

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材
卫生部“十二五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材

全国高等学校教材
供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

生物化学与分子生物学

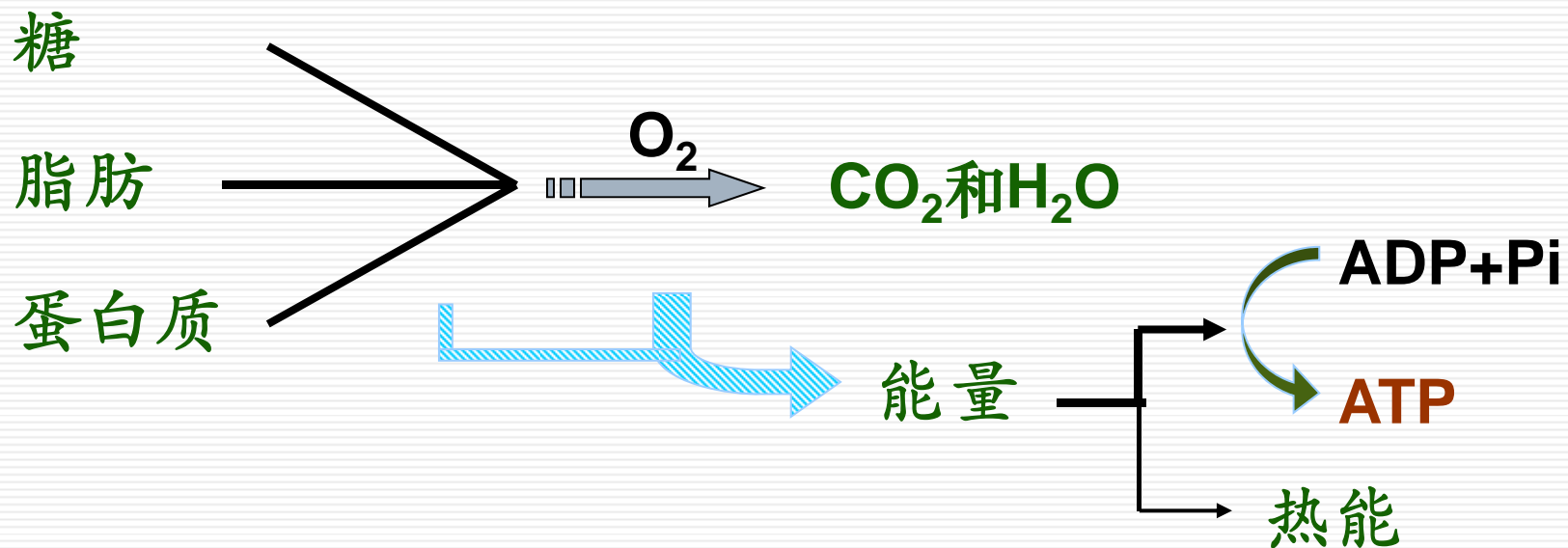
第八章

生物氧化

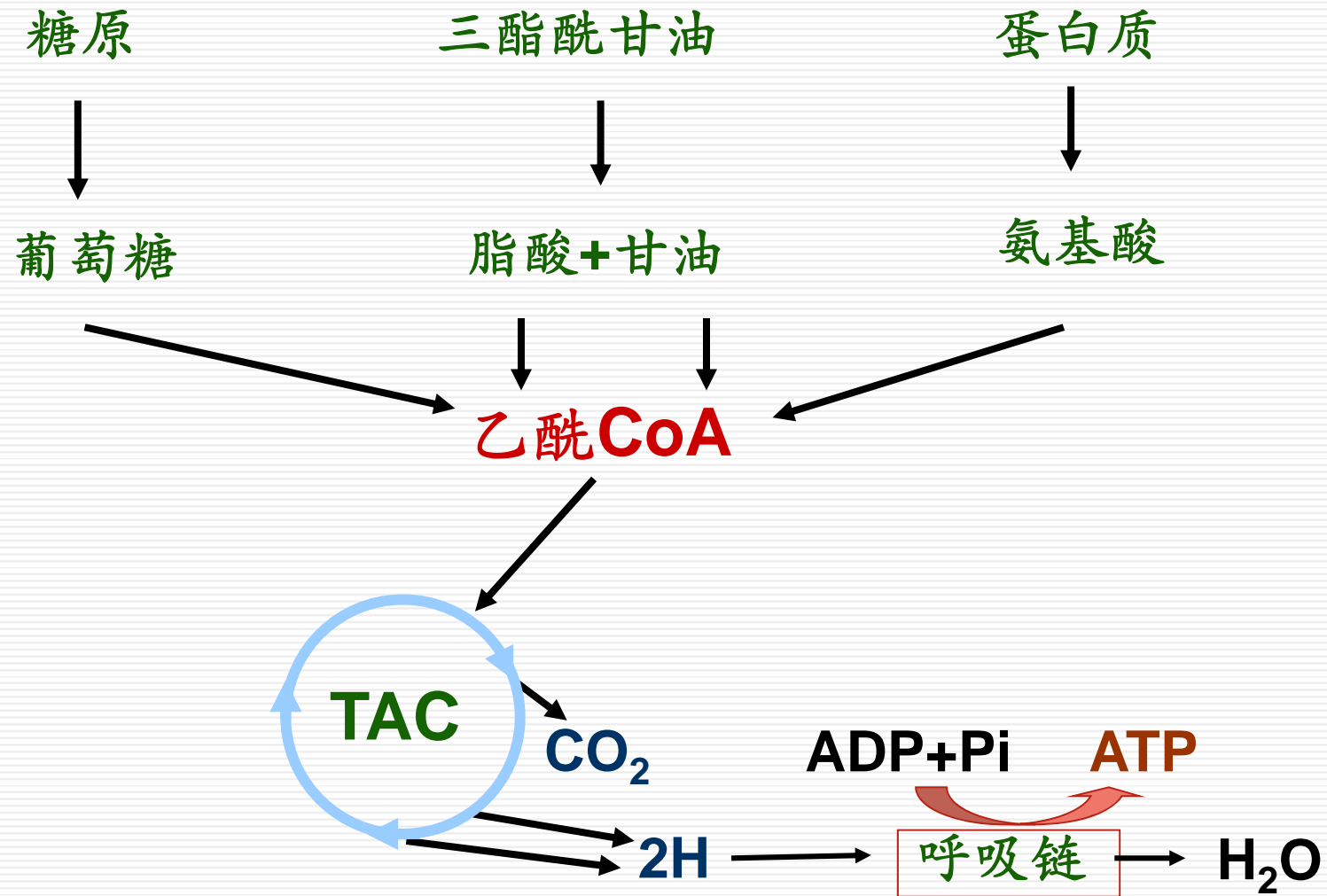
Biological Oxidation

■ 生物氧化的概念

物质在生物体内进行氧化称**生物氧化(biological oxidation)**，主要指糖、脂肪、蛋白质等在体内分解时逐步释放能量，最终生成 CO_2 和 H_2O 的过程。



■ 生物氧化的一般过程



第一节

氧化呼吸链是由具有电子传递
功能的复合体组成

■ 氧化呼吸链的定义

生物体将 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 和 FADH_2 彻底氧化生成水和ATP的过程与细胞的呼吸有关，需要消耗氧，参与氧化还原反应的组分由含辅助因子的多种蛋白酶复合体组成，形成一个连续的传递链，因此称为氧化呼吸链（oxidative respiratory chain）。也称电子传递链(electron transfer chain)。

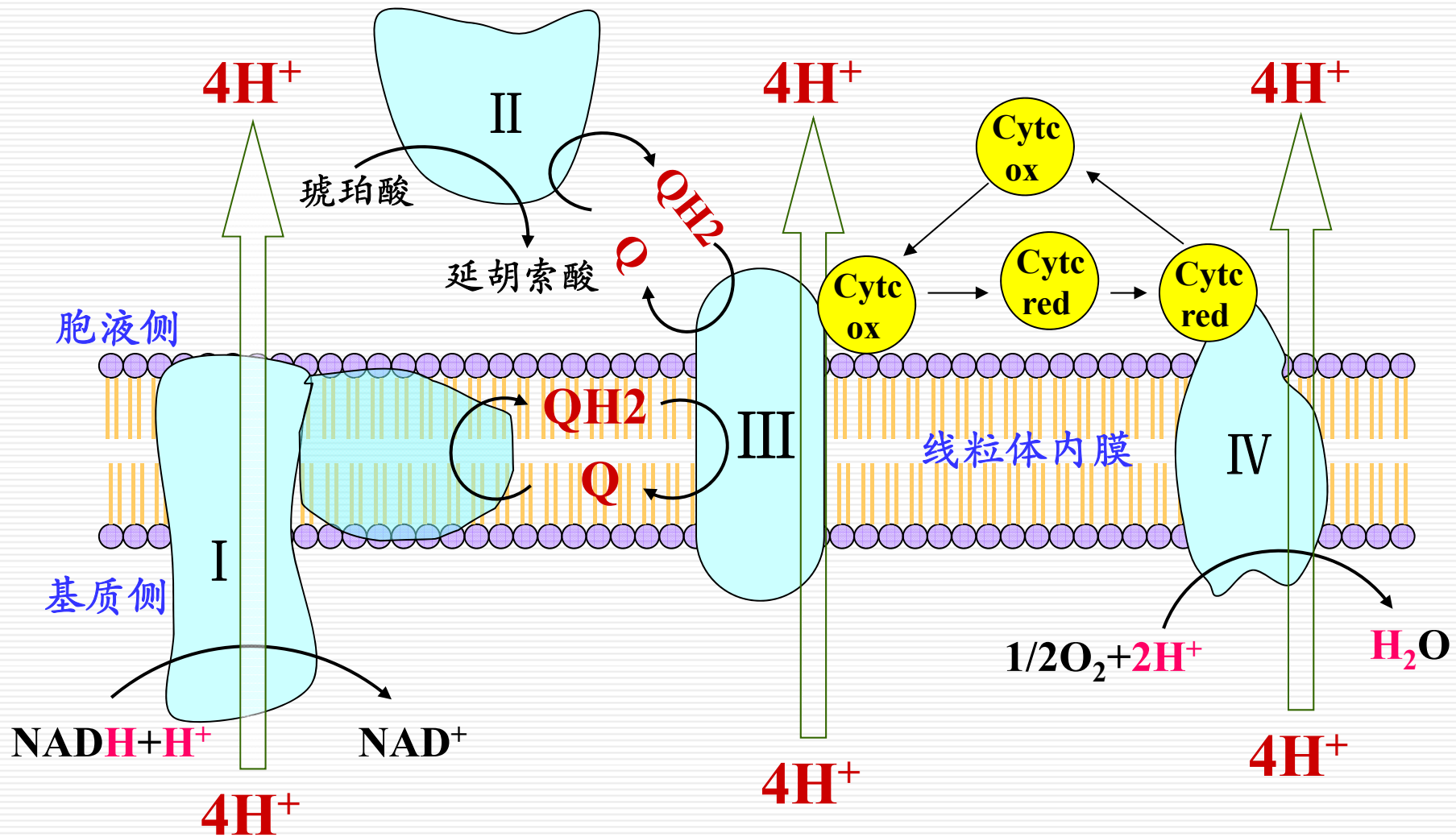
一、氧化呼吸链由4种具有传递电子能力的复合体组成

酶复合体是线粒体内膜氧化呼吸链的天然存在形式，所含各组分具体完成电子传递过程。电子传递过程释放的能量驱动 H^+ 移出线粒体内膜，转变为跨内膜 H^+ 梯度的能量，再用于ATP的生物合成。

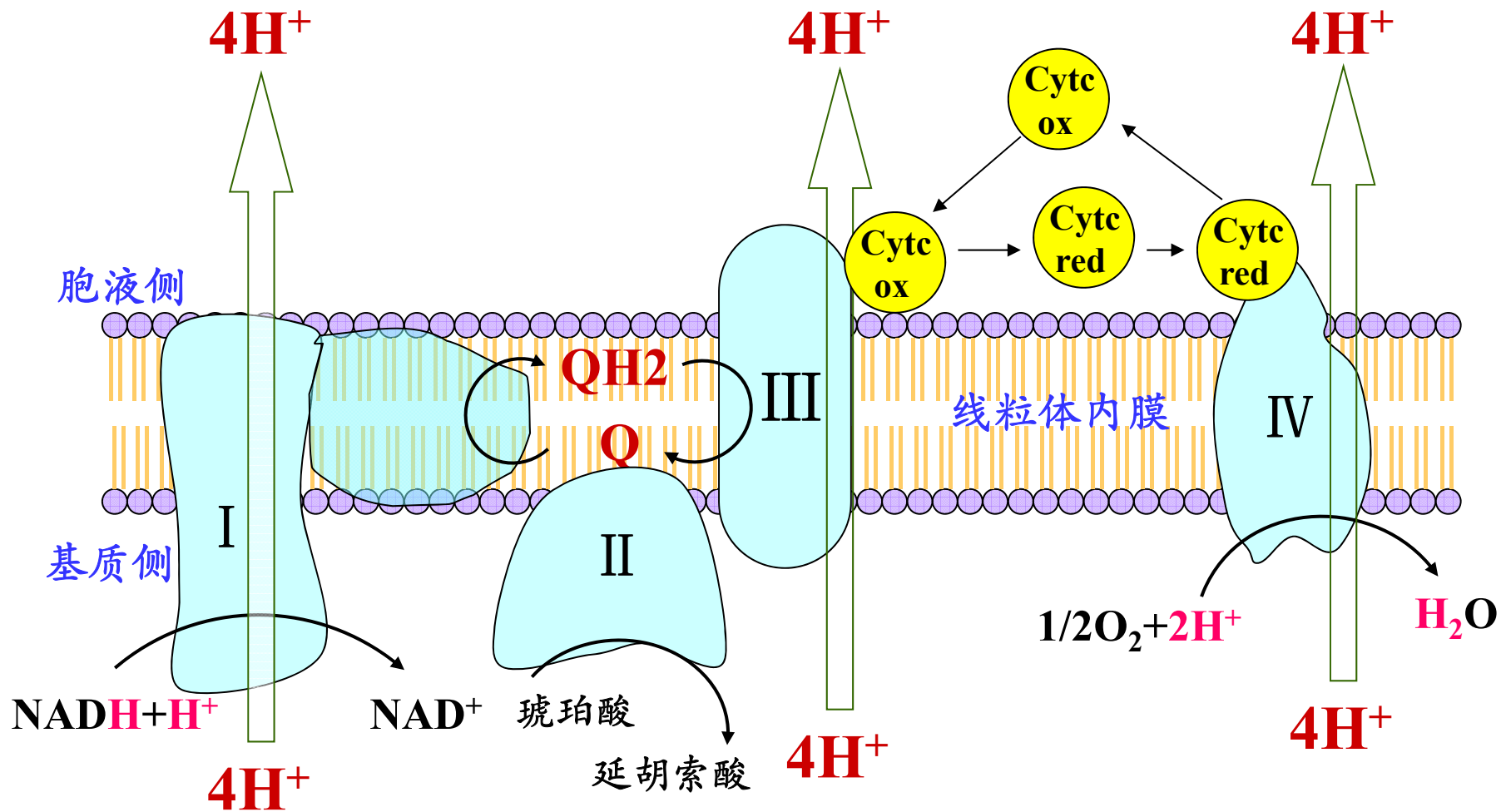
人线粒体呼吸链复合体

复合体	酶名称	质量 (kD)	多肽 链数	功能辅基	含结合位点
复合体 I	NADH-泛醌 还原酶	850	39	FMN, Fe-S	NADH (基质侧) CoQ (脂质核心)
复合体 II	琥珀酸-泛醌 还原酶	140	4	FAD, Fe-S	琥珀酸 (基质侧) CoQ (脂质核心)
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	Cyt c (膜间隙侧)
细胞色素c		13	1	血红素c	Cyt c_1 , Cyt a
复合体 IV	细胞色素C氧 化酶	162	13	血红素a, a_3 , Cu_A , Cu_B	Cyt c (膜间隙侧)

► 泛醌不包含在上述四种复合体中。



电子传递链各复合体在线粒体内膜中的位置



电子传递链各复合体在线粒体内膜中的位置

(一) 复合体 I 将 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 中的电子传递给泛醌

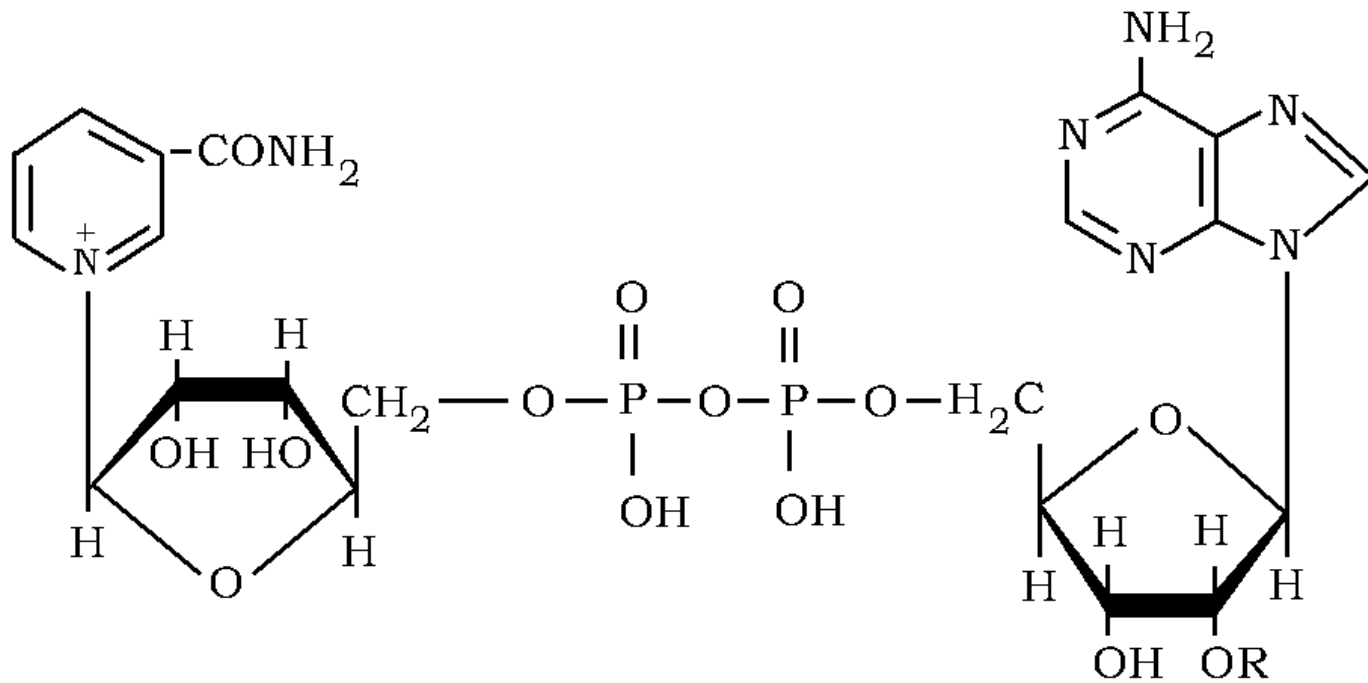
- 复合体 I 又称 NADH -泛醌还原酶或 NADH 脱氢酶，接受来自 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 的电子并转移给泛醌 (ubiquinone)。

- 复合体 I 可催化两个同时进行的过程：

电子传递： $\text{NADH} \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{CoQ}$

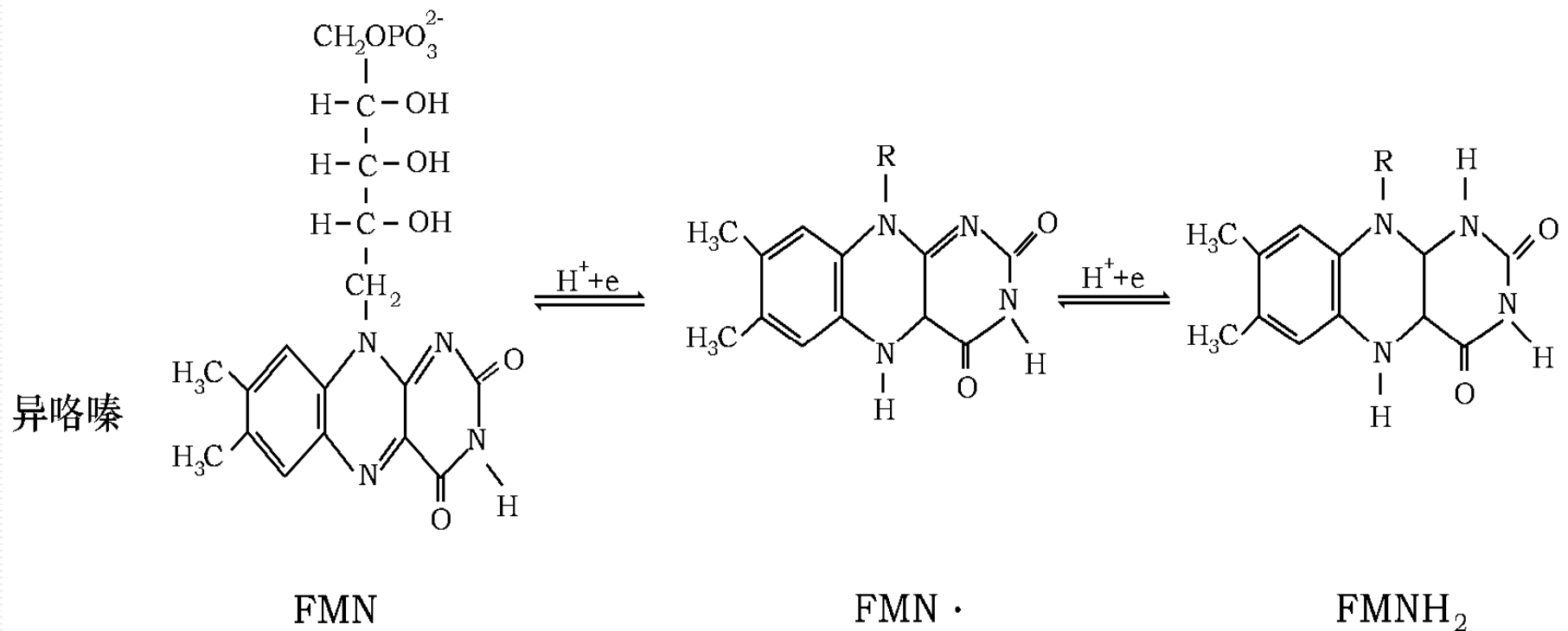
质子的泵出：复合体 I 有质子泵功能，每传递 2 个电子可将 4 个 H^+ 从内膜基质侧泵到胞浆侧。

NAD⁺和NADP⁺的结构

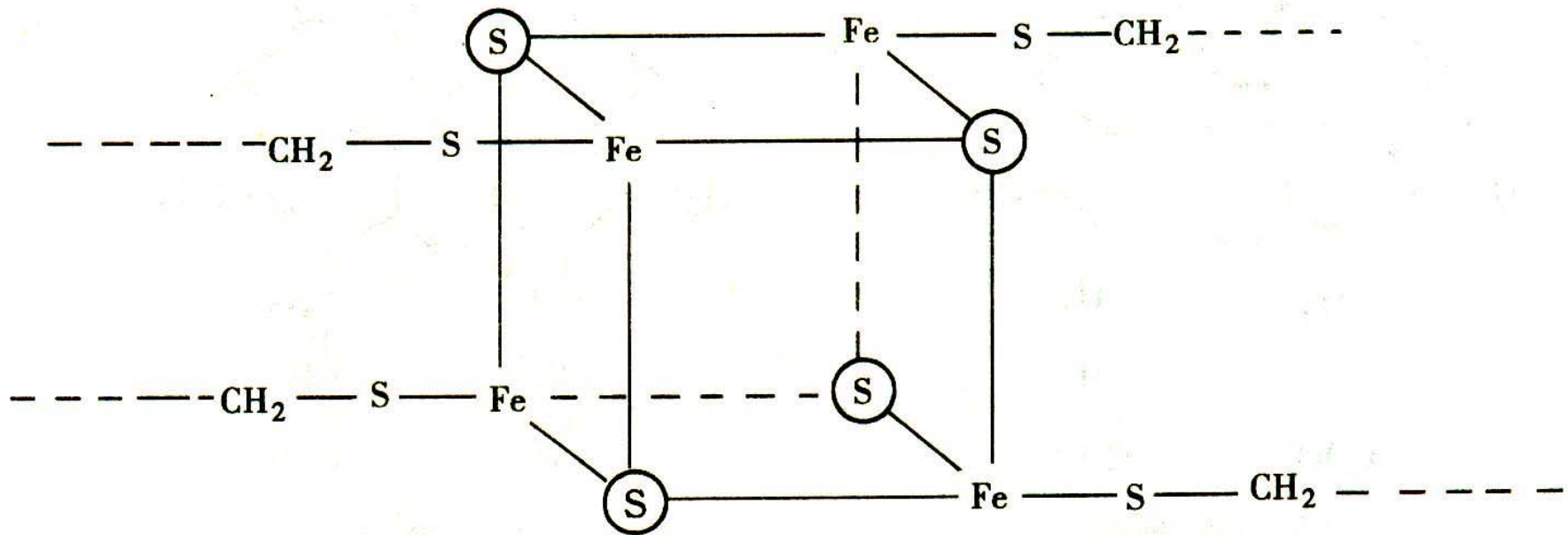


R=H: NAD⁺; R=H₂PO₃: NADP⁺

FMN结构中含核黄素，发挥功能的部位是异咯嗪环，氧化还原反应时不稳定中间产物是 $\text{FMN}\cdot$ 。在可逆的氧化还原反应中显示3种分子状态，属于单、双电子传递体。

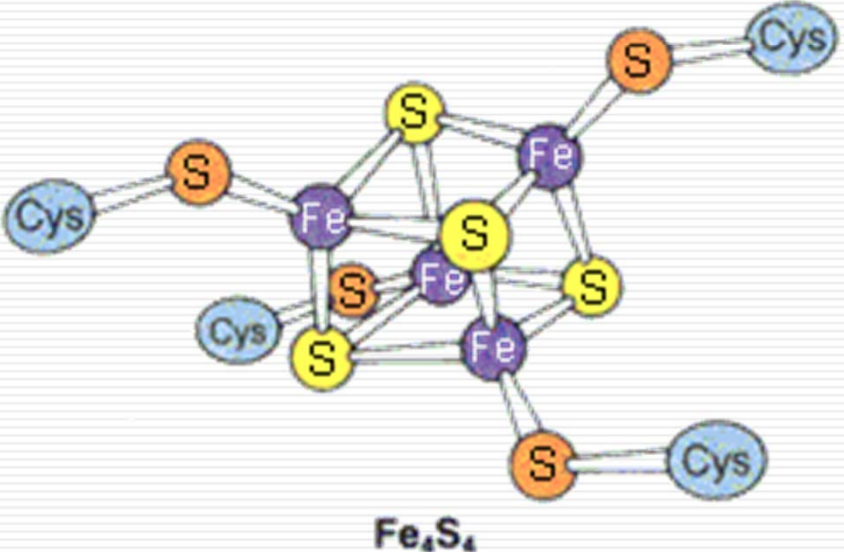
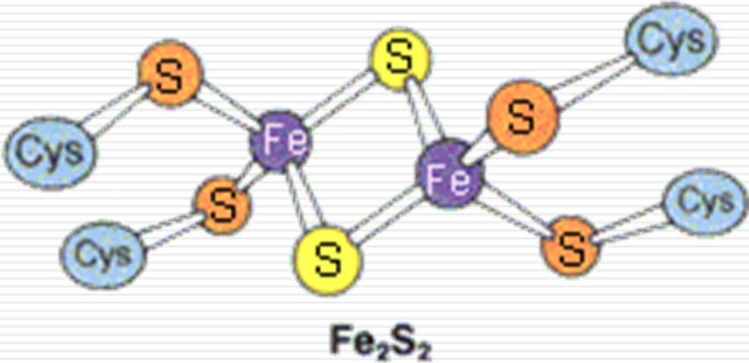
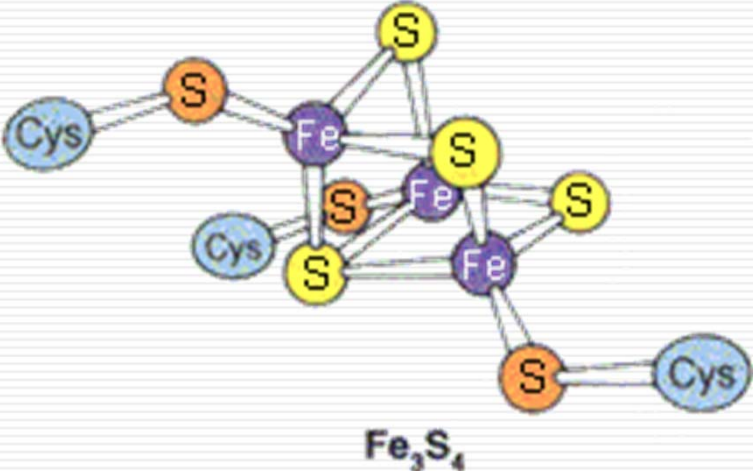
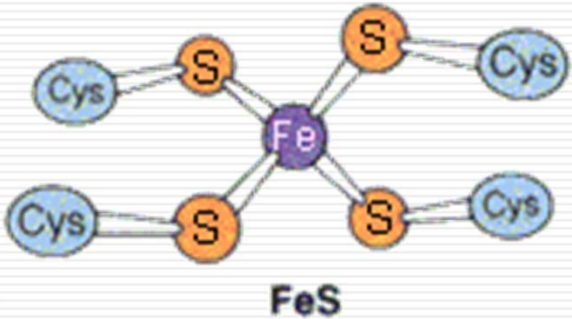


铁硫蛋白中辅基**铁硫中心(Fe-S)**含有等量铁原子和硫原子，其中一个铁原子可进行 **$\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + e$** 反应传递电子。属于单电子传递体。



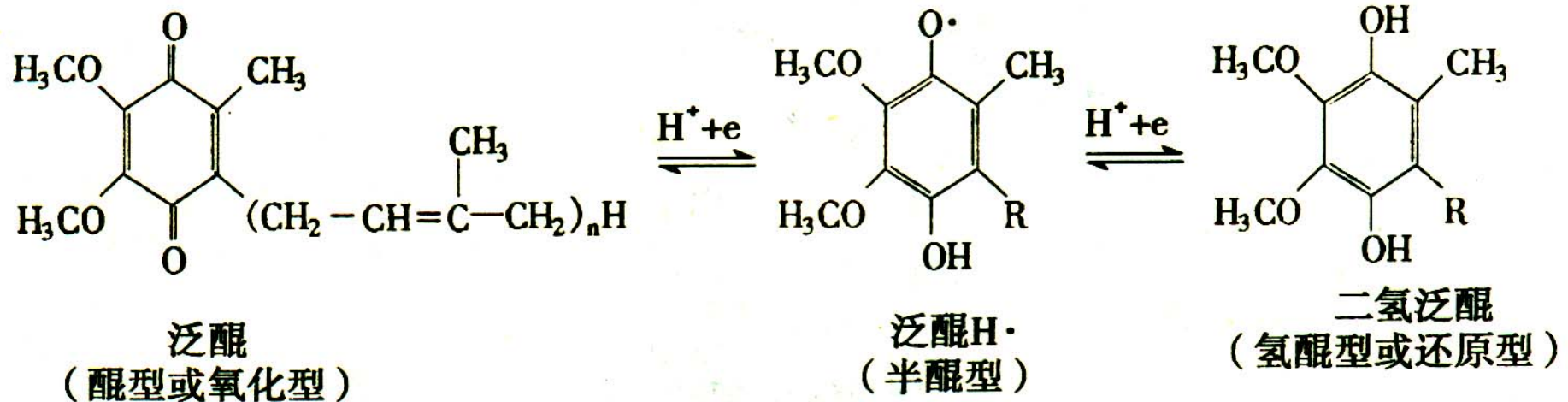
Ⓢ 表示无机硫

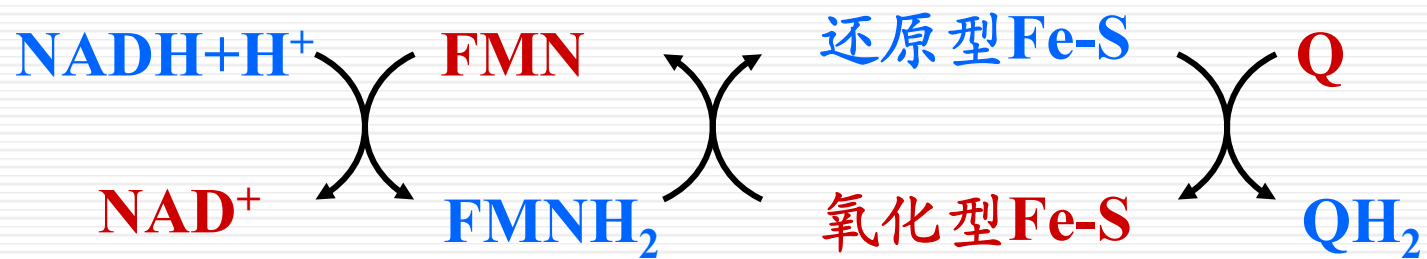
铁硫蛋白



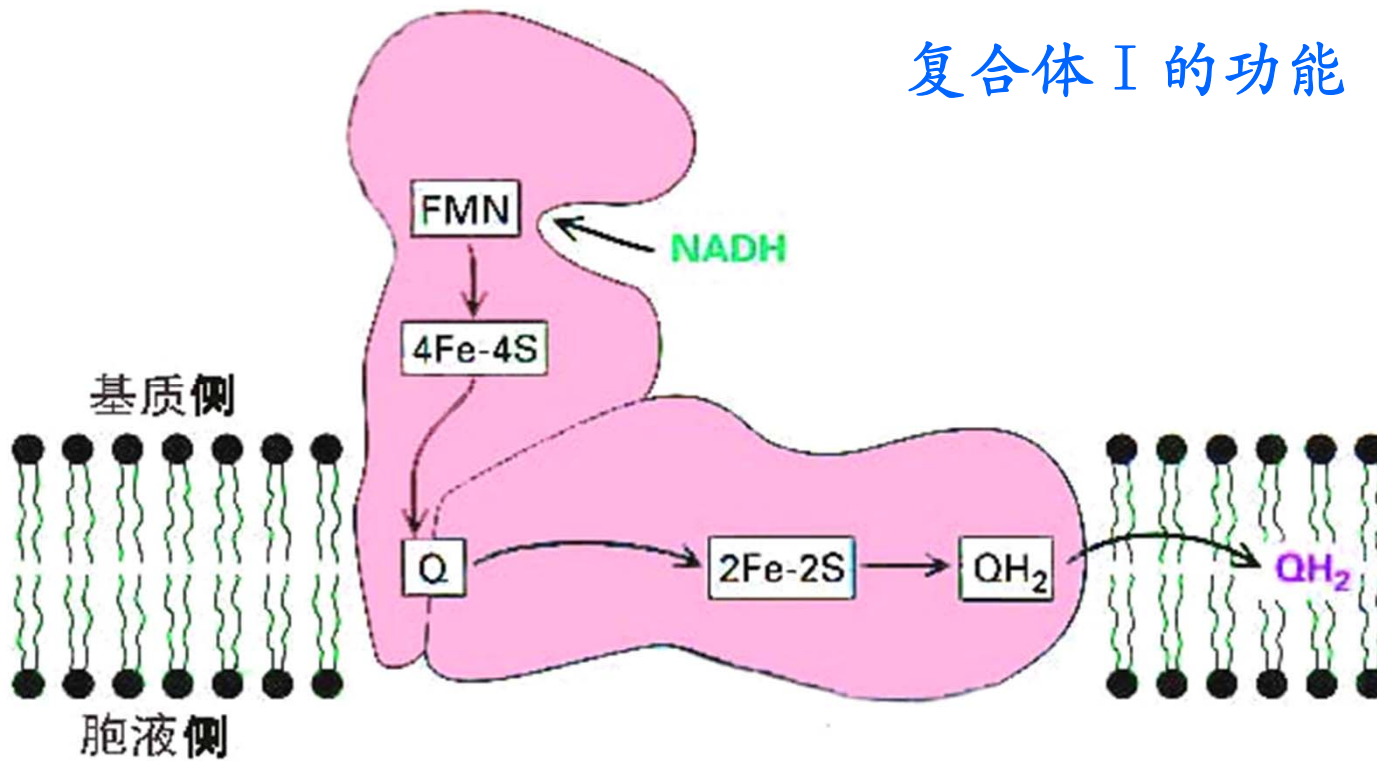
 → 无机硫  → 半胱氨酸硫

泛醌（辅酶Q，CoQ，Q）由多个异戊二烯连接形成较长的疏水侧链（人CoQ₁₀），氧化还原反应时可生成中间产物半醌型泛醌。内膜中可移动电子载体，在各复合体间募集并穿梭传递还原当量和电子。在电子传递和质子移动的偶联中起着核心作用。



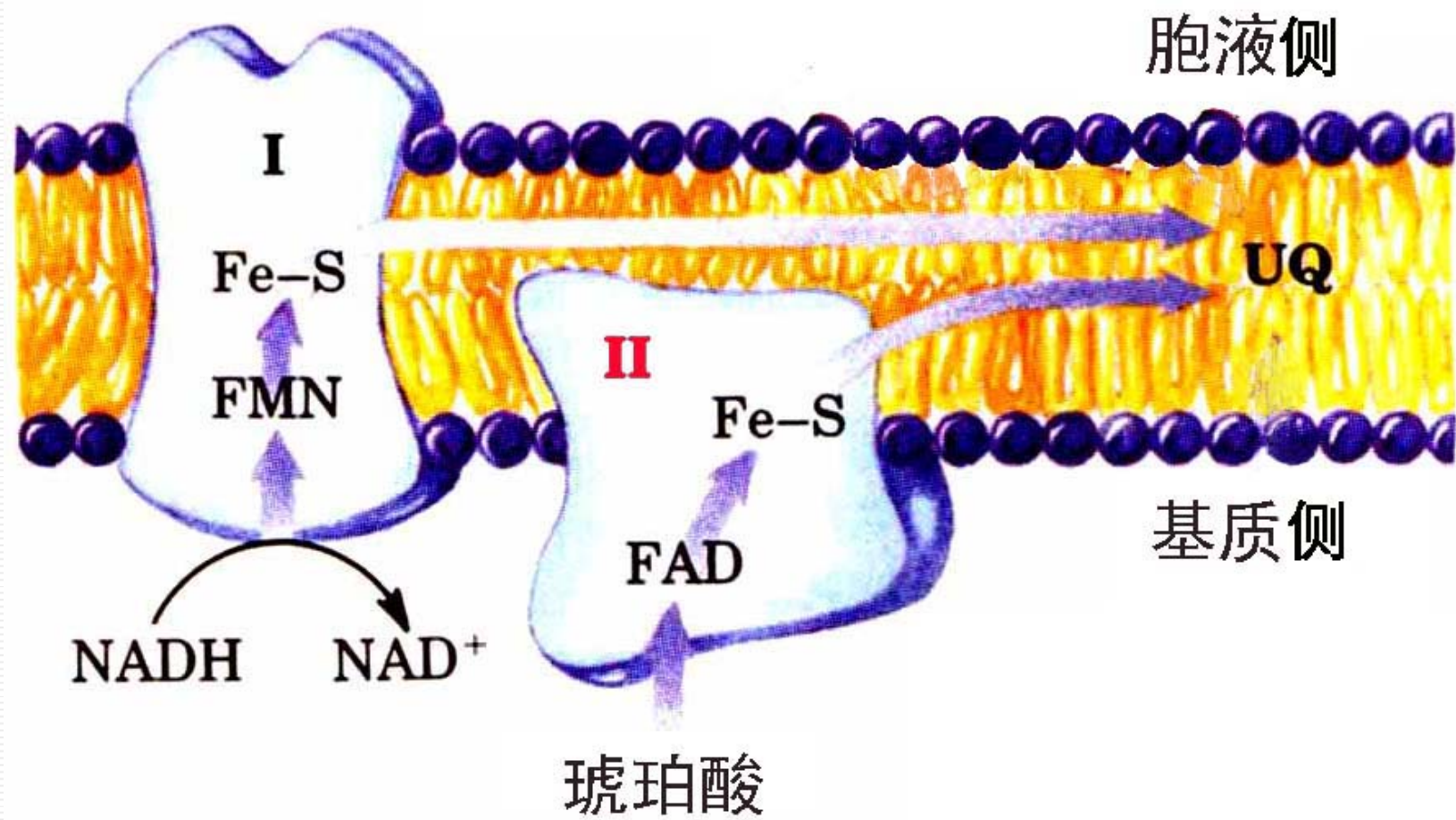


复合体 I 的功能



(二) 复合体 II 将电子从琥珀酸传递到泛醌

- 复合体 II 是三羧酸循环中的琥珀酸脱氢酶，又称琥珀酸-泛醌还原酶。
- 电子传递：琥珀酸 → FAD → 几种 Fe-S → CoQ
- 复合体 II 没有 H⁺ 泵的功能。

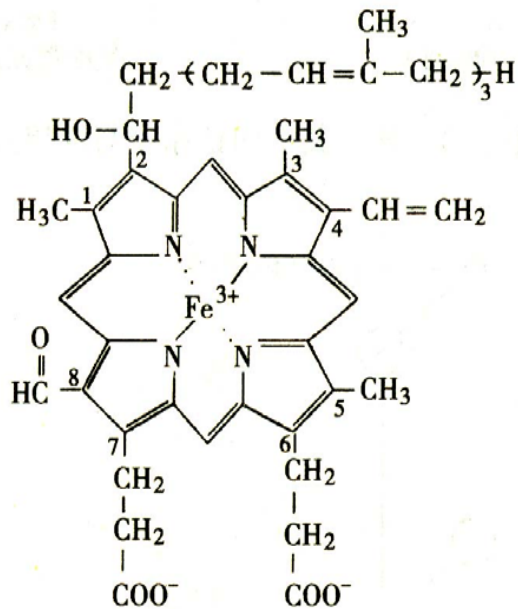


(三) 复合体III将电子从还原型泛醌传递给细胞色素c

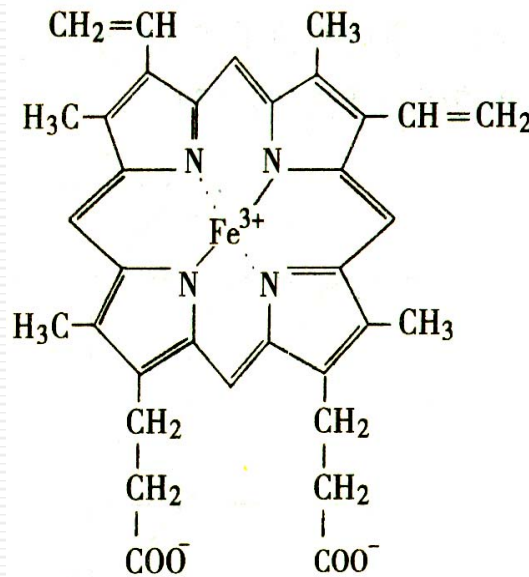
- 复合体III又叫**泛醌-细胞色素C还原酶**。人复合体III含有细胞色素b(b562, b566)、细胞色素c1和一种可移动的铁硫蛋白(Rieske protein)。
- **泛醌**从复合体 I、II 募集还原当量和电子并穿梭传递到复合体III。
- **电子传递过程**: $\text{CoQH}_2 \rightarrow (\text{Cyt bL} \rightarrow \text{Cyt bH}) \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{Cyt c1} \rightarrow \text{Cyt c}$

细胞色素(cytochrome, Cyt)

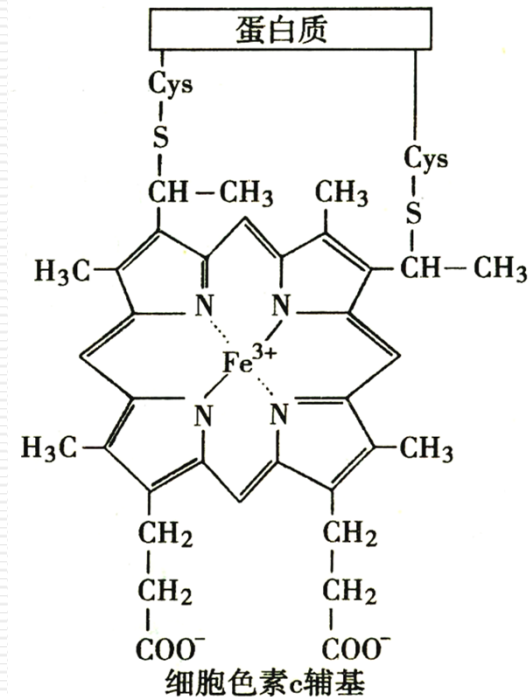
细胞色素是一类以铁卟啉为辅基的催化电子传递的酶类，根据它们吸收光谱不同而分类。



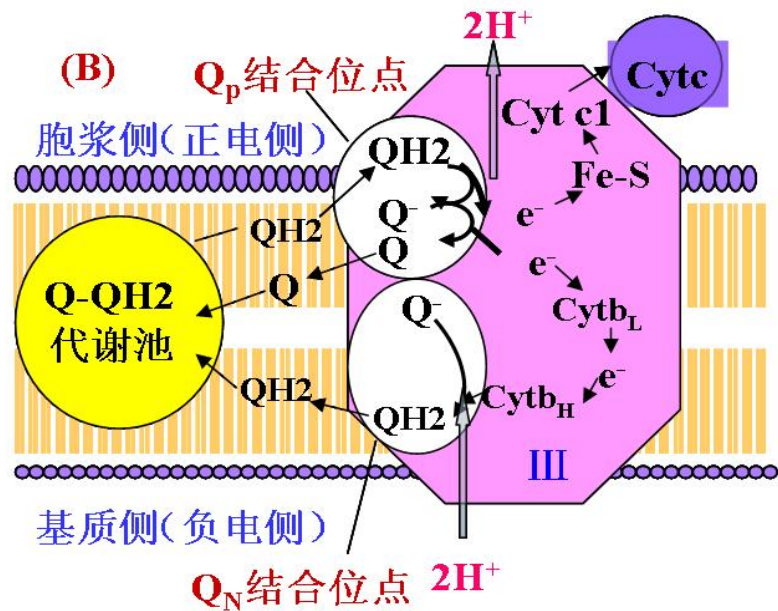
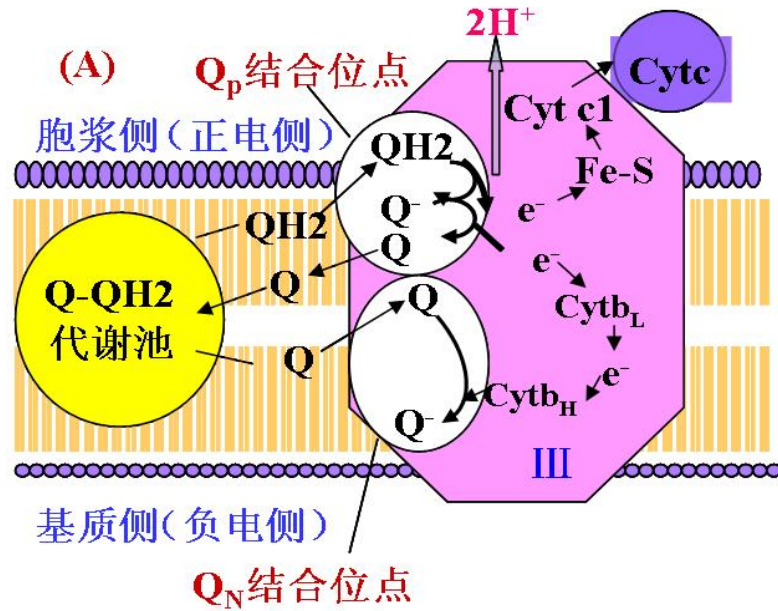
细胞色素a辅基



细胞色素b辅基



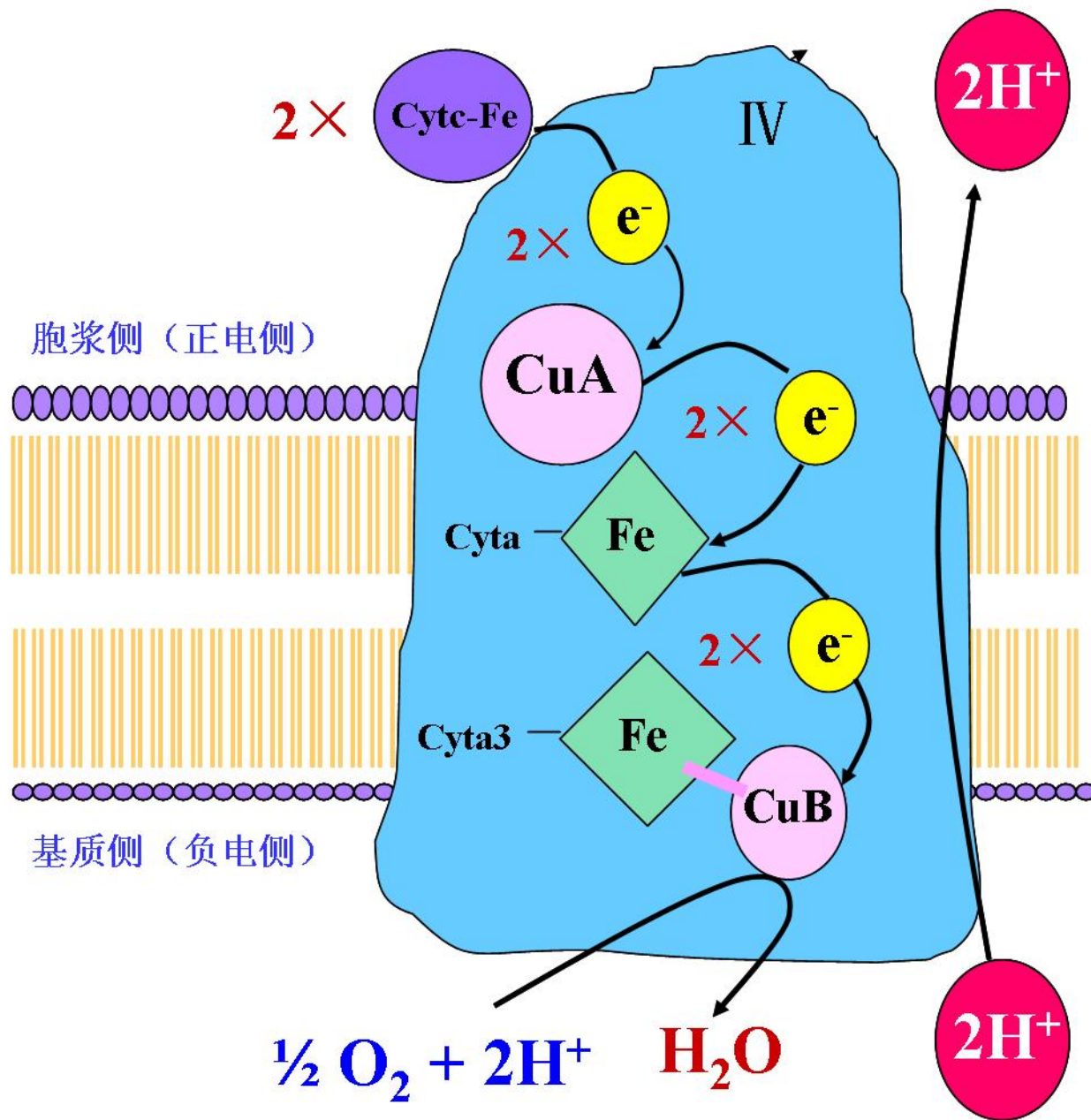
细胞色素c辅基



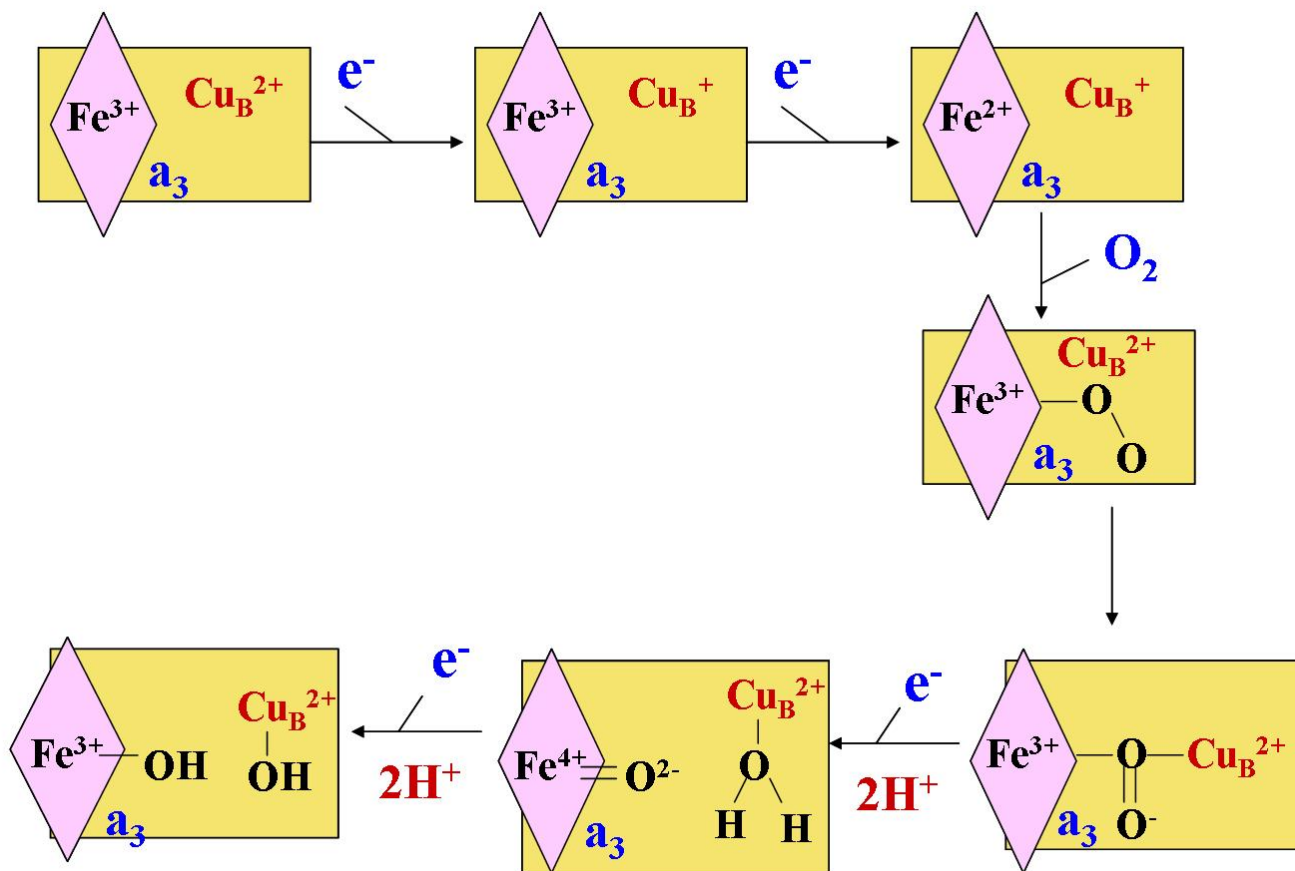
- 复合体III的电子传递通过“Q循环”实现。
- 复合体III每传递2个电子向内膜胞浆侧释放4个 H^+ ，复合体III也有质子泵作用。
- Cyt c是呼吸链唯一水溶性球状蛋白，不包含在复合体中。将获得的电子传递到复合体IV。

(四) 复合体IV将电子从细胞色素C传递给氧

- 人复合体IV 又称**细胞色素C氧化酶**(cytochrome c oxidase)。
- **电子传递**: $\text{Cyt c} \rightarrow \text{CuA} \rightarrow \text{Cyt a} \rightarrow \text{Cyt a}_3 - \text{CuB} \rightarrow \text{O}_2$
- $\text{Cyt a}_3 - \text{CuB}$ 形成活性双核中心, 将电子传递给 O_2 。复合体IV也有质子泵功能, 每传递2个电子使2个 H^+ 跨内膜向胞浆侧转移。



复合体IV的电子传递过程

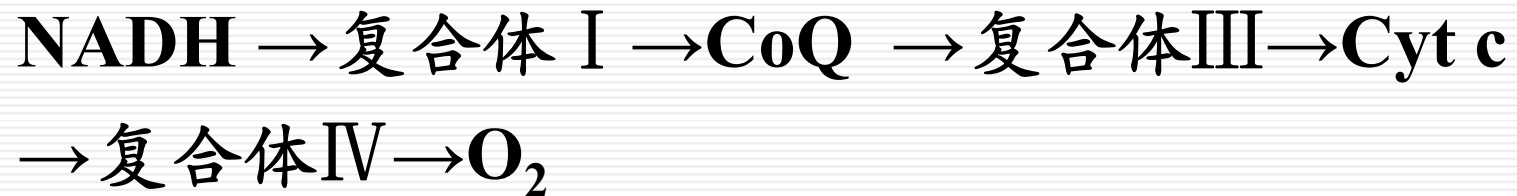


细胞色素c氧化酶CuB-Cyta3中心使 O_2 还原成水的过程，有强氧化性中间物始终和双核中心紧密结合，不会引起细胞损伤。

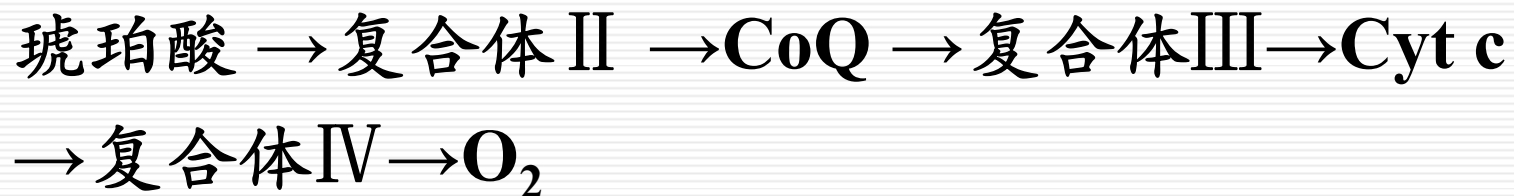
二、NADH和FADH₂是氧化呼吸链的电子供体

根据电子供体及其传递过程，目前认为，氧化呼吸链有两条途径：

1、NADH氧化呼吸链

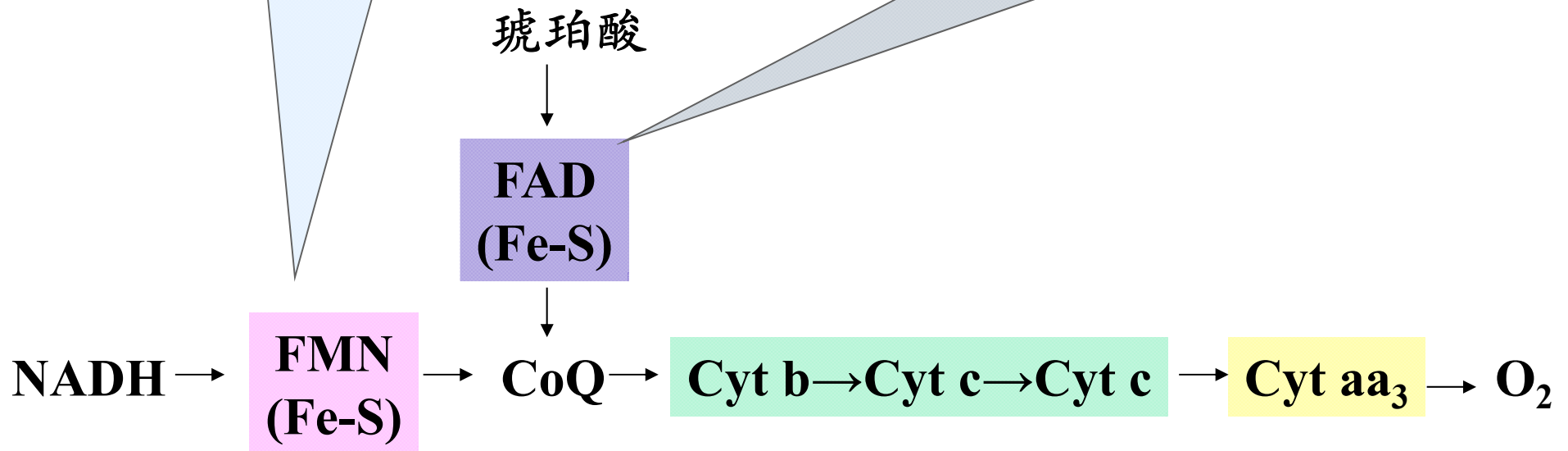


2、琥珀酸氧化呼吸链



NADH氧化呼吸链

FADH₂氧化呼吸链



氧化呼吸链各组分的顺序排列是由以下实验确定的

- 标准氧化还原电位
- 特异抑制剂阻断
- 还原状态呼吸链缓慢给氧
- 将呼吸链拆开和重组

呼吸链中各种氧化还原对的标准氧化还原电位

氧化还原对	$E^{0'}(V)$	氧化还原对	$E^{0'}(V)$
$NAD^+ / NADH + H^+$	-0.32	Cyt c1 Fe^{3+} / Fe^{2+}	0.22
$FMN / FMNH_2$	-0.219	Cyt c Fe^{3+} / Fe^{2+}	0.254
$FAD / FADH_2$	-0.219	Cyt a Fe^{3+} / Fe^{2+}	0.29
Cyt $b_L(b_H) Fe^{3+} / Fe^{2+}$	0.05(0.10)	Cyt a3 Fe^{3+} / Fe^{2+}	0.35
$Q_{10} / Q_{10}H_2$	0.06	$1/2O_2 / H_2O$	0.816

第二节

氧化磷酸化将氧化呼吸链释能与
ADP磷酸化偶联生成ATP

■ ATP生成方式

- **底物水平磷酸化(substrate level phosphorylation)**与脱氢反应偶联，生成底物分子的高能键，使ADP(GDP)磷酸化生成ATP(GTP)的过程。不经电子传递。
- **氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation)**是指在呼吸链电子传递过程中偶联ADP磷酸化，生成ATP，又称为**偶联磷酸化**。

一、氧化磷酸化偶联部位在复合体 I、III、IV 内

氧化磷酸化偶联部位：复合体 I、III、IV

- 根据P/O比值
- 自由能变化： $\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E^{\circ'}$

(一) P/O 比值

指氧化磷酸化过程中，每消耗1/2摩尔O₂所生成ATP的摩尔数（或一对电子通过氧化呼吸链传递给氧所生成ATP分子数）。

线粒体离体实验测得的一些底物的P/O 比值

底物	呼吸链的组成	P/O 比值	可能生成的 ATP 数
β羟丁酸	NAD ⁺ → 复合体 I → CoQ → 复合体 III → Cyt c → 复合体 IV → O ₂	2.5	2.5
琥珀酸	复合体 II → CoQ → 复合体 III → Cyt c → 复合体 IV → O ₂	1.5	1.5
抗坏血酸	Cyt c → 复合体 IV → O ₂	0.88	1
细胞色素c (Fe ²⁺)	复合体 IV → O ₂	0.61-0.68	1

(二) 自由能变化

根据热力学公式，pH7.0时标准自由能变化($\Delta G0'$)与还原电位变化($\Delta E0'$)之间有以下关系：

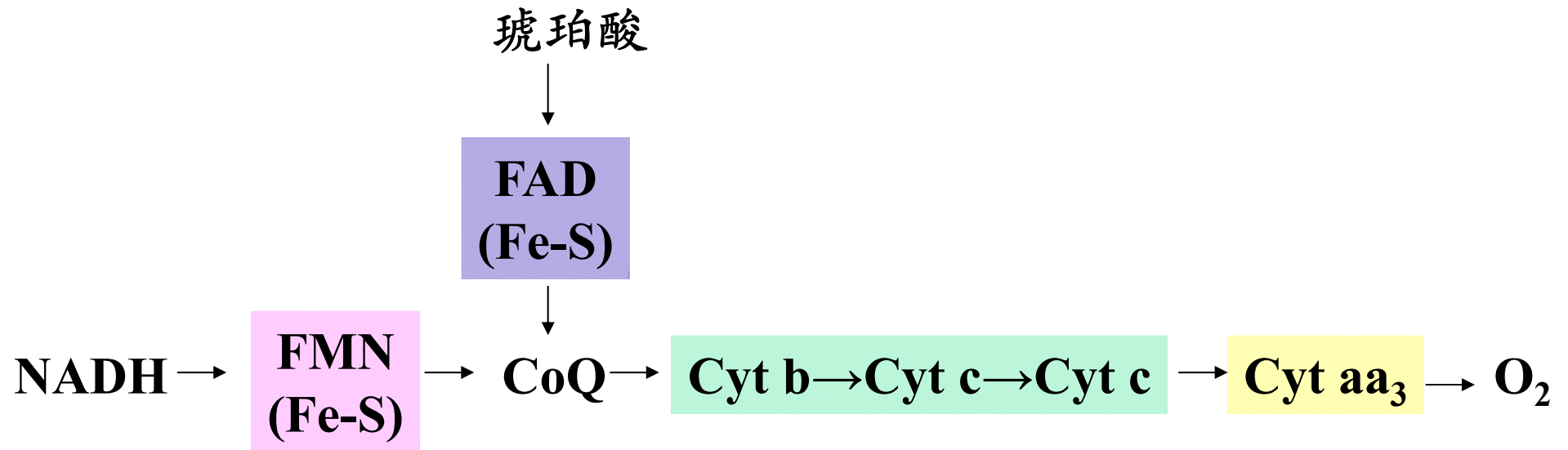
$$\Delta G0' = -nF\Delta E0'$$

n 为传递电子数； F 为法拉第常数(96.5kJ/mol·V)

电子传递链自由能变化

区段	电位变化 ($\Delta E^{\circ'}$)	自由能变化 $\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E^{\circ'}$	能否生成ATP ($\Delta G^{\circ'}$ 是否大于30.5KJ)
NAD⁺~CoQ	0.36V	69.5KJ/mol	能
CoQ~Cyt c	0.21V	40.5KJ/mol	能
Cyt aa₃~O₂	0.53V	102.3KJ/mol	能

氧化磷酸化偶联部位



二、氧化磷酸化偶联机制是产生跨线粒体内膜的质子梯度

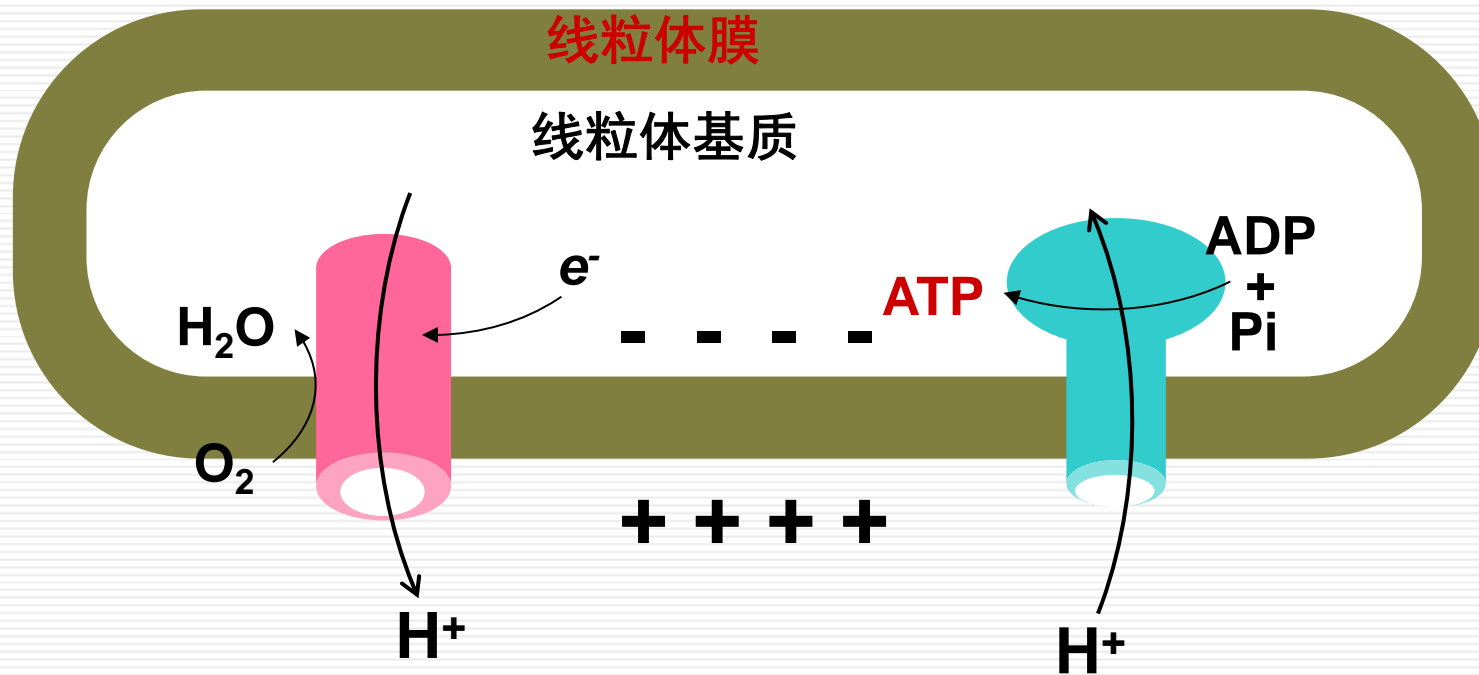
化学渗透假说(chemiosmotic hypothesis)

电子经呼吸链传递时，可将质子(H^+)从线粒体内膜的基质侧泵到内膜胞浆侧，产生膜内外质子电化学梯度储存能量。当质子顺浓度梯度回流时驱动ADP与Pi生成ATP。

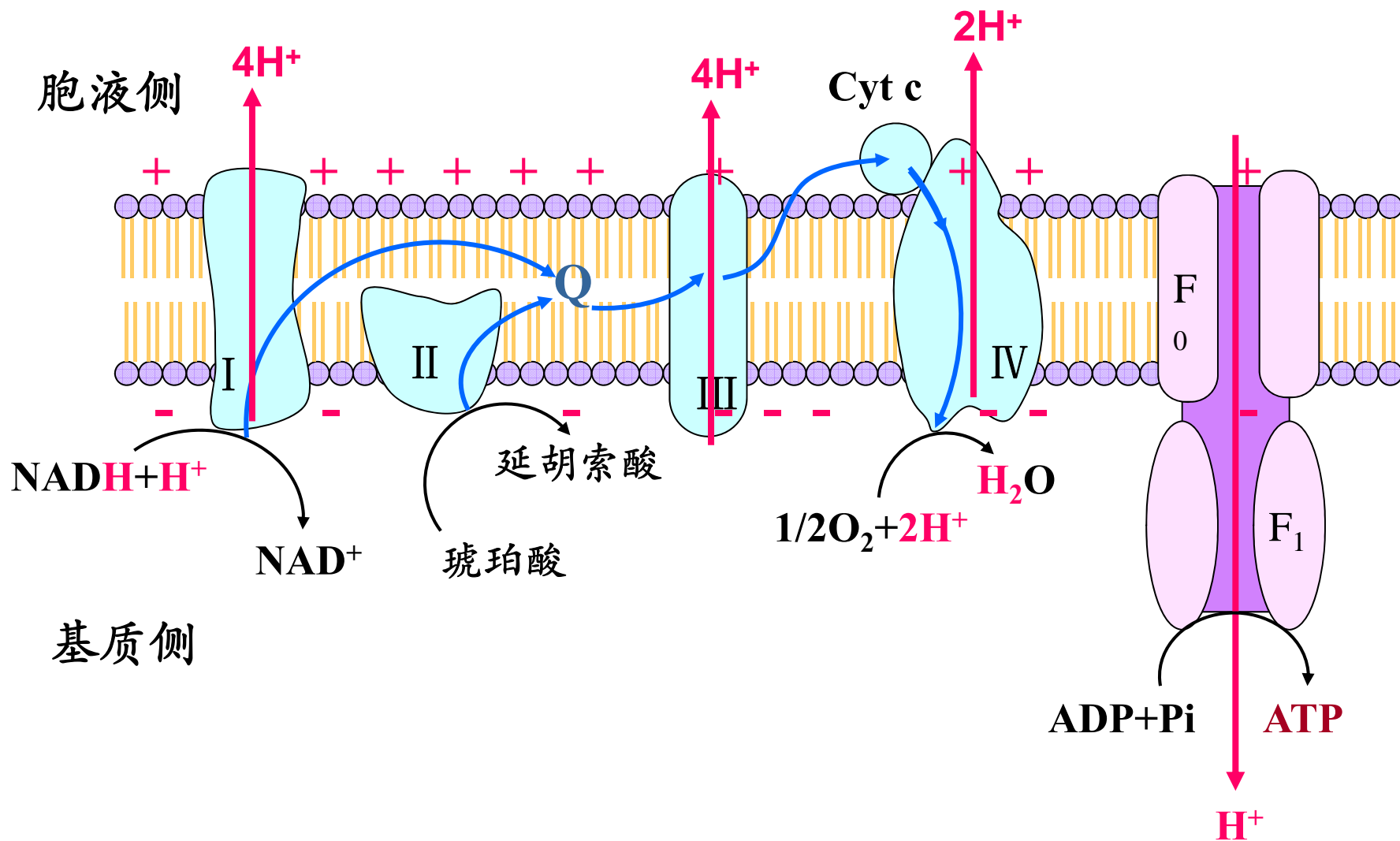
■ 化学渗透假说已经得到广泛的实验支持。

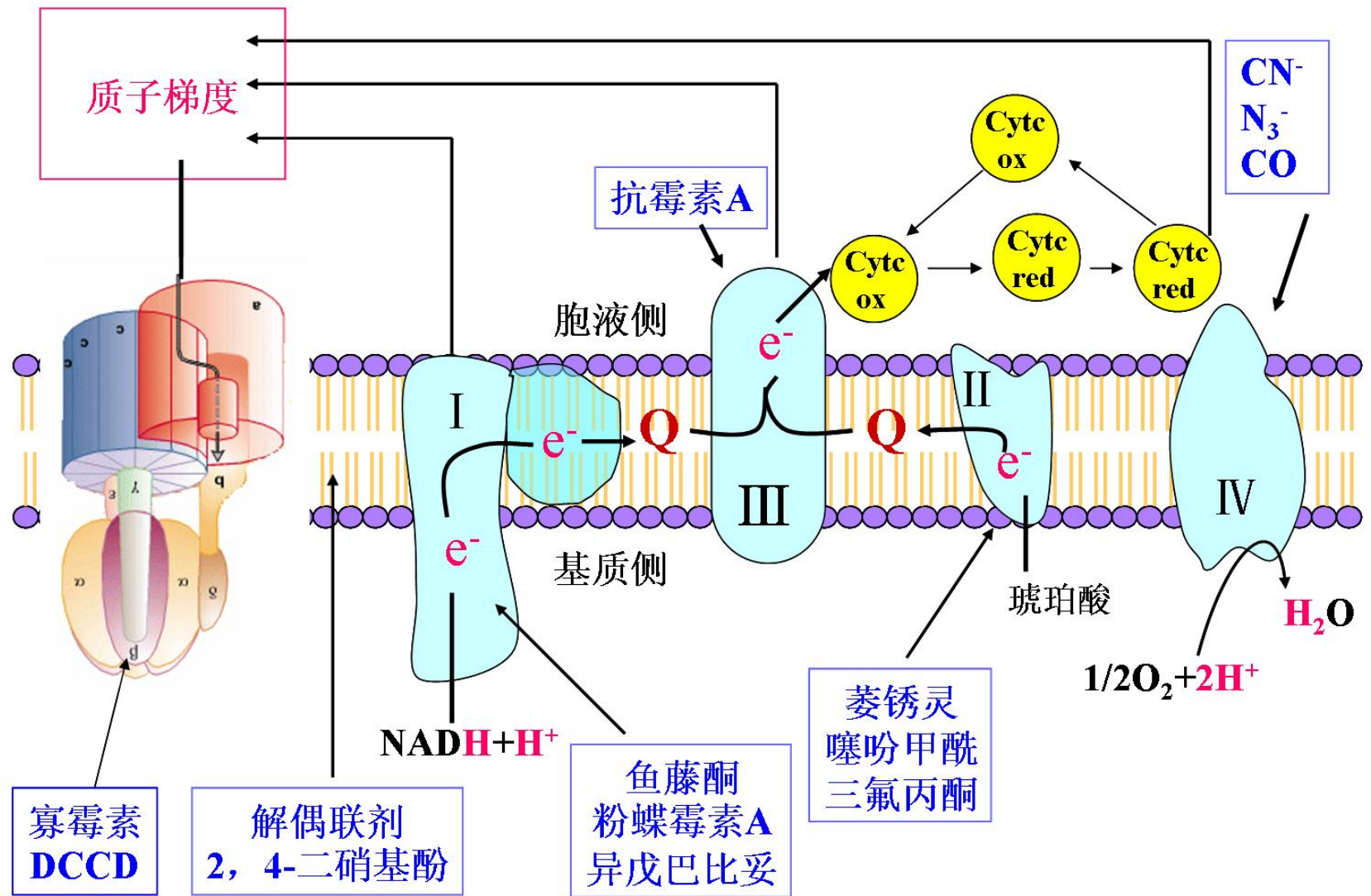
- 氧化磷酸化依赖于完整封闭的线粒体内膜；
- 线粒体内膜对 H^+ 、 OH^- 、 K^+ 、 Cl^- 离子是不通透的；
- 电子传递链可驱动质子移出线粒体，形成可测定的跨内膜电化学梯度；
- 增加线粒体内膜外侧酸性可导致ATP合成，而线粒体内膜加入使质子通过物质可减少内膜质子梯度，结果电子虽可以传递，但ATP生成减少。

化学渗透假说简单示意图



电子传递过程复合体 I (4H^+)、III (4H^+)和IV (2H^+)有质子泵功能。





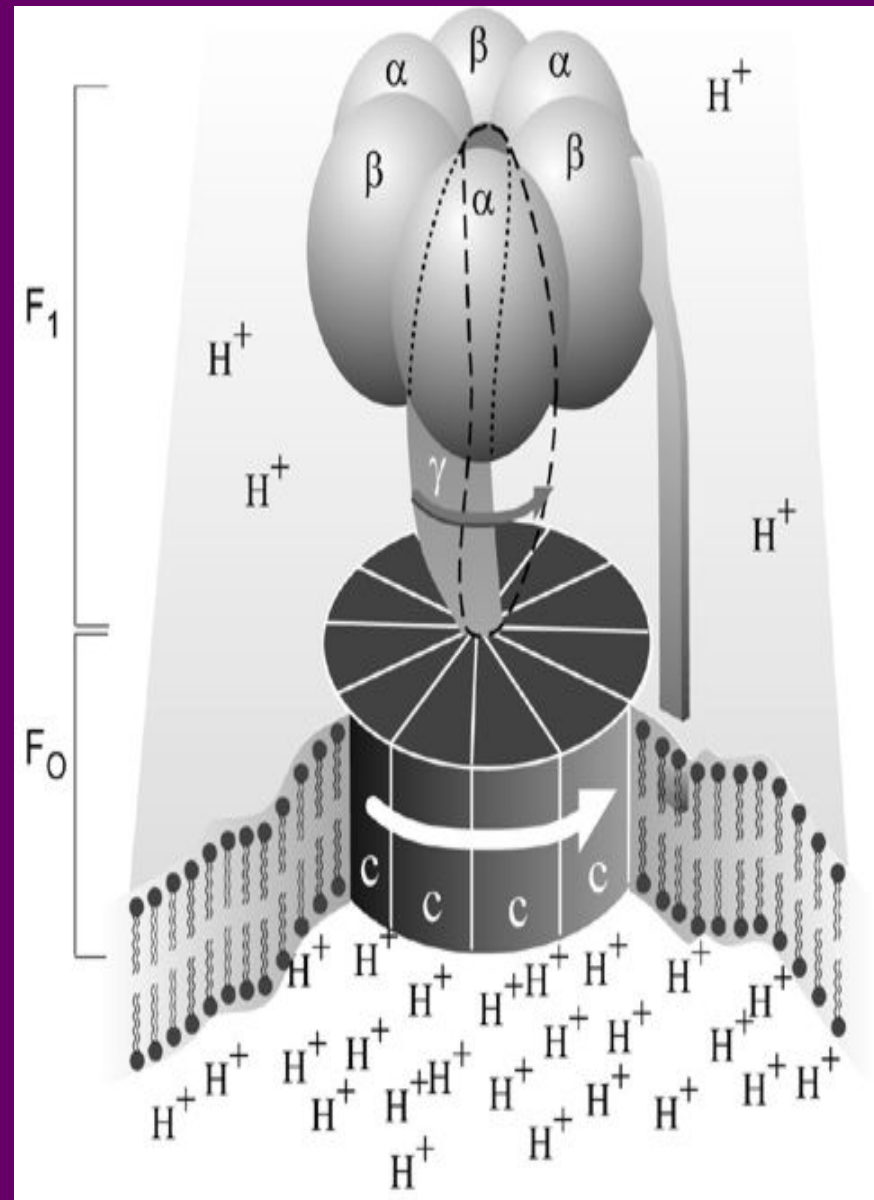
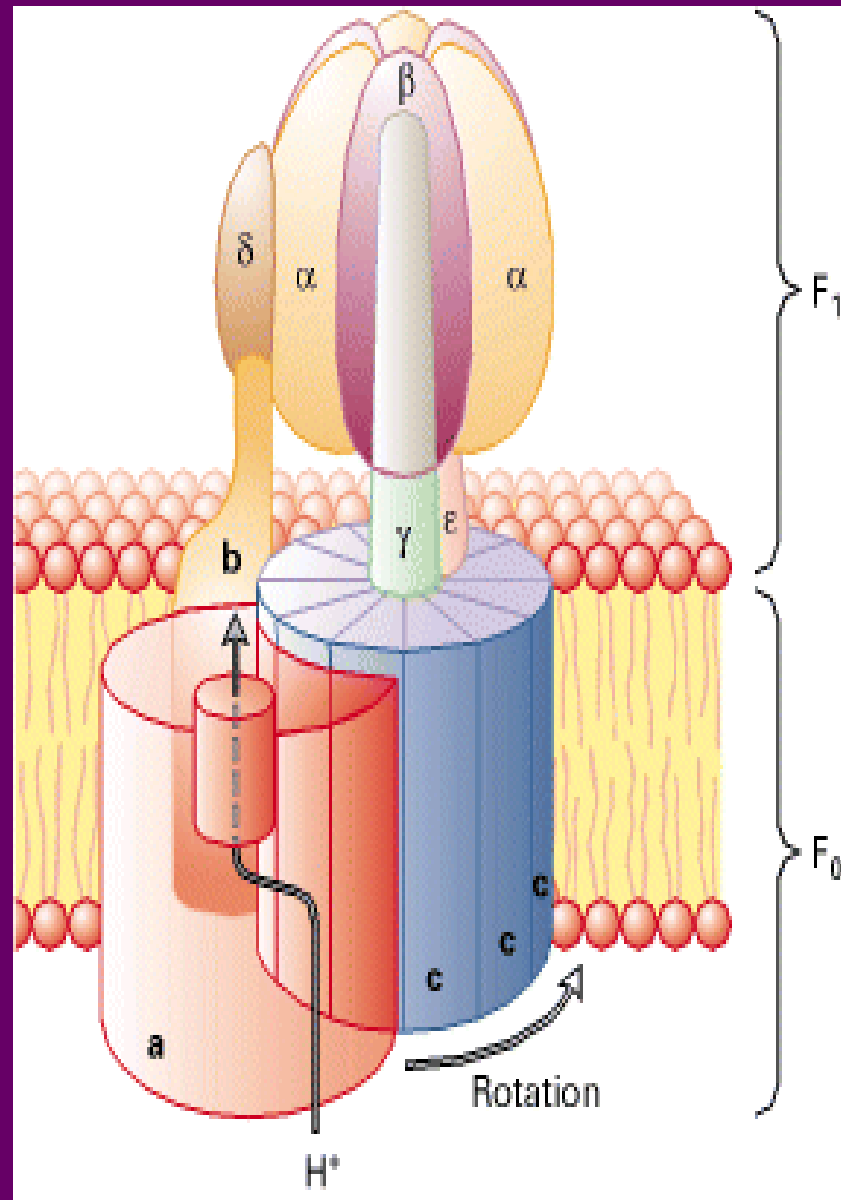
化学渗透示意图及各种抑制剂对电子传递链的影响

三、质子顺浓度梯度回流释放能量用于合成 ATP

■ ATP合酶结构组成

F₁: 亲水部分 (动物: $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$ 亚基复合体, OSCP、IF1 亚基), 线粒体内膜的基质侧颗粒状突起, 催化ATP合成。

F₀: 疏水部分 ($ab_2c_{9\sim 12}$ 亚基, 动物还有其他辅助亚基), 镶嵌在线粒体内膜中, 形成跨内膜质子通道。

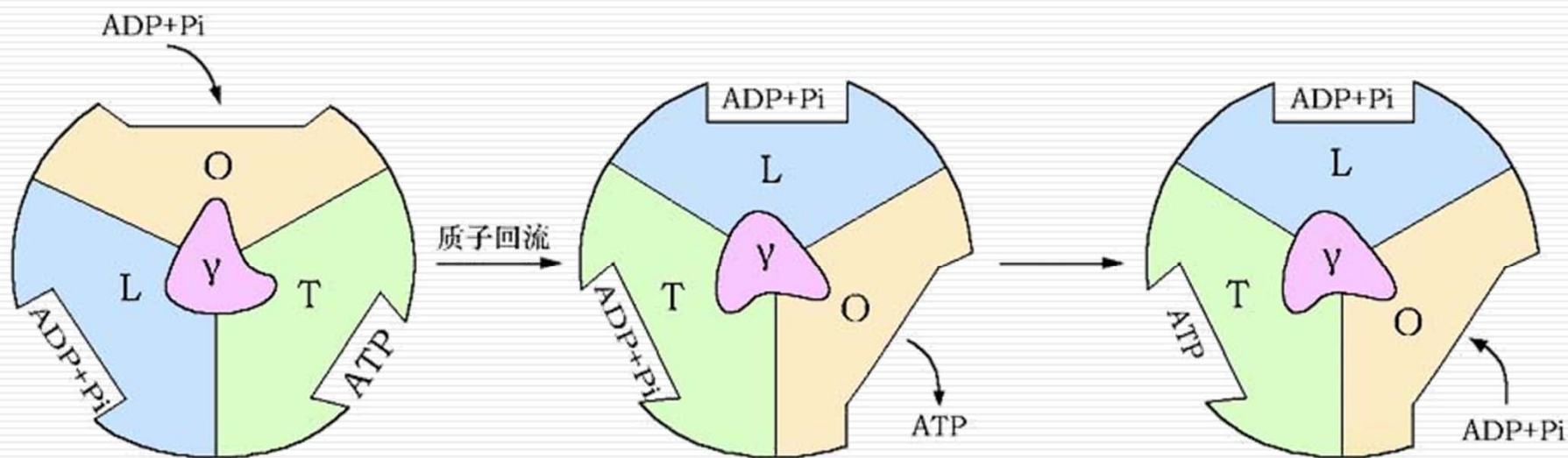


■ ATP合酶组成可旋转的发动机样结构

- F_0 的2个b亚基的一端锚定 F_1 的 α 亚基，另一端通过 δ 和 $\alpha_3\beta_3$ 稳固结合，使a、 b_2 和 $\alpha_3\beta_3$ 、 δ 亚基组成稳定的定子部分。
- 部分 γ 和 ϵ 亚基共同形成穿过 $\alpha_3\beta_3$ 间中轴， γ 还与1个 β 亚基疏松结合作用，下端与嵌入内膜的c亚基环紧密结合。c亚基环、 γ 和 ϵ 亚基组成转子部分。
- 质子顺梯度向基质回流时，转子部分相对定子部分旋转，使ATP合酶利用释放的能量合成ATP。

■ ATP合成的结合变构机制(binding change mechanism)

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



ATP合酶的工作机制

四、ATP在能量代谢中起核心作用

生物体能量代谢有其明显的特点。

- 细胞内代谢反应都是依序进行、能量逐步得失。
- ATP称之为**高能磷酸化合物**，可直接为细胞的各种生理活动提供能量，同时也有利于细胞对能量代谢进行严格调控。

■ 高能磷酸键

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

■ 高能磷酸化合物

含有高能磷酸键的化合物

一些重要有机磷酸化合物水解释放的标准自由能

化合物	ΔE^0	
	kJ/mol	(kcal/mol)
磷酸烯醇式丙酮酸	-61.9	(-14.8)
氨基甲酰磷酸	-51.4	(-12.3)
1, 3-二磷酸甘油酸	-49.3	(-11.8)
磷酸肌酸	-43.1	(-10.3)
ATP \rightarrow ADP + Pi	-30.5	(-7.3)
乙酰辅酶A	-31.5	(-7.5)
ADP \rightarrow AMP + Pi	-27.6	(-6.6)
焦磷酸	-27.6	(-6.6)
葡萄糖-1-磷酸	-20.9	(-5.0)

(一) ATP是体内能量捕获和释放利用的重要分子

- ATP是体内最重要的高能磷酸化合物，是细胞可直接利用的能量形式。
- ATP在生物能学上最重要的意义在于，通过其水解反应释放大量自由能和需要供能的反应偶联，使这些反应在生理条件下完成。

(二) ATP是体内能量转移和磷酸核苷化合物相互转变的核心

腺苷酸激酶的作用



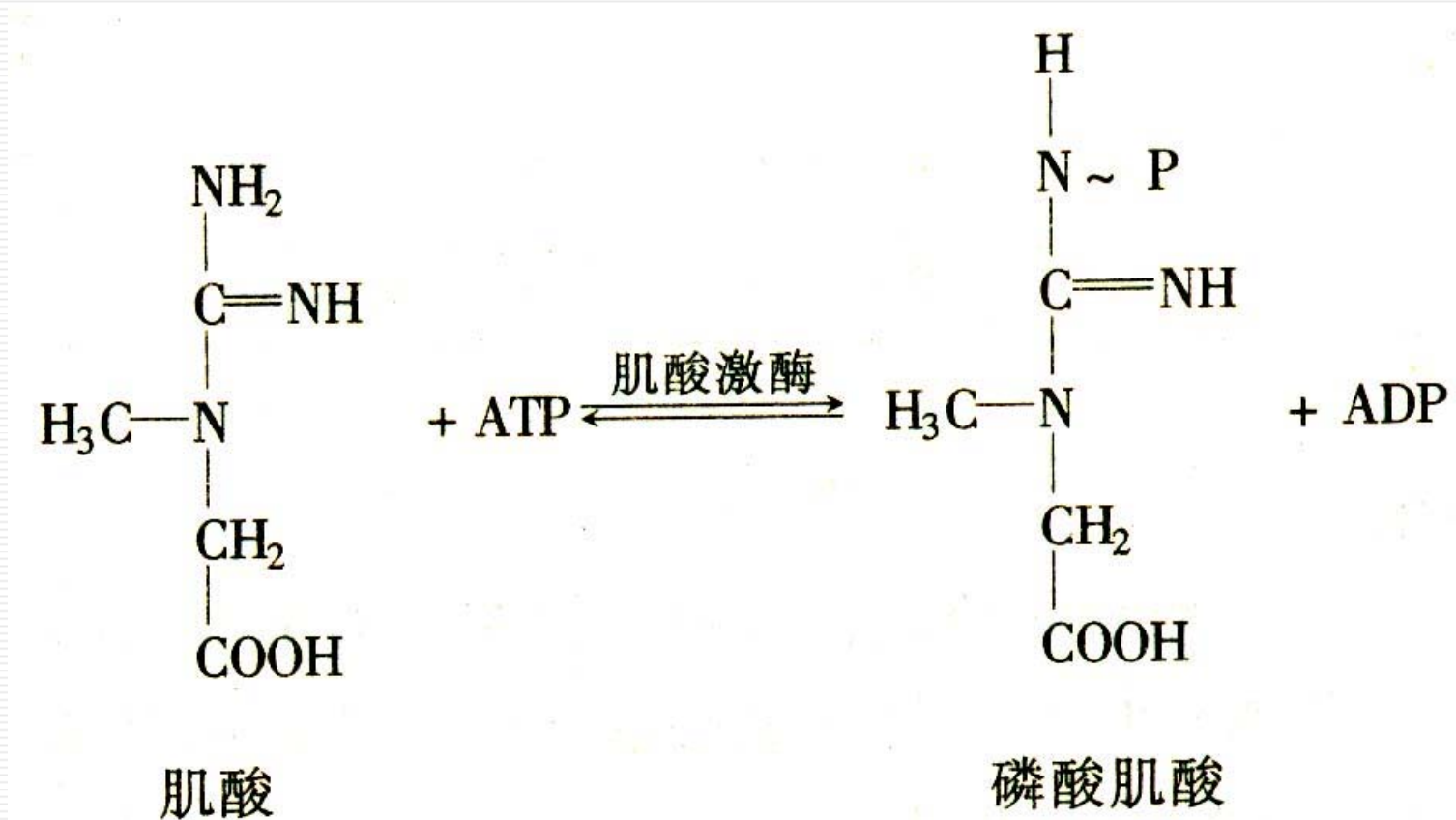
核苷二磷酸激酶的作用



(三) ATP通过转移自身基团提供能量

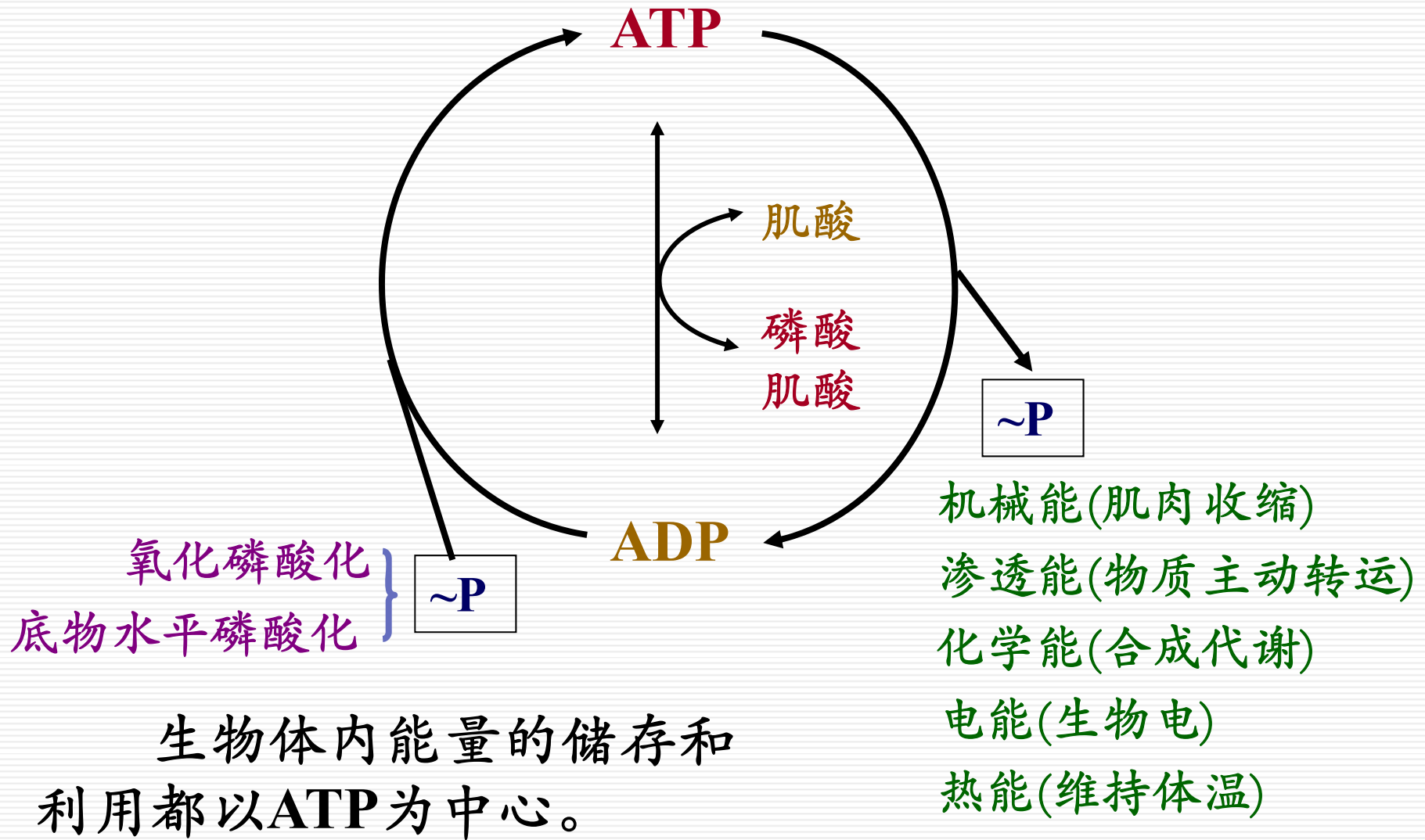
- 因为ATP分子中的高能磷酸键水解释放能量多，易释放Pi、PPi基团，很多酶促反应由ATP通过共价键与底物或酶分子相连，将ATP分子中的Pi、PPi或者AMP基团转移到底物或酶蛋白上而形成中间产物，经过化学转变后再将这些基团水解而形成终产物。

(四) 磷酸肌酸是高能键能量的储存形式



磷酸肌酸作为肌肉和脑组织中能量的一种贮存形式。

ATP的生成、储存和利用



生物体内能量的储存和利用都以ATP为中心。

第三节

氧化磷酸化的影响因素

一、体内能量状态可调节氧化磷酸化速率

- 氧化磷酸化是机体合成能量载体ATP的最主要的途径，因此机体根据能量需求调节氧化磷酸化速率，从而调节ATP的生成量。

二、抑制剂可阻断氧化磷酸化过程

(一) 呼吸链抑制剂阻断电子传递过程

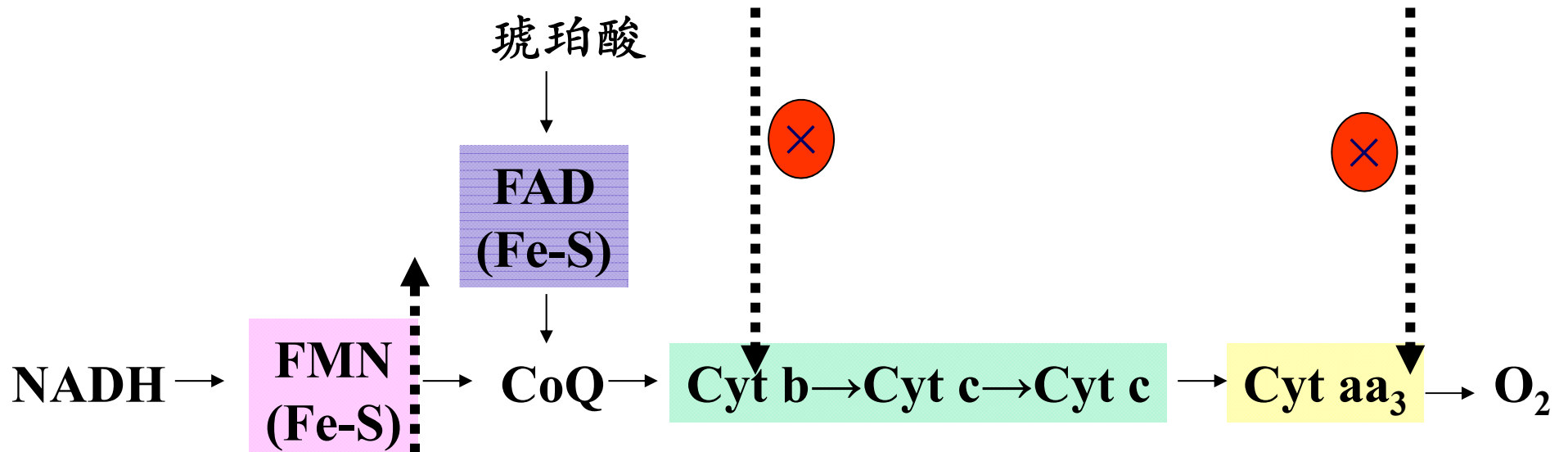
- 复合体 I 抑制剂：鱼藤酮(rotenone)、粉蝶霉素A(piericidin A)及异戊巴比妥(amobarbital)等阻断传递电子到泛醌。
- 复合体 II 的抑制剂：萎锈灵(carboxin)。

- 复合体III抑制剂：抗霉素A(antimycin A)阻断Cyt bH传递电子到泛醌(Q_N)；粘噻唑菌醇则作用 Q_P 位点。
- 复合体IV 抑制剂： CN^- 、 N^3^- 紧密结合中氧化型Cyt a_3 ，阻断电子由Cyt a到CuB- Cyt a_3 间传递。
CO与还原型Cyt a_3 结合，阻断电子传递给 O_2 。

各种呼吸链抑制剂的阻断位点

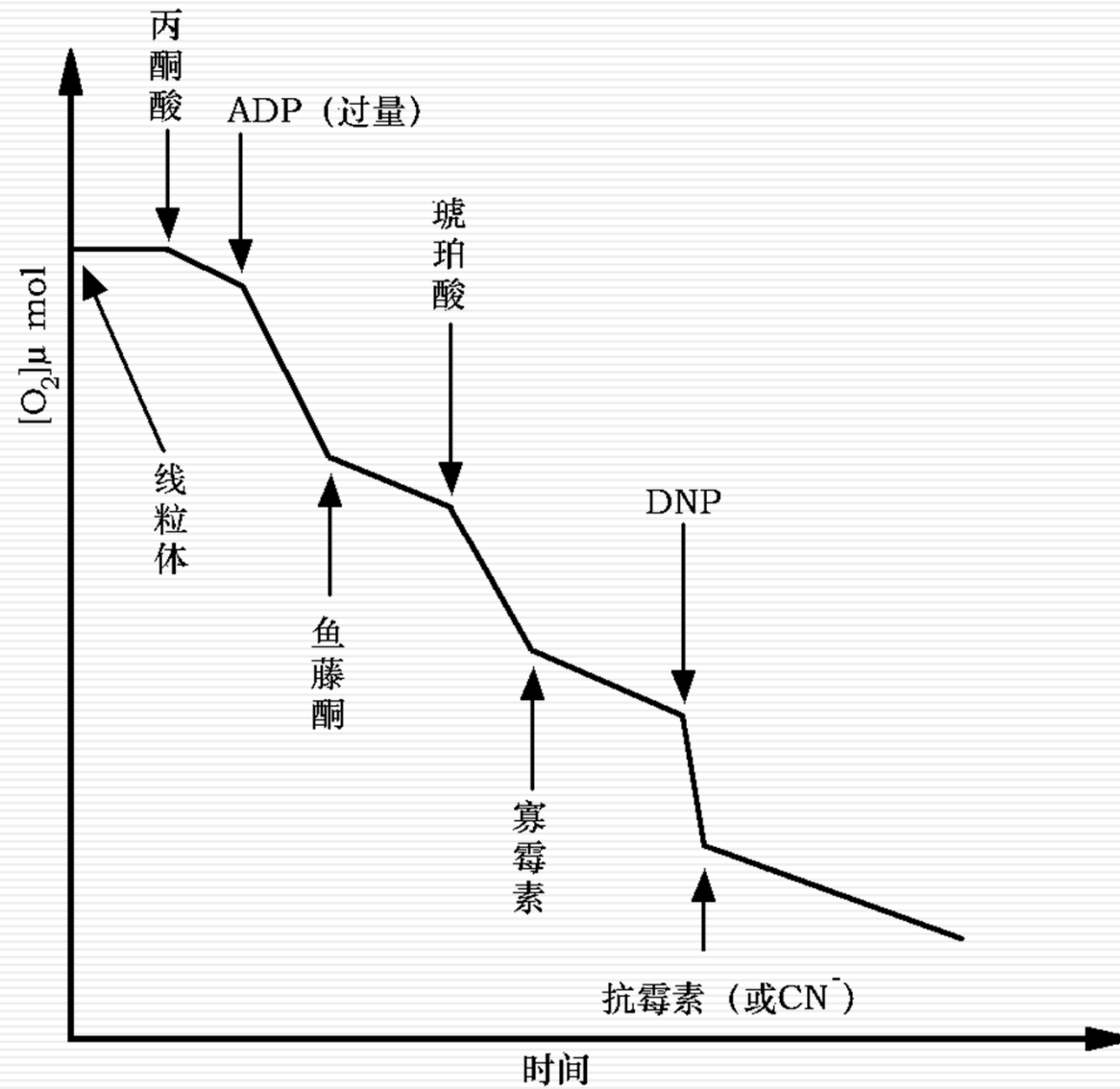
抗霉素A
二巯基丙醇

CO、CN⁻、
N₃⁻及H₂S



鱼藤酮
粉蝶霉素A
异戊巴比妥

不同底物和抑制剂对线粒体氧耗的影响

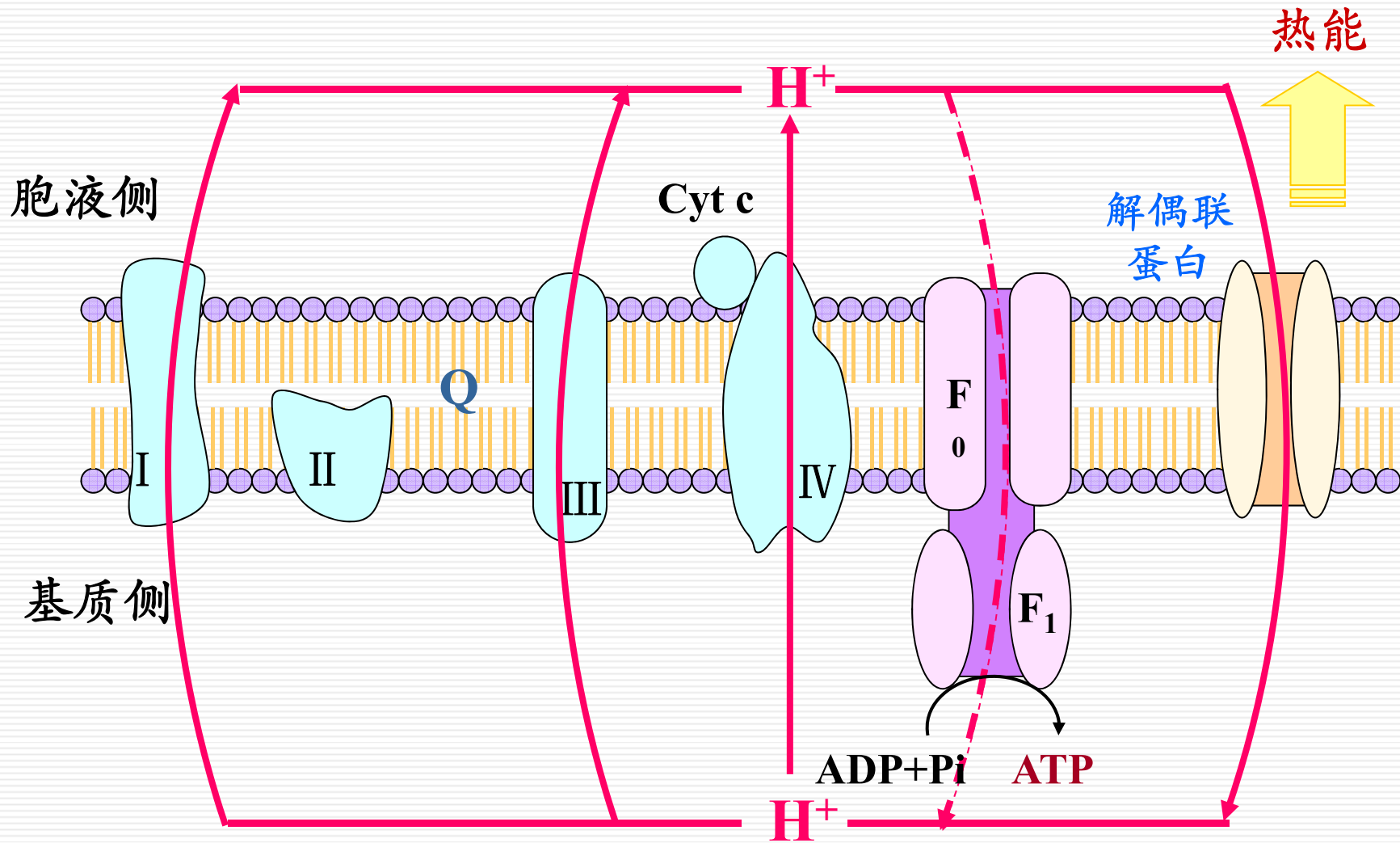


(二) 解偶联剂阻断ADP的磷酸化过程

解偶联剂(**uncoupler**)可使氧化与磷酸化的偶联相互分离，基本作用机制是**破坏**电子传递过程建立的跨内膜的**质子电化学梯度**，使电化学梯度储存的**能量以热能形式释放**，ATP的生成受到抑制。

如：二硝基苯酚(**dinitrophenol, DNP**)；解偶联蛋白(**uncoupling protein, UCP1**)。

解偶联蛋白作用机制（棕色脂肪组织线粒体）

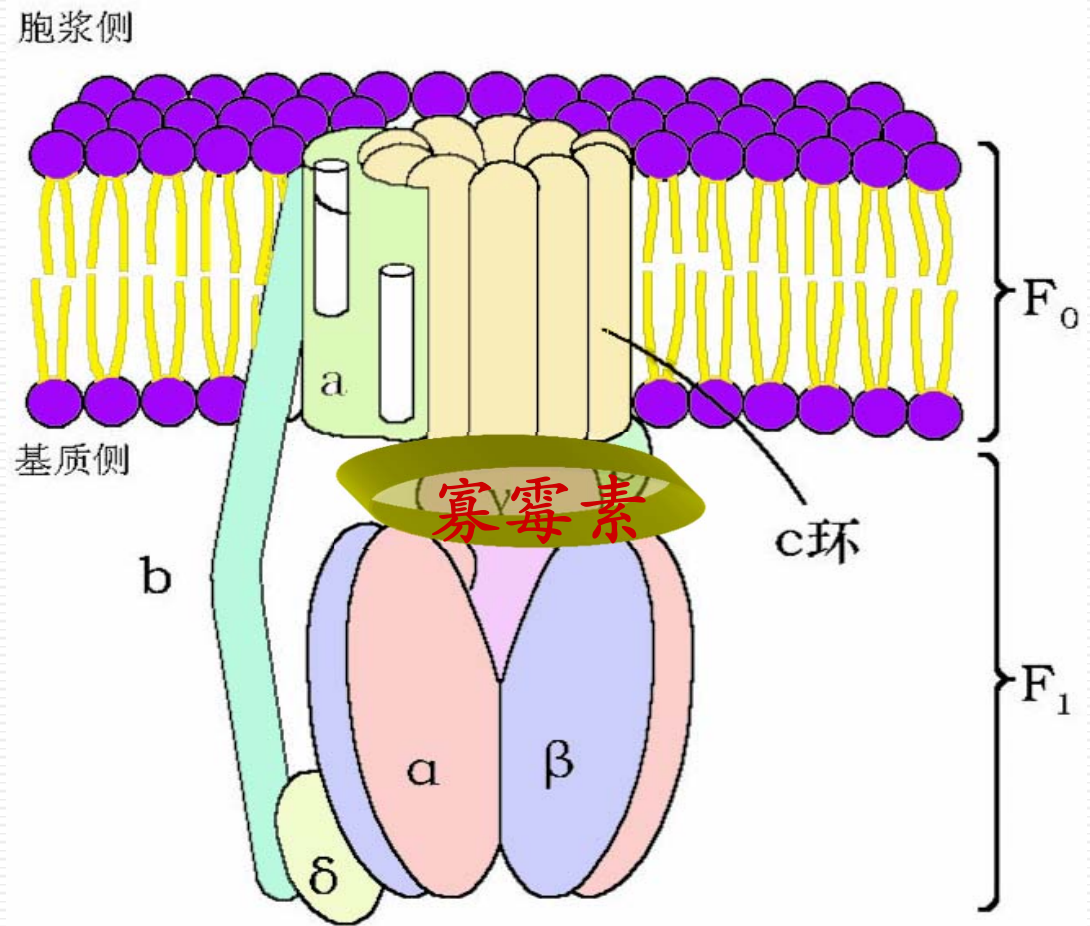


(三) ATP合酶抑制剂同时抑制电子传递和ATP的生成

这类抑制剂对电子传递及ADP磷酸化均有抑制作用。例如寡霉素(oligomycin)可结合 F_0 单位，二环己基碳二亚胺(dicyclohexyl carbodiimide, DCCP)共价结合 F_0 的c亚基谷氨酸残基，阻断质子从 F_0 质子半通道回流，抑制ATP合酶活性。由于线粒体内膜两侧质子电化学梯度增高影响呼吸链质子泵的功能，继而抑制电子传递。

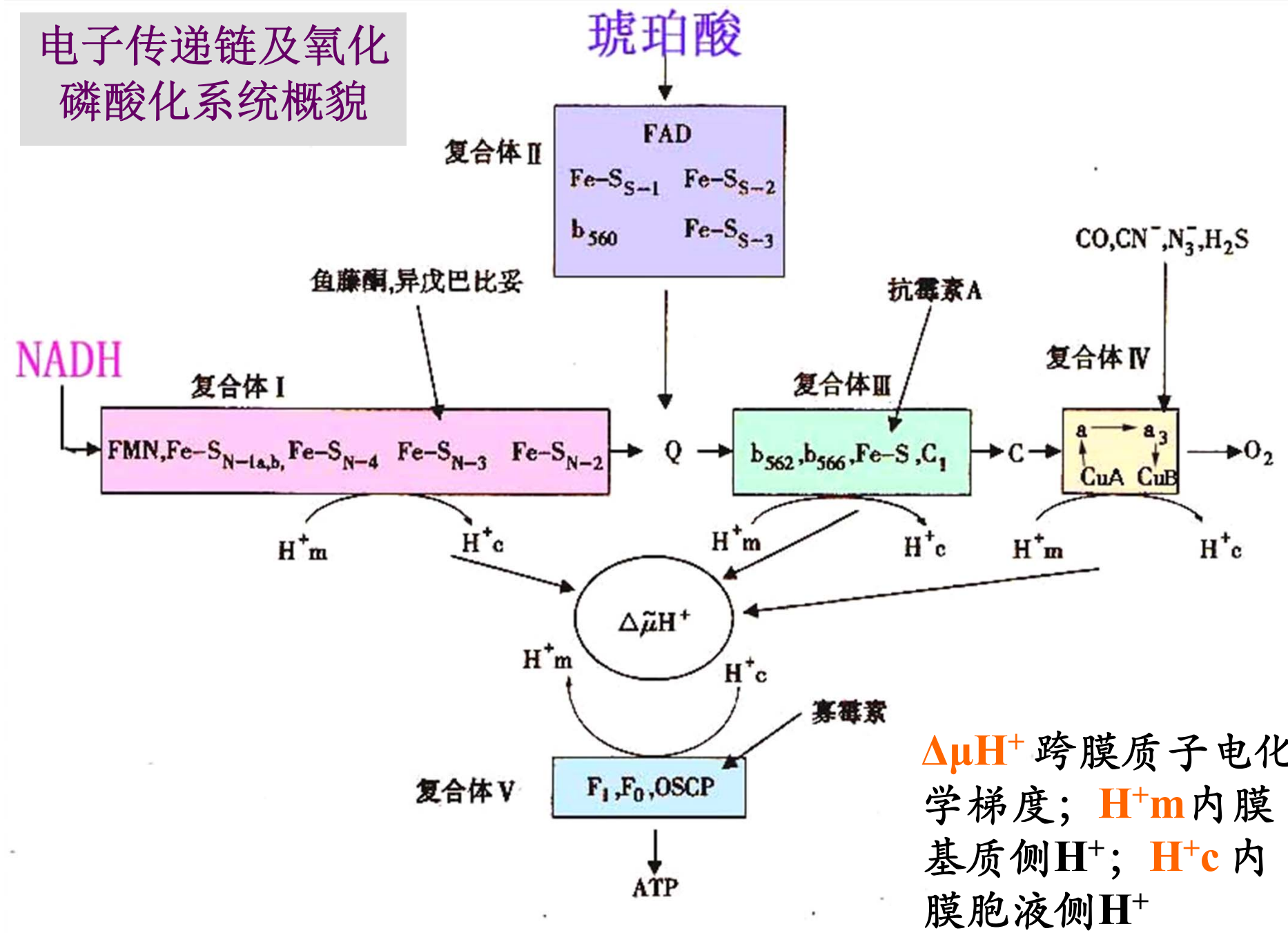
寡霉素(oligomycin)

可阻止质子从
F₀质子通道回
流，抑制ATP生
成。



ATP合酶结构模式图

电子传递链及氧化磷酸化系统概貌



$\Delta\mu H^+$ 跨膜质子电化学梯度; H^+m 内膜基质侧 H^+ ; H^+c 内膜胞液侧 H^+

三、甲状腺激素可促进氧化磷酸化和产热

Na^+ ， K^+ -ATP酶和解偶联蛋白基因表达均增加。

四、线粒体DNA突变可影响机体氧化磷酸化功能。

线粒体DNA（mtDNA）呈裸露的环状双螺旋结构，缺乏蛋白质保护和损伤修复系统，容易受到损伤而发生突变，其突变率远高于核内的基因组DNA。

五、线粒体的内膜选择性协调转运氧化磷酸化相关代谢物

线粒体外膜通透性高，线粒体对物质通过的选择性主要依赖于内膜中不同转运蛋白(transporter)对各种物质的转运。

线粒体内膜的某些转运蛋白对代谢物的转运

转运蛋白	进入线粒体	出线粒体
ATP-ADP转位酶	ADP^{3-}	ATP^{4-}
磷酸盐转运蛋白	$\text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}^+$	
二羧酸转运蛋白	HPO_4^{2-}	苹果酸
α -酮戊二酸转运蛋白	苹果酸	α -酮戊二酸
天冬氨酸-谷氨酸转运蛋白	谷氨酸	天冬氨酸
单羧酸转运蛋白	丙酮酸	OH^-
三羧酸转运蛋白	苹果酸	柠檬酸
碱性氨基酸转运蛋白	鸟氨酸	瓜氨酸
肉碱转运蛋白	脂酰肉碱	肉碱

(一) 胞浆中NADH通过穿梭机制进入线粒体 氧化呼吸链

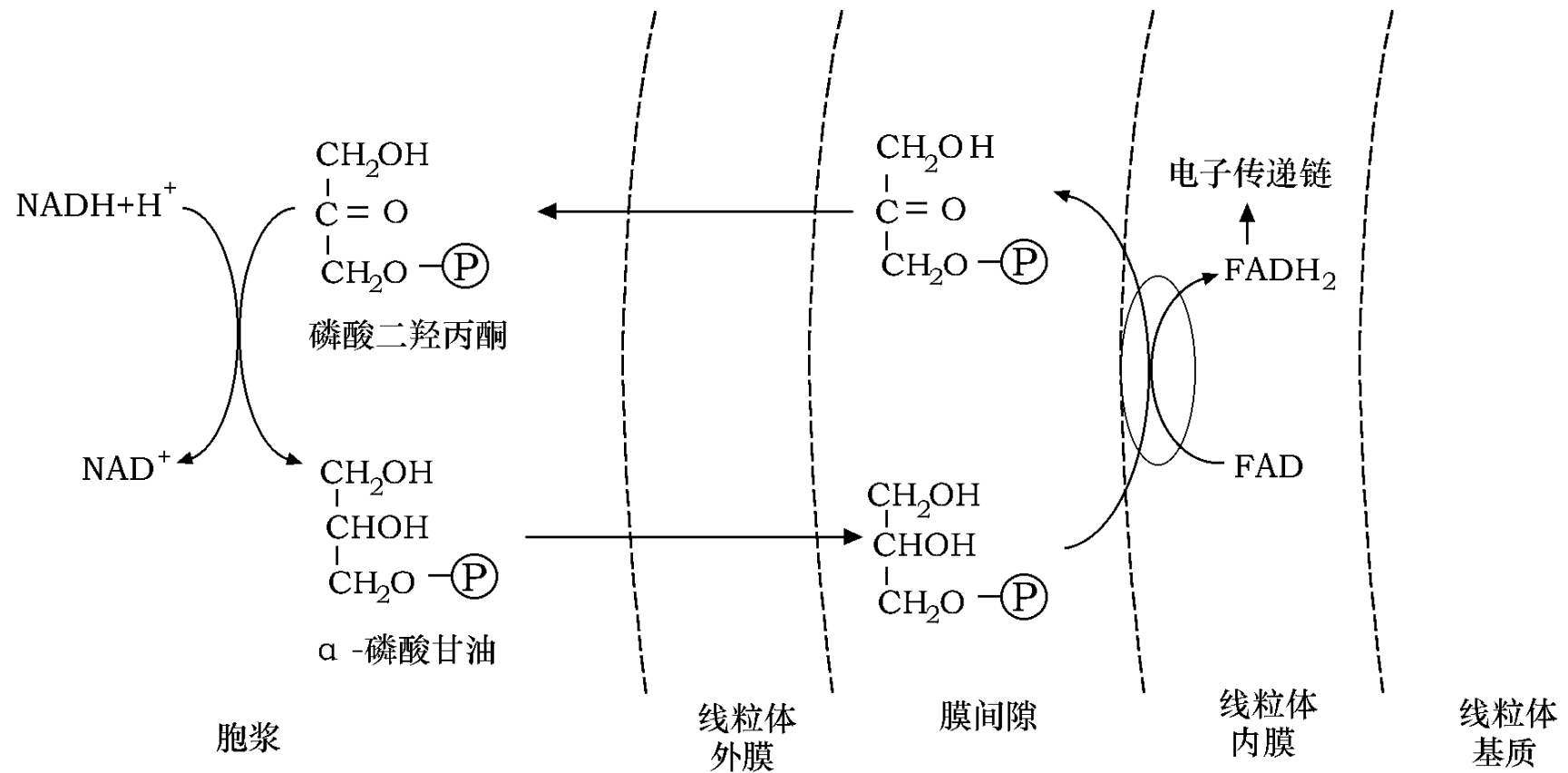
胞浆中NADH必须经一定**转运机制**进入线粒体，再经呼吸链进行氧化磷酸化。

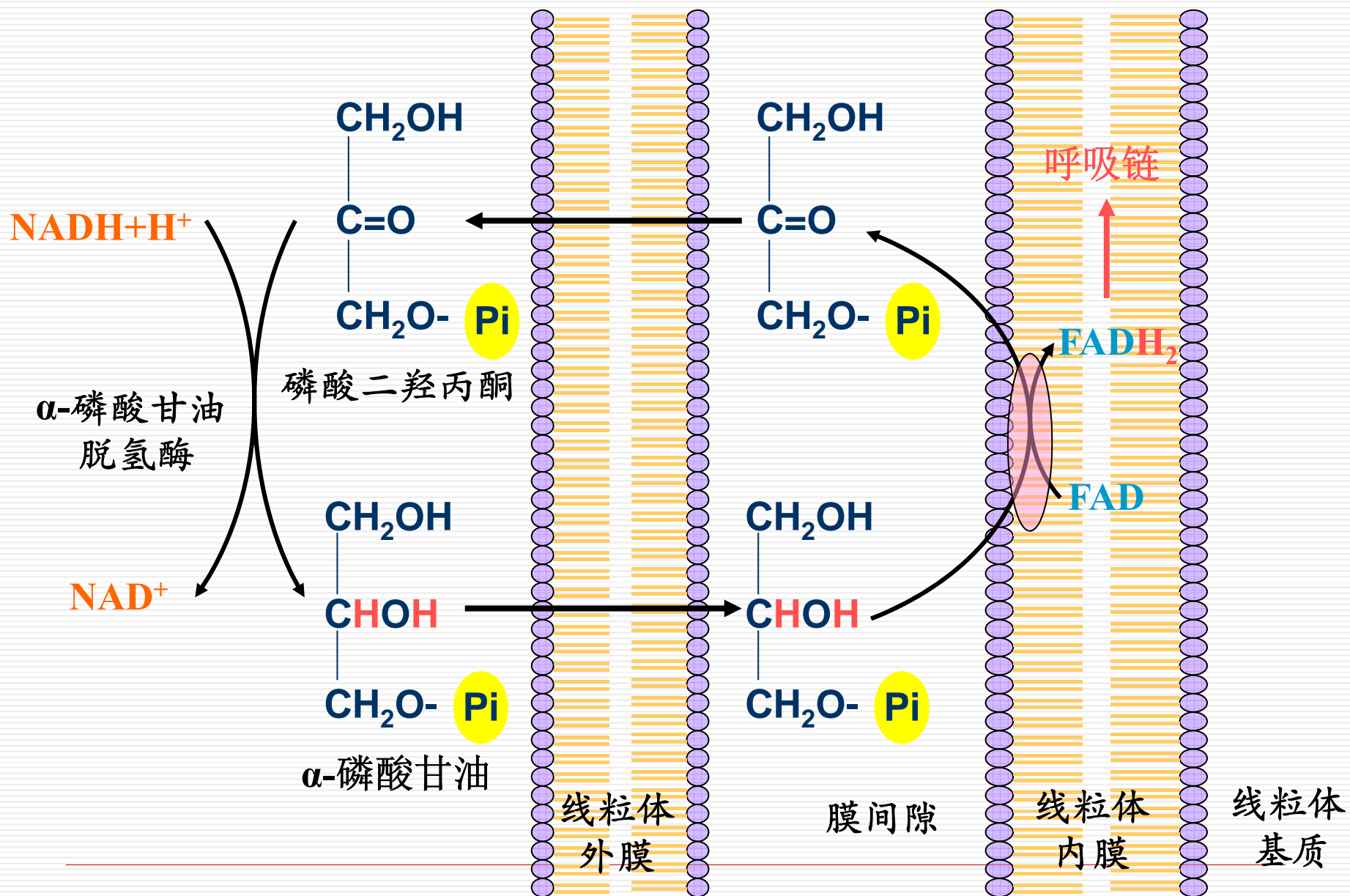
■ 转运机制：

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

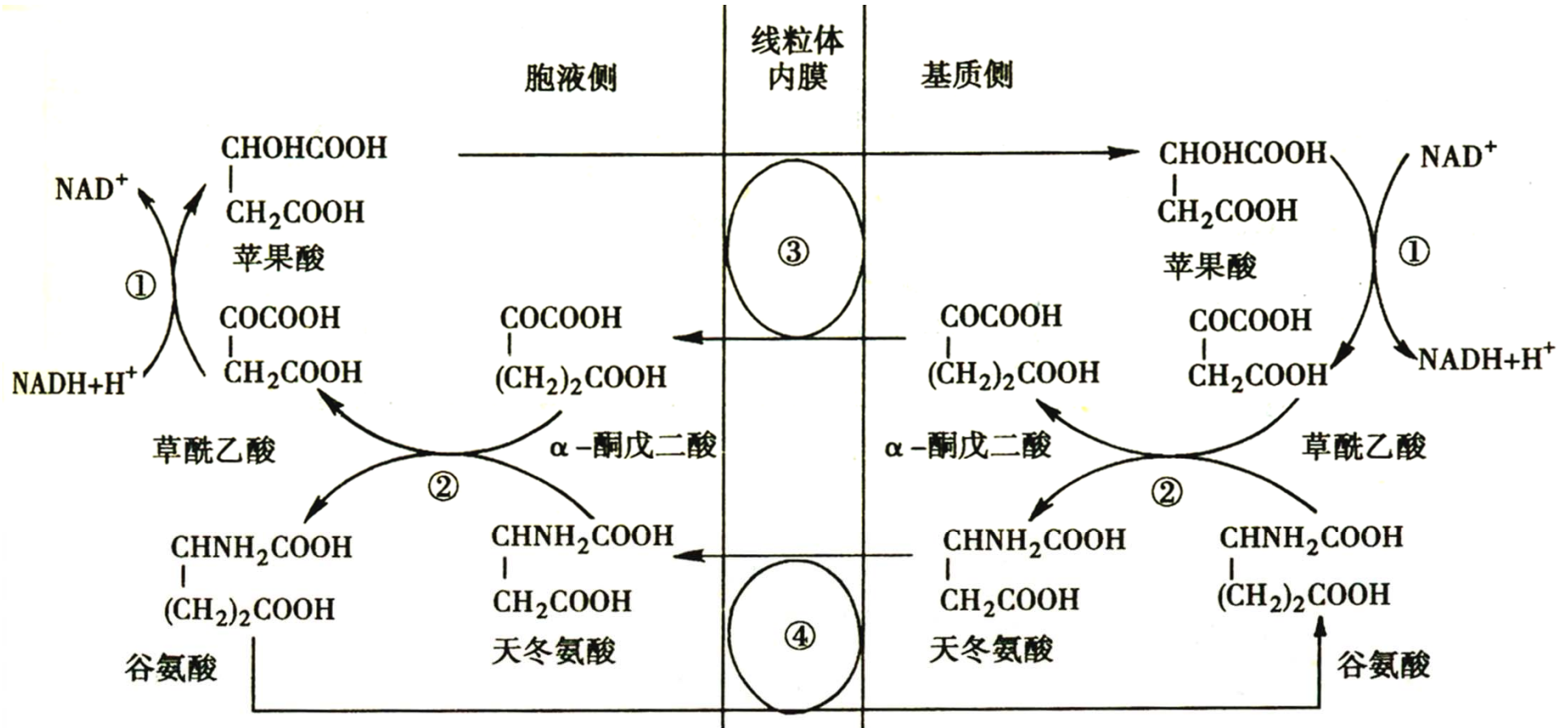
苹果酸-天冬氨酸穿梭 (malate-asparate shuttle)

1. α -磷酸甘油穿梭主要存在于脑和骨骼肌中

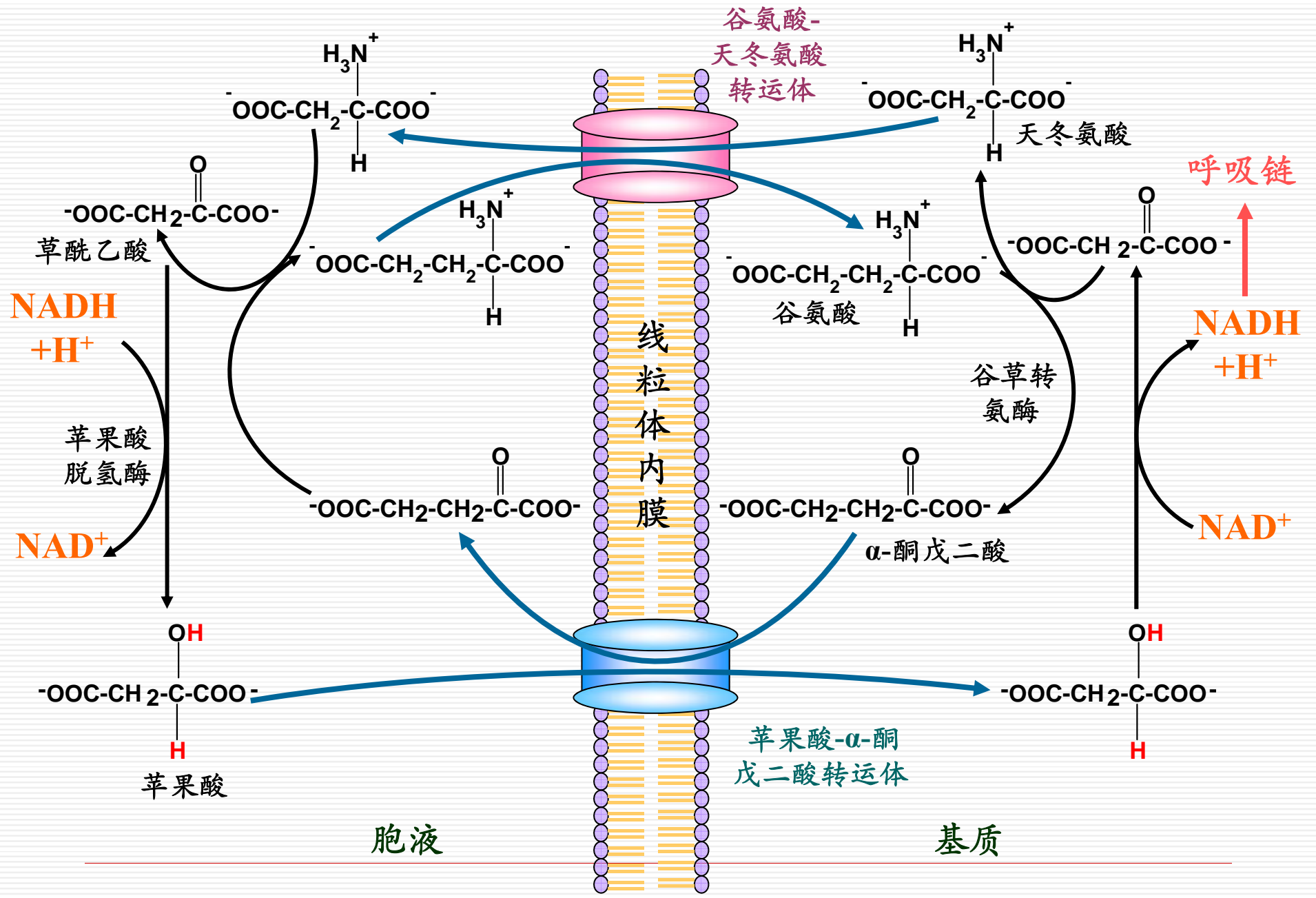




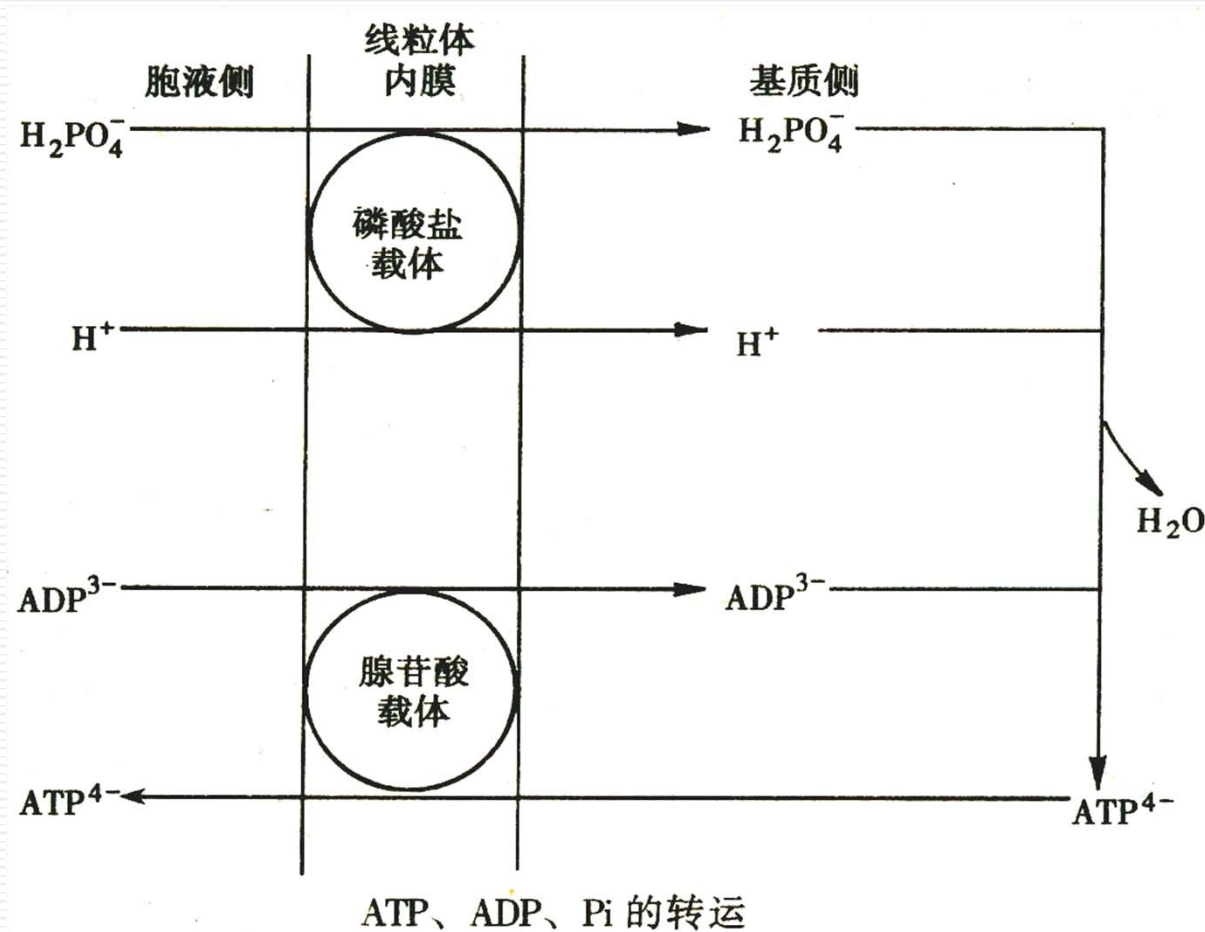
2. 苹果酸-天冬氨酸穿梭主要存在于肝和心肌中



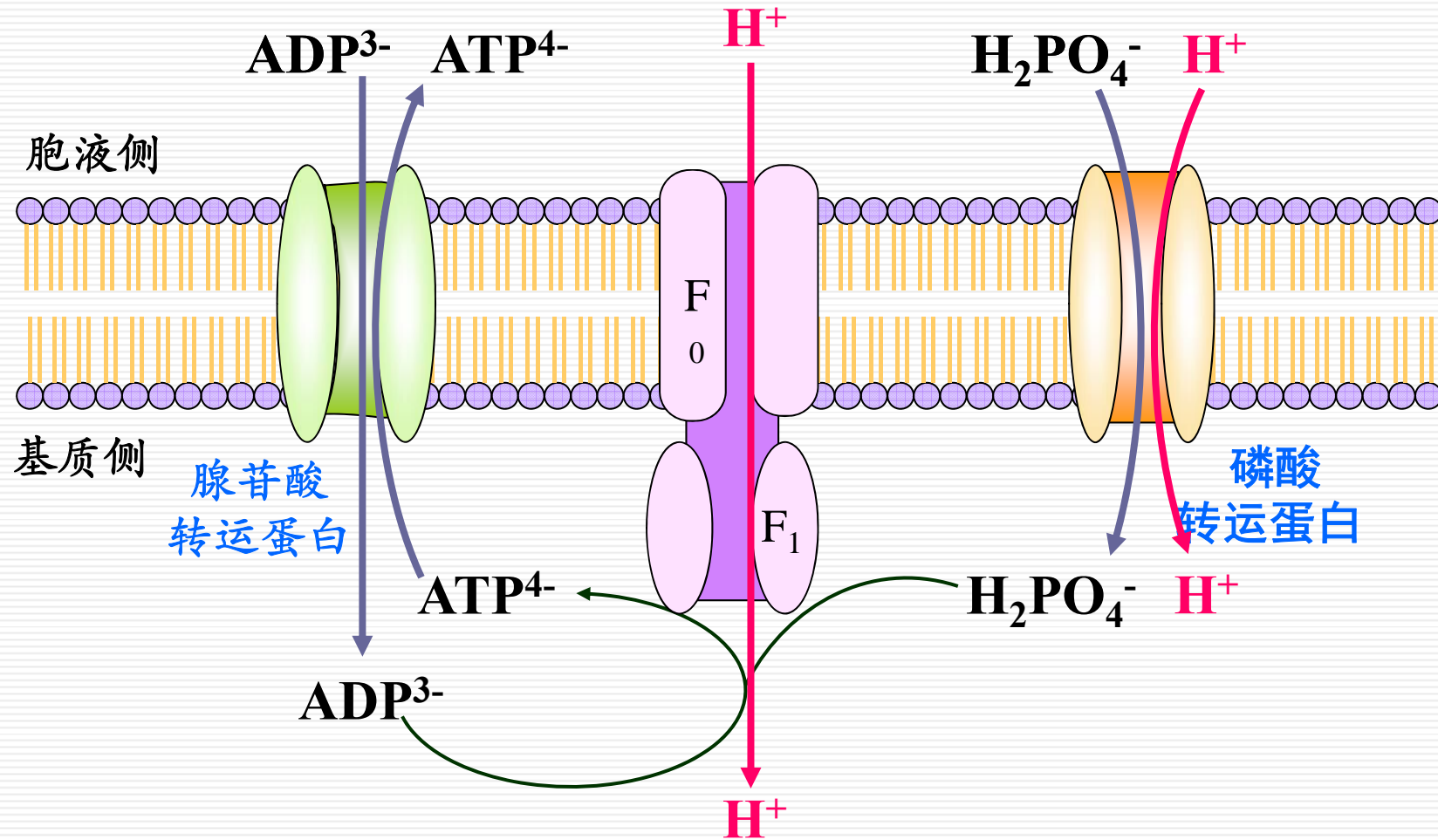
①苹果酸脱氢酶 ②谷草转氨酶 ③ α -酮戊二酸载体 ④酸性氨基酸载体



(二) ATP-ADP转位酶协调转运ADP进入和ATP移出线粒体



每分子 ATP^{4-} 和 ADP^{3-} 反向转运时，向内膜外净转移1个负电荷，相当于多1个 H^+ 转入线粒体基质。

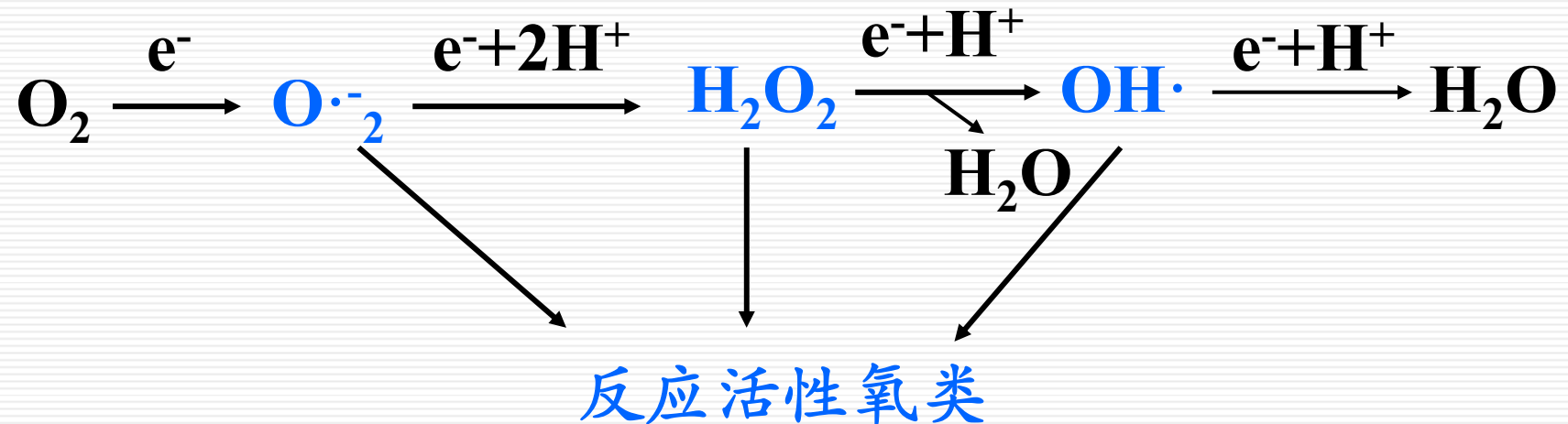


第四节

其他氧化与抗氧化体系

一、线粒体氧化呼吸链也可产生活性氧

■ 反应活性氧类(reactive oxygen species, ROS)



■ ROS主要来源

- **线粒体**：超氧阴离子 $O\cdot^{-2}$ ，是体内 $O\cdot^{-2}$ 的主要来源； $O\cdot^{-2}$ 在线粒体中再生成 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 。
- **过氧化酶体**：**FAD**将从脂肪酸等底物获得的电子交给 O_2 生成 H_2O_2 和羟自由基 $\cdot OH$ 。
- **胞浆需氧脱氢酶**（如黄嘌呤氧化酶等）也可催化生成 $O\cdot^{-2}$ 。
- **细菌感染、组织缺氧等病理过程，环境、药物等外源因素**也可导致细胞产生活性氧类。

二、抗氧化酶体系有清除反应活性氧类的功能

需氧脱氢酶和氧化酶

	受氢体	辅酶 (辅基)	产物
不需氧脱氢酶	辅酶		
需氧脱氢酶	O_2	FMN或FAD	H_2O_2
氧化酶	O_2	含Cu	H_2O

■ 抗氧化酶体系

1. 过氧化氢酶(catalase)

又称触酶，其辅基含4个血红素

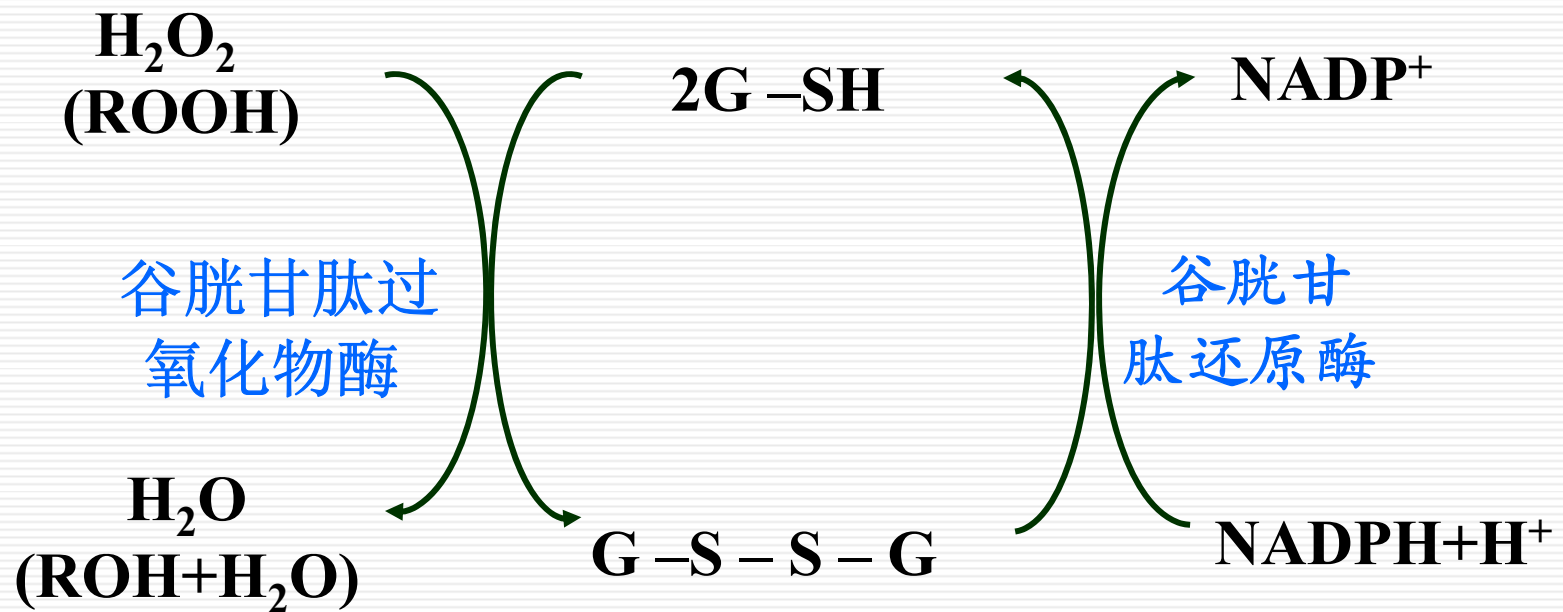


2. 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)

可去除细胞生长和代谢产生的H₂O₂和过氧化物(R-O-OH)，是体内防止活性氧类损伤主要的酶。

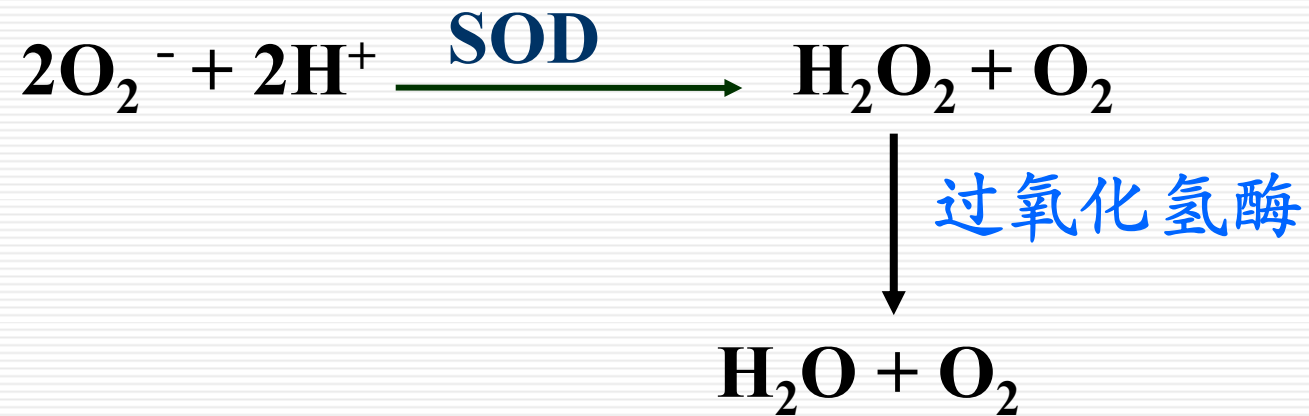


含硫的谷胱甘肽过氧化物酶



➤ 此类酶可保护生物膜及血红蛋白免遭损伤。

3. 超氧化物歧化酶



SOD: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase)

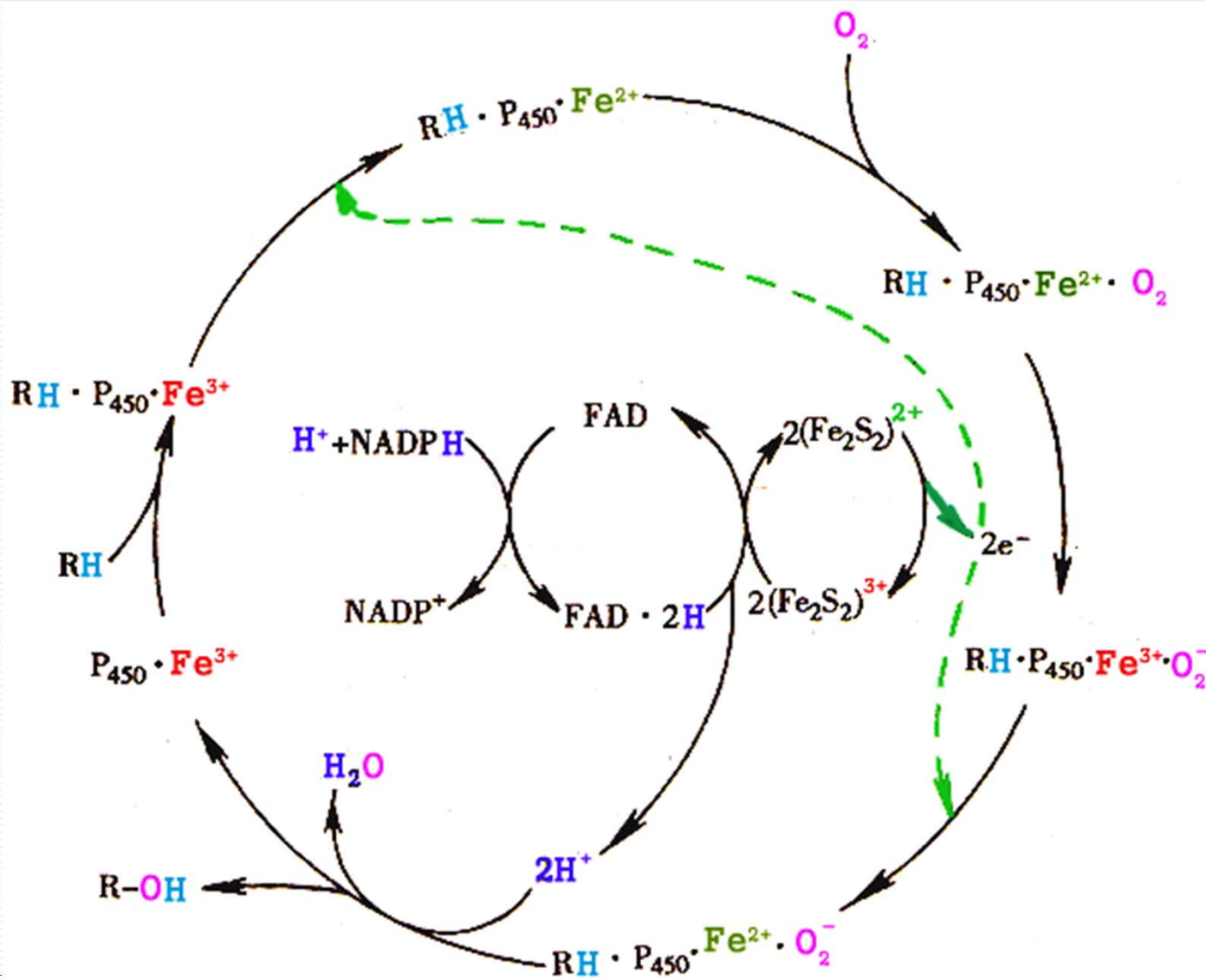
三、微粒体细胞色素P450单加氧酶催化底物分子羟基化

- 细胞色素P450单加氧酶(cytochrome P450 monooxygenase), 又称混合功能氧化酶(mixed-function oxidase)或羟化酶(hydroxylase)



➤ 上述反应需要细胞色素P450 (Cyt P450)参与。

细胞色素P450单加氧酶作用机制



加单氧酶反应