

## 第六章 生物氧化与氧化磷酸化

生物的一切活动都需要能量。绿色植物和光合细菌等自养生物通过光合作用，利用太阳能将  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$  同化为糖类有机化合物，使太阳能转变成化学能贮存于其中；动物和某些微生物等异养生物不能直接利用太阳能，只能利用光合植物形成的有机化合物在生物体内氧化产生有效化学能。生物主要通过细胞呼吸作用把有机化合物氧化成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ ，同时产生 ATP。这就是生物在物质代谢中伴随的能量代谢与能量转换。

本章首先介绍生物氧化的基本概念、特点及方式，然后侧重讨论各类有机物（糖、蛋白质、脂肪等）在细胞内进行生物氧化所经历的一段共同的终端氧化过程中，代谢中间物脱氢生成的还原型辅酶（ $\text{NADH}$  和  $\text{FADH}_2$ ）如何经电子传递链（呼吸链）的电子传递被分子氧化，电子传递过程如何与 ADP 磷酸化生成 ATP 的过程相偶联。

### 第一节 生物氧化概述

#### 一、生物氧化的概念、特点、方式

##### （一）生物氧化的概念

生物活动的能量主要来源是有机物质糖、蛋白质或脂肪在生物体内的氧化。我们把糖、蛋白质、脂肪等有机物质在生物活细胞里进行氧化分解，最终生成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ ，同时释放大量的过程称广义的生物氧化（biological oxidation）。高等动物通过肺部进行呼吸，吸入氧，排出二氧化碳，吸入氧用来氧化摄入体内的营养物质获得能量，微生物则以细胞直接进行呼吸，因此生物氧化又称组织呼吸、细胞呼吸。生物氧化包括细胞呼吸作用中的一系列氧化还原反应。

糖、蛋白质、脂肪等有机物在生物体内彻底氧化之前，总是先进行分解代谢。它们的分解代谢途径是复杂而又不相同的，但它们在彻底氧化为  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$  时，都经历一段相同的终端氧化过程，也就是狭义的生物氧化，即代谢中间物脱氢生成的还原型辅酶（ $\text{NADH}$  和  $\text{FADH}_2$ ）经电子传递链（呼吸链）传递给分子氧生成水，电子传递过程伴随着 ADP 磷酸化生成 ATP。

##### （二）生物氧化的特点

生物氧化与有机物质在体外燃烧（或非生物氧化）的化学本质是相同的，都是加氧、去氢、失去电子，最终的产物都是  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ ，并且有机物质在生物体内彻底氧化伴随的能量释放与在体外完全燃烧释放的能量总量相等，但二者表现的形式和氧化条件不同。生物氧化有其自身特点：第一，生物氧化是在活细胞内、在体温、常压、近于中性 pH 及有水环境介质中进行的，是在一系列酶、辅酶和中间传递体的作用下逐步进行的；第二，生物氧化时，氧化还原过程逐步进行，能量逐步释放，这样不会因为氧化过程中能量骤然释

放而损害机体，同时使释放的能量得到有效的利用；第三，生物氧化的主要方式是脱氢和电子转移的反应，脱下的氢最后与氧形成水。生物氧化过程产生的能量通常都先贮存在一些特殊的高能化合物中，主要是腺苷三磷酸，即 ATP，然后通过 ATP 再供给机体的需能反应，因此 ATP 相当于生物体内的能量“转运站”，是能量的“流通货币”。而体外燃烧条件剧烈，有机物在体外燃烧需要高温及干燥条件；燃烧时，能量突然释放，产生大量的光和热，散失于环境中，同时引起高温。

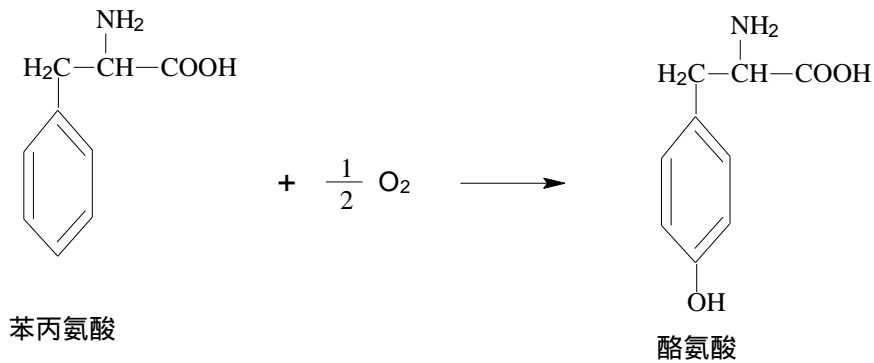
### (三) 生物氧化的方式

对真核生物而言，生物氧化进行的场所是在线粒体内，因为丙酮酸氧化脱羧、脂肪酸-氧化、三羧酸循环在线粒体的衬质（matrix）中进行，呼吸链的各种组分分布在线粒体的内膜上，合成 ATP 的酶也结合在线粒体内膜上。而对于不含线粒体的原核生物，如细菌细胞而言，生物氧化则是在细胞膜上进行的，因为呼吸链的各种组分与合成 ATP 的酶分布在细胞质膜上。

生物氧化与体外的化学氧化实质相同，即一种物质丢失电子为氧化，得到电子为还原。化学上的氧化作用包括加氧、脱氢和脱电子等作用。细胞内物质进行氧化也是采用加氧、脱氢和脱电子方式。

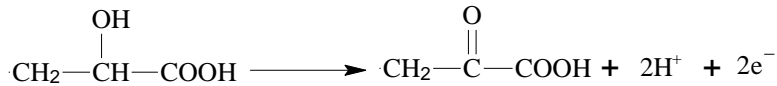
#### 1. 加氧反应

物质分子中直接加入氧分子或氧原子，这种物质即被氧化。例如：



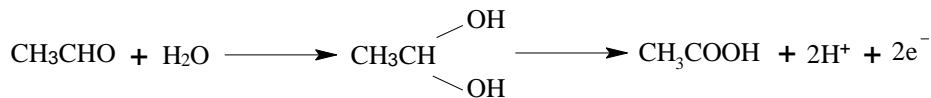
#### 2. 脱氢反应

从作用物分子中脱下一对质子和一对电子。例如：



#### 3. 加水脱氢反应

向作用物分子中加入水分子，同时脱去两个质子和两个电子，其总结果是底物分子中加入一个来自水分子的氧原子。例如：



#### 4. 脱电子 (e) 反应

从作用物分子中脱下一个电子。例如：



还原反应与氧化反应相反，即脱氧、加氢、加电子。氧化与还原反应不能孤立地进行，一种物质被氧化，必有另一种物质被还原，所以氧化和还原反应总是偶联进行的。被氧化的物质失去电子或氢原子，必有物质得到电子或氢原子而被还原。被氧化的物质是还原剂 (reductant)，是电子或氢的供体，被还原的物质则是氧化剂 (oxidant)，是电子或氢的受体。在生物氧化中，既能接受氢 (或电子)，又能供给氢 (或电子) 的物质，起传递氢 (或电子) 的作用，称为传递氢载体 (或电子载体，electron carriers)。

## 二、氧化还原电位及自由能

生物氧化的功能是为生物体的生命活动提供能量，非光合生物体只能利用化学能，而某些光合生物如植物、某些光合细菌则可以利用光能。

化学能是化合物的属性，化学能主要以键能的形式贮存在化合物的原子间的化学键上，原子间的化学键靠电子以一定的轨道绕核运转来维持。电子占据的轨道不同，其具有的电子势能就不同。当电子从一较高能级的轨道跃迁到一较低能级的轨道时，就有一定的能量释放，反之，则要吸收一定的能量。氧化还原的本质是电子的迁移，是电子从还原剂转移到氧化剂的过程。因此，不难理解，生物氧化过程中，由于被氧化的底物上的电子势能发生了跃降而有能量释放。

### (一) 氧化还原电位

在生物氧化反应中，通过研究各种化合物对电子的亲合力，可以了解它们是容易被氧化 (作为电子供体)，还是容易被还原 (作为电子受体)。通常用氧化-还原电位 (oxidation-reduction potentials) 相对地表示各种化合物对电子亲和力的大小。

生物体内任何的氧化还原物质连在一起，都可以有氧化-还原电位产生。生物体内许多重要的生化学物质氧化-还原体系的氧化-还原电位已经测出，其数据见表 6-1。

因为氧化还原电位较高的体系，其氧化能力较强；反之，氧化还原电位较低的体系，其还原能力较强，因此，根据氧化还原电位大小，可以预测任何两个氧化-还原体系如果发生反应时其氧化-还原反应向哪个方向进行。从表 6-1 中可看出  $\frac{1}{2} \text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}$  系统有可能氧化

所有在它以上的各个体系，反过来说，这些体系也都有可能使  $\frac{1}{2} \text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}$  体系还原。

氧化还原体系对生物体之所以重要，不只是因为生物体内许多重要反应都属于氧化还原反应，更重要的是生物体的能量来源于体内所进行的氧化还原反应。要了解氧化-还原体系和能量之间的关系必须弄清有关能量的一些基本概念。

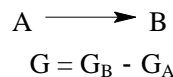
表 6-1 生物体中某些重要氧化-还原体系的标准氧化-还原电位  $E_0$  pH=7.0, 25~ 30

标准氧化-还原电位	$E_0$ (V)
乙酸 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 乙醛 + H <sub>2</sub> O	- 0.58
2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ H <sub>2</sub>	- 0.421
-酮戊二酸 + CO <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 异柠檬酸	- 0.38
乙酰乙酸 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ -羟丁酸	- 0.346
NAD <sup>+</sup> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ NADH + H <sup>+</sup>	- 0.320
NADP <sup>+</sup> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ NADPH + H <sup>+</sup>	- 0.324
乙醛 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 乙醇	- 0.197
丙酮酸 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 乳酸	- 0.185
FAD + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ FADH <sub>2</sub>	- 0.180
FMN + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ FMNH <sub>2</sub>	- 0.180
草酰乙酸 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 苹果酸	- 0.166
延胡索酸 + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 琥珀酸	- 0.031
2 细胞色素 b (Fe <sup>3+</sup> ) + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 2 细胞色素 b (Fe <sup>2+</sup> )	+0.030
氧化型辅酶 Q + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 还原型辅酶 QH <sub>2</sub>	+0.10
2 细胞色素 c <sub>1</sub> (Fe <sup>3+</sup> ) + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 2 细胞色素 c <sub>1</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	+0.22
2 细胞色素 c (Fe <sup>3+</sup> ) + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 2 细胞色素 c (Fe <sup>2+</sup> )	+0.25
2 细胞色素 a (Fe <sup>3+</sup> ) + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 2 细胞色素 a (Fe <sup>2+</sup> )	+0.29
2 细胞色素 a <sub>3</sub> (Fe <sup>3+</sup> ) + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ 2 细胞色素 a <sub>3</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	+0.385
$\frac{1}{2}$ O <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ H <sub>2</sub> O	+0.816

注：细胞色素类和辅酶 Q 的电势因它们所处的线粒体膜中状态或分离提纯不同而有所不同。

## (二) 自由能的概念

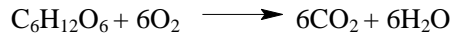
生物体生命活动所需的能量都来自化学变化。在能量概念中，自由能 (free energy) 的概念对研究生物化学的过程有重要意义。因为机体用以做功的能正是体内有机物在化学反应中所释放出的自由能。自由能的概念在物理化学中是指体系在恒温、恒压下所做的最大有用功的那部分能量；在生物化学中，凡是能够用于做功的能量就称为自由能。生物氧化反应近似于在恒温、恒压状态下进行，过程中发生的能量变化可以用自由能变化  $G$  表示。 $G$  表达从某个反应可以得到多少可利用的能量，也是衡量化学反应的自发性的标准。例如，物质 A 转变为物质 B 的反应：



当  $G$  为正值时，反应是吸能的，不能自发进行，必须从外界获得能量才能被动进行，

但其逆反应则是自发的；当  $G$  是负值时，反应是放能的，能自发进行，自发反应进行的推动力与自由能的降低成正比。一个物质所含的自由能越少就越稳定。由此可见  $G$  值的正负表达了反应发生的方向，而  $G$  的数值则表达了自由能变化量的大小。当  $G=0$  时，表明反应体系处于平衡状态，此时反应向任一方向进行都缺乏推动力。

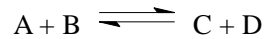
应该说明的是：通过实验测得的有自由能降低的化学反应并不等于这个反应实际上已经自发地进行，还必须供给反应分子的活化能或用催化剂来降低活化能，反应才能进行。生物催化剂——酶就起着这种催化作用。例如，葡萄糖可被  $O_2$  氧化成  $CO_2$  和  $H_2O$ ，其反应方程式如下：



此反应的  $G$  是一个很大的负值（约为  $-2870.2\text{kJ/mol}$ ），但这一相当大的  $G$  只能说明反应是释放能量，却与反应速率没有关系。当葡萄糖在弹式量热计中有催化剂存在时，它可在几秒种内发生氧化；在大多数生物体中，上述反应可在数分钟到数小时内完成。但是把葡萄糖放在玻璃瓶中，即使有空气它也可以存放数年而不发生氧化反应。

### （三）氧化还原电位与自由能变化

一个化学反应的自由能变化与该反应的平衡常数和质量作用定律密切相关。当一个反应处于平衡态时，



$[C][D]/[A][B]=K_{eq}$ ，这里  $[C][D][A][B]$  代表物质的浓度， $K_{eq}$  是平衡常数。当产物乘积与反应物乘积的比值等于  $K_{eq}$  时，反应处于平衡状态；大于  $K_{eq}$  时，反应趋向左方进行；小于  $K_{eq}$  时，反应趋向右方进行。相应的自由能改变是  $G=0$ ， $G>0$ ， $G<0$ 。

可以看出， $G$  不但取决于反应物和产物的化学结构，还取决于它们的浓度，因为浓度决定反应的方向。

化学反应的自由能随环境温度和物质浓度（活度）而改变，在比较自由能变化时，必须在标准状况下进行测定，即  $25^\circ\text{C}$ ，溶液中溶质的标准状态为单位摩尔浓度，若为气体，则为  $101.325\text{kPa}$ ，所测得的值称为标准自由能变化，用  $G^\circ$  表示。

在化学反应中，自由能和化学反应平衡常数  $K_{eq}$  之间有如下的关系  $G^\circ = -RT\ln K_{eq}$ 。在生物体内参与反应的物质浓度都很低，往往不是在标准状况，所测得的自由能变化并不是标准自由能变化，用  $G$  表示。 $G$  与标准自由能变化  $G^\circ$  之间有一定的关系，可用公式表示  $G = G^\circ + RT\ln K_{eq}$ 。

在许多生物化学反应中，还往往包括  $H^+$  离子的变化，自由能随  $\text{pH}$  的变化也会有较大的改变，因此所测得的自由能变化应注明  $H^+$  离子浓度，当  $\text{pH}=7.0$  时，反应的标准自由能用  $G'$  表示，因为在生物化学能量学（biochemical energetics）中，通常把  $\text{pH} 7.0$  作为标准状态（reference state），不是以物理化学中应用的  $\text{pH} 0.0$ （即氢离子浓度为  $1.0\text{mol/L}$ ）作为标准。因此该  $G'$  称生化标准自由能变化。

应该指出的是，无论在试管中或在细胞中要维持单位摩尔浓度的环境是很困难的，而且生物体内许多代谢作用发生在非均相系统中。尽管如此，标准自由能变化的概念在中间

代谢研究中仍然很有用。

自由能的变化可以从平衡常数计算，也可以由反应物与产物的氧化还原电位计算。

在实验的基础上，总结出反应的自由能变化与氧化还原体系的氧化还原电位差有如下关系：

$$G = -nF E \quad \text{若为标准态, 则表示为 } G = -nF E_0$$

式中  $n$  迁移的电子数

$F$  法拉第常数 (23.063 kcal/mol 或 96.487 kJ/V mol)

$E$  发生反应的两个氧化-还原体系电位差

利用这个式子对于任何一对氧化还原反应都可用  $E$  方便地计算出  $G$ 。例如，NADH 传递链中  $\text{NAD}^+ / (\text{NADH} + \text{H}^+)$  的氧化还原标准电位为  $-0.32\text{V}$ ，而  $\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$  的氧化还原标准电位为  $+0.816\text{V}$ ，因此一对电子自  $\text{NADH} + \text{H}^+$  传递到氧原子的反应中，标准自由能变化可按上式计算求得：

$$E_0 = 0.816 - (-0.32) = 1.136\text{V}$$

$$G = -nF E_0 = -2 \times 96.487 \times 1.136 = -219.22 \text{ kJ}$$

然而在生物体内，并不是有电位差的任何两体系间都能发生反应，如上述的  $\text{NAD}^+ / (\text{NADH} + \text{H}^+)$  和  $\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$  两体系之间的电位差很大，它们之间直接反应的趋势很强烈。但是这种直接反应通常不能发生，因为生物体是高度组织的，氢（电子）通过组织化的各中间传递体按顺序传递，能量的释放才能逐步进行。

### 三、高能磷酸化合物

磷酸化合物在生物机体的能量转换过程中起着重要作用。在机体内有许多磷酸化合物，其磷酸键中贮存大量的能，这种能量称为磷酸键能。

一般将含有 20.9 kJ/mol 以上能量的磷酸化合物称为高能磷酸化合物，含有高能的键称为高能键。高能键常以“~”符号表示。

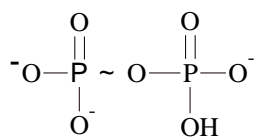
在生物化学中所说的“高能键”和物理化学中的“高能键”的含意是根本不同的。物理化学中的高能键是指该键很稳定，要使其断裂则需大量的能量。而生物化学中的“高能键”指的是随着水解反应或基团转移反应可放出大量自由能的键，此处高能键是不稳定的键，如具有高的磷酸基团转移势能或水解时释放较多自由能的磷酸酐键或硫酸键。

#### (一) 高能磷酸化合物的类型

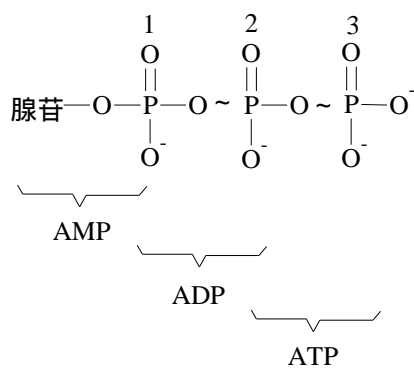
在生物体内具有高能键的化合物是很多的，根据键的特性，可以分成几种类型。

1. 磷氧键型 ( $-\text{O} \sim \text{P}$ ) 属于这种键型的化合物很多，又可分成几类：

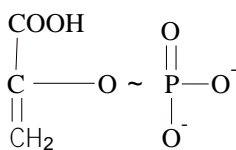
##### (1) 焦磷酸化合物



无机焦磷酸

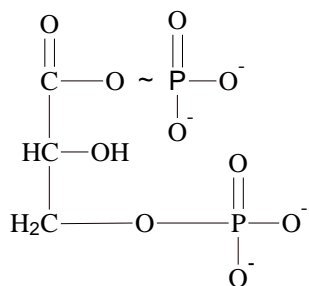


(2) 烯醇式磷酸化合物

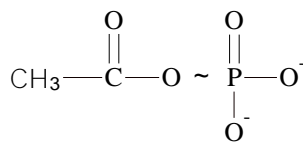


磷酸烯醇式丙酮酸

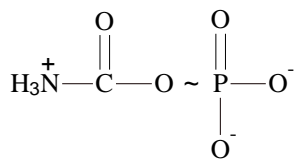
(3) 酰基磷酸化合物



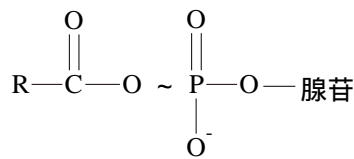
1,3 - 二磷酸甘油酸



乙酰磷酸

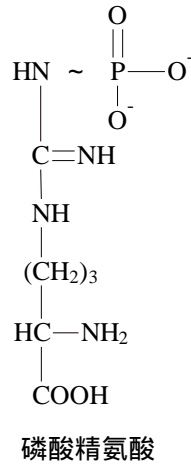
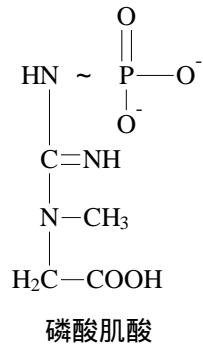


氨甲酰磷酸

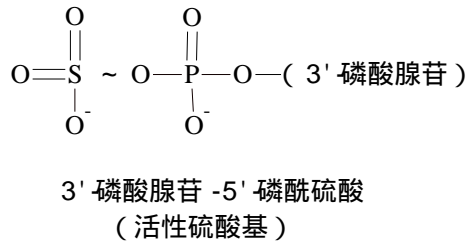
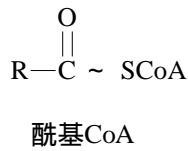


酰基腺苷酸

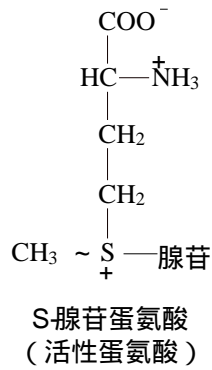
2. 氮磷键型 胍基磷酸化物属于此类。



### 3. 硫酸酯键型



### 4. 甲硫键型

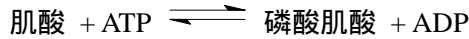


上述高能化合物中含有磷酸基团的占绝大多数。但是，并不是所有的含有磷酸基团的化合物都属于高能磷酸键。例如 6-磷酸葡萄糖，3-磷酸甘油等化合物中的磷酸酯键，水解时每 1mol 只能释放出 4.184 ~ 12.552 kJ 能量，因此属于低能磷酸键。

高能化合物具有重要的功能。磷酸烯醇式丙酮酸、1,3-二磷酸甘油酸以及乙酰磷酸都有特定的代谢功能，包括化学能的保存和转移，磷酸肌酸及磷酸精氨酸为代谢能的储存形

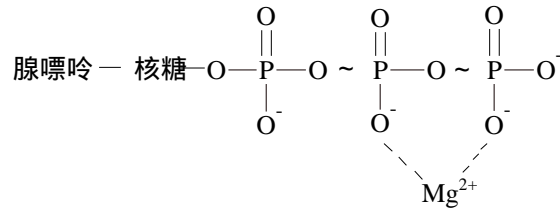


式。磷酸肌酸在供给肌肉能量上特别重要，储藏在其分子中的高能磷酸键（~P）供给肌肉收缩所需要的 ATP。当肌肉 ATP 浓度高时，末端磷酸基团即转移到肌酸上产生磷酸肌酸。当 ATP 因肌肉运动而消耗时，ADP 浓度增高，促进磷酸基团向相反方向转移，即生成 ATP。在一些无脊椎动物如虾蟹的肌肉中则以磷酸精氨酸作为能量的储藏形式：



### (二) ATP 在能量转换中的作用

ATP 是高能磷酸化合物中的典型代表。ATP 是由腺嘌呤、核糖及三磷酸单位组成的核苷酸，ATP 的活化形式通常为 ATP 与  $\text{Mg}^{2+}$ （或  $\text{Mn}^{2+}$ ）的复合物。



ATP- $\text{Mg}^{2+}$  复合物

ATP 这一高能化合物充当“能量的流通货币”，作为能量的携带者或传递者，其分子中有三个磷酸基团，分别形成两个磷酸酐键和一个磷酸酯键，磷酸酐键不稳定。在生理 pH 下，ATP 约带 4 个空间距离很近的负电荷，它们之间相互排斥，使磷酸酐键易水解。当 ATP 水解产生 ADP 及  $\text{P}_i$ （正磷酸）时或者当 ATP 水解产生 AMP 及  $\text{PP}_i$ （焦磷酸）时，即释出大量的自由能。在这些反应中自由能变化约为  $-30.54 \text{ kJ/mol}$ ：



而磷酸酯键水解时，释放出的标准自由能则低得多，仅为  $14.2 \text{ kJ/mol}$ 。

在生物体内 ATP 在提供能量及在能量转换中起着重要作用。ATP 作为能量的即时供体，在传递能量方面起着转运站的作用。它既接受代谢反应释放的能量，又可供代谢反应所需要的能量。它是能量的携带者或传递者，而不是化学能量的贮存库。以高能磷酸形式贮存能量的物质称为“磷酸原”，在无脊椎动物中是磷酸精氨酸；在脊椎动物中是磷酸肌酸。磷酸肌酸可以与 ATP 相互转化。ATP 多时，以磷酸肌酸的形式贮存能量；ATP 不足时，磷酸肌酸转化为 ATP。ATP 的水解放能反应可以和细胞内吸能的反应偶联起来，从而推动吸能的反应进行，以完成合成代谢、肌肉收缩、物质的吸收、分泌、运输等生理生化过程，使 ATP 又转化为 ADP 及磷酸（见图 6-1）。%

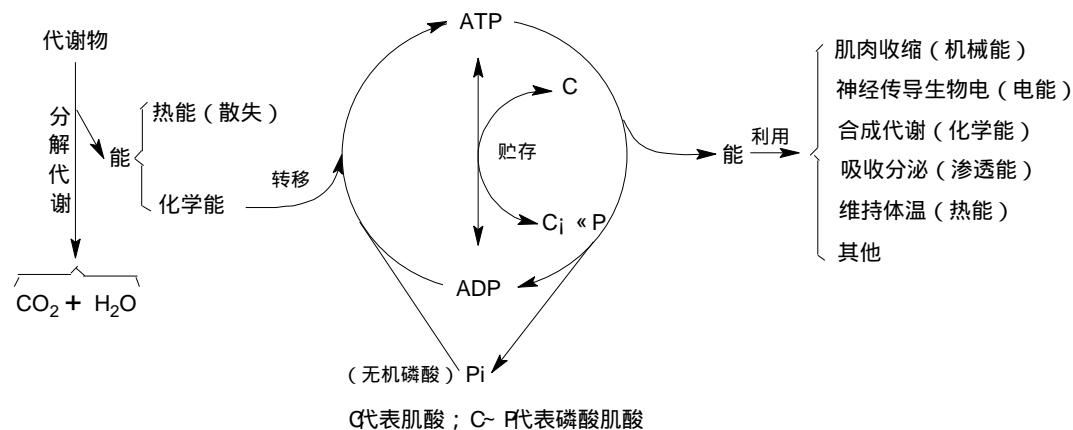


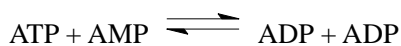
图6-1 体内能量的转移、贮存和利用

体内有些合成反应不一定都直接利用 ATP 供能，而可以用其他三磷酸核苷。如 UTP 用于多糖合成、CTP 用于磷脂合成、GTP 用于蛋白质合成等。但物质氧化时释放的能量通常是必须先合成 ATP，然后 ATP 可使 UDP、CDP 或 GDP 生成相应的 UTP、CTP 或 GTP，而 ATP 又转化为 ADP。

此外，在蛋白质、核酸和脂肪酸的生物合成中，许多反应是使 ATP 转化生成 AMP：



ATP、AMP 及 ADP 可以互相转变，腺苷酸激酶催化此反应：



总之 ATP-ADP 循环是生物系统中能量交换的基本形式。自然界选择磷酸酐键的势能作为能量利用和产生的一种通用的“通货”，有利于生物的进化。

下表列出某些磷酸化合物水解的标准自由能变化：

表 6-2 一些磷酸化合物水解的标准自由能变化

化合物	G (kJ/mol)
磷酸烯醇式丙酮酸	61.9
1,3-二磷酸甘油酸	49.4
磷酸肌酸	43.1
乙酰磷酸	42.3
磷酸精氨酸	32.2
ATP (ADP+Pi)	30.5
ADP	27.2
1-磷酸葡萄糖	20.9
6-磷酸果糖	15.9
6-磷酸葡萄糖	13.8
1-磷酸甘油	9.2

由表可见 ATP 处于中间位置，它在细胞的酶促磷酸基团转移中起着“共同中间体”的作用。ATP 具有较高的磷酸基团转移势能 (phosphate group transfer potential)，它倾向于将其磷酸基团转移给 ATP 以下的受体，而 ADP 则能接受表中在 ADP 以上的高能化合物中的磷酸基团，因此，ATP 在磷酸化合物中所处的位置具有重要意义。

## 第二节 电子传递链

生物氧化作用主要是通过脱氢反应来实现的。脱氢是氧化的一种方式，生物氧化中所生成的水是代谢物脱下的氢，经生物氧化作用和吸入的氧结合而成的。

糖、蛋白质、脂肪的代谢物所含的氢，在一般情况下是不活泼的，必须通过相应的脱氢酶将之激活后才能脱落。进入体内的氧也必须经过氧化酶激活后才能变为活性很高的氧化剂。但激活的氧在一般情况下，尚不能直接氧化由脱氢酶激活而脱落的氢，两者之间尚需传递才能结合生成水。即代谢底物脱下的氢通常须经一系列氢、电子传递体传递给激活的氧，在酶的作用下生成水。那么这些氢、电子的传递体是什么呢？

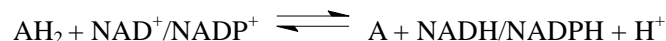
### 一、电子传递链的组成及其功能

代谢物上的氢原子被脱氢酶激活脱落后，经过一系列的传递体，最后传递给被激活的氧分子而生成水的全部体系称为电子传递链 (electron transport chain, ETS) 或电子传递体系，又称呼吸链 (respiratory chain)。

电子传递链主要由下列五类电子传递体组成，它们是：烟酰胺脱氢酶类、黄素脱氢酶类、铁硫蛋白类、细胞色素类及辅酶 Q (又称泛醌)。它们都是疏水性分子。除脂溶性辅酶 Q 外，其他组分都是结合蛋白质，通过其辅基的可逆氧化还原传递电子。

#### (一) 烟酰胺脱氢酶类

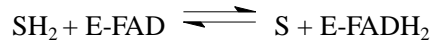
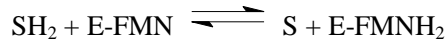
烟酰胺脱氢酶类 (nicotinamide dehydrogenases) 以  $\text{NAD}^+$  和  $\text{NADP}^+$  为辅酶，现已知在代谢中这类酶有 200 多种。这类酶催化脱氢时，其辅酶  $\text{NAD}^+$  或  $\text{NADP}^+$  先和酶的活性中心结合，然后再脱下来。它与代谢物脱下的氢结合而还原成  $\text{NADH}$  或  $\text{NADPH}$ 。当有受氢体存在时， $\text{NADH}$  或  $\text{NADPH}$  上的氢可被脱下而氧化为  $\text{NAD}^+$  或  $\text{NADP}^+$ 。其递氢机制是：当其接受代谢物脱下的一对氢原子时，就由氧化型 ( $\text{NAD}^+$  或  $\text{NADP}^+$ ) 变为还原型 ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  或  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ )，吡啶环接受一个氢原子和一个电子后，氮原子就由五价变成三价，而  $\text{H}^+$  则游离于介质中。这种转移是可逆的 (见第四章辅酶的有关内容)。



在糖代谢中，许多底物脱氢是由以  $\text{NAD}^+$  或  $\text{NADP}^+$  为辅酶的脱氢酶催化的，如异柠檬酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶等。

#### (二) 黄素脱氢酶类

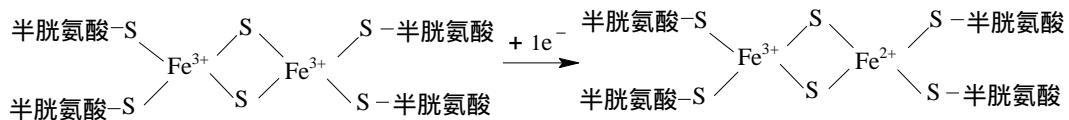
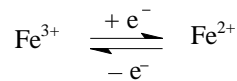
黄素脱氢酶类 (flavin dehydrogenases) 是以 FMN 或 FAD 作为辅基。FMN 或 FAD 与酶蛋白结合是较牢固的。这些酶所催化的反应是将底物脱下的一对氢原子直接传递给 FMN 或 FAD 而形成 FMNH<sub>2</sub> 或 FADH<sub>2</sub>。其传递氢的机制是 FMN 或 FAD 的异咯嗪环上第 1 位及第 10 位两个氮原子能反复地进行加氢和脱氢反应, 因此 FMN、FAD 同 NAD<sup>+</sup>、NADP<sup>+</sup> 的作用一样, 也是递氢体。现以 SH<sub>2</sub> 代表还原式底物, 以 E-FMN 或 E-FAD 代表具有不同辅基的酶, 其反应可表示如下:



在电子传递链中的 NADH 脱氢酶, 它的辅基是 FMN, 它催化的反应是将 NADH 上的电子传递给电子传递链的下一个成员 辅酶 Q; 在三羧酸循环中, 琥珀酸脱氢酶以 FAD 为辅基; 在脂肪酸  $\alpha$ -氧化中催化脂肪酸的第一步脱氢的酶 酰基-CoA 脱氢酶的辅基是 FAD。另外, 二氢硫辛酸脱氢酶以 FAD 为辅基, 该酶是参与丙酮酸形成乙酰-CoA 以及  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢形成琥珀酰-CoA 过程中多酶体系的一种酶。

### (三) 铁硫蛋白类

铁硫蛋白类 (iron-sulfur proteins) 的分子中含非卟啉铁与对酸不稳定的硫 (酸化时放出硫化氢、也除去铁), 二者成等量关系, 排列成硫桥, 然后再与蛋白质中的半胱氨酸连接。因其活性部分含有两个活泼的硫和两个铁原子, 故称为铁硫中心, 又称作铁硫桥。铁硫蛋白在线粒体内膜上与黄素酶或细胞色素形成复合物, 它们的功能是以铁的可逆氧化还原反应传递电子:



氧化态三价铁形式是红色或绿色, 还原态颜色消退, 因此铁硫蛋白是单电子传递体。在从 NADH 到氧的呼吸链中, 有多个不同的铁硫中心, 有的在 NADH 脱氢酶中, 有的与细胞色素 b 及 c<sub>1</sub> 有关。另外, 铁硫蛋白在叶绿体中也参与光合作用中的电子传递。

### (四) 辅酶 Q 类

辅酶 Q (coenzyme Q, 简称 CoQ) 是一类脂溶性的化合物, 因广泛存在于生物界, 故又名泛醌 (ubiquinone)。其分子中的苯醌结构能可逆地加氢和脱氢, 故 CoQ 也属于递氢体。它的结构和传递氢机制可参看第四章中的维生素和辅酶内容, 不同来源的辅酶 Q 的侧链长度是不同的。某些微生物线粒体中的辅酶 Q 含有 6 个异戊二烯单位 (CoQ<sub>6</sub>); 动物细

胞线粒体中的辅酶 Q 含有 10 个异戊二烯单位 (CoQ<sub>10</sub>)。另外，植物细胞中的质体醌在光合作用的电子传递中起着类似的作用。

### (五) 细胞色素类

细胞色素 (cytochromes, or cellular pigments) 是一类以铁卟啉衍生物为辅基的结合蛋白质, 因有颜色, 所以称为细胞色素 (Cyt-Fe)。细胞色素的种类较多, 已经发现存在于高等动物线粒体电子传递链中的细胞色素有 b、c<sub>1</sub>、c、a 和 a<sub>3</sub>。其中细胞色素 c 为线粒体内膜外侧的外周蛋白, 其余的均为内膜的整合蛋白。细胞色素 c 容易从线粒体内膜上溶解出来。不同种类的细胞色素的辅基结构与蛋白质的连接方式是不同的。细胞色素中的辅基与酶蛋白的关系以细胞色素 c 研究得最清楚, 见图 6-2 所示。在典型的线粒体呼吸链中, 细胞色素的排列顺序依次是: b c<sub>1</sub> c aa<sub>3</sub> O<sub>2</sub>, 其中仅最后一个 a<sub>3</sub> 可被分子氧直接氧化, 但现在还不能把 a 和 a<sub>3</sub> 分开, 故把 a 和 a<sub>3</sub> 合称为细胞色素氧化酶, 由于它是有氧条件下电子传递链中最末端的载体, 故又称末端氧化酶 (terminal oxidase)。在 aa<sub>3</sub> 分子中除铁卟啉外, 尚含有两个铜原子, 依靠其化合价的变化, 把电子从 a<sub>3</sub> 传到氧, 故在细胞色素体系中也呈复合体的排列。

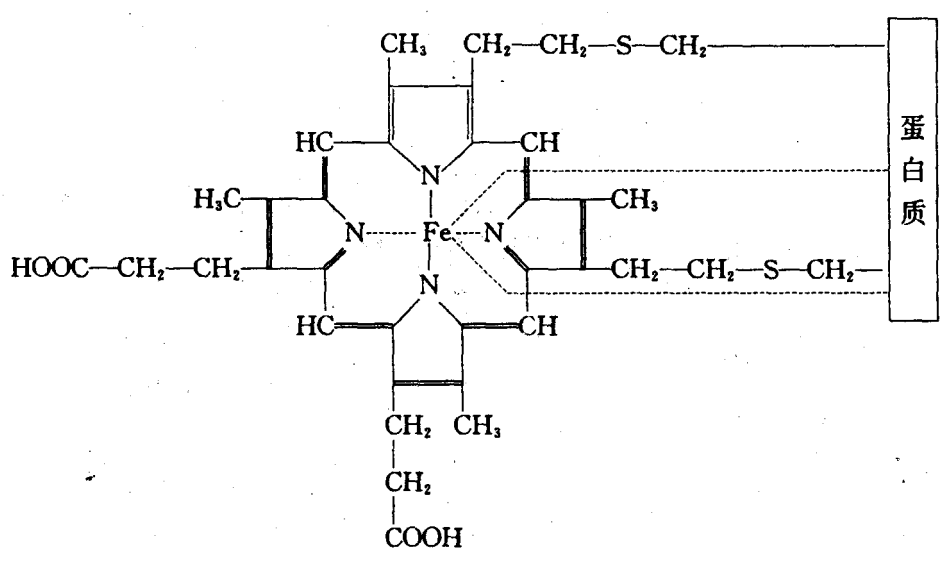
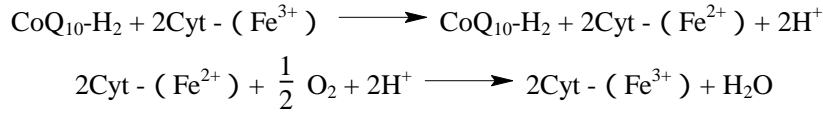


图 6-2 细胞色素 c 的辅基与酶蛋白的联接方式  
(铁卟啉辅基与肽链上的两个半胱氨酸形成硫醚键, 铁原子与肽链上的组氨酸和蛋氨酸形成配位键)

除 aa<sub>3</sub> 外, 其余的细胞色素中的铁原子均与卟啉环和蛋白质形成六个共价键或配位键, 除卟啉环四个配位键外, 另两个是蛋白质上的组氨酸与甲硫氨酸支链。因此不能与 CO、CN<sup>-</sup>、H<sub>2</sub>S 等结合, 唯有 aa<sub>3</sub> 的铁原子形成五个配位键, 还保留一个配位键, 可以与 O<sub>2</sub>、CO、CN<sup>-</sup>、N<sub>3</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>S 等结合形成复合物, 其正常功能是与氧结合, 但当有 CO、CN<sup>-</sup> 和 N<sub>3</sub><sup>-</sup> 存在时, 它们就和 O<sub>2</sub> 竞争与细胞色素 aa<sub>3</sub> 结合, 所以这些物质是有毒的。其中 CN<sup>-</sup> 与

氧化态的细胞色素 aa<sub>3</sub> 有高度的亲和力，因此对需氧生物的毒性极高。

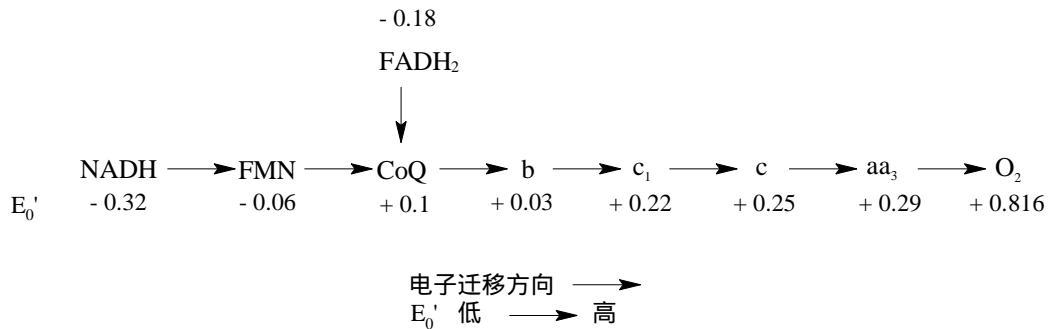
细胞色素辅基中的铁能可逆地进行氧化还原反应，Fe<sup>3+</sup>得到电子被还原成 Fe<sup>2+</sup>，Fe<sup>2+</sup>给出电子被氧化成 Fe<sup>3+</sup>，所以细胞色素在电子传递中起着载体的作用，是单电子传递体。当辅酶 Q（还原态）被氧化时，细胞色素就被还原。一个还原态的泛醌分子能给出两个电子而与两分子的细胞色素作用，生成的两个质子释放到介质中，最后把电子传递给氧，使氧变为氧离子（O<sup>2-</sup>）。氧离子的活性较强，可以和介质中的 2H<sup>+</sup>结合成水。如下式所示：



## 二、电子传递链及其传递体的排列顺序

电子传递链（呼吸链）中氢和电子的传递有着严格的顺序和方向。这些顺序和方向，是根据各种电子传递体标准氧化还原电位（E<sub>0</sub>'）的数值测定的，并利用某种特异的抑制剂切断其中的电子流后，再测定电子传递链中各组分的氧化还原状态，以及在体外将电子传递体重新组成呼吸链等实验而得到的结论。

电子传递链各组分在链中的位置、排列次序与其得失电子趋势的大小有关。电子总是从对电子亲和力小的低氧化还原电位流向对电子亲和力大的高氧化还原电位。氧化还原电位 E<sub>0</sub>' 的数值越低，即失电子的倾向越大，越易成为还原剂，处在呼吸链的前面（标准氧化还原电位 E<sub>0</sub>' 在 pH7.0 时用 E<sub>0</sub>' 表示）。因此，电子传递链中的传递体的排列顺序和方向是按各组分的 E<sub>0</sub>' 由小到大依次排列的。



应该说明的是，氧化还原电位值与电子传递链组分排列顺序有时不完全一致。如上所述，按 E<sub>0</sub>' 数值，Cytb 应在 CoQ 之前，但实验测定结果证明 Cytb 在 CoQ 之后。

在具有线粒体的生物中，典型的呼吸链有两条，即 NADH 呼吸链和 FADH<sub>2</sub> 呼吸链。这是根据接受代谢物上脱下的氢的初始受体不同区分的。图 6-3。

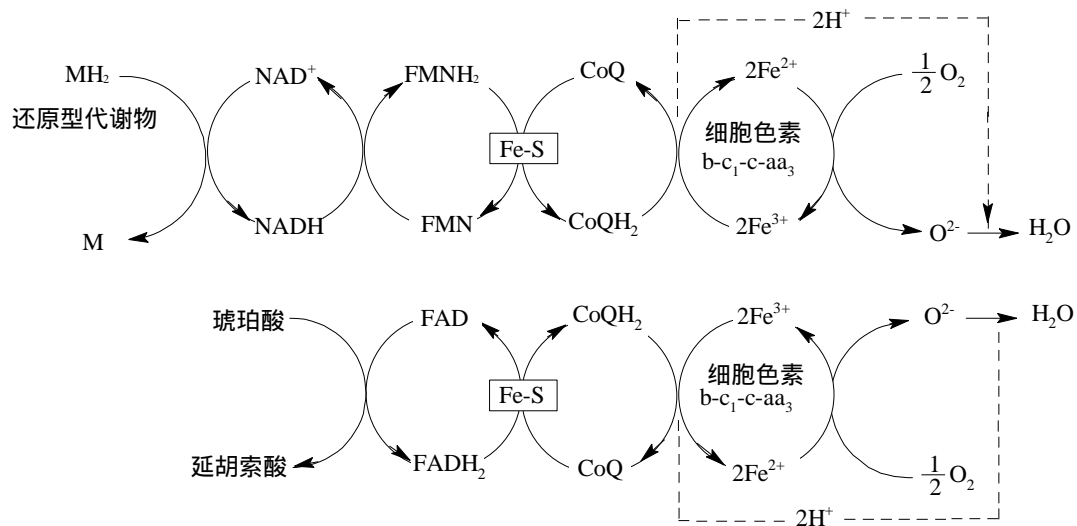


图 6-3 NADH、FADH<sub>2</sub>呼吸链

### (一) NADH呼吸链

NADH 呼吸链 (respiratory chain) 应用最广, 糖、蛋白质、脂肪三大燃料分子分解代谢中的脱氢氧化反应, 绝大部分是通过 NADH 呼吸链完成。中间代谢物上的两个氢原子经以 NAD<sup>+</sup>为辅酶的脱氢酶作用, 使 NAD<sup>+</sup>还原成为 NADH+H<sup>+</sup>, 再经过 NADH 脱氢酶(以 FMN 为辅基) 辅酶 Q、铁硫蛋白、细胞色素 b、c<sub>1</sub>、c、aa<sub>3</sub> 到分子 O<sub>2</sub>。一对高能电子通过 NADH 呼吸链传递到分子 O<sub>2</sub> 产生 3 个 ATP。

### (二) FADH<sub>2</sub>呼吸链

有些代谢中间物的氢原子是由以 FAD 为辅基的脱氢酶脱氢, 即底物脱下氢的初始受体是 FAD。如脂酰 CoA 脱氢酶、琥珀酸脱氢酶, 脱下的氢通过 FAD 之后进入呼吸链, 所以 FADH<sub>2</sub> 呼吸链又称为琥珀酸氧化呼吸链。代谢物脱下的一对氢原子经该呼吸链氧化放出的能量可生成 2 分子 ATP。

% 上述两条呼吸链中, 在 CoQ 之前是传递氢的, 在 CoQ 之后是传递电子, 而氢以 H<sup>+</sup> 质子形式进入介质中。\$

## 三、电子传递体复合物的组成

在电子传递链组分中, 除辅酶-Q 和细胞色素 c 外, 其余组分实际上形成嵌入内膜的结构化超分子复合物。美国学者用毛地黄皂甙、胆酸盐等去垢剂处理分离的线粒体, 溶解线粒体外膜, 并成功地将线粒体内膜电子传递链拆离成四个仍保存部分电子传递活性的复合物( ~ ) 以及辅酶 Q 和细胞色素 c。这些复合物在传递功能上都是有顺序地联在一起的, 在一定条件下按 1:1:1:1 的比例将它们重组可基本上恢复原有活力。电子传递链复合物的组成与排列顺序见图 6-4 所示。

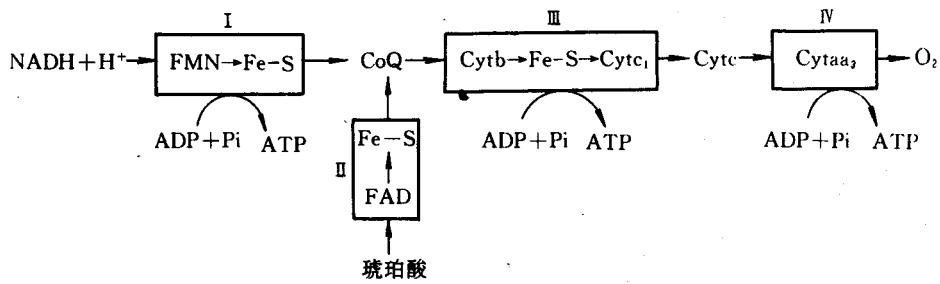


图 6-4 线粒体内膜中的电子传递链复合物的组成与排列顺序  
(1~ 为方框内组分结合而成的四种复合物的编号，  
图中还表示了形成 ATP 的部位，即偶联部位)

### (一) 复合物

由约 26 条多肽链组成，总分子量 850 000，除了很多亚单位外，还含有 1 个 FMN-黄素蛋白和至少 6 个铁硫蛋白。它是电子传递链中最复杂的酶系，其作用是催化 NADH 脱氢，并将电子传递给辅酶 Q，因此，又被称为 NADH 脱氢酶复合物（或 NADH-辅酶 Q 还原酶）。

### (二) 复合物

由 4~5 条多肽链组成，总分子量为 127 000~140 000。它含有 1 个 FAD 为辅基的黄素蛋白、2 个铁硫蛋白和 1 个细胞色素 b。它的作用是催化琥珀酸脱氢，并将电子通过 FAD 和铁硫蛋白传给辅酶 Q，因此，又被称为琥珀酸脱氢酶复合物（或琥珀酸-辅酶 Q 还原酶）。

### (三) 复合物

由 9~10 条多肽链组成，总分子量为 250 000~280 000。在线粒体内膜上以二聚体形式存在。每个单体含有 2 个细胞色素 b、一个细胞色素 c<sub>1</sub> 和一个铁硫蛋白。复合体的作用是催化电子从辅酶 Q 传给细胞色素 c，使还原型辅酶 Q 氧化而使细胞色素 c 还原，因此，又被称为细胞色素 c 还原酶（或辅酶 Q-细胞色素 c 还原酶）。

### (四) 复合物

由 13 条多肽链组成，总分子量为 200 000，在线粒体内膜上以二聚体形式存在。每个单体含 1 个细胞色素 a，1 个细胞色素 a<sub>3</sub> 和 2 个铜原子。其作用是将细胞色素 c 接受的电子传递给分子氧而生成水，催化还原型细胞色素 c 氧化，因此，又被称为细胞色素 c 氧化酶（或细胞色素氧化酶）。

四种复合物在电子传递过程中协调作用。复合物 I、III、IV 组成主要的电子传递链，即 NADH 呼吸链，催化 NADH 的氧化；复合物 II、III、IV 组成另一条电子传递链，即 FADH<sub>2</sub> 呼吸链。辅酶 Q 处在这两条电子传递链的交汇点上，它还接受其它黄素酶类脱下的氢。所以，它在电子传递链中处于中心地位。表 6-3 列出哺乳动物线粒体的电子传递系统中的四种复合物的特性。



表 6-3 电子传递系统中四种复合物的特性

	复合物	复合物	复合物	复合物
名称	NADH-CoQ 还原酶	琥珀酸-CoQ 还原酶	CoQ-细胞色素 c 还原酶	细胞色素氧化酶
反应顺序	NAD <sup>+</sup> CoQ	琥珀酸 CoQ	CoQ 细胞色素 c	细胞色素 c O <sub>2</sub>
分子量	850 000	127 000	280 000	200 000
亚基数目	26	5	10	13
铁硫蛋白	+	+	+	-
E <sup>0</sup> (V)	+0.42	+0.02	+0.15	+0.57
ATP 合成	+	-	+	+

#### 四、电子传递抑制剂

能够阻断电子传递链中某一部位电子传递的物质称为电子传递抑制剂 (inhibitors)。利用某种特异的抑制剂选择性地阻断电子传递链中某个部位的电子传递,是研究电子传递链中电子传递体顺序以及氧化磷酸化部位的一种重要方法。已知的抑制剂有以下几种:

##### (一) 鱼藤酮

鱼藤酮 (rotenone) 它是一种极毒的植物物质,可用作杀虫剂,其作用是阻断电子从 NADH 向 CoQ 的传递,从而抑制 NADH 脱氢酶,即抑制复合物 I。与鱼藤酮抑制部位相同的抑制剂还有安密妥 (amytal)、杀粉蝶菌素 A (pireicidinA) 等。

##### (二) 抗霉素 A

抗霉素 A (antimycin A) 是由淡灰链霉菌分离出的抗菌素,有抑制电子从细胞色素 b 到细胞色素 c<sub>1</sub> 传递的作用,即抑制复合物 II。

##### (三) 氰化物、硫化氢、一氧化碳和叠氮化物等

这类化合物能与细胞色素 aa<sub>3</sub> 卟啉铁保留的一个配位键结合形成复合物,抑制细胞色素氧化酶活力,阻断电子由细胞色素 aa<sub>3</sub> 向分子氧的传递,这就是氰化物等中毒的原理。

图 6-5 表示出电子传递链中被上述抑制剂所阻断的部位。

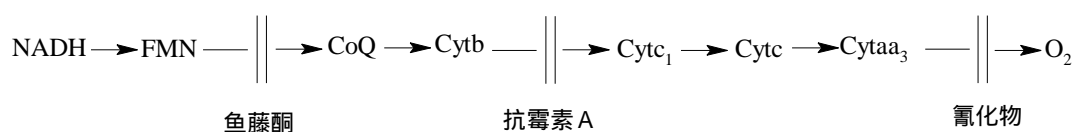


图 6-5 电子传递抑制剂的作用部位

### 第三节 氧化磷酸化作用

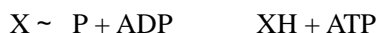
#### 一、氧化磷酸化的概念及类型

糖、蛋白质、脂肪等代谢物的分子结构中蕴藏着大量的化学能，在细胞代谢中，这些物质逐渐分解，经生物氧化逐步释放能量，一部分能量用以形成高能磷酸键，贮存于高能磷酸化合物中，供机体直接利用，一部分能量以热的形式维持体温或散失于环境中。

伴随着放能的氧化作用而进行的磷酸化称为氧化磷酸化作用 (oxidative phosphorylation)。氧化磷酸化作用是将生物氧化过程中放出能量转移到 ATP 的过程。细胞内的 ATP 是由 ADP 磷酸化生成的，在这个过程中需要消耗化学能。ADP 的磷酸化主要有两种方式：一种为底物水平磷酸化，另一种是电子传递链磷酸化，也称氧化磷酸化。氧化磷酸化是机体产生 ATP 的主要形式。

##### (一) 底物水平磷酸化

代谢底物在分解代谢中，有少数脱氢或脱水反应，引起代谢物分子内部能量重新分布，形成某些高能中间代谢物，这些高能中间代谢物中的高能键，可以通过酶促磷酸基团转移反应，直接使 ADP 磷酸化生成 ATP，这种作用称为底物水平磷酸化 (substrate-level phosphorylation)。



式中  $X \sim P$  代表底物在氧化过程中所形成的高能磷酸化合物。例如，在糖分解代谢中，由糖酵解途径生成的 1,3-二磷酸甘油酸和磷酸烯醇式丙酮酸，由三羧酸循环中的  $\alpha$ -酮戊二酸氧化脱羧生成琥珀酸-CoA 都是带有高能键的中间代谢物，可使 ADP 磷酸化为 ATP。

底物水平磷酸化是捕获能量的一种方式，在发酵作用中是进行生物氧化取得能量的唯一方式。底物水平磷酸化和氧的存在与否无关，在 ATP 生成中没有氧分子参与，也不经过电子传递链传递电子。

##### (二) 电子传递链磷酸化

电子传递链磷酸化是指利用代谢物脱下的  $2H$  ( $NADH+H^+$  或  $FADH_2$ ) 经过电子传递链 (呼吸链) 传递到分子氧形成水的过程中所释放出的能量，使 ADP 磷酸化生成 ATP 的作用。简言之， $H$  经呼吸链氧化与 ADP 磷酸化为 ATP 反应的偶联，就是电子传递链磷酸化 (electron transport chain phosphorylation)，又称氧化磷酸化，见图 6-6 所示。

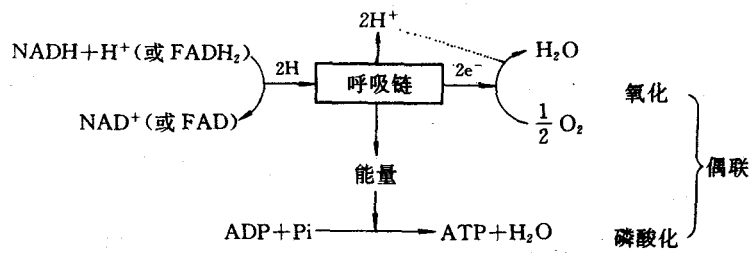


图 6-6 氧化与磷酸化偶联示意图

电子传递链磷酸化是需氧生物获得 ATP 的一种主要方式,是生物体内能量转移的主要环节,需要氧分子的参与。真核生物氧化磷酸化过程在线粒体内膜进行,原核生物在细胞质膜上进行。

## 二、氧化磷酸化的细胞结构基础

线粒体是真核细胞内的一种重要的独特的细胞器,它是细胞内的动力站,其主要功能是进行氧化磷酸化,合成 ATP,为细胞生命活动提供直接能量。

线粒体由外膜、内膜、膜间隙及基质(内室)四部分组成。内膜位于外膜内侧,把膜间隙与基质分开,内膜向基质褶叠形成嵴。见图 6-7-a 所示

用电镜负染法观察分离的线粒体时,可见内膜和嵴的基质面上有许多排列规则的带柄的球状小体,称为基本颗粒,简称基粒。基粒由头部、柄部和基部组成,也称为三联体或 ATP 酶复合体(见图 6-7-b 所示)。

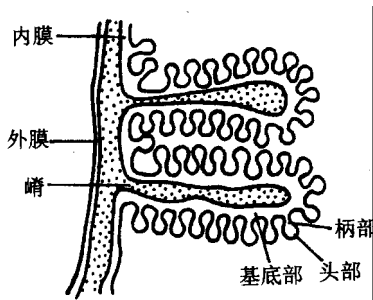


图 6-7-a 部分线粒体基本颗粒结构示意图

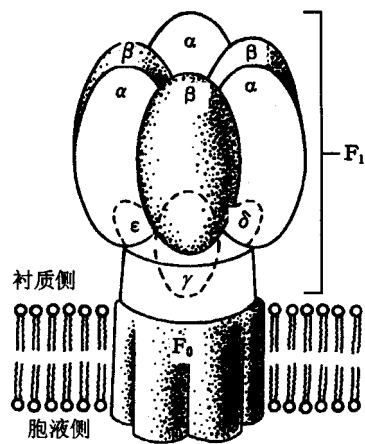


图 6-7-b F<sub>1</sub>-F<sub>0</sub>-ATPase 结构示意图

( - ) 头部

简称  $F_1$  (偶联因子), 它由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$  五种亚基组成的九聚体 ( $3 \times 3$ )。此外,  $F_1$  还含有一个热稳定的小分子蛋白质, 称为  $F_1$  抑制蛋白 ( $F_1$  inhibitor protein), 分子量为 10 000, 专一地抑制  $F_1$  的 ATP 酶活力。它可能在正常条件下起生理调节作用, 防止 ATP 的无谓水解, 但不抑制 ATP 的合成。 $F_1$  的分子量共为 370 000 左右, 其功能是催化 ADP 和  $P_i$  发生磷酸化而生成 ATP。因为它还有水解 ATP 的功能, 所以又称它为  $F_1$ -ATP 酶。

## (二) 基部

简称  $F_0$ , 由嵌入线粒体内膜的疏水蛋白组成, 至少含有 4 条多肽链, 分子量共为 70 000。 $F_0$  具有质子通道的作用, 它能传送质子通过膜到达  $F_1$  的催化部位。

## (三) 柄部

柄部连接  $F_1$  和  $F_0$ , 分子量为 18 000。这种蛋白质没有催化活力。 $F_1$  和  $F_0$  之间的柄含有寡霉素敏感性蛋白 (oligomycin sensitivity conferring protein, OSCP), 因此, 柄部简称 OSCP。OSCP 能控制质子的流动, 从而控制 ATP 的生成速度。

$F_1$ 、OSCP 和  $F_0$  三部分统称 ATP 合成酶 (ATP synthase) 或  $F_1$ - $F_0$ -ATPase 复合物 ( $F_1$ - $F_0$ -ATP synthase complex) 或三联体。因为它是从线粒体内膜上分离出的第五个复合物, 所以又被称为复合物。

复合物的“柄” $F_0$ , 含有质子通道, 镶嵌在线粒体内膜中; 复合物的“头” $F_1$ , 呈球状, 与  $F_0$  结合后这个“头”伸向线粒体膜内的衬质中, 见图 6-7-b 所示。ATP 合成酶是氧化磷酸化作用的关键装置, 也是合成 ATP 的关键装置。

ATP 合成酶分布很广泛, 除线粒体内膜外, 也存在于叶绿体类囊体膜、原核生物 (如大肠杆菌、耐热细菌、嗜盐菌等) 的质膜上。

## 三、氧化磷酸化的偶联部位和 P/O 比

呼吸链中的氧化是放能过程 (exergonic process), ADP 的磷酸化是吸能过程 (endergonic process), 两者只有偶联起来才能形成 ATP。电子在呼吸链中按顺序逐步传递放自由能, 其中释放自由能较多足以用来形成 ATP 的电子传递部位称为偶联部位 (coupling site)。实验证明, 呼吸链的四个复合物中, 复合物 I、III 是偶联部位, 复合物 II 不是偶联部位。NADH 经呼吸链氧化要通过复合物 I、III 和 IV 三个偶联部位, 所以形成 3 个 ATP;  $FADH_2$  (来自于琥珀酸脱氢) 经呼吸链氧化只通过复合物 III 和 IV 二个偶联部位, 只形成 2 个 ATP (见图 6-4)。

在电子传递链中有三处  $E_0$  差异较大的部位。由电子传递体  $E_0$  以及  $E_0$  和  $G$ , 根据计算理论 ( $G = -nF E_0$ ), 也说明复合物 I、III 和 IV 是偶联部位, 和实际测定结果相符, 见图 6-8 与图 6-9 所示。

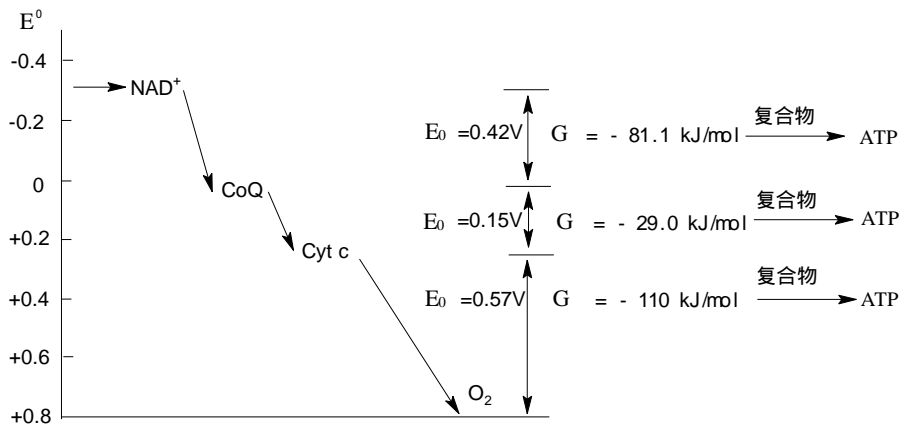


图 6-8 电子传递链中的能量降

(在复合物、和处产生自由能足够用来合成 ATP)

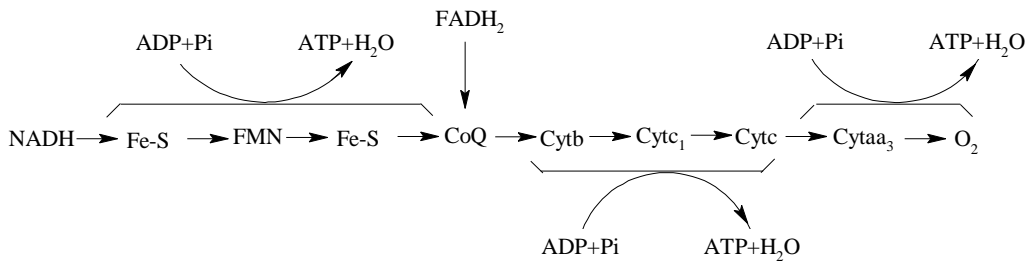


图 6-9 呼吸链中能量 ATP 形成的可能部位

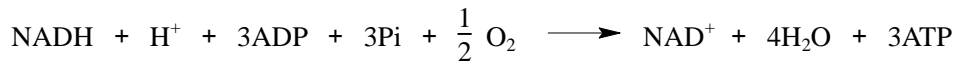
NADH 呼吸链中有三个部位所释放的自由能较高，因此，认定这三个部位是氧化与磷酸化相偶联的部位：分别称为部位 I NADH 和 CoQ 之间的部位；部位 CoQ 和细胞色素 c 之间的部位，部位 细胞色素 c 和氧之间的部位。这样就把电子对由 NADH ( $E_0 = -0.32V$ ) 传递到分子氧 ( $E_0 = +0.82V$ ) 所释放的相当大量的自由能或者说由每个氧原子还原所产生的 219.22 Jk 自由能分成几步，一步步地将能量释放出来(即能量降)。这三个部位所释放的自由能都足以供给 ADP 和无机磷酸形成 ATP。NADH 呼吸链中三个主要释放能量部位及偶联生成 ATP 数目列于表 6-4。(  $G = -nF E_0$  )

表 6-4 呼吸链各偶联部位所释放的自由能

偶联部位	NADH	CoQ (复合物)	CoQ	Cytc (复合物)	Cytc	O <sub>2</sub> (复合物)
$E_0$ (V/mol)		0.42		0.15		0.57
G (kJ/mol)		81.1		29.0		110
生成 ATP 摩尔数		1		1		1

代谢物脱下的 2mol 氢原子，经 NADH 呼吸链氧化而使氧原子还原，有三处可以偶联磷酸化，生成 3mol ATP。但有些代谢物如琥珀酸、脂酰-CoA、磷酸甘油等由黄素脱氢酶类催化脱氢，生成的 FADH<sub>2</sub> 经呼吸链氧化，即不经部位 I，而是直接通过辅酶 Q 进入呼吸链，因此只有两处能偶联磷酸化，产生 2mol ATP。通过电化学实验和测定线粒体抑制剂的 P/O 比值都可得到上面的结果。P/O 比值 (P/O ratio) 是指每消耗 1mol 氧原子所消耗无机磷酸的摩尔数。因为 2mol 氢原子经呼吸链氧化后与 1mol 氧原子结合为水，该过程偶联 ADP 磷酸化生成 ATP 的反应，磷酸化反应要消耗无机磷酸，即每生成 1mol ATP，消耗 1mol 的无机磷酸，所以 P/O 比值反映了每消耗 1mol 氧原子，产生 ATP 的摩尔数。经实际测量得知，NADH 呼吸链 P/O 比值是 3，而 FADH<sub>2</sub> 呼吸链 P/O 比值是 2。

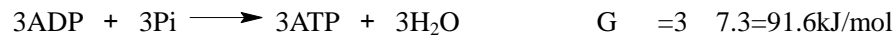
通过氧化与磷酸化偶联生成 ATP 是生物细胞截获能量的重要方式，这种截获能量的效率有多高？研究表明：电子传递链磷酸化正常进行时，只要有 ADP 与 Pi 存在，就有 ATP 生成。其全过程可用方程式表示如下：



这一反应实际上是呼吸链的氧化过程即放能反应与 ATP 的生成即吸能反应的总结果。放能反应为：



吸能反应为：



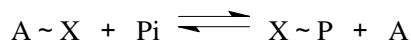
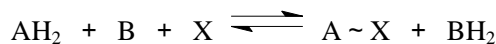
可见，三个 ATP 分子的形成捕获了呼吸链中电子由 NADH 传递到分子氧所产生的全部自由能的 42% ( $\frac{91.6}{219.2} \times 100\%$ )。

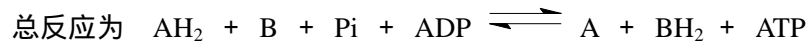
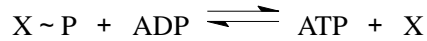
#### 四、氧化磷酸化的作用机理

在 NADH 和 FADH<sub>2</sub> 的氧化过程中，电子传递是如何偶联磷酸化的？目前主要有三个学说，即化学偶联学说、构象变化偶联学说、化学渗透偶联学说。现将这三种学说的主要内容分述如下：

##### (一) 化学偶联学说

化学偶联学说 (chemical-coupling hypothesis) 认为电子传递过程中所释放的化学能直接转到某种高能中间物中，然后由这个高能中间物提供能量使 ADP 和无机磷酸形成 ATP。其大致过程可用下列反应式表示：





A 和 B 分别代表呼吸链上两个相邻的电子传递体, X 为假定的偶联因子, ~ 代表高能键, 氧化还原反应释放的能量贮于高能中间物 A ~ X 中, 然后传给无机磷酸 (Pi) 生成 X ~ P, 最后 X ~ P 将 ~P 转给 ADP 生成 ATP。

由于至今未在线粒体中发现假定的高能中间产物, 且未能分离到偶联因子 X, 并且此学说也不能解释氧化磷酸化依赖于线粒体内膜的完整性, 因而没有得到大家的公认。

### (二) 构象变化偶联学说

构象变化偶联学说 (conformational-coupling hypothesis) 认为电子在传递过程中, 释放的能量使线粒体内膜发生构象变化, 成为收缩态, 即高能构象态, 当这种收缩态变成膨胀态时, 即低能构象态, 就把能量传给 ADP 生成 ATP。总之, 构象变化偶联学说认为能量变化引起维持蛋白质三维构象的一些次级键 (如氢键、疏水基团等) 的数目和位置的变化, 当高能结构中的能量提供给 ADP 和无机磷酸生成 ATP 后, 它就可逆地回到原来的低能状态。也有人认为构象偶联学说是化学偶联学说的另一种提法, 其过程的反应式与化学偶联学说相似, 到目前为止, 还没有发现更多的支持这种学说的证据。

### (三) 化学渗透偶联学说

化学渗透偶联学说 (chemiosmotic-coupling hypothesis) 是由英国生物化学工作者 P. Mitchell 于 1961 年最先提出的, 并已得到较多支持与公认, 因此 P. Mitchell 于 1978 年获得诺贝尔化学奖。其主要论点是认为呼吸链存在于线粒体内膜之上, 当氧化进行时, 呼吸链起质子泵作用, 质子被泵出线粒体内膜的外侧, 造成了膜内外两侧间跨膜的质子电化学梯度 (即质子浓度梯度和电位梯度, 合称为质子移动力), 这种跨膜梯度具有的势能被膜上 ATP 合成酶所利用, 使 ADP 与 Pi 合成 ATP。其要点分述如下:

1. 呼吸链中递氢体和电子传递体在线粒体内膜中是间隔交替排列的, 并且都有特定的位置, 催化反应是定向的。

2. 递氢体有氢泵的作用, 当递氢体从线粒体内膜内侧接受从  $NADH+H^+$  传来的氢后, 可将其中的电子 ( $2e^-$ ) 传给位于其后的电子传递体, 而将两个  $H^+$  质子从内膜泵出到膜外侧, 在电子传递过程中, 每传递一对电子就泵出 6 个  $H^+$  质子 (见图 6-10)。

3. 内膜对  $H^+$  不能自由通过, 泵出膜的外侧  $H^+$  不能自由返回膜内侧, 因而使线粒体内膜外侧的  $H^+$  质子浓度高于内侧, 造成  $H^+$  质子浓度的跨膜梯度, 此  $H^+$  浓度差使外侧的 pH 较内侧的 pH 低 1.0 单位左右, 并使原有的外正内负的跨膜电位增高, 此电位差中就包含着电子传递过程中所释放的能量, 好象电池两极的离子浓度差造成电位差含有电能一样。这种  $H^+$  质子梯度和电位梯度就是质子返回内膜的一种动力。

4. 利用线粒体内膜上的 ATP 合成酶的特点, 将膜外侧的  $2H^+$  转化成膜内侧的  $2H^+$ , 与氧生成水, 即  $H^+$  通过 ATP 酶的特殊途径, 返回到基质, 使质子发生逆向回流。由于  $H^+$  浓度梯度所释放的自由能, 偶联 ADP 与无机磷酸合成 ATP, 质子的电化学梯度也随之消失 (见图 6-11)。

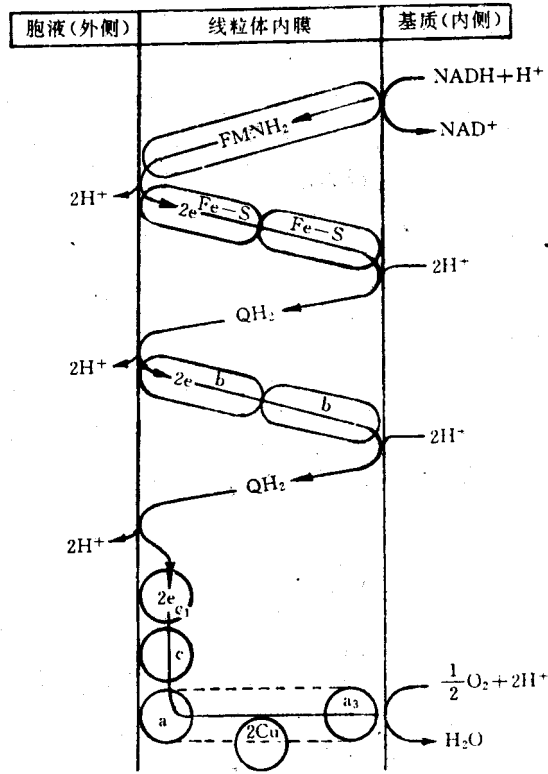


图 6-10 化学渗透学说中呼吸链上氧化还原示意图

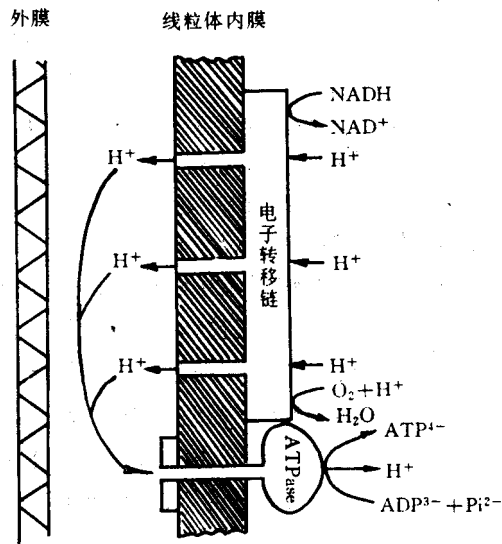


图 6-11 质子移动的氧化磷酸化机理



化学渗透学说是较为公认的对氧化磷酸化作用机理有一定说服力的学说。但远不够成熟，其递氢体和电子传递体的顺序以及三个磷酸化的偶联部位与前述的呼吸链不完全一致，故有待于进一步研究。

在体内 95% 的 ATP 来自氧化磷酸化作用，只有少量的 ATP 是通过非氧化磷酸化产生的。

#### (四) 氧化磷酸化的重组

在研究 ATP 合成的分子机理中，E.Racker 及其同事用适当方法破碎线粒体，他们将线粒体分成亚线粒体泡，用胰蛋白酶或尿素进一步处理，可把亚线粒体泡分为两个部分：一是不溶性的膜泡部分，这部分只能够传递电子，但不能进行磷酸化作用，另一部分是可溶性部分（即内膜球体），这部分有催化 ATP 水解的能力，但不能传递电子，当把不溶性的膜泡和可溶性的部分合在一起时，亚线粒体颗粒重新组成，即膜泡的周围又聚集了内膜球体，见图 6-12 所示。这时相当部分的氧化磷酸化作用又重新恢复。ATP 合成系统这个成功的重组实验证明内膜（膜泡）含有电子传递链的酶系，而内膜球体（称为  $F_1$ -ATP 酶）则含有将电子传递链与氧化磷酸化连接起来的偶联因子即  $F_1$  因子。这个氧化磷酸化的重组实验结果和化学渗透偶联学说是相符的。

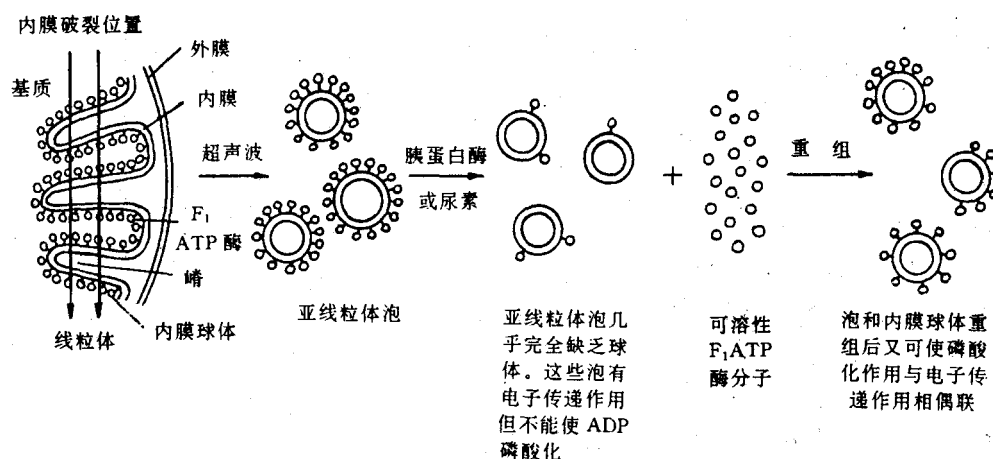


图 6-12 亚线粒体泡的制备示意图。

将亚线粒体泡分解成失去磷酸化作用的无球体的部分和可溶性  $F_1$ ATP 酶球体部分，然后又重组为具有氧化磷酸化作用的泡，多数亚线粒体泡的膜是内表面翻转向外的线粒体内膜。

### 五、氧化磷酸化的解偶联剂和抑制剂

氧化磷酸化过程可受到许多化学因素的作用。不同化学因素对氧化磷酸化过程的影响方式不同，根据它们的不同影响方式可分：解偶联剂和氧化磷酸化抑制剂。

#### (一) 解偶联剂

某些化合物能够消除跨膜的质子浓度梯度或电位梯度，使 ATP 不能合成，这种既不直

接作用于电子传递体也不直接作用于 ATP 合酶复合体，只解除电子传递与 ADP 磷酸化偶联的作用称为解偶联作用，其实质是光有氧化过程（电子照样传递）而没有磷酸化作用。这类化合物被称为解偶联剂（uncouplers）。

人工的或天然的解偶联剂主要有下列三种类型：

#### 1. 化学解偶联剂

2,4-二硝基苯酚（2,4-dinitrophenol, DNP）是最早发现的也是最典型的化学解偶联剂（chemical uncoupling agent），其特点是呈弱酸性和脂溶性，在不同的 pH 环境中可释放  $H^+$  和结合  $H^+$ ：在 pH 7.0 的环境中，DNP 以解离形式存在，不能透过线粒体膜；在酸性环境中，解离的 DNP 质子化，变为脂溶性的非解离形式，能透过膜的磷脂双分子层，同时把一个质子从膜外侧带入到膜内侧，因而破坏电子传递形成的跨膜质子电化学梯度，起着消除质子浓度梯度的作用，抑制 ATP 的形成。

#### 2. 离子载体

有一类脂溶性物质能与某些阳离子结合，插入线粒体内膜脂双层，作为阳离子的载体，使这些阳离子能穿过线粒体内膜。它和解偶联剂的区别在于它是作为  $H^+$  离子以外的其它一价阳离子的载体。例如，由链霉菌产生的抗菌素缬氨霉素（valinomycin）能与  $K^+$  离子配位结合形成脂溶性复合物，穿过线粒体内膜，从而将膜外的  $K^+$  转运到膜内。又如，短杆菌肽（gramicidin）可使  $K^+$ 、 $Na^+$  及其它一些一价阳离子穿过内膜。这类离子载体（ionophore）由于增加了线粒体内膜对一价阳离子的通透性，消除跨膜的电位梯度，消耗了电子传递过程中产生的自由能，从而破坏了 ADP 的磷酸化过程。

#### 3. 解偶联蛋白

解偶联蛋白（uncoupling protein）是存在于某些生物细胞线粒体内膜上的蛋白质，为天然的解偶联剂。如动物的褐色脂肪组织的线粒体内膜上分布有解偶联蛋白，这种蛋白构成质子通道，让膜外质子经其通道返回膜内而消除跨膜的质子浓度梯度，抑制 ATP 合成而产生热量以增加体温。图 6-13 示意三种解偶联剂的作用机理。

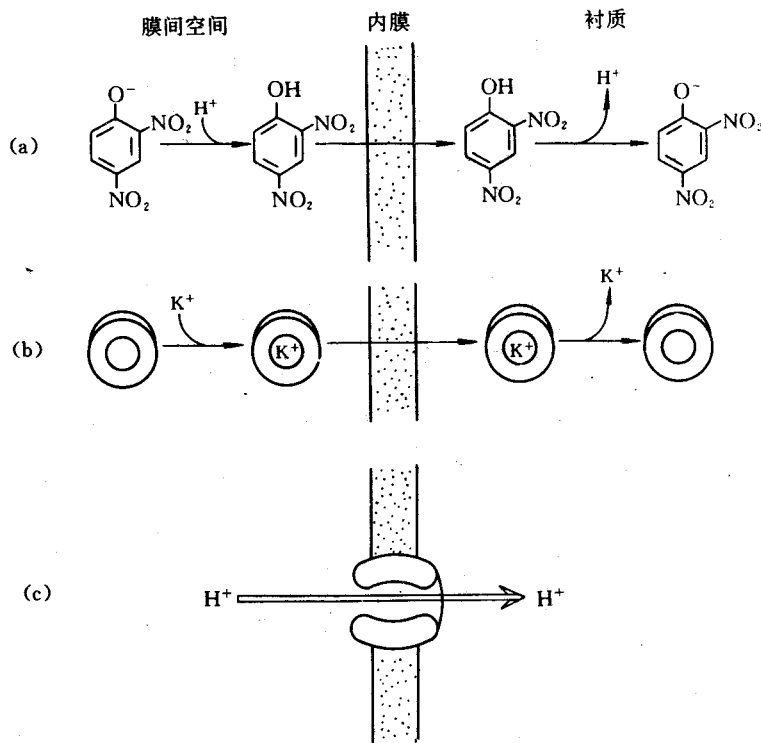


图 6-13 (a) 2,4-二硝基苯酚 (b) 缬氨霉素 (c) 解偶联蛋白的作用机理

解偶联剂不抑制呼吸链的电子传递，甚至还加速电子传递，促进燃料分子（糖、脂肪、蛋白质）的消耗和刺激线粒体对分子氧的需要，但不形成 ATP，电子传递过程中释放的自由能以热量的形式散失。如患病毒性感冒时，体温升高，就是因为病毒毒素使氧化磷酸化解偶联，氧化产生的能量全部变为热使体温升高。又如，在某些环境条件或生长发育阶段，生物体内也发生解偶联作用：冬眠动物、耐寒的哺乳动物和新出生的温血动物通过氧化磷酸化的解偶联作用，呼吸作用照常进行，但磷酸化受阻，不产生 ATP，也不需 ATP，产生的热以维持体温；植物在干旱、寒害或缺钾等不良条件下，可能发生解偶联而不能合成 ATP，呼吸底物的氧化照样进行，成为“徒劳”呼吸。

要说明的是解偶联剂只抑制电子传递链中氧化磷酸化作用的 ATP 生成，不影响底物水平磷酸化。

## (二) 氧化磷酸化抑制剂

氧化磷酸化抑制剂 (oxidative phosphorylation inhibitor) 主要是指直接作用于线粒体  $F_0F_1$ -ATP 合酶复合体中的  $F_1$  组分而抑制 ATP 合成的一类化合物。寡霉素 (oligomycin) 是这类抑制剂的一个重要例子，它与  $F_0$  的一个亚基结合而抑制  $F_1$ ；另一个例子是双环己基碳二亚胺 (dicyclohexylcarbodiimide, DCCD)，它阻断  $F_0$  的质子通道。这类抑制剂直接抑制了 ATP 的生成过程，使膜外质子不能通过  $F_0F_1$ -ATP 合酶返回膜内，膜内质子继续泵出

膜外显然越来越困难，最后不得不停止，所以这类抑制剂间接抑制电子传递和分子氧的消耗。

总之，氧化磷酸化抑制剂不同于解偶联剂，也不同于电子传递抑制剂。氧化磷酸化抑制剂抑制电子传递，进而抑制 ATP 的形成，同时也抑制氧的吸收利用；解偶联剂不抑制电子传递，只抑制 ADP 磷酸化，因而抑制能量 ATP 的生成，氧消耗量非但不减而且还增加；电子传递抑制剂是直接抑制了电子传递链上载体的电子传递和分子氧的消耗，因为代谢物的氧化受阻，偶联磷酸化就无法进行，ATP 的生成随之减少。例如当具有极毒的氰化物进入体内过多时，可以因  $\text{CN}^-$  与细胞色素氧化酶的三价铁结合成氰化高铁细胞色素氧化酶，使细胞色素失去传递电子的能力，结果呼吸链中断，磷酸化过程也随之中断，细胞死亡。

## 六、线粒体的穿梭系统

呼吸链、生物氧化与氧化磷酸化都是在线粒体 (mitochondria) 内进行的。线粒体的主要功能是氧化供能，相当于细胞的发电厂。线粒体具有双层膜的结构，外膜的通透性较大，内膜却有着较严格的通透选择性，通常通过外膜与细胞浆进行物质交换。

糖酵解作用是在胞浆液 (cytosol) 中进行的，在真核生物胞液中的 NADH 不能通过正常的线粒体内膜，要使糖酵解所产生的 NADH 进入呼吸链氧化生成 ATP，必须通过较为复杂的过程，据现在了解，线粒体外的 NADH 可将其所带的 H 转交给某种能透过线粒体内膜的化合物，进入线粒体内后再氧化。即 NADH 上的氢与电子可以通过一个所谓穿梭系统的间接途径进入电子传递链。能完成这种穿梭任务的化合物有磷酸甘油和苹果酸等。在动物细胞内有两个穿梭系统，一是磷酸甘油穿梭系统，主要存在于动物骨骼肌、脑及昆虫的飞翔肌等组织细胞中；二是苹果酸穿梭系统，主要存在于动物的肝、肾和心肌细胞的线粒体中。

### (一) 磷酸甘油穿梭系统

胞液中的 NADH 在两种不同的  $\beta$ -磷酸甘油脱氢酶的催化下，以  $\beta$ -磷酸甘油为载体穿梭往返于胞液和线粒体之间，间接转变为线粒体内膜上的  $\text{FADH}_2$  而进入呼吸链，这种过程称为磷酸甘油穿梭 (glycerol phosphate shuttle)。

在线粒体外的胞液中，糖酵解产生的磷酸二羟丙酮和  $\text{NADH}+\text{H}^+$ ，在以  $\text{NAD}^+$  为辅酶的  $\beta$ -磷酸甘油脱氢酶的催化下，生成  $\beta$ -磷酸甘油， $\beta$ -磷酸甘油可扩散到线粒体内，再由线粒体内膜上的以 FAD 为辅基的  $\beta$ -磷酸甘油脱氢酶 (一种黄素脱氢酶) 催化，重新生成磷酸二羟丙酮和  $\text{FADH}_2$ ，前者穿出线粒体返回胞液，后者  $\text{FADH}_2$  将 2H 传递给 CoQ，进入呼吸链，最后传递给分子氧生成水并形成 ATP (见图 6-14)。由于此呼吸链和琥珀酸的氧化相似，越过了第一个偶联部位，因此胞液中  $\text{NADH}+\text{H}^+$  中的两个氢被呼吸链氧化时就只形成 2 分子 ATP，比线粒体中  $\text{NADH}+\text{H}^+$  的氧化少产生 1 分子 ATP，也就是说经过这个穿梭过程每转一圈要消耗 1 个 ATP。电子传递之所以要用 FAD 作为电子受体是因为线粒体内 NADH 的浓度比胞质中的高，如果线粒体和胞质中的  $\beta$ -磷酸甘油脱氢酶都与  $\text{NAD}^+$  连接，则电子就不能进入线粒体。利用 FAD 能使电子逆着  $\text{NADH}+\text{H}^+$  梯度而从胞质转移到线粒体中，转入的代价是每对电子要消耗 1 分子 ATP。这种穿梭作用存在于某些

肌肉组织和神经细胞，因此这种组织中每分子葡萄糖氧化只产生 36 分子的 ATP（见糖代谢一章内容）。

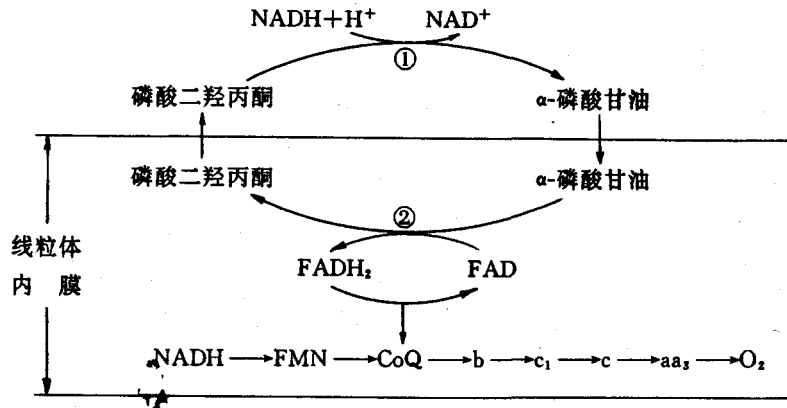


图 6-14 磷酸甘油穿梭作用

胞液中  $\alpha$ -磷酸甘油脱氢酶； 线粒体内  $\alpha$ -磷酸甘油脱氢酶

### (二) 苹果酸-天冬氨酸穿梭系统

苹果酸-天冬氨酸穿梭系统 (malate-aspartate shuttle) 需要两种谷-草转氨酶、两种苹果酸脱氢酶和一系列专一的透性酶共同作用。首先，NADH 在胞液苹果酸脱氢酶（辅酶为  $\text{NAD}^+$ ）催化下将草酰乙酸还原成苹果酸，然后苹果酸穿过线粒体内膜到达内膜衬质，经衬质中苹果酸脱氢酶（辅酶也为  $\text{NAD}^+$ ）催化脱氢，重新生成草酰乙酸和  $\text{NADH} + \text{H}^+$ ； $\text{NADH} + \text{H}^+$  随即进入呼吸链进行氧化磷酸化，草酰乙酸经衬质中谷-草转氨酶催化形成天冬氨酸，同时将谷氨酸变为  $\alpha$ -酮戊二酸，天冬氨酸和  $\alpha$ -酮戊二酸通过线粒体内膜返回胞液，再由胞液谷-草转氨酶催化变成草酰乙酸，参与下一轮穿梭运输，同时由  $\alpha$ -酮戊二酸生成的谷氨酸又回到衬质（见图 6-15）。上述代谢物均需经专一的膜载体通过线粒体内膜。线粒体外的  $\text{NADH} + \text{H}^+$  通过这种穿梭作用而进入呼吸链被氧化，仍能产生 3 分子 ATP，此时每分子葡萄糖氧化共产生 38 分子 ATP。

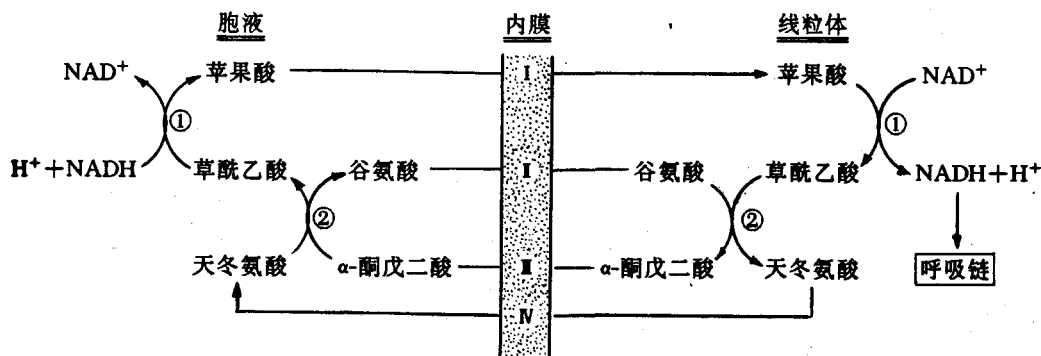


图 6-15 苹果酸、天冬氨酸穿梭作用

胞液或线粒体苹果酸脱氢酶； 胞液或线粒体谷-草转氨酶； ~ 线粒体内膜上的不同转位酶

在原核生物中，胞液中的 NADH 能直接与质膜上的电子传递链及其偶联装配体作用，不存在穿梭作用，因而当每分子葡萄糖完全氧化成 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O 时，总共能生成 38 分子的 ATP。

## 七、能荷

### (一) 能荷的概念

在细胞内存在着三种腺苷酸，即 ATP、ADP 和 AMP，称为腺苷酸库 (adenylate pool)。在细胞中 ATP、ADP 和 AMP 在某一时间的相对数量控制着细胞的代谢活动。为了衡量细胞中高能磷酸状态在数量上的大小，Atkinson (1968) 提出了能荷的概念。能荷的大小可以说明生物体中 ATP、ADP、AMP 系统的能量状态。能荷 (energy charge) 的定义可用下式表示：

$$\text{能荷} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

从以上方程式可以看出储存在 ATP、ADP 系统中的能量是与 ATP 的摩尔数加上二分之一 ADP 的摩尔数成正比的，亦即能荷的大小取决于 ATP 和 ADP 的多少。

### (二) 能荷对 ATP 生成与利用途径的调节

能荷的数值的变化范围为 0~1.0，即当细胞中全部的 AMP 和 ADP 都转化成 ATP 时，能荷为 1.0，在细胞以较快的速度进行磷酸化 (合成 ATP)，而生物合成反应又很少进行时，才能出现这种情况，此时，腺苷酸系统中可利用态的高能磷酸键数量最大；当腺苷酸化合物都呈 ADP 状态时，此时能荷为 0.5，系统含有一半的高能磷酸键；而当所有的 ATP 和 ADP 都转化为 AMP 时，则能荷等于零，此时腺苷酸系统中完全不存在高能化合物。Atkinson 还证明：能荷高时能抑制生物体内 ATP 的生成，但却促进 ATP 的利用，也就是说高的能荷能够促进合成代谢而抑制分解代谢 (见图 6-16)。

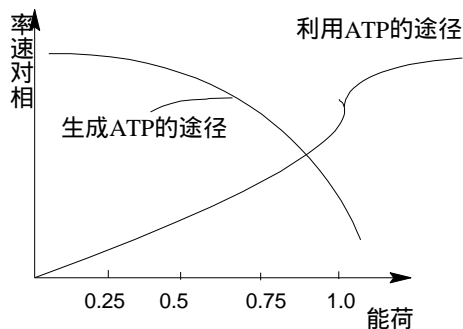
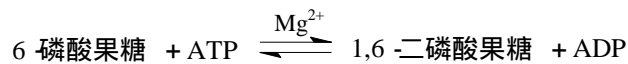


图 6-16 能荷对 ATP 生成途径 (分解代谢) 和 ATP 利用途径 (合成代谢) 相对速率的影响

由图 6-16 可见，能荷小时，生成 ATP 的速率高，生物可以通过高分子的降解以产生能量；当能荷逐渐增加时，此途径就下降，也就是分解代谢减弱。当能荷低时，ATP 利用的速率就低，而随着能荷的增加，ATP 利用的相对速率就增加。这就说明生物体内 ATP 的利用和形成有自我调节与控制的作用。从图中还可以看到，这两条曲线相交于 0.9 处，显然这些分解代谢与合成代谢能够将生物体内能荷的数量控制在相当狭窄的范围之内。所以说，细胞中的能荷犹如 pH 缓冲体系一样是可以缓冲的。根据测定，大多数细胞中的能荷在 0.8 到 0.95 之间。

细胞中的能荷对 ATP 的生成与利用途径的调节可通过 ATP、ADP 及 AMP 对一些酶的反应进行变构调节。如 ATP、ADP 系统调节糖酵解的主要部位是在 6-磷酸果糖和 1,6-二磷酸果糖相互转化处：



催化此反应的磷酸果糖激酶是变构酶，受到 ATP 的强烈抑制，但却被 AMP 和 ADP 所激活。反之，1,6-二磷酸果糖磷酸酯酶则能受 ATP 的激活和被 AMP 所抑制。另外，在三羧酸循环中，当细胞或组织能荷等于 1.0 时，这时高浓度的 ATP 和低水平的 AMP 会降低柠檬酸合成酶和异柠檬酸脱氢酶的活性，从而使三羧酸循环的活性降低以减少呼吸作用而达到调节生成 ATP 数量的目的。

总之，能荷由 ATP、ADP 和 AMP 的相对数量决定，它在代谢中起调控作用。高能荷能抑制 ATP 的生成（分解代谢）途径而激活 ATP 利用（合成代谢）的途径。

## 第四节 其它末端氧化酶系统

通过细胞色素系统进行氧化的体系是一切动物、植物、微生物的主要氧化途径，它与 ATP 的生成紧密相关。除了细胞色素氧化酶系统外，还有一些氧化体系，又称为非线粒体氧化体系，它们与 ATP 的生成无关，从底物脱氢到  $\text{H}_2\text{O}$  的形成是经过其它末端氧化酶系完成的，但具有其它重要生理功能。

### 一、多酚氧化酶系统

多酚氧化酶 (polyphenol oxidase) 系统存在于微粒体中，是含铜的末端氧化酶，也称儿茶酚氧化酶，由脱氢酶、醌还原酶和酚氧化酶组成，催化多酚（如对苯二酚、邻苯二酚、邻苯三酚）氧化为醌，醌又可被  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ （或  $\text{NADH} + \text{H}^+$ ）还原为多元酚， $\text{NADPH} + \text{H}^+$ （或  $\text{NADH} + \text{H}^+$ ）来自于代谢物（呼吸底物）的脱氢反应，这样便构成以多酚氧化酶为末端的氧化还原系统（见图 6-17）。

其作用如下：

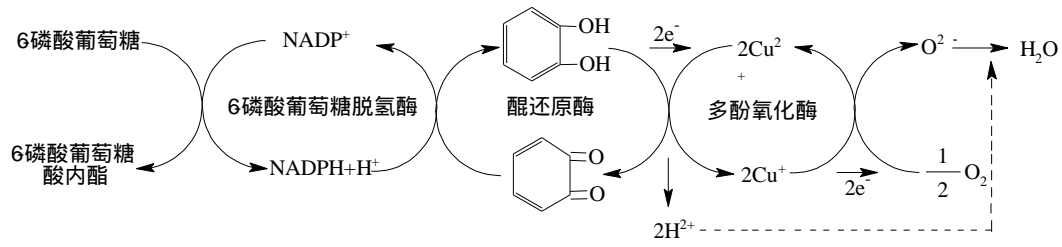


图 6-17 多酚氧化酶系统

多酚氧化酶普遍存在于植物体内，主要分布于细胞质中。马铃薯块茎、苹果、梨及茶叶中都富含这种酶。块茎、果实削皮后出现褐色，荔枝果皮变为褐色以及叶片受机械损伤后的褐变都是多酚氧化酶作用的结果。茶叶中的多酚氧化酶活力很高，制红茶时，须揉捻茶叶，揉破细胞，使多酚氧化酶与茶叶中的儿茶酚和单宁接触，将这些酚类化合物氧化并聚合成红褐色的色素；而制绿茶时，须将采下的新鲜茶叶立即焙火杀青，破坏多酚氧化酶，以保持茶叶的绿色。

图 6-17 表明，代谢底物脱下的氢通过多酚氧化酶系统氧化生成水，并消耗分子氧。该系统被认为是一种电子传递途径，但不与 ADP 磷酸化偶联，不生成 ATP。其生理意义尚不很清楚。有研究发现，多酚氧化酶与植物组织的受伤反应有关，植物组织受伤以及受病菌侵害时，植物多酚氧化酶活力增高（呼吸作用也增强），有利于把酚类化合物氧化为醌，醌对病菌有毒害而起杀菌抗病作用。

## 二、抗坏血酸氧化酶系统

抗坏血酸氧化酶（ascorbic acid oxidase）也是一种含铜的氧化酶，它催化抗坏血酸氧化为脱氢抗坏血酸，其过程常与谷胱甘肽、NADPH（或 NADH）的氧化还原相偶联，形成一个以抗坏血酸氧化酶系统为末端的氧化还原系统（见图 6-18）。

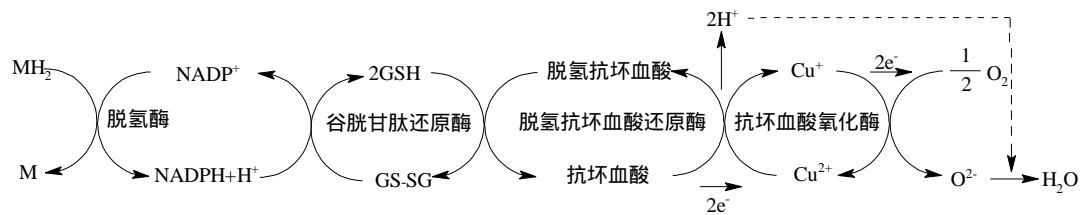
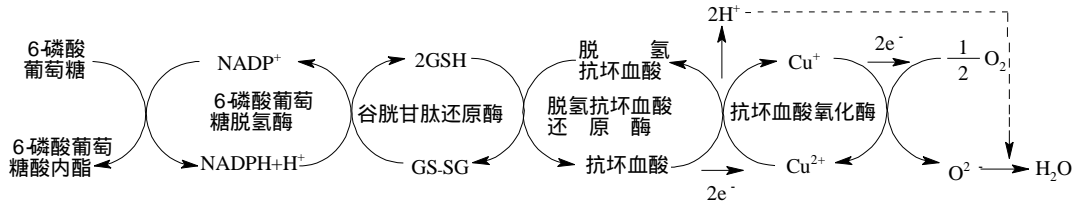


图 6-18 抗坏血酸氧化酶系统

抗坏血酸氧化酶在植物中普遍存在，特别是黄瓜、南瓜等，主要也分布于细胞质中。抗坏血酸氧化酶系统促进代谢底物脱氢氧化并消耗分子氧生成水，也被认为是一种呼吸电



子传递途径，但以抗坏血酸氧化酶为末端的电子传递过程不和 ADP 磷酸化相偶联，不生成 ATP。其生理意义仍不很清楚。但植物组织感染病菌后，抗坏血酸氧化酶活力增高，呼吸增强，耗氧量增加，三者呈平行关系。如植物组织感染病菌后，磷酸戊糖途径中的 6-磷酸葡萄糖脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的活力明显增高，并与抗坏血酸氧化酶活力增高呈平行关系，这表明抗坏血酸氧化酶系统可能与植物的抗病性有关。



此外，抗坏血酸氧化酶系统可以防止含巯基蛋白质的氧化，延缓衰老进程。

### 三、细胞色素 P<sub>450</sub> 系统

在动植物细胞的内质网膜上也有一些电子传递链，但不与 ADP 磷酸化相偶联，不生成 ATP。其中，最重要的一种电子传递链是由黄素蛋白、铁硫蛋白和细胞色素 P<sub>450</sub> 组成的电子传递体系，称为细胞色素 P<sub>450</sub> 系统。

细胞色素 P<sub>450</sub> 是一种以铁卟啉（血红素）为辅基的蛋白质，属于 b 族细胞色素，因为还原型的细胞色素 P<sub>450</sub> 与一氧化碳的配位复合物 P<sup>2+</sup><sub>450</sub>-CO 在 450nm 有二个强吸收峰，故称为细胞色素 P<sub>450</sub>。它与细胞色素氧化酶 (Cyt<sub>aa3</sub>) 类似，能与氧直接作用，但它属于单加氧酶类 (monooxygenases)。单加氧酶催化的反应是将分子氧中的一个氧原子加到底物上，使底物羟化，另一个氧原子被还原为水，所以又称为混合功能氧化酶或羟化酶。这种加氧作用 (羟化作用) 的总反应如下：



在动植物细胞内，细胞色素 P<sub>450</sub> 系统催化底物的加氧 (羟化) 作用，对正常的物质代谢或对进入体内的药物代谢都有重要意义。细胞色素 P<sub>450</sub> 系统的组成和电子传递过程很复杂，尚未完全清楚，目前已知该系统至少含有黄素蛋白 (辅基为 FAD) 铁硫蛋白和细胞色素 P<sub>450</sub> 等组分，以 NADPH 为电子最初供体，分子氧为电子最终受体，其电子传递过程简化表示于图 6-19。

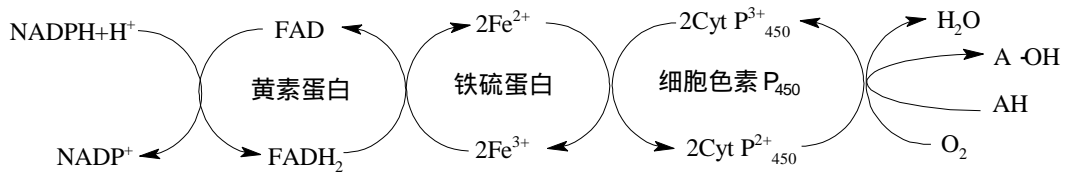


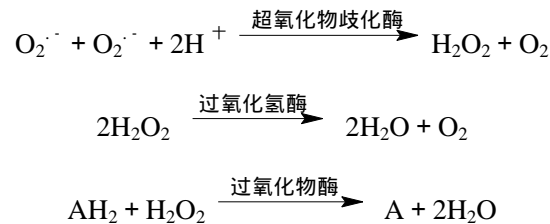
图 6-19 细胞色素 P<sub>450</sub> 系统

(Cyt P<sup>3+</sup><sub>450</sub> 和 Cyt P<sup>2+</sup><sub>450</sub> 分别表示细胞色素 P<sub>450</sub> 的氧化型和还原型)

#### 四、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶系统

在许多酶促反应或非酶反应中，或某些环境因素（如电离辐射、强光等）影响下，生物体内产生了更活泼的含氧物质，如  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 、脂质过氧化中间产物等，统称活性氧。其中的超氧阴离子自由基（ $\text{O}_2^{\cdot -}$ ）和过氧化氢（ $\text{H}_2\text{O}_2$ ）是很强的氧化剂，它们在细胞代谢过程中产生，又对细胞本身有很强的毒害作用，如蛋白质、膜脂等生物大分子极易受到活性氧的攻击，损伤严重时导致代谢紊乱和疾病。因此必须及时清除，机体才能免受其害。生物在长期进化过程中，体内形成了一套及时有效地清除活性氧的机制，使活性氧的生成与清除保持动态平稳。超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶就是这个清除系统中的重要成员。

超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶广泛存在于需氧生物体内。超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）是一类含金属的酶，按所含的金属不同分为：Cu、Zn-SOD、Mn-SOD 和 Fe-SOD 三种类型，Cu、Zn-SOD 主要分布于高等植物的叶绿体和细胞质中；Mn-SOD 主要分布于真核生物线粒体中；Fe-SOD 主要分布于细菌中。它们催化超氧阴离子自由基（ $\text{O}_2^{\cdot -}$ ）的歧化反应形成  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。过氧化氢酶（catalase, CAT）是以铁卟啉为辅基的酶，催化过氧化氢分解形成  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{O}_2$ 。过氧化物酶（peroxidase, POD）也是以铁卟啉为辅基的酶，催化过氧化氢氧化抗坏血酸、胺类和酚类化合物。这些酶作为氧化系统所催化的反应如下：



上述三类酶在清除机体内的活性氧过程中起着十分重要的作用。以它们为主，配合其它酶，组成一个清除活性氧的酶系统，反应过程见图 6-20。

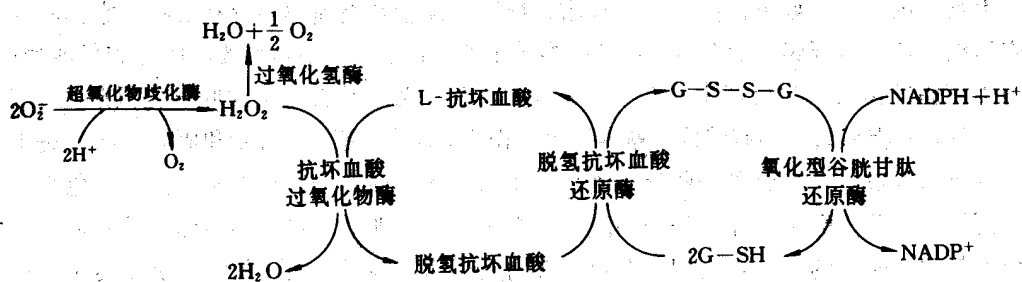


图 6-20 清除活性氧的酶系统及其催化的反应过程

## 五、植物抗氰氧化酶系统

在植物线粒体内膜上，除了以细胞色素氧化酶为末端的正常呼吸链之外，还有以抗氰氧化酶为末端的抗氰呼吸链。抗氰氧化酶 (cyanide resistant oxidase, CRO) 是一种含铁的蛋白质，但不是细胞色素和铁硫蛋白那样的含铁蛋白质，而是一种非血红素铁蛋白，容易被氧肟酸抑制，却不被氰或氰化物抑制，因此而得名。在某些高等植物中，例如，玉米、豌豆、绿豆的种子和马铃薯的块茎等都含有抗氰氧化酶。这些植物在用 KCN、 $\text{NaN}_3$ 、CO 处理时，呼吸作用并未被完全抑制，仍表现出一定程度的氧吸收，这是因为电子传递不经过细胞色素氧化酶系统，而是通过对氰化物不敏感的抗氰氧化系统传给氧。这种呼吸称为抗氰呼吸。

以抗氰氧化酶 (CRO) 为末端氧化酶的抗氰电子传递顺序见图 6-21。

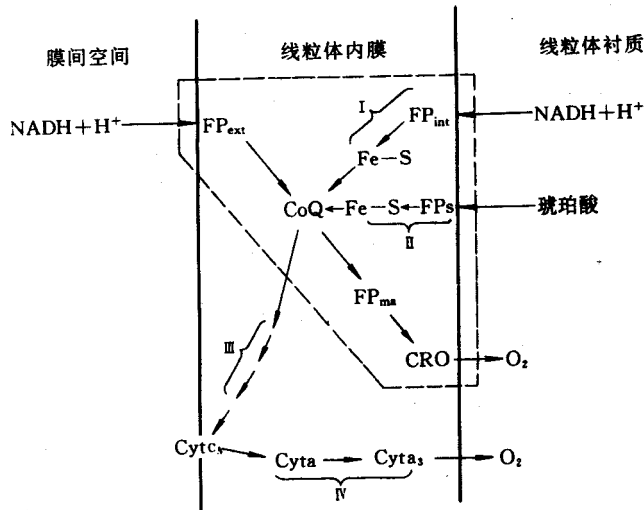


图 6-21 抗氰呼吸电子传递过程 (虚线方框内)

I、I、  
为正常呼吸链的四个复合物；  
FPma 为一种具有中等氧化还原电位的黄素蛋白；  
CRO 为抗氰氧化酶

由图 6-21 可见，抗氰呼吸途径的电子传递是在正常呼吸链中，电子从 CoQ 分路，电子传至 CoQ 以前的途径相同；从 CoQ 以后电子经一种黄素蛋白 (FPma) 传递给抗氰氧化酶再直接传递到分子氧，并且生成  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，而不是生成  $\text{H}_2\text{O}$ 。实验表明这段电子传递不生成 ATP。因此 线粒体内的  $\text{NADH} + \text{H}^+$  经抗氰电子传递的 P/O 比为 1 即生成 1 分子 ATP；琥珀酸和线粒体外的  $\text{NADH} + \text{H}^+$  的 P/O 比为 0，即不生成 ATP。

电子传递所释放的自由能完全以热的形式散发。这可能是抗氰呼吸的生理意义之一，产生热量提高组织温度，有利于低温沼泽地区植物的开花。如天南星科海芋属植物开花时其花序进行抗氰呼吸，虽然环境温度只有 20 ，但花序温度提高至 40 ，使其芳香腺里

的胺或吲哚挥发，用于引诱昆虫传粉。

#### 主要参考文献

- [1] 吴显荣. 基础生物化学 (第二版). 北京: 中国农业出版社, 1997
- [2] 唐 咏, 吕淑霞. 基础生物化学. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1995
- [3] 沈黎明. 基础生物化学. 北京: 中国林业出版社, 1996
- [4] 阎隆飞, 李明启编. 基础生物化学. 北京: 农业出版社, 1985
- [5] 沈 同, 王镜岩编. 生物化学 (第二版). 北京: 高等教育出版社, 1990
- [6] 郭蔼光. 基础生物化学 (面向 21 世纪课程教材). 北京: 高等教育出版社, 2001
- [7] Conn, E. E., Stumpf, P. K., Bruening, G and Dol, R. H., *Ortlines of Biochemistry*, 5<sup>th</sup> ed., John Wiley & Sons, Inc. 1987
- [8] Goodwin, T. W. and Mercer, E. I., *Introduction to Plant Biogchemistry*, second edition, Pergamon Press Ltd. 1983
- [9] Lehninger, A. L., Nelson, D. L. and Cox, M. M. *Principles of Biochemistry*, second edition. Worth Publishers, Inc. 1993
- [10] Stryer, L. ,*Biochemistry* 3rd edition W.H.Freeman and Co.New Tork,1988

吕淑霞 ( 沈阳农业大学 )

第六章 生物氧化与氧化磷酸化 .....	189
第一节 生物氧化概述 .....	189
一、生物氧化的概念、特点、方式.....	189
二、氧化还原电位及自由能 .....	191
三、高能磷酸化合物 .....	194
第二节 电子传递链 .....	199
一、电子传递链的组成及其功能 .....	199
二、电子传递链及其传递体的排列顺序.....	202
三、电子传递体复合物的组成 .....	203
四、电子传递抑制剂 .....	205
第三节 氧化磷酸化作用 .....	206
一、氧化磷酸化的概念及类型 .....	206
二、氧化磷酸化的细胞结构基础 .....	207
三、氧化磷酸化的偶联部位和 P/O 比 .....	208
四、氧化磷酸化的作用机理 .....	210
五、氧化磷酸化的解偶联剂和抑制剂.....	213
六、线粒体的穿梭系统 .....	216
七、能荷 .....	218
第四节 其它末端氧化酶系统 .....	219
一、多酚氧化酶系统 .....	219
二、抗坏血酸氧化酶系统 .....	220
三、细胞色素 P <sub>450</sub> 系统.....	221
四、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶系统.....	222
五、植物抗氰氧化酶系统 .....	223