

Autotroofne süsivesiksüntees - elusaine tekke alus

Raik-Hiio Mikelsaar

Aine- ja energiavahetus e. metabolism – assimilatsioon ja dissimilatsioon – on teatavasti üheks elu olemuslikuks tunnuseks. Elusaine sünteesi järgi jagunevad elusorganismid kahte suurde rühma: (1) autotroofid, kes kasutades mitmesuguseid energialiike moodustavad elutegevuseks vajalikud ühendid anorgaanilistest ainetest, ja (2) heterotroofid, kelle elu põhineb suures osas autotroofide poolt valmistatud orgaanilistel ainetel. Seega on autotroofidel nii elu tekke kui ka kestmise seisukohalt primaarne osa ja väga suurt huvi tekitab see, kuidas anorgaanilistest ühenditest orgaanilisi sünteesitakse.

Tänapäeval on enamlevinud ja laialt tuntud autotroofseks assimilatsioonirajaks oksügeenne fotosüntees. Täpsemalt vee fotoooksüdatsioonil saadud elektronide ja vesinikioonide ning klorofüllil abil keemiliseks muundatud valgusenergia baasil töötav Calvini tsükkel, mille põhimehhanism tehti kindlaks juba poolsada aastat tagasi (Bassham *et al* 1950). Selle biosünteesi „meetodi” võtsid kasutusele esmalt tsüanobakterid ja siis eukarüootsed taimed, kes oma rakkudes neist fotosünteesivatest eubakteritest endosümbioosi teel kloroplastid (plastiidid) formeerisid.

Glükoosi ja tärklise tekkeni viiv oksügeenne fotosüntees on väga oluline, aga siiski vaid üks elusaine autotroofse sünteesi viise. Mitmetel eubakteritel (rohe- ja purpurbakterid) toimub fotosüntees anaeroobselt bakterioklorofüllil vahendusel. Viimatinimetatud pigmendi abil adsorbeeritakse valgusenergiat ka heterotroofseks ainevahetuseks (heliobakterid). Arhede hulka kuuluvad halobakterid on samuti välja arendanud fotosünteesi mehhanismi, aga see toimib pigment retinaali ja membraanvalgu bakteriorodopsiini põhjal ning produktiks on vaid energiasalvestus ATP molekulidesse. Pärast Calvini tsükli avastamist on kogunenud teadusandmeid veel kolme – prokarüootidel e bakteritel esineva – autotroofse assimilatsiooni – raja kohta (Atomi 2002).

Käesoleva kirjutise autor on võrrelnud omavahel kõiki nelja põhilist biosünteesi rada ja jõudnud veendumusele, et ettekujutus primaarse

elusaine tekkest on liigselt oksügeense fotosünteesi keskne ja ei ava piisava selgusega autotroofsete assimilatsiooniprotsesside olemust. Pakun selles valdkonnas omalpoolt välja uudse – **autotroofse süsivesiksünteesi** – kontseptsiooni. Alljärgnevalt kirjeldan selle põhimõtteid ja reastan eelmärgitud biosünteesi rajad vastavalt sellele arusaamale kujundatud evolutsiooni-nägemusele.

Teadaolevate andmete üldistamise põhjal oletan, et *primaarse biosünteesi põhiobjektiks on alati süsivesikud e karbohüdraadid e sahhariidid*. Need reeglina vaid kolme elemendi C, O ja H aatomeid sisaldavad ained on suhteliselt lihtsa struktuuriga, kuid polüfunktsionaalsed väga reaktiivset karbonüülrühma sisaldavad alkoholid. Seetõttu on hõlbus neid ennast sünteesida ja samuti neist teisi elutähtsaid ühendeid (aminohapped, lipiidid jms) moodustada.

Autotroofse süsivesiksünteesi baasaineks on alati süsihappegaas CO₂, millele assimilatsiooni käigus vaheühendite kaudu liidetakse mingi energia-allika toel veest või väävelvesinikust vabastatud vesiniku H aatomid. Energialiiki silmas pidades võib rääkida termo-, radio-, kemo- ja fotolüüsis-sünteesist. Süsihappegaasiga koos karbohüdraadi eelühendisse ülekantavaid vesinikuaatomeid võib saada H₂ molekulist eraldatud radikaalidena või moodustatakse neid algselt eraldi aktiveeritud elektronidest ja prootonitest.

Eristan *süsivesiksünteesil kahte põhifaasi*: 1) vesinikuaatomite ja energia hankimine (vastab oksügeense fotosünteesi puhul nn valgusstaadiumile), 2) eelnevalt saadud vesinikuaatomite ja energia liitmine koos süsihappegaasiga karbohüdraatide tekkele viivatesse eel- ja vaheühenditesse (vastab oksügeense fotosünteesi puhul pimedusstaadiumile). Vesinikuaatomite saamis- ja sidumisviiside käsitlust ja aktsenteerimist nimetan **vesinikteooriaks**.

1. **Atsetüül-CoA reduktsioonirada** on arvatavasti ürgseim ja ainsana neljast analüüsitavast metabolismirajast pole veel tsükliline. See anaeroobne autotroofne mehhanism esineb tänapäeva ekstreemtingimustes pesitsevatel metanogeenidel (*Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*) ja oli minu arvates valdavaks ka miljardite aastate eest elanud arhebakteritel. Nimetan neid mõlemaid primaarmetanogeenideks.

Sama reaktsiooniviis esineb veel teistel eürarheootidel, näiteks *Arhaeoglobus*'el ja ka *Ferroglobus*'el.

1) *Vesinikku* tarbitakse selle reaktsiooni korral gaasilisel kujul. See vabaneb veest või väävelvesinikust põhiliselt kõrgtemperatuurse termo-, radio- või kemolüüsi teel. Kuna siin pole veel kasutusel klorofüll, siis fotolüüsi selle metabolismirajaga organismides ei esine. Samuti pole siin olemas vesinikusidujaid NAD ja NADP ega energiasalvestit ADP.

2) *Süsihappegaas* seotakse vesinikuga (arvan, et radikaalidena toimivate vesiniku aatomitega) kahel rajal: a) sipelghappeks vitamiinse tetrahüdrofolaadi (T) vahendusel. Viimase külge seotakse algul atsetüleen-, siis etüleen- ja lõpuks metüülrühm. Oletan, et sellest pärinebki metanogeenide poolt kõrvalproduktina tekitatav metaan, b) vingugaasiks CO süsinikmonoksiidi dehüdrogenaasi vahendusel, a)+b) metüülrühm liidetakse vingugaasiga atsetüül-CoA süntaasi kompleksi abil, tekib atsetüül-CoA, millest tõenäoliselt CO₂ molekulide täiendava liitmise teel moodustuvad monoosid. Tsüsteamiini-, pantoteenhappe- (vitamiin B5), fosfaadi- ja adeniinjääke sisaldav ainevahetuses laialdaselt osalev *CoA on seega arvatavasti üks kõige vanemaid bioorgaanilisi ühendeid*.

Seedetraktis anaeroobselt tegutsevad metanogeenid – nimetan neid sekundaar-metanogeenideks – tarbivad karbohüdraatide sünteesimiseks nähtavasti teiste bakterite poolt orgaanilistest ainetest välja võetud vesinikku. Samale rajale on asunud ka mõned eubakterid – firmikuudid *Clostridium* ja afirmikuudid *Acetobacterium*, *Desulfobacterium*, *Desulfovibrio*.

2. **3-hüdroksüpropionaadi tsükkel** esineb väävlit oksüdeerivates arhebakterites (*Acidiamis* ja *Metallosphaera*) ja anaeroobselt fotosünteesivates eubakterites – rohelistes mitteväävelbakterites (*Chloroflexus*), keda Ciccarelli *et al* (2006) on paigutanud tsüanobakteritega ühte klaadi.

1) *Vesinikku* hangitakse eelnimetatud arhebakterites võib-olla veest ja väävelvesinikust ikka veel primitiivse termo-, radio- või kemolüüsi abil. Eubakter *Chloroflexus* aga saab seda väärt elementi ilmselt veest juba „tulevikumeetodi” fotolüüsi tulemusel, olles kasutusele võtnud bakterioklorofüllit c. NAD selles reaktsioonis veel käibel pole, nii et see,

mil viisil aktiveeritud elektronidest ja prootonitest tekkinud vesinikuaatomid kujuneva süsivesiku molekuli süsiniku ja hapniku aatomiteni jõuavad, pole veel teada. Küll aga salvestatakse siin juba energiat ADP-sse (adenosiindifosfaat) ja moodustub ATP (adenosiin trifosfaat).

2) *Süsihappegaasi* assimileeritakse selles ainevahetustsükli CoA vahendusel atsetüül-CoA ja propionüül-CoA karoksülaaside poolt teostatud katalüüsil. Vaheühenditeks on malonüül-CoA, metüül-malonüül-CoA, suktsinüül-CoA ja malüül-CoA. Viimaseks süsivesikute eelühendiks on glüoksülaat CHO-COOH, milles on küll juba olemas sahhariidide võimsaim „relv” – aldehüdne karbonüülrühm, aga hüdroksüülrühma asemel ilutseb veel karboksüülhapetele iseloomulik karboksüülrühm –COOH.

3. Trikarboksüülhapete reduktiivne (RTCA) tsükkel on omane *Thermoproteus*'ele – väävlit-redutseerivatele termoatsidofiilsetele krenarheootidele. See on ilmselt arhebakterite metabolismi tipp, mis levis siit tulevaste tsüanobakterite lähedase *Aquifex/Hydrogenobacter*'i rühma kaudu ka eubakterite-afirmikuutide proteobakterite harusse (*Desulfobacter*) ja bakterioide sisaldavasse fotosünteesivasse harusse (rohelised väävlilbakterid - *Clorobium*). Viimatinimetatul - *Clorobium*'il - on kolm bakterioklorofüllil vormi – c (nagu eelnimetatud *Cloroflex*'il), d ja e.

1) *Vesinikku* hangivad ka selle metabolismiraja puhul arhebakterid ilmselt vee ja väävelvesiniku termo-, radio- ja kemolüüsi teel, aga eubakterid (*Clorobium*) kasutavad sellele lisaks ka bakterioklorofüllil poolt vahendatavat fotolüüsi. Vesiniku esmasalvestuseks on siin esimest korda käibele võetud NAD (nikotiinamiidadeniindinukleotiid) ja FAD (flaviinadeniindinukleotiid). Energia primaarakumuleerimiseks rakendatakse nagu eelmise metabolismitee korral ADP muutmist ATP-ks.

2) *Süsihappegaasi* sidumine toimub suures osas samade komponentide poolt, mis osalevad katabooses Krebse tsitraattsükli. Siin sünteesitakse atsetüül-CoA, lülitades tsükliks kaks CO₂ molekuli ja kaheksa H-atomit, mis pärinevad NADH-lt ja/või FADH-lt ja võttes üle energiat kahelt ATP-molekulilt. Tsitraattsüklist erinevaks – võtmeensüümiks – on ATP-tsitraadi lüaas, mis lõhub 6-süsinikulise tsitraadi 4-süsinikuliseks oksaloatsetaadiks ja 2-süsinikuliseks atsetüül-CoA-ks. Kui kõnesolevat ainevahetustsükli Evans *et al* (1966) poolt esmakordselt

kirjeldati, siis märgiti selle tsükli puhul ühe süsihappegaasi molekuli sisselülitamise juures esmakordselt ka ferredoksiin-sõltuva püruvaat-süntaasi ja 2-oksoglutarat-süntaasi osalemist.

Oletan, et just äsjakirjeldatud anaboolsest tsüklist on pöördsuunas välja arenenud nii hüdrogenosoomide kataboolne „vesiniku-tootmine” kui ka mitokondrites asetleidev Krebse tsitraatsükkel.

4. **Calvini (ribuloos-bisfosfaadi) tsükkel** puudub arhebakterite aine- ja energiavahetuses. See autotroofne assimilatsioonirada on minu meelest eubakterite afirmikuutide-haru ühe osa – proteo- ja tsüanobakterite ühiseellaste leiutis. Tõsi küll, selle tsükli võtme-ensüümi rubisco aktiivsusega proteiine võib leida ka arhedel, kuid minu arvates kasutavad viimased neid mitte karboksülaaside, vaid oksügenaasidena hüdrolüüsil tekkivate hapnikuaatomite sidumiseks. Calvini tsükli on kirjeldatud proteobakterite hulka kuuluvatel ammooniumi-oksüdeerijatel (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*), Nitriti-oksüdeerijatel (*Nitrobacter*), väävlioksüdeerijatel (*Thiobacillus*) ja vesiniku-oksüdeerijatel (*Ralstonia*, *Hydrogenovibrio*), mis aga ükski ei osale fotosünteesis. Anaeroobselt toimuvat vee ja võib-olla ka väävelvesiniku fotolüüsi on Calvini tsükliga kombineerinud purpur-väävlibakterid (*Chromatium*) ja purpur-mitteväävlibakterid (*Rhodobacter*, *Rhodospirillum*), kellel esinevad bakterioklorofüll a ja b. Aeroobse fotosünteesini jõudsid Calvini tsükli kasutanud bakteritest tsüanobakterid, kes – oletan, et *Cloroflexus*'e bakterioklorofüll c täiustades – võtsid käibele täisaromaatse porfüriinituumaga klorofüll a ja d.

Klorofüll kombinatsioon Calvini tsükliga osutus väga efektiivseks. Tsüanobakteritest tekkinud kloroplastides ilmsid korofüll a kõrval ka klorofüllid b, c1 ja c2. Atmosfääri hakkas arvestataval hulgal hapnikku kogunema juba enne hulkraksete taimede võidulepääsu, nähtavasti siis, kui ookeanis hakkasid tsüanobakterite kõrval suurel hulgal levima eukarüootsed vetikad.

1) *Vesinikku* hangitakse Calvini tsükli jaoks tänapäeval enamasti vee ja võib-olla osalt ka väävelvesiniku fotolüüsil. Elu üldise ajaloo mõttes suhteliselt uue, suurepärase pigmendi klorofüll a abil kogutud valgusenergia vahendusel. Mitte-fotosünteesivad eubakterid kasutatavad sel otstarbel vee

või väävelvesiniku kemo- või termolüüsi. Vabanevad vesinikuaatomid ja energia akumuldeeritakse vastavalt vaheühenditesse NADPH ja ATP.

Erinevalt eelmisest metabolismirajast pole siin tegemist NAD-ga, vaid NADP-ga (nikotoinamiidadeniindinukleotiid-fosfaat).

2) *Süsihappegaas* seotakse Calvini tsükli 5-süsinikulise sahhariidi ribuloos-bisfosfaadi RuBP külge ensüümi – ribuloos-bisfosfaadi karboksülaasi – rubisco – vahendusel. Tekkinud 6-süsinikuline ühend laguneb kohe kaheks 3-süsinikuga 3-fosfoglutseraadi molekuliks. Seda faasi kutsutakse karboksülatsiooniks, mis olemuslikult tähendab C- ja O-aatomite sidumist süsivesiku eelühenditesse.

Järgmisena toimub Calvini tsükli ATP küljest vabastatava fosfaadijäägi ühendamine 3-fosfoglutseraadi külge, mille tulemusena formeerub 1,3-bisfosfogütseraadi molekul. Nüüd eraldatakse viimasest karboksüülrühma hüdroksüülgrupiga seotud fosfaadijääk ja liidetakse selle asemele G3P dehüdrogenaasi toimel NADPH-st eraldatav vesinikuaatom ja moodustub „täieõiguslik“ süsivesik glütseraldehyüd-3-fosfaat. Selles on nüüd aldehüüdrühma koosseisus sahhariidi tähtsaim koostisosa karbonüülrühm. Edasi jääb üks selline molekul aldehüüdsesse vormi ja teisel nihutatakse karbonüülrühm otsmise süsinikuaatomi küljest järgmise süsiniku juurde – aldehüüd muutub ketoühendiks – tekib dihüdroatsetoonfosfaat. Nendest muutmata ja muudetud 3-süsinikulistest molekulidest ühendub aldolaasi toimel kokku 6-süsinikuline fruktoos-1,6-bisfosfaat. Sellest moodustub fruktoos-6-fosfaat, millest üks osa kulub ära RuBP regenereerimiseks ja teine osa transformeerub glükosiks. Kõnesolevat faasi kutsutakse reduktsiooniks, kuid süsivesikute biosünteesi olemuse rõhutamiseks tuleks minu meelest kasutusele võtta teistmoodi aktsendiga termin „hüdrogeenimine“. Tegelikult oleks tarvis see faas jagada kaheks – pärast vesiniku sidumist esmasesse süsivesikusse (glütseraldehyüd-3-fosfaati) ja fruktoos-6-fosfaadi teket toimub ju tsükliäline glükosüntees. Nende alafaaside eristamine oleks väga vajalik gükolüüsi puhul toimuvate pöördsuunaliste protsesside mõistmiseks.

Fruktoos-6-fosfaadist vaheühendi ribuloos-5-fosfaadi kaudu toimuvat ribuloos-1,5-difosfaadi resünteesi nimetatakse regeneratsiooniks.

Evolutsiooni seisukohalt suhteliselt uudse leiutise – Calvini tsükli – efektiivsus peitub suuresti tema lihtsuses – selles on loobunud isegi CoA teenete kasutamisest! Selle ainevahetusraja edukuse teiseks pandiks on bakterioklorofüllist märksa efektiivsema valgustpüüdva pigmendi klorofüll-i konstrueerimine. Kahe „superleiutise” ühendamine toimus tsüanobakterites, seetõttu pole ime, et just neid mikroobe eukarüootides endosümbiontidena kloroplastideks ülendati. Nüüd on ainu- ja hulkraksete roheliste taimede kaudu Calvini tsükliga kombineeritud klorofüll-fotolüüs üle ilma levinud ja rubisco kvantiteedi mõttes ülekaalukalt esi-ensüümiks tõusnud.

Mis puutub aga fülogeneesis kujunenud autotroofse süsivesiksünteesi biodiversiteeti, siis selles mõttes on fotolüüsiga kombineeritud Calvini tsükkel üsna marginaalne nähtus. See assimilatsioonirada on valdav vaid eukarüootide puhul, prokarüootide korral esineb seda vaid tühisel osal bakteritest.

Olen mitmel korral viidanud *assimilatsiooni ja dissimilatsiooni pöörd-suunalisele sarnasusele*. Tõepoolest, kui võrdleme 1) klorofüll-fotosünteesi 2) glükoosi lagundamisega, siis võib tuua järgmisi analoogiaid:

1) valgusenergia + klorofüll (Mg ioone ja porfüriinituuma sisaldav pigment) + H₂O → H⁺ ionide, elektronide ja O₂ eraldamine veest ja esimese kahe suunamine elektrontransportahela valkudesse → NADPH ja ATP moodustamine → NADPH-st pärineva H ja ATP-st saadud energia sidumine vaheühendite kaudu CO₂-ga süsivesikuks → frukto-glükosüntees.

2) Glükolüüs → CO₂ ja H eraldamine süsivesikust ja NADH teke Krebse tsitraaditsükli → H⁺ ionide ja elektronide eraldamine NADH-st ja süsivesikutes akumulbeerunud energia ümbersalvestamine ATP-sse elektronide transportahela valkudes, mis sisaldavad heemi (rauaioone sisaldav porfüriinituum) → elektronide ja H⁺ ionide liitumine O₂-ga → H₂O.

Heterotroofia on autotroofia suhtes sekundaarne, seetõttu tekkisid *kataboolsed reaktsioonimehhanismid ilmselt anaboolsete baasil ja sünteesireaktsioonid on dissimilatsiooni suhtes mõnevõrra ennetavad*. Seetõttu pole midagi imestada, et Krebse tsitraaditsükkel ei ole mitte Calvini tsükli, vaid varasemas süsivesiniksünteesi mehhanismis kasutatud reduktiivse trikarboksüülhapete (tsitraadi-)tsükli – RTCA(vt eespool) –

ligikaudne peegelpilt ja olulise faktorina tuleb mängu viimases osalev CoA. Sellega klappib ka NAD, mitte aga Calvini tsüklile omase NADP esinemine dissimilatsioonireaktsioonis.

Kuna hapniku ulatuslikum vabanemine vee fotolüüsil on suhteliselt hiline nähtus, siis on ka O₂-ga seotud hingamine võrdlemisi hiljuti tekkinud protsess ja vastavad elektrontransportahelad ja pigment heemi sisaldavad ensüümid liitusid tsitraaditsükli juurde mitte väga kaua aega tagasi. Nii nagu süsivesiksünteesi arenenumad vormid arenesid peamiselt eubakterite-afirmikuutide proteobakterite ja tsüanobakteri-sugulaste harus, nii ilmned seal ka komplitseeritumad süsivesik-lagundamise reaktsioonid. Seetõttu pole põhjust imestada, et aeroobse dissimilatsiooniga tegelevad arenenumad *mitokondrid* on tekkinud alfa-proteobakteritest kujunenud endosümbiontidest. Suures osas anaeroobsetes bakterites jääb glükolüüs primitiivsele tasemele (peegelpilt lihtsamatest süsivesiksünteesi vormidest?), lõppedes näiteks etanooli ja atsetaadi tekkega või eraldub ka gaasiline veisnik ja süsihappegaas. On võimalik, et seda tüüpi bakteritest on eukarüootides endosümbioosi teel arenenud *hüdrososoomid*. Viimastes on pika ja põhjaliku reduktiivse tsitraaditsükli asemel kataboolselt kasutusel vaid selle ferredoksiini sisaldav osa. Püruvaat-ferredoksiini oksüdoreduktaas katalüüsib püruvaadi süsihappegaasiks, atsetüül-CoA-ks ja redutseeritud ferredoksiiniks. Viimane reoksüdeeritakse siis hüdrososoomi vahendusel nii, et produtseeritakse hüdrososoomidele omast vesinikku.

Kokkuvõttes võib öelda, et käesolevas kirjutises esitatud võrdlev analüüs lubas primaarse elusaine biosünteesi üldisemat käsitlemist. Mõiste „autotroofne süsivesiniksüntees“ kasutuselevõtt ei tähenda senituntud nähtuste terminoloogilist varieerimist, vaid kajastab avaramat lähenemisviisi selles valdkonnas. Nimetatud terminit võiks autotroofia üldkäsitluses eelistada seni kasutatavale mitmetähenduslikule sõnale „fotosüntees“.

Kirjandus

- Atomi, H. 2002. Microbial enzymes involved in carbon dioxide fixation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 94(6):497-505.
- Bassham, J., Benson, A., Calvin, M. 1950. The path of carbon in photosynthesis. *Journal of Biological Chemistry* 185(2):781-7.
- Ciccarelli, F.D., Doerks, T., von Mering, C., Creevey, C.J., Snel, B., Bork, P. 2006. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science* 311:1283-7.
- Evans, M.C., Buchanan, B.B., Arnon, D.I. 1966. A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 55:928-34.