

第六章 微生物的新陈代谢

[教学目标] 本章主要对微生物的能量代谢和糖代谢等做一简单介绍。

[教学的重点和难点] 生物氧化过程分为：脱氢、递氢、受氢三个阶段。生物氧化功能：产能(ATP)、产还原力[H]、产小分子中间代谢物。微生物代谢在食品检验中细菌鉴定的意义和应用。

[教学方法和手段] 主要以讲授为主，应用多媒体课件进行形象生动的课堂教学。设计微生物生理学综合实验，从糖代谢发酵试验、IMVIC 试验进行实验教学。

[教学内容]

§ 1 微生物的能量代谢

代谢(metabolism)是细胞内发生的各种化学反应的总称，它主要由分解代谢(catabolism)和合成代谢(anabolism)两个过程组成。

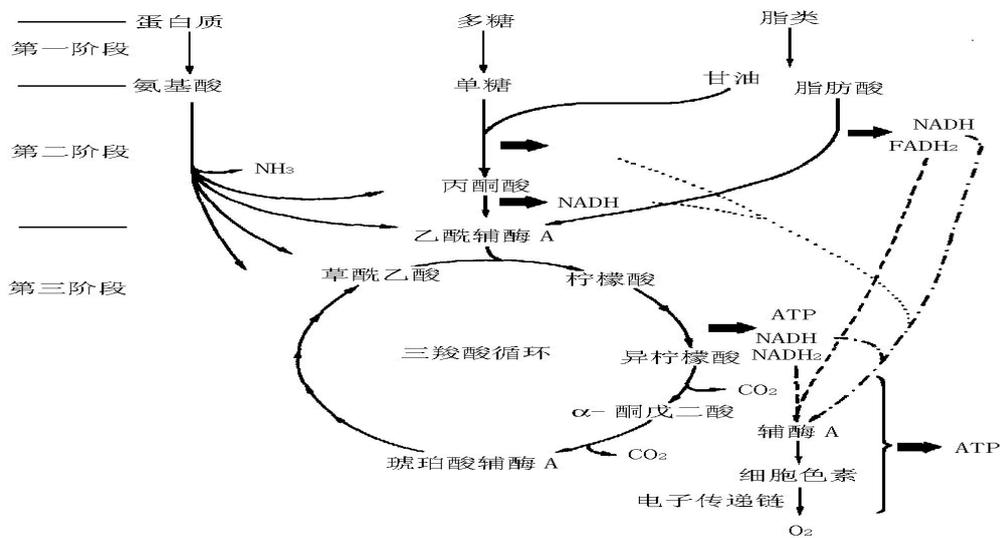


图 3.6 分解代谢的三个阶段

分解代谢是指细胞将大分子物质降解成小分子物质，并在这个过程中产生能量。一般可将分解代谢分为三个阶段(图 3.6)：第一阶段是将蛋白质、多糖及脂类等大分子营养物质降解成氨基酸、单糖及脂肪酸等小分子物质；第二阶段是将第一阶段产物进一步降解成更为简单的乙酰辅酶 A、丙酮酸以及能进入三羧酸循环的某些中间产物，在这个阶段会产生一些 ATP、NADH 及 FADH₂；第三阶段是通过三羧酸循环将第二阶段产物完全降解生成 CO₂，并产生 ATP、NADH 及 FADH₂。第二和第三阶段产生的 ATP、NADH 及 FADH₂ 通过电子传递链被氧化，可产生大量的 ATP。

合成代谢是指细胞利用简单的小分子物质合成复杂大分子的过程，在这个过程中要消耗能量。合成代谢所利用的小分子物质来源于分解代谢过程中产生的中间产物或环境中的小分子营养物质。

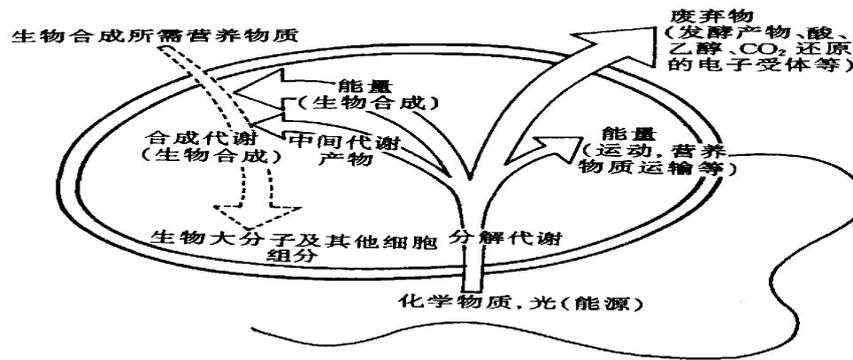


图 3.7 能量与代谢关系示意图

在代谢过

程中，微生物通过分解代谢产生化学能，光合微生物还可将光能转换成化学能，这些能量除用于合成代谢外，还可用于微生物的运动和运输，另有部分能量以热或光的形式释放到环境中去。微生物产生和利用能量及其与代谢的关系见图 3.7。

一、化能异养微生物的生物氧化和产能

分解代谢实际上是物质在生物体内经过一系列连续的氧化还原反应，逐步分解并释放能量的过程，这个过程也称为生物氧化，是一个产能代谢过程。在生物氧化过程中释放的能量可被微生物直接利用，也可通过能量转换储存在高能化合物(如 ATP)中，以便逐步被利用，还有部分能量以热的形式被释放到环境中。不同类型微生物进行生物氧化所利用的物质是不同的，异养微生物利用有机物，自养微生物则利用无机物，通过生物氧化来进行产能代谢。

(一) 底物脱氢的 4 条途径

1、EMP 途径(糖酵解途径)

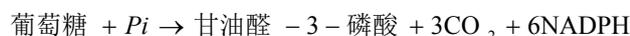
整个 EMP 途径大致对分为两个阶段。第一阶段可认为是不涉及氧化还原反应及能量释放的准备阶段，只是生成两分子的主要中间代谢产物：甘油醛-3-磷酸。第二阶段发生氧化还原反应，合成 ATP 并形成两分子的丙酮酸。



EMP 途径可为微生物的生理活动提供 ATP 和 NADH，其中间产物又可为微生物的合成代谢提供碳骨架，并在一定条件下可逆转合成多糖。

2、HMP 途径（磷酸戊糖途径，单磷酸己糖途径）

磷酸戊糖途径可分为氧化阶段和非氧化阶段。一个 HMP 途径循环的结果为：



一般认为 HMP 途径不是产能途径，而是为生物合成提供大量的还原力(NADPH)和中间代谢产物。

3、ED 途径

一分子葡萄糖经 ED 途径最后生成两分子丙酮酸、一分子 ATP、一分子 NADH 和 NADH。ED 途径可不依赖于 EMP 和 HMP 途径而单独存在，但对于靠底物水平磷酸化获得 ATP 的厌氧菌而言，ED 途径不如 EMP 途径经济。

4、TCA 循环 (tricarboxylic acid cycle)

真核在线粒体中，原核在细胞质中。TCA 在代谢中占有重要枢纽地位。TCA 循环的特点：①氧虽不直接参与其中反应，但必须在有氧条件下运转（因 NAD^+ 和 FAD 再生时需氧）；②每个丙酮酸分子可产生 4 个 $NADH+H^+$ 、1 个 $FADH_2$ 和 1 个 GTP，总共相当于 15 个 ATP，因此产能效率较高；③TCA 位于一切分解代谢和合成代谢的枢纽地位，不仅可为微生物的生物合成提供各种碳架原料，而且还与人类的发酵生产密切相关。

四条不同途径的产能效率比较见表 6-1

表 6-1 葡萄糖经不同脱氢途径后的产能效率

产能形式	EMP	HMP	ED	TCA
底物水平: ATP、GTP	2		1	2+2
NADH+H ⁺	2 (相当 6ATP)		1 (相当 3ATP)	2+8*(相当 30ATP)
NADPH+H ⁺		12 (相当 36ATP)	1 (相当 3ATP)	
FADH ₂				2 (相当 4ATP)
净产 ATP	8	35**	7	36~38***

※ 在 TCA 循环的异柠檬酸至 α-酮戊二酸反应中, 有的微生物 (如细菌) 产生的是 NADPH+H⁺;

※※ 因为在葡萄糖变成葡萄糖-6-磷酸过程中消耗 1ATP, 故净产 35 ATP;

※※※ 在原核生物中, 因呼吸链组分在细胞膜上, 故产 38 个 ATP; 而真核生物的呼吸链组分在线粒体膜上, NADH+H⁺ 进入线粒体时要消耗 2ATP, 故最终只产 36 个 ATP。

(二) 递氢和受氢

根据递氢特别是最终氢受体不同划分为有氧呼吸、无氧呼吸和发酵

1、有氧呼吸 (呼吸作用)

在呼吸作用中, 以分子氧作为最终电子受体的称为有氧呼吸(aerobic respiration)。

在发酵过程中, 葡萄糖经过糖酵解作用形成的丙酮酸在厌氧条件下转变成不同的发酵产物, 而在有氧呼吸过程中, 丙酮酸进入三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, 简称 TCA 循环), 被彻底氧化生成 CO₂ 和水, 同时释放大量能量。

在电子传递过程中, 通过与氧化磷酸化反应偶联, 产生 ATP, 称氧化磷酸化。

呼吸链组成与顺序: NAD (P) →FP→Fe·S→CoQ→Cyt b→Cyt c→Cyt a→Cyt a₃

真核与原核生物呼吸链比较: 位置、组成

2、厌氧呼吸

在呼吸作用中, 以氧化型化合物作为最终电子受体的称为无氧呼吸(anaerobic respiration)。

某些厌氧和兼性厌氧微生物在无氧条件下进行无氧呼吸。无氧呼吸的最终电子受体不是氧, 而是像 NO₃⁻、NO₂⁻、SO₄²⁻、CO₂ 等这类外源受体。无氧呼吸也需要细胞色素等电子传递体, 并在能量分级释放过程中伴随有磷酸化作用, 也能产生较多的能量用于生命活动。但由于部分能量随电子转移传给最终电子受体, 所以生成的能量不如有氧呼吸产生的多。

3、发酵 (fermentation)

发酵是指微生物细胞将有机物氧化释放的电子直接交给底物本身未完全氧化的某种中间产物, 同时释放能量并产生各种不同的代谢产物。在发酵条件下有机化合物只是部分地被氧化, 因此, 只释放出一小部分的能量。发酵过程的氧化是与有机物的还原偶联在一起的。被还原的有机物来自于初始发酵的分解代谢, 即不需要外界提供电子受体。

发酵的种类有很多, 可发酵的底物有糖类、有机酸、氨基酸等, 其中以微生物发酵葡萄糖最为重要。

①发酵类型

A、乙醇发酵

目前发现多种微生物可以发酵葡萄糖产生乙醇, 能进行乙醇发酵的微生物包括酵母菌、根霉、曲霉和某些细菌。

根据在不同条件下代谢产物的不同, 可将酵母菌利用葡萄糖进行的发酵分为三种类型: 在酵母菌的乙醇发酵中, 酵母菌可将葡萄糖经 EMP 途径降解为两分子丙酮酸, 然后丙酮酸脱羧生成乙醛, 乙醛作为氢受体使 NAD⁺再生, 发酵终产物为乙醇, 这种发酵类型称为酵母的一型发酵; 但当环境中存在亚硫酸氢钠时, 它可与乙醛反应生成难溶的磺化羟基乙醛。由于乙醛和亚硫酸盐结合而不能作为 NADH 的受氢体, 所以不能形成乙醇, 迫使磷酸二羟丙酮代替乙醛作为受氢体, 生成 α-磷酸甘油。

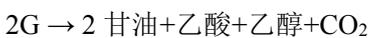
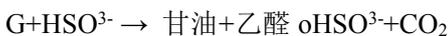
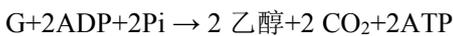
α -磷酸甘油进一步水解脱磷酸而生成甘油，称为酵母的二型发酵；在弱碱性条件下(pH 7.6)，乙醛因得不到足够的氢而积累，两个乙醛分子间会发生歧化反应，一分子乙醛作为氧化剂被还原成乙醇，另一个则作为还原剂被氧化为乙酸，氢受体则由磷酸二羟丙酮担任，发酵终产物为甘油、乙醇和乙酸，称为酵母的三型发酵。这种发酵方式不能产生能量，只能在非生长的情况下才进行。

不同的细菌进行乙醇发酵时，其发酵途径也各不相同。如运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)和厌氧发酵单胞菌(*Zymomonas anaerobia*)是利用 ED 途径分解葡萄糖为内酮酸，最后得到乙醇，对于某些生长在极端酸性条件下的严格厌氧菌，如胃八叠球菌(*arcina ventriculi*)和肠杆菌(*Enterobacteriaceae*)则是利用 EMP 途径进行乙醇发酵。

总反应式如下：

细菌同型酒精发酵，ED 途径进行，产生 2 分子乙醇。

细菌异型酒精发酵，通过 HMP 途径进行，产生 1 分子乙醇和 1 分子乳酸。



B、乳酸发酵

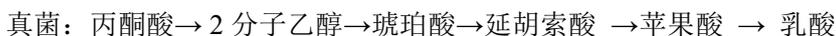
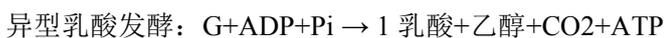
许多细菌能利用葡萄糖产生乳酸，这类细菌称为乳酸细菌。

根据产物的不同，乳酸发酵有三种类型：同型乳酸发酵、异型乳酸发酵和双歧发酵。

同型乳酸发酵的过程是：葡萄糖经 EMP 途径降解为丙酮酸，丙酮酸在乳酸脱氢酶的作用下被 NADH 还原为乳酸。由于终产物只有乳酸一种，故称为同型乳酸发酵。

在异型乳酸发酵中，葡萄糖首先经 PK 途径分解，发酵终产物除乳酸以外还有一部分乙醇或乙酸。在肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)中，利用 HK 途径分解葡萄糖，产生甘油醛-3-磷酸和乙酰磷酸，其中甘油醛-3-磷酸进一步转化为乳酸，乙酰磷酸经两次还原变为乙醇，当发酵戊糖时，则是利用 PK 途径，磷酸解酮糖酶催化木酮糖-5-磷酸裂解生成乙酰磷酸和甘油醛-3-磷酸。

双歧发酵是两歧双歧杆菌(*bifidobacterium bifidum*)发酵葡萄糖产生乳酸的一条途径。此反应中有两种磷酸酮糖酶参加反应，即果糖-6-磷酸磷酸酮糖酶和木酮糖-5-磷酸磷酸酮糖酶分别催化果糖-6-磷酸和木酮糖-5-磷酸裂解产生乙酰磷酸和丁糖-4-磷酸及甘油醛-3-磷酸和乙酰磷酸。总反应式：



C、丙酸发酵

许多厌氧菌可进行丙酸发酵。葡萄糖经 EMP 途径分解为两个丙酮酸后，再被转化为丙酸。少数丙酸细菌还能将乳酸(或利用葡萄糖分解而产生的乳酸)转变为丙酸。

D、丁酸发酵

某些专性厌氧菌，如梭菌属(*Clostridium*)、丁酸弧菌属(*Butyrivibrio*)、真杆菌属(*Eubacterium*)和梭杆菌属(*Fusobacterium*)，能进行丁酸与丙酮-丁醇发酵。在发酵过程中，葡萄糖经 EMP 途径降解为丙酮酸，接着在丙酮酸-铁氧还蛋白酶的参与下，将丙酮酸转化为乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 再经一系列反应生成丁酸或丁醇和丙酮。

E、混合酸发酵

某些肠杆菌，如埃希氏菌属(*Escherichia*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)和志贺氏菌属(*Shigella*)中的一些菌，能够利用葡萄糖进行混合酸发酵。先通过 EMP 途径将葡萄糖分解为丙酮酸，然后由不同的酶系将丙酮酸转化成不同的产物，如乳酸、乙酸、甲酸、乙醇、CO₂ 和氢气，还有一部分磷酸烯醇式丙酮酸用于生成琥珀酸；而肠杆菌、欧文氏菌属(*Erwinia*)中的一些细菌，能将丙酮酸转变成乙酰乳酸，

乙酰乳酸经一系列反应生成丁二醇。由于这类肠道菌还具有丙酮酸-甲酸裂解酶，乳酸脱氢酶等，所以其终产物还有甲酸、乳酸、乙醇等。

葡萄糖分子在没有外源电子受体时的代谢过程。在这个过程中，底物中所具有的能量只有一小部分被释放出来，并合成少量 ATP。造成这种现象的原因有两个，一是底物的碳原子只被部分氧化，二是初始电子供体和最终电子受体的还原电势相差不大。

肠杆菌特征，产物有甲酸、乙酸、乳酸、琥珀酸等有机酸，还有 CO₂、H₂、少量 2, 3-丁二醇、乙酰甲基甲醇、甘油等。其中两个重要的鉴定反应：

V. P. 实验 (Vagex-Proskauer)

产气气杆菌产 2, 3-丁二醇比较多，碱性条件下可氧化为二乙酰，再与肌酸或胍类衍生物缩合成红色物质，若加入 α-萘酚、肌酸可促进反应，此称 VP 反应。

大肠杆菌不产生或少产生 2, 3-丁二醇，VP 反应阴性。

甲基红 (M.R) 反应

大肠杆菌产酸多，使 pH 降至 4.2，甲基红由黄变红，反应阳性。产气气杆菌产 2, 3-丁二醇，产酸少 (pH5.3)，甲基红反应阴性。

另外，甲酸只在碱性环境下积累 (pH7.3)，而 pH6.2 以下，不产甲酸， $\text{HCOOH} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2$ 。甲酸脱氢酶与氢化酶联合作用。伤寒杆菌无甲酸脱氢酶，只产酸不产气。

吡啉试验：有些细菌可以分解色氨酸生成吡啉可以与二甲基氨基苯甲醛反应生成红色的玫瑰吡啉，因此可根据细菌能否分解色氨酸产生吡啉来鉴定菌种。

硫化氢试验：许多细菌能分解含硫氨基酸（胱氨酸、半胱氨酸）产生硫化氢，如果在蛋白胨培养基中加进重金属盐，接种细菌培养后观察，若产生硫化氢，则出现黑色的硫化铅或硫化铁。

二、自养微生物的生物氧化

一些微生物可以从氧化无机物获得能量，同化合成细胞物质，这类细菌称为化能自养微生物。它们在无机能源氧化过程中通过氧化磷酸化产生 ATP。

1、氮的氧化

NH₃ 同亚硝酸(NO₂-)是可以用作能源的最普通的无机氮化合物，能被硝化细菌所氧化，硝化细菌可分为两个亚群：亚硝化细菌和硝化细菌。

氮氧化为硝酸的过程可分为两个阶段，先由亚硝化细菌将氮氧化为亚硝酸，再由硝化细菌将亚硝酸氧化为硝酸。由氮氧化为硝酸是通过这两类细菌依次进行的。

硝化细菌都是一些专性好氧的革兰氏阳性细菌，以分子氧为最终电子受体，且大多数是专性天机营养型。它们的细胞都具有复杂的膜内褶结构，这有利于增加细胞的代谢能力。硝化细菌无芽孢，多数为二分裂殖，生长缓慢，平均代时在 10h 以上，分布非常广泛。

2、硫的氧化

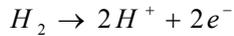
硫杆菌能够利用一种或多种还原态或部分还原态的硫化物(包括硫化物、元素硫、硫代硫酸盐、多硫酸盐和亚硫酸盐)作能源。H₂S 首先被氧化成元素硫，随之被硫氧化酶和细胞色素系统氧化成亚硫酸盐，放出的电子在传递过程中可以偶联产生四个 ATP。亚硫酸盐的氧化可分为两条途径，一是直接氧化成 SO₄²⁻的途径，由亚硫酸盐—细胞色素 c 还原酶和末端细胞色素系统催化，产生一个 ATP；二是经磷酸腺苷硫酸的氧化途径，每氧化一分子 SO₃²⁻产生 2.5 个 ATP。

3、铁的氧化

从亚铁到高铁状态的铁的氧化，对于少数细菌来说也是一种产能反应，但从这种氧化中只有少量的能量可以被利用。亚铁的氧化仅在嗜酸性的氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)中进行了较为详细的研究。在低 pH 环境中这种菌能利用亚铁氧化时放出的能量生长。在该菌的呼吸链中发现了一种含铜蛋白质(rusticyanin)，它与几种细胞色素 c 和一种细胞色素 a₁ 氧化酶构成电子传递链。虽然电子传递过程中的放能部位和放出有效能的多少还有待研究，但已知在电子传递到氧的过程中细胞质内有质了消耗，从而驱动 ATP 的合成。

4、氢的氧化

氢细菌都是一些呈革兰氏阴性的兼性化能自养菌。它们能利用分子氢氧化产生的能量同化 CO₂，也能利用其他有机物生长。氢细菌的细胞膜上有泛醌、维生素 K₂ 及细胞色素等呼吸链组分。在该菌中，电子直接从氢传递给电子传递系统，电子在呼吸链传递过程中产生 ATP。在多数氢细菌中有两种与氢的氧化有关的酶。一种是位于壁膜间隙或结合在细胞质膜上的不需 NAD⁺ 的颗粒状氧化酶，它能够催化以下反应：



该酶在氧化氢并通过电子传递系统传递电子的过程中，可驱动质子的跨膜运输，形成跨膜质子梯度为 ATP 的合成提供动力；另一种是可溶性氢化酶，它能催化氢的氧化，而使 NAD⁺ 还原的反应。所生成的 NADH 主要用于 CO₂ 的还原。

三、能量转换

在产能代谢过程中，微生物通过底物水平磷酸化和氧化磷酸化将某种物质氧化而释放的能量储存于 ATP 等高能分子中，对光合微生物而言，则可通过光合磷酸化将光能转变为化学能储存于 ATP 中。

1、底物水平磷酸化(substrate level phosphorylation)

物质在生物氧化过程中，常生成一些含有高能键的化合物，而这些化合物可直接偶联 ATP 或 GTP 的合成，这种产生 ATP 等高能分子的方式称为底物水平磷酸化。底物水平磷酸化既存在于发酵过程小，也存在于呼吸作用过程中。例如，在 EMP 途径中，1, 3-二磷酸甘油酸转变为 3-磷酸甘油酸以及磷酸烯醇式丙酮酸转变为丙酮酸的过程中都分别偶联着一分子 ATP 的形成；在三羧酸循环过程中，琥珀酰辅酶 A 转变为琥珀酸时偶联着一分子 GTP 的形成。

2、氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)

物质在生物氧化过程中形成的 NADH 和 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，在这个过程中偶联着 ATP 的合成，这种产生 ATP 的方式称为氧化磷酸化。一分子 NADH 和 FADH₂ 可分别产生 3 个和 2 个 ATP。

3、光合磷酸化(photophosphorylation)

光合作用是自然界一个极其重要的生物学过程，其实质是通过光合磷酸化将光能转变成化学能，以用于从 CO₂ 合成细胞物质。行光合作用的生物体除了绿色植物外，还包括光合微生物，如藻类、蓝细菌和光合细菌(包括紫色细菌、绿色细菌、嗜盐菌等)。它们利用光能维持生命，同时也为其他生物(如动物和异养微生物)提供了赖以生存的有机物。

①光合色素

光合色素是光合生物所特有的色素，是将光能转化为化学能的关键物质。共分三类：叶绿素(chl)或细菌叶绿素(Bchl)，类胡萝卜素和藻胆素。除光合细菌外，叶绿素 a 普遍存在于光合生物中，叶绿素 a、b 共同存在于高等植物、绿藻和蓝绿细菌中，叶绿素 c 存在于褐藻和硅藻中，叶绿素 d 存在于红藻中，叶绿素 e 存在于金黄藻中，褐藻和红藻也含有叶绿素 a。细菌叶绿素具有和高等植物中的叶绿素相类似的化学结构，两者的区别在于侧链基团的不同，以及由此而导致的光吸收特性的差异。此外，叶绿素和细菌叶绿素的吸收光谱在不同的细胞中也有差异。

所有光合生物都有类胡萝卜素。类胡萝卜素虽然不直接参加光合反应，但它们有捕获光能的作用，能把吸收的光能高效地传给细菌叶绿素(或叶绿素)。而且这种光能同叶绿素(或细菌叶绿素)直接捕捉到的光能一样被用来进行光合磷酸化作用。此外胡萝卜素还有两个作用：一是可以作为叶绿素所催化的光氧化反应的淬灭剂，以保护光合机构不受光氧化损伤，二是可能在细胞能量代谢方面起辅助作用。

藻胆素因具有类似胆汁的颜色而得名，其化学结构与叶绿素相似，都含有四个吡咯环，但藻胆素没有长链植醇基，也没有镁原子，而且四个吡咯环是直链的。

②光合单位

以往将在光合作用过程中还原一分子 CO₂ 所需的叶绿素分子数称为光合单位(photosynthetic units)。后来通过分析紫色细菌载色体的结构，获得了对光合单位的进一步认识。光合色素分布于两

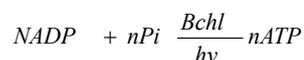
个“系统”，分别称为“光合系统 I”和“光合系统 II”。每个系统即为一个光合单位。这两个系统中的光合色素的成分和比例不同。一个光合单位由一个光捕获复合体和一个反应中心复合体组成。光捕获复合体含有菌绿素和类胡萝卜素，它们吸收一个光子后，引起波长最长的菌绿素(P870)激活，从而传给反应中心，激发态的 P870 可释放出一个高能电子。

③光合磷酸化

光合磷酸化是指光能转变为化学能的过程。当一个叶绿素分子吸收光量子时，叶绿素性质上即被激活，导致叶绿素(或细菌叶绿素)释放一个电子而被氧化，释放出的电子在电子传递系统中的传递过程中逐步释放能量，这就是光合磷酸化的基本动力。

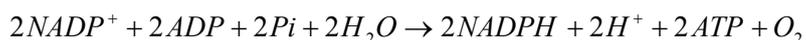
环式光合磷酸化

光合细菌主要通过环式光合磷酸化作用产生 ATP，这类细菌主要包括紫色硫细菌、绿色硫细菌、紫色非硫细菌和绿色非硫细菌。在光合细菌中，吸收光量子而被激活的细菌叶绿素释放出高能电子，于是这个细菌叶绿素分子即带有正电荷。所释放出来的高能电子顺序通过铁氧还蛋白、辅酶 Q、细胞色素 b 和 c，再返回到带正电荷的细菌叶绿素分子。在辅酶 Q 将电子传递给细胞色素 c 的过程中，造成了质子的跨膜移动，为 ATP 的合成提供了能量。在这个电子循环传递过程中，光能转变为化学能，故称环式光合磷酸化。环式光合磷酸化可在厌氧条件下进行，产物只有 ATP，无 NADP(H)，也不产生分子氧。通常以下式表示环式光合磷酸化作用：

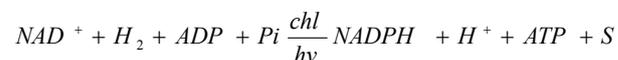


非环式光合磷酸化

高等植物和蓝细菌与光合细菌不同，它们可以裂解水，以提供细胞合成的还原能力。它们含有两种类型的反应中心，连同天线色素、初级电子受体和供体一起构成了光合系统 I 和光合系统 II，这两个系统偶联，进行非环式光合磷酸化。在光合系统 I 中，叶绿素分子 P700 吸收光子后被激活，释放出一个高能电子。这个高能电子传递给铁氧还蛋白(Fd)，并使之被还原。还原的铁氧还蛋白在 Fd-NADP⁺还原酶的作用下，将 NADP⁺还原为 NADPH。用以还原 P700 的电子来源于光合系统 II。在光合系统 II 中，叶绿素分子 P680 吸收光子后，释放出一个高能电子。后者先传递给辅酶 Q，再传给光合系统 I，使 P700 还原。失去电子的 P680，靠水的光解产生的电子来补充。高能电子从辅酶 Q 到光合系统 I 的过程中，可推动 ATP 的合成。非环式光合磷酸化的反应式为：



有的光合细菌虽然只有一个光合系统，但也以非环式光合磷酸化的方式合成 ATP，如绿硫细菌和绿色细菌。从光反应中心释放出的高能电子经铁硫蛋白、铁氧还蛋白、黄素蛋白，最后用于还原 NAD⁺生成 NADH。反应中心的还原依靠外源电子供体，如 S²⁻、S₂O₃²⁻等。外源电子供体在氧化过程中放出电子，经电子传递系统传给失去了电子的光合色素，使其还原，同时偶联 ATP 的生成。由于这个电子传递途径也没有形成环式回路，故也称为非环式光合磷酸化，反应式为：



§ 2 合成代谢

一、生物合成三要素

能量、还原力、小分子前体物质

1、能量由 ATP 供给，ATP 产生有三种方式（底物水平磷酸化，氧化磷酸化，光合磷酸化）

2、还原力产生：还原力主要指 NADH₂ 和 NADPH₂

EMP 与 TCA 产生的 NADH₂ 有 3 个去向：

①供 H 体（中间产物还原成发酵产物）；②通过呼吸链产生 ATP；③用于细胞物质合成。但 NADH₂ 要先在转氢酶作用下转变成 NADPH₂ 才能用。

$\text{NADP} + \text{NADH}_2 \rightarrow \text{NADPH}_2 + \text{NAD}$

在体内还有 HMP 供给 NADPH₂ 与磷酸糖。

$1\text{G} + 2\text{NADPH}_2 + \text{CO}_2 + 5\text{-P-核酮糖}$

NADPH₂ 在光细菌中可通过非环式光合磷酸化方式产生。

3、小分子前体物：通常指糖代谢过程中产生的中间代谢物，有 12 种。

代谢回补顺序：

①合成草酰乙酸（OA）回补顺序

$\text{PEP} + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{羧化酶}} \text{OA} + \text{P}_i$

$\text{PY} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \xrightarrow{\text{羧化酶}} \text{OA} + \text{ADP} + \text{P}_i$

$\text{PEP} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \xrightarrow{\text{羧化激酶}} \text{OA} + \text{GTP}$

$\text{PY} + \text{CO}_2 + \text{NADH}_2 \xrightarrow{\text{苹果酸酶}} \text{苹果酸} + \text{NAD}$

$\alpha\text{-KD} + \text{CO}_2 + \text{NADH}_2 \xrightarrow{\text{脱氢酶}} \text{异柠檬酸} + \text{NAD}$

好氧性，利用乙酸微生物，以乙醛酸循环补充草酰乙酸。

②合成 PEP 的回补顺序

$\text{PY} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PEP 合酶}} \text{PEP} + \text{ADP} + \text{P}_i$

$\text{PY} + \text{ATP} + \text{P}_i \xrightarrow{\text{双激酶}} \text{PEP} + \text{AMP} + \text{P}_{\text{pi}}$

$\text{OA} + \text{GTP} \xrightarrow{\text{羧激酶}} \text{PEP} + \text{GDP} + \text{CO}_2$

$\text{OA} + \text{PP}_i \xrightarrow{\text{羧转磷酸酶}} \text{PEP} + \text{P}_i + \text{CO}_2$

二、糖类合成

（一）单糖合成

1、卡尔文环 Calvin cycle（光合菌、某些自养菌）（还原的磷酸戊糖环）分为三个阶段：

①CO₂ 固定；

②固定 CO₂ 的还原；

③CO₂ 受体的再生。

关键酶：1，5-二磷酸核酮糖羧化酶、磷酸核酮糖激酶。

总反应式： $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 18\text{ATP} + 12\text{NADPH}_2 \rightarrow \text{G} + 18\text{ADP} + 12\text{NADP} + 18\text{P}_i$

另外，产甲烷细菌有厌氧乙酰辅酶 A 途径，少数光合细菌中有还原性 TCA 途径等新的自养 CO₂ 固定途径。

2、EMP 逆过程。

3、糖异生作用。

4、糖互变作用：大量是在核苷二磷酸糖水平上进行。

（二）多糖合成

E.coli 肽聚糖合成：需 1 个多糖引物。

1、单糖组分在细胞质中合成(UDP 是第一个载体)

2、逐步加上 AA 生成 UDP-NAM-五肽(Park 核苷酸)，顺序为 L-Lys, D-Glu, DAP, D-Ala, D-Ala (不需 tRNA 参与)。其中，2D-Ala D-丙酰-D-Ala(青霉素类似)，此阶段在细胞质中进行。

3、UDP-NAM-五肽转至膜上，与一脂质载体（细菌萜醇 -C55 类异戊二烯醇）结合，释放出 NAM-五肽焦磷酸，在膜内侧与 UDP-NAG 结合，构成肽聚糖亚单位。细菌萜醇是第二个载体。

4、亚单位转移至细胞壁的生长点上（插入），万古霉素、杆菌肽抑制。

5、在细胞膜外侧，亚单位与引物相连（转糖基作用），再通过转肽酶作用，将亚单位末端的 D-丙-D-丙拆开，第四个 AA 与另一亚单位的 DAP 之间交联，另一 D-Ala 释放。

在这一步，由于青霉素是 D-丙-D-丙的结构类似物，则转肽酶被抑制，造成肽链间无法交联，网状结构也连不起来，形成 "软壁"，极易破裂死亡。青霉素只对正生长菌起作用，对静息细胞无作用。

§ 3 代谢调控

代谢—生化反应—酶催化—基因编码→基因调控

↓

环境因子影响 环境调控

代谢调节部位：真核和原核

合成调节：诱导合成、终产物阻遏、分解代谢物阻遏酶

活性调节：反馈（终产物）抑制、酶活性共价修饰

一、主要调节机制

（一）酶的诱导合成

Karstrom 适应酶 Monod 诱导酶

组成酶 Cohn 组成酶

诱导剂不一定是底物，但底物大多数情况下是有效诱导剂。

诱导酶只在有诱导剂时才合成，除去诱导剂就停止。是全新合成，而不是原有酶的激活。

某些酶的诱导物，操纵子学说, Monod & Jacob, 1962, 调节基因 操纵子, P R t P O z y a t mRNA RNA 多聚酶, 无诱导物时，结合。阻遏物 有诱导物时，脱落。

（二）终产物阻遏（反馈阻遏）主要在合成代谢途径中，终产物或其衍生物对该途径上一个或多个酶形成的抑制作用。如 E. coli Met, Arg 的合成。

机制：调节基因 原阻遏物（阻遏物蛋白）与终产物结合时被激活，与操纵基因结合，阻止结构基因转录。终产物为辅阻遏物。属于正调节。

（三）分解代谢物阻遏（葡萄糖效应）

Monod 研究 E. coli 对混合碳源利用，发现葡萄糖抑制其它糖利用，出现二次生长。

所有迅速代谢能源都能阻抑较慢代谢的能源所需酶的合成。酶的生成被易分解碳源所阻遏。此称葡萄糖效应。酶大多数是诱导酶。

葡萄糖效应并不是由葡萄糖直接造成，而是葡萄糖某种分解代谢物引起。

cAMP（环腺苷酸）是关键控制因子。

其与分解代谢物活化蛋白（CAP）结合，促使 RNA 多聚酶与启动基因结合而开始转录。cAMP 浓度低时，影响结合，不能转录。

葡萄糖的某种代谢产物降低了 cAMP 水平，即使有诱导剂存在，也不能合成分解其它糖的酶，只有葡萄糖消耗完，cAMP 水平上升，才能开始转录、合成。

ATP 腺苷酸环化酶 cAMP 磷酸二酯酶 AMP

（四）反馈抑制

1、协同反馈抑制：终产物不能单独抑制，要几个终产物同时作用，合作抑制。如多粘芽孢杆菌的 Asp 族氨基酸合成。

2、合作反馈抑制：两种终产物同时存在，起着比一种大得多的抑制。

3、同工酶：多个酶催化同一个反应，分别受不同终产物抑制。如大肠杆菌的 Asp 族氨基酸合成。

4、顺序反馈抑制：代谢途径中第一个酶不受终产物抑制，而受分支处中间产物抑制，终产物抑制引起中间产物积累，从而抑制第一个酶。如红色假单胞菌的 Ile 合成。

5、积累反馈抑制：每一个终产物单独、部分地抑制共同步骤的第一个酶，互不影响。如大肠杆菌的 Gln 合成酶受 8 个终产物抑制。调节位点（变构中心） 反馈抑制机制：变构酶，底物位点（活性中心）。

（五）酶活性共价修饰

由一个修饰酶（活化酶）催化另一种酶起共价修饰的改变，从而改变后者活性。

酶-X 酶 + X（X：小分子化合物），修饰酶如大肠杆菌 Gln 合成酶：AMP 与酶共价结合时（腺苷酰转移酶催化）活性低，脱去 AMP，活性高。

胶质假单胞菌柠檬酸裂解酶：乙酰化（有活性），脱乙酰化（无活性）

二、代谢调控应用

（一）在初级代谢产物生产上应用

反馈调节最重要，要绕过，方法如下：

1、降低末端产物浓度（应用营养缺陷型解除正常反馈调节） 单线途径：应用营养缺陷型积累中间代谢物，采用低浓度终产物供给。

Ea Eb Ec

A B C D E

Ec 缺失，积累 C，低浓度供给 E。

分支途径：积累末端产物。

E1 F G

A B C D E

E2 H I

E1 缺失，限制 I，少量 E→G，大部分分泌。

Lys 生产：高 Ser 缺陷型，图 6-62

肌苷酸生产：腺嘌呤缺陷型，图 6-63

2、筛选抗反馈突变株（解除反馈）

在含有抗代谢物的培养基中培养，筛选抗性突变株，其中一些可分泌大量末端产物。如对氨基 Phe/Tyr, 7-氮杂 Trp/Trp。

3、控制细胞膜渗透性

通过生理学或遗传学方法，改变膜透性，使胞内代谢物迅速渗漏到胞外，解除反馈抑制。

（二）在次级代谢产物生产上应用

次级代谢产物通常在细胞生长后期形成，主要是抗生素、毒素、甾体化合物等。在自然条件下，微生物产生次级产物能力一般不高，其生产也受代谢调控。

可通过诱变育种和控制环境条件来提高产量，但次级产物合成途径比较复杂，许多还不清楚，因此关于次级产物合成的确实控制部位还大多不明。

青霉素生产中，葡萄糖虽能很好利用，但生产不适宜，而乳糖虽缓慢利用，却可多产青霉素。在含葡萄糖和乳糖混合培养基中，生长阶段迅速利用葡萄糖，葡萄糖用尽时，对乳糖利用解阻遏，不生长，但产青霉素。也可利用后期流加限量葡萄糖的方法实现。

其他次级产物生产也广泛采用这种方法。另外，氮源种类、浓度对次级产物产生与积累也有很大的影响，磷酸盐也有影响。

（三）在酶生产上应用

酶合成受基因和代谢物双重控制

1、加诱导剂

诱导酶只有在诱导剂存在时形成，在培养基中加入诱导剂。要注意底物诱导剂的浓度。

2、降低阻遏物浓度

参与分解代谢的酶，通常受诱导和阻遏双重控制，包括终产物阻遏和分解代谢物阻遏。

为了大量生产酶，要避免使用丰富，复杂培养基，不要含快速利用的糖类。合成酶类通常被终产物阻遏，要对产生阻遏的化合物加以限制。

3、利用突变产生不需诱导物或不受阻遏的突变体

- ①生长在低浓度诱导物中选育不需诱导剂的组成性突变株。
- ②利用抗代谢物，筛选不受终产物阻遏的突变体。
- ③利用被阻遏的酶的底物作唯一的碳源，可筛选不受分解代谢物阻遏的突变体。

4、增加基因模板

将外源特异基因导入微生物体内，增加酶产量。

- ①游离基因转移法
- ②phage 转导法