



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

“十三五”全国高等医学院校本科规划教材

供基础、临床、护理、预防、口腔、中医、药学、医学技术类专业用

生物化学

Biochemistry

(第4版)

主 编 李 刚 贺俊崎

副主编 (按姓名汉语拼音排序)

高国全 孔 英 马 佳 倪菊华 王海生

编 委 (按姓名汉语拼音排序)

程 杉 (首都医科大学)

窦 烨 (齐鲁医药学院)

高国全 (中山大学中山医学院)

何海伦 (中南大学湘雅医学院)

贺俊崎 (首都医科大学)

江兴林 (湖南医药学院)

孔 英 (大连医科大学)

李 刚 (北京大学医学部)

李红梅 (贵州医科大学)

刘友勋 (新乡医学院)

龙石银 (南华大学医学院)

马 佳 (蚌埠医学院)

倪菊华 (北京大学医学部)

裴晋红 (长治医学院)

覃 扬 (四川大学华西医学中心)

王海生 (内蒙古医科大学)

王 嵘 (青海大学医学院)

王秀宏 (哈尔滨医科大学)

王志刚 (哈尔滨医科大学大庆校区)

谢书阳 (滨州医学院)

杨 洁 (天津医科大学)

翟 静 (泰山医学院)

张春晶 (齐齐哈尔医学院)

赵 蕾 (哈尔滨医科大学大庆校区)

周晓慧 (承德医学院)

北京大学医学出版社

SHENGWU HUAXUE

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学 / 李刚, 贺俊崎主编. —4 版. —北京: 北京大学医学出版社, 2018.6 (2019.1 重印)

ISBN 978-7-5659-1785-1

I. ①生… II. ①李… ②贺… III. ①生物化学—高等学校—教材 IV. ①Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 078233 号

生物化学 (第 4 版)

主 编: 李 刚 贺俊崎

出版发行: 北京大学医学出版社

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

电 话: 发行部 010-82802230; 图书邮购 010-82802495

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京信彩瑞禾印刷厂

经 销: 新华书店

责任编辑: 赵 欣 责任校对: 金彤文 责任印制: 李 啸

开 本: 850 mm × 1168 mm 1/16 印张: 32 字数: 923 千字

版 次: 2018 年 6 月第 4 版 2019 年 1 月第 2 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-1785-1

定 价: 85.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

修订说明

国务院办公厅颁布《关于深化医教协同进一步推进医学教育改革与发展的意见》、以“5+3”为主体的临床医学人才培养体系改革、教育部本科临床医学专业认证等一系列重要举措，对新时期高等医学教育人才培养提出了新的要求，也为教材建设指明了方向。

北京大学医学出版社出版的临床医学专业本科教材，从2001年开始，历经3轮修订、17年的锤炼，各轮次教材都高比例入选了教育部“十五”“十一五”“十二五”国家级规划教材。为了顺应医教协同和医学教育改革与发展的要求，北京大学医学出版社在教育部、国家卫生健康委员会和中国高等教育学会医学教育专业委员会指导下，经过前期的广泛调研、综合论证，启动了第4轮教材的修订再版。

本轮教材基于学科制课程体系，在院校申报和作者遴选、编写指导思想、临床能力培养、教材体系架构、知识内容更新、数字资源建设等方面做了优化和创新。共启动47种教材，其中包含新增的《基础医学概论》《临床医学概论》《诊断学》《医患沟通艺术》4种。《基础医学概论》和《临床医学概论》虽然主要用于非临床医学类专业学生的学习，但须依托于临床医学的优秀师资才能高质量完成，故一并纳入本轮教材中。《诊断学》与《物理诊断学》《实验诊断学》教材并存，以满足不同院校课程设置差异。第4轮教材修订的主要特点如下：

1. 为更好地服务于全国高等院校的医学教育改革，对参与院校和作者的遴选精益求精。教材建设的骨干院校结合了研究型与教学型院校，并注重不同地区的院校代表性；由各学科的委员会主任委员或理事长和知名专家等担纲主编，由教学经验丰富的专家教授担任编委，为教材内容的权威性、院校普适性奠定了坚实基础。

2. 以“符合人才培养需求、体现教育改革成果、教材形式新颖创新”为指导思想，以深化岗位胜任力培养为导向，坚持“三基、五性、三特定”原则，密切结合国家执业医师资格考试、全国硕士研究生入学考试大纲。

3. 部分教材加入了联系临床的基础科学案例、临床实践应用案例，使教材更贴近基于案例的学习、以问题为导向的学习等启发式和研讨式教学模式，着力提升医学生的临床思维能力和解决临床实际问题的能力；适当加入知识拓展，引导学生自学。

4. 为体现教育信息化对医学教育的促进作用，将纸质教材与二维码技术、网络教学平台相结合，教材与微课、案例、习题、知识拓展、图片、临床影像资料等融为一体，实现了以纸质教材为核心、配套数字教学资源的融媒体教材建设。

在本轮教材修订编写时，各院校对教材建设提出了很好的修订建议，为第4轮教材建设的顶层设计和编写理念提供了详实可信的数据储备。第3轮教材的部分主编由于年事已高，此次不再担任主编，但他们对改版工作提出了很多宝贵的意见。前3轮教材的作者为本轮教材的日臻完善打下了坚实的基础。对他们的贡献，我们一并表示衷心的感谢。

尽管本轮教材的编委都是多年工作在教学一线的教师，但囿于现有水平，书中难免有不当之处。欢迎广大师生多提宝贵意见，反馈使用信息，以臻完善教材的内容，提高教材的质量。

“十三五”全国高等医学院校 本科规划教材评审委员会

顾 问 王德炳

主 任 委 员 柯 杨 詹启敏

副主任委员 吕兆丰 王维民

秘 书 长 王凤廷

委 员 (按姓名汉语拼音排序)

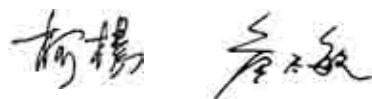
蔡景一	曹德品	崔慧先	邓峰美	丁元林
管又飞	黄爱民	黄元华	姜志胜	井西学
黎孟枫	李春江	李春鸣	李 燕	刘传勇
刘永年	刘志跃	罗自强	雒保军	宋晓亮
宋焱峰	宋印利	唐世英	陶仪声	王 滨
王鹏程	王松灵	温小军	文民刚	肖纯凌
尹思源	于春水	袁聚祥	张晓杰	朱望东

序

国务院办公厅《关于深化医教协同进一步推进医学教育改革与发展的意见》（以下简称《意见》）指出，医教协同推进医学教育改革与发展，加强医学人才培养，是提高医疗卫生服务水平的基础工程，是深化医药卫生体制改革的重要任务，是推进健康中国建设的重要保障。《意见》明确要求加快构建标准化、规范化医学人才培养体系，全面提升人才培养质量。要求夯实5年制临床医学教育的基础地位，推动基础与临床融合、临床与预防融合，提升医学生解决临床实际问题的能力，推进信息技术与医学教育融合。从国家高度就推动医学教育改革作出了部署、明确了方向。

高质量的医学教材是满足医学教育改革、培养优秀医学人才的核心要素，与医学教育改革相辅相成。北京大学医学出版社出版的临床医学专业本科教材，立足于岗位胜任力的培养，促进自主学习能力建设，成为临床医学专业本科教学的精品教材，为全国高等医学院校教育教学与人才培养工作发挥了重要作用。

在医教协同的大背景下，北京大学医学出版社启动了第4轮教材的修订再版工作。全国医学院校一大批活跃在教学一线的专家教授，以无私奉献的敬业精神和严谨治学的科学态度，积极参与到本轮教材的修订和建设工作中。相信在全国高等医学院校的大力支持下，有广大专家教授的热情奉献，新一轮教材的出版将为我国高等医学院校人才培养质量的提高和医学教育改革的发展发挥积极的推动作用。



前言

《生物化学》第4版的编写工作于2017年7月顺利启动。本次编写任务与第3版略有不同。除了仍然以纸质教材为主外，还将建设配套数字化资源的立体化教材，这些都对教材的编写工作提出了更高的要求。教材仍将以深化岗位胜任力为导向，突出基础理论、基本知识和基本技能的掌握，体现思想性、科学性、先进性、启发性和适用性。编写时仍将紧密结合国家执业医师资格考试大纲和硕士研究生入学考试大纲的要求。

数字教学资源建设主要以微课等形式体现，不在这里赘述。此外，原纸版教材中穿插的拓展知识点，经过整理和补充后将以二维码形式出现在教材中，使用者只要扫描页边二维码即可获取其中内容，这样可以节省不少篇幅，是现代化信息技术在本学科教学中的体现和应用。

在使用第3版教材进行教学实践的几年中，生物化学学科也有了很大的发展，与此同时，我们也对原教材中的许多知识有了新的认识，许多内容急需更新和修正。本次教材的改版主要参考国外最新出版的著名生物化学教材 *Lehninger Principles of Biochemistry* (2017年，第7版) 以及其他教材，并保持国内教材使用过程中长期以来形成的传统和特点。与以往教材编写不同的是，我们始终与人民卫生出版社《生物化学与分子生物学》第9版教材的主编保持着充分的沟通，在许多知识点的更新上进行了充分的讨论，并达成了共识。不同教材之间的沟通协调将有利于教材建设，也对今后国家执业医师资格考试和硕士研究生入学考试大纲的制订以及试题建设都具有重要的指导意义。

本次教材的修订在第3版的整体布局基础上略有调整，对不同章节的内容进行了修改和补充。例如，每章的第一节均安排为概述，以统一风格。第一章对文字部分做了必要的调整，其中将“模体 (motif)” 改为“结构模体 (structure motif)”，以区别“序列模体 (sequence motif)”，并将“模体”内容放入蛋白质三级结构中叙述。将第二章“核酸的结构与功能”中的“核酸酶”内容放到第八章“核苷酸代谢”中。在第三章中，将第3版教材的“调节酶”均改为“关键酶”或“限速酶”，并全书一致。“调节酶”的说法并没有错，但“关键酶”的说法在酶调节的叙述上更为清晰。第四章补充了葡萄糖吸收机制中的葡萄糖转运蛋白作用。第五章“脂类代谢”改为“脂质代谢”，编写顺序也做了适当调整。第六章对生物氧化特点、呼吸链复合体组成、呼吸控制等做了相应补充，对活性氧清除体系部分做了修改。在第七章“氨基酸代谢”中删除了氨基酸吸收的“ γ -谷氨酰循环”机制，在氨基酸的一般代谢中删除了“嘌呤核苷酸循环”的联合脱氨基方式。这两个机制长期以来都被编写入教材中，但迄今没有找到相应的证据，因而本版教材不再编入。肌肉中氨基酸脱氨基方式将代之以“葡萄糖-丙氨酸循环”和“谷氨酰胺”机制。对不同一碳单位名称进行了规范化命名。对第八章内容做了进一步的完善，增加的一些知识点以二维码的形式体现。第九章新增了关于物质代谢的概述，增补了物质代谢的特点、参与物质代

谢与调节的常见激素类型。同时,新增了临床知识扩展和案例分析模块。原第十章“DNA 生物合成”改为“DNA 合成与修复”。第十一章“RNA 的生物合成”改为“RNA 合成”,这是为了与国外主要生物化学教材的提法保持一致。出于现在对于干扰素作用机制的最新理解,删除了第十二章“蛋白质的生物合成”中干扰素对蛋白质合成的作用。蛋白质生物合成过程不再提“核糖体循环”概念,以免与国外主要生物化学教材中的“ribosome recycling”的含义相混淆。第十三章修改篇幅较大的是将非编码 RNA 相关内容从翻译后调控改至转录后水平调控,并归为“基因沉默”。增加“增强子 RNA”二维码知识点。将原第十四章“基因、基因组与人类基因组计划”改为“基因与组学”,以适应当前学科的发展。国内外生物化学教材对“基因”的概念有不同解释,我们在参考多种教材和资料后采用了国外经典教材的定义。在第十五章“重组 DNA 技术”中,新版教材充实了基因诊断和基因治疗的概念,增加了基因诊断在遗传病、感染性疾病与传染病、恶性肿瘤等的预测和诊断的应用,以及基因诊断在法医学中的应用等。在二维码知识点中增加了 CRISPR/Cas 新技术的概念。将第十六章“细胞信号转导”整章内容中所有的“通路”改为“途径”;其中第一节概述增加了细胞信号转导的一般特征的介绍,第二节中删除了“细胞膜的转运功能”,并将第二节改为“生物膜的结构与细胞通讯”,第三节中增加了 G 蛋白一般分类、G 蛋白活性与失活状态转变的机制,第四节中增加了信号关闭的几种机制,在“酶偶联型受体介导的信息传递途径”中增加了 RTK-PI3K-AKT 途径。将第十七章“癌基因与肿瘤抑制基因”中的“生长因子”内容放到同一章第二节“原癌基因与癌基因”中,作为原癌基因产物进行介绍;增加了“oncomiRs”知识点的介绍。第十八章没有太大改变,主要是核实并更正了一些错误。删除原第十九章“肝的生物化学”中“内源性非营养物质”的提法。第二十章“维生素与必需微量元素”改为“维生素与矿物质”,增加钙、磷的相应知识,以与最新版国家执业医师资格考试大纲同步。在第二十一章“常用分子生物学技术”中增加了“第七节 生物大分子的相互作用研究技术”,以适应学科技术手段的新发展。

与上一版教材相比,本版教材的特点是更新了一些知识点,增加了一些新知识,与国内其他教材进行了协调,并且与国家执业医师资格考试大纲和硕士研究生入学考试大纲保持一致,目标是修订成一部适用于医学本科阶段教学的实用教材。

感谢几年来使用本教材的师生对教材中存在的问题提出宝贵意见和建议,也希望各位师生在新一版教材的使用过程中,继续关注教材,及时发现和指出其中出现的错误和问题,以便再次印刷时更正。

编 者

二维码资源索引

资源名称	资源类型	页码
朊病毒	下载资源	28
遗传信息携带者的发现	下载资源	43
DNA的甲基化	下载资源	47
DNA双螺旋结构模型的发现	下载资源	51
K_m 改变引起的生理效应	下载资源	72
鬼伞菌素与乙醇代谢	下载资源	75
核酶的发现	下载资源	86
抗体酶的发展过程	下载资源	88
糖无氧氧化的基本过程	下载资源	100
其他糖在体内的代谢	下载资源	101
糖无氧化和有氧氧化的异同点	下载资源	109
糖原贮积症	下载资源	115
糖尿病的发病机制、治疗及并发症	下载资源	124
肥胖与瘦蛋白	下载资源	139
他汀类调血脂药	下载资源	147
PPAR与血脂调整	下载资源	162
家族性高胆固醇血症	下载资源	163
半胱氨酸尿	下载资源	194
肝外组织氨基酸的脱氨基作用	下载资源	202
鸟氨酸循环的证实	下载资源	207
尿素循环障碍的主要症状	下载资源	210
硒代半胱氨酸	下载资源	221
核酸酶的分类及功能	下载资源	224
多功能酶是如何被发现的?	下载资源	230
腺苷脱氨酶	下载资源	236
腺苷脱氨酶与嘌呤核苷磷酸化酶缺乏导致复合性免疫缺陷综合征	下载资源	238

续表

资源名称	资源类型	页码
Reye综合征	下载资源	244
蛋白质营养不良	下载资源	245
妊娠期糖尿病	下载资源	249
脂质代谢紊乱与肾病	下载资源	251
DNA是生物遗传物质基础的证明——肺炎双球菌转化实验	下载资源	254
逆转录现象和逆转录酶的发现及其意义	下载资源	264
转录终止蛋白	下载资源	277
遗传密码的解读	下载资源	288
含硒蛋白质和tRNA ^{sel}	下载资源	290
核糖体机械移动假说	下载资源	297
核糖体给位与受位的确定	下载资源	299
蛋白质的自我剪接	下载资源	304
色氨酸操纵子的转录调控	下载资源	320
表观遗传学	下载资源	324
增强子RNA	下载资源	325
基因工程的发现及重大发展历程	下载资源	352
CRISPR/Cas系统——高效的基因编辑工具	下载资源	365
神经系统信号传递	下载资源	374
G蛋白机制的发现	下载资源	377
气体信息分子——一氧化氮（NO）的信息传递途径	下载资源	387
EGFR和HER-2与肿瘤的分子靶向治疗	下载资源	396
基因失去功能突变后具有致癌性的抑癌基因产物	下载资源	398
microRNAs与癌基因和抑癌基因的表达调控	下载资源	402
珠蛋白基因家族的表达	下载资源	414
血红蛋白病	下载资源	415
人原发性肝细胞癌	下载资源	418

目 录

绪论	1
----	---

第一篇 生物大分子的结构与功能

第 1 章 蛋白质的结构与功能	6	第 3 章 酶	62
第一节 概述	6	第一节 概述	62
第二节 蛋白质的分子组成	7	第二节 酶的分子结构	63
第三节 蛋白质的分子结构	15	第三节 酶促反应的特点	67
第四节 蛋白质结构与功能的关系	23	第四节 酶促反应的机制	69
第五节 蛋白质的理化性质及其分离 纯化	28	第五节 酶促反应的动力学	70
第六节 蛋白质的一级结构测定	35	第六节 酶活性的调节	79
第 2 章 核酸的结构与功能	43	第七节 酶活性的测定	82
第一节 概述	43	第八节 酶的命名与分类	84
第二节 核酸的分子组成	43	第九节 其他具有催化作用的生物 分子	86
第三节 核酸的分子结构	47	第十节 酶与医学的关系	90
第四节 核酸的理化性质	57		

第二篇 代谢及其调节

第 4 章 糖代谢	94	第一节 概述	168
第一节 概述	94	第二节 线粒体氧化体系	169
第二节 糖的分解代谢	96	第三节 ATP 的生成、利用和储存	175
第三节 糖原的合成与分解	112	第四节 非线粒体氧化体系	184
第四节 糖异生	116	第 7 章 氨基酸代谢	189
第五节 血糖及其调节	121	第一节 概述	189
第 5 章 脂质代谢	127	第二节 蛋白质的营养和氨基酸的生理 作用	189
第一节 概述	127	第三节 蛋白质的消化、吸收及 腐败	192
第二节 脂质的消化与吸收	128	第四节 氨基酸的一般代谢	196
第三节 三酰甘油的代谢	128	第五节 氨的代谢	204
第四节 磷脂的代谢	140	第六节 个别氨基酸代谢	210
第五节 胆固醇的代谢	143	第 8 章 核苷酸代谢	224
第六节 脂肪酸源激素的代谢	149	第一节 概述	224
第七节 血浆脂蛋白	156		
第 6 章 生物氧化	168		

第二节 核苷酸的合成	224	第二节 物质代谢的相互联系	241
第三节 核苷酸的分解代谢	236	第三节 物质代谢的调节	245
		第四节 物质代谢调节异常与疾病	251
第 9 章 物质代谢的相互联系与调节	241		
第一节 概述	241		

第三篇 分子生物学基础

第 10 章 DNA 合成与修复	254	第 13 章 基因表达调控	311
第一节 概述	254	第一节 概述	311
第二节 DNA 的复制	254	第二节 基因表达及其调控的概念及特点	311
第三节 逆转录作用	263	第三节 原核生物的基因表达调控	314
第四节 DNA 损伤的修复	265	第四节 真核生物的基因表达调控	322
第 11 章 RNA 合成	270	第 14 章 基因与组学	333
第一节 概述	270	第一节 概述	333
第二节 转录体系	270	第二节 基因的结构特点与基因组	334
第三节 转录过程	276	第三节 组学与医学	345
第四节 转录后的加工过程	278		
第五节 RNA 的复制	284	第 15 章 重组 DNA 技术	351
第 12 章 蛋白质的生物合成	287	第一节 概述	351
第一节 概述	287	第二节 重组 DNA 技术相关概念和常用工具	352
第二节 蛋白质生物合成体系	287	第三节 重组 DNA 基本原理	357
第三节 蛋白质的合成过程	291	第四节 重组 DNA 技术在医学中的应用	362
第四节 蛋白质生物合成与医学	305		

第四篇 专题篇

第 16 章 细胞信号转导	370	第一节 概述	404
第一节 概述	370	第二节 血液的化学成分与功能	404
第二节 生物膜的结构与细胞通讯	371	第三节 血浆蛋白质	406
第三节 信号分子	374	第四节 红细胞的代谢特点与血红蛋白的生物合成	409
第四节 受体	375	第 19 章 肝的生物化学	417
第五节 主要的信息传递途径	379	第一节 概述	417
第六节 信号转导与疾病	388	第二节 肝在物质代谢中的作用	417
第 17 章 癌基因与抑癌基因	392	第三节 肝的生物转化作用	420
第一节 概述	392	第四节 胆汁与胆汁酸代谢	424
第二节 原癌基因与癌基因	393	第五节 胆色素代谢与黄疸	428
第三节 抑癌基因	398		
第 18 章 血液的生物化学	404	第 20 章 维生素与矿物质	435

第一节	概述	435	第六节	生物芯片技术	470
第二节	脂溶性维生素	435	第七节	RNA 干扰技术	472
第三节	水溶性维生素	442	第八节	生物大分子的相互作用研究 技术	475
第四节	矿物质	453			
第 21 章	常用分子生物学技术	461	附录 1	推荐的课外参考读物与专业研究类 期刊	479
第一节	概述	461	附录 2	医学生物化学与分子生物学 大事记	481
第二节	分子杂交	461			
第三节	聚合酶链反应	463			
第四节	DNA 的序列分析	466			
第五节	转基因动物、克隆动物和基因 敲除技术	468	中英文专业词汇索引	489	

绪论

生物化学 (biochemistry) 即“生命的化学”，是运用化学的原理和方法，研究生物体的物质组成和生命过程中的化学变化，进而深入揭示生命活动的化学本质的一门学科。其研究对象包括生物体分子结构与功能、物质代谢与调节以及遗传信息传递的分子基础与调控规律等。20 世纪 50 年代，生物化学发展进入分子生物学时期，人们通常将研究核酸、蛋白质等生物大分子结构、功能及基因结构、表达与调控的内容称为分子生物学 (molecular biology)。因此可以认为分子生物学是生物化学的重要组成部分，也可以将其看作生物化学的发展和延续，二者密不可分。生物化学的研究手段早期主要是化学、物理学和数学的原理和方法，随后又融入了生理学、细胞生物学、遗传学和免疫学等的理论和技术，近年来又引入了生物工程学、生物信息学等的原理和手段。因此，生物化学是一门边缘学科，与众多学科有着广泛的联系，尤其是近年来飞速发展，作为生命科学共同语言，已成为当今生命科学领域的前沿学科，对医学的发展起着重要的促进作用。

一、生物化学发展简史

生物化学的研究始于 18 世纪，至 20 世纪初形成一门独立的学科，近百年来呈现蓬勃向上的发展趋势。生物化学可以说是 20 世纪的科学，目前已成为自然科学中发展最快、最引人注目的学科之一。

1. 叙述生物化学阶段 (亦称静态生物化学阶段) 18 世纪中叶至 19 世纪末是生物化学的初级阶段，主要研究生物体的化学组成，对脂质、糖类及氨基酸的性质进行了较为系统的研究。重要成果有：首次从血液中分离出血红蛋白，并制成了血红蛋白结晶；从麦芽中分离出淀粉酶；发现酵母发酵过程中存在“可溶性催化剂”；引入“酶”的概念，奠定了酶学的基础；证明蛋白质是由不同数量、种类的氨基酸组成的，采用化学方法合成了多肽，以此为底物，分析酶的催化活性，验证了酶催化作用的“锁-钥”学说；成功制备了尿素酶结晶，首次证明酶是蛋白质；发现了核酸。上述成果对后续的生物化学研究产生极大影响。

2. 动态生物化学阶段 从 20 世纪初开始，随着生命体化学组成和分子结构知识的积累，进而开始研究细胞内的化学反应是如何进行的，即体内各种分子的代谢变化。由此生物化学进入了蓬勃发展阶段，包括酶学、物质代谢、能量代谢、营养、内分泌等诸多领域。其重要成果有：发现了人类必需氨基酸、必需脂肪酸及多种维生素、激素，并将其分离、合成；认识到生物体内进行的化学反应是由一连串的酶促有机化学反应组成的；由于化学分析及同位素示踪技术的发展与应用，生物体内主要物质的代谢途径已基本确定，包括糖代谢的酶促反应过程、脂肪酸 β 氧化、三羧酸循环以及尿素合成的鸟氨酸循环等。描绘了物质氧化分解的过程，揭示了新陈代谢的化学本质。发现了腺苷三磷酸 (ATP)；提出生物能代谢过程中的 ATP 循环学说；证明催化三羧酸循环反应的酶都分布在线粒体，线粒体内膜分布有电子传递体，可进行氧化磷酸化反应。此阶段奠定了现代生物能学理论的基础。

3. 分子生物学时期 20 世纪中叶以来, 生物化学发展的显著特征是分子生物学的兴起。这一阶段, 细胞内两类重要的生物大分子——蛋白质与核酸成为研究的焦点。采用 X 射线衍射技术研究蛋白质结晶, 发现了蛋白质分子的二级结构—— α 螺旋。完成了胰岛素的氨基酸全序列分析。X 射线衍射技术和多肽链氨基酸序列分析技术随后成为分子生物学研究的两大技术支柱。

证明核酸与蛋白质一样, 也是一种多聚物, 并发现了核酸的两种类型——核糖核酸 (RNA) 和脱氧核糖核酸 (DNA)。提出“一个基因一个酶”的假说。通过细菌转化实验证明 DNA 是遗传的物质基础, 揭示了基因的本质。尤其具有里程碑意义的是, James D. Watson 和 Francis H. Crick 于 1953 年提出的 DNA 双螺旋结构模型, 为揭示遗传信息传递规律奠定了基础, 从此生物化学发展进入了以生物大分子结构与功能研究为主体的分子生物学时期。此后, 对 DNA 的复制机制、基因的转录过程以及各种 RNA 在蛋白质合成过程中的作用进行了深入研究。发现了 DNA 聚合酶, 揭示了 DNA 复制的秘密。破译了 mRNA 分子中的遗传密码。提出了遗传信息传递的中心法则 (central dogma)。这些成果深化了人们对核酸与蛋白质的关系及其在生命活动中作用的认识。

20 世纪 50 年代后期揭示了蛋白质生物合成的途径, 确定了由合成代谢与分解代谢网络组成的“中间代谢”概念。随后认识到生物大分子三维结构与功能的关系, 以及生命的基本功能表现为基本相同的生化过程, 生命现象的“同一性”使科学家可以利用细菌和病毒研究演绎高等生命过程。揭示了原核基因表达的开启和关闭是如何控制的。以酶活性的“别构调节”理论解释了机体代谢功能是如何被调节的, 由此引入生物调节的概念。

20 世纪 70 年代, 建立了重组 DNA 技术, 不仅促进了对基因表达调控机制的研究, 而且使主动改造生物体成为可能。随后相继获得了多种基因工程产品, 极大地推动了医药工业和农业的发展。发现了核酶 (ribozyme), 打破了所有生物催化剂都是蛋白质的传统观念。发明了体外扩增 DNA 的专门技术——聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR), 使人们有可能在体外高效率扩增 DNA, 科学家们分离及操作基因的能力有了极大的提升。

目前, 分子生物学已经从研究单个基因发展到对生物体整个基因组结构与功能的研究。人类基因组计划 (human genome project, HGP) 是生命科学领域有史以来最庞大的全球性研究计划, 该计划是对人 23 对染色体全部 DNA 的核苷酸进行测序。1990 年, 耗资 30 亿美元的 15 年制图和测序计划正式启动。1999 年底, 22 号染色体全序列公布。2000 年 3 月, 21 号染色体全序列公布; 同年 6 月, 人类基因组序列草图提前完成。2001 年 2 月, 科学家绘制完成了人类基因组序列图, 此成果无疑是人类生命科学史上的一个重大里程碑, 它揭示了人类遗传学图谱的基本特点, 将为人类的健康和疾病的研究带来根本性的变革。

在上述研究成果之上, 近年来相继出现的各类组学研究, 成为生物化学的新热点。包括蛋白质组学 (proteomics), 即在大规模水平上研究蛋白质的特征, 包括蛋白质的表达水平、翻译后修饰、蛋白与蛋白相互作用等, 由此获得蛋白质水平上的关于疾病发生、细胞代谢等过程的整体而全面的认识; 转录组学 (transcriptomics) 主要在整体水平上研究细胞中基因转录的情况及转录调控规律; RNA 组学 (RNomics) 对细胞中全部 RNA 分子的结构与功能进行系统的研究, 从整体水平阐明 RNA 的生物学意义; 代谢物组学 (metabonomics) 对生物体内所有代谢物进行定量分析, 并寻找代谢物与病理生理变化的相关性; 糖组学 (glycomics) 主要研究单个生物体所包含的所有聚糖的结构、功能 (包括与蛋白质的相互作用) 等的生物学作用。由此可见, 阐明人类基因组及其表达产物的功能是一项需要多学科参与的极具挑战性的工作, 它吸引着包括医学、生物学、化学、数学、统计学和计算机科学等领域的诸多学者参与, 对各种数据进行整合分析并与其生物学意义相关联。生物信息学 (bioinformatics) ——一门前景广阔的新兴学科便在此基础之上应运而生, 其主要研究生物信息的采集、处理、存储、传播、分

析和解释等,综合利用生物学、计算机科学和信息技术揭示大量而复杂的生物数据所蕴含的生物学奥秘。

纵观近几十年,几乎每年的诺贝尔医学或生理学奖以及一些诺贝尔化学奖都授予了从事生物化学和分子生物学的科学家,可见其在生命科学中的重要地位和作用。尽管生物化学与分子生物学的发展如此迅速,探索生命的本质仍然任重而道远。

二、生物化学主要研究内容

生物化学的研究内容十分广泛,简要归纳为以下几个方面:

1. 生物体的物质组成和生物分子的结构与功能 构成人体的主要物质包括水(55%~67%)、蛋白质(15%~18%)、脂质(10%~15%)、无机盐(3%~4%)、糖类(1%~2%)等,此外,还有核酸、维生素、激素等多种化合物。由碳、氢、氧、氮等组成的有机化合物统称为生物分子,这些化合物分子有上百万种,其种类繁多,结构复杂,功能各异。将分子量较大、结构复杂的蛋白质、核酸、多糖及脂质等统称为生物大分子。对生物分子的研究,主要是针对生物大分子。生物大分子一般是由某些基本结构单位按一定顺序和方式连接而形成的多聚体(polymer)。比如由氨基酸通过肽键连接形成蛋白质,由核苷酸通过磷酸二酯键连接形成核酸等。生物大分子空间结构与功能密切相关。结构是功能的基础,功能是结构的体现。生物大分子的功能还可通过分子之间的相互识别和相互作用来实现,例如,蛋白质与蛋白质、蛋白质与核酸、核酸与核酸的相互作用在基因表达调节中起着重要作用。所以分子结构、分子识别和分子间的相互作用是执行生物分子功能的基本要素。

2. 物质代谢及其调节 生命的基本特征是新陈代谢,即生物体不断与外环境进行物质交换及维持其内环境的相对稳定。据估算,人的一生中与环境进行的物质交换:水约60吨、糖类10吨、蛋白质1.6吨、脂质1吨。此外,还有其他小分子物质和无机盐类等。物质通过消化、吸收进入体内,一方面可作为机体生长、发育、修复和繁殖的原料,进行合成代谢;另一方面进行分解代谢,释放能量供生命活动。正常的物质代谢是生命过程的必要条件,体内各种代谢途径之间存在着密切而复杂的关系,生物体依靠精确的调节系统来保证各种物质代谢途径按照一定规律有条不紊地进行,若调节紊乱,物质代谢发生异常则可能引起疾病。目前对生物体内的主要物质代谢途径已基本清楚。物质代谢中的绝大部分化学反应由酶催化,酶结构和酶含量的变化对物质代谢的调节起着重要作用。细胞信息传递也参与多种物质代谢及生长、增殖、分化等生命过程的调节。但是,仍有众多的问题需要探讨。

3. 遗传信息传递及其调控 生物体在繁衍个体的过程中,其遗传信息代代相传,这是生命现象的又一重要特征。DNA是遗传的主要物质基础,基因即DNA分子的功能片段,作为基本遗传单位储存在DNA分子中。因此,基因信息的研究在生命科学中的作用至关重要。除研究DNA的结构与功能外,更重要的是研究DNA复制、RNA转录、蛋白质生物合成等基因信息传递过程的机制及基因表达调控的规律。遗传信息传递涉及遗传、变异、生长、分化等生命过程,与遗传性疾病、恶性肿瘤、代谢异常性疾病、免疫缺陷性疾病、心血管病等多种疾病的发病机制有关。重组DNA技术、转基因动植物、基因敲除、新基因克隆、人类基因组计划及后基因组计划等将大大推动这一领域的研究进程。

三、生物化学与医学的关系

生物化学既是重要的医学基础学科,又与临床医学的发展密切相关。作为基础医学的必修课,生物化学的理论和技術已渗透到医学科学的各个领域。掌握生物化学知识,可为进一步学习免疫学、微生物学、药學、遗传学、病理学等基础医学打下基础。当前,基础医学各学科的

研究已深入到分子水平,越来越多地应用生物化学的理论与技术来解决各学科的问题,学科间相互渗透愈发显著,出现诸多交叉学科,如分子免疫学、分子遗传学、分子药理学、分子病理学等。

同样,生物化学与临床医学的关系也很密切。各种疾病发病机制的阐明,诊断手段、治疗方案、预防措施等的实施,均大量依据生物化学的理论和技術。而且许多疾病的发病机制也需要从分子水平加以探讨。如糖类代谢紊乱导致的糖尿病、脂质代谢紊乱导致的动脉粥样硬化、氨代谢异常与肝性脑病、胆色素代谢异常与黄疸、维生素缺乏与夜盲症、苯丙酮尿症与苯丙氨酸羟化酶等的关系都早已为世人所公认。体液中各种无机盐类、有机化合物和酶类等的检测,早已成为疾病诊断的常规指标。近年来,生物化学与分子生物学的迅速发展也极大地加深了人们对恶性肿瘤、心血管疾病、神经系统疾病、免疫性疾病等重大疾病本质的认识,并出现了新的诊治方法。随着基因探针、PCR 技术等在临床的应用,疾病的诊断更加特异、灵敏和简便快捷。同时基因工程疫苗的运用也为解决免疫学问题提供了新的手段。由此可见,生物化学是一门重要的医学基础课程。作为医学生,掌握生物化学的基本知识,既有助于进一步学习其他基础医学课程,也可将来从事临床工作奠定基础。

四、生物化学的特点及学习方法

首先,生物化学的理论和技術原理与其他学科联系紧密,特别是化学、生物学等,对这些学科相关知识的温习和掌握,有助于较好地理解生物化学的内容。其次,生物化学本身的学习过程需要跨越几个台阶。掌握每一类生物分子的结构是第一个台阶。化学结构是生物化学的词汇,分子结构的记忆在整个生物化学课程学习中将使人受益匪浅,有助于理解生物分子的理化特性、反应机制及合成降解规律等。第二个台阶是代谢途径的学习。掌握代谢途径的共同特征,如几乎所有代谢中的反应,都是由酶催化的;物质代谢总是伴随着能量代谢;有些中间代谢物又充当合成代谢的前体分子等。熟悉几种重要的代谢途径,比如糖代谢的中心代谢途径——糖酵解和柠檬酸循环,这一途径是糖、蛋白质和脂质等生物分子代谢的必经之路。最后一个台阶是遗传信息分子的复制、转录、翻译及其调控部分的学习,该部分内容繁杂,有一定难度,特别是基因表达调控部分,主要是了解一些基本规律、原则和过程概要等。

针对上述特点,在学习方法上可参照如下建议:

由于各章节之间联系紧密,教材前面部分介绍的内容,在后续章节经常应用,在学习过程中要注意相关章节知识的连贯性和前后呼应,应反复复习,做到“瞻前顾后”和“温故知新”。这样既有利于知识的加深巩固,又有利于新内容的理解记忆。

需学习的内容多,尤其代谢反应过程十分复杂,知识点繁杂,内容较抽象,应根据教学大纲,抓住重点,有目的地对要求掌握的内容在理解的基础上进行记忆。学习中应侧重于反应性质、条件及生理意义,掌握代谢规律,抓主线、找到框架结构和层次,掌握规律,记住要点,做到纲目清楚,多而不乱。

“难记”是学习生物化学普遍遇到的问题,要解决好这个难题,就要在理解的基础上,善于归纳总结和对比,对于一些相似易混淆的内容,采用对比归纳法。有比较才有鉴别,有鉴别才能分辨事物从而记住其特征。

自学难度较大,须进行课前预习,充分利用老师的课堂讲授理解所学的内容,课后及时复习,并进行一定的习题练习,以助理解理论知识。

总之,生物化学是一门极具挑战性的科学,在过去 1 个多世纪,成千上万的研究者以不懈的努力和巧妙的工作铸成了这一知识宝库,需要后来之人以勤奋和智慧去开采、挖掘并发扬光大。

(贺俊崎)

第一篇

生物大分子的结构与功能

第1章

蛋白质的结构与功能

第一节 概述

早在 19 世纪，科学家们就发现含氮天然产物对动物的生存是必需的。1838 年荷兰化学家 G. J. Mulder 首次采用蛋白质（protein，源自希腊语 proteios，意为“第一重要的”）来表示这类化合物。蛋白质的基本组成单位是 L- α -氨基酸，常见的有 20 种，称为基本氨基酸，除此之外，近年来又发现了 2 种新的基本氨基酸，即硒代半胱氨酸和吡咯赖氨酸。氨基酸可通过肽键连接形成多肽链，多肽链中氨基酸的排列顺序构成蛋白质的一级结构。在此基础之上，多肽链又可折叠盘绕形成二级、三级及四级空间结构。蛋白质的一级结构是其生物学功能的基础，一级结构决定空间结构，空间结构相似者往往其生物学功能亦相似。

蛋白质的理化性质部分与氨基酸类似，可两性解离，有呈色反应，同时亦具有高分子化合物的特点，即有胶体性质，不易透过半透膜，可变性、沉淀、凝固等。依据这些性质，可以进行蛋白质的分离纯化，以便深入研究这一类重要的生物大分子。

蛋白质是生物体内重要的高分子有机物，是生物体结构和生命活动的重要物质基础。它不仅在生物体内含量丰富，而且具有多种多样的生物学功能。对于人体而言，蛋白质约占人体干重的 45%，遍及所有的组织器官，是机体细胞的重要组成成分，也是机体组织更新和修补的主要原料，在人体的生长、发育、运动、遗传、繁殖等生命活动中起着重要作用。可以说，没有蛋白质就没有生命活动的存在。

一、蛋白质是构成生物体的重要组成物质

生物体无论简单还是复杂，蛋白质都是其细胞的重要组成成分。以病毒（virus）为例，它们虽不具备最简单的细胞形态或结构，却有蛋白质与核酸结合而成的核蛋白（nucleoprotein），使它们能够生长、繁殖、致病。例如烟草花叶病毒（tobacco mosaic virus, TMV），它能使烟草致病，人们将其纯化结晶，并储存数年后再接种到宿主烟叶上，它仍能够生长、繁殖并使烟叶感染花叶病，同时病毒核蛋白也大量增加。这说明在病毒这种极简单的生命形式中，蛋白质亦充当了重要的结构物质。再如朊病毒（prion）是一类只有蛋白质而没有核酸的感染性蛋白质，若其结构发生某种特定的改变，则可引起动物或人的朊病毒病。

二、蛋白质是生物体生命活动的执行者

生物体结构越复杂，其蛋白质种类和功能也越繁多，即使在单细胞生物中，所发现的蛋白质也有数千种，而人体内大约含有 30 万种蛋白质。

蛋白质作为生命活动的执行者，在生物体内发挥着多种多样的功能，目前所发现的主要功能包括以下几类：

1. 催化功能 由活细胞产生的具有催化功能的蛋白质称为酶，生物体新陈代谢的全部化学反应都是由酶来催化完成的。如己糖激酶催化腺苷三磷酸的磷酸基团转移至葡萄糖，使葡萄糖磷酸化而活化；乳酸脱氢酶可催化乳酸脱氢转变成丙酮酸；DNA 聚合酶参与 DNA 的复制

和修复。

2. 调节功能 在生物体正常的生命活动如代谢、生长、发育、分化、生殖等过程中，多肽和蛋白质激素起着极为重要的调节作用。如调节糖代谢的胰岛素 (insulin)，与生长和生殖有关的促甲状腺素 (thyrotropin)、促生长素 (somatotropin)、黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 和促卵泡激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 等。重要的肽类激素包括促肾上腺皮质激素、抗利尿激素 (antidiuretic hormone)、胰高血糖素 (glucagon) 和降钙素 (calcitonin)。另外，许多激素的信号常常通过 G 蛋白 (GTP 结合蛋白质) 介导。其他还有转录和翻译调控蛋白质，包括与 DNA 紧密结合的组蛋白及某些酸性蛋白质等。

3. 运输功能 在生命活动过程中，许多小分子及离子的运输是由各种专一的蛋白质来完成的，它们携带小分子从一处到另一处，通过细胞膜，在血液循环中、不同组织间运载代谢物。如血红蛋白是转运氧和二氧化碳的工具；清蛋白可运输游离脂肪酸及胆红素等。

4. 运动功能 从最低等的细菌鞭毛运动到高等动物的肌肉收缩都是通过蛋白质实现的，即某些蛋白质使细胞和器官具有收缩能力，可使其改变形状或运动。如骨骼肌收缩靠肌动蛋白 (actin) 和肌球蛋白 (myosin)，这两种蛋白质在非肌肉细胞中也存在。微管蛋白用于构建微管，微管的作用是与鞭毛及纤毛中的动力蛋白 (dynein) 协同推动细胞运动。

5. 免疫和防御功能 生物体为了维持自身的生存而拥有多种类型的防御手段，其执行者大多数为蛋白质。例如抗体即是一类高度专一的蛋白质，它能识别和结合侵入生物体的外来物质，如异物蛋白质、病毒和细菌等。又如凝血酶与纤维蛋白原参与血液凝固，从而防止失血。

6. 营养和储存功能 卵清蛋白和牛奶中的酪蛋白是提供氨基酸的储存蛋白质。在某些植物、细菌及动物组织中发现的铁蛋白可以储存铁。

7. 机械支持和保护功能 许多蛋白质可形成“细丝”“薄片”或“缆绳”结构，具有机械支持及保护功能。肌腱和软骨的主要成分是胶原蛋白 (collagen)，它具有很高的抗张强度。韧带含有弹性蛋白 (elastin)，形成蛋白质“缆绳”，具有双向抗拉强度。头发、指甲和皮肤主要由坚韧的不溶性角蛋白 (keratin) 组成。蚕丝和蜘蛛网的主要成分是纤维蛋白 (fibrin)。某些昆虫的翅膀具有近乎完美无缺的回弹特性，它由节肢弹性蛋白 (resilin) 构成。

8. 其他功能 有些蛋白质的功能相当特异，如 M- 甜蛋白 (monellin) 是非洲的一种植物蛋白，很甜，可作为一种非脂肪性、非毒性的甜味剂。又如南极水域中的某些鱼类，其血液中含有抗冻蛋白质 (anti-freeze protein)，可保护血液不被冻凝，使生物体在低温下得以生存，生命得以繁衍。还有蛋白质毒素，如蓖麻蛋白、白喉毒素、厌氧性肉毒梭菌毒素、蛇毒等，微量就可使高等动物产生强烈的毒性反应。

第二节 蛋白质的分子组成

一、蛋白质的元素组成

从各种动植物组织中提取的蛋白质，经元素分析可知其中各种元素的含量：碳 50% ~ 55%、氢 6% ~ 8%、氧 19% ~ 24%、氮 13% ~ 19% 和硫 0 ~ 4%。有些蛋白质还含有少量磷或硒以及金属元素铁、铜、锌、锰、钴、钼等，个别蛋白质还含有碘。

各种蛋白质的含氮量很接近，平均为 16%，动植物组织中含氮物又以蛋白质为主，因此只要测定生物样品中的含氮量，就可以按下式推算出样品中的蛋白质大致含量。计算公式为：

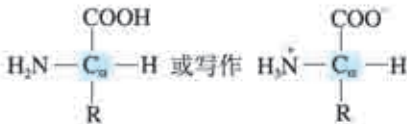
$$\text{每克样品中含氮克数} \times 6.25 \times 100 = \text{每 100 克样品中的蛋白质含量 (g/100g)}$$

二、蛋白质的基本结构单位——氨基酸

蛋白质受酸、碱或蛋白酶作用而水解成为其基本组成单位——氨基酸（amino acid）。无论是人体内的蛋白质，还是其他生物体所含的蛋白质，都主要由 20 种氨基酸构成，即这 20 种氨基酸是生物界通用的或是标准的氨基酸，亦称基本氨基酸。尽管基本氨基酸的种类有限，但组成蛋白质时，由于氨基酸的数目和连接顺序不同，因而可以组装成几乎无限种类的蛋白质。

（一）氨基酸的一般结构式

构成蛋白质的各种氨基酸，其化学结构式具有一个共同的特点，即在连接羧基的 α- 碳原子上还有一个氨基，故称 α- 氨基酸。α- 氨基酸的一般结构式可用下式表示：



由上式可以看出，与 α- 碳原子相连的四个原子或基团各不相同（当 R 为 H 时除外），即氨基酸的 α- 碳原子是一个不对称碳原子，因此各氨基酸都存在 L 和 D 两种构型。组成蛋白质的氨基酸均为 L-α- 氨基酸（甘氨酸除外），而生物界中发现的 D- 型氨基酸大都存在于某些细菌产生的抗生素及个别植物的生物碱中。

（二）氨基酸的分类

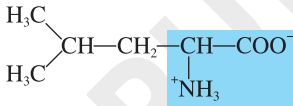
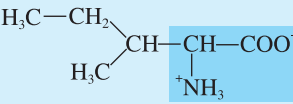
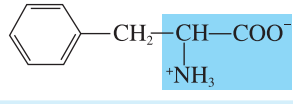
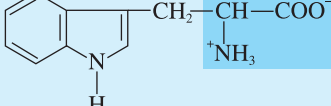
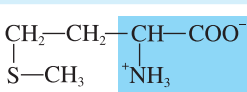
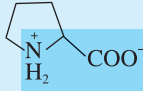
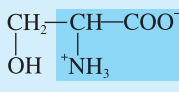
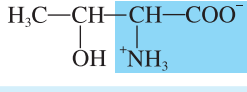
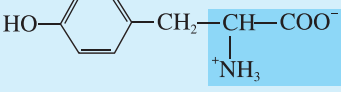
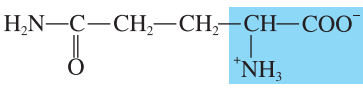
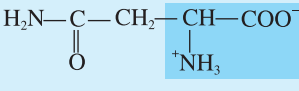
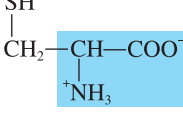
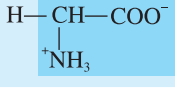
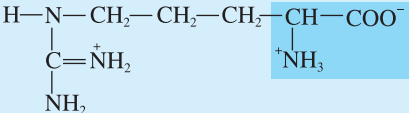
组成蛋白质的氨基酸已发现 20 余种，但绝大多数蛋白质只由 20 种基本氨基酸组成（表 1-1）。对于 20 种基本氨基酸最常用的分类方法是按它们侧链 R 基团的极性分类，有四种主要类型：

- 1. 非极性 R 基氨基酸 这类氨基酸的特征是在水中溶解度小于极性 R 基氨基酸，包括四种带有脂肪烃侧链的氨基酸（丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸）、两种含芳香环的氨基酸（苯丙氨酸和色氨酸）、一种含硫氨基酸（甲硫氨酸）和一种亚氨基酸（脯氨酸）。
- 2. 不带电荷的极性 R 基氨基酸 这类氨基酸的特征是比非极性 R 基氨基酸易溶于水，包括三种具有羟基的氨基酸（丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸）、两种具有酰胺基的氨基酸（谷氨酰胺和天冬酰胺）、一种含有巯基的氨基酸（半胱氨酸）和 R 基团只有一个氢但仍能表现一定极性的甘氨酸。
- 3. 带正电荷的 R 基氨基酸 这类氨基酸的特征是在生理条件下分子带正电荷，是一类碱性氨基酸，包括在侧链含有 ε- 氨基的赖氨酸、含有带正电荷胍基的精氨酸和含有弱碱性咪唑基的组氨酸。
- 4. 带负电荷的 R 基氨基酸 这类氨基酸的特征是在生理条件下分子带负电荷，是一类酸性氨基酸，包括侧链含有羧基的天冬氨酸和谷氨酸。

表1-1 组成蛋白质的20种基本氨基酸

中英文名称	中英文缩写	结构式	等电点 pI	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₂	pK _R R-基团
非极性 R 基氨基酸						
丙氨酸 alanine	丙 Ala (A)	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\substack{ \\ \text{NH}_3^+}}{\text{CH}}-\text{COO}^-$	6.02	2.34	9.69	
缬氨酸 valine	缬 Val (V)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\underset{\substack{ \\ \text{NH}_3^+}}{\text{CH}}-\text{COO}^- \end{array}$	5.97	2.32	9.62	

续表

中英文名称	中英文缩写	结构式	等电点 pI	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₂	pK _R R-基团
亮氨酸 leucine	亮 Leu (L)		5.98	2.36	9.60	
异亮氨酸 isoleucine	异亮 Ile (I)		6.02	2.36	9.68	
苯丙氨酸 phenylalanine	苯丙 Phe (F)		5.48	1.83	9.13	
色氨酸 tryptophane	色 Trp (W)		5.89	2.38	9.39	
甲硫氨酸 methionine	甲硫 Met (M)		5.75	2.28	9.21	
脯氨酸 proline	脯 Pro (P)		6.48	1.99	10.96	
不带电荷的极性 R 氨基酸						
丝氨酸 serine	丝 Ser (S)		5.68	2.21	9.15	13.60
苏氨酸 threonine	苏 Thr (T)		5.60	2.11	9.62	13.60
酪氨酸 tyrosine	酪 Tyr (Y)		5.66	2.20	9.11	10.07 苯酚羟基
谷氨酰胺 glutamine	谷胺 Gln (Q)		5.65	2.17	9.13	
天冬酰胺 asparagine	天胺 Asn (N)		5.41	2.02	8.80	
半胱氨酸 cysteine	半胱 Cys (C)		5.07	1.96	10.28	8.18 巯基
甘氨酸 glycine	甘 Gly (G)		5.97	2.34	9.60	
带正电荷的 R 氨基酸 (碱性氨基酸)						
精氨酸 arginine	精 Arg (R)		10.76	2.17	9.04	12.48 胍基

续表

中英文名称	中英文缩写	结构式	等电点 pI	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₂	pK _R R-基团
赖氨酸 lysine	赖 Lys (K)	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3-\text{COO}^-$	9.74	2.18	8.95	10.53 ε-氨基
组氨酸 histidine	组 His (H)	$\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \diagdown \diagup \end{array} \text{CH}_2-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3-\text{COO}^-$	7.59	1.82	9.17	6.00 咪唑基
带负电荷的 R 基氨基酸 (酸性氨基酸)						
天冬氨酸 aspartic acid	天冬 Asp (D)	$^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3-\text{COO}^-$	2.98	2.09	9.60	3.86 β-羧基
谷氨酸 glutamic acid	谷 Glu (E)	$^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{+}{\text{N}}\text{H}_3-\text{COO}^-$	3.22	2.19	9.67	4.25 γ-羧基

(三) 特殊氨基酸

除 20 种基本氨基酸外，生物体中尚存在着多种特殊氨基酸，它们的来源不同，在生物体内或充当蛋白质和生物活性肽的重要成分，或独立发挥多种生物学作用。

1. 硒代半胱氨酸和吡咯赖氨酸 是生物体内组成蛋白质的第 21 和第 22 种基本氨基酸。

对于 20 种基本氨基酸的认识，从 1806 年发现第一个氨基酸——天冬酰胺开始，直到 1938 年发现最后一个氨基酸——苏氨酸，其间经历了漫长的一个多世纪，此后科学家们一直认为直接由遗传基因编码的氨基酸只有这 20 种。然而事实并非如此，1986 年发现了硒代半胱氨酸 (selenocysteine, Sec)，随后的研究证实它是直接由遗传密码指导合成，而非翻译后修饰所产生的，是组成蛋白质的第 21 种基本氨基酸，存在于生物体内 20 余种含硒蛋白质分子中，多数硒蛋白是氧化还原酶。2002 年，在一种古细菌中发现了第 22 种基本氨基酸——吡咯赖氨酸 (pyrrolysine, Pyl)，它在细菌甲烷合成过程中具有重要作用。科学家们推测这种氨基酸也可能存在于产甲烷菌以外的其他生物体中。

硒代半胱氨酸和吡咯赖氨酸均属于 L-α-氨基酸。硒代半胱氨酸与半胱氨酸的区别在于硒元素取代了半胱氨酸中的硫元素，而吡咯赖氨酸则是赖氨酸的 ε-氨基与 (4R, 5R)-4-取代-吡咯啉-5-羧酸以酰胺键相连而形成的化合物。二者虽已证实属基本氨基酸，但目前发现其所存在的范围有限，有关其分类、理化性质、合成方式等尚待进一步研究确定。

上述两种新的基本氨基酸的发现具有重要意义，启发人们重新审视以前所认识到的一些概念和现象，同时也激励科学家们去寻找更多的基本氨基酸。

2. 非基本氨基酸 除上述直接由遗传基因编码的基本氨基酸以外，生物体内尚存在多种非基本氨基酸，包括蛋白质分子中的氨基酸衍生物、不构成蛋白质的生物活性氨基酸等。

蛋白质分子中的氨基酸衍生物，如羟脯氨酸、羟赖氨酸、羧基谷氨酸、磷酸丝氨酸、乙酰赖氨酸等，它们一般是肽链合成后通过对基本氨基酸残基专一修饰而成的，这些修饰包括某种小的化学基团简单加合到某些氨基酸的侧链基团上，如羟基化、甲基化、乙酰化、羧基化和磷酸化等，或者其他一些更为精细的加工。这些氨基酸的加工修饰对蛋白质行使功能是非常重要的。

不构成蛋白质的生物活性氨基酸，顾名思义即是不构成多肽的氨基酸残基，而具有独立的功能，常作为体内代谢过程中间物等，如瓜氨酸、鸟氨酸。此外还存在多种 D-氨基酸，作为细菌多肽的组成部分，存在于细菌细胞壁或细菌产生的抗生素中。

迄今为止已发现了大约 300 种不同的氨基酸，它们并不都用来构成蛋白质，而是发挥多种功能，并且某些种类之间可经化学反应而互相转化，这是大自然合理利用现成的材料达到新目的的一个例子。不过这 300 种左右的氨基酸中，大部分的生物学功能尚不清楚，有待于深入研究。

(四) 氨基酸的理化性质

氨基酸的 α -COOH、 α -NH₂ 及各种侧链 R 基团可以进行多种化学反应，以下着重讨论几个生物化学中广泛应用的鉴定和测定氨基酸的重要反应。

1. 两性解离及等电点 所有氨基酸都含有碱性的氨基（或亚氨基）和酸性的羧基，因而在酸性溶液中与质子（H⁺）结合而呈阳离子（NH₃⁺）；也能在碱性溶液与 OH⁻ 结合，失去质子而变成阴离子（COO⁻）。所以它们是一种两性电解质，具有两性解离的特性。氨基酸的解离方式取决于其所处环境的酸碱度。在某一 pH 值条件下，氨基酸解离成阳离子及阴离子的程度和趋势相等，净电荷数为零，成为兼性离子（zwitterion），它在电场中既不移向负极，也不移向正极。此时，氨基酸所处环境的 pH 值称为该氨基酸的等电点（isoelectric point, pI）。



等电点的计算：R 为非极性基团或虽为极性基团，但并不解离，氨基酸的等电点是由 α -COOH 和 α -NH₂ 的解离常数的负对数 pK_1 和 pK_2 来决定的。pI 计算方法为： $pI = 1/2 (pK_1 + pK_2)$ 。如甘氨酸 $pK_{-COOH} = 2.34$, $pK_{-NH_2} = 9.60$, 故 $pI = 1/2 \times (2.34 + 9.60) = 5.97$ 。

酸性和碱性氨基酸的 R 基团上均有可解离的极性基团，其等电点由 α -COOH、 α -NH₂ 及 R 基团的解离情况共同决定。

如天冬氨酸的 pI 为： $pI = 1/2 (pK_1 + pK_R) = 1/2 \times (2.09 + 3.86) = 2.98$

而赖氨酸的 pI 为： $pI = 1/2 (pK_2 + pK_R) = 1/2 \times (8.95 + 10.53) = 9.74$

各种氨基酸的解离常数常通过实验测得，它们的 pI、 pK_1 、 pK_2 及 pK_R 见表 1-1。需要说明的是，Cys 的—SH 和 Tyr 的酚羟基具有弱酸性，在 pH=7 时，Cys 的—SH 大约解离 8%；Tyr 苯环上的—OH 大约解离 0.01%。Cys 的 pI 按酸性氨基酸计算，Tyr 的解离程度较小，按 R 为极性非解离情况计算。

2. 紫外吸收性质 芳香族氨基酸色氨酸、酪氨酸分子内含有共轭双键，在 280nm 波长附近具有最大的光吸收峰（图 1-1）。由于大多数蛋白质均含有酪氨酸、色氨酸残基，所以测定蛋白质溶液 280nm 波长处的吸光度，是分析溶液中蛋白质含量的一种最快速简便的方法。

3. 茚三酮反应 该反应是检测和测定氨基酸和蛋白质的重要反应。氨基酸与茚三酮（ninhydrin）的水合物共同加热，氨基酸可被氧化分解，生成醛、氨及二氧化碳，茚三酮水合物则被还原。在弱酸性溶液中，茚三酮的还原产物可与氨基酸加热分解产生的氨及另一分子还原茚三酮缩合，

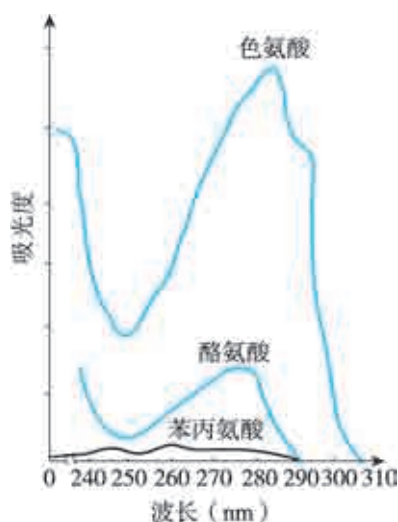


图 1-1 芳香族氨基酸的紫外吸收

成为蓝紫色化合物，其最大吸收峰在 570nm 波长处 ($\lambda_{\max} = 570\text{nm}$)。在一定的反应条件下，产生的蓝紫色化合物颜色的深浅（溶液中的光吸收度）与氨基酸浓度成正比，因此可作为氨基酸的定量分析方法，该反应的灵敏度为 $1\mu\text{g}$ 。因为凡具有氨基、能放出氨的化合物几乎都有此反应，故此法也广泛适用于多肽与蛋白质的定性及定量分析。但脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮反应呈黄色 ($\lambda_{\max} = 440\text{nm}$)；天冬酰胺与茚三酮反应生成棕色产物，同样具有定量、定性意义。



图 1-2 氨基酸的茚三酮反应

三、肽键和多肽链

(一) 氨基酸的成肽反应

两分子氨基酸可由一个分子中的 α -氨基与另一个分子中的 α -羧基脱水缩合成为最简单的肽，即二肽 (dipeptide)。在这两个氨基酸之间形成的酰胺键 ($-\text{CO}-\text{NH}-$) 称为肽键 (peptide bond)。二肽分子的两端仍有自由的氨基和羧基，故能同样以肽键与另一分子氨基酸缩合成为三肽，三肽可再与氨基酸缩合依次生成四肽、五肽等。一般来说，由 20 ~ 30 个以内氨基酸连成的肽称为寡肽 (oligopeptide)。而更多的氨基酸连接而成的肽称为多肽 (polypeptide)。这种由许多氨基酸相互连接形成的长链称为多肽链 (polypeptide chain)。多肽链中的氨基酸分子因脱水缩合而使基团稍有残缺，称为氨基酸残基 (residue)。蛋白质就是由许多氨基酸残基组成的多肽链，通常将分子量在 10kDa 以上的称为蛋白质，以下的称为多肽 (胰岛素的分子量虽为 5733Da，但习惯称为蛋白质)。多肽链具有方向性，其中有自由 α -氨基的一端称为氨基末端 (amino-terminal) 或 N 末端；有自由 α -羧基的一端称羧基末端 (carboxyl-terminal) 或 C 末端。为短肽命名时，按照惯例从 N 末端开始，指向 C 末端 (图 1-3)。

(二) 生物活性肽

自然界的动物、植物和微生物中存在某些小肽或寡肽，它们有着各种重要的生物学活性。常见的有肽类激素如催产素、加压素等，与神经传导等有关的神经肽如 P 物质、脑啡肽等，抗生素肽类如短杆菌肽 S、短杆菌肽 A、缬氨霉素 (valinomycin) 及博来霉素 (bleomycin) 等，还有广泛存在于细胞中的谷胱甘肽 (GSH) (表 1-2)。通过重组 DNA 技术还可得到肽类药物、疫苗等。

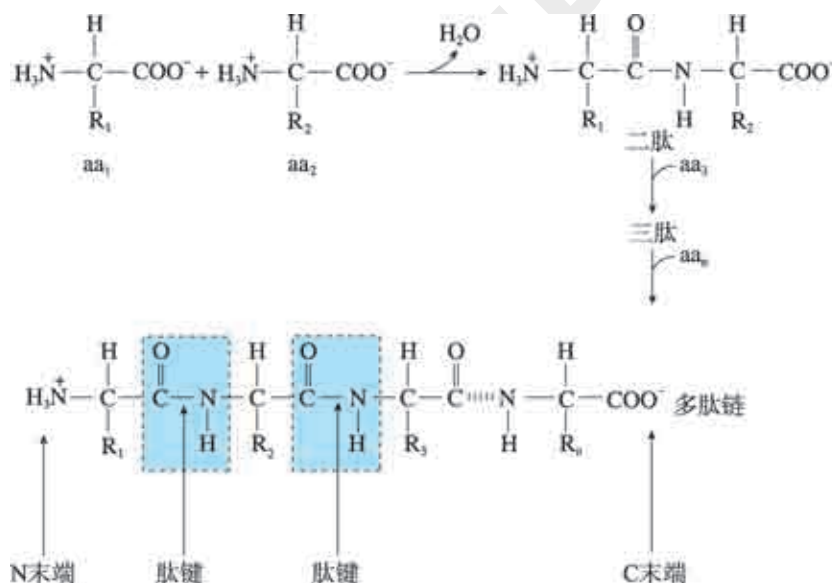


图 1-3 肽与肽键

表1-2 几种生物活性肽的序列及功能

名称	氨基酸序列		来源与生物学作用
催产素 (oxytocin)	$\begin{bmatrix} \text{S-S} \end{bmatrix}$ CYIQNCPLG	(9 肽)	神经垂体分泌 刺激子宫收缩
抗利尿激素 (vasopressin)	$\begin{bmatrix} \text{S-S} \end{bmatrix}$ CYFQNCPRG	(9 肽)	神经垂体分泌 使肾保水
胰高血糖素 (牛) (glucagon)	HSQGTFTSDYSLYLD— SRRAQDFVQWLMDT	(29 肽)	胰腺分泌, 参与调节葡萄糖 代谢
缓激肽 (牛) (bradykinin)	RPPGFSPFR	(9 肽)	抑制组织的炎症反应, 降低 平滑肌张力
促甲状腺激素释放因子 (thyrotropin-releasing factor)	*pyroGlu-His-Pro (焦谷氨酰组氨酰脯氨酸)	(3 肽)	在下丘脑形成, 刺激腺垂体 释放甲状腺激素
胃泌素 (人) (gastrin)	*pyroGlu · GPWLEEEE EAYGWMDF	(17 肽)	胃黏膜内 G 细胞分泌, 引起 壁细胞分泌酸
血管紧张素 II (马) (angiotensin II)	DRVYIHPF	(8 肽)	刺激肾上腺释放醛固酮
P 物质 (P substance)	RPKPQFFGLM	(10 肽)	神经递质
脑啡肽 (enkephalin)	1. YGGFM 2. YGGFL	(5 肽)	在中枢神经系统生成, 抑制 痛觉
短杆菌肽 S (gramicidin S)	**dFL → Orn → VP → dFL → Orn ← PV	(环 10 肽)	细菌产生, 抗生素
谷胱甘肽 (glutathion)	δ-ECG	(3 肽)	动、植物细胞, 参与氧化还 原反应

*pyroGlu-: 焦谷氨酸; **dF: D 型苯丙氨酸; Orn: 鸟氨酸

四、蛋白质的分类

蛋白质是由氨基酸以肽键连接形成的高分子化合物，所有生物都是利用 20 余种基本氨基酸作为构件组装成各种蛋白质分子的。尽管氨基酸的种类有限，但是由于氨基酸在蛋白质中连接的次序以及氨基酸种类、数目的不同，理论上可以组装成几乎无限的不同种类的蛋白质。例如人体内就含有大约 30 万种蛋白质；一个大肠埃希菌的蛋白质也有 1000 种以上。整个生物界有 $10^{10} \sim 10^{12}$ 种蛋白质。蛋白质的结构多种多样，生物学功能千变万化，为研究方便，有必要对蛋白质进行分类。可以根据蛋白质不同的性质特点，如分子的组成、分子的溶解性质、分子的形状或空间结构及功能等进行分类。

根据分子的组成可将蛋白质分为单纯蛋白质（simple protein）和结合蛋白质（conjugated protein）。单纯蛋白质只由氨基酸组成，其水解的最终产物只有氨基酸。单纯蛋白质按其溶解性质不同可分为清蛋白（或白蛋白）、球蛋白、谷蛋白、精蛋白、组蛋白、醇溶蛋白和硬蛋白等。

结合蛋白质则是由单纯蛋白质与非蛋白质物质结合而成的，其中的非蛋白质物质称为该结合蛋白质的辅基。辅基是在蛋白质多肽链合成后以特定方式与蛋白质结合在一起。结合蛋白质可按其辅基的不同分为核蛋白、色蛋白、糖蛋白、磷蛋白、脂蛋白和金属蛋白等（表 1-3）。

表1-3 结合蛋白质

分 类	辅 基	举 例
核蛋白 (nucleoprotein)	核酸	病毒，DNA 结合蛋白
色蛋白 (chromoprotein)	色素	血红蛋白，细胞色素类，琥珀酸脱氢酶
糖蛋白与蛋白聚糖 (glycoprotein and proteoglycan)	糖类	免疫球蛋白 G，黏蛋白，蛋白聚糖，胶原蛋白，弹性蛋白
磷蛋白 (phosphoprotein)	磷酸	酪蛋白，卵黄蛋白
脂蛋白 (lipoprotein)	脂类	β - 脂蛋白
金属蛋白 (metalloprotein)	金属离子	铁蛋白 (Fe)，血浆铜蓝蛋白 (Cu)，钙调蛋白 (Ca)，醇脱氢酶 (Zn)

按照分子形状或空间结构的不同，可将蛋白质分为纤维状蛋白质和球状蛋白质两大类。纤维状蛋白质分子很不对称，其分子长轴 / 短轴长度 > 10 ，溶解性差别较大，例如肌肉的结构蛋白质和血纤维蛋白原可溶于水，而角蛋白、丝心蛋白则不溶于水。球状蛋白质的溶解性较好，其分子形状接近球形，分子长轴 / 短轴长度 < 10 ，空间结构比纤维状蛋白质更复杂，生物体内的蛋白质多属于这一类。

若按蛋白质的功能可分为酶蛋白、调节蛋白质、运输蛋白质等（详见第一节）。

值得一提的是，随着对蛋白质、多肽结构和功能认识的深入，20 世纪 80 年代以后出现了一种新的分类方法——“家族”分类法。蛋白质的特定模体（motif）或结构域（domain）常与其某种生物学功能相关，根据结构与功能的关系，常将具有相同或类似模体或结构域的蛋白质归为一大类、一类或一组，分别称为超家族（super family）、家族（family）或亚家族（subfamily），例如螺旋 - 环 - 螺旋超家族、锌指结构蛋白质、PDZ 结构域蛋白质等。这种分类方法包含了蛋白质的结构和功能两方面的特性，是目前对多肽、蛋白质进行分类的新趋势，在

当前的蛋白质数据库中很常用。

第三节 蛋白质的分子结构

蛋白质作为生物大分子，结构比较复杂，为了研究的方便，1952年丹麦科学家 Linderstrom Lang 建议将蛋白质复杂的分子结构分成4个层次，即一级、二级、三级和四级结构。蛋白质的一级结构又称为初级结构或基本结构，蛋白质的二、三、四级结构统称为空间结构、高级结构或空间构象。并非所有蛋白质都有四级结构，由一条肽链形成的蛋白质只有一、二和三级结构，由两条以上肽链形成的蛋白质才可能有四级结构。

一、蛋白质的一级结构

蛋白质多肽链上各种氨基酸从N端至C端的排列顺序称为蛋白质的一级结构(primary structure)，不涉及蛋白质分子的立体结构，肽键是其基本化学键，有些尚含有二硫键，后者由两个半胱氨酸的巯基(—SH)脱氢氧化而生成。

英国化学家 Frederick Sanger 于1953年首先测定了胰岛素的一级结构。胰岛素是胰岛β细胞分泌的一种激素，分子量5733Da，由51个氨基酸残基组成A和B两条肽链，A链有21个氨基酸残基，B链有30个氨基酸残基，两条链通过两个链间的二硫键相连，另外在A链的第6和第11位半胱氨酸残基间还形成了一个链内二硫键，使A链部分环合(图1-4)。



图 1-4 胰岛素的一级结构

□ 内为保守序列

蛋白质的一级结构是其生物学活性及特异空间结构的基础。各种蛋白质之间的差别是由其氨基酸的组成、数目以及在蛋白质多肽链中的排列顺序决定的。其实每种蛋白质都有相同的多肽链骨架，但是从多肽链骨架伸出的侧链R基团却是不同的，氨基酸排列顺序的差别即是侧链R基团的差别。每种蛋白质多肽链侧链R基团的性质和顺序对于这一种蛋白质是特异的，体现在R基团有不同的大小、带不同的电荷、对水的亲和力也不相同，因而能够形成不同的空间结构。所以说蛋白质分子中氨基酸的排列顺序决定其空间结构。

二、蛋白质的空间结构

蛋白质分子多肽链并非呈线性伸展，而是在三维空间折叠和盘曲，构成特有的空间构象(conformation)。蛋白质特定的空间结构是其发挥各种生物学功能的结构基础。例如，血红蛋白肽链的特有折叠方式决定其运送氧的功能；核糖核酸酶具有的特定结构决定了它能与核糖核酸结合，并使之降解。

构象与构型 (configuration) 的概念不同。构型的改变需有共价键的断裂与生成, 从而形成立体异构中原子或基团在空间的新取向; 而构象的改变则不然, 只涉及单键的旋转和非共价键的改变。

(一) 空间结构的研究方法——X 射线晶体衍射法

X 射线晶体衍射法 (X-ray diffraction) 是一种测量蛋白质分子中原子和基团三维排列的方法, 利用此法测定蛋白质的结构, 结果比较可靠。X 射线是波长范围 $0.01 \sim 10\text{nm}$ 的电磁波, 用于结构分析的单色 X 射线的波长仅为 $0.1 \sim 1\text{nm}$, 相当于分子中原子之间的距离, 故足以分辨并确定蛋白质分子内每个原子的位置。事实上, X 射线晶体衍射法不能直接测定单个分子结构, 只能测定晶体中原子重复出现的周期性结构。该分析系统主要由三部分组成: X 射线源、蛋白质晶体和检测器 (图 1-5)。一细束 X 射线打到蛋白质晶体上, 有一部分直接穿过晶体, 其余的向不同方向衍射。X 线片可以接受衍射光束, 感光乳剂的发黑程度与衍射光束的密度成比例。经计算机可绘制三维电子密度图。例如一个肌红蛋白的衍射图有 25000 个斑点, 通过对这些斑点的位置、强度进行计算, 可探明其空间结构。



图 1-5 X 射线晶体衍射示意图

目前, 研究蛋白质空间结构的最高分辨率为 0.14nm , 即从衍射图上几乎可以辨认出除氢原子外的所有原子。在原子分辨水平上已阐明了多种蛋白质的结构。但是, 并非所有纯化蛋白质都能制备成满意的能供三维结构分析的晶体。近年建立的多维核磁共振技术, 也已用于测定蛋白质三维结构。此法可直接测定蛋白质在溶液中的结构, 不必结晶。但其对样品的需要量大, 纯度要求高, 而且被测蛋白质的分子量一般不能超过 20Da , 因此应用也受到很大限制。

由于蛋白质空间结构的基础是一级结构, 近年来根据蛋白质的氨基酸排列顺序预测其三维空间结构受到科学家的关注。预测蛋白质空间结构的方法主要有两类: 第一类方法是采用分子力学、分子动力学的方法, 根据物理化学的基本原理, 从理论上计算蛋白质分子的空间结构; 第二类方法是通过对已知空间结构的蛋白质进行分析, 找出一级结构与空间结构的关系, 总结出规律, 用于新的蛋白质空间结构的预测。蛋白质结构预测的目的是利用已知的一级结构来构建出蛋白质的空间结构模型, 从而进行蛋白质结构与功能关系研究。

(二) 蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构 (secondary structure) 是指蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构, 即该段肽链主链骨架原子的相对空间位置, 并不涉及氨基酸残基侧链的结构。在所有已测定空间结构的蛋白质中均有二级结构的存在, 主要形式包括: α 螺旋、 β 折叠和 β 转角等。

1. 肽单元 20 世纪 30 年代末, Linus Pauling 和 Robert Corey 开始应用 X 射线晶体衍射法研究氨基酸和二肽、三肽的精细结构, 其目的是获得蛋白质构件单元的标准键长和键角, 从而推导蛋白质的结构。他们的重要发现是: ①肽键 ($-\text{CO}-\text{NH}-$) 中的四个原子和与之相邻的两个 α -碳原子 (C_α) 位于同一刚性平面 (rigid plane), 构成一个肽单元 (peptide unit) (图 1-6a); ②肽键上一 NH 的 H 与一 $\text{C}=\text{O}$ 上的 O, 它们的方向几乎总是相反; ③肽单元中的 $\text{C}-\text{N}$

键不能自由旋转,因为它们有部分双键性质(图1-6b),其键长为0.132nm,这个长度介于C—N单键长0.149nm和C=N双键长0.127nm之间。相反, C_{α} 与羰基碳原子及 C_{α} 与氮原子之间的连结(C_{α} —CO—NH— C_{α})均为纯粹单键,因而这些键在刚性肽单元的两边有很大的自由旋转度。 C_{α} —C单键旋转的角度用 ψ 表示, C_{α} —N单键旋转的角度用 φ 表示。不论 ψ 还是 φ ,从N末端看去,顺时针旋转用“+”号表示,逆时针旋转用“-”号表示。它们的旋转角度决定肽平面之间的相对位置,若肽链完全伸展,则 ψ 和 φ 均为 180° (图1-6c)。

绝大多数肽单元连续的 C_{α} 原子处于连结它们的肽链的相反方向,称为反式肽单元(trans-peptide unit,图1-6a)。由于空间干扰的原因,少部分可形成顺式肽单元(cis-peptide unit,图1-6d),蛋白质中脯氨酸残基有时形成顺式肽单元。由于顺式肽单元肽键能量高,故不如反式肽单元稳定。

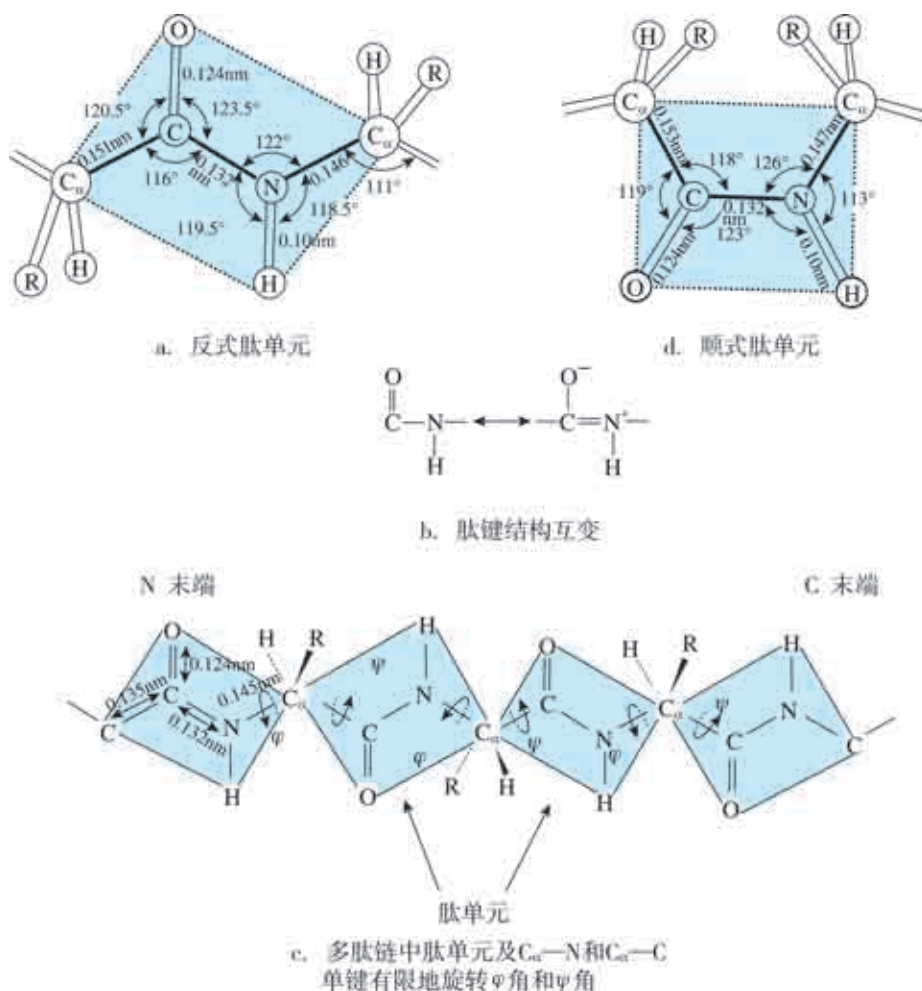
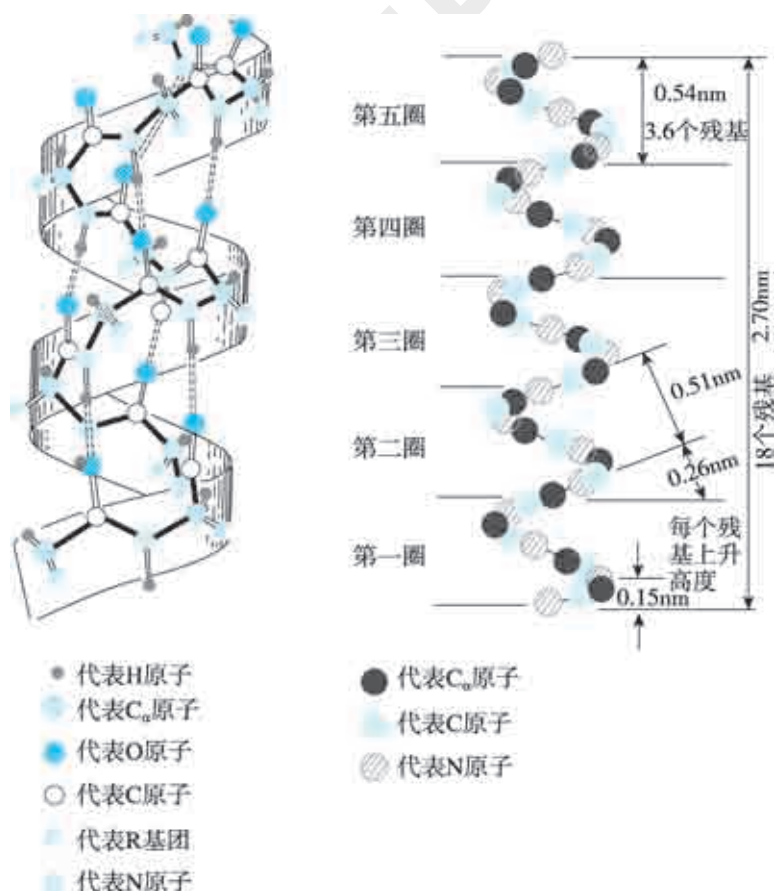


图1-6 肽单元

2. α 螺旋结构 1951年,Pauling和Corey根据多肽链骨架中刚性肽平面及其他可以旋转的原子推测了多肽结构,认为最简单的排列方式是螺旋结构,称为 α 螺旋(α -helix)(图1-7)。其特点如下:

(1) 多肽链主链围绕中心轴有规律地螺旋式上升,每隔3.6个氨基酸残基螺旋上升一圈,每个氨基酸残基向上移动0.15nm,故螺距为0.54nm。

(2) 第一个肽平面羰基(—CO)上的氧与第四个肽平面亚氨基(—NH—)上的氢形成氢键。氢键的方向与螺旋长轴基本平行。氢键是一种很弱的次级键,但由于主链上所有肽键都参

图 1-7 右手 α 螺旋

与了氢键的形成，所以 α 螺旋很稳定。

(3) 组成人体蛋白质的氨基酸都是 L- α -氨基酸，形成右手螺旋， $\varphi = -57^\circ$ ， $\psi = -47^\circ$ 。侧链 R 基团伸向螺旋外侧。根据多肽链主链旋转方向不同， α 螺旋也可有左手螺旋，其 $\varphi = +57^\circ$ ， $\psi = +47^\circ$ ，如噬热菌蛋白酶中就有左手 α 螺旋。

3. β 折叠 β 折叠 (β -pleated sheets) 结构也是 Pauling 于 1951 年提出的一种多肽主链规律性的结构 (图 1-8)。其特点有：

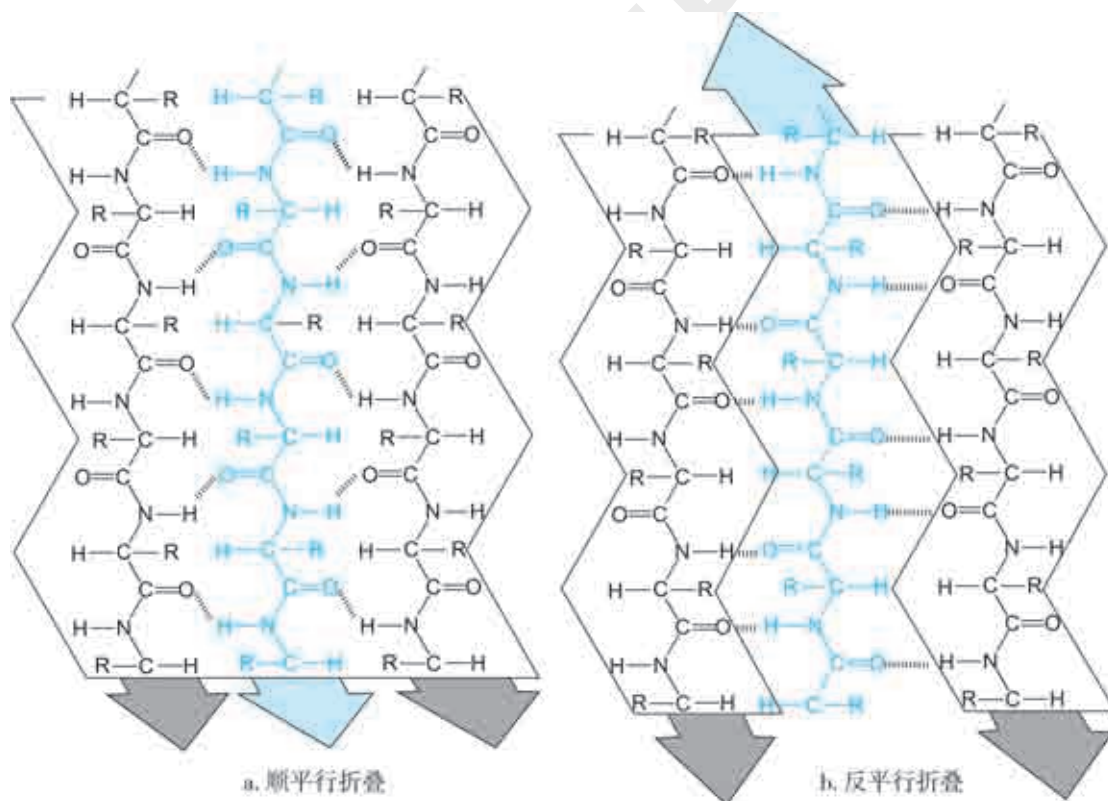
(1) 多肽链充分伸展，各肽键平面之间折叠成锯齿状结构，侧链 R 基团交错位于锯齿状结构的上下方。

(2) 两条以上肽链或一条肽链内的若干肽段平行排列，它们之间靠肽键羰基氧和亚氨基氢形成链间氢键维系，使结构稳定。氢键的方向与 β 折叠的长轴垂直。

(3) 若两条肽链走向相同，均从 N 端指向 C 端，称顺平行折叠，其两残基间距为 0.65 nm。反之，两条肽链走向相反，一条从 N 端指向 C 端，另一条从 C 端指向 N 端，称反平行折叠，两残基间距为 0.70 nm。由一条肽链折返形成的 β 折叠为反平行方式，反平行较顺平行折叠更加稳定。

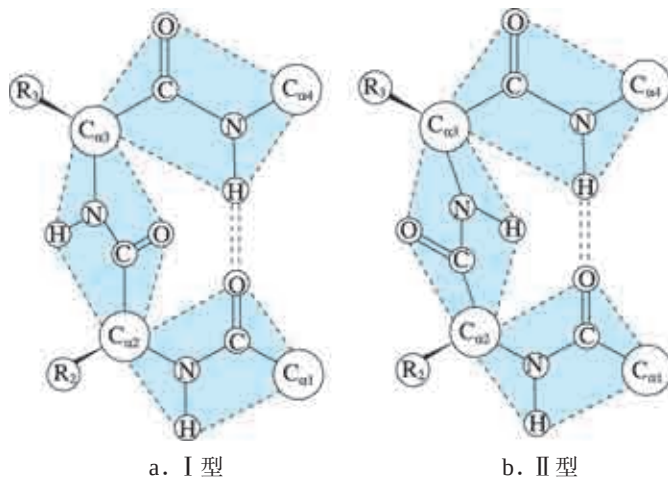
β 折叠一般与结构蛋白质的空间结构有关，但在有些球状蛋白质的空间结构中也存在。如天然丝心蛋白中就同时具有 β 折叠和 α 螺旋，溶菌酶、羧肽酶等球状蛋白质中也都存在 β 折叠结构。

4. 蛋白质的非重复二级结构 与纤维蛋白不同，球蛋白分子中规律的二级结构—— α 螺旋和 β 折叠平均占整个分子的一半，在这两种结构中连续的氨基酸残基具有单一重复的结构。

图 1-8 β 折叠结构

除此之外，球蛋白还含有一些非重复的区域，人们曾将这些区域认为是随机的、无序的结构，实际上这些区域是一些稳定的、有序的结构。这些非重复区可以连接二级结构和改变肽链折叠的方向，使得蛋白质最终呈现球形。蛋白质分子中的这种不规则性的非重复二级结构或独特结构也是蛋白质结构的重要部分。

在非重复区的某些部位，多肽链主链常常会出现 180° 的回折，该回折部分称为 β 转角 (β -bend, β -turn)。有两种类型的 β 转角，它们都是由 4 个连续的氨基酸残基组成的，第 1 个残基的羰基氧与第 4 个残基的亚氨基氢形成氢键。 β 转角 4 个连续的氨基酸残基构成 3 个连续的肽单元。若中间肽单元的氧原子与侧链 R_2 、 R_3 呈反式位置，则称 I 型；若氧原子与 R_2 、 R_3 呈顺式，则称 II 型 (图 1-9)。只有当 $R_3 = H$ ，即第 3 个氨基酸残基为甘氨酸时，II 型才存在。

图 1-9 β 转角

不论是 I 型还是 II 型, 第 2 个氨基酸残基常常是脯氨酸。除甘氨酸、脯氨酸外, 天冬氨酸、天冬酰胺和色氨酸也在 β 转角中常见。 β 转角常发生在蛋白质分子的表面, 与蛋白质的生物学功能有关。此外, 非重复区的其余若干肽段的空间排列规律性不强, 不易描述, 这些没有确定规律性的部分肽链结构有时称为卷曲。注意不能将它与无规卷曲 (random coil) 混淆, 无规卷曲指的是溶液中的变性 (denature) 蛋白质其折叠完全展开后形成的完全无序且快速变动的结构; 而在天然 (native) 的正确折叠的蛋白质中, 这种非重复二级结构的有序度并不亚于 α 螺旋或 β 折叠, 只不过不太规则, 其特征更不容易描述罢了。

(三) 蛋白质的三级结构

整条肽链中所有原子在三维空间的排布称为蛋白质的三级结构 (tertiary structure)。在一级结构中相距甚远或处于不同的二级结构中的两个氨基酸在三级结构中可能相互靠近且彼此相互作用。具有三级结构的蛋白质通常分为纤维状蛋白质和球状蛋白质两类。纤维状蛋白质的结构相对简单, 主要包含一种类型的二级结构; 而球状蛋白质则由多种类型的二级结构组成。此外, 二者在功能上也有较大差别, 纤维状蛋白质主要起结构支持等作用, 如 α -角蛋白、胶原蛋白等, 而大多数酶和调控蛋白则主要为球状蛋白质。

存在于红色肌肉组织中的肌红蛋白 (myoglobin, Mb) 是由 153 个氨基酸残基构成的单链蛋白质, 含有一个血红素辅基, 能够进行可逆的氧合与脱氧。X 射线晶体衍射法测定了它的空间结构: 多肽链中 α 螺旋占 75%, 形成 A 至 H 8 个螺旋区, 两个螺旋区之间有一段卷曲结构, 脯氨酸位于拐角处 (图 1-10)。由于侧链 R 基团的相互作用, 多肽链盘绕、折叠成紧密的球状结构。亲水 R 基团大部分分布在球状分子的表面, 疏水 R 基团位于分子内部, 形成一个疏水“口袋”。血红素位于“口袋”中, 它的 Fe 原子与 F₈ 组氨酸以配位键相连。Mb 的空间结构与血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 的一条 β 链的空间结构基本相同。但 Hb 是由 2 条 α 肽链和 2 条 β 肽链 ($\alpha_2\beta_2$) 组成的, α 肽链的 141 个氨基酸残基构成 7 个螺旋区 (没有 D 区), β 肽链的 146 个氨基酸残基构成 8 个螺旋区。4 条肽链分别在三维空间盘曲折叠, 各自形成紧密的球状结构, 即每一条肽链均形成独立的三级结构。

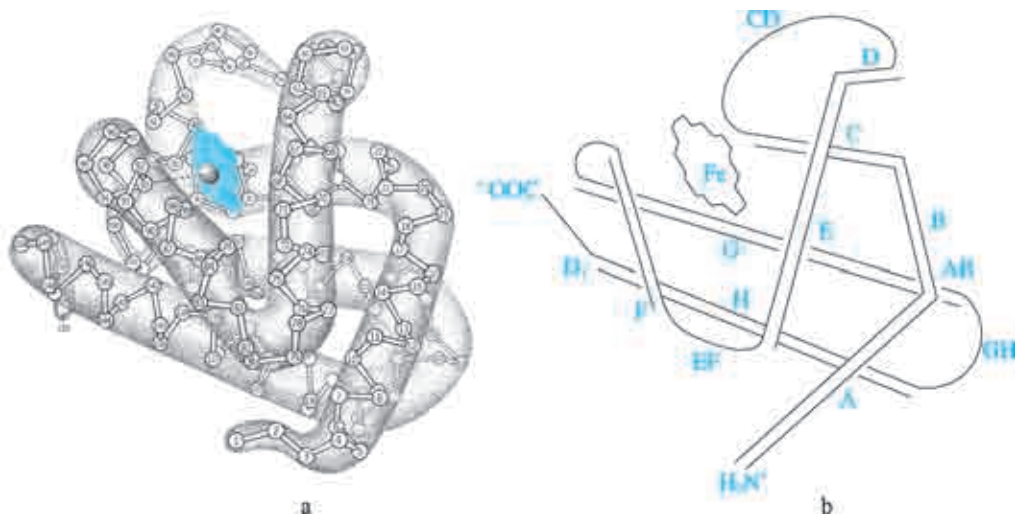


图 1-10 肌红蛋白的三级结构

a. 肌红蛋白的三维构象; b. Mb 的 8 个螺旋区 (A → H) 及非重复二级结构 (AB、CD、EF、GH)

三级结构中多肽链的盘曲方式由氨基酸残基的种类及排列顺序决定。三级结构的形成和稳定主要靠疏水键、盐键、二硫键、氢键和范德华力 (图 1-11)。蛋白质分子中含有许多疏水基团, 如 Leu、Ile、Phe、Val 等氨基酸残基的 R 基团。这些基团具有一种避开水相、聚合而藏于蛋白质分子内部的自然趋势, 这种结合力称为疏水键, 它是维持蛋白质三级结构的最主要的

稳定力量；酸性和碱性氨基酸的 R 基团可以带电荷，正负电荷互相吸引形成盐键；邻近的两个半胱氨酸则可以二硫键结合；其他基团可通过氢键及范德华力结合，尽管结合力很弱，但数量颇多，也可以维持三级结构的稳定。

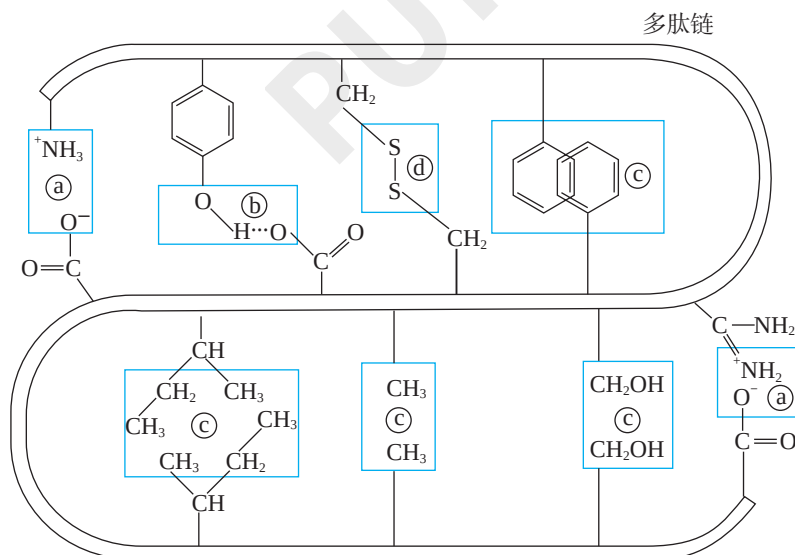


图 1-11 稳定蛋白质结构的各种化学键

a. 离子键（盐键）；b. 氢键；c. 疏水键；d. 二硫键

结构模体（structure motif）是 2 个或 2 个以上具有二级结构的肽段在空间上相互接近而形成的一个特殊的空间结构，也称蛋白质的超二级结构。有的模体结构相对简单，在其所在蛋白质分子中仅占很小一部分。常见的结构模体形式如 α 螺旋组合（ $\alpha\alpha$ ）、 β 折叠组合（ $\beta\beta$ ）和 α 螺旋- β 折叠组合（ α/β ）等（图 1-12a、b、c）。有的结构模体复杂一些，可由小的模体形成大的模体。如 α -溶血素（ α -hemolysin）上的多个 β 折叠形成 β 筒（ β barrel）的筒状结构（图 1-12d）。多个 $\beta\alpha\beta$ 模体也可形成 α/β 筒状结构（ α/β barrel）（图 1-12e）。

常见的结构模体形式还有锌指结构（zinc finger）、亮氨酸拉链（leucine zipper）和螺旋-环-螺旋（helix-loop-helix）结构。

锌指结构由 1 个 α 螺旋和 1 对反向 β 折叠组成，形似手指，具有结合锌离子的功能。在多数锌指的两端分别有 2 个 Cys 残基和 2 个 His 残基，此 4 个保守的氨基酸残基在空间上形成一个洞穴，恰好容纳一个 Zn^{2+} ，使锌指结构得以稳定，而它的 α 螺旋适合与 DNA 双螺旋的大沟结合（图 1-13a）。锌指模体经常出现在 DNA 或 RNA 结合蛋白质的结构域中，一个蛋白质可以有多个锌指模体，如非洲蟾蜍的 DNA 结合蛋白质有 37 个锌指模体。有的模体结构较为复杂，由大量蛋白质片段结合在一起而形成，甚至有的模体包含整个蛋白质分子。值得注意的是，模体是一种折叠方式，并非介于二级结构和三级结构之间的结构层次。

亮氨酸拉链由伸展的氨基酸组成，每 7 个氨基酸中的第 7 个氨基酸是亮氨酸，亮氨酸是疏水性氨基酸，排列在螺旋的一侧，所有带电荷的氨基酸残基排在另一侧。当 2 个蛋白质分子平行排列时，亮氨酸之间相互作用形成二聚体，形成“拉链”。在“拉链”式的蛋白质分子中，亮氨酸以外带电荷的氨基酸形式同 DNA 结合。亮氨酸拉链结构常出现于真核生物 DNA 结合蛋白的 C 端，它们往往是和癌基因表达调控功能有关。这类蛋白质的主要代表为转录因子 Jun、Fos、Myc、增强子结合蛋白 C/EBP 等（图 1-13b）。

结构域（domain）由 Jane Richardson 于 1981 年提出，是多肽链中稳定存在且相对独立在空间上可以明显区别的局部区域。较大蛋白质分子中的结构域具有独立的三维结构，在蛋白质被蛋白酶水解时也可被单独分离。但在具有多个结构域的蛋白质分子中，结构域之间的广泛接

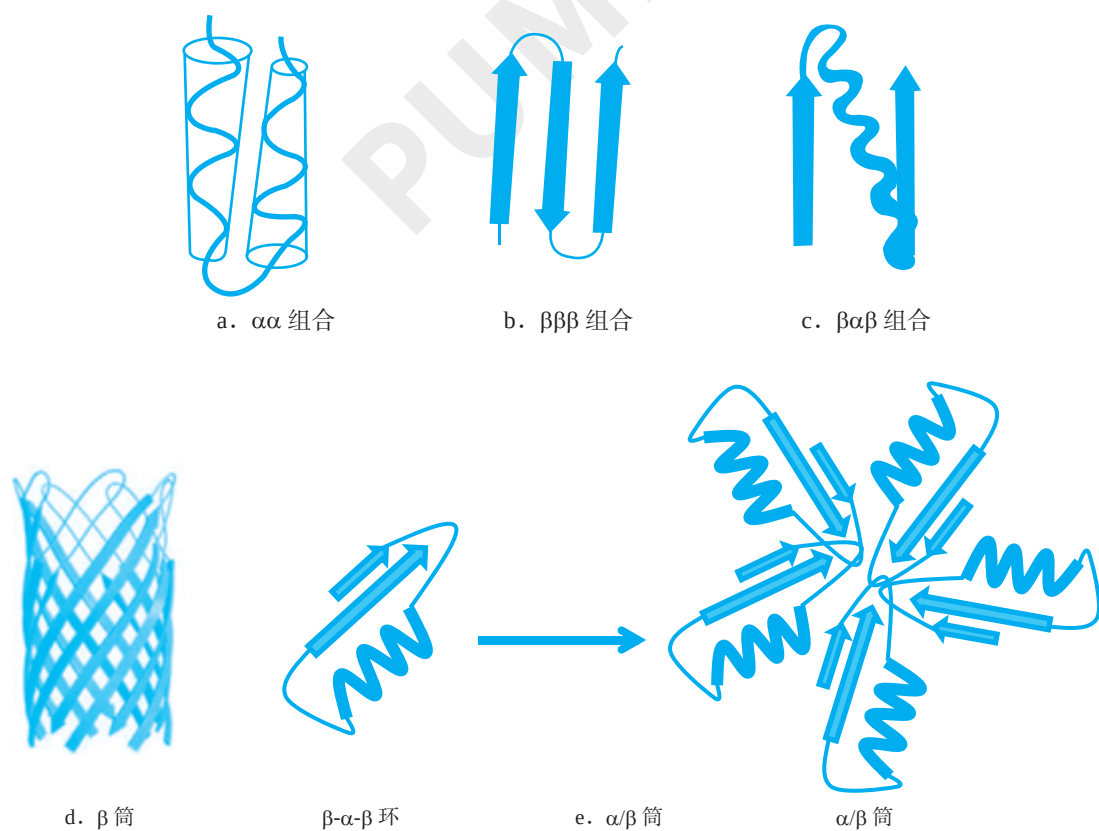


图 1-12 蛋白质的模体结构

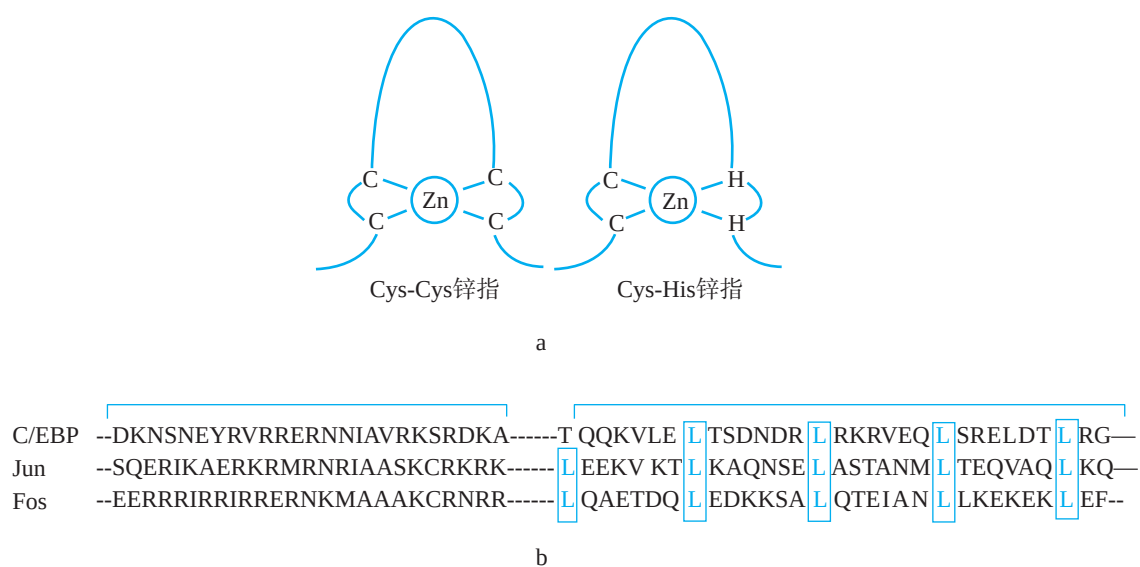


图 1-13 锌指模体 (a) 和亮氨酸拉链 (b)

触使单个结构域很难与蛋白质其他部分分离，结构域与分子整体以共价键相连，这是它与蛋白质亚基结构的区别。一般每个结构域由 100 ~ 300 个氨基酸残基组成，各有独特的空间结构，并承担不同的生物学功能。

不同结构域的功能往往不同，蛋白质分子中的几个结构域有的相同，有的不同，而不同蛋白质分子中的各结构域也可以相似。如乳酸脱氢酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶、苹果酸脱氢酶等均属以 NAD^+ 为辅酶的脱氢酶类，它们各自由 2 个不同的结构域组成，但它们与 NAD^+ 结合的结构域结构则基本相同。

(四) 蛋白质的四级结构

许多有生物活性的蛋白质由两条或多条肽链构成，肽链与肽链之间并不是通过共价键相连，而是由非共价键维系。每条肽链都具有各自的一级、二级、三级结构。这种蛋白质的每条肽链形成的相对独立的三级结构被称为一个亚基 (subunit)。由亚基构成的蛋白质称为寡聚蛋白质。寡聚蛋白质中亚基的立体排布、亚基之间的相互关系称为蛋白质的四级结构 (quaternary structure)。分子量 55kDa 以上的蛋白质几乎都具有四级结构，具有四级结构的蛋白质其亚基单独存在时一般没有生物学活性，只有完整的四级结构寡聚体才有生物学活性。如血红蛋白 (Hb) 是由 4 个两种不同的亚基组成，这两种亚基的三级结构颇为相似，都呈四面体形式。4 个四面体通过 8 个盐键相互结合，构成 Hb 的四级结构 (图 1-14a)，具有运输 O_2 和 CO_2 的功能。实验证明：它的任何一个亚基单独存在都无此功能，可见蛋白质的四级结构非常重要。寡聚蛋白质的亚基可以相同也可以不同，例如，过氧化氢酶由 4 个相同的亚基组成，而天冬氨酸氨基甲酰基转移酶由 12 个亚基组成，其中有 6 个催化亚基和 6 个调节亚基 (图 1-14b)。

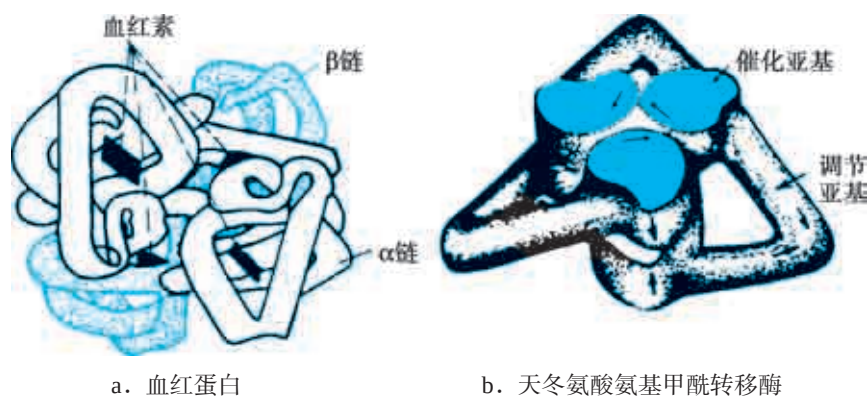


图 1-14 蛋白质的四级结构示意图

第四节 蛋白质结构与功能的关系

蛋白质的分子结构纷纭万象，其功能亦多种多样。每种蛋白质都执行着特异的生物学功能，而这些功能又都与其特异的一级结构和空间结构密切联系。研究蛋白质结构与功能的关系是生物化学要解决的重要问题。

一、蛋白质一级结构与功能的关系

(一) 蛋白质的一级结构是空间结构的基础

20 世纪 60 年代，C. Anfinsen 以牛胰核糖核酸酶 A (RNase A) 为对象，研究了二硫键的还原和重新氧化，发现特定三级结构是以氨基酸序列为基础的。RNase A 是由 124 个氨基酸残

基组成的一条多肽链，其依靠分子中 8 个半胱氨酸的巯基形成 4 个二硫键，从而成为具有一定空间结构的蛋白质，它的结晶已被测定。

在天然 RNase A 溶液中加入适量变性剂尿素和还原剂 β -巯基乙醇，使蛋白质空间结构被破坏，酶即变性失去活性。再将尿素和 β -巯基乙醇经透析除去，酶活性及其他一系列性质可恢复到与天然酶一致。若不经透析除去尿素，而是直接将还原状态 RNase A 中 8 个巯基全部重新氧化成二硫键，其产物的酶活性仅恢复 1%。经实验，原来重新氧化形成的二硫键的位置与天然酶中的二硫键位置不同，产物是随机产生的“杂乱”RNase A。再于无变性剂的“杂乱”产物水溶液中加入痕量 β -巯基乙醇，“杂乱”产物经 10h 又逐渐恢复了天然酶的活性（图 1-15）。8 个巯基随机组合形成二硫键可有 105 种方式，有活性的 RNase A 只是其中的一种。痕量的 β -巯基乙醇仅可加速随机组合形成的二硫键打开重排，重排后的二硫键位置之所以选择了有活性的天然酶中的方式，则是由肽链中氨基酸排列顺序决定的。可见一级结构是空间结构形成的基础。

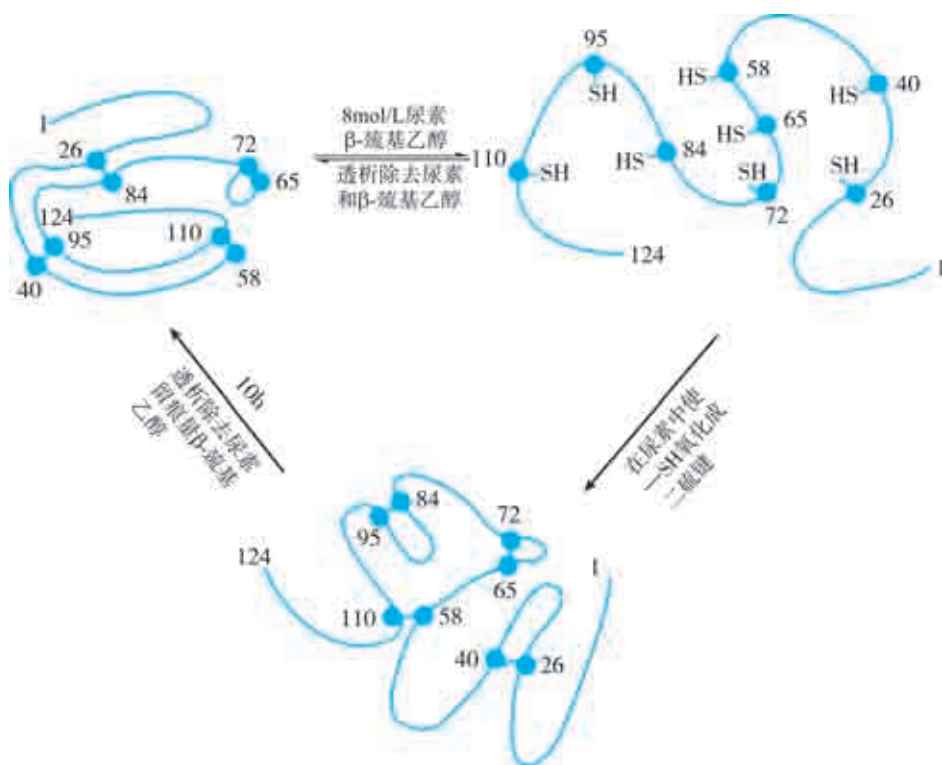


图 1-15 RNase A 的空间结构与功能的关系

从以上对天然蛋白质变性与复性的分析研究所得出的“一级结构决定高级结构”这一规律，还需从合成途径来检验与证实。人工合成胰岛素的成功说明：一条只包含氨基酸种类和排列顺序信息的小分子多肽链，在特定条件下，可自动地形成具有正确的空间结构的天然胰岛素。这就从另一个角度证明了一级结构决定高级结构这一规律的正确性。然而，一级结构并不是决定蛋白质空间结构的唯一因素。细胞中大多数天然蛋白质的折叠都不能自动完成，其准确折叠和组装尚需要其他蛋白质参与（详见第 12 章）。

（二）蛋白质一级结构的种属差异

对于不同种属来源的同种蛋白质进行一级结构测定和比较，发现存在种属差异。来源于不同哺乳类动物的胰岛素，都具有 A、B 两条链，且连接方式相似，都具有调节糖代谢的功能，X 射线晶体衍射证明其空间结构也很相似。但是仔细比较分析其一级结构，发现它们在氨基酸

组成上有些差异。在 51 个氨基酸残基中，A 链的 10 个（1、2、5 ~ 7、11、16、19 ~ 21）残基及 B 链的 12 个（6 ~ 8、11、12、15、16、19、23 ~ 26）残基为不同来源的胰岛素所共有（图 1-4），属保守序列。而 A 链第 8 ~ 10、B 链第 30 位残基为易变序列。在分析了胰岛素的空 间结构之后，发现这 22 个保守残基对于维持胰岛素的空间结构非常重要。例如，3 个二硫键的连结方式未变；其他保守残基大多属于非极性侧链氨基酸，也处于稳定空间结构的重要位置。而其他易变或可变残基（B 链 1 ~ 3、27 ~ 30）则一般处于胰岛素的“活性部位”之外，对维持活性并不重要，可能与免疫活性有关。

另一个研究蛋白质一级结构的种属差异与功能的关系的有意义的例子就是细胞色素 C。人的细胞色素 C 是由 104 个氨基酸残基组成的单链蛋白质，以其共价键与其血红素辅基相连。不同来源的细胞色素 C 功能相同，都参与线粒体呼吸链的组成，并在细胞色素还原酶和细胞色素氧化酶之间传递电子。现已测定了 60 多种不同种属来源的细胞色素 C 的一级结构（表 1-4），其中有的氨基酸残基易变，有的属于保守替换（conservative substitution）（如 Arg → Lys，因都带正电荷），还有 27 个氨基酸残基不变。此 27 个残基是维持细胞色素 C 的生物活性所必需的。如第 14 和 17 位的两个半胱氨酸、18 位的组氨酸、80 位的甲硫氨酸等直接与血红素相连；3 个脯氨酸（30、71、76 位）和 5 个甘氨酸（29、34、45、77、84 位）处在肽链的拐弯处；还有酪氨酸（67、74 位）、色氨酸（59 位）围绕血红素形成疏水区；带电荷的赖氨酸、精氨酸多分布于分子表面，它们都处于不变位置。总之，27 个保守氨基酸残基是保证结合血红素、识别与结合细胞色素氧化酶和细胞色素还原酶、维持分子结构和传递电子所必需的。

表1-4 人细胞色素C的氨基酸序列

1	5	10	15	20	25	30	35	40	
G	DVEK	G	KKI	F	IMK	C	SQ	CH	T
VEKGG	KH	K	T	GP	N	L	H	G	LFG
R	K	T	G						
45	50	55	60	65	70	75	80	85	
QAP	G	YS	Y	TA	AN	KNKGII	W	GEDTL	ME
YL	E	N	PKKYIPG	TKM	I	F	V	G	IK
K									
90	95	100							
KE	E	R	ADL	IAYLK	KATNE				

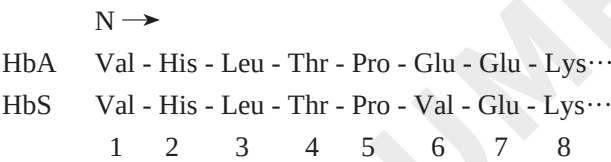
□内为保守序列（35/50 种）

另外，不同种属来源的细胞色素 C，其分子中氨基酸残基数目不同。对 30 种不同原核生物细胞色素 C 的一级结构的分析发现，其氨基酸残基的数目为 82 ~ 143 个；而真核生物的细胞色素 C 氨基酸残基数目差别较小，为 103 ~ 112 个。同时发现，不同来源的细胞色素 C 亲缘关系越远的其氨基酸残基种类差别越大，如马与酵母有 48 个残基不同，鸭和鸡仅有 2 个不同，鸡和火鸡的则完全相同，马、猪、牛、羊的也完全相同。

总之，蛋白质特定的结构执行特定的功能。比较种属来源不同而功能相同的蛋白质的一级结构，可能发现某些差异，但与功能相关的结构却总是相同的。若一级结构改变，蛋白质的功能可能发生很大的变化。

（三）蛋白质的一级结构与分子病

人类有很多种分子病已被查明是由于某种蛋白质缺乏或异常所导致的（表 1-5）。这些异常的蛋白质与正常蛋白质相比可能仅有一个氨基酸发生改变。如镰状细胞贫血（sickle cell anemia），就是患者的血红蛋白（HbS）与正常人的血红蛋白（HbA）在 β 链的第 6 位有一个氨基酸之差：



HbA 的 β 链第 6 位为谷氨酸，而患者 HbS 的 β 链第 6 位换成了缬氨酸，导致在低氧分压下，脱氧 HbS 分子容易发生聚合作用，生成的双链聚合物再凝聚成长的螺旋纤维，这些不溶的聚合物使红细胞变形，即红细胞从正常的双凹盘状变为镰刀状。镰刀状红细胞不能像正常细胞那样通过毛细血管，可能发生堵塞，引起导致永久性组织损伤甚至死亡的氧隔绝。同时，镰刀状红细胞易破裂，导致红细胞减少，产生溶血性贫血。

首次发现镰状细胞贫血是在 1904 年，对于它的病因研究花费了 40 多年的时间，于 1949 年才确定是血红蛋白内氨基酸替换的结果。首先获得这种替换线索的是著名美国化学家 L.Pauling。由于该类疾病是由遗传基因的突变引起的，故称之为分子病（molecular disease）。现在已知几乎所有遗传病都与正常蛋白质的分子结构改变有关，即都是分子病。

表1-5 分子病举例

病 症	受影响的蛋白质
Lesch Nyhan 综合征	次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶
免疫缺陷病	嘌呤核苷磷酸化酶
ADA 缺陷病	腺苷酸脱氢酶
Gaucher 病	葡萄糖脑苷脂酶
痛风	磷酸核糖焦磷酸合成酶
维生素 D 依赖性佝偻病	25 (OH)-D ₃ -1- 羟化酶
家族性高胆固醇血症	低密度脂蛋白受体
泰萨氏幼年型黑白痴病（Tey-Sachs 病）	氨基己糖苷酶 A
镰状细胞贫血	血红蛋白
同型半胱氨酸尿症	胱硫醚合成酶
白化病	酪氨酸酶
蚕豆病	葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶
肝豆状核变性	血浆蛋白
苯丙酮尿症	苯丙氨酸羟化酶

二、蛋白质的空间结构与功能的关系

用 X 射线晶体衍射法研究蛋白质大分子空间结构与功能关系的结果已有很多。球状蛋白质——血红蛋白（hemoglobin）、肌红蛋白和细胞色素等，其血红素辅基都可与氧可逆性结合。这类蛋白质与氧结合时空间结构的变化有共同之处，现以血红蛋白为例加以介绍。

血红蛋白 A（hemoglobin A，HbA）是由 4 个亚基即 α₂β₂ 组成的寡聚蛋白质，每个亚基的三级结构与肌红蛋白（Mb）（图 1-12）相似，中间有一个疏水“口袋”，亚铁血红素位于“口袋”中间，血红素上的 Fe²⁺ 能够与氧进行可逆性结合。Hb 亚基间有许多氢键与盐键（图 1-16），使 4 个亚基紧密结合在一起形成亲水的球状蛋白质，球状 Hb 中间形成一个“中心空

穴”(central cavity)。未结合 O_2 时, Hb 的 α_1/β_1 和 α_2/β_2 呈对角排列, 处于一种紧凑状态, 称为紧张态 (tense state, T 态), T 态的 Hb 与 O_2 的亲合力小。当其结合 O_2 时, 伴随与 O_2 的结合 4 个亚基羧基末端之间的盐键断裂, 同时, 这些变化也引起 Hb 的二级、三级和四级结构改变。一对 α_2/β_2 相对于另一对 α_1/β_1 之间旋转 15° (图 1-17)。这使 α_1/β_1 之间发生变化, 即未结合 O_2 时, α_1 42 位 Tyr 与 β_2 99 位 Asp 以氢键相连, 此氢键对维持 T 态很重要, 起着“开关”作用。当结合 O_2 时, 上述氢键断裂, 在 α_1 、 β_2 亚基间, α_1 94 位 Asp 与 β_2 102 位 Asn 残基间形成氢键 (图 1-18), 使束缚紧密的 T 态改变为易与 O_2 结合的松弛态 (relaxed state, R 态) (图 1-19)。第一个 O_2 先与 α 亚基结合, 然后是 β 亚基。这是由于 β 亚基 E 螺旋区 11 位 Val 妨碍 O_2 与 Fe^{2+} 接近, 而 α 亚基三级结构与 β 亚基稍有区别, α 亚基无 D 螺旋区, 其“口袋”相对 β 亚基也宽敞一些。当第一个 O_2 与 Hb 结合成氧合血红蛋白 (HbO_2) 后, 整个分子发生构象改变, 犹如松开了整个 Hb 分子构象的扳机, 导致第二、第三和第四个 O_2 很快结合。这种带 O_2 的 Hb 亚基协助不带 O_2 亚基结合氧的现象, 称为协同效应 (cooperative effect), 是指一个亚基与其配体结合后影响该寡聚体中另一个亚基与配体的结合能力; 如果是促进作用称为正协同效应, 反之为负协同效应。 O_2 与 Hb 结合后引起 Hb 的构象变化, 这种蛋白质分子在表现功能的过程中, 一个配体与特定部位的结合会使蛋白质分子发生构象改变, 进而影响蛋白质分子的功能, 称为别构效应 (allosteric effect), 通常都需要寡聚蛋白质亚基间的相互作用。小分子的 O_2 称为别构剂或效应剂 (effector), Hb 则称为别构蛋白质 (allosteric protein)。别构作用在酶活性的调节中也很常见, 存在许多重要的别构酶, 例如具有 6 个催化亚基和 6 个调节亚基的天冬氨酸氨基甲酰转移酶即是一个与代谢调节有关的别构酶 (详见第九章)。别构酶与它们的底物结合、Hb 与 O_2 结合均呈特征性“S”形曲线 (图 1-20)。

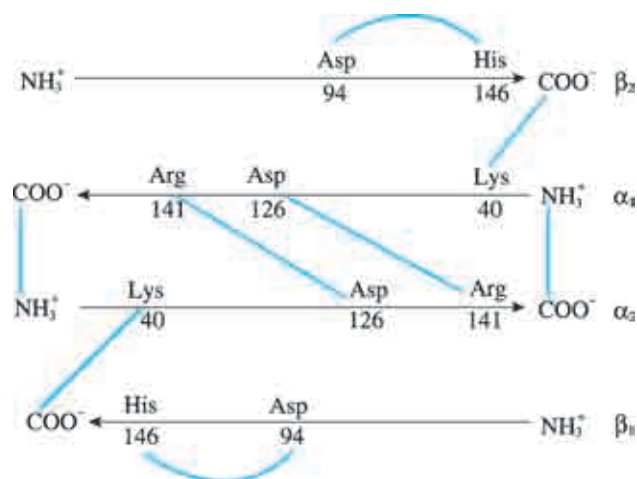


图 1-16 脱氧 Hb 亚基间和亚基内的盐键

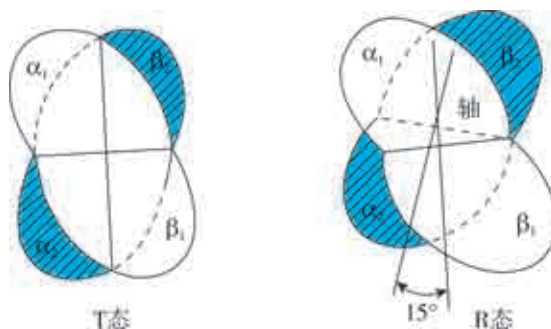


图 1-17 Hb T 态与 R 态互变

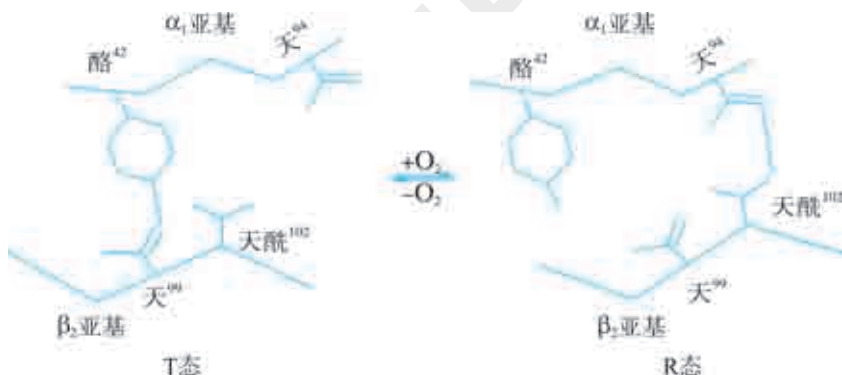
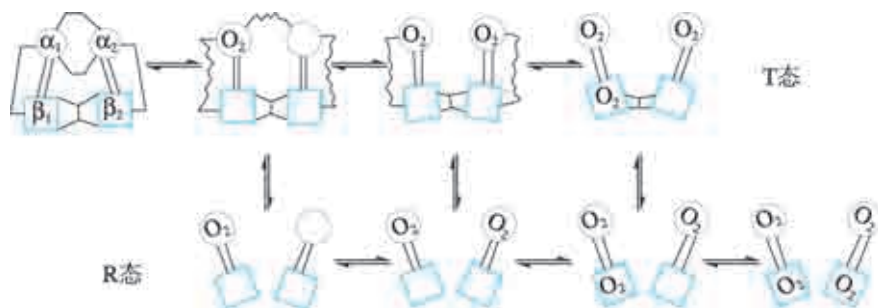
图 1-18 氧合作用引起 α_1/β_2 间氢键位置改变

图 1-19 Hb 氧合与脱氧构象转换示意图

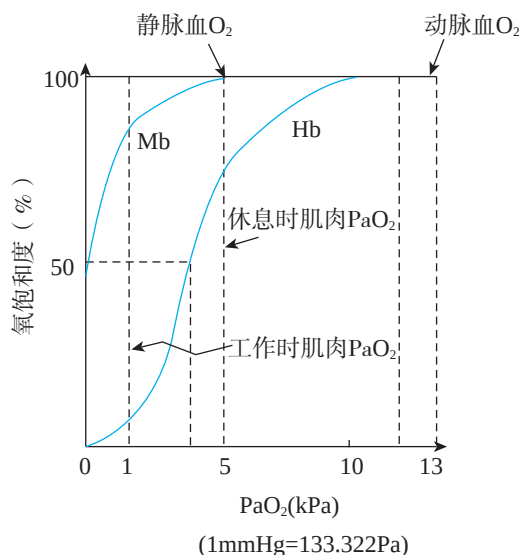


图 1-20 肌红蛋白与血红蛋白的氧合曲线

肌红蛋白 Mb 是只有三级结构的单链蛋白质，它与 Hb 的空间结构不同，功能也不同。Hb 的功能是在肺和肌肉等组织间运输 O_2 ，而 Mb 则主要是储存 O_2 。由图 1-20 可见，Mb 比 Hb 对 O_2 的亲合力大。Mb 和 O_2 结合达 50% 饱和度时的氧分压 (PaO_2) 为 0.15 ~ 0.30 kPa；而 Hb 与 O_2 结合达 50% 饱和度时的 PaO_2 为 3.5 kPa。动脉血和肺部的 PaO_2 为 13 kPa，Hb 和 Mb 在肺部和动脉血都能达到 95% 饱和度。但在肌肉组织中，休息时毛细血管内 PaO_2 大约为 5 kPa，肌肉工作时因消耗 O_2 ， PaO_2 仅 1.5 kPa。尽管 Hb 在肌肉休息时的氧饱和度能达到 75%，但肌肉活动时，Hb 的氧饱和度仅达 10%，因此，它可以有效地释放 O_2 ，供肌肉活动需要。Mb 在肌肉活动即 PaO_2 为 1.5 kPa 时，仍能保持 80% 氧饱和度，不释放 O_2 而贮存 O_2 。

第五节 蛋白质的理化性质及其分离纯化

蛋白质既然是由氨基酸组成的，其理化性质必定有一部分与氨基酸相同或相关，例如两性解离及等电点、紫外吸收性质、呈色反应等。同时蛋白质又是由许许多多氨基酸组成的高分子化合物，也必定有一部分理化性质与氨基酸不同，例如高分子量、胶体性质、沉淀、变性和凝固等。认识蛋白质在溶液中的性质，对于蛋白质的分离、纯化以及结构与功能的研究等都极为



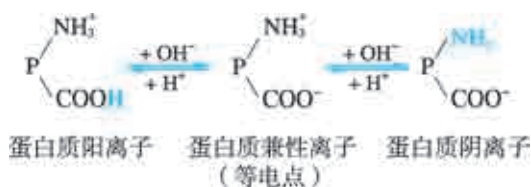
脱病毒

重要。

一、蛋白质的两性解离性质

(一) 两性解离及等电点

蛋白质由氨基酸组成，其分子末端有自由的 $\alpha\text{-NH}_3^+$ 和 $\alpha\text{-COO}^-$ ；蛋白质分子中氨基酸残基侧链也含有可解离的基团，如赖氨酸的 $\epsilon\text{-NH}_3^+$ 、精氨酸的胍基、组氨酸的咪唑基、谷氨酸的 $\gamma\text{-COO}^-$ 和天冬氨酸的 $\beta\text{-COO}^-$ 等。这些基团在一定 pH 条件下的溶液中可以结合或释放 H^+ ，这就是蛋白质两性解离的基础。在酸性溶液中，蛋白质解离成阳离子；在碱性溶液中，蛋白质解离成阴离子。在某一 pH 条件下的溶液中，蛋白质解离成阴阳离子的趋势相等，净电荷数为零，即成兼性离子。此时溶液的 pH 称为蛋白质的等电点 (isoelectric point, pI)。



人体内各种蛋白质的等电点不同，但大多数接近于 5.0。所以在体液 pH 7.4 环境下，大多数蛋白质解离成阴离子。少数蛋白质含碱性氨基酸较多，因而其分子中含有较多自由氨基，故其等电点偏于碱性，此类蛋白质称碱性蛋白质，例如鱼精蛋白和细胞色素 C 等。也有少数蛋白质含酸性氨基酸较多，其分子也因之含有较多的羧基，故其等电点偏于酸性，此类蛋白质称为酸性蛋白质，例如丝蛋白和胃蛋白酶等。在等电点，蛋白质为兼性离子，带有相等的正、负电荷，成为中性微粒，故不稳定而易于沉淀。

(二) 等电点沉淀法分离提取蛋白质

可以利用蛋白质在其等电点附近溶解度最小、容易沉淀析出的特性以及各种蛋白质等电点的差异，从一混合蛋白质溶液中分离出不同的蛋白质。例如，利用猪胰腺组织提取胰岛素 (pI=5.30 ~ 5.35)，可先调节组织匀浆的 pH 呈碱性，使碱性杂蛋白质沉淀析出；再调节 pH 至酸性，使酸性杂蛋白质沉淀。然后再调节含有胰岛素的上清液的 pH 至 5.3，得到的蛋白质沉淀即是胰岛素的粗制品。

(三) 蛋白质的电泳分离和分子量测定

带电颗粒在电场中泳动的现象称为电泳 (electrophoresis)。目前电泳技术已成为分离蛋白质及其他带电颗粒的一种重要技术。带电颗粒在电场中泳动的速度主要取决于所带电荷的性质、数目、颗粒的大小和形状等因素。可用下式表示：

$$v = EZ/Mf$$

式中： v 为泳动速度； E 为电场强度； Z 为颗粒所带净电荷； f 为摩擦系数； M 为颗粒的质量。

一般来说，在同一电场强度下，颗粒所带净电荷越多、分子量越小及为球状分子，泳动速度越快，反之则慢。由于各种蛋白质的等电点不同、分子量不同，在同一 pH 缓冲液中带电荷多少不同，在电场中的泳动方向和速度也不相同，这样就可将蛋白质混合液中各种蛋白质彼此分开。若将蛋白质混合液点在浸润有缓冲液的固体支持物上进行电泳，不同的组分形成几个区带，称为区带电泳。支持物有多种，例如滤纸、醋酸纤维素薄膜、聚丙烯酰胺凝胶和琼脂糖凝胶等。不同的支持物其电泳分辨率不同，如正常人血清蛋白质在醋酸纤维素薄膜上电泳可分为清蛋白、 α_1 -球蛋白、 α_2 -球蛋白、 β -球蛋白和 γ -球蛋白 5 种组分，而用聚丙烯酰胺凝胶电泳

(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 则可分出 30 多种组分。

PAGE 不仅分辨率高, 还可用于样品的纯度鉴定和分子量测定。SDS-PAGE 是实验室常用的测定蛋白质分子量的方法。SDS (十二烷基硫酸钠) 是一种阴离子去垢剂, 它能破坏活性蛋白质中的非共价键从而使蛋白质变性。SDS 和变性蛋白质结合形成的复合物带有大量负电荷, 使蛋白质分子间电荷差异消失。由于聚丙烯酰胺凝胶具有分子筛的功能, 所以较小的多肽链比较大的多肽链泳动快。大多数肽链的迁移率和它们相应分子量的对数成直线比例关系, 若以已知分子量的一组蛋白质作标准, 在同样条件下对未知蛋白质进行电泳, 就可推算出未知蛋白质的分子量 (图 1-21)。

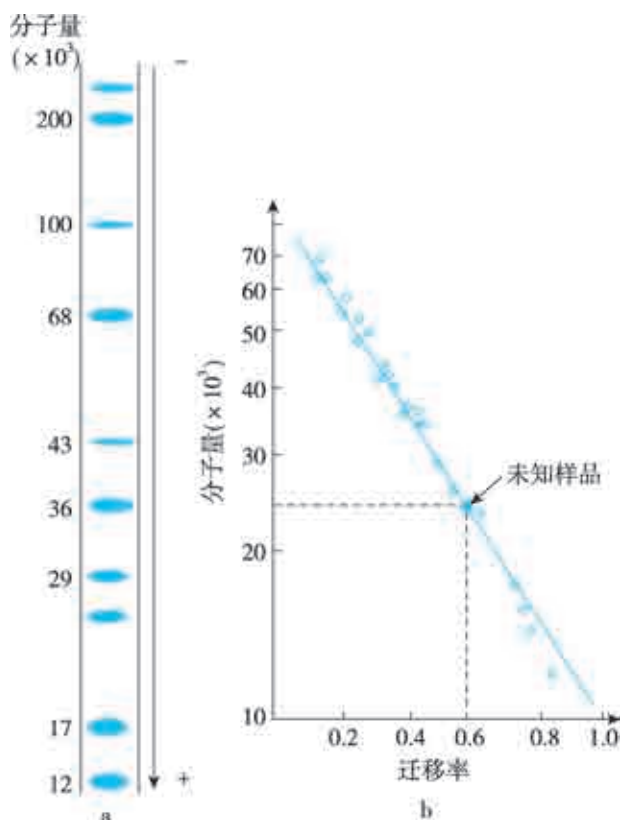


图 1-21 SDS-PAGE 测定蛋白质分子量

a. 未知蛋白质和标准蛋白质电泳图谱; b. 蛋白质分子量 (对数坐标) 与迁移率关系曲线图

(四) 蛋白质的离子交换层析

离子交换层析 (ion exchange chromatography) 是利用蛋白质两性解离和等电点的特性分离蛋白质的一种技术。此技术需利用阴离子和阳离子交换剂。分离蛋白质常用的阳离子交换剂有弱酸型羧甲基纤维素 (CM 纤维素), 在 pH 7.0 时带有稳定的负电荷, 可与蛋白质的阳离子结合。分离蛋白质常用的阴离子交换剂有弱碱型二乙基氨乙基纤维素 (DEAE 纤维素), 在 pH 7.0 时带有稳定的正电荷, 可与蛋白质的阴离子结合。当被分离的蛋白质溶液流经离子交换层析柱时, 带有相反电荷的蛋白质可因静电吸引力而吸附于柱内, 随后又可被带同样性质电荷的离子所置换而被洗脱。由于蛋白质的等电点不同, 在某一 pH 时所带电荷多少不同, 与离子交换剂结合的紧密程度也不同, 所以用一系列 pH 递增或递减的缓冲液或者高离子强度的洗脱液洗脱, 可以降低蛋白质与离子交换剂的亲和力, 将不同的蛋白质逐步由层析柱上洗脱下来。

二、蛋白质的高分子性质

(一) 蛋白质亲水胶体的稳定因素

蛋白质的分子量颇大，介于1万~100万，其分子的大小已达到胶体颗粒的大小(1~100nm)。又因为蛋白质分子表面多为亲水基团，故具有亲水胶体的特性，其分子表面有多层水分子包围，一般每克蛋白质可结合0.3~0.5g水，形成水化膜。水化膜是维持蛋白质胶体稳定的重要因素之一。蛋白质胶粒可因本身的解离而带有电荷，这是胶体稳定的第二种因素。若去掉这两个稳定因素，蛋白质就极易从溶液中沉淀析出(图1-22)。

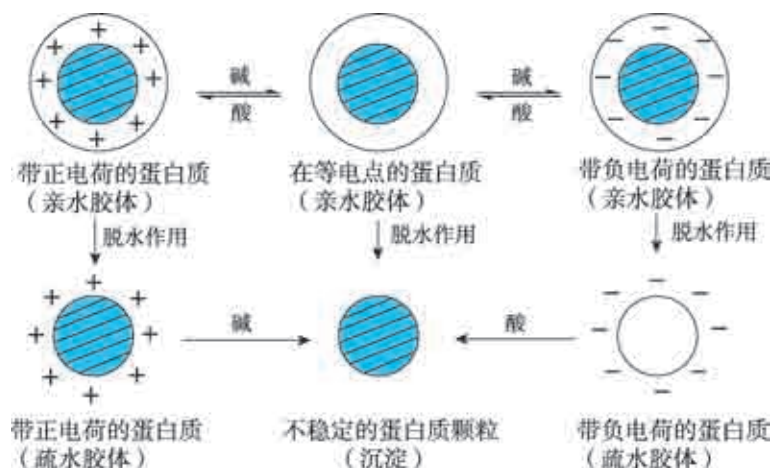


图 1-22 蛋白质胶体颗粒的沉淀

+ 和 - 分别代表正、负电荷；颗粒外层代表水化膜

(二) 透析与超滤法分离纯化蛋白质

利用蛋白质的高分子性质可将它与小分子物质分开，也可以将大小不同的蛋白质分离。

蛋白质胶体的颗粒很大，不能透过半透膜。半透膜的特点是只允许小分子通过，而大分子物质不能通过，如各种生物膜及人工制造的火棉胶、玻璃纸、塑料薄膜等，可用来做成透析袋，把含有小分子杂质的蛋白质溶液放于袋内，将袋置于流动的水或缓冲液中，小分子杂质从袋中透出，大分子蛋白质留于袋内，蛋白质得以纯化，称为透析法(dialysis)。透析法常用于除去以盐析法纯化的蛋白质中带有大量中性盐及以密度梯度离心法纯化蛋白质混入的氯化铯、蔗糖等小分子物质。

超滤法(ultrafiltration)是利用一种压力活性膜，在外界推动力(压力)作用下截留水中分子量相对较高的大分子蛋白质，而小分子物质颗粒和溶剂透过膜的分离过程。可选择不同孔径的超滤膜以截留不同分子量的蛋白质。此法的优点是在选择的分子量范围内进行分离，没有相态变化，有利于防止变性，并且可以在短时间内进行大体积稀溶液的浓缩。由于制膜技术和超滤装置的不断发展和改进，此技术逐渐向简便、快速、大容量和多用途方面发展，可应用于各种高分子溶液的脱盐、浓缩、分离和纯化等。

(三) 蛋白质的沉降与超速离心分离

蛋白质溶液具有许多高分子溶液的性质，其中扩散慢、易沉降性质可用于蛋白质的超速离心分离。

将一种溶质放在可使其溶解的溶剂中，溶质分子便会向溶剂的各个方向移动，最终达到在溶剂中均匀分布，这种现象称为分子扩散。扩散力来自溶质和溶剂分子的相互碰撞，即布朗运动。分子运动的快慢与分子大小、形状有关。蛋白质分子颗粒大、分子形状基本不对称，故较

一般小分子晶体扩散慢。溶质分子同时还受重力的作用，若重力大于扩散力，分子颗粒就可沉降。但一般情况下，蛋白质分子在溶液中的扩散力大于重力，如分子量 50kDa 的蛋白质，在室温下布朗运动的能量比受重力下沉的能量大 200 倍，故不致沉降，通过自由扩散基本能够达到均匀分布，因而称之为蛋白质（真）溶液。但若将蛋白质溶液放在强大的离心力场中，蛋白质颗粒就会沉降，这与真溶液（如 NaCl 等）的性质又有所不同。各种蛋白质沉降所需的离心力场不同，分子量小的，所需离心力大；分子量大的，所需离心力小，故可用超速离心法分离蛋白质以及测定其分子量。

每分钟转速（revolutions per minute, r/min, rpm）60000 以上者称为超速离心。超速离心机可以产生比地心引力（g）大 60 万倍以上的离心力（即 600000g）。此离心力超过蛋白质分子的扩散力，所以蛋白质分子可以在此力场中沉降。沉降的速度与蛋白质分子量的大小、分子的形状和密度以及溶剂的密度有关。

目前超速离心法是分离和分析生物高分子普遍使用的、有效的方法。应用沉降平衡技术测定蛋白质等生物高分子的分子量，其结果既精确，又可不解聚多亚基蛋白质而保留其活性。相比之下，SDS-PAGE 是在蛋白质变性情况下进行的，只能提供蛋白质变性后亚基的分子量。

以下对超速离心法分离蛋白质作一简要介绍。

蛋白质颗粒在离心力场中的沉降速度直接与离心力场强及分子量成正比，还与颗粒及溶剂的性质有关。沉降系数（sedimentation coefficient, S）是指单位离心力场强下的沉降速度，常用来表示沉降分子的大小，用 Svedberg 单位表示。蛋白质颗粒在离心力场中的沉降行为具有如下特点：

1. 颗粒的沉降速度与它的分子量成正比，在同样溶剂密度条件下，同样形状的蛋白质， $M_r=200 \times 10^3$ 的蛋白质移动速度是 $M_r=100 \times 10^3$ 的移动速度的 2 倍。
2. 密集的颗粒比疏松颗粒移动快，因为密集颗粒的反向浮力小。
3. 分子形状可影响黏滞阻力。若分子量相同，紧密颗粒的摩擦系数小于伸展颗粒者。这犹如一个跳伞者应用有缺陷未张开的伞比用功能好、张开的降落伞下降得快得多。
4. 沉降速度依赖于溶剂的密度（ ρ ）。当 $\nu\rho < 1$ 时，颗粒下沉； $\nu\rho > 1$ 时，颗粒上浮；当 $\nu\rho=1$ 时，颗粒不动。

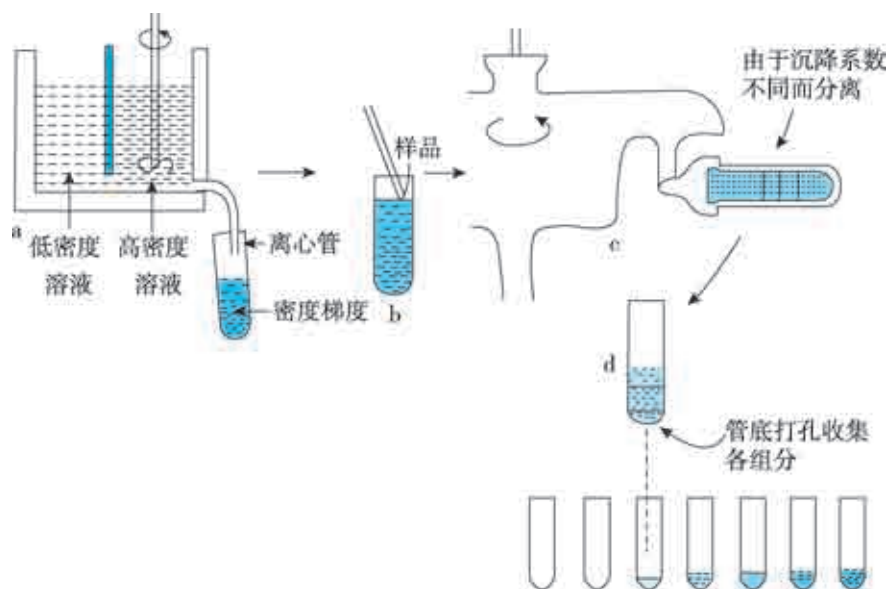


图 1-23 密度梯度离心步骤示意图

a. 形成密度梯度；b. 将样品置于密度梯度管液面上；c. 离心；d. 收集样品

如何将不同沉降系数的蛋白质分离呢？图 1-23 简要表示出密度梯度离心或称区带离心的 4 个步骤。首先制备有连续密度梯度的蔗糖或氯化铯（CsCl）溶液，装入离心管时从管底到管口密度渐小；再将待分离的蛋白质混合液加在最上层；然后将离心管放入离心机角转头并以一定速度离心一定时间，不同沉降系数的蛋白质即停留在密度与之相同的区带处，在沉降最快的蛋白质到达管底之前停止离心；用一定的方法如管底打孔等，将不同的蛋白质区带取出，即可分离得到不同沉降系数的蛋白质。

（四）凝胶过滤法分离纯化蛋白质

凝胶过滤（gel filtration）又称分子筛层析。该方法与离子交换层析是目前层析法中应用最广的分离纯化蛋白质的方法。它是依据蛋白质分子量大小进行分离的技术。层析柱内填充物是带有小孔的颗粒（一般由葡聚糖制成），将蛋白质溶液加入柱的顶部后，小分子物质进入颗粒的孔内，向下流动的路径加长，移动缓慢；大分子物质不能进入孔内，通过颗粒的空隙向下流动，移动速率较快，通过层析柱的时间较短。根据蛋白质流出层析柱的时间不同，可将溶液中各组分按相对分子质量的不同进行分离（图 1-24）。

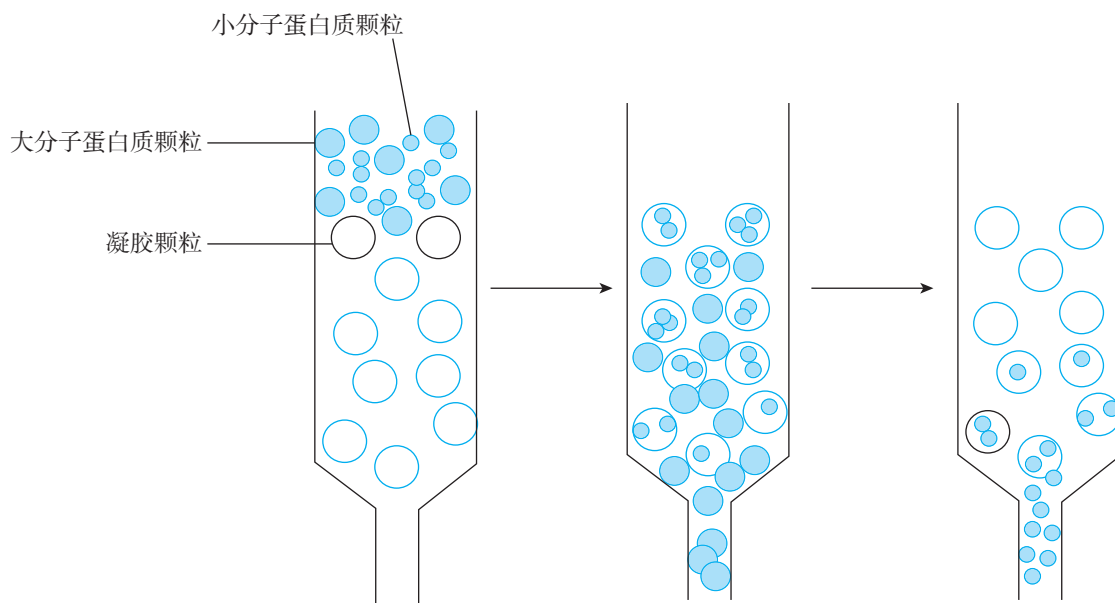


图 1-24 凝胶过滤分离蛋白质

三、蛋白质的沉淀

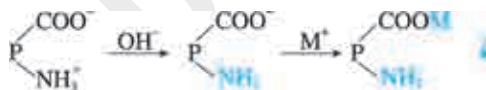
蛋白质从溶液中析出现象，称为沉淀（precipitation）。沉淀蛋白质的方法有以下几种。

（一）盐析

在蛋白质溶液中若加大量中性盐，蛋白质胶体的水化膜即被破坏，其所带电荷也被中和，蛋白质胶体因失去这两种稳定因素而沉淀。此种沉淀过程称为盐析（salting out）。盐析蛋白质常用的中性盐有硫酸铵、硫酸钠和氯化钠等。盐析时若溶液的 pH 在蛋白质的等电点则效果最好。各种蛋白质分子的颗粒大小、亲水程度不同，故盐析所需的盐浓度也不一样，若调节盐析所用的盐浓度，常可将溶液中的几种混合蛋白质分离。此种盐析分离称为分段盐析。例如，在人血清中加入硫酸铵达到半饱和，球蛋白（globulins）即可沉淀析出；继续加硫酸铵达到饱和，清蛋白（albumin）才可沉淀析出。因此，硫酸铵分段盐析可用于患者血清蛋白质的清/球蛋白（A/G）比值测定。盐析沉淀的蛋白质通常不发生变性，故此法常用于天然蛋白质的分离，但是沉淀的蛋白质中混有大量中性盐，必须经透析、超滤等方法除去。

(二) 重金属盐沉淀蛋白质

重金属离子如 Ag^+ 、 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 等 (用 M^+ 代表), 可与呈负电状态的蛋白质结合, 形成不溶性蛋白质盐沉淀。沉淀的条件以 pH 稍大于蛋白质的 pI 为宜。



临床上利用蛋白质与重金属盐结合形成不溶性沉淀这一性质, 抢救重金属盐中毒患者。给患者口服大量酪蛋白、清蛋白等, 然后再用催吐剂将与蛋白质结合的重金属盐呕吐出来以解毒。

(三) 生物碱试剂与某些酸沉淀蛋白质

能沉淀各类生物碱的化学试剂称为生物碱试剂, 如苦味酸、鞣酸、钨酸等; 还有某些酸, 如三氯醋酸、磺酸水杨酸、硝酸等 (用 X^- 代表), 均可与呈正电状态的蛋白质结合成不溶性的盐而沉淀。沉淀的条件是 pH 小于蛋白质的 pI。



血液化学分析时常利用此原理除去血液中的干扰蛋白质, 制备无蛋白质的血滤液, 如测血糖时可用钨酸沉淀蛋白质。另外, 此类反应也可用于检测尿中蛋白质。

(四) 有机溶剂沉淀蛋白质

可与水混合的有机溶剂, 如乙醇、甲醇、丙酮等能与蛋白质争夺水分子, 破坏蛋白质胶体颗粒的水化膜, 使蛋白质沉淀析出。在常温下, 有机溶剂沉淀蛋白质往往引起变性, 如用乙醇可消毒灭菌。若在低温、低浓度、短时间则变性进行缓慢或不变性, 可用于提取生物材料中的蛋白质, 若适当调节溶液的 pH 和离子强度, 则可以使分离效果更好。该法的优点是有机溶剂易蒸发除去。

四、蛋白质的变性、絮凝及凝固

蛋白质的结构决定了它的性质和功能, 在某些物理或化学因素作用下, 蛋白质的空间结构破坏 (但不包括肽链的断裂等一级结构变化), 导致蛋白质若干理化性质的改变、生物学活性的丧失, 这种现象称为蛋白质的变性作用 (denaturation)。

使蛋白质变性的因素有很多, 如高温、高压、紫外线、X 线、超声波、剧烈震荡与搅拌等物理因素, 强酸、强碱、重金属盐、有机溶剂、浓尿素和十二烷基硫酸钠 (SDS) 等化学因素。球状蛋白质变性后的明显改变是溶解度降低; 本来在等电点时能溶于水的蛋白质经过变性就不再溶于原来的水溶液。蛋白质变性后, 其他理化性质的改变, 如结晶能力丧失、黏度增加、呈色性增强和易被蛋白酶水解等, 与蛋白质的空间结构被破坏、结构松散、分子伸长、分子的不对称性增加以及氨基酸残基侧链外露等密切相关。结构的破坏必然导致生物学功能的丧失, 如酶失去催化活性、激素不能调节代谢反应、抗体不能与抗原结合等。但生物学活性的丧失并不一定完全是变性的结果, 如蛋白质肽链水解断裂去除辅基 (Hb 失去血红素) 及抑制剂的存在, 均可导致失活。

大多数蛋白质变性时其空间结构破坏严重, 不能恢复, 称为不可逆变性。但有些蛋白质在变性后, 除去变性因素仍可恢复其活性, 称为可逆变性。例如, 核糖核酸酶经尿素和 β -巯基

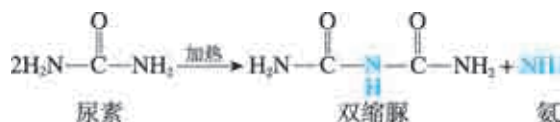
乙醇作用变性后，再透析去除尿素和 β -巯基乙醇，又可恢复其酶活性。又如，被强碱变性的胃蛋白酶也可在一定条件下恢复其酶活性；被稀盐酸变性的Hb也可在弱碱性溶液中变回天然Hb。但在100℃变性的胃蛋白酶和Hb就不能复性。

蛋白质被强酸或强碱变性后，仍能溶于强酸或强碱溶液中。若将此强酸或强碱溶液的pH调至等电点，则变性蛋白质立即结成絮状的不溶解物，这种现象称为变性蛋白质的絮凝作用(flocculation)。絮凝作用所生成的絮状物仍能再溶于强酸或强碱中。如再加热，则絮状物变为比较坚固的凝块，此凝块不易再溶于强酸或强碱中，这种现象称为蛋白质的凝固作用(protein coagulation)。鸡蛋煮熟后本来流动的蛋清变成了固体状，豆浆中加少量氯化镁即可变成豆腐，都是蛋白质凝固的典型例子。

了解变性理论有重要的实际意义：一方面注意低温保存生物活性蛋白质，避免其变性失活；另一方面可利用变性因素消毒灭菌。

五、蛋白质的呈色反应

蛋白质由氨基酸组成，氨基酸的呈色反应性质必然会在蛋白质高分子上表现出来。因此蛋白质也能呈多种颜色反应。此外，蛋白质还能产生阳性双缩脲反应(biuret reaction)。因为将尿素直接加热时，放出氨，并产生双缩脲：



双缩脲在稀NaOH溶液中与稀CuSO₄溶液共热时呈现紫色或红色，而取名为双缩脲反应。蛋白质和多肽中均有两个以上肽键，与双缩脲结构相似，也能发生这一呈色反应。而氨基酸无此反应，故此法还可用以检测蛋白质的水解程度。水解越完全则颜色越浅。

第六节 蛋白质的一级结构测定

1953年，生物化学有两项主要的划时代发现：一是科学家Watson和Crick推断DNA双螺旋结构，并提出这是DNA准确复制的结构基础；二是Sanger测出了胰岛素多肽链中氨基酸的排列顺序。这些成就暗示DNA的核苷酸序列与蛋白质的氨基酸序列是以某种方式相互联系的。此后刚好10年就揭示出核苷酸密码子决定蛋白质分子中的氨基酸序列（见第十二章）这一事实。

随后，蛋白质一级结构测定有两项技术改革，一是1967年Edman介绍的“N端氨基酸残基以PTH氨基酸衍生物形式自动连续切除和鉴定”；另一项是由Sanger、Maxam及Gilbert独自介绍的“快速DNA序列分析技术”，即由DNA序列推导出蛋白质的氨基酸序列。

一、样品的纯度要求

每种蛋白质都有其特定的氨基酸排列顺序。因此，用于序列分析的蛋白质应是分子大小均一、电泳时呈现一条带、比活性恒定、能够结晶等具有一定纯度的样品，一般杂蛋白质不应超过5%。另外，还需用SDS-PAGE等方法测定蛋白质的分子量。这是氨基酸组成分析的需要，也可由此估计测序的工作量。一般分子量的误差在10%以内即可。

二、氨基酸组成分析

分析每条肽链中氨基酸的种类和数目是序列分析中不可缺少的一环，这个信息对于以后的分析步骤常常很有价值；它本身也很有用处。因为每种蛋白质的氨基酸组成都不相同，它可作为不同蛋白质的一种印迹。例如，可用于帮助鉴定不同实验室分离提取的是否是同一种蛋白质。

然而，目前还没有单独使用哪一种方法就能使肽链完全水解而所有氨基酸又都不受破坏，只能使用酸、碱和酶等多种方法将肽链完全水解。水解后得到的氨基酸混合物可用电泳、离子交换色谱法和反相高效液相色谱法（reversed phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC）分离、鉴定，即可得知多肽链中氨基酸的种类和含量。可用每摩尔或每 100g 蛋白质中某种氨基酸残基的摩尔数表示。现在可利用氨基酸组成自动分析仪，在几个小时之内用几毫克样品即可得出结果（图 1-25a）。

三、多肽链的末端分析和序列测定

被测蛋白质有几条肽链？如果未经化学因素断链，肽链也不是环状的，则每条肽链只有一个 N 端和一个 C 端。显然，每分子蛋白质所含 N 端氨基酸残基数目应与它的肽链数目相等。通过末端残基的确定可估计蛋白质中的肽链数目。

（一）N 端分析和序列测定

1. 2,4-二硝基氟苯（DNFB）法 DNFB 试剂能在温和条件下（室温，pH 8 ~ 9）与蛋白质或多肽的自由 α -NH₂ 发生反应，生成黄色的 2,4-二硝基苯（DNP）衍生物，即 DNP-蛋白质或 DNP-多肽（图 1-25b）。经 6mol/L HCl 水解后，肽链中的所有肽键均被切断，生成自由氨基酸；唯有自由的 α -NH₂ 和 FDNB 之间形成的键对酸稳定，不被水解。分离并鉴定 DNP-氨基酸衍生物即可知道 N 端是哪种氨基酸。

2. 丹磺酰氯法 二甲氨基丹磺酰氯（丹磺酰氯，DNS-Cl）与 FDNB 相似，能够专一地与蛋白质的 N 端的 α -NH₂ 连接，并对酸稳定。可在酸性条件下用乙酸乙酯抽提并予以鉴定。由于 DNS-Cl 是一种强荧光试剂，DNS-氨基酸在紫外光激发下产生黄色荧光，可进行荧光测定，灵敏度比 FDNB 法高 100 倍。与 DNS-Cl 相似，Dabsyl-Cl 也可用于标记 N 端残基，Dabsyl 氨基酸衍生物有很浓的颜色，也提供很高的灵敏度。以上方法破坏多肽链，因而仅限于确定 N 端残基。

3. Edman 降解法 为了测出整个多肽链的序列，Edman 设计了一种化学方法——Edman 降解法（Edman degradation）。该法标记并仅水解释放多肽链 N 端残基，留下仅少了 1 个 N 端氨基酸残基的完整肽链（图 1-25c）。标记 N 端残基所用试剂是苯异硫氰酸（phenylisothiocyanate, PITC），在 pH 9.0 ~ 9.5 弱碱性条件下，它与肽链 N 端自由 α -NH₂ 偶联，生成苯氨基硫甲酰肽，即 PTC-多肽。PTC-多肽在酸性介质中环化裂解并转化生成稳定的乙内酰苯硫脲氨基酸（phenylthiohydantoin, PTH-aa）和少了 N 端残基的剩余多肽。PTH-氨基酸生成后，用乙酸乙酯抽提分离，并可用多种方法加以鉴定，即可知 N 端是哪种氨基酸。肽链中新 N 端残基露出后又可被 PITC 标记，经重复环化裂解、转化、分离、鉴定等同样的过程，一直到测定出整个多肽链的氨基酸排列顺序。若精心安排每一步反应，此法可分析具有 40 个氨基酸残基的多肽。

由此可见，Edman 降解法不仅可用以测定 N 端残基，更有意义的是从 N 端开始逐一地氨基酸残基切割下来，从而构成了蛋白质序列分析的基础。目前使用的氨基酸序列分析仪（sequenator）自动以适当的比例混合试剂、分离鉴定产物和记录结果，不仅大大节约了时间和劳力，而且方法灵敏，常常用不足微克的蛋白质样品就足够测定其完整的氨基酸序列。

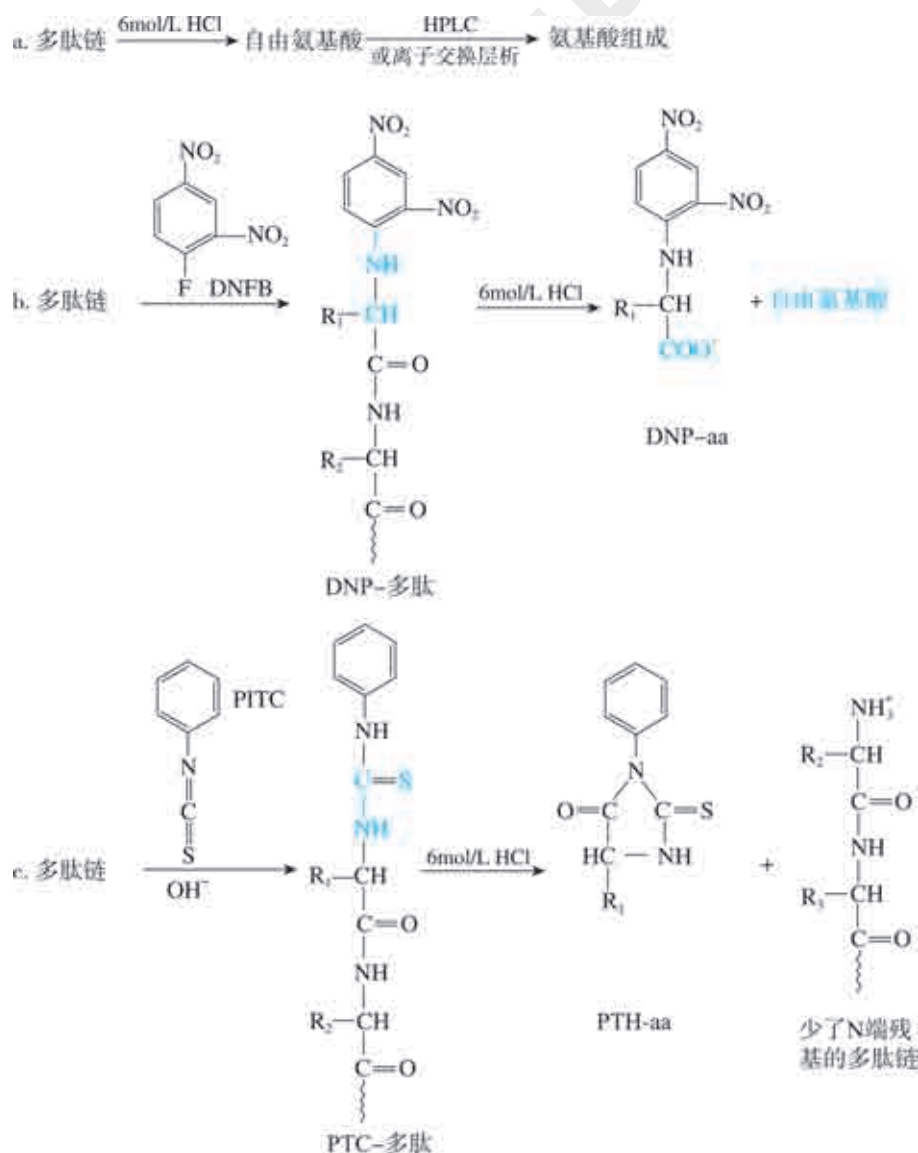


图 1-25 多肽链的序列分析步骤

a. 测定多肽链中氨基酸的种类和含量；b. 确定多肽链 N 端残基；c. Edman 降解法分析程序

(二) C 端测定

羧基肽酶 (carboxypeptidase) 水解法常用于 C 端测定。已发现的羧基肽酶有 A、B、C 和 Y 四种，它们都可以从多肽链的 C 端将氨基酸依次水解下来，但各自的专一性不同。羧基肽酶 A 对 C 端为芳香族氨基酸 (Phe、Tyr、Trp) 和侧链较大的脂肪族氨基酸 (Val、Leu、Ile) 有较强的亲和力；对 C 端是碱性氨基酸 (Arg、Lys) 和亚氨基酸 (Pro、Hyp) 者无作用；对 C 端为其他氨基酸残基形成的肽键也能水解。羧基肽酶 B 能够水解 C 端的 Lys 和 Arg，不作用于 Pro。如果一个肽段 C 端是 Pro，则羧基肽酶 A、B 都不起作用。然而羧基肽酶 C 却能水解 C 端的 Pro，而对其他氨基酸的水解速度较慢。近来发现羧基肽酶 Y 能切断各种氨基酸在 C 端的肽键，它是一种最适用的羧基肽酶。

四、二硫键的拆开

许多蛋白质是由两条以上肽链通过非共价键缔合或被二硫键连接，应先用变性剂如尿素、盐酸胍、SDS 等将非共价键打开，再拆开链间二硫键使肽链分开；倘若不拆开链间和链内二

硫键，在一级结构测定中会阻碍蛋白质水解试剂的作用。拆开二硫键的方法通常有两类：氧化法和还原法。

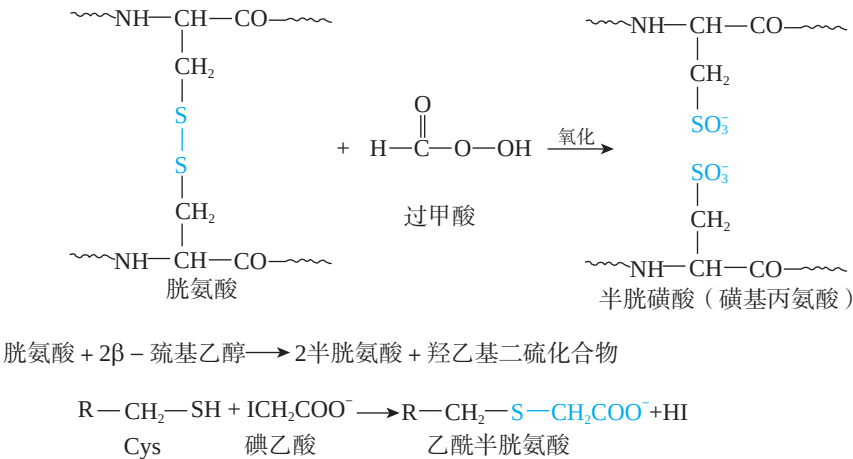
(一) 过甲酸氧化法

胱氨酸残基的一个肽键被 Edman 程序切开，其余部分仍然通过二硫键与肽链连接，这会干扰酶或化学法切割肽链。不过二硫键可被过甲酸氧化而打开。胱氨酸残基和过甲酸反应生成两个半胱磺酸，磺酸基很稳定，不必再行保护，但也不能恢复为巯基了。

过甲酸处理的主要缺点是 Met 残基也被氧化，其侧链被氧化成砜。另外，过甲酸还可部分破坏 Trp 的吲哚侧链。

(二) 巯基化合物还原法

将二硫键还原为巯基的方法很多，最常用的是利用各种巯基化合物如 β- 巯基乙醇、二巯苏糖醇 (dithiothreitol, DTT) 等使二硫键拆开。由于 Cys 的—SH 不稳定，易被重新氧化，故需对—SH 加以保护。常用的保护剂是碘乙酸 (iodoacetic acid)。碘乙酸使半胱氨酸—SH 转变为乙酰半胱氨酸残基，它很容易用层析法鉴定。



续表

裂解剂	识别序列及裂解位点*
胃蛋白酶 (pepsin)	Phe、Trp、Tyr (N)
凝血酶 (thrombin)	Leu-Val-Pro-Arg (C)
金黄色葡萄球菌 V ₈ 蛋白酶 (V ₈ protease)	Asp、Glu (C)
	Glu-X (X 为疏水氨基酸)
	Glu-Lys (抵抗水解)
梭菌蛋白酶 (clostripain)	Arg (C)
脯氨酸蛋白酶 (proline-protease)	Pro (C)
天冬氨酸 -N- 蛋白酶 (Asp-N-protease)	Asp、Glu (N)
下颌下腺蛋白酶 (submaxillary protease)	Arg (C)
溴化氰 (CNBr, cyanogen bromide)	Met (C)
80% 甲酸 (formic acid)	Asp-Pro
羟胺 (hydroxylamine)	Asn-Gly
邻亚碘酰苯 (o-iodosobenzene)	Trp-X

* (C)、(N) 分别为肽链中所指氨基酸的羧基端和氨基端

由表中可见它们各自水解肽链中毗邻的特殊氨基酸残基，具有高度特异性。例如，胰蛋白酶仅催化水解肽链中 Lys 或 Arg 残基羧基端的肽键，而不管肽链的长度和氨基酸的序列如何。因此，一个肽链被胰蛋白酶水解产生几个小肽段可以从氨基酸组成分析中 Lys 和 Arg 的总数预知（图 1-26）。假如一个肽链有 5 个 Lys 和（或）Arg 残基，用胰蛋白酶水解将产生 6 个小肽段，这些小肽段除一个外，都有一个 C 端 Lys 或 Arg。又如化学试剂溴化氰（CNBr）是一种高效、特异的肽链裂解剂，作用于肽链中 Met 的羧基端肽键。由于蛋白质分子中的 Met 一般较少，故裂解后的肽段较长、数目较少；结合胰蛋白酶水解结果共同分析，就比较容易获得各肽段间的相互连接关系。

六、完整多肽链顺序的确定

当多肽链用两种以上方法分别裂解成几组肽段，并测定了每一个肽段的氨基酸排列顺序后，可用肽段重叠法确定整个肽链的氨基酸排列顺序（图 1-26）。如图所示，找出两种裂解法产生的重叠序列（over-lapping sequence），即从一组裂解片段中得到了另一组肽段的正确顺序。其中 C-3 可称关键性肽段。另外，N 端也已知晓，这些信息就足以确定整个多肽链的序列。如果用两种裂解方法找不出关键性重叠肽段，就需用第 3 种甚至第 4 种方法裂解肽链，直到找出必需的重叠肽段。

先测出蛋白质片段的序列，再将片段放于适当位置；氨基酸用单字母缩写符号；二硫键的位置只可能在两个 Cys 之间

七、二硫键的定位

氨基酸序列分析完成后，还需另加确定二硫键位置的实验步骤。方法是：另取一份蛋白质样品，用同样的酶（如胰蛋白酶）水解，但不要预先拆开二硫键。肽段被分离后进行电泳，与先拆开二硫键再进行电泳的结果对比，原来的两个肽段将会消失而出现一个新的、大的片段。那两个消失的肽段代表在完整多肽链中被二硫键连接的区域。

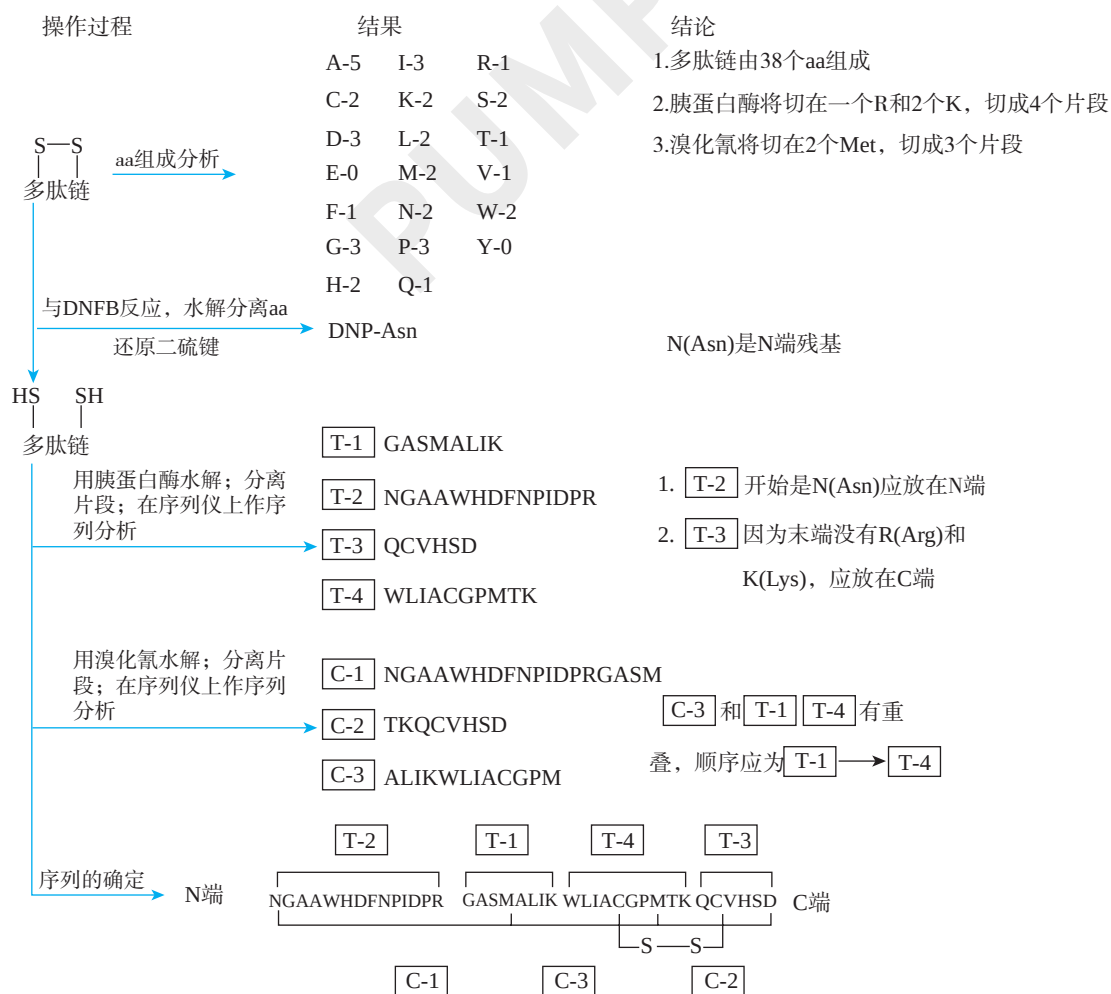


图 1-26 多肽链序列分析结果处理

先测出蛋白质片段的序列，再将片段放于适当位置；氨基酸用单字母缩写符号；二硫键的位置只可能在两个 Cys 之间

除了采用上述实验手段测定蛋白质的一级结构，还可由 DNA 序列推演氨基酸顺序。基于快速 DNA 序列分析的开展、遗传密码的阐明和基因克隆技术的迅速发展，人们可以从基因序列直接推导出蛋白质的氨基酸序列，而且比化学测序法要快，现已成为常用的蛋白质一级结构测定法。近年来，又发展了串联质谱（tandem mass spectrometry, tandem-MS）技术测定蛋白质序列的方法，该方法具有样品用量少、速度快和自动化操作等优点，已受到人们的关注。

小结

蛋白质是生命的物质基础，它不仅在生物体内含量丰富，而且具有多种多样的生物学功能。蛋白质可分为单纯蛋白质和结合蛋白质两大类。单纯蛋白质完全水解后生成 α -氨基酸；结合蛋白质则是由单纯蛋白质与一种非蛋白质的辅基组成。

α -氨基酸是蛋白质的基本组成单位，目前发现由遗传基因编码的氨基酸除常见的 20 种基本氨基酸之外，还发现了 2 种新的基本氨基酸——硒代半胱氨酸和吡咯赖氨酸。氨基酸在同一分子上含有碱性的氨基和酸性的羧基，故能与酸类或碱类物质结合成盐。在酸性环境中，氨基酸与 H^+ 结合而呈阳离子；在碱性环境中，氨基酸与 OH^- 结合失去质子而成为阴离子，所以它是一种两性电解质。在 pH 为等电点的环境中，它解离成阳离子

和阴离子的趋势相等,称为兼性离子。氨基酸的等电点主要由 $\alpha\text{-NH}_2$ 和 $\alpha\text{-COOH}$ 的解离常数决定;若侧链R基团可以解离,则由 $\alpha\text{-NH}_2$ 、 $\alpha\text{-COOH}$ 和R基团解离情况共同决定。芳香族氨基酸在波长280nm处有最大吸收峰,据此可测定溶液中的蛋白质含量。氨基酸可与茚三酮、2,4-二硝基氟苯、丹磺酰氯、丹伯磺酰氯等呈颜色或荧光反应,据此可对蛋白质进行定性、定量鉴定。

氨基酸可借肽键连接成多肽。自然界中有多种活性肽,如肽类激素、肽类抗生素、与神经传导有关的肽类、参与氧化还原反应的谷胱甘肽,还有通过生物工程得到的肽类疫苗、肽类药物以及人工合成的生物活性肽。

蛋白质的分子结构十分复杂,可概括为一级、二级、三级及四级结构。一级结构是指肽链中的氨基酸排列顺序。目前可以应用Edman降解法和从DNA序列推断出蛋白质的一级结构。二级结构包括 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和卷曲等,主要以氢键维系。二级结构还常常以某种方式形成聚集体,称为超二级结构。较大蛋白质往往有承担不同生物学功能的结构域。结构模体是蛋白质分子中具有特征性氨基酸序列和特定功能的结构,例如锌指模体就经常出现在DNA结合蛋白质的结构域中。三级结构包括蛋白质主链和侧链在内的空间排布。四级结构是指蛋白质亚基之间的缔合。三级结构主要靠次级键维系,四级结构主要靠非共价键维系。空间结构的研究方法是用X射线晶体衍射法。

蛋白质的结构与功能关系密切。蛋白质的一级结构决定其空间结构,空间结构相似就有相似的生物学功能。一级结构是生物学功能的基础,很多生物活性蛋白质或肽(如激素)首先合成无活性的前体,经过相应的结构改变才能表现出活性。不同种属来源的同种蛋白质一级结构会有某些差异,但与生理功能密切相关的氨基酸序列不会改变。若一级结构改变造成蛋白质的功能障碍引起的疾病,称为分子病。用X射线晶体衍射法研究蛋白质的空间结构与功能的关系已相当深入,尤其是Hb和Mb的携氧功能与空间结构的关系,已有比较具体的解释。

蛋白质由氨基酸构成,一部分性质与氨基酸相同,如两性解离和等电点、某些呈色反应等。但蛋白质是由氨基酸借肽键构成的高分子化合物,又有不同于氨基酸的性质,如胶体性质、易沉降、不易透过半透膜、变性、沉淀、凝固等。根据蛋白质的两性解离特性和在等电点易沉淀的性质,可以用电泳法、等电点沉淀法、离子交换层析法、盐析法分离纯化蛋白质;根据蛋白质分子大、不易透过半透膜的特点,可用透析和超滤法去除蛋白质中的小分子杂质;利用不同蛋白质分子量不同可用凝胶过滤法对蛋白质进行分离纯化;利用超速离心法既能分离纯化蛋白质,又能测定蛋白质的分子量,用沉降系数表示蛋白质分子的大小。超速离心法是目前分离和分析生物高分子普遍应用的方法。

蛋白质的一级结构分析一般先作氨基酸组成分析,再作N端和C端鉴定;将链间、链内二硫键拆开;选择适当的酶或化学试剂将多肽链部分水解,使肽段大小适合于Edman降解法的应用;每一小肽段的序列分析完成后,用肽段重叠法确定完整多肽链顺序;最后可用电泳法确定二硫键的位置。由DNA序列推断蛋白质序列有快速的优点,可与化学法在一级结构分析中同时使用,互相取长补短。

思考题

1. 为什么通过测定人体摄入食物中的含氮量和排泄物中的含氮量可以间接了解摄入食物和排泄物中的蛋白质含量?前提是什么?实验中如何通过含氮量计算蛋白质含量?
2. 试根据天冬氨酸和谷氨酸的结构分析它们为什么在生理条件下带负电荷。

3. 为什么茚三酮反应既可以用于氨基酸的定性定量分析, 又可以用于多肽与蛋白质的定性定量分析? 其原理是什么?
4. 根据蛋白结构与功能的关系解释什么是蛋白质超家族、家族和亚家族。
5. 什么是蛋白质分子的一、二、三、四级结构? 如何理解蛋白质的一级结构、空间结构与功能的关系?
6. 什么是超二级结构、结构域和模体? 试比较三者的相同点与不同点。
7. 蛋白质的理化性质有哪些? 蛋白质的分离纯化方法有哪几种? 每种分离纯化方法是基于蛋白质的什么理化性质?
8. 举例说明什么是蛋白质的别构效应。
9. 何为蛋白质变性? 变性方法有哪些? 变性蛋白质有何特征? 试举出 3 ~ 5 个日常生活中蛋白质变性的例子。
10. 变性的蛋白质一定沉淀吗? 为什么?

(裴晋红)

核酸的结构与功能

第一节 概述

生物界的核酸有两大类，即脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA）和核糖核酸（ribonucleic acid, RNA）。这两类核酸在生物体的生命活动全过程中都起着极其重要的作用。DNA 存在于细胞核和线粒体内，携带着决定个体基因型的遗传信息。RNA 存在于细胞质和细胞核内，参与遗传信息的表达。在某些病毒中，RNA 也可以作为遗传信息的携带者。不论是 DNA 还是 RNA，其功能的发挥都与结构密切相关。核酸在执行生物功能时，总是伴随有结构和构象的变化，核酸结构和构象的微小差异与变化都可能影响遗传信息的传递和生物体的生命活动。



遗传信息携带者的发现

第二节 核酸的分子组成

组成核酸的主要元素有 C、H、O、N、P 等。其中 P 的含量比较恒定，为 9% ~ 10%。因此可以通过测定核酸样品中 P 的含量对核酸进行定量分析。

一、核酸的基本组成单位——核苷酸

核酸的基本组成单位是核苷酸（nucleotide）。组成 DNA 的核苷酸是脱氧核糖核苷酸（deoxyribonucleotide），组成 RNA 的核苷酸是核糖核苷酸（ribonucleotide）。核酸由多个核苷酸连接而成，因此又称为多核苷酸（polynucleotide）。核酸水解后产生核苷酸，核苷酸水解后产生核苷（nucleoside）及磷酸。核苷再进一步水解，产生戊糖（pentose）和碱基（base）。

1. 碱基 核酸分子中的碱基均为含氮杂环化合物，分为嘌呤（purine）和嘧啶（pyrimidine）。组成 DNA 的碱基有腺嘌呤（adenine, A）、鸟嘌呤（guanine, G）、胞嘧啶（cytosine, C）和胸腺嘧啶（thymine, T）。RNA 分子中的嘌呤与 DNA 相同，但是嘧啶中主要为尿嘧啶（uracil, U）和胞嘧啶，而没有胸腺嘧啶。碱基的结构式及原子顺序见图 2-1。除上述碱基外，核酸分子中还含有少量其他碱基，称为稀有碱基（rare base）（图 2-2）。稀有碱基含量虽少，但却有着重要的生物学意义。DNA 中的稀有碱基多数是常规碱基的甲基化产物（如 5-甲基胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤），某些病毒 DNA 含有羟甲基化碱基（如 5-羟甲基胞嘧啶），它们具有保护遗传信息和调节基因表达的作用。RNA 特别是转运 RNA（tRNA）中含有较多的稀有碱基（如 5,6-二氢尿嘧啶、假尿嘧啶核苷等）。

核酸中碱基的酮基或氨基均连接在氮原子邻位的碳原子上，可以发生酮式-烯醇式或氨基-亚氨基间的结构互变（图 2-3）。这种互变异构可以引起 DNA 结构的变化，在基因突变和生物进化中具有重要意义。

2. 戊糖 核酸中的戊糖有核糖（ribose）和脱氧核糖（deoxyribose）两种，均为 β -呋喃型环状结构。为了与含氮碱基中的碳原子相区别，戊糖中碳原子顺序以 1' ~ 5' 表示。RNA 中的戊糖为 β -D-核糖；在 DNA 分子的戊糖中，与第 2 位碳原子（C-2'）相连的羟基上缺少一个

氧原子，为 β -D-2'-脱氧核糖（图 2-4）。

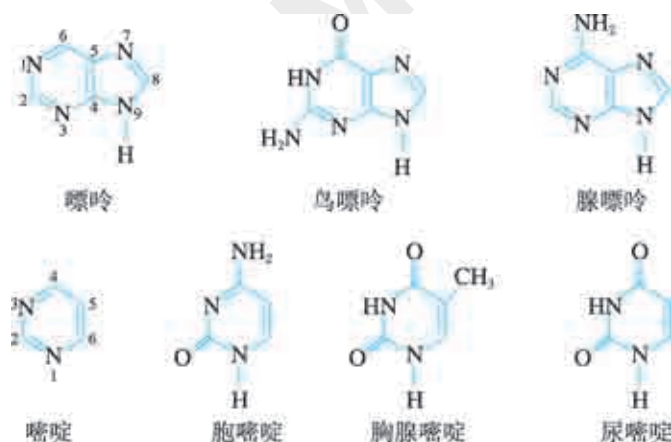


图 2-1 碱基结构式

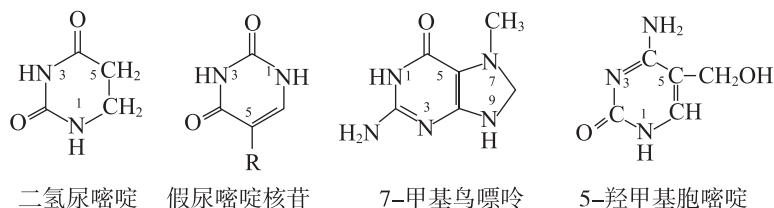


图 2-2 稀有碱基结构式

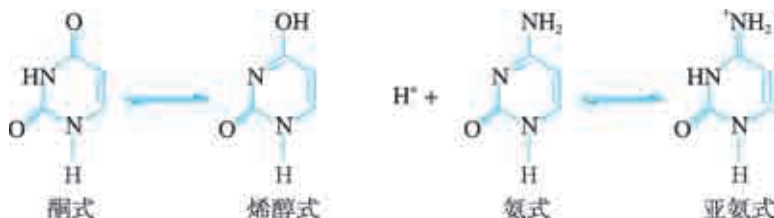


图 2-3 碱基的互变异构

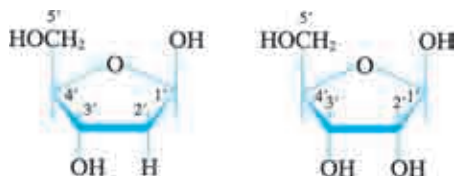


图 2-4 构成 DNA (左) 和 RNA (右) 的戊糖的结构式

3. 核苷 核苷是核苷酸水解的中间产物，由戊糖的第 1 位碳原子 (C-1') 上的羟基和嘧啶的第 1 位氮原子 (N-1) 或嘌呤的第 9 位氮原子 (N-9) 上的氢缩合脱水，以糖苷键相连构成核苷或脱氧核苷（图 2-5）。

4. 核苷酸 核苷酸是核酸的基本构成单位。核苷中戊糖分子的第 5 位碳原子 (C-5') 上的羟基与一个磷酸分子缩合脱水形成磷酸酯键，生成核苷酸，即核苷一磷酸 (nucleoside monophosphate, NMP)。这一个磷酸分子 (5'-磷酸) 还可以与另一个磷酸分子以酸酐的方式缩合成核苷二磷酸 (nucleoside diphosphate, NDP)，再结合一分子磷酸则生成核苷三磷酸 (nucleoside

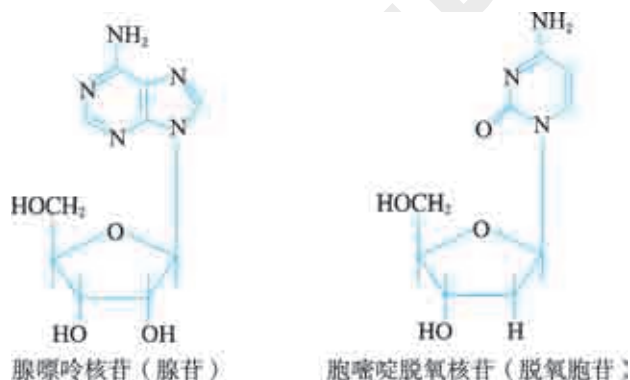


图 2-5 核苷的结构式

triphosphate, NTP) (图 2-6)。核苷酸还有环化形式, 主要是 3',5'-环腺苷酸 (adenosine 3',5'-cyclic monophosphate, cAMP) 和 3',5'-环鸟苷酸 (guanosine 3',5'-cyclic monophosphate, cGMP), 它们在细胞内代谢调节和跨细胞膜信号转导中具有十分重要的作用 (图 2-7)。

二、多核苷酸的连接及表示方式

核酸是由许多核苷酸分子连接而成的, 其连接方式都是由一个核苷酸第 3 位碳原子 (C-3') 上的羟基与另一个核苷酸的第 5 位碳原子 (C-5') 上的磷酸缩合形成 3',5'-磷酸二酯键 (图 2-8)。在常见的核酸分子中, 不存在 5'-5' 或 3'-3' 的核苷酸连接方式。这一连接方式决定了核酸的多核苷酸链具有特定的方向性, 每条核苷酸链具有两个不同的末端, 戊糖 C-5' 上带有游离磷酸基的称为 5' 末端, C-3' 上带有游离羟基的称为 3' 末端, 多核苷酸链的方向以 5' → 3' 或 3' → 5' 表示。

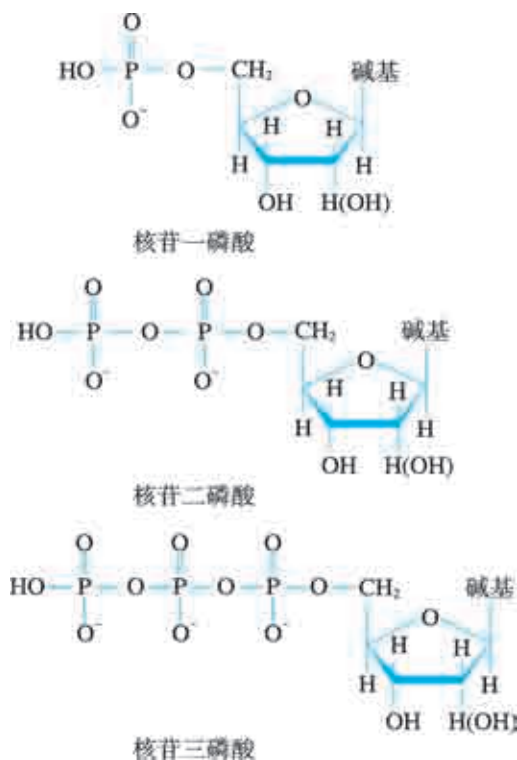


图 2-6 核苷酸的结构式

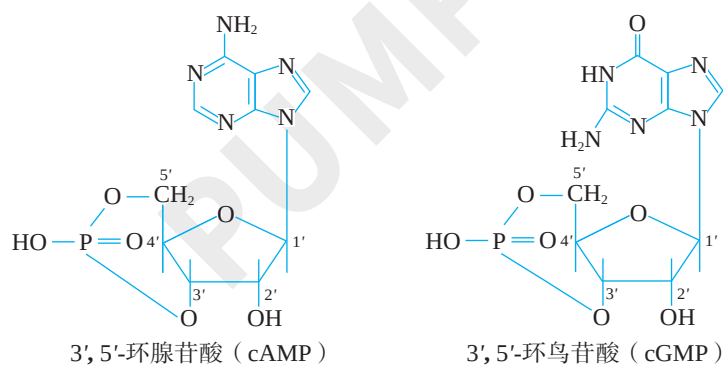


图 2-7 环核苷酸的结构式

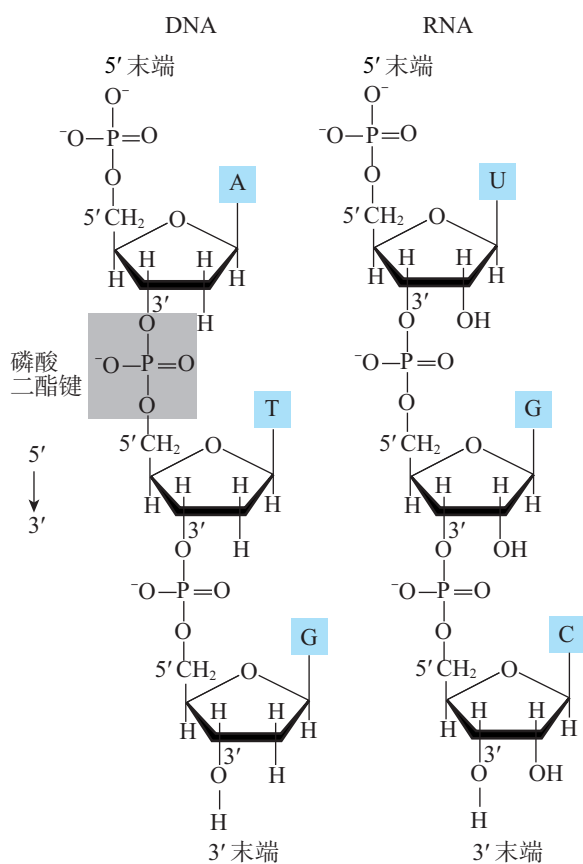


图 2-8 核酸分子中核苷酸的连接方式

多核苷酸链的表示方式有多种 (图 2-9)。由于核酸分子中除了两个末端及碱基排列顺序不同外,戊糖和磷酸都是相同的,因此,在表示核酸分子时,只需注明其 5' 末端和 3' 末端以及碱基顺序。如未注明 5' 末端和 3' 末端,碱基顺序的书写方式一般为由左向右,左侧是 5' 末端,右侧是 3' 末端。

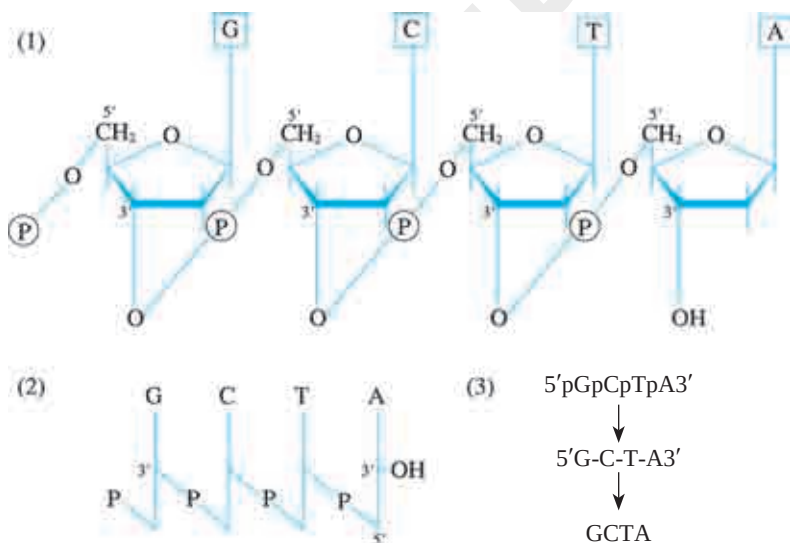


图 2-9 DNA 多核苷酸链的一个片段及其缩写法

第三节 核酸的分子结构

与蛋白质一样,在研究核酸时,通常将其结构分为一、二和三级结构。核酸的一级结构是指核酸分子的核苷酸序列;核酸的二级结构是指核酸中规则、稳定的局部空间结构;核酸的三级结构是指在二级结构的基础上进一步形成的超级结构,也称为高级结构。

一、核酸的一级结构

核酸的一级结构是构成 DNA 或 RNA 的核苷酸自 5' 端至 3' 端的排列顺序,称为核苷酸序列。由于四种核苷酸间的差异主要是碱基的不同,四种不同碱基的顺序也就代表了核苷酸的顺序,因此,核苷酸序列又称为碱基序列。

大多数生物(除 RNA 病毒以外)的遗传信息都储存在 DNA 分子中。这些信息以特定的核苷酸排列顺序作为载体储存于 DNA 分子,如果核苷酸排列顺序发生变化,它的生物学含义将会改变。DNA 分子主要携带两类遗传信息。一类是有功能活性的 DNA 序列携带的信息,这些信息能够通过转录过程而转变成 RNA(如 mRNA、tRNA、rRNA 等)的序列,其中信使 RNA(mRNA)的序列中又含有蛋白质多肽链的氨基酸序列信息。另一类信息为调控信息,这是一些特定的 DNA 区段,能够被各种蛋白质分子特异性识别和结合并调控基因表达。这些特定的 DNA 区段在以后的章节中将会介绍,如各种顺式作用元件等。

二、DNA 的空间结构与功能

DNA 的所有原子在三维空间具有确定的相对位置关系,称为 DNA 的空间结构(spatial structure)。DNA 的空间结构又分为二级结构和高级结构。

(一) DNA 的二级结构——双螺旋结构

1. DNA 双螺旋结构的研究基础 20 世纪中期,科学家们就已经发现 DNA 在不同菌种之间的转移可以将遗传信息从一个菌种转移到另一个菌种,证实了 DNA 是遗传信息的载体。E. Chargaff 等人采用层析和紫外吸收分析等技术分析了 DNA 分子的碱基成分,提出了 DNA 分子中 4 种碱基组成的 Chargaff 规则:①腺嘌呤与胸腺嘧啶的摩尔数相等,而鸟嘌呤与胞嘧啶的摩尔数相等;② DNA 的碱基组成有种属差异,但没有组织差异,即不同生物种属的 DNA 碱



DNA 的甲基化

基组成不同，同一个体不同器官、不同组织的 DNA 具有相同碱基组成；③ DNA 的碱基组成不随个体的年龄、营养和环境改变而改变。许多证据表明 DNA 分子一定是由两条或更多条多核苷酸单链以某种方式组成的，Watson 和 Crick 根据这些线索，综合了前人的研究成果，提出了 DNA 分子双螺旋结构的模型。

2. DNA 双螺旋结构模型的要点

(1) 两条多核苷酸单链以相反的方向互相缠绕形成右手螺旋结构，在双螺旋结构中，脱氧核糖与磷酸是亲水的，位于螺旋的外侧，而碱基是疏水的，位于螺旋内侧，碱基平面与螺旋长轴垂直（图 2-10）。

(2) 螺旋链的直径为 2.0nm，每圈含 10 个碱基对，螺距约为 3.54nm，从外观上看，DNA 双螺旋分子表面存在一个大沟（major groove）和一个小沟（minor groove）（图 2-10）。

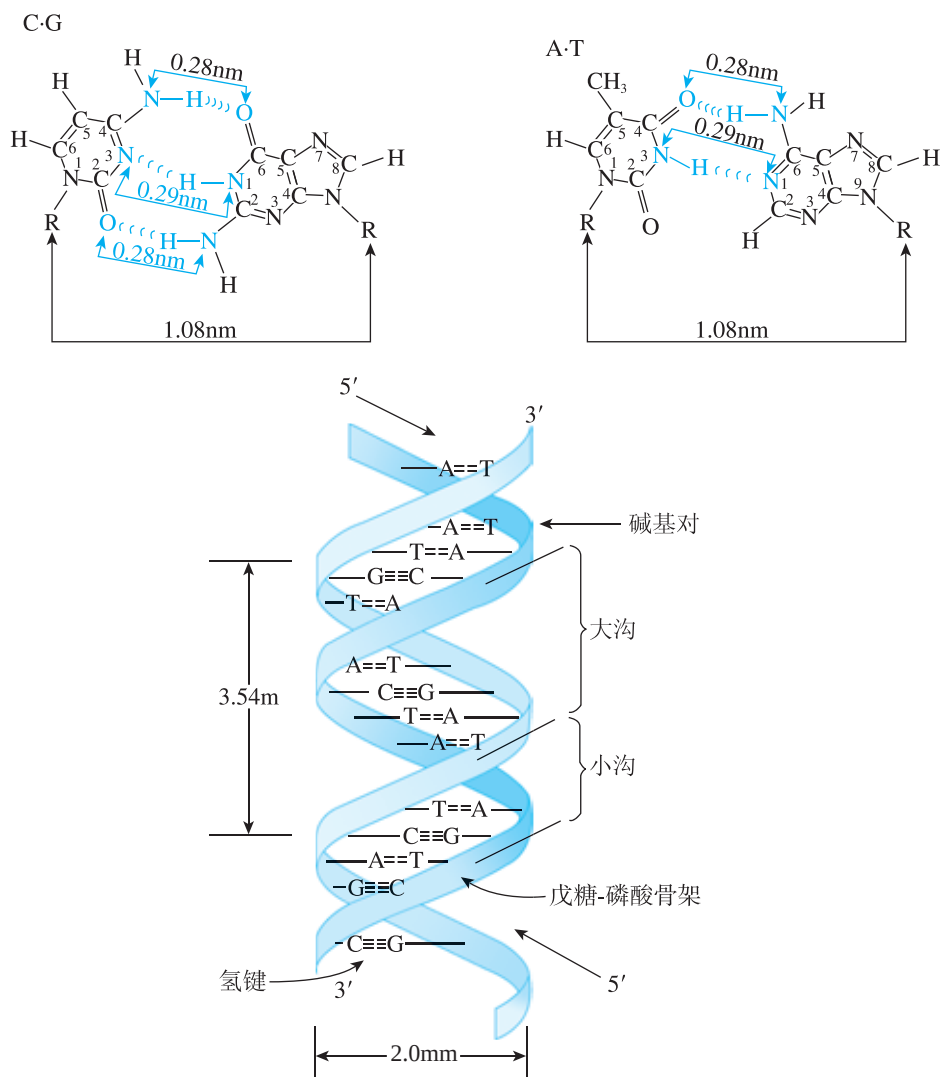


图 2-10 DNA 分子中的碱基配对及双螺旋结构模型

R 代表戊糖

(3) 由疏水作用造成的碱基堆积力（base stacking force）和两条链间由于碱基配对形成的氢键是保持螺旋结构稳定性的主要作用力，A 与 T 配对形成 2 个氢键，G 与 C 配对形成 3 个氢键（图 2-10）。

两条多核苷酸单链通过碱基配对（base pairing）形成氢键，这不仅是保持双螺旋结构稳定

的主要作用力，更重要的是其生物学含义。由于几何形状等原因，A 只能与 T 配对，G 只能与 C 配对，这种配对原则称为碱基互补配对。Erwin Chargaff 的研究结果也完全支持这一结论，即 A 与 T、G 与 C 的含量比值在不同生物中几乎都是 1 : 1。这就意味着在 DNA 复制过程中，以预先存在的 DNA 链作为模板就可以得到一条与其完全互补的子链，由此可以保证遗传信息的准确传递。

3. DNA 双螺旋结构具有多样性 Watson 和 Crick 的 DNA 双螺旋结构称为 B 型 DNA，是细胞内 DNA 存在的主要形式。当测定条件改变，尤其是湿度改变时，B 型 DNA 双螺旋结构会发生一些变化。例如，A 型 DNA 双螺旋结构直径为 2.3nm，每个螺旋含 11 个碱基对，其高度约为 0.26nm（表 2-1）。DNA 双螺旋结构的其他构象变化还包括 C 和 D 型等。

表2-1 DNA双螺旋的主要参数

类型	每个螺旋碱基数	碱基高度	直径	戊糖构象
A	11	0.26 nm	2.3 nm	C3 内型
B	10	3.54 nm	2.0 nm	C2 内型
C	9.33	0.33 nm	1.9 nm	C3 外型
D	8.5	0.30 nm		
Z	12	0.37 nm	1.8 nm	外型

在自然界原核生物和真核生物基因组中还发现了左手双螺旋 DNA，其分子螺旋的方向与右手双螺旋 DNA 的方向相反，称为 Z 型双螺旋。左手双螺旋 DNA 可能参与基因表达的调控，但其确切的生物学功能尚待研究。

DNA 双螺旋结构不同构象的意义并不在于其螺旋直径及高度的变化，关键是由于这些变化而引起的表面结构的改变（图 2-11），进而影响其生物学功能。B 型 DNA 双螺旋的表面并

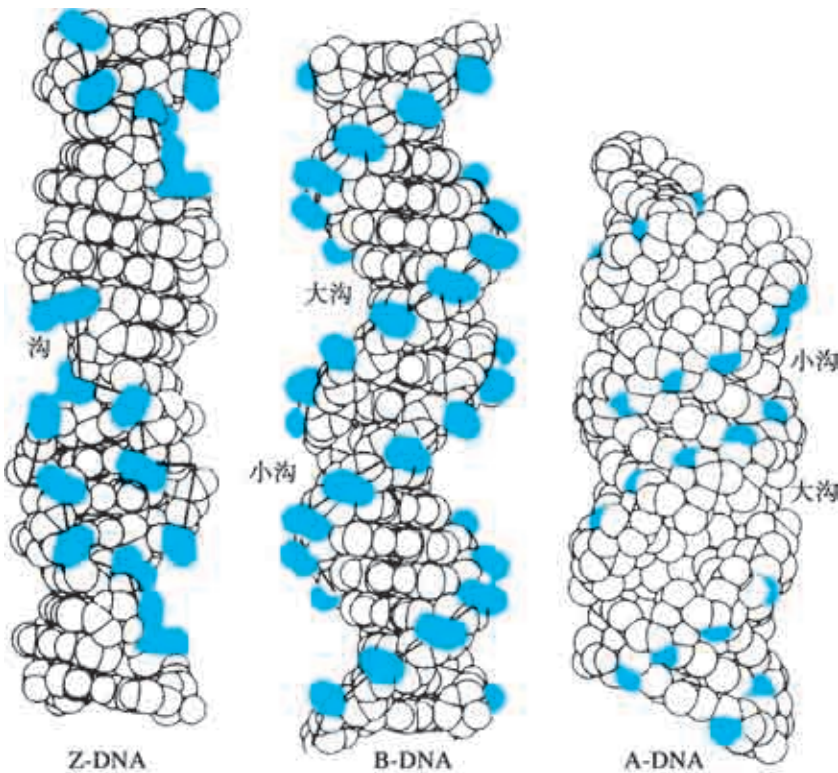


图 2-11 A 型、B 型、Z 型 DNA 结构示意图

不是完全平滑的,而是沿其长轴有两个不同大小的沟。其中一个相对较深、较宽,称为大沟;另外一个相对较浅、较窄,称为小沟。A 型双螺旋也有两个沟,其中大沟更深,小沟更浅但较宽。Z 型螺旋则仅呈现一个很窄、很深的沟。DNA 双螺旋的这种表面结构有助于 DNA 结合蛋白识别并结合特定的 DNA 序列。而这种表面结构的变化对于基因组 DNA 与特异性 DNA 结合蛋白质的相互作用具有重要的意义。

4. DNA 的多链螺旋结构 DNA 双螺旋结构中的核苷酸除了 A/T、G/C 之间的氢键外,还能形成一些附加氢键,如另一个 T 与 A/T 碱基对的 A 之间,可形成额外的 2 个氢键,使得这 3 个碱基形成了 T*A/T 配对;在酸性溶液中,胞嘧啶的 N-3 可以质子化,质子化的胞嘧啶与 G/C 碱基对的 G 又可以形成 2 个氢键,3 个碱基形成了 C⁺*G/C 的配对。这种氢键是 K. Hoogsteen 在 1963 年发现的,因此称为 Hoogsteen 氢键。Hoogsteen 氢键的形成并不破坏 Watson-Crick 氢键,这样 DNA 分子就可以形成 C⁺*G/C 或 T*A/T 的三链结构(图 2-12)。

真核生物染色体 DNA 的末端的结构称为端粒。端粒结构常呈 GT 序列的数十次乃至数百次的重复,重复序列中的鸟嘌呤之间通过 Hoogsteen 氢键形成特殊的四链结构(图 2-12)。

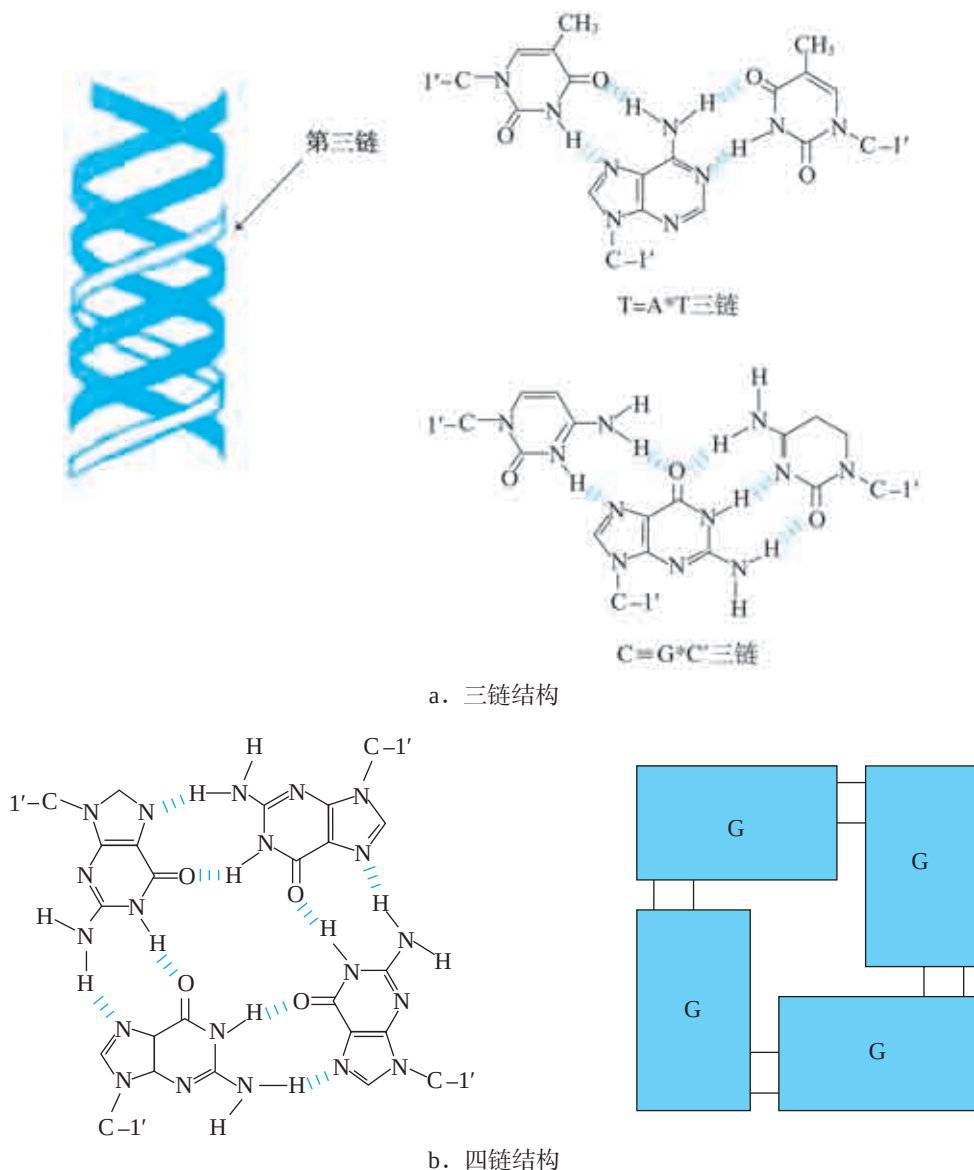


图 2-12 DNA 的多链螺旋结构

在生物体内,不同构象的 DNA 在功能上可能是有所差异的,与其基因表达和调控是相适应的。

(二) DNA 的高级结构——超螺旋结构

DNA 是长度十分可观的生物大分子,如人体细胞中 46 条染色体的总长度约 1.7m。因此, DNA 的长度要求其必须进一步折叠成为更致密的结构才能够存在于细胞核内。DNA 在细胞内以双螺旋为结构基础进一步旋转折叠形成超螺旋结构,称为 DNA 的高级结构。盘旋方向与 DNA 双螺旋方向相同为正超螺旋 (positive supercoil); 盘旋方向与 DNA 双螺旋方向相反则为负超螺旋 (negative supercoil)。自然界的闭合双链 DNA 主要是以负超螺旋形式存在。

原核生物的 DNA 大多数是以共价闭合的双链环状形式存在于细胞内,闭环的 DNA 都以超螺旋的形式存在,如细菌质粒、一些病毒、线粒体的 DNA 等。线性 DNA 分子或环状 DNA 分子中一条链有缺口时均不能形成超螺旋结构 (图 2-13)。

真核生物 DNA 与蛋白质形成的复合物以非常致密的形式存在于细胞核内,基本结构单位是核小体 (nucleosome)。核小体由 DNA 和 5 种组蛋白共同构成,核小体中的 5 种组蛋白包括: H1、H2A、H2B、H3 和 H4。H2A、H2B、H3 和 H4 各两分子构成八聚体的核心蛋白,双链 DNA 缠绕在这一核心蛋白上形成核小体的核心颗粒,核小体的核心颗粒之间再由 DNA (约 60bp) 和组蛋白 H1 构成的连接区相连形成串珠样的结构 (图 2-14)。

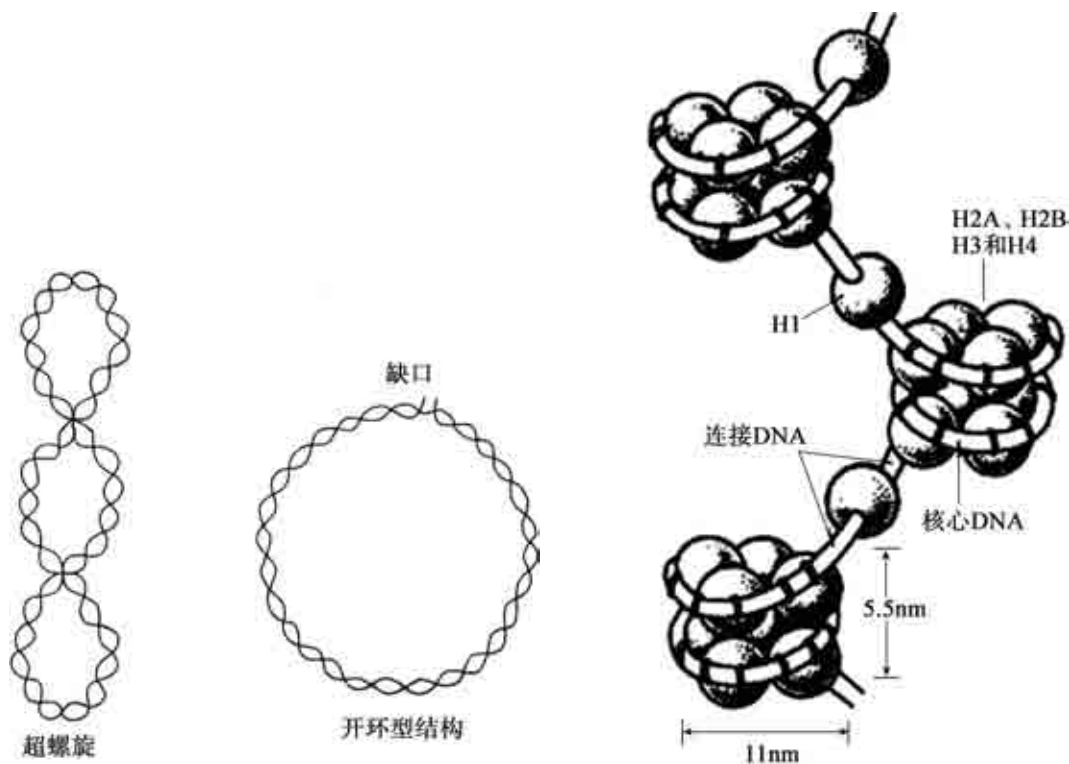


图 2-13 环状 DNA 的超螺旋及开环结构

图 2-14 真核生物核小体结构

串珠样结构中的每个核小体重复单位的 DNA 长度约 200bp。双螺旋 DNA 组成核小体,长度被压缩至 $1/7 \sim 1/6$,核小体进一步折叠卷曲,形成外径 30nm、内径为 10nm 的中空状螺线管 (每圈 6 个核小体),这一过程使 DNA 的体积又压缩至 $1/40$,染色质纤维空管进一步卷曲折叠形成直径为 400nm 的超螺线管,再进一步折叠、包装即为染色质和染色体 (图 2-15)。

超螺旋可能有两方面的生物学意义:①超螺旋 DNA 比松弛型 DNA 更紧密,使 DNA 分子体积变得更小,对其在细胞的包装过程更为有利;②超螺旋能影响双螺旋的解链程序,因而影



DNA 双螺旋结构模型的发现

响 DNA 分子与其他分子（如蛋白质）之间的相互作用。

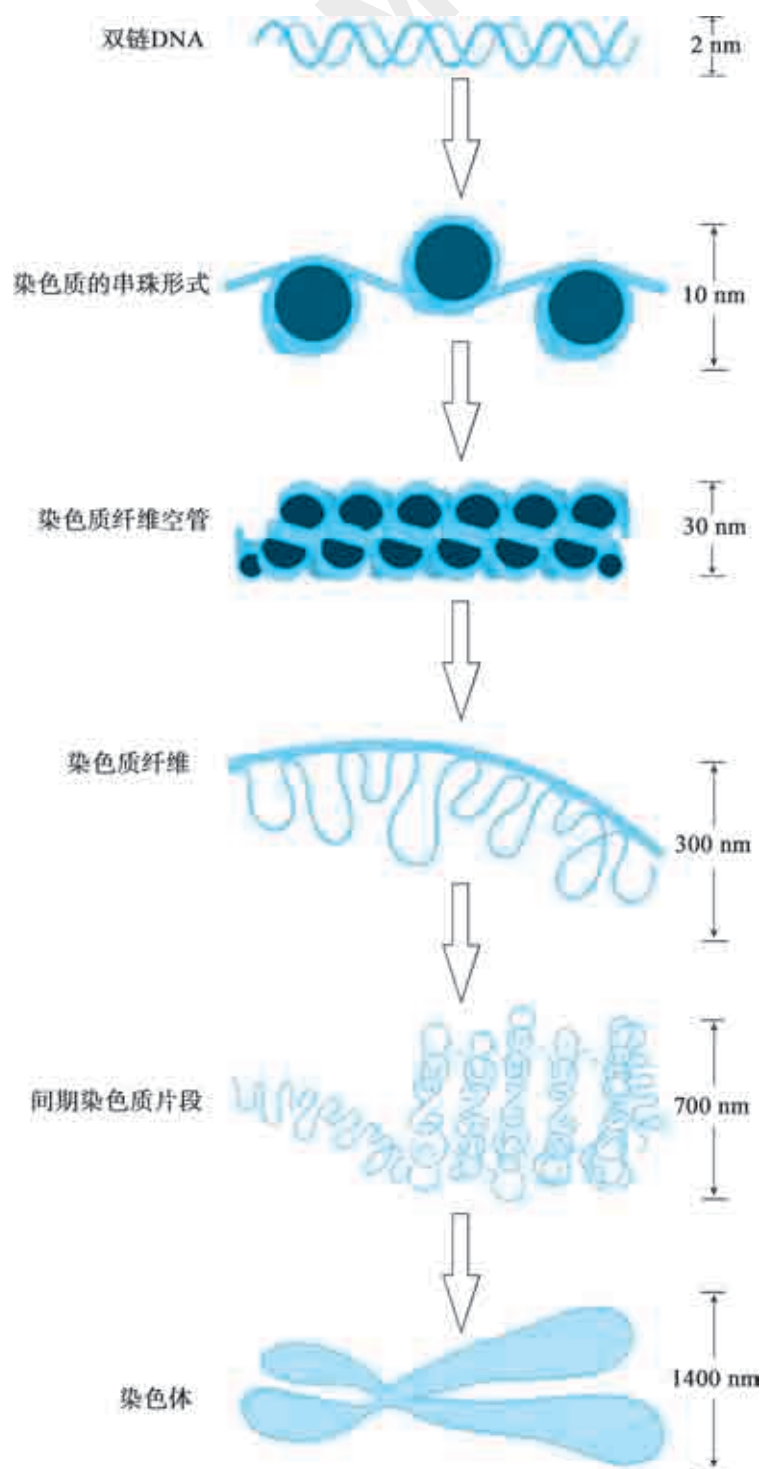


图 2-15 DNA 被压缩成染色体示意图

三、RNA 的结构和功能

RNA 的化学结构与 DNA 类似，也是由 4 种基本的核苷酸以 3', 5'-磷酸二酯键连接形成的长链。与 DNA 的不同之处是 RNA 中的戊糖是核糖而不是脱氧核糖，碱基中没有胸腺嘧啶 (T) 而代之以尿嘧啶 (U)。RNA 分子也遵循碱基配对原则，G 与 C 配对，由于没有 T 的存

在, U 取代 T 与 A 配对。RNA 分子通常是单链结构, 因此 A 与 U、C 与 G 比例不一定等于 1:1。然而有时 RNA 分子可以形成发卡结构, 在这些结构中 RNA 可以形成双链, 双链之间的碱基按照 A—U、C—G 的原则配对 (图 2-16)。在 RNA 的发卡结构中, 有时可以发生不完全碱基配对, G 有时也可以与 U 配对, 但是这种配对不如 G 与 C 配对紧密。

DNA 是遗传信息的储存体, 功能较为单一。RNA 则不同, 依其结构和功能不同通常分为信使 RNA (mRNA)、核糖体 RNA (rRNA) 和转运 RNA (tRNA) 三种类型。真核细胞中还含有核内不均一 RNA (heterogeneous nuclear RNA, hnRNA, 不均一核 RNA) 和核小 RNA (snRNA) 等。

(一) 信使 RNA

遗传信息从 DNA 分子被抄录至 RNA 分子的过程称为转录 (transcription)。从 DNA 分子转录的 RNA 分子中, 有一类可作为蛋白质生物合成的模板, 称为信使 RNA (messenger RNA, mRNA)。真核生物 mRNA 的初级产物比成熟 mRNA 大得多, 而且其分子大小不一, 因此被称为核内不均一 RNA (hnRNA)。hnRNA 在细胞核内存在时间较短, 经过剪接编辑加工成为成熟的 mRNA, 并转移到细胞质中。

mRNA 占细胞 RNA 总量的 1% ~ 5%。mRNA 种类很多, 哺乳类动物细胞总计有几万种不同的 mRNA。mRNA 的分子大小变异非常大, 小到几百个核苷酸, 大到近 2 万个核苷酸。mRNA 一般都不稳定, 代谢活跃, 更新迅速, 寿命较短。原核生物和真核生物的 mRNA 结构不完全一样。

1. 真核生物 mRNA 结构的特点

(1) 5' 末端有帽子 (cap) 结构: 所谓帽子结构就是 5' 末端第 1 个核苷酸都是甲基化鸟嘌呤核苷酸, 它以 5' 末端磷酸三酯键与第 2 个核苷酸的 5' 末端相连, 而不是通常的 3', 5'- 磷酸二酯键 (图 2-17)。帽子结构中的核苷酸大多数为 7- 甲基鸟苷 (m^7G), 但也有少量的 2, 2, 7- 三甲基鸟苷 ($m_3, ^{2,2,7}G$) 或 $m_2, ^{2,7}G$ 。在第 2 和第 3 个核苷酸的核糖第 2 位羟基上有时也有甲基化。因此通常帽子结构可见 3 种类型, 即帽子 0 型 $m^7G (5') ppp (5') Np$ 、帽子 1 型 $m^7G (5') ppp (5') NmpNp$ 和帽子 2 型 $m^7G (5') ppp (5') NmpNmpNp$, 其中 N 指核苷酸。mRNA 的



图 2-16 RNA 的发夹结构

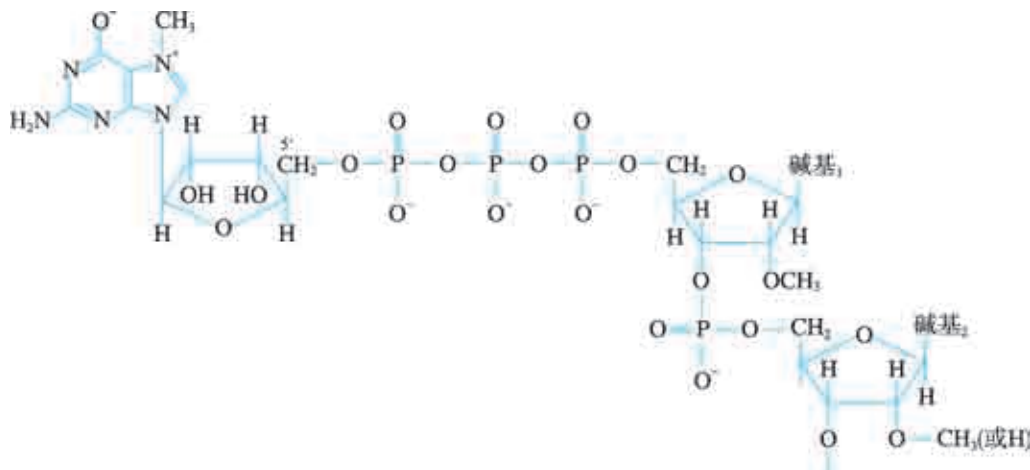


图 2-17 mRNA 的 5' 末端帽子结构

帽子结构可以与一类称为帽结合蛋白质 (cap-binding protein, CBP) 的分子结合形成复合体, 这种复合体有助于 mRNA 稳定性的维持, 协助 mRNA 从细胞核向细胞质的转运, 以及在蛋白质生物合成中促进核糖体和翻译起始因子的结合, 在翻译中起重要作用。

(2) 3' 末端绝大多数带有多聚腺苷酸尾 (3' polyadenylate tail, poly A tail), 其长度为 20 ~ 200 个腺苷酸。poly A 尾是以无模板的方式添加的, 因为在基因的 3' 末端并没有多聚腺苷酸序列。mRNA 的 poly A 尾在细胞内与 poly (A) 结合蛋白质 [poly (A)-binding protein, PABP] 结合存在, 每 10 ~ 20 个腺苷酸结合一个 PABP 单体。目前认为, mRNA 3'-多聚 A 尾和 5'-帽结构共同负责 mRNA 从细胞核向细胞质的转运、维持 mRNA 的稳定性以及翻译起始的调控。

(3) 分子中可能有修饰碱基, 主要是甲基化, 如 m^6A 。

(4) 分子中有编码区与非编码区。从 mRNA 分子 5' 末端起的第一个 AUG 开始, 每 3 个核苷酸为一组, 决定肽链上一个氨基酸, 称为三联体密码 (triplet code) 或密码子 (codon), 直至终止密码子结束。AUG 被称为起始密码子。位于起始密码子和终止密码子之间的核苷酸序列称为多肽链编码区或可读框 (open reading frame, ORF)。非翻译区 (untranslated region, UTR) 位于编码区的两端, 即 5' 末端和 3' 末端。真核 mRNA 5'UTR 的长度在不同的 mRNA 中差别很大。5' 非翻译区有翻译起始信号。有些 mRNA 3' 末端 UTR 中含有丰富的 AU 序列, 这些 mRNA 的寿命都很短。因此推测 3' 末端 UTR 中丰富的 AU 序列可能与 mRNA 的不稳定性有关 (图 2-18)。

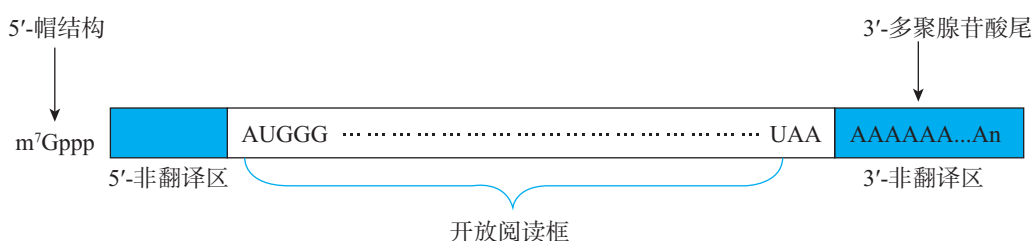


图 2-18 真核生物 mRNA 的一级结构

2. 原核生物 mRNA 结构的特点

(1) 原核生物 mRNA 往往是多顺反子, 即每分子 mRNA 带有编码几种蛋白质的遗传信息 (来自几个结构基因)。在编码区的序列之间有间隔序列, 间隔序列中含有核糖体识别、结合部位。在 5' 末端和 3' 末端也有非翻译区。

(2) mRNA 5' 末端无帽子结构。

(3) mRNA 一般没有修饰碱基, 其分子链完全不被修饰。

(二) 转运 RNA

转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 的作用是在蛋白质合成过程中按照 mRNA 指定的顺序将氨基酸运送到核糖体进行肽链的合成。细胞内 tRNA 种类很多, 每种氨基酸至少有一种相应的 tRNA 与之结合, 有些氨基酸可由几种相应的 tRNA 携带。

tRNA 约占总 RNA 的 15%, 大部分 tRNA 都具有以下共同特征:

1. tRNA 是单链小分子, 由 74 ~ 95 个核苷酸组成 (约 25kDa)。

2. tRNA 含有稀有碱基, 每个分子中有 7 ~ 15 个稀有碱基, 包括二氢尿嘧啶 (DHU)、假尿嘧啶核苷 (ψ , pseudouridine) 和甲基化的碱基等, 一般的嘧啶核苷以杂环的 N-1 原子与戊糖的 C-1' 原子连接形成糖苷键, 而假尿嘧啶核苷则是杂环的 C-5 原子与戊糖的 C-1' 原子相连。稀有碱基中有些是修饰碱基, 是在转录后经酶促修饰形成的。在修饰碱基中, 甲基化的 A、U、C 和 G 较多。甲基化可防止碱基对的形成, 从而使这些碱基易与其他分子反应; 甲基

化也使 tRNA 分子有部分疏水性，在与氨酰 tRNA 合成酶及核糖体反应时比较重要。

3. tRNA 的 5' 末端总是磷酸化，5' 末端核苷酸往往是 pG。

4. tRNA 的 3' 末端是 CpCpAOH 序列，这一序列是 tRNA 结合和转运任何氨基酸而生成氨酰 tRNA 时必不可少的。激活的氨基酸连接于此 3' 末端羟基上。

5. tRNA 分子中约半数的碱基通过链内碱基配对互相结合，形成双螺旋，从而构成 tRNA 的二级结构，形状类似于三叶草，含 4 个环和 4 个臂（图 2-19a）。其中二氢尿嘧啶环（DHU 环）、D 臂及可变环的碱基数目在不同的 tRNA 分子中有变化，其他一般不变。在 tRNA 第 54 ~ 56 位是 T Ψ C，因而这部分形成的环叫 T Ψ C 环，该处在 tRNA 与 5S rRNA 的结合及维持 tRNA 高级结构中起重要作用。真核生物的起始 tRNA 第 54 ~ 57 位碱基是 A Ψ CG 或 AUCG，而不是通常的 T Ψ CG。氨基酸接受臂由 tRNA 分子的 5' 末端和 3' 末端构成，包含 7 个碱基对和 3' 末端的 4 个核苷酸单链区。单链区中最末端的保守序列 CCA (OH) 可结合氨基酸。反密码环由 7 ~ 9 个核苷酸组成，其中中间 3 个碱基构成反密码子 (anticodon)。

6. tRNA 的三级结构是倒 L 型（图 2-19b）。一端是 CCA 末端结合氨基酸部位，另一端为反密码环；DHU 环和 T Ψ C 环在 L 的拐角上。维持三级结构的力，除了与 DNA 双螺旋结构维持力相同的碱基堆积力和氢键外，还有碱基的非标准配对（如 AA、GG 或 AC 配对）及核糖 -2'- 羟基与其他基团形成的氢键。

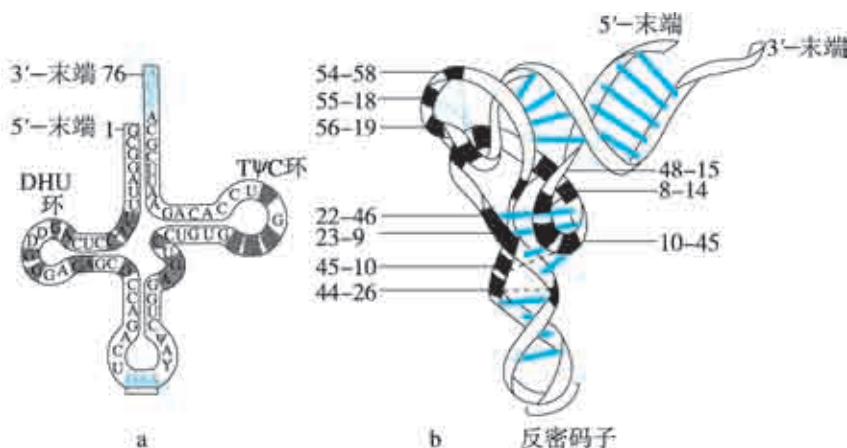


图 2-19 tRNA 的二级及三级结构

tRNA 分子某些部位的核苷酸序列非常保守，如 CCA (OH)、T Ψ C、二氢尿嘧啶以及反密码子两侧的核苷酸等。这些保守序列位于 tRNA 的二级结构中的单链区，它们参与 tRNA 立体结构的形成及与其他 RNA、蛋白质的相互作用。

(三) 核糖体 RNA

核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 是细胞内含量最丰富的 RNA，占细胞总 RNA 的 80% 以上。它们与核糖体蛋白质共同构成核糖体 (ribosome)，核糖体是蛋白质合成的场所。

各种原核细胞核糖体的性质及特点极为相似。大肠埃希菌核糖体的分子量约为 2700kDa，直径约为 20nm，沉降系数为 70S，由 50S 和 30S 两个大、小亚基组成。真核细胞的核糖体较原核细胞核糖体大得多。真核细胞核糖体的沉降系数为 80S，也是由大、小两个亚基构成。40S 小亚基含 18S rRNA 及 30 多种蛋白质，60S 大亚基含 3 种 rRNA (28S, 5.8S, 5S) 以及大约 50 种蛋白质。核糖体的这些 rRNA 以及蛋白质折叠成特定的结构，并具有许多短的双螺旋区域（图 2-20）。

在蛋白质生物合成中，各种 RNA 本身并无单独执行功能的本领，必须与蛋白质结合后才能发挥作用。核糖体的功能是在蛋白质合成中起装配机的作用。在此装配过程中，mRNA 或

tRNA 都必须与核糖体中相应的 rRNA 进行适当的结合, 氨基酸才能有序地鱼贯而入, 肽链合成才能启动和延伸。

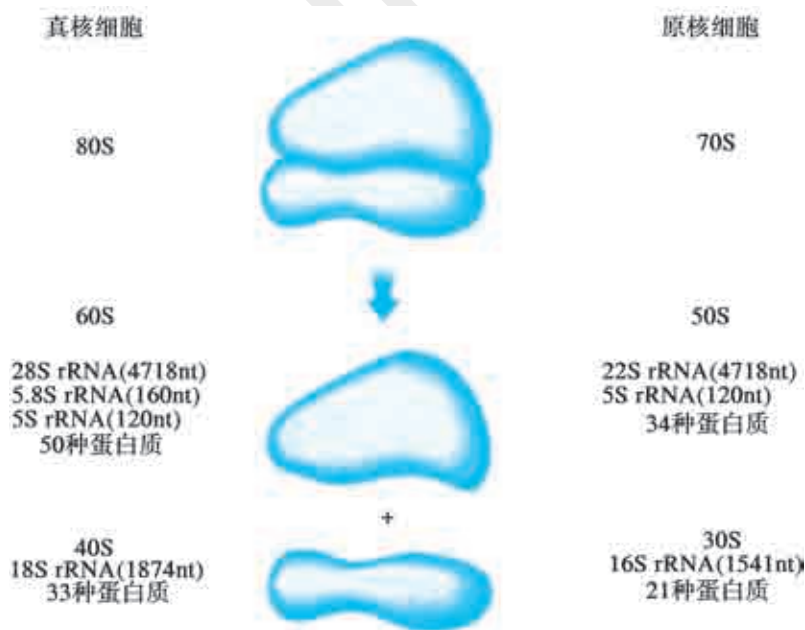


图 2-20 真核细胞和原核细胞核糖体的结构

(四) 细胞内其他 RNA

1. 具有催化活性的 RNA Thomas Cech 等在研究四膜虫 26S rRNA 的剪接成熟过程中发现, 在没有任何蛋白质 (酶) 存在的条件下, 26S rRNA 前体的 414 个碱基的内含子也可以被剪切掉而成为成熟的 26S rRNA。他们进而证实 rRNA 前体本身具有酶样的催化活性, 这种具有催化活性的 RNA 被命名为核酶 (ribozyme, 详见第 3 章)。

2. 其他非编码 RNA 在真核细胞中还存在着其他非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)。这是一类不编码蛋白质但具有重要生物学功能的 RNA 分子。按其长度可分为两类: 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 和短链 (小) 非编码 RNA (small non-coding RNA, sncRNA)。通常将大于 200 个核苷酸的非编码 RNA 称为 lncRNA, 而短链非编码 RNA 一般小于 200 个核苷酸。

lncRNA 位于细胞核或细胞质内, 在结构上类似于 mRNA, 但序列中不存在可读框, 多数由 RNA 聚合酶 II 转录并经可变剪切形成, 通常被多聚腺苷酸化。与编码 RNA 相比, lncRNAs 序列保守性差, 但其分子内部含有一些相对高度保守的区段, 这些相对保守的结构区段发挥其广泛的生物学功能。lncRNA 可在多级水平即转录起始、转录后及表观遗传水平调控基因的表达, 参与细胞分化、器官形成、胚胎发育、物质代谢等重要生命活动以及某些疾病 (如肿瘤、神经系统疾病等) 的发生和发展过程。

细胞核内和胞质内有一组小分子 RNA, 称为核小 RNA (small nuclear RNA, snRNA) 和质内小 RNA (small cytoplasmic RNA, scRNA)。这些 RNA 通常与多种特异的蛋白质结合在一起, 形成核小核蛋白颗粒 (small nuclear ribonucleoprotein particle, snRNP) 和质内小核蛋白颗粒 (small cytoplasmic ribonucleoprotein particle, scRNP)。不同的真核生物中同源 snRNA 的序列高度保守。由于序列中尿嘧啶含量较高, 因此又用 U 命名, 称为 U-RNA。U1、U2、U4、U5 和 U6 位于核质内, 以 snRNP 的形式和其他蛋白质因子一起参与 mRNA 的剪接、加工。U16 和 U24 主要存在于核仁, 又称为核仁小 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA), 仅

70 ~ 100 个核苷酸，与 rRNA 前体的甲基化修饰有关。scRNA 是一组功能比较复杂的小分子 RNA，存在于细胞质中，参与形成信号识别颗粒，引导含有信号肽的蛋白质进入内质网定位合成。

还有一些非编码 RNA 被称为微小 RNA (microRNA, miRNA) 和小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)。miRNA 是一大家族小分子非编码单链 RNA，长度为 20 ~ 25 个碱基，由一段具有发夹结构、长度为 70 ~ 90 个碱基的单链 miRNA 前体 (pre-miRNA) 经 Dicer 酶剪切后形成。成熟的 miRNA 与其他蛋白质一起组成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC)，通过与其靶 mRNA 分子的 3' 末端非翻译区 (3'UTR) 互补匹配，抑制该 mRNA 分子的翻译。在 miRNA 中有一类与肿瘤相关的 miRNA 称为肿瘤微小 RNA (oncomir, oncomiR)，长度约 22 个核苷酸。oncomir 可以靶向作用特异的 mRNA，抑制其翻译蛋白质的过程。不同类型的 oncomirs 已经在多种人类癌症中被发现。一些 oncomirs 的基因是癌基因，该基因过表达可导致肿瘤的形成；另一些 oncomirs 的基因为抑癌基因，其表达下调时，促进肿瘤的生长。siRNA 是细胞内一类双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA)，在特定情况下通过一定的酶切机制，转变为具有特定长度 (21 ~ 23 个碱基) 和特定序列的小片段 RNA。双链 siRNA 参与 RISC 的组成，与特异的靶 mRNA 完全互补结合，导致靶 mRNA 降解，阻断翻译过程。这种由 siRNA 介导的基因表达抑制作用被称为 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi)。

miRNA 与 siRNA 具有许多相同之处，但也有明显的区别。这些异同概括于表 2-2。

表2-2 miRNA与siRNA的比较

特点	miRNA	siRNA
前体	内源性发卡环结构的转录产物	内源或外源双链 RNA 诱导产生
结构	22nt 左右单链分子	22nt 左右双链分子
加工酶	Dicer 或类似 Dicer 的酶复合体	Dicer
功能	抑制翻译	降解 mRNA
作用位点	mRNA 的 3'-UTR	mRNA 的任何部位
靶 mRNA 结合	不需完全互补	需完全互补
生物学效应	调控分化发育过程	抑制转座子活性和病毒感染

第四节 核酸的理化性质

核酸作为生物大分子具有一些特殊的理化性质，这些理化性质被广泛用于基础研究和疾病诊断。

一、核酸的一般理化性质

核酸为多元酸，具有较强的酸性，在酸性条件下比较稳定，而在碱性条件下容易降解。核酸属于生物大分子，已知最小的核酸分子如 tRNA，其分子量也在 25kDa 以上。线性高分子 DNA 的黏度极大，在机械力的作用下容易发生断裂。因此在提取完整的基因组 DNA 时，具有一定的难度，一是提取的 DNA 不容易完全溶解，二是 DNA 容易发生断裂。而 RNA 分子远小于 DNA，黏度也比较小。但由于 RNA 酶的广泛存在，在提取时 RNA 极易发生降解。

二、紫外吸收

核酸所含的嘌呤和嘧啶分子中都有共轭双键,使核酸分子在 250 ~ 280nm 紫外波段有光吸收,其最大吸收峰在 260nm 处(图 2-21)。这个性质可用于核酸的定量测定。核酸在 260nm 的吸光度(absorbance)表示为 A_{260} 值。当 $A_{260}=1.0$ 时,溶液中所含的核酸量对单链 DNA、双链 DNA、寡核苷酸以及 RNA 均有所不同。例如, $A_{260}=1.0$ 相当于 50 μg 双链 DNA、40 μg RNA、33 μg 单链 DNA。根据 260nm 和 280nm 吸光度的比值 (A_{260}/A_{280}),可以判断核酸样品的纯度,纯 DNA 样品 A_{260}/A_{280} 应为 1.8,而纯 RNA 样品 A_{260}/A_{280} 应为 2.0。

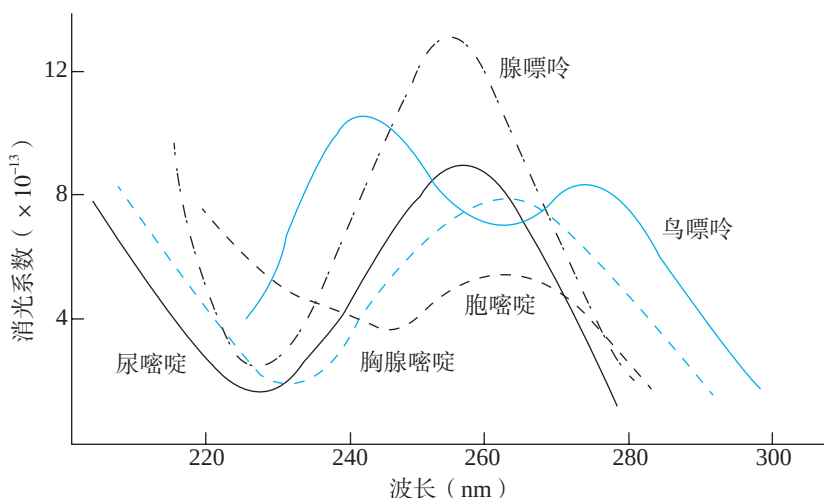


图 2-21 各种碱基的紫外吸收光谱

三、变性、复性和杂交

DNA 双链碱基之间形成氢键,相互配对而连接在一起。氢键是一种弱键,能量较低,容易受到破坏而使 DNA 双链分开。氢键的形成是自由能降低的过程,可以自发形成。局部分开的碱基对又可以重新形成氢键,使其恢复双螺旋结构。这使得 DNA 在生理条件下能够迅速分开和再形成,从而保证 DNA 生物学功能的行使。

(一) 变性

DNA 双螺旋的稳定靠碱基堆积力和氢键的相互作用共同维持。如果因为某种因素破坏了这两种非共价键,导致 DNA 两条链完全解离(图 2-22),称为变性(denaturation)。导致变性的因素有温度过高、盐浓度过低及酸或碱过强等。DNA 变性是二级结构的破坏、双螺旋解体的过程,碱基对之间的氢键断开,碱基堆积力遭到破坏,但不伴随共价键的断裂,核苷酸序列没有发生改变,这有别于 DNA 一级结构破坏引起的 DNA 降解过程。

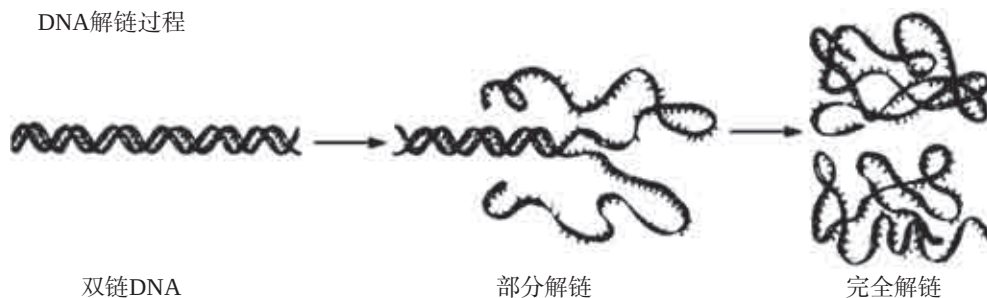


图 2-22 DNA 解链过程

DNA 变性常伴随一些物理性质的改变, 如黏度降低, 浮力、密度增加, 尤其重要的是光密度的改变。DNA 由双螺旋变为单链的过程中, 有更多的共轭双键得以暴露, 使得 DNA 在 260nm 处的吸光度增加, 这种现象称为增色效应 (hyperchromic effect) (图 2-23)。增色效应是检测 DNA 变性的一个最常用的指标。

加热是实验室使 DNA 变性的常用方法之一, DNA 的变性从开始解链到完全解链, 是在一个相当狭窄的温度范围内完成的。在解链过程中, 260nm 吸光度的变化达到最大变化值的一半时所对应的温度称为 DNA 的解链温度, 或称溶解温度 (melting temperature), 用 T_m 表示 (图 2-24)。当温度达到溶解温度时, DNA 分子内 50% 的双螺旋结构被破坏。 T_m 值与 DNA 的碱基组成和变性条件有关。DNA 分子的 GC 含量越高, T_m 值也越大。 T_m 值还与 DNA 分子的长度有关, DNA 分子越长, T_m 值越大。此外, 溶液离子浓度增高也可以使 T_m 值增大。

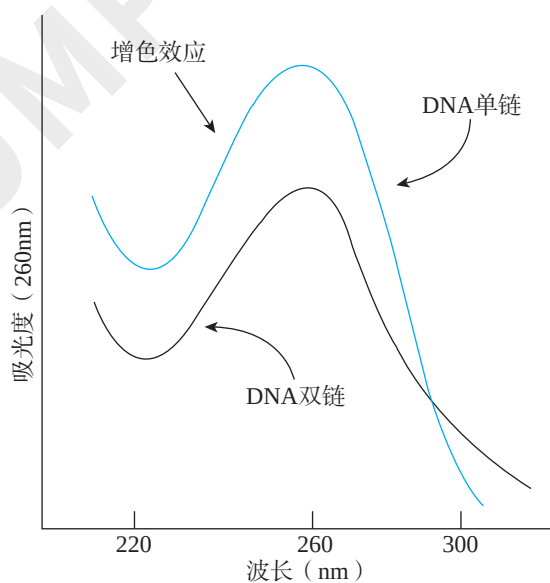


图 2-23 增色效应

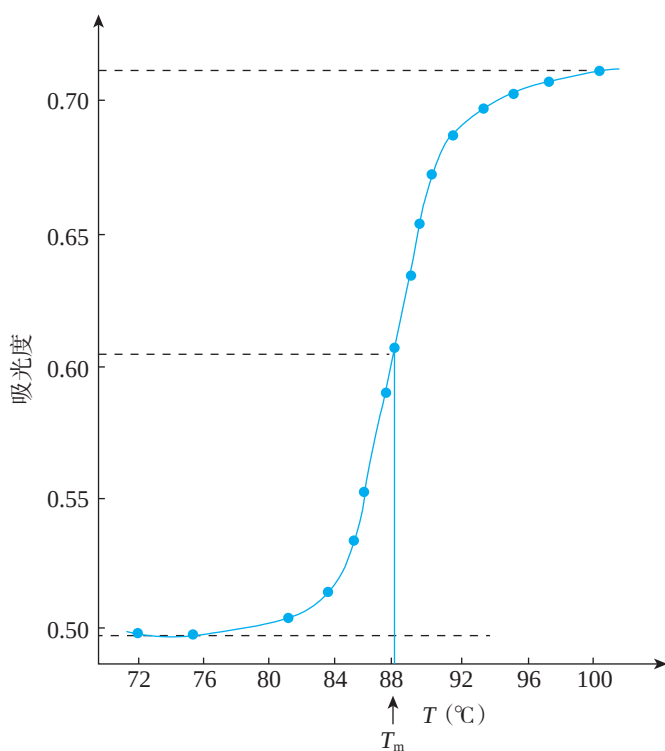


图 2-24 核酸的解链曲线

(二) 复性

DNA 的变性是一个可逆过程, 在适宜条件下, 两条解离的 DNA 互补链再次互补结合形成双螺旋, 这个过程称为复性 (renaturation)。复性导致 A_{260} 吸光度减小, 这一现象称为减色效应 (hypochromic effect)。热变性的 DNA 经过缓慢降温后可复性, 这一过程称为退火 (annealing)。复性过程的发生主要与温度、盐浓度以及两条链之间碱基互补的程度有关。降

温过快,来不及复性,形成无规线团,因此,将热变性的 DNA 迅速降温到 4°C 以下, DNA 几乎不能发生复性,这一特性被用来保持 DNA 的变性状态。DNA 最适的复性温度一般比 T_m 低 $20 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 。复性时互补链之间的碱基互相配对,这个过程可以分为两个阶段。首先,溶液中的单链 DNA 碰撞,如果它们之间的序列有互补关系,两条链经 GC、AT 配对,产生短的双螺旋区,然后碱基配对区沿着 DNA 分子延伸形成双链 DNA 分子。DNA 复性后,由变性引起的性质改变也得以恢复。

(三) 核酸杂交

复性作用表明变性分开的两个互补序列之间的反应。复性的分子基础是碱基配对。因此,不同来源的核酸变性后,混合在一起,只要这些核酸分子含有可以形成碱基互补配对的序列,就可形成杂化双链 (heteroduplex), 这个过程称为核酸杂交 (nucleic acid hybridization) (图 2-25)。不同来源的 DNA 可以杂交, DNA 与 RNA 以及 RNA 之间也可以杂交。杂交的一方是待测的 DNA 或 RNA, 另一方是检测用的已知序列的核酸片段, 称为探针。探针通常用放射性核素或非放射性核素标记物进行标记, 然后通过杂交反应就可以确定待测核酸是否含有与之相同的序列。杂交反应可以在液相中进行, 即待测样品和探针都在溶液中 (称为液相杂交); 也可以是一方固定于固相支持物上, 另一方在溶液中 (称为固相杂交)。滤膜杂交是固相杂交的一种, 是将待测核酸分子结合到不同的滤膜上, 然后同存在于液相中的标记探针进行杂交。待测核酸样品可以直接点在滤膜上 (称为斑点杂交); 也可以先将核酸样品经琼脂糖凝胶电泳分离, 再通过印迹技术将核酸从凝胶中按原来的位置和顺序转移到滤膜上。这样可以比较准确地保持待测核酸片段在电泳图谱中的位置, 同时又可以进行分子量测定。

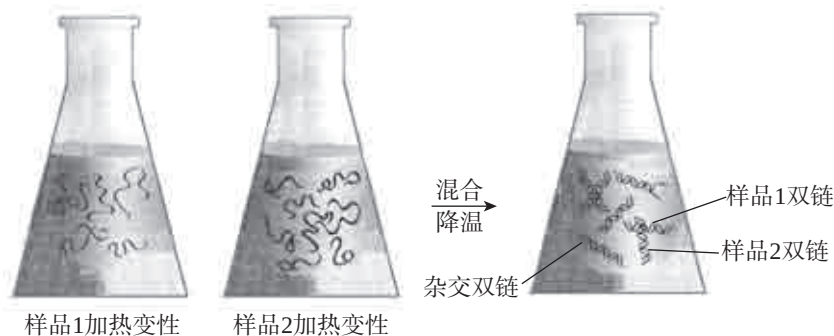


图 2-25 核酸分子杂交

小 结

核酸是一类由核苷酸聚合而成的大分子化合物,是遗传信息的携带者。根据组成核酸的核苷酸中戊糖的不同类型,可将核酸分为脱氧核糖核酸 (DNA) 和核糖核酸 (RNA) 两大类。

核苷酸由碱基、戊糖和磷酸三部分组成。碱基又分为嘌呤和嘧啶两大类。DNA 分子中一般含有 G、C、T、A 四种碱基,而 RNA 分子中含有 G、C、U、A 四种碱基。核苷酸之间以 $3'$ 、 $5'$ -磷酸二酯键相连。

双螺旋结构是 DNA 的二级结构。双螺旋的两条链方向相反,其骨架由戊糖和磷酸基构成。两条链之间的碱基互补配对,是遗传信息可靠传递、DNA 半保留复制的基础。

RNA 有核糖体 RNA、信使 RNA、转运 RNA、核内不均一 RNA、小分子 RNA 等多种类型,它们均与遗传信息的表达有关。rRNA 是蛋白质合成场所——核糖体的组成部

分；mRNA 作为蛋白质合成的模板，决定合成的蛋白质的氨基酸序列；tRNA 识别遗传密码子，将正确的氨基酸运送到核糖体上；核内不均一 RNA 是 mRNA 的前体，含有内含子；其他非编码 RNA 则具有种类、结构和功能的多样性，是基因表达调控中必不可少的分子。

DNA 在某些条件下可以发生双螺旋结构的破坏，两条链解开，即发生变性。50% 的 DNA 双链解离时的温度称为 DNA 的解链温度 (T_m)。在适当的条件下，两条 DNA 互补单链可重新形成 DNA 双链，称为复性。不同来源的变性核酸一起复性，只要满足碱基配对关系，就可形成 DNA-DNA、RNA-RNA 或 DNA-RNA 的杂化双链，即核酸杂交。

思考题

1. 比较 RNA 和 DNA 在结构上的异同点。
2. 简述 DNA 双螺旋结构模式的要点及其与 DNA 生物学功能的关系。
3. 简述 RNA 的种类及其生物学作用。
4. 简述 tRNA 分子结构的特点。
5. 比较 hnRNA 与 mRNA 在结构上的异同点。
6. 小分子非编码 RNA 包括哪些？
7. 什么是解链温度？影响解链温度的因素有哪些？
8. 简述核酸杂交的基本原理。

(周晓慧)

第一节 概述

生物体内的新陈代谢是由一系列复杂而有序的化学反应完成的，生命存在的基本条件之一就是能够有选择地、有效地进行化学反应。这些化学反应在体外进行时需要高温、高压、强酸、强碱等剧烈的因素；而在生物体内温和的环境下，几乎所有的反应都需要催化剂的作用，这些催化剂被称为生物催化剂。生物体内催化各种代谢反应最主要的生物催化剂是酶(enzyme)。

酶的研究历史已有 150 多年。随着近些年生产实践和科学研究的发展，发现了一些新的生物催化剂，如核酶(ribozyme)和抗体酶(abzyme)等，人工合成的生物催化剂(如模拟酶和人工酶等)也相继问世，极大地丰富了原有生物催化剂的概念。

传统意义上的天然酶仍是机体内物质代谢最重要的生物催化剂，生命活动离不开酶。酶的存在及其活性的调节，是生物体能够进行物质代谢和生命活动的必要条件，也是许多疾病治疗的基础。

一、酶的概念

一般意义上的酶是指由活细胞产生，对其特异底物具有高度催化效率的蛋白质。通常将酶所催化的化学反应称为酶促反应(enzymatic reaction)。在酶促反应中，被酶催化发生化学变化的物质称为底物(substrate)，反应后生成的物质称为产物(product)。

二、酶的存在形式

生物体内酶以多种形式发挥作用，包括单体酶、寡聚酶、多酶复合物以及多功能酶等。有些酶只由一条多肽链组成，这类酶称为单体酶(monomeric enzyme)，如核糖核酸酶、溶菌酶等。而有些酶是由多个相同或不同的亚基组成，称为寡聚酶(oligomeric enzyme)，如蛋白激酶 A、乳酸脱氢酶等。生物体代谢途径是由许多酶连续催化完成的，这些催化不同化学反应，但功能相关、彼此嵌合在一起的酶，称为多酶复合物(multienzyme complex)或多酶体系(multienzyme system)。例如催化丙酮酸脱氢脱羧反应的丙酮酸脱氢酶复合物就是由 3 种酶及 5 种辅酶组成的多酶复合物。组成多酶复合物的酶往往是由不同基因编码而来。此外，有些酶在进化过程中由于基因融合，多种催化功能相关的酶融合成一条多肽链，这类酶称为多功能酶(multifunctional enzyme)，一个多功能酶可以有多个酶的活性中心，分别催化不同的化学反应，增大反应效率。如哺乳动物参与脂肪酸合成代谢的脂肪酸合酶，即是 7 种具有不同催化功能的酶融合在一条多肽链中形成的多功能酶。

第二节 酶的分子结构

一、酶的分子组成

化学本质是蛋白质的天然酶，根据其分子组成可分为单纯酶和结合酶两大类。

(一) 单纯酶

单纯酶 (simple enzyme) 是指分子组成中仅含有蛋白质的酶，如脲酶、核糖核酸酶、一些消化酶和淀粉酶等。该类酶仅由氨基酸按一定排列顺序组成，没有非蛋白质成分。

(二) 结合酶

结合酶 (conjugated enzyme) 是指除了蛋白质部分外，还含有非蛋白质部分的酶。其中，蛋白质部分称为酶蛋白 (apoenzyme)，非蛋白质部分称为辅因子 (cofactor)，酶蛋白与辅因子结合后所形成的复合物称为全酶 (holoenzyme)。结合酶在催化化学反应时，只有全酶具有催化作用，酶蛋白和辅因子各自单独存在时，均无催化活性。酶蛋白的主要功能是决定酶促反应的特异性及其催化机制，多数辅因子的主要功能是决定反应的性质与类型。

结合酶的辅因子被称为辅酶 (coenzyme) 或辅基 (prosthetic group)，主要是一些小分子有机化合物和金属离子等，以金属离子最为常见。辅酶结构中常含有某种 B 族维生素的衍生物或卟啉物质等小分子有机化合物，在酶促反应中起着传递某些化学基团、电子或原子的作用。虽然体内结合酶很广泛，但辅酶的种类却有限，通常一种辅酶可与多种不同的酶蛋白结合，形成多种特异性的酶，以催化不同的化学反应。例如，B 族维生素尼克酰胺所构成的辅酶 I (NAD^+ ，尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸) 可作为 L-乳酸脱氢酶、醇脱氢酶、L-谷氨酸脱氢酶等多种脱氢酶的辅酶，其结合不同的酶蛋白组分，从而形成发挥不同催化作用的特异性结合酶。有些辅酶或金属离子与酶蛋白牢固结合，甚至与酶蛋白共价结合，被称为辅基。辅基不能用透析等简单的物理方法除去，在反应中不能离开酶蛋白，如 FAD、FMN 及生物素等。小分子有机化合物组成的辅酶的种类及作用见表 3-1。

表3-1 小分子有机化合物组成的辅酶的种类及作用

辅酶或辅基	缩写名	转移基团	所含维生素成分
焦磷酸硫胺素	TPP	羰基	维生素 B ₁
黄素腺嘌呤二核苷酸	FAD	氢原子	维生素 B ₂
黄素单核苷酸	FMN	氢原子	维生素 B ₂
辅酶 I / 辅酶 II	$\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$	H^+ 、电子	尼克酰胺
辅酶 A	CoASH	酰基	泛酸
磷酸吡哆醛		氨基	维生素 B ₆
辅酶 B ₁₂		氢原子、烷基	维生素 B ₁₂
生物素		CO_2	生物素
四氢叶酸	FH_4	一碳单位	叶酸
硫辛酸		酰基	硫辛酸
辅酶 Q	CoQ	氢原子	辅酶 Q

以金属离子为辅因子的酶有两类。一类是金属离子与酶结合紧密，在纯化过程中金属离子一直与酶蛋白结合，多称为金属酶 (metalloenzyme)，如羧基肽酶含 Zn^{2+} 、固氮酶含 Mo^{3+} 等。

另一类为金属活化酶 (metal activated enzyme), 需加入金属离子方具有酶活性, 金属离子与酶蛋白结合不牢固, 纯化过程中易丢失, 如各种激酶催化反应必须有 Mg^{2+} 的存在等。金属离子大多参与构成结合酶的辅基, 如 Zn^{2+} 为糜蛋白酶的辅基、 K^{+} 为丙酮酸激酶的辅基等。它们在酶促反应中所起的作用有如下几方面: ①维持酶分子的活性构象——金属离子与酶蛋白结合成活性构象的复合物后, 才具有催化作用。如谷氨酰胺合成酶需二价的金属离子方能有稳定的活性构象。②传递电子——酶催化的氧化还原反应中, 金属离子通过它本身的电子得失而传递电子, 如各种细胞色素中的 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 与 $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ 。③在酶与底物之间以及底物与底物之间起桥梁作用——金属离子带有较多正电荷, 能同时与两个或多个配基结合, 使底物反应趋于定向; 另外, 金属离子也是将酶与底物连接起来的中介离子, 如各种激酶依赖 Mg^{2+} 与 ATP 结合, 再发挥作用。④利用离子的电荷影响酶的活性——中和电荷, 降低反应中静电排斥作用等。

二、酶的活性中心

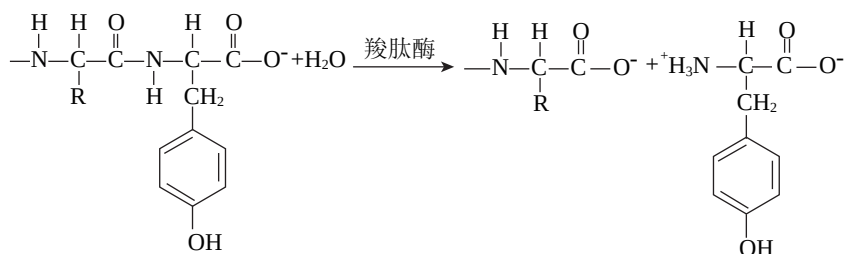
(一) 必需基团

酶是具有一定空间构象的大分子物质, 虽然酶分子中有大量不同氨基酸残基的化学基团, 但其中只有一小部分基团与酶的催化活性直接相关。将酶分子中与酶活性密切相关的化学基团称为必需基团 (essential group)。常见的必需基团有组氨酸残基的咪唑基、丝氨酸残基的羟基、半胱氨酸残基的巯基及谷氨酸残基的 γ - 羧基等。

(二) 酶的活性中心

某些必需基团在一级结构上可能相隔甚远, 但在空间结构上十分接近, 构成特定的具有三维结构的区域, 能够特异地结合底物并催化底物转变为产物, 这一区域称为酶的活性中心 (active center) 或活性部位 (active site)。必需基团有的位于活性中心内, 有的位于活性中心外。活性中心内的必需基团分为结合基团 (binding group) 和催化基团 (catalytic group)。其中结合基团的作用是识别底物并与之专一性结合, 形成酶 - 底物复合物, 决定酶的专一性; 催化基团负责催化底物键的断裂和形成新键, 使底物发生化学反应转变为产物。在结合酶中, 辅基与辅酶也常参与活性中心的组成。

例如, 羧肽酶 (carboxypeptidase, CP) 是一类肽链端水解酶, 作用于肽链的游离羧基末端, 释放单个氨基酸, 酶活性与锌离子有关。生物体内羧肽酶可分为 A、B、C 及 Y 四类, 其中羧肽酶 A 水解由芳香族或中性脂肪族氨基酸形成的羧基末端, 如酪氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸等。其反应式如下:



如图 3-1 所示, 羧肽酶 A 活性中心主要是由 Arg^{145} 、 Tyr^{248} 以及 Zn^{2+} 、 His^{196} 、 Glu^{72} 、 His^{69} 所组成的特定狭小的空间结构, 结合底物并催化底物释放游离的羧基末端氨基酸。当底物多肽链进入羧肽酶 A 活性中心部位时, Arg^{145} 的侧链移动, 与带负电的羧基端生成盐键, 底物的疏水残基落入活性中心疏水口袋中。在羧肽酶 A 的催化部位, Zn^{2+} 与 His^{196} 、 Glu^{72} 及 His^{69} 结合, 再逐步完成肽链羧基末端氨基酸的水解。

酶活性中心对维持酶的活性至关重要, 当酶蛋白变性时, 活性中心被破坏, 酶的催化活性也因此而丧失。

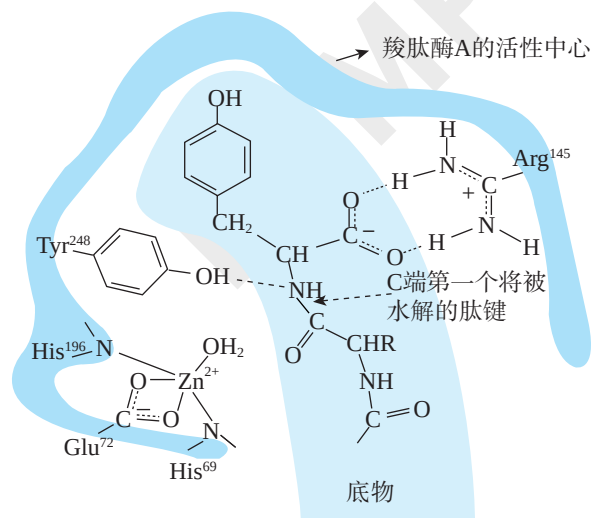


图 3-1 羧肽酶 A 的活性中心

酶活性中心以外的必需基团虽然不直接参与催化作用，但却为维持酶活性中心的空间构象所必需。酶分子中除活性中心以外的其他结构也有重要的作用，它不仅是维系活性中心三维结构的骨架，有的还具有调节区，使酶活性可受某些因子的正、负调控。

三、酶原与酶原的激活

(一) 酶原及酶原激活的概念

多数酶合成时即具活性，但有少部分酶在细胞内初合成时并无活性，这类无活性的酶的前体，称为酶原（proenzyme，亦称 zymogen）。当酶原到达特定部位和在特定环境时，在蛋白酶等的作用下，经过一定的加工剪切，肽链重新盘绕折叠，蛋白质空间构象改变，形成或暴露酶的活性中心。这种由无活性的酶前体转变成有活性的酶的过程称为酶原激活。例如，胰腺 α 细胞合成的胰凝乳蛋白酶原并无蛋白水解酶的活性，但当它被分泌进入小肠后，在胰蛋白酶等因素的作用下， Arg^{15} 与 Ile^{16} 之间的肽键断裂，生成具有活性的 π -胰凝乳蛋白酶，但性质极不稳定。通过进一步自身激活，中间切除两段二肽（14 ~ 15 及 147 ~ 148），形成三条肽段（1 ~ 13，16 ~ 146 及 149 ~ 245），重新折叠盘绕成有活性的 α -胰凝乳蛋白酶，这是因为将催化基团 Ser^{195} 、 His^{57} 及 Asp^{102} 等集中靠拢，形成了活性中心（图 3-2）。

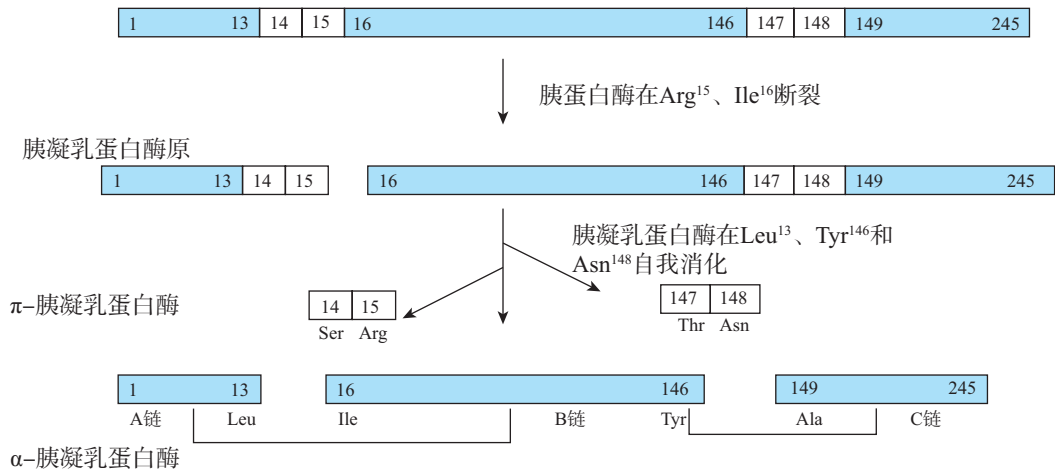


图 3-2 胰凝乳蛋白酶原的激活过程

(二) 酶原激活的意义

酶原激活具有重要的生理意义，一方面保证组织细胞本身的蛋白质不致因酶的催化而破坏，另一方面保证合成的酶在特定部位和环境中发挥其生理作用。例如胰腺合成胰凝乳蛋白酶是为了帮助肠中食物蛋白质的消化水解。设想在胰细胞中胰凝乳蛋白酶刚合成时就具有活性，则将使胰腺本身的组织蛋白均遭破坏。急性胰腺炎就是因为存在于胰腺中的胰凝乳蛋白酶原及胰蛋白酶原等被异常地激活所致。又如，正常生理情况下，血管内虽有凝血酶原，但不被激活，不发生血液凝固，可保证血流畅通。一旦血管破裂，血管内皮损伤暴露的胶原纤维所含的负电荷，活化了凝血因子XII，进而将凝血酶原激活成凝血酶，后者催化纤维蛋白原转变成纤维蛋白，产生血凝块以防出血不止。

四、同工酶

(一) 同工酶的概念

在体内并非所有具有相同催化作用的酶都是同一种蛋白质。在不同器官中，甚至在同一细胞内，也常常含有几种分子结构不同、理化性质迥异但却可催化相同化学反应的酶。将这类催化相同化学反应，但酶蛋白的分子结构、理化性质和免疫学特性各不相同的一组酶称为同工酶(isozyme)。

同工酶存在于同一种属的不同个体、同一个体的不同组织、同一细胞的不同亚细胞结构或细胞的不同发育阶段。同工酶的存在使不同组织和生命发育的不同阶段同工酶基因表达得到精细调节，合成亚基的种类和数量也不同，以形成不同的同工酶谱。

例如，乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)主要参与糖代谢，催化乳酸生成丙酮酸，或可逆性催化丙酮酸生成乳酸。LDH同工酶是由4个亚基组成的蛋白质。亚基有两种基本类型。一种主要分布在心肌中，称H亚基；另一种则分布于骨骼肌及肝中，称M亚基。存在于心肌中的LDH主要由4个H亚基构成LDH₁，LDH₁对乳酸的亲合力大，适合于有氧环境，可以从血液中获取乳酸作为心肌的能源；存在于骨骼肌及肝中者则主要由4个M亚基构成LDH₅(M₄)，LDH₅对丙酮酸的亲合力大，肌肉可以在无氧条件下还原丙酮酸，将其生成乳酸释放入血。其他不同的组织中所存在的LDH，其H亚基及M亚基的组成比例各有不同，可组成LDH₁(H₄)、LDH₂(H₃M)、LDH₃(H₂M₂)、LDH₄(HM₃)及LDH₅(M₄)五种LDH同工酶(图3-3)。这一次序也是它们向电泳正极泳动速度递减的顺序，可借以鉴别这五种同工酶。这五种同工酶在各器官中的分布和含量不同，各组织器官都有其各自特定的分布酶谱(表3-2)。

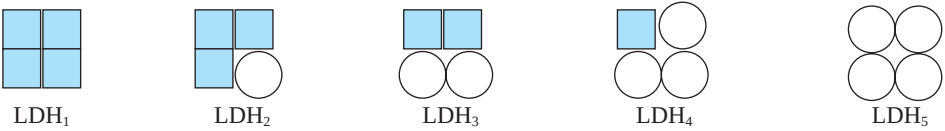


图 3-3 乳酸脱氢酶的同工酶组成

表3-2 人体各个组织器官的LDH同工酶谱(活性%)

LDH同工酶	血清	骨骼肌	心肌	肝	肺
LDH ₁ (H ₄)	27.1	0	73	2	14
LDH ₂ (H ₃ M)	34.7	0	24	4	34
LDH ₃ (H ₂ M ₂)	20.9	5	3	11	35
LDH ₄ (HM ₃)	11.7	16	0	27	5
LDH ₅ (M ₄)	5.7	79	0	56	12

（二）同工酶测定的临床意义

当组织细胞病变时，该组织细胞特异的同工酶可释放入血。血清同工酶活性和同工酶谱分析有助于对疾病的诊断。肌酸激酶（creatine kinase, CK）是由M型和B型亚基组成的二聚体酶，有三种同工酶，为CK₁、CK₂和CK₃，分别主要存在于脑、心肌和骨骼肌中。心肌梗死3~6h后，血清中CK₂活性升高，24h达到高峰，3天才恢复至正常水平。所以，血清肌酸激酶同工酶谱分析是早期诊断心肌梗死的可靠生化指标。心肌也富含LDH₁，当急性心肌梗死或心肌细胞损伤24h后，才发现血清LDH₁活性增高，所以其诊断敏感性不如CK₂，但其酶活性增高在血清中维持时间较长。另外心肌梗死12h后，血清天冬氨酸转氨酶（aspartate transaminase, AST）活性也出现明显增高（图3-4），此酶将在第7章详细介绍。

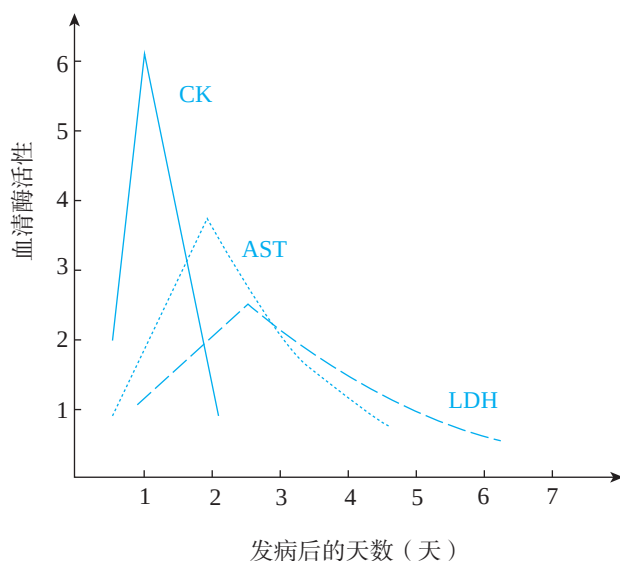


图3-4 心肌梗死后血清中肌酸激酶、天冬氨酸转氨酶以及乳酸脱氢酶活性变化

第三节 酶促反应的特点

酶作为一类生物催化剂，既遵守一般催化剂的共同规律，又有其独特的特点。

一、酶与一般催化剂的共性

酶只能催化热力学上允许进行的反应，在反应前后酶的质和量也不会发生变化。酶的作用只能使反应到达平衡点的速度加快，即加速反应进程，而不能改变反应的平衡点。这些都是酶与一般催化剂的相同之处。

二、酶的催化特点

（一）高效催化性

酶可将反应速率提高 $10^5 \sim 10^{17}$ 倍。碳酸酐酶可催化 H_2CO_3 分解生成 H_2O 和 CO_2 ，其加速反应的数量级可达 10^7 （表3-3）。一般来说，酶的催化效率可以用转换数（turnover number）来表示，酶的转换数是指酶被底物饱和条件下，每个酶分子每秒钟可催化底物转变为产物的分子数。碳酸酐酶的转化数可以达到 $4 \times 10^5/\text{s}$ 。酶之所以具有高效催化性，是通过降低反应所需的活化能（activation energy）实现的。

任何热力学允许的化学反应均有自由能的变化。如图 3-5 所示, 在反应体系中, 底物处于基态, 所含自由能平均水平较低, 很难发生反应。只有将底物转化为高能的中间产物, 即过渡态 (transition state) 时, 才有可能发生化学反应, 而过渡态中间产物比基态底物高出的能量即为活化能。酶能够比一般催化剂更有效地降低反应的活化能。当酶活性中心以次级键 (氢键、离子键及疏水键) 与底物结合时, 酶与底物结合形成了过渡态中间产物酶-底物复合物 (enzyme-substrate complex, ES), 释放出能量 (即结合能), 每形成 1 个次级键, 可以释放 4 ~ 30 kJ/mol 的能量, 该能量可以抵消部分活化能, 这是酶促反应降低活化能的主要能量来源。通过降低活化能, 更多的底物分子可以进入过渡态, 从而加快反应速率。

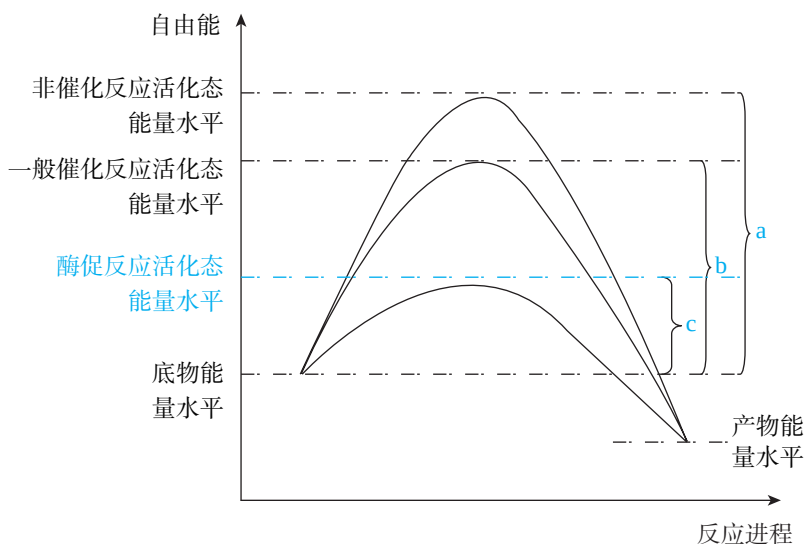


图 3-5 酶促反应、一般催化反应与非催化反应的活化能

表 3-3 酶增大反应速度的数量级

酶	反应速度增大数量级
碳酸酐酶	10^7
磷酸葡萄糖变位酶	10^{12}
琥珀酰辅酶 A 转移酶	10^{13}
脲酶	10^{14}

(二) 高度特异性

与一般催化剂不同, 酶对其所催化的底物具有严格的选择性。一种酶只作用于一种或一类化合物, 进行特定的化学反应, 生成特定的产物, 这种现象称为酶的特异性 (specificity)。根据酶对底物结构要求的严格程度不同, 酶的特异性可大致分为以下三种类型:

1. 绝对特异性 有的酶只能作用于特定结构的底物, 进行一种专一的反应, 生成一种特定结构的产物, 称之为绝对特异性 (absolute specificity)。如脲酶只能催化尿素水解为 CO_2 和 NH_3 。

2. 相对特异性 相对特异性 (relative specificity) 是指某种酶可作用于—类化合物或一种化学键, 如磷酸酶能催化一般的磷酸酯的酯键水解, 无论是甘油磷酸酯、葡萄糖磷酸酯, 还是酚磷酸酯, 其水解速度当然会有所差别; 蔗糖酶对蔗糖和棉子糖中的同一种糖苷键都具有水解作用。

3. 立体异构特异性 立体异构特异性 (stereospecificity) 是指酶对底物的立体异构体具有

严格的选择性，只能与立体异构体中的一种类型发生反应。例如，延胡索酸酶只能对反-丁烯二酸（延胡索酸）发挥作用生成苹果酸，对顺-丁烯二酸则无作用。所以，延胡索酸酶为具有立体异构特异性的酶。又如，体内代谢氨基酸的酶，绝大多数均只能作用于L-氨基酸，而不能作用于D-氨基酸。

（三）可调节性

酶的活性和含量受代谢物或激素的调节。例如，ATP可别构激活糖原合酶，而AMP可别构抑制糖原合酶，胰高血糖素可以抑制糖原合酶的活性。酶蛋白的合成可以被诱导或阻遏，从而影响体内酶的含量，例如糖皮质激素对磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的诱导作用、胆固醇对羟甲基戊二酰辅酶A的阻遏作用等。机体通过对酶活性和含量的调节来调控体内的代谢，进而适应内外环境的变化。

（四）不稳定性

酶蛋白在某些物理（如高温、紫外光）和化学因素（如强酸、强碱）的作用下极易发生变性而失去催化活性，故很不稳定。这与酶的温和的反应环境（常温、常压、pH接近中性）相适应。

第四节 酶促反应的机制

酶通过促进底物形成过渡态来提高反应的速率，但以何种方式实现其高效催化，迄今尚未完全阐明。对不同的酶，催化作用的机制是各不相同的，可能分别受一种或几种因素的影响。

一、诱导契合学说

研究发现，酶在与底物结合前，酶分子的构象与其所催化的底物结构并非完全吻合。与底物分子结合时，酶与底物的结构相互诱导、相互形变、相互适应，进而使酶活性中心与底物紧密结合，这就是诱导契合（induced-fit）学说（图3-6）。换句话说，酶分子的构象与底物的结构原来并不完全吻合，只有当底物与酶接近时，结构上才相互诱导适应，更紧密地多点结合，此时酶与底物均有形变。同时，酶在底物的诱导下，其活性中心进一步形成，并与底物受催化攻击的部位密切靠近，易于反应。这种诱导契合作用，还可使底物处于不稳定的过渡态，易受酶的催化攻击。

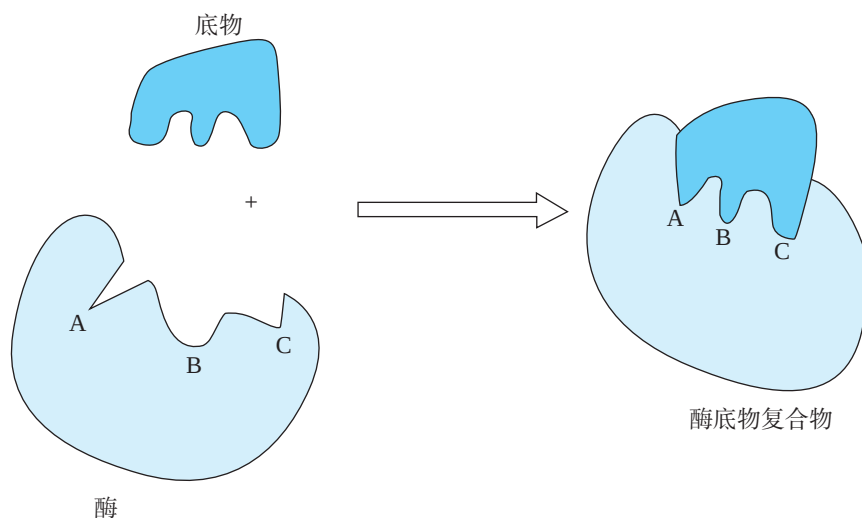


图3-6 酶与底物的诱导契合模型

在设计酶的抑制剂时，最有效的与酶有高度亲和力的抑制剂，莫过于过渡态类似物 (transition state analog)，这为药物设计，包括解毒剂的设计开辟了一个新的方向。

二、邻近效应及定向排列

在溶液中，通常底物之间碰撞到一起的机会较少，分子之间必须接触后才能进行反应，而进行反应又需要有一定的接触时间，常常反应还来不及进行，底物又匆匆分开了。但在酶的帮助下，底物可聚集到酶分子的表面，使底物的局部浓度得到极大提高。结合在酶表面上的底物分子有充裕的时间进行反应，这就是邻近效应 (approximation)。邻近效应实际上是将分子间的反应变成类似于分子内的反应，催化效率提高。底物与酶结合时，其受催化攻击的部位定向地对准酶的活性中心，使酶的活性中心易于诱导底物分子中的电子轨道按有利于反应的方式排列，这被称为定向排列 (orientation)。正确的定向排列在游离的反应物之间很难形成，而当反应体系由分子间反应变成分子内反应时，这种定向排列便可以形成，因此提高了催化效率。

三、表面效应

酶的活性中心疏水性氨基酸较丰富，常形成疏水性“口袋”。底物与酶的结合，消除了周围大量水分子对底物和酶的功能基团的干扰性吸引或排斥，阻碍了底物与水的结合，导致底物分子去溶剂化 (desolvation)，防止水化膜的形成，这种现象称为表面效应 (surface effect)。

四、多元催化作用

1. 一般酸碱催化作用 (general acid-base catalysis) 酶分子中含有多种功能基团，其解离常数不同，解离程度不一。同种功能基团在不同微环境下解离程度也会发生变化。酶活性中心上的基团有些是酸性基团 (质子供体)，有些是碱性基团 (质子受体)，它们参与质子的转移，进而提高反应速率。一般的催化剂进行催化反应时，通常只限于一种解离状态。

2. 亲核催化 (nucleophilic catalysis) 和亲电子催化 (electrophilic catalysis) 酶活性中心的某些基团如巯基酶的 Cys—OH、胆碱酯酶的 Ser—OH 等，均属于亲核基团，其释放出的电子在攻击过渡态底物上正电性的基团或原子时会形成瞬时共价键，此时底物被激活，更易转变为产物，这种催化作用称为亲核催化。在亲核催化过程中有瞬时共价键的形成，因此也同时表现出共价催化 (covalent catalysis)。亲电子催化即酶活性中心的亲电子基团与含电子的过渡态底物瞬时共价结合。但在酶分子中有效的亲电子基团缺乏，常需要辅因子发挥作用。

第五节 酶促反应的动力学

一切有关酶催化活性的研究，均以测定酶促反应的速率为依据。酶促反应的动力学就是研究酶促反应速率及其影响因素的科学。体外实验研究表明：很多因素，如底物浓度、酶浓度、pH、温度、激活剂及抑制剂等都会影响酶促反应速率。通常研究一种因素对酶促反应速率影响时，要保证其他影响因素是恒定的。

酶促反应动力学所研究的速率，通常是指反应开始时的速率，即初速率 (initial velocity)。

一、底物浓度对酶促反应速率的影响

(一) 酶促反应速率对底物浓度作图呈矩形双曲线

底物浓度是影响酶促反应速率最主要的因素。在其他影响因素不变的条件下，大多数酶的反应速率 (V) 对底物浓度 ([S]) 作图呈矩形双曲线 (图 3-7)。

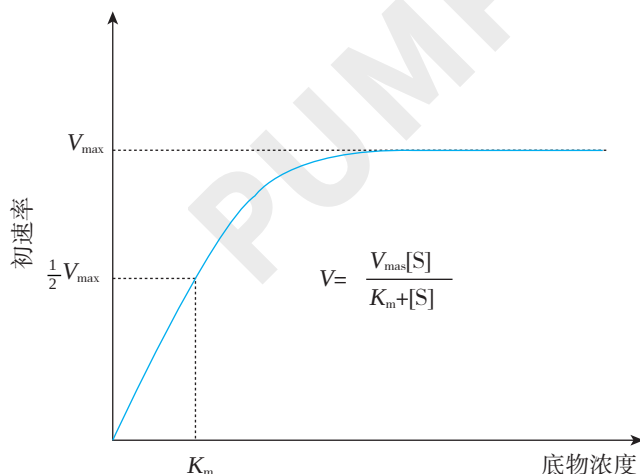
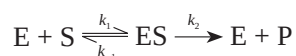


图 3-7 底物浓度对酶促反应速率的影响

如图所示, 当 $[S]$ 很低时, V 随 $[S]$ 的增大呈正比例增大, 呈现一级反应, 这是曲线的第一段; 随着 $[S]$ 的增大, V 增高的幅度趋缓, 呈混合级反应, 此即曲线的第二段; $[S]$ 增大到一定程度, V 不再随 $[S]$ 的增大而增大, 达到了最大值, 称为最大反应速率 (maximum velocity, V_{max}), 此时呈零级反应, 此为曲线的平坦段, 即第三段。

上述现象可以用中间产物学说来解释, 该学说由 Henri 和 Wurtz 在 1903 年提出。该学说认为: 当酶催化某一化学反应时, 酶首先和底物结合, 形成酶 - 底物复合物, 之后再转化为产物, 同时释放出酶。



式中 k_1 为 ES 生成的反应速率常数, k_{-1} 和 k_2 分别代表了 ES 分解为 $E + S$ 和 $E + P$ 的反应速率常数。

(二) 酶促反应速率对底物浓度的关系可用米氏方程表示

1913 年, L. Michaelis 和 M. Menten 根据中间产物学说推导出了一个方程式, 以此方程式作图所得到的曲线与通过实验测定所作出的图形完全相同, 进一步证明了中间产物学说的正确性。其推导过程如下:

假设在反应初速率的条件下, 反应产物 P 的浓度很低, 因此由 $E + P$ 逆向生成 ES 的过程可忽略不计, 故上述反应的速率为:

$$V = k_2 [ES]$$

鉴于反应过程中不断地有 ES 生成和分解, 通过实验测得在反应一段时间内, $[ES]$ 是保持不变的, 即 ES 生成和分解的速率相等, 该反应状态为稳态。当酶促反应趋于稳态时, ES 的生成速率 = ES 的分解速率。

$$ES \text{ 生成速率} = k_1 ([E] - [ES]) \cdot [S]$$

$$ES \text{ 分解速率} = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

$$\text{因此: } k_1 ([E] - [ES]) \cdot [S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

$$\text{进一步推导出: } \frac{([E] - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$\text{设 } K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$\text{则 } [E][S] - [ES][S] = K_m [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m + [S]}$$

$$\text{因 } V = k_2 [ES]$$

$$\text{代入上式得: } \frac{V}{k_2} = \frac{k_1[E][S]}{K_m + [S]}, \text{ 即 } V = \frac{k_2[E][S]}{K_m + [S]}$$

当 $[S]$ 达到能使此反应体系中所有的酶都与之结合成 ES 时, V 达到了最大速率 $V_{\max}$, 此时 $[E] = [ES]$, 即 $V_{\max} = k_2 [E]$, 代入上式可得

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

此方程即 Michaelis-Menten 方程 (Michaelis-Menten equation, 米氏方程)。该方程描述了底物浓度与酶促反应速率之间的关系。

方程中的 K_m 被称为米氏常数 (Michaelis constant), 表示在特定酶浓度条件下, 反应速率达到最大反应速率一半 ($V_{\max}/2$) 时的底物浓度 (图 3-7)。

(三) 米氏方程动力学参数的意义与求取

米氏方程中 K_m 和 $V_{\max}$ 是酶的动力学参数, 对评价酶的特性具有重要意义。

1. 米氏常数 (K_m) 的意义

(1) K_m 是酶的特征性常数, 与酶的结构有关, 而与酶的浓度无关。 K_m 随底物、反应温度、环境 pH 及离子强度的差异而改变。不同的酶 K_m 不同, 针对不同底物的同一种酶或同一底物的不同的酶, 其 K_m 也不相同 (表 3-4)。

表3-4 某些酶的 K_m 值

酶	底物	K_m (mmol/L)
过氧化氢酶	H_2O_2	25
己糖激酶 (脑)	ATP	0.4
	D- 葡萄糖	0.05
	D- 果糖	1.5
碳酸酐酶	H_2CO_3	9
糜蛋白酶	甘氨酸酪氨酸甘氨酸	108
β - 半乳糖苷酶	D- 乳糖	4.0



L3-1
 K_m 改变引起的生理效应

$$(2) K_m \text{ 值在一定条件下可作为反映酶与底物亲和力的大小的指标。如前所述, } K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1},$$

当 $k_2 \ll k_{-1}$ 时, $K_m \approx k_{-1}/k_1$, 相当于 ES 分解为 E 和 S 的解离常数。此时, K_m 越小, E 与 S 的亲合力越大; 相反地, K_m 越大, E 与 S 的亲合力越小。

例如, 两种葡萄糖代谢酶, 己糖激酶的 K_m 是 0.1mmol/L , 而葡萄糖激酶的 K_m 是 5mmol/L 。己糖激酶相比葡萄糖激酶, 其与葡萄糖的亲合力更大。

2. $V_{\max}$ 的意义 当全部的 E 均与 S 结合形成 ES 时, V 即为 $V_{\max}$ 。因此, $V_{\max}$ 是 E 被 S 完全饱和时的反应速率。

3. 米氏方程与矩形双曲线的一致性 当 $[S]$ 远大于 K_m 时, 米氏方程中的 K_m 可忽略不计。得下式: $V \approx V_{\max}$, 即反应速率等于最大反应速率。当 $[S]$ 远小于 K_m 时, 米氏方程分母中的 $[S]$ 可忽略不计, 则 $V \approx \frac{V_{\max} [S]}{K_m}$ 。而 $V_{\max}$ 及 K_m 均为常数, 所以, 反应速率与底物浓度

成正比。

4. K_m 及 V_{max} 的求取 从图 3-7 中可见, 该曲线系双曲线, 很难从图中求得确切的 V , 因而也不易确定 K_m 值。Lineweaver 和 Burk 将米氏方程作双倒数变换处理, 得下式:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图, 可得到 Lineweaver-Burk 双倒数曲线图 (图 3-8)。从纵轴截距 $1/V_{max}$ 及横轴相交处的 $-1/K_m$, 可准确求得 V_{max} 及 K_m 。

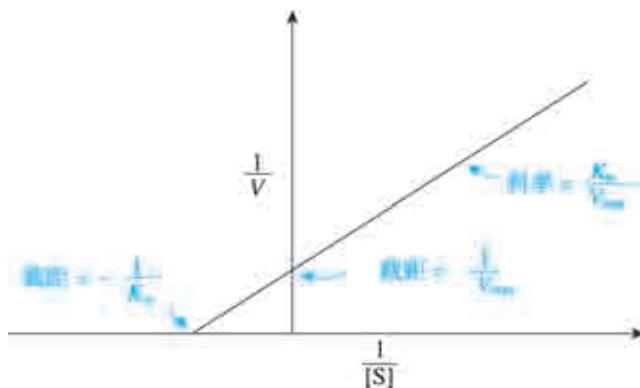


图 3-8 Lineweaver-Burk 双倒数作图法

二、酶浓度对酶促反应速率的影响

在酶促反应体系中, 当底物的浓度足够大, 即酶全部被底物饱和时, 反应速率与酶浓度成正比 (图 3-9)。 $V_{max} = k_2 [E]$, 代入米氏方程可得:

$$V = \frac{k_2 [E][S]}{K_m + [S]}$$

式中 k_2 、 K_m 均为常数, 底物浓度固定时, V 与 $[E]$ 成正比 (图 3-9)。

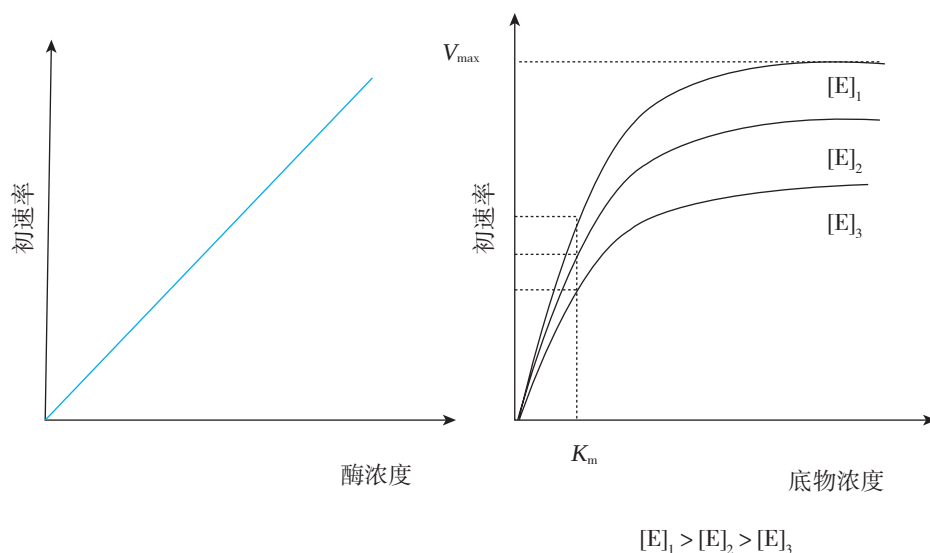


图 3-9 酶浓度对酶促反应速率的影响

三、pH 对酶促反应速率的影响

酶是蛋白质，具有两性解离性质，其活性受所在环境 pH 的影响。在不同 pH 条件下，酶蛋白中可解离基团的解离状态不同，尤其是活性中心的一些必需基团的解离状态有所差异。此外，pH 也会影响酶的特异底物的解离状态、某些辅因子的解离状态以及酶活性中心的结构，进而影响酶的活性。酶分子中各必需基团通常在特定的解离状态时，才最容易结合底物或使酶发挥最大活性。酶催化活性最高时反应体系的 pH 称为酶的最适 pH (optimum pH)。人体内多种酶的最适 pH 多在 6.5 ~ 8.0，近于中性。少数酶例外，如溶酶体酶的最适 pH 多为酸性，胃蛋白酶的最适 pH 为 1.6，碱性磷酸酶的最适 pH 为 8.9 (图 3-10)。几种常见酶的最适 pH 列于表 3-5。

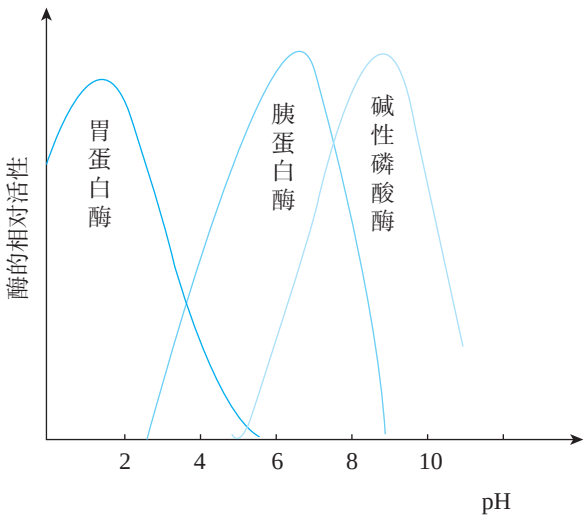


图 3-10 pH 对三种酶活性的影响

酶的最适 pH 与缓冲液的种类、浓度以及酶纯度等相关。酶在高于或低于最适 pH 的溶液中活性下降，当缓冲液 pH 远离酶的最适 pH 时，酶会发生变性失活。

表3-5 常见酶的最适pH

酶	底物	最适pH	酶	底物	最适pH
胃蛋白酶	鸡卵清蛋白	1.6	羧基肽酶（胰）	蛋白质	7.4
淀粉酶（唾液）	淀粉	6.8	麦芽糖酶（肠）	麦芽糖	6.1
脲酶	尿素	6.4 ~ 6.9	胰蛋白酶	蛋白质	7.8
过氧化氢酶（肝）	过氧化氢	6.8	蔗糖酶（肠）	蔗糖	6.2
脂肪酶（胰）	丁酸乙酯	7.0	精氨酸酶（肝）	精氨酸	9.8

四、温度对酶促反应速率的影响

温度对酶促反应速率具有双重影响。一方面，按照化学反应规律，升高温度可以增加分子碰撞机会，提高酶促反应速率。另一方面，酶对温度的变化极敏感，当到达一定温度后，随着温度的升高，酶促反应速率逐渐下降；温度过高，酶蛋白会变性而失活（图 3-11）。酶促反应速率最大时的反应体系温度，称为酶的最适温度 (optimum temperature)。温血动物组织中，酶的最适温度一般在 37 ~ 40℃，仅有极少数的酶能耐稍高的温度，大多数酶加热到 60℃ 即变

性失活，而 80℃ 时变性不可逆。嗜热杆菌 (*Taq*) DNA 聚合酶则例外，其酶促反应的最适温度为 72℃。因其特殊的最适温度，常作为工具酶用在基因工程研究方面。而酶的最适温度与酶促反应进行的时间有关。若酶反应进行的时间很短暂，则其最适温度可能比反应进行时间较长者偏高些。

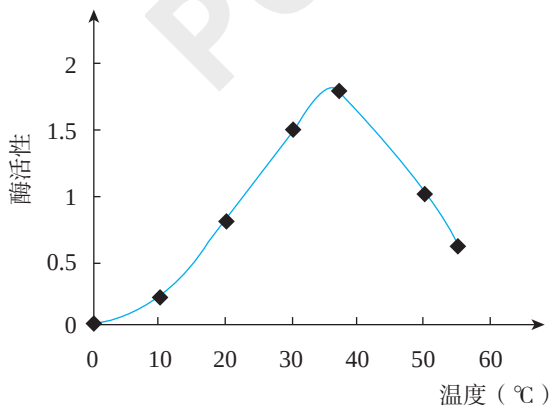


图 3-11 温度对唾液淀粉酶活性的影响

五、抑制剂对酶促反应速率的影响

酶的抑制剂 (inhibitor, I) 是与酶结合使酶催化活性降低或丧失，而不引起酶蛋白变性的一类化合物。根据抑制剂与酶是否共价结合，酶的抑制作用分为不可逆性抑制与可逆性抑制两类。

(一) 不可逆性抑制作用

有些抑制剂通常与酶活性中心以共价键牢固结合，不能用透析、超滤等方法将其除去，这种抑制作用称为不可逆性抑制作用 (irreversible inhibition)。最常见的不可逆性抑制剂是基团特异性抑制剂，该类抑制剂常与酶分子中特异的基团共价结合。

酶活性中心催化基团是丝氨酸残基上含羟基 (—OH) 的一类酶，称为羟基酶，如胆碱酯酶和丝氨酸蛋白酶等。有机磷化合物能够专一性地与胆碱酯酶活性中心丝氨酸残基上的 —OH 共价结合，使胆碱酯酶失活。胆碱酯酶的失活导致乙酰胆碱堆积，引起迷走神经高度持续兴奋的中毒状态，患者可出现恶心、呕吐、多汗、瞳孔缩小等一系列症状。有机磷农药中毒可采用胆碱酯酶复活剂解磷定，置换出失活的酶，从而达到治疗目的。

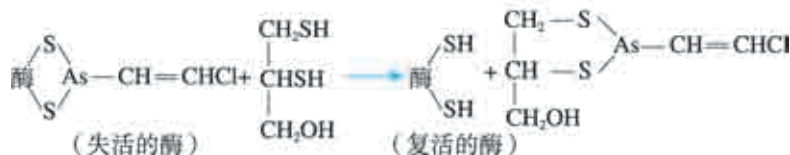


半胱氨酸残基上的巯基 (—SH) 是许多酶的必需基团。重金属离子 (Hg^{2+} 、 Ag^{+} 、 Pb^{2+} 等) 以及砷化物 (As^{3+}) 等可与巯基酶分子中的一 SH 结合，使之失活。例如，含 As^{3+} 的化学毒气路易士气能够与巯基酶分子中的一 SH 共价结合，从而抑制体内巯基酶的活性。



二巯基丙醇 (British anti-Lewisite, BAL) 富含 —SH，与重金属离子及砷化物具有更大亲和力，能将失活的巯基酶恢复活性。





(二) 可逆性抑制作用

可逆性抑制作用 (reversible inhibition) 是酶与抑制剂非共价结合, 可以采用透析、超滤等方法除去抑制剂而恢复酶的催化活性。

一般来说, 可逆性抑制分为两类。一类为别构抑制, 抑制剂只能与别构酶结合而抑制其活性, 反应速率与底物浓度关系不遵循米氏方程 (见本章第六节); 另一类可逆性抑制作用则遵循米氏方程, 该类型抑制作用可根据抑制剂与酶蛋白结合的特点不同, 分为竞争性抑制、非竞争性抑制以及反竞争性抑制三种类型。

1. 竞争性抑制 (competitive inhibition) 竞争性抑制是最常见的一种可逆性抑制作用。有些抑制剂 (I) 和底物 (S) 结构相似, 共同竞争酶的活性中心, 从而影响酶与底物的正常结合。这种抑制作用称为竞争性抑制 (图 3-12), 其抑制程度取决于底物及抑制剂的相对浓度及抑制剂与酶的相对亲和力。

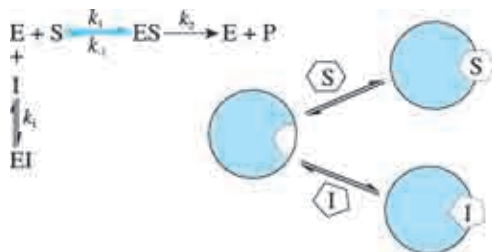


图 3-12 竞争性抑制剂与酶的结合

在图 3-12 反应式中, k_i 为 EI 的解离常数。有竞争性抑制剂存在时的米氏方程为:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{k_i} \right) + [S]}$$

两边同取倒数, 以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图, 与无抑制剂存在的情况相比, 竞争性抑制函数图像的斜率增大, 纵轴截距不变, 横轴截距 (表观 K_m) 增大, 见图 3-13, 即最大反应速率不变, 而酶与底物的亲和力下降。

在竞争性抑制过程中, 若相对增加底物的浓度, 则底物占竞争优势, 抑制作用可以降低, 甚至解除, 这是竞争性抑制的特点。例如琥珀酸脱氢酶可催化琥珀酸的脱氢反应, 与琥珀酸结构类似的丙二酸可与琥珀酸脱氢酶活性中心结合, 但却不能发生脱氢反应, 丙二酸为琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制剂。

酶促反应的竞争性抑制作用早已应用于临床实践。很多抗生素就是微生物中某种酶的竞争性抑制剂。例如, 磺胺类药物是细菌二氢叶酸合酶的竞争性抑制剂。对磺胺类药物敏感的细菌不能直接利用环境中的叶酸, 必须以对氨基苯甲酸等为底物, 在菌体二氢叶酸合酶催化下合成二氢叶酸。二氢叶酸是四氢叶酸的前体, 四氢叶酸是核酸合成过程中所需的一碳单位的必需载体。而磺胺类药物的化学结构与对氨基苯甲酸相似, 因而能竞争二氢叶酸合酶的活性中心, 抑

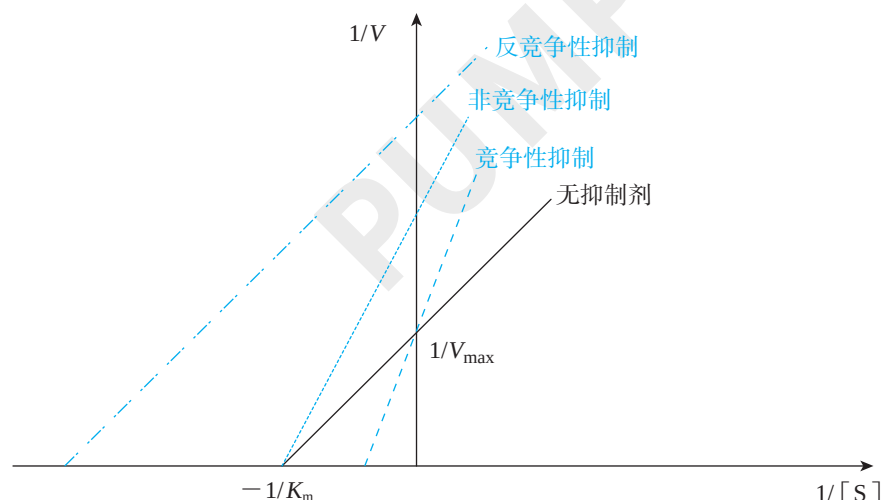


图 3-13 各种抑制剂对底物浓度与酶促反应速率的影响

制细菌内二氢叶酸的合成，从而达到抑菌目的。而人体可以直接利用食物来源的叶酸，故体内核酸合成不会受磺胺类药物的干扰。另外，一些抗肿瘤药物，如甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、巯嘌呤等都是核酸合成的某些酶的竞争性抑制剂，分别通过抑制四氢叶酸、脱氧胸苷酸、嘌呤核苷酸的合成来发挥抗肿瘤作用。

2. 非竞争性抑制 (non-competitive inhibition) 某些抑制剂的结合位点在酶活性中心以外的某一部位，两者与酶的结合不存在竞争关系，非竞争性抑制剂既可与酶-底物复合物相结合，也可与游离酶结合，但形成酶-底物-抑制剂复合物 (ESI) 时产物不能生成。这种抑制作用称为非竞争性抑制 (图 3-14)，抑制程度取决于抑制剂的浓度。

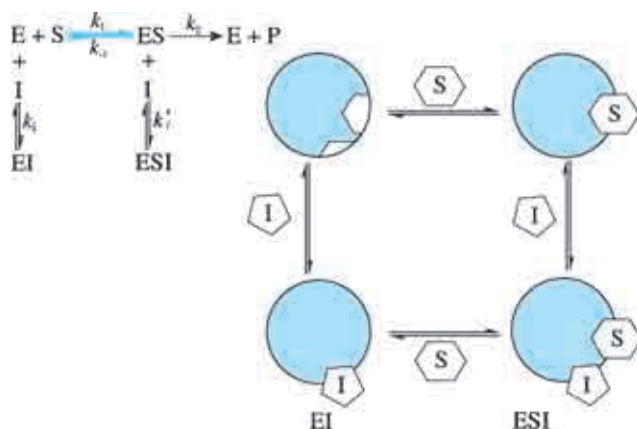


图 3-14 非竞争性抑制剂与酶的结合

在有非竞争性抑制剂存在时，米氏方程为：

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S] \left(1 + \frac{[I]}{k_i} \right)}$$

两边同取倒数，以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图，与无抑制剂存在的情况相比，非竞争性抑制函数图像的斜率增大，纵轴截距变大，横轴截距 (表观 K_m) 不变 (图 3-13)，即最大反应速率减

小，而酶与底物的亲和力不变。

例如，胆碱酯酶催化乙酰胆碱水解时可被 NHR_3^+ 类化合物非竞争性抑制。

3. 反竞争性抑制 (uncompetitive inhibition) 某些抑制剂只能与酶 - 底物复合物结合，而不能与游离的酶相结合。当 ES 与 I 结合后，产物不能生成。这种抑制作用称为反竞争性抑制 (图 3-15)，抑制程度取决于抑制剂的浓度及底物的浓度。

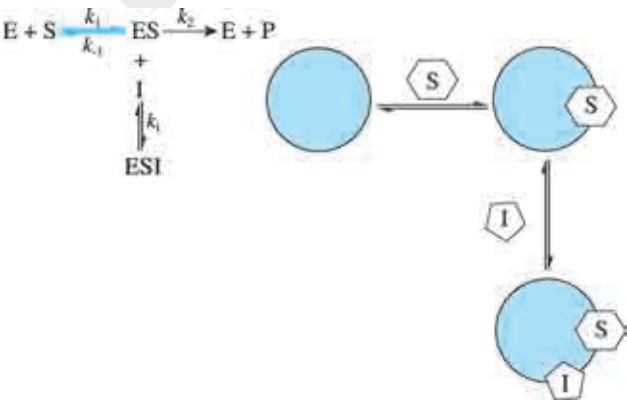


图 3-15 反竞争性抑制剂与酶的结合

在有反竞争性抑制剂存在时，米氏方程为：

$$V = \frac{[S] \left[\frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{k_i}} \right]}{\frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i} \right)} + [S]}$$

两边同取倒数，以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图，与无抑制剂存在的情况相比，反竞争性抑制函数图像的斜率不变，纵轴截距变大，横轴截距（表观 K_m ）减小（图 3-13），即最大反应速率减小，而酶与底物的亲和力增大。

三种可逆性抑制剂的比较见表 3-6。

表3-6 三种可逆性抑制剂的比较

作用特点		无抑制剂	竞争性抑制剂	非竞争性抑制剂	反竞争性抑制剂
I 的结合物质			E	E、ES	ES
酶促动力学特点	表观 K_m	K_m	增大	不变	减小
	$V_{\max}$	$V_{\max}$	不变	降低	降低
	横轴截距	$-1/K_m$	增大	不变	减小
双倒数作图	纵轴截距	$1/V_{\max}$	不变	增大	增大
	斜率	$K_m/V_{\max}$	增大	增大	不变

六、激活剂对酶促反应速率的影响

有些物质能增强酶的活性，称为酶的激活剂 (activator)。激活剂大多为金属离子，如

Mg^{2+} 、 K^{+} 、 Mn^{2+} 等；少数为阴离子，如 Cl^{-} 能增强唾液淀粉酶的活性，胆汁酸盐能增强胰脂肪酶的活性等。其激活作用的机制，有的可能是激活剂与酶及底物结合成复合物而起促进作用；有的可能参与酶的活性中心的构成等。有些激活剂是酶具备活性所必需的，称为酶的必需激活剂，例如， Mg^{2+} 是激酶的必需激活剂。

第六节 酶活性的调节

对酶的调节包括酶活性的调节与酶量的调节。酶活性的调节是通过改变酶的结构，使已有酶的活性发生变化，由此调节代谢。这类调节方式效应快，分秒之间即发生作用，但不持久，故又称为快速调节。酶量的调节则通过改变酶的生成与降解速度以改变酶的总活性。在哺乳类动物中，此方式产生效应比酶的活性调节慢，需几小时至数天，但较为持久，所以又称为慢速调节（详见第9章）。

细胞内的物质代谢途径往往是由多个连续的酶促反应组成的。在多个酶催化的代谢途径中，会有一个或几个酶活性易于受外界刺激而改变活性，进而对整个代谢途径的反应速率产生重大影响。这些因环境因素的作用表现出催化活性变化，进而调整代谢途径反应速率的酶，统称为调节酶（regulatory enzyme），亦称关键酶（key enzyme）。这些酶常是催化不可逆反应的酶，催化代谢途径分叉点代谢反应的酶，或是催化代谢途径中限速反应的酶。这些酶分子一般具有明显的活性部位和调节部位。

在代谢途径各反应中，关键酶所催化的反应具有下述特点：①反应速率最慢，它的活性决定了整个代谢途径的总速率；②常催化单向反应或非平衡反应，因此其活性决定整个代谢途径的方向；③酶活性除受底物控制外，还受多种代谢物或效应剂的调节。关键酶一般可分为别构酶和化学修饰调节酶。

一、别构酶

（一）别构酶与别构效应剂

细胞内有些酶活性中心以外的某个部位可与一些代谢物分子可逆性结合，引起酶的空间构象发生改变，进而影响酶的催化活性。这些通过构象改变而影响其活性的酶称为别构酶（allosteric enzyme）。别构酶常由多亚基组成多聚体，各亚基之间以非共价键相连。能引起酶发生此种构象改变的代谢物分子称为别构效应剂（allosteric effector），其中由于别构调节导致酶催化活性升高的物质称为别构激活剂，反之称为别构抑制剂。别构效应剂通常是代谢途径的终产物或中间产物，也可以是酶的底物。别构效应剂与酶结合的部位称为调节部位（regulatory site）。有的酶的调节部位与催化部位在同一亚基，有的则分别存在于不同亚基，分别称为调节亚基和催化亚基。

别构酶受别构效应剂的调节，调控整个代谢途径的反应速率。在多数情况下，别构酶作为关键酶常出现在代谢途径的关键调节点上。当产物堆积时，它们可作为别构效应剂以抑制上游的别构酶；别构酶也可接受产物匮乏的信号刺激而被激活。别构效应剂与酶的结合属于非共价结合，以适应快速调节的需要。

（二）别构酶分子各亚基之间的协同作用

由于别构酶的各亚基之间次级键维系稳定，因此别构酶某一亚基构象的改变可以引发其他亚基的构象变化。别构效应剂与酶的调节亚基结合后，会引起此亚基发生构象变化，进而影响相邻亚基的构象改变，从而影响酶的催化活性，发生协同效应（cooperative effect）。如果后续亚基的构象变化使酶对此效应剂的亲和力增加，此协同效应为正协同效应；反之，为负协同效应。不同别构酶其调节物分子也不相同。有的别构酶的别构效应剂就是底物分子，酶分子上有

两个以上底物分子结合部位，这种由底物分子作为别构效应剂所产生的协同作用称为同种协同效应。反之，别构效应剂为其他代谢物分子所产生的协同效应称为异种协同效应。其中，异种协同效应为别构调节中最常见的现象。

(三) 别构酶的动力学特征

1. 别构酶的反应初速率与底物浓度的关系不服从米氏方程 如果底物为别构效应剂，正协同效应的别构酶反应速率对底物浓度的关系呈 S 形曲线（图 3-16）。S 形曲线表明，酶分子上一个功能位点的活性影响另一个功能位点的活性，显示协同效应的存在。底物一旦与酶结合，导致酶分子构象改变，这种构象改变大大提高了酶对后续的底物分子的亲和力。结果底物浓度发生微小变化，导致酶促反应速率极大地改变。别构激活剂可以使曲线左移，别构抑制剂使曲线右移。

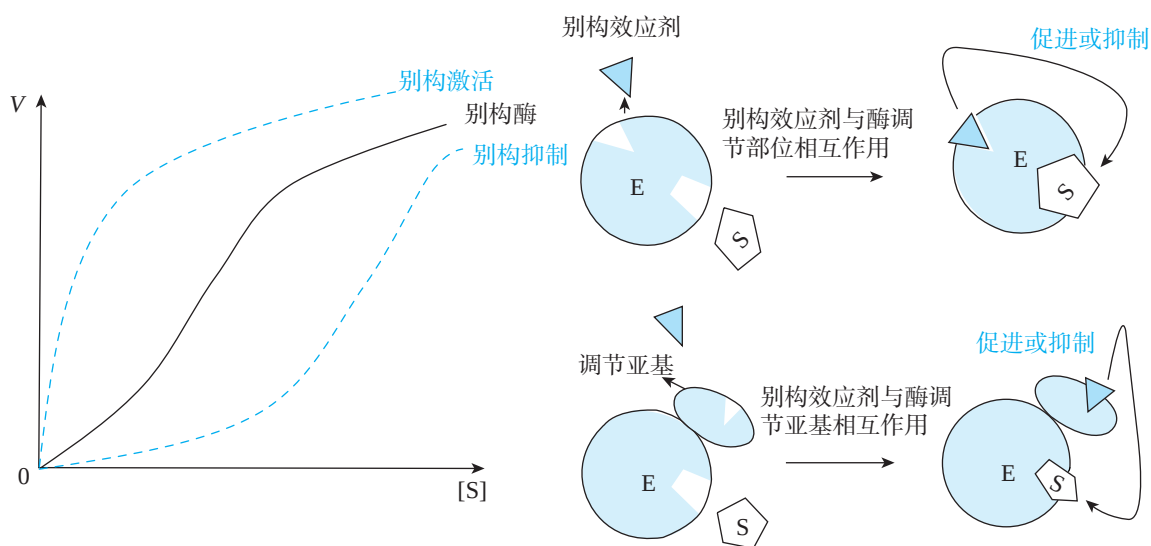


图 3-16 别构酶的底物浓度作用曲线及作用机制

2. 别构酶反应速率与底物浓度关系呈 S 形曲线的机制 S 形曲线乃是各亚基间协同效应的反应。为了解释别构酶协同效应机制，曾提出多种别构酶分子模型，其中最重要的有两种。其一是齐变模型（concerted model 或 symmetry model, WMC model），这是用别构酶构象改变来解释协同效应的最早的模型。按 WMC 模型，构成酶的诸亚基只呈现一种构象，或具活性或无活性；当结合别构效应剂后，无活性的酶构象转变为有活性的酶构象。这样，随着别构效应剂的增多，具有活性的酶也随之增多，因而反应越来越快。反之，若别构效应剂为抑制性的，则使有活性的酶转变成无活性的酶，反应将越来越慢（图 3-17）。其二是序变模型（sequential model, KNF model）。按 KNF 模型，构成酶的诸亚基中，活性构象和无活性构象可同时并存，而有别于 WMC 模型中酶分子各亚基或是全为活性形式，或是全为无活性形式的“全或无”格局。在 KNF 模型中，当一个亚基结合别构效应剂时，可诱导其邻近的亚基不同程度地转变成活性形式。例如，由 4 个亚基组成的酶，当其中 1 个亚基结合了别构效应剂后，可顺序诱导邻近的亚基也成为活性形式，分别形成含 1 个、2 个、3 个甚至 4 个活性亚基的酶分子。当所有

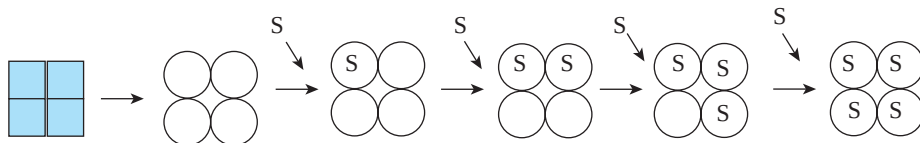


图 3-17 别构酶的齐变模型

的酶分子中的亚基全变成活性形式后，酶的活性达到最大（图 3-18）。

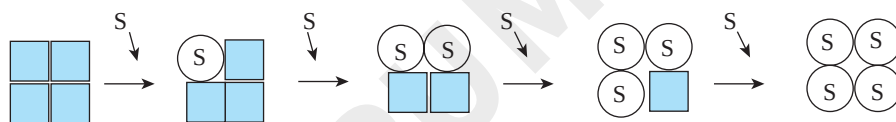


图 3-18 别构酶的序变模型

二、化学修饰调节酶

调节酶的化学修饰是体内快速调节酶活性的另一种重要方式，为高等生物体内所特有，是激素发挥作用的基础。

（一）化学修饰的概念及机制

一种酶肽链上的某些基团在其他酶的催化下发生可逆的共价修饰（covalent modification），从而引起酶活性发生改变，这种调节称为酶的化学修饰（chemical modification）。酶的化学修饰主要有磷酸化与脱磷酸、乙酰化与脱乙酰、甲基化与去甲基、腺苷化与脱腺苷及—SH 与—S—S—的互变等，其中磷酸化与脱磷酸在代谢调节中最为多见。

磷酸化是酶的化学修饰调节的常见方式。酶蛋白分子中丝氨酸、苏氨酸及酪氨酸的羟基是磷酸化修饰的位点。酶蛋白的磷酸化是在蛋白质激酶（protein kinase）催化下，由 ATP 提供磷酸基及能量完成的，而脱磷酸则是由蛋白质磷酸酶（protein phosphatase）催化的水解反应。磷酸化与脱磷酸反应均不可逆（图 3-19）。

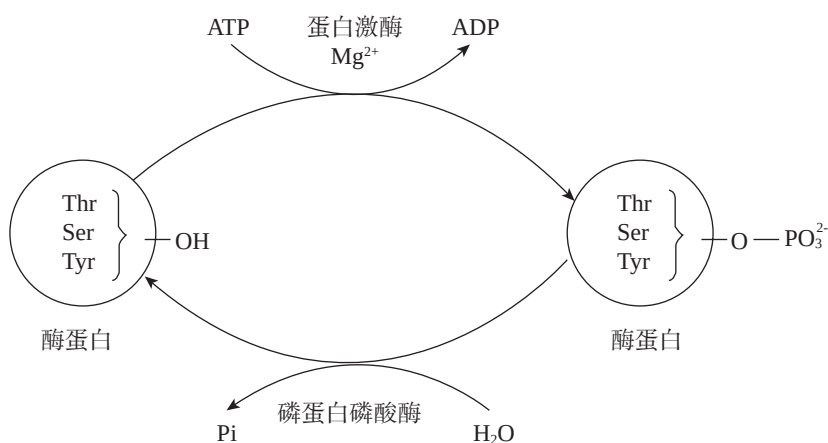


图 3-19 酶的磷酸化与脱磷酸

例如，糖原分解与合成的调节酶——糖原磷酸化酶和糖原合酶。肝糖原磷酸化酶有磷酸化和脱磷酸两种形式。当该酶 14 位丝氨酸被磷酸化时，活性很低的磷酸化酶（称为磷酸化酶 b）就转变为活性强的磷酸型磷酸化酶（称为磷酸化酶 a）。这种磷酸化过程由磷酸化酶 b 激酶催化。磷酸化酶 b 激酶也有两种形式。脱磷酸的磷酸化酶 b 激酶没有活性。在依赖 cAMP 的蛋白激酶作用下转变为具有活性的磷酸型磷酸化酶 b 激酶。其脱磷酸由磷蛋白磷酸酶 -1 催化。糖原合酶的活性同样受磷酸化和脱磷酸的化学修饰，方式与磷酸化酶相似，但效果不同，磷酸化酶磷酸化后有活性，而糖原合酶磷酸化后活性降低。这种精细的调节，避免了由于分解、合成两个途径同时进行造成的 ATP 浪费。

（二）化学修饰的特点

1. 除黄嘌呤氧化（脱氢）酶外，属于这类调节方式的酶都有无活性（或低活性）和有活性（或高活性）两种形式。它们互变反应的正、逆两向由不同的酶催化，而催化这种互变反应的酶又受体内调节因素（如激素）的控制。

2. 与别构调节不同，化学修饰会引起酶分子共价键的变化，且因其是酶促反应，故有放大效应。只要催化量的调节因素存在，就可通过加速这种酶促反应，使大量的另一种酶发生化学修饰，因此其催化效率常较别构调节高。

3. 磷酸化与脱磷酸是最常见的酶促化学修饰反应，一般是耗能的。如 1 分子亚基发生磷酸化反应通常需要 1 分子 ATP，但比酶蛋白的合成所消耗的 ATP 要少得多，且作用迅速，又有放大效应，因此是体内调节酶活性较经济有效的方式。

应当指出，别构调节与化学修饰调节只是调节酶活性的两种不同方式，而对某一具体酶而言，它可同时受这两种方式的调节。例如糖原合酶既可受葡萄糖-6-磷酸的别构激活，又可在磷酸蛋白磷酸酶作用下脱磷酸而被激活。

第七节 酶活性的测定

一、酶活性及酶比活性

通常在生物组织中，酶蛋白的含量极微小，很难直接测定；更何况在生物组织（或体液）中，酶蛋白又多与其他蛋白质共存，因此，酶含量主要通过酶活性大小来衡量。

酶活性（enzyme activity）也称为酶活力，是指酶催化一定化学反应的能力。酶活力的大小可用在一定条件下酶催化某一化学反应的速率来表示，酶催化反应速率愈大，酶活性愈高，反之活性愈低。测定酶活性实际就是测定酶促反应的速率。酶促反应速率可用单位时间内、单位体积中底物的减少量或产物的增加量来表示。1963 年，国际酶学委员会推荐用酶的活性单位统一表示酶活性的大小。在标准条件下，酶活性的 1 个国际单位（international unit, IU）为在 1min 内能催化 1 μ mol 的底物转变为产物的酶量。1979 年国际生物化学协会为了使酶活性单位与国际单位制的反应速率相一致，推荐用催化单位（Katal, Kat），即在标准条件下，1s 内催化 1mol 底物转变为产物的酶量定义为 1 个催化单位。1Kat = 60 $\times$ 10⁶ IU。

酶的比活性（specific activity）是指每毫克酶蛋白所含的酶活力单位数，代表单位质量蛋白质的催化能力。酶活性用来衡量酶含量的多少，而酶的比活性则通常用来衡量酶的纯度。

二、酶活性测定的最适条件

所谓规定的实验条件，是指影响酶促反应速率的各种因素（除酶活性待测外）均需恒定，如底物的种类和浓度，反应体系的 pH、温度、缓冲液的种类和浓度，辅因子，激活剂或抑制剂等。通常要求：①底物要有足够量，一般相当于 20 ~ 100 倍 K_m ，但并不是越高越好。有时过高浓度的底物反会对酶有抑制作用，这是因为同一酶分子上同时结合几个底物分子，使酶分子中的诸多必需基团不能针对一个底物分子进行催化攻击。②最适 pH 的确定。最适 pH 可随底物的种类和所用缓冲液的种类不同而有所不同。③最适温度随反应的时间而定。若待测酶的活性低，含量少，必须延长保温时间，方有足够量的产物可被检测，温度应适当低些；反之，则可适当增高其温度。④缓冲液的种类和浓度均可对酶活性有所影响，因为缓冲液中的正、负离子可影响活性中心的解离状态，有的缓冲盐类或对酶活性有一定的抑制作用；或能结合产物而加速反应的进行。⑤辅因子或辅酶是某些酶表现活性的必要条件。⑥有的酶可受激活剂的激

活而增强其活性者，需在反应体系中加入之。⑦有的酶对反应体系中存在的微量抑制剂极为敏感，为避免其抑制作用，必须小心除去或避免抑制剂的污染。⑧反应的终止。当反应体系温育一定时间后，可加酶的抑制剂以终止反应，或加热使酶灭活，然后测定其产物的生成量，或底物的消耗量，以求得酶促反应速率。

三、酶活性测定方法

单位时间内底物的减少量或产物的增加量的检测手段主要取决于这些底物或产物的理化性质。目前，主要有三种方法进行检测，分别是：直接测定法、间接测定法和酶偶联测定法。

(一) 直接测定法

直接测定法 (direct assay) 是指对参与酶促反应的底物或产物的含量变化进行直接检测，不需任何辅助反应即可测定反应物或底物的浓度。主要采用分光光度法进行检测。如还原型 (Fe^{2+}) 细胞色素 C 在波长 550nm 处有明显吸收峰，而氧化型 (Fe^{3+}) 细胞色素 C 则没有该吸收峰，所以催化细胞色素 C 发生氧化反应的细胞色素氧化酶的活性测定，可以直接检测在波长 550nm 处还原型细胞色素 C 的减少过程，即可直接测出细胞色素氧化酶的酶活性。

(二) 间接测定法

间接测定法 (indirect assay) 利用非酶辅助反应对底物或产物的变化进行间接检测。有些酶促反应的底物或产物不能直接进行检测，必须增加一些辅助试剂来达到检测的目的。如加入某种染料，通过呈色反应来间接测定酶的活性。例如，二氢乳清酸脱氢酶催化二氢乳清酸脱氢生成乳清酸，同时，辅酶泛醌接受氢还原成泛醇。在此反应中，底物和产物均不能直接测定，但加入另外一种还原剂染料，如 2,6-二氯酚靛酚，此染料氧化型为亮蓝色，在 610nm 处有最大吸收峰。反应生成物泛醇可以定量地将 2,6-二氯酚靛酚还原，通过吸光度下降便可以间接测定二氢乳清酸脱氢酶的活性。

(三) 酶偶联测定法

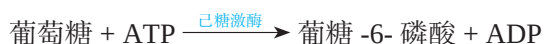
1. 酶偶联测定法的原理 许多酶促反应的底物或产物虽然不能直接检测，但可以与另外的酶偶联，偶联的酶利用上一个酶催化的产物为底物，以此类推，最后一个反应后的产物可以直接测定，这种间接测定酶活力的方法称为酶偶联测定法 (enzyme coupled assay)。该测定方法需要在反应体系中加入一个或几个工具酶，将待测酶生成的某一产物转化为新的可直接测定的产物，当加入酶的反应速率与待测酶反应速率达到平衡时，可以用最后一个指示酶的反应速率来代表待测酶的活性。



式中 A 为底物，B、C 为中间产物，P 为产物 (必须能够直接测定)，Ex 为待测酶，Ea、Ei 都为工具酶。按照工具酶作用的不同，Ea 又称为辅助酶，Ei 又称为指示酶，C 生成 P 的反应称为指示反应。

2. 酶偶联反应常用的指示酶

(1) 脱氢酶：不少脱氢酶所催化的反应需要 NAD^+/NADH 或 $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ 作辅酶，其中， NADH 及 NADPH 在 340nm 处有吸收峰，而其氧化型 (NAD^+ 及 NADP^+) 则无此吸收峰；因而可利用 340nm 处吸光度的变化，检测这类脱氢酶所催化的氧化还原反应 ($A + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{AH}_2 + \text{NAD}^+$)；利用脱氢酶的辅酶在 340nm 有吸收峰的特性，还可将脱氢酶反应与其他酶促反应偶联起来，以检测后者的酶活性。例如，为检测己糖激酶活性，可采用下列偶联反应：





上式中，己糖激酶为待测酶，而葡萄糖-6-磷酸脱氢酶则作为指示酶，与辅酶 NADP^+ 、底物葡萄糖及 ATP 一起加至反应体系中。若待测酶（己糖激酶）活性高，则生成的葡萄糖-6-磷酸亦多，经葡萄糖-6-磷酸脱氢酶及 NADP^+ 催化生成的 NADPH 也相应增多，340nm 处的吸光度也就越高，成正比关系。通过检测 340nm 处吸光度的改变以检测酶活性，无需加入呈色试剂使产物显色，而且可以连续追踪监测反应过程，在酶活性测定中是一种十分有效的方法。

(2) 过氧化物酶：过氧化物酶（peroxidase, POD）可催化过氧化氢与某些物质反应，例如与 4-氨基安替比林（4-AAP）和酚反应，将其氧化为有色物质，该反应（称为 Trinder 反应）方程式如下：



甘油氧化酶、尿酸酶（属于氧化酶类）等都可以将各自的底物氧化为过氧化氢，因此都可以与过氧化物酶偶联，通过 Trinder 反应加以定量测定。蛋白质印记试验中很多抗体则采用过氧化物酶标记，来进行抗原抗体结合的定量分析。

(3) 荧光素酶：自然界中能够以荧光素为底物发出荧光的酶，统称为荧光素酶（luciferase）。荧光素或荧光素酶不是特定的分子，而是对于所有能够产生荧光的底物和其相应酶的统称，不同的荧光素酶催化不同的荧光素产生发光反应。在相应化学反应中，荧光的产生一般来自于荧光素的氧化，有些情况下反应体系中需要腺苷三磷酸（ATP）的参与，而且钙离子的存在常常可以进一步加速反应。



荧光素酶常常可以作为“报告蛋白质”被用于分子生物学研究中，例如，在转染过荧光素酶质粒的细胞中检测特定启动子的转录情况或用于探测细胞内的 ATP 的水平，这一技术被称为报告基因检测法或荧光素酶检测法（luciferase assay）。

第八节 酶的命名与分类

一、酶的习惯命名原则

酶的习惯命名法：①绝大多数的酶是依据其所催化的底物命名，在底物的英文名词上加上尾缀 ase，作为酶的名称。如分解脂肪的酶，称脂肪酶（lipase）；水解蔗糖的酶，称蔗糖酶（sucrase）。②有些酶则是根据其所催化的反应类型或方式命名，例如，转氨酶（transaminase）系将氨基从一个化合物转移到另一个化合物上去的一类酶；脱氢酶（dehydrogenase）系催化脱氢反应的酶。③也有些酶是根据上述两项原则综合命名的，如将丙氨酸上的氨基转移到 α -酮戊二酸上去的酶，称丙氨酸转氨酶（alanine transaminase），此酶亦称谷丙转氨酶（GPT）。④在上述命名的基础上，有时还加上酶的来源或酶的其他特点。例如胃蛋白酶及胰蛋白酶，指出这两种蛋白水解酶的来源；碱性磷酸酶（alkaline phosphatase）及酸性磷酸酶（acid phosphatase）则指出这两种酶在催化反应时所要求的酸碱度。

但习惯命名法常常一酶数名，或从酶的名称上难以看出它所催化的反应类型和性质，以至无法区分催化同一类型反应的不同的酶。例如，过氧化氢酶的另一习惯名为触酶（catalase），

从酶的名称看，不知其是对何种底物起何种反应。又如蔗糖酶又名转化酶（invertase），转化什么也未指明。淀粉酶（amylase）究竟是催化合成反应还是分解反应也不清楚等。为避免混乱，必须进行科学分类命名，因现在已发现的酶达 2000 多种，新的酶还在不断发现，根据习惯命名原则很难一致。

二、酶的系统命名原则

国际生物化学与分子生物学联盟（International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB）制订了统一的系统命名原则，共区分为 7 大类，即氧化还原酶类（oxidoreductases）、转移酶类（transferases）、水解酶类（hydrolases）、裂合酶类（lyases）、异构酶类（isomerases）、连接酶类（ligases）和易位酶类（translocases）。在每一大类下，又分为若干亚类及亚亚类，并给予每种酶以特定的名称和编号（表 3-7、表 3-8）。

表3-7 酶的国际系统分类简介

类别	催化反应类型	亚类	亚亚类
1. 氧化还原酶类	氢或电子转移	1. 作用于—OH（醇） 2. 作用于—CHO/—C=O 3. 作用于—CH ₂ —CH ₂ —	受氢体为：1. NAD ⁺ /NADP ⁺ 2. 细胞色素 3. 分子氧
2. 转移酶类	基团转移反应	1. 转移甲基、羟甲基 2. 转移醛 / 酮基 3. 含氮基团	含氮基团成分：1. 氨基 2. 脒基 3. 氧亚氨基
3. 水解酶类	水解反应	1. 作用于酯键 2. 作用于糖苷键	1. 羧酸酯
4. 裂合酶类	一分为二或合二为一	1. 作用于 C—C 键 2. 作用于 C—O 键 3. 作用于 C—N 键	1. 羧基 2. 醛基
5. 异构酶类	同分异构体的相互转化	1. 消旋易向 2. 顺反异构	
6. 连接酶类	伴有高能磷酸键的水解而形成共价键	1. 形成 C—O 键 2. 形成 C—S 键	
7. 易位酶类	离子或分子跨膜转运或膜内易位	1. 质子易位 2. 无机阳离子易位 3. 无机阴离子易位 4. 氨基酸或肽易位 5. 糖及衍生物易位 6. 其他化合物易位	1. 与氧化还原酶反应相关的易位反应 2. 与三磷酸核苷水解相关的易位反应 3. 与二磷酸水解相关的易位反应 4. 与脱羧反应相关的易位反应

表3-8 酶的国际系统命名举例

类别	酶名称 (1) 推荐名 (2) 系统名	催化反应	编号
1. 氧化还原酶类 亚类 1（作用于—OH） 亚亚类 1（NAD ⁺ 受氢） 编号 27	(1) 乳酸脱氢酶 (2) L- 乳酸：NAD ⁺ 氧化还原酶	L- 乳酸 + NAD ⁺ $\rightleftharpoons$ 丙酮酸 + NADH + H ⁺	EC 1.1.1.27
2. 转移酶类 亚类 6（含氮基团） 亚亚类 1（氨基） 编号 2	(1) 谷丙转氨酶 (2) L- 丙氨酸： α - 酮戊二酸转氨酶	L- 丙氨酸 + α - 酮戊二酸 $\rightleftharpoons$ 丙酮酸 + L- 谷氨酸	EC 2.6.1.2

续表

类别	酶名称 (1) 推荐名 (2) 系统名	催化反应	编号
3. 水解酶类 亚类 2 (α -糖苷酶) 亚亚类 1 编号 23	(1) β -半乳糖苷酶 (2) β -D-半乳糖苷: 半乳糖水解酶	β -D-半乳糖苷 + $H_2O \rightleftharpoons$ 醇 + D-半乳糖	EC 3.2.1.23
4. 裂合酶 亚类 1 (C—C 键) 亚亚类 2 编号 13	(1) 二磷酸果糖醛缩酶 (2) 果糖 -1, 6- 二磷酸: 3- 磷酸甘油醛裂合酶	果糖 -1, 6- 二磷酸 $\rightleftharpoons$ 磷酸二羟丙酮 + 3- 磷酸甘油醛	EC 4.1.2.13
5. 异构酶类 亚类 2 (顺反异构) 亚亚类 1 编号 3	(1) 视黄醛异构酶 (2) 全反视黄醛顺反异构酶	全反视黄醛 $\rightleftharpoons$ 顺视黄醛	EC 5.2.1.3
6. 连接酶类 亚类 3 (C—N 键) 亚亚类 1 编号 2	(1) 谷氨酰胺合成酶 (2) L- 谷氨酰: 氨连接酶 (形成 ADP)	$L\text{- 谷氨酸} + ATP + NH_3 \rightleftharpoons L\text{- 谷氨酰胺} + ADP + H_3PO_4$	EC 6.3.1.2
7. 易位酶类 亚类 1 亚类 2	(1) 泛醇氧化酶 (2) 抗坏血酸铁还原酶	$2 \text{ 泛醇} + O_2 + nH^+_{[面1]} \rightarrow 2 \text{ 泛醌} + 2H_2O + nH^+_{[面2]}$ $\text{抗坏血酸}_{[面1]} + Fe^{3+}_{[面2]} \rightarrow \text{单脱氢抗坏血酸}_{[面1]} + Fe^{2+}_{[面2]}$	EC 7.1.1.3 EC 7.2.1.3

国际系统命名原则包括所参与的底物及反应类型, 若底物有两个, 则需将两个底物均写上, 中间用冒号隔开。如 L- 乳酸: NAD^+ 氧化还原酶。并赋予每个酶以专有的编号, 包括属于第几大类、第几亚类、第几亚亚类及在该亚亚类中的编号。编号由 4 个数字组成, 前面以 EC (Enzyme Commission) 开头。如上述 L- 乳酸: NAD^+ 氧化还原酶属于第 1 大类、第 1 亚类、第 1 亚亚类, 在第 1 亚亚类中的编号为 27, 故此酶的专有编号为 EC 1.1.1.27。这种命名和编号是相当严谨的, 没有“同名同姓”, 而且从酶的名称中就直观地知道其所催化的是何种底物、属于何种反应类型。其缺点是名称过长且烦琐, 多数学者还是喜欢沿用习惯命名。为此, 国际生物化学协会变通地选用一种公认的习惯命名作为推荐名, 如 L- 乳酸: NAD^+ 氧化还原酶的推荐名为 L- 乳酸脱氢酶。

在酶命名和翻译上有些地方容易混淆, 需注意, 如“synthetase”为“合成酶”(反应需要 ATP 参加, 属于连接酶类), 而“synthase”为“合酶”(反应不需 ATP 参加, 属于裂合酶类); “phosphatase”为“磷酸酶”(H_2O 参与水解磷酸基团), 而“phosphorylase”为“磷酸化酶”(无机磷参与产生磷酸化产物); “dehydrogenase”为“脱氢酶”(在氧化还原反应中需 NAD^+ /FAD 作为电子受体), “oxidase”为“氧化酶”(O_2 是受体, 氧原子不掺入底物中), “oxygenase”为“加氧酶”(1 或 2 个氧原子掺入底物中)。

第九节 其他具有催化作用的生物分子

一、核酶

(一) 核酶的概念

1981 年, Cech T. R. 在研究四膜虫的 rRNA 剪接时发现, rRNA 的剪接不需要任何蛋白质



的参与,这说明该过程是由非蛋白质类酶催化完成的,后来证明 RNA 有自身催化作用。人们将具有催化活性的 RNA 统称为核酶(ribozyme),又称催化性 RNA。例如在生物体内蛋白质生物合成中的肽酰转移酶就是核酶(见第12章)。由于核酶有内切酶活性,切割位点高度特异,因此,可以用来切割特定的基因转录产物。只要设计时使核酶的配对区域碱基与靶 RNA 有合适的配对,就能进行特异切割,从而破坏 mRNA,抑制基因表达。这为基因功能研究、病毒感染和肿瘤的治疗提供了一个可行的途径。

(二) 核酶的分类

1. 按作用方式分类 核酶的作用方式可分成剪切反应和剪接反应,故核酶也可分类为相应的剪切型核酶和剪接型核酶。

2. 按结构和来源分类 根据结构和来源不同,可将核酶分为小分子核酶和大分子核酶。其中小分子核酶分为锤头型核酶(hammerhead ribozyme)、发夹型核酶(hairpin ribozyme)、人丁型肝炎病毒核酶(hepatitis delta ribozyme)和脉孢菌 VS 核酶(Varkud Satellite ribozyme)四类;大分子核酶分为组 I 内含子、组 II 内含子及 RNA 酶 P 核酶。

(三) 核酶的结构

1. 核酶的一级结构 核酶分子大小可以不同,如锤头型核酶 L19 RNA 是从 6400 个核苷酸的四膜虫大核 rRNA 逐步剪接而来,由 395 个核苷酸组成;而用于分解猴免疫缺陷病毒所人工合成的核酶总长度仅为 76 个核苷酸;烟草环斑病毒卫星 RNA 负链属发夹型核酶,由 351 个核苷酸组成;人丁型肝炎病毒 RNA 是目前已知唯一自然感染人体细胞且具有核酶活性的动物病毒,其 RNA 长约 1.7kbp,是动物病毒中最小的核酸分子,人丁型肝炎病毒核酶切割活性的最短序列为 84 个核苷酸。

2. 核酶的二级结构 锤头型、发夹型、人丁型肝炎病毒和脉孢菌 VS 四类核酶的二级结构均已经清楚,图 3-20 显示这四种核酶的二级结构。

(四) 核酶的催化机制

目前发现,所有核酶催化都遵循同一化学反应,即通过转酯作用,内切 RNA 使其断裂。其机制是核糖 2'-OH 中氧原子亲核攻击邻近的磷酸,产生三角形金字塔形过渡态(图 3-21)。5'-O—P 键断裂后产生带有 5'-OH 和 2', 3'-环磷酸末端的两个 RNA 片段。连接反应可简单看成切断反应的逆过程,由 5'-OH 的氧原子作亲核攻击。

一些核酶以金属离子作为 Lewis 酸在质子转移中起酸碱催化作用。然而发夹型核酶的催化反应不需要金属离子参加反应,说明发夹型核酶是以直接的方式催化反应。

(五) 核酶的催化反应特点

以锤头型核酶为例说明核酶的催化特点。L19 锤头型核酶是在四膜虫 26S RNA 的前体 RNA 的自我剪接过程中发挥催化作用的核酶。在一定条件下,L19 RNA 具有:①核苷酸转移酶活性;②磷酸二酯酶活性;③磷酸转移酶活性;④RNA 限制性内切酶活性。反应具有专一性,如 L19 RNA 对多聚核糖核苷酸显示专一性反应,而对五聚脱氧胞苷酸(dpC5)或五聚脱氧腺苷酸(dpA5)无催化反应。反应对竞争性抑制剂敏感,如五聚脱氧胞苷酸 dpC5 是 L19 RNA 的竞争性抑制剂。

从烟草环斑病毒(—)sTRSV 得到的发夹型核酶,其催化的 5'-和 3'-产物连接反应的速率常数为 2 ~ 3/min, K_m 约为 60 $\mu\text{mol/L}$ 。发夹型核酶与锤头型核酶在催化可逆反应中的平衡点不同,发夹型核酶催化连接反应比切断反应快大约 10 倍,而对于锤头型核酶来说,其催化的切断反应比连接反应快 200 倍。这是因为刚性的发夹型核酶比柔韧性的锤头型核酶更易使 2', 3'-环磷酸和 5'-OH 末端定位于活性位点,使平衡更趋向于连接反应。如果改变了 A 环和 B 环之间连接的结构,就可改变合拢构象的稳定性,比如缩短 H2 和 H3 之间的连接点序列长度妨碍合拢过程,则连接就不可能完成(图 3-22)。

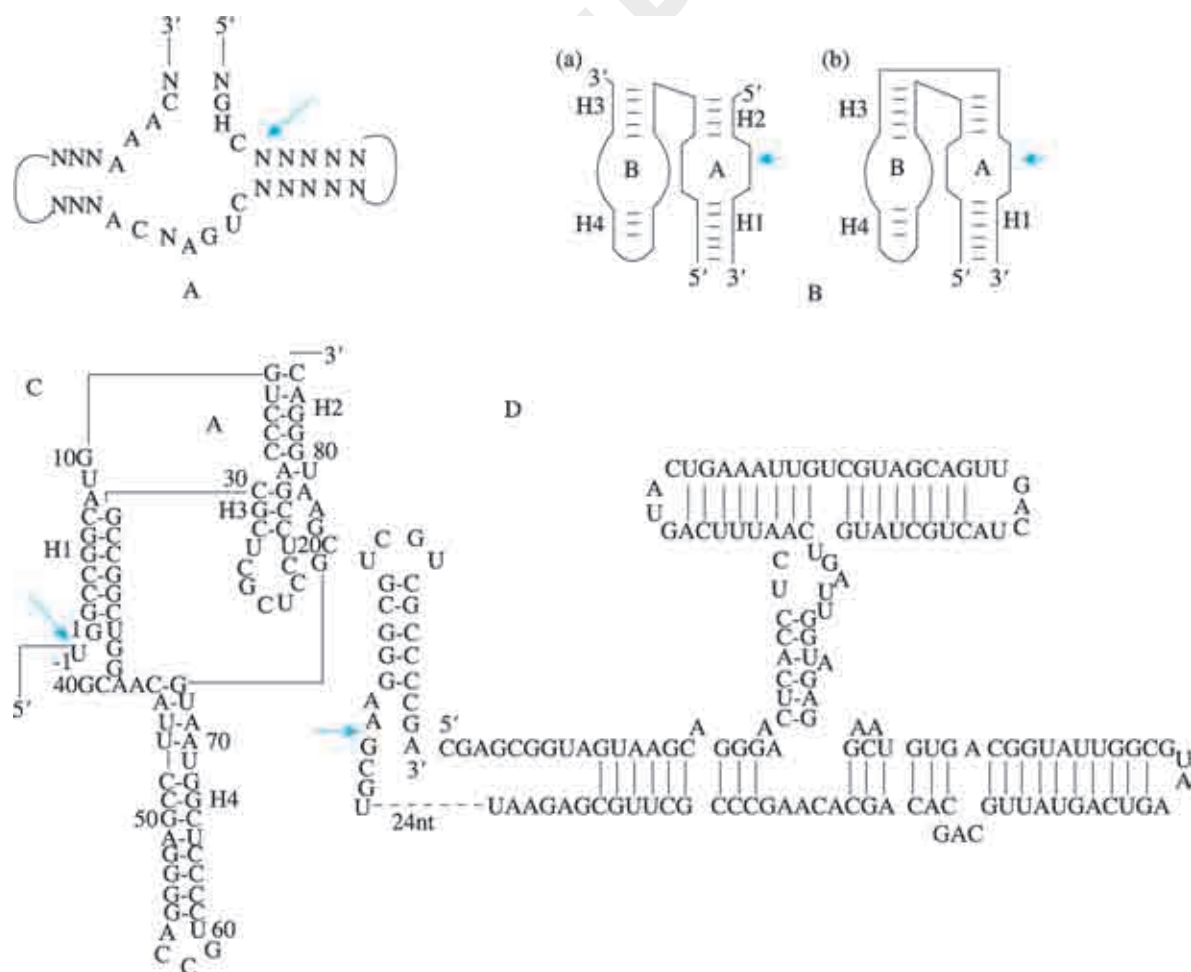


图 3-20 几种类型的核酶

A. 锤头型核酶；B. 发夹型核酶，(a) 分子间发夹型核酶，(b) 分子内发夹型核酶；C. HDV 核酶的基因链；D. 脉孢菌 VS 核酶。图中箭头表示催化断裂部位

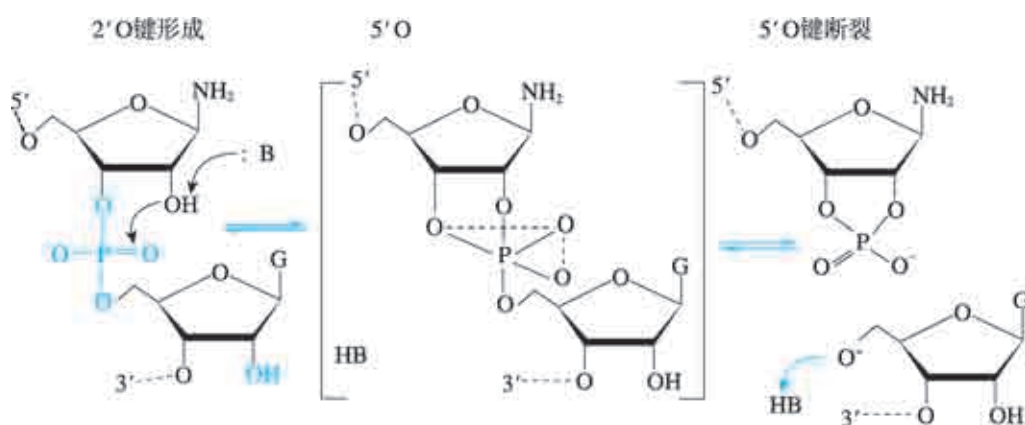


图 3-21 核酶催化转酯作用的化学机制

二、抗体酶

抗体酶又称为催化性抗体 (catalytic antibody)，是一类同时具有抗体和酶的特性的抗体。在免疫球蛋白的易变区具有某种酶的特性，如催化性、底物专一性、pH 依赖性以及可被抑制



抗体酶的发展过程

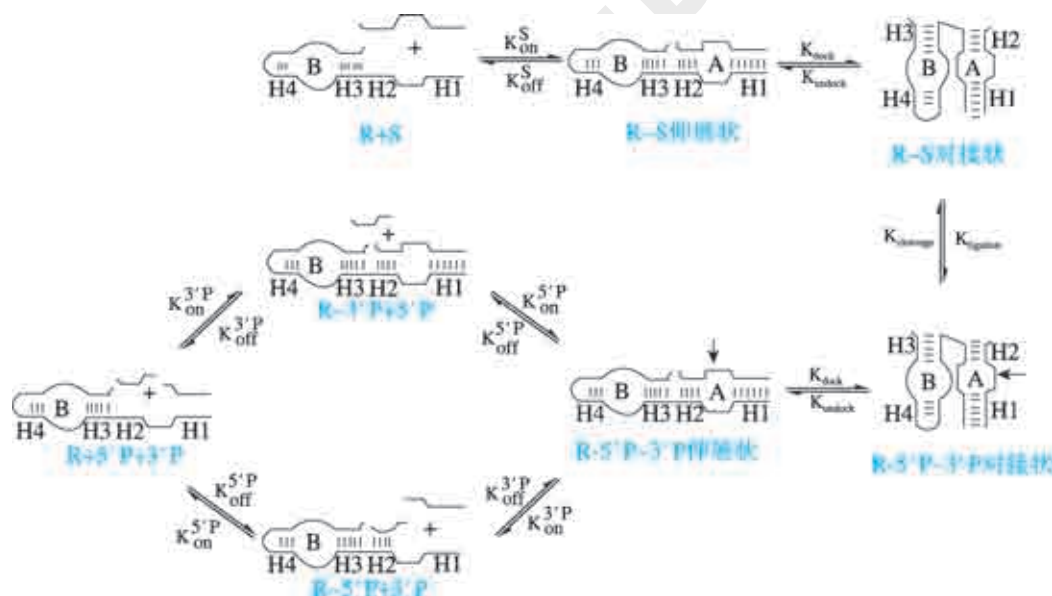


图 3-22 发夹型核酶催化的动力学机制

剂抑制等。抗体与酶尽管功能不同，但都是蛋白质，并可专一地结合各自的配体形成相应的复合物。

抗体与酶在结合配体方面的差别是：抗体专一结合的是稳定的、低能级的分子；酶专一结合的是具有活化的、高能级的过渡态结构分子。若能找到抗过渡态的抗体，并加到该反应体系中，就可观察到抗体对应的催化效应。1969年，有人尝试利用免疫系统制造特异的、高亲和力、具有催化功能的免疫球蛋白，即抗体酶。现在已经在许多情况下，发现了这种具有催化作用的抗体亚类，如在自体免疫性疾病，正常人和动物、底物的免疫反应，底物类似物的免疫反应，抗酶表型抗体，抗过渡态类似物抗体，呼吸系统疾病抗体的轻链（L），多发性骨髓瘤中等。

三、其他生物催化剂

现在可以通过化学合成的方法合成一些非蛋白质、非核酸的生物催化剂，这些生物催化剂的结构比蛋白质酶的结构简单得多，可以模拟酶对底物的结合和催化过程，既可以达到酶催化的高效率，又可克服酶的不稳定性，这样的生物催化剂称模拟酶（mimic enzyme）。如利用环糊精已成功地模拟了谷胱甘肽过氧化物酶、胰凝乳蛋白酶、核糖核酸酶、氨基转移酶、碳酸酐酶等。其中对胰凝乳蛋白酶的模拟，其活性已接近天然胰凝乳蛋白酶。

在一些研究中合成的 $\text{EDTA} \cdot \text{Fe}(\text{II}) \cdot \text{X}$ 可以像探针一样与单链 DNA 的任意区域进行结合并切割 DNA，有人将其称为探针酶。其中 X 为探针，能与 DNA 结合。探针酶与限制性内切酶相比，其特点是切割位点不够精确，但有较大的灵活性，可在任意选定的位置切割 DNA。可以期望探针酶破坏致病基因（病毒 RNA 和 DNA，癌基因等），用于治疗疾病。

人工合成的具有催化活性的蛋白质或多肽，称为人工酶（artificial enzyme）。例如，Steward 等使用酪氨酸乙酯作为胰凝乳蛋白酶的底物，用计算机模拟胰凝乳蛋白酶的活性部位，构建出一种由 73 个氨基酸残基组成的多肽，此多肽具有底物专一性以及胰凝乳蛋白酶抑制剂的敏感性，对烷基酯的水解活力为天然胰凝乳蛋白酶的 1%。

Schultz 将一小段人工合成的含 14 个核苷酸的多核苷酸（5'TTCGCGGTGGTGGC3'）的 3' 端，经化学方法连接到 RNA 酶的 Cys¹¹⁶ 上去，改造成 RNA 限制性内切酶，它只能水解与上述多核苷酸碱基配对的 RNA。将这种连有多核苷酸的 RNA 酶称为杂交酶（hybrizyme）。

用基因工程技术生产的酶称为克隆酶。用于医药或工业上的青霉素 G 酰化酶、 α -淀粉酶、尿激酶原、凝乳酶、组织型纤溶酶原激活剂等都已用此法工业生产。用基因定位突变技术修饰天然酶基因，然后用基因工程技术生产该突变基因的酶，称为突变酶。例如，运用蛋白质工程技术将枯草杆菌蛋白酶的 Asp⁹⁹ 和 Glu¹⁵⁶ 替换成 Lys 之后，产生了活性很高的枯草杆菌突变蛋白酶。

第十节 酶与医学的关系

一、酶与疾病的发生

酶的催化作用是机体实现物质代谢以维持生命活动的必要条件。当某种酶在体内的生成或作用发生障碍时，机体的物质代谢过程常可失常；失常的结果则表现为疾病。如急性胰腺炎时，许多由胰腺制造的蛋白水解酶在胰腺细胞内就被异常激活，导致胰腺组织严重破坏；又如，体内生物氧化过程中不断产生超氧阴离子，它可损伤细胞，而超氧化物歧化酶则可消除超氧阴离子，细胞衰老的机制可能与超氧化物歧化酶的活力降低有关；有先天性乳糖酶缺乏的婴儿，不能水解乳汁中的乳糖，引起腹泻等胃肠道紊乱，导致乳糖酶缺乏症。所以，许多疾病的发病机制或病理生理变化，都直接、间接地与酶的参与有关。

二、酶与疾病的诊断

许多遗传性疾患是由先天性缺乏某种有活性的酶所致，故在出生前，可从羊水或绒毛膜中，检出该酶的缺陷或其基因表达的缺失，从而可采取早期流产，防患于未然。

当某些器官组织发生病变时，由于细胞的坏死或破损，或细胞膜通透性增高，可使原存在于细胞内的某些酶进入体液中，使体液中该酶的含量增高。通过对血、尿等体液和分泌液中某些酶活性的测定，可以反映某些组织器官的病损情况，而有助于疾病的诊断。血中某些酶活性的增高还可见于：①细胞的转换率增加，或细胞的增殖增快。当恶性肿瘤疯狂增长时，其标志酶的释出也增多，如前列腺癌患者，将会大量释出其标志酶——酸性磷酸酶。②酶的合成或诱导增加。如胆道堵塞时，胆汁反流，可诱导肝合成大量碱性磷酸酶。肝中的 γ -谷氨酰转移酶可被巴比妥盐类（一类镇静催眠药）或酒精等诱导而生成增加。③酶的清除降低，或分泌受阻等。血清中酶的清除，主要通过受体介导的内吞作用。如肝细胞上存在以半乳糖苷基为末端的糖蛋白受体，它可结合循环中末端含半乳糖苷基的糖蛋白；来自小肠的碱性磷酸酶属于这类糖蛋白，因而可被清除。在肝硬化时，具有此类受体的细胞减少，血中碱性磷酸酶的活性增高。肿瘤标志性碱性磷酸酶的末端糖基为唾液酸（而非半乳糖苷基），故不被上述机制所清除，其在血中存在的持续时间长，活性高。所以，临床上通过测定血中一些酶的活性以诊断某些疾病，具有重要的诊断价值。

三、酶与疾病的治疗

1. 替代治疗 因消化腺分泌不足所致的消化不良，可补充胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰脂肪酶及胰淀粉酶等以助消化。中药助消化药鸡内金，系鸡胃黏膜，含丰富的活力极强的胃蛋白酶。因某些酶的基因缺陷所致的先天性代谢障碍，正在试用相应酶的替代疗法，如以脂质体包裹酶以引入体内，或设法引入该酶的基因。

2. 抗菌治疗 凡能抑制或阻断细菌重要代谢途径中的酶活性，即可达到抑菌或杀菌的目的。如磺胺类药物，可竞争性抑制细菌中的二氢叶酸合酶，使细菌的核酸代谢障碍而阻遏其生

长、繁殖。氯霉素因抑制某些细菌的肽酰转移酶活性，而抑制其蛋白质的生物合成。某些对青霉素耐药的细菌，是因为该菌生成一种能水解青霉素的 β -内酰胺酶。新设计的青霉素衍生物具有不被该酶水解的结构特点，如头孢西丁，其被 β -内酰胺酶分解的速度只有青霉素V的十万分之一。

3. 抗癌治疗 肿瘤细胞有其独特的代谢方式，若能阻断相应的酶活性，就可达到遏制肿瘤细胞生长的目的。L-Asn是某些肿瘤细胞的必需氨基酸，若给予能水解L-Asn的左旋天冬酰胺酶，则肿瘤细胞将因其必需的营养素被剥夺而趋于死亡。又如甲氨蝶呤可抑制肿瘤细胞的二氢叶酸还原酶，使肿瘤细胞的核酸代谢受阻而抑制其生长、繁殖。

4. 对症治疗 如菠萝蛋白酶等可用于溶解及清除炎症渗出物，消除组织水肿，溶解纤维蛋白血凝块。链激酶及尿激酶可溶解血栓，多用于心、脑血管栓塞的治疗。DNA酶可水解呼吸道黏稠分泌液中的DNA，使痰液变稀，易于引流咳出。

5. 调整代谢，纠正紊乱 如抑郁症系由于脑中兴奋性神经介质（如儿茶酚胺）与抑制性神经介质的不平衡所致，给予单胺氧化酶抑制剂，可减少儿茶酚胺类的代谢灭活，提高突触中的儿茶酚胺含量而抗抑郁，这是许多抗抑郁药的设计依据。

四、酶在医药学中的其他用途

酶在医药学上的应用是极其广泛的。例如药物设计中寻找某些酶的特异抑制剂或激活剂，如抗代谢物。又如，用化学方法将酶交联在惰性物质表面，构成固相酶，用处很大。如对于慢性肾衰竭患者，含氮废物如尿素不能从肾中滤出，需要进行人工透析法以清除血中的含氮废物，若在透析管上存在固相化的脲酶，则流经透析管的血液易于将尿素清除，这是因为尿素经脲酶作用后生成的氨和 CO_2 透过透析管的速度，远比尿素的透过速度为快。又如，临床实验室检验中常用酶作为工具，以分析血液中的某些可受该酶作用的物质的含量。例如将葡萄糖氧化酶固定在玻璃电极上，可测定血中葡萄糖的含量，称为酶电极。将不同的酶固定在不同的酶电极上，可分别测定许多不同的物质。

小结

生物体内绝大多数化学反应都是由生物催化剂催化的，酶是最主要的生物催化剂，酶的化学本质为蛋白质。

按分子组成不同，酶分为单纯酶和结合酶两类。单纯酶是仅由氨基酸残基组成的蛋白质；结合酶中除含有蛋白质部分外，还含有辅因子。酶蛋白决定酶促反应的特异性；辅因子参与酶的活性中心，决定酶促反应的类型和性质。辅因子包括金属离子或小分子有机化合物，小分子有机物或金属有机物称为辅酶，辅酶或金属离子与酶蛋白结合牢固的称为辅基。许多B族维生素参与辅酶或辅基分子的组成。酶分子中一些在一级结构上可能相距很远的必需基团，在空间结构上彼此靠近，组成具有特定空间结构的区域，能与底物特异地结合并将底物转化为产物，这一区域称为酶的活性中心。体内有些酶以无活性的酶原形式存在，只有在需要发挥作用时才转化为有活性的酶，该过程为酶原激活。同工酶是指催化的化学反应相同，酶蛋白的分子结构、理化性质以及免疫学性质不同的一组酶，是由不同基因或等位基因编码的多肽链，或同一基因转录生成的不同mRNA翻译的不同多肽链组成的蛋白质。同工酶在不同的组织与细胞中具有不同的代谢特点。

酶促反应具有高效性、特异性、可调节性和不稳定性。其催化机制是酶与底物诱导契合形成酶-底物复合物，通过邻近效应、定向排列、多元催化及表面效应等使酶发挥高效催化作用。

酶促反应动力学研究影响酶促反应速率的各种因素,包括底物浓度、酶浓度、温度、pH、抑制剂和激活剂等。底物浓度对反应速率的影响可用米氏方程表示:

$$V = V_{\max} [S] / (K_m + [S])$$

其中, K_m 为米氏常数,等于反应速率为最大速率一半时的底物浓度,具有重要意义。 $V_{\max}$ 和 K_m 可用米氏方程的双倒数作图来求取。酶促反应在最适 pH 和最适温度时活性最高,但它们不是酶的特征性常数,受许多因素的影响。酶的抑制作用包括不可逆性抑制与可逆性抑制两种。可逆性抑制中,竞争性抑制作用的表观 K_m 增大, $V_{\max}$ 不变;非竞争性抑制作用的表观 K_m 不变, $V_{\max}$ 减小;反竞争性抑制作用的表观 K_m 和 $V_{\max}$ 均减小。

机体内对酶的活性与含量的调节是调节代谢的重要途径之一。酶活性的调节包括别构调节和化学修饰调节。别构酶是与一些效应剂可逆地结合,通过改变酶的构象而影响酶活性的酶。多亚基的别构酶具有协同效应,是体内快速调节酶活性的重要方式。一种酶肽链上的某些基团在其他酶的催化下发生可逆的共价修饰,从而引起酶活性发生改变,这种调节称为酶的化学修饰调节。酶的化学修饰中,磷酸化与脱磷酸在代谢调节中最为多见。

酶活性是衡量酶催化活力的尺度,在标准条件下以单位时间内底物的消耗量或产物的生成量来表示。酶的比活性是指每毫克酶蛋白所含的酶活力单位数,通常用来衡量酶的纯度。酶活性测定可以采用直接测定法、间接测定法和酶偶联测定法进行检测。

酶可分为 7 大类,分别是氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类、连接酶类和易位酶类。酶的名称包括系统名称和推荐名称。按酶的系统名称,每一个酶均有四部分数字的编号。

核酶也称为催化性 RNA,化学本质为 RNA。现在也可以通过化学合成方法合成一些非蛋白质、非核酸类的生物催化剂。

酶与医学的关系十分密切。许多疾病的发生、发展与酶的异常或酶受到抑制有关。机体内某些疾病可通过血清酶的测定予以反映。许多药物可通过作用于细菌或人体内的某些酶以达到治疗目的。酶可以作为诊断试剂和药物对某些疾病进行诊断与治疗。

思考题

1. 简述酶活性中心的结构特点及其与功能的相关性。
2. 以乳酸脱氢酶(LDH)为例,说明同工酶的生理及病理意义。
3. 举例说明酶原与酶原激活的意义。
4. 阐述磺胺药抗菌作用的基本原理。
5. 酶的不可逆性抑制剂与可逆性抑制剂有何区别?可逆性抑制作用特点分别是什么?
6. 在底物浓度一定时,欲使酶促反应速率最快,对其他影响因素有何要求?
7. 如何判断某种酶是否属于别构酶?
8. 酶活性与酶的比活性有何区别?

(窦 焯)

第二篇

代谢及其调节

第一节 概 述

糖是自然界存在的一大类有机化合物，其化学本质是多羟基醛或多羟基酮及其衍生物或多聚物。绝大多数生物体内均含有糖，其中以植物体内含量最多，占其干重的 85% ~ 95%。糖约占人体干重的 2%。体内所有组织细胞都可利用葡萄糖，在糖代谢中，糖的运输、贮存、分解供能与转变均以葡萄糖为中心。

一、糖的生理功能

(一) 氧化供能

糖最主要的生理功能是提供生命活动所需要的能量。正常情况下，人体 50% ~ 70% 的能量靠糖提供。1mol 葡萄糖完全氧化为二氧化碳和水可释放能量 2840kJ (679kcal)，其中约 34% 转变为 ATP，以供各种生理活动所需能量。虽然脂肪、蛋白质也能供能，但人体优先利用糖供能。

(二) 转变成其他非糖含碳物质

糖是机体重要的碳源，它的中间产物可转变成其他非糖含碳物质，如营养非必需氨基酸、脂质和核苷等，它们在体内具有重要的生理功能。

(三) 构成组织细胞的重要结构成分及活性物质

体内重要的生物大分子如核酸、糖蛋白、蛋白聚糖和糖脂等均含有糖。核糖或脱氧核糖是 DNA 和 RNA 的组成成分，参与遗传信息的贮存与传递；糖蛋白的功能多样，寡糖链不但能影响蛋白质部分的构象、聚合及降解，还参与糖蛋白的相互识别和结合等；蛋白聚糖主要作为结构成分，分布于软骨、结缔组织、角膜等基质内，也参与构成关节的滑液、眼玻璃体的胶状物，分别起润滑作用和透光作用；糖脂是细胞膜的组分。除此之外，糖还参与构成体内某些重要的生物活性物质，如激素、酶、免疫球蛋白、血型物质和血浆蛋白等。

二、糖的消化吸收

人体摄入的糖类物质主要有植物淀粉、动物糖原、蔗糖、麦芽糖、乳糖和葡萄糖等。食物中的单糖可以直接被吸收，但食物中的糖以淀粉及纤维素为主。淀粉分子中的葡萄糖通过 α -1,4-糖苷键及 α -1,6-糖苷键相连，纤维素分子中的葡萄糖通过 β -糖苷键相连。多糖必须经过消化道中各种酶的作用，水解成葡萄糖等单糖后才能被吸收入体内，这个水解过程称为消化。人体内无 β -糖苷酶，故不能消化食物中的纤维素，但后者有促进肠蠕动等作用，为人类健康所必需。

淀粉的消化从口腔开始，唾液中含有 α -淀粉酶 (α -amylase)，催化淀粉分子中的 α -1,4-糖苷键水解，将淀粉水解为麦芽糖、麦芽三糖及含分支的异麦芽糖和 α -临界糊精。食物在口腔中停留的时间很短，食糜进入胃后，胃酸逐渐渗入食糜内，使唾液淀粉酶失去活性，故淀粉在胃中基本无消化。因此，淀粉消化主要在小肠内进行。在肠腔中有胰腺分泌的 α -胰淀粉酶，小肠

黏膜上皮细胞刷状缘含有 α - 临界糊精酶、异麦芽糖酶、 α - 葡萄糖苷酶及各种二糖酶（乳糖酶、蔗糖酶和麦芽糖酶），其中 α - 临界糊精酶、异麦芽糖酶可水解 α -1, 4- 糖苷键和 α -1, 6- 糖苷键，这些酶能使相应的糖水解为葡萄糖、果糖和半乳糖。有些成人缺乏乳糖酶，在食用牛奶后发生乳糖消化障碍，可引起腹胀、腹泻等症状，此时停止食用牛奶，或改食酸奶，能防止其发生。

单糖在小肠被吸收，经门静脉入肝。虽然各种单糖均可被吸收，但其吸收速度不同。若葡萄糖吸收率为 100，单糖吸收率顺序如下：

D-半乳糖 > D-葡萄糖 > D-果糖 > D-甘露糖 > L-木酮糖 > L-阿拉伯糖
(110) (100) (43) (19) (15) (6)

这种吸收率的差别表明，除了简单扩散外，主要依赖于耗能的特定载体转运的主动吸收，在这个过程中同时伴有 Na^+ 的转运。这类葡萄糖载体被称为 Na^+ 依赖型葡萄糖转运蛋白 (sodium-dependent glucose transporter, SGLT)，它们主要存在于小肠黏膜和肾小管上皮细胞，以主动转运方式逆浓度梯度转运葡萄糖。葡萄糖等与 Na^+ 分别结合在转运蛋白的不同部位，形成葡萄糖- Na^+ -转运蛋白复合物（图 4-1）。由于肠腔内钠离子浓度高于细胞内浓度而形成钠离子浓度梯度，使葡萄糖- Na^+ -转运蛋白复合物顺钠离子浓度梯度差转运入细胞内，葡萄糖随之由细胞扩散入血液，而钠被 ATP 供给能量的 Na^+ 泵泵出细胞， K^+ 则进入细胞，使细胞内外离子浓度达到平衡。人体中已发现的葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter, GLUT) 有 12 种，分别在不同的组织细胞中发挥转运葡萄糖的作用，且不同组织中的 GLUT 分布不同，生物功能不同，决定了各组织葡萄糖代谢有差异。现已明确功能的为 GLUT1 ~ GLUT5。GLUT1 和 GLUT3 是细胞基本的葡萄糖转运蛋白，广泛分布于全身各组织中。GLUT2 主要分布于肝细胞和胰岛 β 细胞中，因与葡萄糖亲和力较低，故而肝细胞能在餐后血液葡萄糖浓度较高时摄取过量葡萄糖，同时调节胰岛素分泌。而 GLUT4 主要分布于脂肪及肌组织中，依赖胰岛素调节摄取葡萄糖，耐力训练可增加肌组织细胞膜上 GLUT4 数量。GLUT5 主要分布于小肠，为转运果糖进入细胞的重要载体。转运蛋白对单糖分子结构有选择性，要求单糖为 C-2 上有自由羟基的吡喃型单糖，故半乳糖、葡萄糖等能与载体蛋白结合而被迅速吸收，而果糖、甘露糖等不能与载体蛋白结合，所以吸收速度较低。糖尿病患者要严格控制主食摄入量，尤其是葡萄糖的摄入量，并少摄入动物性脂肪，多进食蔬菜和豆制品，以防止血糖浓度过度升高。

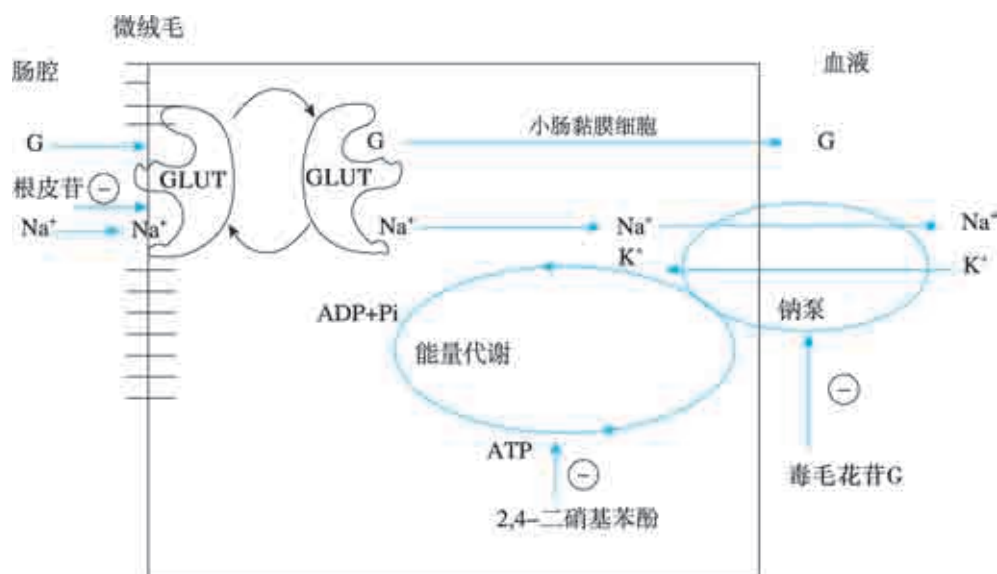


图 4-1 小肠中葡萄糖主动吸收示意图

G 指葡萄糖

三、糖代谢概况

糖代谢主要是指葡萄糖在体内的一系列复杂的化学变化。在不同的生理条件下，葡萄糖在组织细胞内代谢的途径也不同。供氧充足时葡萄糖进行有氧氧化，缺氧时进行无氧氧化。此外，葡萄糖还可通过磷酸戊糖途径及糖醛酸途径代谢。体内血糖充足时，肝、肌肉等组织可以把葡萄糖合成糖原储存，反之则进行糖原分解。有些非糖物质如乳酸、丙酮酸、生糖氨基酸等能经糖异生转变成葡萄糖或糖原。糖代谢的概况见图 4-2。

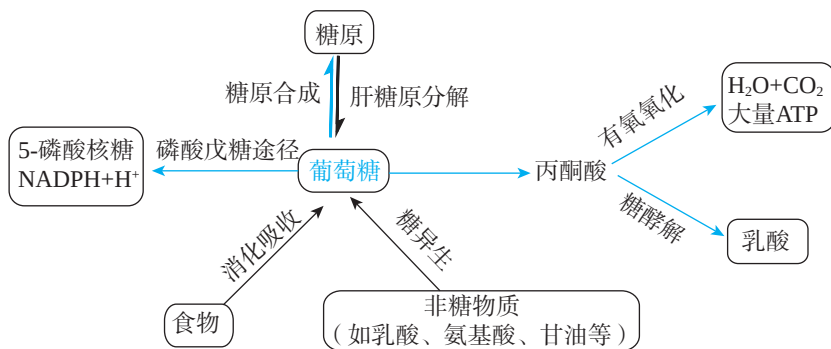


图 4-2 糖代谢概况

第二节 糖的分解代谢

体内糖的分解代谢方式根据其反应条件和反应途径的不同可分为四种：①在有氧时进行糖的有氧氧化，是供能的主要途径，1mol 葡萄糖经有氧氧化生成二氧化碳和水，并生成 32 或 30mol ATP；②在氧供应不足时进行糖的无氧氧化，提供部分急需的能量，同时也是少数组织如红细胞等生理情况下的供能途径；③通过磷酸戊糖途径，提供有重要生理功能的磷酸核糖和 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ；④糖醛酸途径，主要在肝内进行，提供尿苷二磷酸葡萄糖醛酸 (uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA)，它是蛋白多糖的重要成分和生物转化中最重要的结合剂。

一、糖的无氧氧化

葡萄糖或糖原在无氧或缺氧情况下分解生成乳酸和 ATP 的过程，称为糖的无氧氧化。糖的无氧氧化分为糖酵解和乳酸生成两个阶段。第一阶段是糖酵解 (glycolysis)。1 分子葡萄糖在胞质一系列酶的催化产生 2 分子丙酮酸，并生成 2 分子 ATP 和 2 分子 NADH 的过程。糖酵解是葡萄糖无氧氧化和有氧氧化的共同起始途径。全身各组织细胞内均可进行糖酵解，尤其以肌肉组织、红细胞、皮肤和肿瘤组织中活跃。第二阶段为丙酮酸还原生成乳酸，即在人体组织不能利用氧或氧供应不足时，将糖酵解生成的丙酮酸进一步在胞质中还原生成乳酸。糖的无氧氧化反应过程如下：

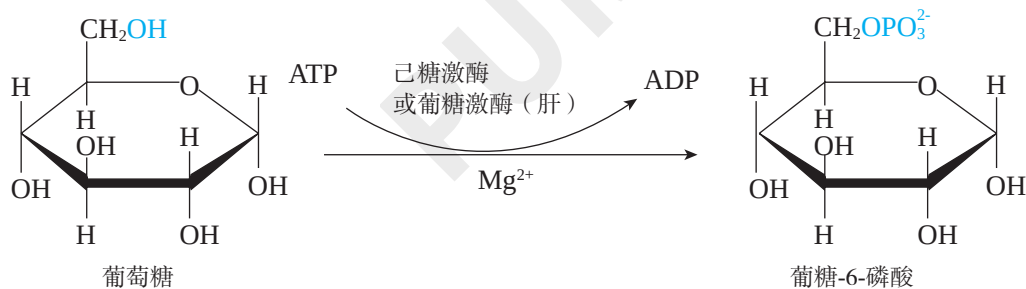
(一) 葡萄糖分解为丙酮酸

第一阶段：1 分子葡萄糖分解为 2 分子丙酮酸，此阶段包括 10 步反应。

1. 葡萄糖磷酸化生成葡萄糖-6-磷酸 (glucose-6-phosphate, G-6-P)

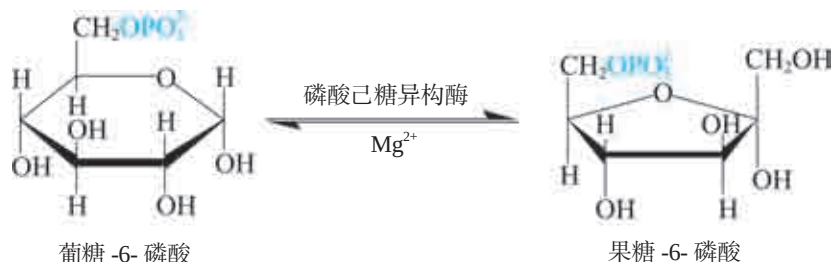
在己糖激酶 (hexokinase, HK) 的催化下，把 ATP 的磷酸基团转移给葡萄糖， Mg^{2+} 作为激活剂，生成葡萄糖-6-磷酸。反应一般不可逆，己糖激酶为关键酶。哺乳动物体内已发现四种己糖激酶同工酶，分别称为 I ~ IV 型。肝细胞中存在的是 IV 型，也称为葡萄糖激酶 (glucokinase, GK)。它对葡萄糖的亲和力很低， K_m 值为 10mmol/L。其他己糖激酶的 K_m 值约

为 0.1mmol/L ，可催化果糖和半乳糖的磷酸化。GK 的另一个特点是受激素调控。这些特点使葡萄糖激酶在维持血糖水平中起重要的生理作用。



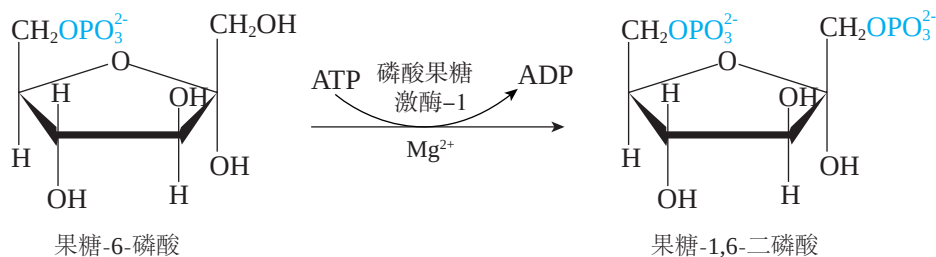
2. 果糖-6-磷酸 (fructose-6-phosphate, F-6-P) 的生成

这是由磷酸己糖异构酶 (phosphohexoisomerase) 催化的醛糖与酮糖的异构反应，反应是可逆的，需 Mg^{2+} 参加。



3. 果糖-6-磷酸磷酸化生成果糖-1,6-二磷酸 (1,6-fructose-bisphosphate, F-1,6-BP 或 FBP)

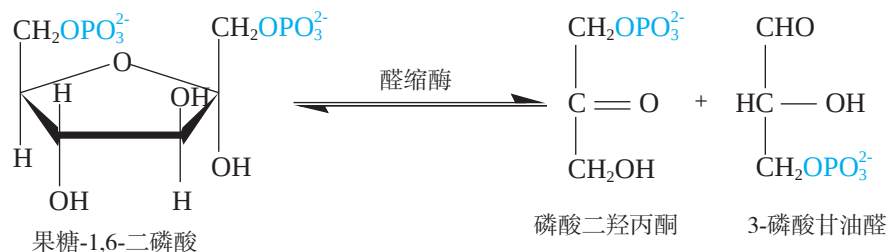
这是糖酵解途径中第二次磷酸化反应，在关键酶磷酸果糖激酶-1 (phosphofructokinase-1, PFK-1) 的催化下，同样需要 ATP 和 Mg^{2+} 参加，生成果糖-1,6-二磷酸。该反应也是不可逆的。



体内还有磷酸果糖激酶-2 (PFK-2)，催化果糖-6-磷酸的 C-2 磷酸化，生成果糖-2,6-二磷酸，它不是糖酵解途径的中间产物，但在糖酵解的调控上有重要作用 (详见糖无氧氧化的调节)。

4. 果糖-1,6-二磷酸裂解为 2 分子磷酸丙糖

在醛缩酶催化下，1 分子果糖-1,6-二磷酸裂解为 1 分子 3-磷酸甘油醛和 1 分子磷酸二羟丙酮，反应是可逆的。



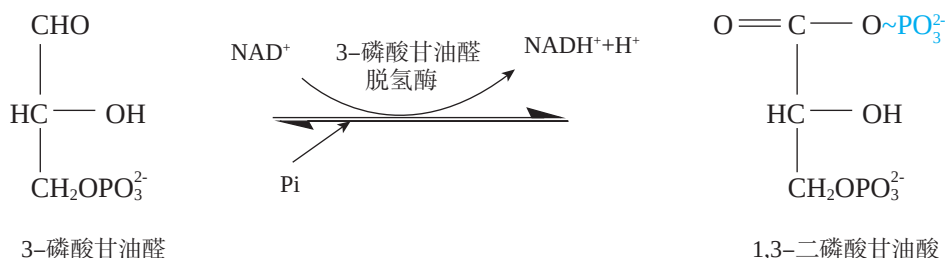
5. 3- 磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮可互相转变

3- 磷酸甘油醛与磷酸二羟丙酮是同分异构体，在磷酸丙糖异构酶的催化下可相互转变。当 3- 磷酸甘油醛在下一步反应中被消耗时，磷酸二羟丙酮迅速转变成 3- 磷酸甘油醛，继续进行反应，故相当于 1 分子果糖 -1, 6- 二磷酸裂解为 2 分子的 3- 磷酸甘油醛。其他已糖如果糖、半乳糖和甘露糖等也可以转变成 3- 磷酸甘油醛。



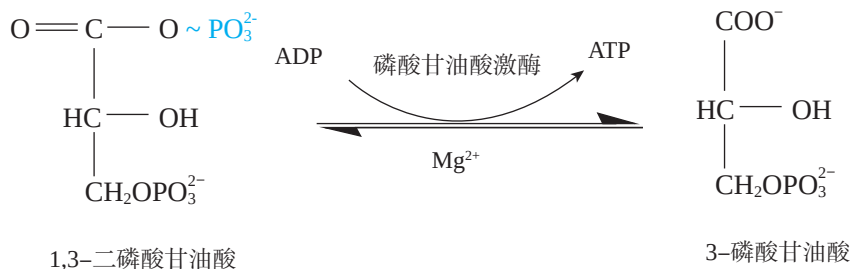
6. 3- 磷酸甘油醛氧化为 1, 3- 二磷酸甘油酸

这步反应由 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 催化，以 NAD^+ 为辅酶接受氢和电子生成 $\text{NADH} + \text{H}^+$ ，这是糖酵解中唯一的一次脱氢反应。参加反应的还有无机磷酸，此步反应可逆。3- 磷酸甘油醛的醛基氧化脱氢为羧基，即与磷酸形成混合酸酐，此酸酐的水解自由能很高。1, 3- 二磷酸甘油酸的能量可转移给 ADP 生成 ATP。



7. 1, 3- 二磷酸甘油酸转变成 3- 磷酸甘油酸

1, 3- 二磷酸甘油酸在磷酸甘油酸激酶 (phosphoglycerate kinase) 和 Mg^{2+} 存在时，其混合酸酐上的磷酸基转移至 ADP 生成 ATP，并生成 3- 磷酸甘油酸。这是糖酵解过程中第一个产生 ATP 的底物水平磷酸化反应。由于底物分子内能量重新分布，产生高能键，此底物分子中的高能磷酸键直接转移给 ADP 生成 ATP 的过程称为底物水平磷酸化 (substrate level phosphorylation)。这是体内产生 ATP 的次要方式，不需要氧。



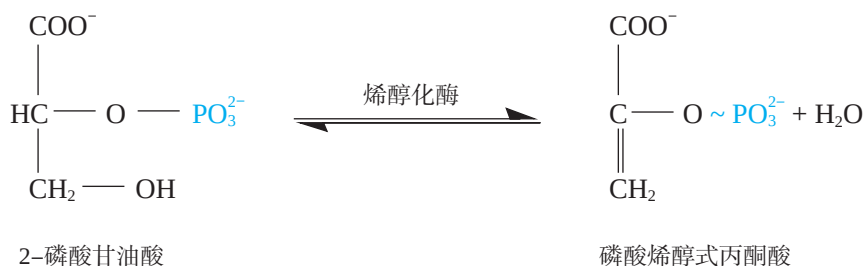
8. 3- 磷酸甘油酸转变为 2- 磷酸甘油酸

这步反应由磷酸甘油酸变位酶 (phosphoglycerate mutase) 催化，磷酸基团在甘油酸 C-2 和 C-3 上可逆转移， Mg^{2+} 是必需的离子。



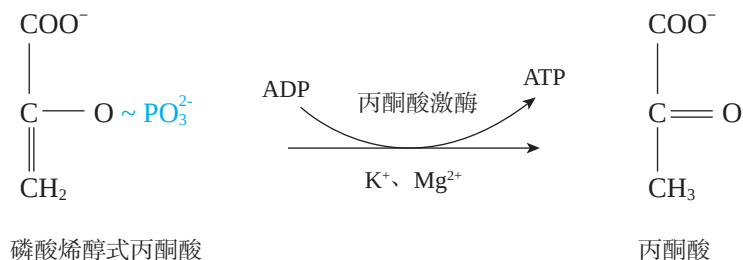
9. 2-磷酸甘油酸转变为磷酸烯醇式丙酮酸

烯醇化酶 (enolase) 催化 2-磷酸甘油酸脱水生成磷酸烯醇式丙酮酸 (phosphoenolpyruvate, PEP)。此步反应引起分子内部的能量重新分布, 形成含有一个高能磷酸键的磷酸烯醇式丙酮酸。



10. 丙酮酸的生成

由丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK) 催化磷酸烯醇式丙酮酸的高能磷酸键转移到 ADP 上, 生成烯醇式丙酮酸和 ATP。但烯醇式丙酮酸迅速非酶促转变成成为酮式丙酮酸。反应需要 K^+ 和二价阳离子 (Mg^{2+} 或 Mn^{2+}) 参与, 生理条件下该反应不可逆, 丙酮酸激酶为催化这一反应的关键酶。这是糖酵解中第二次底物水平磷酸化生成 ATP。



糖酵解的前 5 步反应有两次活化反应, 共消耗 2 分子 ATP, 其特点是耗能和碳链断裂; 后 5 步反应特点是产能, 2 分子的 3-磷酸甘油醛转变为 2 分子的丙酮酸, 通过底物水平磷酸化, 共生成 4 分子 ATP。

(二) 丙酮酸还原为乳酸

乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 催化丙酮酸还原为乳酸, 供氢体 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 来自第 6 步 3-磷酸甘油醛脱下的氢, 这步反应可逆。故无氧氧化过程中虽然有氧化还原反应, 但不需要氧。

[illegible]

括号内数字代表参与和生成的摩尔数

糖无氧氧化的特点：

①糖无氧氧化的起始物是葡萄糖或糖原，终产物是乳酸和少量 ATP，每分子葡萄糖经过糖酵解净生成 2 分子 ATP，见表 4-1。若从糖原开始，每个葡萄糖净生成 3 分子 ATP。

表4-1 糖酵解过程中ATP的生成

反应	生成ATP数
葡萄糖 → 葡糖 -6- 磷酸	-1
果糖 -6- 磷酸 → 果糖 -1, 6- 二磷酸	-1
2 × 1, 3- 二磷酸甘油酸 → 2 × 3- 磷酸甘油酸	2 × 1
2 × 磷酸烯醇式丙酮酸 → 2 × 烯醇式丙酮酸	2 × 1
净生成	2

②反应在细胞质中进行。

③在糖酵解途径中，除了己糖激酶、磷酸果糖激酶 -1 和丙酮酸激酶催化的反应不可逆外，其他反应均可逆。这 3 个酶均是糖酵解途径的关键酶，其中磷酸果糖激酶 -1 的 K_m 值最大，催化效率最低，催化糖酵解中的限速反应。

葡萄糖以外的己糖经转变为磷酸化衍生物也可以进入糖酵解过程。果糖存在于水果中，也可由蔗糖水解而来。在肌肉和肾中，果糖在己糖激酶催化下，同样需 Mg^{2+} 激活，消耗 ATP，生成果糖 -6- 磷酸，进入糖酵解过程。但在肝中，果糖在肝的果糖激酶催化下，在 C-1 上磷酸化，反应也需要 Mg^{2+} ，生成果糖 -1- 磷酸，随后在果糖 -1- 磷酸醛缩酶的催化下，裂解为磷酸二羟丙酮和甘油醛。甘油醛再在甘油醛激酶催化下（也需要 ATP 和 Mg^{2+} 参与），生成 3- 磷酸甘油醛，进入糖酵解过程。

（三）糖无氧氧化的调节

代谢途径中的关键酶在细胞内起着控制代谢通路的阀门作用。酶活性受别构效应剂和激素的调节，根据生理功能的需要而随时改变，影响整个代谢途径的速度与方向。

1. 磷酸果糖激酶 -1 该酶是一个四聚体，活性受多种别构效应剂调节。ATP 和柠檬酸等是该酶的别构抑制剂，而 AMP、ADP、果糖 -1, 6- 二磷酸和果糖 -2, 6- 二磷酸等则是别构激活剂。果糖 -1, 6- 二磷酸是该酶的反应产物，是少见的产物性正反馈调节剂，有利于糖的分解。果糖 -2, 6- 二磷酸是磷酸果糖激酶 -1 最强的别构激活剂，它的合成与分解见图 4-4。研究发现，磷酸果糖激酶 -2 是既具有激酶活性，又具有其对应磷酸酶活性的双功能酶。此酶可在胰高血糖素作用下，通过 cAMP- 蛋白激酶 A 系统磷酸化，磷酸化后的磷酸果糖激酶 -2 活性降低，而其对应的磷酸酶活性升高。磷蛋白磷酸酶将其脱磷酸后，酶活性变化则相反。

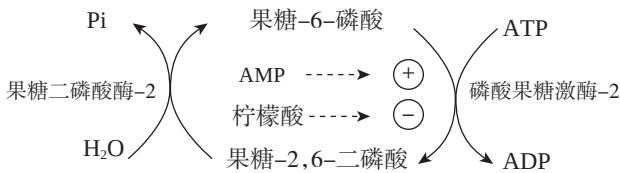


图 4-4 果糖 -2, 6- 二磷酸的合成与分解

2. 丙酮酸激酶 该酶是第二个重要的调节点。果糖 -1, 6- 二磷酸是其别构激活剂，而 ATP、丙氨酸、乙酰 CoA 和长链脂肪酸是其别构抑制剂。胰高血糖素可通过 cAMP 抑制此酶活性。

3. 己糖激酶 该酶有 4 种同工酶，在脂肪、脑和肌肉组织中的己糖激酶与底物亲和力较



其他糖在体内的代谢

高,其活性受葡萄糖-6-磷酸的负反馈调节。肝内为葡萄糖激酶,对底物的亲和力低,而且分子上无结合葡萄糖-6-磷酸的别构位点,故其活性不受葡萄糖-6-磷酸浓度的调节。当葡萄糖-6-磷酸浓度很高时,肝细胞内的葡萄糖激酶未被抑制,从而保证葡萄糖在肝内将葡萄糖-6-磷酸转变为糖原贮存或合成其他非糖物质,以降低血糖浓度,具有生理意义。胰岛素可诱导葡萄糖激酶基因的转录,促进酶的合成,故在肝细胞损伤或糖尿病时,此酶活性降低,影响葡萄糖磷酸化,进而影响糖的氧化分解与糖原合成,使血糖浓度升高。

(四) 糖无氧氧化的生理意义

1. 迅速提供能量 正常生理情况下,人体主要靠有氧氧化供能。但当氧供应不足,如剧烈运动、心肺疾患、呼吸受阻时,需靠无氧化提供一部分急需的能量,这对肌肉收缩极为重要。如机体缺氧时间较长,可造成酵解产物乳酸堆积,可能引起代谢性酸中毒。

2. 红细胞供能的主要方式 成熟红细胞由于没有线粒体,故以无氧化为其唯一供能途径。2,3-二磷酸甘油酸(2,3-BPG)对于调节红细胞的携氧功能具有重要意义。

3. 某些组织生理情况下的供能途径 少数组织即使在氧供应充足的情况下,仍然主要进行无氧化,如视网膜、肾髓质和皮肤等。神经、肿瘤细胞中无氧化活跃。

二、糖的有氧氧化

葡萄糖或糖原在有氧的条件下,彻底氧化成二氧化碳和水并产生ATP的过程称为有氧氧化(aerobic oxidation)。有氧氧化是糖氧化分解供能的主要方式,绝大多数细胞都通过它获得能量。

(一) 糖有氧氧化的反应过程

有氧氧化可分为三个阶段,见图4-5。第一阶段葡萄糖或糖原分解为丙酮酸,即糖酵解。与无氧氧化的糖酵解阶段不同之处仅是3-磷酸甘油醛脱氢产生的 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 在有氧条件下,不再交给丙酮酸使其还原为乳酸,而是经呼吸链氧化生成水并放出能量。第二阶段丙酮酸氧化脱羧生成乙酰CoA。第三阶段为三羧酸循环及氧化磷酸化生成二氧化碳和水,并放出能量。氧化磷酸化将在第6章中述及,下面主要介绍丙酮酸的氧化脱羧和三羧酸循环。

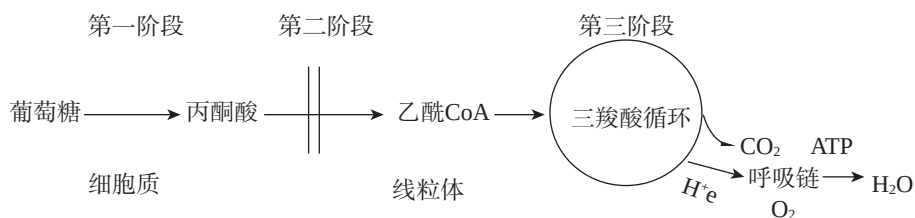


图 4-5 有氧氧化的三个阶段

1. 丙酮酸氧化脱羧生成乙酰 CoA

此反应由丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex)催化。在真核细胞中,该复合体由丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)、二氢硫辛酰胺转乙酰酶(dihydrolipoamide transacetylase, DLT)和二氢硫辛酰胺脱氢酶(dihydrolipoamide dehydrogenase, DLDH)三种酶按一定比例组合而成,见表4-2。

表4-2 丙酮酸脱氢酶复合体的组成

酶	辅酶(所含维生素)
丙酮酸脱氢酶	TPP(维生素 B_1)
二氢硫辛酰胺转乙酰酶	硫辛酸、HSCoA(泛酸)
二氢硫辛酰胺脱氢酶	FAD(维生素 B_2)、 NAD^+ (维生素PP)

这三种酶在复合体中的组合比例随生物体的不同而异。在哺乳类动物中，酶复合体由 60 个二氢硫辛酰胺转乙酰酶组成核心，周围排列着 12 个丙酮酸脱氢酶和 6 个二氢硫辛酰胺脱氢酶，并有硫胺素焦磷酸（thiamine pyrophosphate, TPP）、硫辛酸、FAD、 NAD^+ 和 CoASH 5 种辅酶参与反应。其中硫辛酸是带有二硫键的 8 碳羧酸。通过与转乙酰酶的赖氨酸 ϵ - 氨基相连，形成与酶结合的硫辛酰胺而成为酶的柔性长臂，可将乙酰基从酶复合体的一个活性部位转到另一个活性部位。丙酮酸脱氢酶复合体催化的反应如图 4-6 所示，其总反应如下：

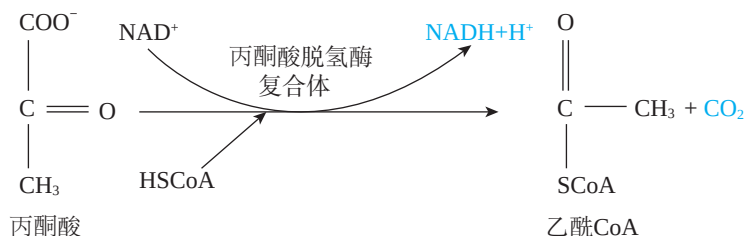


图 4-6 丙酮酸脱氢酶复合体的作用机制

反应分 5 步进行，但中间产物并不从酶复合体上脱下，可使各步反应迅速完成。因无游离的中间产物，整个反应是不可逆的。

第 1 步，PDH 分子上 TPP 噻唑环的活泼 C 原子与丙酮酸上酮基反应产生 CO_2 ，同时形成羟乙基 TPP。

第 2 步，TPP 上的羟乙基和 2 个电子被转移至 DLT 上的氧化型硫辛酸，形成乙酰还原型硫辛酸。

第 3 步，乙酰基从 DLT 上转移至 CoASH，形成乙酰 CoA，离开酶复合体。

第 4 步，DLT 上的二氢硫辛酸把氢转移至 DLDH 的 FAD，又恢复为氧化型硫辛酸。

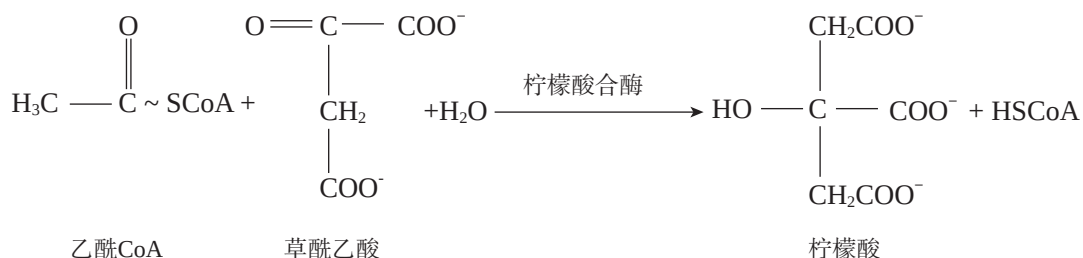
最后一步，DLDH 上的 FADH_2 脱氢交与 NAD^+ 生成 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。

从这一阶段的反应可以看到多种维生素参与辅酶的组成，进而催化反应。故需要通过饮食或药物补充维生素，使代谢正常进行。

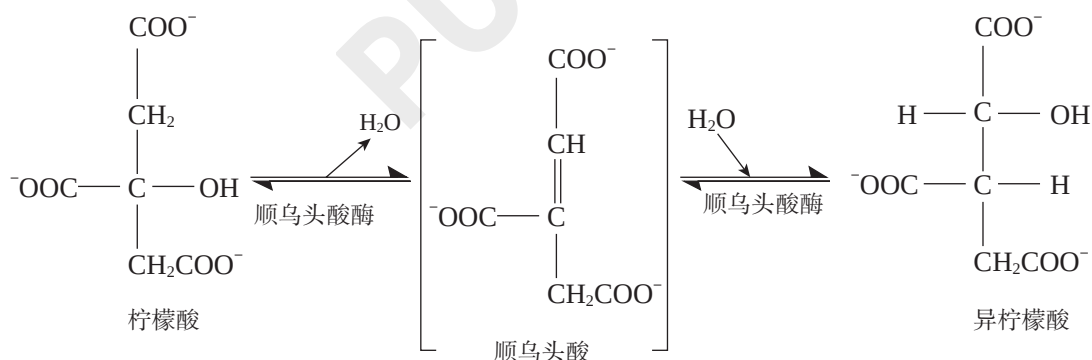
2. 乙酰 CoA 经三羧酸循环彻底氧化

从乙酰 CoA 与草酰乙酸缩合生成含有 3 个羧基的柠檬酸开始，经过一系列反应，最终仍生成草酰乙酸而构成循环，故称为三羧酸循环（tricarboxylic acid cycle, TAC，或称为 TCA cycle 或 TCA 循环）或柠檬酸循环（citric acid cycle）。由于最早由 Krebs 提出，故此循环又称为 Krebs 循环。三羧酸循环在线粒体中进行，包括 8 步酶促反应。

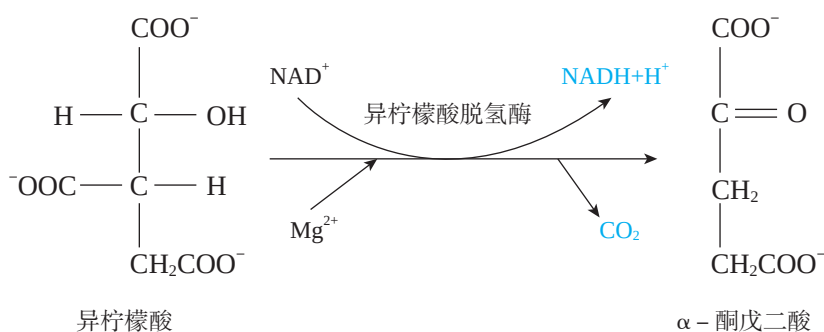
(1) 柠檬酸的生成：由柠檬酸合酶（citrate synthase）催化乙酰 CoA 与草酰乙酸缩合成柠檬酸，此反应不可逆，柠檬酸合酶为关键酶。在此反应中乙酰 CoA 上的甲基 C 与草酰乙酸的酰基 C 连接为柠檬酰 CoA，后者迅速水解释放出柠檬酸和 CoASH。这样大的负值自由能改变对循环的进行很重要，因为在生理条件下，草酰乙酸浓度虽然很低，但柠檬酰 CoA 的不可逆水解推动柠檬酸合成。



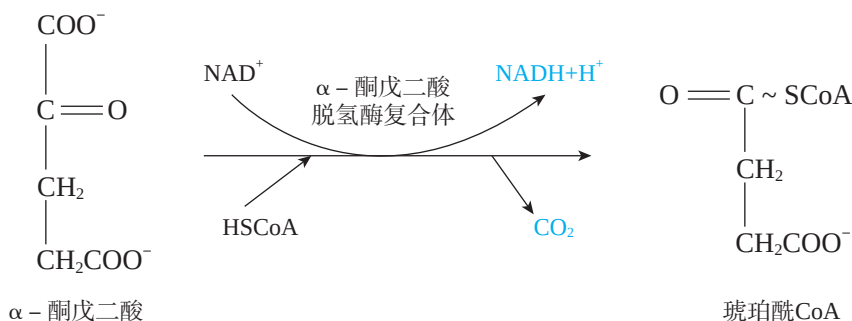
(2) 异柠檬酸的生成：柠檬酸与异柠檬酸是同分异构体。在顺乌头酸酶的催化下，柠檬酸先脱水生成顺乌头酸，后者再水化成异柠檬酸，反应结果使 C-3 上的羟基转移到 C-2 上，此反应可逆。



(3) 异柠檬酸氧化脱羧：在异柠檬酸脱氢酶（isocitrate dehydrogenase）催化下，异柠檬酸氧化脱羧转变为 α -酮戊二酸，脱下的氢由 NAD^+ 接受生成 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。此反应不可逆，异柠檬酸脱氢酶是关键酶，催化三羧酸循环中的限速步骤。

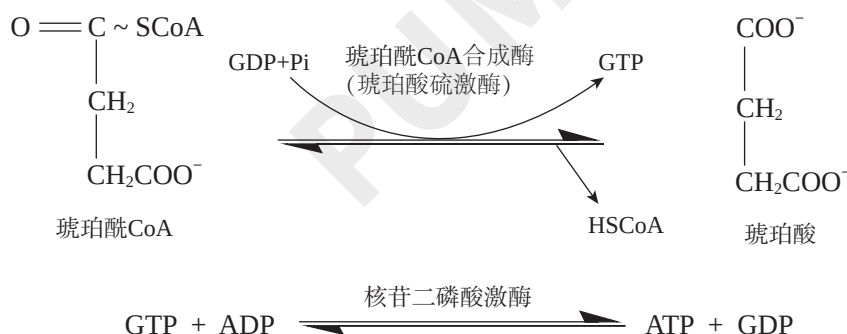


(4) α -酮戊二酸氧化脱羧：在 α -酮戊二酸脱氢酶复合体（ α -ketoglutarate dehydrogenase complex）的催化下， α -酮戊二酸氧化脱羧生成琥珀酰 CoA、 CO_2 和 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。其反应过程和机制与丙酮酸氧化脱羧反应类似，酶复合体也由 3 个酶组成，有 5 步反应，所需辅因子相同。该酶复合体为关键酶，催化的反应不可逆，这是 TCA 循环反应中的第二次氧化脱羧。

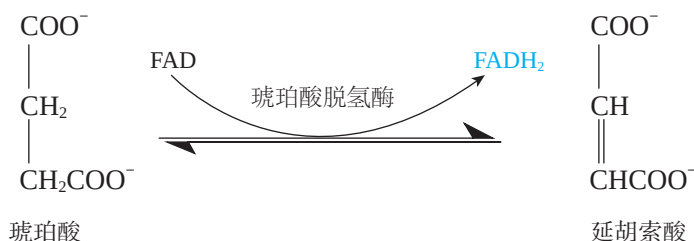


(5) 琥珀酰 CoA 转变为琥珀酸：在此反应中，琥珀酰 CoA 的硫酯键断开，释放出的能量用于合成 GTP 的磷酸酐键，催化此反应的酶是琥珀酰 CoA 合成酶（succinyl-CoA synthetase），又称为琥珀酸硫激酶，反应是可逆的。这是三羧酸循环中唯一经底物水平磷酸化生成的高能化

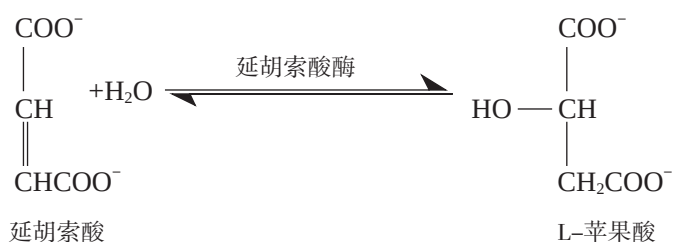
合物，生成的 GTP 再将其高能磷酸键转给 ADP 生成 ATP。



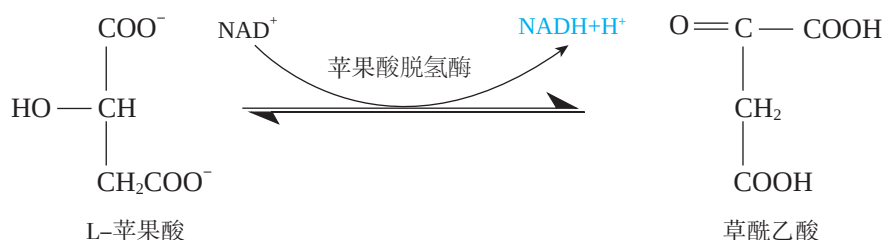
(6) 琥珀酸脱氢生成延胡索酸：由琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase) 催化，脱下的氢由 FAD 接受生成 FADH₂。该酶结合在线粒体内膜上，是三羧酸循环中唯一与内膜结合的酶。其辅酶是 FAD，还含有铁硫中心，来自琥珀酸的电子通过 FAD 和铁硫中心，经电子传递链被氧化，只能生成 1.5 分子 ATP (详见第 6 章)。丙二酸与琥珀酸脱氢酶的底物琥珀酸结构相似，是此酶的竞争性抑制剂。



(7) 延胡索酸水合形成苹果酸：延胡索酸酶 (fumarase) 催化延胡索酸可逆地转变为 L-苹果酸。它只能催化具有反式双键的延胡索酸发生反应，对于顺丁烯二酸 (马来酸) 则无催化作用，因而是具有立体异构特异性的酶。



(8) 草酰乙酸的再生：苹果酸在苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase) 的催化下生成草酰乙酸，脱下的氢由 NAD⁺ 接受生成 NADH+H⁺。在细胞内草酰乙酸不断地被用于柠檬酸的合成，故这一可逆反应向生成草酰乙酸的方向进行。再生的草酰乙酸可再一次进入三羧酸循环。



三羧酸循环总反应过程可归纳如图 4-7。

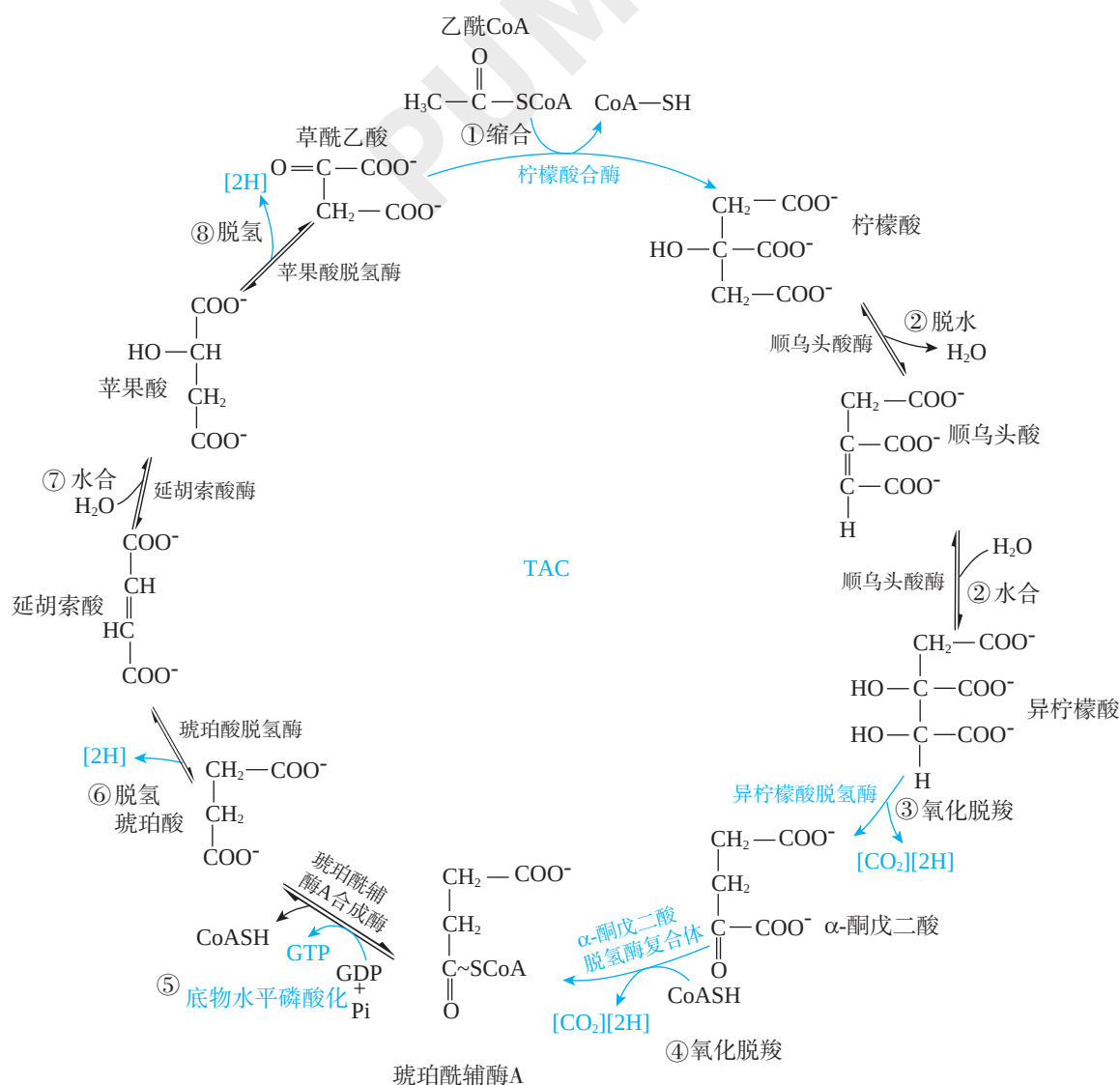


图 4-7 三羧酸循环

三羧酸循环过程特点可总结如下：

①三羧酸循环一周，1 分子乙酰 CoA 通过脱氢，经呼吸链传递，与氧生成水，并放出能量（见第 6 章生物氧化），通过脱羧，生成 2 分子 CO_2 。尽管用 ^{14}C 标记乙酰 CoA 的实验发现， CO_2 的碳原子来自草酰乙酸，而不是乙酰 CoA，但由于中间反应过程中碳原子置换所致。

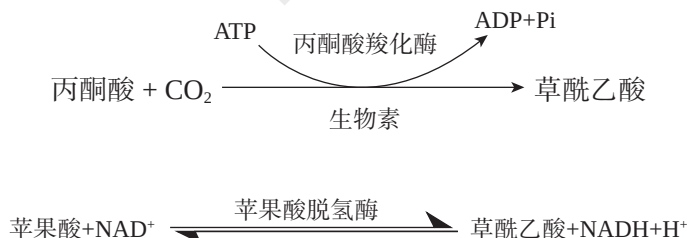
②整个三羧酸循环不可逆，在线粒体中进行。三个调节酶或关键酶柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶和 α-酮戊二酸脱氢酶复合体催化三步不可逆反应，其中异柠檬酸脱氢酶催化三羧酸循环中的限速步骤。

③三羧酸循环中有 4 次脱氢反应，其中 3 次以 NAD^+ 为受氢体，生成的每分子 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 经呼吸链氧化产生 2.5 分子 ATP，1 次以 FAD 为受氢体，生成的 FADH_2 经呼吸链可生成 1.5 分子 ATP，加上底物水平磷酸化生成的一个高能磷酸键（GTP），1 分子乙酰 CoA 经三羧酸循环氧化产生 10 分子 ATP ($3 \times 2.5 + 1 \times 1.5 + 1 = 10$)。

④三羧酸循环的中间产物必须不断更新和补充。从理论上讲，三羧酸循环中间产物可以循

环使用而无量的变化,但这是一种动态平衡,这些中间产物随时都有参与其他代谢反应而被消耗的可能性,也随时都有从其他代谢反应生成的可能性。

在一般情况下,草酰乙酸主要来自糖代谢的中间产物丙酮酸的羧化反应,其次可通过苹果酸脱氢或天冬氨酸转氨基生成。这就是临床上常见到糖代谢异常使丙酮酸来源减少,进而使羧化而来的草酰乙酸减少,累及脂肪和蛋白质分解代谢产生的乙酰 CoA 不能进入三羧酸循环彻底氧化的原因。



(二) 糖有氧氧化的调节

糖有氧氧化是机体获得能量的主要方式,机体对能量的需求量变动很大,因此有氧氧化的速度和方向必须受到严格的调控。有氧氧化的几个阶段中,糖酵解途径的调节已如前述,这里主要叙述丙酮酸脱氢酶复合体的调节和三羧酸循环的调节。

1. 丙酮酸脱氢酶复合体的调节 通过别构调节和共价修饰两种方式进行快速调节。丙酮酸脱氢酶复合体的反应产物乙酰 CoA、NADH+H⁺、ATP 及长链脂肪酸是其别构抑制剂,而 CoASH、NAD⁺、ADP 是其别构激活剂。另外胰岛素和 Ca²⁺ 可促进丙酮酸脱氢酶的去磷酸化作用,使酶转变为活性形式,通过共价修饰,加速丙酮酸氧化(图 4-8)。

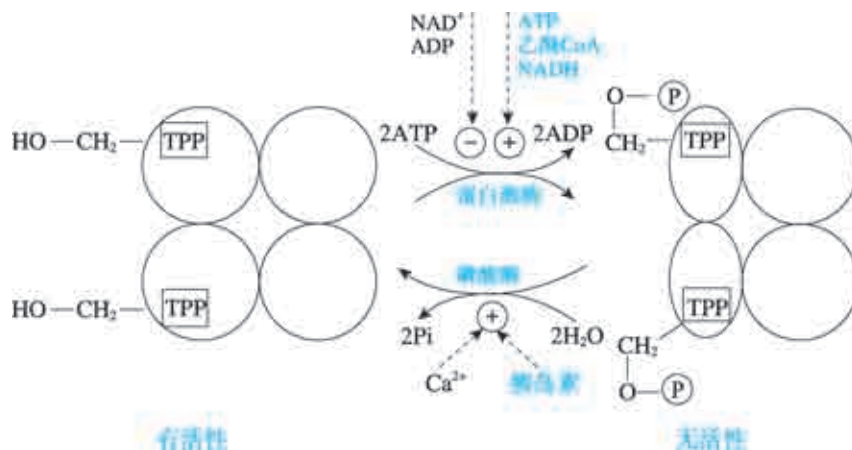


图 4-8 丙酮酸脱氢酶复合体的调节

2. 三羧酸循环的调节 三羧酸循环的速率受多种因素调控。关键酶催化的反应产物如柠檬酸、NADH+H⁺、ATP、琥珀酰 CoA 或脂肪分解产物长链脂肪酰 CoA 是其别构抑制剂,反之其底物如 ADP 和 Ca²⁺ 是别构激活剂。另外氧化磷酸化的速率对三羧酸循环的运转也起着非常重要的作用。三羧酸循环 4 次脱氢产生的 NADH+H⁺ 或 FADH₂ 经氧化磷酸化生成 H₂O 和 ATP,才能使脱氢反应继续进行。三羧酸循环的调控见图 4-9。

3. 糖有氧氧化和糖酵解途径之间存在互相制约的调节 法国科学家 Pasteur 发现酵母菌在无氧时可进行生醇发酵,而将其转移至有氧环境,生醇发酵即被抑制,这种有氧氧化抑制生醇发酵的现象称为巴斯德效应(Pasteur effect)。此效应也存在于人体组织中,即在供氧充足的条

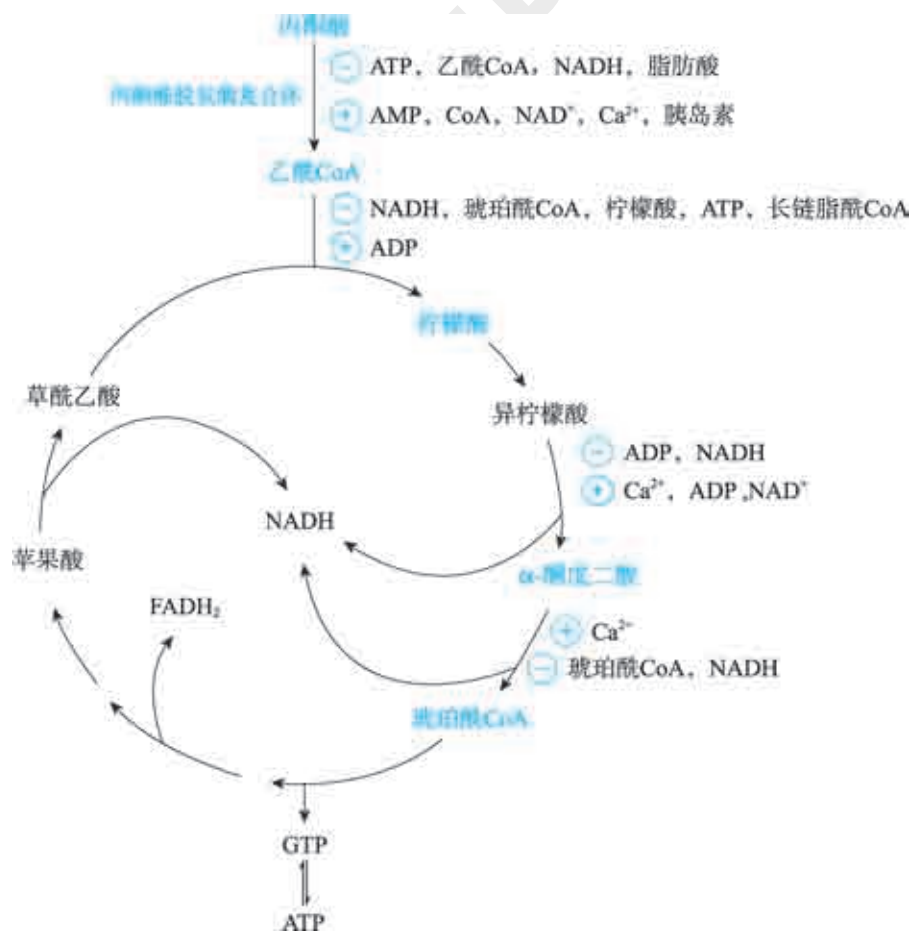


图 4-9 三羧酸循环的调控

件下，组织细胞中糖有氧氧化对糖酵解有抑制作用。

与此相反，在少数糖酵解进行较旺盛的组织及细胞中，如视网膜、肾髓质、粒细胞、癌细胞等，不论有氧与否，都有很强的糖酵解作用，这种糖酵解抑制糖有氧氧化的作用称为反巴斯德效应或 Crabtree 效应。

(三) 糖有氧氧化的生理意义

1. 糖有氧氧化是体内供能的主要途径 1 分子葡萄糖经有氧氧化，有 6 次脱氢，其中 5 次以 NAD^+ 为氢受体，1 次以 FAD 为氢受体，1 分子 6 碳的葡萄糖可裂解为 2 分子磷酸丙糖，再加上第一阶段同糖酵解一样，通过底物水平磷酸化净生成 2 分子 ATP，故糖的有氧氧化净生成 32 或 30 分子 ATP (表 4-3)。

表4-3 葡萄糖有氧氧化生成的ATP

反应	辅酶	生成ATP数
第一阶段		
葡萄糖 → 葡糖 -6- 磷酸		-1
果糖 -6- 磷酸 → 果糖 -1, 6- 二磷酸		-1
2 × 3- 磷酸甘油醛 → 2 × 1, 3- 二磷酸甘油酸	NAD ⁺	2 × 2.5 (或 2 × 1.5) ^①
2 × 1, 3- 二磷酸甘油酸 → 2 × 3- 磷酸甘油酸		2 × 1
2 × 磷酸烯醇式丙酮酸 → 2 × 烯醇式丙酮酸		2 × 1
第二阶段		
2 × 丙酮酸 → 2 × 乙酰 CoA	NAD ⁺	2 × 2.5
第三阶段		
2 × 异柠檬酸 → 2 × α- 酮戊二酸	NAD ⁺	2 × 2.5
2 × α- 酮戊二酸 → 2 × 琥珀酰 CoA	NAD ⁺	2 × 2.5
2 × 琥珀酰 CoA → 2 × 琥珀酸		2 × 1
2 × 琥珀酸 → 2 × 延胡索酸	FAD	2 × 1.5
2 × 苹果酸 → 2 × 草酰乙酸	NAD ⁺	2 × 2.5
总计		32 (30)

①在细胞质中糖酵解产生的 NADH + H⁺，如果经苹果酸 - 天冬氨酸穿梭作用进入线粒体氧化，1 分子 NADH + H⁺ 产生 2.5 个 ATP，若经甘油磷酸穿梭作用，则产生 1.5 个 ATP（参见第 6 章）

2. 三羧酸循环是糖、脂肪、氨基酸分解代谢的共同途径 三大营养物质糖、脂肪和蛋白质在代谢过程中均可转变成乙酰 CoA 或三羧酸循环的中间产物如草酰乙酸、α- 酮戊二酸等，最后经三羧酸循环和氧化磷酸化，彻底氧化为 CO₂ 和 H₂O，并生成大量 ATP。

3. 三羧酸循环是糖、脂肪和氨基酸代谢联系的枢纽 糖分解代谢产生的丙酮酸、草酰乙酸等均可通过联合脱氨基作用逆行反应（见第 7 章氨基酸代谢），分别转变成丙氨酸和天冬氨酸；同样，这些氨基酸也可脱氨基转变成相应的 α- 酮酸。脂肪分解产生甘油和脂肪酸，前者在甘油磷酸激酶的催化下，生成 α- 磷酸甘油，脱氢氧化为磷酸二羟丙酮，后者可降解为乙酰 CoA，进而进入三羧酸循环彻底氧化，故三羧酸循环是糖、脂肪、氨基酸代谢联系的枢纽。

4. 三羧酸循环提供生物合成的前体 三羧酸循环中的某些成分可用于合成其他物质，例如琥珀酰 CoA 可用于血红素的合成，草酰乙酸通过糖异生转变为葡萄糖，乙酰 CoA 可用于合成脂肪酸和胆固醇。

三、磷酸戊糖途径

细胞内绝大部分葡萄糖的分解代谢是通过有氧氧化生成 ATP 而供能的，这是葡萄糖分解代谢的主要途径。磷酸戊糖途径（pentose phosphate pathway）或称葡糖酸磷酸支路（phosphogluconate shunt）是另一个重要途径。葡萄糖经此途径生成的磷酸核糖和 NADPH + H⁺ 有重要意义。

（一）磷酸戊糖途径的反应过程

磷酸戊糖途径在细胞质中进行，反应过程被人为地分为两个阶段。第一个阶段是脱氢氧化反应生成磷酸戊糖和 NADPH + H⁺；第二阶段则是一系列的基团转移反应，最终生成果糖 -6- 磷酸和 3- 磷酸甘油醛。

1. 磷酸戊糖和 NADPH + H⁺ 的生成 1 分子葡糖 -6- 磷酸在葡糖 -6- 磷酸脱氢酶和 6- 磷酸葡糖酸脱氢酶的作用下，经过 2 次脱氢、1 次脱羧，生成核酮糖 -5- 磷酸及 2 分子 NADPH+H⁺ 和 1 分子 CO₂。核酮糖 -5- 磷酸在异构酶的作用下转变为核糖 -5- 磷酸，也可在差向异构酶的作用



糖无氧氧化和有氧氧化的异同点

The diagram illustrates the Pentose Phosphate Pathway (PPP) in three main stages:

- Glucose-6-phosphate (G6P) to 6-phosphogluconate (6PG):** G6P is oxidized by **Glucose-6-phosphate dehydrogenase** (G6PDH) in the presence of NADP^+ to form 6PG. This step releases $\text{NADPH} + \text{H}^+$.
- 6-phosphogluconate (6PG) to 6-phosphogluconic acid (6PGA):** 6PG is hydrolyzed by **6-phosphogluconate dehydratase** (6PGD) with the addition of H_2O to form 6PGA.
- 6-phosphogluconic acid (6PGA) to Ribose-5-phosphate (R5P):** 6PGA is decarboxylated by **6-phosphogluconate decarboxylase** (6PGDC) in the presence of NADP^+ to form R5P, releasing $\text{NADPH} + \text{H}^+$ and CO_2 .
- Ribose-5-phosphate (R5P) to Ribose-5-phosphate (R5P):** R5P is converted to Ribose-5-phosphate (R5P) by **Ribose-5-phosphate isomerase** (R5PI).

The chemical structures shown are:

- Glucose-6-phosphate (G6P):** A six-carbon chain with hydroxyl groups at C2, C3, and C6, and a phosphate group at C1.
- 6-phosphogluconate (6PG):** A six-carbon chain with a carboxyl group at C1, hydroxyl groups at C2, C3, and C6, and a phosphate group at C6.
- 6-phosphogluconic acid (6PGA):** A six-carbon chain with a carboxyl group at C1, hydroxyl groups at C2, C3, and C6, and a phosphate group at C6.
- Ribose-5-phosphate (R5P):** A five-carbon chain with an aldehyde group at C1, hydroxyl groups at C2, C3, and C4, and a phosphate group at C5.
- Ribose-5-phosphate (R5P):** A five-carbon chain with a carboxyl group at C1, hydroxyl groups at C2, C3, and C4, and a phosphate group at C5.

[illegible]

图 4-10 磷酸戊糖途径

(二) 磷酸戊糖途径的生理意义

1. 为核酸的生物合成提供核糖 核糖是核酸的基本组成成分，体内的核糖主要通过磷酸戊糖途径获得。葡萄糖既可经葡萄糖-6-磷酸脱氢，脱羧氧化反应生成磷酸核糖，又可通过糖酵解途径的中间产物3-磷酸甘油醛和果糖-6-磷酸经过前述的基团转移反应而生成磷酸核糖。肌肉组织中缺乏葡萄糖-6-磷酸脱氢酶，磷酸核糖靠基团转移反应生成。

2. 提供 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ，作为供氢体参与多种代谢反应 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 与 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 不同，前者携带的氢作为供氢体参与多种代谢反应，发挥不同的功能，而不是主要通过呼吸链传递生成 ATP。

(1) 作为供氢体参与胆固醇、脂肪酸、皮质激素和性激素等的生物合成。

(2) $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 是单加氧酶系（羟化反应）的供氢体，因而与药物、毒物和某些激素等的生物转化有关（详见第19章肝的生物化学）。

(3) $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 用于维持还原型谷胱甘肽（glutathione, GSH）的量。GSH 是一个三肽，2 分子 GSH 可脱氢氧化成为 1 分子氧化型谷胱甘肽（GSSG），而后者可在谷胱甘肽还原酶的催化下，被 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 重新还原为还原型谷胱甘肽。这对维持细胞中还原型 GSH 的正常含量，从而保护含巯基的蛋白质或酶免受氧化剂的损害起重要作用，并可保护红细胞膜的完整性，因为还原型谷胱甘肽是体内重要的抗氧化剂。蚕豆病患者因缺乏葡萄糖-6-磷酸脱氢酶，不能经磷酸戊糖途径得到充足的 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 用于维持 GSH 的量，故红细胞易破裂，发生溶血性贫血。

四、糖醛酸途径

糖醛酸途径（glucuronate pathway）也是葡萄糖分解代谢的另一种途径，主要在肝进行，但仅占很小部分。葡萄糖经葡萄糖醛酸转变为木酮糖-5-磷酸后与磷酸戊糖途径相衔接。

从葡萄糖-6-磷酸开始，先生成尿苷二磷酸葡萄糖（UDPG），经 UDPG 脱氢酶（ NAD^+ ）催化氧化为尿苷二磷酸葡萄糖醛酸（uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA），再在酶的作用下生成葡萄糖醛酸，后者代谢生成木酮糖-5-磷酸进入磷酸戊糖途径代谢（图 4-11）。在大鼠等非灵长类动物体内，葡萄糖醛酸还可还原为 L-古洛糖酸，再进一步合成维生素 C。灵长类动物和豚鼠体内缺乏此完整酶系（古洛糖酸内酯氧化酶），故不能合成维生素 C，必须由食物供给。

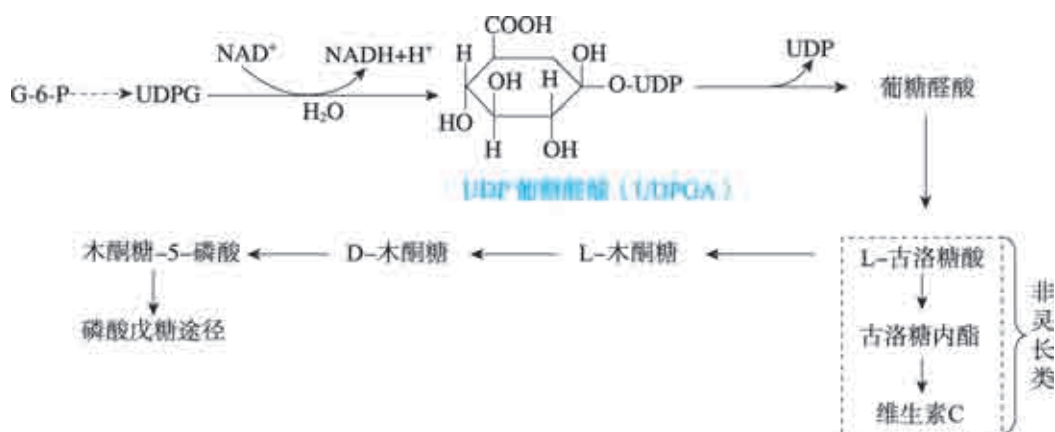


图 4-11 糖醛酸途径

对人类而言，糖醛酸途径的主要生理意义是生成活化的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸（UDPGA）。它是硫酸软骨素、透明质酸、肝素等蛋白聚糖的重要组分。在这些蛋白聚糖的生物合成过程

中, UDPGA 为葡萄糖醛酸的供体。UDPGA 还是生物转化中 (见第 19 章) 最重要的结合剂, 可与许多代谢产物 (胆红素、类固醇等)、药物和毒物等结合, 促进其排泄。糖醛酸途径生成的 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 是红细胞内高铁血红蛋白还原系统中还原剂的重要来源。

第三节 糖原的合成与分解

体内由葡萄糖合成糖原 (glycogen) 的过程称为糖原合成 (glycogenesis), 肝糖原分解为葡萄糖的过程称为糖原分解 (glycogenolysis)。糖原是动物体内贮存糖的形式。糖原主要储存在肝、肌肉组织, 肝糖原约占肝重的 5%, 总量约 100g; 肌糖原占肌肉重量的 1% ~ 2%, 总量约为 300g; 肾糖原含量极少 (主要参与肾的酸碱平衡调节)。人体糖原总量约为 400g, 如仅靠糖原供能, 只能消耗 8 ~ 12h。肝糖原的主要作用是维持空腹血糖浓度的恒定, 供全身利用; 而肌糖原的分解则提供肌肉本身收缩所需的能量。

糖原与植物淀粉结构相似, 是由 α -1,4-糖苷键 (直链) 与 α -1,6-糖苷键 (分支处) 连接形成的大分子葡萄糖聚合物。糖原分子量在 100 万 ~ 1000 万, 故糖原是具有高度分支的不均一分子。糖原分支结构不仅增加了糖原的水溶性, 有利于贮存, 也增加了非还原端数目, 糖原合成及分解均是从非还原端开始的, 因而增加了糖原合成与分解时的作用点。糖原以不溶性颗粒贮存于细胞质中, 糖原颗粒上结合有参与糖原代谢的酶。糖原分子合成与分解的过程, 实际是使糖原分子变大与变小的过程。

一、糖原的合成

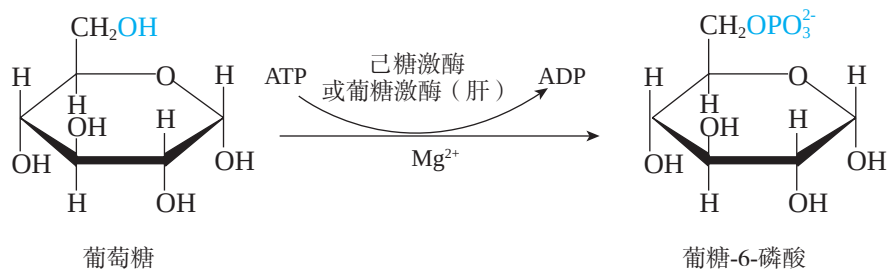
(一) 糖原合成的部位

肝、肌肉组织和肾都能合成糖原, 前两者的含量最高。

(二) 糖原合成过程

糖原合成过程包括以下 4 步反应。

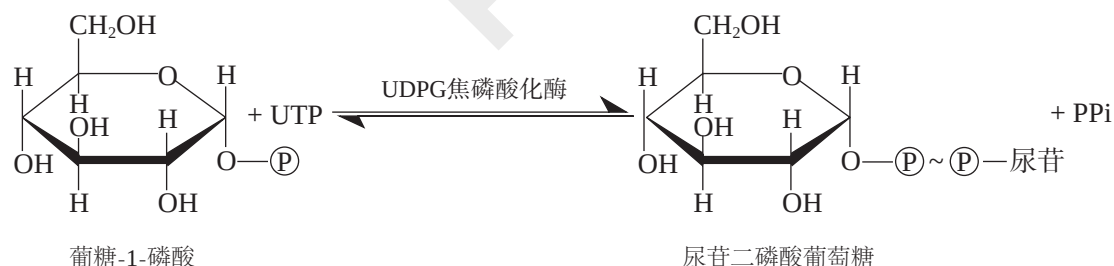
1. 葡萄糖磷酸化



2. 葡萄糖-1-磷酸的生成



3. 尿苷二磷酸葡萄糖的生成 此反应在 UDPG 焦磷酸化酶的催化下进行, 反应是可逆的, 但由于细胞内焦磷酸化酶分布广, 活性强, 极易将焦磷酸分解为 2 分子磷酸, 使反应主要向右进行。这一过程消耗的 UTP 可由 ATP 和 UDP 通过转磷酸基团生成, 故糖原生成是耗能过程。糖原分子上每增加 1 分子葡萄糖, 需消耗 2 分子 ATP。UDPG 可看成是“活性葡萄糖”, 在体内作为葡萄糖供体。



4. 糖链的生成 糖原引物是指原有细胞内的较小糖原分子。游离的葡萄糖不能作为 UDPG 的葡萄糖基的接受体。上述反应可在糖原合酶 (glycogen synthase) 的作用下反复进行, 使糖链不断地延长, 但不能形成分支。当链长增至超过 11 个葡萄糖残基时, 分支酶就将长约 6 个葡萄糖残基的寡糖链转移至另一段糖链上, 将 α -1,4-糖苷键转变为 α -1,6-糖苷键, 从而形成糖原分子的分支 (图 4-12)。在糖原合酶和分支酶的交替作用下, 糖原分子变长, 分支变多, 分子变大。糖原合成过程的关键酶是糖原合酶。糖原合成时需要 K^+ , 每合成 1g 糖原需要 K^+ 0.15mmol, 用此原理在条件较差的农村抢救急性肾衰竭无尿期患者时, 可静脉注射胰岛素和葡萄糖液以促进糖原的合成, 使部分血 K^+ 转移至细胞中, 可紧急降低血 K^+ 浓度, 防止患者因血 K^+ 浓度过高、心脏停搏而死亡。

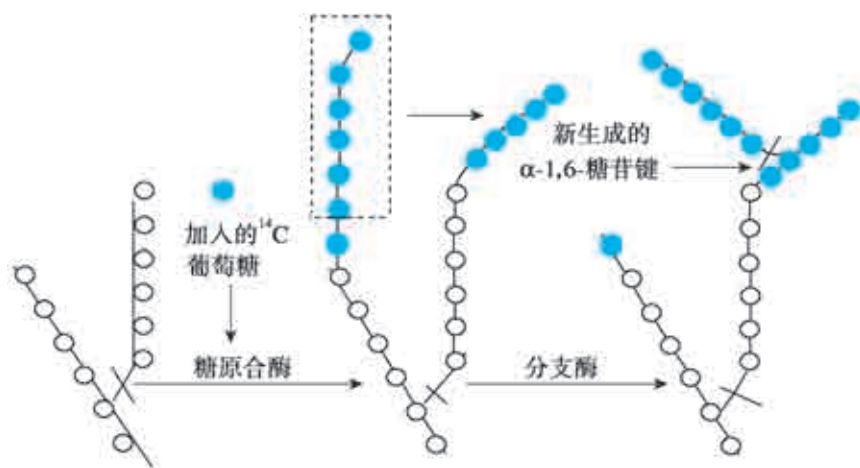


图 4-12 分支酶的作用

○—○ 为 α -1,6-糖苷键; ○—○ 为 α -1,4-糖苷键

在糖原合成过程中作为引物的第一个糖原分子从何而来, 过去一直不太清楚。近来人们在糖原分子的核心发现了一种名为糖原蛋白 (glycogenin) 的糖基转移酶, 它可对其自身进行共价修饰, 将 UDPG 分子的 C-1 结合到糖原蛋白分子的酪氨酸残基上, 从而使它糖基化。这个结合上去的葡萄糖分子即成为糖原合成时的引物。

二、糖原的分解

(一) 糖原分解的部位及特点

肝糖原能直接分解成葡萄糖以补充血糖，但因肌肉中缺乏葡糖-6-磷酸酶，肌糖原分解生成的葡糖-6-磷酸不能直接分解补充血糖，只能通过酵解生成乳酸以利用。糖原分解与糖原合成是由不同的酶催化的两个方向相反而又保持相互联系的反应途径。

(二) 糖原分解的过程

1. 糖原分解为葡糖-1-磷酸 从糖原分子的非还原端开始，经糖原磷酸化酶（glycogen phosphorylase）催化，分解出1个葡萄糖基，生成1分子葡糖-1-磷酸。



糖原磷酸化酶是糖原分解的关键酶，该酶只能水解 α -1,4-糖苷键，而对 α -1,6-糖苷键无作用。当糖链上的肝糖原葡萄糖基逐个磷酸化至离开分支点约4个葡萄糖基时，由脱支酶将3个葡萄糖基转移到邻近糖链的末端，仍以 α -1,4-糖苷键连接。剩下1个以 α -1,6-糖苷键与糖链形成分支的葡萄糖基被脱支酶水解成游离葡萄糖（图4-13）。糖原在磷酸化酶与脱支酶的交替作用下分解，分子越变越小。

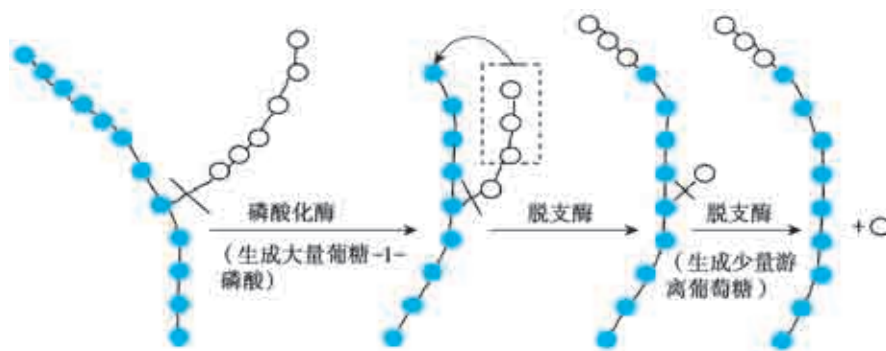


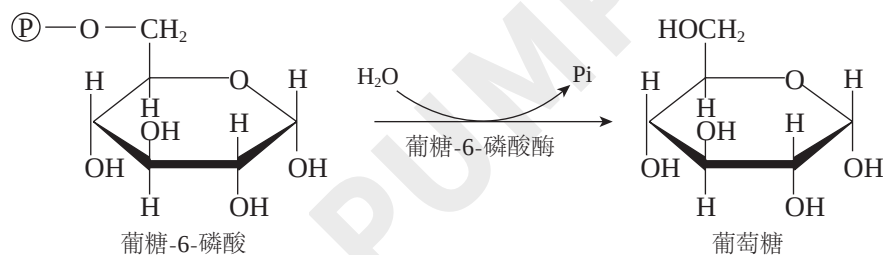
图4-13 脱支酶的作用

○—○为 α -1,6-糖苷键；○—○为 α -1,4-糖苷键

2. 葡糖-1-磷酸转变成葡糖-6-磷酸 在变位酶的催化下，葡糖-1-磷酸转变成葡糖-6-磷酸，此步反应可逆。



3. 葡糖-6-磷酸转变为葡萄糖 在葡糖-6-磷酸酶催化下，加水，脱磷酸，转变为葡萄糖。葡糖-6-磷酸酶仅存在于肝中，而不存在于肌肉中，所以只有肝糖原可直接补充血糖。



糖原合成及分解代谢途径可归纳为图 4-14。

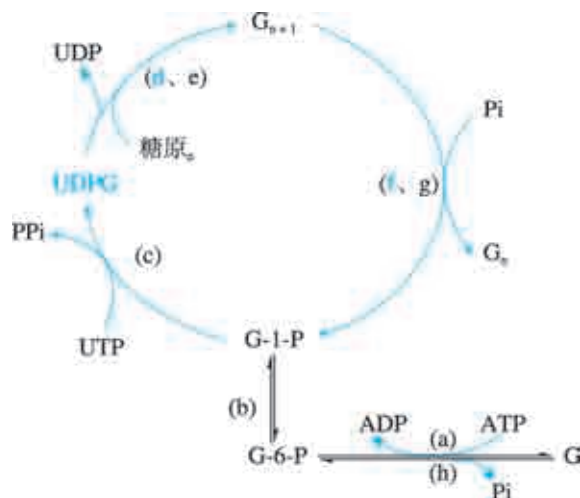


图 4-14 糖原的合成与分解

- (a) 己糖激酶或葡萄糖激酶 (肝); (b) 磷酸葡萄糖变位酶; (c) UDPG 焦磷酸化酶; (d) 糖原合酶; (e) 分支酶;
 (f) 磷酸化酶; (g) 脱支酶; (h) 葡萄糖-6-磷酸酶 (肝)



糖原贮积症

三、糖原合成与分解的调节

糖原的合成与分解不是简单的可逆反应，而是分别通过两条途径进行，这样便于进行精细的调节。糖原合成与分解的生理性调节主要靠胰岛素和胰高血糖素。前者抑制糖原分解，促进糖原合成。后者可诱导生成 cAMP，促进糖原分解。肾上腺素也可通过 cAMP 促进糖原分解，但可能仅在应激状态下发挥作用。肌糖原与肝糖原代谢调节略有不同，肝主要受胰高血糖素的调节，而肌肉主要受肾上腺素调节。糖原合成和分解代谢的关键酶分别是糖原合酶和糖原磷酸化酶，这两种酶都存在有活性和无活性两种形式。机体通过激素介导的蛋白激酶 A 使两种酶都磷酸化，但活性表现不同，即磷酸化的糖原合酶处于无活性状态，而磷酸化的糖原磷酸化酶处于活性状态，从而调节糖原合成和分解的速率，以适应机体的需要。糖原合酶和糖原磷酸化酶活性均有共价修饰和别构调节两种快速调节方式，以前者为主。

(一) 共价修饰

糖原合酶和糖原磷酸化酶的共价修饰均受激素的调节。例如饥饿时，血糖含量下降，可使胰高血糖素和肾上腺素分泌增加，激活腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase, AC)，使 ATP 转变为 cAMP，cAMP 再激活蛋白激酶 A。蛋白激酶 A 既催化有活性的糖原合酶 a 磷酸化后转变为无活性的糖原合酶 b，使糖原合成减少；又通过磷酸化激活磷酸化酶 b 激酶，再催化无活性的磷酸化酶 b 磷酸化后转变为有活性的磷酸化酶 a，促进糖原分解，使血糖浓度上升，从而维持血糖浓度恒定。另外，蛋白激酶 A 还催化磷蛋白磷酸酶抑制剂 (胞内的一种蛋白质) 磷酸化

后转变为其活性形式，活性形式的抑制剂与磷蛋白磷酸酶结合后，可抑制酶活性，这与糖原合酶及糖原磷酸化酶的调节相协调。糖原合成与分解的共价修饰归纳如图 4-15。

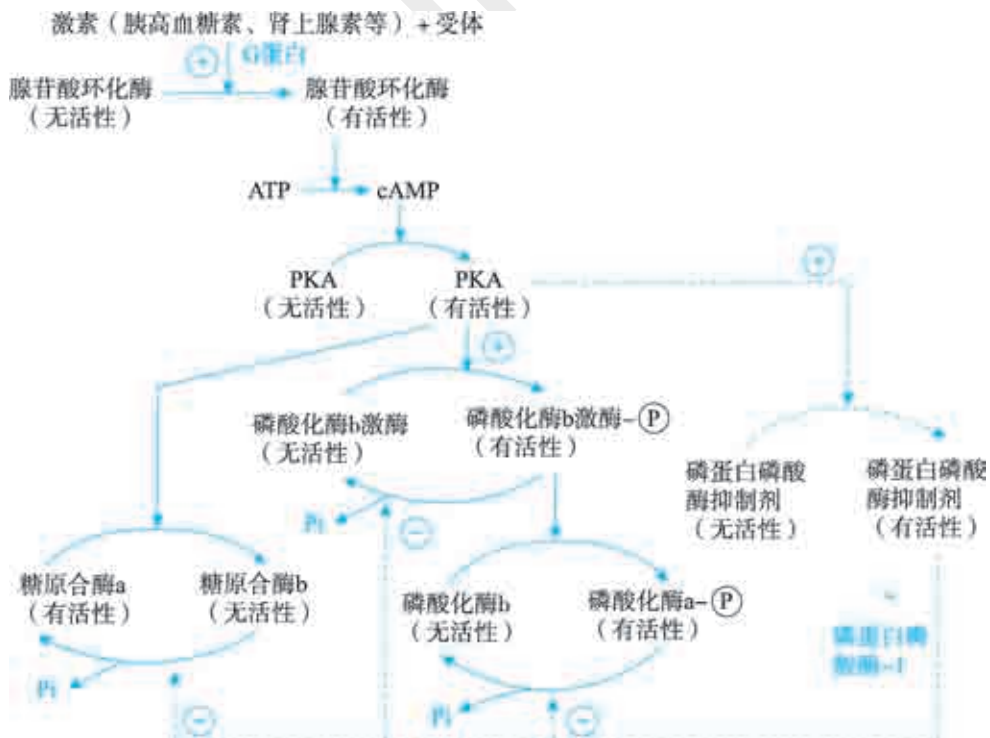


图 4-15 糖原合成与分解的共价修饰调节

Ca^{2+} 浓度的升高可引起肌糖原分解增加。当神经冲动使细胞质内 Ca^{2+} 浓度升高时，因为磷酸化酶 b 激酶 δ 亚基就是钙调蛋白， Ca^{2+} 与其结合，即可激活磷酸化酶 b 激酶，促进磷酸化酶 b 磷酸化为磷酸化酶 a，加速糖原分解。这样在神经冲动引起肌肉收缩的同时，也加速糖原的分解，使肌肉获得收缩所需要的能量。

(二) 别构调节

产物葡萄糖、ATP 是糖原磷酸化酶的别构抑制剂，而 AMP 则是糖原磷酸化酶的别构激活剂。葡糖-6-磷酸和 ATP 是糖原合酶的别构激活剂，使无活性的糖原合酶 b 别构为有活性的糖原合酶 a，糖原合成增加。

第四节 糖 异 生

体内糖原的储备有限，正常成人每小时可由肝释放出葡萄糖 210mg/kg 体重，如果不补充，8 ~ 12h 肝糖原即被耗尽，此后如继续禁食，则主要靠糖异生维持血糖浓度恒定。非糖物质（乳酸、甘油、生糖氨基酸等）转变为葡萄糖或糖原的过程，称为糖异生（gluconeogenesis）。糖异生进行的主要场所是肝，而肾在正常情况下糖异生能力只有肝的 1/10。长期饥饿时，肾糖异生的能力会大大增强。

一、糖异生途径

糖异生途径与糖酵解的多数反应是共有的可逆反应，但糖异生途径不完全是糖酵解的逆

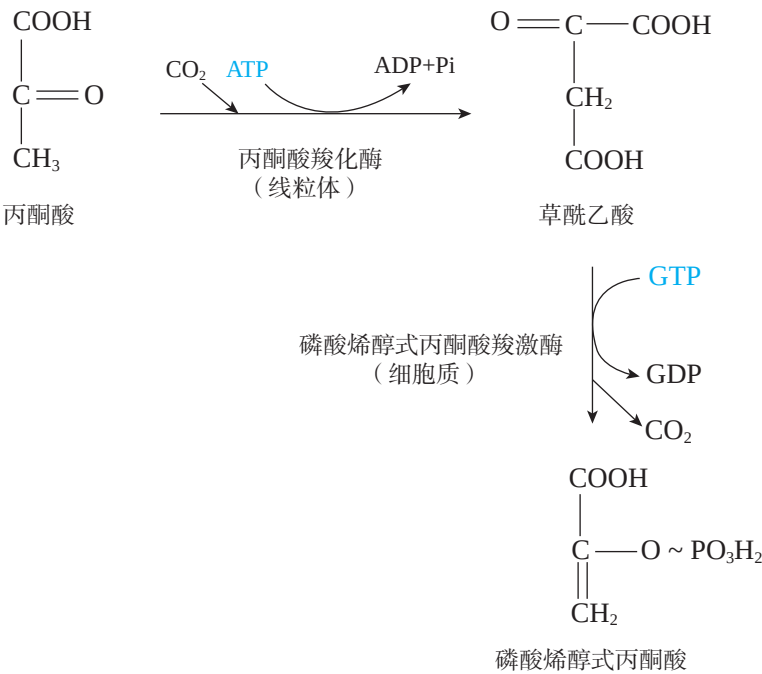
反应。糖酵解途径中的3个关键酶——己糖激酶、磷酸果糖激酶-1催化的2步不可逆反应，只要以另外的酶催化即能绕过所产生的“能障”；而丙酮酸激酶催化的不可逆反应，由于丙酮酸羧化酶只存在于线粒体内，因此，胞质中的丙酮酸必须进入线粒体，才能羧化生成草酰乙酸，以及其产物再回到胞质，均需通过线粒体膜所产生的“膜障”。在另外的4个关键酶（表4-4）催化下，即可绕过这3步不可逆反应，使非糖物质顺利转变为葡萄糖，这个过程就是糖异生途径。

表4-4 糖酵解和糖异生之间相对应的酶

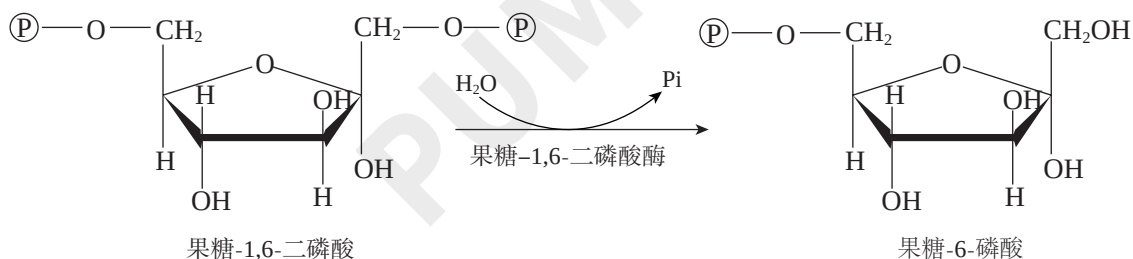
糖酵解关键酶	糖异生调节酶
己糖激酶（肝中为葡萄糖激酶）	葡萄糖-6-磷酸酶
磷酸果糖激酶-1	果糖-1,6-二磷酸酶
丙酮酸激酶	丙酮酸羧化酶 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶

（一）丙酮酸经丙酮酸羧化支路转变为磷酸烯醇式丙酮酸

此步骤由2步反应组成。在线粒体中，丙酮酸在以生物素为辅酶的丙酮酸羧化酶（pyruvate carboxylase）的催化下，并在CO₂和ATP存在时，羧化为草酰乙酸。通过苹果酸穿梭作用，草酰乙酸从线粒体转移到细胞质，在磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（phosphoenolpyruvate carboxykinase）催化下，由GTP供能，脱羧生成磷酸烯醇式丙酮酸。上述2步反应共消耗2分子ATP。

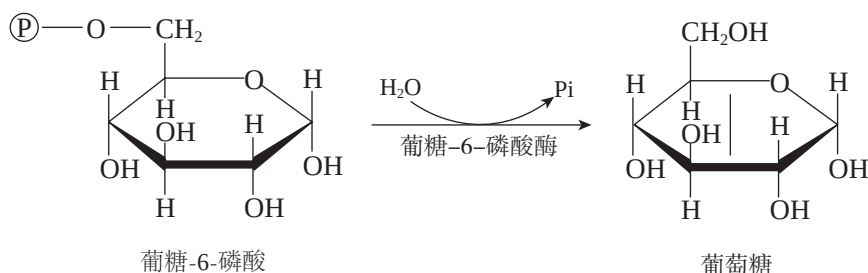


(二) 果糖 -1, 6- 二磷酸转变为果糖 -6- 磷酸



这是糖异生途径的第 2 个不可逆反应，在果糖 -1, 6- 二磷酸酶的催化下，果糖 -1, 6- 二磷酸转变为果糖 -6- 磷酸。

(三) 葡萄糖 -6- 磷酸水解为葡萄糖



此步反应与糖原分解的最后一步相同，在肝（肾）中存在的葡萄糖 -6- 磷酸酶催化下，葡萄糖 -6- 磷酸水解为葡萄糖。

在以上 3 个反应过程中，底物互变分别由不同的酶催化其单向反应，这种互变循环被称为底物循环 (substrate cycle)。糖异生的原料为乳酸、甘油及生糖氨基酸等。乳酸可脱氢生成丙酮酸；甘油先磷酸化为 α - 磷酸甘油，再脱氢生成磷酸二羟丙酮；丙氨酸等生糖氨基酸通过联合脱氨基作用的逆行反应（见第 7 章氨基酸代谢）转变成丙酮酸或草酰乙酸。然后三者均可通过糖异生转变为糖，故糖异生是体内维持血糖浓度的最重要途径。糖异生途径可归纳如图 4-16。

二、糖异生的调节

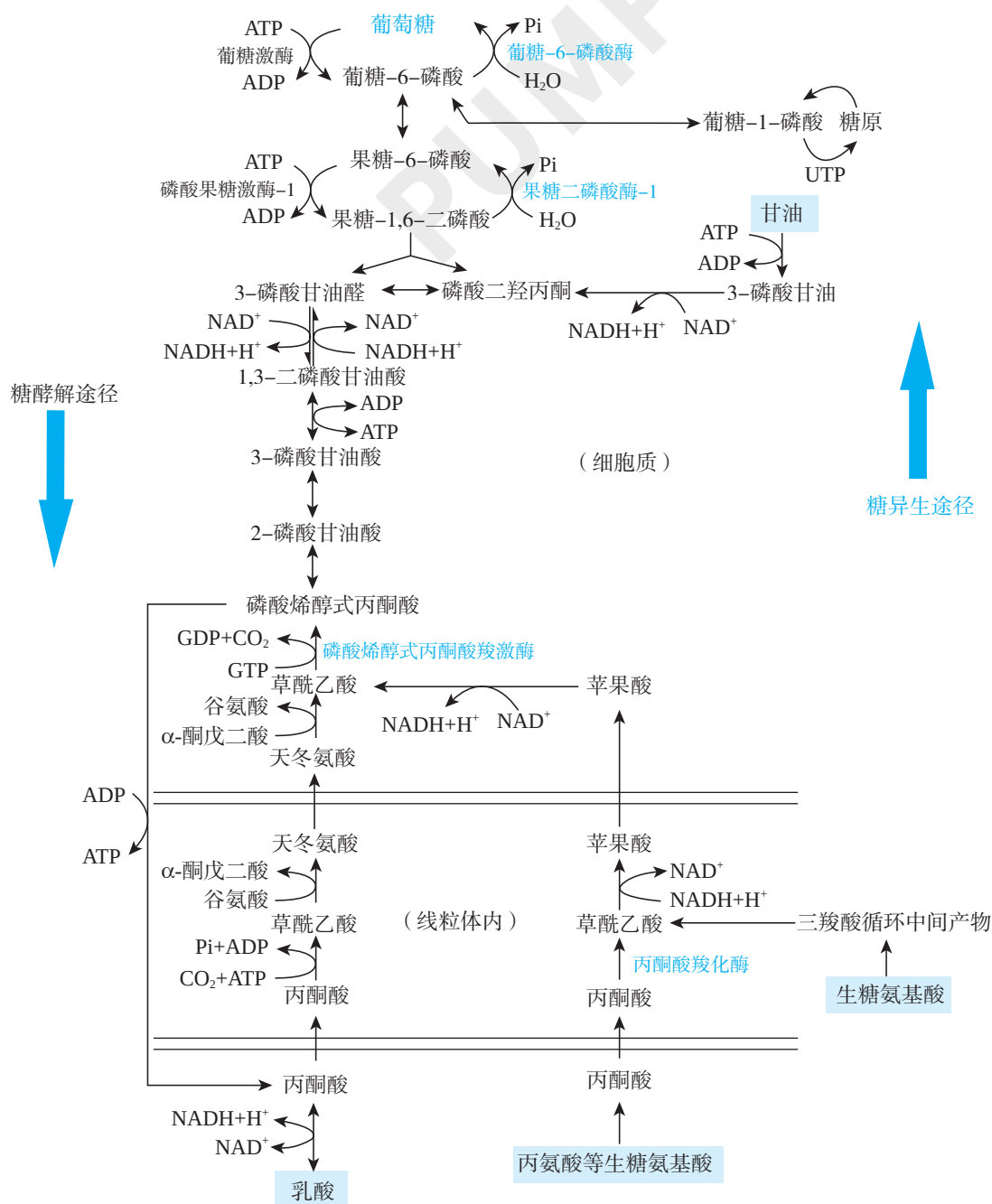
糖异生的 4 个关键酶，即丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、果糖 -1, 6- 二磷酸酶及葡萄糖 -6- 磷酸酶受多种别构效应剂及激素的调节。同时糖酵解与糖异生是方向相反的两条代谢途径，促进糖异生的别构剂或激素，必然抑制糖酵解，以达到最大生理效应。

(一) 别构剂的调节

许多代谢的底物或产物都是别构剂，参与别构调节，详见图 4-17。

1. ATP 和柠檬酸促进糖异生作用 ATP 和柠檬酸是磷酸果糖激酶 -1 的别构抑制剂，是果糖 -1, 6- 二磷酸酶的别构激活剂，促进糖异生作用；ADP、AMP 和果糖 -2, 6- 二磷酸 (F-2, 6-BP) 是果糖 -1, 6- 二磷酸酶的别构抑制剂，抑制糖异生作用。目前认为果糖 -2, 6- 二磷酸的水平是肝内调节糖的分解或糖异生反应方向的主要信号，ATP/AMP 含量比值也是一个重要调节因素。

2. 乙酰 CoA 促进糖异生作用 脂肪酸大量氧化时，线粒体内乙酰 CoA 堆积，并释放 ATP。乙酰 CoA 是丙酮酸羧化酶的别构激活剂，促进糖异生；它又能反馈性抑制丙酮酸脱氢酶复合体的活性。



（二）激素调节

激素诱导合成糖异生的关键酶，并通过 cAMP 介导的酶的共价修饰作用改变酶的活性，使糖异生与酵解两条途径得以协调，从而满足机体的生理需要。

1. 糖皮质激素 糖皮质激素是重要的调节糖异生的激素,既可诱导肝内糖异生的4个关键酶的合成,又能促进肝外组织蛋白质分解为氨基酸,通过增加糖异生原料来促进糖异生作用。

2. 肾上腺素和胰高血糖素 这两种激素均可激活肝细胞膜上的腺苷酸环化酶 (AC), 使 cAMP 水平提高, 进而提高磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性, 促进糖异生。另外它们促进脂肪分解为甘油和脂肪酸, 而甘油是糖异生的原料, 脂肪酸氧化产生的乙酰 CoA 也可促进糖异生作用。胰高血糖素能诱导磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶基因的表达, 增加酶的合成, 促进糖异生。此

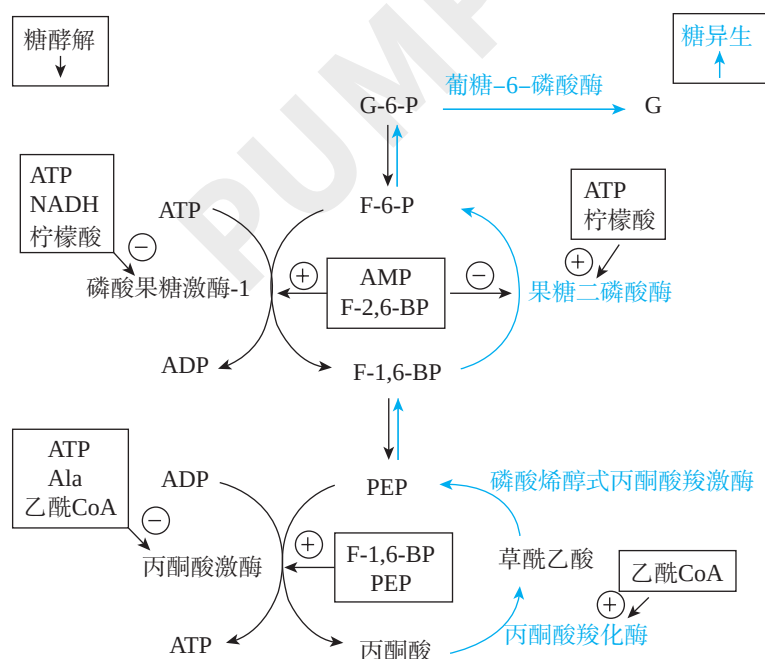


图 4-17 糖异生途径的别构调节

外，它还可抑制果糖-2,6-二磷酸 (F-2,6-BP) 的合成，从而减少果糖-1,6-二磷酸 (F-1,6-BP) 的合成，进而降低丙酮酸激酶的活性。

3. 胰岛素 胰岛素降低磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 mRNA 的水平，同时抑制腺苷酸环化酶 (AC) 的活性，使 cAMP 水平下降，抑制糖异生作用。

三、糖异生的生理意义

(一) 饥饿情况下维持血糖浓度恒定

空腹或饥饿时，肝糖原分解产生的葡萄糖仅能维持 8 ~ 12h，此后，机体基本依靠糖异生作用来维持血糖浓度恒定，这是糖异生最主要的生理功能。饥饿时，肌肉产生的乳酸量较少，糖异生的原料主要为生糖氨基酸（每天生成 90 ~ 120g 葡萄糖）和甘油（每天约生成 20g 葡萄糖），经糖异生转变为葡萄糖，维持血糖水平，保证脑等重要组织器官的能量供应。因为正常成人的脑组织不能直接利用脂肪酸，主要靠葡萄糖供给能量。红细胞无线粒体，完全通过糖无氧化获得能量。骨髓、神经等组织由于代谢活跃，经常进行糖酵解，故即使在饥饿状况下，机体也需要消耗一定量的糖，以维持生命活动。

(二) 回收乳酸，补充肝糖原

当肌肉在缺氧或剧烈运动时，肌糖原经无氧化产生大量乳酸，但由于肌肉组织内无葡萄糖-6-磷酸酶，不能进行糖异生作用，所以乳酸经细胞膜弥散入血液后再入肝，在肝内异生为葡萄糖。葡萄糖释放入血液后又可被肌肉摄取，这就构成了一个循环，称为乳酸循环 (lactic acid cycle)，也称为 Cori 循环 (Cori cycle) (图 4-18)。乳酸循环的形成是由于肝和肌肉组织中酶的特点所致。乳酸循环的生理意义是防止和改善乳酸堆积引起的酸中毒及乳酸的再利用。乳酸循环是耗能的过程。糖异生也是肝补充或恢复肝糖原储备的重要途径，这在饥饿后进食更为重要。长期以来人们认为，进食后肝糖原储备丰富是肝直接利用葡萄糖合成糖原的结果。但后来的放射性核素标记等实验结果表明，摄入的葡萄糖先分解为丙酮酸、乳酸等三碳化合物，后者再再生为糖原。生成糖原的这条途径称为三碳途径或者间接途径，而葡萄糖经 UDPG 合成糖原的过程称为直接途径。

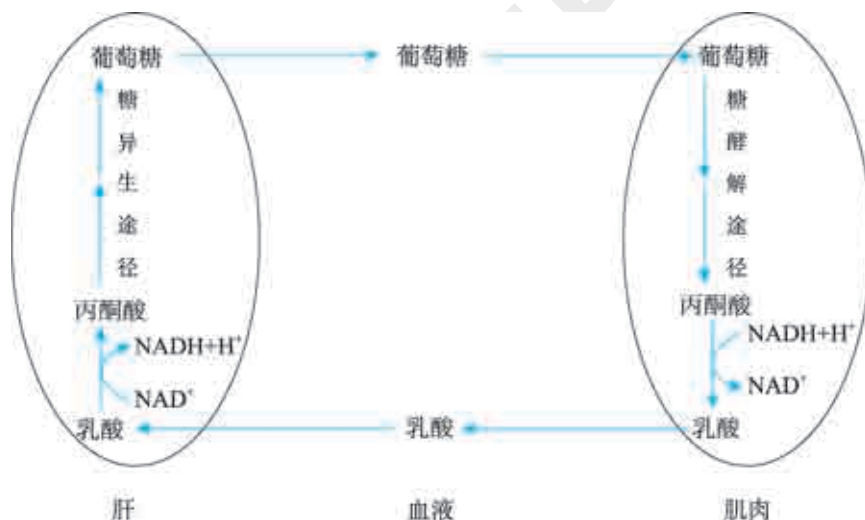


图 4-18 乳酸循环

(三) 调节酸碱平衡

长期饥饿时，肾糖异生增强，可促进肾小管细胞分泌氨，使 NH_3 与 H^+ 生成 NH_4^+ 排出体外，这有利于肾的排 H^+ 保 Na^+ ；另外乳酸经糖异生作用转变为糖，可防止乳酸堆积引起的代谢性酸中毒，这些均对维持机体酸碱平衡有一定意义。

第五节 血糖及其调节

一、血糖的来源与去路

血液中的葡萄糖称为血糖 (blood sugar)。血糖是糖的运输形式，可供各组织器官利用。正常人空腹时血糖浓度较为稳定。临床测定的血糖值因所用方法而异：用葡萄糖氧化酶法，正常人空腹血糖浓度为 $3.89 \sim 6.11 \text{ mmol/L}$ ($70 \sim 110 \text{ mg/dl}$)，而用 Folin- 吴宪法则为 $4.44 \sim 6.67 \text{ mmol/L}$ ($80 \sim 120 \text{ mg/dl}$)。血糖浓度保持相对恒定具有重要的生理意义，特别是对脑和红细胞，它们在生理条件下，主要靠血糖供能。如果血糖过低，会出现脑功能障碍，甚至出现低血糖昏迷。

血液中葡萄糖的实际浓度是由其来源和去路两方面的动态平衡所决定的 (图 4-19)。

二、血糖浓度的调节

正常情况下，血糖浓度的相对恒定依赖于血糖来源与去路的平衡，这种平衡需要体内多种因素的协同调节。

(一) 神经系统水平的调节

神经系统对血糖的调节属于整体调节，通过对各种促激素或激素分泌的调节，进而影响各代谢中的酶活性或酶含量而完成调节作用。如脑垂体可分泌促肾上腺皮质激素等促激素。情绪激动时，交感神经兴奋，肾上腺素分泌增加，促进肝糖原分解、肌糖原酵解和糖异生作用，使血糖升高；当处于静息状态时，迷走神经兴奋，胰岛素分泌增加，血糖水平降低。

(二) 激素水平的调节

调节血糖的激素有两大类。一类是降血糖激素，即胰岛素 (insulin)；另一类是升血糖激

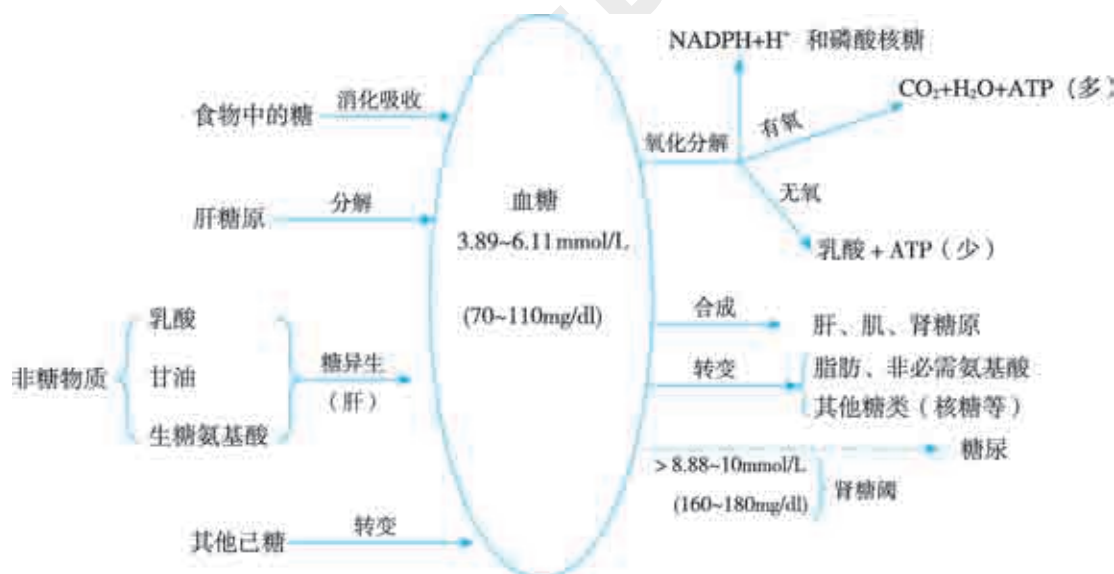


图 4-19 血糖的来源与去路

素，有肾上腺素、胰高血糖素 (glucagon)、糖皮质激素和生长激素等。这两类激素的作用相互对抗、相互制约，它们通过调节糖原生成和分解、糖氧化分解、糖异生等途径的关键酶的活性或含量来调节血糖浓度恒定。各种激素调节糖代谢的机制列于表 4-5。

表 4-5 激素对血糖浓度的影响

激素	作用机制
降血糖激素	
胰岛素	1. 促进肌肉、脂肪细胞摄取葡萄糖 2. 诱导糖酵解的 3 个调节酶合成，通过激活丙酮酸脱氢酶复合体来促进糖的氧化分解 3. 通过增强磷酸二酯酶活性，降低 cAMP 水平，从而使糖原合酶活性增加，磷酸化酶活性下降，加速糖原合成，抑制糖原分解 4. 通过抑制糖异生作用的磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶合成及促进氨基酸进入肌组织合成蛋白质，减少糖异生的原料以抑制糖异生 5. 减少脂肪动员，促进糖转变为脂肪
胰岛素样生长因子	在结构上与胰岛素相似，具有类似于胰岛素的代谢作用和促生长作用
升血糖激素	
胰高血糖素	1. 通过细胞膜受体激活依赖 cAMP 的蛋白激酶 A，从而抑制糖原合酶和激活磷酸化酶，使糖原合成下降，促进肝糖原分解 2. 通过减少磷酸果糖激酶 -1 的别构激活剂 F-2, 6-BP 的合成量来抑制糖酵解 3. 通过促进磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶合成和使 F-2, 6-BP 的合成量减少来减轻对果糖 -1, 6- 二磷酸酶的抑制作用以促进糖异生 4. 加速脂肪动员，进而促进糖异生
肾上腺素	1. 通过细胞膜受体激活依赖 cAMP 的蛋白激酶 A，促进肝糖原分解、肌糖原酵解 2. 促进糖异生
糖皮质激素	1. 抑制肝外组织摄取和利用葡萄糖 2. 促进蛋白质和脂肪分解为糖异生原料，促进糖异生（只有糖皮质激素存在时，其他促进脂肪动员的激素才能发挥最大的效果）
生长激素	1. 早期有胰岛素样作用 2. 晚期有抗胰岛素作用

（三）器官水平的调节

肝是体内调节血糖浓度的主要器官。肝通过肝糖原的生成、分解和糖异生作用维持血糖浓度恒定。

三、耐糖现象

正常人食糖后血糖浓度仅暂时升高，经体内调节血糖机制的作用，约2h内即可恢复到正常水平，此现象称为耐糖现象。机体处理摄入葡萄糖的能力称为葡萄糖耐量，它反映机体调节糖代谢的能力，临床上常用口服葡萄糖耐量试验（oral glucose tolerance test, OGTT）鉴定机体利用葡萄糖的能力。常用方法是先测定受试者清晨空腹血糖浓度，然后一次进食75g葡萄糖（或按每千克体重1.5~1.75g葡萄糖）。进食后隔0.5h、1h、2h和3h再分别测血糖一次。以时间为横坐标，血糖浓度为纵坐标绘成的曲线称为糖耐量曲线（图4-20）。

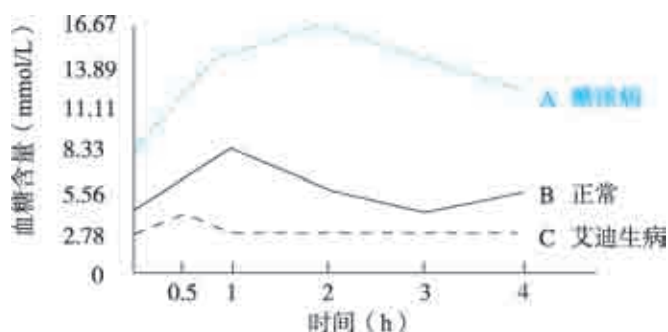


图4-20 糖耐量曲线

正常人的糖耐量曲线特点是：空腹血糖浓度正常；食糖后血糖浓度升高，1h内达高峰，但不超过肾糖阈（8.88~10mmol/L或160~180mg/dl）；此后血糖浓度迅速降低，在2h之内降至正常水平。

糖尿病患者胰岛素分泌不足，或机体对胰岛素的敏感性下降。其糖耐量曲线常表现为：①空腹血糖浓度较正常值高；②进食糖后血糖水平迅速升高，并可超过肾糖阈；③在2h内不能恢复至正常空腹血糖水平。其中食糖后2h的血糖水平变化是最重要的判断指标。

艾迪生病患者由于肾上腺皮质功能低下，其糖耐量曲线表现为：空腹血糖浓度低于正常值；进食糖后血糖浓度升高不明显；短时间即恢复至原有低血糖水平。

四、糖代谢紊乱

神经系统疾患，内分泌失调，肝、肾功能障碍及某些酶的遗传缺陷等，均可影响血糖浓度的调节或引起糖代谢障碍，导致高血糖、糖尿病或低血糖等代谢异常。

（一）低血糖

非糖尿病患者空腹血糖低于2.80mmol/L（50mg/dl）称为低血糖（hypoglycemia）。脑组织对低血糖极为敏感，低血糖时可出现头晕、心悸、出冷汗等虚脱症状。如果血糖持续下降至低于2.53mmol/L（45mg/dl），可出现昏迷，称为低血糖休克。如不能及时给患者静脉滴注葡萄糖，可导致死亡。

引起低血糖的病因有：①胰性因素（胰岛β细胞器质性病变，如β细胞肿瘤可导致胰岛素分泌过多，胰岛α细胞功能低下等）；②内分泌异常（垂体功能低下、肾上腺皮质功能减退，使糖皮质激素分泌不足等）；③肝性因素（肝癌、糖原贮积症）；④饥饿或因病不能进食时间过

长、治疗时使用胰岛素过量和持续的剧烈体力活动等均可引起低血糖；⑤肿瘤（胃癌等）。

（二）高血糖及糖尿病

空腹血糖浓度持续超过 7.22mmol/L (130mg/dl) 时称为高血糖 (hyperglycemia)。当血糖浓度超过肾糖阈时，即超过了肾小管的重吸收能力，葡萄糖从尿中排出，则可出现尿糖。正常人偶尔也可出现高血糖和尿糖，如进食大量糖或情绪激动时交感神经兴奋，引起肾上腺素分泌增加等，均可导致一过性高血糖，甚至尿糖，分别称为饮食性糖尿和情感性糖尿，但这只是暂时的，且空腹血糖浓度正常，属于生理性的。病理性高血糖及糖尿多见于下列两种情况：

1. 肾性糖尿 由于肾疾患导致肾小管重吸收葡萄糖能力下降，即使血糖浓度不高，也因肾糖阈下降出现尿糖，称为肾性糖尿，如慢性肾炎、肾病综合征等。妊娠期妇女有时也会有暂时性肾糖阈降低，出现肾性糖尿，但血糖浓度与糖耐量曲线正常。

2. 糖尿病 以持续性高血糖和糖尿为主要症状，特别是空腹血糖和糖耐量曲线异常的疾病主要是糖尿病 (diabetes mellitus)。糖尿病是因胰岛素相对或绝对缺乏，或胰岛素分子结构异常（称为变异胰岛素），或胰岛素受体数目减少，或胰岛素受体基因突变，或胰岛素受体与胰岛素的亲和力降低而致病的。临床上糖尿病分为胰岛素依赖型（1型）和非胰岛素依赖型（2型）两型，它们的病因和发病机制不同。我国糖尿病以成人多发的2型糖尿病为主，胰岛细胞功能缺陷和胰岛素作用抵抗性是其基本特征。一般认为2型糖尿病具有更强的遗传性。

糖尿病常伴有多种并发症，如足病（足部坏疽）、肾病（肾衰竭、尿毒症）、眼病（视物模糊、失明）、脑病（脑血管病变）、心脏病、皮肤病、性病等，这些并发症是导致糖尿病患者死亡的主要因素，这些并发症的严重程度与血糖水平升高的程度直接相关。



14-5
糖尿病的发病机制、
治疗及并发症

小 结

糖是人体主要的能量来源，也是构成机体结构物质的重要组成成分。食物中可被消化的糖主要是淀粉。它经过消化道中一系列酶的消化作用，最终水解为葡萄糖，在小肠被吸收后经门静脉入血。葡萄糖的吸收是依赖特定载体转运的、主动的耗能过程。

糖的分解代谢途径主要有糖酵解、有氧氧化和磷酸戊糖途径等。葡萄糖或糖原在无氧或缺氧情况下分解生成乳酸和 ATP 的过程称为糖酵解。糖酵解全部反应均在细胞质中进行，其代谢反应可分为两个阶段。在第一阶段，由 1 分子葡萄糖转变为 2 分子丙酮酸。在第二阶段，丙酮酸在乳酸脱氢酶催化下，接受 3-磷酸甘油醛脱下的氢，还原为乳酸。故糖酵解中虽然有氧化还原反应，但不需要氧。葡萄糖以外的己糖，如果糖和半乳糖等，均可转变为磷酸化衍生物而进入糖酵解途径。糖酵解的关键酶是磷酸果糖激酶-1、丙酮酸激酶和己糖激酶（肝中为葡萄糖激酶）。磷酸果糖激酶-1 是最重要的关键酶。这 3 个酶催化的反应不可逆，并受别构剂和激素的调节。糖酵解的生理意义是提供一部分急需的能量，是某些组织细胞（如成熟红细胞）生理条件下的主要供能途径。1mol 葡萄糖（或糖原的葡萄糖单位）经酵解可净生成 2mol（或 3mol）ATP。

葡萄糖或糖原在有氧条件下，彻底氧化生成 CO_2 和 H_2O ，并产生大量 ATP 的过程，称为糖的有氧氧化。它是体内糖氧化供能的主要方式，在细胞质和线粒体中进行。包括三个阶段：第一阶段为葡萄糖经糖酵解途径分解为丙酮酸，在细胞质中进行；第二阶段为丙酮酸进入线粒体生成乙酰 CoA，此过程由 3 种酶和 5 种辅酶或辅基（TPP、CoASH、二氢硫辛酸、FAD 和 NAD^+ ）组成的关键酶——丙酮酸脱氢酶复合体催化；第三阶段是乙酰 CoA 进入三羧酸循环彻底氧化生成 CO_2 、 H_2O 以及 ATP。1 分子乙酰 CoA 携带的 1 个乙酰基经三羧酸循环运转一周，通过 2 次脱羧、4 次脱氢而消耗，产生 10 分子 ATP。三羧酸循环既是糖、脂肪和蛋白质彻底氧化供能的共同途径，又是三者相互转变、相互

联系的枢纽。1mol 葡萄糖经有氧氧化可产生 30 或 32mol ATP。糖有氧氧化的关键酶除了与糖酵解相同的 3 个酶外, 还有丙酮酸脱氢酶复合体、柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶复合体, 其中异柠檬酸脱氢酶是最重要的关键酶。丙酮酸脱氢酶复合体通过别构调节和共价修饰两种方式进行快速调节。三羧酸循环的速率受多种因素调控, 如 ATP/AMP、 $\text{NADH} + \text{H}^+/\text{NAD}^+$ 含量比值通过别构调节来调控有氧氧化速率; 胰岛素、 Ca^{2+} 通过促进糖氧化分解对三羧酸循环运转也起重要作用。在氧供应充足的条件下, 糖有氧氧化对糖酵解的抑制作用称为巴斯德效应。

磷酸戊糖途径在细胞质中进行, 关键酶是葡糖-6-磷酸脱氢酶, 如先天缺乏此酶, 可患蚕豆病。磷酸戊糖途径的生理意义是提供 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 和磷酸核糖, 前者作为供氢体参与多种代谢反应, 后者是合成核苷酸的重要原料。糖醛酸途径主要在肝中进行, 生成的 UDPGA 是蛋白聚糖的重要成分和生物转化中最重要的结合剂。

由单糖合成糖原的过程称为糖原合成。肝糖原的生成途径有直接途径(由葡萄糖经 UDPG 合成糖原)和间接途径(由三碳化合物经糖异生合成糖原)。糖原是体内糖的储存形式, 主要贮存在肝和肌肉中。糖原合成过程中, 每增加 1 个葡萄糖单位需消耗 2 分子 ATP。UDPG 为葡萄糖的活性供体, 因此, 糖原合成需 UTP 参与。肝糖原分解为葡萄糖的过程称为糖原分解, 因为肌肉中缺乏葡糖-6-磷酸酶, 故肌糖原不能直接分解为葡萄糖。糖原生成与分解的关键酶分别为糖原合酶和糖原磷酸化酶, 二者均通过激素介导的蛋白激酶 A 使酶磷酸化, 通过共价修饰和别构效应调节酶的活性。

非糖物质(乳酸、甘油、生糖氨基酸等)转变为葡萄糖或糖原的过程称为糖异生。肝是糖异生的主要场所, 其次是肾。糖异生的途径与糖酵解途径是方向相反的两条代谢途径, 通过 3 个底物循环进行有效的协调, 即糖酵解中 3 个关键酶催化的不可逆反应分别由糖异生的 4 个关键酶——丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、果糖-1,6-二磷酸酶和葡糖-6-磷酸酶催化。糖异生最主要的生理意义是在饥饿时维持血糖浓度的相对恒定, 其次是回收乳酸、补充肝糖原和参与酸碱平衡调节。

血液中的葡萄糖称为血糖, 是糖的运输形式。正常成人空腹血糖浓度为 $3.89 \sim 6.11\text{mmol/L}$ ($70 \sim 110\text{mg/dl}$)。血糖的主要来源是食物糖的消化吸收, 其次是肝糖原分解、糖异生、肌糖原酵解间接补充血糖和由其他己糖转变而来。血糖的主要去路是氧化分解供能, 其次是合成肝、肌、肾糖原, 转变为脂肪、某些氨基酸和其他糖类。血糖浓度超过肾糖阈时可出现尿糖。

机体通过神经、激素、器官水平调节血糖浓度相对恒定。胰岛素是唯一的降血糖激素, 而胰高血糖素、肾上腺素、糖皮质激素和生长激素是升血糖激素。肝通过肝糖原的合成、分解和糖异生作用在器官水平维持血糖浓度恒定。

正常人食糖后血糖浓度仅暂时升高, 经体内调节血糖机制, 约 2h 内即可恢复到正常水平, 此现象称为耐糖现象。人体处理所给予葡萄糖的能力称为糖耐量。通过糖耐量曲线的测定可判断机体有无糖代谢紊乱, 主要是高血糖和低血糖。空腹血糖低于 2.80mmol/L (50mg/dl) 称为低血糖; 空腹血糖浓度持续超过 7.22mmol/L (130mg/dl) 时称为高血糖。糖尿病是最常见的糖代谢紊乱疾病。

思考题

1. 试述血糖的来源与去路以及相关激素是如何调节血糖浓度维持相对恒定的。
2. 试列表比较糖酵解与有氧氧化进行的部位、反应条件、关键酶、终产物、ATP 生成数

量与方式及其生理意义。

3. 三羧酸循环的特点及生理意义是什么?
4. B 族维生素在糖代谢中有哪些重要作用?
5. 机体是如何调节糖原的生成与分解使其满足生理需要的?
6. 乳酸通过哪些主要反应过程和酶异生转变为葡萄糖?
7. 糖尿病时出现以下现象的生化机制是什么?
①高血糖与糖尿; ②酮血症、酮尿症与代谢性酸中毒 (学完第 5 章脂质代谢后回答)。
8. 谷氨酸是如何彻底氧化成 CO_2 和 H_2O , 并释放能量的?

(江兴林)

第一节 概述

一、脂质的概念与组成

脂质 (lipids) 包括脂肪 (fat) 和类脂 (lipoid), 这类物质的共同特征是不溶于水, 而易溶于乙醚、氯仿、苯等脂溶性溶剂。脂质不仅参与机体的物质和能量代谢, 而且广泛地参与机体代谢的调节。脂质代谢与机体许多疾病的发生和发展密切相关, 因此成为基础医学和临床医学广泛关注的重要内容之一。

脂肪又称三酰甘油 (triacylglycerol, TG), 还称甘油三酯; 类脂主要包括磷脂 (phospholipid, PL)、糖脂 (glycolipid)、胆固醇 (cholesterol) 及胆固醇酯 (cholesterol ester) 等。

二、脂质的生理功能

机体内的脂质种类多、分布广, 具有多种重要的生理功能, 主要表现在:

1. 供能和储能 首先, 三酰甘油是机体重要的供能物质, 每克三酰甘油在体内完全氧化分解释放的能量约为氧化同等质量糖类或蛋白质的 2 倍。其次, 三酰甘油是机体最有效的储能形式, 它是疏水性物质, 储存时不需携带水, 所占体积小, 相同体积的三酰甘油彻底氧化所释放的能量是糖原的 8 倍。再次, 三酰甘油主要分布在皮下、肠系膜、大网膜及脏器周围的脂肪组织 (脂库) 内, 其中皮下三酰甘油可以起到抵御寒冷的作用, 脏器周围脂肪可在有外力作用时起到缓冲作用。

2. 维持生物膜的正常结构与功能 生物膜是阻隔极性小分子和离子的重要屏障, 它主要由一些两性的脂质物质所构成, 如磷脂、糖脂和胆固醇, 其中以磷脂最多。磷脂分子具有亲水端和疏水端, 在水溶液中可聚集成脂质双层, 是生物膜的基础结构; 而胆固醇的环戊烷多氢菲环使胆固醇的结构更具刚性, 控制了细胞膜的流动性。

3. 脂肪组织是内分泌器官 随着脂肪源性的瘦蛋白、脂联素和抵抗素等相继被发现, 脂肪组织的分泌功能备受关注。目前认为, 脂肪组织已不仅是供能和储能物质的聚集部位, 还是一个具有内分泌、自分泌和旁分泌功能的器官。瘦蛋白是由脂肪组织中的脂肪细胞合成和分泌的一种肽类激素, 具有广泛的生物学功能。瘦蛋白通过作用于下丘脑等组织的瘦蛋白受体调节机体的摄食欲望和能量平衡, 其结构和功能异常是产生肥胖的重要原因之一。

4. 脂质是机体众多信号分子的前体 磷脂酰肌醇的第 4、5 位羟基被磷酸化后生成的磷脂酰肌醇 -4, 5- 二磷酸是构成细胞膜的重要磷脂, 可在细胞外信号的刺激下水解为肌醇 -1, 4, 5- 三磷酸和二酰甘油, 二者均可作为第二信使在胞内传递细胞信号; 前列腺素、血栓素和白三烯是二十碳多不饱和脂肪酸的衍生物, 它们通过旁分泌的方式, 参与机体炎症、免疫、过敏、血栓的形成和溶解等许多生理和病理过程; 胆固醇可以转化为维生素 D₃ 和类固醇激素, 在生长发育和物质代谢等方面有重要作用。

5. 其他功能 胆固醇在肝转化生成胆汁酸，在脂质消化吸收中具有不可替代的重要作用；脂质化合物是脂溶性维生素的消化、吸收和转运所必需的；肺表面活性物质和血小板活化因子均是特殊的磷脂酰胆碱，前者缺乏可导致呼吸窘迫综合征，而后者则具有很强的致炎作用。

第二节 脂质的消化与吸收

一、脂质的消化

普通膳食中的脂质以三酰甘油为主，约占 90%，其次是少量的磷脂、胆固醇和胆固醇酯等。

脂质的消化主要在小肠上段，该处有胆汁和胰液的流入。脂质不溶于水，不能和消化酶充分接触。肝细胞分泌的胆汁中含有胆汁酸盐，有较强的乳化作用，可明显地降低脂-水界面 (lipid-water interface) 的表面张力，将三酰甘油及胆固醇酯等乳化成细小的微团 (micelles)，增加了脂质与消化酶的接触面积，有利于脂肪和类脂的消化吸收。消化脂质的酶主要来自胰液，胰液中含有胰脂酶 (pancreatic lipase)、磷脂酶 A₂ (phospholipase A₂)、胆固醇酯酶 (cholesterol esterase) 和辅脂肪酶 (colipase) 等消化酶。胰脂酶能够特异地水解三酰甘油的第 1、3 位酯键，生成 2- 酯酰甘油及 2 分子脂肪酸；辅脂肪酶本身不具有脂酶的活性，但可以将胰脂酶锚定在乳化微团的脂-水界面，使胰脂酶与三酰甘油充分接触，是胰脂酶消化三酰甘油必不可少的辅因子；磷脂酶 A₂ 可特异水解磷脂的第 2 位酯键，生成溶血磷脂 (lysophosphatide) 和脂肪酸；胆固醇酯酶水解胆固醇酯生成胆固醇和脂肪酸。

溶血磷脂、胆固醇可协助胆汁酸盐将膳食中的脂质乳化成体积更小、极性更大的混合微团，这种微团更容易被小肠黏膜细胞吸收。

二、脂质的吸收

脂质及其消化产物主要在十二指肠下段及空肠上段吸收。膳食中的脂质中有少量由短链 (2 ~ 6 个碳原子) 和中链 (6 ~ 12 个碳原子) 脂肪酸构成的三酰甘油，它们经胆汁酸乳化后可直接被小肠黏膜细胞吸收，然后被细胞内脂肪酶水解为脂肪酸和甘油，通过门静脉入肝，进入血循环。

膳食中的脂质在小肠内的消化产物 2- 酯酰甘油、溶血磷脂、胆固醇及长链 (12 ~ 26 个碳原子) 脂肪酸等被吸收进入小肠黏膜细胞后，再次重新合成三酰甘油、磷脂和胆固醇酯，它们同肠黏膜细胞合成的载脂蛋白 B-48、C、A-I、A-IV 等组成乳糜微粒，被腹腔的淋巴管收集后经胸导管进入血液循环。

第三节 三酰甘油的代谢

三酰甘油由甘油和 3 分子脂肪酸组成，是甘油的脂肪酸酯，又称脂肪，是体内含量最丰富的脂质物质，占体重的 10% ~ 20%。

一、脂肪酸的化学

对于不同结构和不同来源的三酰甘油，其物理性质、代谢及生理功能的区别是由其所含脂肪酸的不同而决定的。脂肪酸是含有羧基的有机烃类化合物，机体内天然存在的脂肪酸多是含有偶数碳原子且仅含有一个羧基的直链脂肪酸 (表 5-1)。

表5-1 常见脂肪酸的命名、分类和主要来源

习惯命名	系统命名	ω 族	主要来源
月桂酸	12 : 0		动物和植物食物
豆蔻酸	14 : 0		动物和植物食物
棕榈酸	16 : 0		动物和植物食物
硬脂酸	18 : 0		动物和植物食物
花生酸	20 : 0		动物和植物食物
棕榈油酸	16 : 1 Δ^9	ω -7	动物和植物食物
油酸	18 : 1 Δ^9	ω -9	动物和植物食物
亚油酸	18 : 2 $\Delta^{9,12}$	ω -6	大豆、花生等植物油
α -亚麻酸	18 : 3 $\Delta^{9,12,15}$	ω -3	芝麻、胡桃等油脂
γ -亚麻酸	18 : 3 $\Delta^{6,9,12}$	ω -6	芝麻、胡桃等油脂
花生四烯酸	20 : 4 $\Delta^{5,8,11,14}$	ω -6	花生等植物油
EPA	20 : 5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	ω -3	深海鱼类, 人乳
DPA	22 : 5 $\Delta^{7,10,13,16,19}$	ω -3	深海鱼类, 人乳
DHA	22 : 6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	ω -3	深海鱼类, 人乳

(一) 脂肪酸的分类

脂肪酸主要有以下 2 种分类方法。

1. 根据脂肪酸所含碳原子数目多少 分为短链 (2 ~ 6 个碳原子)、中链 (6 ~ 12 个碳原子) 及长链 (12 ~ 26 个碳原子) 脂肪酸。

2. 根据有无双键 分为饱和脂肪酸 (saturated fatty acid) 和不饱和脂肪酸 (unsaturated fatty acid)。在不饱和脂肪酸中, 根据分子中所含双键的数目不同而分为单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。又可以根据双键的构型分为顺式和反式脂肪酸, 天然存在的不饱和脂肪酸多为顺式, 顺式脂肪酸经氢化或高温加热可以产生反式脂肪酸。研究显示反式脂肪酸具有升高血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇, 降低高密度脂蛋白胆固醇, 诱发动脉粥样硬化的危险, 因此应该大力提倡减少摄入或忌食反式脂肪酸。

(二) 脂肪酸的命名

通常可采用习惯命名法和系统命名法对脂肪酸进行命名。在系统命名法中, 应先说明所含碳原子数目, 再指明不饱和双键的位置和数目。脂肪酸中碳原子的位置有多种不同的表示方法: 第一种是 Δ 编码体系, 从脂肪酸的羧基碳开始计算碳原子的顺序; 第二种是把邻近羧基碳的碳原子标记为 α 碳原子, 向甲基碳方向顺序标记为 β 和 γ 碳原子等; 第三种是 ω 编码体系, 把甲基碳原子标记为 ω -1 碳原子, 向羧基碳方向顺序标记为 ω -2 和 ω -3 碳原子等。以亚油酸的命名为例, 依据 Δ 编码体系, 其表示为 18 : 2 $\Delta^{9,12}$; 依据 ω 编码体系, 亚油酸归属为 ω -6 脂肪酸。在人体内相同 ω 族的不饱和脂肪酸是可以相互转化的, 而不同 ω 族的不饱和脂肪酸不可以相互转化, 换言之 ω -3 和 ω -6 族不饱和脂肪酸不仅不能互相转化, 而且也都不能从 ω -7 和 ω -9 族不饱和脂肪酸转化生成。

(三) 脂肪酸的来源

机体内脂肪酸的来源有两条途径: 一是自身合成, 二是从食物中摄取。根据来源的不同, 可以将脂肪酸分为营养非必需脂肪酸 (non-nutritional essential fatty acid) 和营养必需脂肪酸 (nutritional essential fatty acid) 两大类。营养非必需脂肪酸既可以从膳食摄入, 也可以自身合成, 而营养必需脂肪酸机体不能自身合成, 只能从膳食中获得。这些机体需要但是自身不能合

成、必须由膳食摄入的脂肪酸被称为营养必需脂肪酸。常见的人体营养必需脂肪酸有亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸等。

二、脂肪动员

三酰甘油在体内发生分解代谢，为机体提供生命所需能量。分解代谢的第一步称为脂肪动员 (fat mobilization)，是指储存在脂肪组织中的脂肪在各种脂肪酶作用下被水解为游离脂肪酸和甘油，水解产物释放入血并被机体组织利用的过程。在脂肪动员的过程中，由三酰甘油脂肪酶所催化的三酰甘油水解为二酰甘油和脂肪酸的反应是脂肪动员的限速反应。三酰甘油脂肪酶也因此被称为脂肪动员的关键酶，它是一种可进行共价修饰调节的酶，受多种激素的调节，所以又称为激素敏感脂肪酶 (hormone sensitive lipase, HSL)。肾上腺素、胰高血糖素和促肾上腺皮质激素等能增强三酰甘油脂肪酶的活性，因此被称为促脂解激素 (lipolytic hormone)；胰岛素和前列腺素等能抑制脂肪动员，因此被称为抗脂解激素 (anti-lipolytic hormone)。当禁食、饥饿或处于兴奋状态时，促脂解激素分泌增加，脂解作用加强；而进食后胰岛素分泌增加，脂解作用降低。通过激素对各种物质代谢的不同影响，机体物质代谢协调进行，适应机体的状况和需求。

脂肪动员生成的甘油可在血液中游离运输，主要被运输到肝，经甘油激酶催化生成 3-磷酸甘油，然后进入糖酵解途径氧化分解或异生成糖。肾、肠等组织细胞中也含有甘油激酶，可以利用甘油；脂肪组织和骨骼肌缺乏甘油激酶，不能利用甘油。脂肪动员生成的游离脂肪酸释放入血，与清蛋白结合形成脂肪酸-清蛋白复合物，随血液循环运输至心、肝、骨骼肌等各组组织进一步分解利用。

三、脂肪酸的分解代谢

脂肪酸是机体主要的供能物质之一。当机体糖供应不足时，三酰甘油分解生成脂肪酸。在氧供应充足的条件下，脂肪酸可在体内氧化分解成 CO_2 和 H_2O ，释放出大量能量，以 ATP 形式供机体利用。各器官中以肝和肌肉反应最为活跃，但脑、神经组织及红细胞等不能直接分解利用脂肪酸。大多数脂肪酸，特别是长链脂肪酸的氧化分解代谢可分为活化、转移、 β 氧化和 ATP 生成四个阶段。

(一) 脂肪酸的活化

脂肪酸在氧化分解前需消耗 ATP 进行活化，形成脂酰辅酶 A (脂酰 CoA)。催化该反应的酶是位于内质网和线粒体外膜的脂酰辅酶 A 合成酶 (acyl CoA synthetase)，又称硫激酶 (thiokinase)，故脂肪酸的活化过程发生在细胞质中。这也是脂肪酸氧化分解代谢中唯一消耗 ATP 的反应。



反应产物焦磷酸 (PPi) 的迅速分解可以阻止逆向反应的进行，从而促进活化反应进行完全。活化反应虽然仅 1 分子 ATP 参与反应，但是由于其产物是 AMP，故实际上消耗了 2 分子高能磷酸键。

(二) 脂酰 CoA 转移进入线粒体

脂酰 CoA 是在细胞质中形成的，催化其进一步代谢的酶系统却存在于线粒体基质。短链或中长链的脂酰 CoA (10 个碳原子以下) 能渗透通过线粒体内膜，但长链脂酰 CoA 不能穿越线粒体内膜，需要特定物质的介导来完成其转运，该物质就是肉碱 (carnitine)，即 L-3-羟基-4-三甲氨基丁酸。在线粒体内膜的两侧分别存在有肉碱脂酰转移酶 I 和肉碱脂酰转移酶

Ⅱ，二者为同工酶。位于外侧的肉碱脂酰转移酶Ⅰ催化脂酰 CoA 转变为脂酰肉碱，脂酰肉碱借助线粒体内膜上的载体（肉碱 - 脂酰肉碱转位酶）转运到线粒体基质，位于内膜上的肉碱脂酰转移酶Ⅱ催化其重新转变为脂酰 CoA，同时释放出肉碱。肉碱可借助肉碱 - 脂酰肉碱转位酶的转运重回内膜外侧，这就完成了脂酰 CoA 的转移，如图 5-1 所示。

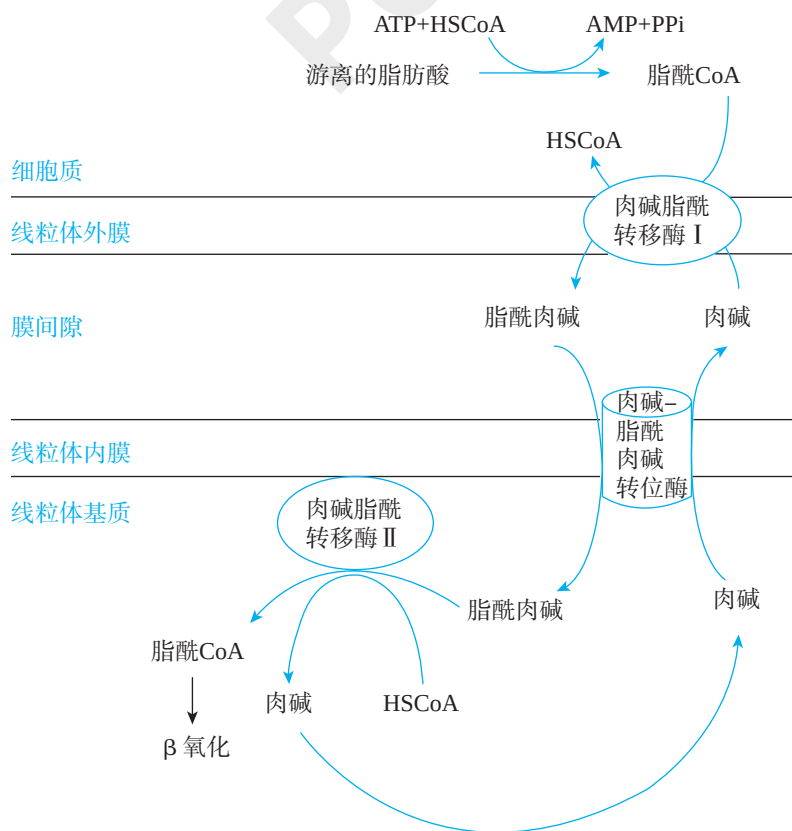


图 5-1 脂酰 CoA 转移进入线粒体的过程

脂酰 CoA 转移进线粒体是脂肪酸氧化的限速步骤，其中肉碱脂酰转移酶Ⅰ是脂肪酸分解代谢的关键酶，受脂肪酸合成中间产物——丙二酰 CoA 的抑制。胰岛素可诱导丙二酰 CoA 浓度增加，进而抑制肉碱脂酰转移酶Ⅰ。另外肉碱脂酰转移酶Ⅱ也受胰岛素抑制。当饥饿或禁食时，胰岛素分泌减少，肉碱脂酰转移酶Ⅰ、Ⅱ的活性增高，长链脂肪酸进入线粒体氧化加快，脂肪酸的氧化会增强。

（三）脂肪酸的 β 氧化

德国化学家 Knoop 在 1904 年设计了一个实验来研究体内脂肪酸的氧化，以不被机体分解的苯基标记脂肪酸的 ω - 甲基，再用带标记的脂肪酸喂养犬并检测其尿中的代谢产物。实验表明，若饲喂带标记的奇数碳脂肪酸，不论脂肪酸碳链长短，尿液代谢物中均有苯甲酸；若饲喂带标记的偶数碳脂肪酸，尿液代谢物中均有苯乙酸。据此 Knoop 提出脂肪酸在体内的氧化分解是从羧基端 β 碳原子开始的，每次断裂 2 个碳原子，以乙酰 CoA 的形式释放。由于脂肪酸氧化过程的各步反应均发生在脂酰基羧基端的 β 碳原子上，故称脂肪酸 β 氧化 (β oxidation of fatty acid)。后来该学说得到了酶学和同位素示踪技术证明，到 20 世纪 50 年代已基本阐明了具体的各步酶促反应。

当脂酰 CoA 进入线粒体基质后，在脂肪酸 β 氧化酶系的有序催化下进行氧化分解，由于体内脂肪酸的组成和结构各不相同，其氧化分解过程也各有差异。

1. 偶数碳饱和脂肪酸的氧化 分子含有偶数碳原子的饱和脂肪酸的主要氧化方式是 α - β 碳原子间的裂解和 β 碳原子的氧化。具体的反应包括脱氢、加水、再脱氢和硫解四步反应。

(1) 脱氢：脂酰 CoA 在脂酰 CoA 脱氢酶 (acyl CoA dehydrogenase) 的催化下，其烃链的 α 、 β 位碳原子各脱去一个氢原子，生成反式 Δ^2 -烯脂酰 CoA，而脱下的 2 个氢原子由该酶的辅基 FAD 接受，生成 FADH_2 。后者可经细胞氧化呼吸链传递给氧生成水，同时生成 1.5 分子 ATP。

(2) 加水：反式 Δ^2 -烯脂酰 CoA 在 Δ^2 -烯脂酰 CoA 水合酶 (enoyl CoA hydratase) 的催化下，加水生成 L-3-羟基脂酰 CoA。

(3) 再脱氢：L- β -羟基脂酰 CoA 在 L- β -羟基脂酰 CoA 脱氢酶 (L- β -hydroxyacyl CoA dehydrogenase) 的催化下，脱去 β 碳原子上的 2 个氢生成 β -酮脂酰 CoA，而脱下的 2 个氢原子由该酶的辅酶 NAD^+ 接受，生成 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 。后者可经细胞呼吸链传递给氧生成水，同时生成 2.5 分子 ATP。

(4) 硫解：生成的 β -酮脂酰 CoA 在 β -酮脂酰 CoA 硫解酶 (thiolase) 的催化下， α - β 碳原子间的烃链断裂，加上 1 分子的辅酶 A，生成 1 分子乙酰 CoA 和少 2 个碳原子的脂酰 CoA。

经过上述四步反应，1 分子脂酰 CoA 分解生成为 1 分子乙酰 CoA 和 1 分子比原来少了 2 个碳原子的脂酰 CoA。后者重复上述的反应，使含偶数碳原子的脂酰 CoA 最终全部转化成乙酰 CoA。具体的反应过程见图 5-2。

2. 不饱和脂肪酸的氧化 除饱和脂肪酸外，人体和食物中还含有大量的不饱和脂肪酸。在线粒体内不饱和脂肪酸的氧化与饱和脂肪酸的氧化基本相同，也可循 β 氧化进行。但由于天然不饱和脂肪酸的双键均为顺式构型，而脂肪酸 β 氧化酶系只能氧化反式不饱和脂肪酸，因此，需要特异性烯脂酰 CoA 顺反异构酶 (cis-trans isomerase) 将顺式烯脂酰 CoA 转变成反式构型的烯脂酰 CoA。其余氧化过程与 β 氧化过程相同。由于不饱和脂肪酸的还原程度较饱和脂肪酸低，彻底氧化成 CO_2 和 H_2O 时产生的 ATP 比相同碳原子数的饱和脂肪酸少。

3. 奇数碳脂肪酸的氧化 人体内存在少量奇数碳脂肪酸，其活化转移入线粒体后也可循 β 氧化方式进行。唯一不同的是经过连续多次 β 氧化后，除了生成乙酰 CoA 外，最终还会生成 1 分子丙酰 CoA。丙酰 CoA 首先经过丙酰 CoA 羧化酶催化生成甲基丙二酰 CoA，然后在甲基丙二酰 CoA 变位酶的作用下经过分子内重排转变成琥珀酰 CoA，后者或进入三羧酸循环氧化分解，或经草酰乙酸异生成糖。

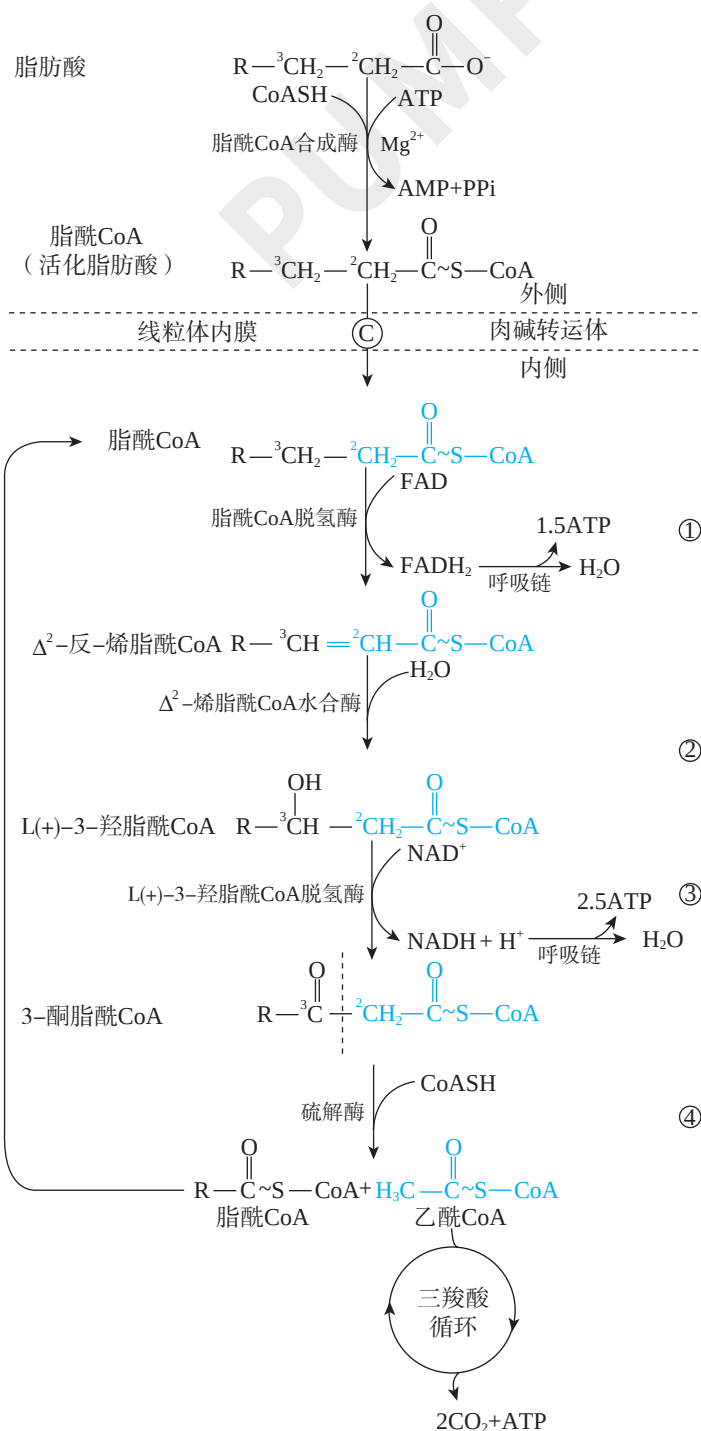
(四) 脂肪酸 β 氧化中 ATP 的生成

脂肪酸 β 氧化产生的还原当量经氧化磷酸化生成 ATP。以饱和的软脂酸 (16 碳饱和脂肪酸) 为例，其活化为软脂酰 CoA 转移入线粒体后，经 7 轮 β 氧化循环，产生 7 分子的 FADH_2 、7 分子的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 和 8 分子的乙酰 CoA。前二者经呼吸链生成 28 分子 ($1.5 \times 7 + 2.5 \times 7 = 28$) ATP，后者经三羧酸循环和呼吸链可产生 80 分子 ($10 \times 8 = 80$) ATP。软脂酸完全氧化可生成 108 分子 ATP，除去其活化消耗的 2 分子 ATP，净生成 106 分子 ATP，约占软脂酸氧化释放总能量的 40%；其余 60% 的能量以热能形式释放用于维持体温，热效率高达 40%。软脂酸分子量为 256，葡萄糖分子量为 180，单位质量软脂酸与葡萄糖产生的 ATP 数的比值为 2.33 : 1 ($106/256 : 32/180$)，这是脂肪有效供能和作为储能物质的重要原因。

(五) 脂肪酸氧化的其他方式

脂肪酸的其他氧化方式主要指脂肪酸的 α 氧化 (α oxidation) 和 ω 氧化 (ω oxidation)。

脂肪酸的 α 氧化发生在脂肪酸 α 碳原子上，先由 α -羟化酶催化生成 α -羟脂酸，再由脱羧酶催化脱去 1 分子 CO_2 ，生成少了 1 个碳原子的脂肪酸。 α 氧化主要在脑和肝细胞的过氧化物酶体中进行。脂肪酸 α 氧化对生物体内奇数碳脂肪酸的形成、3-甲基支链脂肪酸的降解、 α -羟脂酸的降解起着重要的作用。一些长链脂肪酸在 O_2 和 Fe^{2+} 存在的条件下，以维生素 C 或四

图 5-2 脂肪酸的 β 氧化

氢叶酸为供氢体，经 α 氧化生成 α -羟脂酸。 α -羟脂酸既可作为脑苷脂和硫脂的重要成分，又可继续氧化脱羧生成奇数碳脂肪酸。植烷酸（3-甲基支链脂肪酸，由食物中的植醇转变而来）经 α 氧化脱去 1 分子 CO_2 生成降植烷酸，再通过 β 氧化分解。先天性的 α -羟化酶缺乏则不能氧化植烷酸等支链脂肪酸，造成其在组织和血液中的蓄积，引起雷夫叙姆病（植烷酸贮积症，Refsum disease），表现为色素膜视网膜炎、末梢神经炎及小脑运动失调等神经症状。

ω 氧化是脂肪酸的一种次要氧化方式，在肝内质网中发生，主要是对一些中短链脂肪酸（8 ~ 12 个碳）进行加工改造。在单加氧酶催化下，脂肪酸 ω -碳被氧化形成 α, ω -二羧酸，然

后可同时从 α 端和 ω 端或一侧进行 β 氧化, 最后生成琥珀酰 CoA。反应需要 NADPH 与分子氧、细胞色素 P_{450} 和非血红素铁硫蛋白参与, 其终产物多为琥珀酸、己二酸或辛二酸。这些产物有的可经三羧酸循环彻底氧化, 有的则随尿排出体外。

四、酮体的生成和利用

酮体 (ketone body) 是脂肪酸在肝线粒体不完全氧化的中间产物, 包括乙酰乙酸 (acetoacetate)、 β -羟丁酸 (β -hydroxybutyrate) 和丙酮 (acetone) 三种有机化合物。其中前二者是主要成分, 丙酮含量极微。

(一) 酮体的生成

脂肪酸 β 氧化产生的乙酰 CoA 是合成酮体的主要原料。在肝细胞的线粒体内含有催化合成酮体反应的酶系, 主要是 HMG-CoA 合酶和 HMG-CoA 裂解酶, 因此生成酮体是肝细胞特有的功能。酮体主要合成反应如图 5-3 所示。

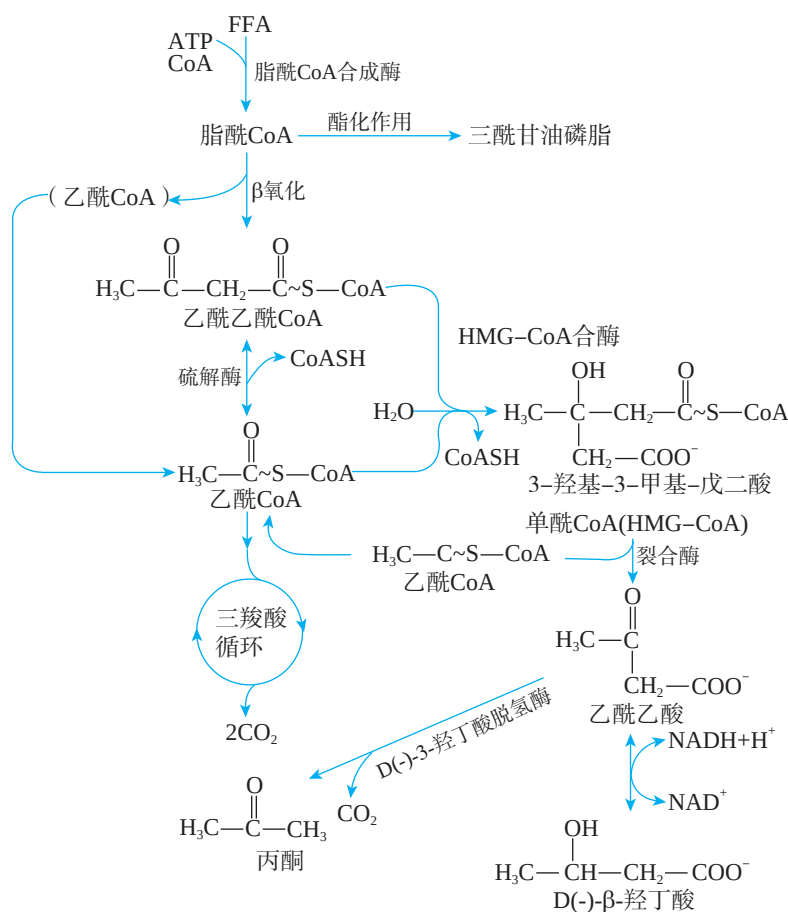


图 5-3 酮体的生成

1. 乙酰乙酰 CoA 的生成 2 分子的乙酰 CoA 在硫解酶的作用下缩合成乙酰乙酰 CoA, 并释放出 1 分子的 CoASH。

2. HMG-CoA 的生成 乙酰乙酰 CoA 再与 1 分子的乙酰 CoA 缩合, 生成 D-3-羟基-3-甲基戊二酸单酰 CoA (D-3-hydroxy-3-methyl glutaryl-CoA, HMG-CoA), 催化此反应的酶为 HMG-CoA 合酶 (HMG-CoA synthase)。

3. 乙酰乙酸的生成 HMG-CoA 在裂解酶 (lyase) 的催化下裂解生成乙酰乙酸和 1 分子的乙酰 CoA。

4. β -羟丁酸和丙酮的生成 乙酰乙酸在线粒体内膜 β -羟丁酸脱氢酶的催化下被还原生成 β -羟丁酸, 还原所需要的氢由 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 提供。一般情况下 β -羟丁酸含量最高, 约占酮体总量的 70%。部分乙酰乙酸可自发地脱羧生成少量丙酮。

(二) 酮体的利用

由于肝细胞氧化酮体的酶活性很低, 酮体生成后很快透出肝细胞膜, 随血液输送到肝外组织进行氧化, 所以酮体是肝内生成、肝外利用。心、肾、脑和骨骼肌等肝外组织含有利用酮体的酶系。 β -羟丁酸首先脱氢生成乙酰乙酸。乙酰乙酸在琥珀酰 CoA 转硫酶或乙酰乙酸硫激酶的催化下, 重新转变为乙酰乙酰 CoA, 进而在硫解酶的催化下裂解生成乙酰 CoA。产物乙酰 CoA 经三羧酸循环可彻底氧化成 CO_2 和 H_2O , 并生成 ATP。丙酮的代谢活性极低, 一般可经肾随尿排出。血液中酮体浓度升高时, 其中的丙酮也可经肺呼出, 因此重症酮血症患者呼出的气体中可有丙酮的特殊气味。在正常的情况下, 酮体的肝内生成与肝外利用协调平衡, 所以血液中酮体维持在正常较低水平。

(三) 酮体生成的生理意义

酮体是肝特有的脂肪酸代谢中间产物, 它们一方面保存了脂肪酸 3/4 以上的能量; 另一方面, 其分子小、溶于水, 能够透过血脑屏障、毛细血管壁及线粒体内膜, 是肝向肝外组织输送脂肪酸能量的一种有效形式。在饥饿或糖供能不足时, 脂肪动员加强, 所产生的脂肪酸转变为乙酰 CoA 氧化供能, 以减少葡萄糖和蛋白质的消耗, 维持血糖浓度的恒定。肝同时将脂肪酸分解转化成酮体, 以替代葡萄糖为脑组织提供能量保障, 确保大脑功能正常。脑组织不能从葡萄糖获得足够能量的情况下, 所需能量的 75% 是由酮体提供的, 这对生命的维系和健康的恢复具有积极意义。

在生理条件下, 酮体的合成往往低于酮体的利用, 血液中的酮体水平很低, 浓度不超过 0.2mmol/L , 通过尿液排出的酮体总量不超过 1mg/d 。饥饿、妊娠中毒症、糖尿病以及高脂低糖膳食人群肝酮体的生成超过肝外酮体的利用, 可造成血液中酮体水平升高。如严重糖尿病等糖代谢异常情况下, 葡萄糖得不到有效利用, 脂肪动员而来的脂肪酸被转化成大量酮体。酮体在血液中的蓄积超过正常浓度则称酮血症 (ketonemia); 此时如尿中可检测出酮体, 则称为酮尿症 (ketonuria)。酮体中的乙酰乙酸和 β -羟丁酸均是较强的酸, 在体内蓄积会造成血液 pH 下降, 由此引起的酸中毒称为酮症酸中毒 (ketoacidosis)。严重的酮症酸中毒可威胁患者的生命, 在因糖尿病等代谢性疾病以及胃肠道手术不能进食患者的治疗中具有特别重要的意义。由于酮血症起因是糖供能不足 (如饥饿) 或糖利用障碍 (如糖尿病), 在临床处理酮症酸中毒时不仅要及时纠正酸中毒, 更要注意建立和恢复机体的正常糖代谢。

五、脂肪酸的合成

当糖供能充足时, 人体内能够进行脂肪酸生物合成储存能量。但机体合成脂肪酸的能力是有限的, 例如人体及哺乳动物不能向脂肪酸加入超过 Δ^9 的双键, 所以有些人体需要的脂肪酸自身不能合成, 只能通过食物获得, 称为营养必需脂肪酸; 而能够自身合成的脂肪酸即非营养必需脂肪酸。人体内非营养必需脂肪酸的种类很多, 当合成时都是先走一条共同的途径——生成 16 碳的软脂酸, 再由软脂酸通过改变链的长短或添加不饱和键等方式转化成其他各种各样的非营养必需脂肪酸。

(一) 合成部位

脂肪酸的合成主要是在细胞质中进行的。肝、肾、脑、乳腺和脂肪组织均可合成脂肪酸, 但肝是机体合成脂肪酸最主要的场所, 脂肪组织是脂肪酸的储存场所。

(二) 合成原料及来源

脂肪酸合成的原料包括乙酰 CoA、 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 、ATP、 HCO_3^- 、生物素及 Mn^{2+} 等辅因子。

1. 乙酰 CoA 的来源 乙酰 CoA 是合成脂肪酸的主要原料,也是体内合成脂肪酸时碳原子的唯一来源,主要来自葡萄糖的分解代谢。因为糖代谢产生的乙酰 CoA 位于线粒体内,而脂肪酸合成的相关酶类定位在细胞质中,且线粒体内膜为选择透过性膜,所以线粒体内的乙酰 CoA 需通过特殊的机制转移到细胞质中,这个过程称为柠檬酸 - 丙酮酸循环 (citrate pyruvate cycle),具体过程如图 5-4 所示。

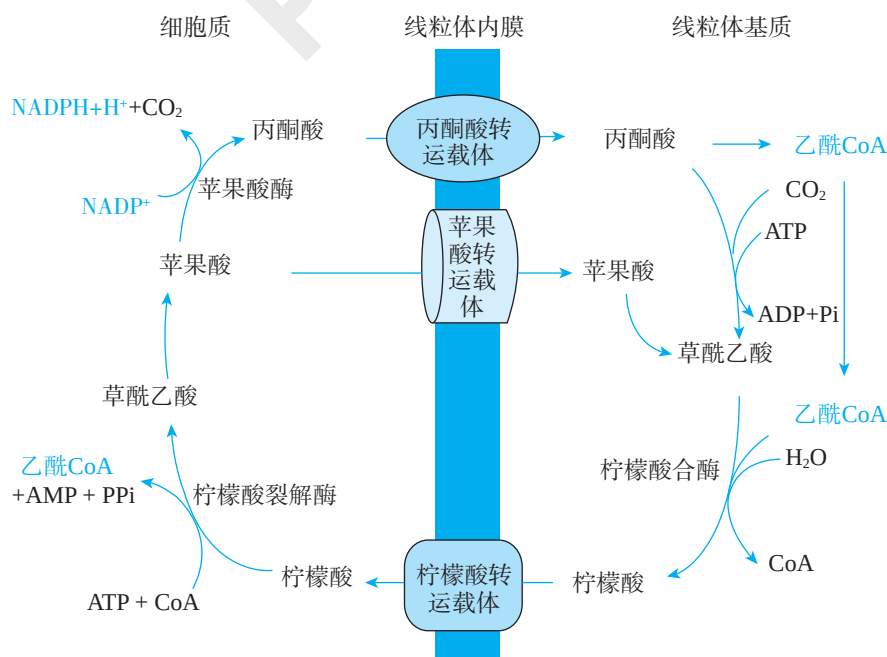


图 5-4 柠檬酸 - 丙酮酸循环

(1) 在线粒体内乙酰 CoA 首先与草酰乙酸缩合生成柠檬酸,在相应的载体介导下后者可进入细胞质。

(2) 在细胞质中柠檬酸裂解酶作用下,柠檬酸重又裂解产生乙酰 CoA 和草酰乙酸。

(3) 乙酰 CoA 可用于脂肪酸的合成,草酰乙酸则需返回线粒体补充合成柠檬酸的消耗。草酰乙酸也不能自由通过线粒体内膜,其首先在苹果酸脱氢酶作用下被还原为苹果酸,接着再在苹果酸酶的催化下氧化脱羧,生成可穿透线粒体内膜的丙酮酸,后一反应的受氢体为 $NADP^+$ 。

(4) 返回线粒体的丙酮酸可重新羧化为草酰乙酸,再参与乙酰 CoA 的转运。

柠檬酸 - 丙酮酸循环不仅完成了乙酰 CoA 从线粒体到细胞质的转运,而且使细胞质内的 $NADP^+$ 转变为 $NADPH + H^+$,为脂肪酸的合成提供了供氢体。循环每运转一次,消耗 2 分子 ATP,将 1 分子乙酰 CoA 从线粒体中带入细胞质,并为机体提供 1 分子 $NADPH + H^+$,以补充合成反应的需要。正是通过乙酰 CoA 这一重要的中间代谢物,体内的三大营养物质的相互转化才成为可能。

2. $NADPH + H^+$ 的来源 脂肪酸的合成过程中有多次加氢还原反应,所需氢是以 $NADPH + H^+$ 的形式提供的。合成所需的 $NADPH + H^+$ 有两个的来源:主要来源是葡萄糖的磷酸戊糖途径,另外通过柠檬酸 - 丙酮酸循环转运乙酰 CoA 过程中也可提供少量 $NADPH + H^+$ 。

(三) 合成反应及催化酶系

机体内脂肪酸的合成是一个相当复杂的过程,虽然合成脂肪酸的所有碳原子均来源于乙酰 CoA,但仅有 1 分子乙酰 CoA 直接参与合成反应,其余的乙酰 CoA 需先羧化为丙二酸单酰 CoA 后才能进入脂肪酸的合成途径。

1. 丙二酸单酰 CoA 的合成 乙酰 CoA 在羧化酶的催化下不可逆地生成丙二酸单酰 CoA, 反应如下:

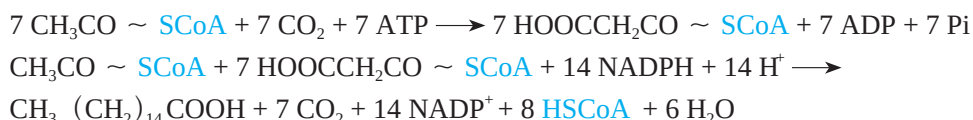


乙酰 CoA 羧化酶 (carboxylase) 存在于细胞质中, 其辅基是生物素, 在反应过程中起到携带和转移羧基的作用。该酶是脂肪酸合成的关键酶, 既是别构酶, 受到别构效应剂的调节, 又受磷酸化、去磷酸化的共价修饰调节。

2. 软脂酸的合成 软脂酸的合成是由脂肪酸合酶催化完成的。不同进化程度的生物, 脂肪酸合酶的组成和结构不同。在低等生物大肠埃希菌中, 脂肪酸合酶是一个由 7 种不同功能的酶与酰基载体蛋白 (acyl carrier protein, ACP) 聚合形成的多酶复合体。在高等哺乳动物中, 这 7 种酶 (β -酮脂酰合酶、乙酰转移酶、丙二酸单酰转移酶、 β -酮脂酰还原酶、 β -羟脂酰脱水酶、烯脂酰还原酶和硫酯酶) 和酰基载体蛋白融合到一条多肽链中, 属于多功能酶。人体的脂肪酸合酶由这样 2 条相同肽链首尾相连形成二聚体, 当两个亚基结合形成二聚体时酶才具有活性, 当二聚体解聚成 2 个独立的亚基时酶则失去催化功能。

无论高等还是低等生物, 脂肪酸合酶中的 ACP 均以 4'-磷酸泛酰氨基乙硫醇为辅基, 其末端巯基可与脂酰基结合形成硫酯键。酶系中的 β -酮脂酰合酶分子中含有半胱氨酸残基, 其中的巯基也能携带脂酰基。在相应的转移酶催化下, 乙酰 CoA 和丙二酸单酰 CoA 分别形成硫酯键而结合在 β -酮脂酰合酶和 ACP 的巯基上, 完成酶和底物的结合。

结合在脂肪酸合酶上的乙酰 CoA 和丙二酸单酰 CoA 依次进行缩合、还原、脱水和再还原等步骤, 形成与 ACP 相连的丁酰基。中间产物丁酰基从 ACP 上转移到 β -酮脂酰合酶的巯基上, 空出的 ACP 再结合 1 分子丙二酸单酰 CoA, 开始新一轮循环。每轮循环延长 2 个碳原子, 7 轮循环后 ACP 上生成含 16 个碳原子的软脂酰碳链。在硫酯酶的催化下, 软脂酰-ACP 的硫酯键水解断裂, 将软脂酸从酶复合体中释放出来。软脂酸的合成反应如下:



(四) 软脂酸转化为其他非必需脂肪酸

1. 脂肪酸碳链长度的变化 16 碳以上长链脂肪酸的合成是以软脂酸为前体, 在滑面内质网或线粒体中的脂肪酸碳链延长酶系的催化下完成的。滑面内质网脂肪酸延长以丙二酸单酰 CoA 为二碳单位的供体, 而线粒体脂肪酸延长以乙酰 CoA 为二碳单位的供体。通过这种方式不仅可以合成硬脂酸, 也可合成碳链更长的 24 或 26 碳脂肪酸。短链脂肪酸可由软脂酸发生 β 氧化使碳链缩短生成。

2. 不饱和脂肪酸的合成 脂肪酸的去饱和过程是一个脱氢过程, 需要有黄素蛋白和细胞色素 b_5 等线粒体外电子传递系统参与。哺乳动物在滑面内质网脂肪酸去饱和酶的作用下可以合成一些不饱和脂肪酸, 但该酶只能在 Δ^9 与羧基碳之间催化形成双键, 而不能在 Δ^9 与末端甲基之间形成双键, 因此有些不饱和脂肪酸自身是不能合成的, 如前所述称为营养必需脂肪酸。传统的营养必需脂肪酸多是指亚油酸 (18 : 2 $\Delta^{9,12}$, 属于 ω -6 脂肪酸)、 α -亚麻酸 (18 : 3 $\Delta^{9,12,15}$, 属于 ω -3 脂肪酸) 和花生四烯酸 (20 : 4 $\Delta^{5,8,11,14}$, 属于 ω -6 脂肪酸) 三类。实际上这种营养必需脂肪酸的组成是不全面的, 应该认定所有的 ω -3 脂肪酸和 ω -6 脂肪酸均是营养必需脂肪酸。这样近年来备受关注和推崇的 EPA (20 : 5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$)、DPA (22 : 5 $\Delta^{7,10,13,16,19}$) 和 DHA (22 : 6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$) 也应该归属为营养必需脂肪酸的范畴。植物组织和一些以浮游生

物为食的深海鱼类含有较多的 EPA、DPA 和 DHA，人体可以通过食用植物油或深海鱼油等食物而获得这些营养必需脂肪酸。

六、甘油的来源

当三酰甘油进行合成代谢时，所需要的甘油有以下两种来源。①从糖代谢生成：糖分解代谢产生的磷酸二羟丙酮在细胞质中 3-磷酸甘油脱氢酶催化下，还原为 3-磷酸甘油。此反应普遍存在于人体内各组织，是 3-磷酸甘油的主要来源。②细胞内甘油再利用：内源或外源性三酰甘油分解产生的甘油，在肝、肾、哺乳期乳腺及小肠黏膜所富含的甘油激酶的催化下，活化形成 3-磷酸甘油。

七、三酰甘油的合成

（一）合成的部位及原料

三酰甘油合成的主要器官是肝、小肠和脂肪组织。肝的合成能力最强，但不能储存三酰甘油，其合成的三酰甘油与载脂蛋白 B-100、载脂蛋白 C 及磷脂、胆固醇等组装成极低密度脂蛋白（VLDL），经血液循环向肝外组织输出。若磷脂合成不足或载脂蛋白合成障碍，三酰甘油就会在肝细胞中聚集，导致脂肪肝的形成。脂肪组织既能合成又能贮存三酰甘油。小肠主要以外源性脂质物质的降解产物为原料合成三酰甘油，以乳糜微粒形式分泌入血。

三酰甘油合成的原料是磷酸甘油和脂酰 CoA，它们分别是甘油和脂肪酸的活性形式，主要来源于糖代谢。三酰甘油中 3 个脂肪酸可以是相同的，也可以是不同的，但在一般情况下三酰甘油的 C-2 常为多不饱和脂肪酸——花生四烯酸。

（二）合成的途径

肝和脂肪组织细胞通过二酰甘油途径（diacyl glycerol pathway）合成三酰甘油，小肠黏膜细胞通过单酰甘油途径（monoacylglycerol pathway）合成三酰甘油。

1. 二酰甘油途径 糖酵解中间代谢产物磷酸二羟丙酮经磷酸甘油脱氢酶催化还原生成 α -磷酸甘油，后者在酰基转移酶（acyl transferase）的催化下与 2 分子脂酰 CoA 反应生成 3-磷酸-1,2-二酰甘油，即磷脂酸（图 5-5），它是合成甘油酯类的共同前体。磷脂酸在磷脂酸磷酸酶的作用下，水解释放出无机磷酸并转变为二酰甘油。二酰甘油与脂酰 CoA 反应，在酰基转移酶的催化下生成三酰甘油。反应过程因为中间产物二酰甘油而得名。

2. 单酰甘油途径 利用消化吸收产物 2-单酰甘油，在肠黏膜细胞内质网单酰甘油酰基转移酶的催化下与另 1 个脂酰 CoA 反应生成 1,2-二酰甘油，并进而合成三酰甘油。

（三）三酰甘油合成与临床的关系

机体脂肪的含量可受遗传、性别、年龄、饮食、职业、疾病、运动和生活方式等多种因素的影响。机体由于脂肪堆积所导致的体重增加称为肥胖。判断人体体重是否正常最常使用的方法有两种：一是简易计算方法，标准体重（kg）= 身高（cm）- 110，大于标准体重 25% 为肥胖，低于标准体重 15% 为消瘦。二是使用体质指数（body mass index, BMI）表示， $BMI = \text{体重（kg）} / \text{身高}^2 \text{（m}^2\text{）}$ 。如果 $BMI < 24$ ，视为正常；如果 BMI 介于 24 ~ 26，就视为超重；如果 $BMI > 26$ ，则可诊断为肥胖。世界卫生组织全球 BMI 监测数据库的资料显示，各国居民的 BMI 在近几十年呈逐年增长趋势，超重和肥胖率也呈持续上升势头。我国的情况也大致相同，特别是近 30 年来随着人们膳食结构的改变、体力活动的减少和生活方式的改变等，人群中超重和肥胖的发生率不断地升高，这种状况在儿童尤为突出。中国居民营养调查显示，超重和肥胖率分别由 1992 年的 12.8% 和 3.3%，增加至 2012 年的 30.1% 和 11.9% [《中国居民营养与慢性病状况报告（2015）》]。在我国，超重和肥胖已影响 4 亿人，肥胖不仅影响形象，更为重要

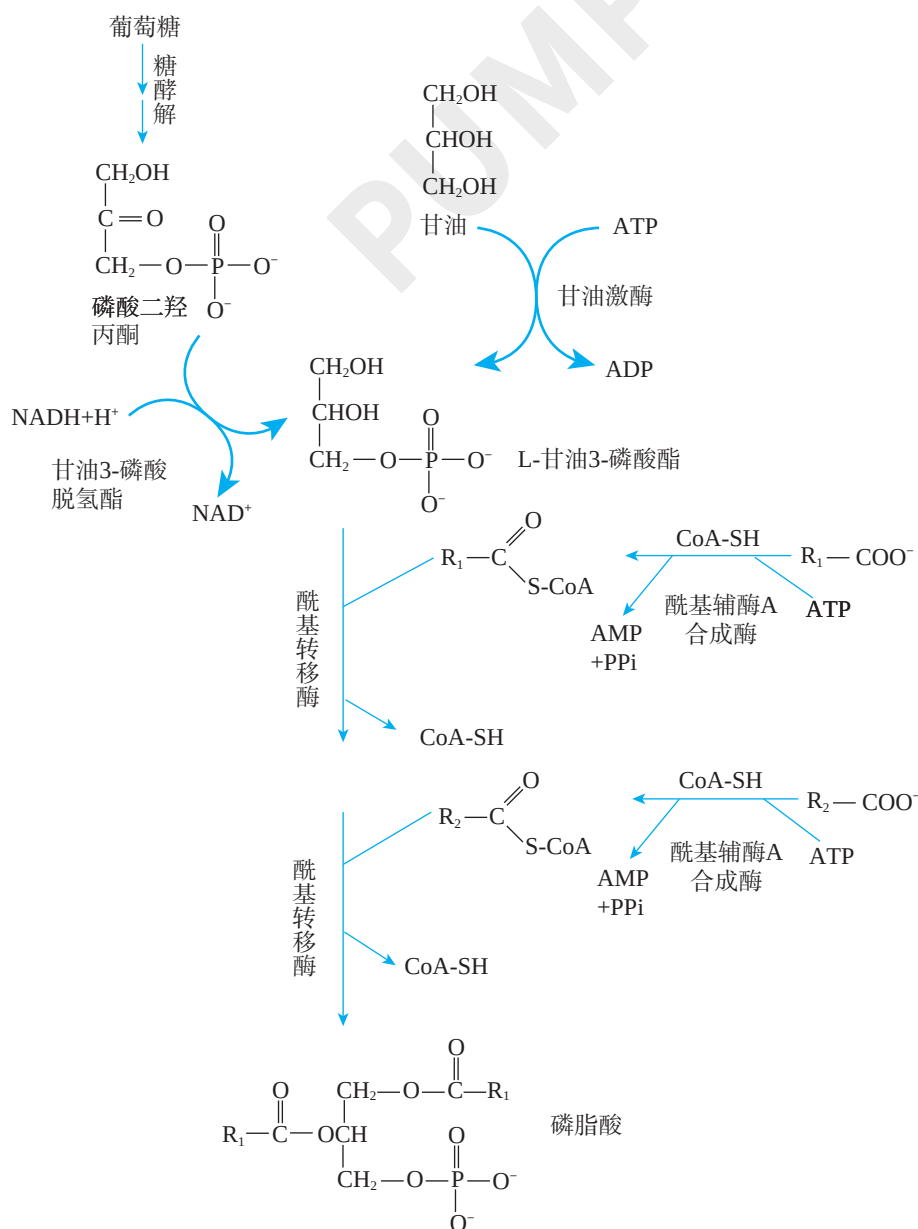


图 5-5 三酰甘油的合成

的是它是多种疾病的危险因素，因此肥胖已经成为我国和世界当前重要的公共卫生问题之一。膳食营养和体力活动是影响 BMI 的核心因素，因此食不过量和天天运动就是预防和治疗大多数肥胖的最为重要的关键措施和有效途径。依据《中国居民膳食指南（2016）》，建议每人每天烹调油用量不超过 30g，尽量少食用动物油。烹调油也应多样化，应经常更换种类，食用多种植物油。此外零食要适量。

八、三酰甘油代谢的调节

（一）饱食和饥饿时激素的调节

1. 饱食状况下 糖供能充足时，血糖水平升高，胰岛素分泌增强。胰岛素是抗脂解激素，抑制激素敏感性脂肪酶的活性，脂肪动员水平下降，血中游离脂肪酸浓度降低，肉碱脂酰转移酶 I 活性减弱，脂肪酸 β 氧化减弱，酮体生成减少。与此同时，胰岛素增加软脂酸合成酶系



肥胖与瘦蛋白

和三酰甘油合成酶系的活性，利用糖代谢产生的甘油和乙酰 CoA 合成脂肪酸和三酰甘油。

2. 饥饿状况下 糖供能不足时，胰岛素分泌下降，胰高血糖素分泌增加。胰高血糖素是脂解激素，激活激素敏感性脂肪酶的活性，促进脂肪动员，血中游离脂肪酸浓度升高，肉碱脂酰转移酶 I 活性增强， β 氧化增强，酮体生成增多。

（二）关键酶的调控作用

1. 乙酰 CoA 羧化酶的调节 乙酰 CoA 羧化酶是脂肪酸合成的关键酶，影响该酶活性的主要有别构调节和化学修饰调节。

乙酰 CoA 羧化酶有两种存在形式，一种是无活性的单体，另一种是有活性的多聚体。柠檬酸、异柠檬酸作为别构激活剂，可使乙酰 CoA 羧化酶由无活性的单体聚合成有活性的多聚体。而软脂酰 CoA 和其他长链脂酰 CoA 作为其别构抑制剂，使乙酰 CoA 羧化酶由多聚体解聚成无活性的单体。柠檬酸水平的升高是机体葡萄糖供能充足、乙酰 CoA 和 ATP 较为丰富的结果，故糖供能充足时软脂酸和三酰甘油合成增加。软脂酰 CoA 水平的升高，意味着葡萄糖供能不足和脂肪动员增强，此时脂质合成受抑制。

乙酰 CoA 羧化酶也受磷酸化、去磷酸化的调节。如胰岛素可通过促进酶蛋白的脱磷酸化而增强乙酰 CoA 羧化酶的活性，从而促进脂质合成；而胰高血糖素和肾上腺素等则可通过促进酶蛋白的磷酸化抑制乙酰 CoA 羧化酶的活性，抑制脂质合成。

2. 肉碱脂酰转移酶 I 的调节 糖代谢旺盛时，产生的乙酰 CoA 和柠檬酸通过别构调节激活乙酰 CoA 羧化酶，促进丙二酰 CoA 的生物合成。丙二酰 CoA 能竞争性抑制肉碱脂酰转移酶 I，阻止长链脂酰 CoA 进入线粒体，使脂肪酸 β 氧化水平降低，酮体生成减少。

第四节 磷脂的代谢

一、磷脂的组成与分类

磷脂（phospholipid, PL）是含有磷酸的脂质的总称，机体中主要有两大类磷脂：一类是以甘油为骨架的甘油磷脂（glycerophosphatide），另一类是以鞘氨醇（sphingosine）为骨架的鞘磷脂（sphingomyelin）。甘油磷脂是体内含量最多、分布最广的磷脂，鞘磷脂主要分布在脑和神经髓鞘中，本节主要介绍甘油磷脂的代谢。

甘油磷脂以甘油为骨架，甘油的 C-1 位和 C-2 位羟基上各结合 1 分子脂肪酸。通常 C-1 位上多为饱和脂肪酸，而 C-2 位上多为不饱和脂肪酸，以花生四烯酸为最多见，C-3 位羟基与磷酸基团结合，磷酸基再与不同的取代基团（X 基团）结合构成不同的甘油磷脂。根据取代基团的不同，常见的甘油磷脂可分为磷脂酰胆碱（phosphatidylcholine, PC，俗称卵磷脂）、磷脂酰乙醇胺（phosphatidylethanolamine, PE，俗称脑磷脂）、磷脂酰丝氨酸（phosphatidyl serine, PS）、磷脂酰肌醇（phosphatidyl inositol, PI）、磷脂酰甘油（phosphatidyl glycerol, PG）和双磷脂酰甘油（diphosphatidyl glycerol，俗称心磷脂）等，其结构见图 5-6。其中，磷脂酸的 X 不是基团，而是 H，它是最简单的甘油磷脂。

二、甘油磷脂的代谢

甘油磷脂 C-1、C-2 位上的脂肪酸是疏水性的非极性基团，C-3 位上的磷酸含氮基团或羟基是亲水性的。这样的结构特点使甘油磷脂成为双极性化合物，既能与极性基团结合又能与非极性基团结合，作为水溶性蛋白质和非极性脂质之间的结构桥梁，因而甘油磷脂是细胞膜、核膜、线粒体膜及血浆脂蛋白的重要结构成分，对维持细胞和细胞器的正常形态与功能起着重要作用。

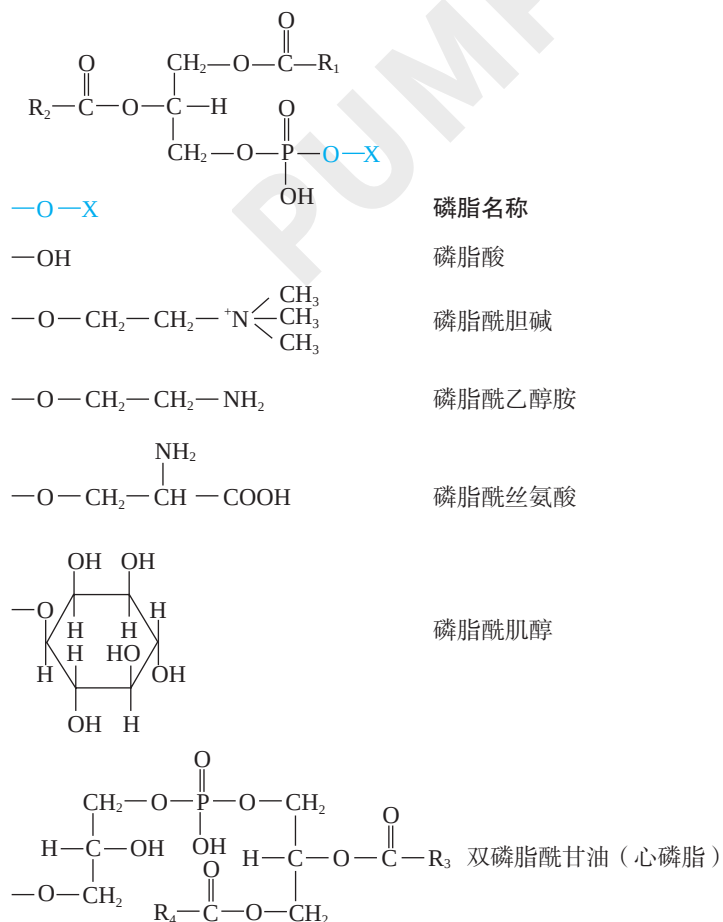


图 5-6 常见甘油磷脂的结构

(一) 甘油磷脂的合成代谢

人体几乎所有组织细胞的内质网均含有合成甘油磷脂的酶系，但以肝的合成最为活跃，其次是肾和肠。肝不仅合成自身组织更新需要的磷脂，还将磷脂组成血浆脂蛋白向肝外组织运输。

合成甘油磷脂的原料主要包括磷酸甘油、脂肪酸、胆碱、乙醇胺、丝氨酸和肌醇等物质，还需要 ATP、胞苷三磷酸 (cytidine triphosphate, CTP) 等能源物质的参与。其中，磷酸甘油和脂肪酸主要来源于糖代谢，但由于其 C-2 位的多不饱和脂肪酸为必需脂肪酸，必须从植物油中摄取。胆碱和乙醇胺可由食物中摄取，也可在体内由丝氨酸合成，丝氨酸经丝氨酸脱羧酶催化脱羧即生成乙醇胺，乙醇胺再由 SAM 提供甲基，经甲基化而生成胆碱。ATP 主要用于提供合成磷脂所需的能量，CTP 则主要用于甘油磷脂合成过程中中间产物的活化。

甘油磷脂的合成虽有不同的途径，但都具有共同的特征：首先二酰甘油是甘油磷脂合成的共同前体，其次甘油磷脂的合成过程需要 CTP 的参与。根据被 CTP 活化的部分不同可分为两种不同的合成途径：一种途径称为二酰甘油途径，磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺经此途径合成，该途径中磷酸胆碱或磷酸乙醇胺首先被 CTP 活化生成 CDP-胆碱或 CDP-乙醇胺后，再与二酰甘油反应最终合成甘油磷脂；另一途径称为 CDP-二酰甘油途径，磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸和心磷脂经此途径合成，该途径是二酰甘油首先被 CTP 活化，生成 CDP-二酰甘油后，再与肌醇、丝氨酸或磷脂酰甘油等反应，最终合成磷脂。甘油磷脂的合成反应见图 5-7。

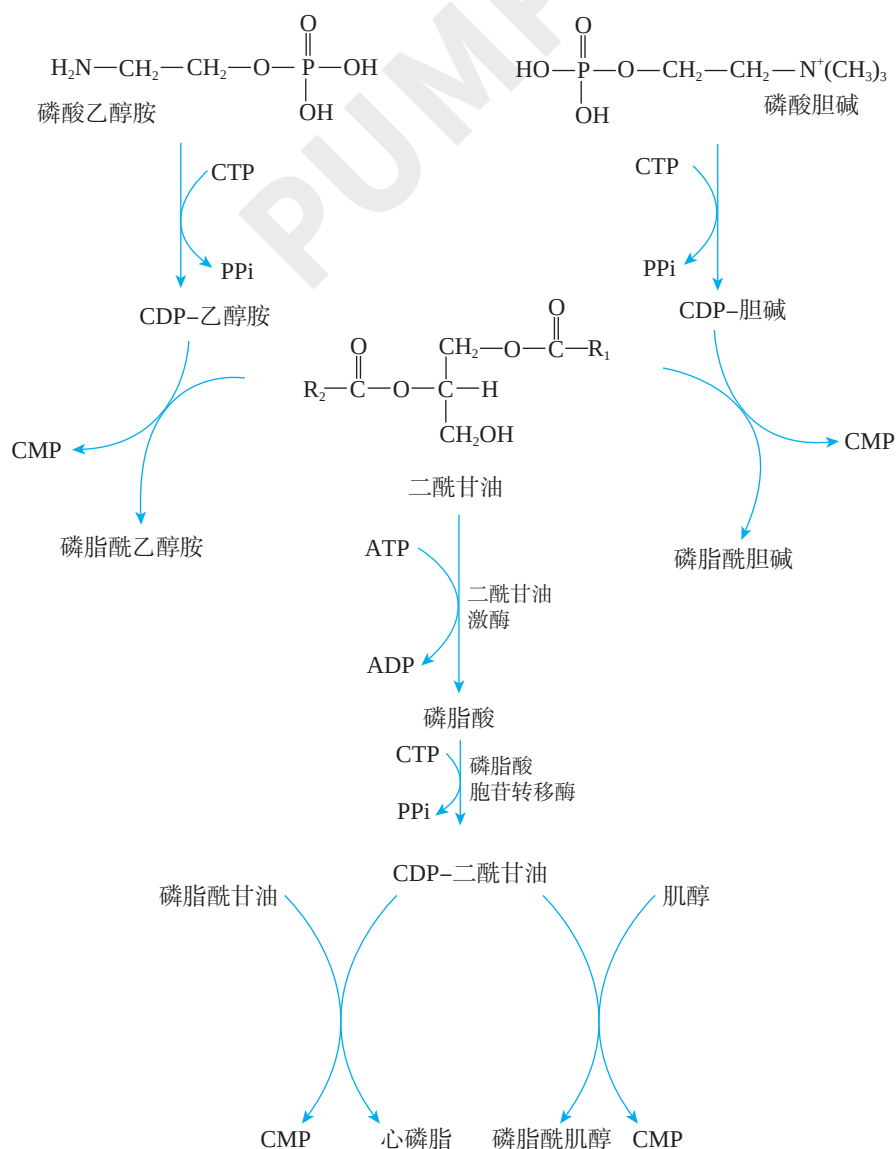


图 5-7 甘油磷脂的合成

(二) 甘油磷脂的分解代谢

甘油磷脂的分解代谢主要是由体内存在的磷脂酶 (phosphatidase) 催化的水解过程。这些磷脂酶因其水解的化学键特异性不同, 可分为磷脂酶 A₁、A₂、B₁、B₂、C 和 D 等。

磷脂酶 A 的底物是甘油磷脂, 特异性水解甘油磷脂 C-1 和 C-2 位酯键, 水解 C-1 位酯键的是磷脂酶 A₁, 水解 C-2 位酯键的是磷脂酶 A₂。甘油磷脂经磷脂酶 A₁ 或 A₂ 水解脱去一个脂酰基后的产物, 是一类具较强表面活性的物质, 可溶解红细胞膜, 引起溶血, 故称为溶血磷脂。

磷脂酶 B 的底物是溶血磷脂, 即磷脂酶 A 催化反应的产物, 特异性水解溶血磷脂中的 C-1 或 C-2 位酯键。

磷脂酶 C 特异性地作用于甘油磷脂分子中的 C-3 位磷酸酯键, 水解产物包括二酰甘油和磷酸胆碱、磷酸乙醇胺或磷酸肌醇等。一些激素可通过膜受体调节细胞膜上磷脂酶 C 的活性, 进而控制细胞内二酰甘油和三磷酸肌醇等第二信使的水平而影响细胞内的代谢。

磷脂酶 D 特异性地作用于有机基团与磷酸间的磷酸酯键, 水解生成磷脂酸和相应的有机

化合物。

各种磷脂酶催化作用部位见图 5-8。

第五节 胆固醇的代谢

胆固醇 (cholesterol) 是具有环戊烷多氢菲核及一个羟基的固醇类化合物, 因最早在动物胆石中分离出, 故称为胆固醇。胆固醇是机体多种重要生理活性物质的前体, 高胆固醇血症与动脉粥样硬化和心、脑血管等疾病的发病密切相关。

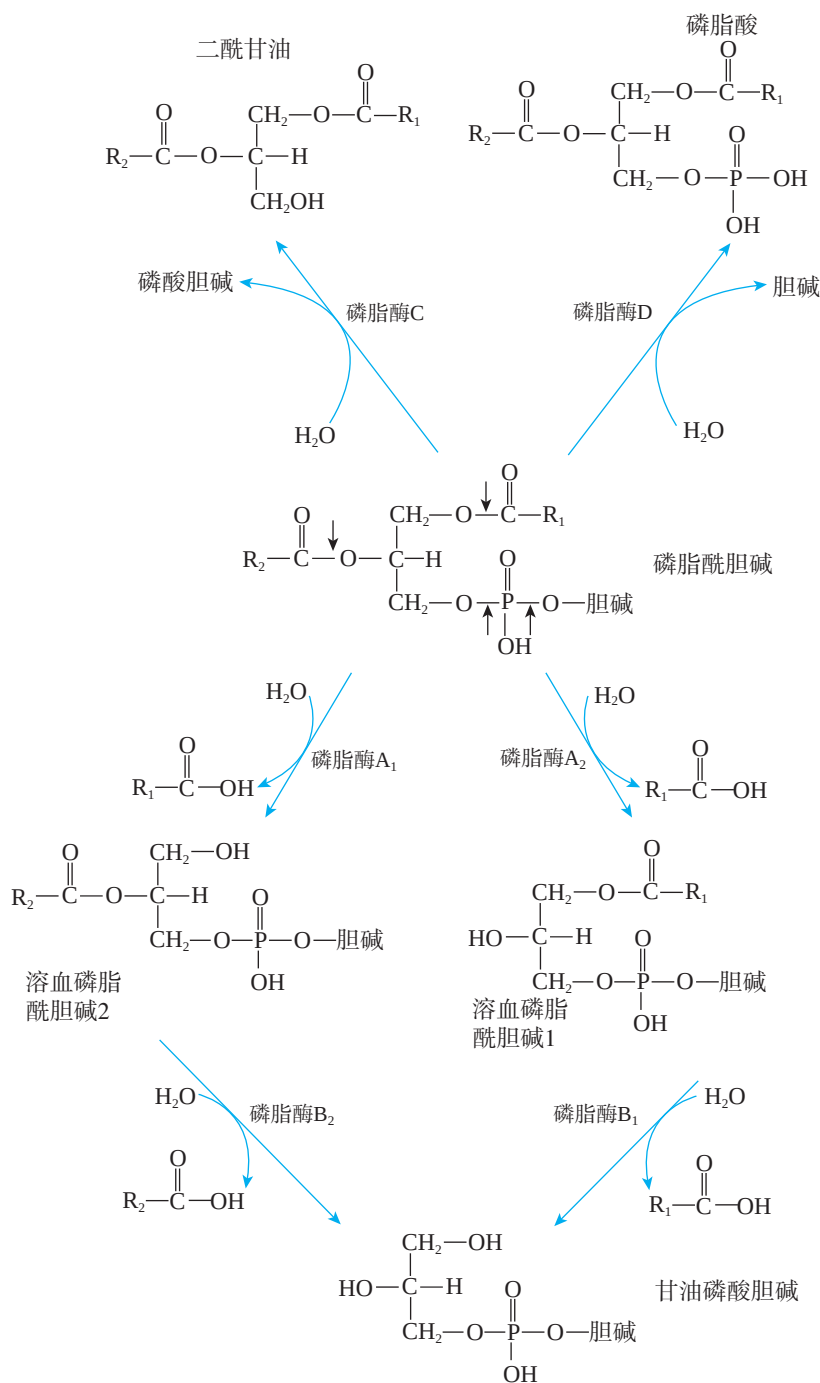


图 5-8 不同磷脂酶的催化作用部位

一、胆固醇的结构与生理功能

(一) 胆固醇的结构

胆固醇是一个以环戊烷多氢菲为骨架的 27 碳有机化合物，其化学结构及分子中碳原子的编号如图 5-9 所示。胆固醇具有两种存在形式：游离胆固醇（free cholesterol）和酯化胆固醇（又称胆固醇酯，cholesteryl ester），前者是胆固醇的代谢形式，后者则是胆固醇的储存和运输形式。胆固醇与植物固醇等的主要区别在于侧链长短的不同，有时在固醇核骨架上也可有一定的差别。图 5-9 同时给出见于许多植物的豆固醇和见于某些真菌的麦角固醇的结构以资比较。

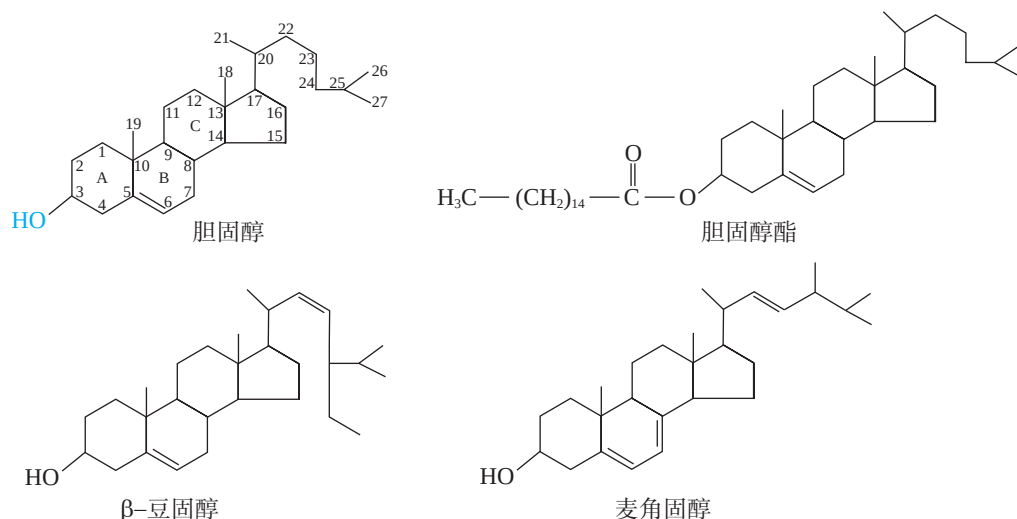


图 5-9 胆固醇、胆固醇酯、豆固醇和麦角固醇的结构

(二) 胆固醇的生理功能

胆固醇广泛存在于全身各组织中，其中脑及神经组织中最多，占脑组织总质量的 2% 左右，其总量占全身胆固醇总量的 1/4。肝、肾、肠等内脏以及皮肤、脂肪组织亦含较多的胆固醇。

机体内的胆固醇具有多种重要的生理功能，主要表现在以下四个方面。①构成生物膜：脂质双层是生物膜的共同特征。脂质双层主要由磷脂构成，胆固醇穿插在生物膜磷脂之间，可以加强膜脂双层的稳定性，降低其流动性。②转变成胆汁酸：在肝中胆固醇可以转变成胆汁酸，这是胆固醇代谢的主要去路，一个正常成人每天合成的胆固醇大约有 40% 在肝中转化为胆汁酸，胆汁酸再生成的胆汁酸盐进入肠道后主要在脂质消化和吸收时起乳化作用。③合成类固醇激素及维生素 D_3 ：在肾上腺和性腺中胆固醇可转变为类固醇激素，如皮质醇、醛固酮、睾酮、孕酮、雌二醇等，这些激素在调节机体内各种物质代谢、维持人体正常生理功能方面具有重要的作用。在皮肤中，胆固醇可先脱氢生成 7-脱氢胆固醇，再经紫外光照射转变为维生素 D_3 。后者在肝、肾羟化后形成具有生理活性的 1, 25-二羟维生素 D_3 ，参与调节体内的钙磷代谢。④调节脂蛋白代谢：胆固醇还参与脂蛋白组成，引起血浆脂蛋白关键酶活性的改变，调节血浆脂蛋白代谢。当胆固醇代谢发生障碍时，可引起血浆胆固醇增高，脑血管、冠状动脉及周围血管病变，导致动脉粥样硬化的产生。因此，探索和研究胆固醇代谢与这些疾病间的关系，已成为当今医学研究的重要问题。

二、胆固醇的外源性摄取和影响因素

胆固醇的来源有两种，即食物的消化吸收（外源性）和体内合成（内源性）。

（一）胆固醇外源摄取

外源性胆固醇来自动物性食物，如动物内脏、蛋黄、奶油及肉类等，正常成人每天摄入胆固醇 0.3 ~ 0.5g，多数为游离胆固醇，少数为胆固醇酯。虽然外源性摄取是胆固醇的重要来源之一，但机体的健康维系和生存并不依赖外源性的胆固醇，目前尚无因机体胆固醇摄入不足而产生任何临床症状的病例报告。食物中的胆固醇经胰腺胆固醇酯酶的作用水解为游离胆固醇，游离的胆固醇与脂肪和磷脂共同经胆汁酸的乳化形成微团被小肠黏膜细胞吸收。

（二）影响胆固醇吸收的因素

影响机体胆固醇吸收的因素是多元的。首先机体胆固醇的吸收有明显的个体差异，提示有遗传因素的存在；其次下述的一些环境因素也可以影响机体胆固醇的吸收。

1. 膳食中胆固醇的含量 食物中胆固醇不能完全被吸收，通常的吸收率为 30% 左右。膳食中胆固醇量越多，肠道吸收率越低，但吸收总量仍有所增加。一般情况下伴随外源性摄取的减少，机体多有代偿性内源性合成增强。基于上述认识，对高胆固醇血症患者，低胆固醇摄入的饮食治疗是必要的，但其疗效也是有限的，多需要适当的药物治疗。

2. 植物固醇 植物固醇本身不能被吸收，但其可通过竞争性地抑制胆固醇在微团中的位置来抑制胆固醇的吸收，因此增加膳食中植物固醇的含量有助于降低胆固醇的吸收，但一些学者提出植物固醇需较大量才能产生一定效果，故就其实际应用价值而言说法尚不统一。

3. 胆汁酸盐 胆汁酸盐既有促进脂质的乳化和增强胰胆固醇酯酶活性等作用，又有利于混合微团的形成。因此凡是能够减少或消除胆汁酸盐的物质均可减少胆固醇的吸收，例如膳食中的纤维素、果胶等。

4. 膳食中脂肪的质和量 食物中的脂肪能增加胆固醇的吸收。首先脂肪可以促进胆汁的分泌，有利于胆固醇酯的水解和吸收；其次脂肪的水解产物脂肪酸可为游离胆固醇的重新酯化提供必要的脂酰基，有利于乳糜微粒的形成。脂肪对胆固醇吸收的影响与脂肪酸的饱和度关系密切，一些研究资料显示，增加膳食中多不饱和脂肪酸的含量或提高不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸含量的比值能有效地降低血胆固醇的水平，作用机制尚不完全清楚。

5. 药物及其他 一些药物可以影响胆固醇的吸收，如依折麦布可通过选择性抑制小肠胆固醇的吸收而降低血液胆固醇的水平。作为阴离子交换树脂的考来烯胺，能与胆汁酸盐结合，形成不能再发挥作用和难以重吸收的复合物，能有效地减少胆固醇的吸收和胆汁酸的肠肝循环。肠道细菌能使胆固醇还原为不易被吸收的粪固醇，因此临床长期应用广谱抗生素的患者常能增加胆固醇的吸收，这在高胆固醇血症患者治疗时应给予应有的关注。

三、胆固醇的内源性合成和调节

一般情况下内源性合成是机体胆固醇最主要的来源，约占机体内胆固醇总量的 2/3。

（一）合成原料

胆固醇合成的原料主要是乙酰 CoA 和 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 、ATP。乙酰 CoA 主要来自葡萄糖代谢，和脂肪酸合成相似，糖代谢产生的乙酰 CoA 全部在线粒体中，需经柠檬酸 - 丙酮酸循环从线粒体转移至细胞质，才能作为合成胆固醇的原料。 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 是胆固醇合成所需还原性氢的供体，主要来自磷酸戊糖途径。ATP 是胆固醇合成的能量保证，大多来自线粒体中糖的有氧氧化。糖是胆固醇合成原料的主要来源，故高糖饮食的人也可能出现血浆胆固醇增高的现象。

（二）合成部位

成人机体每天合成胆固醇 1.0 ~ 1.5 g。肝的合成能力最强，占 70% ~ 80%；小肠的合成能力次之，合成量占 10%，但是脑组织和成熟红细胞不能合成胆固醇。肝合成的胆固醇除在肝内被利用及代谢外，还可参与组成脂蛋白，进入血液被输送到肝外各组织。在细胞水平，胆

(三) 合成反应

1. 第一阶段 甲羟戊酸的生成。此阶段发生在胞质中，2 分子乙酰 CoA 缩合成乙酰乙酰 CoA，后者再与 1 分子乙酰 CoA 合成为 HMG-CoA。后者经 HMG-CoA 还原酶（HMG-CoA reductase）催化，生成甲羟戊酸（mevalonic acid, MVA）。上述反应中的 HMG-CoA 还原酶是胆固醇合成的限速酶和关键酶。

3. 第三阶段 胆固醇的合成。鲨烯以固醇载体蛋白为载体进入内质网，经鲨烯单加氧酶、鲨烯环化酶等催化环化成羊毛固醇，再经过一系列氧化、脱羧和还原等反应，形成 27 碳的胆固醇（图 5-10）。

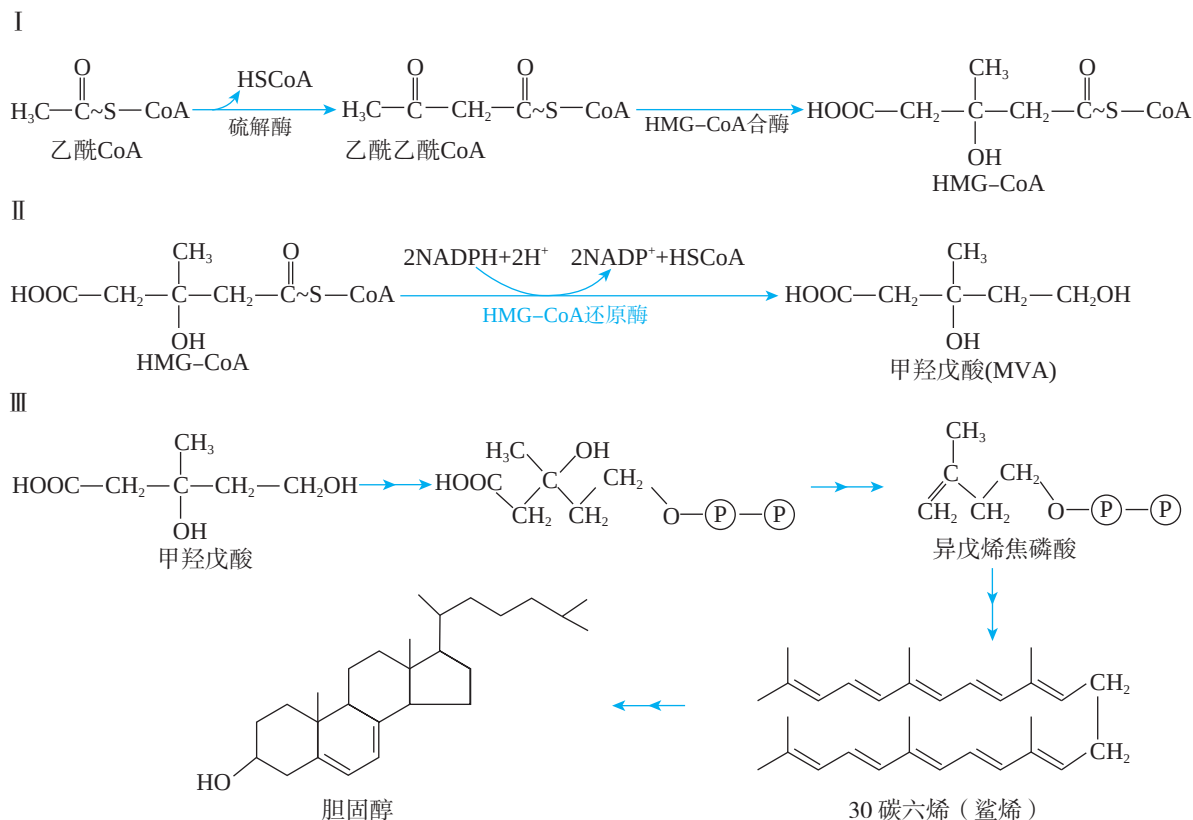


图 5-10 胆固醇的生物合成

(四) 合成调节

1. 竞争性抑制 1987 年, 世界上第一个 HMG-CoA 还原酶抑制剂洛伐他汀问世, 引起了医药学界的极大关注, 被认为是调血脂药物研究的新进展。这类药物通过对细胞内胆固醇合成

关键酶的竞争性抑制,减少胆固醇的合成,增强细胞 LDL 受体的表达,从而达到降低血液中总胆固醇和 LDL 胆固醇水平的目的,这种作用使动脉粥样硬化和冠心病形成的危险大大减少。所有的他汀类药物均与 HMG-CoA 结构相似,彼此的差别仅是环的闭合和(或)取代基的不同。依据酶反应动力学的研究,影响竞争性抑制剂作用的因素有两个,即抑制剂的浓度和它们与酶的亲和力。他汀类药物的共同特征是均与 HMG-CoA 还原酶有较高的亲和力,能有效地与酶活性中心结合,从而抑制机体胆固醇的合成和降低血胆固醇水平。环的闭合与否及取代基的差别是它们服用剂量、疗效高低和副作用大小不同的根本原因。进一步发现高效、低毒和廉价的他汀类药物无疑是调血脂药物研究发展的方向。

2. 化学修饰 HMG-CoA 还原酶的化学修饰是该酶第 871 位丝氨酸的磷酸化和脱磷酸化。经相应蛋白激酶催化磷酸化后该酶是无活性形式,而经磷酸酯酶催化脱磷酸化后则是其活性形式。一些激素正是通过信号转导系统调节蛋白激酶或磷酸酯酶的活性而影响和调控细胞内的胆固醇合成。实验证实,胰岛素能促进该酶的脱磷酸作用,故可增加胆固醇的合成。甲状腺激素虽能增加 HMG-CoA 还原酶的合成和活性,但更能促进胆固醇在肝转化为胆汁酸。由于后一作用明显强于前者,故甲状腺功能亢进患者血清胆固醇水平多表现为降低。

四、胆固醇的酯化

胆固醇酯化是胆固醇吸收转运的重要步骤,在细胞内和血浆中的游离胆固醇都可以被酯化成胆固醇酯,但不同的部位催化胆固醇酯化的酶及其反应过程不同。催化胆固醇酯化的酶主要有两种,一种是血浆中的磷脂酰胆碱:胆固醇酰基转移酶(LCAT),ApoA-I 是其激活剂。LCAT 由肝实质细胞合成后分泌入血,故肝实质细胞有病变或损伤时,可使 LCAT 活性降低,引起血浆胆固醇酯含量下降。LCAT 在 HDL 的代谢和胆固醇的逆向转运中发挥重要作用。另一种是胞质中的脂酰 CoA:胆固醇酰基转移酶(acyl CoA-cholesterol acyltransferase, ACAT),细胞内胆固醇水平是该酶活性的重要调节因子。ACAT 在调节细胞内胆固醇的合成和平衡中发挥重要作用。血浆和细胞质中的酯化胆固醇均可在胆固醇酯酶的催化下水解为游离胆固醇和脂肪酸。胆固醇的酯化和胆固醇酯的水解反应见图 5-11。

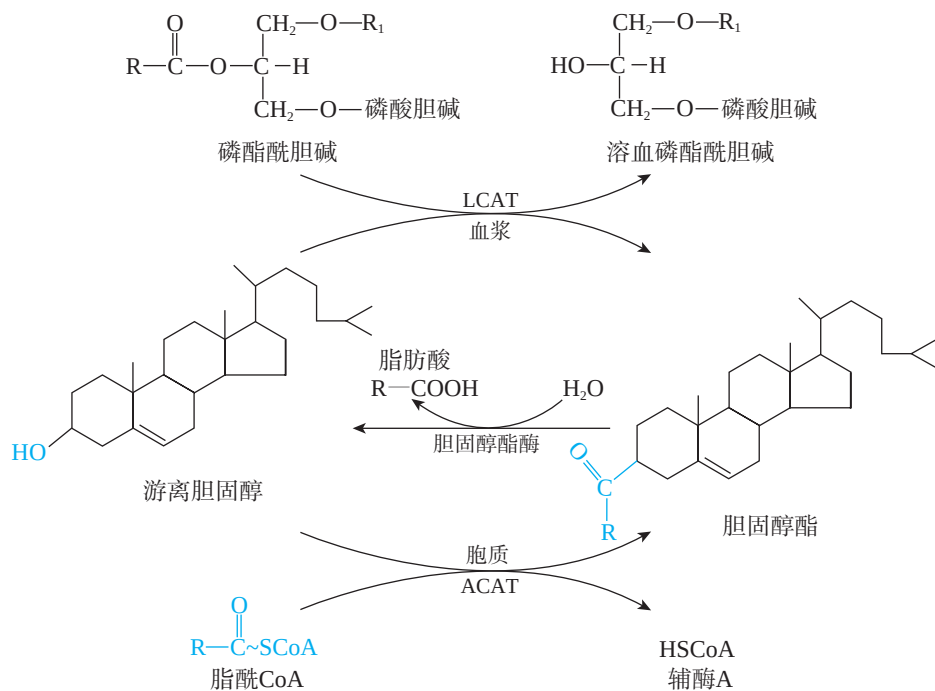


图 5-11 胆固醇的酯化和胆固醇酯的水解



他汀类调血脂药

五、胆固醇的转化与排泄

无论是外源性摄入还是内源性合成的胆固醇，在体内均不能被彻底氧化分解，它们只能以胆固醇原型或转化产物的形式排出体外。胆固醇的转化产物不仅是其主要的排泄形式，更为重要的是它们还具有重要的生理功能。胆固醇的转化产物包括维生素 D₃、类固醇激素和胆汁酸。其中有关胆汁酸的内容详见第 19 章。

（一）胆汁酸

胆固醇在肝中转化成胆汁酸是胆固醇在体内代谢的主要去路。正常成人每天合成 1.0 ~ 1.5g 胆固醇，其中约 2/5 (0.4 ~ 0.6 g) 在肝中转变成为胆汁酸，随胆汁排入肠道。

（二）维生素 D₃

人皮肤细胞内的胆固醇经 7-脱氢酶催化生成 7-脱氢胆固醇，后者在紫外线的作用下可转变为维生素 D₃ (又称胆钙化醇)。胆钙化醇是无生理活性的，它们需经肝、肾的代谢转化才能生成有生理活性的 1,25-(OH)₂-D₃。1,25-(OH)₂-D₃ 具有显著的调节钙、磷代谢的活性，人体每日可合成 200 ~ 400IU 维生素 D₃，所以只要充分接受阳光照射，基本上可以满足生理需要。

（三）类固醇激素

人体所有的类固醇激素均由胆固醇转化产生。

类固醇激素依其合成部位可分为肾上腺皮质激素和性激素。肾上腺皮质激素是由肾上腺皮质合成的，主要包括醛固酮、皮质醇、皮质酮及雄激素等。合成时，首先合成类固醇激素的共同前体孕烯醇酮，该过程发生在线粒体中，在肾上腺皮质铁氧还原蛋白和肾上腺皮质铁氧还原蛋白还原酶的作用下，胆固醇转化为二羟胆固醇，该化合物在二羟胆固醇碳链酶的作用下，转化为孕烯醇酮。孕烯醇酮进一步转化为各种类固醇类激素。性激素主要是由性腺合成的，包括睾酮、雌激素和孕酮等。主要类固醇激素的结构特征见图 5-12。

类固醇激素对机体具有重要的作用，肾上腺皮质激素对糖、脂、蛋白质及水盐代谢均具有调节作用。性激素主要作用在于促进性器官的发育、生殖细胞的形成和第二性征的出现。

六、异常胆固醇血症的治疗策略

异常胆固醇血症主要指血液总胆固醇 (TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-Ch) 水平的升高，事实上也应包括高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-Ch) 水平的降低，此处仅讨论高 TC 和高 LDL-Ch 的治疗策略。高胆固醇血症的治疗策略主要是三方面：控制外源性胆固醇的摄入，减少内源性胆固醇的合成，增加胆固醇的转化和排泄。

1. 控制外源性胆固醇的摄入 高胆固醇血症的饮食治疗是最基本的治疗，其中心内容是尽可能降低膳食中胆固醇的含量和减少胆固醇的吸收。高胆固醇血症患者应在保证营养价值和照顾饮食习惯的同时严格限制膳食中胆固醇的含量，同时对影响胆固醇吸收的因素也应给予必要的关注。

2. 减少内源性胆固醇的合成 内源性合成是机体胆固醇的最重要来源，在适当控制了胆固醇的外源性摄入后情况更是如此，因此减少内源性胆固醇的合成就成为治疗高胆固醇血症的中心环节。他汀类药物作为 HMG-CoA 还原酶的竞争性抑制剂，因其疗效明显和副作用较少，近年来得到了广泛的应用。

3. 增加胆固醇的转化和排泄 胆汁酸是机体胆固醇的主要转化产物，也是机体排出胆固醇的主要途径，利用考来烯胺等胆汁酸螯合剂阻断胆汁酸的肠肝循环是较常用的治疗措施之一。切除胆汁酸的主要吸收部位 (回肠) 已经应用于严重的高胆固醇血症患者，并获得了一定的疗效。

少数严重的高胆固醇血症患者还可使用血浆交换法和血浆去除法等治疗措施。它们利用体

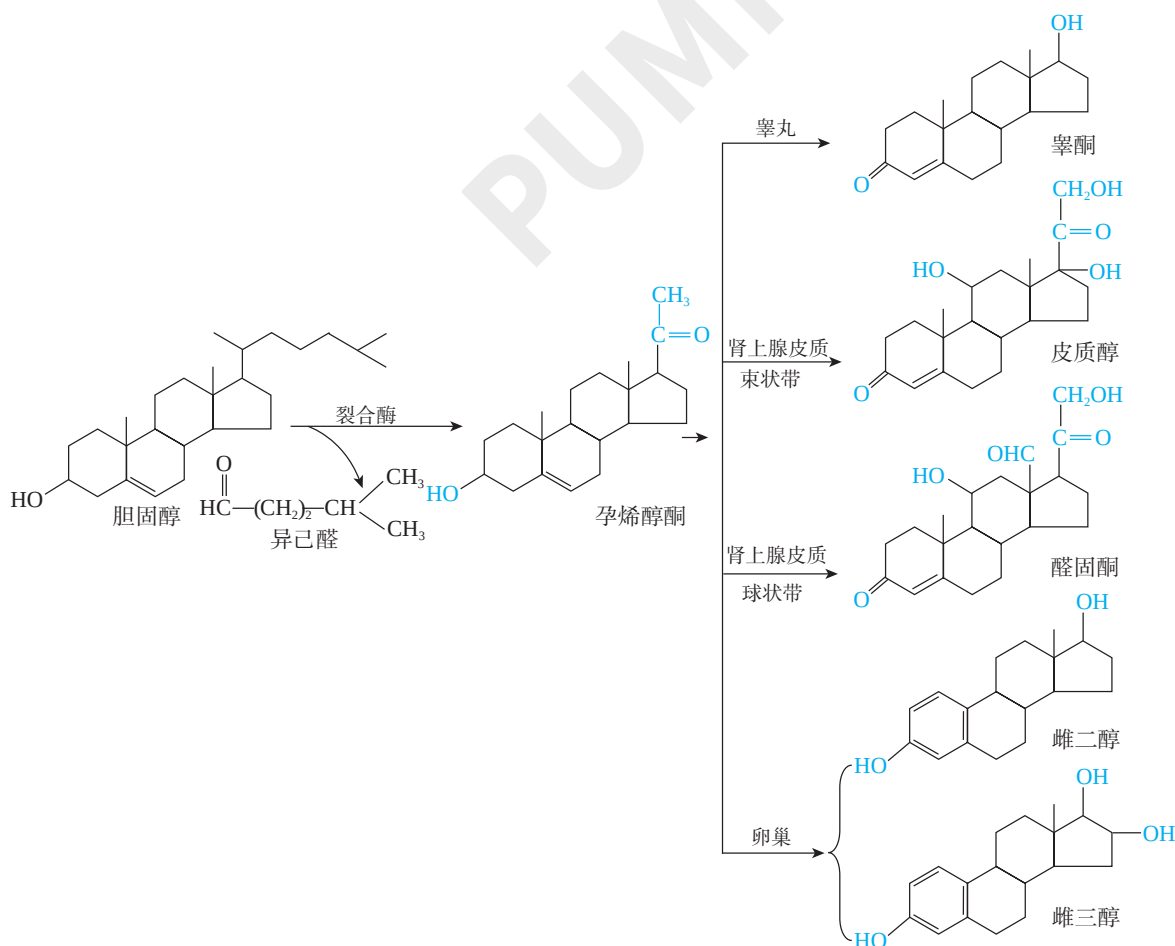


图 5-12 主要类固醇激素的合成和结构特征

外循环设备直接去除血液中富含胆固醇的 LDL，以达到清除机体胆固醇的目的。肝移植也已应用于 LDL 受体缺陷患者的高胆固醇血症的治疗。

第六节 脂肪酸源激素的代谢

前列腺素、血栓素、白三烯和脂氧素等虽然同样具有激素的特征，但均既不属于蛋白质多肽激素，也不属于类固醇激素，它们的前体主要是二十碳不饱和脂肪酸——花生四烯酸，因此又被称为二十碳烷酸衍生物或者类二十烷酸，但也可由更长的二十二碳五烯酸（docosapentaenoic acid, DPA）和二十二碳六烯酸（docosahexaenoic acid, DHA）等多不饱和脂肪酸衍生，因此称它们为脂肪酸源激素更为合理和准确。上述脂肪酸源激素具有重要的生理功能，参与了几乎所有机体和细胞的代谢活动，且与炎症、免疫、过敏、血栓的形成和溶解等重要病理生理过程相关，在调节细胞代谢中也有重要作用。

对脂肪酸源激素结构、功能和代谢的深入研究不仅为许多疾病的发病机制提供了分子理论基础，而且该类激素的调节也已经成为相关疾病有效预防和治疗的目标和途径。前列腺素、血栓素、白三烯和脂氧素均不是单一化合物，而是具有共同结构特征的一类化合物，表现出结构的多样性和功能的复杂性。

一、脂肪酸源激素的分类、结构和命名

脂肪酸源激素根据其结构特征和代谢合成途径分为两大类，一类是经环加氧酶催化生成的具有特征环式结构的前列腺素和血栓素，另一类是经脂加氧酶催化生成的不具有环式结构的白三烯和脂氧素。

1. 前列腺素的结构与分型 前列腺素 (prostaglandin, PG) 因最早发现于人体的精液而命名，是以前列腺酸为基本骨架，有一个五碳环和两条侧链 (R_1 和 R_2)，无不饱和双键的有机化合物。如果以花生四烯酸为前体，其共同的中间产物就是如图 5-13 所示的前列腺酸。

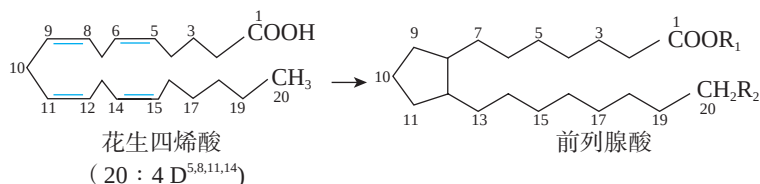


图 5-13 花生四烯酸与前列腺酸的结构

根据五碳环上取代基团和双键位置不同，前列腺素可分为九型，分别命名为前列腺素 A、B、C、D、E、F、G、H 和 I (图 5-14)。各型前列腺素根据 R_1 和 R_2 侧链上双键的数目，又可分为 1、2 和 3 三类，并将阿拉伯数字标在英文大写字母的右下角表示，见图 5-15。类别的不同实质上反映了它们前体的不同，如二十碳三烯酸合成的是 PG_1 ，而二十碳五烯酸合成的是 PG_3 。

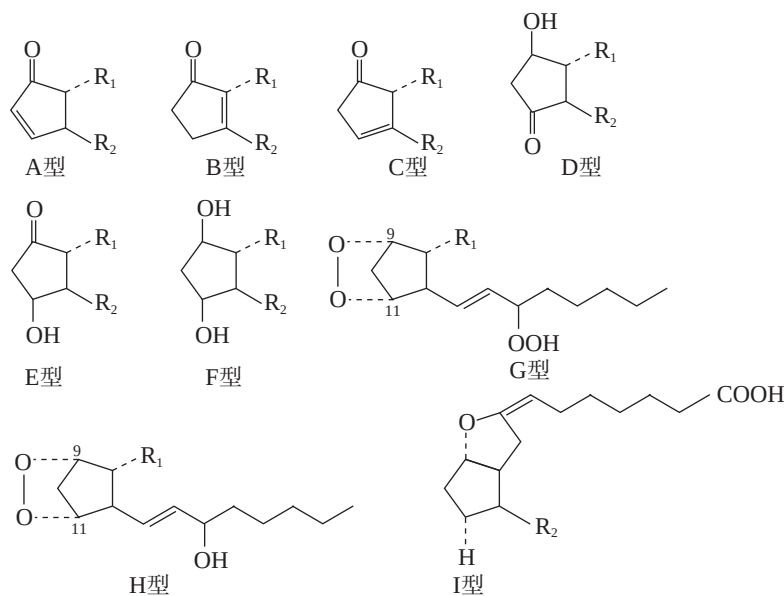


图 5-14 前列腺素的分型

2. 血栓素的结构与分型 血小板产生的血栓素 A_2 (TXA_2) 也是二十碳多不饱和脂肪酸衍生物，与前列腺素不同的是五碳环被一环醚结构的六元环（噁烷环）所取代。血栓素可以分为 A 型和 B 型，A 型和 B 型的区别在于六元环上是否存在一个含氧的四元环，B 型是 A 型水化的产物。血栓素同样依据两个侧链中双键的数目分为 1、2 和 3 三类，它们的结构如图 5-16 所示。与前列腺素相同，血栓素的分类同样也反映了它们合成前体的差别。

3. 白三烯的结构与分型 白三烯 (leukotriene, LT) 是由 Samuelson 和 Borghat 等人在

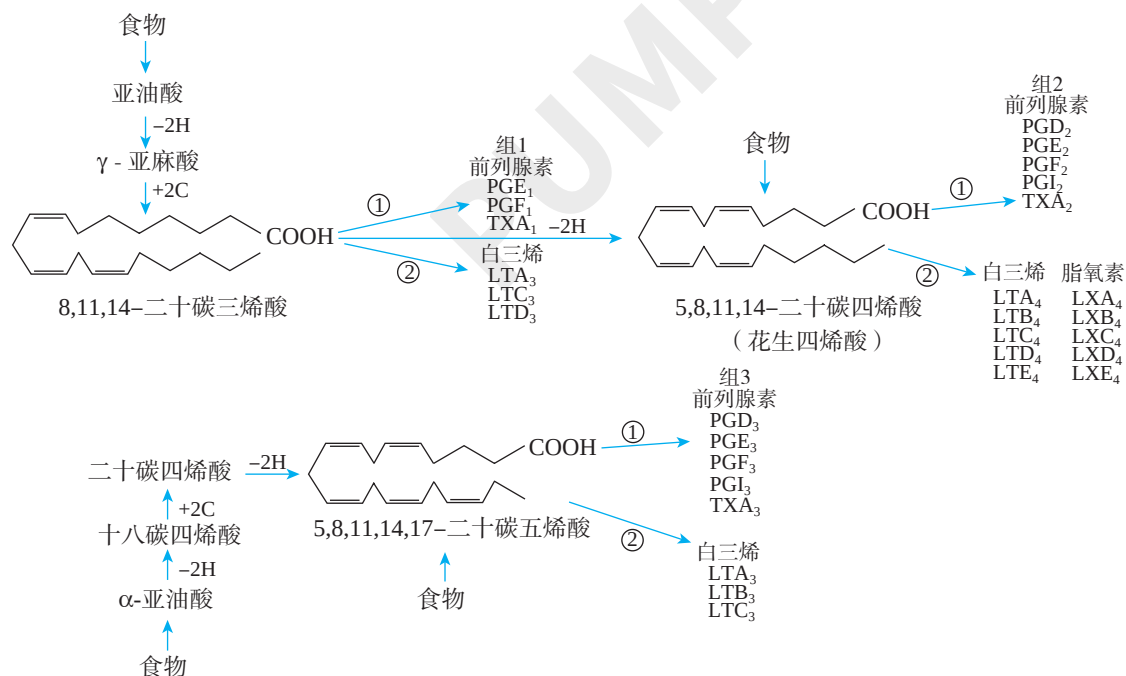


图 5-15 脂肪酸源激素分类与合成前体的关系

1979 年从人白细胞中分离获得的一类二十碳不饱和酸，不含前列腺酸骨架，因其具有三个共轭双键而得名。根据脂肪酸侧链主要是 C-6 位碳原子上取代基团的不同，白三烯可分为 A、B、C、D 和 E 五型，参见图 5-16；根据分子中双键的数目可分为 3、4 和 5 三类。与前列腺素和血栓素相同，这种分类也反映了它们合成前体的不同，见图 5-14。

4. 脂氧素的结构与分型 脂氧素 (lipoxin, LX) 又名三羟二十碳四烯酸，是由 Sherhan 等于 1984 年在人的白细胞中发现的，也不具有任何形式的环形结构。与白三烯不同的是，脂氧素含有四个共轭双键。根据共轭双键和羟基取代位置的不同，脂氧素也可分为 A、B、C、D 和 E 五型，其中 A 型脂氧素的结构参见图 5-17。

二、脂肪酸源激素的合成

1. 前列腺素和血栓素的合成 前列腺素的合成前体是多不饱和脂肪酸，特别是花生四烯酸。该脂肪酸主要存在于细胞膜的甘油磷脂中，是甘油磷脂上甘油第 2 位的主要脂肪酸组成成分。当细胞受到外界刺激时，在能激活磷脂酶 A_2 的因素，如在血管紧张素 II、缓激肽、肾上腺素、凝血酶及某些抗原-抗体复合物或一些病理因子作用下，细胞膜磷脂酶 A_2 被激活，催化水解磷脂释放出花生四烯酸，花生四烯酸在环加氧酶作用下生成前列腺素、血栓素，在脂加氧酶作用下生成白三烯；相反，糖皮质激素和吲哚美辛等药物由于能抑制磷脂酶 A_2 的活性而减少花生四烯酸的释放，故能减少前列腺素的合成。

花生四烯酸合成前列腺素的第一步反应是在前列腺素 H 合酶 (prostaglandin H synthase, PGHS) 催化下环化、加氧，该步为限速反应 (图 5-18)。催化该反应的 PGHS 具有环加氧酶 (cyclooxygenase) 和过氧化物酶 (peroxidase) 活性。花生四烯酸在环加氧酶催化下导入 2 分子氧生成前列腺素 G_2 (PGG_2)，其中 1 分子加在花生四烯酸的 C-9 和 C-11 上，使之发生环氧化；另 1 分子则加在 C-15 上并形成 15-羟内过氧化物。 PGG_2 不稳定，在过氧化物酶的催化下进一步转化为前列腺素 H_2 (PGH_2)。 PGH_2 不仅是合成各种前列腺素的共同中间体，同时也是合成血栓素的前体。 PGH_2 的合成及进一步的转化见图 5-18。 PGH_2 在不同异构酶的催化

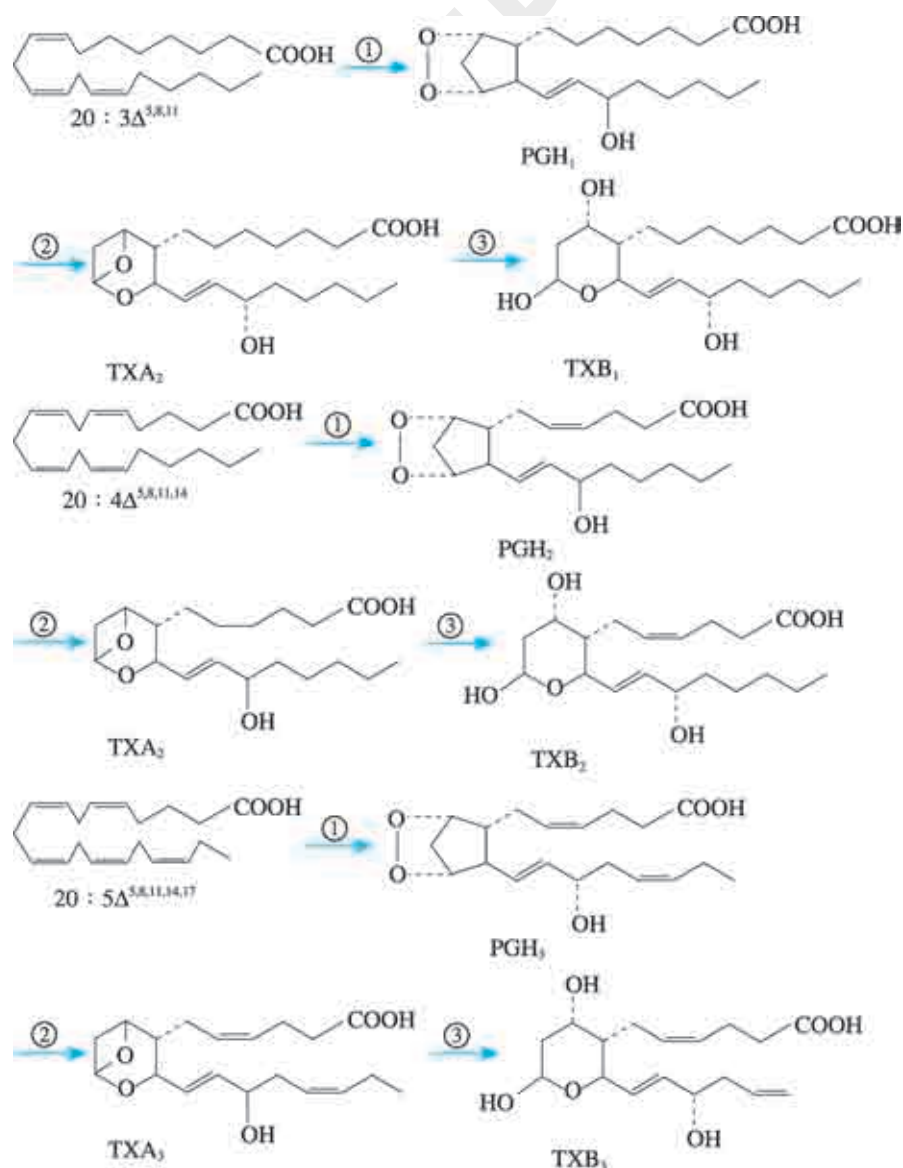


图 5-16 血栓素的合成代谢与分型及其分类与合成前体的关系

①环加氧酶；②血栓素合酶；③水化酶

下可分别生成 PGD_2 和 PGE_2 ，在还原酶催化下则生成 PGF_2 ，在前列环素合酶（prostacyclin synthase）的催化下生成前列环素（ PGI_2 ），在血栓素合酶（thromboxane synthase）的催化下则生成血栓素 A_2 （ TXA_2 ）。 TXA_2 很不稳定，半衰期仅约 30s，迅速水化转变为活性较低但稳定的血栓素 B_2 （ TXB_2 ）。阿司匹林可以通过促进酶活性中心丝氨酸（ Ser^{530} ）的乙酰化抑制环加氧酶的活性而减少前列腺素的合成，大多数的非甾体抗炎药物如吲哚美辛和布洛芬等结构与花生四烯酸有一定的相似性，可以竞争性抑制 PGHS 的活性，而减少前列腺素的合成，进而制止炎症组织痛觉神经冲动的形成，并且抑制白细胞的趋化性及溶酶体酶的释放，发挥镇痛抗炎的作用。

如上所述， PGH_2 是合成各种前列腺素和血栓素的共同中间体，在不同细胞所具不同酶的催化下可生成不同的前列腺素。一般每一种类型的细胞只能合成一种前列腺素，如在动脉内皮细胞由于具有前列环素合酶（prostacyclin synthase）而合成 PGI_2 ，在脑细胞由于前列腺素 D 合酶（prostaglandin D synthase）的存在而合成 PGD_2 ，在血小板由于血栓素合酶（thromboxane

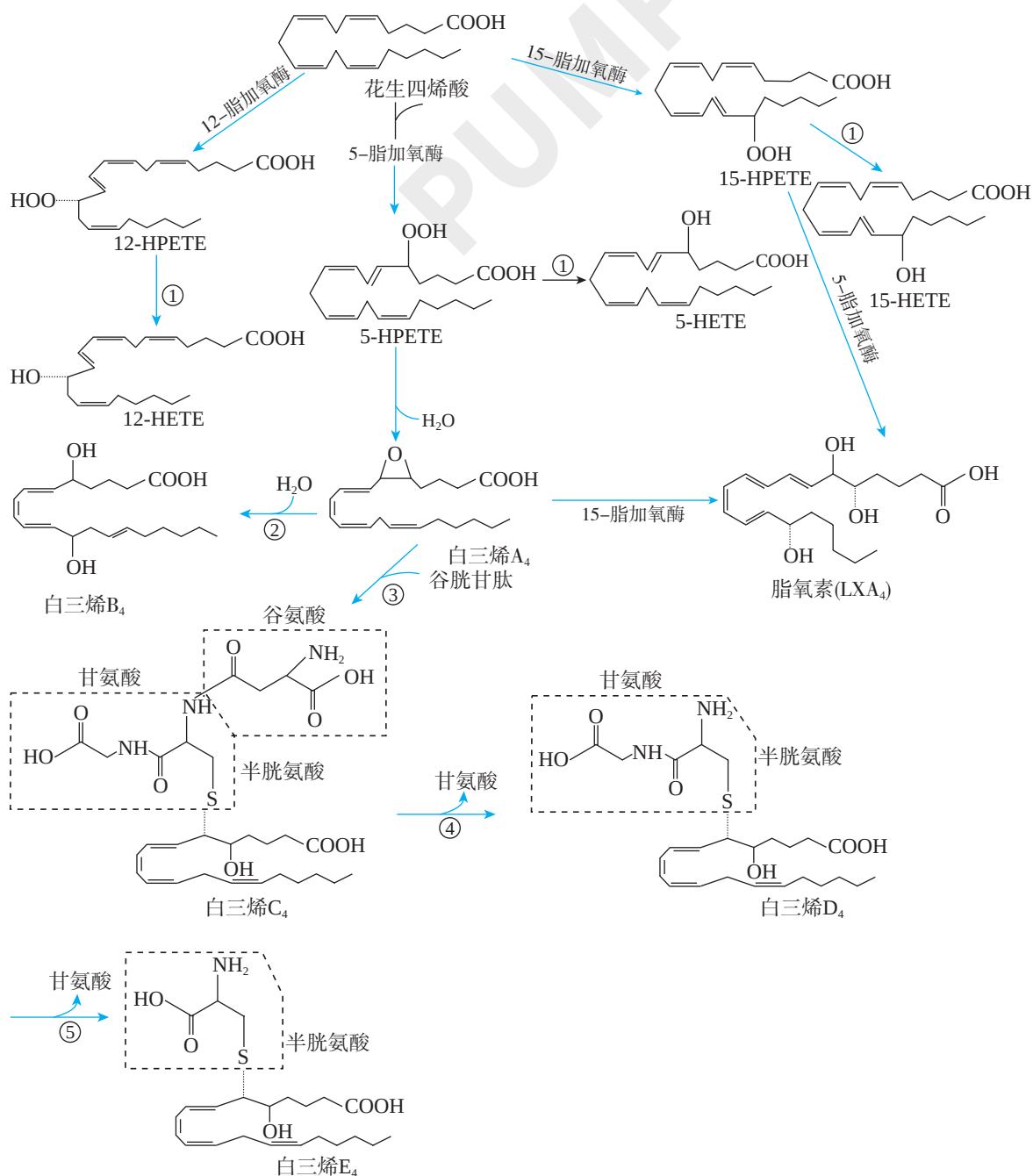


图 5-17 白三烯的分型及白三烯与脂氧素的生物合成

synthase) 的存在而合成血栓素。由于各种不同类型的细胞具有不同的酶, 因而可催化 PGH_2 生成不同的前列腺素和血栓素, 并显示各不相同的生物学功能。

2. 白三烯和脂氧素的合成 白三烯和脂氧素是多不饱和脂肪酸, 是花生四烯酸经脂加氧酶途径生成的。机体内有 5-脂加氧酶、12-脂加氧酶和 15-脂加氧酶三种不同的加氧酶在不同的部位催化加氧。白三烯是经 5-脂加氧酶途径合成的, 5-脂加氧酶是其合成的关键酶。白三烯的合成见图 5-17。花生四烯酸在 5-脂加氧酶的催化下, 首先生成 5-氢过氧二十碳四烯酸 (5-HPETE), 接着在 C-5 脱去 1 分子水生成白三烯 A_4 (LTA_4)。 LTA_4 在环氧水化酶的催化下, C-5 和 C-6 位上不稳定的环氧键断裂, 并在 C-12 位加水脱氢导入羟基, 生成白三烯 B_4 (LTB_4)。 LTA_4 也可在谷胱甘肽-S-转移酶催化下在 C-6 位引入 1 分子谷胱甘肽而生成白三烯

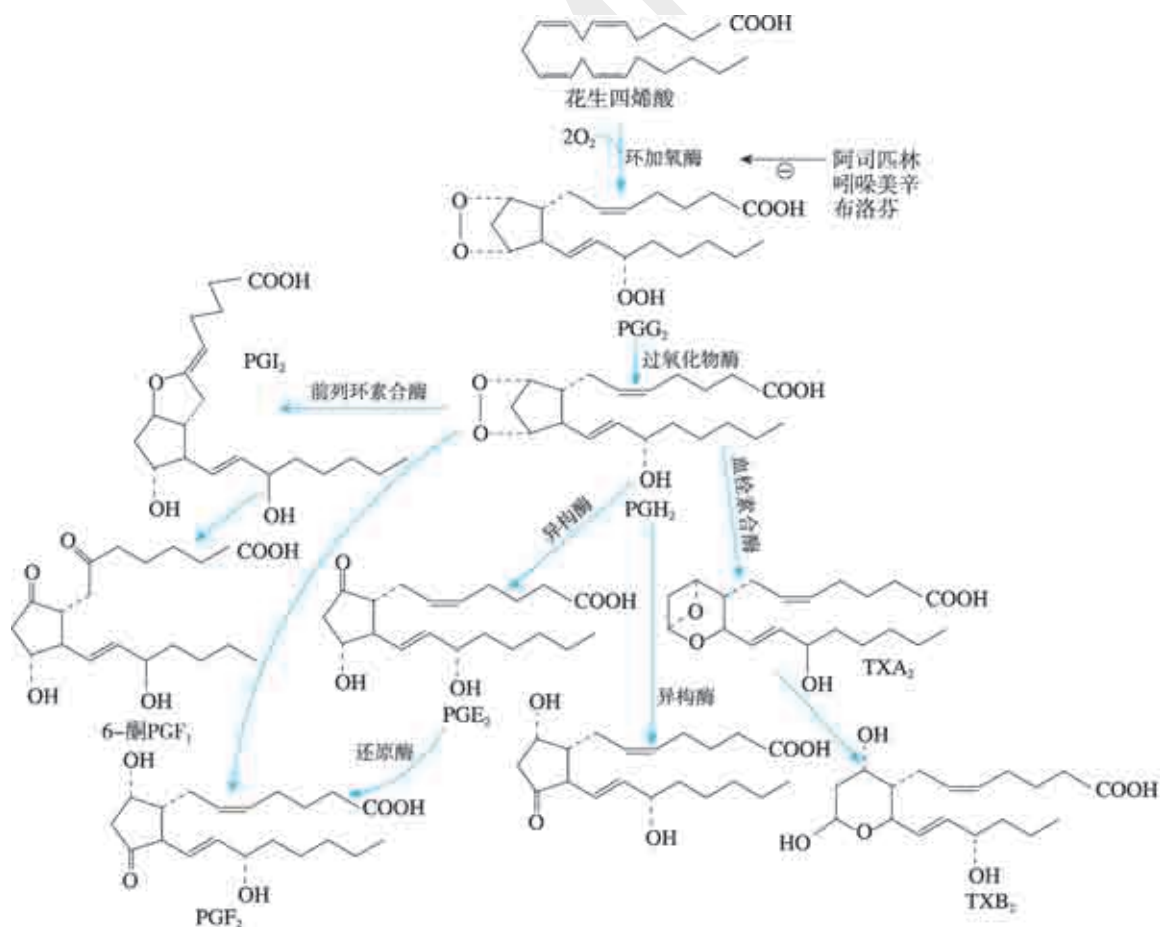


图 5-18 前列腺素和血栓素的合成

C_4 (LTC_4)。后者在 γ -谷氨酰转肽酶的催化下脱去 1 分子谷氨酸生成白三烯 D_4 (LTD_4)，继而在半胱氨酸甘氨酸二肽酶作用下脱去甘氨酸生成白三烯 E_4 (LTE_4) (图 5-17)。

脂氧素的合成则需经不止一种脂加氧酶的催化才能合成，15-脂加氧酶是合成脂氧素的关键酶。在 15-脂加氧酶的催化下首先生成 15-氢过氧化二十碳四烯酸 (15-HPETE)，接着在 5-脂加氧酶催化下生成 5, 15-二氢过氧化二十碳四烯酸 (5, 15-DHPETE)，顺序生成脂氧素 A_4 (LXA_4) 和脂氧素 B_4 (LXB_4) (图 5-17)。

三、脂肪酸源激素的生理功能

1. 前列腺素和血栓素的生理功能和临床应用 前列腺素和血栓素的特点为细胞内水平低 (一般仅为 10^{-11} mol/L)、体内分解代谢迅速 (一般半衰期仅为 30s 至数分钟) 和生理作用极强。由于水平低和分解迅速，故其只能作用于合成细胞周围的区域，发挥调节细胞功能的作用。前列腺素和血栓素的功能是多方面的，可影响心血管、呼吸、消化、神经和生殖等全身组织系统，也可作用于炎症、过敏和免疫等多种生理和病理过程。例如，血管内的溶血和凝血甚至血栓形成与血中 TXA_2 和 PGI_2 的平衡密切相关。血管内皮细胞合成的 PGI_2 不仅可以扩张冠状动脉血管，而且是体内活性最强的血小板聚集抑制剂，可以通过多条途径抑制血小板聚集和黏附。然而血小板合成的 TXA_2 作用正相反，具有收缩冠状动脉、促进血小板聚集、促进凝血和血栓形成的功能。二者的此消彼长在冠心病的发生和发展中具有重要作用，同时也成为防治

冠心病的重要靶点。鉴于 PGI_2 和 TXA_2 在凝血和血栓形成进而在冠心病发病危险及治疗效果评估中的重要作用,二者含量比值($\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$)的测定已经被引入临床检验。临床上,治疗心血管疾病的多种药物以前列腺素与血栓素的合成途径为靶点。例如,阿司匹林促使环加氧酶活性中心部位的丝氨酸(Ser^{530})残基发生不可逆的乙酰化而显著抑制环加氧酶活性,进而影响前列腺素和血栓素前体的生成,故服用小剂量肠溶阿司匹林预防冠心病已经被国内外许多临床医师所推荐和应用。当然,阿司匹林部分拮抗纤维蛋白原溶解导致的血小板激活和抑制组织纤溶酶原激活因子(t-PA)的释放也是其应用的重要药理学基础。

早在20世纪中期,科学家们就注意到居住在格陵兰岛上的爱斯基摩人冠心病的发病率和死亡率都较低,同时显示有较低的血小板聚集能力且出血时间延长。科学家们把这一现象归因于当地居民较多食用富含 ω -3脂肪酸鱼类的结果。高纬度深海鱼类含有较丰富的 ω -3脂肪酸,主要是二十碳五烯酸(EPA)和少量二十二碳六烯酸(DHA)。EPA经环加氧酶作用生成的是 PGI_3 和 TXA_3 。生成的 PGI_3 和 TXA_3 又可抑制花生四烯酸从膜磷脂的释放,进一步减少了 PGI_2 和 TXA_2 的合成。实验证实 PGI_3 和 PGI_2 具有相同的抗血小板聚集的作用,而 TXA_3 则无 TXA_2 所具有的促进血小板聚集的功能,因而其综合效果是不利于凝血而有利于防止血栓形成,见表5-2。该项流行病学的调查结果也为使用 ω -3脂肪酸防治冠心病奠定了基础,服用富含二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等 ω -3脂肪酸的食物和相关药物在冠心病防治中也备受推崇和关注。此外, ω -3脂肪酸降低血三酰甘油和胆固醇特别是低密度脂蛋白胆固醇的功能也是其重要的药理作用之一。

表5-2 前列腺素的合成部位及对血小板聚集作用的影响

前列腺素	合成部位	血小板聚合作用
TXA_2	血小板	促进
PGI_2	血管内皮细胞	抑制
TXA_3	血小板	无
PGI_3	血管内皮细胞	抑制

2. 白三烯和脂氧素的生理功能和临床应用 白三烯和脂氧素作为局部激素,功能也是多方面的,在炎症、过敏和免疫反应中的作用尤为突出。现已证实过敏反应的慢反应物质(slow reacting substance of anaphylaxis, SRS-A)是 LTC_4 、 LTD_4 和 LTE_4 的混合物。这种混合物使人冠状动脉和支气管平滑肌收缩的作用比组胺及前列腺素强100~1000倍,而且缓慢和持久,具有“慢反应”的特性。 LTB_4 能调节白细胞的功能,促进其游走和趋化作用,刺激腺苷酸环化酶,诱发多形核白细胞中颗粒脱落,促使溶酶体释放水解酶类,促进炎症、过敏反应的发展。IgE与肥大细胞表面受体结合,可促进肥大细胞释放 LTC_4 、 LTD_4 和 LTE_4 ,后三者引起支气管及胃肠平滑肌剧烈收缩, LTD_4 还可使毛细血管通透性增加, LTB_4 使中性和嗜酸性粒细胞游走,引起炎症细胞的浸润。

前列腺素和白三烯均是重要的炎性介质。糖皮质激素能有效地抑制磷脂酶 A_2 的活性,减少花生四烯酸的释放,导致炎性介质前列腺素和白三烯的合成减少,这是糖皮质激素具有抗炎作用的重要原因之一。

脂氧素是体内最重要的内源性脂质抗炎介质之一,广泛参与多种疾病的病理生理过程,在炎症调控及免疫调节等方面的作用已得到广泛的关注,尤其是在炎症消退机制的研究中。近年证实, LXA_4 和 LXB_4 对血管平滑肌有舒张作用,且 LXA_4 可通过激活蛋白激酶C调节细胞代谢,作用强于二酰甘油。

第七节 血浆脂蛋白

一、血脂

血浆中的脂质统称为血脂。血脂主要包括三酰甘油、各类磷脂、胆固醇和胆固醇酯以及游离脂肪酸。血脂总量并不多，只占体内总脂质的极少部分，但由于外源性和内源性脂质物质都需经过血液转运于各组织之间，因此血脂的含量在一定程度上反映了体内各组织器官的脂质代谢情况，对血脂的检测有利于疾病的诊断和对一些疾病易患性的评估，因此血脂测定广泛地应用于临床检验。血脂含量不及血糖稳定，受年龄、性别、饮食等因素的影响，波动范围较大，空腹状态下个体血脂水平相对稳定，临床血脂检测常在禁食 12 ~ 14h 后抽血化验，这样才能可靠地反映血脂水平。正常成人空腹血脂水平见表 5-3。

表5-3 正常成人空腹血脂的组成及含量

组成	血浆含量		空腹时主要来源
	mg/dl	mmol/L	
总脂	400 ~ 700 (500)		
三酰甘油	10 ~ 150 (100)	0.11 ~ 1.69 (1.13)	肝
总胆固醇	100 ~ 250 (200)	2.59 ~ 6.47 (5.17)	肝
胆固醇酯	70 ~ 200 (145)	1.81 ~ 5.17 (3.75)	
游离胆固醇	40 ~ 70 (55)	1.02 ~ 1.81 (1.42)	
总磷脂	150 ~ 250 (200)	48.44 ~ 80.73 (64.58)	肝
卵磷脂	50 ~ 200 (100)	16.1 ~ 64.6 (32.3)	
神经磷脂	50 ~ 130 (70)	16.1 ~ 42.0 (22.6)	
脑磷脂	15 ~ 35 (20)	4.8 ~ 13.0 (6.4)	
游离脂肪酸	5 ~ 20 (15)		脂肪组织

注：括号内为均值

1. 血脂的来源 有两种来源：①食物中的脂质经消化吸收进入血液（外源性）；②脂库中三酰甘油动员释放的脂质及体内合成的脂质（内源性）。

2. 血脂的主要去路 包括四个方面：①氧化分解；②构成生物膜；③进入脂库储存；④转变为其他物质。

血浆脂质种类不一，结构和功能各异，但其共同的物理性质是难溶于水，在水中应呈乳浊液，但正常人血脂含量达 500mg/dl，血浆却仍清澈透明，说明血脂在血浆中不是以自由状态存在的。事实上，血脂在血浆中与蛋白质结合形成血浆脂蛋白（lipoprotein），呈颗粒状亲水复合体，是血脂在血浆中的存在及运输形式。血浆脂蛋白中的蛋白质部分称为载脂蛋白（apolipoprotein, Apo）。

二、血浆脂蛋白的分类

各种血浆脂蛋白所含脂质及蛋白质不同，故其理化性质（密度、颗粒大小、表面电荷、电泳速率及免疫性）也不同，利用不同的技术和方法可将血浆脂蛋白分为若干类，目前应用最为广泛的是超速离心法和电泳法。

(一) 超速离心法

超速离心法的分类基础是血浆脂蛋白分子密度的差别。各种脂蛋白具有不同的化学组成, 由于脂质和蛋白质密度的不同和组成比例的差异, 使得不同脂蛋白具有独特的密度。由于蛋白质的密度比脂质大, 故血浆脂蛋白的密度随蛋白质组成比例的增加而升高, 所含蛋白质越多, 密度越大。根据血浆脂蛋白在特定密度溶液中超速离心时漂浮或沉降的行为, 可将血浆脂蛋白进行分离和分类。通常用漂浮率 S_f 表示其上浮情况。血浆脂蛋白在 26°C 、密度为 1.063g/ml 的盐溶液中, 每达因克离心力作用下, 每秒上浮 $10 \sim 13\text{cm}$ 即为 $1S_f$ 单位。

$$1S_f = 10 \sim 13\text{cm} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{dyn}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} (26^{\circ}\text{C})$$

S 是为纪念分析超速离心机的创始人 Svedberg, 下标 f 是 flotation 的缩写, 表示漂浮。

依据在上述溶液中的行为, 血浆脂蛋白可分为四大类: 密度小于 0.95g/ml 的乳糜微粒 (chylomicron, CM)、密度介于 $0.95 \sim 1.006\text{g/ml}$ 的极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL)、密度介于 $1.006 \sim 1.063\text{g/ml}$ 的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL), 以及密度介于 $1.063 \sim 1.210\text{g/ml}$ 的高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)。

(二) 电泳法

电泳法的分类基础是脂蛋白分子在电场中迁移率的差别。在一定的条件下, 它主要取决于脂蛋白分子的电荷/质量比值。在常见的以琼脂糖凝胶为支持介质的电泳中, 根据电泳迁移率从小到大, 血浆脂蛋白依次可以分为乳糜微粒、 β -脂蛋白 (β -lipoprotein)、前 β -脂蛋白 (pre- β -lipoprotein) 和 α -脂蛋白 (α -lipoprotein)。参照在相同条件下的血清球蛋白的迁移率, 乳糜微粒留在原点基本不动、 β -脂蛋白位于 β -球蛋白的位置、前 β -脂蛋白位于 α_2 -球蛋白的位置、 α -脂蛋白位于 α_1 -球蛋白的位置。不同的电泳支持介质和电泳条件下, 血浆脂蛋白可产生不同的分离效果 (图 5-19)。

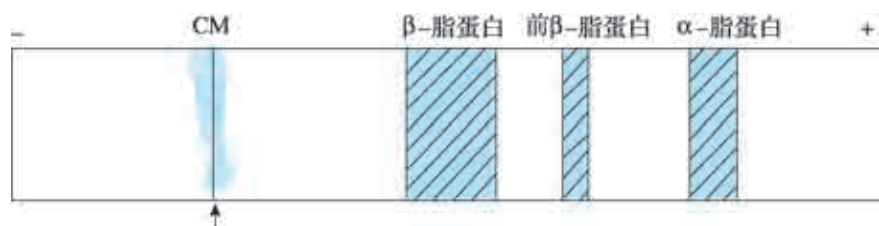


图 5-19 血浆脂蛋白琼脂糖凝胶电泳示意图

缓冲液 $\text{pH}=8.6$, $\uparrow$ 表示血浆加样位置

两种不同分类方法下, 四类血浆脂蛋白的对应关系及其组成、性质和主要生理功能见表 5-4。除上述四类主要脂蛋白外, 有的分类还包括了中密度脂蛋白 (intermediate density lipoprotein, IDL), 它是 VLDL 在血浆中的代谢产物, 其组成及密度介于 VLDL 及 LDL 之间, 其密度为 $1.006 \sim 1.019\text{g/ml}$ 。HDL 分子在代谢过程中的蛋白质与脂质成分发生变化, 据此可将 HDL 再分为 HDL_1 、 HDL_2 与 HDL_3 。 HDL_1 在高胆固醇膳食时才出现; 正常人血浆中主要含 HDL_2 和 HDL_3 , 前者密度较低, 为成熟的 HDL, 后者密度稍高, 为新生的 HDL, 这是由于 HDL_3 分子中蛋白质成分含量高。由于超速离心法和电泳法分离血浆脂蛋白所依据的物理参数不同, 其所分离脂蛋白的排列顺序有所差异是完全合理和正常的。

三、血浆脂蛋白的组成

所有的血浆脂蛋白均由脂质和载脂蛋白组成。脂质主要包括三酰甘油、磷脂、胆固醇和胆固醇酯。如表 5-4 各所示, 各种脂蛋白虽然均含有上述脂质, 但含量和比例差别巨大。如 CM

中脂质含量可高达 98% ~ 99%，而 HDL 中脂质含量仅为 45% ~ 55%。不同脂蛋白间脂质组成主要是量的不同。不同脂蛋白间载脂蛋白不仅有量的不同，更具有明显的质的差异，正是载脂蛋白组成的差异导致不同脂蛋白代谢途径和生理功能的不同。

表5-4 各类血浆脂蛋白的组成、性质和主要生理功能

分类	超速离心法电泳法	CM CM	VLDL 前 β -脂蛋白	LDL β -脂蛋白	HDL α -脂蛋白
物理性质	密度	< 0.95	0.95 ~ 1.006	1.006 ~ 1.063	1.063 ~ 1.210
	颗粒大小 (nm)	90 ~ 1000	30 ~ 90	20 ~ 30	7.5 ~ 10
	S _r 值	> 400	20 ~ 400	0 ~ 20	沉降
	电泳位置	原点	α_2 - 球蛋白	β - 球蛋白	α_1 - 球蛋白
化学组成 (%)	蛋白质	1 ~ 2	5 ~ 10	20 ~ 25	45 ~ 55
	脂质	98 ~ 99	90 ~ 95	75 ~ 80	45 ~ 55
	三酰甘油	84 ~ 88	50 ~ 54	8 ~ 10	6 ~ 8
	磷脂	8	16 ~ 20	20 ~ 24	21 ~ 23
	总胆固醇	4	20 ~ 22	43 ~ 47	18 ~ 20
	游离型	1	6 ~ 8	6 ~ 10	4
	酯化型	3	12 ~ 16	37 ~ 39	15
主要载脂蛋白		B-48	B-100	B-100	A-I
		A-I	C-II		A-II
		C、E	E		C-I
合成部位		小肠	肝	在血中由 VLDL 转化	肝、肠
主要生理功能		转运外源性三酰甘油	转运内源性三酰甘油	转运胆固醇到全身组织	逆向转运胆固醇回肝

目前发现的人载脂蛋白至少有 20 种。依据 Alaupovic 的建议分为 A、B、C、D 和 E 等几大类，有的尚可分为若干亚类。如 ApoA 又可分为 A-I、A-II 和 A-IV；ApoB 可分为 B-48 和 B-100；ApoC 可分为 C-I、C-II 和 C-III，而 C-III 又可进一步根据蛋白质翻译后的修饰，主要是所含唾液酸的数目，再分为 C-III0、C-III1 和 C-III2；ApoE 根据其一级结构和等电点的不同也可分为 E-2、E-3 和 E-4，不同 ApoE 异构体 (isoform) 与受体结合活性有明显的差别。绝大多数载脂蛋白的一级结构已经阐明。广泛的研究显示，载脂蛋白是决定脂蛋白结构、功能和代谢的核心组分，它们的功能是多方面的，至少包括：

1. 载脂蛋白能够结合和转运脂质，稳定脂蛋白的结构 人体血液中的蛋白质数以百计，但多数不具有结合和转运脂质的功能。作为脂蛋白结构成分的载脂蛋白之所以能结合和转运脂质，是因为它们多具有双性 α 螺旋 (amphipathic α -helix) 结构，在载脂蛋白的氨基酸排列顺序中，每间隔 2 ~ 3 个氨基酸残基，通常出现一个带极性侧链的氨基酸残基。当这种多肽链形成 α 螺旋时，极性氨基酸残基集中在 α 螺旋一侧形成极性 (亲水) 侧面，非极性氨基酸残基集中在另一侧形成非极性 (疏水) 侧面，即形成所谓双性 α 螺旋结构。这种双性 α 螺旋结构在载脂蛋白结合和转运脂质以及构成和稳定脂蛋白结构上起重要作用。亲水的极性面可与水溶剂及磷脂或胆固醇极性区结合，构成脂蛋白的亲水面；疏水的非极性面可与非极性的脂质结合，构成脂蛋白的疏水核心区。这种结构有利于载脂蛋白结合脂质，稳定脂蛋白的结构，完成其结合和转运脂质的功能。不同的血浆脂蛋白中包含一种或多种载脂蛋白，但多以某

一种为主,且各种载脂蛋白之间维持一定比例。如:① HDL 中主要含 ApoA- I 和 ApoA- II ;② LDL 中绝大部分是 ApoB-100,还含有少量的 ApoE (< 5%);③ VLDL 除含有 ApoB-100 外,还含有 ApoC- I、C- II、C- III 及 ApoE;④ CM 由多种载脂蛋白组成,但不含 ApoB-100 及 ApoD (表 5-5)。

2. 载脂蛋白是许多脂蛋白代谢关键酶的调控因子 已知 ApoA- I 是磷脂酰胆碱 - 胆固醇酰基转移酶 (lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT) 的激活因子; ApoC- II 是脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 的激活因子;而 ApoC- III 则可能是 LPL 的抑制因子等 (表 5-5)。脂蛋白进行代谢时,脂质多是载脂蛋白所调节的关键酶的底物,因此载脂蛋白可以有效地调节相关酶类的活性,调控脂蛋白的代谢。

3. 载脂蛋白是其所在脂蛋白被相应受体识别和结合的信号 ApoA- I、ApoB-100 和 ApoE 分别是 HDL 受体、LDL 受体和乳糜微粒残粒受体识别结合的信号与标志。受体介导的代谢途径是脂蛋白代谢的最主要途径,在这个意义上,载脂蛋白影响并决定着脂蛋白的代谢。配体 (载脂蛋白) 和受体的结构变异均有可能造成脂蛋白代谢异常,这已在临床医学得到广泛的证实,如由于 LDL 受体结构功能缺陷导致的家族性高胆固醇血症等。人体主要的载脂蛋白的性质和功能见表 5-5。

表5-5 主要的人载脂蛋白的性质和功能

载脂蛋白	氨基酸残基数	分子量	主要来源	主要功能
A-I	243	28.3kDa	肝、肠	LCAT 激活剂
A-II	154	17.5kDa	肝、肠	LCAT 抑制剂
B-48	2152	260kDa	肠	促进 CM 的合成
B-100	4536	513kDa	肝	LDL 受体配体
C-I	57	6630Da	肝	?
C-II	78	8837Da	肝	LPL 激活剂
C-III	79	9532Da	肝	LPL 抑制剂
E	299	34.1kDa	肝	乳糜微粒残粒受体配体

四、血浆脂蛋白的结构

各类血浆脂蛋白的结构虽然存在着若干差异,但也有共同的基本特征。除新生的 HDL 为圆盘状外,脂蛋白的结构一般为球状结构,可分为两部分,即极性 (亲水) 的表面和非极性 (疏水) 的核心,非极性 (疏水) 的核心是以疏水的三酰甘油和胆固醇酯构成,在 CM 和 VLDL 主要是三酰甘油,在 LDL 和 HDL 则主要是胆固醇酯;极性 (亲水) 的表面是包绕脂质核心的单层外壳,外壳主要由两性脂质 (磷脂和游离胆固醇) 和载脂蛋白组成。依据物质相似相容原理,外壳中的两性脂质的排列与质膜相似,以其非极性部分向内与中心脂质核相互作用,以其极性部分向外与水溶液相互作用。绝大多数的载脂蛋白具有双性 α 螺旋结构。它们以双性 α 螺旋的非极性面向内与脂质核相互作用,而以双性 α 螺旋的极性面向外与水溶液相互作用。载脂蛋白的双性 α 螺旋有利于脂蛋白的结构稳定和生理功能的发挥。载脂蛋白可分为两类:一类是镶嵌于外壳并结合紧密的内在载脂蛋白,在血液运输和代谢过程中从不脱离脂蛋白分子,如 VLDL 和 LDL 中的 ApoB-100;另一类是与外壳结合较松散的外在载脂蛋白,在血液运输和代谢过程中可在不同脂蛋白之间穿梭,促进脂蛋白的成熟和代谢,如 ApoE 和 ApoC。脂蛋白的基本结构见图 5-20。

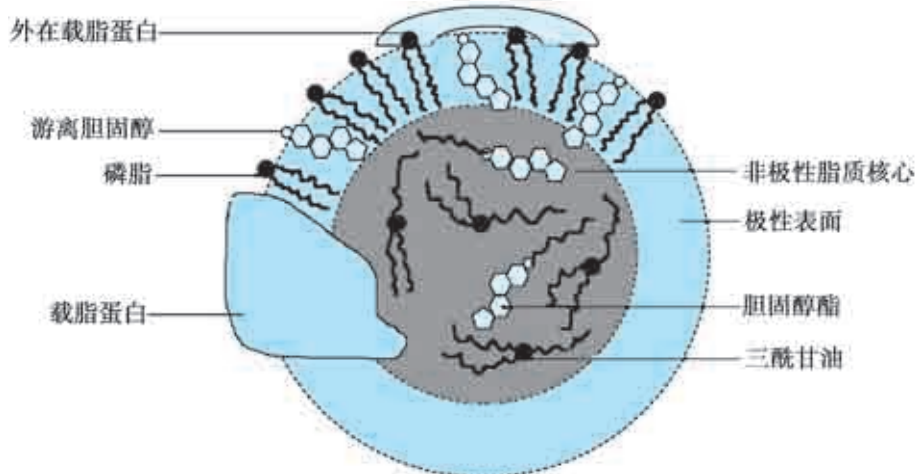


图 5-20 血浆脂蛋白的结构示意图

五、血浆脂蛋白的代谢

血浆脂蛋白的代谢是一个相当复杂的生化过程，它不仅涉及脂蛋白分子本身，同时也涉及许多脂蛋白分子以外的因素，如参与脂蛋白代谢的酶类和脂蛋白受体等。此外各类血浆脂蛋白的代谢也不是彼此孤立的，而是互相关联的，如脂蛋白之间载脂蛋白和脂质成分的穿梭和交换。有关血浆脂蛋白的代谢研究虽然已经取得了巨大的进展，但仍然有不少问题需要进一步阐明。

（一）乳糜微粒的代谢

CM 是小肠黏膜细胞合成的，它是机体转运外源性三酰甘油及胆固醇的主要形式。小肠黏膜细胞将膳食中吸收摄取的脂肪的消化产物再酯化成的三酰甘油、磷脂和胆固醇与细胞核糖体合成的 ApoB-48 等组装成新生的 CM，其中也含有少量的 ApoA-I 和 ApoA-II。小肠黏膜细胞合成并分泌的新生 CM 经淋巴系统进入血液循环。

CM 在血液循环中主要经历了两个方面的变化。一方面，它从 HDL 获得转运来的 ApoE 和 ApoC，特别是 ApoC-II，转变为成熟的 CM。这种成熟的 CM 分子上的 ApoC-II 可激活脂蛋白脂肪酶 (LPL)，催化 CM 中三酰甘油水解为甘油 (glycerol) 和游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA)。LPL 是人体中重要的脂解酶，主要存在于心、肌肉和脂肪组织等与脂肪的储存、利用和代谢有关的组织的毛细血管内皮细胞外表面上。另一方面，随着 LPL 的脂解作用和三酰甘油的水解、释放，CM 颗粒明显变小，胆固醇和胆固醇酯的含量相对增加，颗粒密度也有所增加，其外层的 ApoA 和 ApoC 离开 CM 转移回到 HDL，而 ApoE 和 ApoB-48 仍保留在 CM，形成以含胆固醇酯为主的乳糜微粒残粒 (chylomicron remnant)。乳糜微粒残粒可通过其所含的 ApoE 被肝细胞表面的乳糜微粒残粒受体 (又称 ApoE 受体) 结合并介导其被肝细胞吞噬，与细胞溶酶体融合，载脂蛋白被水解为氨基酸，胆固醇酯分解为胆固醇和脂肪酸，进而被肝细胞利用或分解，完成最终代谢。由此可见，CM 代谢的主要功能就是将外源性三酰甘油转运至心、肌肉和脂肪组织等肝外组织利用，同时将食物中外源性胆固醇转运至肝进行转化。

血液中的 CM 代谢迅速，半衰期不足 0.5h。因此正常人空腹过夜后血液中不含有 CM，若在空腹血液中存在明显的 CM，则表示有血浆脂蛋白代谢异常。脂蛋白脂肪酶结构和功能异常或 ApoC-II 结构和功能缺陷可能是严重乳糜微粒血症最常见的原因。CM 的代谢如图 5-21 所示。

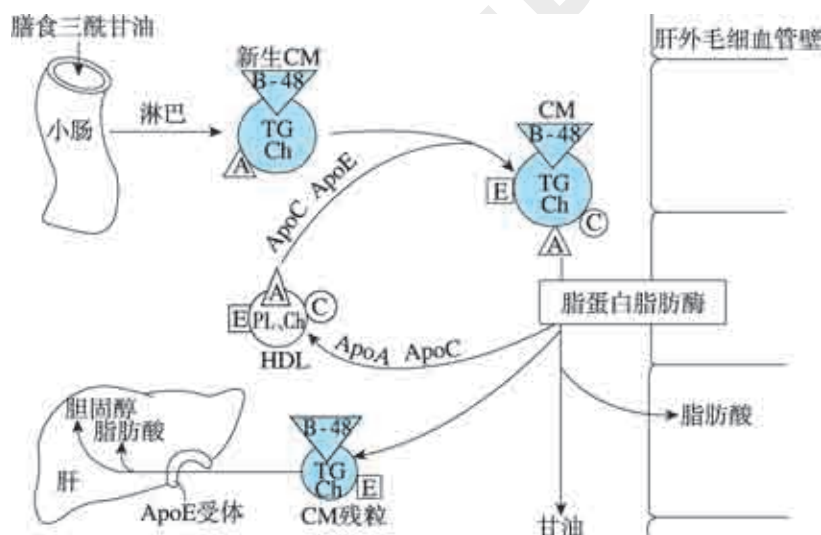


图 5-21 乳糜微粒的代谢

A: 载脂蛋白 A; B-48: 载脂蛋白 B-48; C: 载脂蛋白 C; E: 载脂蛋白 E; CM: 乳糜微粒;
TG: 三酰甘油; PL: 磷脂; Ch: 胆固醇和胆固醇酯; HDL: 高密度脂蛋白

(二) 极低密度脂蛋白的代谢

新生的 VLDL 在肝内合成，是机体转运内源性三酰甘油和胆固醇的主要形式。肝生成的三酰甘油主要原料源于葡萄糖，部分来自乳糜微粒残粒及脂肪动员产生的游离脂肪酸的酯化。肝细胞利用自身合成的 ApoB-100 及 ApoE 与三酰甘油、磷脂和胆固醇组装成新生的 VLDL，并直接分泌入血液循环。

VLDL 在血液中的经历与 CM 十分相似。VLDL 分泌入血后，接受来自 HDL 的 ApoC 和 ApoE，特别是 ApoC-II，由 ApoC-II 激活 LPL，催化三酰甘油水解，产物被肝外组织利用。随着三酰甘油的水解，VLDL 颗粒体积变小，同时载脂蛋白、磷脂和胆固醇的含量相对增加，颗粒密度加大，由 VLDL 转变为 IDL。一部分 IDL 通过 ApoE 介导的受体代谢途径为肝细胞摄取和利用。而未被肝细胞摄取的 IDL 进一步受 LPL 的作用，转变为密度更大且仅含一个 ApoB-100 分子的 LDL。因此 IDL 既是 VLDL 的中间代谢物，又是 LDL 的前体。换言之，LDL 是在血液中由 VLDL 转变产生的。在 VLDL 经 IDL 转变为 LDL 的复杂过程中，ApoE 发挥了十分重要的作用，特别是与 ApoE 异构体的受体结合活性关系密切。如果 ApoE 与受体结合活性低，就有可能造成 IDL 在血液中的蓄积，形成Ⅲ型高脂蛋白血症。VLDL 所含的 ApoE 与受体结合活性低下或完全缺失，是Ⅲ型高脂蛋白血症的生化基础。在 ApoE 的三种主要异构体中，ApoE-2 与受体的结合活性只相当于 ApoE-4 和 ApoE-3 的 1% ~ 2%，过往的研究发现，Ⅲ型高脂蛋白血症患者几乎均为 ApoE-2 的纯合子。VLDL 在血液中的半衰期为 6 ~ 12h。正常人的空腹血含有 VLDL，其浓度与血液的三酰甘油的水平呈明显的正相关。VLDL 的代谢如图 5-22 所示。

肝作为 VLDL 的合成器官，在脂肪的代谢中具有重要而独特的作用。肝细胞中三酰甘油由于代谢迅速，因此含量有限。如果三酰甘油供应增加，如高脂膳食、饥饿或糖尿病等所致脂肪动员增强，或者肝细胞载脂蛋白、磷脂及 VLDL 的合成障碍，肝炎等所致肝功能损伤及胆碱缺乏等，均可能导致脂肪在肝中蓄积，形成脂肪肝。长时间的脂肪过度蓄积将损害肝细胞的功能，形成脂肪性肝炎。

CM 和 VLDL 因为三酰甘油含量丰富被统称为富含三酰甘油的脂蛋白 (triglyceride-rich lipoprotein)，其水平决定了血液中三酰甘油的水平。血脂异常已经成为我国居民的一个重要的

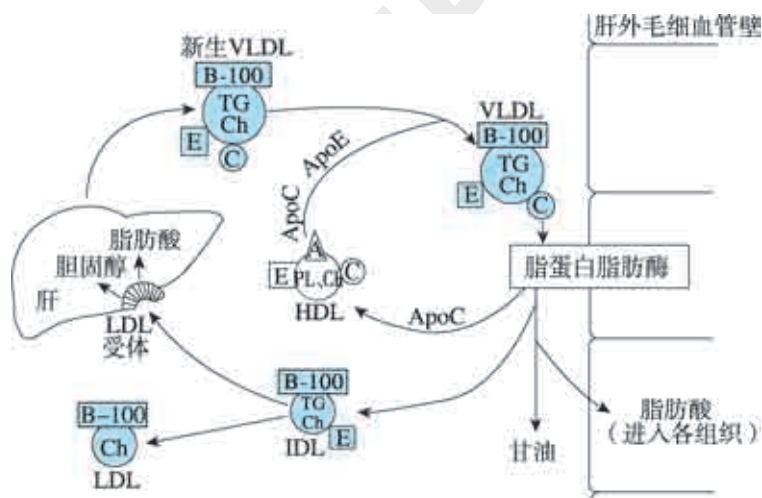


图 5-22 极低密度脂蛋白的代谢

公共卫生问题，据估计目前我国成人血脂异常率为 18.6%，绝对人数可达 1.9 亿。由于我国居民膳食结构特点等原因，人群中的血脂异常以高三酰甘油血症为最多。脂蛋白脂肪酶是富含三酰甘油脂蛋白的关键酶，载脂蛋白 C-III 可以抑制 LPL 的活性，它们共同构成影响富含三酰甘油脂蛋白的主要因素。调控这些蛋白质的表达就成为治疗高三酰甘油血症的一个重要靶点和可行途径。苯氧芳酸类调血脂药如吉非贝齐（诺衡）和苯扎贝特（必降脂）等是核因子过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR）的激活剂，通过激活 PPAR α 增强 LPL、ApoA-I 和 A-II 的表达，同时抑制载脂蛋白 C-III 基因的表达，因此该类药物不但可以降低血液三酰甘油水平，同时还有利于提升 HDL-Ch 的水平，成为临床治疗高三酰甘油血症的重点药物之一。

（三）低密度脂蛋白的代谢

如上所述，LDL 是在血液中由 VLDL 经 IDL 转化而来的，LDL 中的主要脂质是胆固醇及胆固醇酯，载脂蛋白为 ApoB-100。它是机体转运肝合成的内源性胆固醇到全身组织的主要运输形式。虽然全身组织细胞几乎均能合成胆固醇，但多数仍不同程度地需要肝合成的胆固醇供给和补充。LDL 在血浆中的半衰期为 2 ~ 4 天，因此是血液中胆固醇最主要的存在形式，血液中总胆固醇水平的升高绝大多数是由于 LDL 的升高造成的。LDL 水平升高可促进动脉内皮细胞下的胆固醇酯堆积而加重动脉粥样硬化，因此 LDL 被认为是致动脉粥样硬化的危险因子。

受体介导途径是 LDL 代谢的最主要途径。在正常情况下，大约 2/3 的 LDL 通过此途径降解，其余 1/3 则主要通过巨噬细胞等非受体介导途径清除。LDL 受体能特异地识别和结合脂蛋白中的 ApoB-100，因此又称为 ApoB-100 受体。全身组织细胞几乎均具有 LDL 受体，但以肝细胞最为丰富。肝约含全身 LDL 受体总数的 3/4，因此肝是降解 LDL 最主要的器官。此外，以胆固醇为原料合成类固醇激素的器官和组织如肾上腺、卵巢和睾丸等摄取和降解 LDL 的能力也较强。血液中 LDL 的水平在很大程度上依赖于 LDL 受体结构与功能的正常。

LDL 受体由 839 个氨基酸残基组成，本质属糖蛋白，可分为 5 个结构域。Brown 与 Goldstein 在研究胆固醇的代谢调节过程中发现了细胞表面的 LDL 受体，并发现 LDL 受体控制细胞对 LDL 的摄取，从而保持血液 LDL 浓度正常，防止胆固醇在动脉血管壁的沉积。这一研究成果是对胆固醇代谢调节研究的伟大贡献，Brown 与 Goldstein 因此共同获得 1985 年的诺贝尔生理学或医学奖。这些研究为相关疾病（如冠心病）的预防和治疗提供了崭新的手段。在 LDL 代谢过程中，通过 LDL 受体介导将 LDL 吞入细胞内并与溶酶体融合，胆固醇酯被溶酶体中的相关酶类催化水解为游离胆固醇及脂肪酸。这种游离的胆固醇既可参与细胞生物膜的构



成,还可在不同的组织参与类固醇激素、胆汁酸和维生素 D_3 的合成,并且还通过启动下列三个反应有效地调节细胞内的胆固醇代谢(图 5-23)。

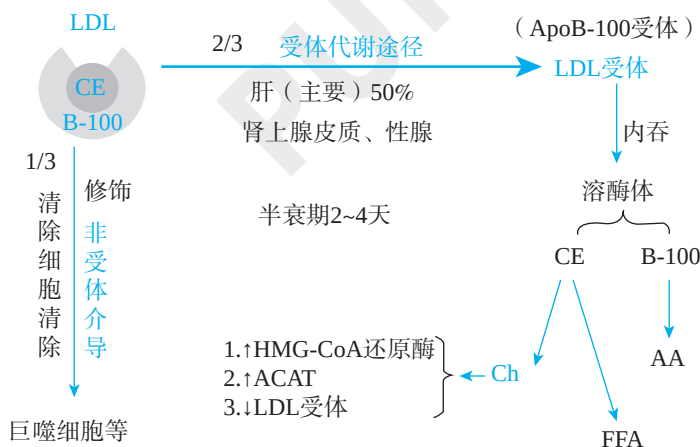


图 5-23 LDL 受体代谢及细胞胆固醇调节

1. 通过反馈调节抑制细胞内质网 HMG-CoA 还原酶的活性,降低细胞内源性胆固醇的合成。

2. 激活细胞内脂酰 CoA-胆固醇酰基转移酶 (acylCoA-cholesterol acyltransferase, ACAT) 的活性,使游离胆固醇重新酯化为其储存形式胆固醇酯,并储存于细胞质中备用,当细胞需要时,由胆固醇酯重新水解为游离胆固醇供细胞代谢的需要。

3. 在转录水平抑制细胞 LDL 受体蛋白质的合成,减少细胞对 LDL 的结合和内存,从而降低细胞通过内存 LDL 对细胞外胆固醇的摄取和利用。

(四) 高密度脂蛋白的代谢

HDL 主要是在肝合成的,小肠也能少量合成,HDL 的主要功能是参与胆固醇的逆向转运 (cholesterol reverse transport),即将肝外组织细胞中的胆固醇通过血液循环转运到肝,在肝中转化为胆汁酸后排出体外。

新生的 HDL 呈圆盘状,载脂蛋白种类多样且含量高,包括 ApoA、ApoC、ApoD 和 ApoE 等,其中以 ApoA 为主,脂质则以磷脂为主。其中的 ApoA-I 是磷脂酰胆碱-胆固醇酰基转移酶 (LCAT) 的激活因子,而磷脂中的主要成分磷脂酰胆碱则是该酶的主要底物之一。LCAT 是由肝合成后分泌入血的。在 LCAT 的催化下,HDL 表面磷脂酰胆碱第 2 位上的脂酰基被转移到游离胆固醇的第 3 位羟基上,前者形成溶血磷脂酰胆碱并结合于血浆白蛋白,而后者则由游离胆固醇转化为胆固醇酯,因其失去极性而移入 HDL 的非极性脂质核心(图 5-24),由此形成 HDL 和外周组织间游离胆固醇的浓度梯度,并促进外周组织游离胆固醇向 HDL 流动。随着 LCAT 的反复作用,进入 HDL 内部的胆固醇酯逐步增加,使磷脂双层伸展分离,新生的圆盘状 HDL 逐渐转变为成熟的球状 HDL。首先形成的是密度较大、颗粒较小的 HDL_3 ,随着胆固醇含量的增加,颗粒变大,密度变小,逐步转变为 HDL_2 。在此过程中,胆固醇酯转移蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 也参与并促进胆固醇逆向转运。当周围组织细胞膜的游离胆固醇与 HDL 结合后,被 LCAT 酯化成胆固醇酯,移入 HDL 核心,并可通过 CETP 转移给 VLDL、LDL,再被肝的 LDL 及 VLDL 受体摄取入肝细胞,至此,完成了胆固醇从周围末梢组织细胞经 HDL 转运到肝细胞的过程。由于 LCAT 的高活性,正常人血液中很少见到圆盘状的新生 HDL,但在遗传性 LCAT 活性低或完全缺失的患者中,HDL 则主要以圆盘状的形式存在,说明了 LCAT 在 HDL 成熟和胆固醇逆向转运中的作用。



家族性高胆固醇血症

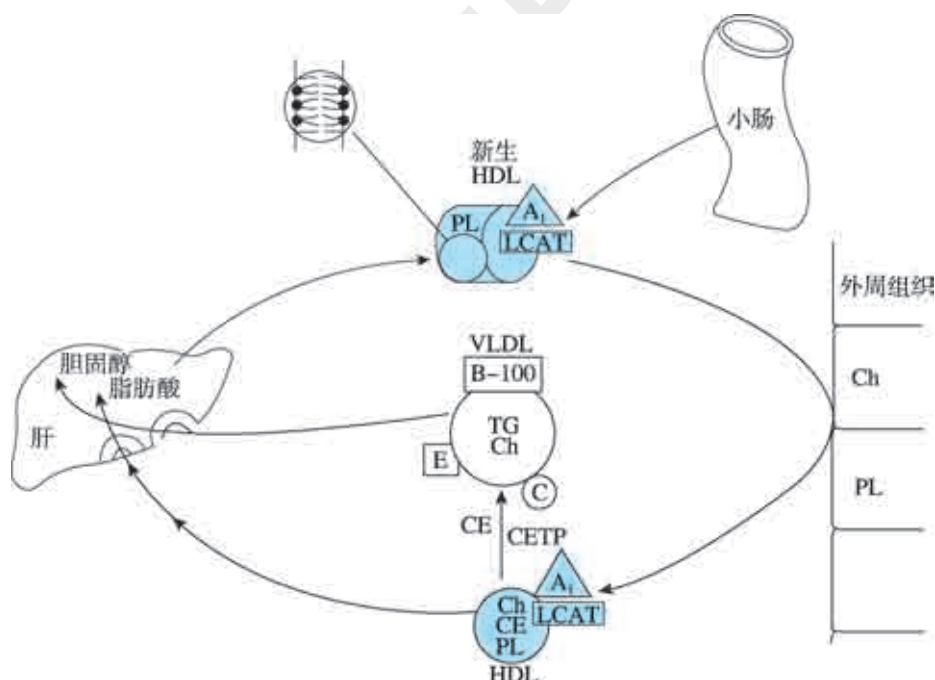


图 5-24 高密度脂蛋白的代谢

成熟的 HDL 可被肝细胞的 ApoA-I 受体结合和摄取，完成了胆固醇由肝外向肝的转运。与 LDL 转运胆固醇的方向相反，HDL 是将胆固醇由肝外组织运回肝，因此称为胆固醇的逆向转运。胆固醇的这种双向转运既保证了全身组织对胆固醇的需要，又避免了过量胆固醇在外周组织的蓄积和致病作用，具有重要的生理意义。血液中 LDL 和 HDL 的水平常用胆固醇含量表示，分别称为 LDL-Ch 和 HDL-Ch。HDL-Ch 水平越高，反映机体逆向转运胆固醇的能力越强，动脉血管壁等外周组织胆固醇蓄积的可能性越小。这就合理地解释了流行病学调查和临床医学研究的重要发现：HDL-Ch 的水平与动脉粥样硬化的发病率呈明显的负相关。基于上述的认识和理解，HDL 被认为是抗动脉粥样硬化因子。LDL-Ch 和 HDL-Ch 的含量比值 (LDL-Ch/HDL-Ch) 称为动脉粥样硬化指数 (atherosclerosis index, AI)，它反映了机体对动脉粥样硬化的易感性，一些学者认为其临床判断价值优于单纯的总胆固醇测定。LDL-Ch 和 HDL-Ch 的测定已经广泛地应用于临床检验。

除上述功能外，HDL 的重要功能还包括作为 ApoE 和 ApoC 的储存库。ApoE 和 ApoC 不断地穿梭于 CM、VLDL 和 HDL 之间，这不仅有利于激活 LPL，促进脂蛋白中三酰甘油的水解，而且也有利于这些脂蛋白的进一步代谢，特别是在肝细胞受体介导的结合和摄取中发挥了关键的作用。由此可见，各类脂蛋白的代谢并不是彼此孤立的，而是相互联系和相互促进的，它们都是若干个循环的组成部分，彼此协调配合，共同完成血浆脂质转运和代谢的复杂过程。

六、血脂测定与血脂异常

血脂的组成和水平可以在一定程度上反映机体脂质代谢的状况，并且有助于疾病的预判和诊断。机体脂质代谢研究的深入与血脂测定技术和方法的发展是相互促进的，20 世纪 50 年代，人们逐渐认识到血脂水平与动脉粥样硬化之间的密切关系，建立和改进了胆固醇和三酰甘油的测定方法，在此基础上提出了高脂血症 (hyperlipidemia) 的命名，脂质代谢异常可引起血脂水平改变，若血脂浓度高于正常值上限，即可称为高脂血症。高脂血症分为高胆固醇血症、高三酰甘油血症和高胆固醇合并高三酰甘油血症三大类。20 世纪 60 年代后，人

们进一步认识到血液中的脂质不是游离存在的,它们是以可溶性生物大分子复合体即血浆脂蛋白的形式运输和代谢的,血脂的异常必然反映为血浆脂蛋白的异常,提出了高脂蛋白血症(hyperlipoproteinemia)的命名。随着高密度脂蛋白抗动脉粥样硬化功能的发现,人们认识到不仅高脂蛋白血症具有临床意义,低高密度脂蛋白血症也具有重要临床意义。其后又发现了其他种类的低脂蛋白血症、无脂蛋白血症等众多脂质代谢性疾病。至此,人们逐渐认识到脂质代谢异常不仅可表现为一种或几种血浆脂蛋白的升高,同样也可表现为它们的降低或缺如。基于上述认识,使用“异常脂蛋白血症”(dyslipoproteinemia)代替“高脂蛋白血症”更为全面和合理,相应的药理学也将降血脂药易名为调血脂药。

血脂测定的项目是相当复杂的,可以分为一般测定和特殊测定。目前临床普遍应用的血脂测定项目为总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-Ch)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-Ch)四项。一些学者认为在低密度脂蛋白和高密度脂蛋白水平的测定中,特定载脂蛋白的测定可能优于其所含胆固醇的测定,因此建议和补充了ApoA-I和ApoB-100的测定。但是,在医疗资源有限的情况下,ApoA-I和ApoB-100的测定价值有待商榷。一方面LDL-Ch与ApoB-100、HDL-Ch与ApoA-I测定结果之间存在高度的相关性,另一方面载脂蛋白的测定无论精确性还是准确性均低于脂质测定。

血脂水平测定结果不存在所谓的正常值,只存在相对的参考值。影响血脂水平的因素是多元的,既包括遗传因素,也包括膳食和生活方式等环境因素,此外与血脂水平相关的疾病在不同的国家和民族发病率也有很大的不同。基于上述原因,不仅不同的民族和国家可以有不同的血脂测定参考值,而且同一民族和国家的血脂参考值也不是固定不变的。血脂参考值的确定是一项复杂的系统工程,包含了流行病学、基础医学和临床医学等众多学科的研究成果。2016年我国专家学者进一步修订了2007版《中国成人血脂异常防治指南》,并制订了新的中国成人血脂水平分层标准,见表5-6。

表5-6 成人血脂水平分层标准

分层	TC [mmol/L (mg/dl)]	LDL-C [mmol/L (mg/dl)]	HDL-C [mmol/L (mg/dl)]	非-HDL-C [mmol/L (mg/dl)]	TG [mmol/L (mg/dl)]
理想水平		< 2.6 (100)		< 3.4 (130)	
合适水平	< 5.2 (200)	< 3.4 (130)		< 4.1 (160)	< 1.7 (150)
边缘升高	≥ 5.2 (200) 且 < 6.2 (240)	≥ 3.4 (130) 且 < 4.1 (160)		≥ 4.1 (160) 且 < 4.9 (190)	≥ 1.7 (150) 且 < 2.3 (200)
升高	≥ 6.2 (240)	≥ 4.1 (160)		≥ 4.9 (190)	≥ 2.3 (200)
降低			< 1.0 (40)		

TC: 总胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; 非-HDL-C: 非高密度脂蛋白胆固醇; TG: 三酰甘油。摘自《中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)》,中国循环杂志,2016,31(10): 937

小 结

脂质主要分为脂肪和类脂两大类,其共同特征是不溶于水,而易溶于有机溶剂。脂肪又称三酰甘油,是机体有效的供能和储能物质,脂肪组织是机体的内分泌器官;类脂包括胆固醇及其酯、磷脂及糖脂等,是生物膜的重要组分,参与细胞识别及信息传递。

正常人脂质的消化和吸收主要在小肠上段。多种胰脂肪酶的催化和胆汁酸盐的乳化是脂质消化吸收的重要环节,在其作用下三酰甘油被水解为2-单酰甘油和脂肪酸,磷脂

被水解为溶血磷脂和脂肪酸，胆固醇酯被水解为胆固醇和脂肪酸。消化产物主要在空肠被吸收，由中、短链脂肪酸构成的三酰甘油直接经肠黏膜细胞吸收水解后进入门静脉，而长链脂肪酸、2-单酰甘油、溶血磷脂、胆固醇等则在小肠黏膜上皮细胞内重新合成三酰甘油、磷脂、胆固醇酯，与多种载脂蛋白形成乳糜微粒，经淋巴系统进入血液循环。

三酰甘油由甘油和3分子脂肪酸组成，是甘油的脂肪酸酯。三酰甘油合成的主要器官是肝、小肠和脂肪组织，其中肝的合成能力最强。肝和脂肪组织细胞通过二酰甘油途径合成三酰甘油，小肠黏膜细胞通过单酰甘油途径合成三酰甘油。三酰甘油的合成受到激素以及代谢关键酶的影响。

当糖供能充足时，人体利用乙酰 CoA 作为原料合成脂肪酸储存能量。糖代谢生成的乙酰 CoA 通过柠檬酸-丙酮酸循环出线粒体，羧化生成丙二酸单酰 CoA。在胞质中脂肪酸合酶的催化下，由 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 供氢，依次进行缩合、还原、脱水和再还原等步骤，循环7次合成16碳软脂酸。软脂酸经过碳链长度的变化、不饱和键的生成等过程转化为其他营养非必需脂肪酸。脂肪酸合成的关键酶是乙酰 CoA 羧化酶，可受别构调节和共价修饰调节。

当糖供应不足时，三酰甘油通过脂肪动员生成甘油和游离的脂肪酸。甘油进入糖代谢途径代谢。脂肪酸在胞质中活化后进入线粒体发生 β 氧化，每轮循环经历脱氢、加水、再脱氢和硫解四步反应，碳链减少两个碳原子，最终产物为乙酰 CoA。部分乙酰 CoA 彻底氧化释放大量能量，部分乙酰 CoA 在肝细胞转化为酮体，经血液运输到肝外组织利用。

磷脂包括甘油磷脂和鞘磷脂两大类，人体以甘油磷脂为主，甘油磷脂的合成有二酰甘油合成途径和 CDP-二酰甘油合成途径。甘油磷脂的降解需要磷脂酶，根据其水解化学键特异性的不同，可以分为磷脂酶 A、B、C、D。

胆固醇是以环戊烷多氢菲为骨架的有机化合物，主要生理功能有：构成生物膜、转变成胆汁酸、合成类固醇激素及维生素 D_3 、调节脂蛋白代谢。体内胆固醇的来源外源性摄取和内源性合成。HMG-CoA 还原酶是胆固醇合成的限速酶。机体的胆固醇以两种形式存在：游离胆固醇为活性代谢形式；酯化胆固醇为储存运输形式，胆固醇酯化血浆中由磷脂酰胆碱：胆固醇酰基转移酶 (LCAT) 催化，胞质中由脂酰 CoA：胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 催化，胆固醇在体内主要转化为胆汁酸、类固醇激素、维生素 D_3 等重要化合物。

前列腺素、血栓素、白三烯和脂氧素统称为类二十烷酸，其前体都是花生四烯酸等多不饱和脂肪酸，因此均属于脂肪酸源激素。该类激素为局部激素（局部分泌，局部起作用），与细胞表面受体结合后，参与了几乎所有机体和细胞的代谢，如炎症、免疫、过敏、血栓的形成和溶解等许多生理和病理过程。有关其结构、功能和代谢的深入研究不仅为许多疾病的发病机制提供了分子理论基础，而且这些激素水平的调节也已经成为与其相关疾病有效预防和治疗的靶点和途径。

血浆中的脂质与蛋白质组成的可溶性生物大分子称为血浆脂蛋白，脂蛋白是脂质在血液中的运输和代谢形式。根据脂蛋白的颗粒密度及电泳迁移率，利用超速离心法和电泳法可将脂蛋白分为四大类：乳糜微粒、极低密度脂蛋白（前 β -脂蛋白）、低密度脂蛋白（ β -脂蛋白）和高密度脂蛋白（ α -脂蛋白）。CM 主要转运外源性三酰甘油及胆固醇，VLDL 主要转运内源性三酰甘油，LDL 主要将肝合成的内源性胆固醇转运至肝外组织，而 HDL 则参与胆固醇的逆向转运。脂蛋白的代谢过程中，载脂蛋白发挥核心作用。

思考题

1. 简述脂质的组成和重要生理功能。
2. 试比较脂肪酸降解和合成途径的重要区别。
3. 试述软脂酸的氧化分解过程及能量的生成情况。
4. 何谓酮体？根据所学酮体代谢的生化知识，讨论临床酮症酸中毒产生的可能原因和应采取的治疗措施。
5. 你认为血脂测定应包括哪几项？如何评价其临床意义？
6. 根据所学的胆固醇代谢知识，试讨论治疗高胆固醇血症应采取的措施和其生化基础。
7. 脂肪酸源激素主要包括哪些激素？试简述其结构特点和主要生理功能。
8. 阐述血浆脂蛋白的主要分类，不同脂蛋白的化学组成特点、代谢途径和主要的生理功能。
9. 为何说载脂蛋白是决定脂蛋白结构、功能和代谢的核心组分？

(谢书阳)

第一节 概 述

一切生物都必须依靠能量来维持生存，而生物体所需的能量大都来自体内糖、脂肪、蛋白质等有机物的氧化。糖、脂肪、蛋白质在生物体内经加氧、脱氢、失电子的方式被氧化，这些物质彻底氧化生成 CO_2 和 H_2O 。这一过程的完成首先要经过分解代谢，在不同的分解代谢过程中，通过有机酸的脱羧基反应生成 CO_2 ，通过代谢物的脱氢反应和辅酶 NAD^+ 或 FAD 的还原反应，产生 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 或 FADH_2 。这些携带着氢离子和电子的还原型辅酶，再将氢离子和电子传递给氧，最终生成水。这一系列的反应过程伴随着能量的释放，其中一部分能量以底物水平磷酸化和氧化磷酸化的方式转化到 ATP 分子中，供机体肌肉收缩、物质转运、化学合成等各种生命活动的需要。

一、生物氧化的概念和意义

人们把物质在生物体内氧化分解生成 CO_2 和 H_2O 并释放能量的过程称为生物氧化 (biological oxidation)。生物氧化本质上是需氧细胞呼吸作用中的一系列氧化还原反应，所以又称为组织呼吸或细胞呼吸。生物氧化遵循氧化还原反应的一般规律，物质通常是以加氧、脱氢、失去电子的方式被氧化的。线粒体内进行的生物氧化是机体产生 ATP 的主要途径。微粒体和过氧化物酶体中进行的生物氧化则与机体内代谢物、药物及毒物的清除、排泄有关。

二、生物氧化的特点

生物体内的氧化和体外燃烧在化学本质上虽然生成的终产物都是 CO_2 和 H_2O ，释放的总能量也完全相同，但二者所进行的方式却大不相同。生物氧化的特点是在体温及近中性 pH 环境中通过酶的催化使有机物分子发生一系列化学反应，同时逐步释放能量，有相当一部分能量驱动 ADP 磷酸化生成 ATP ，从而将能量储存在 ATP 分子中，以供机体生理、生化活动之需。一部分以热能的形式散发用来维持体温，因此不会因温度突然上升而损害机体。人体内 CO_2 的生成并不是物质中所含的碳原子和氧直接化合的结果，而是物质代谢生成的中间产物有机酸经过脱羧基 (decarboxylation) 反应生成的。催化氧化还原反应的酶类可分为直接利用氧为受氢体的氧化酶、催化底物脱氢而又不以氧为受氢体的不需氧脱氢酶及其他酶类共三大类。可见生物氧化有其独特的进行方式，生物氧化的特点可简单归纳如表 6-1 所列。

表6-1 生物氧化的特点

内容	特点
生物氧化反应条件	酶催化，体温、近中性 pH 环境，逐步释放能量
生物氧化方式	脱氢、失电子、加氧
CO_2 生成的方式	脱羧基

续表

内容	特点
生物氧化场所	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	主要是通过 NADH 氧化呼吸链、FADH ₂ 氧化呼吸链

第二节 线粒体氧化体系

线粒体（mitochondria）是需氧细胞内糖、脂肪、蛋白质进行生物氧化过程中氧化还原反应的主要场所。在物质氧化为 CO₂ 和 H₂O 的过程中，代谢物脱氢、氢（FADH₂ 和 NADH + H⁺）通过电子传递彻底氧化生成水并释放能量主要在线粒体内进行。伴随着氧化过程释放的能量，有相当一部分以 ATP 的形式储存起来维持细胞的生命活动。因而线粒体是生物体从营养物中获取能量的主要场所，故将线粒体比作细胞的“动力工厂”。

一、呼吸链的组成及其作用

代谢物脱下的成对氢原子（2H）以还原当量形式（NADH + H⁺、FADH₂）存在，经一系列有序排列于线粒体内膜上的酶和辅酶复合体的催化，逐步将电子传递给分子氧。NADH + H⁺ 或 FADH₂ 上的一对氢给出 2e 被氧化为 2H⁺，氧则获得 2e 被还原为 O²⁻，最终 2H⁺ 和 O²⁻ 结合生成水。在传递电子的过程中释放的能量驱动 ADP 和无机磷酸结合形成 ATP。这一系列有序排列于线粒体内膜上的起传递氢或电子作用的酶和辅酶称为电子传递链（electron transfer chain）。传递氢的酶或辅酶被称为递氢体，传递电子的酶或辅酶被称为递电子体。由于递氢的过程中也需要递电子（2H⁺ + 2e），所以递氢体同时又是递电子体。电子传递链催化进行的一系列连锁反应与细胞摄取氧的呼吸过程有关，故又称为呼吸链（respiratory chain）。

呼吸链主要由位于线粒体内膜上的酶复合体 I、II、III、IV 四种复合物组成。每个复合体都是由多种酶和辅酶组成的，它们镶嵌于线粒体内膜上，并按照一定顺序排列（表 6-2）。复合体通过电子的传递实现能量的转换，驱动 ADP 磷酸化生成 ATP。而电子传递过程的本质是由电势能转变为化学能的过程，电子传递所释放的电化学势能驱动 H⁺ 由线粒体基质侧转移到线粒体内外膜的膜间隙，从而形成线粒体内膜两侧的 H⁺ 浓度梯度差，当 H⁺ 顺浓度跨越线粒体内膜回流时，驱动 ATP 的生成。用去垢剂温和处理线粒体内膜，分离得到四种仍具有传递电子功能的复合体，证明了这一事实。但是，缺少了脂溶性小分子化合物泛醌（ubiquinone）和水溶性球状蛋白细胞色素 c（cytochrome c, Cyt c），将电子传递给分子氧是不能实现的。因此，呼吸链应该包括：四种酶复合体、泛醌和 Cyt c。下面将分别叙述呼吸链各组成成分的氧化还原作用和相应的电子传递过程。

表6-2 组成呼吸链的复合体

名称	分子量（kDa）	多肽链数	辅基
复合体 I（NADH- 泛醌还原酶）	850	43	FMN, Fe-S
复合体 II（琥珀酸 - 泛醌还原酶）	140	4	FAD, Fe-S
复合体 III（泛醌 - 细胞色素 c 还原酶）	250	11	血红素 b _L , b _H , c ₁ , Fe-S
复合体 IV（细胞色素 c 氧化酶）	160	13	血红素 a, 血红素 a ₃ , Cu _A , Cu _B

(一) 复合体 I

复合体 I 又称为 NADH- 泛醌还原酶或 NADH 脱氢酶。复合体 I 是一个巨大的复合物，整个复合体嵌在线粒体内膜上，其 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 结合面朝向线粒体基质，这样就能与基质内经脱氢酶催化产生的 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 相互作用。复合体 I 由黄素蛋白、铁硫蛋白等蛋白质及其辅基组成，辅基主要有黄素单核苷酸和 Fe-S 辅基。 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 脱下的氢经复合体 I 中的 FMN、铁硫蛋白传递给泛醌，与此同时伴有质子从线粒体内膜基质侧泵到膜间隙。

现已发现烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+) 或称辅酶 I (coenzyme I, Co I) 为 100 多种脱氢酶的辅酶 (图 6-1)。

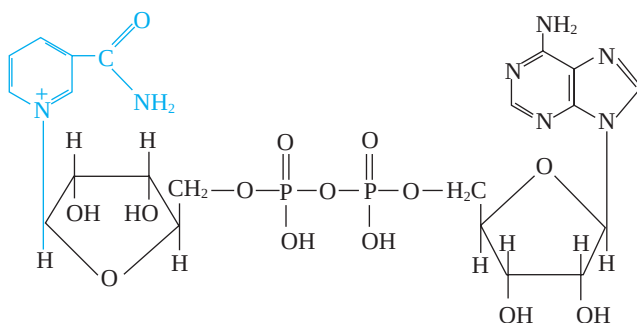


图 6-1 NAD^+ 结构

NAD^+ 的主要功能是接受从底物上脱下的 2H ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$)，然后传递给黄素蛋白辅基 FMN。在生理 pH 条件下，烟酰胺中的氮 (吡啶氮) 为五价氮，它能可逆地接受电子而成为三价氮，与氮对位的碳也较活泼，能可逆地加氢还原，故可将 NAD^+ 视为递氢体。反应时， NAD^+ 中的烟酰胺部分可接受 1 个氢原子和 1 个电子，尚有 1 个质子 (H^+) 留在介质中 (图 6-2)。

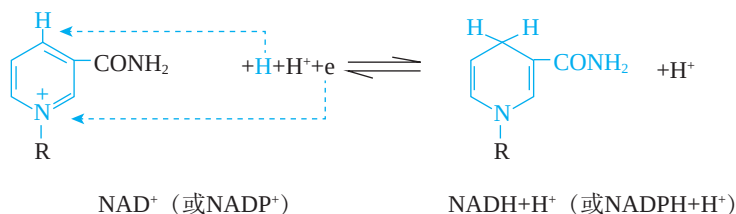


图 6-2 NAD^+ 的加氢和 NADH 的脱氢反应

此外，尚有不少脱氢酶的辅酶为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP^+)，或称辅酶 II (coenzyme II, Co II)。当此类酶催化底物脱氢后，其辅酶被还原为 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ，它必须经吡啶核苷酸转氢酶 (pyridine nucleotide transhydrogenase) 的作用将还原当量转移给 NAD^+ (图 6-3)，然后再经呼吸链传递。 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 一般为合成代谢或羟化反应提供氢。

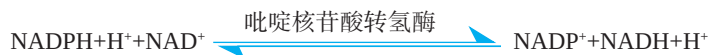


图 6-3 NADPH 还原当量转移给 NAD^+

黄素蛋白 (flavoprotein, FP) 种类很多，其辅基有两种，即黄素单核苷酸 (flavin mononucleotide, FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD)，两者均含有核黄素 (图 6-4)。FMN、FAD 分子异咯嗪环上的第 1 及第 10 位氮原子与活泼的双键连接，

这两个氮原子可反复接受或释放氢，进行可逆的脱氢或加氢反应，是递氢体（图 6-5）。

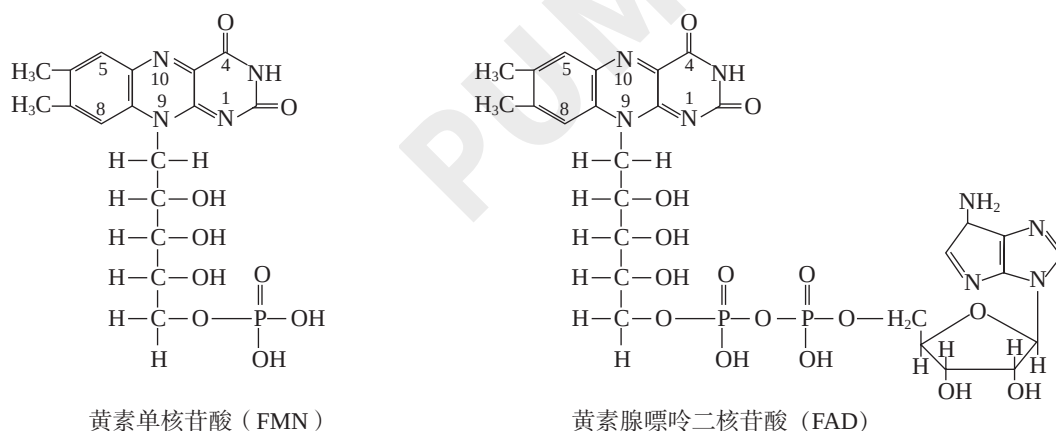


图 6-4 FMN、FAD 结构

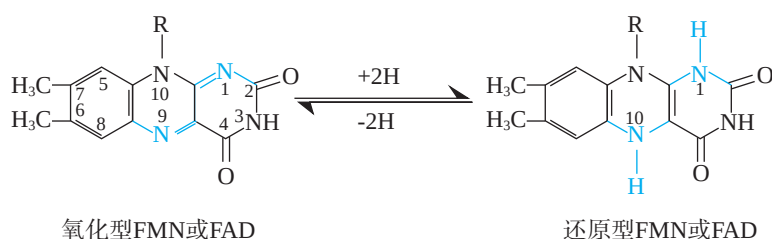


图 6-5 FMN 或 FAD 的加氢及 FMNH₂ 或 FADH₂ 脱氢反应

黄素蛋白可催化底物脱氢，脱下的氢可被该酶的辅基 FMN 或 FAD 接受。NADH- 泛醌还原酶是黄素蛋白的一种，它将氢由 NADH+H⁺ 转移到酶的辅基 FMN 上，使 FMN 还原为 FMNH₂。

铁硫簇 (iron-sulfur center, Fe-S, 又称铁硫中心) 是铁硫蛋白 (iron-sulfur protein) 的辅基, Fe-S 与蛋白质结合为铁硫蛋白。Fe-S 是 NADH- 泛醌还原酶的第二种辅基。铁硫簇含有等量的铁原子与硫原子, 有几种不同的类型 (图 6-6): ①有的只含有一个铁原子 FeS, Fe 离子与 4 个半胱氨酸残基的 S 原子相连; ②有的含有两个铁原子和两个无机硫原子 Fe₂S₂, 其中每个铁原子还与两个半胱氨酸残基的 S 原子相连; ③有的含有四个铁原子和四个无机硫原子 Fe₄S₄, 其中每个铁原子还与半胱氨酸残基的 S 原子相连。

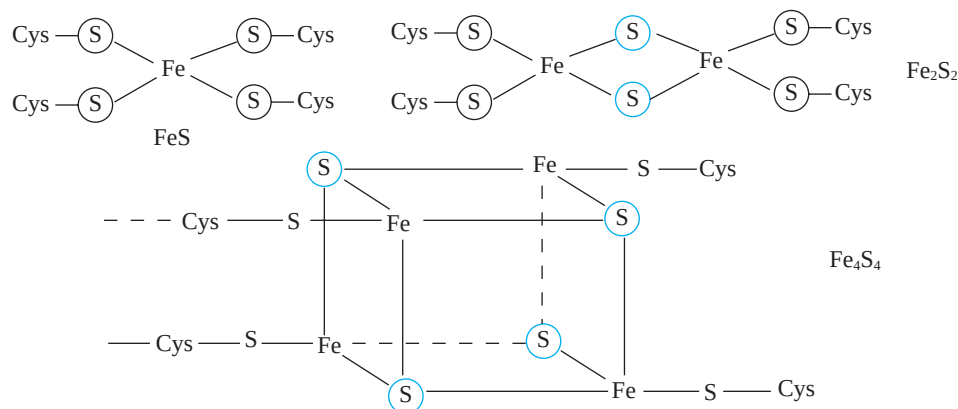
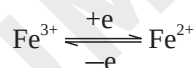


图 6-6 线粒体中铁硫中心的结构

⊙表示无机硫

铁硫蛋白分子中的一个铁原子能可逆地进行氧化还原反应，每次只能传递一个电子，为单电子传递体。



在呼吸链中，铁硫蛋白多与黄素蛋白或细胞色素 b 结合成复合物存在。铁硫蛋白也是复合体 II、III 的组成成分。

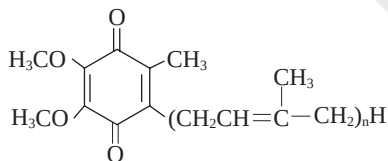


图 6-7 泛醌的结构

泛醌 (ubiquinone, UQ) 是一类脂溶性的醌类化合物，因为广泛分布于生物界而得名，又称为辅酶 Q (coenzyme Q, CoQ)。CoQ 中有一个长的多聚异戊二烯尾，异戊二烯单位的数目因物种而异 (图 6-7)。哺乳动物体内常见的形式是含 10 个异戊二烯单位，因此其符号为 Q_{10} 。

多聚异戊二烯尾使 UQ 的非极性很强，使它在线粒体内膜的碳氢相中迅速扩散。UQ 为脂溶性，分子较小，是呼吸链中唯一不与蛋白质紧密结合的递氢体。其分子的苯醌结构能可逆地加氢而还原形成对苯二酚衍生物。还原时泛醌先接受 1 个电子和 1 个质子还原成半醌，再接受 1 个电子和 1 个质子还原成二氢泛醌 (图 6-8)。UQ 在电子传递过程中的作用是将电子从 NADH-泛醌还原酶 (复合体 I) 或从琥珀酸-泛醌还原酶 (复合体 II) 转移到泛醌-细胞色素 c 还原酶 (复合体 III) 上。

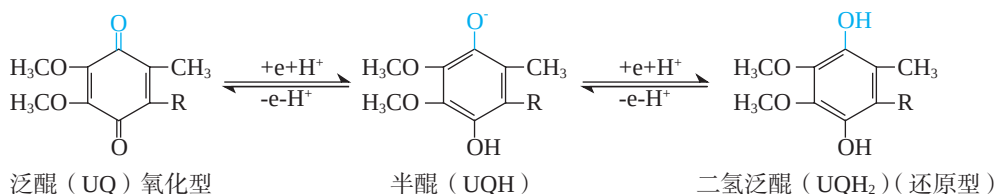


图 6-8 泛醌的加氢和脱氢反应

(二) 复合体 II

复合体 II 又称为琥珀酸-泛醌还原酶，人复合体 II 中含有以 FAD 为辅基的黄素蛋白、铁硫蛋白和细胞色素 b。以 FAD 为辅基的琥珀酸脱氢酶、脂酰辅酶 A 脱氢酶、 α -磷酸甘油脱氢酶等催化相应底物脱氢后，使 FAD 还原为 FADH_2 。电子的传递顺序是： FADH_2 传递电子到铁硫中心，然后传递给泛醌。该过程传递电子释放的自由能较小，不足以将 H^+ 泵出线粒体内膜，因此复合体 II 没有 H^+ 泵的功能。

(三) 复合体 III

复合体 III 又称泛醌-细胞色素 c 还原酶 (ubiquinone-cytochrome c reductase)。人复合体 III 含有两种细胞色素 b ($\text{Cyt } b_{562}$, b_{566})、细胞色素 c_1 、铁硫蛋白以及其他多种蛋白质。复合体 III 将电子从 UQ 传递给细胞色素 c，同时将质子从线粒体内膜基质侧转移至细胞质侧。

细胞色素 (cytochrome, Cyt) 是以血红素 (heme, 又称为铁卟啉) 为辅基的电子传递蛋白质 (图 6-9)，因具有颜色故名细胞色素。在呼吸链中其功能是将电子从 UQ 传递到氧。细胞色素广泛存在于各种生物中，种类很多。各种细胞色素的辅基结构、蛋白质结构及其连接方式均不相同，其最大吸收峰的波长和氧化还原电位也有差别。线粒体中的细胞色素根据其吸收光谱的吸收峰波长不同而分为三大类，分别为 Cyt a、Cyt b、Cyt c，每类又有各种亚类。在呼吸链中的细胞色素有 b、 c_1 、c、a、 a_3 。复合体 III 中有两种细胞色素 b，一种最大吸收峰波长在 562nm，写作 b_{562} ，因还原电位高，也称为 b_H ；另一种最大吸收峰波长在 566nm，写作 b_{566} ，因还原电位低，也称为 b_L 。细胞色素各辅基中的铁离子可以得失电子，进行可逆的氧化还原

反应, 因此起到传递电子的作用, 为单电子传递体。

细胞色素 c 是呼吸链唯一的水溶性球状蛋白, 分子量较小, 与线粒体内膜结合疏松, 不包含在上述复合体中, 是除 UQ 外另一个可在线粒体内膜外侧移动的递电子体, 从复合体 III 中的 Cyt c_1 获得电子传递给复合体 IV。

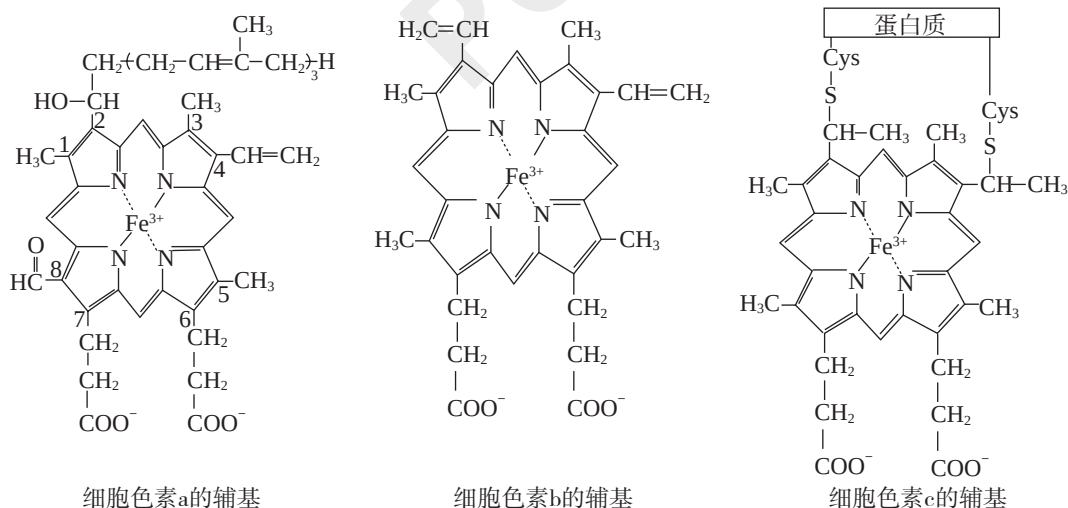


图 6-9 细胞色素 a、b、c 的辅基

(四) 复合体 IV

复合体 IV 又称为细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase)。人复合体 IV 包含 13 个亚基、2 个辅基 Cyt a 和 Cyt a_3 、2 个 Cu 离子位点 Cu_A 和 Cu_B 。其中亚基 I ~ III 是电子传递的功能性亚基, 由线粒体基因编码, 其他 10 个亚基起调节作用。Cyt a 与 Cyt a_3 很难分开, 组成一复合体, 细胞色素 a_3 和 Cu_B 定位接近, 形成 1 个 Fe-Cu 中心。此外, 亚基 II 通过 2 个半胱氨酸残基稳定结合 2 个 Cu 离子, 形成类似 Fe_2S_2 铁硫中心的结构, 称为 Cu_A ; 亚基 I 结合 1 个 Cu 离子, 称为 Cu_B 。复合体 IV 的功能是将电子从 Cyt c 通过复合体 IV 传递到氧, 同时引起质子从线粒体内膜基质侧向细胞质侧移动。复合体 IV 中有 4 个氧化还原中心: Cyt a、Cyt a_3 、 Cu_B 、 Cu_A 。电子传递顺序如下:



底物氧化后脱下的氢, 通过以上呼吸链组成成分将电子传递到氧 (图 6-10), 从而激活了氧, 氢由于给出电子被氧化而激活形成 H^+ , 最终被激活的氢和氧结合成水。

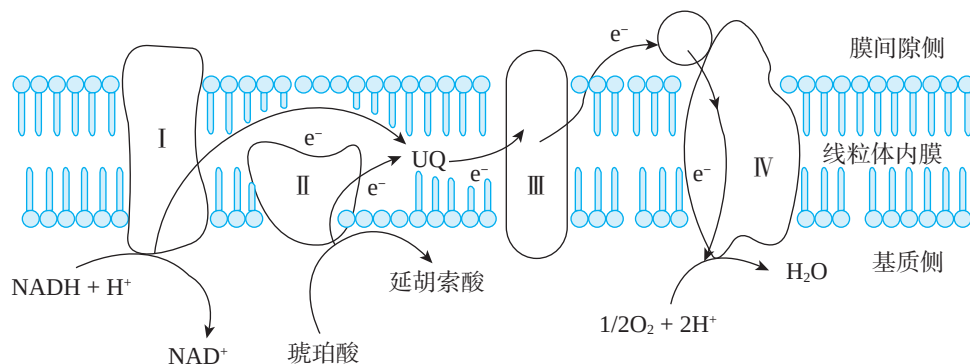


图 6-10 呼吸链四个复合体传递顺序示意图

二、呼吸链中各组分的排列顺序

在呼吸链中，各种电子传递体是按一定顺序排列的，呼吸链各组分的排列顺序由下列实验确定。

(一) 呼吸链各组分的标准氧化还原电位测定实验

氧化还原电位表示氧化剂得到电子的能力或还原剂失去电子的能力（表 6-3），呼吸链中电子流动趋向从还原电位低（电子亲和力弱）的成员向还原电位高（电子亲和力强）的成员方向流动，据此可以推论呼吸链中电子传递的方向。

表6-3 呼吸链相关电子传递体的标准氧化还原电位

氧化还原反应	$E^{\ominus}$ (V)	氧化还原反应	$E^{\ominus}$ (V)
$2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow 2\text{H}$	-0.41	$\text{Cyt } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e} \rightarrow \text{Cyt } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{NAD}^{+} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^{+}$	-0.32	$\text{Cyt } c (\text{Fe}^{3+}) + \text{e} \rightarrow \text{Cyt } c (\text{Fe}^{2+})$	0.25
$\text{FMN} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow \text{FMNH}_2$	-0.22	$\text{Cyt } a (\text{Fe}^{3+}) + \text{e} \rightarrow \text{Cyt } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{FAD} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow \text{FADH}_2$	-0.22	$\text{Cyt } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e} \rightarrow \text{Cyt } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.35
$\text{UQ} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow \text{UQH}_2$	0.06	$1/2\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2\text{e} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.82
$\text{Cyt } b (\text{Fe}^{3+}) + \text{e} \rightarrow \text{Cyt } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077		

$E^{\ominus}$ 表示在 pH=7.0，25℃，1mol/L 反应物浓度测得的标准氧化还原电位

(二) 呼吸链各组分特有的吸收光谱测定实验

呼吸链不少组分有特殊的吸收光谱，而且得失电子后光谱发生改变，如 NAD^{+} 因含腺苷酸，故在 260nm 处有一吸收峰，而还原成 $\text{NADH} + \text{H}^{+}$ 后，在 340nm 处可出现一个新的吸收峰；FAD 和 FMN 在 370nm 和 450nm 波长有吸收峰，但当接受氢还原后，则 450nm 处吸收峰消失；再如各种细胞色素，在还原状态时各具有一种特殊吸收光谱，氧化后则消失。因此可利用这种特殊性通过分光光度法来观察各组分的氧化还原状态。将分离得到的完整线粒体置于无氧（电子受体）、有过量底物（电子供体）存在的条件下，使呼吸链各组分全部处于还原状态，然后缓慢给氧，观察各组分被氧化的顺序。最接近氧的组分，首先供出电子被氧化，其次被氧化的为倒数第二个组分，依此类推，这样获得的排列顺序与按标准氧化还原电位得到的顺序完全一致，更进一步确定了呼吸链各组分的排列顺序。

(三) 呼吸链抑制剂阻断实验

呼吸链某些组分的电子传递可被一些特异的抑制剂阻断，结果在阻断部位之前的电子传递体处于还原状态，而在阻断部位之后的电子传递体则呈氧化状态。因此，采用不同的抑制剂，阻断不同部位的电子传递，分析各组分的氧化还原状态，就可以推断出呼吸链各组分的排列顺序。

(四) 呼吸链拆开和重组实验

在体外将呼吸链进行拆开和重组，呼吸链四个复合体按一定组合及顺序完成电子传递过程，这也进一步证实了呼吸链的排列顺序。

三、体内重要的呼吸链

目前认为，线粒体内主要的呼吸链有两条，即 NADH 氧化呼吸链和 FADH_2 氧化呼吸链。

(一) NADH 氧化呼吸链

以 NADH 为氢和电子的供体，经复合体 I 开始，最终传递电子到氧生成 H_2O 的途径称为

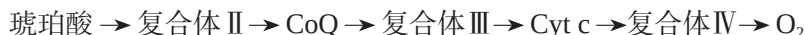
NADH 氧化呼吸链。因为生物氧化过程中绝大多数脱氢酶都是以 NAD^+ 为辅酶，所以 NADH 氧化呼吸链是体内最常见的一条呼吸链。其电子传递顺序是：



体内多种代谢物如苹果酸、异柠檬酸等在相应酶的催化下，脱下 2H ，交给 NAD^+ 生成 $\text{NADH} + \text{H}^+$ ， $\text{NADH} + \text{H}^+$ 经复合体 I 将 2H 传递给 UQ 形成 UQH_2 ， UQH_2 在复合体 III 作用下脱下 2H ，其中 2H^+ 游离于介质中，而 2e 则通过一系列细胞色素体系中金属离子的氧化还原反应，并沿着 $\text{b} \rightarrow \text{c}_1 \rightarrow \text{c} \rightarrow \text{aa}_3 \rightarrow \text{O}_2$ 顺序逐步传递给氧生成氧离子 (O^{2-})，后者与介质中的 2H^+ 结合生成水。每 2H 通过此呼吸链氧化生成水时，所释放的能量可以生成 2.5 分子 ATP。

(二) FADH_2 氧化呼吸链

底物脱下的氢交给 FAD，使 FAD 还原为 FADH_2 ，以 FADH_2 为氢和电子的供体，经复合体 II 开始，最终传递电子到氧生成 H_2O 的途径称为 FADH_2 氧化呼吸链。此呼吸链最早发现于琥珀酸生成 FADH_2 参与电子传递，因此又称为琥珀酸氧化呼吸链。其电子传递顺序是：



琥珀酸脱氢酶、脂酰辅酶 A 脱氢酶和 α -磷酸甘油脱氢酶催化底物脱下的氢均通过此呼吸链氧化。每 2H 经此呼吸链氧化生成水时，所释放的能量可以生成 1.5 分子 ATP。

第三节 ATP 的生成、利用和储存

一、ATP 的重要性

在机体的能量代谢中，ATP 作为能量载体分子，是机体各种生理活动的直接能量供应者。生物体不能直接利用糖、脂肪、蛋白质等营养物质的化学能，需要将它们氧化分解转变成可利用的能量形式，如 ATP 等高能磷酸化合物的化学能。ATP 几乎是所有组织细胞能直接利用的最主要的高能化合物，在机体能量代谢中处于中心地位。

不同化学物质水解时释放的自由能各不相同。生物体内，普通的磷酸化合物水解时释放的标准自由能 ($\Delta G^\ominus$) 为 $-8 \sim -12\text{kJ/mol}$ ，而 ATP 中的磷酸酐键水解时，释放的 $\Delta G^\ominus$ 为 -30.5kJ/mol (-7.3kcal/mol)。在生物化学中，把水解时释出的自由能大于 -20.9kJ/mol 的化合物称为高能化合物，而含有磷酸基的高能化合物被称为高能磷酸化合物，其水解时释放能量较多的磷酸酯键称为高能磷酸键 (energy-rich phosphate bond)，以 $\sim \text{P}$ 表示。因为一个化合物水解时释放的自由能多少取决于这个化合物整个分子的结构以及反应体系的情况，而不是由哪个特殊化学键的断裂所致。实际上，高能磷酸键水解释放的能量是底物在转变成产物的过程中，产物的自由能远低于底物的自由能，因而释放较多的自由能。但是，为了方便解释一些生物化学反应，高能磷酸化合物或高能磷酸键仍被生物化学界广泛采用。在生物体内还有一类高能键，由酰基和硫醇基构成，称为高能硫酯键。常见的高能化合物归纳见表 6-4。

表6-4 高能化合物及其种类

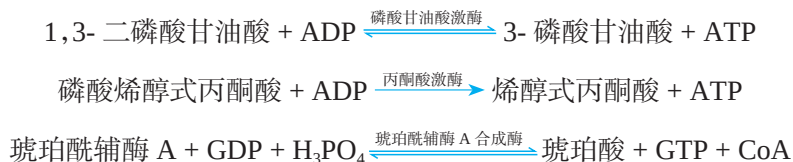
类型	通式	举例	$\Delta G^\ominus$ (kJ/mol)
酸酐类 (焦磷酸化合物)	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{O}-\text{P}(\sim\text{P})_2 \\ \text{R}-\text{O}-\text{P}(\sim\text{P})_2 \end{array}$	ATP、GTP 等 ADP、GDP 等	-30.5
烯醇磷酸	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{P} \end{array}$	磷酸烯醇式丙酮酸	-60.9
混合酐 (酰基磷酸)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{P} \end{array}$	1,3-二磷酸甘油酸	-61.9
磷酸胍类	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}-\text{P} \end{array}$	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

体内 ATP 的生成方式有两种，即底物水平磷酸化和氧化磷酸化。氧化磷酸化是体内 ATP 生成的最主要的方式。

(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)。糖代谢一章中提到过三个底物水平磷酸化反应：



(二) 氧化磷酸化

氧化磷酸化又称为电子传递水平磷酸化。在生物氧化过程中，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)。氧化是放能反应，而 ADP 磷酸化生成 ATP 是吸能反应，所以体内的吸能反应与放能反应总是偶联进行的 (图 6-11)。这种方式生成的 ATP 约占 ATP 生成总量的 80%，是维持生命活动所需能量的主要来源。

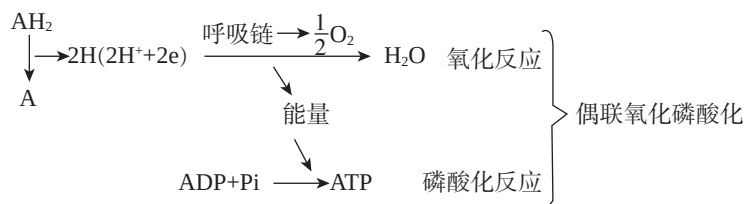


图 6-11 氧化与磷酸化的偶联

1. 氧化磷酸化偶联部位 根据下述实验方法及数据可以大致确定氧化磷酸化偶联部位，即 ATP 的生成部位。

(1) P/O 比值：通常情况下，一对电子通过氧化呼吸链传递给 1 个氧原子生成 1 分子 H₂O，其释放的能量使 ADP 磷酸化合成 ATP。将底物、ADP、H₃PO₄、Mg²⁺ 和分离得到的较完整的线粒体在模拟细胞内液的环境中于密闭小室内相互作用。发现在消耗氧气的同时，也消耗磷酸，测得氧气和磷酸（或 ADP）的消耗量，即可计算出 P/O 比值。P/O 比值（P/O ratio）是指物质氧化时，每消耗 1/2mol O₂（1mol 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。由于无机磷酸的消耗伴随 ATP 的生成（ADP + H₃PO₄ → ATP）因此，从 P/O 比值可以了解物质氧化时每消耗 1/2mol O₂ 所生成 ATP 的摩尔数。通过测定几种物质氧化时的 P/O 比值，可大致推测出偶联部位（表 6-5）。已知 β- 羟丁酸的氧化是通过 NADH 呼吸链，测得 P/O 比值接近于 2.5。琥珀酸氧化时经 FAD、CoQ 到 O₂，测得 P/O 比值接近于 1.5，因此表明在 NAD⁺ 与 UQ 之间存在偶联部位。抗坏血酸经 Cyt c 进入呼吸链，P/O 比值接近于 1，而还原型 Cyt c 经 Cyt aa₃ 被氧化，P/O 比值也接近 1，表明在 aa₃ 到氧之间存在偶联部位。β- 羟丁酸、琥珀酸和还原型 Cyt c 氧化时 P/O 比值的比较表明，在 UQ 与 Cyt c 之间存在另一偶联部位。经实验证实，一对电子经 NADH 呼吸链传递，P/O 比值约为 2.5，生成 2.5 分子的 ATP；一对电子经 FADH₂ 呼吸链传递，P/O 比值约为 1.5，生成 1.5 分子的 ATP。

表6-5 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	生成ATP数
β- 羟丁酸	NAD ⁺ → FMN → UQ → Cyt → O ₂	2.4 ~ 2.8	2.5
琥珀酸	FAD → UQ → Cyt → O ₂	1.7	1.5
抗坏血酸	Cyt c → Cyt aa ₃ → O ₂	0.88	0.5
细胞色素 c (Fe ²⁺)	Cyt aa ₃ → O ₂	0.61 ~ 0.68	0.5

(2) 自由能变化：生物化学中，通常将 pH = 7.0 时的标准自由能称为生物体内的标准自由能（ΔG[∘]）。在氧化还原反应或电子传递反应中，自由能变化和电位变化（ΔE[∘]）之间的关系如下：

$$\Delta G^{\ominus} = -nF \Delta E^{\ominus}$$

n 为传递电子数；F 为法拉第常数，F = 96.5 kJ/(mol · V)，现已知每产生 1mol ATP，需要能量 30.5 kJ（或 7.3 kcal），根据以上公式计算电子传递链有三处较大的自由能变化（图 6-12）：

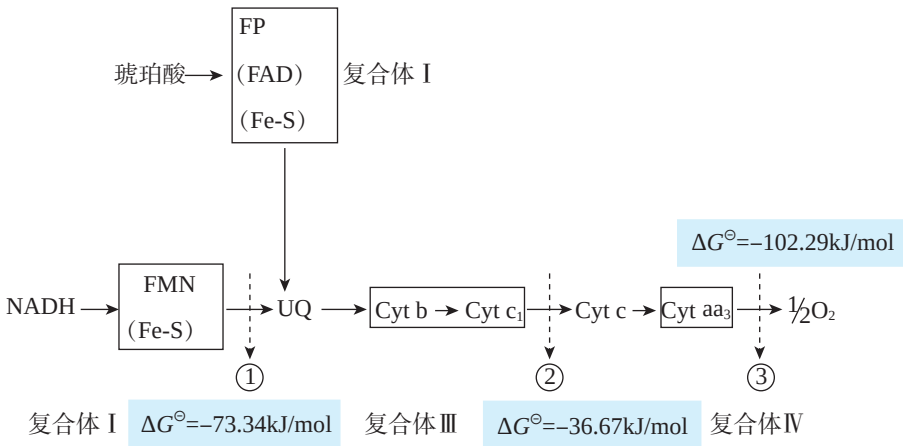


图 6-12 氧化磷酸化偶联部位

部位①在 NADH 和 CoQ 之间: $\Delta E^\ominus = 0.38\text{V}$, 相应 $\Delta G^\ominus = -73.34\text{kJ/mol}$ 。

部位②在 CoQ 和 Cyt c 之间: $\Delta E^\ominus = 0.19\text{V}$, 相应 $\Delta G^\ominus = -36.67\text{kJ/mol}$ 。

部位③在 Cyt aa₃ 和 O₂ 之间: $\Delta E^\ominus = 0.53\text{V}$, 相应 $\Delta G^\ominus = -102.29\text{kJ/mol}$ 。

电子传递链的其他部位释放出的能量不足以合成一个 ATP, 故以热能形式散发。

2. 氧化磷酸化偶联机制 关于氧化磷酸化的机制主要有三种假说, 包括构象偶联假说、化学偶联假说和化学渗透假说。目前被普遍接受的是化学渗透假说 (chemiosmotic hypothesis), 该假说是 1961 年由英国生物化学家 Peter Mitchell 提出的。他于 1978 年获诺贝尔化学奖。其基本要点是: 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细胞质侧, 而线粒体内膜不允许质子自由回流, 因此产生膜内外两侧电化学梯度 (H^+ 浓度梯度和跨膜电位差), 外面的 pH 比里面的低 1.4 个单位, 膜电势为 0.14V, 外正内负, 以此储存能量。当质子顺梯度回流到基质时驱动 ADP 与 H_3PO_4 生成 ATP, 由转移的质子数可以计算出呼吸链生成的 ATP 数。传递 1 对电子时, 复合体 I、III、IV 分别由线粒体内膜基质侧向细胞质侧泵出 4、4、2 个质子。而每生成 1 个 ATP 需要 4 个质子通过 ATP 合酶返回线粒体基质。在复合体 I、III、IV 处分别生成 1、1、0.5 个 ATP。所以 NADH 氧化呼吸链每传递 2H, 生成 2.5 分子 ATP; FADH_2 氧化呼吸链每传递 2H, 生成 1.5 分子 ATP。

3. ATP 合酶

(1) ATP 合酶的组成及功能: ATP 合酶 (ATP synthase) 又称复合体 V, 位于线粒体内膜基质面和嵴的表面 (图 6-13)。用生物化学技术分离得到的 ATP 合酶主要由疏水的 F_0 部分和亲水的 F_1 部分组成。其中 F_0 的 “o” 是字母 o, 不是数字 0。 F_0 是抗生素寡霉素 (oligomycin) 结合的部位, 寡霉素与 F_0 结合后可抑制 ATP 和酶活性。 F_1 代表第一个被鉴定的与氧化磷酸化有关的因子, 为线粒体内膜的基质侧颗粒状突起, 由 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ 亚基组成, 其功能是催化生成 ATP。催化部位在 β 亚基, 但 β 亚基必须与 α 亚基结合才有活性。 F_0 镶嵌在线粒体内膜中, 由 $\text{ab}_2\text{c}_{8-15}$ 亚基组成, 形成跨内膜质子通道。当质子顺梯度经 F_0 回流时, F_1 催化 ADP 和磷酸化生成 ATP。

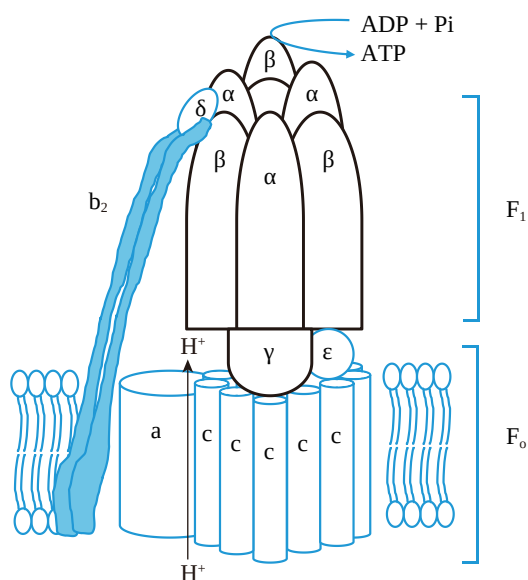


图 6-13 ATP 合酶结构模式图

(2) ATP 合酶的工作机制: 1979 年 Paul Boyer 提出一种结合 - 变换机制 (binding-change mechanism)。ATP 合酶 β 亚基有 3 种构象 (图 6-14): 第一种是 “O” 状态, 即是开放型, 对

底物的亲和力极低, 这种状态可释放合成的 ATP。第二种状态是“L”形式, 即疏松型, 可疏松结合 ADP 和 H_3PO_4 , 无催化活性。第三种是“T”形式, 即紧密型, 与底物结合紧密, 并有催化活性。活性中心催化 ADP 和 H_3PO_4 生成 ATP, 但与产物 ATP 结合紧密, 不能释放。所有 ATP 合酶的作用是由质子动力所驱动的。 H^+ 回流释放能量主要是促进合成的 ATP 从 β 亚基活性中心上释放, 而 ADP 和 H_3PO_4 在活性中心生成 ATP 不是主要耗能阶段。由于 F_0 、 F_1 亚基复合体中 γ 和 ϵ 亚基利用 H^+ 回流能量驱动旋转, 影响周围 3 组 α 、 β 亚基分别处于 L、T、O 三种构象, 并周期性反复变构, 不断结合 ADP 和 H_3PO_4 生成 ATP 并释放。

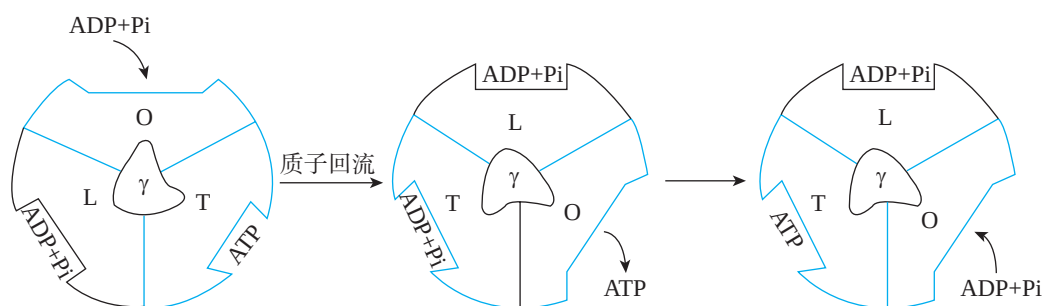


图 6-14 ATP 合酶的工作机制

4. 影响氧化磷酸化的因素

(1) ADP 和 ATP 浓度的调节: 氧化磷酸化速度主要受机体对能量需求的影响。细胞需要能量时, ATP 分解为 ADP 和 H_3PO_4 。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。反之, ATP 充足, ADP/ATP 比值减小, 使氧化磷酸化速度减慢。这种 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)。呼吸控制的定量表示法是测定有 ADP 存在时氧的利用速度和没有 ADP 时氧的利用速度的比值。完整的线粒体其呼吸控制值可高达 10 以上, 而受损伤或衰老的线粒体此值可能低于 1, 这就意味着, 电子传递速度和 ATP 的形成已失去偶联或很少偶联。因此, 呼吸控制值也可以作为鉴定分离线粒体完整性和氧化磷酸化偶联状况的指标, 比值越高, 线粒体完整性越好, 氧化和磷酸化偶联状态越好。

对氧化磷酸化的调节作用可使 ATP 的生成速度适应生理需要, 合理利用并节约能量。正常生理情况下, 氧化磷酸化的速率主要受 ADP 的调节, 可通过测定离体肝线粒体悬液中氧消耗的速度而观察到 (图 6-15)。

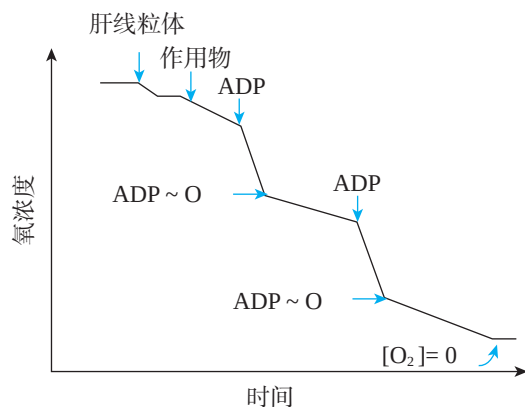


图 6-15 ADP 对氧化磷酸化的调节

向离体肝线粒体悬液中加入底物（电子供体）时氧耗量变化不大，这时加入 ADP 后则氧消耗量迅速增加，电子传递快速进行，ATP 合成增多；在一定时间内当所加的 ADP 全部转变为 ATP 时，则氧消耗量减慢，电子传递速度降到没加 ADP 以前的速度。再向体系中加入 ADP 又可促进氧化磷酸化，直到底物或氧耗尽为止。

(2) 激素的调节：甲状腺激素可活化许多组织细胞膜上的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶，使 ATP 加速分解为 ADP 和 H_3PO_4 ，ADP 增加促进氧化磷酸化。由于 ATP 的合成和分解速度均增加，另外甲状腺激素 (T_3) 还可使解偶联蛋白基因表达增加，因而引起耗氧和产热均增加。所以甲状腺功能亢进的患者基础代谢率增高。

(3) 氧化磷酸化抑制剂：氧化磷酸化为机体提供生命活动所需的 ATP，抑制氧化磷酸化无疑会对机体造成严重后果。氧化磷酸化抑制剂主要有三类：

① 解偶联剂 (uncoupler)：不影响呼吸链的电子传递，只抑制由 ADP 生成 ATP 的磷酸化过程，P/O 比值降低甚至为零。解偶联剂中最常见的是 2,4-二硝基苯酚 (dinitrophenol, DNP)，它是脂溶性物质，在线粒体内膜中可以自由移动，在细胞质侧结合 H^+ ，返回基质侧释出 H^+ ，从而破坏了线粒体内膜两侧的电化学梯度，故不能生成 ATP，导致氧化磷酸化呈现解偶联。感冒或某些传染性疾病时，由于病毒或细菌产生一种解偶联剂，使呼吸链释放的能量较多地以热能的形式散发，使体温升高。

氧化磷酸化的解偶联作用可发生于新生儿的棕色脂肪组织，其线粒体内膜上有解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1)。它是由 2 个 32kDa 的亚基组成的二聚体蛋白质，具有质子通道的功能。线粒体内膜两侧的 H^+ 顺浓度梯度经解偶联蛋白回流到基质，破坏了膜两侧的质子梯度，质子经此通道回流所产生的电化学势能不能驱动 ATP 的生成，而是以热能的形式释放。新生儿可通过这种机制产热，维持体温。

② 电子传递抑制剂：可分别抑制呼吸链中的不同环节，使底物氧化过程（电子传递）受阻，则偶联的磷酸化也无法进行（图 6-16）。常见的电子传递抑制剂有鱼藤酮 (rotenone)、粉蝶霉素 A (piericidin A)、异戊巴比妥 (amobarbital) 等，它们与复合体 I 中的铁硫蛋白结合，从而阻断电子传递。抗霉素 A (antimycin A)、二巯丙醇 (dimercaptopropanol, BAL) 抑制复合体 III 中 Cyt b 与 Cyt c_1 间的电子传递。 CN^- 、叠氮化合物 (N_3^-) 与复合体 IV 氧化型 Cyt a_3 紧密结合，CO 与还原型 Cyt a_3 结合，所以 CN^- 、 N_3^- 、CO 均可阻止细胞色素氧化酶和氧之间的电子传递。建筑装饰材料中含有 N 和 C，遇到火灾高温可形成 HCN，加上燃烧不完全的 CO，会抑制呼吸链电子传递，导致人员迅速死亡。

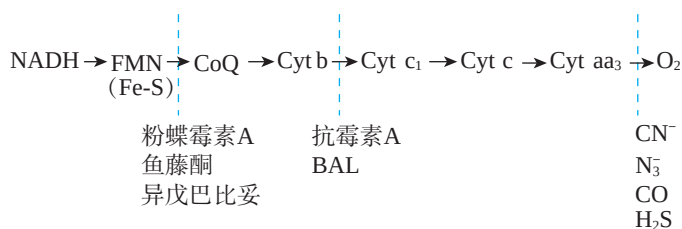


图 6-16 电子传递抑制剂的作用部位

③ ATP 合酶抑制剂：对电子传递及 ADP 磷酸化生成 ATP 均有抑制作用。寡霉素 (oligomycin) 和二环己基碳二亚胺 (dicyclohexyl carbodiimide, DCCP) 可阻止 H^+ 从 F_0 质子通道回流。由于线粒体内膜两侧质子化学梯度增高，影响氧化呼吸链质子泵的功能，继而抑制电子传递及磷酸化过程。

(4) 线粒体 DNA 突变对氧化磷酸化的影响：有 13 种参与氧化磷酸化蛋白质的亚基是由线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 编码的。它们是复合体 I、III、IV 和 ATP 合

酶的组成成分。另外, mtDNA 还编码 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA。mtDNA 为裸露环状双链结构, 没有组蛋白保护, 线粒体内也没有完善的 DNA 修复系统, 所以氧自由基等因素容易损伤 mtDNA, 使 mtDNA 发生突变。mtDNA 突变率比细胞核 DNA 高 10 倍以上。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。mtDNA 突变与聋哑、盲、老年性痴呆、肌无力、糖尿病、帕金森病等的发生相关。随年龄增长, mtDNA 突变积累, 病情加重。每个卵细胞中有数十万个 mtDNA 分子, 每个精细胞中只有几百个 mtDNA 分子, 受精卵 mtDNA 主要来自卵细胞, 因此卵细胞对 mtDNA 影响大, mtDNA 病以母系遗传较多。

三、ATP 的储存和利用

糖、脂肪、蛋白质在分解代谢过程中释放的能量大约有 40% 以化学能的形式储存在 ATP 分子中。ATP 在能量代谢中起核心作用, ATP 是体内最重要的高能磷酸化合物, 是细胞可以直接利用的能量形式。ATP 是生物体能量转移的关键物质, 它直接参与细胞中各种能量代谢的转移, 可接受代谢反应释出的能量, 亦可供代谢需要的能量。ATP 分子中有两个高能磷酸键, 在体外 pH 7.0、25℃ 标准状态下, 每摩尔 ATP 水解为 ADP 和 H_3PO_4 , $\Delta G^\ominus$ 为 -30.5kJ/mol 。在生理条件下, 受 pH、离子强度、2 价金属离子以及反应物浓度的影响, 人体内 ATP 水解时的 $\Delta G^\ominus$ 为 -51.6kJ/mol (12kcal/mol)。释放的能量供肌肉收缩、生物合成、离子转运、信息传递等生命活动之需。

ATP 是肌肉收缩的直接能源, 但其浓度很低, 每千克肌肉内的含量以 mmol 计, 当肌肉急剧收缩时, ATP 的消耗速度可高达 $6\text{mmol}/(\text{kg}\cdot\text{s})$, 远远超过营养物氧化时生成 ATP 的速度。这时肌肉收缩的能源就依赖于磷酸肌酸 (creatine phosphate)。磷酸肌酸是肌肉和脑组织中能量的贮存形式, 肌酸在肌酸激酶 (creatine kinase, CK) 的作用下, 由 ATP 提供能量转变成磷酸肌酸, 当肌肉收缩时 ATP 不足, 磷酸肌酸的 $\sim\text{P}$ 又可转移给 ADP, 使 ADP 重新生成 ATP, 供机体需要 (图 6-17)。

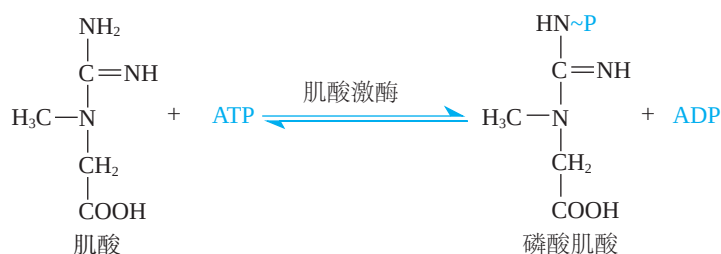


图 6-17 磷酸肌酸的生成

心肌与骨骼肌不同, 心肌是持续性节律性收缩与舒张, 在细胞结构上, 线粒体丰富, 它几乎占细胞总体积的 1/2, 而且能直接利用葡萄糖、游离脂肪酸和酮体为燃料, 经氧化磷酸化产生 ATP, 供心肌利用。心肌既不能大量贮存脂肪和糖原, 也不能贮存很多的磷酸肌酸, 因此, 一旦心血管受阻导致缺氧, 则极易造成心肌坏死, 即心肌梗死。

糖、脂肪、蛋白质的生物合成除需要 ATP 外, 还需要其他核苷三磷酸, 如糖原合成需 UTP, 磷脂合成需要 CTP, 蛋白质合成需要 GTP。这些核苷三磷酸的生成和补充, 不能从物质氧化过程中直接生成, 而主要来源于 ATP。由核苷单磷酸激酶 (nucleoside monophosphate kinase) 和核苷二磷酸激酶 (nucleoside diphosphate kinase) 催化磷酸基转移, 生成相应核苷三磷酸, 参与各种物质代谢, 包括用以合成核酸。



体内 ATP 的转移、储存和利用的关系总结见图 6-18。

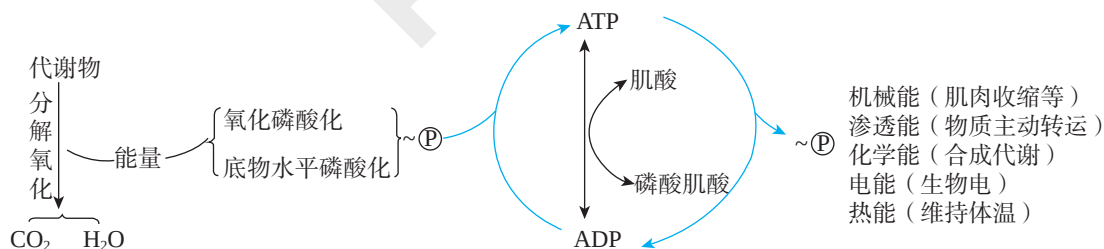


图 6-18 ATP 的生成、储存和利用

四、线粒体内膜对物质的转运

（一）胞质中 NADH 的氧化

线粒体内生成的 NADH 可直接参加氧化磷酸化过程，但胞质中生成的 NADH 不能自由通过线粒体内膜，故线粒体外 NADH 所携带的 2H 必须通过某种转运机制才能进入线粒体进行氧化磷酸化，这种转运机制主要有 α -磷酸甘油穿梭和苹果酸-天冬氨酸穿梭。

1. α -磷酸甘油穿梭 (glycerol α -phosphate shuttle) α -磷酸甘油穿梭主要存在于脑和骨骼肌中。线粒体外 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 在胞质中的 α -磷酸甘油脱氢酶催化下，使磷酸二羟丙酮还原成 α -磷酸甘油，后者进入线粒体，再经位于线粒体内膜近胞质侧的 α -磷酸甘油脱氢酶（辅基 FAD）催化下氧化生成磷酸二羟丙酮，FAD 接受氢生成 FADH_2 （图 6-19）。磷酸二羟基丙酮可穿出线粒体至胞质，继续进行穿梭作用。 FADH_2 则进入 FADH_2 氧化呼吸链，生成 1.5 分子 ATP。

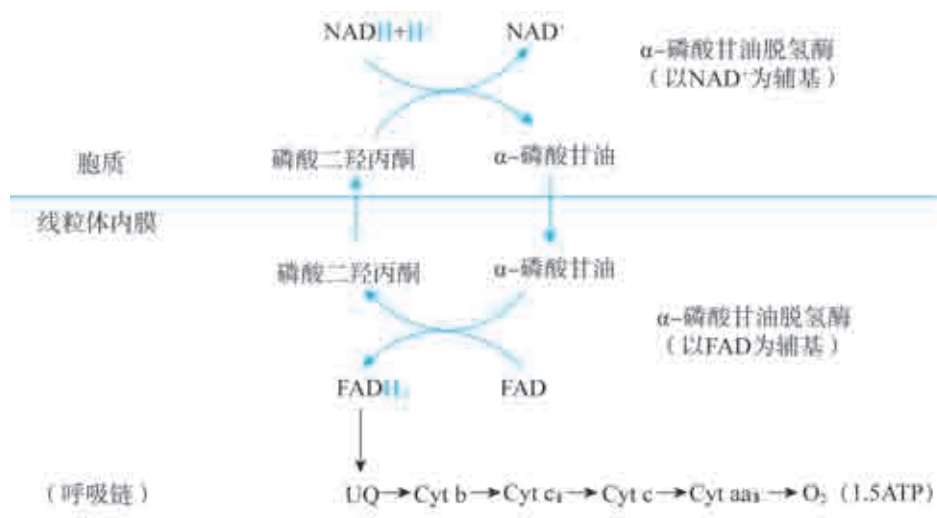


图 6-19 α -磷酸甘油穿梭作用

2. 苹果酸-天冬氨酸穿梭 (malate-aspartate shuttle) 苹果酸-天冬氨酸穿梭主要存在于肝和心肌中。胞质中的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 在苹果酸脱氢酶催化下使草酰乙酸还原为苹果酸，后者通过

线粒体内膜上的转运蛋白进入线粒体，又在线粒体内苹果酸脱氢酶的作用下重新生成草酰乙酸和 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 。 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 进入 NADH 氧化呼吸链，生成 2.5 分子 ATP。草酰乙酸不能穿过线粒体内膜，于是在谷草转氨酶催化下，与谷氨酸进行转氨基作用，生成天冬氨酸和 α -酮戊二酸，由转运蛋白转运至细胞质再进行转氨基作用生成草酰乙酸和谷氨酸，继续进行穿梭（图 6-20）。

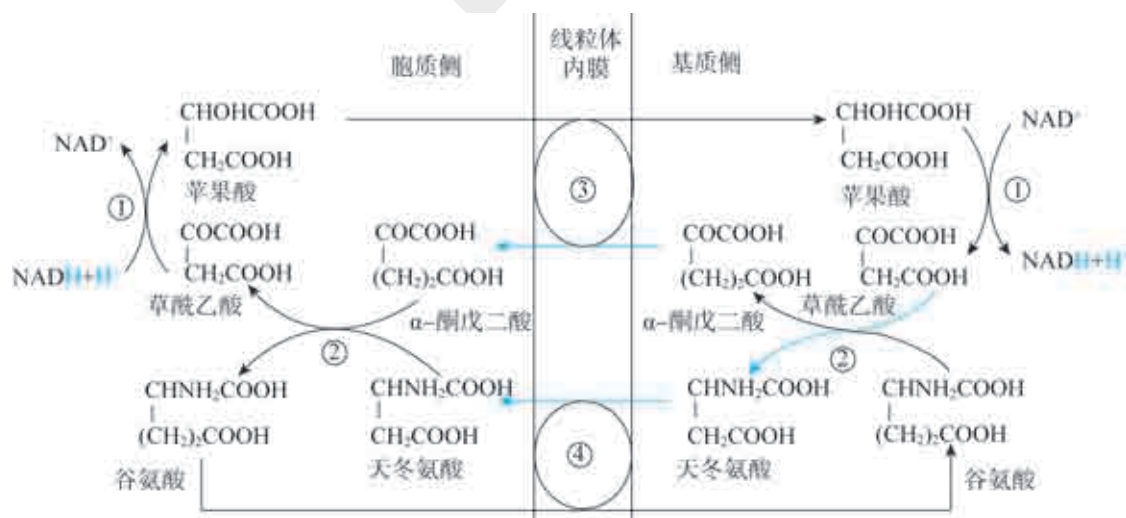


图 6-20 苹果酸 - 天冬氨酸穿梭作用

(二) ADP 和 ATP 的转运

线粒体内膜含有 ATP-ADP 转位酶 (ATP-ADP translocase)，又称为腺苷转位酶。由两个分子量为 30kDa 的亚基组成，含有一个腺苷酸结合位点，催化线粒体生成的 ATP 转运到内膜胞质侧，同时将胞质侧的 ADP 和 H_2PO_4^- 转运到基质（图 6-21）。

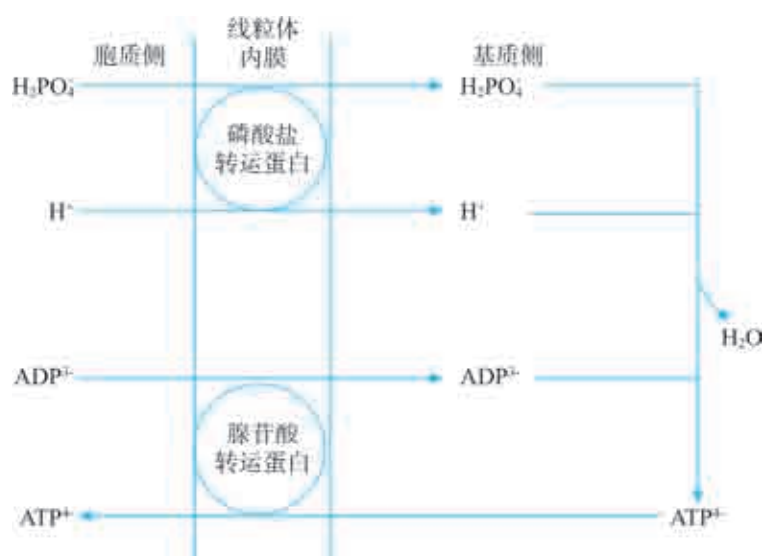


图 6-21 ATP、ADP、 H_2PO_4^- 的转运

第四节 非线粒体氧化体系

线粒体氧化体系是高等生物的主要氧化体系，此外还有在微粒体、过氧化物酶体以及细胞其他部位存在的氧化体系。这些线粒体以外的氧化体系统称为非线粒体氧化体系，该体系参与呼吸链以外的氧化作用，如自由基清除、 H_2O_2 的代谢等。这些氧化体系不伴有 ATP 的生成（氧化不偶联磷酸化），主要与体内代谢物、毒物和药物的生物转化有关。

一、微粒体氧化体系（加氧酶系）

微粒体（microsome）中存在加氧酶（oxygenase），催化氧直接转移并结合到底物分子中的酶称为加氧酶，根据向底物分子中加入氧原子数目的不同，又分为单加氧酶（monooxygenase）和双加氧酶（dioxygenase）。

（一）单加氧酶

单加氧酶催化的化学反应，反应时向底物分子中加入一个氧原子，生成的产物带有羟基，也称为羟化酶（hydroxylase）。该酶系可使氧分子中的一个氧原子加到底物分子上，使 RH 生成 ROH；而另一个氧原子从 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 中获得 H 被还原成水。由于氧分子的两个氧原子发挥两种不同的功能，故又称为混合功能氧化酶（mixed function oxidase）。单加氧酶的主要作用是：参与类固醇激素、胆汁酸、胆色素的生成，维生素 D_3 的羟化及药物、毒物的生物转化。反应中需要 NADPH、FAD、细胞色素 P_{450} 等参与。

细胞色素 P_{450} （cytochrome P_{450} ，Cyt P_{450} ）属于细胞色素 b 类，通过辅酶血红素中 Fe 离子进行单电子传递。还原型 P_{450} 与 CO 结合的产物在 450nm 波长处有最大吸收峰，故名细胞色素 P_{450} 。细胞色素 P_{450} 在生物体内广泛分布，哺乳动物 Cyt P_{450} 分属 10 个基因家族。人细胞色素 P_{450} 有 100 多种同工酶，对被羟基化的底物各有其特异性。它的作用类似于 Cyt aa₃，也是处于电子传递链的终端部位，能与氧直接反应。

单加氧酶催化的反应过程如下：



底物与氧化型 $\text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{3+}$ 结合成氧化型复合物 $\text{RH} \cdot \text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{3+}$ ， $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 将电子交给黄素蛋白辅基 FAD 生成 FADH_2 ， FADH_2 再将电子交给以 Fe-S 为辅基的铁氧还蛋白，使 $2(\text{Fe}_2\text{S}_2)^{3+}$ 还原为 $2(\text{Fe}_2\text{S}_2)^{2+}$ ， $\text{RH} \cdot \text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{3+}$ 接受铁氧还蛋白一个 e 后转变为还原型复合物 $\text{RH} \cdot \text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{2+}$ ，后者与 O_2 结合后将电子交给 O_2 形成 $\text{RH} \cdot \text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{3+} \cdot \text{O}_2^-$ ，再接受铁氧还蛋白的第二个 e，形成 $\text{RH} \cdot \text{P}_{450} \cdot \text{Fe}^{3+} \cdot \text{O}_2^{2-}$ 。此时一个氧离子使底物 RH 羟化为 ROH，另一个氧离子与来自 NADPH 中的质子结合成 H_2O （图 6-22）。

（二）双加氧酶

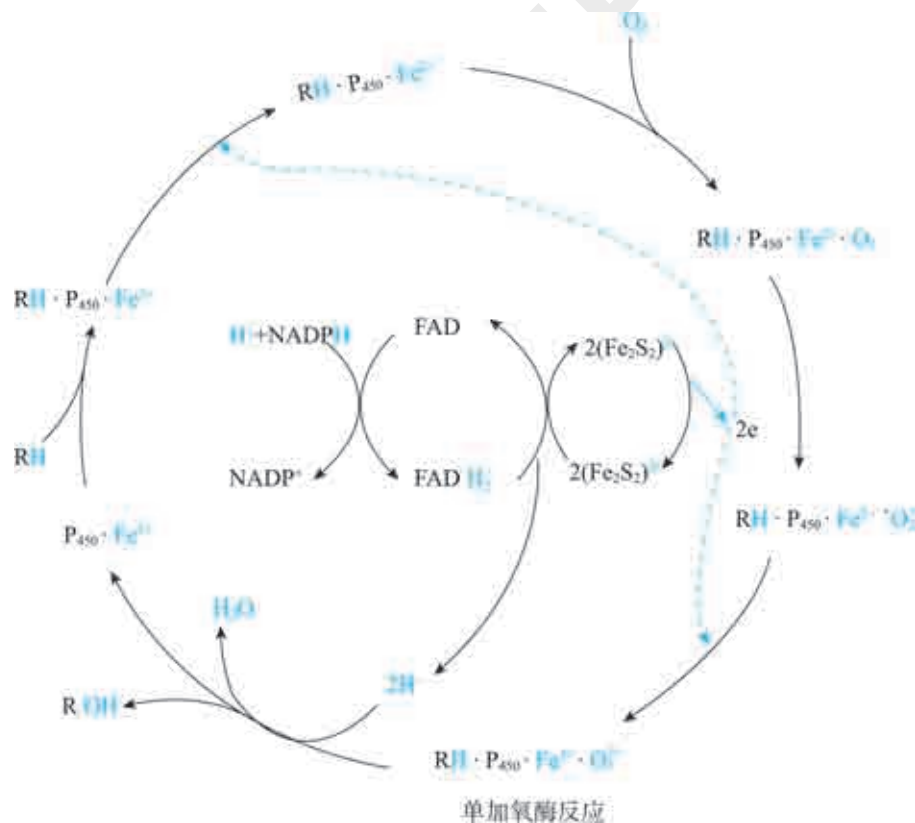
双加氧酶亦称氧转移酶（oxygen transferase），这类酶含铁离子，催化氧分子直接加到底物分子上，如色氨酸双加氧酶（tryptophan dioxygenase）、 β -胡萝卜素双加氧酶催化 2 个氧原子加到底物带双键的碳原子上。

基本反应如下：



二、活性氧清除体系

生物氧化过程中 O_2 必须接受细胞色素氧化酶传递的 4 个电子被彻底还原，最后生成 H_2O 。

图 6-22 微粒体细胞色素 P_{450} 单加氧酶反应机制

但是有的时候产生一些部分还原的氧的形式。 O_2 得到 1 个电子生成超氧阴离子 (superoxide anion, $\cdot O_2^-$)，接受 2 个电子生成过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2)，接受 3 个电子生成 H_2O_2 和羟基自由基 (hydroxyl free radical, $\cdot OH$)。 $\cdot O_2^-$ 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 这些未被完全还原的氧分子，其氧化能力远大于 O_2 ，统称为活性氧簇，又称反应活性氧类 (reactive oxygen species, ROS)。其中 $\cdot O_2^-$ 和 $\cdot OH$ 称为自由基。 H_2O_2 不是自由基，但是可以转变成羟自由基。线粒体的呼吸链是机体产生 ROS 的主要部位，呼吸链在传递电子的过程中，部分从各复合体漏出的电子直接传递给 O_2 ，产生了不完全还原的氧，这些分子就是反应活性氧类，也可看作线粒体氧化呼吸链的“副产物”。

正常情况下，物质在细胞线粒体、胞质、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。

H_2O_2 在体内有一定的生理作用，如中性粒细胞产生的 H_2O_2 可用于杀死吞噬的细菌，甲状腺中产生的 H_2O_2 可使酪氨酸碘化生成甲状腺激素。但对于大多数组织来说，活性氧则会对细胞有毒性作用。活性氧反应性极强，羟自由基是其中最强的氧化剂，也是最活跃的诱变剂。活性氧使 DNA 氧化、修饰甚至断裂，破坏核酸结构；氧化某些具有重要生理作用的含巯基的酶和蛋白质，使之丧失活性；还可以将生物膜的磷脂分子中高度不饱和脂肪酸氧化成脂质过氧化物，造成生物膜损伤，引起严重后果。如红细胞膜损伤就容易发生溶血，线粒体膜损伤则能量代谢受阻。脂质过氧化物与蛋白质结合成复合物进入溶酶体后不易被酶分解或排出，就可能形成一种棕色的称为脂褐素 (lipofuscin) 的色素颗粒，这与组织的老化有关。机体含有多种清除活性氧的酶将它们及时处理和利用。

(一) 过氧化物酶体氧化体系

过氧化物酶体是一种特殊的细胞器，存在于动物组织的肝、肾、中性粒细胞中。过氧化物

酶体主要通过过氧化氢酶和过氧化物酶发挥作用。

1. 过氧化氢酶 过氧化氢酶 (catalase) 又称触酶, 是一种含有 4 个血红素的血红蛋白。它可催化一分子 H_2O_2 作为电子供体, 另一分子 H_2O_2 作为氧化剂或电子受体。催化两分子 H_2O_2 反应生成水, 并放出 O_2 。过氧化氢酶还具有过氧化物酶的催化活性。



2. 过氧化物酶 过氧化物酶 (peroxidase) 的辅基是血红素, 与酶蛋白结合不紧密。过氧化物酶类催化过氧化氢还原, 释放出氧原子直接氧化酚类及胺类等有毒物质, 故它对机体有双重保护作用。



或者



在红细胞和某些组织中, 以含硒代半胱氨酸残基的谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx), 通过还原型谷胱甘肽将 H_2O_2 还原为 H_2O , 或者将其他过氧化物 (ROOH) 转变为醇类化合物, 同时产生氧化型谷胱甘肽 (图 6-23), 起到了保护膜脂质和血红蛋白免受过氧化物氧化的作用。



图 6-23 谷胱甘肽过氧化物酶作用机制

(二) 超氧化物歧化酶

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 是 1969 年 Fridovich 发现的一种普遍存在于生物体内的酶。该酶存在于所有重要的需氧组织中, 它是人体防御内、外环境中超氧离子对人体侵害的重要的酶。SOD 半衰期极短, 广泛存在于各组织中, 在胞质中, 该酶由 2 个相似的亚基组成, 以 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 为辅基, 称为 CuZn-SOD; 原核细胞和真核细胞线粒体中的酶相似, 均以 Mn^{2+} 为辅基, 称为 Mn-SOD; 在原核细胞中还有以 Fe^{2+} 为辅基的 Fe-SOD。它们是同工酶, 均能催化超氧离子的氧化还原, 生成 H_2O_2 与分子氧。



反应过程中, 1 分子超氧阴离子还原成 H_2O_2 , 另一分子则氧化成 O_2 , 故名歧化。如果 SOD 活性下降或含量减少, 会引起 O_2^- 堆积, 使机体免疫力降低, 诱发多种疾病 (如癌、动脉粥样硬化等)。所以及时补充 SOD, 可避免或减轻疾病。研究证明, SOD 对肿瘤的生长有抑制作用, SOD 亦可减少动物因缺血所造成的心肌区域性梗死的范围和程度。除了酶对自由基的清除作用外, 许多抗氧化剂如维生素 E、维生素 C、谷胱甘肽、 β -胡萝卜素、不饱和脂肪酸等都有清除自由基的作用。因此它们的医疗保健功能越来越受到人们的重视。

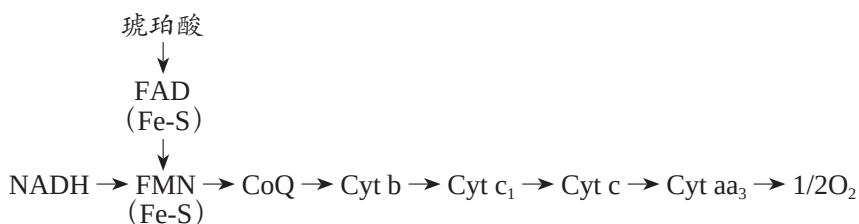
小 结

物质在生物体内进行氧化称为生物氧化。生物氧化在细胞的线粒体内外均可进行, 但氧化过程及意义不同。线粒体内生物氧化产生 CO_2 和水, 同时释放能量, 约 40% 的能量生成 ATP 以供生命活动之需。由于消耗氧, 产生 CO_2 , 所以也称为组织呼吸或细胞呼

吸。生物氧化不同于体外燃烧，它是在酶的催化下、体温、近于中性 pH 环境中逐步释放能量，二氧化碳通过有机酸的脱羧基作用生成。

生物氧化过程中，递氢体或递电子体按一定顺序排列在线粒体内膜上，组成电子传递链，该传递链进行的一系列连锁反应与细胞摄取氧的呼吸过程有关，故又称为呼吸链。呼吸链包含四个复合体，即复合体 I——NADH-泛醌还原酶、复合体 II——琥珀酸-泛醌还原酶、复合体 III——泛醌-细胞色素 c 还原酶、复合体 IV——细胞色素氧化酶。另外还有两种不包含在这些复合体中的组分——CoQ 和 Cyt c。

体内重要的呼吸链有两条，即 NADH 氧化呼吸链和 FADH_2 氧化呼吸链。这两条呼吸链各组分的排列顺序如下：



ATP 几乎是生物组织细胞内能够直接利用的唯一能源，体内 ATP 的生成方式有两种，即底物水平磷酸化和氧化磷酸化。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。代谢物脱下的氢经电子传递链传递给氧生成水，同时逐步释放能量，使 ADP 磷酸化生成 ATP 称为氧化磷酸化。通过测定不同底物经呼吸链氧化的 P/O 比值及呼吸链各组分间电位差与自由能变化，可知在 NADH-CoQ 之间、CoQ-Cyt c 之间、Cyt aa_3 - O_2 之间存在偶联部位，NADH 氧化呼吸链生成 2.5 分子 ATP， FADH_2 氧化呼吸链生成 1.5 分子 ATP。化学渗透假说是目前被普遍接受的氧化磷酸化机制学说。该假说认为电子经呼吸链传递时，可将 H^+ 从线粒体膜的基质侧泵到内膜外侧，产生跨膜的质子电化学梯度储存能量，当质子顺梯度经 ATP 合酶 F_0 回流时， F_1 催化 ADP 和 P_i 生成并释放 ATP。

氧化磷酸化受许多因素的影响：① ADP 浓度和 ADP/ATP 比值。当 ADP 浓度升高或 ATP 浓度降低时，氧化磷酸化加速；反之氧化磷酸化减慢。② 甲状腺激素促进 ATP 的合成与分解。③ 解偶联剂和电子传递抑制剂。解偶联剂可使氧化与磷酸化脱节，以致氧化过程照常进行但不能生成 ATP。电子传递抑制剂抑制呼吸链的不同部位，使氧化磷酸化无法进行。生物体内能量的转化、储存和利用都以 ATP 为中心，在肌肉和脑组织中，磷酸肌酸可作为能源的储存形式。

线粒体外 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 所携带的 2H 通过 α -磷酸甘油穿梭和苹果酸-天冬氨酸穿梭进入线粒体内进行氧化磷酸化。除线粒体外，体内还有非线粒体氧化体系，如微粒体、过氧化物酶体等，其特点是不伴有氧化磷酸化，不能生成 ATP，主要参与体内代谢物、药物和毒物的生物转化。

思考题

1. 何谓生物氧化？生物氧化与体外氧化有何异同？
2. 常见的呼吸链抑制剂有哪些？CO 中毒可以导致呼吸停止，其作用机制是什么？

3. 线粒体外的 NADH 如何进行氧化磷酸化?
4. 生物体内, 经呼吸链传递氢和电子的过程中, 能量是如何转化的? ATP 合酶在生成 ATP 过程中发挥了什么作用?
5. 影响氧化磷酸化的因素有哪些?
6. 生物体内 ATP 的生成、贮存和利用是如何运行的?

(王海生)

氨基酸代谢

第一节 概述

氨基酸具有重要的生理功能，不仅是组成蛋白质的基本单位，也是机体许多重要活性物质的前体或来源，这些生物活性物质参与各种物质的代谢过程。氨基酸在体内的物质代谢及能量代谢中具有重要意义，与机体正常功能的发挥密切相关，因此氨基酸代谢障碍也常伴随其他代谢改变。一些疾病常伴有氨基酸代谢的障碍，氨基酸代谢过程中的酶先天缺乏也是氨基酸代谢障碍的重要原因。

第二节 蛋白质的营养和氨基酸的生理作用

蛋白质是生命的物质基础，维持细胞、组织的生长、更新、修补以及催化、运输、代谢调节等均需要蛋白质参与。此外，蛋白质可以分解成其基本组成单位氨基酸，氨基酸在体内也可以作为能源物质氧化分解释放能量，或转变成其他重要物质。因此，提供足够食物蛋白质对正常代谢和各种生命活动的进行是十分重要的。对于生长发育的儿童和康复期的患者，供给足量、优质的蛋白质尤为重要。

一、氮平衡

机体内蛋白质代谢的概况可根据氮平衡（nitrogen balance）实验来确定。如前所述，蛋白质的含氮量平均为 16%。食物中的含氮物质绝大部分是蛋白质。因此测定食物的含氮量可以估算出其所含蛋白质的量。蛋白质在体内分解代谢所产生的含氮物质主要由尿、粪排出。测定尿与粪中的含氮量（排出氮）及摄入食物的含氮量（摄入氮），可以反映人体蛋白质的代谢概况。

1. 氮的总平衡 摄入氮 = 排出氮，反映正常成人的蛋白质代谢情况，即氮的“收支”平衡。

2. 氮的正平衡 摄入氮 > 排出氮，反映了摄入的部分氨基酸用于体内蛋白质合成。儿童、孕妇及恢复期患者属于此种情况。

3. 氮的负平衡 摄入氮 < 排出氮，见于蛋白质摄入量不足或过量降解，例如饥饿或消耗性疾病患者。

二、蛋白质的生理需要量

根据氮平衡实验计算，在不进食蛋白质时，成人每日最低分解约 20g 蛋白质。由于食物蛋白质与人体蛋白质组成的差异，不可能全部被利用，故成人每日需要 30 ~ 50g 蛋白质。为了长期保持总氮平衡，仍需增量才能满足要求，因此，中国营养学会推荐成人每日蛋白质需要量为 80g。

三、蛋白质的营养价值

在营养方面，不仅要注意膳食蛋白质的量，还必须注意蛋白质的质。由于各种蛋白质所含氨基酸的种类和数量不同，因此它们的质不同。有的蛋白质含有体内所需要的各种氨基酸，并且含量充足，此种蛋白质的营养价值（nutrition value）高；有的蛋白质缺乏体内所需要的某种氨基酸，或含量不足，则其营养价值较低。

人体内有 9 种氨基酸不能自身合成或合成不够，这些体内需要而又不能自身合成，必须由食物供应的氨基酸，称为营养必需氨基酸（nutritionally essential amino acid）。它们是赖氨酸、色氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸和组氨酸（表 7-1）。其余 11 种氨基酸在体内可以合成，不一定需要由食物供应，称为营养非必需氨基酸（nutritionally non-essential amino acid）。精氨酸虽能在人体内合成，但合成量不多，因此可将精氨酸视为营养半必需氨基酸。在营养非必需氨基酸中，有的氨基酸在某些特定条件下或者特殊时期（如儿童生长期）很重要，但自身合成的量不能满足需要，称为“条件必需”氨基酸（conditionally essential amino acid），包括精氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、脯氨酸和酪氨酸。一般来说，营养价值高的蛋白质含有营养必需氨基酸的种类多且数量足，营养价值低的则反之。由于动物性蛋白质所含营养必需氨基酸的种类和比例与人体所需的相近，故其营养价值高。营养价值较低的几种蛋白质混合食用，则营养必需氨基酸可以互相补充，从而提高营养价值，称为食物蛋白质的互补作用。例如，谷类蛋白质含赖氨酸较少而含色氨酸较多，豆类蛋白质含赖氨酸较多而含色氨酸较少，两者混合食用可提高营养价值。某些疾病情况下，为保证氨基酸的需要，可进行混合氨基酸输液。

表 7-1 人体营养必需和非必需氨基酸

营养必需氨基酸	营养非必需氨基酸
赖氨酸	丙氨酸
色氨酸	天冬酰胺
缬氨酸	天冬氨酸
亮氨酸	谷氨酸
异亮氨酸	丝氨酸
苏氨酸	精氨酸*
甲硫氨酸	酪氨酸*
苯丙氨酸	半胱氨酸*
组氨酸	谷氨酰胺*
	甘氨酸*
	脯氨酸*

* 在儿童生长期等某些情况下是必需的

四、氨基酸的生理功能

氨基酸是蛋白质的基本组成单位，所以它的重要生理功能之一是合成蛋白质，以满足机体生长发育及组织修复更新的需要。酶及肽类激素的半衰期都很短，其补充更新也需用氨基酸。氨基酸还是合成许多有重要生理作用的含氮化合物，如核酸、烟酰胺、儿茶酚胺类激素、甲状腺激素及一些神经递质的重要原料（表 7-2）。某些氨基酸在体内还起着一些独特的作用，如甘氨酸参与生物转化作用，丙氨酸及谷氨酰胺担负组织间氨的转运。

此外, 多余的氨基酸可以转变成糖类或脂类, 亦可氧化供能。氨基酸在机体不同状态下的供能是不同的, 在机体蛋白质处于正常合成和降解情况下, 蛋白质可以分解释放少量氨基酸; 当食物蛋白质丰富并超过机体需要时, 过多的氨基酸被代谢而不会被贮存; 当处于饥饿或不能控制的糖尿病时, 体内蛋白质则降解生成氨基酸用于供能, 这些氨基酸并不直接氧化供能, 而是转变成为葡萄糖或酮体进入能量代谢。

表7-2 以氨基酸为原料合成的重要生物分子

氨基酸	合成的含氮化合物
甘氨酸	胆汁酸、卟啉环、嘌呤、磷酸肌酸等
酪氨酸	肾上腺素、甲状腺激素、黑色素等
谷氨酸	γ -氨基丁酸
谷氨酰胺	核苷酸
色氨酸	烟酸、5-羟色胺
半胱氨酸	牛磺酸、谷胱甘肽等
甲硫氨酸	磷酸肌酸、胆碱等含甲基化合物
天冬氨酸	核苷酸
精氨酸	磷酸肌酸

五、氨基酸的来源

体内氨基酸的主要来源有食物供应、体内合成及组织蛋白质分解三种, 其中以食物供应最为重要。脱落的肠上皮细胞及消化液都含有蛋白质, 也被消化成氨基酸并被吸收入体内。机体除自食物中得到氨基酸外, 体内每天也可合成一定数量的氨基酸, 这种作用主要在肝中进行。

组织中的蛋白质经常不断地更新, 因此, 机体氨基酸的来源亦包括由体内蛋白质降解所产生的氨基酸。正常成年动物的组织蛋白质的分解速度和合成速度相等。这种状态称为组织蛋白质的动态平衡, 也称为蛋白质转换 (protein turnover)。人体每日更新体内蛋白质总量的 1% ~ 2%, 其中主要是肌肉蛋白, 而 70% ~ 80% 释放的氨基酸被重新利用来合成蛋白质, 剩下的 20% ~ 25% 被降解。虽然对组织蛋白质分解的生化过程尚不清楚, 但它们经常不断地分解及更新是事实。参与机体代谢的氨基酸约有 2/3 来自组织蛋白质的分解, 1/3 来自食物。

六、氨基酸的代谢概况

自消化道吸收入体内的氨基酸和内源性氨基酸 (包括体内合成的及组织蛋白质分解的) 统称为氨基酸代谢库 (amino acid metabolic pool) 或氨基酸库 (amino acid pool)。体内所有组织都自氨基酸库摄取氨基酸以满足它的需要。以单位质量计算, 肝摄取量最大, 其次是肾, 肌肉最少。单位质量的肌肉摄取氨基酸的数量不到肝摄取量的一半, 但人体质量的 40% 是肌肉, 因此被肌肉摄取的氨基酸总量最多。

氨基酸进入组织后则依照需要参加该组织的代谢作用, 不同组织的代谢作用当然不尽相同。合成蛋白质是氨基酸的主要代谢去路, 正常成人体内约有 75% 的氨基酸用于合成蛋白质, 其余的参与许多含氮化合物的合成 (表 7-2)。氨基酸的去路还有其本身的分解, 代谢途径主要是先经脱氨基作用, 生成氨及相应的 α -酮酸, 另有一小部分可经脱羧基作用形成二氧化碳及胺类。 α -酮酸可以转变成糖类或脂类, 用来再合成营养非必需氨基酸, 亦可进入三羧酸循环氧化成水及二氧化碳并供应能量 (图 7-1)。每克氨基酸完全氧化生成 4kcal (16.736kJ) 的

能量，成年人所需能量平均 15% 来自氨基酸。

在其他组织产生的过多的氨则运输到肝并被转变成尿素（urea）自尿排出。还有部分氨可被重新利用，是合成含氮化合物的原料。谷氨酸和谷氨酰胺在氨基酸氮的代谢中是一个汇集点，在肝细胞，多数氨基酸的氨基可以转给 α -酮戊二酸形成谷氨酸，谷氨酸接着进入线粒体释放 NH_3 。在大多数其他组织产生的氨，可以通过谷氨酰胺的形式进入肝，然后到线粒体代谢。在大多数组织，谷氨酸和谷氨酰胺的含量比其他氨基酸要高。在骨骼肌，氨基酸的氨基则与丙酮酸结合形成丙氨酸运输到肝进行代谢。

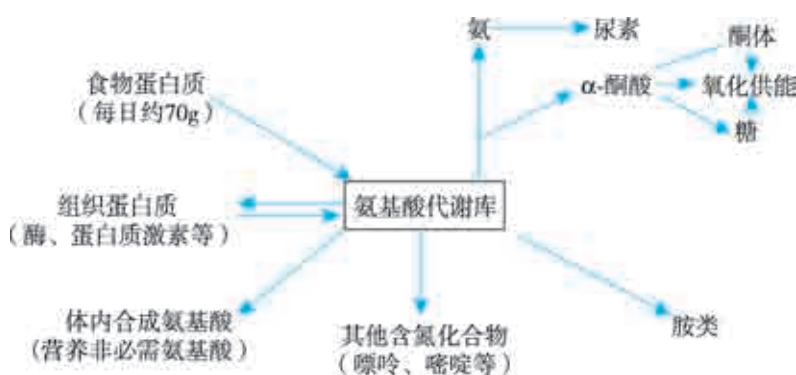


图 7-1 氨基酸代谢概况

第三节 蛋白质的消化、吸收及腐败

蛋白质是具有高度种属特异性的大分子化合物，不易被吸收，若未经消化而直接进入体内，常会引起过敏反应。蛋白质的消化作用主要在小肠中进行，由多种蛋白水解酶催化，将其水解成以氨基酸为主的消化产物，然后再吸收、利用。在人类，大多数动物球状蛋白质可以在胃肠道被水解成氨基酸，但一些纤维状蛋白质如角蛋白则只能被部分降解。

一、胃中的消化作用

胃主细胞分泌的胃蛋白酶原（pepsinogen）是人胃液中仅有的蛋白水解酶（proteolytic enzyme, protease 或 proteinase）的酶原。在正常胃液（gastric juice）中（pH 1 ~ 1.5），胃蛋白酶原经 H^+ 激活，生成胃蛋白酶（pepsin）。胃蛋白酶亦可催化这种转变，称为自身激活作用（autocatalysis）。胃蛋白酶可水解由苯丙氨酸、酪氨酸及亮氨酸残基构成的肽键，在肽链的内部水解蛋白质，生成大小不等的、较小的多肽。有时也可产生自由的酪氨酸或苯丙氨酸。从肽链内部水解蛋白质的蛋白水解酶，称为内肽酶（endopeptidase）。

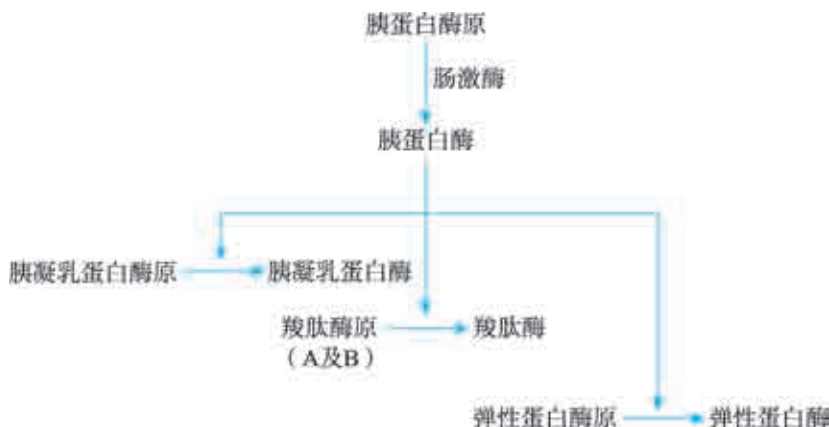
婴儿胃内有凝乳酶（rennin），最适 pH 为 4，主要作用于奶中的酪蛋白，使其转变成可溶的副酪蛋白，再与钙结合成副酪蛋白钙后进一步被胃蛋白酶消化。

二、小肠中的消化作用

蛋白质在胃液作用下进行消化，但是仍然很不完全。在小肠中，除有由小肠黏膜细胞分泌的消化液之外，还有胰液。它们的共同作用可更完全地将蛋白质水解为氨基酸，所以小肠是消化蛋白质的主要场所。

小肠液中的蛋白水解酶有肠激酶（enterokinase）、氨肽酶（aminopeptidase）及二肽酶（dipeptidase）。胰液中有关蛋白质消化的酶是胰蛋白酶原（trypsinogen）、糜蛋白酶原

(chymotrypsinogen)、弹性蛋白酶原 (proelastase)、羧肽酶原 A 及 B (procarboxypeptidase A and B)。消化液中蛋白酶类都以酶原形式存在, 以免自身组织被破坏。酶原一旦分泌到肠腔, 就必须转变为有活性的蛋白酶。肠激酶本身是一种蛋白水解酶, 肠激酶被胆汁激活后, 水解各种酶原, 使之激活成为相应的有活性的酶。这种转变从胰蛋白酶原开始, 激活的肠激酶特异地作用于胰蛋白酶原, 自其 N 端水解出一分子六肽而生成有活性的胰蛋白酶 (trypsin)。胰蛋白酶自身的激活作用较弱, 但它可迅速有力地把胰液中其他四种酶原都激活为有活性的酶。下图说明这种作用:



胰蛋白酶、糜蛋白酶 (chymotrypsin) 及弹性蛋白酶 (elastase) 都是内肽酶。图 7-2 说明了它们的特异性。羧肽酶 (carboxypeptidase) 及氨肽酶分别自肽链的 C 端及 N 端开始作用, 每次水解掉一个氨基酸。因为它们的作用是自肽链之最外端开始, 所以称为外肽酶 (exopeptidase)。

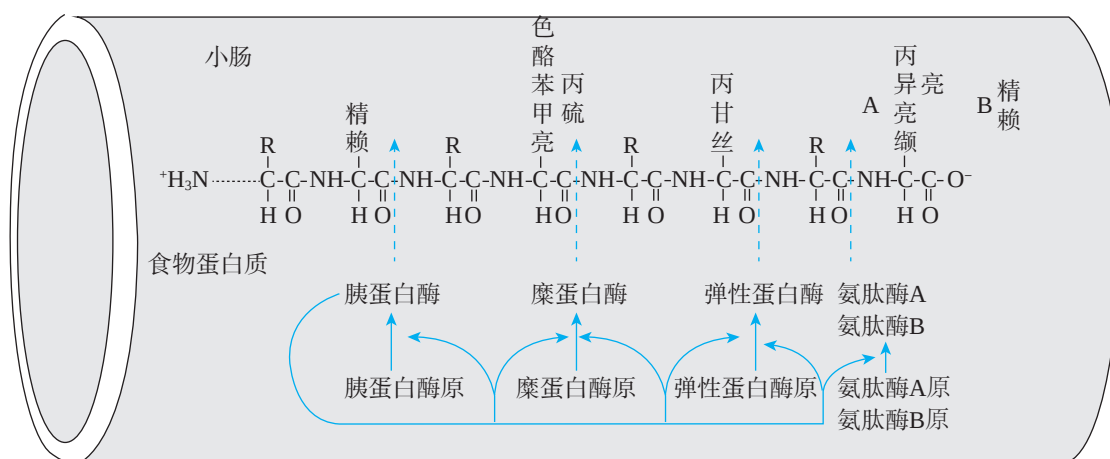


图 7-2 胰液蛋白水解酶作用示意图

蛋白质在上述各种外肽酶及内肽酶的协同作用下, 被水解成氨基酸及二肽。小肠分泌的二肽酶类可水解二肽成氨基酸。所以, 蛋白质的主要消化产物是氨基酸。图 7-2 说明各种蛋白质水解酶类的协同作用情况。一般正常成人食物中蛋白质的 95% 可被完全水解。

胰液中的弹性蛋白酶对大多数蛋白质都有作用, 但它对弹性蛋白 (elastin) 的作用最快。胰液中还含有胶原酶 (collagenase), 特异地作用于胶原, 能消化食物中的胶原纤维。

总之, 蛋白质的消化虽然在胃中有胃蛋白酶的作用, 但胰液及小肠液中有多种内肽酶及外肽酶, 因此蛋白质的消化场所以小肠为主。外肽酶自肽链的两端水解蛋白质, 每次释放 1 分子

氨基酸；内肽酶则自肽链内部水解，生成较小的多肽，为外肽酶提供更多的作用点。内肽酶的特异性不同，所以它们的作用位点及其多少各不相同；二肽酶可水解二肽为氨基酸。在上述各类酶的共同作用下，蛋白质被水解成自由氨基酸及一些小肽，然后在小肠内被吸收入体内。

三、氨基酸的吸收

氨基酸主要通过运载蛋白转运系统（carrier protein transport system）被吸收，这是氨基酸吸收的主要形式。氨基酸在十二指肠和空肠被快速吸收，在回肠吸收较慢。而蛋白质的消化产物主要是氨基酸及一些小肽，已经证明二肽、三肽可以直接被吸收，吸收到小肠上皮细胞内以后，再被水解成氨基酸，然后进入门静脉（图 7-3）。氨基酸的吸收主要是通过主动耗能的钠依赖性主动转运（ Na^+ -dependent active transport），小肠黏膜上皮细胞的细胞膜有氨基酸运载蛋白质（carrier protein），每一个运载蛋白质分别有一个运送氨基酸和 Na^+ 的部位，氨基酸及 Na^+ 在不同位置与运载蛋白质结合，结合后可能使运载蛋白质的构象发生改变，从而把氨基酸及 Na^+ 都转运入肠黏膜上皮细胞。吸收 1mol 氨基酸需要消耗 1mol ATP。运载蛋白质至少有 7 种，负责不同氨基酸的吸收，其特异性可有重叠。消化道中 Na^+ 的浓度比细胞内的浓度高。离子梯度形成的势能支持这种运转。为了维持细胞内 Na^+ 浓度处于低水平，有利于氨基酸的吸收，需 Na^+ - K^+ -ATP 酶（ Na^+ - K^+ -ATPase，即 Na^+ 泵）将 Na^+ 泵出细胞，而 ATP 分解释放的能量维持了细胞内、外 Na^+ 浓度梯度，支持氨基酸的吸收。肾小管对氨基酸的重吸收也是由这种方式进行的。

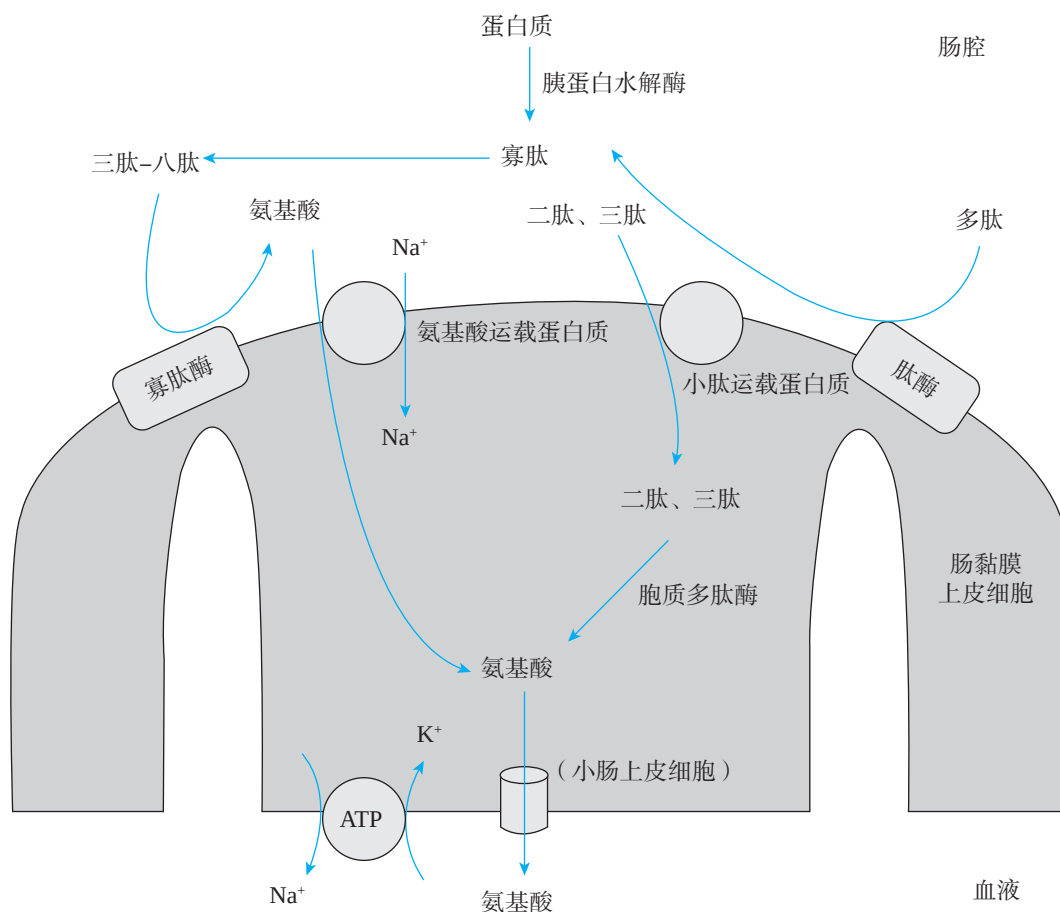


图 7-3 氨基酸的消化吸收

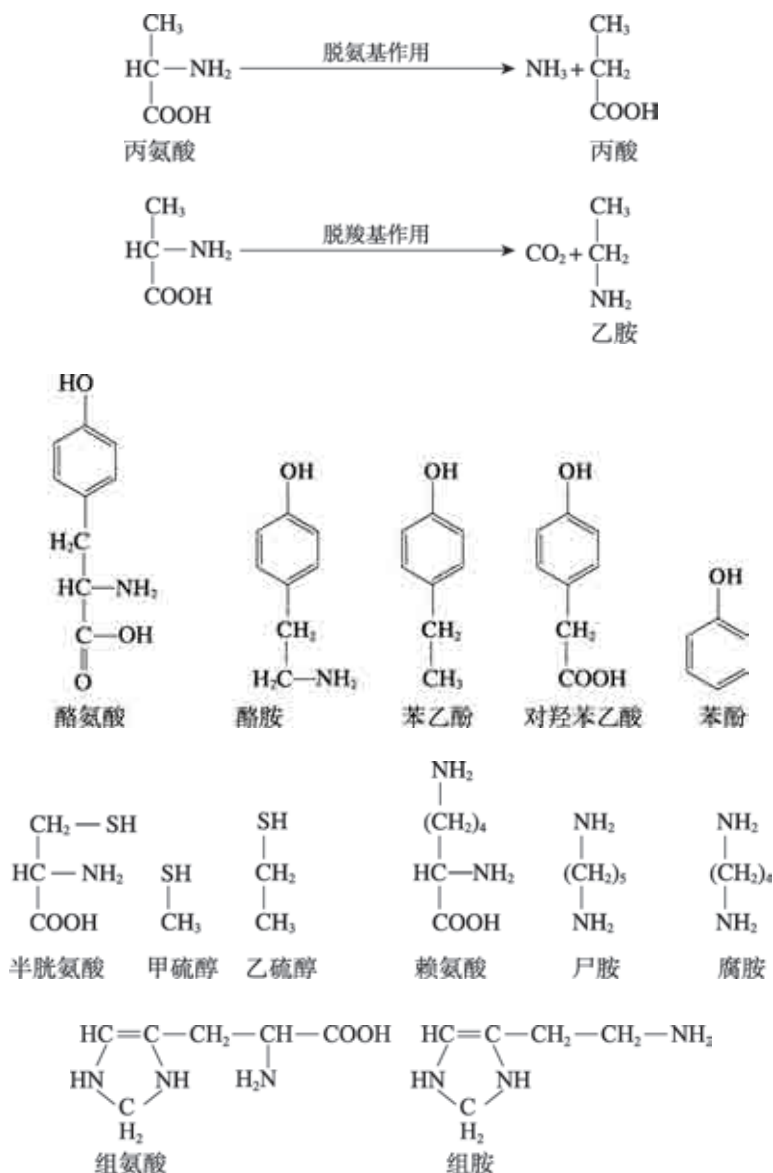


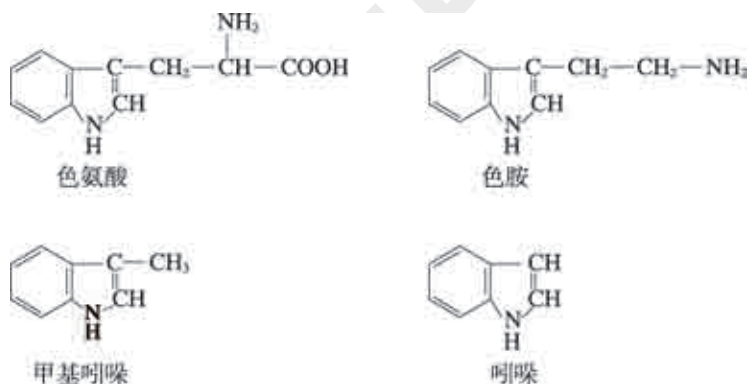
L7-1
半胱氨酸尿

四、蛋白质的腐败作用

食物中的蛋白质，平均有 95% 被消化、吸收。未被吸收的氨基酸及未被消化的蛋白质，在大肠下部受肠道细菌的分解，称为腐败（putrefaction）作用。腐败作用实际上就是肠道细菌对这部分氨基酸及蛋白质的代谢作用。腐败作用的产物有些是有一定营养价值的，一般认为人体内维生素 K 主要来自肠道细菌的腐败作用，但其他大多数腐败产物对人体是有害的。这些有害的产物主要有胺类（amine）、酚类（phenol）、吲哚（indole）及硫化氢等。本部分只讨论它们的生成，它们在体内的转化将在第十九章“肝的生物化学”中介绍。

肠道细菌对氨基酸的作用可有两种主要方式，即脱羧（decarboxylation）作用及脱氨基（deamination）作用。其他如氧化、还原、水解等当然亦能进行。这些反应都是由肠道细菌分泌的酶所催化的。以丙氨酸为例，它经脱氨基作用产生氨及丙酸，若经脱羧作用则生成二氧化碳及乙胺。酪氨酸经上述几种方式进行分解，可产生许多化合物，如酪胺、对甲酚、对羟苯甲酸、苯酚等（结构式见下）。因为氨基酸的碳骨架各不相同，其腐败产物亦不相同。例如，半胱氨酸的腐败产物有硫化氢、甲烷、甲硫醇、乙硫醇等，色氨酸产生色胺、甲基吲哚、吲哚等，尸胺及腐胺是赖氨酸的腐败产物，组胺则来自组氨酸。





五、氨的生成

肠道中氨的来源有两种。一是未被吸收的氨基酸在肠道细菌的作用下脱去氨基生成氨。上述苯酚、吲哚及硫化氢的产生过程，都伴有氨的生成。二是血液中的尿素可渗入肠道，受肠道细菌尿素酶的作用，水解成氨并被吸收入体内。平均每天有 7g 尿素渗入肠道，而粪便中几乎不含有尿素，所以渗入肠道的尿素全部被肠道细菌分解，每天以这种循环方式进入体内的氨约有 4g。这样形成的氨和其他腐败产物一同吸收入体内，经门静脉进入肝，在肝都被解毒为溶于水的物质，然后经肾自尿中排出。

自肠道吸收入体内的氨，是血氨的重要来源之一。正常人将吸收入体内的氨在肝合成尿素而排出。食用普通膳食的正常人每天排尿素 20g 以上，所以每天自肠道进入体内的氨相当于每天排出尿素总量的 1/4，与其他腐败产物相比，其量是最大的一种。正常人能妥善处理自肠道进入体内的大量的氨，并不产生不良结果，而严重肝病患者，因肝功能不正常，不能及时处理吸收入体内的氨，常可引起肝性脑病。因此，对肝病患者，采取适宜措施，力求减少肠道中氨的产生及体内的吸收，是非常必要的。

第四节 氨基酸的一般代谢

一、体内蛋白质的降解

(一) 体内蛋白质降解的一般情况

人体内蛋白质处于不断降解和合成的动态平衡中，成人每天有总蛋白质的 1% ~ 2% 被降解 (degradation)。组织蛋白质的更新速度，因种类不同而差异甚大，因此，不同蛋白质的寿命差异很大，短则数秒，长则数周。蛋白质的寿命通常用半衰期 (half-life, $t_{1/2}$) 表示，即蛋白质降解其原浓度一半所需要的时间。例如，人血浆蛋白质的 $t_{1/2}$ 约 10 天，肝中大部分蛋白质的 $t_{1/2}$ 为 1 ~ 8 天，结缔组织中一些蛋白质的 $t_{1/2}$ 可达 180 天以上，而许多关键酶的 $t_{1/2}$ 均很短。

(二) 体内蛋白质降解途径

体内蛋白质的降解也是由一系列蛋白酶 (protease) 和肽酶 (peptidase) 完成的。真核细胞中蛋白质的降解有两条途径：一是不依赖 ATP 的过程，在溶酶体内进行，主要降解细胞外来源的蛋白质、膜蛋白和长寿命的细胞内蛋白质；二是依赖 ATP 和泛素 (ubiquitin) 的过程，在胞质中进行，主要降解异常蛋白质和短寿命的蛋白质，后一过程对于不含溶酶体的红细胞尤为重要。

泛素是一种分子量为 8.5×10^3 (含 76 个氨基酸残基) 的小分子蛋白质, 由于普遍存在于真核细胞中而得名, 其一级结构高度保守。酵母泛素与人体泛素比较, 只有 3 个氨基酸的差别。泛素化是降解体内蛋白质的主要途径, 特别是降解错误折叠的蛋白质和短寿命的关键酶等, 该途径涉及细胞周期 (周期蛋白降解)、DNA 修复、NF- κ B 激活、病毒感染以及许多其他重要的生理和病理过程。在蛋白酶体降解蛋白质的过程中, 泛素对各种蛋白质的标记起关键作用。在泛素化蛋白质降解过程中, 泛素通过三步反应与被降解的蛋白质形成共价连接, 从而使后者激活, 反应需要 ATP 参加。参与反应的三个酶是泛素激活酶、泛素结合酶和泛素-蛋白连接酶, 其中结合酶有不同的类型, 连接酶也有 500 多种。一个泛素分子一旦与靶蛋白质结合, 其他的泛素分子即结合上来, 形成多聚泛素化-靶蛋白质复合体, 至少有 4 个泛素分子参与反应 (图 7-4)。去泛素化酶可以使泛素与靶蛋白质分离, 并重新利用。多聚泛素化的蛋白质进入 26S 蛋白酶体被降解。蛋白酶体是一个大的桶状结构, 由 20S 核心颗粒和 19S 调节颗粒组成, 19S 调节颗粒位于 20S 核心颗粒的上、下两侧。20S 核心颗粒是由 4 个堆积环形成的中空结构, 每个环由 7 个亚基组成 (图 7-5)。泛素化的蛋白质首先被 19S 调节颗粒 (帽状结构) 识别, 19S 帽状结构使折叠的靶蛋白质舒展开, 并被输入 20S 核心颗粒, 20S 核心颗粒中有至少 3 个蛋白酶可以降解靶蛋白质, 靶蛋白质在蛋白酶体核心区被降解成小的肽段, 然后出蛋白酶体。

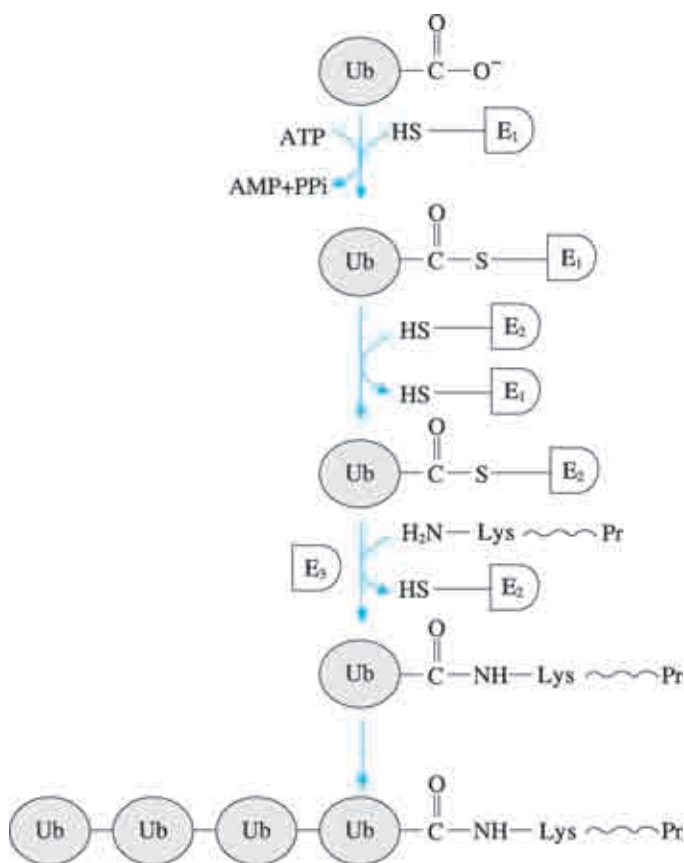


图 7-4 蛋白质降解的泛素化反应

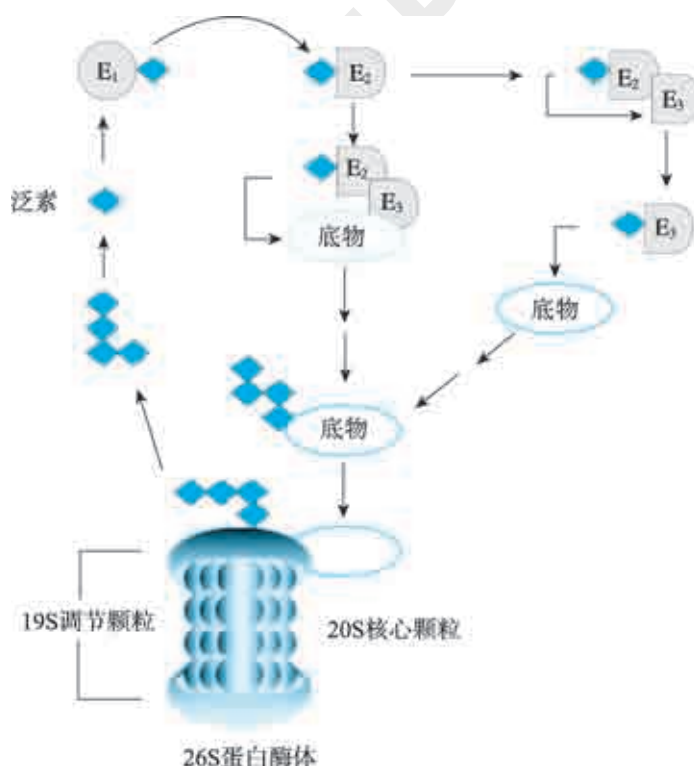


图 7-5 泛素 - 蛋白酶系统

(三) 氨基酸库

与脂肪和糖不同，氨基酸不在体内贮存，所有氨基酸都来自于食物、体内从头合成或体内蛋白质的降解，氨基酸含量若超过生物合成需要，则在体内被迅速降解。氨基酸分解是体内氮整体代谢的一部分，可以分为两个阶段。第一阶段，氨基酸通过转氨和氧化脱氨，生成氨和 α -酮酸，氨随之主要以尿素形式排出体外；第二阶段， α -酮酸转变成可以产能的中间产物，这些产物随后转变成 CO_2 、 H_2O 、葡萄糖、脂肪酸或酮体。

食物蛋白质经消化而被吸收的氨基酸（外源性氨基酸）与体内组织蛋白质降解产生的氨基酸（内源性氨基酸）混在一起，分布于体内各处，参与代谢，称为氨基酸库。氨基酸库通常以游离氨基酸总量计算。氨基酸由于不能自由通过细胞膜，所以在体内的分布也是不均匀的。例如，肌肉中的氨基酸占总氨基酸库的 50% 以上，肝约占 10%，肾约占 4%，血浆占 1% ~ 6%。由于肝、肾体积较小，实际上它们所含游离氨基酸的浓度很高，氨基酸的代谢也很旺盛。消化吸收的大多数氨基酸，例如丙氨酸、芳香族氨基酸等主要在肝中分解，但支链氨基酸的分解代谢主要在骨骼肌中进行。血浆氨基酸是体内各组织之间氨基酸转运的主要形式，虽然正常人血浆氨基酸浓度并不高，但其更新却很迅速，平均 $t_{1/2}$ 为 15min，表明一些组织器官不断向血浆释放和摄取氨基酸，肌肉和肝在维持血浆氨基酸浓度的相对稳定中起着重要作用。

体内氨基酸的主要功能是合成蛋白质和多肽，此外，也可以转变成其他某些含氮物质。正常人尿中排出的氨基酸极少。各种氨基酸具有共同的结构特点，它们也有共同的代谢途径，从量上讲氨基酸的分解代谢是以脱氨基作用为主的。然而氨基酸脱羧作用的产物胺类，多具有重要的生理作用，从这个意义来看，脱羧作用亦是氨基酸的重要代谢途径。另外，不同的氨基酸由于结构的差异，各有其代谢方式。

氨基酸脱氨基作用在大多数组织中都可以进行，而把氨转变成尿素只能在肝进行。这就需要及时将各种组织中生成的有毒的氨运向肝，以便能限制组织及血氨含量的变化在安全范围以

内。体内氨基酸的来源、去路及脱氨基产物见图 7-6。本节讨论的中心内容是氨基酸分解代谢的一般规律，氨基酸分解代谢的第一步即脱氨基作用，氨基酸脱去氨基生成氨及相应的 α -酮酸，而生成氨及相应的 α -酮酸如何进一步代谢，将在下一节讨论。

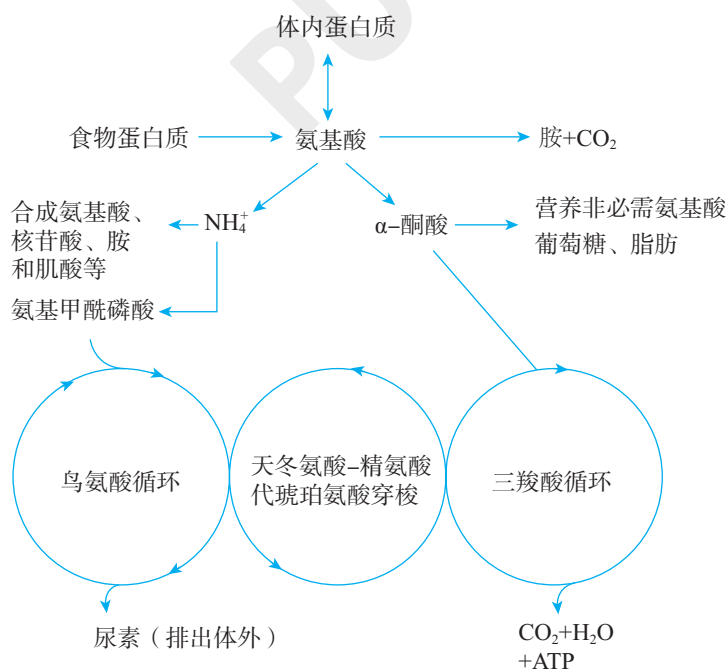


图 7-6 氨基酸的来源、去路及脱氨基产物

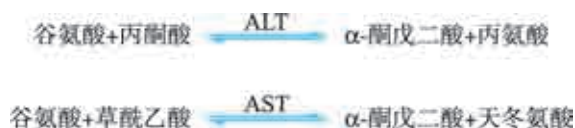
二、氨基酸的脱氨基作用

除了少数氨基酸可被直接氧化脱氨基外，多数氨基酸需要通过转氨基和 L-谷氨酸氧化脱氨基作用进行脱氨基代谢。

(一) 转氨基作用和转氨酶

1. 转氨基作用 转氨基作用 (transamination) 是在转氨酶的催化下，可逆地把氨基酸 (氨基供体) 的氨基转移给 α -酮酸 (氨基受体)。反应的结果是氨基酸脱去其氨基，转变成相应的 α -酮酸，而作为受体的 α -酮酸则因接受氨基而转变成其相应的另一种氨基酸。由于反应的实质是氨基的转移，所以该反应被命名为转氨基作用。

2. 转氨酶及其辅基 转氨酶 (transaminase) 亦称氨基转移酶 (aminotransferase)，广泛分布于几乎所有的组织中，其中以肝及心肌含量最丰富。转氨基作用的平衡常数接近 1.0，所以反应是完全可逆的。转氨基作用不仅可促进氨基酸的脱氨基作用，亦可自 α -酮酸合成相应的氨基酸，这是机体合成营养非必需氨基酸的重要途径。除赖氨酸和苏氨酸外，所有组织蛋白质中的 L-氨基酸都可经其转氨酶的催化进行转氨基作用。能参加转氨基作用的氨基酸不少，但作为氨基受体的 α -酮酸只有丙酮酸、 α -酮戊二酸及草酰乙酸三种。最重要的转氨酶是丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT) [又称谷丙转氨酶 (glutamate-pyruvate transaminase, GPT)] 及天冬氨酸转氨酶 (aspartate transaminase, AST) [又称谷草转氨酶 (glutamate-oxaloacetate transaminase, GOT)]。下式说明 ALT 及 AST 催化的反应：



所有转氨酶催化反应时都必须有辅基，即维生素 B₆ 的磷酸酯——磷酸吡哆醛（pyridoxal phosphate, PLP）或磷酸吡哆胺参加。在转氨酶的催化下，通过磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺的相互转变，起到传递氨基的作用，PLP 通过 Schiff 碱与酶蛋白的赖氨酸残基的 ϵ -氨基共价连接（图 7-7）。PLP 参与氨基酸 α 、 β 、 γ -碳上的各种反应， α -碳上的反应包括外消旋作用、脱羧基和转氨基反应。

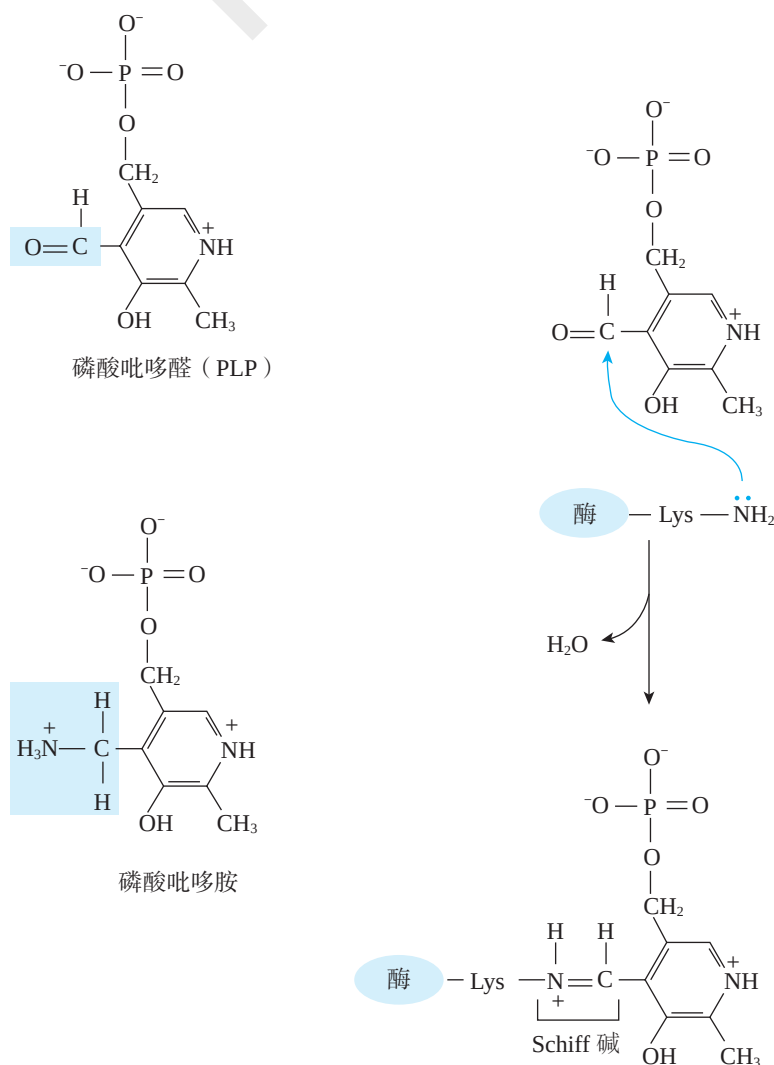


图 7-7 转氨酶的辅基磷酸吡哆醛

3. 转氨酶的作用机制 转氨酶通过位于其活性中心的赖氨酸残基的 ϵ -氨基和磷酸吡哆醛的醛基结合生成 Schiff 碱（图 7-8）。转氨基作用进行时，酶的底物氨基酸替代转氨酶分子中的赖氨酸残基生成新的 Schiff 碱。新生成的 Schiff 碱经分子内部再组合及水解作用，生成磷酸吡哆胺及相应的 α -酮酸。经转氨酶的作用，磷酸吡哆胺以相同方式，把氨基酸脱下来的氨基传递给 α -酮戊二酸。 α -酮戊二酸接受氨基形成谷氨酸，而磷酸吡哆胺失去氨基重新生成磷酸吡哆醛。总的结果是原来的氨基酸脱去氨基转变成相应的 α -酮酸， α -酮戊二酸接受氨基形成谷氨酸，而磷酸吡哆醛在其中起转运氨基的作用。

4. 转氨酶的应用意义 人体各组织中转氨酶的含量差别很大（表 7-3）。转氨酶只分布于细胞内，正常人血清中含量甚微，但若因疾病造成组织细胞破损或细胞膜通透性有所改变，细

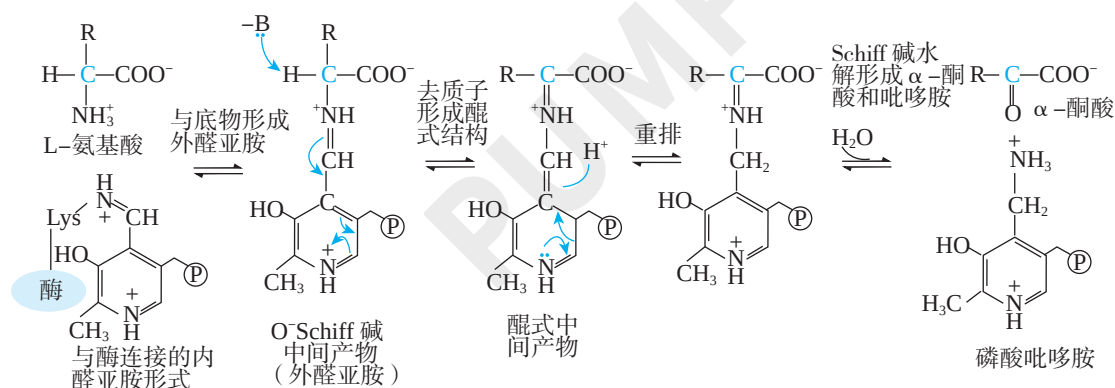


图 7-8 磷酸吡哆醛（胺）在转氨基中的作用

胞中的转氨酶将释放到血液中，血清转氨酶的活性升高。例如心肌梗死患者血清 AST 异常升高；肝病，如传染性肝炎患者，可引起血清 AST 及 ALT 升高。这种改变常作为疾病的诊断和预后的指标之一。

表7-3 正常成人各组织中AST及ALT活性

组织	AST (单位/克湿组织)	ALT (单位/克湿组织)	组织	AST (单位/克湿组织)	ALT (单位/克湿组织)
心	156000	7100	胰	28000	2000
肝	142000	44000	脾	14000	1200
骨骼肌	99000	4800	肺	10000	700
肾	9100	19000	血清	20	16

(二) L-谷氨酸氧化脱氨基作用

肝及肾含有 L-氨基酸氧化酶 (L-amino acid oxidase)，L-氨基酸氧化酶属于黄酶类，其辅基是 FMN 或 FAD。它对丝氨酸、苏氨酸及二羧基氨基酸等都无作用，对其他 L-氨基酸虽有作用，但作用亦很缓慢。体内广泛分布着活性很强的 D-氨基酸氧化酶 (D-amino acid oxidase)，D-氨基酸氧化酶亦属于黄酶类，辅基是 FAD，但体内几乎没有 D-氨基酸的存在，其生理意义目前不清。所以，氨基酸氧化酶催化的氧化脱氨基作用 (oxidative deamination) 不是氨基酸的主要脱氨基方式。

哺乳类动物的大多数组织如肝、肾和脑等广泛存在 L-谷氨酸脱氢酶 (L-glutamate dehydrogenase)，此酶活性较强，是一种不需氧的脱氢酶，催化 L-谷氨酸氧化脱氨生成 α-酮戊二酸。L-谷氨酸脱氢酶是一个具有 6 个相同亚基的别构酶，受 ADP 正调控和 GTP 的负调控。如果该酶的 GTP 结合位点突变使酶活性持续增高，则可引起一种称为高血胰岛素 - 高血氨综合征 (hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome) 的遗传性疾病，特点是血氨升高和低血糖。在哺乳动物，L-谷氨酸脱氢酶存在于肝细胞线粒体基质，是体内唯一既可以利用 NAD⁺，也可以利用 NADP⁺ 作为辅酶的酶 (图 7-9)。NAD⁺ 主要参与氧化脱氨基反应，而 NADP⁺ 主要参与氨基还原反应。L-谷氨酸脱氢酶所催化的反应是可逆的，因生成的氨在体内迅速被处理，所以反应趋向于脱氨基作用。由于它分布广，活力强，尤其是和转氨酶有协同作用，几乎可催化所有氨基酸的脱氨基作用。所以，它在氨基酸脱氨基作用中具有特殊的重要意义。

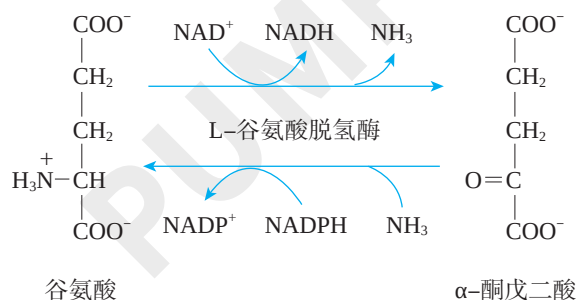


图 7-9 L-谷氨酸氧化脱氨基作用

(三) 联合脱氨基作用

转氨酶催化的转氨基作用，只是把氨基酸分子中的氨基转移给 α -酮戊二酸（或丙酮酸及草酰乙酸），这并没有达到脱氨基的目的。若是转氨酶和谷氨酸脱氢酶协同作用，即转氨基作用和谷氨酸的氧化脱氨基作用偶联进行，就可达到把氨基酸转变成氨及相应的 α -酮酸的目的（图 7-10）。因此，联合脱氨基是体内的主要脱氨基方式，这种脱氨基作用主要在肝、肾等组织中进行。

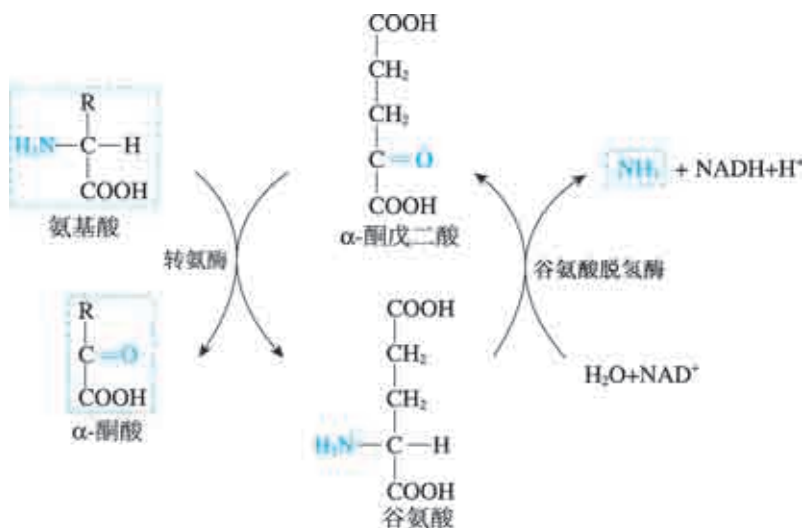


图 7-10 联合脱氨基作用

三、 α -酮酸的代谢

脱氨基作用生成的 α -酮酸在体内的代谢途径主要有三条：一可经转氨基作用的逆反应再合成为氨基酸；二可转变成糖类或脂质；三可通过三羧酸循环氧化生成二氧化碳及水并提供能量。转氨基作用形成氨基酸见前文，不再赘述，这里只讲述 α -酮酸怎样转变成糖类、脂质或完全氧化。

早期营养学的研究明确证实氨基酸可以转变成糖类及脂肪。例如，分别用各种氨基酸饲养人工糖尿病犬，有些氨基酸可增加尿中葡萄糖的排泄量，有的增加尿中酮体的排泄量，也有些氨基酸既增加葡萄糖又增加酮体的排泄量。根据这种性质可以将氨基酸分为三大类，即生糖氨基酸（glucogenic amino acid）、生酮氨基酸（ketogenic amino acid）及生酮兼生糖氨基酸（ketogenic and glucogenic amino acid）（表 7-4）。



L7-2
肝外组织氨基酸的脱氨基作用

表7-4 氨基酸生糖及生酮性质的分类

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

用含放射性核素的氨基酸做实验证明营养学研究的结果是正确的,那么氨基酸如何转变成葡萄糖或酮体?很明显,氨基酸在转变之前必先脱去氨基而成为其碳骨架的 α -酮酸, α -酮酸再经代谢转变,最后生成葡萄糖或酮体。各种氨基酸的碳骨架差异很大,其分解代谢途径当然各不相同,有关这些代谢作用的详细过程,将在个别氨基酸代谢一节中讨论,本节只述及 α -酮酸代谢的基本方式或总的轮廓。各种氨基酸的碳骨架分解代谢途径虽然悬殊甚大,但最后都汇总为三羧酸循环中有限的几个中间产物,有的生成乙酰辅酶A,有的转变成 α -酮戊二酸等。以丙氨酸为例,脱去氨基后生成丙酮酸,丙酮酸的代谢去向就是丙氨酸碳骨架的代谢通路,丙酮酸可通过糖异生转变成葡萄糖,所以丙氨酸就是生糖氨基酸,这同时也说明了丙氨酸和葡萄糖相互转变的途径。亮氨酸的碳骨架经一系列代谢反应,最后转变成乙酰乙酰辅酶A或乙酰辅酶A,两者都可合成酮体,这就说明它是生酮氨基酸,也指出其 α -酮酸生成酮体或完全氧化的通路,图7-11说明了这种关系。

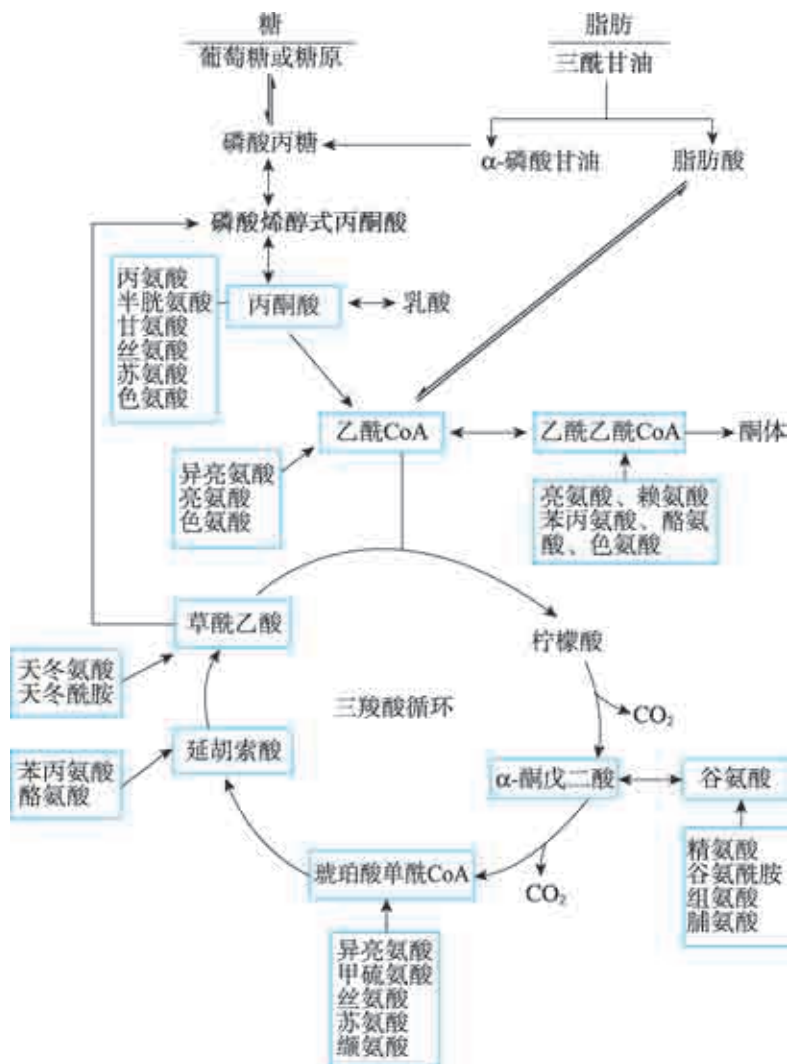


图 7-11 氨基酸、糖及脂肪代谢的关系

由于转氨基作用是可逆的反应, 因此图 7-11 也说明了一些氨基酸是怎样合成的。由此可见, 三羧酸循环是代谢的总枢纽, 通过它对糖、脂肪及氨基酸的完全氧化或相互转变, 成为密切相关的完整代谢体系。

第五节 氨的代谢

一、氨的来源

体内氨来源有外源性的及体内代谢产生的两种。外源性氨是自消化道吸收入体内的, 是体内氨的一个重要来源 (本章第四节)。 NH_3 比 NH_4^+ 易于穿过细胞膜而被吸收, 在碱性环境中, NH_4^+ 偏向于转变成 NH_3 , 因此肠道偏碱性时, 氨的吸收加强。临床上对高血氨患者采用弱酸性透析液做结肠透析, 而禁止用碱性肥皂水灌肠, 以减少对氨的吸收。

氨基酸的主要分解代谢方式是脱去氨基生成氨, 这是体内代谢作用产生氨的主要途径; 一些氨基酸的酰胺基 (天冬酰胺及谷氨酰胺) 经水解, 亦可产生氨。如肾小管上皮细胞分泌的氨主要来自谷氨酰胺, 谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的催化下水解成谷氨酸和 NH_3 , 这部分氨分泌到肾小管腔中, 主要与尿中的 H^+ 结合成 NH_4^+ , 以铵盐的形式由尿排出体外, 肾用泌氨的方法降低肾小管腔中尿液的 pH, 以增进 H^+ 的排泄, 这对调节机体的酸碱平衡起着重要作用。酸性尿有利于肾小管细胞中的氨扩散入尿, 但碱性尿可妨碍肾小管细胞 NH_3 的分泌, 此时氨被吸收入血, 成为血氨的另一来源。由此, 临床上对因肝硬化而产生腹水的患者, 不宜使用碱性利尿药, 以免血氨升高。另外, 嘌呤及其衍生物分子中的氨基经代谢, 亦生成氨, 嘧啶类的最终代谢产物亦有氨 (见第 8 章核苷酸代谢)。

二、血氨及氨的代谢途径

正常生理 pH 范围内, 体液中氨的 98.5% 是以铵盐 (NH_4^+) 的形式存在的。氨的毒性很强, 家兔血液若每 100ml 中含量达到 5mg, 即中毒死亡。正常人全血中氨的含量是 75 ~ 196 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, 血浆的含量是 56 ~ 120 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 。因氨生成后迅速被处理, 正常人不超出这个范围。哺乳类动物体内氨的主要去路是在肝合成尿素, 再经肾排出, 尿素是氨基酸的主要最终代谢产物之一, 成人排氨的 80% ~ 90% 是尿素。另外, 氨与 α -酮戊二酸反应转变成谷氨酸亦是氨代谢环节中的一个重要途径, 用氨合成谷氨酸是由谷氨酸脱氢酶催化的, 主要在肝中进行。

氨虽然是有毒的物质, 但尚有重要作用。氨是合成核苷酸、营养非必需氨基酸及许多重要含氮化合物等的原料。因此, 妥善处理有重要作用而又有毒的氨, 是符合生理需要而又必要的。

三、氨的转运

(一) 葡萄糖 - 丙氨酸循环

肌肉中的氨基酸经转氨基作用将氨基转给丙酮酸生成丙氨酸, 丙氨酸经血液运到肝, 在肝中, 丙氨酸通过联合脱氨基作用, 释放出氨, 用于合成尿素。转氨基后生成的丙酮酸可经糖异生途径生成葡萄糖, 葡萄糖由血液输送到肌肉组织, 沿糖酵解途径转变成丙酮酸, 后者再接受氨基而生成丙氨酸。丙氨酸和葡萄糖反复地在肌肉和肝之间进行氨的转运, 故将这一途径称为葡萄糖 - 丙氨酸循环 (glucose-alanine cycle) (图 7-12)。通过这个循环, 既将肌肉中的氨以无毒的丙氨酸形式运输到肝, 而肝又为肌肉提供了生成丙酮酸的葡萄糖。另外, 该循环的进行将

糖异生的能量消耗负担强加给了肝，而不是肌肉，使得肌肉中的 ATP 用于肌肉收缩，这一点与乳酸循环是一致的。

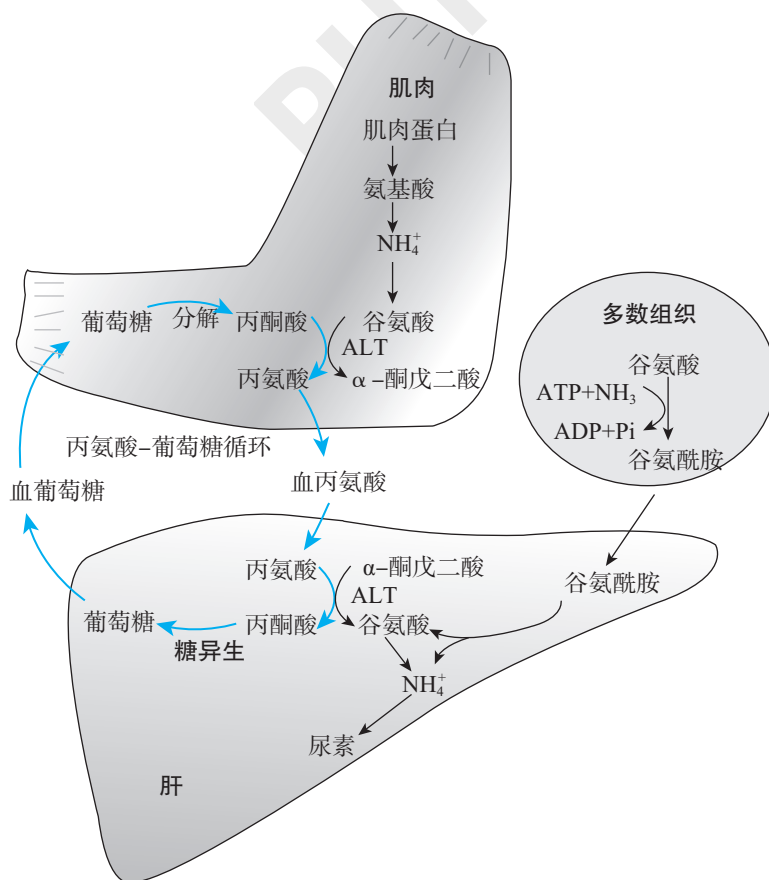


图 7-12 葡萄糖 - 丙氨酸循环

(二) 谷氨酰胺的生成及分解

催化合成谷氨酰胺的酶是谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase)，分布于脑、心及肌肉等组织中 (图 7-13)，谷氨酰胺合成酶的活性受其反应产物的反馈性抑制，而被 α -酮戊二酸所促进。



图 7-13 谷氨酰胺的生成及分解

谷氨酰胺合成所需的能量由 ATP 供应，是不可逆反应。谷氨酰胺的分解由谷氨酰胺酶 (glutaminase) 催化，该酶主要分布于肾、肝及小肠等组织器官中。谷氨酰胺的生成对维持组织中氨的浓度起着重要作用。中枢神经对氨非常敏感，氨在中枢神经生成后，立即被转变成谷氨酰胺，这对氨浓集或防止浓度过高都有一定意义。在组织中生成的谷氨酰胺可及时经血液运向肝、肾、小肠等组织器官，以便利用。在肾中，谷氨酰胺释放出氨，可以中和肾小管腔的

H^+ ，以铵盐的形式随尿排出，同时促进机体排泄多余的酸。所以，可以认为谷氨酰胺是氨的解毒产物，也是氨的储存及运输的形式。

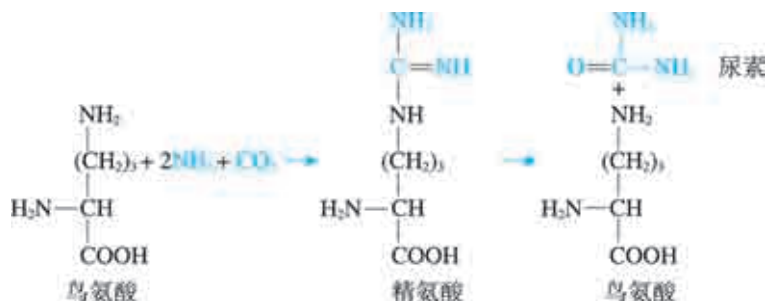
四、尿素的生成

（一）合成尿素的部位

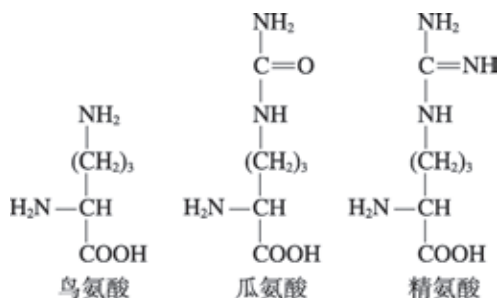
把多余的氨合成尿素，从量上讲是氨的主要去路，尿素的合成是在肝组织中进行的，临床上发现急性重型肝炎患者的血及尿中几乎都无尿素而只有氨基酸。犬切除肝后，其血液及尿中尿素的含量亦甚微，这种动物若饲以氨基酸，则会因血液中氨含量过高而中毒死亡。因此，临床观察及动物实验都证明肝是合成尿素的器官。

（二）尿素合成假说的提出

合成尿素的代谢途径称为鸟氨酸循环（ornithine cycle，亦称 urea cycle），这是 20 世纪 30 年代初 Krebs 提出来的。Krebs 一生中提出两个循环学说，即三羧酸循环和鸟氨酸循环，为生物化学的发展作出了重大贡献。在 20 世纪 30 年代，组织切片技术已经较普遍应用于中间代谢的研究，这就为研究尿素合成的机制提供了有利条件。他用大鼠肝切片和多种可能有关的代谢物及 NH_4^+ 盐共同保温，发现其中鸟氨酸（ornithine）及瓜氨酸（citrulline）都有催化 NH_4^+ 盐合成尿素的作用。每 1mol 的鸟氨酸可以催化 30mol 尿素的合成。赖氨酸的结构和鸟氨酸非常近似（鸟氨酸比赖氨酸只少一个 $-\text{CH}_2-$ 基），却无这种作用。所以最合理的解释应当是，在合成尿素的一系列反应中，应当包括 NH_3 、 CO_2 和鸟氨酸化合生成一中间化合物，这个中间化合物在肝中能以合理的速度生成尿素，同时再生成鸟氨酸，而精氨酸符合作为这个中间化合物的要求。下式表示这种关系：



上述两个反应的结果是鸟氨酸催化 NH_3 和 CO_2 化合生成尿素，这个假说说明鸟氨酸在合成尿素时起着催化作用，还符合前人有关尿素合成的发现，即只有以尿素为主要氮代谢最终产物的哺乳类动物，肝中才含有精氨酸酶（arginase），精氨酸酶催化精氨酸水解生成尿素及鸟氨酸。鸟类氮代谢的最终产物是尿酸（uric acid），鸟肝中精氨酸酶的活力只有哺乳类动物的 1% 或更低。



若以上述假说为基础，则有必要假定瓜氨酸是鸟氨酸转变为精氨酸的中间物（比较这三种化合物的结构），瓜氨酸和鸟氨酸相同，都具有催化 NH_4^+ 合成尿素的作用。另外，用大量鸟氨

酸和大鼠肝切片及 NH_4^+ 盐共同保温,可观察到瓜氨酸的浓集。总结以上,可提出肝中合成尿素的鸟氨酸循环假说(图 7-14)。

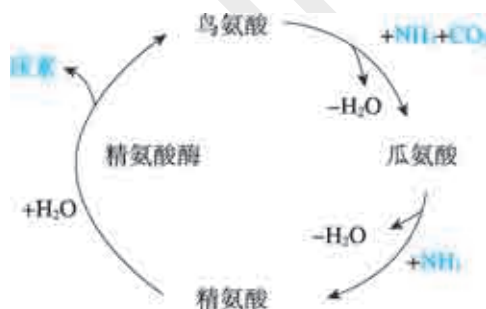
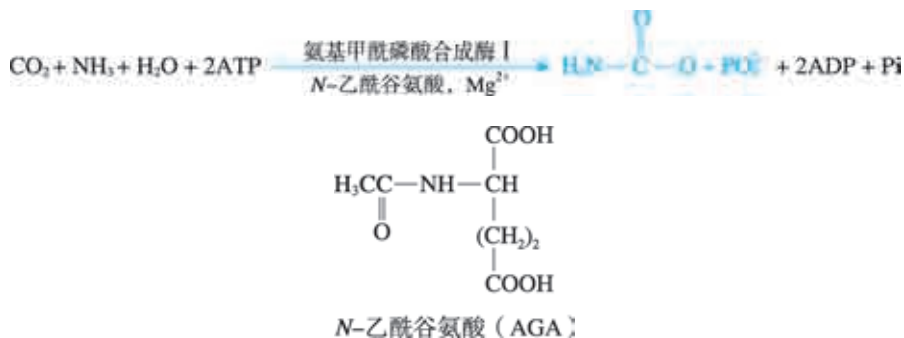


图 7-14 尿素合成的鸟氨酸循环

(三) 鸟氨酸循环的详细步骤

鸟氨酸循环学说虽然有足够而又令人信服的证据,但是很难想象相当稳定的 CO_2 可以在生理条件下直接和鸟氨酸化合。研究表明鸟氨酸循环的具体过程远比上述过程复杂,详细步骤可分为以下四步:

1. **氨基甲酰磷酸的合成** 在 Mg^{2+} 、ATP 及 *N*-乙酰谷氨酸(*N*-acetyl glutamatic acid, AGA)存在时,氨与 CO_2 可在氨基甲酰磷酸合成酶 I (carbamoyl phosphate synthetase-I, CPS-I) 的催化下,合成氨基甲酰磷酸。



此反应不可逆,消耗 2 分子 ATP。CPS-I 是别构酶,AGA 是此酶的别构激活剂,AGA 的确切作用尚不清楚,可能是使酶的构象改变,暴露了酶分子中的某些巯基,从而增加了酶与 ATP 的亲和力,CPS-I 和 AGA 都存在于肝线粒体中。此反应的产物氨基甲酰磷酸是高能化合物,性质活泼,在酶的催化下易与鸟氨酸反应生成瓜氨酸。膳食中蛋白质含量高,则肝中 CPS-I 的活性和 AGA 的含量都增加,这和调节尿素合成有关。正常状况下,CPS-I 的活性与 AGA 的浓度成正比。

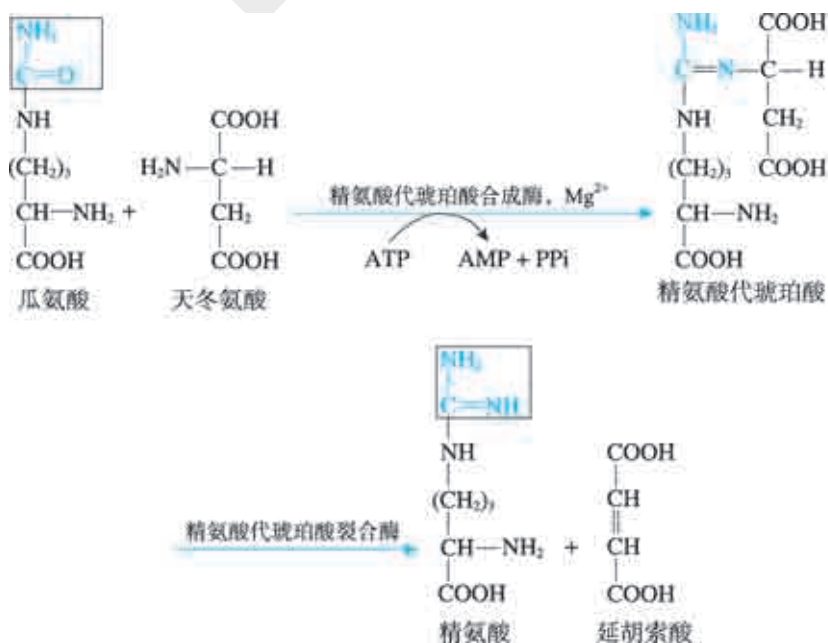
2. **瓜氨酸的合成** 在鸟氨酸氨基甲酰转移酶(ornithine carbamoyl transferase, OCT)的催化下,氨基甲酰磷酸与鸟氨酸缩合成瓜氨酸。



鸟氨酸循环的证实

此反应不可逆，OCT 也存在于肝细胞的线粒体中，并通常与 CPS-I 结合成酶的复合体。

3. 精氨酸的合成 由瓜氨酸转变成精氨酸的反应分两步进行。首先，瓜氨酸在线粒体合成后，即被转运到线粒体外，在胞质中经精氨酸代琥珀酸合成酶（argininosuccinate synthetase）催化，与天冬氨酸生成精氨酸代琥珀酸，此反应由 ATP 供能。其后，精氨酸代琥珀酸再经精氨酸代琥珀酸裂合酶（argininosuccinase, argininosuccinate lyase）催化，裂解成精氨酸和延胡索酸。



在上述反应过程中，天冬氨酸起着供给氨基的作用。天冬氨酸又可由草酰乙酸与谷氨酸经转氨基作用生成，而谷氨酸的氨基又可来自体内多种氨基酸。由此可见，多种氨基酸的氨基也可通过转变成天冬氨酸的形式参与尿素合成（图 7-15）。从此图还可看出，精氨酸代琥珀酸裂解产生的延胡索酸可经过线粒体三羧酸循环的中间步骤转变成草酰乙酸，后者与谷氨酸进行转氨基反应，又重新生成天冬氨酸，因此将此过程称为三羧酸循环的天冬氨酸 - 精氨酸代琥珀酸穿梭（aspartate-argininosuccinate shuttle）。由此，通过天冬氨酸 - 精氨酸代琥珀酸穿梭，可使鸟氨酸循环与三羧酸循环联系起来。

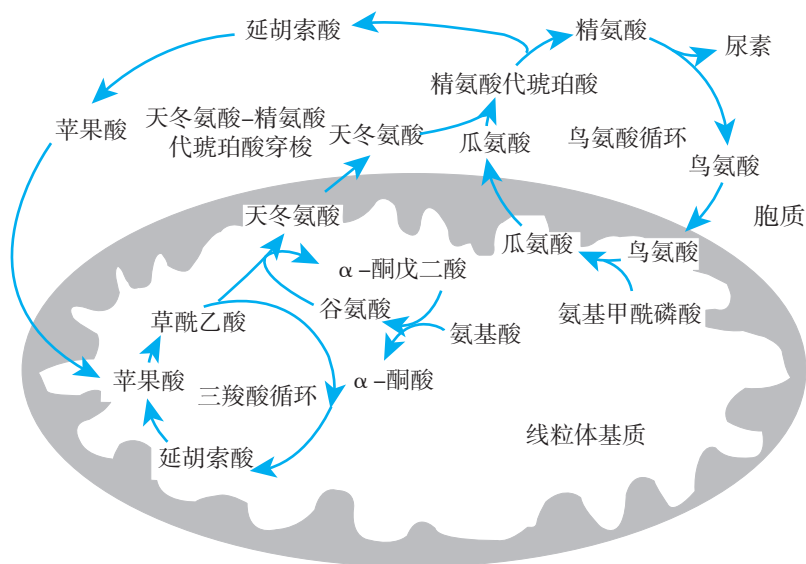
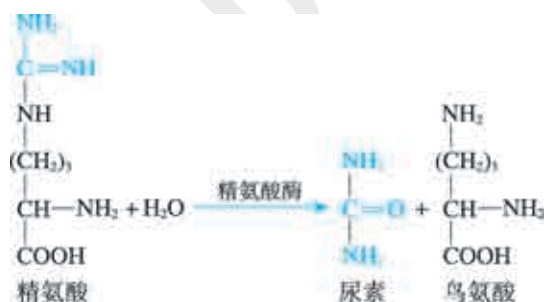


图 7-15 鸟氨酸循环和三羧酸循环的联系

4. 精氨酸水解生成尿素 在胞质中, 精氨酸受精氨酸酶的作用, 水解生成尿素和鸟氨酸, 鸟氨酸通过线粒体内膜上运载体的转运再进入线粒体, 并参与瓜氨酸的合成, 如此反复, 完成尿素循环。



氨除了主要以尿素形式排出外, 还可与谷氨酸反应生成谷氨酰胺, 在肾小管上皮细胞中通过谷氨酰胺酶的作用水解成氨和谷氨酸, 前者由尿排出, 后者被肾小管上皮细胞重吸收而进一步利用。

除此之外, 氨还可以通过还原性加氨的方式固定在 α -酮戊二酸上生成谷氨酸; 谷氨酸的氨基又可以通过转氨基作用, 转移给其他 α -酮酸, 生成相应的氨基酸, 从而合成某些营养非必需氨基酸。

(四) 尿素合成的调节

正常情况下, 机体通过合适的速度合成尿素, 以保证及时、充分地解除氨中毒。尿素合成的速度可受多种因素的调节:

1. 食物蛋白质的影响 高蛋白膳食时, 尿素的合成速度加快, 排出的含氮物中尿素约占90%; 反之, 低蛋白质膳食时, 尿素合成速度减慢, 尿素排出量可低于含氮物排泄量的60%。

2. CPS-I 的调节 氨基甲酰磷酸的生成是尿素合成的重要步骤。如前所述, AGA 是 CPS-I 的别构激活剂, 它由乙酰辅酶 A 和谷氨酸通过 AGA 合酶 (*N*-acetylglutamate synthase) 催化生成。精氨酸是 AGA 合酶的激活剂, 因此, 富蛋白质饮食既可增加 AGA 合酶底物谷氨酸, 也可增加激活剂精氨酸, 导致尿素生成加速。

3. 尿素合成酶系的调节 参与尿素合成的酶系中每种酶的相对活性相差很大, 其中精氨酸代琥珀酸合成酶的活性最低, 是尿素合成的调节酶, 可调节尿素的合成速度 (表 7-5)。

表7-5 正常人肝尿素合成酶的相对活性

酶	相对活性
氨基甲酰磷酸合成酶	4.5
鸟氨酸氨基甲酰转移酶	163.0
精氨酸代琥珀酸合成酶	1.0
精氨酸代琥珀酸裂合酶	3.3
精氨酸酶	149.0

(五) 高氨血症和氨中毒

正常生理情况下, 血氨浓度处于较低的水平, 血氨的来源与去路保持动态平衡, 氨在肝中合成尿素是维持这种平衡的关键。因此, 当肝功能严重损伤时, 尿素合成发生障碍, 血氨浓度升高可达 $1000\mu\text{mol/L}$, 称为高氨血症 (hyperammonemia)。一般认为, 氨进入脑组织, 可与脑中的 α -酮戊二酸结合生成谷氨酸, 氨再与谷氨酸进一步结合生成谷氨酰胺, 脑中氨的增



尿素循环障碍的主要症状

加可以使脑细胞中的 α -酮戊二酸减少, 导致三羧酸循环减弱, 从而使脑组织中 ATP 生成减少, 引起大脑功能障碍。催化这两步反应的酶分别是谷氨酸脱氢酶和谷氨酰胺合成酶, 这两个酶在脑组织含量很高, 其中谷氨酰胺合成酶催化的反应更为重要。人类氨中毒的特点是嗜睡伴有脑水肿和颅压增加, 以及脑细胞 ATP 缺乏。其机制可能是高血氨导致谷氨酰胺合成增加, 谷氨酰胺作为溶质使脑星状胶质细胞渗透压增加, 使得水进入细胞, 导致脑水肿和昏迷。同时, 谷氨酸转变成谷氨酰胺后使得谷氨酸减少, 谷氨酸和其衍生物 γ -氨基丁酸是重要的神经递质, 它们的减少又进一步加重大脑对氨的敏感性。尿素合成酶的遗传性缺陷也可导致高氨血症。

高氨血症主要分为两种类型:

1. 获得性高氨血症 在成人主要由肝病引起, 如病毒性肝炎、缺血、中毒。由酒精中毒、肝炎或胆道阻塞引起肝硬化后形成侧支循环, 门脉血分流绕过肝直接进入体循环, 血氨不被肝解毒而导致血氨升高。

2. 先天性高氨血症 由尿素循环中 5 个酶先天缺陷引起, 发病率为 1/30000。鸟氨酸氨基甲酰转移酶缺陷最为常见, 主要影响男性, 临床表现为智力发育障碍, 治疗包括限制蛋白质饮食, 服用苯丁酸。苯丁酸在体内转变成苯乙酸后与谷氨酸共价结合形成苯乙酰谷氨酸, 后者经尿排出体外。

第六节 个别氨基酸代谢

前面论述了氨基酸代谢的一般过程。但是, 有些氨基酸还有特殊的代谢途径, 并具有重要的生理意义。本节首先介绍某些氨基酸的另一些代谢方式, 例如氨基酸的脱羧基作用和一碳单位的代谢, 然后介绍含硫氨基酸、芳香族氨基酸及支链氨基酸的代谢。

一、氨基酸的脱羧基作用

体内部分氨基酸也可进行脱羧基作用生成相应的胺。催化这些反应的是氨基酸脱羧酶 (decarboxylase)。例如, 组氨酸脱羧基生成组胺, 谷氨酸脱羧基生成 γ -氨基丁酸等; 也有的氨基酸先经过羟化等变化后再脱羧基而生成胺。氨基酸脱羧酶的辅基也是磷酸吡哆醛。胺类含量虽然不高, 但具有重要的生理功能。另外, 体内广泛存在着胺氧化酶 (amine oxidase), 能将胺氧化成为相应的醛类, 再进一步氧化成羧酸, 从而避免胺类在体内蓄积。胺氧化酶属于黄素蛋白酶, 在肝中活性最强。

下面列举几种氨基酸脱羧基产生的重要胺类物质。

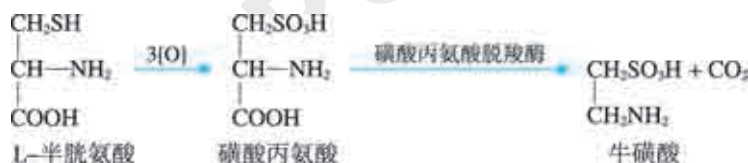
(一) γ -氨基丁酸

谷氨酸脱羧基生成 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA), 催化此反应的酶是谷氨酸脱羧酶, 此酶在脑、肾组织中活性很高, 所以脑中 GABA 的含量较多。GABA 是抑制性神经递质, 对中枢神经有抑制作用。



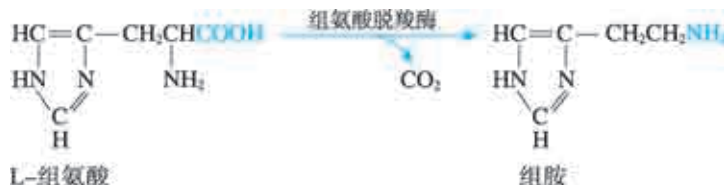
(二) 牛磺酸

体内牛磺酸由半胱氨酸代谢转变而来，半胱氨酸首先氧化成磺基丙氨酸，再脱去羧基生成牛磺酸，牛磺酸是结合胆汁酸的组成成分。此外，活性硫酸根（见含硫氨基酸的代谢）转移也可产生牛磺酸。现已发现脑组织中含有较多的牛磺酸，表明它可能具有更为重要的生理功能。



(三) 组胺

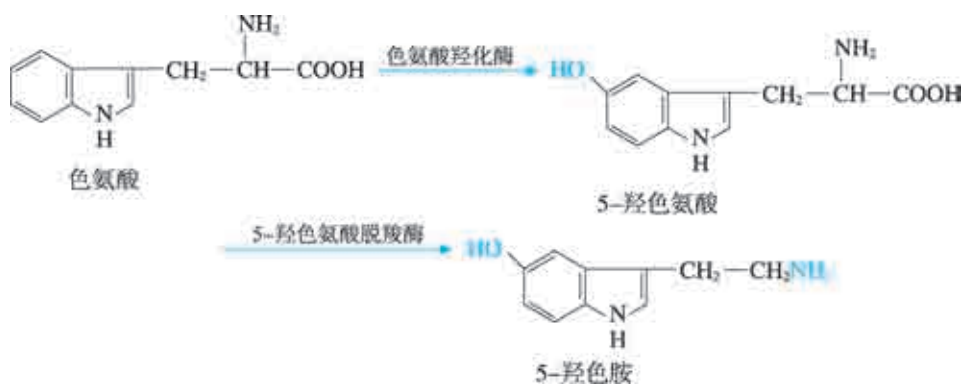
组氨酸通过组氨酸脱羧酶催化生成组胺（histamine），组胺在体内分布广泛，乳腺、肺、肝、肌肉及胃黏膜中组胺含量较高，主要存在于肥大细胞中。



组胺是一种强烈的血管舒张剂，并能增加毛细血管的通透性，创伤性休克或炎症病变部位有组胺的释放。组胺还可以刺激胃蛋白酶及胃酸的分泌，常被作为研究胃活动的物质。

(四) 5-羟色胺

色氨酸首先通过色氨酸羟化酶的作用生成 5-羟色氨酸，再经脱羧酶作用生成 5-羟色胺（5-hydroxytryptamine, 5-HT）。



5-羟色胺分布于神经组织，以及胃、肠、血小板及乳腺细胞中。脑内的 5-羟色胺可作为神经递质，具有抑制作用；而在外周组织，5-羟色胺有收缩血管的作用。

经单胺氧化酶作用，5-羟色胺可以生成 5-羟色醛，进一步氧化而成 5-羟吲哚乙酸，类癌患者尿中 5-羟吲哚乙酸的排出量明显升高。

(五) 多胺

某些氨基酸的脱羧基作用可以产生多胺（polyamine）类物质。例如，鸟氨酸脱羧基生成腐胺，然后再转变成亚精胺（spermidine）和精胺（spermine）（图 7-16）。

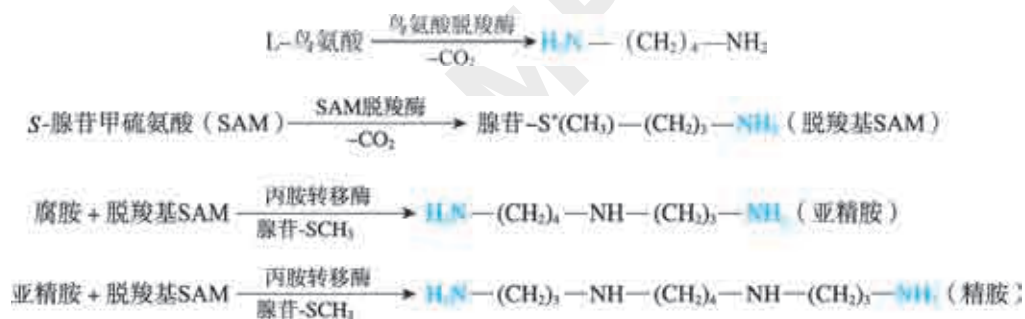


图 7-16 多胺的生成

亚精胺与精胺是调节细胞生长的重要物质，凡生长旺盛的组织（如胚胎、再生肝、生长激素作用的细胞及肿瘤组织等），作为多胺合成调节酶的鸟氨酸脱羧酶（ornithine decarboxylase）的活性均较强，多胺的含量也较高。多胺促进细胞增殖的机制可能与其稳定细胞结构、与核酸分子结合并增强核酸与蛋白质合成有关，目前临床上利用测定肿瘤患者血、尿中多胺含量作为观察病情的指标之一。

二、一碳单位的代谢

某些氨基酸在分解代谢过程中可以产生含有一个碳原子的基团，称为一碳单位（one carbon unit），但是 CO_2 不属于一碳单位。体内的一碳单位有甲基（ $-\text{CH}_3$, methyl）、亚甲基（ $-\text{CH}_2-$, methylene）、次甲基（ $-\text{CH}$, methenyl）、甲酰基（ $-\text{CHO}$, formyl）及亚氨甲基（ $-\text{CH}=\text{NH}$, formimino）等。一碳单位不能游离存在，常与四氢叶酸（tetrahydrofolic acid, FH_4 , THFA）结合而转运及参加代谢，因此四氢叶酸是一碳单位的载体（图 7-17）。

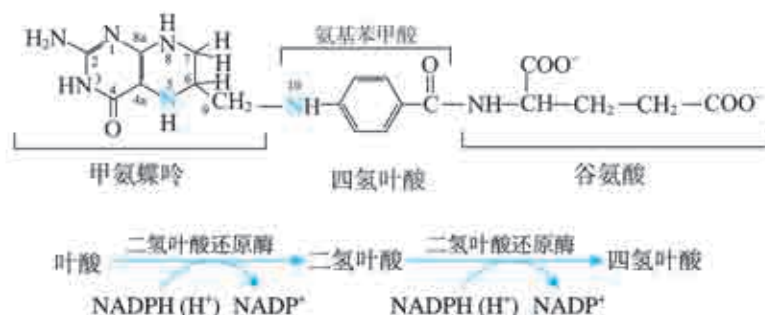


图 7-17 四氢叶酸的生成

（一）一碳单位与四氢叶酸

体内含一个碳的物质的转运涉及三种辅因子，其中生物素转运 CO_2 ，S-腺苷甲硫氨酸转运甲基，而四氢叶酸是一碳单位的运载体。哺乳类动物体内，四氢叶酸可由叶酸经二氢叶酸还原酶（dihydrofolate reductase）催化，通过两步还原反应而生成（图 7-17），一碳单位通常结合在 FH_4 分子的 N^5 、 N^{10} 位上（图 7-18）。

（二）一碳单位与氨基酸代谢

一碳单位主要来源于丝氨酸，丝氨酸在羟甲基转移酶催化下生成 N^5 , N^{10} - CH_2 - FH_4 和甘氨酸，另外，甘氨酸、组氨酸和色氨酸代谢也可产生一碳单位（图 7-19）。苏氨酸代谢转变成 2-氨基-3-酮丁酸，再转变成甘氨酸，理论上讲也是一碳单位的来源，但在哺乳动物意义不大。

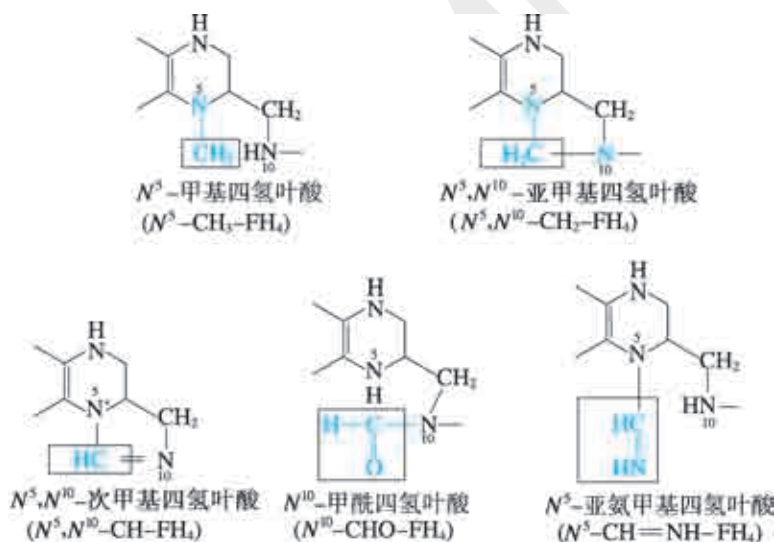
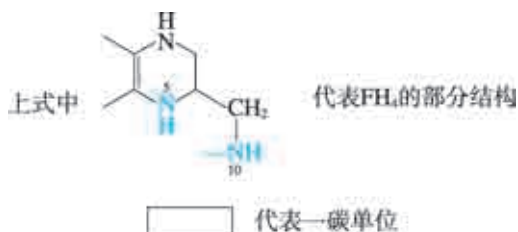


图 7-18 一碳单位与四氢叶酸



(三) 一碳单位的相互转变

各种不同形式一碳单位中碳原子的氧化状态不同，在适当条件下，它们可以通过氧化还原反应而彼此转变（图 7-20），但是，在这些转化反应中， N^5 -甲基四氢叶酸的生成是不可逆的。

(四) 一碳单位的生理功能

一碳单位的主要生理功能是作为合成嘌呤及嘧啶的原料，故在核酸生物合成中占有重要地位。例如， N^{10} -CHO-FH₄ 与 N^5, N^{10} -CH-FH₄ 分别提供嘌呤合成时 C-2 与 C-8 的来源， N^5, N^{10} -CH₂-FH₄ 提供脱氧胸苷酸（dTMP）合成时甲基的来源（见第 8 章）。由此可见，与乙酰辅酶 A（二碳化合物）在联系糖、脂质、氨基酸代谢中所起的枢纽作用相类似，一碳单位将氨基酸与核酸代谢密切联系起来。磺胺药及某些抗恶性肿瘤药如甲氨蝶呤（Methotrexate, MTX）等也正是分别通过干扰细菌及恶性肿瘤细胞的叶酸、四氢叶酸合成而影响一碳单位代谢与核酸合成，从而发挥其药理作用。另外，一碳单位代谢障碍可造成某些病理情况，例如巨幼细胞贫血等。

三、含硫氨基酸的代谢

体内的含硫氨基酸有三种，即甲硫氨酸、半胱氨酸和胱氨酸。这三种氨基酸的代谢是相互联系的，甲硫氨酸可以转变为半胱氨酸和胱氨酸，半胱氨酸和胱氨酸也可以互变，但后两者不能变为甲硫氨酸，所以甲硫氨酸是营养必需氨基酸。

(一) 甲硫氨酸的代谢

1. 甲硫氨酸与转甲基作用 甲硫氨酸分子中含有 S-甲基，通过各种转甲基作用可以生成多种含甲基的重要生理活性物质，如肾上腺素、肌酸、肉碱等。但是，甲硫氨酸在转甲基之

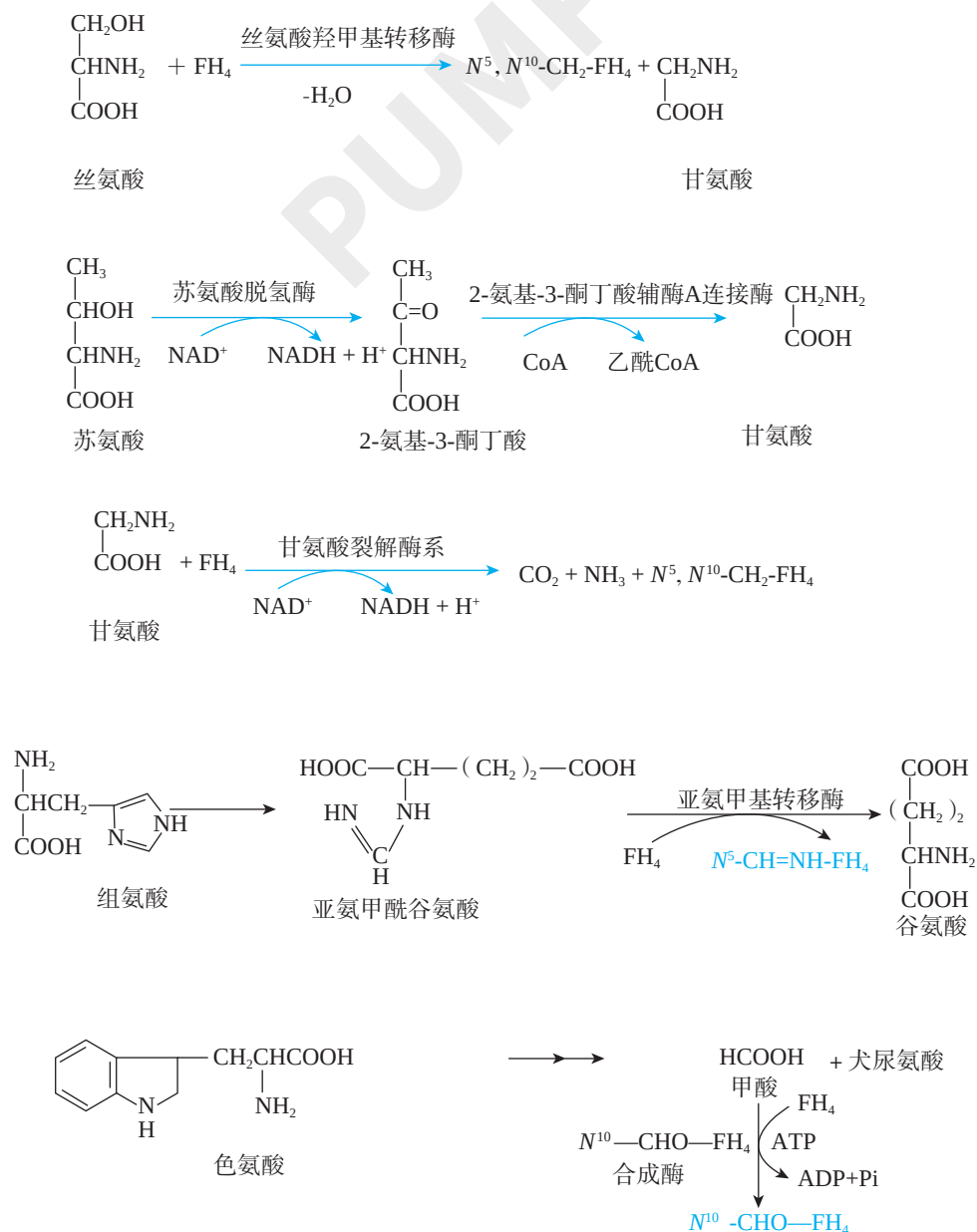


图 7-19 一碳单位的来源

前，首先必须与 ATP 作用，生成 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) (图 7-21)。此反应由甲硫氨酸腺苷转移酶催化。SAM 中的甲基称为活性甲基，SAM 称为活性甲硫氨酸。

SAM 上带正电荷的硫原子使甲基很不稳定，容易受到亲核物质的攻击，其甲基的活性是 $\text{N}^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 上甲基活性的 1000 倍。SAM 在甲基转移酶 (methyl transferase) 的作用下，可将甲基转移至另一种物质，使其甲基化 (methylation)，因此 SAM 是重要的烷化剂。而 SAM 即变成 S-腺苷同型半胱氨酸，后者进一步脱去腺苷，生成同型半胱氨酸 (homocysteine，亦称高半胱氨酸)。

据统计，体内有 50 多种物质需要 SAM 提供甲基，生成甲基化合物。甲基化是重要的代谢反应，具有广泛的生理意义 (包括 DNA 与 RNA 的甲基化)，而 SAM 则是体内最重要的甲基直接供体 (表 7-6)。

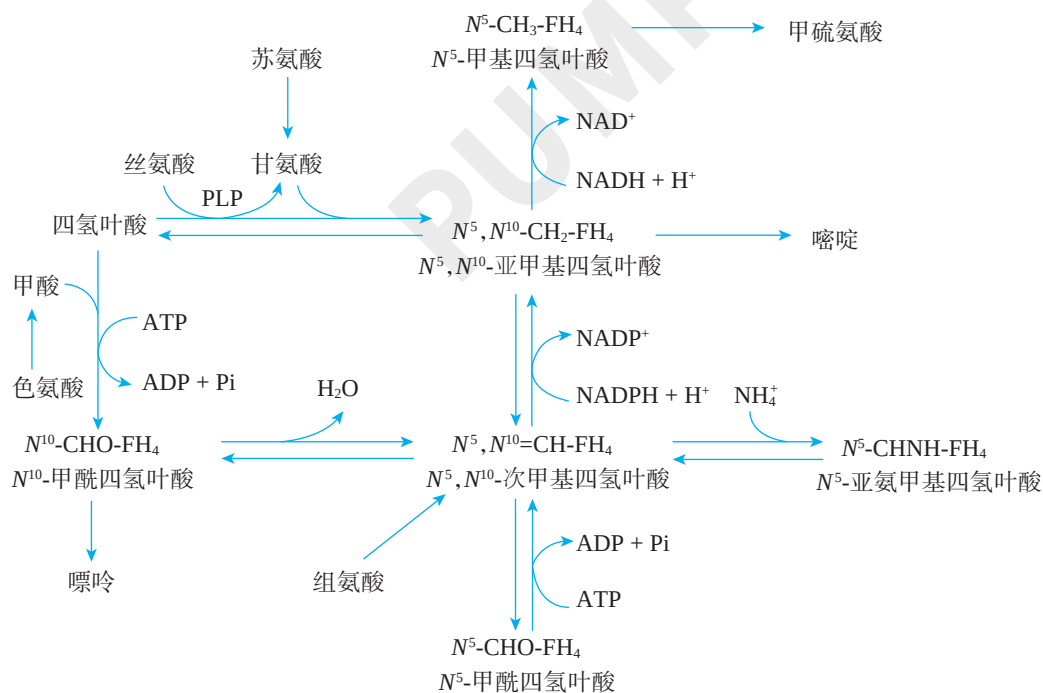


图 7-20 一碳单位的生成和相互转变

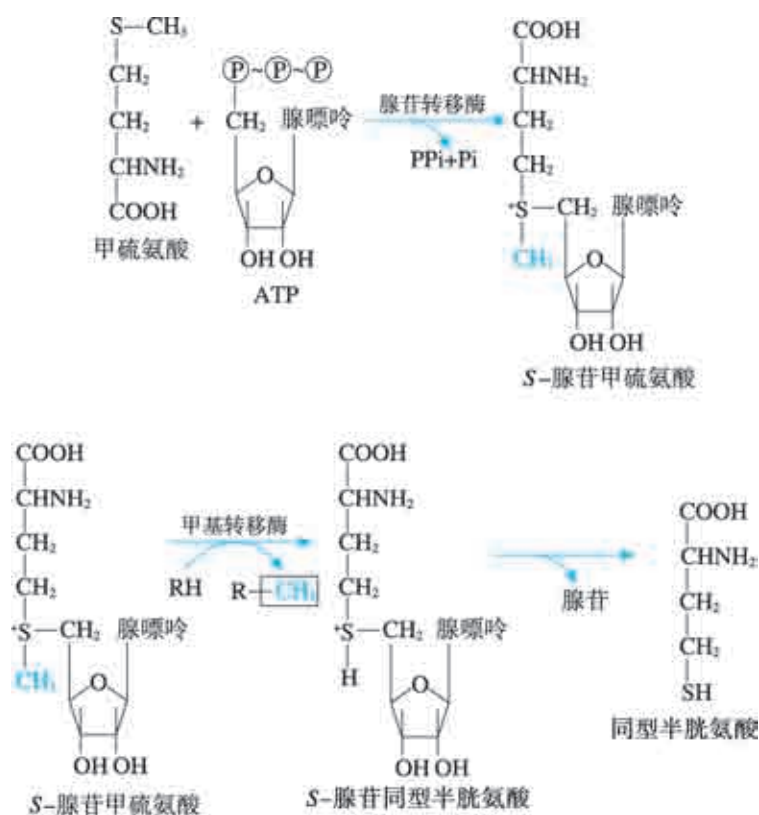


图 7-21 甲硫氨酸的代谢

式中 RH 代表接受甲基的物质

表7-6 由SAM参加的一些转甲基作用

甲基接受体	甲基化合物	甲基接受体	甲基化合物
去甲肾上腺素	肾上腺素	RNA	甲基化 RNA
胍乙酸	肌酸	DNA	甲基化 DNA
磷脂酰乙醇胺	磷脂酰胆碱	蛋白质	甲基化蛋白质
γ -氨基丁酸	肉碱	烟酰胺	N-甲基烟酰胺

2. 甲硫氨酸循环 甲硫氨酸在体内最主要的分解代谢途径是通过上述转甲基作用而提供甲基，与此同时产生的 S-腺苷同型半胱氨酸进一步转变成同型半胱氨酸。同型半胱氨酸可以接受 $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 提供的甲基，重新生成甲硫氨酸，形成一个循环过程，称为甲硫氨酸循环 (methionine cycle) (图 7-22)。这个循环的生理意义是由 $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 供给甲基合成甲硫氨酸，再通过此循环的 SAM 提供甲基，以进行体内广泛存在的甲基化反应。由此可见， $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 可看成是体内甲基的间接供体。

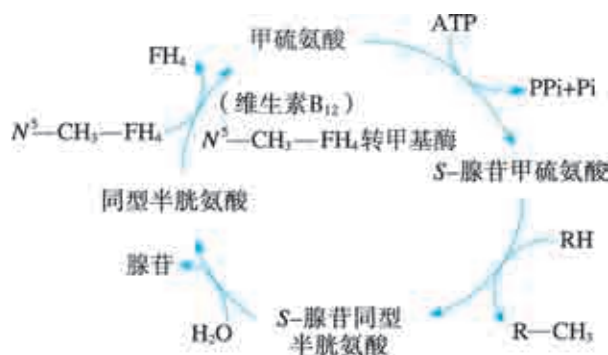


图 7-22 甲硫氨酸循环

尽管通过甲硫氨酸循环可以生成甲硫氨酸，但体内不能合成同型半胱氨酸，它只能由甲硫氨酸转变而来，所以实际上体内仍然不能合成甲硫氨酸，必须由食物供给。

值得注意的是，由 $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 提供甲基使同型半胱氨酸转变成甲硫氨酸的反应，是目前已知体内能利用 $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 的唯一反应。催化此反应的 N^5 -甲基四氢叶酸甲基转移酶，又称甲硫氨酸合酶 (methionine synthase)，其辅酶是维生素 B_{12} ，它参与甲基的转移。这个反应是哺乳动物体内唯一有维生素 B_{12} 参与的反应，维生素 B_{12} 缺乏时， $N^5\text{-CH}_3\text{-FH}_4$ 上的甲基不能转移。这不仅不利于甲硫氨酸的生成，同时也影响四氢叶酸的再生，使组织中游离的四氢叶酸含量减少，不能重新利用它来转运其他一碳单位，导致核酸合成障碍，影响细胞分裂。因此，维生素 B_{12} 不足时可以产生巨幼细胞贫血，其症状包括贫血和神经疾病。这种贫血并不常见，仅发生于肠道维生素吸收障碍的人和严格的素食主义者（植物中不含维生素 B_{12} ）。人体维生素 B_{12} 需要量很少，而且维生素 B_{12} 可以在肝贮存 3 ~ 5 年，因此，巨幼细胞贫血进展缓慢。在甲硫氨酸缺乏时，同型半胱氨酸可以甲基化生成甲硫氨酸。甲硫氨酸充足时，同型半胱氨酸可通过胱硫醚合酶 (cystathionine synthase) 催化，与丝氨酸缩合生成胱硫醚，后者进一步生成半胱氨酸和 α -酮丁酸，而 α -酮丁酸转变成琥珀酸单酰辅酶 A，通过三羧酸循环，可以生成葡萄糖，所以甲硫氨酸是生糖氨基酸。

目前认为，同型半胱氨酸对于血管疾病具有重要的病理意义，可能是动脉粥样硬化发病的独立危险因素，血浆同型半胱氨酸增加与冠状动脉疾病的严重程度成正相关。叶酸、维生素 B_{12} 和维生素 B_6 参与同型半胱氨酸的代谢，如果食物有充足的叶酸、维生素 B_{12} 和维生素 B_6 ，则可降低循环中同型半胱氨酸含量。虽然现在还不清楚降低同型半胱氨酸的治疗方法是否可以减少

心脏病发病率,但对于血管疾病高危患者还是有益的。例如,对行冠脉血管成形术的患者用这些维生素进行治疗降低同型半胱氨酸后,可以明显延缓病程进展,防止再度梗死。同样的效果也可在同型半胱氨酸尿症患者中见到,同型半胱氨酸尿症是由于胱硫醚合酶先天缺乏,特点是血清同型半胱氨酸水平增高,这种患者常伴有血管疾病,通常死于心肌梗死、脑卒中或肺栓塞。

3. 肌酸的合成 肌酸(creatine)和磷酸肌酸(creatine phosphate)是能量储存、利用的重要化合物。肌酸以甘氨酸为骨架,由精氨酸提供胍基、S-腺苷甲硫氨酸供给甲基而合成(图7-23)。肝是合成肌酸的主要器官。在肌酸激酶[creatine kinase,也称肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)]催化下,肌酸转变成磷酸肌酸,并储存ATP的高能磷酸键,磷酸肌酸在心肌、骨骼肌及脑中含量丰富。

肌酸激酶由两种亚基组成,即M亚基(肌型)与B亚基(脑型)。有三种同工酶:MM型、MB型及BB型。它们在体内各组织中的分布不同,MM型主要分布在骨骼肌,MB型主要在心肌,BB型主要在脑。心肌梗死时,血中MB型肌酸激酶活性增高,可作为辅助诊断的指标之一。

肌酸和磷酸肌酸代谢的终产物是肌酸酐(creatinine)。肌酸酐主要在肌肉中通过磷酸肌酸的非酶促反应生成。正常成人每日尿中肌酸酐的排出量恒定。肾严重病变时,肌酸酐排泄受阻,血中肌酸酐浓度升高。

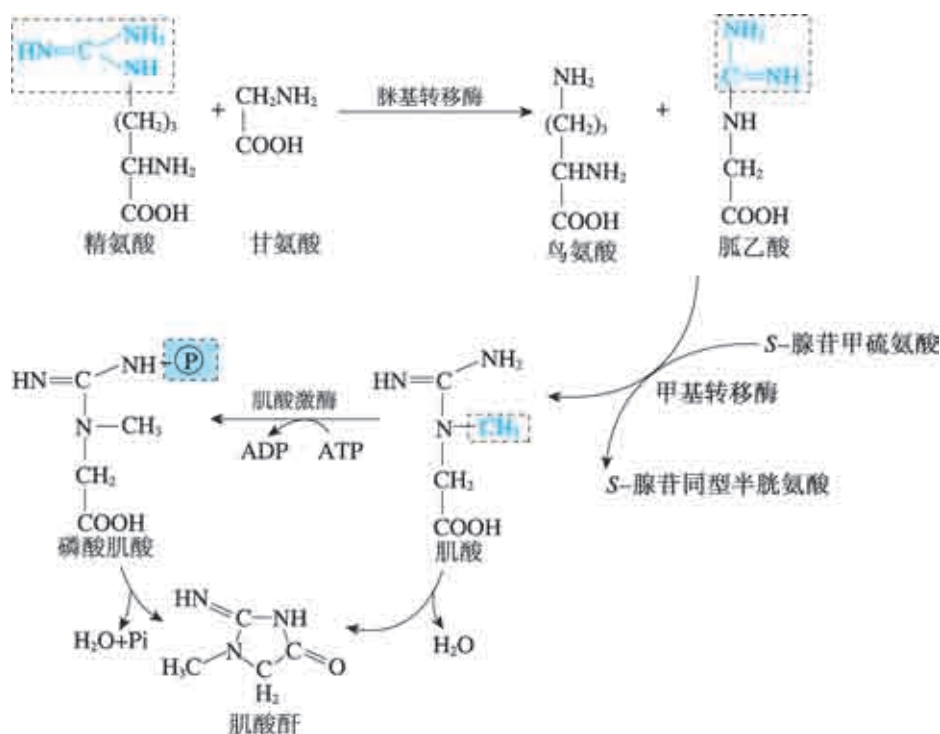
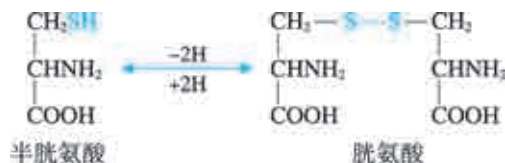


图 7-23 肌酸的代谢

(二) 半胱氨酸与胱氨酸的代谢

1. 半胱氨酸与胱氨酸的互变 半胱氨酸含有巯基(—SH),胱氨酸含有二硫键(—S—S—),二者可以相互转变。



蛋白质中两个半胱氨酸残基之间形成的二硫键对维持蛋白质的结构具有重要作用。体内许多重要酶的活性均与其分子中半胱氨酸残基上巯基的存在直接有关，故有巯基酶之称。有些毒物，如芥子气、重金属盐等，能与酶分子的巯基结合而抑制酶活性，从而发挥其毒性作用。二巯丙醇可以使结合的巯基恢复原来状态，所以有解毒作用。体内存在的还原型谷胱甘肽能保护酶分子上的巯基，因而有重要的生理功能。

2. 硫酸根的代谢 含硫氨基酸氧化分解均可以产生硫酸根，半胱氨酸是体内硫酸根的主要来源。例如，半胱氨酸直接脱去巯基和氨基，生成丙酮酸、 NH_3 和 H_2S ，后者再经氧化而生成 H_2SO_4 。体内的硫酸根一部分以无机盐形式随尿排出，另一部分则经 ATP 活化成活性硫酸根，即 3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸 (3'-phospho-adenosine-5'-phosphosulfate, PAPS)，反应过程见图 7-24。

PAPS 的性质比较活泼，可使某些物质形成硫酸酯。例如，类固醇激素可形成硫酸酯而被灭活，一些外源性酚类化合物也可以形成硫酸酯而排出体外，这些反应在肝生物转化作用中有重要意义。此外，PAPS 还可参与硫酸角质素及硫酸软骨素等分子中硫酸化氨基糖的合成。上述反应称为转硫酸基作用，由硫酸转移酶催化。

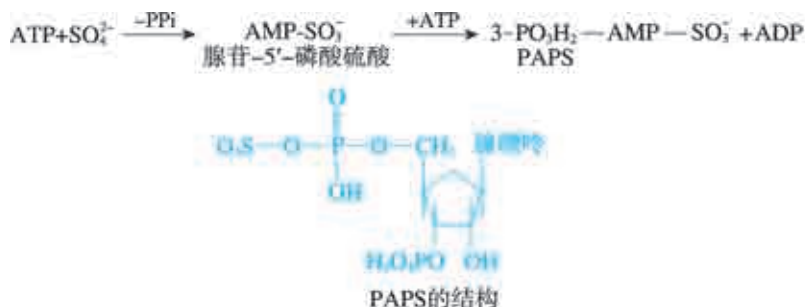


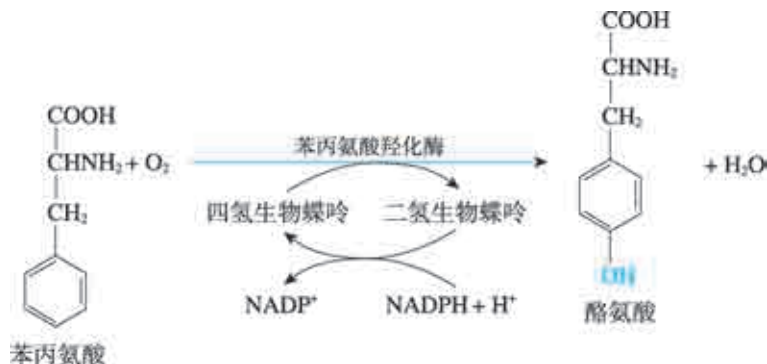
图 7-24 PAPS 的生成

四、芳香族氨基酸的代谢

芳香族氨基酸包括苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸。苯丙氨酸在结构上与酪氨酸相似，在体内苯丙氨酸可变成酪氨酸，所以合并在一起叙述。

(一) 苯丙氨酸和酪氨酸的代谢

正常情况下，苯丙氨酸的主要代谢是羟化作用，生成酪氨酸。催化此反应的酶是苯丙氨酸羟化酶 (phenylalanine hydroxylase)。苯丙氨酸羟化酶是一种单加氧酶，其辅酶是四氢生物蝶呤，催化的反应不可逆，因而酪氨酸不能转变为苯丙氨酸。



1. 儿茶酚胺与黑色素的合成 酪氨酸的进一步代谢与合成某些神经递质、激素及黑色素有关。酪氨酸经酪氨酸羟化酶作用,生成3,4-二羟苯丙氨酸(3,4-dihydroxyphenylalanine, dopa, 多巴)。与苯丙氨酸羟化酶相似,此酶也是以四氢生物蝶呤为辅酶的单加氧酶。通过多巴脱羧酶的作用,多巴转变成多巴胺(dopamine)。多巴胺是脑中的一种神经递质,帕金森病(Parkinson disease)患者多巴胺生成减少。在肾上腺髓质中,多巴胺侧链的 β 碳原子可再被羟化,生成去甲肾上腺素(norepinephrine),后者经N-甲基转移酶催化,由活性甲硫氨酸提供甲基,转变成肾上腺素(epinephrine)(图7-25)。多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素统称为儿茶酚胺(catecholamine),即含邻苯二酚的胺类。酪氨酸羟化酶是儿茶酚胺合成的关键酶,受终产物的反馈调节。

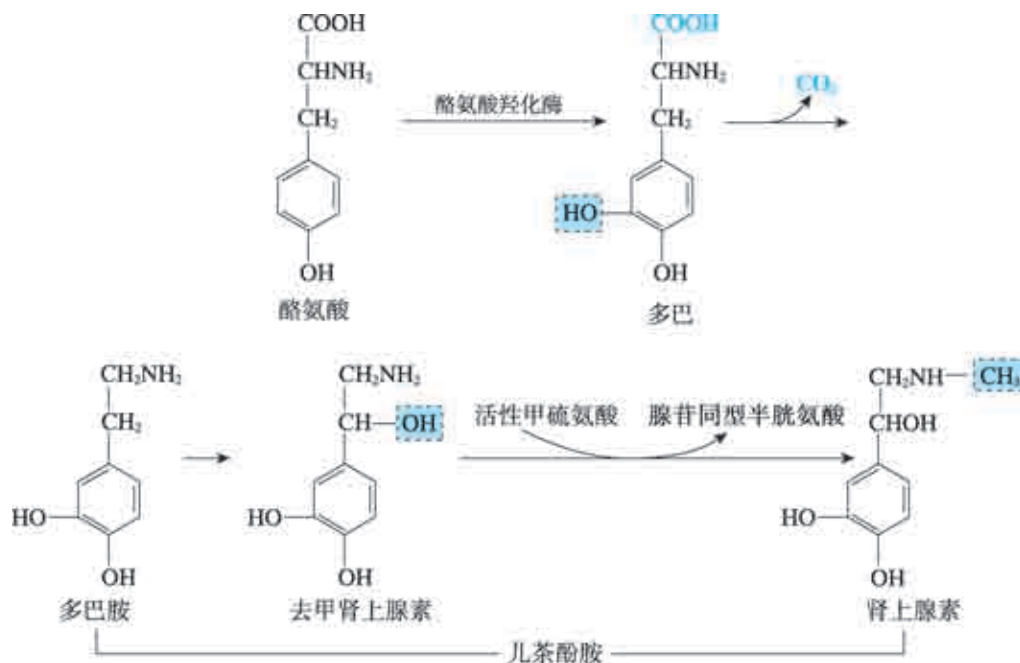


图 7-25 儿茶酚胺的合成

酪氨酸代谢的另一条途径是合成黑色素(melanin)。在黑色素细胞中酪氨酸酶(tyrosinase)的催化下,酪氨酸羟化生成多巴,后者经氧化、脱羧等反应转变成吲哚-5,6-醌。黑色素即是吲哚醌的聚合物。人体缺乏酪氨酸酶,黑色素合成障碍,皮肤、毛发等发白,称为白化病(albinism)。

2. 酪氨酸的分解代谢 除上述代谢途径外,酪氨酸还可在酪氨酸转氨酶的催化下,生成对羟苯丙酮酸,后者经尿黑酸等中间产物进一步转变成延胡索酸和乙酰乙酸,二者分别参与糖和脂肪酸代谢。因此,苯丙氨酸和酪氨酸是生酮兼生糖氨基酸。

3. 苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU) 由先天性缺乏苯丙氨酸羟化酶引起,是最常见的先天性氨基酸代谢疾病,发病率为1:11000,特点是高血苯丙氨酸、神经发育障碍和低色素。正常情况下苯丙氨酸代谢的主要途径是转变成酪氨酸,当苯丙氨酸羟化酶先天性缺陷时,苯丙氨酸不能转变成酪氨酸,体内的苯丙氨酸蓄积,并可经转氨基作用生成苯丙酮酸,后者进一步转变成苯乙酸等衍生物。此时,尿中出现大量苯丙酮酸等代谢产物,因此称为苯丙酮尿症。苯丙氨酸羟化酶以四氢生物蝶呤(BH₄)为辅酶。高苯丙氨酸血症的原因不同,临床处理也不同。例如,少部分PKU是由于二氢蝶呤(BH₂)还原酶或BH₂合成酶缺乏引起,造成BH₄合成减少,苯丙氨酸不能羟化为酪氨酸,间接提高了苯丙氨酸浓度。酪氨酸羟化酶和色氨酸羟化酶也需要以BH₄为辅酶,用以合成神经递质5-羟色胺和儿茶酚胺,BH₄减少导致这些

The diagram illustrates the metabolic pathways of phenylalanine, starting from its chemical structure at the top left. The main pathway proceeds through tyrosine (酪氨酸) to L-tyrosine (L-酪氨酸), which then branches into several pathways:

- Neurotransmitter Synthesis:** L-tyrosine is converted to L-DOPA (多巴) by the enzyme tyrosine hydroxylase (酪氨酸羟化酶), which is noted as being rare in normal conditions. L-DOPA is then converted to dopamine (多巴胺) and finally to norepinephrine (去甲肾上腺素). Norepinephrine is further converted to epinephrine (肾上腺素) with the addition of SAM.
- Thyroid Hormone Synthesis:** In thyroid cells (甲状腺细胞), L-tyrosine is converted to thyroxine (T₄ and T₃) (甲状腺激素).
- Melanin Synthesis:** In melanocytes (黑色素细胞), L-tyrosine is converted to L-phenylpyruvate (羟苯丙酮酸) by the enzyme tyrosine aminotransferase (酪氨酸转氨酶). L-phenylpyruvate is then converted to L-DOPA (多巴) by the enzyme tyrosinase (酪氨酸酶). L-DOPA is further converted to L-DOPA-quinone (多巴醌), which then cyclizes to form indole-5,6-quinone (吲哚醌). Finally, indole-5,6-quinone is polymerized (聚合) to form melanin (黑色素).
- Other Pathways:** L-tyrosine can also be converted to p-tyrosine (对羟苯丙酮酸) by the enzyme tyrosine aminotransferase (酪氨酸转氨酶). p-tyrosine is then converted to homogentisine (尿黑酸) and finally to homogentisine (延胡索酸) and acetoacetic acid (乙酰乙酸).

图 7-26 苯丙氨酸和酪氨酸的代谢

(二) 色氨酸的代谢

色氨酸除生成 5-羟色胺外, 本身还可分解代谢。在肝中, 色氨酸通过色氨酸加氧酶 (tryptophan oxygenase), 又称吡咯酶 (pyrrolase) 的作用, 生成甲酰犬尿氨酸。色氨酸加氧酶是一个铁卟啉金属蛋白质, 在肝可被肾上腺皮质激素和色氨酸诱导生成, 可被烟酸衍生物, 包括 NADPH 反馈抑制。甲酰犬尿氨酸水解脱去甲酰基生成犬尿氨酸, 该反应由犬尿氨酸甲酰酶催化。犬尿氨酸羟化生成 3-L-羟基犬尿氨酸, 进一步在犬尿氨酸酶参与下生成羟氨苯甲酸, 这个酶需要磷酸吡哆醛做辅酶, 因此, 当维生素 B₆ 缺乏时, 3-L-羟基犬尿氨酸脱氨生成黄尿酸。因此在色氨酸负荷实验时排出黄尿酸可诊断维生素 B₆ 缺乏。色氨酸分解还产生甲酸, 后者可参与一碳单位代谢。另外, 色氨酸分解可产生丙酮酸与乙酰乙酰辅酶 A, 所以色氨酸是一种生酮兼生糖氨基酸。此外, 色氨酸分解还可产生烟酸, 这是体内合成维生素的特例, 但其合成量甚少, 不能满足机体的需要。

五、支链氨基酸的代谢

支链氨基酸包括亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸, 它们都是营养必需氨基酸, 主要在肝外组织分解。这三种氨基酸分解代谢的开始阶段基本相同, 即首先经转氨基作用, 由支链 α -酮酸脱氢酶复合体催化, 生成各自相应的 α -酮酸, 其后分别进行代谢。这个脱氢酶复合体由脱羧酶、酰基转移酶和二氢硫辛酸脱氢酶组成, 与丙酮酸脱氢酶复合体相似。经过若干步骤, 缬氨酸分解产生琥珀酸单酰辅酶 A, 亮氨酸产生乙酰辅酶 A 及乙酰乙酰辅酶 A, 异亮氨酸产生乙酰辅酶 A 及琥珀酸单酰辅酶 A。所以, 这三种氨基酸分别是生糖氨基酸、生酮氨基酸及生酮兼生糖氨基酸。虽然多数氨基酸在肝进行分解代谢, 但支链氨基酸的分解代谢主要在骨骼肌、脂肪、肾和脑组织中进行, 这是由于肝外组织有支链 α -酮酸脱氢酶复合体, 而肝中缺乏, 支链 α -酮酸脱氢酶复合体缺乏导致枫糖尿症 (支链酮酸尿症)。肝中的支链氨基酸通过血液转运到肌肉等组织代谢。

综上所述, 各种氨基酸除了作为合成蛋白质的原料外, 还可以转变成其他多种含氮的生理活性物质, 表 7-7 列举了这些重要的化合物。表 7-8 列出的是一些可以影响氨基酸代谢的遗传性疾病。

表 7-7 氨基酸衍生的重要含氮化合物

化合物	生理功能	氨基酸前体
嘌呤碱	含氮碱基、核酸成分	天冬氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸
嘧啶碱	含氮碱基、核酸成分	天冬氨酸
卟啉化合物	血红素、细胞色素	甘氨酸
肌酸、磷酸肌酸	能量贮存	甘氨酸、精氨酸、甲硫氨酸
烟酸	维生素	色氨酸
多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素	神经递质、激素	苯丙氨酸、酪氨酸
甲状腺激素	激素	酪氨酸
黑色素	皮肤色素	苯丙氨酸、酪氨酸
5-羟色胺	血管收缩剂、神经递质	色氨酸
组胺	血管舒张剂	组氨酸
γ -氨基丁酸	神经递质	谷氨酸
精胺、亚精胺	细胞增殖促进剂	甲硫氨酸、精 (鸟) 氨酸



表 7-8 遗传性氨基酸代谢病

表7-8 影响氨基酸代谢的遗传性疾病

疾病	发病率 (每10万人)	影响环节	缺陷酶	症状和影响
白化病	< 3	黑色素合成	酪氨酸酶	缺乏色素, 白头发, 粉红皮肤
尿黑酸尿症	< 0.4	酪氨酸降解	尿黑酸 1,2- 双加氧酶	尿色发黑, 迟发性关节炎
精氨酸血症	< 0.5	尿素合成	精氨酸酶	智力发育障碍
精氨酸代琥珀酸血症	< 1.5	尿素合成	精氨酸代琥珀酸合成酶	呕吐, 惊厥
氨基甲酰磷酸合成酶 I 缺乏症	< 0.5	尿素合成	氨基甲酰磷酸合成酶 I	昏睡, 惊厥, 早夭
同型半胱氨酸血症	< 0.5	甲硫氨酸降解	胱硫醚合酶	骨、智力发育障碍
枫糖尿症	< 0.4	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸降解	支链 α - 酮酸脱氢酶复合体	呕吐, 惊厥, 智力发育障碍, 早夭
甲基丙二酸血症	< 0.5	丙酰 CoA 转变为琥珀酰 CoA	甲基丙二酸变位酶	呕吐, 惊厥, 智力发育障碍, 早夭
苯丙酮尿症	< 8	苯丙酮酸转变为酪氨酸	苯丙酮酸羟化酶	新生儿呕吐, 智力发育障碍

小 结

氨基酸具有重要的生理功能, 除主要作为合成蛋白质的原料外, 还可以转变成核苷酸、某些激素、神经递质等含氮物质。人体内氨基酸主要来自食物蛋白质的消化吸收。各种蛋白质由于所含氨基酸的种类和数量不同, 其营养价值也不相同。体内不能合成而必须由食物供给的氨基酸, 称为营养必需氨基酸, 营养必需氨基酸共有 9 种。食物蛋白质的消化主要在小肠中进行, 由各种蛋白水解酶的协同作用完成。水解生成的氨基酸及二肽即可被吸收。载体蛋白是氨基酸吸收、转运的主要方式。未被消化的蛋白质和氨基酸在大肠下段的肠菌作用下还可发生腐败作用。

外源性与内源性氨基酸共同构成“氨基酸库”, 参与体内代谢。氨基酸通过脱氨基作用, 生成氨及相应的 α - 酮酸, 这是氨基酸的主要分解途径。转氨基与 L- 谷氨酸氧化脱氨基的联合脱氨基作用, 是体内大多数氨基酸脱氨基的主要方式。由于这个过程可逆, 因此也是体内合成营养非必需氨基酸的重要途径。

α - 酮酸是氨基酸的碳骨架, 除部分可用于再合成氨基酸外, 其余的可经过不同代谢途径, 生成丙酮酸或三羧酸循环中的某一中间产物, 如草酰乙酸、延胡索酸、琥珀酸单酰辅酶 A、 α - 酮戊二酸等, 通过它们可以转变成糖, 也可继续氧化, 最终生成二氧化碳、水及能量。有些氨基酸还可转变成乙酰辅酶 A 而生成脂类物质。由此可见, 在体内, 氨基酸、糖及脂肪代谢有着广泛的联系。

氨是有毒物质。体内的氨通过葡萄糖- 丙氨酸循环、谷氨酰胺等形式转运到肝, 大部分经鸟氨酸循环合成尿素, 排出体外。尿素合成是一个重要的代谢过程, 受到多种因素的调节, 肝功能严重损伤时, 可产生高氨血症和肝性脑病。体内小部分氨在肾以铵盐形式随尿排出。

胺类物质在体内也有重要的生理作用, 如 γ - 氨基丁酸、组胺、5- 羟色胺、牛磺酸、多胺等, 它们都是氨基酸脱羧基的产物, 故脱羧基作用也是氨基酸的重要代谢途径。

某些氨基酸在分解代谢过程中可以产生含有一个碳原子的基团, 称为一碳单位, 包含甲基、亚甲基、次甲基、甲酰基、亚氨基甲等。四氢叶酸是一碳单位的运载体, 在其

代谢中起着重要作用。一碳单位的主要功能是作为合成嘌呤和嘧啶核苷酸的原料，是联系氨基酸与核酸代谢的枢纽。

含硫氨基酸有甲硫氨酸和半胱氨酸。甲硫氨酸的主要功能是通过甲硫氨酸循环，提供活性甲基 (SAM)，此外，还可参与肌酸等的代谢。半胱氨酸的自由巯基和许多酶的活性有关，半胱氨酸可转变成牛磺酸，后者是胆汁酸盐的成分。含硫氨基酸分子中的硫在体内最后可转变成 H_2SO_4 ，部分以钠盐形式自尿中排出，其余转变成活性硫酸根 (PAPS)。

苯丙氨酸和酪氨酸是两种重要的芳香族氨基酸。苯丙氨酸经羟化作用生成酪氨酸。后者参与儿茶酚胺、黑色素等的代谢。苯丙酮尿症、白化病等遗传病与苯丙氨酸或酪氨酸的代谢异常有关。

思考题

1. 谷氨酸在体内如何转变成尿素、 CO_2 和水？
2. 简述天冬氨酸在体内转变成葡萄糖的主要代谢途径。
3. 试述鸟氨酸循环、葡萄糖 - 丙氨酸循环、甲硫氨酸循环的生理意义。
4. 试述叶酸、维生素 B_{12} 缺乏产生巨幼细胞贫血的生化机制。
5. 说明高氨血症导致昏迷的生化基础。
6. 举例说明肝是尿素合成主要器官的实验依据。
7. 说明苯丙酮尿症与白化病发生的生化基础。
8. 为什么对高氨血症患者禁用碱性肥皂水灌肠且不宜用碱性利尿剂？
9. 肌肉和肝的氨基酸分解代谢有何异同？

(王秀宏)

第8章

核苷酸代谢

第一节 概 述

核苷酸具有多种生物学功能：①作为构成核酸的基本结构单位，这是核苷酸的最主要功能；②参与能量代谢，是体内高能化合物形式，ATP 是细胞的主要能量形式，GTP 亦参与提供能量；③活化中间代谢物质，如 UDP- 葡萄糖与 CDP- 二酰甘油分别是合成糖原与磷脂的活性前体，S- 腺苷甲硫氨酸是活性甲基的载体；④参与辅酶组成，如腺苷酸可作为多种辅酶（ NAD^+ ， NADP^+ ，FAD，辅酶 A）的组成部分；⑤参与代谢调节，核苷酸衍生物 cAMP 是多种激素的第二信使，cGMP 亦参与代谢调节过程；⑥ ATP 作为磷酸基团的供体参与蛋白质的磷酸化修饰，如糖原合酶的磷酸化等。

在人体内，食物中核酸的消化以及细胞内核酸的降解由核酸酶（nuclease）催化。

食物中的核酸主要是在小肠中进行消化。首先由内切核酸酶（endonuclease）切割核酸内部磷酸二酯键生成寡核苷酸（oligonucleotide），然后非特异性外切核酸酶（exonuclease）（如磷酸二酯酶，phosphodiesterase）切割寡核苷酸末端磷酸二酯键生成单核苷酸，核苷酸酶（nucleotidase）进一步水解单核苷酸生成磷酸和相应的核苷。核苷可以被吸收或者继续降解生成碱基和戊糖（图 8-1）。分解产生的戊糖被吸收而参与体内的戊糖代谢，大部分嘌呤和嘧啶碱基则在小肠黏膜细胞进一步被分解而排出体外。因此，食物来源的嘌呤和嘧啶碱基很少被机体利用。

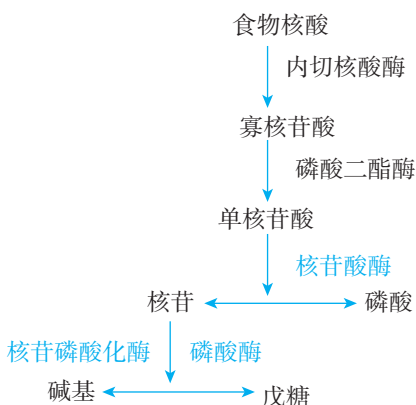


图 8-1 核酸的消化

第二节 核苷酸的合成

核苷酸不是营养必需物质，主要由机体细胞自身合成。机体可利用氨基酸、一碳单位和 CO_2 等小分子物质从头合成核苷酸，也可以直接利用碱基或核苷补救合成核苷酸，但从头合成是体内合成核苷酸的主要途径。

一、嘌呤核苷酸的合成

体内嘌呤核苷酸的生物合成有两条途径：①从头合成（de novo synthesis），即利用磷酸核糖、氨基酸和一碳单位等简单物质合成嘌呤核苷酸；②补救合成（salvage synthesis），是通过嘌呤碱基的磷酸核糖化或者嘌呤核苷的磷酸化生成嘌呤核苷酸。

（一）嘌呤核苷酸的从头合成

几乎所有的生命形式均能够从头合成嘌呤核苷酸。以放射性核素标记的小分子化合物饲养实验动物，并鉴定低分子量的嘌呤前体，然后对排泄的尿酸进行结晶，通过选择性的化学降解



核酸酶的分类及功能

方法测定不同前体物被标记的位置,最终确定了嘌呤环不同原子的来源(图8-2)。

组成嘌呤环的各种原子的来源:甘氨酸提供嘌呤环上第4、5位碳原子与第7位氮原子,天冬氨酸提供第1位氮原子,第3位与第9位氮原子来自谷氨酰胺,一碳单位提供第2位与第8位碳原子,第6位碳原子由二氧化碳提供。

嘌呤核苷酸从头合成在胞质中进行,反应步骤比较复杂。首先合成次黄苷(肌苷)一磷酸(次黄嘌呤核苷酸, inosine monophosphate, IMP),然后 IMP 再转变成为腺苷一磷酸(腺苷酸, adenosine monophosphate, AMP)和鸟苷一磷酸(鸟苷酸, guanosine monophosphate, GMP),最后 AMP 和 GMP 转变为 ADP 和 GDP,并进一步转化为 ATP 和 GTP。

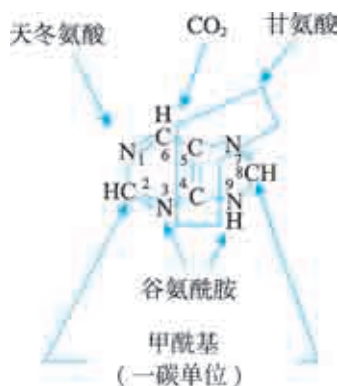


图8-2 嘌呤环碳与氮原子来源

1. IMP 的合成 IMP 的合成经历11步反应完成(图8-3):

(1) 磷酸核糖焦磷酸合成酶(phosphoribosyl pyrophosphate synthetase, PRPP synthetase)催化ATP的 β - γ -焦磷酸基团转移到核糖-5-磷酸的第1位碳原子上,生成磷酸核糖焦磷酸(phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP)。

(2) 磷酸核糖酰胺转移酶(phosphoribosyl amidotransferase)催化谷氨酰胺的酰胺基取代PRPP核糖上的第1位碳原子的焦磷酸,生成核糖胺-5-磷酸(phosphoribosylamine, PRA)。

(3) 甘氨酸分子全部加入到PRA中,生成甘氨酸胺核苷酸(glycinamide ribonucleotide, GAR),反应过程由ATP提供能量。

(4) GAR上甘氨酸残基的 α -氨基经甲酰化反应生成甲酰甘氨酸胺核苷酸(formyl-GAR, FGAR),甲酰基的供体是 N^{10} -甲酰四氢叶酸。

(5) 谷氨酰胺提供酰胺氮取代FGAR的氧生成甲酰甘氨酸胺核苷酸(formylglycinamide ribonucleotide, FGAM),反应过程由ATP供能。

(6) 氨基咪唑核苷酸合成酶催化FGAM脱水环化生成5-氨基咪唑核苷酸(aminoimidazole ribonucleotide, AIR)。

(7) 羧化酶催化1分子 CO_2 连接到AIR的咪唑环上,生成5-氨基咪唑-4-羧酸核苷酸(CAIR)。

(8) 天冬氨酸借助氨基与CAIR的羧基缩合生成5-氨基咪唑-4-琥珀酸甲酰胺核苷酸(SAICAR),反应过程由ATP供能。

(9) SAICAR脱掉1分子延胡索酸裂解成为5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸(AICAR)。

(10) N^{10} -甲酰四氢叶酸提供甲酰基生成5-甲酰胺基咪唑-4-甲酰胺核苷酸(FAICAR)。

(11) FAICAR脱水环化生成IMP。

在上述合成过程中,第1步反应生成的PRPP除了是从头合成嘌呤核苷酸的第一个重要中间物外,也是嘌呤核苷酸补救合成、嘧啶核苷酸生物合成途径所需核糖-5-磷酸的供体。该步反应是嘌呤核苷酸合成的调节位点,催化该反应的PRPP合成酶的缺陷与嘌呤代谢异常相关。第2步反应是从头合成嘌呤核苷酸系列反应中的关键步骤(committed step),催化该反应的磷酸核糖酰胺转移酶是关键酶。该步反应也是嘌呤核苷酸合成的调节位点。

2. AMP 和 GMP 的生成 IMP是从头合成途径的中间产物,IMP生成后,通路进入分支阶段,分别生成AMP和GMP(图8-4)。

(1) 由GTP提供能量,腺苷酸代琥珀酸合成酶(adenylosuccinate synthetase)催化天冬氨酸与IMP加合生成中间产物腺苷酸代琥珀酸,然后腺苷酸代琥珀酸裂解酶(adenylosuccinate lyase)催化腺苷酸代琥珀酸释放出延胡索酸,伴随生成腺苷酸。以上两步反应的总结果是天

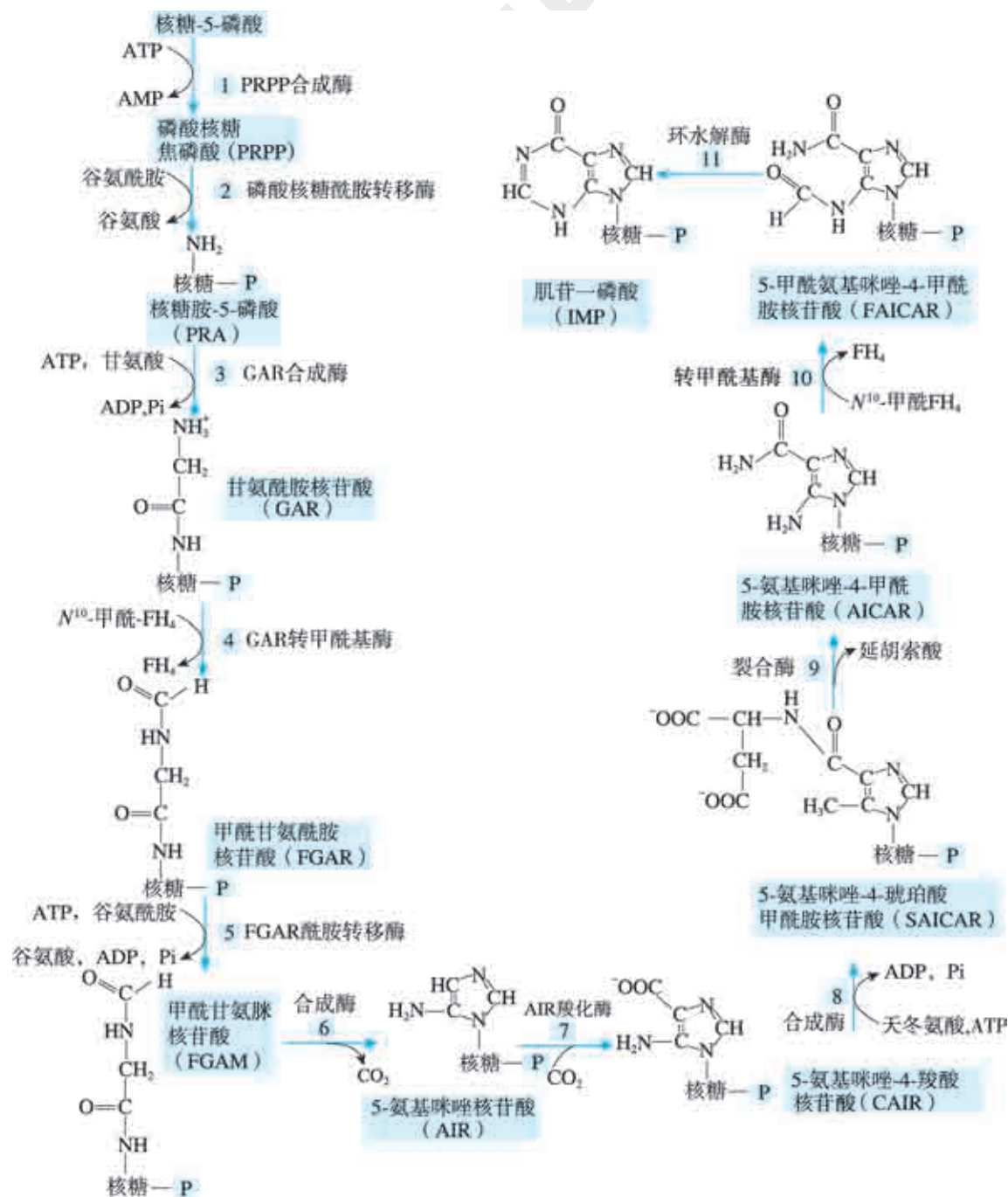


图 8-3 由核糖-5-磷酸从头合成 IMP

冬氨酸提供的氨基取代了 IMP 第 6 位碳的羰基氧生成 AMP (图 8-4, 反应 1、2)。

(2) 由 NAD⁺ 为受氢体, IMP 脱氢酶催化 IMP 生成黄苷一磷酸 (黄嘌呤核苷酸, xanthosine monophosphate, XMP)。在 ATP 的存在下, 鸟苷酸合成酶催化谷氨酰胺的酰胺基取代 XMP 中第 2 位碳的羰基氧生成 GMP (图 8-4, 反应 3、4)。

值得注意的是, 在 IMP 向 AMP 转化的反应过程中, 用于促进天冬氨酸与 IMP 加合的能量供体不是 ATP, 而是 GTP, GTP 浓度的升高有利于合成反应向 AMP 的方向进行。同样, 由于 IMP 转化为 GMP 的过程依赖 ATP, 因此, ATP 能够促进 GMP 的合成。这种交叉促进的方式在保证两种嘌呤核苷酸平衡生成中有着重要的意义。

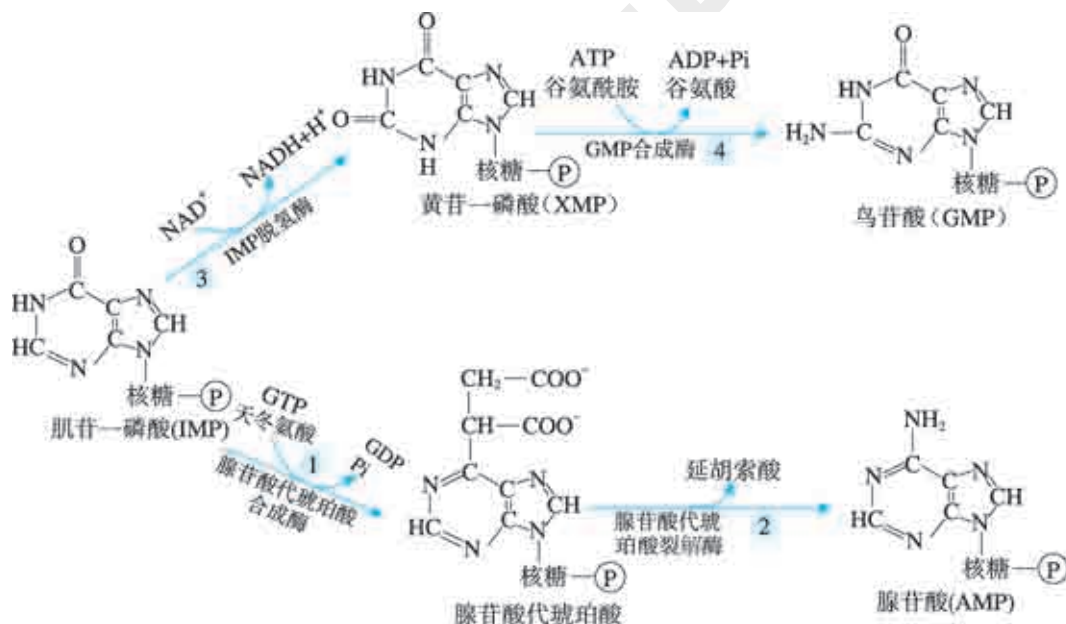


图 8-4 IMP 分支生成 AMP 与 GMP

3. ATP 与 GTP 的生成 由特异性鸟苷酸激酶催化 ATP 磷酰基转移至 GMP，生成 GDP，GDP 在非特异性核苷二磷酸激酶 (nucleoside diphosphate kinase) 的催化下消耗 1 分子 ATP 生成 GTP (图 8-5 A)。

ADP 的生成也是由特异性腺苷酸激酶催化完成的。由于反应可逆，特异性腺苷酸激酶可以催化 2 分子 ADP 生成 ATP (图 8-5 B)。体内 ADP 向 ATP 的转化主要是通过氧化磷酸化的过程产生，也可以通过糖酵解和三羧酸循环过程中的底物水平磷酸化生成。

嘌呤核苷酸的从头合成过程中，嘌呤环是在磷酸核糖分子上逐步合成的，而不是先合成嘌呤碱基再与磷酸核糖结合，这与嘧啶核苷酸合成过程不同，是嘌呤核苷酸从头合成的重要特点。

肝是体内从头合成嘌呤核苷酸的主要器官。细胞内核苷酸代谢池非常小，是 DNA 合成所需量的 1%，甚至更少。因此，在核酸合成中，细胞必须不断合成核苷酸，核苷酸合成的快慢会限制 DNA 复制和转录的速度，抑制核苷酸合成的化合物可以作为临床上抗肿瘤的藥物。

(二) 嘌呤核苷酸从头合成的调节

嘌呤核苷酸的从头合成主要受到反馈调节 (图 8-6)。被调节的酶分别为：① PRPP 合成酶；②磷酸核糖酰胺转移酶；③腺苷酸代琥珀酸合成酶；④ IMP 脱氢酶；⑤ GMP 合成酶。

1. PRPP 合成酶 PRPP 合成酶是一种别构酶，IMP、GMP 与 AMP 是其别构抑制剂，而核糖-5-磷酸是别构激活剂。PRPP 还是合成嘌呤核苷酸与嘧啶核苷酸的前体物质，因此 PRPP 合成酶同时受其他多条代谢途径产物的调节。

2. 磷酸核糖酰胺转移酶 磷酸核糖酰胺转移酶受到 AMP、GMP 与 IMP 的反馈抑制，而 PRPP 是其别构激活剂。

3. 腺苷酸代琥珀酸合成酶和 IMP 脱氢酶 AMP 抑制腺苷酸代琥珀酸合成酶的活性，阻止 IMP 向腺苷酸代琥珀酸的转化。同样，GMP 抑制 IMP 脱氢酶的活性，调节 IMP 向 XMP 的转化。

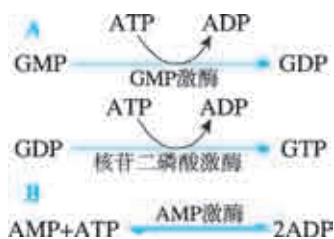


图 8-5 鸟苷二磷酸、鸟苷三磷酸与腺苷二磷酸的生成

4. 交互调节作用 GTP 是合成 AMP 的底物，而 ATP 是合成 GMP 的底物，这种互为底物的作用方式使得一种嘌呤核苷酸缺乏时能够降低另外一种嘌呤核苷酸的合成，用以保障嘌呤核苷酸的平衡生成。

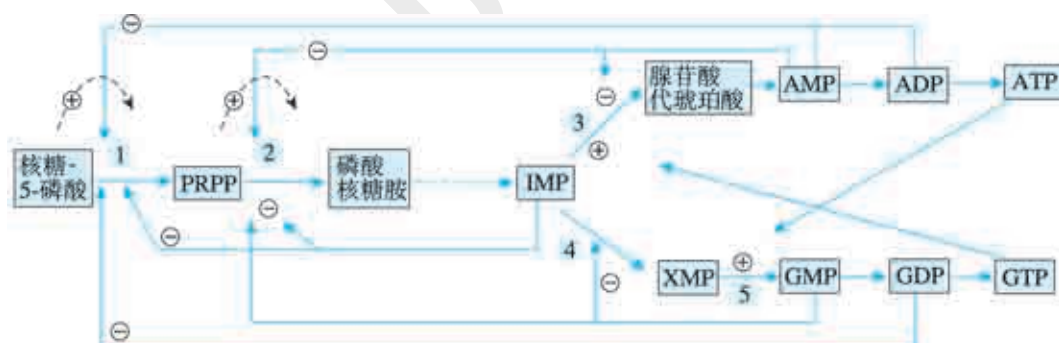


图 8-6 嘌呤核苷酸从头合成的调节

⊖ 负反馈调节；⊕ 正反馈调节

1. PRPP 合成酶；2. 磷酸核糖酰胺转移酶；3. 腺苷酸代琥珀酸合成酶；4. IMP 脱氢酶；5. GMP 合成酶

（三）嘌呤核苷酸的补救合成

嘌呤核苷酸补救合成是嘌呤碱基、嘌呤核苷以及脱氧嘌呤核苷重新合成嘌呤核苷酸的反应过程。体内存在两种类型的补救反应：①依赖 PRPP 的嘌呤磷酸核糖化补救反应；②在 ATP 存在时，由激酶直接催化嘌呤核苷的磷酸化补救生成嘌呤核苷酸。

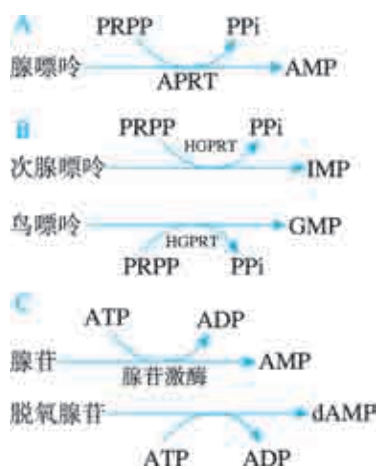


图 8-7 补救合成嘌呤核苷酸

在第一种补救反应中，由 PRPP 提供核糖-5-磷酸，腺嘌呤磷酸核糖转移酶（adenine phosphoribosyl transferase, APRT）催化腺嘌呤补救生成 AMP（图 8-7A）；次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶（hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase, HGPRT）催化次黄嘌呤、鸟嘌呤分别生成 GMP 与 IMP（图 8-7 B 及图 8-23）。

在第二种补救反应中，由特异性腺苷激酶（adenosine kinase）催化 ATP 的磷酸基团转移到腺苷或者脱氧腺苷，分别生成 AMP 或者 dAMP（图 8-7 C 及图 8-23）。

嘌呤核苷酸补救合成的生理意义：一方面可以节省从头合成时所消耗的能量和原料；另一方面，体内某些组织器官，由于缺乏从头合成嘌呤核苷酸的酶系，只能通过补救合成途径合成嘌呤核苷酸。例如，在正常条件下，脑中 HGPRT 的含量较其他组织高，而磷酸核糖酰胺转移酶含量很低，这样脑组织主要依赖补救合成提供嘌呤核苷酸。研究表明，由于 HGPRT 完全缺乏引起的痛风症伴随严重的神经系统障碍，可能与脑组织不能补救合成嘌呤核苷酸密切相关。

肝是嘌呤核苷酸合成的主要器官，并且可以为那些不能进行从头合成的组织提供补救合成的原料。例如，红细胞与白细胞不能合成 PRA，完全依赖外源性嘌呤补救合成嘌呤核苷酸。

（四）嘌呤核苷酸的抗代谢物

嘌呤核苷酸的各类抗代谢物以竞争性抑制的方式干扰或阻断嘌呤核苷酸的合成，从而进一步影响核酸与蛋白质的合成。嘌呤核苷酸抗代谢物包括以下类型：①叶酸类似物；②嘌呤类似物；③谷氨酰胺类似物。这三类物质分别在从头合成的不同部位阻断嘌呤核苷酸的合成过程，由此抑制快速生长细胞的核酸合成，起到抗肿瘤作用。

1. 叶酸类似物 叶酸类似物有甲氧苄啶（trimethoprim）、氨蝶呤（aminopterin）与甲氨

蝶呤 (methotrexate, MTX), 以竞争性抑制二氢叶酸还原酶的方式阻断四氢叶酸的生成, 最终干扰嘌呤核苷酸的合成。甲氧苄啶与原核生物二氢叶酸还原酶有较高的亲和力, 被广泛地用于抗细菌与原虫的治疗。氨蝶呤与甲氨蝶呤广泛应用于多种肿瘤的治疗 (图 8-8)。

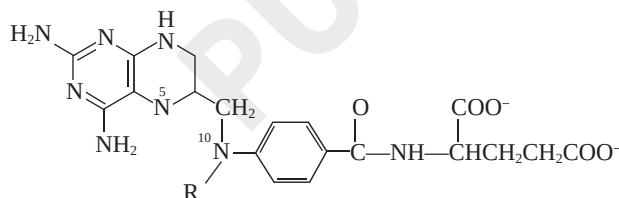


图 8-8 叶酸类似物

氨蝶呤: $R=H$; 甲氨蝶呤: $R=CH_3$

2. 嘌呤类似物 嘌呤类似物包括 6- 巯基嘌呤 (6-MP)、6- 巯基鸟嘌呤、8- 氮杂鸟嘌呤等, 临床上较多应用 6- 巯基嘌呤 (图 8-9)。6- 巯基嘌呤的结构与次黄嘌呤相似, 通过竞争性抑制的方式干扰嘌呤核苷酸的合成。6- 巯基嘌呤可以经磷酸核糖化转变为 6- 巯基嘌呤核苷酸, 该产物竞争性抑制 IMP 向 AMP 与 XMP 转化的过程 (图 8-4); 6- 巯基嘌呤也可以通过反馈抑制磷酸核糖酰胺转移酶的活性干扰嘌呤核苷酸的从头合成 (图 8-6, 酶 2)。其次, 6- 巯基嘌呤通过抑制嘌呤核苷酸补救合成途径中 HGPRT 的活性, 阻滞 IMP 与 GMP 的补救反应 (图 8-7B 与图 8-22)。

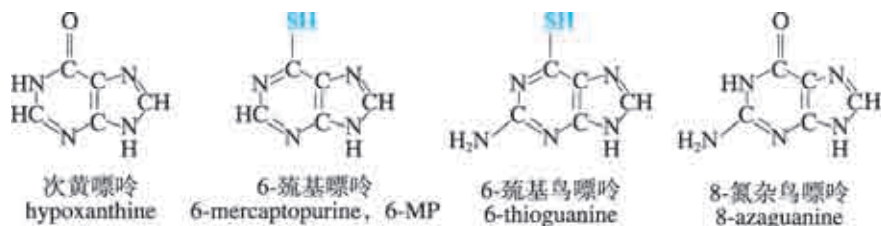


图 8-9 次黄嘌呤类似物的结构

3. 谷氨酰胺类似物 谷氨酰胺作为氮的供体在嘌呤核苷酸生物合成过程中参与两步提供酰胺氮的反应 (图 8-3, 反应 2、5), 与谷氨酰胺结构类似的 6- 重氮 -5- 氧正亮氨酸与氮杂丝氨酸以竞争性抑制的方式干扰从头合成过程中谷氨酰胺参与的反应过程 (图 8-10)。

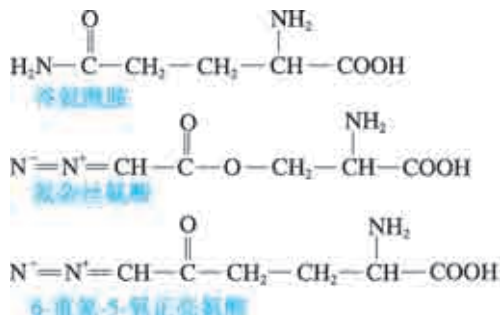


图 8-10 谷氨酰胺类似物

二、嘧啶核苷酸的合成

与嘌呤核苷酸合成一样, 嘧啶核苷酸合成也有从头合成和补救合成两条途径。

(一) 嘧啶核苷酸的从头合成

从头合成嘧啶环的前体物是氨基甲酰磷酸 (carbamoyl phosphate) 与天冬氨酸 (图 8-11)。

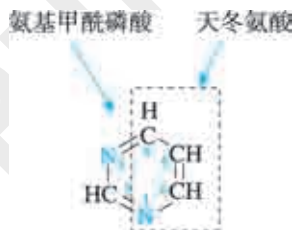


图 8-11 嘧啶环原子的来源

C-2 与 N-3 来源于氨基甲酰磷酸，天冬氨酸提供其他原子

嘧啶核苷酸与嘌呤核苷酸的从头合成有两点不同：一是首先进行嘧啶环的合成，然后再完成磷酸核糖部分的转移生成嘧啶核苷酸；二是嘧啶合成路径不进行分支，经过一系列反应直接生成尿苷三磷酸 (UTP)，尿苷三磷酸是胞苷三磷酸 (CTP) 合成的前体。

1. 嘧啶环的形成 嘧啶环比嘌呤环的结构简单，经过 4 步完成：

(1) 由氨基甲酰磷酸合成酶 II (carbamoyl phosphate synthetase II, CPS II) 催化谷氨酰胺与 CO_2 合成氨基甲酰磷酸，反应在胞质内进行 (图 8-12，反应 1)。

(2) 由天冬氨酸氨基甲酰转移酶 (aspartate transcarbamoylase, ATC) 催化天冬氨酸与氨基甲酰磷酸生成氨甲酰天冬氨酸 (图 8-12，反应 2)。

(3) 由二氢乳清酸酶 (dihydroorotase, DHO) 催化氨甲酰天冬氨酸脱水环化形成二氢乳清酸 (dihydroorotate)，至此形成了嘧啶环 (图 8-12，反应 3)。

(4) 由二氢乳清酸脱氢酶催化二氢乳清酸生成乳清酸 (orotic acid) (图 8-12，反应 4)。

氨基甲酰磷酸同样也是尿素合成的中间产物。与尿素合成过程比较，主要有两点不同：①尿素合成中所需的氨基甲酰磷酸是在肝线粒体中产生的，而嘧啶核苷酸合成所需的氨基甲酰磷酸是在胞质中产生的，这样构成了合成氨基甲酰磷酸的区域化分布及组织特异性；②尿素合成中所需的氨基甲酰磷酸是由 CPS I 催化生成，氮的供体是 NH_3 ，N-乙酰谷氨酸是其别构激活剂，而嘧啶核苷酸合成所需的氨基甲酰磷酸是由 CPS II 催化生成，氮的供体是谷氨酰胺，N-乙酰谷氨酸不能调节该酶的活性。

2. 嘧啶核苷酸的生成 以 PRPP 为磷酸核糖的供体，乳清酸磷酸核糖转移酶 (orotate phosphoribosyl transferase) 催化乳清酸与 PRPP 反应生成乳清苷一磷酸 (乳清酸核苷酸，orotidine monophosphate, OMP)，然后脱羧生成尿嘧啶核苷酸 (UMP) (图 8-12，反应 5、6)。

3. 尿苷三磷酸 (UTP) 的生成 UMP 向 UDP 和 UTP 转化的过程与嘌呤核苷酸的转化方式相同，分别由特异性尿嘧啶核苷酸激酶与非特异性核苷二磷酸激酶催化完成 (图 8-12，反应 7、8)。

4. 胞苷三磷酸 (CTP) 的生成 尿苷三磷酸中尿嘧啶第 4 位碳的羰基氧被氨基取代生成胞苷三磷酸 (图 8-12，反应 9)。大肠埃希菌利用 NH_4^+ 参与氨基化反应，而哺乳动物中谷氨酰胺的酰胺基是氮的供体。

在真核细胞中，催化第 1 ~ 3 步反应的三种酶 (CPS II, ATC, DHO) 以一条多肽链具有 3 种不同催化活性的多功能酶的形式存在。催化第 5 ~ 6 步反应的乳清酸磷酸核糖转移酶和乳清酸核苷酸脱羧酶也是位于同一条多肽链上的多功能酶。这种多功能酶存在的意义在于：共同连接在一起的多功能酶保证了各种酶之间功能的协调完成，反应底物由一个催化位点到下一个位点的流水线排列方式使得副反应减少到最小，最大程度地发挥了催化效益，更有利于以均匀的速度合成嘧啶核苷酸。



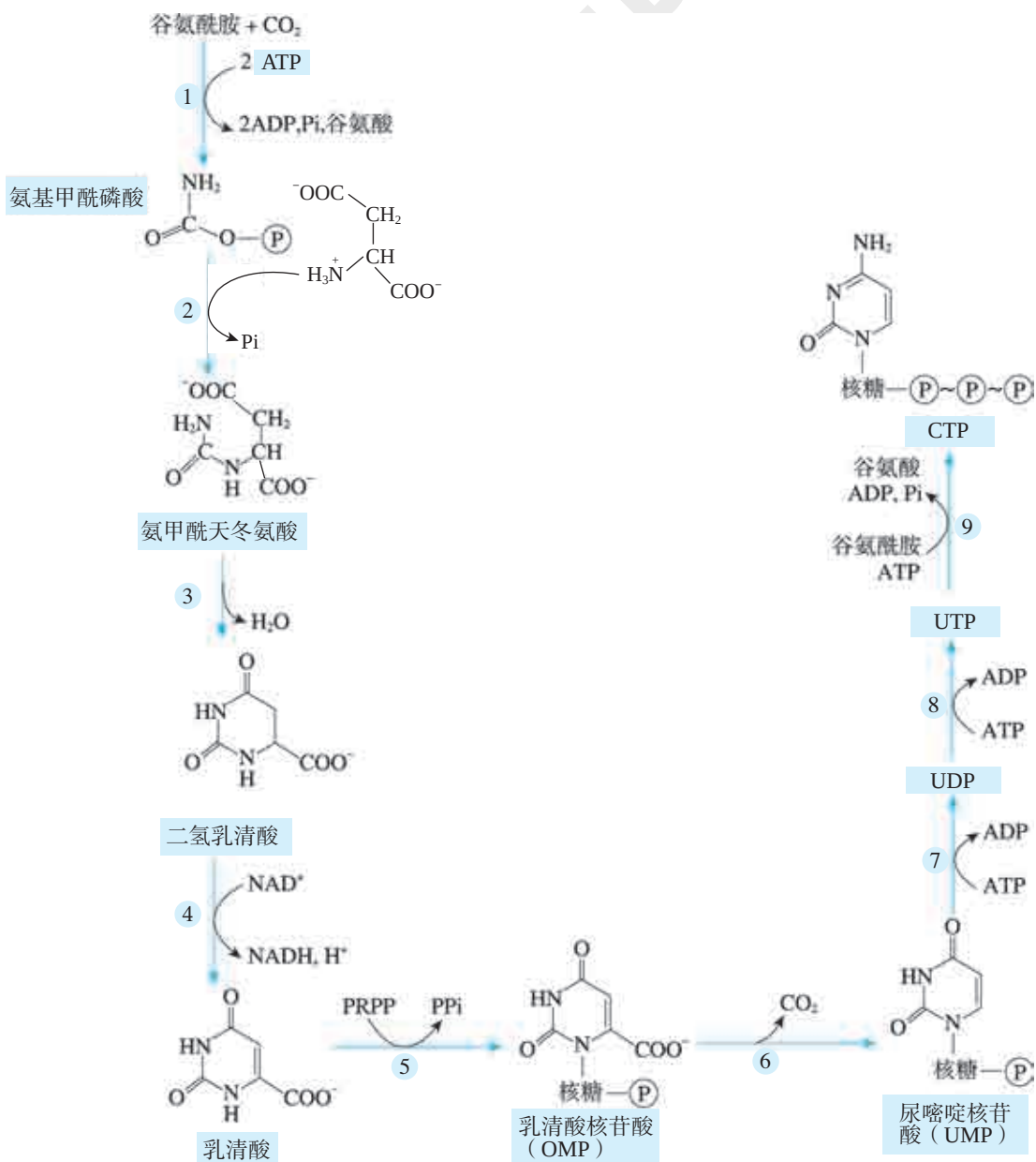


图 8-12 嘧啶核苷酸的合成

①氨基甲酰磷酸合成酶Ⅱ；②天冬氨酸氨基甲酰转移酶；③二氢乳清酸酶；④二氢乳清酸脱氢酶；
⑤乳清酸磷酸核糖转移酶；⑥乳清酸核苷酸脱羧酶；⑦UMP激酶；⑧核苷二磷酸激酶；⑨CTP合成酶

(二) 嘧啶核苷酸从头合成的调节

嘧啶核苷酸的从头合成主要受到反馈调节。在细菌中，天冬氨酸氨基甲酰转移酶是关键酶，CTP 负反馈抑制其活性，但是 ATP 激活此酶的活性。在哺乳动物细胞中，氨基甲酰磷酸合成酶Ⅱ则是关键酶，UTP 和嘌呤核苷酸负反馈调节其活性，而 PRPP 提高此酶的活性（图 8-13）。

PRPP 合成酶催化生成的 PRPP 是合成嘌呤核苷酸与嘧啶核苷酸共同的前体物质，嘌呤核苷酸与嘧啶核苷酸都可以反馈抑制 PRPP 合成酶的活性，形成对两类核苷酸合成过程的协同调节。

另外，多功能酶的协同表达也是调节嘧啶核苷酸从头合成的重要方式。

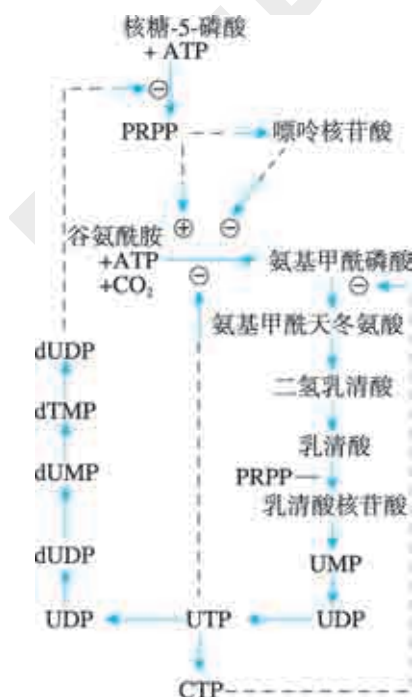


图 8-13 嘧啶核苷酸合成的控制

实线表示代谢途径，虚线代表：⊕正反馈；⊖负反馈

(三) 嘧啶核苷酸的补救合成途径

与嘌呤核苷酸补救合成相类似，参与嘧啶核苷酸合成有两种基本途径：①磷酸核糖转移酶催化嘧啶碱基（但胞嘧啶除外）与 PRPP 反应生成嘧啶核苷酸（图 8-14A）。尿嘧啶与乳清酸在磷酸核糖转移酶催化下生成 UMP 与 OMP（图 8-12，反应 5）。②核苷磷酸化酶催化嘧啶碱基与核糖-1-磷酸形成嘧啶核苷，然后在特异性激酶的作用下将嘧啶核苷转变为对应的嘧啶核苷酸（图 8-14B、C）。例如，在尿苷/胞苷激酶催化下，哺乳动物细胞通过补救反应将尿苷与胞苷转变成相应的 UMP 与 CMP，胸苷激酶（thymidine kinase）催化的磷酸化反应将胸苷转变为 dTMP。脱氧胞苷激酶（deoxycytidine kinase）不仅补救催化脱氧胞苷的磷酸化反应，同时也催化补救合成脱氧鸟苷与脱氧腺苷的磷酸化反应。

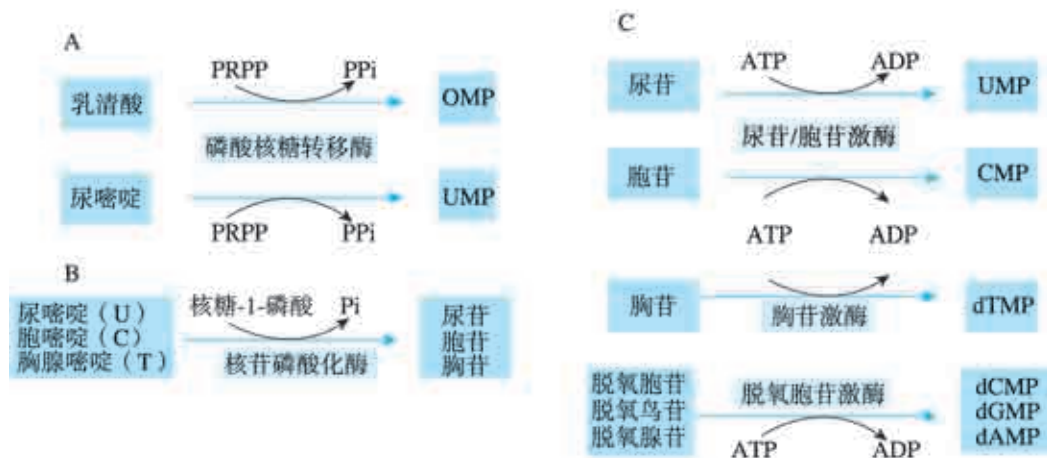


图 8-14 嘧啶核苷酸的补救合成

(四) 脱氧核糖核苷酸的生成

在化学结构上, DNA 由脱氧核糖核苷酸组成, 组成 DNA 的嘧啶核苷酸为胸腺嘧啶核苷酸, 不同于 RNA 中的尿嘧啶核苷酸。下面介绍脱氧核糖核苷酸与胸腺嘧啶核苷酸的生成。

1. 脱氧核糖核苷酸的生成 脱氧核糖核苷酸是在核糖核苷二磷酸水平上, 由核糖核苷酸还原酶 (ribonucleotide reductase) 催化生成的 (图 8-15)。核糖核苷酸还原酶催化四种核糖核苷二磷酸 (ADP, GDP, UDP, CDP) 转变成为对应的脱氧核糖核苷二磷酸 (dADP, dGDP, dUDP, dCDP)。然后, 由激酶催化四种脱氧核糖核苷二磷酸的磷酸化反应, 进一步生成脱氧核糖核苷三磷酸 (图 8-16)。

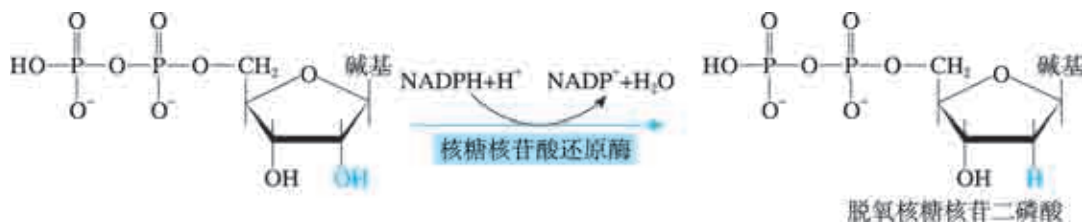


图 8-15 核糖核苷二磷酸还原生成脱氧核糖核苷二磷酸

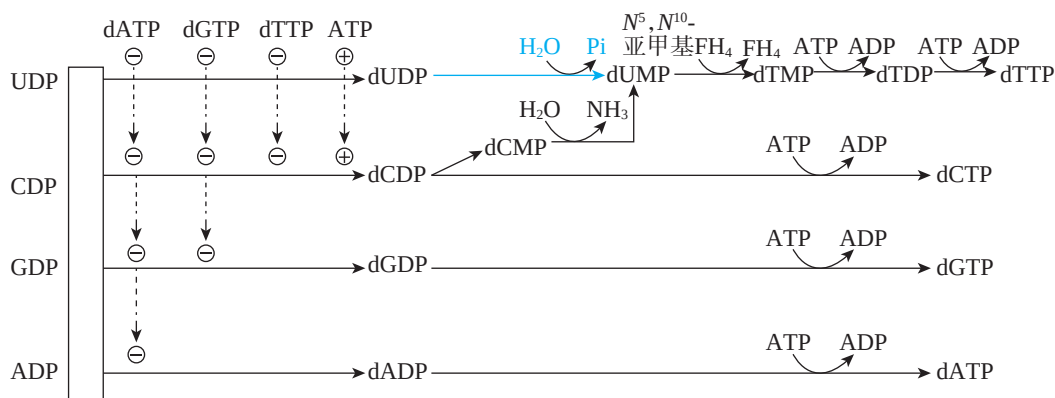


图 8-16 脱氧核糖核苷三磷酸的生成和核糖核苷酸还原酶的别构调节

核糖核苷酸还原酶催化的反应过程比较复杂。当核糖核苷二磷酸的核糖部分 2'- 羟基被还原生成相应的脱氧核糖核苷二磷酸时, 需要一对氢原子, 这对氢原子由 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 提供。核糖核苷酸还原酶不直接接受 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 的氢, 还需要通过硫氧化还原蛋白 (thioredoxin) 或者谷氧化还原蛋白 (glutaredoxin) 作为氢载体完成 (图 8-17)。

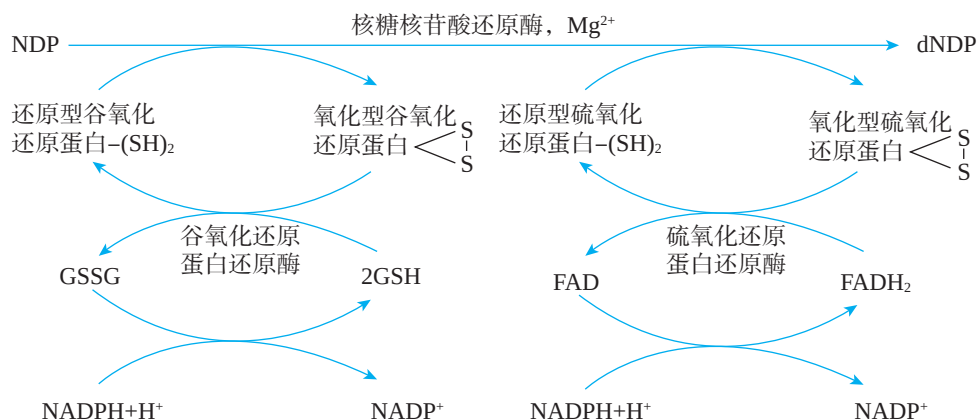


图 8-17 核糖核苷酸还原酶复合体氢的传递

核糖核苷酸还原酶是一种别构酶，由 R1 与 R2 两个亚基组成。受 dATP、dGTP、dTTP、ATP 的别构调节，由此保证用于 DNA 合成的各种脱氧核糖核苷酸的均衡生成。

2. 脱氧胸腺嘧啶核苷酸的生成 脱氧胸腺嘧啶核苷酸 (dTMP 或 TMP) 是由脱氧尿嘧啶核苷酸 (dUMP) 经甲基化生成的。dUDP 水解生成 dUMP，或者 dCMP 脱氨基生成 dUMP，然后胸苷酸合酶 (thymidylate synthase) 催化 dUMP 甲基化形成 dTMP，dTMP 在激酶的催化下生成 dTTP。反应过程中甲基的供体是 N^5, N^{10} -亚甲四氢叶酸 (图 8-18)。

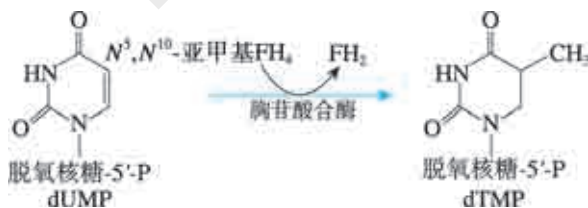


图 8-18 N^5, N^{10} -亚甲四氢叶酸提供甲基生成 dTMP

(五) 嘧啶核苷酸的抗代谢物

与嘌呤核苷酸一样，嘧啶核苷酸的抗代谢物是一些嘧啶、氨基酸或叶酸的类似物，它们对代谢的影响及抗肿瘤作用与嘌呤核苷酸抗代谢物相似。目前，抗肿瘤药物的研究重点之一是胸苷酸代谢的抑制剂。

1. 嘧啶类似物 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 是嘧啶类似物，是胸苷酸合酶抑制剂 (图 8-19)。乳清酸磷酸核糖转移酶能够利用 5-FU 作为假底物，催化形成氟尿嘧啶核苷一磷酸，最终转变成 dUMP 的类似物脱氧氟尿嘧啶核苷一磷酸 (FdUMP)。脱氧氟尿嘧啶核苷一磷酸以不可逆抑制的作用方式与胸苷酸合酶形成共价复合物，从而抑制酶的活性，阻断 dTMP 的合成 (图 8-20、8-21)。氟尿嘧啶是目前临床常用的一种抗癌药物。

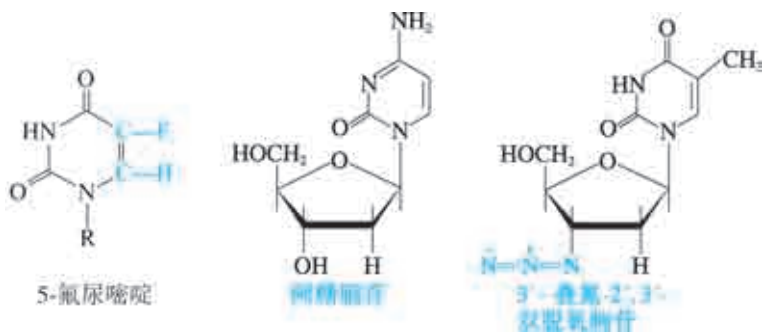


图 8-19 嘧啶核苷类似物

2. 叶酸类似物 氨蝶呤与甲氨蝶呤在嘌呤核苷酸的抗代谢物中已经述及，它们是二氢叶酸还原酶的抑制剂，以竞争性抑制四氢叶酸再生的方式阻止 dTMP 的合成 (图 8-20)。这两种药物对治疗多种快速生长的肿瘤有重要价值。

3. 核苷类似物 阿糖胞苷 (cytarabine) 是改变了核糖结构的核苷类似物，它也是重要的抗癌药物 (图 8-19)。阿糖胞苷在细胞内激酶的作用下磷酸化为三磷酸衍生物，这种三磷酸衍生物能够选择性地抑制 DNA 聚合酶的活性，干扰 DNA 的复制。

早期临床上使用的治疗获得性免疫缺陷综合征的 3'-叠氮-2',3'-双脱氧胸苷 (azidothymidine, AZT) 也是改变了核糖结构的核苷类似物。AZT 通过合成代谢途径转变为相应的 5'-三磷酸衍生物，抑制病毒逆转录酶作用。还有其他的类似物如 2', 3'-双脱氧胞苷、2', 3'-双脱氧肌苷 (次黄苷) 等，它们在细胞内首先转变为相应的三磷酸衍生物，然后加入到 DNA 分子中。由于这类衍生物缺少 3'-OH 末端，通过阻止复制链延长的方式干扰病毒的复制。

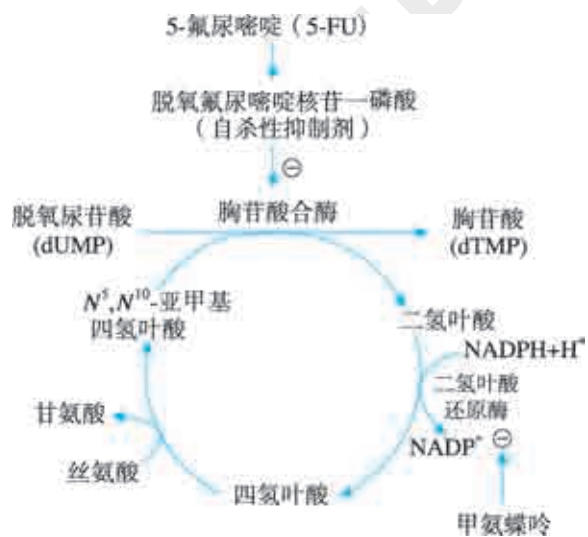


图 8-20 胸苷酸合酶与二氢叶酸还原酶抑制剂的作用机制

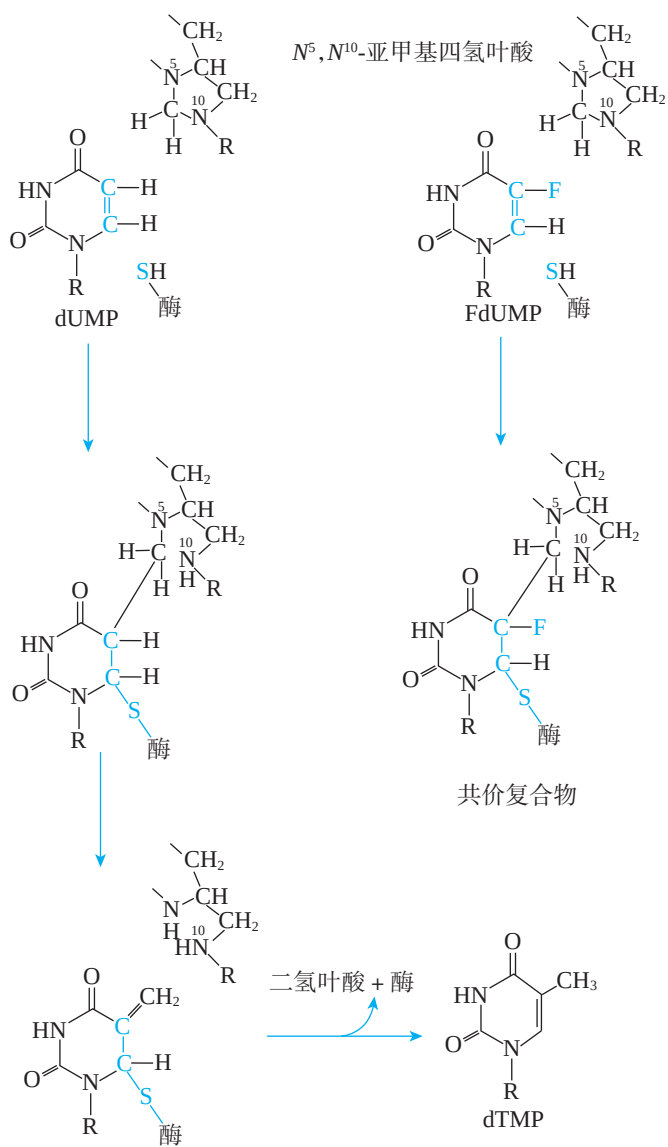


图 8-21 脱氧氟尿嘧啶核苷一磷酸抑制胸苷酸合酶的机制

第三节 核苷酸的分解代谢

机体内的核苷酸可以在一系列酶的作用下分解生成嘌呤碱基与嘧啶碱基，嘌呤碱基氧化为尿酸 (uric acid) 由尿液排出，嘧啶碱基生成 β -丙氨酸、 β -氨基异丁酸、 CO_2 与 NH_3 。

一、嘌呤核苷酸的分解代谢

体内核苷酸的分解代谢类似于食物中核苷酸的消化过程 (图 8-1)。

(一) 嘌呤核苷酸的分解代谢过程

人体嘌呤核苷酸分解代谢的终产物是尿酸，分五步完成。

1. 5'-核苷酸酶 (5'-nucleotidase) 催化 AMP、IMP、GMP 脱磷酸，分别生成腺苷、肌苷 (次黄苷) 和鸟苷 (图 8-22，反应 1)。

2. 嘌呤核苷磷酸化酶 (purine nucleoside phosphorylase, PNP) 催化腺苷等糖苷键的磷酸解反应，释放出核糖-1-磷酸与嘌呤碱，后者分别为腺嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤 (图 8-22，反应 2)。

上述反应伴随生成的核糖-1-磷酸由磷酸核糖变位酶 (phosphoribomutase) 异构为核糖-5-磷酸，可再用于合成 PRPP，然后 PRPP 重新用于核苷酸的从头合成与补救合成。

3. 与此同时，腺苷也可以由腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase, ADA) 催化脱氨反应，生成肌苷 (次黄苷) (图 8-22，反应 3)。

4. 鸟嘌呤脱氨酶 (guanine deaminase) 催化鸟嘌呤脱氨生成黄嘌呤 (xanthine) (图 8-22，反应 4)。

5. 黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase) 催化次黄嘌呤氧化成黄嘌呤，并进一步氧化成尿酸 (图 8-22，反应 5)。

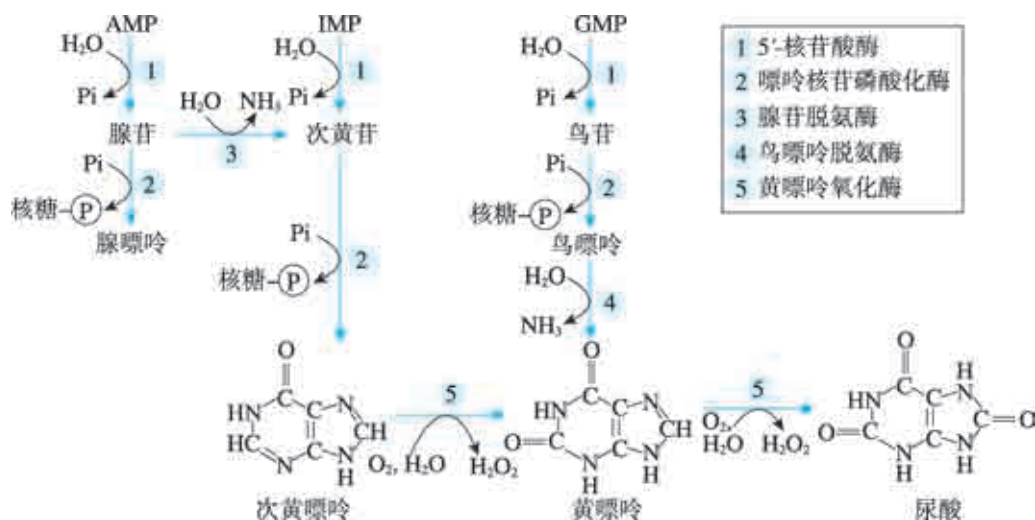


图 8-22 嘌呤核苷酸的分解代谢

在人体内，尿酸是嘌呤降解的最终产物，并由尿排泄。在生理 pH 条件下尿酸主要以尿酸盐形式存在。尿酸盐是一种非常有效的抗氧化剂，在机体内起到对抗各种自由基、保护细胞的作用。与其他灵长类动物比较，人体嘌呤核苷酸降解生成尿酸盐水平较高。这种代谢特性可能对延长人类寿命、减小癌症发生率发挥一定作用。

(二) 嘌呤代谢障碍疾病

1. 痛风 (gout) 痛风是指患者血中尿酸含量升高，尿酸盐从血液中析出，以尿酸盐结晶



的形式沉淀于关节、软组织及肾等处，导致痛风性关节炎、尿路结石及肾病。痛风的急性发作表现为受害者就寝时正常，午夜后剧烈疼痛使得患者突然惊醒；疼痛部位集中出现在脚趾、踝关节与脚背部位；初起伴随寒战、颤抖、低热；逐渐增强的疼痛使患者辗转不安，彻夜不眠。急性痛风性关节炎经反复发作可形成慢性痛风性关节炎。痛风形成的原因尚不完全清楚，可能与嘌呤核苷酸补救合成和从头合成途径中一些酶的缺失有关。

HGPRT 不完全缺乏是形成痛风的主要原因之一。HGPRT 不完全缺乏导致 GMP 与 IMP 补救合成减少，并伴随 PRPP 浓度的明显升高（图 8-23）。在正常情况下，磷酸核糖胺的形成速率依赖于 PRPP 的含量。PRPP 的浓度升高将增加嘌呤核苷酸的从头合成速率。同时，过多的 PRPP 的存在将干扰核苷酸对磷酸核糖酰胺转移酶的反馈抑制，加速磷酸核糖胺的生成（图 8-6），也进一步增加嘌呤核苷酸的从头合成速率，最终表现为嘌呤核苷酸过度生成。当然，其降解生成的尿酸量也相应增加。

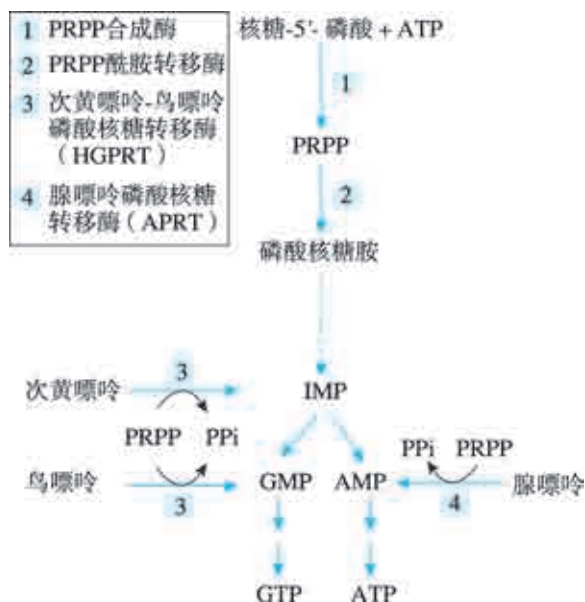


图 8-23 痛风发病的生化基础

酶缺陷导致高尿酸血症 / 痛风以及嘌呤核苷酸从头合成速率增加的生化基础

编码 PRPP 合成酶基因突变也是形成痛风的原因之一。变异后的合成酶出现酶动力学改变，最大反应速率 ($V_{\max}$) 增加，米氏常数 (K_m) 降低或者与反馈抑制剂的亲和力下降，每一种情形都提高嘌呤核苷酸合成速率，因此，其降解生成的尿酸量也相应增加。

在临床上广泛应用别嘌呤醇 (allopurinol) 治疗痛风。别嘌呤醇是一种次黄嘌呤的类似物，结构特征为 N-7 与 C-8 位置的交换（图 8-24）。黄嘌呤氧化酶催化别嘌呤醇发生羟基化反应生成别嘌呤二醇，该产物与黄嘌呤氧化酶活性位点紧密结合，抑制酶的活性，黄嘌呤氧化酶失活，次黄嘌呤不能氧化成黄嘌呤和继续氧化生成尿酸。同时，别嘌呤醇与 PRPP 进行磷酸核糖化反应生成的别嘌呤核苷酸，抑制 PRPP 向磷酸核糖胺的转化过程，消耗 PRPP 也导致了嘌呤核苷酸从头合成速率的降低。

2. Lesch-Nyhan 综合征 Lesch-Nyhan 综合征是指由于 HGPRT 完全缺乏，引起以强迫性自毁行为为典型临床特征的一种疾病。该患儿临床表现为自毁行为，对他人有攻击性，智力发育缺陷，同时伴有高尿酸血症，引起早期肾结石，逐渐出现痛风症状。

编码 HGPRT 的基因突变，HGPRT 完全缺乏，嘌呤核苷酸补救合成途径不能进行，引起主要依赖补救合成的 IMP 与 GMP 的脑发育障碍，同时由于 IMP 与 GMP 含量下降，PRPP 含

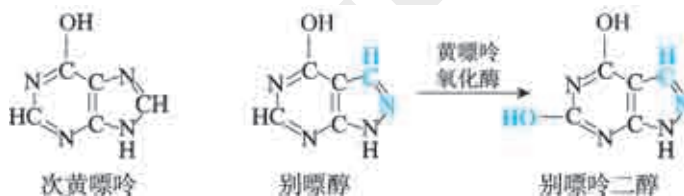


图 8-24 别嘌呤作用机制

量增加，嘌呤核苷酸从头合成速率升高，尿酸过度生成。

二、嘧啶核苷酸的分解代谢

(一) 嘧啶核苷酸的分解代谢过程

1. 嘧啶核苷酸（UMP、CMP、dTMP）在核苷酸酶的作用下除去磷酸生成嘧啶核苷（图 8-25，反应 1）。
2. 核苷磷酸化酶催化嘧啶核苷磷酸糖苷键的磷酸解反应，释放磷酸核糖与嘧啶碱基（图 8-25，反应 2）。

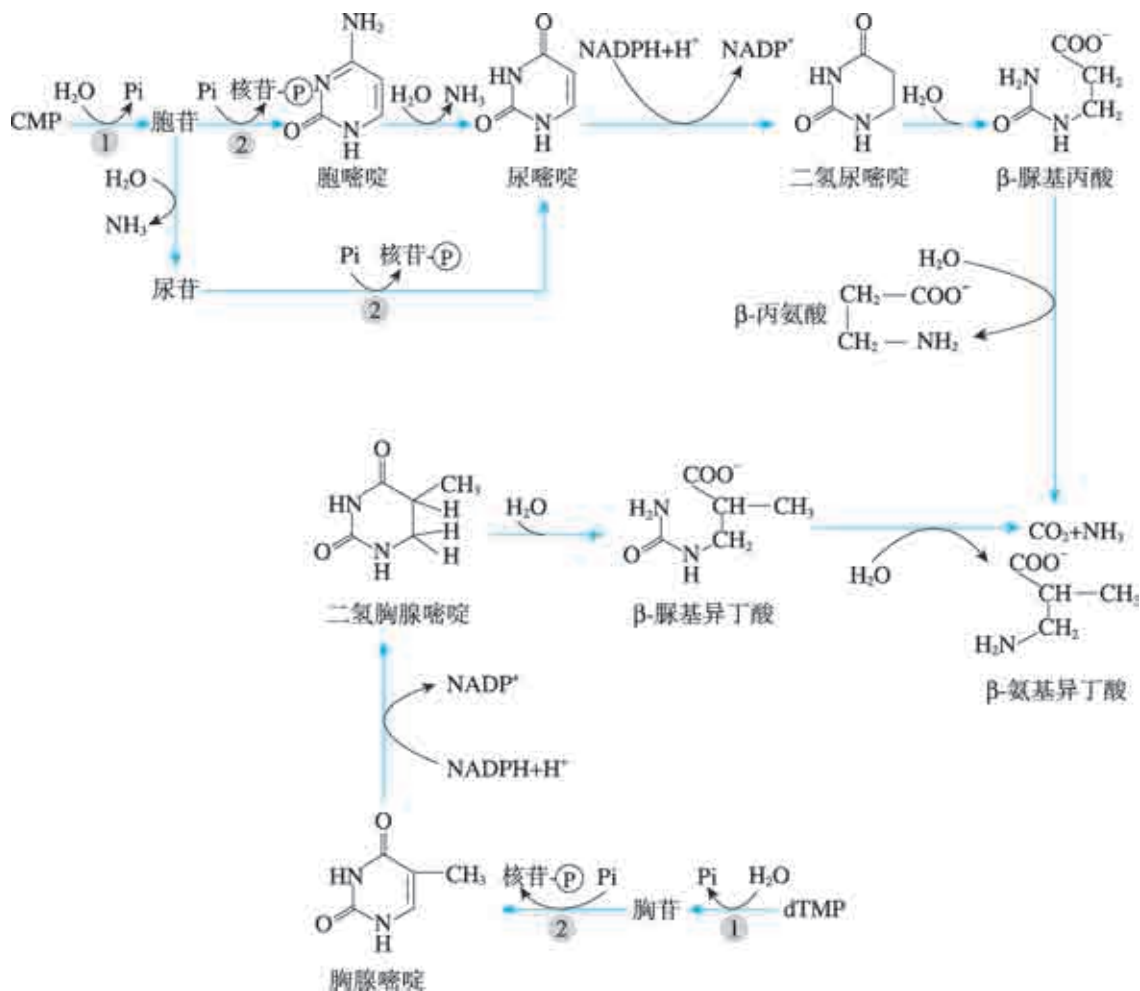


图 8-25 嘧啶核苷酸的分解代谢

① 5'-核苷酸酶；②核苷磷酸化酶



腺苷脱氨酶与嘌呤核苷磷酸化酶缺乏导致复合性免疫缺陷综合征

3. 胞嘧啶脱氨基转变成尿嘧啶, 然后还原成为二氢尿嘧啶, 水解开环后分解成为 β -丙氨酸、 CO_2 、 NH_3 。

4. 胸腺嘧啶降解成为 β -氨基异丁酸、 CO_2 、 NH_3 。

与其他哺乳动物相似, 人体可以经转氨基反应将 β -氨基异丁酸转变为甲基丙二酸半醛, 然后形成琥珀酰 CoA, 此产物可参与三羧酸循环而彻底氧化, 而生成的 NH_3 经转氨基作用与谷氨酸结合生成谷氨酰胺, 在肝合成尿素。

(二) 嘧啶代谢物生成过多的原因

与嘌呤碱的分解产生尿酸不同, 嘧啶代谢的最终产物是高度水溶性的物质, 嘧啶过度生成几乎不导致明显的临床异常表现。某些病理过程和药物的治疗可能引起嘧啶核苷酸代谢物生成过多, 排出量增多。例如, 高尿酸血症患者伴随 PRPP 过度生成, 促进嘧啶核苷酸的生成, 引起嘧啶核苷酸分解代谢产物量增加; 在使用别嘌呤治疗痛风时, 别嘌呤能与天然底物乳清酸竞争结合磷酸核糖, 生成别嘌呤核苷酸, 别嘌呤核苷酸抑制乳清酸核苷酸脱羧酶的活性, 导致乳清酸聚积、排泄增加; 合成尿素过程中氨基甲酰磷酸利用不足, 会促进嘧啶核苷酸生物合成, 分解代谢产物增多; 白血病患者接受 X 线放射治疗增加 DNA 破坏, 导致嘧啶核苷酸分解代谢速率增强、 β -氨基异丁酸排出量增多。

小结

核苷酸是构成核酸的基本单位, 同时也参与多种代谢过程。核苷酸不是营养必需物质, 主要通过细胞自身合成。体内存在从头合成与补救合成两条核苷酸合成途径。

嘌呤核苷酸从头合成的主要原料包括: PRPP、氨基酸 (Gln, Asp, Gly)、一碳单位和 CO_2 。在从头合成过程中, 先合成 IMP, 然后进一步分别合成 AMP 和 GMP。从头合成过程受到精确的反馈调节。嘌呤核苷酸补救合成利用嘌呤碱基、嘌呤核苷和嘌呤脱氧核苷转变成成为单核苷酸。

嘧啶核苷酸从头合成的主要原料包括: PRPP、氨基酸 (Gln, Asp) 和 CO_2 。嘧啶核苷酸的从头合成与嘌呤核苷酸的从头合成过程有明显的不同。机体首先合成嘧啶环, 然后由 PRPP 提供磷酸核糖部分生成嘧啶核苷酸。

脱氧核糖核苷酸是在核糖核苷酸还原酶催化下, 由相应的核糖核苷二磷酸还原生成。脱氧胸苷酸是在胸苷酸合酶催化下, 由 dUMP 甲基化形成。

嘌呤核苷酸的抗代谢物为嘌呤、氨基酸或叶酸的类似物, 嘧啶核苷酸的抗代谢物为嘧啶、氨基酸或叶酸的类似物。这些抗代谢物以竞争性抑制的方式干扰或阻断核苷酸的合成, 从而进一步阻止核酸与蛋白质的合成, 被广泛用于抗肿瘤的治疗中。

在人体, 嘌呤核苷酸最终降解成为尿酸, 黄嘌呤氧化酶是该分解过程的关键酶。痛风是一种由于嘌呤代谢异常导致尿酸生成过多引起的疾病。在临床上, 别嘌呤用于治疗痛风。别嘌呤以抑制嘌呤碱的降解和降低从头合成速率的作用方式调节嘌呤代谢。

嘧啶核苷酸分解代谢的终产物为高度水溶性的 CO_2 、 NH_3 及 β -氨基酸。过度生成嘧啶代谢产物无异常临床表现。

思考题

1. 根据本书所学内容, 归纳出核苷酸的生理生化功能。
2. 解释痛风发生的生化机制以及别嘌呤的治疗机制。

3. 简述 5-FU、6-MP、甲氨蝶呤以及氮杂丝氨酸等药物的抗癌作用机制。
4. 简述嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸从头合成的主要原料、关键酶，以及二者的主要差别。
5. 用 ^{15}N 标记 Gln 的酰胺氮喂养鸽子后，其体内含 ^{15}N 的化合物有哪些？
6. 简述脱氧核糖核苷酸的合成途径及主要生成方式。

(张春晶 李淑艳)