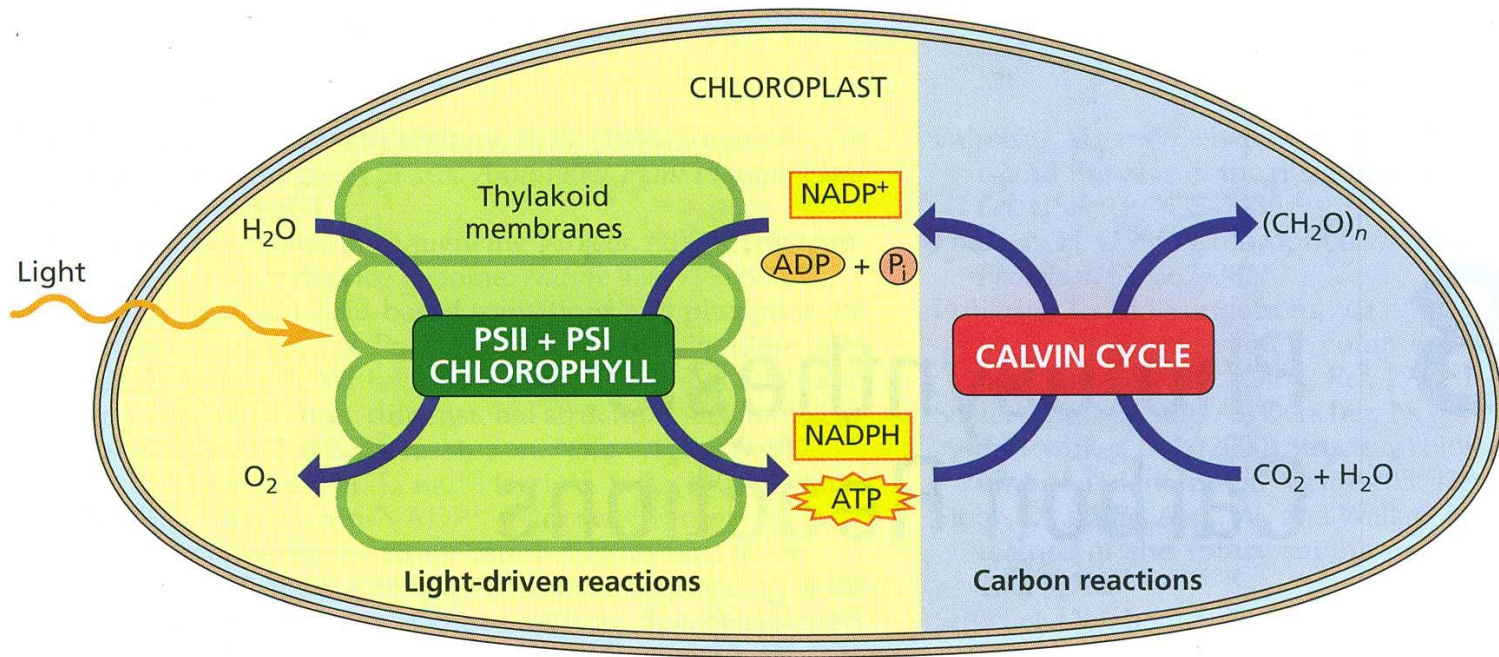
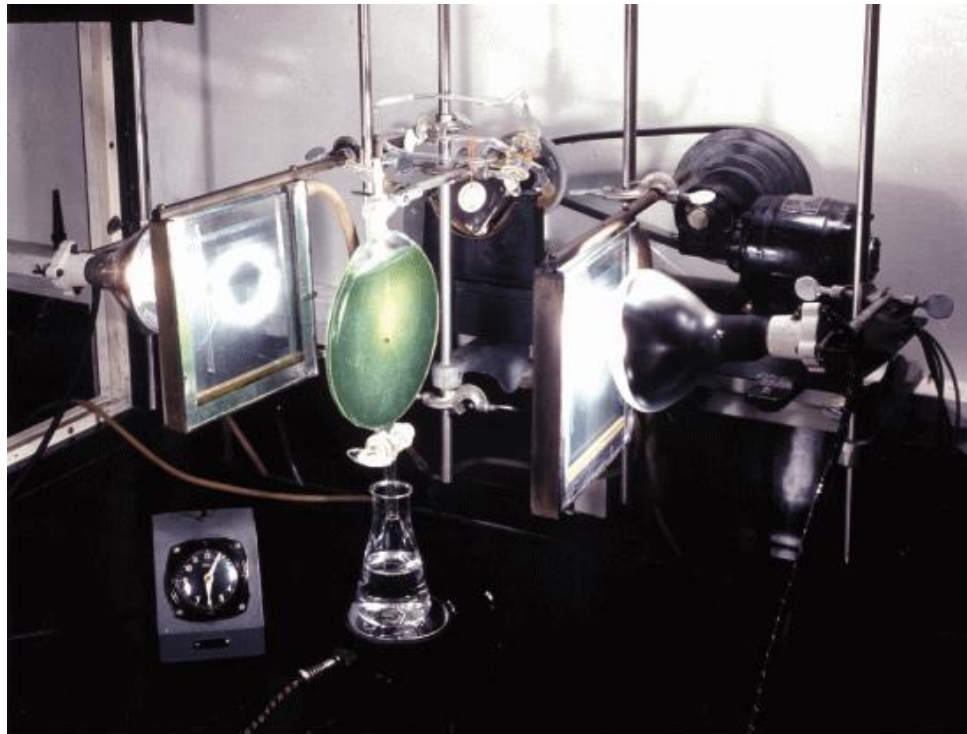


LE REAZIONI DI FISSAZIONE DEL CARBONIO

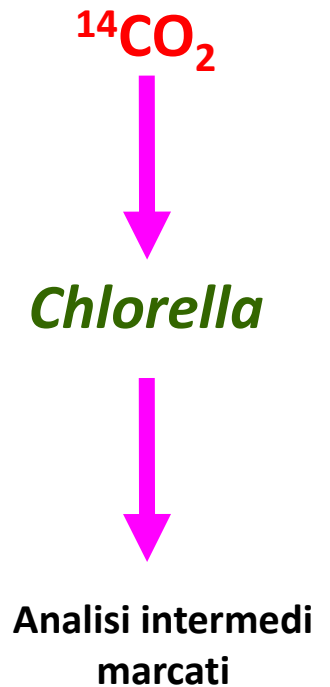


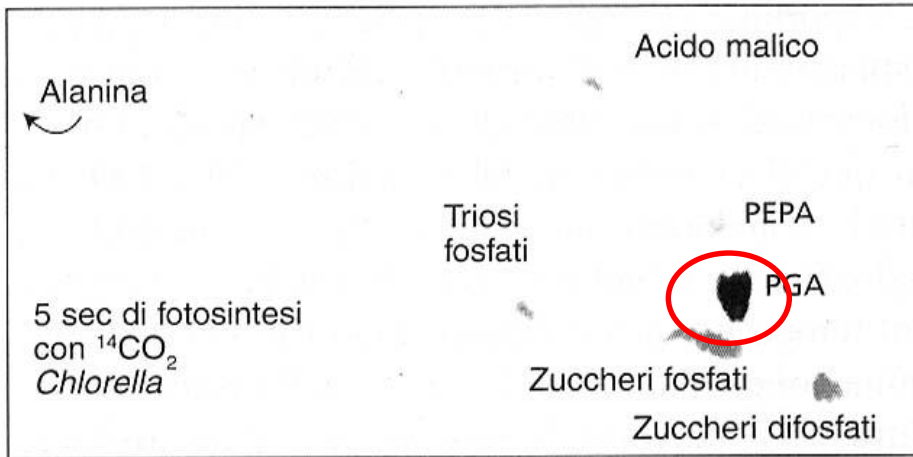
CICLO DI CALVIN-BENSON

Ciclo riduttivo dei pentosi fosfati, RPP
Riduzione fotosintetica del carbonio, PCR

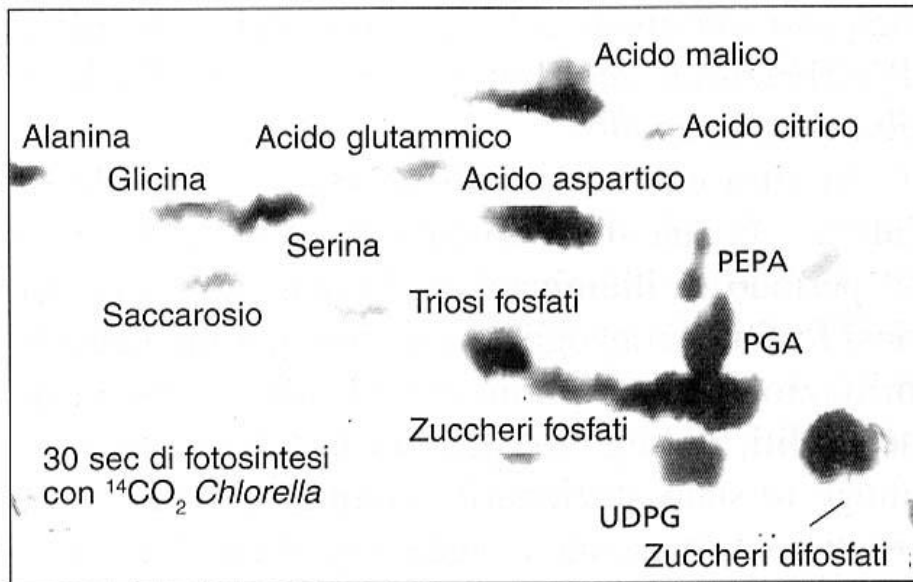


Nobel 1961





← dopo 5 s



← dopo 30 s

Stechiometria generale



Il ciclo di Calvin consuma 3 ATP e 2 NADPH per ogni molecola di CO₂ fissata

Efficienza del Ciclo di Calvin

- La completa ossidazione di 1 mole di fruttosio libera **2804 kJ**, che è quindi la minima energia richiesta per la sua sintesi



- La sintesi di 1 mole di fruttosio-6-fosfato da 6 moli di CO_2 consuma 12 moli di NADPH e 18 moli di ATP, pari a **3126 kJ**

Dunque, l'efficienza termodinamica del Ciclo di Calvin è:

$$(2804/3126) \times 100 = \mathbf{89.7\%}$$

E l'efficienza della fotosintesi in rapporto al contenuto energetico della luce?

- Necessarie **8 moli di fotoni di luce rossa** per **ogni mole di CO₂ fissata**. **Una mole** di fotoni di luce rossa ha un'energia di **175 kJ**

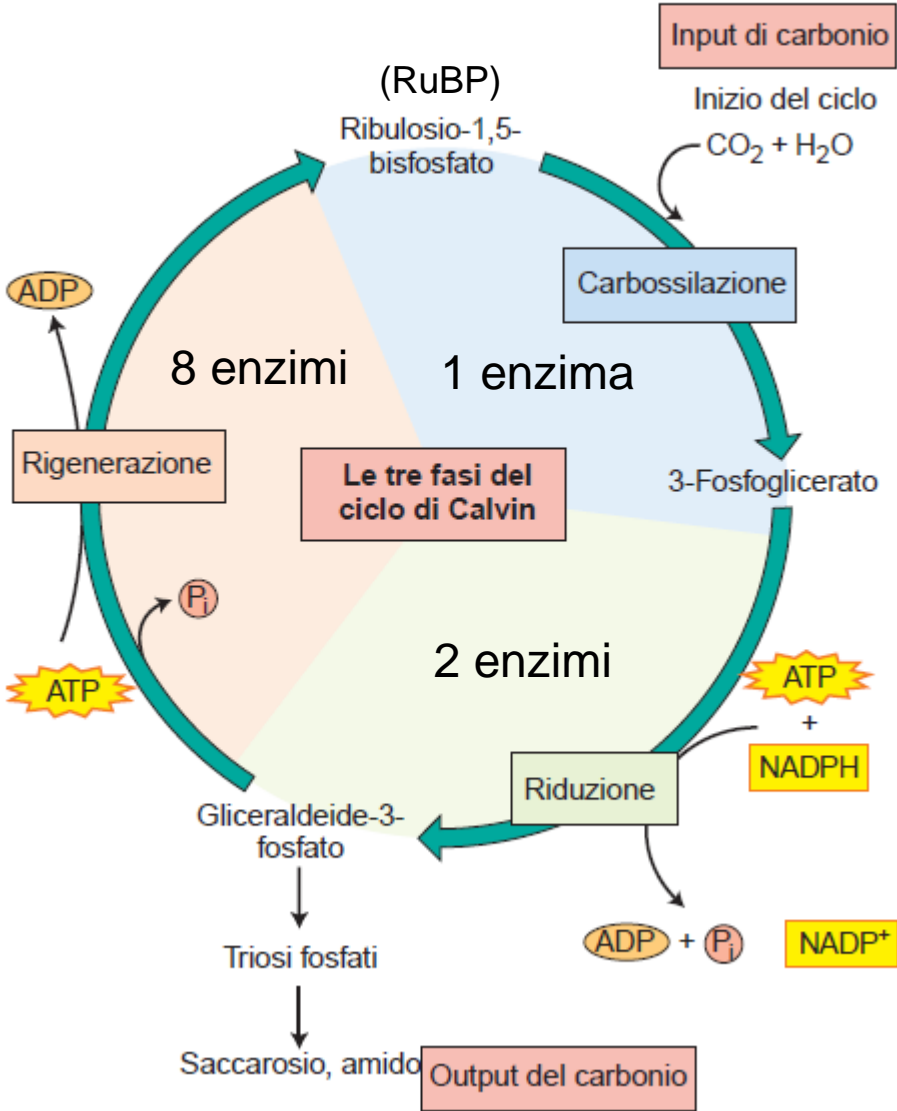
- Quindi, per fissare **6 moli di CO₂**, servono $6 \times 8 \times 175 = 8400$ kJ

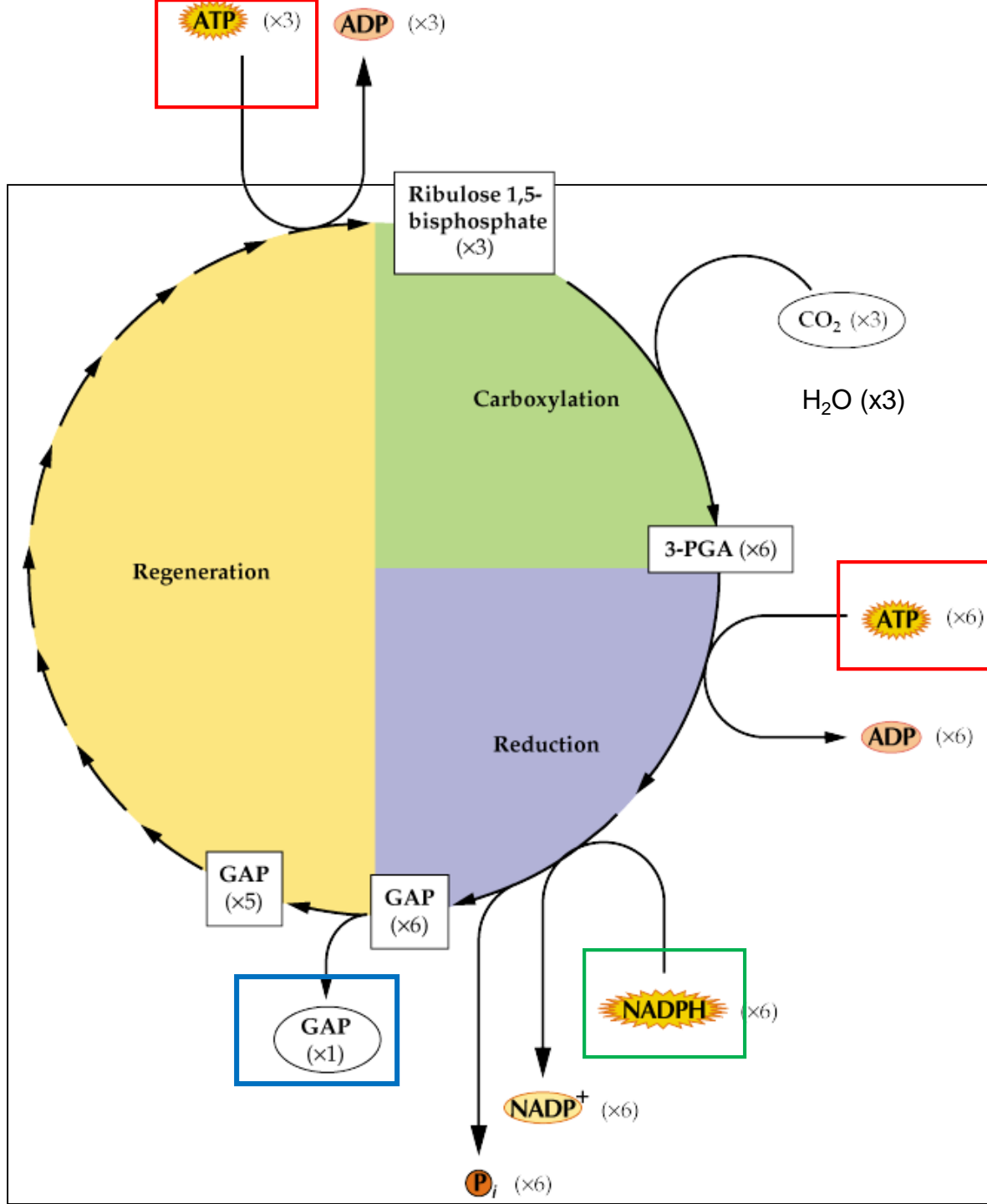
- Dunque, **l'efficienza teorica** è pari a $(2804/8400) \times 100 = 33.8\%$

-> Gran parte dell'energia della luce viene 'sprecata' durante la fase tilacoidale della fotosintesi, per la generazione di ATP e NADPH

L'efficienza reale (in termini di conversione in biomassa) è ancora più bassa di quella teorica e si aggira tra **0.2 e 2%**

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





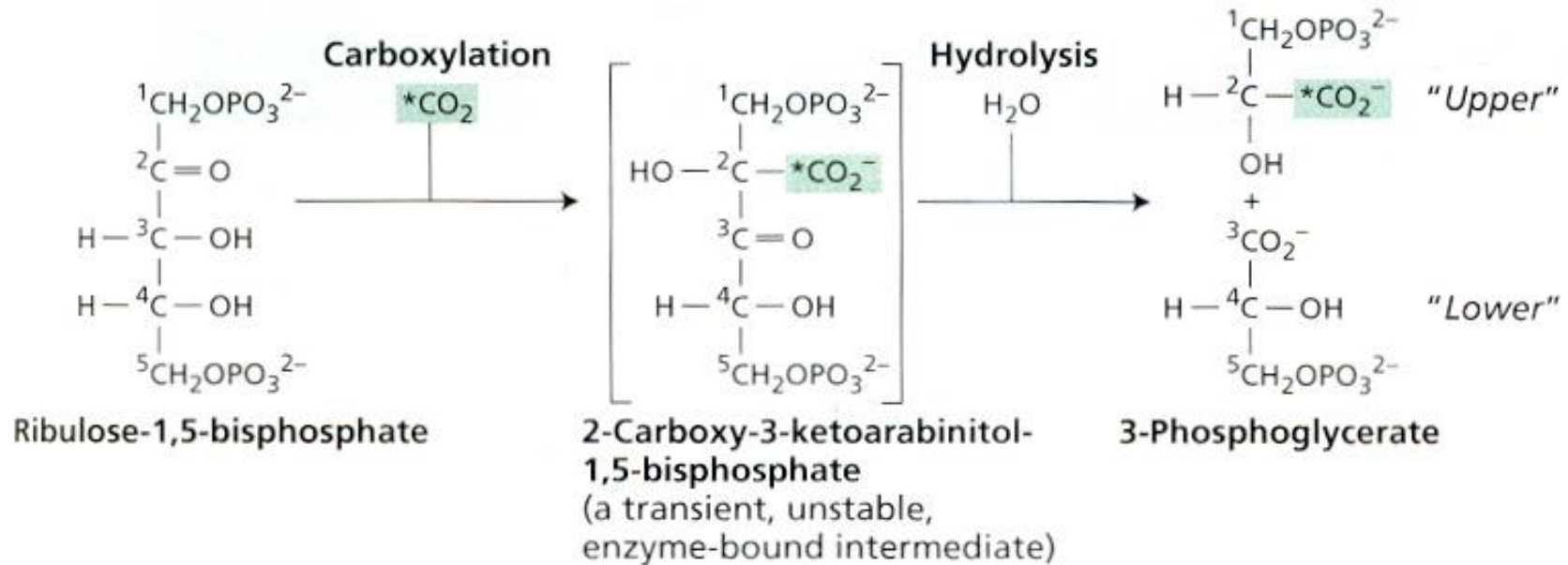
Per un guadagno netto di **1 GAP** (gliceraldeide-3-P):

3 CO₂ fissati

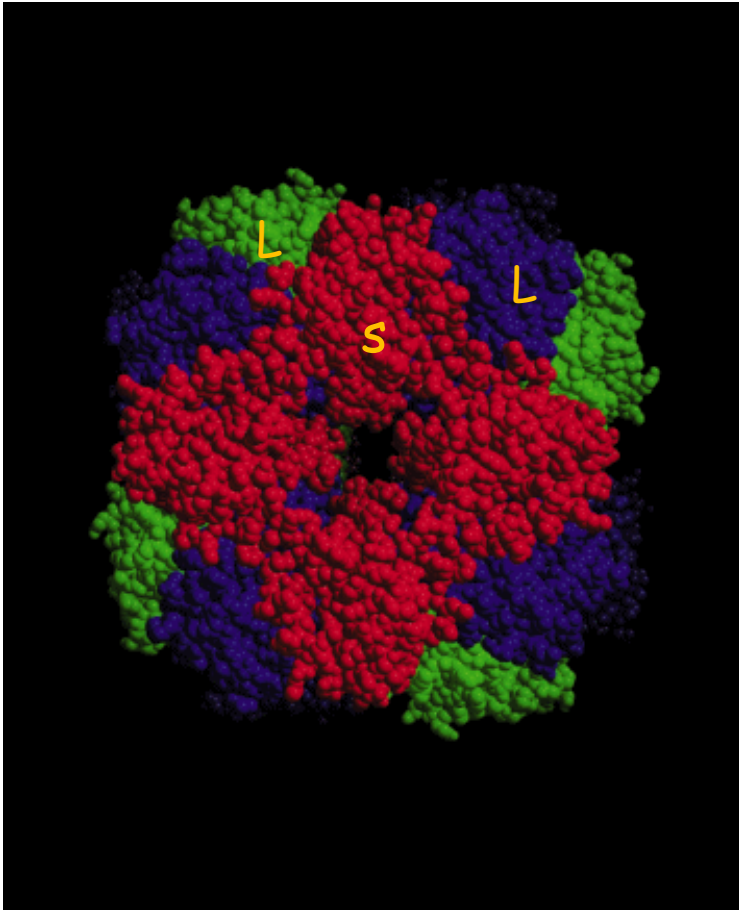
9 (6+3) ATP

6 NADPH

La reazione di carbossilazione



Rubisco: Ribulosio 1,5 bifosfato carbossilasi/ossigenasi



Enzima multimerico: L_8S_8

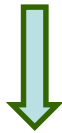
560 kDa

8 subunità grandi (55 kDa)

8 subunità piccole (14 kDa)

In alcuni batteri fotosintetici = L_2

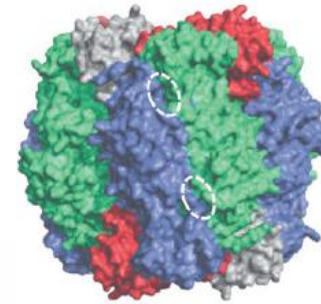
Luce



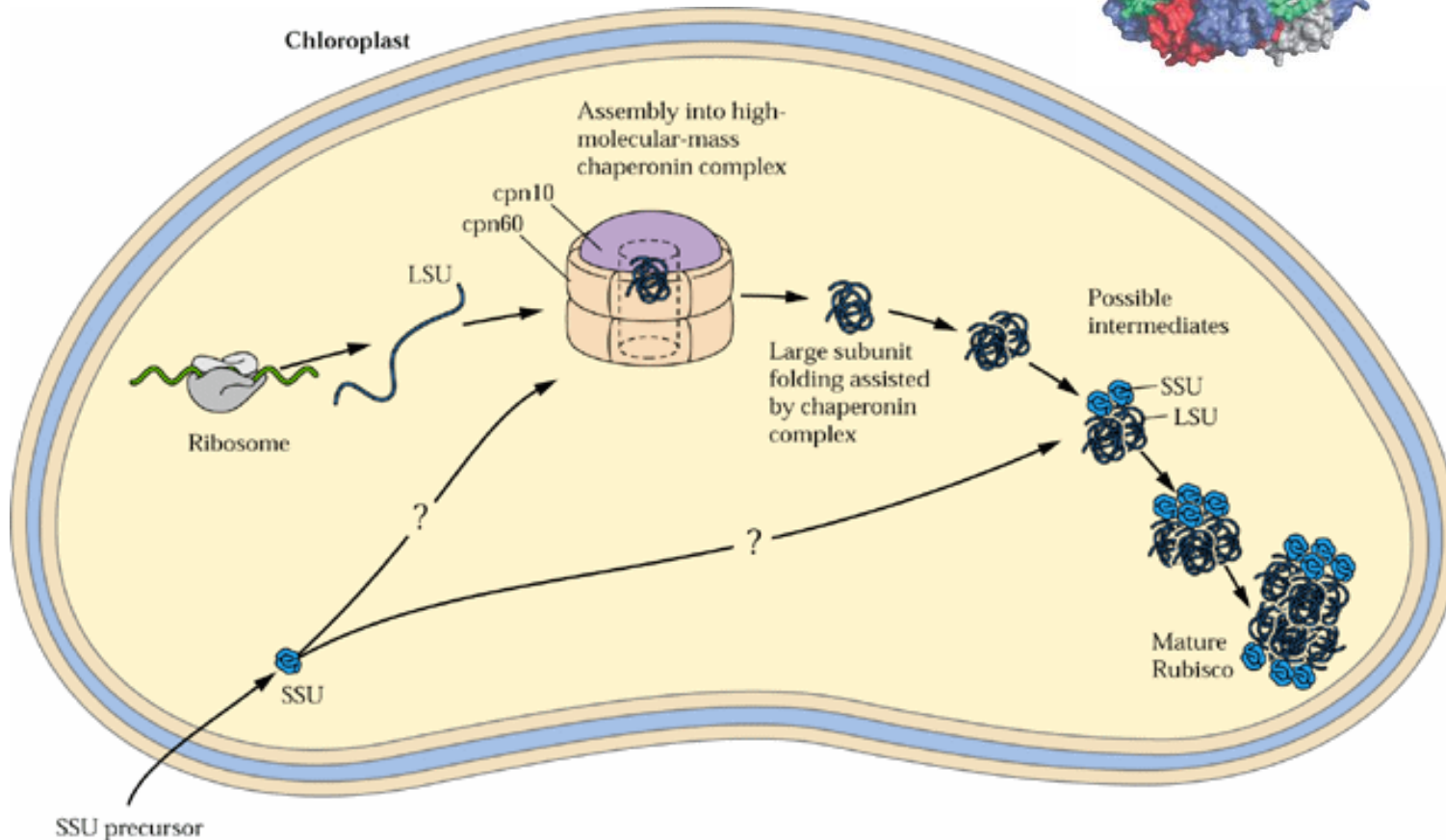
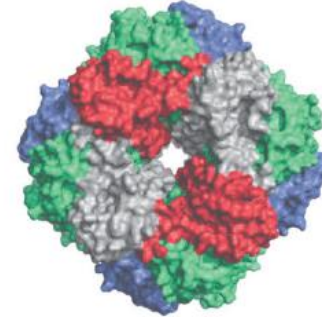
Genoma nucleo → rbcS (precursore subunità piccola)

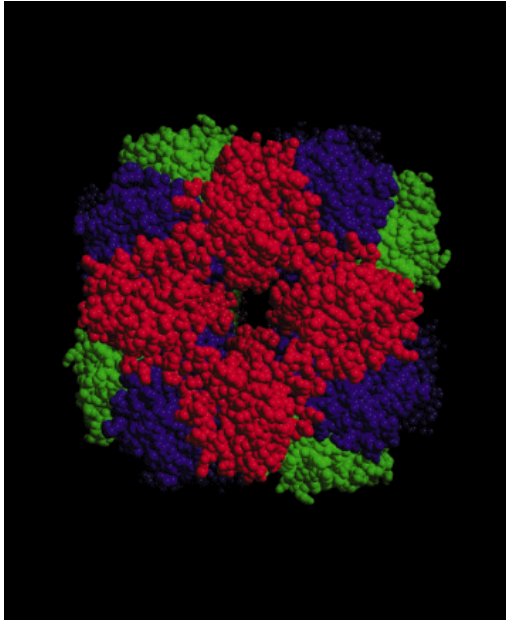
Genoma cloroplasto → rbcL (subunità grande)

Vista laterale



Vista dall'alto





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 ($\sim 12 \mu\text{M}$)

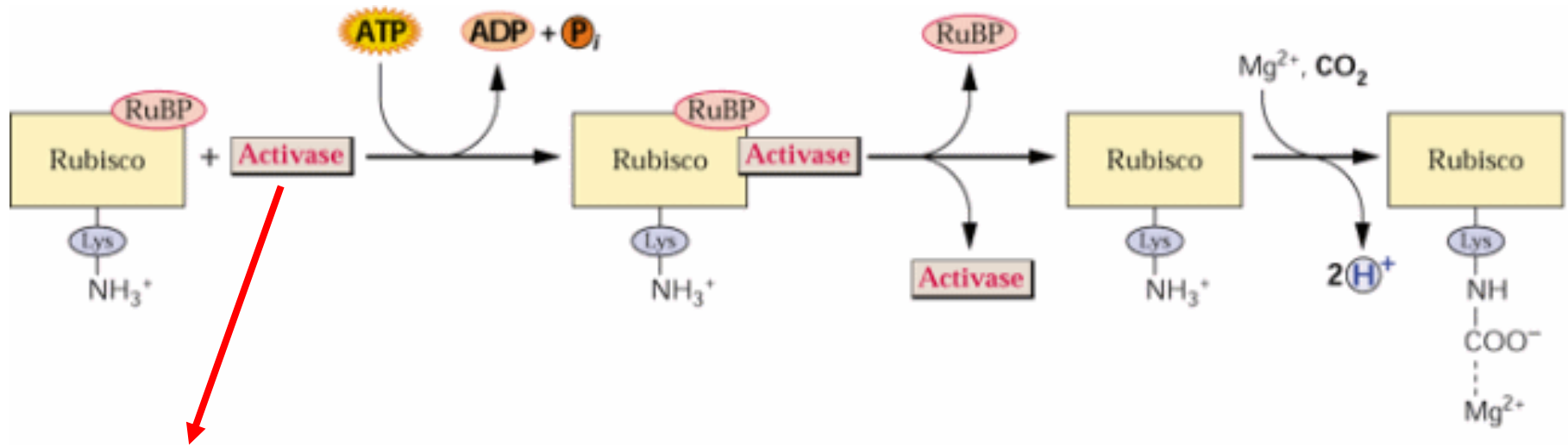
O_2 in aria (21%) = O_2 in soluzione ($\sim 265 \mu\text{M}$)

La Rubisco è un enzima poco efficiente dal punto di vista catalitico:

- poco selettiva nei confronti del substrato
- è molto lenta: carbossila solo 3 CO_2 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

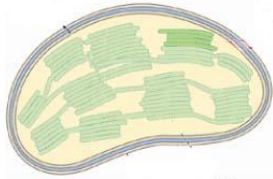
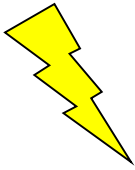
→ carbammilazione: a seguito dell'azione della Rubisco attivasi, una molecola di CO₂ reagisce con la Lys 201 nel sito attivo, con la formazione di un gruppo carbammile che viene stabilizzato dal legame con Mg²⁺

→ enzima attivo

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

Elevate T inducono: decarbammilazione spontanea della Rubisco + termoinstabilità della R-attivasi

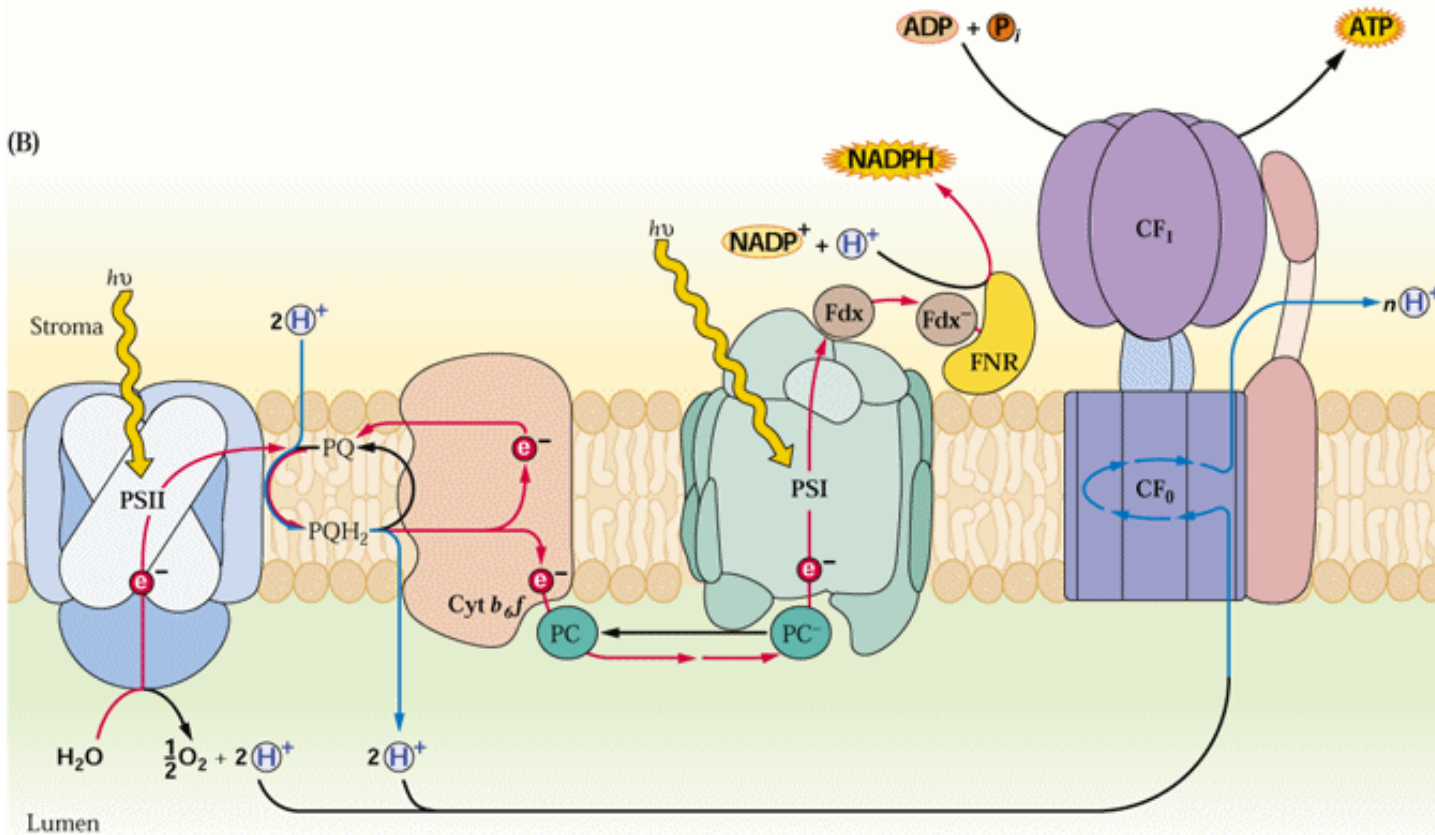
A sua volta, la Rubisco attivasi viene attivata dalla luce!



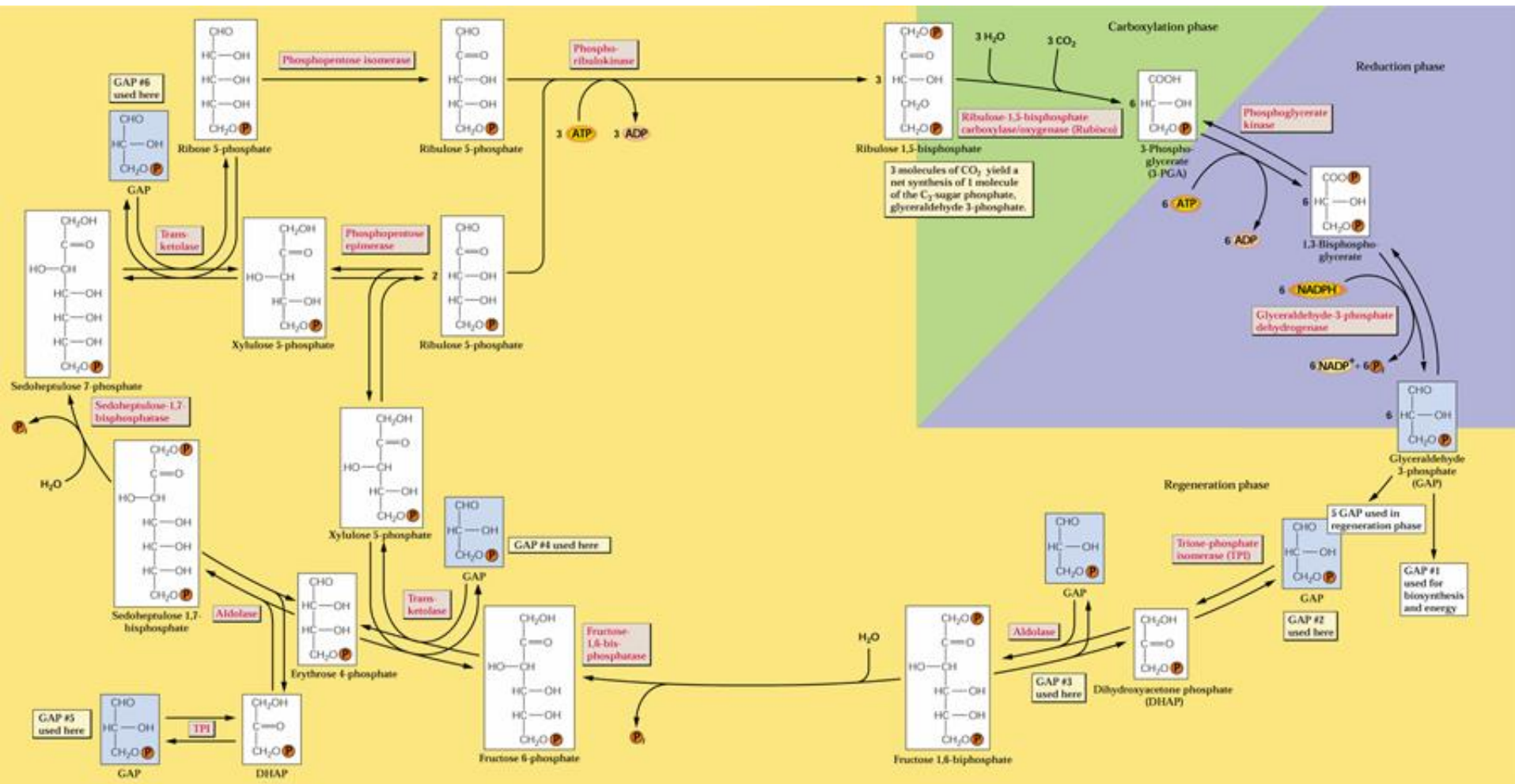
pH 7 → 8
[Mg²⁺] 1-3 mM → 3-6 mM

→ Carbammilazione della Rubisco

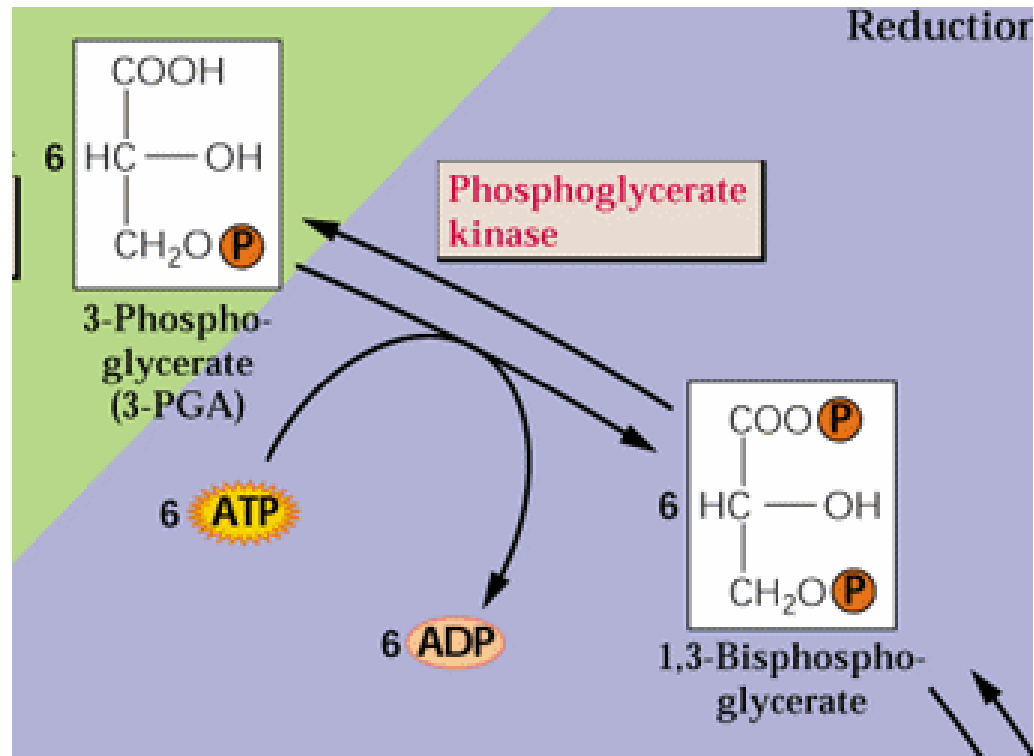
(B)



Le reazioni del ciclo di Calvin



RIDUZIONE

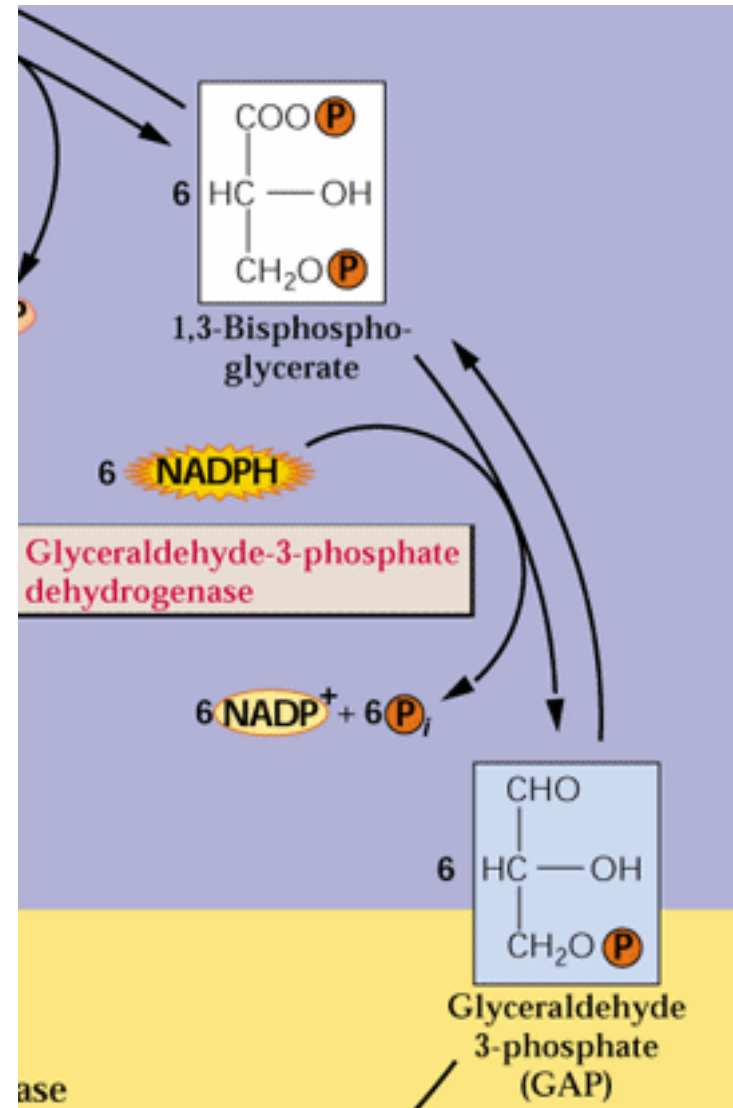


La **fosfoglicerato chinasi** fosforila il 3-fosfoglicerato consumando ATP
Produzione di 1,3-bifosfoglicerato

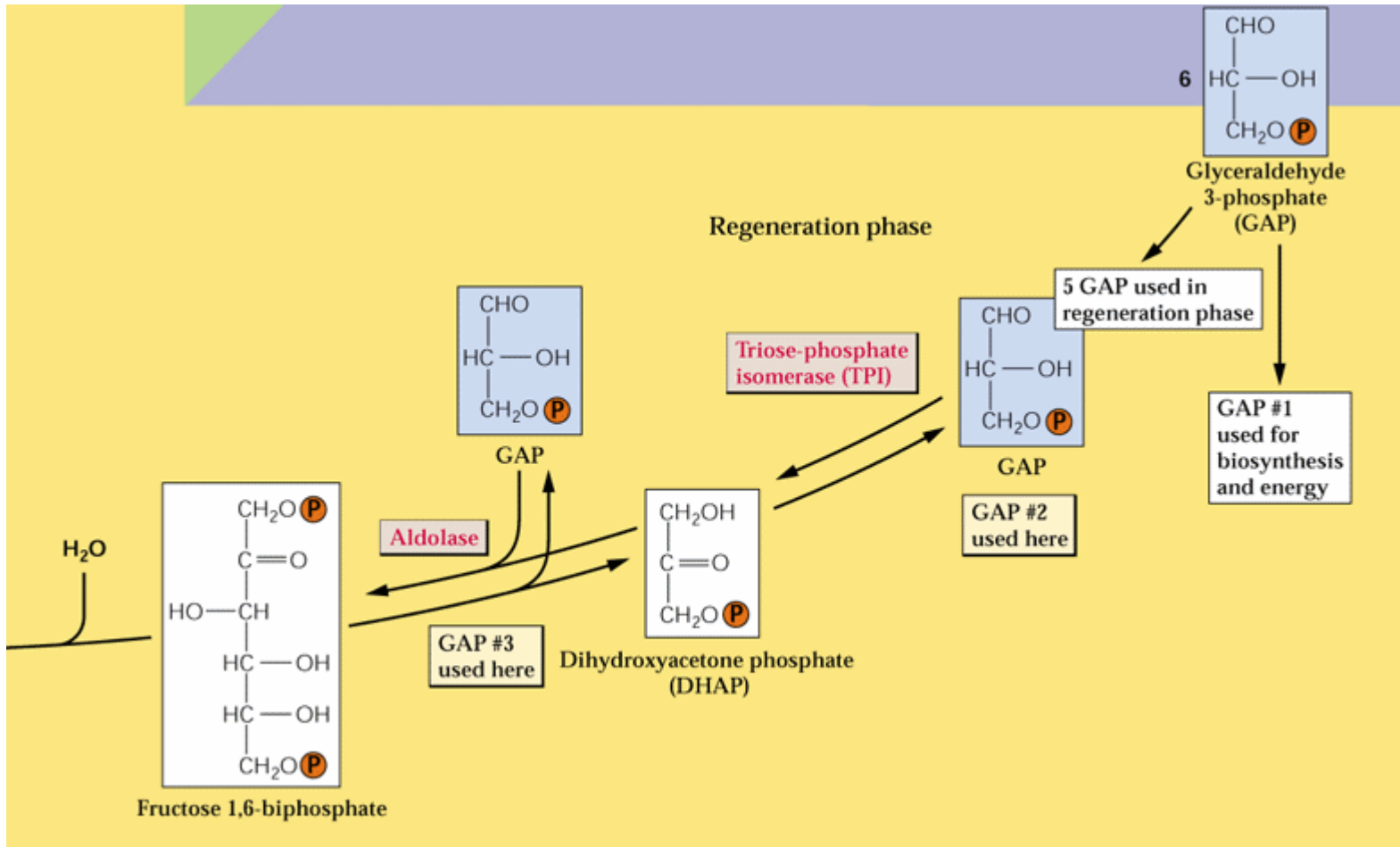
RIDUZIONE

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

Produzione di gliceraldeide 3-fosfato

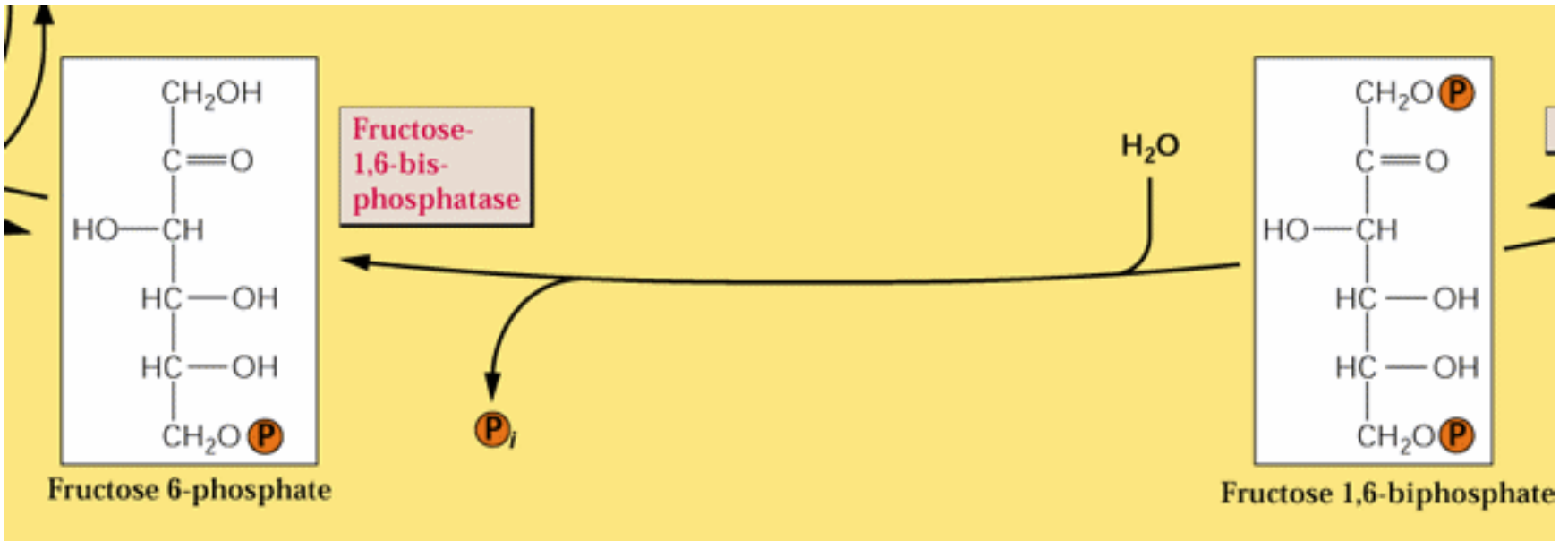


RIGENERAZIONE



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

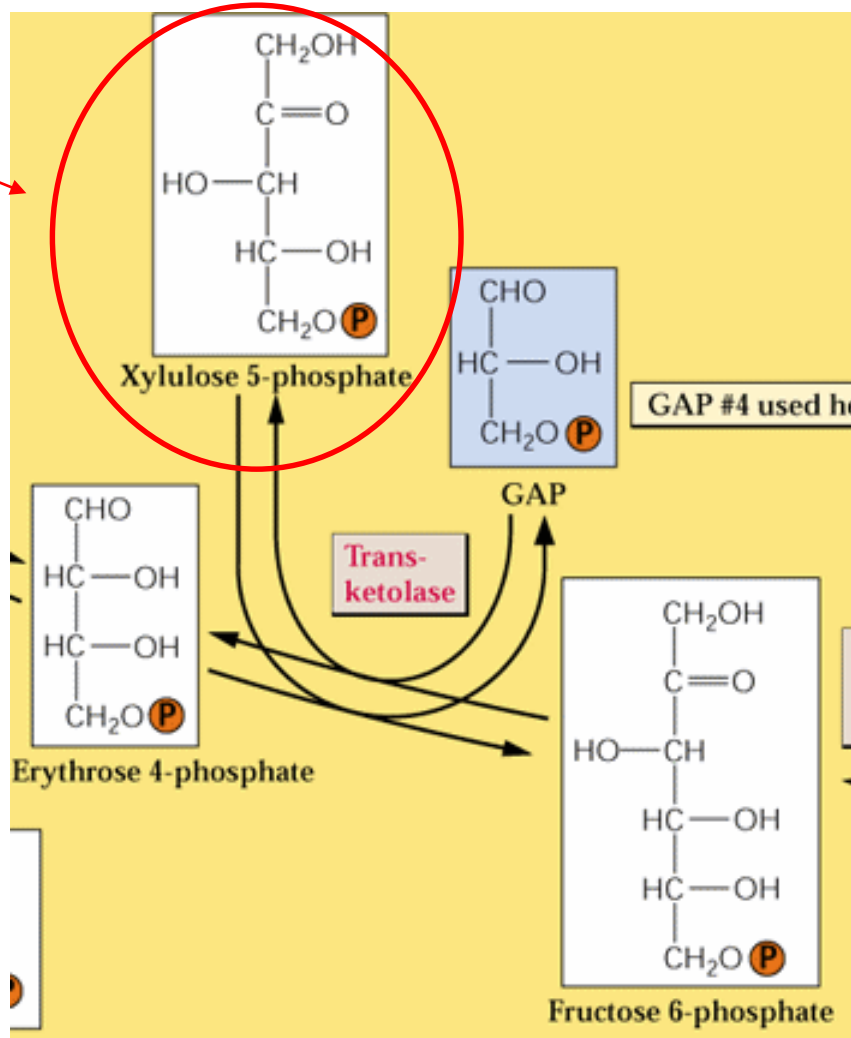
RIGENERAZIONE



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

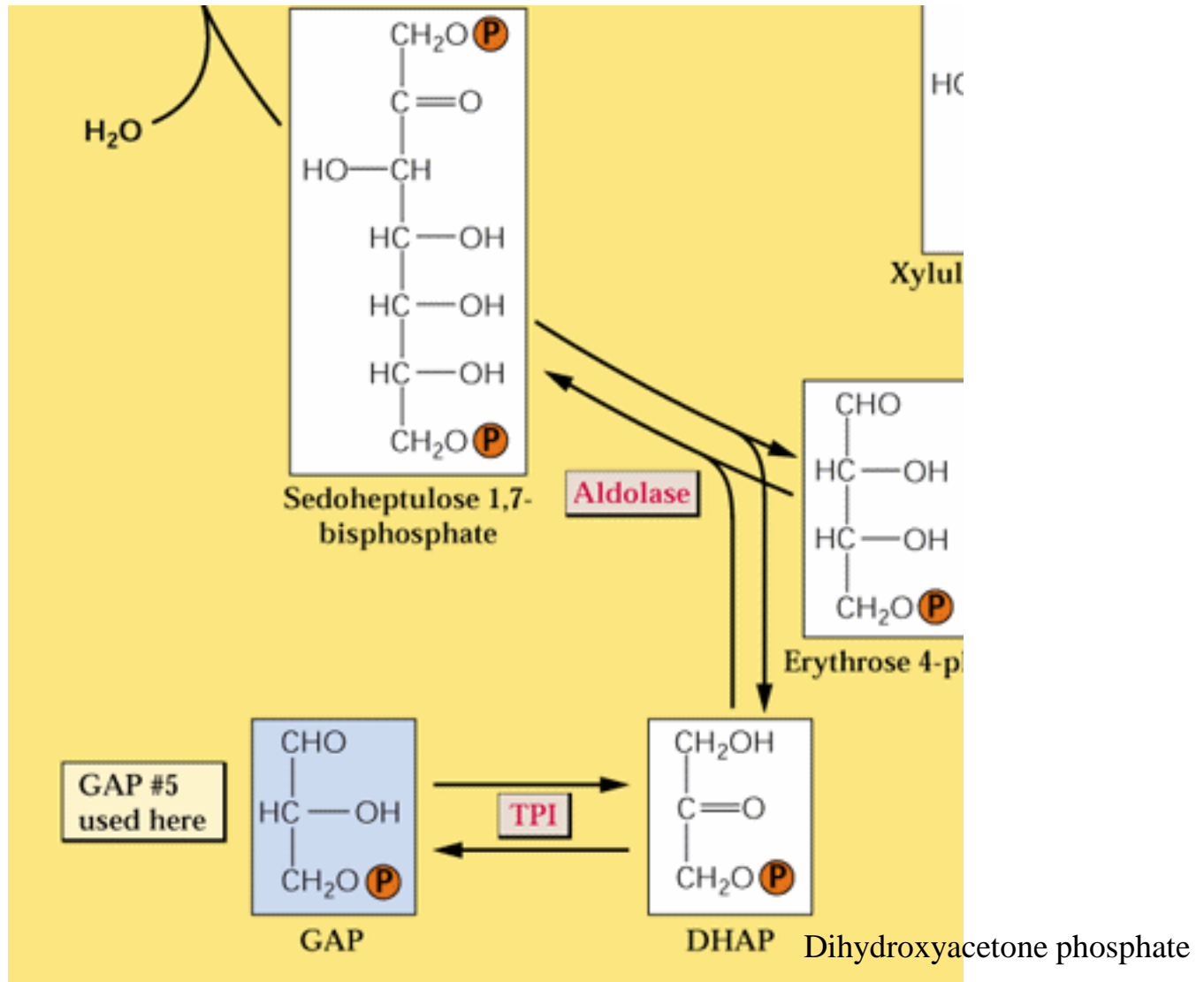
RIGENERAZIONE

1° pentoso

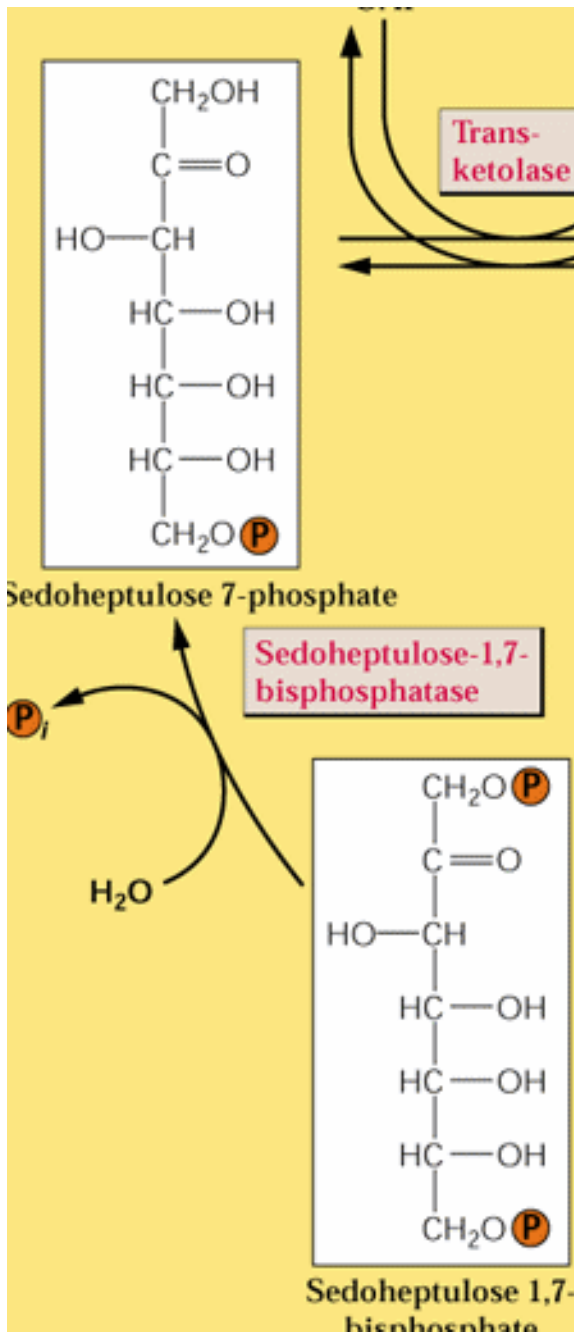


Il fruttosio 6-fosfato e un'altra molecola di gliceraldeide 3-P si combinano:
reazione catalizzata dalla **transchetolasi**
Produzione di Eritrosio 4-fosfato e xilulosio 5-fosfato

RIGENERAZIONE



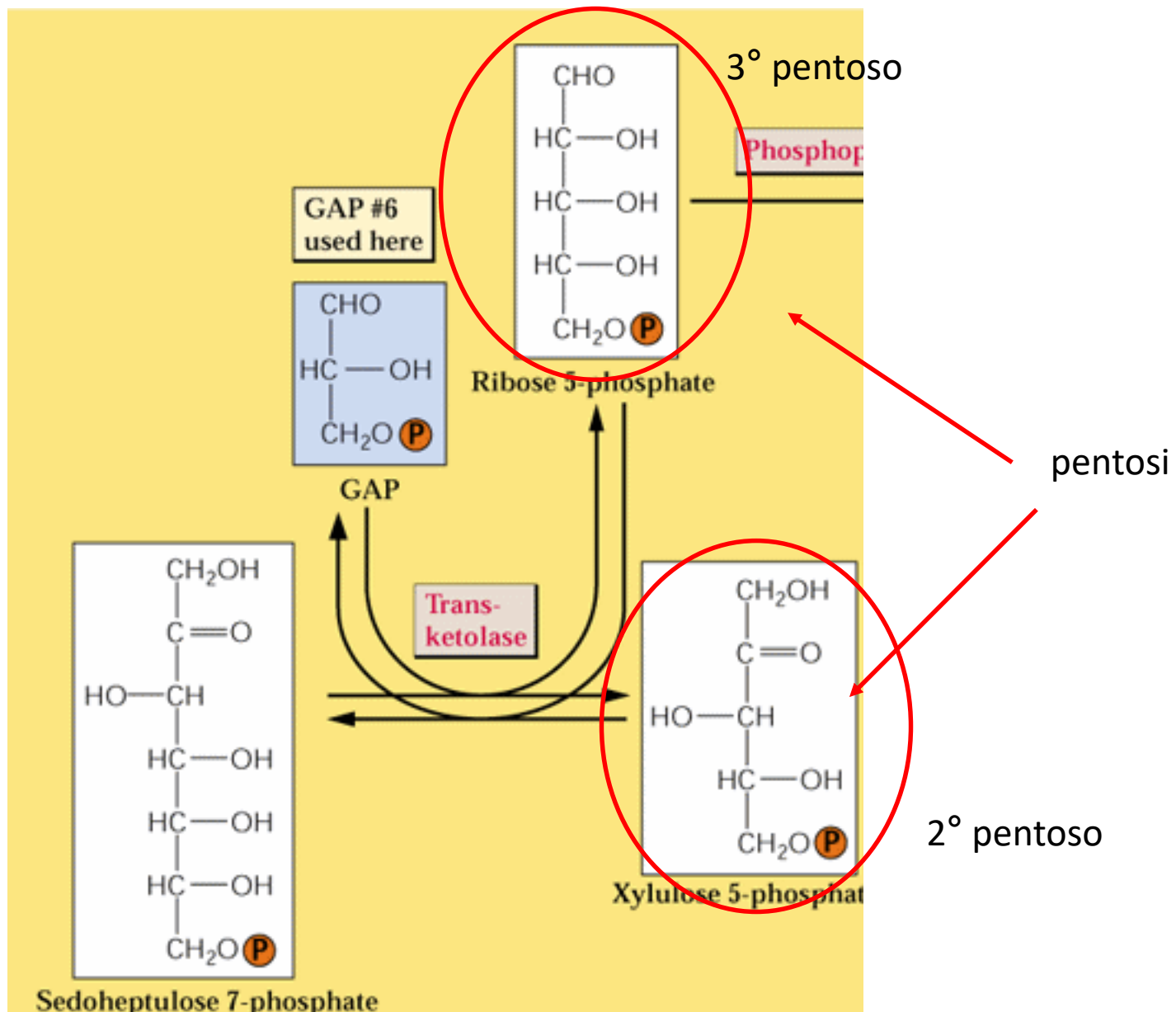
Condensazione aldolica tra eritrosio 4-P e un'altra molecola di gliceraldeide3-P: **aldolasi**.
Produzione di sedoepulosio 1,7-bifosfato



Il sedoepulosio 1,7 bifosfato viene defosforilato:

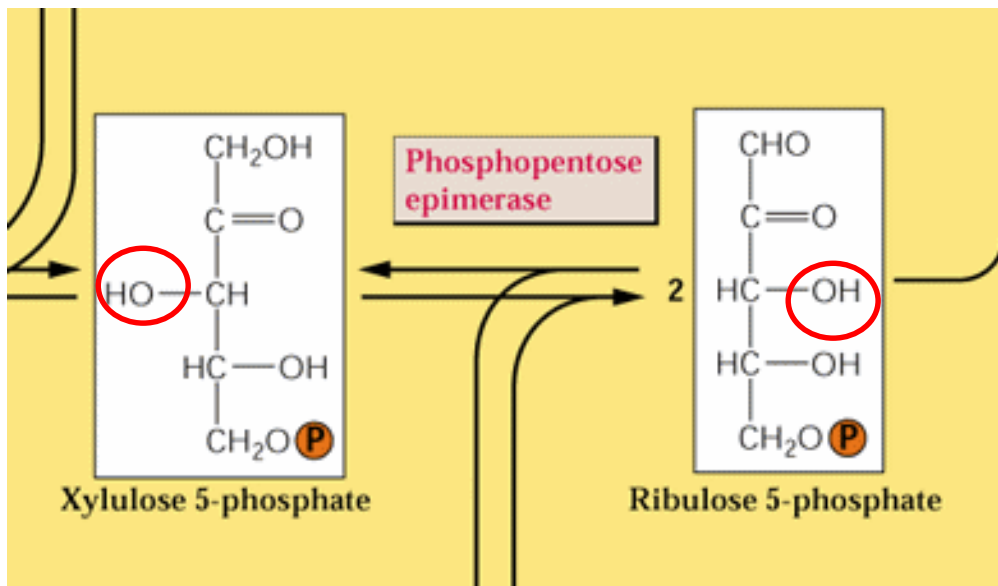
sedoepulosio 1,7 bifosfatasi

Produzione di sedoepulosio 7-fosfato



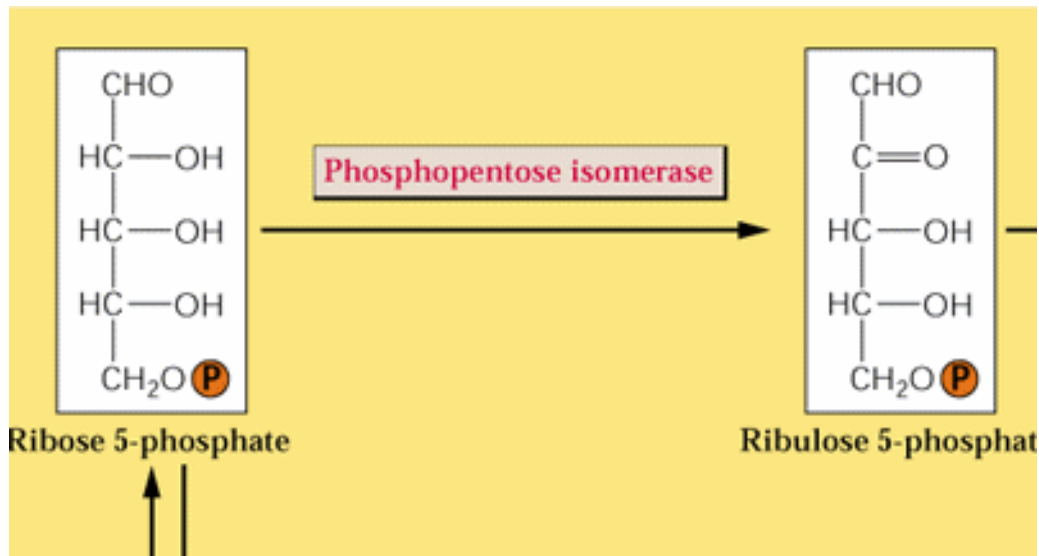
Il sedoheptulosio 7-fosfato reagisce con l'ultima molecola di GA3-P formando 2 pentosi: **transchetolasi**. Produzione di xilulosio 5-fosfato e ribosio 5-fosfato

2x



Epimerasi

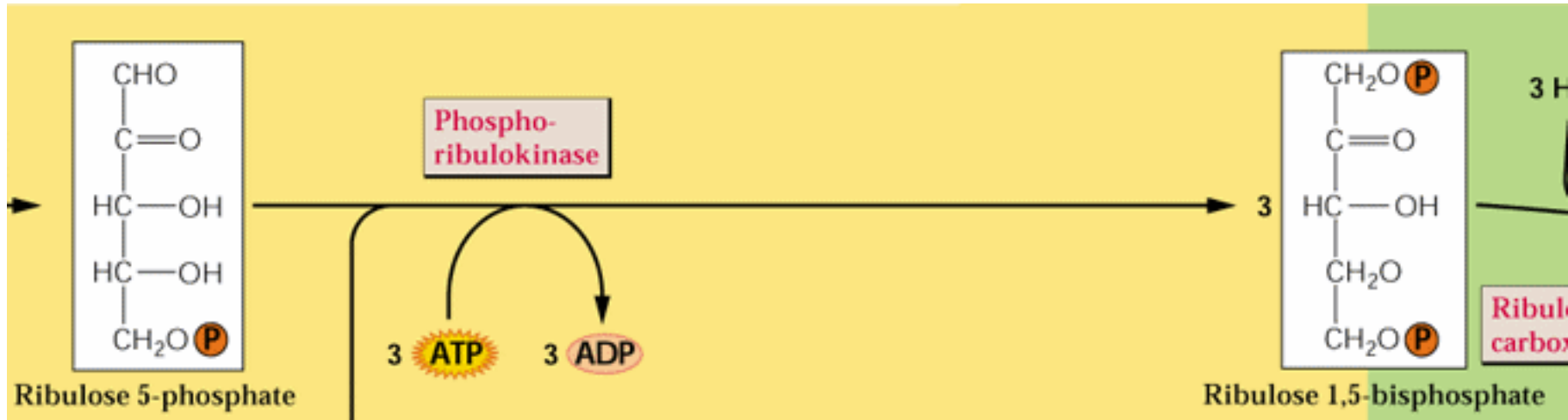
1x



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

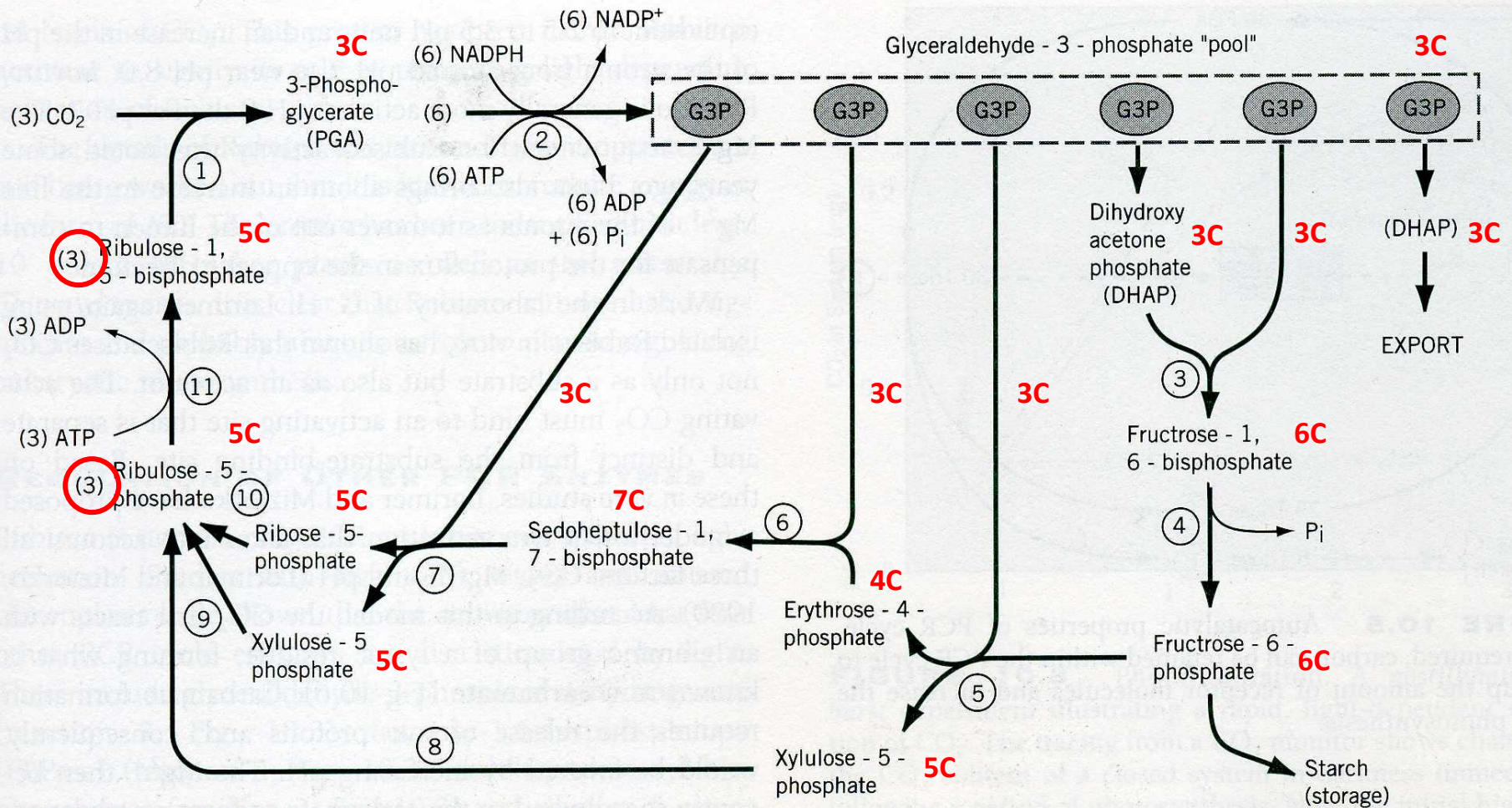


FIGURE 10.3 The photosynthetic carbon reduction (PCR) cycle. Numbers in brackets indicate stoichiometry. Enzymes, indicated by circled numbers are: (1) ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco); (2) 3-phosphoglycerate kinase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; (3) aldolase; (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.

Sistemi di regolazione del ciclo di Calvin con la fase tilacoidale della fotosintesi

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

Gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi

Fruttosio 1,6-bifosfatasi

Sedoeptulosio 1,7-bifosfatasi

Fosfo-ribulo-chinasi

Rubisco attivasi

Sistemi di regolazione del ciclo di Calvin con la fase tilacoidale della fotosintesi

Sistema redox basato sulle tioredossine



TIOREDOSSINA (12 kDa)

5 tipi

Sito attivo con due cisteine:

Al buio:

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

Alla luce:

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

SISTEMA FERREDOSSINA-TIOREDOSSINA

