บทที่ 6
การสังเคราะห์แสง

วัตถุประสงค์ เมื่อนักศึกษาเรียนจบบทนี้แล้ว ควรจะมีความสามารถในการ

1. จำแนกขั้นตอนการสังเคราะห์แสง
2. อธิบายโครงสร้างคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นออร์กาเนลล์สำหรับการสังเคราะห์แสง
3. อธิบายโมเลกุลรับแสงและยูนิตการสังเคราะห์แสง
4. เปรียบเทียบโฟโตซิสเต็ม I กับโฟโตซิสเต็ม II
5. บอกประเภทและสาเหตุการเกิดโฟโตฟอสฟอริเลชัน
6. เขียนปฏิกิริยาการตรึง CO_2 ไปเป็นเฮกโซสในวัฏจักรแคลวิน พร้อมบอกการควบคุมวัฏจักรแคลวิน
7. เขียนวิถี C_4 ที่ช่วยขนส่ง CO_2 ให้แก่วัฏจักรแคลวิน

บทนำ

การสังเคราะห์แสงเป็นกระบวนการที่เปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์ไปเป็นพลังงานเคมี สิ่งมีชีวิตชนิดใดที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ก็จะให้คาร์โบไฮเดรทและออกซิเจน สำหรับเป็นแหล่งพลังงานแก่สิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ สมการพื้นฐานของการสังเคราะห์แสงเป็นดังนี้

$$H_2O + CO_2 \xrightarrow{\text{แสง}} (CH_2O) + O_2$$

พืชสีเขียว สาหร่าย แบคทีเรียสีเขียว แบคทีเรียสีม่วง ยูกลีนา (euglena) ไดอะตอม (diatom) สิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะใช้รงควัตถุจำเพาะ เช่น คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) คาโรตินอยด์ (carotenoid) หรือไฟโคบิลิน (phycobilin) เป็นต้น เป็นตัวรับพลังงานแสงเพื่อไปตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นคาร์โบไฮเดรท ตัวให้อิเลคตรอนในสิ่งมีชีวิตก็แตกต่างกันออกไป เช่น พืชสีเขียวจะมีน้ำเป็นตัวให้อิเลคตรอน แบคทีเรียที่มีกำมะถันจะใช้ H_2S เป็นตัวให้อิเลคตรอน หรือแบคทีเรียสีม่วง จะใช้ไอโซโปรปานอลเป็นตัวให้อิเลคตรอน การสังเคราะห์แสงของพืชสีเขียวเกิดขึ้นภายในโครงสร้างที่เรียกว่าธิลาคอยด์ (thylakoids) ซึ่งอยู่ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) คลอโรพลาสต์เป็นออร์กาเนลล์ที่มีลักษณะคล้ายไมโตคอนเดรีย

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงแบ่งย่อยออกเป็นปฏิกิริยาที่ใช้แสง (light reaction) และปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสง (dark reaction) ปฏิกิริยาที่ใช้แสง อาศัยโฟโตซิสเต็ม I และโฟโตซิสเต็ม II (photosystem I, photosystem II) เมื่อน้ำกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนและเมื่อมีอิเลคตรอนเข้าสู่สายโซ่การส่งผ่านอิเลคตรอนที่เชื่อมโฟโตซิสเต็มทั้งสองจะเกิดโปรตอนเกรเดียนต์ที่เยื่อบุธิลาคอยด์ (thylakoid membrane) ทำให้มีการสังเคราะห์ ATP จาก ADP และ P_i เหมือนกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันที่เกิดในไมโตคอนเดรีย ปฏิกิริยาที่ใช้แสงนี้จะให้พลังงาน ATP, NADPH, และออกซิเจน

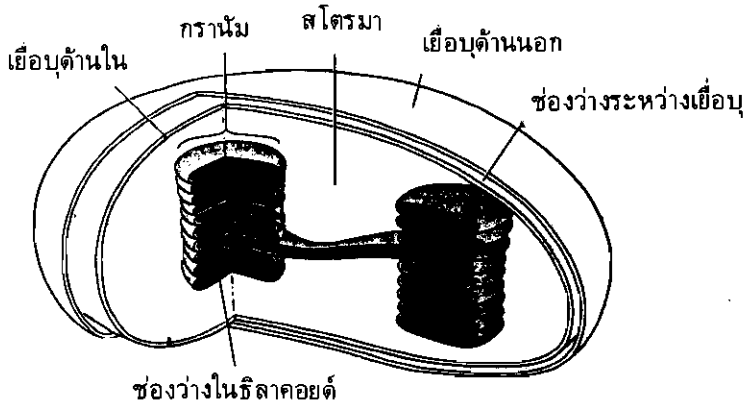
$$H_2O + NADP + P_i + ADP \xrightarrow{\text{แสง}} O_2 + ATP + NADPH$$

ATP และ NADPH ที่ได้จะถูกนำไปใช้ในการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นกลูโคสโดยปฏิกิริยาที่ไม่ใช้แสงในวัฏจักรแคลวิน (Calvin cycle)

$$CO_2 + NADPH + ATP \longrightarrow \text{glucose} + NADP + ADP + P_i$$

6.1 การสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นที่คลอโรพลาสต์

คลอโรพลาสต์เป็นออร์กาเนลล์สำหรับการสังเคราะห์แสง มีขนาด 5-ไมโครเมตร ประกอบด้วยเยื่อบุชั้นนอก เยื่อบุชั้นใน และช่องว่างระหว่างเยื่อบุทั้งสองเหมือนไมโตคอนเดรีย (รูปที่ 6-1) เยื่อบุชั้นในจะห่อหุ้มสโตรมา (stroma) และธิลาคอยด์เอาไว้ สโตรมาเป็นบริเวณที่ประกอบด้วยเอ็นไซม์ต่าง ๆ ส่วนธิลาคอยด์มีลักษณะเป็นถุงแบน ๆ ต่อซ้อนกันเป็นตั้งเรียกว่า กรานัม (granum หรือ grana ถ้าเป็นพหูพจน์) การสังเคราะห์แสงเกิดภายในช่องว่างของถุงธิลาคอยด์ (thylakoid spaces) แต่ละกรานาติดต่อถึงกันได้ ในคลอโรพลาสต์ที่กำลังเจริญเติบโตนั้นจะสังเกตเห็นได้ว่าเยื่อบุชั้นในของคลอโรพลาสต์ เป็นส่วนที่กลายมาเป็นโครงสร้างธิลาคอยด์ ดังนั้นธิลาคอยด์จึงเปรียบได้กับคริสตีของไมโตคอนเดรีย

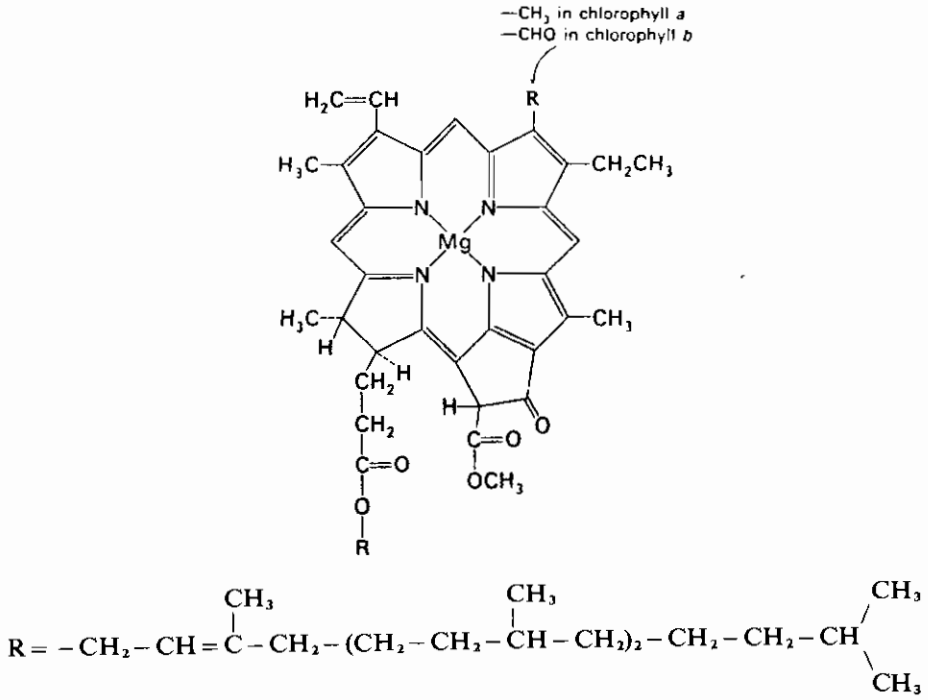


รูปที่ 6-1 แผนภาพคลอโรพลาสต์ซึ่งเป็นออร์กาเนลล์สำหรับการสังเคราะห์แสง

คลอโรพลาสต์เป็นออร์กาเนลล์ที่มี DNA ของตนเองสามารถสร้าง RNA และโปรตีนได้ เยื่อบุชั้นนอกของคลอโรพลาสต์เหมือนกับเยื่อบุชั้นนอกของไมโตคอนเดรียยอมให้โมเลกุลเล็ก ๆ และไอออนต่าง ๆ ผ่านเข้าไปได้ เยื่อบุธิลาคอยด์เหมือนกับเยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย โมเลกุลสารต่าง ๆ และไอออนผ่านเข้าไปไม่ได้ เยื่อบุธิลาคอยด์มีปริมาณลิปิดและปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน คลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นรงควัตถุรับพลังงานแสงของพืชสีเขียวก็อยู่ที่เยื่อบุธิลาคอยด์นี้เช่นกัน ในสโตรมามีเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่จะใช้ ATP และ NADPH ที่ได้จากธิลาคอยด์ไปรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์เป็นน้ำตาล

6.2 โมเลกุลรับแสงและยูนิตการสังเคราะห์แสง

โมเลกุลรับแสงของพืชสีเขียวคือรงควัตถุคลอโรฟิลล์อยู่ที่เยื่อบุธิลาคอยด์ภายในคลอโรพลาสต์เป็นคลอโรฟิลล์ที่มี magnesium porphyrin เป็นองค์ประกอบ (รูปที่ 6-2) วงแหวนไพรอล (pyrrole ring) ทั้งสี่อยู่ในระนาบเดียวกัน ไนโตรเจนอะตอมของวงแหวนไพรอลทั้งสี่โคออร์ดิเนตอยู่กับแมกนีเซียมอะตอม



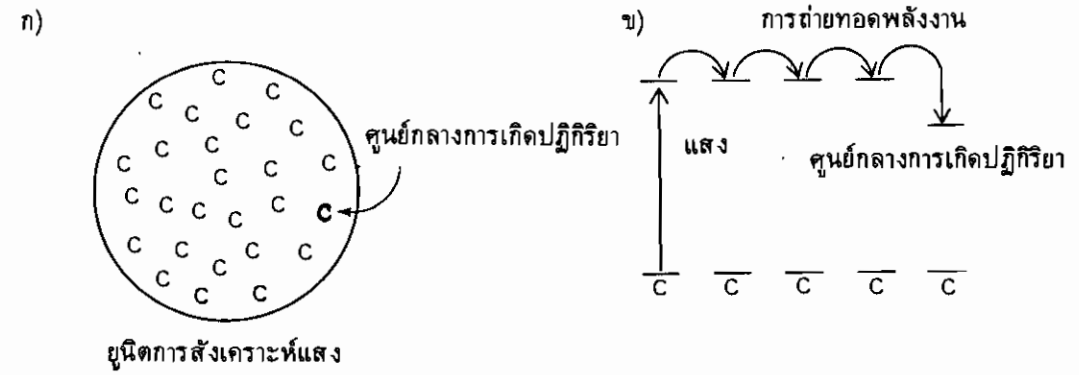
$$R = -CH_2-CH=\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}-CH_2-(CH_2-CH_2-\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}H-CH_2)_2-CH_2-CH_2-CH\begin{matrix}\diagup\ CH_3\\ \diagdown\ CH_3\end{matrix}$$

รูปที่ 6-2 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์a และb มีmagnesium porphyrin เป็นองค์ประกอบ

ถ้าเป็นโมเลกุลฮีมมี iron porphyrin เป็นองค์ประกอบและไนโตรเจนอะตอมทั้งสี่จะโคออร์ดิเนตอยู่กับอะตอมของเหล็ก magnesium porphyrin ในคลอโรฟิลล์ยังมีข้อแตกต่างไปจาก iron porphyrin ในฮีมอีกหลายประการคือ (1) วงแหวนไพรอลหนึ่งวงจะถูกรีดิวซ์ (2) วงแหวนไพรอลหนึ่งวงจะติดกับวงแหวนไซคลอเปนตาโนน (3) สายโซ่ข้างในคลอโรฟิลล์จะเป็นเอสเทอร์ ส่วนในฮีมเป็นกรดอิสระ สายโซ่ข้างในคลอโรฟิลล์ที่เป็นเอสเทอร์จะเป็นเมธิลเอสเทอร์ และเอสเทอร์ของไฟตอล (phytol, $C_{20}H_{39}OH$) หมู่ไฟตอลประกอบด้วยไอโซปรีนสี่หน่วยซึ่งทำให้เป็นโครงสร้างที่ค่อนข้างจะไฮโดรโฟบิค คลอโรฟิลล์ a และ b ต่างกันที่หมู่ R (ดูรูป 6-2) ในคลอโรฟิลล์ a หมู่ R′ คือหมู่เมธิล คลอโรฟิลล์ b หมู่ R′ คือหมู่ฟอร์มิล

คลอโรฟิลล์เป็นโมเลกุลรับแสงที่มีประสิทธิภาพมาก เพราะโครงสร้างเป็นโพลีอีน (polyenes) มีพันธะเดี่ยวและพันธะคู่สลับกันไป มีการดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงวิสิเบิล ให้ค่า molar extinction coefficients ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารอินทรีย์อื่น ๆ

Hans Gaffron ได้เสนอแนวคิดเกี่ยวกับยูนิตการสังเคราะห์แสง (photosynthetic unit) เขากล่าวว่าภายในยูนิตการสังเคราะห์แสง (รูปที่ 6-3) มีโมเลกุลคลอโรฟิลล์อยู่เป็นจำนวนมาก ทำหน้าที่เป็นตัวรับแสงหรือดูดกลืนแสง แล้วจึงถ่ายทอดพลังงานการกระตุ้นที่ได้รับไปยังตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาทางเคมี ตำแหน่งนั้นเรียกว่าศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา (reaction center) โมเลกุลคลอโรฟิลล์ส่วนใหญ่ภายในยูนิตการสังเคราะห์แสงจะทำหน้าที่ดูดกลืนแสง โมเลกุลคลอโรฟิลล์ส่วนน้อยที่อยู่ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาเท่านั้นจึงจะสามารถเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมีได้



รูปที่ 6-3 ก) แผนภาพยูนิตการสังเคราะห์แสง
ข) ระดับพลังงานที่สภาวะเร้า (excited state) ของโมเลกุลแอนเทนนาคลอโรฟิลล์ (antenna chlorophyll) และของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาภายในยูนิตการสังเคราะห์แสง

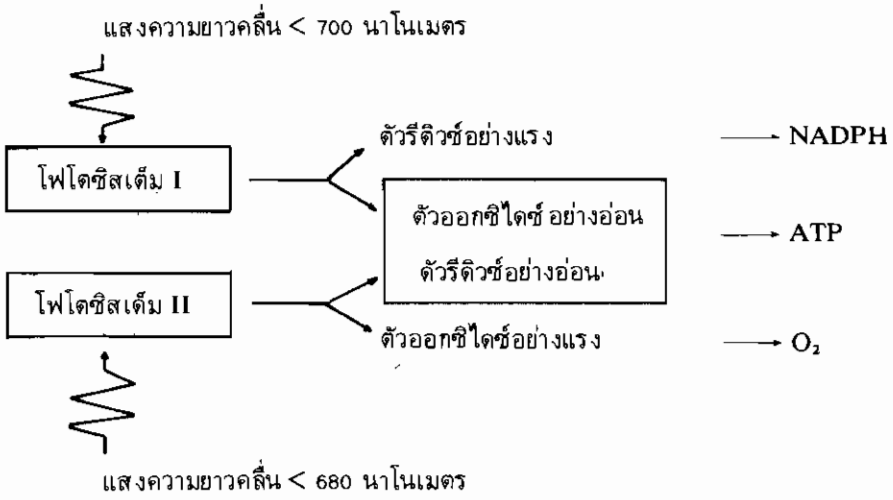
โมเลกุลคลอโรฟิลล์ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาและโมเลกุลแอนเทนนาคลอโรฟิลล์อื่น ๆ มีโครงสร้างทางเคมีเหมือนกัน แต่อยู่ในสภาวะแวดล้อมต่างกันทำให้คุณสมบัติบางอย่างแตกต่างกัน กล่าวคือพลังงานที่สภาวะเร้าของคลอโรฟิลล์ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาจะต่ำกว่าพลังงานที่สภาวะเร้าของแอนเทนนาคลอโรฟิลล์อื่น ๆ (รูปที่ 6-3) ทำให้สามารถเก็บพลังงานการกระตุ้นที่ถ่ายทอดมาได้เป็นอย่างดี การถ่ายทอดพลังงานนั้นจะไปตามโมเลกุลคลอโรฟิลล์อื่น ๆ ภายในยูนิตการสังเคราะห์แสงก่อน จนกระทั่งไปถึงคลอโรฟิลล์ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา เป็นไปด้วยความรวดเร็วกินเวลาน้อยกว่า 10^{-10} วินาที

6.3 โฟโตซิสเต็มI และโฟโตซิสเต็มII

โฟโตซิสเต็ม I ประกอบด้วยแอนเทนนาคลอโรฟิลล์ P_{700} ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา (P ในที่นี้คือ pigment หรือรงควัตถุ) คาโรตินอยด์ ไซโตโครม พลาสโตไซยานิน เฟอริตอกซิน Ferredoxin-NADP reductase โฟโตซิสเต็ม I ถูกกระตุ้นได้โดยแสงที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 700 นาโนเมตรแล้วให้ตัวรีดิวซ์ที่แรงพอที่จะทำให้เกิด NADPH ขึ้นมา

โฟโตซิสเต็ม II ประกอบด้วยแอนเทนนาคลอโรฟิลล์ P_{680} ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา คาโรตินอยด์ ตัวให้อิเลคตรอน (Z) ตัวรับอิเลคตรอน (Q) พลาสโตควิโนน ไซโตโครม และแมงกานีสอะตอม โฟโตซิสเต็ม II ถูกกระตุ้นได้โดยแสงที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 680 นาโนเมตร แล้วให้ตัวออกซิไดซ์ที่แรงพอที่จะทำให้เกิด O_2 ขึ้น

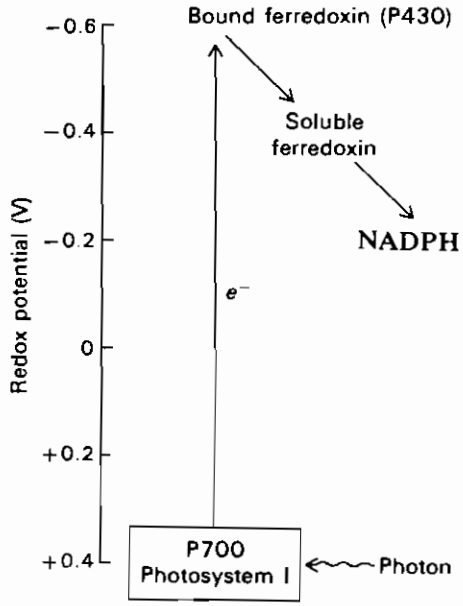
นอกจากนั้นตัวออกซิไดซ์อย่างอ่อนที่ได้จากโฟโตซิสเต็ม I และตัวรีดิวซ์อย่างอ่อนที่ได้จากโฟโตซิสเต็ม II ยังทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ขึ้นเรียกว่า photosynthetic phosphorylation หรือ photophosphorylation (รูปที่ 6-4) ค้นพบโดย Daniel Arnon



รูปที่ 6-4 โฟโตซิสเต็ม I และโฟโตซิสเต็ม II ในกระบวนการสังเคราะห์แสง

เมื่อคลอโรฟิลล์ a ในโฟโตซิสเต็ม I ดูดกลืนแสงไว้แล้ว จะถ่ายทอดพลังงานกระตุ้น (excitation energy) ให้แก่ P_{700} ซึ่งเป็นศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา พลังงานแสงอาทิตย์ในรูปโฟตอน (photon) จะไปกระตุ้นโมเลกุล P_{700} ให้ส่งอิเลคตรอนแก่ P_{430} หรือเฟอริตอกซินที่ยึดติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-bound ferredoxin) ในที่มืด P_{700} มีค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์ +0.4 โวลต์ (รูปที่ 6-5) เมื่อถูกกระตุ้นจะมีการจัดตัวของอิเลคตรอนรอบนิวเคลียสเปลี่ยนไป ให้ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์

เป็น −0.6 โวลต์ P_{700} ที่ขาดอิเลคตรอนจะต้องได้รับอิเลคตรอนกลับเข้าไปใหม่ก่อนที่จะทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาครั้งต่อไปได้อีก



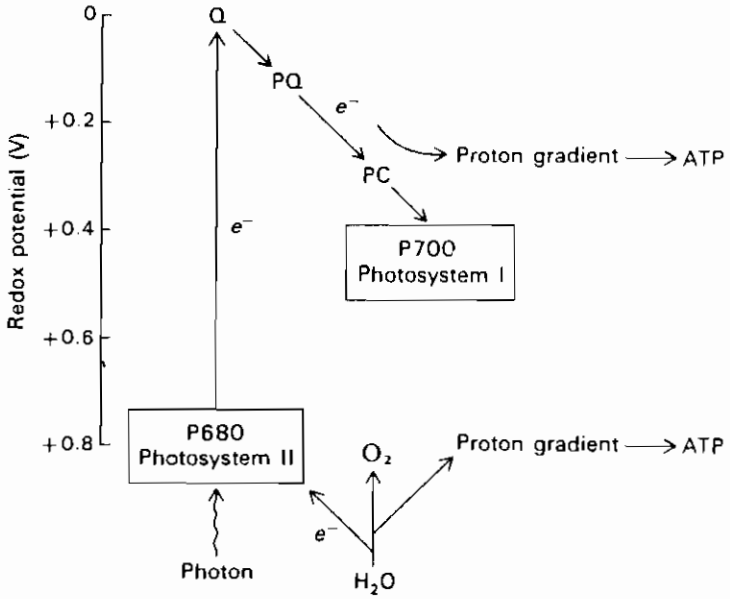
รูปที่ 6-5 การให้ NADPH ของโฟโตซิสเต็ม I

P_{430} ส่งอิเลคตรอนให้แก่โซลูเบิลเฟอริดอกซิน (soluble ferredoxin) อะตอมของเหล็กในโมเลกุลโซลูเบิลเฟอริดอกซินก็จะถูกรีดิวซ์ เมื่อเหล็กส่งอิเลคตรอนต่อไปยัง $NADP^+$ ก็จะให้ NADPH และอะตอมของเหล็กที่ถูกออกซิไดซ์ เร่งปฏิกิริยาโดย ferredoxin-NADP reductase การรีดิวซ์ $NADP^+$ ต้องการ 2 อิเลคตรอนในขณะที่เฟอริดอกซินพาไปได้แค่ 1 อิเลคตรอน ดังนั้นจึงต้องใช้ 2 โมเลกุลของเฟอริดอกซินในการเกิด NADPH 1 โมเลกุล

$$2\ \text{Ferredoxin}_{reduced} + H^+ + NADP^+ \xrightarrow[\text{reductase}]{\text{ferredoxin} - \text{NADP}} 2\ \text{ferredoxin}_{oxidized} + \text{NADPH}$$

สำหรับโฟโตซิสเต็ม II นั้น ยังไม่มีรายละเอียดมากนักเกี่ยวกับ P_{680} ซึ่งเป็นศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาและตัวรับอิเลคตรอน(Q) ศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์ของ P_{680} ประมาณ +0.8 โวลท์ (รูปที่ 6-6) พลังงานแสงกระตุ้นให้เกิดตัวออกซิไดซ์อย่างแรง, Z^+ และตัวรีดิวซ์อย่างอ่อน, Q^- ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา Z^+ จะออกซิไดซ์โมเลกุลน้ำให้กลายเป็น O_2 หรือดึงอิเลคตรอนไปจากโมเลกุลน้ำ

$$4\,Z^{+} + 2\,H_2O \longrightarrow 4\,Z + 4\,H^{+} + O_2$$



รูปที่ 6-6 การกระตุ้นโฟโตซิสเต็ม II ยังผลให้โมเลกุลน้ำกลายเป็นออกซิเจน และการส่งผ่านอิเลคตรอนจากโฟโตซิสเต็ม II ไปยังโฟโตซิสเต็ม I ทำให้เกิดโปรตอนเกรเดียนต์ที่เยื่อบุธิลาคอยด์ (PQ คือ พลาสโตควิโนน PC คือพลาสโตไซยานิน)

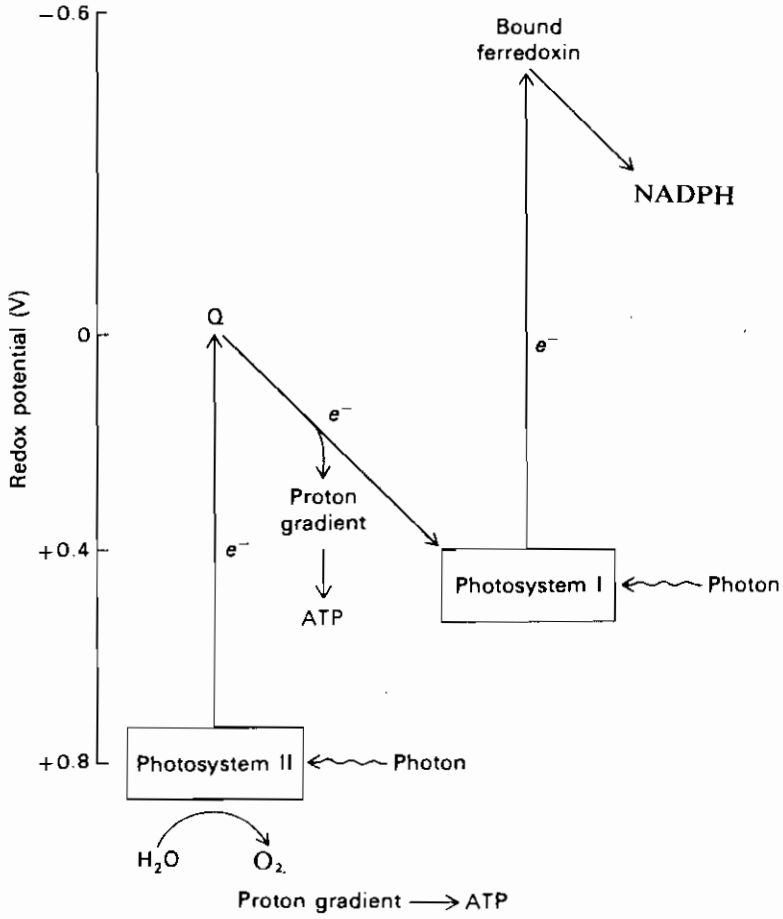
P_{680} จะส่งผ่านอิเลคตรอนไปยัง Q ซึ่งเกาะติดอยู่กับโมเลกุลพลาสโตควิโนนอย่างแน่นหนา โมเลกุลพลาสโตควิโนนโครงสร้างคล้ายยูบิควิโนนหรือโคเอ็นไซม์ Q ในสายโซ่การส่งผ่านอิเลคตรอนของไมโตคอนเดรีย อิเลคตรอนจากพลาสโตควิโนนซึ่งอยู่กับที่จะถูกส่งต่อไปยังพลาสโตควิโนนที่เคลื่อนที่ได้ (mobile plastoquinone) แล้วไปยังไซโตโครม b_{559} ไซโตโครม c_{552} และพลาสโตไซยานินตามลำดับ จากพลาสโตไซยานินซึ่งเป็นตัวพาอิเลคตรอนตัวสุดท้ายในโฟโตซิสเต็ม II อิเลคตรอนจะถูกส่งไปยังโฟโตซิสเต็ม I เพื่อรีดิวซ์ P_{700} ให้ทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาใต้ใหม่อีกครั้งหนึ่ง ปฏิกิริยาสุทธิที่เกิดขึ้นเนื่องจากพลังงานแสงไปกระตุ้นโฟโตซิสเต็ม I และโฟโตซิสเต็ม II เป็นดังนี้

$$2\,H_2O + 2\,NADP^{+} \longrightarrow O_2 + 2\,NADPH + 2\,H^{+}$$

หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือแสงกระตุ้นให้มีการส่งผ่านอิเลคตรอนจากโมเลกุลน้ำไปอยู่ที่โมเลกุล NADPH

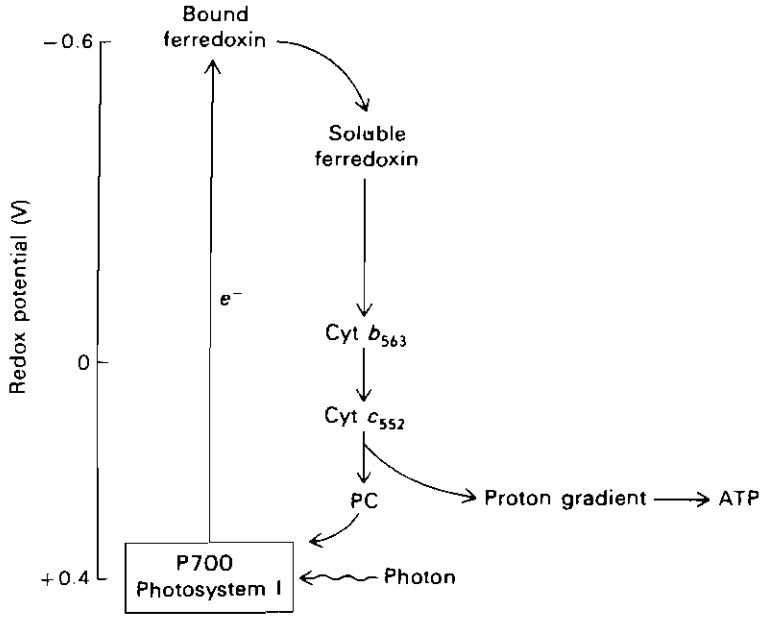
6.4 โฟโตฟอสฟอริเลชัน

ในขณะที่มีการส่งผ่านอิเลคตรอนจากโฟโตซิสเต็ม II ไปยังโฟโตซิสเต็ม I ทำให้เกิดโปรตอนเกรเดียนต์ระหว่างสองข้างของเยื่อบุธิลาคอยด์ โปรตอนที่เกิดขึ้นขณะสลายโมเลกุลน้ำเป็นออกซิเจนก็มีส่วนทำให้เกิดโปรตอนเกรเดียนต์เช่นกัน ทำให้ช่องว่างภายในถุงธิลาคอยด์ค่อนข้างจะเป็นกรด โปรตอนเกรเดียนต์นี้ทำให้เกิดโฟโตฟอสฟอริเลชัน หรือการสร้าง ATP ขึ้น เหมือนกับกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (หัวข้อ 5.4) การส่งผ่านอิเลคตรอนจากโมเลกุลน้ำไปยังโมเลกุล NADPHทำให้เกิดโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบไม่เป็นวงปิด (รูปที่ 6-7)



รูปที่ 6-7 การส่งผ่านอิเลคตรอนจากโมเลกุลน้ำไปยังโมเลกุล NADPH ทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP หรือโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบไม่เป็นวงปิด (noncyclic photophosphorylation)

ถ้าหากการส่งผ่านอิเลคตรอนภายในโฟโตซิสเต็ม I ไม่ไปยังโมเลกุล NADPH เมื่อไปถึงโซลูเบิลเฟอริดอกซินแล้วอิเลคตรอนถูกส่งต่อไปยังไซโตโครม b_{563}, ไซโตโครม c_{552} พลาสโตไซยานินแล้ววนกลับมายัง P_{700} ใหม่จะเป็นการส่งผ่านอิเลคตรอนที่เป็นวงปิด มีการสร้าง ATP หรือโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบวงปิด (รูปที่ 6-8) ไม่เกี่ยวข้องกับโฟโตซิสเต็ม II จึงไม่มีการสลายโมเลกุลน้ำไปเป็นออกซิเจนและไม่มีการสร้าง NADPH เกิดขึ้น โฟโตฟอสฟอริเลชันแบบวงปิดจะเกิดขึ้นเวลาที่ปริมาณ $NADP^+$ ไม่เพียงพอที่จะรับอิเลคตรอนจากรีดิวซ์เฟอริดอกซินหรือเมื่ออัตราส่วนระหว่าง NADPH/$NADP^+$ สูงนั่นเอง



รูปที่ 6-8 การส่งผ่านอิเลคตรอนจาก P_{700} ของโฟโตซิสเต็ม I ที่วนกลับมาที่ P_{700} ใหม่ ทำให้เกิดการสร้าง ATP หรือโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบวงปิด (cyclic photophosphorylation)

เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ ATP ในคลอโรพลาสต์คือ cF_1-cF_0 คอมเพล็กซ์ (c หมายถึงคลอโรพลาสต์ F หมายถึงแฟคเตอร์) cF_1 ในคลอโรพลาสต์เปรียบได้กับ coupling factor 1 ในไมโตคอนเดรีย เร่งปฏิกิริยาการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i มีลักษณะเป็นดุ่มกลมอยู่บนเยื่อบุธิลาคอยด์ ส่วน cF_0 เปรียบเสมือน F_0 channel ในไมโตคอนเดรีย ทำหน้าที่เป็น proton channel ATP ที่ได้และ NADPH จากโฟโตซิสเต็มต่างก็เป็นผลิตผลของ

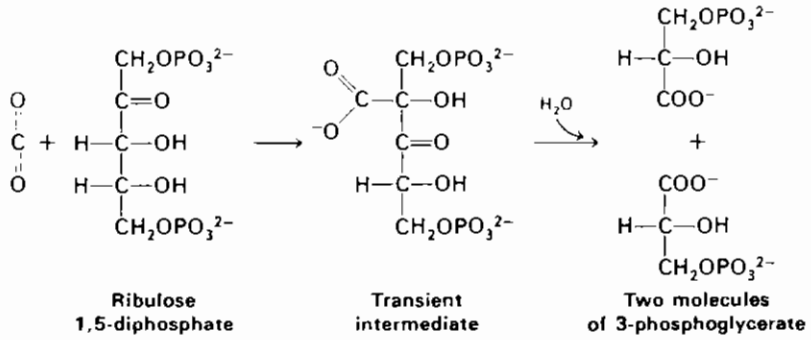
การสังเคราะห์แสงในขั้นตอนการใช้แสง จะเข้าสู่สโตรมาเพื่อเปลี่ยน CO_2 เป็นคาร์โบไฮเดรท ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงที่ไม่ใช้แสงต่อไป

6.5 วัฏจักรแคลวิน

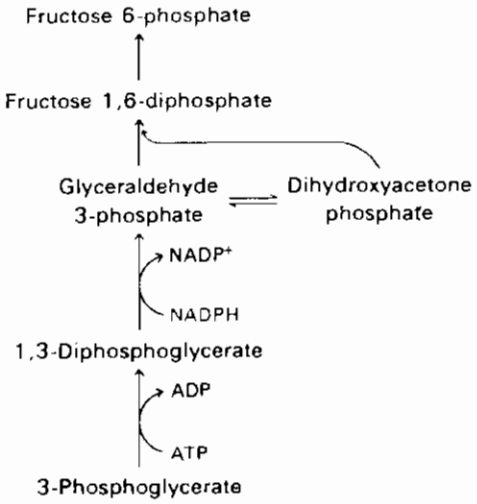
ปี 1945 Melvin Calvin และคณะ ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงขั้นตอนที่ไม่ใช้แสงในสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว Chlorella เพื่อหาวิถีการตรึง CO_2 ไปเป็นคาร์โบไฮเดรท ใช้คาร์บอนกัมมันตรังสี C^{14} ในการติดตามความเป็นไปของ CO_2 ให้สาหร่ายทำการสังเคราะห์แสงโดยใช้ CO_2 ธรรมดาไปชั่วระยะหนึ่งก่อนแล้วค่อยฉีด $^{14}CO_2$ ลงในสารแขวนลอยของสาหร่ายนั้น เมื่อได้เวลาที่เหมาะสม ใช้อัลกอฮอล์หยุดยั้งการทำงานของเอ็นไซม์และเป็นการฆ่าสาหร่ายไปด้วยในตัว แยกสารกัมมันตภาพรังสีที่สาหร่ายสังเคราะห์ได้แล้วนำไปวิเคราะห์โดยใช้เปเปอร์-โครมาโตกราฟีแบบสองทิศทาง นำโครมาโตแกรมที่ได้ไปกดลงบนฟิล์มถ่ายรูป บริเวณใดที่มีสารกัมมันตภาพรังสีอยู่จะเห็นเป็นจุดสีดำ ปรากฏว่าบนเรดิโอโครมาโตแกรม (radiochromatogram) ที่ได้เมื่อทำการฉีด $^{14}CO_2$ ไปได้ 5 วินาที จะเห็นเป็นจุดสีดำอันใหญ่เพียงจุดเดียว เมื่อทำการตรวจสอบพบว่าสารนี้คือ 3-ฟอสโฟกลีเซอเรท เรดิโอโครมาโตแกรมที่ได้เมื่อทำการฉีด $^{14}CO_2$ ไปได้ 60 วินาที ค่อนข้างจะซับซ้อนเห็นเป็นจุดสีดำหลายจุด

3-ฟอสโฟกลีเซอเรทเป็นโมเลกุลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม ในตอนแรกคาดไว้ว่าสารที่มีคาร์บอน 2 อะตอมเป็นตัวที่จะมาทำปฏิกิริยากับ CO_2 เพื่อกลายเป็นสารที่มีคาร์บอน 3 อะตอม ความจริงมิได้เป็นเช่นนั้น กลับกลายเป็นโมเลกุลของสารที่มีคาร์บอน 5 อะตอมคือไรบูโลส-1, 5-ไดฟอสเฟตที่มารับ CO_2 แล้วกลายเป็นอินเตอร์มิเดียทที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ซึ่งจะถูกสลายกลายเป็นสารที่มีคาร์บอน 3 อะตอมจำนวนสองโมเลกุลโดยรวดเร็ว สารที่มีคาร์บอน 3 อะตอมนั้นก็คือ 3-ฟอสโฟกลีเซอเรทนั่นเอง ปฏิกิริยานี้คายพลังงานออกมาค่อนข้างสูง เร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase

$$C_5 \xrightarrow{CO_2} C_6 \xrightarrow{H_2O} C_3 + C_3$$



ขั้นตอนการเปลี่ยน 3-ฟอสโฟกลีเซอเรทไปเป็นฟรุคโตส-6-ฟอสเฟต (รูปที่ 6-9) คล้ายกับกระบวนการกลูโคนิโอเจเนซีส (หัวข้อ 8.1) ต่างกันเล็กน้อยตรงที่เอ็นไซม์ glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ในคลอโรพลาสต์จำเพาะต่อโคเอ็นไซม์ NADPH มากกว่า NADH



รูปที่ 6-9 การเปลี่ยน 3-ฟอสโฟกลีเซอเรทไปเป็นฟรุคโตส-6-ฟอสเฟตในคลอโรพลาสต์

เท่าที่กล่าวมาแล้วเป็นการตรึง CO_2 ไปเป็นเฮกโซส มีไรบูโลส-1, 5-ไดฟอสเฟตเป็นตัวรับ CO_2 การที่จะมีไรบูโลส-1, 5-ไดฟอสเฟตอยู่อย่างสม่ำเสมอต้องอาศัยเอ็นไซม์หลายชนิดด้วยกันในการเปลี่ยน C_3, C_4, C_6 และ C_7 ไปเป็น C_5 ที่ต้องการ เอ็นไซม์ transketolase (ดูหัวข้อ 7.1) ใช้ TPP ในการโยกย้ายคาร์บอน 2 อะตอมจากคีโตสไปยังอัลโดส เอ็นไซม์ aldolase เร่ง

ปฏิกิริยาอัลดอลคอนเดนเซชัน (aldol condensation) ระหว่าง DHAP (dihydroxyacetone phosphate) กับอัลดีไฮด์

$$C_6 + C_3 \xrightarrow{\text{transketolase}} C_4 + C_5$$

$$C_4 + C_3 \xrightarrow{\text{aldolase}} C_7$$

$$C_7 + C_3 \xrightarrow{\text{transketolase}} C_5 + C_5$$

Fructose-6-phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate $\xrightarrow{\text{transketolase}}$ xylulose 5-phosphate + erythrose 4-phosphate

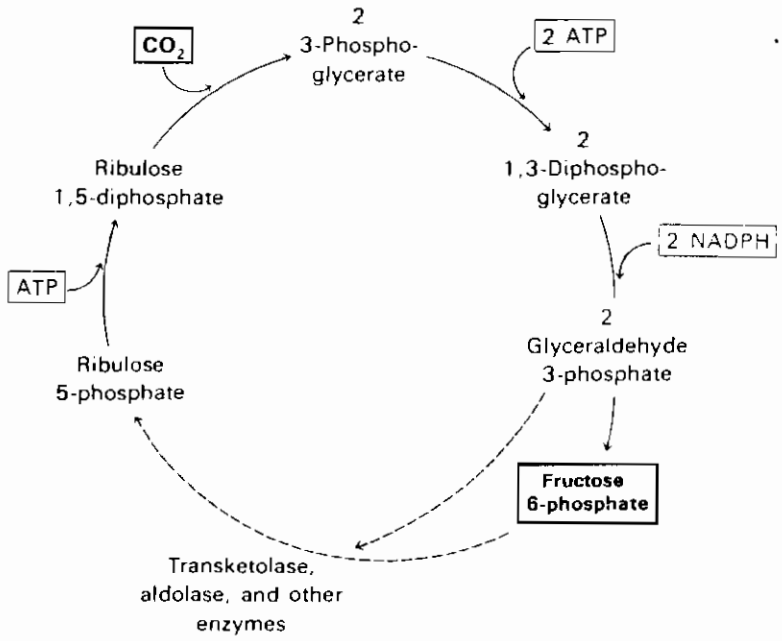
Erythrose 4-phosphate + dihydroxyacetone phosphate $\xrightarrow{\text{aldolase}}$ sedoheptulose 1, *1*-diphosphate

Sedoheptulose 7-phosphate + glyceraldehyde 3-phosphate $\xrightarrow{\text{transketolase}}$ ribose 5-phosphate + xylulose 5-phosphate

นอกจากนี้การสังเคราะห์แสงขั้นตอนที่ไม่ใช้แสงยังต้องอาศัยเอ็นไซม์อีก 4 ชนิด คือ เอ็นไซม์ phosphatase ที่จะไฮโดรไลซ์เซโดเฮปทูโลส -1, 7-ไดฟอสเฟตเป็นเซโดเฮปทูโลส-7-ฟอสเฟต เอ็นไซม์ phosphopentose epimerase เปลี่ยนไซลูโลส-5-ฟอสเฟตเป็นไรบูโลส-5-ฟอสเฟต เอ็นไซม์ phosphopentose isomerase เปลี่ยนไรโบส-5-ฟอสเฟตเป็นไรบูโลส-5-ฟอสเฟต และเอ็นไซม์ phosphoribulose kinase ที่จะเปลี่ยนไรบูโลส-5-ฟอสเฟตเป็นไรบูโลส -1, 5-ไดฟอสเฟต เพื่อเป็นตัวรับ CO_2 ในวัฏจักรแคลวิน

ปฏิกิริยาต่าง ๆ เริ่มตั้งแต่การตรึง CO_2 เข้ากับไรบูโลส -1,5-ไดฟอสเฟตจนกระทั่งได้ไรบูโลส -1, 5-ไดฟอสเฟตกลับมาอีกครั้ง เป็นปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงขั้นตอนไม่ใช้แสงที่เรียกว่าวัฏจักรแคลวิน (รูปที่ 6-10) การสังเคราะห์เฮกโซสซึ่งมีคาร์บอน 6 อะตอมจาก CO_2 นั้น ต้องเวียนวัฏจักรไป 6 รอบ ต้องใช้ 18 ATP และ 12 NADPH ดังสมการสุทธิข้างล่างนี้

$$6\ CO_2 + 18\ ATP + 12\ NADPH + 12\ H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 18\ ADP + 18\ P_i + 12\ NADP^+ + 6\ H^+$$



รูปที่ 6-10 วัฏจักรแคลวิน (Calvin cycle)

ในการตรึงโมเลกุล CO_2 เข้าไปอยู่ในระดับโมเลกุลเฮกโซสต้องใช้ 2 NADPH การรีดิวซ์ $NADP^+$ เป็น NADPH นั้นมีการเคลื่อนย้าย 2 อิเลคตรอน ดังนั้นจึงเป็นการเคลื่อนย้ายทั้งหมด 4 อิเลคตรอน โฟโตซิสเต็ม I จึงต้องการ 4 โฟตอนในการทำให้เกิด 2 NADPH, โฟโตซิสเต็ม II ก็ต้องเติมอิเลคตรอนให้โฟโตซิสเต็ม I 4 อิเลคตรอนเช่นกัน จึงรวมเป็นพลังงานแสงที่ต้องการทั้งหมด 8 โฟตอนที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร 1 โฟตอนมีค่าของพลังงานเท่ากับ 47.6 กิโลแคลอรี 8 โฟตอนจึงคิดเทียบเท่าพลังงาน 381 กิโลแคลอรี

ปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันของไรบูโลส -1, 5-ไดฟอสเฟตไปเป็น 3-ฟอสโฟกลีเซอเรท โดยเอ็นไซม์ ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase นั้นเป็นปฏิกิริยาที่เป็น rate-limiting step ของวัฏจักรแคลวิน เอ็นไซม์ดังกล่าวถูกควบคุมโดย

1. NADPH จากโฟโตซิสเต็ม I เป็นโพซิทีฟโมดูเลเตอร์

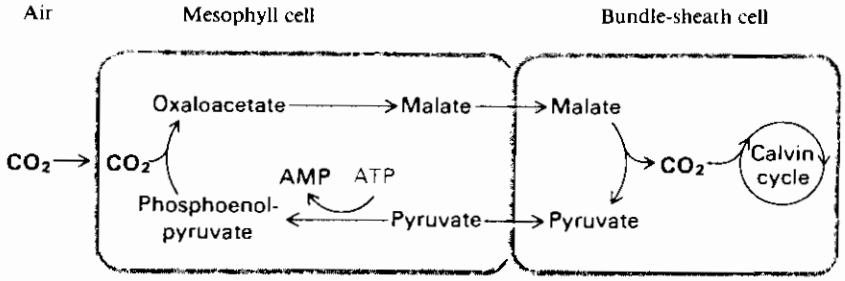
2. ความเป็นด่างในสโตรมา แสงจะกระตุ้นให้ช่องว่างในถุงธิลาคอยด์มีความเป็นกรดมากขึ้น มีผลให้ในสโตรมามีความเป็นด่างตามมา ถ้า pH ในสโตรมาเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 7-9 อัตราเร็วของปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase จะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

3. เอ็นไซม์ carboxylase นี้ถูกกระตุ้นโดย Mg^{+2}

อย่างไรก็ตามวัฏจักรแคลวินจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมี ATP และ NADPH จากปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงขั้นตอนการใช้แสงเท่านั้น

6.6 วิถี C_4

พืชเมืองร้อนเช่นอ้อย จะมีวิถีที่ช่วยขนส่ง CO_2 ไปยังเซลล์แหล่งที่เกิดวัฏจักรแคลวิน ผู้พบวิถีนี้คือ M.D. Hatch และ C.R. Slack สารประกอบ C_4 จะพา CO_2 จากเซลล์มีโซฟิลล์ (mesophyll cells) ซึ่งอยู่ติดกับบรรยากาศภายนอกไปยังเซลล์บันเดิล-ชีธ (bundle-sheath cell) ซึ่งเป็นเซลล์แหล่งทำการสังเคราะห์แสง (รูปที่ 6-11) เมื่อเกิดปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชันของ C_4 จะให้ CO_2 แก่วัฏจักรแคลวินในปริมาณค่อนข้างสูง แล้ว C_4 กลายเป็น C_3 กลับไปยังเซลล์มีโซฟิลล์ใหม่ เพื่อเกิดปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันกับ CO_2 ในรอบต่อไป



รูปที่ 6-11 แผนผังแสดงวิถี C_4

วิถี C_4 เริ่มจากฟอสโฟอินอลไพรูเวทรวมตัวกับ CO_2 กลายเป็นออกซาโลอะซิเดทเร่งปฏิกิริยาโดยเอ็นไซม์ phosphoenol pyruvate carboxylase พืชบางชนิดสามารถเปลี่ยนออกซาโลอะซิเดทไปเป็นมาเลทโดยเอ็นไซม์ malate dehydrogenase จากนั้นมาเลทจะเข้าสู่เซลล์บันเดิล-ชีธ แล้วเกิดการดีคาร์บอกซิเลชันให้ไพรูเวท และให้ CO_2 แก่วัฏจักรแคลวิน ไพรูเวทจะกลับสู่เซลล์มีโซฟิลล์ ถูกเปลี่ยนเป็นฟอสโฟอินอลไพรูเวทโดย ATP, P_i และเอ็นไซม์ pyruvate-P_i dikinase มีการสลายพันธะฟอสเฟตพลังสูงถึงสองพันธะด้วยกันในการขนส่ง CO_2 เข้าไปยังคลอโรพลาสต์ของเซลล์บันเดิล-ชีธ

บทสรุป

การสังเคราะห์แสงของพืชสีเขียวเกิดขึ้นภายในออร์กาเนลล์ที่เรียกว่าคลอโรพลาสต์ แบ่งออกเป็นปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงที่ใช้แสงและที่ไม่ใช้แสง การสังเคราะห์แสงขั้นตอนที่ใช้แสงเกิดภายในช่องว่างของถุงธิลาคอยด์ คลอโรฟิลล์ซึ่งอยู่ที่เยื่อบุธิลาคอยด์จะเป็นตัวดูดกลืนแสง ในแต่ละยูนิตการสังเคราะห์แสงจะมีการส่งพลังงานการกระตุ้นนี้ต่อไปยังแอนเทนนาคลอโรฟิลล์โมเลกุลอื่น ๆ จนกระทั่งถึงศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา คือ P_{700} ในโฟโตซิสเต็ม I และ P_{680} ในโฟโตซิสเต็ม II เมื่อพลังงานแสงในรูปโฟตอนไปกระตุ้นโฟโตซิสเต็ม I จะให้ตัวรีดิวซ์อย่างแรงคือ NADPH ส่วนการกระตุ้นโฟโตซิสเต็ม II จะให้ตัวออกซิไดซ์อย่างแรงเพื่อไปออกซิไดซ์โมเลกุลน้ำเป็น O_2 โฟโตซิสเต็ม II จะคอยเติมอิเลคตรอนแก่ P_{700} ของโฟโตซิสเต็ม I กล่าวโดยย่อก็คือพลังงานแสงกระตุ้นให้มีการส่งผ่านอิเลคตรอนจากโมเลกุลน้ำไปยัง $NADP^+$ ทำให้ได้ NADPH และ O_2

ขณะที่โฟโตซิสเต็ม II เติมอิเลคตรอนแก่โฟโตซิสเต็ม I นั้น ทำให้เกิดโปรตอนเกรเดียนต์ระหว่างสองข้างของเยื่อบุธิลาคอยด์ ช่องว่างภายในถุงธิลาคอยด์มีความเป็นกรดมากขึ้น ภายในสโตรมาเป็นด่างมากขึ้น โปรตอนเกรเดียนต์ที่เกิดขึ้น เนื่องจากการส่งผ่านอิเลคตรอนจากน้ำไปยัง NADPH ทำให้เกิดโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบไม่เป็นวงปิด โปรตอนเกรเดียนต์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการส่งผ่านอิเลคตรอนภายในโฟโตซิสเต็ม I เอง โดยไม่เกี่ยวข้องกับโฟโตซิสเต็ม II จะทำให้เกิดโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบวงปิด เช่นนี้จะไม่มี NADPH และ O_2 เกิดขึ้น cF_1-cF_o คอมเพล็กซ์ทำหน้าที่สังเคราะห์ ATP ในคลอโรพลาสต์

NADPH และ ATP จะเข้าสู่สโตรมาเพื่อเป็นตัวรีดิวซ์และเป็นพลังงานในการสังเคราะห์แสงขั้นดอนไม่ใช้แสงต่อไปในวัฏจักรแคลวิน การตรึง CO_2 เข้าไปอยู่ในโมเลกุลเฮกโซสนั้นเริ่มจากไรบูโลส-1, 5-ไดฟอสเฟต ทำปฏิกิริยากับ CO_2 ให้สองโมเลกุลของ 3-ฟอสโฟกลีเซอเรท 3-ฟอสโฟกลีเซอเรทเกิดฟอสฟอริเลชันเป็น 1, 3-ไดฟอสโฟกลีเซอเรท และรีดิวซ์เป็นกลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตตามลำดับ สองโมเลกุลของกลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตรวมตัวกันเป็นฟรุคโตส-1, 6-ไดฟอสเฟต และเปลี่ยนเป็นฟรุคโตส-6-ฟอสเฟตตามลำดับ การที่จะได้ไรบูโลส-1, 5-ไดฟอสเฟตมารับ CO_2 อยู่เรื่อย ๆ นั้น ฟรุคโตส-6-ฟอสเฟตจะรวมตัวกับกลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต อาศัยเอ็นไซม์ transketolase, aldolase และเอ็นไซม์อื่น ๆ อีก 4 ชนิดเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลง การตรึง CO_2 เข้าไปอยู่ในระดับโมเลกุลของเฮกโซสต้องการพลังงานแสงอาทิตย์ 8 โฟตอน หรือเทียบเท่าพลังงาน 381 กิโลแคลอรี เอ็นไซม์ ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase ที่เร่งปฏิกิริยาการตรึง CO_2 อันเป็น rate-limiting step ของวัฏจักรแคลวิน ถูกกระตุ้นโดย NADPH,

ความเป็นด่างในสโตรมาและแมกนีเซียมไอออน

พืชบางชนิดมีวิถี C_4 ช่วยเก็บรวบรวม CO_2 จากบรรยากาศภายนอก ผ่านเซลล์มีโซฟิลล์เข้าไปยังเซลล์บันเดิล-ชีธ นำไปส่งให้วัฏจักรแคลวินที่คลอโรพลาสต์ของเซลล์บันเดิล-ชีธในปริมาณค่อนข้างสูง

คำถามท้ายบท

1. การสังเคราะห์แสงแบ่งออกเป็นกี่ขั้นตอน อะไรบ้าง
2. อธิบายออร์กาเนลล์แหล่งที่เกิดการสังเคราะห์แสงภายในเซลล์
3. อธิบายคุณสมบัติของโมเลกุลรับแสงหรือโมเลกุลดูดกลืนแสงในพืชสีเขียว
4. ยูนิตการสังเคราะห์แสงคืออะไร
5. โมเลกุลคลอโรฟิลล์ที่ศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยา ต่างกับโมเลกุลแอนเทนนาคลอโรฟิลล์อื่น ๆ ภายในยูนิตการสังเคราะห์แสงอย่างไร
6. บอกองค์ประกอบและอธิบายการทำงานของโฟโตซิสเต็ม I
7. บอกองค์ประกอบและอธิบายการทำงานของโฟโตซิสเต็ม II
8. การสังเคราะห์แสงทำให้เกิดโฟโตฟอสฟอริเลชันได้อย่างไร
9. โฟโตฟอสฟอริเลชันแบบไม่เป็นวงปิดต่างกับโฟโตฟอสฟอริเลชันแบบวงปิดอย่างไร
10. $cF_1 - cF_0$ คอมเพล็กซ์ทำหน้าที่อะไร เปรียบเสมือนคอมเพล็กซ์ใดของไมโตคอนเดรีย
11. โมเลกุลสารใดในวัฏจักรแคลวินที่เป็นตัวมารับ CO_2 จากปฏิกิริยาขั้นตอนการใช้แสง และเมื่อรับ CO_2 แล้วถูกสลายโดยรวดเร็วเป็นผลิตผลใด
12. จากผลิตผลในข้อ 11 อาศัยการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายกระบวนการกลูโคนิโอเจเนซีสได้เฮกโซสตัวใด
13. ปฏิกิริยาใดในวัฏจักรแคลวินที่เป็น "rate limiting step"
14. พืชบางชนิดมีกระบวนการช่วยขนส่ง CO_2 ไปยังเซลล์แหล่งที่เกิดวัฏจักรแคลวินได้อย่างไร