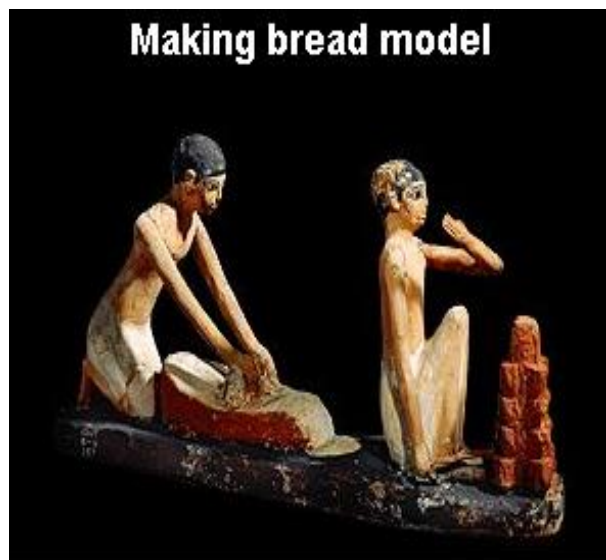


第四章 酶

第一节 酶的概念及化学本质

酶的发现及研究历史

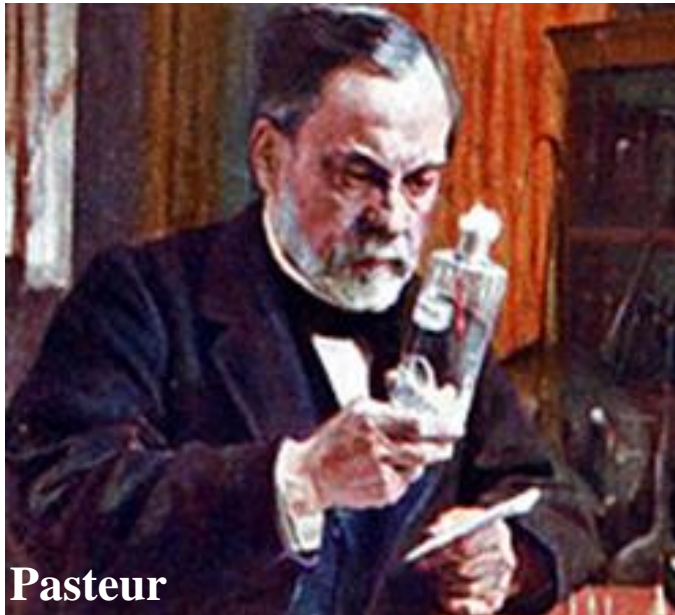
- ❑ 夏禹时代，人们掌握了酿酒技术；周代，人们可以制作饴糖和酱；春秋战国时期已知用麴(曲)治疗消化不良的疾病。古埃及，人们将发酵用于酿造和制作面包。
- ❑ 胃液对肉的消化；植物提取物和唾液使淀粉转变为糖。



- ❑ 真正意识到酶的存在和作用，始于19世纪西方国家对酿酒发酵过程进行了大量研究。
- ❑ 1833年，法国科学家Anselme Payen和Jean Persoz从麦芽的水提物中，用乙醇沉淀到一种对热不稳定的活性物质，促进淀粉水解成糖，称为淀粉酶。公认为第一种被发现的酶。
- ❑ 1834年，德国科学家Theodor Schwann从胃壁中得到胃蛋白酶。

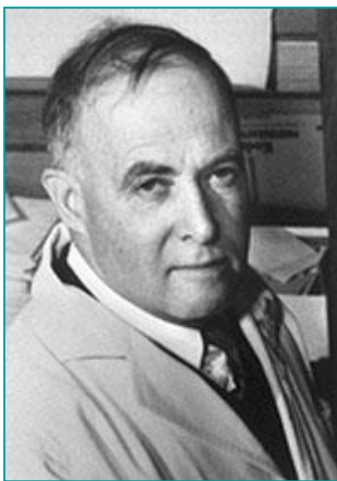


- 1857年，**Pasteur**认为发酵是酵母生命活动的结果；
- 1878年，Kühne首次提出Enzyme一词，**enzyme**是希腊文 **en = in**，**zyme = yeast**；
- 1897年，**Eduard Buchner**用不含细胞的酵母提取液，实现了发酵，说明发酵与细胞的活动无关，为此获得了1911年诺贝尔化学奖。



酶的化学本质——蛋白质或核酸（目前为止）

- ◆ 1926年J. B. Sumner首次从刀豆制备出脲酶结晶，证明其为蛋白质，**并提出酶的本质就是蛋白质的观点**。John H. Northrop和Wendell M. Stanley则确认胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶是蛋白质。获得了1946年的诺贝尔化学奖。



1946年度
诺贝尔化学奖

◆1982年T. Cech发现四膜虫26S rRNA自我剪接，Altman、Noller等发现了RNaseP、23S rRNA具有催化活性，并提出核酶的概念。核酶的发现还促进了有关生命起源、生物进化等问题的进一步探讨。



Thomas R. Cech



Sidney Altman

1989年度
诺贝尔化学奖

酶的概念及化学本质

定义：由活细胞产生的、具有高效催化作用 and 高度专一性的生物大分子。

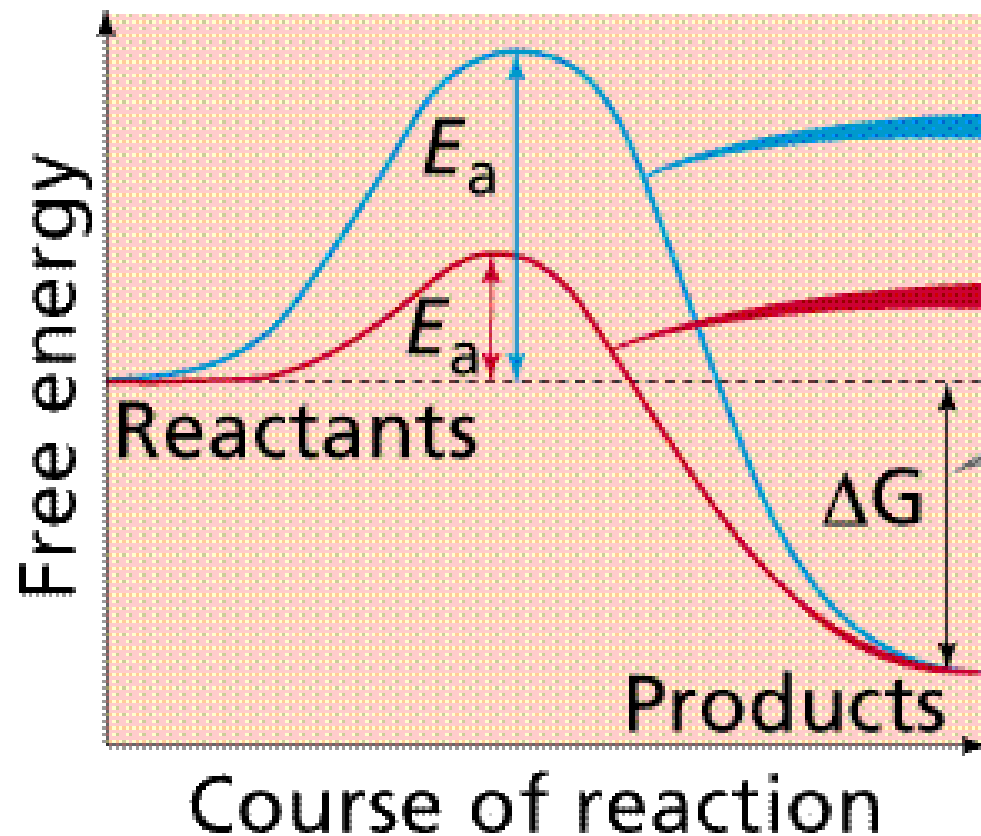
化学本质：大多数的酶是蛋白质，少数为核糖核酸或称核酶（ribozyme）。

生物体一切生化反应都需酶催化才能进行！酶的参与使得这些生物体内的化学反应以极高的效率协调地进行着。

第二节 酶的作用特点

一、与一般催化剂相同的特点

- 1、提高反应速度，不改变反应平衡点；**
- 2、只起催化作用，本身不消耗；**
- 3、降低反应的活化能，但是不改变反应前后自由能差**



An uncatalyzed reaction requires a higher activation energy than does a catalyzed reaction

There is no difference in free energy between catalyzed and uncatalyzed reactions



酶的催化



1

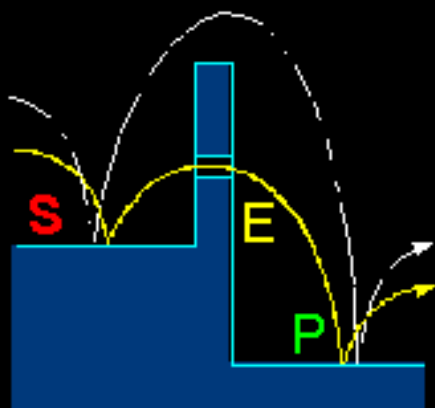
双氧水裂解

反應速率

1,000



1,000,000



catalase

1,000,000,000

2、具有高度的专一性（酶对底物的选择性）

（1）绝对～：仅催化一种底物反应，如脲酶

（2）相对～：只作用于一类化合物或一种化学键

基团：磷酸酶

键：酯酶

（3）立体异构专一性～：只作用于立体异构中的一种

旋光异构：乳酸脱氢酶（L-乳酸）、氨酰tRNA合成酶（L-氨基酸）

几何异构：延胡索酸酶（反式）

决定酶促反应专一性的机制

(1) 锁钥学说——刚性构象

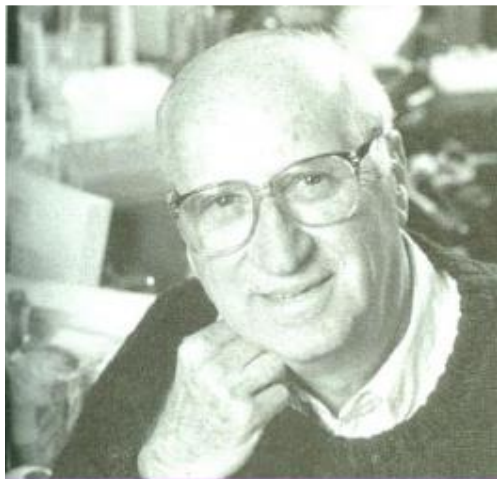
(2) 诱导契合学说

(3) 三点附着学说

——立体异构专一性的酶

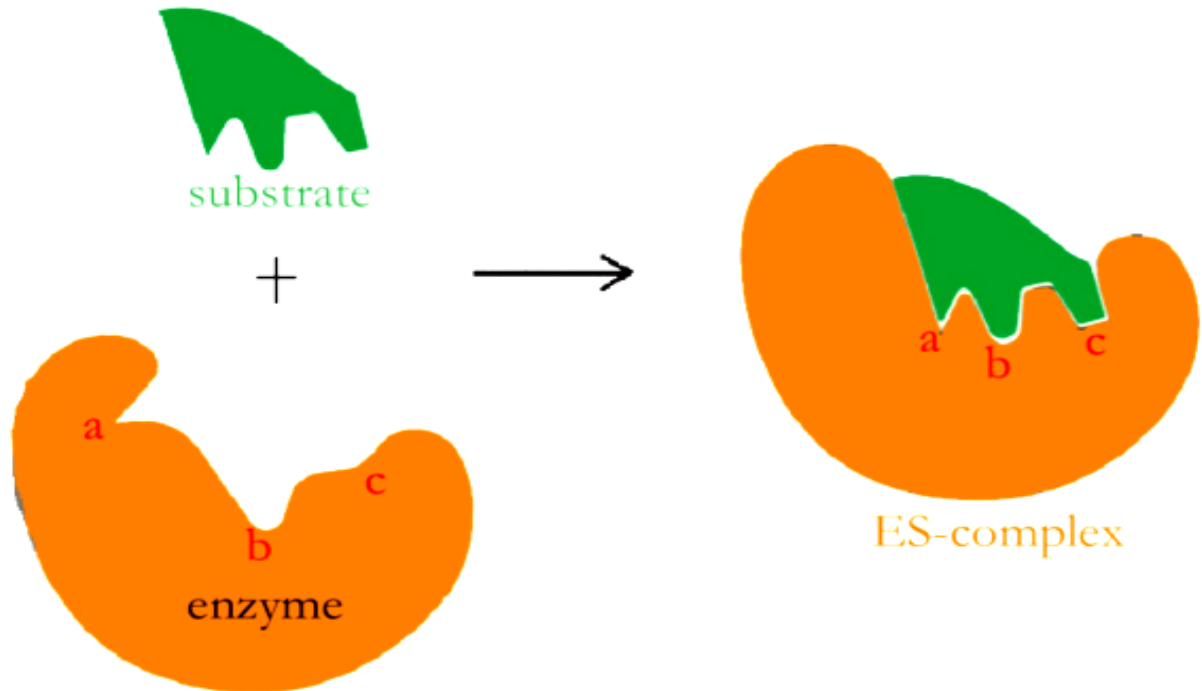
诱导嵌合学说 (Koshland, 1958)

当底物和酶接触时，可诱导酶分子的构象变化，使酶活性中心各种基团处于和底物互补契合的正确空间位置，有利于催化。



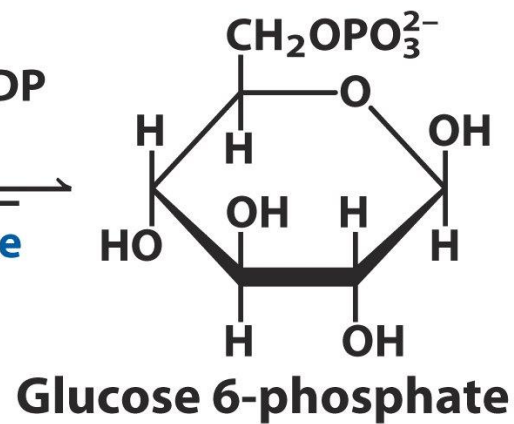
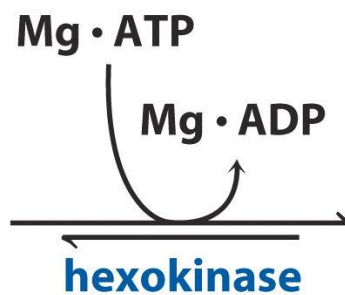
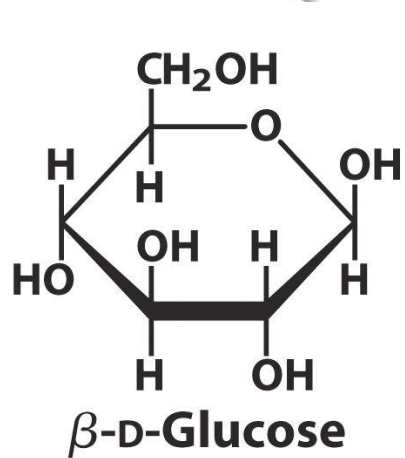
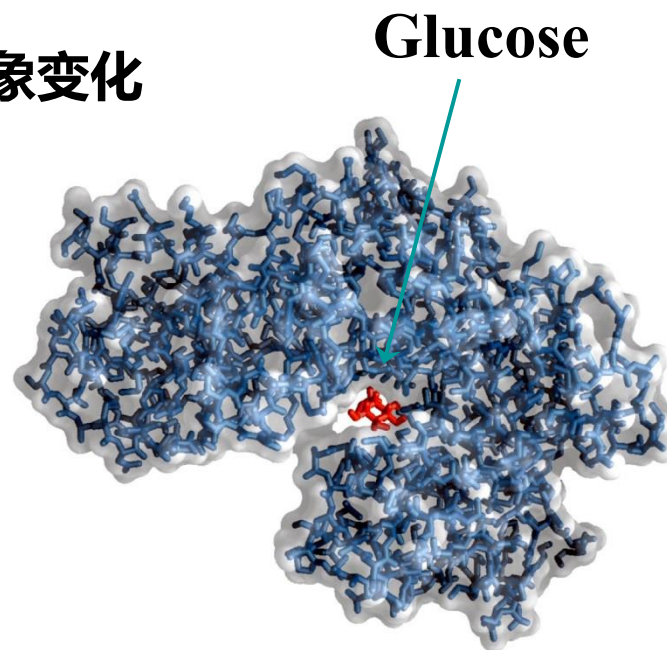
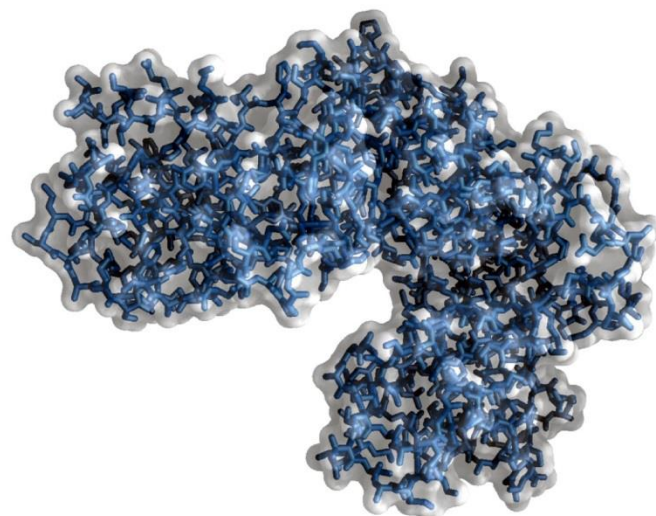
Daniel E. Koshland, Jr.

Professor in the Graduate School
(Division of Biochemistry & Molecular Biology)



己糖激酶

酶的空间构象变化



3、反应条件温和，对反应条件敏感

常温、常压、中性

4、酶活力可调节

酶浓度的可调性：合成/降解

反馈抑制调节酶活性

抑制剂和激活剂

别构调控、共价修饰、同工酶等

第三节 酶的分类与命名

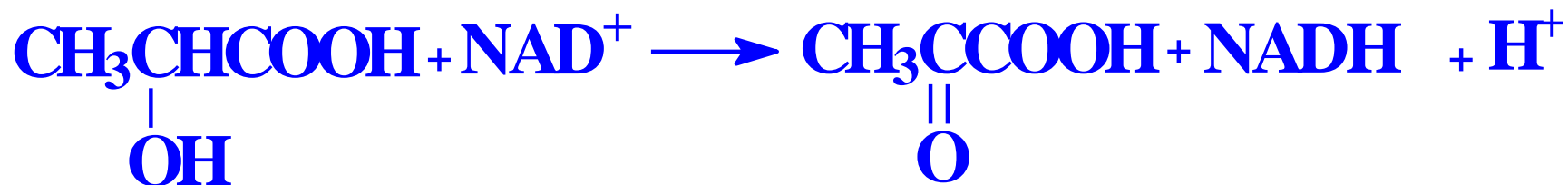
一、酶的分类

国际系统分类法（反应性质）

- 1、氧化还原酶（**Oxidoreductase**）
- 2、转移酶（**transferase**）
- 3、水解酶（**hydrolase**）
- 4、裂合酶（**lyase**）
- 5、异构酶（**isomerase**）
- 6、连接酶（**ligase**）
- 7、转位酶（**translocae**）

1. 氧化还原酶(oxidoreductase)

催化底物的氧化还原反应。包括脱氢酶和氧化酶。



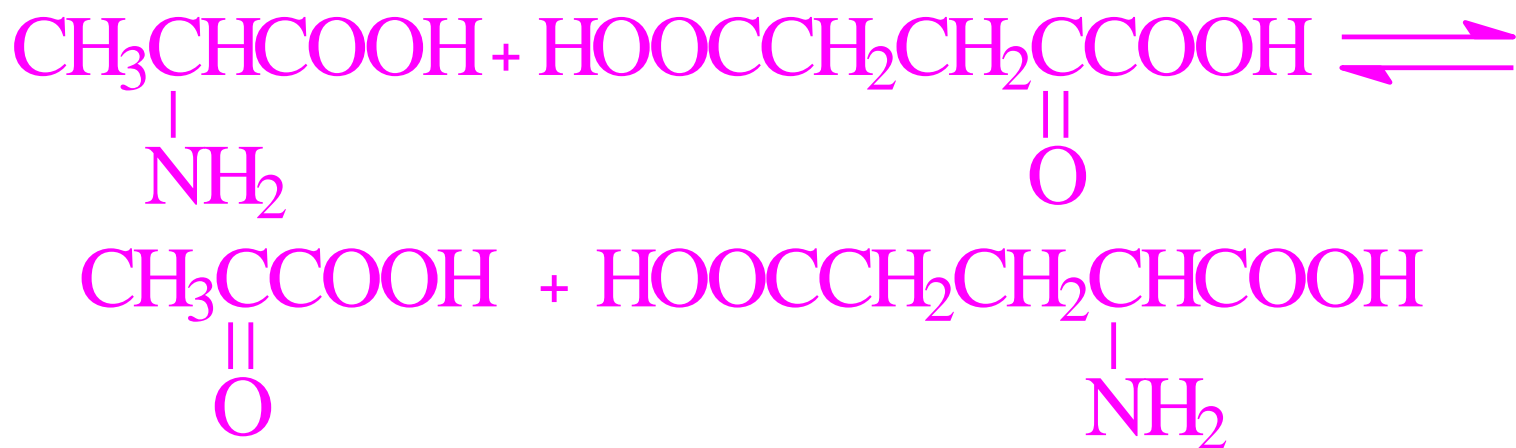
如： 乳酸脱氢酶、 琥珀酸脱氢酶

2. 转移酶(transferase)

——催化化合物中某些基团的转移

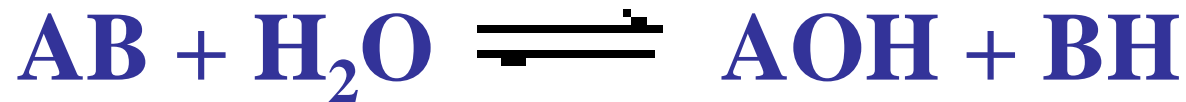


例如：谷丙转氨酶。



3. 水解酶(hydrolase)

催化底物的水解反应，即底物的加水分解作用



如： 淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等

4. 裂合酶(lyase): 催化一种化合物分裂为几种化合物或催化其逆反应。



如: 脱氨酶、脱羧酶、醛缩酶等

5. 异构酶 (isomerase):

催化 各种异构体之间的互变

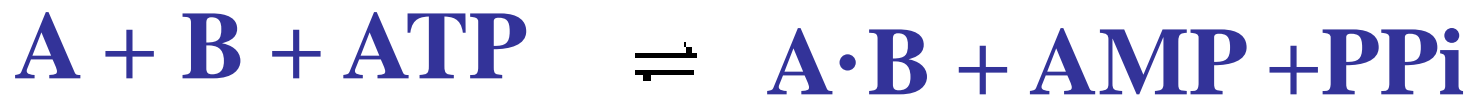


常见的有:

消旋和变旋、醛酮异构、顺反异构和
变位酶类。

6. 连接酶 (ligase):

催化有ATP参加的合成反应



如：氨酰tRNA合成酶、谷氨酰胺合成酶等

7. 转位酶 (translocase):

转运离子和一些小分子（如氨基酸和单糖等）的转位酶。

与核苷三磷酸水解或氧化还原酶反应偶联的物质跨膜转运或在膜内的分离。

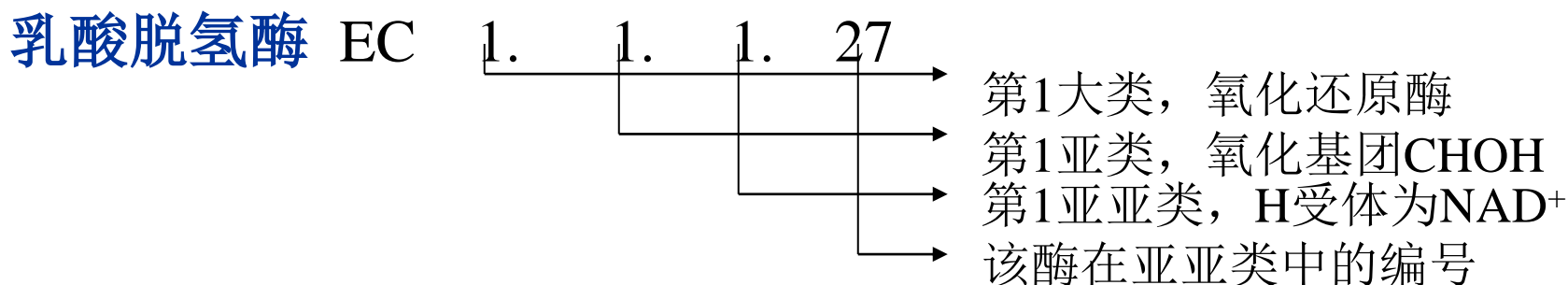
酶的系统编号：4位数字

第一位：代表六大类反应类型

第二位：亚类（作用的基团或键的特点）

第三位：亚亚类（精确表示底物/产物的性质）

第四位：在亚亚类中的序号

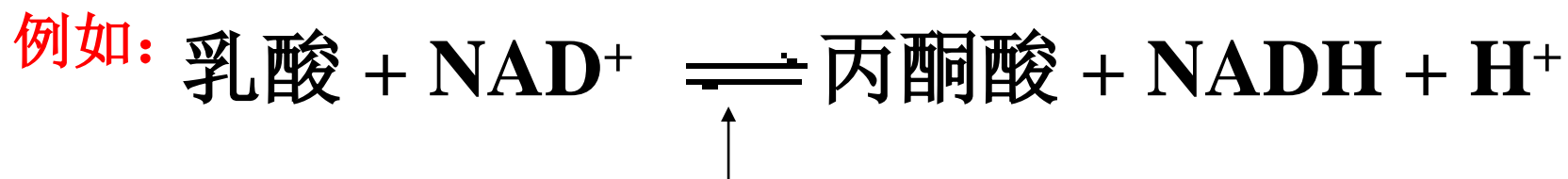


二、酶的命名

1、国际系统命名法

反映：底物化学本质及酶的催化性质

底物1：底物2 + 反应性质+酶



L-乳酸： NAD^+ 氧化还原酶

当底物为水时，可省略

2、习惯命名

催化的底物名 + 酶

催化反应类型 + 酶

催化的底物名 + 反应类型 + 酶

琥珀酸脱氢酶、胃蛋白酶、碱性磷酸酯酶

蛋白酶、纤维素酶、淀粉酶 ？

水解酶一般省去“水解”二字

第四节 酶的结构与功能

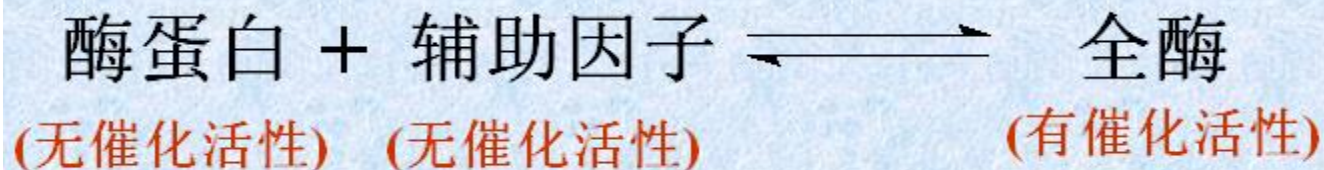
一、酶分子的组成

化学组成 单纯酶：只有蛋白质

结合酶：酶蛋白 + 辅助因子

- 结合酶中：

单独酶蛋白或辅助因子没有催化活性



全酶
(holoenzyme)

酶蛋白 (apoenzyme) : 决定反应的专一性

辅助因子(cofactor): 非蛋白组分, 一般为金属离子或小分子有机化合物; 递氢、电子、基团; 决定反应类型、性质

辅助因子 { 辅基 与酶结合紧
辅酶 与酶结合松

能否用透析或超过滤的方法除去

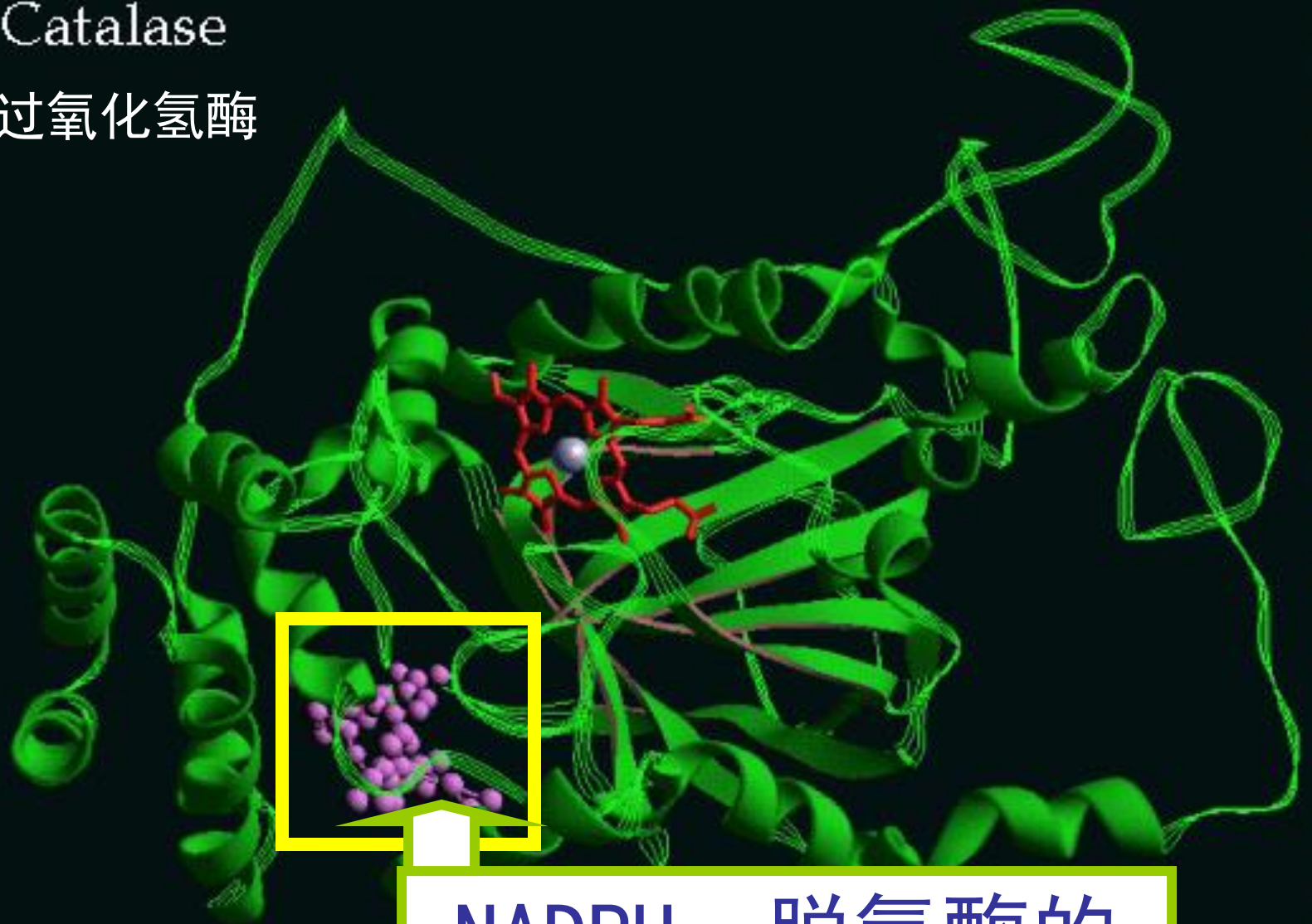
Carboxypeptidase

羧肽酶

- 
- The image shows a 3D ribbon diagram of the Carboxypeptidase protein structure, colored green. A potato inhibitor is bound in the active site, shown in magenta. A zinc atom is represented by a grey sphere in the center of the active site. A disulfide bond is highlighted in yellow. A cleaved glycerol residue of the inhibitor is shown in blue. The active site residues are highlighted in red.
- Residues in active site
 - Zinc
 - Disulfide bond
 - Potato inhibitor
 - Cleaved Gly 1 of inhibitor

Catalase

过氧化氢酶



NADPH—脱氢酶的
辅酶



Protoporphyrin IX, with Fe^{3+}

NADPH

酶蛋白分子的结构特点

单体酶、寡聚酶、多酶复合体

monomeric enzyme: 一般由一条肽链组成

oligomeric enzyme: 为寡聚蛋白（多亚基）

multienzyme complex: 由数个独立的酶组合起来形成络合体，催化一个系列反应。

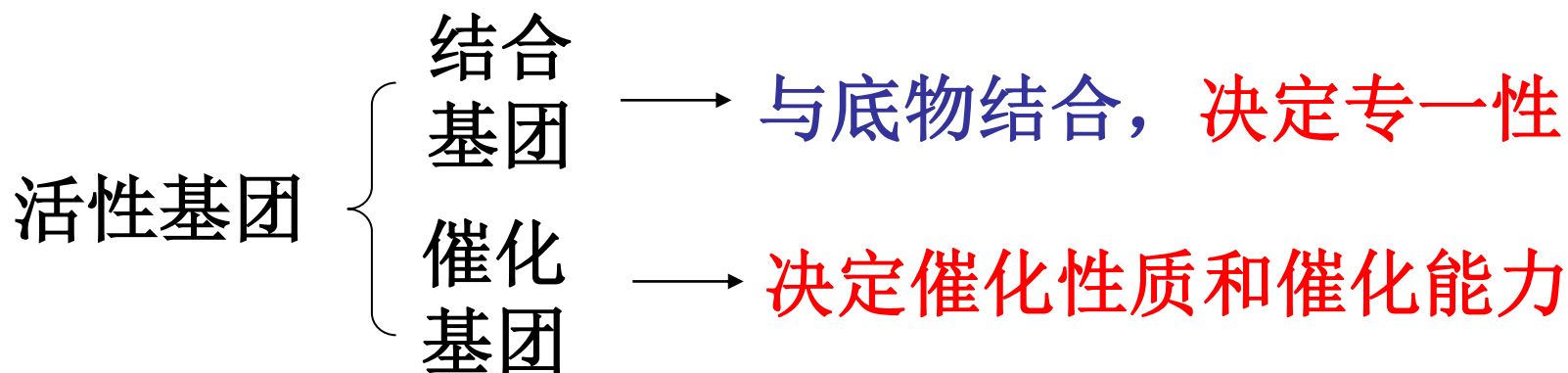
（糖代谢、脂代谢）

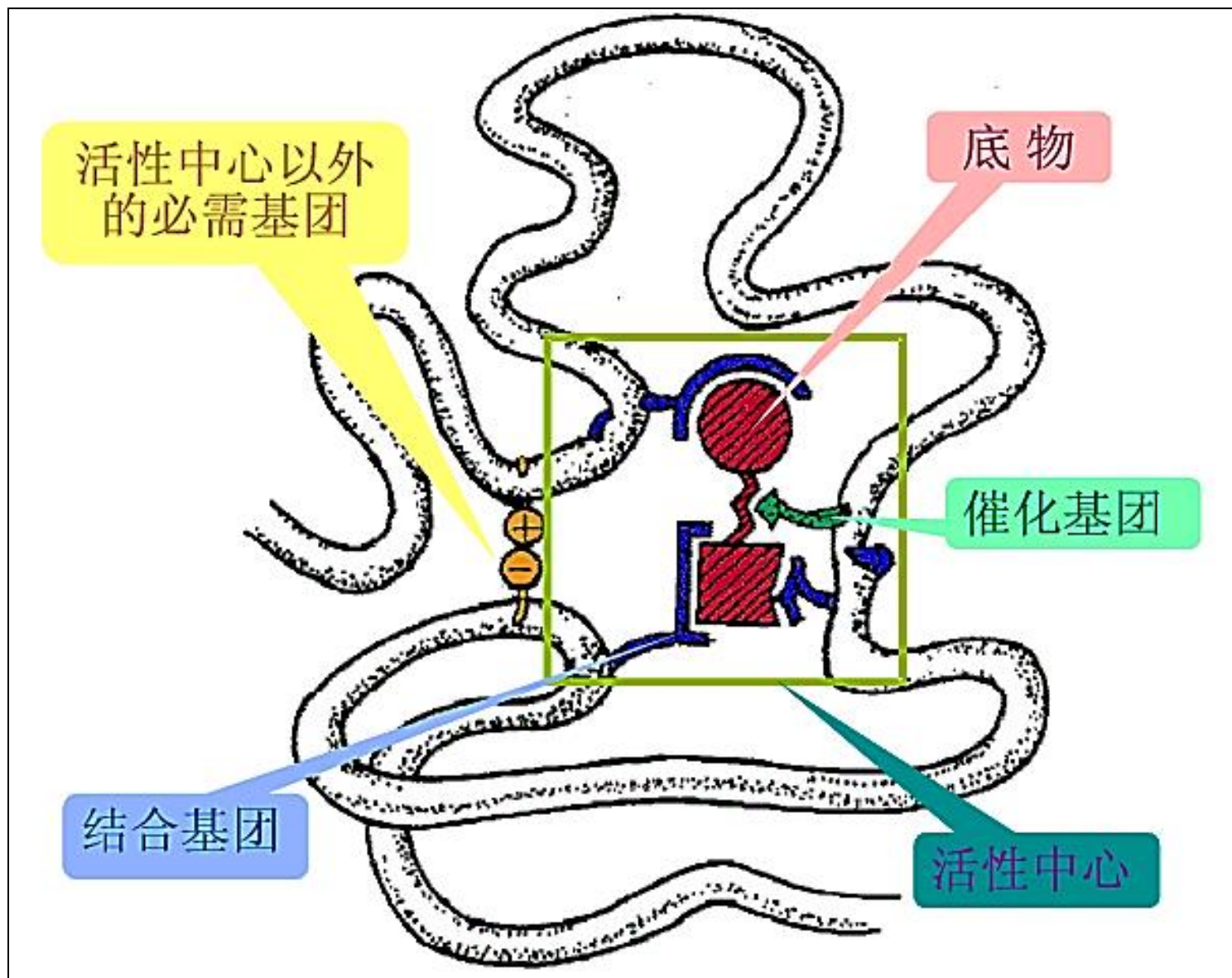
二、酶的活性中心和必需基团

P99

1、定义

活性部位（活性中心）：酶分子中直接与底物结合，并和酶的催化作用有直接关系的部位。





酶的活性中心示意图

2、酶活性部位的特点

- (1) 几个残基+辅助因子 (单纯/结合)
- (2) 在空间构象上集中到一起 (单体/寡聚)
- (3) 疏水空穴
- (4) 通过次级键与底物结合
- (5) 与底物诱导契合
- (6) 活性中心构象具有柔韧性和可塑性
与酶活性的增高与降低有关

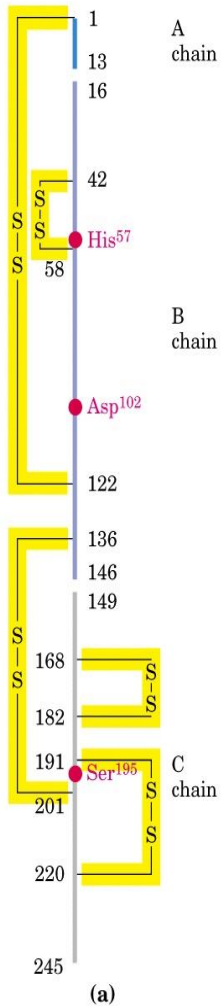


酶	AA残基	活性中心AA
核糖核酸酶	124	H H K R D E
溶菌酶	129	D E
胰凝乳蛋白酶	241	H D S
羧肽酶A	307	R E Y Zn ²⁺
胰蛋白酶	223	H D S

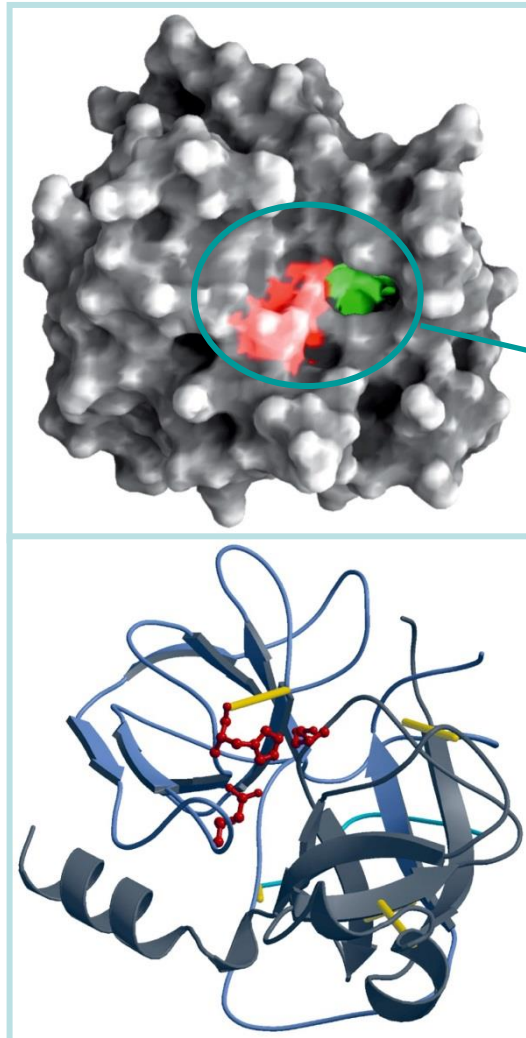


胰凝乳蛋白酶的活性中心 Chymotrypsin Active center

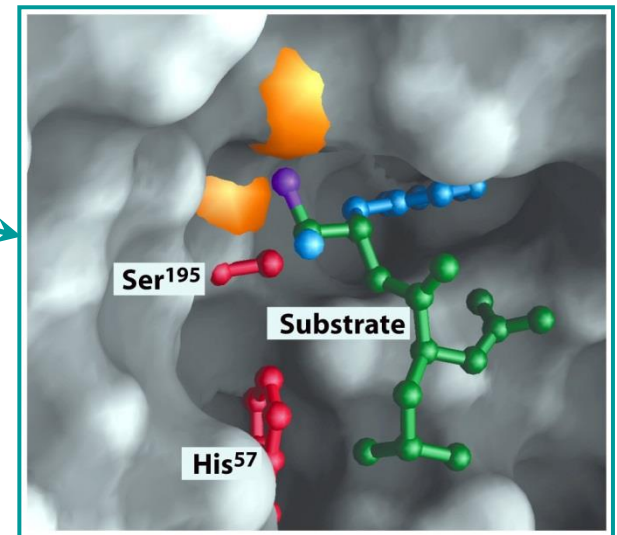
一级结构



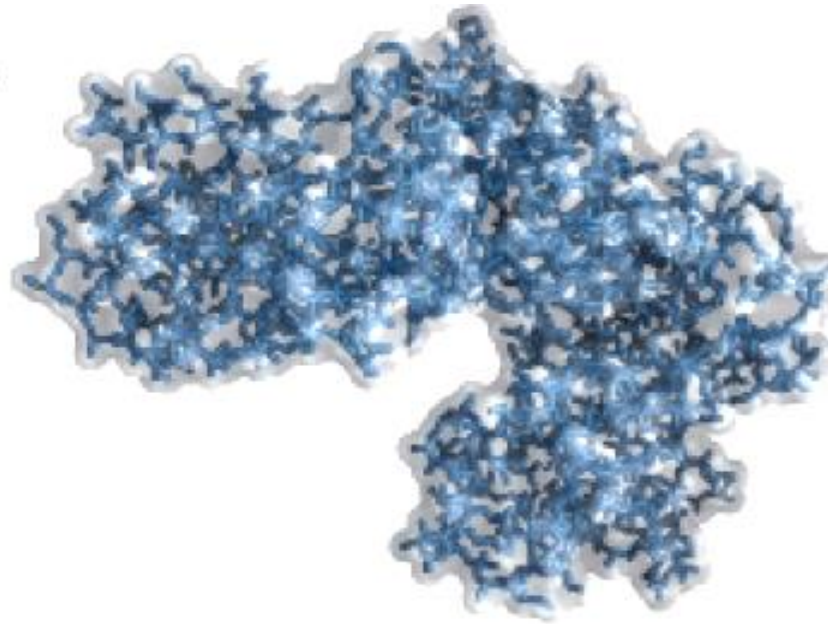
空间结构



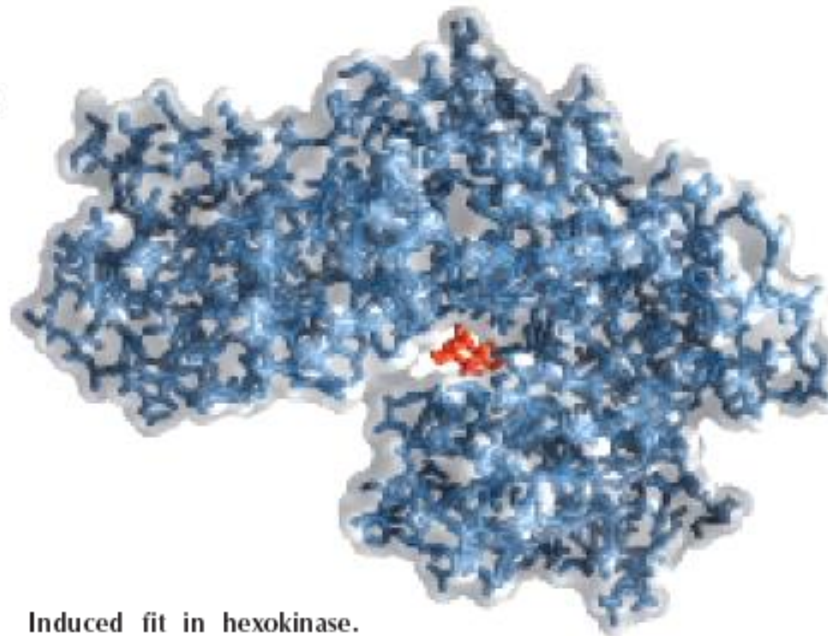
活性中心



(a)



(b)



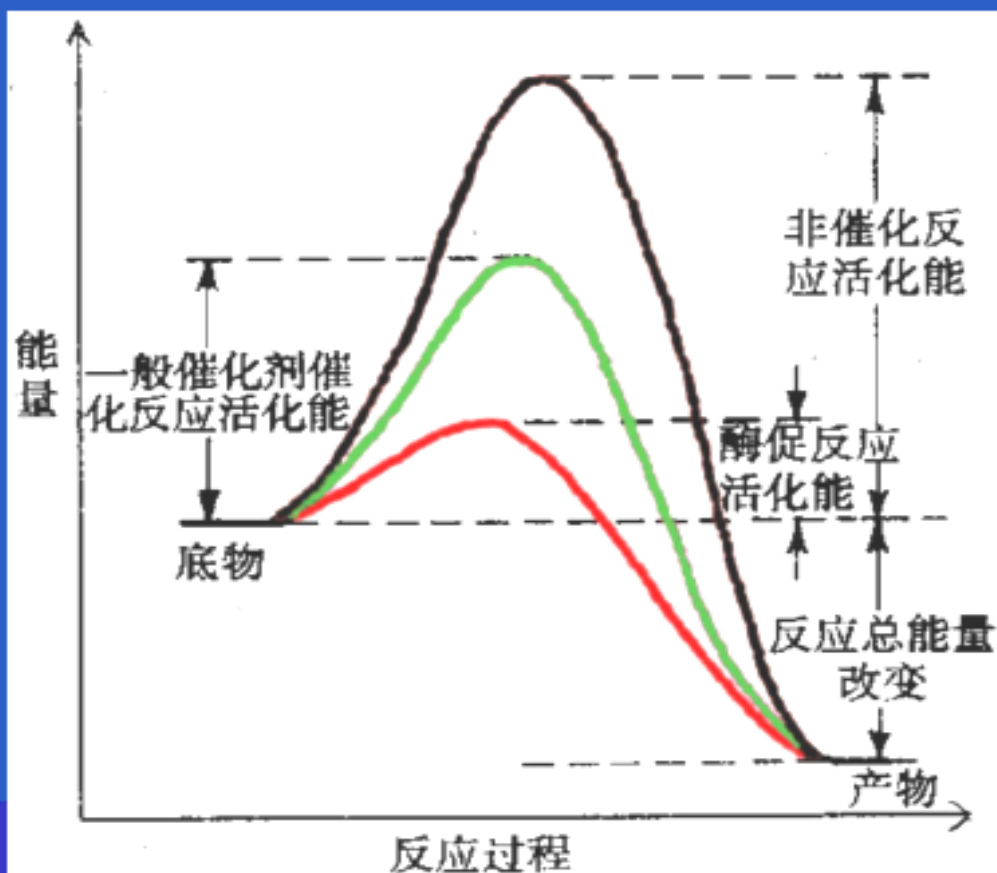
Induced fit in hexokinase.



第五节 酶的作用机理

酶的作用机理

酶促反应的机制 ——降低反应的活化能 (*activation energy*)



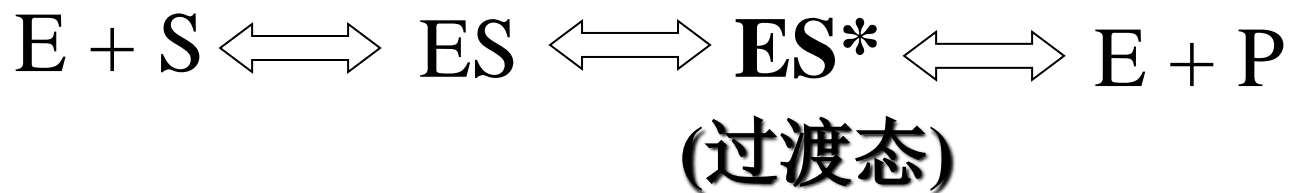
活化能:

底物分子从
初态转变到活化
态所需的能量。

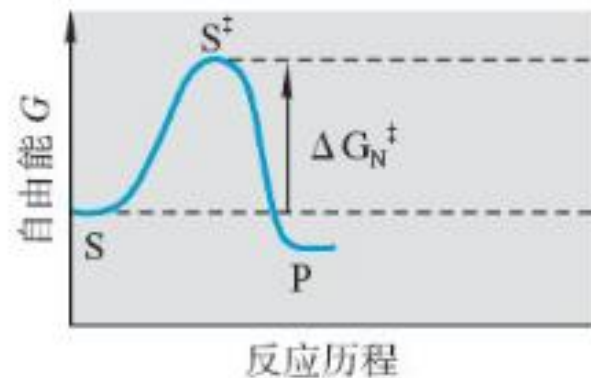


一、过渡态稳定学说

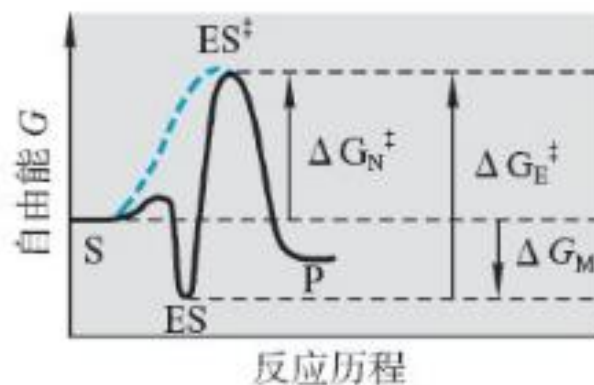
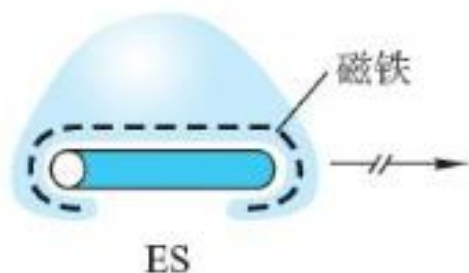
酶-底物复合物的形成有利于底物转变成过渡态



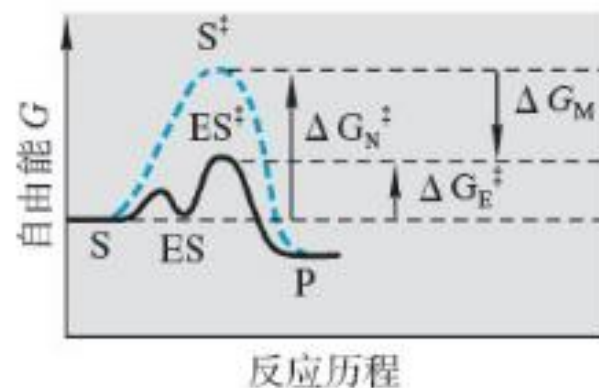
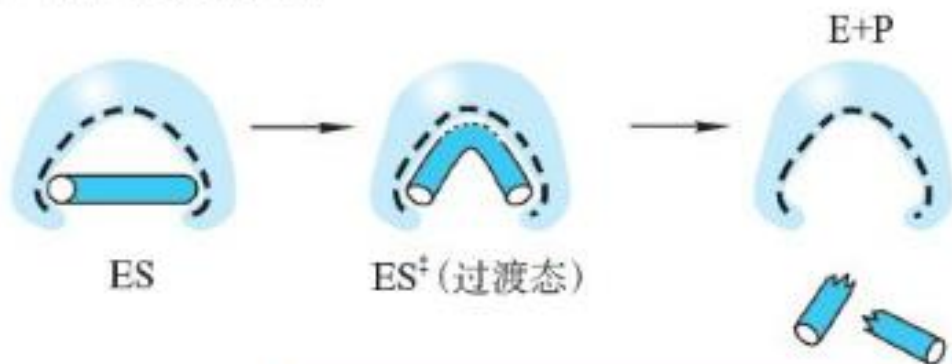
1946年Pauling提出，酶与过渡态的亲合力要比对基态（底物）的亲合力高的多。酶的催化源于其对过渡态的稳定作用



(2) 酶与底物互补



(3) 酶与过渡态互补



“铁丝酶”催化反应的过渡态稳定机制

支持过渡态稳定学说的证据

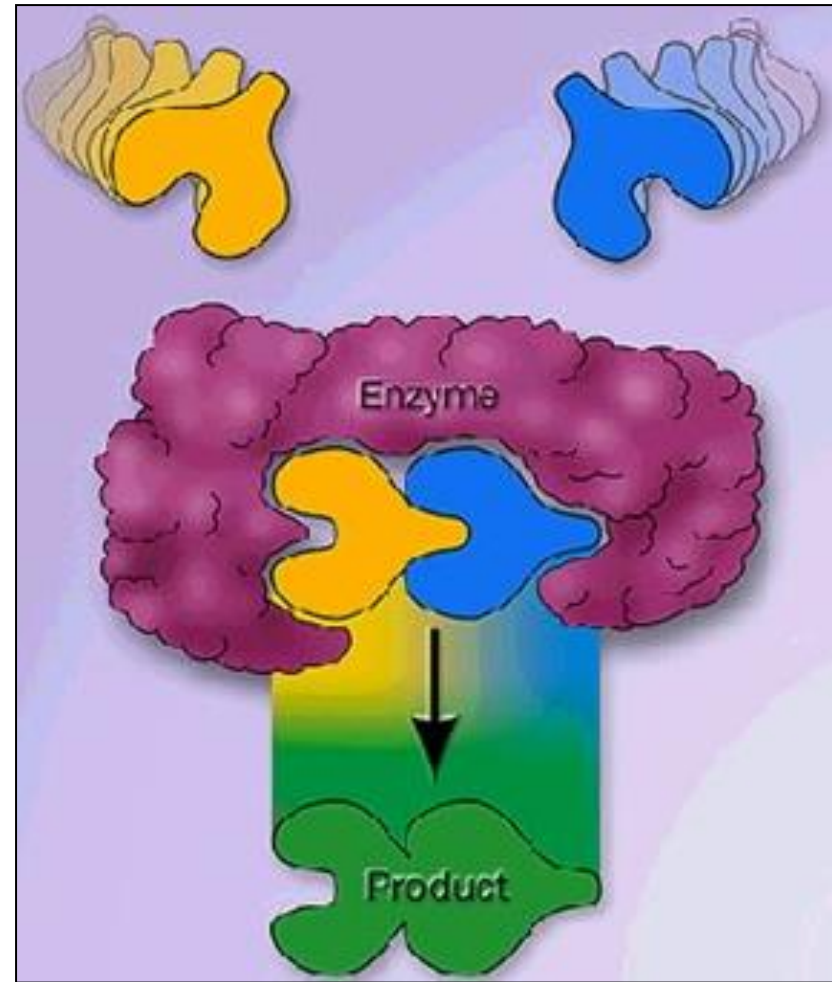
- ◆ 根据过渡态的结构设计的过渡态类似物可作为酶的强抑制剂，抑制效果远高于竞争性抑制剂。
- ◆ 利用过渡态类似物作为抗原或半抗原免疫动物，产生的抗体可有类似酶的催化作用。

二、过渡态稳定的化学机制

- 邻近效应与定向效应
- 底物形变
- 酸碱催化
- 静电催化
- 金属离子催化
- 共价催化

1、邻近效应和定向效应 (proximity and orientation)

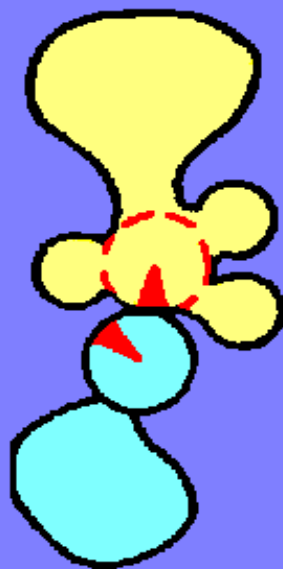
底物之间相互靠近（邻近），使要发生反应的底物在酶活性部位的有效浓度大大地提高。同时采取正确的空间取向（定向），使底物中需要发生反应的基团的分子轨道以正确方式相互交叠，变分子间为类似分子内反应。



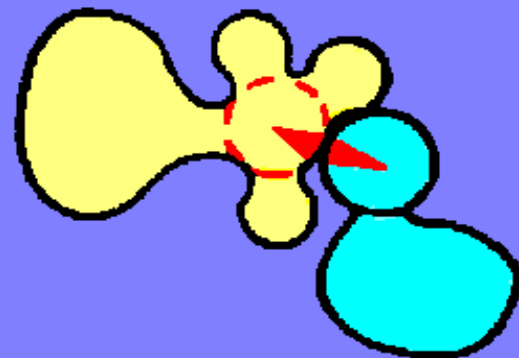
靠近与定向



A. 底物的反应基团既不靠近，也不定向。

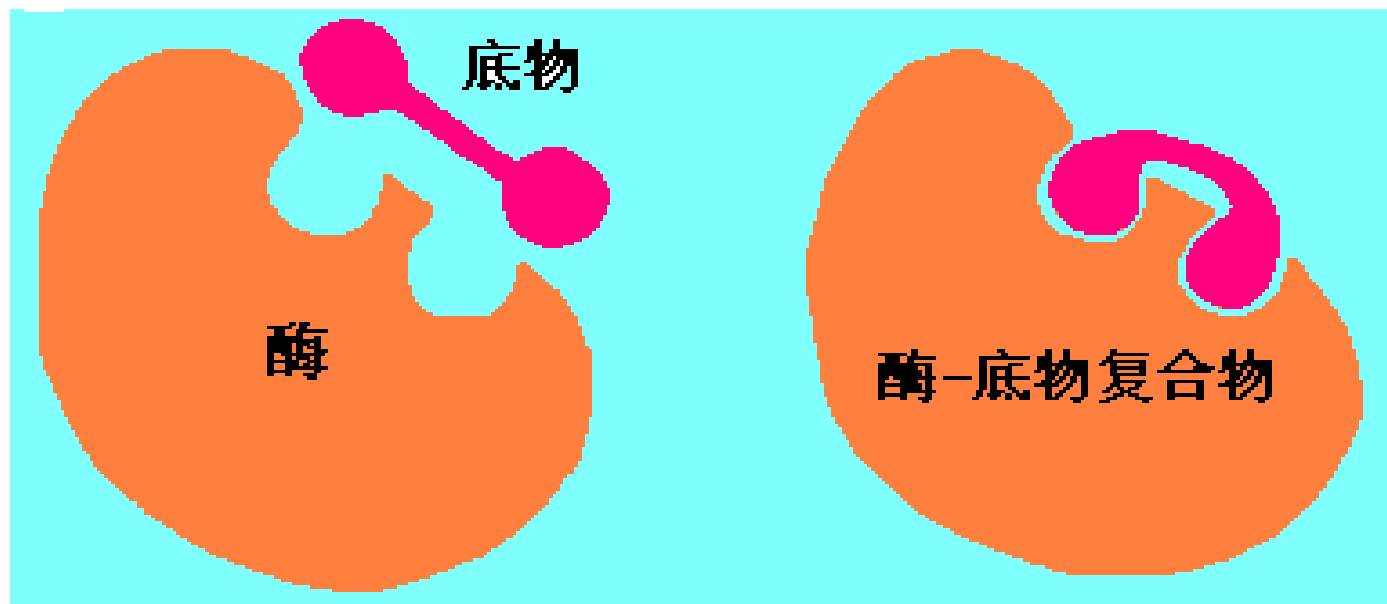


B. 两个基团靠近，但不定向，不利于反应进行。



C. 两个基团既靠近，又定向，有利于反应进行。

2、底物分子敏感键扭曲变形(distortion)

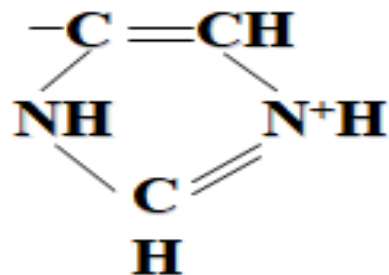
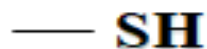
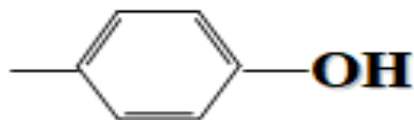
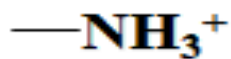


酶与底物结合后，酶分子中的某些基团使底物敏感键产生张力，甚至变形，使敏感键更敏感，更易反应，促使中间产物ES进入过渡态。

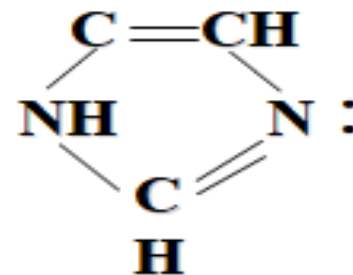
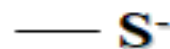
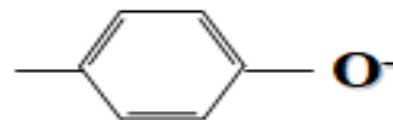
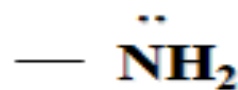
3、酸碱催化 (acid-base catalysis)

- 酶活性中心的一些基团在反应中, 通过瞬时向S提供质子(质子供体)或从S接受质子(质子受体)稳定过度态加快反应速度。

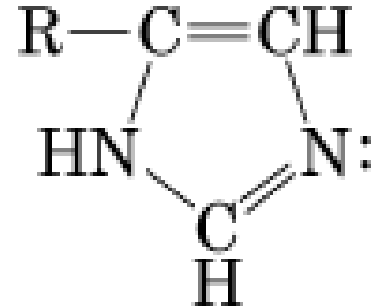
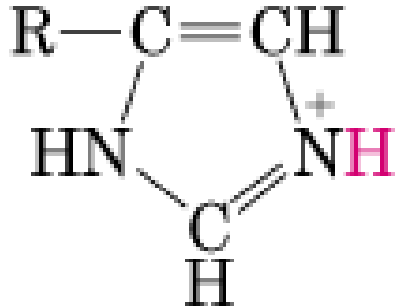
广义酸基团 (质子供体)



广义碱基团 (质子受体)

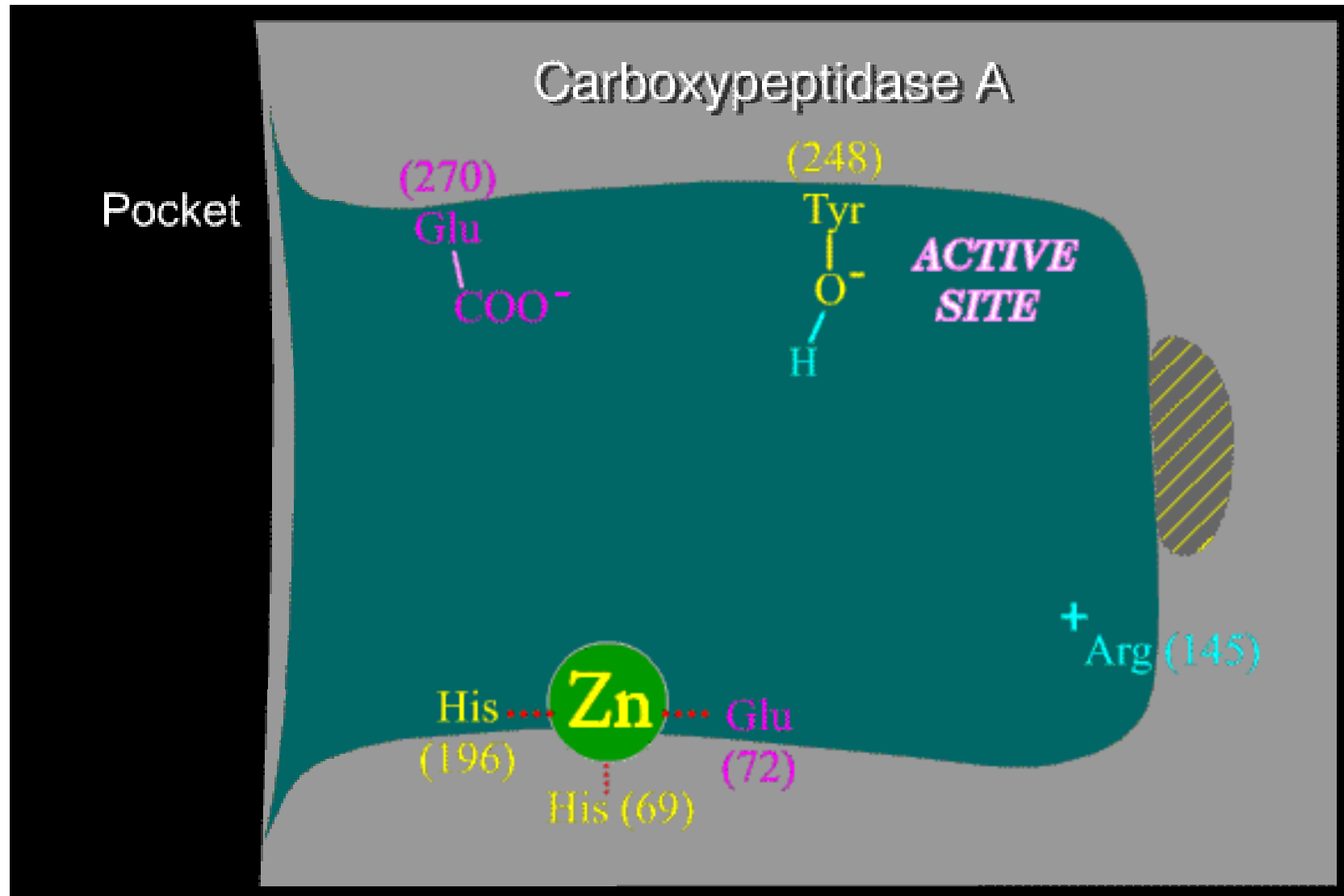


His咪唑基 $pK=6.0$,生理pH条件下,一半以酸性形式存在,一半以碱性形式存在,既可以作质子的供体又可以作质子的受体。



碱催化

酸催化



使肽键失稳

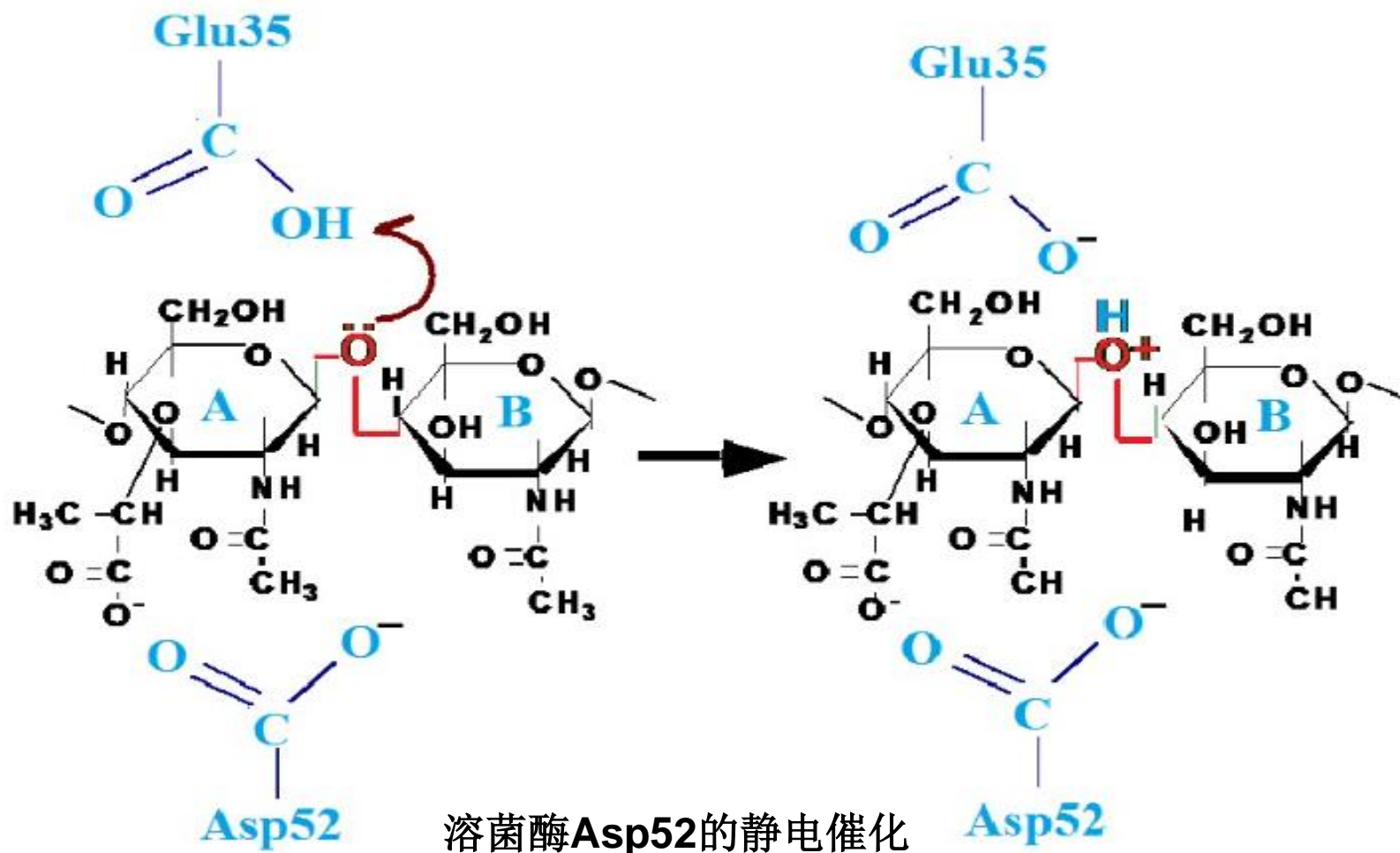
稳定
活性
中心

吸
附
羧
氧
原
子



4、静电催化

酶通过自身**带电基团**中和过渡态的**相反电荷**而稳定过渡态的。



5、金属离子催化

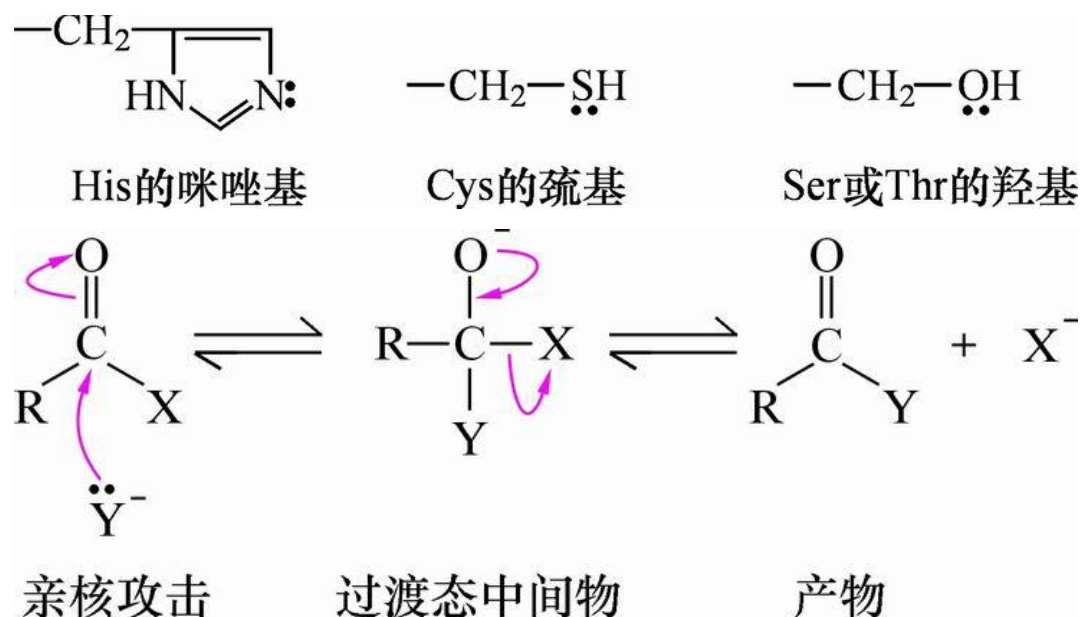
金属离子（比如 Mg^{2+} ）是许多酶的辅因子，往往通过以下方式参与酶的催化作用：

- ① 结合底物为反应定向
- ② 在氧化还原反应中传递电子
- ③ 静电屏蔽或屏蔽负电荷（如激酶中的 Mg^{2+} ）
- ④ 接受电子，使亲核基团或亲核分子的亲核性更强

6、共价催化(covalent catalysis)

酶作为亲核基团或者亲电基团，与底物暂时形成不稳定的共价中间物（**过渡态**），能使反应活化能大大降低，从而加速反应。

(1) **亲核催化**：亲核基团对底物进行亲核攻击而产生的催化作用

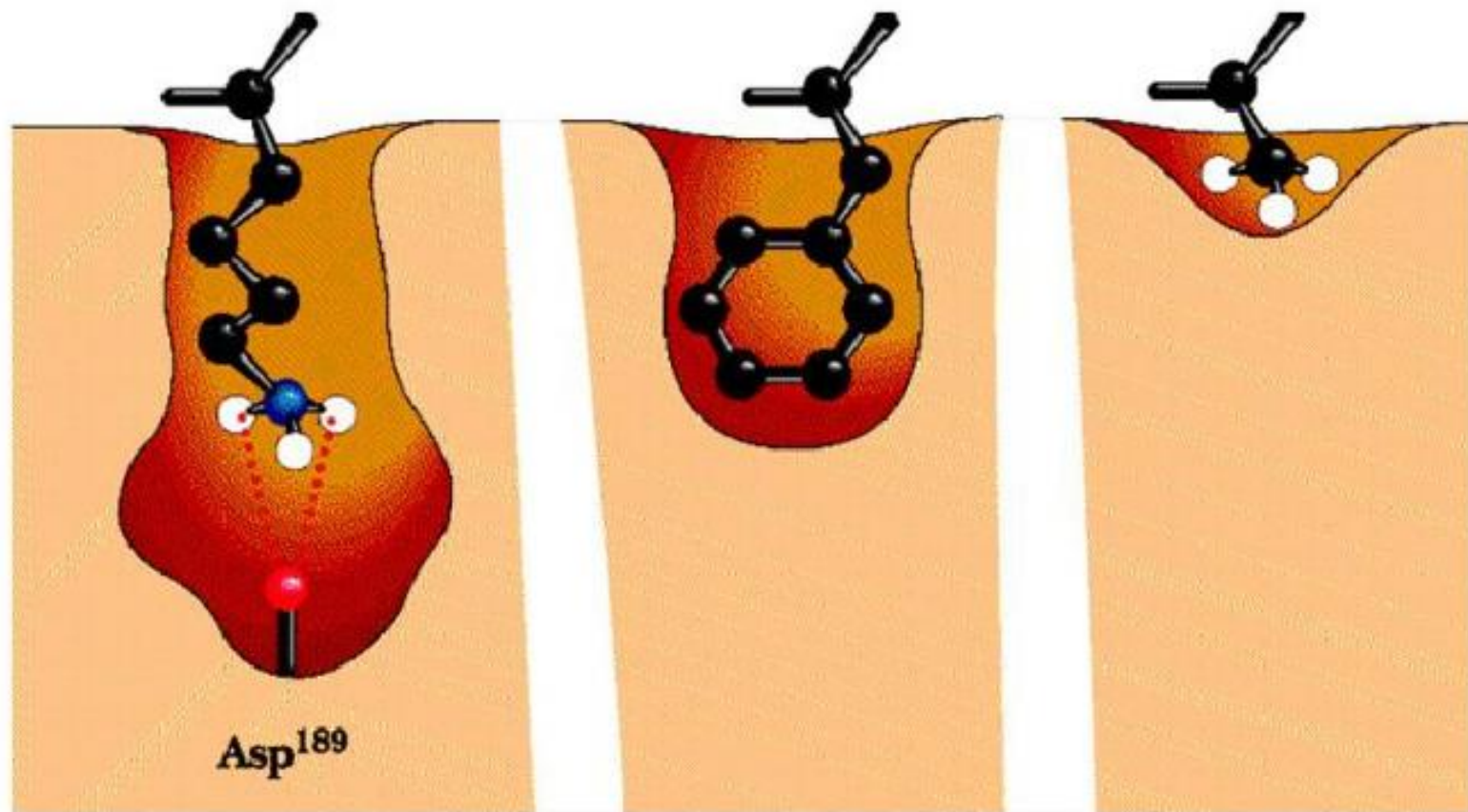


(2) **亲电催化**：亲电基团对底物进行亲电攻击而产生的催化作用.这些亲电基团往往是酶的一些辅因子，如金属离子 Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} ,

胰蛋白酶

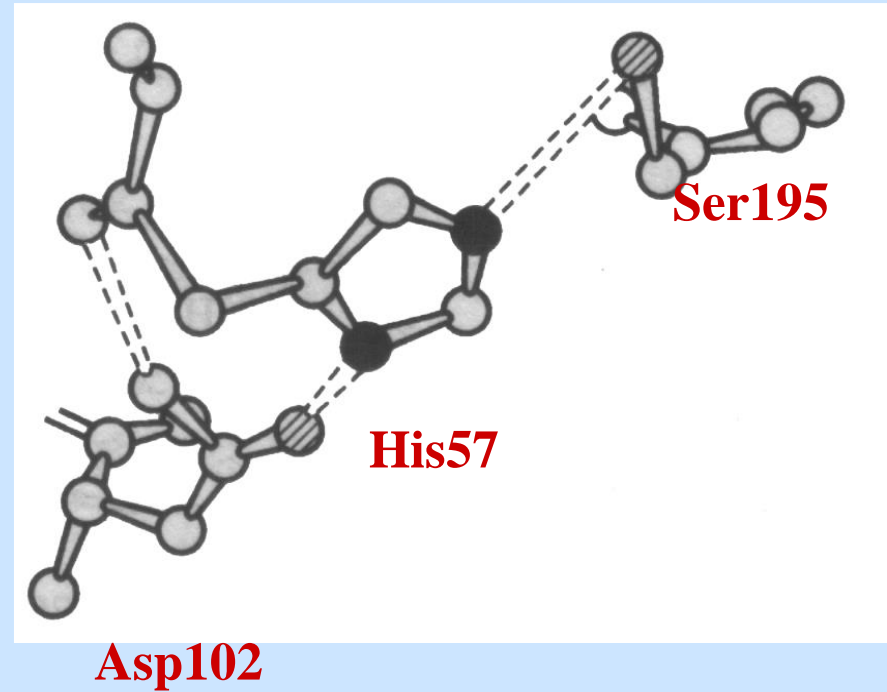
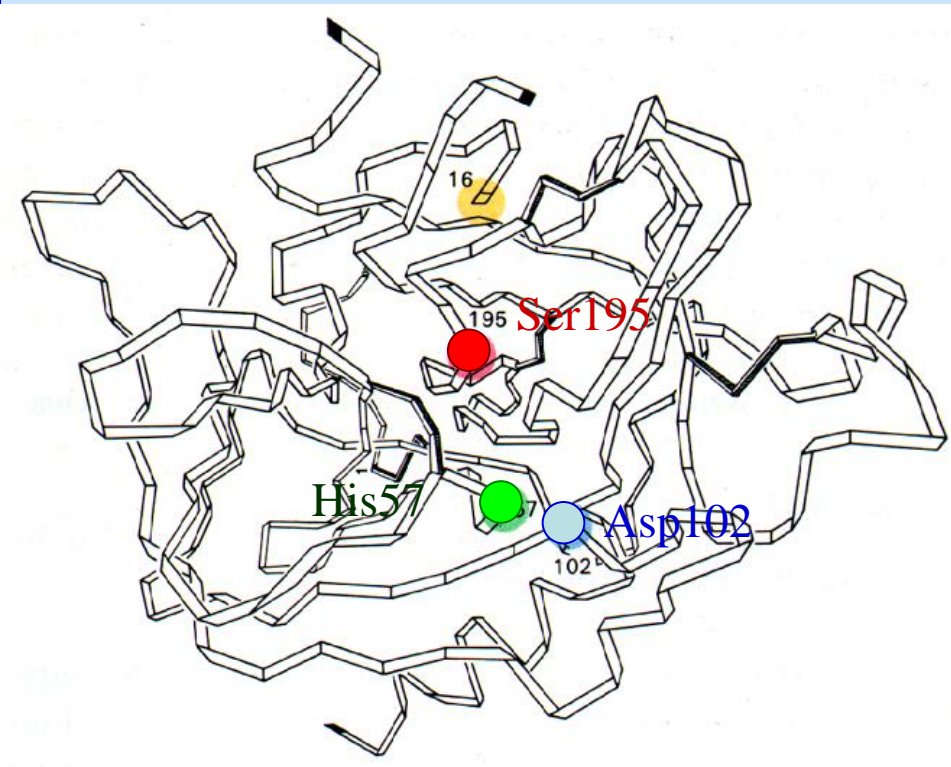
胰凝乳蛋白酶

弹性蛋白酶



胰蛋白酶具有很深的底物结合口袋，口袋的底部又是Asp，特别适合长Lys和Arg的结合；糜蛋白酶的底物结合口袋没有胰蛋白酶深，但比它宽，而且口袋壁分布的是疏水氨基酸，故特别适合芳香族氨基酸的结合；弹性蛋白酶的底物结合口袋非常浅，最适合结合侧链较小的氨基酸。

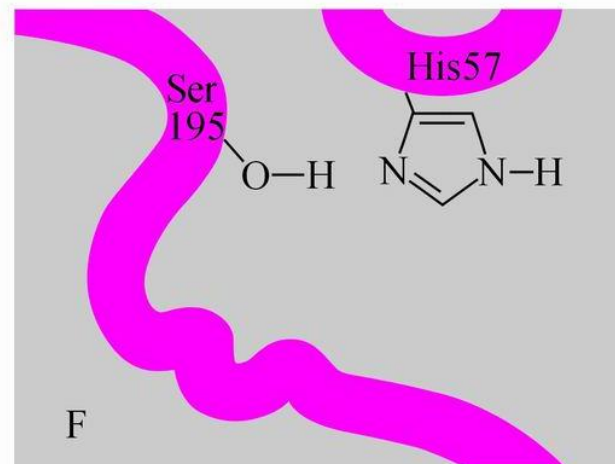
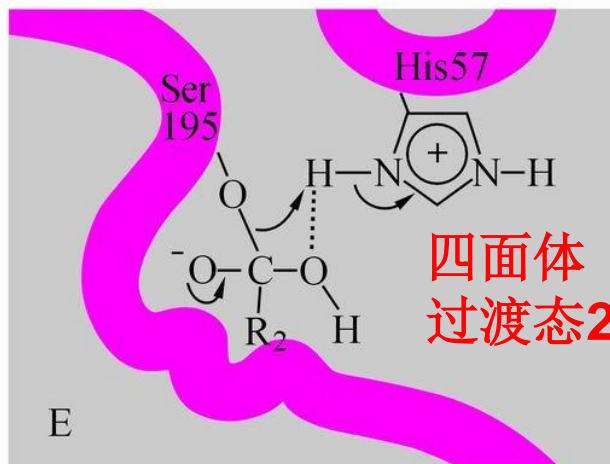
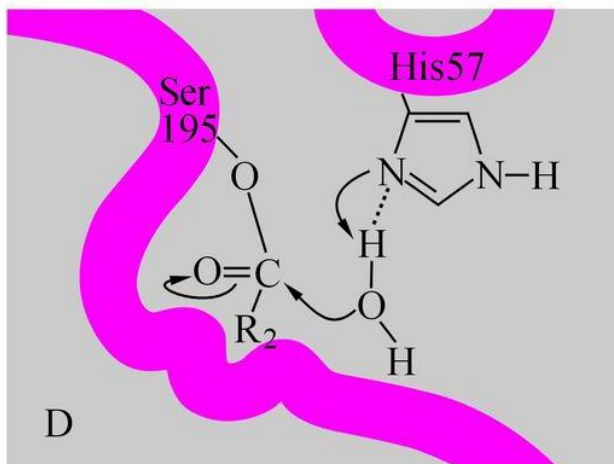
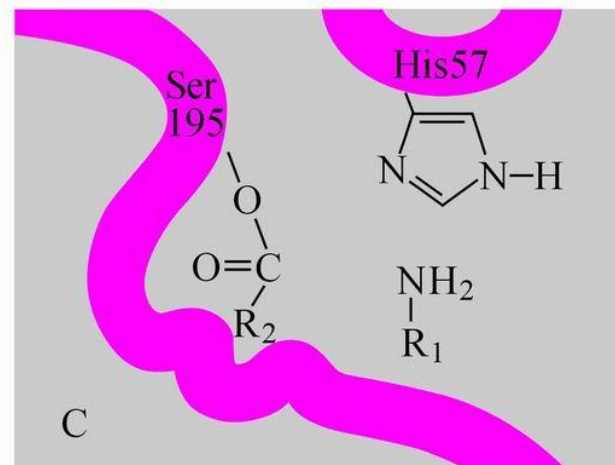
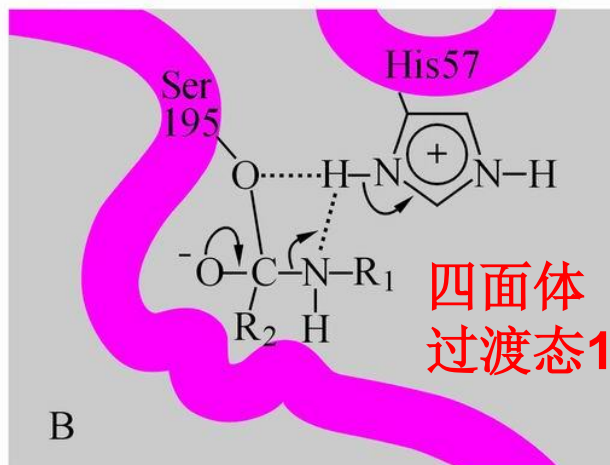
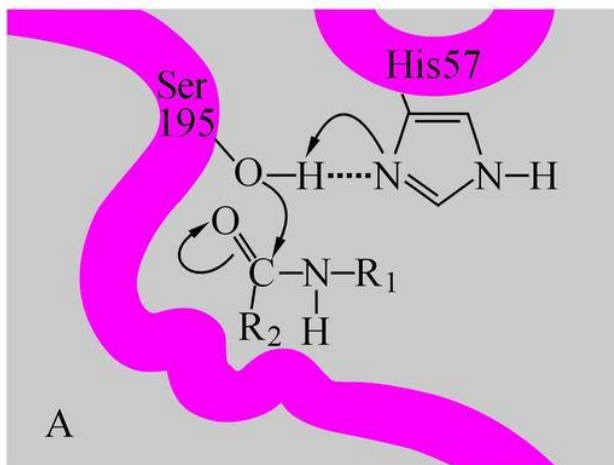
酶的催化作用实例——胰凝乳蛋白酶



胰凝乳蛋白酶分子中催化三联体构象

第一阶段 (A、B、C)：快速酰化阶段

第二阶段 (D、E、F)：慢速脱酰阶段



胰凝乳蛋白酶对底物的水解过程

酶催化过程示意图

