

第十二章 柠檬酸循环

细胞呼吸:

在有氧条件下,葡萄糖经糖酵解途径产生的丙酮酸,进入多步有序代谢反应中,最终被氧化为 CO_2 和 H_2O .

[第一阶段] 葡萄糖 \rightarrow 丙酮酸 \rightarrow 乙酰CoA.

其他燃料分子(脂肪酸,氨基酸) \uparrow

[第二阶段] 乙酰CoA \rightarrow 柠檬酸循环 $\rightarrow \text{CO}_2$ 、 NADH 、 FADH_2

[第三阶段] NADH 、 $\text{FADH}_2 \rightarrow \text{NAD}^+$ 、 FAD^+

$e^- \rightarrow$ 电子传递链 $\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

一. 丙酮酸的氧化 放出1分子 CO_2 , -分子 NADH .

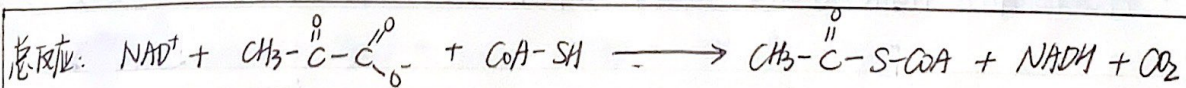
1. 丙酮酸脱氢酶复合物

$\left\{ \begin{array}{l} \text{E1: 丙酮酸脱氢酶} + \text{TPP} \text{ 脱羧} \\ \text{E2: 二氢硫辛酰转乙酰基酶 (核心)} \\ \text{E3: 二氢硫辛酰脱氢酶} \end{array} \right.$

$\begin{array}{c} \text{TPP} \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{CH}_3 \\ \text{生成} \end{array} \quad \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{S}-\text{CoA}$
 生成 NADH

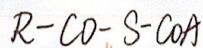
2. 辅酶

$\left\{ \begin{array}{l} \text{焦磷酸硫胺素 (TPP)} \\ \text{硫辛酸 (lipoic acid)} \\ \text{辅酶A (CoA 或 CoA-SH)} \\ \text{黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD)} \\ \text{烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD}^+\text{)} \end{array} \right.$



★ 辅酶A是重要的酰基载体

CoA是维生素B₃(泛酸)的衍生物.



高能硫酯键

水解释放 32 kJ/mol 能量, 转移酰基至底物上.

具体反应:

① 丙酮酸脱氢酶 (E1):

- 催化丙酮酸脱羧, 产生羟乙基-TPP-E1 中间物
- 产生的羟乙基攻击二氢硫辛酰转乙酰基酶 (E2) 连接的 **硫辛酰腺=硫化物**, 产生羟乙基-TPP-硫辛酰腺复合物
- 当硫辛酰腺的=硫化物被还原时, 含碳负离子的羟乙基被氧化为 **乙酰基**, 乙酰基-硫辛酰 Lys 同时释放出 TPP.

② 二氢硫辛酰转乙酰基酶 (E2)

- 催化 **转乙酰基** 反应
- 乙酰基被转移至 CoA-SH 的巯基上, 产生乙酰 CoA 和 **二氢硫辛酰腺-E2**.

↓

被氧化, 重新利用

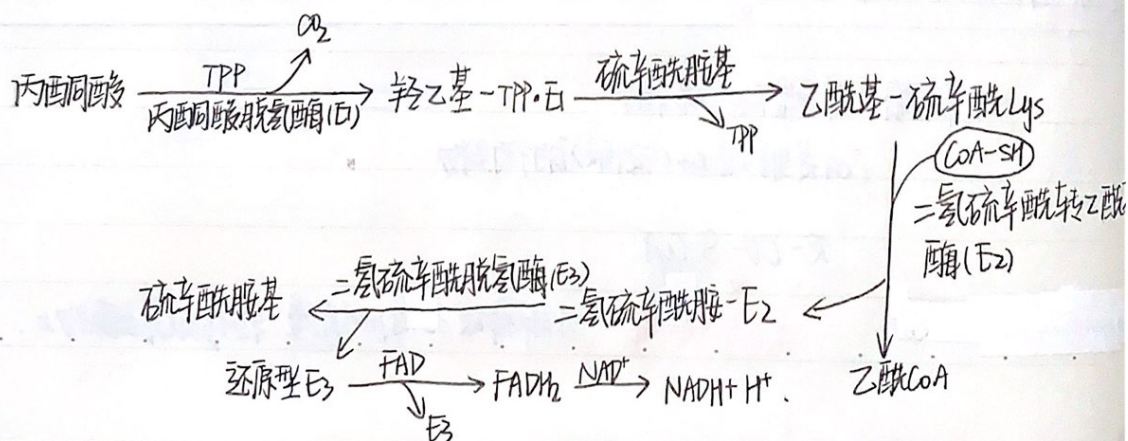
③ 二氢硫辛酰脱氢酶 (E3)

- 紧密结合一个 FAD, 含有一个反应性=硫腺
- E3 被 FAD 氧化, 产生 FADH₂ → **被氧化, 重新利用**
- FADH₂ 上电子在该酶催化下转移给该酶另一个底物 NAD⁺, 生成 NADH.

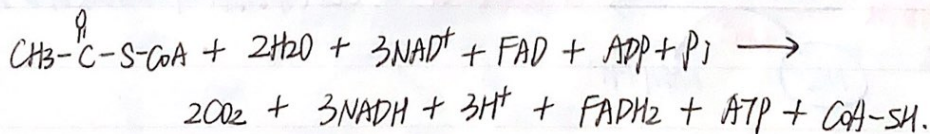
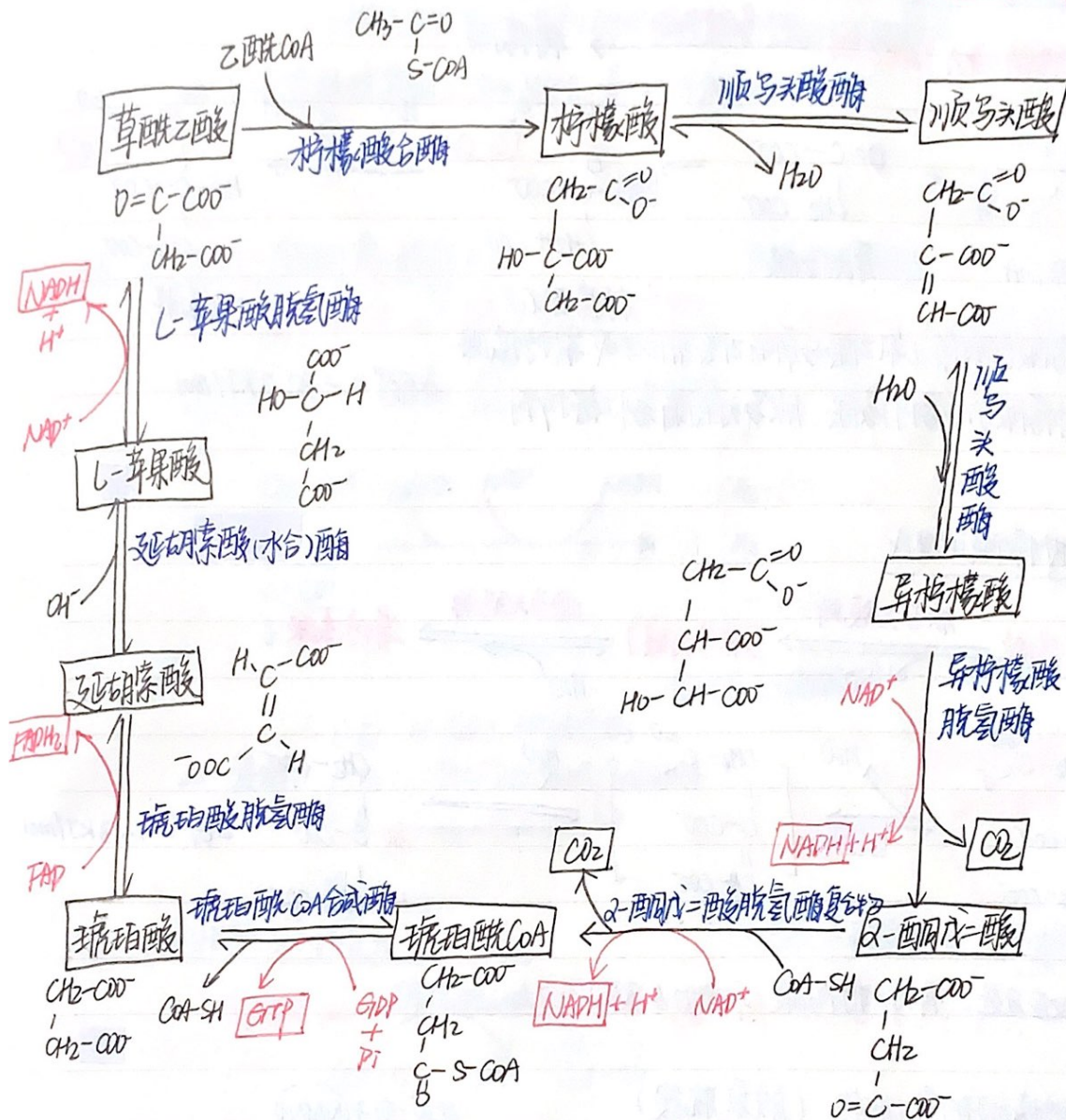
- 辅酶 A (CoA-SH) 是维生素 B₃ (泛酸) 的衍生物.

人体肠道细菌可以合成泛酸.

- 乙酰基辅酶 A 含一个高能硫酯键, 乙酰基转移时硫酯键裂解释放能量推动反应进行.



二. 柠檬酸循环.

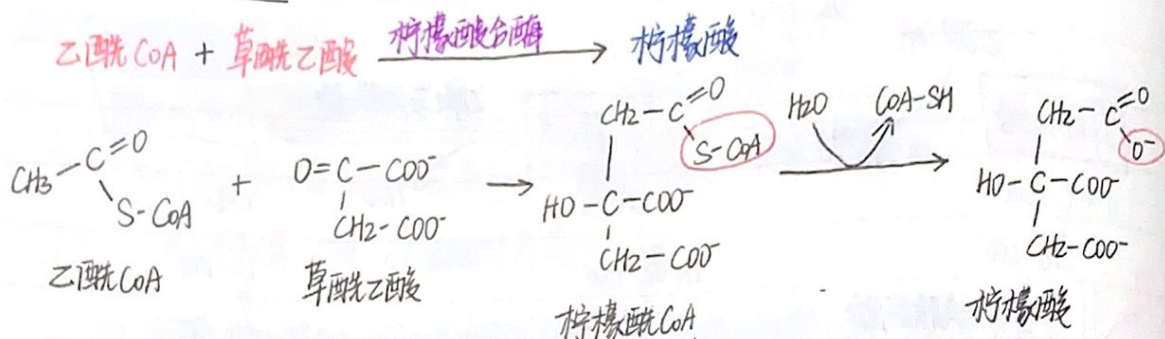
1分子乙酰CoA, 经TCA循环, 生成3分子NADH, 1分子FADH₂, 1分子GTP.

$\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}$: 异柠檬酸脱氢酶, α -酮戊二酸脱氢酶, L-苹果酸脱氢酶

$\text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$: 琥珀酰CoA合成酶

$\text{FAD} \rightarrow \text{FADH}_2$: 琥珀酸脱氢酶

1. 柠檬酸的生成 ★ 限速反应

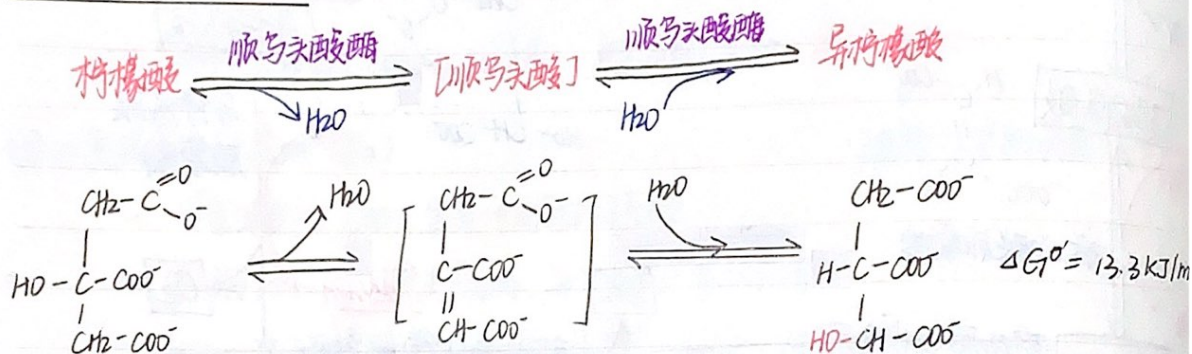


▲ 柠檬酸合酶催化乙酰CoA与草酰乙酸缩合生成 氧柠檬酸

▲ 氧柠檬酸可代替柠檬酸，顺乌头酸酶活性被抑制。

$$\Delta G^\circ = -32.2 \text{ kJ/mol}$$

2. 异柠檬酸的生成

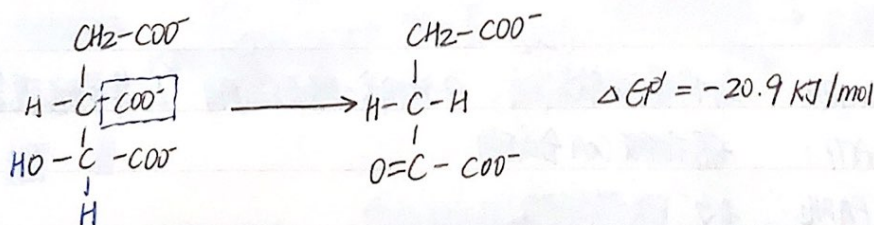
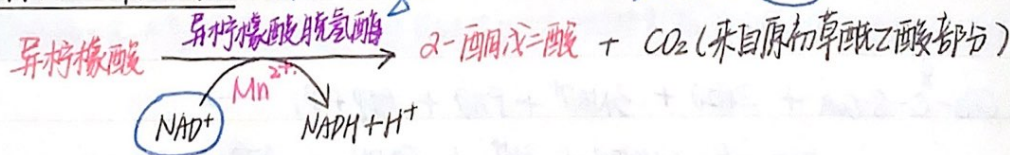


$$\Delta G^\circ = 13.3 \text{ kJ/mol}$$

▲ 反应可逆，有利于柠檬酸（平衡时占90%）

3. 异柠檬酸的氧化脱羧（脱氢脱羧）

生成1分子 NADH



▲ 生成中间物 草酰琥珀酸

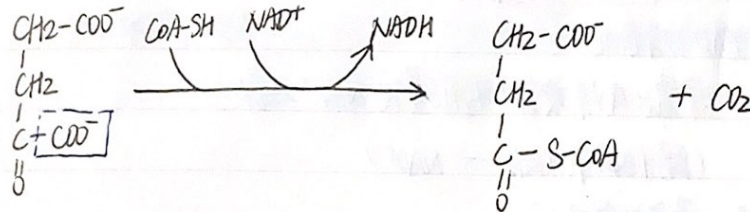
Mn²⁺在酶的活性部位与草酰琥珀酸羧基相互作用
Mn²⁺ 稳定因脱羧反应形成的烯醇体。

▲ 异柠檬酸脱氢酶需要 Mn^{2+} 作为辅助因子。

(它是因脱羧反应而产生的烯醇酶)(使重链形成的羧基活化)

▲ 异柠檬酸脱氢酶依赖于 NAD^+ , 是一种线粒体酶。

4. α -酮戊二酸的氧化脱羧反应.



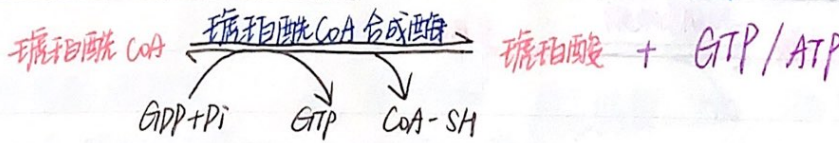
含1个高能硫酯键

$$\Delta G^{\circ'} = -33.5 \text{ kJ/mol}$$

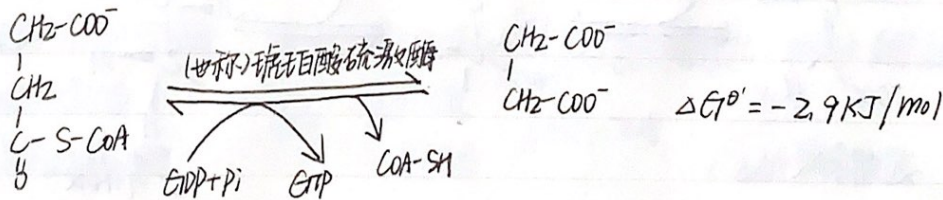
▲ 复合物 $\left\{ \begin{array}{l} E_1: \alpha\text{-酮戊二酸脱氢酶} \\ E_2: \text{二氢硫辛酰转琥珀酰基酶} \\ E_3: \text{二氢硫辛酰脱氢酶} \end{array} \right.$

高能键裂解
释放能量

5. 琥珀酰 CoA 转变为琥珀酸.



1次底物水平磷酸化 (GTP)



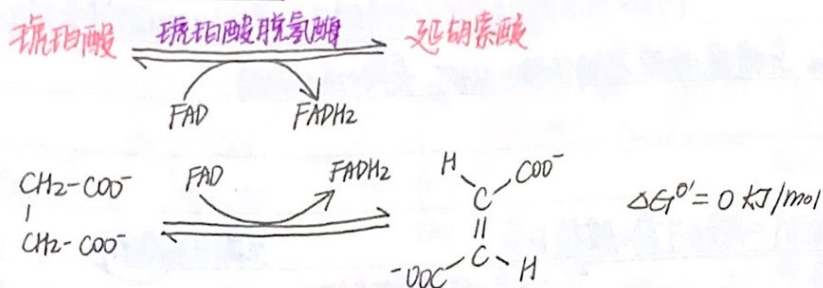
▲ 逆反应生成硫辛酰键 (\uparrow)

▲ $\left\{ \begin{array}{l} \text{哺乳动物: } GTP + ADP \xrightarrow{\text{核苷-磷酸激酶}} GDP + ATP \\ \text{植物和细菌: } ATP \end{array} \right.$

P_i : 取代 CoA-SH 生成琥珀酰基磷酸 \rightarrow 酶活性部位 \rightarrow GDP 或 GTP

His 残基

6. 琥珀酸氧化形成延胡索酸

生成分子 FADH_2 .

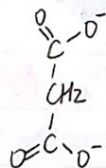
- ▲ 琥珀酸脱氢酶是TCA循环中唯一线粒体内膜结合蛋白。
也是琥珀酸- CoQ 氧化还原酶的一部分。

- ▲ 以 FAD 为辅酶：

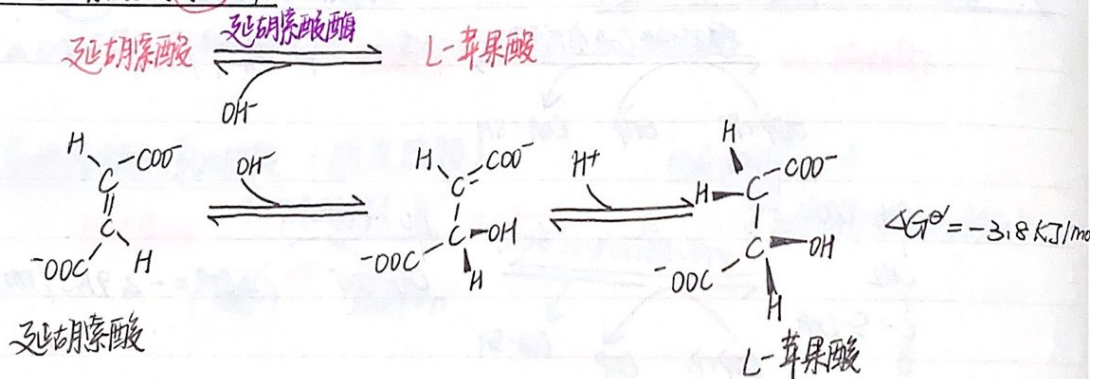
琥珀氧化成烯没有足够能量使 NAD^+ 还原。

(醇/酮氧化反应 $\rightarrow \text{NAD}^+$)

- ▲ 丙二酸：竞争性抑制剂。



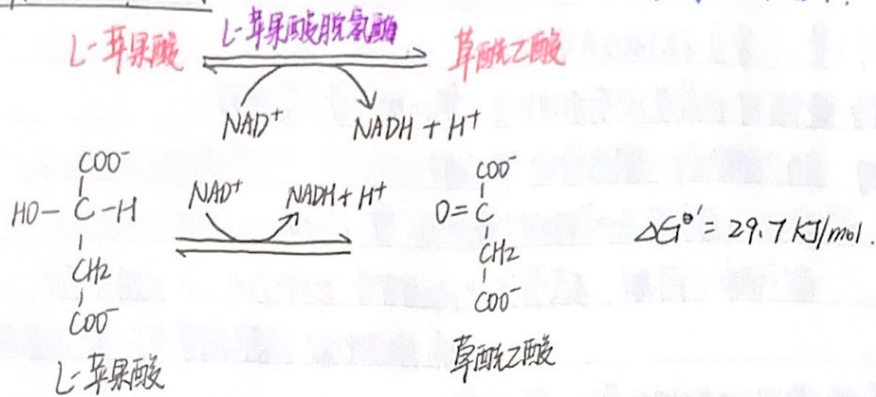
7. 延胡索酸的水合反应



- ▲ 延胡索酸酶具高度立体专一性。

8. 草酰乙酸的生成

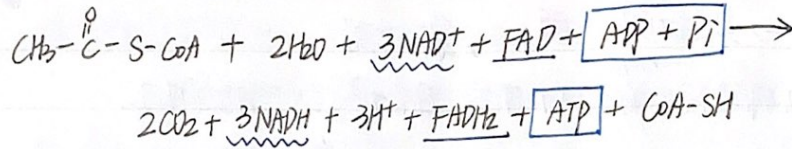
生成1分子 NADH



▲ 热力学上不利于草酰乙酸生成，草酰乙酸在细胞内浓度很低。

但可以经TCA循环第一步推动（乙酰CoA与草酰乙酸生成柠檬酸）
高度放能

[小结]



TCA循环每循环一次，只有一分子 乙酰CoA 被氧化。

- | | | | | |
|--------------|----|--------|------------|--|
| 1. 异柠檬酸脱氢酶 | 催化 | 异柠檬酸 | 脱氢脱羧，生成 | 1 CO_2 + 1 NADH + 1 H^+ |
| α-酮戊二酸脱氢酶复合物 | 催化 | α-酮戊二酸 | | 1 CO_2 + 1 NADH + 1 H^+ |
| 2. 琥珀酰辅酶A合成酶 | 催化 | 琥珀酰CoA | 底物水平磷酸化，生成 | 1 GTP/ATP |
| 3. 琥珀酸脱氢酶 | 催化 | 琥珀酸 | 脱氢，生成 | 1 FADH_2 |
| L-苹果酸脱氢酶 | 催化 | L-苹果酸 | | 1 NADH + 1 H^+ |

[意义]

1. 提供能量：产生 32 (30) ATP.
2. 柠檬酸循环也是其他有机物完全氧化的一条主要途径.

eg. 脂肪酸 (β -氧化 \rightarrow 乙酰 CoA)

甘油 (水解 \rightarrow 丙酮酸 \rightarrow 乙酰 CoA)

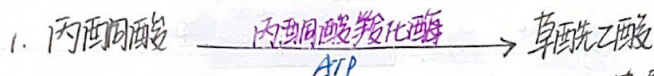
氨基酸 (降解, 碳骨架 \rightarrow 丙酮酸, 乙酰 CoA, α -酮戊二酸, 琥珀酰 CoA, 延胡索酸, 草酰乙酸)

3. 柠檬酸循环的又双向功能

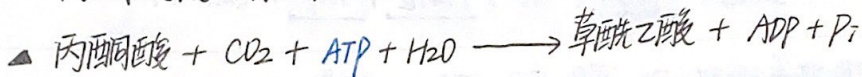
(合成、分解)

中间物 } 维持循环运转, 促进有机燃料分子氧化产生能量
作为重要生物合成途径的起始材料

[柠檬酸循环中间物的回补]

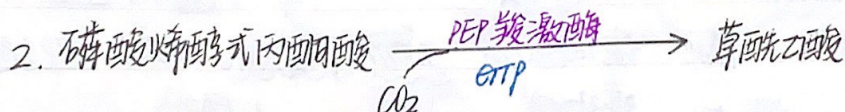


▲ 丙酮酸羧化酶：线粒体酶，且在糖异生中有重要作用。



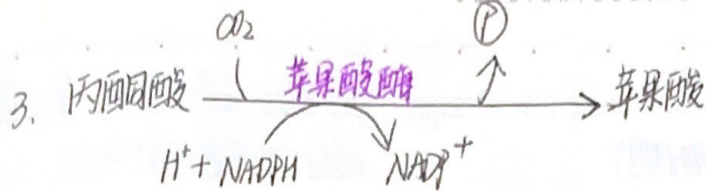
(该反应需要生物素与 Mg^{2+})

▲ 乙酰 CoA：丙酮酸羧化酶最重要的别构激活剂。



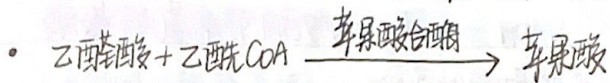
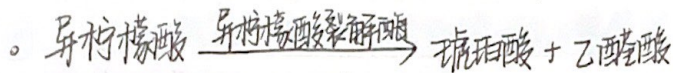
▲ PEP羧激酶：对草酰乙酸亲和力大，对 CO_2 亲和力小 (有利于 PEP 生成) 糖异生作用。

▲ PEP羧化酶：植物、细菌、酵母中存在。



▲ 反应发生在胞液中，苹果酸可通过专一性载体进入线粒体
在线粒体内的需 NADP^+ 的苹果酸脱氢酶催化下氧化生成草酰乙酸。

★ 乙醛酸途径 (位于乙醛酸循环体)



[意义]

仅存在于某些植物细胞及某些微生物内。

① 使脂肪酸降解产生的二碳物 (乙酰CoA) 合成葡萄糖。

苹果酸在胞液苹果酸脱氢酶作用下生成草酰乙酸，经糖异生合成葡萄糖。

② 产生的琥珀酸和苹果酸进入柠檬酸循环，为其提供中间物。

▲ 异柠檬酸处在TCA循环及乙醛酸循环的关键分支点上。

★ 柠檬酸循环的双向功能

[合成] ① 草酰乙酸及其他中间物经糖异生合成葡萄糖。

② 柠檬酸裂解产生胞液乙酰CoA (和草酰乙酸)，用于脂肪酸合成。

③ α -酮戊二酸 \rightarrow 谷氨酸
草酰乙酸 \rightarrow 天冬氨酸 } 进一步合成其他氨基酸。

[分解] ① 脂肪降解产生甘油经糖酵解转变为丙酮酸，再氧化为乙酰CoA。

② 月旨肪酸经 β -氧化产生乙酰CoA。

③ 蛋白质水解为氨基酸，转变为中间物。

[柠檬酸循环的调节]

(一) 丙酮酸脱氢酶复合物的调节

1. 别构调节

- ① ATP 抑制 丙酮酸脱氢酶的活性
- ② 乙酰CoA 抑制 二氢硫辛酰转乙酰酶的活性
- ③ NADH 抑制 二氢硫辛酰脱氢酶的活性
- ④ AMP、CoA、NAD⁺ 处于高水平时，激活丙酮酸脱氢酶复合物的活性

2. 共价修饰调节

- ① 高水平ATP，丰富乙酰CoA，NADH —— 激活丙酮酸脱氢酶激酶
该酶利用ATP使丙酮酸脱氢酶特定部位 Ser 残基磷酸化而失活

- ② ATP水平降低 —— 丙酮酸脱氢酶磷酸酶

使磷酸化的丙酮酸脱氢酶脱去(P)

▲ Ca²⁺: 细胞需要产生ATP, Ca²⁺ ↑, 激活

▲ 胰岛素: 血糖浓度 ↓, 胰岛素 ↓, 激活

(二) 柠檬酸循环的活性控制

限速步骤 { 柠檬酸合酶 * = 乙酰CoA, 草酰乙酸, 柠檬酸, 琥珀酰CoA, NADH
 异柠檬酸脱氢酶 = NADH, 柠檬酸合酶的活性
 α-酮戊二酸脱氢酶: NADH, 琥珀酰CoA

▲ ATP, ADP: 柠檬酸合酶, 异柠檬酸脱氢酶

▲ Ca²⁺: 激活异柠檬酸脱氢酶, α-酮戊二酸脱氢酶

▲ $\frac{[ATP]}{[ADP]}$ $\frac{[NADH]}{[NAD]}$

别构抑制/激活

- 异柠檬酸脱氢酶活性遭抑制 → 柠檬酸积累, 进入胞液
 PFK别构抑制剂 → 调节糖酵解
 激活乙酰CoA羧化酶 → 促进脂酸合成
 裂解生成乙酰CoA
- α-酮戊二酸脱氢酶活性遭抑制 → α-酮戊二酸积累 → 作为谷氨酸、谷氨酰胺合成前体 → 合成氨基酸、嘌呤核苷酸