

第七章 蛋白质的酶促 降解和AA代谢

第一节 蛋白质的酶促降解

第二节 AA的分解与转化

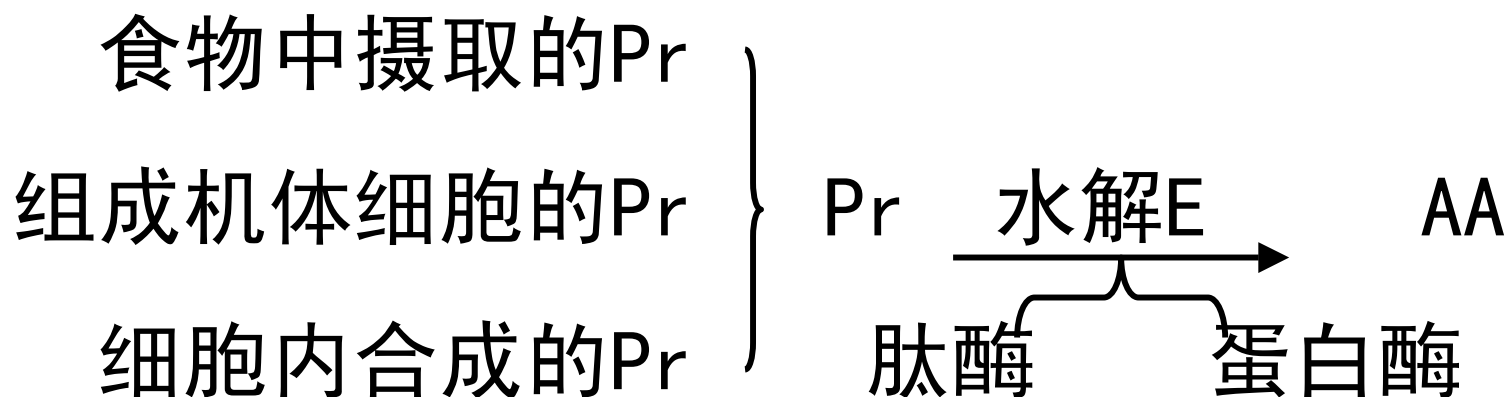
第三节 氨基酸的生物合成



第七章 蛋白质的酶促

降解和AA代谢

第一节 蛋白质的酶促降解



一、肽酶

肽酶：肽链外切酶，可分别从多肽链的游离羧基端或游离氨基端逐个水解AA的E。

氨肽酶：从多肽链氨基端逐个水解AA的E。


羧肽酶 { 羧肽酶 A: 水解中性AA为羧基末端的肽键
羧肽酶 B: 水解碱性AA为羧基末端的肽键

二、蛋白酶

蛋白酶：又称肽链内切酶，它能水解肽链内部的肽键，使蛋白质多肽链水解为许多小肽段

胃蛋白酶：水解由芳香族AA的 $-NH_2$ 形成的肽键

胰凝乳蛋白酶：水解由芳香族AA的 $-COOH$ 形成的肽键



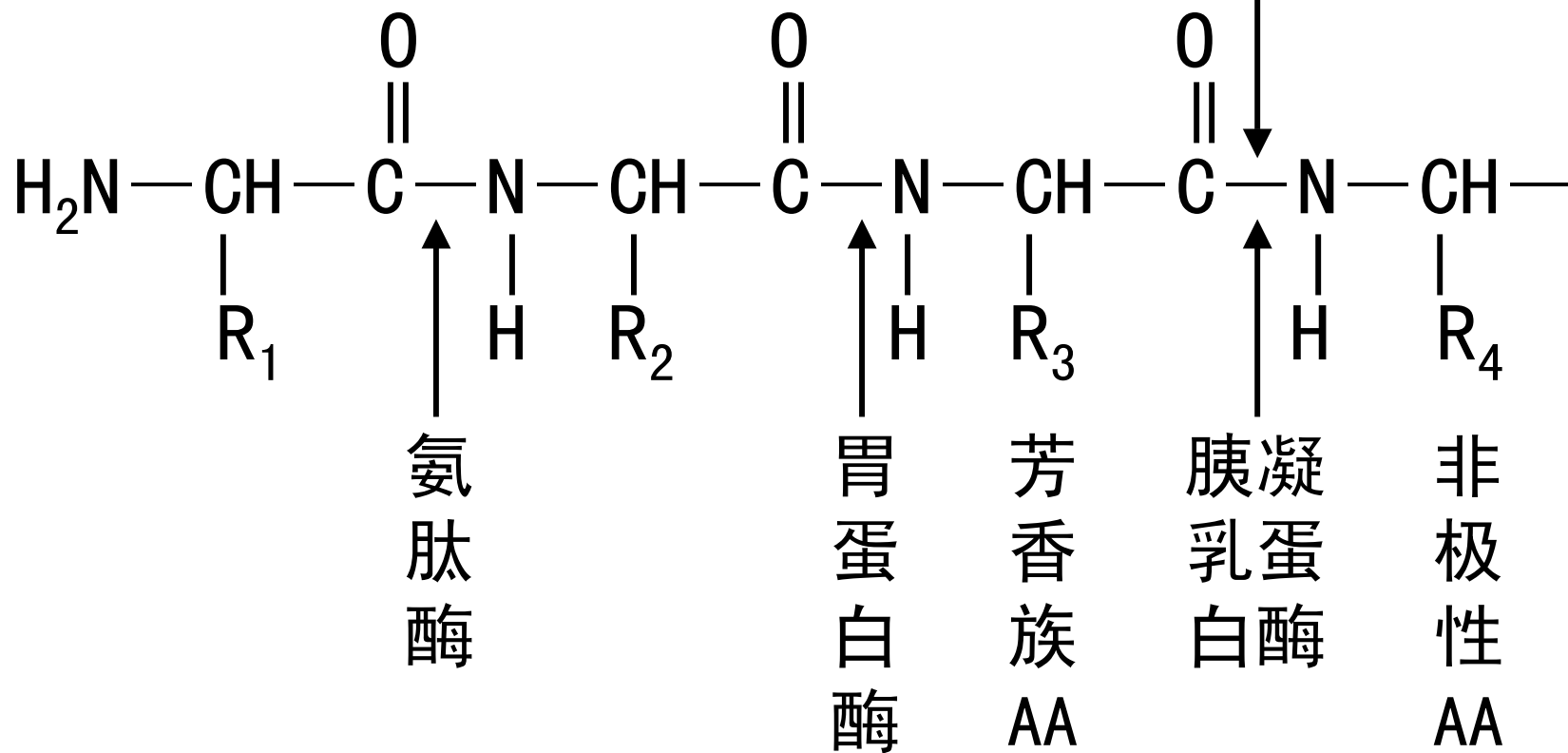
胰蛋白酶：水解由Lys、Arg等
碱性AA的COOH形成的肽键

嗜热菌蛋白酶：水解由非极性AA
的-NH₂形成的肽键

溴化氰：水解由Met的COOH形成的
肽键



嗜热菌蛋白酶



三、蛋白质一级结构的测定

1、样品预处理：样品须纯化，测分子量，加入含巯基乙醇的高浓度尿素溶液，使Pr分子中的二硫键和非共价键断开。

2、测定AA组成：样品用6mol/L HCl在110°C水解24h，再用AA自动分析仪进行测定。

3、肽链末端AA的测定：用Sanger反应或Edman反应测定N-末端AA；用羧肽酶测定C-末端AA。

4、用蛋白酶水解成小肽链段, 并分离纯化。

5、测定每个肽段的AA顺序: 用Edman降解法或序列仪进行测定。

6、确定整个肽段的AA序列。

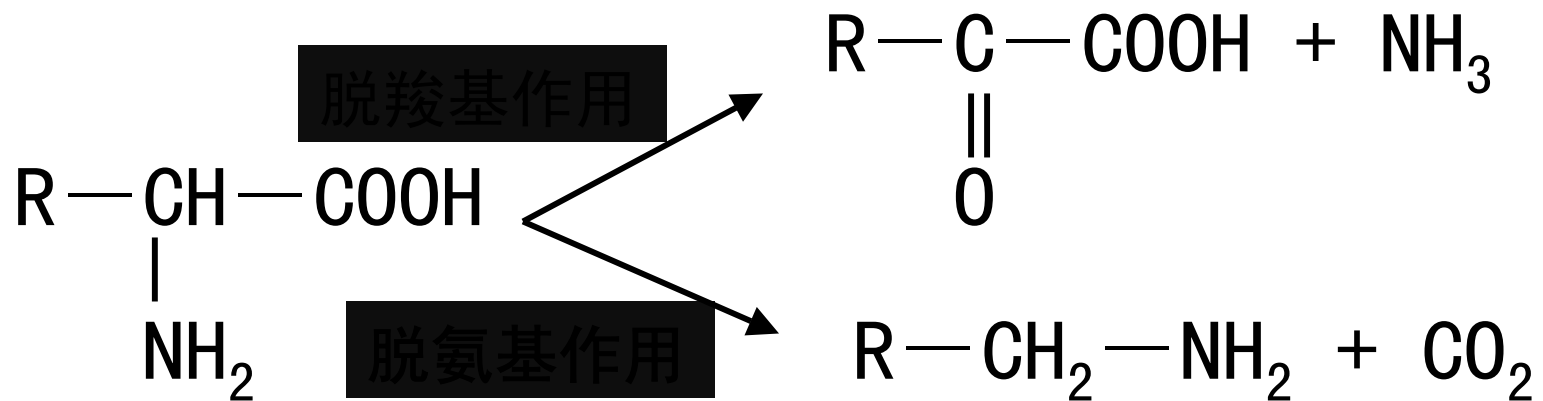
A: Gly-Lys-Asn-Tyr Ala-Phe
 His-Val Arg-Tyr

B: Ala-Phe-Gly-Lys Tyr-His-Val
 Asn-Tyr-Arg

确定排列: Ala-Phe-Gly-Lys-Asn-Tyr-Arg-
Tyr-His-Val

第二节 AA的分解与转化

AA的共同代谢途径:



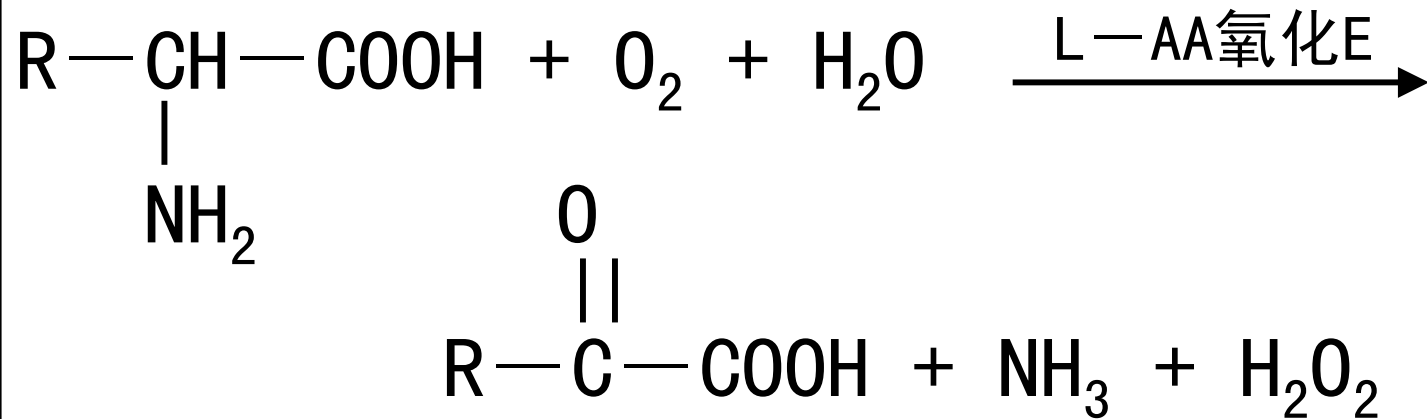
一、脱氨基作用※

1、氧化脱氨基作用

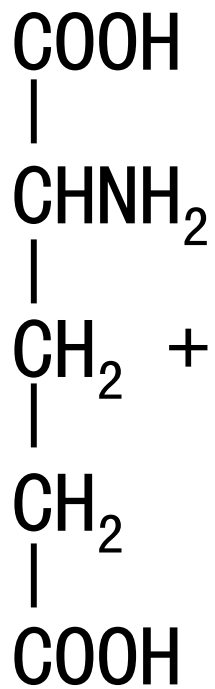
L—AA氧化E：最适pH为10，在生理条件下活性不大

D— AA氧化E：组成Pr的AA是L—型，无实际意义

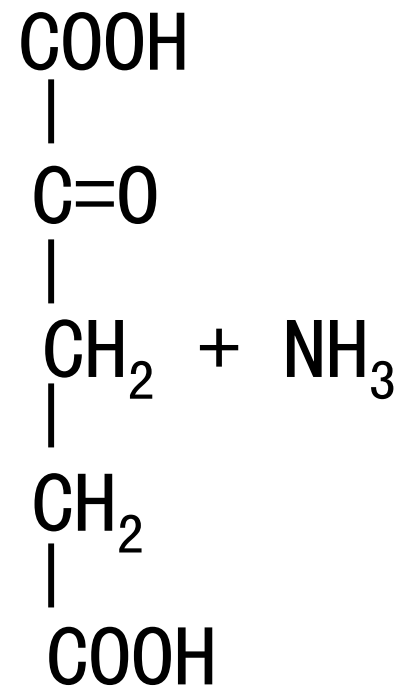
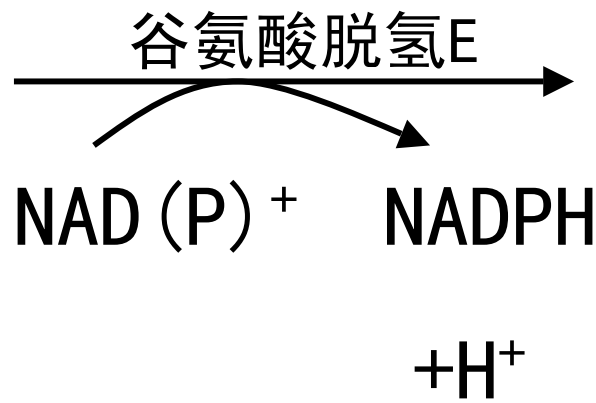
谷氨酸脱氢E：在生物体内分布广泛，且活性强，是氧化脱氨基作用的主要E



(存在于动物肝、肾和某些细菌、真菌中)



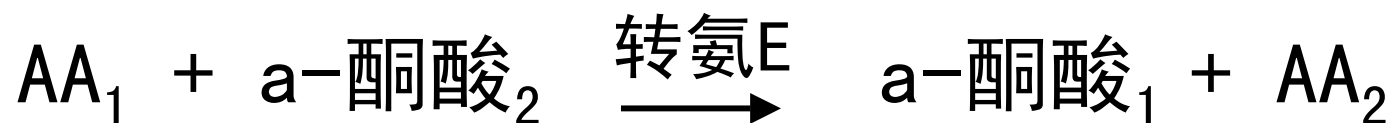
谷氨酸



α-酮戊二酸

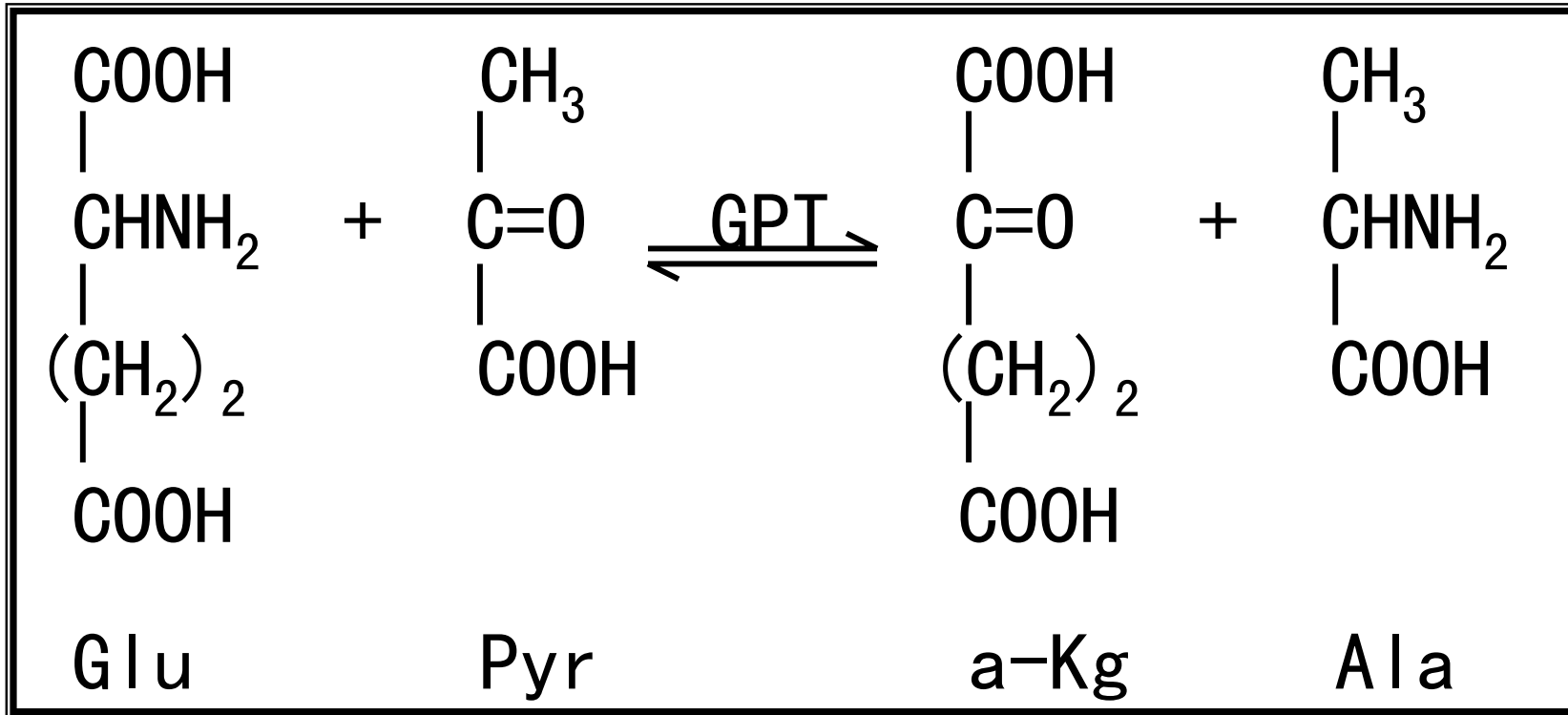
2、转氨基作用

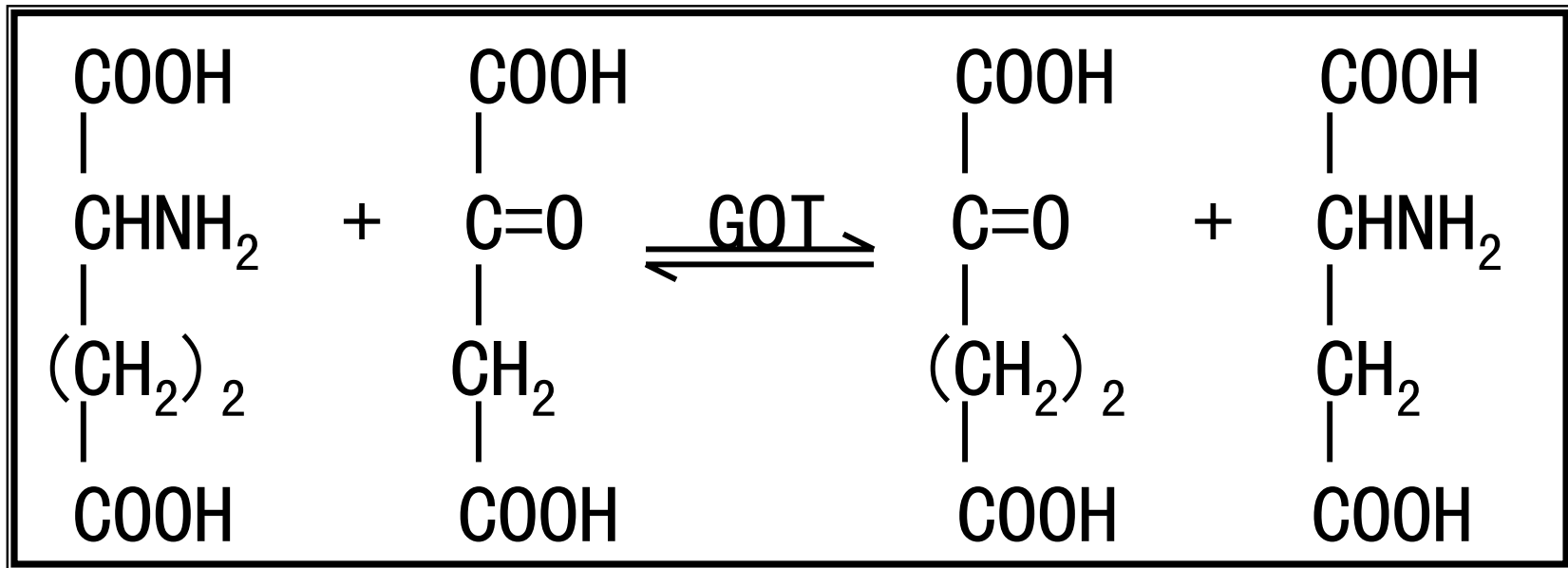
转氨作用：



转氨酶：催化转氨作用的酶称为转氨酶，以磷酸吡哆醛为辅酶，它是 V_{B6} 的磷酸酯。

转氨酶广泛存在于动、植物和微生物体内，其中重要的是谷丙转氨酶（GPT）、谷草转氨酶（GOT）。

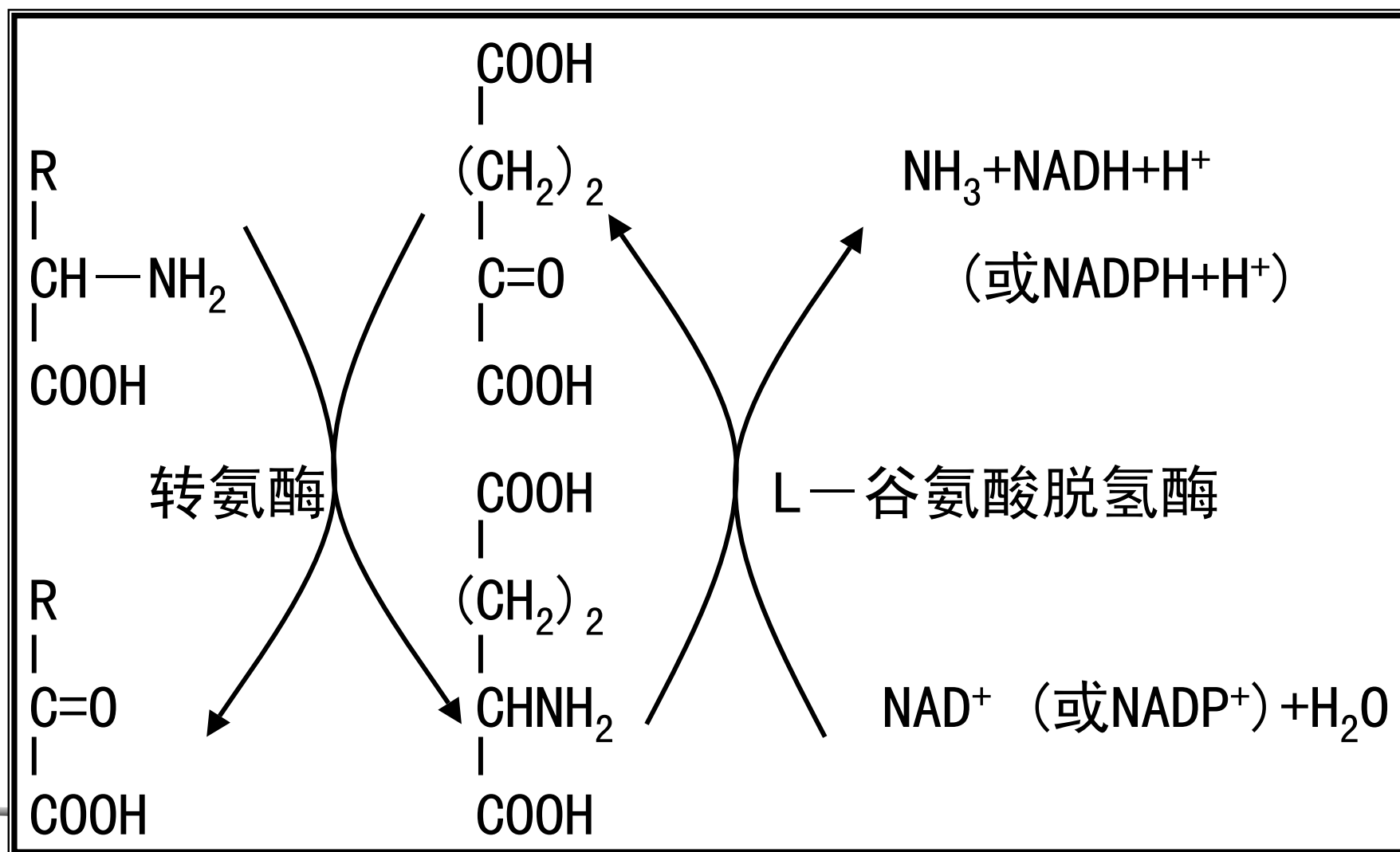




实验证明，除Lys、Arg和Thr外，其余L-AA都可以转氨酶的转氨作用形成，且大多数转氨酶都需Glu作为氨基的供体，所以Glu作为AA的转换站。

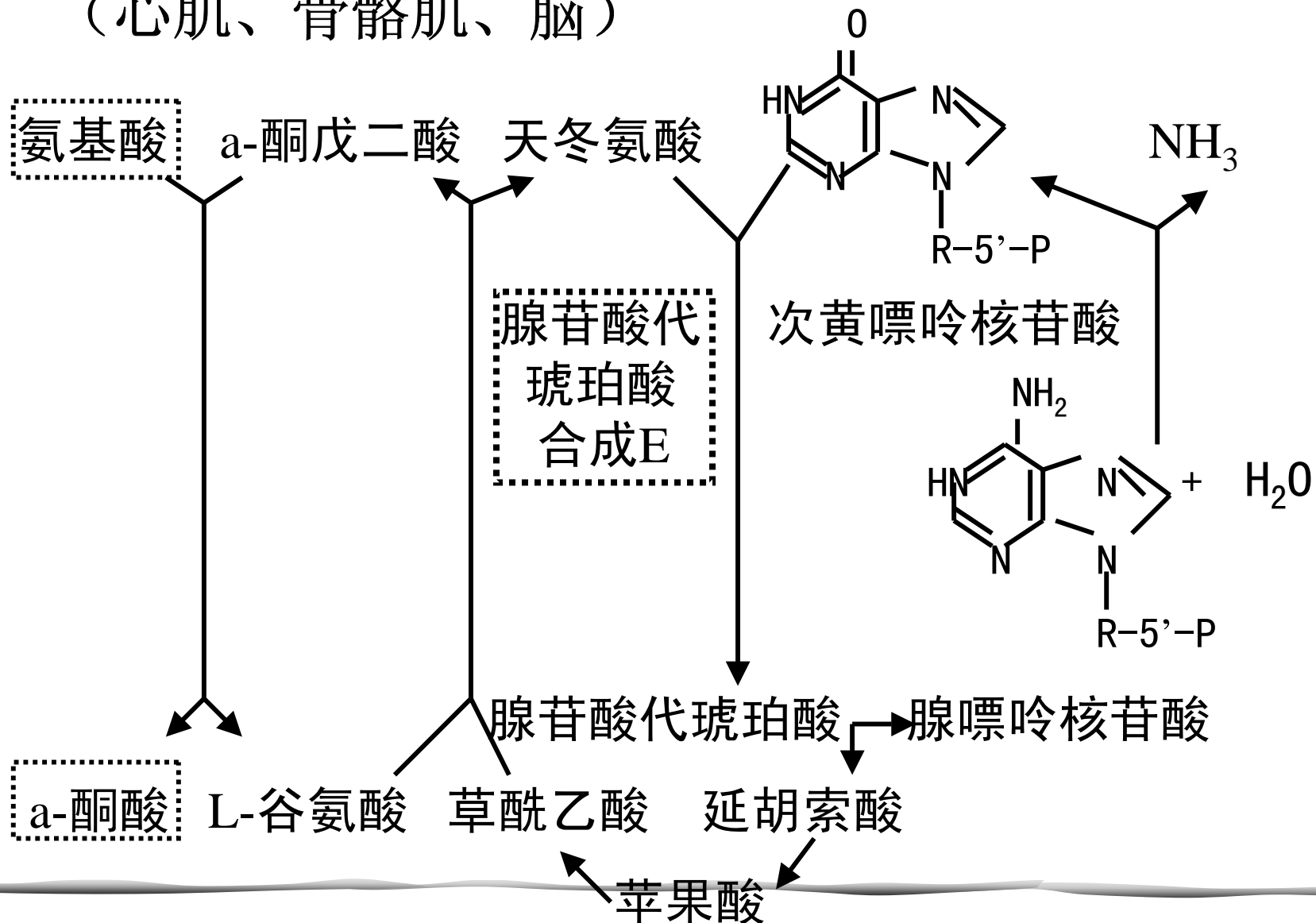
3、联合脱氨基作用（生物体脱氨基的主要形式）

(1) 转氨酶—谷氨酸脱氢酶的联合脱氨作用（肝、肾）



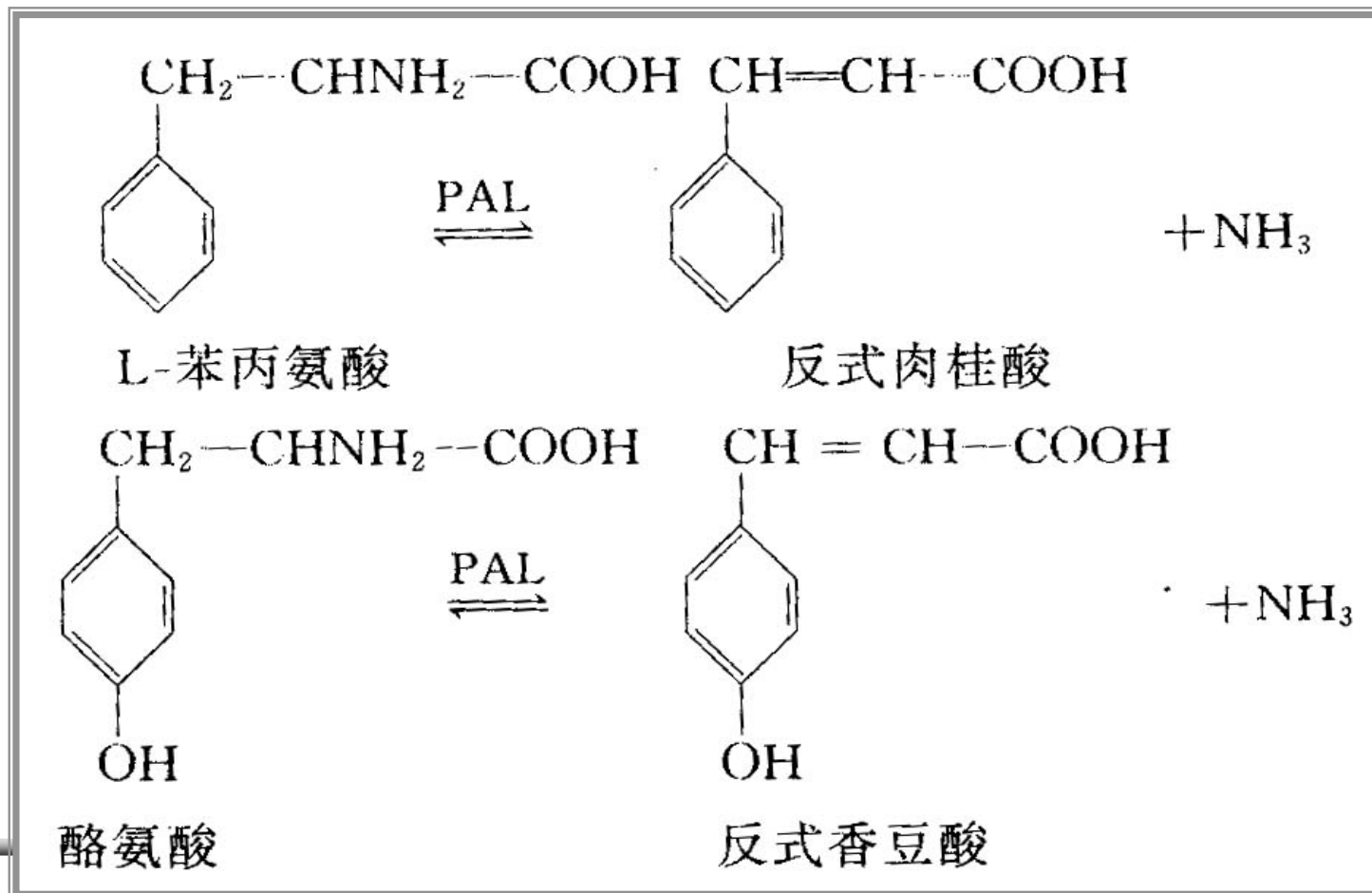
(2) 转氨E-嘌呤核苷酸循环联合脱氨作用

(心肌、骨骼肌、脑)

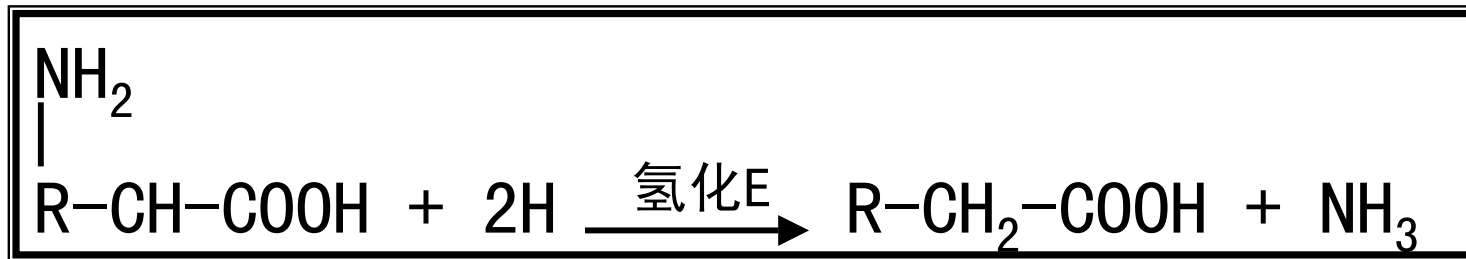


4、非氧化脱氨基作用：大多数在微生物中进行

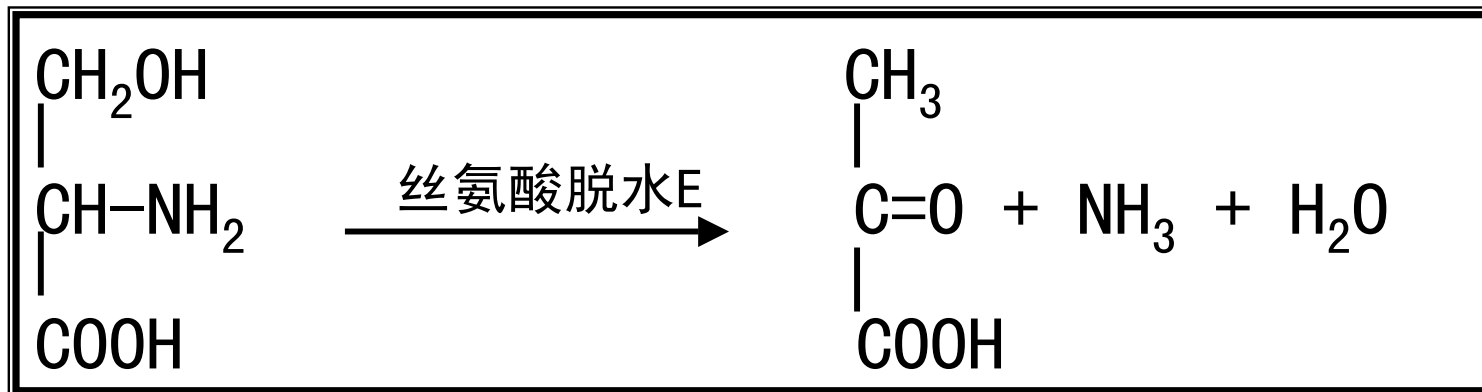
(1) 直接脱氨基作用 (PAL)



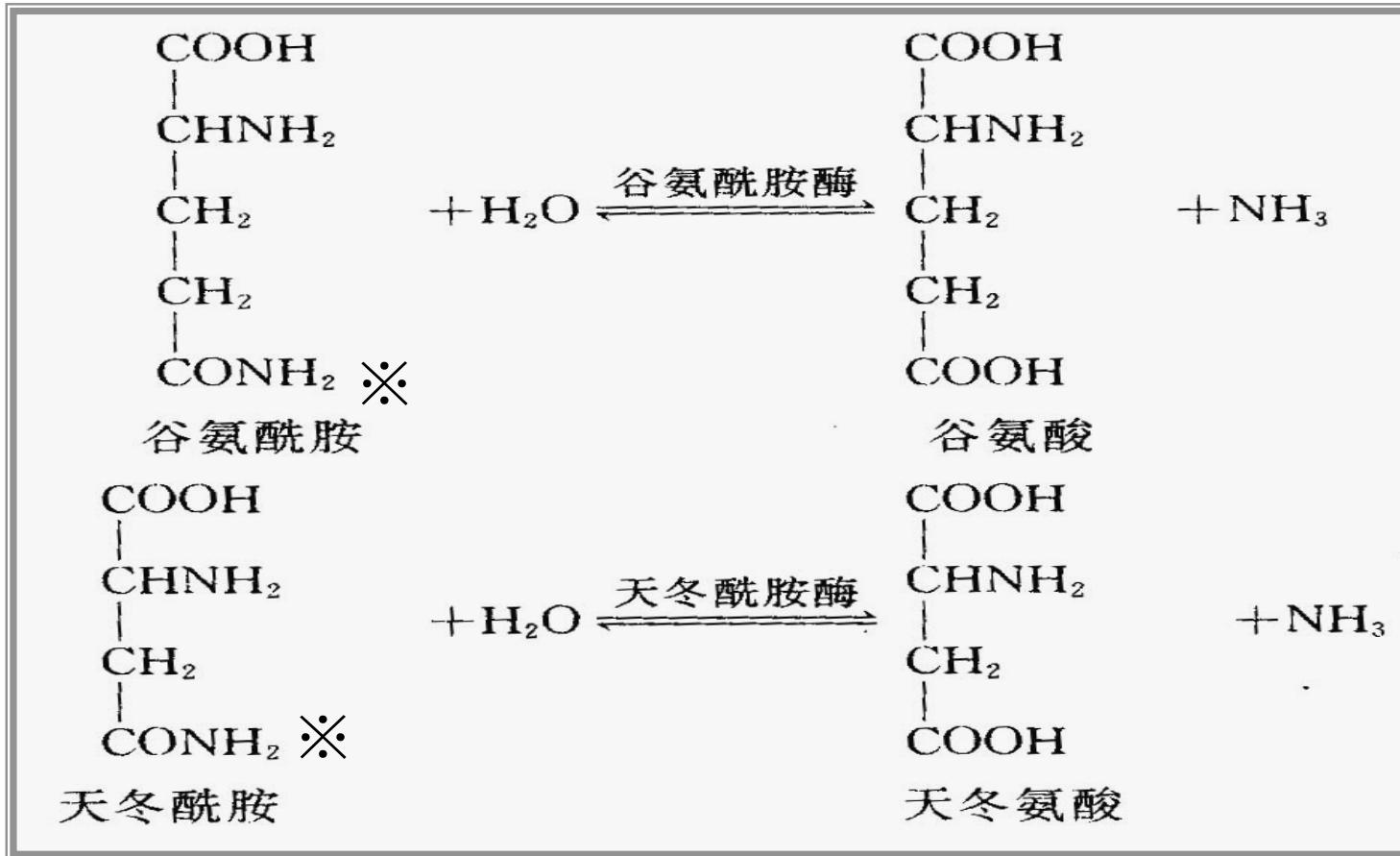
(2) 还原脱氨基作用



(3) 脱水脱氨基作用



5、脱酰氨基作用

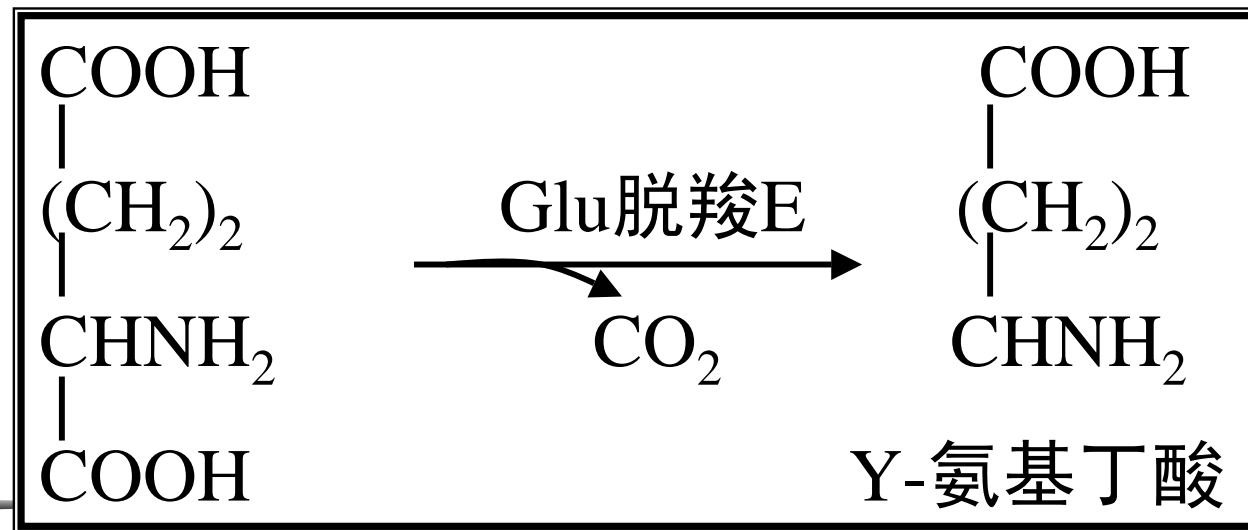


二、脱羧基作用

1、直接脱羧基作用

AA脱羧E广泛存在于生物体内，以磷酸吡哆醛为辅酶。

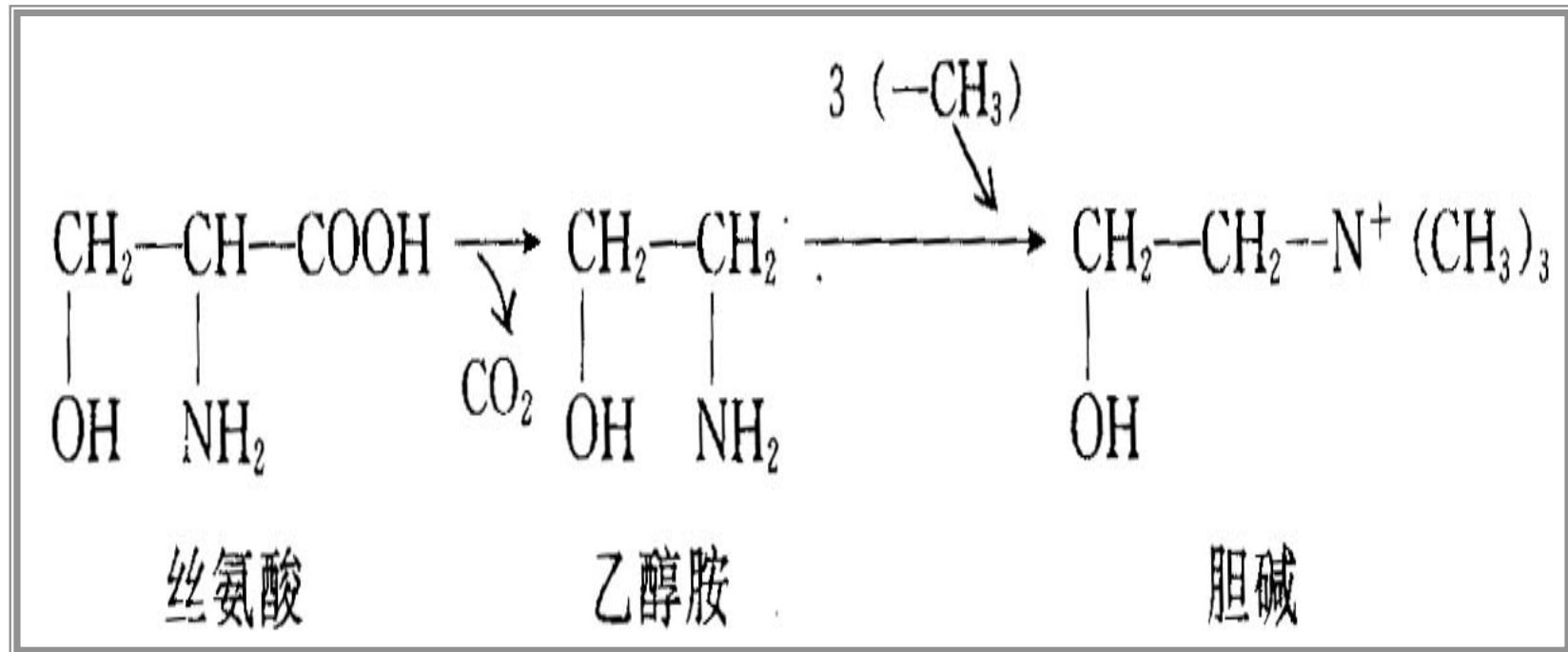
(1) Glu脱羧



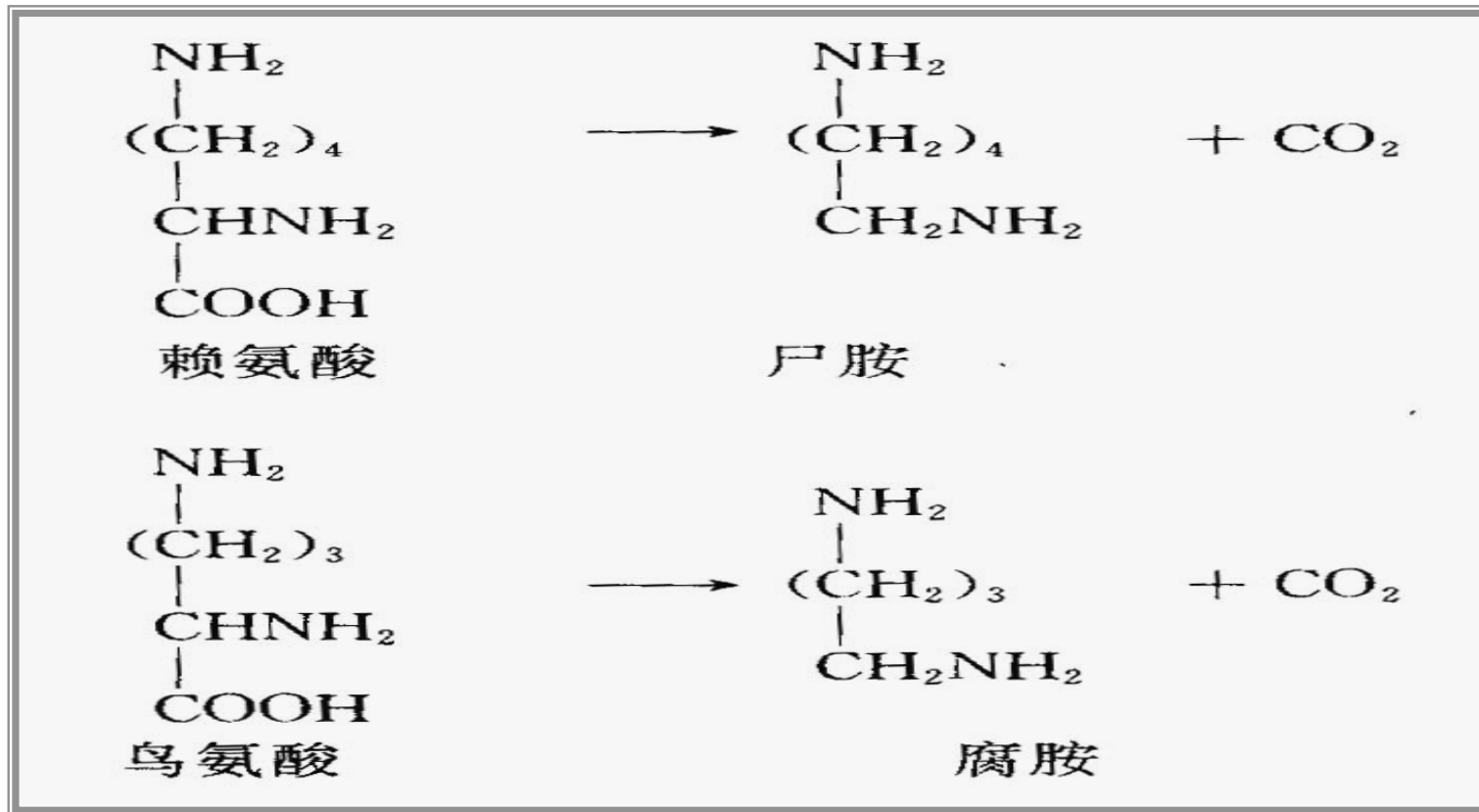
Y-氨基丁酸是抑制性神经递质，在水稻抗虫品种中，Glu脱羧E活性很高，产生较多的Y-氨基丁酸，它对昆虫神经系统的传导有阻滞作用，抗虫。



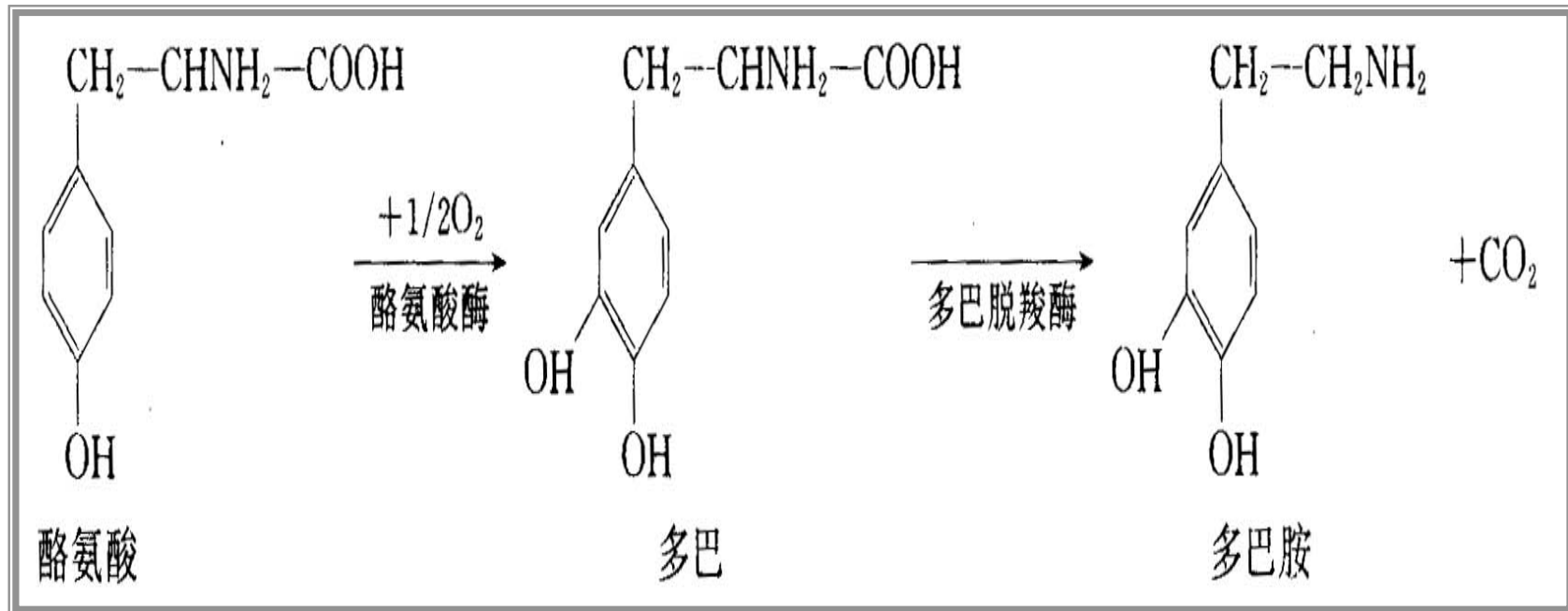
(2) Ser 的脱羧



(3) Lys、鸟氨酸的脱羧



2、羟化脱羧基作用



Tyr 在酪氨酸酶的作用下发生羟化生成多巴，进一步氧化成黑色素。

三、AA降解产物的去向

(一) 氨的代谢转变

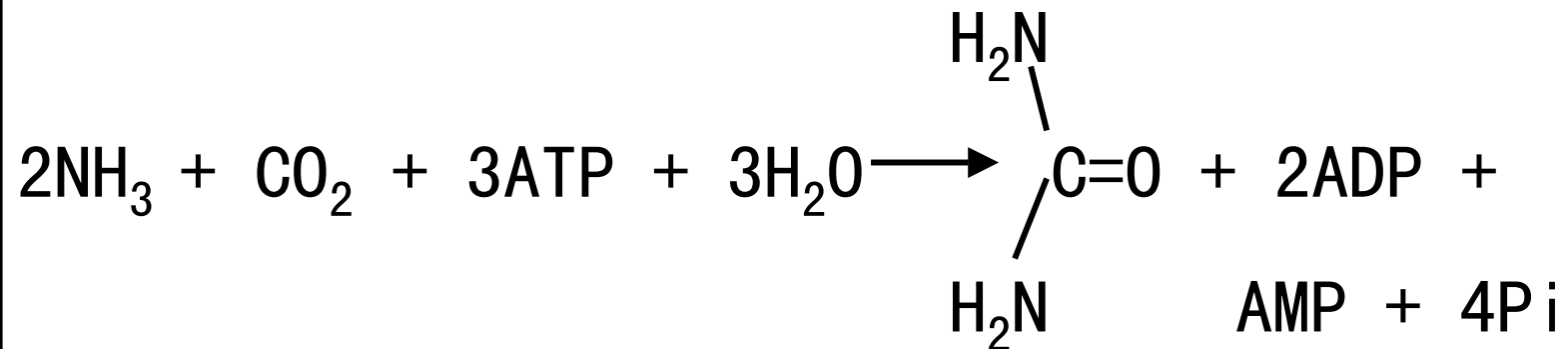
在正常情况下细胞中游离氨浓度非常低

- 1、重新合成AA：不能增加AA数量，能改变AA种类
- 2、生成酰胺：酰胺是生物体贮藏和运输氨的主要形式；解除氨毒

3、生成铵盐：保证细胞内正常的pH

4、经鸟氨酸循环，合成尿素，排出体外

在哺乳动物体内，氨的主要去路是在肝脏中合成尿素并随尿排出体外。



在植物体内也有尿素的生成，植物体中含有脲酶，能将尿素水解：



生成的氨可再循环利用。

(二) α -酮酸的代谢转变

1、还原氨基化——合成新AA

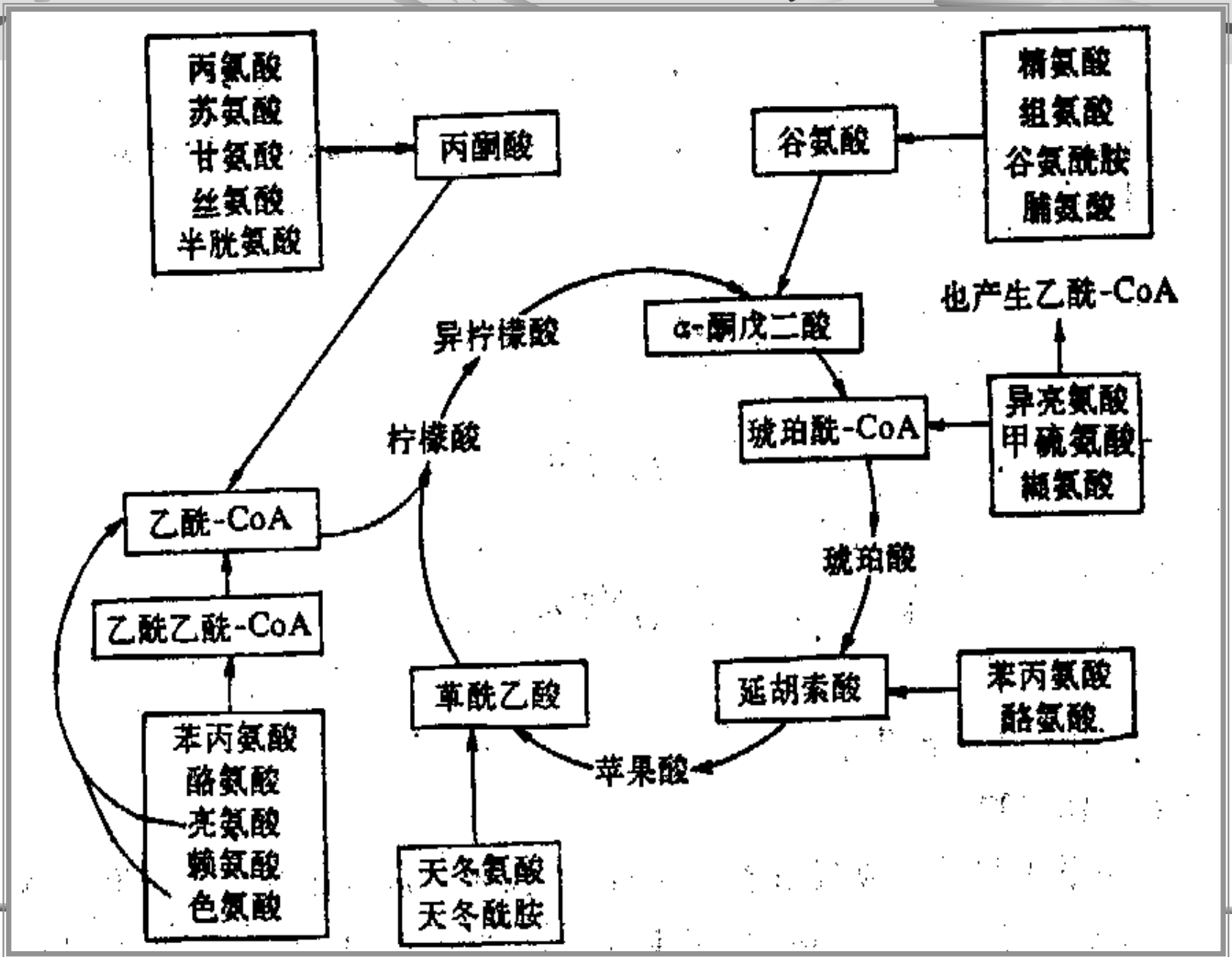
2、转变为糖和脂肪

生糖AA：在生物体内可以转变为糖的AA，代谢终产物为丙酮酸或TCA循环的有机酸。

生酮AA：在生物体内可以转变为酮体的AA，代谢终产物为乙酰CoA或乙酰乙酰CoA。

(只有Leu是纯粹生酮的)

3、氧化为 CO_2 和 H_2O



(三) 脱羧基产物的转化

胺：生理活性物质

Lys—尸胺（戊二胺）

鸟AA—腐胺（丁二胺）—精胺、亚精胺

Trp—色胺—吲哚乙酸

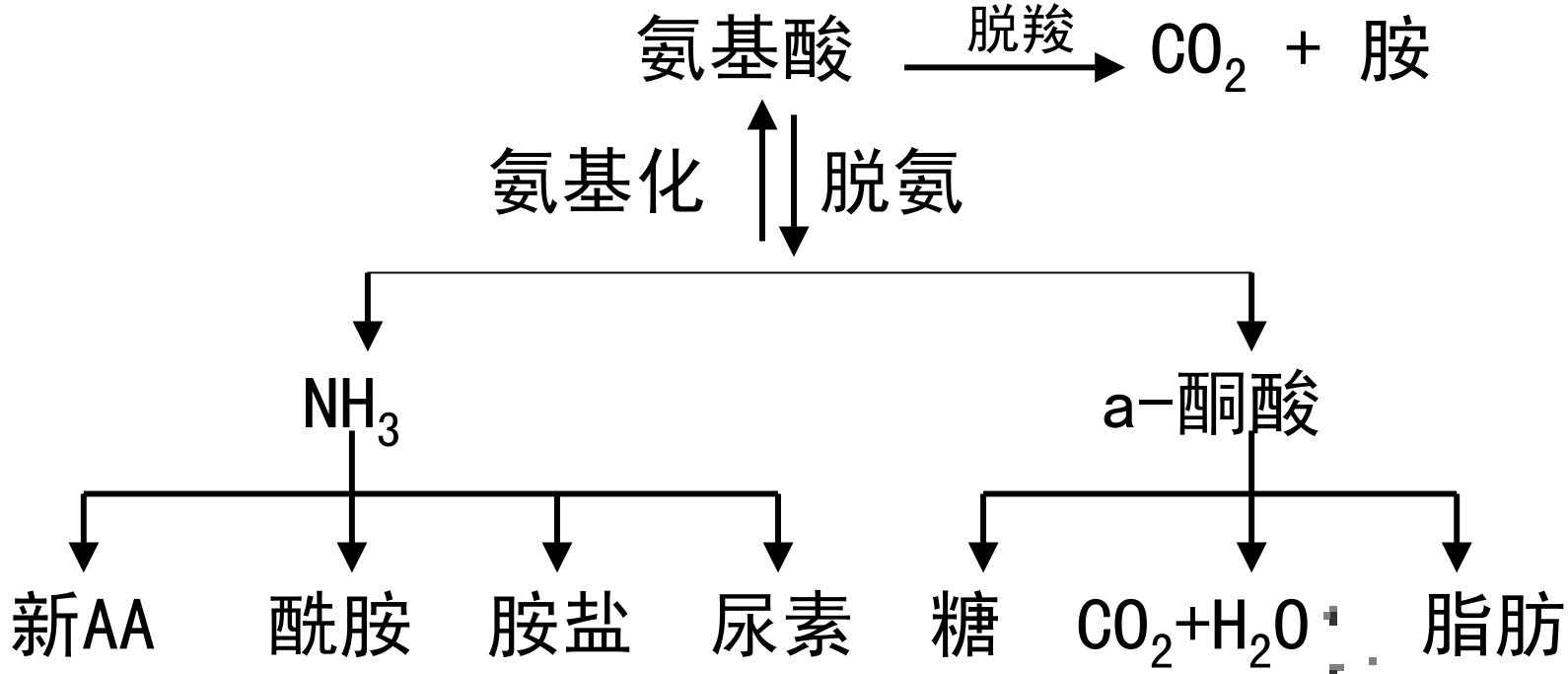
Ser—乙醇胺—胆碱—卵磷脂

脑磷脂

Cys— β -巯基乙胺

Asp— β -丙氨酸

} CoA 、 ACP



我真羡慕你...



第三节 氨基酸的生物合成

一、氨基化作用（直接氨基化）



（一）氨的来源

1、生物固氮

某些微生物，在常温常压下，将 N_2 转变为 NH_3 的过程。




(1) 意义:

不需高温高压，节约能源，不污染环境；
生物固氮可以为农作物提供氮肥

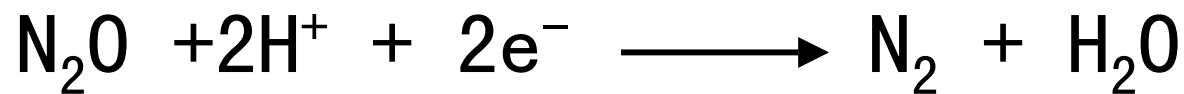
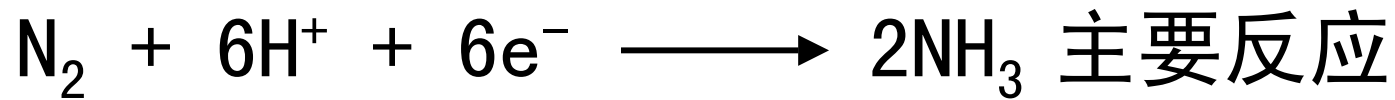
(2) 固氮酶结构（多功能酶）：

铁蛋白 + 钼铁蛋白 二者结合才有
活性

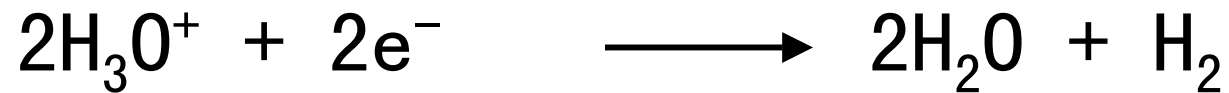
(3) 固氮酶催化的反应及反应条件



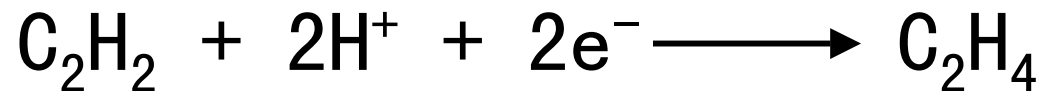
催化的反应:



(N_2O 对固氮起竞争性抑制作用)



(使还原性底物被还原)



(固氮酶活性的测定)




反应条件:

A、电子供体 NADPH

B、ATP 还原1mol N₂ 需消耗12mol ATP

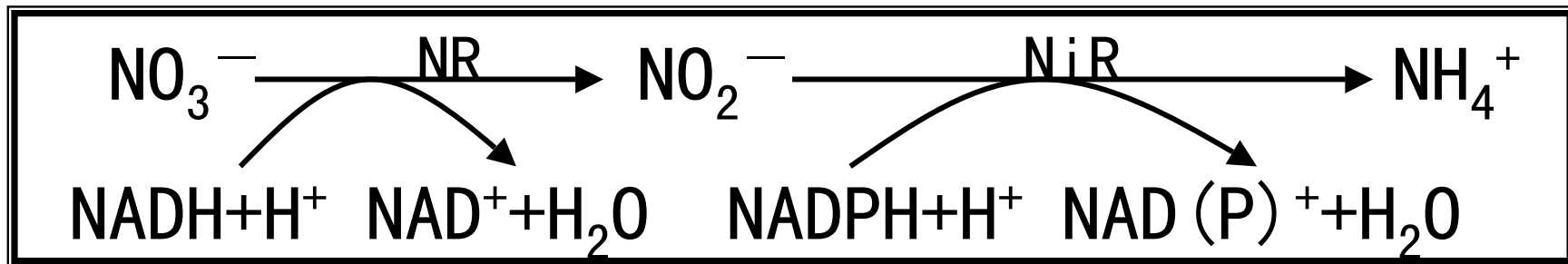
C、厌氧环境

固氮酶对O₂十分敏感，要求在严格的厌氧环境下才能固氮



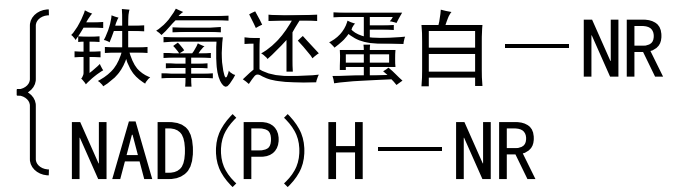
2、硝酸盐的还原作用

在植物体内N是以 NH_3 进入AA 的，而植物从土壤中吸收的主要是硝酸盐。

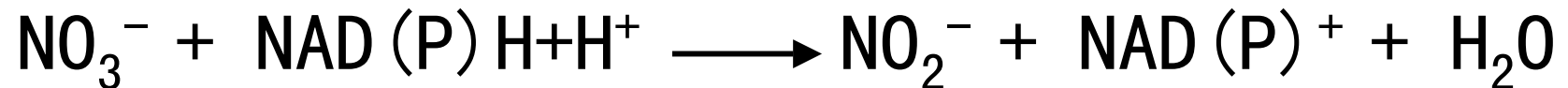


硝酸还原主要在叶中进行，但在种子萌发初期或缺N的情况下，主要在根中进行。

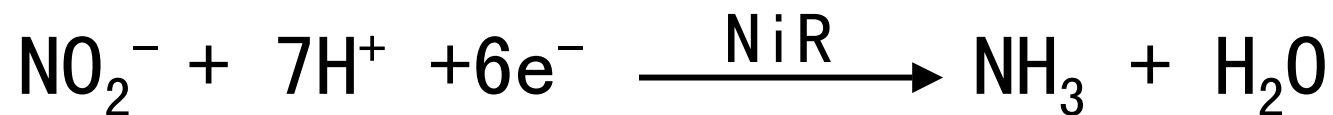
(1) NR (硝酸还原酶)




NR是诱导酶，我国吴相钰和汤佩松在1957年首先发现。




(2) NiR (亚硝酸还原酶)





3、分解代谢产生的NH₃

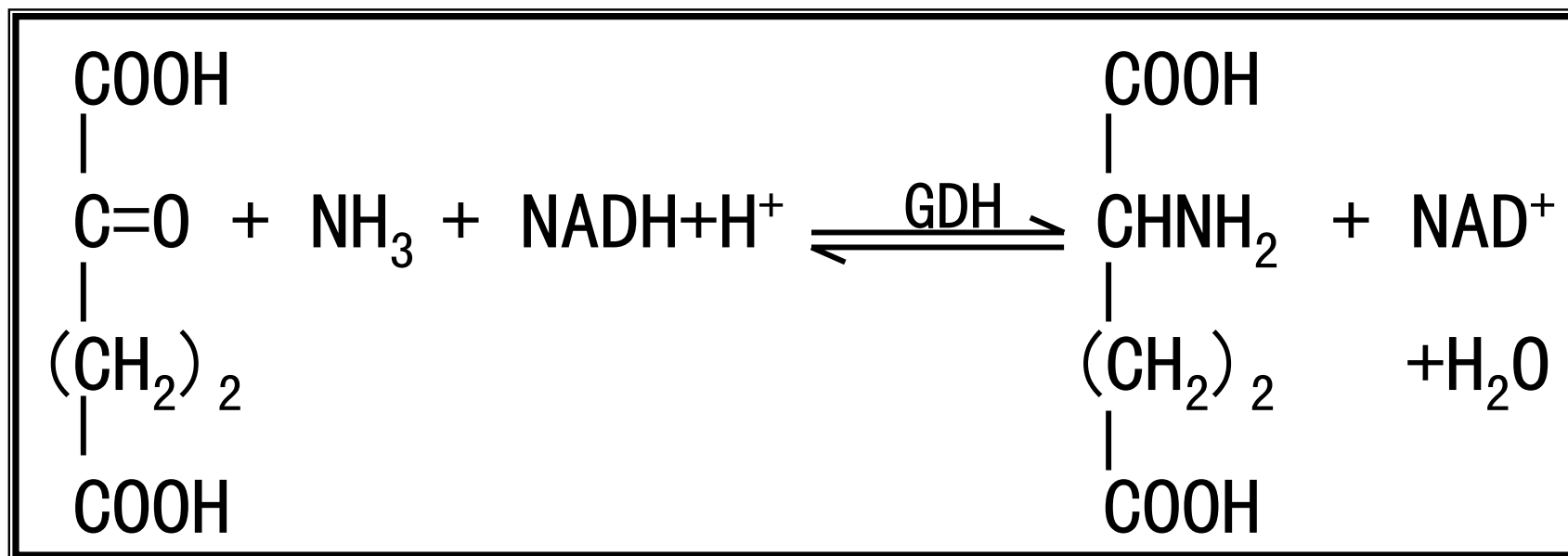
(二) α-酮酸的来源

- 1、来自糖代谢：Pyr、OAA、α-Kg
 - 2、来自GAC：CHO—COOH
 - 3、来自脂类代谢
- 

(三) 氨的同化 (氨基化作用)

1、Glu合成途径 \longrightarrow Glu \longrightarrow 其它AA

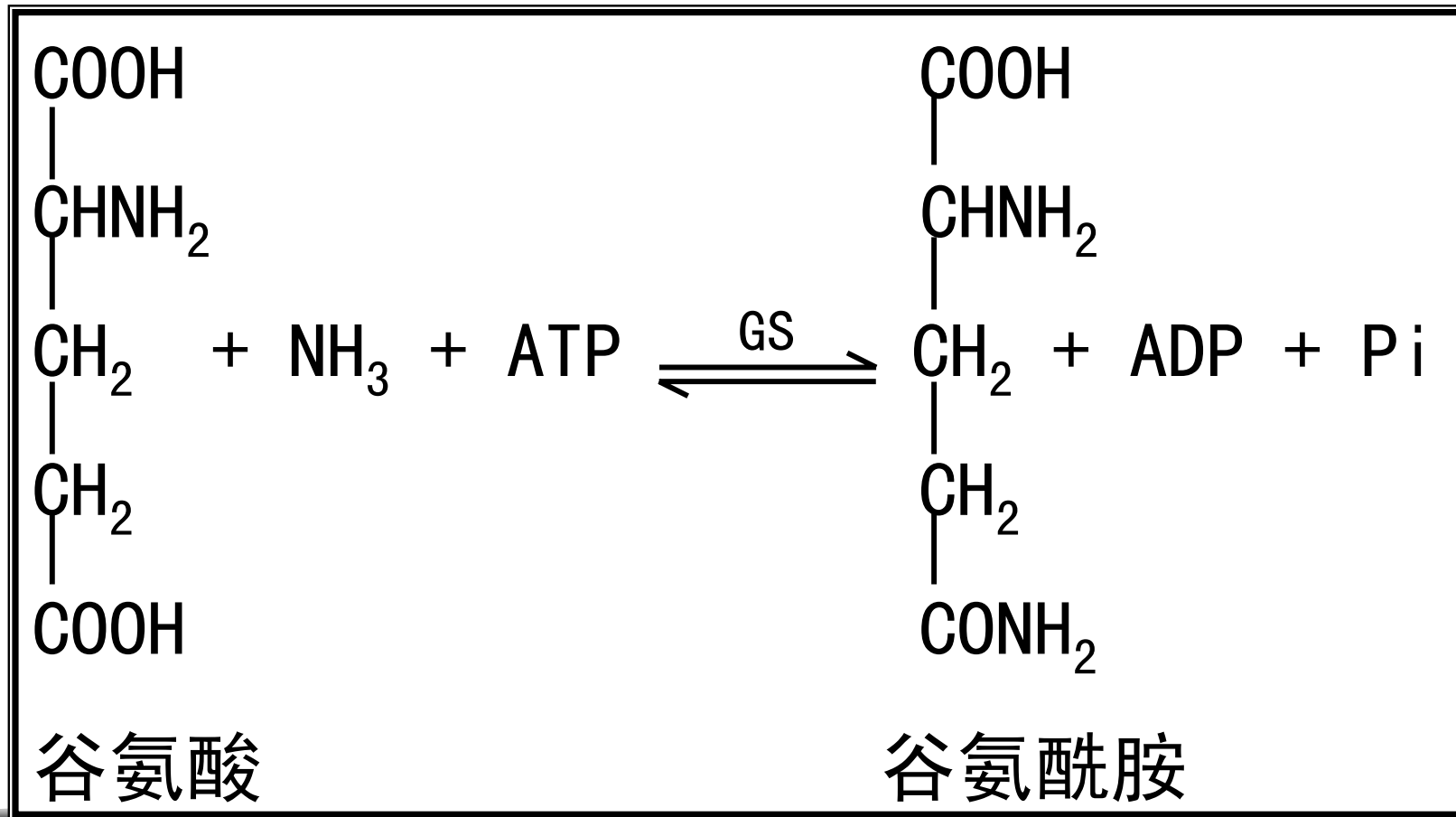
(1) Glu脱氢酶途径 (异养真核生物)

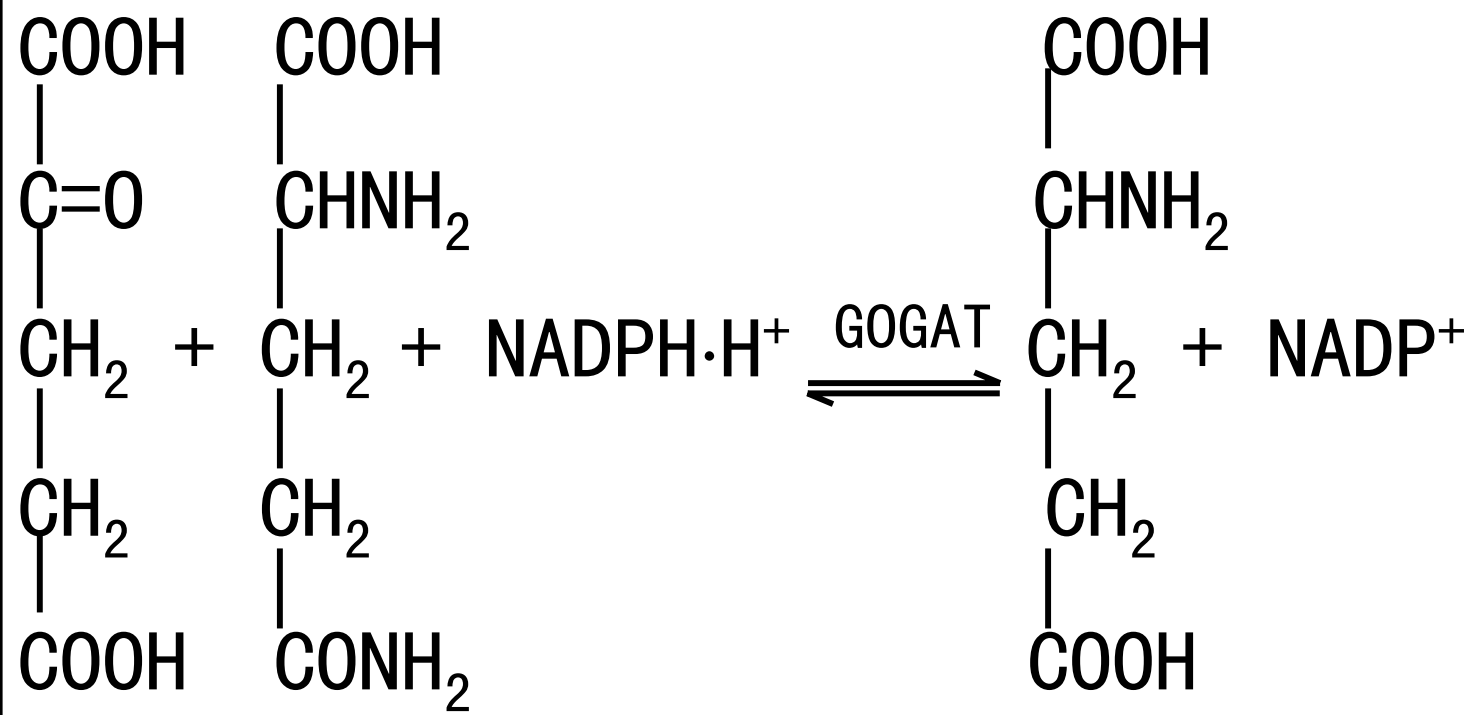


GDH对 NH_3 的亲合力低, 反应要求较高的 $[\text{NH}_3]$ 。

(2) GS—GOGAT途径 (高等绿色植物)

GS: 谷氨酰胺合成E; GOGAT: 谷氨酸合成E

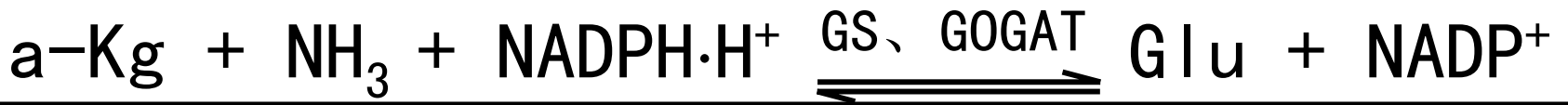




谷氨酰胺

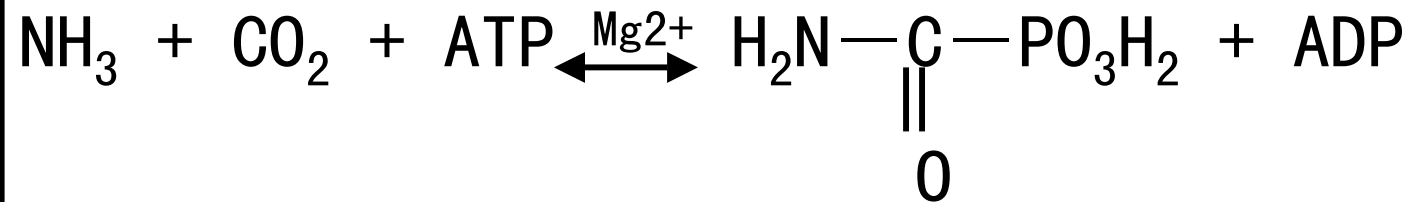
谷氨酸

总反应:

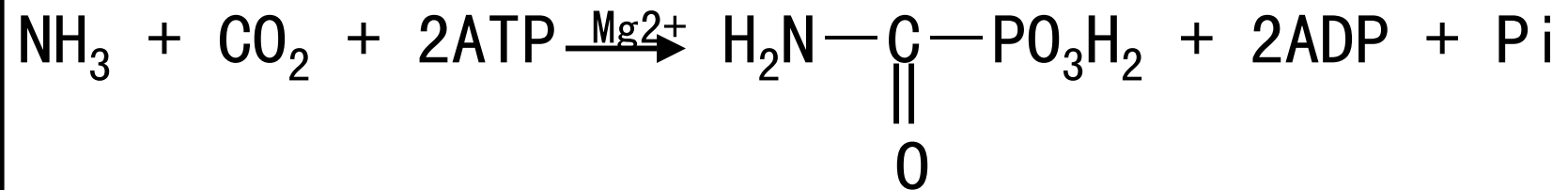


2、氨甲酰磷酸的合成

(1) 氨甲酰激酶E



(2) 氨甲酰磷酸合成E



在植物体内，氨甲酰磷酸中的 NH_3 来自Gln。

二、转氨基作用



三、各族AA的合成

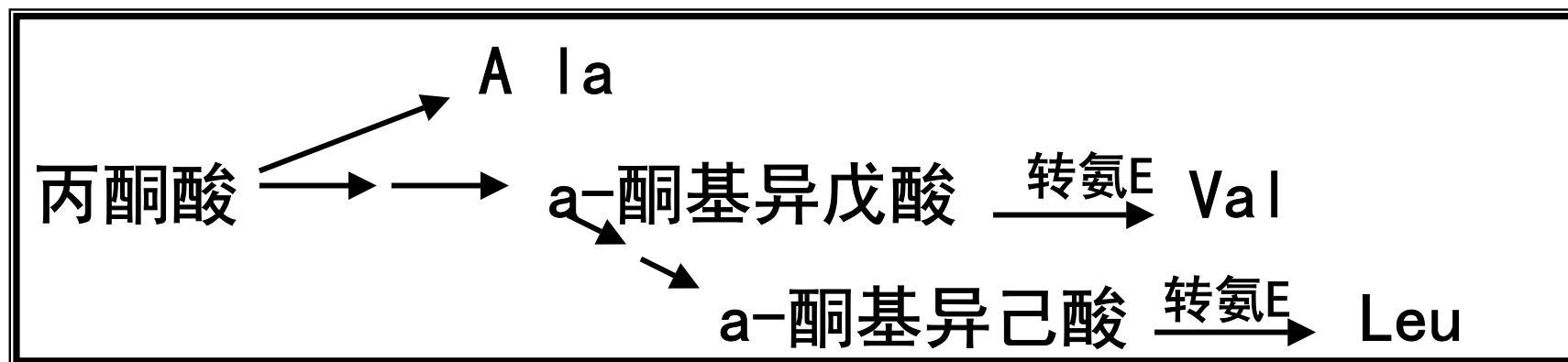
不同生物合成AA 的能力不同。动物不能合成全部二十种AA，其中在动物体内不能自身合成，必须由食物供给的AA称“必需AA”

根据AA合成的碳架来源不同，可将AA分为若干族。每一族中的AA有共同的碳架来源。

1、丙氨酸族

碳架来源：EMP途径生成的丙酮酸

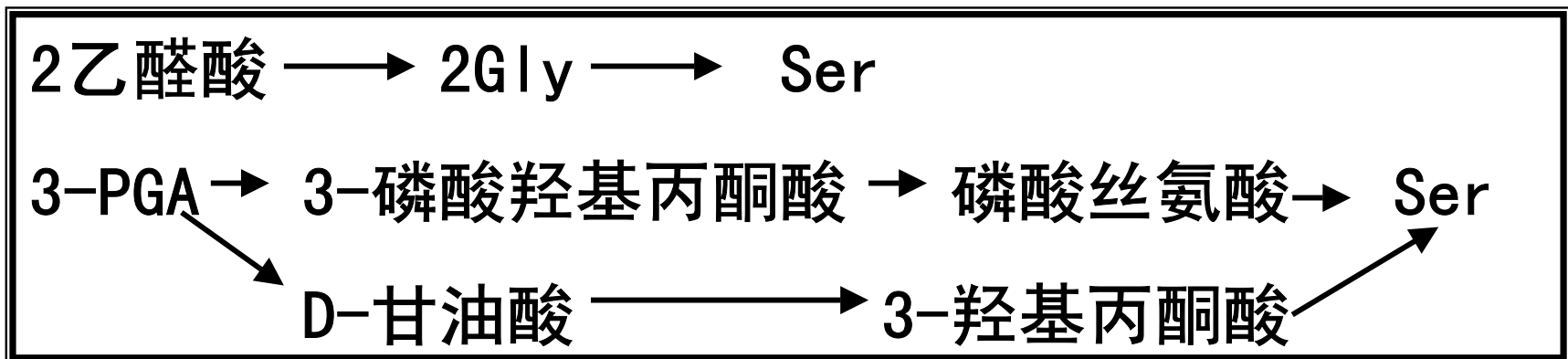
成员：Ala Val Leu

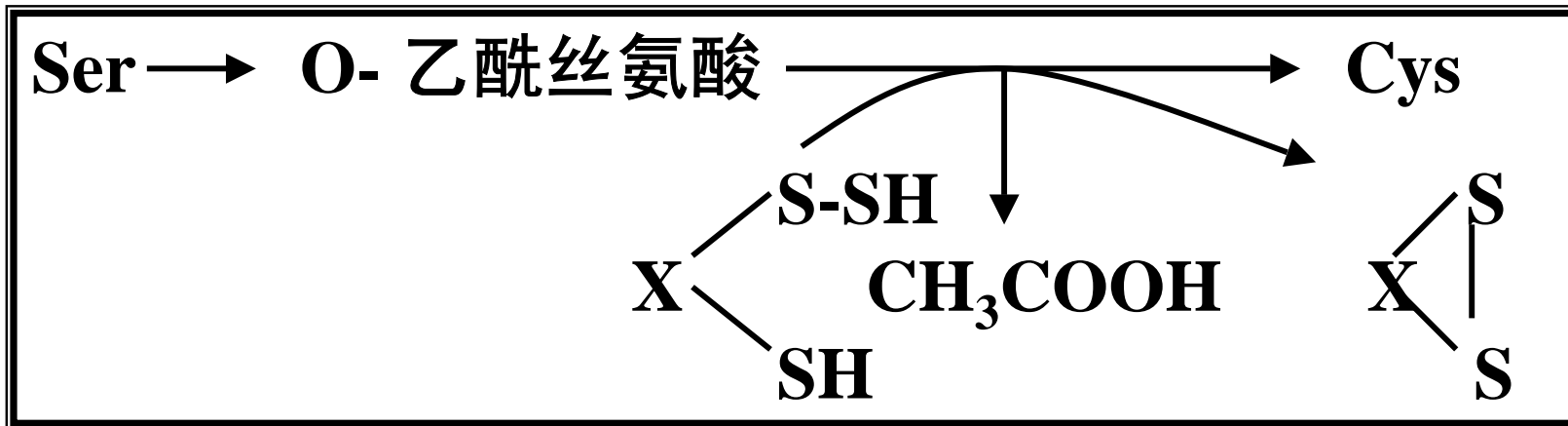


2、丝氨酸族

碳架来源：光呼吸乙醇酸途径形成的乙醛酸或EMP途径生成的3-PGA

成员： Gly Ser Cys





3、天冬氨酸族

碳架来源：TCA的OAA

成员：Asp Asn Lys Thr Ile Met

OAA



Asp



Asn



β -天冬氨酸半醛



Lys



Thr



Met

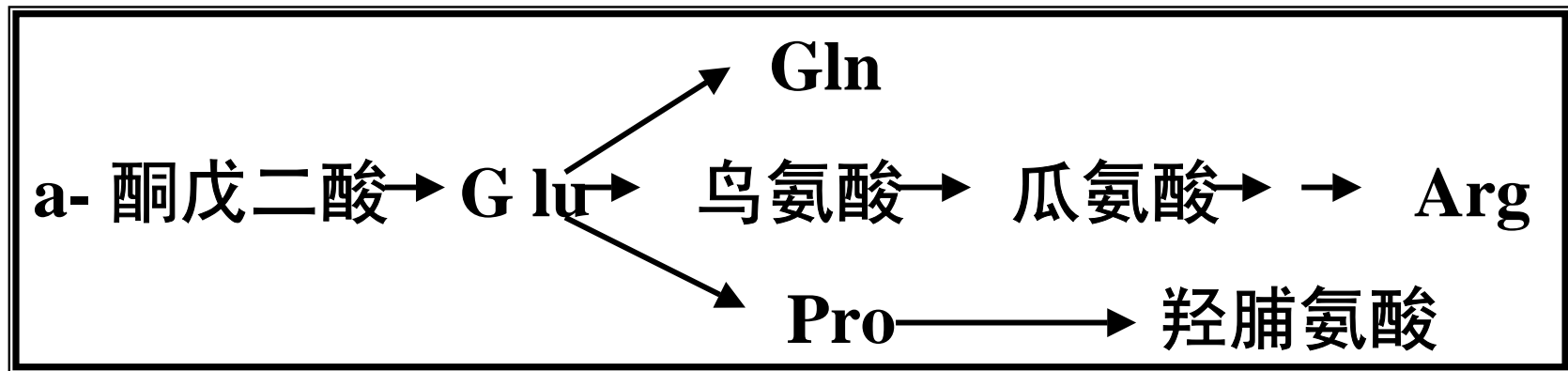


Ile

4、谷氨酸族

碳架来源：TCA的 α -酮戊二酸

成员：Glu Gln Pro Arg

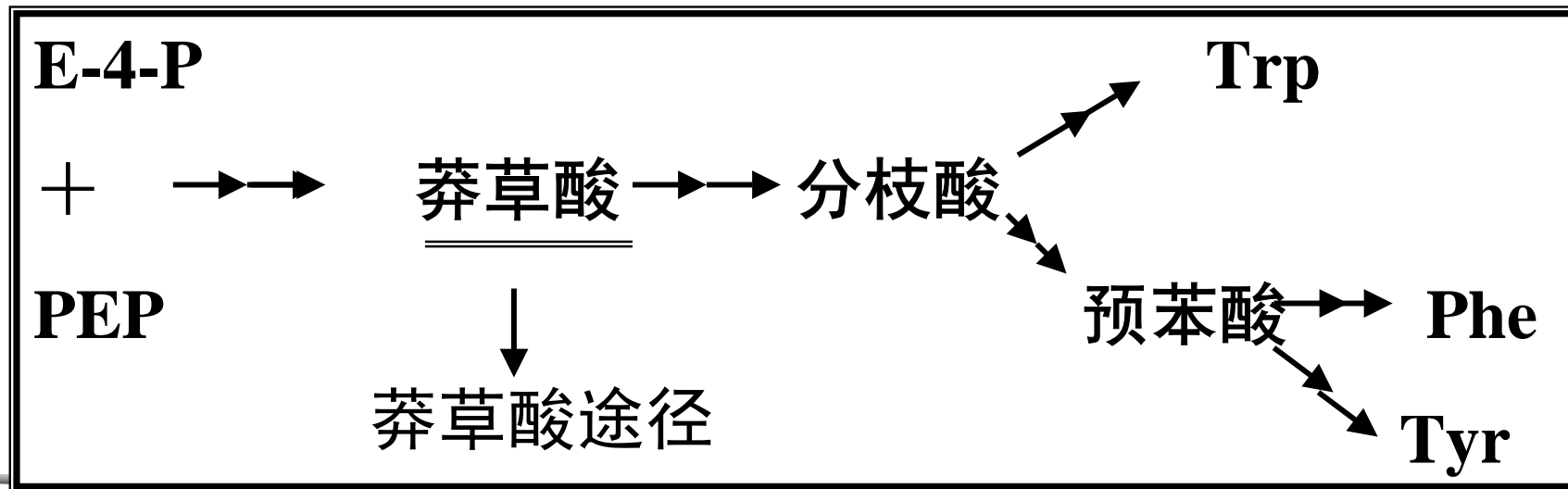


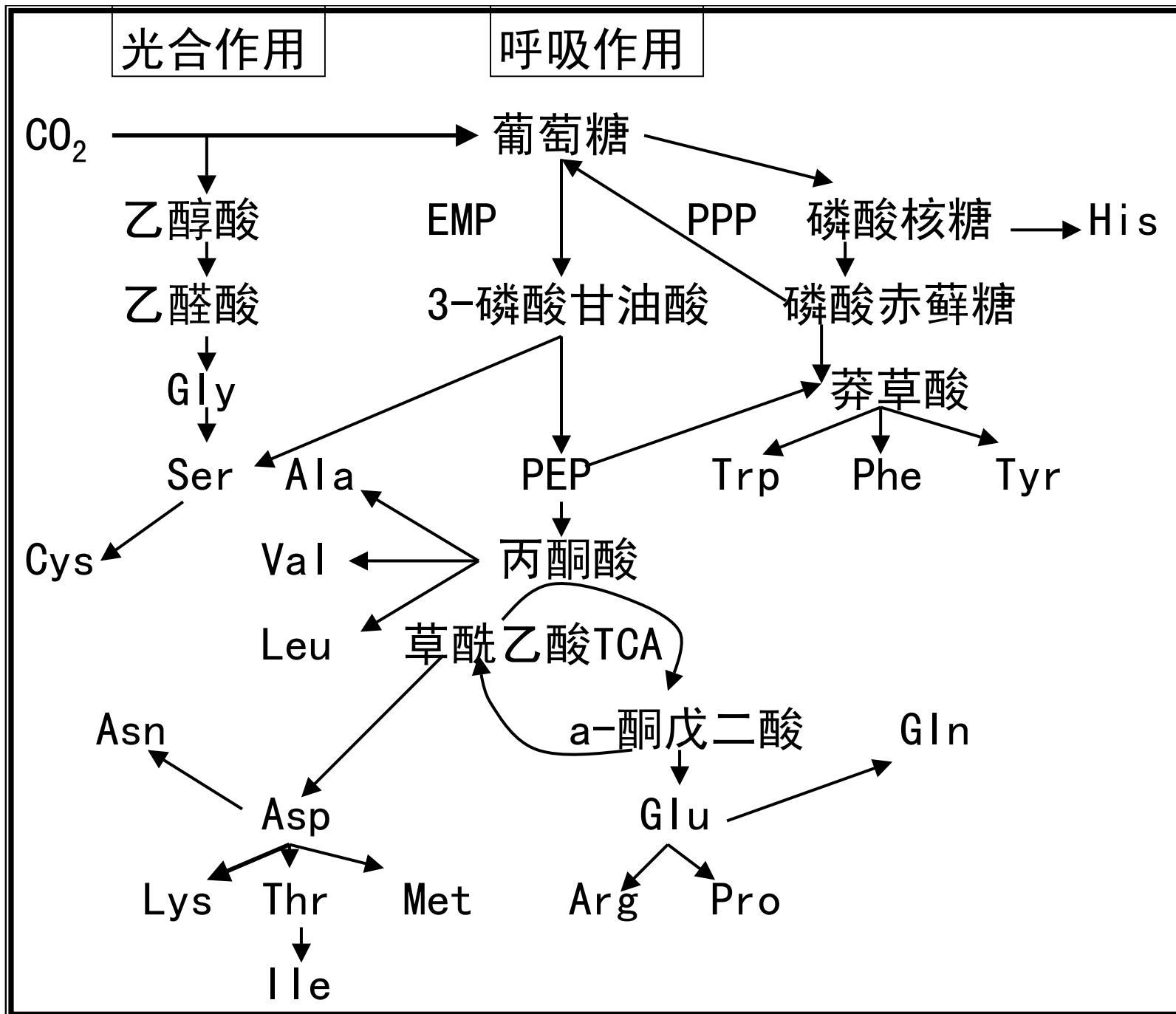
5、组氨酸和芳香氨基酸族

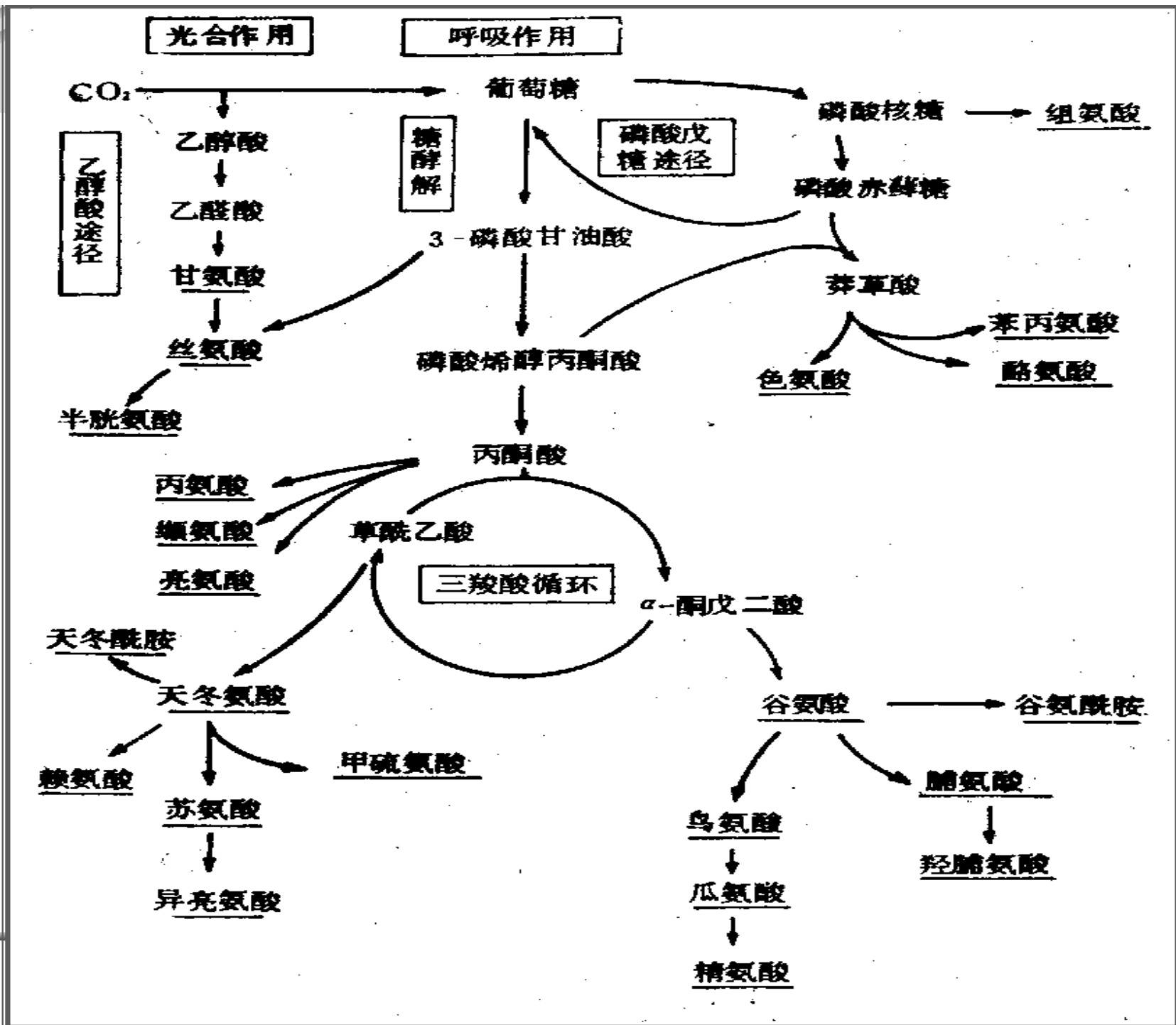
His的碳架来源：PPP的核糖-5-磷酸

芳香AA族：PPP的4-磷酸赤藓糖（E-4-P）
和EMP的PEP

成员： His Phe Tyr Trp





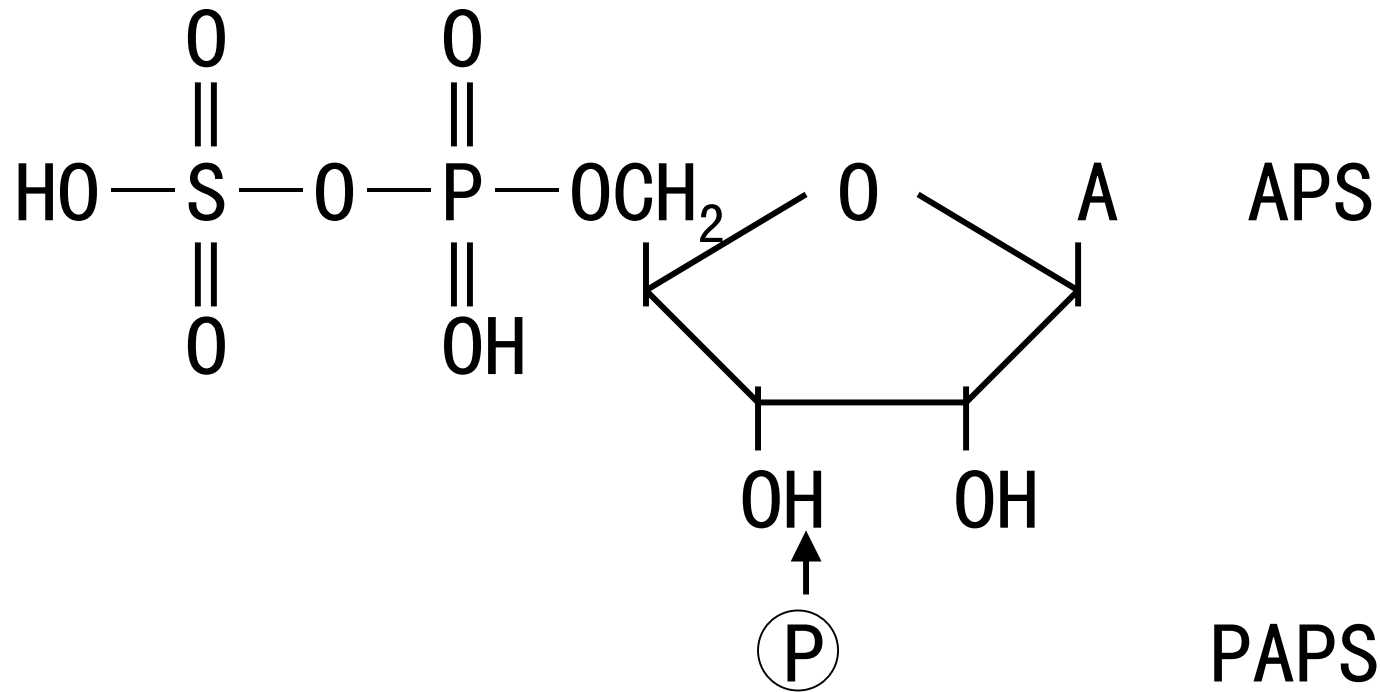


四、 SO_4^{2-} 还原 (Cys)

Cys的合成反应中，有硫化物的参与，此处的硫化物是由硫酸还原而成。

1、 SO_4^{2-} 的活化

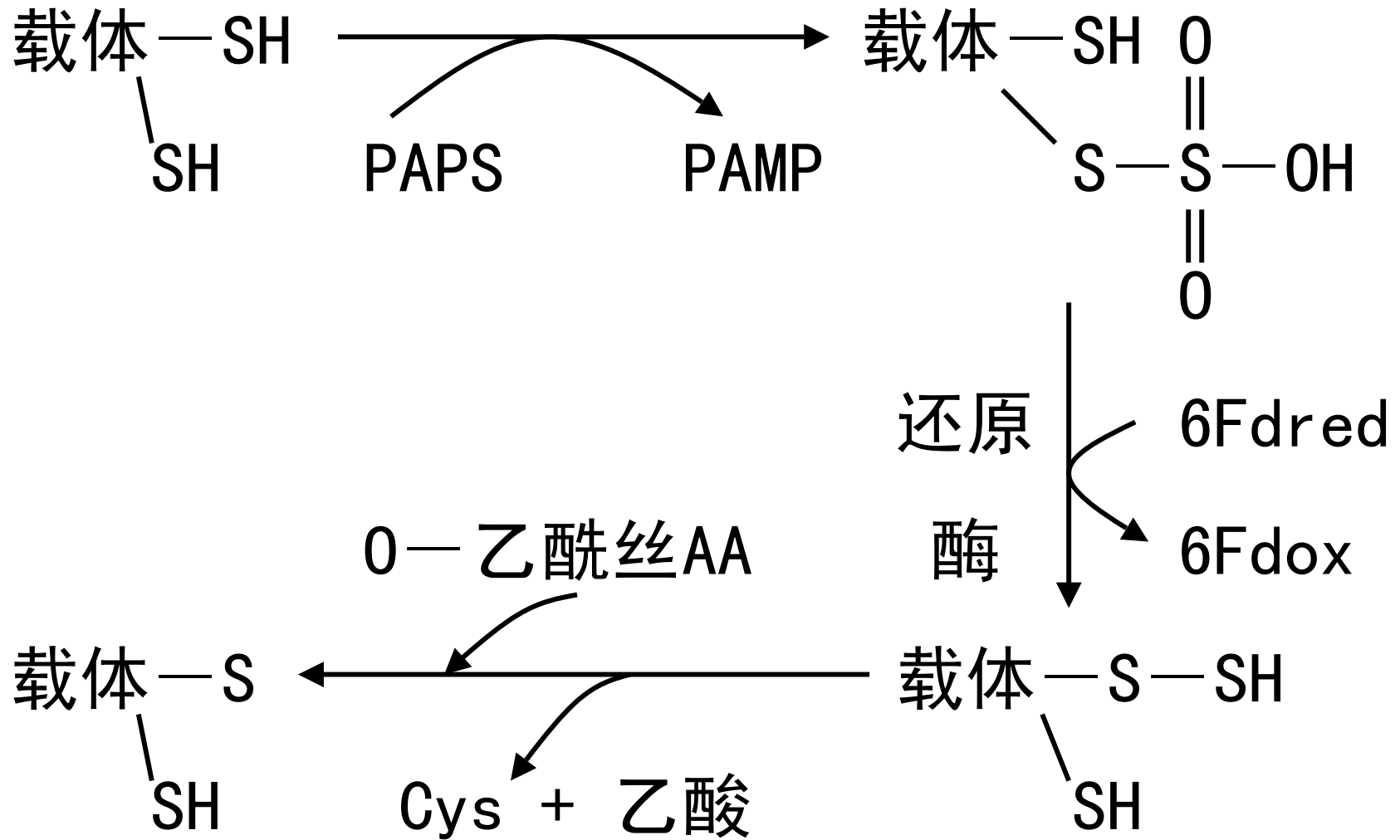





APS: 腺苷酰硫酸


PAPS: 磷酸腺苷酰硫酸

2、还原

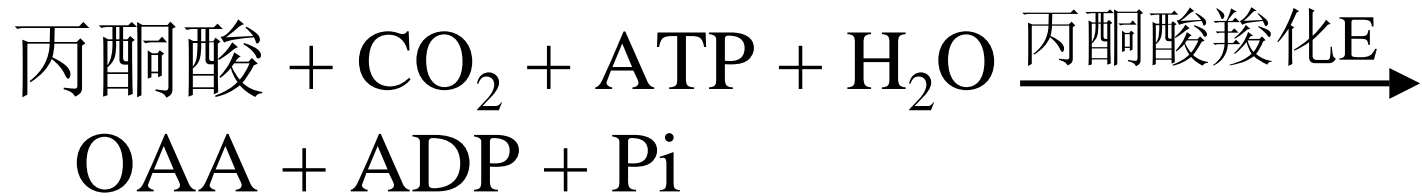




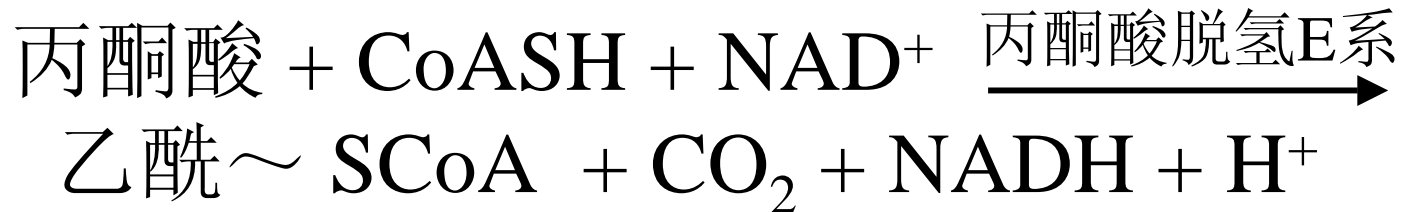
以丙酮酸和 NH_3 为原料合成天冬氨酸，请写出主要反应途径。

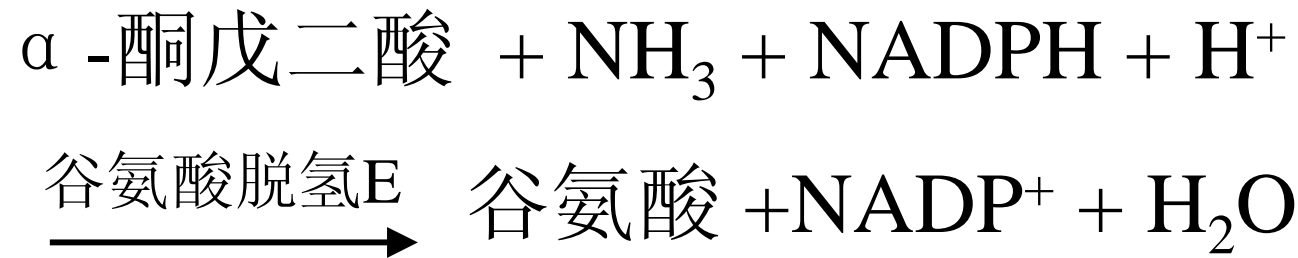


1、合成草酰乙酸:



2、合成谷氨酸作为氨基的载体:





3、合成天冬氨酸

