

第八章 酶

1. 酶学研究简史
2. 酶的基本概念
3. 酶的基本性质
4. 酶的分类
5. 酶与底物的结合
6. 酶的催化机理
7. 抗体酶
8. 温度和pH对酶活力的影响
9. 酶反应动力学
10. 酶的抑制
11. RNA酶

1. 酶学研究简史

①1850s, Louis Pasteur糖类转化成酒是由酵母菌中的**酵素**(ferments)催化的。**酵素只存在于活的酵母菌中。**

活力论 (vitalism):认为生命活动是由生物体中的特殊因子的作用结果。这些特殊因子可以调控生物体内的物理和化学反应，它只存在于活的生物体中。



Louis Pasteur
(1822 -1895)

1. 酶学研究简史

②1897, Eduard Buchner (1860–1917, 德国化学家) 发现酵母提取液同样可以将糖类转变成酒。第一次将酒精发酵的物质与活的生物体分离开, 他称这种物质为 **Zymase**, 并因此获得了1911年的诺贝尔化学奖。



Eduard Buchner,
1860–1917

Frederick W. Kühne 后来把这种催化物质称为 **enzymes (酶) (在酵母中)** .

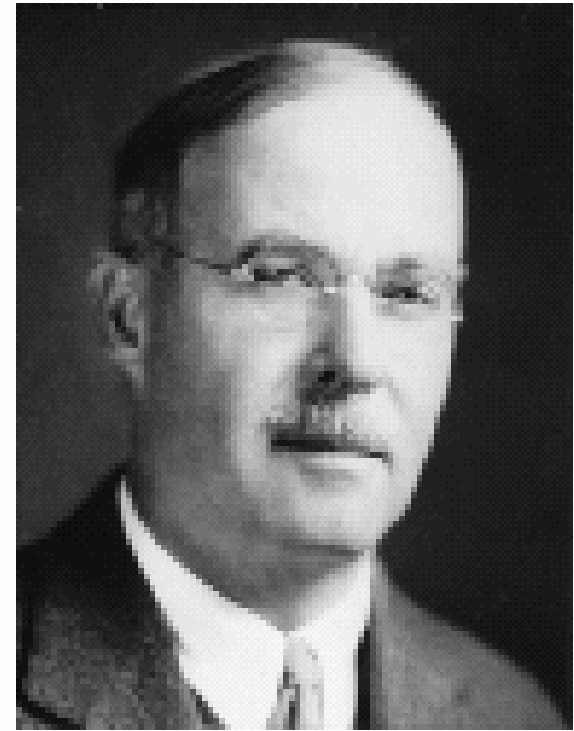
1. 酶学研究简史

③**1926年**，**James Sumner** 提取了**脲酶(urease)**并获得了结晶。并证明**脲酶是一种蛋白质**。并推断**所有酶都是蛋白质**。

1930s，**John Northrop** 和 **Moses Kunitz**获得了**胃蛋白酶(pepsin)**晶体和**胰蛋白酶(trypsin)**晶体。“**酶的本质是蛋白质**”这一观点被广泛接受。

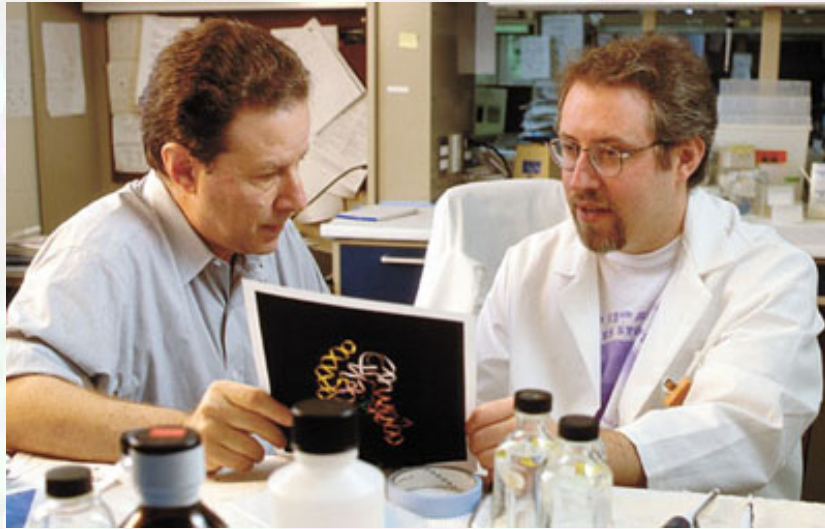
James Sumner & John Northrop 获得了**1949年的Nobel Prize**。

酶学研究极大地促进了生物化学的发展。



James Sumner,
1887–1955

1. 酶学研究简史



Altman(左)

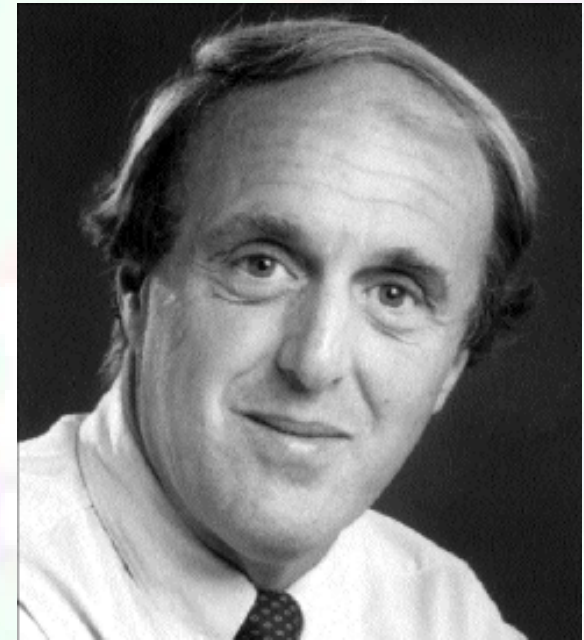


Cech

④1980s, Cech & Altman各自独立地发现具有催化能力的RNA，称之为 **Ribozyme (RNA 酶)**。他们获得了1989年的Nobel Prize。

1. 酶学研究简史

⑤1986年，Schultz & Lerner等研制成功抗体酶（**abzyme**），对酶学研究具有重要的理论意义和应用前景。



Lerner

2. 酶的一些基本概念

2.1. 简单酶和结合酶(缀合酶)

简单酶是单纯的蛋白质；结合酶(复合酶)需要小分子物质（辅助因子）帮助才能发挥催化作用

- **Cofactor(辅因子):**包括金属离子、辅基和辅酶
- **辅酶(coenzyme):**结合酶所包含的有机小分子
- **辅基(prosthetic group):**与酶蛋白紧密结合的辅因子
- **全酶(holoenzyme):**酶蛋白 + 辅因子，具完全催化能力
- **脱辅基酶蛋白 (apoenzyme, apoprotein):**除去辅基的酶蛋白

2.1.1 许多酶需要金属离子做为辅因子

table 8-1

Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

2.1.2. 维生素转化为辅酶发挥其生物学作用

table 8-2

Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups*

Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Biotin	CO ₂	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B ₁₂)	H atoms and alkyl groups	Vitamin B ₁₂
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion (:H ⁻)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B ₆)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B ₁)

*The structure and mode of action of these coenzymes are described in Part III of this book.

2.1.2. 维生素转化为辅酶发挥其生物学作用

- 生物素(Biotin) → 生物胞素(Biocytyin) :转移 CO_2 ;
- 泛酸 → 辅酶A(CoA):转乙酰基;
- Vitamin B12(钴胺素) → 辅酶B12: 转H或烷基;
- Vitamin B2(核黄素) → FAD: 转移电子;
- 尼克酸 → NAD^+ : 转移 H^- ;
- Vitamin B6(吡哆醇) → 磷酸吡哆醛: 转移氨基;
- Vitamin B1(硫胺素) → 磷酸硫胺素: 转移醛基;
- 叶酸 → 四氢叶酸: 转移一碳单位。

2.1.3. 辅助因子的作用

- 1.增加了**20**种氨基酸所不具备的**化学
反应性**；如：血红蛋白的 **Fe^{2+}** ；
- 2.可以重复发生**氧化还原反应**的循环；以小分子作用电子的供体和受体，而蛋白质的电荷保持不变。如 **NAD^+** ，**FAD**等。

2. 酶的一些基本概念

2.2. 酶的活性中心

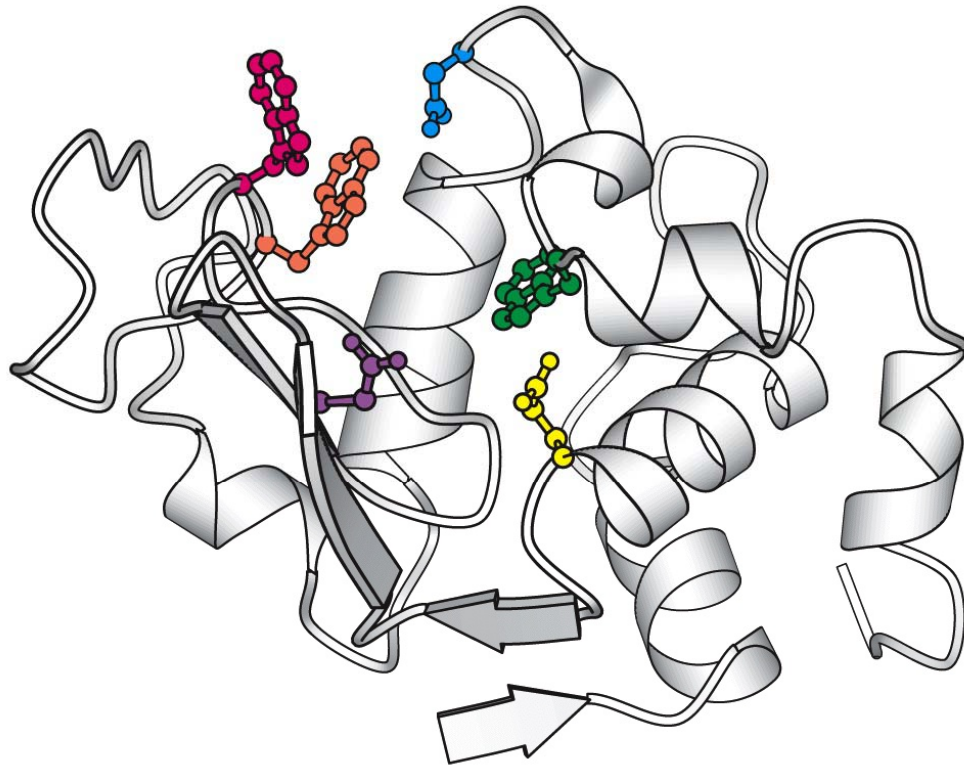
- 1.必需基团：**与酶的催化活性直接相关的基团；包括**结合基团**(与底物结合的基团)和**催化基团**(催化底物转化的基团)；
- 2.活性中心：**必需基团在空间上彼此靠近形成具有一定结构的区域，**该区域与底物结合并将底物转化为产物**。这一区域称为酶的活性中心。结合酶的辅助因子往往位于活性中心；
- 3.活性中心外的必需基团：**不参与活性中心，但对维持活性中心的构象起重要作用的基团。

2.2. 酶的活性中心(活性位点)

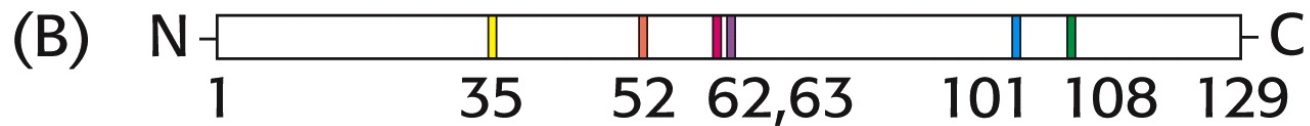
- 酶的活性中心含有**催化残基**和**结合残基**
- 活性中心是**三维**的并且有裂隙
- 由**多种弱相互作用**来实现与底物的结合
- 特异性结合依赖活性中心的结构
- 参与结合底物或催化反应的基团有时被称为酶的活性位点；活性位点只占酶的**极少的部位**

序列上较远的残基在空间上可以邻近 组成活性中心

(A)



溶菌酶的结构



3. 酶的基本性质

2.1. 酶具有极高的催化效率($10^6 \sim 10^{12}$)

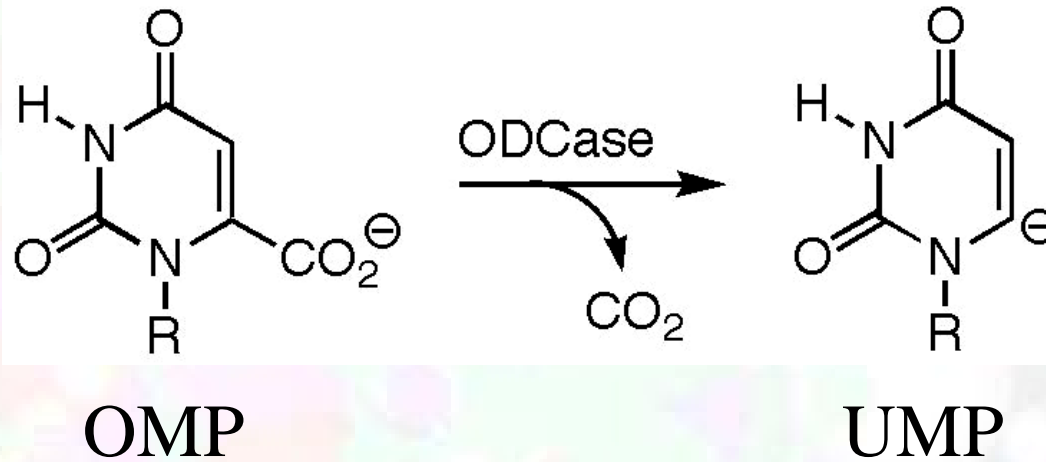
Some Rate Enhancements Produced by Enzymes

Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

3.1. 酶具有极高的催化效率($10^6 \sim 10^{12}$)

酶的高催化效率使生命活动成为可能

例1:



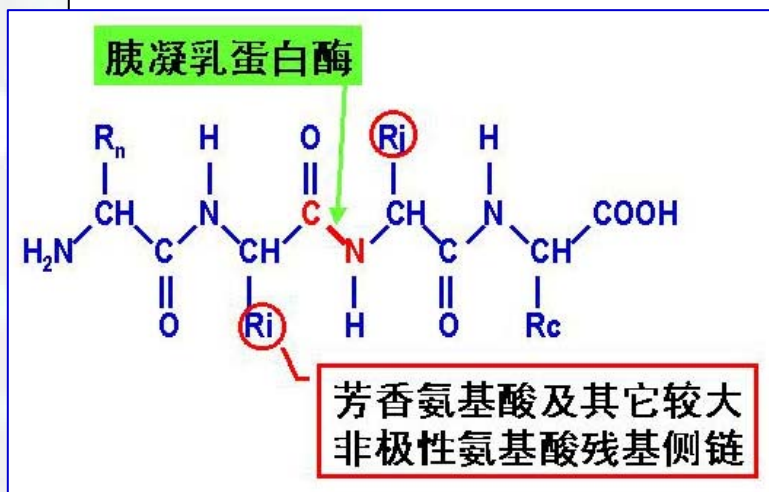
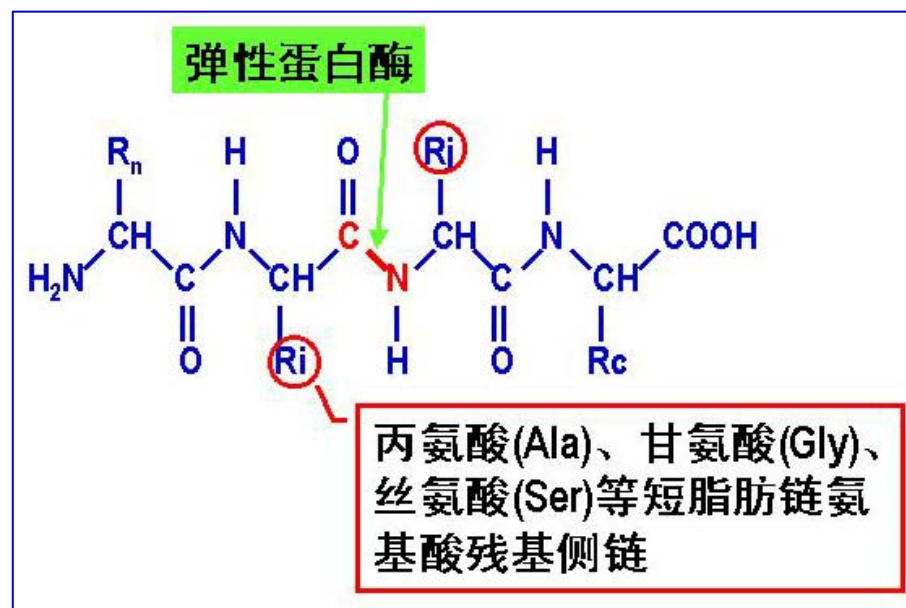
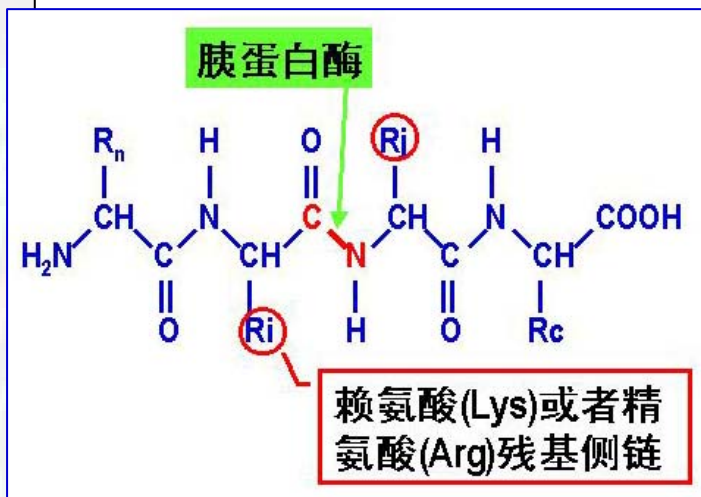
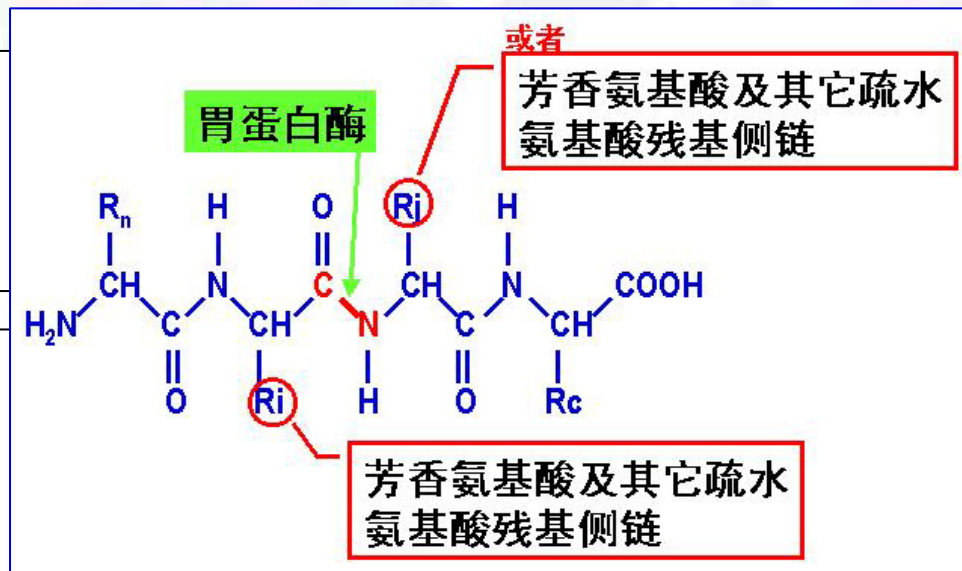
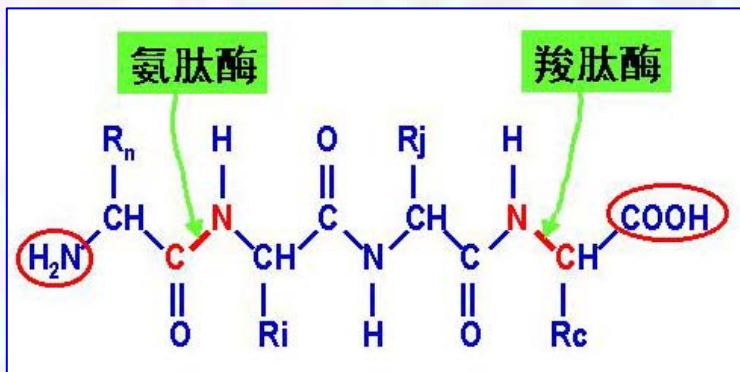
半衰期：非酶催化7.8亿年， 酶催化0.2秒
(提高 1.4×10^{17} 倍)

例2: D_2O 有毒就是因为它轻微地降低了某些催化反应的速度

3. 酶的基本性质

3.2. 酶催化反应具有极高的专一性 (对底物和产物都具有高专一性)

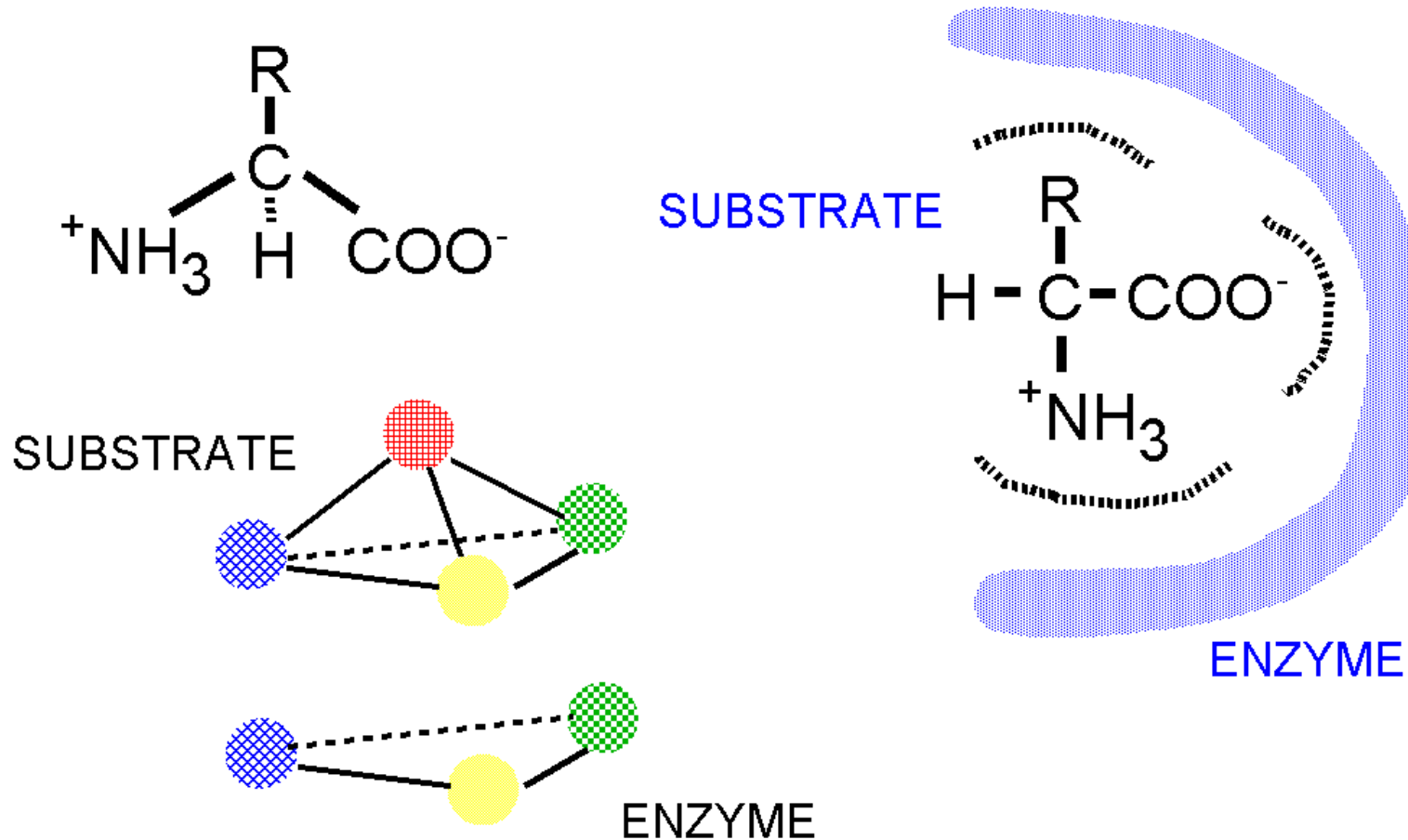
- a) 一个特定的酶通常催化一个单一的反应或者一组相关的反应。
- b) 浪费的副反应非常少。
- c) 不同的酶具有不同的专一性(**specificity**)。



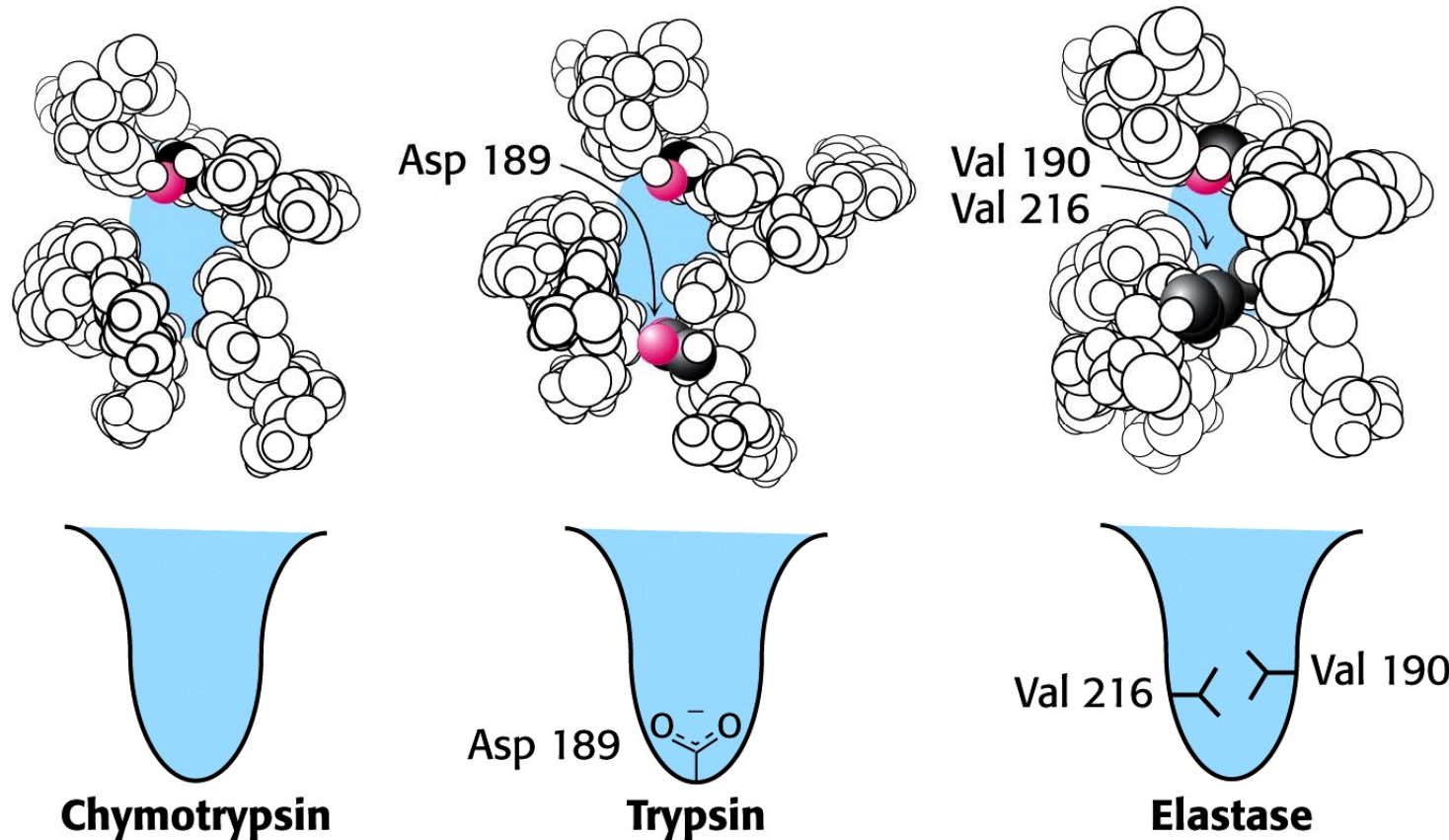
蛋白水解的特异性-专一性

酶与底物的多种弱相互作用也 决定了酶的底物专一性

Specificity is Achieved by Multiple Contact Binding



Specificity of some Proteases



Trp, Tyr, Phe

Lys, Arg

Gly, Ala, Ser

特异性由底物结合口袋决定

3. 酶的基本性质

3.3 酶催化反应条件很温和

温度: $<100^{\circ}\text{C}$;

压力: 1个大气压;

pH: 中性;



Hot spring at Yellow Stone

3. 酶的基本性质

3.4. 酶的催化反应在体内**受到严格调控**

① **控制酶的数量**

- ◆ 酶的合成速度

- ◆ 酶的降解速度

② **改变酶的催化活力**

- ◆ 小分子的别构效应或直接抑制

- ◆ 共价修饰改变酶活力(如磷酸化)

③ **酶与底物的不同定位（真核生物）**

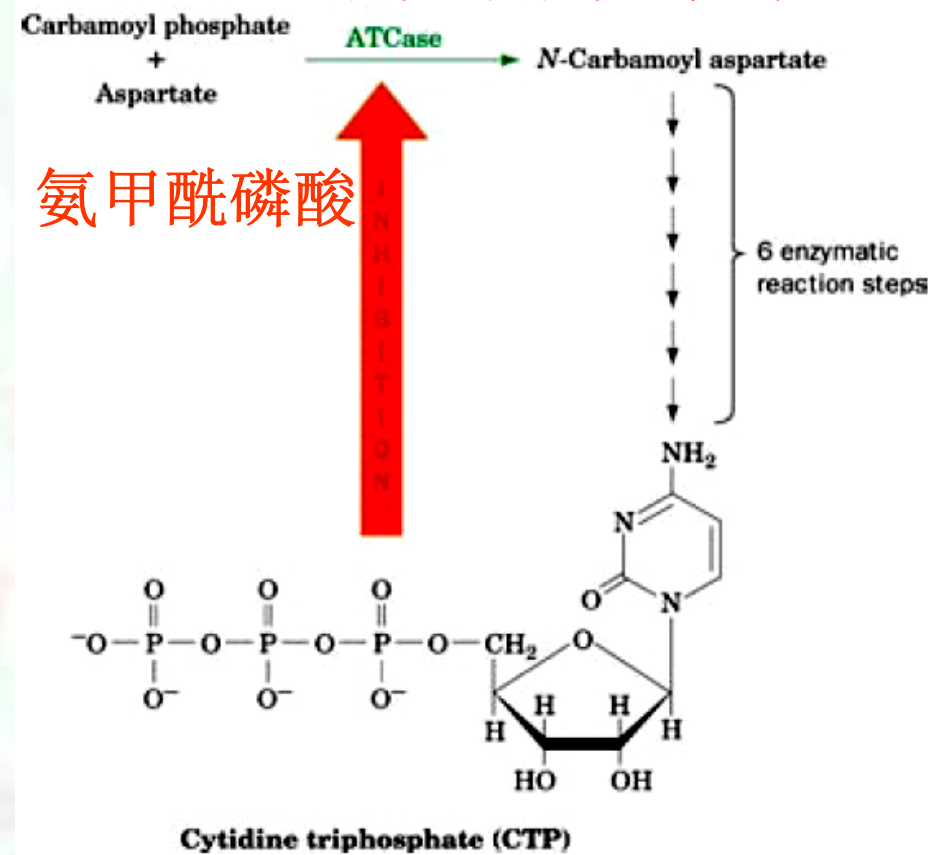
3.4. 酶的催化反应在体内受到严格调控

合成代谢途径的**反馈抑制**：合成代谢途径的**终产物**抑制催化途径**早期步骤**的酶的活力，是代谢调控的常见机制。

- 过多的终产物导致代谢途径的关闭；
- 阻断早期步骤避免了代谢中间物的积累。
好处：

- 节省能量；
- 防止代谢中间物可能的毒性。

天冬氨酸转氨甲酰酶



CTP的合成途径

4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

table 8-3

International Classification of Enzymes*

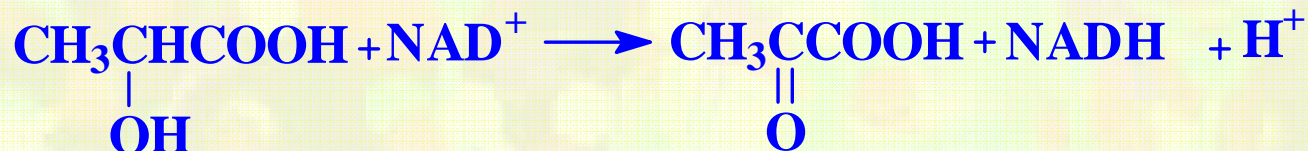
No.	Class	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group-transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to ATP cleavage

*Most enzymes catalyze the transfer of electrons, atoms, or functional groups. They are therefore classified, given code numbers, and assigned names according to the type of transfer reaction, the group donor, and the group acceptor.

4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(1) 氧化-还原酶 Oxidoreductase

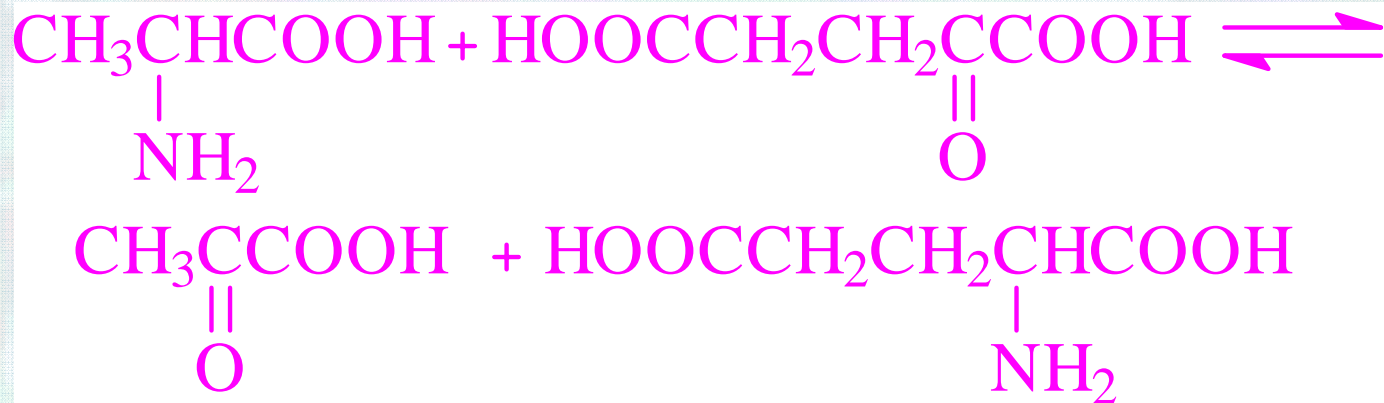
- 氧化-还原酶催化氧化-还原反应。
主要包括脱氢酶 (dehydrogenase) 和氧化酶 (Oxidase)。
- 如，乳酸 (Lactate) 脱氢酶催化乳酸的脱氢反应。



4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(2) 转移酶 Transferase

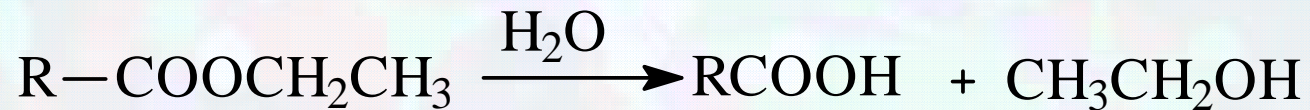
- 转移酶催化基团转移反应，即将一个底物分子的基团或原子转移到另一个底物的分子上。
例如，谷丙转氨酶催化的氨基转移反应。



4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(3) 水解酶 hydrolase

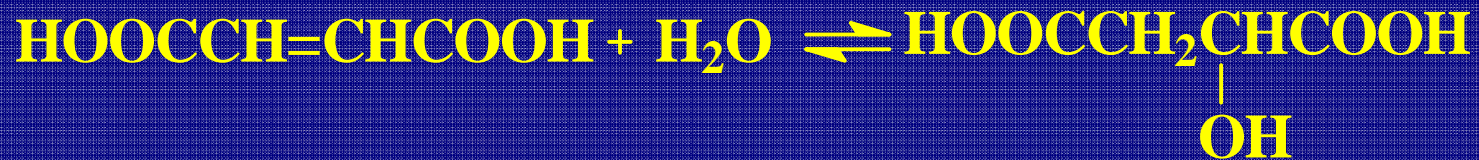
- 水解酶催化底物的加水分解反应。
- 主要包括淀粉酶、蛋白酶、核酸酶及脂酶等。
- 例如，脂肪酶(Lipase)催化的脂的水解反应：



4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(4) 裂合酶 Lyase

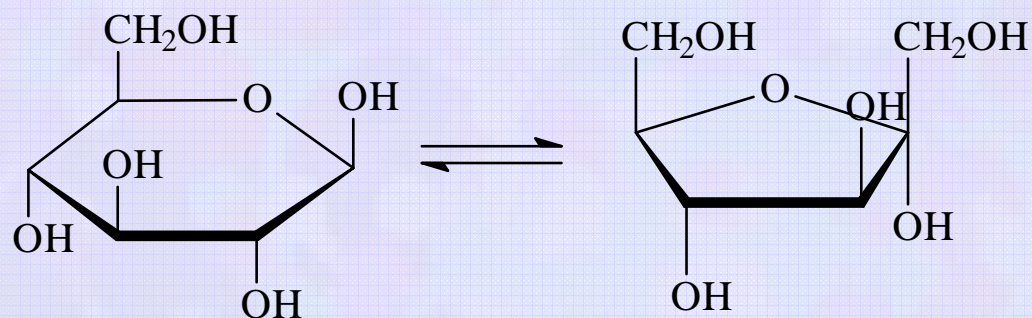
- 裂合酶催化从底物分子中移去一个基团或原子形成**双键**的反应及其逆反应。
- 主要包括醛缩酶、水化酶及脱氨酶等。
- 例如，延胡索酸水合酶催化的反应。



4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(5) 异构酶 Isomerase

- 异构酶催化各种同分异构体的相互转化，即底物分子内基团或原子的重排过程。
例如，6-磷酸葡萄糖异构酶催化的反应。



4. 依据其催化的反应，酶可分为六大类

(6) 合成酶 Ligase or Synthetase

- 合成酶，又称为连接酶，能够催化C-C、C-O、C-N 以及C-S 键的形成反应。这类反应必须与ATP分解反应相互偶联。



例如，丙酮酸羧化酶催化的反应。



4.1. 国际酶学委员会的系统命名和酶的编号

- 系统名称包括底物名称、构型、反应性质，最后加一个酶字



ATP:葡萄糖磷酸转移酶（俗名：己糖激酶）
(EC 2.7.1.1)

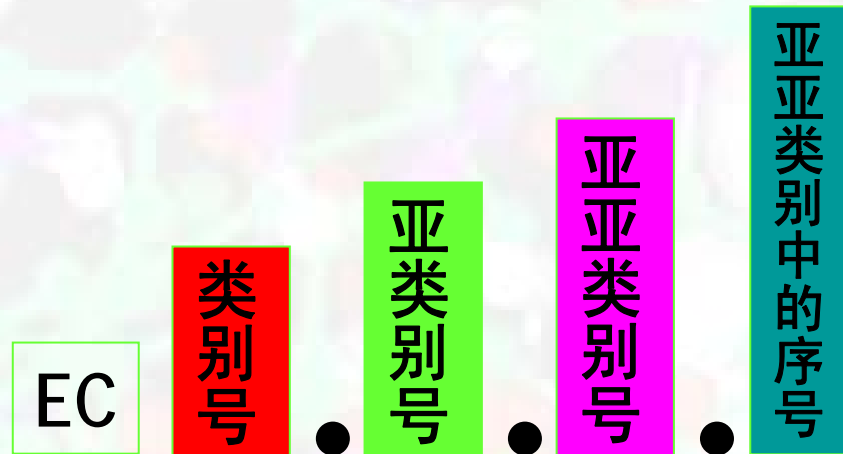
- 酶的编号由四个数字组成，分别表示类、亚类、亚亚类、排号。数字间由. 隔开，编号前冠以E.C. (Enzyme commission)

酶的国际系统命名法

酶的国际系统命名法是以酶所催化的整体反应为基础，酶的系统名称**必须明确标示酶的底物及催化反应的性质**，如果酶催化两个底物的反应，则必须在系统名称中包括两种底物的名称(彼此以:分开)。例如：

习惯名称	国际系统名称	催化的反应
乙醇脱氢酶	乙醇:NAD ⁺ 氧化还原酶	乙醇 + NAD ⁺ → 乙醛 + NADH
谷丙转氨酶	丙氨酸:α-酮戊二酸 氨基转移酶	丙氨酸 + α-酮戊二酸 → 谷氨酸 + 丙酮酸
脂肪酶	脂肪水解酶	脂肪 + H ₂ O → 脂肪酸 + 甘油

酶的国际系统分类法



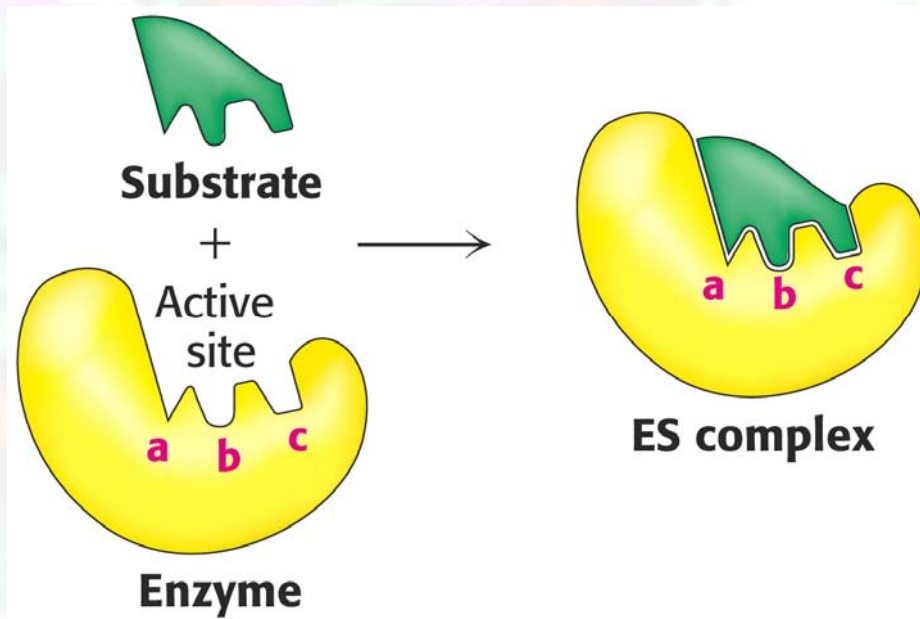
E.C. 2.7.4.4

依据催化反应的类型酶能被分成六大类

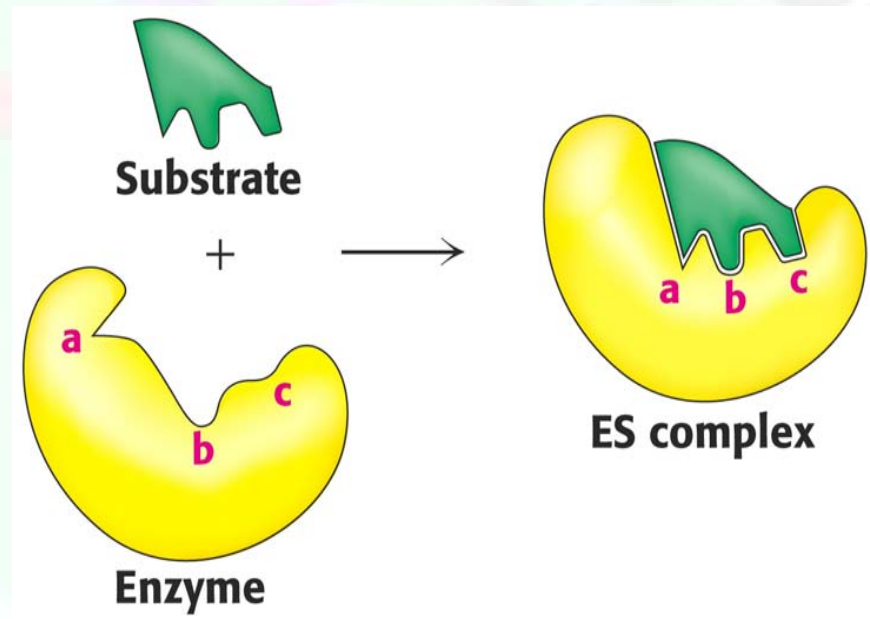
	系统分类	催化的反应类型
1	氧化还原酶类(Oxidoreductases)	Oxidation-reduction reactions
2	转移酶类(Transferases)	Transfer of functional groups
3	水解酶类(Hydrolases)	Hydrolysis reactions
4	裂合酶类(Lyases)	Group elimination to form double bonds
5	异构酶类(Isomerases)	Isomerization
6	连接酶类(Ligases)	Bond formation coupled with ATP hydrolysis

5. 酶与底物的结合

5.1. 酶与底物的结合模型



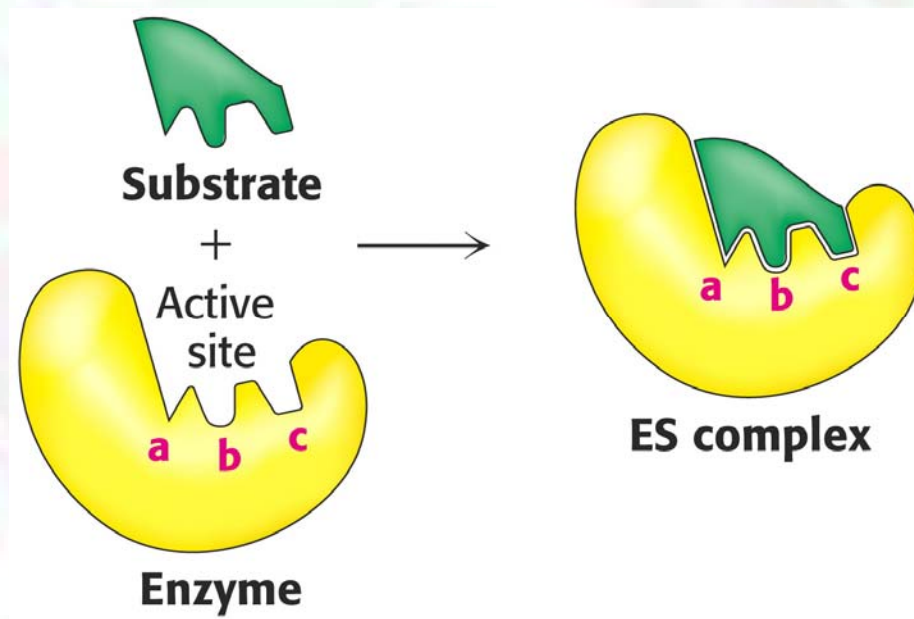
1. 锁钥模型 **lock and key**



2. 诱导契合模型 **induced fit**

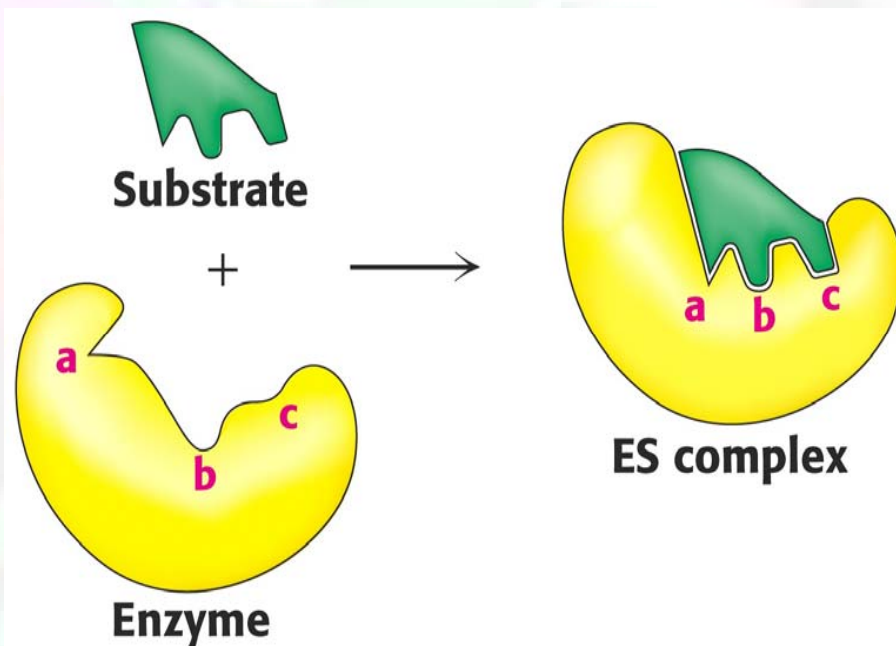
5.1.1 锁钥模型 lock and key

- 在19世纪，Fischer提出，
- 解释酶作用的高度专一性，
- 底物和酶在结构上严密互补，正如“一把钥匙开一把锁”；
- 这一学说意味着酶分子活性部位具有严密的刚性结构。

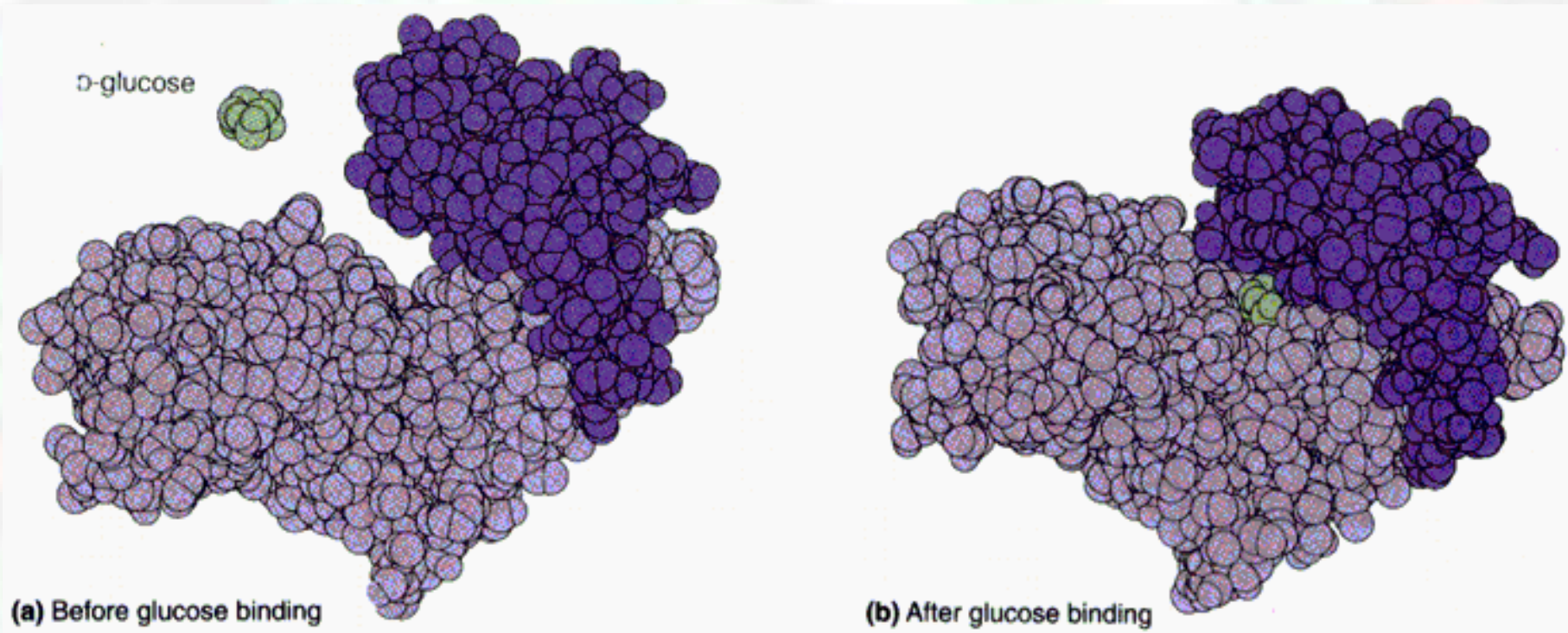


5.1.2 诱导契合模型 induced fit

- koshland在1958年提出;
- 当酶分子与底物接近时, **酶分子受底物的诱导, 使其构象发生变化**, 以利于与底物结合;
- 结合成复合物后, 并促进底物发生化学反应;
- 此学说已得到X线衍射分析的支持。



例：己糖激酶与底物的诱导契合

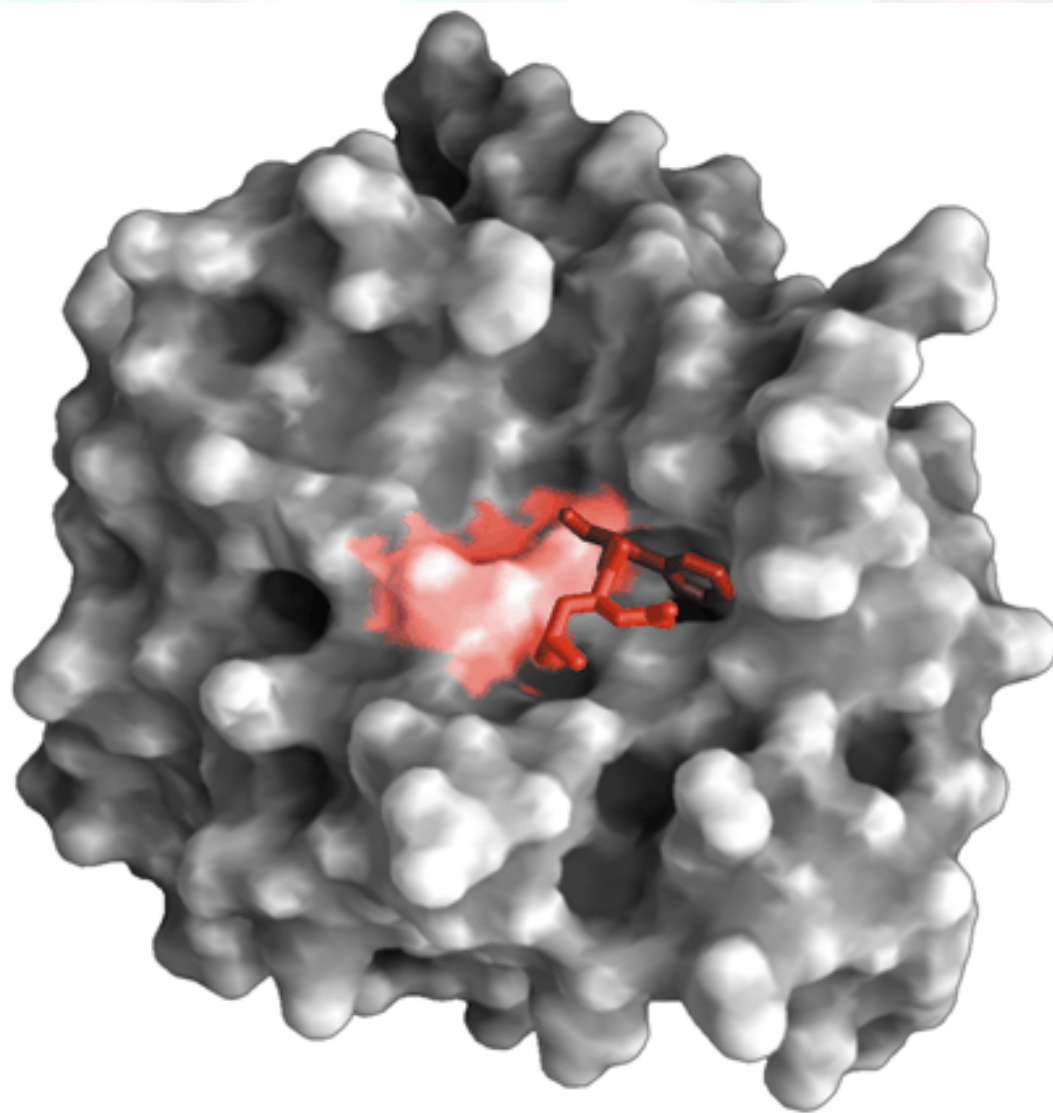


x-ray diffraction studies of the enzyme hexokinase 己糖激酶 both without (a) and with (b) glucose bound binding of glucose causes two domains of the enzyme to fold toward each other

6. 酶的催化机理

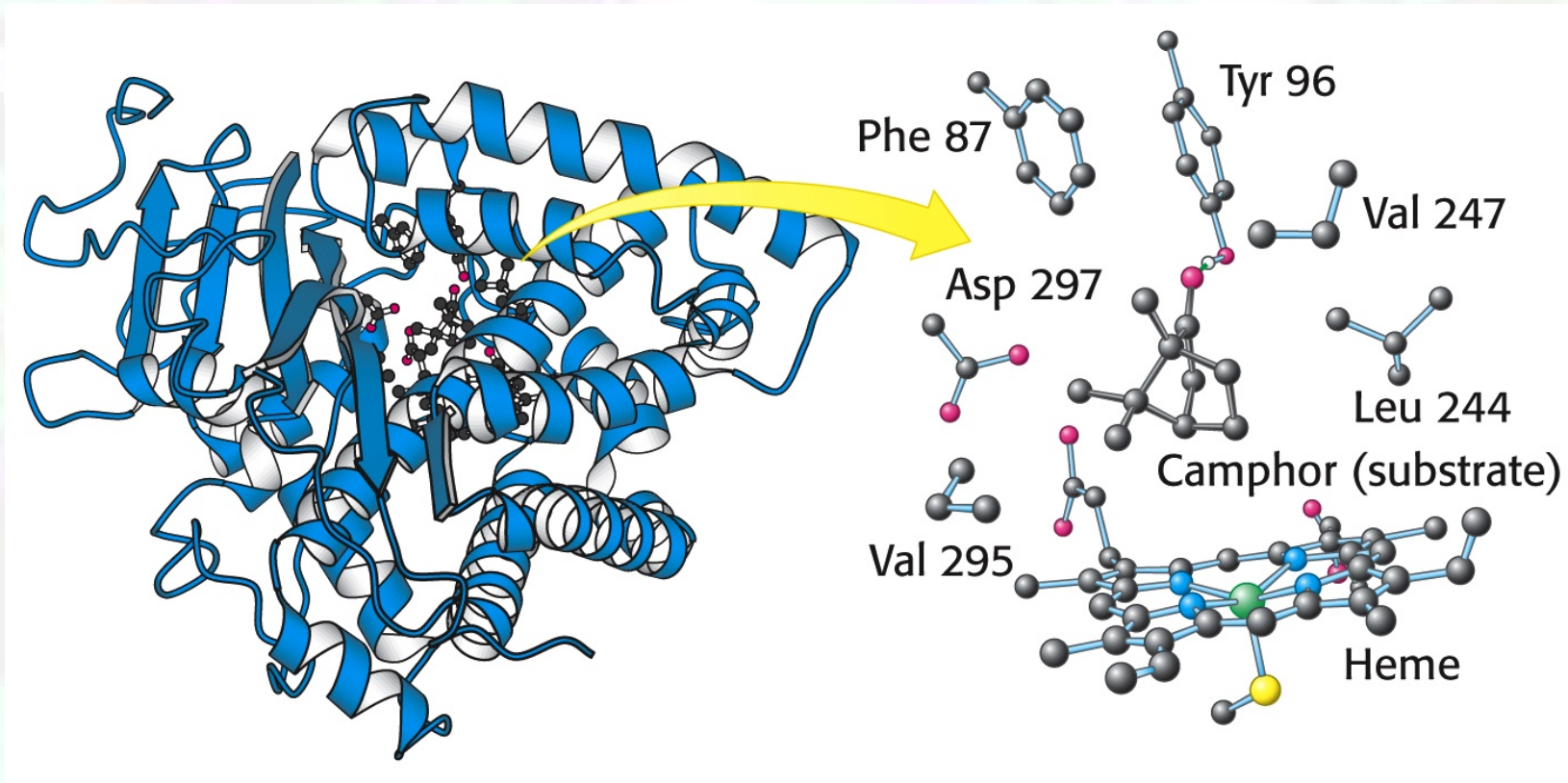
酶提供了有利于反应发生的特殊微环境。使酶催化反应具有高效性和高专一性。

如胰凝乳蛋白酶的疏水口袋可以使芳香族氨基酸插入，肽键水解。



chymotrypsin

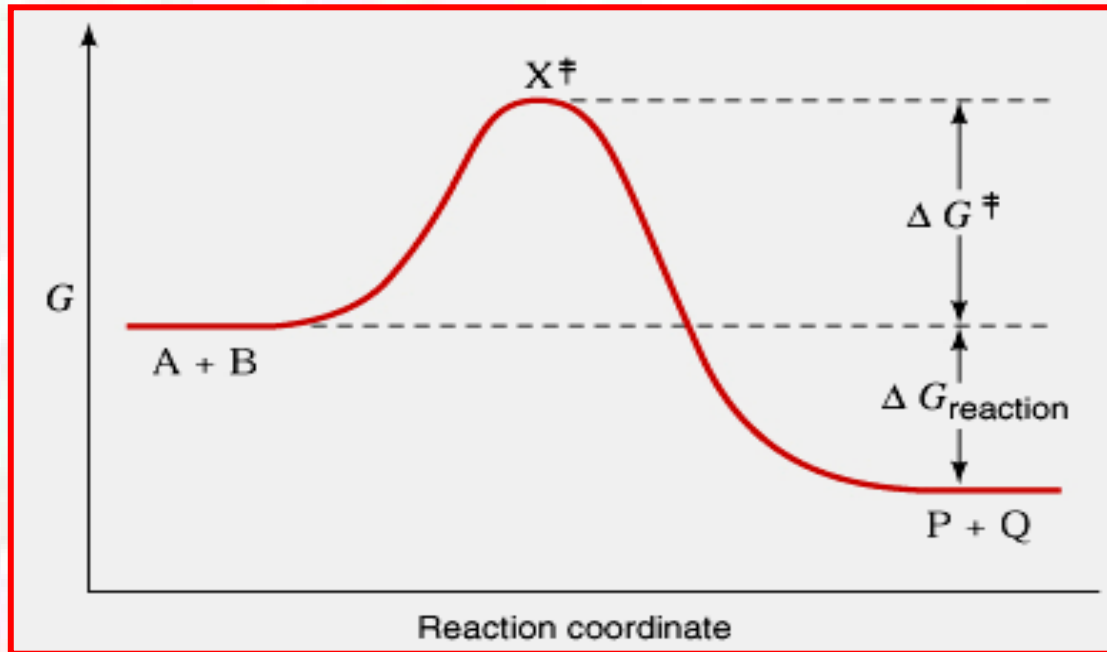
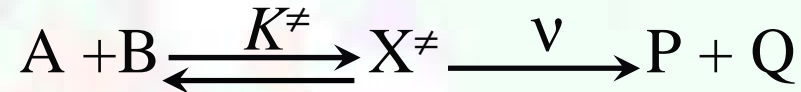
酶催化反应前必需形成酶-底复合物



细胞色素P-450与底物龙脑(camphol)的复合物

6.1. 化学反应的过渡态理论

又称活化络合物理论，认为化学反应不是只通过简单的碰撞就变成产物，而是要经过一个能量较高的中间过渡状态，这个状态就是活化的络合物。



ΔG^\ddagger : 活化能

基态
过渡态
活化能

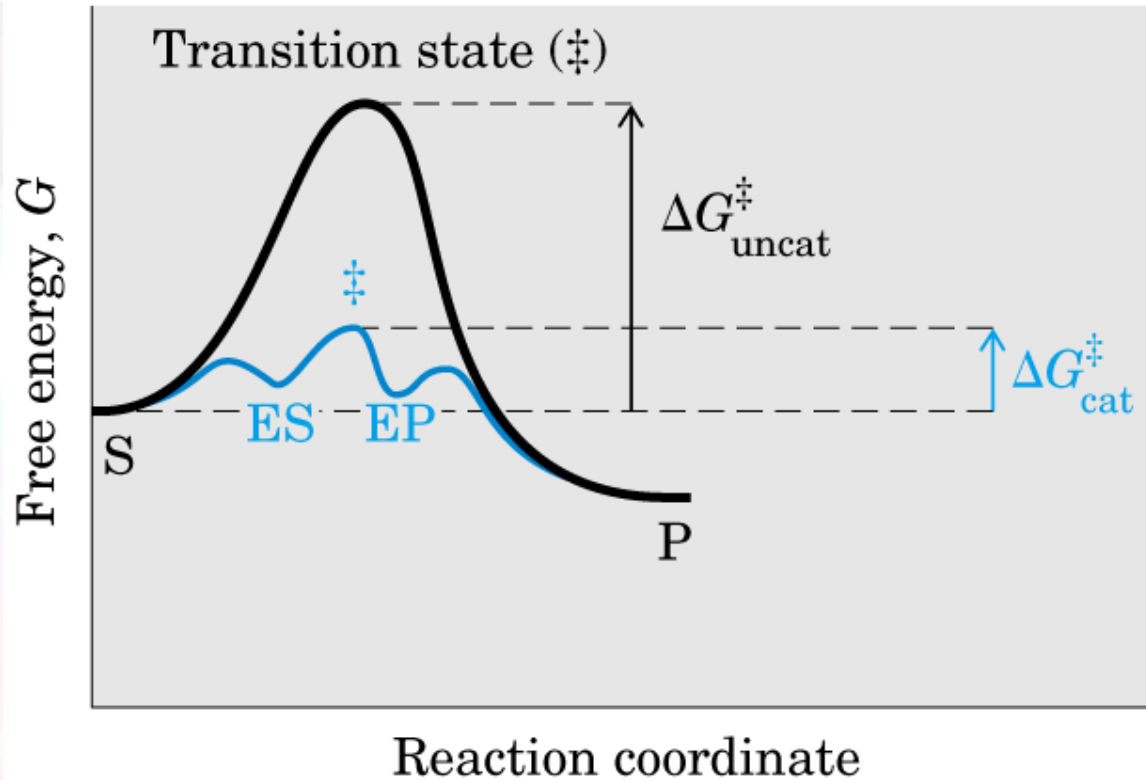
6.2. 酶通过降低反应活化能来催化反应

过渡态：不稳定

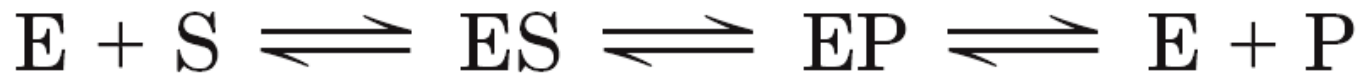
反应中间物：波谷位置，短暂存在

$$V = k[S]$$

$$k = \frac{kT}{h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT}$$



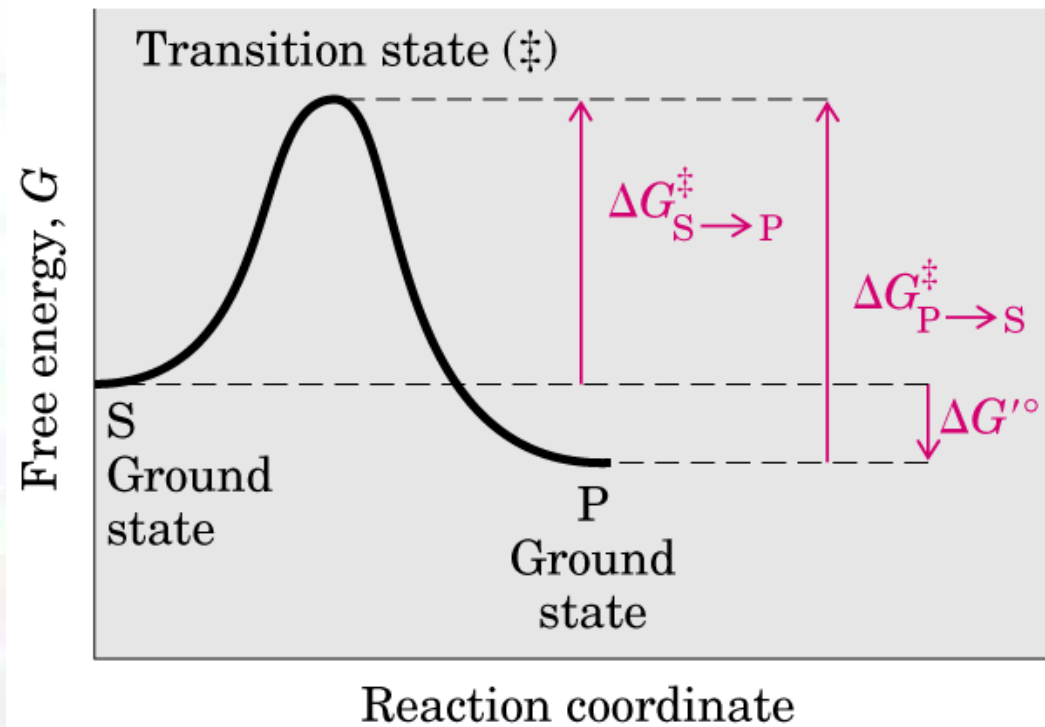
k 与 ΔG^\ddagger 为指数关系， ΔG^\ddagger 的微小改变可导致 k 的巨大变化



6.3. 酶只改变化学反应速度， 而不影响化学反应平衡



$$K'_{\text{eq}} = \frac{[P]}{[S]}$$



$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{\text{eq}}$$

6.4. 酶可通过**结合自由能**降低反应活化能

酶与底物通过许多弱相互作用形成酶-底复合物，所产生的能量被称为**结合自由能(binding energy)**，结合自由能是使反应活化能降低的重要因素。

6.4. 酶可通过**结合自由能**降低反应活化能

1. 酶与底物结合产生**邻近效应**与**定向效应**，变分子间反应为分子内反应，大大降低了反应物的熵值，从而降低活化能。
2. 酶诱导底物形变，使敏感键更敏感：酶与底物过渡态最契合，结合自由能最高，从而**稳定了反应过渡态**，使活化能降低。

6.4.1 邻近效应与定向效应

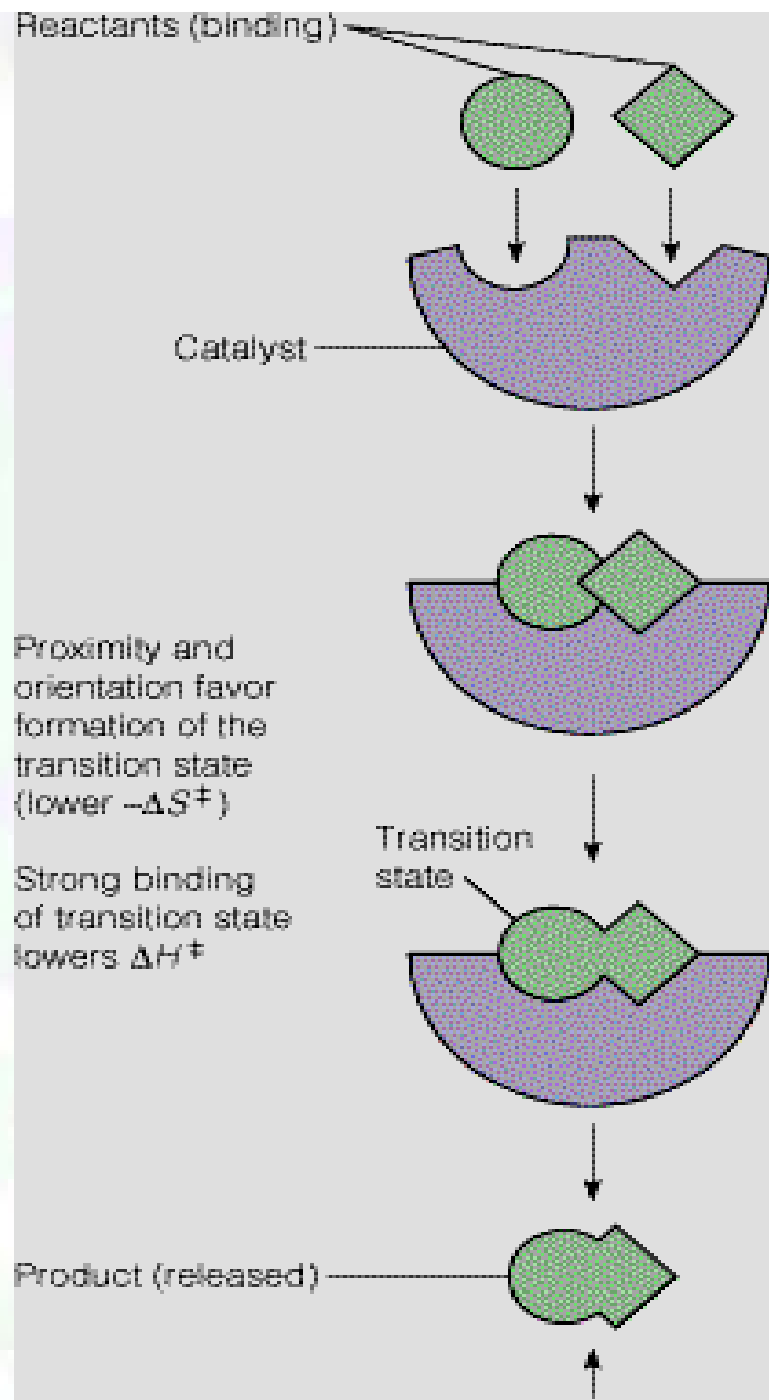
1. 有效浓度大大提高
2. 分子取向有利于反应发生

结合自由能以降低反应物的熵值

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$$

$$\Delta S^\ddagger = S_i - S_r$$

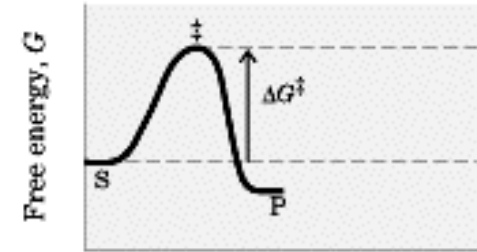
i: 过渡态 r: 反应物



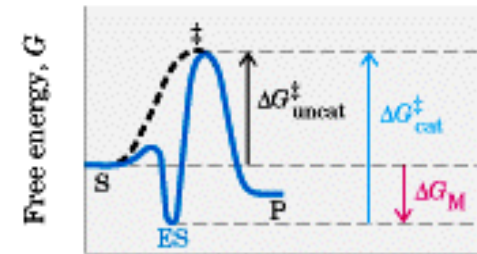
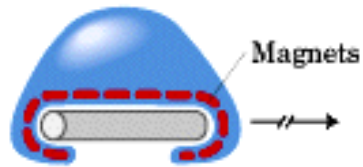
酶与底物过渡态最契合，从而稳定了反应过渡态，使活化能降低。

6.4.2

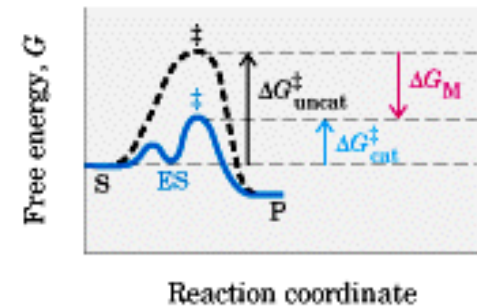
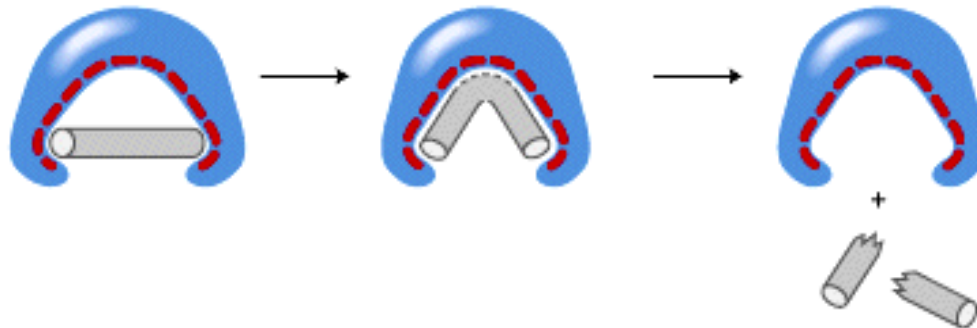
酶稳定了反应过渡态

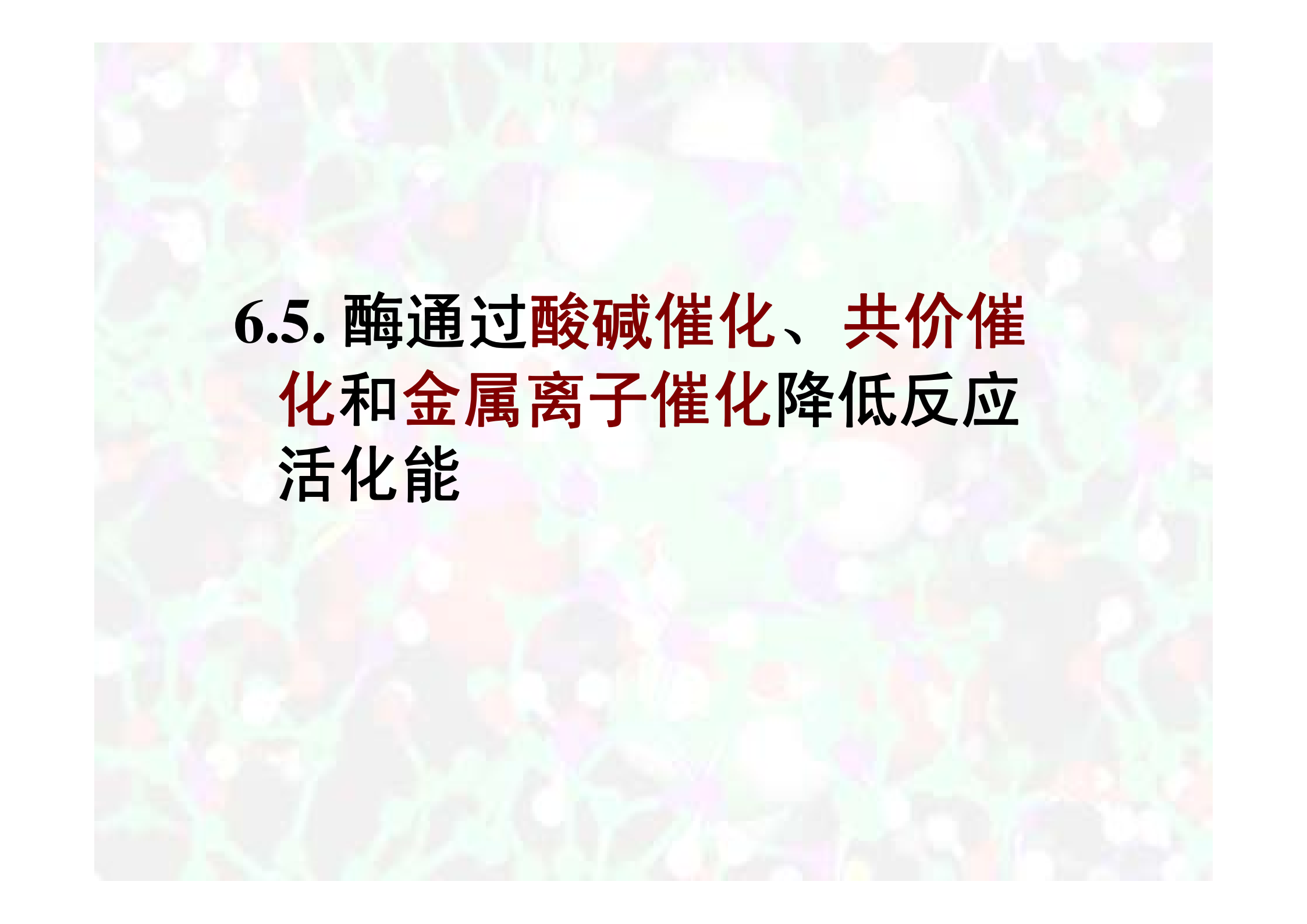


(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state





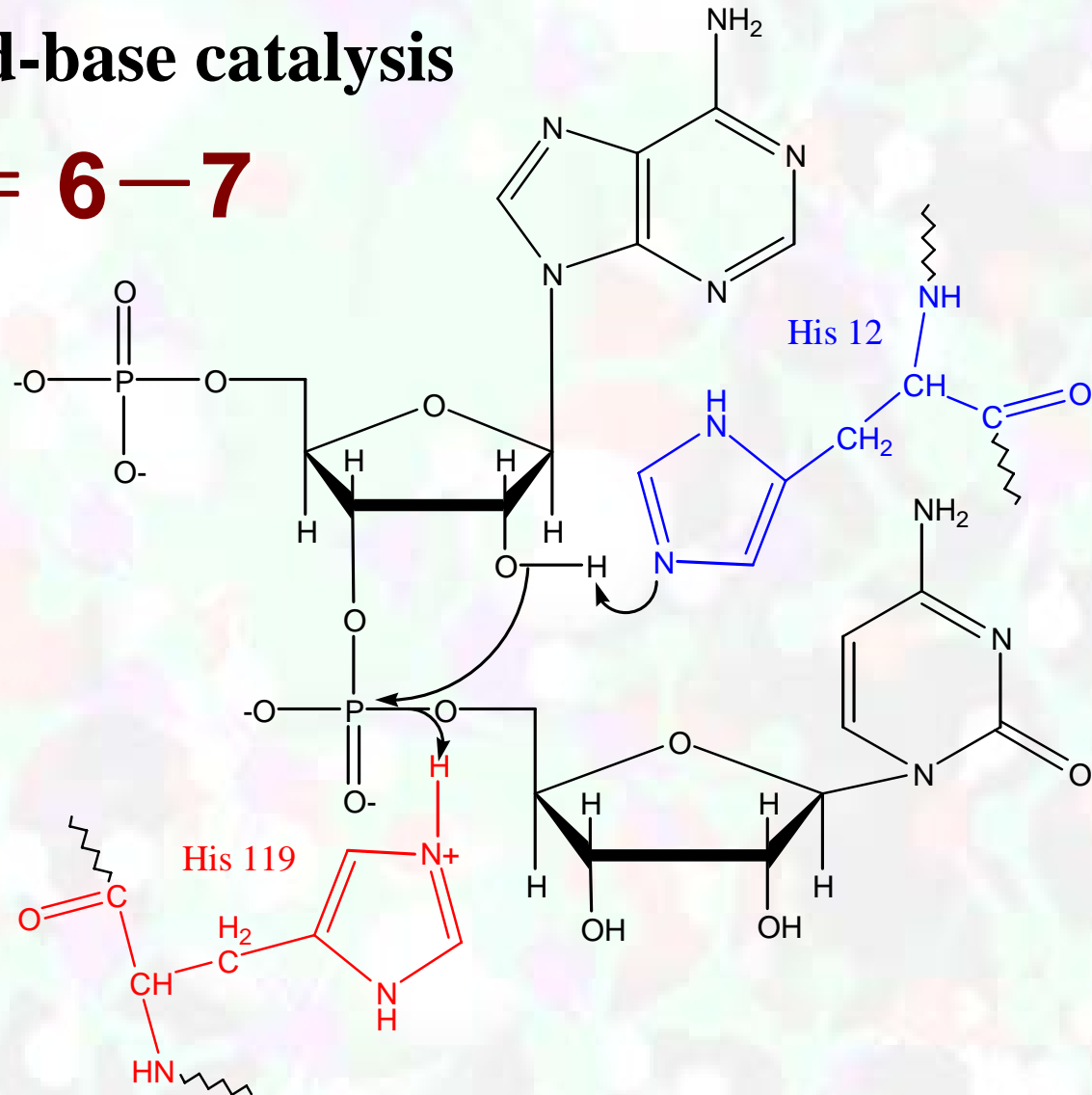
6.5. 酶通过酸碱催化、共价催化和金属离子催化降低反应活化能

6.5.1 酶的广义酸碱催化

例: RNase A: acid-base catalysis

His: pKa = 6–7

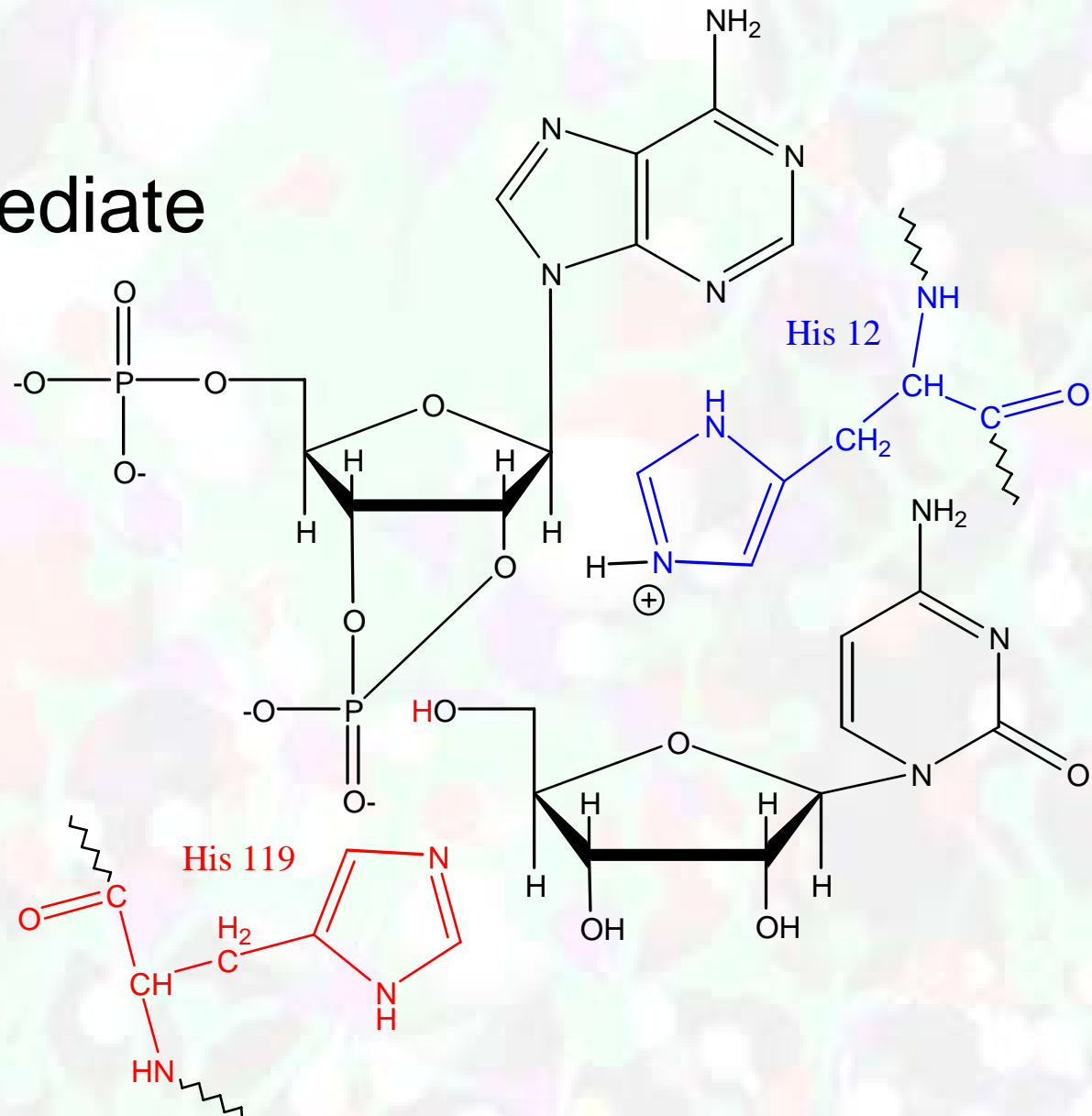
- His 12
 - (general base)
 - abstracts a proton from 2' hydroxyl of 3' nucleotide
- His 119
 - (general acid)
 - donates a proton to 5' hydroxyl of nucleoside



6.5.1 酶的广义酸碱催化

RNase A:
cyclic intermediate

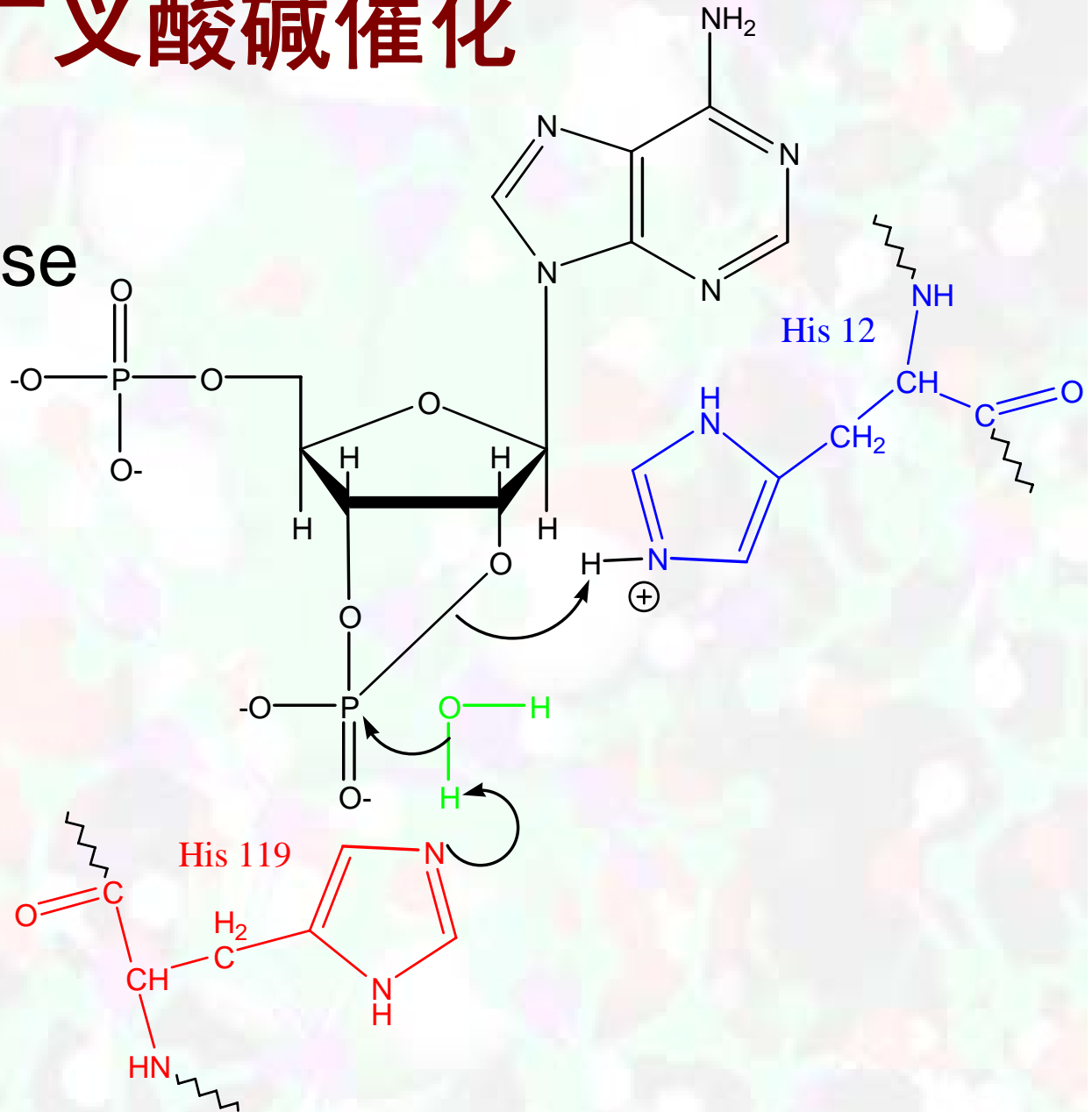
- Net proton transfer from His119 to His12



6.5.1 酶的广义酸碱催化

Rnase A: Product release

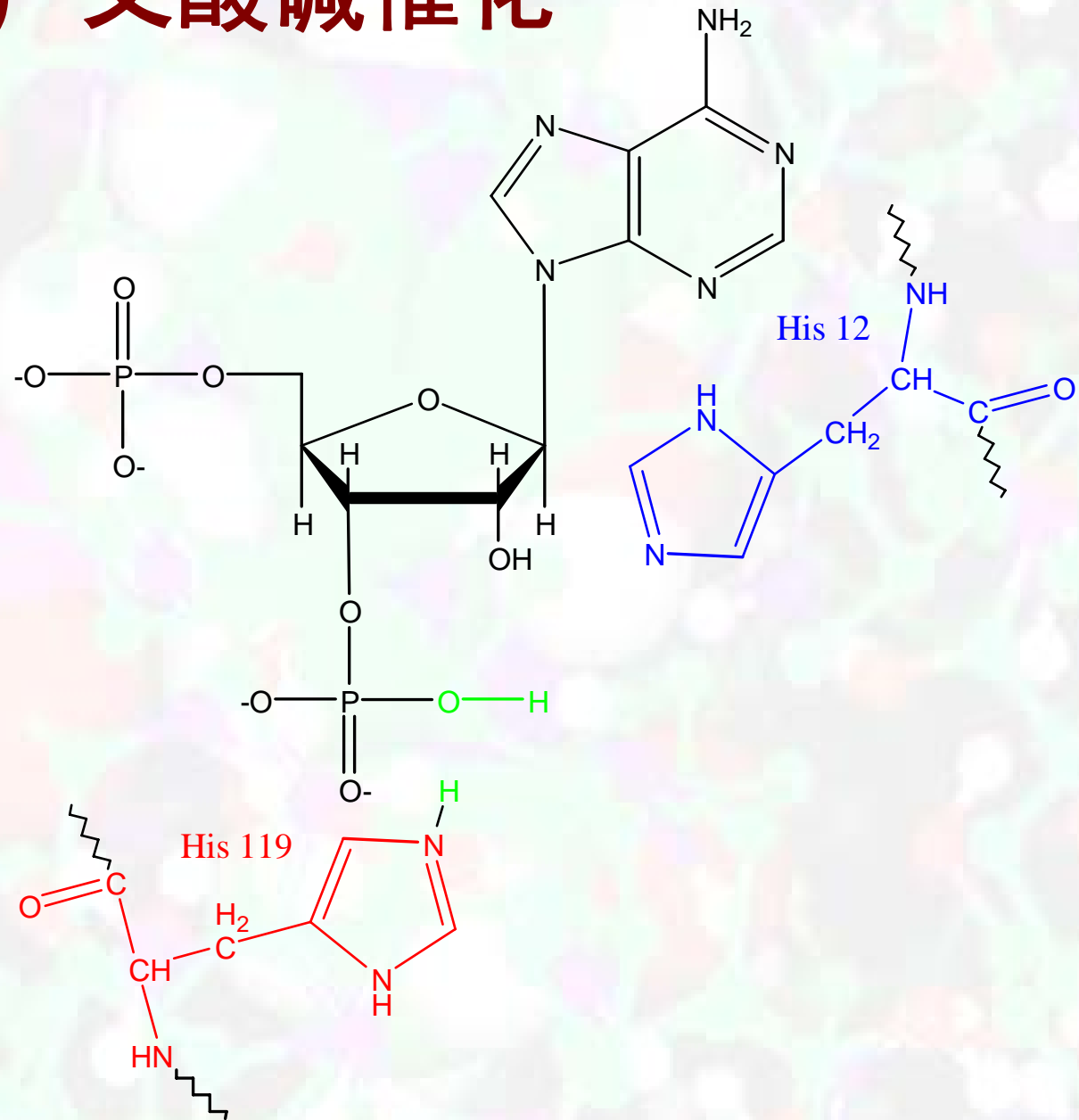
- Water replaces the released nucleoside
- Acid and base roles are reversed for H12 and H119



6.5.1 酶的广义酸碱催化

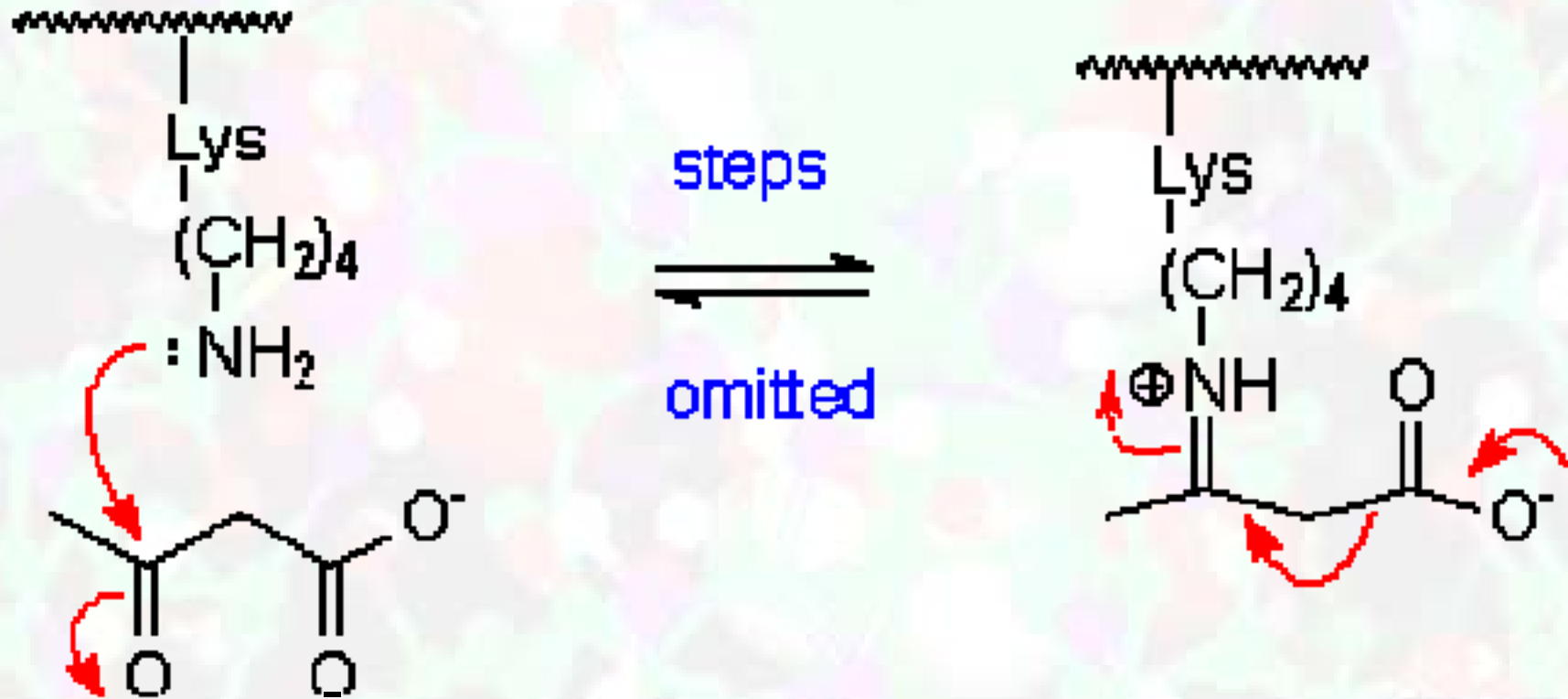
RNase A

- Original Histidine protonation states are restored



6.5.2 酶的共价催化

例：acetoacetate decarboxylase—
schiffs base intermediate

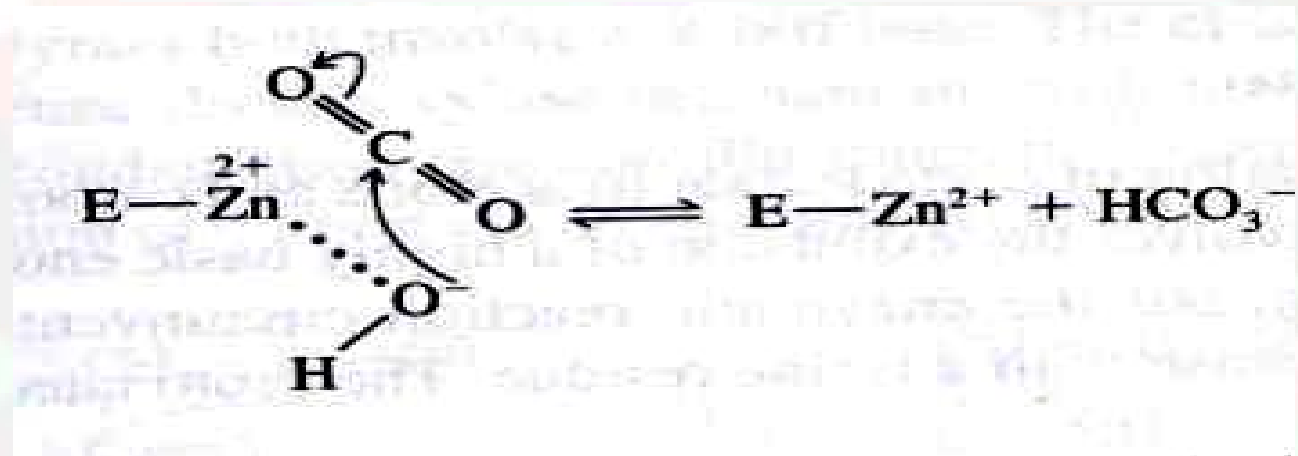
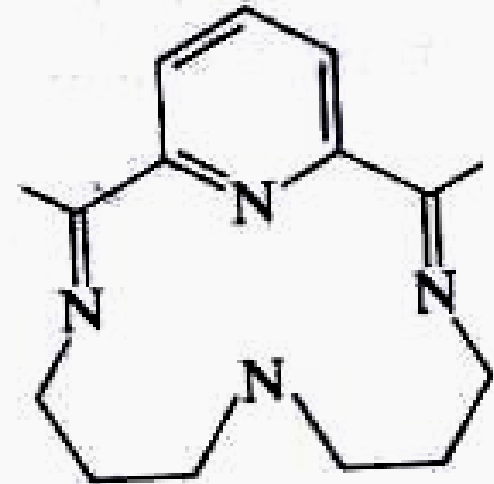


6.5.3 酶的金属离子催化

例: **carbonic anhydrase (碳酸酐酶)**

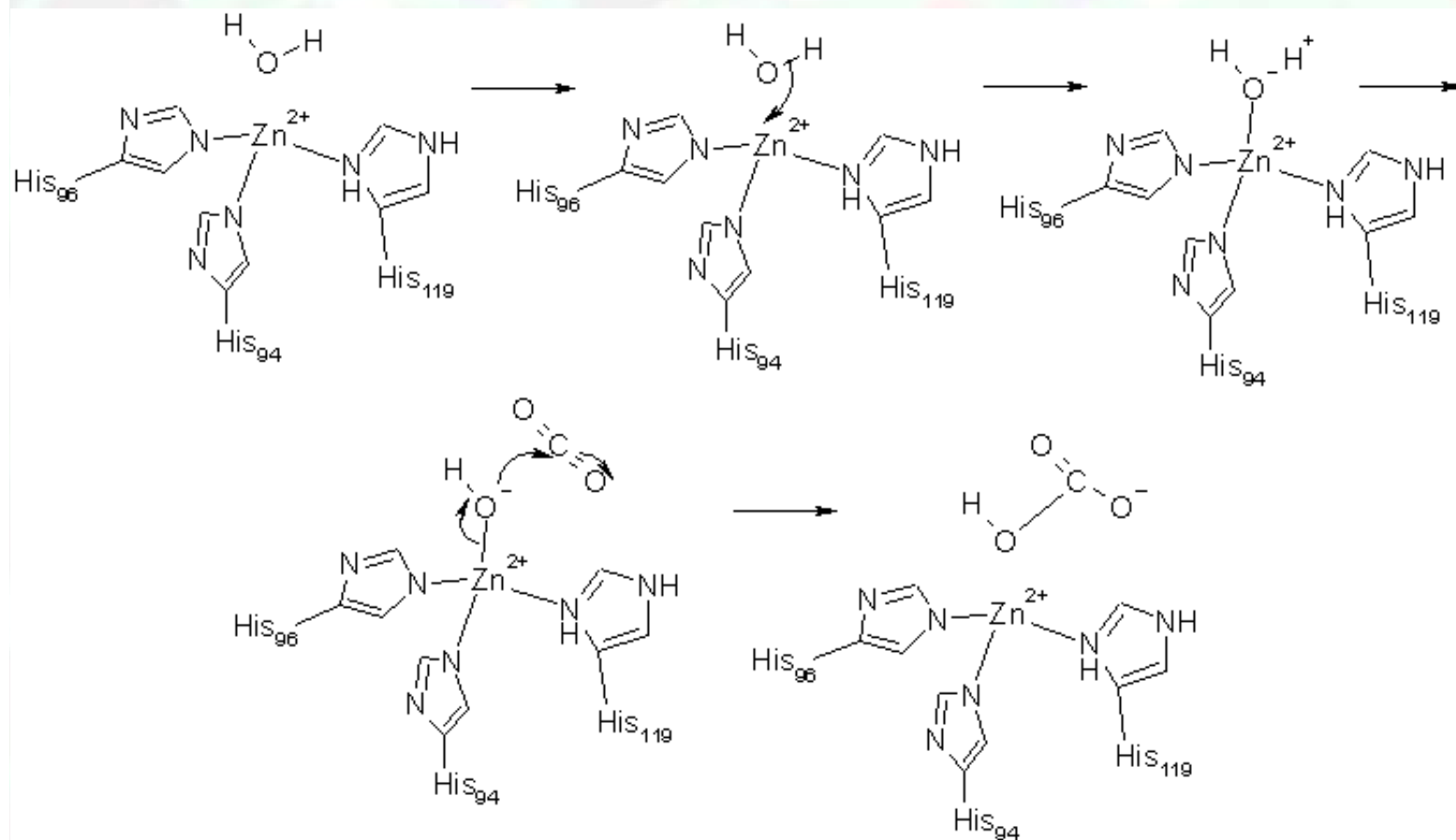
A source of hydroxyl ions at neutral pH

Zn²⁺使水在中性条件下可以亲核进攻



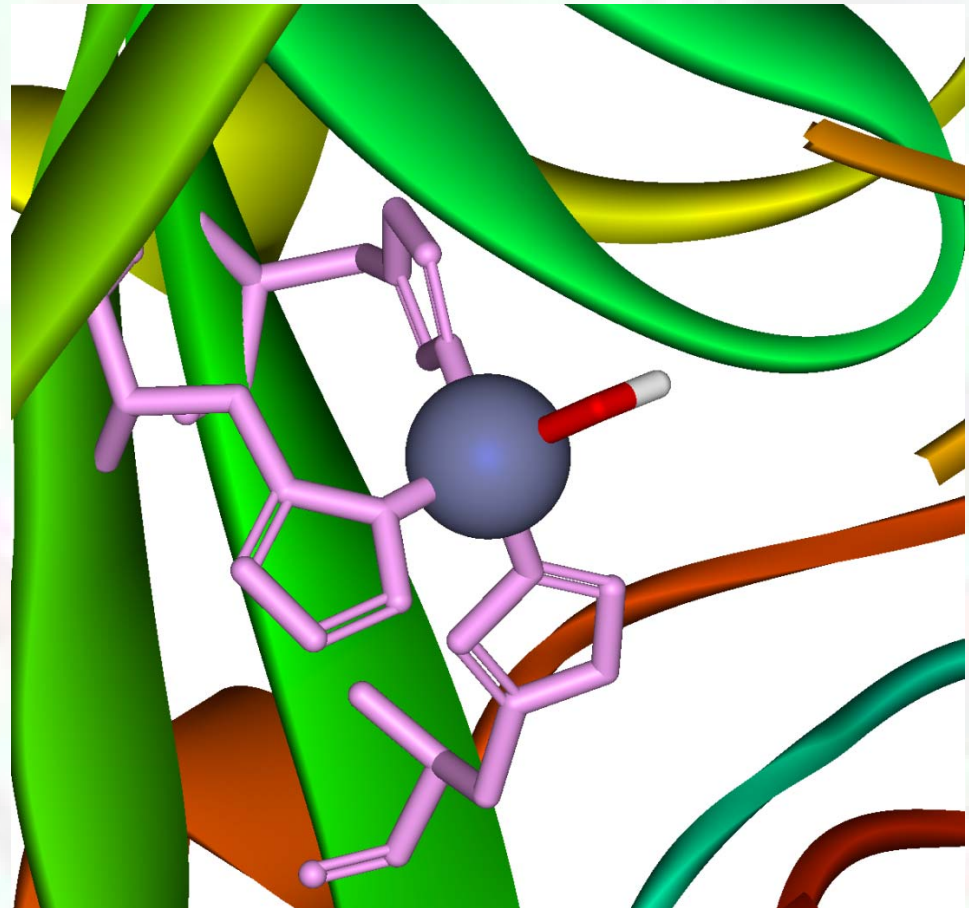
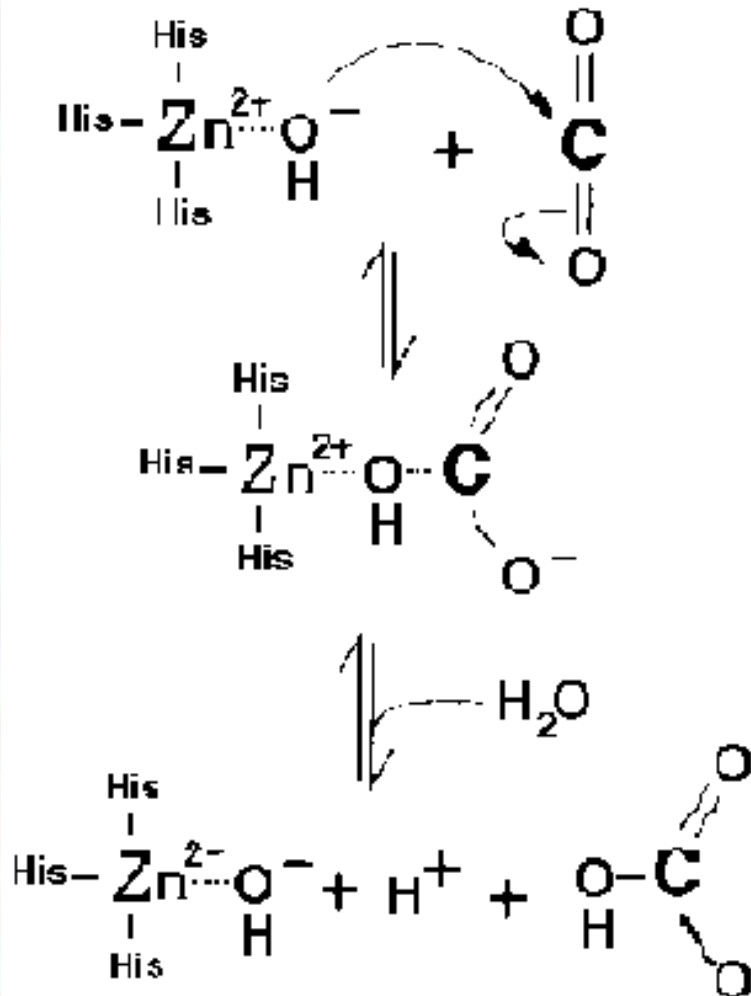
6.5.3 酶的金属离子催化

例: carbonic anhydrase (碳酸酐酶)



6.5.3 酶的金属离子催化

例：carbonic anhydrase (碳酸酐酶)



7. 抗体酶

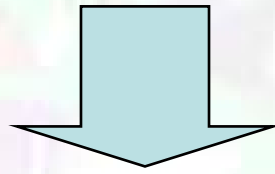
利用抗体技术产生的具有全新催化能力的酶。反过来说，是具有酶的催化活性的抗体。

酶的过渡态理论为抗体酶的产生提供了理论依据。

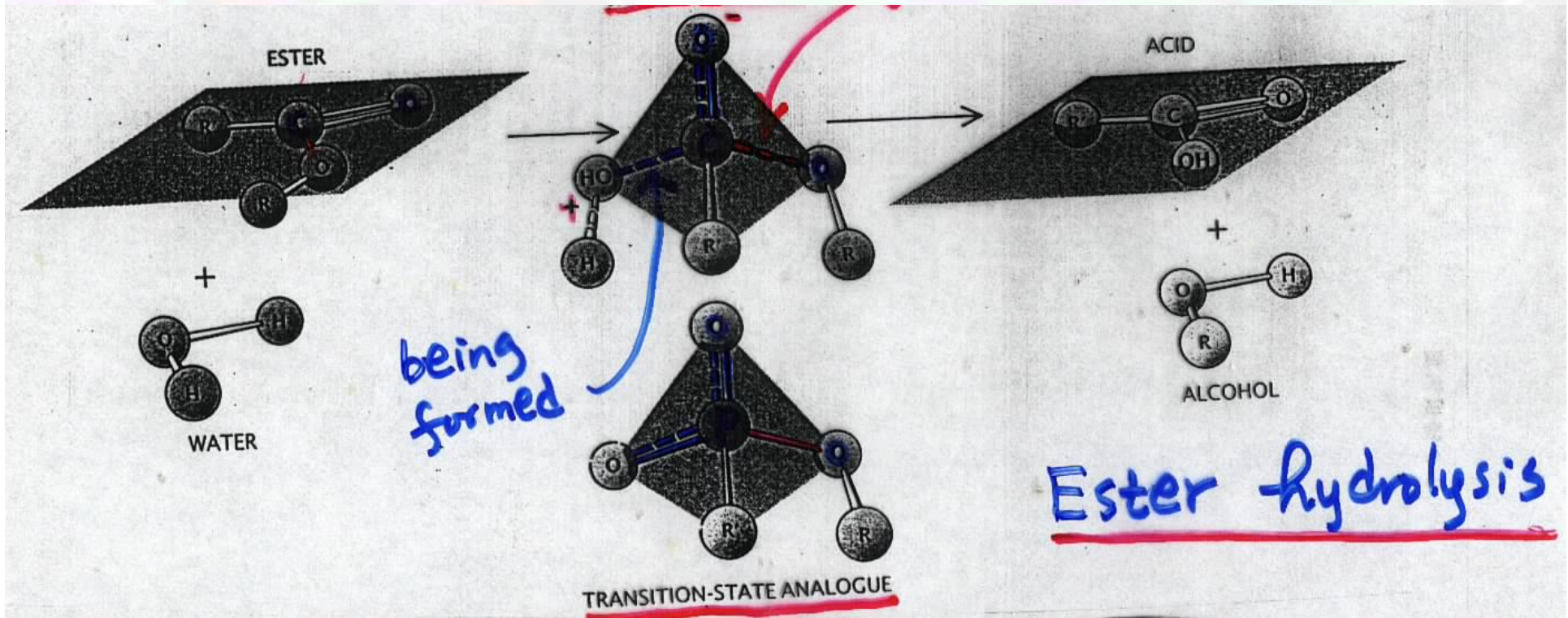
7.1 酶的过渡态理论与抗体酶

- **Pauling**的过度态理论是抗体酶产生的基础 (**1940s**);
- **William Jencks** 预测了有催化作用的抗体 **1969**;
- **Richard Lerner and Peter Schultz** 得到了第一个抗体酶 **1986**;
- 现已制造出催化各种化学反应的抗体酶，包括生物体内没有的化学反应。

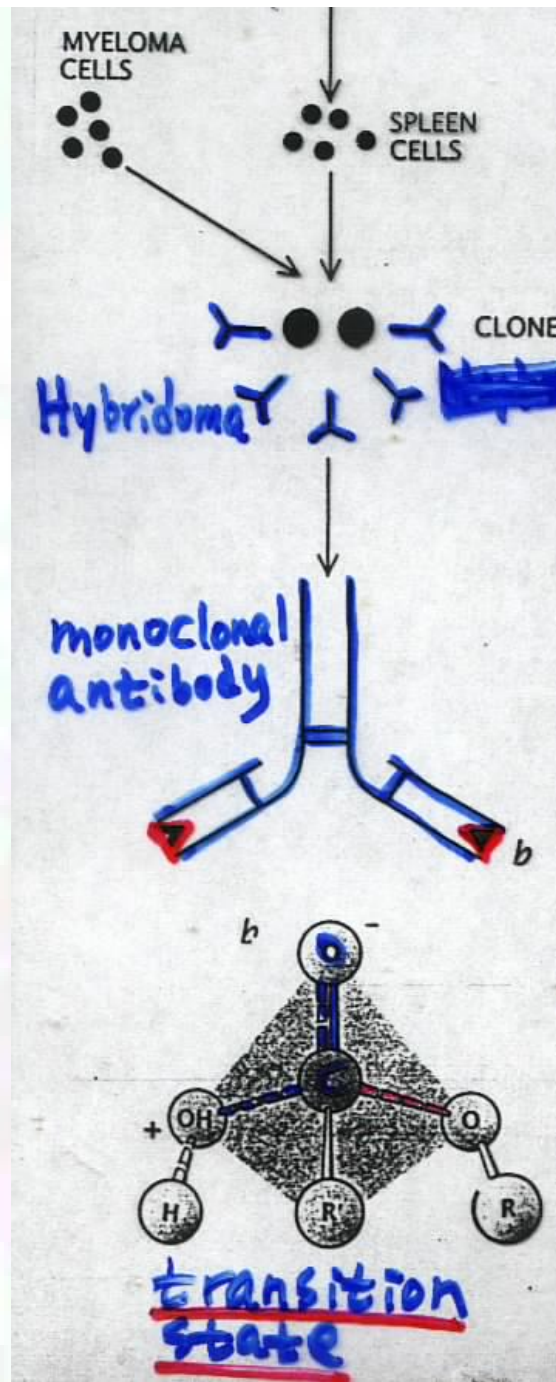
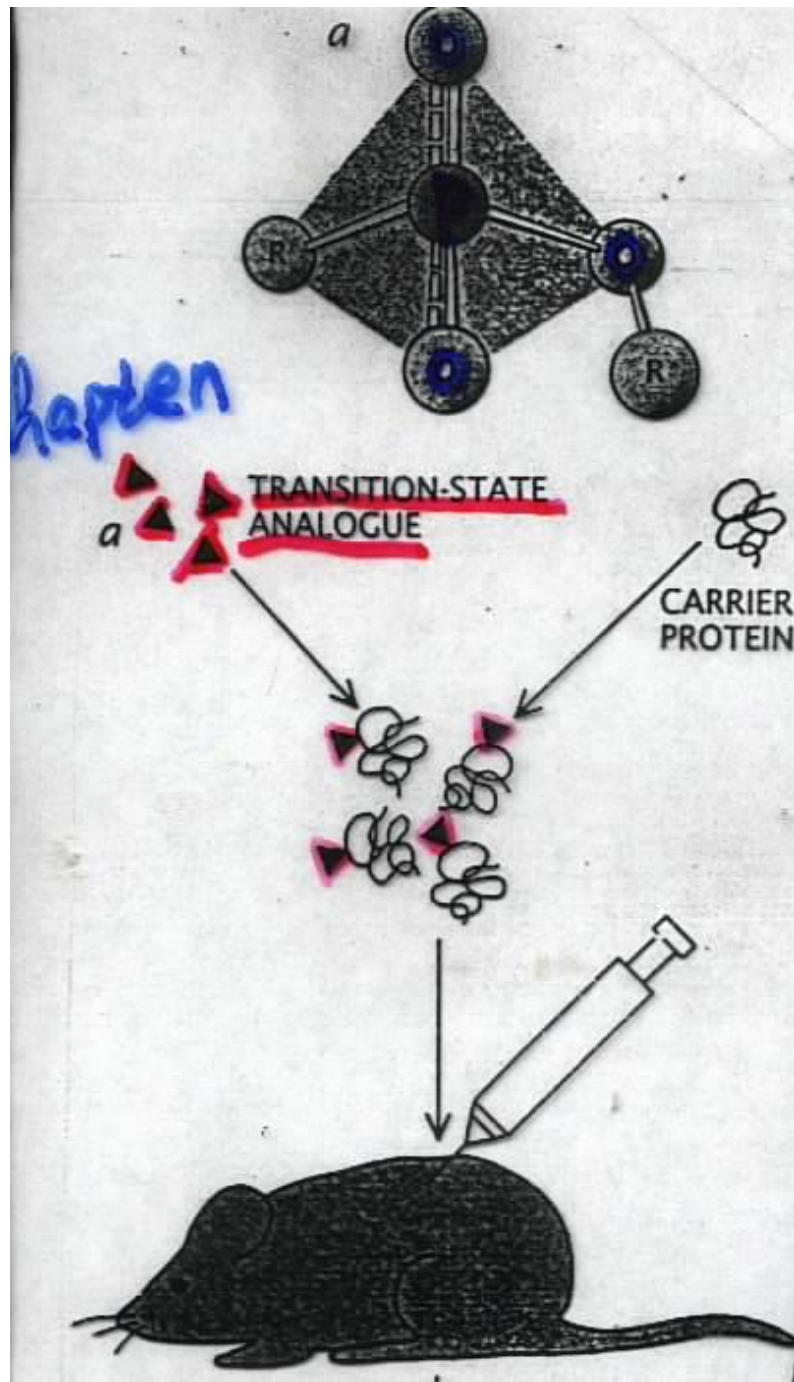
The transition state: a high energy fleeting moment.



Bond being broken



Benkovic, S.J. (1992) "Catalytic antibodies",
Annu. Rev. Biochem., 61:29-54.



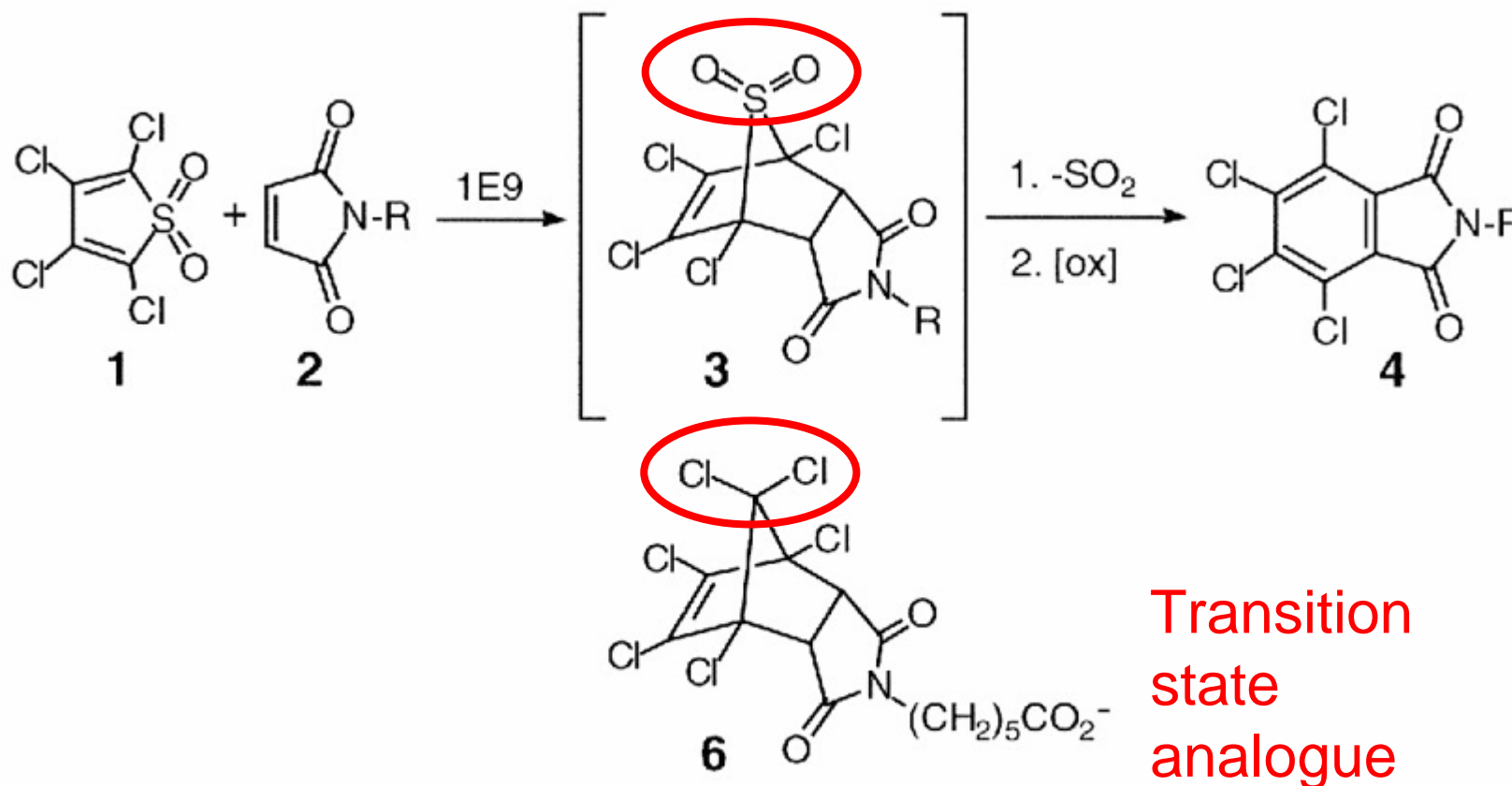
A general procedure for generating catalytic antibodies.

A Diels-Alder antibody catalyst

Substrate

Transition state

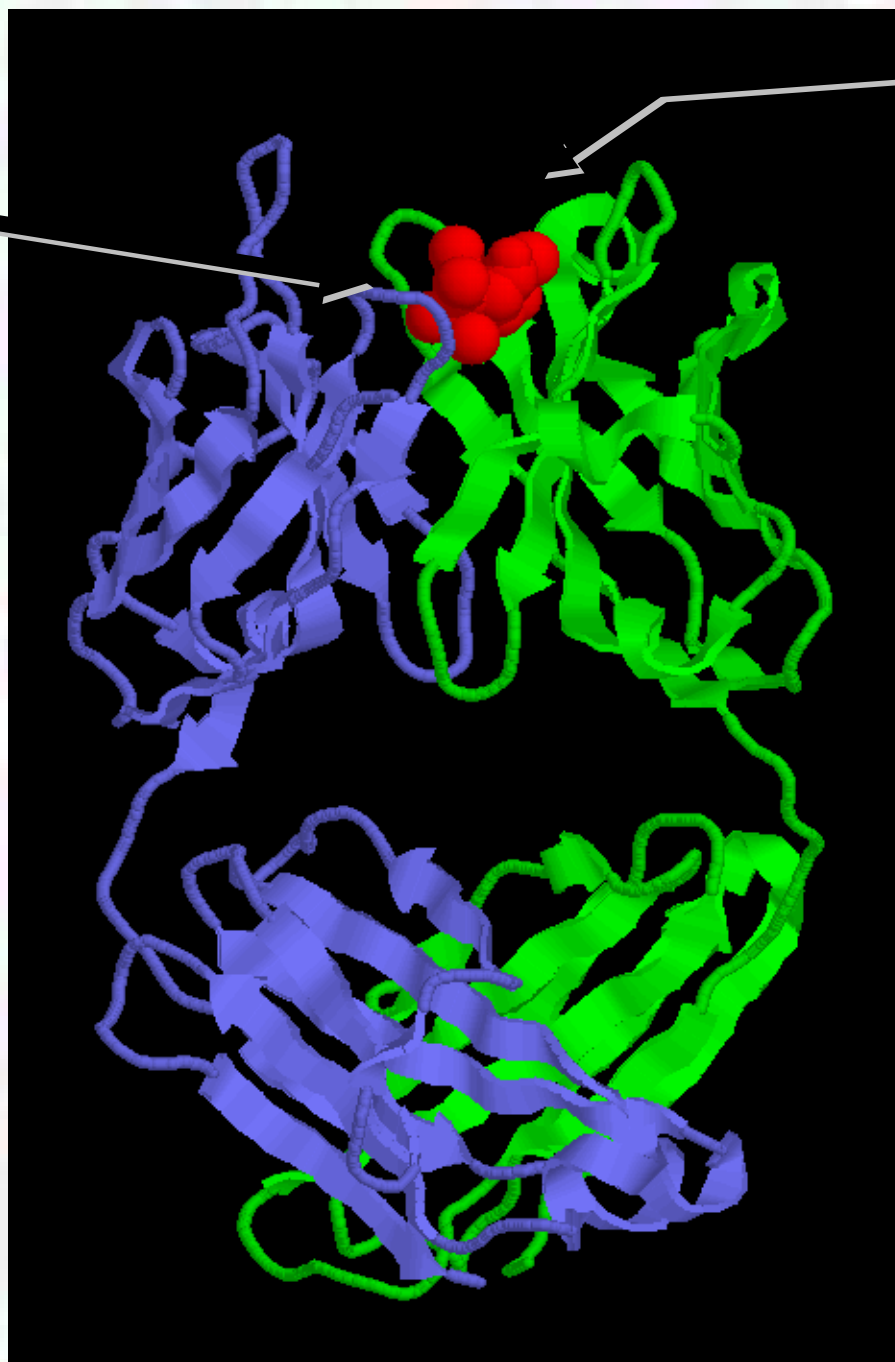
Product



Xu et al., (1999) *Science*, 286, 2345-8

Transition
state
analogue

Antigen
binding site



F_{ab}
fragment

7.2. 过渡态类似物的重要意义

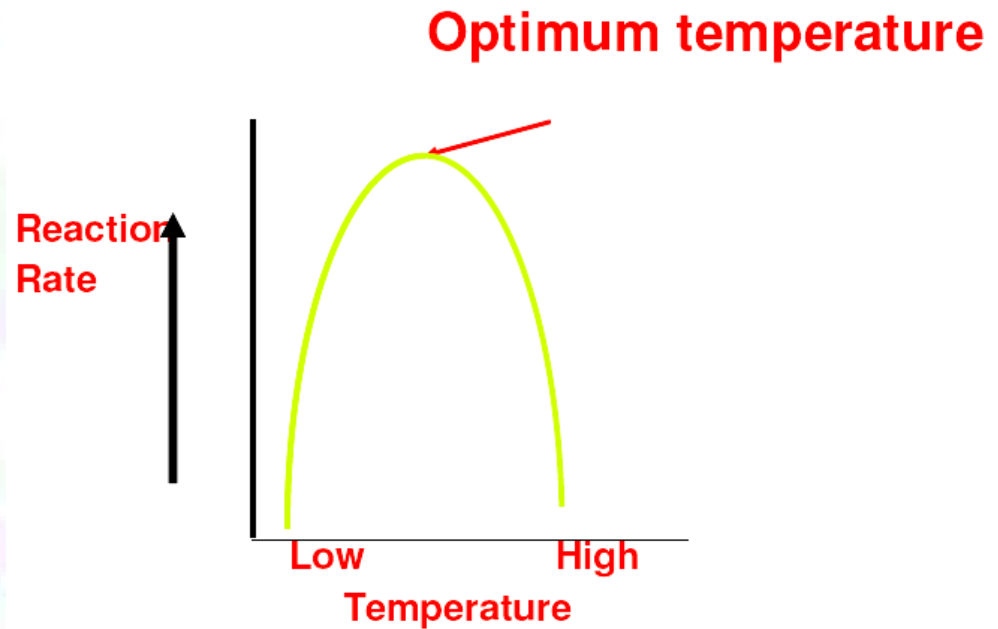
The power of **transition state analogs** is now evident:

1. Provide insight into catalytic mechanism
2. Serve as potent and specific **inhibitors** of enzymes
3. Be used as immunogens to generate a wide range of **novel catalysis**

8. 温度和pH对酶活力的影响

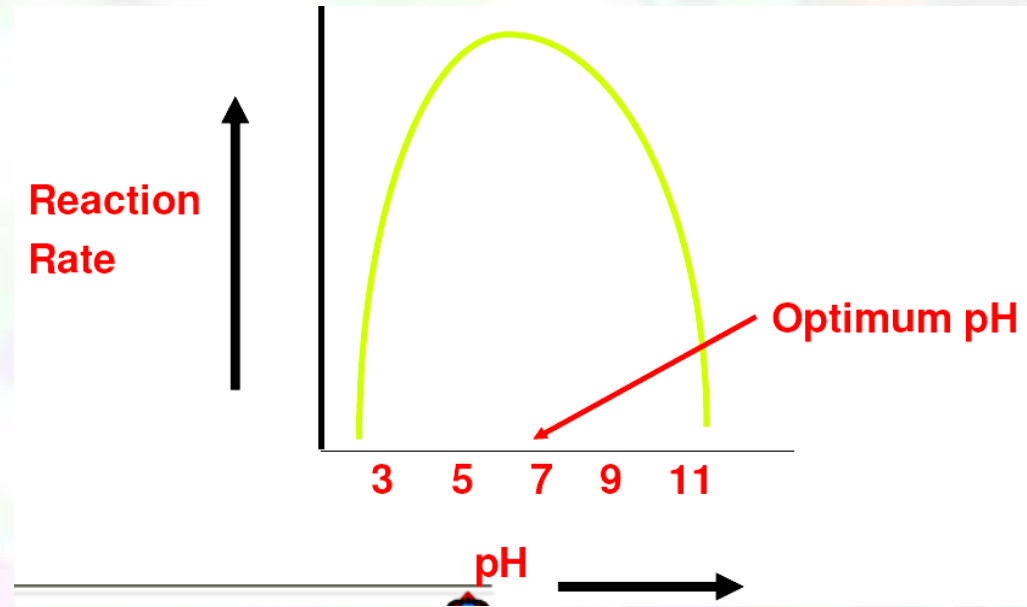
8.1. 温度的影响

- 钟罩形曲线
- 低温下酶活力很低
- 随温度升高酶活力增加
- 在最适温度酶活力最高(37°C左右)
- 随温度继续上升，酶温度性降低，酶活力也降低，直至变性失活



8.2. pH对酶活力的影响

- 钟罩形曲线
- 在最适pH活力最高
- 催化基团带有合适的电荷
- 酶保持正确的构象
- 酶保持活力的pH范围一般较窄
- 过高或过低的pH导致酶变性失活



9. 酶反应动力学

9.1. Briggs-Haldane稳态假设:

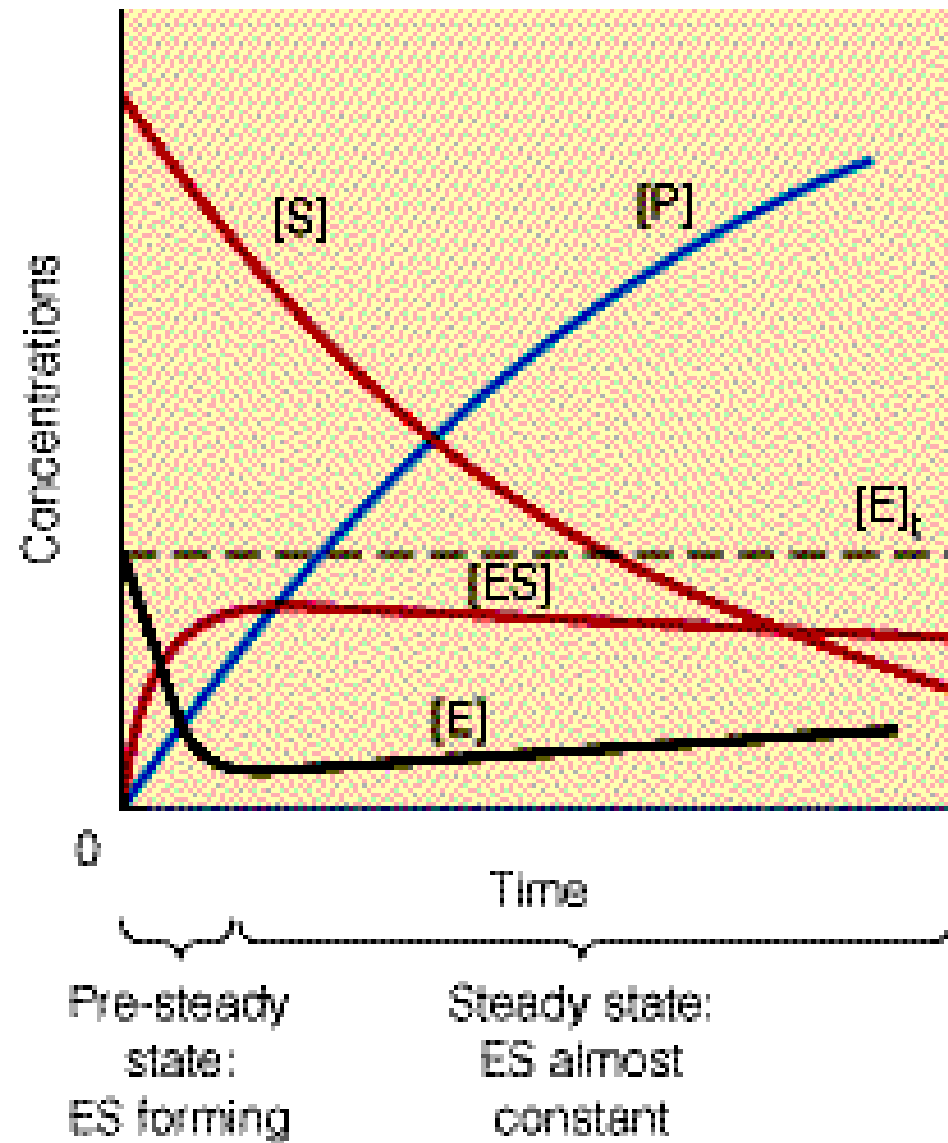


- 1913年，Chapman提出了用稳态近似的方法研究化学动力学问题。稳态近似法假定：所有反应性很高的中间生成物的浓度在整个反应过程中是保持不变的。适用于催化反应和自由基反应。
- 1925年，Briggs 和Haldane将稳态近似法应用于酶催化反应动力学。他们假定，在酶催化反应过程中，所有酶-底物复合物的浓度保持不变。

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$$

9.1. Briggs-Haldane稳态假设:



9.2. 米氏方程: Michaelis-Menten Kinetics

依赖于底物浓度的单底物
酶催化反应的速度方程



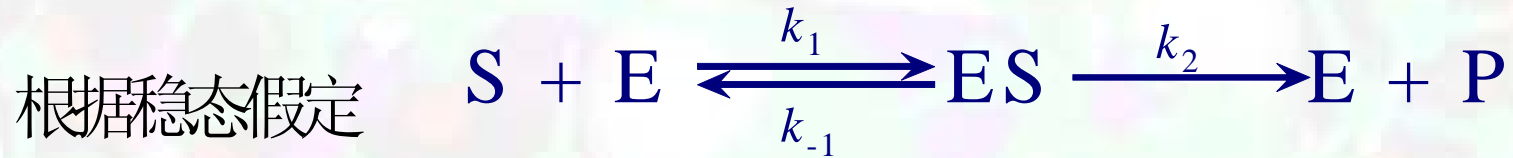
Leonor Michaelis,
1875–1949



Maud Menten,
1879–1960

In 1913

9.2. 米氏方程： Michaelis-Menten Kinetics



$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

因此,

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$[E] = [ES] \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1[S]}$$

$$[E]_0 = [E] + [ES] = [ES] \frac{k_{-1} + k_2}{k_1[S]} + [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}$$

9.2. 米氏方程: Michaelis-Menten Kinetics

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

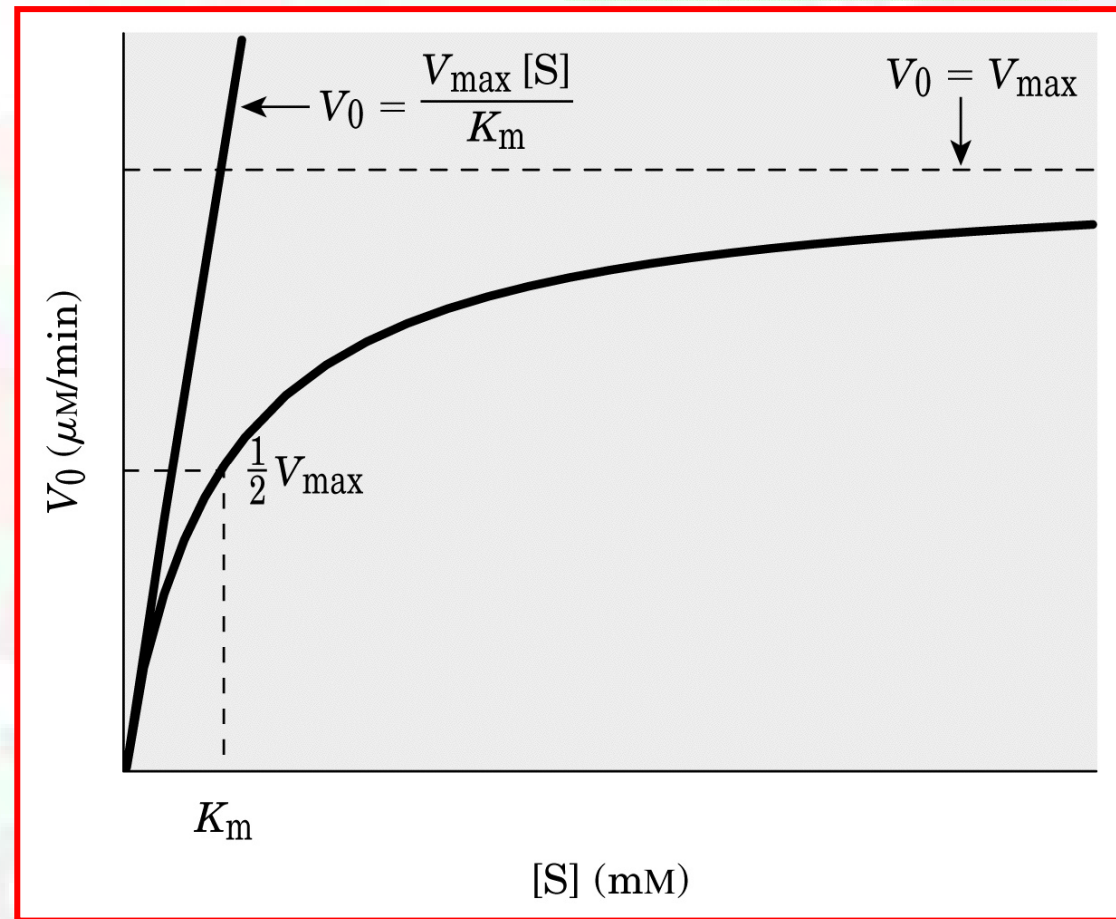
$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$V_{\max} = k_2[E]_0$$

$$\left\{ \begin{array}{l} K_m = [S], \quad v = \frac{V_{\max}}{2} \\ K_m \ll [S], \quad v = V_{\max} \\ K_m \gg [S], \quad v = \frac{V_{\max}}{K_m}[S] \end{array} \right.$$

K_m : 米氏常数



9.3. K_m 的意义

K_m 的意义：达到最大反应速度一半时的底物浓度

对于只有一个酶-底物中间物的情况，

当 $k_{-1} \gg k_2$ 时，

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_{-1}}{k_1} = K_S$$

K_m 就是底物与酶结合的真实解离常数。

$$\text{当 } k_{-1} \ll k_2 \text{ 时, } K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_2}{k_1} \gg \frac{k_{-1}}{k_1} = K_S$$

K_m 大于底物与酶结合的真实解离常数。



9.4. V_{\max} 和 k_{cat} 的意义:

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$V_{\max} = k_2 [E]_0$$

V_{\max} 是所有酶都被底物所饱和时的反应速度，在酶浓度一定时，酶对特定的底物的 V_{\max} 也是一个常数

k_2 表示当酶被底物饱和时每秒钟每个酶分子转换底物的分子数，又称为转换数（**Turnover Number**），通称为**催化常数**(k_{cat})，是一级反应速度常数。 k_{cat} 越大，催化效率越高。



一些酶的转化数

Turnover Numbers (k_{cat}) of Some Enzymes

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	140,000
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.4

9.5. k_{cat}/K_m 的意义：表观二级反应速度常数

当底物浓度很低时，酶-底物复合物的浓度可以忽略，

$[E] \approx [E]_0$ ，因此，

$$v = \frac{k_{cat}[E]_0[S]}{K_m + [S]} = \frac{k_{cat}}{K_m}[E][S]$$

k_{cat}/K_m 也被称为表观二级反应速度常数，是反映酶的催化效率的最佳指标。

k_{cat}/K_m 的重要意义在于它反映了反应速度与自由酶和自由底物的关系。又称为专一性常数。

K_m 往往变化不大， k_{cat} 变化往往更大，这是由于底物的专一性往往由过渡态而不是基态决定

k_{cat} / *K_m*的意义:

Table 6.3 Steady state kinetics of synthetic peptide hydrolysis by pepsin

Peptide ^a	<i>K_m</i> (mM)	<i>k_{cat}</i> (s ⁻¹)	<i>k_{cat}</i> / <i>K_m</i> (mM ⁻¹ ·s ⁻¹)
Cbz-G-H-F-F-OEt	0.8	2.4300	3.04000
Cbz-H-F-W-OEt	0.2	0.5100	2.55000
Cbz-H-F-F-OEt	0.2	0.3100	1.55000
Cbz-H-F-Y-OEt	0.2	0.1600	0.80000
Cbz-H-Y-F-OEt	0.7	0.0130	0.01860
Cbz-H-Y-Y-OEt	0.2	0.0094	0.04700
Cbz-H-F-L-OMe	0.6	0.0025	0.00417

^aCbz, carbobenzyloxy; OEt, ethyl ester of carboxy terminus; OMe, methyl ester of carboxy terminus.

Source: Bender et al. (1984).

10. 酶的抑制作用

失活作用(inactivation):

使酶蛋白变性而引起 酶活力丧失

抑制作用(inhibition): 酶未变性, 由于活性中心的**必需基团**化学性质改变而引起的酶活力降低或丧失. 引起抑制作用的物质称为**抑制剂(inhibitor)**。

变性剂对酶的变性作用一般无选择性, 而一种抑制剂只能抑制一种酶或一类酶, 因此, **抑制剂对酶的抑制作用是有选择性的。**

10.1 可逆抑制和不可逆抑制

1. 不可逆抑制作用：抑制剂与酶的某些必需基团以**共价键**结合而引起酶活性丧失。不能通过透析、超滤等物理方法除去抑制剂而使酶复活。
2. 可逆抑制作用：抑制剂与酶分子**可逆地结合**而使酶活力降低或丧失。

这类抑制剂和酶是以**非共价键**的方式结合的；酶的活性在用物理方法除去抑制剂后能完全恢复。

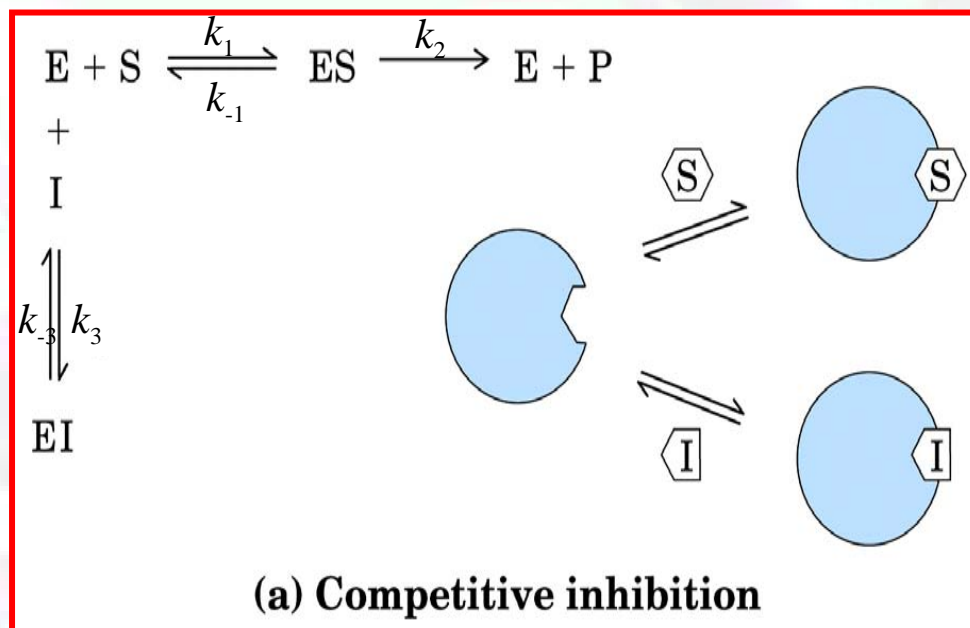
10.2 可逆抑制可分为四种类型

1. 竞争性抑制 (**competitive**)
2. 非竞争性抑制 (**noncompetitive**)
3. 反竞争性抑制 (**uncompetitive**)
4. 混合型抑制 (**mixed type**)

10.2.1 竞争性抑制：抑制剂与底物竞争酶的结合位点

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)K_m + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)K_m + [S]}$$

- 抑制剂往往是底物类似物；
- 抑制剂与底物竞争结合位点
- 抑制作用可通过增加底物浓度解除

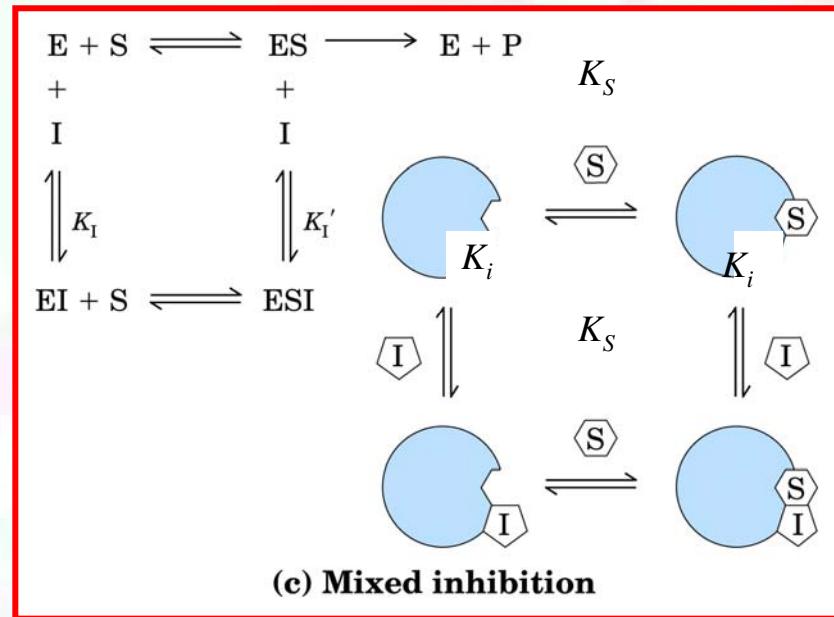


10.2.2 非竞争性抑制

抑制剂和底物分别结合在酶的不同部位，抑制剂的结合不影响底物与酶的结合。

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)(K_S + [S])} = \frac{V_{\max}[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)(K_S + [S])}$$

- 抑制剂与底物结构无相关性
- 抑制剂与酶结合但不与底物竞争
- 抑制剂的结合改变酶的构象，从而降低酶催化活力



(c) Noncompetitive inhibitor

11. RNA酶：有催化活力的RNA

1982, Thomas Cech（美国克罗拉多大学博尔德分校）& **Sidney Altman**（耶鲁大学）各自独立地发现**RNA**具有生物催化功能，共同获得了**1989**年度诺贝尔化学奖。

RNA 酶(Ribozyme)催化的反应一般是转酯反应（**transesterification**）或磷酸二酯键水解（**phosphodiester bond hydrolysis**），底物一般也是**RNA**。

11.1 转酯反应 (transesterification)

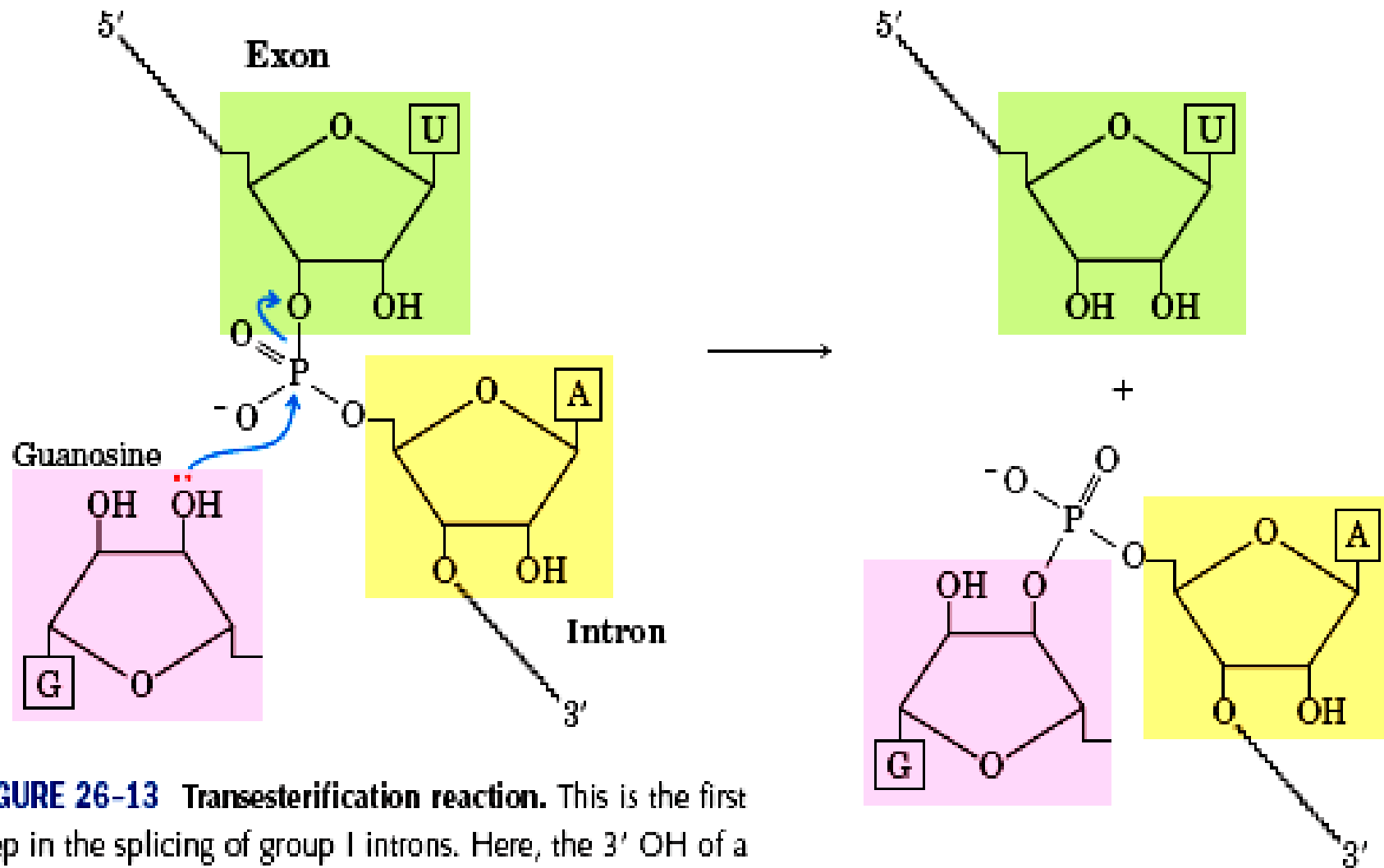
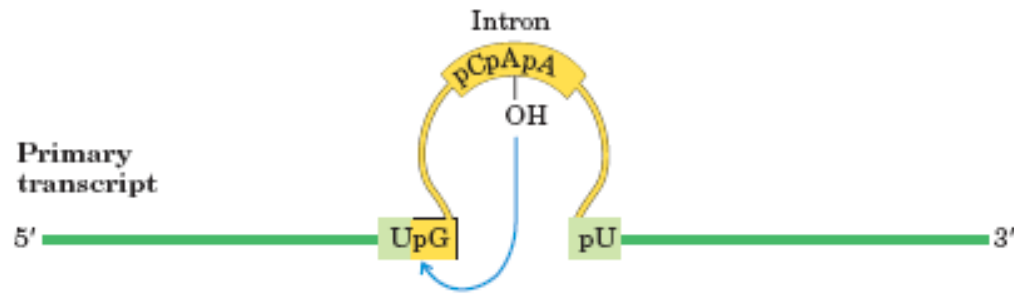
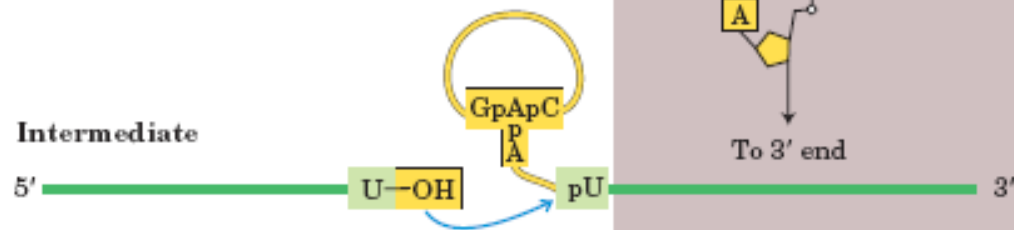


FIGURE 26-13 **Transesterification reaction.** This is the first step in the splicing of group I introns. Here, the 3' OH of a guanosine molecule acts as nucleophile.



The 2' OH of a specific adenosine in the intron acts as a nucleophile, attacking the 5' splice site to form a lariat structure.



The 3' OH of the 5' exon acts as a nucleophile, completing the reaction.

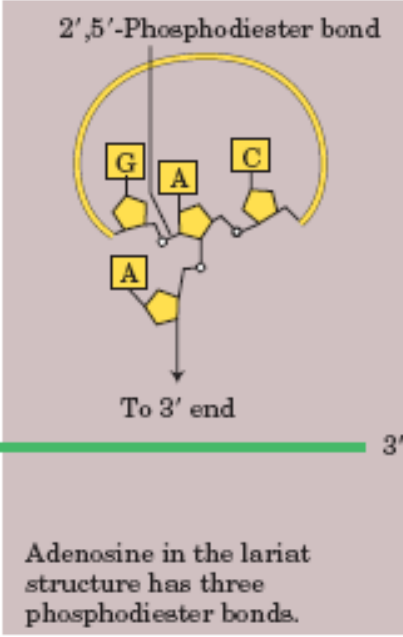
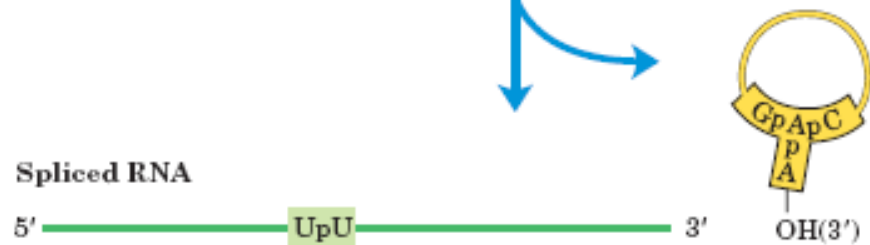
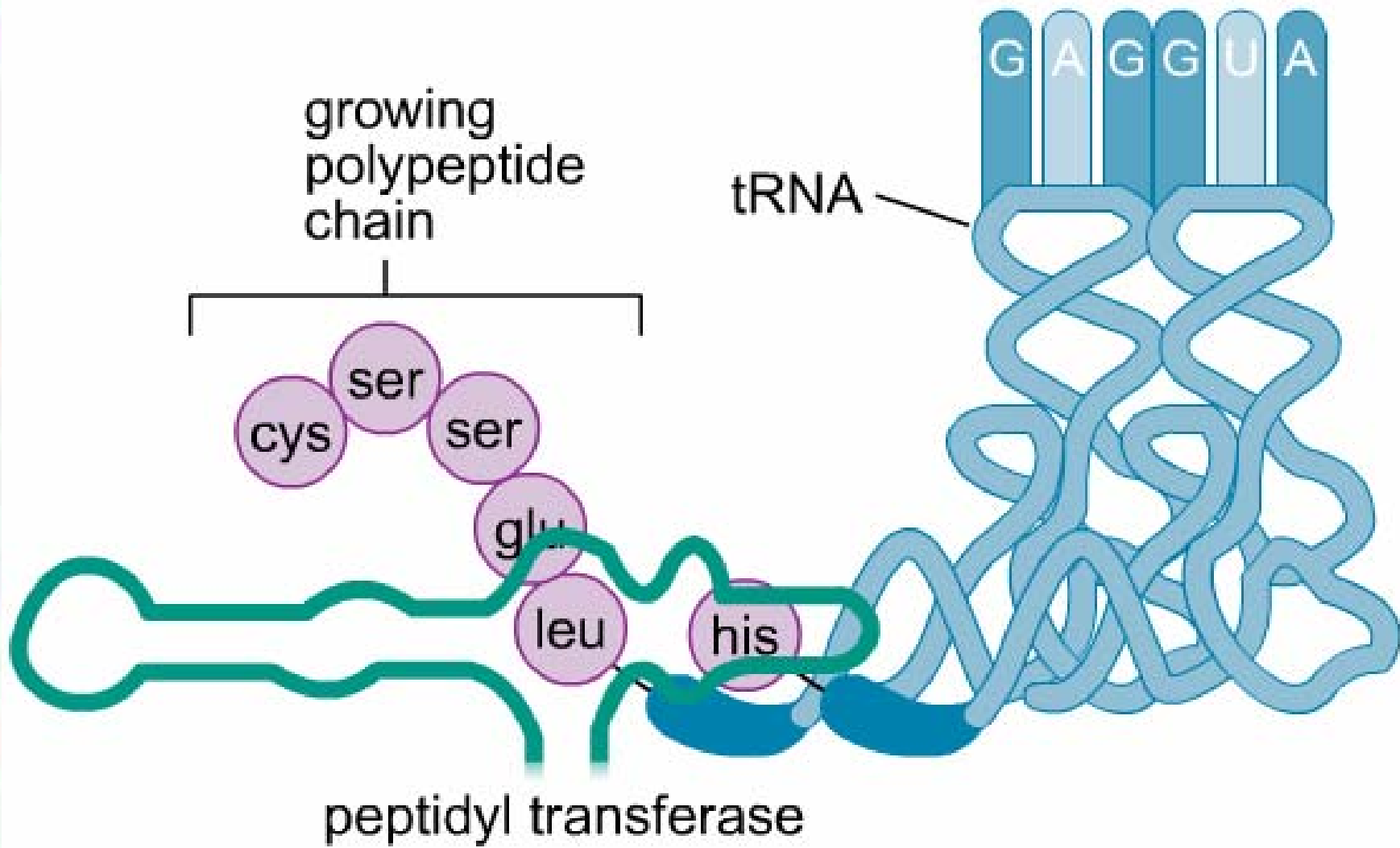


FIGURE
intron
intron
nucleo
lariat
2',5'

11.2. RNA II型 内含子(Group II Intron)可催化 自我剪接

11.3 核糖体中的肽转移酶是RNA酶



Problems

7. Relation between Reaction Velocity and Substrate Concentration: Michaelis-Menten Equation (a) At what substrate concentration would an enzyme with a k_{cat} of 30.0 s^{-1} and a K_{m} of 0.0050 M operate at one-quarter of its maximum rate? (b) Determine the fraction of V_{max} that would be obtained at the following substrate concentrations: $[\text{S}] = \frac{1}{2}K_{\text{m}}$, $2K_{\text{m}}$, and $10K_{\text{m}}$.

8. Estimation of V_{\max} and K_m by Inspection Although graphical methods are available for accurate determination of the V_{\max} and K_m of an enzyme-catalyzed reaction (see Box 6–1), sometimes these quantities can be quickly estimated by inspecting values of V_0 at increasing $[S]$. Estimate the V_{\max} and K_m of the enzyme-catalyzed reaction for which the following data were obtained.

$[S]$ (M)	V_0 ($\mu\text{M}/\text{min}$)
2.5×10^{-6}	28
4.0×10^{-6}	40
1×10^{-5}	70
2×10^{-5}	95
4×10^{-5}	112
1×10^{-4}	128
2×10^{-3}	139
1×10^{-2}	140