6. Koolstoffixatie reacties

6.1 Inleiding

* Koolstoffixatie reacties
  + Beschrijft hoe CO2 gecapeerd w en gefixeerd w in suikers = de triosen
    - Hierbij w ATP, NADPH verbruikt uit de lichtafhankelijke reacties
    - Triosen = primaire 3C structuur **(hierom noemt dit C3 metabolisme)**
    - Uit triosen ontstaan andere suikers vb hexosesuikers
      * => bestemmingen: opslag (zetmeel), cellulose, sucrose of pentosesuikers voor nucleotidebouw,…..
  + Essentie: koolstoffixatie => 3C suikers => hexosen, pentosen

6.2 Koolstoffixatie gebeurt in 3 fasen

* Koolstofdioxidefixatie gebeurt in 3 fasen (cyclische pathway)
  + 1) Condensatie: (3) CO2+ (3) ribulose 1,5-bifosfaat (5C) => **2x** (6) 3-fosfoglyceraat (3C)
    - Condensatie = CO2 captatie
    - Ribulose 1,5-bifosfaat (5C) = initiele substraat S met 2 fosfaten P
  + 2) Reductie: 3 fosfoglyceraat tot (6) glyceraldehyde 3-fosfaat
    - Energie: ATP, NADPH verbruikt
  + 3) Regeneratie: ribulose 1,5-bifosfaat (3) + vrijstellen glyceraldehyde 3-P (1)
    - Energie: ATP vebruikt

Fase 1: fixatie CO2 in 3-fosfoglyceraat

* Enzyme: **ribulose 1,5-bifosfaat carboxylase/oxygenase (=rubisco)**
  + = eiwit dat in grote hoeveelheden voorkomt in natuur
  + Reden: (1) rubisco is niet efficient, (2) CO2 captatie heeft geen hoger turnover, (3) veel fotosynthese
  + Turnover: 3CO2/sec.mol
  + Structuur: 8 grote subeenheden / 8 kleine subeenheden
    - Grote subeenheden => gecodeerd in chloroplast
    - Kleine subeenheden => gecodeerd in nucleus
    - => fotosynthese ~ de genen in **kern** & in chloroplast
  + Activiteit rubisco
    - Rubisco structuur in actieve site: Asp, Glu, Lys
    - Actief centrum met carbamoyl-Lys (Lys hangt aan een CO2) en Mg2+
      * Mg**2+** => stabiliseert de **neg.** O in CO2 & ribulose 1,5-bifosfaat
    - 1) Inactief: gebonden met ribulose 1,5 bifosfaat en geassocieerd met Lys
      * Ribulose 1,5 bifosfaat verhindert de activiteit
    - 2) Enzym **Rubisco activase** verwijdert het S & zorgt dat er CO2 en Mg gebonden wordt => CO2 w gebonden op Lys => ontstaat carmbamoyl-Lys
      * Resultaat: actieve rubisco
      * Gepaard met ATP verbruik
* CO2 + ribulose 1,5-bifosfaat (5C) => 2x 3-fosfoglycerate
  + Enzym: **het geactiveerde rubisco**
  + Naam C3 metabolisme komt van 3-fosfoglycerate

Fase 2: 3-fosfoglyceraat => Glyceraldehyde 3-fosfaat

* Analoog aan inverse reactie glycolyse
* 1) Fosforylering 3-fosfoglyceraat in chloroplast => 1,3-bisfosfoglyceraat
  + Enzym: 3-fosfoglycerate kinase & ATP verbruik
* 2) 1,3-bisfosfoglyceraat gereduceerd => glyceraldehyde 3-fosfaat
  + Enzym: glyceraldehyde 3-fosfaat dehydrogenase reduceert het met NADPH & 1P van 1,3 bisfosfoglyceraat wordt afgesplitst
* 3) glyceraldehyde 3-fosfaat is in evenwicht met dihydroxyacetone fosfaat
* 3.1) samen vormen ze fructose 1,6-bisfosfaat
  + Enzym: triose fosfaat isomerase => verplaatst een FG ~ glycolyse
  + Fructose 1,6-bisfosfaat w opgeslagen als zetmeel in chloroplast
  + Essentie: uit 2 3C => 1 6C gevormd
* 3.2) dihydroxyacetone fosfaat w uit chloroplast getransporteerd door transporter Pi triosefosfaat antiporter (neemt Pi op en stelt dihydroxy… vrij)
  + Dihydroxyacetonefosfaat & Glyceraldehyde 3-fosfaat fuseren tot fructose 1,6-bisfosfaat => w sucrose => niet opgeslagen, maar dient voor metabolisme
  + Essentie: omgekeerde glycolyse

Fase 3: regeneratie ribulose 1,5-bisfosfaat (principe KE)

* Principe: 5x 3C => 3x 5C
* 1) Glyceradehyde 3-P (3C) / dihydroxyaceton P (3C)=> condensatie tot Fructose (6C)
  + Enzym: aldolase
* 2) een fructose (6C) => reageert opnieuw met glyceraldehyde 3-P => tot een 4C en 5C molecule
* 3) 5C molecule => wordt omgezet naar ribulose 1,5-bisfosfaat = al 1x5C molecule!!!
* 4) 4C molecule => reageert opnieuw met dihydroxyacetone-P (3C) => tot 7C molecule
* 5) 7C suiker reageert opnieuw met dihydroxyacetone-P (3C) => vormt 10C
* 6) 10C => 2x5C maken => 1x5C w gerecupereerd & gefosforyleerd tot ribulose 1,5-bisfosaat
  + 1x5C ondergaat isomeratiereactie naar ribulose 5-P => gefosforyleerd door tot ribulose 1,5-bisfosfaat
* Opm: in deze fase komen speciale suikers voor die enkel in de Calvin Cyclus voorkomen

6.3 Synthese van elke triose-fosfaat uit CO2 vergt 6 NADPH en 9ATP moleculen

* Stoichiometrie
  + 3x fixatie van CO2 nodig op ribulose 1,5-bisfosfaat => levert 6x 3-fosfoglycerate => 1 molecule w gebruikt voor synthese van zetmeel of suiker, 5 moleculen gebruikt voor de regeneratie van 3 moleculen ribulose 1,5-bisfosfaat
  + 9 ATP en 6NADPH w verbruikt

6.4 Enzymen uit de Calvin cyclus worden indirect gereguleerd door licht

* Regulatie door juiste ∆pH en ∆Mg2+ concentratie in stroma
  + pH verandert van 7->8 en Mg2+ van 2->5mM in stroma = regulatie
  + Regulatiepunten vb: op rubisco activase, op fructose 1,6-bisfosfatase (FBase)
    - FBase als dit enzym gereguleerd w => reguleert het de regeneratiecyclus vd Calvincyclus maw als deze reactie niet doorgaat => gaat derest niet door
  + Regulatiemechanisme
    - Oiv lichtreacties => H+ getransporteerd van stroma naar lumen thylakoid => in stroma pH w hoger door verlies aan H & uit lumen gaat Mg naar stroma
      * => deze 2 factoren sturen de fixatie van CO2
  + Resultaat: koppeling regulatie & Calvincyclus
    - 1) 1ste koppeling: productie ATP, NADPH voor Calvincyclus
    - 2) 2de koppeling: regulatie op pH, Mg
  + Grafiek: hoe MgCl conc de activiteit vh FBase beinvloedt => hoge conc => enzyme sterk geactiveerd
* Regulatie door licht (extra regulatieniveau)
  + vb Ribulose 5-fosfaat kinase, sedoheptulose 1,7-bifosfatase w gereguleerd door licht
  + licht gemedieerde reductie disulfide bindingen tssn Cys-Azn
    - S-S geoxideerd = inactief ; SH-SH gereduceerd = actief
      * => overgang inactief naar actief ~ licht & gereduceerd Fd
  + Licht op PSI => reductie ferredoxine = e-donor voor enzym ferredoxin thioredoxin reductase => enzym reduceert thioredoxin => geactiveerd thioredoxin => reduceert het enzyme => enzyme geactiveerd

7. Fotorespiratie en de C4 en CAM metabole routes

7.1 Fotorespiratie is het resultaat van rubisco’s oxygenase activiteit

* Rubisco = lui & slordig
  + Lui: de capaciteit van rubisco ≠ zo hoog: 3CO2/sec.mol
  + Slordig: rubisco kan zowel CO2 als O2 gebruiken voor fase 1 ≠ specifiek
* Foto-'respiratie'
  + = gevolg vh gebrek aan specificiteit van rubisco!!!
  + = verbruik van O2 en productie van CO2 in chloroplast
  + Respiratie: wijst op O2 verbruik & CO2 vrijstelling
  + Foto: wijst erop dat het proces gekoppeld is aan fotosynthese
  + Essentie: fixatie van O2 => 2-fosfoglycolaat & 3-fosfoglyceraat
    - O2 fixatie bevoordeeld bij hoge T
* Foto-respiratie werking
  + Ribulose 1,5-bisfosfaat => enediol vorm => bindt O2 ipv CO2 => ontstaat een 5C molecule op rubisco => splitst in 2 moleculen: 2-fosfoglycolaat & 3-fosfoglyceraat
    - Dit zijn geen 2x 3C moleculen => maar 1x3C suiker
    - Conclusie: 2-fosfoglycolaat is verlies/waist

7.2 Opruimen van glycolaat is duur

* Glycolaat pathway: de r**ecuperatie** van 3-fosfoglycolaat tot Gly en CO2
  + Pathway in 3 compartimenten: chloroplast, peroxisoom, mitochondrion
  + Verbruik van ATP& NADH, vorming H2O2, vrijstelling CO2
  + Dit hoort ook nog bij de fotorespiratie
  + 1) 3-fosfoglycolate transporteren uit chloroplast als glycolaat naar peroxisomen => glycolate w geoxideerd tot Glyoxylate
    - Ox. glycolaat => e- en H+ gaan naar O2 => vorming H2O2 oiv oxidase enzyme
  + 2) Glyocylaat opname aminogroep (trans-aminatie) => Glycine
  + 3) Glycine w getransporteerd naar mitochondrion => enzym glycine decarboxylase koppelt 2 Gly moleculen & reduceert NAD+ tot NADH
    - Hierbij ontstaat CO2 & serine
  + 4) Serine w gerecupereerd in peroxisomen => hydroxypyruvaat => glycerate (verbruik NADH) => 3-fosfoglycerate (verbruik ATP)

7.3 CO2 fixatie en rubisco activiteit zijn ruimtelijk gescheiden in C4 planten

* 2 groepen planten hebben adaptaties om fotorespiratie impact te minimaliseren
  + = C4 en CAM planten
    - => hebben alternatieve C fixatieroutes om fotorespiratie te omzeilen
* C4 planten vb mais
  + Planten bij hoge T en hoge lichtintensiteit
    - Bij hoge lichtI = andere balans van gasontwikkeling (stomata open) & sterke opname van CO2
  + CO2 fixatie & rubisco activiteit zijn ruimtelijk gescheiden
  + Adaptatie: aparte anatomie ontwikkelt = Kranz-anatomie
    - Dwz in de planten voor fotosynthese in bladeren om vaatbundels komen 2 typen cellen voor 1) normale mesofylcellen 2) bundelschedecellen
    - Mesofylcellen = dicht gepakte grana met goed ontw chloroplasten
    - Bundelschedecellen = gedifferentieerd mesofyl met minder goed ontw chloroplasten
    - Plasmodesmata = verbindingen tssn mesofyl & bundelschedecellen
  + Werking: In mesofylcel
    - 1) CO2 in waterig milieu is in evenwicht met bicarbonaat HCO3-
    - 2) HCO3- fixatie met substraat PEP (fosfoenolpyruvaat) door PEP carboxylase => tot oxaalazijnzuur (4C)
      * In C4 planten w HCO3- gefixeert & niet CO2 & niet door rubisco!
      * Verbruik NADPH
      * Oxaalazijnzuur 4C => naam C4 planten afkomstig!
    - 3) Oxaalazijnzuur gereduceerd tot malaat => via plasmodesmata naar bundelschedecel => daar geoxideerd tot pyruvaat
      * Met vrijstelling CO2, NADP+ reductie tot NADPH
      * Enzym: malaat enzyme
    - 4) vrijgestelde CO2 fixatie door rubisco met S ribulose 1,5-bisfosfaat
      * CO2 zit in omgeving waar O2 spanning laag is => geen competitie met O2 => kan amper fotorespiratie gebeuren!
    - 5) pyruvaat getransporteerd naar mesofylcel door een pyruvaat fosfaat dikinase
      * PEP + AMP + PPi
      * Verbruik ATP + Pi
  + PEP carboxylase is zeer specifiek
    - PEP carboxylase reageert niet met O2 / bindt geen O2 aan PEP
    - Gevolg: geen competitie met O2, geen fotorespiratie
  + Netto:
    - 1NADH samen met malaat van mesofyl naar bundelschede (zie ppt)
    - Reacties kosten extra ATP maar efficienter want geen competitie
* CAM planten Vb: cactus, ananas
  + CO2 fixatie en rubisco activiteit zijn gescheiden in de tijd!$
  + Overdag onvoordelig om stomata te openen => weinig competitie met O2 => geen fotorespiratie
    - Reden: teveel waterverlies door te hoge T, hoge I
  + Essentie: Nacht: CO2 fixatie door PEP carboxylase => OA => malaat => vacuole
    - Overdag vrijstelling CO2 => fixatie door rubisco
  + 1) Snachts: stomata open => CO2 opgenomen => HCO3- evenwicht => PEP carboxylase ontvanger van HCO3- => oxaalazijnzuur => malaat => malaat w in vacuole opgeslagen
    - NADH verbruik ⬄ NADPH in C4 planten
  + 2) Overdag: malate vrijgesteld, goxideerd & e- naar NADP+ tot NADPH => vrijstelling CO2 & pyruvaat => CO2 fixatie in Calvincyclus