



关于大题的几点补充

by 彼方

2019/1/2 凌晨 1 点

1. 简述酶的专一性/简述酶的作用机制。

酶对所作用的底物有严格的选择性。一种酶仅能作用于一种物质，或一类分子结构相似的物质，促其进行一定的化学反应，产生一定的反应产物，这种选择性作用称为酶的专一性。

通常酶只能催化一种化学反应或一类相似的反应，不同的酶具有不同程度的专一性，酶的专一性可分为三种类型：绝对专一性、相对专一性、立体专一性；也可分为：结构专一性和立体异构专一性。

过氧化氢酶只能催化过氧化氢分解，不能催化其他化学反应。细胞代谢能够有条不紊的进行，与酶的专一性是分不开的

1. 趋近效应 (approximation) 和定向效应 (orientation) 酶可以将它的底物结合在它的活性部位由于化学反应速度与反应物浓度成正比，若在反应系统的某一局部区域，底物浓度增高，则反应速度也随之提高，此外，酶与底物间的靠近具有一定的取向，这样反应物分子才被作用，大大增加了 ES 复合物进入活化状态的机率。

2. 张力作用 (distortion or strain)

底物的结合可诱导酶分子构象发生变化，比底物大得多的酶分子的三、四级结构的变化，也可对底物产生张力作用，使底物扭曲，促进 ES 进入活性状态。

3. 酸碱催化作用 (acid-base catalysis)

酶的活性中心具有某些氨基酸残基的 R 基团，这些基团往往是良好的质子供体或受体，在水溶液中这些广义的酸性基团或广义的碱性基团对许多化学反应是有力的催化剂。

4. 共价催化作用 (covalent catalysis)

某些酶能与底物形成极不稳定的、共价结合的 ES 复合物，这些复合物比无酶存在时更容易进行化学反应。

5. 金属离子催化

包括金属酶和金属激活酶。使底物定向、介导氧化还原、静电稳定或掩盖电荷。

2.以胰凝乳蛋白酶为例，说明酶作用的机理。

胰凝乳蛋白酶：裂解由芳香族氨基酸（Y、F、W）羧基端形成的肽键。（首先回答它功能是什么）

- (一) **电荷转接系统**：胰凝乳蛋白酶为一种丝氨酸蛋白酶，其活性部位有一个异乎寻常的亲核的**丝氨酸**侧链基团的**氧**原子，这个氧原子是催化功能所必须的。由 Asp102, His57, Ser195 通过氢键构成一个电荷转接系统，使催化部位 Ser 残基的**质子被有效撤走**，使得**氧原子强烈亲核**。His 的**咪唑环**起到**桥梁**作用，**氢键的共振**是这个系统**有效性**的关键。
- (二) **水解肽键置换反应原理**：胰凝乳蛋白酶的水解肽键是通过两步反应进行的。(1) **第一步产生一个胺**：当 Ser 处于强烈亲核状态时，**氧原子对底物的羰基**进行亲核攻击，形成一个不稳定的**四连体过渡态**。这个四连体很快分解，**C-N 共价键裂解**，产生一个**酰基-酶中间复合物**（酯化的 Ser）及第一个产物**胺**。(2) **第二步产生一个酸**：由于水分子的进入，**水分子的氧原子对酰基-酶中间产物的酰基碳**进行亲核攻击，发生酶的**脱酰基**作用，使 Ser 的氧与酰基碳之间的**C-O 键裂解**，产生一个**酸**及复原的**酶**。

3.kcat/Km 是比较催化效率的最好参数（为什么？ p102）

◆常数 Km 由于它自身的原因不很令人满意。由于当 $v = V_{\max}/2$ 时，

$$K_m = [S]$$

Km 必须**对细胞内的正常[S]有某种关系**。一种能与以**很低的浓度**存在于细胞中的底物作用的酶，倾向于有较低的 Km(与该酶处在正常丰度的底物下相比)。

◆常数 kcat 也并不令人满意。kcat 反映的是一种酶当它被**饱和时的性质**。在**低[S]下，它则失去意义**。

◆对于讨论酶的催化效率来说，最有用的参数应该包含 kcat 和 Km 两者。

根据米氏方程的推导($k_2 = V_{\max}/[ET] = k_{\text{cat}}$)，

$$V_{\max} = k_{\text{cat}}[ET]$$

$$v = \frac{k_{\text{cat}}[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

代入米-曼氏方程得到

当 $[S] \ll K_m$ 时，游离酶的浓度[E]大体上接近[ET]，于是就得到

$$v = \left(\frac{k_{\text{cat}}}{K_m} \right) [E][S]$$

在这种情况下，v 取决于两种反应物 E 和 S 的浓度，因而这是一种**二级反应**，常数 kcat/Km 是二级速度常数。

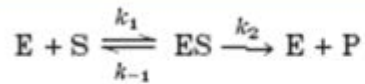
kcat/Km 一般认为是用来比较酶的催化效率的最好的动力学参数。

4. 米氏方程的推导

两个定义:

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad V_{\max} = k_2[E_t]$$

米氏方程的推导（非别构酶）



$$v = k_2[ES]$$

$$\text{Rate of ES formation} = k_1([E_t] - [ES])[S]$$

$$\text{Rate of ES breakdown} = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

In steady-state assumption

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$k_1[E_t][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$k_1[E_t][S] = (k_1[S] + k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$[ES] = \frac{k_1[E_t][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}$$

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1}$$

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

Substituting this into Equation

$$= k_2[ES]$$

$$v = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

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

Michaelis-Menten equation

合成速率=分解速率，移项解出[ES]，代换两个定义。

5.

3. 简述酶促反应速度的影响因素。

①底物浓度的影响：所有的酶反应，如果其它条件恒定，则反应速度决定于酶浓度和底物浓度，如果酶浓度保持不变，当底物浓度增加，反应速度随着增加，并以双曲线形式达到最大速度。

②pH 值对酶促反应速度的影响：pH 值对酶反应速度有显著的影响，酶有最适的 pH 值，在最适 Pu 值两侧，酶促反应速度呈下降趋势，大部分酶的 pH 值—酶活性曲线近于钟罩形。

③温度对酶促反应速度的影响：每种酶都有最适的反应温度，在最适温度两侧，反应速度也呈钟罩形曲线。温度对酶促反应的影响有两个方面，一方面是当温度升高时，反应速度加快；另一方面，随着温度的升高而使酶逐步变性，降低了酶的反应速度。

④酶浓度对酶反应速度的影响：在酶促反应中，如果底物浓度足够大，足以使酶饱和，则反应速度与酶浓度呈正比。

⑤激活剂对酶促反应速度的影响：激活剂能够提高酶的活性或通过除去抑制剂而解除对酶的抑制作用。

⑥抑制剂对酶反应的影响：抑制剂可以降低酶的活性，但不引起酶蛋白的变性，根据抑制剂与酶的作用方式可将抑制作用分为两大类：不可逆的抑制作用、可逆的抑制作用。

6.三种抑制剂

	竞争性	非竞争性	反竞争性
结合部位	与底物竞争酶的活性中心	同时与底物和抑制剂结合	同 ES 结合
K_m	增大	增大, 减小或不变	降低 K_m
V_m	-	降低 V_{max}	V_{max} 减小

