

第二章 酶学

第一节 通论

一． 什么是酶 酶是由活细胞产生的，能在体内和体外起同样催化作用的一类具有活性中心和特殊构象的生物大分子。酶是生物催化剂。

二． 酶除一般催化剂的特点如：加快反应速度、反应前后无变化、不改变反应的平衡点等特征外，作为生物催化剂具有自身的催化特点：

- 1． 催化效率高： 10^7 — 10^{13}
- 2． 酶活性易受环境变化的影响
- 3． 在体内，酶活性受调节和控制
- 4． 酶的催化作用具高度专一性

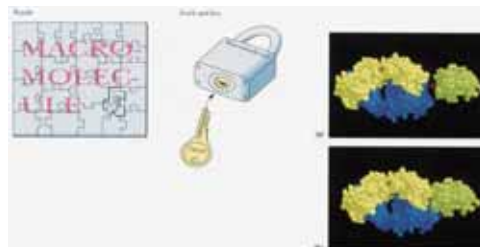
(1) 结构专一性 A. 绝对专一性 脲酶

B. 相对专一性 磷酸二酯酶

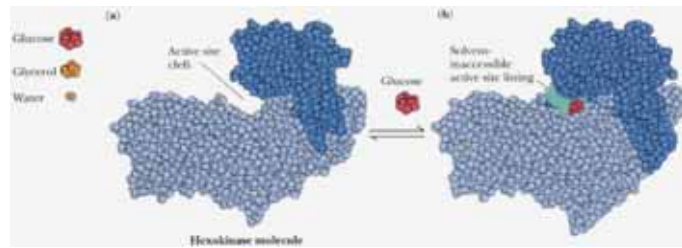
(2) 立体异构专一性

(3) 对酶催化专一性的几种假说

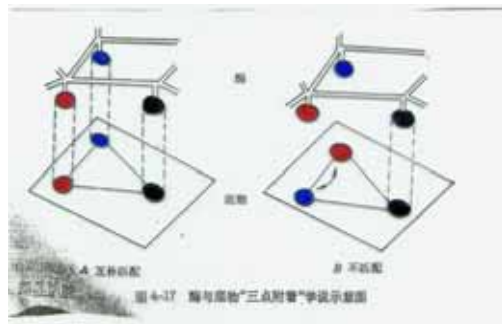
A. 锁钥学说 (1894, Emil Fisher)



B. 诱导契合学说 (1958, Koshland)



C. 三点附着学说 (A. Ogster)



第二节 酶的分类和命名

一. 酶的命名

为了研究和使用的方便,1961年国际生物化学学会酶学委员会在对自然界中存在的酶进行了广泛研究的基础上,对每一种酶都给出了一个习惯名称和系统名称。

1 习惯命名法

- (1) 根据催化的底物名称命名: 淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶
 - (2) 根据催化反应的性质命名: 转氨酶、脱氢酶、脱羧酶
- 有的以所催化的底物和性质命名: 乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶, 有的以酶的来源或其它特征命名: 碱性磷酸酶

2. 国际系统命名法

谷丙转氨酶: L-丙氨酸: 一酮戊二酸氨基转移酶

草酸氧化酶：草酸：氧氧化酶

乙酰辅酶 A 水解酶：乙酰辅酶 A：水解酶

二． 酶的国际系统分类法

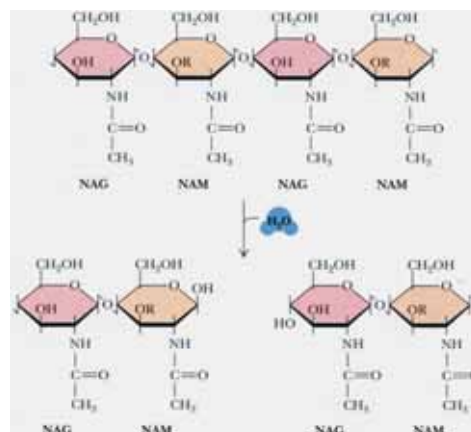
把酶分为 6 大类，即氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和连接酶类。分别用 1、2、3、4、5、6、来表示。再根据被作用的基团或键的特点将每一大类分为若干个亚类，每一个亚类又按顺序编成 1、2、3、4、.....等数字。

第三节． 酶催化作用的分子基础

一． 酶分子的结构特征

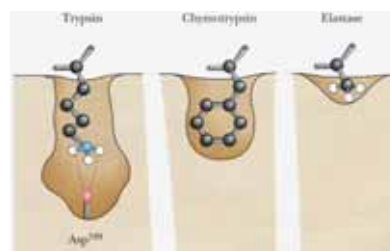
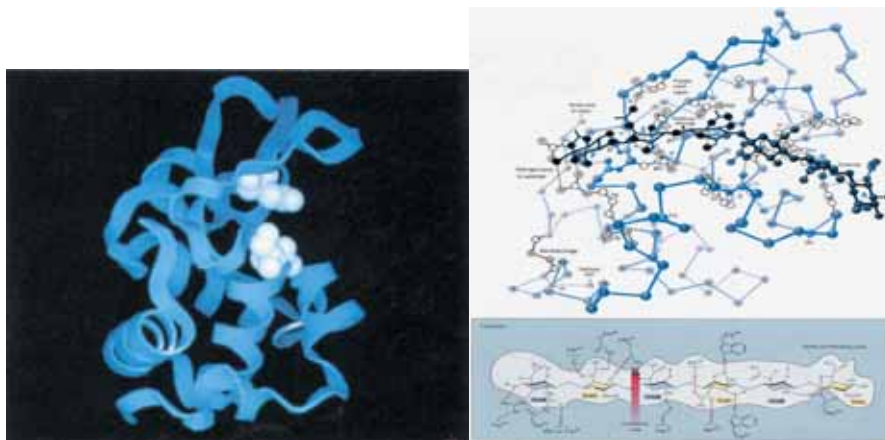
- 1． 酶的活性部位（活性中心）：酶分子中与底物结合并催化底物生成产物的部位。
- 2． 酶活性部位（中心）的特点：
- 3． 必需基团：在酶分子中有些基团并不位于活性中心，也不与底物直接作用，但它参与维持酶分子的空间构象，是酶表现活性所必需的部位。

溶菌酶催化的反应：



NAG: N-乙酰氨基葡萄糖 NAM: N-乙酰氨基葡萄糖乳酸

溶菌酶的活性中心：Glu 35 , Asp 52



4. 证明酶活性中心存在的方法

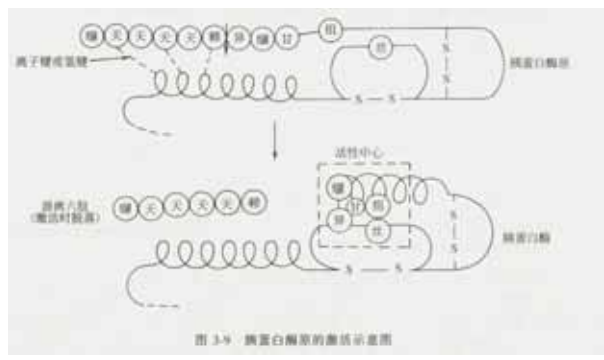
- (1) 切除法
- (2) X-射线衍射分析
- (3) 化学修饰法（共价标记）

二． 酶原的激活

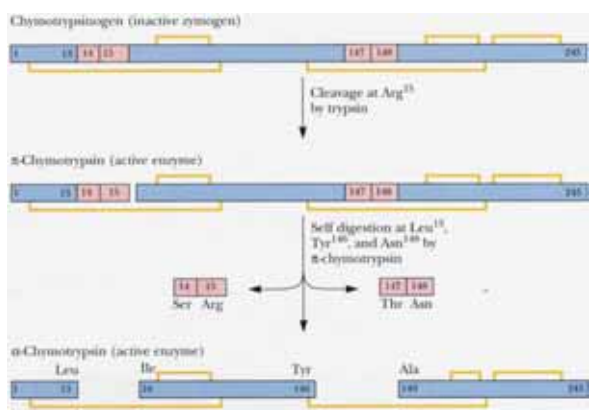
1. 什么是酶原的激活



胰蛋白酶原的激活：



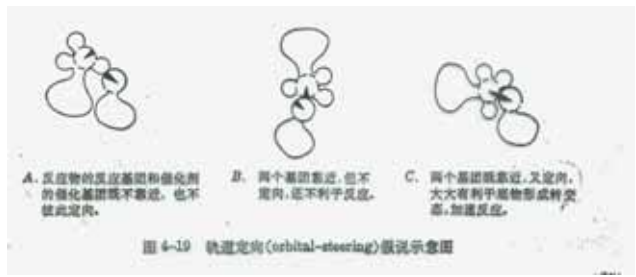
胰凝乳蛋白酶原的激活：



2. 酶原激活作用的意义

三. 酶高效催化的机制

1. 底物与酶的靠近及定向



2. 底物的变形与诱导契合

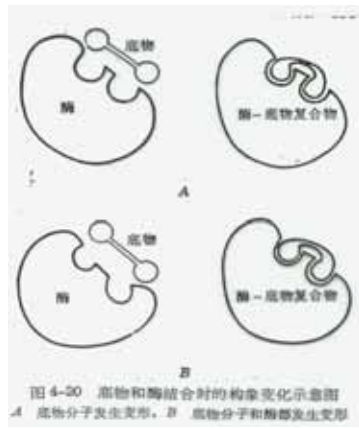


图 4-20 底物和酶结合时的构象变化示意图
A 底物分子发生变形, B 底物分子和酶都发生变形

3. 酸碱催化

例如: 胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶, 弹性蛋白酶的催化三组合

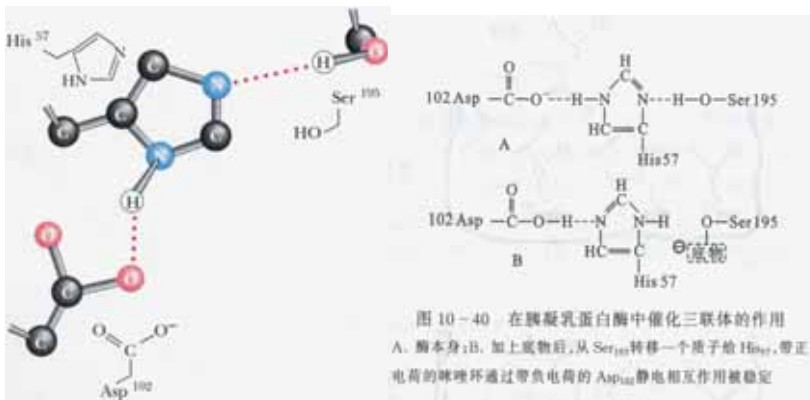


图 10-40 在胰凝乳蛋白酶中催化三联体的作用
A. 酶本身; B. 加上底物后, 从 Ser₁₉₅ 转移一个质子给 His₅₇, 带正电荷的咪唑环通过带负电荷的 Asp₁₀₂ 静电相互作用被稳定

4. 共价催化

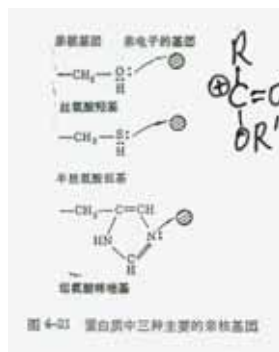
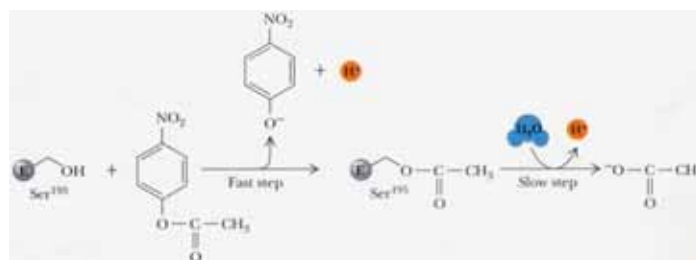
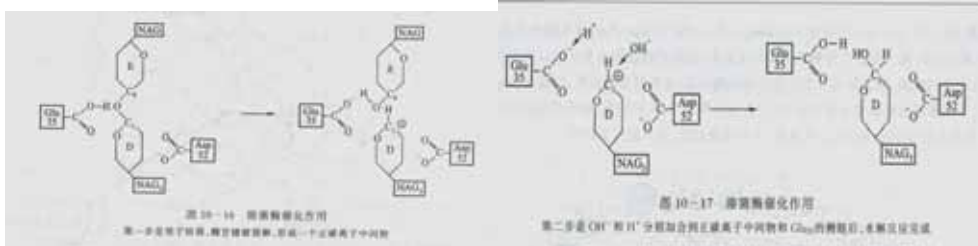


图 4-21 蛋白质中三种主要的非共价基团

5. 酶与底物形成共价中间体:



6. 活性部位微环境的影响



7. 中间产物学说: $S + E \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$

第四节 酶促反应动力学

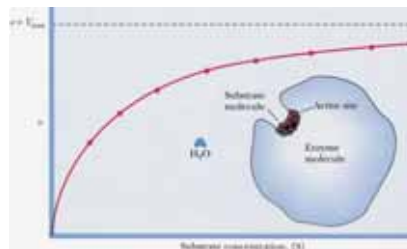
酶促反应动力学是研究酶促反应的速度规律及各种因素对酶促反应速度的影响

初速度(v): 在酶促反应过程中, 初始底物浓度消耗在 5% 以内的速度

一. 酶浓度的影响 (在最适条件下, 底物浓度足够大)

$$v = k[E] \quad k: \text{反应速度常数}$$

二. 底物浓度对反应速度的影响



1. 米氏公式的推导

2. 米氏常数的意义

(1) K_m 值是酶的特征常数, 当 $v = V_{max} / 2$ 时 $[S] = K_m$ (摩尔/升)

(2). 判断酶的最适底物 如蔗糖酶： 水解蔗糖 $K_m = 28$

水解绵子糖 $K_m = 350$

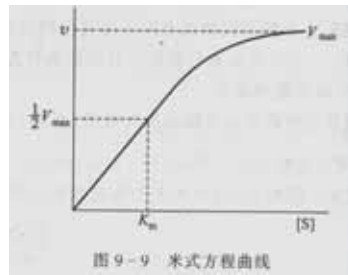
(3). 可近似地表示酶对底物亲和力的大小

(4). K_m 与 K_s $K_m = K_2 + K_3 / K_1$ 当 $K_2 \gg K_3$

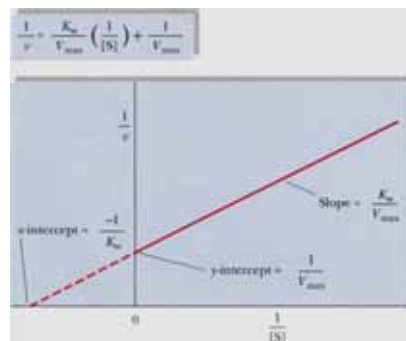
$K_m = K_2 / K_1$ K_m 等于ES的解离常数，以 K_s 表示

4. 米氏常数的求法

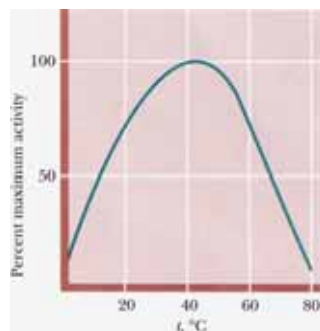
(1) $v - [S]$ 作图法：



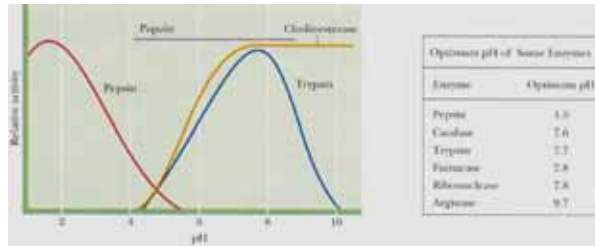
(2) 双倒数作图法：



三. 温度对酶促反应的影响



四 . pH 对酶促反应的影响



五 . 激活剂的影响：凡能提高酶活性，加速酶促反应速度的物质都

称为该酶的激活剂。激活剂分为以下几类：

1. 金属离子： K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+}
2. 无机离子： Cl^- 、 Br^- 、 PO_4 、 I^- 、
3. 小分子有机物：抗坏血酸、还原型谷胱甘肽、半胱氨酸等
4. 生物大分子：蛋白酶、钙调素等

六 . 抑制剂的影响

1 . 什么是酶的抑制作用：抑制作用是指某些物质能与酶分子上某些基团，主要是活性中心的某些基团结合，使酶活性中心的结构和性质发生改变，从而引起酶活力的下降或丧失，这种作用称为酶的抑制作用。抑制剂不同于变性剂。

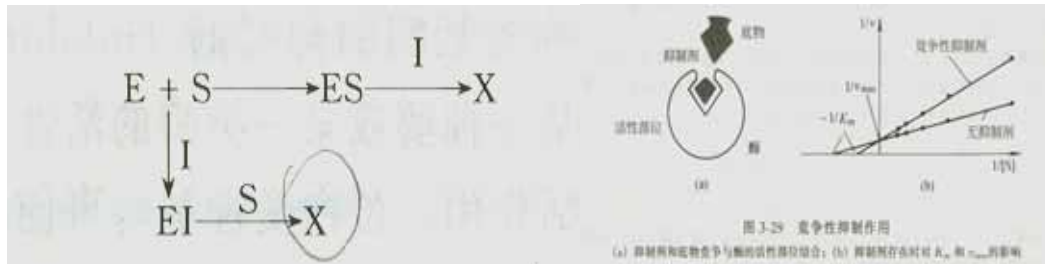
2 . 抑制作用的类型

(1) 不可逆抑制作用：抑制剂与酶分子上的某些基团以共价键的方式结合，导致酶的活性下降或丧失，且不能用透析的方法除去抑制剂而使酶的活性恢复的作用称为不可逆抑制作用。

(2) . 可逆抑制作用：抑制剂与酶以非共价键方式结合引起酶活性降低或丧失，但可用透析的方法除去抑制剂使酶活性恢

复。这种抑制作用为可逆抑制作用。

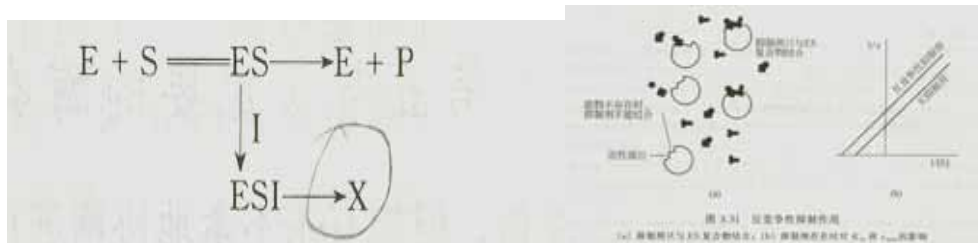
A. 竞争性抑制：抑制剂是底物的结构类似物



B. 非竞争性抑制：抑制剂与底物可同时与酶结合



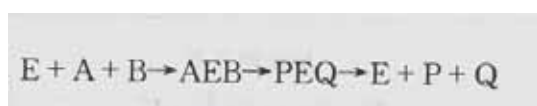
C. 反竞争性抑制：抑制剂只与酶—底物复合物结合



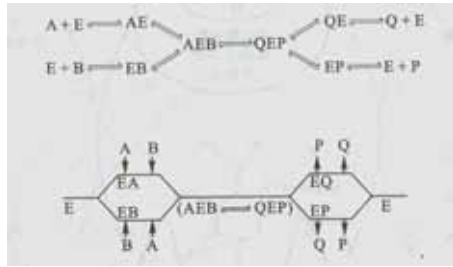
七. 双底物酶促反应机制

1. 顺序机制

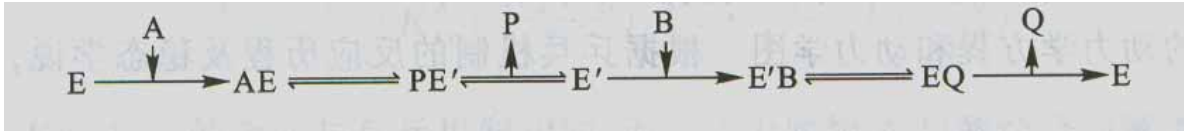
(1) 有序顺序机制



(2) 随机顺序机制



2. 乒乓机制

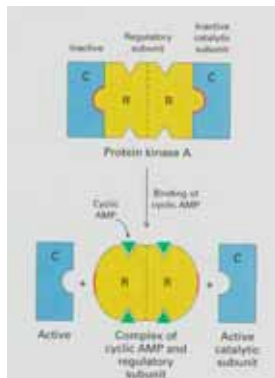


第五节 酶活性的调节和重要调节酶

一. 别构调节 (allosteric regulation) 和别构酶

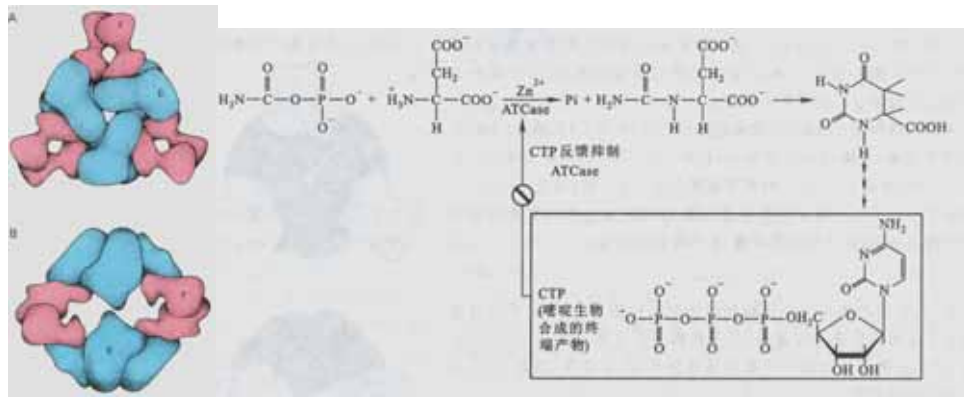
1. 别构调节实例：

例 1：cAMP—依赖性蛋白激酶 (PKA)：



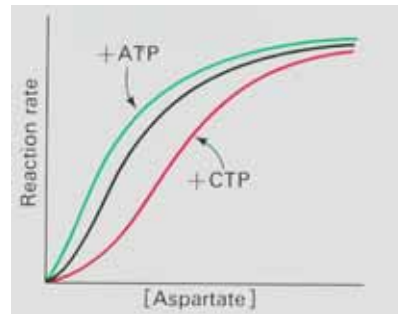
例 2：天冬氨酸转氨甲酰酶 (ATCase)：

(1) 结构： $2R_3 + 3C_2 = R_6C_6$ (2) 催化的反应：

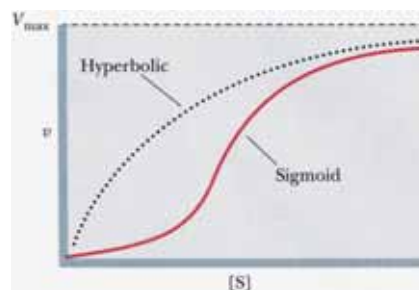


(3) 调节：ATP、天冬氨酸是激活剂，CTP 是抑制剂

(4) ATCase 动力学曲线：

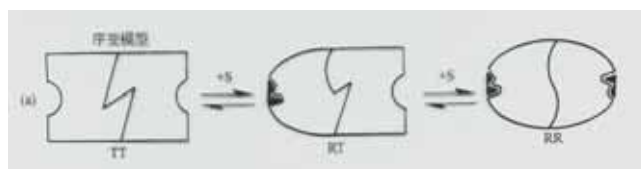


2. 别构酶的动力学曲线为 S-形曲线

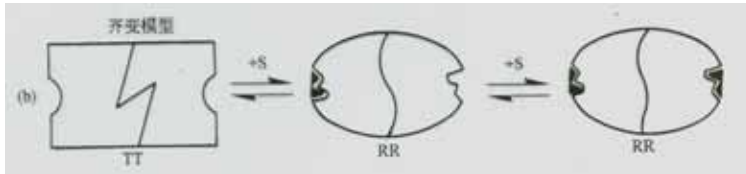


3. 别构调节的机理

(1) 序变模型 (Koshland Nemethy Filmer, KNF 模型 1966)



(2) 齐变模型 (concerted model) 1965 年 Monod Wyman Changeux 提出，故亦称 MWC 模型



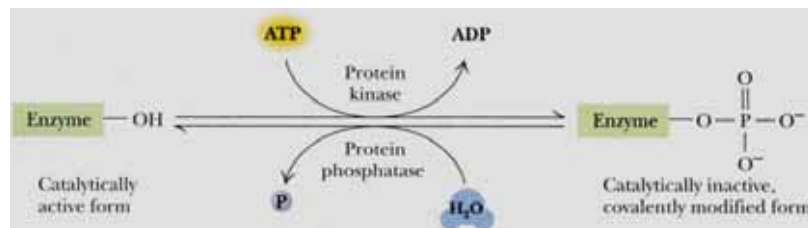
二. 酶的可逆共价调节 (共价修饰)

1. 什么是酶的共价调节

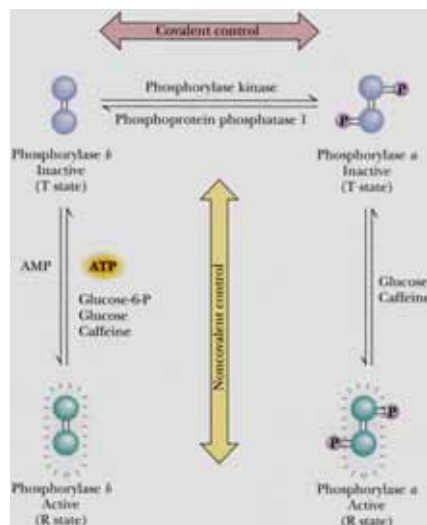
在酶分子的某一特定部位共价结合某一特定基团,使分子在有活性和无活性之间变化。共价调节的逆反应需在另一种酶的催化下进行。

2. 共价调节的类型

3. 磷酸化和脱磷酸化



糖原磷酸化酶共价调节和别构调节机制

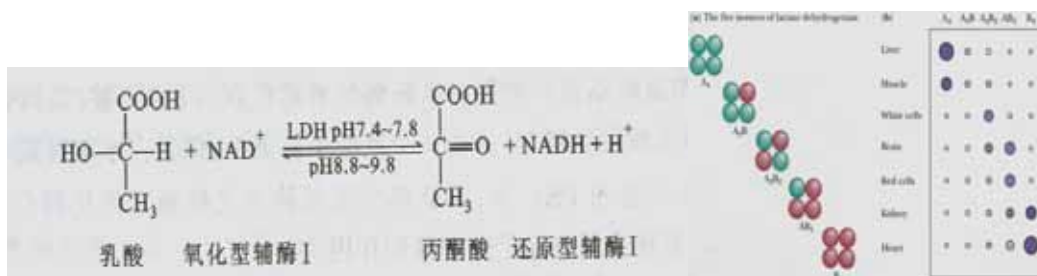


三. 同工酶 (isozymers)

1. 什么是同工酶：同工酶是指同一种属中，由不同基因或等位基因编码的多肽链所组成的单体、纯聚体或杂合体，能催化相同的化学反应，但其蛋白质分子结构、理化性质和免疫性能等方面都存在着明显差异的一组酶。

2. 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase LDH)

(1) 催化的反应 (2) 结构特征



3. 肌酸激酶 (creatine phosphate kinase CPK)

催化的反应：肌酸 + ATP = 肌酸磷酸 + ADP

结构：2 种亚基 2 聚体，三种同工酶 MM, MB, BB

四. 核酶 (ribozymes) 和抗体酶 (abzymes)

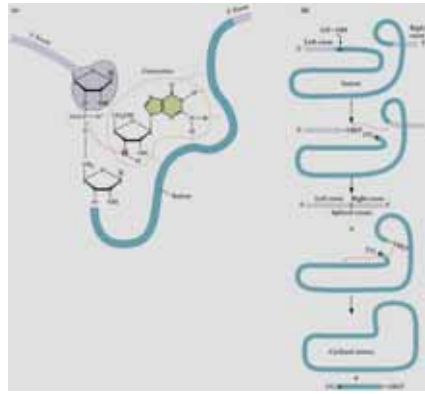
1. 核酶 (Cech 和 Altman 因发现 RNA 具有生物催化功能而获 1989 年诺贝尔化学奖)

(1) 什么是核酶：具有催化作用的 RNA 分子为核酶。

(2) 核酶催化的特点：需游离的鸟苷酸和镁离子存在，并且只作用一次。

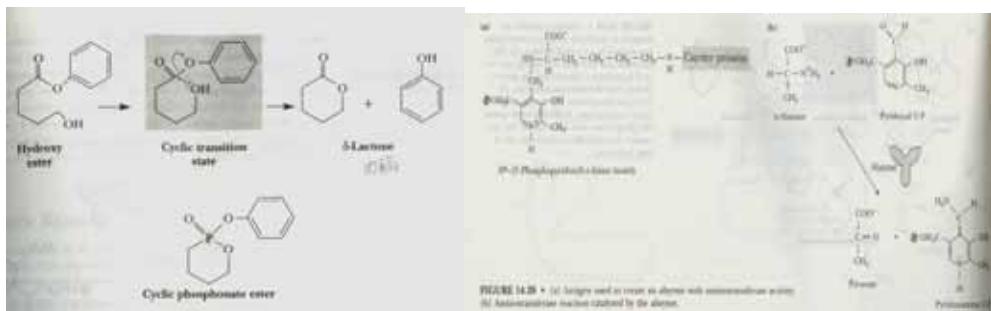
(3) 核酶催化举例：

鸟苷酸介导的四膜虫 rRNA 内含子的自我剪切



2. 抗体酶

抗体酶本质上是免疫球蛋白，但在易变区被赋予了酶的属性，所以又称“催化性抗体”。抗体酶是将抗体的多样性和酶分子的巨大催化能力结合在一起的蛋白质分子设计的新方法。 制备：用过渡态的类似物作为半抗原免疫动物获得有催化活性的抗体。



第六节 酶的分离纯化和活力测定

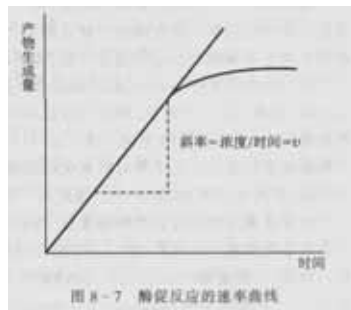
一. 酶分离纯化的一般原则

1. 材料选择：新鲜、酶含量丰富
2. 所有蛋白质分离纯化的方法都适合酶
3. 特别注意酶活性的保护，避免一切能引起蛋白变性的因素
4. 每一步都要进行酶活力的测定，跟踪酶的去向，评价纯化

方法。

二． 酶活力与测定

- 1． 酶活力 :是指在一定条件下 ,酶催化某一化学反应的能力 ,以反应速度表示。酶活力与反应速度呈正比。
- 2． 反应速度 :指单位时间内底物的减少量或产物的生成量。由于底物是过量的 ,减少量不易测准 ,所以通常以测定产物的生成量为准。



- 3． 酶活力单位 :
 - (1) 以国际单位 (IU) 表示。一个国际单位指在最适条件下 ,每分钟催化 1 微摩尔 (μmol)底物减少或 1 微摩尔产物生成所需要的酶量 (25°C)。
 - (2) 催量 (Katal):为 1972 年推荐新的酶活力国际单位 ,规定为 :在最适条件下 ,每秒钟能催化 1 摩尔 (mol)底物转化为产物所需的酶量定为 1Kat。Kat与国际单位的换算如下 : $1\text{Kat}=6\times 10^7\text{IU}$
4. 酶的比活力 比活力 = 活力单位数 / 毫克蛋白
5. 转换数 ;单位时间内 ,每分子酶所能转换的底物分子数。转换数 = $V/[E_0]$

6. 测定酶活力的一般方法：在一定量的酶和过量底物的存在下，在酶最适反应条件下，(温度、pH、离子强度等)，于反应的不同时间测定体系中产物生成量，计算反应速度。产物测定方法有：比色法、量气法、滴定法、分光光度法、荧光测定法、同位素测定法、酶偶联分析等。

三．回收率和纯化倍数

回收率 = 每次总活力 / 第一次总活力 × 100%

纯化倍数 = 每次比活力 / 第一次比活力