

第八章 蛋白质降解和氨基酸代谢

蛋白质是生物体最重要的大分子之一，是一切生命活动的物质基础。在生物体内，蛋白质不断地进行着分解和合成代谢，使物质得到有效分配和利用，使生命得到体现。

蛋白质的降解产物氨基酸，不仅能重新合成蛋白质，而且是许多重要生物分子的前体，例如：嘌呤、嘧啶、卟啉、某些维生素和激素等。当机体摄取的氨基酸过量时，氨基酸可以发生脱氨基作用，产生的酮酸可以通过糖异生途径转变为葡萄糖，也可以通过三羧酸循环氧化成二氧化碳和水，并为机体提供所需能量。

不同生物体利用氮源合成氨基酸的能力不同。脊椎动物不能合成全部 20 种蛋白质氨基酸。高等动物能利用铵离子合成氨基酸，但不能利用硝酸、亚硝酸和大气中的氮气。高等植物能合成全部蛋白质氨基酸，也能利用氨、硝酸和亚硝酸作为氮源，许多豆科植物还能通过共生关系利用大气中的氮气。微生物合成氨基酸及对氮源的利用能力差异很大，例如溶血链球菌需要 17 种氨基酸，大肠杆菌能合成全部蛋白质的氨基酸，固氮微生物能利用大气氮合成氨及氨基酸。

第一节 蛋白质的酶促降解

人和动物要不断地从食物中摄取蛋白质，食物中蛋白质进入人体后，在消化道中经过一系列复杂的水解反应降解成氨基酸才能被组织利用。

在植物体内，特别是当种子萌发时，蛋白质发生强烈的降解作用，产生的氨基酸被重新利用形成幼苗中的蛋白质。可见蛋白质的酶促降解是生命活动的重要组成部分。1979 年国际生化协会命名委员会 (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry)，将作用于肽键的酶归属于第三大类 (水解酶类) 第四亚类 (EC 3. 4)，而根据蛋白酶水解多肽的部位可分为蛋白酶 (proteinase) 和肽酶 (peptidase) 两个亚亚类。

一、蛋白酶

蛋白酶又称肽链内切酶 (endopeptidase)，它可作用于肽链内部的肽键，生成长度较短的含氨基酸分子数较少的肽链。蛋白酶对不同氨基酸所形成的肽键有专一性。例如胰蛋白酶水解由碱性氨基酸的羧基所形成的肽键，胰凝乳蛋白酶水解由芳香族氨基酸的羧基所形成的肽键，而胃蛋白酶能迅速水解由芳香族氨基酸的氨基和其它氨基酸形成的肽键，也能较缓慢地水解其它一些氨基酸 (如亮氨酸) 和酸性氨基酸参与形成的肽键。根据蛋白酶的催化机理可将其分为 4 类 (表 8-1)。在生物体内，蛋白酶可将蛋白质水解为许多小的片段，但要彻底水解为氨基酸还需要肽酶的作用。

表 8-1 蛋白酶的种类

编号	名称	作用特征	例子
EC 3. 4. 21	丝氨酸蛋白酶类 (serine proteinase)	在活性中心含组氨酸和丝氨酸	胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、凝血酶
EC 3. 4. 22	硫醇蛋白酶类 (thiol proteinae)	在活性中心含半胱氨酸	木瓜蛋白酶、无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶
EC 3. 4. 23	羧基(酸性)蛋白酶类 [carboxyl (acid) proteinase]	最适 pH 在 5 以下	胃蛋白酶、凝乳酶
EC 3. 4. 24	金属蛋白酶类 (metalloproteinase)	含有催化活性所必需的金属	枯草杆菌中性蛋白酶、脊椎动物胶原酶

二、肽酶

肽酶又称肽链端解酶(exopeptidase), 肽酶只作用于多肽链的末端, 将蛋白质多肽链从末端开始逐一水解成氨基酸。作用于氨基端的称氨肽酶(aminopeptidase), 作用于羧基端的称羧肽酶(carboxypeptidase), 作用于二肽的称为二肽酶(dipeptidase)。还有些肽酶每次水解下一分子二肽。不同肽酶及作用特点见表 8-2。

表 8-2 肽酶的种类

编号	名称	作用特征	反应
EC 3. 4.11	- 氨酰肽水解酶类 (-aminoacyl peptide hydrolase)	作用于多肽链的氨基末端(N-末端), 生成氨基酸	氨酰+H ₂ O → L-氨基酸 + 肽
EC 3. 4.13	二肽水解酶类(dipeptide hydrolase)	水解二肽	二肽+H ₂ O → 2 L-氨基酸
EC 3. 4.14	二肽基肽水解酶类(dipeptidylpeptide hydrolase)	作用于多肽链的氨基末端(N-末端), 生成二肽	二肽基多肽 + H ₂ O → 二肽+多肽
EC 3. 4.15	肽基二肽水解酶类(peptidyl-dipeptide hydrolase)	作用于多肽链的羧基末端(C-末端), 生成二肽	多肽基二肽 + H ₂ O → 二肽 + 多肽
EC 3. 4.16	丝氨酸羧肽酶类(serine carboxypeptidase)	作用于多肽链的羧基末端生成氨基酸, 催化部位含有对有机氟磷酸敏感的丝氨酸残基	肽基-L-氨基酸 + H ₂ O → 肽 + L-氨基酸
EC 3. 4.17	金属羧肽酶类(metallo-carboxypeptidase)	作用于多肽链的羧基末端生成氨基酸, 要求二价阳离子	肽基-L-氨基酸 + H ₂ O → 肽 + L-氨基酸

蛋白质水解为氨基酸的过程需要蛋白酶和肽酶的共同作用。人或动物吃了蛋白质食物后, 蛋白质在胃里受到胃蛋白酶的作用, 分解为分子量较小的肽。进入小肠后受到来自胰腺的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的作用, 进一步分解为更小的肽。然后小肽又被肠粘膜里的二肽酶、氨肽酶及羧肽酶分解为氨基酸, 氨基酸可以被直接吸收利用, 也可以进一步氧化供能。

高等植物体中也含有蛋白酶类。例如种子及幼苗内部都含有活性蛋白酶，种子萌发时蛋白酶的水解作用最旺盛，可将胚乳中贮藏的蛋白质水解为氨基酸，然后再利用氨基酸来重新合成蛋白质，以组成植物自身的细胞。某些植物的果实中也含有丰富的蛋白酶，如木瓜中的木瓜蛋白酶，菠萝中的菠萝蛋白酶，无花果中的无花果蛋白酶等。此外，微生物也含有多种多样的蛋白酶，能将蛋白质水解为氨基酸。

第二节 氨基酸的降解与转化

生物体内氨基酸的主要作用是合成蛋白质或其它含氮化合物。但多余的氨基酸不能贮藏只能被降解，这一点与葡萄糖和脂肪不同。

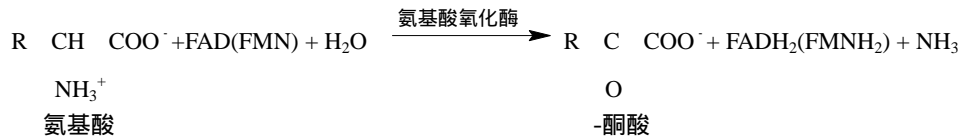
天然氨基酸分子都含有 α -氨基和 β -羧基，因此各种氨基酸都有其共同的代谢途径。但个别氨基酸由于其特殊的侧链结构也有特殊的代谢途径。

一、脱氨基作用

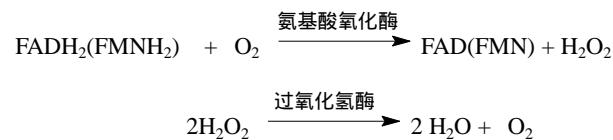
氨基酸分解代谢的第一步就是脱氨基作用 (deamination)，氨基酸脱去氨基后，形成酮酸和氨。脱氨基作用主要包括以下几种方式：

(一) 氧化脱氨基

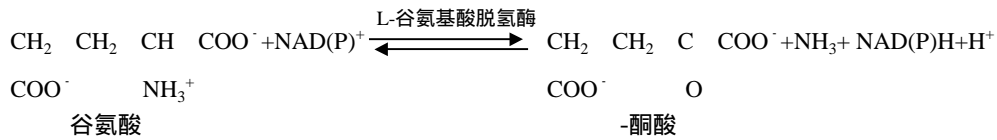
α -氨基酸在氨基酸氧化酶的催化下氧化生成 α -酮酸并产生氨的过程称为氧化脱氨基作用 (oxidative deamination)。动物体内有两种氨基酸氧化酶，即对 L-氨基酸有专一性的 L-氨基酸氧化酶和对 D-氨基酸有专一性的 D-氨基酸氧化酶，它们都是以 FMN 和 FAD 为辅酶的氧化脱氨酶。



在有分子氧存在的情况下，氨基酸氧化酶也能催化辅酶的氧化，反应产生有毒性的过氧化氢 (H_2O_2)，可被过氧化氢酶降解：



由于 L-氨基酸氧化酶在体内分布不广泛，活性也不高，D-氨基酸氧化酶活性虽高，但体内缺少 D-氨基酸，所以这两种氨基酸氧化酶在体内都不起主要作用。在氨基酸代谢中起重要作用的脱氨酶是 L-谷氨酸脱氢酶。L-谷氨酸脱氢酶在动植物及大多数微生物中普遍存在，是脱氨活力最高的酶，它催化 L-谷氨酸脱氨生成 α -酮戊二酸，其辅酶是 NAD^+ 或 NADP^+ 。谷氨酸脱氢酶是由 6 个亚基组成的变构调节酶，GTP 和 ATP 是它的变构抑制剂，GDP 和 ADP 是它的变构激活剂，所以当机体能量水平低时，氨基酸的氧化分解速度增加。

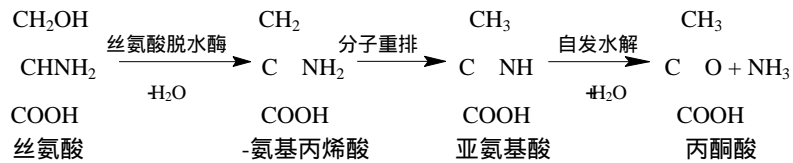


(二) 非氧化脱氨基

除氧化脱氨基作用以外，还有不同方式的非氧化脱氨基作用（non-oxidative deamination）。非氧化脱氨基作用大多在微生物中进行，动物体内也有发现，但不普遍。

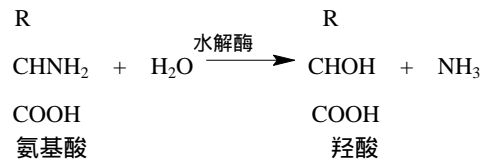
1. 脱水脱氨基作用

L-丝氨酸和 L-苏氨酸的脱氨基是利用脱水方式完成的。催化此反应的酶以磷酸吡哆醛为辅酶。



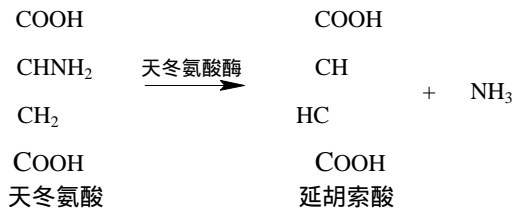
2. 水解脱氨基作用

氨基酸在水解酶的作用下脱氨产生羟酸。

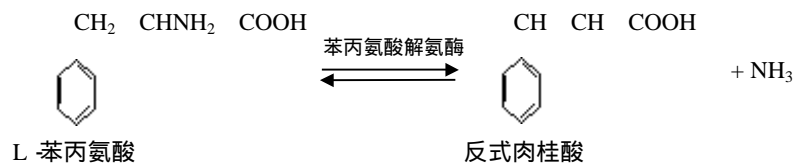


3. 直接脱氨基作用

天冬氨酸酶可催化天冬氨酸直接脱下氨基生成延胡索酸和 NH₃。



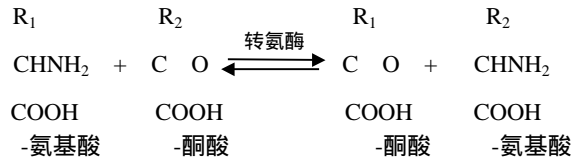
又比如苯丙氨酸解氨酶（phenylalanine ammonia lyase, PAL）催化的脱氨反应：



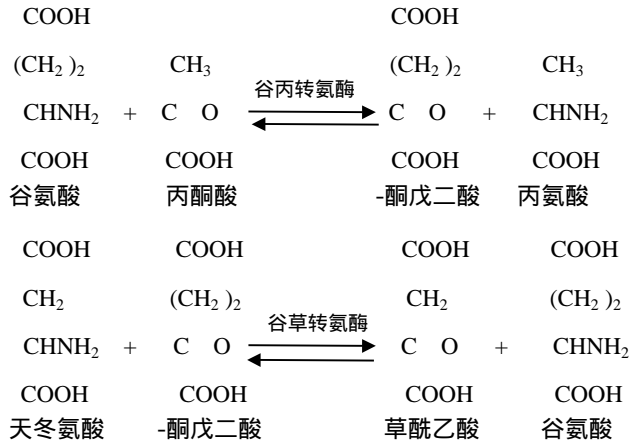
在植物体中，生成的反式肉桂酸可进一步转化为香豆素、木质素、单宁等次生物质。

(三) 转氨作用

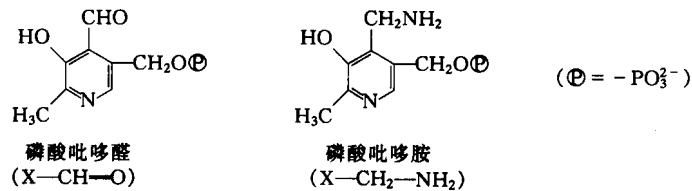
氨基酸的转氨基作用是指在转氨酶（aminotransferase）的催化下，-氨基酸和-酮酸之间发生的氨基转移反应。使原来的氨基酸转变成相应的酮酸，而原来的酮酸转变成相应的氨基酸。



转氨酶种类很多，在动物、植物及微生物中分布很广。大多数转氨酶对 α -酮戊二酸或谷氨酸是专一的，而对另外一个底物则无专一性。如最为重要并且分布最广泛的天冬氨酸氨基转移酶（也称谷草转氨酶，glutamate-oxaloacetate transaminase, GOT）和丙氨酸氨基转移酶（也称谷丙转氨酶，glutamate-pyruvate transaminase, GPT）它们催化下列反应：



转氨酶催化可逆反应，平衡常数约为 1.0 左右，说明催化反应可以向两个方向进行，但在生物体中转氨作用与氨基酸氧化分解作用相偶联，最终使氨基酸的转氨基作用向一个方向进行。



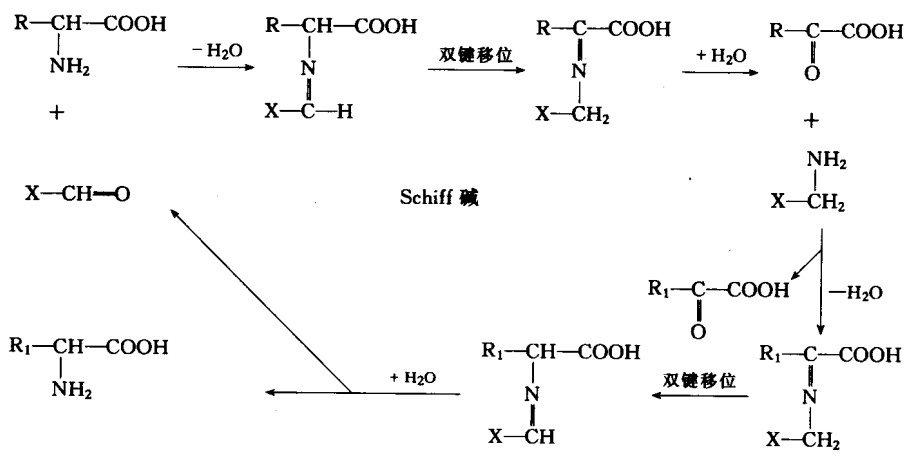


图 8-1 转氨酶催化的反应机制

转氨酶以磷酸吡哆醛（维生素 B₆）为辅酶，其反应机制如图 8-1 所示：氨基酸和磷酸吡哆醛形成醛亚胺，经双键移位、水解放出相应的酮酸和磷酸吡哆胺；磷酸吡哆胺和酮酸反应形成醛亚胺，再经双键移位、水解放出磷酸吡哆醛，并形成相应的氨基酸。

（四）联合脱氨基作用

联合脱氨基作用是指在转氨酶和谷氨酸脱氢酶的作用下，将转氨基作用和脱氨基作用偶联在一起的一种脱氨方式。辅因子包括磷酸吡哆醛和 NAD⁺（NADP⁺）。

在自然界中，L-氨基酸氧化酶活力都很低，很难满足生物机体脱氨的需要，而转氨基作用虽然普遍存在，但又不能最终将氨基脱去。所以大多数氨基酸都是通过联合脱氨基作用脱去氨基的（图 8-2）。

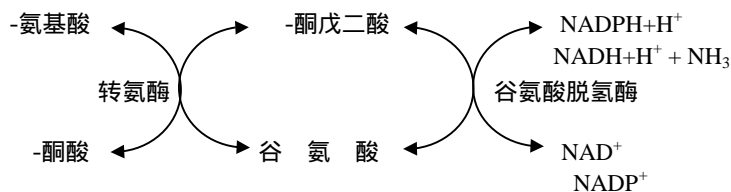
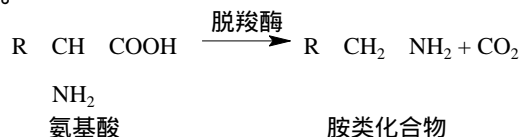


图 8-2 联合脱氨基作用

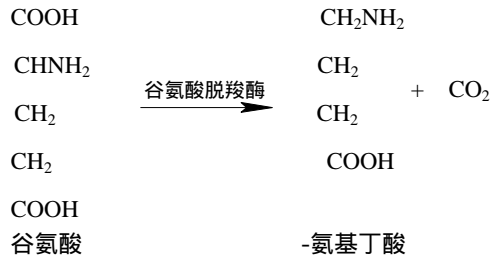
二、脱羧基作用

（一）直接脱羧基

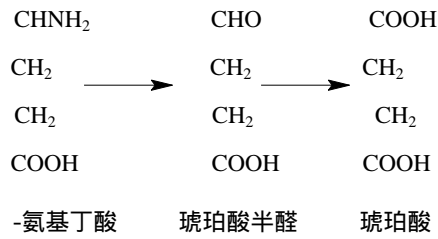
氨基酸在氨基酸脱羧酶作用下脱去羧基，生成 CO₂ 和胺类化合物，氨基酸脱羧酶辅酶为磷酸吡哆醛。



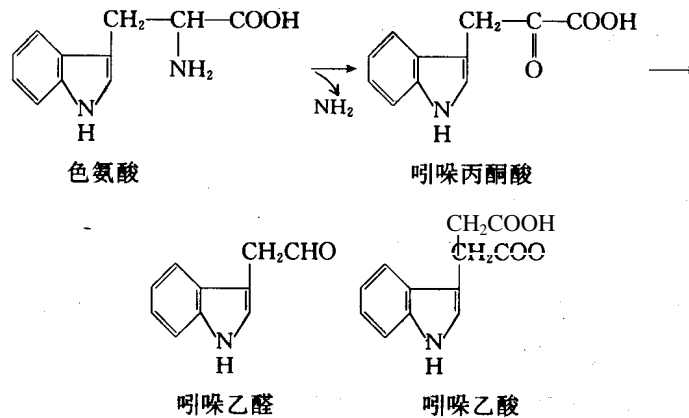
氨基酸脱羧酶的专一性很强，除个别氨基酸外，一种氨基酸脱羧酶一般只对一种氨基酸起脱羧作用。例如谷氨酸脱羧酶催化的反应：



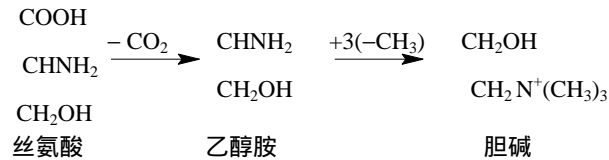
-氨基丁酸在植物组织中广泛分布，经一系列反应可转化为琥珀酸进入三羧酸循环。



有些氨基酸脱羧后形成的胺类化合物，是组成某些维生素或激素的成分。如天冬氨酸脱羧后生成 -丙氨酸，它是 B 族维生素泛酸的组成成分。又如，色氨酸脱氨脱羧后的产物可转变成植物生长激素（吲哚乙酸）。

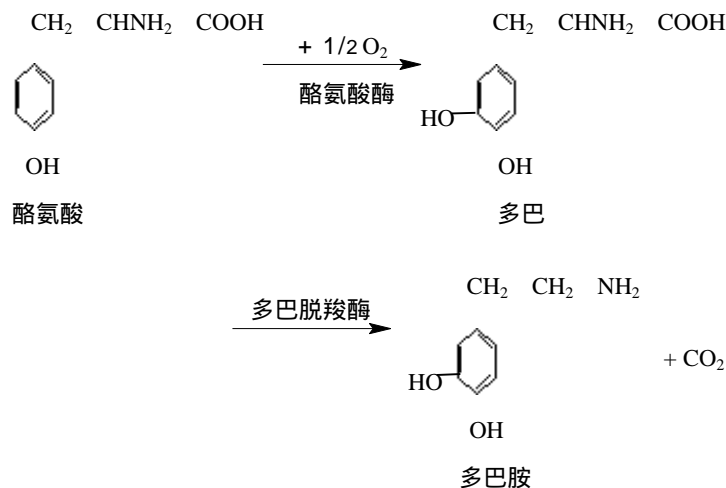


丝氨酸脱羧后生成乙醇胺，乙醇胺甲基化后生成胆碱，而乙醇胺和胆碱分别是合成脑磷脂和卵磷脂的成分。



(二) 羟化脱羧基

有些氨基酸可先被羟基化，然后脱去羧基。例如，酪氨酸在酪氨酸酶(tyrosinase)催化下被羟化生成 3,4-二羟苯丙氨酸 (3,4-dihydroxyphenylalanine, 简称多巴 dopa), 后者脱去羧基生成 3,4-二羟苯乙胺 (3,4-dihydroxyphenylamine, 简称多巴胺 dopamine)。



多巴进一步氧化可形成聚合物黑素。马铃薯、梨等切开后变黑就是因为黑素形成的结果。在动物体内，由多巴和多巴胺可生成去甲肾上腺素和肾上腺素等。在植物体内，由多巴和多巴胺可形成生物碱。

三、氨基酸分解产物的去向

氨基酸经脱氨和脱羧作用产生的 α -酮酸、胺类化合物、 NH_3 和 CO_2 ，需要进一步代谢构成其它细胞成分或排出体外。

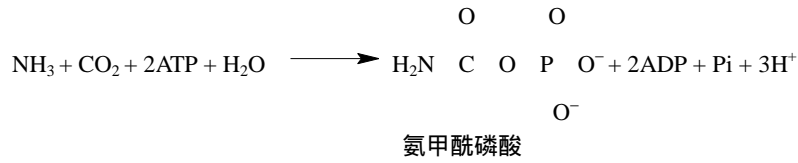
(一) 尿素的生成和尿素循环

高等动植物均具有保留和重新利用氮的能力。氮在植物中有比较明显的储藏作用。氮可与草酰乙酸或天冬氨酸形成天冬酰胺，当需要的时候，天冬酰胺分子内的氨基又可以通过天冬酰胺酶的作用分解出来，再去合成氨基酸。另外，脱下的氨也可以和 α -酮酸形成其它的氨基酸，或者与植物中大量存在的有机酸形成有机酸盐。

在动物体内，氨基酸脱氨降解产生的氨主要是作为废物排出体外。各种动物排氨的方式不同。水生动物体内外水分供应充足，所以氨可以直接随水排出体外；而人类和其它哺乳动物则是通过尿素循环 (urea cycle) 将氨转化为尿素排出体外。尿素的生成需要多种酶的催化作用。反应过程包括鸟氨酸、瓜氨酸、精氨酸琥珀酸、精氨酸等四种中间产物，所以尿素循环也称为鸟氨酸循环。整个过程循环进行，循环包括以下几步反应：

1. 氨甲酰磷酸的合成

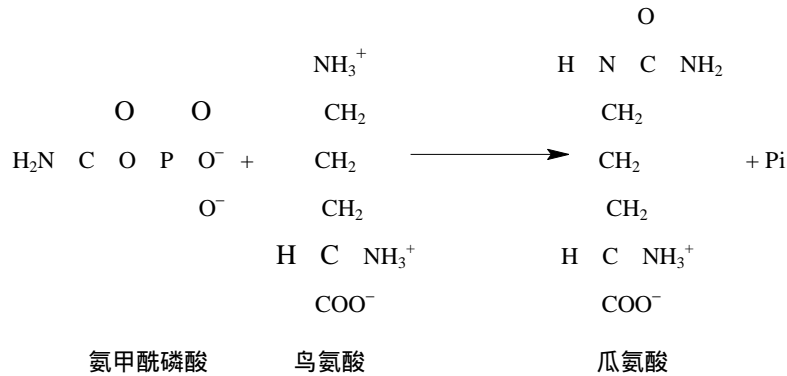
在线粒体中，由氨甲酰磷酸合成酶催化合成氨甲酰磷酸，反应是不可逆的。



其中 CO_2 是糖代谢的产物，反应消耗 2 分子 ATP。

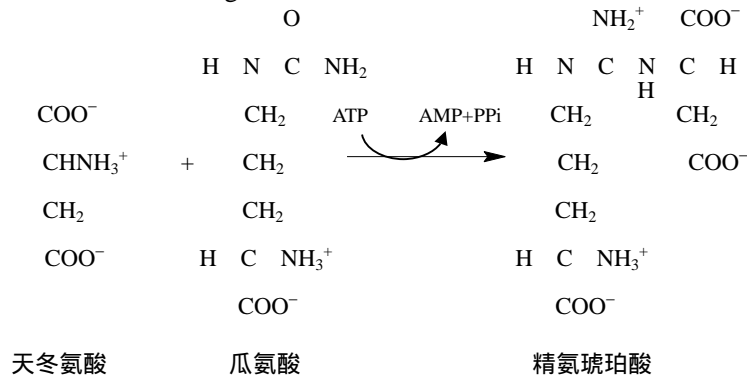
2. 瓜氨酸合成

氨甲酰磷酸和鸟氨酸生成瓜氨酸，反应由鸟氨酸氨甲酰转移酶催化。氨甲酰磷酸的氨甲酰基经酶催化转移给鸟氨酸形成瓜氨酸。



3. 精氨酸琥珀酸合成

瓜氨酸通过精氨酸琥珀酸合成酶的催化与天冬氨酸结合生成精氨酸琥珀酸。天冬氨酸在此作为氨基的供体，反应需要 Mg^{2+} 的存在。



4. 精氨酸琥珀酸的裂解

精氨酸琥珀酸通过精氨酸琥珀酸分解酶的作用，分解为精氨酸和延胡索酸（反丁烯二酸），延胡索酸可进入三羧酸循环进一步降解。

NH₃ 严格限制在线粒体中，防止氨对机体的毒害作用。其它几步反应在细胞质中进行，并通过精氨琥珀酸裂解产生延胡索酸，延胡索酸可进一步氧化为草酰乙酸进入三羧酸循环，也可经转氨基作用重新形成天冬氨酸进入尿素循环，从而把尿素循环和三羧酸循环密切联系在一起。

(二) 氨基酸碳架的去向

氨基酸氧化脱氨后产生的碳架可进一步转化，根据代谢终产物的不同，把氨基酸分成两大类(表 8-3)。第一类氨基酸的碳架可生成丙酮酸和三羧酸循环的中间产物，经糖异生作用可转化为葡萄糖，因此把这些氨基酸称为生糖氨基酸 (glucogenic amino acids)；第二类氨基酸脱氨后的碳架可转化为乙酰辅酶 A 或乙酰乙酰辅酶 A，它们是合成脂肪的前体。这些产物在某些情况下(如饥饿、糖尿病等)在动物体内可转变为酮体(乙酰乙酸、 β -羟丁酸和丙酮)，所以称为生酮氨基酸 (ketogenic amino acids)。大多数氨基酸是严格生糖的(13 种)，只有亮氨酸和赖氨酸是严格生酮的，有 5 种氨基酸降解后产生两种产物，一种是生糖产物，另一种是生酮产物。

表 8-3 生糖氨基酸和生酮氨基酸

氨基酸	生糖	生酮	氨基酸	生糖	生酮
丙氨酸			亮氨酸		
精氨酸			赖氨酸		
天冬酰胺			甲硫氨酸		
天冬氨酸			苯丙氨酸		
半胱氨酸			脯氨酸		
谷氨酸			丝氨酸		
谷氨酰胺			苏氨酸		
甘氨酸			色氨酸		
组氨酸			酪氨酸		
异亮氨酸			缬氨酸		

当体内需要能量时， β -酮酸可经三羧酸循环被氧化成 CO₂ 和水，同时提供能量。在生物体内，氨基酸也可以作为原料去合成其它含氮化合物，其中包括核酸、激素、叶绿素、血红素、胺、生物碱、生氰糖苷等。例如三羧酸循环的中间产物琥珀酰 CoA 与甘氨酸可合成叶绿素、血红素、细胞色素。表 8-4 是一些由氨基酸衍生的含氮化合物。

表 8-4 一些由氨基酸衍生的含氮化合物

含氮化合物种类	氨基酸前体	含氮衍生物
RNA、DNA	甘氨酸、谷氨酸、天冬氨酸	嘌呤
	甘氨酸	嘧啶
脂类	甲硫氨酸	胆碱
	丝氨酸	鞘氨醇
激素	酪氨酸	肾上腺素、甲状腺素
	色氨酸	吲哚乙酸
	甲硫氨酸	乙烯
色素	酪氨酸	黑素
	甘氨酸	叶绿素、血红素、细胞色素
维生素	色氨酸	烟酸
生物碱	谷氨酸	烟碱
	酪氨酸	吗啡, 可待因 (codein)
	色氨酸	奎宁、马钱子碱
抗生素	缬氨酸、半胱氨酸	青霉素
	糖苷	苦杏仁苷
	缬氨酸	亚麻苦苷
	酪氨酸	蜀黍苷

第三节 氨基酸的生物合成

氨基酸是组成蛋白质的基本单位，氮是构成氨基酸的重要元素，所以氮素也是组成生物体的重要元素。自然界中的不同含氮化合物，包括无机氮化合物和有机氮化合物，可以相互转化，并处于一种平衡状态，它们共同形成了氮素循环体系（图8-4）。

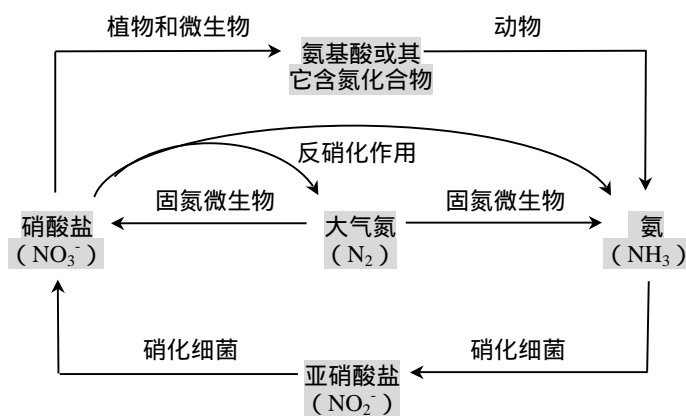


图 8-4 自然界氮素循环

其中无机氮化合物包括 N_2 、 NH_3 、硝酸盐离子(NO_3^-)、亚硝酸盐离子(NO_2^-)和羟胺(NH_2OH)等,而大气氮(N_2)是氮循环的蓄库。 N_2 可通过生物固氮、工业固氮、大气固氮而转变为 NH_3 或硝酸盐。土壤中的氮可在硝化细菌的作用下氧化为硝酸盐。植物吸收利用 NH_4^+ 和硝酸盐去合成氨基酸、蛋白质及其它含氮化合物,由无机氮化合物转化为有机氮化合物。在这些途径中,生物固氮有着重要意义。

一、生物固氮

生物固氮(biological nitrogen fixation)是指某些微生物能把空气中的分子氮转化为氨态氮的作用。固氮生物包括两种类型:一类是自生固氮微生物,如固氮菌、巴氏梭菌、蓝绿藻等。另一类是共生固氮微生物,如与豆科植物共生的根瘤菌,与非豆科植物共生的放线菌等。固氮生物可以在常温常压下将 N_2 还原为 NH_3 。据估计,全世界陆地每年生物固氮量可达2亿吨,这就节省了大量能源、人力和物力,又减少了环境污染。

(一) 固氮酶

固氮生物之所以能在常温常压条件下固定 N_2 ,将其还原为 NH_3 ,主要是因为含有固氮酶(nitrogenase)。固氮酶由两种蛋白质组成,一种蛋白质含有钼和铁,称钼铁蛋白,另一种蛋白质含有铁,称铁蛋白,这两种蛋白质要同时存在才具有固氮活性。钼铁蛋白的结构为四聚体,其中含有2个 α 亚基和2个 β 亚基($\alpha_2\beta_2$),分子量为220 000,其中 α 亚基的分子量约为51 000, β 亚基的分子量为60 000。每个钼铁蛋白含有2个Mo原子,24个Fe原子,24个 S^{2-} 离子,约30个巯基。铁蛋白为二聚体,含2个相同亚基,分子量为64 000。每个铁蛋白含有4个Fe原子,4个 S^{2-} 离子和12个巯基。铁蛋白对氧十分敏感,暴露在空气中即失活。固氮酶分子的假设结构如图8-5所示。

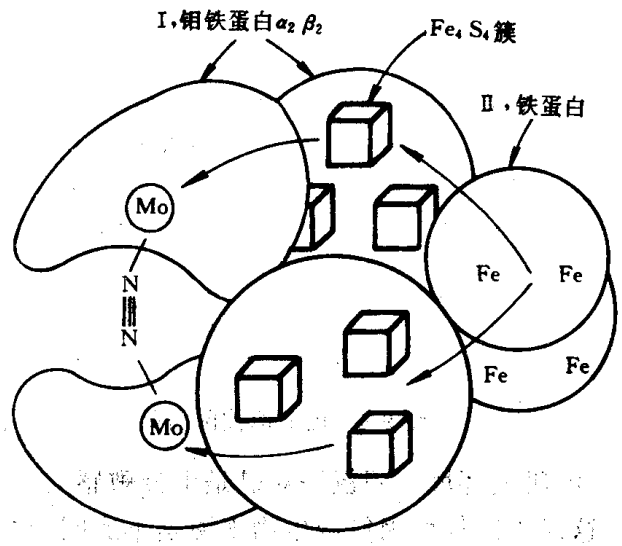
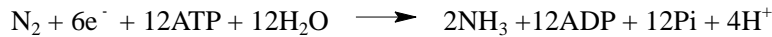


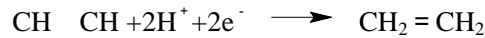
图 8-5 固氮酶分子的假设结构

(二) 固氮酶催化的反应及条件

固氮酶催化 N_2 还原为 NH_3 的反应：



固氮酶还可催化其它一些还原反应，例如将乙炔还原为乙烯的反应：



所以常通过测定乙烯生成量来测定固氮酶的活性。

固氮酶催化还原反应需要满足下列条件：

1. 还原剂

固氮酶催化的反应是还原反应，所以需要有强还原剂。在多数固氮微生物中这个电子来源是铁氧还蛋白 (ferredoxin, Fd)，铁氧还蛋白是由 $4Fe-4S$ 组成的一种电子载体，有氧化 (Fd_{ox}) 和还原 (Fd_{red}) 两种状态。首先，铁氧还蛋白接受光合作用或氧化反应产生的电子，转变成还原态，还原态铁氧还蛋白再把电子传递给铁蛋白，然后 ATP 与铁蛋白结合，并通过改变其构象而将其氧化还原电势从 $-0.29V$ 变为 $-0.40V$ ，从而使铁蛋白的还原能力加强，进而把自己的电子传递给钼铁蛋白，然后 ATP 被水解，铁蛋白与钼铁蛋白分离开，最后，与钼铁蛋白复合物相结合的 N_2 被还原为 NH_4^+ (图 8-6)。

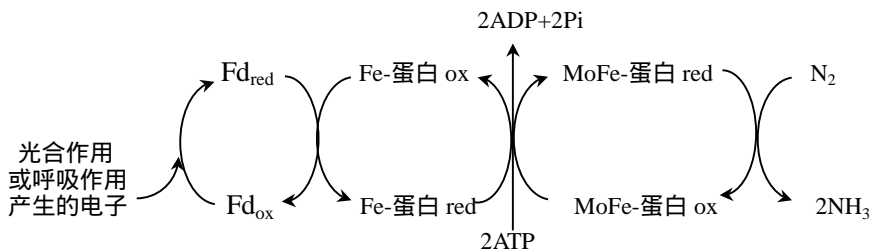
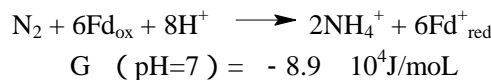


图 8-6 固氮酶的电子传递体系

2. ATP 供能

由于还原 N_2 的反应是一个放能反应：



这个反应可以自发进行，但固氮反应中铁氧还蛋白的还原需要有 ATP 提供能量。ATP 以 $Mg-ATP$ 络合物的形式存在，每传递一个电子需要 2 分子 $Mg-ATP$ ，即每还原一分子 N_2 需消耗约 12 分子 $Mg-ATP$ 。

3. 厌氧环境

由于铁蛋白对氧十分敏感，所以固氮酶要在厌氧条件下才能催化固氮反应。这对厌气性微生物来说是不成问题的；兼气性固氮微生物则只有在厌气条件下才能固氮；而对于好气性固氮生物必须有防氧措施，现在已知道，不同的固氮微生物有不同的防氧机理。例如，固氮菌属 (azotobacter) 通过呼吸作用把氧消耗掉；根瘤菌是靠豆血红蛋白 (leghemoglobin) 与氧结合而作为一种防氧措施。

(三) 氢代谢

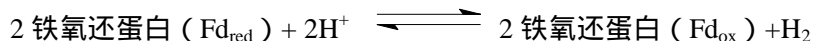
在固氮过程中常伴有 H_2 的产生。氢代谢的内容较复杂，主要包括以下两方面：

1. 固氮酶的放氢反应

固氮酶不仅能还原氮，也能还原质子而放出 H_2 ，在没有氮和其它可以还原的底物存在时，便发生质子的还原。这个反应需要 ATP，并且不被一氧化碳所抑制。

2. 氢酶的放氢反应

在许多固氮生物中都含有氢酶，氢酶也是一种铁硫蛋白。氢酶可催化下面的可逆反应：



此反应不需要 ATP，并且可被一氧化碳所抑制。在其逆反应中，氢酶可将氢的电子传给铁氧还蛋白，这样，氢也可以作为还原 N_2 的电子供体，由固氮酶放出的氢便可被循环利用。

固氮酶和氢酶共同参与的氮的还原反应如图 8-7 所示。

这个过程包括下列步骤：

(1) Mg-ATP 与铁蛋白结合。

(2) 铁蛋白-Mg-ATP 复合物具有很低的电位 (- 0.49V)，可将电子传至钼铁蛋白而使其还原。

(3) 还原态钼铁蛋白将底物 (如氮、乙炔、质子) 还原，本身则重新被氧化。

(4) 固氮酶亦可使 H^+ 还原而生成氢，氢在氢酶作用下又可还原铁氧还蛋白，形成一个电子传递循环。

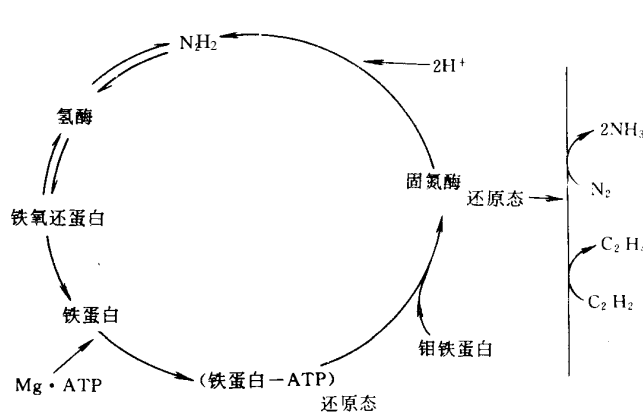
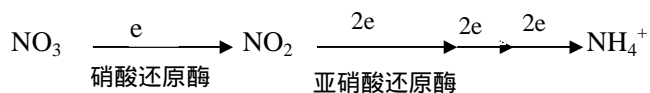


图 8-7 在固氮酶和氢酶共同作用的氮还原氨的反应

二、硝酸还原作用

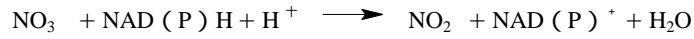
植物主要吸收无机氮化合物，其中以铵盐、硝酸盐和亚硝酸盐为主。铵盐可直接用于合成氨基酸，但吸收的硝酸盐和亚硝酸盐则必须被还原为铵才能去合成氨基酸。



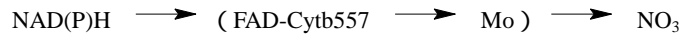
反应的第一步便是硝酸盐还原成亚硝酸盐，反应由硝酸还原酶催化。

(一) 硝酸还原酶

硝酸还原酶催化的反应以 NADH 或 NADPH 作为电子供体，有些硝酸还原酶还能以铁氧还蛋白作为电子供体。反应式如下：



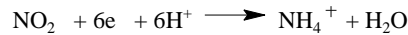
高等植物中的硝酸还原酶主要是以 NADH 作为电子供体的。硝酸还原酶含有金属钼、FAD 和细胞色素 b-557，所以是一种钼黄素蛋白。在还原过程中，电子传递顺序为：



硝酸还原酶是一种诱导酶，受其底物 NO_3^- 的诱导，此外，光照、温度和水分与其合成也有关。田间作物在增施氮肥时往往看到硝酸还原酶活性增高，作物的蛋白质含量也增加。因此，提高硝酸还原酶的水平可以提高植物利用氮肥的效率。由于硝酸还原酶的形成受遗传控制，所以可以通过育种的方法提高硝酸还原酶的水平。

(二) 亚硝酸还原酶

亚硝酸盐在亚硝酸还原酶的催化下进一步还原为氨。



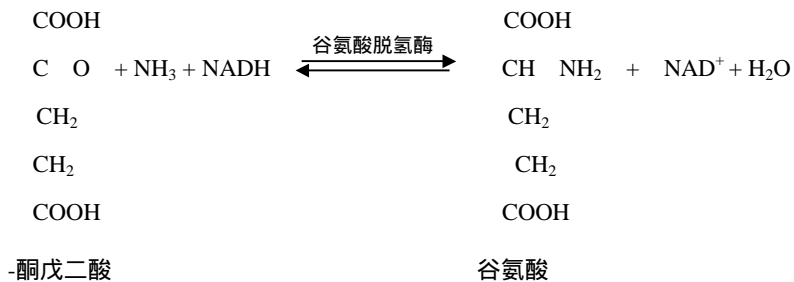
亚硝酸还原酶催化的反应也需电子供体，光合生物中的电子供体为还原型铁氧还蛋白，存在于绿色组织的叶绿体内。NADH 或 NADPH 也可作为电子供体，存在于非光合生物中。

三、氮的同化

植物吸收铵后（或由硝酸盐还原形成的铵）立即将其同化，转变成氨基酸，进而合成蛋白质。氮同化的方式主要有谷氨酸形成途径和氨甲酰磷酸形成途径。

(一) 谷氨酸脱氢酶

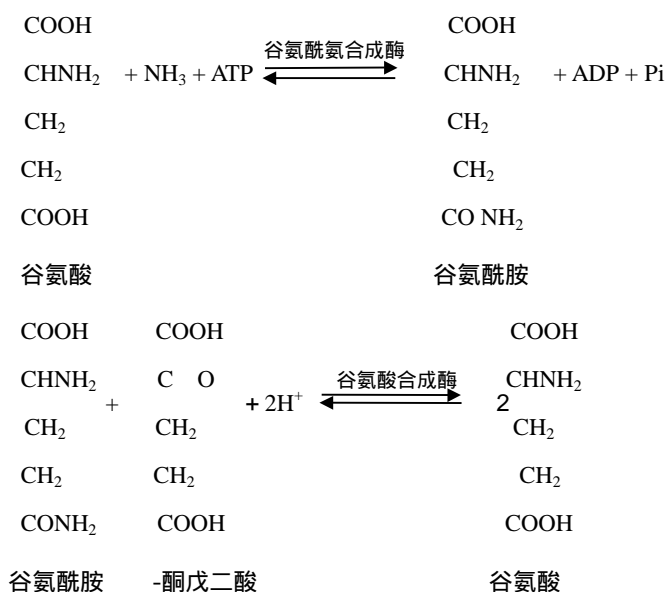
谷氨酸脱氢酶催化还原氨基化反应。



谷氨酸脱氢酶存在于线粒体中，还原剂为 NADH， NH_3 的受体 -酮戊二酸是三羧酸循环中产生的。此途径不是氮同化的主要途径，因为谷氨酸脱氢酶对 NH_4^+ 的 K_m 很高，所以当 NH_4^+ 在植物体内以正常的浓度存在时，这个酶就不能达到饱和。

(二) 谷氨酰胺合成酶

谷氨酰胺合成酶使氨贮存在谷氨酰胺的酰胺基内，然后作为氨基的供体，经谷氨酰胺合成酶催化，将酰胺上的氨基转移给 α -酮戊二酸，生成 2 分子谷氨酸。

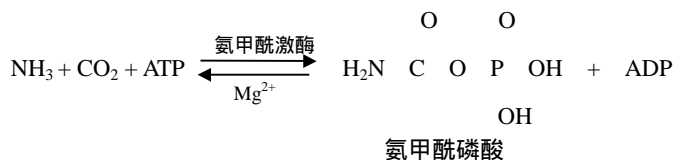


反应需要还原剂，NADH、NADPH 和还原型铁氧还蛋白都可作为还原剂。谷氨酰胺合成酶对 NH_4^+ 有很强的亲和力。在高等植物体内，此途径是氮同化的主要途径。其总反应为：

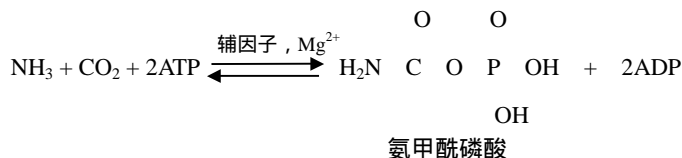


(三) 生成氨甲酰磷酸

氨甲酰激酶可催化 NH_3 与 CO_2 生成氨甲酰磷酸，反应需要消耗 ATP。



氨甲酰磷酸合成酶也可催化氨甲酰磷酸的合成。



反应需要辅因子，在动物肝脏及大肠杆菌中，辅因子是 N-乙酰谷氨酸。在植物体内，氨甲酰磷酸中的氮是由谷氨酰胺提供的。

四、氨基酸的生物合成

不同生物合成氨基酸的能力不同，植物和大部分细菌能合成全部 20 种氨基酸，而人和其他哺乳类动物只能合成部分氨基酸，所以氨基酸分必需氨基酸 (essential amino acids, EAA) 和非必需氨基酸 (nonessential amino acids, NAA)。凡人体自身不能合成的氨基酸称为必需氨基酸，如赖氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、苏氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸和苯丙氨酸。其他人体能合成的氨基酸称为非必需氨基酸。

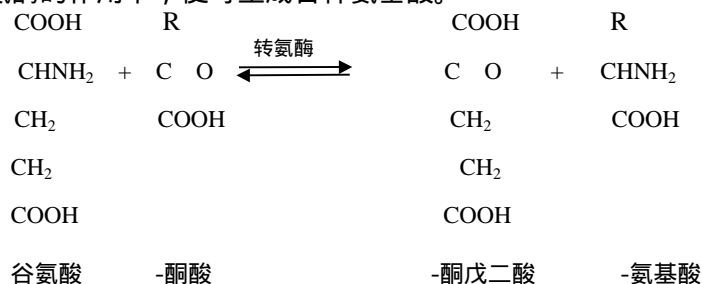
氨基酸可经过多种途径合成，其共同特点是氨基主要由谷氨酸提供，而它们的碳架来自糖代谢 (包括糖酵解、三羧酸循环或磷酸戊糖途径) 的中间产物。

(一) 转氨作用

在氨基酸合成反应中，转氨作用是氨基酸合成的主要方式。它是在转氨酶的作用下，由一种氨基酸把它分子上的氨基转移到其他 α -酮酸上，以形成另一种氨基酸的过程。

转氨酶需要磷酸吡哆醛作为辅酶。除苏氨酸和赖氨酸外，其它氨基酸的氨基都可通过转氨作用得到。

在细胞内，转氨酶分布在细胞质、叶绿体、线粒体和微粒体中。叶绿体在进行光合作用时，在转氨酶的作用下，便可生成各种氨基酸。

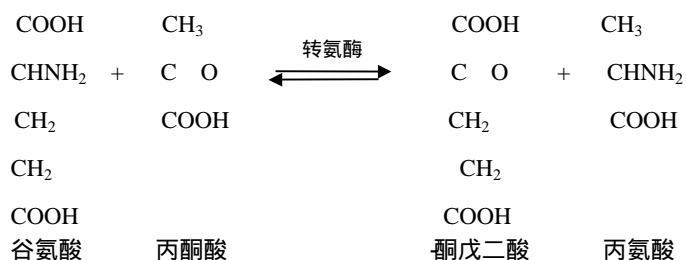


(二) 各种氨基酸的合成

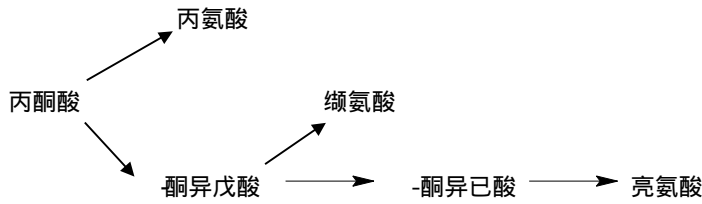
在上述转氨反应中需要 α -酮酸作为氨基酸碳架，这些碳架来源于糖酵解、三羧酸循环、乙醇酸途径和磷酸戊糖途径等。根据氨基酸合成碳架来源不同，可将氨基酸分为 6 族。在每一族内，几种氨基酸有共同的碳架来源，在此概括介绍它们碳架的来源和在合成过程中的相互关系。

1. 丙氨酸族

丙氨酸族包括丙氨酸、缬氨酸和亮氨酸。它们的共同碳架来源是糖酵解产物丙酮酸。丙酮酸经转氨、缩合等作用生成氨基酸。

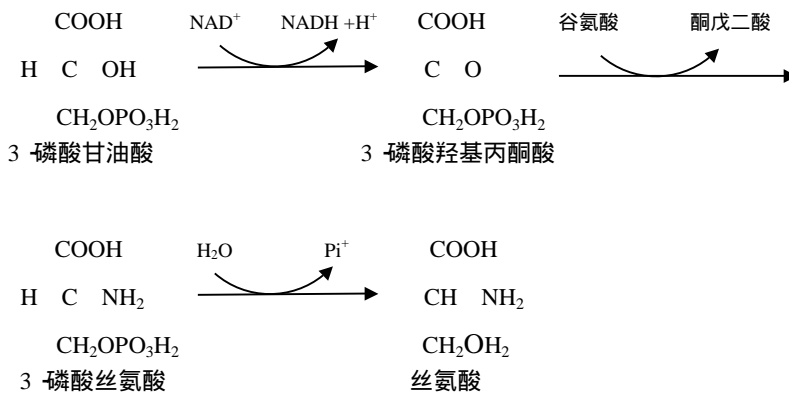


丙酮酸还可以转变为 α -酮异戊二酸和 α -酮异己酸。由 2 分子丙酮酸缩合并放出 1 分子 CO_2 , 再经几步反应, 便可生成 α -酮异戊酸, 并以此作为碳架经转氨反应后生成缬氨酸; 由 α -酮异戊酸经几步反应可生成 α -酮异己酸, 以此作为碳架, 从谷氨酸获得氨基即生成亮氨酸。上述三种氨基酸的合成关系如下:

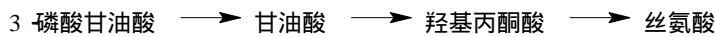


2. 丝氨酸族

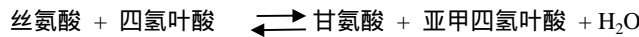
丝氨酸族氨基酸包括丝氨酸、甘氨酸和半胱氨酸。丝氨酸是由糖酵解中间产物 3-磷酸甘油酸合成的。3-磷酸甘油酸首先被氧化成 3-磷酸羟基丙酮酸, 然后经转氨作用生成 3-磷酸丝氨酸, 水解后产生丝氨酸。



丝氨酸也可经另一条途径生成, 即 3-磷酸甘油酸的磷酸基首先发生水解, 再经氧化和转氨作用生成丝氨酸。

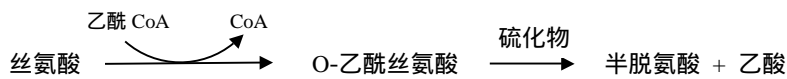


由丝氨酸可以形成甘氨酸, 催化反应的酶为丝氨酸转羟甲基酶。

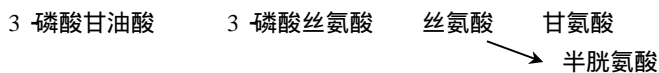


此酶催化丝氨酸侧链的 α -碳原子转移给四氢叶酸, 进而生成甘氨酸。

丝氨酸也可作为半胱氨酸的前体, 经几步反应生成半胱氨酸。

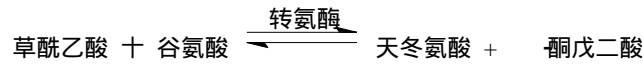


丝氨酸族氨基酸合成关系如下:



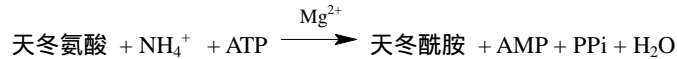
3. 天冬氨酸族

这一族包括天冬氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸、苏氨酸、赖氨酸和异亮氨酸。它们的共同碳架是三羧酸循环中的草酰乙酸，草酰乙酸经转氨反应就可生成天冬氨酸，然后天冬氨酸再经天冬酰胺合成酶催化即可生成天冬酰胺：

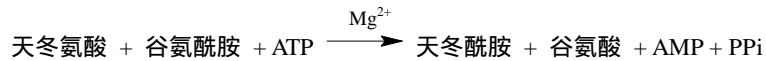


天冬酰胺合成酶催化天冬氨酸，就生成天冬酰胺，不同生物在形成天冬酰胺时，其氨基来源不同：

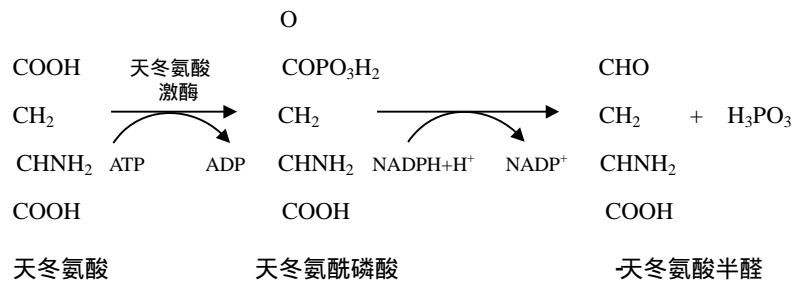
在植物和细菌内：



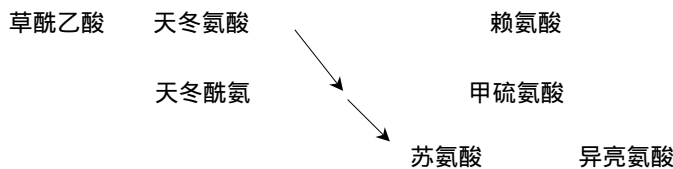
在动物体内：



天冬氨酸可以合成功动物最重要的必需氨基酸赖氨酸，还可转变为甲硫氨酸、苏氨酸，苏氨酸又可转变为异亮氨酸。此反应过程复杂，主要的中间产物是 α -天冬氨酸半醛，它通过下面的反应形成：

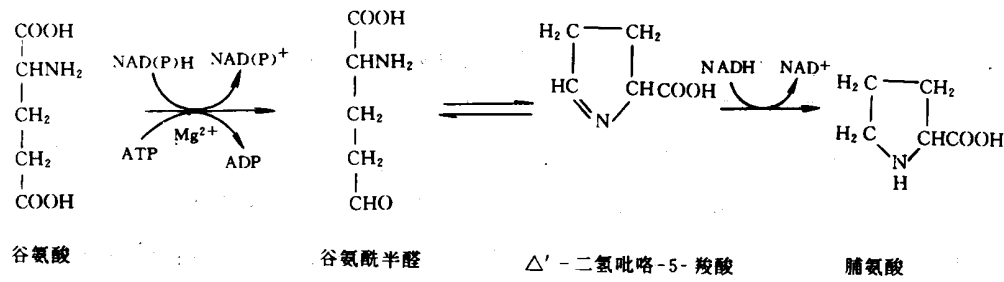


α -天冬氨酸半醛经一系列反应，生成 α -氨基庚二酸，通过脱羧酶催化形成赖氨酸。天冬氨酸族氨基酸合成关系如下：

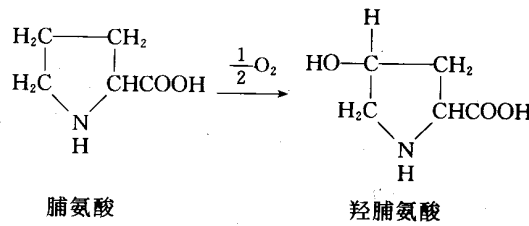


4. 谷氨酸族

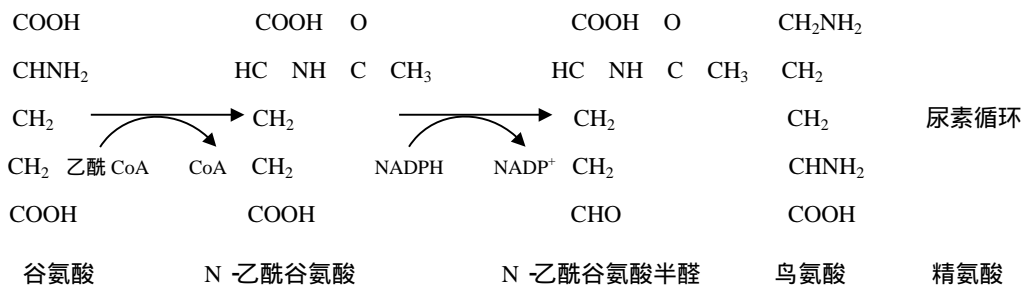
这一族包括谷氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸和精氨酸。它们的共同碳架是三羧酸循环的中间产物 α -酮戊二酸，它可直接生成谷氨酸并进一步生成谷氨酰胺。谷氨酸还可作为前体物质生成脯氨酸。谷氨酸先被还原为谷氨酰半醛，这反应要求 ATP、NAD(P)H 和 Mg^{2+} 参加，谷氨酰半醛的 α -酮基和 γ -氨基自发可逆地形成环式 α -吡咯-5-羧酸，后者被还原为脯氨酸。



脯氨酸在进入肽链之后被羟基化，形成羟脯氨酸，这个反应要求氧的参与：

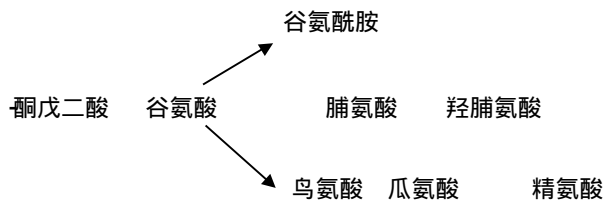


由谷氨酸也可以转变为精氨酸，其合成过程较复杂。反应过程如下：



生成的鸟氨酸经过尿素循环可转变为精氨酸。

谷氨酸族几种氨基酸合成过程关系如下：



5. 芳香族氨基酸

这一族包括苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸，它们的碳架来自于糖酵解的中间产物磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP) 和磷酸戊糖途径中的 4-磷酸赤藓糖。主要反应方程如图 8-8：

首先，两种糖代谢中间产物缩合，形成的七碳糖失去磷酸基，再经环化、脱水等作用产生莽草酸 (shikimic acid)。这种由莽草酸生成芳香族氨基酸和其他多种芳香族化合物的过程，称为莽草酸途径 (shikimic acid pathway)。莽草酸经磷酸化后，再与 PEP 反应，以

后生成分支酸 (chorismic acid); 分支酸后面分为两条途径, 一条途径可以生成色氨酸, 另一条途径可生成预苯酸, 由预苯酸可转变成苯丙氨酸和酪氨酸。

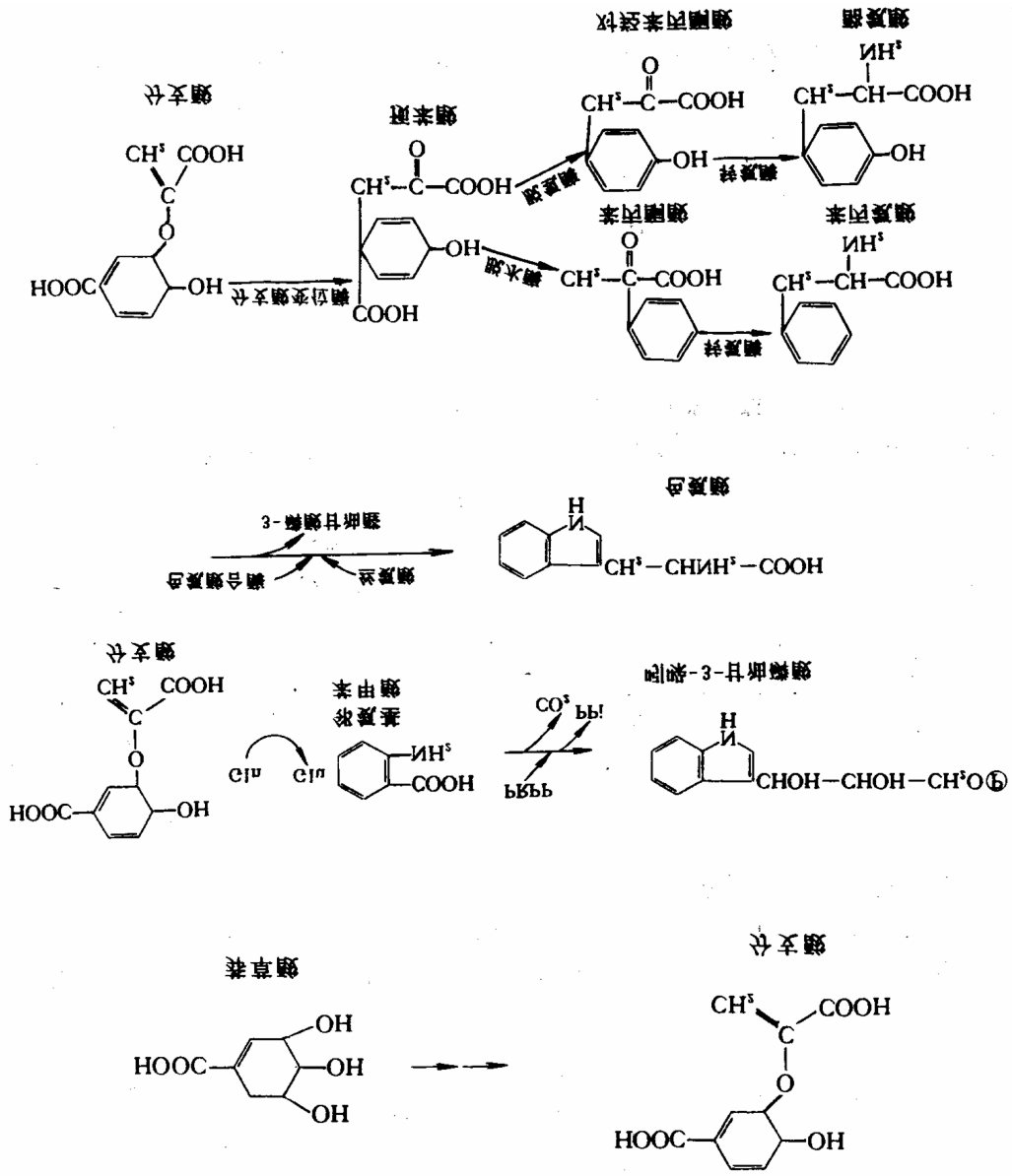
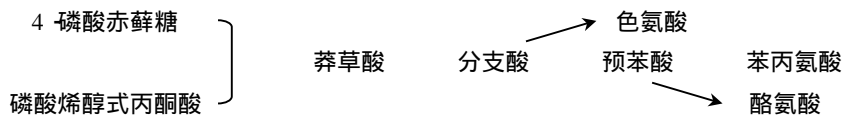


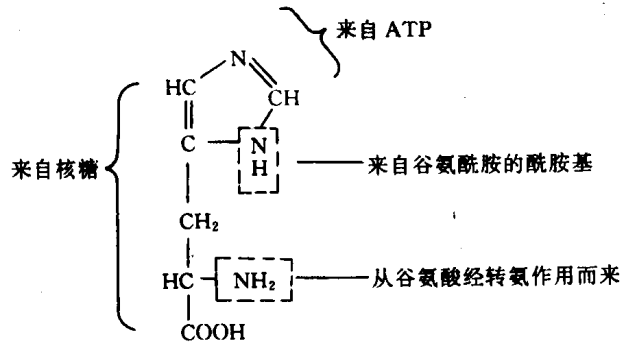
图 8-8 芳香族氨基酸的合成过程

芳香族氨基酸合成关系如下

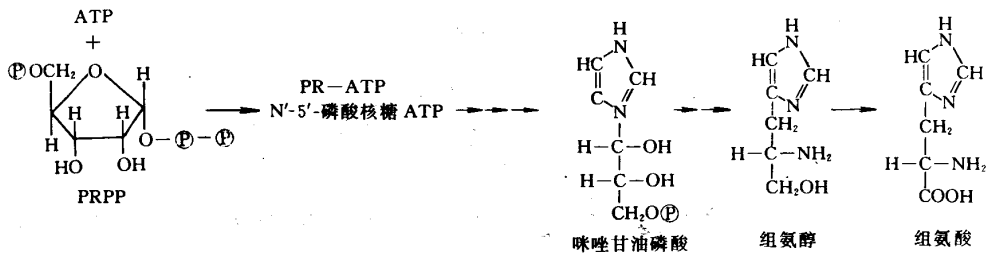


6. 组氨酸

组氨酸的合成过程较复杂，它是由 ATP、磷酸核糖焦磷酸 (PRPP)、谷氨酸和谷氨酰胺合成的。组氨酸分子中各原子来源如下：

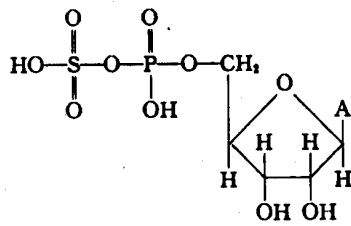


组氨酸的合成途径，最初是通过微生物的研究得到的。首先由磷酸核糖焦磷酸 (phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP) 与 ATP 缩合成磷酸核糖 ATP (PR-ATP)，再进一步转化为咪唑甘油磷酸，然后形成组氨醇，由组氨醇再转化为组氨酸，反应过程如下：

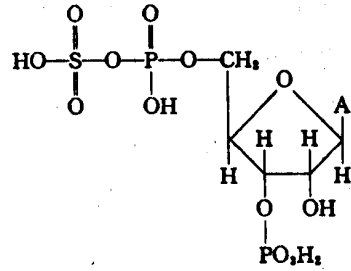


(三) SO_2 的还原 Cys 的合成

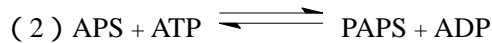
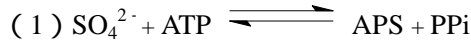
半胱氨酸的合成需要硫化物的参与，此硫化物是由硫酸还原形成的。硫酸被还原之前必须首先被激活，这与磷酸的激活相类似。硫酸的激活分两步进行，首先形成腺苷酰硫酸 (adenosine phospho-sulfate, APS)，催化此反应的酶为 ATP 硫酸化酶。然后进一步形成磷酸腺苷酰硫酸 (PAPS) 催化反应的酶为 APS 激酶。APS 和 PAPS 的结构如下：



腺苷酰硫酸(APS)

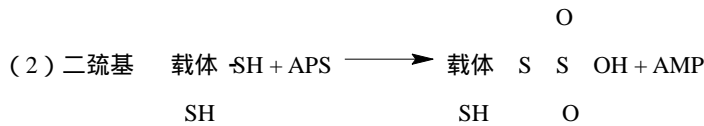
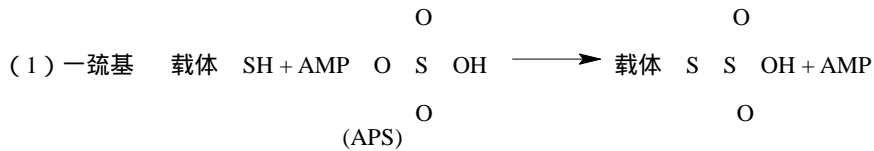


磷酸腺苷酰硫酸(PAPS)

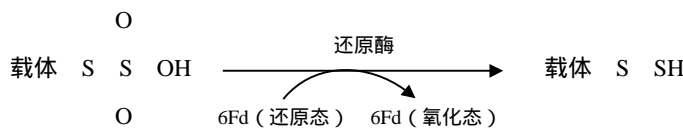


第一步反应平衡极不利于 APS 的形成，但由于生成的焦磷酸进一步水解为无机磷酸，另外，催化第二步反应的 APS 激酶对 APS 的亲合力大，所以使反应有利于形成 PAPS。

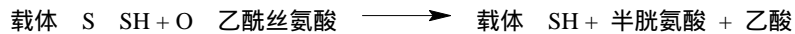
硫酸被激活后再被还原。首先，硫酸从 APS (或 PAPS，视不同生物而异) 转移到一种含有一个或多个巯基的载体分子上。



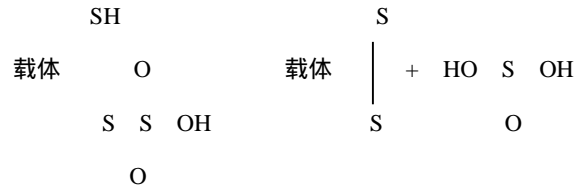
对于小球藻和高等植物来说，生成的载体一硫代硫酸加合物可被铁氧还蛋白进一步还原。



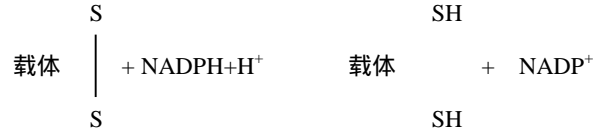
反应产生的产物可用以合成半胱氨酸。



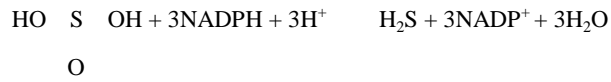
对于二巯基载体上的硫酸加合物，则是进行内部的氧化还原反应而放出亚硫酸。



然后此二巯基载体可被 NADPH 还原生成二巯基形式，从而使其可以重新利用：



而亚硫酸可在亚硫酸还原酶的作用下还原成 H_2S 。



生成的 H_2S 可以用来合成半胱氨酸。半胱氨酸可以转变为甲硫氨酸。

以上扼要介绍了各种氨基酸的合成过程，它们的碳架主要来自于糖氧化分解产生的中间代谢物，经转氨作用形成相应的氨基酸。各种氨基酸的合成途径及其相互关系见图 8-9。

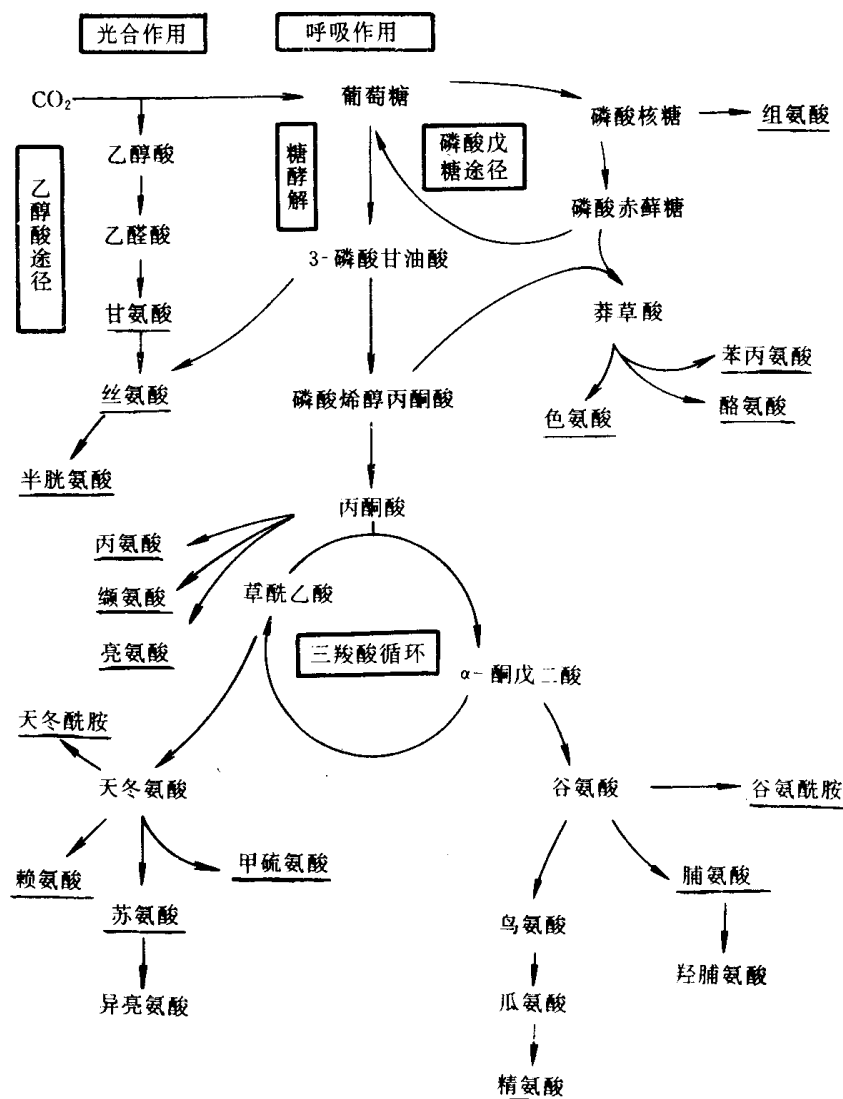


图 8-9 各种氨基酸合成途径及其相互关系

主要参考文献

[1] 唐咏主编. 基础生物化学. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1995
 [2] 吴显荣主编. 基础生物化学. 北京: 中国农业出版社, 1999
 [3] 吴赛玉主编. 简明生物化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999
 [4] 于自然主编. 现代生物化学. 北京: 化学工业出版社, 2001
 [5] 沈同. 王镜岩主编. 生物化学(下). 北京: 高等教育出版社, 1991
 [7] Lehninger, A. L., Nelson, D. L. and Cox, M. M. Principles of Biochemistry, second edition. Worth Publishers, Inc. 1993

任大明

第八章 蛋白质降解和氨基酸代谢	253
第一节 蛋白质的酶促降解	253
一、蛋白酶	253
二、肽酶	254
第二节 氨基酸的降解与转化	255
一、脱氨基作用	255
二、脱羧基作用	258
三、氨基酸分解产物的去向	260
第三节 氨基酸的生物合成	264
一、生物固氮	265
二、硝酸还原作用	267
三、氨的同化	268
四、氨基酸的生物合成	270