

# **VIHREIDEN KASVIEN FOTOSYNTESI**

Helsingin yliopisto  
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta  
Kemian laitos  
Kemian opettajankoulutusyksikkö  
Kandidaatintutkielma  
Tekijä: Antti Pohjola  
Pvm. 19.2.2009  
Ohjaajat:  
Paavo H. Hynninen  
Maija Aksela

## Sisällysluettelo:

1	Johdanto .....	3
2	Historiallinen näkökulma fotosynteesiin .....	4
2.1	Fotosynteesi-tutkimuksen tiivistetty historia .....	4
2.2	Fotosynteesin evoluutio .....	5
3	Fotosynteesin edellytykset .....	7
3.1	Valo .....	7
3.2	Hiididioksidi .....	9
3.3	Vesi.....	10
3.4	Lämpö.....	10
3.5	Muut ravinteet.....	11
4	Kloroplastin rakenne.....	11
5	Energian ja elektronien kulku .....	12
5.1	Valoreaktiot .....	12
5.1.1	Fotosysteemi II .....	13
5.1.2	Fotosysteemi I.....	14
6	Pimeäreaktiot.....	15
6.1	PCR- sykli.....	15
7	Fotosynteesin tuotteet .....	19
7.1	Hiiltä sisältävät.....	19
7.2	Happi .....	20
8	Fotosynteesin kemiallisen näkökulman tärkeydestä.....	20
	Lähteet .....	22

Lyhenneluettelo:

3PG = 3-fosfoglyseraatti

ATP = adensiinitrifosfaatti

BPG = 1,3-bisfosfoglyseraatti

DHAP = dihydroksyasetonifosfaatti

E4P = erytroosi-4-fosfaatti,

F6P = fruktoosi-6-fosfaatti,

FBP = fruktoosi-1,6-bisfosfaatti

GAP = glyseraldehydi-3-fosfaatti, trioosifosfaatti

LHC = valoa keräävä kompleksi

NADPH = pelkistynyt nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaatti

OEC = happea kehittävä kompleksi, vettä hapettava kompleksi=WOC

PCR-sykli = fotosynteettinen hiilen pelkistys -sykli

PG = fosfoglykolaatti

PS I = fotosysteemi I

PS II = fotosysteemi II

R5P = riboosi-5-fosfaatti

Ru5P = ribuloosi-5-fosfaatti

Rubisco = ribuloosi-1,5-bisfosfaattikarboksylaasi-oksygenaasi

RuBP = ribuloosi-1,5-bisfosfaatti

S7P = sedoheptuloosi-7-fosfaatti

SBP = sedoheptuloosi-1,7-bisfosfaatti

TPP = tiamiinipyrofosfaatti

Xu5P = ksyluloosi-5-fosfaatti

# 1 Johdanto

Fotosynteesi on tärkein kemiallinen tapahtuma elämälle. Se on kemosynteesin lisäksi ainoa tapa jolla autotrofiset eli omavaraiset eliöt tuottavat energiaa. Fotosynteesiä on tutkittu erittäin paljon ja se on jaoteltavissa moniin eri osalohkoihin. Työn haasteena oli saada fotosynteesistä selkeä kokonaiskuva, joka pureutuu aiheeseen pintaa syvemmillä.

Rajasin aiheen liittymään siihen mitä kasvien fotosynteesiin tarvitaan, mitä siinä tapahtuu ja mitä tuotteita fotosynteesissä on. Olen pyrkinyt aihetta käsitellessäni valitsemaan termit joita käytän sen mukaan kuinka kuvaavia ne ovat. Esimerkiksi en käytä työssä sanaa yhteyttäminen vaan sen tilalla käytän sanaa fotosynteesi. Fotosynteesi nimestä selviää valon erittäin tärkeä merkitys tälle synteesille. Yhteyttäminen sanana ei sisällä tarttumapintaa ja siten se jääkin turhan irralliseksi termiksi. Valitettavan usein tälle termille käy näin myös kouluopetuksessa.

Kouluopetuksen heikkous, etenkin liittyen kemian opetukseen fotosynteesistä, on innoittanut minua tähän työhön. Aihe pitäisi pystyä tuomaan lähemmäksi oppijaa ja olenkin pyrkinyt luomaan selkeän kuvan fotosynteesistä kemiallisena tapahtumana.

Keskityn fotosynteesiä käsitellessä tuomaan esille sen energian ja elektronin kuljetusreitit. Energia on luonnollinen katsontakanta fotosynteesiin. Toisaalta aihetta olisi voinut käsitellä alkuaineiden kulkureitteinä, mutta silloin rajaus olisi ollut tyystin erilainen. Fotosysteemi II:n (PS II) käsittelen ennen fotosysteemi I:tä (PS I), koska PS II:n reaktiot tapahtuvat fotosynteesissä ennen PS I:n reaktioita. Näin voin tuoda kokonaisuuden selkeämmin ja johdonmukaisemmin esille. Fotosysteemien nimet tulevat siitä, että PS I on havaittu ennen PS II:ta.

## **2 Historiallinen näkökulma fotosynteesiin**

### **2.1 Fotosynteesi-tutkimuksen tiivistetty historia**

Tämä tutkielma käsittelee pääosin vettä hapettavaa eli oksygeenistä fotosynteesiä. Siksi tämä tutkimuksen historiaa käsittelevä osuus on rajattu vastaavasti.

**1727** Englantilainen S. Hales: Vesihöyryn tilavuus kasvin ympärillä muuttuu kasvatettaessa kasvia suljetussa tilassa.

**1754** Sveitsiläinen C. Bonnet: Nesteeseen upotetut kasvin lehdet tuottavat kuplia.

**1772** Englantilainen J. Priestley: Kasvi "puhdistaa" kynttilän saastuttamaa ilmaa. Samoihin aikoihin Antoine Lavoisier rupesi käyttämään hapesta termiä happi.

**1779** Hollantilainen J. Ingen-Housz: Ymmärsi kasvien tarvitsevan auringon valoa, jotta näitä kummallisia kuplia muodostuisi. Myöhemmin, vuonna 1796, hän ymmärsi kasvin tarvitsevan hiilidioksidia hiilen lähteeksi.

**1818** Ranskalaiset Pelletier ja Caventou: Nimesivät lehtien vihreät pigmentit klorofylleiksi.

**1837** Saksalainen H. von Mohl: Löysi kloroplastin.

**1845** Saksalainen J. R. Mayer: Valon energiaa muutetaan kemialliseksi energiaksi.

**1862** Saksalainen J. von Sachs: Löysi ensimmäisen fotosynteesin näkyvän tuotteen, tärkkelyksen.

**1874–1877** Venäläinen C. Arkad'evitch: Punainen valo on fotosynteesille tehokkainta.

**1893** Amerikkalainen Barnes: Ehdotti tapahtumalle nimeä fotosyntaksi (fotosyntax) tai vaihtoehtoisesti fotosynteesi (photosynthesis).

**1905** Mereschkowsky: Kloroplastit kasveille syanobakteereilta. (Govindjee et al., 2004)

**1915** Saksalainen R. Willstätter: Nobel-palkinto klorofyllitutkimuksista.

**1930** Saksalainen H. Fischer: Nobel-palkinto hemiin ja klorofyllirakenteiden selvittämisestä ja hemiin totaalisynteesistä.

**1931** Saksalainen O.H. Warburg: Respiratoristen entsyymien luonteesta saatu Nobel-palkinto.

**1961** Amerikkalainen M. Calvin: Nobel-palkinto hiilidioksidin assimilaatiosta kasveissa.

**1965** Amerikkalainen R.B. Woodward: Nobel-palkinto huomattavista saavutuksista orgaanisen synteesin taidoissa, erityisesti klorofylli a:n totaalisynteesistä.

**1978** Englantilainen P.D. Mitchell: Nobel-palkinto kemiosmoositeorian avulla selitetystä biologisen energian siirtymisestä.

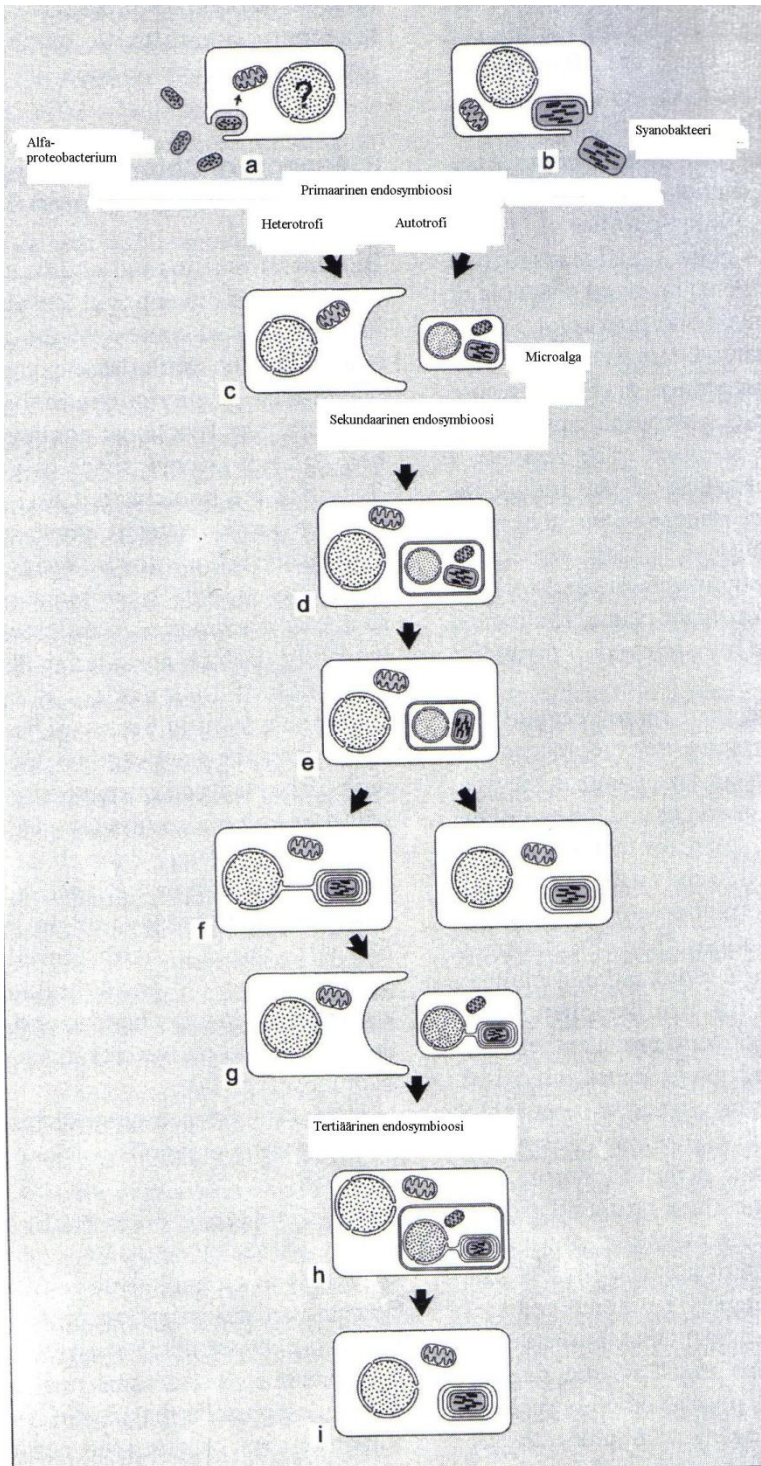
**1988** Saksalaiset J. Deisenhofer, R. Huber ja H. Michel: Nobel-palkinto fotosynteesin reaktiokeskuksen 3D-rakenteen selvittämisestä.

**1992** Amerikkalainen R.A. Marcus: Sai Nobel-palkinnon elektroninsiirtoreaktioita koskevista tutkimuksistaan.

**1999** Egyptiläinen A.H. Zewail: Sai Nobel-palkinnon femtosekunti-spektroskopian käytöstä tutkittaessa kemiallisten reaktioiden siirtymätiloja. (Govindjee et al., 2004; Govindjee ja Krogmann, 2004; Hynninen, 1990)

## **2.2 Fotosynteesin evoluutio**

Fotosynteesin mekanismi on monimutkaisen evoluutioprosessin tulos, joka on kehittynyt miljardien vuosien aikana ja se kehittyy yhä. On todennäköistä, että kasvien kloroplasti on kehittynyt eri organismien lukuisten endosymbioosien tuloksena. Klorofyllin kehittyminen on alkanut noin 3,5–3,85 miljardia vuotta sitten. Huomioitavaa on, että siihen ei ole kulunut kuin 600–800 miljoonaa vuotta Maapallon muodostumisesta. (Amunts ja Nelson, 2008; Herrmann ja Westhoff, 2001) Kloroplastin evoluution kulkua on selitetty endosymbioositeorialla (Tirri et al., 2003, 140) ja sen mukaan kloroplastin kehittyminen on alkanut fotoautotrofisen eli omavaraisen syanobakteerin endosymbioosilla mitokondrioita sisältävään heterotrofiseen eli toisenvaraiseen soluun (kuva 1, kohta b). Toisaalla heterotrofisen prokaryootti (*α-proteobacterium*) on päätenyt prokaryoottiseen tai protoeukaryoottiseen soluun endosymbioosin avulla (kuva 1, kohta a). Näitä tapahtumia kutsutaan primaarisiksi endosymbioosiksi. Kuvan 1 kohdissa c-f tapahtuu sekundäärinen endosymbioosi, jossa muodostuu kompleksinen plastidi. Kohdassa c heterotrofisen solu ottaa sisäänsä fotoautotrofisen mikrobin (*microalgae*). Kuvan 1 kohdissa g-h muodostuu plastideja tertiäärinen endosymbioosin kautta. (Herrmann ja Westhoff, 2001)



KUVA 1 Fotosynteesin evoluutio suomennettu lähteestä (Herrmann ja Westhoff, 2001).

### 3 Fotosynteesin edellytykset

Valon merkitys fotosynteesissä on erittäin tärkeä. Valon lisäksi rajoittavana tekijänä fotosynteesissä voi olla joko lämpötila tai veden, hiilidioksidin tai ravinteiden saatavuus. Nämä osatekijät voivat toimia rajoittavina elementteinä yksin tai yhdessä, jolloin kasvi fotosyntetisoi rajoitetusti. (Lawlor, 2001, 1-3)

#### 3.1 Valo

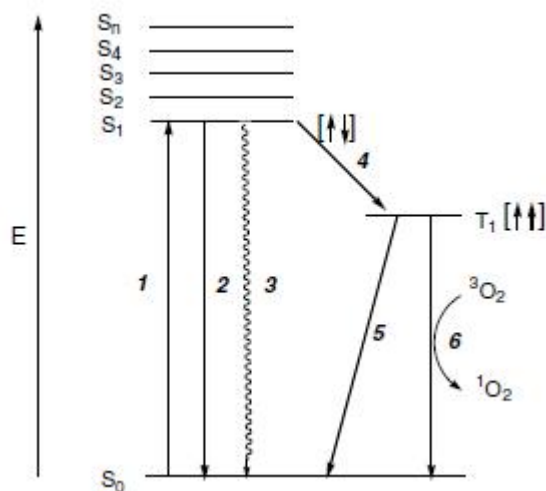
Valo on kasveille elintärkeä energianlähde. Kasvit saavat energian lisäksi valosta informaatiota ympäristöstä. Itäessään siementen idut suuntaavat kohti valoa. Valolle altistuminen saa aikaan mm. sirkkalehtien aukeamisen ja fotosynteettisten pigmenttien kuten klorofyllien ja karotenoidien syntetisoimisen. (Malakhov ja Bowler, 2001) Fotosynteesin kehittyneimmässä muodossa, oksygeenisessä fotosynteesissä, muodostetaan samaan aikaan hiilihydraatteja  $CO_2$  :sta ja  $H_2O$  :stä kun valoenergiaa absorboidaan. (Ihalainen, 2002) Oksygeeninen fotosynteesi voidaan esittää seuraavanlaisena hapetus-pelkistysreaktiona:

Kaava 1:  $6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow{\text{valo}} 6O_2 + (C_6H_{12}O_6) + 6H_2O + 2870 \text{ kJ/mol}$ . (Whitmarsh ja Govindjee, 1995)

Molekyylin, esimerkiksi klorofyllin, absorboidessa valoa elektroni siirtyy korkeampienergiselle molekyyliorbitaalille. Elektroni siirtyy elektroniselta perustilalta viritystilalle. Koska valo on energiaa, niin aineen absorboidessa valoa aineen molekyylien energiapitoisuus kasvaa. Kun viritystilan orbitaalilla olevan yksinäisen elektronin spin on vastakkaisuuntainen verrattuna perustilan ylimmän orbitaalin parittomaksi jääneen elektronin spinniin, niin kyseessä oleva viritystila on singlettitila. (Nyman ja Hynninen, 2004; Zubay, 1988, 570-571)



Singlettitilaa merkitään S-kirjaimella. Singlettitilan kokonaisspin  $S = \frac{1}{2} + (-\frac{1}{2}) = 0$ . Kerrannaisuus eli multiplisiteetti on  $2S + 1 = 1$ . Triplettitilan kokonaisspin on  $\frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$ , koska viritystilan orbitaalien ja perustilan ylimmän orbitaalien parittomat elektronit ovat samansuuntaiset. Tämä spin on periaatteessa kielletty, mutta se on tarpeeksi pitkäikäinen ottamaan osaa kemiallisiin reaktioihin. Kerrannaisuus on tällöin kolme, ja triplettitilaa merkitään T-kirjaimella.  $S_0$  on perustila ja  $S_1$  on ensimmäinen virittynyt singlettitila.  $T_1$  on ensimmäinen virittynyt triplettitila, katso kuva 2. Molekyylin viritys voi  $S_1$ -tilalta purkautua siten, että muodostuu fluoresenssi-säteilyä tai voi tapahtua sisäinen konversio. Vaihtoehtoisesti voi tapahtua systeemien välinen siirtymä singlettitilalta  $S_1$  triplettitilalle  $T_1$ . Tämä välivaihe voi purkautua fosforesenssinä. Kuvan 2 kohdassa 6 muodostuu reaktiivista singlettihapetta  $^1O_2$  energian siirtyessä  $T_1$ -tilalta triplettihapelle  $^3O_2$ . (Nyman ja Hynninen, 2004; Zubay, 1988, 564)



KUVA 2 Modifioitu Jablonskin diagrammi. Fotofysikaalisia prosesseja. (Nyman ja Hynninen, 2004)

Fotofysikaaliset prosessit: **1.** absorptio, **2.** fluoresenssi, **3.** sisäinen konversio, **4.** järjestelmän sisäinen ylitys, **5.** fosforesenssi **6.** singlettihapen muodostus.

Kaksi tärkeintä fotosynteesilaitteiston proteiini-kompleksia ovat PS I ja PS II. Nämä muodostuvat reaktiokeskuksesta (RC) ja valoa keräävistä komplekseista (LHC). LHC:n antenniklorofyllit ja karotenoidit absorboivat valoenergian. (Ihalainen, 2002; Yoshihara ja Kumazaki, 2000)

Fotosynteesissä on mahdollista absorboida valoa aallonpituusalueella 350–1050 nm. Fotosynteettisiä pigmenttejä on lukuisia erilaisia ja niiden absorptiospektrit ovat erilaisia. (Hynninen ja Leppäkases, 2004) Ihmissilmä näkee aallonpituusalueen 400–800 nm ja tätä säteilyä kutsumme usein näkyväksi valoksi. (Lawlor 2001, 17) On arvioitu, että fotosynteesissä muodostuu noin  $5 \times 10^{10}$  tonnia orgaanista hiiltä samalla kun siinä vapautuu  $13 \times 10^{10}$  tonnia happea ja sidotaan  $20 \times 10^{11}$  tonnia hiilidioksidia. (Hynninen ja Leppäkases, 2004)

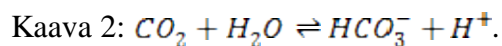
Fotosynteesi toimii ihmeellisellä tehokkuudella. Kun antenniklorofyllit ja karotenoidit ovat ensin absorboineet valon ja muuntaneet sen singlettitilojen viritysenergiaksi, ne johtavat viritysenergian pikosekunneissa reaktiokeskuksiin (RC), joissa se muunnetaan kemialliseksi energiaksi varausten erkanemisprosessin kautta. Energiansiirrolle on esitetty erilaisia näkemyksiä, joista Försterin dipoli-dipoli-vuorovaikutusteoria on ollut vallitsevin. Siinä viritysenergian siirtonopeus on kääntäen verrannollinen donorin ja akseptorin välisen etäisyyden kuudenteen potenssiin. (Lawlor, 2001, 26; Hynninen, 1990; Hynninen ja Leppäkases, 2004)

### **3.2 Hiilidioksidi**

Fotosynteesissä hiilidioksidin saatavuus on yksi perusedellytys, jotta reaktio olisi edes mahdollinen. Hiilidioksidia tarvitaan sokeriyhdisteiden muodostamiseen PCR-syklissä. (Calvin ja Bassham, 1962, 8) PCR-sykli on usein nimetty yhden löytäjänsä mukaan Calvinin sykliksi, mutta kuvaavampi nimi tälle monimutkaiselle reaktioiden sarjalle olisi fotosynteettinen hiilen pelkistys-sykli eli PCR-sykli (photosynthetic carbon reduction cycle). (Lawlor, 2001, 140) PCR-syklissä Rubisco eli ribuloosi-1,5-bisfosfaattikarboksyylaasi-oksygenaasi katalysoi hiilidioksidin liittymistä ribuloosi-1,5-bisfosfaattiin eli RuBP:iin. Rubisco on maapallon yleisin entsyymi ja tärkein entsyymi biomassan tuottamisessa hiilidioksidista. (Gutteridge ja Jordan, 2001) Rubiscon aktivaatioon tarvitaan kahden arvoista magnesium-iona ( $Mg^{2+}$ ). Se auttaa hiilidioksidia sitoutumaan reaktion välivaiheessa stabiloimalla negatiivista varausta. (Berg et al., 2006, 568)

Kansainvälisen ilmastonmuutospaneelin (IPCC, International Panel on Climate Change) mukaan vuonna 1990 hiilidioksidia oli ilmassa 354 µl/l ja se tulee kohoamaan vuoteen 2050 mennessä arvoon 530 µl/l ja tämän jälkeen nousten aina 700 µl/l arvoon asti vuosisadan loppuun mennessä. Tämä vaikuttaa fotosynteesiin siten, että se lisää nettofotosynteesin määrää tiettyyn hiilidioksidin osakonsentraatioarvoon asti. Aihe on tärkeä etenkin ilmastonmuutosta käsiteltäessä. (Vandermeiren et al., 2002)

Ilman hiilidioksidi diffundoituu lehden ilmarakojen kautta sytoplasmaan. CO<sub>2</sub> kuljetetaan kloroplastiin joko kaasuna tai bikarbonaattina sytoplasmaan liuenneena:



Hiilidioksidi ja bikarbonaatti kuljetetaan aktiivisesti membraanien läpi ennen kuin ne pääsevät osallistumaan PCR-sykliin. (Lüttge, 2007)

### 3.3 Vesi

Fotosynteesissä hiilidioksidin lisäksi toinen tarvittava lähtöaine reaktioon on vesi. Sitä kasvit ottavat ympäristöstään erilaisin menetelmin. Pääasiassa maakasvit saavat fotosynteesiin tarvittavan vetensä osmoosin ja juuripaineen avulla maasta. (Tirri et al., 2003, 515) Vettä hajotetaan hapeksi ja vedyksi PS II:n lähellä olevassa happea kehittävässä kompleksissa (OEC). (Hynninen ja Leppäkases, 2004)

### 3.4 Lämpö

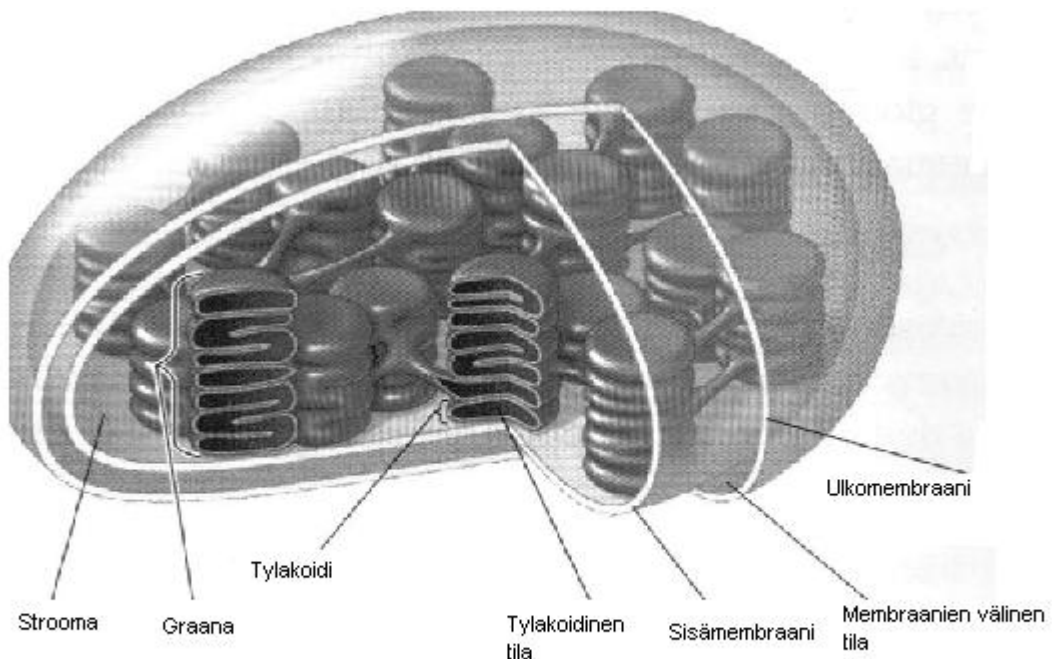
Lämpötila vaikuttaa selvästi fotosynteesin tehokkuuteen. Fotosynteesin lämpötila erilaisilla kasveilla voi vaihdella hyvinkin paljon, esim. aavikon kasvit ja tundran kasvit. (Lawlor, 2001, 329-331) Lämpötilan nousu lisää niin hiilidioksidin kuin hapenkin liukoisuutta veteen ja tämä vaikuttaa siten, että enemmän substraattia on mahdollista liittyä RuBP:iin. (Gutteridge ja Jordan, 2001) Liian korkeissa tai matalissa lämpötiloissa RuBP:n tarjonta vähenee adenosiinitrifosfaatin (ATP) ja pelkistyneen nikotiiniamidiadeniini-dinukleotidifosfaatin (NADPH) synteesien vähenemisen seurauksena. Kasvit voivat adaptoitua eri lämpötiloihin. Se on erittäin monimutkainen ja lajista riippuva prosessi. (Lawlor, 2001, 329-331)

### 3.5 Muut ravinteet

Kasvit tarvitsevat ympäristöstään monia erilaisia kemiallisia aineosia voidakseen muodostaa monimutkaisia rakenteita ja järjestelmiä. Nämä ravinteet toimivat rajoittavina tekijöinä kasvin kasvussa ja näin ollen myös fotosynteesissä. Jos tarvittavan aineosan tarjonta on pienempi kuin kasvin tarve, fotosyntetisoiva kasvi rajoitetusti. Näin tietysti on vain, jos muut vaadittavat osatekijät ovat suotuisia. Esimerkiksi tyypeä kasvi tarvitsee klorofylleihin ja yleisesti proteiineihin ja rautaa muodostamaan Riesken rauta-rikki-keskuksia, ferredoksiineja ja sytokromeja, jotka ovat tärkeässä osassa elektronien kuljetuksessa. (Lawlor, 2001, 343)

## 4 Kloroplastin rakenne

Kloroplasteja on kasvin lehdissä noin puoli miljoonaa kappaletta neliömillimetriä kohden. Kloroplastit sijaitsevat pääosin lehtien sisärakenteissa, mesofyllissä. Kloroplastin ympäröi kaksi kalvoa (kuva 3). Kloroplastin sisällä olevat kalvorakenteet, joita nimitetään tylakoideiksi, ovat pakkaantuneet kimpuiksi. Kimppuja kutsutaan graanoiksi. Stroomassa on nestettä, joka ympäröi tylakoideja. Strooman ja tylakoidisen tilan eli lumenin erottavat toisistaan tylakoidien kalvorakenteet. (Campbell et al., 2008, 187)

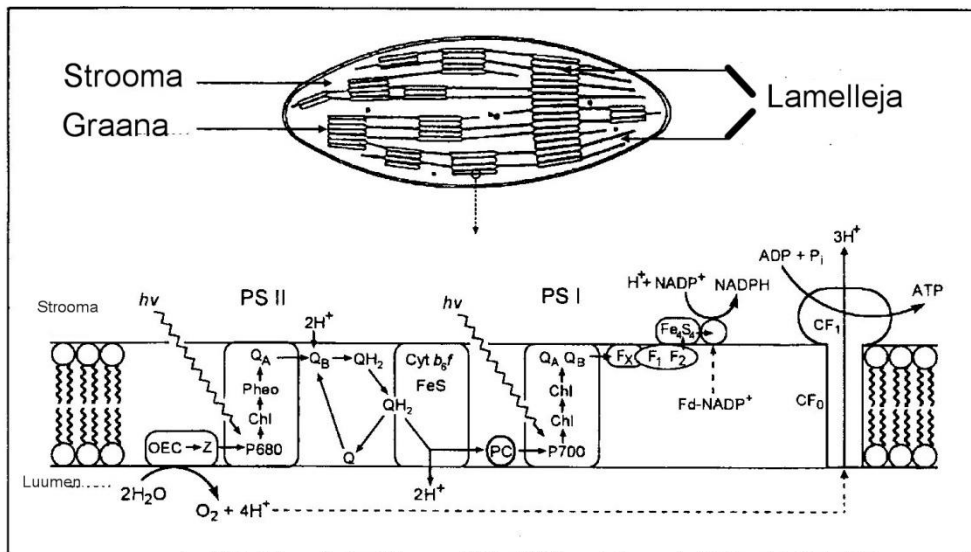


KUVA 3 Kloroplasti, (Campbell et al., 2008, 187)

## 5 Energian ja elektronien kulku

### 5.1 Valoreaktiot

Oksygeenisten eli vettä hapettavien organismien fotosynteesilaitteisto sijaitsee kloroplastien tylakoidimembraanissa. Laitteistoa kutsutaan Emersonin ja Arnoldin fotosynteettiseksi yksiköksi (PSU). Se koostuu kahdesta toisiinsa vahvasti kytkeytyneestä fotosysteemistä. Nämä fotosysteemit, PS I ja PS II, toimivat yhteistyössä valonkeruussa ja energian- ja elektroninsiirrossa, katso kuva 4. (Hynninen ja Leppäkases, 2004)



KUVA 4 Vettä hapettavien organismien fotosynteesilaitteisto (Hynninen ja Leppäkases, 2004)

Lyhenteet: OEC = happea kehittävä kompleksi, Z = elektroneja välittävä komponentti, joksi on ehdotettu proteiinin tyrosiinijäännöstä ( $\text{Tyr}_Z$ ), P680 = PS II:n reaktiokeskusklorofylli, Chl = klorofylli, Pheo = feofytiini,  $Q_A$  ja  $Q_B$  = kinoneita, Cyt  $b_6f$  = sytokromi  $b_6$  ja sytokromi f, FeS = rautasulfidikeskus, PC = plastosyaniini,  $F_X, F_A, F_B, Fe_4S_4$  = ferredoksiineja,  $CF_0 - CF_1$  = ATP-syntaasi

### 5.1.1 Fotosysteemi II

PS II on klorofylliproteiinikompleksien dimeeri, joka sisältää 17 alayksikköä. Niihin on sitoutunut non-kovalenttisesti 35-40 klorofylliä ja 8-12 karotenoidia. (Fromme et al. 2006)

PS II muodostuu reaktiokeskuksesta ja valoakeräävistä komplekseista eli antennisysteemistä. PS II:n tärkein tehtävä on elektronien riisto vesimolekyyleiltä. PS II katalysoi elektroninsiirtoa vedeltä plastokinonille. PS II:ssa muodostuu neljä elektronia ja neljä protonia aina kahta vesimolekyyliä kohden:

Kaava 3:  $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$ . (Hynninen, 1990; Hynninen ja Leppäkases, 2004)

PS II:ssa valo kerätään pigmenttiproteiinien muodostamien antennien avulla ja viritysentergia johdetaan nopeasti energiapyydyksiin. PS II:n antennisysteemi sisältää noin 40 antenniklorofylliä. PS II:n energiapyydyys ja reaktiokeskusklorofylli on P680 klorofyllierikoispari, joka viritysentergian siihen saapuessa hapettuu kationiradikaaliksi (P680<sup>•+</sup>). (Hynninen, 1990; Fromme et al., 2006) P680 on saanut nimensä siitä, että sen absorption huippu on aallonpituudella 680 nm. (Fromme et al., 2006) PS II:n välittömässä läheisyydessä on vettä hajottava entsyymi (water-splitting enzyme = water-oxidizing complex, WOC = oxygen-evolving complex, OEC). Se sisältää mangaaniatomien klusterin. Tätä kyseistä entsyymiä on kutsuttu jopa maailman tärkeimmäksi entsyymiksi. (Hynninen ja Leppäkases, 2004)

P680:lta elektroni siirretään feofytiinille. Tältä elektroni jatkaa matkaa kinonille Q<sub>A</sub>. Q<sub>B</sub> vastaanottaa kaksi elektronia ja muodostunut Q<sub>B</sub><sup>2-</sup> sitoo itseensä kaksi protonia H<sup>+</sup> jatkaen eteenpäin sitoutumiskohdasta Q<sub>B</sub>H<sub>2</sub>:na mahdollisesti lipidimerta pitkin sytokromi b<sub>6</sub> ja sytokromi f -kompleksille (Cyt b<sub>6</sub>f). Tämä kompleksi riistää pelkistyneeltä kinonilta kaksi protonia ja kaksi elektronia. Hapettunut kinoni palaa kinonilammikkoon (quinone pool) ja sieltä täydennetään PS II:n tyhjäksi jäänyt kinonin paikka. (Hynninen, 1990; Voet ja Voet, 2004, 886-887)

Vettä hapettava kompleksi, WOC eli happea kehittävä kompleksi, OEC on PS II:n mielenkiintoisin osio. WOC sisältää neljän mangaaniatomin muodostaman klusterin, joka on sitoutunut PS II:n proteiiniin D1. Veden hajottamisessa tärkeitä ovat myös  $Ca^{2+}$ - ja  $Cl^-$ -ionit.  $Ca^{2+}$ -ioni on sitoutunut yhteen neljän Mn-atomin kanssa. On todennäköistä, että kolme Mn-atomia ja  $Ca^{2+}$ -ioni muodostavat yhdessä oman kompleksin neljännen Mn-atomin ollessa etäämmällä. (Fromme et al., 2006)

WOC akkumuloi kahdesta vesimolekyylistä muodostuneet neljä elektronia ja lähettää ne yksi kerrallaan elektroneja välittävälle komponentille, Z. Z siirtää elektronin elektronivajaalle klorofylli-erikoisparille,  $P680^{*+}$ , joka pelkistyy alkuperäiseen muotoonsa, P680). Virittyneeltä  $P680^*$  klorofylli-erikoisparilta elektroni siirtyy klorofylli a:n, feofytiini a:n,  $Q_A$ :n,  $Q_B$ :n ja Cyt  $b_6f$ -kompleksin välityksellä mobiilille plastosyaniinille, PC, joka siirtää elektronin PS I:n klorofylli-erikoisparin kationi-radikaalille,  $P700^{*+}$ . (Hynninen ja Leppäkases, 2004)

OEC:sta ja Cyt  $b_6f$ :sta muodostuneet protonigradientit käytetään ATP-syntaasin  $CF_0 - CF_1$ :ssä muodostamaan ATP:tä. Nämä ATP-molekyylit ja valoreaktioiden toinen päätuote pelkistynyt NADPH käytetään PCR-syklissä muodostettaessa sokeria. (Lawlor, 2001, 121)

### **5.1.2 Fotosysteemi I**

PS I on erittäin suuri membraaniproteiinikompleksi. PS I katalysoi valoenergian siirtymistä plastosyaniini-proteiinilta, joka sijaitsee tylakoidin lumenin puoleisella osalla kalvoa, ferredoksiinille, joka sijaitsee tylakoidin strooman puoleisella osalla kalvoa. Niin oksygeenisiltä kuin ei-oksygeenisiltä fotosynteesiin kykeneviltä organismeilta löytyy PS I. (Fromme et al., 2006)

Kasveilla PS I-kompleksissa on kaksi toimintayksikköä: reaktiokeskus ja antennisysteemi, vrt. PS II. PS I koostuu 11-13 proteiinialayksiköstä, joista kaksi suurinta, PsaA ja PsaB, muodostavat heterodimeerin, johon on sitoutunut valtaosa antennipigmenteistä (klorofyllit ja karotenoidit). (Gobets ja van Grondelle, 2001; Fromme et al., 2006) LHC:n tärkein tehtävä on valokvanttien kerääminen ja viritysen energian johtaminen reaktiokeskukseen. Siellä viritysen energia muunnetaan elektrokemialliseksi potentiaaliksi (Hynninen, 1990).

Reaktiokeskus klorofylli P700:ssa plastosyaniinilta saadut elektronit viritetään uudelleen valosta saadulla viritysen energialla. Viritysen energiaa pyydystää PS I:ssä P700 klorofyllierikoispari. P700:lta elektroni kuljetetaan välivaiheiden kautta kinonille  $Q_A$ , jolta elektroni siirtyy kinonille  $Q_B$ , kuten kuva 4 asiaa visualisoi. Fotosysteemi I:n virittyessä syntynyt pelkistin pelkistää ferredoksiinin, joka ferredoksiini-NADP<sup>+</sup>-oksidoreduktaasin kautta pelkistää NADP<sup>+</sup>:n NADPH:ksi. NADPH siirtyy PCR-sykliin, jossa sitä tarvitaan pelkistimeksi hiilihydraattien synteesissä. P700 on saanut nimensä vastaavasti kuin PS II:n P680. Sen absorptio huippu on aallonpituudella 700 nm. (Gobets ja van Grondelle, 2001; Hynninen ja Leppäkaskes, 2004; Lawlor, 2001, 98)

Yhteensä neljä kahdelta happimolekyyliltä riistettyä elektronia kuljetetaan kahdelle NADP<sup>+</sup>-molekyylille, jolloin muodostuu kaksi NADPH-molekyylä. Tähän tarvitaan yhteensä 8–10 näkyvän valon fotonia.

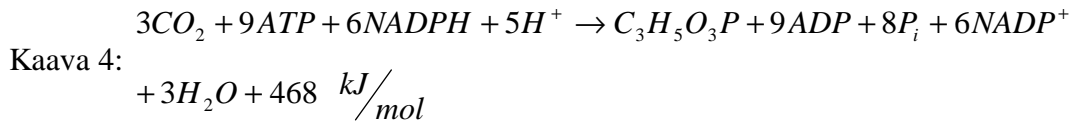
## 6 Pimeäreaktiot

Pimeäreaktiot tapahtuvat pääasiassa, kuten valoreaktiotkin, lehtien kloroplasteissa. Pimeäreaktioiden säätely vaatii valoa. Pimeäreaktiot nimi voi tässä tapauksessa johtaa harhaan. (Lawlor, 2001, 139)

### 6.1 PCR- sykli

PCR-sykli tunnetaan paremmin Calvinin syklinä. Muita vaihtoehtoisia nimiä ovat esim. Calvin-Bassham-sykli, pelkistävä pentoosifosfaatti-reitti tai fotosynteesisykli. Kuvaavin nimi syklille on PCR-sykli, joka selvittää sen luonnetta parhaiten. PCR-sykli nimestä selviää tapahtuman olevan hiileen, pelkistymiseen ja fotosynteesiin liittyvä ja lisäksi syklimäinen. Reaktio monimutkaisuutta kuvaa reaktioyhtälö, josta selviää hiilidioksidin hiilen liittyminen sykliin:





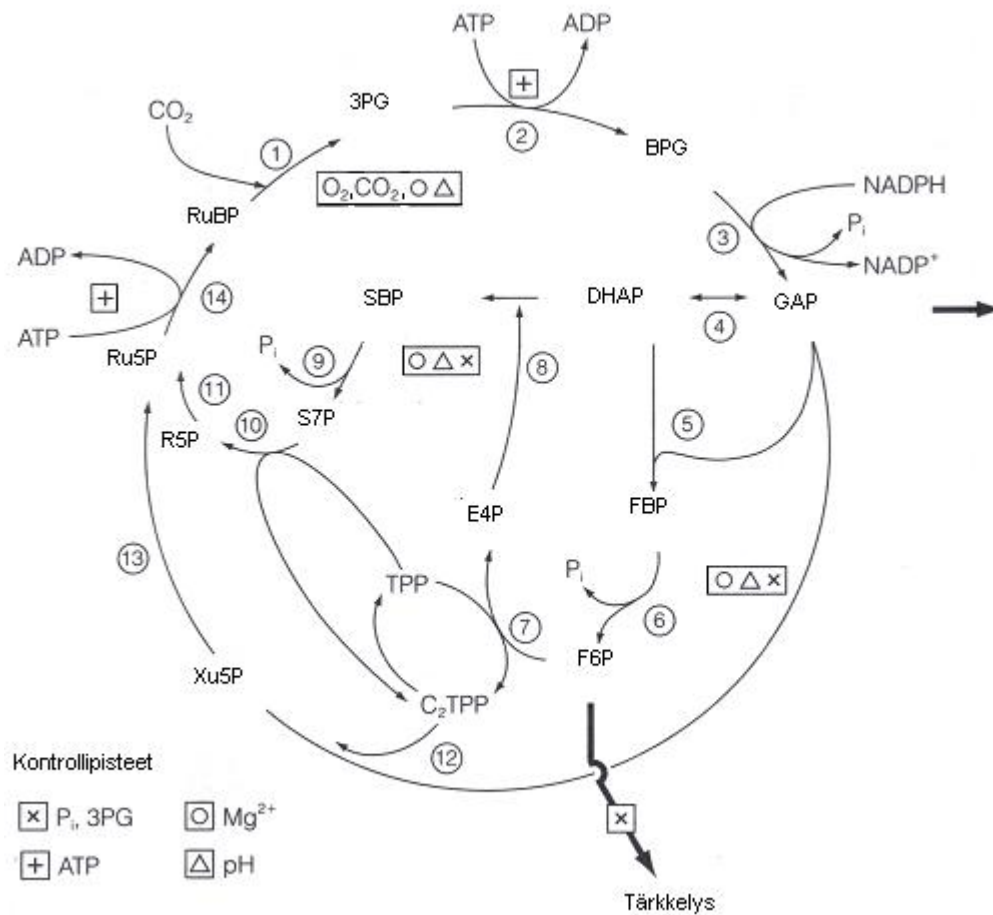
Kaava 4:

(Lawlor, 2001, 140-141)

Tämä reaktioyhtälö kuvaa PCR-syklin osan, jossa muodostuu glyseraldehydi-3-fosfaattia (GAP, trioosifosfaatti). Tätä hiilen liittymistä kutsutaan myös C3 fotosynteesiksi, ensimmäisen stabiilin tuotteen, GAP, mukaan. Kahta tätä sykliä täydentävää fotosynteesin muotoa sanotaan C4 ja CAM fotosynteesiksi. Tässä työssä näitä ei tarkastella erikseen, sillä niiden periaatteet ovat samat kuin C3 fotosynteesissäkin. C4 fotosynteesin ensimmäinen stabiili tuote on neljän hiilen ketju. Kasveista esim. sokeriruoko ja maissi noudattavat tätä vaihtoehtoista sykliä. CAM fotosynteesi on erikoistunut sykli etenkin kuivissa olosuhteissa kasvavilla kasveilla. C3 fotosynteesi on 13-osainen karboksylaattisykli, jossa on mukana 11 entsyymiä. PCR-syklin tarkoitus on muodostaa RuBP:ta myöhempään hiilidioksidin liittämiseen eli pitää sykli jatkuvana. Syklin toiminnan jatkuvuuden kannalta ylimääräinen hiili kuljetetaan kloroplastista GAP:na tai käytetään muodostamalla tärkkelystä kloroplastissa. (Campbell et al., 2008, 203; Lawlor, 2001, 141)

Karboksylaatiassa entsyymi nimeltään Rubisco katalysoi RuBP:n ja hiilidioksidin reaktiota, jossa muodostuu kaksi 3-fosfoglyseraattimolekyyliä (3PG), katso reaktiota 1 kuvasta 5. Toisessa vaiheessa 3-fosfoglyseraattikinaasi fosforyloi ATP:n avulla 3PG:n reaktiivisemmalle tasolle (reaktio 2). Kolmas vaihe on trioosifosfaattidehydrogenaasi-entsyymien katalysoima. Tämä entsyymi tarvitsee NADPH-koentsyymiä reaktioon. Tämä on ainoa pelkistysreaktio PCR-syklissä ja on tämän vuoksi erityisen merkittävä (reaktio 3). Siinä muodostuu GAP:a, joka muokataan trioosifosfaatti-isomeraasin avulla dihydroksiasetonifosfaatiksi (DHAP) (reaktio 4). Reaktiossa 5 trioosifosfaatit kondensoidaan kuuden hiilen ketjuksi fruktoosi-1,6-bisfosfaatiksi (FBP). Tämä reaktio tapahtuu alkalisissa olosuhteissa kloroplastin stroomassa. FBP defosforyloidaan reaktiossa 6 fruktoosi-6-fosfaatiksi (F6P) fruktoosibisfosfataasin avulla. Tämä kohta ei ole reversiibeli ja toimii yhtenä kontrollipisteenä koko syklille. (Lawlor, 2001, 143)

Reaktiossa 7 transketolaasi poistaa niin F6B:n kuin sedoheptuloosi-7-fosfaatin (S7P) hiiliketjusta kahden hiilen pätkän. S7P on reaktiossa kiinnittynyt tiamiinipyrofosfaattiin (TPP). Tässä reaktioiden summana muodostuu erytroosi-4-fosfaattia (E4P) ja TPP:ta, johon on sitoutunut kahden hiilen yksikkö. E4P reagoi aldolaasin katalysoimassa reaktiossa DHAP:n kanssa muodostaen sedoheptuloosi-1,7-bisfosfaattia (SBP) (reaktio 8). Tämä defosforyloidaan sedoheptuloosibisfosfataasi-entsyymillä, jolloin muodostuu S7P:tä. S7P:tä käytetään jo mainitun seitsemännen reaktion lisäksi riboosi-5-fosfaatin muodostamiseen reaktiossa 10. Saatu riboosi-5-fosfaatti muutetaan ribuloosi-5-fosfaatiksi eli Ru5P:ksi reaktiossa 11 isomeraasin avulla. Toinen viiden hiilen sokeri, ksyluloosi-5-fosfaatti (Xu5P), muodostuu reaktiossa 12 transketolaasin avulla. Tämä Xu5P muokataan Ru5P:ksi fosfopentoosi-epimeraasin avulla. Viimeisin vaihe (reaktio 14) on Ru5P:n fosforylaatio, jossa kuluu ATP:tä samalla kun muodostuu RuBP:a kinaasin katalysoimassa reaktiossa. (Lawlor, 2001, 143)



KUVA 5 PCR-sykli (Lawlor, 2001, 141)

Lyhenteet: 3PG = 3-fosfoglyseraatti, BPG = glyseroli-1,3-bisfosfaatti

GAP = glyseraldehydi-3-fosfaatti, FBP = fruktoosi-1,6-bisfosfaatti

F6P = fruktoosi-6-fosfaatti, TPP = tiamiinipyrofosfaatti

E4P = erytroosi-4-fosfaatti, DHAP = dihydroksyasetonifosfaatti

SBP = sedoheptuloosi-1,7-bisfosfaatti, S7P = sedoheptuloosi-7-fosfaatti

Xu5P = ksyluloosi-5-fosfaatti, R5P = riboosi-5-fosfaatti

Ru5P = ribuloosi-5-fosfaatti, RuBP = ribuloosi-1,5-bisfosfaatti

NADPH = pelkistynyt nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaatti,

ATP = adenosinitrifosfaatti

Rubiscon merkitys syklissä on todella suuri. Lehden sisällä olevista liukoisista proteiineista on arvioitu olevan jopa 50 prosenttia Rubiscoa. Rubiscon tärkeyden takia sitä on tutkittu erittäin paljon. Se on poikkeuksellisen hidas katalysaattori. RuBP:lla on karboksylaatioreaktio hiilidioksidin kanssa samaan aikaan, kun sillä on kilpaileva sivureaktio hapen kanssa eli oksygenaatio. (Andersson ja Backlund, 2008; Lawlor, 2001, 144; Lüttge, 2007)

Karboksylaatioreaktio:

Kaava 5:  $RuBP + CO_2 = 2 \times 3 - PGA$  .

Oksygenaatioreaktio:

Kaava 6:  $RuBP + O_2 = fosfoglykolaatti(PG) + 3 - PGA$  . (Roy ja Andrews, 2000)

Karboksylaatio- ja oksygenaatioreaktiot kilpailevat keskenään. Oksygenaatioreaktiossa muodostunut fosfoglykolaatti kuljetetaan kloroplastin ulkopuolelle ja käytetään hyväksi fotorespiraatioissa, joka tapahtuu mitokondrioissa ja peroksisomeissa. Karboksylaation reaktionopeus on neljä kertaa oksygenaation reaktionopeus normaaliolosuhteissa. Lämpötilan noustessa oksygenaatioreaktio nopeutuu enemmän kuin karboksylaatioreaktio. (Berg, 2006, 568; Lawlor, 2001, 146-154; Lüttge, 2007)

## 7 Fotosynteesin tuotteet

### 7.1 Hiiltä sisältävät

Kaikki kasvin käyttämä hiili, esimerkiksi sokereissa, on peräisin PCR-syklistä. Tämä hiili voidaan käyttää jatkossa joko glykolyysissä tai soluhengityksessä. Sokereista muodostetaan monia erityyppisiä sokereita ja polymeerejä varastoitaviksi tai käytettäviksi. Sokerit luokitellaan niiden sisältämien hiiliatomien perusteella. Esimerkiksi sokerituotteita ovat seuraavat sokerit: erytroosi (tetroosi), aribinoosi (pentoosi), glukoosi (heksoosi), fruktoosi (heksoosi), maltoosi (disakkaridi) ja tärkkelys (polysakkaridi). Tärkkelys (amyloosi ja amylopektiini) on tärkein muoto varastoida hiilivetyjä. Hiiltä varastoidaan myös sakkaroosina, joka on disakkaridi eli se muodostuu kahdesta monosakkaridista fruktoosista ja glukoosista. Se on myös yleinen muoto kuljettaa hiiltä kasvin sisällä. (Lawlor, 2001, 185-191)

## 7.2 Happi

Reaktioyhtälöstä (kaava 3) selviää, miksi fotosynteesissä muodostuu molekylaarista dihappea. Huomioitavaa on, että  $O_2$  on kasveille vain sivutuote fotosynteesissä ja se on niille jopa haitaksi. Toisaalta muille korkeamman tason toisenvaraisille eliöille dihappi on elintärkeä soluhengityksessä. Kaavasta 3 on tärkeää huomata, että fotosynteesissä muodostuva happimolekyyli on peräisin vedestä eikä hiilidioksidista. (Fromme et al., 2006)

## 8 Fotosynteesin kemiallisen näkökulman tärkeydestä

Fotosynteesi mielletään usein vain biologiseksi tapahtumaksi. Biologialla onkin merkittävä osuus fotosynteesin tutkimuksessa. Miksi myös kemiallinen näkökulma on tärkeä? Fotosynteesi on vahvasti sidottu kemiaan esimerkiksi näillä kuudella argumentilla:

1. Fotosynteesin tutkimuksessa on mukana lähes kaikki kemian osa-alueet, esimerkiksi fotokemia, elektrokemia, epäorgaaninen kemia, orgaaninen kemia, kvanttikemia, biokemia ja fysikaalinen kemia.
2. Klorofyllitutkimuksessa merkittävässä roolissa ovat erilaiset orgaanisen kemian reaktiot ja niiden mekanismeja koskevat teoriat, kuten nukleofiilien ja elektrofiilien reaktiot, substituutiot, eliminaatiot, vapaa-radikaalireaktiot, toisiintumiset, tautomeriat (keto-enoli-tautomeria ja NH-tautomeria metallivapailta klorofyllijohdoksilla), mesomeria eli resonanssi (tämä ei ole reaktio vaan yhdisteiden elektronirakenteita koskeva teoria), reduktiot ja oksidaatiot.
3. Tutkittaessa ja käsiteltäessä fotosynteesiä on pystyttävä luokittelemaan eri molekyylit, esim. klorofyllit, karotenoidit, kinonit ja proteiinit. Tähän kemia tuo ratkaisun.
4. Jotta pystyy ymmärtämään klorofyllien osuudet primaarisissa valoreaktioissa, on pystyttävä käsittelemään aihetta kemiallisesti. Myös esim. Rubisco entsyymin katalysoimien karboksylaatioreaktion ja oksygenaatioreaktion mekanismien ymmärtäminen vaatii syvällistä orgaanisen kemian reaktiomekanismien hallintaa.
5. Klorofyllit ovat toimineet tieteen historiassa erittäin hyvinä malliyhdisteinä ja tutkimuskohteina käsiteltäessä esim. seuraavia aiheita: klorofyllin elektronirakenne, elektronien delokalisaatio, aromaattisuus, energian siirto ja elektronin siirto. (Hynninen, 1991)

6. Tulevaisuudessa esim. terveyteen ja ympäristöön liittyvässä tutkimuksessa tarvitaan fotosynteesin kemiallista osaamista. Tästä hyviä esimerkkejä ovat: Rubiscon funktio ilmaston lämmetessä> (Andersson ja Backlund, 2008) ja klorofyllijohdokset syövän hoidossa. (Nyman ja Hynninen, 2004)

## Lähteet

1. Amunts, A. ja Nelson, N. *Plant Physiology and Biochemistry* **46** (2008) 228.
2. Andersson, I. ja Backlund, A. *Plant Physiology and Biochemistry* **46** (2008) 275.
3. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. ja Stryer, L. *Biochemistry*, 6. painos, W.H. Freeman and Company, New York, 2006.
4. Calvin, M. ja Bassham, J.A. *The Photosynthesis of Carbon Compounds*, W. A. Benjamin, Inc, New York, 1962.
5. Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V. ja Jackson, R.B. *Biology*, 8. painos, Pearson Education, Inc, San Francisco, 2008.
6. Fromme, P., Yu, H., DeRuyter, Y.S., Jolley, C., Chauhan, D.K., Melkozernov, A. ja Grotjohann, I. *Comptes Rendus Chimie* **9** (2006) 188.
7. Gobets, B. ja van Grondelle, R. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* **1507** (2001) 80.
8. Govindjee, Allen, J.F. ja Beatty, J.T. *Photosynthesis Research* **80** (2004) 1.
9. Govindjee ja Krogmann, D. *Photosynthesis Research* **80** (2004) 15.
10. Gutteridge, S. ja Jordan, D.B. teoksessa *Regulation of Photosynthesis*, Toimittaneet Aro, E. ja Andersson, B., Kluwer Academic Publishers, 2001, Alankomaat, luku 17: Dynamics of Photosynthetic CO<sub>2</sub> Fixation: Control, Regulation and Productivity.
11. Herrmann, R.G. ja Westhoff, P. teoksessa *Regulation of Photosynthesis*, Toimittaneet Aro, E. ja Andersson, B., Kluwer Academic Publishers, 2001, Alankomaat, luku 1: Thylakoid Biogenesis and Dynamics: The Result of a Complex Phylogenetic Puzzle.
12. Hynninen, P.H. teoksessa *Chlorophylls*, toimittanut Scheer, H., CRC Press, Inc, 1991, USA, luku 1.7: Chemistry of Chlorophylls: Modifications.
13. Hynninen, P.H. *Kemia-Kemi* **17** (1990) 241.
14. Hynninen, P.H. ja Leppäkases, T.S. teoksessa *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Physiology and Maintenance*. Toimittaneet Hänninen, O. O. P. ja M. Atalay, EOLSS, 2004, Oxford, UK; <http://www.eolss.net>. The Functions of Chlorophylls in Photosynthesis.
15. Ihalainen, J. *Spectroscopic studies on light-harvesting complexes of green plants and purple bacteria*, väitöskirja, Jyväskylän Yliopisto, Jyväskylä, 2002.

16. Lawlor, D.W. *Photosynthesis*, BIOS Scientific Publishers Limited, USA, 2001.
17. Lüttge, U. *Comptes Rendus Biologies* **330** (2007) 375.
18. Malakhov, M. ja Bowler, C. teoksessa *Regulation of Photosynthesis*, toimittaneet Aro, E. ja Andersson, B., Kluwer Academic Publishers, 2001, Alankomaat, luku 3: Phytochrome and Regulation of Photosynthetic Gene Expression.
19. Nyman, E.S. ja Hynninen P.H. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **73** (2004) 1.
20. Roy, H. ja Andrews, T. J. teoksessa *Photosynthesis : Physiology and Metabolism*, toimittaneet Leegood R.C., Sharkey T.D. ja von Caemmerer S. Kluwer Academic Publishers, 2000, Alankomaat, luku 3: Rubisco: Assembly and Mechanism.
21. Tirri, R., Lehtonen, J., Lemmetyinen, R., Pihakaski, S. ja Portin, P. *Biologian Sanakirja*, 2. painos, Kustannusosakeyhtiö Otava, Keuruu, 2003.
22. Vandermeiren, K., Black, C., Lawson, T., Casanova, M. A. ja Ojanperä, K. *European Journal of Agronomy* **17** (2002) 337.
23. Voet, D ja Voet J.G. *Biochemistry*, 3. painos, John Wiley & Sons, Inc, USA, 2004
24. Whitmarsh, J. ja Govindjee, *The Photosynthetic Process*, CH Publishers, Inc, 1995.  
<<http://www.life.uiuc.edu/govindjee/paper/gov.html>>, 3.2.2009.
25. Yoshihara, K. ja Kumazaki, S. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **1** (2000) 22.
26. Zubay, G.L. *Biochemistry*, 2. painos, Macmillan Publishing Company, New York 1988.

**Hyväksytty 24.02. 2009**



P. H. Hynninen

Orgaanisen kemian professori emer.