

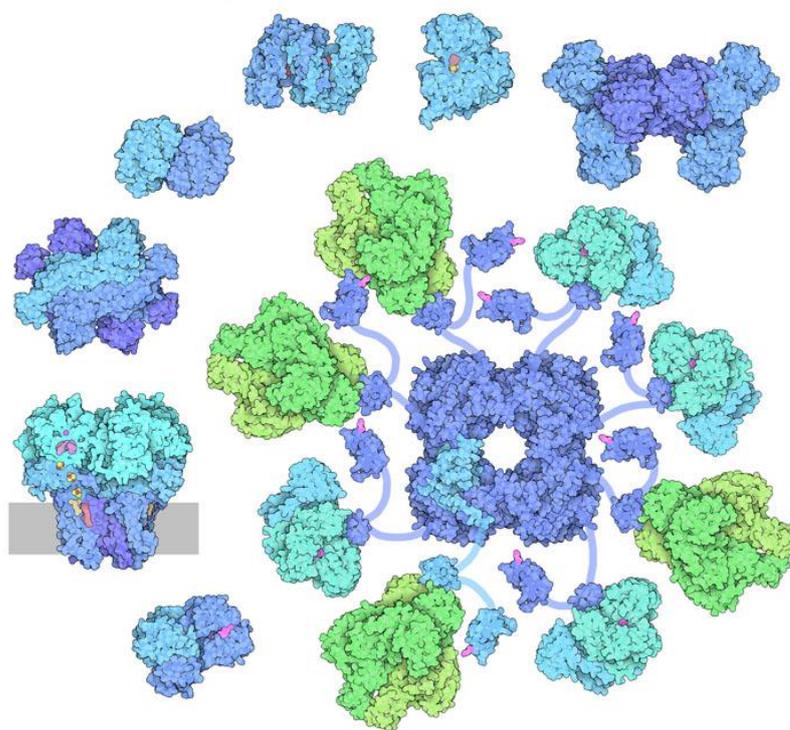
柠檬酸循环

分子月报， David Goodsell， 2012 年 10 月

译者：郭倩楠（13 级硕士， 中国农科院生物所）

doi: [10.2210/rcsb_pdb/mom_2012_10](https://doi.org/10.2210/rcsb_pdb/mom_2012_10)

关键词：三羧酸循环， *Krebs* 循环， 柠檬酸循环， 多酶复合体



[Download high quality TIFF image](#)

引言

柠檬酸循环， 又称 *Krebs* 循环或三羧酸循环， 处于细胞代谢的中心点， 在能量产生和生物合成过程中扮演主要角色。 它完成了从糖酵解起始的糖分解作用， 而且在反应过程中产生 **ATP**。 它也是生物合成反应的中心枢纽， 提供可以被用于合成氨基酸和其它分子的中间产物。 柠檬酸循环的酶在所有含氧细胞中均

可存在，甚至在一些不含氧细胞中也存在。这里所举的例子来源于多种不同的生物。

八个反应

柠檬酸循环的八个反应使用一种小分子—草酰乙酸 - 作为催化剂。循环起始于在草酰乙酸上加一个乙酰基，在后来的八步反应中，乙酰基被彻底分解，恢复后的草酰乙酸分子进入下一个循环。在一个典型的生物反应中，它不会这么简单。你可能会想象那些酶只是使草酰乙酸载体乙酰基的两个碳原子离开。但是，通过标记这些分子上的特定碳原子，科学家发现事实与想象有所不同，实际上是草酰乙酸本身的两个碳原子被以二氧化碳的形式释放。然后，在循环的结束，起始时的乙酸盐的原子被利用，重新合成了草酰乙酸。

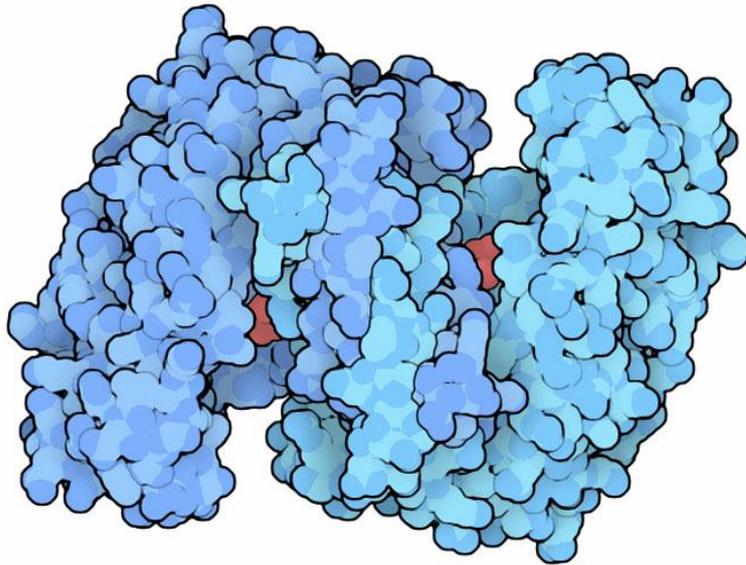
能量产生站

柠檬酸循环提供了氧化磷酸化过程（人体中 ATP 和能量的主要来源）中的电子。当乙酰基被裂解后，电子被储存在运载体 NADH 中，后被传递到复合体 I 中。然后这些电子通过两个质子泵-细胞色素 bc1 和细胞色素 c 氧化酶-为质子梯度的产生供以燃料。形成的质子梯度为 ATP 合酶提供动力，形成 ATP。所有这些活动在线粒体中发生，其中柠檬酸循环的酶在线粒体内（线粒体基质），质子泵位于线粒体的膜上。

柠檬酸合酶

柠檬酸循环的第一个酶为柠檬酸合酶，（PDB entry 1cts 所示）。丙酮酸脱氢酶复合体在进入柠檬酸循环前将一个乙酰基加在运载体 CoA 上（形成乙酰 CoA），该形式使得乙酰基处于激活状态。柠檬酸合酶将乙酰 CoA 的乙酰基连接到草酰乙酸上，形成柠檬酸。反应过程中，柠檬酸合酶在乙酰 CoA

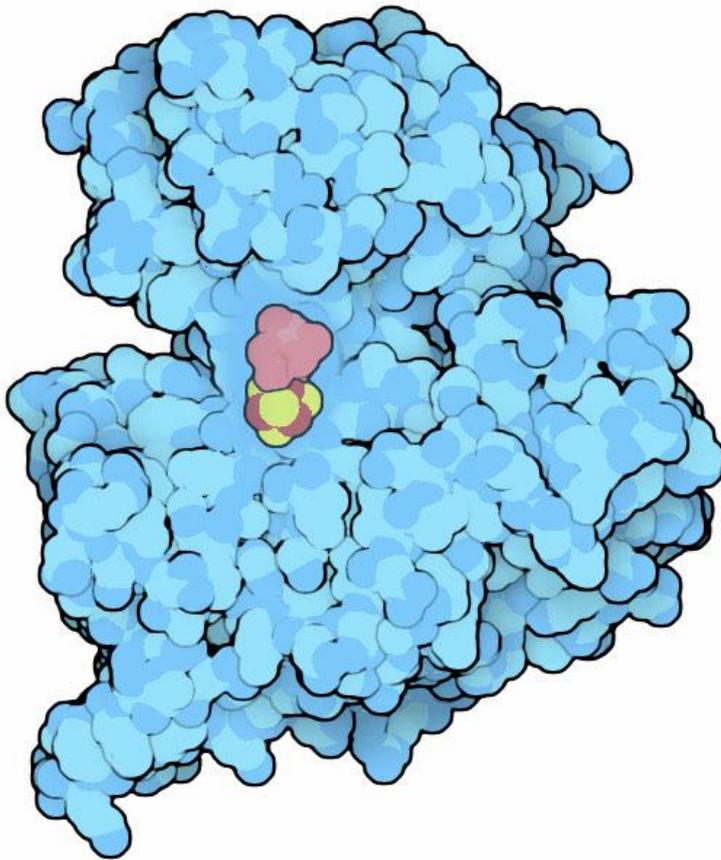
和草酰乙酸这两种分子周围开启和闭合。可在 [Molecule of the Month on citrate synthase](#). 网页查看柠檬酸合酶的动态结构。



[Download high quality TIFF image](#)

顺乌头酸酶

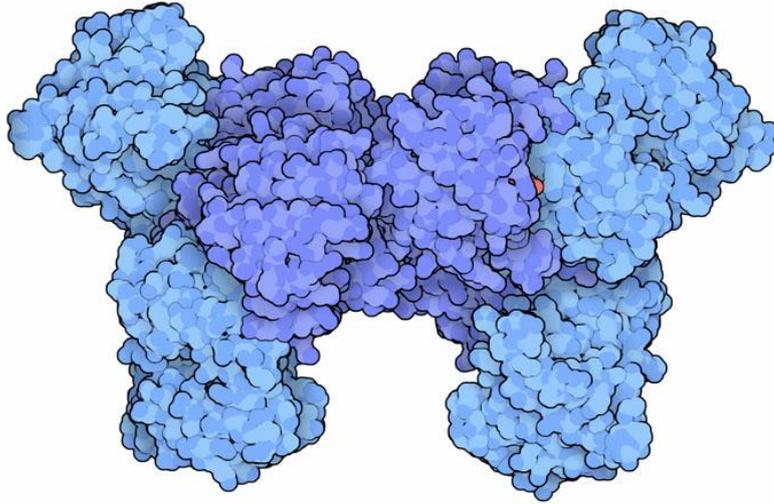
第一步反应形成的柠檬酸是较稳定的，第二步移动一个氧原子以形成一个较活泼的异柠檬酸分子。顺乌头酸酶催化这个异构化反应，铁硫蛋白予以辅助。可在 [Molecule of the Month on aconitase](#). 网页查看顺乌头酸酶催化的反应过程。



[Download high quality TIFF image](#)

异柠檬酸脱氢酶

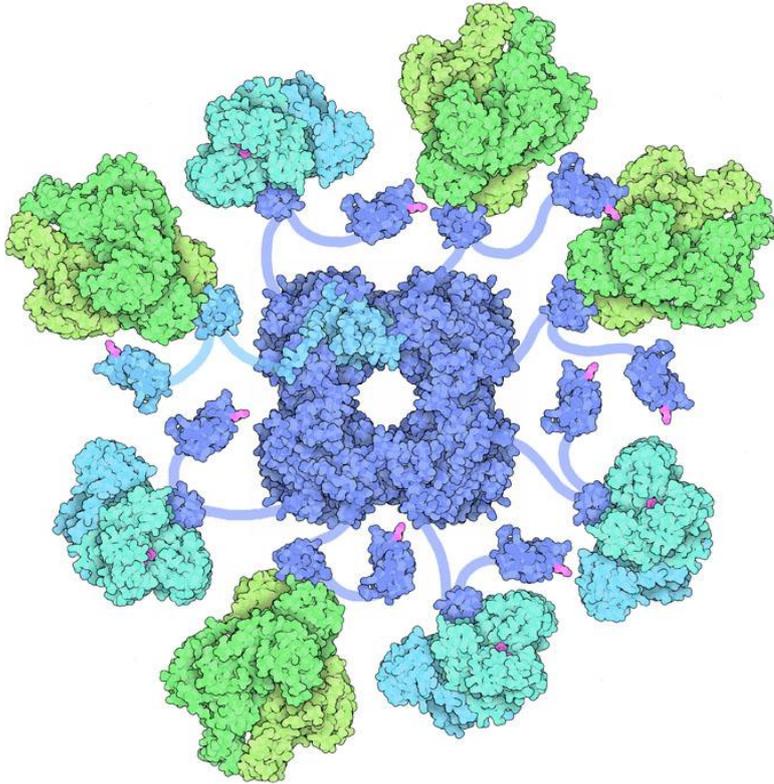
柠檬酸循环的第三步反应。异柠檬酸脱氢酶，（ PDB entry 3blw 所示），移动某个碳原子，形成二氧化碳，并且转移电子到 NADH。如果想获得该分子的更多细节。可以查看 [Molecule of the Month on isocitrate dehydrogenase](#) 网页。



[Download high quality TIFF image](#)

α -酮戊二酸脱氢酶复合体

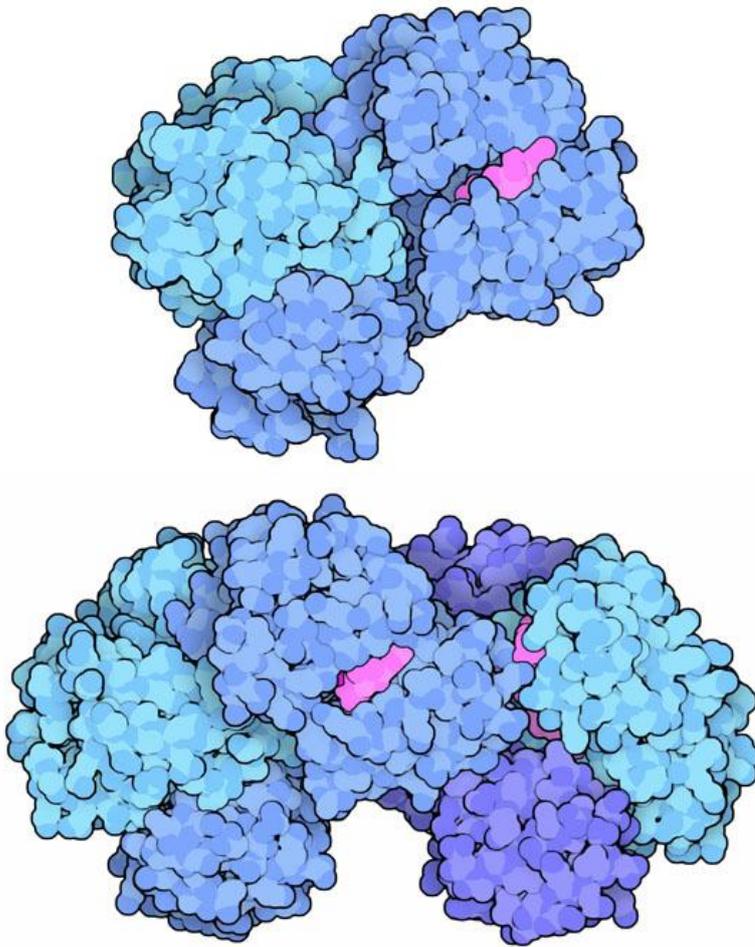
下一步反应由一个大的多酶复合体催化进行，该复合体与丙酮酸脱氢酶类似。该复合物中发生了很多反应。另一个碳原子以二氧化碳的形式释放，电子被转移到 NADH 上，分子的剩余部分连接到 CoA 上。该复合酶由三个酶组成，互相之间灵活连接。这里展示的插图只包括一些“链”分子---在实际的复合体中，中央核心被 24 个酶包围。这个插图用了许多的 PDB 条目：1e2o, 1bbl, 1pmr, 2eq7, and 2jgd。



[Download high quality TIFF image](#)

琥珀酰- CoA 合成酶

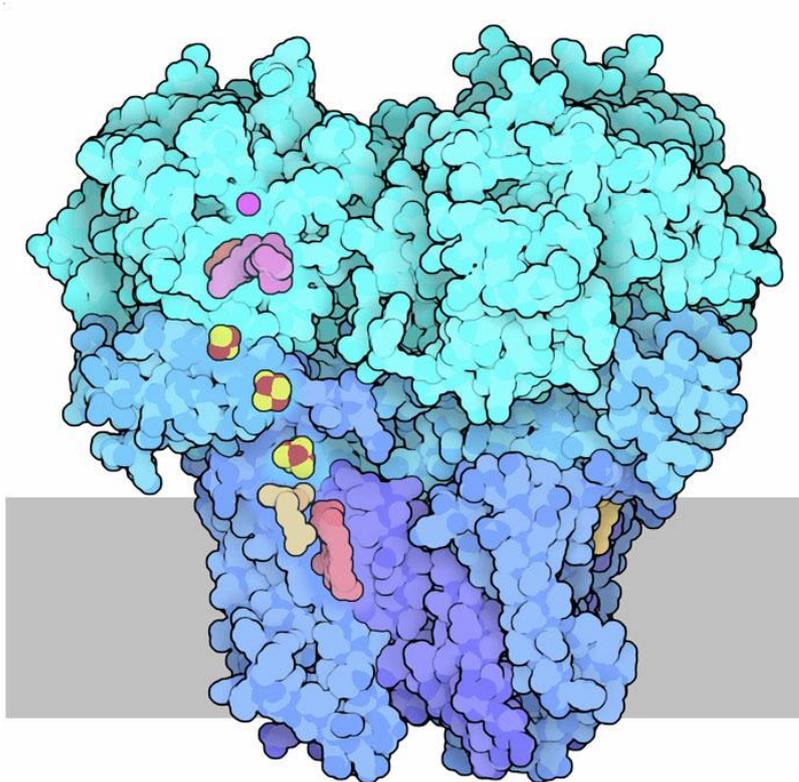
第四步反应是柠檬酸循环中唯一一步直接产生 ATP 的反应。琥珀酸与 CoA 之间的键特别不稳定，该键提供了合成 ATP 分子所用的能量。在线粒体中，该酶实际上在反应中合成了 GTP, GTP 后在核苷二磷酸激酶的作用下转换为 ATP。琥珀酸硫激酶的一个相似形式在细胞质中被发现，该形式活性时使用 ATP，被认为多半是参与了逆反应，生成琥珀酰 CoA 以用于生物合成。ATP 依赖性酶的细菌形式展示在 PDB entry 1cqi. 的底部。



[Download high quality TIFF image](#)

琥珀酸脱氢酶

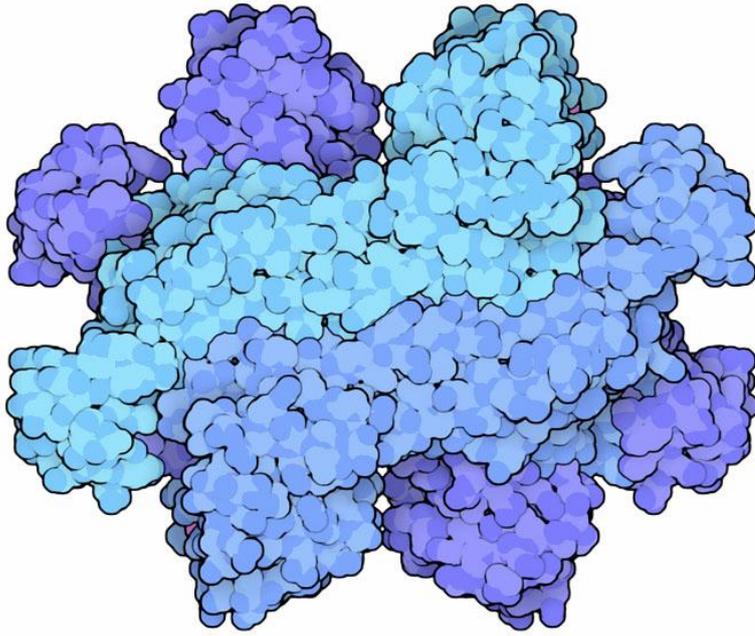
第六步反应由一个结合在线粒体膜上的蛋白质复合物完成。它将柠檬酸循环与电子传递链直接相连。它首先从琥珀酸上提取氢原子，后将氢原子转移到运载体 FAD 上。通过许多铁硫蛋白和一个血红素的帮助，这些氢原子又被转移到移动载体泛醌（CoQ，辅酶 Q）上，后再传递到细胞色素 bc1 上。下面所示是来自细菌的复合物，PDB entry 1nek.



[Download high quality TIFF image](#)

延胡索酸酶

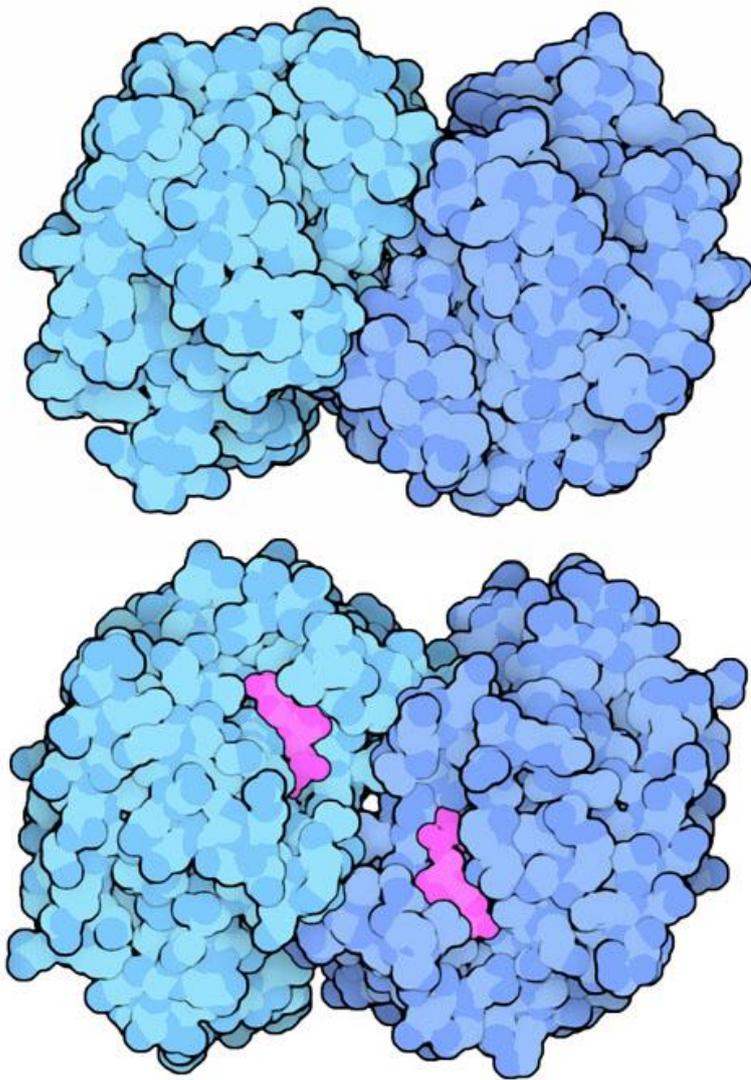
第七步反应由延胡索酸酶完成，它给底物加上一分子水，使其为下一步反应做好准备。这里所示的酶来自细菌，（PDB entry 1fuo）。在人体细胞中，该酶既被在线粒体中发现，（它在柠檬酸循环中发挥作用），也被在细胞质中发现，（被认为在生物合成中发挥作用，令人惊讶的是，它被推测可能可以对 DNA 损伤作出反应）。然而，人类细胞只有该酶的一个基因，因此，基于蛋白质折叠时机的复杂过程被用于定位一些酶到线粒体，并且留下一些在细胞质中。



[Download high quality TIFF image](#)

苹果酸脱氢酶

柠檬酸循环的最后一步是重新产生草酰乙酸，转移电子到 NADH 的过程。苹果酸脱氢酶既可在线粒体中发现，也可以在细胞质中发现——线粒体形式在 PDB entry 1mld 顶部所示，细胞质形式在 PDB entry 5mdh 底部。总的来说，它们解决了能量产生过程中的一个重要问题：一些 NADH 是由糖酵解产生的，它们不能直接进入线粒体以产生能量。苹果酸脱氢酶的两种形式形成了“梭子”的重要成分。在细胞质中，NADH 被完全用于由草酰乙酸转化为苹果酸。然后，苹果酸被转运到线粒体中，再通过由苹果酸转变为草酰乙酸重新产生 NADH。



[Download high quality TIFF image](#)

进一步探索的主题

很多情况下，当我们比较不同生物中的柠檬酸循环的酶，它们的形式都是相似的。我们可以用结构比对工具去查找 **PDB** 库中存在的酶的结构的不同。

References

1. D. Voet and J. G. Voet (2011) Biochemistry, 4th Edition. John Wiley and Sons.

2. O. Yogev, A. Naamati and O. Pines (2011) Fumarase: a paradigm of dual targeting and dual localized functions. *FEBS Journal* 278, 4230-4242.
3. J. Rutter, D. R. Winge and J. D. Schiffman (2010) Succinate dehydrogenase -- assembly, regulation and role in human disease. *Mitochondrion* 10, 393-401.
4. M. E. Fraser, K. Hayakawa, M. S. Hume, D. G. Ryan and E. R. Brownie (2006) Interactions of GTP with the ATP-grasp domain of GTP-specific succinyl-CoA synthetase. *Journal of Biological Chemistry* 281, 11058-11065.
5. G. E. Murphy and G. J. Jensen (2005) Electron cytotomography of the E. coli pyruvate and 2-oxoglutarate dehydrogenase complexes. *Structure* 13, 1765-1773.
6. P. Minarik, N. Tomaskova, M. Kollarova and M. Antalík (2002) Malate dehydrogenases structure and function. *General Physiology and Biophysics* 21, 257-265.