

3 – Fotosyntetické pigmenty

Petr Ilík
KBF a CRH, PŘF UP

Funkce světlosběrných pigmentů

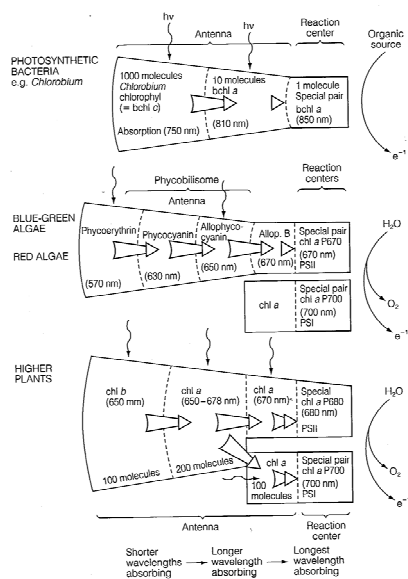


Figure 3.1. Energy absorption (→) and excitation transfer (⇌) between pigments in the light-harvesting antenna and to the photochemical reaction centers of different photosynthetic organisms

- Světlosběrný fotosyntetický aparát - 3 funkce:

Absorpce světla – pigment ve světlosběrné anténě nebo v RC

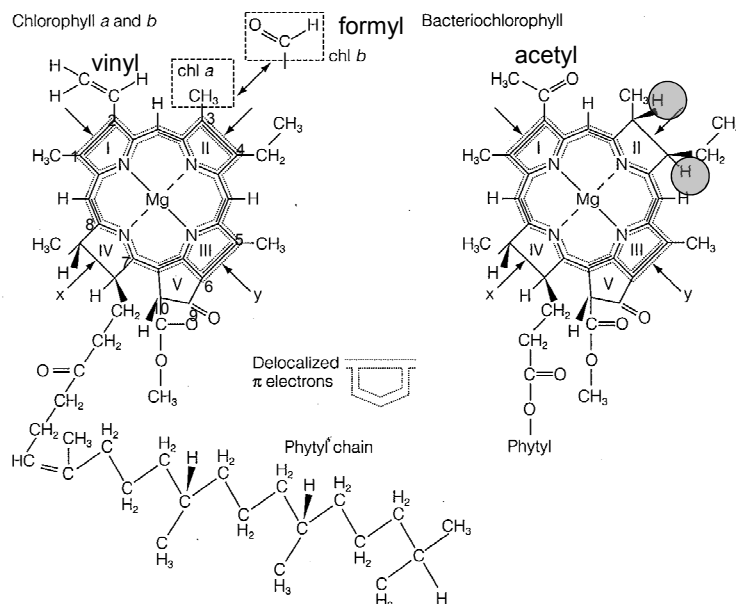
Přenos energie (excitaci) - ze světlosběrné antény do RC (po energetické spádnicí - obr. pro různé organismy)

Přenos elektronu – v RC

- Závislost na fyzikálně-chemických vlastnostech pigmentů
- hlavní světlosběrné pigmenty - chl, bchl v RC
- přidavné světlosběrné pigmenty absorbují záření v jiných spektrálních oblastech než hlavní – přenos energie do RC

⇒ využití širšího spektra záření pro fotosyntézu

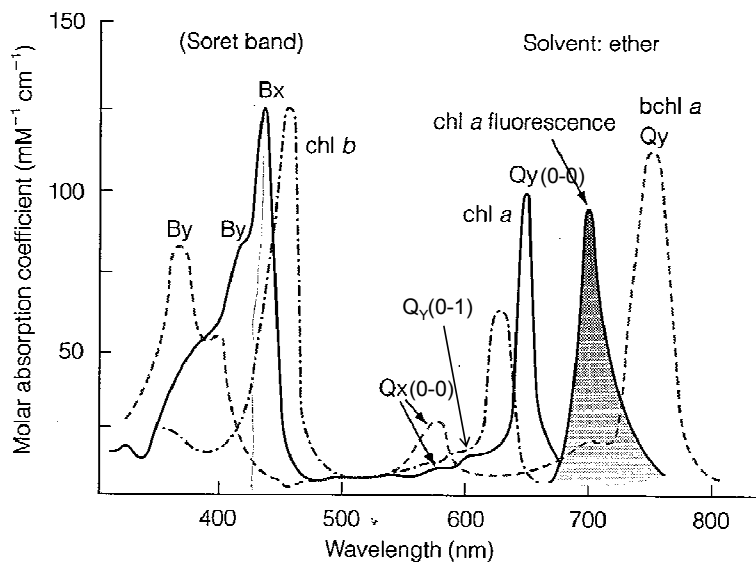
Fyzikálně-chemické vlastnosti (b)chl - 1



Fyzikálně-chemické vlastnosti (b)chl - 2

- **Metaloportyryl** – derivát portyrynu s atomem Mg uprostřed
- **Portyrynová hlava** – cyklický tetrapyrrol, 1,5 x 1,5 nm, hydrofilní, rovinná (skupiny na vnějších hranách), 12 (11 bchl) konjugovaných dvojných vazeb – delokalizované π elektrony $\Rightarrow$ velká plocha pro záchyt fotonu, osy x a y označují směry dipólových momentů elektronových přechodů (osa y: $N_1 \dots N_3$, osa x: $N_2 \dots N_4$)
- **Fytylový řetězec** – fytol, navázaný esterovou vazbou na zbytek kys, propionové 4. pyrolového cyklu, jedna dvojná vazba, hydrofóbní, důležitý pro interakci s lipidy a proteiny
- Molekula jako celek – amfipatická – převládá lipofilní (hydrofóbní) charakter $\Rightarrow$ dobrá rozpustnost v organických rozpouštědlech (polárních i nepolárních)
- **Schopnost být donorem elektronu** – (b)chl v RC, donace e^- z volných el. párů u O v C=O na cyklu V, donorové schopnosti klesají v pořadí C_9 , C_{10} , C_7 , v nepolárních rozpouštědlech (CCl_4) – dimery chl: $C_9=O \dots Mg$
- **Schopnost být akceptorem elektronu** – Mg není koordinačně nasycený, je ve formě Mg^{2+} ($1s^2$, $2s^2$, $2p^6$), hybridizace $3 sp^3d^2$ – oktaedr, 4 rovnocenné koordinačně kovalentní vazby od N_{1-4} , d orbitály kolmo k rovině portyrynové hlavy – vazba chl na proteiny (His, λ_{abs}), v alkoholech – monosolvát chl – L_1 , v nepolárních rozp. – disolvát chl – L_2

Absorpční spektrum (bakterio)chlorofylů - 1

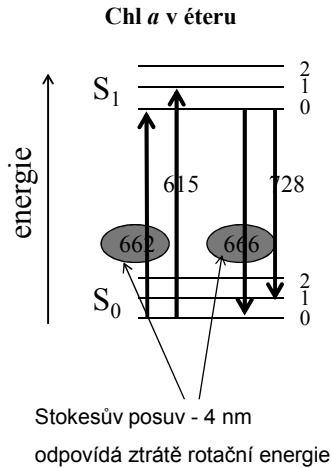


Absorpční spektrum (bakterio)chlorofylů - 2

- **Hlavní absorpční pásy (b)chl (rozpuštědlo éter)**
- 430 (450, 370) nm - chl a(b, bchl a) – přechod S_0-S_2 (Soretův pás) – modrá
- 660 (640, 760) nm – chl a(b, bchl a) - přechod S_0-S_1 – červená
- závislost na rozpouštědle – zejména hlavní maximum 660 – 675 nm (pohyb díky silné dipól dipólové interakci mezi rozpouštědlem a (b)chl), závislost na agregaci (b)chl
- výrazný rozdíl v absorpčních pásích chl a, b, bchl a – **spektrofotometrické stanovení obsahu pigmentů bez separace**, měření v červené oblasti spektra (není překryv s karotenoidy)
- Absorpční spektrum odráží přechody mezi elektronovými hladinami
- Přechody v červené oblasti – Q, v modré oblasti – B
- Přechod je závislý na polarizaci dopadajícího záření – x, y – osy porfyriu
- Např. $Q_x(0-0)$ – přechod z S_0 do S_1 , polarizace podél osy x, přechod z vibr. hladiny 0 stavu S_0 do vibrační hladiny 0 stavu S_1)
- Hlavní abs. pásy chl a v 80 % acetonu (Lichtenthaler 1987)

přechod	maximum [nm]
$Q_y(0-0)$	663,2
$Q_y(0-1)$	618,2
$Q_x(0-0)$	582,4
$B_{x(y)}(0-0)$	431,2

Absorpční a emisní pásy chlorofylu



Pravděpodobnost obsazení $S_0(0)$ a $S_0(1)$:

$$\frac{n_{S_0(1)}}{n_{S_0(0)}} = e^{-\frac{E}{RT}} \quad \text{Bolzmannův vztah}$$

E Rozdíl energií $S_0(0)$ a $S_0(1)$ – pro chl a 14 kJ/mol
RT univerzální plynová konstanta * absolutní teplota (2,48 kJ/mol)

$$n_{S_0(1)}/n_{S_0(0)} = e^{-5,65} = 0,0035 \text{ tj. 1 z 300 molekul je v } S_0(1)$$

Fluoresceční emisní pásy:

Hlavní – 666 nm, vedlejší – 728 nm (vibrační satelit)
Rozdíl - 62 nm ~ 15 kJ/mol

Interakce chl – aminokyselina:

posun absorpce i emise o i desítky nm do červené oblasti
pološířka absorpčního pásu -10 nm ~ 3 kJ/mol
- odpovídá spektru rotačních energií – interakce se sousedy

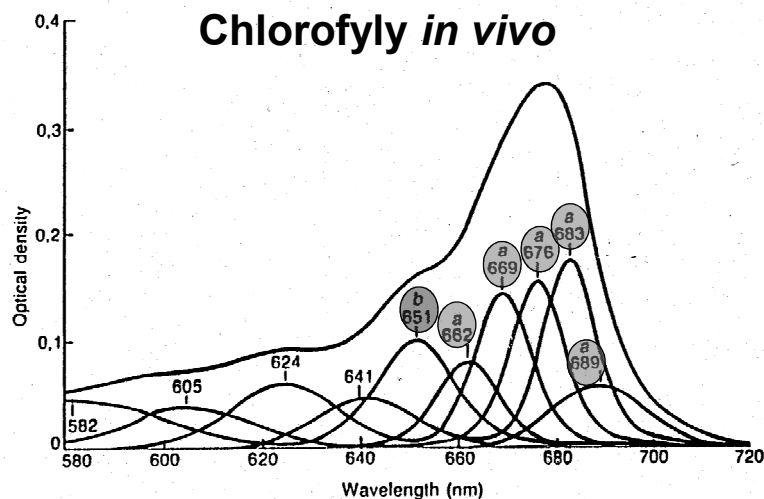
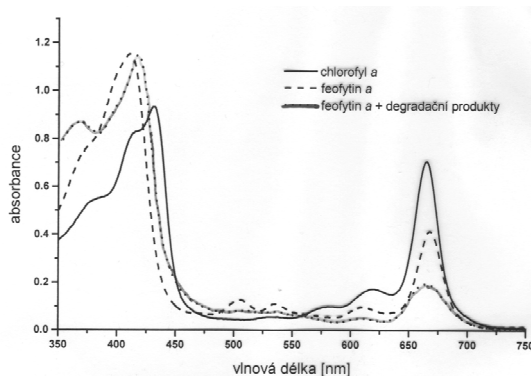
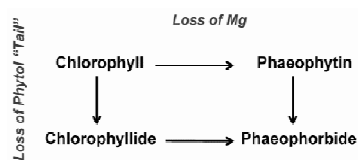


FIG. 3.6 Aggregates of chlorophyll in membranes absorb light at different wavelengths; the number and importance of the aggregates are analysed mathematically by deconvolution of the spectra, *Spinach chloroplasts at 25 °C*; numbers on curves are absorption maxima of individual complexes. (Modified from van Ginkel and Kleinen Hammans 1980).

Degradace chlorofylu



Obr. 3. Absorpční spektrum chlorofylu a a jeho degradačních produktů v 80 % acetonu. Vzorek s feofytinem a byl vytvořen přidáním kapky zředěné HCl ke vzorku s chlorofylem a. Vzorek s degradačními produkty feofytinu a byl vytvořen přidáním kapky koncentrované HCl ke vzorku s feofytinem a. Chlorofyl a byl izolován z listů ječmene jarního pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC).



Ztráta Mg^{2+} - ve slabě kyselém prostředí

Ztráta fytolu – roztoky hydroxidů alkalických kovů

Destrukce porfyrinu – silné kyseliny nebo vysoká ozáření v prostředí s O_2
 $(^3chl' + ^3O_2 \rightarrow ^1chl + ^1O_2^* \rightarrow$
 nevratná oxidace porfyrinového skeletu –
 vybělování – „photobleaching“,
 princip fotodynamické terapie)

Chlorofyly v reakčním centru - 1

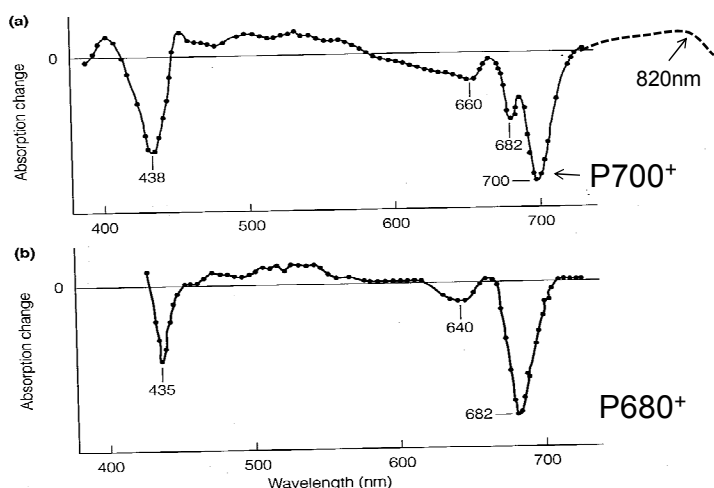


Figure 3.4. Difference spectrum of spinach chloroplasts between light and dark: (a) the change at 700 nm is due to absorption by PSI reaction center chl a (after Kok, 1961). (b) The reaction center chl a absorption of PSII (P680) (after Döring *et al.*, 1969)

Chlorofyly v reakčním centru - 2

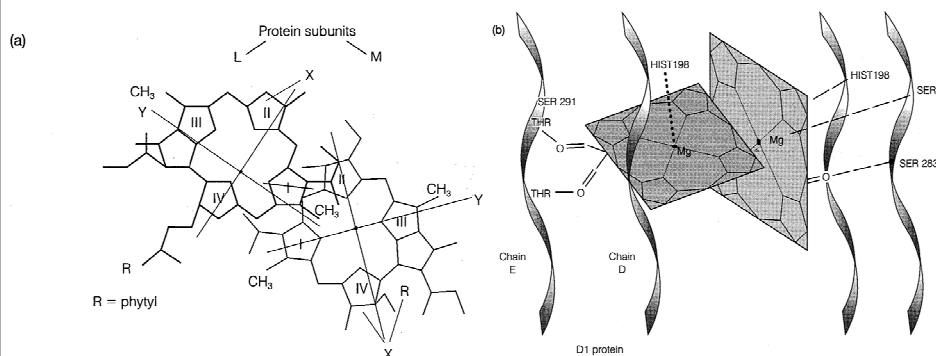
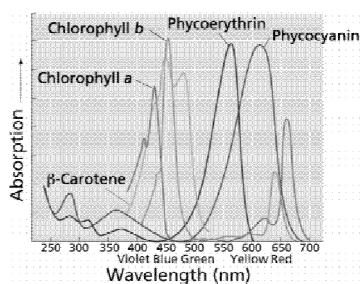
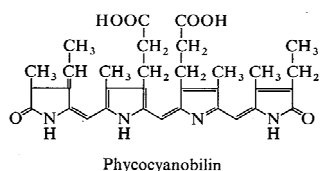
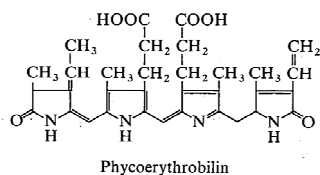


Figure 3.5. Structure of the reaction centers of (a) bacteria with the bchl a dimer P865 based on X-ray structure analysis, ENDOR and other techniques and calculated molecular orbitals. The bacteriochlorophylls are arranged in approximate parallel orientation (after Lendzian *et al.* in Michel-Beyerle, 1990). (b) Structure of higher plant photosystem II reaction center, with the chl a molecules arranged in close proximity but with the π orbitals at approximately right angles (simplified after Satoh, 1996). This may allow development of the larger energy difference in photosystem II than in the bacterial reaction center

Přídavné pigmenty - obecně

- zejména pro zachyt fotonů a předávání excitací (energie)
- **Chlorofyl b** – hlavní přídavný pigment ve světlosběrných anténách řas a nižších a vyšších rostlin, 100 % přenos energie na chl a ve světlosběrných anténách (není měřitelná fluorescence chl b *in vivo*), není vázan na protein kovalentně (H můstky a hydrofóbní interakce) stejně jako u chl a
- **Fykobiliny** – hlavní přídavný pigment u ruduch a sinic
- **Karotenoidy** – ve všech fotosyntetických organismech (i ochranná funkce)

Fykobiliny - 1

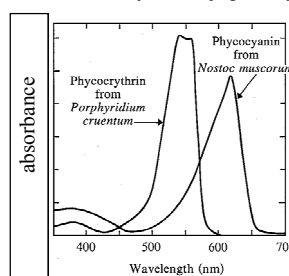


- hlavní přídatný pigment u sinic a ruduch
- Fyko(Phyco) – mořská řasa, biliny – látky podobné žlučovým proteinům („bile“ - žluč, pojmenování R. Lemberg ve 20. letech minulého století)

- Lineární (na rozdíl od (b)chl) tetrapyrol, kovalentní vazba na protein

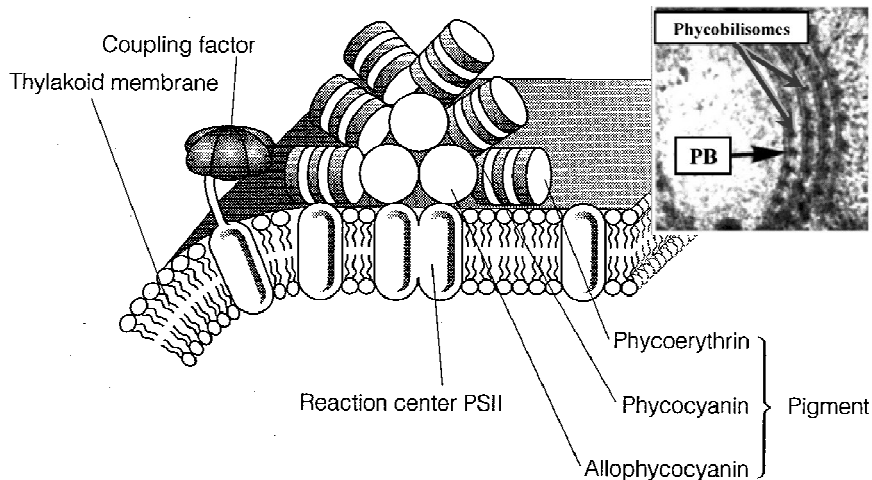
Hlavní fykobiliny:

- **fykoerythrobilin (PE)** – (+ protein = **Fykoerytrin**), $\lambda_{\max}$ – 530-570 nm $\Rightarrow$ načervenalý, 7 konjugovaných dvoj. vazeb
- **fykocyanobilin (PC)** – (+ protein = **Fykocyanin**), $\lambda_{\max}$ – 610-660 nm $\Rightarrow$ namodralý, 9 konjugovaných dvoj. vazeb



Fykobiliny - 2

- Fykobiliny – organizovány ve **fykobilizomech** (300 -800 fykobilinů)
- Fykobilizomy – navázány na RC PSII, možnost odpojení a připojení na RC PSI

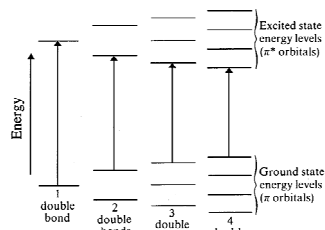


[illegible]

Karotenoidy - obecně

- u všech fotosyntetických organismů (světloběrná), absorpce cca 400 – 530 nm, zodpovědné za barvy listů při senescenci na podzim (degradace chl), důležité pro živočichy – neumí je syntetizovat (např. zbarvení kanárů a plameňáků)
- účinnost přenosu energie do RC i nižší $\Rightarrow$ spíše ochranná funkce !!!
- 40-C terpenoidy – izoprenoidy (z 8 izoprenů $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$)
- 3 nm molekuly s 9 a více konjugovanými =
- Počet konjugovaných = rozhoduje o absorpci:
vyšší počet $\Rightarrow$ vyšší λ_{max} absorpce i mol. ext. koef.

Počet konjugovaných h =	λ_{max} (nm) pro <i>n</i> -hexan
3	286
5	347
7	400
9	440
11	472
13	500



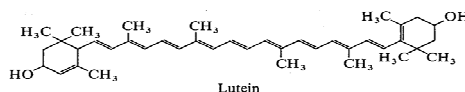
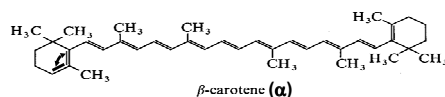
- Čím rozsáhlejší konjugovaný systém, tím širší spektrum energií základního a excitovaného stavu (průměrná energie základ. a exc. stavu je stejná)
- stačí méně energie na přechod do excitovaného stavu

- *in vivo* – posun o 20-30 nm k vyšším vlnovým délkám

Karotény a xantofyly

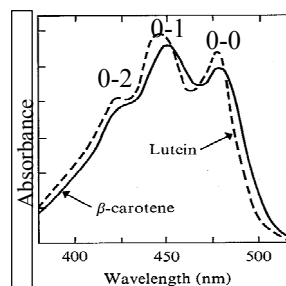
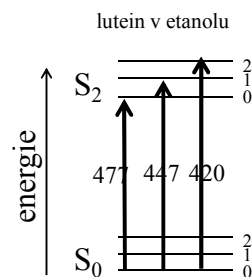
Karotény (bez kyslíku)

- oranžové pigmenty, rozpustné v tucích
- **β -karotén** – hlavní karotén v listech, symetrická molekula, 11 konj. = (**α -karotén** – změna pozice =)
- účinnost přenosu energie na chl – 30 – 40 %

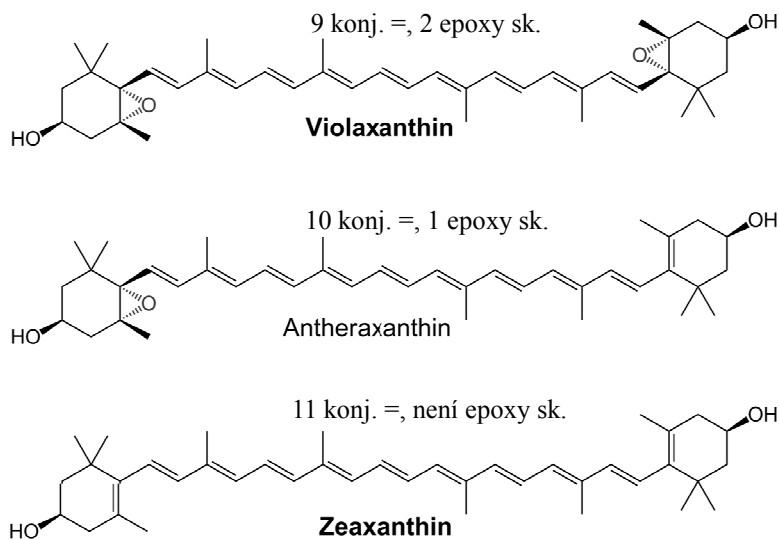


Xantofyly (s kyslíkem)

- vznik – oxidace karoténů. liší se v pozici kyslíku na koncových cyklech (epoxy-, hydroxy-, metoxy-, keto-skupiny), účinnost přenosu energie na chl až 80 %
- lutein – hlavní xantofyl v listech (10 konj.=)
- violaxantin, antera-, zea-, neo-, fuko-



Xantofyly xantofylového cyklu

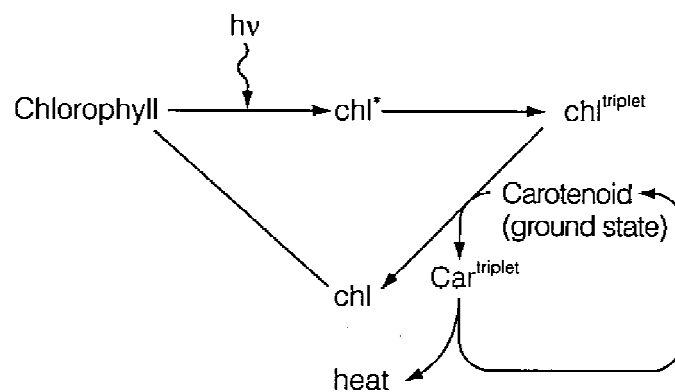


Ochranná funkce karotenoidů - 1

- ochrana před oxidativním poškozením

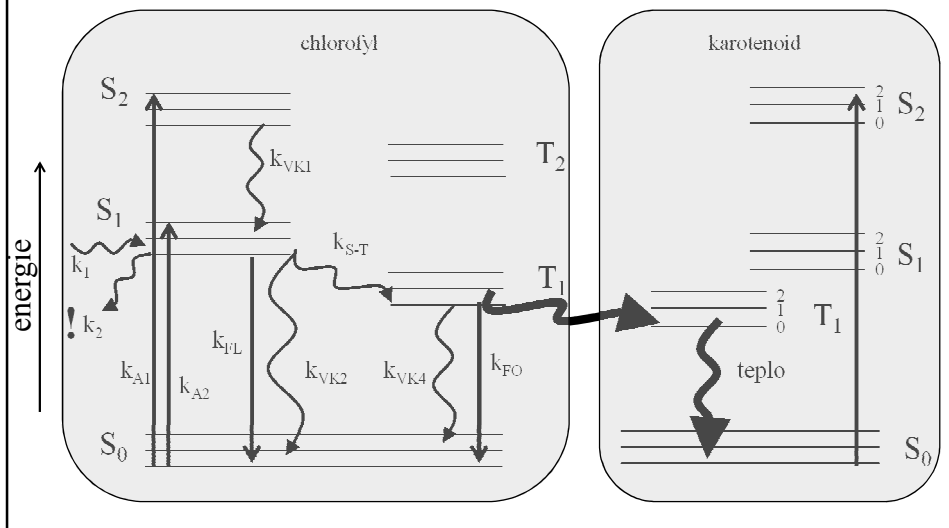
- 2 mechanismy:

1) Převod energie z $^3\text{chl}^*$ na car



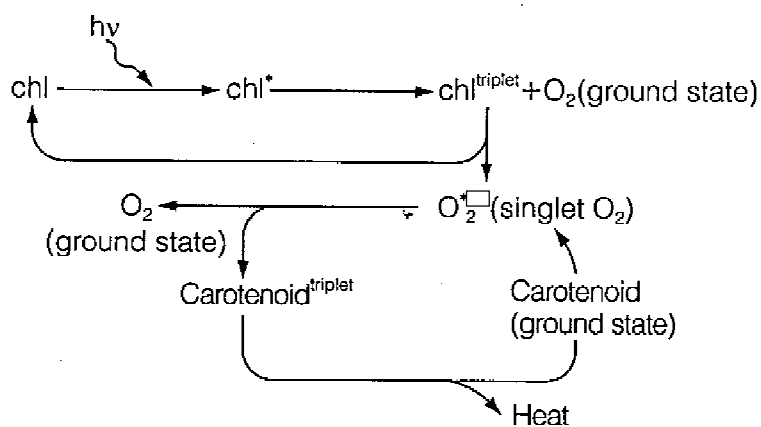
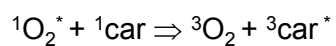
Ochranná funkce karotenoidů - 2

1) Převod energie z $^3\text{chl}^*$ na karotenoid (Jablonského schéma), 10 x rychlejší než na chl (vyměnná rezonance – nutná blízkost molekul)



Ochranná funkce karotenoidů - 3

2) Likvidace singletního kyslíku ($^1\text{O}_2^*$), který vzniká při reakci $^1\text{chl}^* + ^1\text{O}_2 \Rightarrow ^1\text{O}_2^* + ^1\text{chl}$



Ochranná funkce karotenoidů - 4

3) Přenos energie z $^1\text{chl}^*$ na karotenoid iniciovaný acidifikací lumenu thylakoidu a následnou konformační změnou proteinu v souvislosti s deepoxidací violaxantinu na zeaxantin

