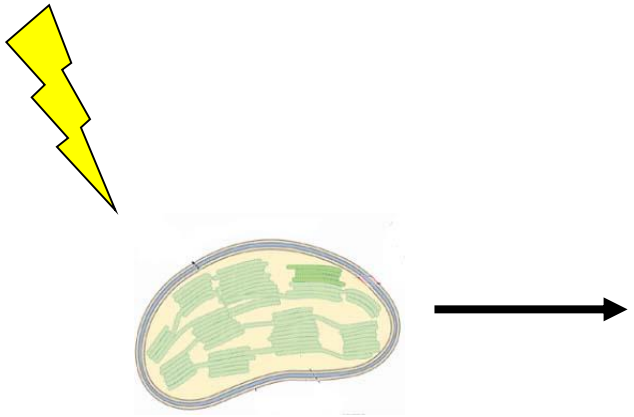
Efficienza del sistema fotosintetico

Resa quantica = Φ = n. prodotti fotochimici/n. fotoni assorbiti

Numero quantico o richiesta quantica = n. fotoni necessari per ottenere un dato prodotto



$\Phi_{fotochimica} = 0.95$

$\Phi_{fluorescenza} = 0.05$

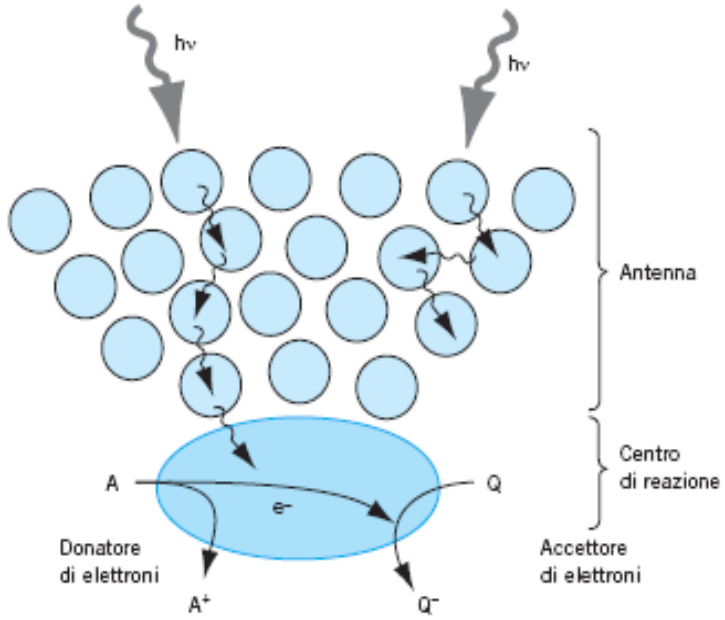
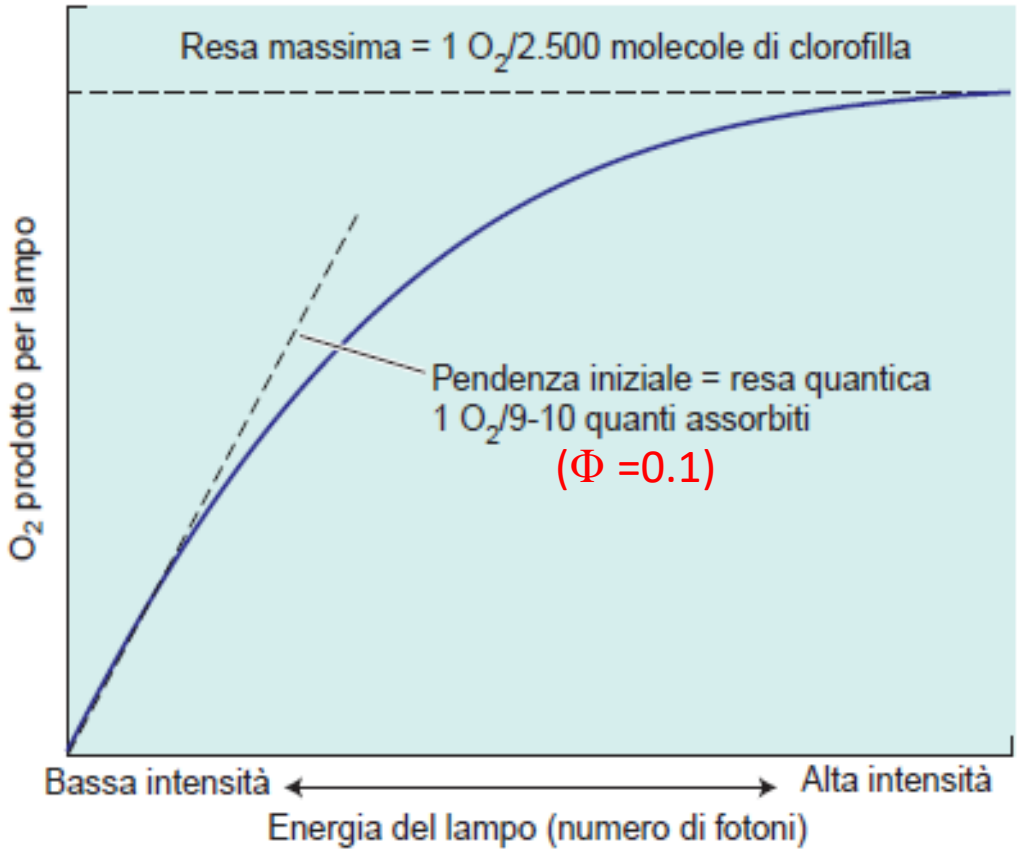


FIGURA 4.4 Un fotosistema contiene l'antenna e il centro di reazione. Le molecole di clorofilla dell'antenna assorbono i fotoni incidenti e trasferiscono l'energia di eccitazione ai centri di reazione dove avviene la reazione fotochimica di ossido-riduzione.

La resa quantica degli eventi fotochimici è pari a 0.95 …….

…..Tuttavia, la resa quantica della fase tilacoidale (= per la produzione di O_2) è teoricamente pari a 0.1 (quindi la richiesta quantica è 10)
Perché? Perché sono necessari circa 10 fotoni (cioè 10 quanti) per rilasciare 1 O_2 (dalle 4 reazioni fotochimiche per ciascun fotosistema)

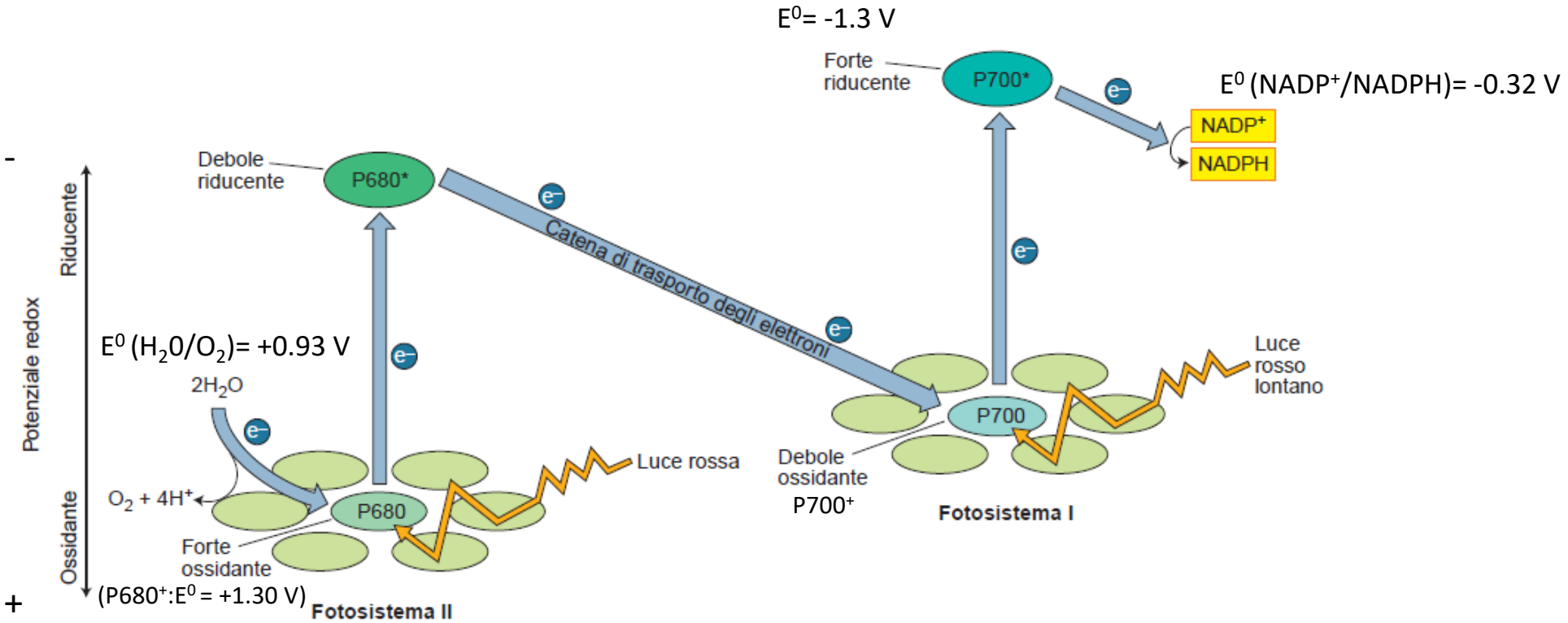


Il sistema fotosintetico è saturabile

Esperimento di Emerson & Arnold, 1932

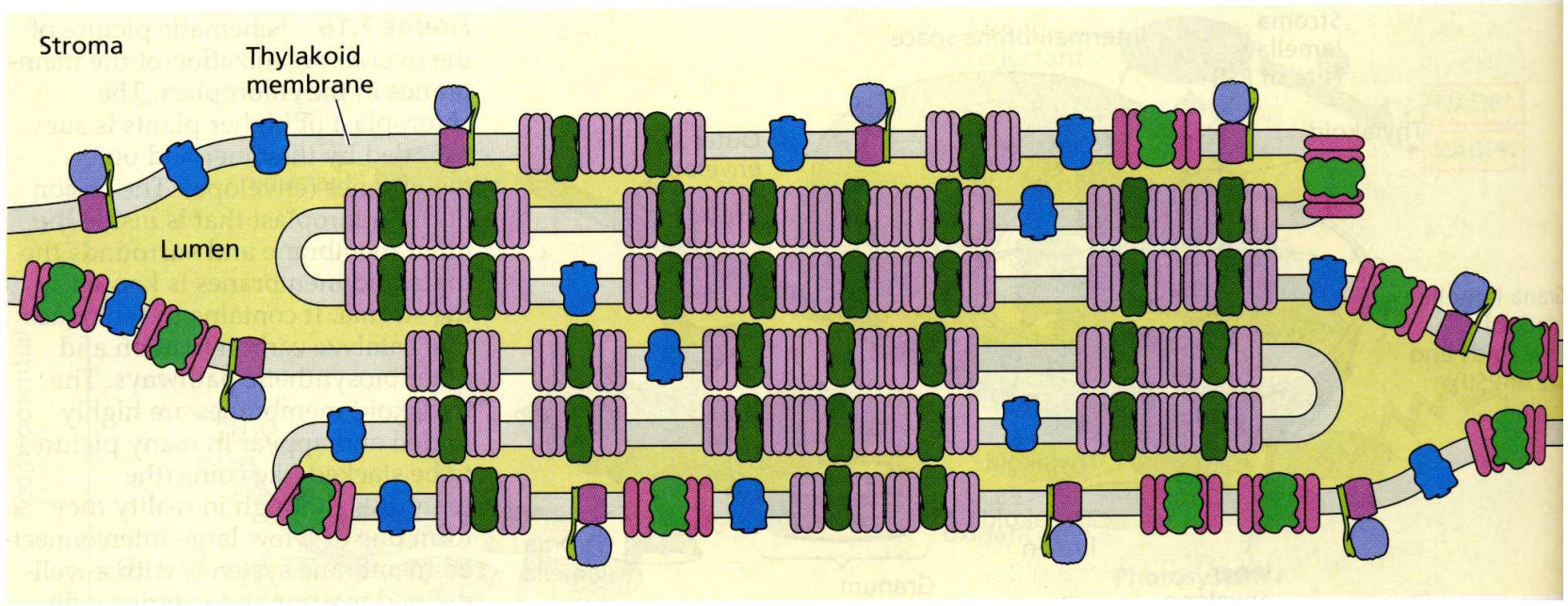
La fotosintesi ossigenica avviene grazie a due fotosistemi che agiscono in serie

PS II: produce un forte ossidante (che ossida l'acqua) e un debole riducente che riduce PS I
PS I: produce un forte riducente (che riduce NADPH) e un debole ossidante che ossida PS II



Gli elettroni si muovono contro il gradiente dei potenziali redox, dall'acqua al $NADP^+$, grazie all'energia della luce

(A)



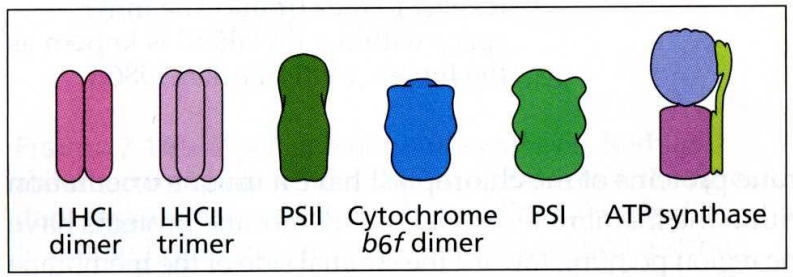


Tabella 12.4 La distribuzione dei componenti fotosintetici nelle regioni della membrana del cloroplasto

Componente	*Tilacoidi (%)*	
	Impilati	*Esposti allo stroma*
PSII	85	15
PSI	10	90
Complesso del citocromo b_6f	50	50
LHC-II	90	10
ATP sintasi	0	100
Plastocianina[a]	40	60

[a] Le percentuali indicano la distribuzione relativa di ciascun componente, impilato o esposto allo stroma, tranne nel caso della plastocianina, per la quale la localizzazione si riferisce al lume della rispettiva regione della membrana.

I due eventi fotochimici sono separati spazialmente

Principali complessi proteici dei tilacoidi, con orientamento vettoriale definito!!!

FOTOSISTEMA II

CITOCROMO b_6f

FOTOSISTEMA I

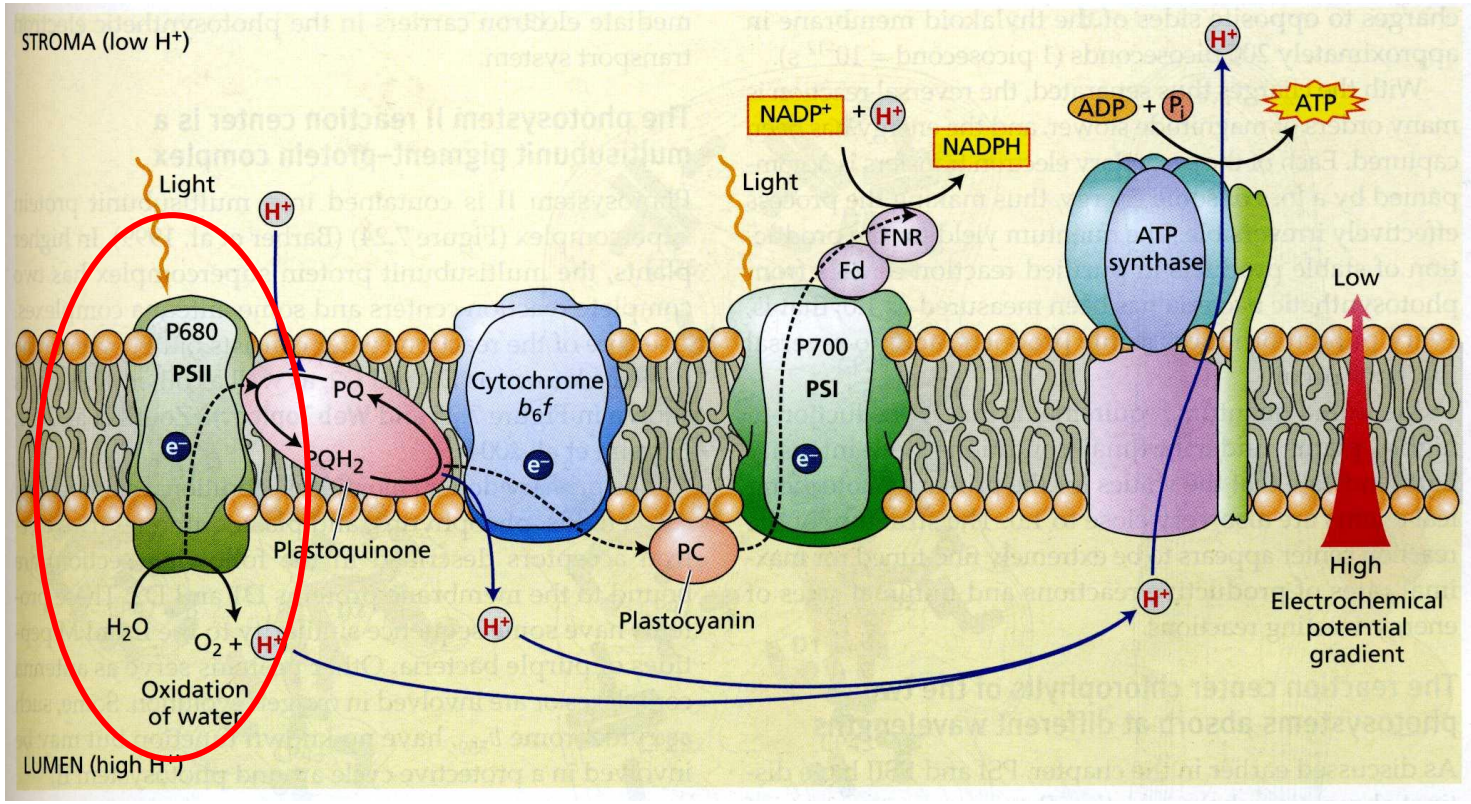
ATP SINTASI

Trasportatori diffusibili

Plastochinone

Plastocianina

Ferredossina



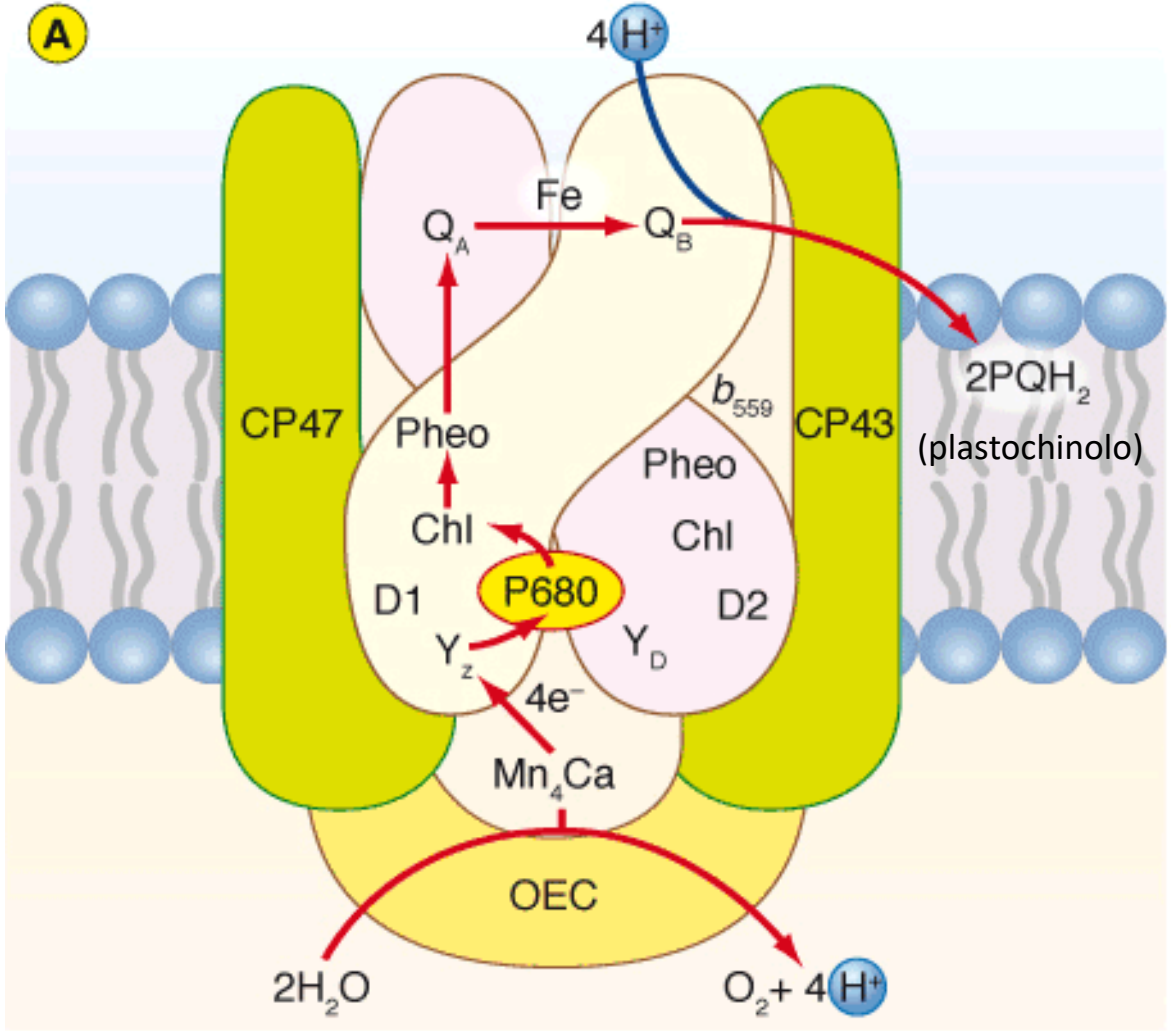
Fotosistema II: 20 proteine (codificate da geni nucleari o plastidiali) e pigmenti associati

TABLE 12.2 *Protein subunits of the plant PSII core complex. Most of the smaller and more peripheral subunits are not included.*

Protein	Gene	Location of gene[b]	Mol. mass (kDa)	Function
Hydrophobic subunits				
D1	*psbA*	Chloroplast	32	Reaction center protein
D2	*psbD*	Chloroplast	34	Reaction center protein
CP47	*psbB*	Chloroplast	51	Core antenna
CP43	*psbC*	Chloroplast	43	Core antenna
Cyt. *b*-559 α Subunit	*psbE*	Chloroplast	9	Unknown
Cyt. *b*-559 β Subunit	*psbF*	Chloroplast	4	Unknown
PsbH	*psbH*	Chloroplast	10	Unknown
PsbI	*psbI*	Chloroplast	4.8	Assembly
Hydrophilic subunits				
33 kDa	*psbO*	Nucleus	33	O_2 evolution
23 kDa	*psbP*	Nucleus	23	O_2 evolution
17 kDa	*psbQ*	Nucleus	17	O_2 evolution

PSII: composto da: core, sistema dei complessi antenna (LHCII), lipidi di membrana

Nucleo centrale del PSII (core): presente come dimero



- Proteine omologhe del centro di reazione : D1, D2
- 2 Complessi antenna (CP, Chlorophyll-Protein)
- polipeptidi minori

OEC= complesso evolvente ossigeno

+

Mn_4Ca

LHCII rappresenta più del 50% delle proteine della membrana tilacoidale

Nei tilacoidi è presente come trimero, e generalmente a ciascun dimero di PSII si associano 8 trimeri di LHCII

Ciascun monomero con tre eliche transmembrana, che lega 14 chla, 4 xantofille e varie chlb

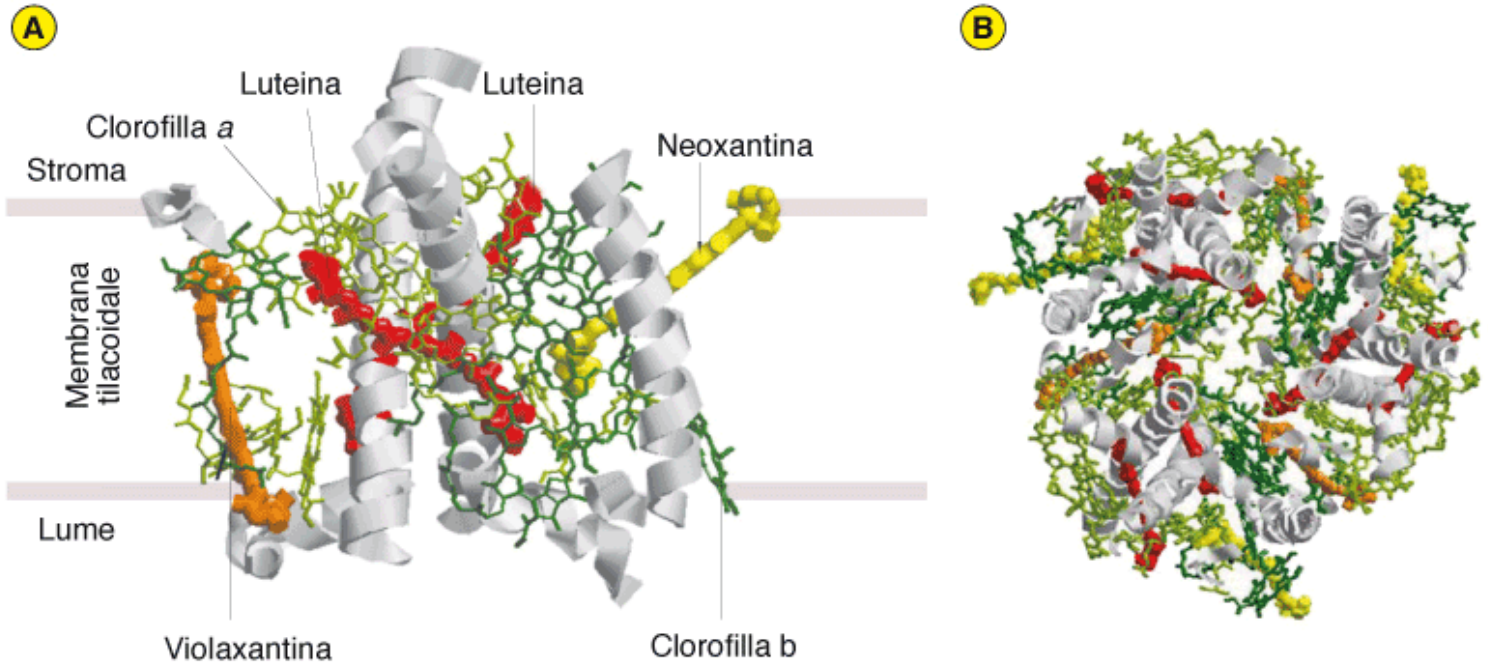


Figura 4.15A-B **(A)** Immagine ad alta risoluzione della struttura di un monomero dell'LHCII mostrante le tre eliche della proteina che attraversano la membrana tilacoidale e le molecole di clorofilla *a*, clorofilla *b* e carotenoidi legate nel complesso. **(B)** Struttura di un trimero dell'LHCII.

Oltre ai trimeri (che compongono il LHCII), vi sono **complessi antenna minori monomerici**: CP24, CP26, CP29
Sono monomeri con struttura simile al monomero LHCII. Legano clorofille e xantofille.
Per ciascun dimero di PSII è presente una coppia di ciascun monomero.

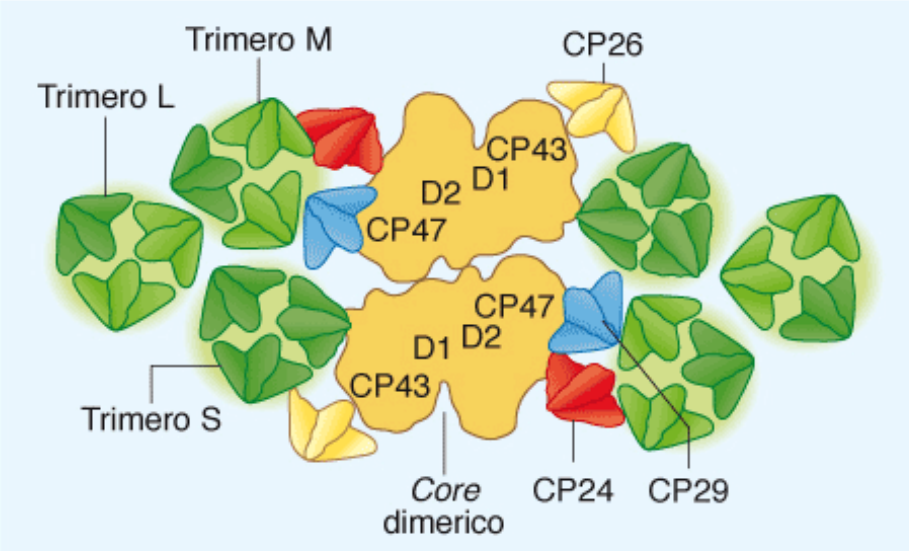


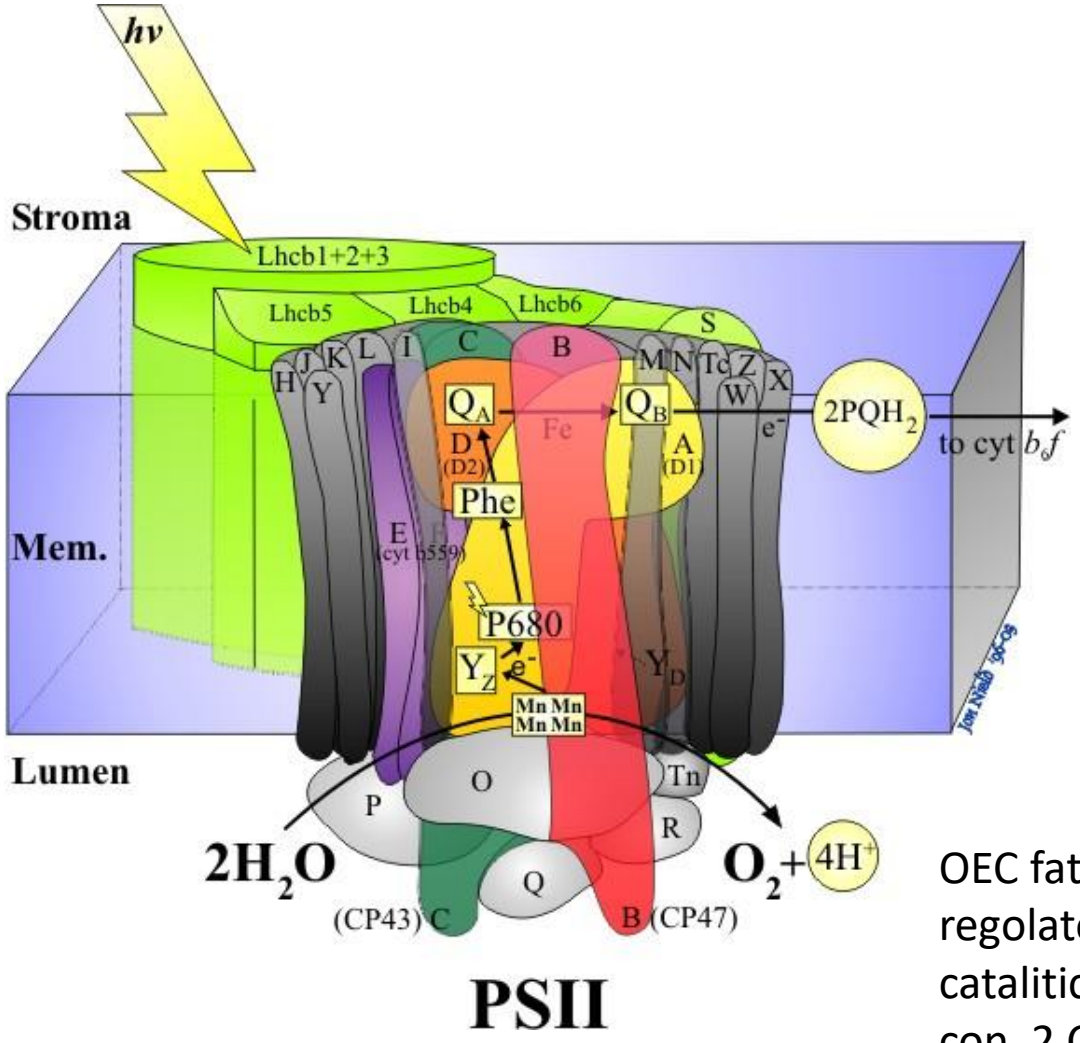
Figura 4.16 Rappresentazione schematica dell'organizzazione del PSII mostrante la collocazione, attorno al *core* dimerico, dei complessi antenna monometrici CP24, CP26 e CP29 e dei trimeri dell'LHCII diversi per composizione e forza di legame con il resto del fotosistema (trimeri S = *strongly bound*, formati da subunità proteiche lhcb1 e lhcb2; trimeri M = *moderate bound* e L = *light bound* contenenti anche la subunutà lhcb3).

In sintesi,
complessi antenna periferici:
- LHCII (trimeri S, M, L)
- Complessi minori monomerici (CP24, CP26, CP29)

Disposizione e caratteristiche dei complessi antenna periferici importanti per:
- trasferimento energia
- meccanismi di fotoprotezione

Il PS-II funziona come un'acqua-plastochinone ossidoreduttasi dipendente dalla luce

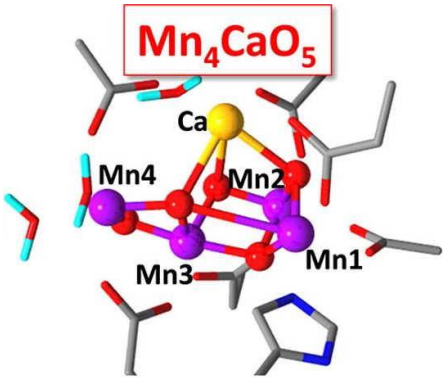
L'ossidazione dell'acqua coinvolge una complessa serie di reazioni operate dal **complesso evolvente ossigeno** (OEC), associato al PSII e affacciato sul lume tilacoidale



P680 non riceve elettroni direttamente dall'acqua, ma da un residuo di tirosina (Tyr161) della proteina D1, che a sua volta riceve elettroni da OEC.

Come funziona OEC?

OEC fatto da calotta regolatoria + complesso catalitico Mn_4CaO_5 con 2 Cl^- (cofattori)



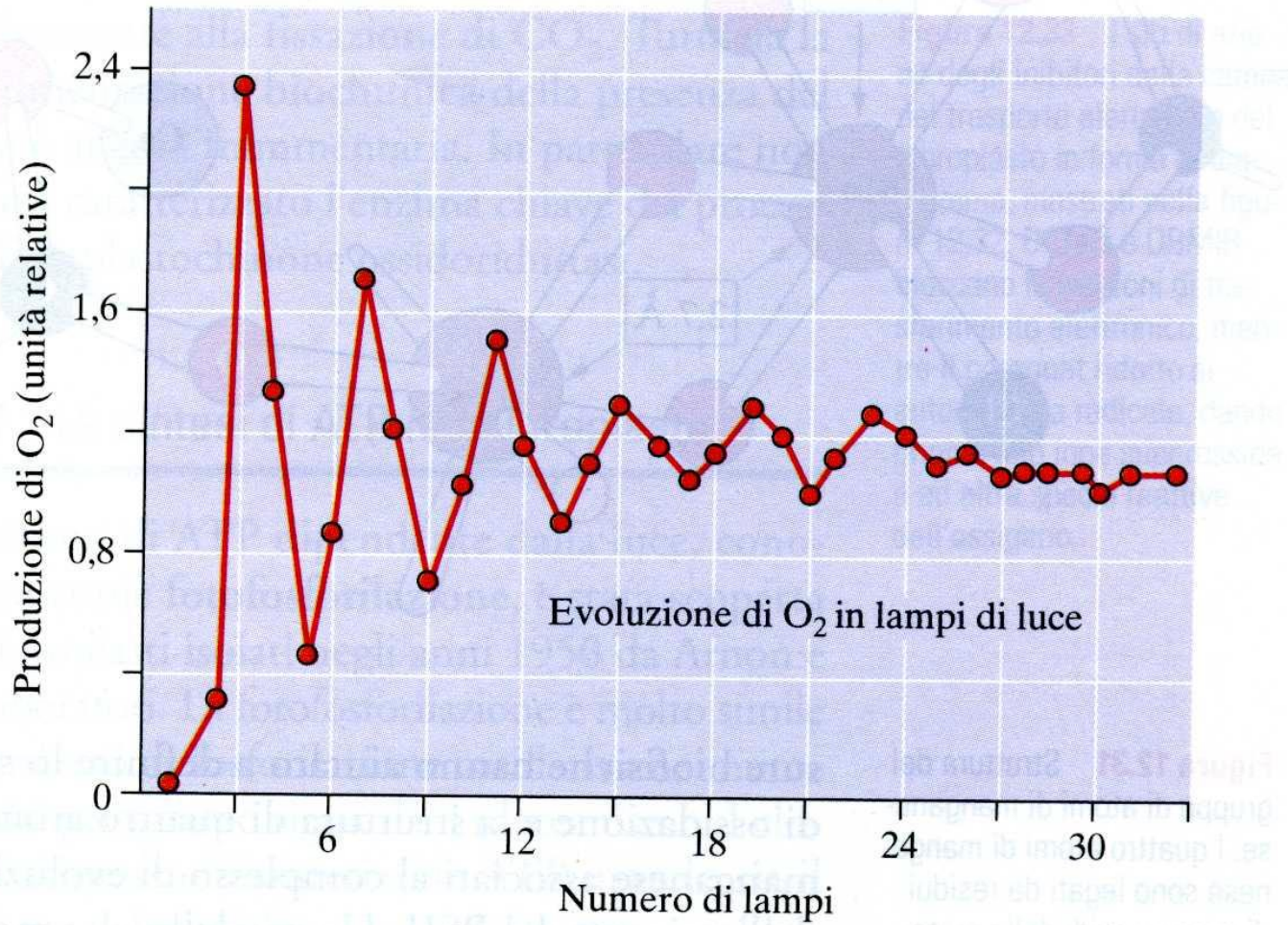


Figura 12.29 L'evoluzione di O_2 in seguito a lampi di luce. Viene mostrato l'andamento dell'evoluzione dell'ossigeno in seguito a una serie di brevi lampi di luce. La quantità massima di ossigeno è prodotta al terzo lampo, dopo di che si osserva un picco periodico dopo ogni quarto lampo. Il rendimento di ogni lampo si abbassa a un valore di stato stazionario dopo circa 20 lampi.

Modello degli stati S (Kok-Joliot)

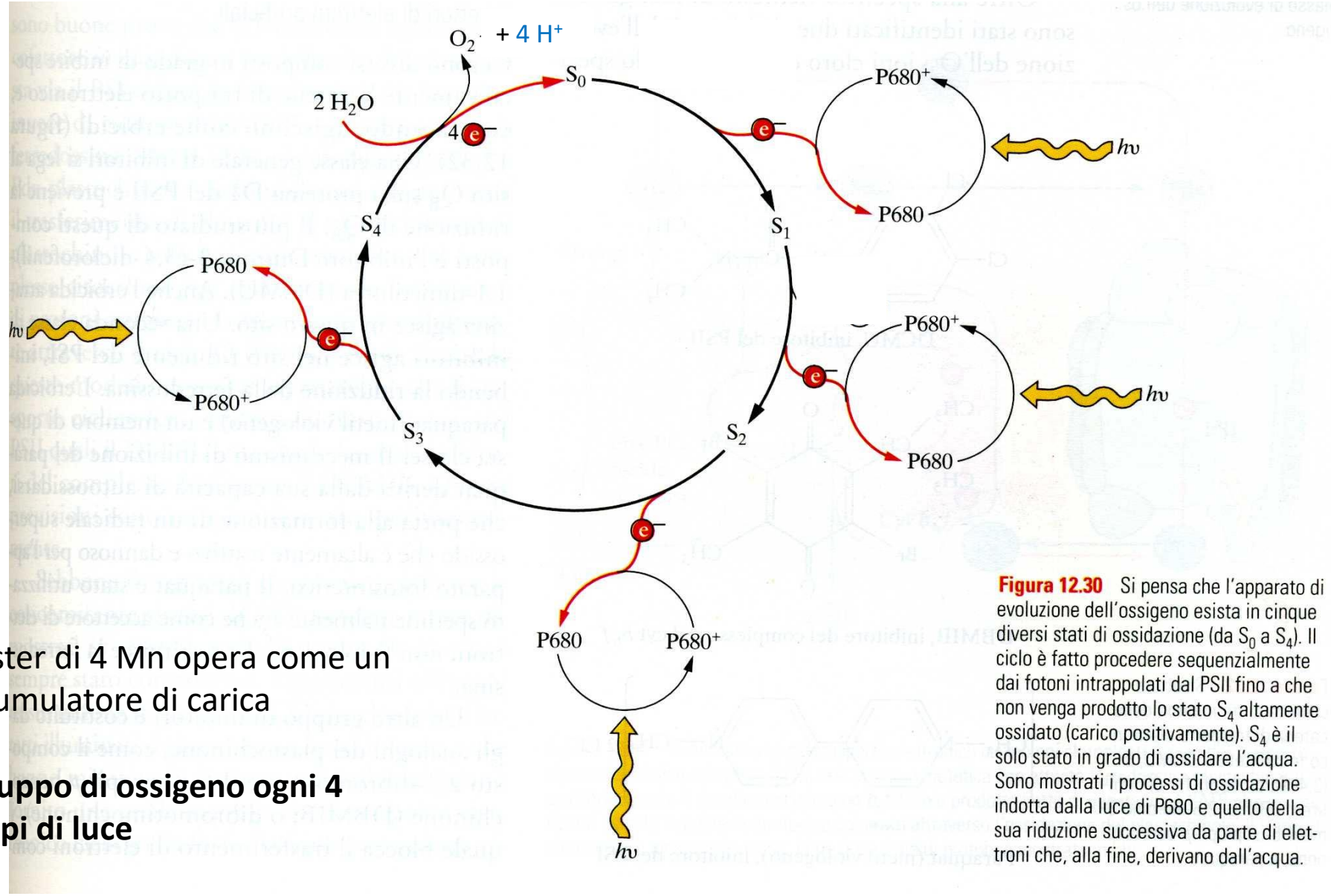
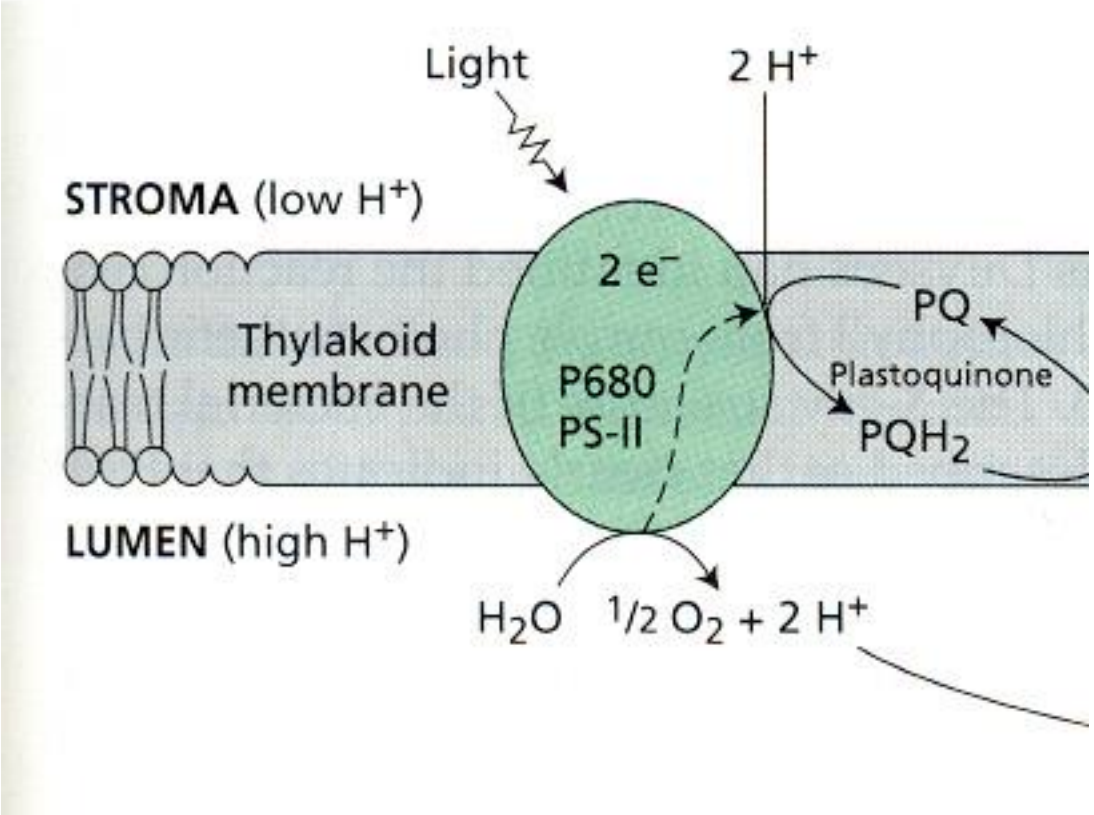


Figura 12.30 Si pensa che l'apparato di evoluzione dell'ossigeno esista in cinque diversi stati di ossidazione (da S_0 a S_4). Il ciclo è fatto procedere sequenzialmente dai fotoni intrappolati dal PSII fino a che non venga prodotto lo stato S_4 altamente ossidato (carico positivamente). S_4 è il solo stato in grado di ossidare l'acqua. Sono mostrati i processi di ossidazione indotta dalla luce di P680 e quello della sua riduzione successiva da parte di elettroni che, alla fine, derivano dall'acqua.

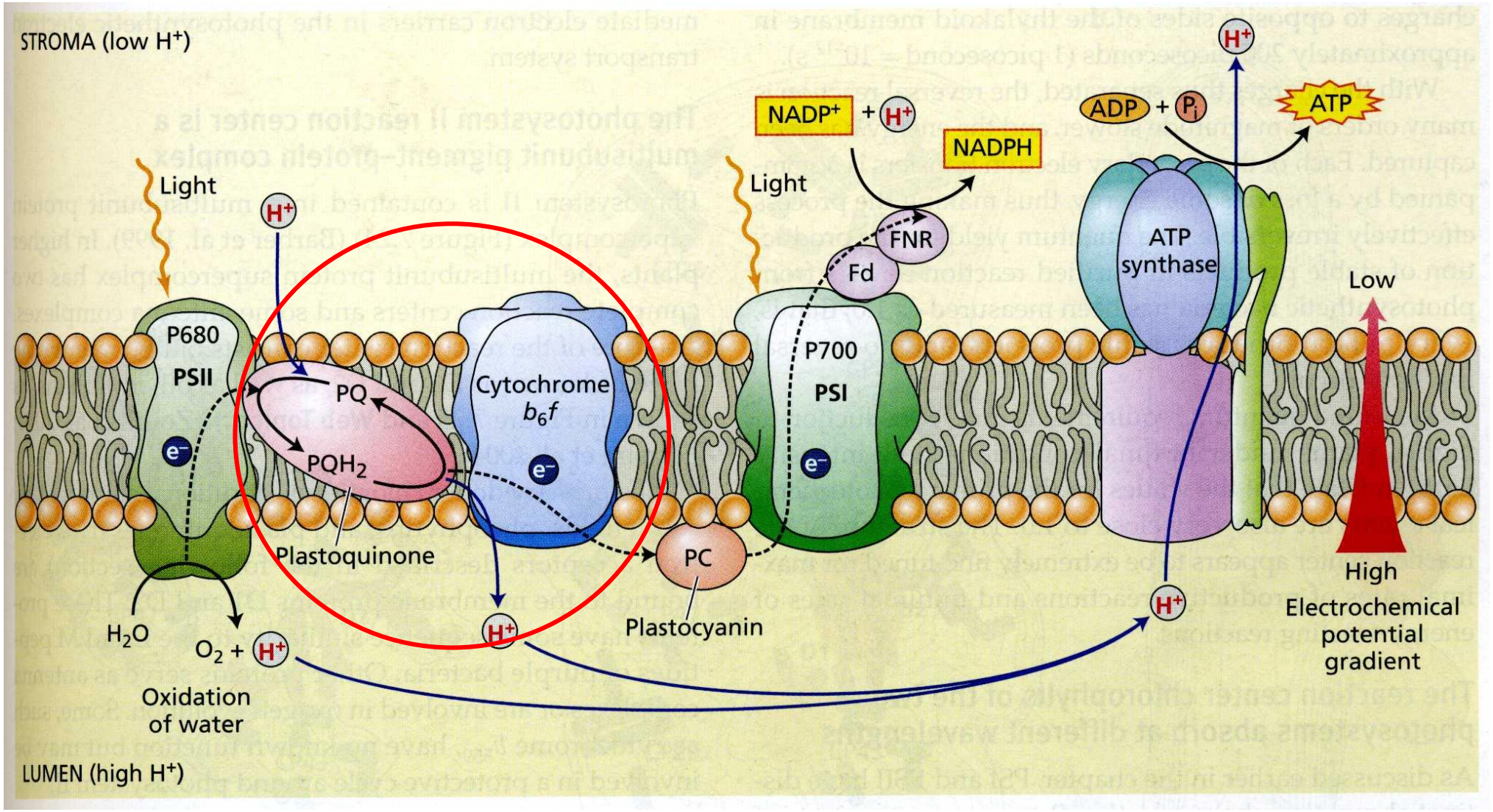
Ogni reazione fotochimica (e^- verso il $P680^+$) fa avanzare l'OEC da uno stato di ossidazione all'altro

Cluster di 4 Mn opera come un accumulatore di carica

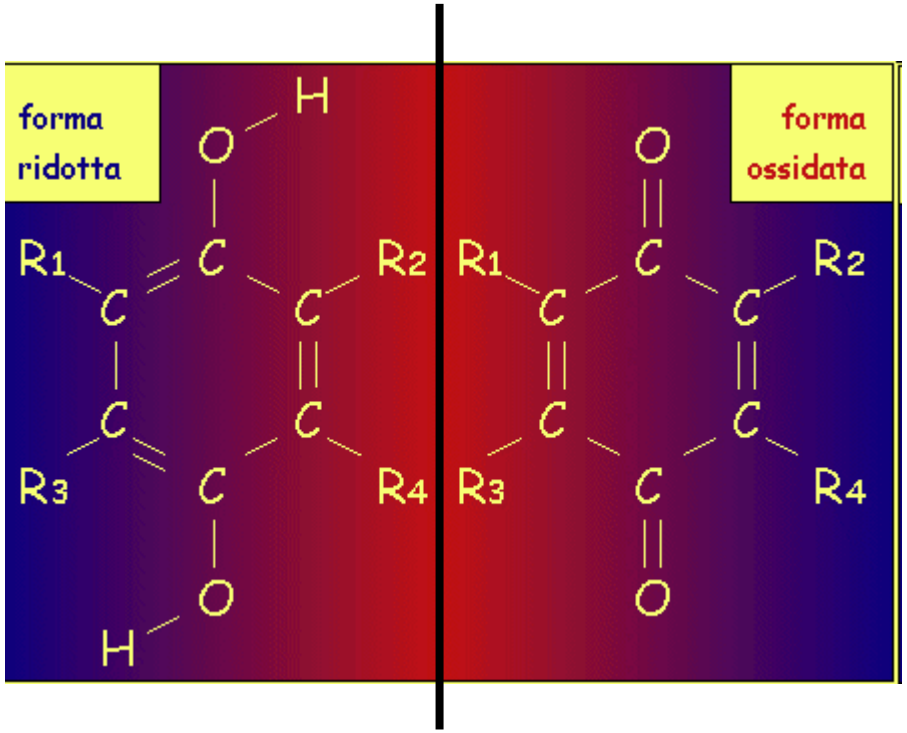
Sviluppo di ossigeno ogni 4 lampi di luce



I protoni rilasciati a seguito dell'ossidazione dell'H_2O si accumulano nel lume


STROMA (low H+)
Light
H+
P680
PSII
e−
PQ
PQH2
Plastoquinone
Cytochrome
b6f
e−
H2O
O2 + H+
Oxidation
of water
H+
PC
Plastocyanin
Light
NADP+ + H+
NADPH
FNR
Fd
P700
PSI
e−
ADP + Pi
ATP
H+
ATP
synthase
H+
Low
High
Electrochemical
potential
gradient
LUMEN (high H+)

Chinoni

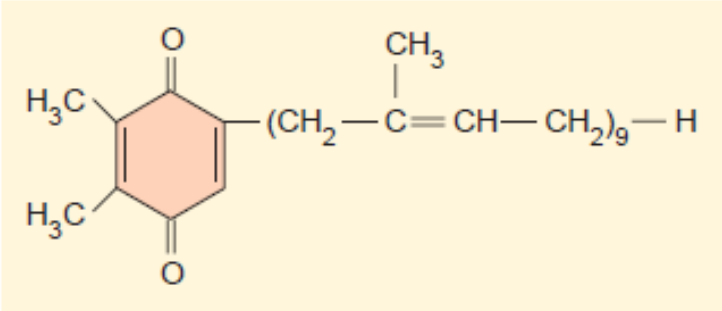


Molecole organiche, con anello a sei atomi di carbonio, che possono subire facilmente reazioni di ossidoriduzione.

Nella forma ridotta l'anello presenta due ossidrili **OH** opposti.

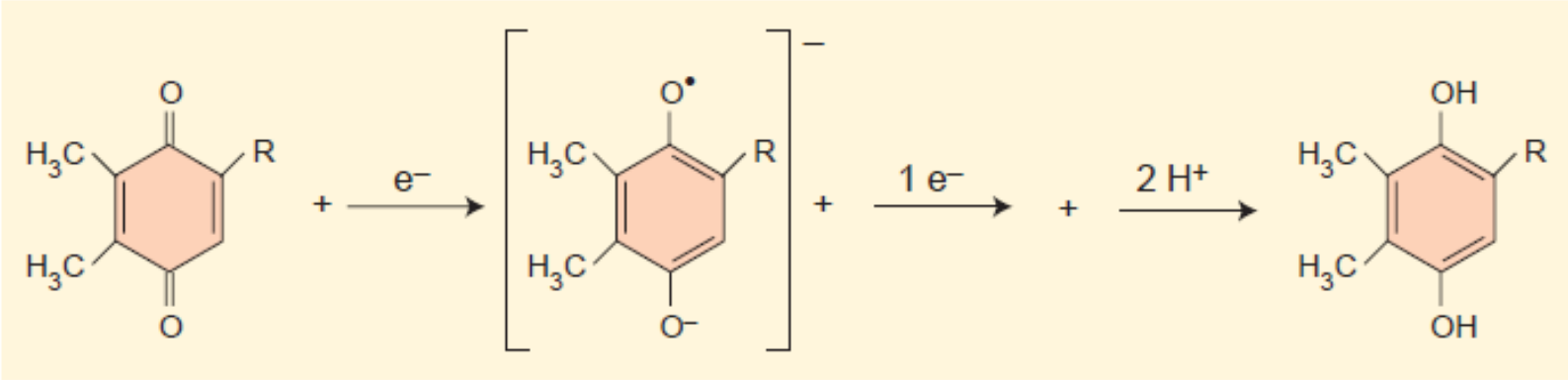
Nella forma ossidata l'anello presenta due gruppi chetonici **C=O**.

I gruppi $\mathbf{R_n}$ sono sostituenti organici di vario tipo.



Plastochinone

Molecola idrofobica che si può muovere nel doppio strato lipidico dei tilacoidi



Chinone (Q)

Plastosemichinone ($Q^{\bullet -}$)

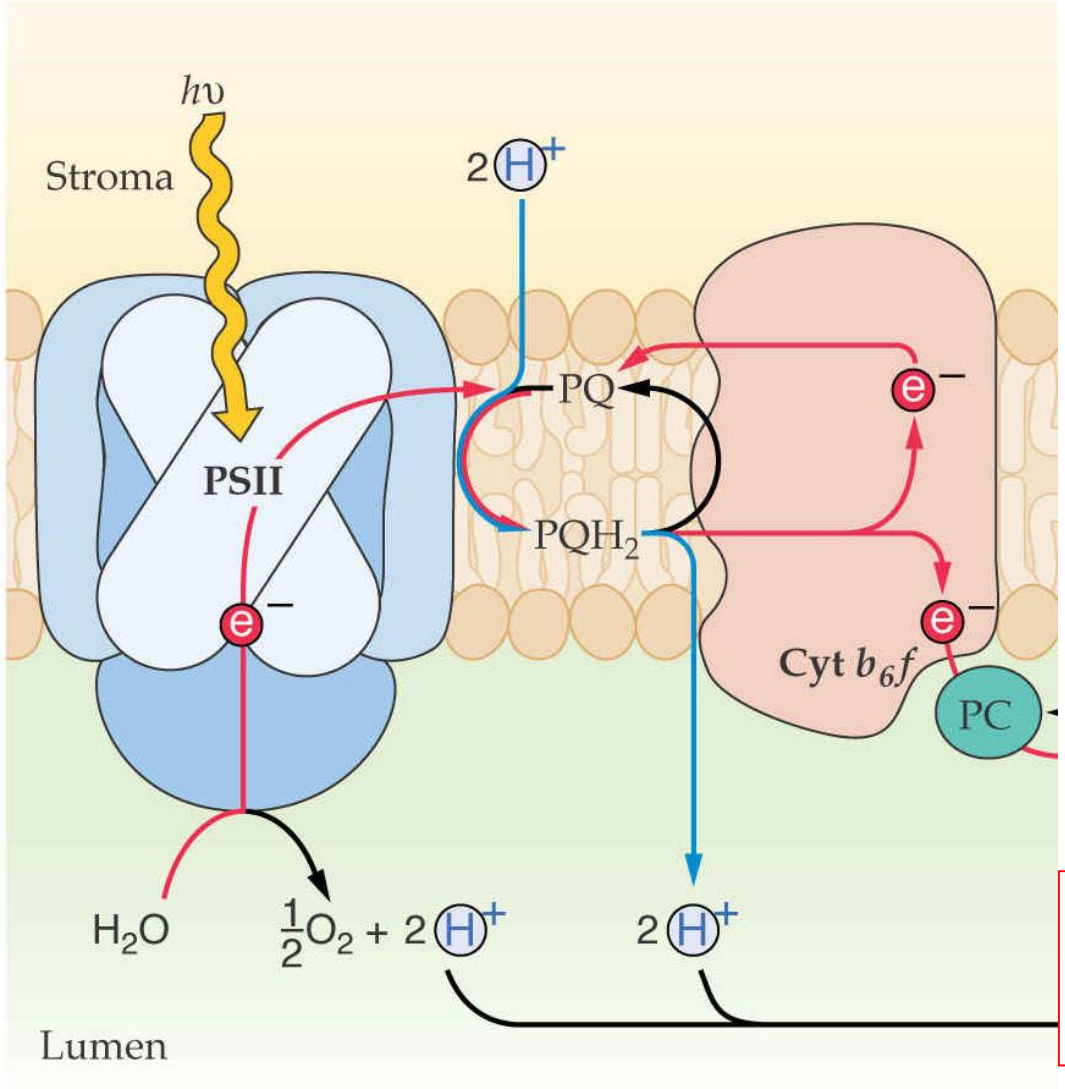
Plastoidrochinone (QH_2)

(Q_B)

(=Plastochinolo, Q_BH_2)

È un trasportatore di elettroni e protoni

Fotosistema II → plastochinone → citocromo b_6f



Formazione di un gradiente protonico!

Tabella 12.7 Le subunità polipeptidiche del complesso citocromo b_6f

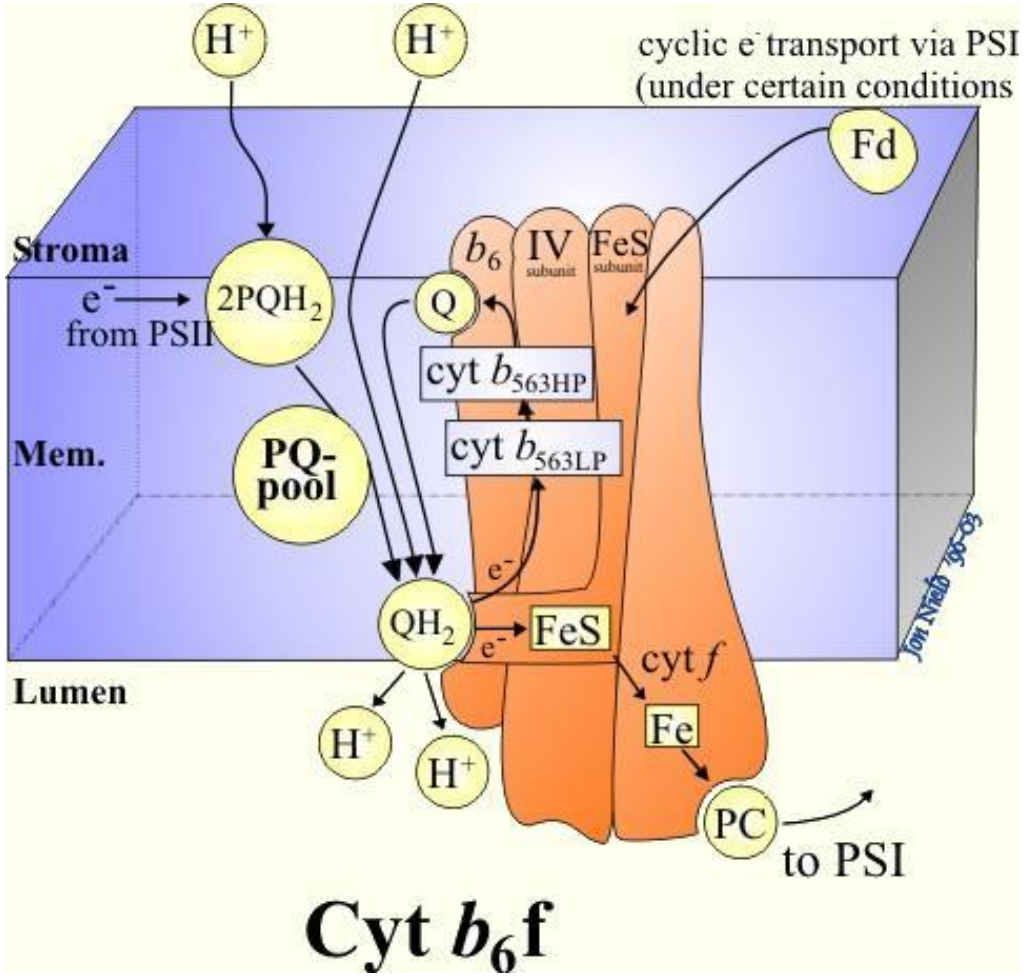
Proteina	*Gene*	*Ubicazione del gene*[a]	*Massa molecolare*	*Funzione*
Cyt *f*	*petA*	C	32	Apoproteina cyt *f*
Cyt b_6	*petB*	C	24	Apoproteina cyt b_6
RFeS	*petC*	N	19	Apoproteina Rieske Fe-S
Subunità IV	*petD*	C	17	Legame del chinone al Q_p
PetG, PetM	*petG, petM*	N	4,0	Sconosciuta
PetL	*petL*	C	3,4	Sconosciuta

[a] C, cloroplasto; N, nucleo.

Complesso citocromico b_6f

Nella membrana tilacoidale come **dimero**

Ogni monomero è composto da 4 subunità proteiche principali



Contiene tre carriers di elettroni:

Citocromo di tipo b (cyt b_6, due gruppi eme)

Citocromo di tipo c (cyt f, un gruppo eme)

Fe-S proteina di Rieske (centro 2Fe-2S)

Centri ad alto potenziale redox

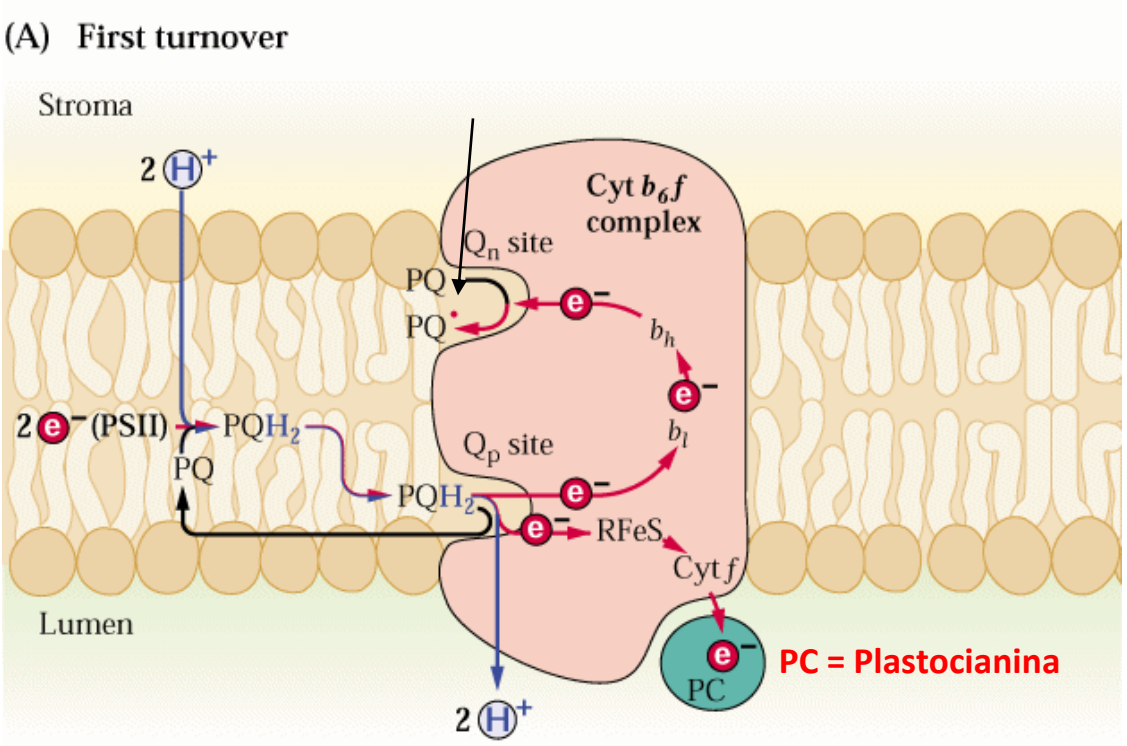
CICLO DEI CHINONI (o Ciclo Q)

ossidazione plastochinolo (= chinone ridotto)

un elettrone va verso il PSI

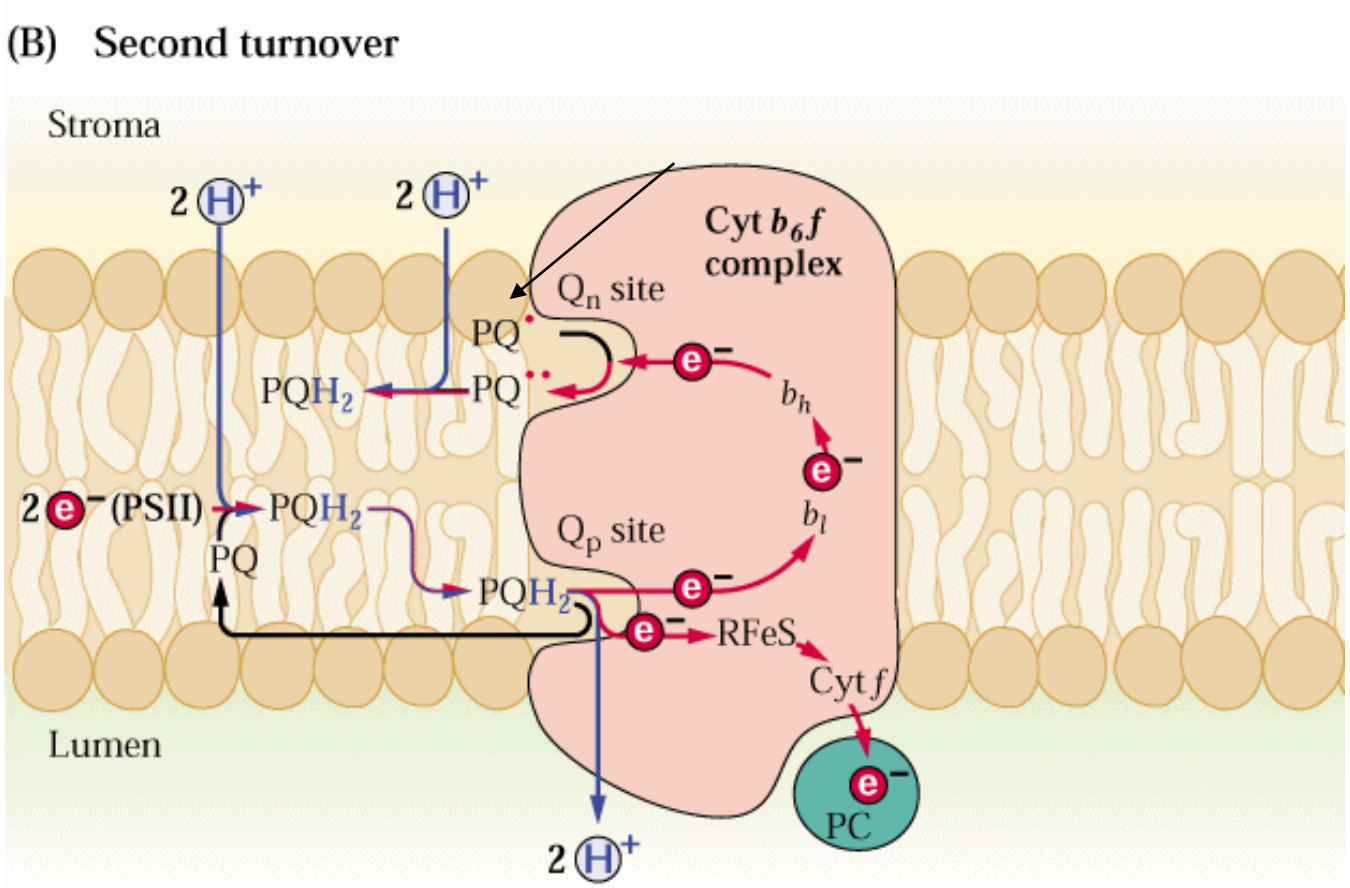
un elettrone innesca un processo ciclico

1° turnover:
Riduzione a plastosemichinone $PQ^{-\cdot}$

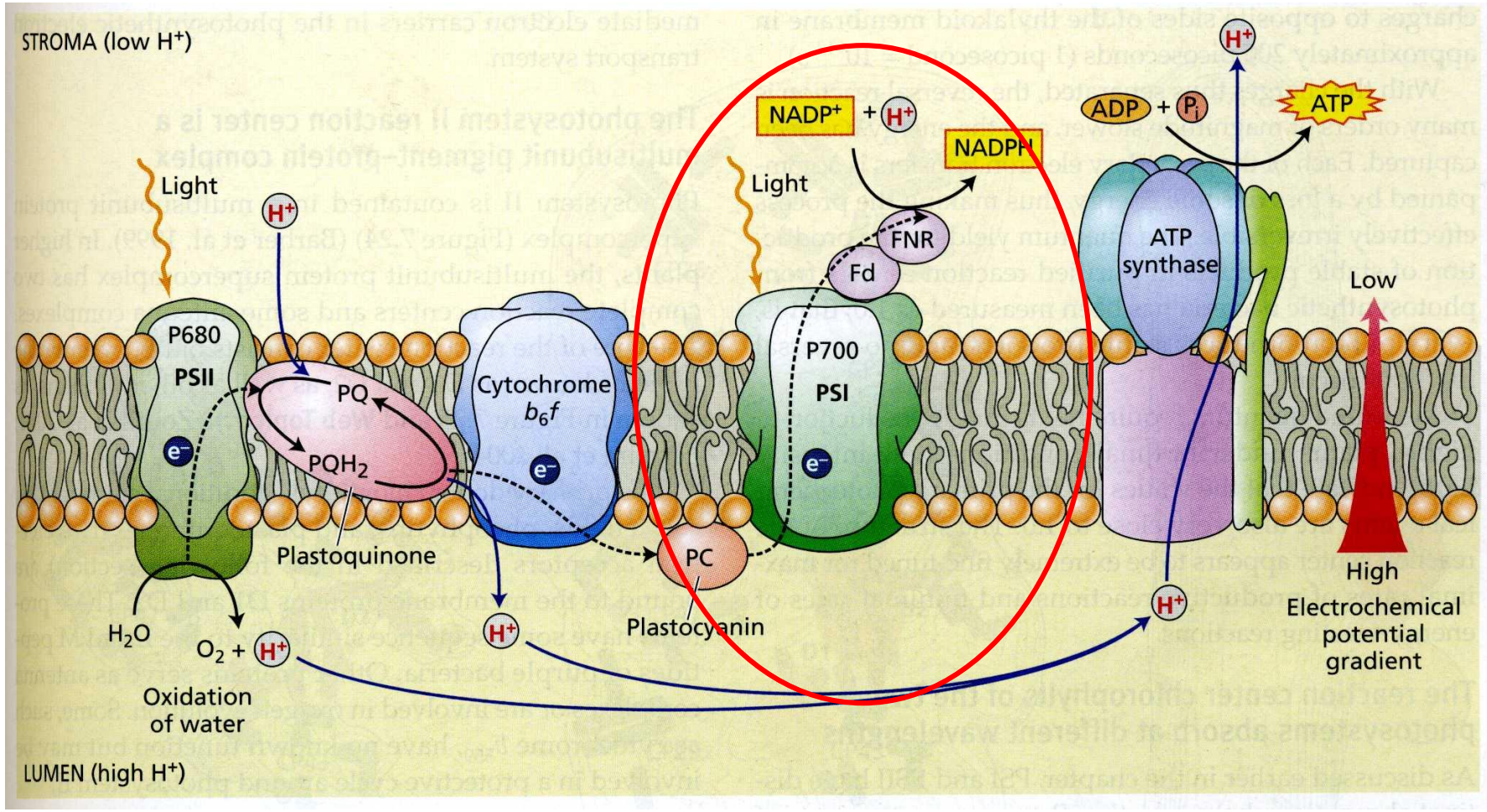


Per la formazione di PQH_2 vengono prelevati due protoni dello stroma

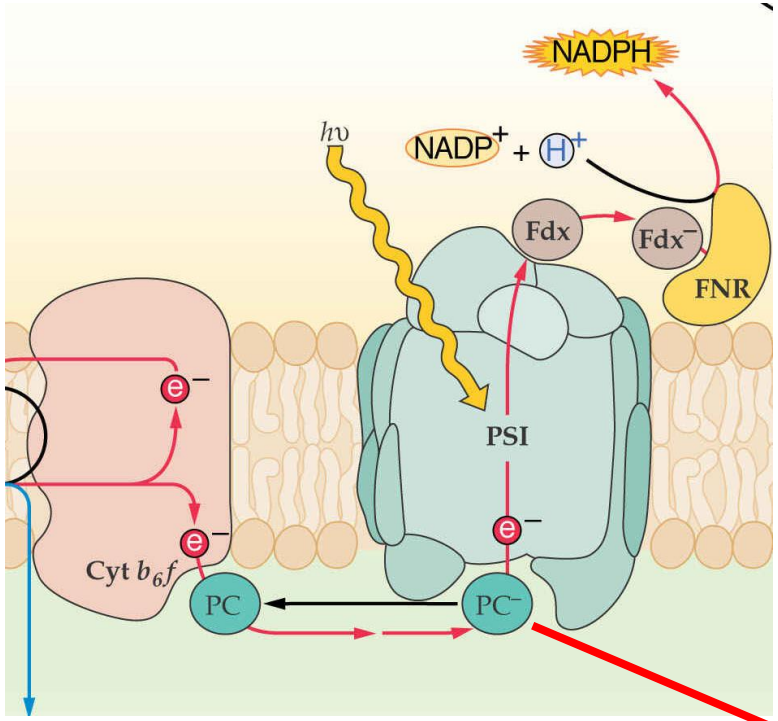
2° turnover:
Riduzione del plastosemichinone a plastochinolo

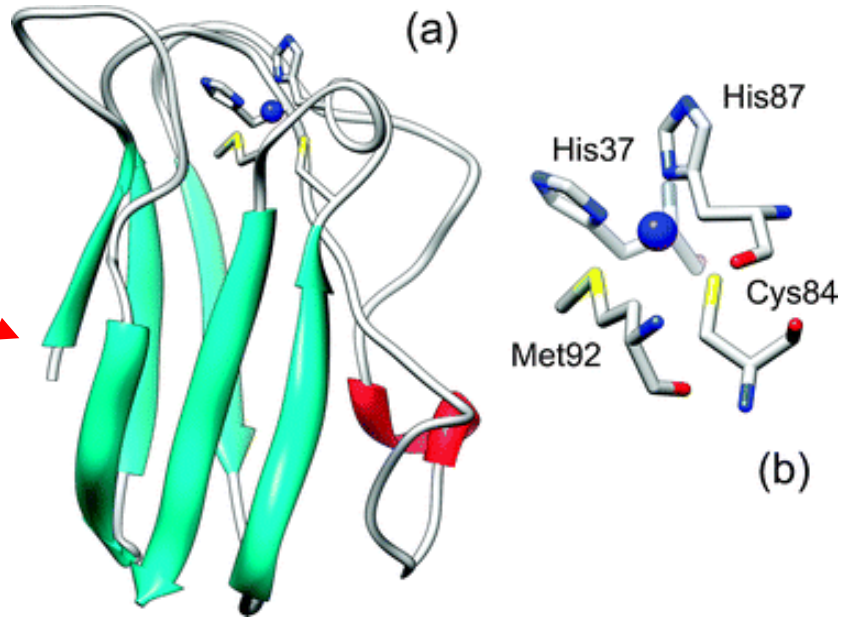


Risultato finale: 4 protoni traslocati e 2 elettroni trasferiti a due PC


STROMA (low H+)
Light
H+
P680
PSII
e−
PQ
PQH2
Plastoquinone
H2O
O2 + H+
Oxidation of water
Cytochrome b6f
e−
H+
PC
Plastocyanin
Light
NADP+ + H+
NADPH
FNR
Fd
P700
PSI
e−
ATP synthase
ADP + Pi
ATP
H+
H+
Low
High
Electrochemical potential gradient
LUMEN (high H+)

Citocromo *b6f* → Plastocianina → Fotosistema I





Plastocianina: piccola proteina (10.5 kDa)
Contenente Cu (centro redox; forma ridotta: Cu^{+}),
solubile in acqua, localizzata nel lume tilacoidale.
Monomerica.

Fotosistema I:

15 subunità proteiche e pigmenti associati

Negli eucarioti è presente in forma monomerica, nei cianobatteri è trimerico

TABLE 12.4 *Protein subunits of the plant PSI core complex.*

Protein	Gene	Location of gene	Mol. mass (kDa)	Function
Hydrophobic subunits				
PsaA	*psaA*	Chloroplast	83	Reaction center protein
PsaB	*psaB*	Chloroplast	82	Reaction center protein
PsaF	*psaF*	Nucleus	17	PC docking
PsaG	*psaG*	Nucleus	11	LHCI binding
PsaH	*psaH*	Nucleus	10	LHCII-P docking
PsaI	*psaI*	Chloroplast	4	Unknown
PsaJ	*psaJ*	Chloroplast	5	Interaction with PsaF
PsaK	*psaK*	Nucleus	9	LHCI binding
PsaL	*psaL*	Nucleus	18	LHCII-P docking
PsaO	*psaO*	Nucleus	10	LHCII-P docking
PsaP	*psaP*	Nucleus	14	LHCII-P docking
Hydrophilic subunits				
Stromal orientation				
PsaC	*psaC*	Chloroplast	9	Fe–S apoprotein
PsaD	*psaD*	Nucleus	18	Ferredoxin docking
PsaE	*psaE*	Nucleus	10	Ferredoxin docking
Luminal orientation				
PsaN	*psaN*	Nucleus	10	PC docking

PSI: core e antenna periferica (LHCI)

Core:
centro di reazione + antenna interna

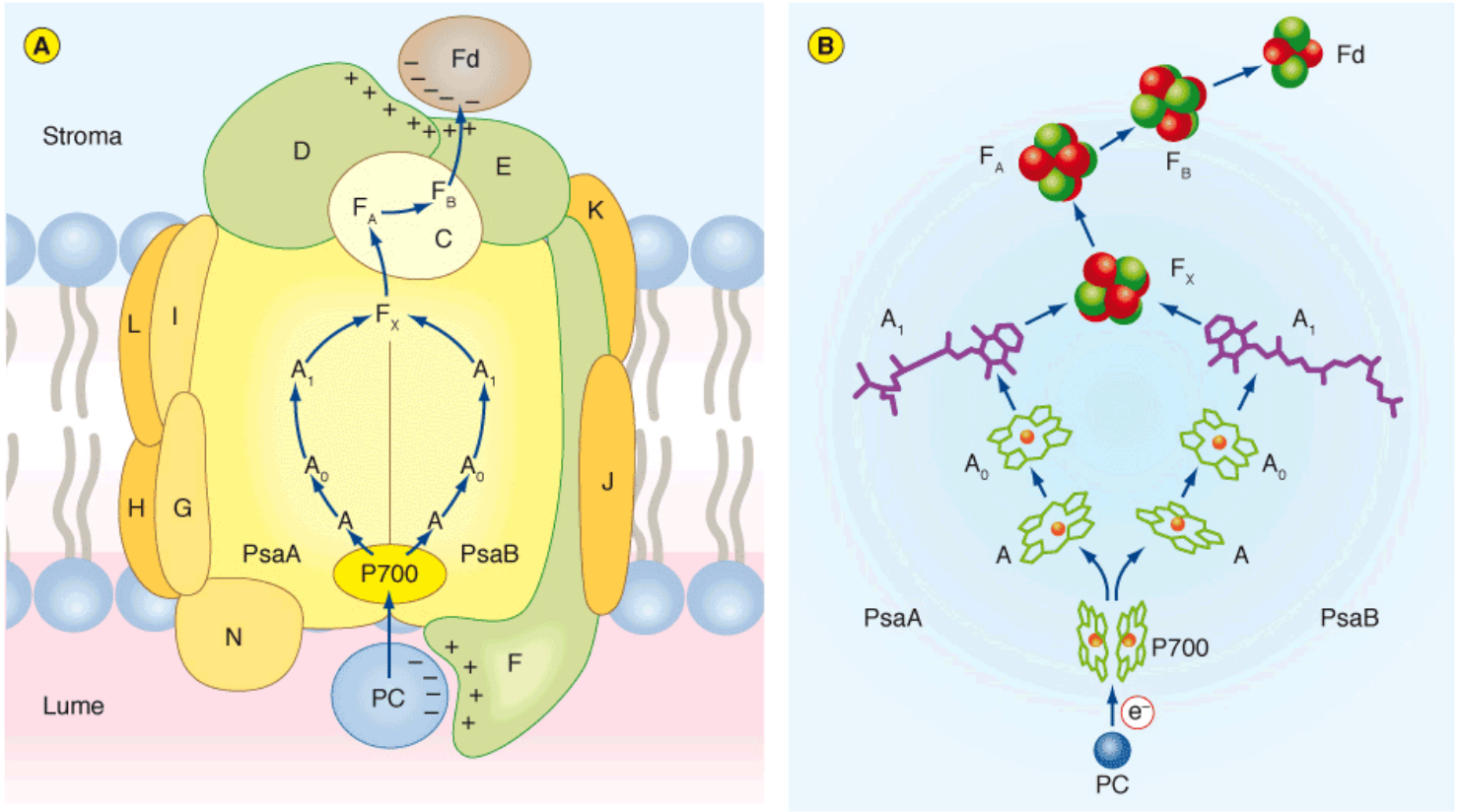
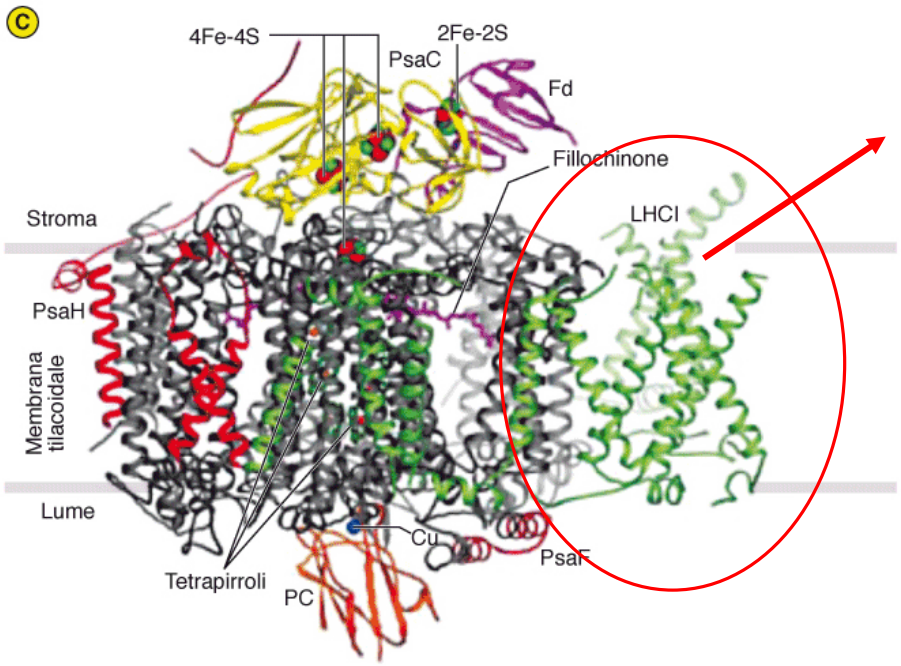


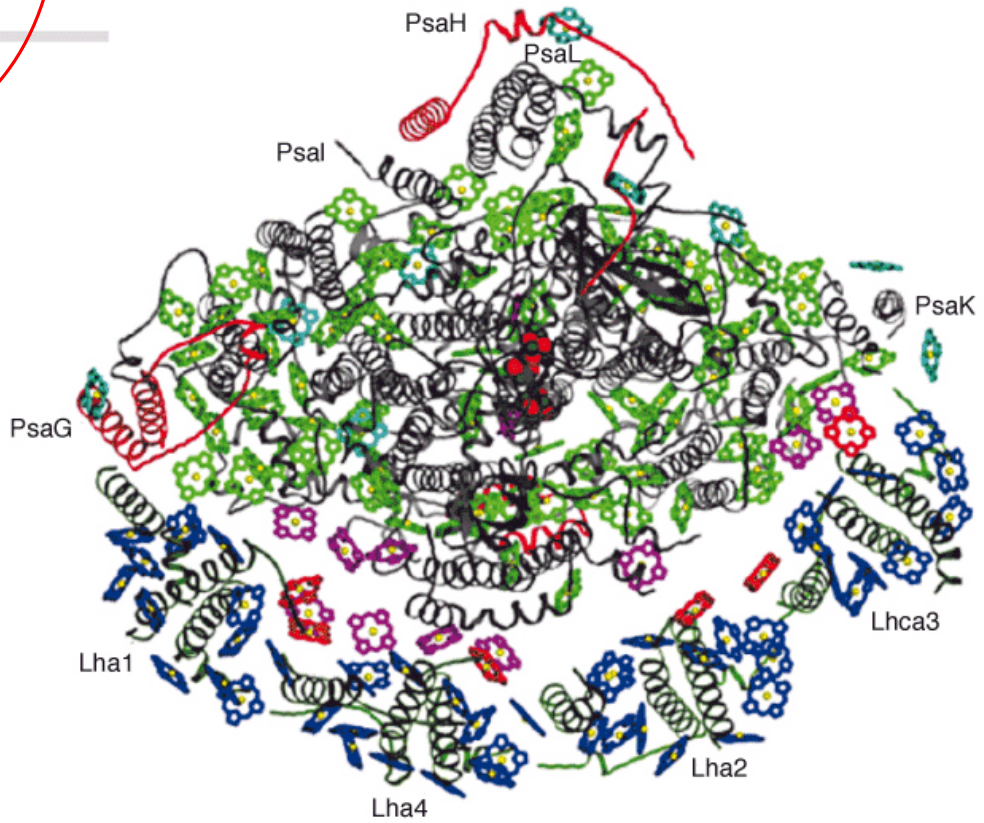
Figura 4.19A-B **(A)** Modello strutturale del *core* del PSI. Sono rappresentate le due principali proteine (PsaA e PsaB), che legano i cofattori coinvolti nel flusso di elettroni del centro di reazione, e una serie di polipeptidi minori. Tra questi ultimi il polipeptide C, coinvolto nel trasferimento di elettroni alla ferredossina, il polipeptide F e i polipeptidi D ed E che agganciano al complesso, rispettivamente, la plastocianina (PC) e la ferredossina (Fd). Nella figura è schematizzato il trasferimento di elettroni, persi (uno alla volta) dal P700 nelle reazioni fotochimiche, a due successive molecole di clorofilla *a* (A e A_0) e da qui al fillochinone (A_1), attraverso entrambe le serie di trasportatori legati all'eterodimero. Gli elettroni passano poi ad un centro [4Fe-4S] (F_X) e, attraverso altri due centri [4Fe-4S] (F_A,F_B), legati al polipeptide C, arrivano alla ferredossina. Gli elettroni persi vengono rimpiazzati sul $P700^+$ da quelli forniti (uno alla volta) della plastocianina. **(B)** Rappresentazione schematica dei pigmenti e degli altri cofattori che partecipano al flusso di elettroni dalla plastocianina (PC) alla ferredossina (Fd) attraverso il *core* del PSI (A/A_0 = molecole di clorofilla *a*, A_1 = fillochinone). Le sfere rosse e verdi rappresentano i centri [4Fe-4S] dei trasportatori F_X,F_A e F_B e il centro [2Fe-2S] della ferredossina, la sfera blu il Cu della plastocianina.

(Il centro di reazione lega anche il grosso delle Chla e del β carotene: funzione di trasferimento energia per risonanza alle Chl, ma anche di de-eccitazione delle clorofille in stato di tripletto (contrasto formazione del dannoso ossigeno singoletto (ROS))



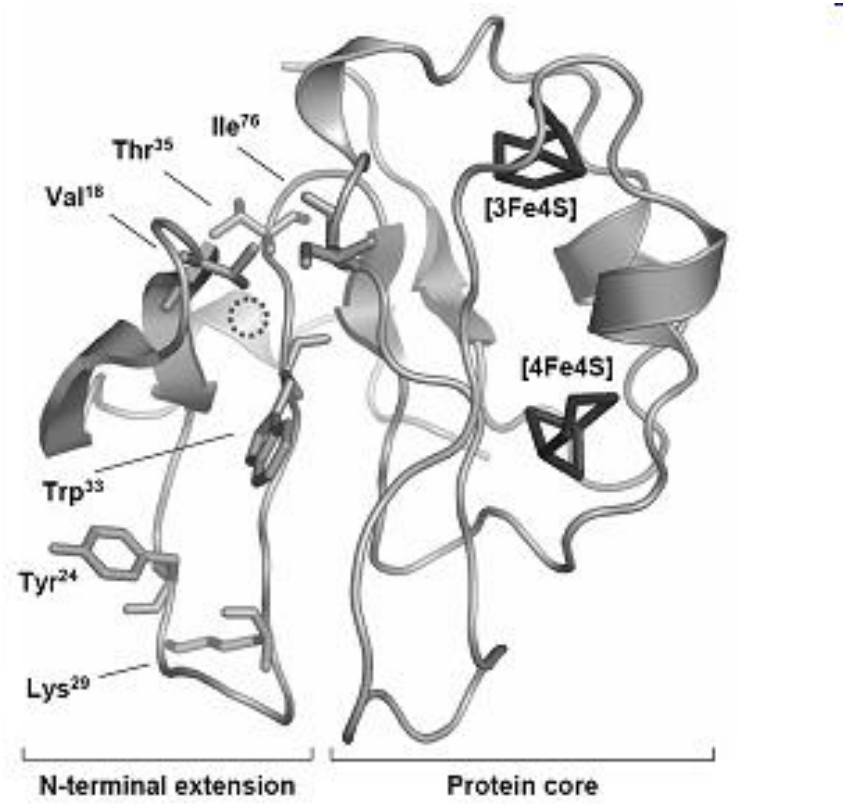
LHCI, antenna periferica di PSI

Presente nelle alghe verdi (9 monomeri) e nelle piante superiori (4 monomeri)



Monomeri LHCI simili a quelli di LHCII

Assemblati in due eterodimeri (Lhca1-Lhca4 e Lhca2-Lhca3) a formare una mezzaluna su un lato di PSI



Ferredossina: piccola proteina (11 kDa) che contiene centri Fe-S.

Solubile in acqua, localizzata nello stroma.

Monomerica.

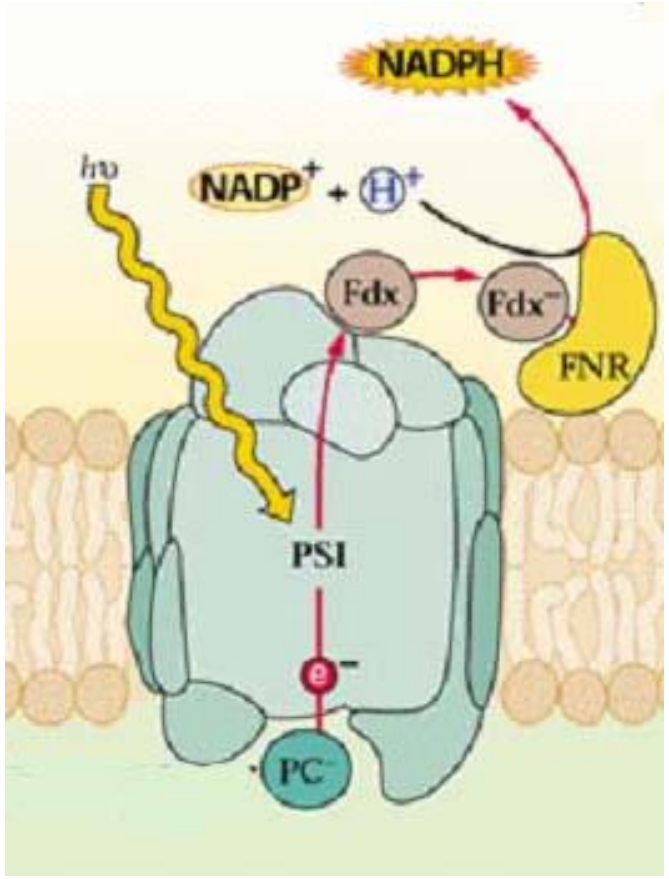
La ferredossina oltre a ridurre il $NADP^+$ fornisce elettroni
per la **riduzione del nitrito** nel cloroplasto
e per la **regolazione** di alcuni **enzimi del ciclo di Calvin**

La ferredossina non trasferisce gli elettroni direttamente al $NADP^+$

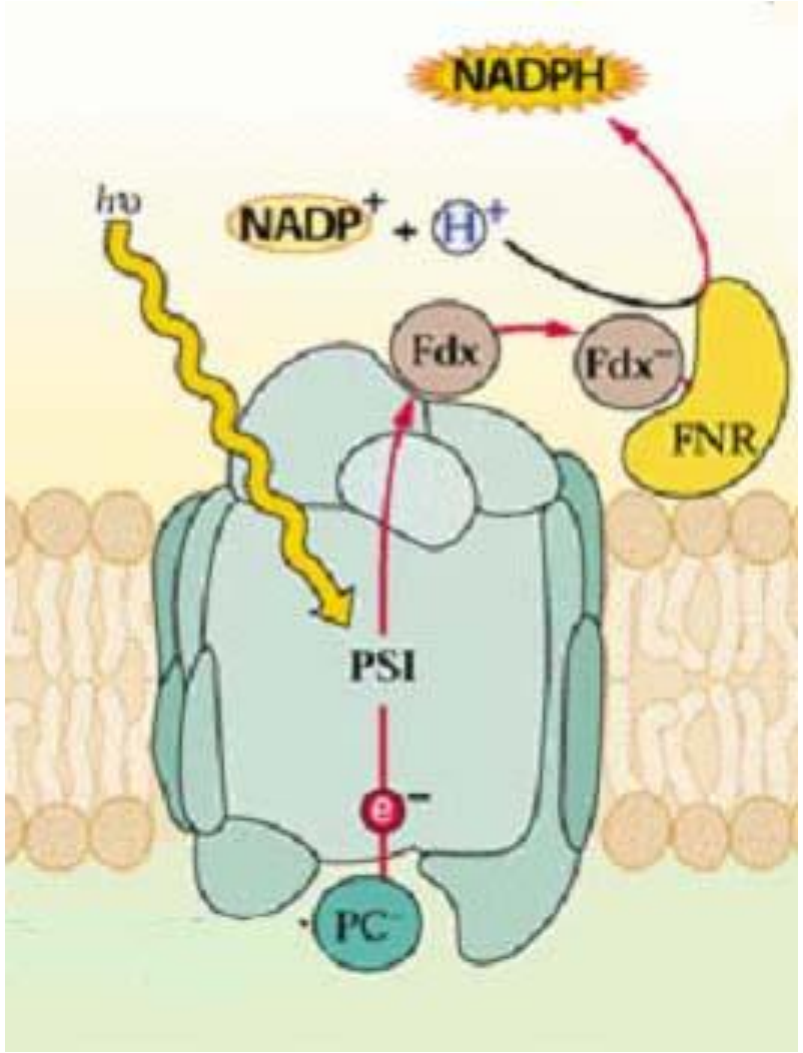
ma alla

Ferredossina-$NADP^+$ reduttasi (FNR)

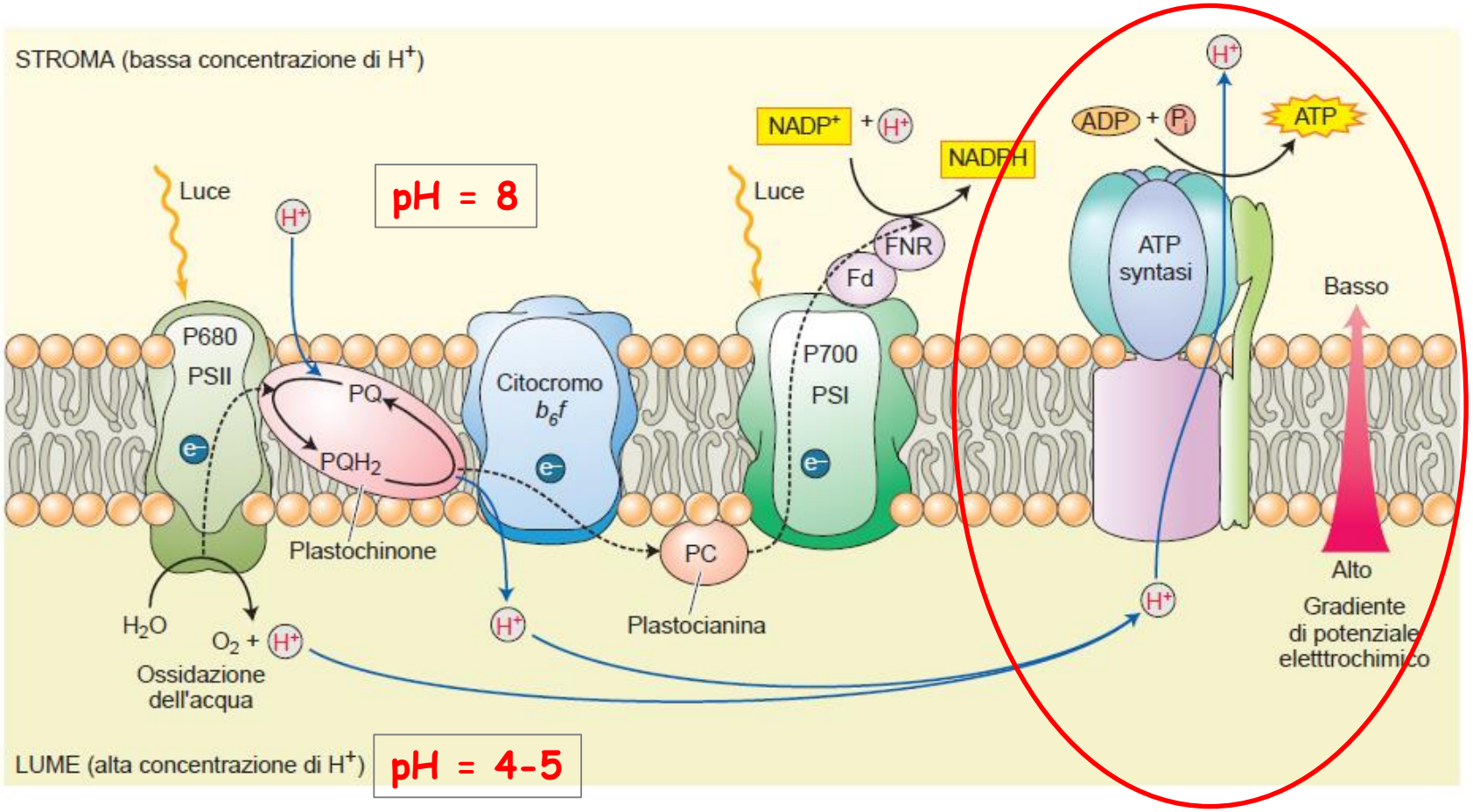
Processo a 2 tappe:
FNR deve ricevere (uno alla volta) 2 elettroni trasportati dalla Fdx e a questo punto riduce $NADP^+$ a NADPH (cedendo 2 e^-)



Durante la riduzione del $NADP^+$ a NADPH un protone viene prelevato dallo stroma

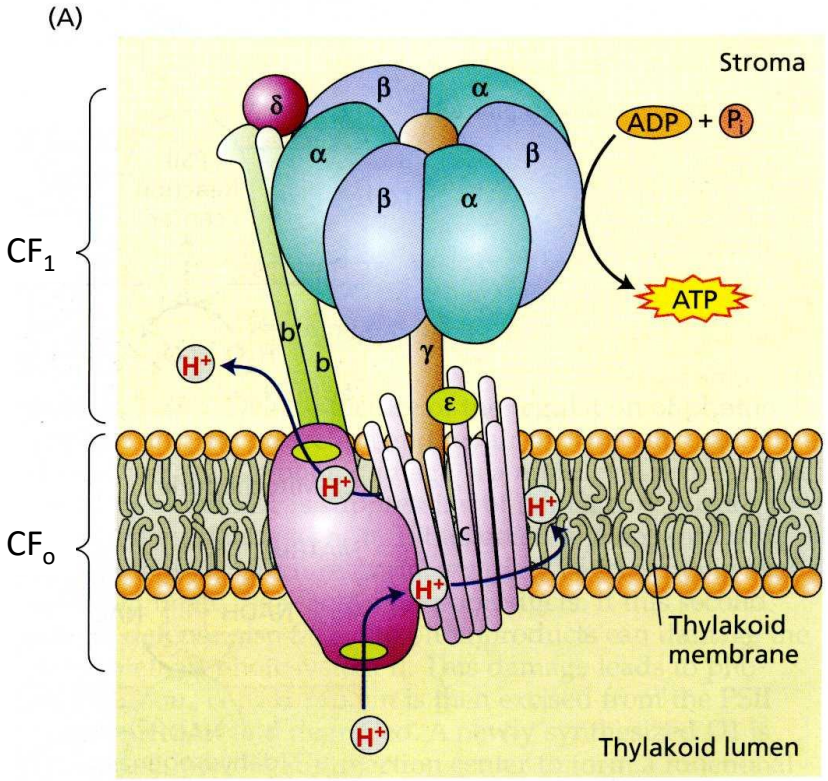


Sintesi di ATP: FOTOFOSFORILAZIONE



Per 4 elettroni che arrivano dal PSII (2 PQH_2) e passano alla ferredossina, vengono sintetizzati 2 NADPH

Inoltre, vengono immessi nel lume 12 protoni (8 da riossidazione di due plastochinoli, 4 da foto-ossidazione di due molecole di acqua)



È <u>foto-dipendente:</u> attivata dalla luce
(coinvolge ferredossine e tioredossine,
v. prossime lezioni)

ATP-sintasi del cloroplasto (F- ATPasi):

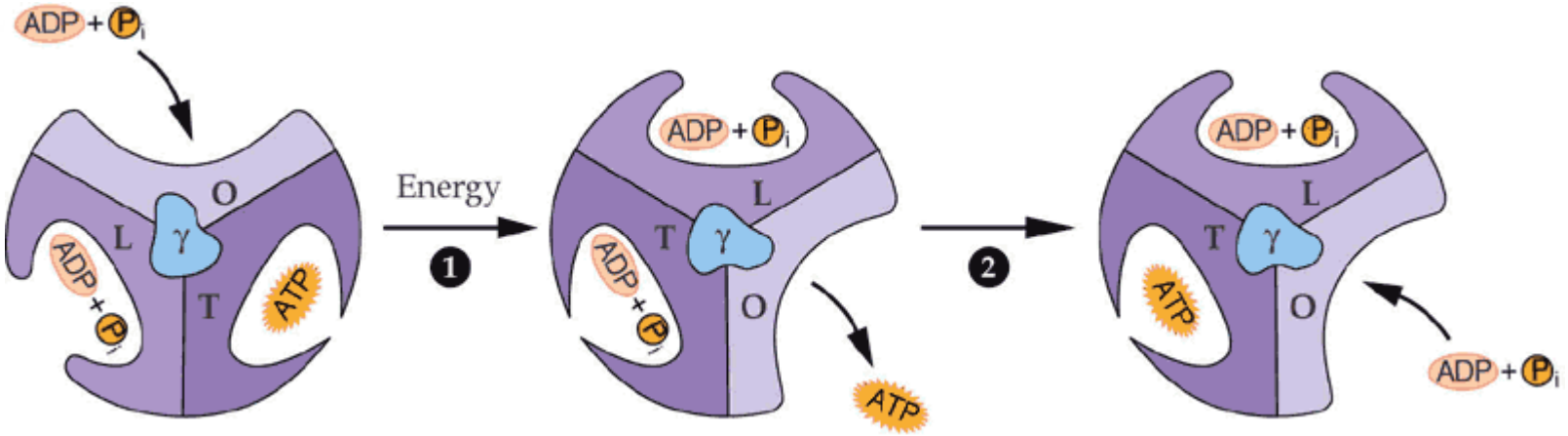
Canale protonico CF_0 costituito da 14 subunità c

Richiesta una rotazione completa (14 H^+) per la sintesi di 3 ATP

Quindi:

Necessari 4.6 H^+ per 1 ATP

Per 4 elettroni che derivano da PSII, vengono accumulati 12 H^+ nel lume, che permettono la sintesi di 2.6 ATP



Dal flusso lineare di elettroni, ogni 4 elettroni trasferiti da H_2O verso $NADP^+$ si ottengono 2 NADPH e 2.6 ATP. Quindi ATP/NADPH = 1.3

La fissazione di una molecola di CO_2 nel Ciclo di Calvin richiede 3 ATP e 2 NADPH, con un rapporto ATP/NADPH = 1.5

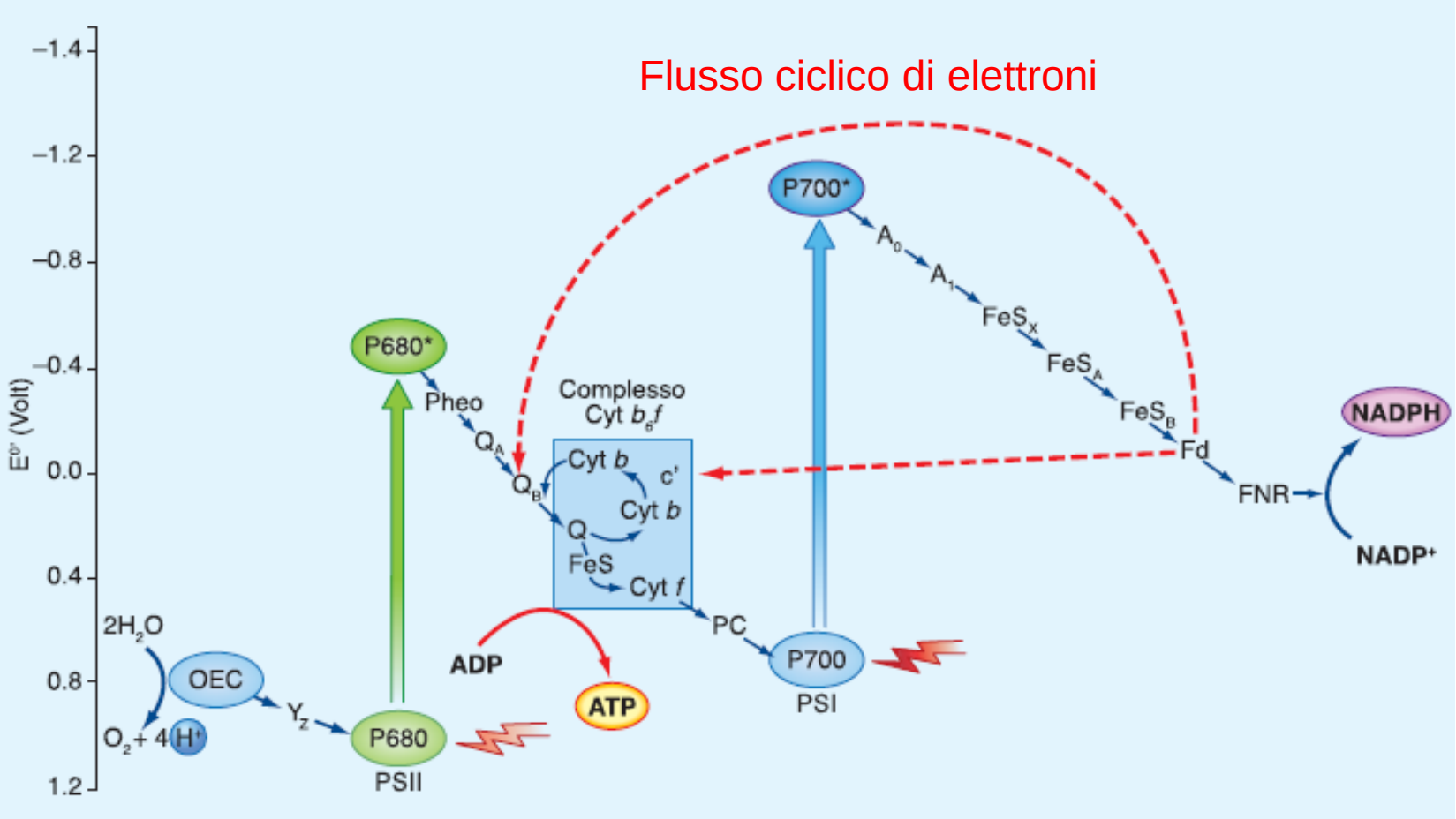
Il flusso lineare di elettroni è insufficiente a sostenere il fabbisogno del Ciclo di Calvin

Necessario un meccanismo per soddisfare il maggior fabbisogno di ATP

Flusso lineare vs flusso ciclico di elettroni

Flusso lineare: schema a Z (trasferimento vettoriale di e^-), 2 fotosistemi, libera O_2, produce NADPH e ATP, fotofosforilazione lineare

Flusso ciclico: trasferimento ciclico di e^-, solo PSI, produce solo ATP, fotofosforilazione ciclica



Flusso ciclico di elettroni dal PSI al Cyt b_6f e di nuovo al PSI

FOTOFOSFORILAZIONE CICLICA

Accoppiato alla **traslocazione di protoni** nel lumen

Sintesi di ATP senza ossidazione dell'acqua e riduzione di $NADP^+$

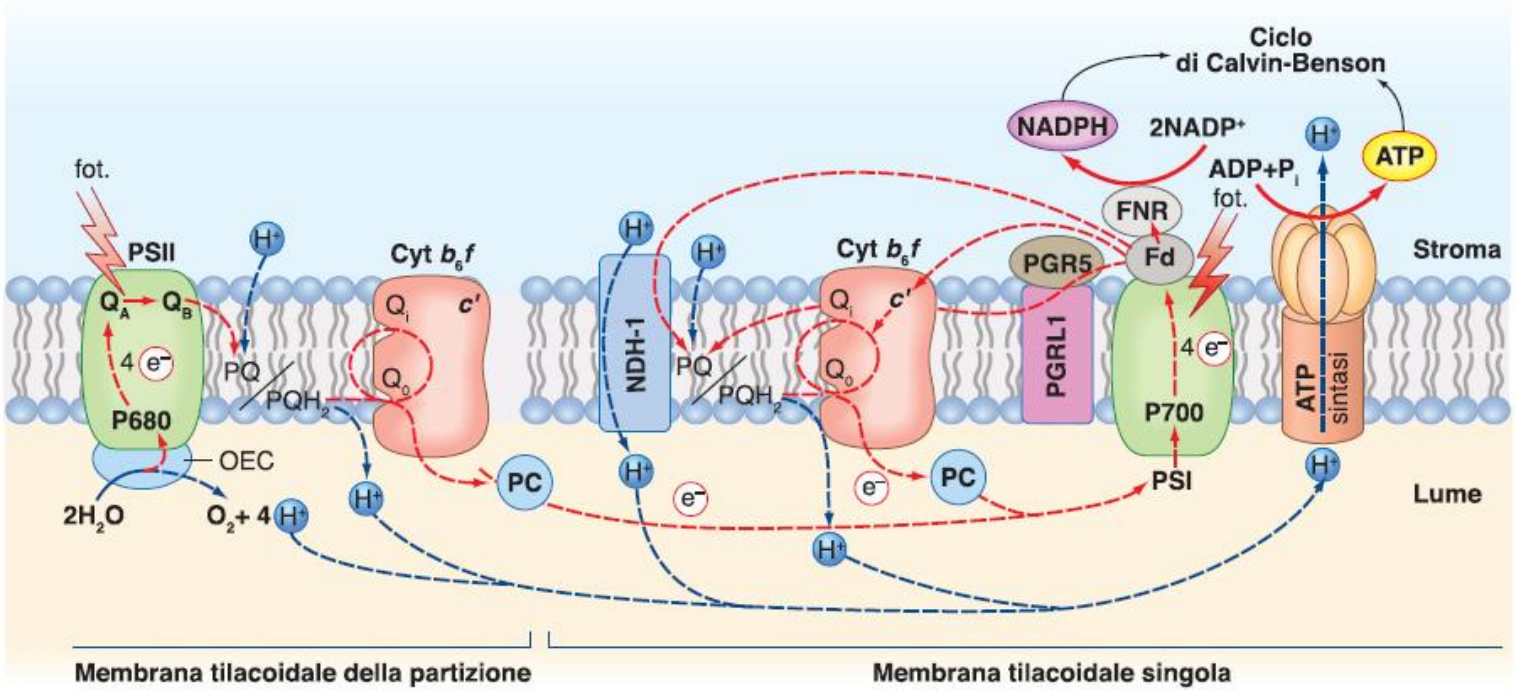
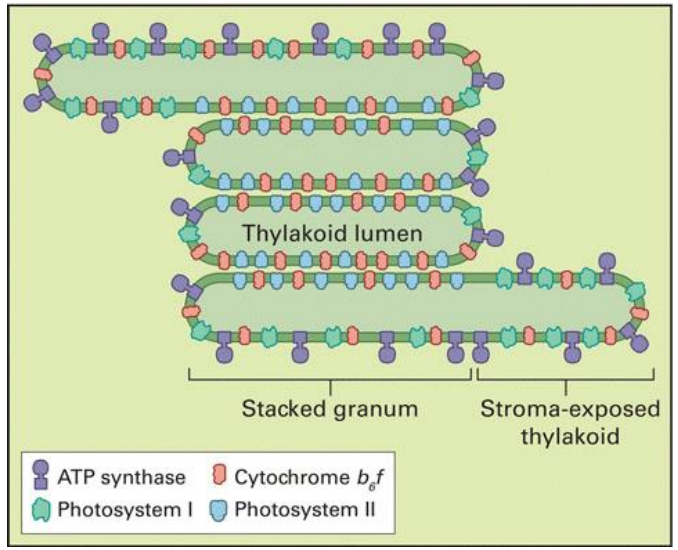


FIGURA 4.22 Vie di immissione di elettroni nel flusso ciclico attorno al PSI. (Le linee tratteggiate rosse indicano i flussi di elettroni, quelle tratteggiate blu i flussi di protoni). (Cyt b_6f = complesso citocromico b_6f, Fd = ferredossina, FNR = ferredossina-$NADP^+$ riduttasi, fot = fotoni, NDH-1 = complesso enzimatico operante come Fd-PQ ossidoriduttasi, PC = plastocianina, PGR5 = *Proton Gradient Regulation 5*, PGRL1 = PGR5-*Like 1*, PQ = plastochinone, PQH_2 = plastochinolo). (PGR5-PGRL1 e NDH-1, che per chiarezza grafica sono distanziati dal PSI, *in vivo* sono associati al fotosistema). (Per una spiegazione più dettagliata si veda il testo).

Due vie conosciute



Cambiamenti dello spettro dell'energia radiante («qualità» della luce):

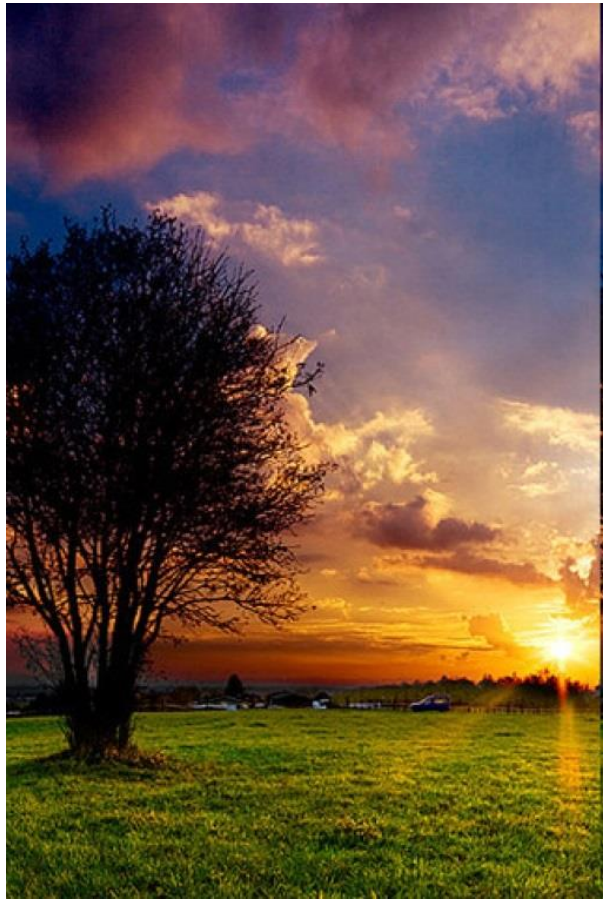
Portano a disequilibrio tra i due fotosistemi nell'energia assorbita

Esporrebbero il PSII al fotodanno (a causa della formazione di $^1O_2$)



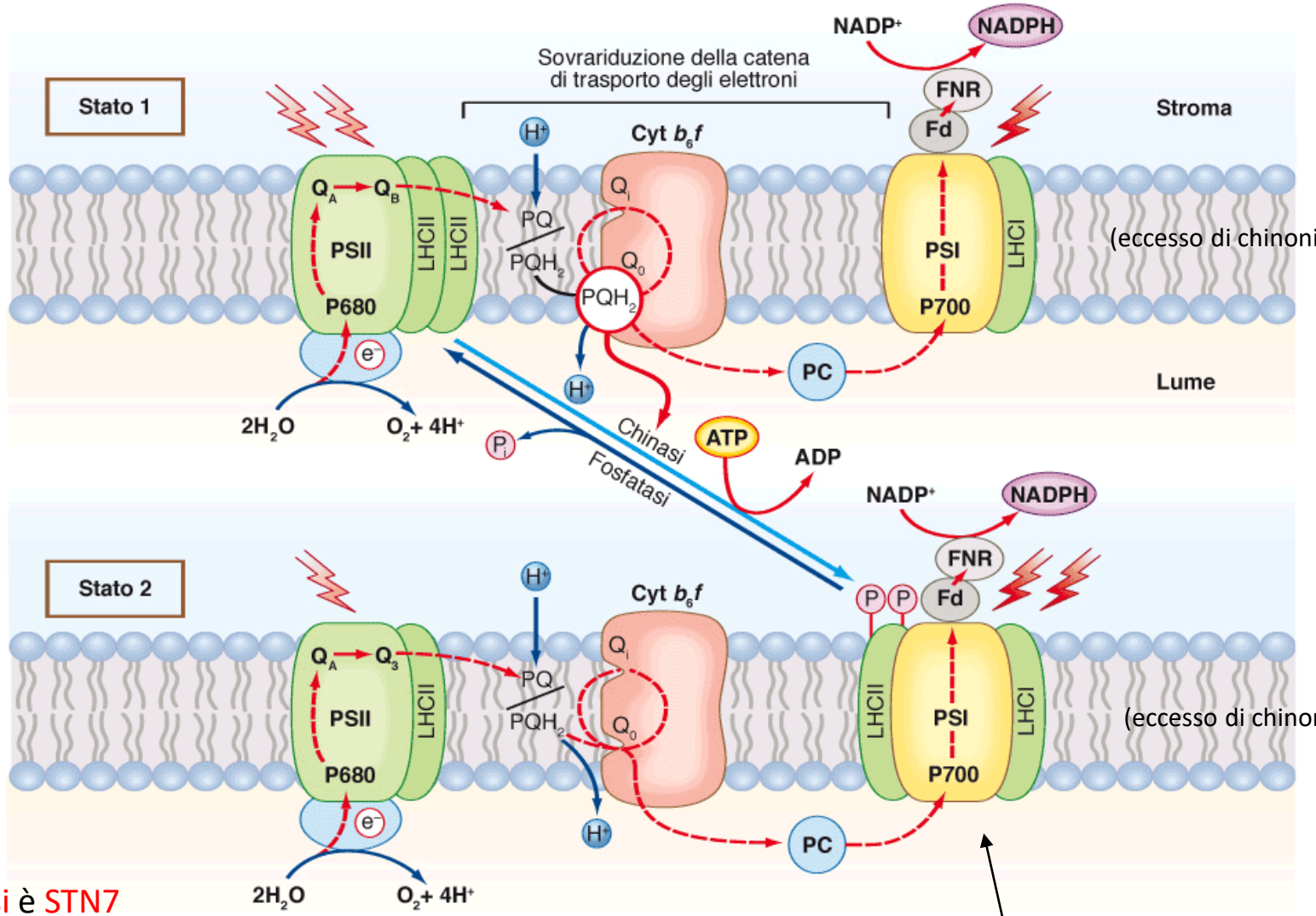






Il mantenimento (ottimizzazione) dell'equilibrio nella distribuzione dell'energia tra i due fotosistemi avviene tramite **le transizioni di stato**

Immissione di una quantità di e- superiore a quella che può fluire verso il PSI



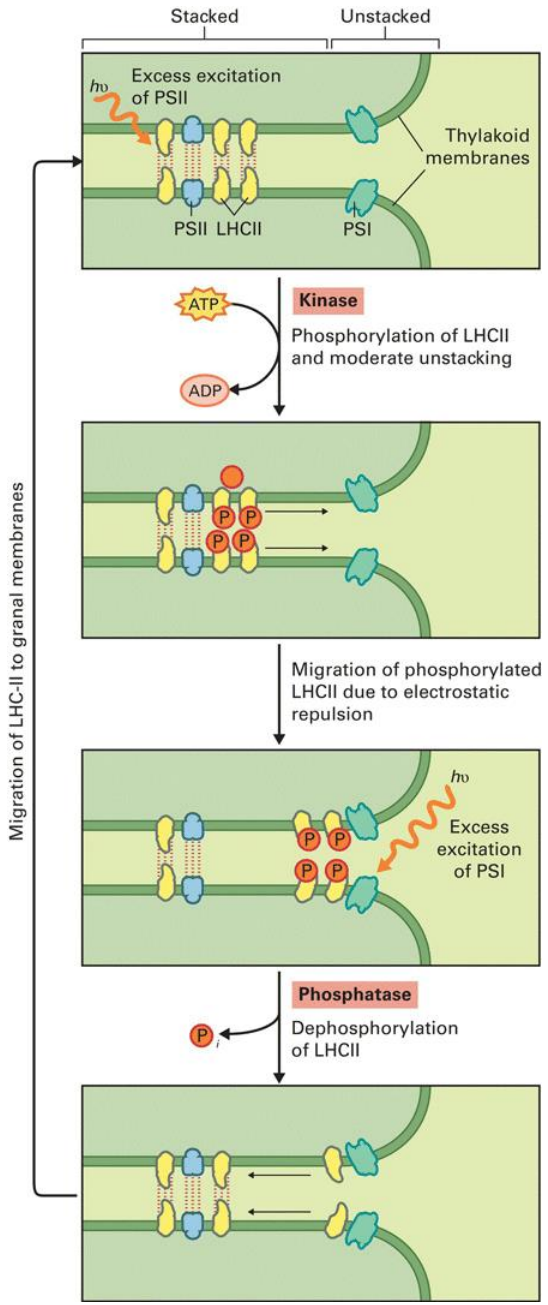
(eccesso di chinoni ridotti)

È un problema di sbilanciamento tra velocità di riduzione del PQ a PQH_2 e velocità di riossidazione del pool di PQ

(eccesso di chinoni ossidati)

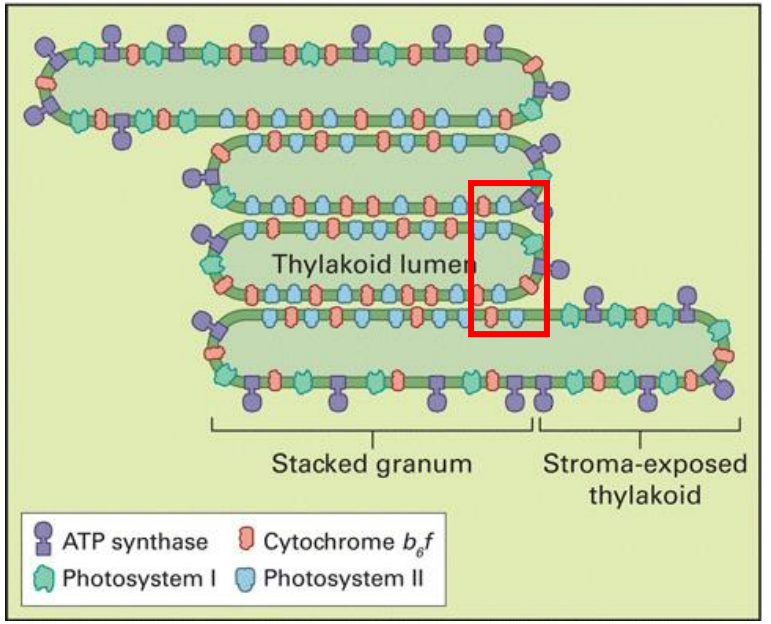
In *Arabidopsis*:
La proteina chinasi è STN7
La proteina fosfatasi è TAP38

Supercomplessi PSI-LHCI-LHCII



Transizioni di stato

rappresentazione spaziale

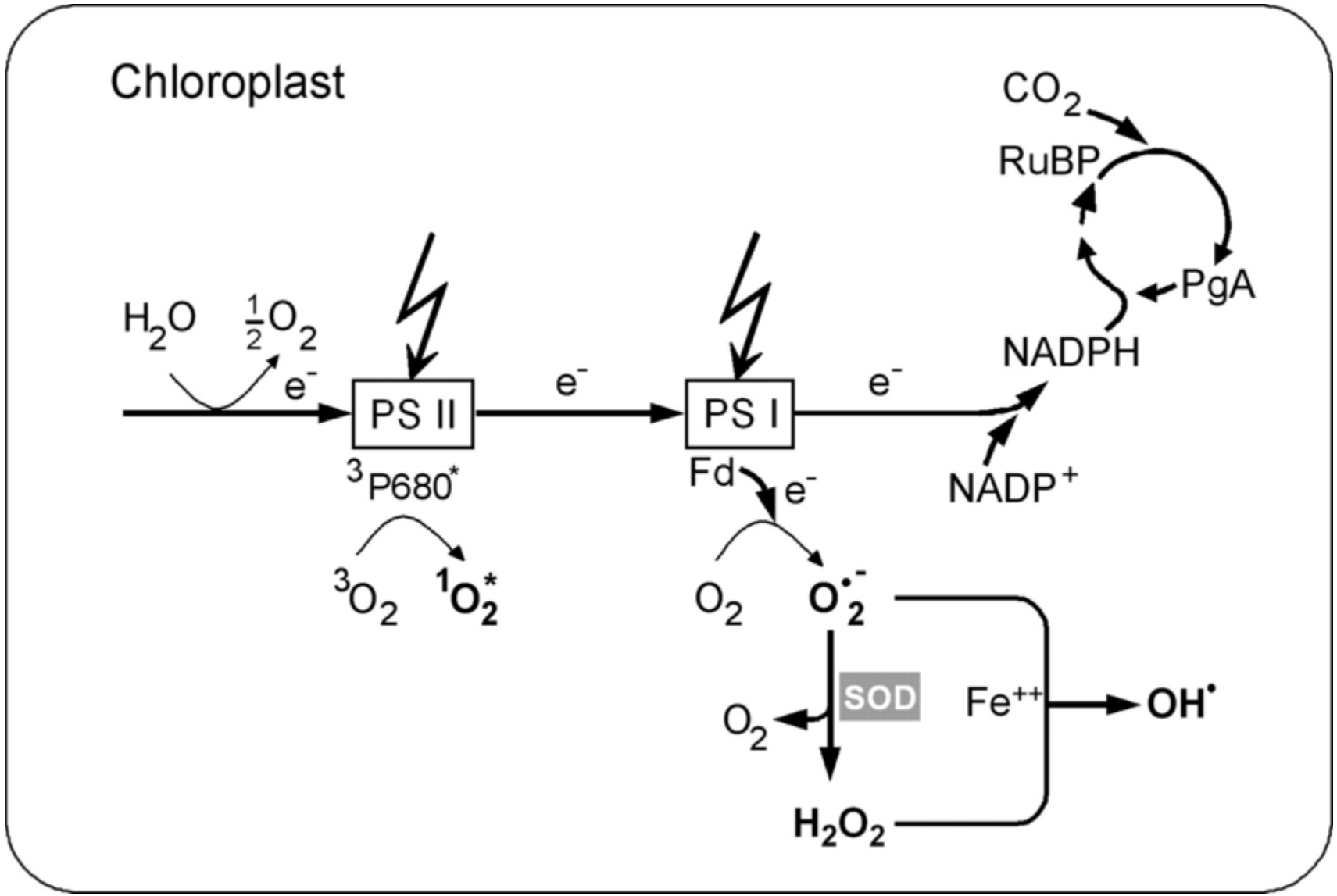


Meccanismi fotoprotettivi contro l'eccesso di energia radiante

- Riduzione dell'assorbimento di radiazione luminosa
- Contrasto formazione di $^1O_2$* nel centro di reazione sovraeccitato
- Dissipazione dell'energia in eccesso

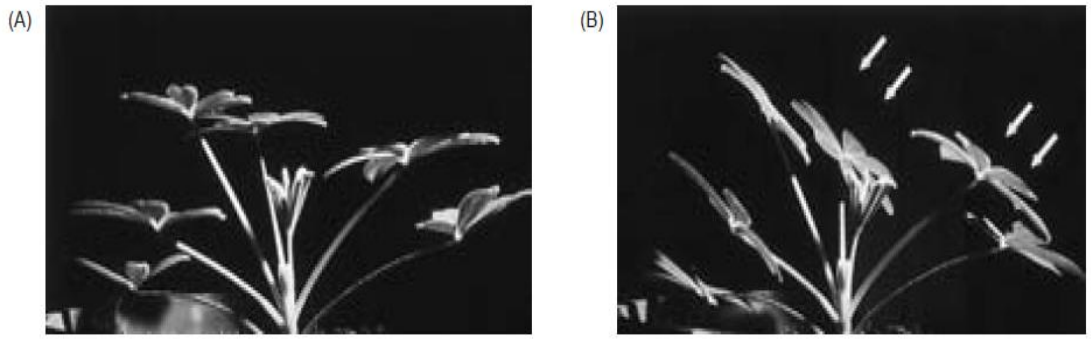
FOTOINIBIZIONE

Causata da danni fotoossidativi,
causati a loro volta da specie reattive dell'ossigeno, prodotte a causa di un eccesso di energia di eccitazione nei centri di reazione (soprattutto del PSII)

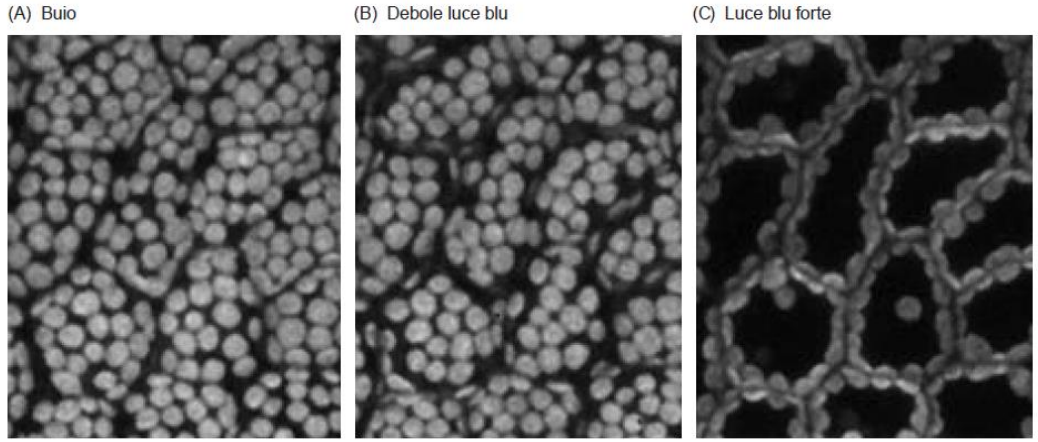


MECCANISMI FOTOPROTETTIVI PER LA RIDUZIONE DELL'ASSORBIMENTO DELLA LUCE:

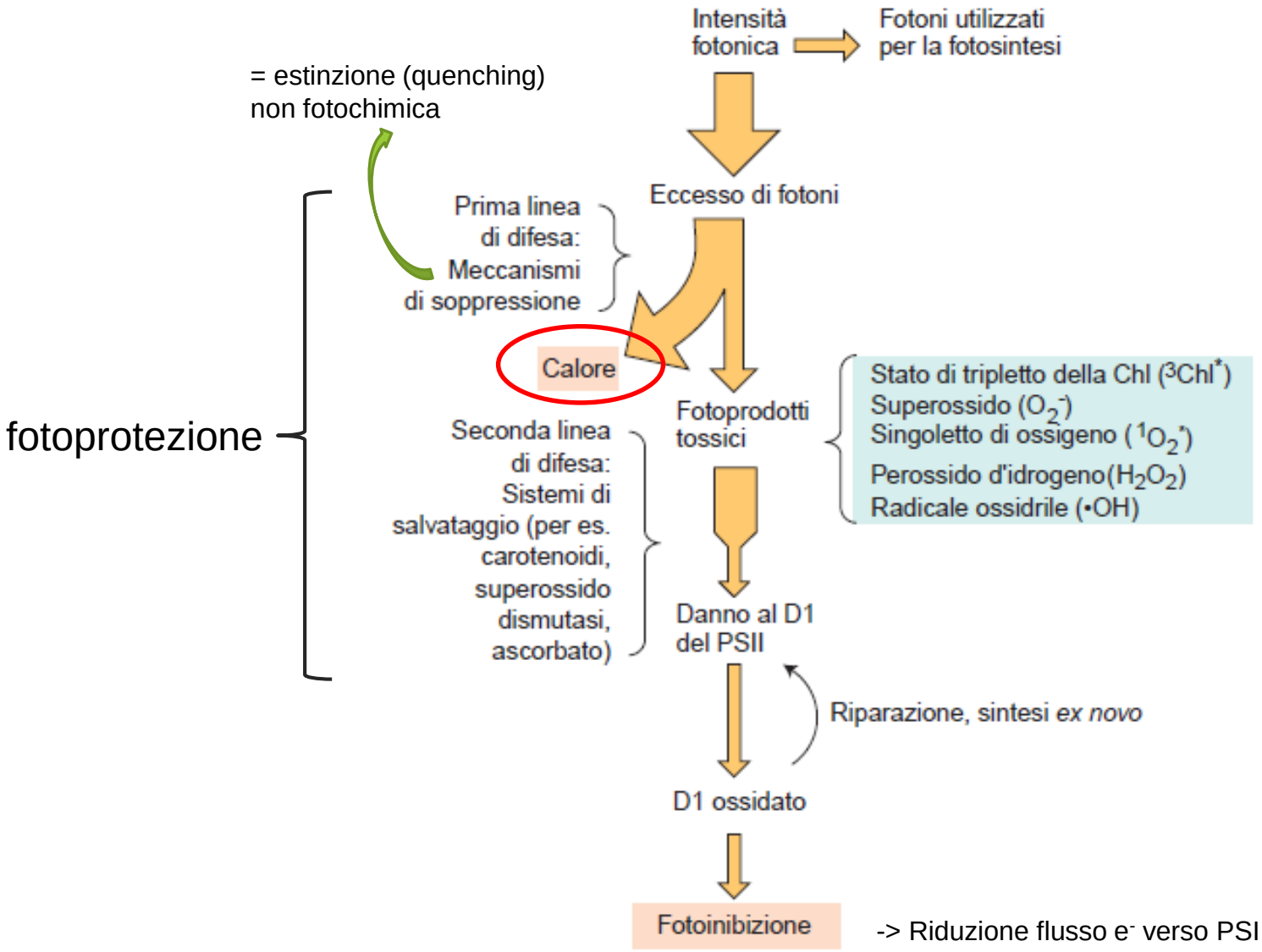
MOVIMENTI FOGLIARI: variazione dell'angolo di incidenza della luce



MOVIMENTI DEI CLOROPLASTI



Meccanismi di protezione dal e riparazione del danno da eccesso di fotoni



Estinzione non fotochimica:

conversione di energia in eccesso in calore

(NPQ = Non-Photochemical Quenching)

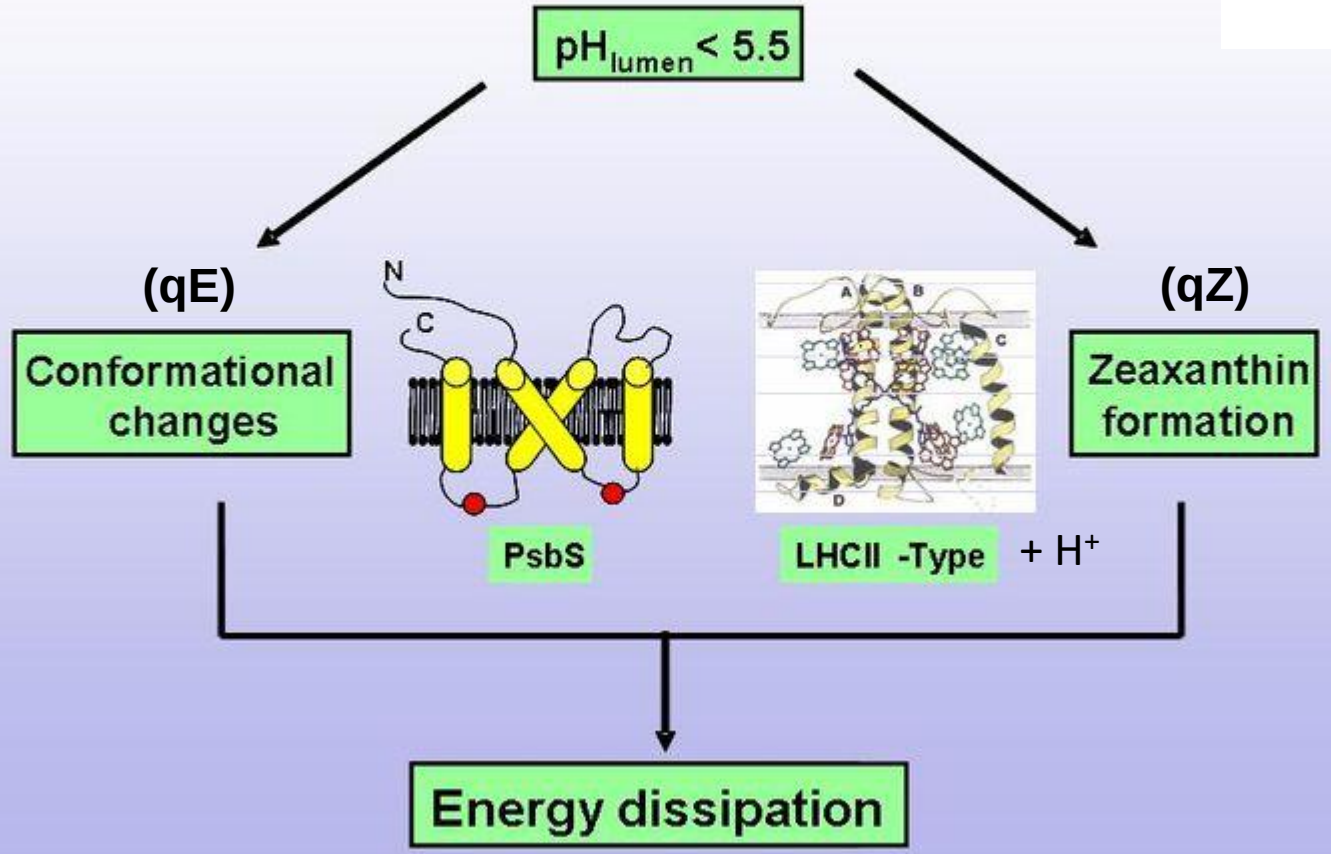
Regola il trasferimento di energia di eccitazione al centro di reazione

Quenching zeaxantina-dipendente (qZ): Ciclo delle xantofille

Quenching dell'energia radiante (qE): PsbS

Nota: anche il meccanismo delle transizioni di stato è spesso classificato come una tipologia di NPQ, ed è chiamato **qT**

The pH-regulated mechanism of energy dissipation (qE)



qE

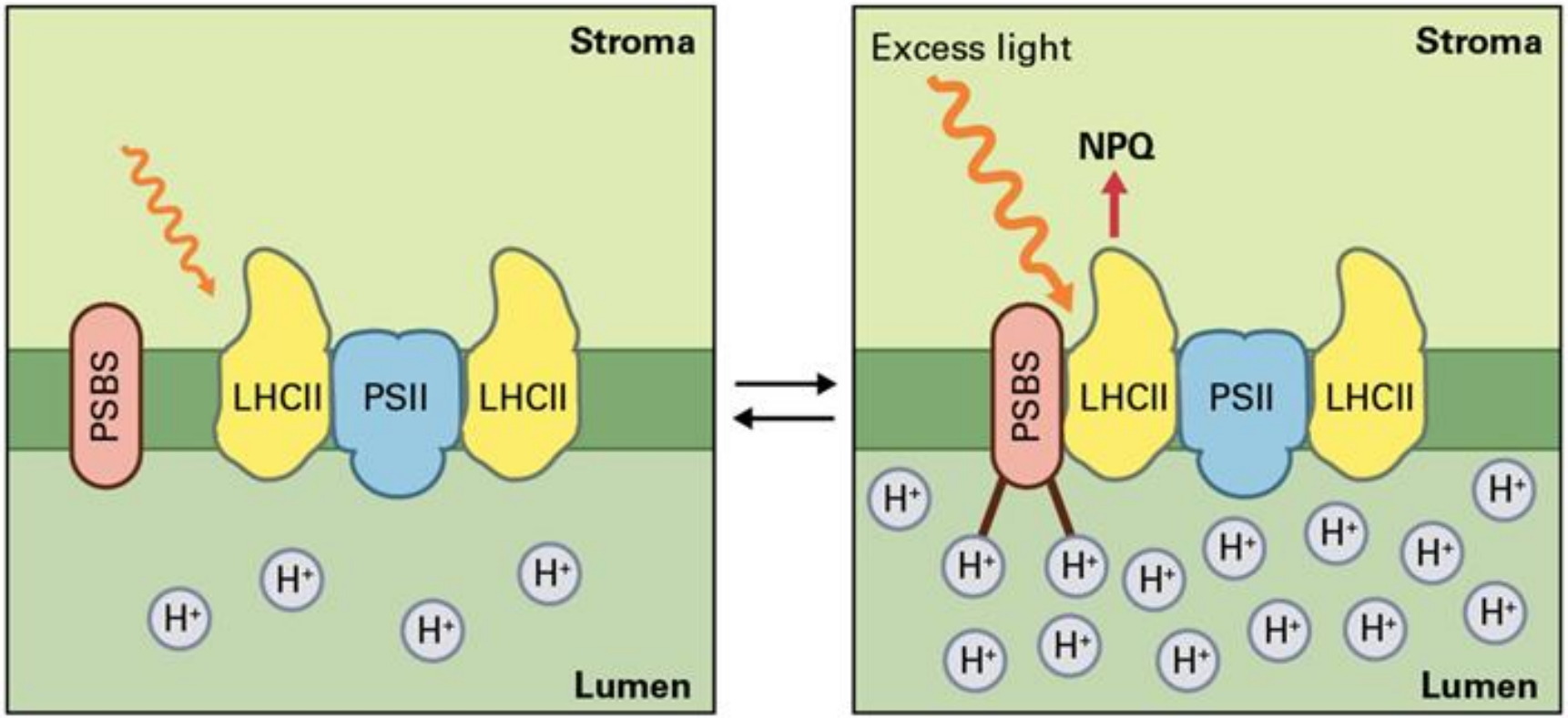


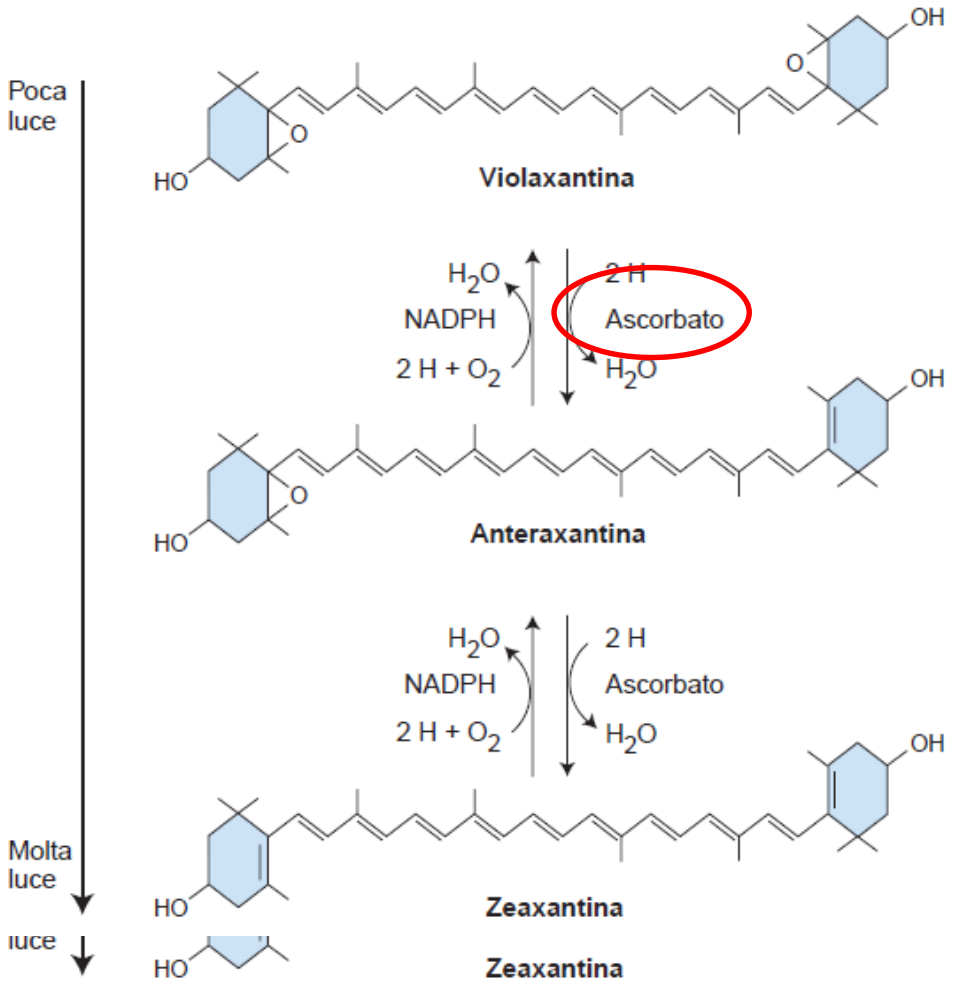
FIGURE 12.33 *Nonphotochemical quenching regulates light harvesting by PSII. In limiting light, LHC proteins efficiently transfer excitation energy to the reaction center of PSII. In excess light, when the rate of photosynthesis is saturated and protons accumulate to a high concentration in the thylakoid lumen, a flexible type of nonradiative dissipation is induced in the PSII antenna on a timescale of seconds to minutes. Proton binding to the PSBS protein and accumulation of zeaxanthin (not shown) causes a conformational change or reorganization of PSII that switches the antenna into a dissipative state that prevents overexcitation of chlorophyll and overreduction of the electron transport chain.*

Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones.
© 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.
Companion website: www.wiley.com/go/buchanan/biochem

WILEY Blackwell

Ciclo delle xantofille

Reazioni di de-epossidazione



L'elevato stato di **estinzione del PSII** è associato alla zeaxantina

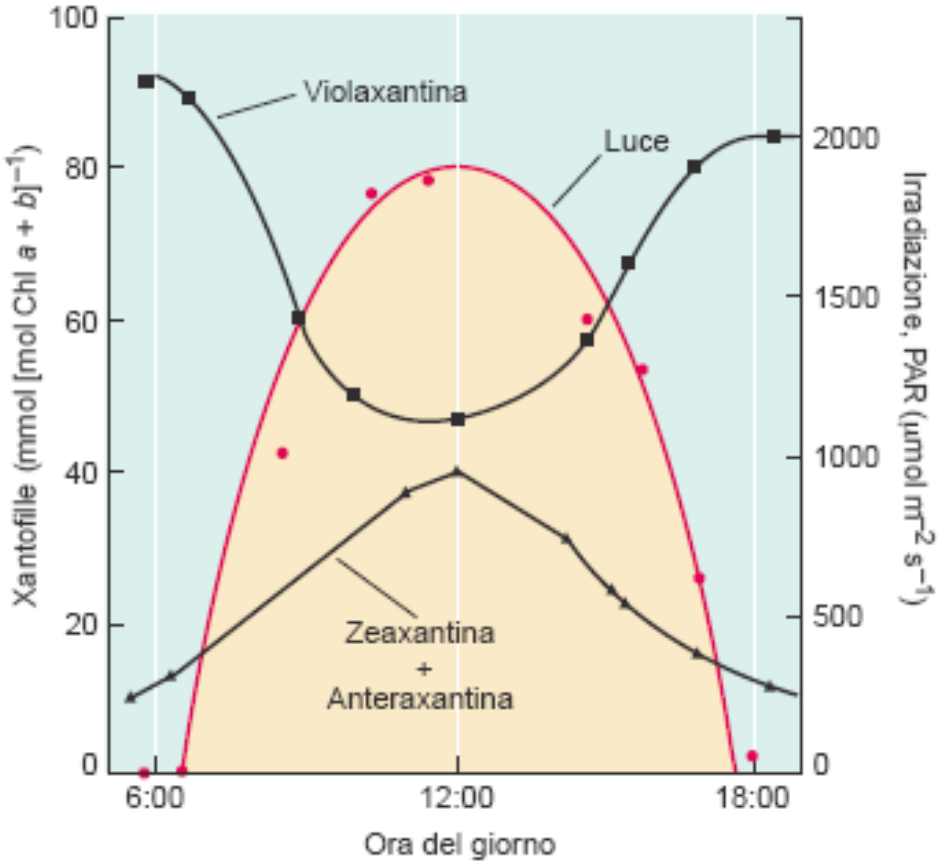


Figura 9.13 Variazioni giornaliere nel girasole (*Helianthus annuus*) nella composizione delle xantofille come risposta a cambiamenti di luce. Come aumenta la quantità di luce che cade su una foglia, una proporzione crescente di violaxantina è convertita ad anteraxantina e zeaxantina, dissipando quindi l'eccesso di energia di eccitazione e proteggendo l'apparato fotosintetico. (Da Demmig-Adams e Adams 1996).