

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)

上次课主要内容回顾

二. 维生素与辅酶

2. 维生素的概念

定义

来源

毒性

3. 维生素的主要功能

物质代谢

与辅酶的关系

4. 辅酶 — 有机小分子类辅因子

定义

功能

5. 维生素分类

水溶性维生素

脂溶性维生素

6. 水溶性维生素各论

硫胺素

核黄素

烟酸及烟酰胺

泛酸

吡哆素

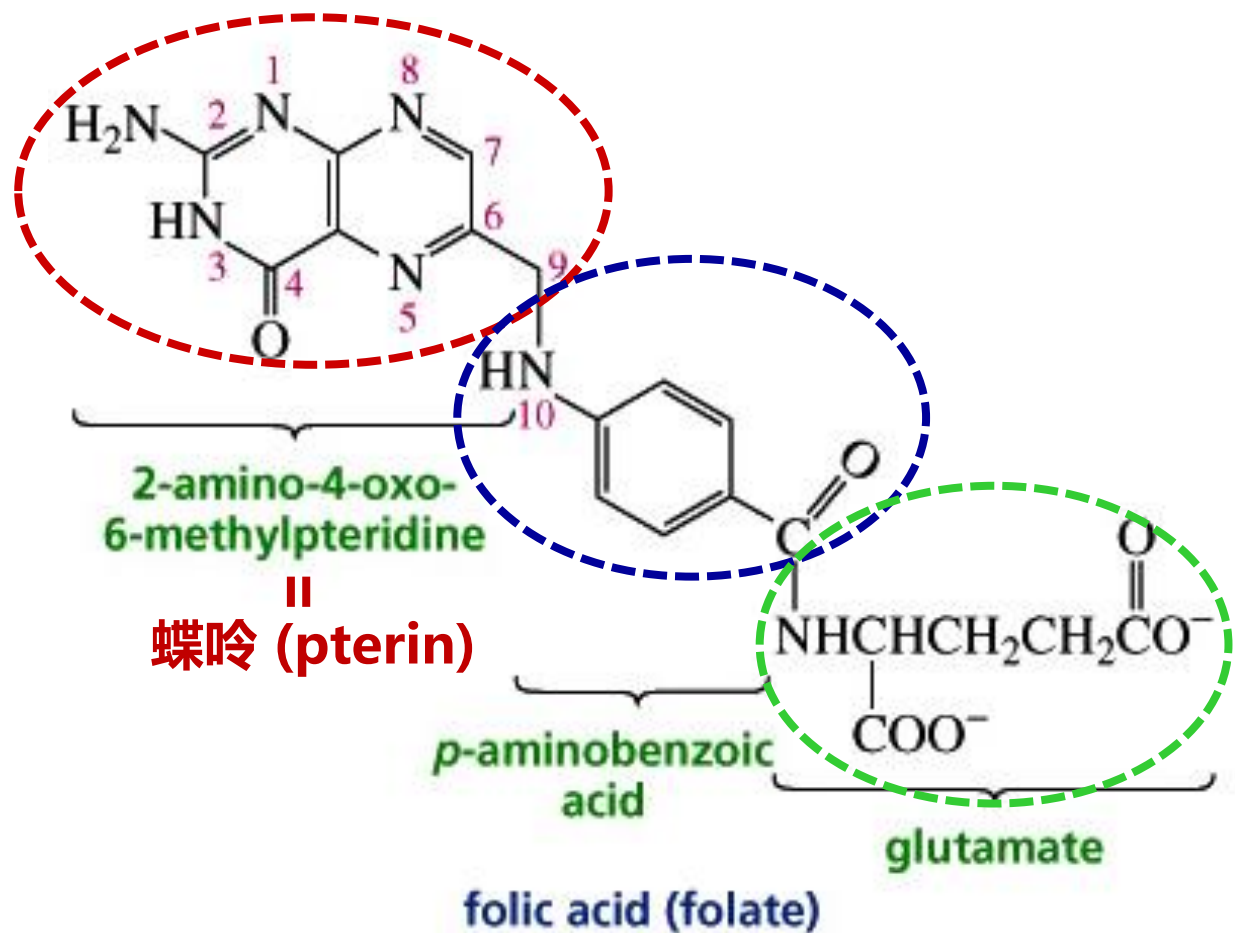
生物素

6. 水溶性维生素各论

(7) 叶酸

■ 化学结构、性质

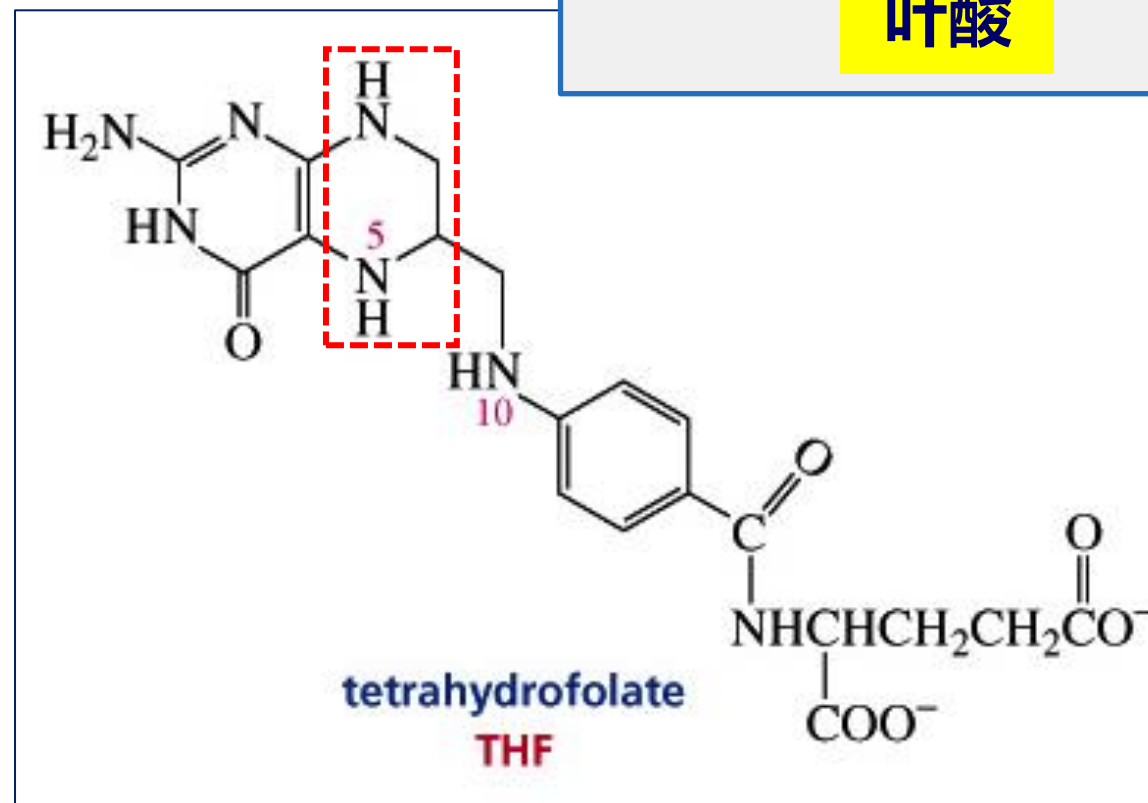
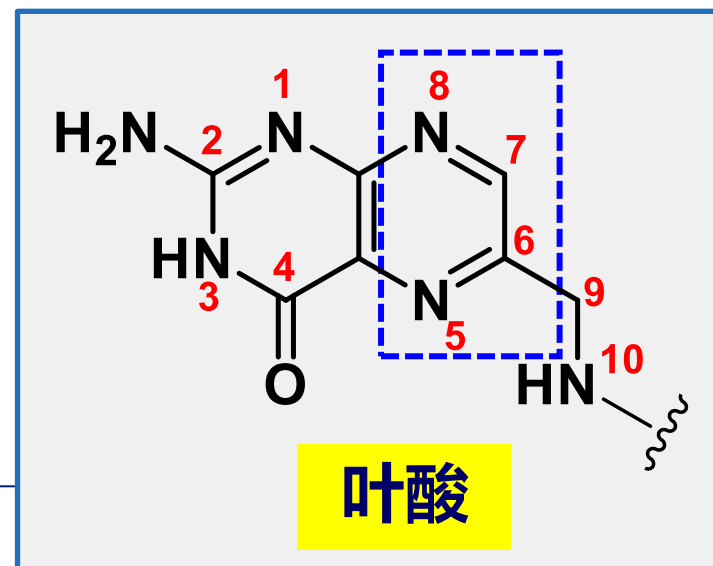
- ✓ folic acid
- ✓ 浅黄色结晶，微溶于水。水溶液中遇光易被破坏。
- ✓ UV特征吸收：
 $\lambda_{\max} = 260 \text{ nm}$



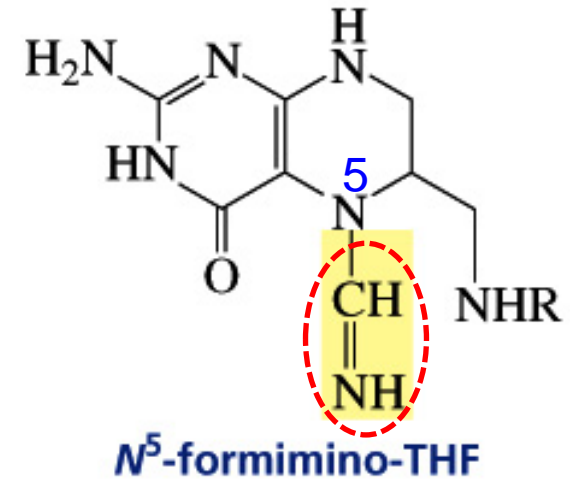
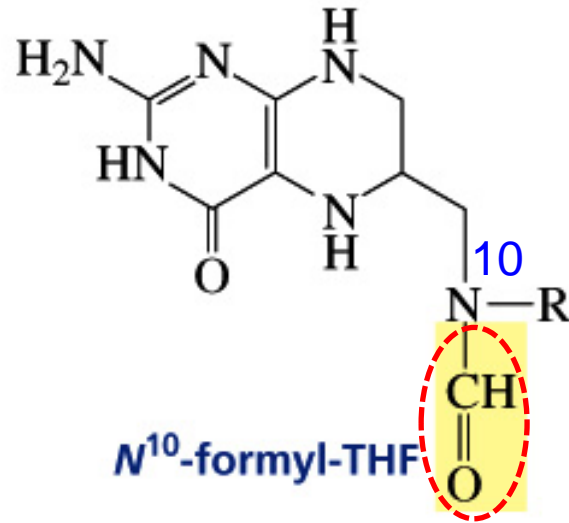
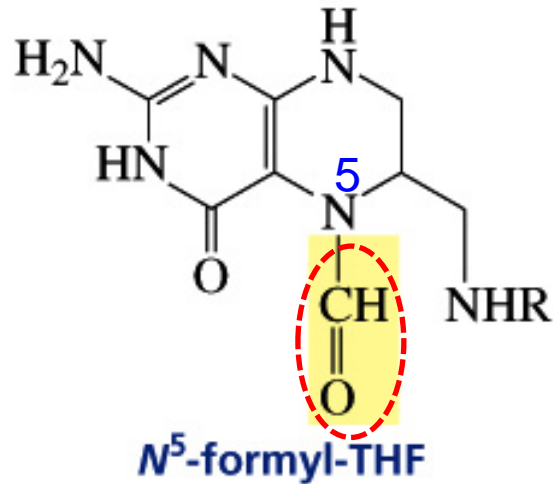
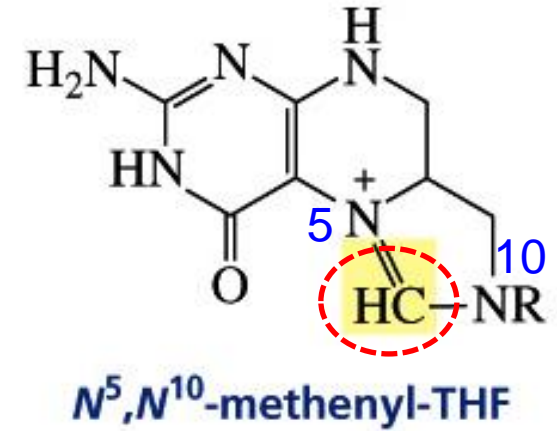
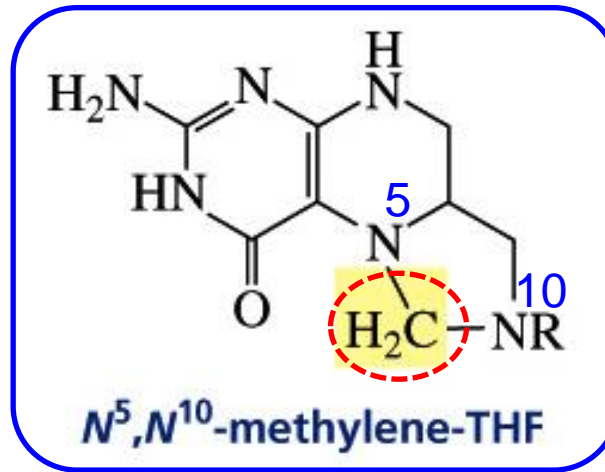
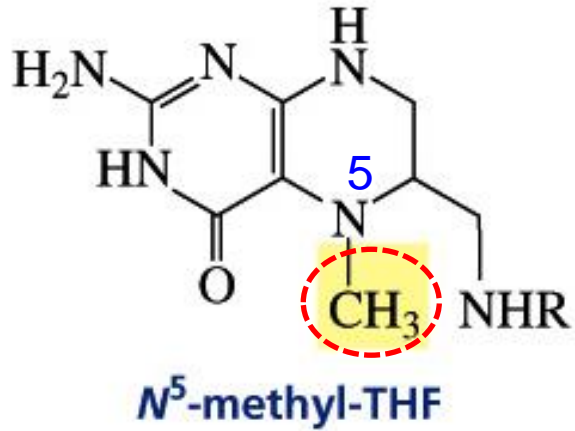
(7) 叶酸

■ 生理功能

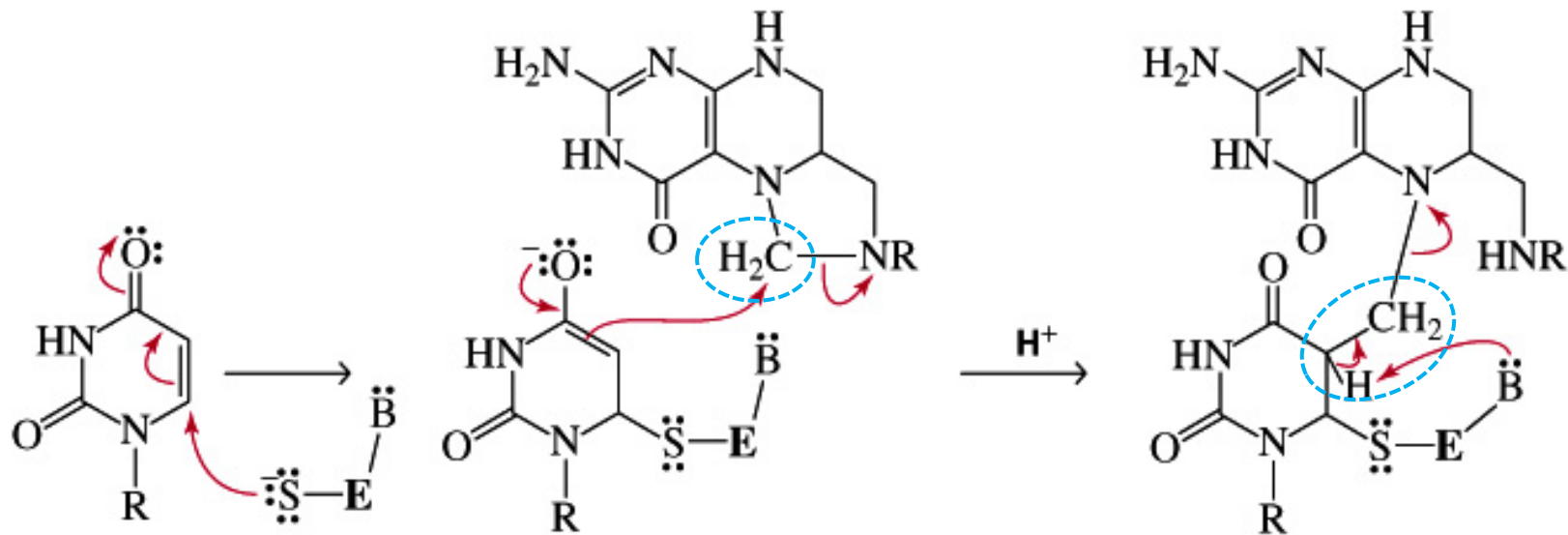
- ✓ 合成酶辅酶THFA (四氢叶酸)的前体。
- ✓ THFA: 一碳基团载体 (如 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CHO}$ 等), 参与多种生物合成过程。



THFA的作用机理



mechanism for catalysis by thymidylate synthase

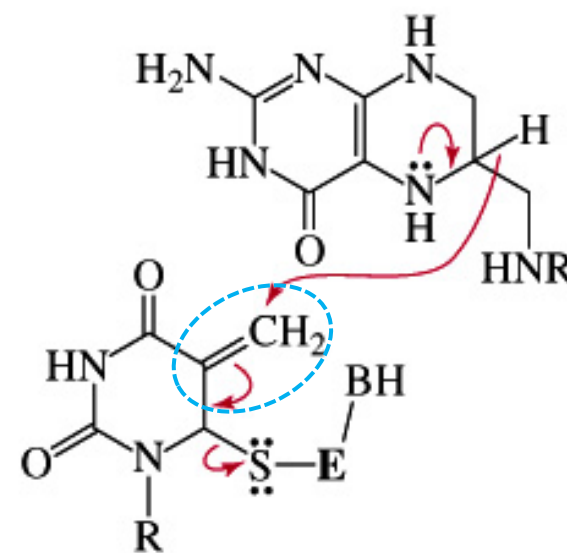
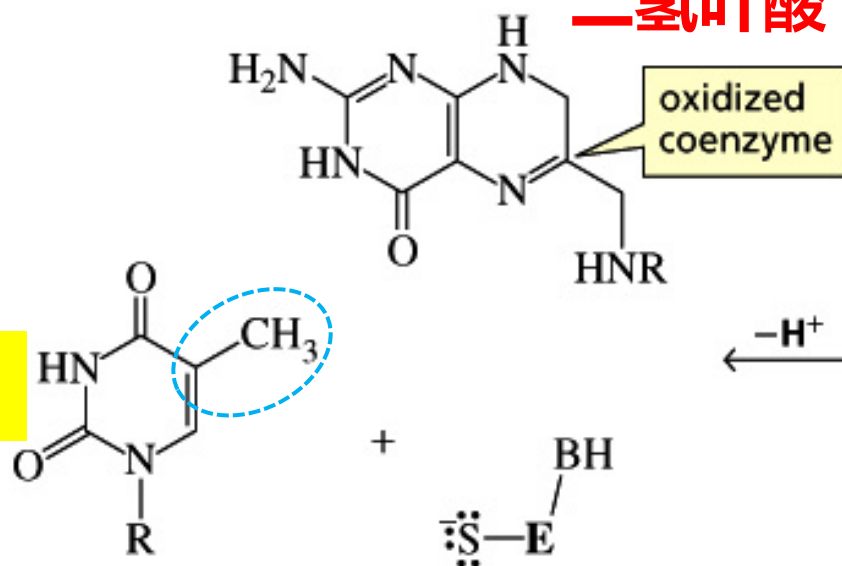


胞嘧啶

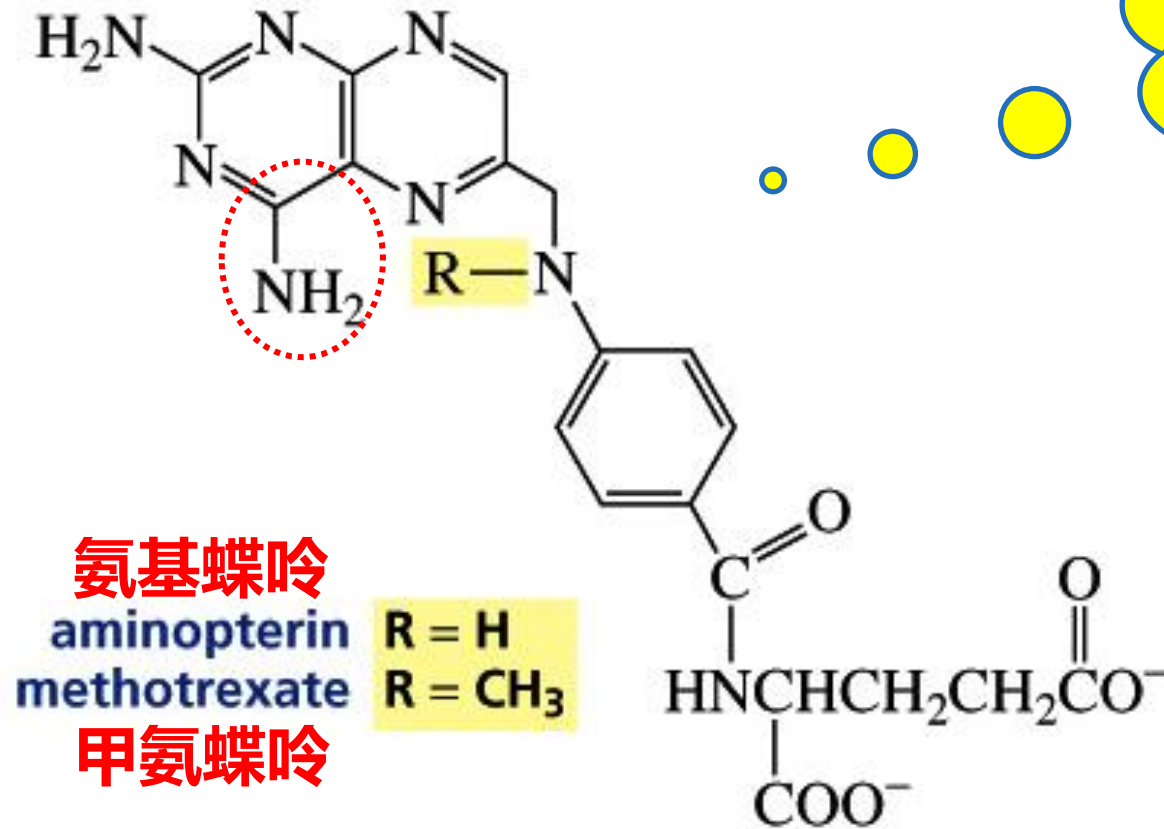
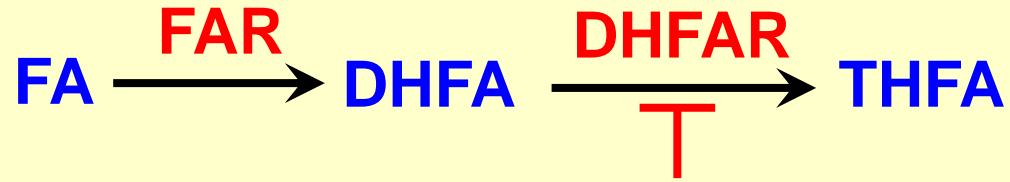
四氢叶酸

二氢叶酸

胸腺嘧啶



Anticancer Drugs



- DHFA还原酶抑制剂
- 竞争性抑制剂



你知道吗?

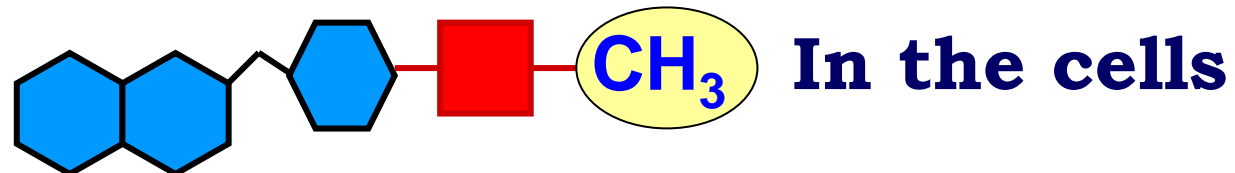
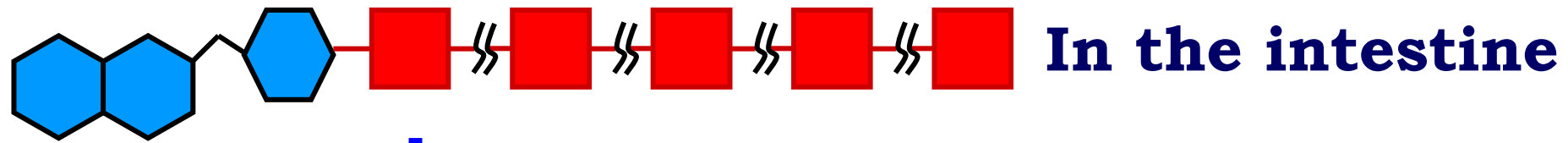
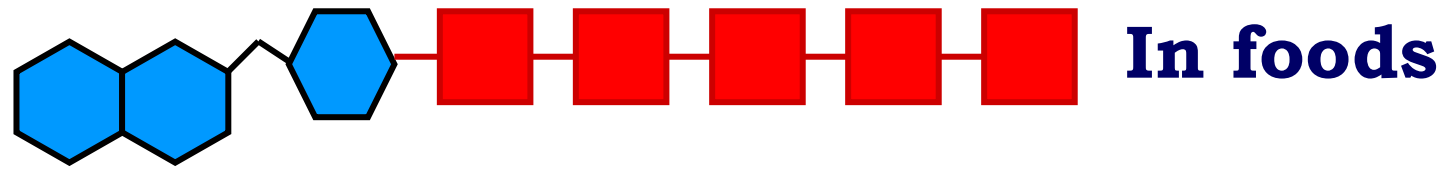
DHFA合成酶抑制剂能
开发为哪一类药物?

(7) 叶酸

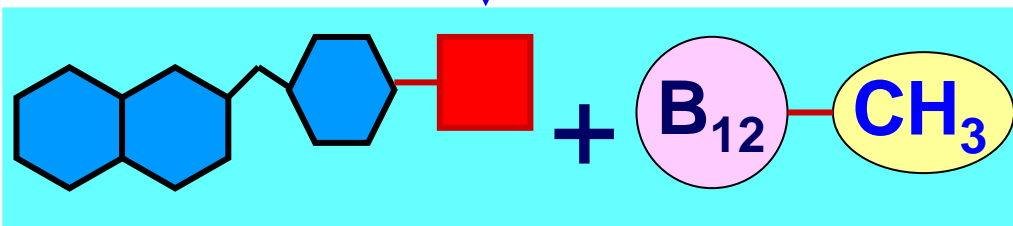
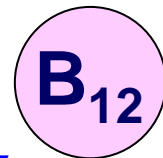
■ 缺乏症

- ✓ 主要分布于植物叶片、酵母及动物肝、肾中。
- ✓ 巨红细胞性贫血病 (Macrocytic anemia) : 骨髓红细胞中DNA合成减少, 细胞分裂速度降低, 细胞体积较大, 由于这种红细胞在骨髓成熟前就被破坏, 造成贫血。
- ✓ 多发于婴儿和妊娠妇女。
- ✓ 叶酸: 抗巨红细胞性贫血维生素, 0.4 mg/日, 常需与维生素B12一起补充。

Folate's Absorption and Activation



activation



一举两得呀!

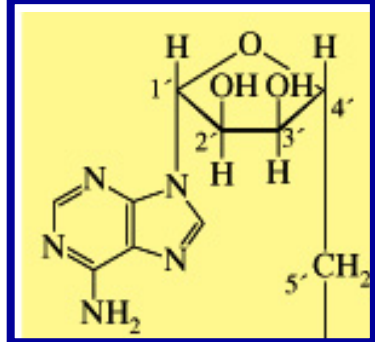
6. 水溶性维生素各论

(8) 氰钴胺素

■ 化学结构、性质

- ✓ cyanocobalamine, 钴胺素, Vitamin B₁₂, V_{B12}
- ✓ 是已发现的结构最复杂的维生素。
- ✓ 红色晶体, 对光和氧化剂较敏感。

R =



The Structure of Vitamin B₁₂ and Coenzyme B₁₂

● **Vitamin B₁₂:**

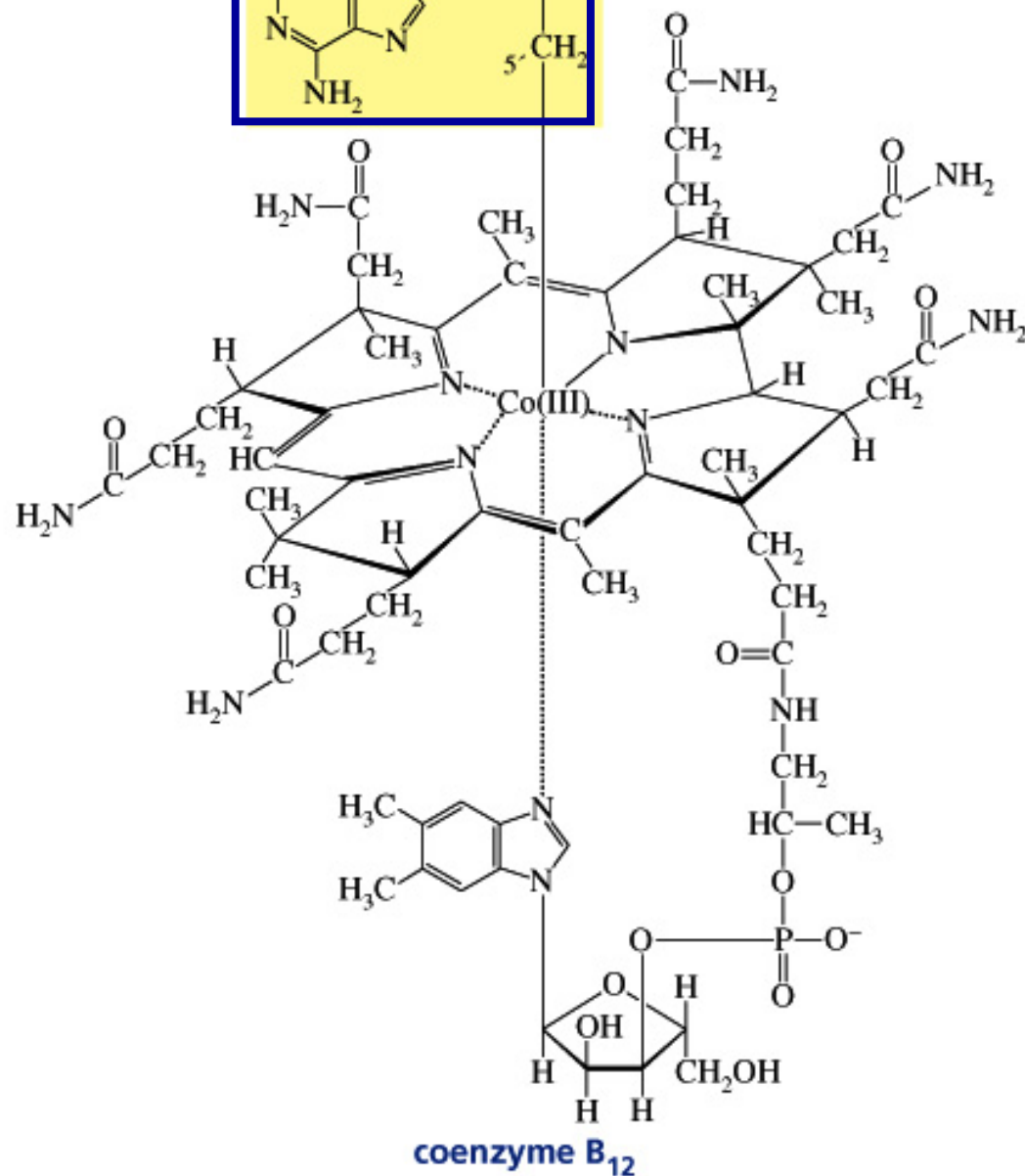
R = CN

● **Coenzyme B₁₂:**

R = 5'-deoxy-adenosyl

or

R = CH₃

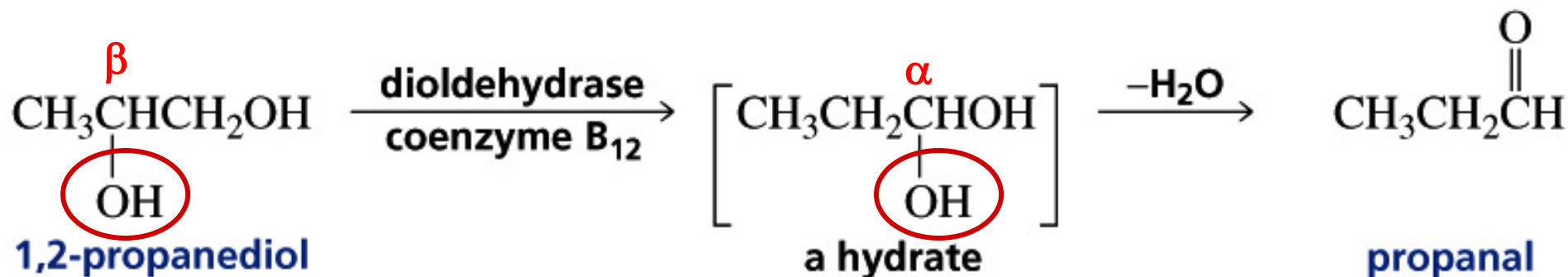
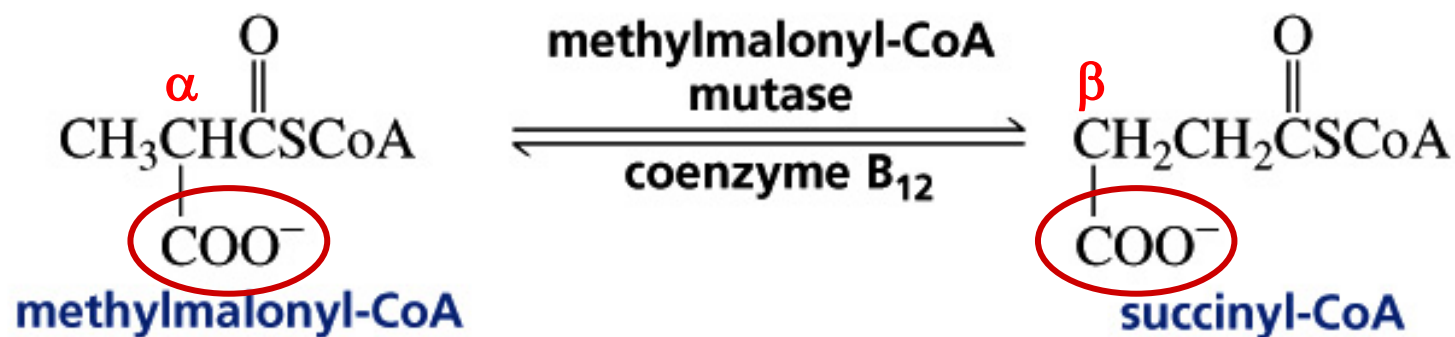
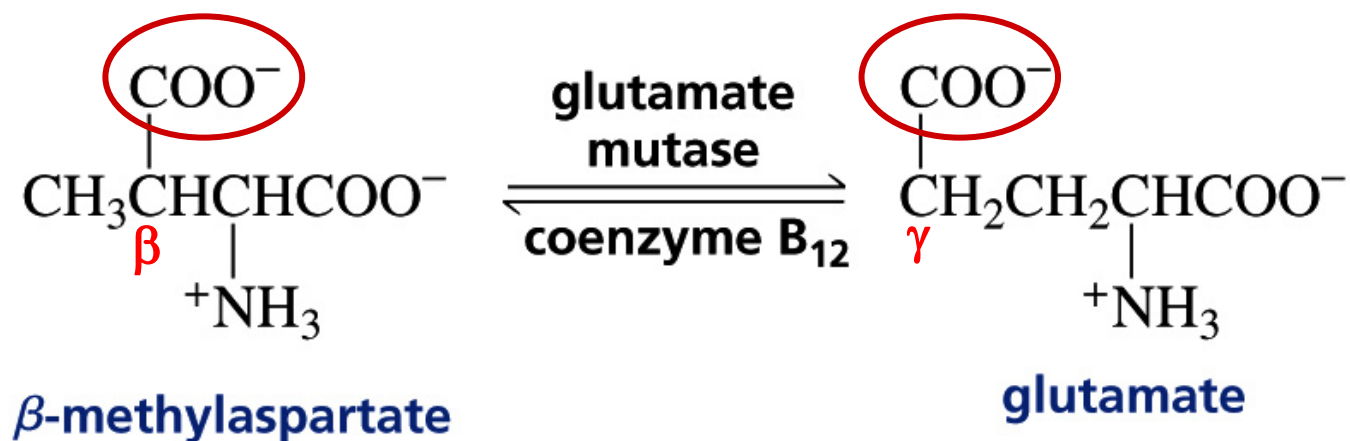


(8) 氰钴胺素

■ 生理功能

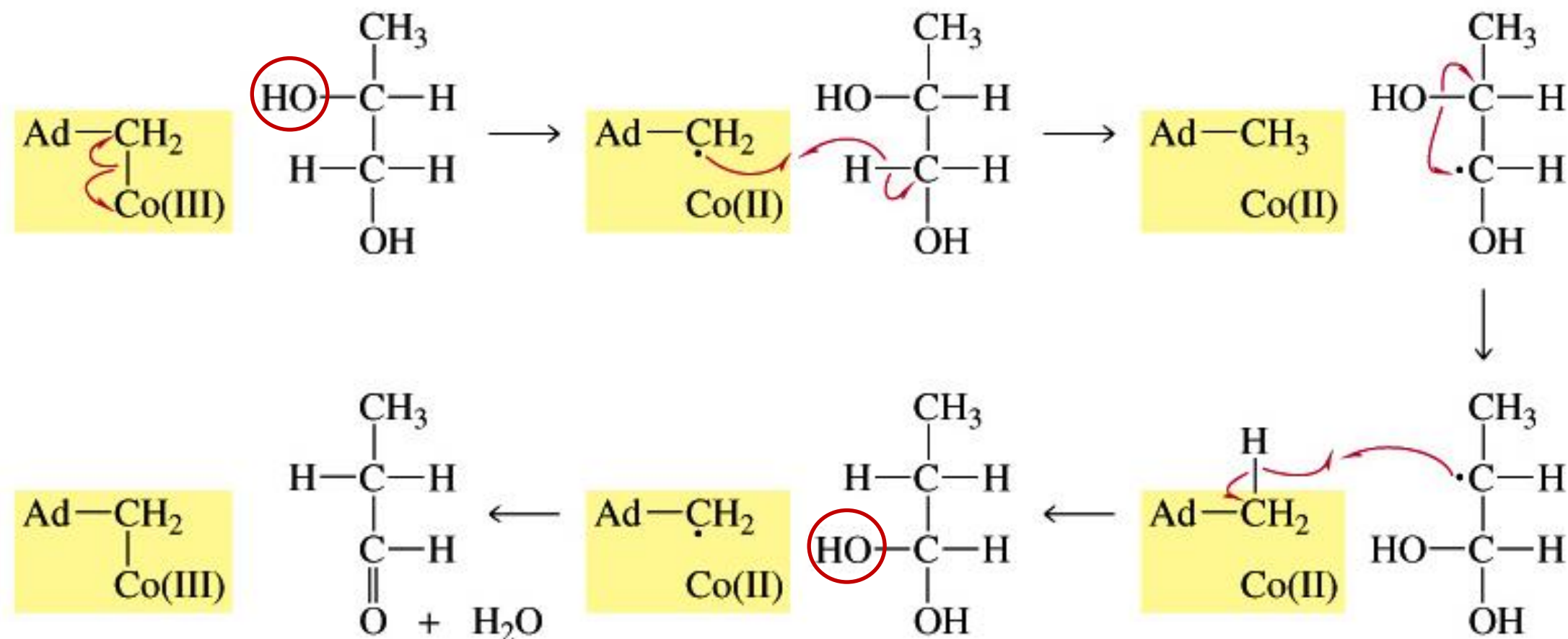
- ✓ 辅酶B₁₂的前体。
- ✓ 辅酶B₁₂的主要功能：参与多种代谢，与核酸和蛋白质的合成密切相关。
- ✓ 参与反应类型：
 - 1) 分子内重排
 - 2) 核苷酸还原成脱氧核苷酸
 - 3) 甲基转移

分子内重排



辅酶B12作用机理

the role of 5'-deoxyadenosylcobalamin in a coenzyme B₁₂-requiring enzyme-catalyzed reaction



(8) 钴胺素

■ 缺乏症

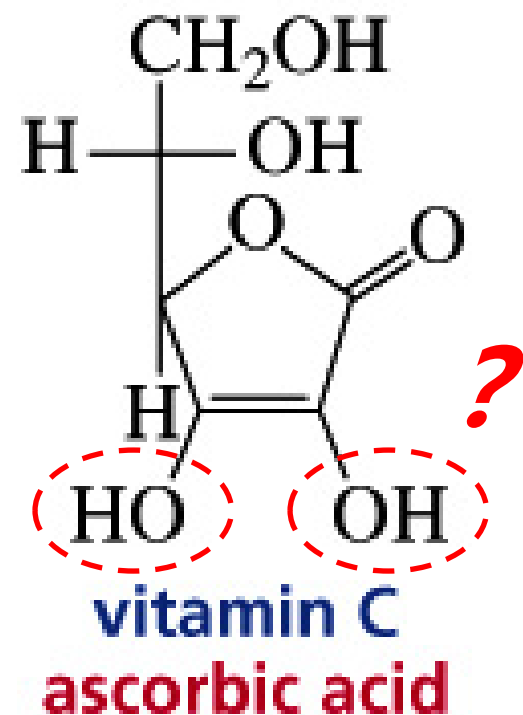
- ✓ 主要存在于动物肝脏、酵母中，其次是肉、蛋、乳中。自然界中仅微生物能合成它
- ✓ 缺乏 V_{B12} 时，易引起更严重（并发神经系统病变）的巨红细胞性贫血，即**恶性贫血**（pernicious anemia）。
- ✓ 动物性食品中含量丰富，不易缺乏。
- ✓ 缺乏症：营养不良和恶性贫血
- ✓ V_{B12} ：抗恶性贫血维生素，2 - 6 mg/日。

6. 水溶性维生素各论

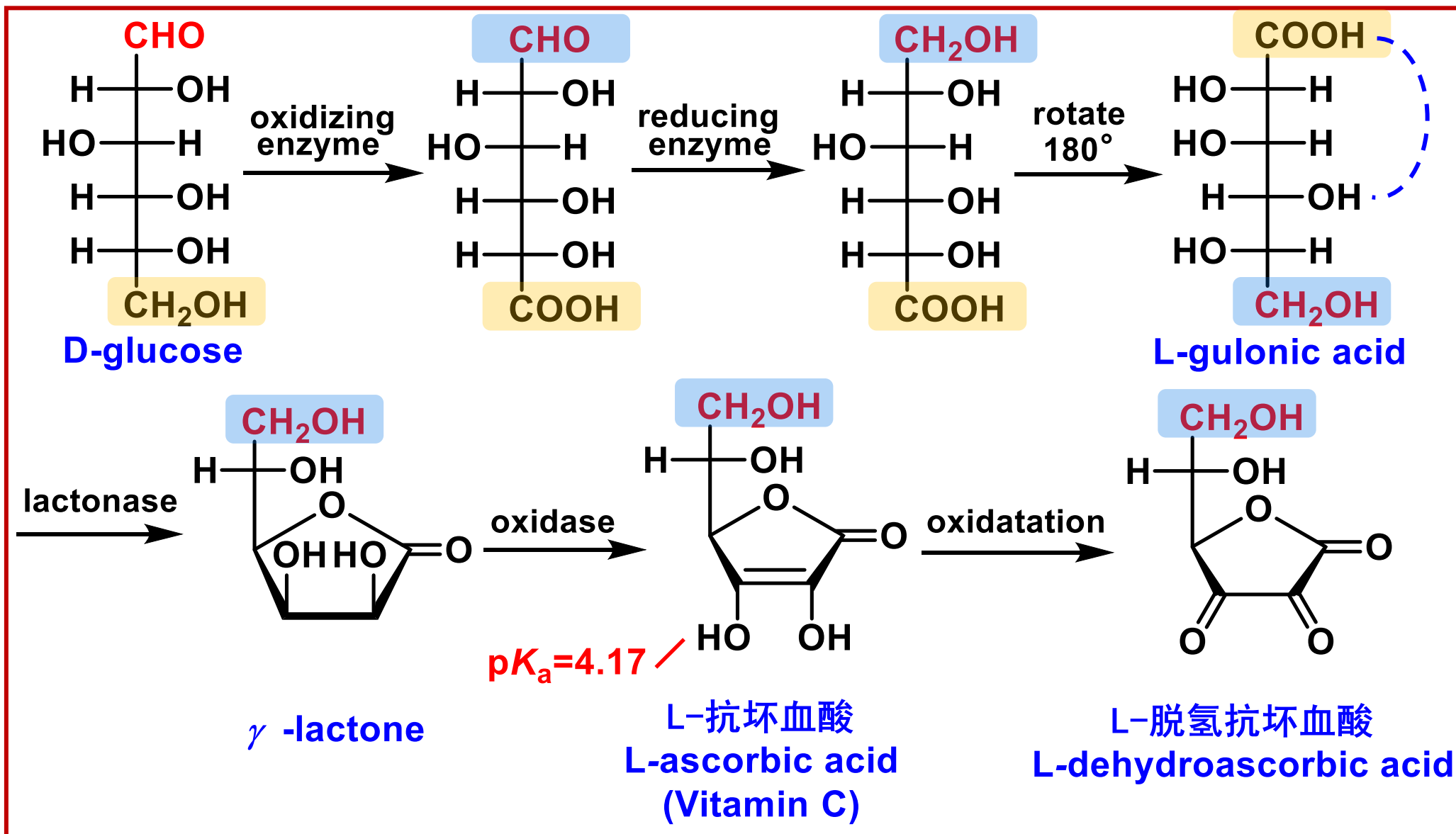
(9) 维生素C

■ 化学结构、性质

- ✓ Vitamin C, V_c , 抗坏血酸, ascorbic acid
- ✓ 烯醇己糖酸内酯, 天然 V_c 是L型。
- ✓ 无色片状晶体, 有酸味。
- ✓ 酸性溶液中较稳定, 光、热和氧作用下变质。
- ✓ 溶液状态最不稳定的维生素。



Biosynthesis of Vitamin C



6. 水溶性维生素各论

(9) 维生素C

■ 生理功能

V_C 具有多种生理功能：

- a) 促进胶原蛋白合成，强壮毛细血管壁。
- b) 促进铁的吸收和运输。
- c) 调节脂肪、类脂等的代谢。
- d) 保护 V_A ， V_E ， V_B 及不饱和脂肪酸免遭氧化。
- e) 参与芳香族氨基酸的代谢。

6. 水溶性维生素各论

(9) 维生素C

■ 缺乏症

- 新鲜果蔬中含量丰富。
- 人体自身无法合成（无将葡萄糖转变为V_C的酶）
- 缺乏V_C，会出现多种病症，严重者为坏血病（scurvy, 毛细血管损伤和出血，牙根炎，牙齿松动等症状）。
- V_C：抗坏血病维生素，60 - 100 mg/日。

脂溶性维生素的特点

- 均含C, H, O;
- 不溶于水;
- 体内可以大量贮存, 毒性相对较大;
- 都可看作是含有异戊二烯单元的化合物;
- 一般以维生素原的形式存在于动植物组织中, 维生素原在动物体内转变为维生素, 起各种作用;
- 一般存在几种结构类似物;
- 详细功能 (作用机理) 尚不清楚。

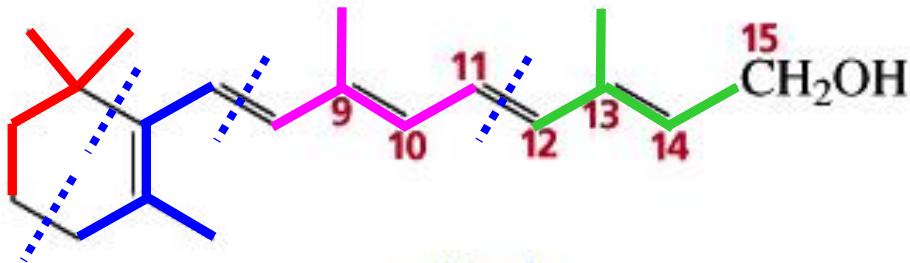
二、维生素与辅酶

7. 脂溶性维生素各论

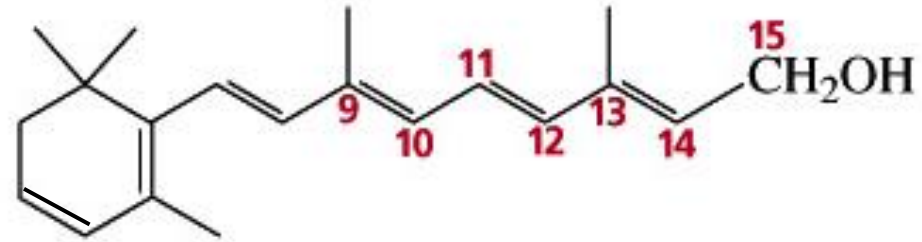
(1) 维生素A

■ 化学结构和性质

- ✓ 主要有 V_{A1} （咸水鱼肝）和 V_{A2} （淡水鱼肝）两种。
- ✓ 含四个异戊二烯单元，多烯共轭，有特征UV吸收 ($\lambda_{\max} = 325 \text{ nm}$)
- ✓ 黄色结晶，遇光及氧化剂易被破坏。



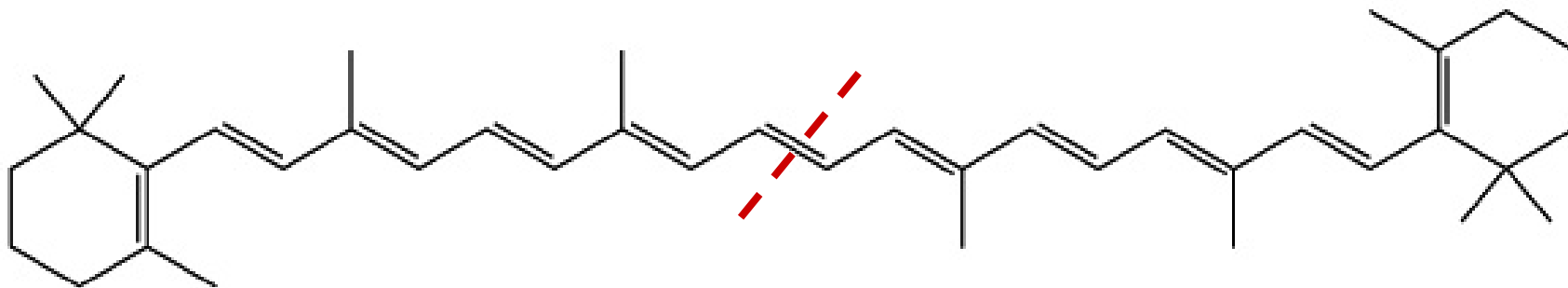
retinol
Vitamin A1



retinol
Vitamin A2

(1) 维生素A

- 主要存在于动物性食物中，鱼肝油中含量最丰富。



β -carotene (维生素A原)

胡萝卜素酶
→
(由肠道壁分泌)



retinol
Vitamin A1

几何异构体数量？活性最高的是？

(1) 维生素A

■ 生理功能

- 构成视觉细胞内感光物质视紫红质 (rhodopsin) 的成分。
- 维持上皮组织的健康和正常的视觉功能等多种功能。
- 缺乏 V_A ，会得干眼病、夜盲症、皮肤干燥症。

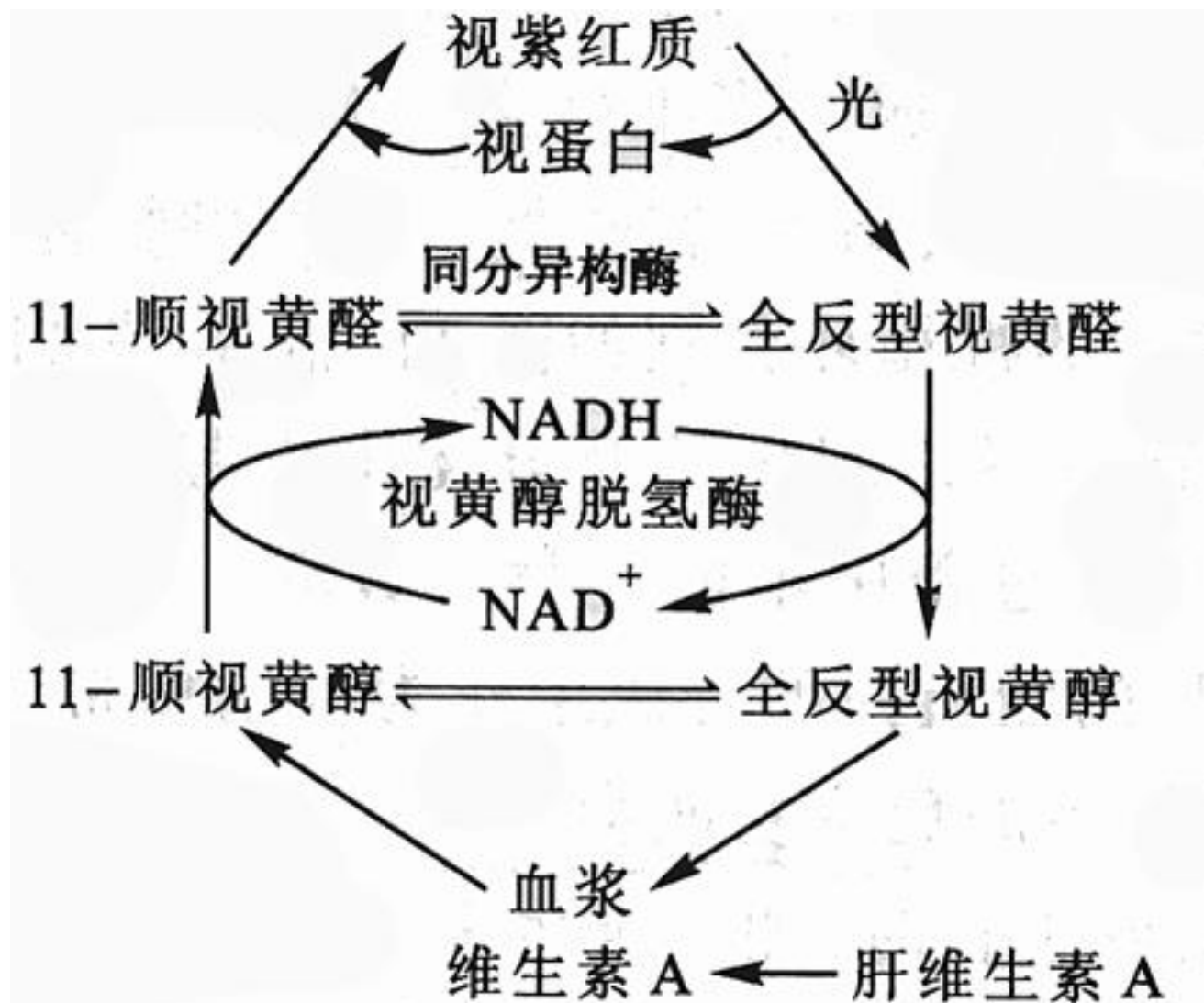


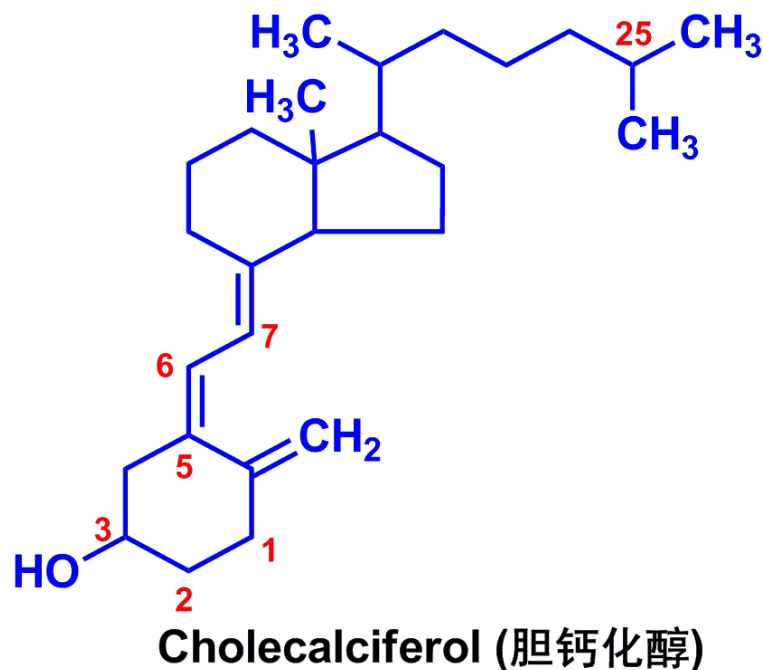
图 11-2 杆细胞的视循环

7. 脂溶性维生素各论

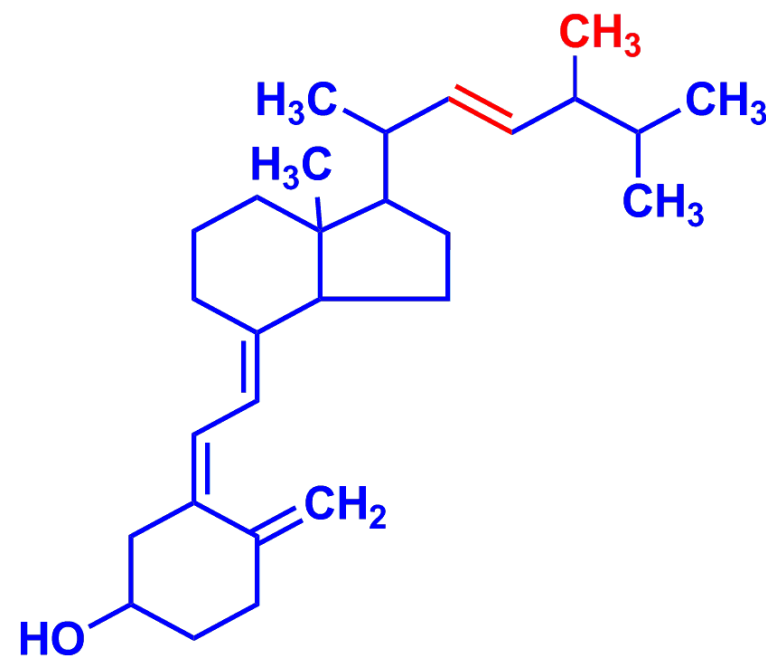
(2) 维生素D

■ 化学结构和性质

- ✓ 固醇类物质，多种结构形式，其中D₂，D₃最为重要。



Vitamin D₃

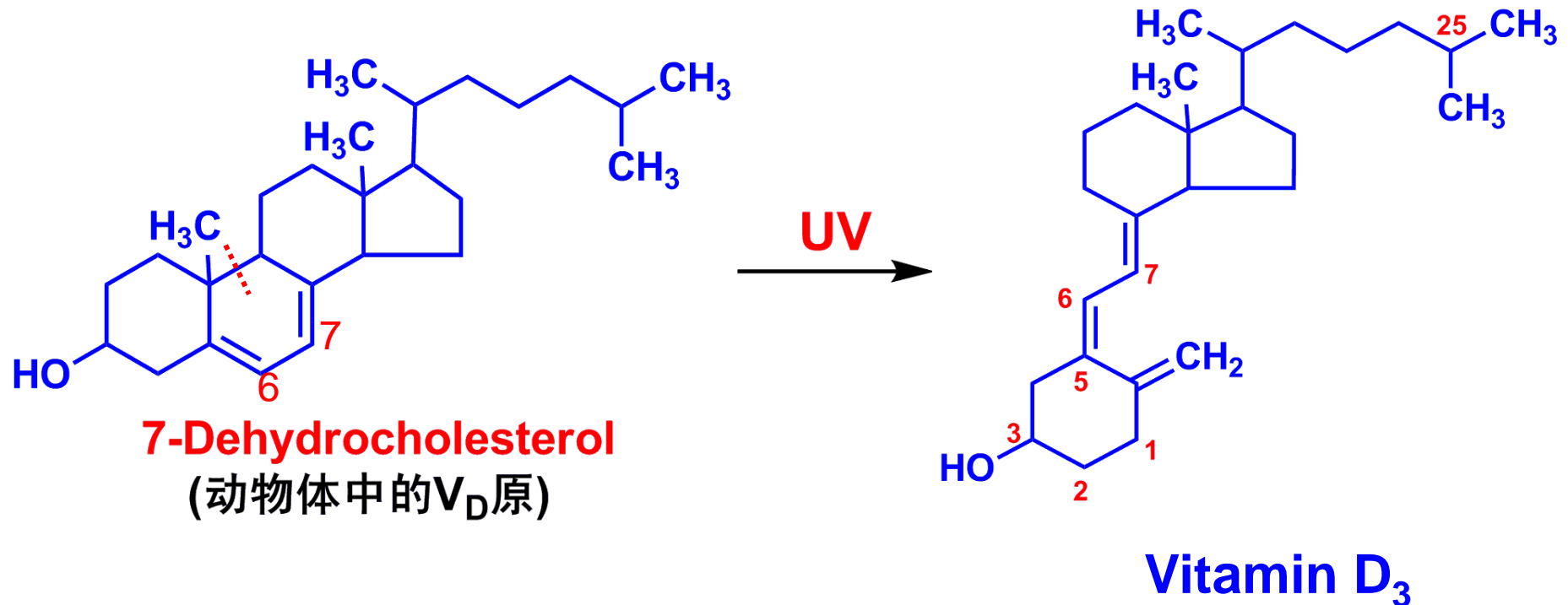


Vitamin D₂

(2) 维生素D

■ 化学结构和性质

- ✓ 无色晶体，性质稳定。
- ✓ UV特征吸收： $\lambda_{\max} = 265 \text{ nm}$
- ✓ 鱼肝油中最丰富。体内 V_D 原在UV光照下可转变为 V_D 。

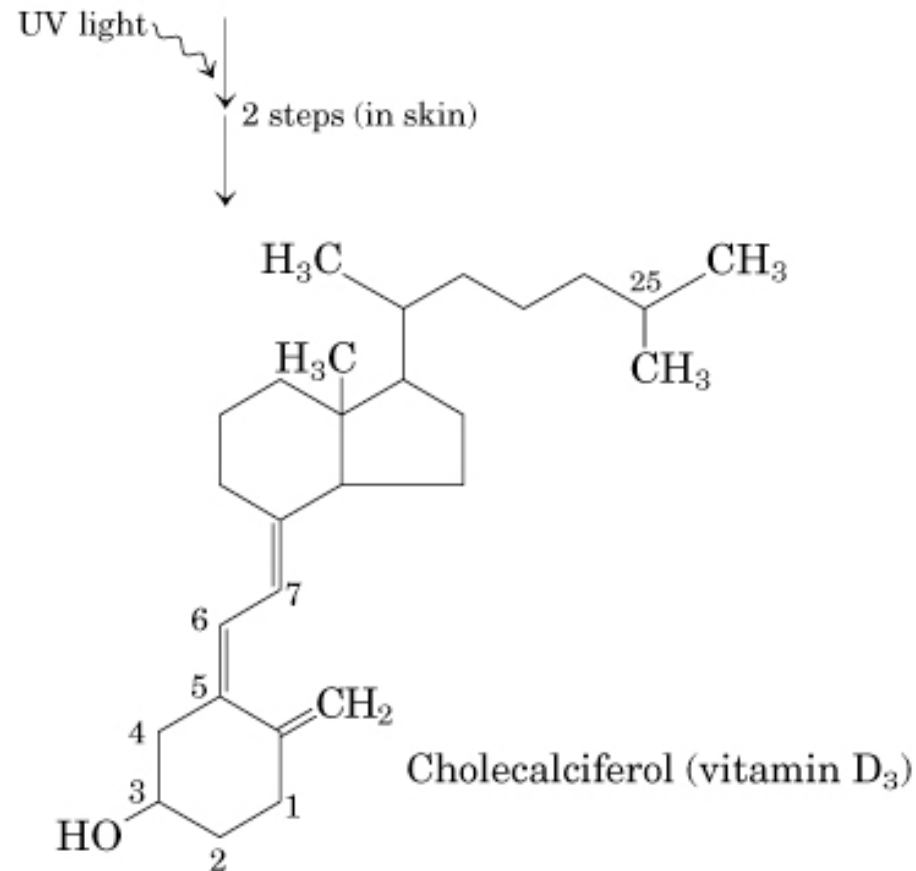
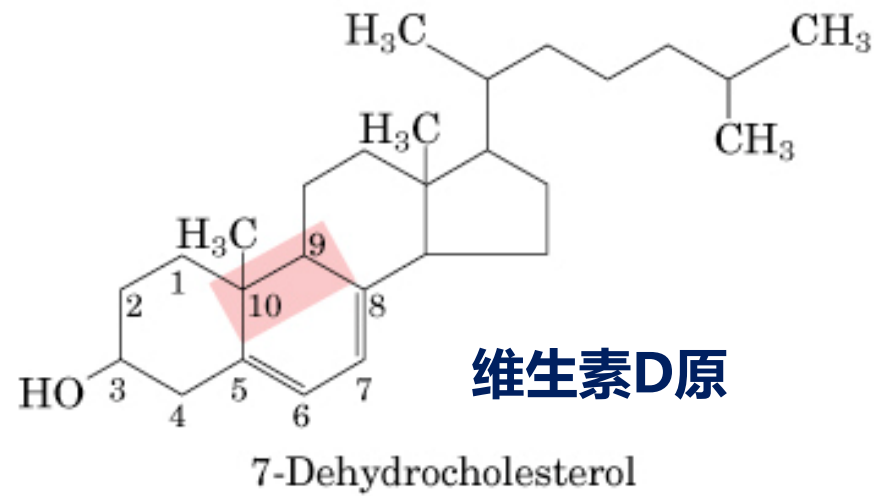


(2) 维生素D

■ 生理功能

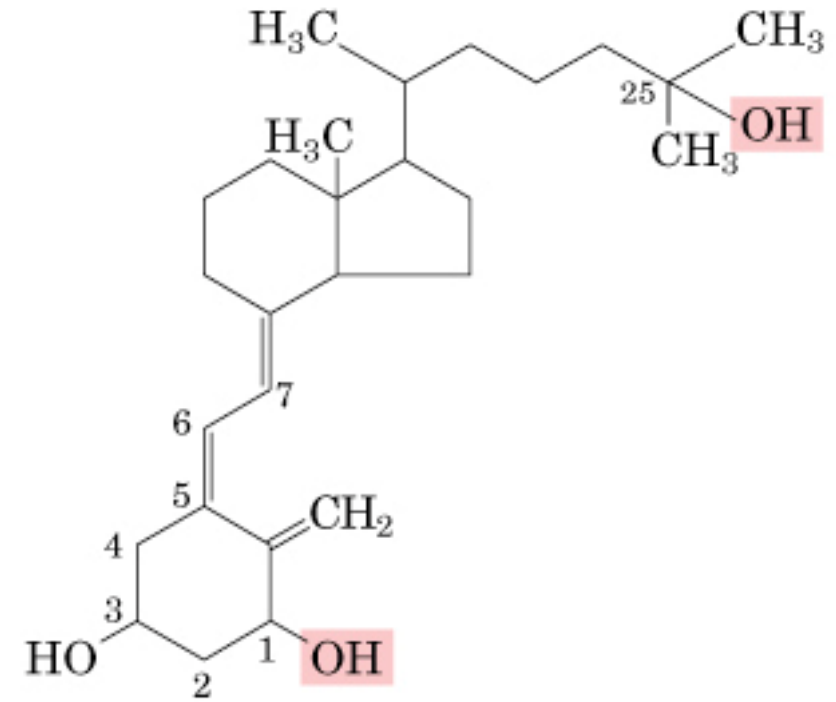
- 在体内主要通过转变为 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 的形式发挥作用。
- 功能：促进肠壁对钙磷的吸收，调节钙磷代谢，促进骨、牙等的发育。
- 缺乏症：
 - 儿童：佝偻症 (rickets)
 - 成人：软骨病 (rachitis)
- 同时应补钙

V_D原的活化



1 step in the liver

1 step in the kidney





Before vitamin D treatment
维生素D治疗前



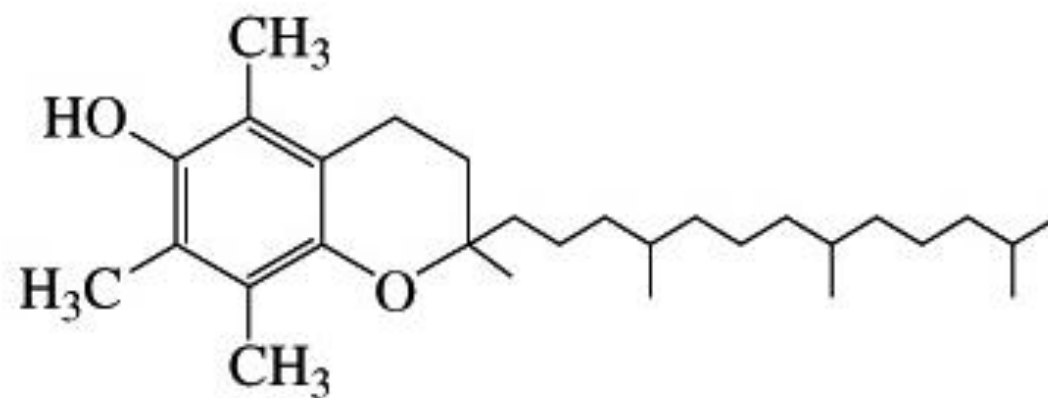
(b) After 14 months of vitamin D treatment
维生素D治疗14个月后

7. 脂溶性维生素各论

(3) 维生素E

■ 化学结构和性质

- ✓ 又称生育酚 (tocopherol) , 主要有 α , β , γ , δ 四种。其中 α -tocopherol最重要。
- ✓ 淡黄色油状物, 性质较稳定, 易被氧化。
- ✓ 四个异戊二烯单元
- ✓ UV特征吸收:
 $\lambda_{\max} = 259 \text{ nm}$
- ✓ 主要存在于植物油和豆类中。



vitamin E
 α -tocopherol

(3) 维生素E

■ 生理功能

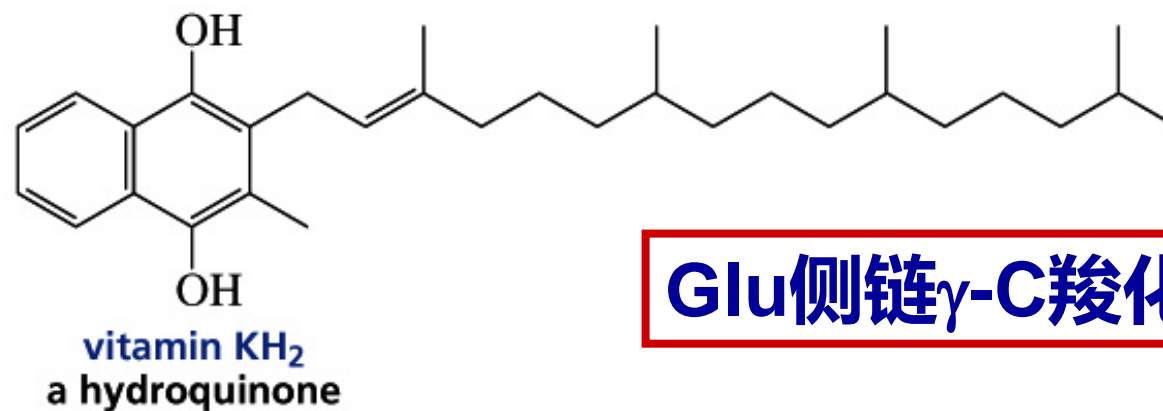
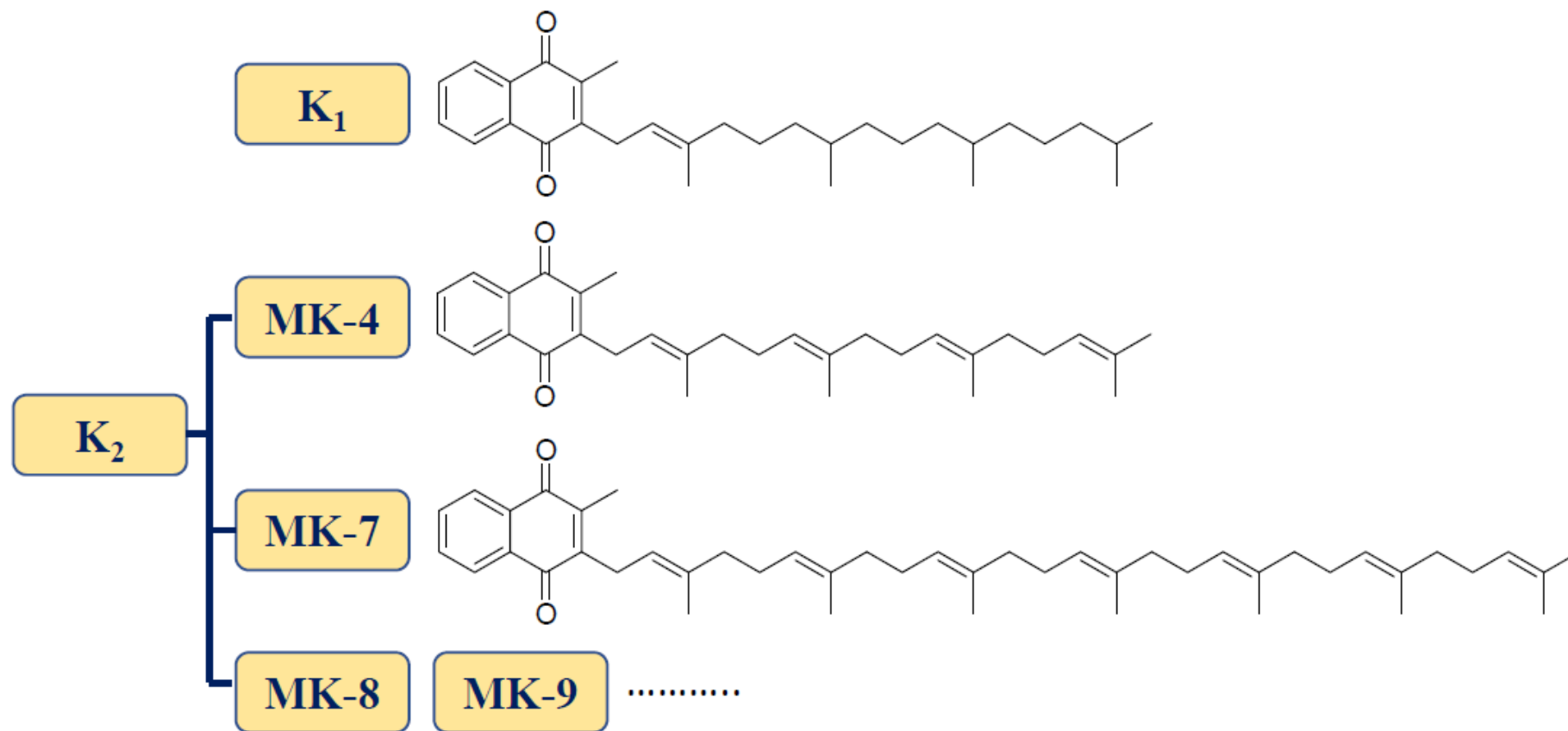
- ✓ 帮助动物维持正常生育能力，临床常用于治疗先兆流产和习惯性流产。
- ✓ 保持细胞和细胞内部结构的完整，防止某些酶和细胞内部成分遭致破坏。
- ✓ 动物和人体中最有效的抗氧化剂，临床用于抗衰老。
- ✓ 一般不易缺乏。缺乏时，表现为红细胞数量减少，寿命缩短。

7. 脂溶性维生素各论

(4) 维生素K

■ 化学结构和性质

- ✓ 又称凝血维生素，抗出血维生素。
- ✓ 天然 V_K 有两类， V_{K1} 和 V_{K2} 。
- ✓ V_{K1} ：黄色油状物； V_{K2} ：黄色晶体
- ✓ 性质较稳定，但对光、氧及碱较敏感。
- ✓ UV特征吸收： $\lambda_{\max} = 249 \text{ nm}$
- ✓ V_{K1} ：绿叶植物和动物肝中含量丰富。
 V_{K2} ：细菌代谢产物，人体肠道细菌可合成。

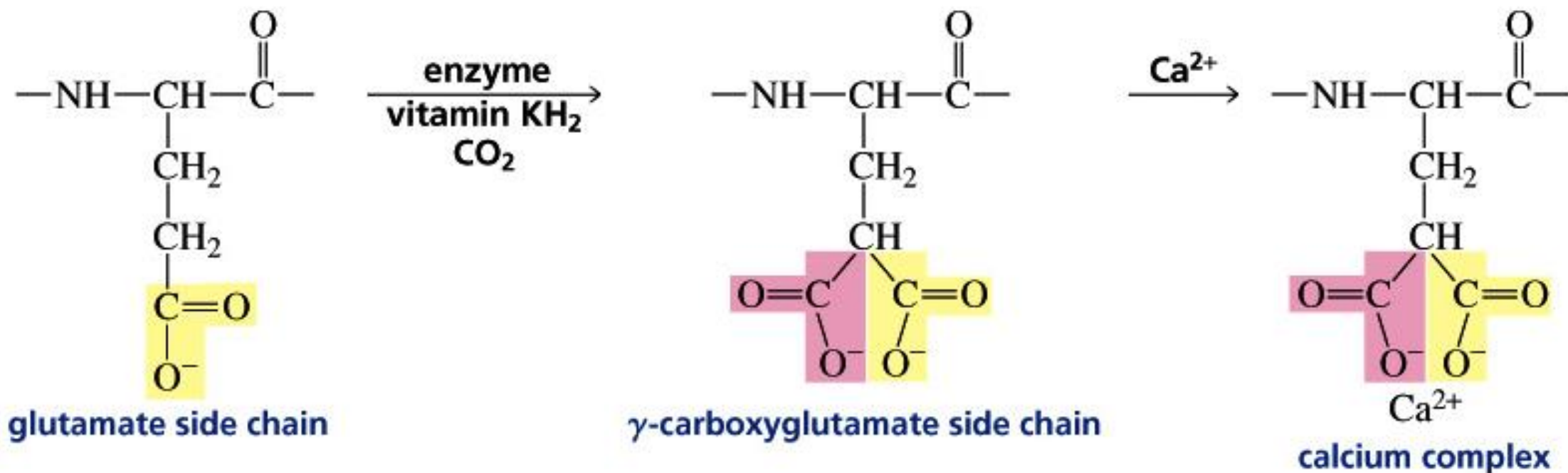


Glu侧链 γ -C羧化反应的辅酶

(4) 维生素K

■ 生理功能

- ✓ 促进肝脏合成凝血酶原 (prothrombin) , 促进血液凝固
- ✓ 以辅酶V_{KH₂}形式参与谷氨酰羧化反应。



辅酶	维生素	主要代谢作用	作用机理	缺乏症
NAD ⁺ /NADP ⁺	烟酰胺	包含两个电子转移的氧还反应	辅酶	糙皮病
FMN和FAD	核黄素(B ₂)	包含一到两个电子转移的氧还反应	辅基	炎症
CoA			辅酶	
TPP			辅酶	
PLP		请自行完成此表	辅酶	
生物素			辅基	
四氢叶酸			辅酶	
辅酶B ₁₂			辅酶	
cis-视黄醛			辅基	
维生素K _{H2}			辅酶	

三、酶促反应动力学

1. 化学动力学基础

- 化学热力学 (thermodynamics)

 - 反应进行的方向、可能性和限度

- 化学动力学 (kinetics or dynamics)

 - 反应进行的速率和反应机制

 - 包括：★ 各反应或反应步骤的速率

 - ★ 各种影响反应速率的因素

 - ★ 反应的机制（反应历程）

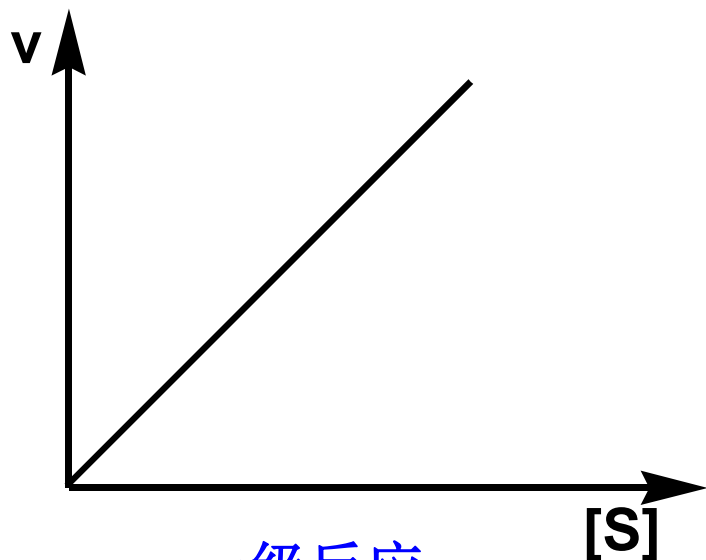
1. 化学动力学基础

■ 根据反应速率与底物浓度的关系，分为：

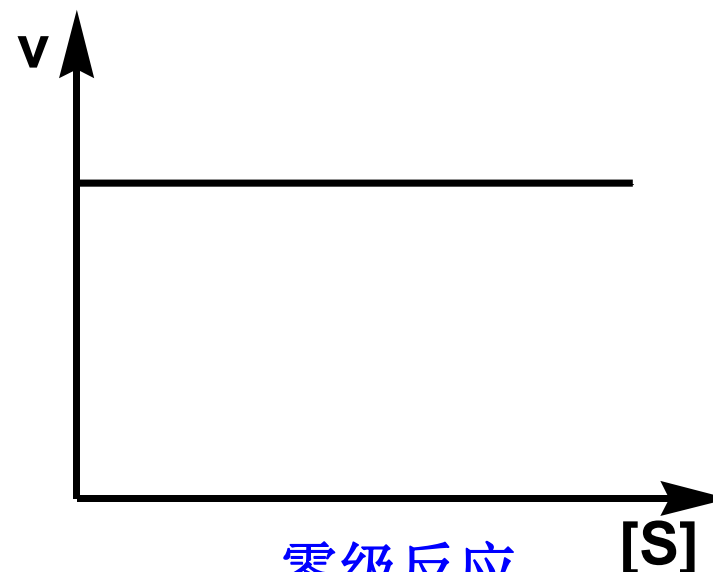
一级反应： $v = k \cdot c$

二级反应： $v = k \cdot c_1 \cdot c_2$

零级反应： $v = k$



一级反应

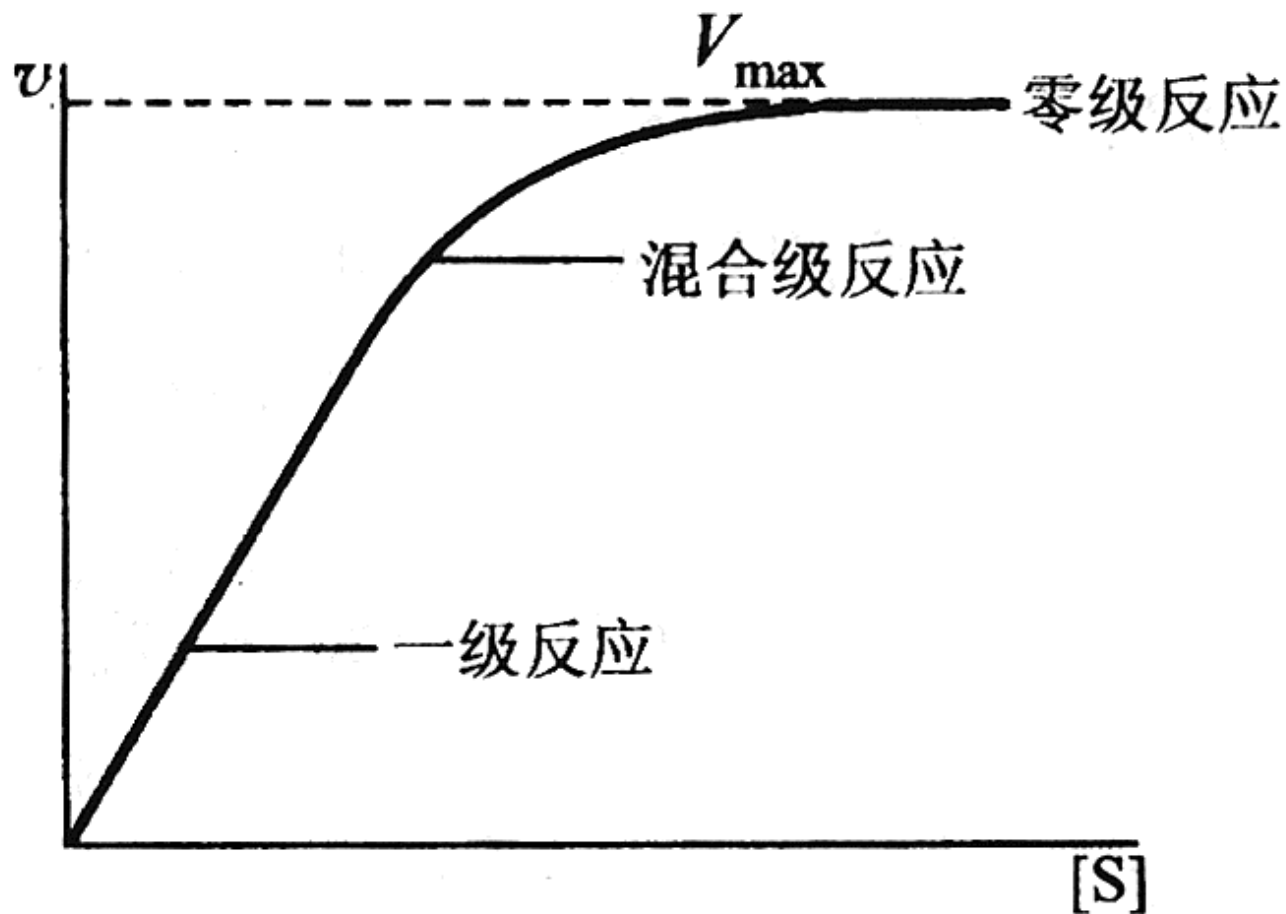


零级反应

三、酶促反应动力学

2. 底物浓度对酶反应速率的影响

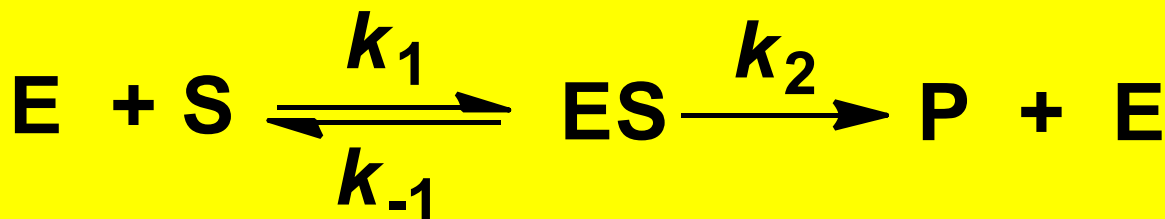
实验结果:



2. 底物浓度对酶反应速率的影响

1) 米氏方程

酶—底物中间
复合物学说



Leonor Michaelis,
1875–1949



Maud Menten,
1879–1960

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

V_0 : 初速率

K_m : 米氏常数

V_{\max} : 最大反应速率

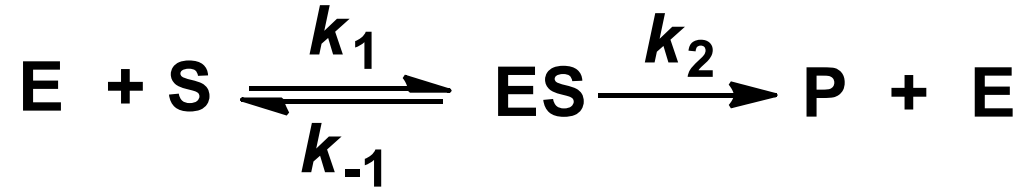
2. 底物浓度对酶反应速率的影响

1) 米氏方程

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

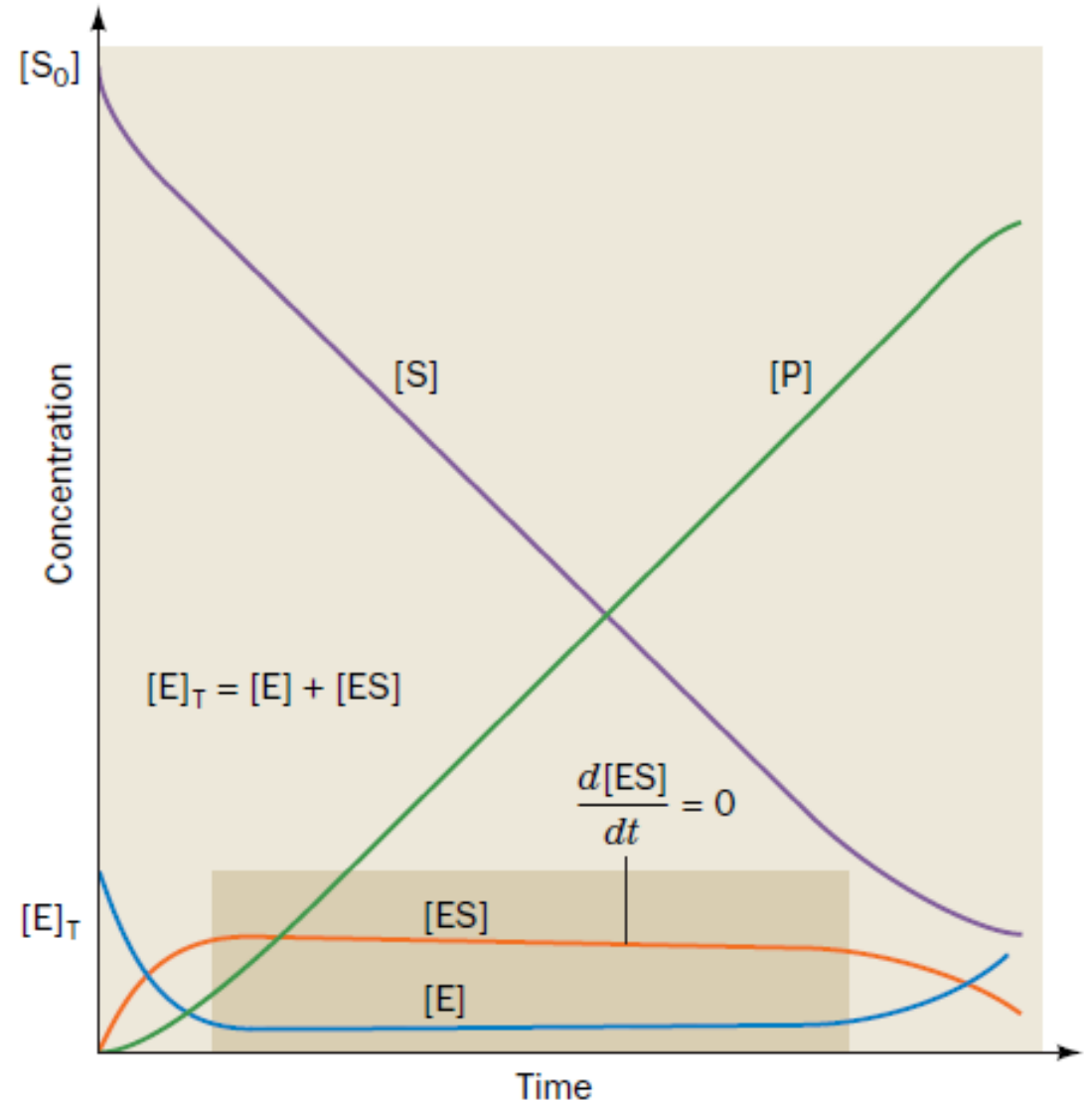
- 方程推导见教材p131（稳态假设）。
- 当 $v_0 = 1/2 V_{\max}$ 时, $K_m = [S]$
- 米氏常数 K_m 的定义:
反应速率为最大值一半时的底物浓度。
- 米氏常数的单位: mol/L。

稳态假设 (steady state assumption)



- 1925 by George E. Briggs and John B.S. Haldane
- $[\text{S}] \gg [\text{E}]$
- ES maintains a steady state and $[\text{ES}]$ can be treated as having a constant value

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = 0$$

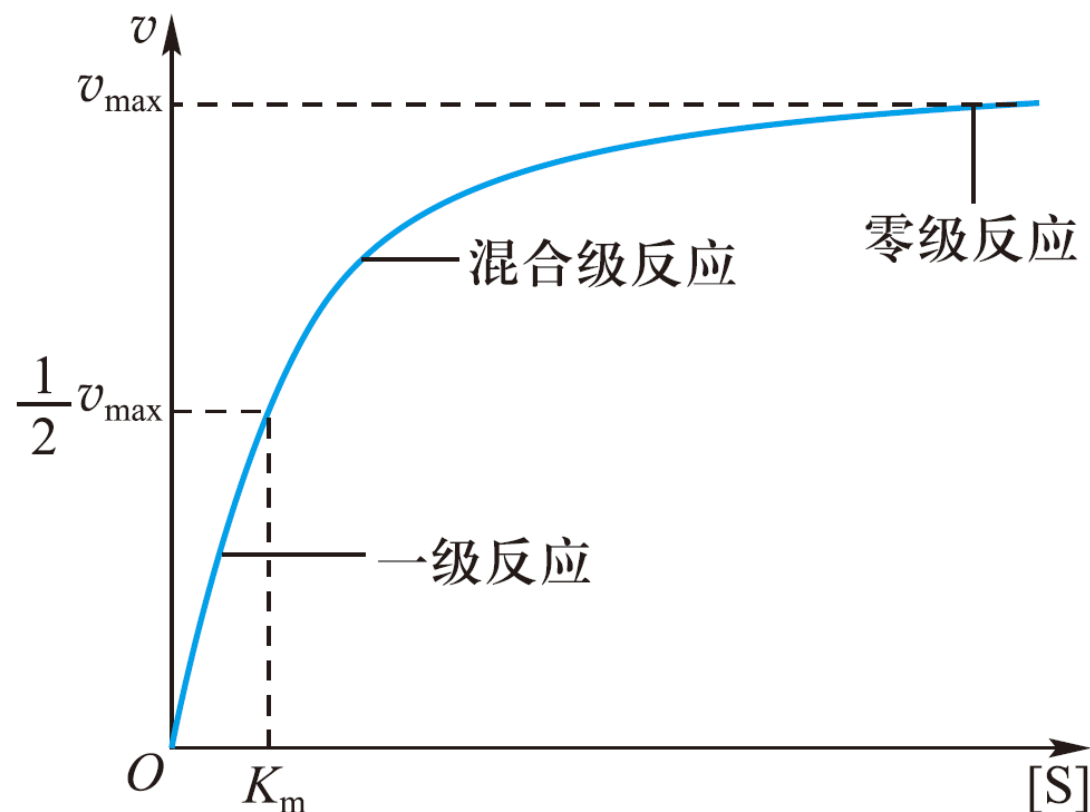


2. 底物浓度对酶反应速率的影响

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

米氏方程曲线

- $[S] \ll K_m$ 时, 一级反应特征。
- $[S] \gg K_m$ 时, 零级反应特征。



2. 底物浓度对酶反应速率的影响

2) 米氏常数 K_m 的意义

- ① 酶的一个重要的特征物理常数。只与酶的性质有关，与酶浓度无关。
 - 不同的酶具有不同 K_m 值。
 - 同种酶，不同的底物具有不同的 K_m 。
 - 同种酶，固定底物，不同条件下具有不同的 K_m 值。

2. 底物浓度对酶反应速率的影响

2) 米氏常数 K_m 的意义

② 用 K_m 可以判断酶的专一性和天然底物。

--- K_m 值最小的底物称为该酶的最适底物，通常为天然底物。

--- 有助于研究酶的活性部位。

③ 一定条件下， K_m 表示酶与底物间的亲和程度。

K_m 值大，表示亲和程度小，酶的催化活性低； K_m 值小，表示亲和程度大，酶的催化活性高。

2. 底物浓度对酶反应速率的影响

3) V_{max} 的意义

- 在一定酶浓度下，酶对特定底物的 V_{max} 也是一个常数。
 - 不同的酶具有不同 V_{max} 值。
 - 同种酶，不同的底物具有不同的 V_{max} 。
 - 同种酶，固定底物，不同条件下具有不同的 V_{max} 值。

2. 底物浓度对酶反应速率的影响

4) 催化常数

■ catalytic constant

--- 用 K_{cat} 表示

--- $K_{\text{cat}} = V_{\text{max}}/[E]_{\text{T}}$

--- 又称转换数 (turnover number)

It is the number of substrate molecules converted into product by an enzyme molecule in a unit time when the enzyme is fully saturated with substrate. (= K_2)

--- 单位: min^{-1} or s^{-1} ,

■ K_{cat} 值越大, 表示酶的催化效率越高。

2. 底物浓度对酶反应速率的影响

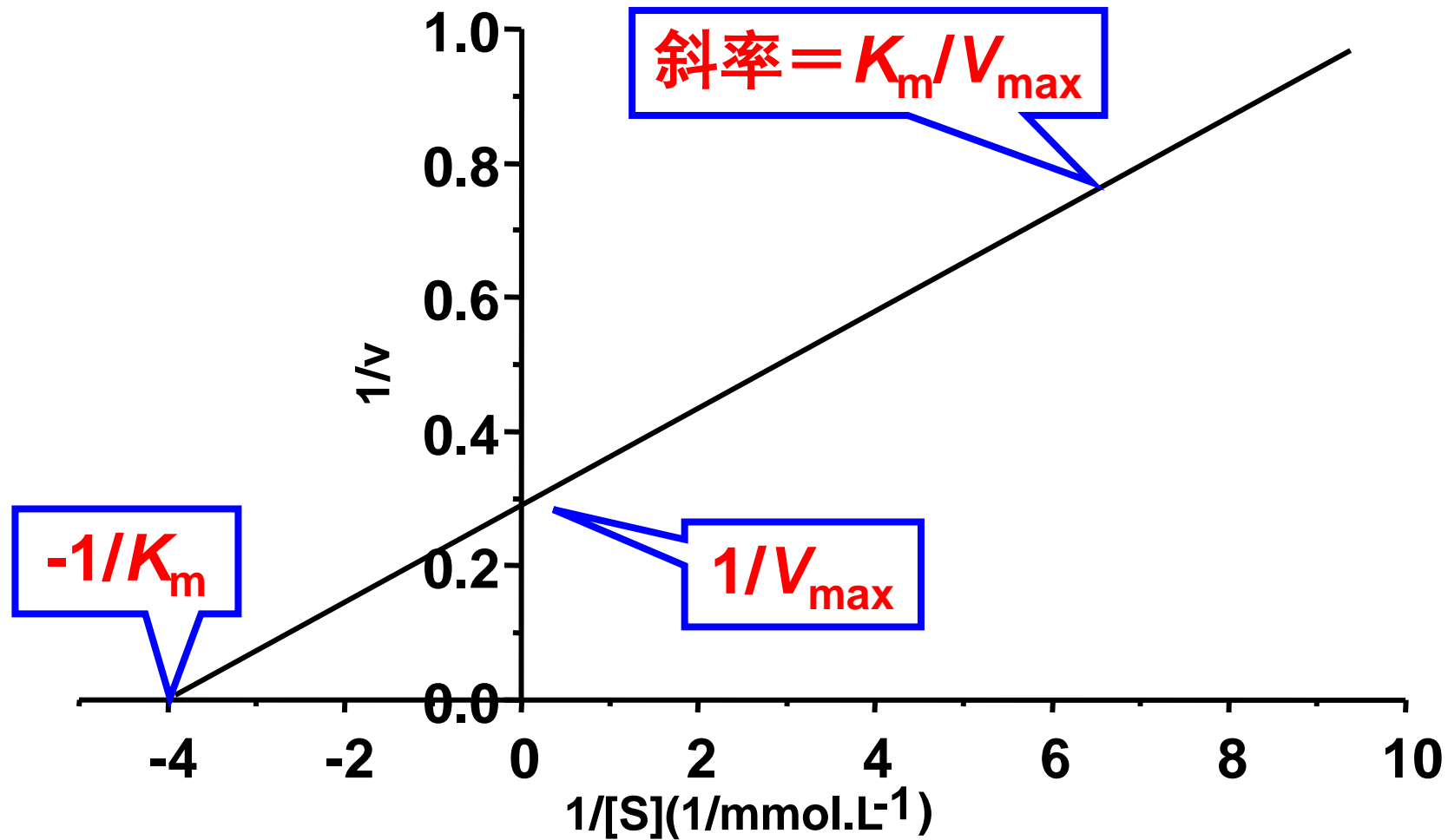
5) K_m 和 V_{max} 的求法

① Lineweaver-Burk双倒数作图法 (重点)

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

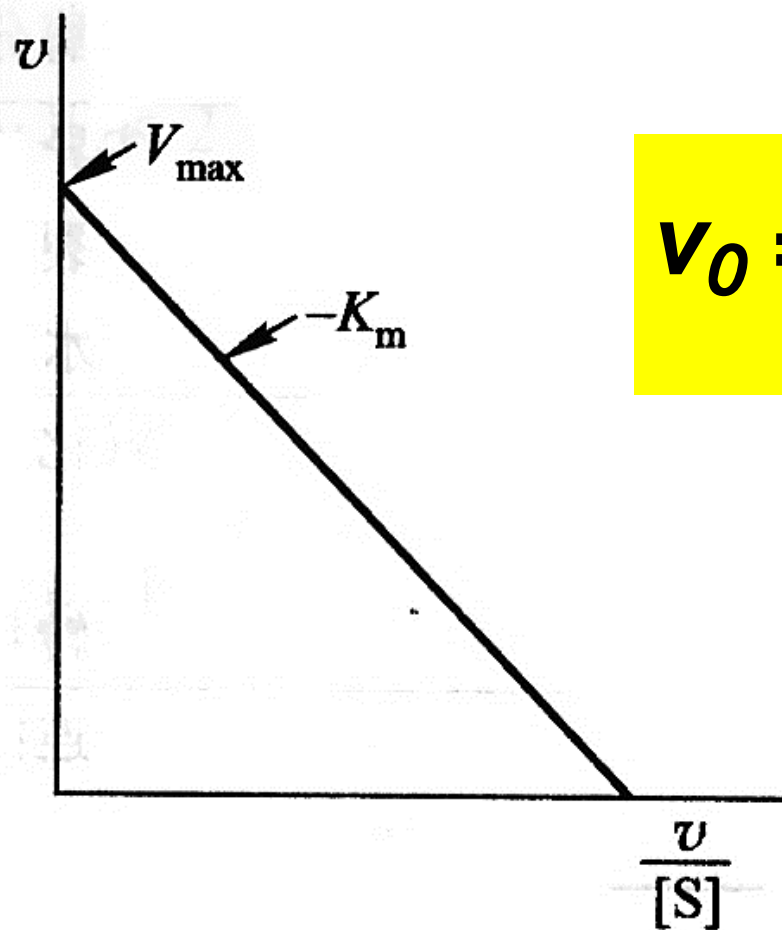
$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

双倒数作图法



5) K_m 和 V_{max} 的求法

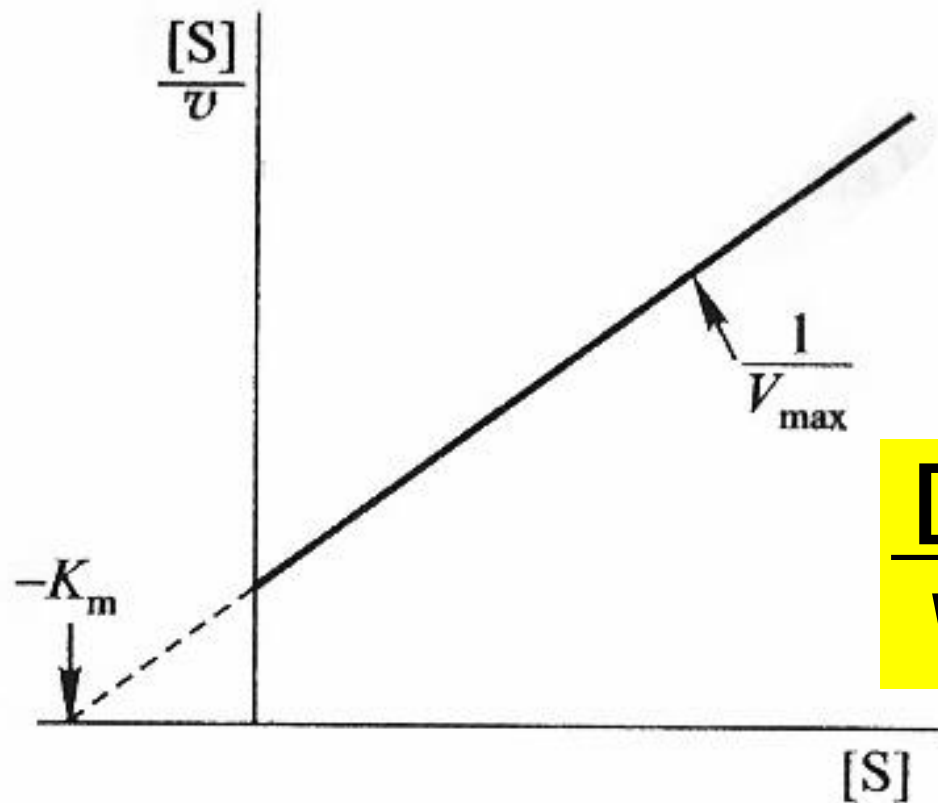
② Eadie-Hofstee 作图法



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

5) K_m 和 V_{max} 的求法

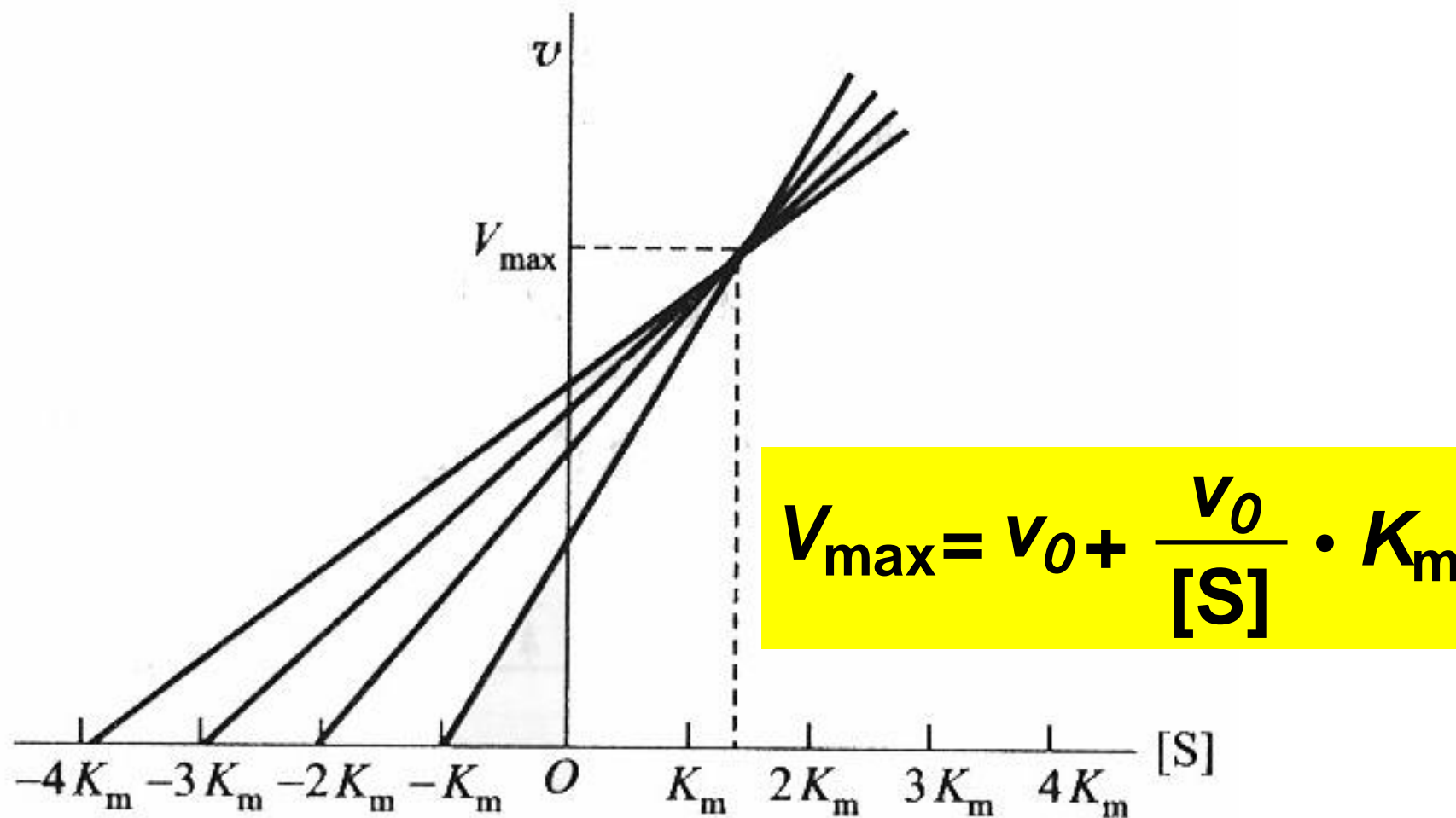
③ Hanes-Woolf 作图法



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

5) K_m 和 V_{max} 的求法

④ Eisenthal和Cornish-Bowden直接线性作图法

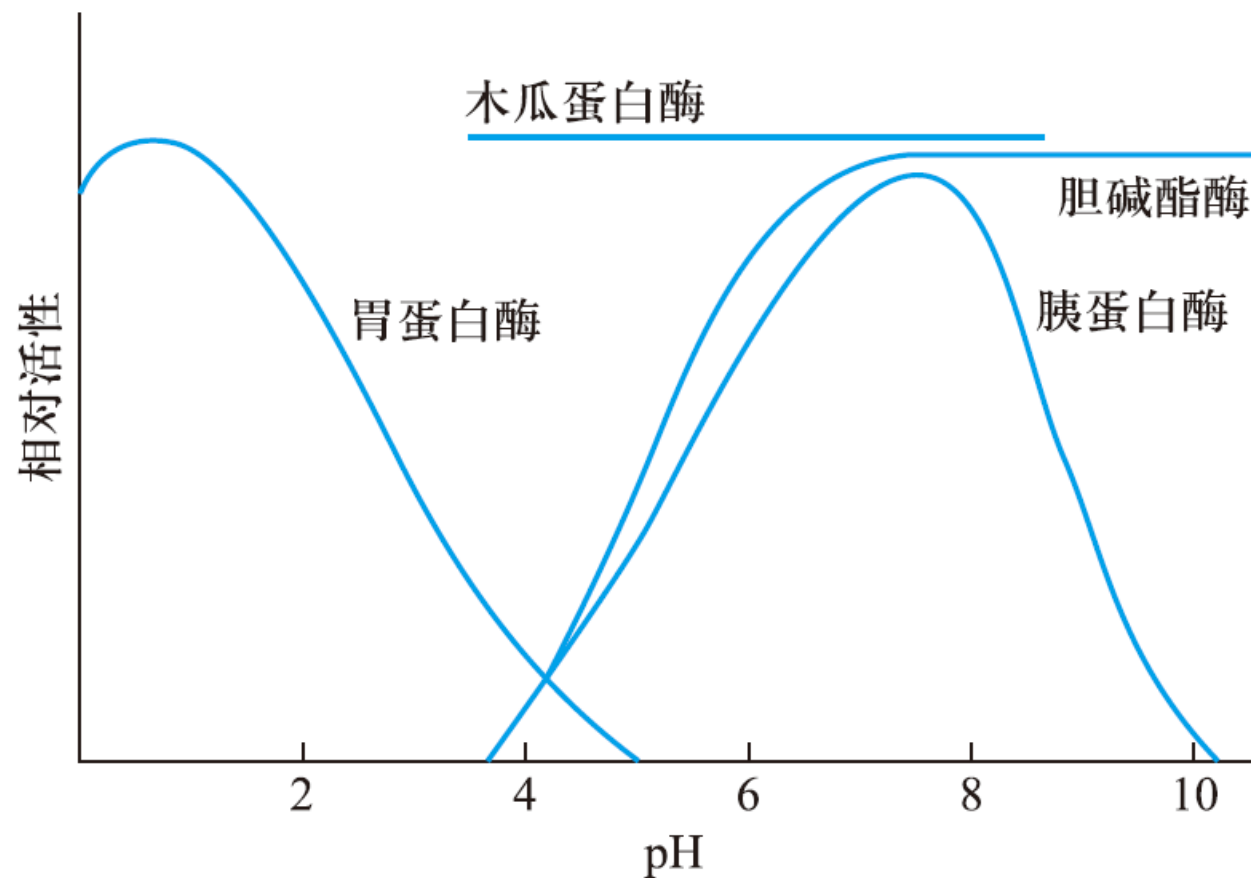


三、酶促反应动力学

3. 酶活力的其他影响因素

1) pH 的影响

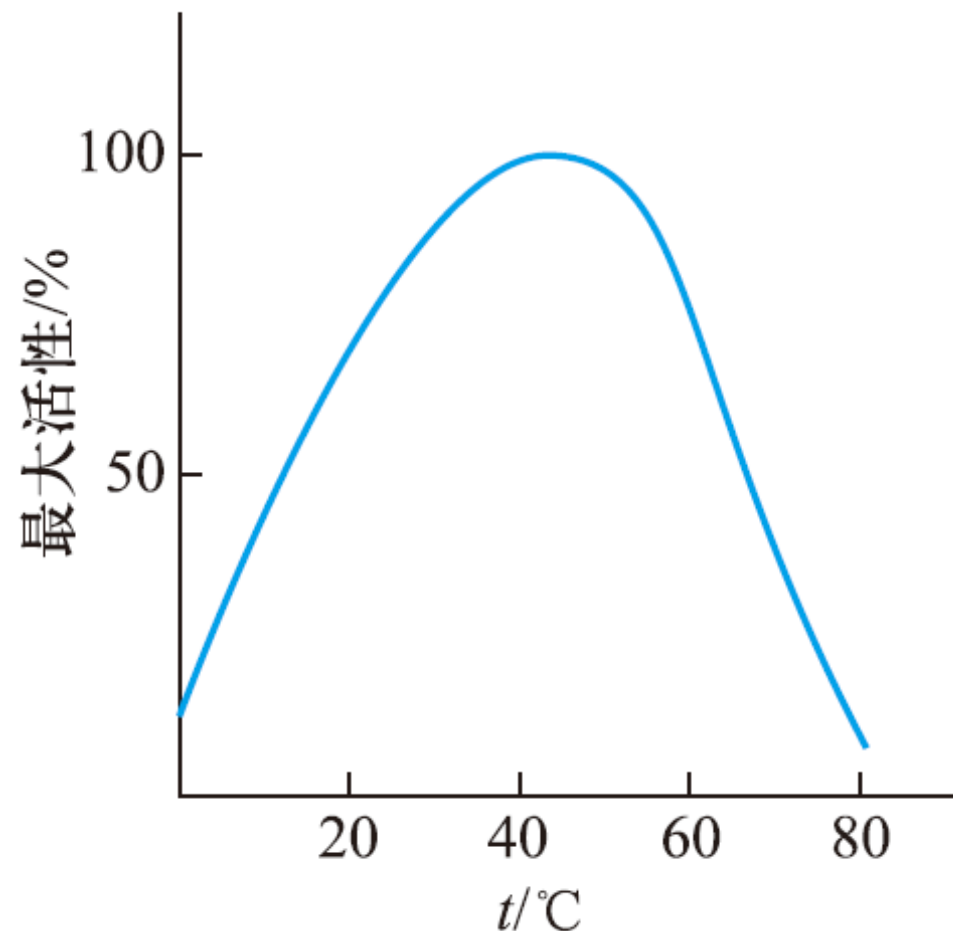
- 一定pH下, 酶具有最大的催化活性, 通常称此pH为**最适 pH**。



3. 酶活力的其他影响因素

2) 温度的影响

- 一方面，温度升高，酶促反应速率加快。
- 另一方面，温度升高，酶变性，导致活性降低甚至丧失。
- 大多数酶都有一个**最适温度**。



本次课内容小结

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

预习

三. 酶促反应动力学

4. 酶的抑制作用

四. 酶的结构和催化作用机制

1. 酶分子的结构特点

本周三 (18/10) 8:00-8:15
三组同学进行探究题2展示

下周一 (23/10)
翻转课堂