Новосибирский государственный
университет

Лекция №9

Фотосинтез

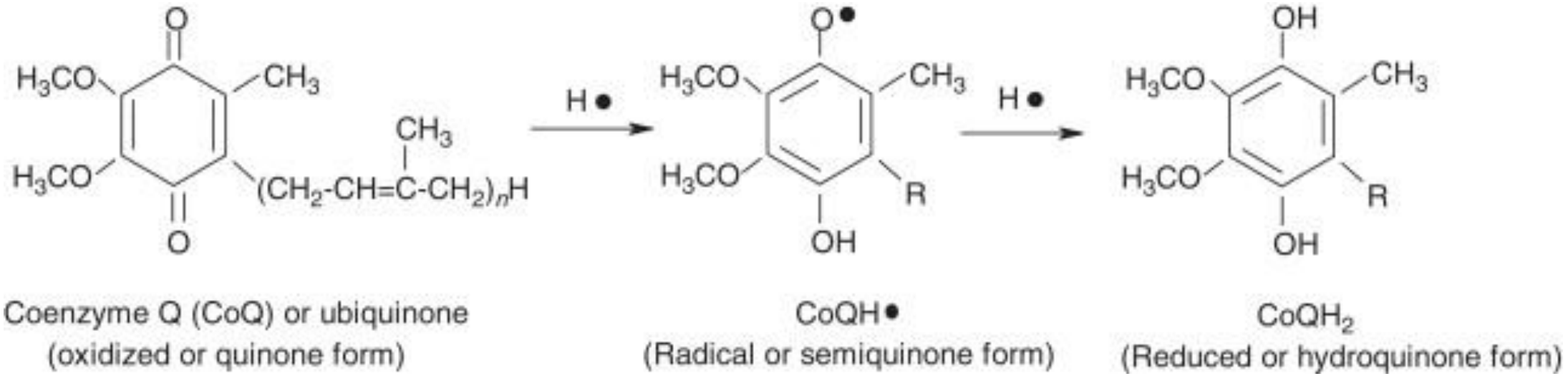
Кечин Андрей Андреевич, к.б.
н.

Новосибирск -
2020

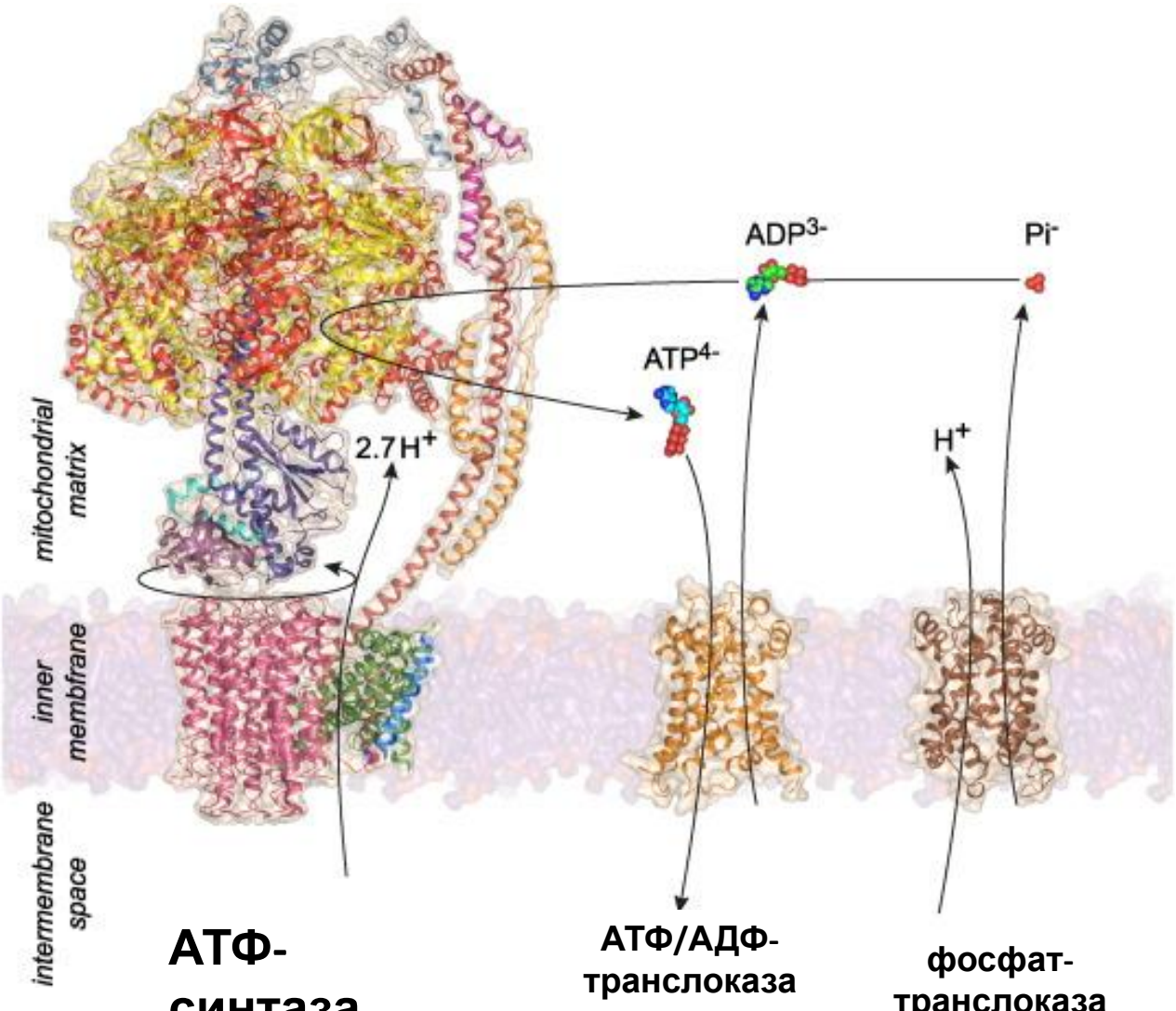
Вопросы с прошлой лекции

- Почему QH^- так обозначен?
- Почему не 36–38 АТФ образуется всего из глюкозы?
- Действие цианидов

Почему QH^- так обозначен?



H^+ нужен не только АТФ-синтазе

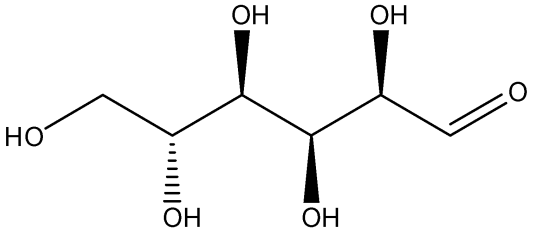


- Для синтеза 1 АТФ необходим еще 1 H^+, который переносится в матрикс вместе с фосфатом (симпорт)
- АТФ и АДФ переносятся через внутреннюю мембрану с помощью антипорта (в противоположных направлениях)
- Суммарно для синтеза 1 АТФ требуется примерно 3,9 H^+, перенесенных их матрикса в просвет кристы

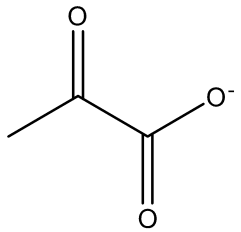
Edmund R.S. Kunji et al. The transport mechanism of the mitochondrial ADP/ATP carrier // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, Volume 1863, Issue 10, 2016, Pages 2379-2393, https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.03.015

Итоги гликолиза, ПДК, ЦТК и ЦПЭ

Цитоплазма



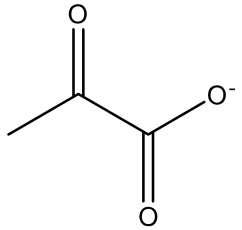
$+ 2\ NAD^+ + 2$ АДФ $+ 2\ HPO_4^{2-} \longrightarrow 2$



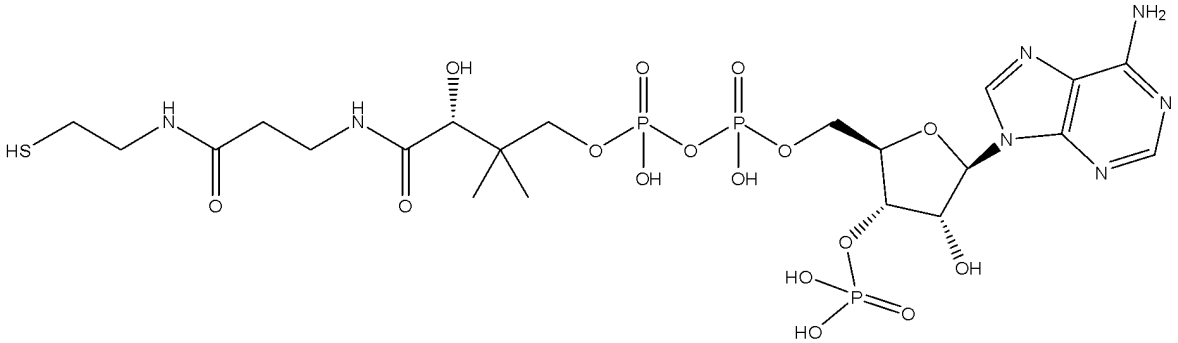
$+ 2\ NADH + 2$ АТФ $+ 2H+ + 2\ H_2O$?

<u>попадают в митохондрии через «обменники»</u>

Матрикс митохондрий



$+ NAD^+ +$



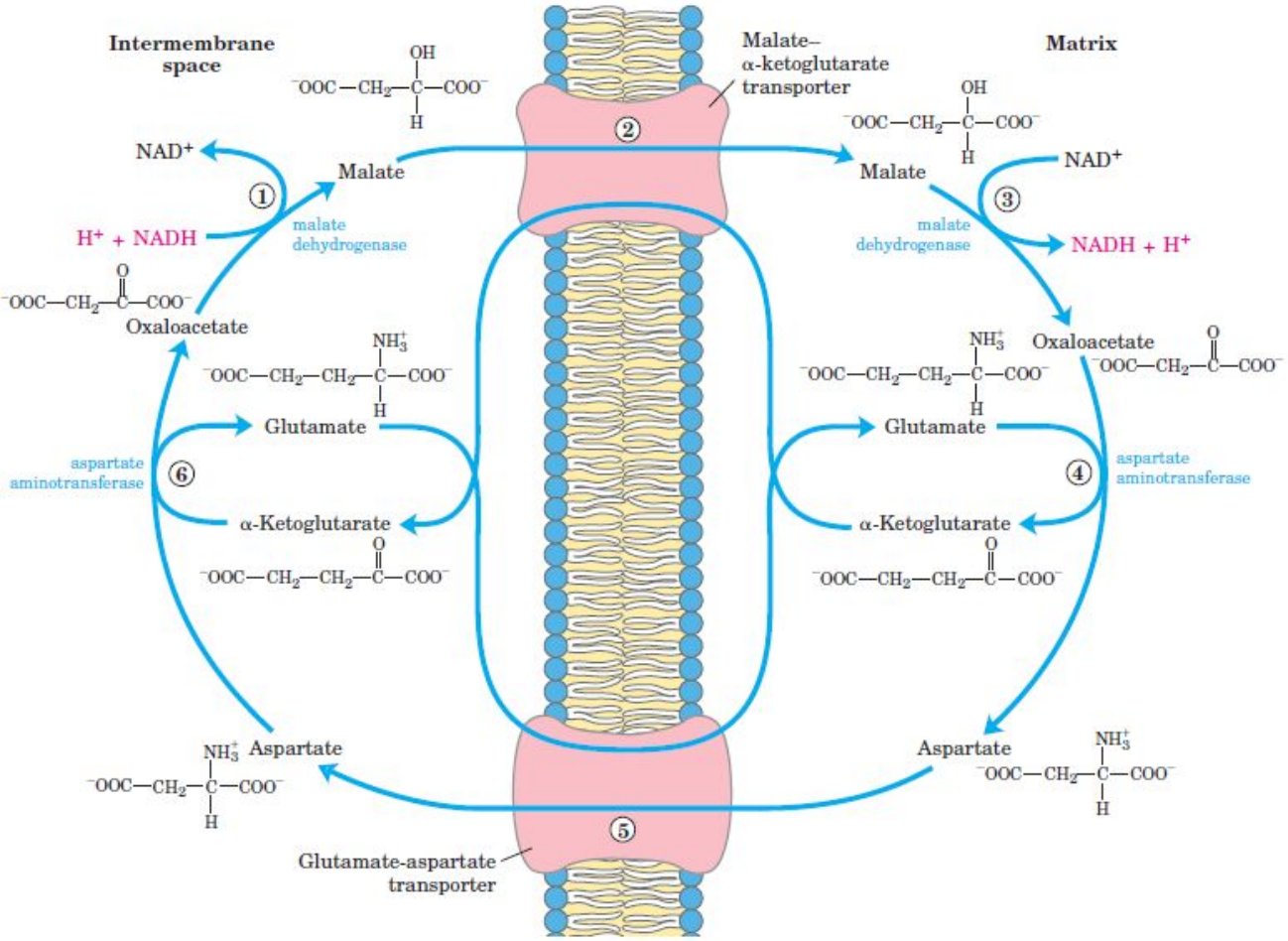
$\longrightarrow CoA\text{-}SCOCH_3 + CO_2 + NADH$ **x2**

Матрикс и внутренняя мембрана митохондрий

$CoA\text{-}SCOCH_3 + 3\ NAD^+ + FAD +$ ГДФ $+ HPO_4^{2-} \longrightarrow CoA\text{-}SH + 3\ NADH + FADH_2 +$ ГТФ $+ 2\ CO_2$ **x2**

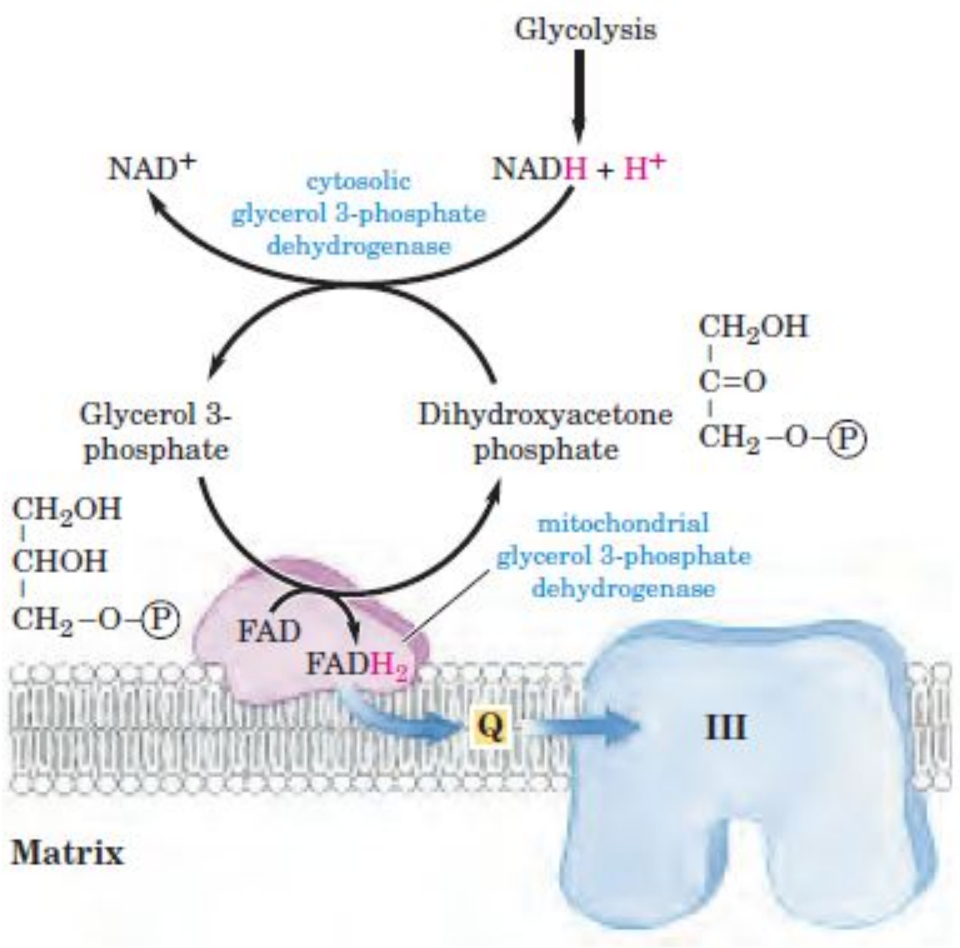
Путь NADH из цитозоля в митохондрии

малат-аспартатный



NADH

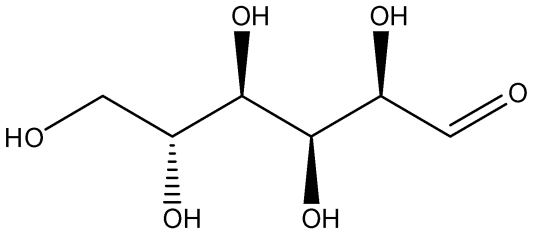
глицерол-3фосфатный



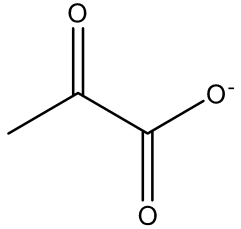
$FADH_2$

Итоги гликолиза, ПДК, ЦТК и ЦПЭ

Цитоплазма



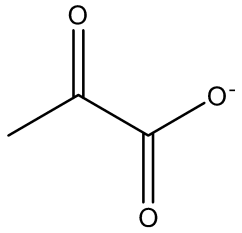
$+ 2\ NAD^+ + 2$ АДФ $+ 2\ HPO_4^{2-} \longrightarrow 2$



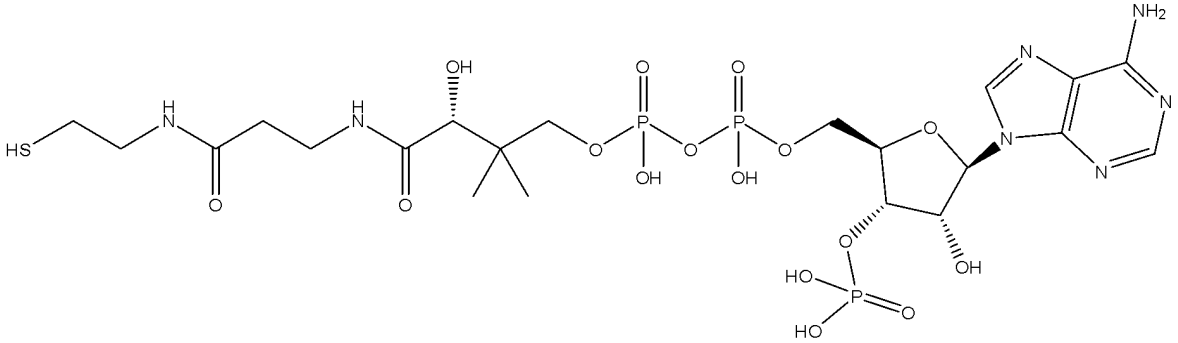
$+ 2$ NADH $+ 2$ АТФ $+ 2H+ + 2\ H_2O$

<u>попадают в митохондрии через «обменники»</u>

Матрикс митохондрий



$+ NAD^+ +$



$\longrightarrow CoA\text{-}SCOCH_3 + CO_2 +$ NADH **x2**

Матрикс и внутренняя мембрана митохондрий

$CoA\text{-}SCOCH_3 + 3\ NAD^+ + FAD +$ ГДФ $+ HPO_4^{2-} \longrightarrow CoA\text{-}SH +$ 3 NADH $+ FADH_2 +$ ГТФ $+ 2\ CO_2$ **x2**

8/10 NADH -> 80/100 H^+ -> 20/25 АТФ

8/10 NADH -> 24/30 АТФ

4/2 $FADH_2$ -> 24/12 H^+ -> 6/3 АТФ

4/2 $FADH_2$ -> 8/4 АТФ

Общая сумма: 28/30 АТФ + 2 ГТФ

Общая сумма: 34/36 АТФ + 2 ГТФ

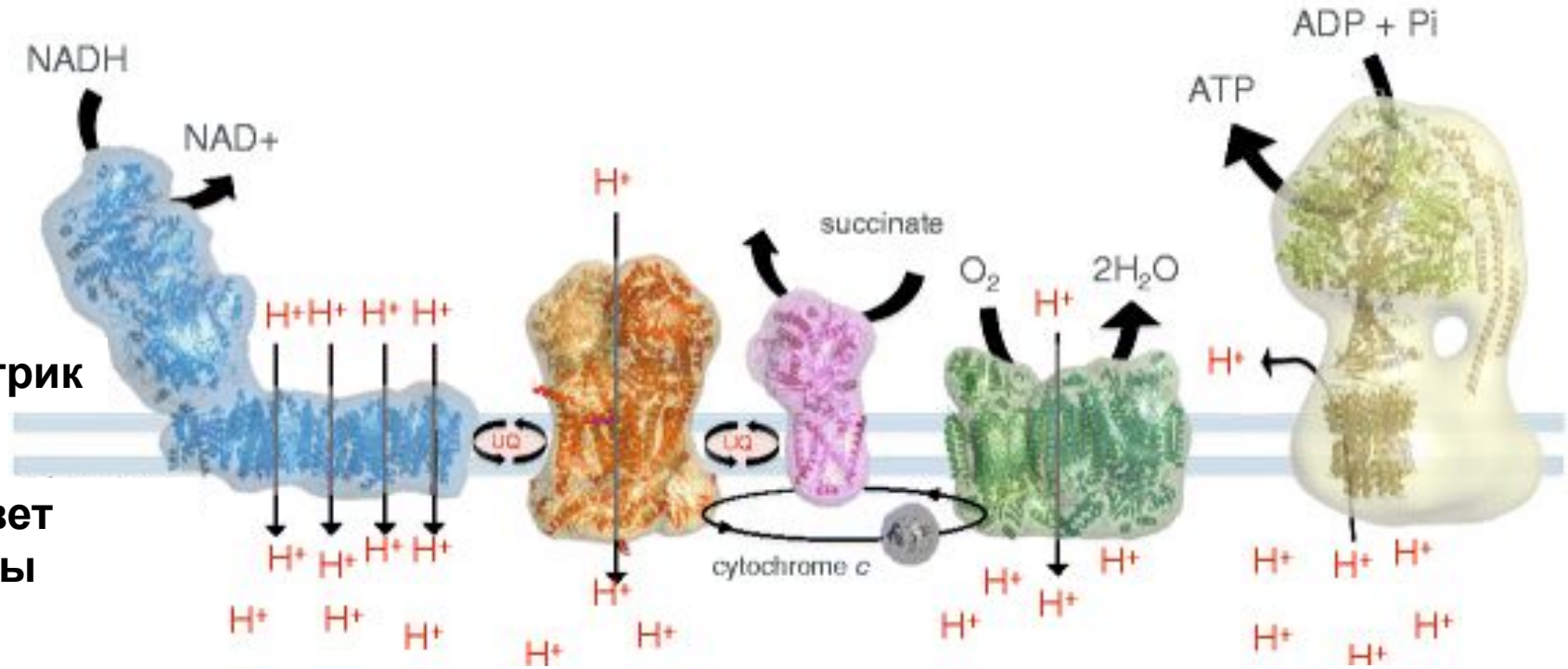
Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

матрикс

просвет кристы

pH=7,2-7,4



Комплекс I NADH-дегидрогеназный
4 H^+

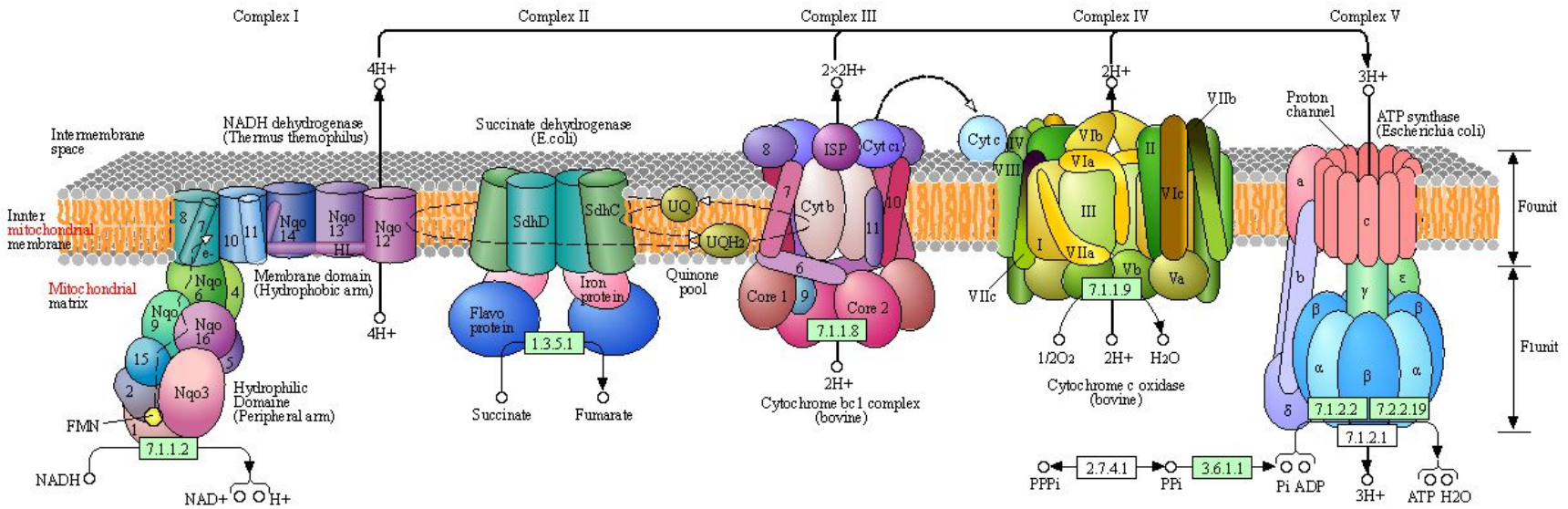
Комплекс III цитохром с редуктазный
4 H^+

Комплекс II сукцинат дегидрогеназный

Комплекс IV цитохром с оксидазный
2 H^+

Комплекс V АТФ-синтазный

OXIDATIVE PHOSPHORYLATION



NADH dehydrogenase

E	ND1	ND2	ND3	ND4	ND4L	ND5	ND6											
E	Ndufs1	Ndufs2	Ndufs3	Ndufs4	Ndufs5	Ndufs6	Ndufs7	Ndufs8	Ndufv1	Ndufv2	Ndufv3							
B/A	NuoA	NuoB	NuoC	NuoD	NuoE	NuoF	NuoG	NuoH	NuoI	NuoJ	NuoK	NuoL	NuoM	NuoN				
B/A	NdhC	NdhK	NdhJ	NdhH	NdhA	NdhI	NdhG	NdhE	NdhF	NdhD	NdhB	NdhL	NdhM	NdhN	HoxE	HoxF	HoxU	
E	Ndufa1	Ndufa2	Ndufa3	Ndufa4	Ndufa5	Ndufa6	Ndufa7	Ndufa8	Ndufa9	Ndufa10	Ndufab1	Ndufa11	Ndufa12	Ndufa13				
E	Ndufb1	Ndufb2	Ndufb3	Ndufb4	Ndufb5	Ndufb6	Ndufb7	Ndufb8	Ndufb9	Ndufb10	Ndufb11	Ndufc1	Ndufc2					

Succinate dehydrogenase / Fumarate reductase

E	SDHC	SDHD	SDHA	SDHB
B/A	SdhC	SdhD	SdhA	SdhB
			FrdA	FrdB	FrdC	FrdD

Cytochrome c reductase

E/B/A	ISP	Cyt b	Cyt 1							
E				COR1	QCR2	QCR6	QCR7	QCR8	QCR9	QCR10

Cytochrome c oxidase

E	COX10		COX3	COX1	COX2	COX4	COX5A	COX5B	COX6A	COX6B	COX6C	COX7A	COX7B	COX7C	COX8	E/B/A	COX11	COX15	COX17	
B/A	CyoE	CyoD	CyoC	CyoB	CyoA															
		CoxD	CoxC	CoxA	CoxB															
		QoxD	QoxC	QoxB	QoxA															
		SoxD	SoxC	SoxB	SoxA															

Cytochrome c oxidase , cbb3-type

B	I	II	IV	III

Cytochrome bd complex

B/A	CydA	CydB	CydX

F-type ATPase (Bacteria)

alpha	beta	gamma	delta	epsilon
a	b	c		

F-type ATPase (Eukaryotes)

alpha	beta	gamma	delta	epsilon	
OSCP	a	b	c	d	e
f	g	f6/h	j	k	8

V/A-type ATPase (Bacteria, Archaea)

A	B	C	D	E	F	G/H
I	K					

V-type ATPase (Eukaryotes)

A	B	C	D	E	F	G	H
a	c	d	e	S1			

00190 7/7/20
(c) Kanehisa Laboratories

https://www.kegg.jp/kegg-bin/highlight_pathway?scale=1.0&map=hsa00190&keyword=Mitochondria

План лекции

- Зачем мне фотосинтез, я же буду …
- Процесс перехода хлорофилла в возбужденное состояние
- Структура пигментов
- Строение хлоропластов
- Световые реакции фотосинтеза (у бактерий и сосудистых растений)
- Доноры электронов помимо воды
- Темновые реакции фотосинтеза (цикл Кальвина, фотодыхание)
- C_4-фотосинтез (цикл Хэнча-Слэка)
- CAM-фотосинтез

Зачем мне нужен фотосинтез, я же буду…

A wish list for synthetic biology in photosynthesis research

Xin-Guang Zhu, Donald R Ort, Martin A J Parry, Susanne von Caemmerer

Journal of Experimental Botany, Volume 71, Issue 7, 6 April 2020, Pages 2219–2225,
https://doi.org/10.1093/jxb/eraa075
Published: 15 February 2020 **Article history**

PDF | Split View | Cite | Permissions | Share

Abstract

This perspective summarizes the presentations and discussions at the 'International Symposium on Synthetic Biology in Photosynthesis Research', which was held in Shanghai in 2018. Leveraging the current advanced understanding of photosynthetic systems, the symposium brain-stormed about the redesign and engineering of photosynthetic systems for translational goals and evaluated available new technologies/tools for synthetic biology as well as technological obstacles and new tools that would be needed to overcome them. Four major research areas for redesigning photosynthesis were identified: (i) mining natural variations of photosynthesis; (ii) coordinating photosynthesis with pathways utilizing photosynthate; (iii) reconstruction of highly efficient photosynthetic systems in non-host species; and (iv) development of new photosynthetic systems that do not exist in nature. To expedite photosynthesis synthetic biology research, an array of new technologies and community resources need to be developed, which include expanded modelling capacities, molecular engineering toolboxes, model species, and phenotyping tools.

https://academic.oup.com/jxb/article/71/7/2219/5736454

SHARE

PERSPECTIVE | SYNTHETIC BIOLOGY

Toward artificial photosynthesis

Nathaniel J. Gaut, Katarzyna P. Adamala
+ See all authors and affiliations

Science 08 May 2020:
Vol. 368, Issue 6491, pp. 587-588
DOI: 10.1126/science.abc1226

Article | Figures & Data | Info & Metrics | eLetters | PDF

Science
Vol 368, Issue 6491
08 May 2020

Table of Contents
Print Table of Contents
Advertising (PDF)
Classified (PDF)
Masthead (PDF)

ARTICLE TOOLS
Email
Print
Download Powerpoint
Request Permissions

Summary

The creation of a fully artificial living cell would signify p
and the development of synthetic organisms. A crucial
generation: the means to power its internal machinery. E
catabolic reactions are the classical means for providin
much work has been done in optimizing which energy s
(1). Despite robust success using small-molecule energ
anabolic mechanisms that can harvest virtually limitless
remains unrealized. On page 649 of this issue, Miller *et*

nature nanotechnology

Explore our content | Journal information

nature > nature nanotechnology > editorials > article

Editorial | Published: 05 October 2018

Semi-artificial photosynthesis

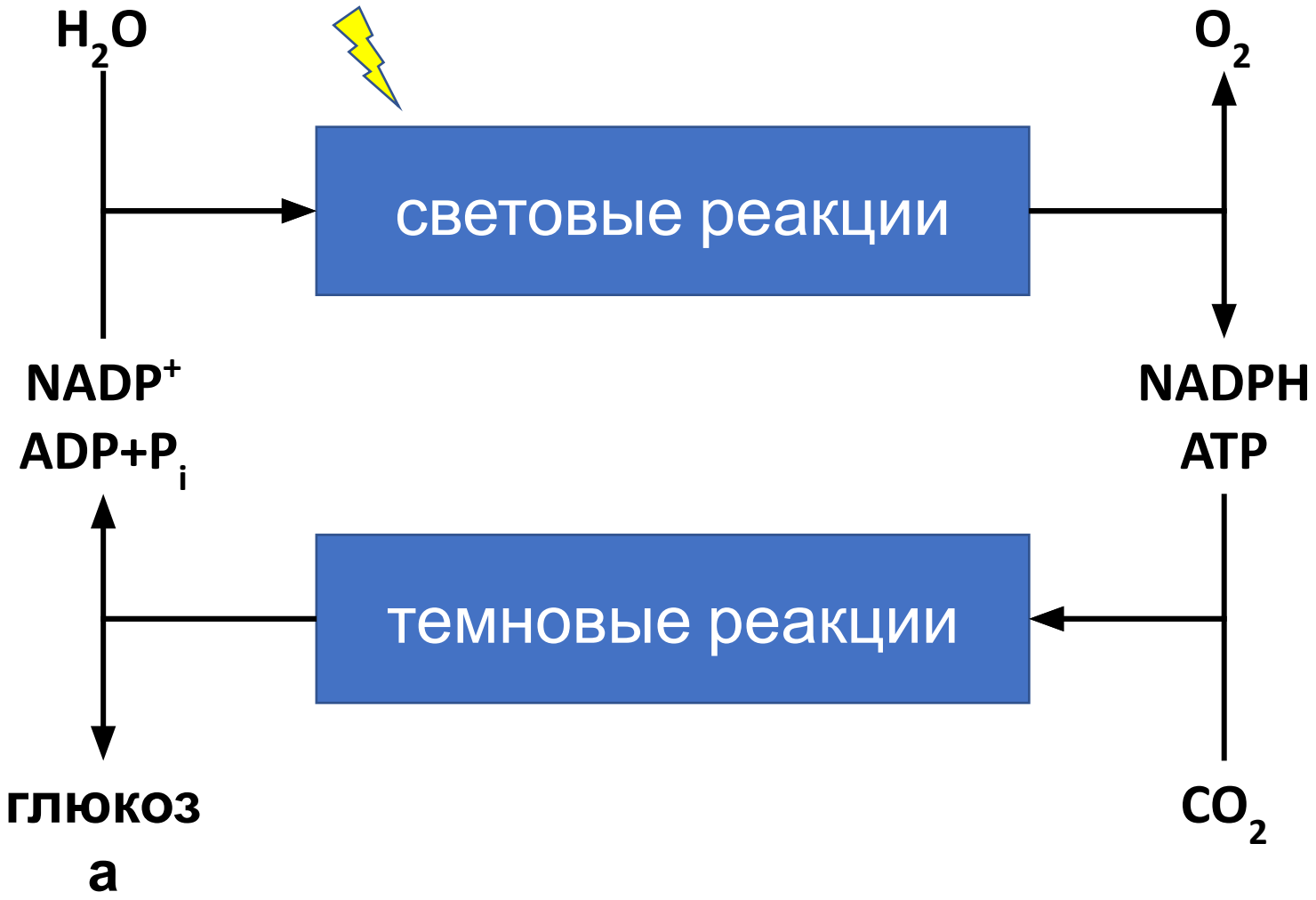
Nature Nanotechnology **13**, 871(2018) | Cite this article

5891 Accesses | **9** Altmetric | Metrics

Combining the strengths of catalytic biomachineries with those of synthetic materials can yield more efficient and durable solar chemical conversion.

Natural photosynthesis is the process that converts solar energy and stores it in the chemical bonds of organic molecules. Although the overall biomass production amount is impressive – with more than 100 thousand million tonnes of carbon being converted into biomass per year – the solar conversion efficiency is below 1%, because plants do not usually absorb all sunlight, and their metabolic pathways are low-yielding. Scientists therefore

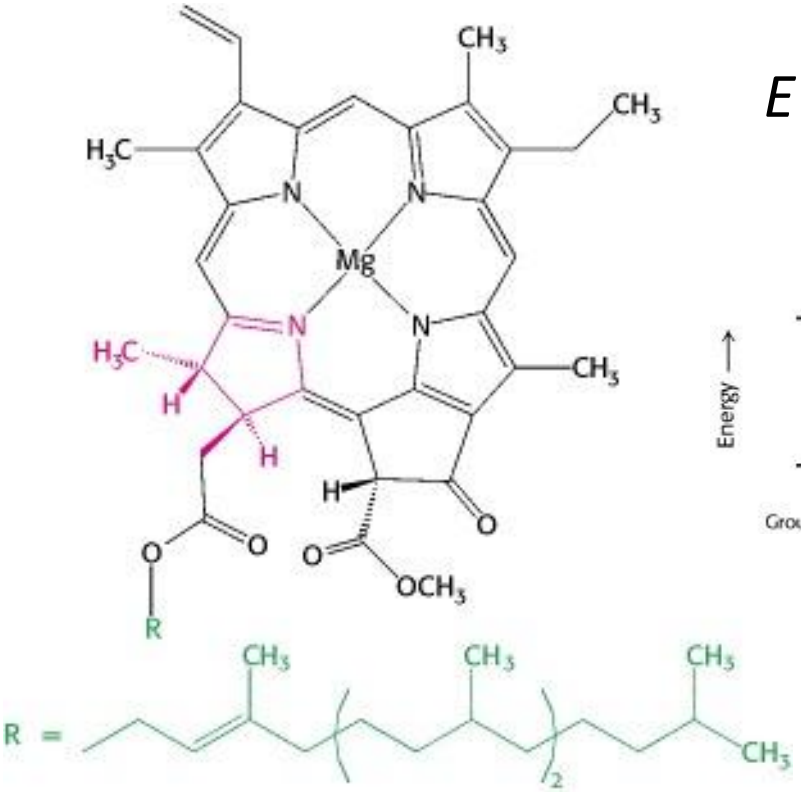
Общая схема фотосинтеза (световые + темновые реакции)



Смысл световых реакций – синтез NADPH и ATP, которые будут использоваться в темновых реакциях

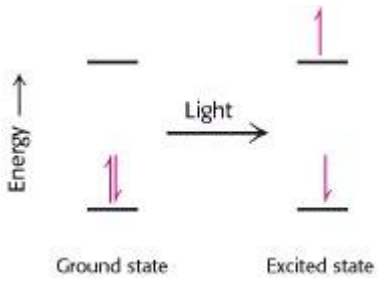
Смысл темновых реакций – синтез сахаров, в том числе глюкозы

Переход молекулы хлорофилла в возбужденное состояние



хлорофилл а

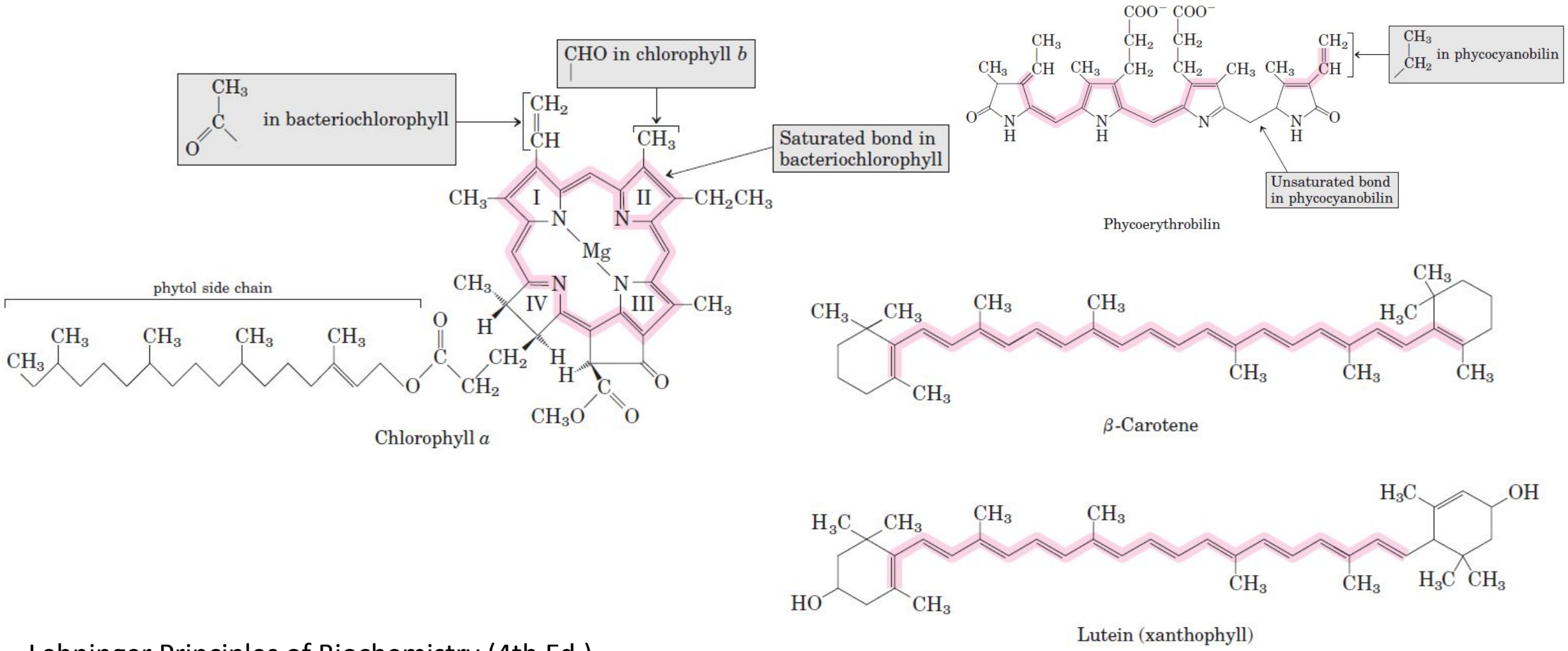
$E = h\nu$



- Наличие цепочек чередующихся двойных и одинарных связей делает хлорофилл эффективным фоторецептором
- При поглощении кванта света один из электронов переходит на энергетический уровень выше обычного состояния
- Обычно (не только в случае хлорофилла) электрон быстро (в случае хлорофилла 10 пс) переходит обратно в обычное состояние с испусканием света или тепла
- Но при близком расположении акцептора, он может переходить на акцептор, поскольку в возбужденном состоянии удален от ядра атома

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemistry. 5th edition // New York: W H Freeman; 2002.

Структура различных пигментов



Lehninger Principles of Biochemistry (4th Ed.)

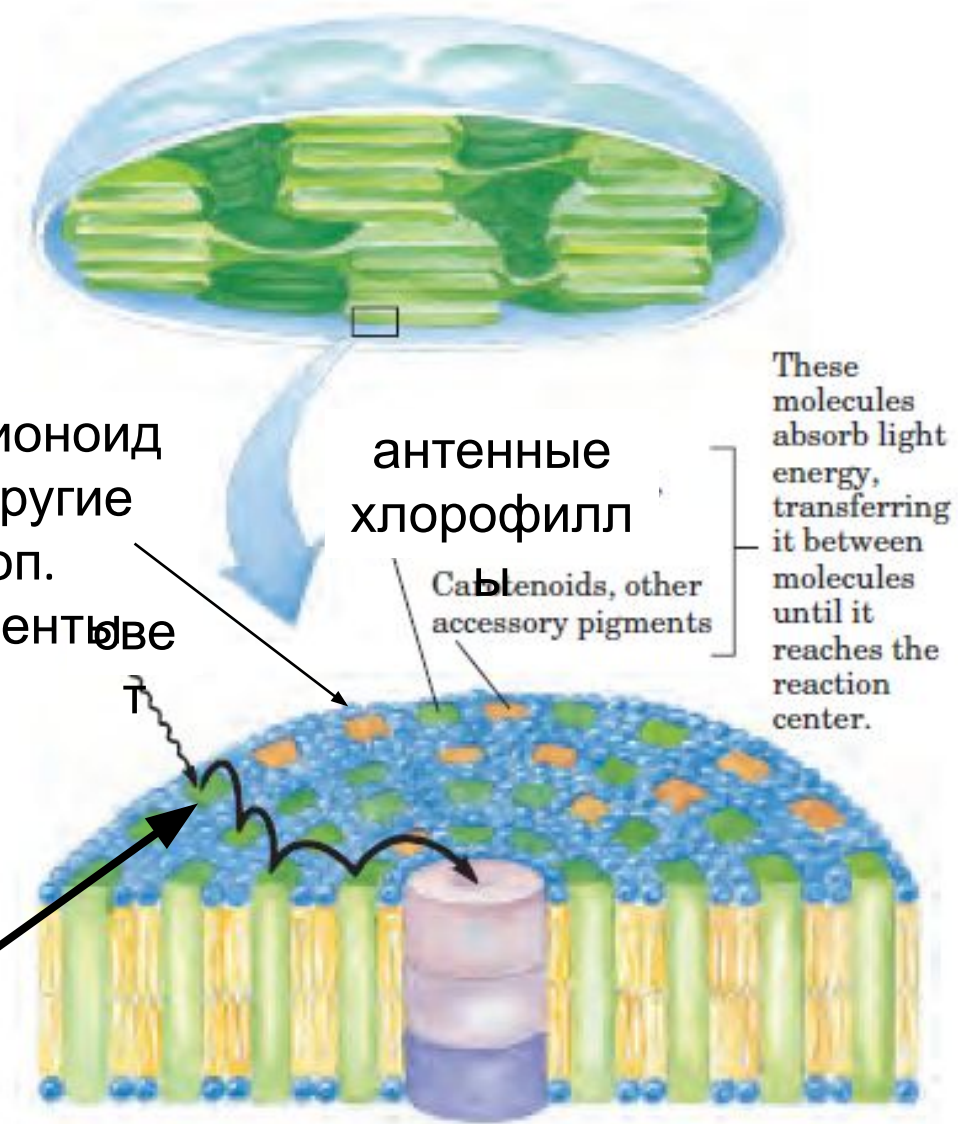
Спектры поглощения пигментами видимого света

Молярный коэффициент экстинкции (ε) хлорофилла *a* ~ 10^5 M^{-1} $см^{-1}$

Для нитрофенола – $18*10^3$ M^{-1} $см^{-1}$

Строение хлоропластов

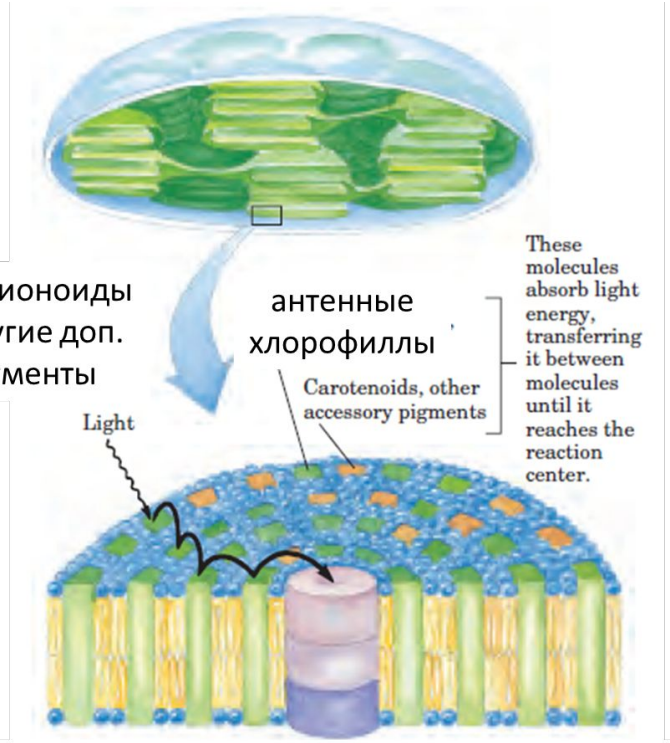
https://www.britannica.com/science/chloroplast



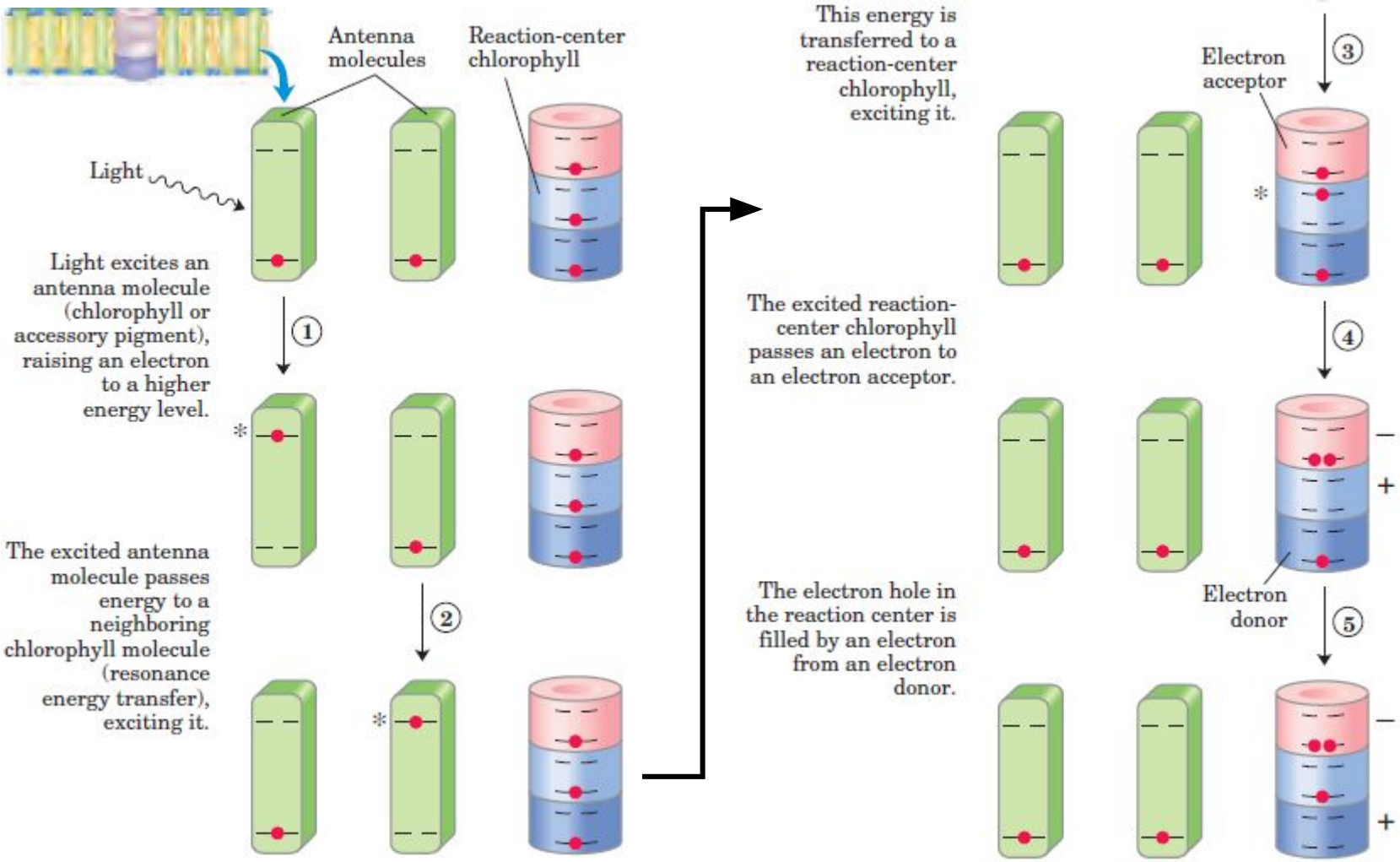
фотон превращается в экситон (передаваемое возбужденное состояние) и передается от одного пигмента к другому, пока не доберется до реакционного центра

Реакционный центр
Конвертирует энергию фотона в разделение заряда и начинает поток электронов

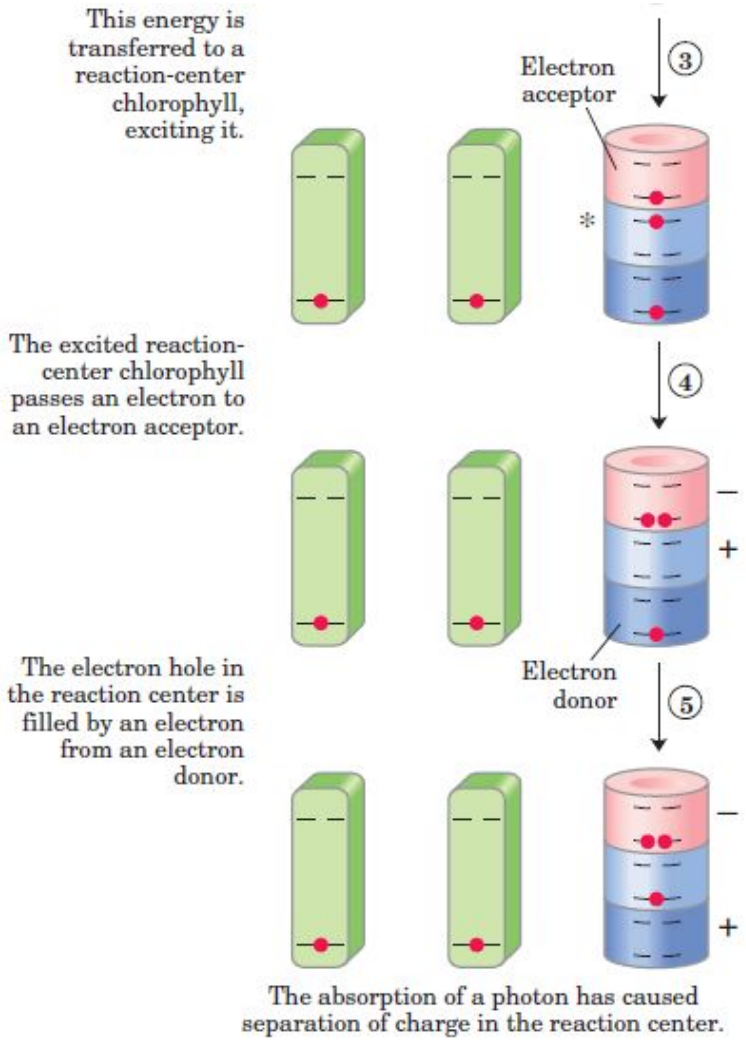
Превращение энергии света в поток электронов



Реакционный центр
Конвертирует энергию фотона в разделение заряда и начинает поток электронов



Что собой представляет реакционный центр?

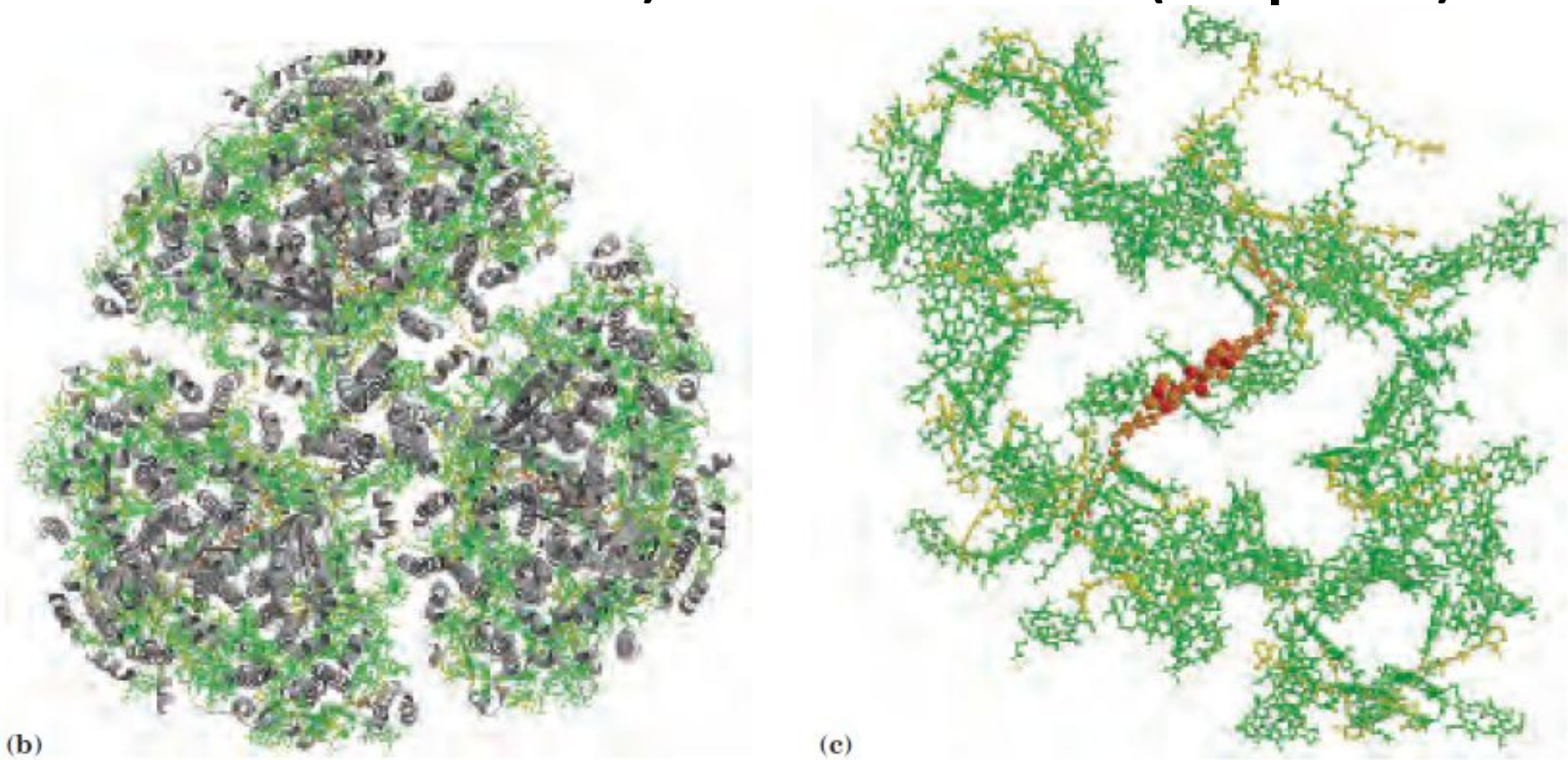


Реакционный центр – это комплекс белков, включающий в себя:

- Акцептор электрона (феофетин – хлорофилл без Mg^{2+} – или другая молекула хлорофилла) – верхний блок
- два связанных между собой хлорофилла (так называемая «специальная пара», хлорофилл *a* и хлорофилл *b*) – средний блок
- Донор электрона – комплекс разложения воды

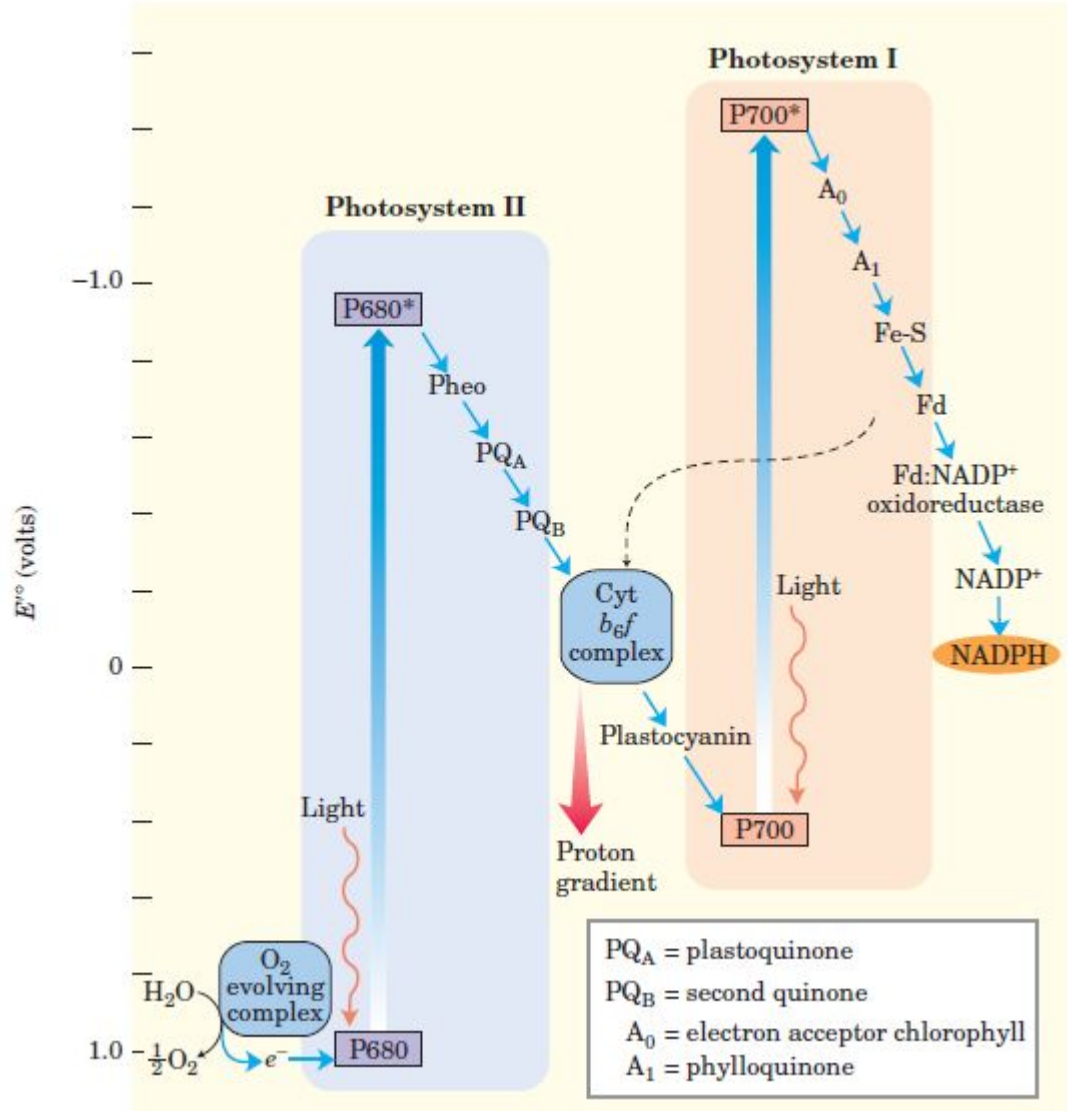
- Восстановительный потенциал специальной пары в возбужденном состоянии -1 В!
- Время перехода электрона от возбужденной пары хлорофиллов на акцептор – 3 пс, что значительно меньше времени его возврата в обычное состояние (10 пс)

Супрамолекулярный комплекс фотосистемы I с антенными пигментами (зеленые и желтые) и белками (серые)



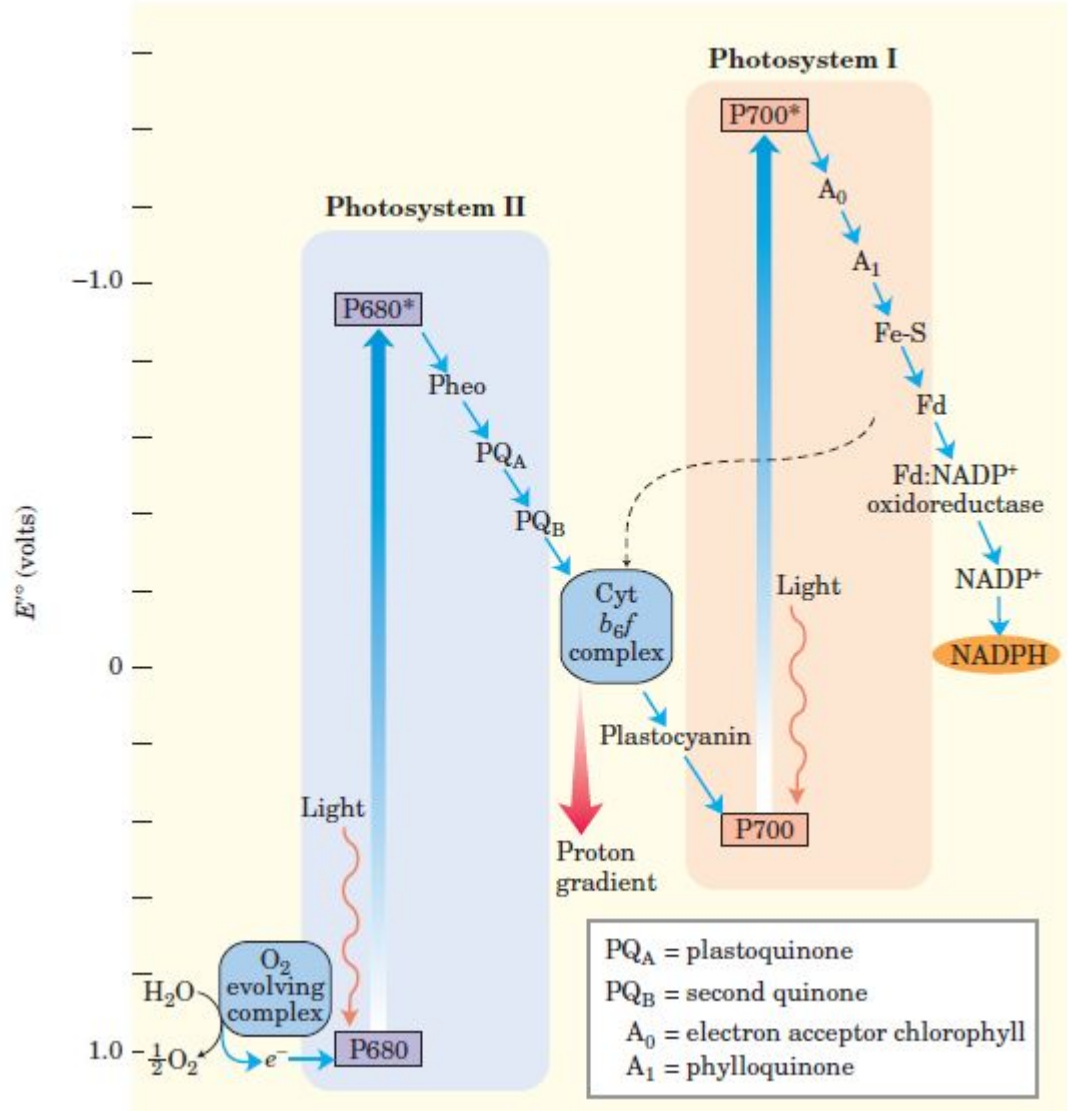
Пигменты в комплексе расположены настолько плотно, чтобы возбужденное состояние молекул передавалось от одного пигмента к другому с максимальной эффективностью

Общая схема световых реакций



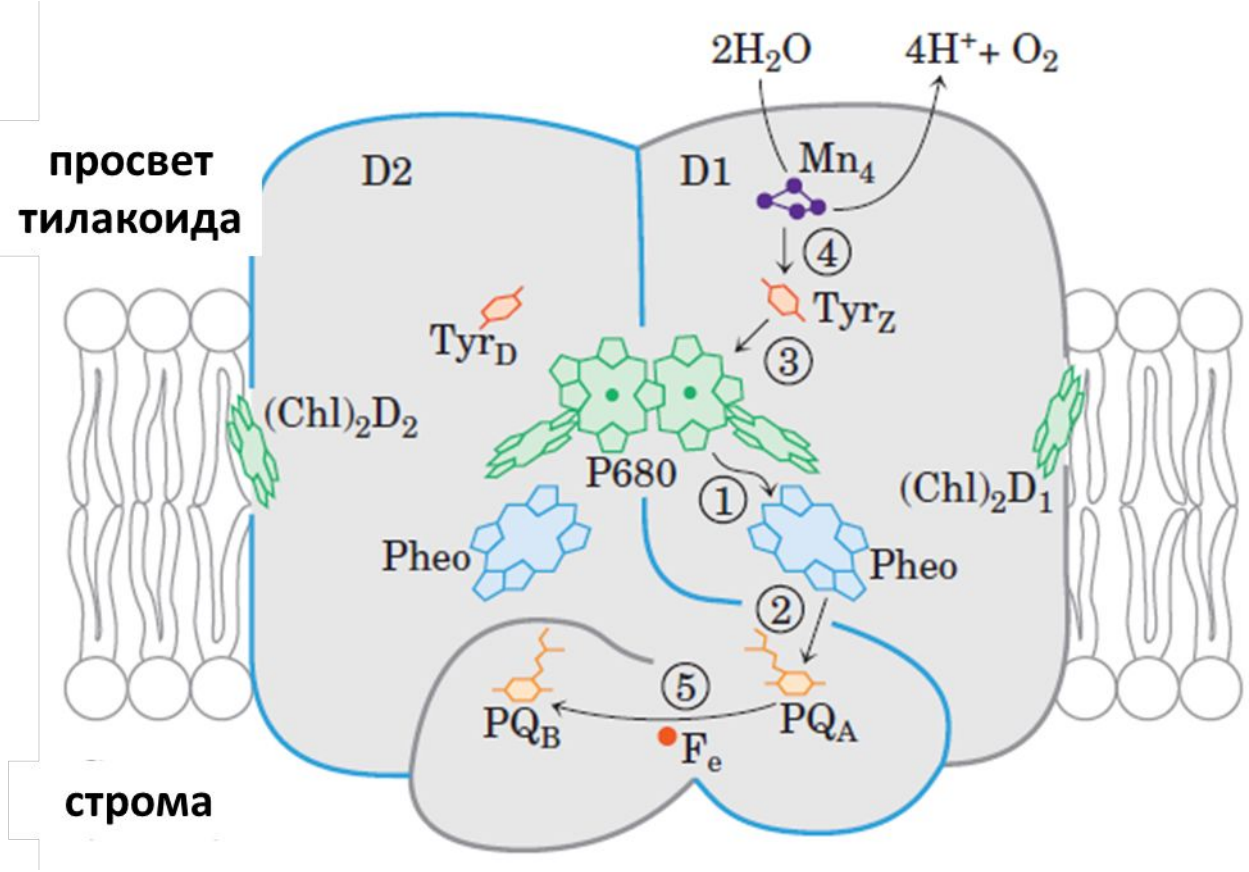
- У сосудистых растений, водорослей и цианобактерий по две фотосистемы (у бактерий – по одной: либо аналог ФС1, либо аналог ФС2)
- Фотон попадая на антенные пигменты, переводит в них один из электронов в возбужденное состояние, превращаясь в т.н. экситон
- Экситон передается от одного пигмента к другому, пока не доберется до реакционного центра (P680 в ФС2 или P700 в ФС1)
- Специальная пара реакционного центра в возбужденном состоянии передает электрон с более высокой энергией соседствующему акцептору электронов (феофетин или хлорофилл)
- Реакционный центр ФС2 восстанавливает свое состояние электроном от воды
- Реакционный центр ФС1 – электроном от ФС2

Общая схема световых реакций



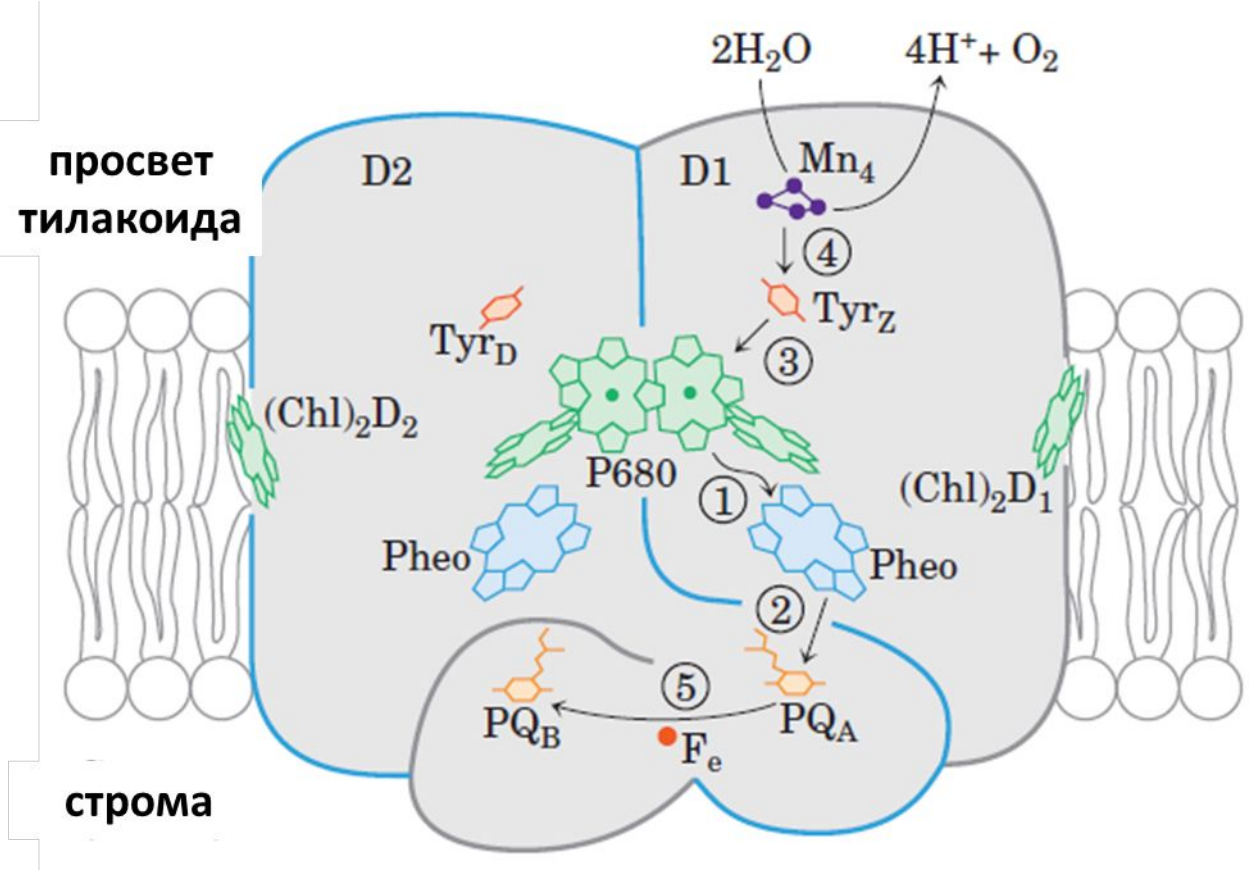
- Поток электронов в ФС2 доходит до комплекса, в котором в процессе перемещения электрона происходит перекачка H^+, градиент которого с помощью АТФ-синтазы превращается в АТФ
- Поток электронов в ФС1 доходит до $NADP^+$-оксидоредуктазы и ведет к синтезу NADPH
- ФС2 тоже может переходить на синтез АТФ без выделения кислорода и синтеза NADPH. Для этого ферредоксин (Fd) переносит электрон на комплекс цитохром b_6f, где поток электронов приводит к перекачке H^+, после чего электрон через пластоцианин ?

1. Возбуждение P680 и транспорт электрона в ФС2

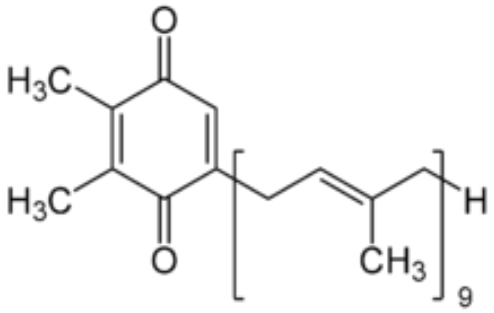


- P680* за ~3 пс передаёт электрон на близко расположенный феофетин (Pheo, хлорофилл без Mg^{2+}), приобретая положительный заряд
- •$Pheo^-$ передает электрон на пластохинон PQ_A, который принимает и передает только по одному электрону на более подвижный пластохинон PQ_B
- PQ_B дожидается второго электрона
- В это время P680 восстанавливает свое основное состояние, забирая электрон от тирозина структурного белка D1 фотосистемы 2
- Тирозин восстанавливает свое состояние в результате окисления воды в Mn-

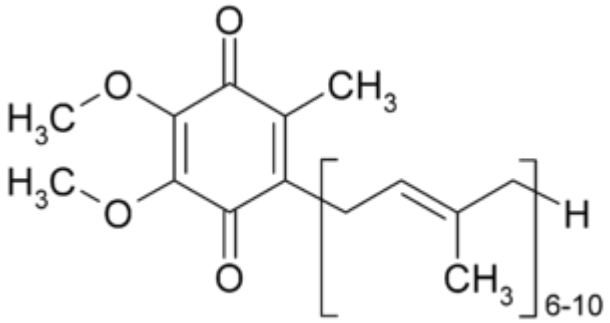
1. Возбуждение P680 и транспорт электрона в ФС2



- Когда PQ_B дождался второго электрона, он присоединяет два H^+, отделяется от ФС2 и внутри липидной мембраны диффундирует к комплексу цитохрома b_6f

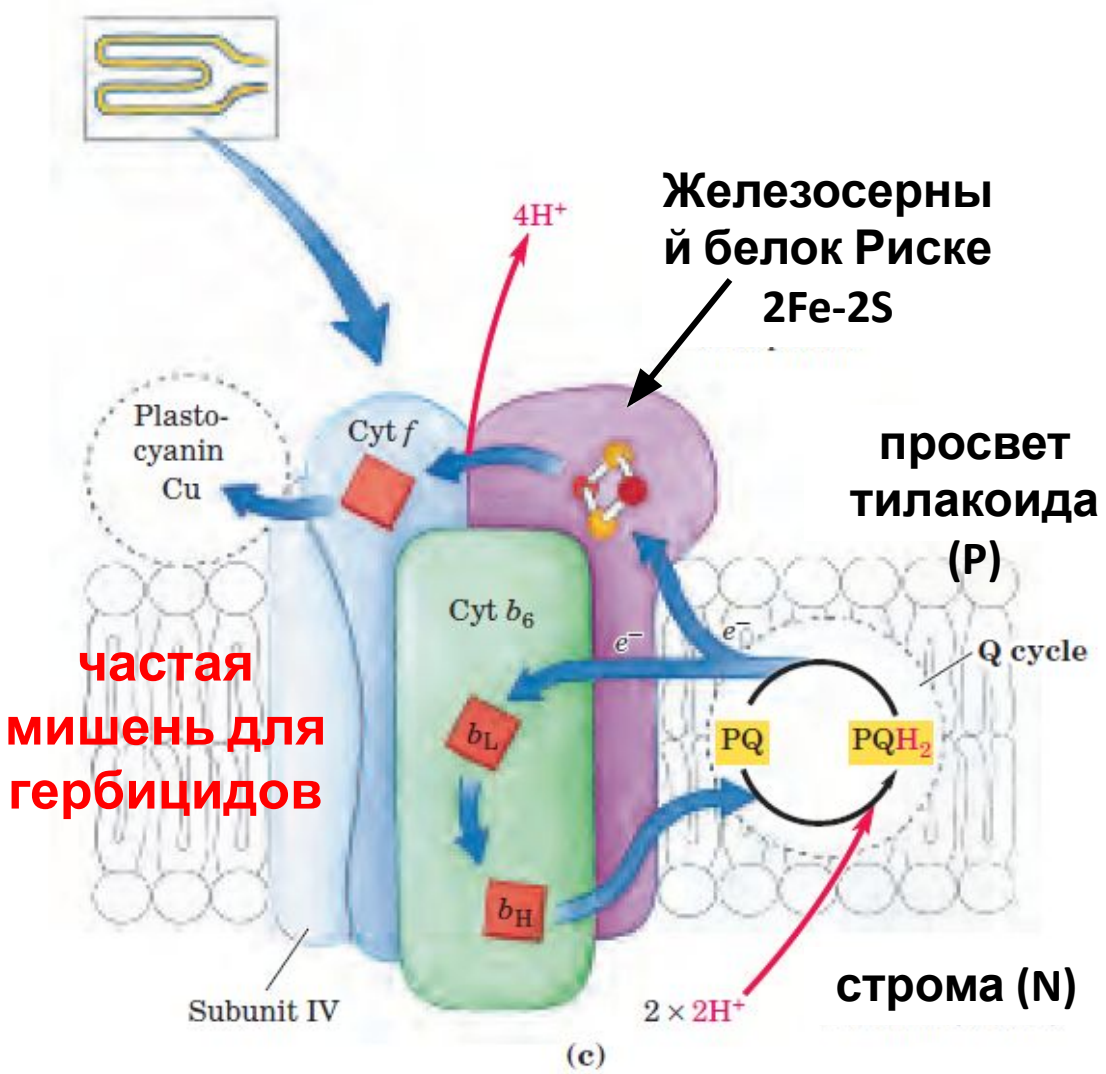


пластохинон



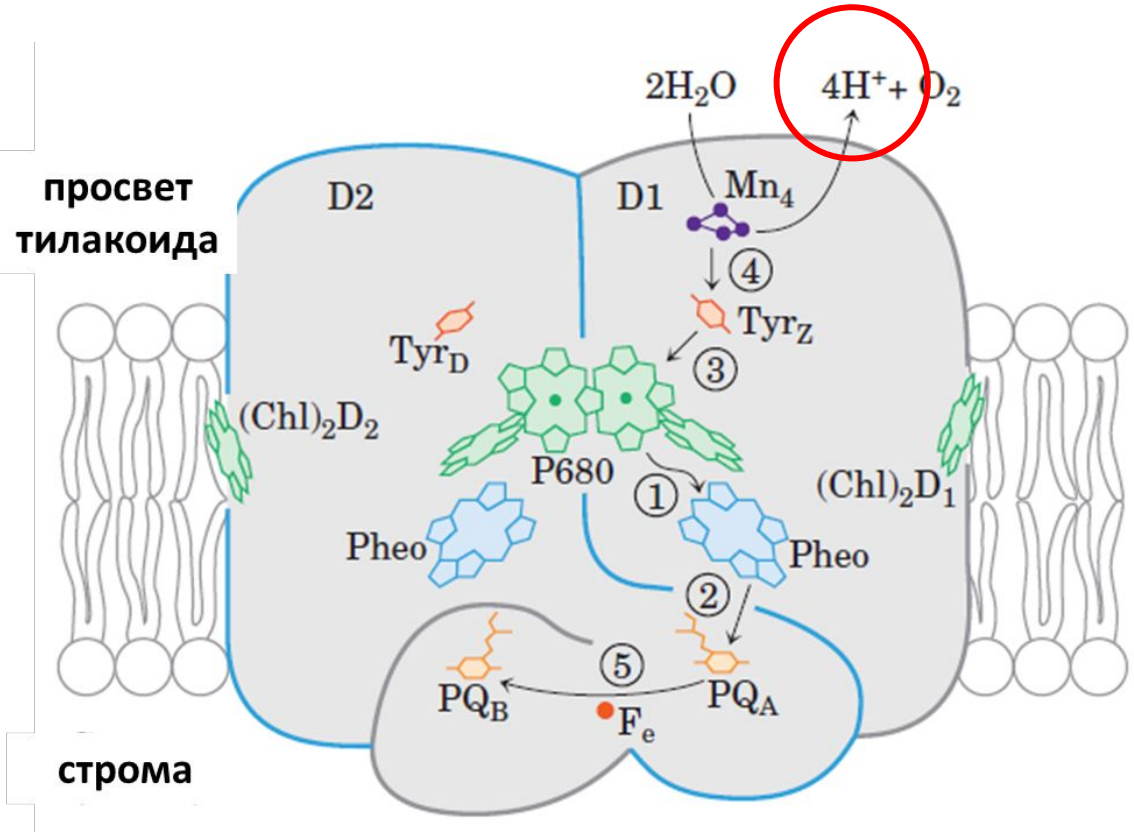
убихинон

3. Перенос электрона с пластохинола в комплексе цитохрома b_6f



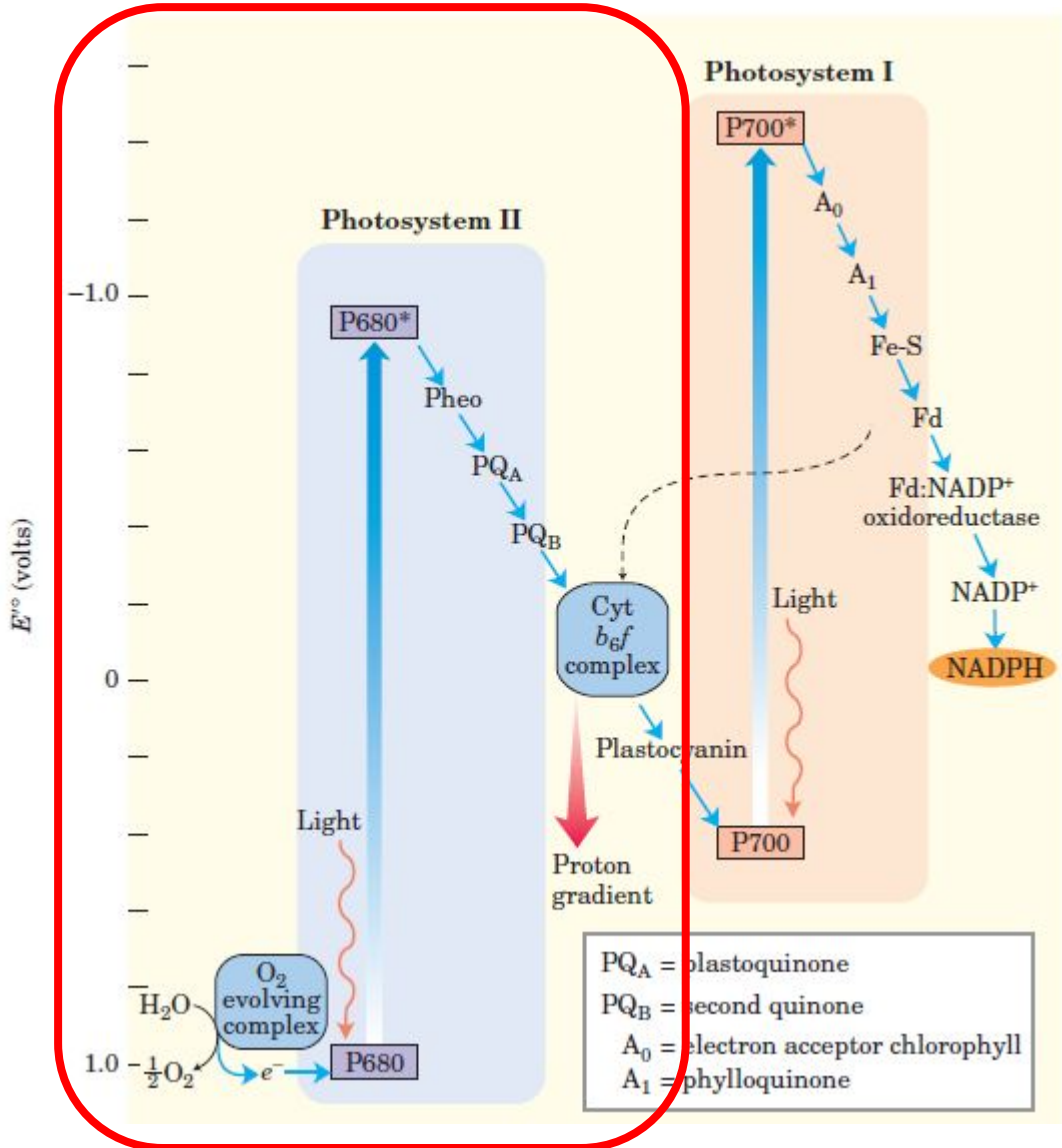
- Комплекс цитохрома b6f аналогичен комплексу III цепи переноса электронов
- В нем тоже проходит Q-цикл. Есть два места связывания пластохинона: ближе к просвету (P) и ближе к строме (N)
- Восстановленный PQH_2 связывается с P-сайтом, окисленный PQ – с N-сайтом
- Один электрон от PQH_2 идет к 2Fe-2S, затем к цитохрому f и пластоцианину (содержит Cu) – аналогу цитохрома c, доставляя электрон к фотосистеме I
- Другой электрон идет на гем b_L цитохрома b_6, с него – на гем b_H цитохрома b_6 и затем – на окисленный PQ
- В P-сайт приходит новый PQH2, цикл повторяется, а в N-сайте получается полностью восстановленный PQH_2

2. Разложение воды и восстановление $P680^+$

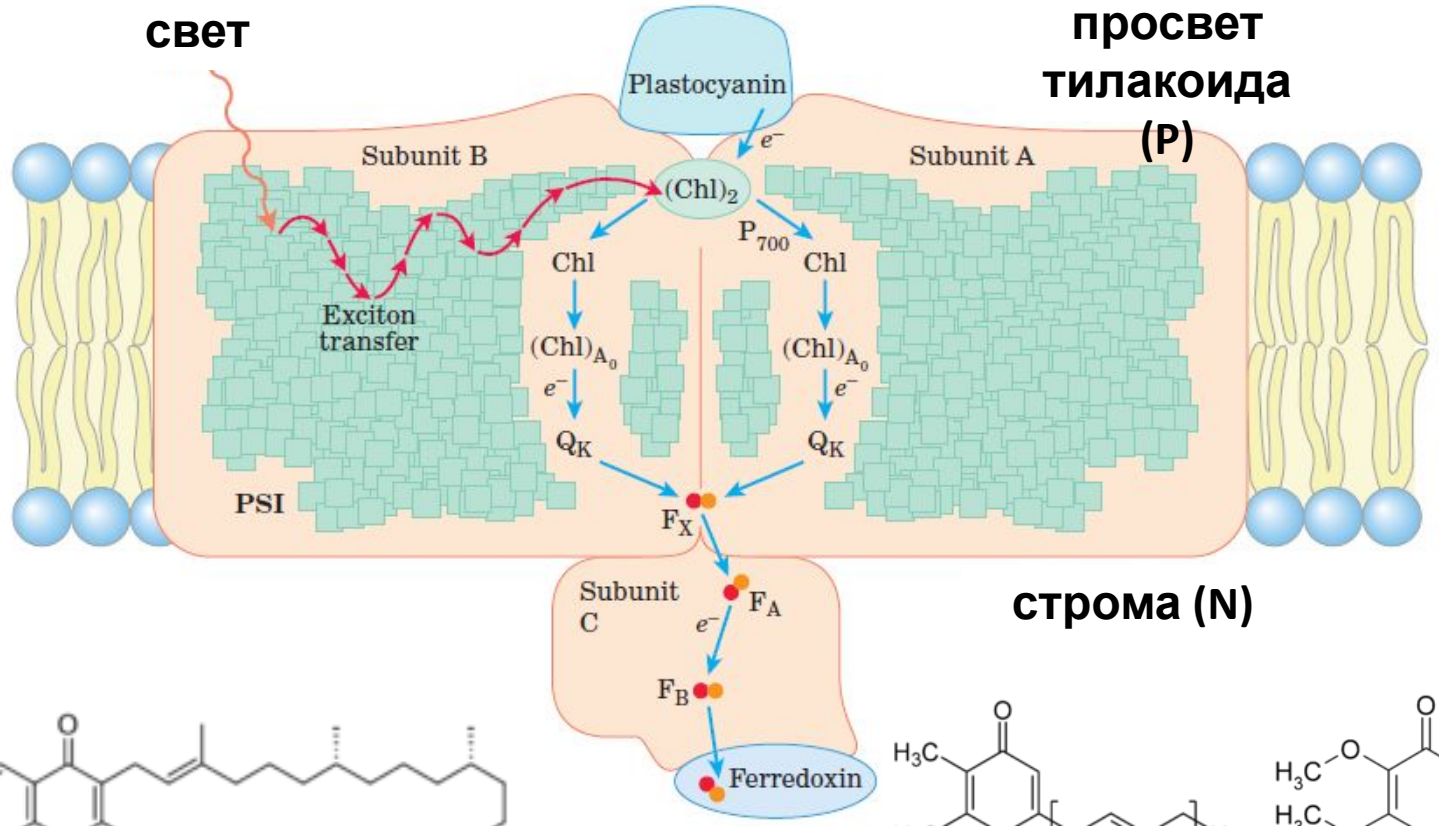


- P680, отдавший электрон феофетину, должен быть восстановлен
- Первичным донором электрона является остаток тирозина в структурном белке D1, в котором и закреплена вся фотосистема 2
- Тирозин в свою очередь восстанавливается от Mn-содержащего комплекса, который может окисляться до состояния 4+ (сам Mn при этом окисляется от 2+ до 6+ или от 3+ до 7+)
- Как только Mn-содержащий комплекс отдал 4 электрона, он окисляет одну молекулу воды
- При этом в просвете тилакоида в результате разложения воды появляется дополнительно еще 4 H^+, переводящихся в АТФ

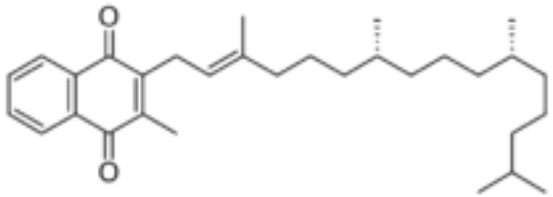
Общая схема световых реакций



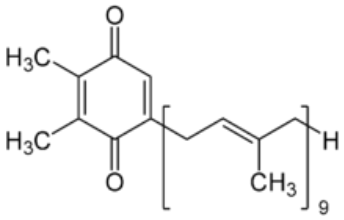
4. Возбуждение P700 и транспорт электрона в ФС1



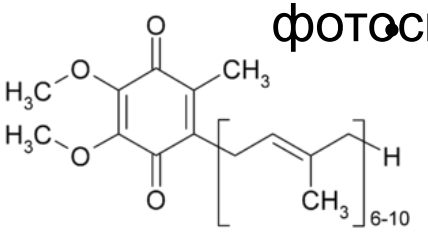
- После цепочки антенных пигментов возбужденный экситоном P700*(два хлорофилла) передает электрон на соседствующий хлорофилл, тот – на филлохинон, а затем на Fe-S-белок с несколькими Fe-S-центрами
- С Fe-S-белка электрон передается на белок ферредоксин (тоже Fe-S)
- Как только P700 отдал электрон, он тут же окисляет пластоцианин, принесший электрон от фотосистемы 2
- 2 восстановленных ферредоксина окисляются ферредоксин:$NADP^+$ оксидоредуктазой, приводя к образованию NADPH



филлохинон

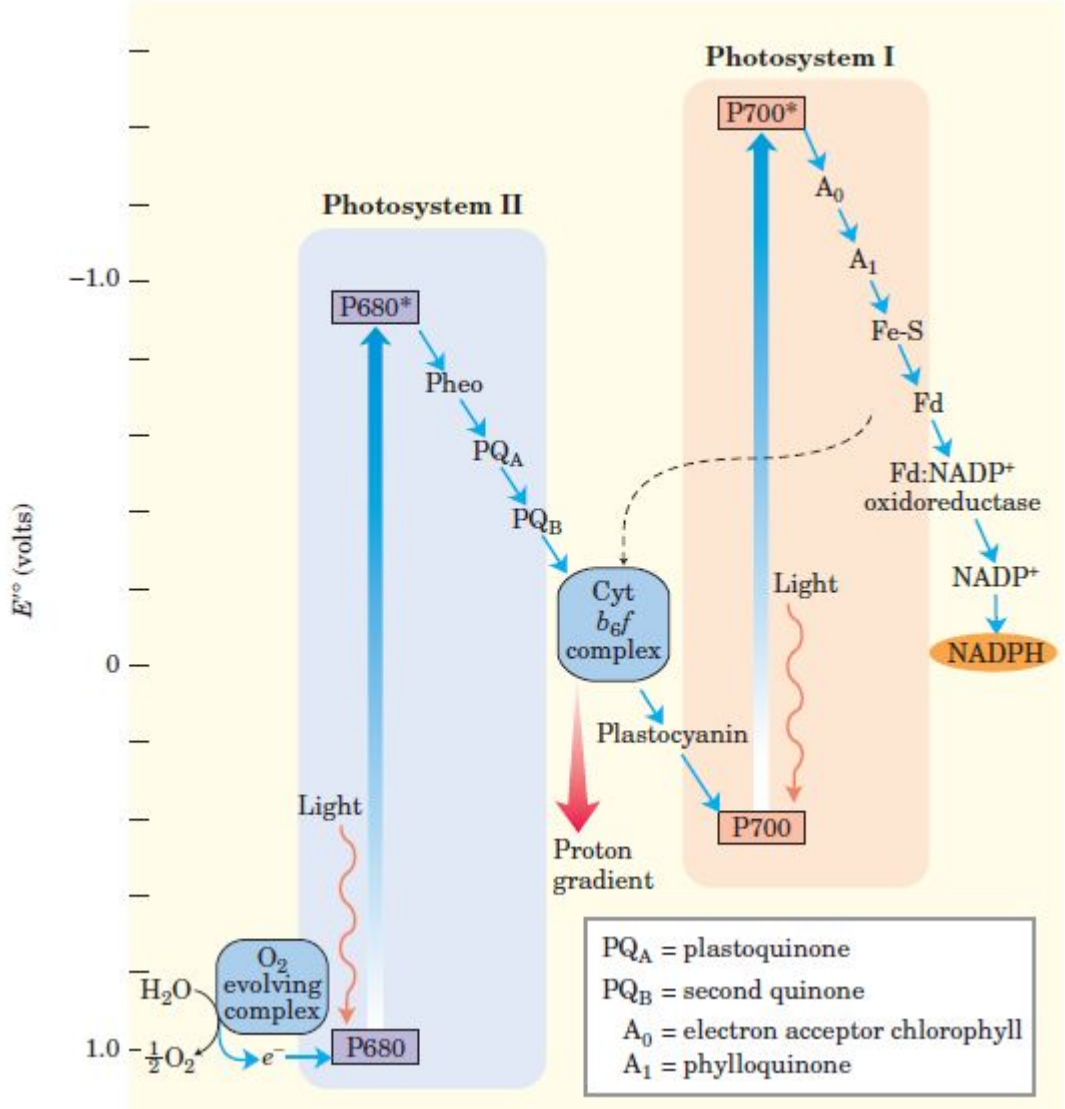


пластохинон



убихинон

Суммарное уравнение световых реакций



из разложения воды

$$2\,H_2O + 4\,H^+_N \xrightarrow{h\nu} O_2 + 4\,H^+ + 2\,PQH_2$$

$8\,H^+$

3 АТФ

2 NADPH

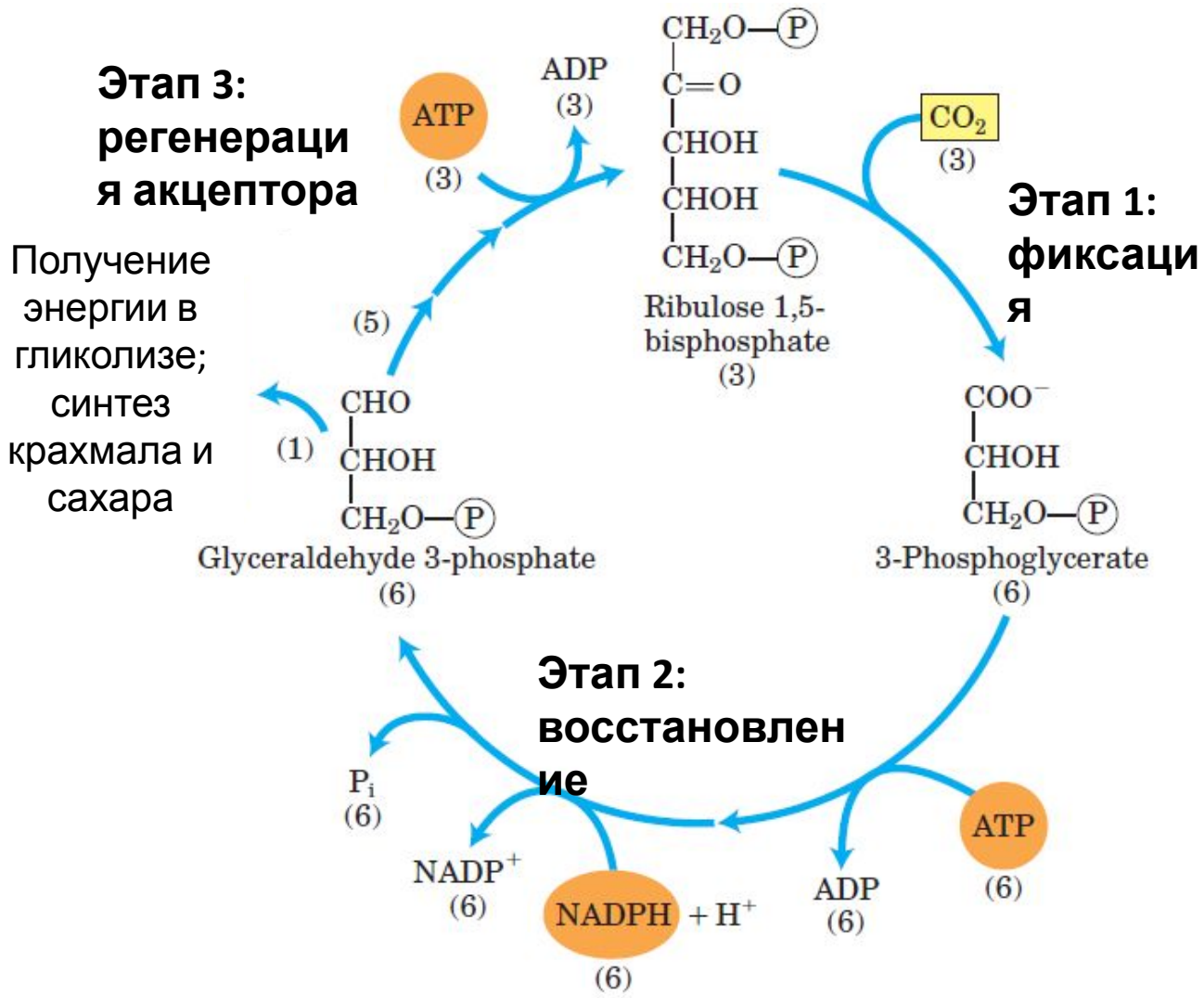
- У бактерий по одной фотосистеме (либо аналог ФС1, либо аналог ФС2)
- У бактерий большое разнообразие доноров электронов (H_2S, ацетат, сукцинат, малат и др.)

Темновые реакции фотосинтеза

(Реакции, не требующие света)

- Цикл Кальвина (восстановительный пентозофосфатный цикл)
- Фотодыхание
- C4-фотосинтез
- CAM-фотосинтез

Цикл Кальвина

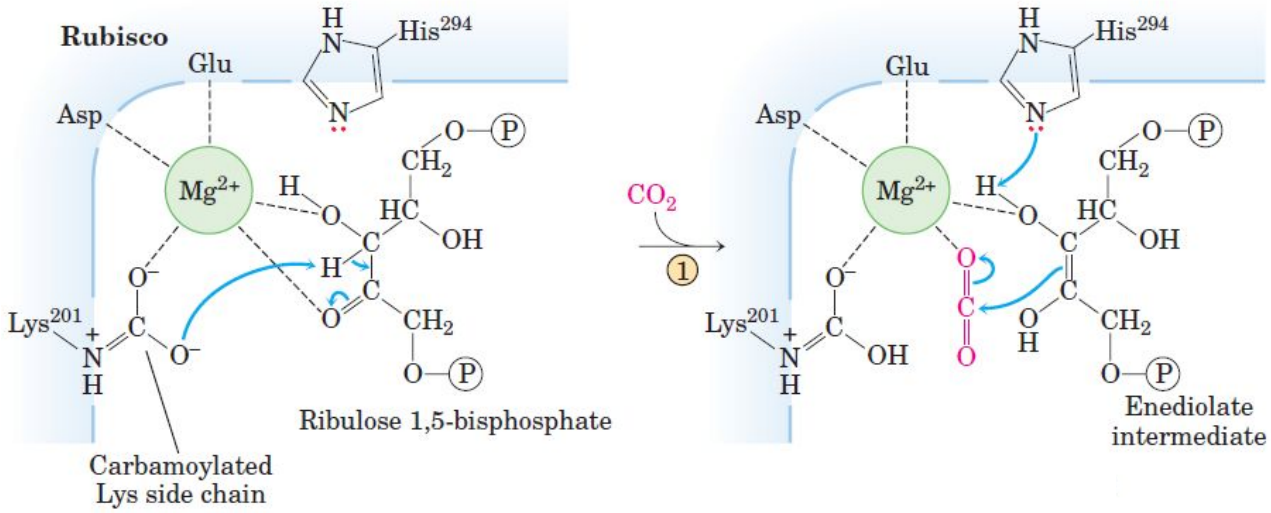


Открыт в 1950 г. Мелвином Кальвином, Эндрю Бэнсеном и Джеймсом Бассамом

Включает в себя 3 этапа:

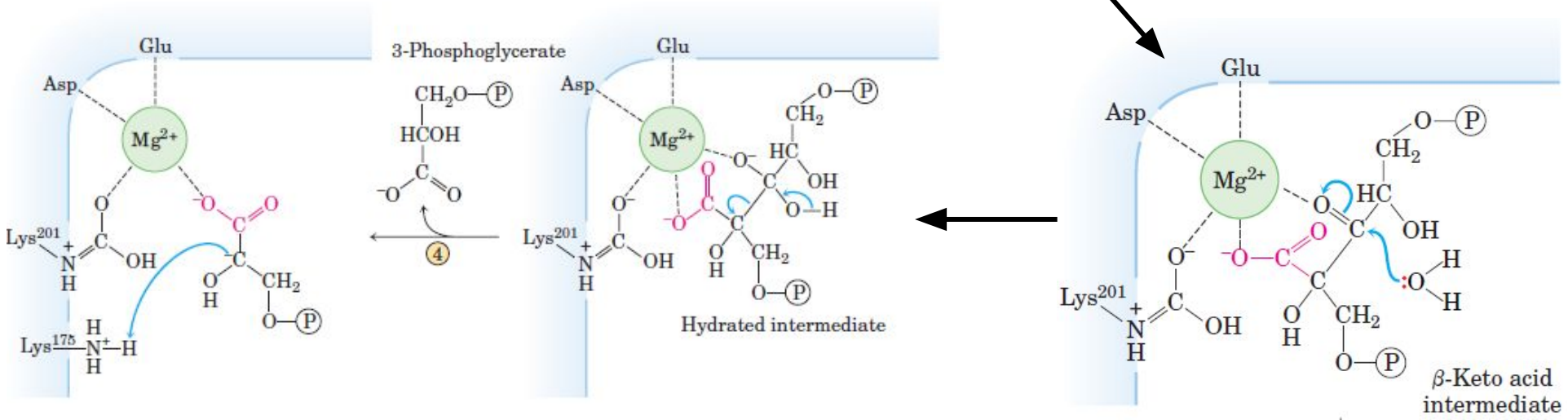
1. Фиксацию CO_2 путём присоединения к рибулозо-1,5-бисфосфату с расщеплением на 2 молекулы 3-фосфоглицерата
2. Восстановление 3-фосфоглицерата до глицеральдегид-3-фосфата
3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата

Цикл Кальвина: 1. Фиксация CO_2

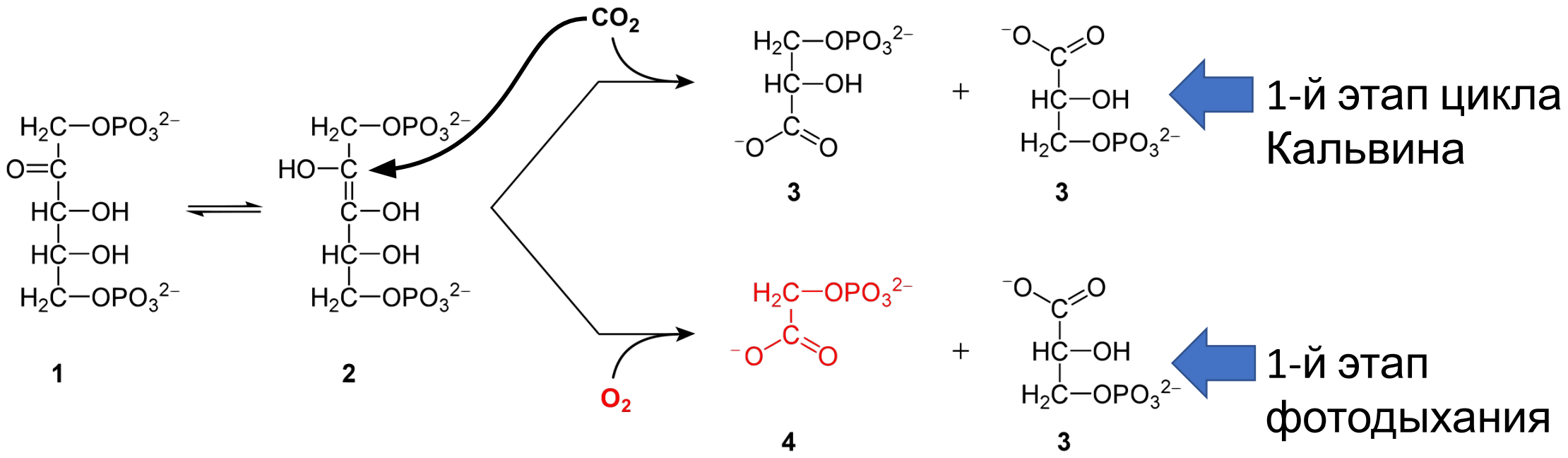


- Осуществляется ферментом рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилазой/оксигеназой (рубиско)
- Рубиско активируется путём карбамоилирования Lys_{201} с помощью CO_2

H_2O



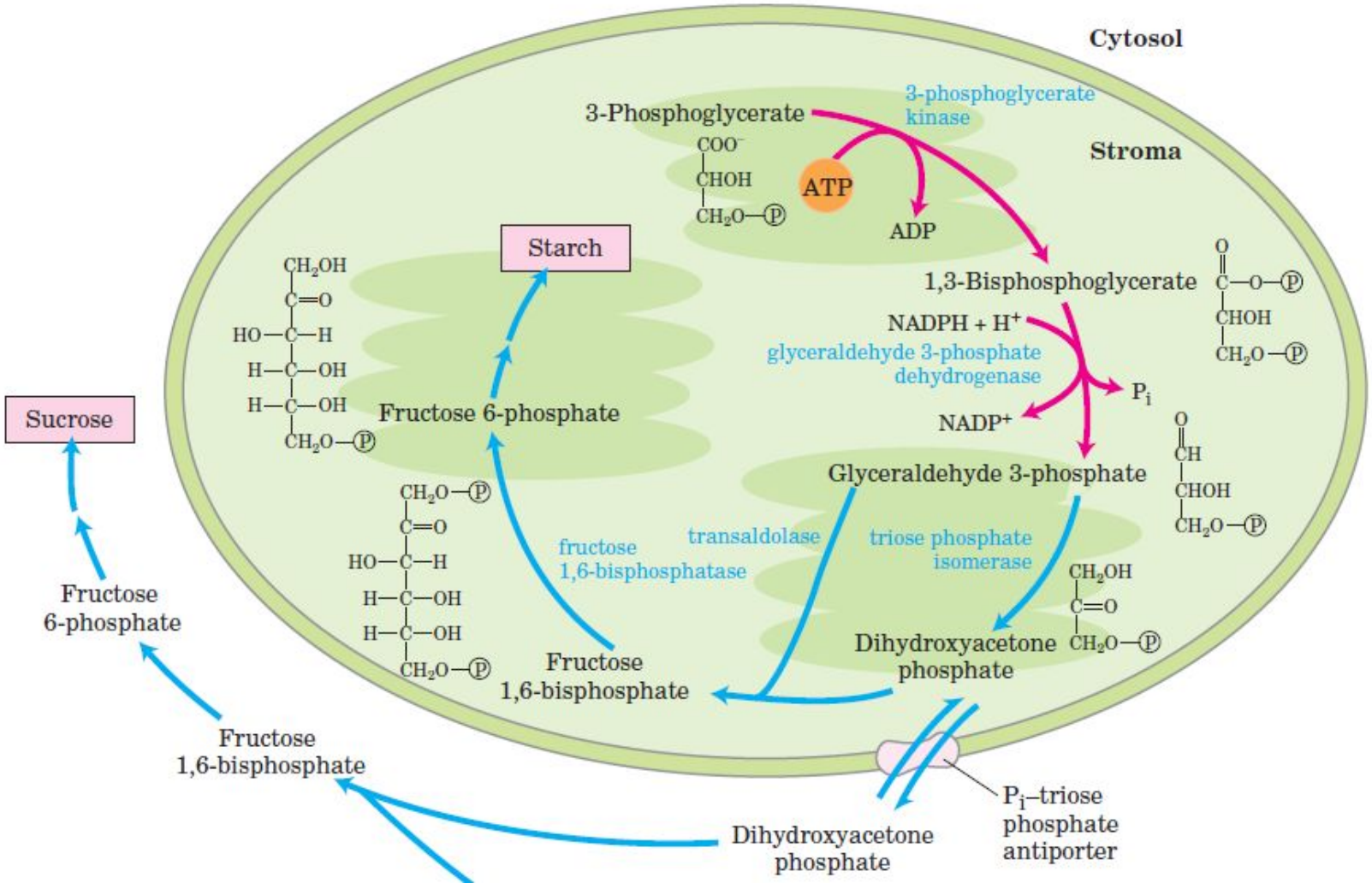
Цикл Кальвина: 1. Фиксация CO_2



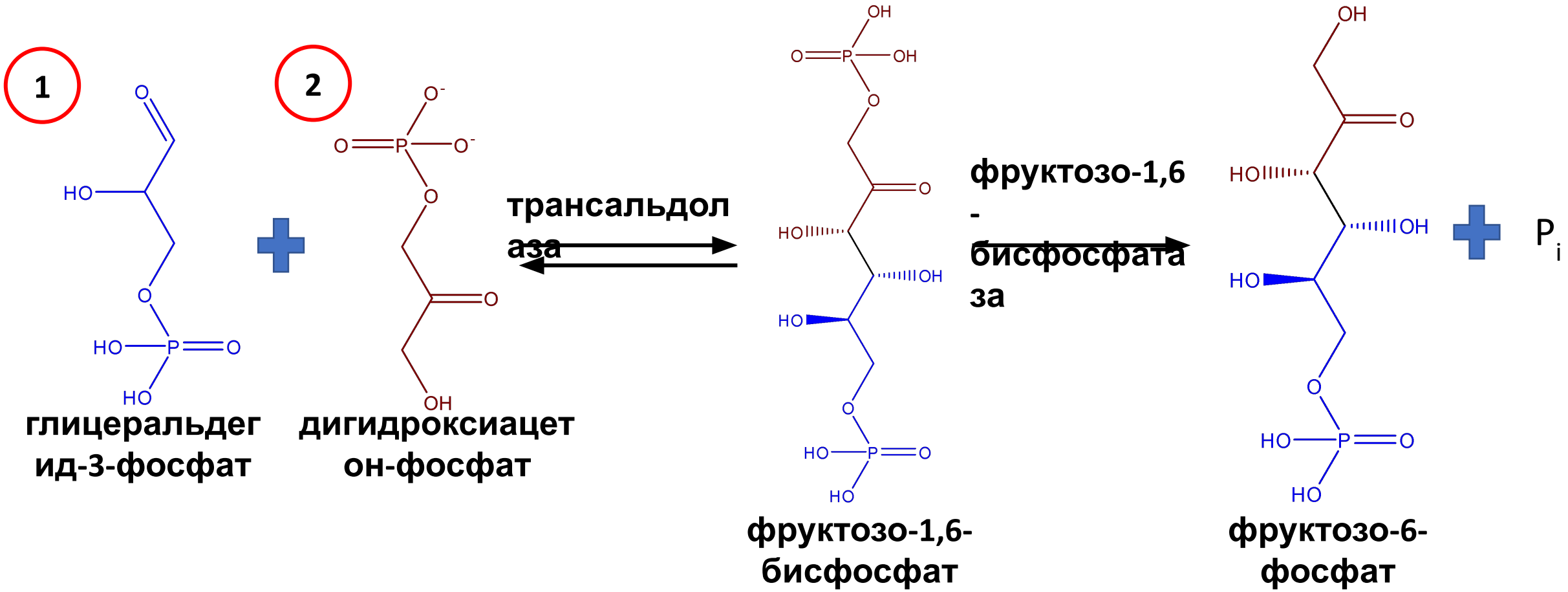
Рубиско – очень медленный фермент (3 CO_2/секунду), поэтому данный фермент составляет почти 50% всех растворимых белков хлоропластов и возможно самый представленный белок в биосфере

O_2 конкурирует с CO_2 за активный центр рубиско. В 1 из 3 или 4 случаев O_2 попадает в активный центр, что приводит к образованию 2-фосфогликолята – метаболически бесполезного продукта. Этот процесс называется фотодыханием

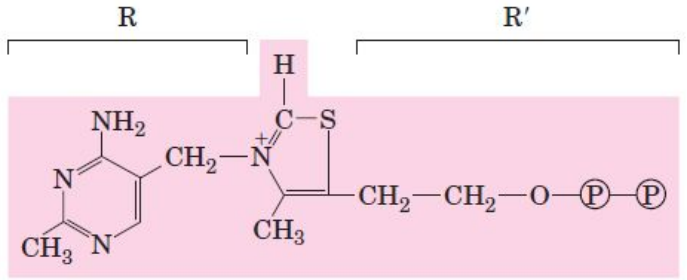
Цикл Кальвина: 2. Восстановление 3-фосфоглицерата до глицеральдегид-3-фосфата



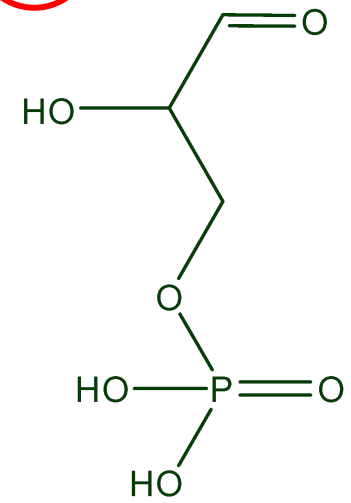
Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата



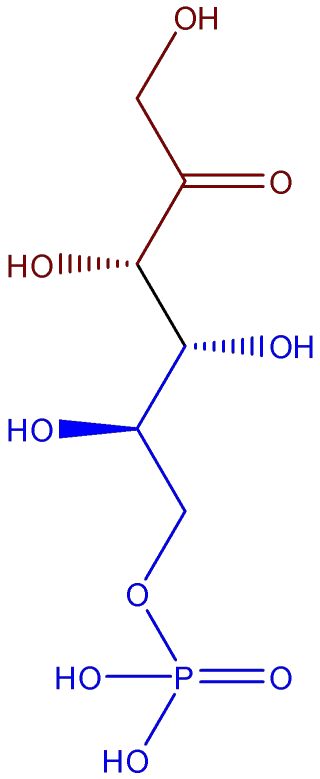
Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата



3

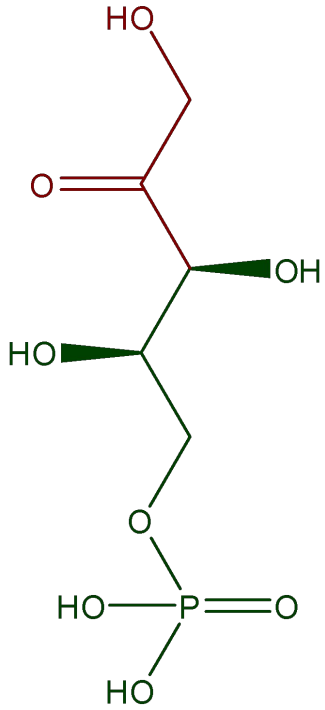


глицеральдегид-3-фосфат

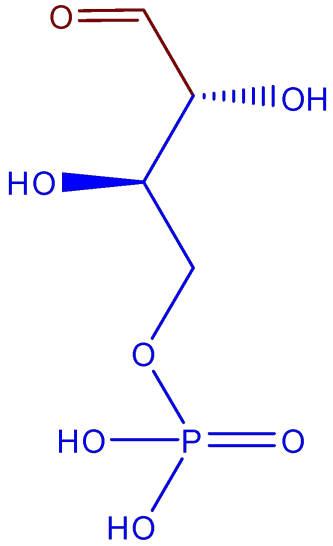


фруктозо-6-фосфат

транскетолаза

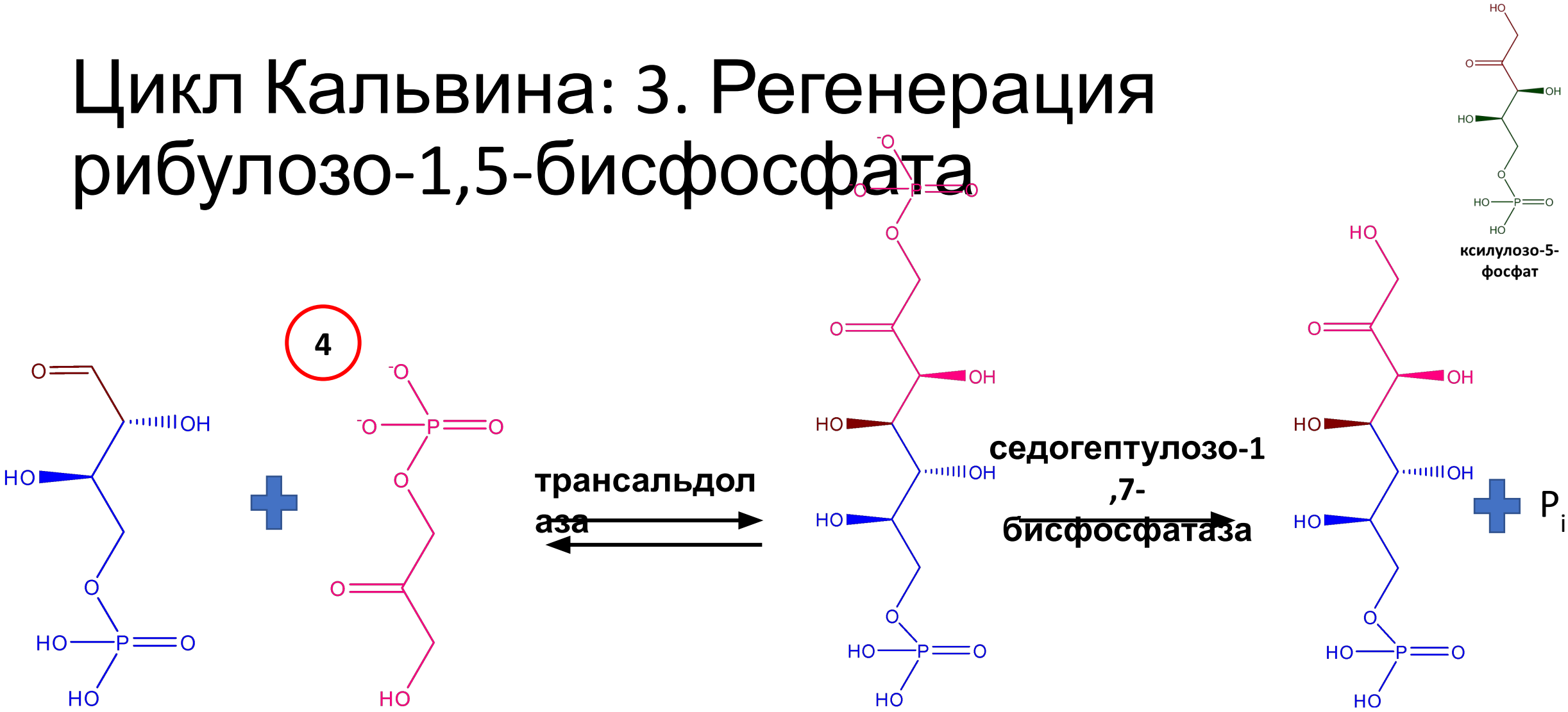


ксилулозо-5-фосфат

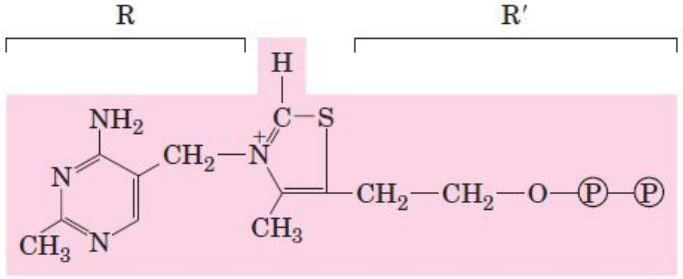


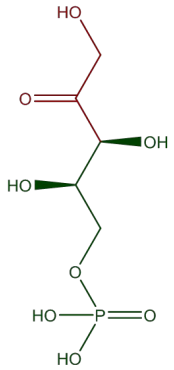
эритрозо-4-фосфат

Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата

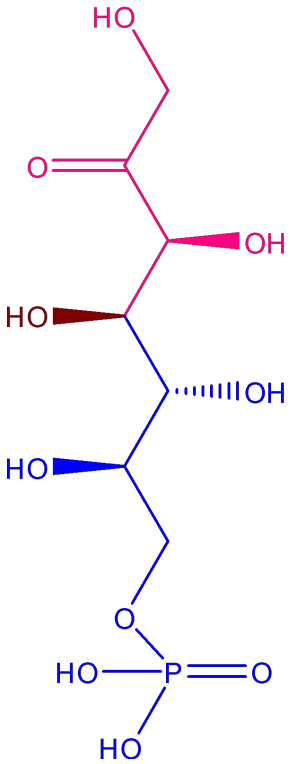


Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бис

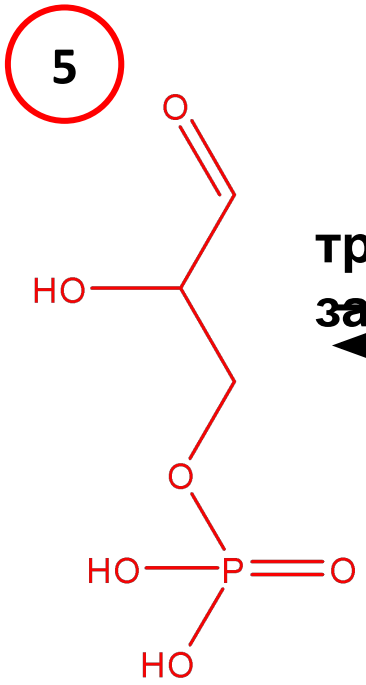




ксилулозо-5-фосфат

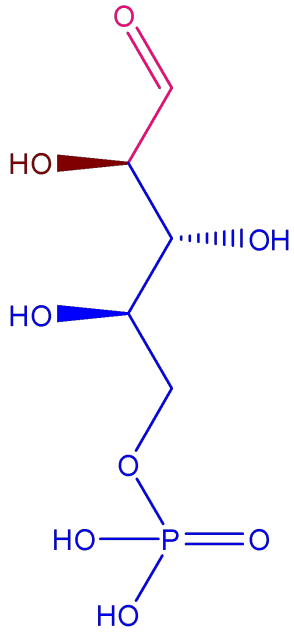


седогептулозо-7-фосфат

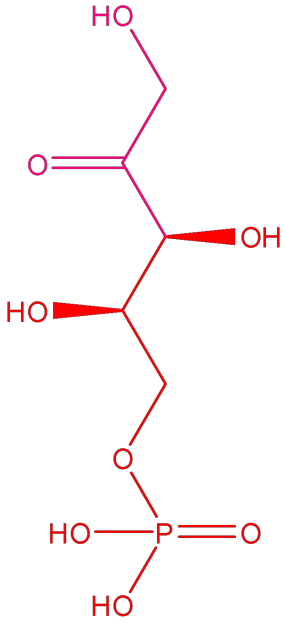


глицеральдегид-3-фосфат

транскетолаза

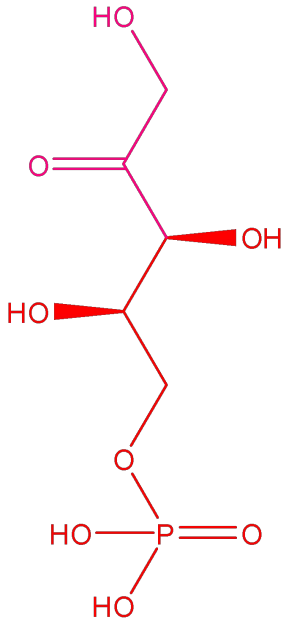


ксилулозо-5-фосфат



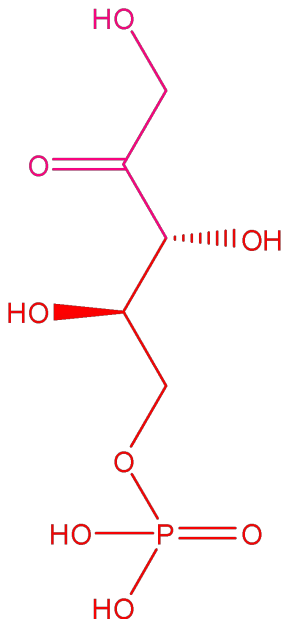
рибозо-5-фосфат

Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата

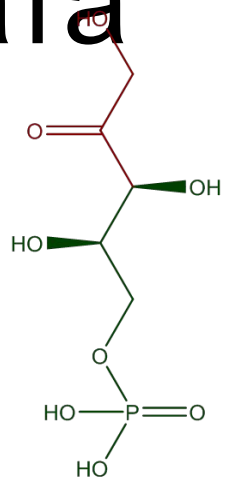


рибозо-5-фосфат

рибозо-5-фосфат
изомераза

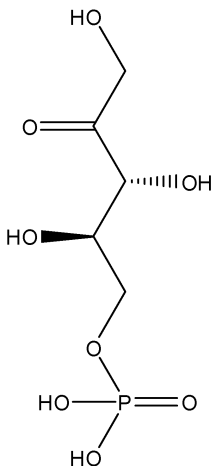


рибулозо-5-фосфат

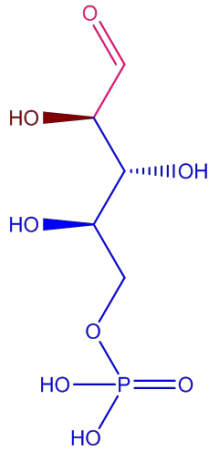


ксилулозо-5-фосфат

рибулозо-5-фосфат
изомераза

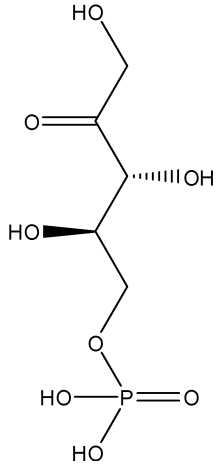


рибулозо-5-фосфат



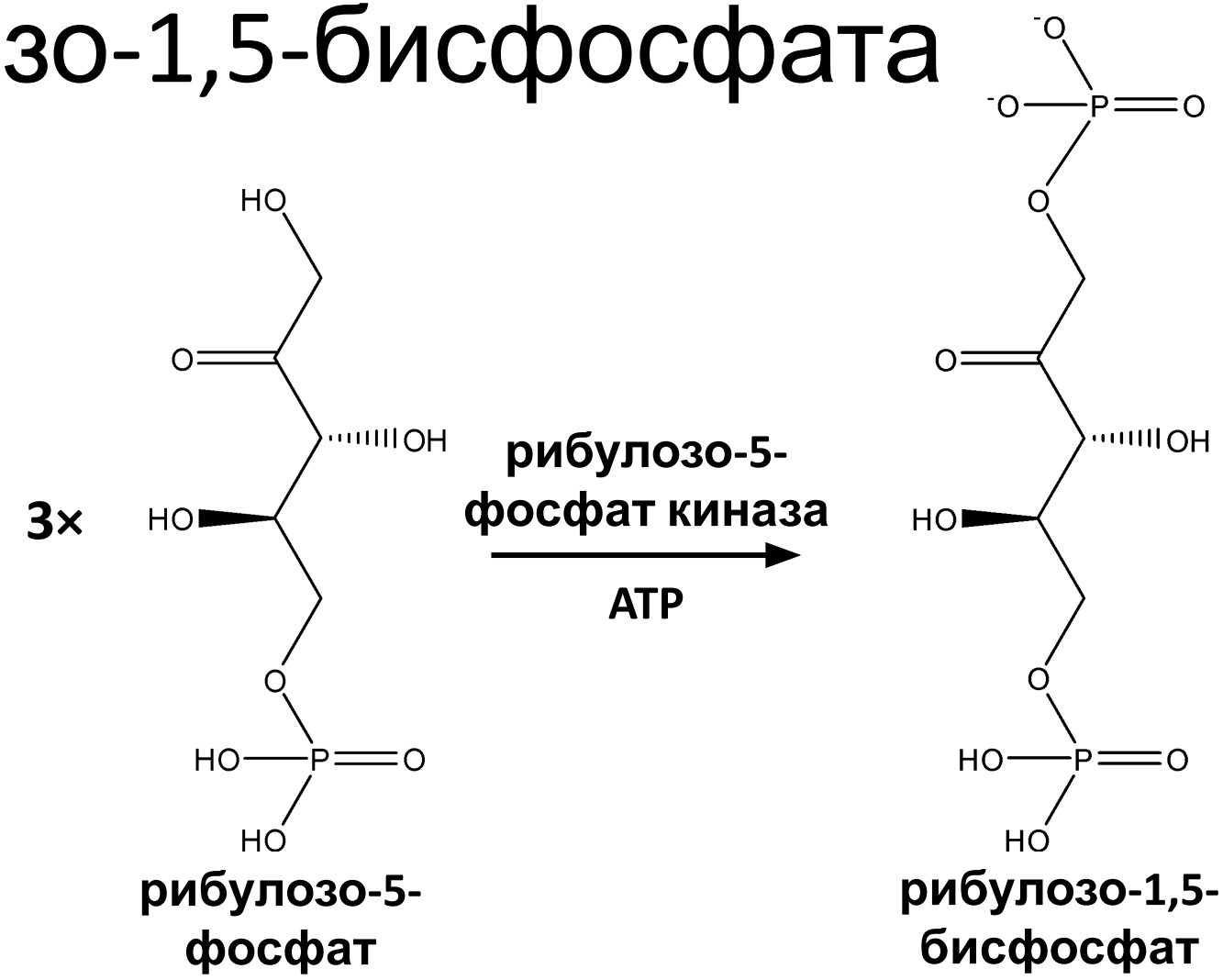
ксилулозо-5-фосфат

рибулозо-5-фосфат
изомераза



рибулозо-5-фосфат

Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата

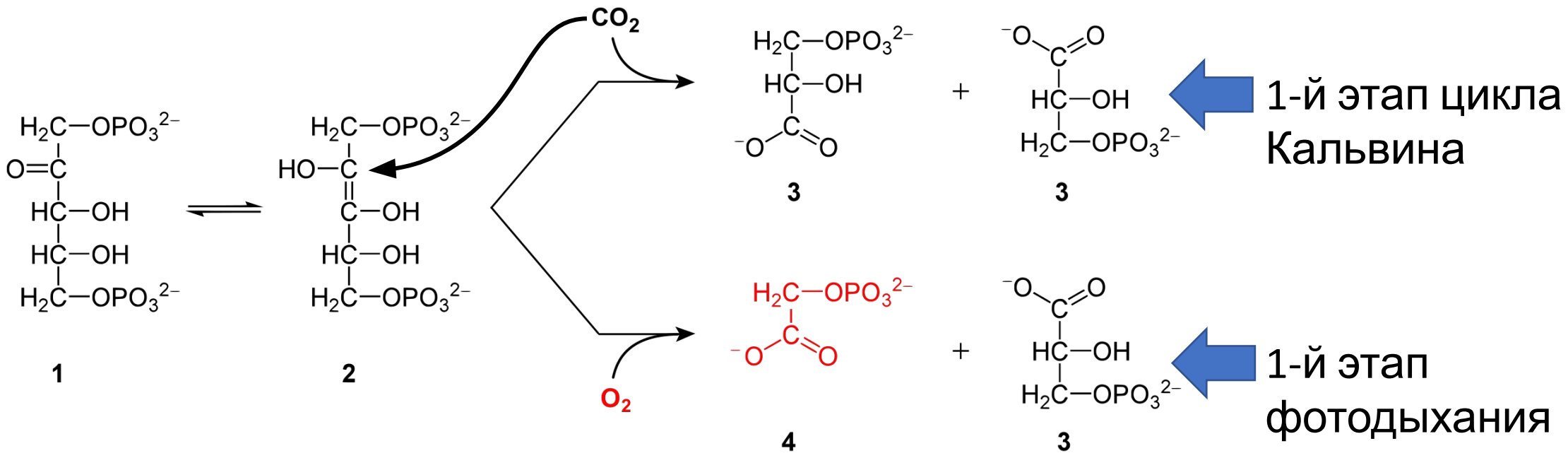


Цикл Кальвина: 3. Регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата и суммарное уравнение

5 глицеральдегид-3-фосфат + 3 ATP → 3 рибулозо-1,5-бисфосфат + 3 ADP

3 рибулозо-1,5-бисфосфат + 3 CO_2 + 9 ATP + 6 NADPH + 6 H^+ →
3 рибулозо-1,5-бисфосфат + глицеральдегид-3-фосфат + 9 ADP + 6 $NADP^+$ + 8 P_i

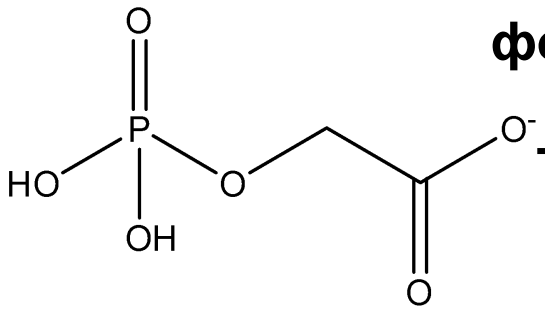
Фотодыхание



O_2 конкурирует с CO_2 за активный центр рубиско. В 1 из 3 или 4 случаев O_2 попадает в активный центр, что приводит к образованию 2-фосфогликолята – метаболически бесполезного продукта. Этот процесс называется фотодыханием

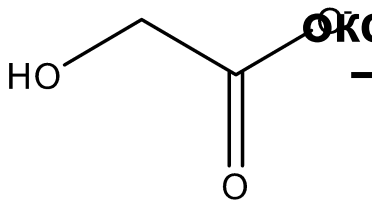
Частота попадания O_2 в активный центр напрямую зависит от его концентрации в растворе рядом с ферментом. При комнатной температуре в воде содержится 250 мкМ O_2 и 11 мкМ CO_2. С увеличением температуры соотношение увеличивается в сторону O_2

Метаболизм 2-фосфогликолята



2-фосфогликолят

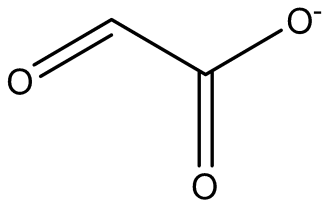
фосфатаза



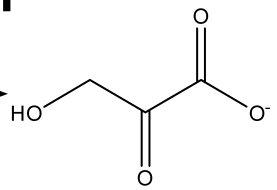
гликолят

гликолят-оксидаза

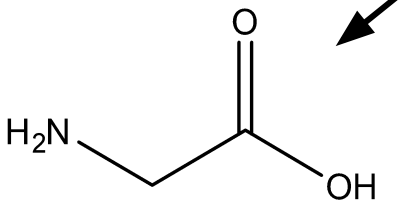
O_2



глиоксилат

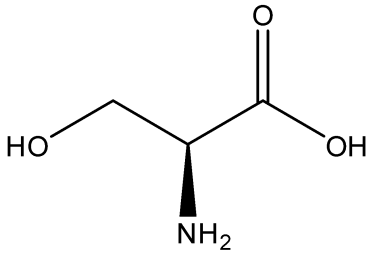


гидроксипируват



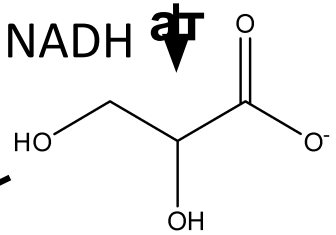
глицин

+глицин + NAD^+ + H_2O



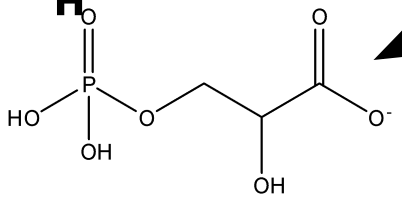
$NADH + H^+ + NH_3 + CO_2$

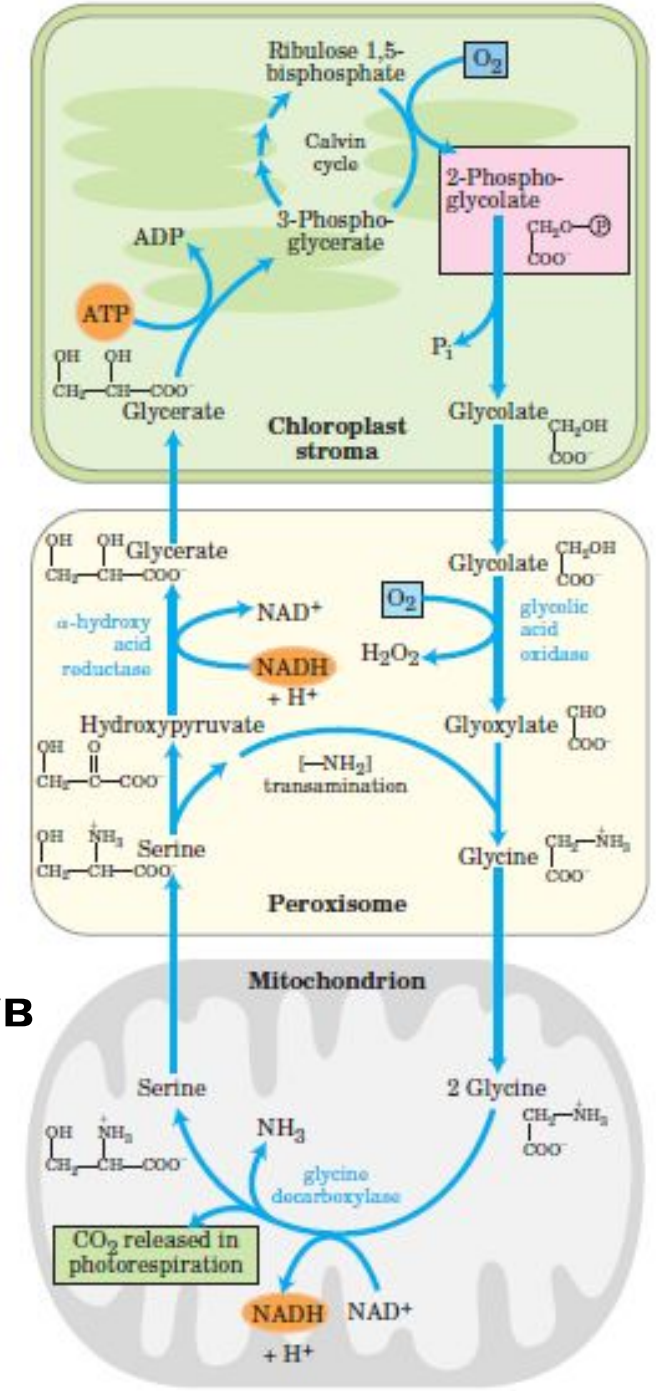
NADH



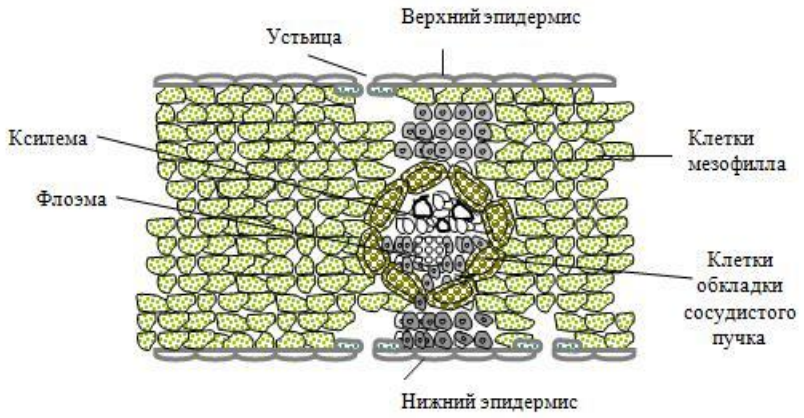
глицерат

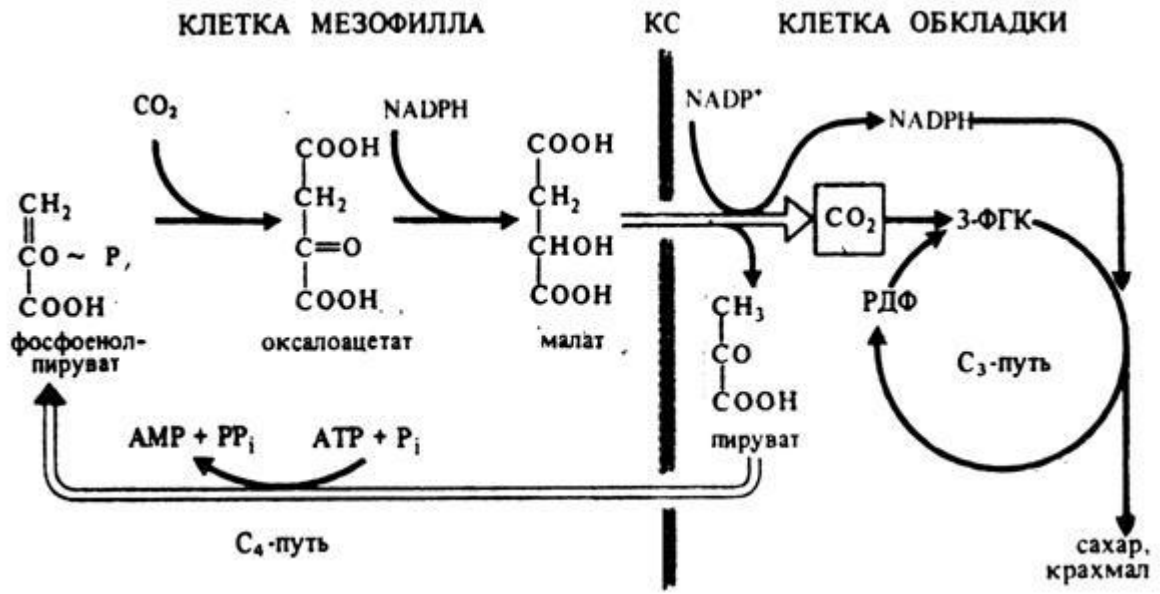
ATP





C_4-фотосинтез





- C4-растения живут при высоких температурах, где отношение концентраций растворенных O_2 к CO_2 еще выше
- У них разделены фиксация CO_2 и работа рубиско пространственно
- CO_2 связывается в C4-соединение, вместо C3
- CO_2 связывается с фосфоенолпируватом, давая оксалоацетат, тот восстанавливается до малата, который диффундирует по плазмодесмам до клеток обкладки, где декарбоксилируется до пирувата, и с CO_2 начинается цикл Кальвина
- Эффективность таких темновых реакций ниже (требуется на 2 АТФ больше)

САМ-фотосинтез

- У суккулентов (например, кактусов) требуется уменьшение потерь воды, следовательно в жаркое время поры на листьях должны быть закрыты
- Поэтому они разделяют фиксацию CO_2 и работу рубиско во времени
- Ночью поры открываются, и CO_2 попадает в клетки, где фиксируется в оксалоацетате
- Оксалоацетат восстанавливается до малата и в таком виде хранится в вакуолях
- Днем, когда жарко и поры закрыты, малат декарбоксилируется малик-ферментов, и CO_2 поступает в цикл Кальвина