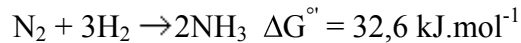


Asimilace N – ze sloučenin anorganických do organických – běžné (rostliny, mikroorganismy obecně)

N₂ – inertní, problém převést na sloučeninu

- kyslíkaté – výboje
- redukce na NH₃ – energeticky náročná

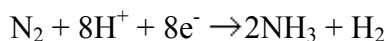


Technologicky – katalýza (pův. Os a U, dnes Fe³⁺, 400 – 650 °C, 10 – 40 MPa)
– Haber-Bosch 1913
– spotřebuje ca 1% veškeré celosvětově produkované energie

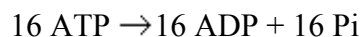
Biochemicky – enzymová katalýza + ATP

25B Nitrogenasa

Probíhá podle rovnice



na každý elektron se spotřebují 2 ATP, tedy



Celkově



Tato redukce je omezena na několik mikroorganismů – symbiotické a volně žijící

Rhizobium – symbiont vıkvovitých rostlin

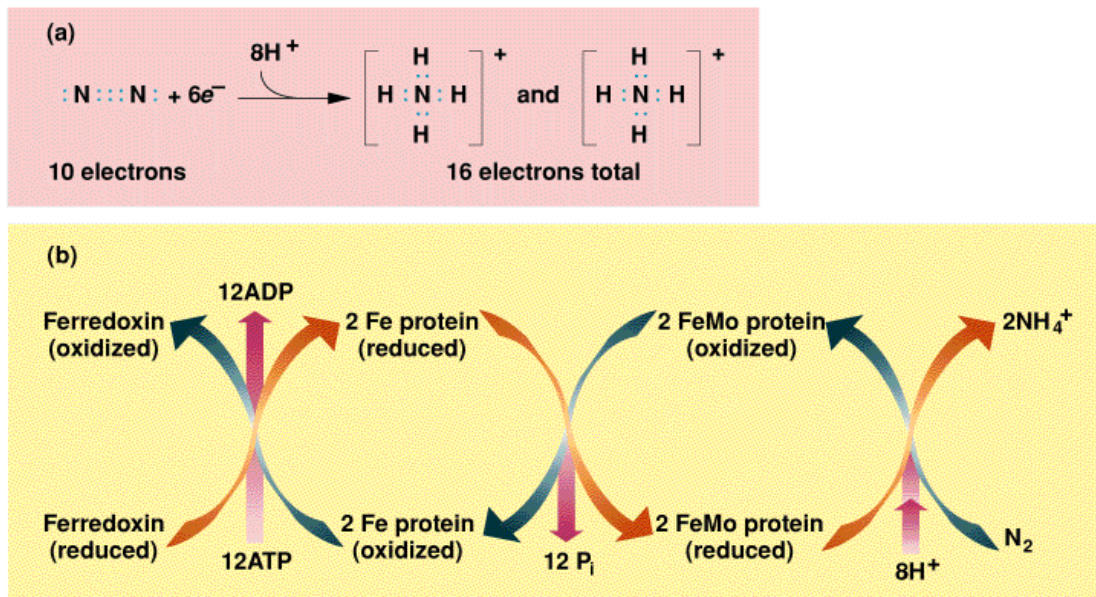
Azotobacter, *Klebsiella*, *Clostridium* a cyanobacteria (vodní)

Reakce je katalysována nitrogenázovým komplexem složeným z FeS-proteinu dinitrogenasa reduktasy (složena ze 2 podjednotek o ca 65 kD, obsahuje 4Fe a 4S na dimer, citlivá na kyslík) a MoFe-proteinu dinitrogenasy ($\alpha_2\beta_2$ heterotetramer s velkým redoxním centrem obsahujícím Fe₄S₃ a Fe₃MoS₃ spojené 3 sulfidovými skupinami)

Nitrogenasová reakce může být rozložena do 3 kroků:

1. redukce FeS-proteinu externím donorem elektronů
2. redukce MoFe-proteinu redukováným FeS-proteinem
3. redukce N₂ MoFe proteinem

Campbell, Biochemistry, 3/e
Text Figure 19.02

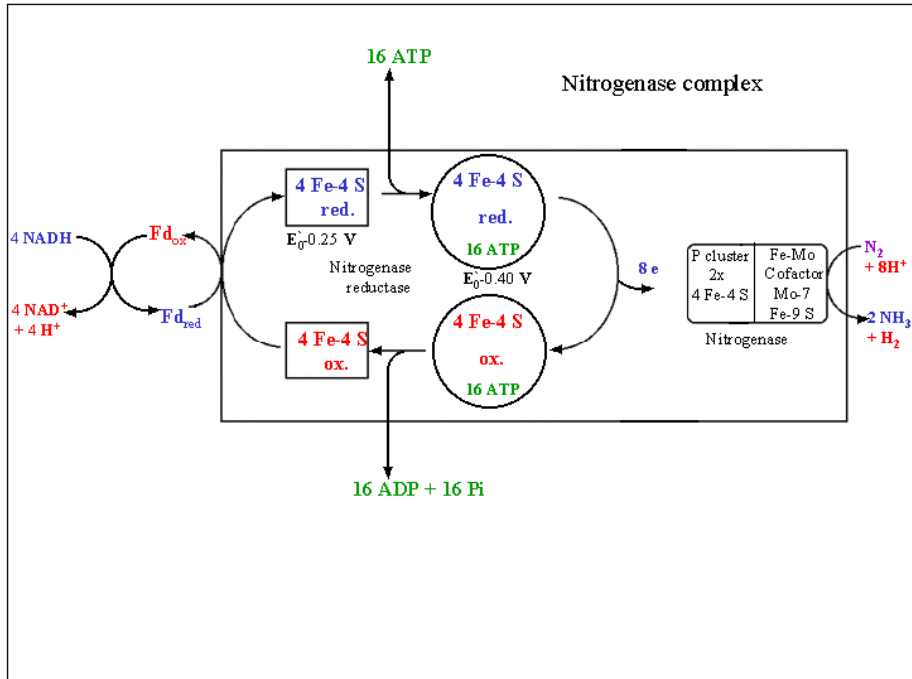


Harcourt Brace & Company

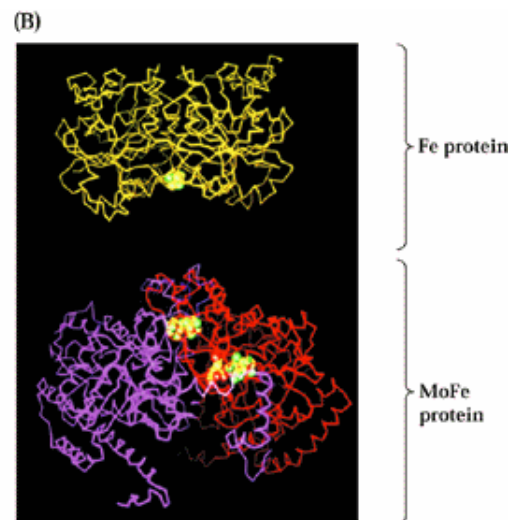
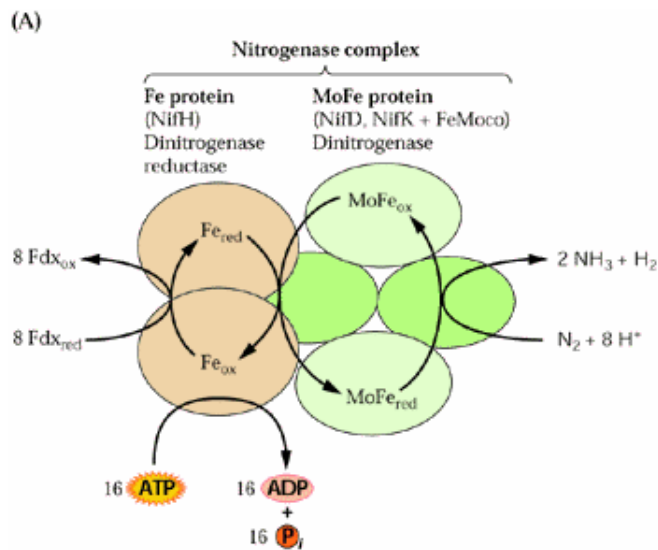
První reakce vyžaduje NADH a je katalysována feredoxinem.

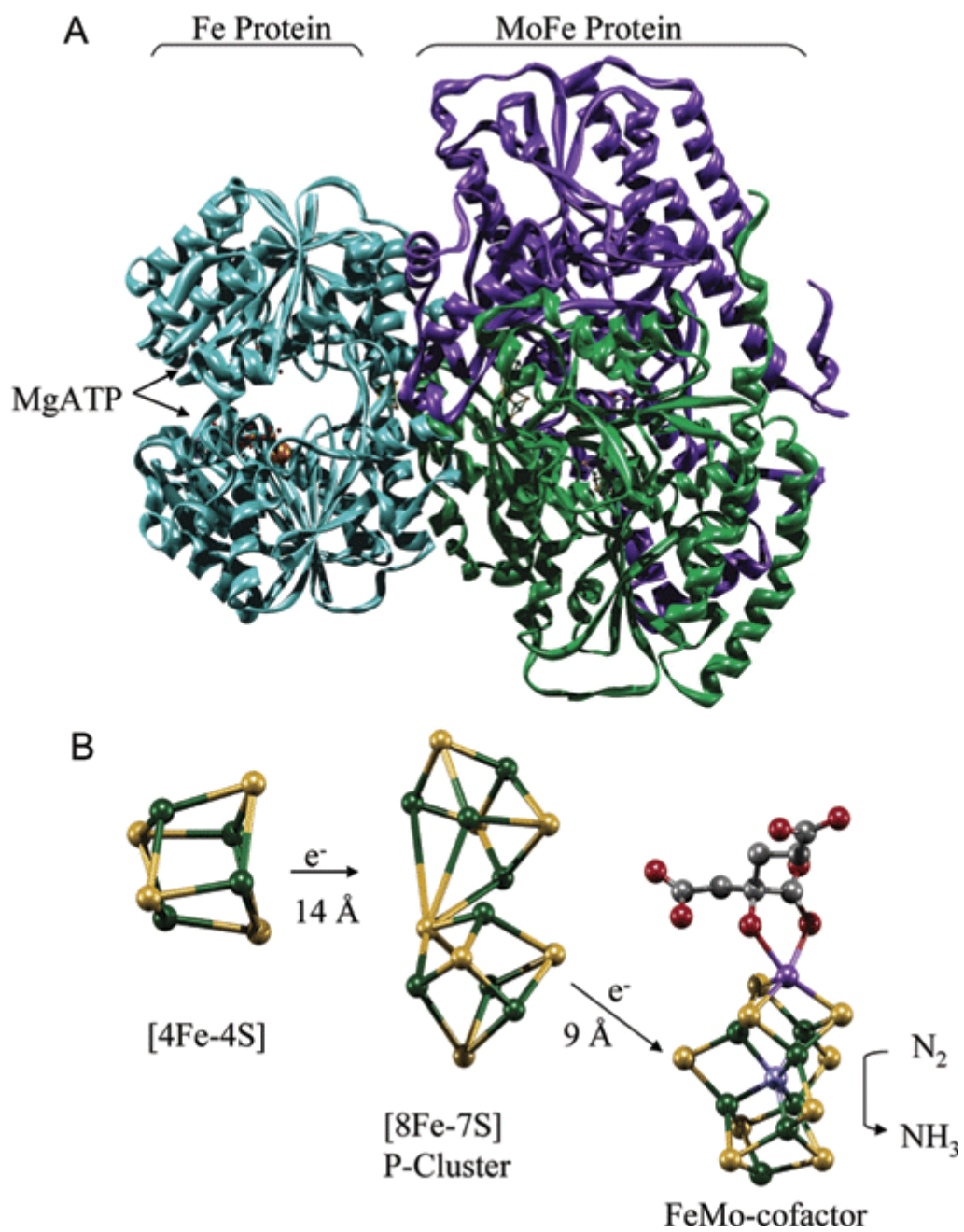
Ve druhém stupni dochází ke spřažení s exergonickým pochodem – hydrolyzou ATP.

Podstatou je snížení redoxpotenciálu (z -350 mV na -450 mV) po fosforylaci proteinu, to umožní redukovat koncový enzym – FeMo-protein o nízkém E^0 , jenž je pak schopen redukce N₂.

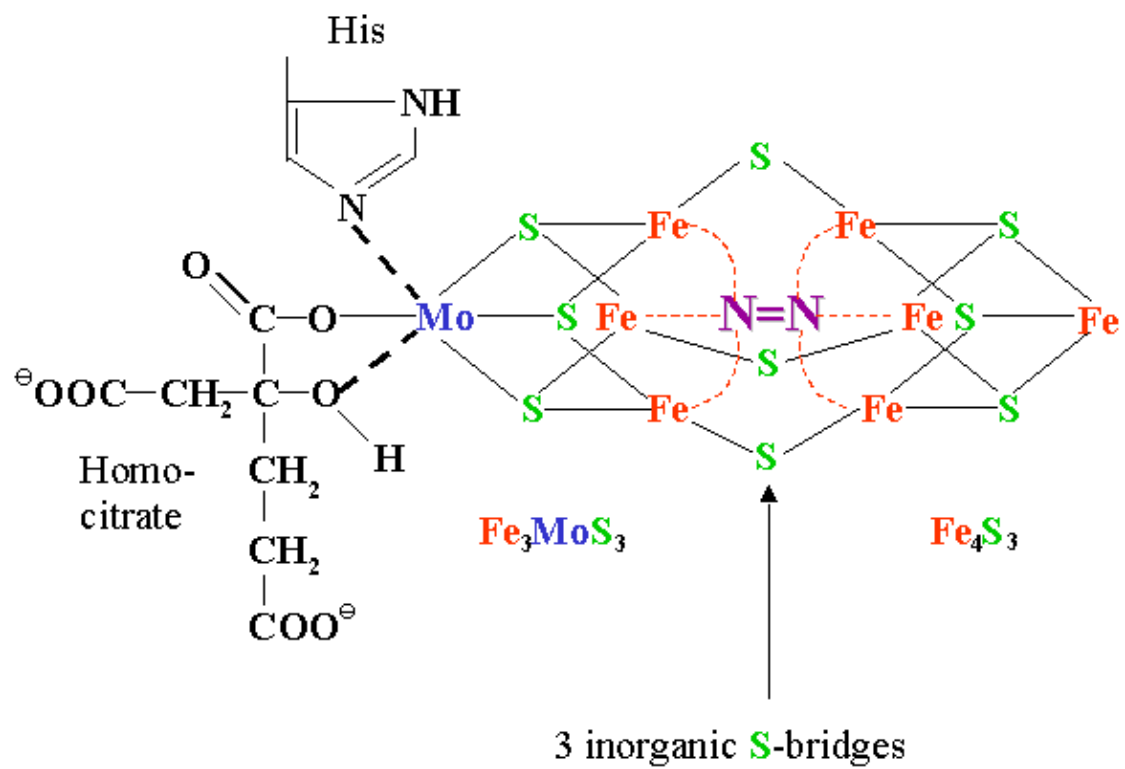


Úloha Fe_4S_4 při redukci dinitrogenasy





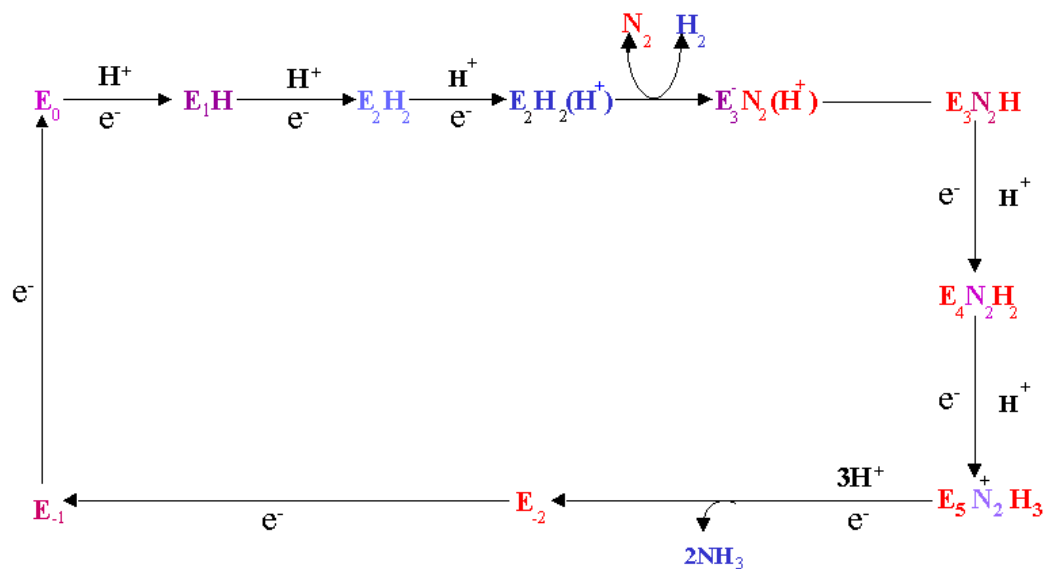
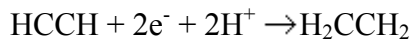
Přenos elektronu mezi klastry



Vazba N₂ v klastrech dinitrogenazy

Nitrogenasa (podobně jako RUBISCO) je syntesována ve velkých množstvích, u diazotofytů tvoří až 10% všech bílkovin.

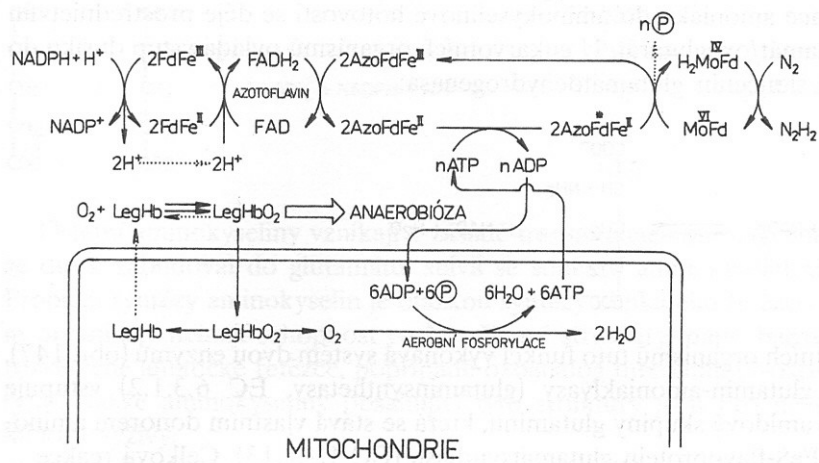
Nitrogenasa redukuje i jiné substráty se strukturou podobnou N₂, dobrým měřítkem její aktivity je redukce acetylenu:



Schema mechanismu redukce N₂

Problém citlivosti ke kyslíku, produkce leghemoglobinu odčerpávajícího O₂ (v rostlinné buňce, kodován v jejím jádře).

Symbiosa – rostlina zásobuje symbionta metabolity (z TCA).



Obr. 146 Schéma fixace elementárního dusíku v bakteroidu *Azotobacter*

Lokalisace enzymů redukce dusíku

Možnosti GMO – nitrogenázy v rostlinách.

Jiné typy nitrogenas (V místo Mo, účast azotoflavinu aj.)

