**6. KLOROPLASZTISZ**

**Írták: Merczel Kinga, Matejka Judit és Marton Zoltán biomérnök hallgatók,**

**Dr. Sveiczer Ákos egyetemi docens előadásai alapján**

**A kloroplasztisz szerkezeti felépítése**

A kloroplasztisz, vagy zöld színtest kizárólag a növényi és alga sejtekben előforduló sejtszervecske. A mitokondriumnál néhány 100 millió évvel később alakulhatott ki, de keletkezésük feltételezhetően hasonló módon zajlott: valaha egy eukarióta sejt felfalt egy oxigéntermelő cianobaktériumot, de elpusztítás helyett szimbiózisban kezdett el vele élni. Átmérője 2 μm, hosszúsága 6 μm, így jóval nagyobb a mitokondriumnál.

Növényi organellumként a *plasztisz*ok közé tartozik. Mindenféle plasztisz végső soron a színtelen *proplasztisz*ból keletkezik, ami a növényi embrionális sejtekben található. Így a sejt differenciálódása szerint megkülönböztetjük az alábbi plasztiszokat:

− *etioplasztisz:* kevés fény esetén fejlődik ki a proplasztiszból (sárga színű klorofill prekurzort tartalmaz)

− *kloroplasztisz*: fotoszintetizáló organellum (pigmentjei között dominál a klorofill zöld színe, de járulékos pigmenteket is tartalmaz)

− *kromoplasztisz*: dominánsan sárga, piros vagy narancsszínű karotenoidokat tartalmazó pigmentált organellum, mindig a kloroplasztiszból alakul ki

− *leukoplasztisz*ok: raktározási funkcióra módosult „színtelen színtestek”; az alábbi 3 típusuk különböztethető meg:

− *amiloplasztisz*: keményítő tartalmú plasztisz

− *elaioplasztisz:* olaj és lipid tartalmú plasztisz

− *proteinoplasztisz:* fehérjéket raktározó plasztisz.

A kloroplasztisz szerkezete részben hasonló a mitokondriumhoz, ugyanis több membrán határolja. A feszes külső membrán számos molekula számára könnyen átjárható, csupán durva szűrőként funkcionál, így a két membrán által közrezárt ún. intermembrán tér a citoszolhoz hasonló összetételű. A külsővel párhuzamos belső membrán azonban csak meghatározott molekulákra permeábilis, és a mitokondrium mátrixának megfeleltethető, *sztrómá*nak nevezett teret határolja. A sztrómán belül egy, talán a belső membránból származtatható, zöld pigmenteket tartalmazó *tilakoid membránrendszer* is megtalálható, amely a folyamatos *tilakoid ter*et zárja közre. A tilakoid membrán kis, egymással összefüggő lapos zsákocskákat alkot, ezeket *gránum*oknak nevezzük. Ez biztosít helyet a nagy felületet igénylő reakciók számára, az elektrontranszport-lánc elemei is itt helyezkednek el. A kloroplasztisz fő funkciója cukrok előállítása CO2-ból fényenergia felhasználásával a fotoszintézis során. Ez két részre bontható: egy ún. *fény-szakasz*ra, mely során a fény gerjeszti a klorofill molekulákat, és végül ATP és redukált koenzimek képződnek, illetve egy ún. *sötét-szakasz*ra. Az utóbbi folyamat során keletkező cukroknak nem szükséges rögtön felhasználódniuk, a sztróma pl. keményítő formájában képes tárolni is azokat.

**Fény-reakciók és sötét reakciók a kloroplasztiszban**

A fény-szakasz folyamatait *fotoszintetikus elektron-transzfer reakciók*nak is nevezzük. Ezek kizárólag a tilakoid membránján játszódnak le, és nevüket annak köszönhetik, hogy lejátszódásukhoz közvetlenül esszenciális a fény energiája.

Fény hatására a klorofill molekulák gerjesztődnek, azaz a molekula kettős kötésrendszerének egyik elektronja magasabb energiaszintre lép, majd egy elektrontranszport-lánc indul be. A lánc elején a víz elektronjai kerülnek felhasználásra, a folyamat energiaigényét a fényenergia biztosítja. Az elektronok áramlásuk során a mitokondrium terminális oxidációjához hasonlóan áthaladnak egy protonpumpán is, így ez esetben is protongradiens alakul ki. A folyamat során egyrészt ADP-ből és szervetlen foszfátból kémiai energia keletkezik ATP formájában, másrészt redukáló erő is képződik, ugyanis a NADP+ koenzimből NADPH képződik a lánc végén. Emellett a lánc másik végén a víz oxidálódik, és így melléktermékként molekuláris oxigén keletkezik. A fény- és a sötét-szakaszt az ATP és a NADPH kötik össze.

A *sötét reakciók* nevükhöz híven nem igényelnek fényenergiát, csak közvetetten függnek a fénytől (ugyanis az előbbi folyamatban keletkezett ATP és NADPH szükséges lejátszódásukhoz). A kloroplasztisz sztrómájában kezdődnek és a citoszolban fejeződnek be. Egy körfolyamat (Calvin-ciklus) során a légköri CO2 fixálása zajlik, ami energiaigényes folyamat, ugyanis új kovalens kötések jönnek létre. Három CO2 molekulából kiindulva egy glicerinaldehid-3-foszfát keletkezik. Ehhez az energiát a frissen szintetizált ATP biztosítja, amelyet a színtest nem ad le a citoplazmának, hanem rögtön helyben felhasználja; a NADPH pedig a redukáló képességet szolgáltatja. Végtermékként, annak végső rendeltetési helyétől függően, glükóz vagy szacharóz keletkezik, ami tovább alakulhat keményítővé, de akár zsírsavakká, vagy aminosavakká is. A megtermelt szerves molekulákat leghatékonyabban a mitokondrium tudja oxidatív módon elbontani (oxidatív foszforiláció, a mitokondrium és a kloroplasztisz kooperál, lásd később).

**A klorofill molekula fotokémiája**

A klorofill molekula felépítése alapján két részre osztható. A feji egység egy könnyen gerjeszthető, konjugált kettős kötéseket tartalmazó *porfirin gyűrű*ből áll, amelynek központjában helyezkedik el egy Mg2+ ion. A tilakoid membránba való beágyazódásért pedig a hidrofób farki rész (szénhidrogén lánc) felel. A molekula zöld színét annak köszönheti, hogy a vörös szín nyelődik el benne a legjobban, így annak kiegészítőjeként zöldnek látjuk a klorofillt.

Foton hatására a porfirin gyűrű kettős kötéseinek egyik alacsony energiaszintű elektronja gerjesztődik, azaz magasabb energiaszintre kerül. Ez egy instabil állapot, így ezt a nagy energiát a molekula hamar leadja, amelynek háromféle módja lehetséges. *Fluoreszcencia* esetén hő és fény (elektromágneses hullámok) formájában kisugározza az energiát, és izolált körülmények között csak ez a mechanizmus zajlik le. *Rezonancia energiatranszfer*ről beszélünk abban az esetben, ha a klorofill molekulák közel vannak egymáshoz, így egyszerűen csak átadja a gerjesztett molekula az energiáját az egyik szomszédjának. Az *elekrontranszfer* során pedig az egész gerjesztett elektront adja át a klorofill egy elektronakceptornak, amely ezáltal redukálódik. Az utóbbi eset megvalósulásához legalább három molekula részvétele szükséges: egy elektronakceptor (pl. egy fehérje), maga a klorofill, és végül egy elektrondonor*.* Utóbbi a klorofillnak ad át egy kis energiájú elektront, ami által a klorofill visszakerül alapállapotába, és újra gerjeszthető lesz.

**A fotorendszerek felépítése és működése**

A fotorendszerek a tilakoid membránban található hatalmas méretű komplexek: fehérjék, klorofill molekulák és egyéb pigment molekulák (pl. karotenoidok) építik fel. Az energia-felvétel hatékonyságának növelésére, valamint a felvett energia kezelésére és tovább adására szolgálnak. Felépítésüket tekintve a fotorendszerek két funkcionális egységre oszthatók. Az ún. *fotokémiai reakciócentrum* (transzmembrán komplex) egypáros klorofill-molekulából és fehérjékből áll, és végső soron ezen páros klorofill gerjesztése következik be. Az ún. *antenna komplex* pedig a gerjeszthető felületet növeli, amely nagyszámú klorofillt (és járulékos pigmentet) tartalmaz. A foton véletlenszerűen gerjeszt egy klorofillt, majd pedig az egymáshoz közel eső klorofillek sorban gerjesztődnek úgy, hogy eközben rezonancia energiatranszferrel adják át egymásnak az energiát. Kívülről befelé haladva az energia végül eljut a reakciócentrumba. Az antennában a járulékos pigment molekulák a klorofillhoz képest eltérő hullámhosszon képesek gerjesztődni, így a látható fénynek széles hullámhossz-skálája hasznosítható. A reakciócentrumból elektrontranszferrel kerülnek az elektronok tovább.

**A fotoszintézis elektrontranszport-lánca és Z-sémája**

Az elektrontranszport-láncbankét fotorendszer működik közre. Elsőként a 2. fotorendszer gerjesztődik. Az elektrontranszfer során a gerjesztett klorofill egy elektronakceptornak, a fotorendszer részét már nem képező plasztokinonnak adja át az elektront, és így beindul az elektronszállító lánc. Az így keletkezett pozitív töltésű klorofill molekulát egy mangántartalmú vízbontó enzim (mint elektrondonor) állítja vissza alapállapotba úgy, hogy egy alacsony energiájú elektront ad át neki. Maga az elektrondonor pedig a vízbontásból származó elektronnal töltődik újra. A vízbontás során melléktermékként minden második vízmolekula bomlása után, azaz összesen 4 elektron átadása után egy molekuláris oxigén képződik.

Az elektrontranszport-láncban a plasztokinon az elektront a citokróm b6-f komplexnek adja át, mely a szállítás következtében protont pumpál a sztrómából a tilakoid térbe. A protonpumpa funkciójához szükséges energiát az elektrontól veszi; működésével hozzájárul a protongradienskialakításához. A protongradiens a kloroplasztiszban is az F0F1 ATP-szintázon keresztül sül ki, és így ATP szintetizálódik.

A citokróm b6-f a plasztocianinnak adja át a csökkent energiájú elektront, ami az 1. fotorendszernek adja le azt. Az elekronvándorlás a láncban a 2. fotorendszertől idáig spontán történik, azaz a lánc következő tagjának mindig nagyobb az affinitása az elektronhoz az előző tag affinitásánál. Az 1. fotorendszer hasonló a ketteshez, annyi különbséggel, hogy az elektront nem vízbontásból, hanem az elektronszállító láncból kapja, és nem a plasztokinonnak adja tovább, hanem a ferredoxinnak*.* Azért van szükség az 1. fotorendszer szintjén az elektron újra gerjesztődésére, hogy energiaszintje a ferredoxin fölé kerüljön. Utolsó lépésekként pedig a ferredoxin a ferredoxin-NADP-reduktáznak adja át az elektront, amely végül redukálja a NADP+-t, így NADPH-t termelve.

A redoxpotenciál változását a fotoszintézis fény-szakasza során a folyamat Z‑sémájánaknevezzük, ez más néven a nem-ciklikus fotofoszforiláció (vagy –redukció)*.* Azonban abban az esetben,ha csak az 1. fotorendszer van működésben, kizárólag ATP keletkezik (azaz NADPH nem): ez a Z-séma rövidre zárása,azaz az ún.ciklikus fotofoszforiláció. Ilyenkor a ferredoxinról nem a koenzimek felé mennek az elektronok, hanem „vissza” a plasztokinonra. Ennek a folyamatnak a jelentőségét az adja, hogy a színtest ATP igénye meghaladhatja a nem ciklikus fotofoszforiláció által termelt mennyiséget.

**A mitokondrium és a kloroplasztisz pH viszonyai, kooperációjuk növényi sejtekben**

A mitokondriumban a terminális oxidáció során a mátrixból (pH ≈ 8) a protonok az intermembrán térbe (pH ≈ 7) pumpálódnak, és ez a gradiens az ATP-szintázon keresztül sül ki. A kloroplasztiszban a sztróma és az intermembrán tér közt ugyanígy megvan az egy pH-nyi különbség, de ez semmire nem használódik fel. Viszont a tilakoid térben kb. 5-ös pH viszonyok jellemzőek, ugyanis kis térfogatának köszönhetően a protonpumpa által ez a tér könnyen savassá válik. Ennek köszönhetően a tilakoid tér és a sztróma közt 3 pH-nyi különbség jön létre, ami ezerszeres protonkoncentráció különbséget jelent.

Akloroplasztisz az egyetlen sejtszervecske, mely szervetlen anyagból képes szerves anyagot előállítani. Ennek egy részét pl. keményítő formájában raktározza, és mivel ATP-t nem képes leadni, az előállított szerves anyag másik részét cukor (tipikusan glicerinalhehid-3-foszfát) formájában adja le a citoszolnak, ahol az tovább alakul, energetikailag hasznosul, vagy elszállítódik a növény nem fotoszintetizáló részeibe (gyökér, virág, termés).

Ezzel szemben a mitokondrium hőközpontként értelmezhető. A citoplazmában zajló ATP-igényes folyamatokhoz az ATP-t a mitokondrium biztosítja a növényi sejtekben is, a színtest által termelt cukrok oxidatív lebontásával. A kloroplasztisz tehát a fényenergiát először ATP-ben tárolt kémiai energiává alakítja, majd azt cukrokba viszi át, amit lead. A mitokondrium ennek az energiának jelentős részét visszaalakítja ATP-vé, és ez a kooperáció jelentős energiaveszteséggel jár ugyan, de mégis szükségszerű!

**A mitokondrium és a kloroplasztisz genomja és szaporodása**

A mitokondrium genomja igen tömören tartalmaz információkat, és a kloroplasztisz genomjához hasonlóan eléggé kisméretű. A prokarióta eredet miatt mindkét genom cirkuláris, azaz prokarióta jellegű, és többszörös kópiában (5-50) található meg a mátrixban ill. a sztrómában. A kódoló gének száma a mitokondriumban 40 sincs, míg a kloroplasztiszban 100 feletti ugyan, de az is meglehetősen kevés. Ezek a gének jelentős részben a saját genetikai rendszer működéséhez szükségesek, így kódolnak pl. rRNS-eket, r-proteineket, tRNS-eket, illetve hiányosan kódolják a biokémiai apparátusuk elemeit (pl. az elektrontranszport-láncok, az ATP szintáz vagy a fotorendszerek egyes fehérjéit).

Ezen sejtalkotók replikációja és osztódása bizonyos mértékben követi a sejtciklust, de azzal nincs szigorúan összehangolva. Egy generáció alatt az endoszimbionta eredetű organellumok száma hozzávetőlegesen megduplázódik. Saját fehérje szintetizáló apparátussalis rendelkeznek, azonban nem képesek előállítani minden mitokondriumban, illetve kloroplasztiszban működő fehérjét. Így bizonyosakat a citoplazmából importálnak (egyirányú forgalom), ennek következtében szemi-autonómok ezek az organellumok. Viszont amely fehérjéket önállóan képesek megszintetizálni, azokat mindig a saját működésük során használják fel. A mitokondriális fehérjék tehát kódolódhatnak helyben vagy a sejtmagban. Ennek vizsgálata a transzkripció vagy a transzláció szelektív gátlásával történhet, így pl. a cikloheximid gátolja a citoplazmás (eukarióta) transzlációt, de nem befolyásolja a mitokondriális (prokarióta típusú) folyamatot, a klóramfenikol pedig pontosan fordítva.