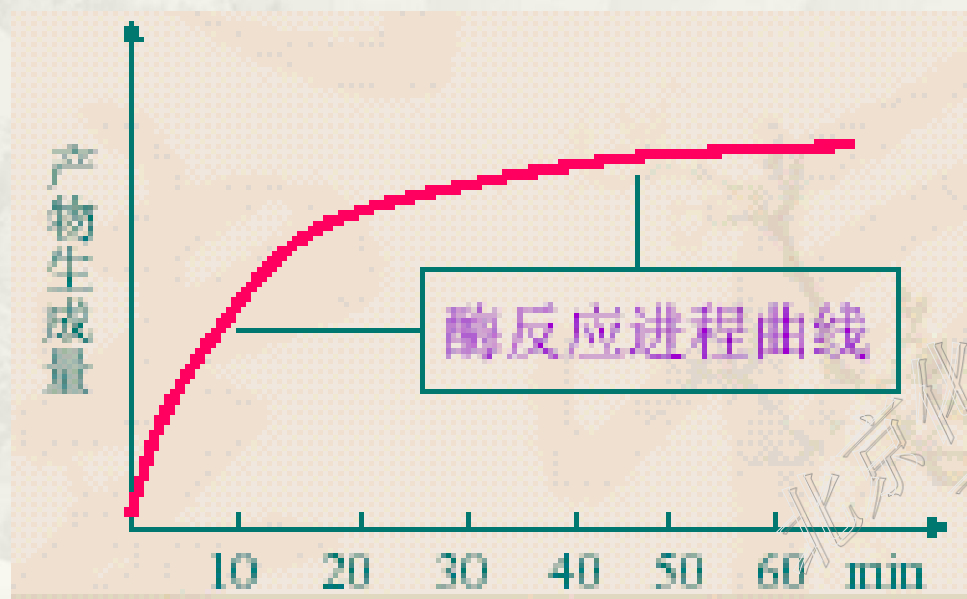


# 第五节 酶促反应动力学

北京化工大学  
王炳武

# 一、反应速率的定义

- \* 单位时间、单位体积反应体系内底物的减少量或产物的增加量



## 二、影响酶促反应速率的因素

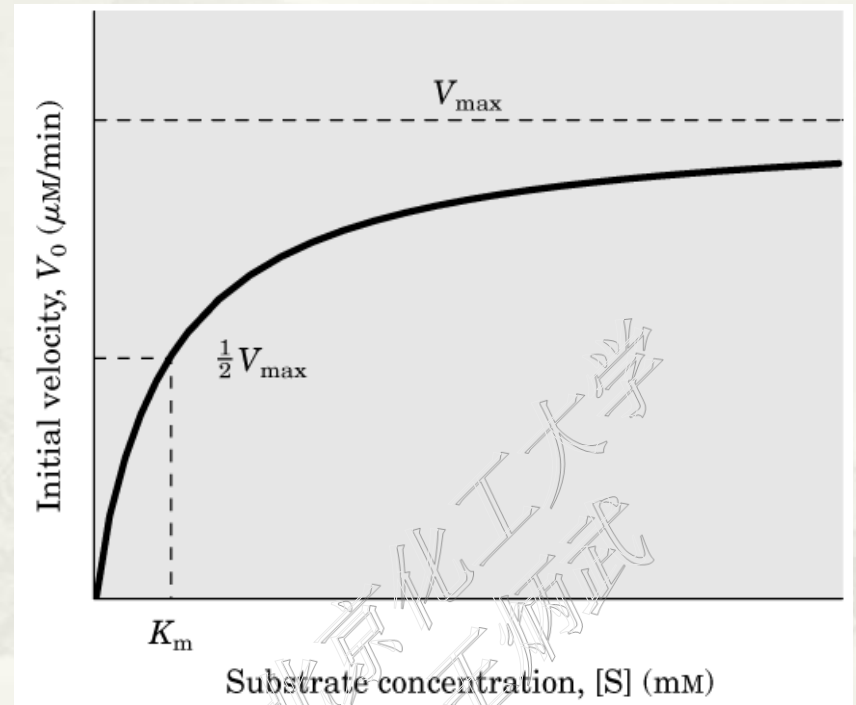
- \* 底物浓度
- \* 酶的浓度
- \* pH
- \* 温度
- \* 激活剂
- \* 抑制剂

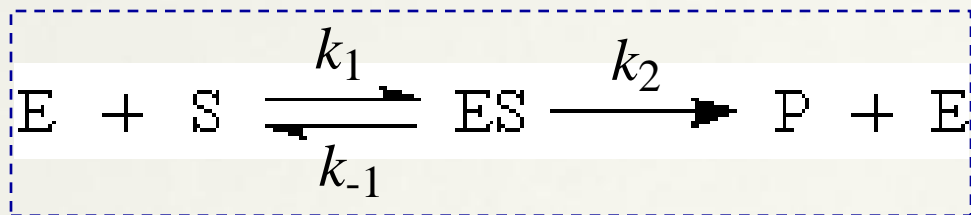
北京化工大学  
王炳武

# 1、底物浓度

## \* 米氏方程

$$r = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S}$$





## \* 拟稳态假设

$$r_p = r_s = \frac{k_{+2} C_{E_0} C_S}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + C_S} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S}$$

\* 米氏常数

\* 最大反应速率

\* 一级反应

\* 零级反应

北京化工大学  
王炳武

- 由米氏方程可知，当反应速度等于最大反应速度一半时,即 $r = 1/2 r_{\max}$ ,  $K_m = C_s$
- 米氏常数的单位为mol/L。
- $K_m$  是酶的一个特征常数，不同的酶具有不同的米氏常数。
- 酶的 $K_m$ 值是在特定的底物，特定的温度和pH条件下测得的，同一种酶在不同的条件下具有不同的 $K_m$ 值。

表 6-5 一些酶的米氏常数

酶 名 称	底 物	$K_m/\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	酶 名 称	底 物	$K_m/\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
蔗糖酶	蔗糖	$2.8 \times 10^{-2}$	胰凝乳蛋白酶	N-甲酰酪氨酰胺	$1.2 \times 10^{-2}$
蔗糖酶	棉籽糖	$35 \times 10^{-2}$	胰凝乳蛋白酶	N-乙酰酪氨酰胺	$3.2 \times 10^{-2}$
$\alpha$ -淀粉酶	淀粉	$6 \times 10^{-4}$	过氧化氢酶	$\text{H}_2\text{O}_2$	$2.5 \times 10^{-2}$
麦芽糖酶	麦芽糖	$2.1 \times 10^{-1}$	琥珀酸脱氢酶	琥珀酸盐	$5 \times 10^{-7}$
脲酶	尿素	$2.5 \times 10^{-2}$	丙酮酸脱氢酶	丙酮酸	$1.3 \times 10^{-3}$
己糖激酶	葡萄糖	$1.5 \times 10^{-4}$	乳酸脱氢酶	丙酮酸	$1.7 \times 10^{-5}$
己糖激酶	果糖	$1.5 \times 10^{-3}$	碳酸酐酶	$\text{HCO}_3^-$	$9 \times 10^{-3}$
胰凝乳蛋白酶	N-苯甲酰酪氨酰胺	$2.5 \times 10^{-3}$			

\* 最适底物

# 选择题

- 米氏常数
- **A** 随酶浓度的增加而增大
- **B** 随酶浓度的增加而减小
- **C** 随底物浓度的增加而增大
- **D** 是酶的特征常数

北京化工大学  
王炳武



# 判断题

- \* 一般认为，一种酶可以作用于几种不同的底物时，其中米氏常数最大的底物是该酶作用的最适底物。

北京化工大学  
王炳武

# 练习题

\* 已知条件

\* 过氧化氢酶的 $K_m$ 为25mmol/L，底物浓度为100mmol/L

\* 求

\* 与底物结合的过氧化氢酶的百分率

北京化工大学  
王炳武

## 2、酶浓度的影响

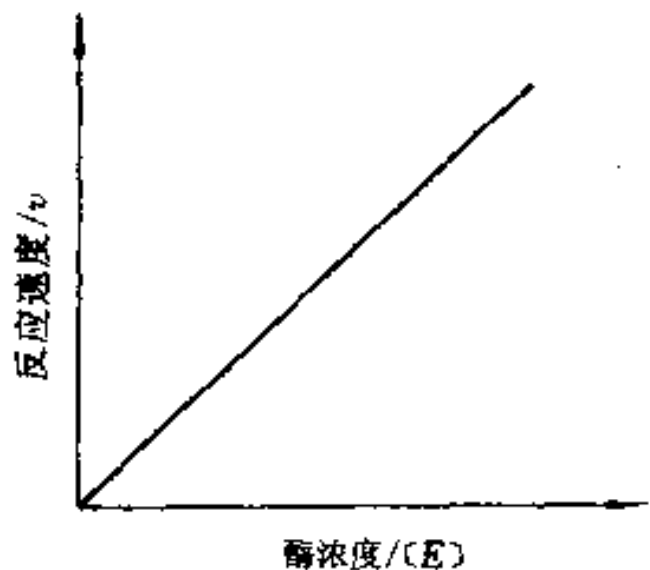


图 5-10 反应速度与酶浓度的关系

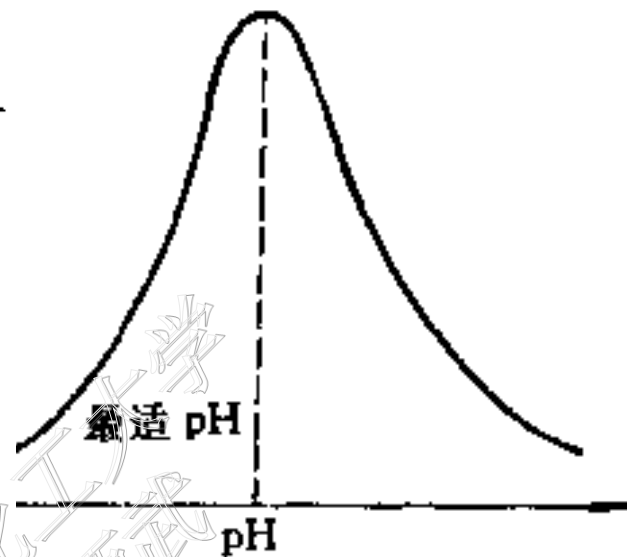
$$r_p = r_s = \frac{r_{\max} C_s}{K_m + C_s} = \frac{k_{+2} C_{E_0} C_s}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + C_s}$$

北京化工大學  
王炳武

### 3、pH的影响

表 3-9 几种酶的最适 pH

酶	底 物	最适 pH
胃蛋白酶	鸡卵清蛋白	1.5
过氧化氢酶	过氧化氢	6.8
脲酶	尿素	6.4~6.9
胰脂肪酶	丁酸乙酯	7.0
胰蛋白酶	蛋白质	7.8
精氨酸酶	精氨酸	9.8



## 4、温度的影响

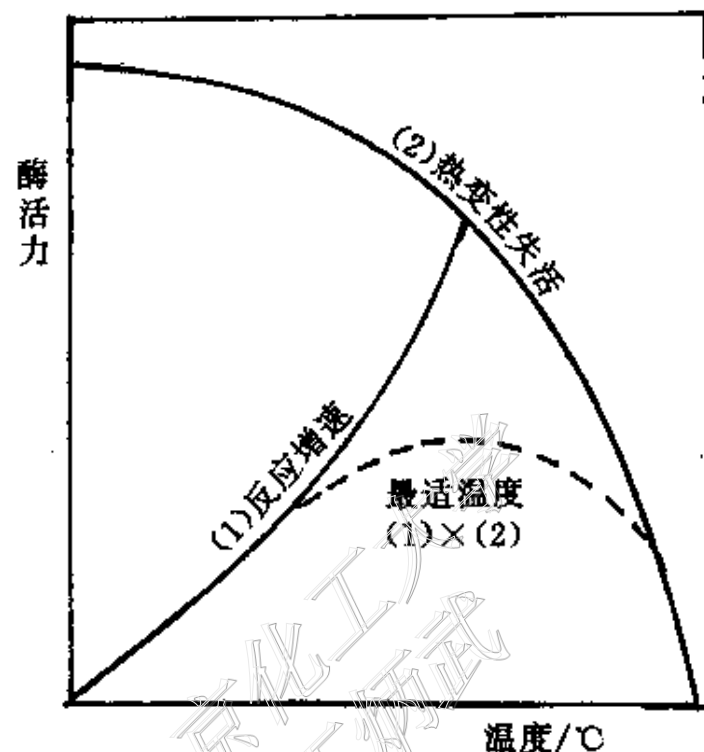
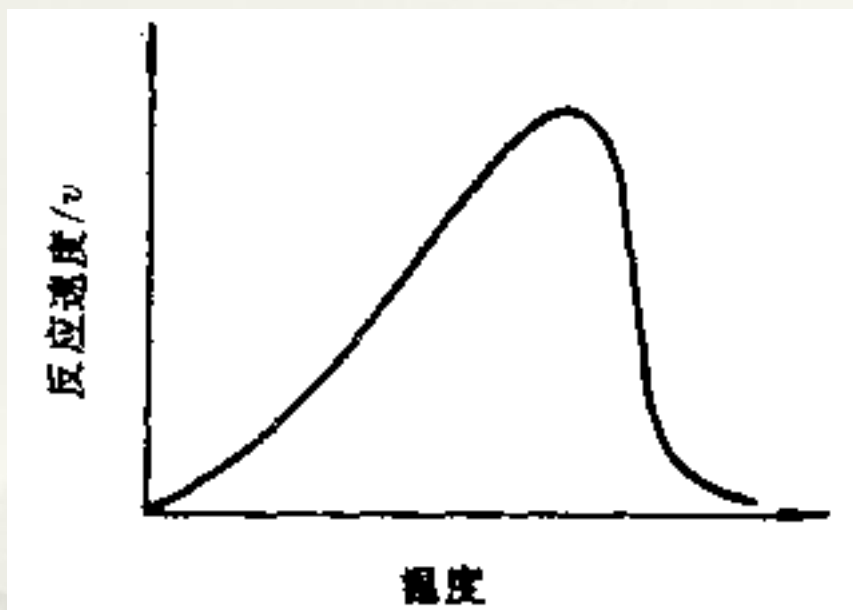


图 5-13 温度对酶反应的影响

1. 表示反应速度作为温度的函数而增加
  2. 表示反应速度作为酶的热变性的函数而降低
- (1) × (2) 表示两种影响的综合作用  
(曲线最高点对应的温度为最适温度)

## 5、激活剂<sub>activator</sub>的影响

---

\* 唾液淀粉酶（氯离子）

北京化工大学  
王炳武

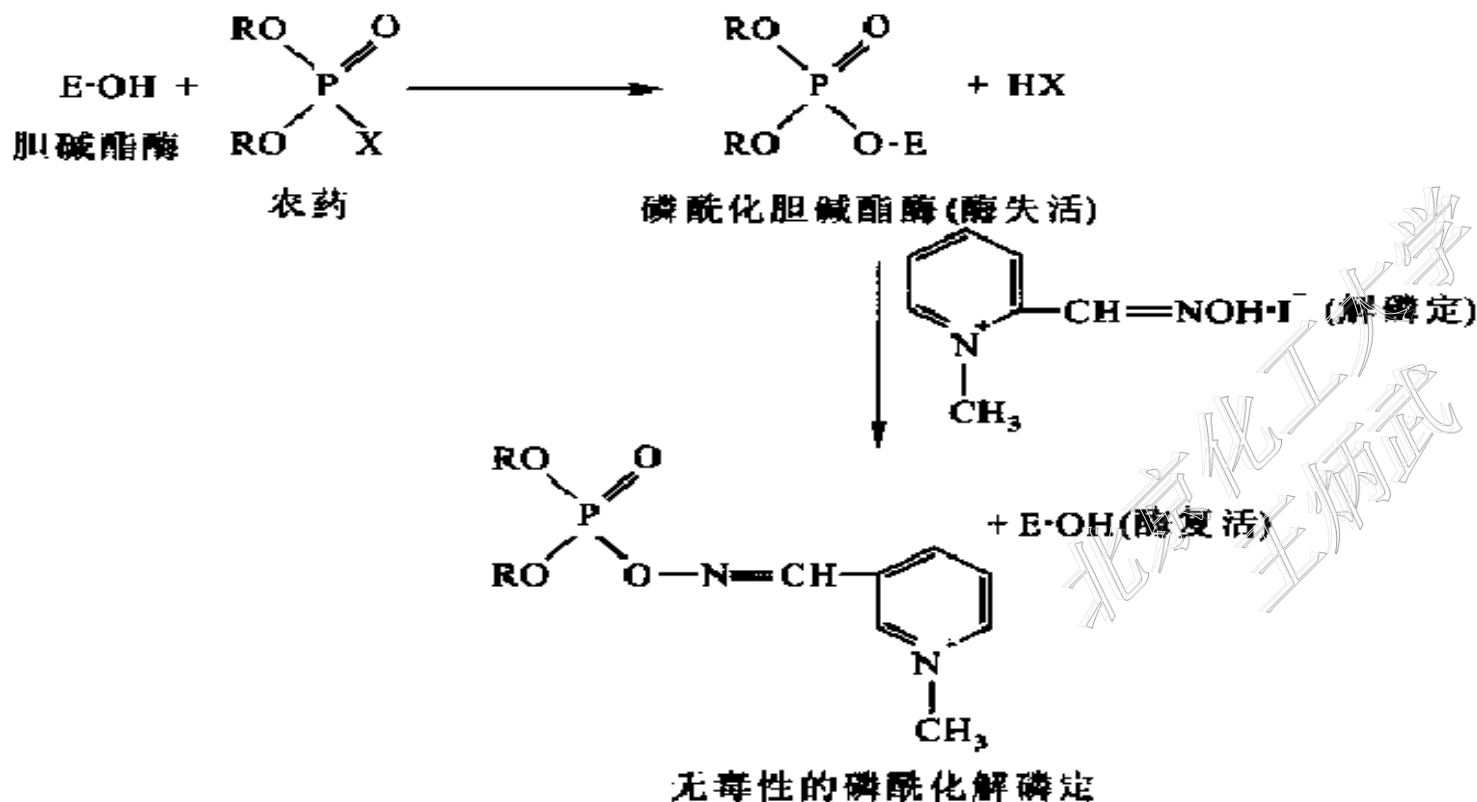
## 6、抑制剂inhibitor的影响

- \* 不可逆抑制
- \* 可逆抑制
  - \* 竞争性抑制
  - \* 非竞争性抑制
  - \* 反竞争性抑制

北京化工大学  
王炳武

# 不可逆抑制

抑制剂与酶以**共价键**结合，难于用超滤、透析等物理方法除去





# 可逆抑制

以次级键结合

## \* 1) 竞争性抑制

\* 特点

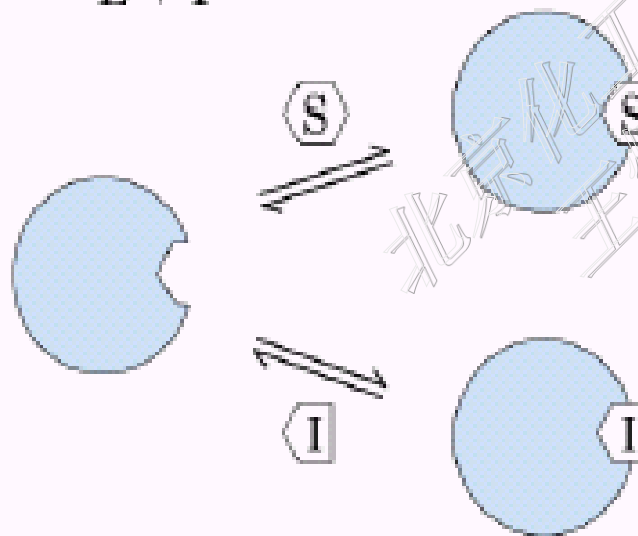


+

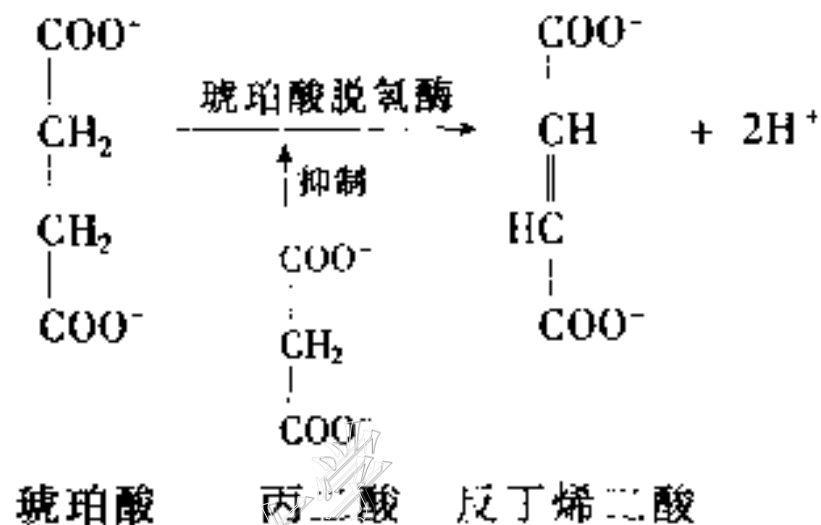
I



EI



(a) Competitive inhibition



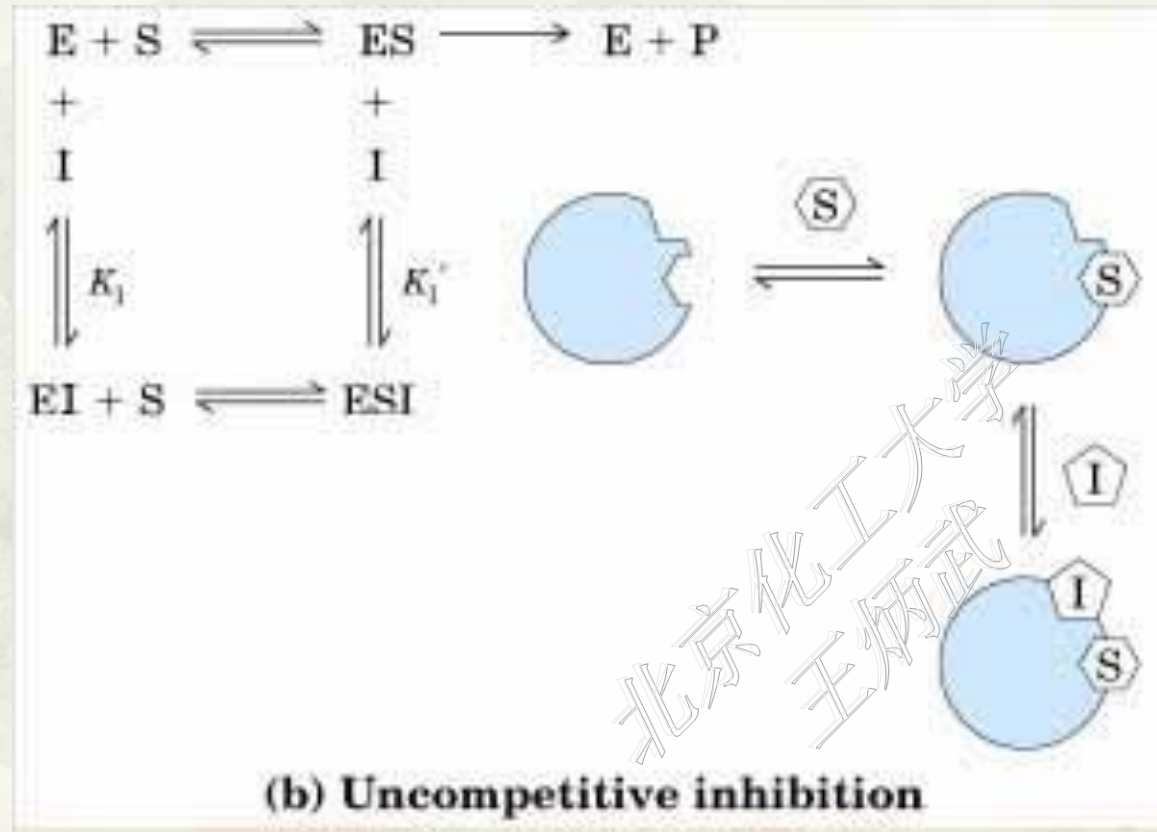
# 反应速率方程式

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right) + C_S}$$

北京化工大学  
王炳武

## 2) 非竞争性抑制

### \* 特点



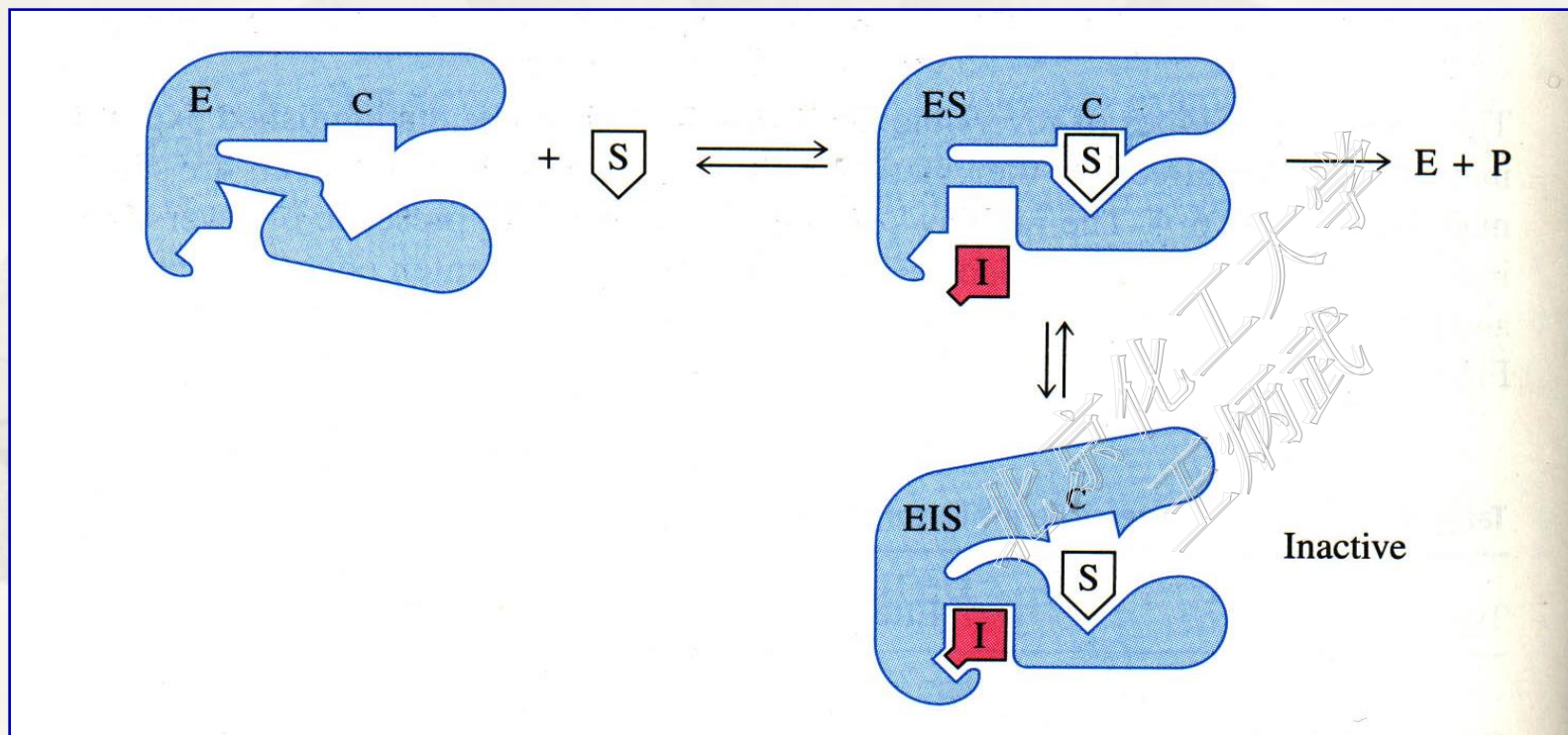
# 动力学方程式

$$r_{SI} = k_{+2} C_{[ES]} = \frac{r_{\max} C_S}{(1 + \frac{C_I}{K_I})(K_m + C_S)}$$

北京化工大学  
王炳武

### 3) 反竞争性抑制

#### \* 特点



# 动力学方程式

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + (1 + \frac{C_I}{K_I}) C_S}$$

北京化工大学  
王炳武

# 判断题

- \* 如果加入足够的底物，即使存在非竞争性抑制剂，酶催化反应也能达到正常的最大反应速率。
- \* 所有的酶在生理pH时活性最高

北京化工大学  
王炳武

# 选择题

- \* 有关酶催化反应的叙述中**错误**的是 ( )
- \* A、底物浓度过量和不受限制时，酶催化反应速率与酶的浓度成正比
- \* B、底物浓度过量时，反应呈零级反应
- \* C、当底物浓度过低时，反应速率与底物浓度成正比
- \* D、当底物浓度与酶浓度相等时可达最大反应速率

北京化工大学  
王炳武



# 选择题

- \* 丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制是由于
- \* A 丙二酸在性质上与酶作用的底物相似
- \* B 丙二酸在结构上与酶作用的底物相似
- \* C 丙二酸在性质上与酶相似
- \* D 丙二酸在结构上与酶相似

北京化工大学  
王炳武

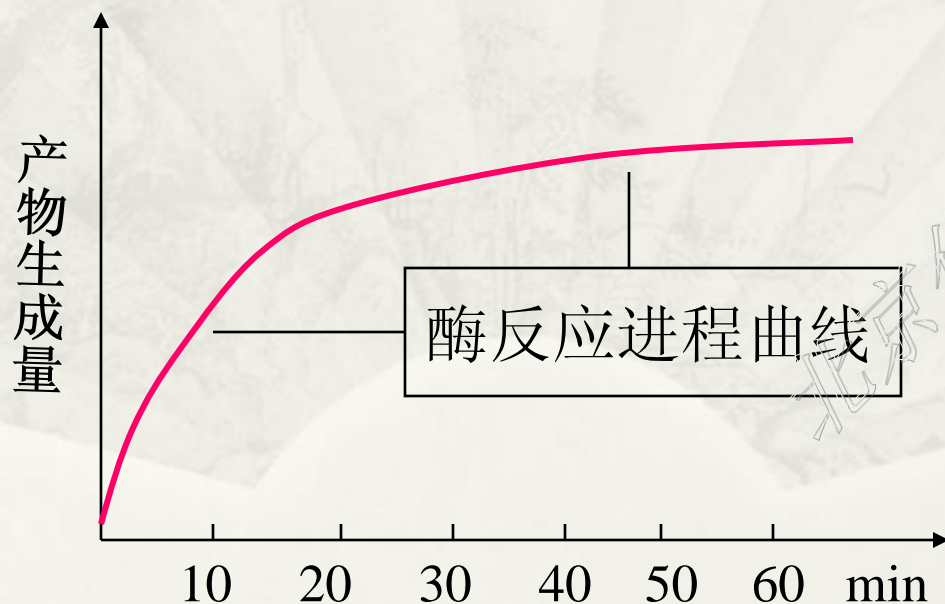
# 第六节 酶的活力测定

---

北京化工大学  
王炳武

# 什么是酶活（力）？

- \* 通常以在一定条件下酶催化某一底物发生反应的**速率**表示
- \* 采用反应初速度
  - \* 测定完成一定反应量（**<5%**）所需的时间



# 酶活力单位U的定义

- \* 在一定条件下，在一定时间内将一定量的底物转化成产物所需的酶的量
- \* 1961年国际酶学委员会规定：在特定条件下，每1min催化1  $\mu\text{mol}$ 底物转化为产物所需的酶的量定义为1个活力单位，这个单位称为酶的国际单位（IU）
- 单位：  $1\text{IU}=1\mu\text{mol}/\text{min}$
- 实质：酶所催化反应的初始速度

# 酶的比活（力）

- 每毫克酶蛋白所具有的酶活力单位数
- 单位：U/mg protein
- 实质：表示酶的纯度

北京化工大学  
王炳武

# 计算题

\* 下表为某酶的纯化过程，请计算其总活力、比活力、回收率和纯化倍数，填入括号中。

纯化步骤	酶液总体积 mL	酶活力 U/mL	总活力 $10^3\text{U}$	蛋白含量 mg/mL	比活力 U/mg	回收率 %	纯化 倍数
初提取液	12000	205	2460	2.12	97	100	1
pH5沉淀	5000	216		0.82			
丁醇抽提	4450	166		0.03			
60%丙酮沉淀	55	12360		2.05			
36%丙酮沉淀	20	26250		1.96			
50%丙酮沉淀	20	18900		0.94			
活性炭吸附	32	7340		0.11			

# 本章总结

- \* 酶的专一性及理论解释
- \* 酶的分类
- \* 酶的结构（活性中心、必需基团）
- \* 酶的活性中间复合物学说
- \* 米氏方程及计算
- \* 影响酶促反应速率的因素
- \* 酶活、比活

北京化工大学  
王炳武



# 需要掌握的单词

- \* enzyme
- \* ribozyme
- \* substrate
- \* coenzyme
- \* activity
- \* specificity
- \* specific activity
- \* essential group
- \* active site
- \* catalytic group
- \* binding group
- \* activator
- \* inhibitor

北京化工大学  
王炳武



# 选择题

- \* 酶促反应的初速度 (      )
- \* A、与底物浓度无关
- \* B、与米氏常数成正比
- \* C、与酶浓度成正比
- \* D、与温度成正比

北京化工大学  
王炳武

# 选择题

- \* 在测定酶活时，通常以底物浓度的变化在初始浓度的多少范围内的速度作为反应初速度（      ）
- \* A 0.5%
- \* B 1%
- \* C 5%
- \* D 10%

北京化工大学  
王炳武

# 选择题

- \* 酶的比活力是指 ( )
- \* A、以酶的活力作为1来表示其他酶的相对活力
- \* B、每毫升反应物中所含的活力单位
- \* C、任何两种酶的活力比值
- \* D、每毫克酶蛋白所含的活力单位数

北京化工大学  
王炳武

# 作业题

- 称取25mg粗酶粉（不纯，含有非蛋白杂质）配制成25mL溶液，从中取出0.1mL酶液，以酪蛋白为底物，用Folin-酚比色法测定酶活力，得知1h产生**1500 $\mu$ mol**酪氨酸。另取2mL酶液，用凯氏定氮法测得蛋白氮为0.2mg。若以1 $\mu$ mol/min酪氨酸的酶量为1个活力单位计算，根据以上数据求：
  - (1) 1ml 酶液中所含蛋白的质量及酶活力单位
  - (2) 粗酶粉的比活力为多少？
  - (3) 1g粗酶粉的总蛋白含量及总活力

**完毕!**

北京化工大学  
王炳武