

生物力能学

英 D. G. 尼柯尔斯 著

科学出版社

内 容 简 介

生物力能学已成为当今生物化学领域中的一项重要学科。本书详尽地介绍了这一学科的基本内容和主要研究成果,并对所涉及的物理化学定理做了细致的解释与推导。书中叙述深入浅出,条理性强,并辅以大量形象的图解,从而将生物力能学庞杂的知识归纳整理得清楚有序。它不仅适宜理院校生物系师生及医学院师生阅读,也可供从事有关研究的科学工作者参阅,是近年来关于生物力能学的一本比较系统的专著。

David G. Nicholls

BIOENERGETICS

An Introduction to the Chemiosmotic Theory

Academic Press 1982

生 物 力 能 学

化学渗透理论介绍

〔英〕D. G. 尼柯尔斯 著

张玉中 阎一林 译

杨福愉 校

责任编辑 吴铁双

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1987年 8 月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1987年 8 月第一次印刷 印张: 6 1/2

印数: 0001—3,000 字数: 141,000

统一书号: 13031·3623

本社书号: 4921·13-10

定价: 1.55 元

前 言

近三十年来,生物力能学已经成为生物化学领域中一个独特的学科。这个以 Peter Mitchell 化学渗透假说为主干的学科虽然已被阐述得极为详尽,但是对于大学生或一般生物化学工作者来说,要领会生物力能学研究论文仍是困难的。这个问题在很大程度上是由于一般生物化学教科书与研究论文之间相互脱节而造成的:教科书因压缩篇幅对这一课题只能略加描述,而研究论文趋于高度专业性,且通常是有争议的,有时则含糊不清。

本书打算对这一领域进行介绍而不是全面地综述。由于几乎每个所要涉及的论题上都存在着不同的见解,因此,第一,我只能按生物力能学中那些我觉得流行的正统观念来写,特别要以化学渗透假说的“中心法则”——能量转换基于质子电化学梯度这一论点作为出发点来写。其次,我高度选择性地使用参考文献,为了便于说明,只引证易于理解的综述及有限的原始论文。通过那些综述文章读者可以接触到全部生物力能学文献书目,使得本书可以大为精简。我希望同行们会认识到这样选择原始文献并不反映科学进程。

我所用的一般生物化学知识相当于目前普通生物化学教科书的水平,故本书的对象是四年级大学生、研究生及一般研究工作者。

感谢 Abraham Tulp 和 TAB 的漫画。第 2、4、5、6、7 章前面的漫画是经《生物化学动态》(*Trends in Biochemical Sciences*) 杂志允许而复制的。

D. G. 尼柯尔斯

1981年9月 邓迪

常用符号缩写表

Ac	醋酸盐
AcAc	乙酰醋酸盐
ADP/O	当 2 个电子由底物经过呼吸链传递 将 1 个“O” ($\frac{1}{2}\text{O}_2$) 还原成 H_2O 时(无单位)(第4.6节), 被磷酸化为 ATP 的 ADP 的分子数
ADP/2e ⁻	除了较普遍地表示为最终电子受体而不可能是“O”外, 表示为 ADP/O (无单位)(第4.6节)
Bchl	细菌叶绿素
Bpheo	细菌脱镁叶绿素
CF ₁	见 F ₁
C-表面	与细胞液*接触的线粒体内膜的表面(参见 M-表面)
Chl	叶绿素
C _M H ⁻¹	膜或一个膜组分的有效质子传导性 (单位: $\text{n mol H}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg 蛋白}^{-1} \cdot \text{mV 质子电化学电位}^{-1}$) (第4.5节)
DNP	二硝基苯酚(质子移位体)
DCCD	双环己基碳化二亚胺
dO/dt	呼吸率(单位: $\text{n mol O} \cdot \text{min}^{-1} \text{mg 蛋白}^{-1}$)
E	pH=0 时的氧化还原电位(单位: mV)(第3.3节)
E ₀	pH=0 时的标准氧化还原电位(单位: mV) (第3.3节)

* 应为与膜间隙接触的表面积, 更为确切。——译者

E_h	在特定pH下的实际氧化还原电位(单位: mV) (第3.3节)
E_m	中点电位(在特定 pH 下的标准氧化还原电位) (单位: mV)(第3.3节)
$E_{h,7}$	pH=7 时的实际氧化还原电位
$E_{m,7}$	pH=7 时的中点电位
ETP, etp	电子传递颗粒(亚线粒体颗粒)(第1.3节)
F	法拉第常数($=0.0965 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ mV}^{-1}$); 在由 mV 变换为 kJ mole^{-1} 时, 乘上“F”(第3.3节)
FCCP	羰基: 氰化-对-三氟甲氧基苯胂, 质子移位体
Fe/S中心	一种含有酸不稳定非血红素铁的氧化还原蛋白质的 辅基(第5.2节)
F_0	ATP合成酶的一个部分(第7.3节)
F_1, CF_1, TF_1	分别为线粒体、叶绿体及耐热菌的 ATP合 成酶的催化部分(第7.3节)
G	Gibbs 能量值(第3.2节)
H	焓值
H^+/ATP	为合成一个分子的 ATP 而流经 ATP 合成 酶的 质子数(无单位)(第4.4节)
H^+/O	在 $2e^-$ 由底物迁移到氧的过程中被呼吸链所 移位 的质子数目(元单位)(第4.3节)
$H^+/2e^-$	除了较普遍地表示为需要的非氧最终 电子 受体 外, 表示为 H^+/O
$h\nu$	一个光子所具有的能量(单位: kJ)(第3.7节)
J_{h+}	质子流(单位: $\text{n mol H}^+ \text{ min}^{-1} \text{ mg 蛋白}^{-1}$)(第 4.5节)
K	绝对平衡常数(第3.2节)
K'	表观平衡常数(第3.2节)

kD	千道尔顿,1000分子量单位
kJ	千焦耳
M-表面	线粒体内膜与基质接触的表面
NEM	N-乙基马来酰亚胺
O	$\frac{1}{2}\text{O}_2$
OSCP	寡霉素敏感性授予蛋白(第7.2节)
PC	质体花青(第6.4节)
PEP	磷酸烯醇式丙酮酸
Pi	正磷酸
PMS	吩嗪硫酸甲酯
PQ	质体醌
P/O	如同ADP/O
P/2e ⁻	如同ADP/2e ⁻
PS _I , PS _{II}	叶绿体光合系统(反应中心) I 和 II (第6.4节)
P ₈₇₀ etc	反应中心的初级光化学组分
q ⁺ /O	当2e ⁻ 通过呼吸链由底物传递给氧时,跨膜传导的电荷数目(第4.3节)
q ⁺ /2e ⁻	如同q ⁺ /O, 但更普遍表示为所需的不是氧的最后电子受体
R	气体常数(=0.0083kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)
RC	反应中心(第6.1节)
SMP	亚线粒体颗粒
S	熵
T	按开氏度(K°)的绝对温度
TMPD	四甲基对苯二胺,氧化还原中间物(第5.9节)
UQ, UQH, UQH ₂ , UQ ₂ , UQ ₃ , UQ ₁₀	氧化型的、半醌及还原型的泛醌; 写在 Q 下角的是侧链中异戊间二烯基的数目

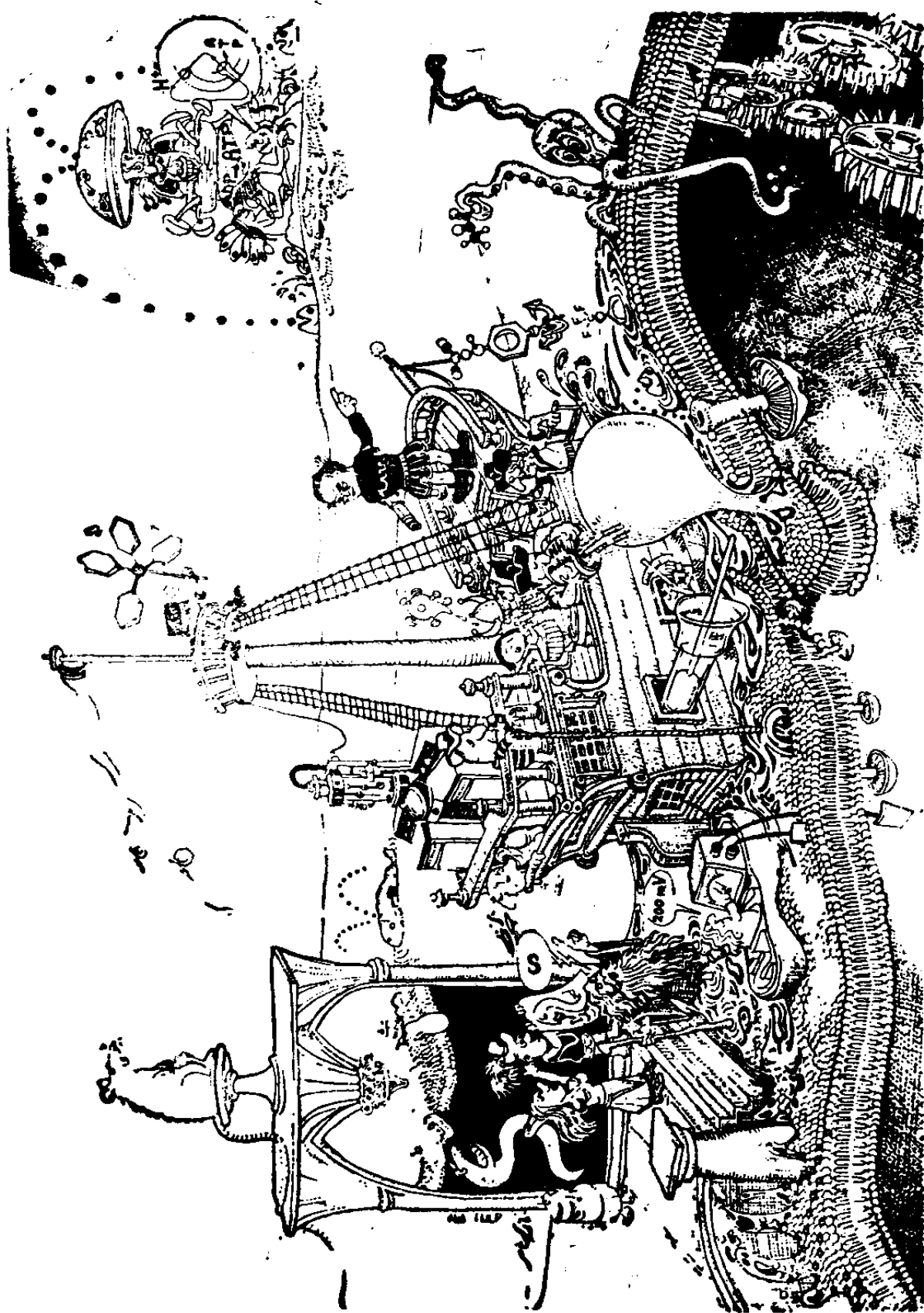
Γ, Γ'	绝对质量作用率和表观质量作用率(第3.2节)
ΔE_h	在限定pH之下两个电偶之间的实际氧化还原电位差(单位: mV)(第3.3节)
$\Delta E_h, 7$	如同 ΔE_h , 但是指pH=7(第3.3节)
ΔG	Gibbs能量变化(单位kJ mol ⁻¹)(第3.2节)
ΔG°	基于绝对平衡常数的标准Gibbs能量变化(第3.3节)
$\Delta G'^\circ$	基于表观平衡常数的标准Gibbs能量变化;pH等必须是特定的(第3.3节)
ΔG_p	“磷酸化势能”即由ADP和pi合成ATP的Gibbs能量变化(第3.3节)
ΔH	焓的变化
ΔpH	膜两侧的总相bulk phase之间的pH之差(无单位)
ΔS	熵的变化
$\Delta \bar{\mu}_{X^{n+}}$	被膜分开的两个总相之间的离子X ⁿ⁺ 电化学电位差(第3.4节)
$\Delta \bar{\mu}_H$	被膜分开的两个总相之间的质子电化学电位差(单位: mV)(第3.4节);有时被称为质子运动力(pmf)
$\Delta \psi$	膜电位, 即由膜分开的两个总相之间的电位差(单位: mV)(第3.4节)
“~”	“squiggle”: 化学假说中表示假设的能量传导中间物的速记符号

目 录

1 化学渗透能量转换	(2)
1.1 什么是“能量转换”?	(2)
1.2 化学渗透假说.....	(4)
1.3 能量转换细胞器.....	(7)
1.4 化学渗透假说的背景.....	(15)
 2 跨越能量转换膜的离子运输	(27)
2.1 引言.....	(27)
2.2 能量转换膜的结构.....	(27)
2.3 离子运输的途径.....	(28)
2.4 双分子层区域的自然通透性.....	(32)
2.5 双分子层区的离子载体导致的通透性.....	(32)
2.6 蛋白质催化的运输作用.....	(38)
2.7 大量溶质跨越能量转换膜的运动.....	(39)
 3 定量生物力能学:驱动力的测量	(45)
3.1 引言.....	(45)
3.2 Gibbs 能量.....	(48)
3.3 氧化还原电位.....	(53)
3.4 离子电化学电位差.....	(58)
3.5 离子、弱酸与弱碱的均衡分布.....	(60)
3.6 膜电位、扩散电位、Donnan 电位及表面电位.....	(63)

3.7	光子.....	(65)
3.8	生物能量的互相转化.....	(65)
3.9	不可逆热力学的应用.....	(67)
4	化学渗透质子回路.....	(70)
4.1	引言.....	(70)
4.2	质子电化学电位的测量.....	(72)
4.3	呼吸链质子排出的化学定量计算.....	(83)
4.4	ATP合成酶质子吸收的化学计量.....	(88)
4.5	质子流、质子传导性及呼吸控制.....	(90)
4.6	能量转换作用的非化学渗透参数.....	(98)
4.7	反向电子传递和由水解作用驱动的质子回路.....	(100)
4.8	由人工质子电化学电位所驱动的ATP合成.....	(102)
5	呼吸链.....	(105)
5.1	引言.....	(105)
5.2	线粒体呼吸链的组分及研究方法.....	(105)
5.3	呼吸链中氧化还原载体的线性顺序.....	(114)
5.4	通过呼吸链的质子移位作用;由“回路”模型或“构象泵”模型而来的结构预测.....	(120)
5.5	呼吸链复合体的分离与重组.....	(123)
5.6	复合体 I (NADH-UQ氧化还原酶).....	(124)
5.7	复合体 II (琥珀酸脱氢酶);电子传递黄素蛋白以及 α -甘油磷酸脱氢酶.....	(125)
5.8	泛醌与复合体 III (bc ₁ -复合体或UQ-细胞色素 c 氧化还原酶).....	(126)
5.9	细胞色素 c 与复合体 IV (细胞色素 c 氧化	

酶;亚铁细胞色素; O ₂ 氧化还原酶)·····	(130)
5.10 烟酰胺核苷酸转氢酶·····	(133)
5.11 植物线粒体的呼吸链·····	(134)
5.12 细菌的呼吸链·····	(136)
6 质子电化学电位的光合发生器·····	(141)
6.1 引言·····	(141)
6.2 紫色菌的光反应·····	(143)
6.3 紫色菌中 $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ 的产生 ·····	(146)
6.4 叶绿体中的电子传递途径·····	(151)
6.5 叶绿体中的质子回路·····	(155)
6.6 细菌视紫红质与嗜盐菌的紫色膜·····	(156)
7 ATP合成酶 ·····	(161)
7x.1 引 言·····	(161)
7.2 ATP合成酶的结构·····	(161)
7.3 F ₀ 的功能·····	(164)
7.4 通过F ₁ 的ATP 合成的机制·····	(166)
7.5 腺苷酸与Pi在线粒体中的运输·····	(170)
8 生物能细胞器与其环境间的相互作用·····	(177)
8.1 引言·····	(177)
8.2 代谢物运输的研究方法·····	(177)
8.3 线粒体的代谢物载体·····	(179)
8.4 线粒体中的钙运输·····	(182)
8.5 细菌中的运输·····	(186)
参考文献·····	(189)



Mitchell 不顾航程危险的警告，启航驶向化学渗透新世界

1 化学渗透能量转换

1.1 什么是“能量转换”？

所有生物化学反应都包含能量的变化，所以“生物力能学”这个词可以适用于整个生物化学学科。但是生物力能学家只倾向于研究那些特殊的、发生在一类特定膜上的过程。过去三十年中，生物力能学的中心课题是研究通过底物的氧化作用或光的吸收作用而产生能量的机制，这种能量用来驱动诸如从ADP及Pi合成ATP，或者离子跨膜积聚这一类上向（uphill）反应。

尽管有某些ATP是在可溶性酶系中合成的，但是绝大部分ATP的合成则与被限制在特定种类膜上的那些膜结合酶复合体（membrane-bound enzyme complexes）相关联。这类“能量转换膜”包括简单的原核细胞（如细菌或蓝藻）的质膜，线粒体的内膜，以及叶绿体的类囊体膜（图1.1）。虽然这些不同的膜的最初能量来源的性质互不相同，但它们合成ATP及运输离子的机制却是紧密相关的，从而形成了一个单独的研究领域：“能量转换”或“生物力能学”。

能量转换膜具有若干独特的性质。每一种膜都装配有两套不同的蛋白质。其中一套通常被称作ATP酶，它能够催化ADP和Pi“上向”合成ATP，若更准确些应称它为ATP合成酶，这对所有的能量转换膜来说都是共同的。而第二套蛋白质的性质则依膜的最初能量来源而定；在线粒体或呼吸细菌中，它们是能够催化电子从底物向最终受体 O_2 “下向”（downh-

ii)传递的呼吸链。在叶绿体及光合细菌中,这套蛋白质则利用吸收可见光光子来得到能量(图1.1)。

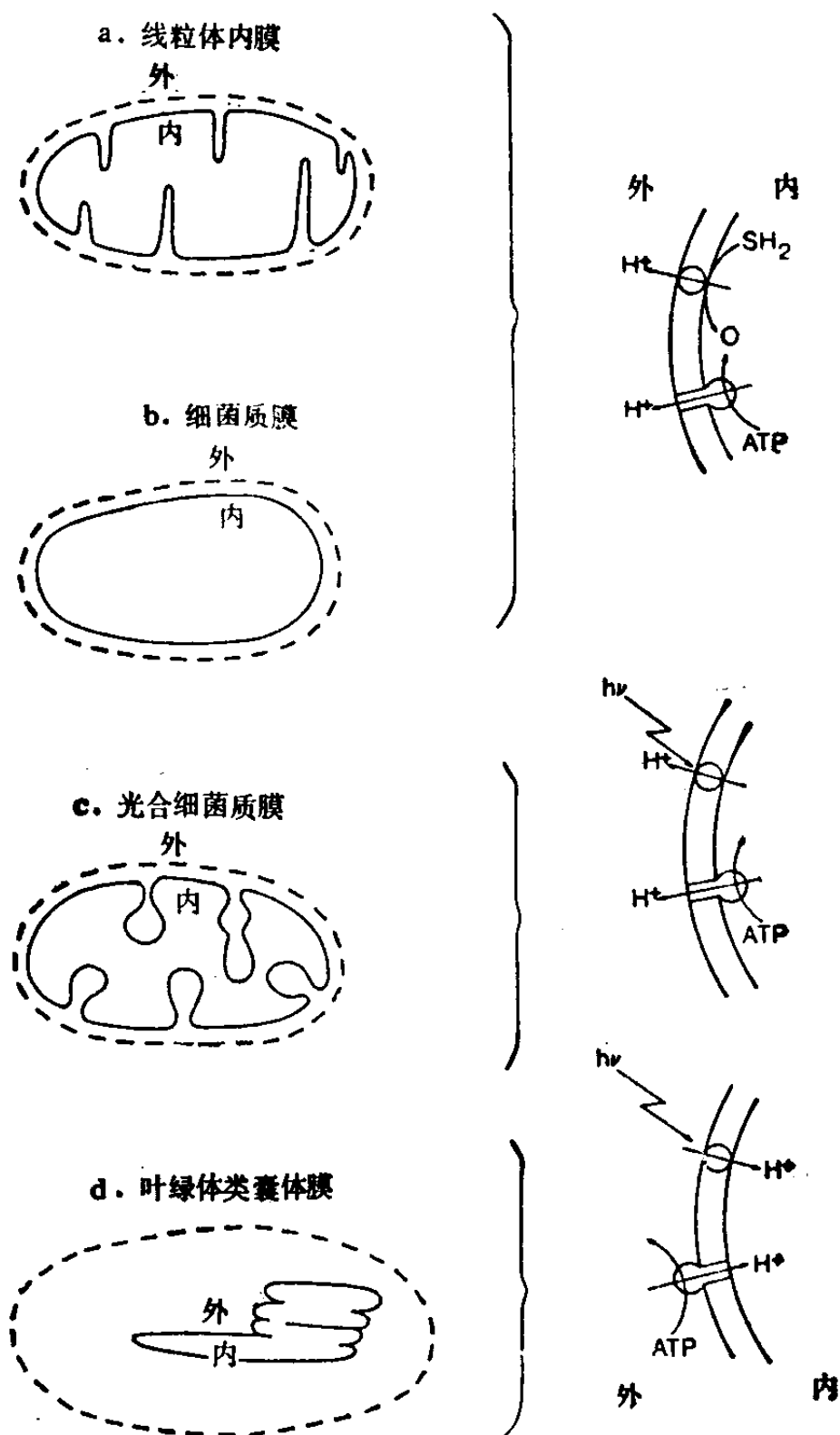


图1.1 能量转换膜

与这套蛋白质装置相关联的“能量转换中间物”的性质很令人难以捉摸。多年来对于能使氧化作用与ATP合成作用相

偶联的化学中间物的研究一无所获,以致它的不确定性引起了这样的说法:“人们不是被完全搞糊涂了,而是没有真正理解这个问题”。正是在这个关头,Peter Mitchell提出了“化学渗透假说”(1961)。在假说中他认为,唯一的“中间物”乃是跨膜质子梯度。一场在化学假说、化学渗透假说及其他种种假说的拥护者间的激烈辩论随之而起,长达十五年之久(见Boyer等,1977)。因此,与其他任何相应的生物化学理论相比,化学渗透假说经历了更为严峻的考验。随着Peter Mitchell荣获1978年诺贝尔奖金,这个假说最终得到了普遍承认(见Garland,1978;Chappell,1979)。

1.2 化学渗透假说

综述 Mitchell, 1961; 1966; 1968, 1979a; Greville, 1969

化学渗透假说的中心法则指出,线粒体、叶绿体或细菌的电子传递链都是通过跨越能量转换膜的质子电化学电位(proton electrochemical potential, $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$)与ATP的合成相偶联的。质子电化学电位是一种热力学单位,它表示跨膜质子梯度与平衡态的差,这将在第3.4节中予以推导。电子传递与ATP的合成分别由各自的可逆质子泵来催动。通过电子传递产生的 $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ 用来驱动ATP-水解质子泵(即ATP酶,或者更准确地称之为ATP合成酶)反向运行,也就是朝着合成ATP的方向运行。

因此,每一种能量转换膜都具有两类质子泵,一类是通过电子转移或捕获光子来驱动,而另一类则是通过水解ATP来驱动(正向运转)(图1.1)。这两类泵的方向相同,即电子沿电子传递链的“下向”传递与ATP合成酶的“下向”水解ATP,都

会使质子 按照相同的方向跨膜移位(图1.1)。

图1.2 解释了这些泵如何被用来不断地合成ATP。假若安排特定的条件,只让ATP合成酶具有活性并将ATP加入到细胞器中,那么,这个核苷酸就会被水解并有质子被泵出,直至进一步水解 ATP 所产生的能量与逆着已有的质子梯度 进一步泵入质子所需的能量达到平衡为止(图1.2b)。如果这种平衡状态由于去除ATP而被破坏的话,那么ATP合成酶就会在质子梯度的驱动下反转过来并沿着 ATP 净合成的方向 运行(图1.2c):然而质子梯度消失得很迅速,所以需要第二类质子泵来不断地维持这一梯度。在体内,ATP 不断地被细胞液内的各种反应所消耗,同时 $\Delta\mu_{H^+}$ 则始终由呼吸(或光合成)电子传递链来补充(图1.2d)。

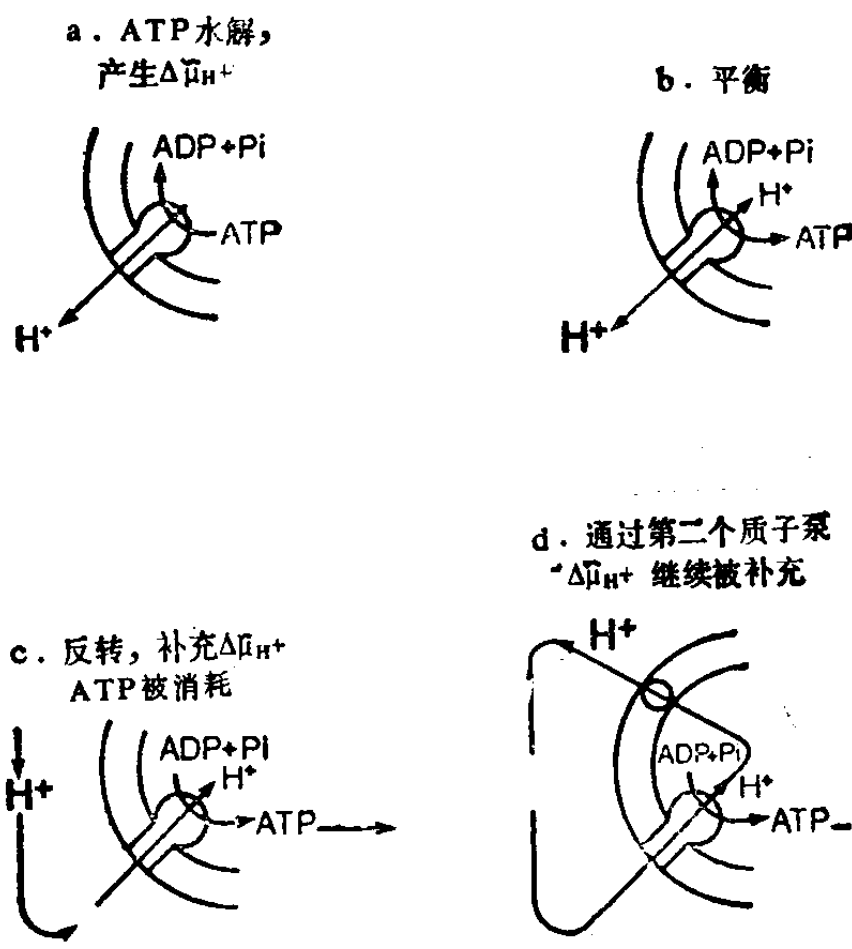


图1.2 质子电化学偶联

这种质子移位的综合作用建立了跨越能量转换膜的质子

循环(图1.3),它与电路十分相似,并且在详尽地讨论复杂的能量流动(energy flows)时这种相似性仍然适用(见第4章)。如同在电子学中一样,我们可以测量势能(质子电势, $\Delta\mu_{H^+}$, 前面已经提到)、质子流(current of protons, J_{H^+})以及质子传导性(conductance of protons, $C_M H^+$),后者被定义为流经某组分的质子流量除以跨越这一组分后的势能降。在以后的章节中,我们常要用到这些参量。

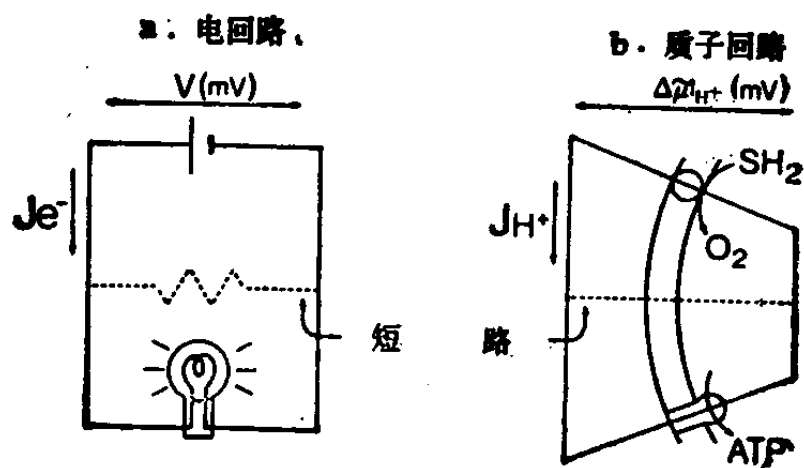


图1.3 质子循环和电流循环是很相似的。两者都有势能发生器(分别为电池和呼吸链),两种势能(电位差和质子电化学势能差)都是以伏特(V)或毫伏(mV)来表示的,而且都能用来做功(点灯和驱动ATP合成酶)。两种循环都能形成短路。在电池和在呼吸链中,化学转化速率都是与循环其余部分的电子流和质子流紧密相关的,这些又依赖于这部分的电阻,电位随电流的增加而下降。

显然,为了防止短路,膜必须是封闭的并对质子具有高阻抗。对这个假设十分有利的支持之一是,许多氧化作用与ATP合成作用的解偶联剂都是通过增加膜的质子通透性,引起短路而起作用的(图1.3)。为了能使带有负电荷的代谢物进入线粒体带负电的内部,化学渗透假说还包括了一项建议:存在着一个传送系统,代谢物可与质子一起作为中性物质被运

输,或者与OH交换而输入(Mitchell, 1961,1966)。

关于“化学渗透假说”或者“Mitchell 理论”的构成,有一个值得重视的词义的混淆。在本书中“化学渗透”这个词与上述的化学渗透假说的中心法则是同一含义,即偶联作用是通过质子电化学梯度作为中间媒介而发生的。关于泵作用的精确的分子机制,Peter Mitchell 等人还提出过许多辅助假说。但是必须强调指出,中心法则的正确性不依赖于这些辅助理论的“前途”。

1.3 能量转换细胞器

1.3.1 线粒体与亚线粒体颗粒

综述 Nedergaard与Cannon,1979(制备);Munn, 1974(形态研究);Harmon等,1974;DePierre 与 Ernster,1977(酶的定位)

在超薄切片中,典型的线粒体的外观如图 1.4 所示。线粒体一般为 $0.7 - 1 \mu\text{m}$ 长。在细胞中它们的形态并不固定且经常变化。而且线粒体中的嵴的外观也十分不同,不仅对从不同组织中分离出来的线粒体是这样;甚至对同一个线粒体,当它悬浮在不同的介质中时也是如此。

线粒体外膜上有起非特异性孔道作用的蛋白质,它们允许分子量小于 10,000D(道尔顿)的溶质通过(Zalman 等, 1980);线粒体内膜则具有能量转换功能。若一个组织的呼吸活力较高,则从该组织分离出的线粒体中,由广泛延伸的内膜卷曲而成的嵴就较多。线粒体制剂经过磷钨酸盐负染,于其内膜的基质侧(M侧),可以观察到许多球状突出物,它们是 ATP 合成酶的催化亚基。参与三羧酸循环的酶都位于基质中,仅有琥珀酸脱氢酶例外,它结合于内膜的M侧。NAD与