

第六章

生物氧化

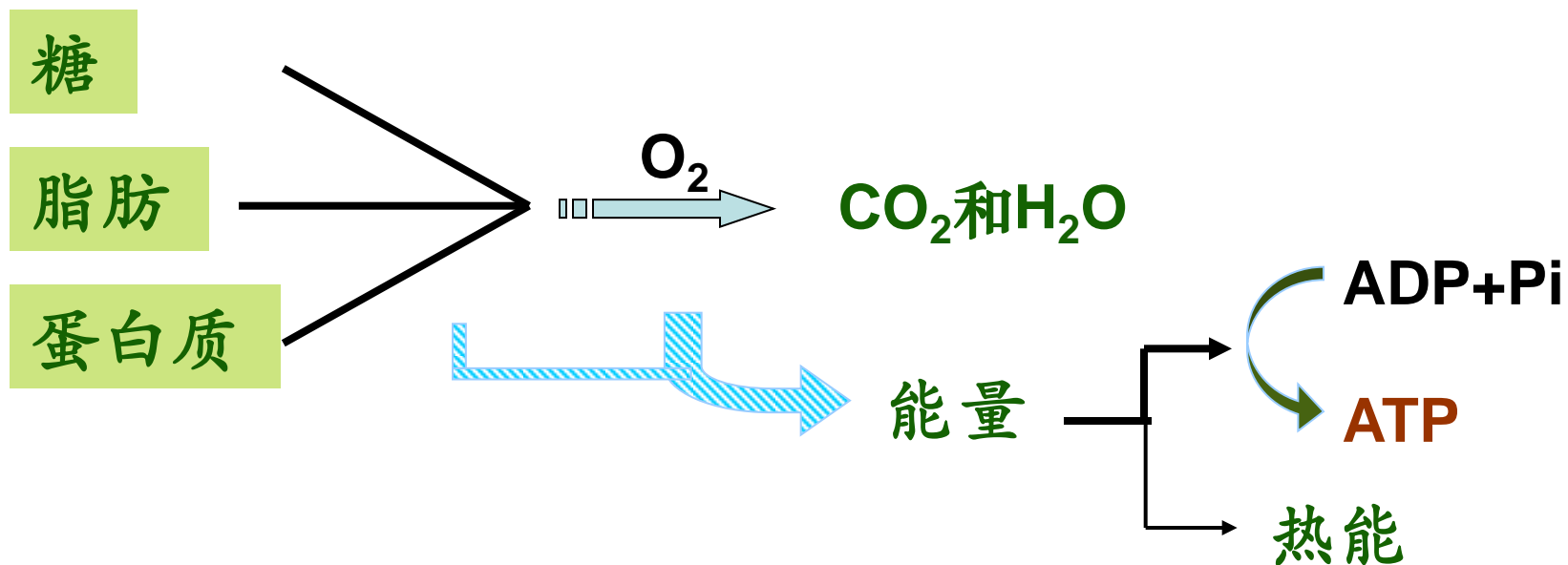
(biological oxidation)

本章要求

- 1. **熟悉**: 生物氧化的概念; 呼吸链的主要组成成分, **ATP**的生理功用; 细胞质**NADH**转运进入线粒体的机制。
- 2. **掌握**: 呼吸链的电子传递顺序; 氧化磷酸化的概念、偶联部位及影响因素。
- 3. **了解**: 生物氧化的有关酶类; 氧化磷酸化机制; 非线粒体氧化体系的主要场所、作用和意义; 化学渗透学说

第一节 概述

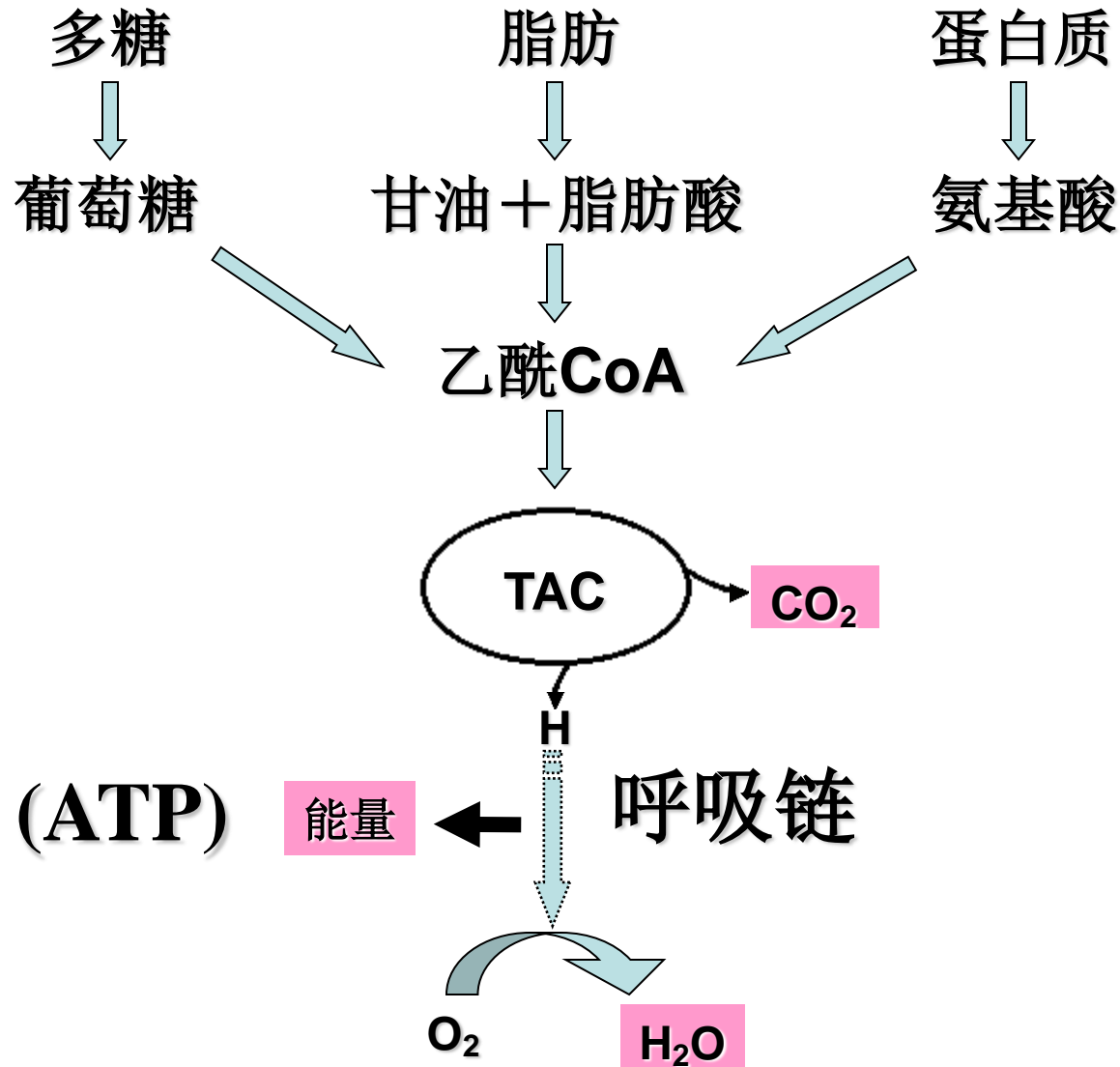
- 一、生物氧化的概念和意义



概念：物质在生物体内氧化成二氧化碳和水并逐步释放能量的过程称为**生物氧化**（**biological oxidation**）。

意义：为机体提供生命活动所需的能量。

生物氧化的过程



二、生物氧化的特点

内容	特点
反应条件	酶催化、体温、近中性pH环境、逐步释放能量
氧化方式	脱氢、脱电子、加氧
生成CO ₂ 的方式	有机酸的脱羧
氧化场所	线粒体、微粒体、过氧化物酶体等
能量的形式	ATP、热能
H ₂ O的生成方式	主要是NADH+H ⁺ 、FADH ₂ 呼吸链

第二节 线粒体氧化体系

一、呼吸链的组成及其作用

➤ （一）呼吸链的概念：

代谢物脱下的成对氢原子（**2H**）通过多种酶和辅酶所催化的连锁反应逐步传递，最终与氧结合生成水，这一系列酶和辅酶称为**呼吸链(respiratory chain)**，又称**电子传递链(electron transfer chain)**。

➤ （二）组成： 4种复合体 I 、 II 、 III、 IV

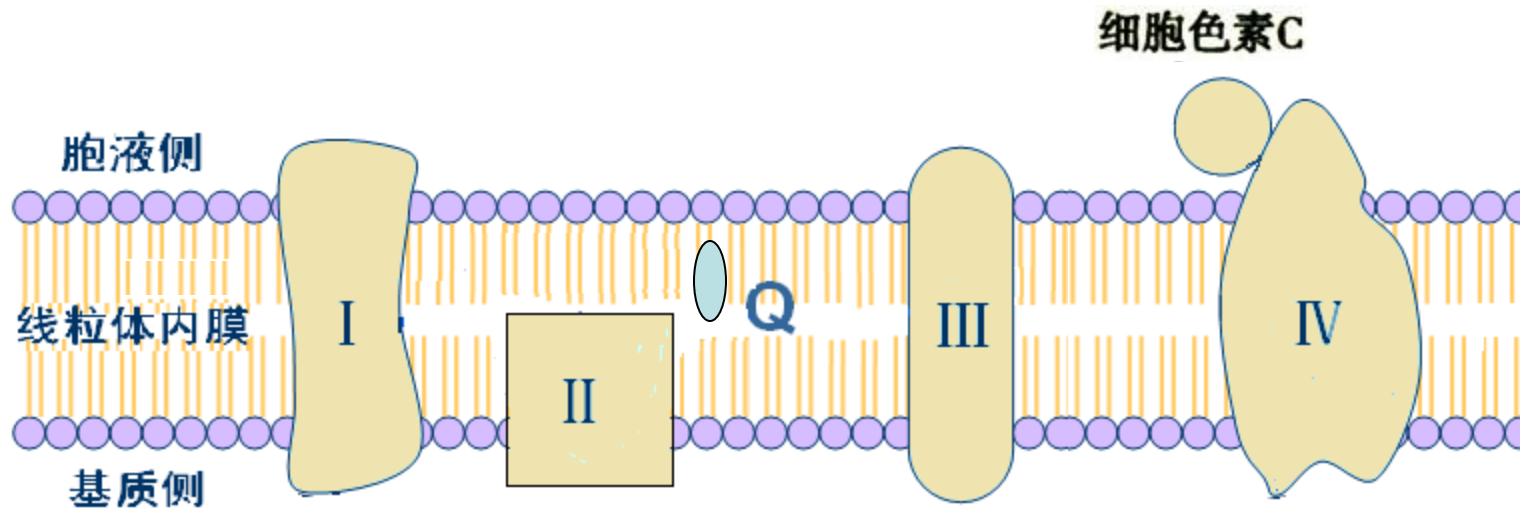
两个移动成分：泛醌（**UQ**）和 细胞色素**C**

四种具有传递电子功能的酶复合体(complex)

人线粒体呼吸链复合体

复合体	酶名称	多肽链数	辅基
复合体 I	NADH-泛醌还原酶	39	FMN, Fe-S
复合体 II	琥珀酸-泛醌还原酶	4	FAD, Fe-S
复合体 III	泛醌-细胞色素C还原酶	10	铁卟啉, Fe-S
复合体 IV	细胞色素c氧化酶	13	铁卟啉, Cu

* 泛醌 和 Cyt c 均不包含在上述四种复合体中。



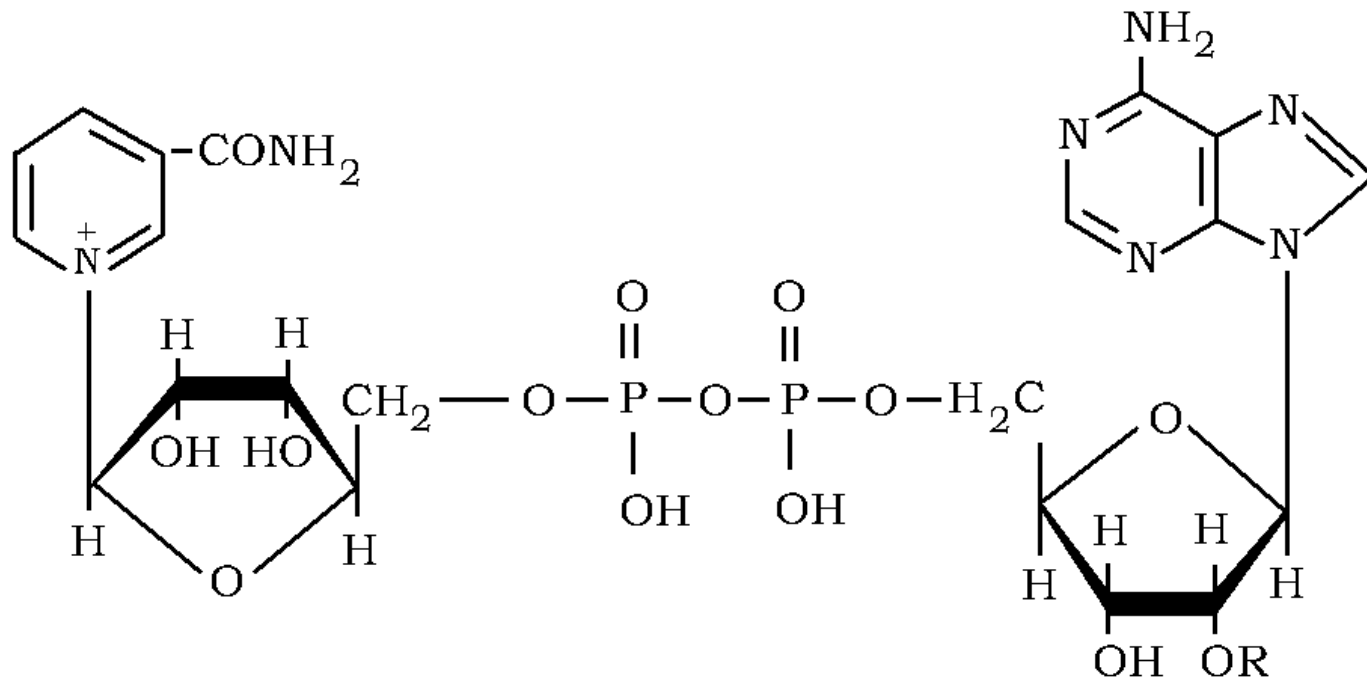
四个蛋白复合体：复合体 I ~ IV 两个可灵活移动的成分：

泛醌（Q）和 细胞色素C

一) 复合体 I : **NADH-泛醌还原酶**

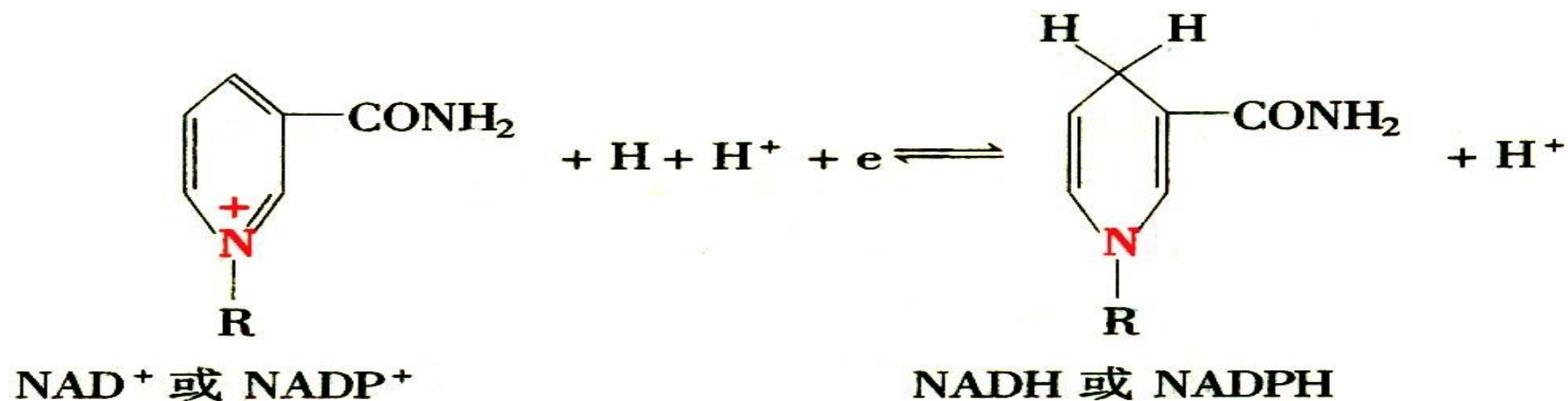
- **功能:** 将电子从**NADH**传递给泛醌。
- **电子传递:** **$\text{NADH} \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{CoQ}$**
- 复合体 I 有质子泵功能。

1. NAD^+ 和 NADP^+ 的结构



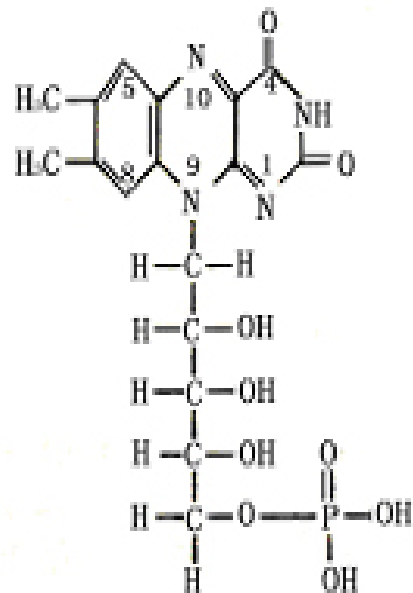
$\text{R}=\text{H}$: NAD^+ ; $\text{R}=\text{H}_2\text{PO}_3$: NADP^+

NAD⁺ (NADP⁺) 和 NADH (NADPH) 相互转变

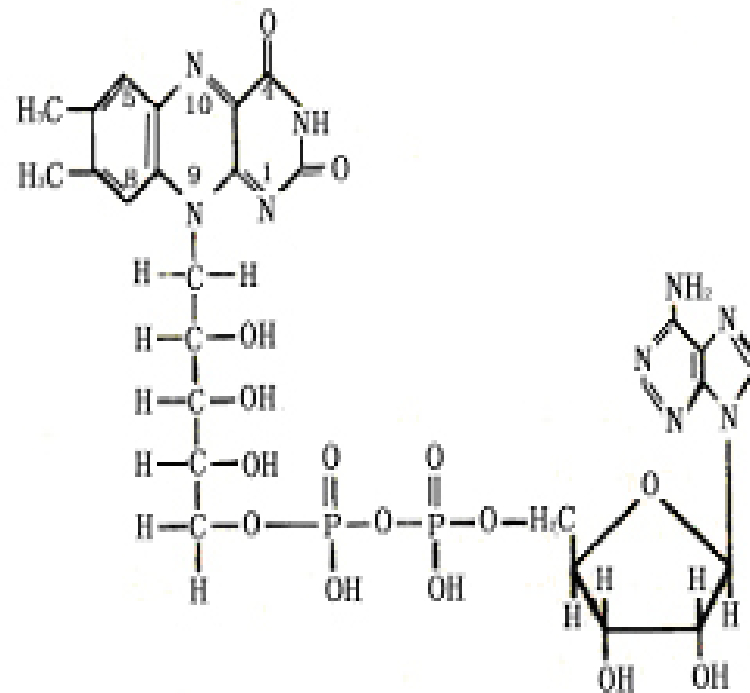


氧化还原反应时变化发生在五价氮和三价氮之间。

2. 黄素蛋白：辅基为 FMN 和 FAD



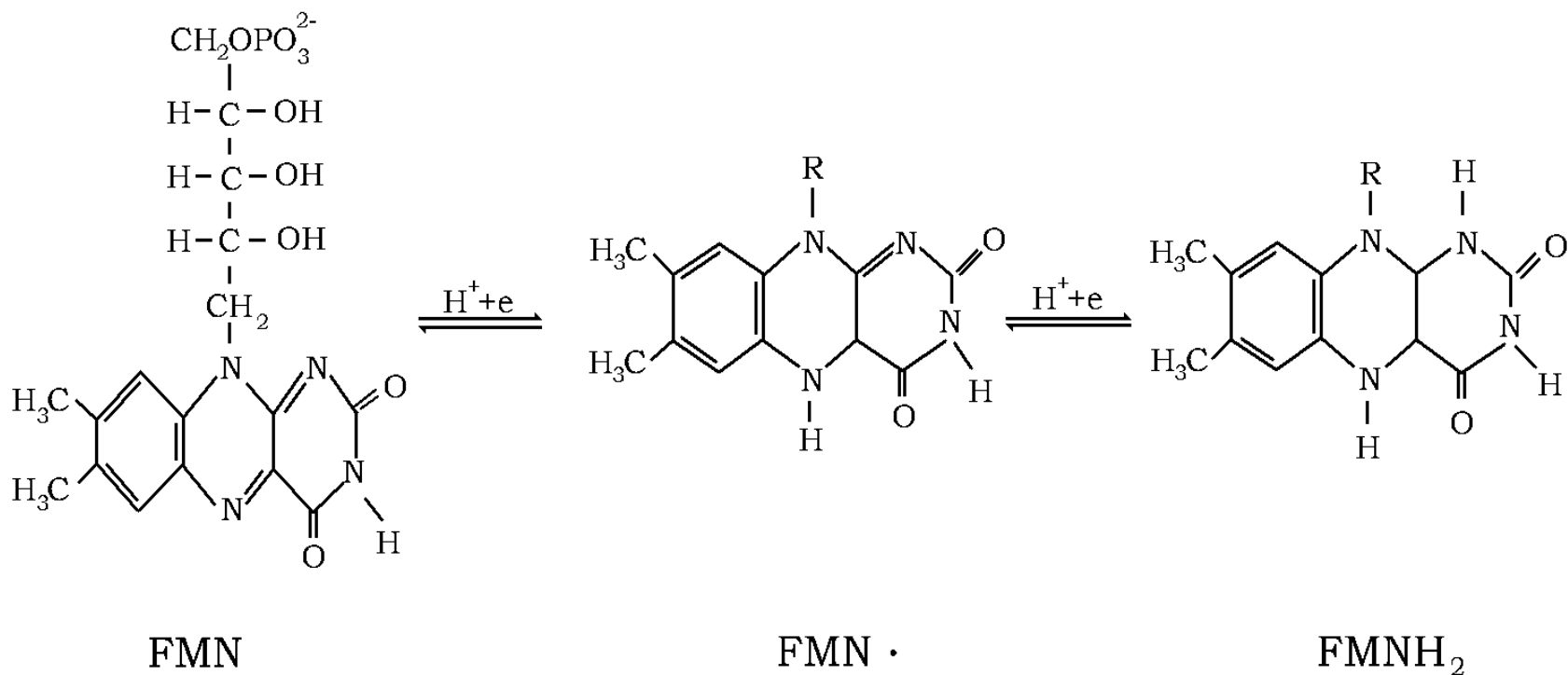
黄素单核苷酸 (FMN)



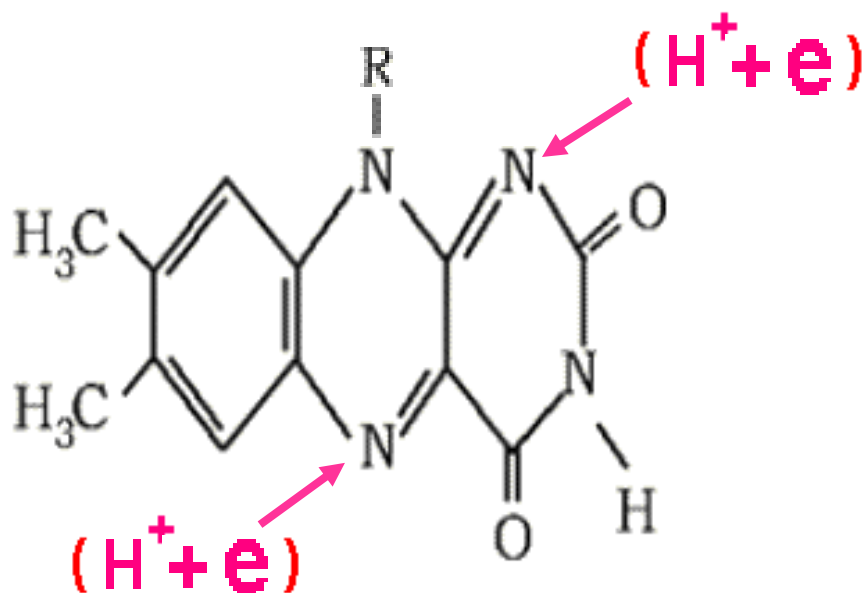
黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD)

FMN结构中含核黄素，发挥功能的部位是
异咯嗪环，氧化还原反应时不稳定中间产物是
FMNH。

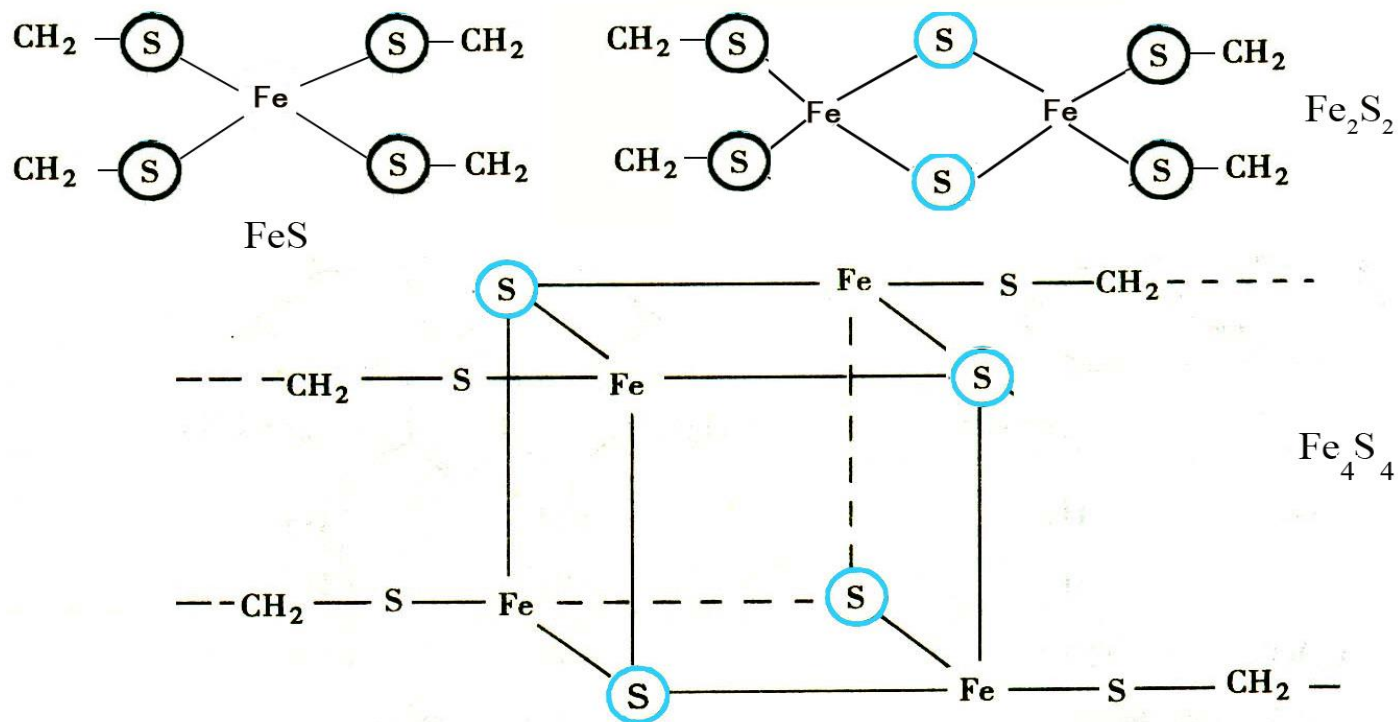
异咯嗪



❖ 异咯嗪环的作用:

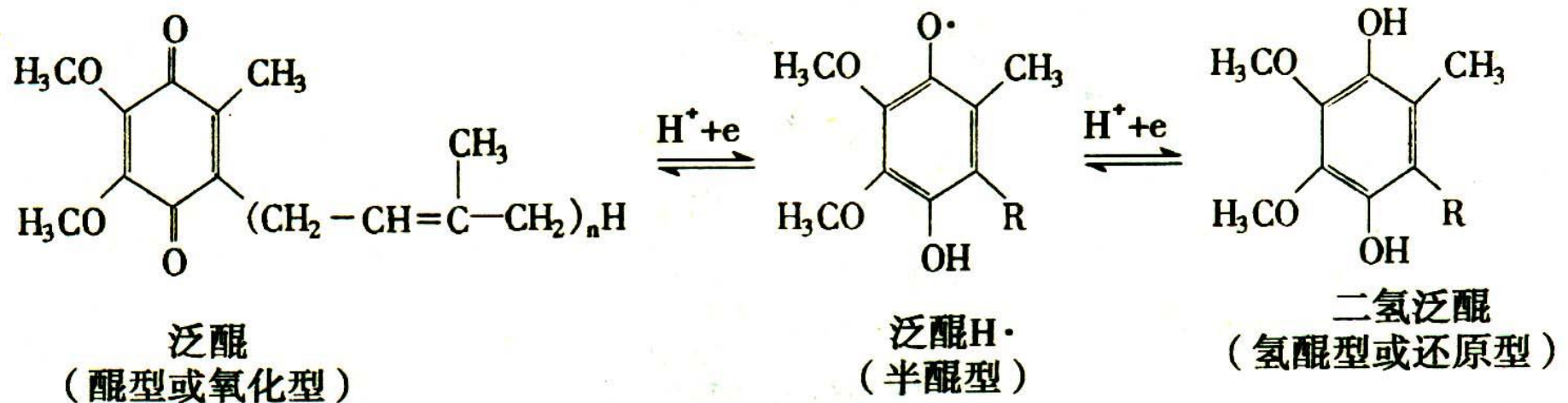


3、铁硫蛋白:辅基铁硫簇(Fe-S) ,其中铁原子可进行 $\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + e$ 反应传递电子, 为单电子传递体。



Ⓢ 表示无机硫

4、泛醌（辅酶Q, CoQ, UQ）由多个异戊二烯连接形成较长的疏水侧链（人CoQ₁₀），氧化还原反应时可生成中间产物半醌型泛醌。



是呼吸链中唯一的不与蛋白质紧密结合的递氢体

二) 复合体 II：琥珀酸-泛醌还原酶

- **功能：**将电子从琥珀酸传递给泛醌。
- **复合体 II 组成：**以**FAD**为辅基的黄素蛋白、铁硫蛋白和细胞色素**b**。
- **电子传递：**琥珀酸→**FAD**→几种**Fe-S** →**CoQ**
- **复合体 II 没有H⁺泵的功能。**

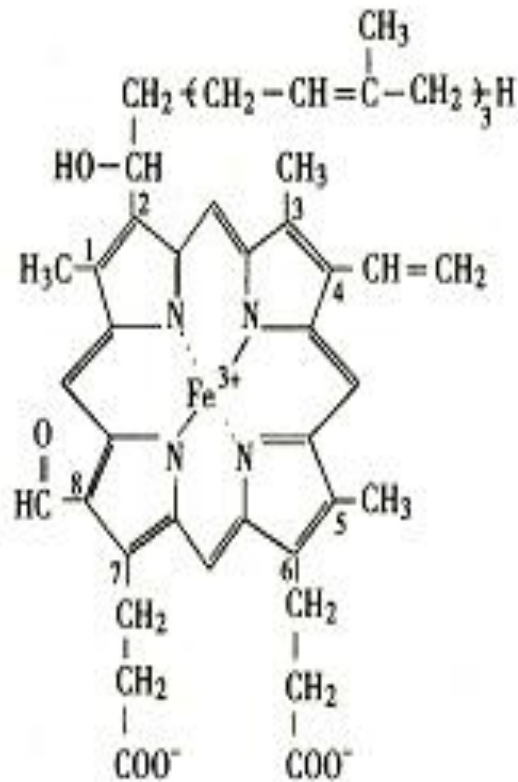
三) 复合体III: 泛醌-细胞色素c还原酶

- ◆ **功能：** 将电子从泛醌传递给细胞色素c
- ◆ **组成：** 细胞色素b、c1、铁硫蛋白以及其它多种蛋白质。
- ◆ **电子传递过程：** $\text{CoQH}_2 \rightarrow (\text{Cyt bL} \rightarrow \text{Cyt bH}) \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{Cytc1} \rightarrow \text{Cytc}$
- ◆ **有质子泵功能**

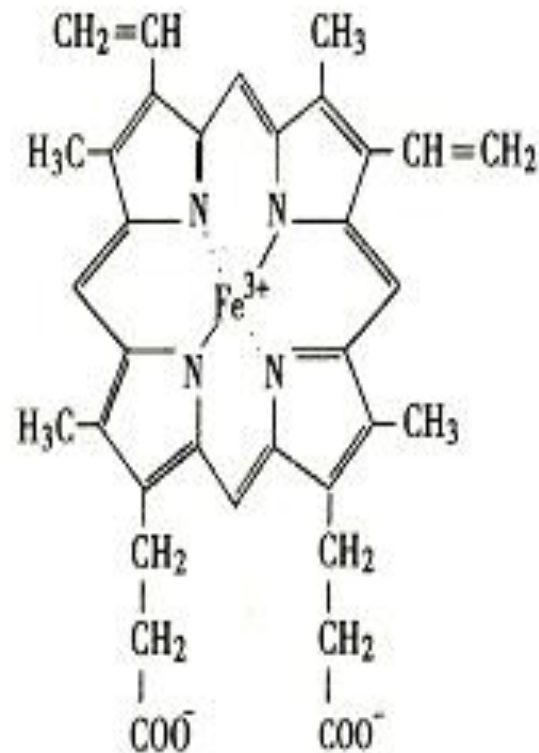
细胞色素 (cytochromes Cyt)

- 是以血红素（又称为铁卟啉）为辅基的单电子传递蛋白质,因具有颜色故名细胞色素。
- **功能：**将电子从**UQ**传递到氧
- 根据其吸收峰波长不同分成三类，每类又有各种亚类。
- **呼吸链中常见的细胞色素：b、c₁、c、a、a₃**

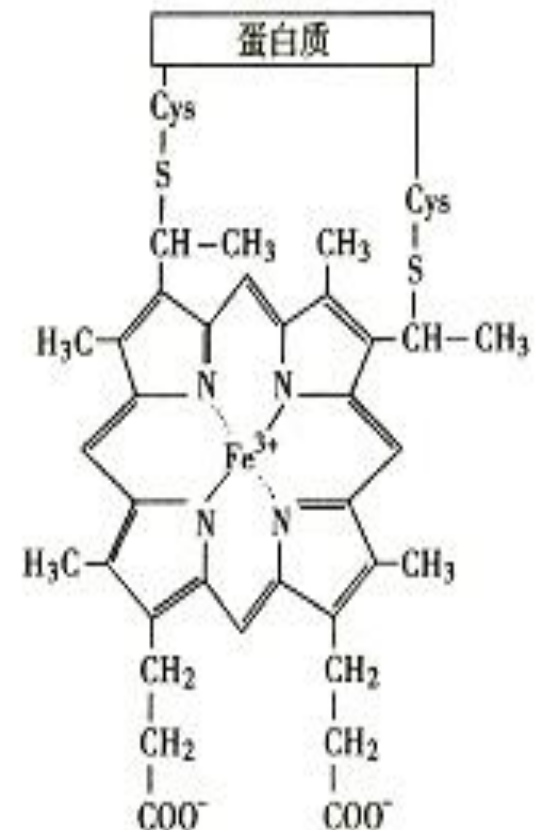
三类细胞色素



细胞色素a₃辅基



细胞色素b辅基



细胞色素c辅基

细胞色素c

- 是呼吸链唯一的水溶性球状蛋白，除UQ外另一个可在线粒体内膜外侧移动的递电子体。
- **功能：**从复合体III中的Cyt c_1 获得电子传递给复合体IV。

四)、复合体IV: 细胞色素c氧化酶

◆ 功能: 将电子从细胞色素c传递给氧

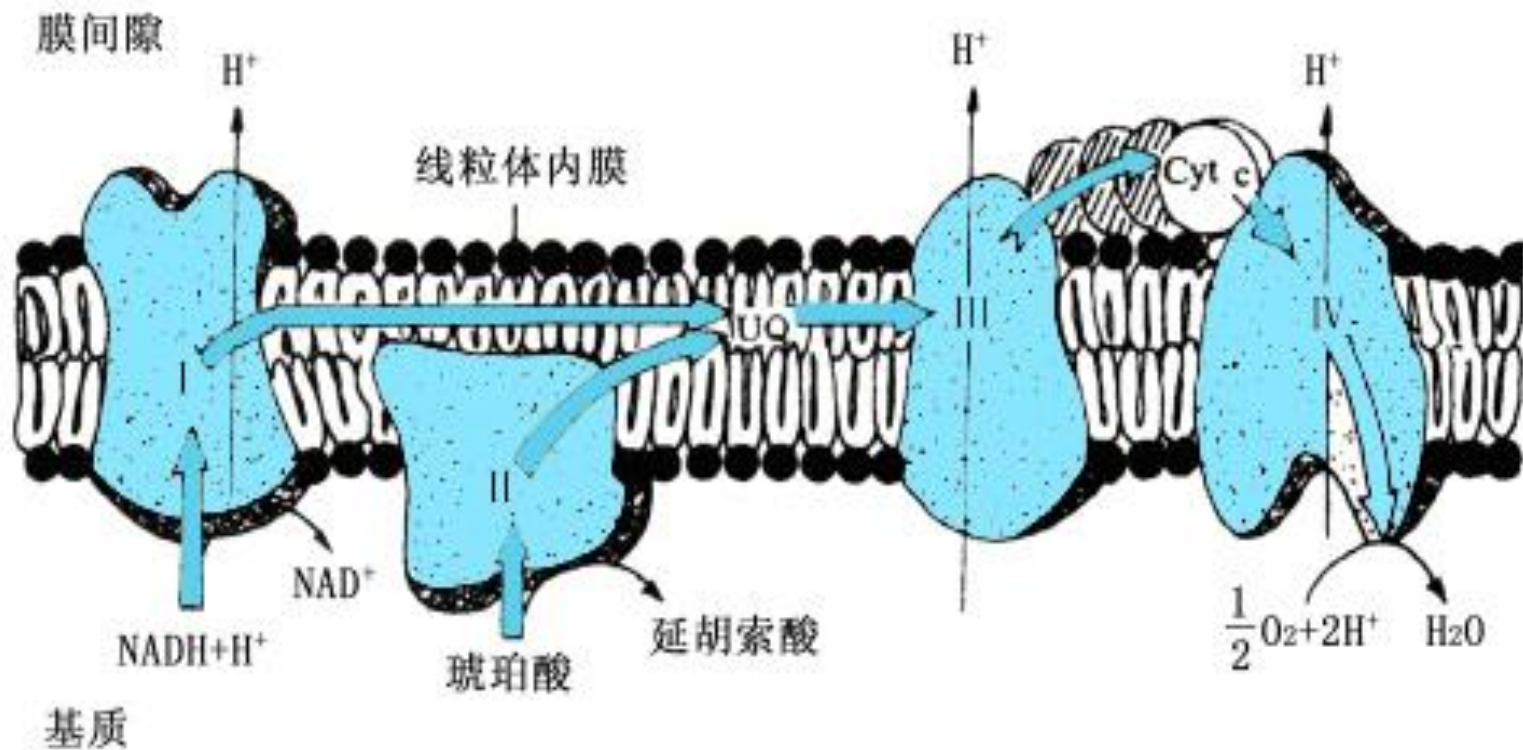
◆ 组成: 两个血红素辅基cyta、cyta₃和

2个Cu离子位点Cu_A、Cu_B

其中Cyt a₃ 和Cu_B形成的活性部位将电子交给O₂。

电子传递顺序:

还原型Cyt c → CuA → Cyt a → Cyt a₃- CuB → O₂



底物氧化后脱下的氢，通过以上呼吸链组分将电子传递到氧，从而激活了氧，氢和氧结合成水。

二、呼吸链中电子传递链的排列顺序

- 在呼吸链中各种电子传递体是按一定顺序排的，
各组分的排列顺序由下列实验确定：
- 1. 标准氧化还原电位测定实验
- 2. 各组分特有的吸收光谱测定实验
- 3. 呼吸链抑制剂阻断实验
- 4. 呼吸链拆开和重组实验

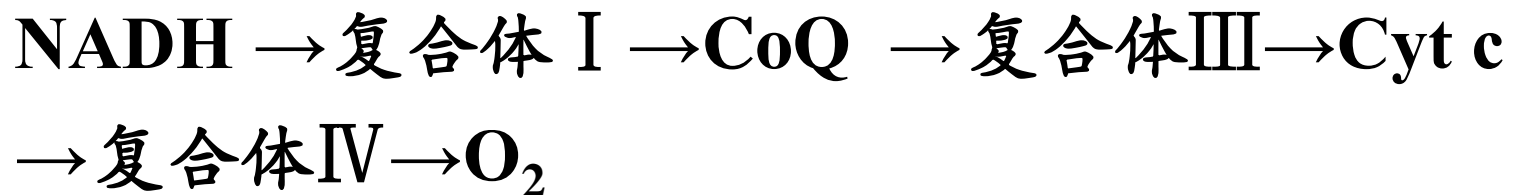
呼吸链中各种氧化还原对的标准氧化还原电位

氧化还原反应	E^0' (V)	氧化还原反应	E^0' (V)
$-2H^++2e^-\rightarrow 2H$	-0.41	$Cytc1(Fe^{3+})+e^-\rightarrow Cytc1(Fe^{2+})$	0.22
$NAD^++2H^++2e^-\rightarrow NADH+H^+$	-0.32	$Cytc(Fe^{3+})+e^-\rightarrow Cytc(Fe^{2+})$	0.25
$FMN+2H^++2e^-\rightarrow FMNH_2$	-0.22	$Cyta(Fe^{3+})+e^-\rightarrow Cyta(Fe^{2+})$	0.29
$FAD+2H^++2e^-\rightarrow FADH_2$	-0.22	$Cyta3(Fe^{3+})+e^-\rightarrow Cyta3(Fe^{2+})$	0.35
$UQ+2H^++2e^-\rightarrow UQH_2$	0.06	$1/2O_2+2H^++2e^-\rightarrow H_2O$	0.82
$Cytb(Fe^{3+})+e^-\rightarrow Cytb(Fe^{2+})$	0.077		

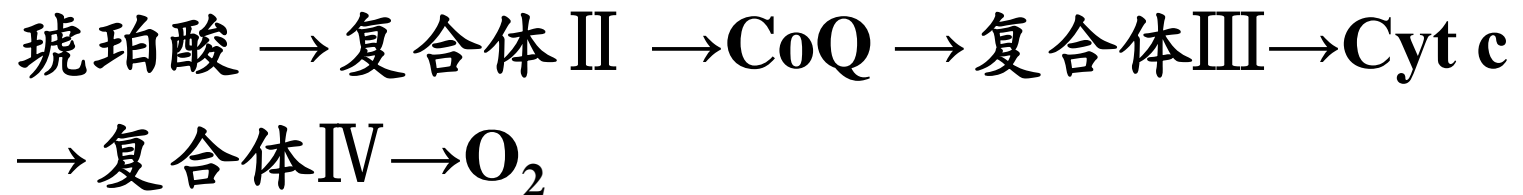
三、体内重要的呼吸链

线粒体内的呼吸链有两条：

1、NADH氧化呼吸链



2、琥珀酸氧化呼吸链

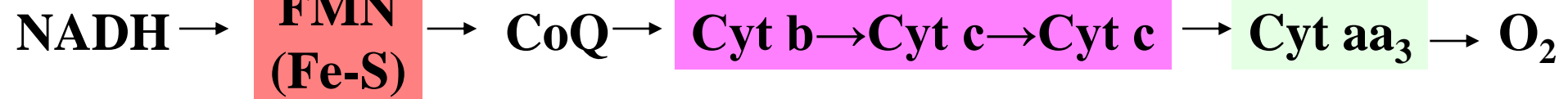


NADH氧化呼吸链

FADH₂氧化呼吸链

琥珀酸

FAD
(Fe-S)

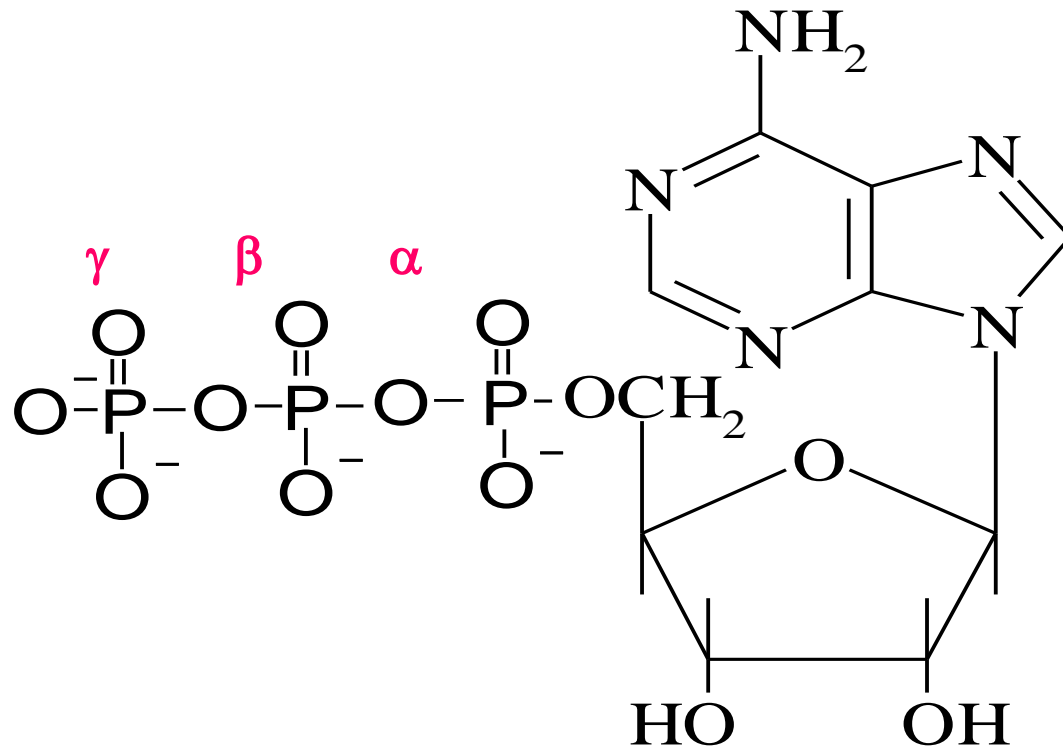


第三节

ATP的生成、利用和储存

一、ATP的重要性

- ATP作为能量载体分子，是机体各种生理活动直接能量供应者。
- ATP是体内最重要的高能磷酸化合物，是细胞可直接利用的能量形式。
- ATP在机体能量代谢中处于中心地位。



AMP

ADP

ATP

■ 高能磷酸键

水解时释放的能量大于 21kJ/mol 的磷酸酯键，常表示为 $\sim\text{P}$ 。

■ 高能磷酸化合物

含有高能磷酸键的化合物

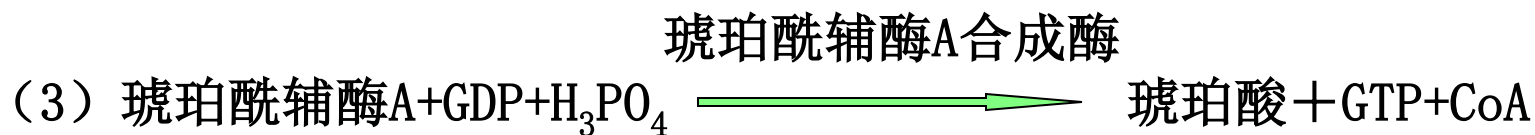
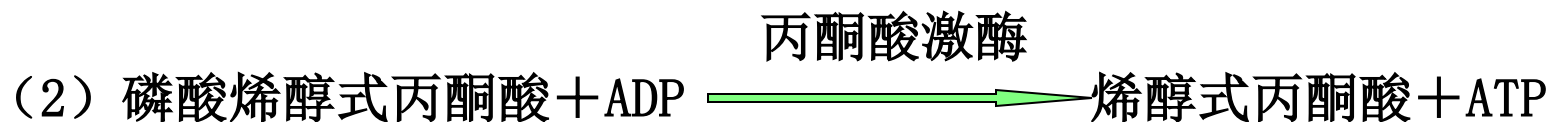
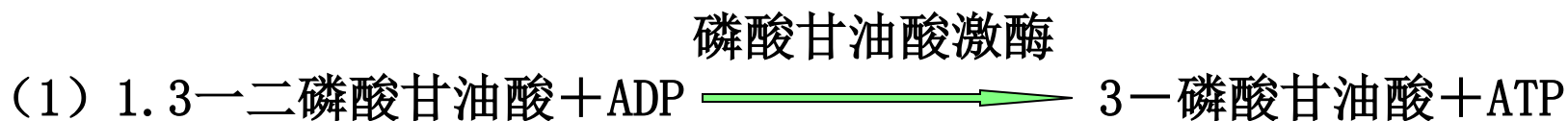
高能化合物及其种类

类型	通式	举例	ΔG°
酸酐类（焦磷酸化合物）	$\begin{array}{c} \text{R—O—P}\sim\text{P}\sim\text{P} \\ \text{R—O—P}\sim\text{P} \end{array}$	ATP、GTP等 ADP、GDP等	-30.5
烯醇磷酸	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{R—C—O}\sim\text{P} \\ \end{array}$	磷酸烯醇式丙酮酸	-60.9
混合酐（酰基磷酸）	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R—C—O}\sim\text{P} \\ \end{array}$	1,3—二磷酸甘油酸	-61.9
磷酸胍类	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{R—C—NH}\sim\text{P} \\ \end{array}$	磷酸肌酸	-43.9
高能硫酯类	$\text{RCO}\sim\text{SCoA}$	乙酰辅酶A	-34.3

二、ATP的生成

（一）底物水平磷酸化

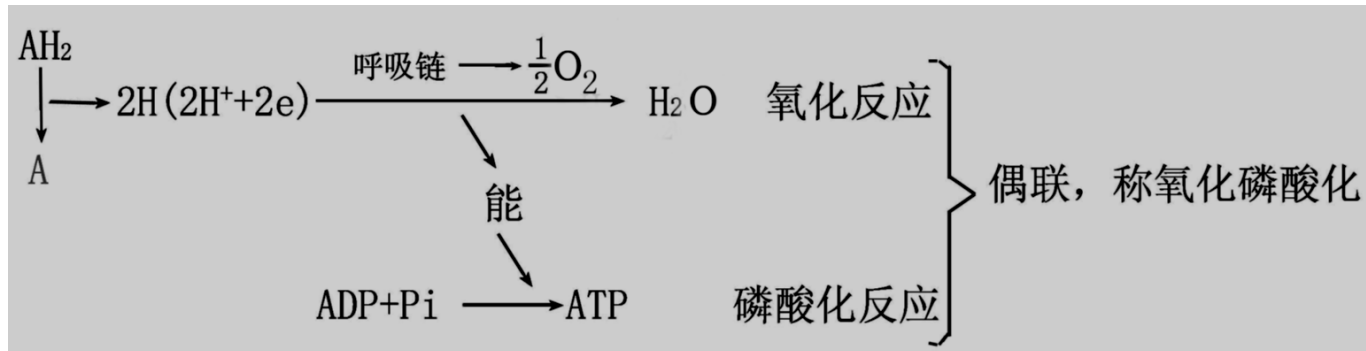
- 代谢物在氧化分解过程中，有少数反应因脱氢或脱水而引起分子内部能量重新分布产生高能键，直接将代谢物分子中的高能键转移给 **ADP**（或 **GDP**）生成 **ATP**（或 **GTP**）的反应称为 **底物水平磷酸化**（**substrate level phosphorylation**）



体内的三个底物水平磷酸化反应

(二) 氧化磷酸化

代谢物脱下的氢经呼吸链氧化生成水的同时，所释放出的能量驱动ADP磷酸化生成ATP，这种氧化与磷酸化相偶联的过程称为氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)。又称电子传递水平磷酸化。



1. 氧化磷酸化偶联部位

氧化磷酸化偶联部位：复合体 I、III、IV

根据P/O比值

$$\text{自由能变化: } \Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ}$$

(1) P/O比值

- 概念：指物质氧化时，每消耗 $1/2$ 摩尔 O_2 (1摩尔氧原子)所消耗的无机磷的摩尔数（或**ADP**摩尔数），即生成**ATP**的摩尔数。
- 即一对电子通过呼吸链时生成**ATP**的个数。

线粒体离体实验测得的一些底物的P/O 比值

底 物	呼吸链的组成	P/O 比值	可能生成的 ATP 数
β 羟丁酸	$\text{NAD}^+ \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{UQ} \rightarrow \text{Cyt} \rightarrow \text{O}_2$	2.5	2.5
琥珀酸	$\text{FAD} \rightarrow \text{UQ} \rightarrow \text{Cyt} \rightarrow \text{O}_2$	1.5	1.5
抗坏血酸	$\text{Cyt c} \rightarrow \text{Cyt aa3} \rightarrow \text{O}_2$	0.88	0.5
细胞色素c (Fe^{2+})	$\text{Cyt aa3} \rightarrow \text{O}_2$	0.61 ~ 0.68	0.5

- 一对电子经NADH氧化呼吸链传递，P/O比值约为2.5，即生成2.5分子的ATP。
- 一对电子经琥珀酸氧化呼吸链传递，P/O比值约为1.5，即生成1.5分子的ATP。

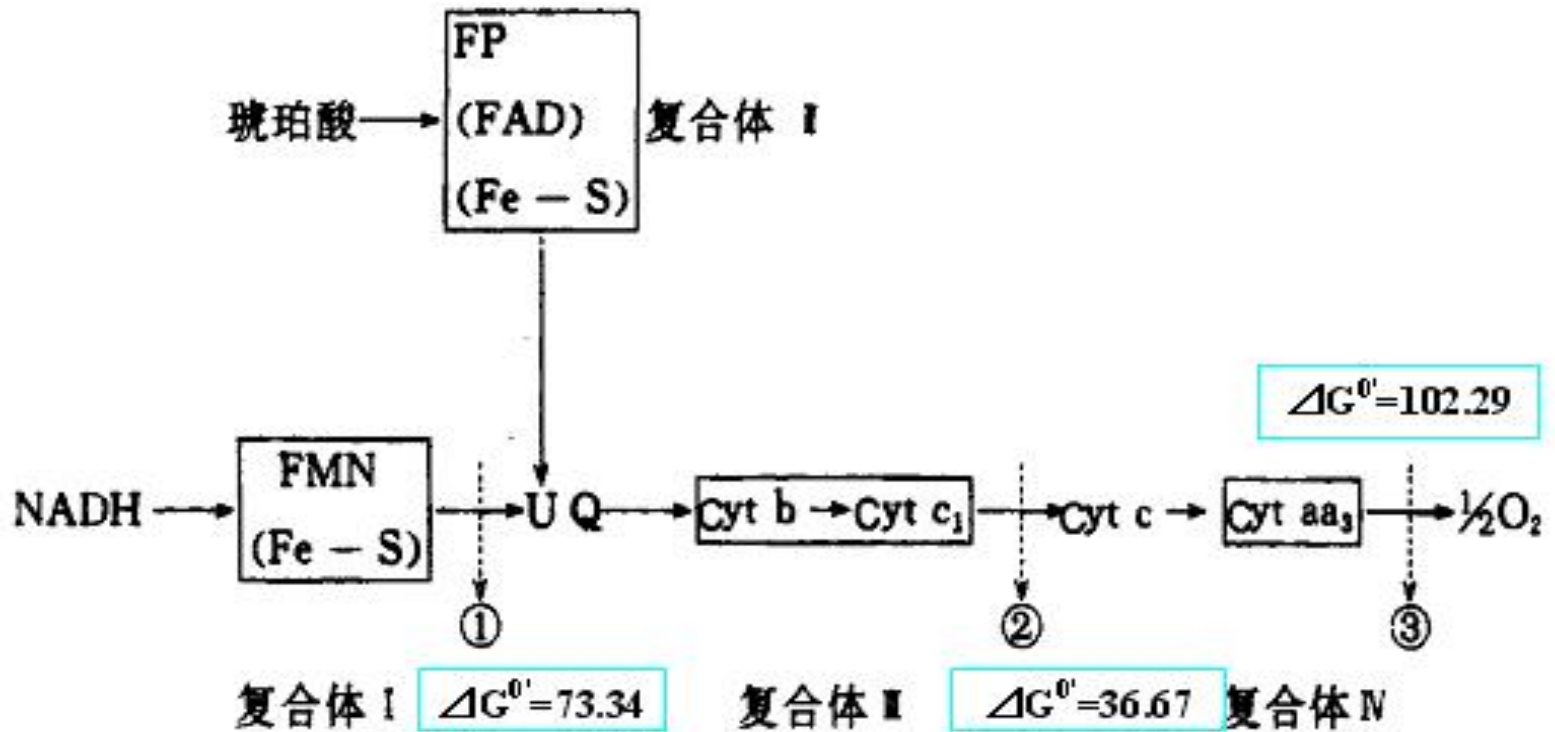
(2) 自由能变化

根据热力学公式，pH7.0时标准自由能变化($\Delta G^{\circ \prime}$)与还原电位变化($\Delta E^{\circ \prime}$)之间有以下关系：

$$\Delta G^{\circ \prime} = -nF\Delta E^{\circ \prime}$$

n 为传递电子数； F 为法拉第常数(96.5kJ/mol ·V)

电子传递链自由能变化

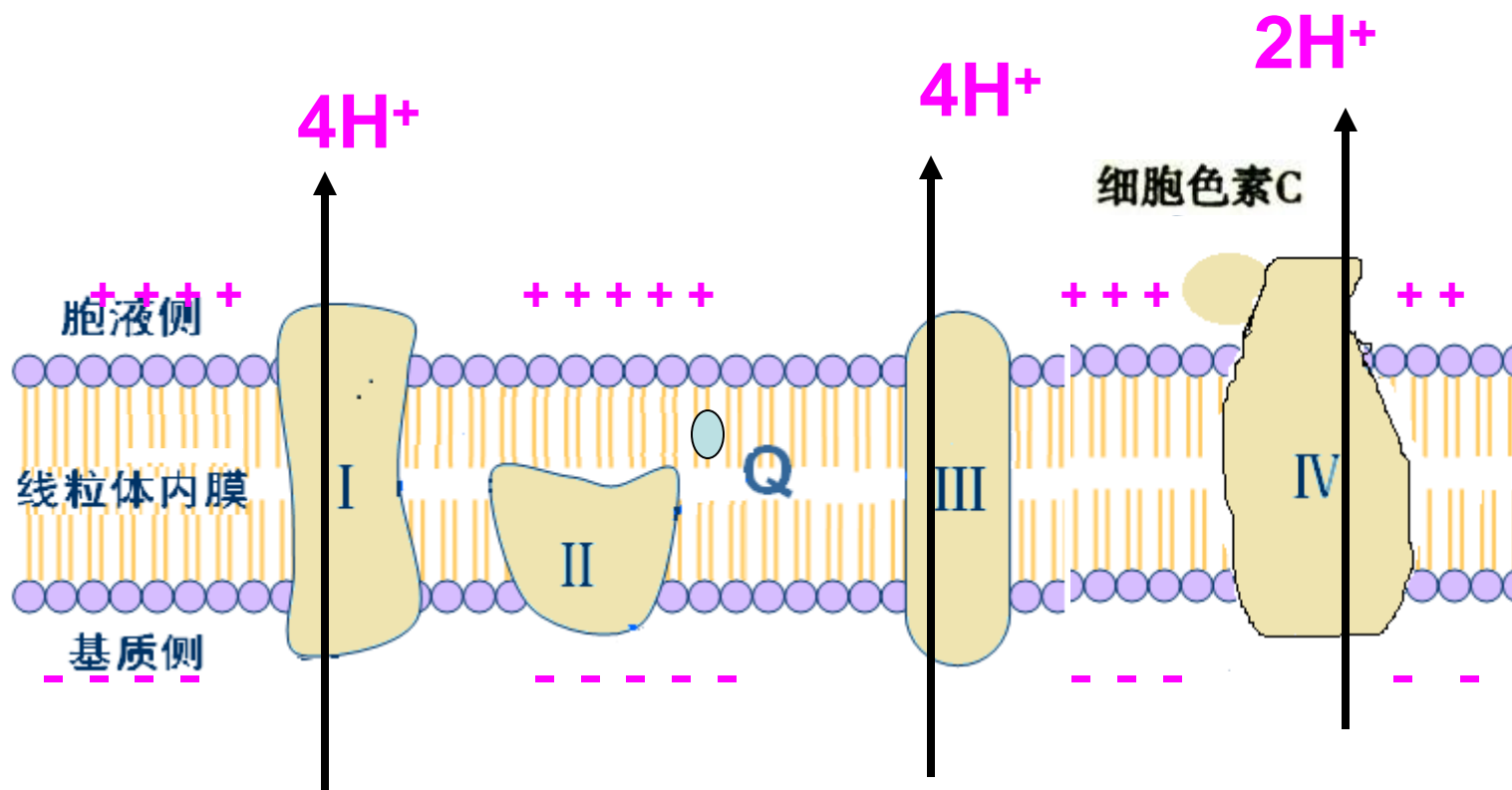


- ①在NADH和CoQ之间: $\Delta E^{0'} = 0.38V$
- ②在CoQ和Cyt c之间: $\Delta E^{0'} = 0.19V$
- ③在Cyt aa_3 和 O_2 之间: $\Delta E^{0'} = 0.53V$

2.氧化磷酸化偶联机制

- 构象偶联假说
- 化学偶联假说
- 化学渗透假说

电子经呼吸链传递时将质子（ H^+ ）从线粒体内膜基质侧转运到胞浆侧，产生膜内外两侧电化学梯度储存能量，当质子顺梯度回流到基质时驱动**ADP**与 **H_3PO_4** 生成**ATP**。



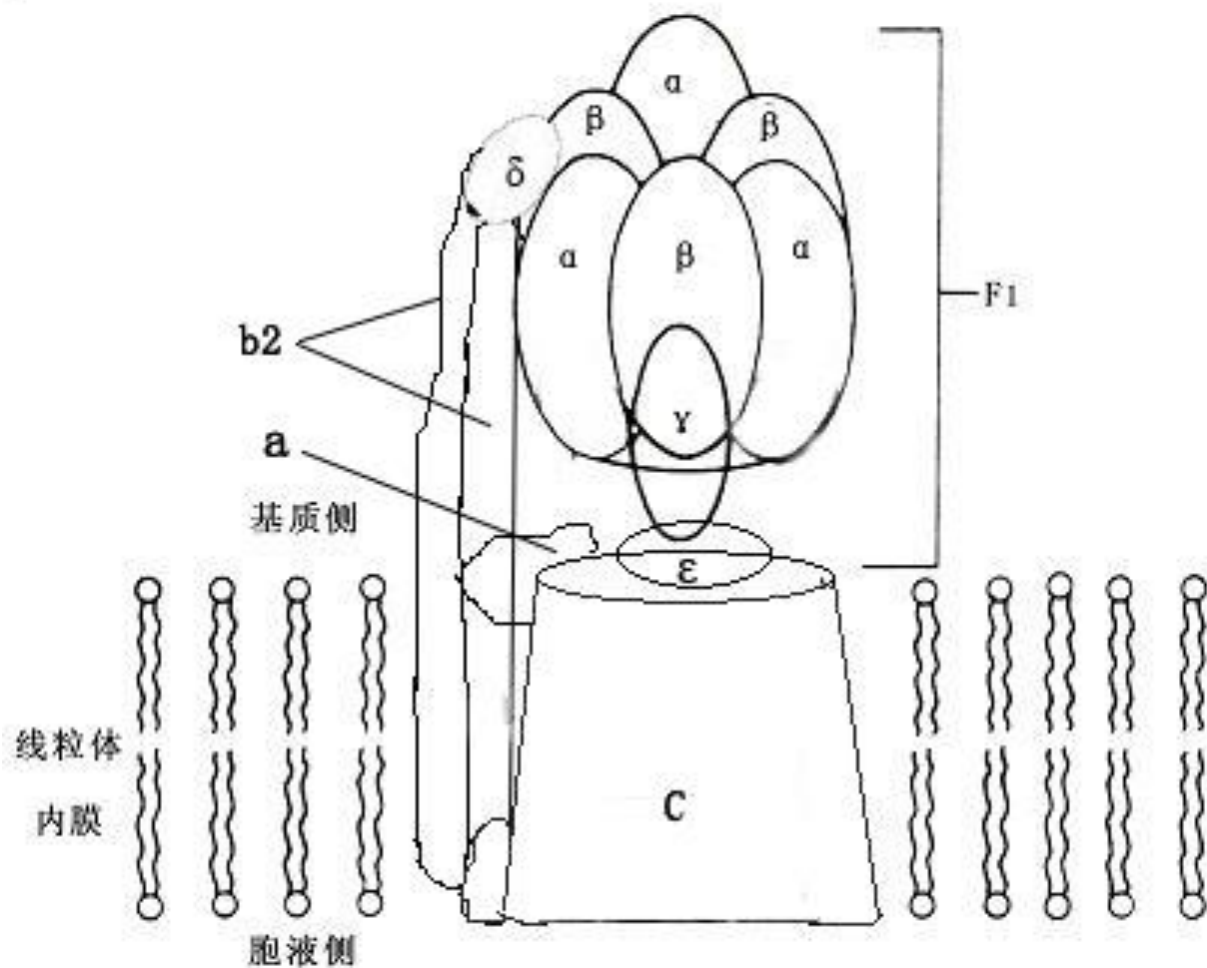
每生成1个**ATP**需要4个质子通过**ATP**合酶返回线粒体基质

3.ATP合酶（ATP synthase）

（1）ATP合酶的组成

F1：亲水部分，线粒体内膜的基质侧颗粒状突起，由 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ 、寡霉素敏感蛋白等亚基组成，催化ATP合成。

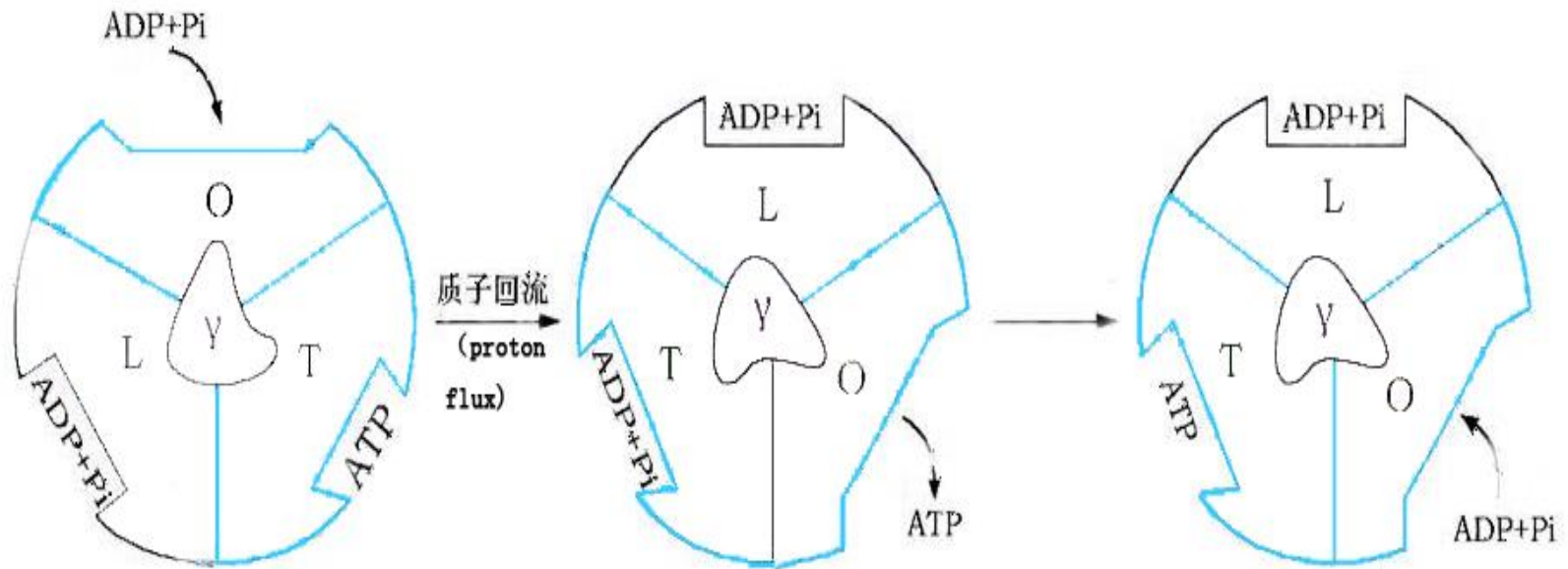
F0：疏水部分，镶嵌在线粒体内膜中，由 $a_1b_2c_{12}$ 亚基组成，形成跨内膜质子通道。



ATP合酶结构模式图

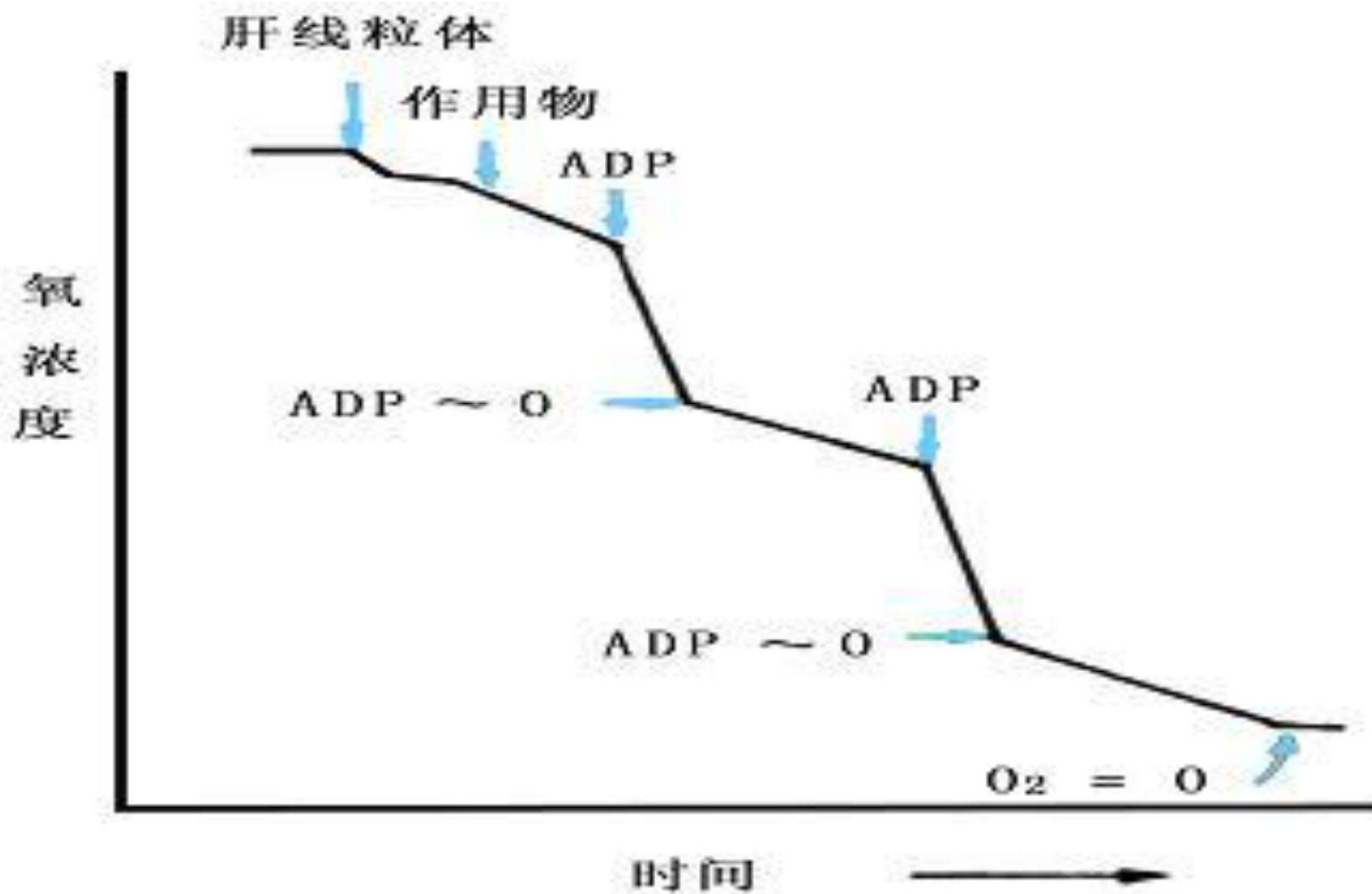
(2) ATP合酶的工作机制

当 H^+ 顺浓度梯度经 F_0 中a亚基和c亚基之间回流时， γ 亚基发生旋转，3个 β 亚基的构象发生改变。



4.影响氧化磷酸化的因素

- (1) ADP和ATP浓度的调节
- 若细胞内ATP缺乏，ADP增加，ADP/ATP比值增大，氧化磷酸化速率加快。
- ATP充足，ADP/ATP比值减小，使氧化磷酸化速度减慢。
- ADP作为关键物质对氧化磷酸化的调节作用称为**呼吸控制**（respiratory control）。



ADP对氧化磷酸化的调节

- **(2) 激素的调节**

甲状腺激素可促进氧化磷酸化和产热

Na⁺, K⁺-ATP酶和解偶联蛋白基因表达均增加。

(3) 氧化磷酸化抑制剂

- ① 解偶联剂

----使氧化与磷酸化偶联过程脱离，不影响呼吸链的电子传递。如：解偶联蛋白，**2,4-二硝基苯酚**

- ② 电子传递抑制剂

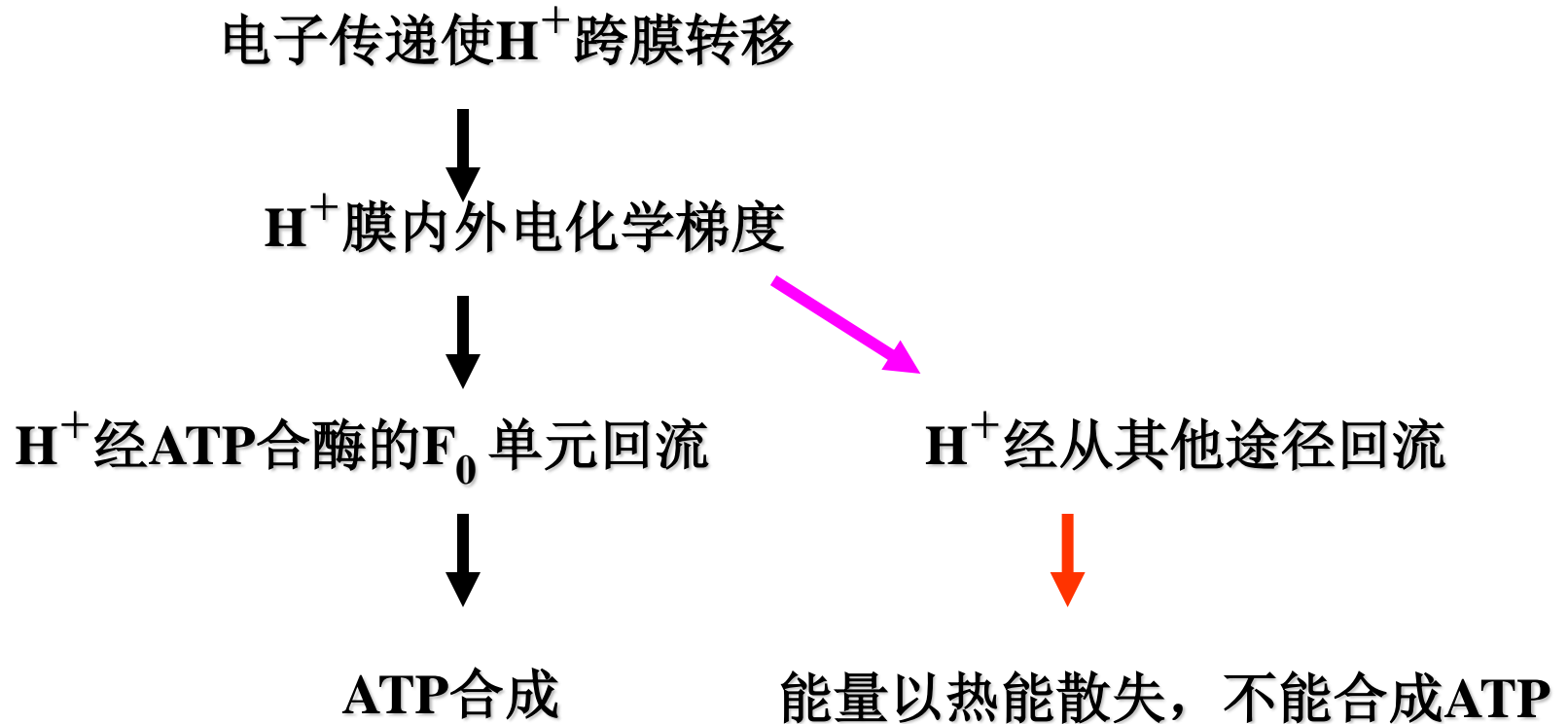
----阻断呼吸链中某些部位电子传递，氧化过程受阻。

- ③ **ATP**合酶抑制剂

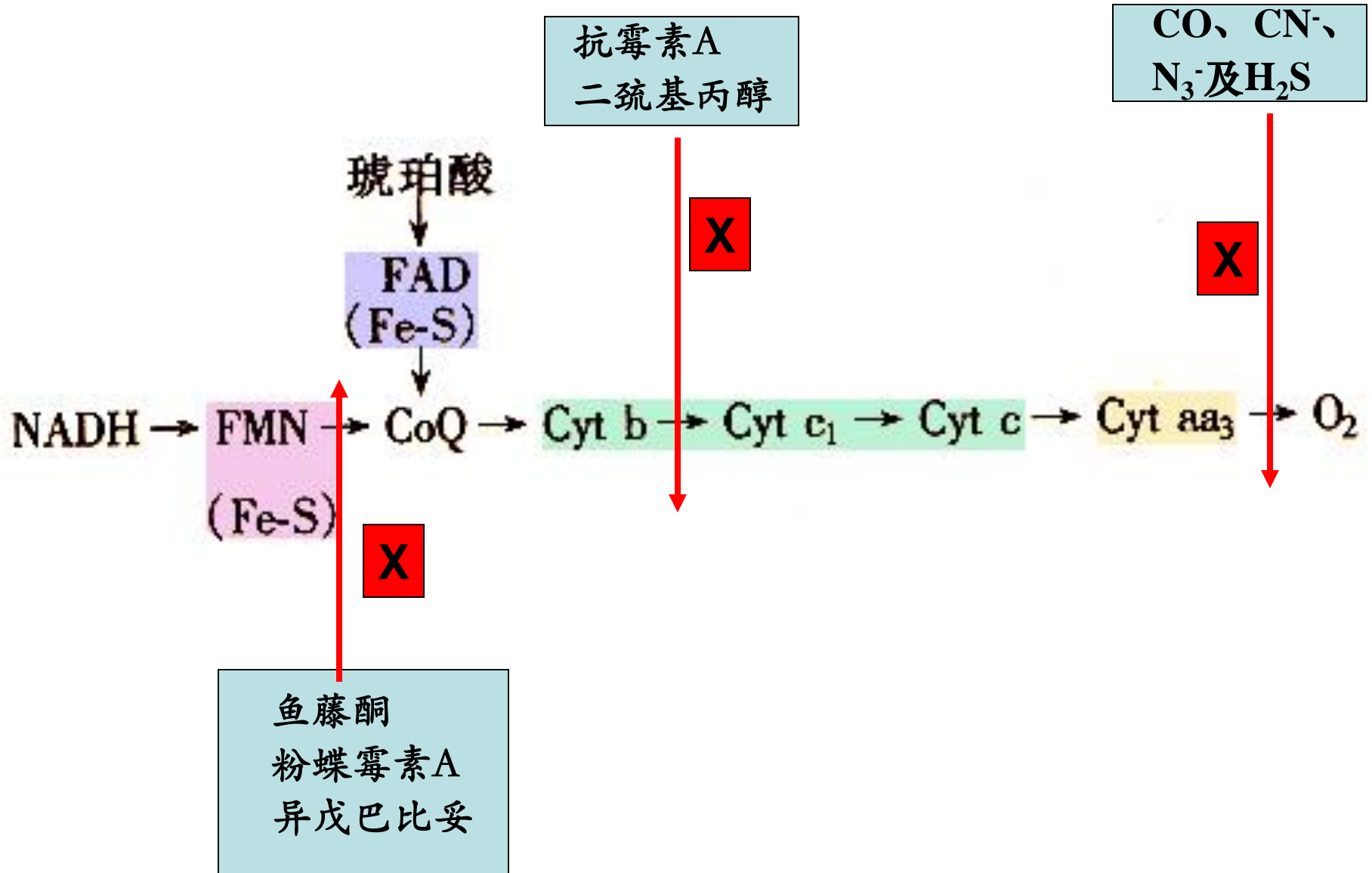
----对电子传递及**ADP**磷酸化均有抑制作用。

- 如：寡霉素

解偶联剂作用机制



电子传递抑制剂的作用部位

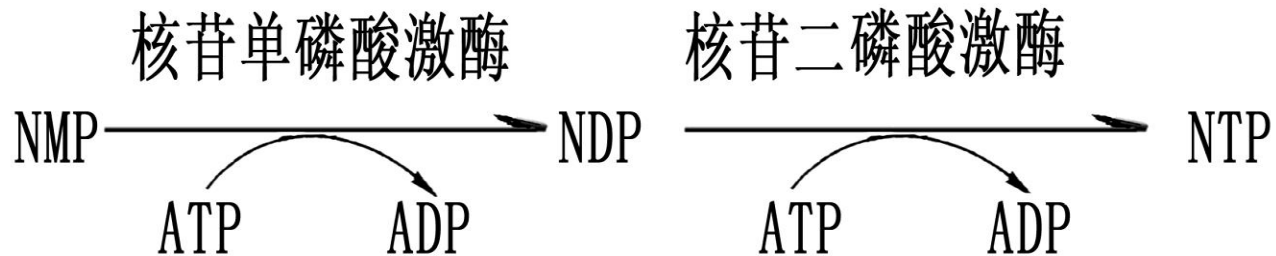


(4)线粒体DNA突变对氧化磷酸化的影响

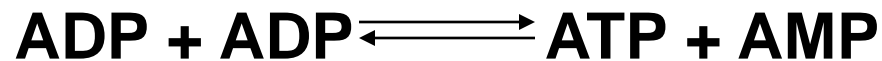
mtDNA突变影响氧化磷酸化，使ATP合成减少而导致疾病，耗能较多的器官更容易发生功能障碍。

三、ATP的储存和利用

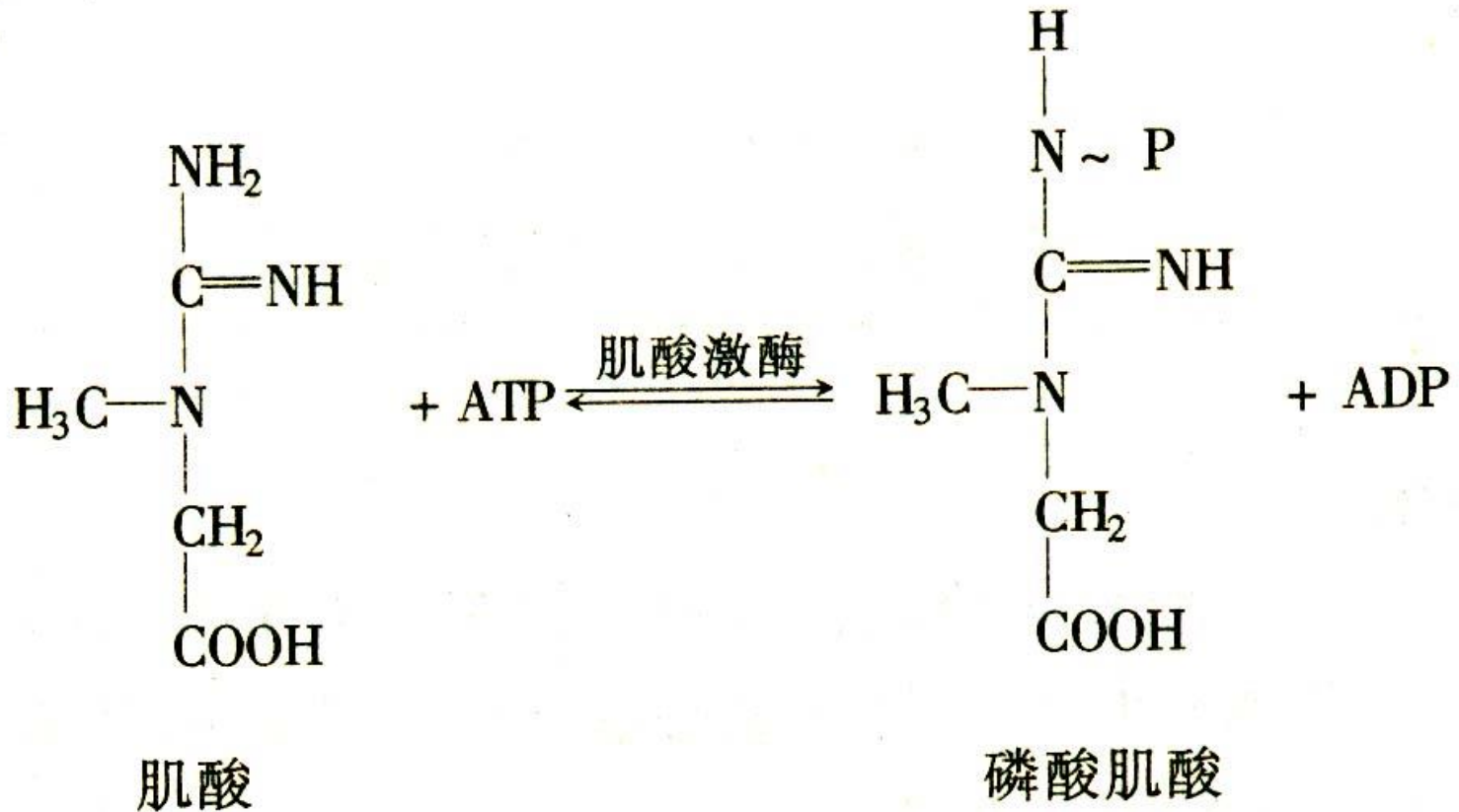
核苷二磷酸激酶的作用



腺苷酸激酶的作用

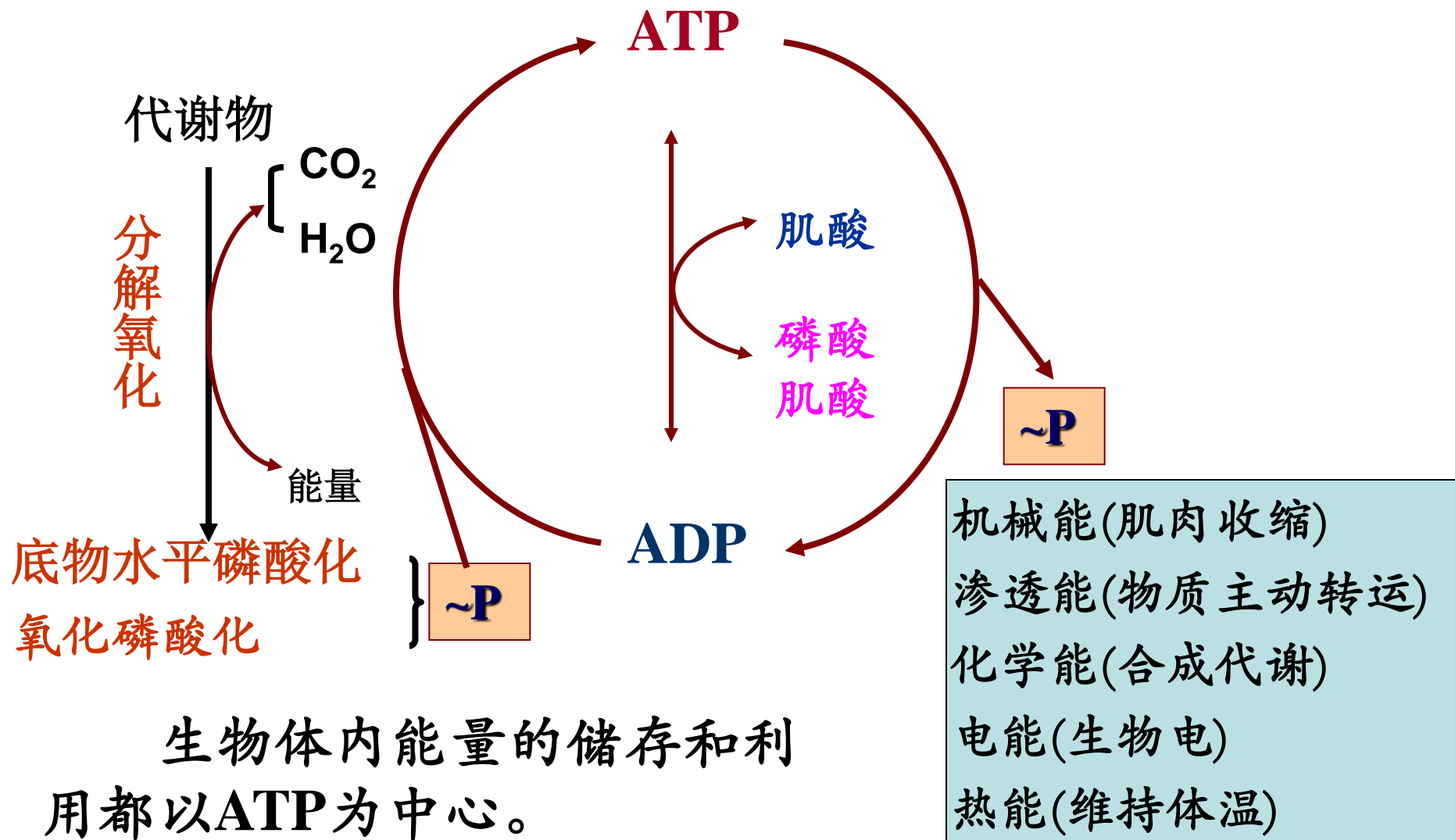


肌酸激酶的作用



磷酸肌酸作为肌肉和脑组织中能量的一种贮存形式。

ATP的生成和利用



四、线粒体内膜对物质的转运

- （一）细胞质中的**NADH**的氧化

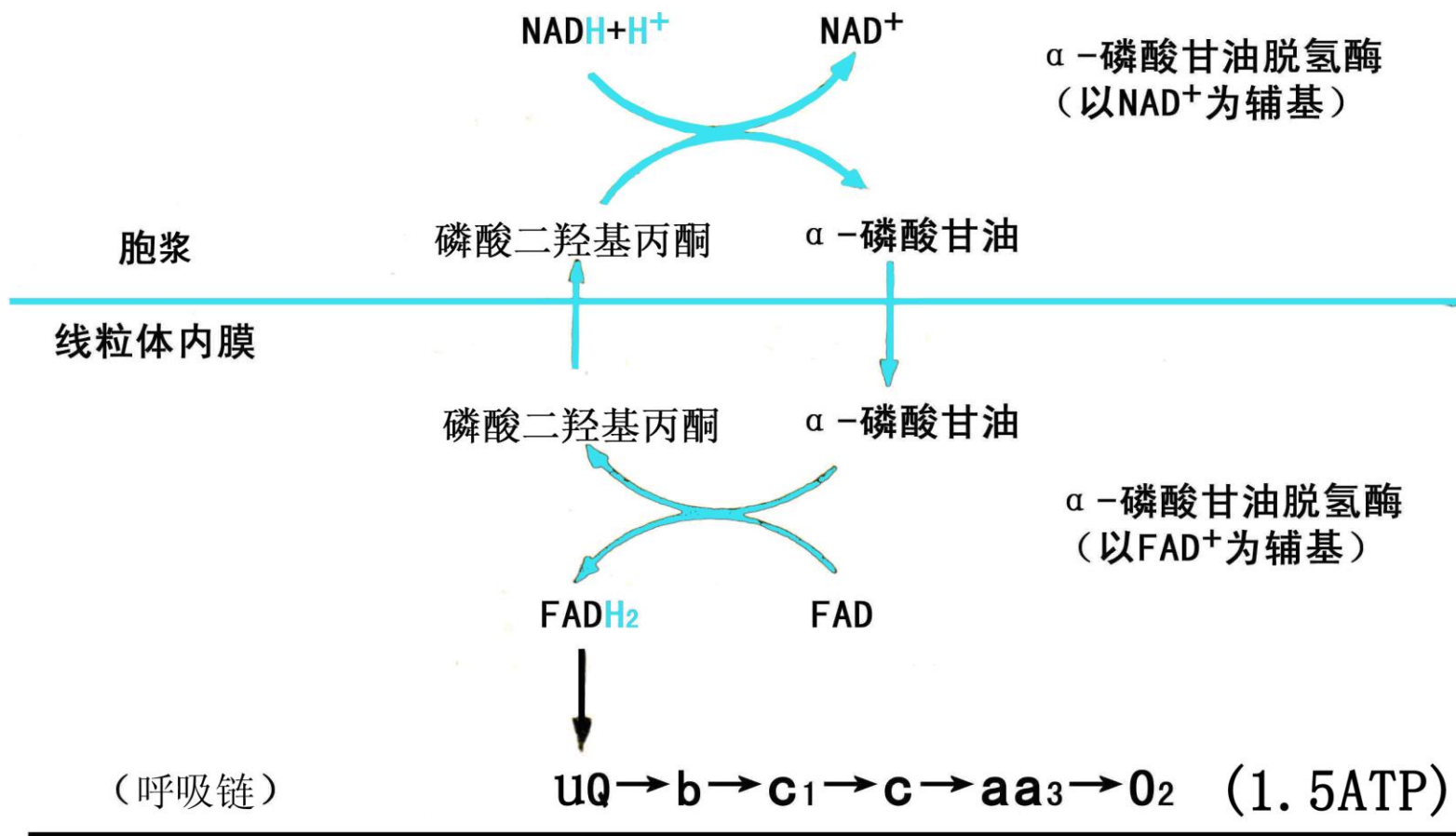
细胞质中**NADH**必须经一定**转运机制**进入线粒体，再经呼吸链进行氧化磷酸化。

转运机制：

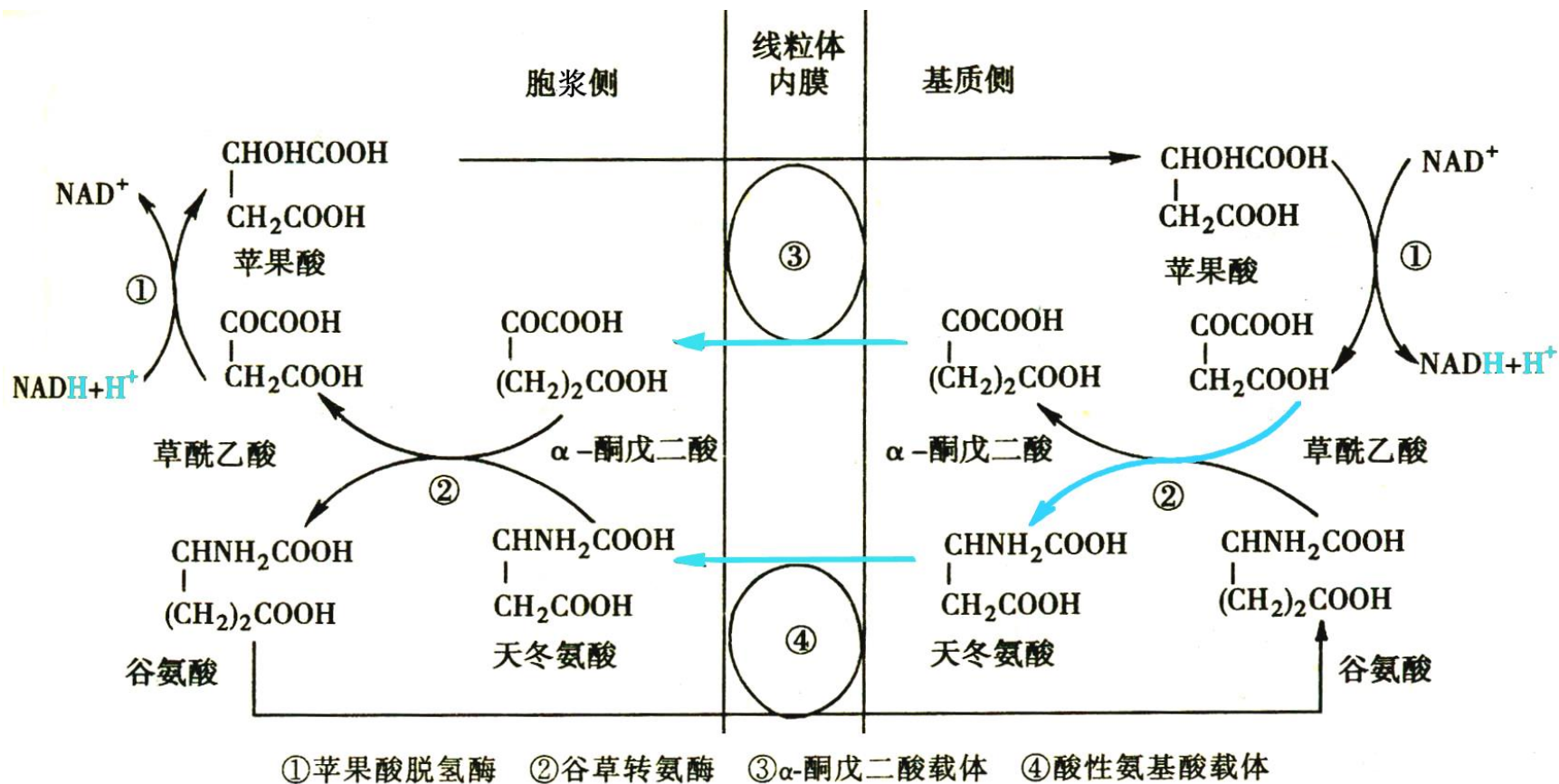
α -磷酸甘油穿梭(α -glycerophosphate shuttle)

苹果酸-天冬氨酸穿梭 (malate-asparate shuttle)

1. α -磷酸甘油穿梭：主要存在于脑和骨骼肌中

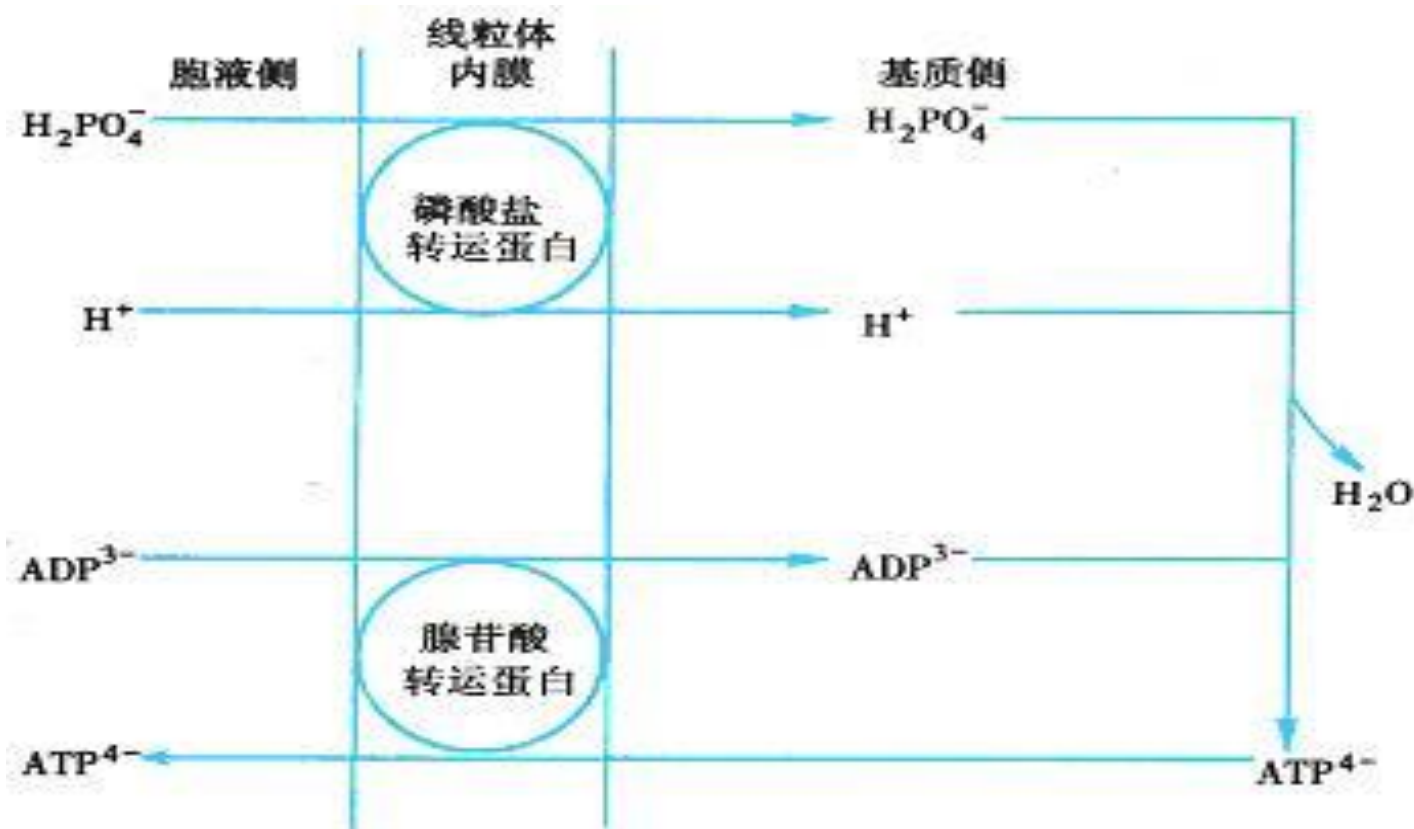


2. 苹果酸-天冬氨酸穿梭：主要存在于肝和心肌中



(二) ADP和ATP的转运

- ATP-ADP转位酶协调转运ADP进入和ATP移出线粒体



第四节

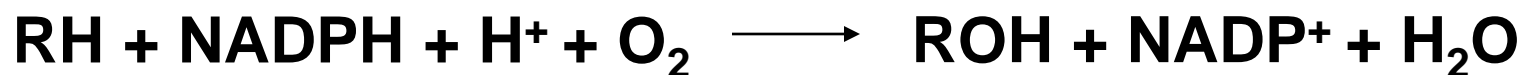
非线粒体氧化体系

- 非线粒体氧化体系包括：微粒体、过氧化物酶体以及细胞其他部位存在的线粒体以外的氧化体系。
- 该体系含有特殊的酶：需氧脱氢酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶体的过氧化物酶和过氧化氢酶及微粒体的酶类。
- 该体系氧化的特点：在氧化过程中不伴有偶联磷酸化，不生成ATP。

一、微粒体氧化体系（加氧酶系）

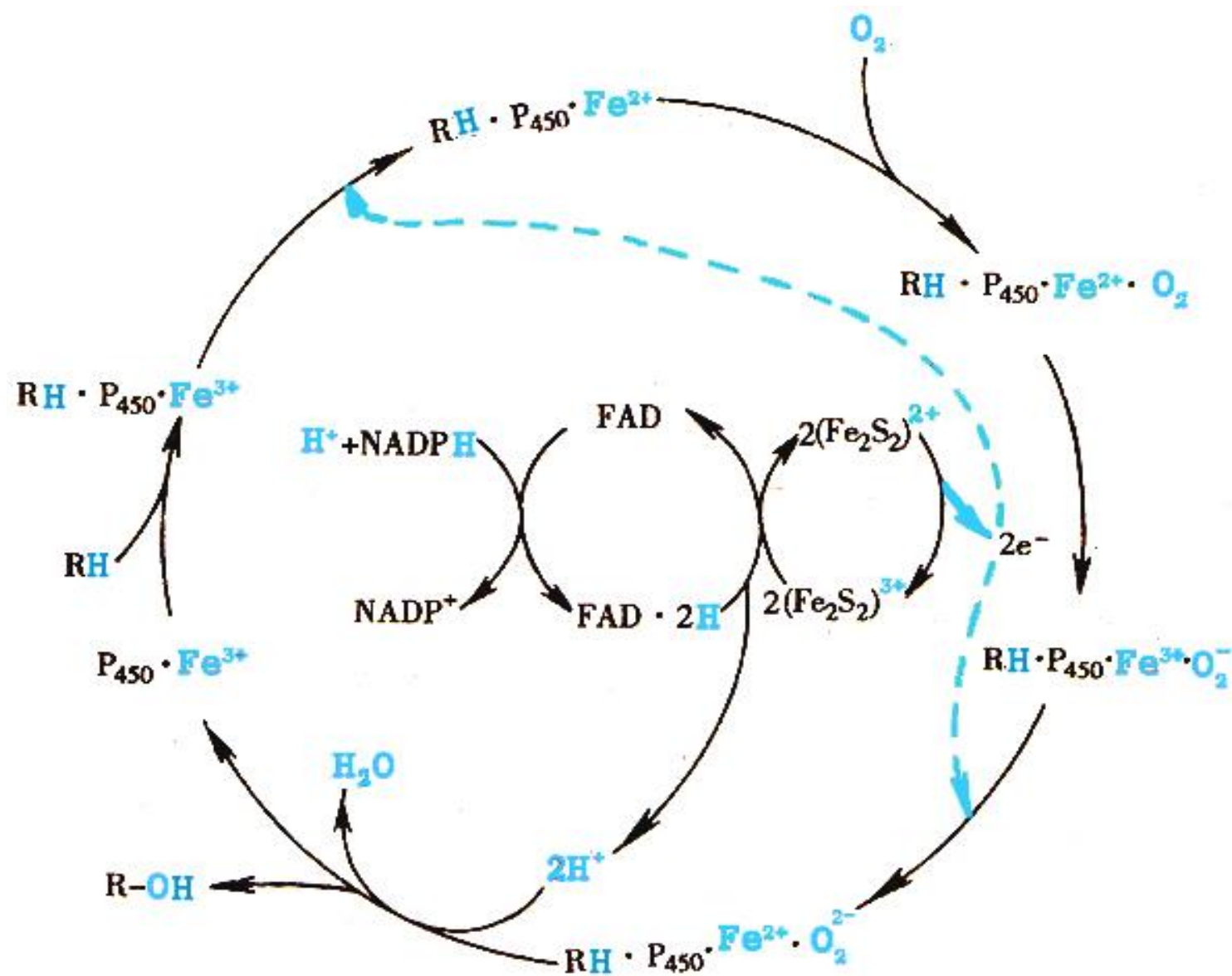
（一）单加氧酶(monoxygenase)

* 催化的反应：



又称混合功能氧化酶(mixed-function oxidase)
或羟化酶(hydroxylase)。

上述反应需要细胞色素 P_{450} (Cyt P_{450})参与。

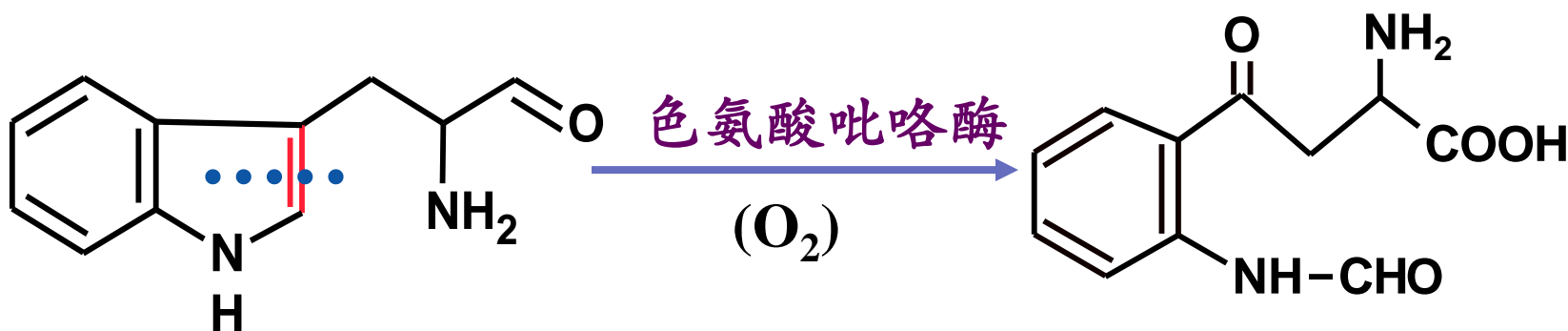


加单氧酶反应

(二) 双加氧酶

催化氧分子中的2个氧原子加到底物中带双键的2个碳原子上。

例如：



二、活性氧清除体系

- **活性氧族：**超氧离子(O^{2-})、 H_2O_2 、羟自由基($\bullet\text{OH}$)的统称。
- **来源：**物质在细胞线粒体、胞液、过氧化物酶体代谢可生成活性氧，细菌感染、组织缺氧等病理情况，辐射、服用药物、吸入烟雾等外源因素也可导致细胞产生活性氧。

(一) 过氧化物酶体氧化体系

1. 过氧化氢酶(catalase)

又称触酶，其辅基含4个血红素

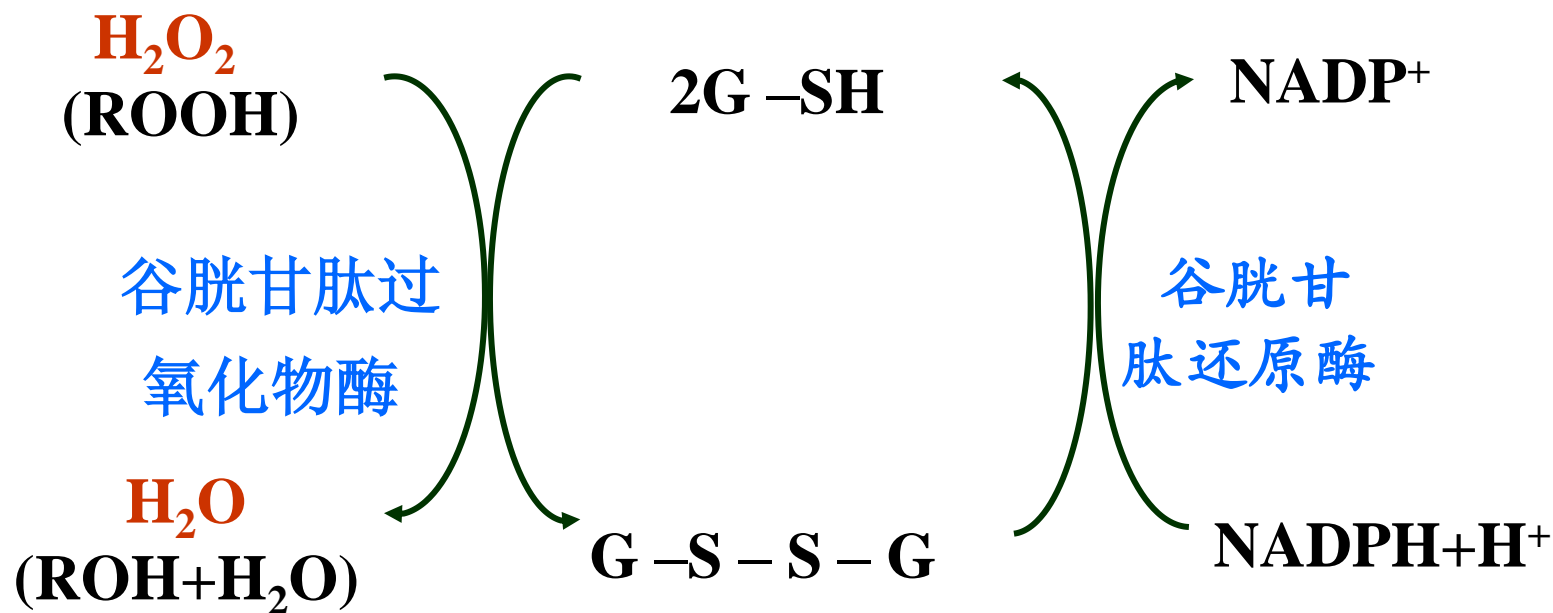


2. 过氧化物酶(peroxidase)

以血红素为辅基，催化 H_2O_2 直接氧化酚类或胺类化合物。



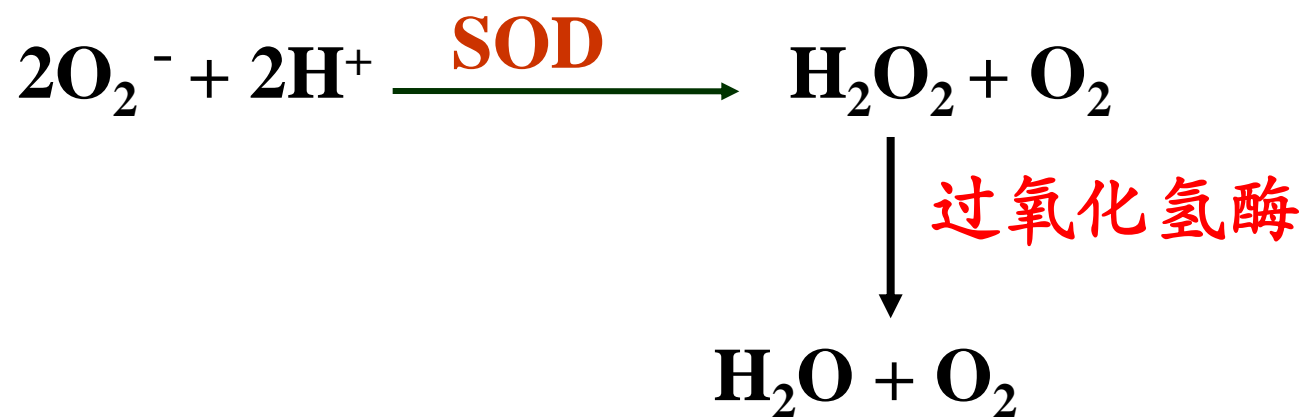
含硒的谷胱甘肽过氧化物酶：将 H_2O_2 还原为 H_2O



➤ 此类酶可保护生物膜及血红蛋白免遭损伤。

体内主要防止活性氧类损伤的酶

(三) 超氧化物歧化酶



SOD: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase)

思考题：

1. 机体如何产生**ATP**？
2. 简述两条呼吸链的组成、排列顺序、氧化磷酸化的偶联部位。
3. 线粒体外氧化体系的主要生理作用是什么？
4. 简述线粒体外**NADH**的氧化方式？
5. 叙述氧化磷酸化的影响因素及作用机制。
6. 机体如何清除活性氧？
7. 解释下列名词：**(1) substrate-level phosphorylation; (2) oxidative respiratory chain; (3) oxidative phosphorylation.**