

生化代谢

代谢总论

Quiz

2. 分解代谢中第一阶段释放出的能量到哪里去了？

第一阶段：复杂大分子分解成它们的组成单位，此阶段没有ATP生成

热能。

3. 机体内哪些过程使用GTP、CTP、UTP？

使用GTP的反应和过程有蛋白质的生物合成、G蛋白行使功能、微管组装、基因转录、IMP转变成AMP、草酰乙酸转变成磷酸烯醇丙酮酸等；使用CTP的反应有磷脂合成、多核苷酸的磷酸化、细菌染色体DNA的分离和基因转录；使用UTP的反应有糖原合成、蛋白质的糖基化和基因转录。

4. 机体为什么一般选择不可逆反应作为调控的对象？

因为可逆反应不是一条代谢途径特有的，它会被反向相反的代谢途径所共享。如果以此作为调控的对象，就会同时影响到两条相反的代谢途径。

5. 你认为大肠杆菌体内的糖酵解与人体的糖酵解主要的差别会是什么？

各种生物在基本的代谢途径上是高度保守的

调控机制。

7. 如何区别体内、体外和回体法？

体内：在生物体内进行，例如动物实验、组织细胞培养等

体外：在试管内进行，例如细胞切片、匀浆液、提取液等

回体法：回体实验是指将生物体的细胞、组织或器官在体外进行一定的处理或修改后，再放回原来的生物体或另一个生物体内的实验方法，例如基因治疗。

原答案令人费解：先将一种细胞(如骨髓细胞)从体内抽取出来，然后将特定物质在体外导入到细胞中，最后再把细胞放回到体内，如基因治疗

8. 哪些放射性同位素可用来标记核苷酸？哪些可以用来标记氨基酸？

碳14、磷32、氢3可以用来标记核苷酸；碳14、硫35和氢3可以用来标记氨基酸。

9. 如何能够获得酵母或大肠杆菌的某一种酶缺失的突变体？

利用强紫外辐射和其他可导致DNA发生严重损伤的理化因素，诱发大肠杆菌和酵母细胞发生易错的DNA修复或者跨损伤DNA合成(参考第十四章DNA的损伤、修复和突变相关内容)，然后再利用条件培养基进行筛选。

10. 许多古菌体内存在一些特别的代谢途径，但是古菌生存的环境比较特别，使得在实验室很难培养。那么如何确定一种古菌体内所存在的特殊代谢途径？

先获得古菌的基因组DNA，然后进行全基因组测序，利用生物信息学对于代谢组进行分析，再将可能属于其特殊代谢途径有关酶的基因导入细菌体内进行表达和鉴定。

11. 人体中哪一种细胞的代谢组最简单？为什么？

红细胞，因为它已经丧失了所有的细胞器，因此那些发生在特定细胞器内的代谢途径都消失了，还保留的代谢途径是发生在细胞质基质里，如糖酵解和磷酸戊糖途径。

思考题

1. 假定你分离到一种新的生物，它能够通过过氧化CO生存，即它能以CO作为唯一的碳源和能量。那么这种生物如何将CO中的碳引入代谢？你如何确定这种途径？

既然CO代谢的第一步是将其氧化成CO₂，那么任何固定CO₂的方法都是可行的。这些方法包括：卡尔文循环、反向的TCA循环或其他固定CO₂的途径。

确定相关途径的一个直接方法是以“CO提供给这种生物，看早期阶段是哪些化合物被标记。比如，是甘油酸-3-磷酸被标记，则意味着是通过卡尔文循环进行固定的。

2. 你认为大肠杆菌和人细胞在代谢上有哪些重要差别？

绝大多数代谢途径在大肠杆菌与人细胞中都存在，如糖酵解、三羧酸循环和磷酸戊糖途径，它们的差别主要在酶的结构和组成以及调控机制上，当然它们各自也会有一些特殊的代谢途径，如人肝细胞有尿素循环，大肠杆菌没有。

3. 如果让你用放射性同位素标记核酸,你有哪些选择？

碳14、磷32、氢3可以用来标记核苷酸。

4. 哺乳动物体内成熟的红细胞有哪些重要的代谢途径？

哺乳动物成熟的红细胞已经丧失了各种细胞器，因此，那些发生在特定细胞器内的或部分反应发生在特定细胞器内的代谢途径也就不复存在。例如，发生在线粒体内的TCA循环、氧化磷酸化和脂肪酸氧化，发生在细胞核内的DNA复制、DNA转录及其后加工，部分反应发生在内质网的糖异生、发生在内质网上的磷脂合成。被保留的代谢途径主要是对红细胞的功能所必需的两条代谢途径：一条是糖酵解，另外一条是PPP。糖酵解是它获取ATP的唯一手段，通过乳酸发酵维持NAD的再生，而产生的乳酸通过乳酸循环在肝细胞内重新转变成葡萄糖。PPP是维持其细胞膜的完整性和血红蛋白的血红素铁处于二价态所必需的。

5. 如何获得一个大肠杆菌或者酵母的代谢突变体？

利用强紫外辐射和其他可导致DNA发生严重损伤的理化因素，诱发大肠杆菌和酵母细胞发生易错的DNA修复或者跨损伤DNA合成(TLS)(参考第十四章DNA的损伤、修复和突变相关内容)，然后再利用条件培养基进行筛选。

生物氧化

Quiz

4. 很多人认为高能键这个概念不合适了，但是用了这么多年了仍然在使用。那你认为严格地说，高能键这个概念确切吗？

“高能磷酸键”这个术语长期被用来描述ATP水解反应时被断开的P~O键这是不确切的,因为这种描述错误地暗示键自身含有能量。事实上所有化学键的断开都需要输入能量磷酸化合物水解释放的能量并不是来自于某个具体被断开的键,它来自于产物比反应物具有更少的能量。ATP中4个负电荷相距很近且相互排斥，这是ATP不稳定的重要原因。ATP水解时，释放末端的磷酸基团会消弱相邻负电荷之间的互斥作用，同时脱下来的磷酸基团也更加稳定。这

样 ATP 水解后的产物中所含有的能量就比ATP 低，这部分能量差就被释放出来。由于 ATP水解释放的能量较高，因此 ATP 是高能磷酸化合物。

5. 你能不能说人体不是使用ATP驱动的耗能过程？

氨基酸、单糖和核的主动运输受钠离子梯度的驱动;丙酮酸和磷酸跨线粒体内膜进入线粒体基质受质子梯度的驱动;消化道主动运输吸收二肽或者三肽受质子梯度的主动运输;G 蛋白行使功能依赖 GTP;多核苷酸的活化消耗 CTP。

6. 人体能不能自己合成辅酶Q？

可以，利用胆固醇合成的大多数反应。

7. 如何确定一种铁硫蛋白有没有无机硫？

加入盐酸，看能否释放出硫化氢。

9. 为什么这种拆分呼吸链的方法（毛地黄苷处理）无法把所有电子传递体彼此分开？

许多相邻的电子传递体通过疏水键紧密结合在膜上，除非完全将膜破坏。

10. 为什么复合体III和IV之间不继续使用CoQ作为流动的电子传递体？

CoQ所具有的氧化还原电位已经不适合在这两个复合体之间传递电子。

11. 四个复合体是不是都含有铁硫蛋白和细胞色素？

复合体I没有细胞色素，复合体IV没有铁硫蛋白。

复合体IV没有CoQ

12. 现在有的化妆品生成里面添加了SOD。如果真的有SOD的话，是不是会有效呢？为什么？

SOD的主要功能是将超氧自由基，一种通过呼吸链和其他代谢过程生成的有害的副产物，转化为氧气和过氧化氢，存在于复合体IV

很难有效，因为SOD作为蛋白质难于进入胞内起作用。

14. 你如何根据化学渗透学说的原理，想方设法为你体内的大肠杆菌制造质子梯度，这样它们可以用来合成ATP？

将大肠杆菌突然改放在pH低的培养基中培养，将为大肠杆菌创造横跨质膜的质子梯度(外低内高)，该质子梯度看被大肠杆菌质膜上的F₁F₀-ATP合酶利用，而合成ATP。

15. 你知道F₀这个部分是如何得名的吗？

因寡霉素(oligomycin)而得名，因为该亚基对寡霉素的作用敏感。

寡霉素是氧化磷酸化抑制剂，这类抑制剂直接抑制了ATP的生成过程，使膜外质子不能通过ATP合酶返回膜内，这类抑制剂间接抑制电子传递和分子氧的消耗。

F₀ 具有质子通道的作用，它能传送质子通过膜到达F₁的催化部位。

16. 如何利用生物能学的Gibbs方程理解ATP合酶的活性中心在合成ATP时是不需要质子驱动力的？

F₁F₀-ATP合酶活性中心缺乏水分子，使得合成ATP方向的反应实际的自由能变化仍然是一个大的负值，故照样可以自发的发生。

17. 如果剂量相同，表格中四类抑制剂你认为毒性最强的是哪两类，毒性最低的是哪一类？

四类抑制剂：呼吸链抑制剂、ATP合酶抑制剂、解偶联剂（、ATP/ADP交换体抑制剂）

作用复合体III和IV的抑制剂，因为复合体III和IV是两条呼吸链共有的，它们被抑制，将导致整个呼吸链受阻。

呼吸链抑制剂中作用于复合体III：抗霉素A；作用于复合体IV：氰化物、CO、H₂S、叠氮化物

18. 有一种对氰化钾中毒解毒的方法，就是让中毒者服用亚硝酸盐和少量硫代硫酸钠。你认为其中的生化机制是什么？

Hb在亚硝酸的作用下，其中亚铁离子可被氧化成三价铁离子。而一旦Hb中的铁氧化成高价态，也可以结合CN，从而阻止CN与细胞色素aa₃结合。如果再有硫代硫酸钠，可以让与Hb结合的CN变成无毒的SCN。

19. 这些有机小分子解偶联剂一般都带有苯环。这是为什么？

例如：2,4-二硝基苯酚(DNP)亲脂疏水。当存在跨膜的质子梯度时，DNP能携带质子穿膜，从而消除质子梯度，抑制ATP的形成。

苯环是疏水的，有利于这类解偶联剂通过自由扩散的方式跨膜。

20. 长期浸泡的黑木耳不可以使用。这是为什么？

滋生一类可产生米酵菌酸的细菌。

米酵菌酸ATP/ADP交换体抑制剂

21. 寡霉素对呼吸链的抑制可以通过加入另外一种化学物质加以解除。你认为是哪一类化学物质？为什么？

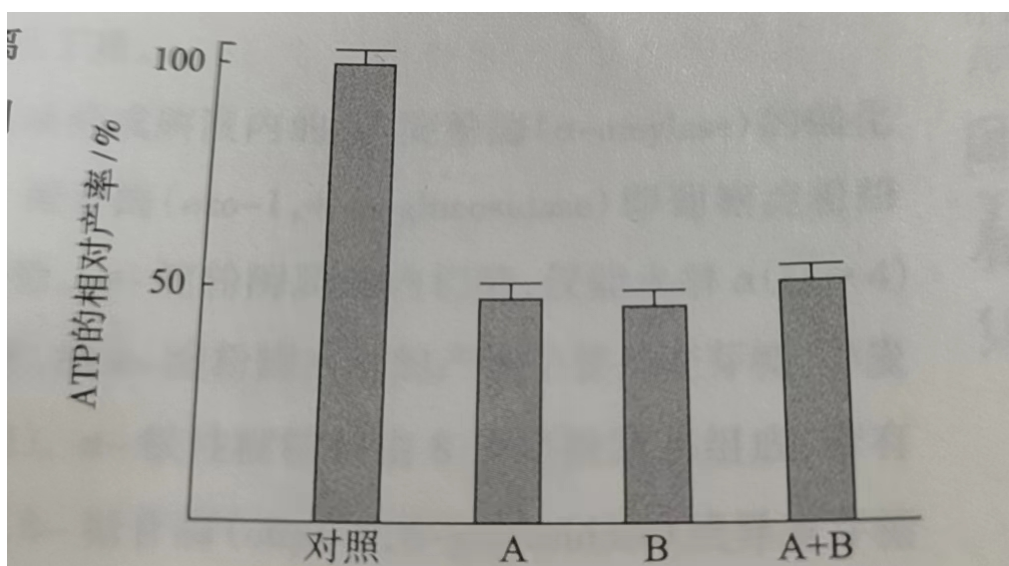
化学解偶联剂，如2,4-DNP，使得质子梯度可以被消耗掉。

思考题

1. 右图显示的是A和B两种化学试剂对完整的离体线粒体氧化磷酸化的影响。在反应系统中两种试剂都处于过量的状态。

(1)据图中的数据你为A和B的作用机制有有异同?你能判断出它们作用的具体机制吗?

(2)当将过量的寡霉素加到这三个实验反应混合物中，发现含有A和含有A+B的两个实验系统中的ATP产率下降到只有对照量的5%，但仅含有B的反应系统的产率不变。根据以上补充的实验数据，你认为A和B的作靶点是什么?



(1)从图中可以看出:A和B的抑制效果十分接近，而且联合使用并没有带来明显的叠加效果。因此可以断定，两种抑制剂的作用机制很可能相同。例如，两种都能抑制呼吸链，或者两种都是解偶联剂或离子载体破坏跨膜的电化学梯度。然而，它们的真正的作用位点单凭图中的数据难以判断。

(2)既然加入寡霉素导致A和A+B两个实验系统产生的ATP大幅度减少，而对B系统无影响这说明B和寡霉素很可能属于同一种类型的抑制剂，即B直接作用F₁F₀-ATP合酶，导致ATP合成抑制，并间接抑制呼吸链。相反，A应该和寡霉素具有互补作用，属于不同性质的抑制剂，可能是解偶联剂。

2. 对于细菌而言,温度大幅度的下降可暂时停止电子传递。

(1)呼吸链的哪一种成分最有可能对温度的变动最敏感?为什么?

(2)在细菌细胞大概分裂一次以后，细菌的电子传递恢复正常。细菌是如何做到的?

(1)CoQ是脂溶性的流动电子传递体温度的下降降低了细菌细胞膜的流动性，导致CoQ的流动性降低，从而使得电子传递受到影响。

(2)细菌在分裂的时候，使用不饱和性强的和(或)碳链短的脂肪酸去合成新的膜脂，以提高膜的流动性。

3. 线粒体内膜上的 Pi/H⁺运输体同时运输两种离子的进出。

(1)这种运输体属于哪一类?

(2)该运输体对跨膜的电化学梯度和 ATP的合成有什么影响?

(1)同向运输体。

(2)对电位梯度（膜电位）没有影响，因为两种离子所带电荷正好抵消。而质子的化学梯度会降低，因而降低ATP的产生。

4. 琥珀酸被 FAD氧化成富马酸，并不能产生足够的能量建立跨线粒体内膜的质子梯度。比较使用FAD化剂和NAD⁺作为氧化剂的自由能变化。由此得出为什么没有使用 NAD⁺作为珀酸的氧化剂?

5. 预测 2,4-DNP 对下列生理过程会产生什么影响(提高、降低还是不变)?

(1)大肠杆菌运输乳糖

降低。乳糖通过膜进入大肠杆菌以来乳糖/H⁺同向运输提，这需要质子梯度起作用，即需要质子驱动力来提供乳糖逆浓度进入细胞的能量。因为DNP能够破坏质子梯度，所以将抑制乳糖的运输。

(2)红细胞对Na⁺/K⁺的运输

不变。尽管Na⁺/K⁺的运输需要ATP，但因为红细胞没有线粒体，它需要的ATP并不来自呼吸链和氧化磷酸化，而是来自糖酵解，而DNP不会影响底物水平的磷酸化。

(3)大肠杆菌运输葡萄糖

短期不变，长期增加。葡萄糖的运输并不适用ATP作为能量，而是使用磷酸转移系统，因此它不直接受DNP的影响。然而，既然细胞在DNP的存在下，更依赖糖酵解产生能量，所以更多的葡萄糖进入了细胞，这最终需要运输更多的葡萄糖。

(4)肝细胞ATP/ADP的比率

降低。DNP导致氧化磷酸化不能够正常进行，降低了ATP的产量，因此ATP/ATP的比例下降。

(5)肌糖原的分解

提高。DNP导致通过氧化磷酸化产生的ATP的量下降，从而刺激糖酵解和糖原分解。

(6)线粒体内膜两次的质子梯度

下降。

(7)NADH呼吸链。

短期不变，长期提高。DNP消耗质子梯度，但是不直接影响电子传递，所以电子传递继续（不变）。然而，随着质子梯度不能用来制造ATP，导致ATP水平下降。作为补偿更多的NADH被产生和氧化用来再生质子梯度，于是电子传递增强了。

糖酵解

Quiz

5. 为什么设计NTP和dNTP的反应需要两者上的负电荷中和屏蔽？

屏蔽负电荷，有利于带孤对电子的O被负电荷包围的P做亲核进攻。

e.g. 己糖激酶需要 Mg^{2+} ，就是因为镁离子可以屏蔽磷酸基团上的负电荷

6. 根据研究发现，猫科动物缺乏葡萄糖激酶。这是为什么？

猫科动物是食肉动物（对于碳水化合物的需求比较低），它们饱餐一顿后，血液中的葡萄糖水平不会陡然上升，所以不需要利用葡萄糖激酶来降低细胞内的葡萄糖水平。

7. 磷酸己糖异构酶催化的反应也需要镁离子。这是为什么？

提高酶与6-磷酸葡萄糖的亲和力。

9. 在对细胞内蛋白质或者mRNA进行定量分析的时候，经常使用GAPDH作为内参基因。为什么？

GAPDH：3-磷酸甘油醛脱氢酶，催化3-磷酸甘油醛的氧化及磷酸化

因为该酶组成型表达，不容易受到各种内外因素的影响。

10. GAPDH是不是别构酶？

虽然GAPDH为寡聚酶，但并不是别构酶，因为它不是糖酵解中的限速酶，不需要通过别构调节来调控。

11. 如何设计一个实验证明一种磷酸甘油酸变位酶不会是直接催化磷酸基团在3-磷酸甘油酸分子内部转移的？

将磷酸甘油酸变位酶在体外与用 ^{32}P 放射性同位素标记的3-磷酸甘油酸放在一起然后检测产物2-磷酸甘油酸有无放射性。

12. 许多品牌的漱口水所使用的有效成分就是氯化钠，而不会用碘代乙酸。这是为什么？

因为氯化钠可以抑制口腔细菌的糖酵解，从而抑制它们在口腔中的生长和繁殖，而有助于预防蛀牙。碘代乙酸虽然也可以抑制糖酵解，但它作为对半胱氨酸巯基特异性的基团特异性抑制剂，还可以抑制机体内其他巯基酶，因此容易产生毒副作用，应该尽可能避免使用。

13. 丙酮酸激酶催化需要的哪一个金属离子可以在体外被另外哪一个金属离子替换照样可以催化反应？

Mn^{2+} ，机体内大多数需要 Mg^{2+} 的反应可以被 Mn^{2+} 替换。

14. 如果一开始葡萄糖的C1和C6用 ^{14}C 标记的话，最后得到的两分子丙酮酸哪一个位置是 ^{14}C ？

都是丙酮酸中的甲基C。

15. 预测昆虫的飞翔肌会选择哪一个穿梭系统？

糖酵解在细胞质进行，将产物NADH运送到线粒体内膜的呼吸链需要穿梭系统

3-磷酸甘油穿梭系统：速度快、效率低，利用FAD作为电子受体逆浓度梯度运输，1分子NADH产生1.5个ATP

苹果酸-天冬氨酸穿梭系统：速度慢、效率高，糖酵解产生的NADH变成了线粒体基质内的NADH，再经过复合体I进入呼吸链，产生2.5个ATP

昆虫在飞行时其肌肉细胞消耗的ATP速率非常快，所以就更需要快速产生ATP而磷酸甘油脱氢酶穿梭系统步骤少、速度快！

16. 磷酸甘油穿梭系统有没有通过复合体II向呼吸链转交电子？

没有，复合体II只接受来自琥珀酸的电子。

17. 还有哪些物质跨线粒体内膜的运输需要消耗质子？

丙酮酸和 P_i 。

19. 哪些细胞可以进行乳酸发酵？

骨骼肌细胞、红细胞、神经胶质细胞及癌细胞。

20. 你认为如何治疗自动酿酒综合征

肠道白色念珠菌突变，利用摄入到体内的糖类进行发酵产生乙醇。

服用可以杀死真菌的药物。

21. 为什么不能说所有的厌氧生物都是以糖酵解作为合成ATP的唯一途径？

因为许多厌氧生物还可以通过不依赖于氧气的呼吸链产生跨膜的质子梯度，然后将其转化成ATP。

e.g. 某些古生菌，如甲烷菌，能够通过将一氧化碳、碳酸盐或乙酸等物质还原来产生甲烷，并在这个过程中合成ATP。

22. 结合瓦博格效应，你认为使用糖酵解哪个酶的抑制剂最有希望来治疗癌症？

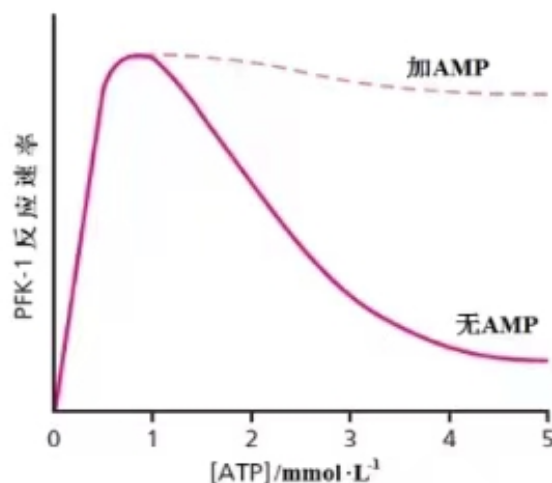
瓦博格效应：细胞癌变以后，胞内糖酵解活性增强。

已糖激酶的抑制剂，既可以阻止抑制糖酵解，又可以抑制PPP，这两条代谢途径都是癌细胞特别依赖的。

25. 预测PFK1对其底物ATP所做的动力学分析的曲线形状会是什么？为什么？

PFK1：磷酸果糖激酶-1，催化1,6-二磷酸果糖的生成，是第二个调控酶，最严格。别构激活剂：AMP(ADP)，果糖-2,6-二磷酸(F-2,6-BP)

考虑到ATP既是PFK-1的底物，又是PFK-1的别构抑制剂，而AMP是PFK-1的别构激活剂，可解除ATP对PFK-1的抑制作用，因此预期的曲线如下图。



26. 为什么与ADP相比，AMP用别构效应物的效果更佳？

这主要是因为细胞内有2ADP转化为ATP+AMP的反应，通过此反应细胞内的ADP很容易转化为ATP和AMP，这使得AMP的浓度进一步提高，相当于放大了AMP的量。显然，细胞选用AMP作为能量状态的“指示剂”，更有利于机体对细胞的能量状态做出既迅速又敏感的反应。

27. 你如何理解肌肉、心脏和脑细胞中的丙酮酸激酶不受别构调节，又不受磷酸化修饰？

这几种类型的细胞都特别依赖持续的能量供应，丙酮酸激酶“不受干扰”地一直维持有活性就显得十分重要。