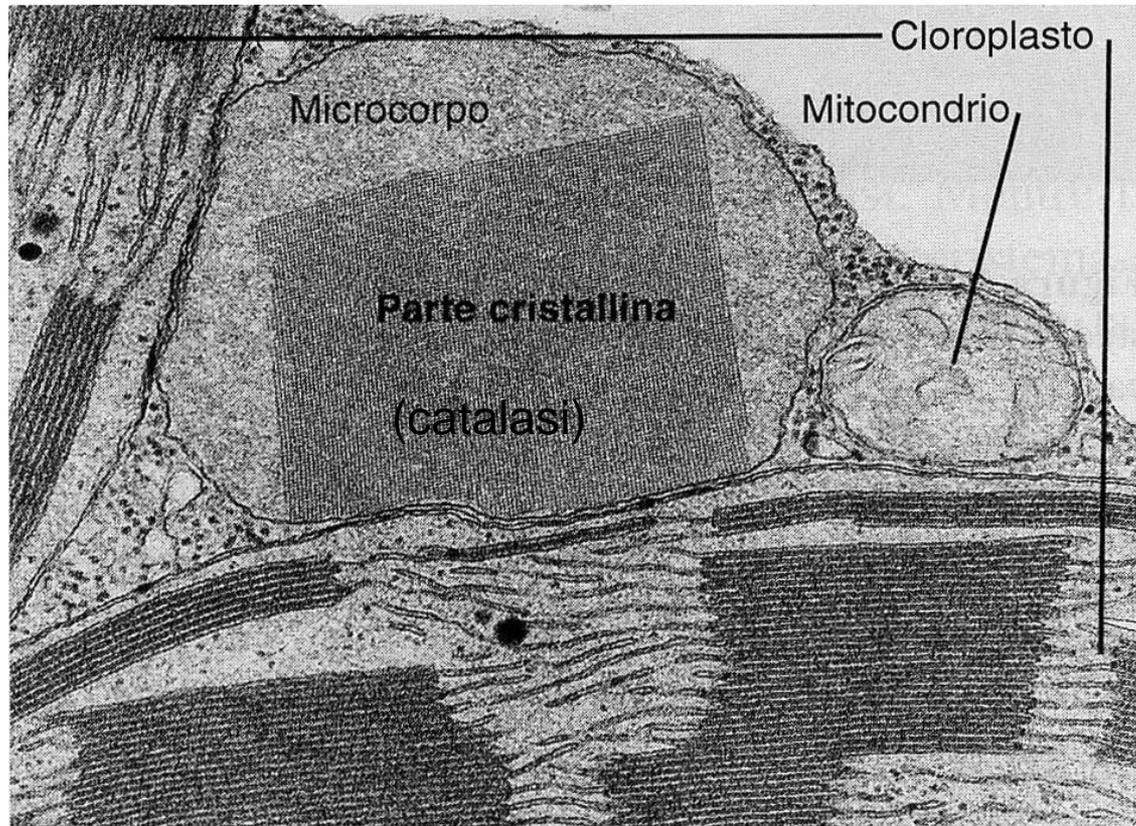
La Rubisco reagisce anche con l'ossigeno

(anche la Rubisco di batteri fotosintetici anaerobi...)



Perdita di 40% del C della molecola di ribulosio 1,5-bifosfato!

Il ciclo PCO (photorespiratory carbon oxidation) recupera parte del carbonio perduto nella reazione di ossigenazione del ribulosio 1,5-bisfosfato



**Nel mitocondrio 2 molecole di Glicina ($2C \times 2 = 4C$)
vengono convertite in 1 molecola di Serina (3C)**

2 glicina



serina, CO_2 , NH_3 , NADH

Si forma un composto a 3 atomi di C



3-fosfoglicerato

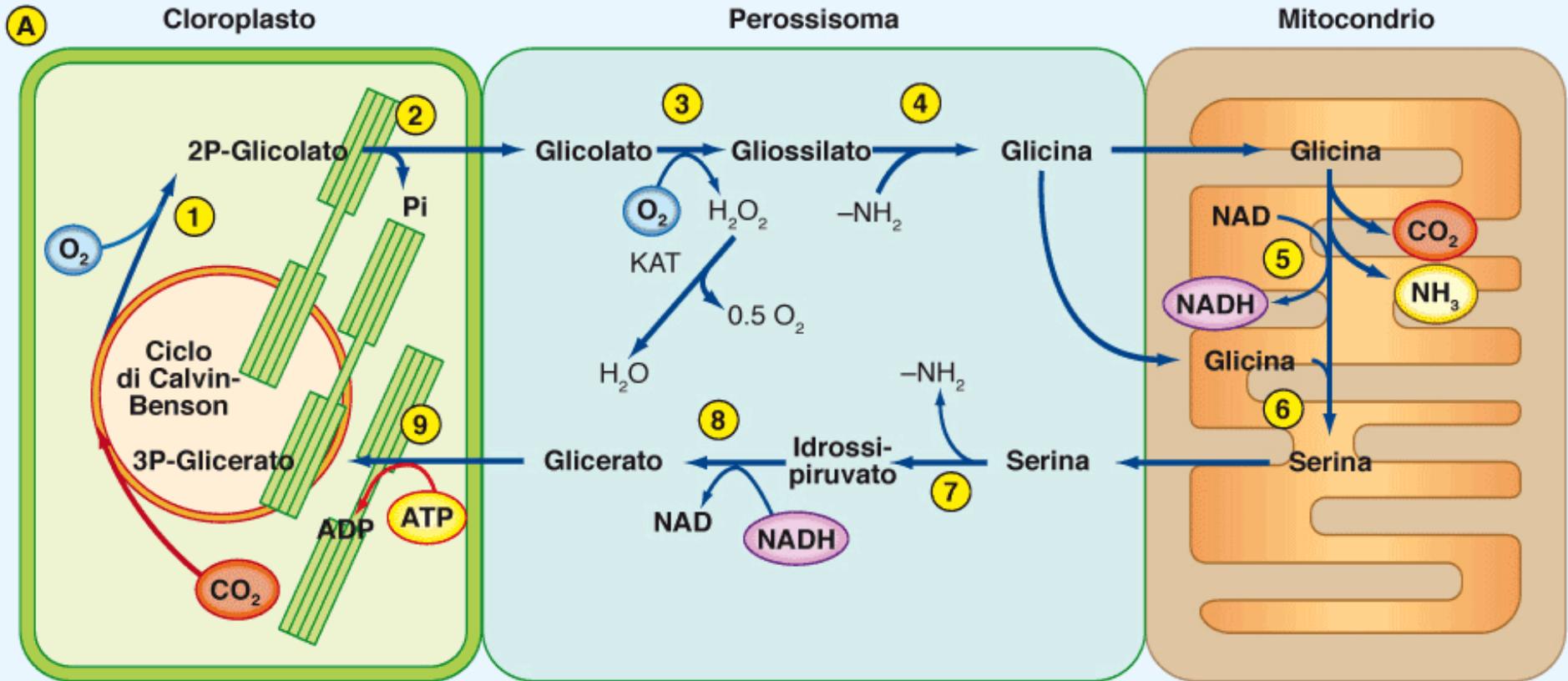
Nel complesso:

Da 2 molecole di fosfoglicolato (4 C totali) si forma una molecola di 3-fosfoglicerato (3 C) mentre una molecola di CO₂ viene persa

Il ciclo PCO recupera il 75% del C

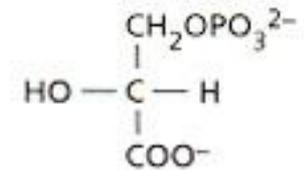
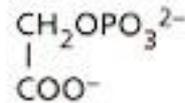
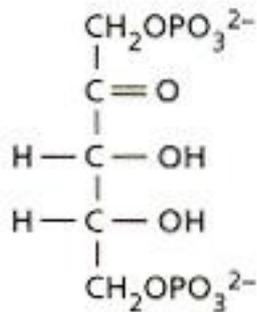
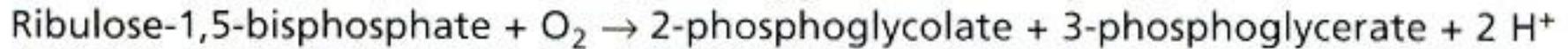
che andrebbe perso a causa dell'attività ossigenasica della Rubisco

LE REAZIONI DEL CICLO PCO (C2)

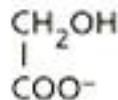
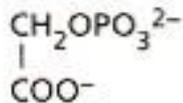
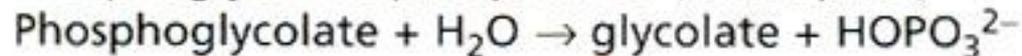


LE REAZIONI DEL CICLO PCO (C2)

1. *Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (chloroplast)*

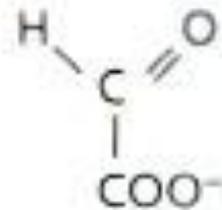
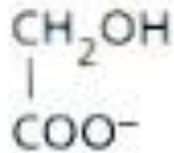
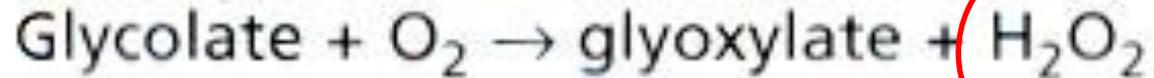


2. *Phosphoglycolate phosphatase (chloroplast)*

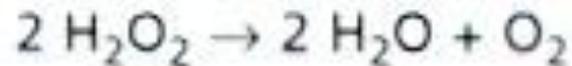


Il glicolato esce dal cloroplasto ed entra nel perossisoma tramite un traslocatore di antiporto glicolato/glicerato

3. *Glycolate oxidase (peroxisome)*

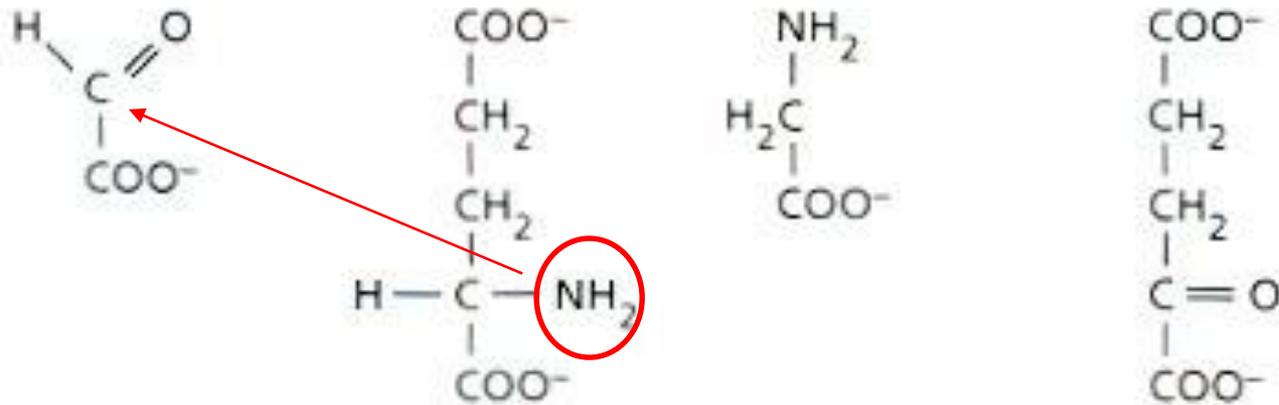


4. *Catalase (peroxisome)*



Nei perossisomi il glicolato viene ossidato a gliossilato, con produzione di perossido di idrogeno

5. *Glyoxylate:glutamate aminotransferase (peroxisome)*
Glyoxylate + glutamate → glycine + α -ketoglutarate

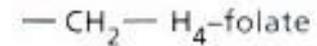
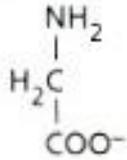
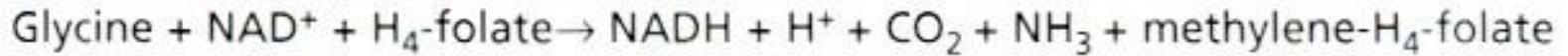


Nei perossisomi il gliossilato viene transaminato a glicina; il donatore del gruppo amminico è il glutammato.

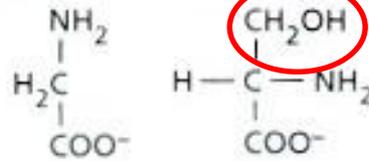
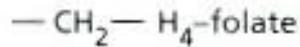
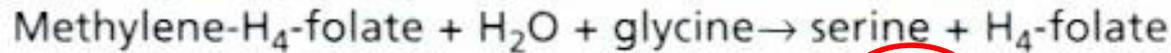
La glicina passa nei mitocondri

6. *Glycine decarboxylase (mitochondrion)*

Metilentetraidrofolato



7. *Serine hydroxymethyltransferase (mitochondrion)*



Nei mitocondri da due molecole di glicina
(2x2 = 4 atomi di C) si forma una molecola di
serina (3 atomi di C)

2 glicina

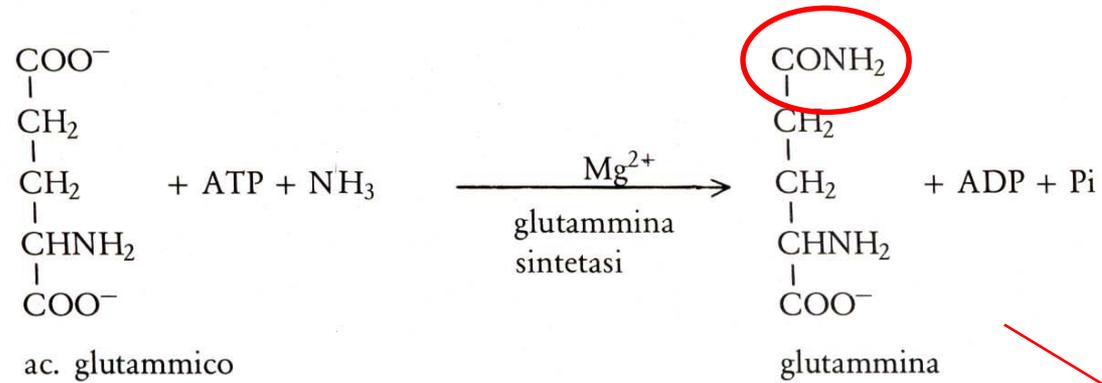


serina, CO₂, NH₃, NADH



CO₂ FOTORESPIRATORIA

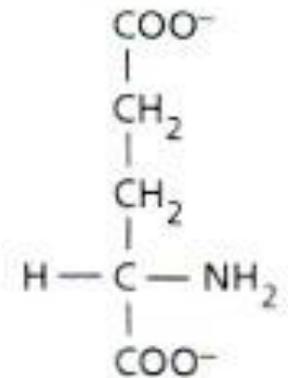
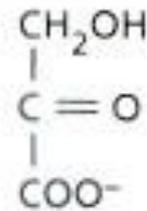
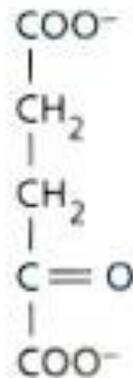
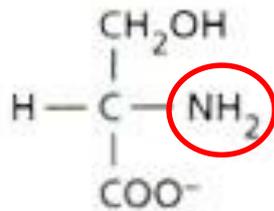
NH₃ diffonde nei cloroplasti dove viene organizzato dalla glutammina sintetasi



Ciclo GS-GOGAT

8. *Serine aminotransferase (peroxisome)*

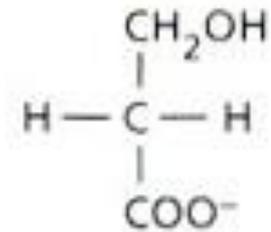
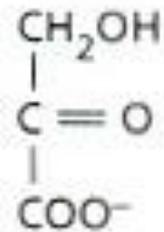
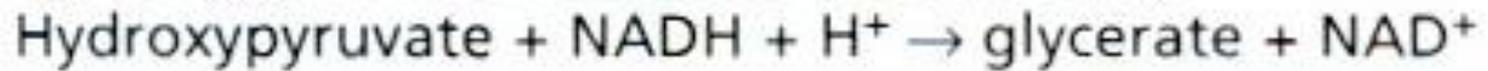
Serine + α -ketoglutarate \rightarrow hydroxypyruvate + glutamate



Nel perossisoma la serina viene deamminata a idrossipiruvato

L'accettore dell' NH_2 è l'acido α -chetoglutamico

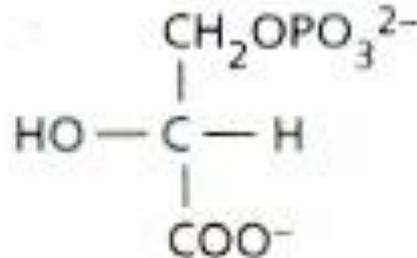
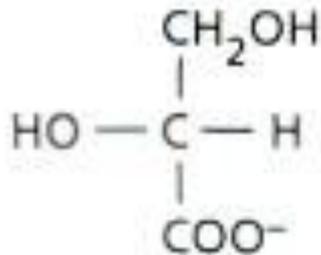
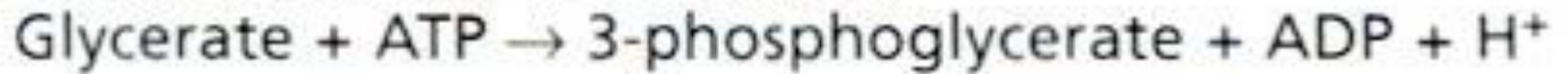
9. *Hydroxypyruvate reductase (peroxisome)*



L'idrossipiruvato è ridotto a glicerato

Il glicerato passa nel cloroplasto

10. *Glycerate kinase (chloroplast)*



Ciclo di Calvin

Il glicerato è fosforilato dalla glicerato chinasi a 3-fosfoglicerato che entra nel ciclo di Calvin

NEL COMPLESSO:

**da 2 molecole di fosfoglicolato (4C) si forma
1 molecola di 3-fosfoglicerato (3C)**

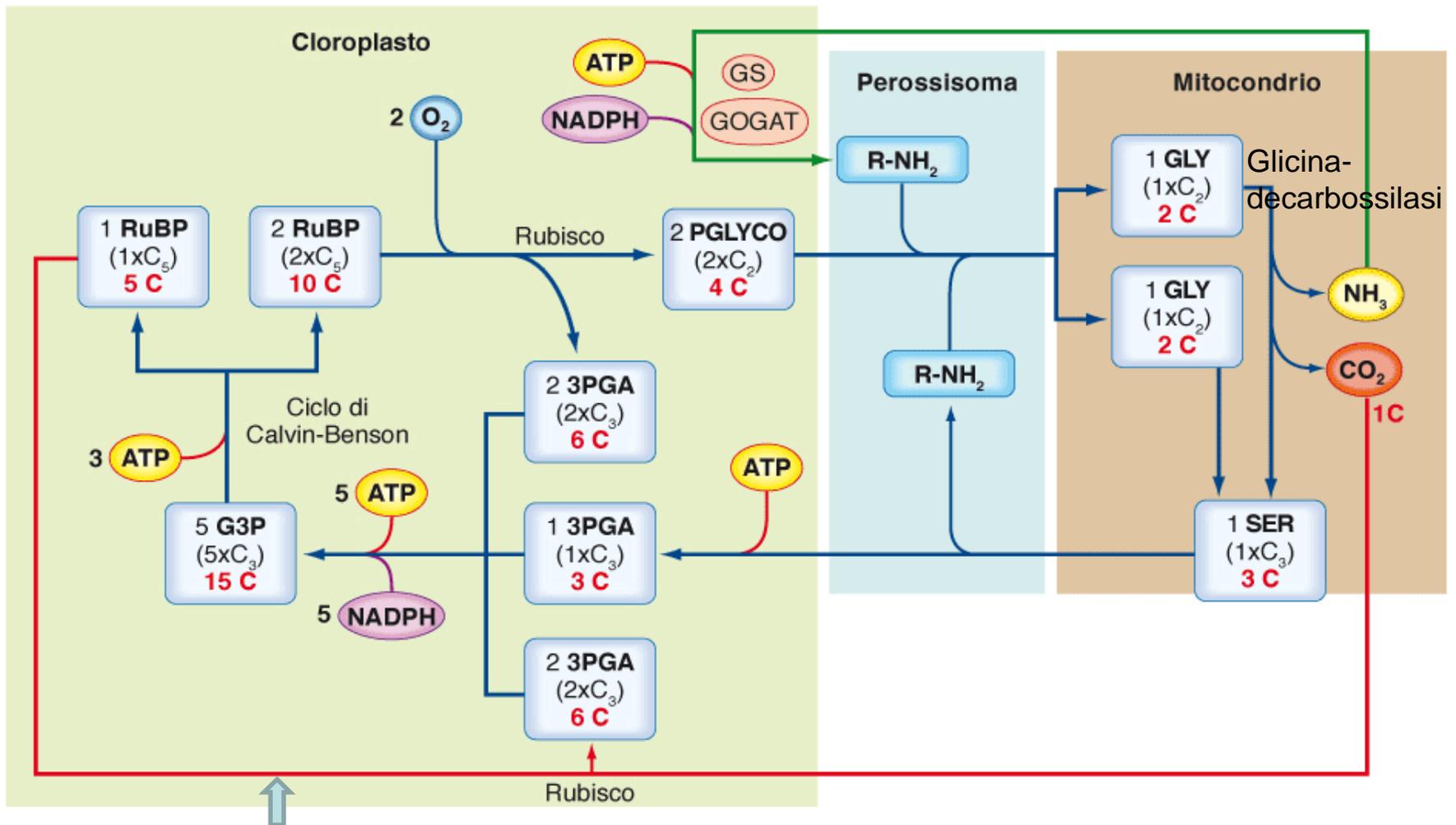
**cioè si recuperano i 3/4 del carbonio dissipato dalla
attività ossigenasica della Rubisco**

1/4 viene perso come CO₂

Mutanti Arabidopsis privi di enzimi chiave del ciclo fotorespiratorio:

Crescita stentata nella normale atmosfera (0.04% CO₂)

Normali in atmosfera arricchita (0.4%) di CO₂



Ogni 2 molecole di 2-fosfoglicolato, 10 ATP e 6 NADPH

Il costo energetico di ogni singola reazione ossigenasica della Rubisco è pari a:

5 ATP e 3 NADPH

In qualunque condizione che favorisca la fotorespirazione, questa spesa aggiuntiva determina una **riduzione della resa fotosintetica e quindi della crescita della pianta**

Rubisco: attività carbossilasica e ossigenasica

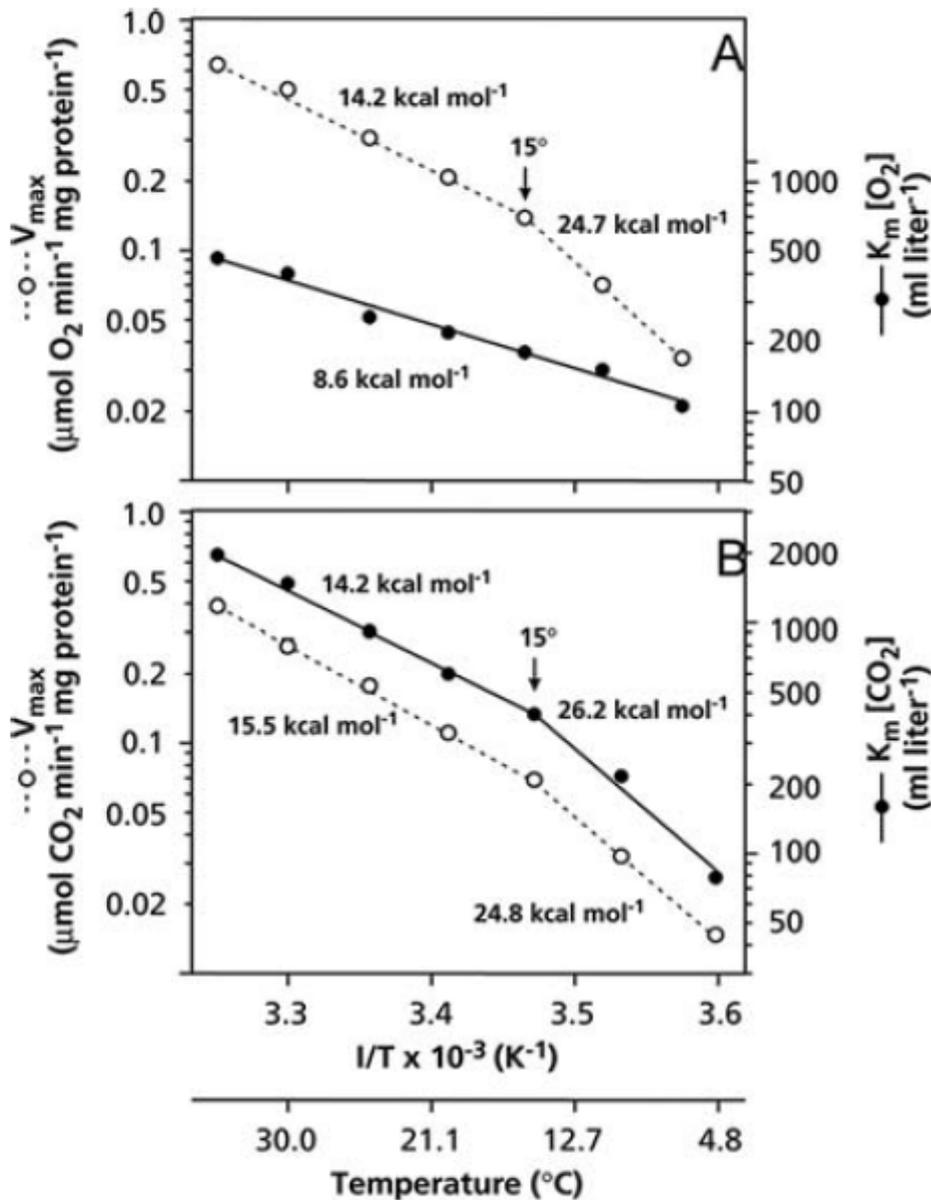
Equazione di Michaelis-Menten:

velocità della reazione enzimatica=f(conc. substrato)

Fattore di specificità $S_{c/o}$ (rapporto tra V_c e V_o se la concentrazione dei substrati fosse la stessa) è pari a 100 (da 80 a 130)

Nelle condizioni dell'atmosfera attuale (0.04% CO₂ e 21% O₂) e a T = 30 °C

$V_c/V_o = 3.2$, cioè $V_o/V_c = 0.31$



All'aumentare di T, aumenta K_m sia per CO_2 che per O_2

Ma K_m aumenta più rapidamente per CO_2 che per O_2

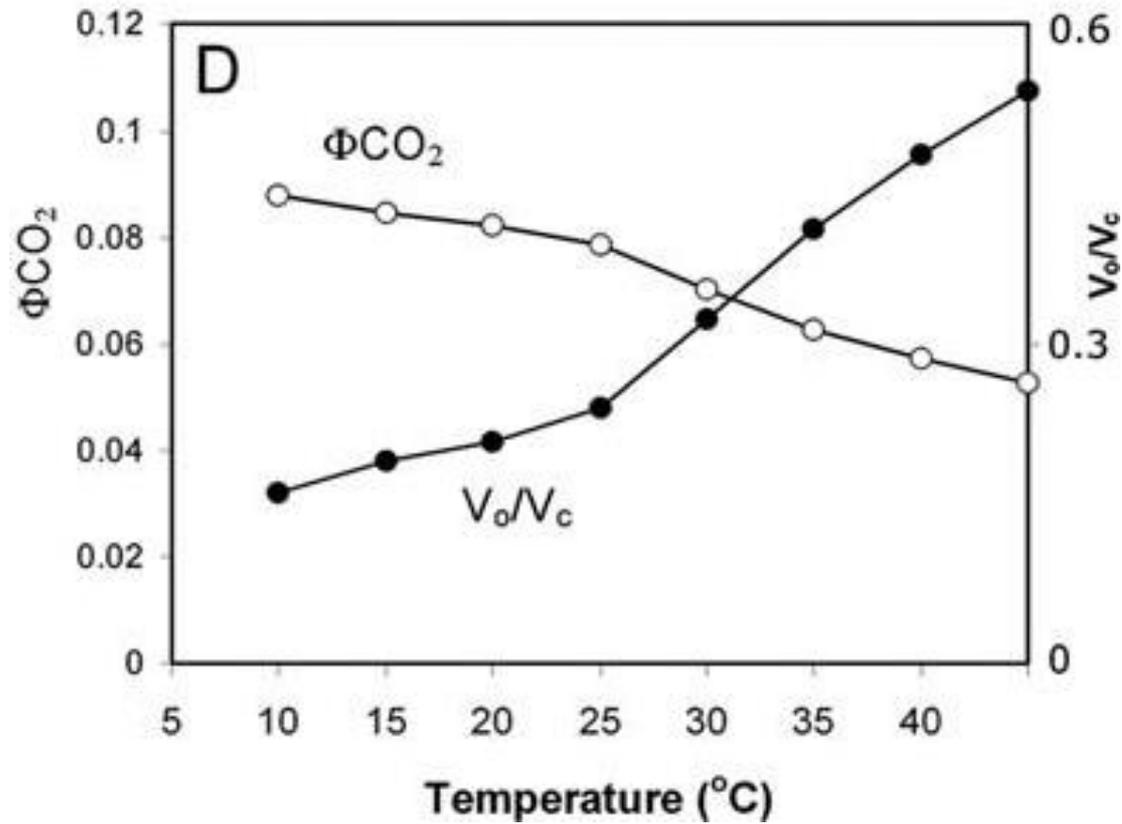
Cioè l'affinità della Rubisco per la CO_2 diminuisce più rapidamente di quella per O_2

Esempio:

Passando da 5 a 30 °C

K_m per O_2 aumenta di 3 volte

K_m per CO_2 aumenta di 15 volte



All'aumentare della temperatura aumenta il rapporto V_o/V_c
 (= diminuisce il rapporto V_c/V_o)

Legge di Henry

$$[\text{gas}] \mu\text{M} = P_{\text{gas}} \times \alpha$$

Temperature (°C)	α (CO ₂)	[CO ₂] (μM in solution)	α (O ₂)	[O ₂] (μM in solution)	$\frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}$
5	1.424	21.93	0.0429	401.2	0.0515
15	1.019	15.69	0.0342	319.8	0.0462 $V_o/V_c = 0.2-0.3$
25	0.759	11.68	0.0283	264.6	0.0416
35	0.592 -58%	9.11	0.0244 -43%	228.2	0.0376 $V_o/V_c = 0.6-1.0$

A 35° Carbossilazione/Ossigenazione = 1:1

LA FOTORESPIRAZIONE AUMENTA ALL'AUMENTARE DELLA TEMPERATURA AMBIENTALE

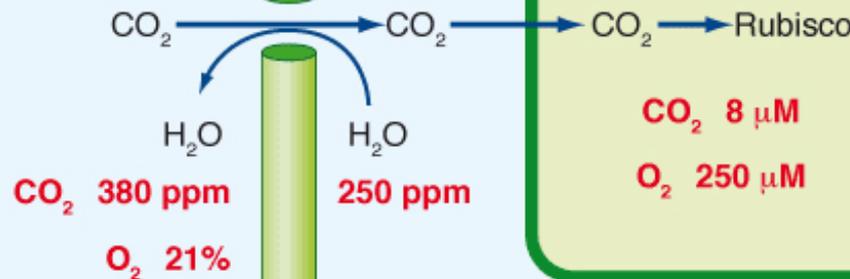
A 35 °C la fotosintesi netta è circa il 30% inferiore a quella che si avrebbe in assenza di attività ossigenasica della Rubisco

LA FOTORESPIRAZIONE AUMENTA IN CONDIZIONI DI STRESS IDRICO

A

Disponibilità idrica ottimale

Stomi aperti



Rapporto tra velocità di carbossilazione e ossigenazione della Rubisco

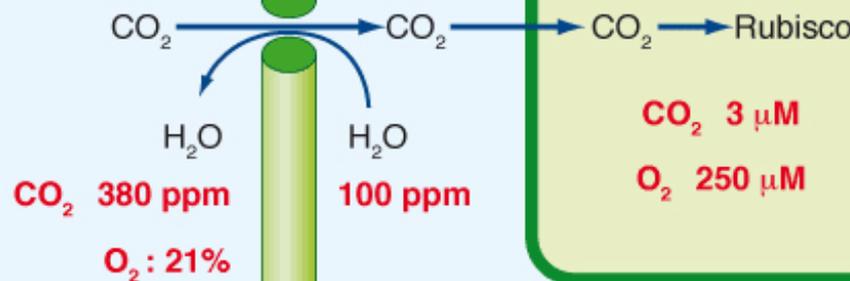
$$v_c / v_o = FS \times [CO_2] / [O_2]$$

$$100 \times (8/250) = 3.2$$

B

Disponibilità idrica NON ottimale

Stomi semichiusi



$$100 \times (3/250) = 1.2$$