

La fotosintesi:

la luce solare permette l'organizzazione del carbonio,
quindi la vita della maggior parte degli organismi sul pianeta



Molti organismi (**non solo piante**) usano la luce solare come fonte di energia



(a) **Piante**



(b) **Alga pluricellulare**



(c) **Protista unicellulare**

5 μm



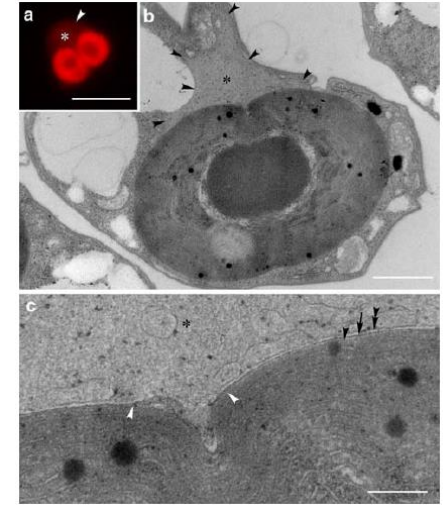
(d) **Cianobatteri**

20 μm

“Cyanelle”

cloroplasto primitivo con **parete di peptidoglicani**

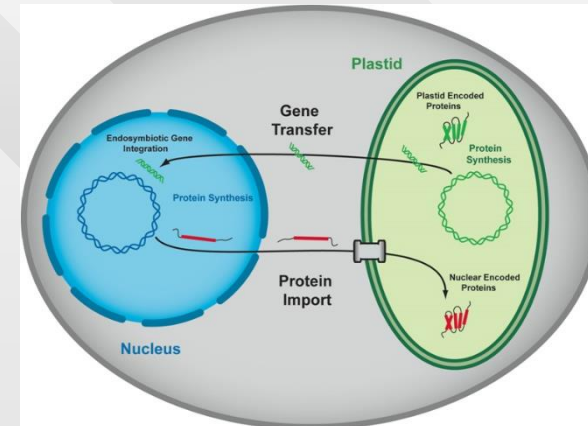
- Il **cyanelle** è circondato da una doppia membrana nel mezzo della quale si trova una **parete di peptidoglicani**
- Il genoma del cyanelle ha dimensioni simili a quello del cloroplasto e contiene geni per tRNA, rRNA e circa **150 proteine, un numero superiore rispetto a quelle prodotte dal genoma del cloroplasto delle piante superiori** (Stirewalt et al., 1995)
- La struttura dei tilacoidi del cyanelle è **simile a quella dei cianobatteri** e il **genoma del cyanelle di un'altra alga, *Paulinella chromatophora*, è simile a quello del cianobatterio *Synechococcus sp.***



Cyanelle di *C. paradoxa*

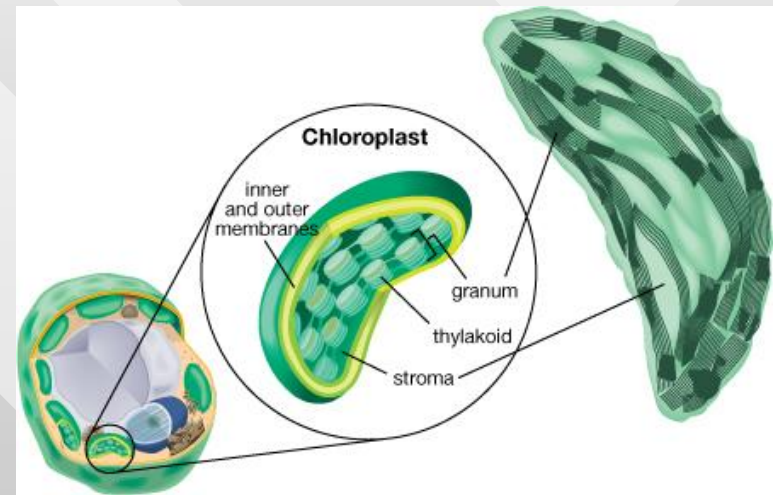
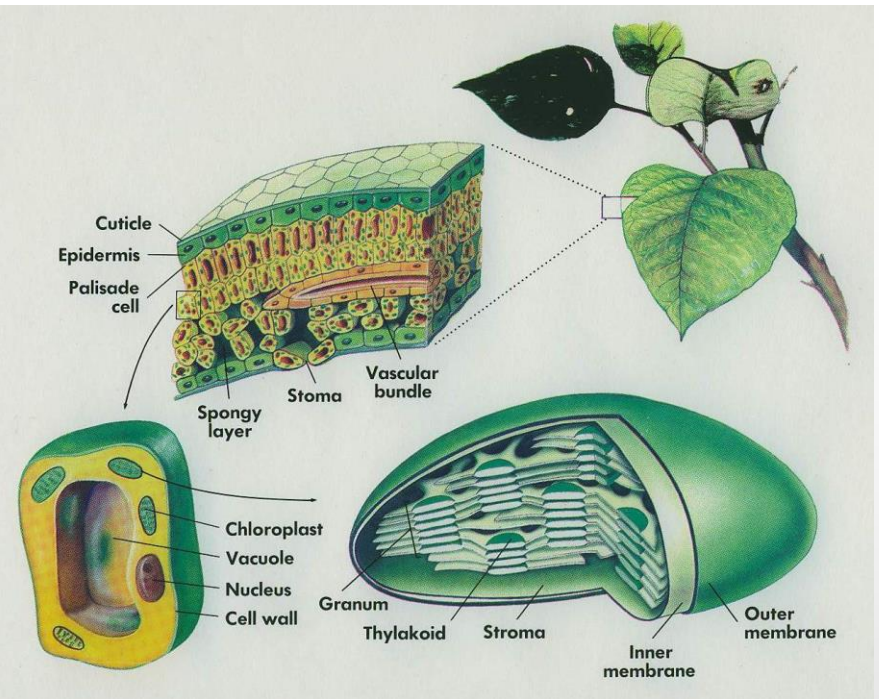
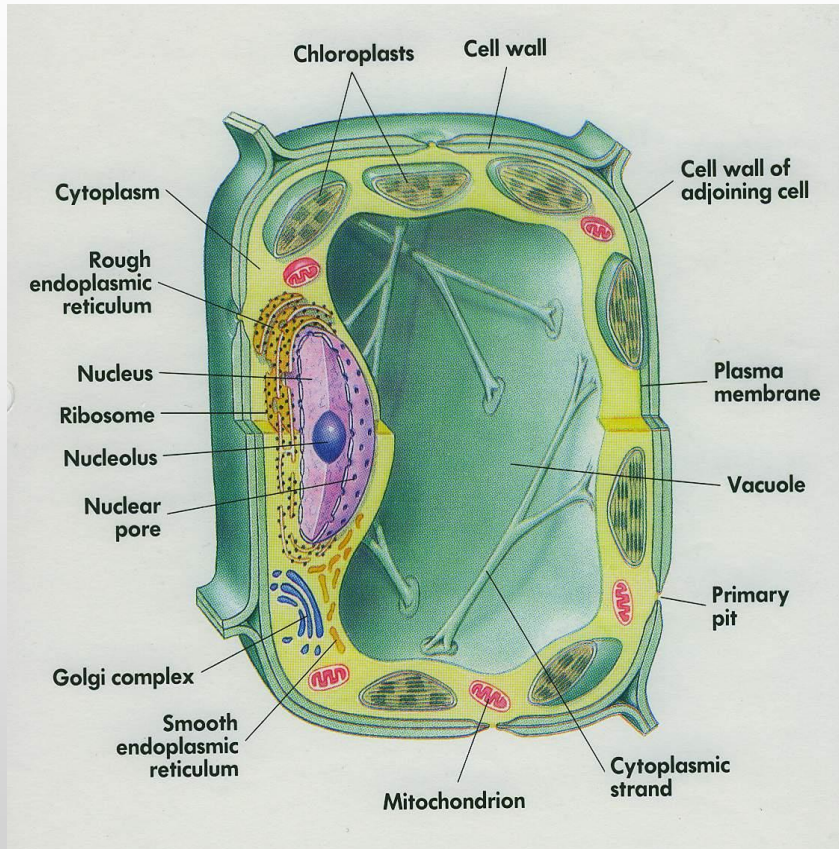


Cyanelle di *Paulinella chromatophora*



Il **genoma del cyanelle di *P. chromatophora*** è simile a quello del **cianobatterio modello *Synechococcus sp.***

La cellula eucariotica vegetale

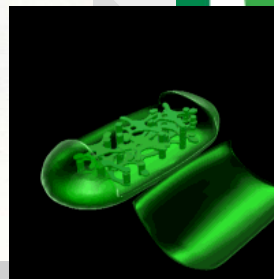
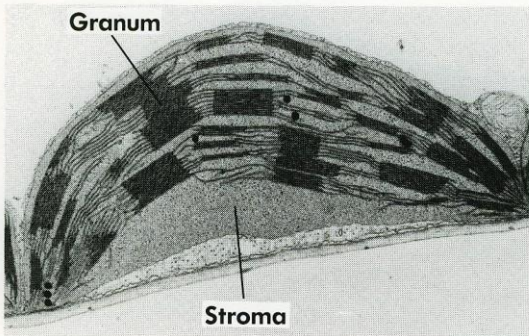
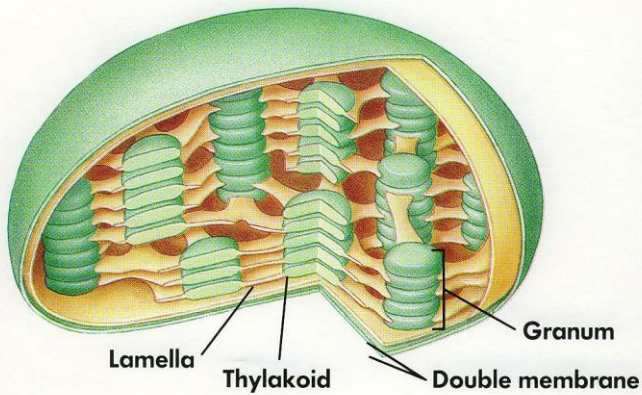


Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Karp, 2009

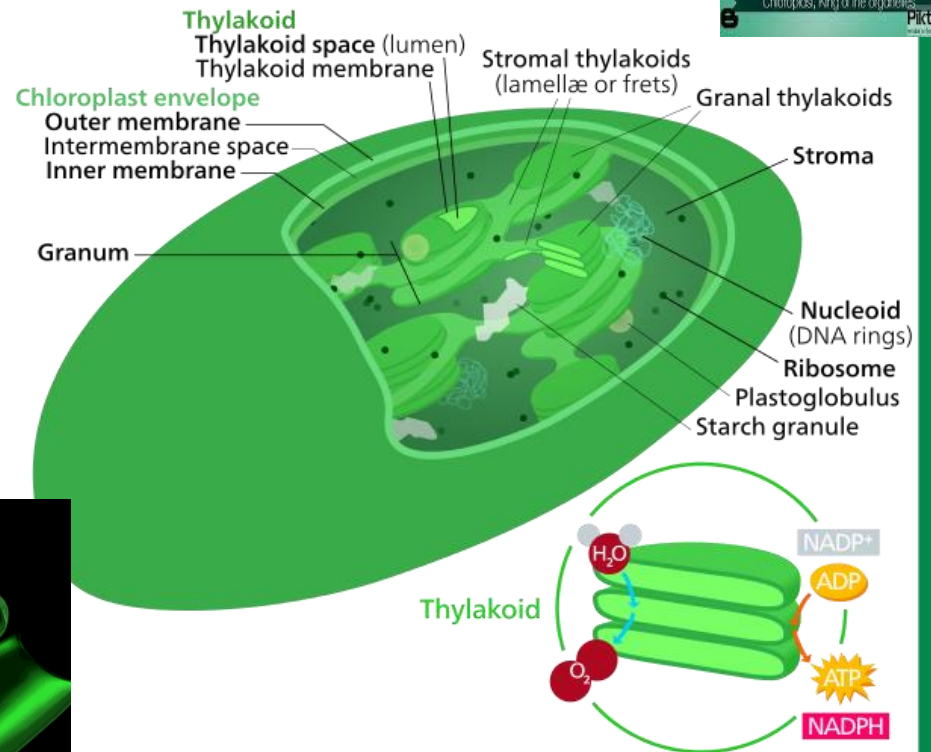
Il cloroplasto, organello della fotosintesi, che nutre quasi tutta la biosfera



Chloroplast structure (Figure 5-22, C)



the chloroplast

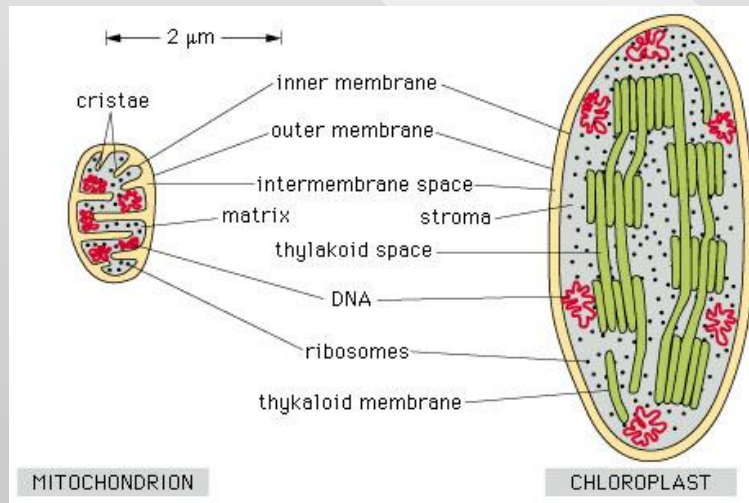
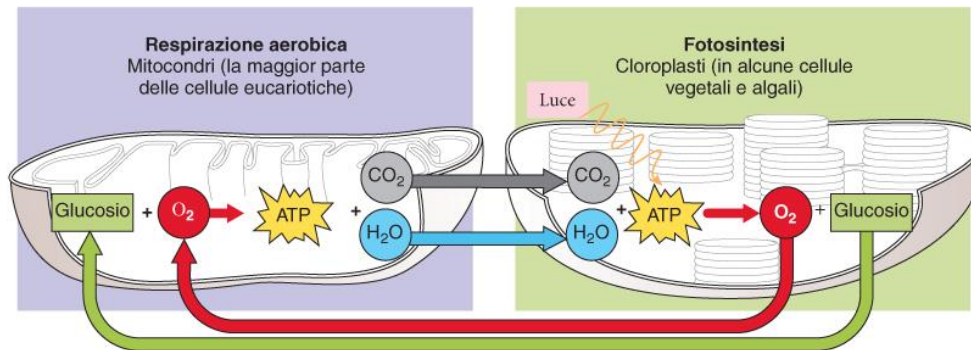


Fosforilazione ossidativa e fotosintesi: le piante producono carboidrati ed energia tramite la fotosintesi, ma...

FIGURA 4-17 Respirazione cellulare e fotosintesi.

Nella respirazione cellulare, che avviene nei mitocondri di quasi tutte le cellule eucariotiche, l'energia chimica del glucosio viene trasformata in energia chimica sotto forma di ATP. La fotosintesi, che avviene nei cloroplasti delle cellule vegetali ed algali, converte l'energia luminosa in ATP ed altre forme di energia chimica. Questa energia viene utilizzata per sintetizzare glucosio a partire da anidride carbonica e acqua.

Anche le piante usano la fosforilazione ossidativa per ottenere ATP



Il cloroplasto è circa **tre volte più grande del mitocondrio** e **possiede un compartimento in più**

Fonti: Solomon et al., 2012; Alberts et al., 2002

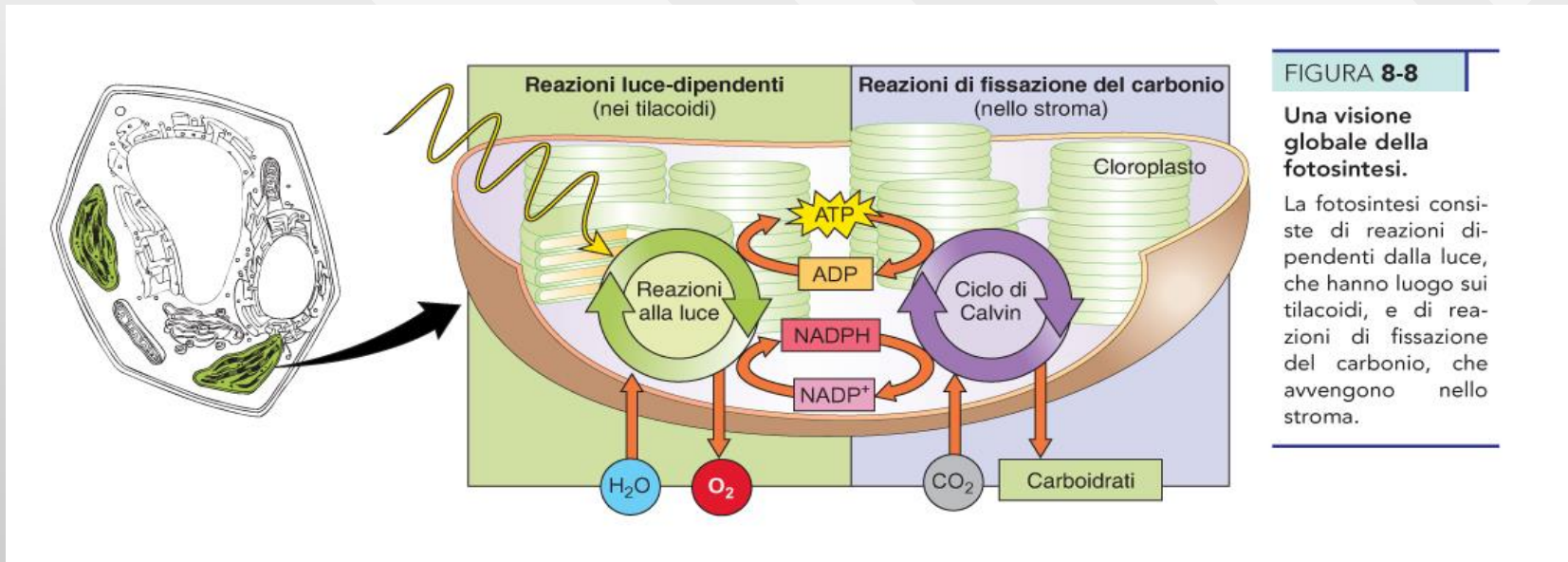
Punti fondamentali della fotosintesi

Reazioni dipendenti dalla luce (“fase luminosa”)

L'energia del Sole (**fotoni**) è “catturata” da appositi pigmenti assorbenti (il principale dei quali è la **clorofilla**) e usata per “strappare” **potere riducente all'acqua**, con eliminazione di ossigeno (**fotosintesi ossigenica**) e produzione di ATP tramite chemiosmosi (**fotofoforilazione**)

Ciclo di Calvin-Benson (la cosiddetta “fase oscura”)

- “**Fissazione**” di CO_2 all'interno dell'accettore ribuloso bisfosfato (RuBP), catalizzata dalla ribuloso bisfosfato-carbossilasi (**RuBisCO**)
- Riduzione del 3-fosfoglicerato a gliceraldeide 3-fosfato (con NADPH e ATP), in seguito trasformata in glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) e amido
- Rigenerazione dell'accettore RuBP (una molecola di RuBP per ogni molecola di CO_2)



Equazione generale della fotosintesi

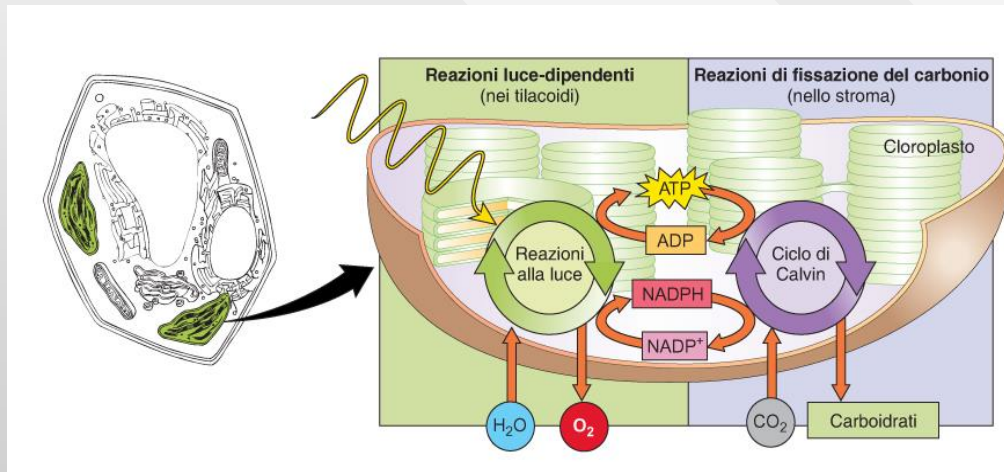
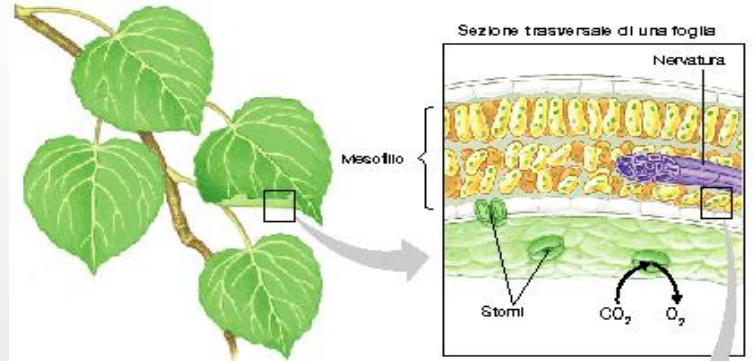
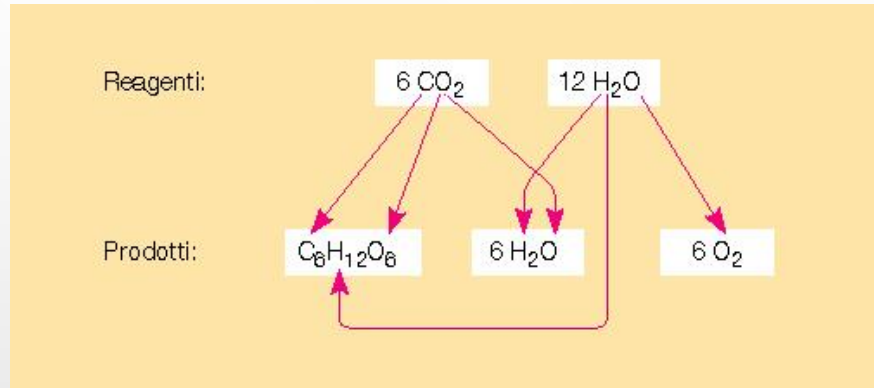
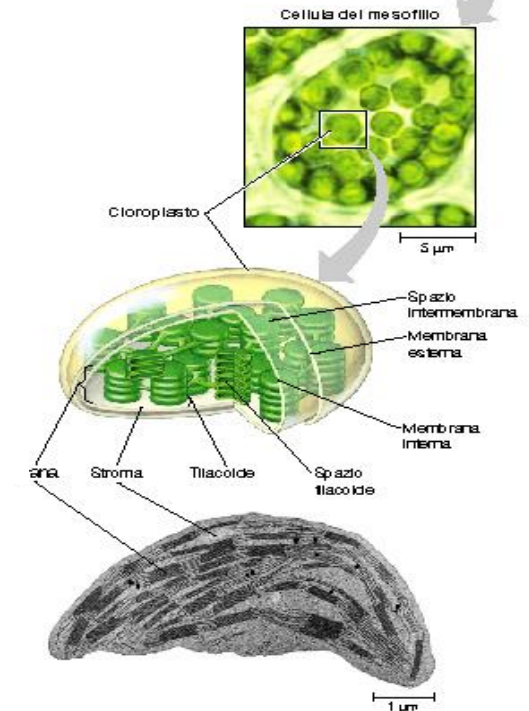


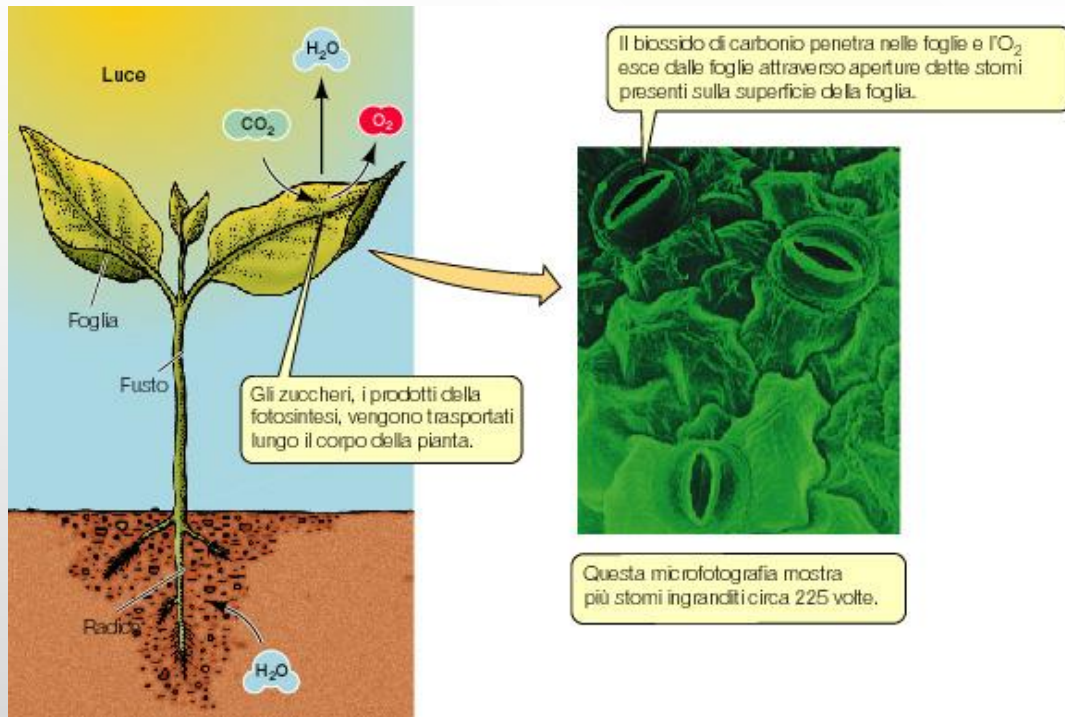
FIGURA 8-8

Una visione globale della fotosintesi.

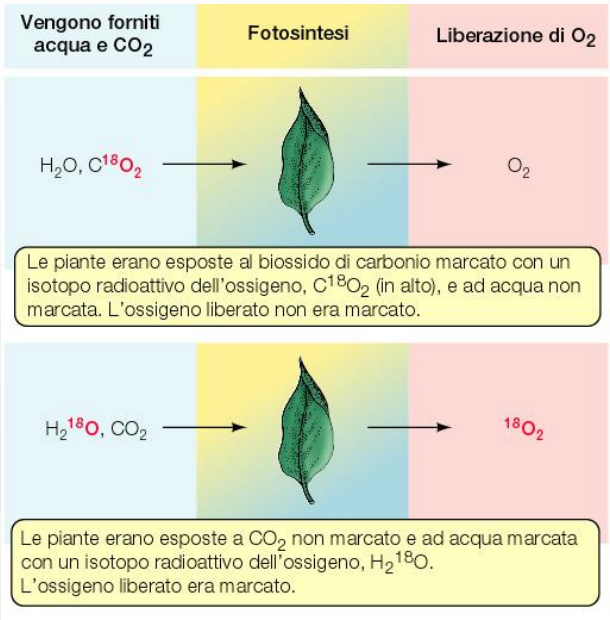
La fotosintesi consiste di reazioni dipendenti dalla luce, che hanno luogo sui tilacoidi, e di reazioni di fissazione del carbonio, che avvengono nello stroma.



La pianta si procura il “necessario” per la fotosintesi assorbendo dal terreno acqua e sali tramite le radici, introducendo CO₂ tramite gli stomi, ed esponendo le lamine fogliari alla luce solare



Questa microfotografia mostra più stomi ingranditi circa 225 volte.

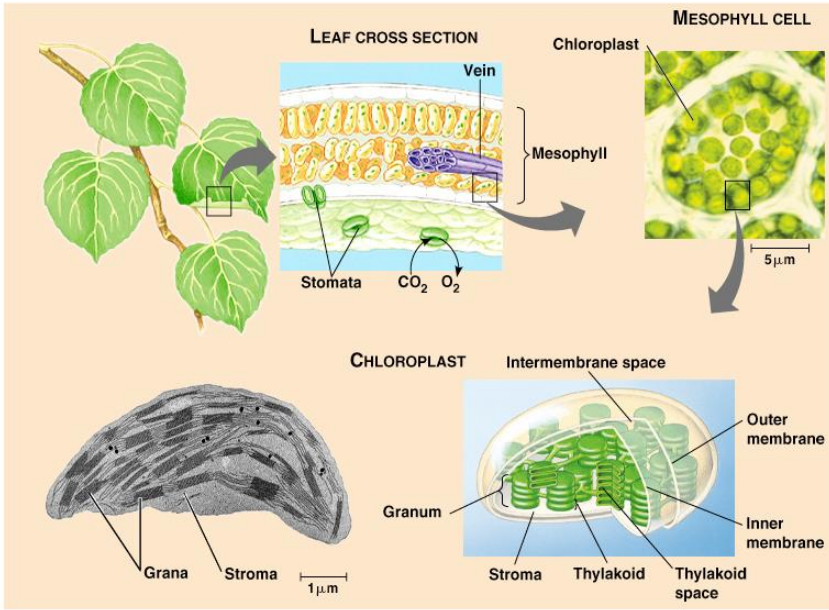


Esperimenti eseguiti con l'isotopo “pesante” dell'ossigeno (¹⁸O₂) dimostrano chiaramente che l'ossigeno eliminato dalla fotosintesi **deriva dall'acqua**

Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Solomon et al., 2012



FIGURA 8-9 L'ossigeno prodotto dalla fotosintesi. Nelle giornate di sole, l'ossigeno rilasciato dalle piante acquatiche è talvolta visibile in forma di bollicine nell'acqua. Questa pianta (*Elo-dea sp.*) è in piena attività fotosintetica.

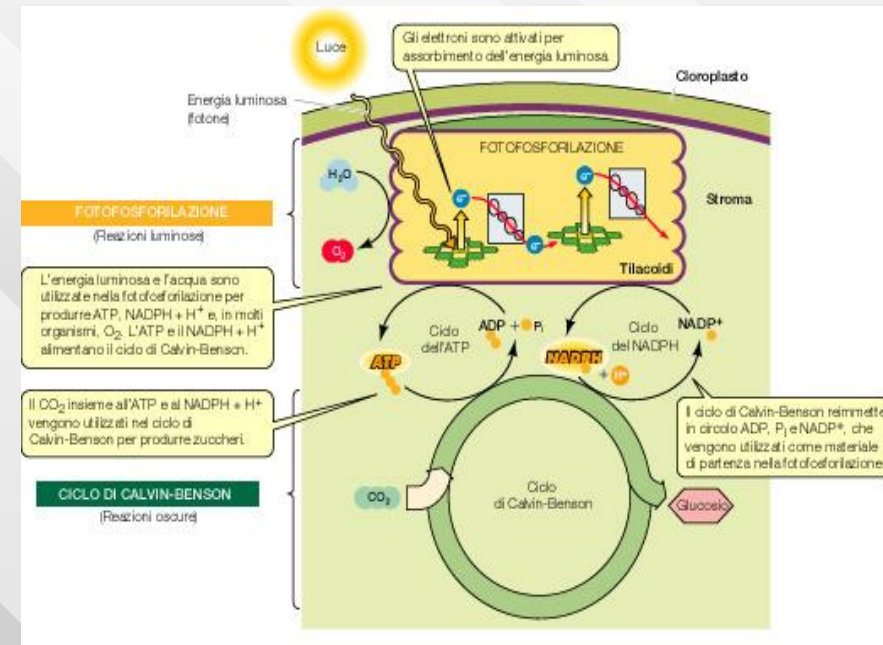


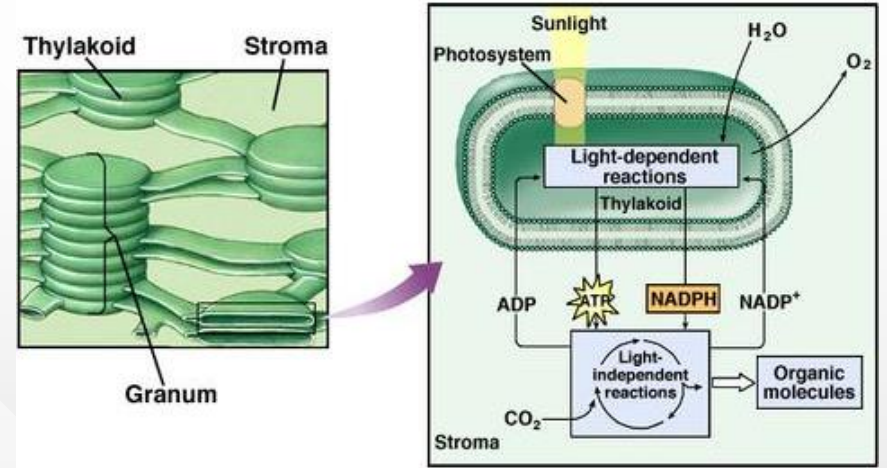
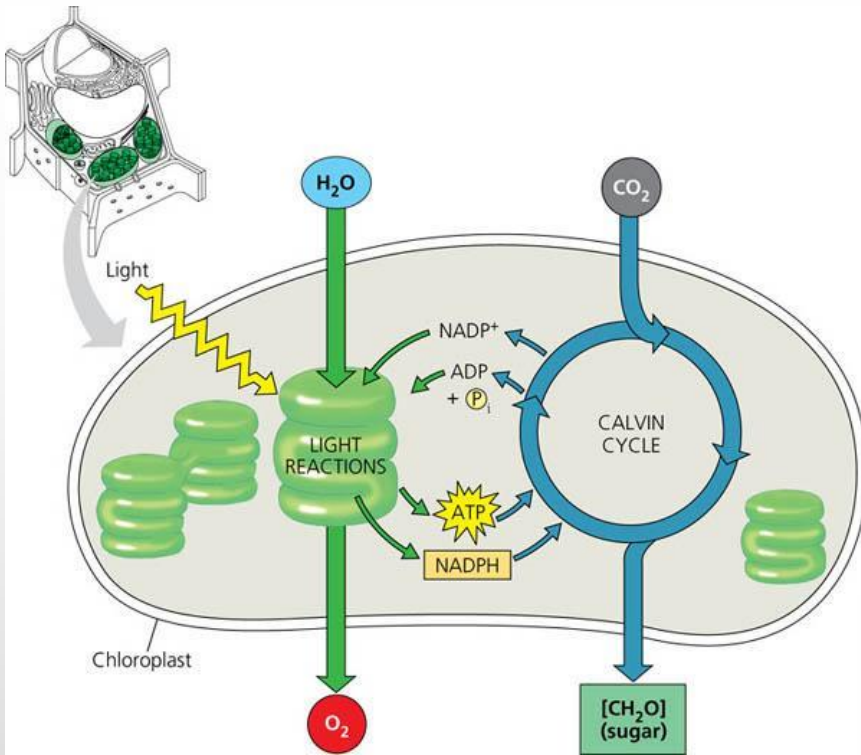
Reazioni dipendenti dalla luce

L'energia del Sole (fotoni) è “catturata” da appositi pigmenti assorbenti (il principale dei quali è la **clorofilla**)

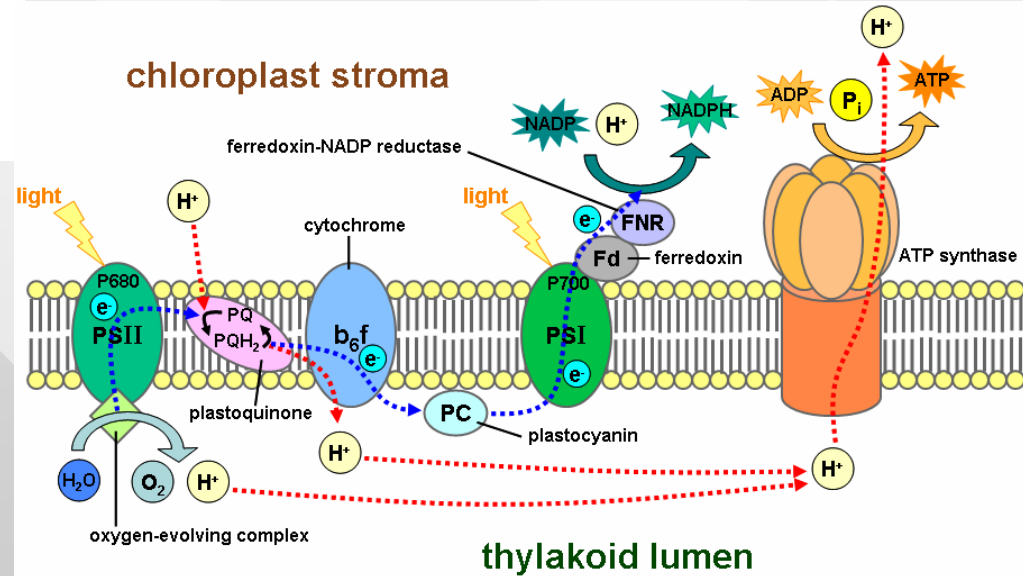
e usata per “strappare” potere riducente (ioni idrogeno ed elettroni) all'acqua (reazione di Hill-Bendall)

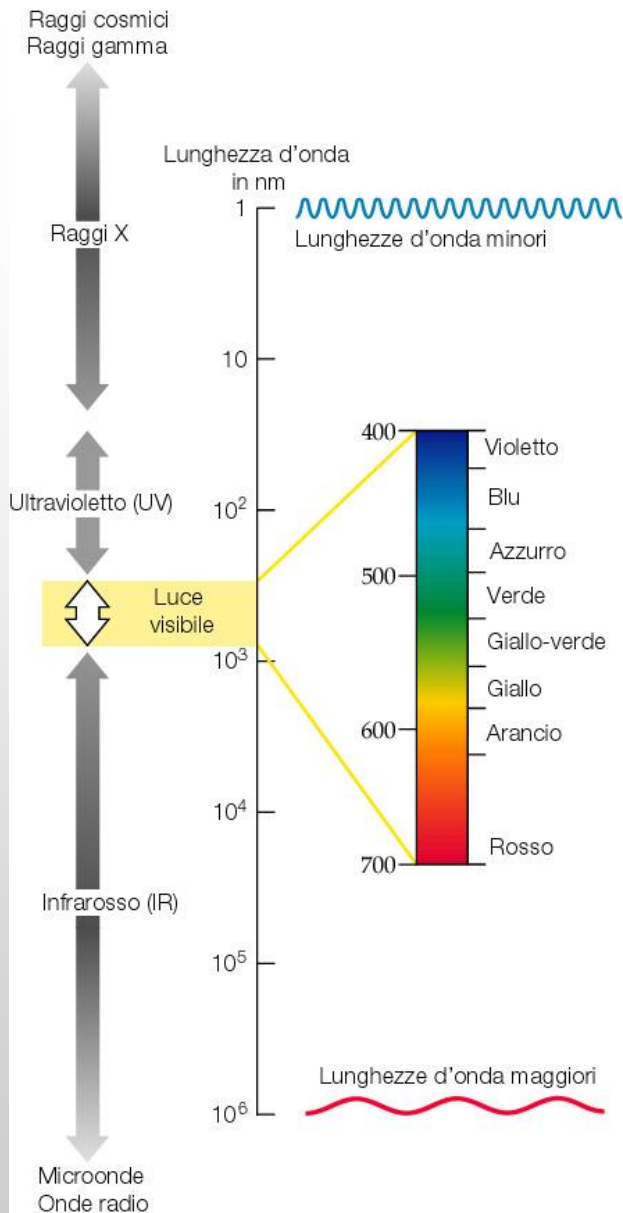
con eliminazione di ossigeno (**fotosintesi ossigenica**) e produzione di ATP tramite chemiosmosi (**fotofosforilazione**)



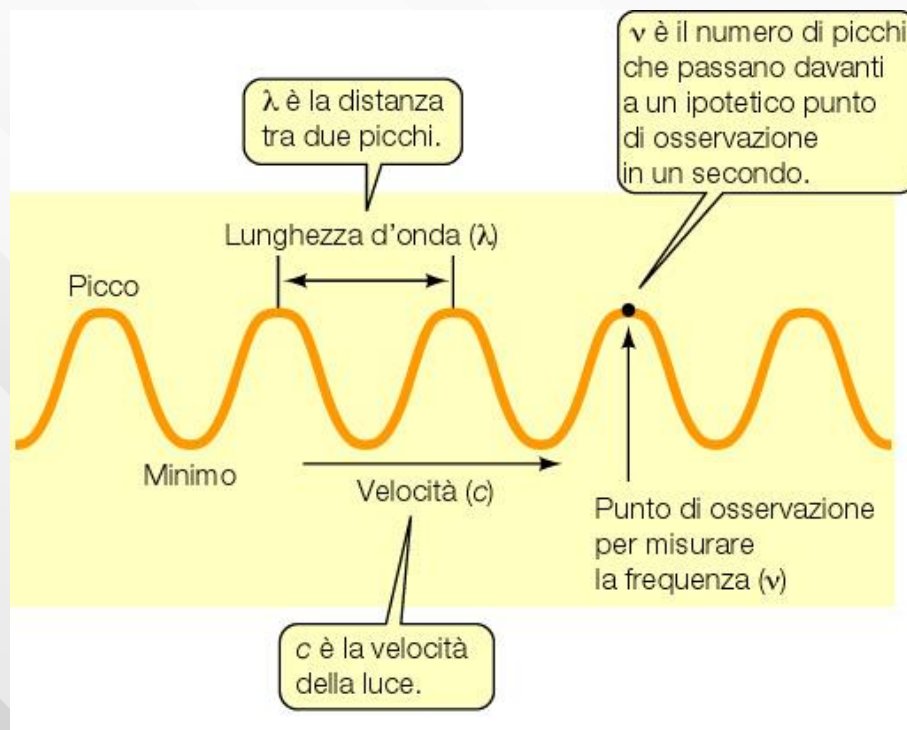


Le reazioni alla luce avvengono nei **tilacoidi**, le strutture di membrana interne al cloroplasto



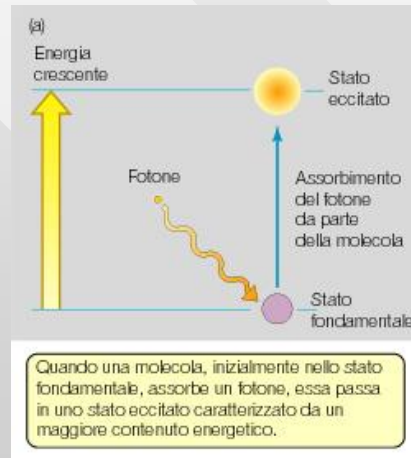
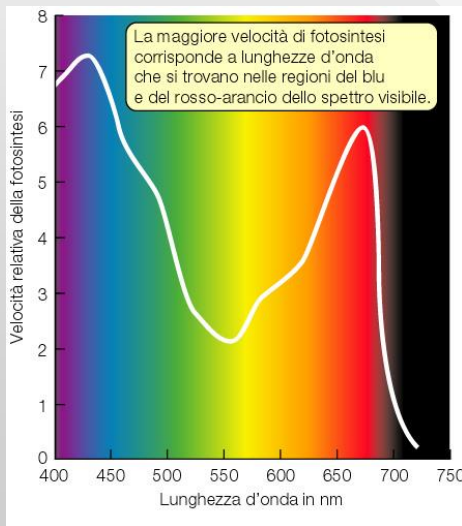
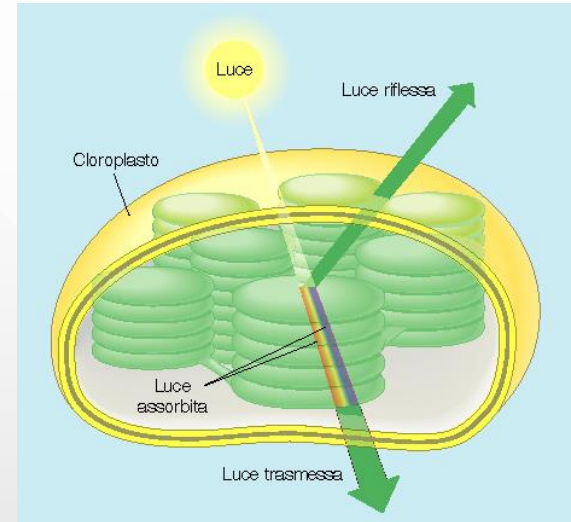
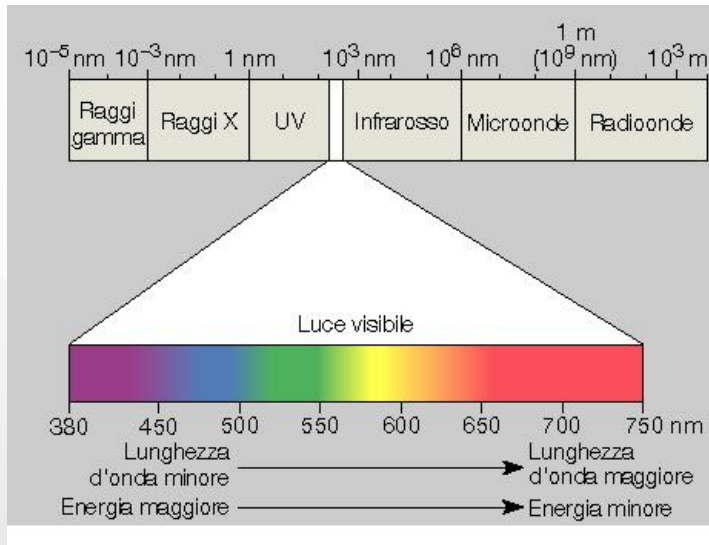


Le onde elettromagnetiche e la luce

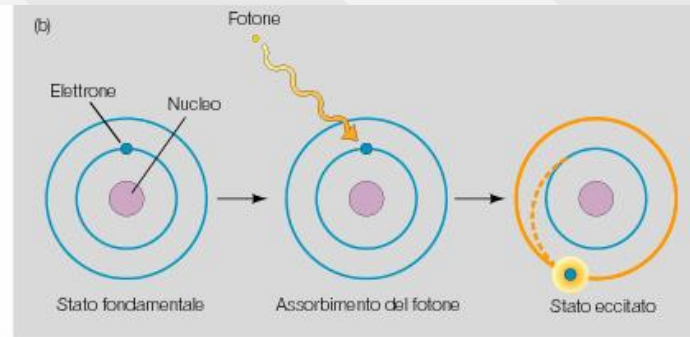


Fonti: Sadava et al., 2014, 2019

Spettro e lunghezze d'onda della luce visibile



Quando una molecola, inizialmente nello stato fondamentale, assorbe un fotone, essa passa in uno stato eccitato caratterizzato da un maggiore contenuto energetico.

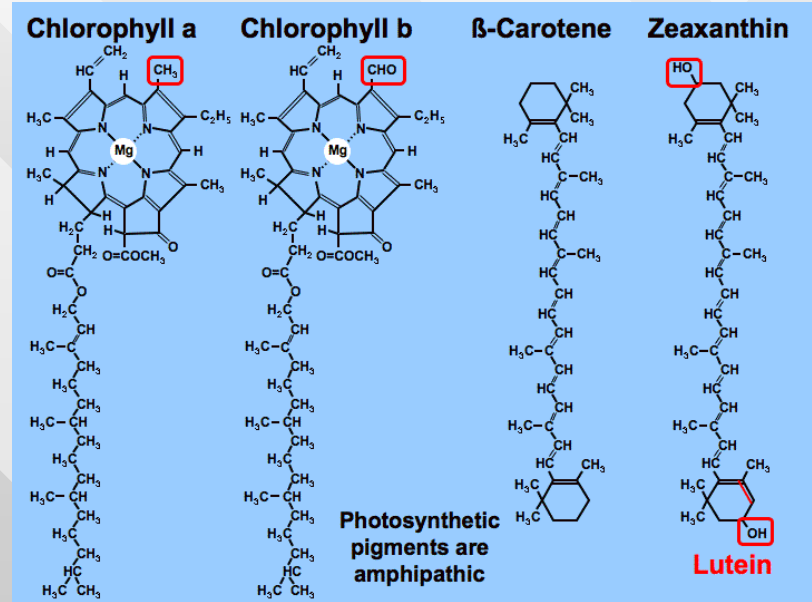
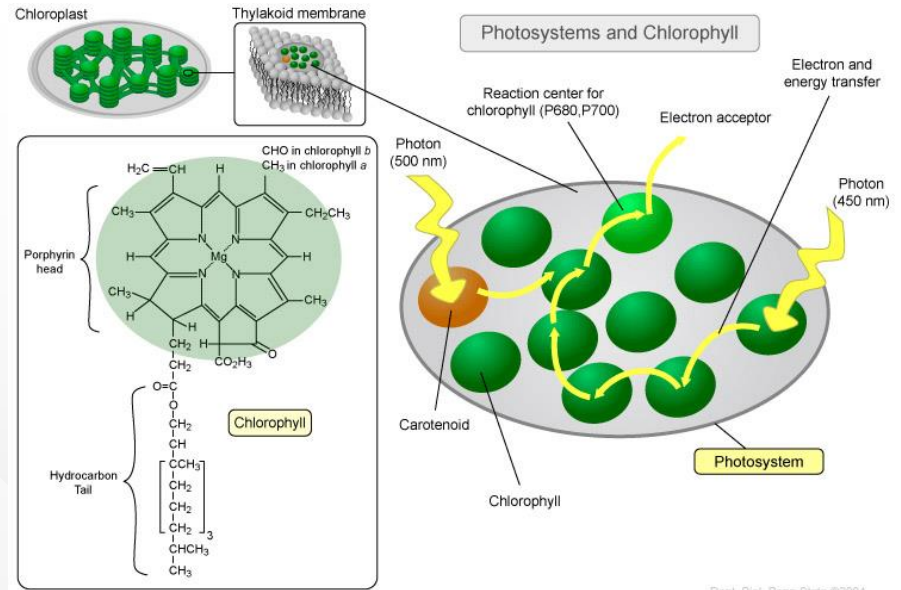
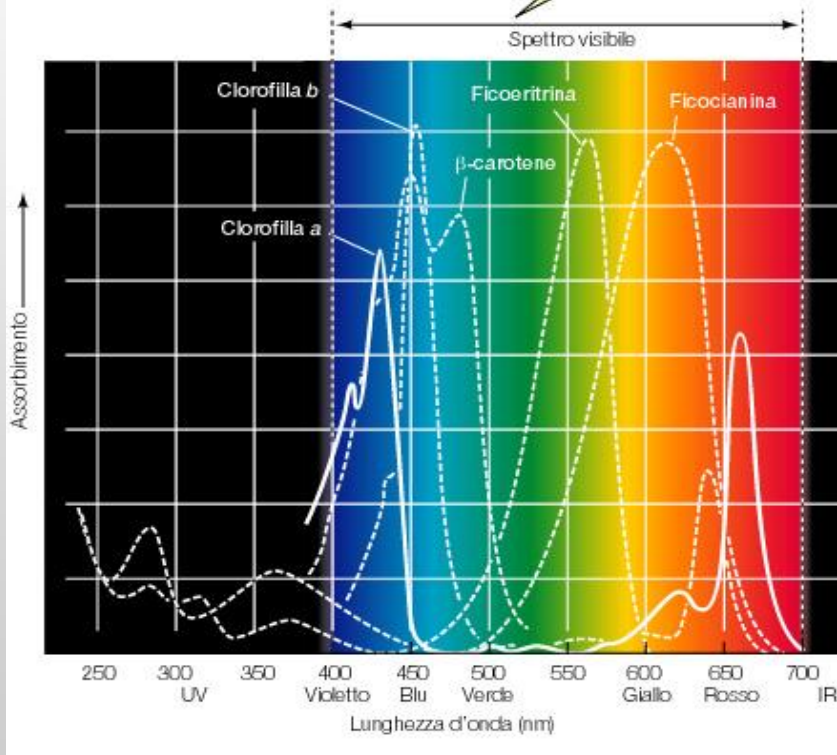


L'assorbimento del fotone "spinge" uno degli elettroni della molecola in un orbitale più lontano dal nucleo.

Il fotone, un "quanto" di luce

La clorofilla, il principale pigmento fotosintetico (ma non l'unico...)

Si noti quanta parte dello spettro visibile resterebbe inutilizzata se l'unico pigmento fotosintetico che assorbe la luce fosse la clorofilla a.



I centri di reazione raccolgono l'energia luminosa catturata dai pigmenti "antenna"

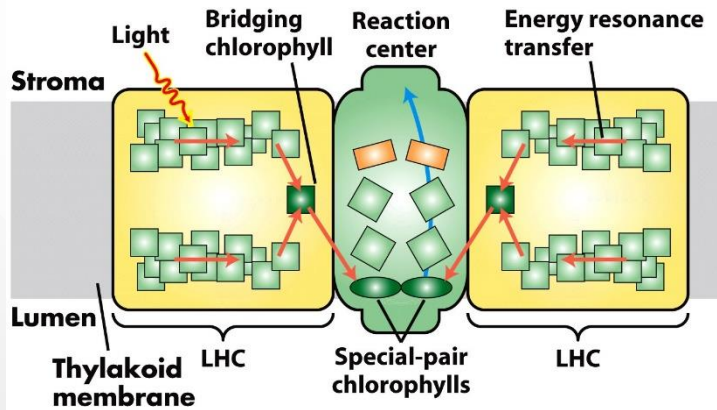


Figure 12-34a
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

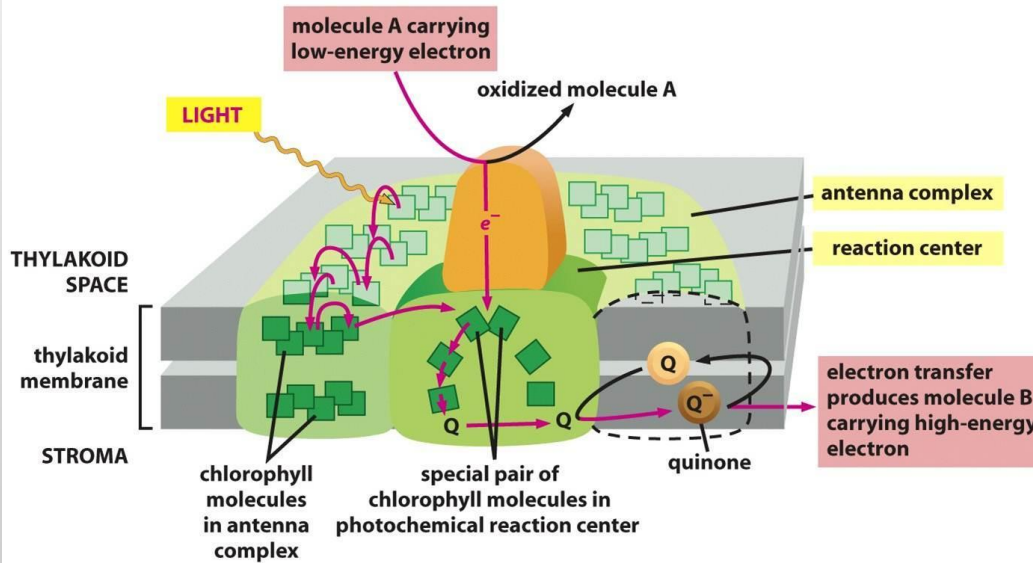
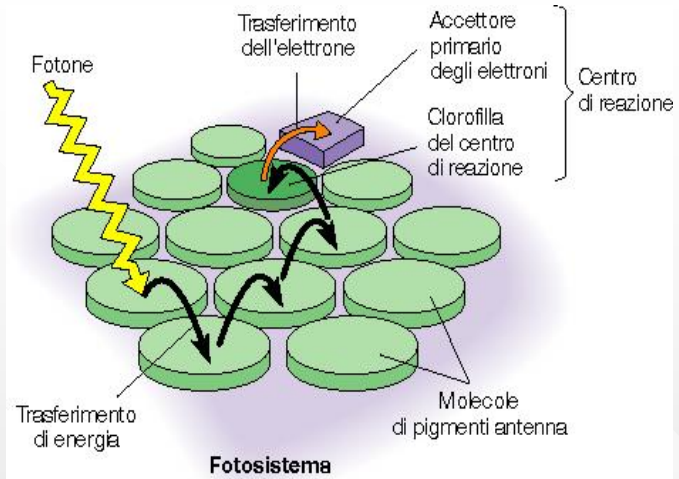


Figure 14-43 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

...ed energizzano gli elettroni, creando un "buco elettronico" che può essere compensato solo dagli elettroni forniti dall'acqua

Quindi l'energia è usata per “strappare” potere riducente all'acqua:
la **reazione di Hill-Bendall** (schema a “Z”)

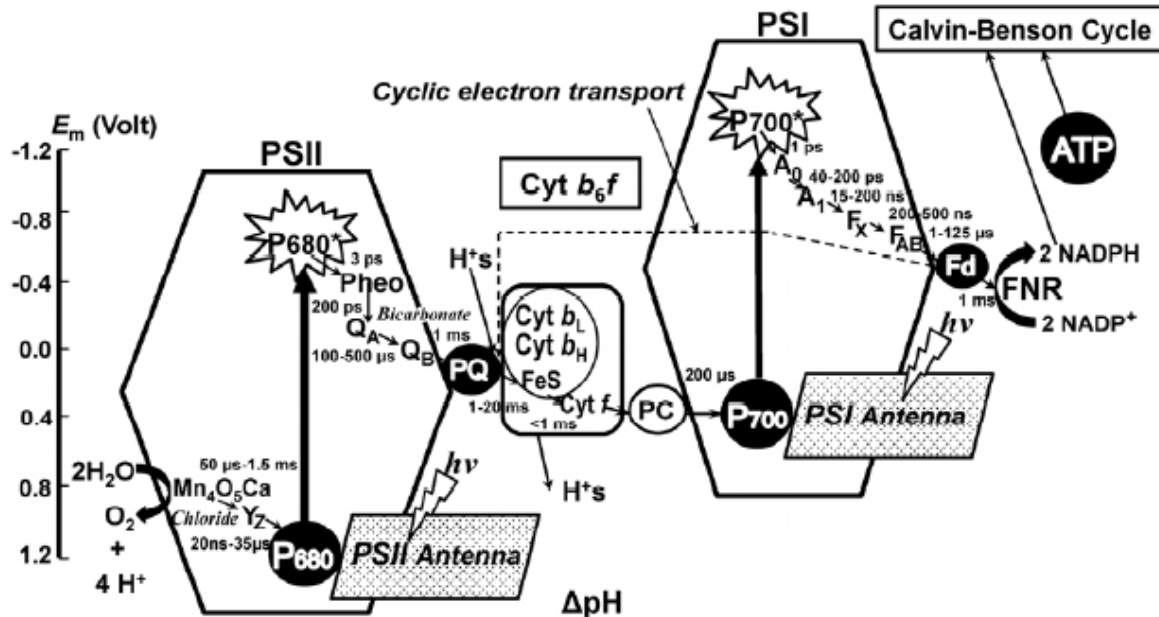
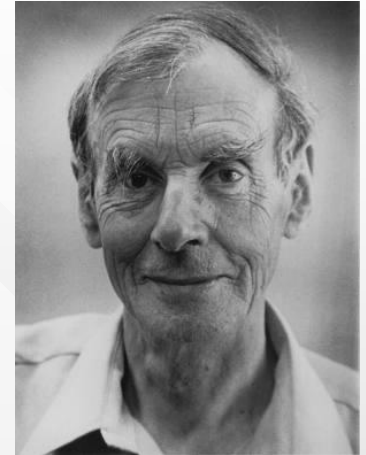


Fig. 3 A current Z-Scheme for electron transport (Stirbet and Govindjee, 2011; courtesy of Alexandrina Stirbet; Reproduced with the permission from AStirbet and Govindjee).



Robert “Robin” Hill

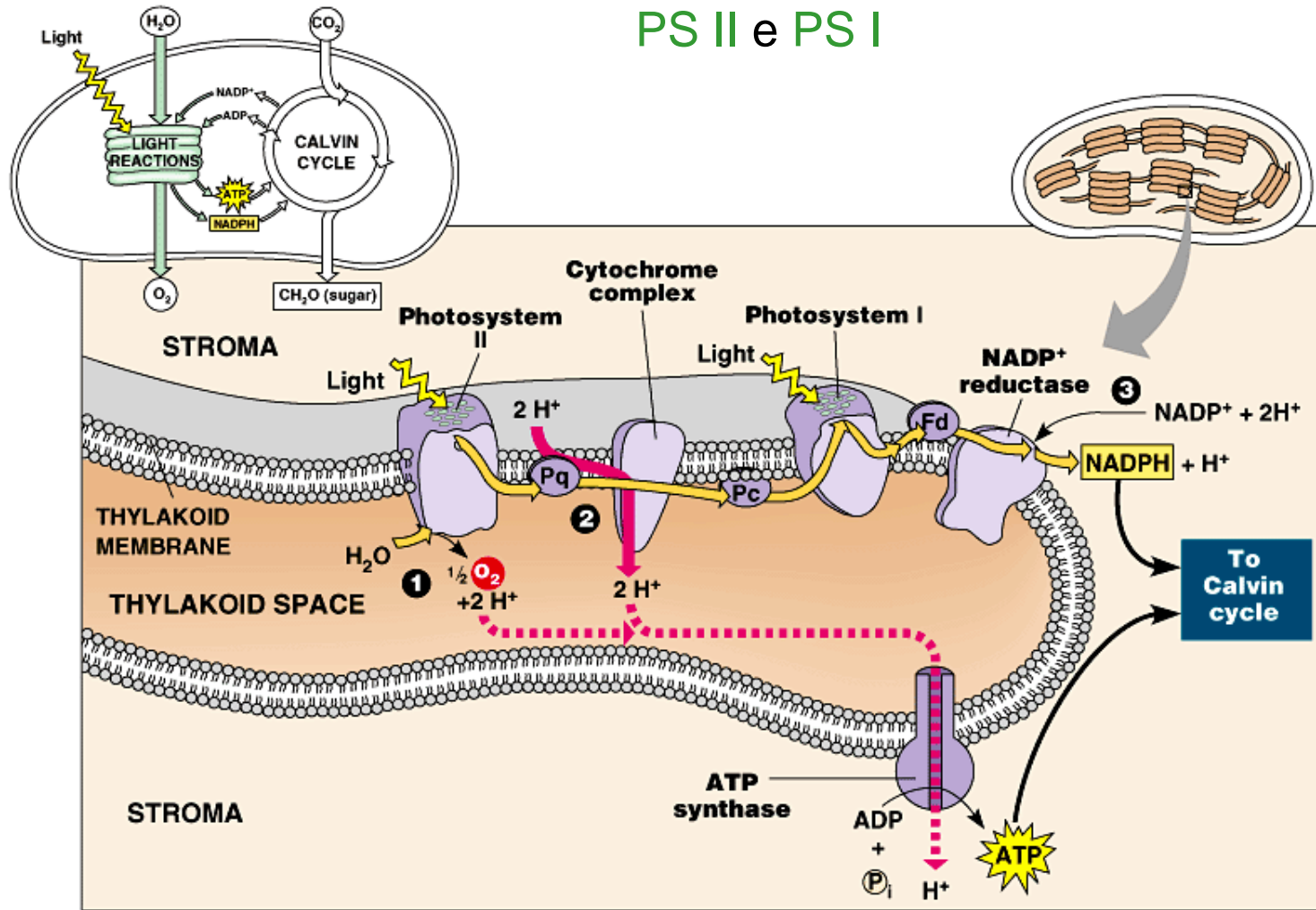
1899-1991

I protoni sono confinati all'interno dei tilacoidi e creano un **gradiente di pH (ΔpH)**

Dal **fotosistema II (PSII)** gli elettroni sono trasportati tramite la catena di plastoquinone, plastocianina e citocromi sul **fotosistema I (PSI)** ed infine alla ferredoxina e alla NADP+ reduttasi, che riduce il NADP a **NADPH**

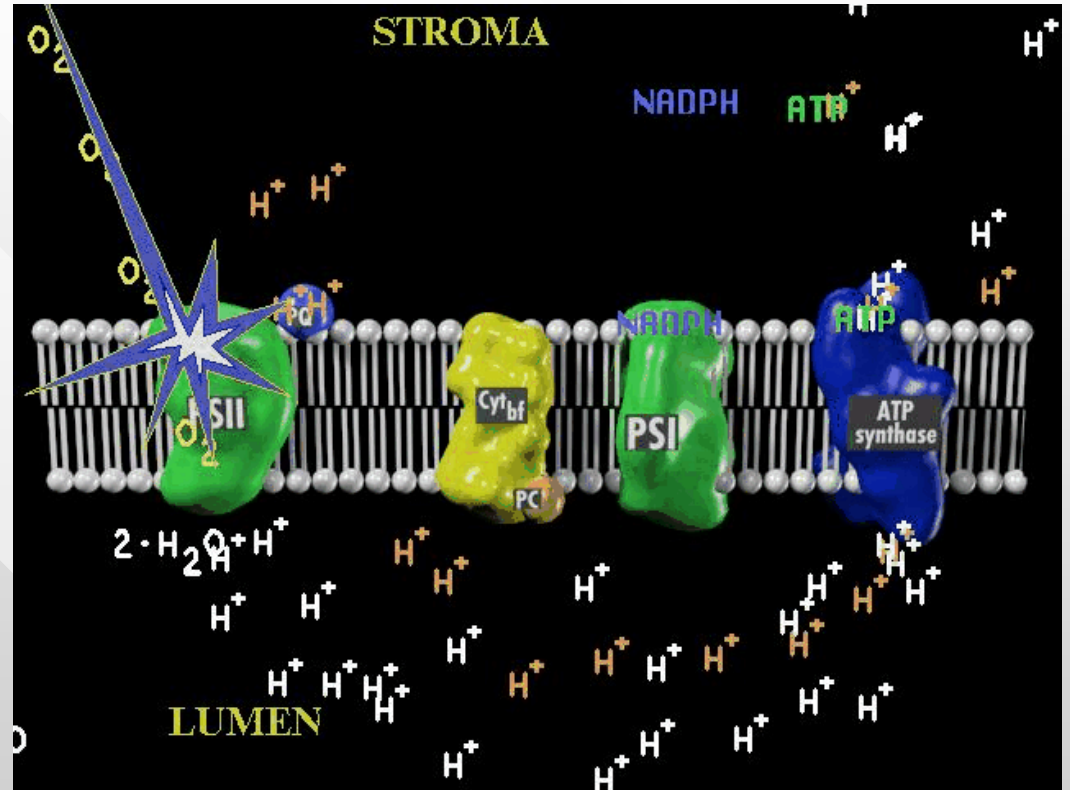
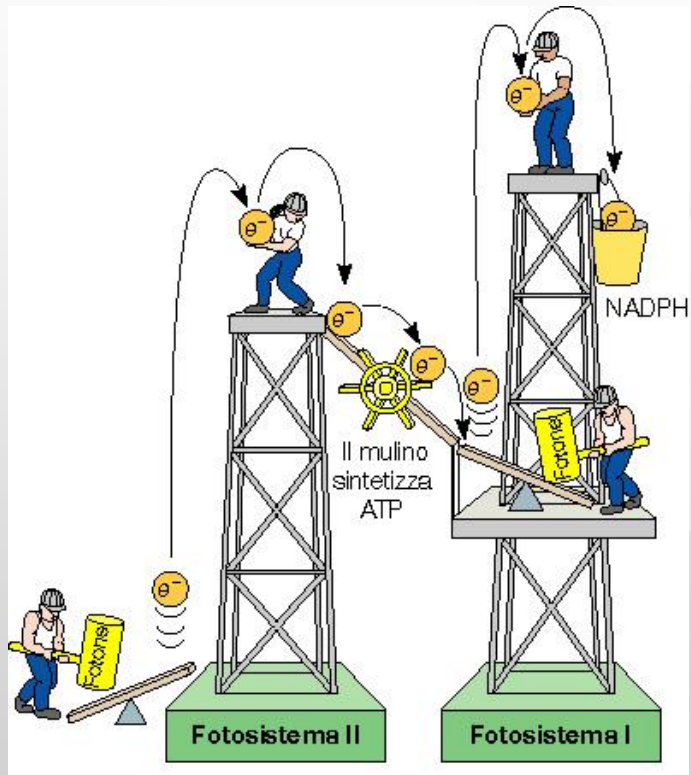
I fotosistemi che “catturano” la luce sono due:

PS II e PSI

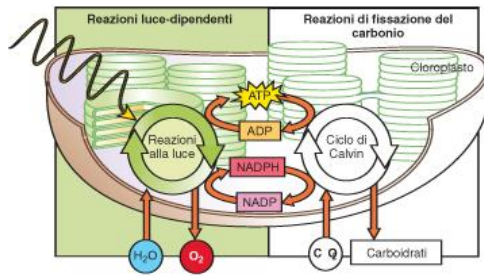


Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Reece et al., 2006

I due fotosistemi lavorano in modo coordinato, producendo **NADPH** e **ATP**



Fonte: Sadava et al., 2014



Il trasporto non ciclico di elettroni attiva la sintesi di ATP tramite **chemiosmosi** (fotofosforilazione non ciclica)

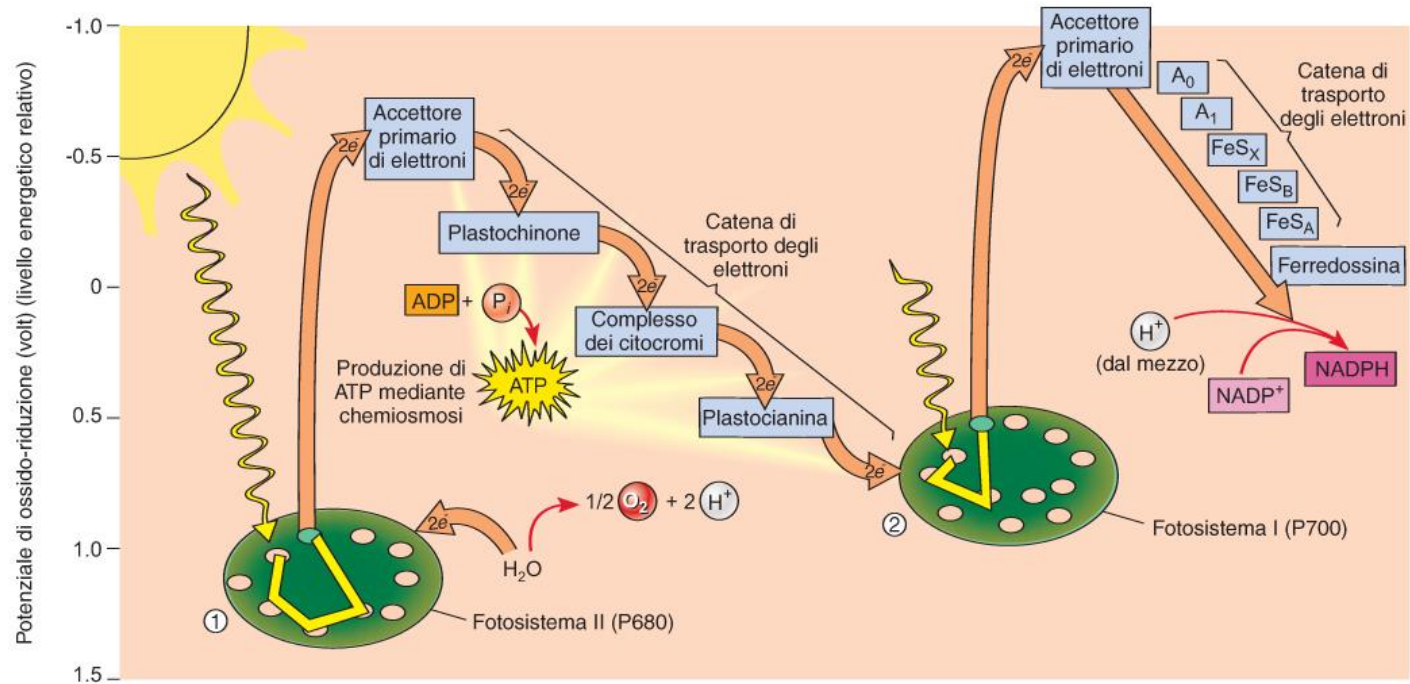
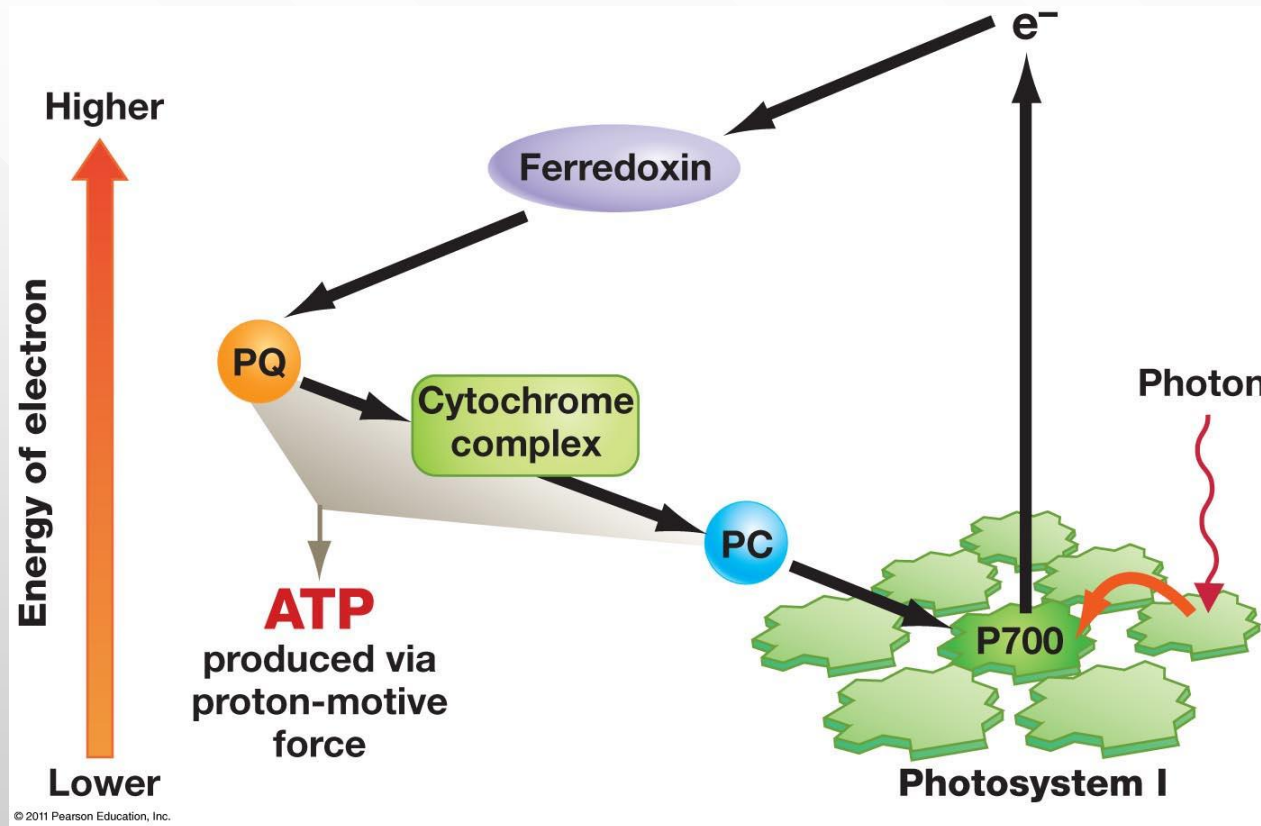


FIGURA 8-11 Il trasporto non ciclico di elettroni.

Nel trasporto non ciclico di elettroni, la produzione di ATP è accoppiata ad un flusso unidirezionale di elettroni eccitati (*freccie arancioni*), dall'acqua (*in basso a sinistra*) al NADP^+ (*al centro a destra*). Attraverso la catena di trasporto passa un solo elettrone per volta, anche se nella figura sono mostrati due elettroni perché tanti sono quelli richiesti per formare una molecola di NADPH. ① Gli elettroni

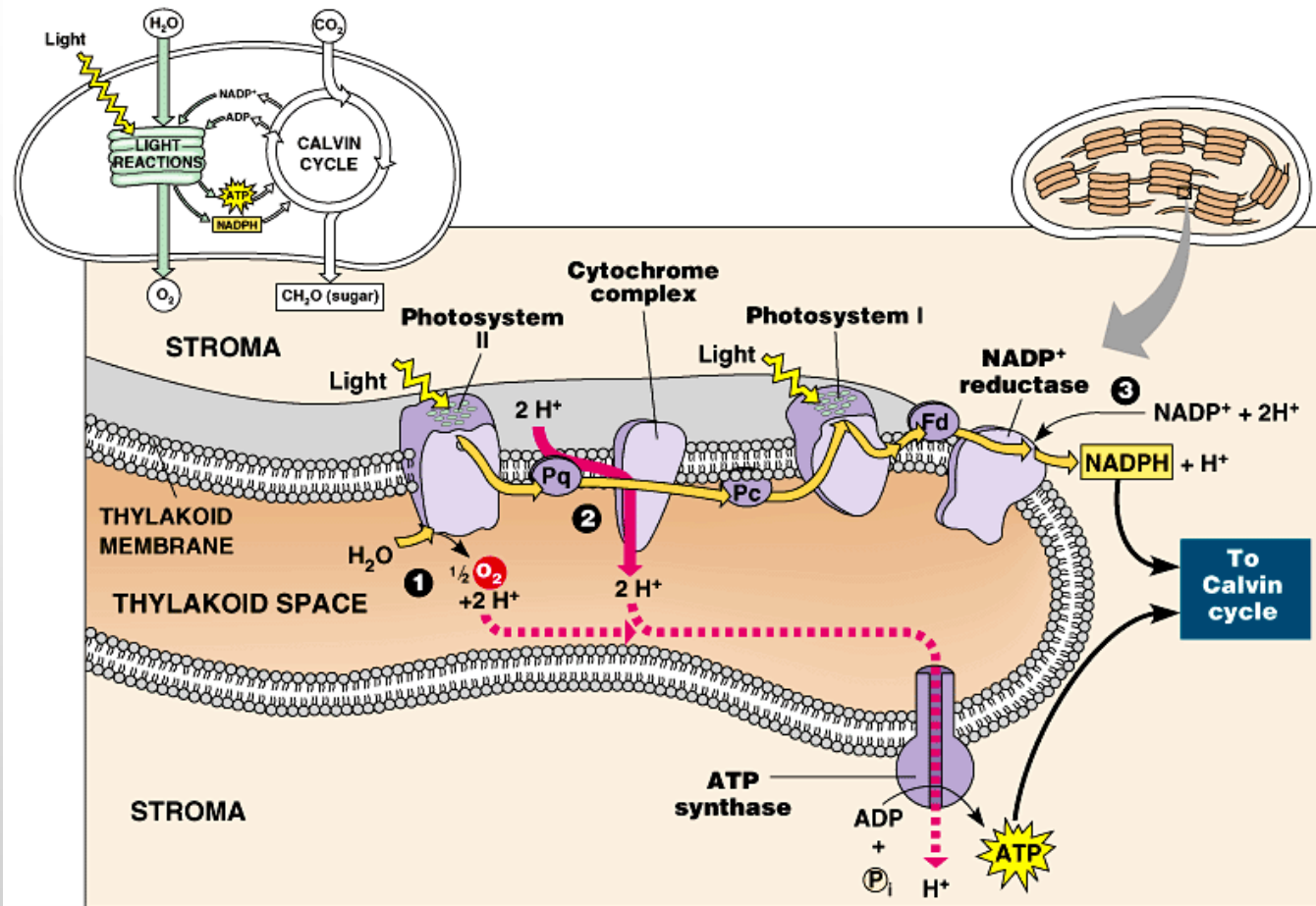
sono forniti al sistema dalla lisi dell'acqua, effettuata dal Fotosistema II, con rilascio di ossigeno molecolare come prodotto di scarto. Quando il Fotosistema II è attivato dall'assorbimento di un fotone, gli elettroni eccitati sono trasferiti alla catena di trasporto e ceduti infine al Fotosistema I dove, ② riecitati dall'assorbimento di altra energia luminosa, sono infine ceduti al NADP^+ , formando NADPH.

...ma quando la necessità di ATP è elevata (per la fissazione del carbonio) si attiva anche la **fotofosforilazione ciclica**, che coinvolge il PSI e “ricicla” l’elettrone, **producendo ATP ma non NADPH**



Fonti: Pearson, 2011; Solomon et al., 2014

Come nei mitocondri, la produzione di ATP avviene per chemiosmosi, ma nel caso dei cloroplasti è determinata da un gradiente di pH



Fonte: Solomon et al., 2014

Il gradiente di pH “guida” la sintesi di ATP

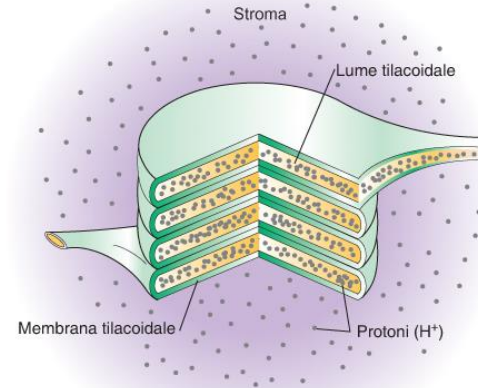
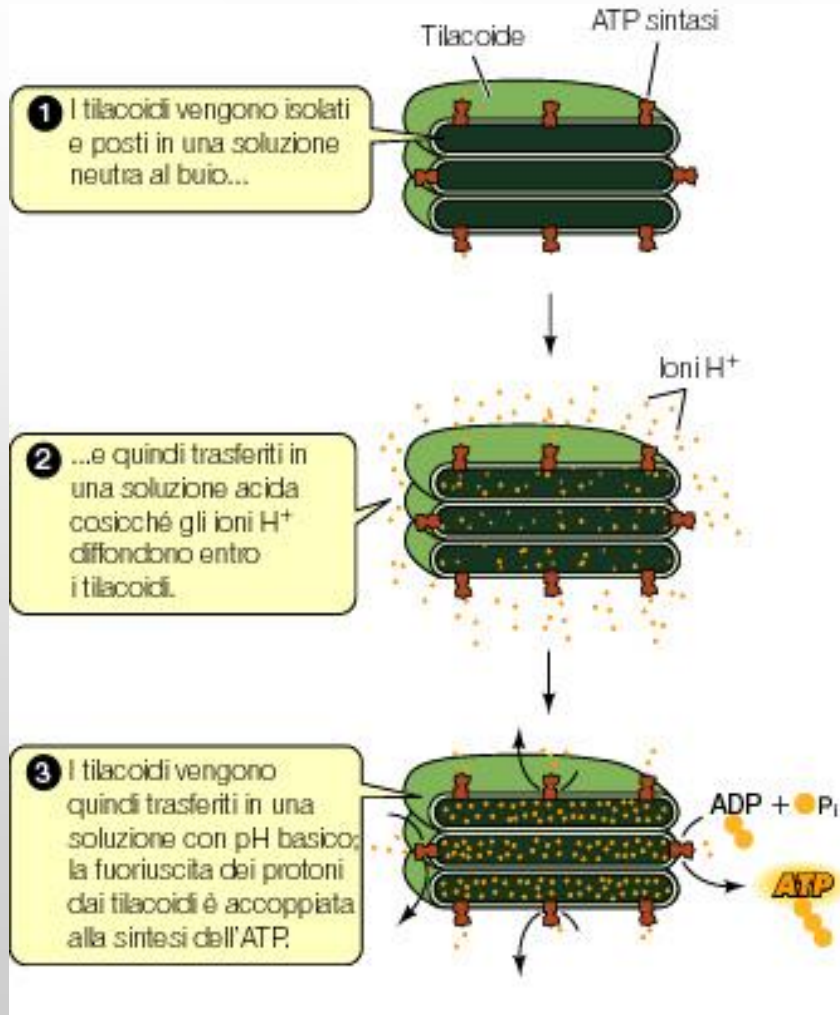
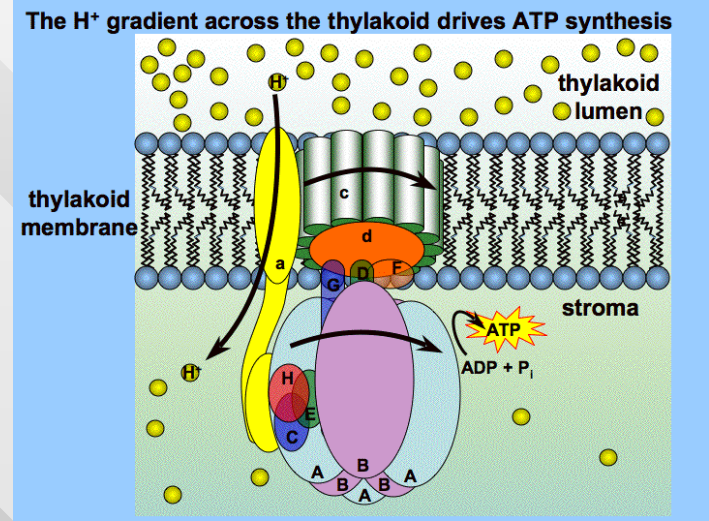


FIGURA 8-12 L'accumulo di protoni (H^+) nel lume tilaccoidale.

Durante il movimento degli elettroni, lungo la catena di trasporto elettronico, protoni sono pompatis dallo stroma al lume tilaccoidale, con la creazione di un gradiente protonico. La più alta concentrazione di H^+ nel lume tilaccoidale ne abbassa il pH.



L'ATP è prodotto per **chemiosmosi** tramite il flusso di protoni **dall'interno dei tilacoidi allo stroma**

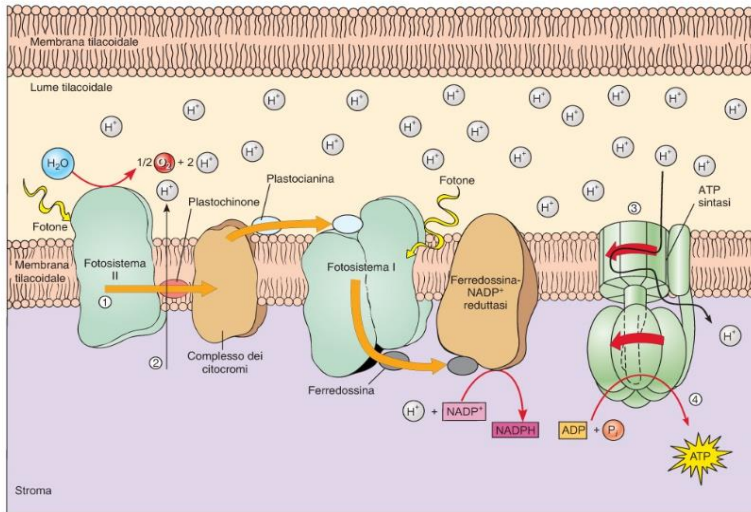
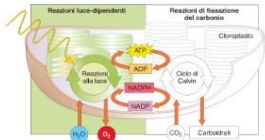
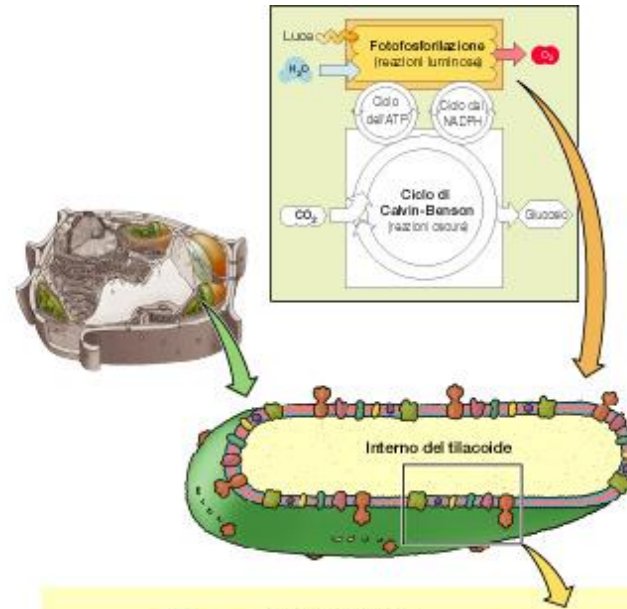
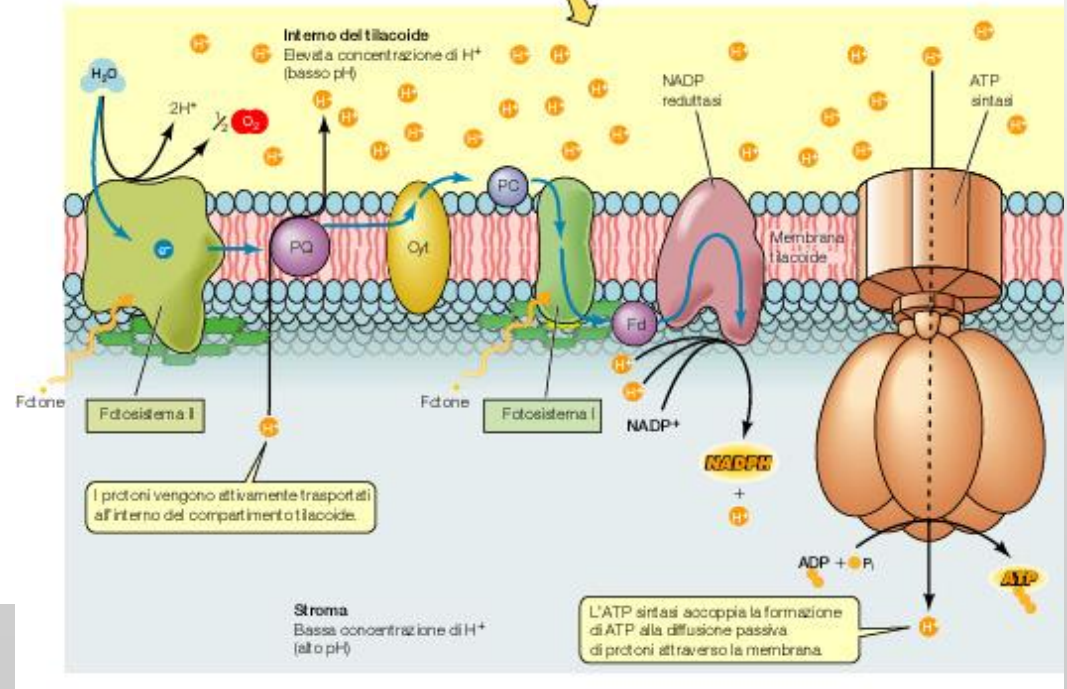


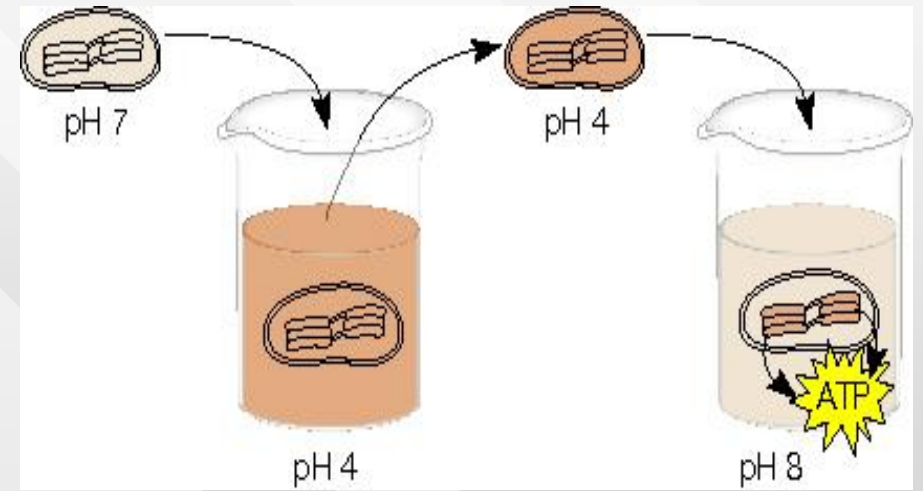
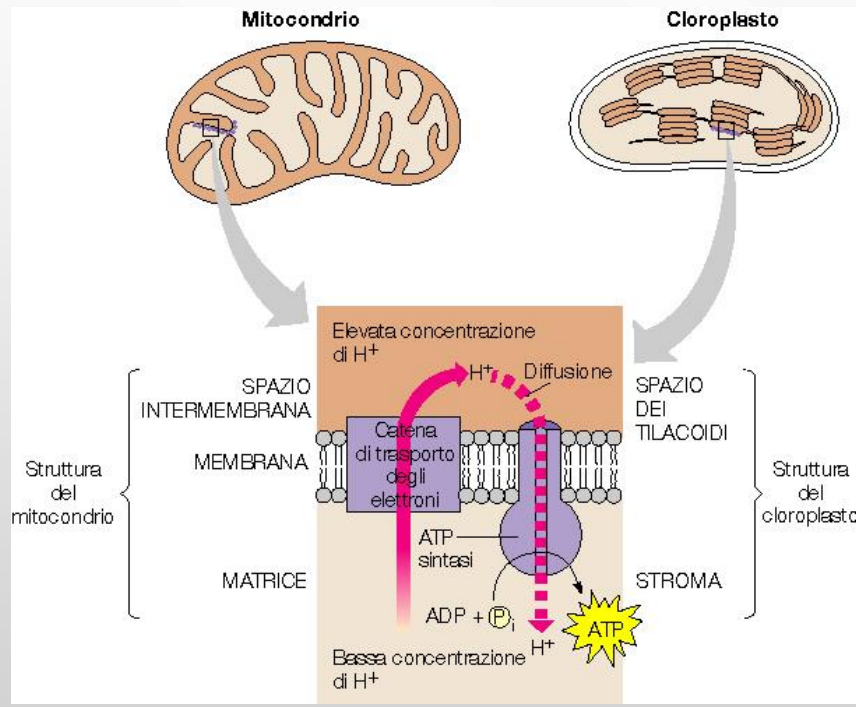
FIGURA 8-13 Una visione dettagliata del trasporto degli elettroni e della chemiosmosi.

① Le frecce arancioni indicano la via percorsa dagli elettroni lungo la catena di trasporto nella membrana tilacoidale. I trasportatori di elettroni della membrana vengono ridotti e poi ossidati alternativamente, con la cattura e la conseguente cessione di elettroni. ② L'energia rilasciata nel corso del trasporto degli elettroni è utilizzata per pompare H^+ dallo stroma allo spazio interno dei tilacoidi,

con un conseguente notevole accumulo di H^+ in questo spazio. ③ L'impermeabilità della membrana tilacoidale agli H^+ ne impedisce la retrodiffusione nello stroma, se non attraverso speciali canali formati dall'enzima ATP sintasi. ④ Il passaggio di H^+ attraverso l'ATP sintasi determina la produzione di ATP.



Il mitocondrio e il cloroplasto sfruttano entrambi la **chemiosmosi** per produrre ATP, ma nel caso del **mitocondrio** si tratta di un **gradiente di (H⁺)**, mentre nel caso del **cloroplasto** si tratta di un **gradiente di pH**



Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Solomon et al., 2012

Ciclo di Calvin-Benson (la cosiddetta “fase oscura”)

- “Fissazione” di CO_2 all'interno dell'accettore **ribuloso bisfosfato (RuBP)**, catalizzata dalla **ribuloso bisfosfato-carbossilasi (RuBisCO)**

- Riduzione del **3-fosfoglicerato a gliceraldeide 3-fosfato** (con NADPH e ATP), in seguito trasformata in glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) e amido

- Rigenerazione dell'accettore RuBP (una molecola di RuBP per ogni molecola di CO_2)

Fonti:

Sadava et al., 2014, 2019; Solomon et al., 2012

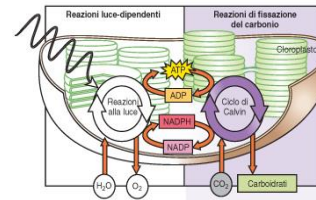
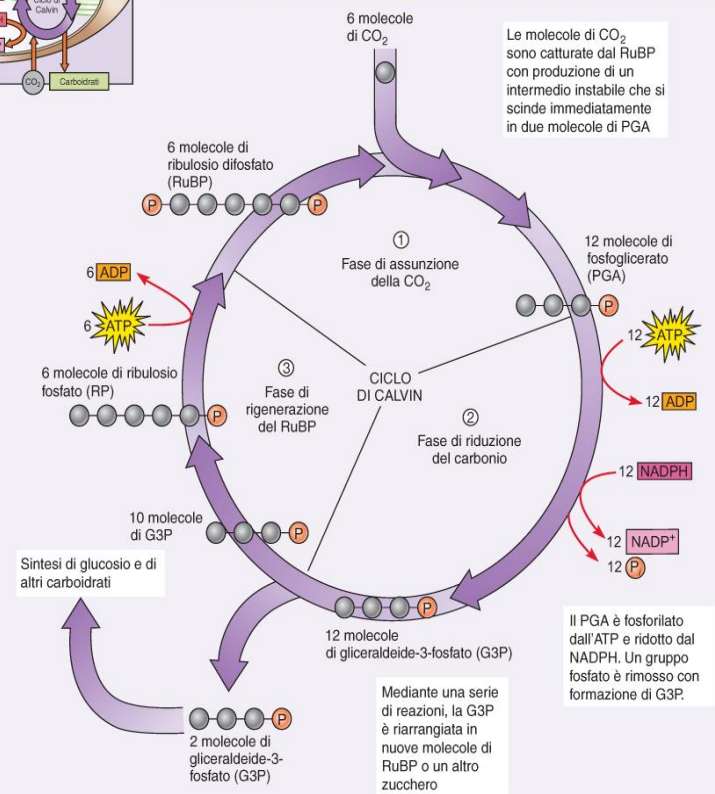
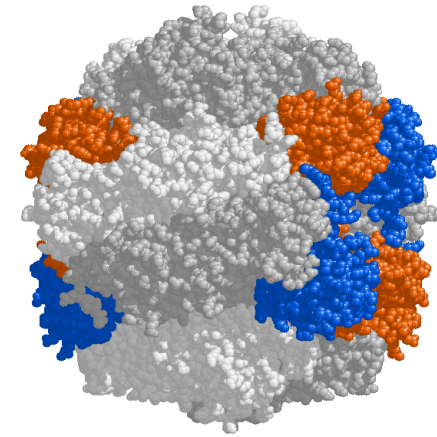


FIGURA 8-14 Una visione dettagliata del ciclo di Calvin.

① Questo disegno, nel quale gli atomi di carbonio sono rappresentati da sfere nere, mostra come sei molecole di CO_2 debbano essere “fissate” (incorporate in uno scheletro carbonioso preesistente), nella fase di assunzione della CO_2 , per produrre uno zucchero a sei atomi di carbonio come il glucosio. ② Nella fase di riduzione del carbonio, si forma gliceraldeide-3-fosfato (G3P). Due molecole di G3P “lasciano” il ciclo per ogni molecola di glucosio formata. ③ Il ribuloso difosfato (RuBP) viene rigenerato e può partire un nuovo ciclo. Sebbene queste reazioni non richiedano direttamente la luce, l'energia che muove il ciclo di Calvin proviene dall'ATP e dal NADPH, che sono i prodotti delle reazioni dipendenti dalla luce.



La RuBisCO, l'enzima più abbondante sul pianeta



La **ribuloso-1,5-bisfosfato carbossilasi/ossigenasi (RuBisCO)** è l'enzima (e **probabilmente anche la proteina**) più abbondante sulla Terra

E' un enorme complesso di **540 kDa**, costituito da **8 subunità grandi (L, 55 kDa)** e **8 subunità piccole (S, 13 kDa)**, riunite in dimeri

Richiede Mg^{++} per il suo funzionamento e costituisce il **25% delle proteine dei cloroplasti** e il **50% di quelle dello stroma**

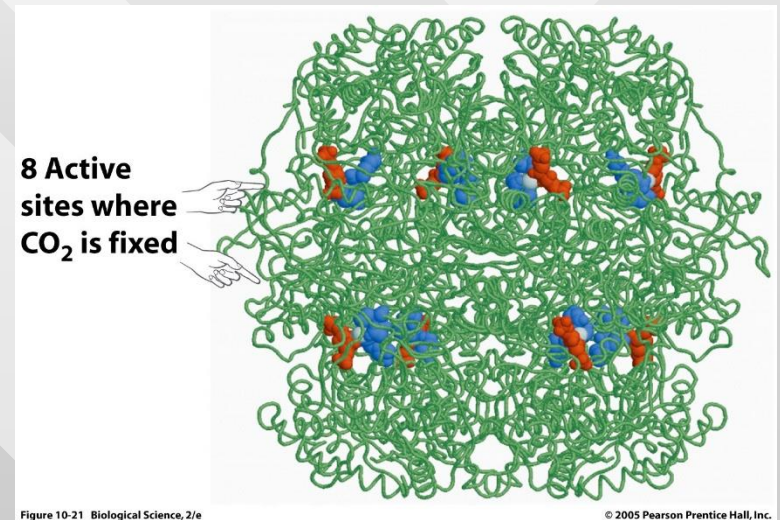
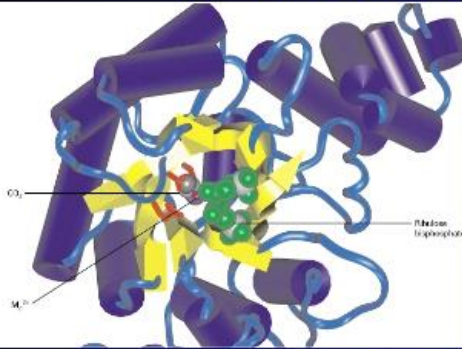


Figure 10-21 Biological Science, 2/e

© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

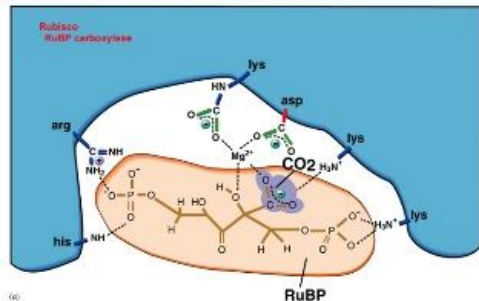
Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Solomon et al., 2014

10. The active site of RUBISCO

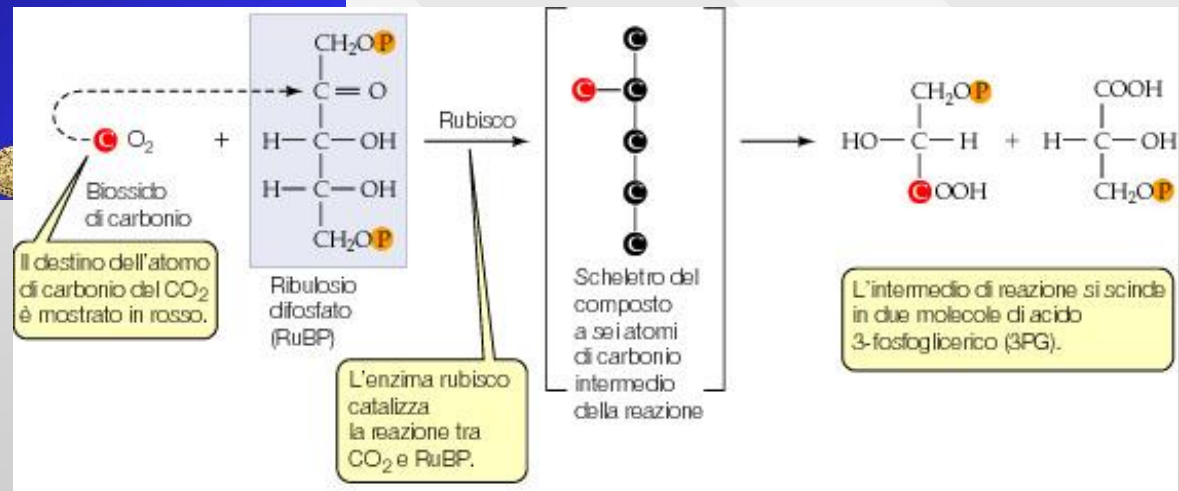


Structure of the catalytic domain of the active form of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase.

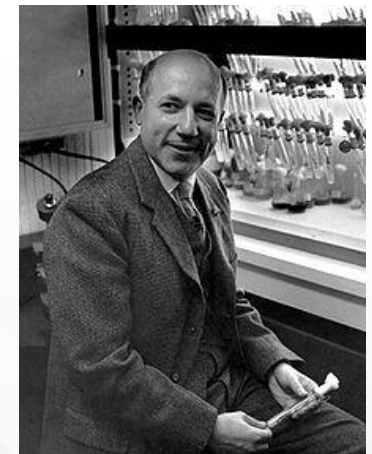
Dark blue cylinders represent α helices and yellow arrows represent β sheets in the polypeptide. The key residues in the active site are carbamylated lysine 191, aspartate 193, and glutamate 194; a Mg^{2+} ion is bound to carbamylated lysine 191. The substrates CO_2 and ribulose 1,5-bisphosphate are shown bound to the active site.



La RuBisCO catalizza il **passaggio fondamentale del ciclo di Calvin-Benson** in cui una molecola di CO_2 si lega al ribuloso 1,5-bisfosfato per ottenere un **intermedio a 6 atomi di carbonio**



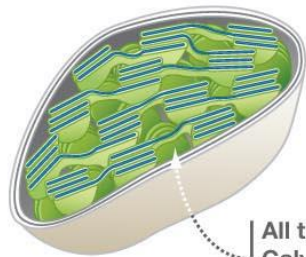
L'intermedio si scompone immediatamente in due molecole di acido 3-fosfoglicerico



Melvin Calvin
(1911-1997),
Premio Nobel per
la Chimica 1961

...ed inizia il **ciclo di Calvin-Benson**, che avviene in 3 fasi nello stroma del cloroplasto, **producendo glucosio** e **rigenerando RuBP**

(a) The Calvin cycle has three phases.

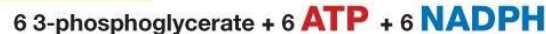


All three phases of the Calvin cycle take place in the stroma of chloroplasts

1. Fixation



2. Reduction

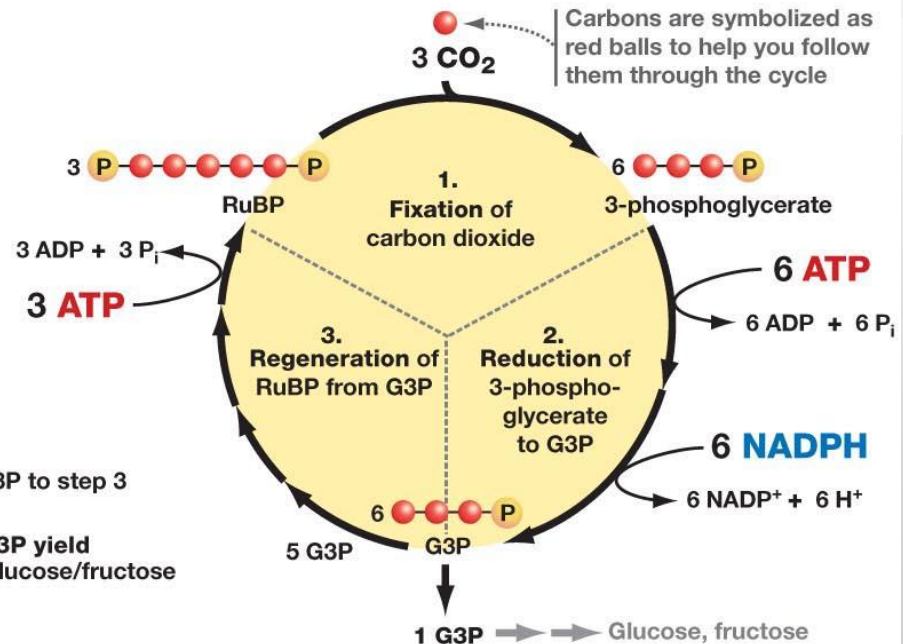


5 G3P to step 3
1 G3P yield to glucose/fructose

3. Regeneration



(b) The reaction occurs in a cycle.



© 2011 Pearson Education, Inc.

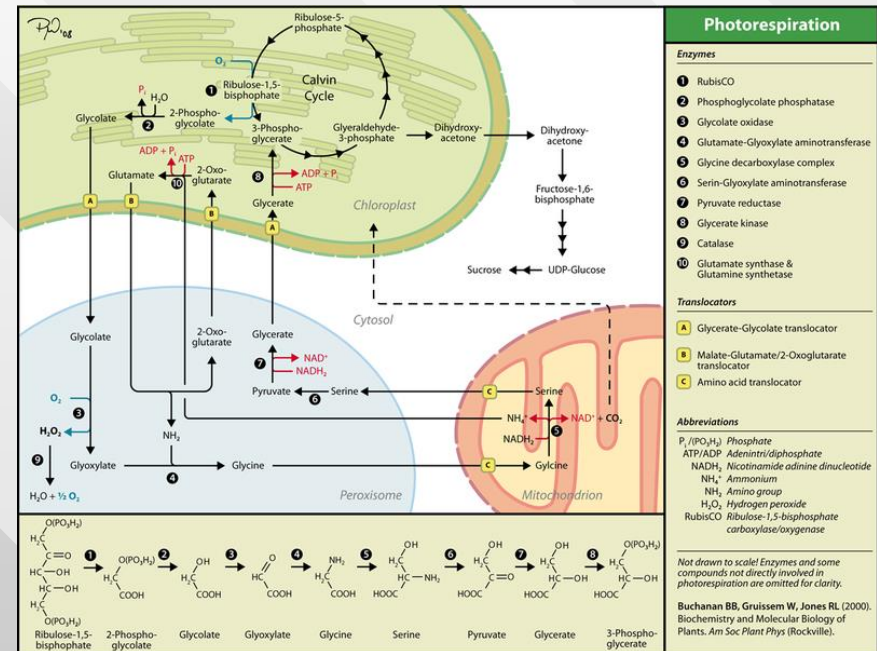
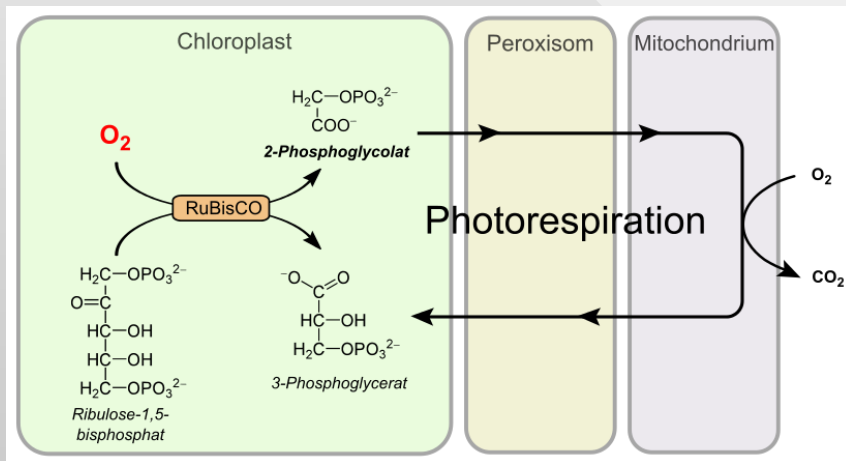
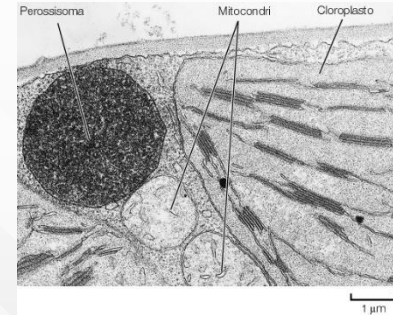
La fotorespirazione: riduzione del 25% della fissazione di CO₂

La RuBisCO è contemporaneamente una **carbossilasi** ed una **ossigenasi**, con una affinità maggiore per CO₂

→ ma **in caso di elevata concentrazione di O₂** può catalizzare la reazione:

RuBP + O₂ → fosfoglicolato + 3-fosfoglicerato (3PG, che rientra nel ciclo di Calvin)

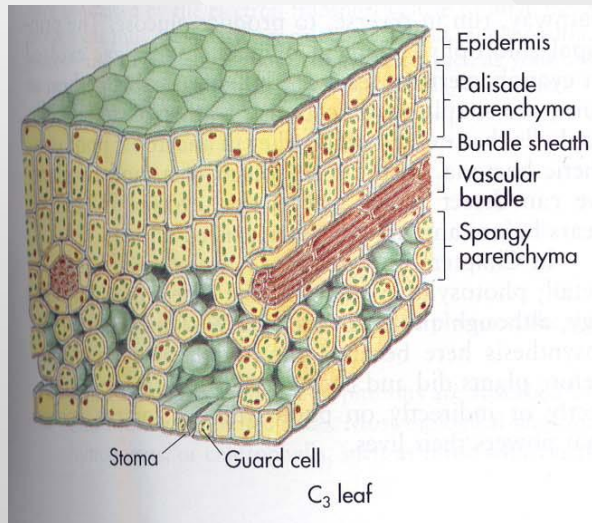
glicolato + O₂ → glicina (nei perossisomi)
2 glicina → serina + CO₂ (nei mitocondri)



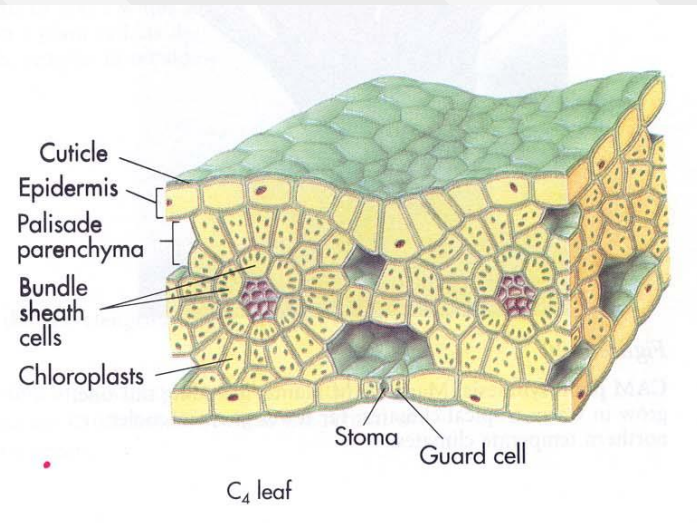
A temperature elevate la RuBisCO non riesce a discriminare tra CO_2 e O_2 :
quindi **come evitare la fotorespirazione e la riduzione di fissazione di CO_2**
quando il clima è molto caldo?

Vi sono piante che continuano a fissare la CO_2 anche ad alte temperature, producendo una molecola a **4 atomi di carbonio**, l'**ossalacetato**, in particolari strutture anatomiche che circondano i fasci vascolari ("**guaina del fascio**")

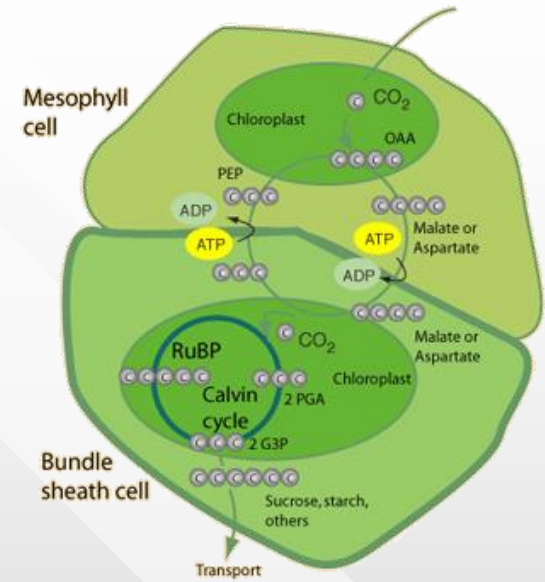
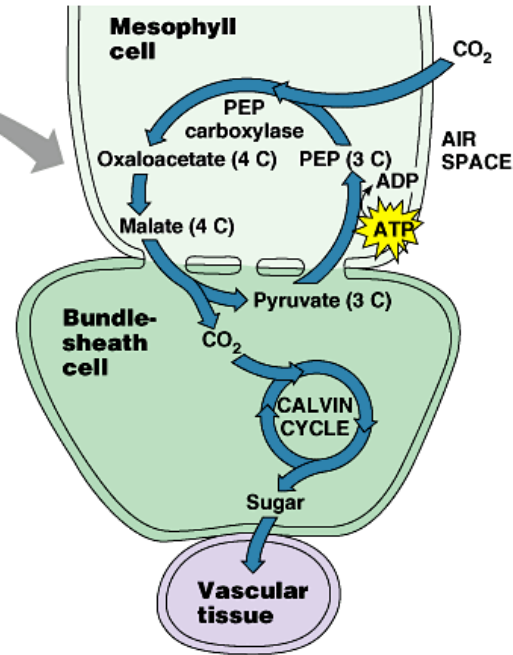
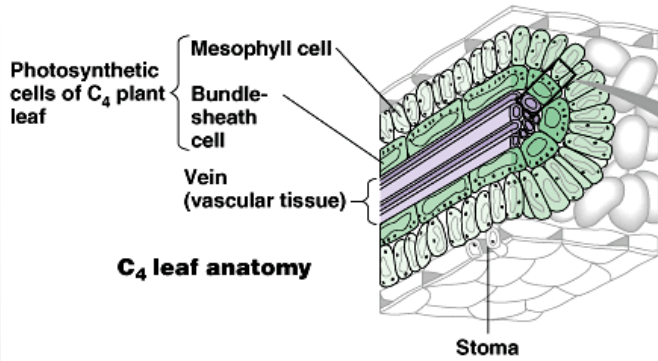
C_3



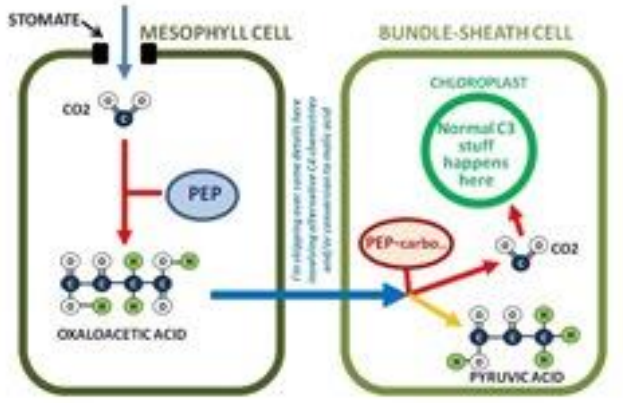
C_4



Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Reece et al., 2006



C4 Carbon Fixation



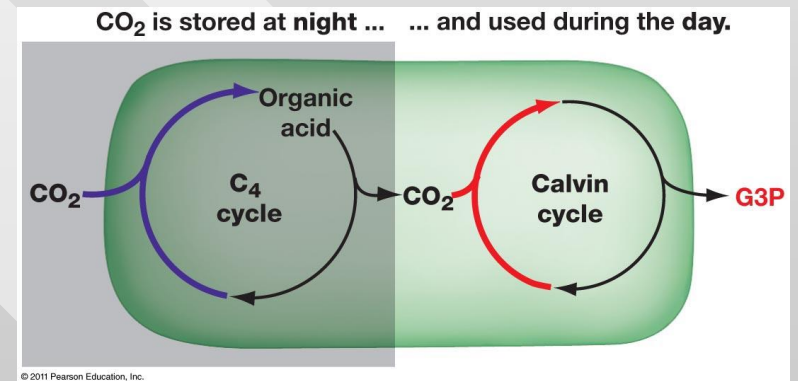
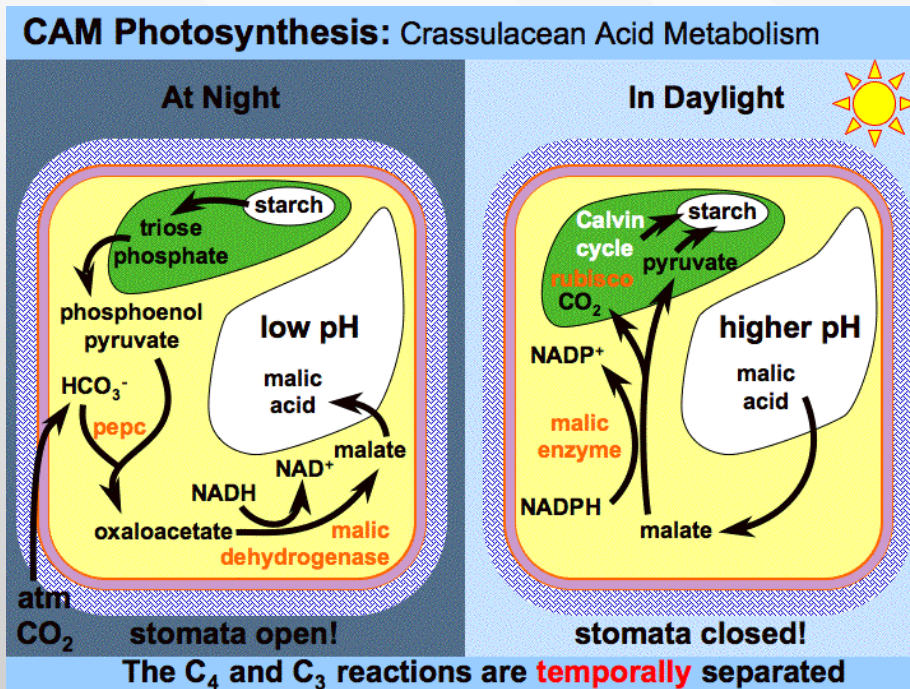
The C₄ pathway

L'enzima fosfoenolpiruvato carbossilasi (**PEP**) inserisce la CO₂ nel fosfoenolpiruvato, producendo ossalacetato nelle cellule del mesofillo

Quando gli stomi si chiudono (ad alta temperatura) l'ossalacetato rifornisce di CO₂ il ciclo di Calvin nelle cellule della guaina del fascio

Piante a C₄ e CAM (Crassulacean Acid Metabolism)

Altre piante tipiche dei climi caldi ed aridi (Cactaceae, o “succulente”) usano una variante del ciclo C₄, detta **CAM**, che **separa temporalmente** la fase di fissazione della CO₂ nell’ossalacetato (**di notte**) e il ciclo di Calvin (**di giorno**)



Fonte: <http://plantphys.info>

Il genoma del cloroplasto (ctDNA o plastoma)

Il cloroplasto, ex-cianobatterio, ha un proprio genoma (“**plastoma**”), sequenziato per la prima volta nel 1986 in *Marchantia polymorpha* (Bryophyta) e in *Nicotiana tabacum* (Solanaceae)

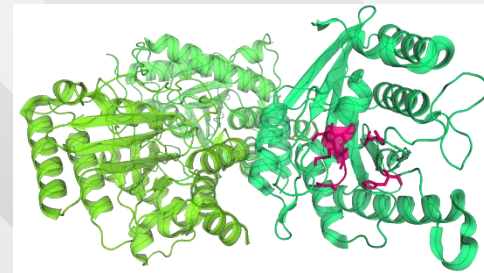
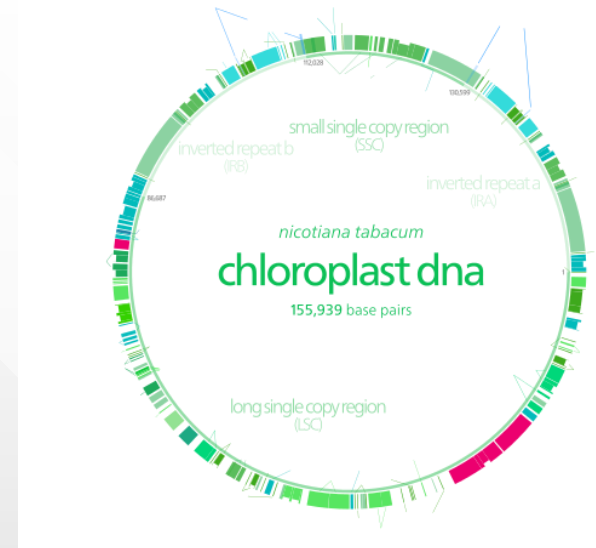
Il genoma plastidiale della pianta modello più importante, *Arabidopsis thaliana* (Magnoliopsida Brassicaceae) è stato interamente sequenziato nel 1999

E' un genoma procariotico generalmente circolare (a volte lineare), lungo tra 120000 e 170000 coppie di basi, presente in 80-100 copie in ciascun cloroplasto

A differenza dei comuni DNA dei procarioti, **contiene introni** (e **nelle piante anche i mitocondri hanno introni...**) ed è caratterizzato da “inverted repeats”

Nelle piante terrestri codifica per **circa 100 geni**:

- **28 proteine dei tilacoidi**
- **la subunità maggiore della RuBisCO**
- 11 subunità del complesso **NADP-redox**
- 4 subunità della RNA polimerasi
- 4 RNA ribosomiali
- 31 tRNA
- 21 proteine ribosomiali



Le altre proteine del cloroplasto (**95% delle 3000 necessarie per il suo funzionamento**) sono importate tramite **traslocatori della membrana esterna**, detti **TOC** (Translocon of Outer Chloroplast membrane) e **della membrana interna**, detti **TIC** (Translocon of Inner Chloroplast membrane)

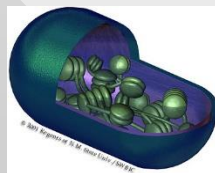
Il genoma del cloroplasto è ereditato **per via prevalentemente femminile nelle Angiosperme** e prevalentemente maschile nelle Gimnosperme

Sono note **malattie genetiche causate dai geni del cloroplasto**, come la “malattia delle foglie fragili” (“**brittle leaf disease**”) della palma da dattero, *Phoenix dactylifera* (Liliopsida Arecaceae)

La modificazione del genoma del cloroplasto per ottenere **piante “transplastomiche”** potrebbe rappresentare una interessante via di ingegneria genetica vegetale a sicuro contenimento genico



Chloroplast Genome Database



<http://chloroplast.cbio.psu.edu/>