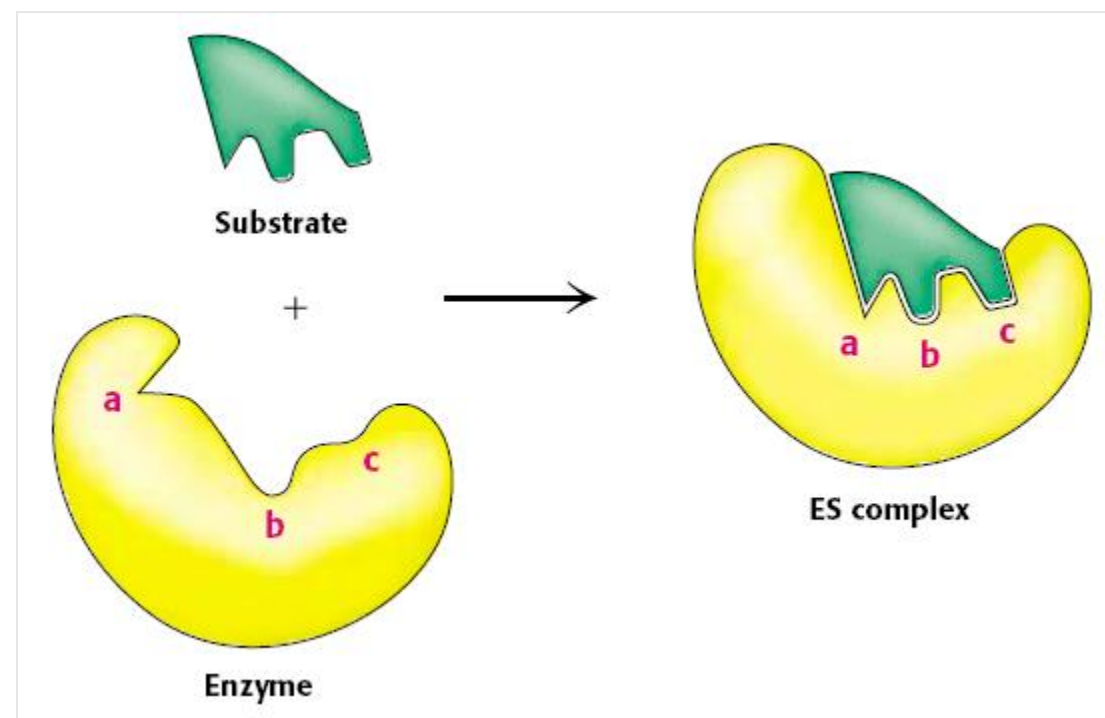
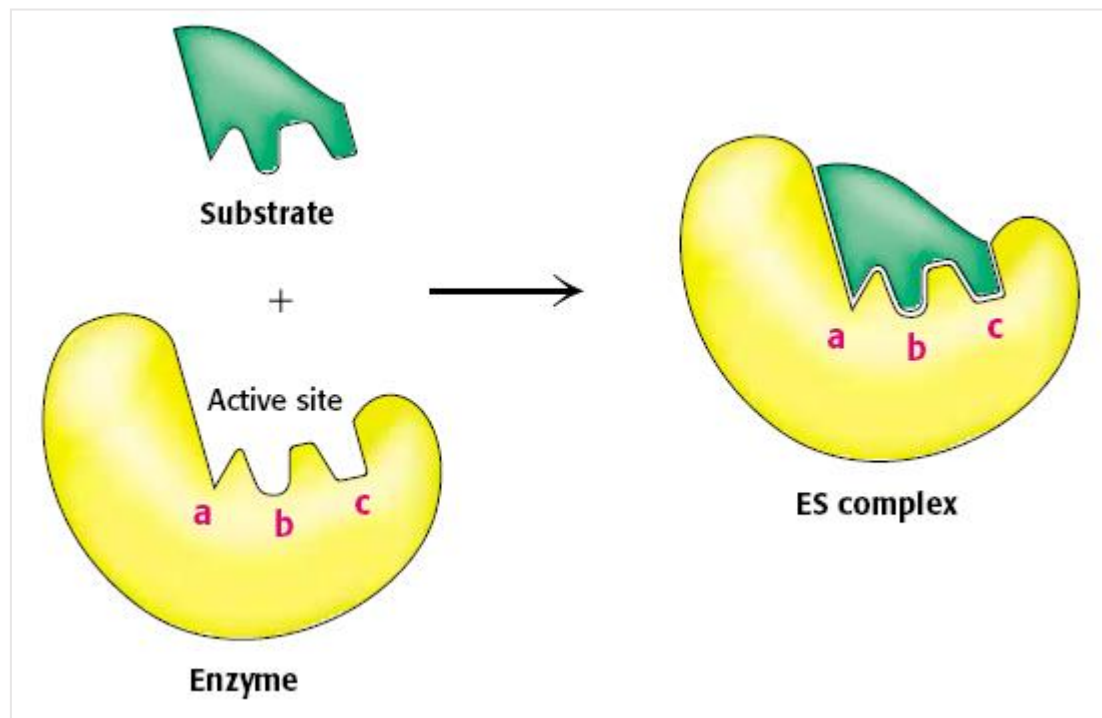


第四章 酶

Enzymes



本章主要内容 (12学时)

- 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)
- 五. 酶的调控 (重点)
- 六. 人工酶与酶工程 (自学为主)

一、酶的概念

- 生物机体的一切生理活动，都是由无数复杂的化学变化（反应）来实现的。
- 生物体内进行的所有这些化学变化都在酶的催化下进行的。
- *Much of the history of biochemistry is the history of enzyme research.*

一、酶的概念

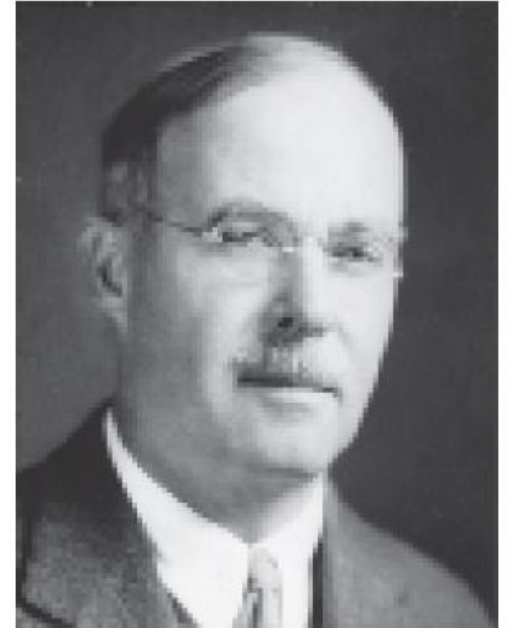
- In the late 1700s, **biological catalysis** was first recognized.
- 1878年, **Kühne**提出酶的概念
(希腊语: 在酵母中)
- 1897年, **E. Büchner**, 首次从酵母细胞中
提取出酶, 实现**无细胞生醇发酵**。



Eduard Buchner,
1860–1917

一、酶的概念

- 1926年, **James Sumner**,
结晶出第一个蛋白酶
--- 脲酶。
- pepsin, trypsin, and other digestive
enzymes



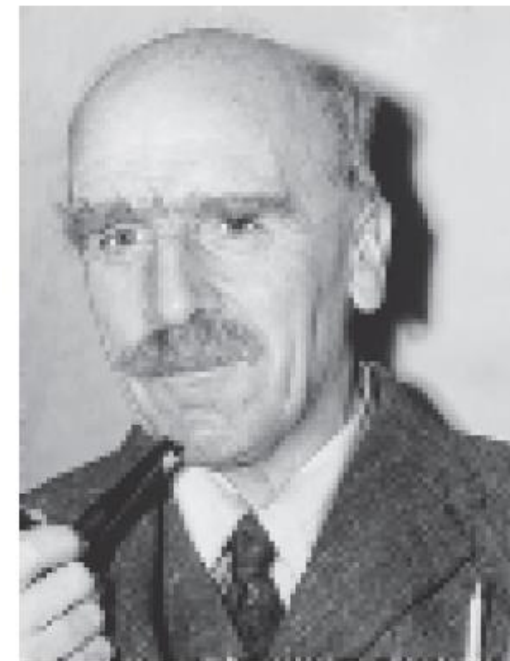
James Sumner,
1887–1955

All enzymes are proteins.

一、酶的概念

- J. B. S. Haldane
- 1930, a book entitled “*Enzymes*”.

weak bonding interactions between an enzyme and its substrate might be used to catalyze a reaction.



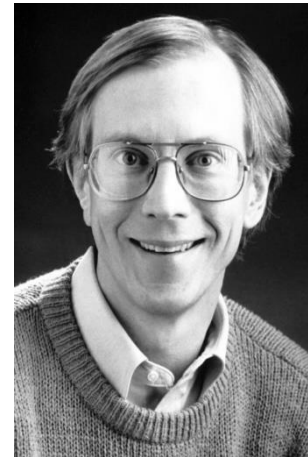
J. B. S. Haldane,
1892–1964

一、酶的概念

- In 1982, Thomas Cech ,
*RNA **spliced itself** accurately without any protein enzymes from Tetrahymena (四膜虫).*
- 核酶 — ribozyme
- 1989年, 两位科学家
获Nobel化学奖。



Sidney Altman
Canada



Thomas R. Cech
USA

本人没有发现其重要性，日后从他人工作中得到启发，再由本人重新发现的例子。

Most Enzymes Are Proteins.

酶的定向进化 (2018年Nobel化学奖)

- 化学与生物学交叉领域
- 目的：获取性能优异的化学反应催化剂
- 灵感：酶的自然进化
- 定向进化：实验室中加速实现酶的优化



Frances H. Arnold
加州理工学院



Arnold教授的第一篇酶定向进化工作

三轮筛选，10个突变，将枯草杆菌蛋白酶Subtilisin E改造为能够在有机溶剂二甲基甲酰胺中催化反应，相比于野生型的活性提高250多倍。

Chen, K.; Arnold, F. H., *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90, 5618-22.

一、酶的概念

酶是生物催化剂

- 生物催化剂 (Biocatalysts) : 活细胞产生的一类具有催化功能的生物分子。
- 酶促反应 (Enzymatic reaction) : 酶催化的生物化学反应。
- 底物 (substrate) : 在酶的催化下发生化学变化的物质。

一、酶的概念

1. 酶的催化特点

酶和一般催化剂的共性

- 改变化学反应速度，但不改变化学反应平衡。
- 能稳定底物形成的过渡状态，降低反应的活化能，从而加速反应的进行。
- 一般的化学催化理论和规律同样适用于生物催化体系。

一、酶的概念

1. 酶的催化特点

① Higher reaction rate (高效)

The rates of enzymatically catalyzed reactions are typically 10^6 to 10^{12} times greater than those of the corresponding uncatalyzed reactions and are at least several orders of magnitude greater than those of corresponding chemically catalyzed reactions.

酶促反应与非酶促反应速度的比较

酶	$v_u (\text{sec}^{-1})$	$v_e (\text{sec}^{-1})$
碱性磷酸酯酶	1×10^{-15}	14
脲酶	3×10^{-10}	3×10^4
胰凝乳蛋白酶	1×10^{-10}	1×10^2
己糖激酶	$<1 \times 10^{-13}$	1.3×10^{-3}
醇脱氢酶	$<6 \times 10^{-12}$	2.7×10^{-5}
碳酸酐酶	10^{-2}	10^5
肌酸激酶	$<3 \times 10^{-9}$	4×10^{-5}

一、酶的概念

1. 酶的催化特点

② Milder reaction conditions (温和)

--- Temperatures below 100°C

--- Atmospheric press

--- Nearly neutral pH

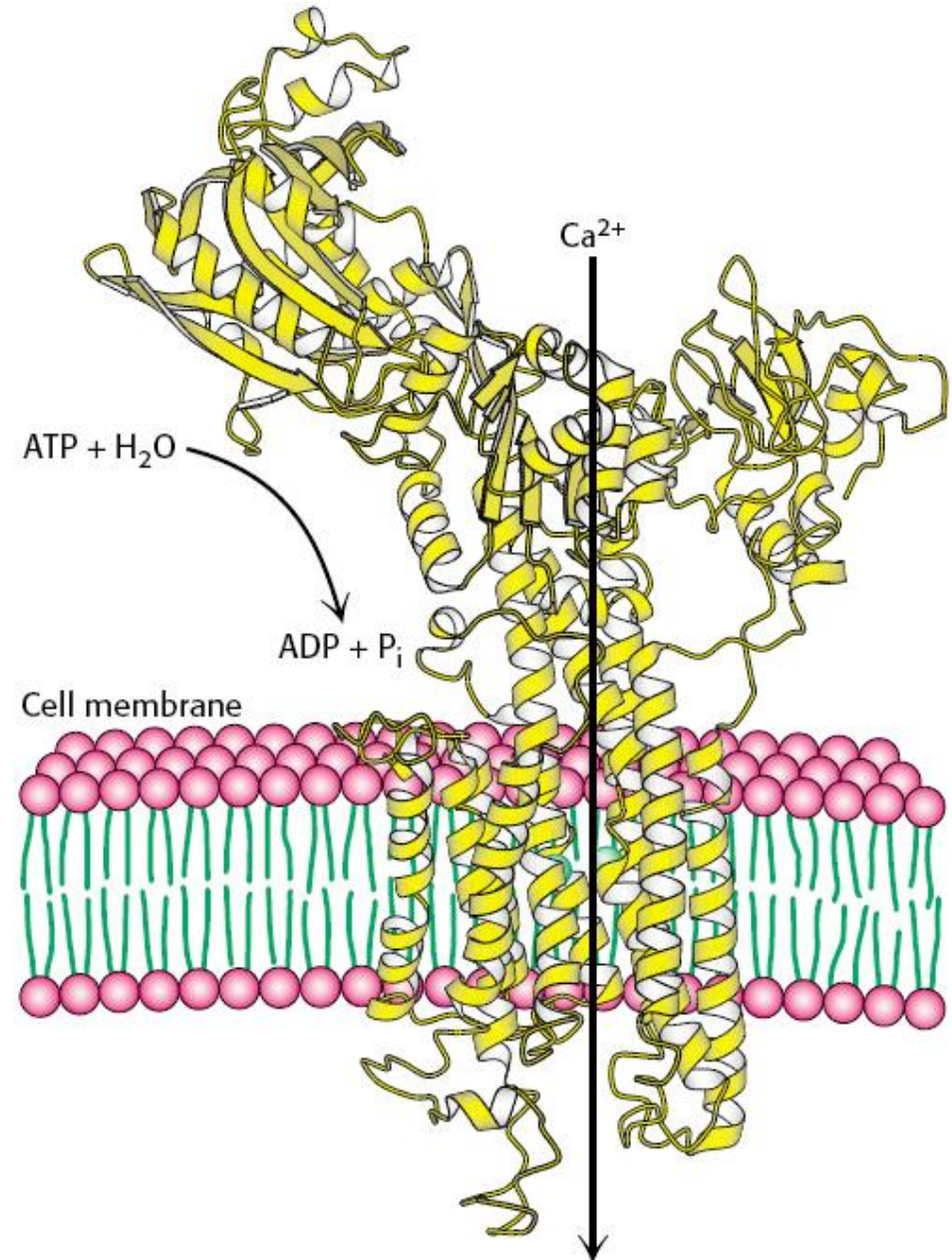
③ Greater reaction specificity (专一)

--- enzymatic reactions rarely have side products

④ Capacity for regulation (可调)

Enzymes May Transform Energy from One Form into Another

- In photosynthesis, light energy is converted into chemical-bond energy.
- The enzyme **myosin** converts the energy of ATP into the mechanical energy of **contracting muscles**.
- Pumps in the membranes of cells and organelles.



一、酶的概念

2. 酶的化学本质及组成

(1) 酶的化学本质

- ✓ 除少数核酶外，绝大多数酶都是蛋白质。
- ✓ 具有催化作用的蛋白质就是蛋白质酶 → 酶
- ✓ 蛋白质酶具有蛋白质的所有性质。
- ✓ 空间结构对其催化活性是必需的。
- ✓ 空间结构比普通蛋白质更为复杂，易变性。

一、酶的概念

2. 酶的化学本质及组成

(2) 酶的化学组成

- ◆ Simple enzyme (单纯蛋白酶)

除了蛋白质外，不含其他物质的酶。

- ◆ Conjugated enzyme (结合蛋白酶)

由蛋白质和非蛋白部分共同组成的酶。

- 蛋白质部分：酶蛋白 (apoenzyme)

- 非蛋白部分：辅因子 (cofactor)

(2) 酶的化学组成

◆ **全酶 (holoenzyme) = 酶蛋白(apoenzyme) + 辅因子(cofactor)**

--- **只有全酶才具有催化活性**

◆ **辅因子分辅酶（有机分子）和金属离子两类。**

◆ **辅酶(coenzyme)又分为辅底物和辅基两种：**

辅底物 (cosubstrate) ---- 与酶蛋白结合松散，非共价结合，可用透析法除去。

辅基 (prosthetic group) ---- 与酶蛋白结合紧密，常为共价结合，不能用透析法除去。

一、酶的概念

3. 酶的命名及分类

A. 酶的命名

(1) 习惯命名法:

- a. 根据其催化底物来命名：如淀粉酶
- b. 根据所催化反应的性质来命名：如水解酶
- c. 结合上述两个原则来命名：如乙醇脱氢酶
- d. 有时在这些命名基础上加上酶的来源或其它特点：
如胃蛋白酶

一、酶的概念

3. 酶的命名及分类

A. 酶的命名

(2) 国际系统命名法

- 包括底物名称、构型、反应性质，最后加 一个“酶”字。

- 例如：

丙氨酸 + α -酮戊二酸 \longrightarrow 谷氨酸 + 丙酮酸

习惯名称: 谷丙转氨酶

系统名称: 丙氨酸 : α -酮戊二酸氨基转移酶

3. 酶的命名及分类

B. 酶的分类

根据酶催化反应的性质，国际生化联合会将酶分为七大类：

- (1) 氧化-还原酶 (oxidoreductases)
- (2) 转移酶 (transferases)
- (3) 水解酶 (hydrolases)
- (4) 裂合酶 (lyases)
- (5) 异构酶 (isomerases)
- (6) 连接酶 (ligases)
- (7) 易位酶 (translocase)

(1) 氧化-还原酶 (Oxidoreductases)

催化氧化-还原反应。分为：

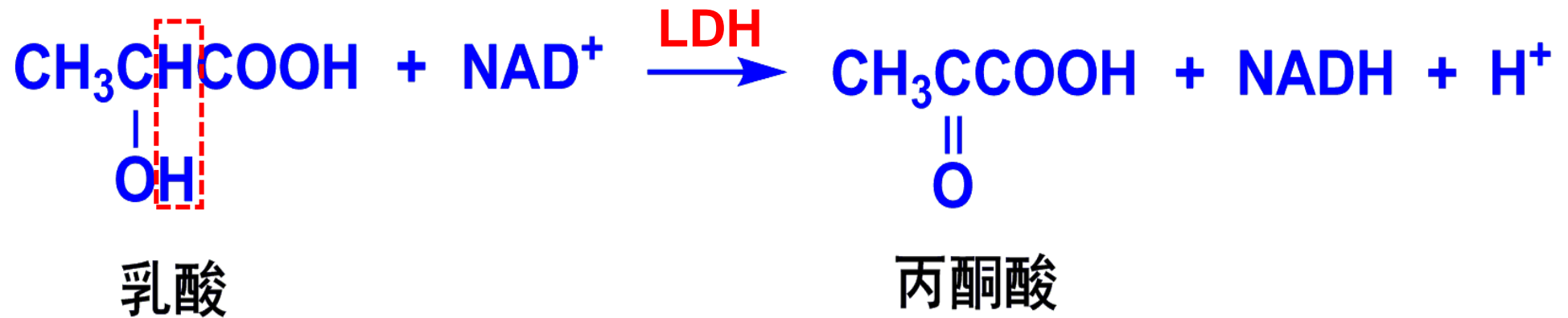
- ① 脱氢酶 (dehydrogenases)
- ② 氧化酶 (oxidases) (自行了解)
- ③ 过氧化物酶 (peroxidases) (自行了解)
- ④ 加氧酶 (oxygenases) (自行了解)
- ⑤ 还原酶 (reductases) (自行了解)

(1) 氧化-还原酶 (Oxidoreductases)

① 脱氢酶 (dehydrogenases)

通式: $A \cdot 2H + B \rightleftharpoons A + B \cdot 2H$

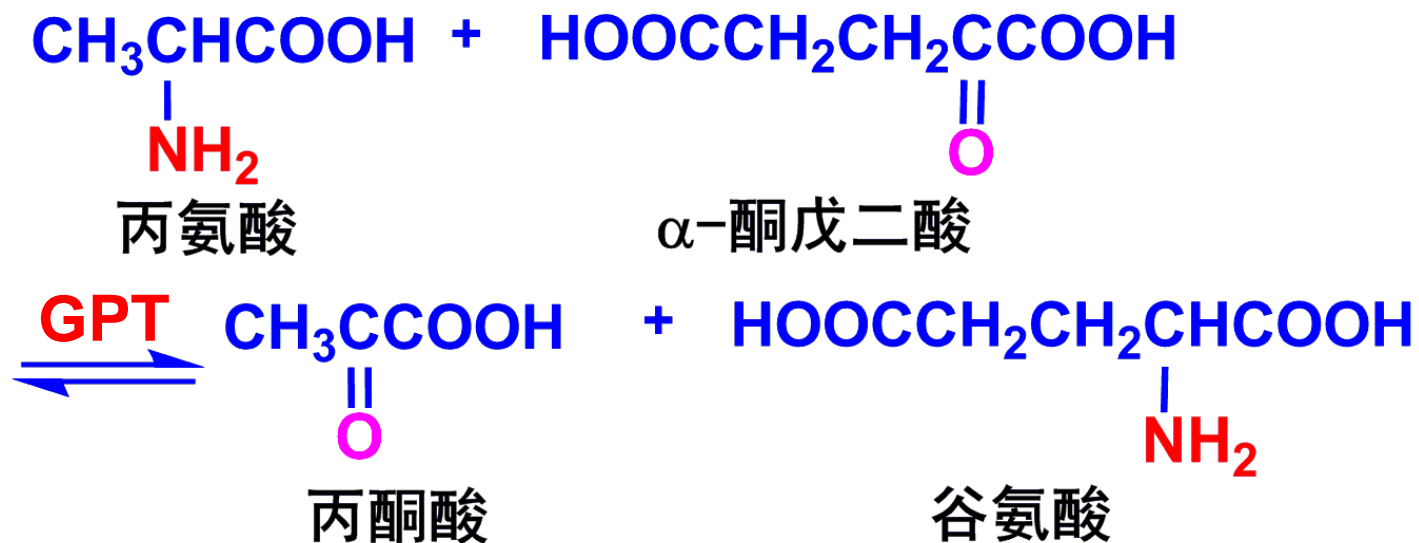
如， 乳酸脱氢酶(LDH)催化乳酸的脱氢反应。



(2) 转移酶 (Transferases)

- ◆ 催化一个底物分子的基团或原子转移到另一个底物分子上。
- ◆ 通式: $A \cdot X + B \rightleftharpoons A + B \cdot X$
- ◆ 常见: 氨基、磷酸基、甲基转移酶等。

如谷丙转氨酶(GPT)催化的氨基转移反应:



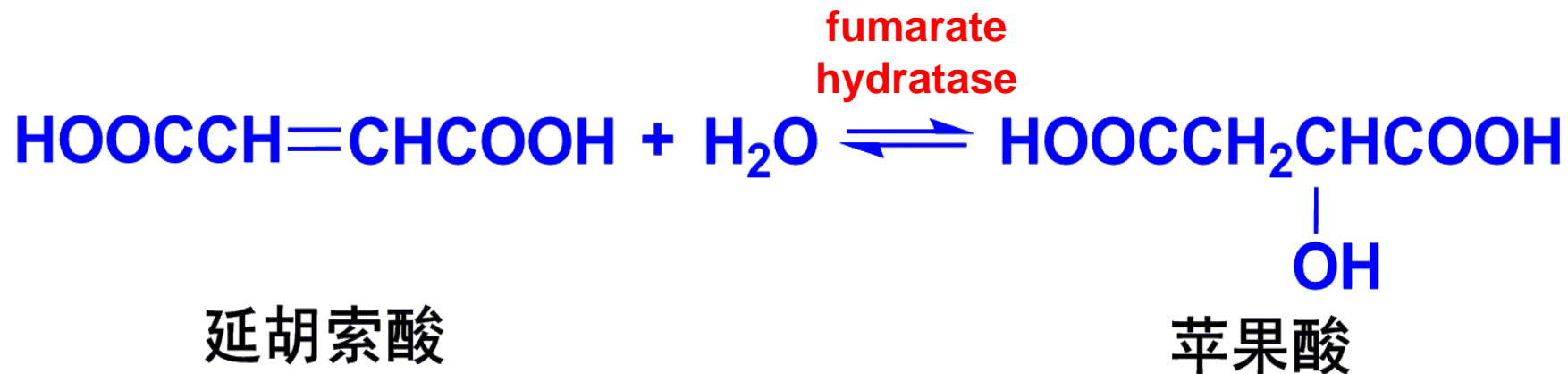
(3) 水解酶 (hydrolases)

- ◆ 催化底物的加水分解反应。
- ◆ 包括淀粉、蛋白、核酸、脂肪水解酶等。
- ◆ 通式： $A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$
- ◆ 如脂肪水解酶(Lipase)催化的脂水解反应：



(4) 裂合酶 (Lyases)

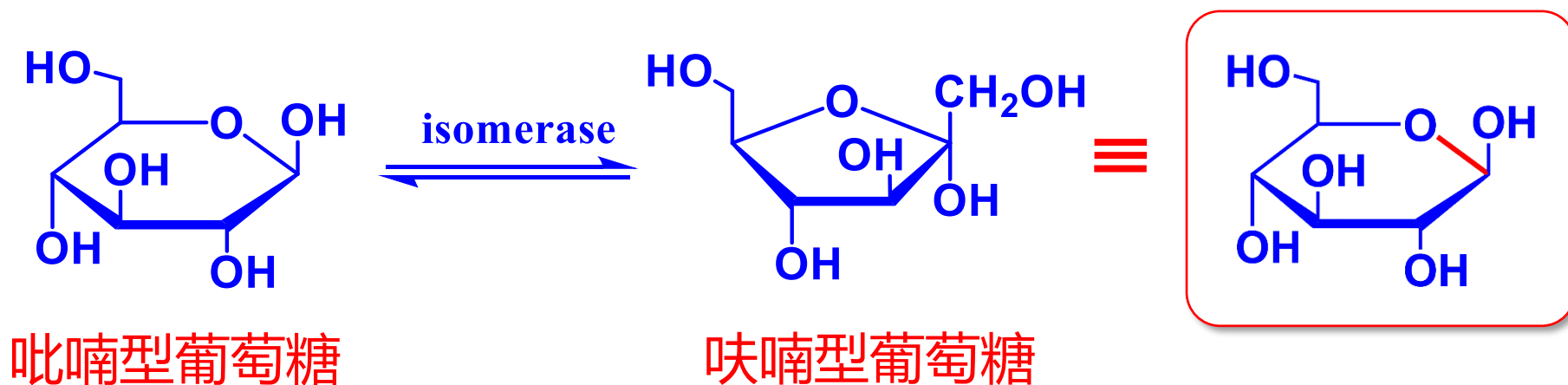
- ◆ 催化从底物分子中移去一个基团或原子，形成双键的反应及其逆反应（加成及消除）。
- ◆ 脱水酶、脱氨酶、脱羧酶、醛缩酶、水合酶等。
- ◆ 通式： $A-B \rightleftharpoons A + B$
- ◆ 例如，延胡索酸水合酶催化的反应。



(5) 异构酶 (Isomerases)

- 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。
- 通式：
$$\begin{array}{ccc} \text{A} & \text{---} & \text{B} \\ | & & | \\ \text{a} & & \text{a} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{ccc} \text{A} & \text{---} & \text{B} \\ | & & | \\ \text{a} & & \text{a} \end{array}$$

例如，葡萄糖异构酶催化的反应。



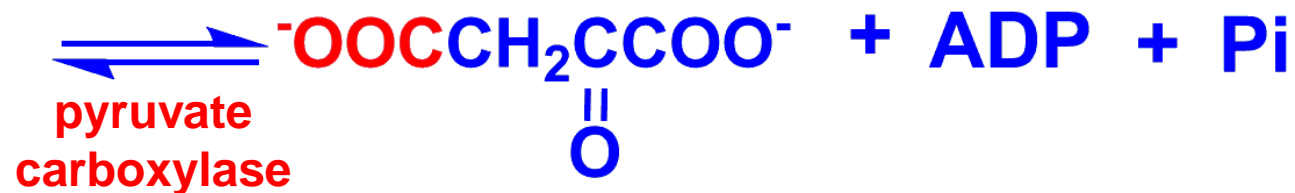
(6) 连接酶 (Ligases)

- ◆ 又称合成酶 (Synthetases), 催化C-C、C-O、C-N 和C-S 键的形成。
- ◆ 耗能反应, 必须与ATP分解反应相偶联。
- ◆ 通式: $A + B + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons A-B + \text{ADP} + \text{P}_i$

例如, 丙酮酸羧化酶催化生成草酰乙酸的反应:



丙酮酸



草酰乙酸

(7) 易位酶 (Translocase)

- ◆ 催化离子或分子跨膜转运或在细胞膜内易位反应的酶。
- ◆ **易位**：催化细胞膜内的离子或分子从“面 1”到“面 2”的反应
- ◆ 例如，线粒体蛋白质转运 ATP 酶(EC7.4.2.3)：



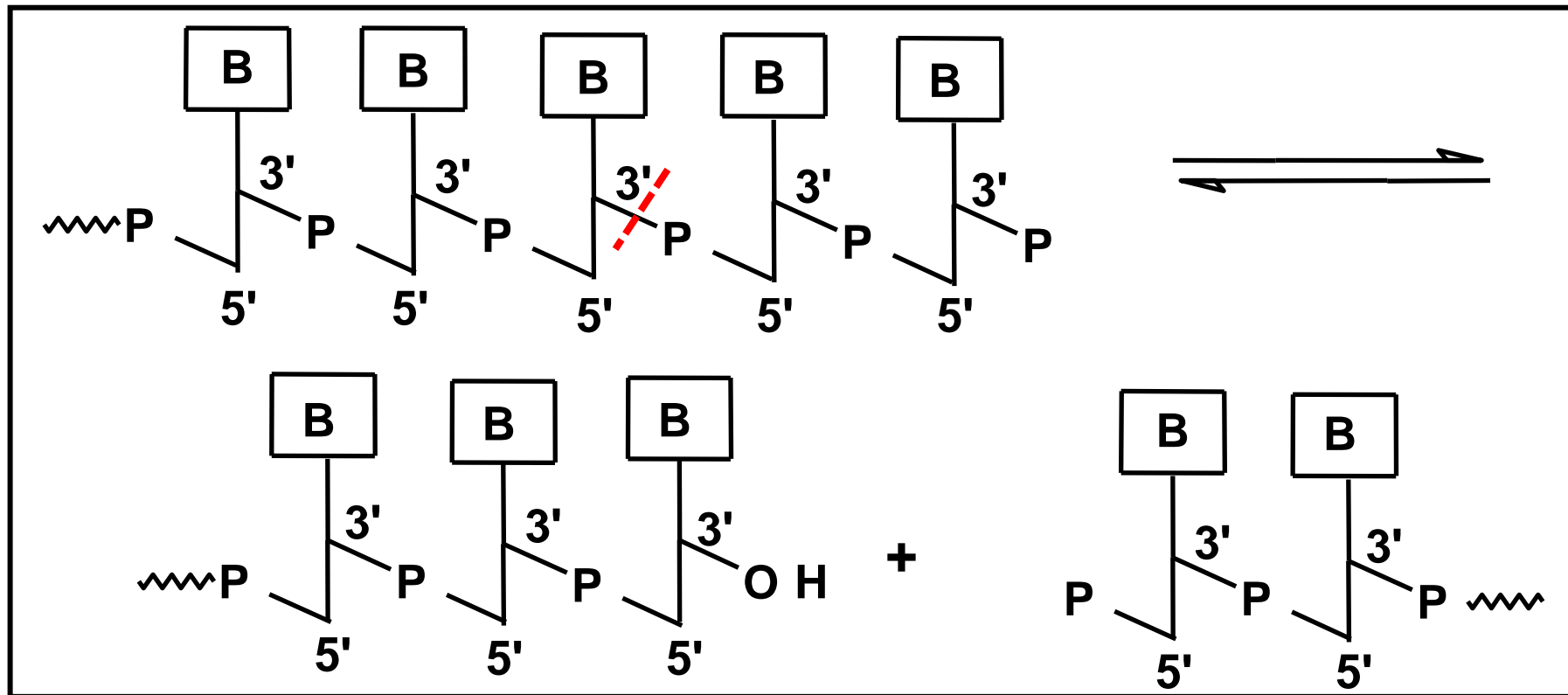
- ◆ 又如，抗坏血酸铁还原酶(EC7.2.1.3)：



EC 7. 1 催化质子的易位
EC 7. 2 催化无机阳离子及其螯合物的易位
EC 7. 3 催化无机阴离子的易位
EC 7. 4 催化氨基酸和肽的易位
EC 7. 5 催化糖及其衍生物的易位
EC 7. 6 催化其他化合物的易

(8) 核酶 (ribozyme)

- 唯一的非蛋白质酶。是一类特殊的RNA，能够催化 RNA 分子中的磷酸酯键的水解及其逆反应。



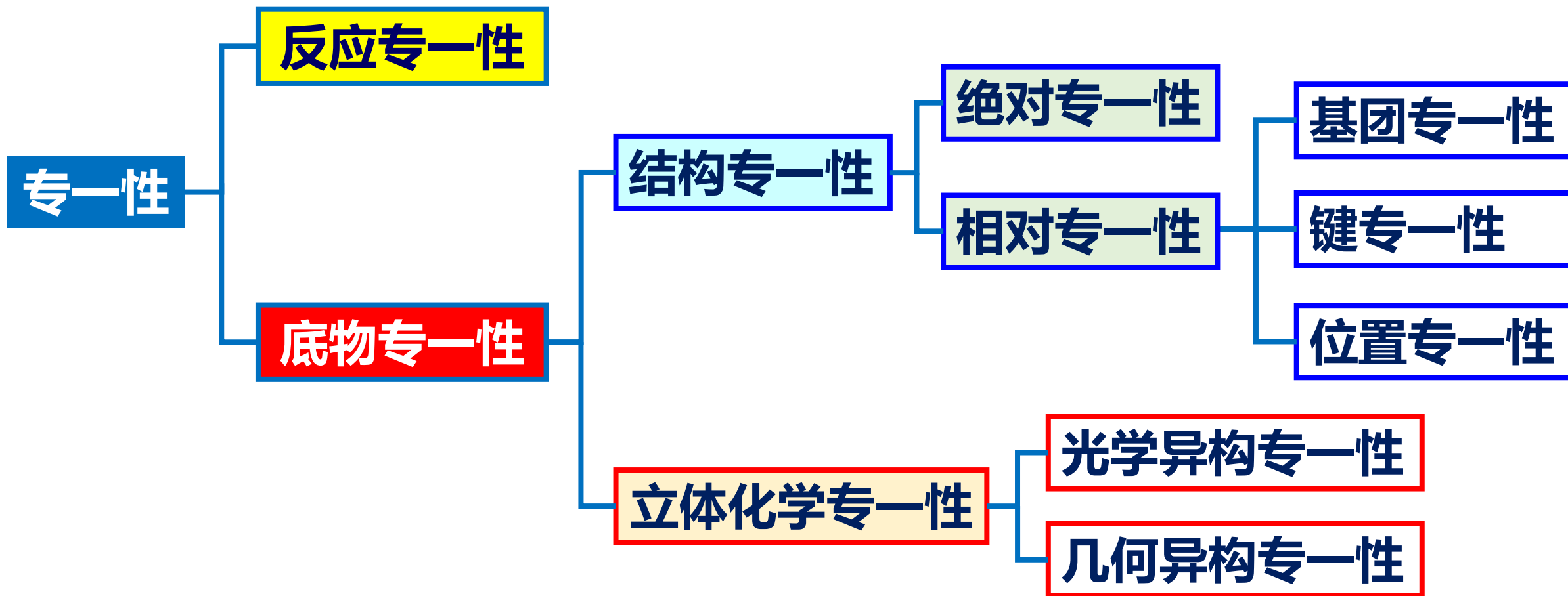
3. 酶的命名及分类

C. 酶的系统编号

- 国际酶学委员会 (Enzyme Commission, 缩写为 EC) 对酶统一编号。
- 用4个阿拉伯数字表示, 每个数字之间用一圆点隔开, 数字前冠以EC。
- 如: 谷丙转氨酶的编号为**EC 2.6.1.2**, 表明:
 - 2** --- 转移酶类 (**大类**)
 - 6** --- 转移含氮基团 (**亚类**)
 - 1** --- 转移氨基 (**亚-亚类**)
 - 2** --- 转氨酶中的第2号酶 (**序列号**)

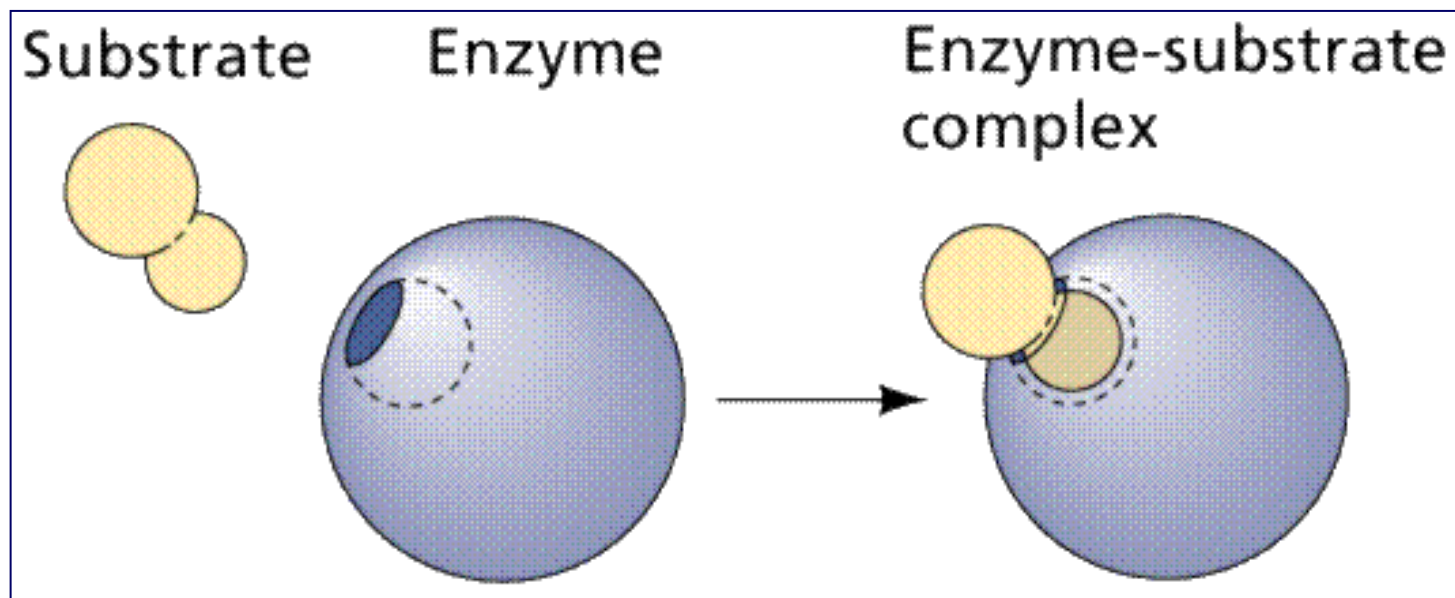
一、酶的概念

4. 酶的专一性



绝对专一性 (Absolute specificity)

- 对底物要求非常严格，只作用于一个特定的底物。
- 如：脲酶只能催化尿素的水解，对N-取代的尿素不水解。
- 一般具有非常特殊的空间结构。

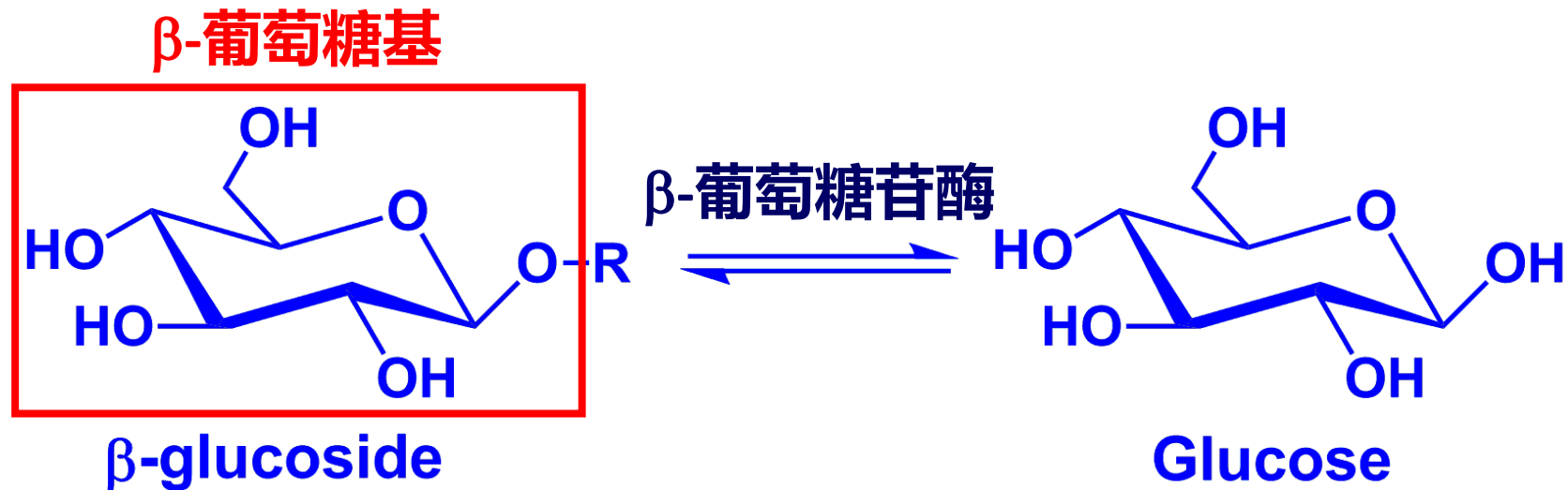


相对专一性 (Relative Specificity)

- 专一性程度相对较低。酶的作用对象不是一种底物，而是一类化合物或一类化学键。
- 在生物代谢的初级过程中起重要作用。
如各类水解酶（脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、核酸酶等）。
- 细分为：**基团专一性**和**键专一性**。

基团专一性 (Group Specificity)

- 对键两端的基团有不同的要求，对其中一个基团要求严格，而对另一个基团要求不严格。
- 如 β -葡萄糖苷酶，催化由 β -葡萄糖所构成的糖苷的水解，但对于糖苷的另一端 R 没有严格要求。



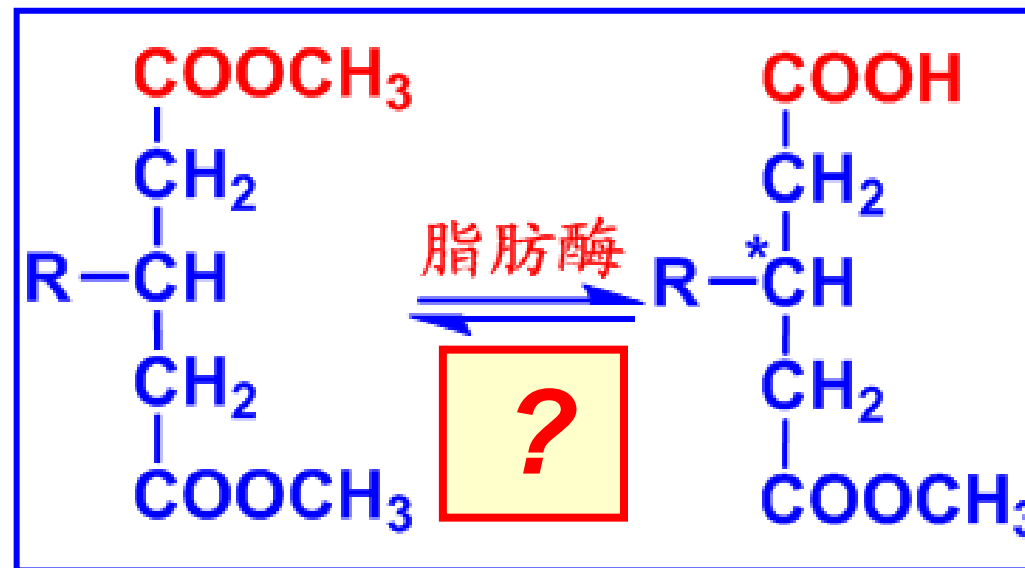
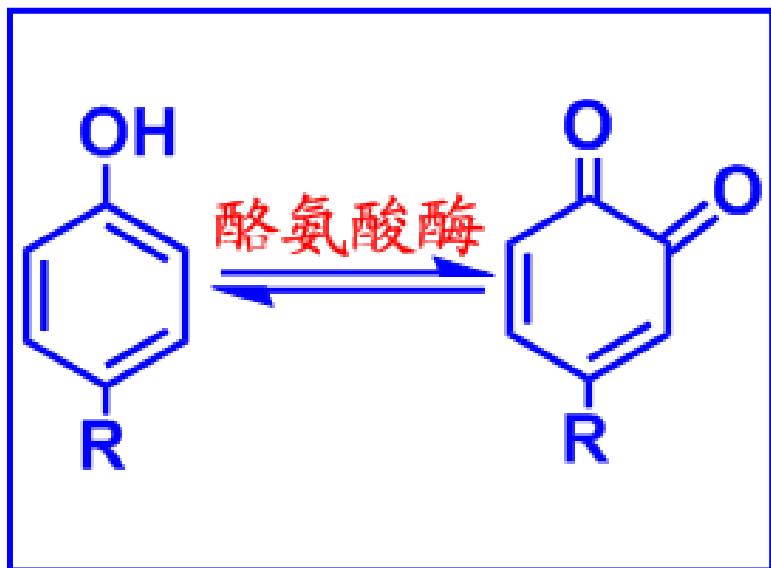
键专一性 (Bond Specificity)

- 只要求作用于底物一定的键，对键两端的基团无严格要求。
- 如：酯酶催化酯的水解，对于酯两端的基团没有严格的要求。



位置选择性 (Position Selectivity)

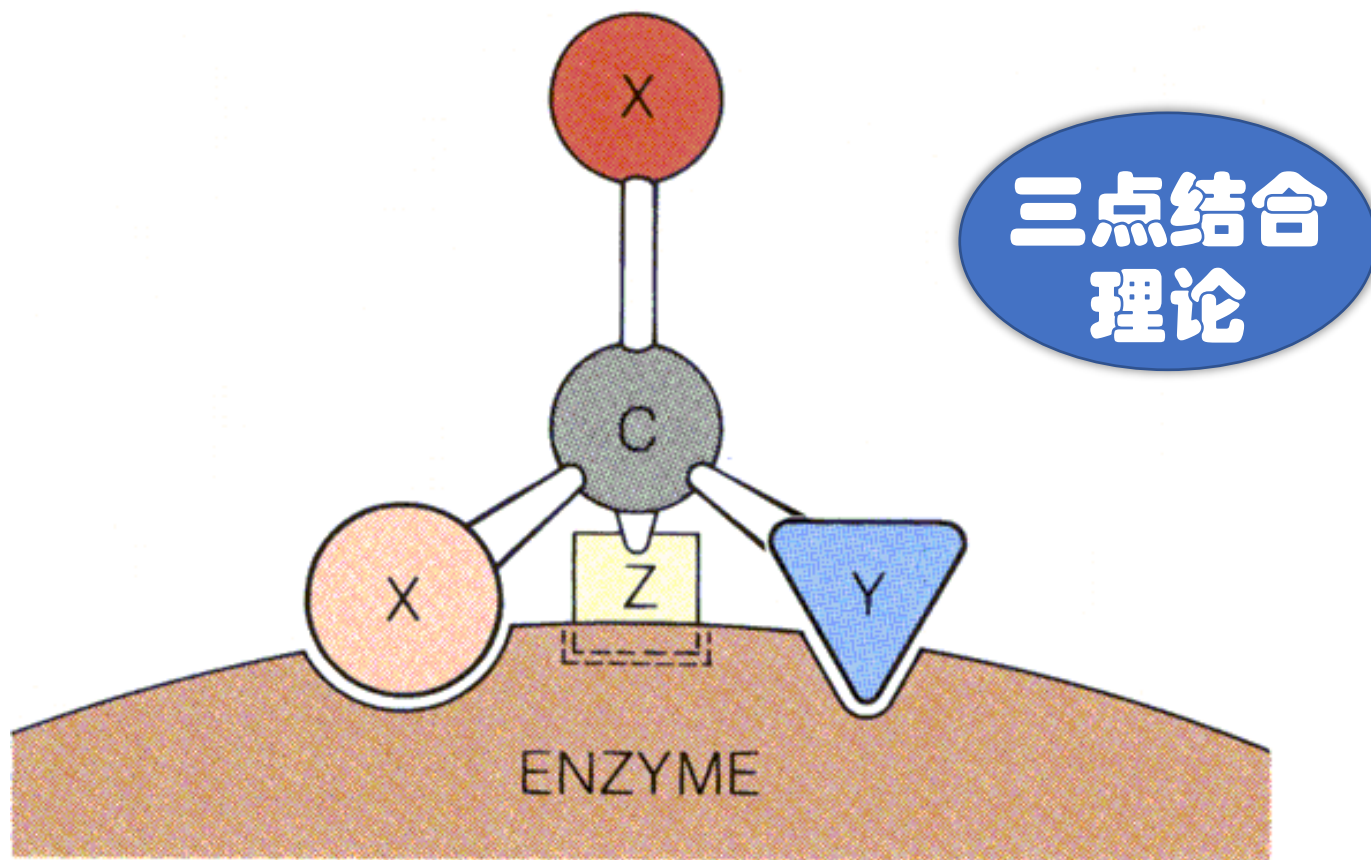
- 酶促反应只能在底物的某一特殊位置发生。
- 如：酪氨酸酶催化苯酚氧化，只产生邻位醌类化合物。
- 又如：某些脂肪酶只催化取代戊二酸二甲酯一端水解。



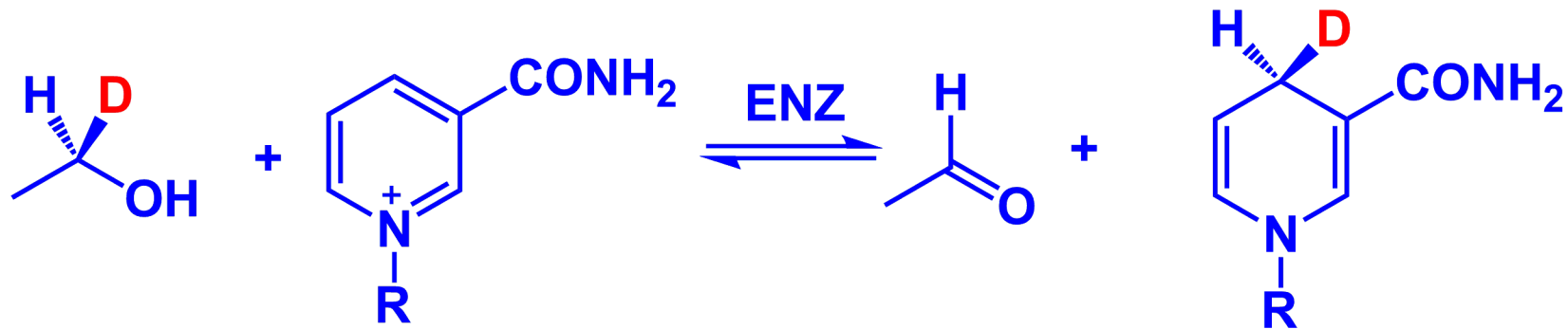
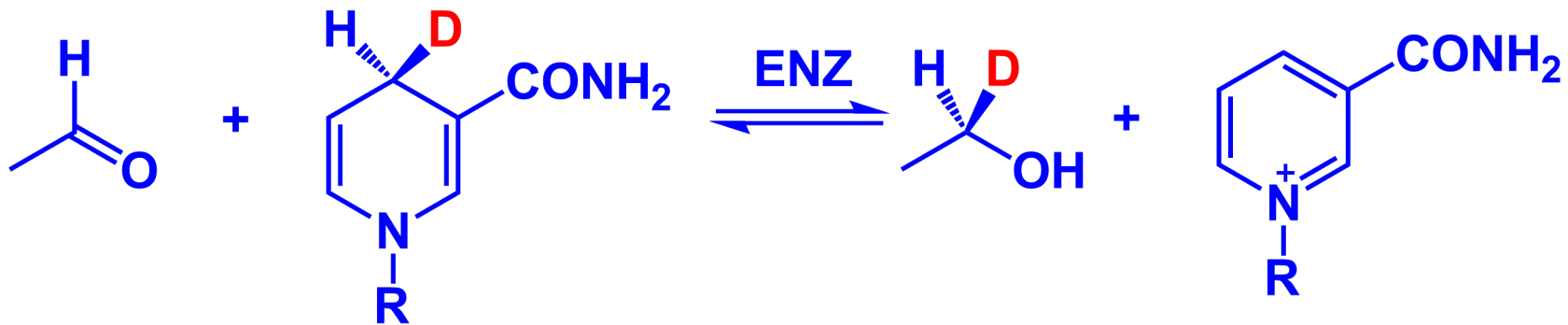
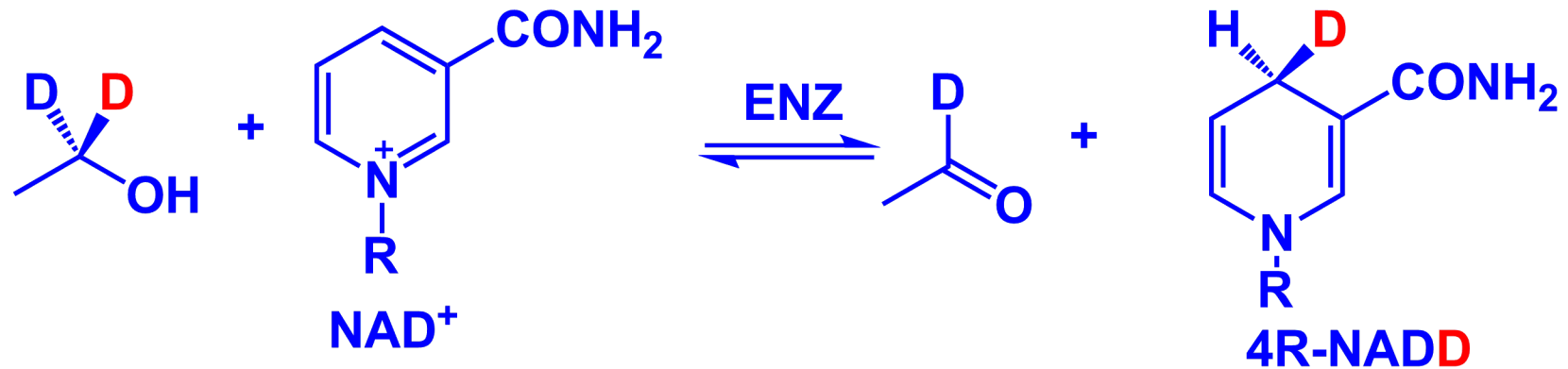
酶能区分两个前手性基团，只催化其中一个发生反应。

立体专一性 (Stereospecificity)

- 除对基团和化学键有选择性外，对底物分子的构型也有选择性。
- 如多肽合成酶，只能将L-型氨基酸合成肽链。
- 酶能区分两个前手性基团，只催化其中一个发生反应。



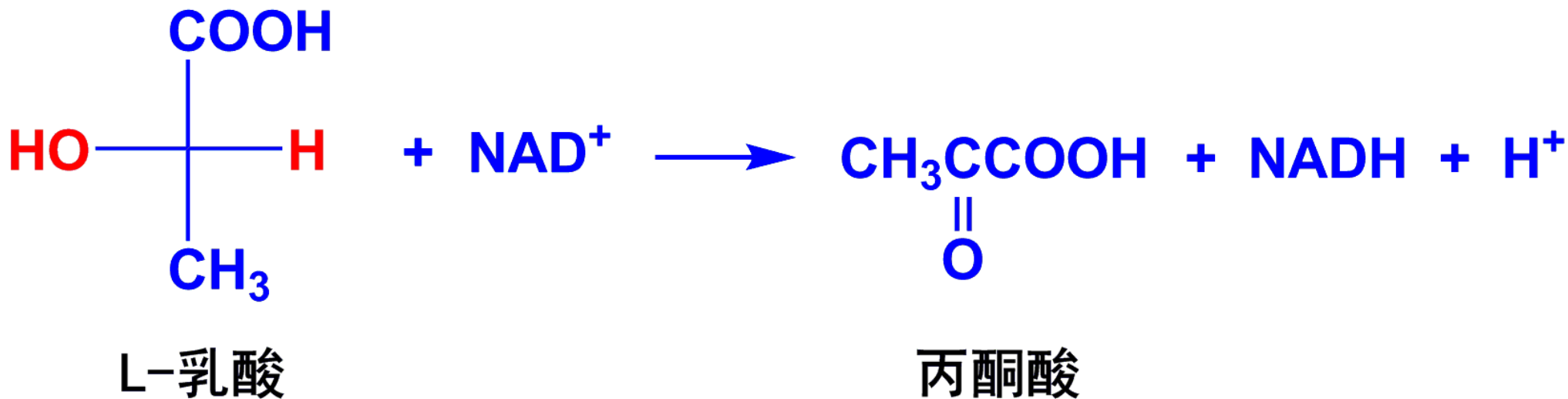
酵母乙醇脱氢酶的立体专一性 (1966年)



100% transfer of D

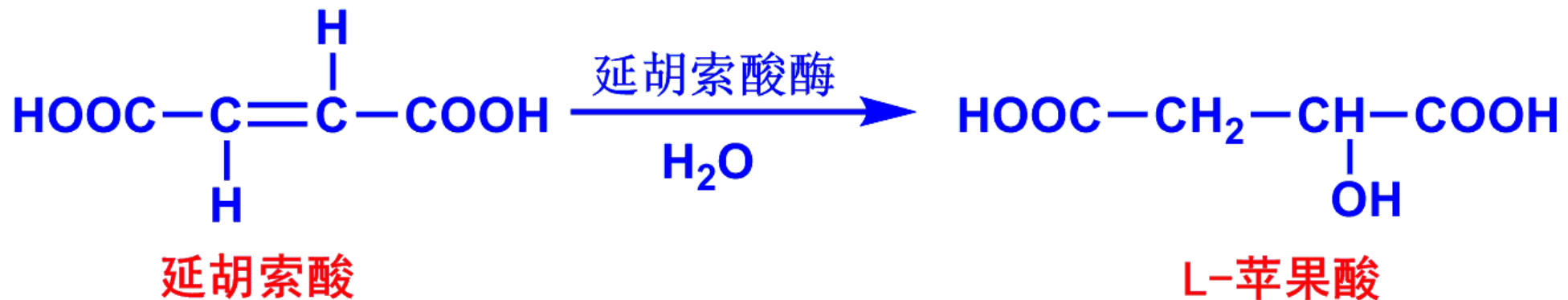
光学异构专一性 (Optical Specificity)

- **专一性地作用于具有特定光学活性的底物。**
- **如：淀粉酶只能选择性地水解D - 葡萄糖 形成的1,4 - 糖苷键。**
- **又如：L-乳酸脱氢酶**



几何专一性 (geometrical specificity)

- 能选择性催化某种几何异构体底物的反应，而对另一种构型则无催化作用。
- 如延胡索酸水合酶只能催化反式的延胡索酸水合生成苹果酸，对顺式的马来酸则不起作用。



一、酶的概念

5. 酶的活力测定

(1) 酶活力 (enzyme activity)

--- 指酶催化某一化学反应的能力

--- 反应速率愈大，活力愈高

反应速率愈小，活力愈低

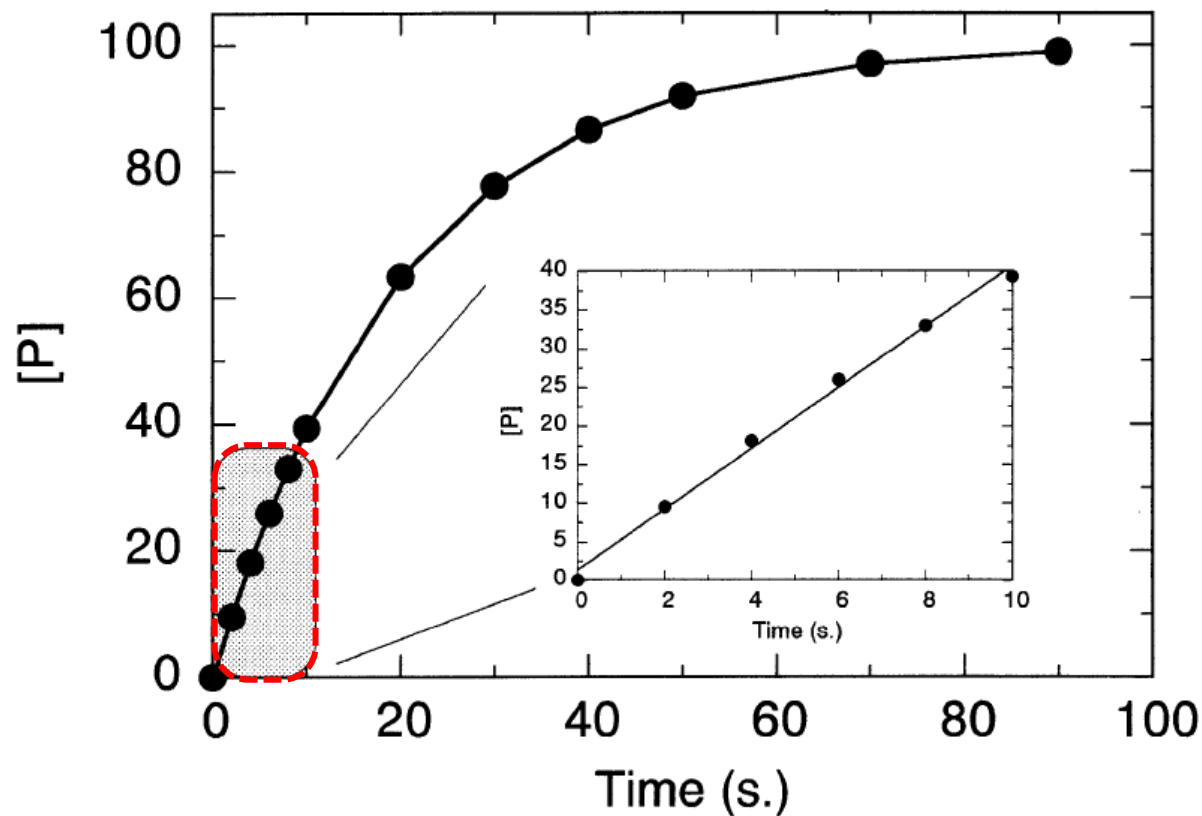
--- 酶活力的测定就是测定酶促反应的速率。

即，单位时间内底物减少量或产物增加量。

一、酶的概念

5. 酶的活力测定

- 反应速率 = 曲线的斜率
- 测定酶活力，应测定反应的初速率(v_0)。 ?
- 反应的底物大大过量，而底物减少 = 产物增加，故一般测定产物增加量。



酶促反应的速率曲线

一、酶的概念

5. 酶的活力测定

(2) 酶的活力单位 (U, activity unit)

--- 表示酶活力大小的量度。

定义：

在一定条件下，一定时间内将一定量的底物转化为产物所需的酶量为一个活力单位。

酶活力的国际单位 (IU)

- 1961年，在最适反应条件下，每分钟内催化一微摩尔底物转化为产物所需的酶量定为一个活力单位，即 $1 \text{ IU} = 1 \text{ mmol/min}$ 。
- 1972年，在最适反应条件下，每秒钟内催化一摩尔底物转化为产物所需的酶量定为一个活力单位，用Kat表示，即 $1 \text{ Kat} = 1 \text{ mol/s}$ 。
- $1 \text{ Kat} = 6 \times 10^7 \text{ IU}$
- **最适反应条件**: 指温度、pH、[S]、离子强度等。

一、酶的概念

5. 酶的活力测定

(3) 酶的比活力 (specific activity)

- 表示酶的纯度，亦即酶的含量。
- **定义**：每毫克蛋白所含的酶活力单位数。
- 对同一种酶来说，比活力越大，表示酶的纯度越高。
- **比活力 = 活力U/mg蛋白**
= 总活力U/总蛋白mg
- 酶制备即纯化时的重要指标。

一、酶的概念

5. 酶的活力测定

(4) 酶活力的测定方法

- 紫外—可见分光光度法
- 荧光光谱法
- 同位素法
- 其他

5. 酶的活力测定—课堂练习题

某组织细胞的初提液中含蛋白质32 mg/mL，在最适条件下，用10 mL该提取液可以0.14 mmol/min的速率催化一个反应。用硫酸铵沉淀法分级分离50 mL上述提取液，沉淀部分重新溶解成10 mL溶液，得到的这种溶液蛋白含量为50 mg/mL。用10 mL这种纯化的溶液，以 0.65 mmol/min的速率催化上述反应。

试计算：

- 纯化酶液过程中酶的回收率。
- 该纯化法的提纯程度（提纯倍数）。

二、维生素与辅酶

1. 营养素

Nutrients (营养素)

- Chemical substances obtained from food and used in the body to provide energy, structural materials, and regulating agents to support growth, maintenance, and repair of the body's tissues.
- May also reduce the risks of some diseases.

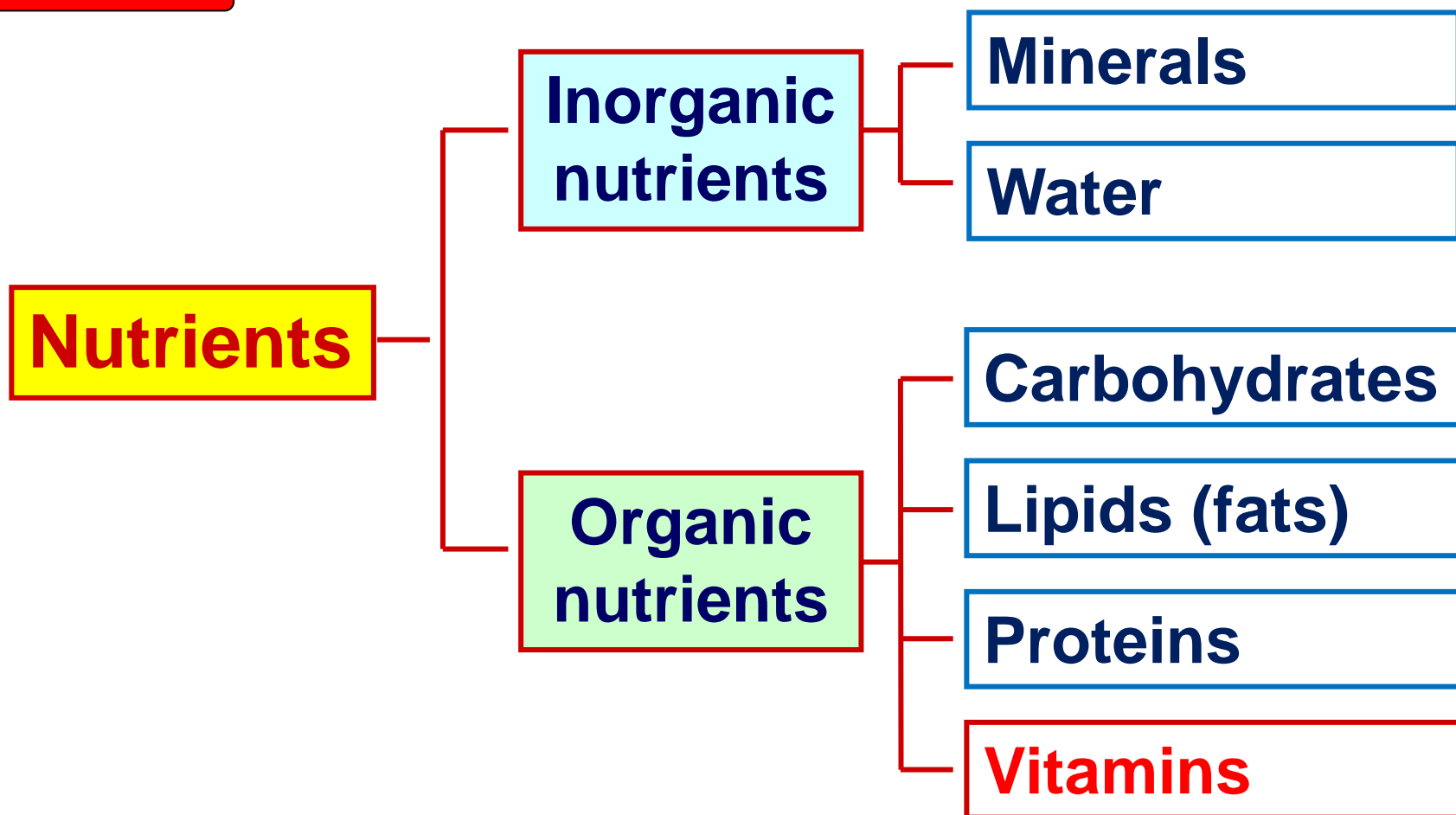
1. 营养素

Functional Foods (功能性食品)

- Foods that contain physiologically active compounds that provide health benefits beyond their nutrient contributions.
- Examples:
 - Margarine (人造黄油)
 - Orange juice fortified with calcium

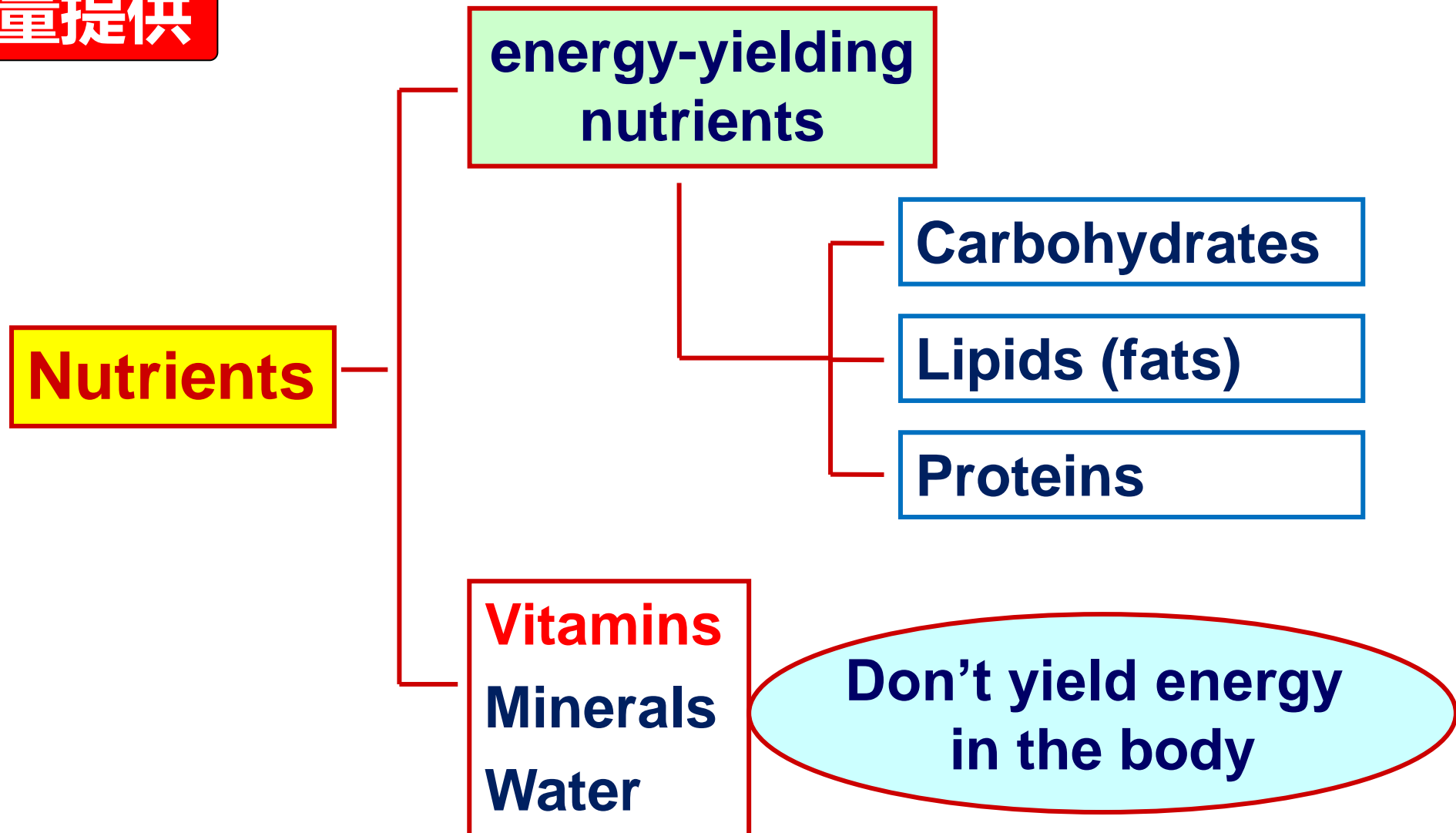
1. 营养素

化学本质



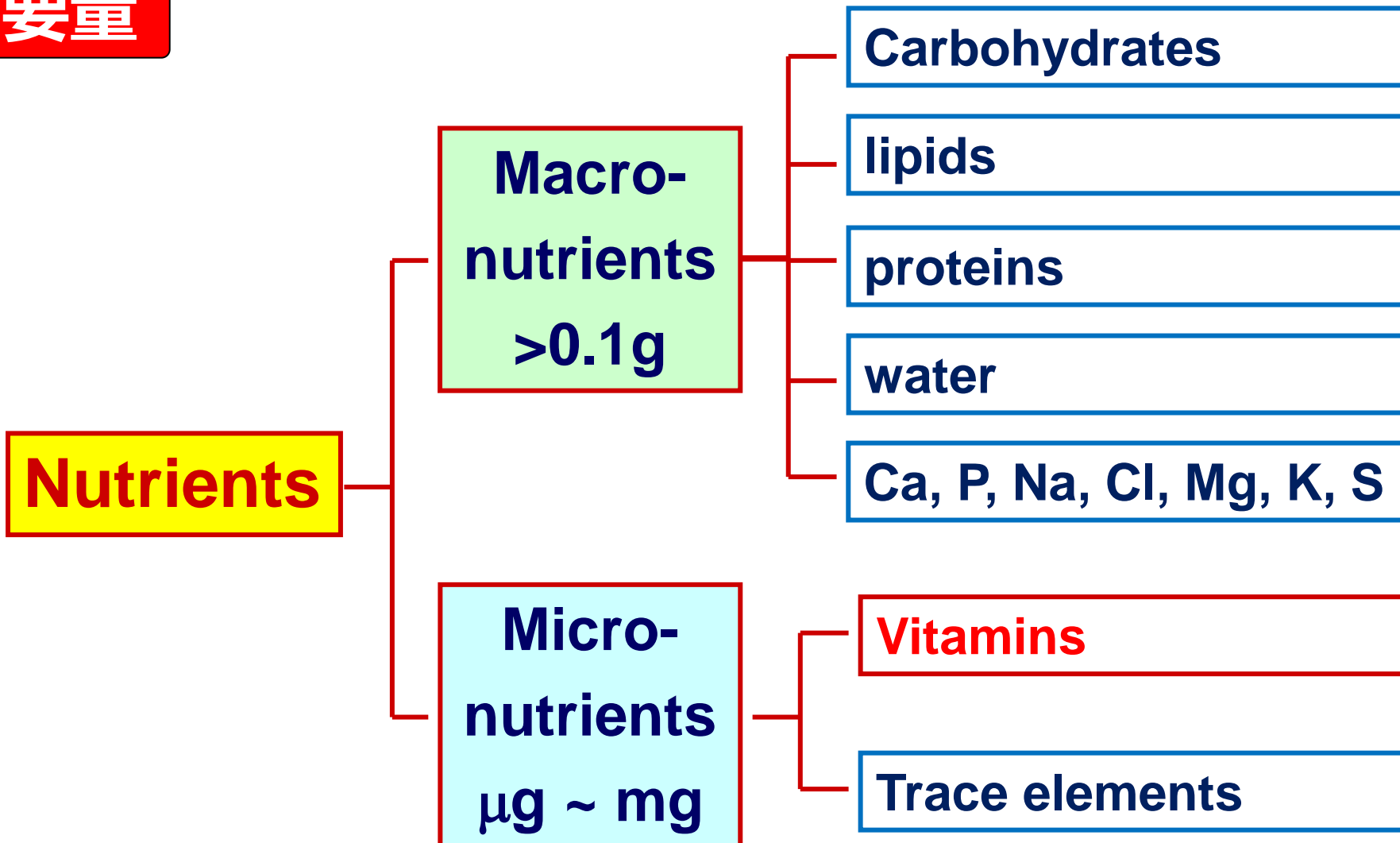
1. 营养素

能量提供



1. 营养素

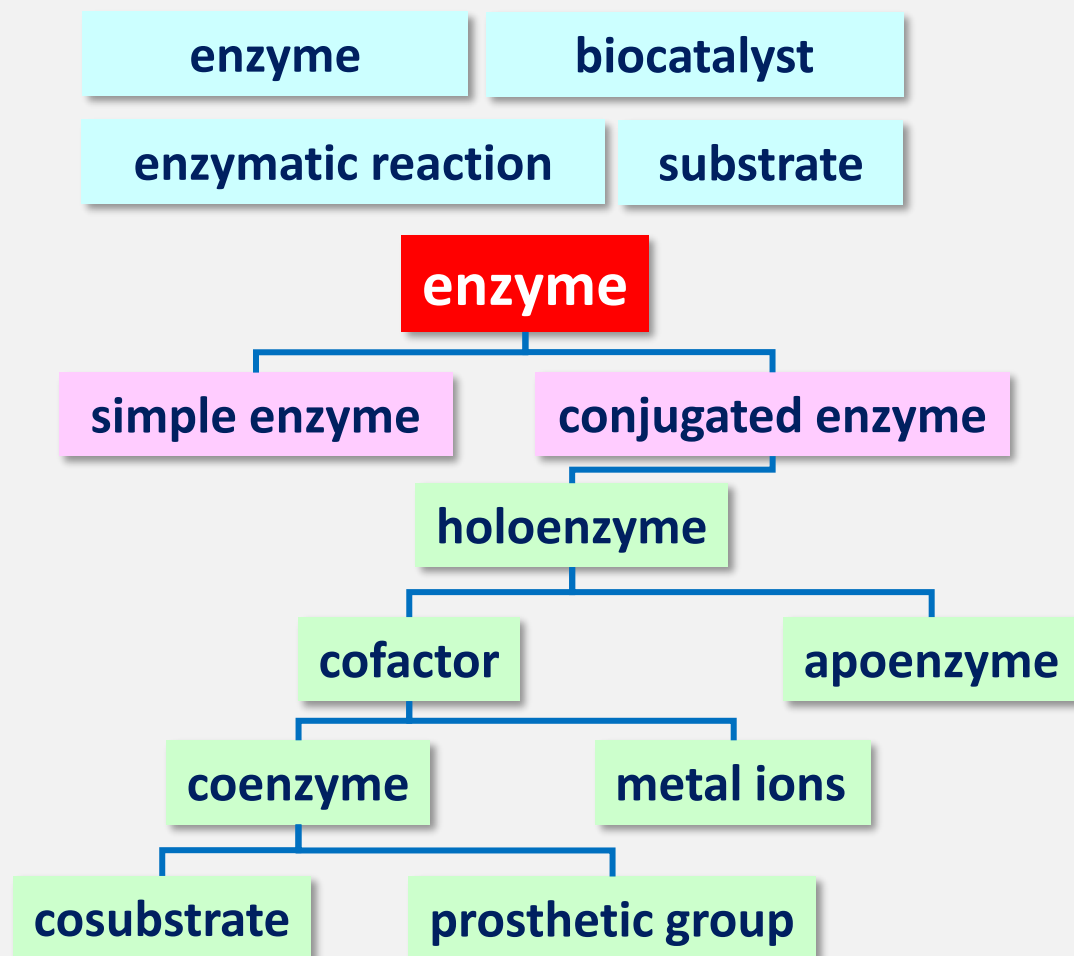
需要量



本次课主要内容小结

一、酶的概念

1. 基本概念



2. 酶的四大催化特点

高效、温和、专一、可调

3. 酶的命名与分类

八类酶 (7 + 1)

4. 酶的底物专一性

结构专一性

立体专一性

5. 酶活力的测定

酶活力

活力单位

比活力

二、维生素与辅酶

1. 营养素

预习内容

二、维生素与辅酶