

CHAPTER 5 微生物的代谢

新陈代谢（代谢）：泛指生物与周围环境进行物质交换和能量交换的过程。

代谢的**共同特点**：

- 在温和条件下进行（酶催化）；
- 反应步骤多，相互配合、有条不紊、彼此协调，逐步进行，表征新陈代谢具有严格顺序性；
- 对内外环境具有高度的调节功能与适应功能。

代谢的**分类**：

- 按物质转化方式：
 - 分解代谢：复杂有机分子通过分解代谢酶系的催化，产生简单分子、ATP形式的能量和还原力的作用。
 - 合成代谢：在合成代谢酶系的催化下，有简单小分子、ATP形式的能量和还原力一起合成复杂大分子的过程。
 - 物质代谢：物质在体内转化的过程。
 - 能量代谢：伴随物质转化发生的能量形式相互转化。
- 按代谢产物在集体中的作用不同：初级代谢、次级代谢。
 - 初级代谢：提供能量、前体、结构物质等生命活动所必须的代谢物的代谢类型；产物：氨基酸、核苷酸等。
 - 次级代谢：在一定生长阶段出现非生命活动所必需的代谢类型；产物：抗生素、色素、激素、生物碱等。

能量的去向：直接利用、贮存在ATP、热的形式释放到环境中

1. 产能代谢

1.1 生物氧化

定义：细胞内代谢物以氧化作用释放（产生）能量的化学反应

- 生物氧化的方式：
 - 和氧直接化合；
 - 失去电子；
 - 化合物脱氢或氢的传递。
- 生物氧化的功能：

产生能量（ATP）、产生还原力（[H]）、产生小分子中间代谢物。
- 生物氧化的过程：
 - 底物脱氢（或脱电子）作用（该底物称作电子供体或供氢体）
 - 氢（或电子）的传递（需中间传递体，如NAD、FAD等）
 - 最后氢受体接受氢（或电子）（最终电子受体或最终氢受体）

1.2 化能营养型

1.2.1 有机异养

底物脱氢的途径

- EMP

1. 特点：基本代谢途径，产能效率低，提供多种中间代谢产物作为合成代谢原料，有氧时与TCA相连接，无氧时丙酮酸及进一步代谢产物乙醛被还原成各种发酵产物。
2. 基本过程：糖酵解一般过程，即由葡萄糖经磷酸葡萄糖，磷酸果糖，磷酸甘油醛，磷酸甘油酸，磷酸烯醇式丙酮酸至丙酮酸的代谢过程
3. 关键步骤
 - 葡萄糖向二磷酸果糖的转变
 - 二磷酸果糖向3-磷酸甘油醛的转变
 - 2-磷酸甘油酸向丙酮酸的转变
4. 限速酶：葡萄糖激酶、6磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶

- HMP

1. 过程：HMP是一分子葡萄糖-6-磷酸转变成一分子甘油醛-3-磷酸、3个CO₂、6个NADPH的过程
 - ①葡萄糖经几步氧化反应产生磷酸-5-核酮糖和木酮糖-5-磷酸；
 - ②核酮糖-5-磷酸同分异构化或表异构化分别产生核糖-5-磷酸和木酮糖-5-磷酸；
 - ③各戊糖磷酸在无氧情况下重排，产生己糖磷酸和丙糖磷酸。
2. 特点：一般认为HMP途径不是产能途径，而是为生物合成提供大量还原力（NADPH）和中间代谢产物
3. 意义：
 - 核苷酸、核酸生物合成提供戊糖磷酸原料；
 - 产生大量NADPH，为脂肪酸、固醇等的合成提供还原力，通过呼吸链产生大量能量；
 - 与EMP途径有所连接，调剂戊糖供需关系；
 - 中间产物（赤藓糖、景天庚酮糖等）可参与芳香族氨基酸、碱基、多糖合成；
 - 使具有该途径的微生物能够利用的碳源谱更为广泛；
 - 产生多种重要发酵产物（核苷酸、氨基酸、辅酶、乳酸等）
 - 在总能量代谢中占一定比例，且与细胞代谢活动对其中间产物的需求量有关。

- ED

1. 2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸（KDPG）裂解途径：

6-磷酸-葡萄糖（产生NADPH）--**6-磷酸-葡萄糖**脱水--2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸（KDPG）裂解--丙酮酸和3-磷酸甘油醛
2. 特点：
 - 在革兰氏阴性菌中分布较广
 - 可不依赖于EMP和HMP途径而单独存在，是少数缺乏完整EMP途径的微生物的一种替代途径
 - 反应步骤简单
 - 特征反应为KDPG裂解为丙酮酸和3-磷酸甘油醛。特征酶为KDPG醛缩酶
3. 关键反应：KDPG裂解为丙酮酸和3-磷酸甘油醛；特征酶：KDPG醛缩酶
4. 优缺点：
 - 优点：反应步骤简单，可单独存在
 - 缺点：产能效率低，不如EMP途径经济

- 磷酸酮解途径

进行磷酸酮解途径的微生物缺少醛缩酶，所以它不能够将磷酸己糖裂解为2个三碳糖

磷酸酮解酶途径有两种：磷酸戊糖酮解途径（PK）途径、磷酸己糖酮解途径（HK）途径。（有两种磷酸酮解酶参加反应）

1. PK途径：分解1分子葡萄糖只产生1分子ATP，相当于EMP途径的一半；几乎产生等量的乳酸、乙醇和CO₂；
2. HK途径：分解一分子葡萄糖生成2.5分子ATP，有两个酮酸解酶参加反应，许多微生物的异型乳酸发酵采用该形式。

递氢

电子传递与氧化呼吸链

1. 组成：由一系列氧化还原电势不同的氢传递体组成的一组链状电子传递顺序。在氢或电子的传递过程中可通过与氧化磷酸化发生偶联，从而产生ATP形式的能量
2. 功能：
 1. 传递电子
 2. 将电子传递过程中释放的能量转化为ATP形式的化学能
3. 原核细胞呼吸链的特点
 1. 存在于细胞膜上；
 2. 呼吸链中氧还载体取代性强
 3. 在不同种间、不同环境条件下可增减；
 4. 呼吸链组分多变
 5. 存在分支呼吸链：细菌的电子传递链更短并P / O比更低，在电子传递链的几个位置进入链和通过几个位置的末端氧化酶而离开链
 6. 电子传递多样

受氢

1. 氧气
 - 三羧酸循环TCA
2. 内源有机受体
 - 丙酮酸出发的发酵
 - 乙醇发酵
 - 酵母菌的乙醇发酵：只在pH3.5~4.5以及厌氧的条件下发生（两分子ATP）
 - 酵母菌的甘油发酵：在碱性条件下，酵母的乙醇发酵会改为甘油发酵
 - 该条件下产生的乙醛不能作为正常受氢体，结果2分子乙醛间发生歧化反应，生成1分子乙醇和1分子乙酸；此时也由磷酸二羟丙酮担任受氢体接受3-磷酸甘油醛脱下的氢而生成α-磷酸甘油，后者经α-磷酸甘油酯酶催化，生成甘油。
 - 酵母：一型发酵，二型发酵，三型发酵
 - 巴斯德效应：有氧条件下，发酵作用受抑制的现象
 - 细菌的乙醇发酵：
 - 同型乙醇发酵：通过ED途径产生乙醇（净产生一分子ATP，3-磷酸甘油醛生成丙酮酸产生两分子）
 - 异型乙醇发酵：通过HMP途径产生乙醇（1分子乳酸，乙醇，CO₂，ATP）
 - 乳酸发酵
 - 同型乳酸发酵：（经EMP途径仅产生乳酸的发酵）
 - 异型乳酸发酵：（经HMP途径产生乳酸、乙醇、乙酸等有机化合物的发酵）
 - 双歧杆菌发酵：（经HK途径—磷酸己糖解酮酶途径）
 - 混合酸发酵

- 通过EMP途径将葡萄糖转变成琥珀酸、乳酸、甲酸、乙醇、乙酸、H₂和CO₂等多种代谢产物
- 丁二酸发酵
 - 具有α-乙酰乳酸合成酶系而进行丁二醇发酵（丙酮酸为底物）
- **IMVIC试验：**

吲哚(I)，甲基红(M)，乙二酰(VP、V)，柠檬酸盐利用(C)共四项试验。用以将大肠杆菌与其形状十分相近的肠杆菌属的细菌鉴别开来。

产酸产气试验：Escherichia与Shigella在利用葡萄糖进行发酵时，前者具有甲酸氢解酶，可在产酸的同时产气，后者则因无此酶，不具有产气的能力。

甲基红试验：大肠杆菌与产气杆菌在利用葡萄糖进行发酵时，前者可产生大量的混合酸，后者则产生大量的中性化合物丁二醇，因此在发酵液中加入甲基红试剂时，前者呈红色，后者呈黄色。

V.P.试验：乙酰甲基甲醇碱性条件形成乙二酰，与培养基中精氨酸的胍基结合形成红色化合物

○ Stickland反应

3. 外源无机受体

- 含**N**受体（反硝化作用）
 - 有其完整的呼吸系统；
 - 只有在无氧条件下，才能诱导出反硝化作用所需的硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶等
 - 兼性厌氧（铜绿假单胞菌、地衣芽孢杆菌）
 - 同化性硝酸盐还原作用：还原为氨基；异化性硝酸盐还原作用：还原为氮气
 - 对氮素循环有重要意义
- 含**S**受体（硫酸盐还原）
 - 严格厌氧；大多为古细菌
 - 极大多专性化能异氧型，少数混合型；
 - 最终产物为H₂S；
 - 利用有机质（有机酸、脂肪酸、醇类）作为氢供体或电子供体；
 - 环境：富含SO₄²⁻的厌氧环境（土壤、海水、污水等）
- 含**S**受体（硫还原）
 - 以元素S作为唯一的末端电子受体。电子供体：乙酸、小肽、葡萄糖等。
- 碳酸盐呼吸（碳酸盐还原）
 - 以CO₂、HCO₃⁻为末端电子受体
 - 产甲烷菌：利用H₂作电子供体（能源）、CO₂为受体，产物CH₄。
- 含**P**受体
- 金属离子受体
 - 以Fe³⁺、Mn²⁺和某些有机氧化物等作为末端电子受体的无氧呼吸

1.2.2 无机自养

1. 电子供体：含能量的无机物
2. 进入呼吸链位置：氢细菌由NAD⁺切入呼吸链，硫细菌、铁细菌、硝化细菌从电子传递链进入呼吸链
3. 电子受体：主要为氧

1.3 能量转换

1.3.1 化能营养型

氧化磷酸化

物质在生物氧化过程中，形成的NADH或FADH₂可通过位于线粒体内膜和细菌质膜上的电子传递系统将电子传递给氧或其他氧化型物质，该过程偶联ATP的合成，被称为氧化磷酸化。

通过呼吸链生成的ATP数量根据呼吸链成员的多少而不同，如酵母菌可生成3个ATP，而细菌大约只生成1个ATP

化学渗透学说：通过呼吸链酶系，将底物分子上的质子从膜内传递至膜外，形成质子梯度差，作为产生ATP的能量来源。ATP酶再把质子从膜外再运回到膜内，消除质子梯度差，产生ATP。

底物水平磷酸化

物质在生物氧化过程中，生成一些含高能键的化合物，这些化合物直接偶联ATP或GTP的合成，这种产生高能分子的方式叫底物水平磷酸化。

1.3.2 光能营养型

环式光合磷酸化：光合细菌主要通过环式光合磷酸化产生ATP。

- 不是利用H₂O，而是利用还原态的H₂、H₂S等作为还原CO₂的氢供体，进行不产氧（O₂）的光合作用。

非环式光合磷酸化：产氧型光合作用(绿色植物、蓝细菌)

- 电子传递非循环式；
- 在有氧的条件下进行；
- 存在两个光合系统
- ATP、还原力、O₂同时产生

极端嗜盐古细菌

依靠菌视紫红质的光合作用：无叶绿素或菌绿素参与的独特的光合作用，是迄今为止最简单的光合磷酸化反应。视黄醛吸收光，构型改变，质子泵到膜外，膜内外形成质子梯度差和电位梯度差，是ATP合成的原动力，驱动ATP酶合成ATP。

2. 耗能代谢

2.1 CO₂ 的固定

- 自养微生物同化CO₂
 - 卡尔文循环
 - 还原性三羧酸循环固定CO₂
 - 还原的单羧酸循环
- 异养微生物同化CO₂

2.2 生物固氮

2.2.1 菌种与环境关系

根据固氮微生物与高等植物以及其他生物的关系，可以把它们分为三大类

- 自生固氮菌 耗氧、兼性厌氧、厌氧
- 共生固氮菌 根瘤/植物
- 联合固氮菌 必须生活在植物根际、叶面或动物肠道等处

2.2.2 固氮反应条件

1. ATP、还原力[H]及其载体、固氮酶、镁离子、厌氧微环境、底物 N_2
2. $N_2 + 8[H] + 16 \sim 24ATP \rightarrow 2NH_3 + H_2$
3. 固氮酶：是一种复合蛋白，由固二氮酶和固二氮酶还原酶两种相互分离的蛋白构成。

2.2.3 好氧固氮酶的避氧机制

1. 自身固氮菌
 - 呼吸保护：极强的呼吸作用消耗掉环境中的氧
 - 构象保护：高氧分压环境，固氮酶能形成一无固N活性但能防止氧损伤的特殊构象。
 - 构象保护的蛋白质——FE-S蛋白II。**氧压增高**，固氮酶与FE—S蛋白II结合，构象变化，丧失固N能力；
2. 蓝细菌保护固N酶机制
 - 分化出特殊的还原性异形胞（厚壁；缺氧光合系统II，脱氧酶、氢酶活性高；SOD活性高；呼吸强度高）
 - 非异形胞蓝细菌固N酶的保护
 - 固N、光合作用在时间上分隔开
 - 形成束状群体，利于固N酶在微氧环境下固N
 - 提高胞内过氧化酶、SOD的活力，解除氧毒
3. 根瘤菌保护固N酶机制

豆科植物的共生菌 ——以类菌体形式存在于根瘤中

类菌体周膜：豆血红蛋白，可与氧可逆结合（高时结合，低时释放）

豆血红蛋白：蛋白部分由植物基因编码；血红素由根瘤菌基因编码。

非豆科植物共生菌 ——含植物血红蛋白（功能相似豆血红蛋白）
4. Frankin放线菌

营养菌丝末端膨大的泡囊类似异形胞

2.3 肽聚糖的合成

2.3.1 合成过程

合成机制复杂，步骤多，且合成部位几经转移；

合成过程中须要有能够转运与控制肽聚糖结构元件的载体（UDP和细菌萜醇）参与。

1. 细胞质阶段：合成派克（Park）核苷酸
 - 由葡萄糖合成N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸
 - 由N-乙酰胞壁酸合成“Park”核苷酸
2. 细胞膜阶段：合成肽聚糖单体
 - 由N-乙酰胞壁酸五肽与N-乙酰葡萄糖胺合成肽聚糖单体—双糖肽亚单位。

- 细菌萜醇 (bactoprenol) (由11个类异戊烯单位组成的C35类异戊烯醇): 又称类脂载体; 运载“Park”核苷酸进入细胞膜, 连接N-乙酰葡萄糖胺和甘氨酸五肽“桥”, 最后将肽聚糖单体送入细胞膜外的细胞壁生长点处。
功能: 除肽聚糖合成外还参与微生物多种细胞外多糖和脂多糖的生物合成 (细菌磷壁酸、脂多糖; 细菌、真菌的纤维素; 真菌几丁质和甘露聚糖等)

3. 细胞膜外阶段: 交联作用形成肽聚糖

- 第一步: 是多糖链的伸长——双糖肽先是插入细胞壁生长点上作为引物的肽聚糖骨架 (至少含6~8个肽聚糖单体分子) 中, 通过转糖基作用 (transglycosylation) 使多糖链延伸一个双糖单位;
- 第二步: 通过转肽酶的转肽作用使相邻多糖链交联——转肽时先是D-丙氨酰-D-丙氨酸间的肽链断裂, 释放出一个D-丙氨酰残基, 然后倒数第二个D-丙氨酸的游离羧基与相邻甘氨酸五肽的游离氨基间形成肽键而实现交联。

2.3.2 抗生素作用机制

① β -内酰胺类抗生素 (青霉素、头孢霉素): 是D-丙氨酰-D-丙氨酸的结构类似物, 两者相互竞争转肽酶的活性中心。当转肽酶与青霉素结合后, 双糖肽间的肽桥无法交联, 这样的肽聚糖就缺乏应有的强度, 结果形成细胞壁缺损的细胞, 在不利的渗透压环境中极易破裂而死亡。

② 杆菌肽: 能与十一异戊烯焦磷酸络合, 因此抑制焦磷酸酶的作用, 这样也就阻止了十一异戊烯磷酸糖基载体的再生, 从而使细胞壁 (肽聚糖) 的合成受阻。

3. 代谢调节

微生物代谢调节系统的特点: 精确、可塑性强, 细胞水平的代谢调节能力超过高等生物。

每个细菌细胞的体积只能容纳10万个蛋白质分子, 所以每种酶平均分配不到100个分子。组成酶 (constitutive enzyme) 经常以高浓度存在, 其它酶都是诱导酶 (inducible enzyme), 在底物或其类似物存在时才合成, 诱导酶的总量占细胞总蛋白含量的10%。

微生物自我调节代谢的方式

- 控制营养物质透过细胞膜进入细胞
只有当速效碳源或氮源耗尽时, 微生物才合成迟效碳源或氮源的运输系统与分解该物质的酶系统。
- 通过酶的定位控制酶与底物的接触
原核微生物在细胞内划分区域集中某类酶行使功能
- 控制代谢物流向
 - 可逆反应途径由同种酶催化, 可由不同辅基或辅酶控制代谢物流向
 - 通过调节酶的活性或酶的合成量。关键酶: 某一代谢途径中的第一个酶或分支点后的第一个酶。
 - 粗调: 调节酶的合成量
 - 细调: 调节现有酶分子的活性
 - 通过调节产能代谢速率。

3.1 酶活性的调节

酶活性的激活: 在代谢途径中后面的反应可被较前面的反应产物所促进的现象; 常见于分解代谢途径。

酶活性的抑制: 包括: 竞争性抑制和反馈抑制。

机制:

- 变构酶理论：变构酶为一种变构蛋白，酶分子空间构象的变化影响酶活。其上具有两个以上立体专一性不同的接受部位，一个是活性中心，另一个是调节中心。
- 修饰调节：酶分子肽链上的某些基团可在另一种酶的催化下发生可逆的共价修饰，从而引起酶活性的改变，这个过程称为酶的酶促化学修饰(chemical modification)。

3.2 分支合成途径调节

- 直线式代谢途径中的反馈抑制
- 分支代谢途径中的反馈抑制

- 同工酶

在一个分支代谢途径中，如果在分支点以前的一个较早的反应是由几个同功酶催化时，则分支代谢的几个最终产物往往分别对这几个同功酶发生抑制作用。

- 协同反馈抑制

分支代谢途径中几个末端产物同时过量时才能抑制共同途径中的第一个酶的一种反馈调节方式。

- 合作反馈抑制

两种末端产物同时存在时，共同的反馈抑制作用大于二者单独作用之和

- 累积反馈抑制

每一分支途径末端产物按一定百分比单独抑制共同途径中前面的酶，所以当几种末端产物共同存在时它们的抑制作用是积累的，各末端产物之间既无协同效应，亦无拮抗作用。

- 顺序反馈抑制

一种终产物的积累,导致前一中间产物的积累，通过后者反馈抑制合成途径关键酶的活性，使合成终止。

3.3 酶合成的调节

- 诱导(induction)

是酶促分解底物或产物诱使微生物细胞合成分解代谢途径中有关酶的过程。微生物通过诱导作用而产生的酶称为诱导酶（为适应外来底物或其结构类似物而临时合成的酶类）。

- 同时诱导：诱导物加入后，微生物能同时诱导出几种酶的合成，主要存在于短的代谢途径中。
- 顺序诱导：先合成能分解底物的酶，再合成分解各中间代谢物的酶达到对复杂代谢途径的分段调节。

- 阻遏 (repression)

- 末端产物阻遏 (end-product repression)：由于终产物的过量积累而导致生物合成途径中酶合成的阻遏的现象，常常发生在氨基酸、嘌呤和嘧啶等这些重要结构元件生物合成的时候。
- 分解代谢物阻遏 (catabolite repression)：当微生物在含有两种能够分解底物的培养基中生长时，利用快的那种分解底物会阻遏利用慢的底物的有关酶的合成的现象。最早发现于大肠杆菌生长在含葡萄糖和乳糖的培养基时,故又称**葡萄糖效应**。分解代谢物阻遏导致出现“**二次生长 (diauxic growth)**”。

人工控制代谢的手段：改变微生物遗传特性(遗传学方法)；控制发酵条件(生物化学方法)；改变细胞膜透性；

4. PART4 次级代谢

次生代谢物是指某些微生物生长到稳定期前后，以结构简单、代谢途径明确、产量较大的初生代谢物作前体，通过复杂的次生代谢途径所合成的结构复杂的化学物。

某些生物为了**避免在初级代谢过程某种中间产物积累所造成的不利作用**而产生的一类有利于生存的代谢类型。可以认为是某些生物在一定条件下通过突变获得的一种适应生存的方式。

4.1 初级代谢与次级代谢的关系

1. 存在范围及产物类型不同：

初级代谢在各类生物中基本相同，普遍存在；次级代谢只存在于某些生物中，因生物的不同而不同，同种生物也会由于培养条件不同而产生不同的次级代谢产物。

2. 对产生者自身的重要性不同：

初级代谢产物对机体生存必不可少；次级代谢产物一般不是机体生长繁殖必需的物质，不会导致机体生长的停止或死亡。

3. 同微生物生长过程的关系明显不同：

初级代谢始终存在于一切活的机体中；次级代谢在机体生长的一定时期内产生，一般可明显表现为机体生长期和次级代谢产物形成期两个时期。

4. 对环境条件变化的敏感性或遗传稳定性上明显不同：

初级代谢产物对环境的变化敏感性小（遗传稳定性大），相关酶专一性强；次级代谢对环境变化很敏感，某些酶专一性不强，通常是诱导酶。

5. 某些机体内存在的二种既有联系又有区别的代谢类型

初级代谢是次级代谢的基础，为次级代谢产物的合成提供前体和能量；初级代谢产物合成中的关键中间体也是次级代谢产物合成中的重要中间体；次级代谢是初级代谢在特定条件下的继续和发展，避免初级代谢过程中某些中间体或产物的过量积累对机体的毒害。

思考题

- 1、不同营养类型的微生物在不同条件下产生ATP和还原力的方式与特点。
- 2、环式光合磷酸化，卡尔文循环，次级代谢与次级代谢物，
- 3、什么叫生物固氮？其生化途径怎样？
- 4、试述利用营养缺陷型菌种进行LYS生产的代谢调节机制