

本章主要内容

- 一. 酶的概念 (重点)
- 二. 维生素与辅酶 (重点)
- 三. 酶促反应动力学 (重点)
- 四. 酶的结构和催化作用机制 (重点) ←..... 翻转课堂
- 五. 酶的调控
- 六. 人工酶与酶工程 (自学为主)

上次课主要内容回顾

三. 酶促反应动力学 (重点)

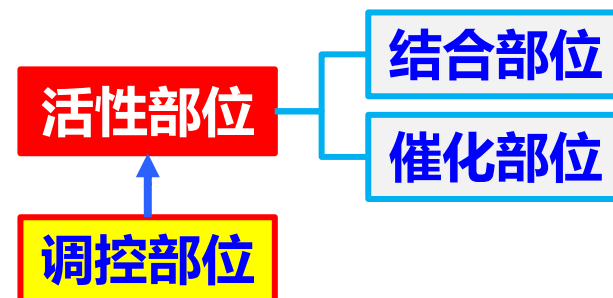
4. 酶的抑制作用



四. 酶的结构和催化作用机制 (重点)

1. 酶分子的结构特点——活性部位

小体积 特征空间结构 弱作用力 关键氨基酸残基



本次课主要内容

四. 酶的结构和催化作用机制

2. 酶与底物的相互作用

3. 催化作用机制

(1) 酶—底物中间复合物学说

(2) 酶作用高选择性的机制

(3) 酶作用高效率的机制

四、酶的结构及催化作用机制

2. 酶与底物的相互作用

◆ 酶与底物相互作用的力

大多数底物都是通过相对弱的非共价力与酶结合：

- hydrogen bond
- ionic bond
- Van de Waals forces
- hydrophobic interactions

◆ 多种相互作用并存，这是酶分子都是生物大分子的主要原因。

四、酶的结构及催化作用机制

3. 催化作用机制

Enzymes are extraordinary catalysts. The rate enhancements they bring about are in the range of 5 to 17 orders of magnitude. Enzymes are also very **specific**, readily discriminating between substrates with quite similar structures. How can these enormous and highly selective rate enhancements be explained? What is the source of the energy for the **dramatic lowering of the activation energies** for specific reactions?

3. 催化作用机制

(1) 酶—底物中间复合物学说

- ◆ 1902年, Henri and Wurtz 提出:



- ◆ 是酶促反应动力学的基础, 可推出米氏方程。
- ◆ 许多实验事实证明了E-S复合物的存在。
- ◆ E-S复合物的形成, 一方面活化了底物分子, 另一方面将底物定向契合在酶的活性部位, 从而大大提高了反应速率和专一性。

3. 催化作用机制

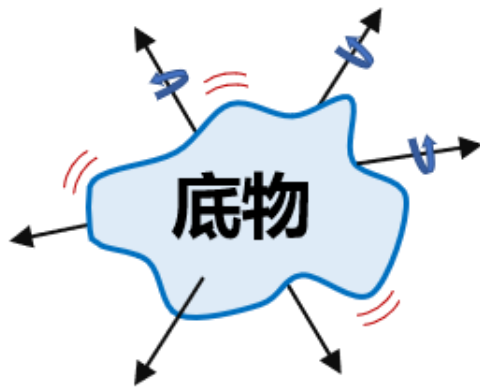
(1) 酶—底物中间复合物学说

Question

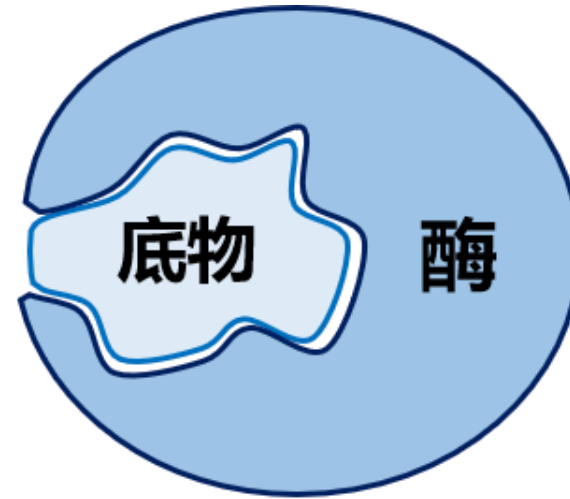
1. How is the entropy (熵) before and after the formation of ES complex?
2. What is the energy source of this change of entropy?

酶-底物复合物的形成

在底物S与酶E结合之前，二者均处于自由运动状态，在结合过程中，由于底物与酶分子的相互作用产生结合能，结合后，形成高度有序、低熵的复合物。



底物与酶不结合时可
自由发生平移翻转等运动
无序的高熵值状态



底物与酶结合时不能
自由发生平移翻转等运动
高度有序的低熵值复合物

3. 催化作用机制

(2) 酶作用高选择性的机制

- 酶活性部位与底物（过渡态）的互补性是酶具有专一性的原因。包括：
 - 结构互补
 - 电性互补

} 分子识别
- 酶的专一性是分子识别(molecular recognition) 的结果。

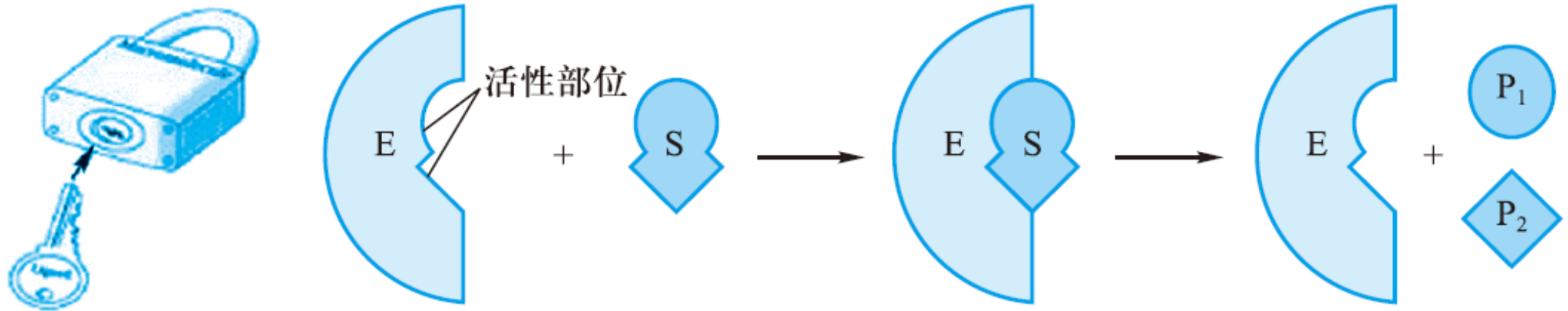
3. 催化作用机制

(2) 酶作用高选择性的机制

- A. 锁钥学说 (lock and key model)**
- B. 诱导契合 (induced fit model)**
- C. 三点结合理论 (three sites binding theory)**

锁钥学说 (lock and key model)

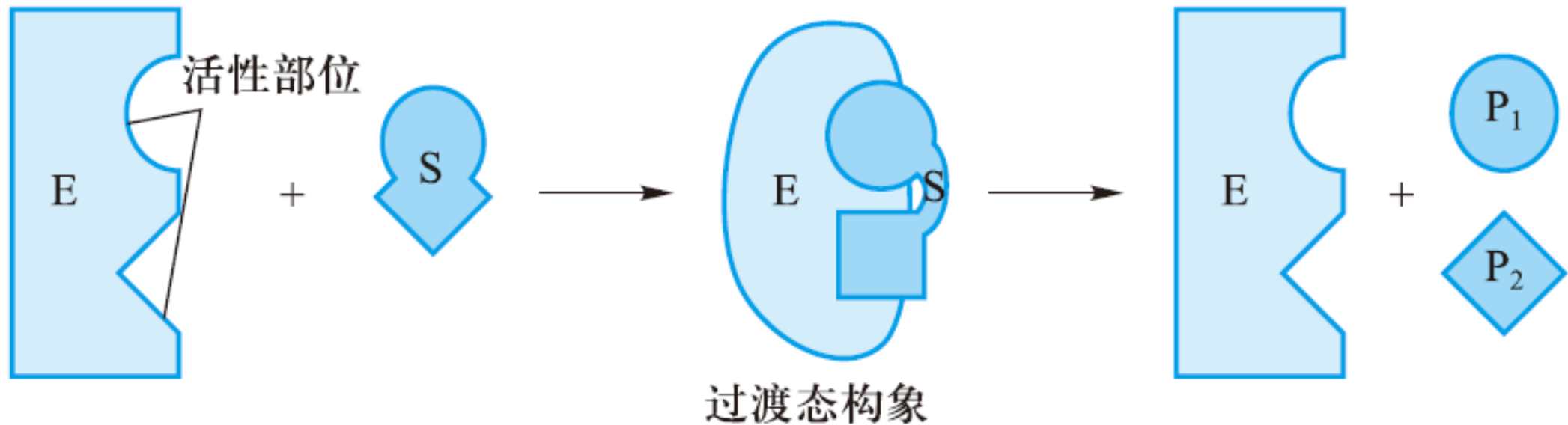
- ◆ 整个酶分子的天然构象具有刚性，酶表面具有特定形状。
- ◆ 酶与底物的结合如同一把钥匙对一把锁一样。



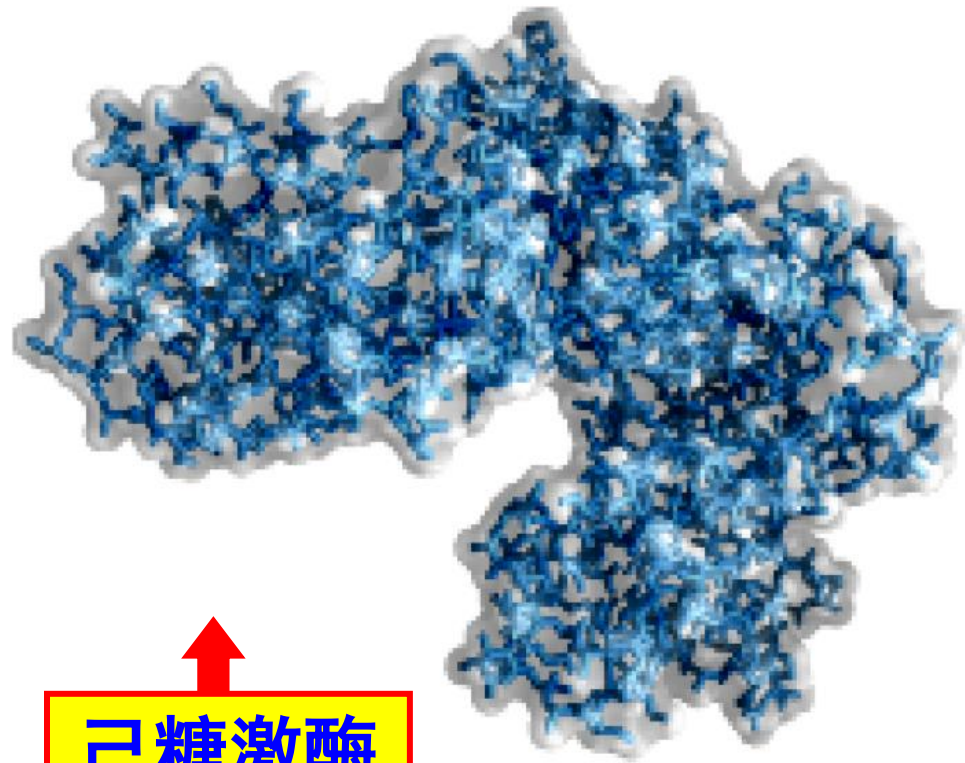
诱导契合学说

induced fit model

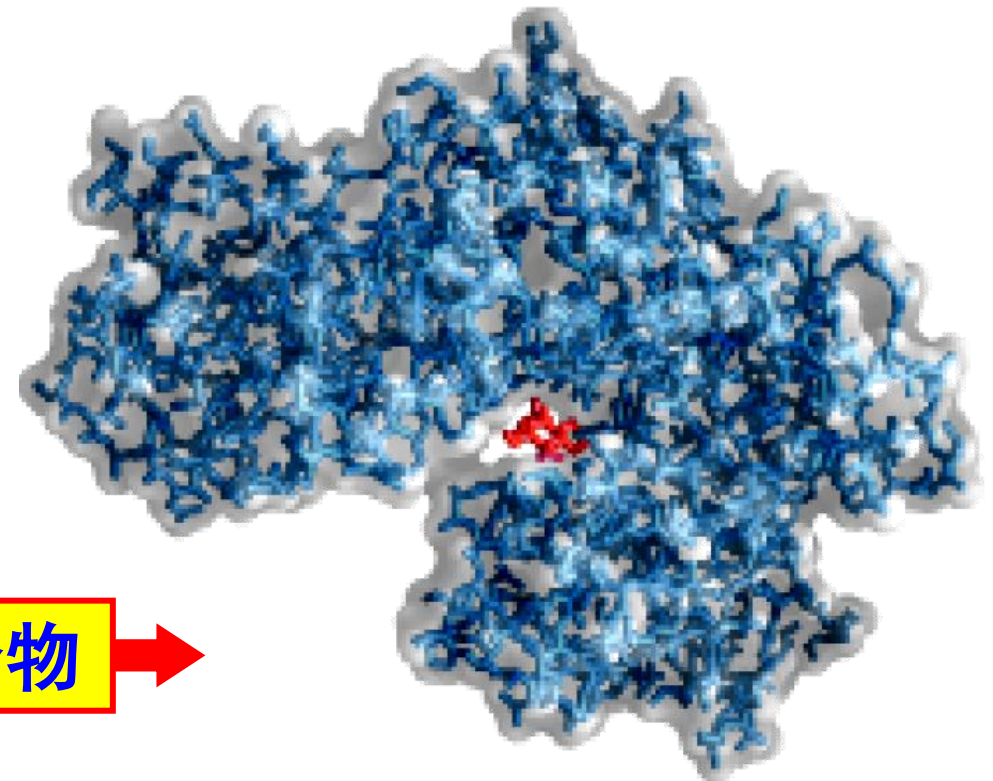
- ◆ 酶表面没有与底物互补的固定形状，而是由于底物的诱导形成了互补形状。



Induced fit in hexokinase



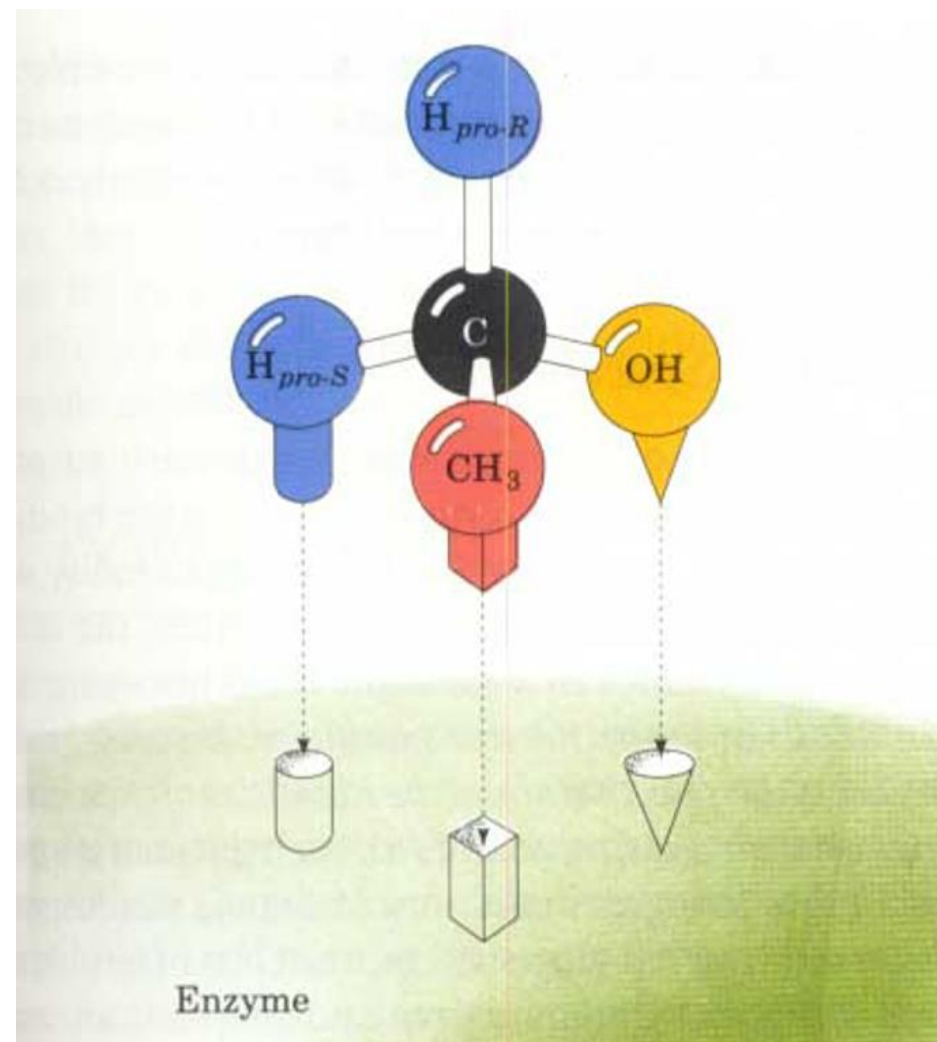
己糖激酶



酶—底物复合物

酶催化的“三点结合”理论

- ◆ 酶与底物结合至少有三个点，故只有一种完全结合的形式。
- ◆ 用以解释酶的不对称(手性)催化作用。



四、酶的结构和催化作用机制

3. 催化作用机制

(3) 酶作用高效率的机制

- 活化能降低
- 反应几率增加

活化能降低

Lowering of the Activation Energies

■ 酶促反应:



→ **反应方向:** 主要取决于反应自由能变化 ΔG°

→ **反应速度:** 主要取决于反应的活化能 ΔG^\ddagger

(或 E_a)。

→ **催化剂的作用:** 降低反应活化能, 提高反应速率。

Two Explain for the Catalytic Power of Enzymes

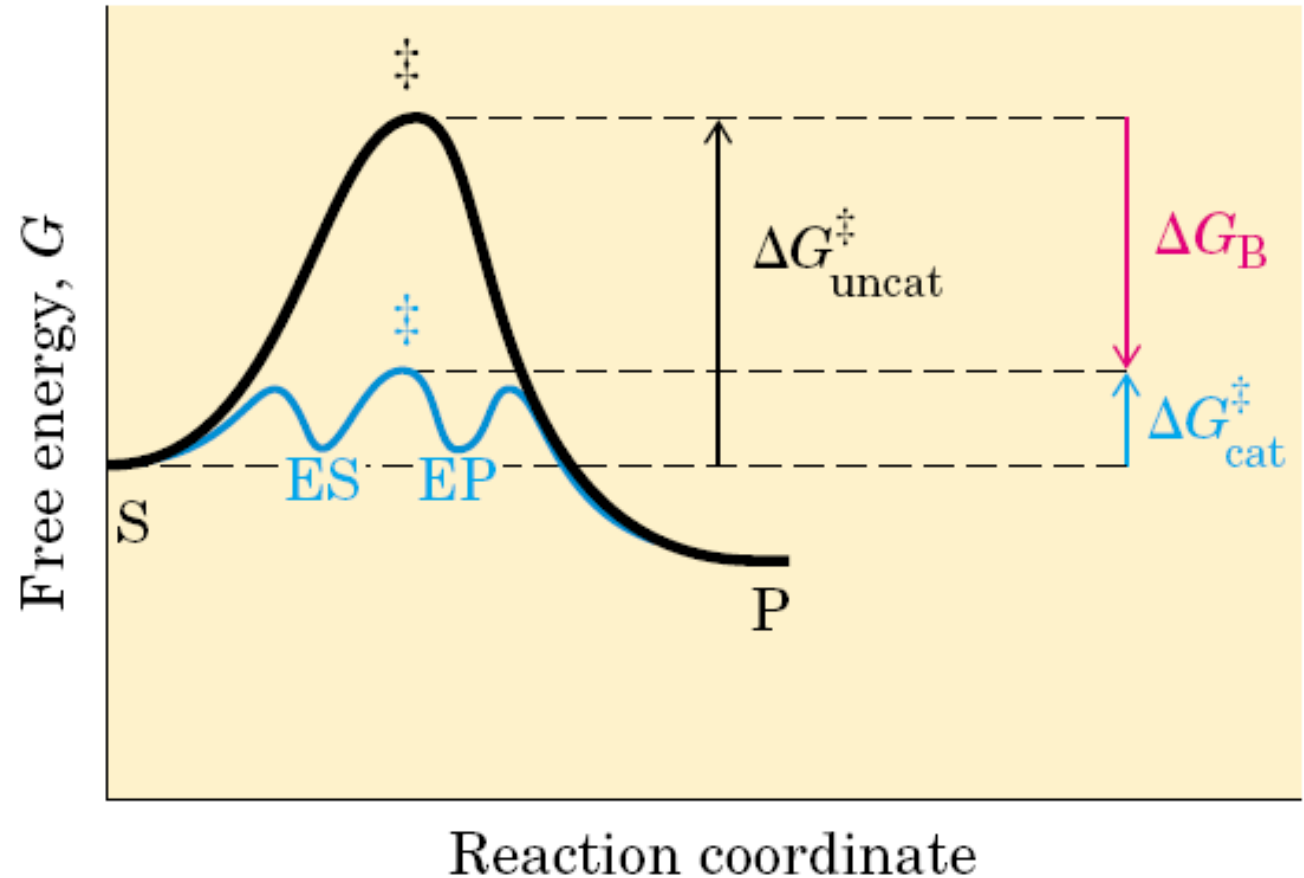
1. the rearrangements of covalent bonds during an enzyme-catalyzed reaction. (共价作用)
2. the noncovalent interactions between enzyme and substrate. (非共价作用)

1. Covalent interactions

- Chemical reactions take place between substrates and enzymes' functional groups (**which?**)
- Catalytic functional groups on an enzyme may form a transient covalent bond with a substrate and activate it for reaction, or a group may be transiently transferred from the substrate to the enzyme.
- Covalent interactions lower the activation energy by providing an alternative, lower-energy reaction path.

2. Noncovalent interactions

- binding energy, ΔG_B
- a major source of free energy used by enzymes to lower the activation energies of reactions.



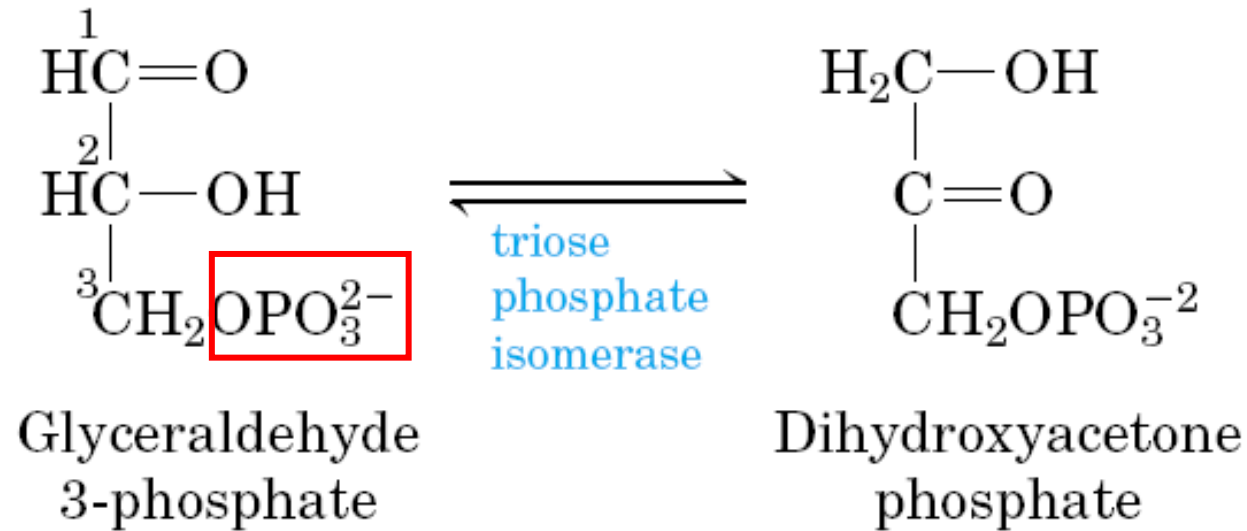
Binding Energy Contributes to Reaction Catalysis

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

- ΔG^\ddagger must be lowered by about 5.7 kJ/mol to accelerate a first-order reaction by a factor of ten, under conditions commonly found in cells.
- a single weak interaction is generally estimated to be 4 to 30 kJ/mol.
- a number of such interactions is therefore sufficient to lower activation energy.

Binding Energy Contributes to Reaction Specificity

实例



More than 80% of the enzymatic rate acceleration has been traced to enzyme-substrate interactions involving the phosphate group on carbon 3 of the substrate. (comparison of reactions with glyceraldehyde 3-phosphate and with glyceraldehyde as substrate)

反应几率增加

Increasing of the Reaction Probability

邻近效应和定向效应

proximity and orientation effects

- ◆ 由于酶的特殊结构，能将参加反应的底物分子结合在活性部位上，使作用基团互相靠近并定向。
- ◆ 邻近效应和定向效应可使双分子反应速率提高 $10^4 \sim 10^8$ 倍。

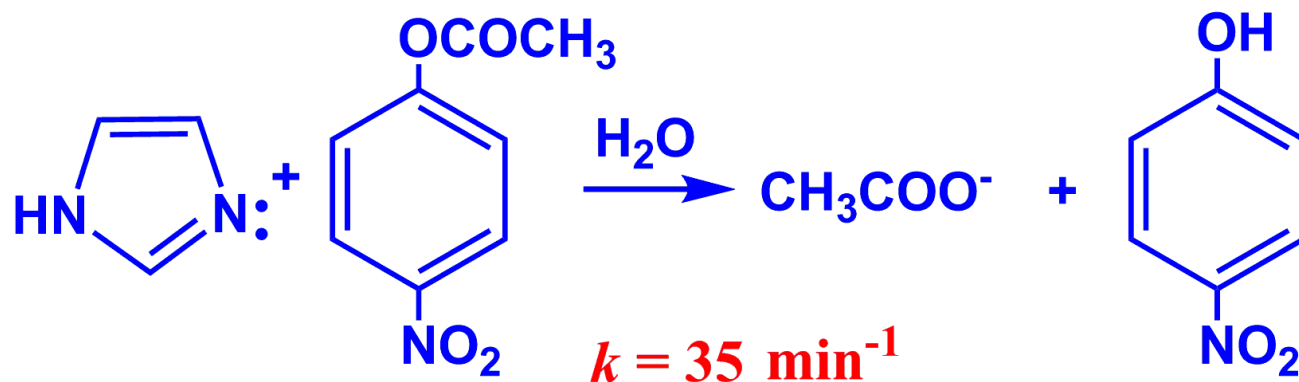
邻近效应

Proximity Effects

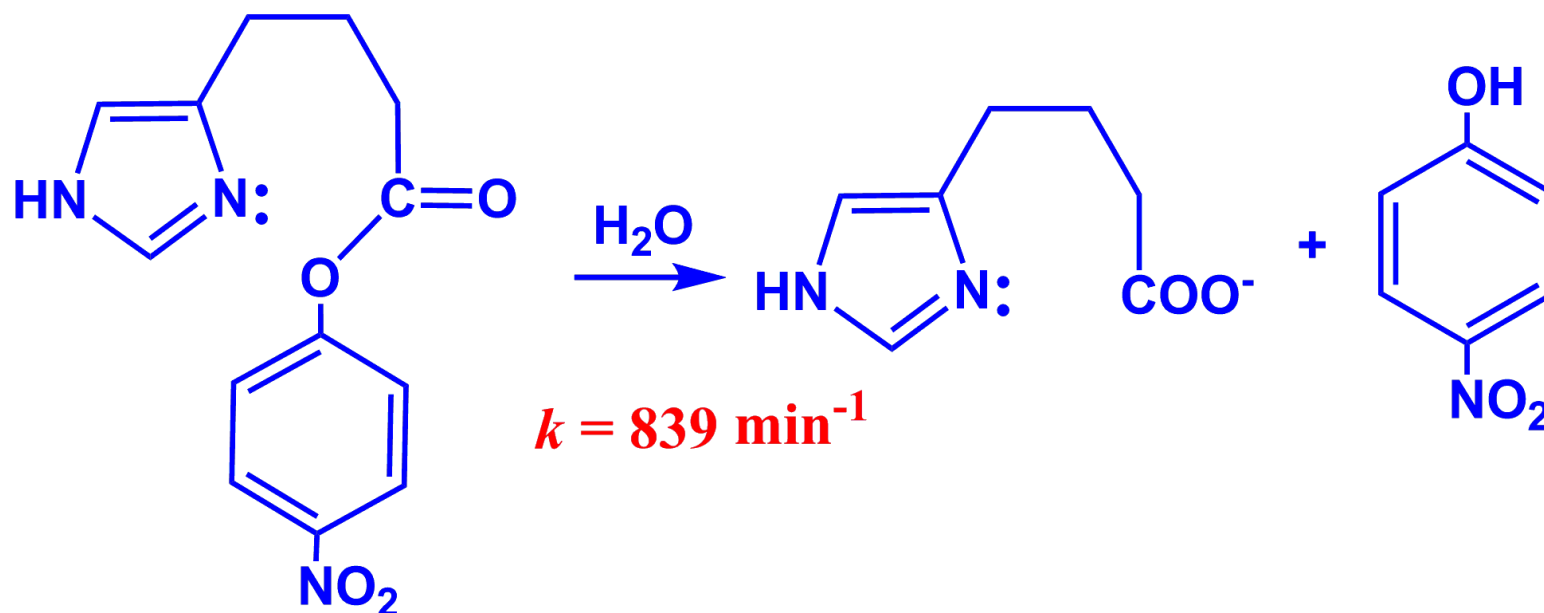
- ◆ 酶与底物分子结合后，使底物与底物之间，酶催化基团与底物之间相互靠近，**相当于分子内反应**，使有效浓度得以极大的提高，反应速率大大增加。

邻近效应 (化学模型)

例



分子间反应



分子内反应

定向效应

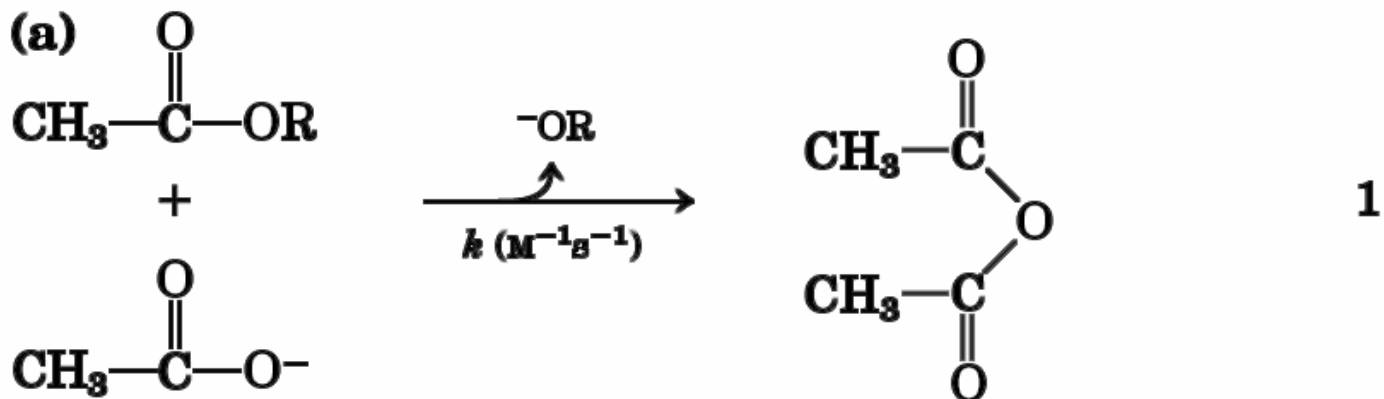
Orientation Effects

- ◆ 酶与底物分子结合后，使底物反应基团之间，酶催化基团与底物反应基团之间正确定向取位，**相当于分子内反应**，使反应速率大大增加。
- ◆ 定向反应的化学模型研究，很有力的说明了这一机制。

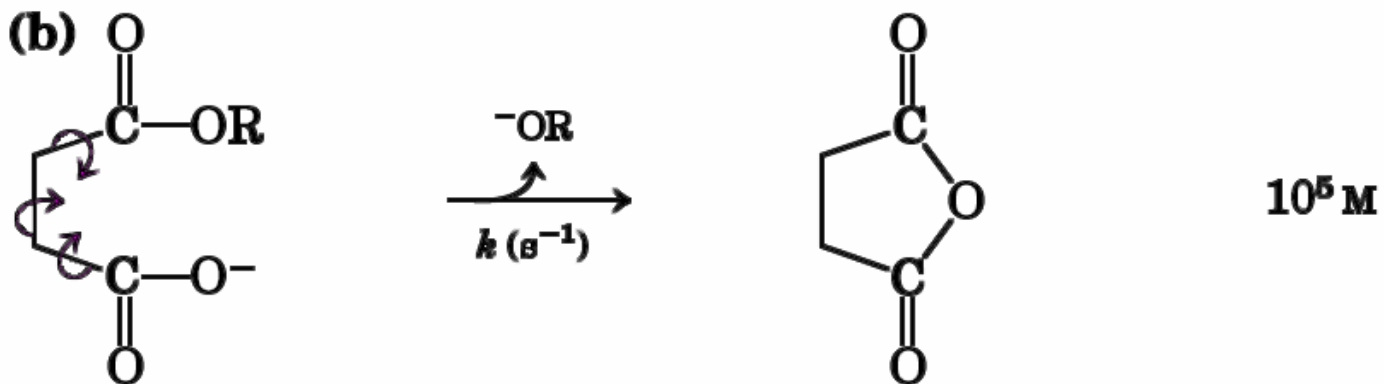
例1

定向效应 (化学模型)

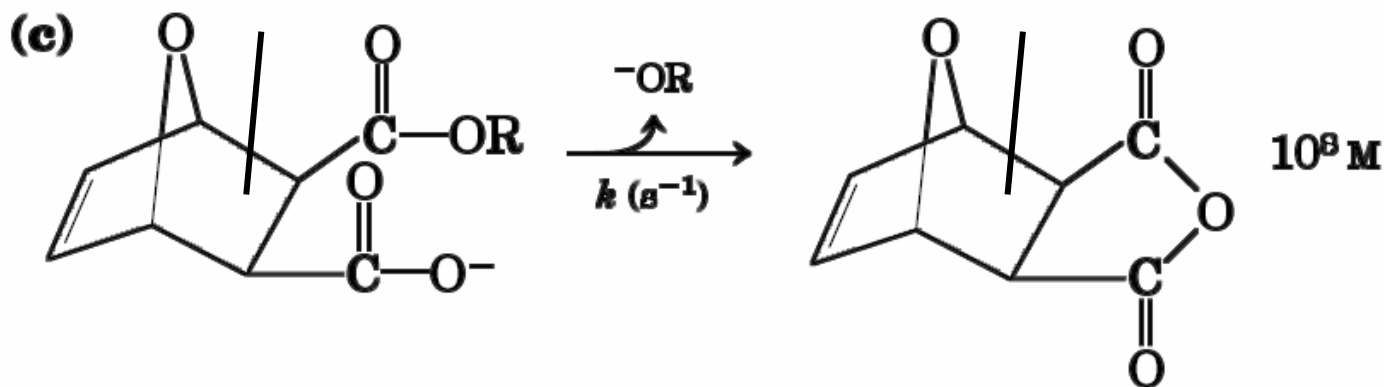
?



分子间反应



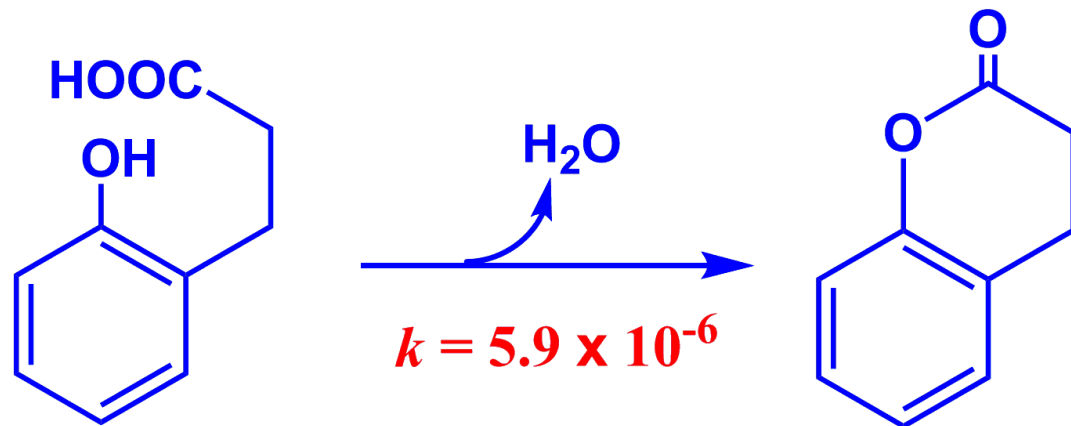
分子内反应



分子内反应

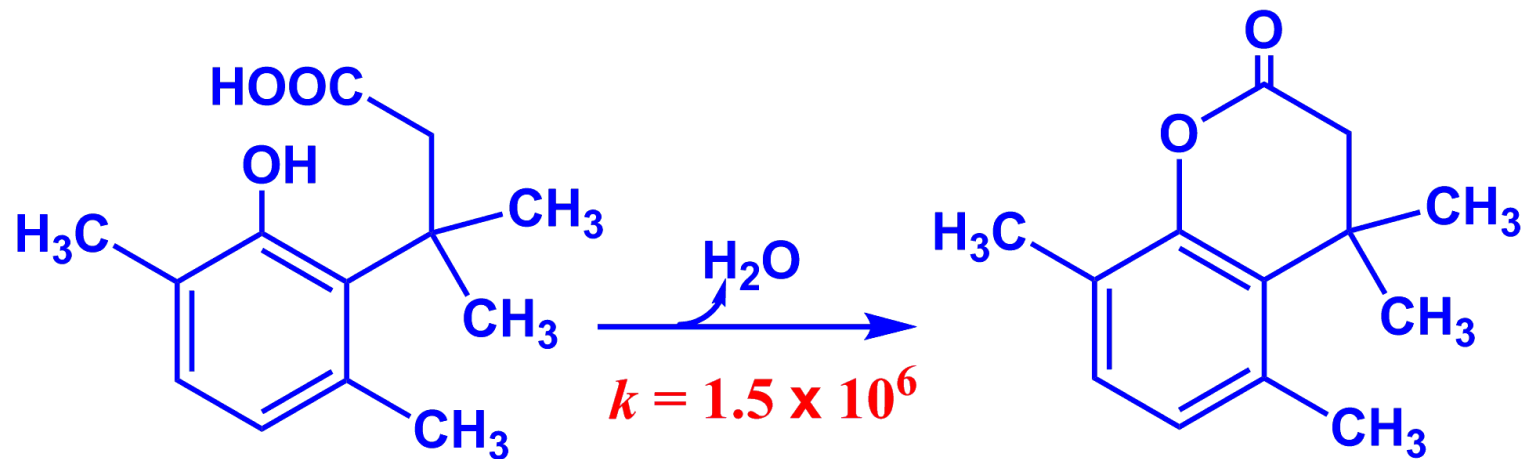
定向效应 (化学模型)

例2



分子内反应

?



分子内反应

3. 催化作用机制

(3) 酶作用高效率的机制



机制A. 反应过渡态稳定化

(Transition State Stabilization)

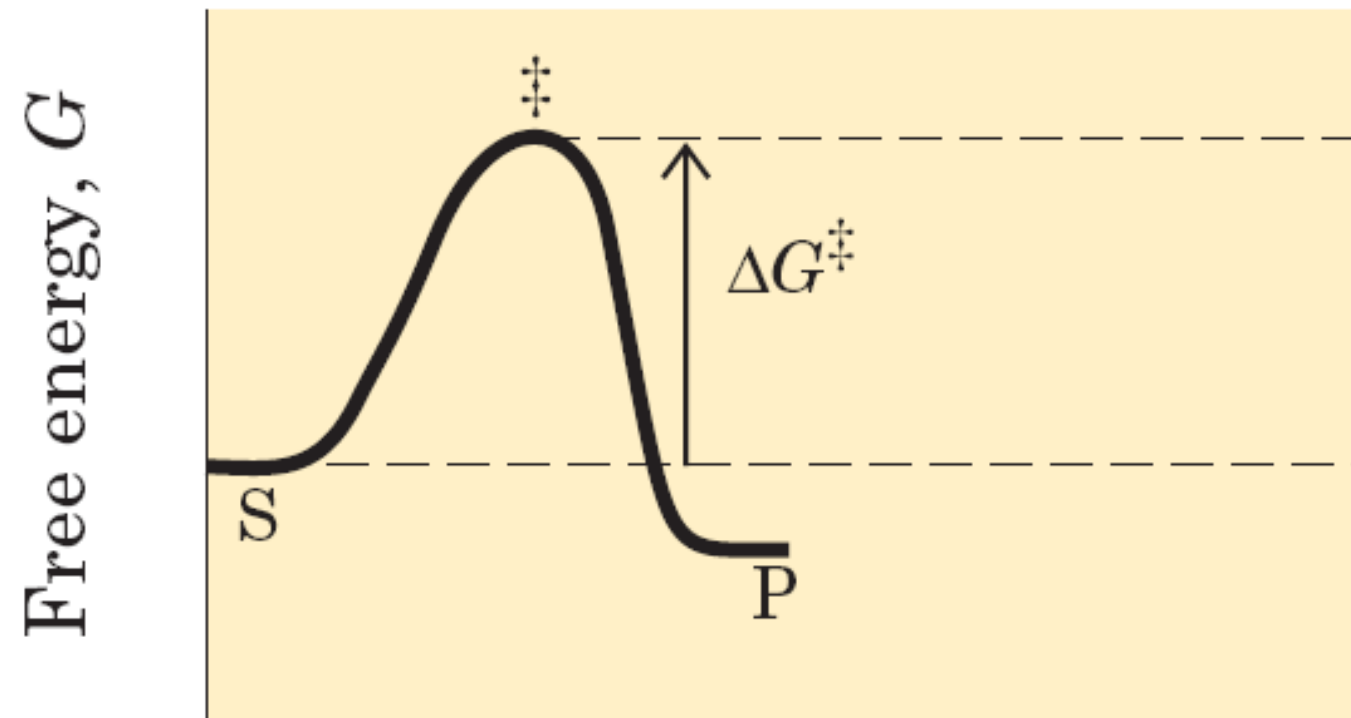
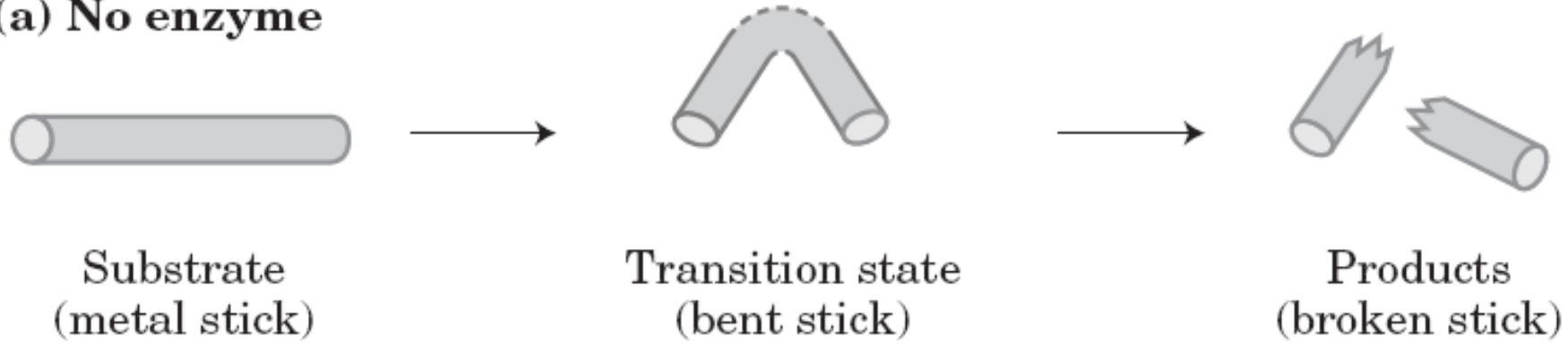
- ◆ S_N2 : 反应速率与形成的过渡态的稳定性 密切相关。过渡态越稳定, 反应速率越高。
- ◆ 在酶促反应过程中, 底物过渡态与酶活性部位形成复合物 ES^\ddagger 。



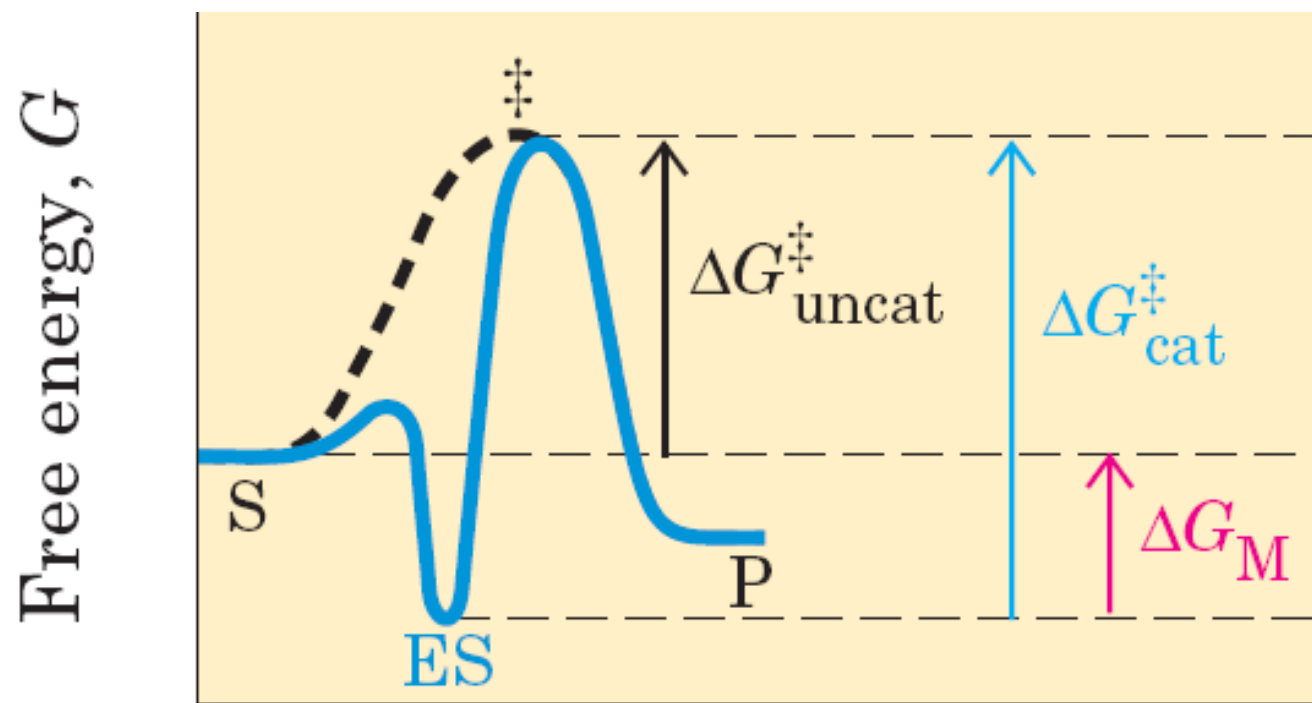
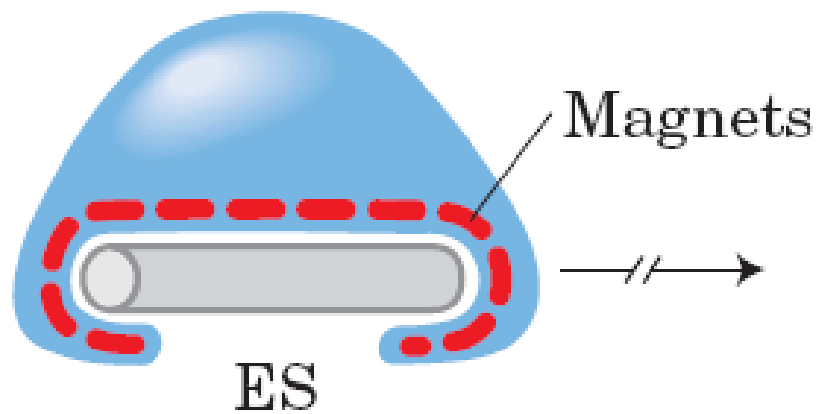
问题: 下面哪个亲和力强?

- 酶与反应过渡态的亲和力
- 酶与底物或产物的亲和力

(a) No enzyme

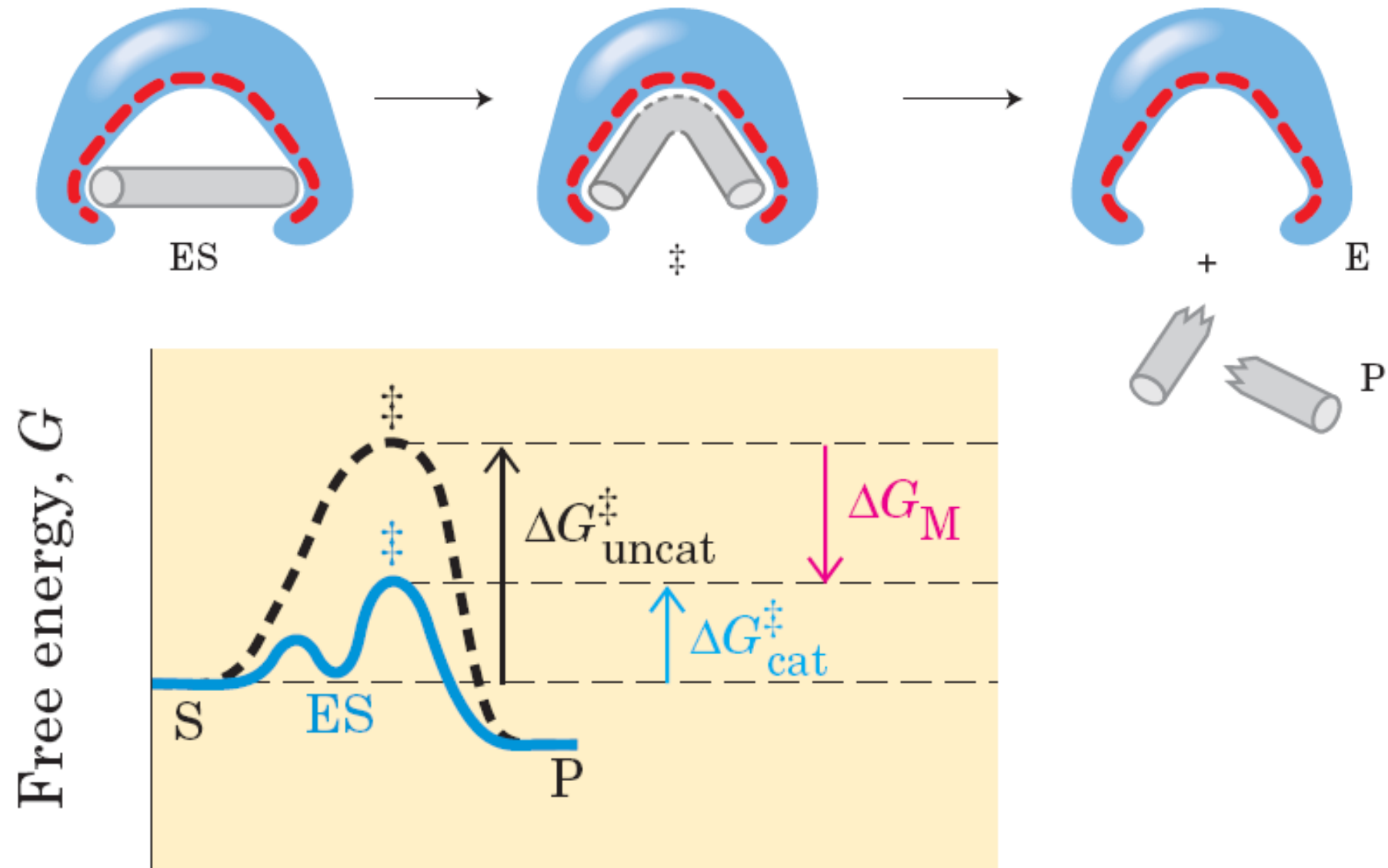


(b) Enzyme complementary to substrate



热力学陷阱

(c) Enzyme complementary to transition state



◆ 问题解答：

下面哪个亲和力强？

a. 酶与反应过渡态的亲和力 ✓

b. 酶与底物或产物的亲和力

问题延伸

在酶抑制剂设计中，底物结构类似物还是过渡态结构类似物可能更有效？试通过查阅文献了解相关实例。

机制B. 广义酸 - 碱催化

◆ 酸-碱催化可分为：

--- 狭义酸-碱催化 (specific acid-base catalysis)

--- 广义酸-碱催化 (general acid-base catalysis)

◆ 广义酸 - 碱催化：通过质子供体（酸）或质子受体（碱）提供或接受质子的作用，达到降低反应活化能的过程。

◆ 酶参与的酸-碱催化反应多属广义酸 - 碱催化。

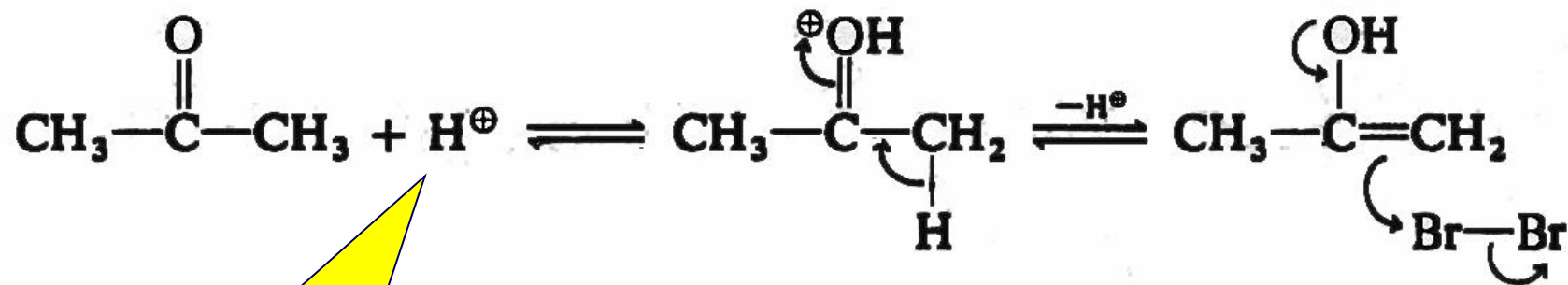
◆ His 是酶酸碱催化中最活泼的一个催化官能团。

How to Understanding for Catalysis Function of Enzymes?

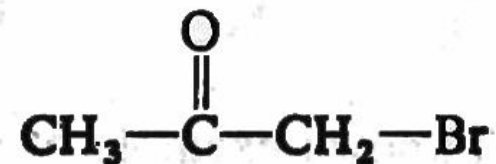
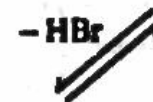
Homogeneous catalysis in Chemical reaction

- ◆ specific-acid catalysis
- ◆ specific-base catalysis
- ◆ general-acid catalysis
- ◆ general-base catalysis

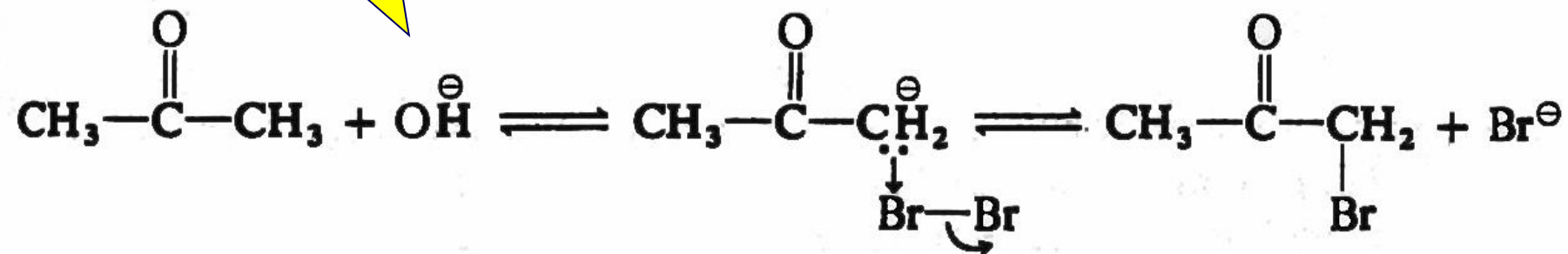
Bromination of Acetone



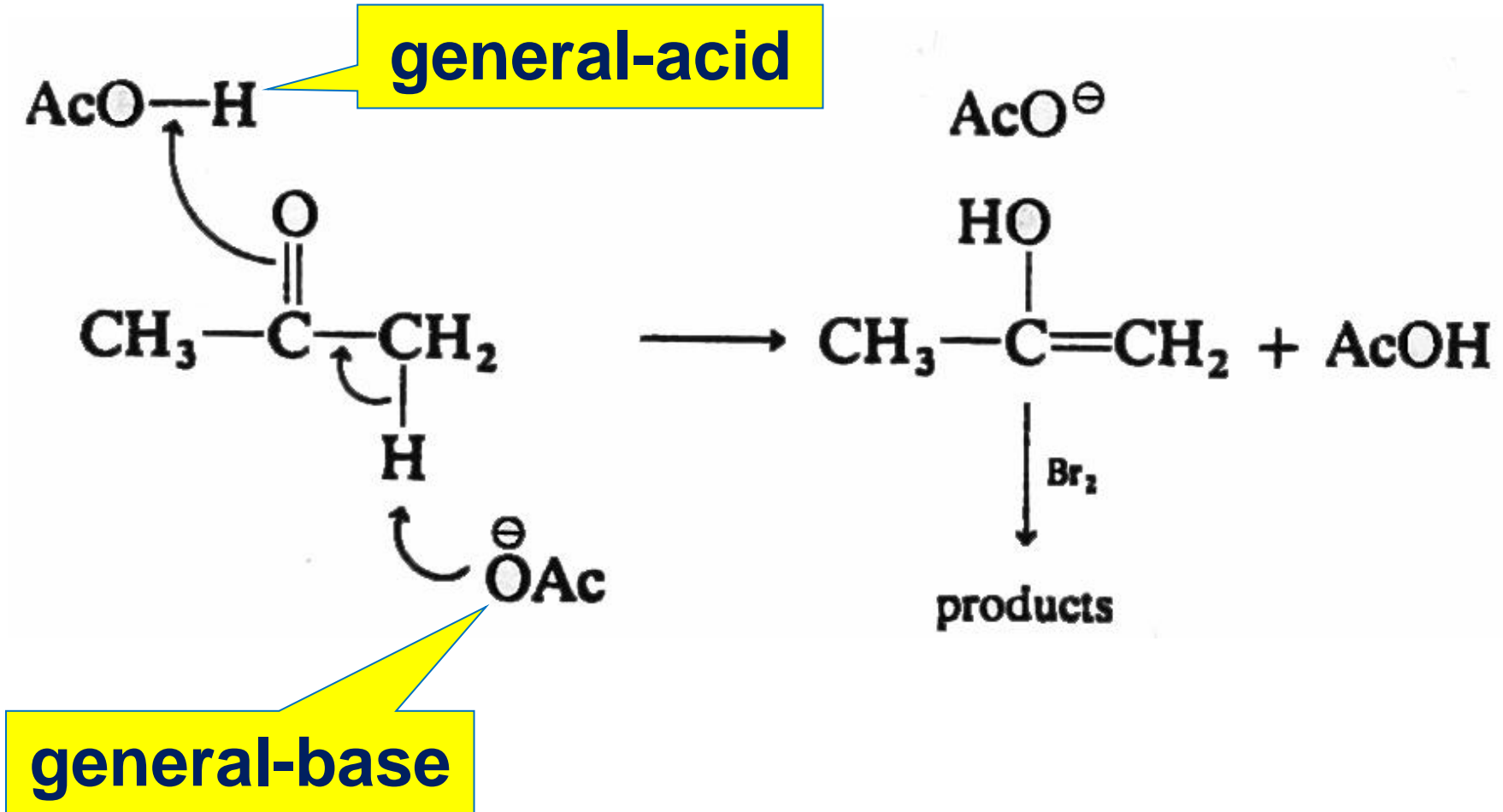
Specific-acid



Specific-base



Bromination of Acetone



酶分子中可作为广义酸
碱的基团

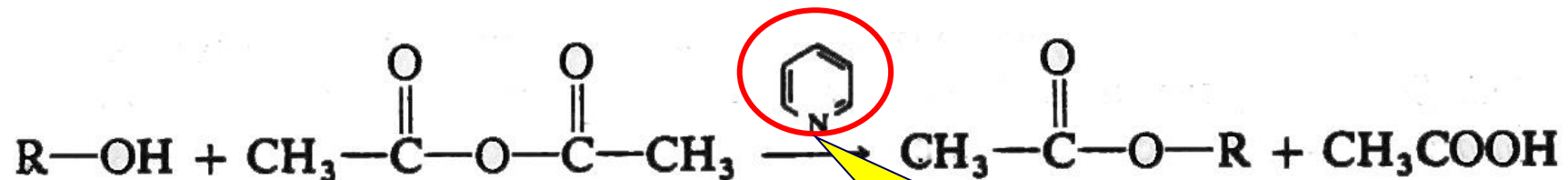
Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$\text{R}-\text{COOH}$	$\text{R}-\text{COO}^-$
Lys, Arg	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{N}^+}}$	$\text{R}-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$
Cys	$\text{R}-\text{SH}$	$\text{R}-\text{S}^-$
His	$ \begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{HN} \quad \text{N}^+ \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{HN} \quad \text{N}: \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} $
Ser	$\text{R}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{O}^-$
Tyr	$ \text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} $	$ \text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}^- $

机制C. 共价催化 (covalent catalysis)

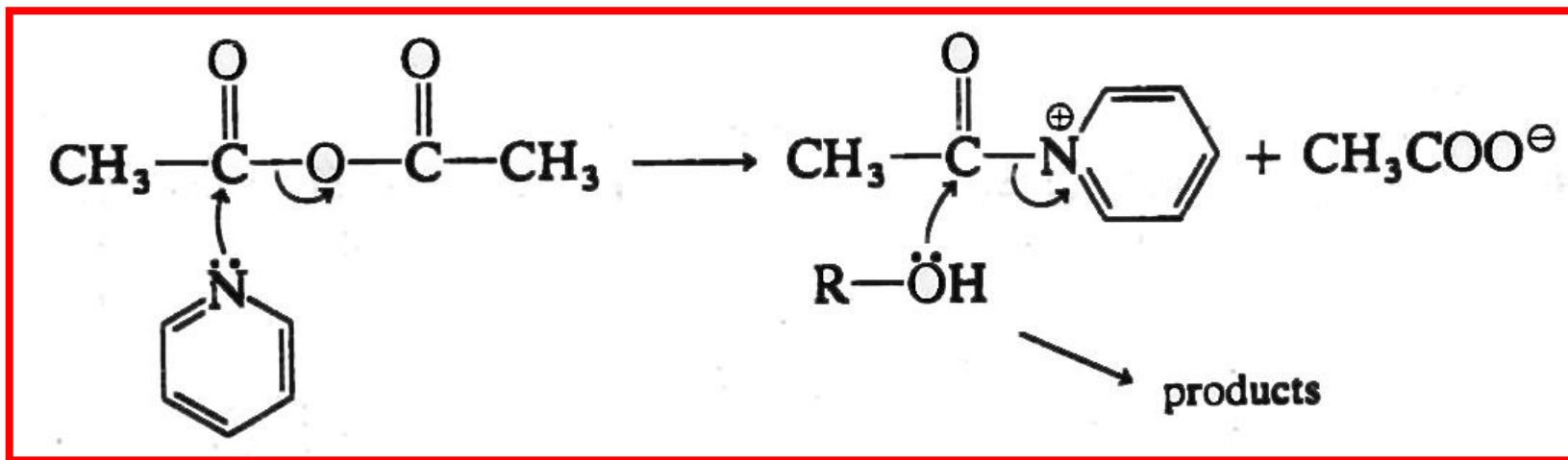
- ◆ 催化剂通过与底物形成**高活性共价中间复合物**，使反应活化能降低，提高反应速度。
- ◆ 酶中参与共价催化的基团主要包括：
咪唑基 (His)，巯基 (Cys)，羧基 (Asp)，羟基 (Ser)等。
- ◆ 某些辅酶也可参与共价催化作用(**已学**)。 ?

Catalysis in Chemical reaction

acetylation of alcohols with acetic anhydride in pyridine

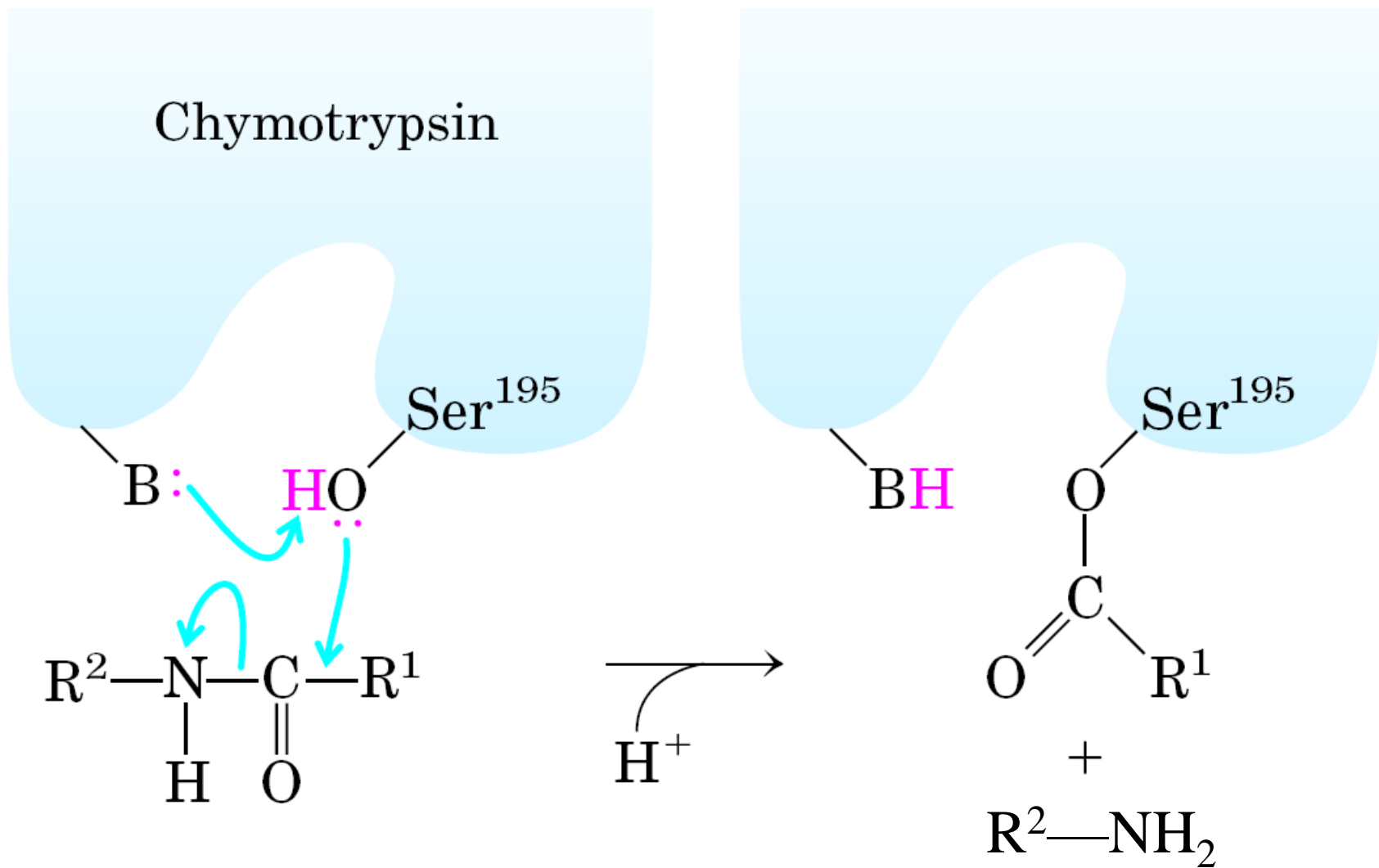


What function?



Nucleophilic catalysis or covalent catalysis

糜蛋白酶的共价催化



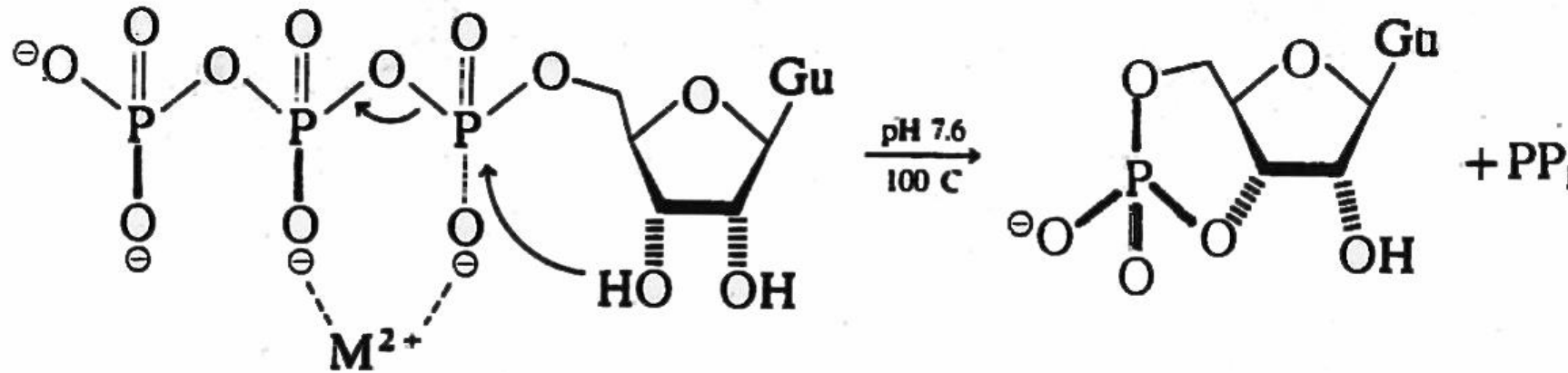
机制D. 金属离子催化 (Metal Ion Catalysis)

- ◆ 几乎1/3的酶需要一个甚至几个金属离子的参与才具有催化活性。
- ◆ 金属离子参与酶促反应的几种方式：
 - 提高水的亲核性能
 - 屏蔽电荷产生的排斥作用
 - 作为辅基参与电子的传递

Catalysis in Chemical reaction

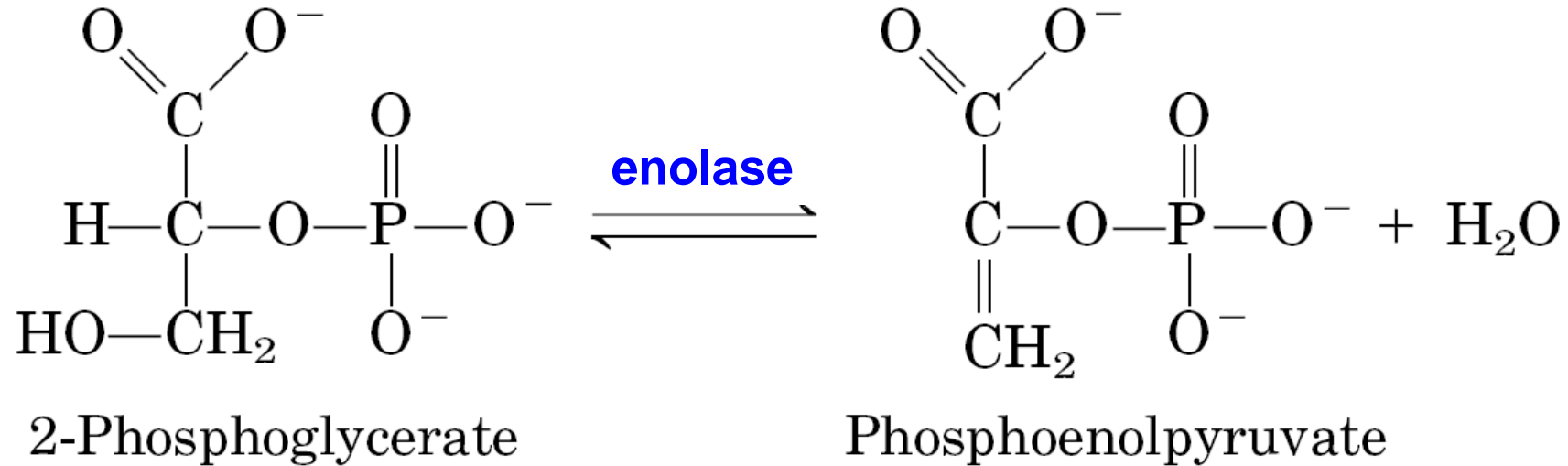
- electrophilic catalysis

synthesis of cGMP



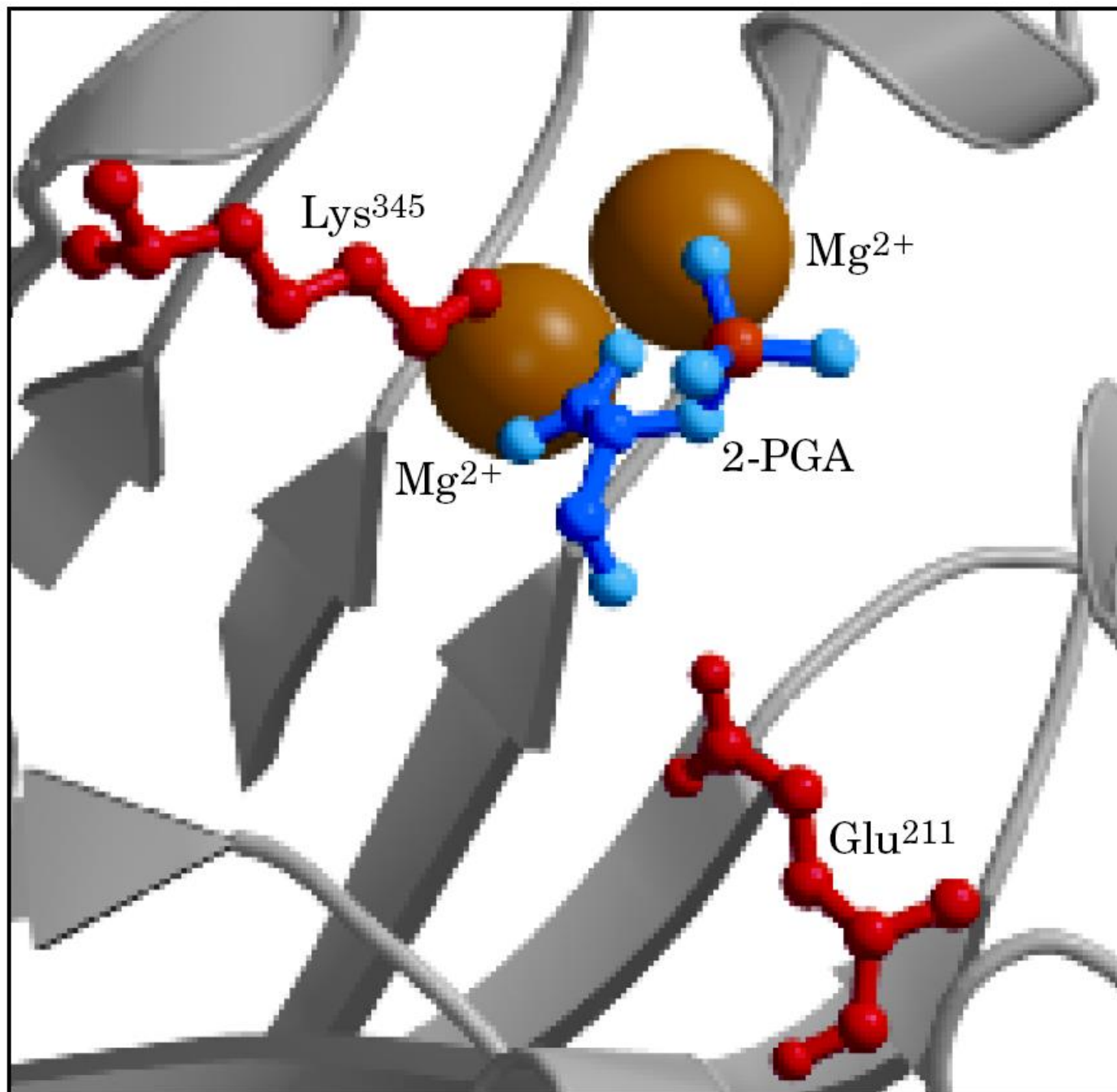
Metal ions are excellent electrophilic catalyst

Example: The Enolase Reaction Mechanism

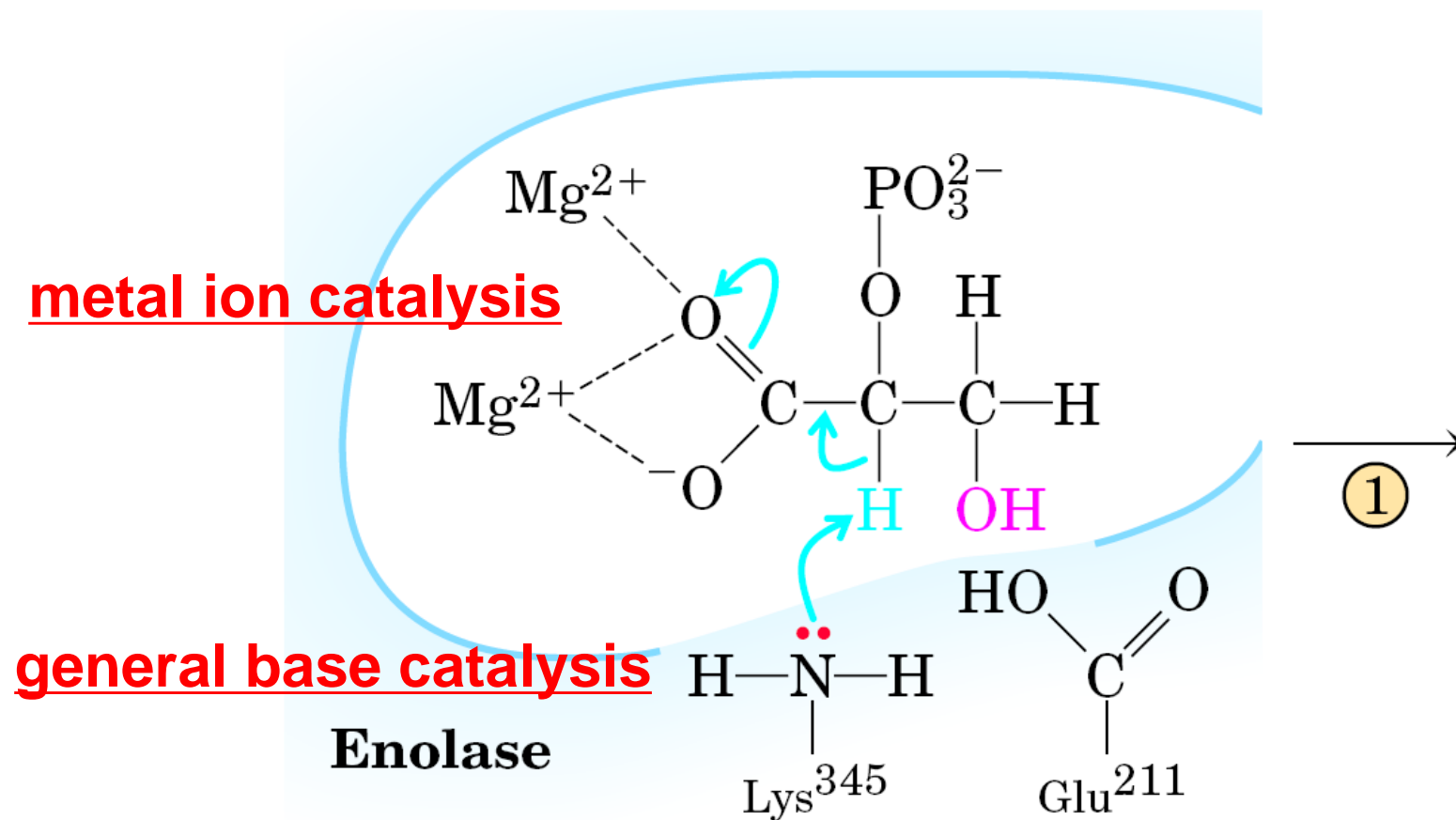


- ◆ **Yeast enolase:** Mr 93,316, dimer, 436 amino acid residues per subunit.
- ◆ **Mechanisms:** metal ion catalysis, general acid-base catalysis, and transition state stabilization.

烯醇酶的活性部位



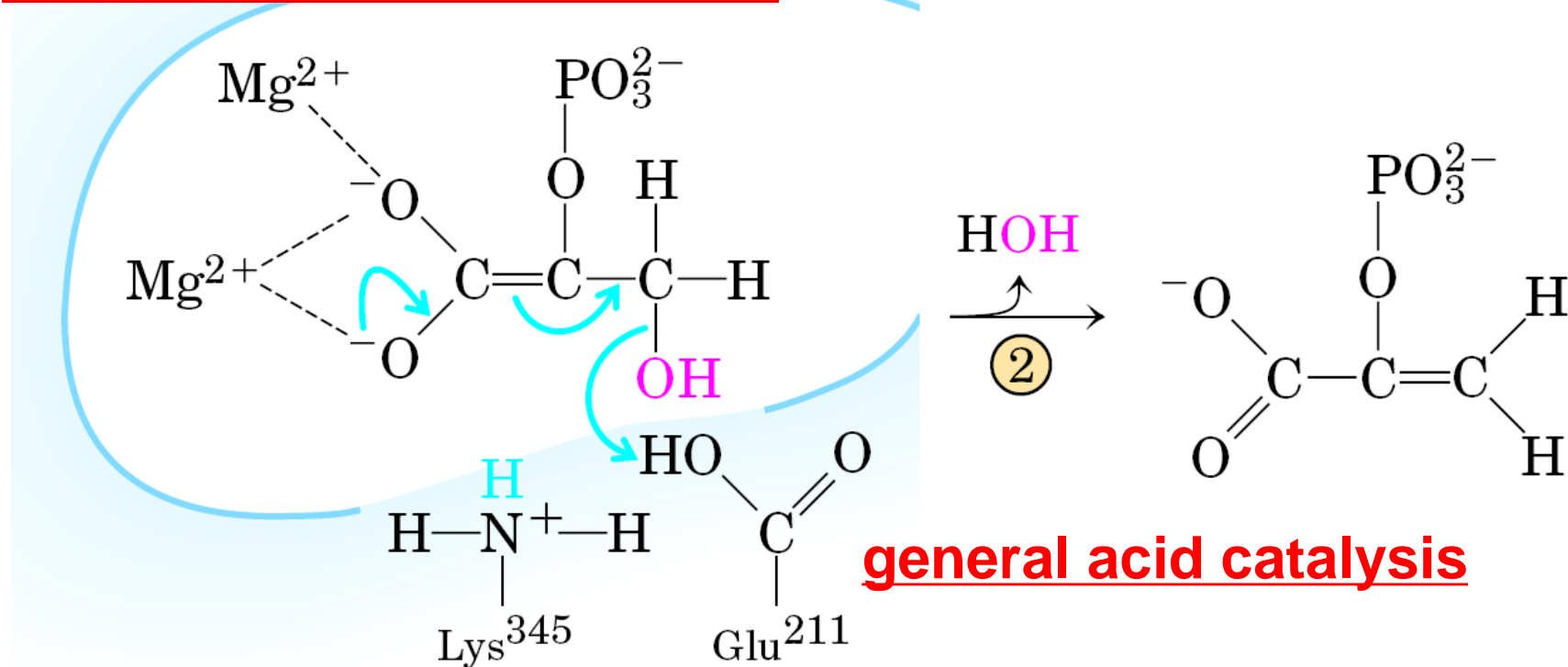
烯醇酶催化机制



2-Phosphoglycerate bound to enzyme

烯醇酶催化机制 (续)

transition state stabilization



Enolic intermediate

Phosphoenolpyruvate

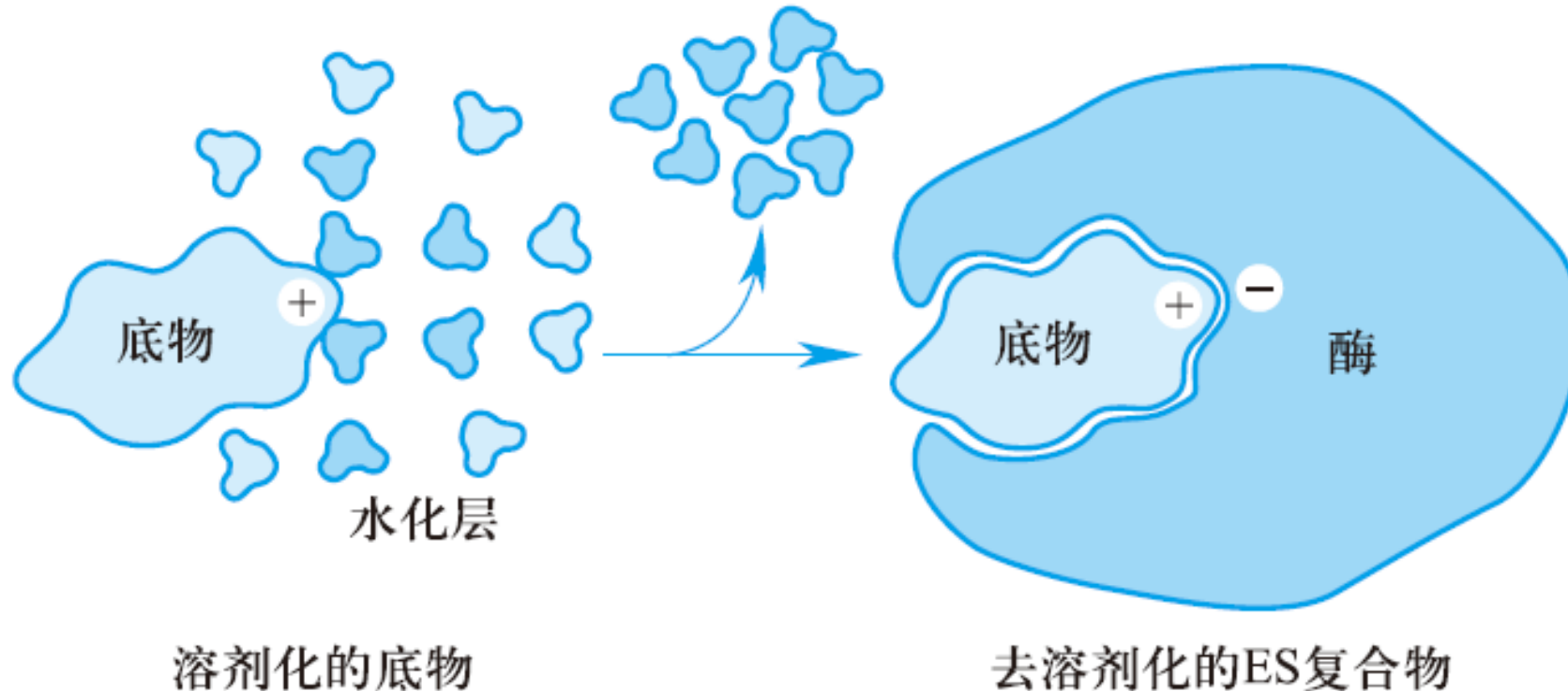
机制E. 多元催化 (Multiple-catalysis)

- ◆ 酶活性中心一般含多个催化性基团，并有特殊的排列和取向，对底物价键的形变和极化，及调整底物基团的位置等起协同作用，从而使底物达到最佳反应状态。
- ◆ 许多酶通过几种催化机制共同达到提高速率的目的（如前面的例子）。

机制F. 活性部位的疏水微环境

酶活性部位常是一相当疏水的区域，其作用：

- (1) 增强酶与底物的相互作用：脱溶剂化作用
- (2) 有利于某些基团的反应。

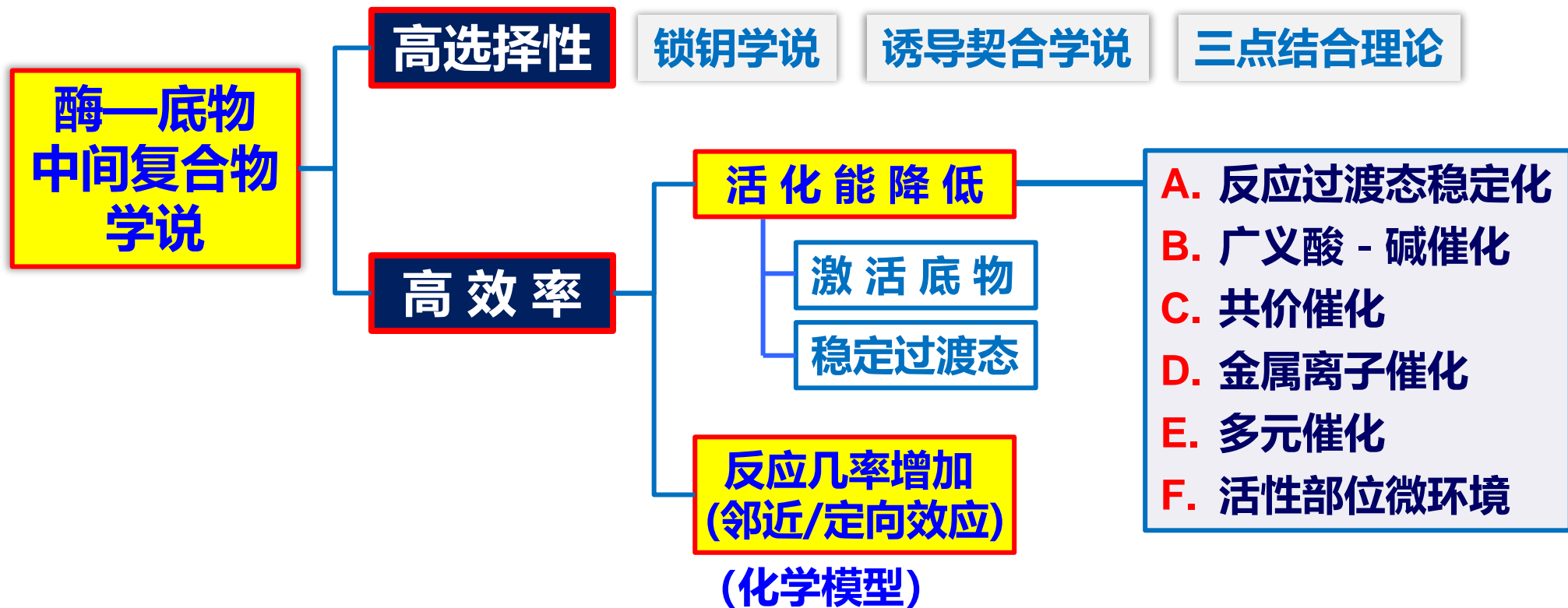


本次课内容总结

四. 酶的结构和催化作用机制

2. 酶与底物的相互作用

3. 催化作用机制



预习内容

四、酶的结构和催化作用机制

4. 实例

(1) 溶菌酶

(2) 蛋白酶

(3) 碳酸酐酶

五、酶的调控

六、人工酶与酶工程 (自学为主)