

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

探究题2展示

# 上次课主要内容回顾

## 二、维生素与辅酶

### 6. 水溶性维生素各论

叶酸

氰钴胺素

维生素C

### 7. 脂溶性维生素各论

维生素A

维生素D

维生素E

维生素K

## 三、酶促反应动力学

### 1. 化学动力学基础

### 2. 底物浓度对酶反应速率的影响

米氏方程

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

### 3. 酶活力其他影响因素

pH

温度

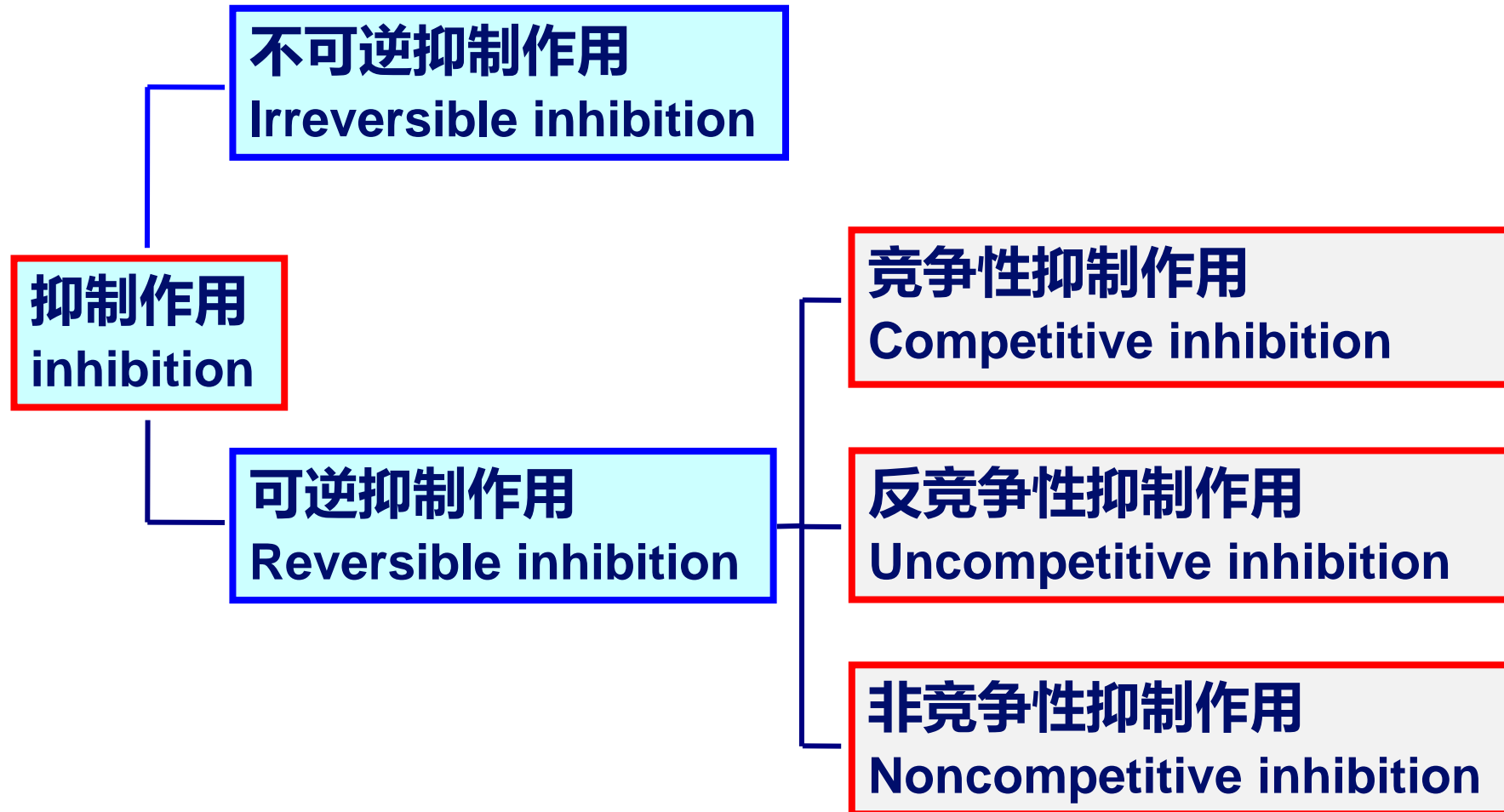
# 三、酶促反应动力学

## 4. 酶的抑制作用

- 酶的抑制作用(inhibition): 使酶的活性降低或丧失的现象。
- 抑制作用与失活作用(inactivation)有何异同?
  - 变性与否
  - 选择性有否
- 抑制剂(inhibitors): 能够引起酶的抑制作用的化合物。

## 4. 酶的抑制作用

### (1) 抑制作用的类型



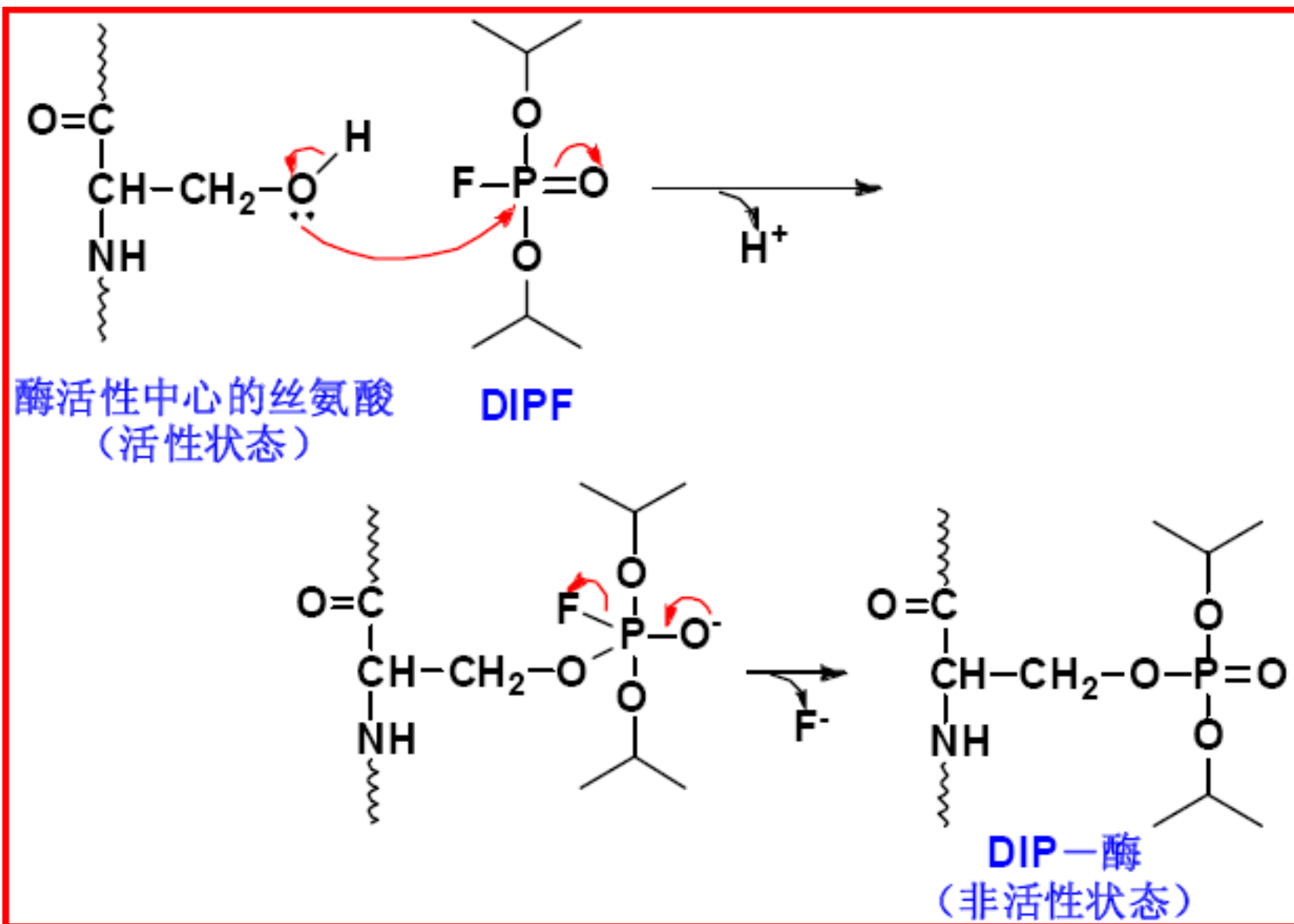
## 4. 酶的抑制作用

### (2) 不可逆抑制作用

- 抑制剂与酶活性中心基团共价结合，引起酶活性永久性丧失。
- 又称酶的修饰抑制。
- 不能用透析等物理方法除去抑制剂。
- 如有机磷毒剂二异丙基氟磷酸酯(DIFP)。

# Irreversible Inhibition of Enzyme

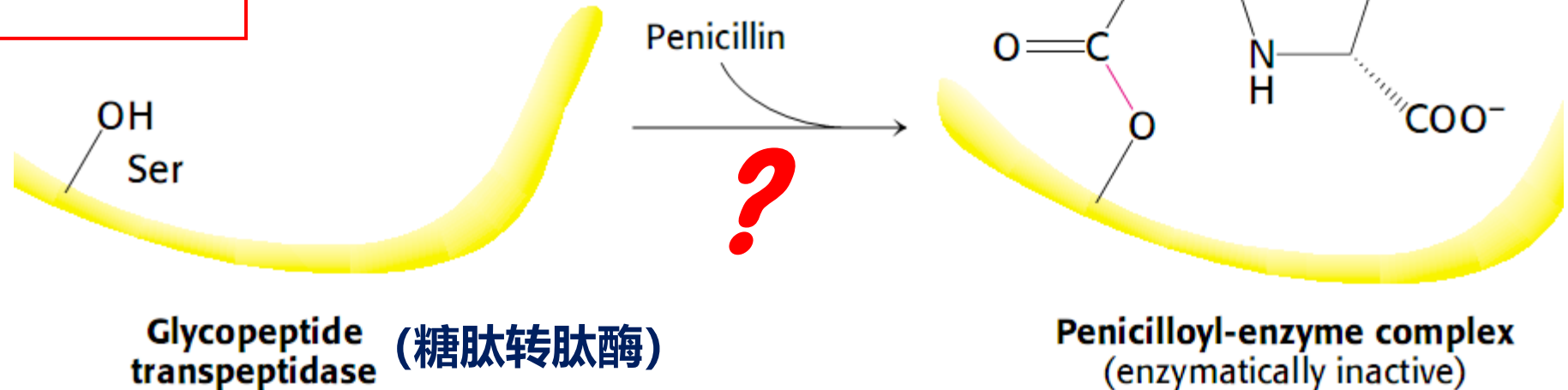
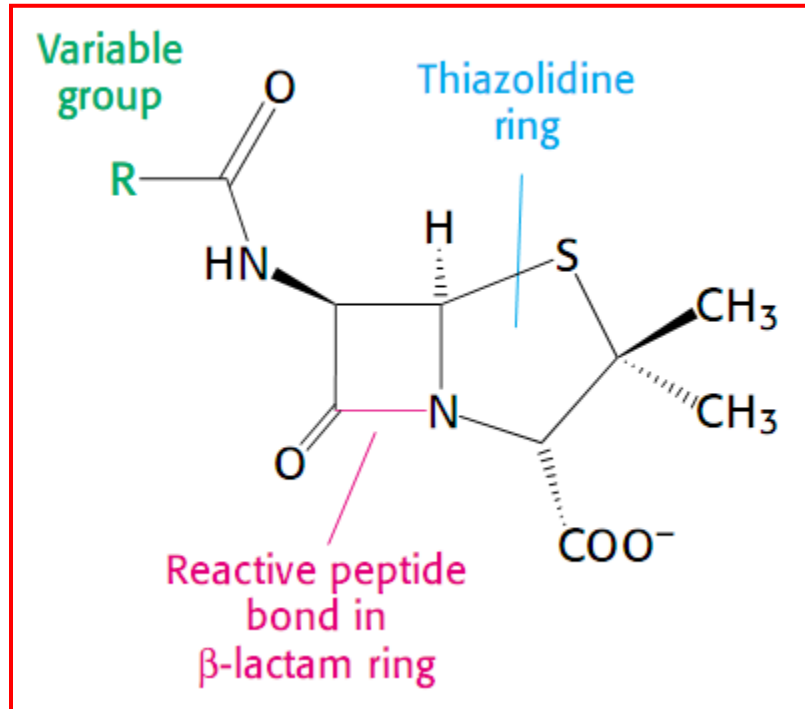
例1



# Irreversible Inhibition of Enzyme

例2

## Formation of a penicilloyl-enzyme complex



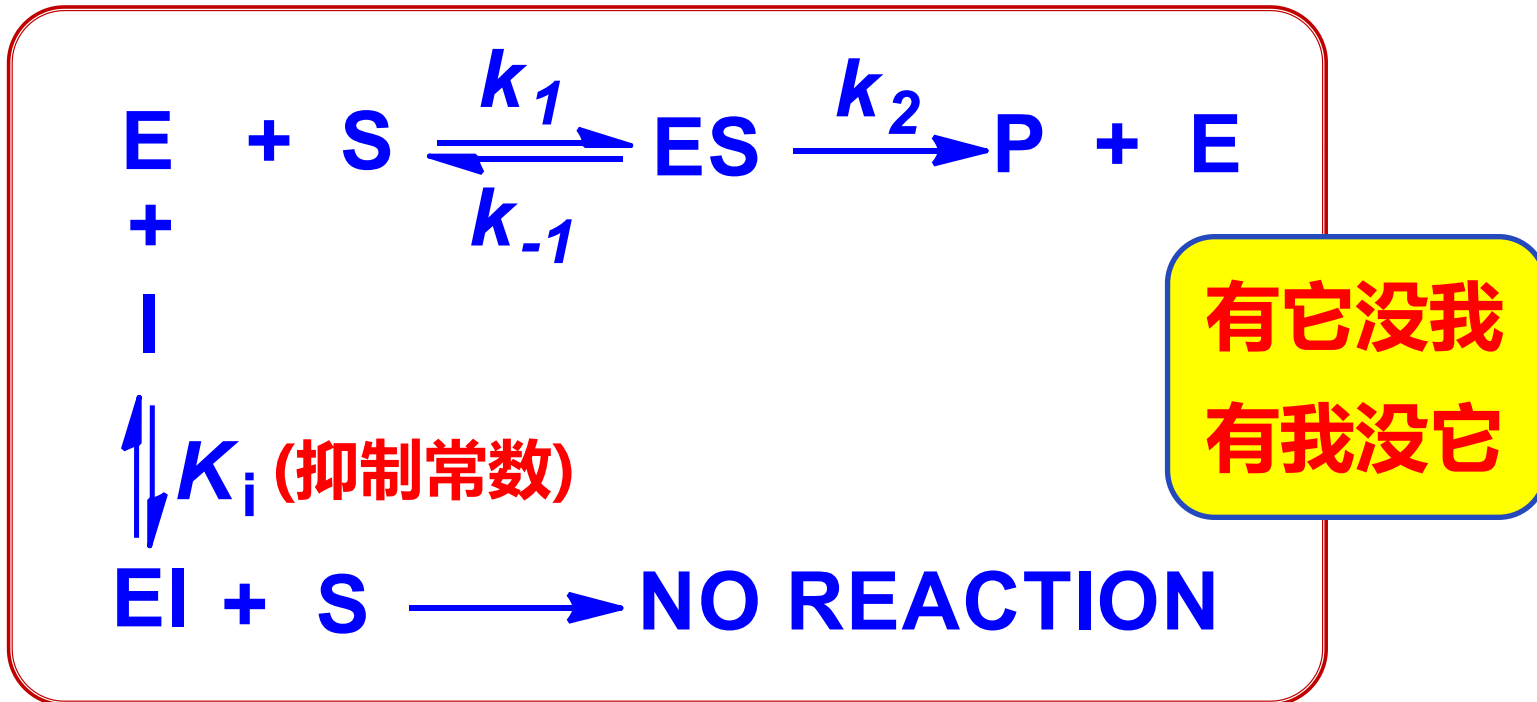
### (3) 可逆抑制作用

- 抑制剂与酶蛋白非共价结合，引起酶活性暂时性丧失。  
除去抑制剂后，能部分或全部恢复酶的活性。
- 能通过透析等物理方法除去抑制剂
- 根据抑制剂与酶结合情况，分为三类：
  - A. 竞争性抑制
  - B. 反竞争性抑制
  - C. 非竞争性抑制或混合型抑制



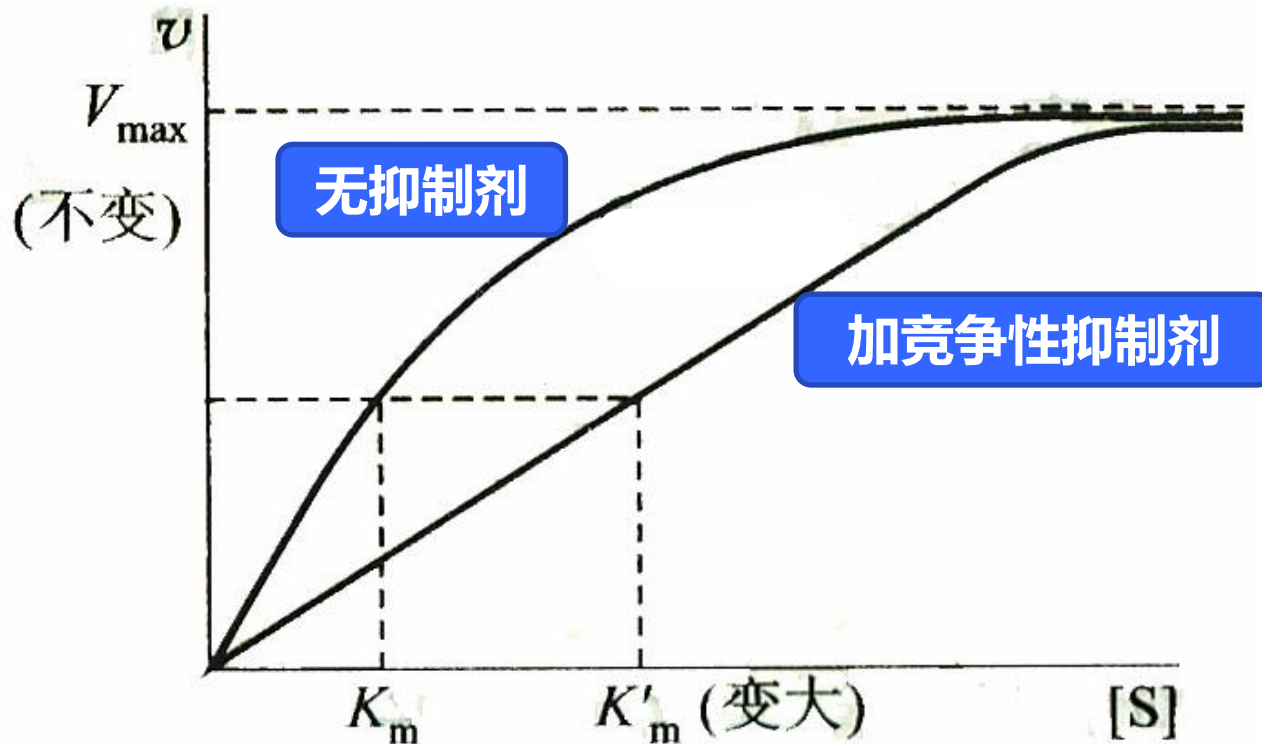
## A. 竞争性抑制(Competitive inhibition)

- 抑制剂化学结构与底物相似，二者与酶活性中心的结合存在竞争关系。
- 抑制剂与酶活性中心结合后，底物被排斥在反应中心外，结果酶促反应被抑制。



## A. 竞争性抑制

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m' + [S]} = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$



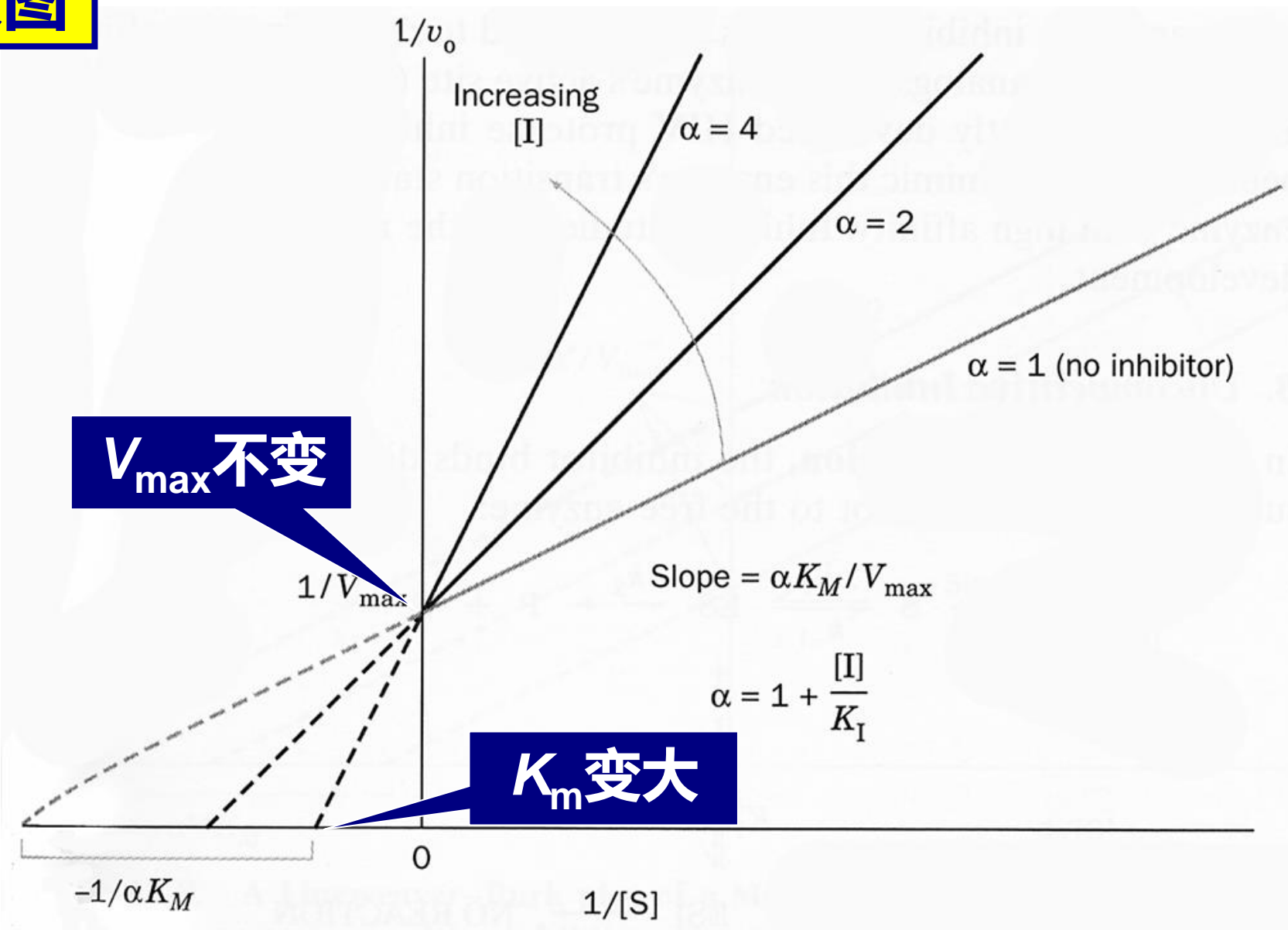
$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$V_{\max}$  不变

$K_m$  变大

## 双倒数图



# 计算实例

An enzyme has a  $K_m$  of 8  $\mu\text{M}$  in the absence of a **competitive inhibitor** and a  $K_m^{\text{app}}$  ( $K_m'$ ) of 12  $\mu\text{M}$  in the presence of 3  $\mu\text{M}$  of the inhibitor. Calculate  $K_i$ .

First calculate the value of  $\alpha$  when  $K_M = 8 \mu\text{M}$  and  $K_M^{\text{app}} = 12 \mu\text{M}$ :

$$K_M^{\text{app}} = \alpha K_M$$

$$\alpha = \frac{K_M^{\text{app}}}{K_M}$$

$$\alpha = \frac{12 \mu\text{M}}{8 \mu\text{M}} = 1.5$$

Next, calculate  $K_i$  from Eq. 12-32:

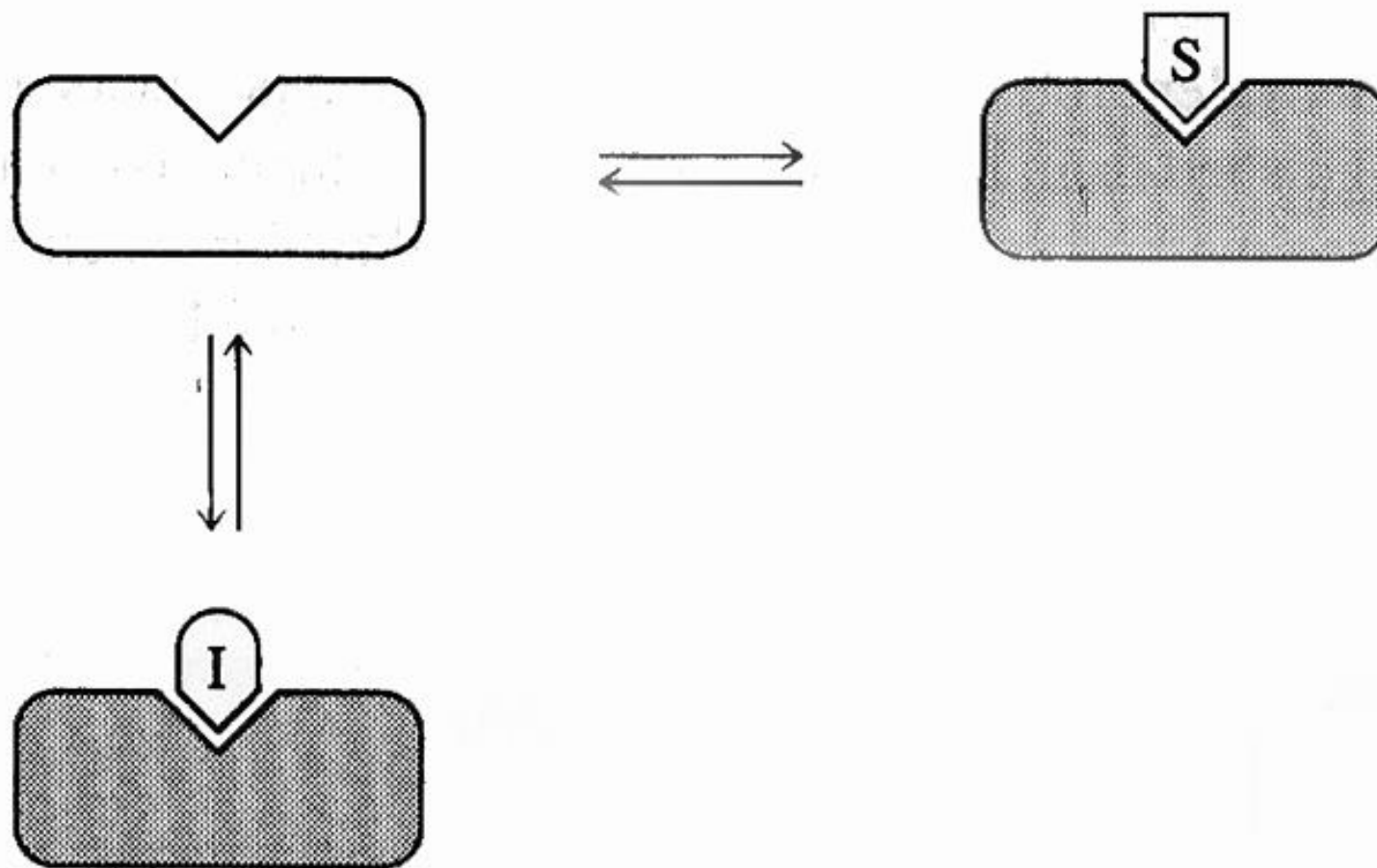
$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$K_i = \frac{[I]}{\alpha - 1}$$

$$K_i = \frac{3 \mu\text{M}}{1.5 - 1} = 6 \mu\text{M}$$

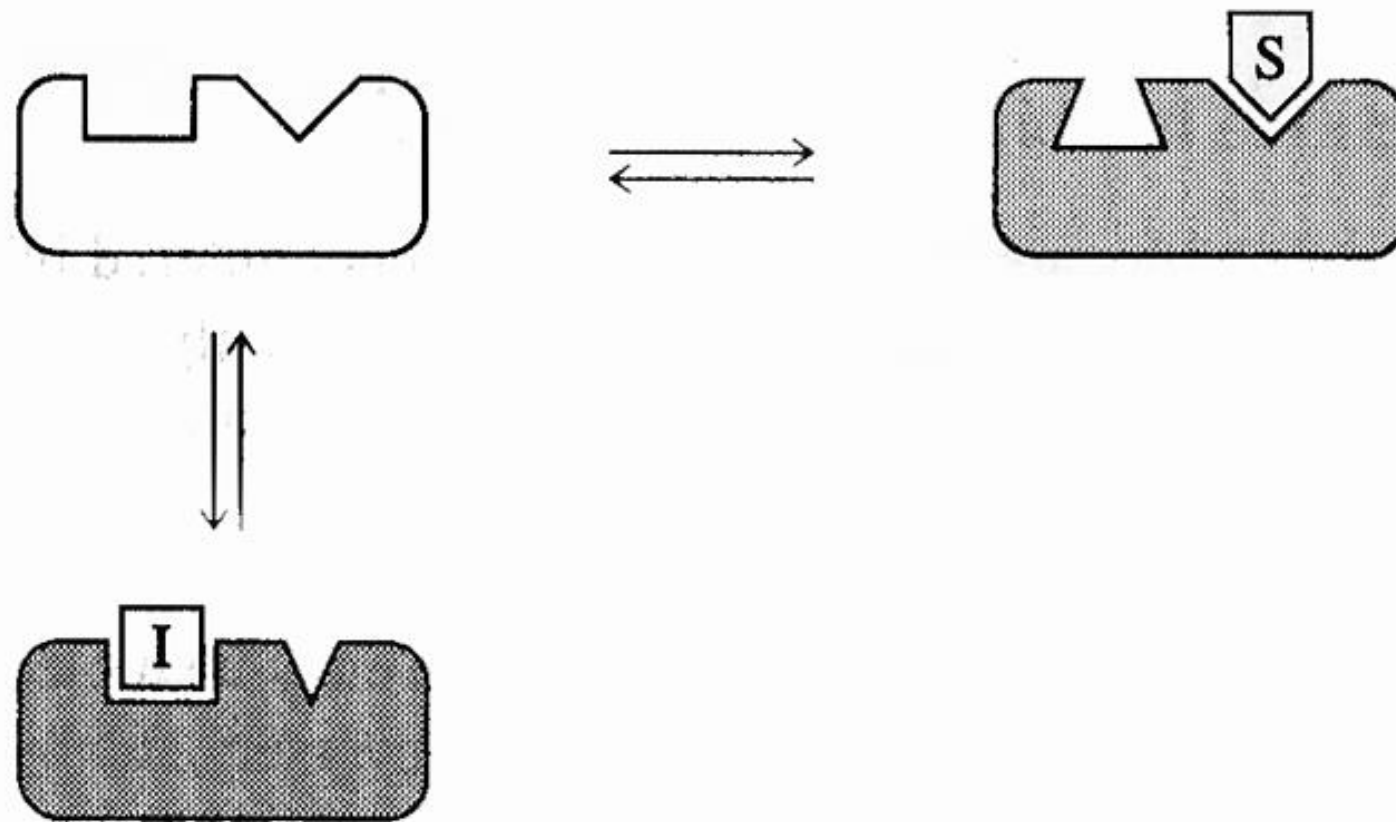
## A. 竞争性抑制 (经典)

(a) Classical competitive inhibition



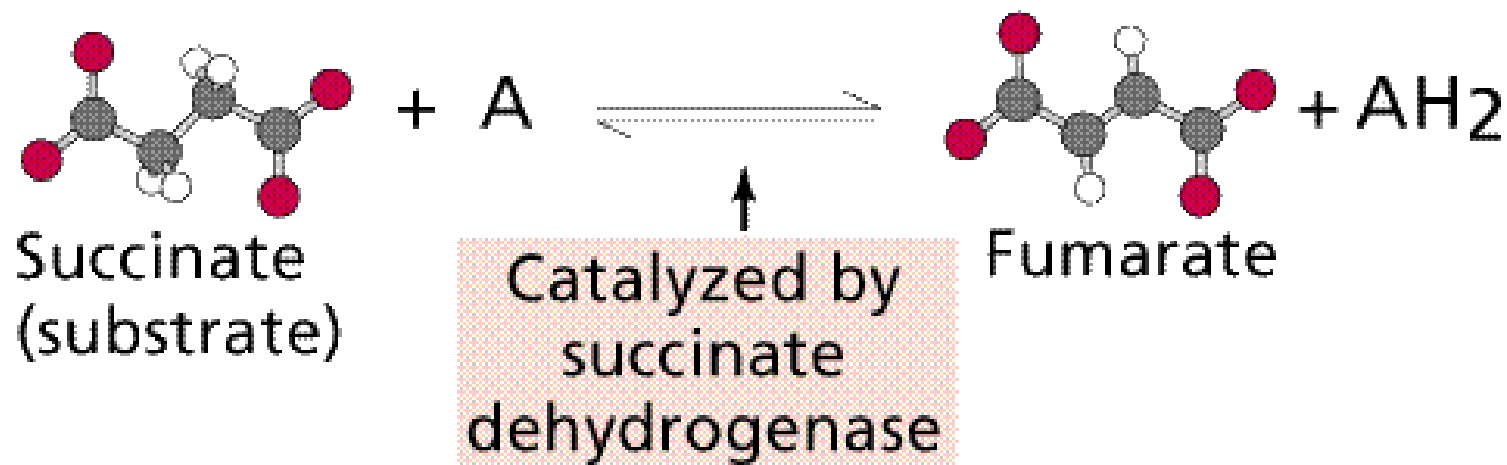
## A. 竞争性抑制 (非经典)

(b) Nonclassical competitive inhibition

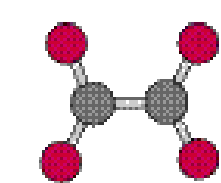


## A. 竞争性抑制

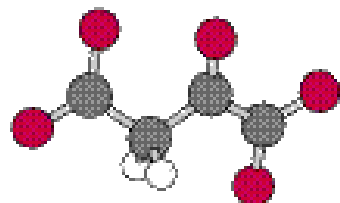
例1



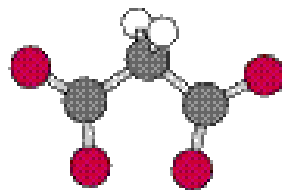
Competitive inhibitors



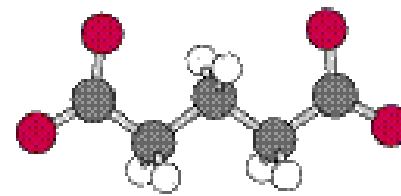
Oxalate



Oxaloacetate



Malonate

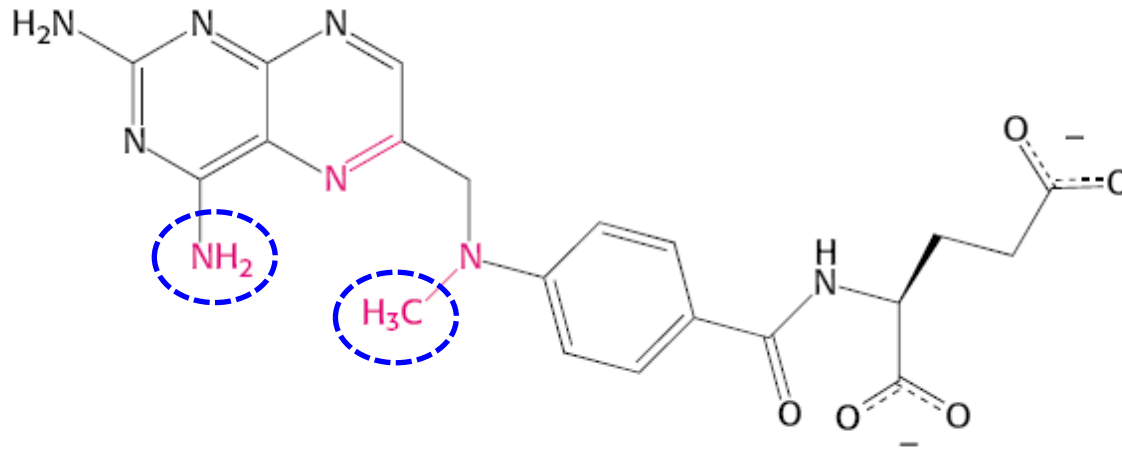


Glutarate

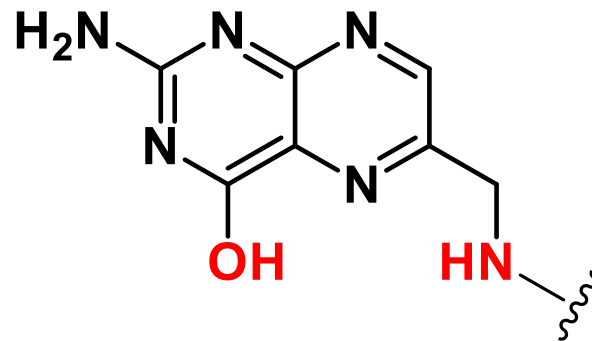
竞争性抑制通常可以通过增大底物浓度，即提高底物的竞争能力来消除。

# Competitive Inhibitor—Methotrexate

(甲氨蝶呤)



Methotrexate



叶酸

例2

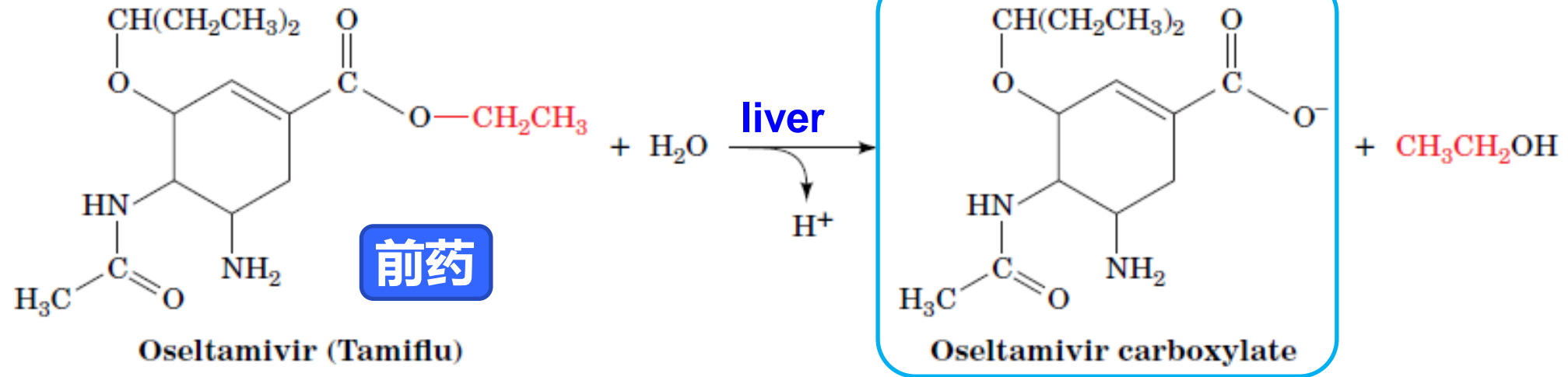
- Dihydrofolate reductase inhibitor
- 1000-fold more tightly than folate
- Inhibits nucleotide base synthesis
- Anticancer drug



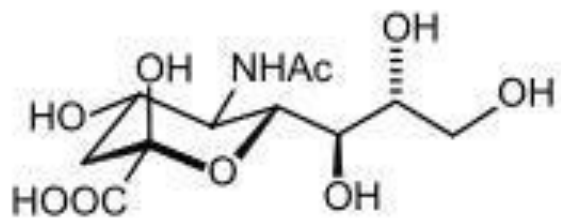
# Product inhibition—Oseltamivir (Tamiflu)

奥司他韦 (达菲)

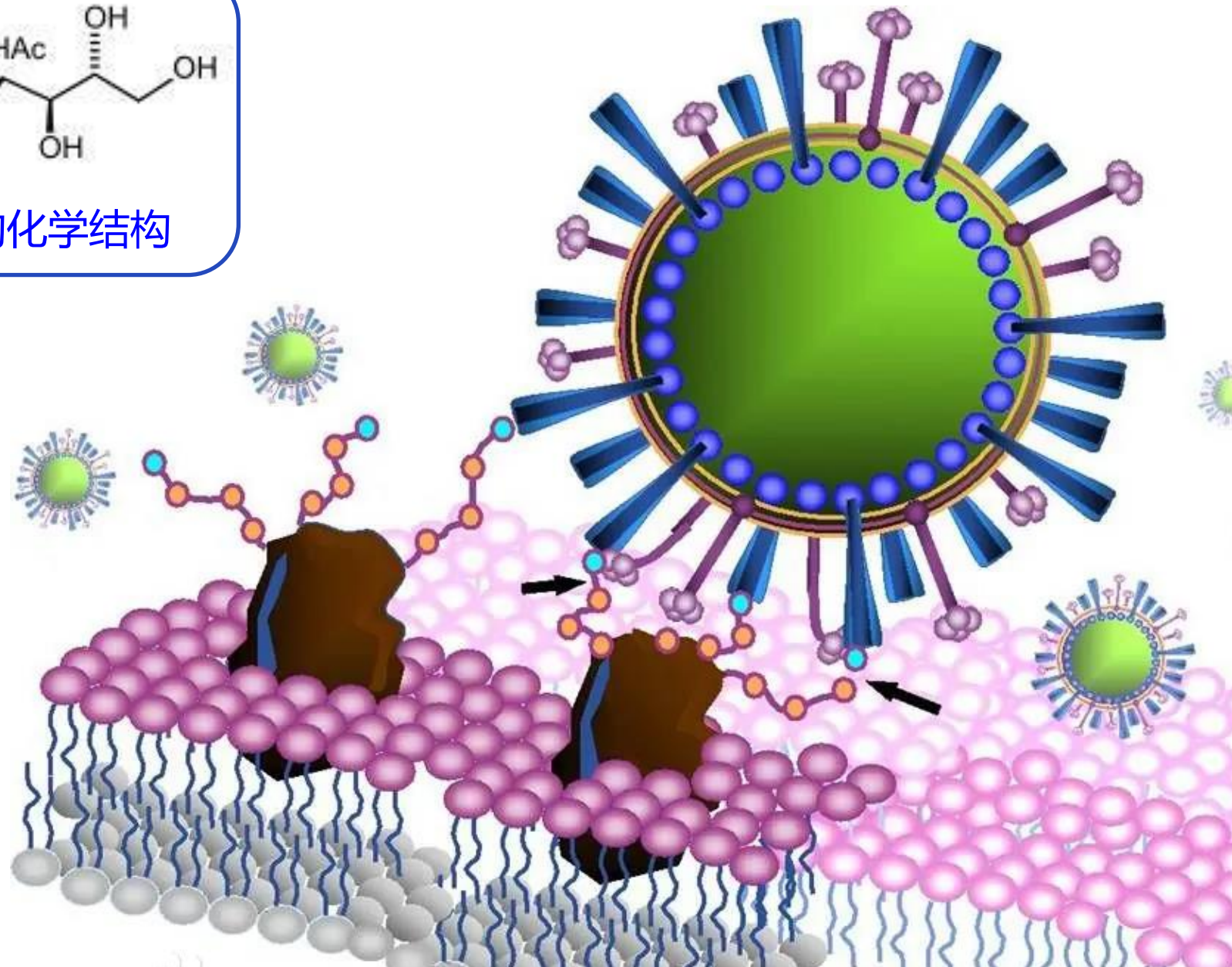
例3



- **oseltamivir carboxylate** — a competitive inhibitor of influenza neuraminidase.
- Neuraminidase (神经氨酸酶) catalyzes the hydrolysis of neuraminic acid (sialic acid, 唾液酸) from glycoprotein to help the viral particles escape from the host cell surface.
- $K_i < 1$  **nM**,  $K_m$  is in the  **$\mu$ M** range.
- Anti-influenza drug

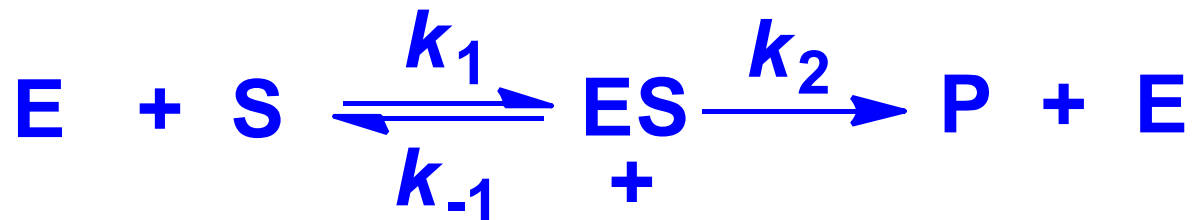


唾液酸的化学结构



## B. 反竞争性抑制(Uncompetitive inhibition)

- 抑制剂不能与自由酶结合，只能与ES可逆结合。
- 影响酶的催化功能，而非酶与底物的结合。
- 增加底物并不能逆转抑制剂的影响。
- 多发生在多底物酶促反应。

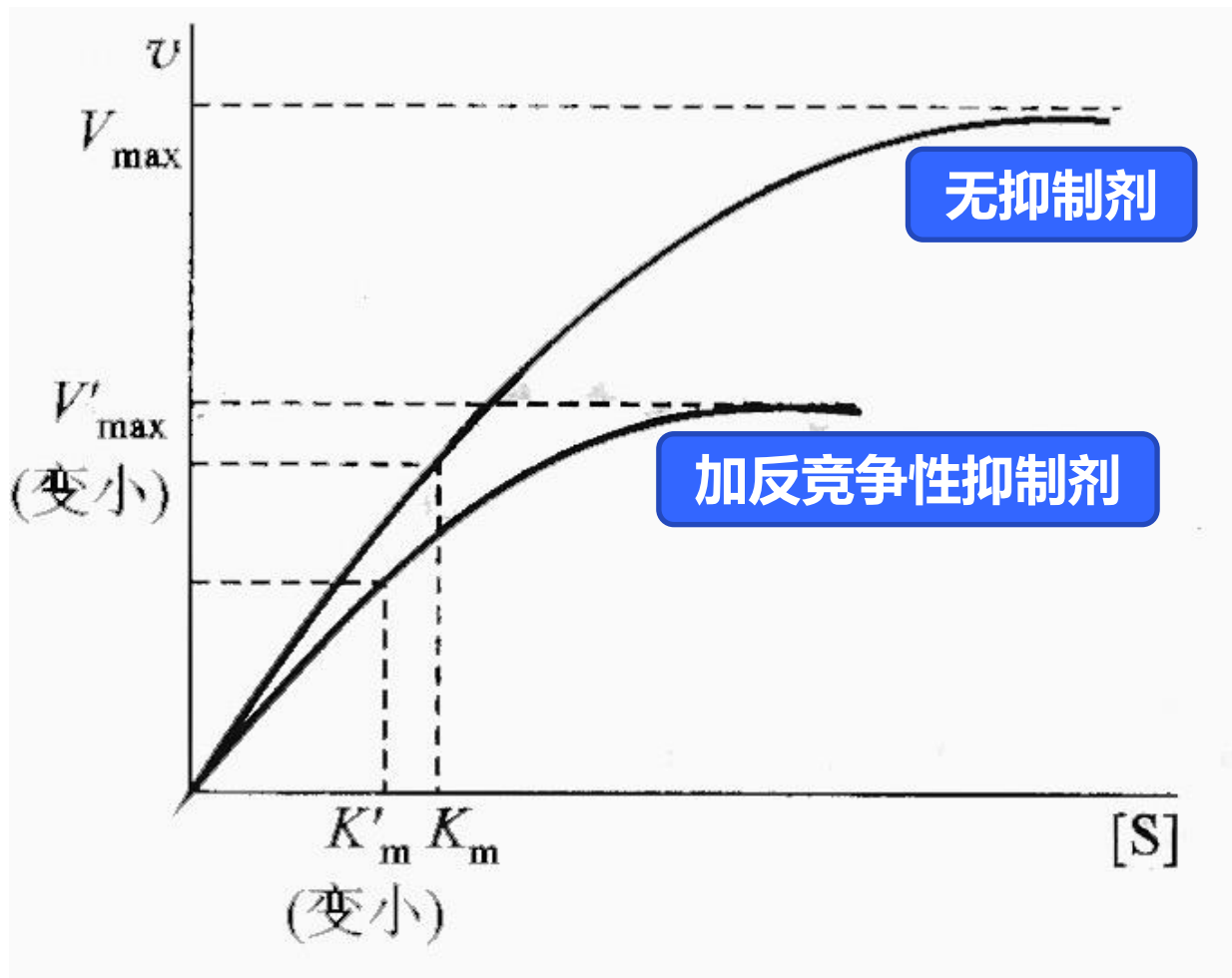


$\text{ESI} \rightarrow \text{NO REACTION}$

有它  
我才行

## B. 反竞争性抑制

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + \alpha' [S]}$$



$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_i'}$$

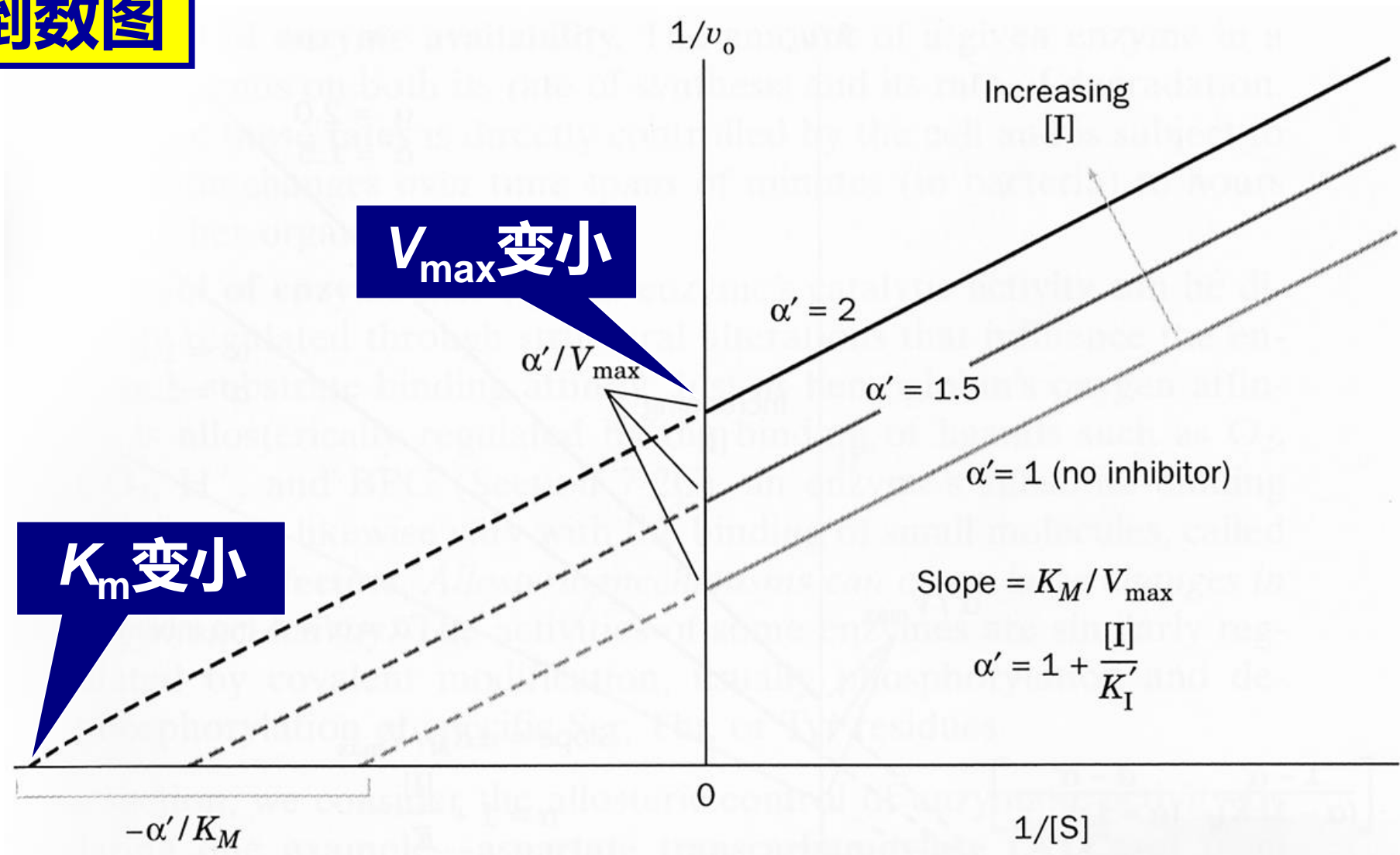
$$K_i' = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

$V_{\max}$  变小

$K_m$  变小

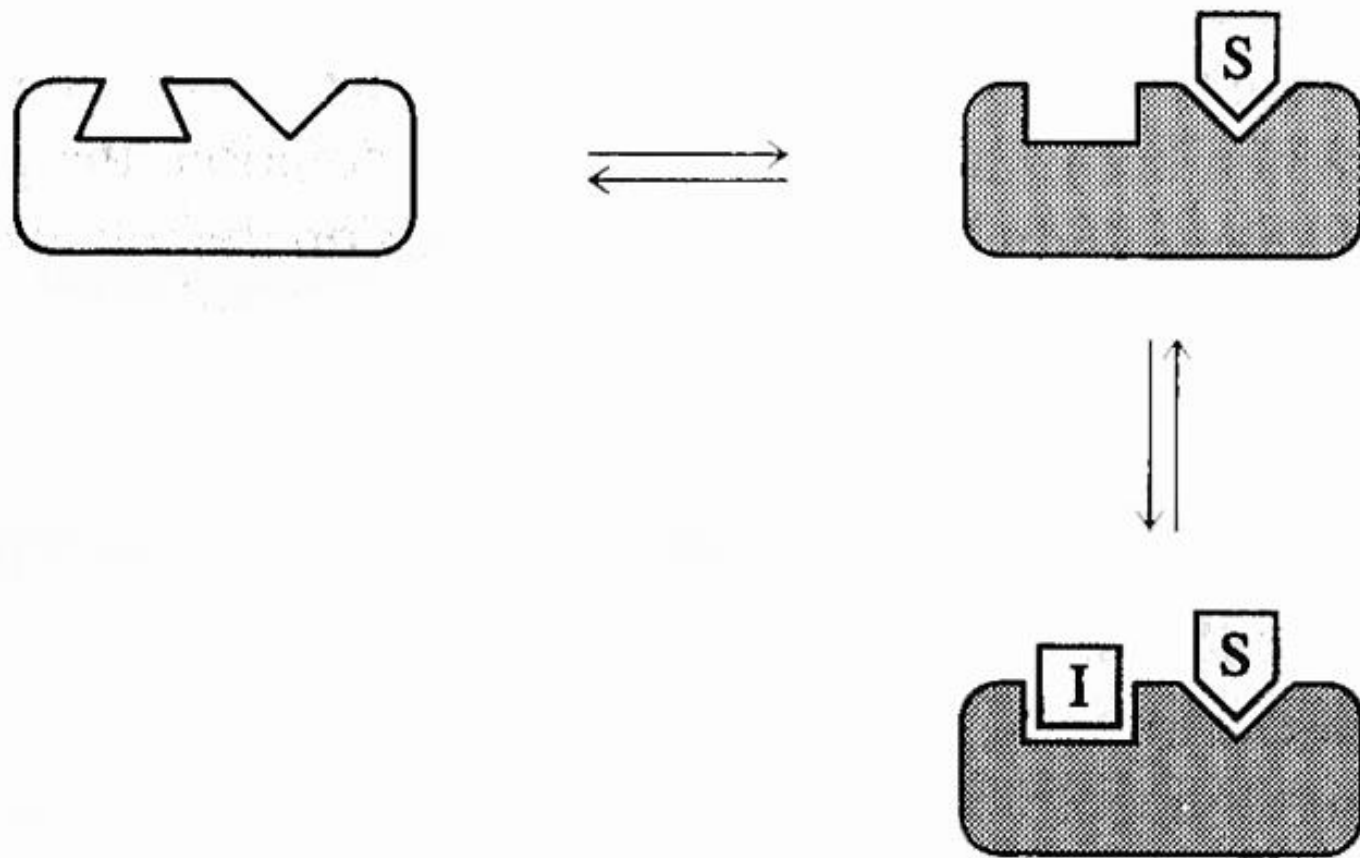
## B. 反竞争性抑制

### 双倒数图



## B. 反竞争性抑制

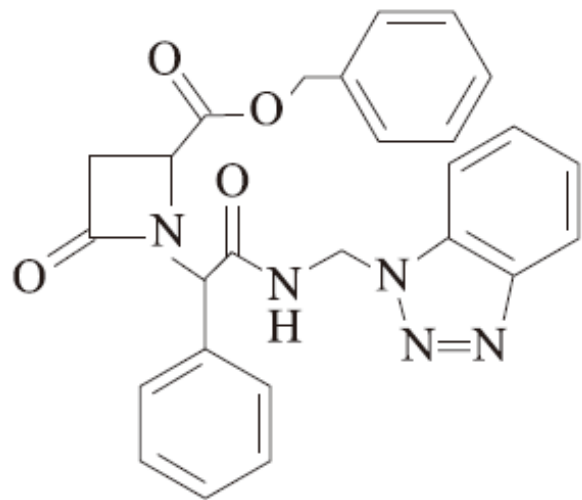
(c) Uncompetitive inhibition



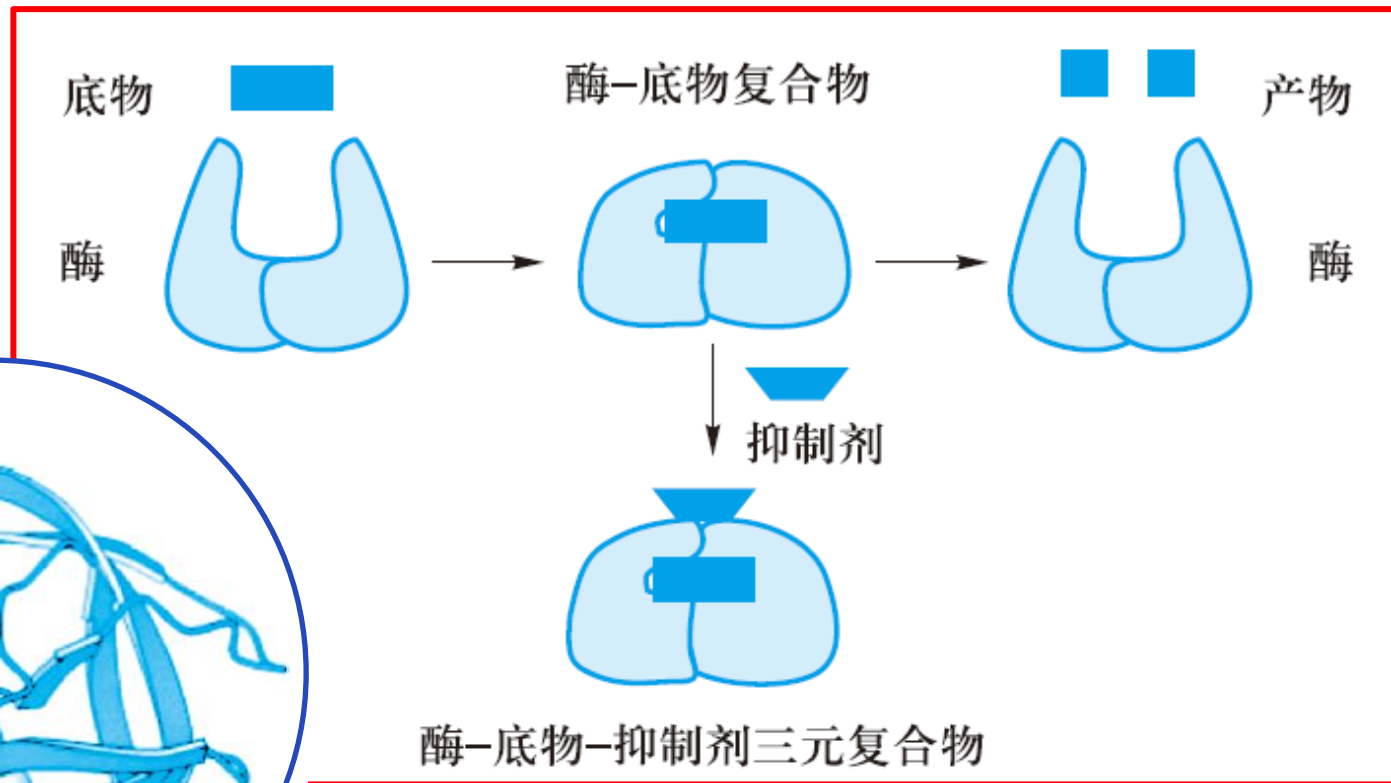
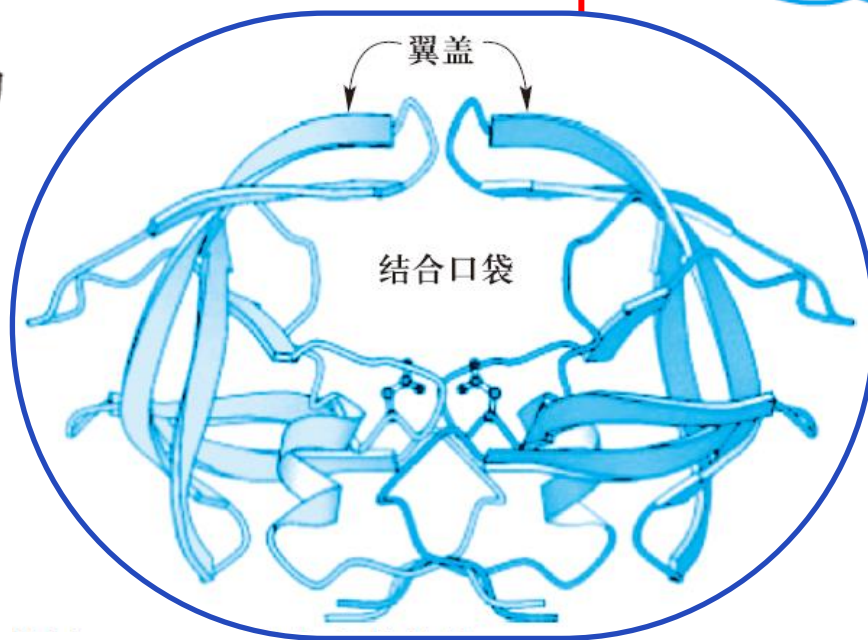


# HIV-1蛋白酶抑制剂— $\beta$ -内酰胺类化合物

例

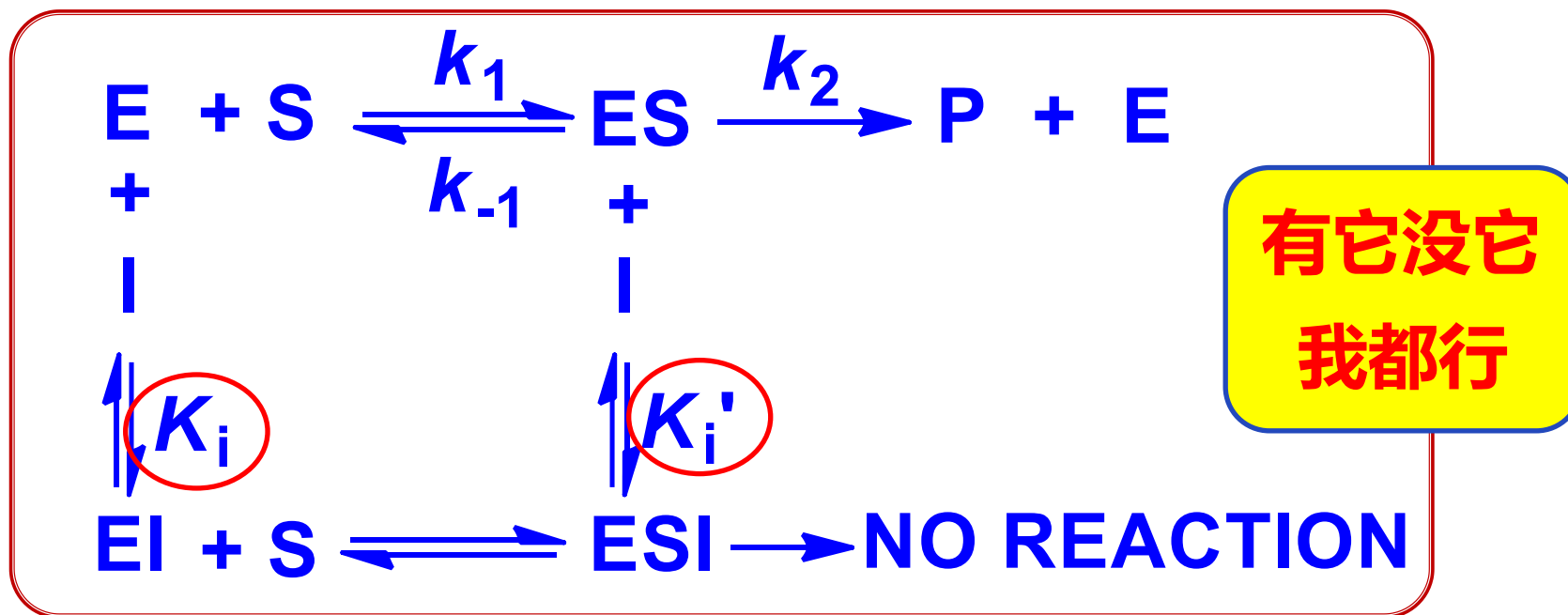


$\beta$ -内酰胺衍生物



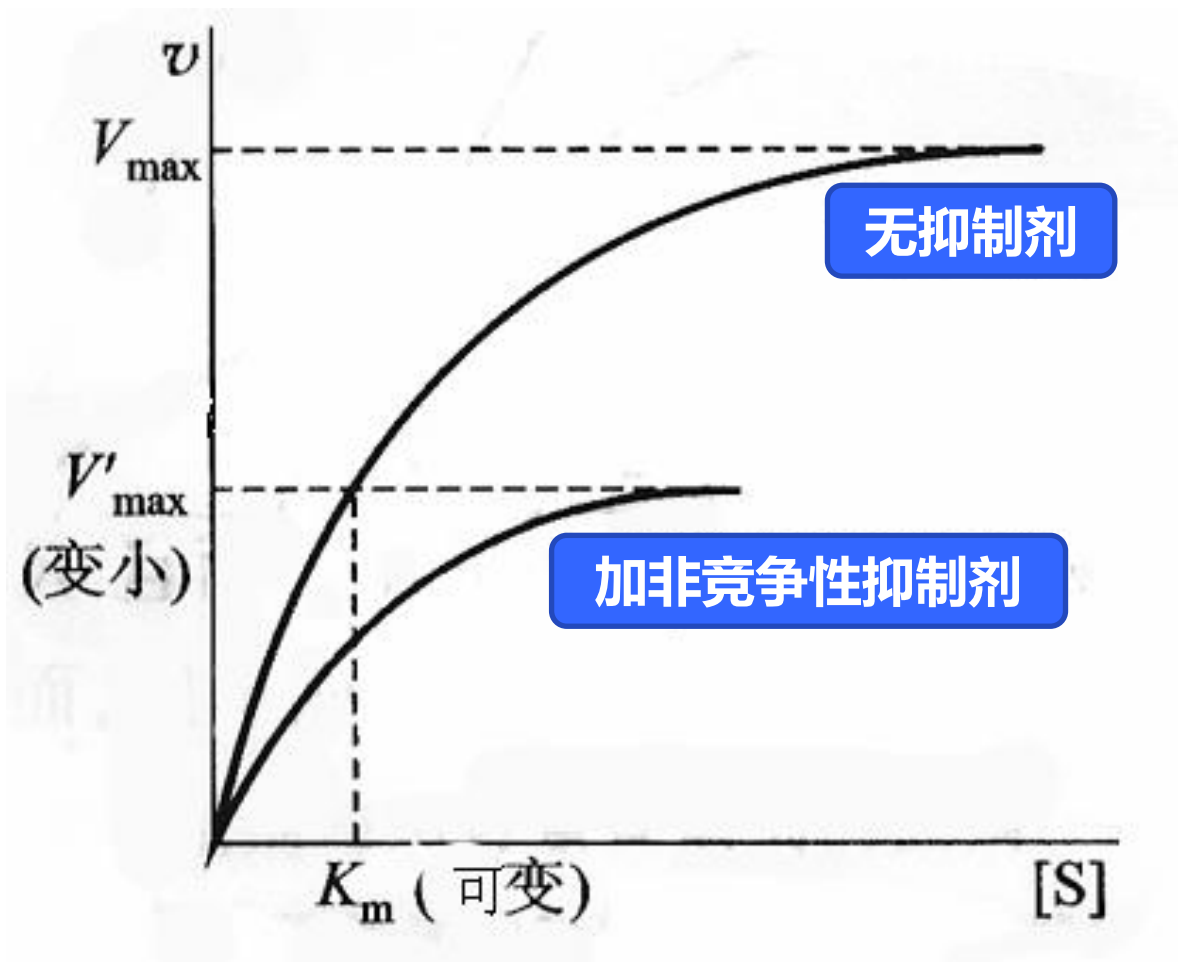
## C.非竞争性抑制(Noncompetitive inhibition)

- 酶可同时与底物及抑制剂结合，引起酶分子构象变化，导致酶活性下降。
- 抑制剂、底物与酶活性中心的结合无竞争关系。
- 又称**混合型抑制剂** (mixed inhibition)





## C. 非竞争性抑制



$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + \alpha' [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K_i'}$$

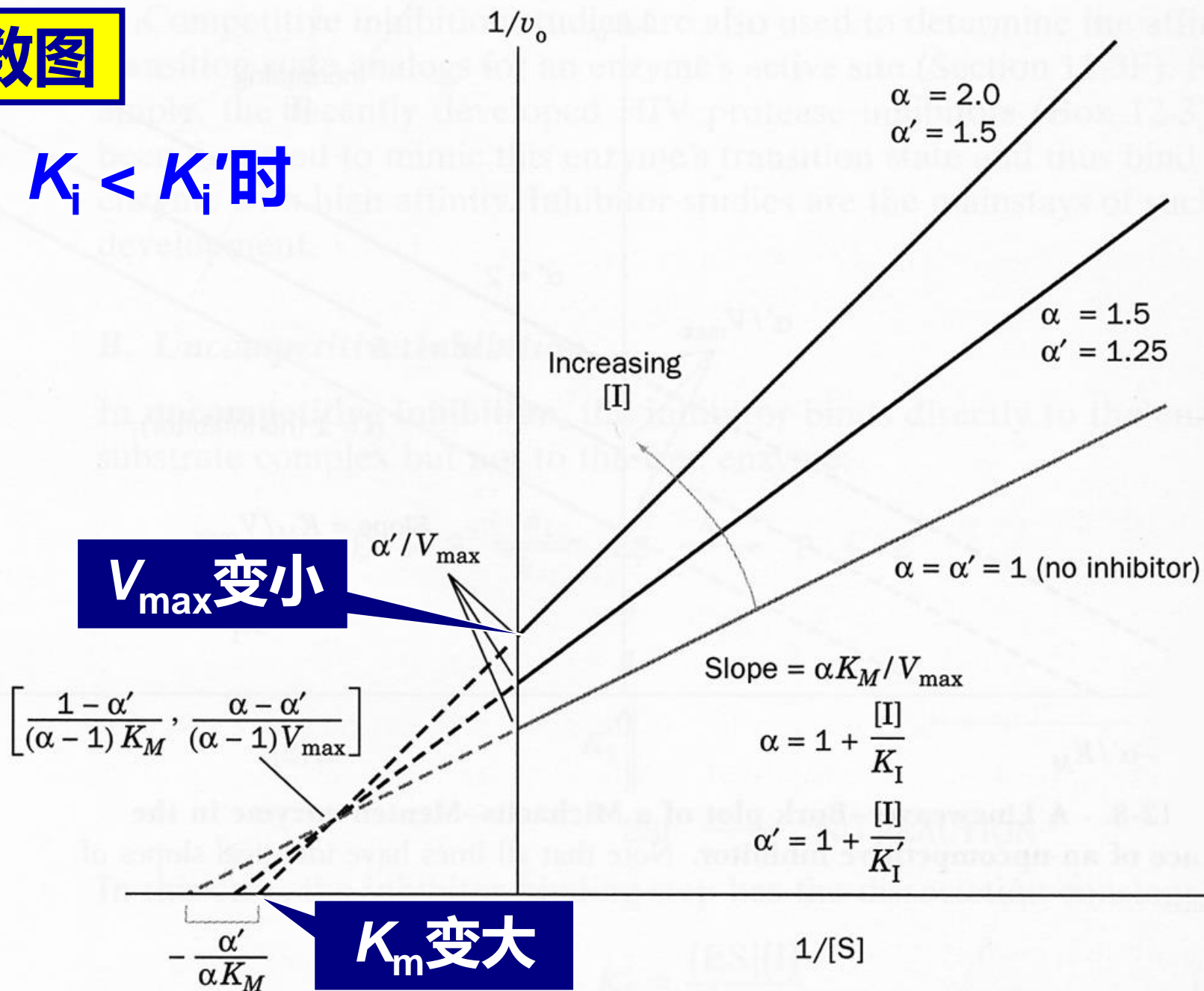
$V_{\max}$  变小

$K_m$  可变 ( $K_i \neq K_i'$ )

不变 ( $K_i = K_i'$ )

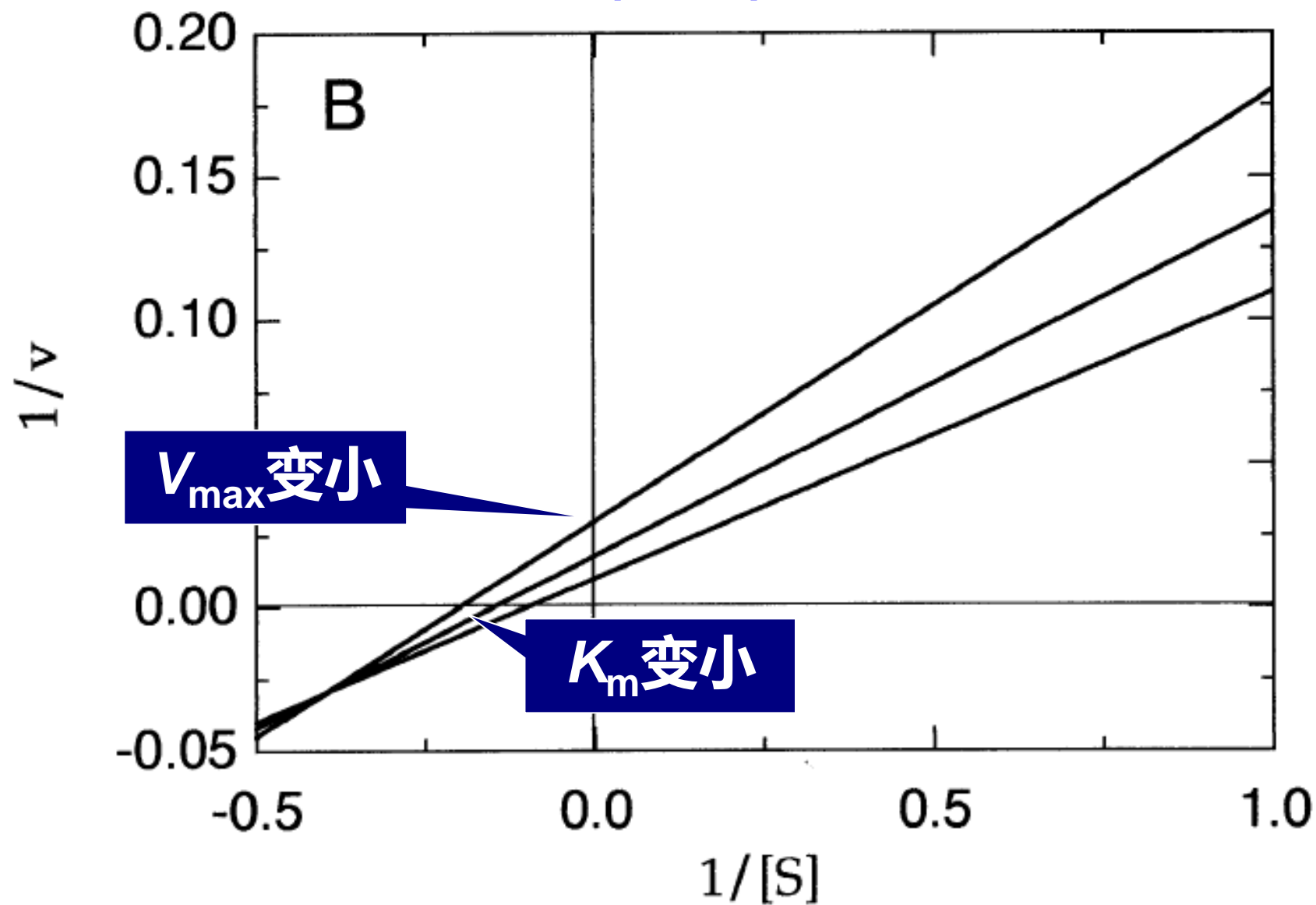
## 双倒数图

$K_i < K_i'$  时



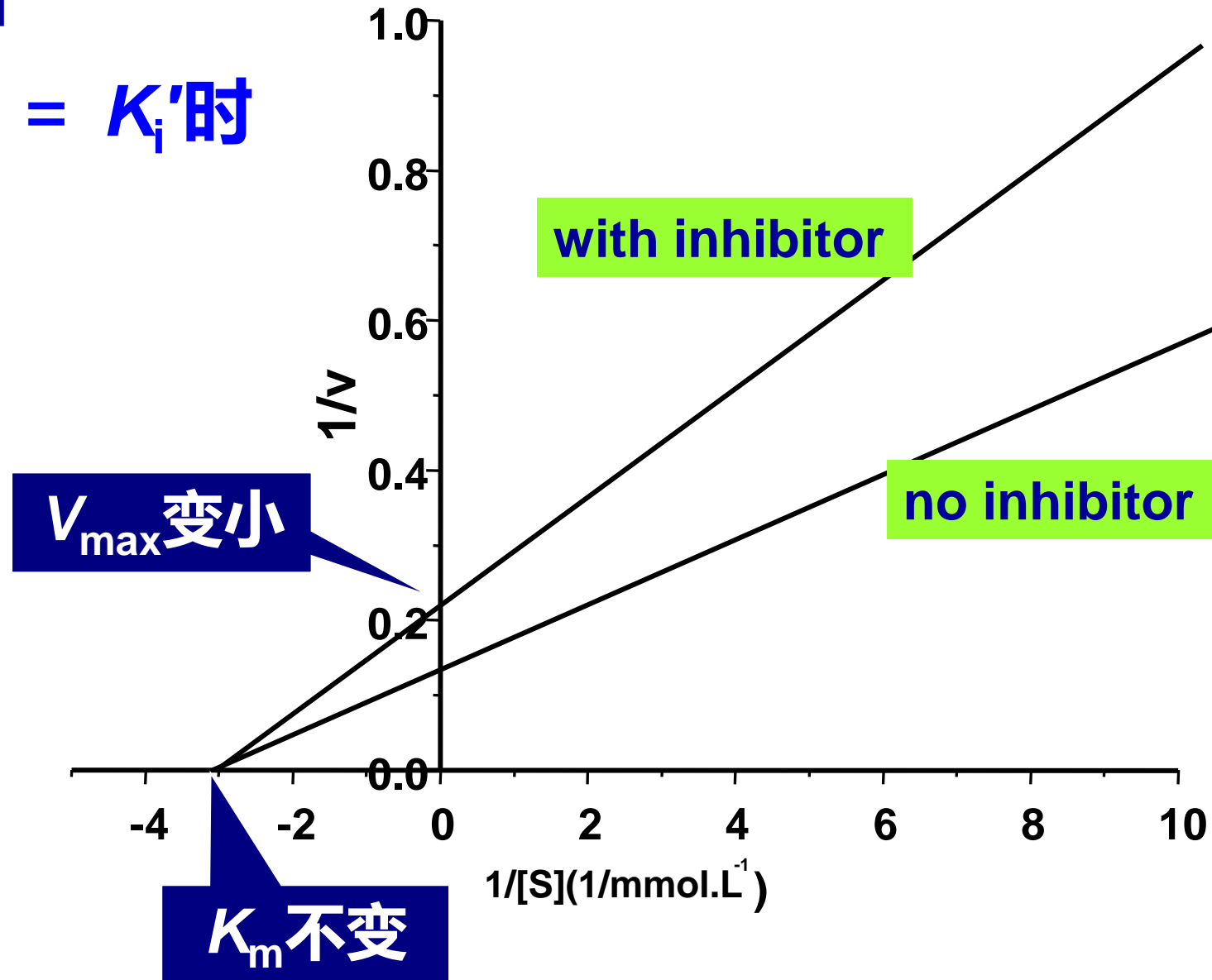
## 双倒数图

$K_i > K_i'$  时



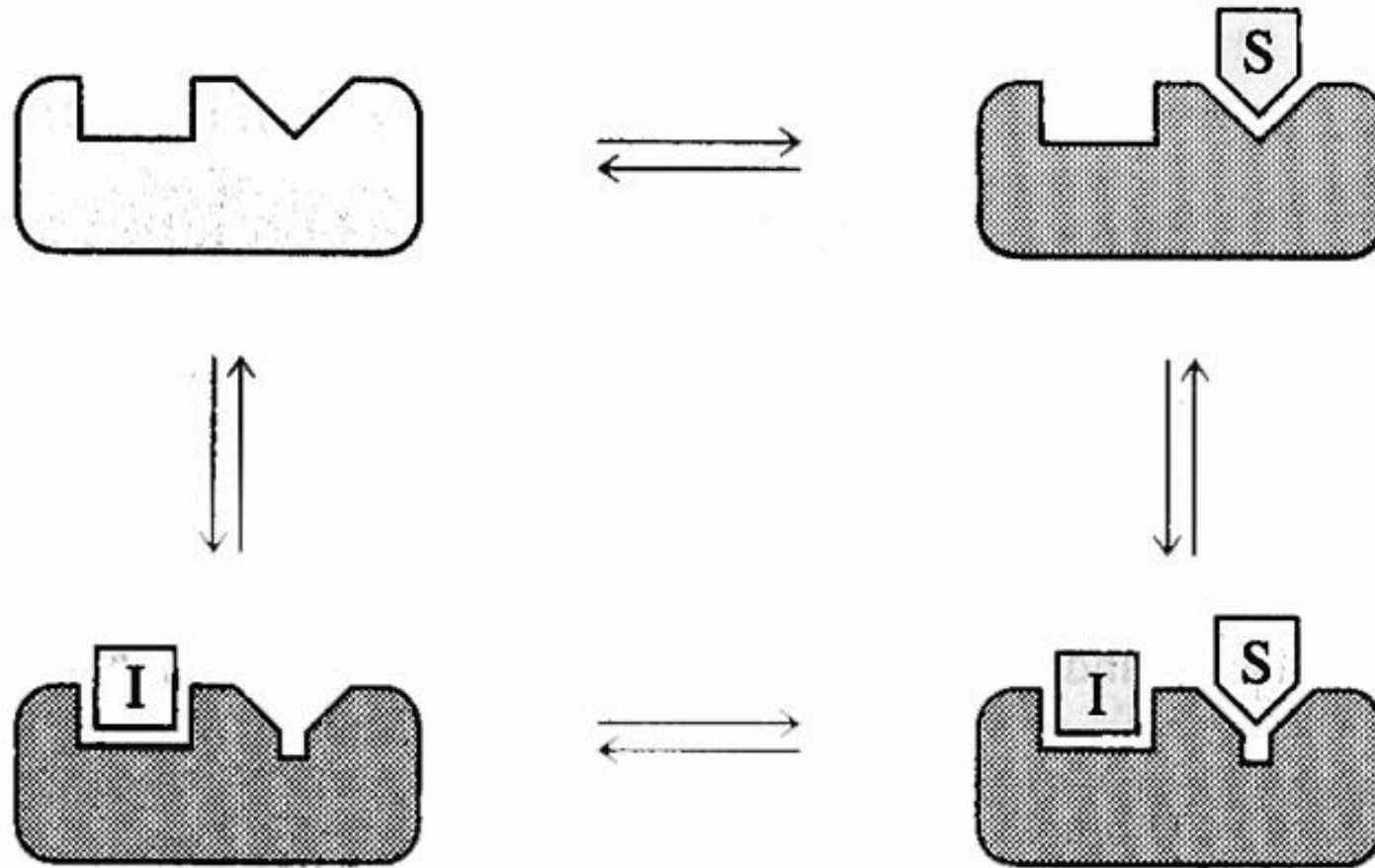
## 双倒数图

$K_i = K_i'$ 时

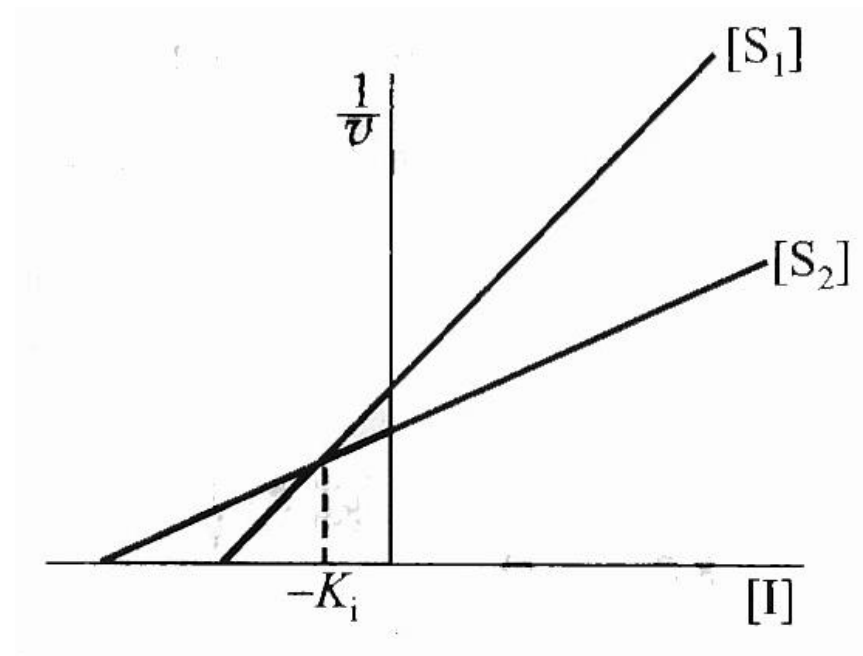
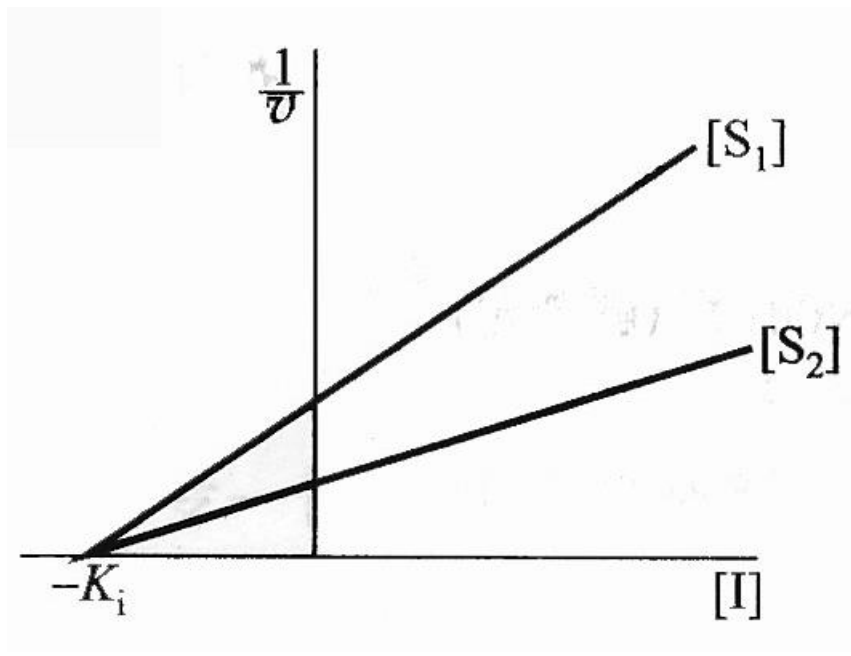


## C. 非竞争性抑制

(d) Noncompetitive inhibition



# Dixon作图法求 $K_i$



- $[I]$ 为横坐标， $1/v$ 为纵坐标
- 一个以上的 $[S]$ ，得一条以上直线
- 交点可求得 $K_i$

# 四、酶的结构及催化作用机制

## 1. 酶分子的结构特点

- 酶分子结构是酶功能的基础。
- 酶的高效和专一，均由其结构特殊性所决定。
- 酶蛋白的结构比一般结构性蛋白复杂得多。
- 酶的特殊催化活性，不仅取决于其一级结构，而且取决于其高级结构。

# 1. 酶分子的结构特点

- **酶的活性部位** (active site) : 酶分子中能同底物结合并起催化作用的空间部位。
- **酶活性部位的主要特征:**
  1. 占据的空间相对酶整个体积来说很小; ?
  2. 具有特征三维空间结构;
  3. 结合底物的特异性取决于活性部位中精确的原子排列 (特征三维结构);
  4. 大多数底物都是通过相对弱的力与酶结合。



# 1. 酶分子的结构特点

## ● 酶活性部位的主要特征：

5. 常含有与底物结合并发生催化作用的氨基酸残基，如His, Ser, Lys, Asp, Cys等。

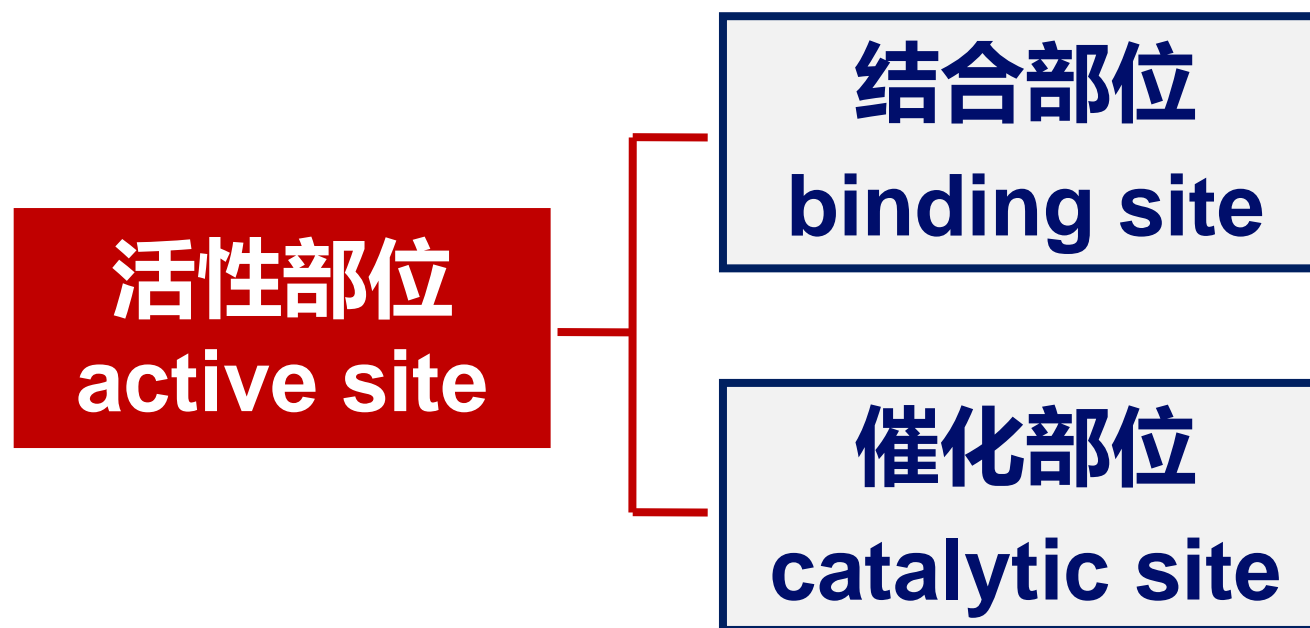
?

6. 通常位于酶蛋白的两个结构域或亚基之间的裂隙（clefts 或 crevices），或位于蛋白质表面的凹槽，是相当疏水的区域（疏水微环境）。

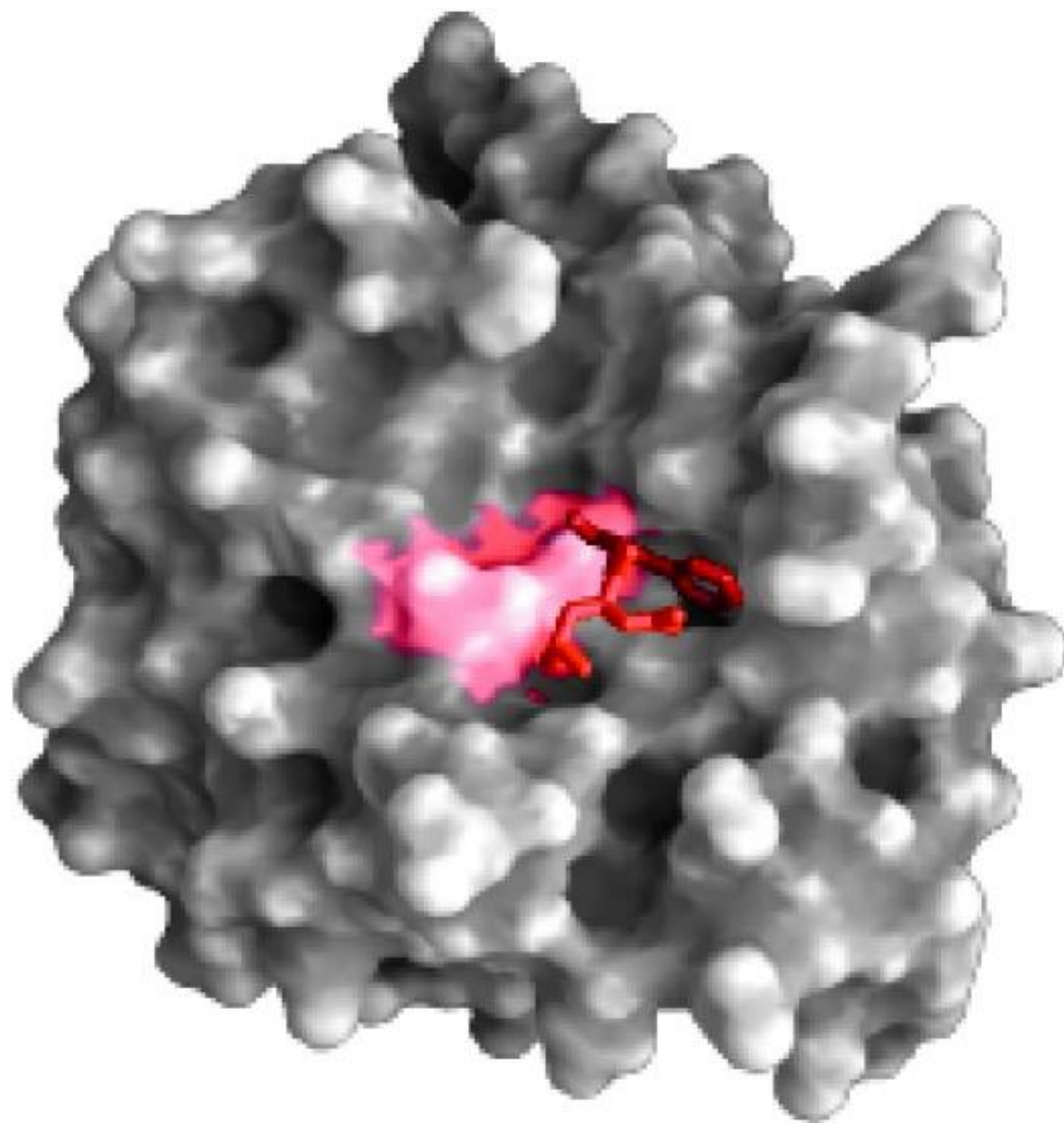
# 1. 酶分子的结构特点

## ◆ 酶活性部位的主要特征：

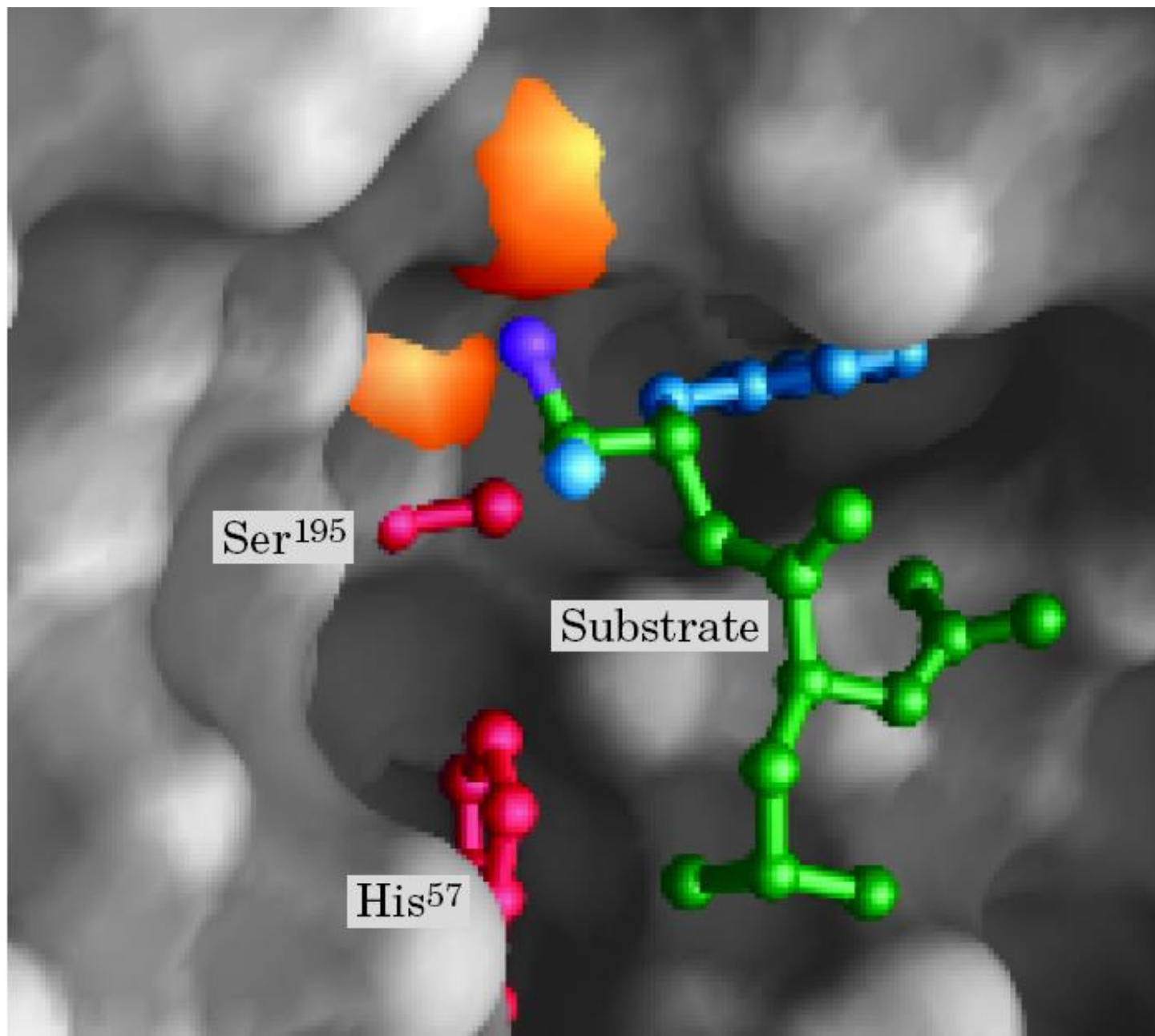
### 7. 活性部位分为：



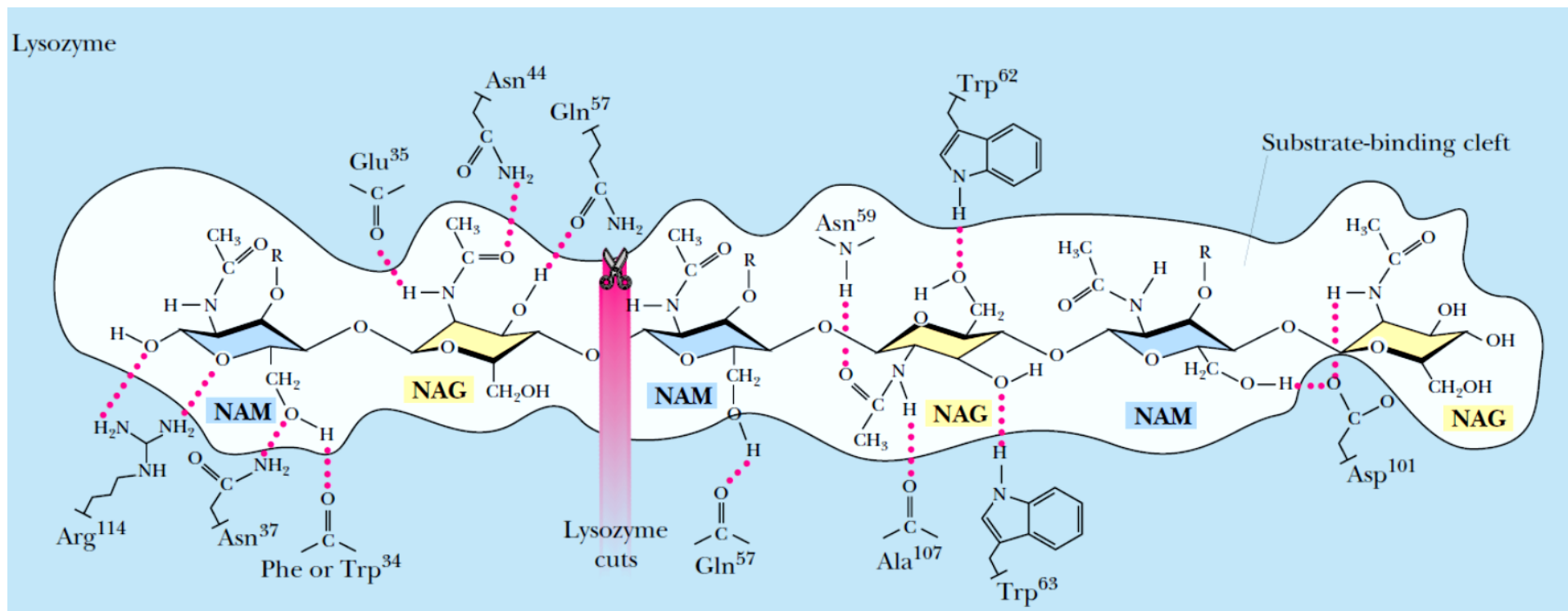
# 糜蛋白酶活性部位



## 糜蛋白酶的活性部位

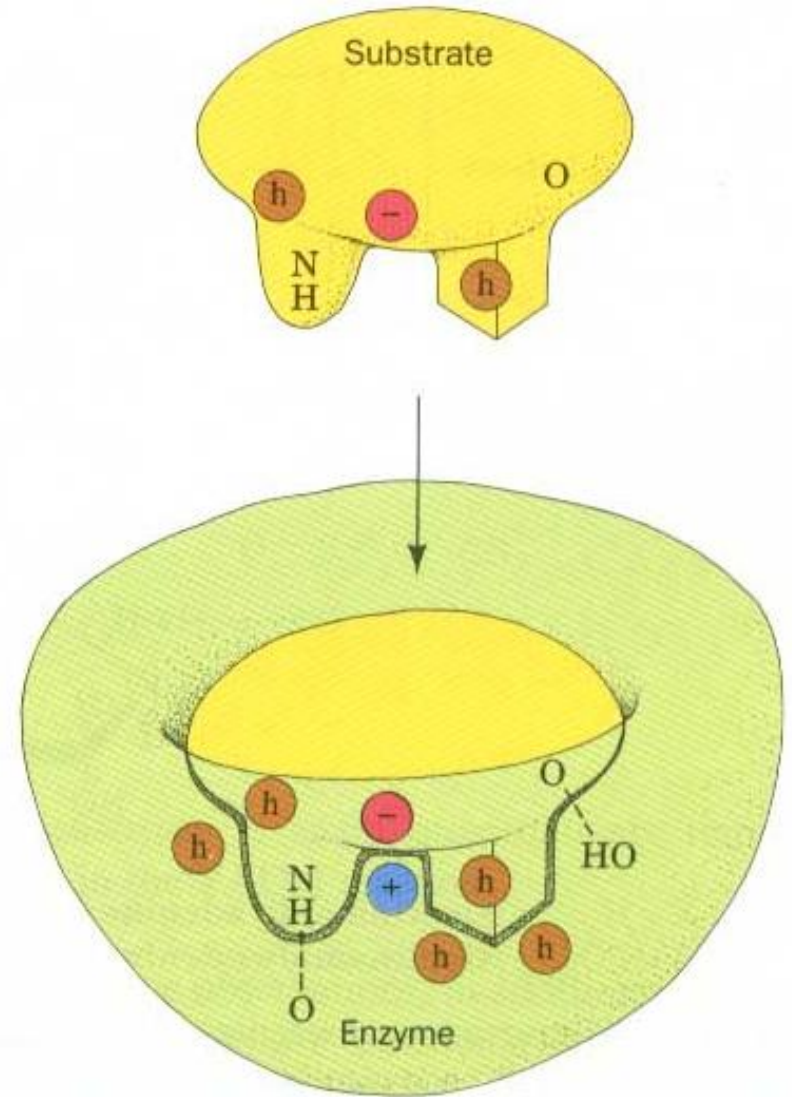


# 溶菌酶 (lysozyme) 的活性部位



## (1) 结合部位 (binding site)

- **定义：** 酶分子中与底物结合的部位或区域。
- **作用：** 固定底物，使参加化学变化的基团相互接近并定向。



## (2) 催化部位 (catalytic site)

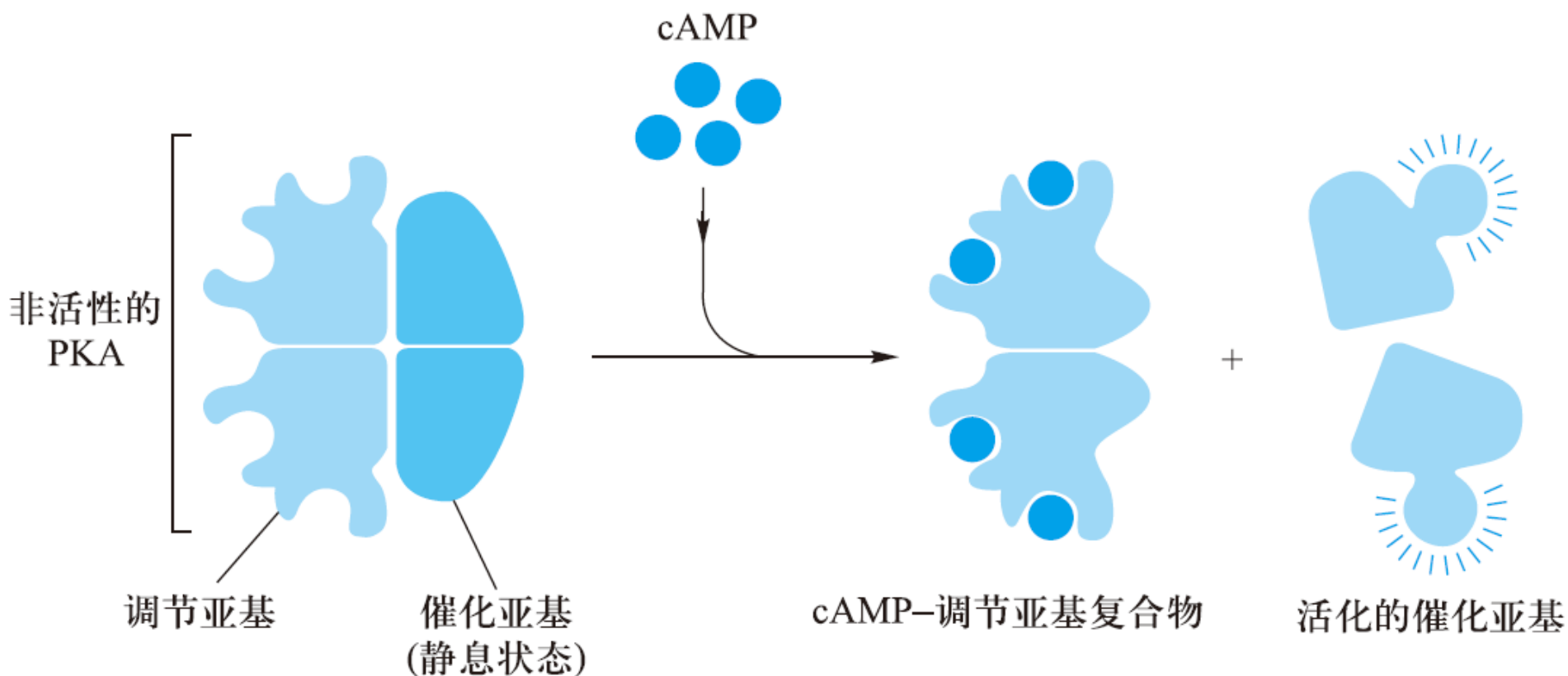
- **定义：** 酶分子中促使底物发生化学变化的部位。
- **作用：** 使底物的价键发生形变或极化，激活底物或稳定过渡态。
- **讨论：** 与辅酶的关系？

→ 结合部位决定酶的专一性。

→ 催化部位决定酶所催化反应的性质。

### (3) 调控部位 (regulatory site)

- 一些酶除存在活性部位外，还存在调控部位。
- **调控部位**：可与底物以外的其他分子结合、进而引起酶分子构象变化，导致酶活性改变的部位。



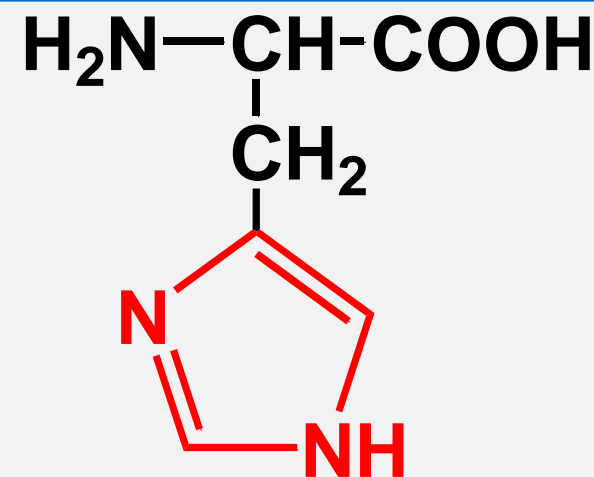
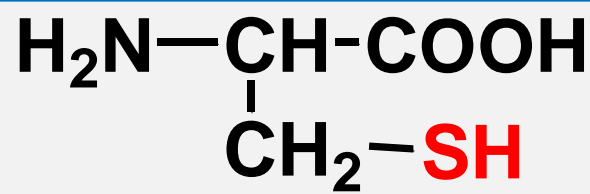
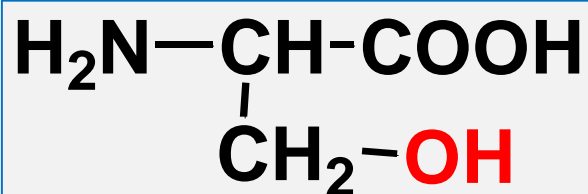


# 1. 酶分子的结构特点

## (4) 酶活性部位的必需基团

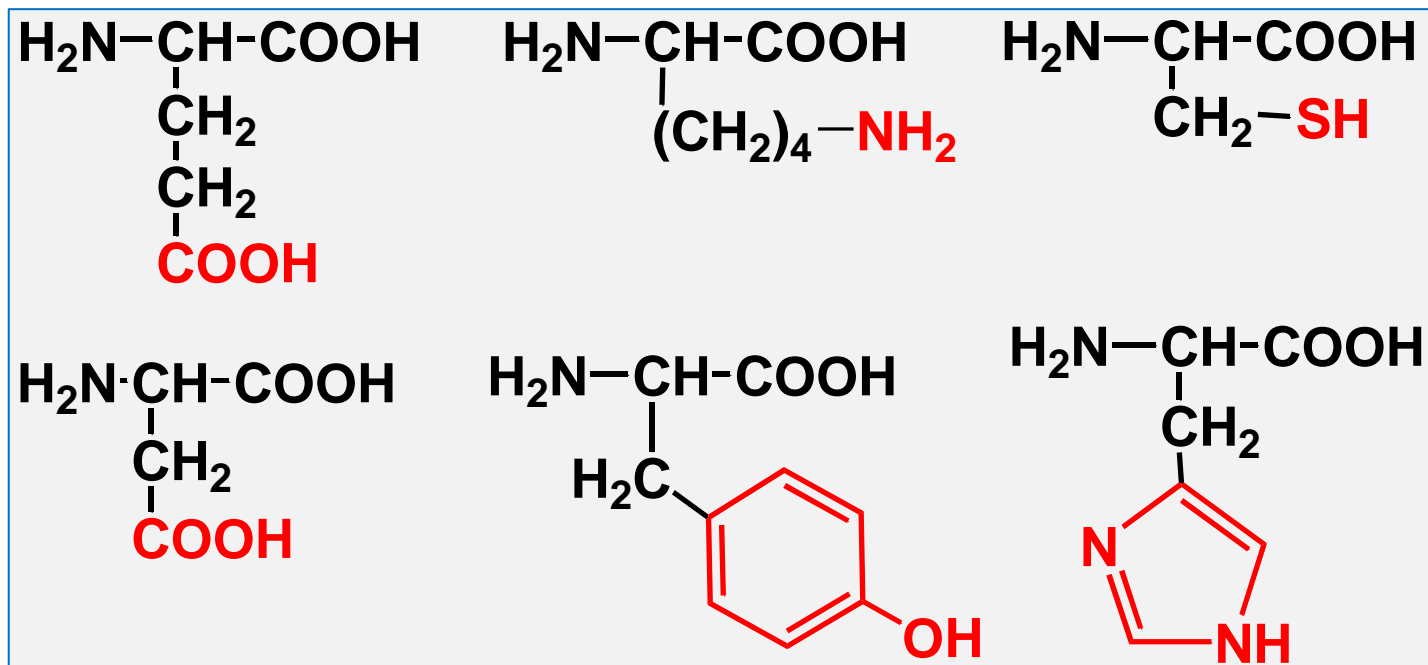
### ① 亲核性基团

◆ 丝氨酸的羟基，半胱氨酸的巯基和组氨酸的咪唑基。



## ② 酸碱基团

- ◆ 门冬氨酸的羧基
- ◆ 谷氨酸的羧基
- ◆ 赖氨酸的氨基
- ◆ 精氨酸的胍基
- ◆ 丝氨酸的羟基
- ◆ 酪氨酸的酚羟基
- ◆ 组氨酸的咪唑基
- ◆ 半胱氨酸的巯基



# 四、酶的结构及催化作用机制

## 1. 酶分子的结构特点

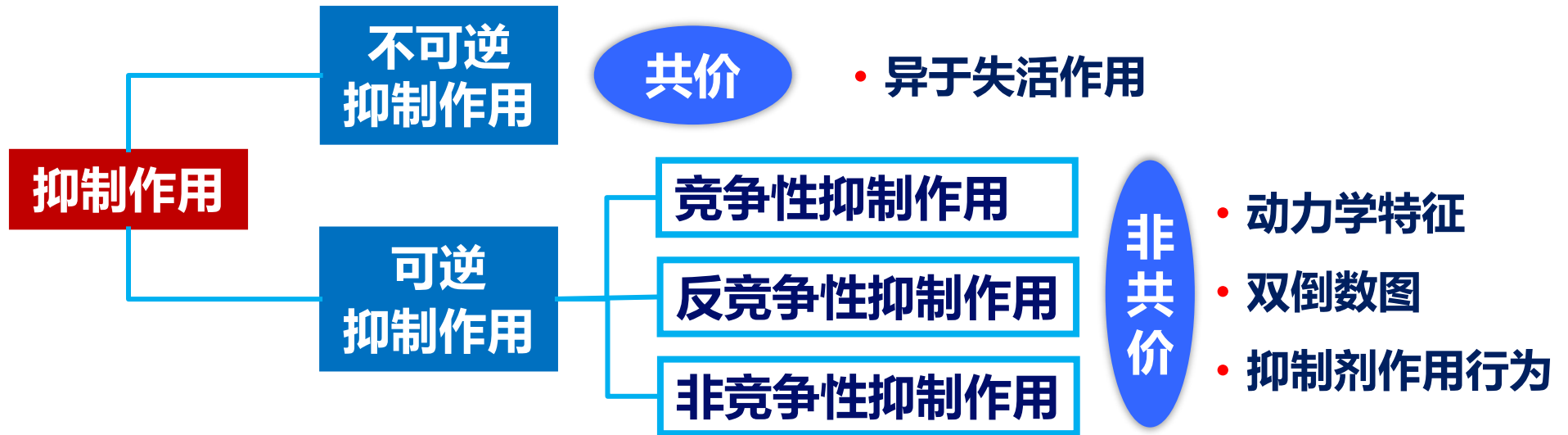
### (5) 酶活性部位的测定（自学）

- 切除法
- 化学修饰法
- 动力学参数测定法
- X-ray单晶衍射法
- 基因定点突变技术

# 本次课主要内容总结

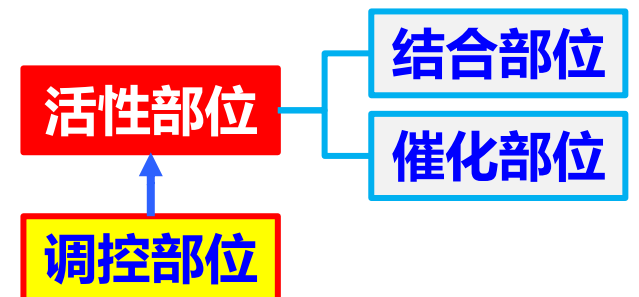
## 三. 酶促反应动力学 (重点)

### 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



# 预习内容

## 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

本周四不上课

下周一（10.23）翻转课堂

- 1-6组同学出题和答案，周六（10.21）中午12点前提交
- 1-6组同学按安排做好辩论各项准备
- 其他小组同学做好回答问题各项准备

相关资料见  
课堂派