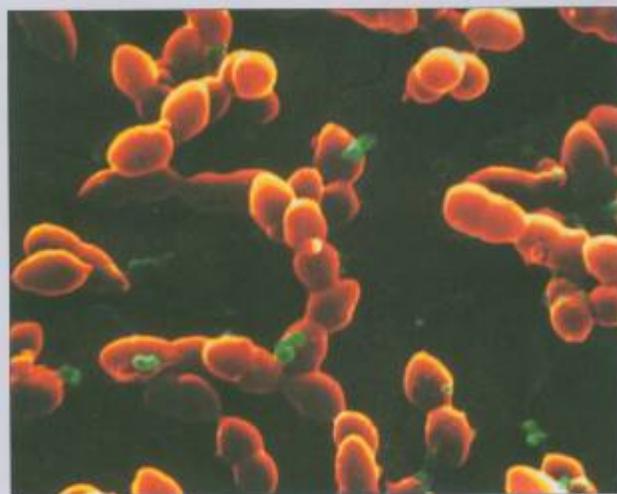




山东农业大学微生物学课程



微生物学教程

(第二版)

周德庆

 高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

山东农业大学生命科学学院



第五章

微生物的新陈代谢





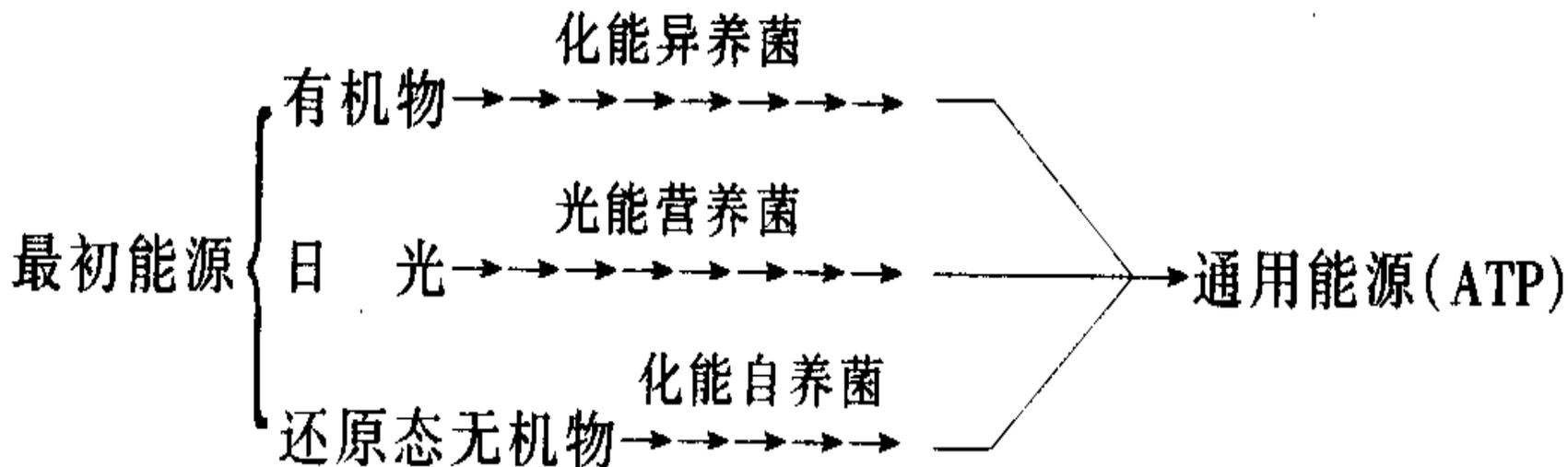
基本概念

- **新陈代谢**：是指发生在活细胞中的各种分解代谢和合成代谢的总和。
- **分解代谢**：指复杂的有机物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**：指在合成代谢酶系的催化下，由简单小分子、ATP形式的能量和[H]形式的还原力一起合成复杂的大分子的过程。



第一节 微生物的能量代谢

一切生命活动都是耗能反应，故能量代谢是新陈代谢的核心内容。





一、化能异养微生物的生物氧化和产能

生物氧化(biological oxidation)是发生在活细胞内的一系列产能性氧化反应的总称。

表 5-1 有机物* 生物氧化与燃烧的比较

比较项目	燃 烧	生 物 氧 化
反应方式	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \xrightarrow{3\text{O}_2} 6\text{H}_2\text{O} \\ \downarrow 3\text{O}_2 \\ 6\text{CO}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \xrightarrow[\text{(电子流)}]{3\text{O}_2} 6\text{H}_2\text{O} \\ \downarrow \text{(碳流)} \\ \downarrow 3\text{O}_2 \\ 6\text{CO}_2 \end{array}$
步骤	一步式快速反应	多步式梯级反应
条件	激烈	温和
催化剂	无	酶(酶在细胞内有一定位置)
产能形式	热、光	大部分为 ATP
能量利用率	低	高

* 本表以葡萄糖作为有机物的代表。





生物氧化的**形式**3种：某物质与氧结合、脱氢、失去电子

生物氧化的**过程**3阶段：脱氢(或电子)、递氢(或电子)、受氢(或电子)

生物氧化的**功能**3种：产能(ATP)、产还原力[H]、产小分子中间代谢物

生物氧化的**类型**3种：呼吸、无氧呼吸、发酵





(一) 底物脱氢的4条途径

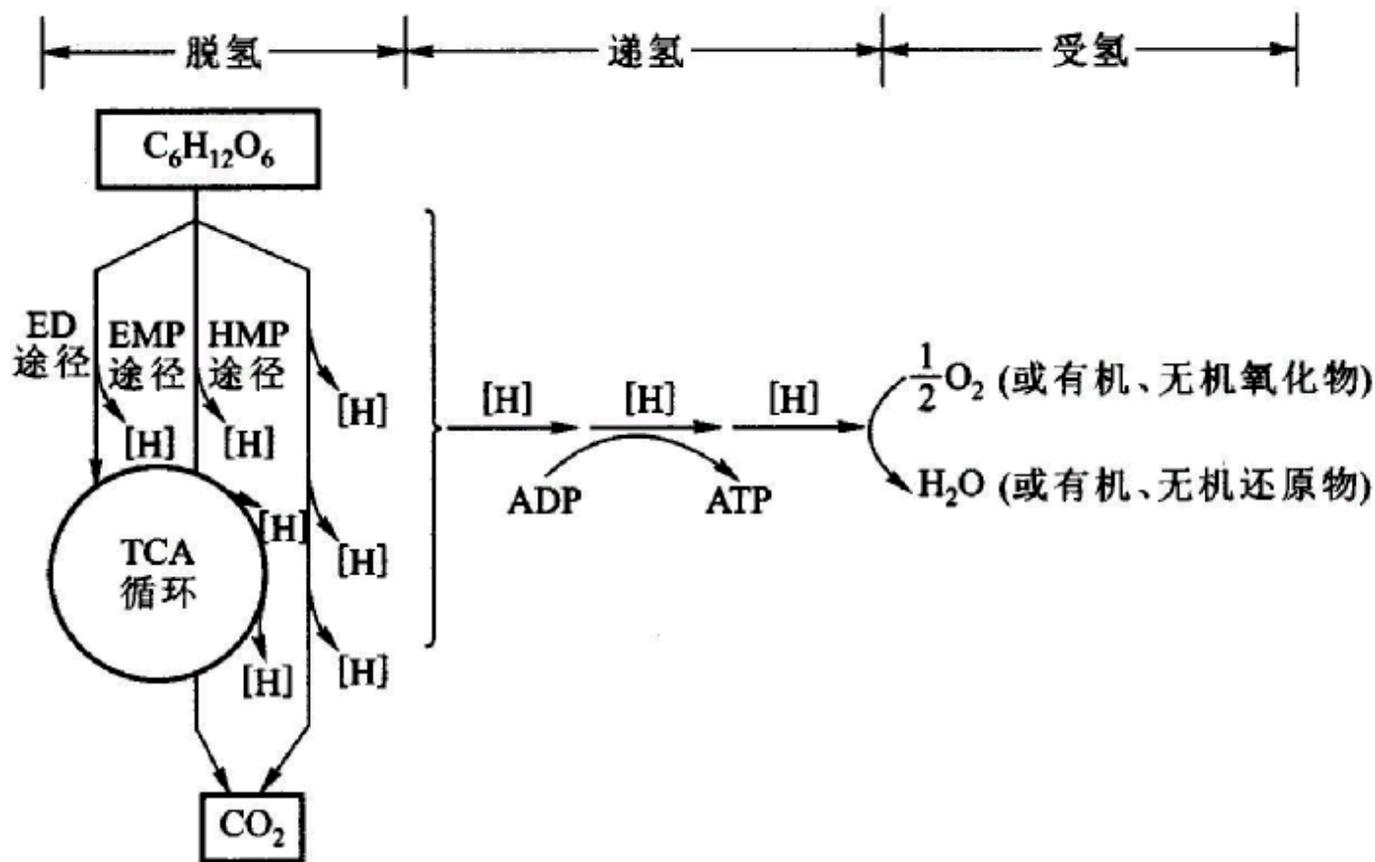


图 5-1 底物脱氢的 4 条途径及其与递氢、受氢的联系



1. EMP途径

大多数生物的主流代谢途径。它以**1**分子葡萄糖为底物，经过**10**步反应而产生**2**分子丙酮酸、**2**分子**NADH+H⁺**和**2**分子**ATP**的过程。

2阶段、3种产物和10个反应

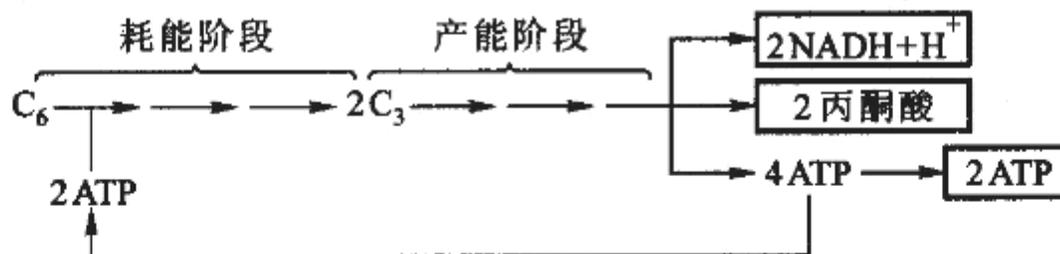
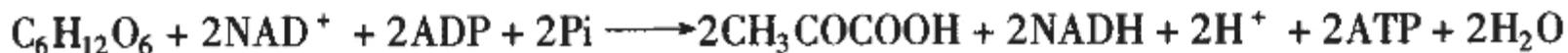


图 5-2 EMP 途径的简图

C₆ 为葡萄糖, C₃ 为甘油醛-3-磷酸, 打方框者为终产物

EMP 途径的总反应式为:





EMP途径反应步骤

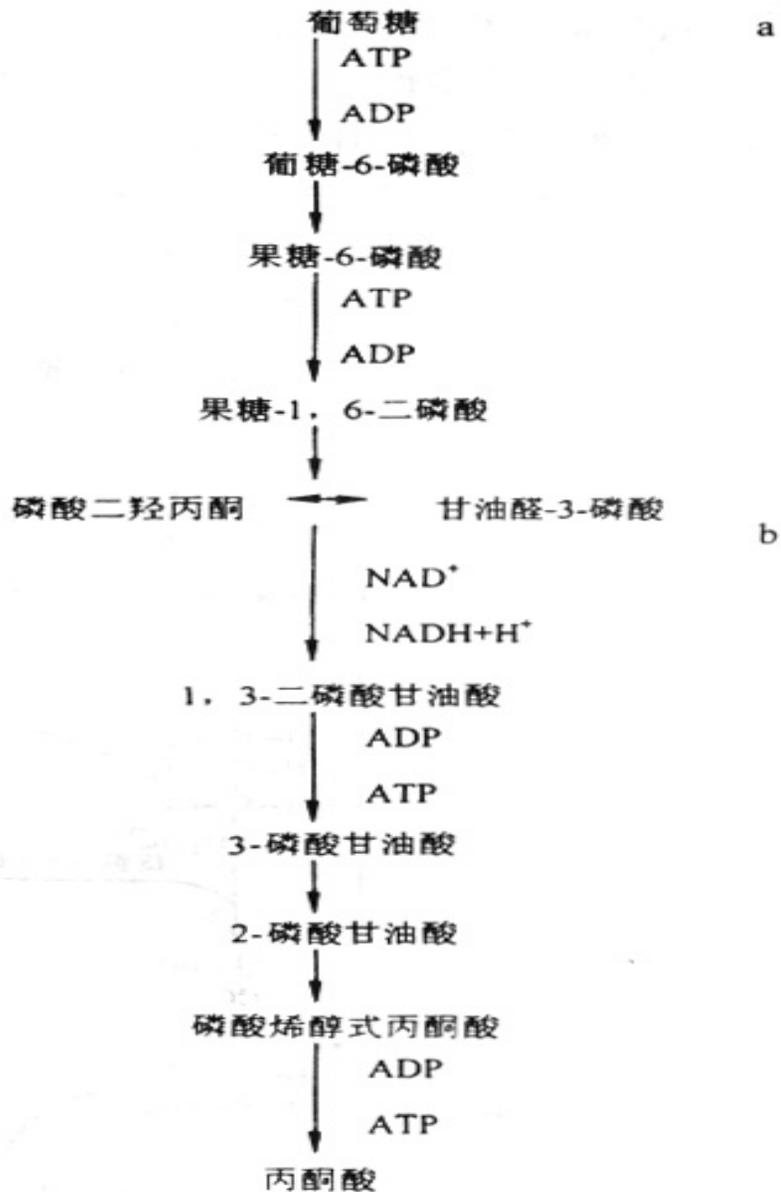


图 5-4 EMP 途径

a. 预备性反应, 消耗 ATP, 生成甘油醛-3-磷酸
b. 氧化还原反应, 形成 ATP 和产生发酵产物,
一分子葡萄糖净产生两分子 ATP



EMP途径的特点

2分子丙酮酸、2分子NADH+和H⁺ 2分子ATP

EMP途径的意义

- ① 提供能量和还原力;
- ② 连接其它代谢途径的桥梁;
- ③ 提供生物合成的中间产物;
- ④ 逆向合成多糖。



2. HMP途径

己糖—磷酸途径、己糖—磷酸支路、戊糖磷酸途径、磷酸葡萄糖酸途径

葡萄糖不经过**EMP**途径和**TCA**循环而得到彻底氧化，并能产生大量**NADP+H⁺**形式的还原力以及多种重要中间代谢物。





HMP途径的简图和总反应式

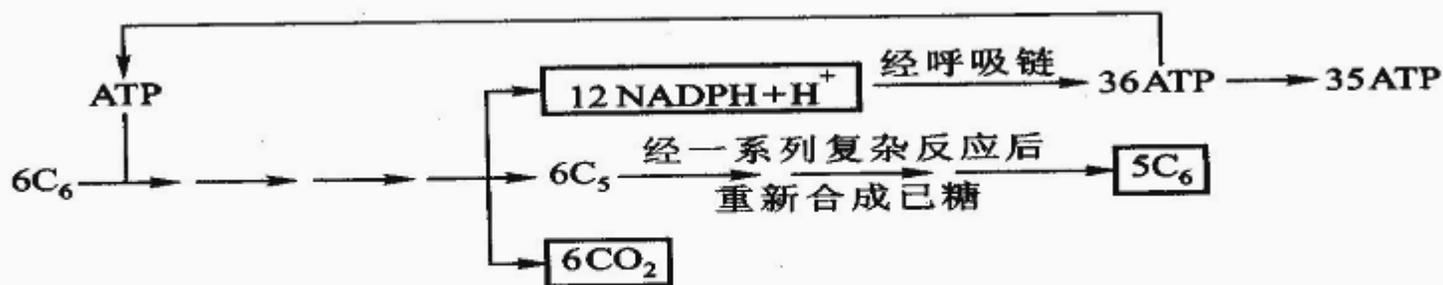


图 5-3 HMP 途径的简图

C_6 为己糖或己糖磷酸, C_5 为核酮糖 - 5 - 磷酸, 打方框者为本途径中的直接产物; $NADPH + H^+$ 必须先由转氢酶将其上的氢转到 NAD^+ 上并变成 $NADH + H^+$ 后, 才能进入呼吸链产 ATP

HMP 途径的总反应式为:



反应3阶段

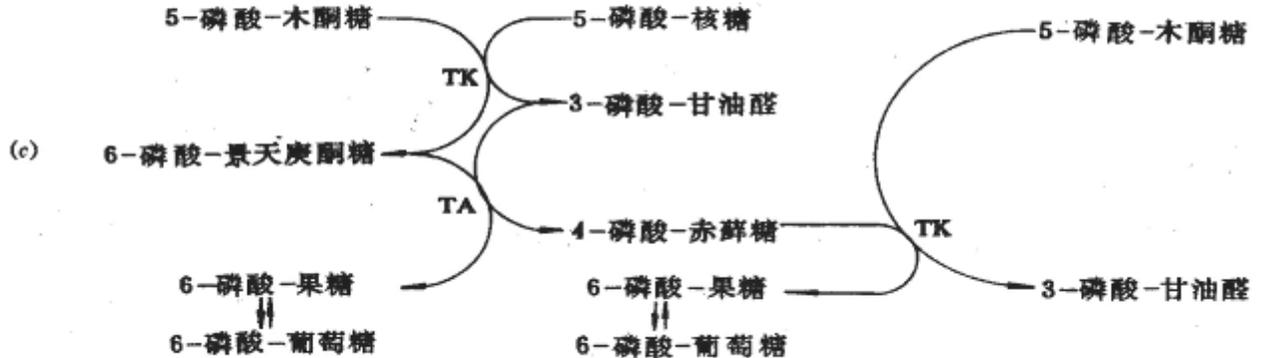
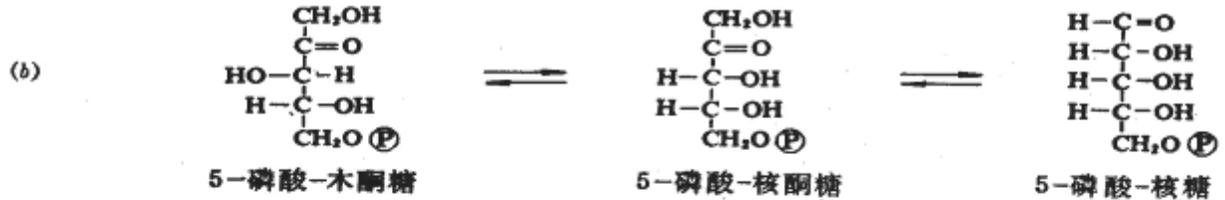
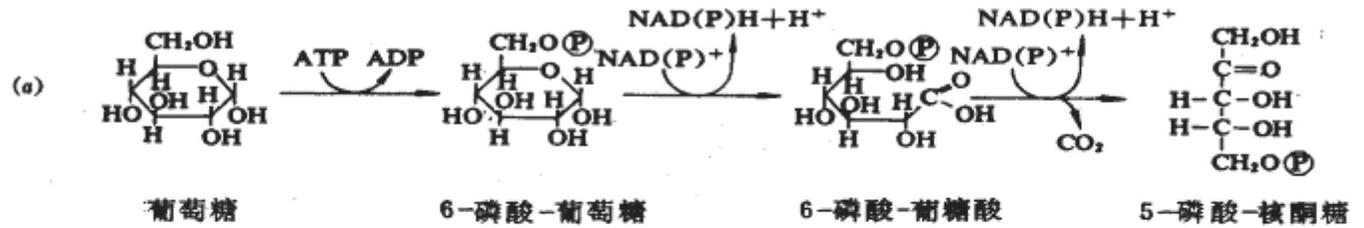


图 6-5 HMP 途径的三个阶段 (TK 为转羟乙醛酶, TA 为转二羟丙酮基酶)





HMP途径特点

12NADPH, 6CO₂

HMP途径的生物意义

- ① 供应合成原料
- ② 产还原力
- ③ 固定二氧化碳的中介
- ④ 扩大碳源利用范围
- ⑤ 连接EMP途径



3. ED途径

2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖途径

存在于某些缺乏**EMP**途径的微生物中的一种替代途径，为**微生物所特有**，特点是葡萄糖只经过**4**步反应即可快速获得丙酮酸。



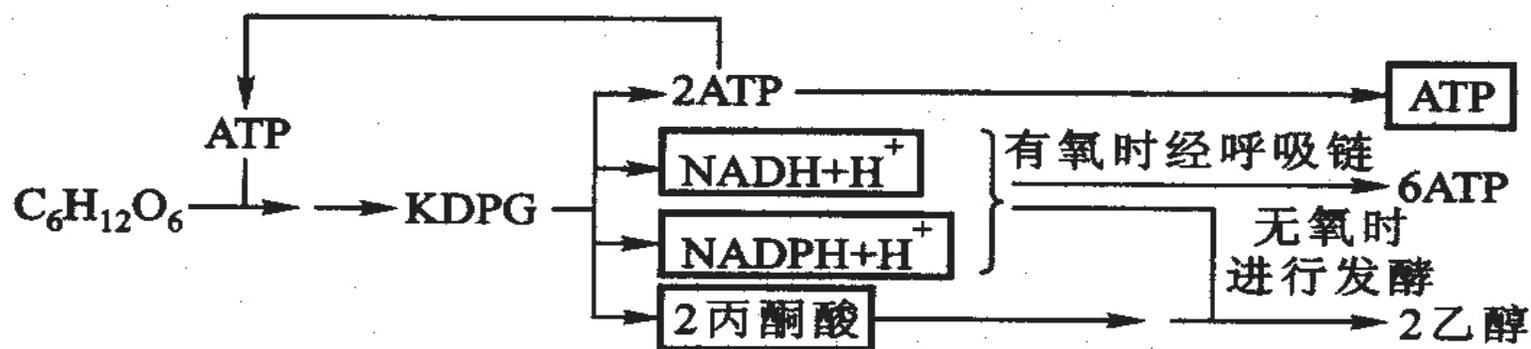
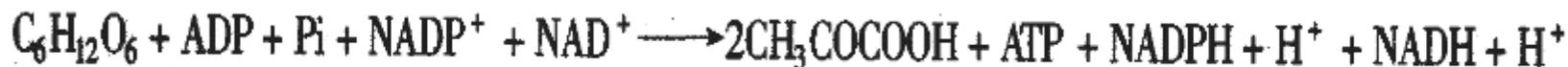


图 5-4 ED 途径简图

有方框者表示终产物

ED 途径的总反应式为:



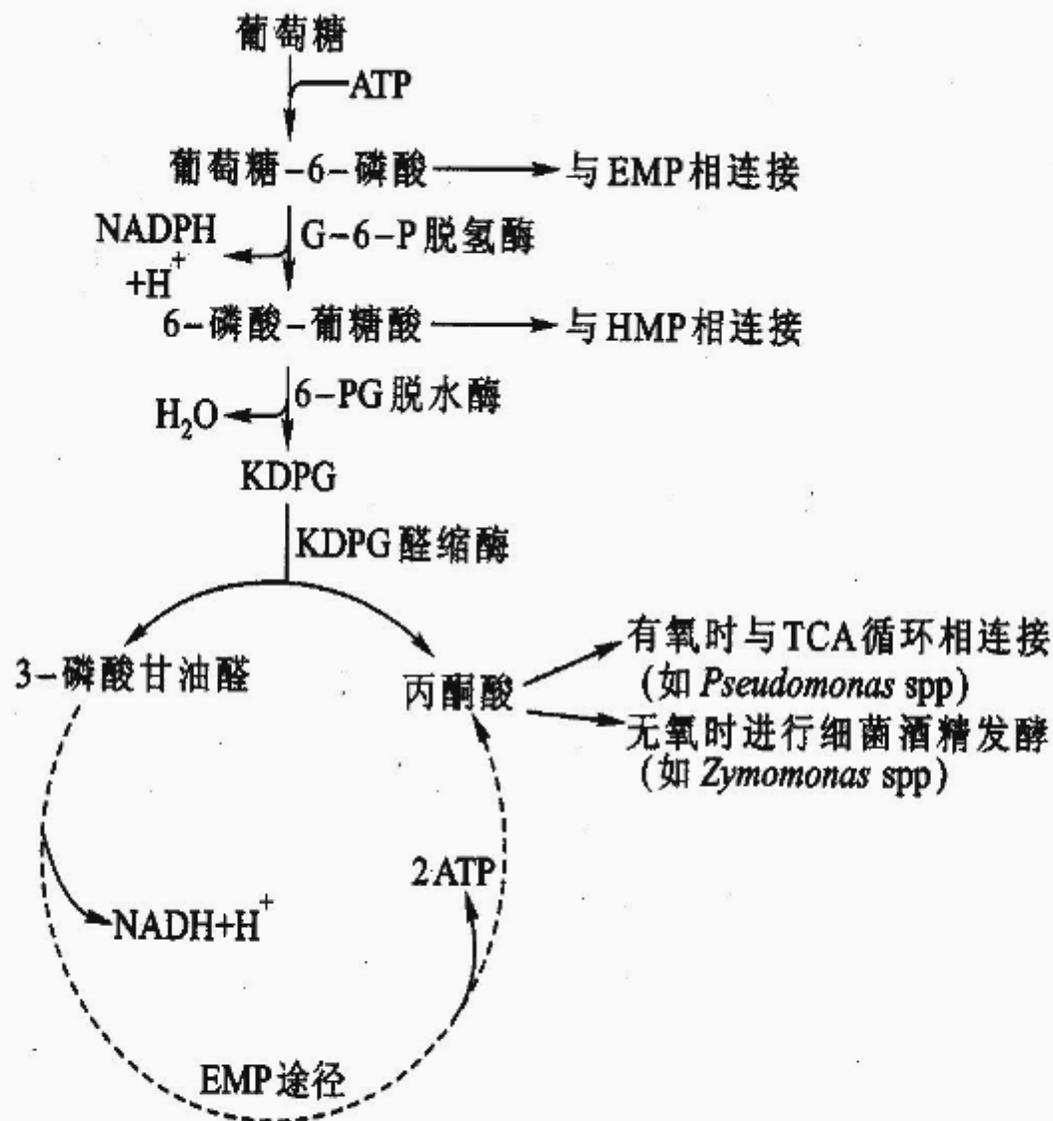


图 5-5 ED 途径的概貌

G-6-P 为葡萄糖-6-磷酸, 6-PG 为 6-磷酸葡萄糖酸

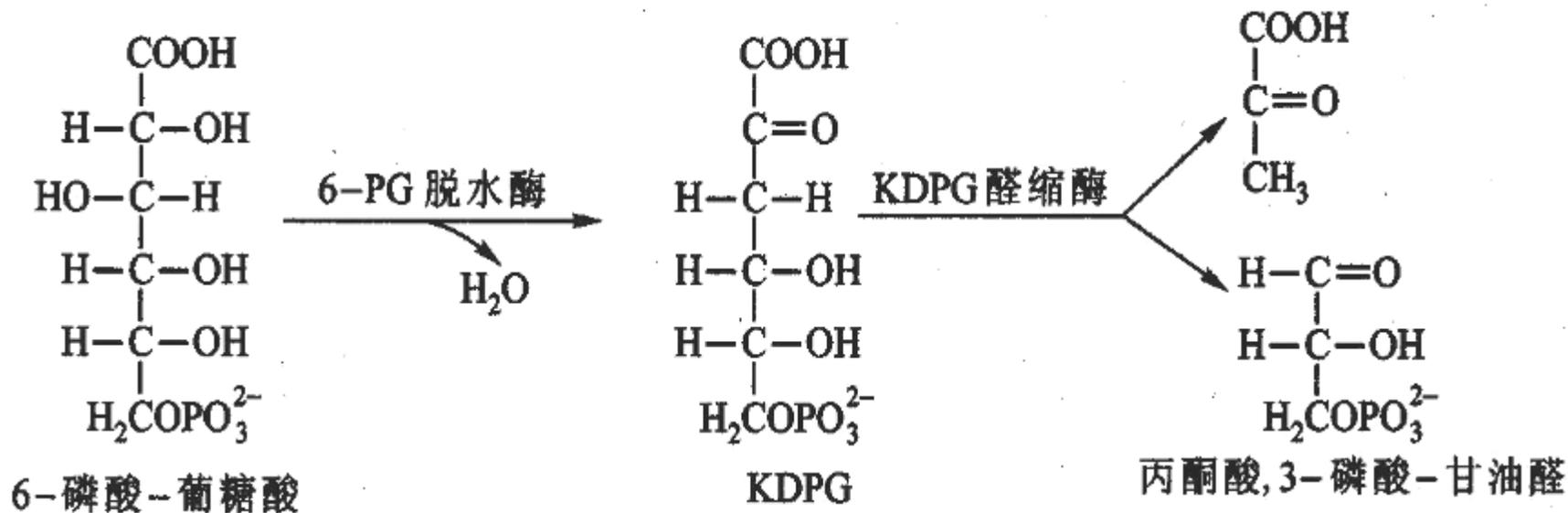


图 5-6 ED 途径中的关键反应——KDPG 的裂解





ED途径的生物意义

ED途径发酵生产乙醇——细菌酒精发酵，不同于酵母菌通过EMP途径形成乙醇的机制。

优点：代谢速率高，产物转化率高，菌体生成少，代谢副产物少，发酵温度高，不必定期供氧等。

缺点：生长PH高（细菌PH5，酵母菌PH3），易染杂菌，对乙醇耐受力低（细菌7%，酵母菌8%~10%）等。





4. TCA循环

即三羧酸循环，又称**Krebs**循环、柠檬酸循环。

场所：线粒体（真核微生物）

细胞质（原核生物）



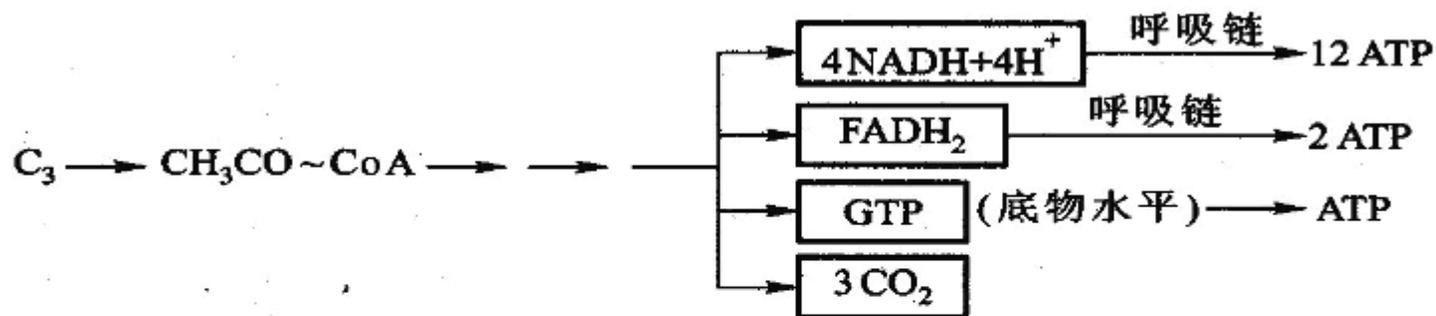
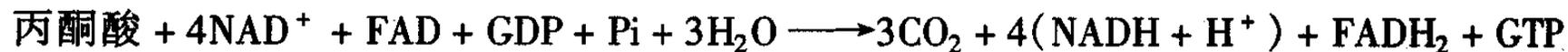
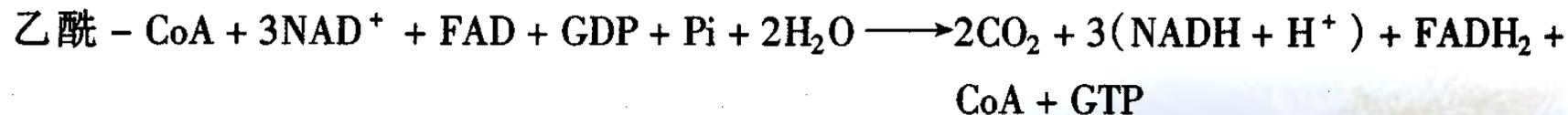


图 5-7 TCA 循环的主要产物

C_3 为丙酮酸, 方框内为终产物



若认为 TCA 循环起始于乙酰 - CoA, 则总反应式为:





反应步骤

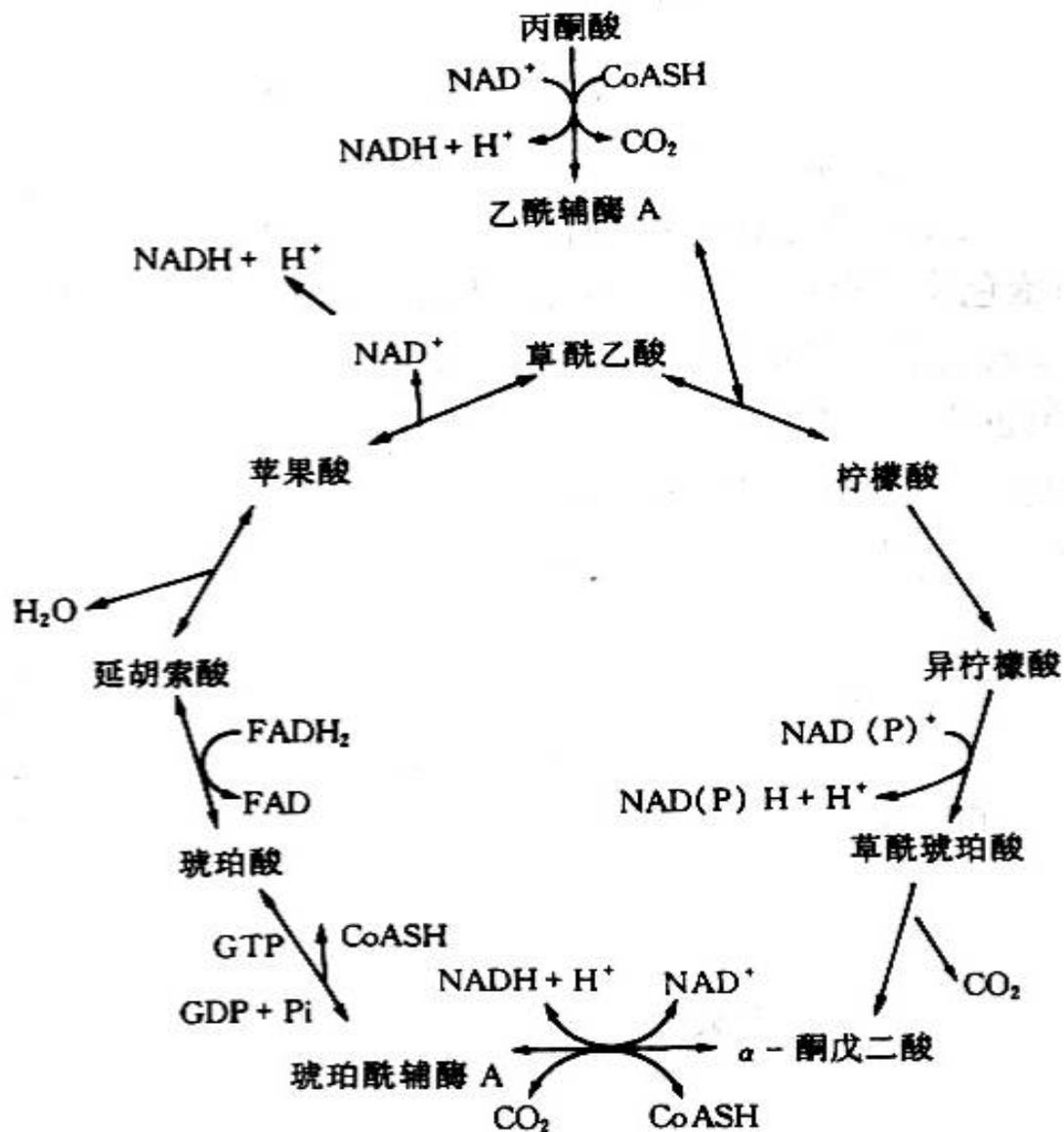


图 5-9 三羧酸循环



TCA循环的生物意义

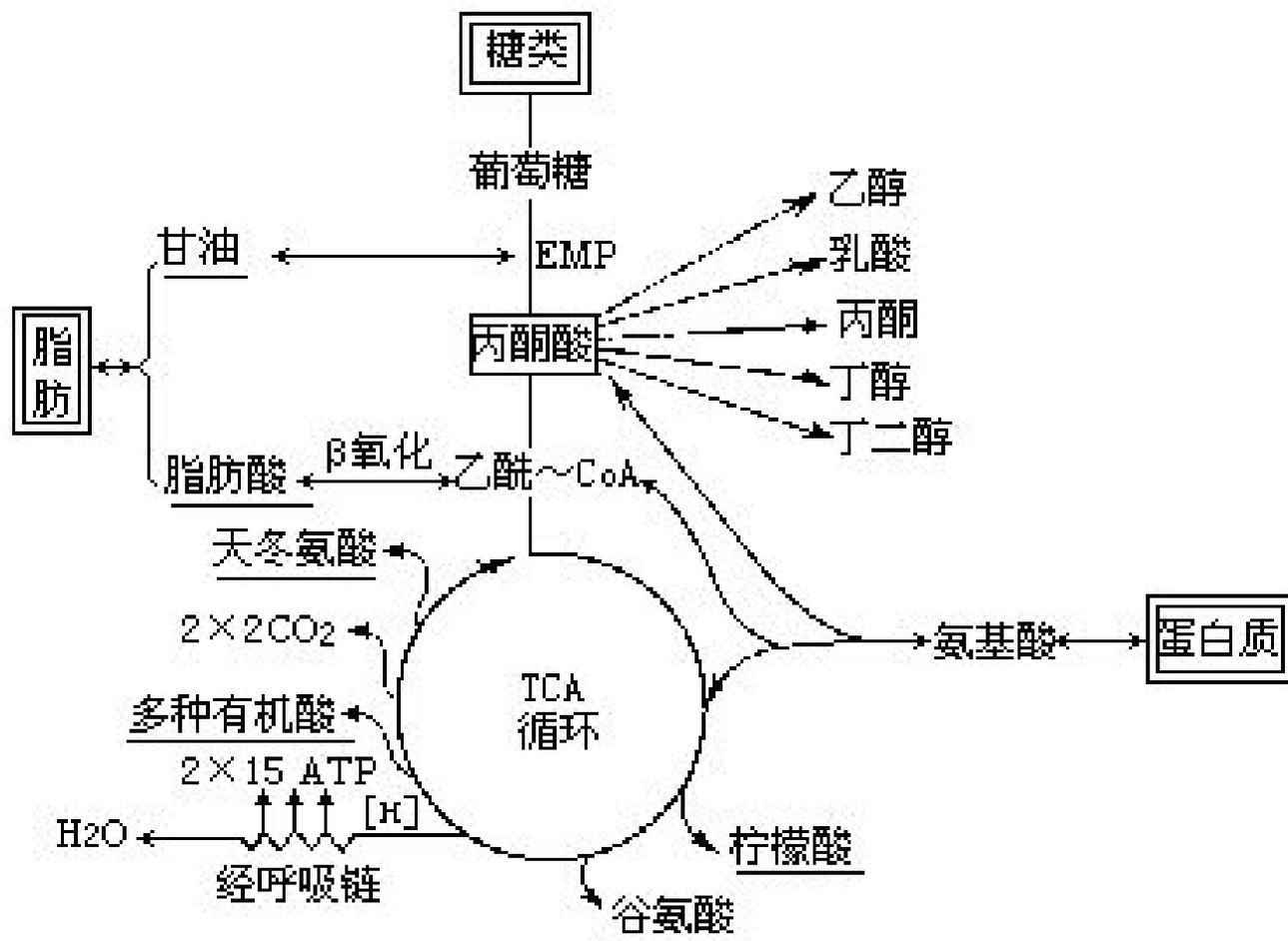


图6-12 三羧酸循环在微生物代谢中的枢纽地位 (双框内为主要营养物, 单框内为重要中间代谢物, 划底线者为微生物发酵产物)



表 6-3 葡萄糖经不同脱氢途径后的产能效率

产能形式	EMP	HMP	ED	EMP+TCA
底物水平 $\left\{ \begin{array}{l} \text{ATP} \\ \text{GTP} \end{array} \right.$	2		1	2 (相当于 2ATP)
$\text{NADH}+\text{H}^+$	2(相当 6ATP)		1(相当 3ATP)	2+8* (相当 30ATP)
$\text{NADPH}+\text{H}^+$		12 (相当 36ATP)	1(相当 3ATP)	
FADH^+				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 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ；

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

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

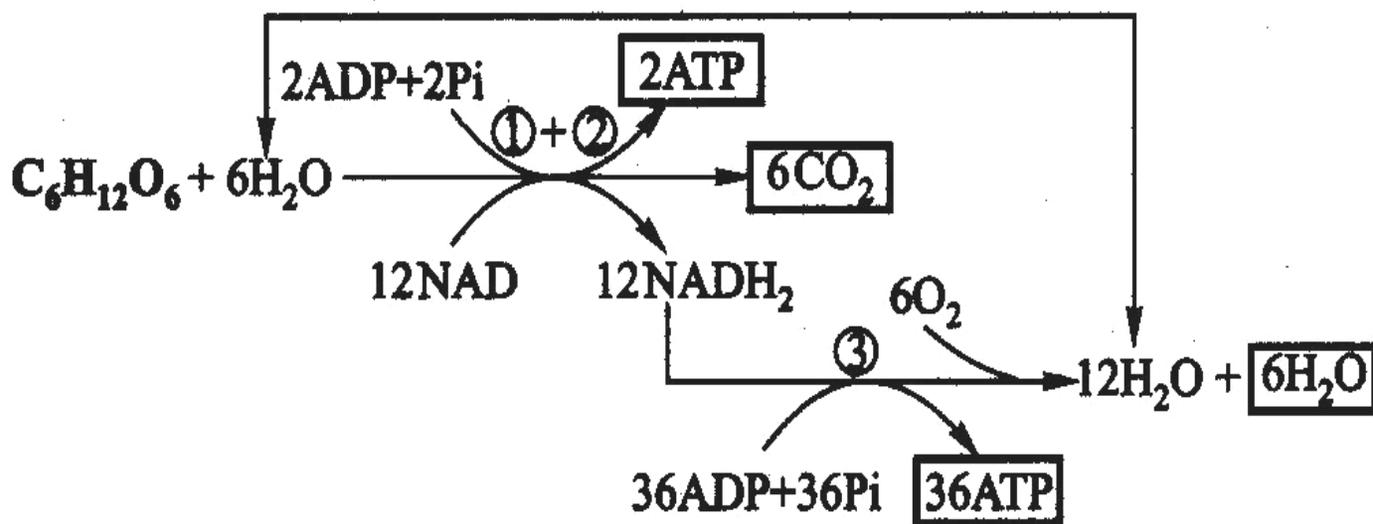


图 5-10 1 分子葡萄糖经 EMP 和 TCA 后产生 38 分子 ATP 的分析

①为 EMP, ②为 TCA, ③为呼吸链; 有方框者为终产物





(二) 递氢和受氢

贮藏在生物体内葡萄糖等有机物中的化学潜能，经过上述4条途径脱氢后，通过呼吸链（电子传递链）等方式传递，最终可与氧、无机物、有机物等氢受体相结合而释放出其中的能量。

生物氧化的3种类型：**呼吸、无氧呼吸和发酵。**



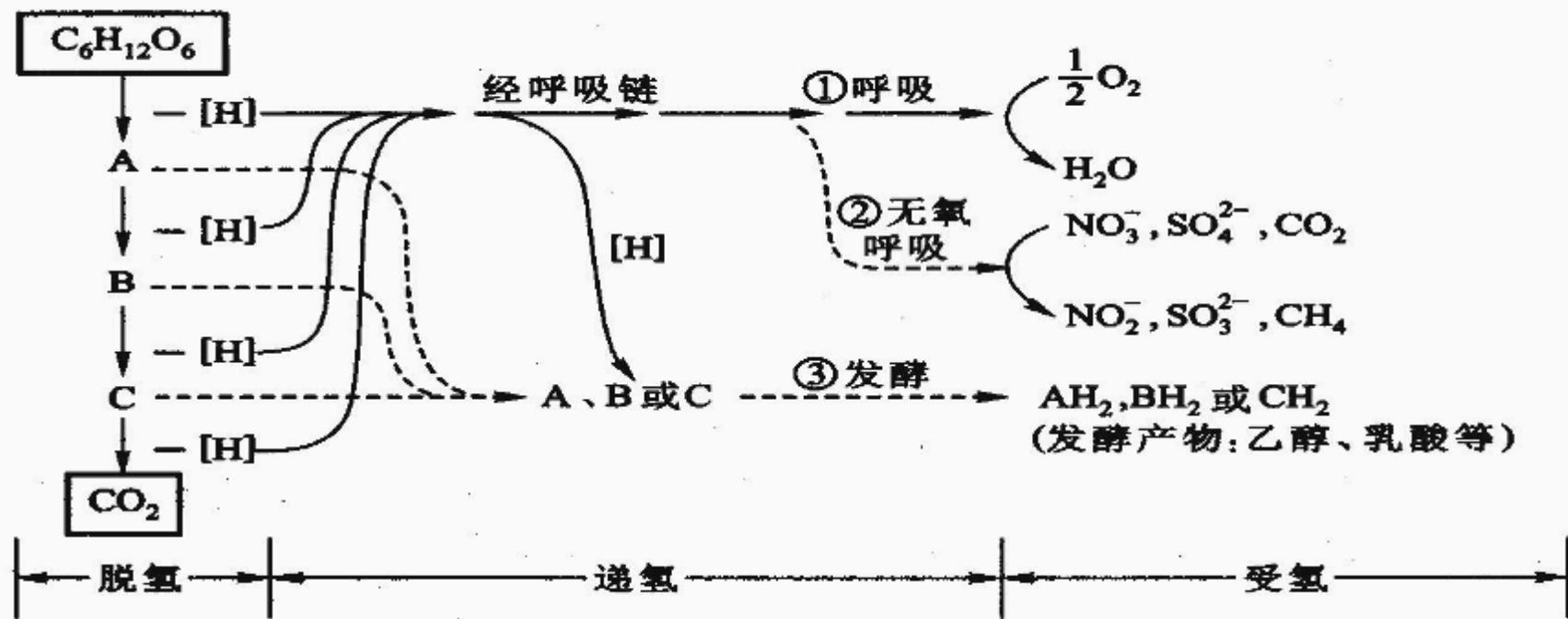


图 5 - 11 呼吸、无氧呼吸和发酵示意图





1. 呼吸 (respiration)

(1) 几个概念

呼吸：底物按常规方式脱氢后，经完整的呼吸链（又称电子传递链）递氢，最终由分子氧接受氢并产生水和释放能量（**ATP**）的过程。由于呼吸必须在有氧的条件下进行，因此又称**有氧呼吸**（**aerobic respiration**）。





呼吸链：指位于原核生物细胞膜上或真核生物线粒体上的由一系列氧化还原势不同的氢传递体（或电子传递体）组成的一组链状传递顺序，它能把氢和电子从低氧化还原势的化合物处传递给高氧化还原势的分子氧或其他无机、有机氧化物，并使它们还原。在氢或电子的传递过程中，通过与氧化磷酸化反应发生偶联，就可产生ATP形式的能量。

氧化磷酸化：又称电子传递链磷酸化，是指呼吸链的递氢（或电子）和受氢过程与磷酸化反应相偶联并产生ATP的作用。递氢、受氢即氧化过程造成了跨膜的质子梯度差即质子动势，进而质子动势再推动ATP酶合成ATP。



(2) 微生物中最重要的呼吸链组分

- ① 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 和烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸 (NADP)
- ② 黄素腺嘌呤 (FAD) 和黄素单核苷酸 (FMN)
- ③ 铁硫蛋白 (Fe-S)
- ④ 泛醌 (辅酶Q) : 传递[H]
- ⑤ 细胞色素系统

(3) 在呼吸链中电子或氢的传递顺序

NAD (P) —FAD—Fe-S—CoQ—Cyt. b—Cyt. c—Cyt. a—Cyt. a₃



典型的呼吸链

呼吸链中有三处能提供合成ATP所需的足够能量；

P/O比的高低表示呼吸链氧化磷酸化效率的高低。

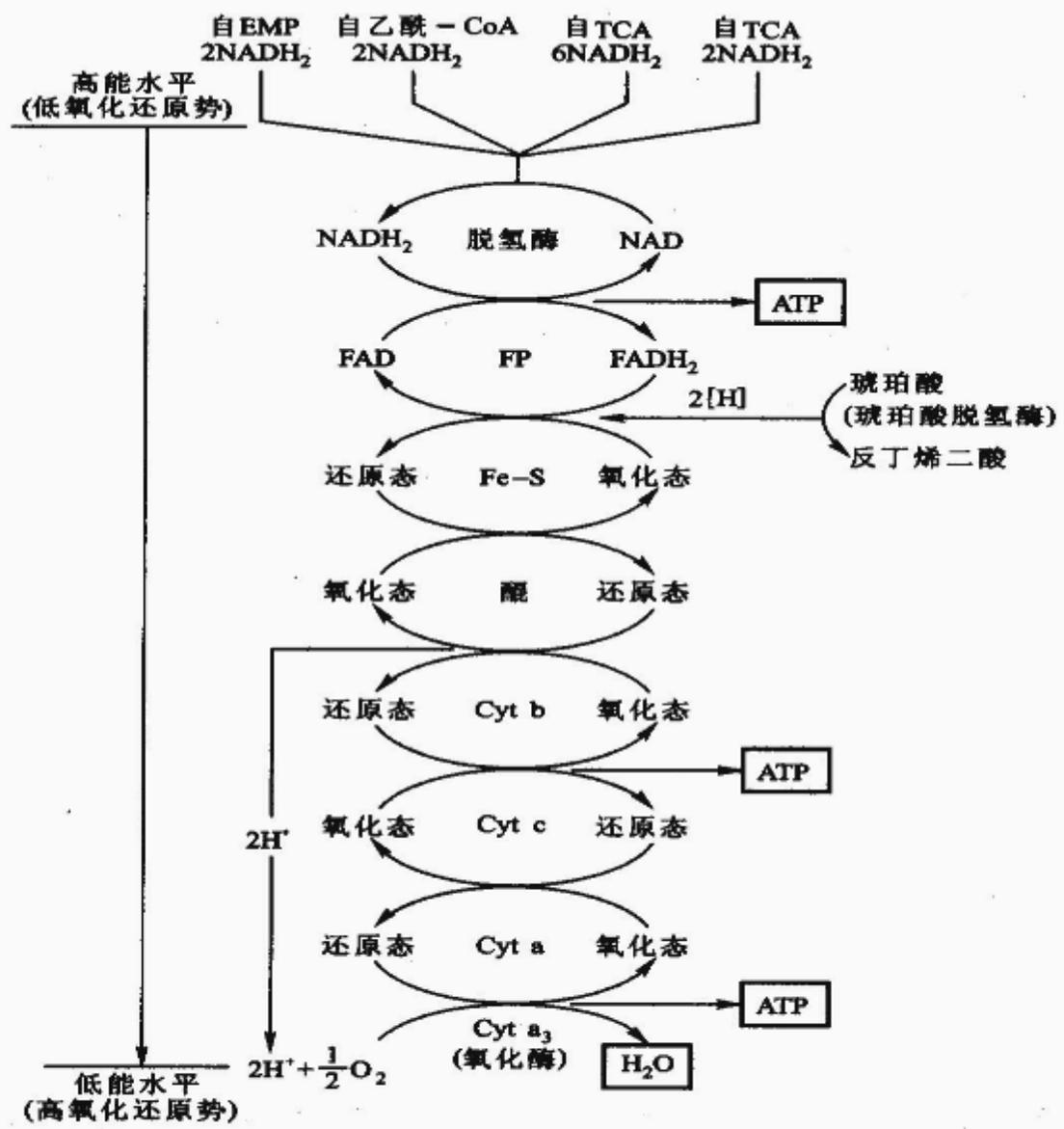


图 5-12 典型的呼吸链

粗线表示氢或电子通路；注意在琥珀酸脱氢酶催化琥珀酸为反丁烯二酸的过程中，由于该酶的辅基是 FAD，故可直接越过 FP 进入呼吸链氧化



(4) 原核微生物细胞膜上的呼吸链与真核微生物的区别

氧还载体的取代性强；氧还载体的数量可增可减；有分支呼吸链存在。

表 6-4 真核生物与原核生物呼吸链的比较

比较项目	真核生物	原核生物
所在部位	线粒体膜	细胞膜
组分可取代性	弱	强
组分的类型	少而稳定	多而变化
受环境影响	小	大
有无分支链	一般无	较普遍
P / O 比	较高 (3)	较低 (< 3)



2. 无氧呼吸 (anaerobic respiration)

(1) 无氧呼吸

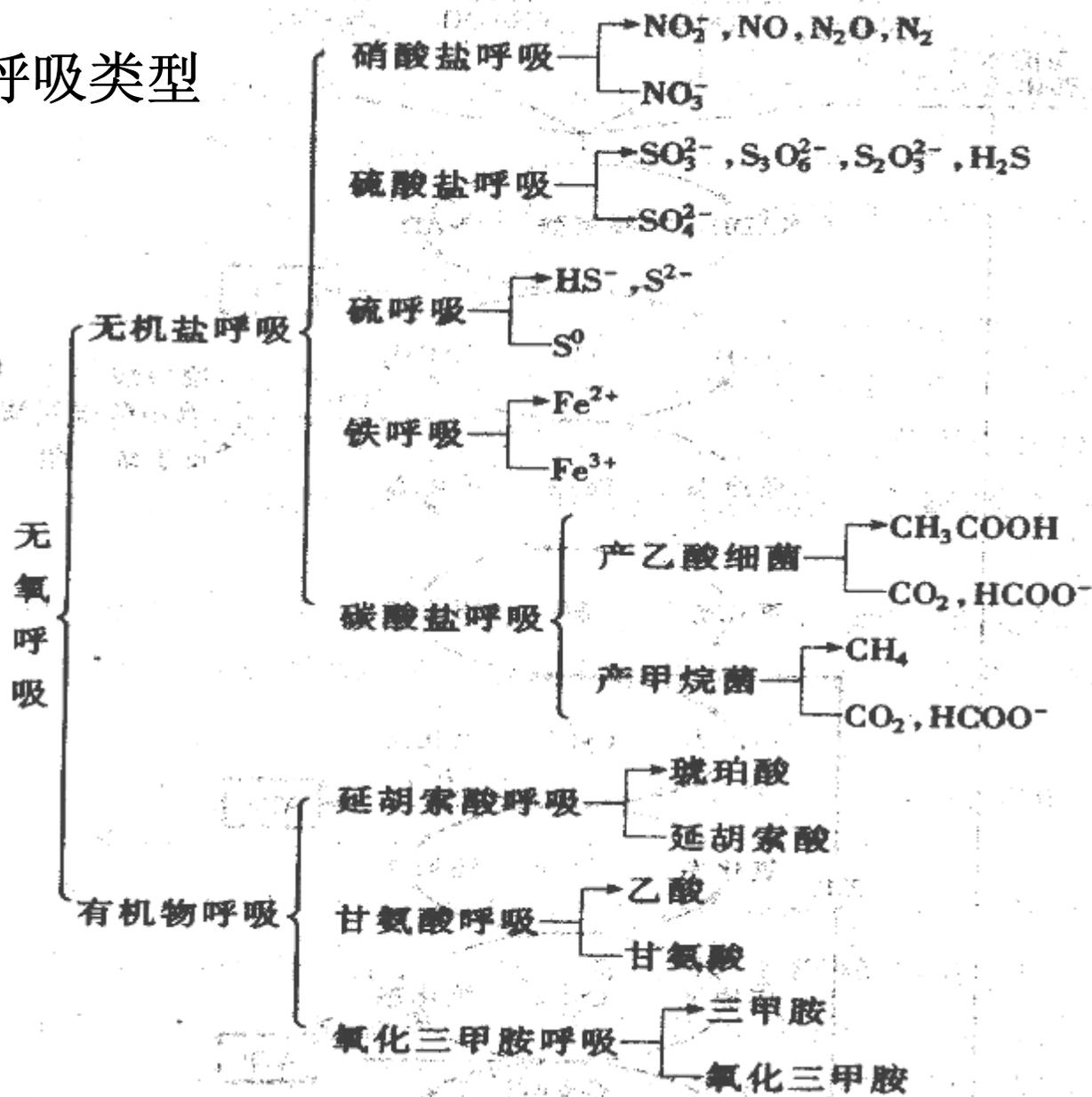
又称厌氧呼吸，是指一类呼吸链末端的氢受体为外源无机氧化物（少数为有机氧化物）的生物氧化，是一种在无氧条件下进行的、产能效率较低的特殊呼吸。

(2) 特点

底物按常规途径脱氢后，**经部分呼吸链**递氢，最终由氧化态的无机物或有机物受氢，并完成氧化磷酸化产能反应。



(3) 无氧呼吸类型





3. 发酵 (fermentation)

发酵：在无氧等外源氢受体的条件下，底物脱氢后所产生的还原力[H] **未经过呼吸链**传递而直接交给某一内源氧化性中间代谢物的一类低效产能反应。

工业上的发酵是指任何利用好氧或厌氧微生物来生产有用代谢物的一类生产方式。





(1) 由EMP途径中丙酮酸出发的发酵

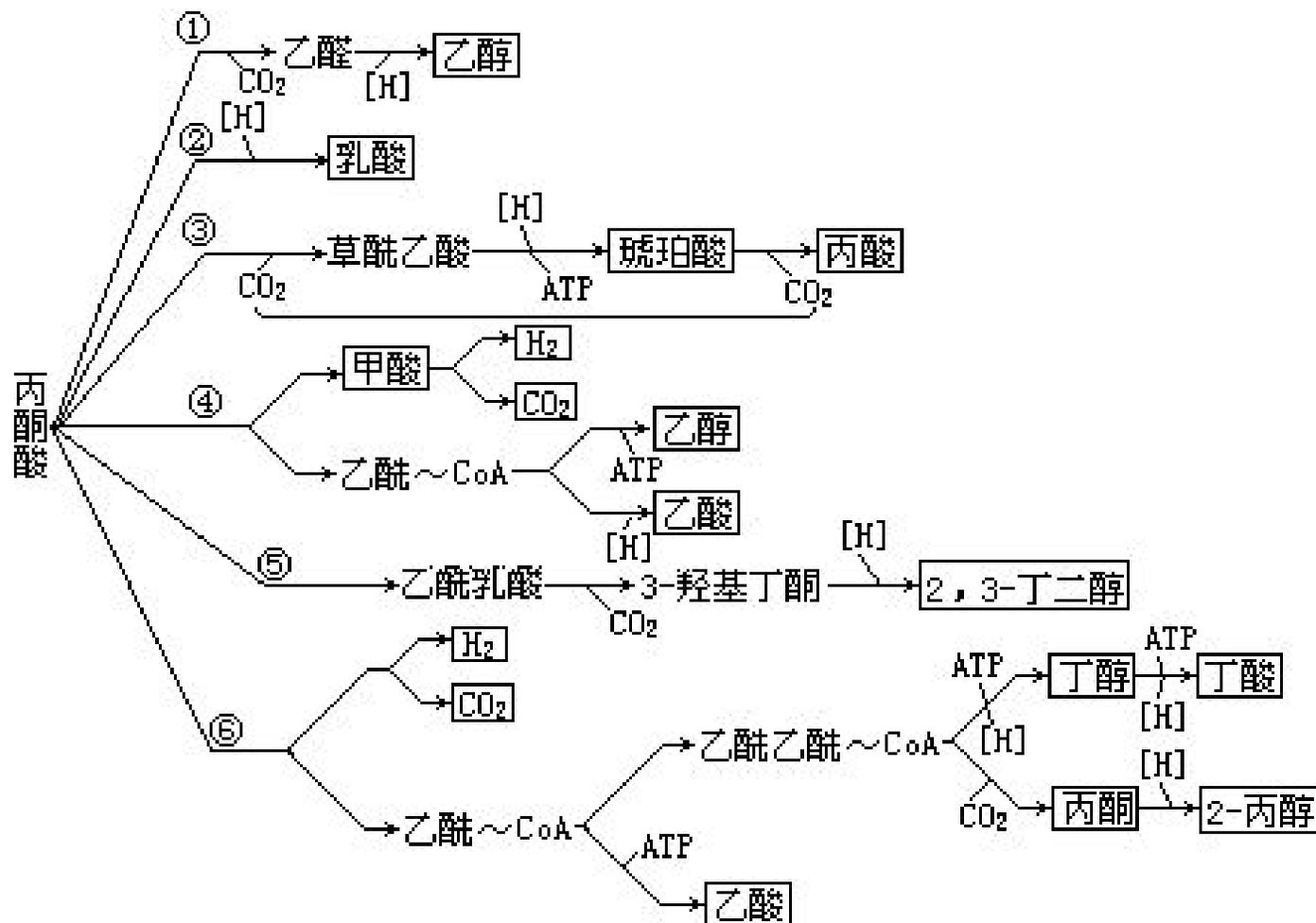


图 6-23 自丙酮酸开始的各种发酵产物(方框内指的是最终发酵产物)



(2) 通过**HMP**途径的发酵—异型乳酸发酵

① 异型乳酸发酵的“经典”途径（下图）

② 异型乳酸发酵的双歧杆菌途径（P117图）



异型乳酸发酵的“经典”途径

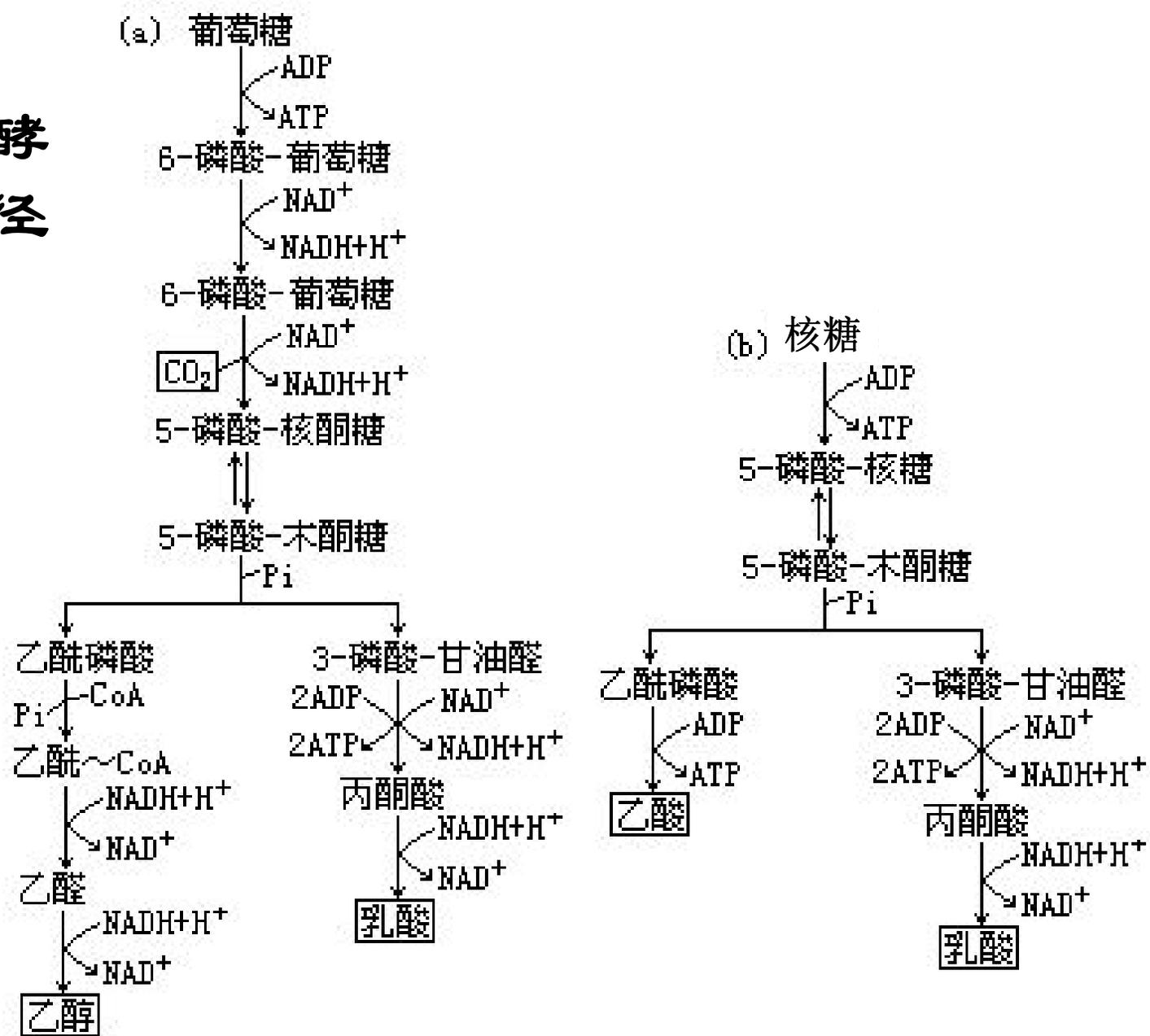


图 6-25 利用葡萄糖 (a) 和核糖 (b) 时的异型乳酸发酵途径 (由甘油醛-3-磷酸至丙酮酸的过程仍沿EMP途径)



表 6-5 同型乳酸发酵与异型乳酸发酵的比较

类型	途径	产物	产能\1 葡萄糖	菌种代表
同型	EMP	2 乳酸	2ATP	Lactobacillusdelbriickii (德氏乳杆菌) Streptococcusfaecalis (粪链球菌)
异型	HMP	1 乳酸 1 乙醇 1CO ₂	1ATP	Leuconostocmesenteroides (肠膜明串珠菌)
		1 乳酸 1 乙酸* 1CO ₂	2ATP	Lactobacillusbrevis (短乳杆菌)

* 由乙酰磷酸与 ADP 反应后直接产生乙酸和 ATP。



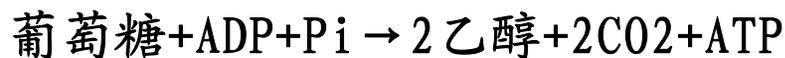
(3) 通过ED途径进行的发酵

酒精发酵三个类型，即通过EMP途径的酵母酒精发酵、通过HMP途径（异型乳酸发酵）的细菌酒精发酵和通过ED途径的细菌酒精发酵。

- ① 酵母的“同型酒精发酵”：由 *Saccharomyces cerevisiae*（酿酒酵母）等通过EMP途径进行。



- ② 细菌的“同型酒精发酵”：由 *Zymomonas mobilis*（运动发酵单胞菌）等通过ED途径进行。



- ③ 细菌的“异型酒精发酵”：由 *Leuconostoc mesenteroides* 等通过HMP途径进行。





(4) 由氨基酸发酵产能—Stickland反应

其产能机制是通过部分氨基酸（如丙氨酸等）的氧化与另一些氨基酸（如甘氨酸等）的还原相偶联的发酵方式。这种以一种氨基酸作氢供体和以另一种氨基酸作氢受体而产能的独特发酵类型，称为**Stickland**反应。**Stickland**反应的产能效率很低，每分子氨基酸仅产1个**ATP**。



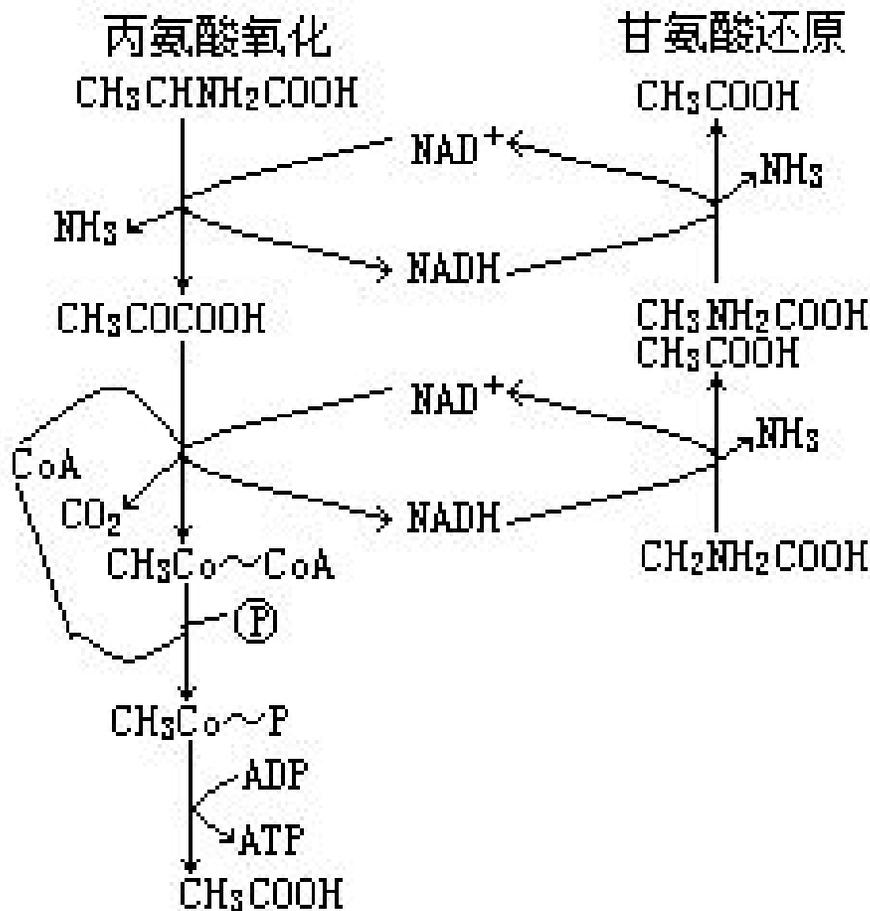
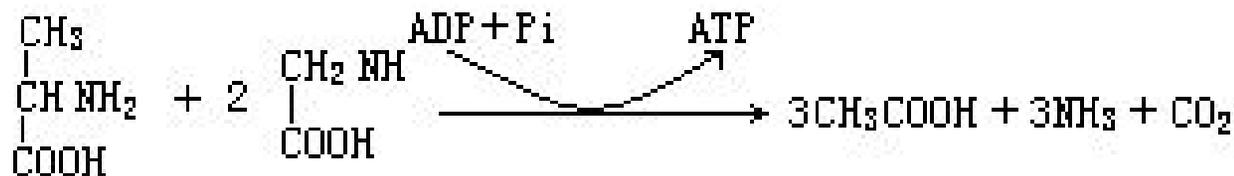


图 6-28 Stickland反应的机制 (其中1分子丙氨酸作为氢供体, 2分子甘氨酸作为氢受体)



(5) 发酵中的产能反应

产能效率低。

底物水平磷酸化可形成多种含高能磷酸键的产物。





二、自养微生物产ATP和产还原力

自养微生物是以无机物为氢供体、以 CO_2 为基本碳源的营养类型。

自养微生物按其最初能源的不同可分两大类：**化能自养型微生物**和**光能自养型微生物**。

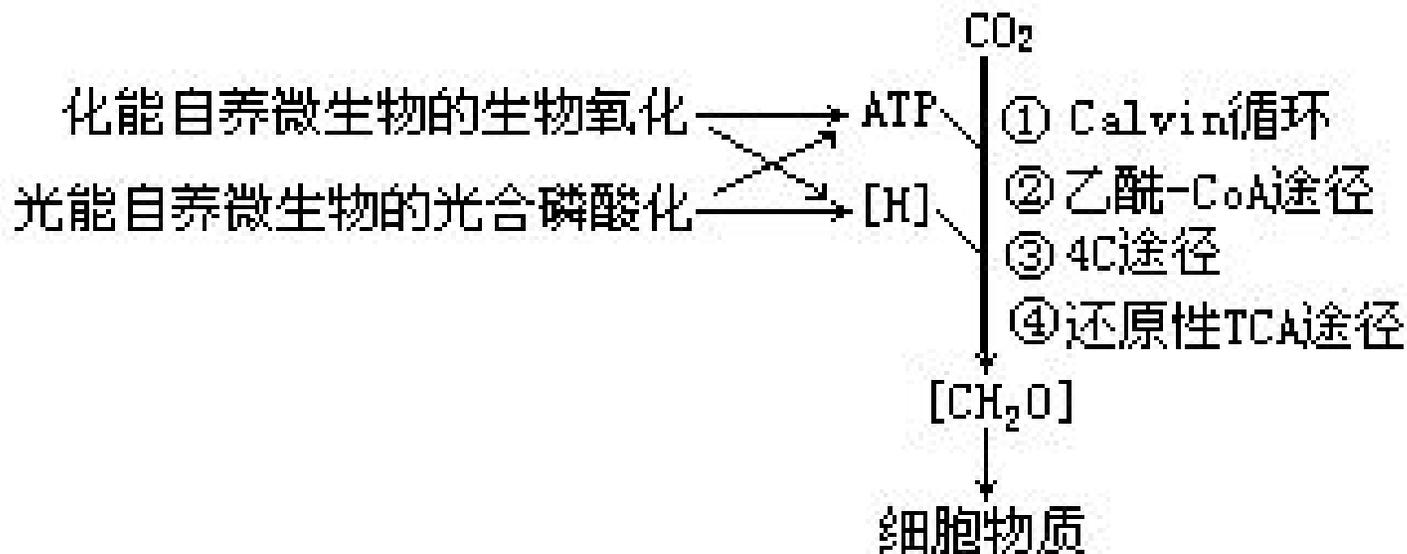


图 6-29 两类自养微生物同化 CO_2 的条件和途径



(一) 化能自养微生物

化能自养微生物：还原 CO_2 所需要的 **ATP**和**[H]**是通过氧化无机底物而获得，其产能途径主要也是借助于经过呼吸链的氧化磷酸化反应，因此化能自养菌一般都是**好氧菌**。

特点：①无机底物的氧化直接与呼吸链发生联系。由脱氢酶或氧化还原酶催化的无机底物脱氢或脱电子后，直接进入呼吸链传递。这与异养微生物葡萄糖氧化要经过EMP和TCA等途径的复杂代谢过程不同。

②呼吸链组分更为多样化，氢或电子可从任一组分进入呼吸链。

③产能效率即 P/O 比一般要比异养微生物更低。

举例：硝化细菌



(二) 光能自养微生物

自然界中，能进行光能营养的生物及其光合作用特点：

光能营养型生物 {
 产氧 { 真核生物：藻类及其他绿色植物
 原核生物：蓝细菌
 不产氧(仅原核生物有)：光合细菌





1. 循环光合磷酸化

代表：光合细菌

特点：不产氧光合作用——**菌绿素**

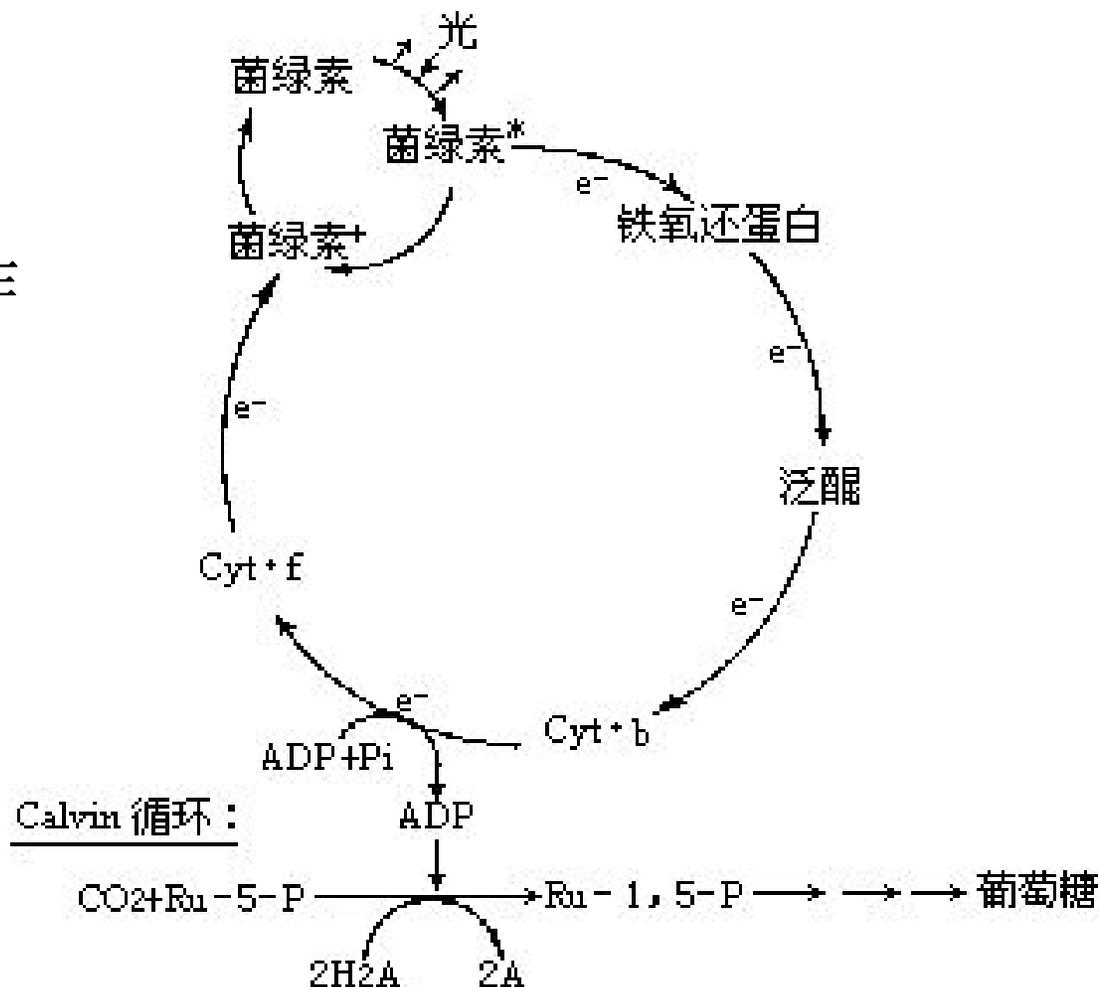


图6-33 光合细菌的不产氧光合作用——循环光合磷酸化

(Ru-5-P为核酮糖-5-磷酸，Ru-1,5-P为核酮糖-1,5-二磷酸， H_2A 为硫化氢等无机氢供体，菌绿素*表示激发态的菌绿素)



2. 非循环光合磷酸化

代表：各种绿色植物、藻类和蓝细菌

特点：产氧光合作用——**叶绿素**

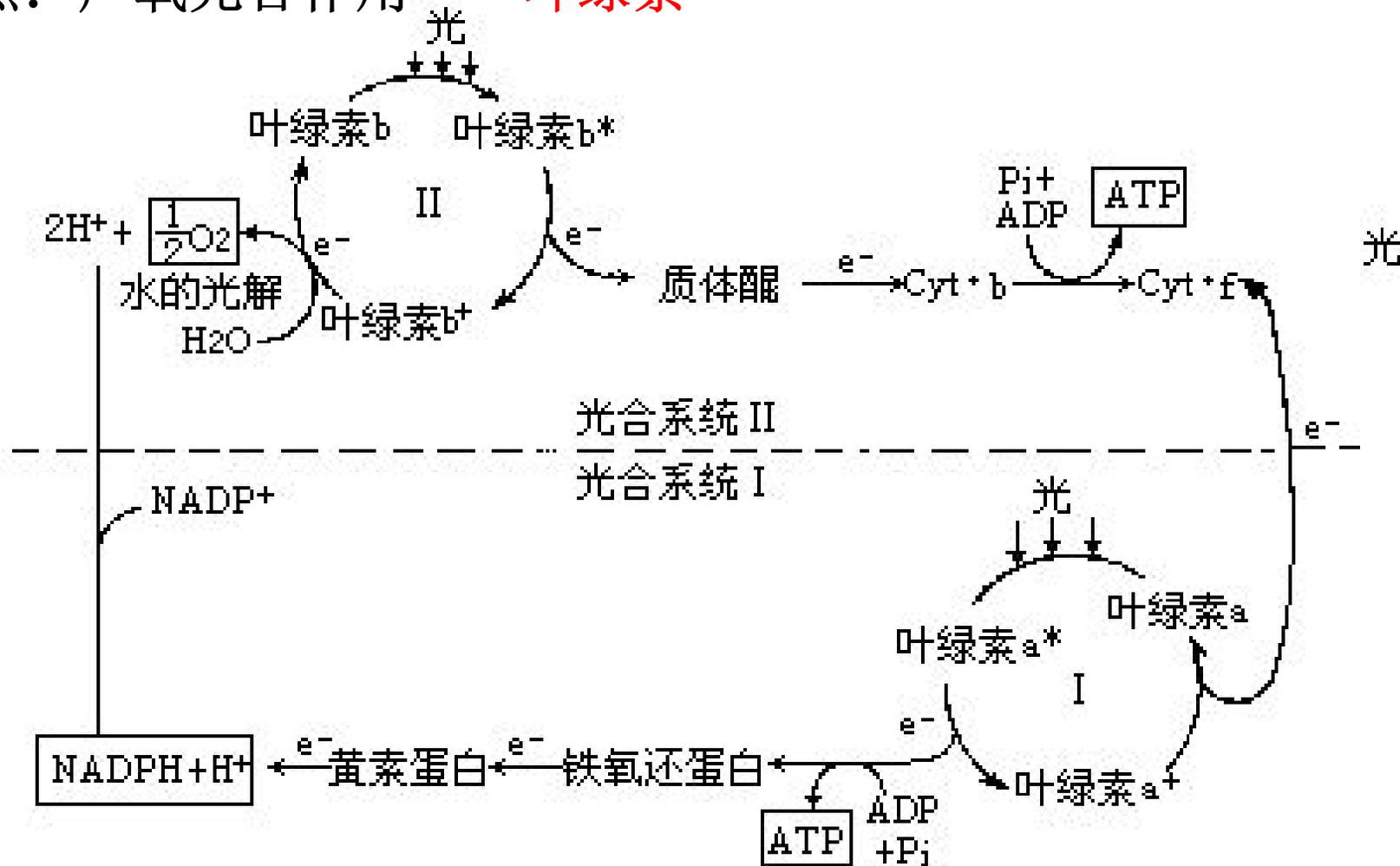


图6-34 绿色植物、藻类和蓝细菌的产氧光合作用——非循环光合磷酸化 (叶绿素b*表示激发态的叶绿素b)



3. 嗜盐菌紫膜的光介导ATP合成

代表：嗜盐菌

特点：紫膜光合磷酸化 —— 视紫红质

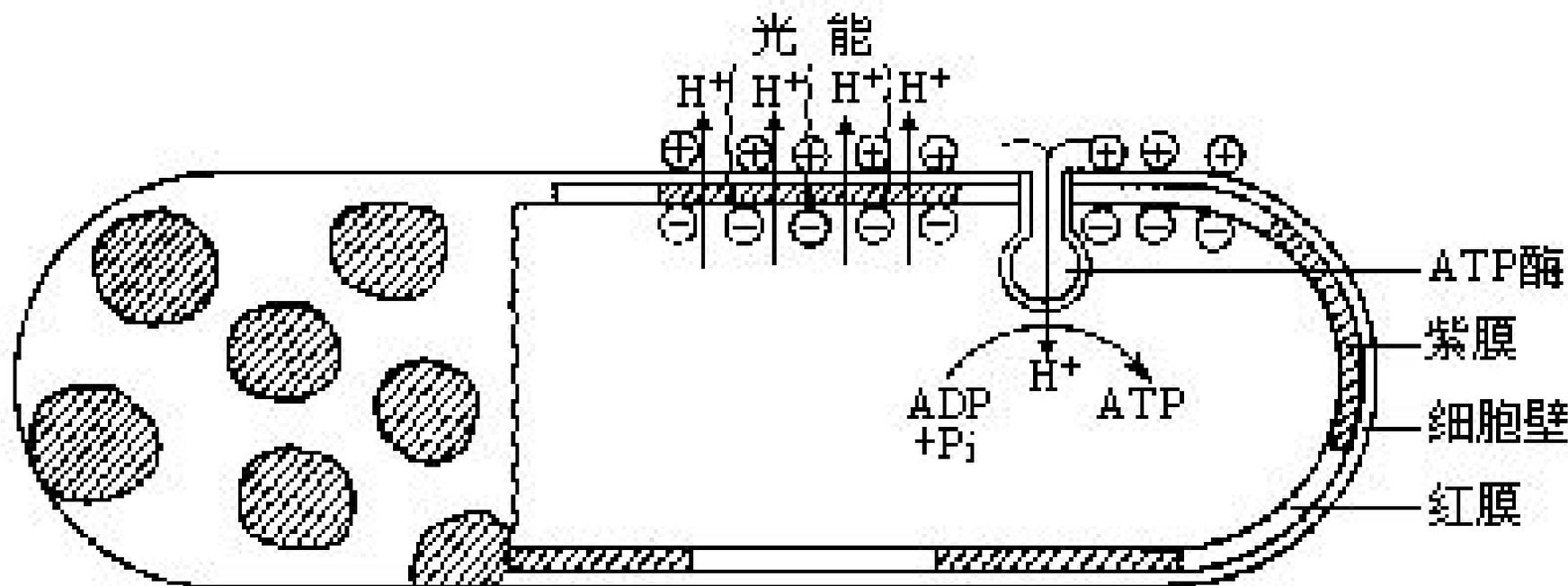


图6-35 嗜盐菌的紫膜及其光合磷酸化示意图



表 6-6 四种微生物在不同光照和氧下的 ATP 合成

微生物	ATP 的合成			
	有 O ₂		无 O ₂	
	光 照	黑 暗	光 照	黑 暗
光合细菌	-	-	+	-
绿 藻	+	-	-	-
兼性厌氧菌 (E. coli)	+	+	+	+
H. Halobium	+	+	+	-





第二节 分解代谢和合成代谢的联系

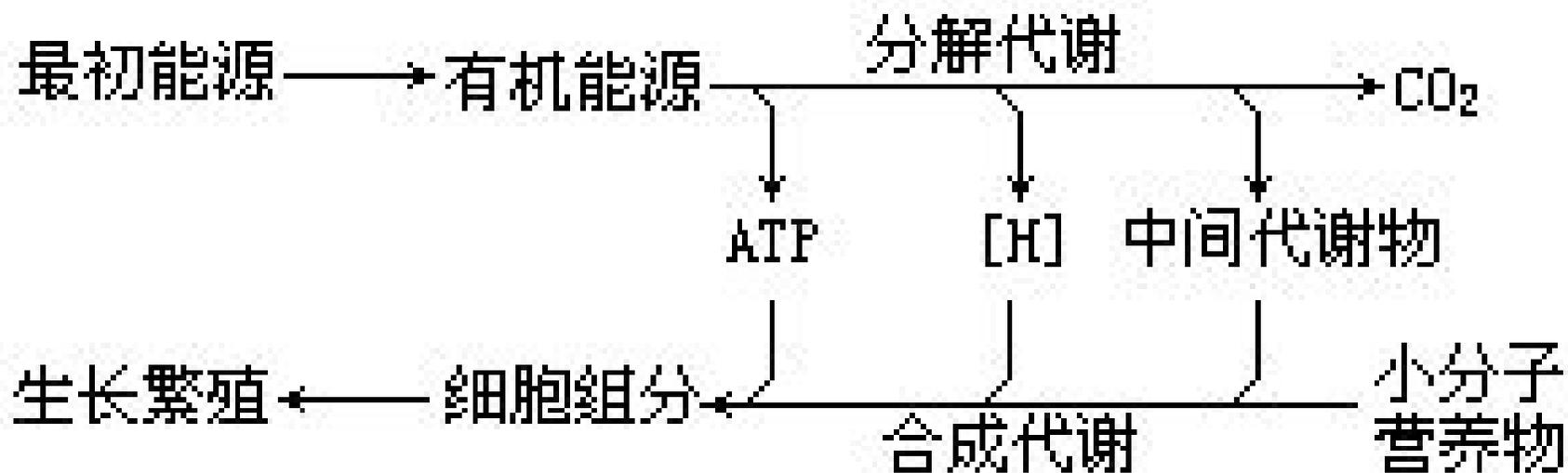


图 6-39 分解代谢与合成代谢间的联系简图



一、两用代谢途径

两用代谢途径（amphibolic pathway）：

凡在分解代谢和合成代谢中具有双重功能的途径，就称两用代谢途径。

举例：**EMP**、**HMP**和**TCA**循环等





二、代谢物回补顺序

代谢物回补顺序 (anaplerotic sequence)

指能补充兼用代谢途径中因合成代谢而消耗的中间代谢物的反应。

举例：乙醛酸循环 (**glyoxylate cycle**)



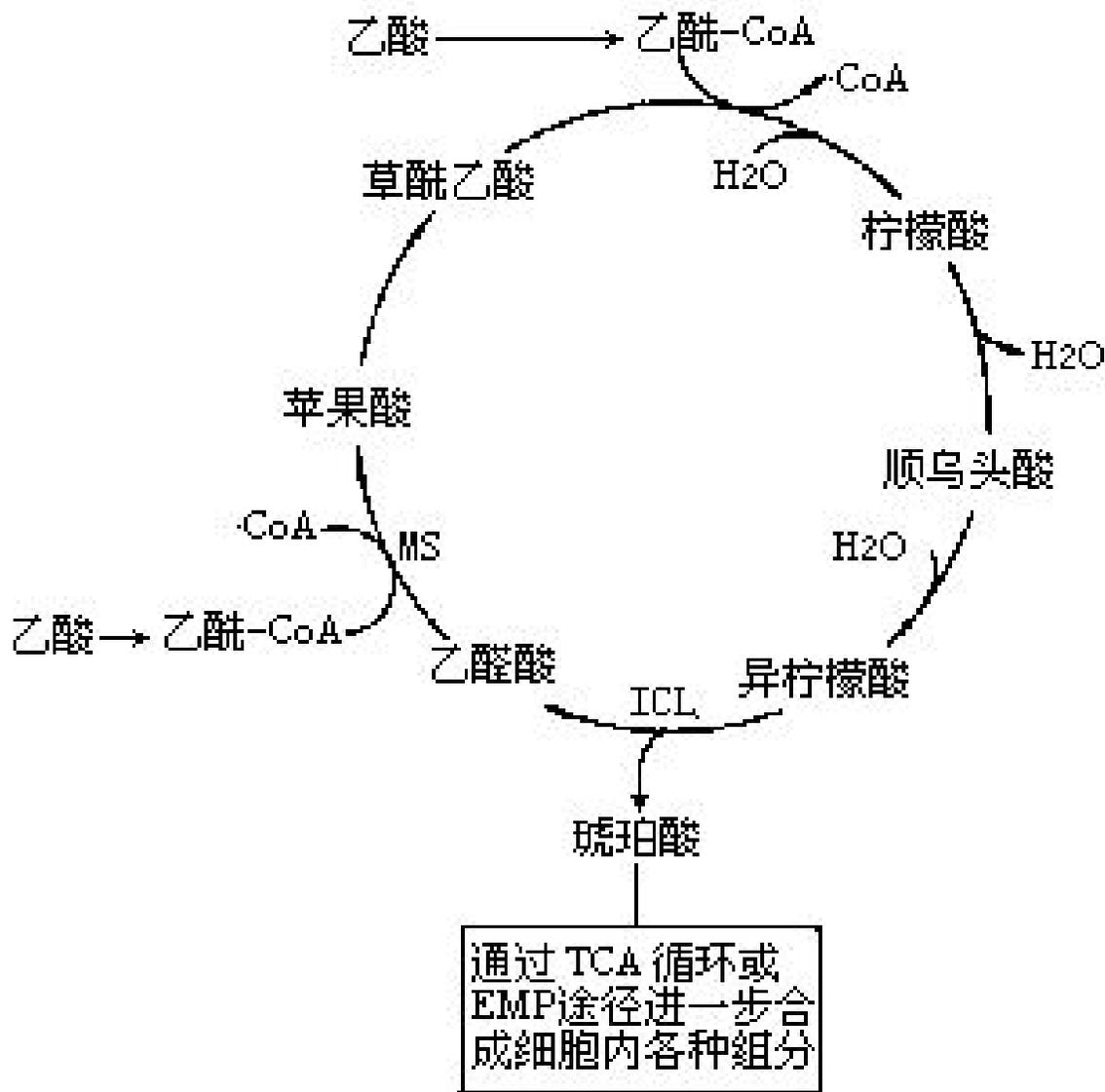


图6-40 乙醛酸循环 (MS为苹果酸合酶; ICL为异柠檬酸裂合酶)



第三节 微生物独特合成代谢途径 举例





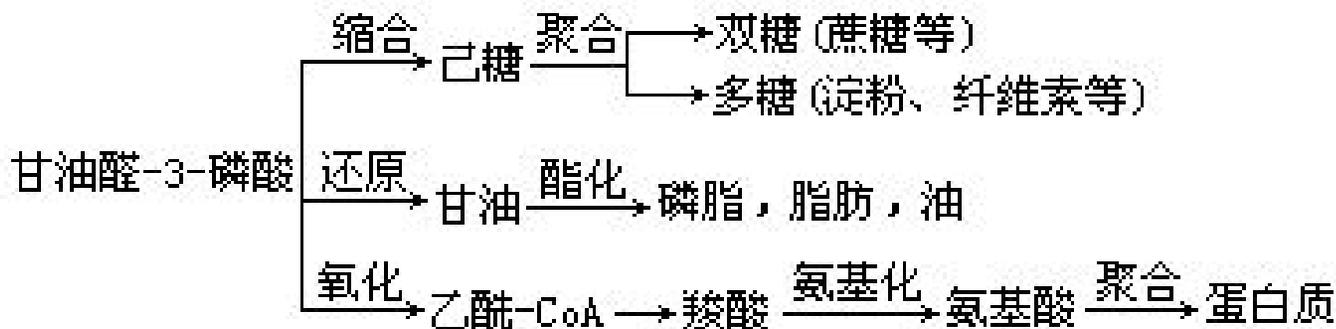
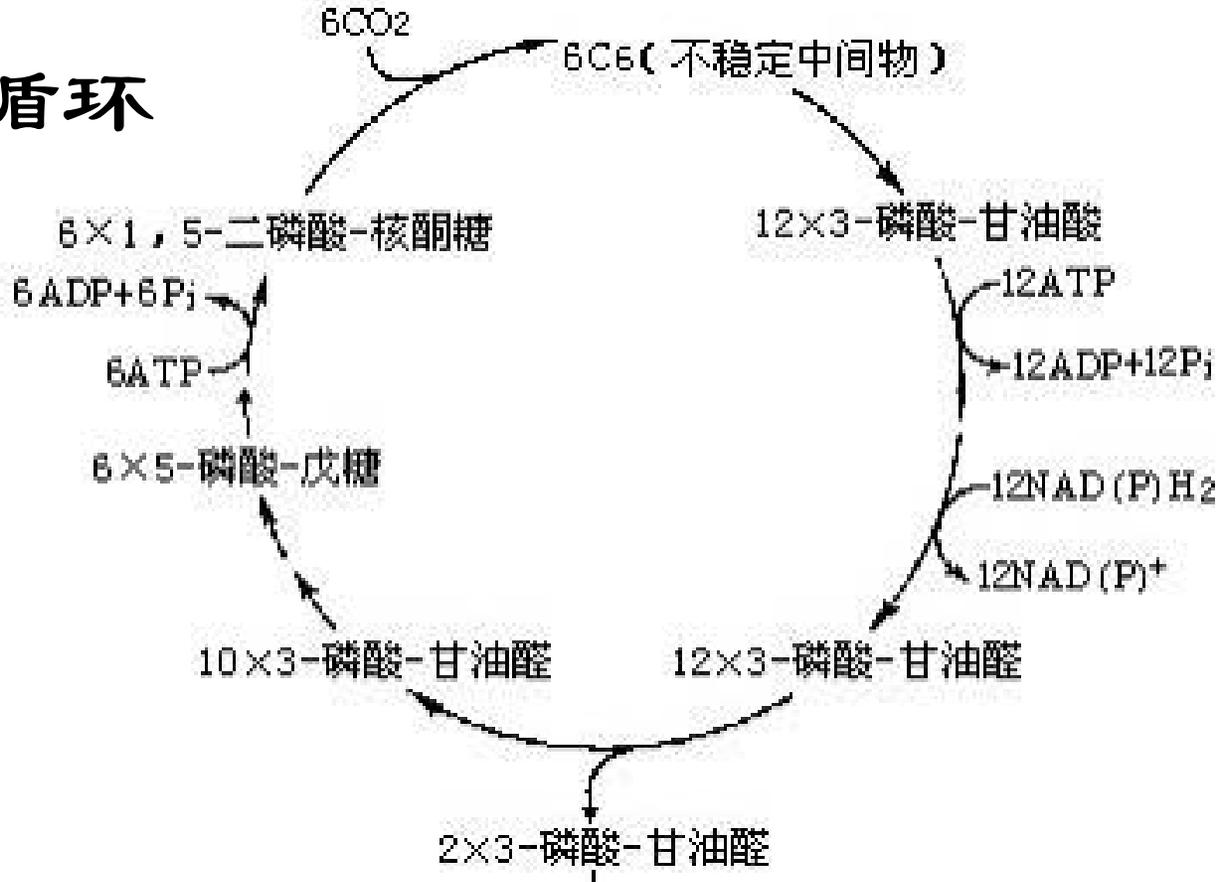
一、自养微生物的CO₂固定

- **Calvin**循环 (Calvin cycle)
- 厌氧乙酰-CoA途径 (anaerobic acetyl-CoA pathway)
- 逆向**TCA**循环 (reverse TCA cycle)
- 羟基丙酸途径 (hydroxypropionate pathway)





Calvin循环



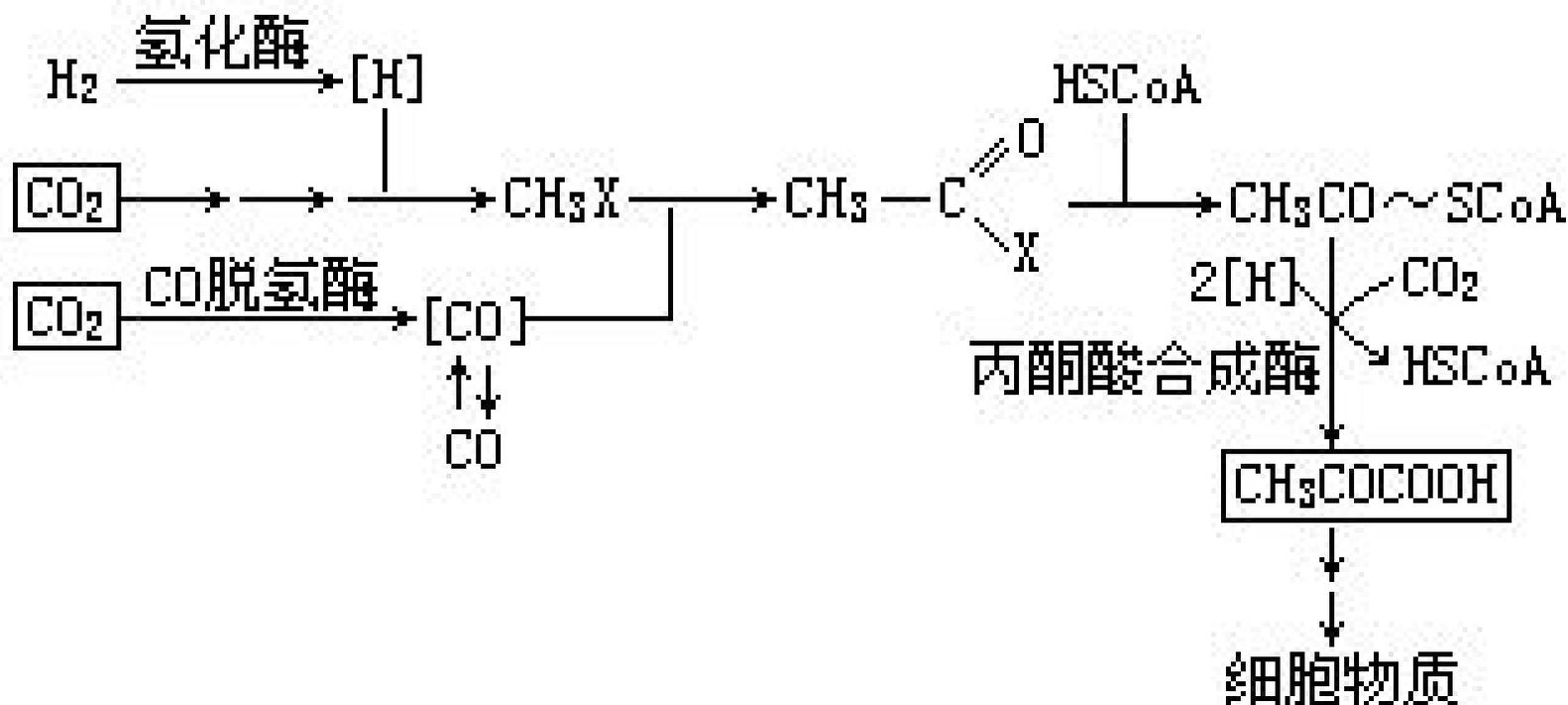


图 6-38 还原的厌氧乙酰-辅酶A途径





二、生物固氮 (biological nitrogen fixation)

(一) 固氮微生物

(**nitrogen-fixing organisms, diazotrophs**)

- ① 自生固氮菌：固氮菌科
- ② 共生固氮菌：根瘤菌科
- ③ 联合固氮菌





(二) 固氮的生化机制

1. 生物固氮反应的6要素

① ATP的供应：固定1molN₂约要消耗10~15molATP

② 还原力[H]及其传递载体

③ 固氮酶：固二氮酶（组分I）和固二氮酶还原酶（组分II）

④ 还原底物——N₂

⑤ 镁离子

⑥ 严格的厌氧微环境

2. 测定固氮酶活力的乙炔还原法

3. 固氮的生化途径：



4. 固氮酶的产氢反应：在有N₂条件下，固氮酶也总是只把75%的还原力[H]去还原N₂，而把另外25%的[H]以形成H₂的方式浪费掉了。



(三) 好氧菌固氮酶避氧害机制

1. 好氧性自生固氮菌的抗氧保护机制

呼吸保护、构象保护（耐氧蛋白）

2. 蓝细菌固氮酶的抗氧保护机制

异形胞、时间差（白天光合夜晚固氮）

3. 豆科植物根瘤菌固氮酶的抗氧保护机制

根瘤菌以只能生长不能分裂的类菌体（bacteroids）形式存在于豆科植物的根瘤中。豆血红蛋白就像一种缓冲剂，可在根瘤中调节氧的浓度，使它稳定在对固氮酶最合适的范围内。



三、微生物结构大分子——肽聚糖的生物合成

微生物所特有的结构大分子的种类很多，例如原核生物中的肽聚糖、磷壁酸、脂多糖以及各种荚膜成分等，真核生物中的葡聚糖、甘聚糖、纤维素和几丁质等。

肽聚糖是绝大多数原核生物细胞壁所含有的独特成分；是许多重要抗生素例如青霉素、头孢霉素、万古霉素、环丝氨酸（恶唑霉素）和杆菌肽等呈现其选择毒力的物质基础。

肽聚糖的合成机制复杂，并在细胞膜外进行最终装配步骤。



肽聚糖合成三阶段

- 在细胞质中的合成: Park核苷酸
- 在细胞膜中的合成: 细菌萜醇运送
- 在细胞膜外的合成: 转糖基作用、转肽作用 (青霉素抑制)

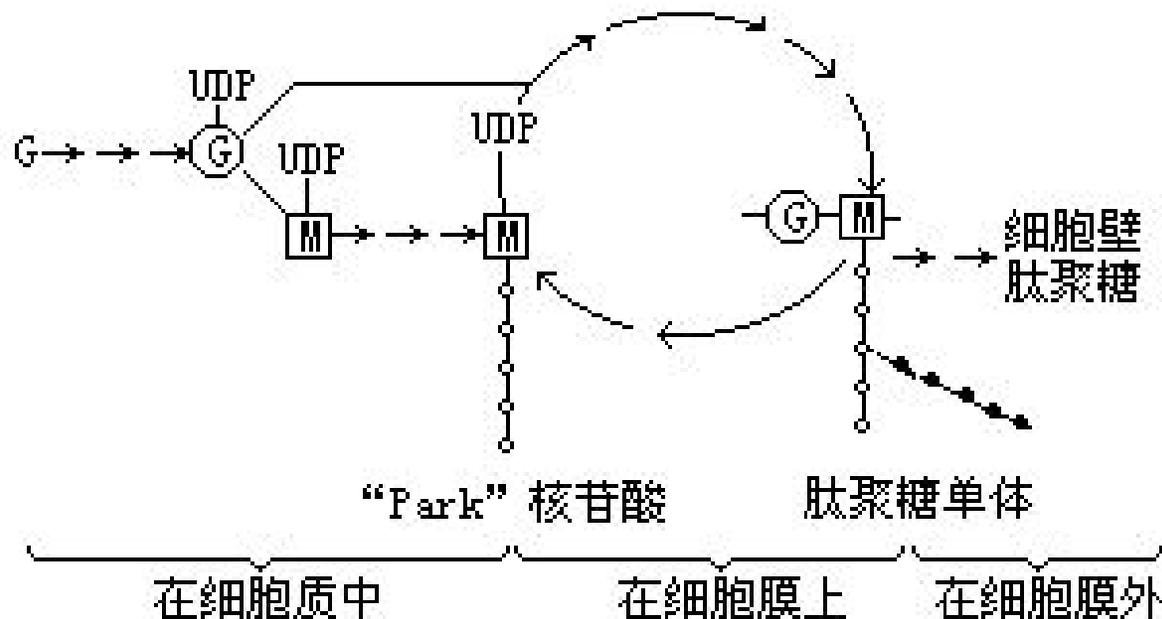


图 6-44 肽聚糖合成的三个阶段及其主要中间代谢物 (G为葡萄糖, ⊕为N-乙酰葡萄糖胺, ⊞为N-乙酰胞壁酸, “Park”核苷酸即UDP-N-乙酰胞壁酸五肽)

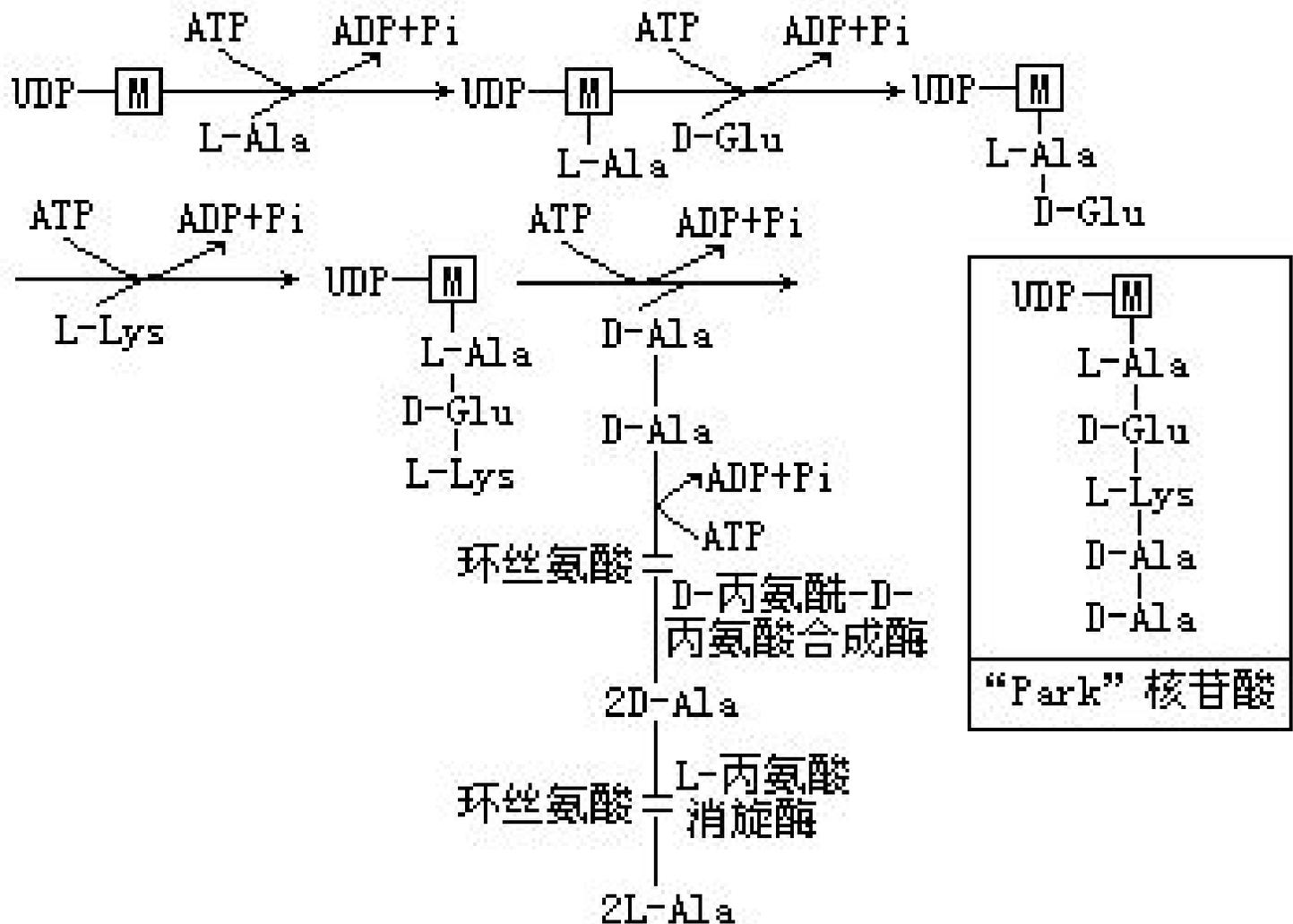


图 6-45 金黄色葡萄球菌由N-乙酰胞壁酸合成“Park”核苷酸的过程。图中的 \square 表示N-乙酰胞壁酸；在大肠杆菌中，L-lys被mDAP所代替

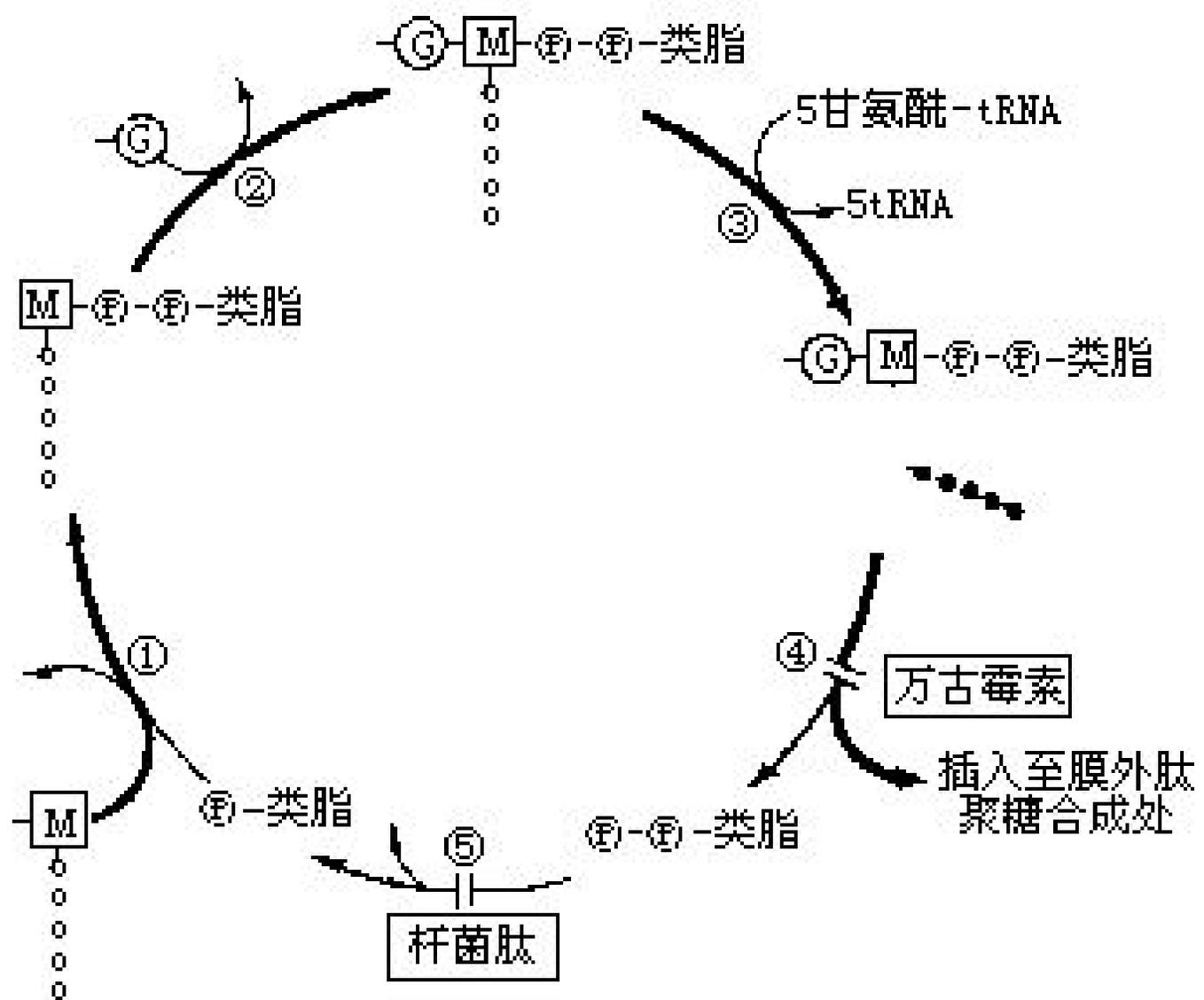


图6-46 在细胞膜上进行的由“Park”核苷酸合成肽聚糖单体（“类脂”即类脂载体；反应④与⑤可分别被万古霉素和杆菌肽所抑制）

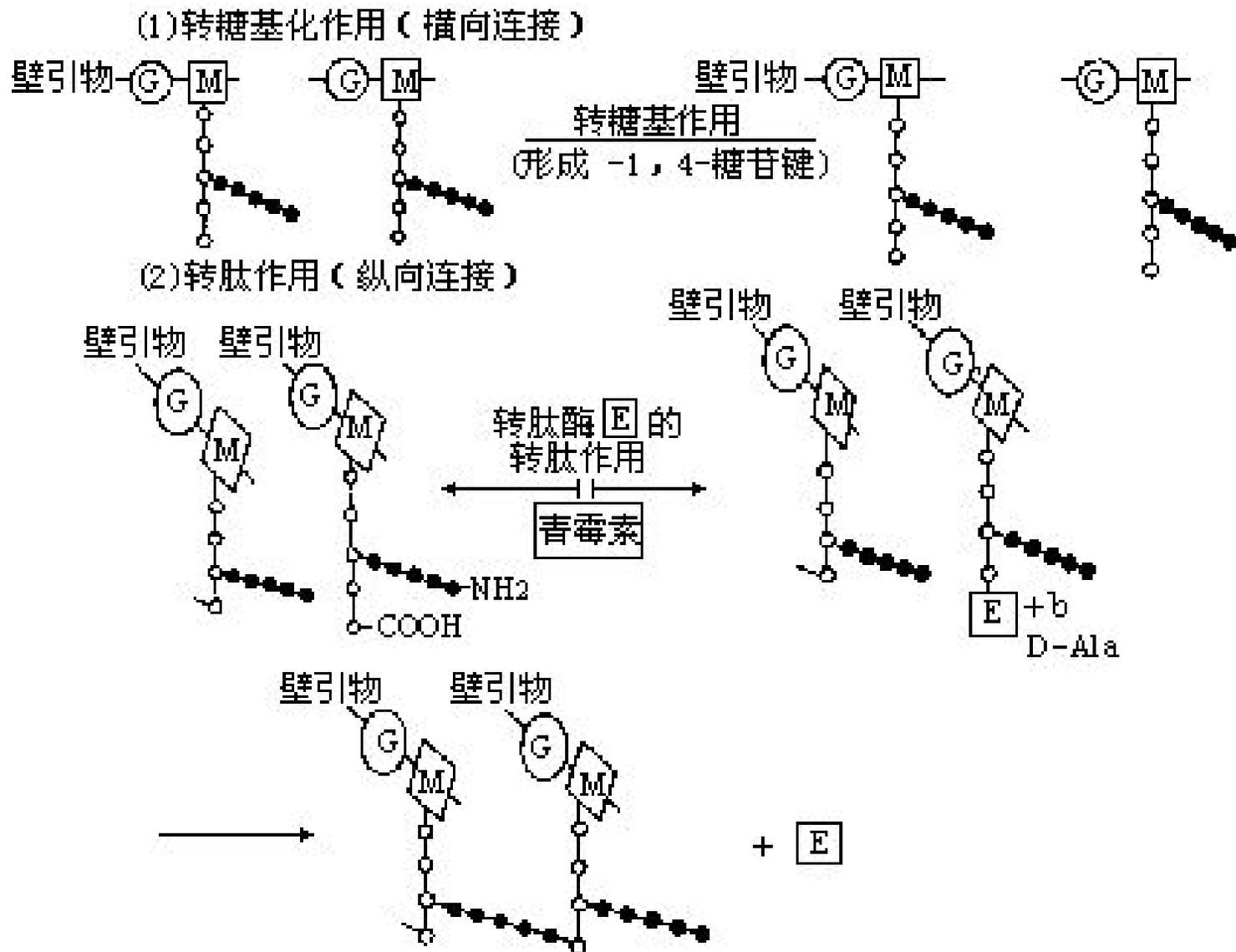


图6-47 肽聚糖合成的最后阶段 [E] 转糖基化作用和转肽作用 ([E]为转肽酶)



四、微生物次生代谢物的合成

初级代谢：一类与生物生存有关的、涉及到产能代谢和耗能代谢的代谢类型，普遍存在于一切生物中。微生物从外界吸收各种营养物质，通过分解代谢和合成代谢，生成维持生命活动所必需的物质和能量的过程，称为初级代谢。

次级代谢：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。通过次级代谢合成的产物通常称为次级代谢产物，大多是分子结构比较复杂的化合物。



根据其作用，可将次级代谢产物分为抗生素、色素、激素、信息素、生物碱、毒素及维生素等类型。

次级代谢只存在于某些生物（如植物和某些微生物）中，并且代谢途径和代谢产物因生物不同而不同，就是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。





第五节 微生物的代谢调节与发酵生产





一、微生物的代谢调节

微生物有着一整套可塑性极强和极精确的代谢调节系统。从细胞水平上来看，微生物的代谢调节能力要超过复杂的高等动植物。

1. 酶活性的调节：是指在酶分子水平上的一种调节，它是通过改变现成的酶分子活性来调节新陈代谢的速率，包括酶活性的激活和抑制两个方面。（反馈抑制）

2. 酶合成的调节：是通过调节酶合成量而调节代谢速率的调节机制，这是一种在基因水平上（在原核生物中主要在转录水平上）的代谢调节。（诱导、阻遏）



二、代谢调节在发酵工业中的应用

(一) 应用营养缺陷型菌株解除正常的反馈调节

1. 赖氨酸发酵

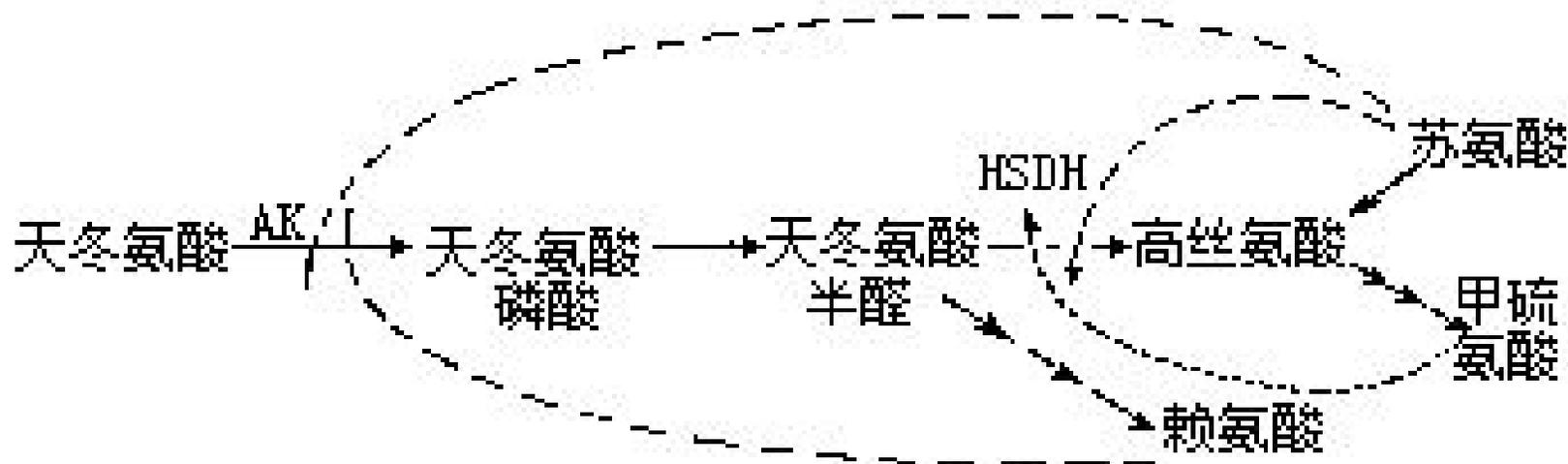


图6-62 *Corynebacterium glutamicum*的代谢调节与赖氨酸生产
($\text{---}\rightarrow$ 为反馈抑制, $\text{-----}\rightarrow$ 为阻遏)



2. 肌醇酸 (IMP) 的生产

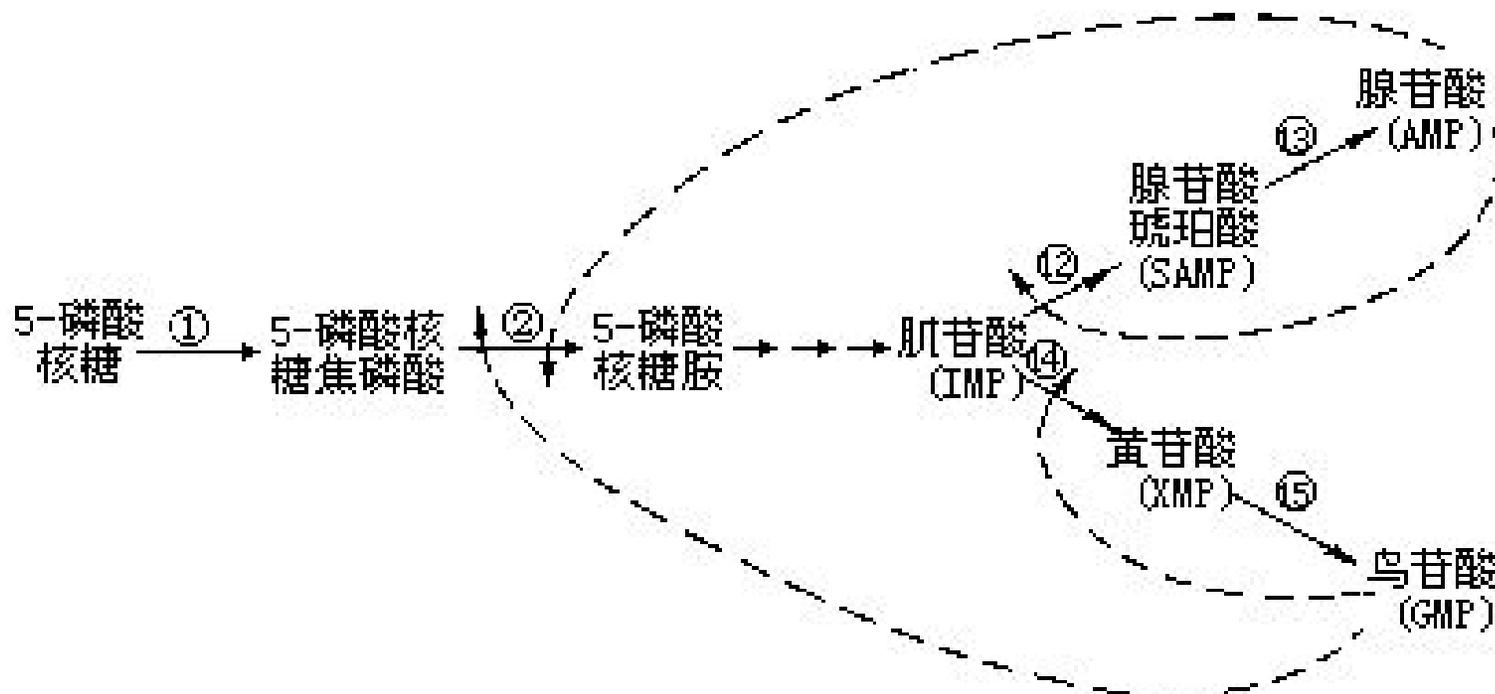


图6-63 *C. glutamicum*中IMP合成途径的代谢调节 (①5-磷酸核糖焦磷酸激酶, ②5-磷酸核糖焦磷酸转胺酶, 腺苷酸琥珀酸合成酶, 腺苷酸琥珀酸分解酶, IMP脱氢酶, XMP转胺酶; 虚线箭头表示反馈抑制)



(二) 应用抗反馈调节的突变株解除反馈调节(P146 图)

(三) 控制细胞膜的渗透性

表 6-11 生物素对 *Corynebacterium glutamicum* 谷氨酸产量的影响

生物素 (mg/ml)	残糖 (%)	谷氨酸 (mg/ml)	α -酮戊二酸 (mg/ml)	乳酸 (mg/ml)
0.0	8.5	1.0	微量	微量
0.5	2.5	17.0	3.0	7.6
1.0	0.5	25.0	4.6	7.4
2.5	0.4	30.8	10.1	6.9
5.0	0.1	10.8	7.0	13.7
10.0	0.2	6.7	8.0	20.5
25.0	0.1	7.5	10.1	23.1
50.0	0.1	5.1	6.2	30.0

