

水與氧的奇幻旅程(上)--水來自何方？ 水分子與氧原子在光合作用中的代謝情形

蔡任圃

臺北市立中山女子高級中學

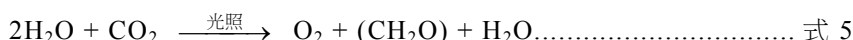
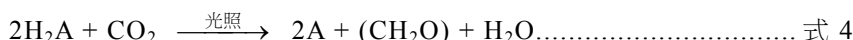
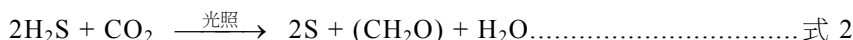
壹、高中生物課教學現場的疑難

在高中生物課堂上，光合作用的反應方程式常用式 1 表示，學生經教師講解可得知光合作用的產物 O_2 來自 H_2O 的水光解作用(Water photolysis)，但光合作用中產生的 $6H_2O^*$ 來自何處？是同學常常提出的疑問，也是教師無法避免的挑戰。雖然 $6H_2O^*$ 的來源對高中生理解光合作用並非必要的知識，但教師必定會被學生”挑戰”，為了避免模糊不清或錯誤的回答反而帶給學子錯誤的觀念，本文擬將此問題釐清，並且討論水分子與氧原子在光合作用中的代謝情形。

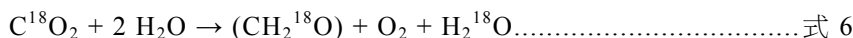


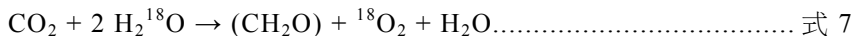
貳、前情題要

凡尼爾(C. B. van Niel, 1897-1985)於1920年代證實綠色細菌在光照情形下，可將硫化氫(H_2S)氧化成硫(S) (式2)，紫硫菌與綠硫菌不但可行上述反應，亦能繼續將硫(S)氧化成硫酸鹽(式3)；經由這些光驅動的氧化反應，可將二氧化碳轉變成細胞內的有機物質。凡尼爾因此相信在光合作用的反應中，將某物質氧化後，可使其氫元素轉移至二氧化碳上，使二氧化碳還原成其他有機物，並且依據式2整理出通式(式4)。這些觀察與推論於1929年底的研討會^{註一}中發表，兩年後正式發表^{註二}。凡尼爾甚至發現紫硫細菌與非硫紫細菌(nonsulfur purple bacteria)可氧化某些有機化合物，以作為氫提供者。



若將式 4 與綠色植物光合作用的反應(式 5)比較，凡尼爾推論植物光合作用所產生的 O_2 來自水，而非當時科學界所認為的二氧化碳。這個推論由魯賓(Rubén)等人於 1941 年用同位素分別標定 $C^{18}O_2$ 與 $H_2^{18}O$ 進行實驗^{註三}證實為正確的(以式 6 與式 7 表示)。

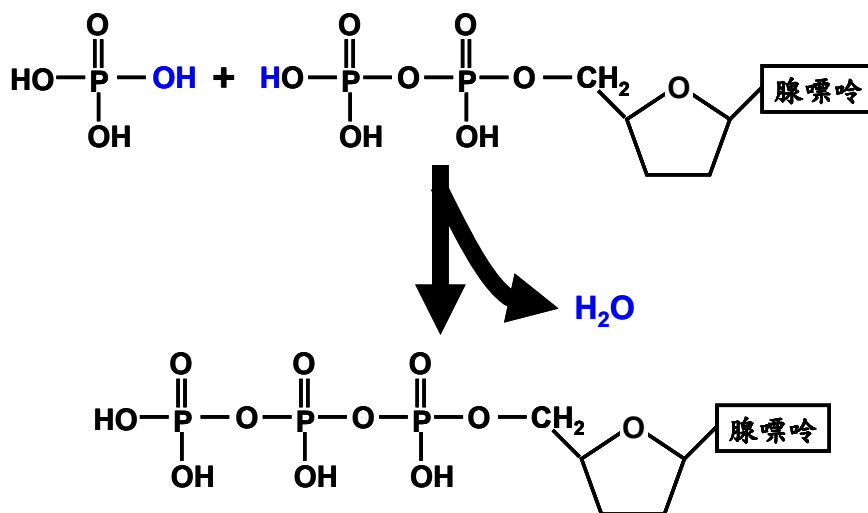
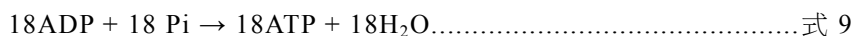
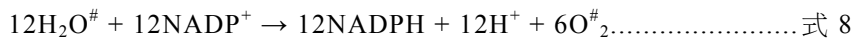




凡厄爾與魯賓等人的研究成果，可將綠色植物與藻類之光合作用反應式以式 1 表示，反應物中水分子的氧元素最後構成氧，二氧化碳的氧元素最後構成產物中的醣類與水，式 1 即為中學與大學教科書中常用於描述光合作用反應的反應式。

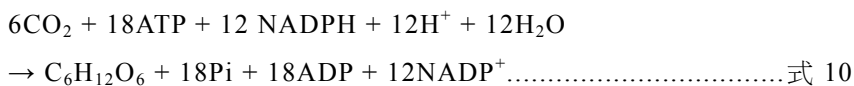
參、光合作用中哪些反應可產生 6 莫耳的水分子？

光合作用中水分子的代謝情形，相較於氧原子的代謝路徑較為單純，先予解謎。以產生 1 莫耳六碳糖(需 6 莫耳 CO_2)的前提下，在光反應中，12 莫耳的水分子經水光解作用產生 6 莫耳的氧分子(式 8)。但教學的過程中，師生常常忽略光反應中產生 ATP 的過程也有水分子的代謝(脫水反應產生水分子，式 9、圖一)，故光反應中耗掉 12 莫耳的水分子(產生氧分子)，也產生了 18 莫耳的水分子(脫水反應形成 ATP)。



圖一 ADP 經脫水反應產生 ATP 示意圖，產生 ATP 時可產生水分子。

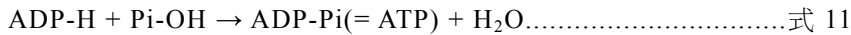
另一方面，經碳反應產生 1 莫耳葡萄糖的過程中，共消耗 18 莫耳 ATP、12 莫耳 NADPH 與 12 莫耳的水分子，其淨反應以式 10 表示。



由上述碳反應(式 10)與光反應中形成 ATP 的反應式(式 9)可得知，光反應形成 ATP 時產生 18 莫耳水分子，而碳反應需耗掉 12 莫耳水分子，故光反應與碳反應互相抵消後就可淨產生 6 莫耳水分子。

肆、二氧化碳的氧原子如何形成水分子與葡萄糖？

碳反應可分為四大步驟，即二氧化碳的固定、磷酸甘油醛的還原、二磷酸核酮糖(ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)的再生、六碳糖的合成。以下討論此四大步驟中水分子與氧原子的代謝情形，為表達方便，以下將不同來源的氧原子用不同顏色與標記表示，而磷酸根以「Pi-OH」，二磷酸腺苷以「ADP-H」表示，三磷酸腺苷以「ADP-Pi」表示，ADP 經脫水反應產生 ATP 則表示成式 11。



若將二氧化碳的氧原子以同位素標定(下文以 CO^*_2 表示)，以追蹤氧原子在碳反應中的代謝路徑，可推知由於碳反應包含卡爾文循環，氧原子(O^*)可重複循環而累積於碳反應的中間產物與最終產物，故可將碳反應區分為初期反應與後期反應，分別描述如下：

一、碳反應的初期反應

步驟一：二氧化碳的固定

6 莫耳的二氧化碳與 6 莫耳的二磷酸核酮糖結合成 12 莫耳的磷酸甘油酸(3-phosphoglyceric acid, PGA)，需消耗 6 莫耳的水分子，這些水分子的氧原子(下表中以 O 標記)形成半數磷酸甘油酸之羧基上的羥基，而二氧化碳的氧原子(下表中以 O^* 標記)形成另外半數磷酸甘油酸的羧基。

物質變化	二氧化碳 + 二磷酸核酮糖 + 水 → 磷酸甘油酸
反應式	$6\text{CO}^*_2 + 6\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5 - 2\text{Pi} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{O}^*_2 - \text{Pi} + 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{O}_1 - \text{Pi}$
分子結構變化	

步驟二：磷酸甘油醛的還原

磷酸甘油酸(PGA)還原成磷酸甘油醛(3-phosphoglyceraldehyde, PGAL)時，需消耗 ATP 使磷酸甘油酸的羧基還原成醛基，而磷酸甘油酸之羧基上的羥基脫去的氧原子形成磷酸根的羥基，故原本來自水分子的氧原子(O)形成了半數磷酸根的羥基，原本來自二氧化碳的氧原子(O^{*})形成了半數磷酸根的羥基(-O^{*}H)，與半數磷酸甘油醛的醛基(-CO^{*}H)。

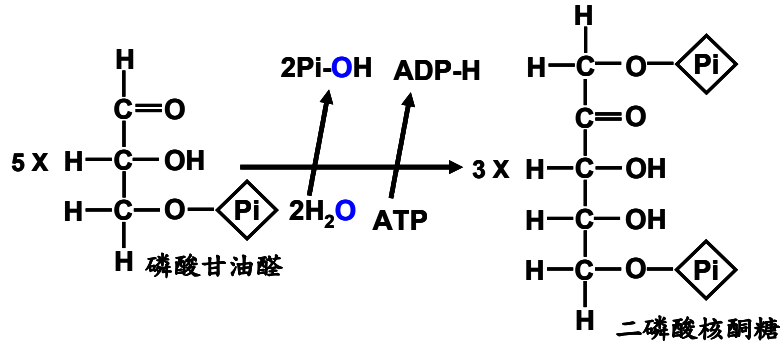
質變化	磷酸甘油酸 + ATP + NADPH → 磷酸甘油醛
反應式	$6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{O}^*_2\text{-Pi} + 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{O}_1\text{-Pi} + 12\text{ADP-Pi} + 12\text{NADPH}$ $\rightarrow 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{O}^*_1\text{-Pi} + 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{-Pi} + 12\text{ADP-H} + 6\text{Pi-O}^*\text{H} + 6\text{Pi-OH} + 12\text{NADP}^+$
分子結構變化	

步驟三：二磷酸核酮糖的再生

若只探討水的代謝與水分子中氧元素的路徑，在步驟三所產生的 12 莫耳磷酸甘油醛中，有 10 莫耳的磷酸甘油醛經消耗 4 莫耳水分子與 6 莫耳 ATP 後，生成二磷酸核酮糖(RuBP)，其中反應物水分子的氧原子(O)形成了磷酸根的羥基。若追蹤來自二氧化碳之氧元素的代謝路徑，碳反應前期參與二磷酸核酮糖再生的磷酸甘油醛，有一半的比例帶有來自二氧化碳之氧元素(O^{*})，而隨著卡爾文循環的重複累積，參與的磷酸甘油醛有越來越多比例帶有 O^{*}，下表中以參與的磷酸甘油醛皆帶有一個 O^{*}為例，結果再生而成的二磷酸核酮糖有三分之一帶有三個 O^{*}，有三分之二帶有一個 O^{*}，這些二磷酸核酮糖繼續參與卡爾文循環，可使後期的二磷酸核酮糖所帶的 O^{*} 越來越多，最後達飽和。

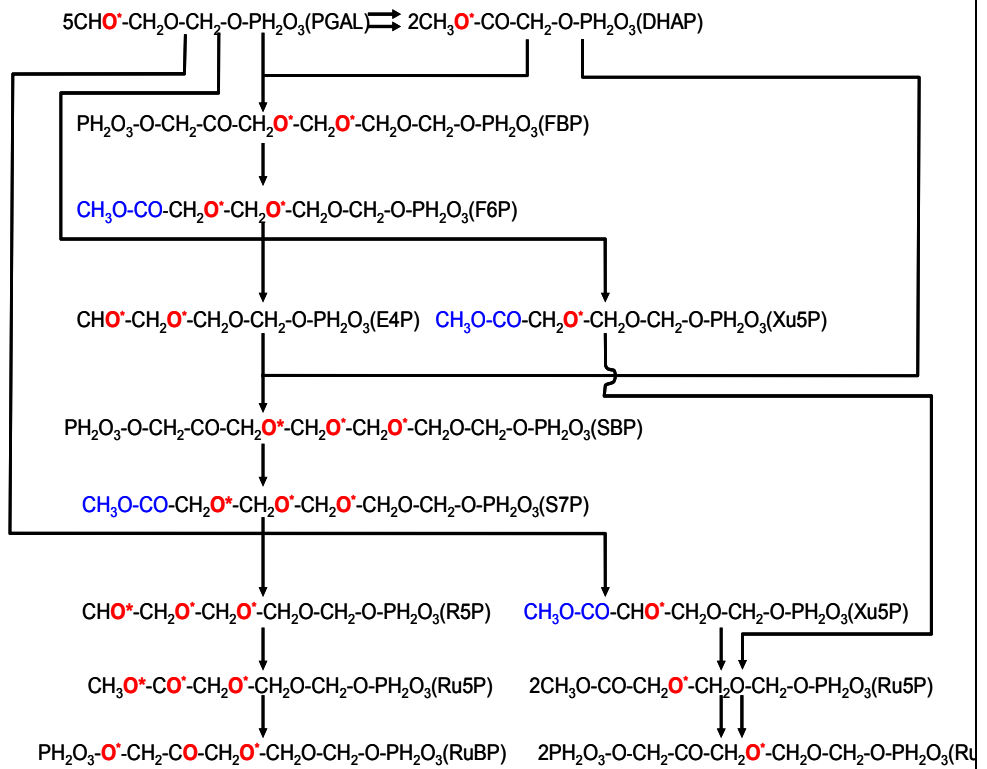
物質變化	磷酸甘油醛 + 水 + ATP → 二磷酸核酮糖
反應式	$10\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{O}^*_1\text{-Pi} + 4\text{H}_2\text{O} + 6\text{ADP-Pi}$ $\rightarrow 2\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2\text{O}^*_3\text{-2Pi} + 4\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4\text{O}^*_1\text{-2Pi} + 4\text{Pi-OH} + 6\text{ADP-H}$

1. 探討水的代謝與水分子中氧元素的路徑



2. 探討來自二氧化碳之氧元素的代謝路徑

分子結構
變化



註：上圖中各分子縮寫之全名與中文名如下：

PGAL(3-phosphglyceraldehyde, 3-磷酸甘油醛)、DHAP(dihydroxyacetone phosphate, 二羥丙酮磷酸)、FBP(fructose-1,6-bisphosphate, 果糖-1,6-雙磷酸)、F6P(fructose 6-phosphate, 果糖-6-磷酸)、E4P(erythrose-4-phosphate, 赤鮮糖-4-磷酸)、Xu5P(xylulose-5-phosphate, 木酮糖-5-磷酸)、SBP(sedoheptulose 1,7-bisphosphate, 景天庚酮糖-1,7-二磷酸)、S7P(sedoheptulose 7-phosphate, 景天庚酮糖-7-磷酸)、R5P(ribose-5-phosphate, 核糖-5-磷酸)、Ru5P(Ribulose-5-phosphate, 核酮糖-5-磷酸)、RuBP(ribulose-1,5-bisphosphate, 核酮糖-1,5-二磷酸)

步驟四：六碳糖的合成

上述步驟二所產生的 12 莫耳磷酸甘油醛中，有 2 莫耳經消耗水分子形成六碳糖，其中水分子的氧原子形成了磷酸根的羥基。

物質變化	磷酸甘油醛 + 水 → 葡萄糖
反應式	$2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{-Pi} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{Pi-OH}(\text{高比例})$ $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{-Pi} + \text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2\text{O}^*\text{-Pi} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5\text{O}^*\text{-Pi} + 2\text{Pi-OH}(\text{低比例})$
分子結構變化	

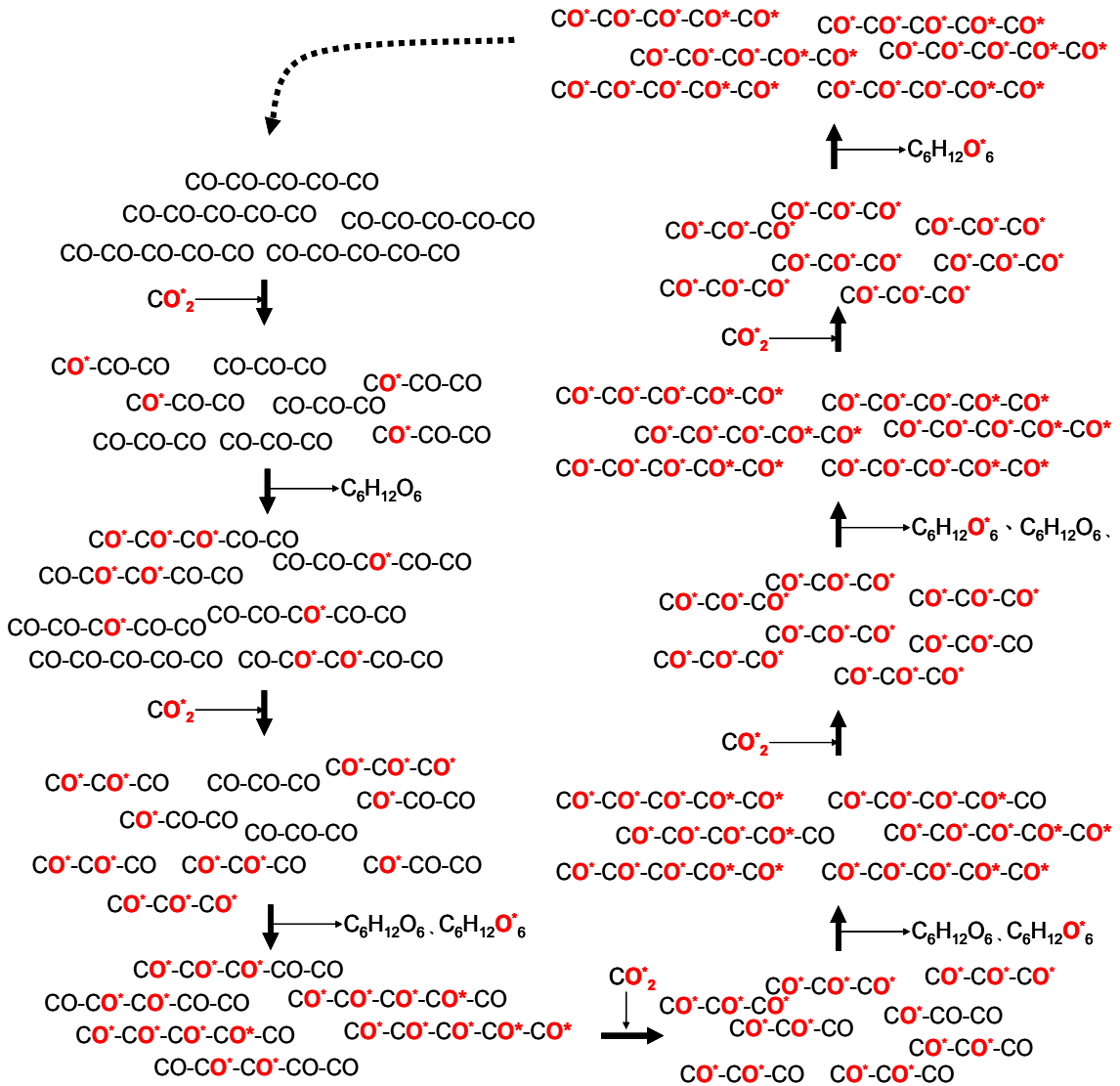
二、碳反應的後期反應

經許多次的卡爾文循環後，後期用於固定二氧化碳的二磷酸核酮糖皆來自前文步驟三—二磷酸核酮糖的再生(示意圖請見圖二)，這些二磷酸核酮糖的氧原子(O*)皆來自二氧化碳 CO₂。

步驟一：二氧化碳的固定

二磷酸核酮糖經二氧化碳固定反應，所產生的磷酸甘油酸中，有半數分子內羧基上的羥基來自水分子(氧原子以 O 標記)，而全數磷酸甘油酸的其他氧原子來自二氧化碳(以 O*標記)。

物質變化	二氧化碳 + 二磷酸核酮糖 + 水 → 磷酸甘油酸
反應式	$6\text{CO}_2^* + 6\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5^*\text{-2Pi} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_4^*\text{-Pi} + 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{O}^*\text{-Pi}$
分子結構變化	

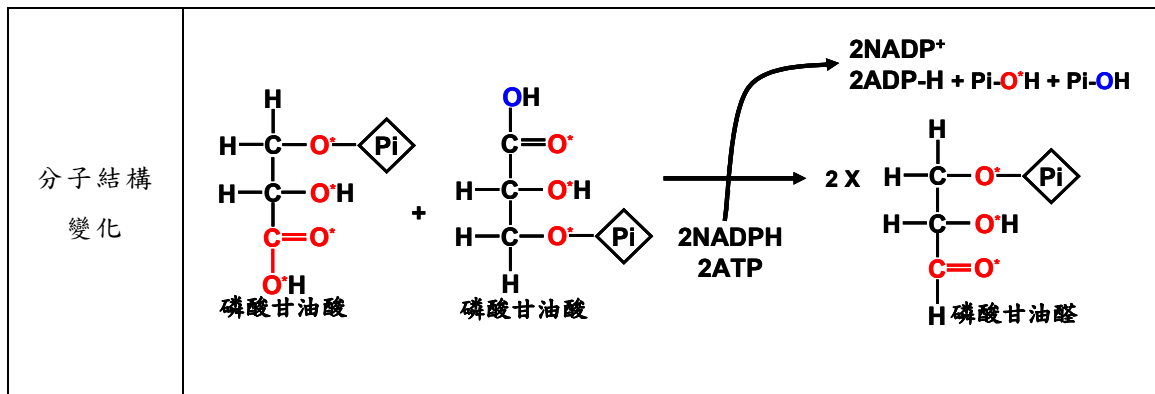


圖二、經多次二磷酸核酮糖再生步驟，使得卡爾文循環成員與產物所含的氧原子最後皆來自二氧化碳。圖中 CO-CO-CO 代表磷酸甘油醛(PGAL)，CO-CO-CO-CO-CO 代表二磷酸核酮糖(RuBP)。

步驟二：磷酸甘油醛的還原

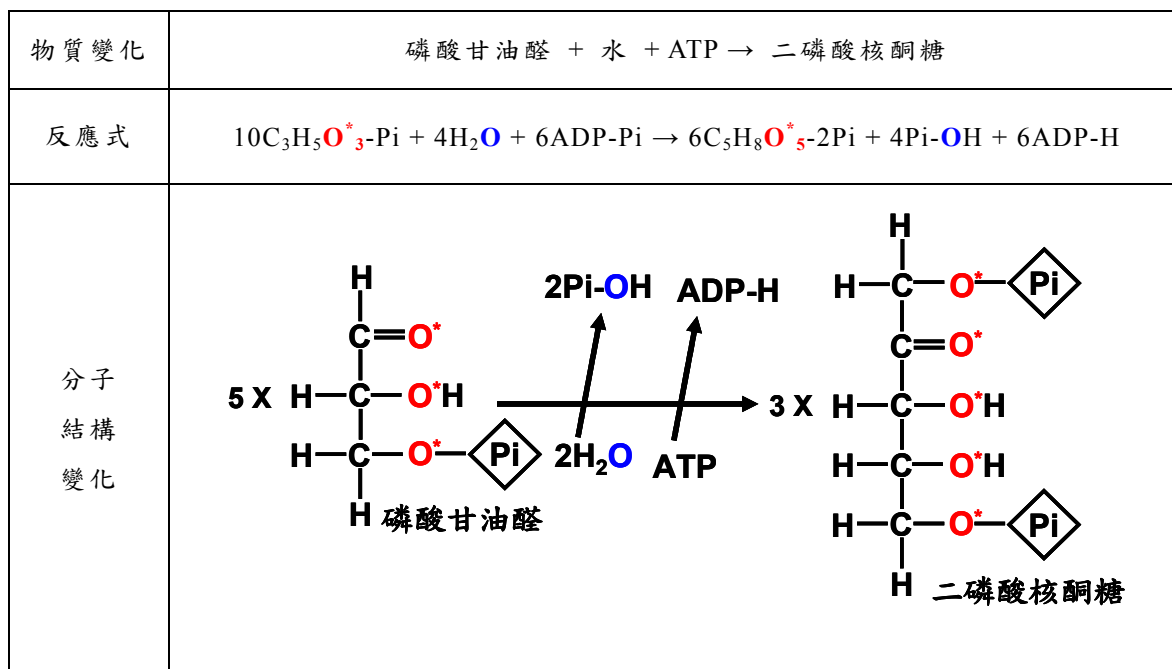
反應過程與初期類似，但後期參與的反應物－磷酸甘油酸，所帶的氧原子(O^{*})皆來自二氧化碳，故在後期所產生磷酸甘油醛，所含有的氧原子(O^{*})皆來自二氧化碳。

物質變化	磷酸甘油酸 + ATP + NADPH → 磷酸甘油醛
反應式	$6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^*_4\text{-Pi} + 6\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^*_3\text{O}_1\text{-Pi} + 12\text{ADP-Pi} + 12\text{NADPH}$ $\rightarrow 12\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^*_3\text{-Pi} + 12\text{ADP-H} + 6\text{Pi-O}^*\text{H} + 6\text{Pi-OH} + 12\text{NADP}^+$



步驟三：二磷酸核酮糖的再生

碳反應後期於步驟二所生成的磷酸甘油醛，其分子所含的氧原子(O^{*})皆來自二氧化碳，這些磷酸甘油醛參與了二磷酸核酮糖的再生，使得後期的二磷酸核酮糖皆含有自二氧化碳之氧元素(O^{*})。

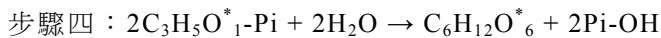
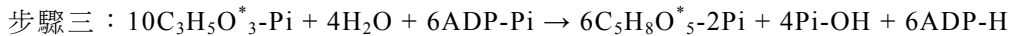
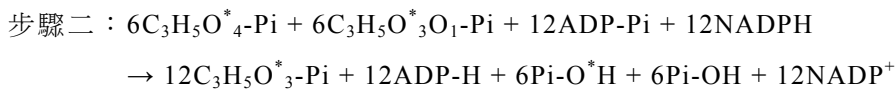
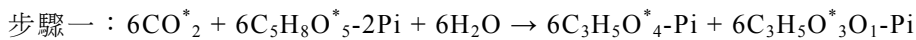


步驟四：六碳糖的合成

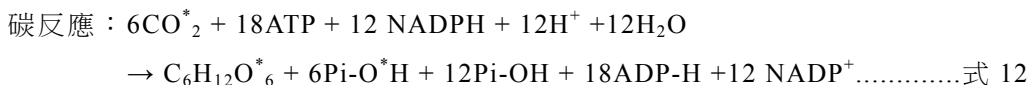
如上所述，後期碳反應中，磷酸甘油醛上所有氧原子(O^{*})皆來自二氧化碳，故其中 2 莫耳磷酸甘油醛經消耗水分子形成六碳糖，其中水分子的氧原子形成了磷酸根的羥基，而六碳糖中所有氧原子(O^{*})皆來自二氧化碳。

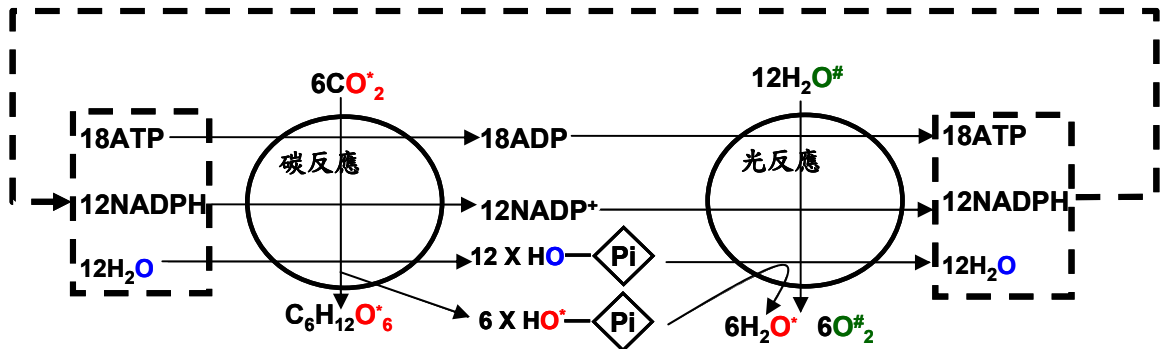
物質變化	磷酸甘油醛 + 水 → 葡萄糖
反應式	$2C_3H_5O^*_1-Pi + 2H_2O \rightarrow C_6H_{12}O^*_6 + 2Pi-OH$
分子結構變化	

將上述後期碳反應中 CO^*_2 與 H_2O 的代謝過程整理如下：



將上述後期反應的四個步驟整合成下列碳反應反應式(式 12)，碳反應產生的 18 莫耳的磷酸根中，有 6 莫耳的磷酸根內之羥基的氧原子來自 CO^*_2 ，若將碳反應產生的 18 莫耳的磷酸根($6Pi-O^*H + 12Pi-OH$)進入光反應產生 ATP(式 13)，可產生 18 莫耳水分子($6H_2O^* + 12H_2O$)，其中 6 莫耳水分子帶有同位素標定的氧原子(O^*)，而碳反應耗掉的 12 莫耳水分子($12H_2O$)，與光反應產生的 12 莫耳無放射性標定的水分子($12H_2O$)可抵消，可淨產生 6 莫耳具有同位素標定的水分子($6H_2O^*$)(圖三)，若再與光反應中水光解與形成還原態輔酶的反應(式 14)整合，即可得到教科書中常見的光合作用簡式(式 1)。





圖三、碳反應與光反應消耗與產生水分子及氧原子代謝路徑示意圖。光反應產生的 12 莫耳無放射性標定的水分子(H_2O)可與碳反應消耗的水分子抵消，淨得 6 莫耳具放射性標定的水分子(H_2O^* ， O^* 來自二氧化碳)。

綜上所論，光合作用反應式中所產生的 6 莫耳水，是來自光反應形成 ATP 的過程，但其原料是來自碳反應中所產生的磷酸根，且這些磷酸根中帶有來自二氧化碳的氧原子。這也就是為什麼若將二氧化碳的氧原子以同位素標定，最後可以偵測到含同位素氧原子的水分子。當然，碳反應所產生的磷酸根不一定立即用於光反應，但經過一段時間的反應，即可追蹤二氧化碳的氧原子形成水分子，且由反應過程中的前後化約，去除其他水分子(不具同位素)的生成與消耗，即可得知此 6 莫耳含同位素氧原子之水分子”謎樣的來源”。

備註：

註一：西方社會博物學家(Western Society of Naturalists)年會(in Pacific Grove, 1929)

註二：van Neil, C. B. 1931. On the morphology and physiology of the purple and green sulfur bacteria. Arch. Mikrobiol. 3: 1-112.

註三：Ruben, S., Randall, M., Kamen, M. and Hyde, J. L. 1941. Heavy oxygen (^{18}O) as a tracer in the study of photosynthesis. J. Am. Chem. Soc. 63: 877-879.

參考資料

Pfennig, N., van Niel remembered. *ASM News*. 53(2): 75-77, 1987

Barker, H. A. and Hungate, R. E., "Cornelis Bernardus van Niel, 1897-1985 : a biographical memoir". In National Academy of Sciences (ed.). *Biographical Memoirs* 59, p.388-p.423, Washington, D.C., National Academy Press, 1990.

Lodish, H. *et al.*, *Molecular Cell Biology*, 4th edition. New York, W. H. Freeman, 2000.

網頁資料：

The Calvin Cycle-The Light-Independent Reactions of Photosynthesis. Retrieved November 25, 2014, from <http://gardenandplate.com/calvin.html>.