

第三章 酶



学习目标

◆ 掌握

1. 酶催化作用的特点。
2. 酶的活性中心、必需基团及酶原、同工酶的概念。
3. 底物浓度、抑制剂对酶促反应速度的影响。

◆ 熟悉

1. 酶的概念与化学组成。
2. 酶浓度、温度、pH、激活剂对酶促反应速度的影响。
3. 酶催化作用的机制。

◆ 了解

1. 酶的分类与命名。
2. 酶与医学的关系。

案例 3-1

患者吴某，女性，52岁，因琐事与家人争吵，服农药美曲膦酯（敌百虫）约80ml。服药后家属随即发现，患者自觉恶心、头晕，并伴有呕吐，呕吐物有刺鼻农药味。家属立即送当地镇医院就诊，经洗胃、予阿托品5ml静脉推注、碘解磷定2g肌肉注射，病情无好转，渐出现神志不清，呼之不应，于服药后6小时转入某县医院。经辅助检查诊断为有机磷中毒，立即予以催吐洗胃、硫酸镁导泻、阿托品和碘解磷定静脉注射、反复给药补液、利尿等对症支持治疗。

问题与思考：

1. 有机磷中毒的生化机制是什么？
2. 有机磷化合物对酶的抑制作用属于哪种类型？有何特点？
3. 碘解磷定解毒的生化机制是什么？
4. 催吐洗胃、硫酸镁导泻、阿托品和碘解磷定静脉注射、反复给药补液、利尿等对症治疗根据是什么？

生物体内时时刻刻都在进行着新陈代谢活动，保证这些代谢能顺利实施的原因之一，就是因为有生物催化剂的存在。目前，人们已经发现的生物催化剂有两种：酶（enzyme，E）和核酶（ribozyme）。酶是由活细胞产生的对其底物具有高度特异性和高度催化效能的蛋白质。1926年，Sumner首次从刀豆中提取出脲酶结晶，并证明其化学本质是蛋白质，以后陆续发现两千余种酶，均证明是蛋白质。而核酶是具有高效、特异催化作用的核酸，为近年发现的核酸类生物催化剂。





知识链接

核 酶 的 发 现

1977 年以来,发现许多真核细胞 mRNA 前体的编码区不是连续的,而是由一至数段插入序列(intervening sequence, IVS)分隔开,这些 IVS 在 mRNA 成熟过程中被除去。随后也发现一些真核细胞的 RNA 前体在成熟过程中存在着自我剪接(self-splicing)反应,这些反应过程不需要蛋白质参加。

1981 年, T. R. Cech 发现, 原生动物四膜虫的 26S rRNA 前体在成熟过程中, 其 IVS 通过剪接反应而被除去。此剪接反应是一种 RNA 的自我剪接作用。

1983 年, Altman 证明, 在较高浓度的 Mg^{2+} 存在下, 单独的 M_1 RNA 可以催化 tRNA 前体的成熟, 而单独的蛋白质酶则无催化活力。对于 RNaseP 来说, 其中的蛋白质是辅基, RNA 才是真正的催化剂。

1986 年, Zang 等提出四膜虫 rRNA 前体的插入序列核糖核酸(L-19 IVS RNA, 简称 L-19 RNA)是一种酶。它具有多种催化功能, 催化作用符合米氏动力学, 将这种具有催化作用的核酸称之为核酶。

酶所催化的化学反应称为酶促反应, 被酶催化的物质称为底物(substrate, S), 催化反应所生成的物质称为产物(product, P), 酶催化化学反应的能力称为酶活性(enzyme activity)。如果酶丧失催化能力称为酶失活。体内各种各样的代谢反应, 如食物的消化与吸收、物质的合成与分解、反应方向及速度的调控、遗传信息的传递等, 几乎都是在酶的催化下进行的。体内生理功能的完成与酶的催化密不可分, 当体内某些酶缺失或某些酶活性受到抑制都可以导致代谢紊乱。测定某些酶活性可以协助诊断和治疗相关疾病, 因此, 酶学的研究和应用对维护人类的健康具有重要意义。

第一节 酶的分子结构与功能

一、酶的分子组成

酶的本质是蛋白质, 具有一、二、三乃至四级结构。与蛋白质分类一样, 酶按其组成成分的不同可分为单纯酶(simple enzyme)和结合酶(conjugated enzyme)两大类。

(一) 单纯酶

此类酶是仅由氨基酸残基构成的单纯蛋白质。如蛋白酶、核酸酶、淀粉酶、脂肪酶、脲酶等均属此类。

(二) 结合酶

此类酶由蛋白质部分和非蛋白质部分组成。前者称为酶蛋白(apoenzyme), 后者称为辅助因子(cofactor), 由酶蛋白和辅助因子结合形成的复合物也称为全酶(holoenzyme)。结合酶催化化学反应时, 只有全酶形式具有催化活性, 酶蛋白与辅助因子单独存在时均无催化活性。

结合酶的辅助因子按其 与酶蛋白结合的紧密程度与作用特点不同可分为辅酶(coenzyme)和辅基(prosthetic group)。与酶蛋白结合疏松, 可用透析或超滤方法将其与酶蛋白分开的称





为辅酶；与酶蛋白结合紧密，不能通过透析或超滤方法将其除去的称为辅基。体内结合酶很多而辅助因子的种类却较少，一般来说，一种酶蛋白只能与一种辅助因子结合成为一种全酶，而一种辅助因子可与不同的酶蛋白结合成多种不同的全酶。如 L- 乳酸脱氢酶的酶蛋白与 NAD^+ 结合成 L- 乳酸脱氢酶（全酶）， NAD^+ 同样可与 L- 谷氨酸脱氢酶的酶蛋白结合成 L- 谷氨酸脱氢酶（全酶）。前者催化 L- 乳酸脱氢反应，后者催化 L- 谷氨酸脱氢反应。这两种脱氢酶都以 NAD^+ 为辅酶，但催化的反应不同。由此可见，在酶促反应过程中，酶蛋白决定催化反应的特异性，而辅助因子决定反应的种类和性质。

结合酶的辅助因子包括金属离子和小分子有机化合物。常见的金属离子辅助因子有 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} (Fe^{2+})、 Cu^{2+} (Cu^+)、 Mn^{2+} 等。有的金属离子与酶结合比较牢固，这些酶称为金属酶 (metalloenzyme)，如羧基肽酶 (Zn^{2+}) 等。有的金属离子与酶蛋白结合不牢固，纯化过程中易丢失，需加入金属离子方具有酶活性，这些酶称为金属活化酶 (metal activated enzyme)，如己糖激酶 (Mg^{2+}) 等。它们在酶促反应中所起的作用有：① 维持酶分子活性的特定空间构象；② 参与电子的传递；③ 在酶与底物间起连接桥梁作用；④ 中和阴离子电荷，降低反应中的静电斥力等。小分子有机化合物是一些化学性质稳定的小分子物质，分子结构中常含有 B 族维生素衍生物或卟啉化合物，它们的主要作用是参与酶的催化过程，在酶促反应中起着传递电子、质子或转移基团（如酰基、氨基、甲基、羧基等）的作用。常见的 B 族维生素衍生物的种类及作用见表 3-1。

表3-1 常见的B族维生素衍生物的种类及作用

辅酶或辅基	缩写	转移的基团	所含维生素成分
焦磷酸硫胺素	TPP	醛基	维生素B ₁
黄素单核苷酸	FMN	氢原子	维生素B ₂
黄素腺嘌呤二核苷酸	FAD	氢原子	维生素B ₂
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（辅酶 I）	NAD^+	H^+ 、电子	维生素PP
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（辅酶 II）	NADP^+	H^+ 、电子	维生素PP
磷酸吡哆醛		氨基	维生素B ₆
辅酶A	CoASH	酰基	泛酸
生物素		CO_2	生物素
四氢叶酸	FH_4	一碳单位	叶酸
辅酶B ₁₂		氢原子、烷基	维生素B ₁₂
硫辛酸		酰基	硫辛酸

二、酶的活性中心与必需基团

酶分子中氨基酸残基的侧链具有不同的化学基团，这些基团并非都与酶的催化作用直接有关，其中与酶活性密切相关、为酶活性所必需的基团，称为酶的必需基团 (essential group)。常见的必需基团有：组氨酸的咪唑基、丝氨酸和苏氨酸的羟基、半胱氨酸的巯基、酸性氨基酸的羧基以及碱性氨基酸的氨基等。

酶分子中的必需基团在其一级结构的排列上可能相距很远，但多肽链经过盘绕、折叠形成空间结构时，这些必需基团可彼此靠近，形成一个特定空间区域。能够与底物特异性结合并催化底物转化为产物的特定空间区域称为酶的活性中心 (active center)。例如，在糜蛋白酶中，与催化活性有关的化学基团在第 57 位组氨酸残基、102 位天冬氨酸残基、195 位丝氨酸残基上，





它们在酶蛋白的一级结构中相距较远，但在空间结构上相互靠近形成酶的活性中心，参与底物结合并催化底物生成产物。在结合酶类中，辅酶或辅基也多参与活性中心的组成。

构成酶活性中心的必需基团分为两种：能直接与底物结合的必需基团称为结合基团（binding group），催化底物发生化学变化并将其转化为产物的必需基团称为催化基团（catalytic group），也有的必需基团可同时兼有这两方面的功能。在酶的活性中心以外还存在一些化学基团，虽然不参与活性中心的组成，但为维持酶活性中心应有的空间构象所必需，这类基团称为酶活性中心以外的必需基团（图 3-1）。

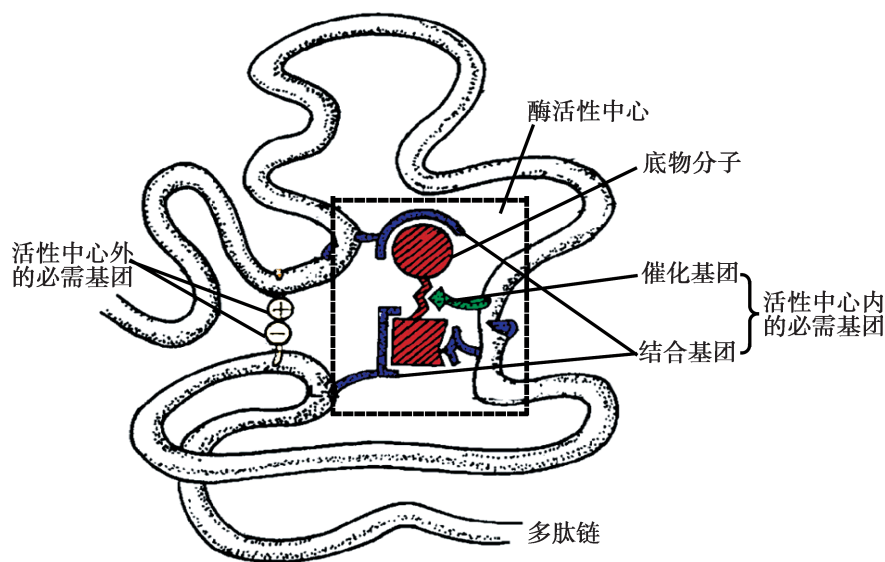


图 3-1 酶活性中心示意图

酶的活性中心是酶催化作用的关键部位，不同的酶由于各自的活性中心结构不同，因此对底物的催化具有高度特异性。活性中心往往位于酶分子表面，或为裂缝，或为凹陷，其形成是以酶蛋白分子的特定构象为基础，活性中心一旦被其他物质占据或某些理化因素破坏了其空间构象，酶则丧失其催化活性。

三、同工酶

同工酶（isoenzyme）是指催化的化学反应相同，但酶蛋白的分子结构、理化性质和免疫学性质都不相同的一组酶。同工酶存在于同一种属、同一机体的不同组织中，甚至存在于同一组织细胞内的不同亚细胞器内，它们在代谢调节上起着重要的作用，而不同种属的同一种酶不属于同工酶的范畴。同工酶是生物进化过程中基因变异的产物。

现已发现百余种同工酶，如乳酸脱氢酶、胆碱酯酶、肌酸激酶等。大多数同工酶是由不同亚基组成的聚合体，因其亚基种类、数量或比例不同，决定了同工酶在功能上的差异。例如催化乳酸和丙酮酸可逆反应的乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase, LDH）就是一组同工酶。它是由 4 个亚基组成的四聚体，亚基有两种，一种主要分布在心肌中，称 H 亚基，另一种则分布于骨骼肌及肝中，称 M 亚基。两种亚基以不同比例组成五种乳酸脱氢酶同工酶：LDH₁（H₄）、LDH₂（H₃M）、LDH₃（H₂M₂）、LDH₄（HM₃）和 LDH₅（M₄）。由于分子结构的差异，电泳时虽都移向正极，但电泳速度由 LDH₁……→ LDH₅ 依次递减，可借以鉴别这五种同工酶（图 3-2）。

乳酸脱氢酶的同工酶在不同组织器官中的含量与分布比例不同，人体某些组织 LDH 同工酶谱见表 3-2。心肌中含 LDH₁ 较为丰富，以催化乳酸脱氢生成丙酮酸为主；肝和骨骼肌中含





LDH₅ 较多, 以催化丙酮酸还原为乳酸为主。

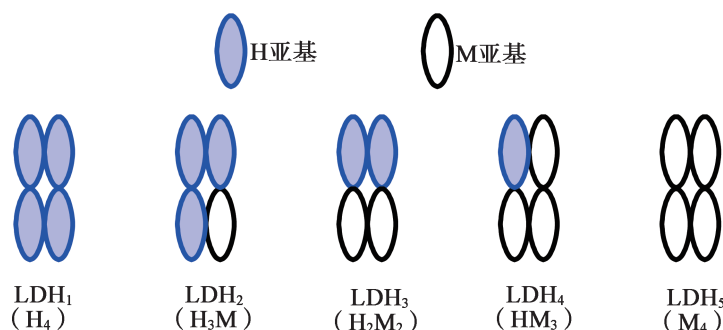


图 3-2 乳酸脱氢酶的同工酶组成

表3-2 人体几种组织器官的LDH同工酶谱 (活性, %)

LDH同工酶	心肌	肝	骨骼肌	肺	血清
LDH ₁ (H ₄)	73	2	0	14	27.1
LDH ₂ (H ₃ M)	24	4	0	34	34.7
LDH ₃ (H ₂ M ₂)	3	11	5	35	20.9
LDH ₄ (HM ₃)	0	27	16	5	11.7
LDH ₅ (M ₄)	0	56	79	12	5.7

同工酶的测定已应用于临床实践, 是现代医学诊断中灵敏、可靠的手段。当某组织病变时, 细胞中可能有某种特殊的同工酶释放入血, 导致血清同工酶谱改变。例如, 当急性心肌梗死时, 心肌细胞缺血坏死, 细胞内的乳酸脱氢酶释放入血, 从血清同工酶谱中可发现 LDH₁ 比例增加, 有助于该病的诊断。而肝细胞受损患者血清 LDH₅ 比例增加。因此, 在临床上测定血清同工酶含量、分析同工酶谱有助于诊断疾病和估计预后。

第二节 酶促反应的特点与机制

一、酶促反应的特点

酶是一类生物催化剂, 具有一般催化剂的特征, 例如: ① 微量的酶就能发挥巨大的催化作用, 加速化学反应的速度, 但在化学反应的前后没有质和量的改变; ② 酶只能催化热力学上允许进行的化学反应; ③ 酶的作用只能缩短化学反应达到平衡所需的时间, 而不能改变化学反应的平衡点, 即不能改变反应的平衡常数; ④ 酶加速反应的机制也是降低化学反应的活化能。但是, 酶也具有与一般催化剂不同的特点。

(一) 催化效率高

酶具有极高的催化效率, 对于同一反应, 酶催化反应的速率一般比非催化反应的速率高 $10^8 \sim 10^{20}$ 倍, 比一般催化剂催化的反应高 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍。例如, 脲酶催化尿素水解的反应速度是 H^+ 催化作用的 7×10^{12} 倍。酶这种高度的催化效率有赖于酶蛋白分子与底物分子之间独特的作用机制。

(二) 特异性强

一般催化剂常可催化同一类型的多种化学反应, 如 H^+ 可催化蛋白质、脂肪、淀粉等多种





不同物质的水解,对底物的结构要求不甚严格。与一般催化剂不同,酶对其所催化的底物具有较严格的选择性。即一种酶只能作用于一种或一类底物,或一定的化学键,催化一定的化学反应并生成一定的产物,常将酶的这种特性称为酶的特异性(specificity)或专一性。酶催化作用的特异性取决于酶蛋白分子上的特定结构。根据酶对底物选择的严格程度不同,酶的特异性可分为三种类型:

1. **绝对特异性** 有的酶只能催化一种特定的底物发生专一的化学反应,并生成一种特定的产物,称为绝对特异性(absolute specificity)。如脲酶只能催化尿素水解生成 NH_3 和 CO_2 。

2. **相对特异性** 有的酶特异性相对较差,可作用于结构类似的一类化合物或化学键发生化学反应,称为相对特异性(relative specificity)。如磷酸酶对葡萄糖磷酸酯、甘油磷酸酯、酚磷酸酯等磷酸酯都能水解,只是其水解速度有差异。

3. **立体异构特异性** 当底物具有立体异构现象时,有的酶仅能催化底物的一种立体异构体发生反应,称为立体异构特异性(stereospecificity)。如 L-乳酸脱氢酶只催化 L-乳酸脱氢生成丙酮酸,而不能催化 D-乳酸脱氢。 α -淀粉酶只能水解淀粉中的 α -1,4 糖苷键,而不能水解纤维素中的 β -1,4 糖苷键。

(三) 不稳定性

酶的化学本质是蛋白质,能使蛋白质变性的理化因素如强酸、强碱、有机溶剂、重金属盐、高温、紫外线以及剧烈震荡等均能影响酶活性,甚至使酶完全失去催化活性。酶比一般催化剂对理化因素的影响更为敏感,所以酶促反应需要在常温、常压和接近中性的条件下进行,临床上测定酶活性、酶贮存时也要特别注意酶的不稳定性。

(四) 可调节性

在正常情况下,机体内的物质代谢处于错综复杂、有条不紊的动态平衡之中,而酶活性的调节则是维持这种平衡的重要环节。机体通过各种调控方式,改变酶的催化活性,以适应生理功能的需要,促进体内物质代谢的协调统一,保证生命活动的正常进行。例如,通过改变酶的合成和降解速度调节酶含量,从而影响酶活性。另外,酶的活性还受体内各种代谢物浓度、激素以及神经系统信息分子等诸多因素的调节。

二、酶促反应的机制

(一) 酶能大幅度降低反应的活化能

在一个反应体系中,底物分子所含的能量各不相同。在分子相互碰撞的一瞬间,只有那些达到或超过一定能量的分子(称为活化分子或过渡态分子)才有可能发生化学反应,而且活化分子越多,反应速度越快。在一定条件下,底物分子从初态转变成过渡态所需要的自由能称为活化能(activation energy)。活化能是化学反应的能障,降低活化能可以相对增加反应体系中的活化分子数,从而提高化学反应速度。酶与一般催化剂一样,都是通过降低反应的活化能来加快化学反应速度,只不过酶的作用更强(图 3-3),这是因为酶可以先和底物结合成酶-底物复合物(过渡态),进而转化为产物,这个过程所需要的能量较少。

(二) 酶促反应的机制

有关酶促反应的机制,至今尚未完全阐明,主要有以下几种学说。

1. **酶-底物复合物的形成和诱导契合学说** 酶与底物结合生成酶-底物复合物(也称中间产物),酶活性中心中的催化基团影响底物中某些化学键的稳定性,催化底物转变成产物并释放出酶。可用下式表示:



酶与底物的结合不是锁与钥匙式的机械结合关系,反应一开始时,酶分子的构象与底物的分子结构并不是完全吻合,而是要经过一个相互诱导变化的过程才能达到相互结合。当底物与





酶分子相互接近时两者相互诱导反应,使酶构象发生改变,同时底物也发生变形,酶活性中心与底物靠近,生成酶-底物复合物,进而引起底物分子发生相应的化学反应。这种酶与底物相互接近时,双方在结构上相互诱导、相互变形、相互适应,进而相互结合的过程称为酶的诱导契合(induced-fit)。诱导契合学说是酶-底物复合物形成的重要机制(图3-4)。目前实验研究已获得若干酶-底物复合物的结晶。酶催化反应正是由于酶-底物复合物的形成,改变了原来化学反应的途径,从而大幅度地降低了酶促反应所需的活化能,使化学反应速度加快。

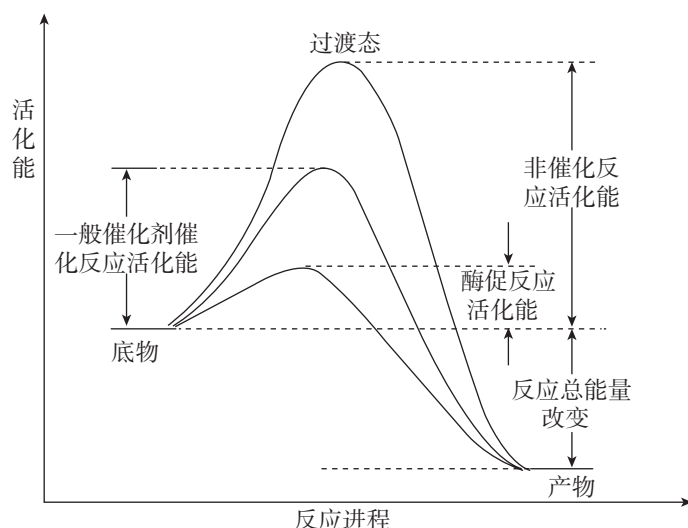


图 3-3 酶促反应与非酶促反应活化能的关系

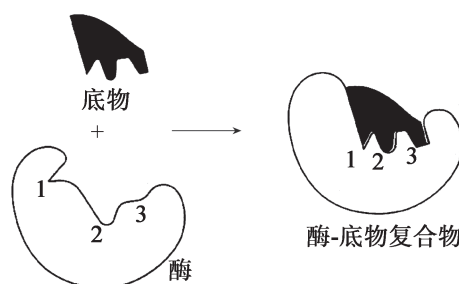


图 3-4 酶与底物的诱导契合示意图

2. 邻近效应与定向排列 在酶促反应中,由于酶-底物复合物的形成,底物结合在酶活性中心这个狭小空间里,使得底物的局部浓度极大提高,反应速度将会大大加快。如果是多分子反应,几个底物分子都挤在酶活性中心,使各分子之间的距离缩短,彼此更加接近,这就是邻近效应。此外,活性中心还通过与底物的结合,使反应基团定向排列,从而加速酶促反应的进行。

3. 酸碱催化 酶活性中心上的催化亚基存在着特殊的氨基酸残基侧链,如咪唑基、羧基、氨基、巯基和酚基等,这些基团可作为质子供体或质子受体,对某一底物行使酸、碱双重催化作用。此外,包括辅酶和辅基在内的多种功能基团的协同作用也可以极大提高酶的催化效能。

4. 表面效应 酶分子内部的疏水性氨基酸较丰富,常形成疏水“口袋”以容纳并结合底物,使酶催化底物反应常在疏水环境中进行,既可以排除水分子的干扰,又有利于彼此之间的直接接近,使酶的功能基团对底物的催化反应更为有效和强烈。

除上述几种高效的催化机制之外,还有亲核催化和亲电催化等多元催化作用。值得注意的是,以上各种催化机制并不是孤立存在的,一种酶的催化作用常常是以上多种催化机制综合作用的结果。

第三节 酶促反应动力学

对酶催化活性高低的研究,通常是通过测定酶促反应的速度大小作为判断依据。酶促反应动力学是研究各种因素影响酶促化学反应速度的规律。影响酶促反应速度的因素包括底物浓度、酶浓度、温度、pH、激活剂和抑制剂等。为避免酶促反应进行过程中,底物浓度因被消





耗而相对降低以及反应产物堆积等因素对反应速度的影响, 常以酶促反应开始时的速度 (即初速度) 为依据研究各种因素对酶催化活性的影响。

一、底物浓度对酶促反应速度的影响

(一) 酶促反应速度对底物浓度作图呈矩形双曲线

在酶浓度及其他条件不变的情况下, 底物浓度变化对酶促反应速度影响的作图呈矩形双曲线 (图 3-5)。当底物浓度很低时, 反应速度 (V) 随着底物浓度 ($[S]$) 的增高, 成直线比例上升; 而当底物浓度继续增高时, 反应速度增高的趋势逐渐缓和, 不再呈正比例加速; 当底物浓度增高到一定程度时, 反应速度不再随底物浓度的增高而增高, 达到了极限最大值, 称为最大反应速度 (maximum velocity, $V_{\max}$)。实际上, 酶促反应速度与底物浓度之间的这种变化关系, 反映了酶 - 底物复合物的形成以及生成产物的过程, 即中间产物学说。在酶量恒定的情况下, 当 $[S]$ 很低时, 酶的活性中心没有全部被底物所占据, 尚有游离酶分子存在, 故随着 $[S]$ 增高, 酶与底物结合生成的中间产物 (ES) 的量也随之增高, 表现为反应速度随 $[S]$ 的增高而呈直线上升; 当酶大部分与底物结合, 所余的游离酶不多时, 随着 $[S]$ 的增高, ES 生成的速度就不如反应初时增高的幅度, 反应速度的增高也就趋缓; 当 $[S]$ 继续增高到一定程度后, 所有游离的酶均与底物结合成 ES , 反应速度也就达到了最大值 ($V_{\max}$)。

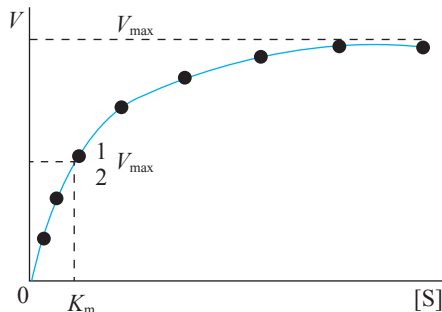


图 3-5 底物浓度对酶促反应速度的影响

(二) 米氏方程的数学推导

为了解释底物浓度与反应速度的关系, 1913 年 Michaelis 和 Menten 根据中间产物学说进行数学推导, 得出了 $[S]$ 与 V 关系的公式, 称为米 - 曼氏方程式, 简称米氏方程。以此方程式作图所得到的曲线, 与通过实验测得的数据作出的图形完全相同, 进一步证明了中间产物学说的正确性。



式中 E 、 S 、 ES 和 P 分别表示游离酶、底物、酶 - 底物复合物和产物。 k_1 为 ES 生成的反应速度常数, k_{-1} 和 k_2 分别代表 ES 分解为 $E+S$ 和 $E+P$ 的反应速度常数。在反应为初速度的条件下, 产物 P 的浓度很低, 由 $E+P$ 生成 ES 的过程可忽略不计, 故生成产物 P 的反应速度为:

$$V = k_2 [ES]$$

反应过程中, 部分 E 与 S 生成 ES , 而反应速度又取决于游离酶的浓度, 故从总酶量 $[E]$ 中减去已生成的 $[ES]$, 所以:

$$ES \text{ 生成速度} = k_1 ([E] - [ES])[S]$$

$$ES \text{ 分解速度} = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

当酶促反应趋于稳态时, ES 生成速度 = ES 分解速度, 即:

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

整理上式得:

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

K_m 即为米氏常数, 由此可得: $[E][S] - [ES][S] = K_m [ES]$, 则:





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

因生成产物 P 的反应速度 $V = k_2 [ES]$ ，代入上式得：

$$V = \frac{k_2[E][S]}{K_m + [S]}$$

当 $[S]$ 达到能使反应体系中所有的酶都与之结合成 ES 时， V 达到了最大反应速度 $V_{\max}$ ，此时 $[E] = [ES]$ ，即 $V_{\max} = k_2[E]$ ，代入上式即得米氏方程：

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

米氏方程描述了底物浓度与酶促反应速度之间的关系，方程中米氏常数 (K_m) 和最大反应速度 ($V_{\max}$) 是酶的动力学常数，对评价酶的催化特性具有重要意义。

(三) 米氏方程动力学常数的意义

1. 当酶促反应速度为最大反应速度一半时，即 $V = 1/2 V_{\max}$ ，代入米氏方程可得米氏常数与底物浓度相等 ($K_m = [S]$)。所以，米氏常数 K_m 是酶促反应速度为最大反应速度一半时的底物浓度，单位为 mol/L。 K_m 是酶的特征性常数，通常只与酶的结构、酶所催化的底物和反应环境有关，而与酶的浓度无关。各种同工酶的结构不同，其 K_m 值也不同，可藉此加以鉴别。

2. K_m 值可用来近似表示酶与底物的亲和力。 K_m 值越小，表示酶与底物的亲和力越大，即不需要很高的底物浓度，便可达到最大反应速度；反之， K_m 值越大，酶与底物的亲和力越小。

3. K_m 值可用来判断酶作用的最适底物。 K_m 值最小的底物一般认为是该酶的天然底物或最适底物。另外，由若干酶催化一个连续代谢过程时，其 K_m 值最大的一步反应往往为该连续反应中的限速反应，该酶为关键酶或称限速酶。

4. $V_{\max}$ 是酶完全被底物饱和时的反应速度，与酶浓度呈正比。

5. 从图 3-5 中可见，底物浓度对酶促反应速度影响曲线为双曲线，很难从图中求得确切的 $V_{\max}$ 和 K_m 值。Lineweaver 和 Burk 将米氏方程作双倒数变换处理，得下式：

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

以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图，可得一直线，即林-贝作图 (Lineweaver-Burk plot)。从纵轴截距 ($1/V_{\max}$) 及横轴截距 ($-1/K_m$)，可准确求得 $V_{\max}$ 及 K_m (图 3-6)。

二、酶浓度对酶促反应速度的影响

在酶促反应体系中，底物浓度足够大且无抑制剂存在时，酶、底物结合达到饱和状态，反应速度与酶浓度成正比关系， $V = k_2[ES] = k_2[E]$ ，即酶浓度越高，酶促反应速度越快 (图 3-7)。

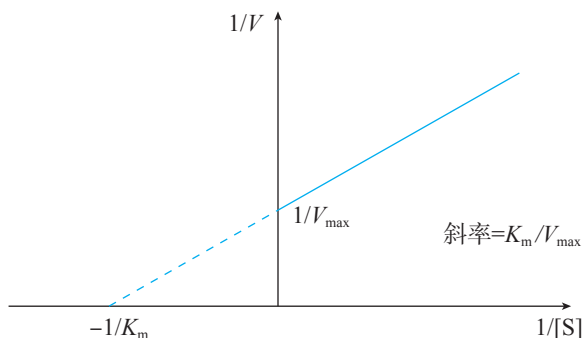


图 3-6 双倒数作图法

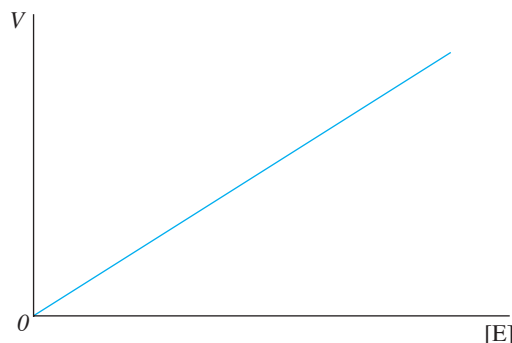


图 3-7 酶浓度对酶促反应速度的影响





三、温度对酶促反应速度的影响

酶对温度的变化极敏感。若自低温开始,逐渐增高温度,则酶促反应速度也随之增加。但到达一定限度后,继续增加温度,酶反应速度反而下降。这是因为温度对酶促反应速度有双重影响,升高温度一方面可加速反应的进行,另一方面则能加速酶变性,减少活性酶的数量而降低催化作用(图3-8)。综合这两种因素,将酶促反应速度达到最快时的环境温度称为酶促反应的最适温度(optimum temperature)。温血动物组织中,酶的最适温度一般在 $37 \sim 40^{\circ}\text{C}$ 之间,大多数酶加热到 60°C 时即开始变性, 80°C 时,多数酶的变性不可逆转。

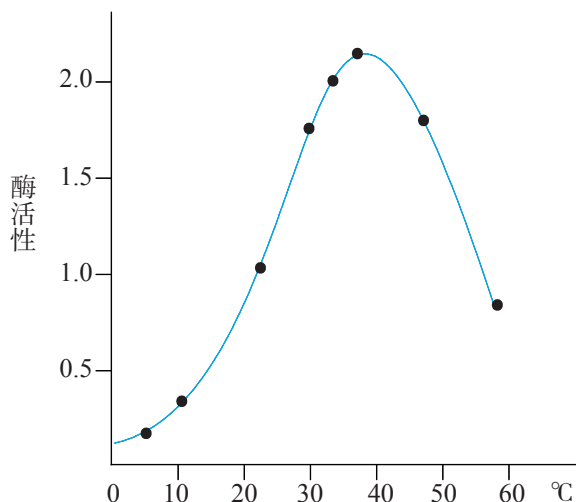


图 3-8 温度对淀粉酶活性的影响

温度对酶促反应速度的影响在临床上具有理论指导意义。低温条件下,由于分子碰撞机会少,酶的催化作用难以发挥,其活性处于抑制状态,但低温一般不破坏酶分子空间结构,一旦温度回升,酶又恢复活性。所以对酶制剂及待检酶标本(血清、血浆等)应在低温下保存。低温麻醉可通过低温降低酶活性以减慢组织细胞的代谢速度,提高机体在手术过程中对氧和营养物质缺乏的耐受性。多数酶因热变性而失活,高压灭菌就是利用这一原理。值得注意的是,酶的最适温度不是酶的特征性常数,而与酶反应进行的时间有关,酶可以在短时间内耐受较高的温度,相反延长反应时间,最适温度便降低。在生化检验中,可以采取提高温度、缩短反应时间的方法,进行酶的快速检测诊断。



知识链接

6- 磷酸葡萄糖脱氢酶的热不稳定性与溶血性贫血

6- 磷酸葡萄糖脱氢酶能催化 6- 磷酸葡萄糖脱氢,生成 6- 磷酸葡萄糖酸和 $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ 。 NADPH 能维持红细胞内谷胱甘肽(GSH)的还原状态,防止红细胞膜脂发生过氧化反应等(可参见第六章糖代谢)。因此,该酶是维持正常红细胞膜功能极重要的酶。这种酶的某种突变体虽有正常的动力学常数,但不能耐热。这种特性能缩短那些处于临界状态红细胞的生存期,可产生溶血性贫血。

四、pH 对酶促反应速度的影响

酶促反应介质的 pH 可影响酶分子中的极性基团,特别是酶活性中心上一些必需基团的解离状态,同时也可影响底物和辅酶的解离状态,从而影响酶与底物的结合。只有在某一 pH 范围内,酶、底物和辅酶的解离情况,最适宜于它们之间互相结合,酶具有最大催化作用,使酶促反应速度达最大值。因此环境 pH 对酶活性的影响显著(图3-9)。酶催化活性最大时的环境 pH 称为酶

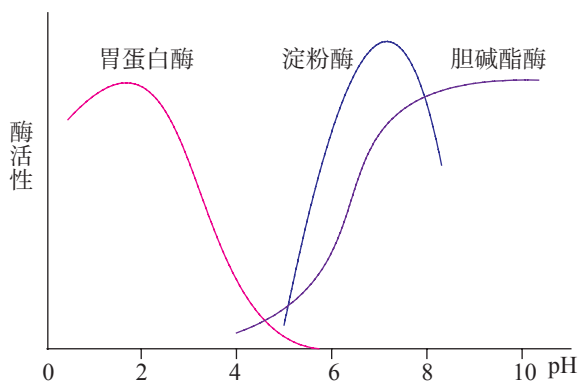


图 3-9 pH 对某些酶活性的影响





促反应的最适 pH (optimum pH)。

最适 pH 不是酶的特征性常数, 它受底物浓度、缓冲液的种类与浓度以及酶的纯度等因素的影响。溶液的 pH 高于或低于最适 pH, 酶活性降低, 酶促反应速度减慢, 远离最适 pH 时甚至会导致酶的变性失活。各种酶的最适 pH 不同, 生物体内大多数酶的最适 pH 接近中性, 但也有例外, 如胃蛋白酶的最适 pH 为 1.8, 肝精氨酸酶的最适 pH 为 9.8。

五、抑制剂对酶促反应速度的影响

凡能使酶活性降低或丧失但又不引起酶蛋白变性的物质称为酶的抑制剂 (inhibitor, I)。那些引起酶蛋白变性而使酶活性丧失的理化因素不属于抑制剂范畴。抑制剂多与酶活性中心内、外的必需基团特异性结合, 直接或间接地影响酶活性中心, 从而抑制了酶的催化活性。将抑制剂去除, 酶仍表现其原有活性。根据抑制剂与酶结合的紧密程度不同, 酶的抑制作用分为不可逆性抑制作用和可逆性抑制作用两类。

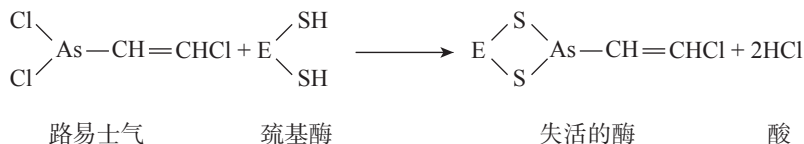
(一) 不可逆性抑制作用

不可逆性抑制作用 (irreversible inhibition) 是抑制剂与酶活性中心的必需基团以牢固的共价键不可逆结合, 使酶失去活性。此种抑制剂不能用稀释、透析、超滤等简单方法除去, 只能靠某些药物才能解除抑制, 使酶活性恢复。

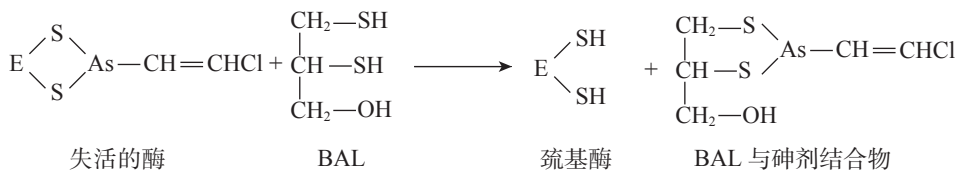
例如, 农药美曲膦酯 (敌百虫)、敌敌畏、对硫磷等有机磷化合物能专一性地与胆碱酯酶活性中心丝氨酸残基侧链羟基 (—OH) 共价结合, 使酶失活。有机磷农药中毒时, 胆碱能神经末梢分泌的乙酰胆碱不能及时被胆碱酯酶水解而蓄积, 引起迷走神经高度持续兴奋的中毒状态, 患者可出现恶心、呕吐、多汗、瞳孔缩小等一系列症状。临床上常采用碘解磷定 (PAM) 来治疗有机磷化合物中毒, 碘解磷定能与磷酸化羟基酶的磷酸基结合, 使酶羟基游离, 从而解除有机磷化合物对酶的抑制作用, 使酶活性恢复。



又如, 重金属离子 (Hg^{2+} 、 Ag^{+} 、 Pb^{2+} 等) 及砷化物 (As^{3+}) 可与酶的巯基 (—SH) 共价结合而使之失活。第二次世界大战中, 日本侵略者对中国人民惨绝人寰地使用了多种毒气, 其中之一是含 As^{3+} 的化学毒气——路易士气 (Lewisite), 它可与酶的巯基结合而使人畜中毒。



后来, 英国人发明了一种能与路易士气有更大亲和力并富含巯基的解毒剂, 即二巯基丙醇 (British anti-Lewisite, BAL), 在体内达到一定浓度后, 可与毒剂结合, 使酶的巯基游离从而恢复巯基酶活性, 实现治疗目的。



(二) 可逆性抑制作用

可逆性抑制作用 (reversible inhibition) 是抑制剂与酶以非共价键可逆性结合, 使酶活性





降低或丧失。此种抑制剂可采用透析或超滤等方法除去,使酶活性恢复。根据抑制剂与底物的关系,可逆性抑制作用可分为竞争性抑制作用(competitive inhibition)、非竞争性抑制作用(noncompetitive inhibition)和反竞争性抑制作用(uncompetitive inhibition)三类。

1. 竞争性抑制作用 竞争性抑制是最常见的一类可逆性抑制作用。抑制剂(I)与酶的底物(S)结构相似,共同竞争酶的活性中心,阻碍了酶与底物的正常结合。因为酶活性中心一旦与抑制剂结合则不能再与底物结合,因而底物与抑制剂为竞争关系,故称为竞争性抑制作用(图3-10)。

竞争性抑制作用的强弱取决于抑制剂与底物之间的相对浓度以及抑制剂和底物对酶的相对亲和力,抑制剂浓度不变时,增加底物浓度可减弱甚至解除抑制作用,这是竞争性抑制的特点。如丙二酸与琥珀酸结构类似,可与琥珀酸脱氢酶结合,但却不能发生脱氢反应,是最典型的竞争性抑制作用。若增加琥珀酸的浓度,抑制作用可被减弱。

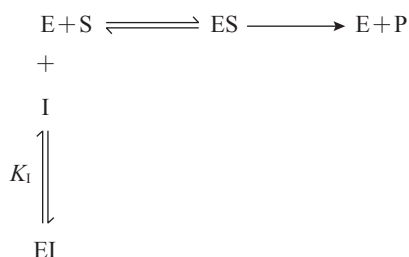
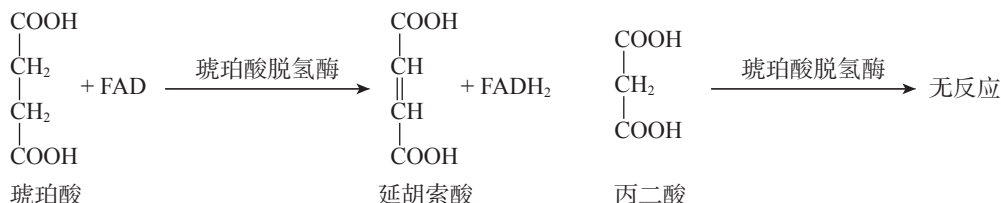
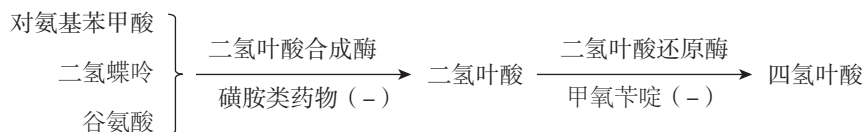
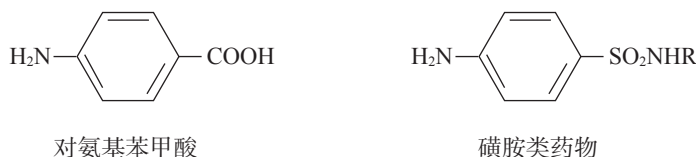


图 3-10 竞争性抑制剂与酶的结合



某些药物的作用机制就是竞争性抑制作用。如磺胺类药物及甲氧苄啶(磺胺增效剂)便是通过竞争性抑制作用抑制细菌生长的。对磺胺类药物敏感的细菌在生长繁殖时不能利用环境中的叶酸,而是在菌体内二氢叶酸合成酶的作用下,利用对氨基苯甲酸(PABA)、二氢蝶呤及谷氨酸合成二氢叶酸(FH_2),后者在二氢叶酸还原酶的作用下进一步还原成四氢叶酸(FH_4)。四氢叶酸是一碳单位的载体,是核酸合成中不可缺少的辅酶。磺胺类药物与对氨基苯甲酸结构相似,是二氢叶酸合成酶的竞争性抑制剂,可抑制二氢叶酸的合成;甲氧苄啶与二氢叶酸结构相似,是二氢叶酸还原酶的竞争性抑制剂,可抑制四氢叶酸的合成。



磺胺类药物及其增效剂(甲氧苄啶)在两个作用点分别竞争性抑制细菌体内二氢叶酸及四氢叶酸的合成,影响一碳单位代谢,从而有效地抑制了细菌体内核酸及蛋白质的生物合成,导致细菌死亡。人体能从食物中直接获取叶酸,所以人体四氢叶酸的合成不受影响。临床上许多抗代谢类抗癌药物,如甲氨蝶呤(MTX)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)等,都是酶的竞争性抑制剂,可抑制肿瘤的生长。

当[S]足够高时,竞争性抑制剂对酶的抑制作用将微不足道,此时几乎所有的酶分子均可与底物结合,故最大反应速度($V_{\max}$)仍可达到。然而,由于竞争性抑制剂的干扰,为达到无





抑制剂存在的反应速度，其所需的 $[S]$ 就要高一些。换言之，在竞争性抑制剂存在的情况下，酶与底物的亲和力下降，即表观 K_m （抑制剂存在时横轴截距所代表的“ K_m ”称为表观 K_m ）相应提高。在有竞争性抑制剂存在时的米氏方程为：

$$V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + [S]}$$

2. 非竞争性抑制作用 这类抑制剂与酶活性中心外的其他位点可逆结合，改变酶的空间结构，导致酶催化活性降低。抑制剂既可与游离酶结合，也可与酶-底物复合物结合，抑制剂与底物之间无竞争关系，但生成的酶-底物-抑制剂复合物（ESI）不能进一步释放产物，故将这种抑制作用称为非竞争性抑制作用（图 3-11）。

由于非竞争性抑制剂和底物在酶分子上结合的位点不同，并不影响酶对底物的亲和力，故表观 K_m 不变，但抑制剂与酶的结合，抑制了酶的活性，减少了活性酶分子数目，使 $V_{\max}$ 降低。所以抑制作用强弱取决于抑制剂的浓度和抑制剂对酶的亲和力，抑制作用不能通过增加底物浓度来减弱或消除。例如，毒毛花苷对细胞膜 Na^+, K^+ -ATP 酶的抑制属于非竞争性抑制。在有非竞争性抑制剂存在时的米氏方程为：

$$V = \frac{\frac{V_{\max}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

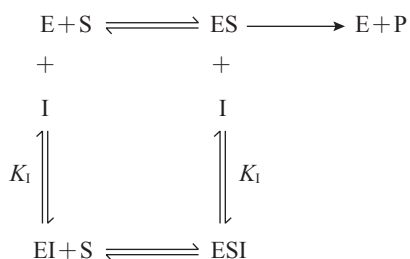


图 3-11 非竞争性抑制剂与酶的结合

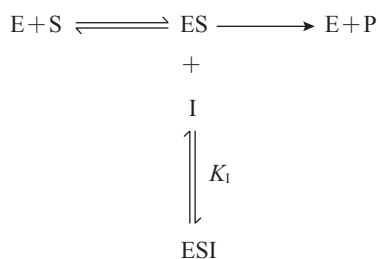


图 3-12 反竞争性抑制剂与酶的结合

3. 反竞争性抑制作用 此类抑制剂与非竞争性抑制剂不同，它只能与酶-底物复合物（ES）结合，不能与游离酶相结合（图 3-12）。当 ES 与抑制剂（I）结合后，酶活性被抑制，有效活性酶数目减少， $V_{\max}$ 降低。又由于在反应体系中存在这类抑制剂时，不仅不排斥酶与底物的结合，反而可增加二者的亲和力，故表观 K_m 减小。这与竞争性抑制作用相反，故称为反竞争性抑制作用。

苯丙氨酸对胎盘型碱性磷酸酶的抑制属于反竞争性抑制。反竞争性抑制的米氏方程为：

$$V = \frac{\frac{V_{\max}}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)} \cdot [S]}{\frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)} + [S]}$$

综上所述，三种可逆性抑制作用的双倒数作图及特点比较分别见图 3-13 和表 3-3。

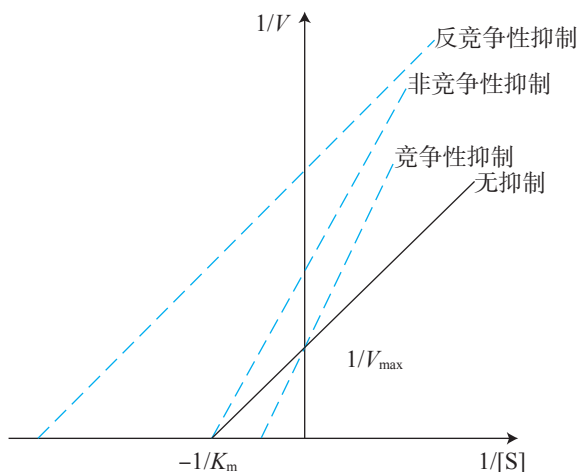


图 3-13 各种竞争性抑制作用的双倒数作图





表3-3 三种可逆性抑制作用的比较

作用特点		无抑制	竞争性抑制	非竞争性抑制	反竞争性抑制
与 I 结合的组分			E	E、ES	ES
酶促动力学特点	表观 K_m	K_m	增大	不变	减小
	V_{max}	V_{max}	不变	降低	降低
双倒数作图	横轴截距	$-1/K_m$	增大	不变	减小
	纵轴截距	$1/V_{max}$	不变	增大	增大
	斜率	K_m/V_{max}	增大	增大	不变

六、激活剂对酶促反应速度的影响

某些物质能提高酶活性，使酶由无活性变为有活性或使酶活性增加，这些物质称为酶的激活剂（activator）。激活剂包括无机离子和小分子有机物。如 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Mn^{2+} 、 Cl^- 及胆汁酸盐等。大多数金属离子激活剂对酶促反应不可缺少，否则酶将失去活性，称为必需激活剂，如 Mg^{2+} 是激酶的必需激活剂。有些激活剂不存在时，酶仍有一定的催化活性，但效率较低，加入激活剂后，酶的催化活性显著提高，这类激活剂称为非必需激活剂，如 Cl^- 能增强唾液淀粉酶的活性，胆汁酸盐能增强胰脂肪酶的活性等。激活剂作用的机制，有的可能是激活剂与酶及底物结合成复合物而起促进作用，有的可能参与酶活性中心的构成等。

第四节 酶的调节

细胞内的物质代谢途径通常是由多个连续的酶促反应所组成。在多酶催化的代谢途径中，会有一个或几个酶的活性易于受外界刺激而发生改变，进而对整个代谢途径的反应速度产生重大影响。这些因环境因素作用导致催化活性变化，进而调节代谢途径反应速度并发挥关键作用的酶，称为关键酶或限速酶（亦称调节酶）。

生物体具有调节自身物质代谢的能力，细胞内酶的调节是一切代谢调节的基础。酶的调节包括酶活性的调节与酶含量的调节。酶活性的调节，也即酶结构的调节，通过改变酶的结构，使已有酶的活性发生变化，由此调节代谢，这类调节方式效应快，但不持久。酶含量的调节则通过改变酶的生成与降解速度以改变酶的总含量，此调节方式效应慢，但较为持久。

一、酶活性的调节

酶活性的调节主要有别构调节、共价修饰调节以及酶原的激活等方式。

（一）别构调节

某些代谢物分子可与酶活性中心以外的调节部位（别位）非共价特异结合，引起酶蛋白分子构象变化，从而改变酶活性，这种调节称为酶的别构调节（allosteric regulation）或变构调节。受别构调节的酶称为别构酶（allosteric enzyme）或变构酶。引起别构效应的代谢物分子称为别构效应剂（allosteric effector）或变构效应剂，使酶变构后活性增强者称为别构激活剂，而使酶活性降低者称为别构抑制剂。

别构酶一般是由两个以上的偶数亚基组成的寡聚体，具有四级结构。与底物结合的催化部位（即活性中心）和与别构效应剂结合的调节部位可以在不同的亚基，也可在同一亚基的不同部位。含催化部位的亚基称为催化亚基，含调节部位的亚基称为调节亚基。别构效应剂与调节部位的结合是非共价的可逆结合，引起酶的构象变化，改变酶的活性，从而改变物质代谢的速度和代谢途径的方向。



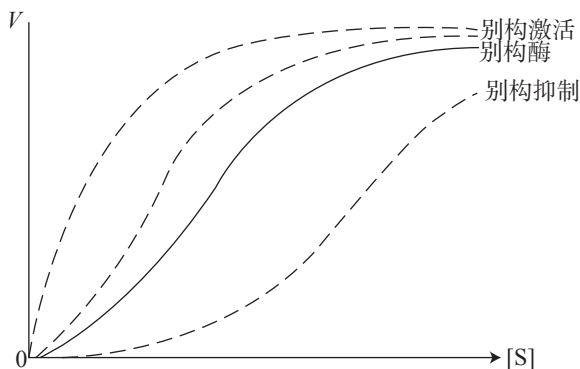


图 3-14 别构酶的 S 形底物浓度作用曲线

别构效应剂与酶的一个亚基结合，此亚基的变构效应使邻近的亚基也发生构象改变，从而引起对该别构效应剂的亲和力变化，这种作用称为协同效应 (cooperative effect)。若使邻近亚基对效应剂的亲和力增大，则为正协同效应；相反，若发生变构的邻近亚基对效应剂的亲和力减小，则为负协同效应。正协同效应的别构酶反应速度对底物浓度的关系呈 S 形曲线，而非米氏方程的矩形曲线 (图 3-14)，S 形曲线乃是各亚基间协同效应的反映。

(二) 共价修饰调节

1. 共价修饰的概念 某些酶多肽链上的一些基团，受其他酶的催化，可与某种化学基团发生可逆的共价结合从而改变酶的活性，称为酶的共价修饰 (covalent modification) 或化学修饰 (chemical modification)。在共价修饰过程中，酶发生无活性 (或低活性) 与有活性 (或高活性) 两种形式的互变。这种互变由不同的酶所催化，后者又通常受激素的调控。

2. 共价修饰的方式 酶的共价修饰包括磷酸化与脱磷酸化、甲基化与脱甲基化、乙酰化与脱乙酰化、腺苷化与脱腺苷化以及二硫键 ($-S-S-$) 与还原型巯基 ($-SH$) 等修饰方式。其中最常见的是磷酸化与脱磷酸化修饰。

(三) 酶原与酶原的激活

1. 酶原与酶原激活 多数酶一旦合成即具有催化活性，但有些酶在细胞内合成或初分泌时并无催化活性，这种无活性的酶的前体称为酶原 (zymogen)。消化道中的消化酶类以及血液凝固中起作用的凝血酶类均以酶原形式存在，是机体对自身环境适应或保护的一种反映。无活性的酶原在一定条件下能转变成有活性的酶，此过程称为酶原的激活。酶原激活的机制是在特异的蛋白酶或离子 (如 H^+) 等的作用下，酶原分子内的某处或多处被切除部分肽段后，肽链重新盘绕折叠从而形成或暴露出活性中心，具有酶的催化能力。例如胰蛋白酶原分泌至小肠后，在肠激酶的作用下，特异地从 N 端水解掉一个六肽片段，使肽链分子空间构象发生改变，形成酶的活性中心，从而转变成有催化活性的胰蛋白酶 (图 3-15)。

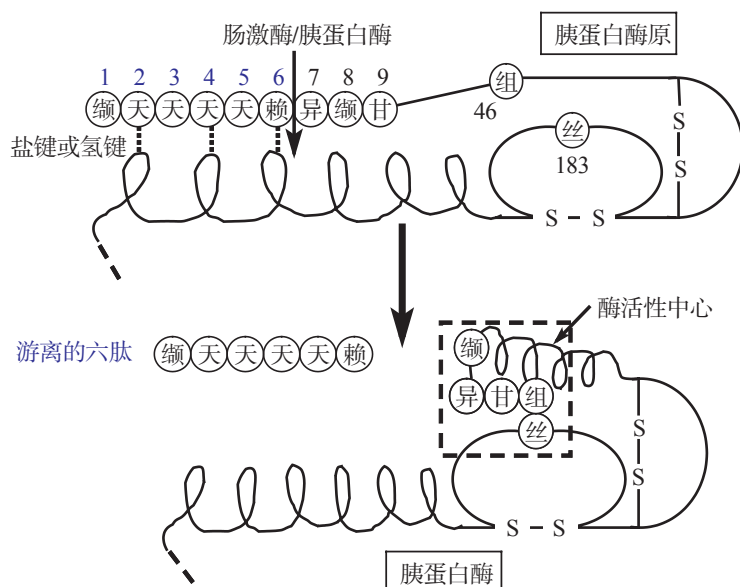


图 3-15 胰蛋白酶原激活示意图





2. 酶原激活的意义 酶原只是在特定的部位、环境和特定条件下才被激活,表现出酶的催化活性,这是有重要生理意义的。如消化系统中的几种蛋白酶均以酶原形式分泌出来,既避免了分泌细胞的自身消化,又可使酶原到达特定部位发挥催化作用。急性胰腺炎就是因为存在于胰腺中的胰蛋白酶原及糜蛋白酶原等,在某些因素影响下就地异常激活所致。又如,血液中参与凝血过程的酶类在正常情况下均以酶原形式存在,不会在血管中引起凝血,保证血流畅通。只有当出血时,血管内皮损伤活化了一些凝血因子,进而将凝血酶原激活成凝血酶,使血液凝固,以防止过多出血。

二、酶含量的调节

酶含量的调节包括对酶的合成与降解的调节。酶的合成与降解是最根本性的调节,由于酶是蛋白质,其合成过程耗时、耗能,属于缓慢调节,没有上述酶活性调节(如变构调节、化学修饰)快速。

酶的合成与降解常受细胞内外环境的影响,很多代谢物也可诱导相应酶的基因表达而使酶蛋白合成增多。如鸟氨酸循环中的酶,可受摄入蛋白质的增多而诱导合成增加;细胞内有的蛋白酶可选择性地使某些酶降解,从而使该酶的含量降低甚至消失。代谢通路中的很多终产物,则常可阻遏相应酶的基因表达,而使酶合成量减少甚至停止。如 HMG-CoA 还原酶是胆固醇合成过程的调节酶,胆固醇可阻遏其基因表达,使该酶合成减少。

酶的底物、产物、激素或药物均可影响酶的合成。一般将加速酶合成的物质称为酶的诱导剂(inducer),减少酶合成的物质称为酶的阻遏剂(repressor)。例如某些药物可以促进肝细胞中单加氧酶或其他一些药物代谢酶的诱导合成,从而加速药物失活,这是引起耐药的原因之一。

第五节 酶的分类与命名

一、酶的分类

国际酶学委员会根据酶催化反应的性质,将酶分为六大类:

1. 氧化还原酶类(oxidoreductases) 催化底物进行氧化还原反应的酶类。反应通式: $\text{AH}_2 + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{BH}_2$,如乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶等。该类酶的辅酶通常是 NAD^+ 或 NADP^+ 、FMN 或 FAD。

2. 转移酶类(transferases) 催化底物之间进行某种基团的转移或交换的酶类。反应通式: $\text{A}-\text{R} + \text{C} \rightarrow \text{A} + \text{C}-\text{R}$,如氨基转移酶、甲基转移酶等。该类酶含 8 个亚类,每一亚类表示被转移基团的类型。

3. 水解酶类(hydrolases) 催化底物发生水解反应的酶类。反应通式: $\text{A}-\text{B} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{A}-\text{H} + \text{B}-\text{OH}$,如蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶等。该类酶含 9 个亚类,每一亚类表示被水解键的类型。

4. 裂解酶类或裂合酶类(lyases) 催化一个化合物分解为两个化合物,或两个化合物合成一个化合物的酶类。反应通式: $\text{A}-\text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}$,如柠檬酸合酶、醛缩酶等。该类酶含 5 个亚类,每一亚类表示被裂解键的类型。

5. 异构酶类(isomerases) 催化各种同分异构体之间相互转化的酶类。反应通式: $\text{A} \longleftrightarrow \text{B}$,如磷酸丙糖异构酶、磷酸己糖异构酶等。该类酶含 6 个亚类,每一亚类表示异构作用的类型。

6. 连接酶类(合成酶类)(ligases) 催化两分子底物合成为一分子化合物,同时偶联有





ATP 的磷酸键断裂释放能量的酶类。反应通式： $A+B+ATP \rightarrow A-B+ADP+P_i$ ，如谷氨酰胺合成酶等。该类酶含 4 个亚类，每一亚类表示所形成键的类型。

二、酶的命名

(一) 习惯命名法

通常是以酶催化的底物、反应性质及酶的来源命名。①依据所催化的底物命名，如脂肪酶、蔗糖酶、淀粉酶、蛋白酶等。②依据所催化的反应类型或方式命名，如转氨酶、脱氢酶等。③有的依据上述两项原则综合命名，如乳酸脱氢酶、丙氨酸转氨酶等。④有时还加上酶的来源或酶的其他特点，如胃蛋白酶、胰蛋白酶、碱性磷酸酶等。

但习惯命名法常常一酶数名，或从酶的名称上难以看出它所催化的反应类型和性质，以至无法区分催化同一类型反应的不同的酶。例如，过氧化氢酶的另一习惯名为触酶，不知其是对何种底物起何种反应。又如蔗糖酶又名转化酶，转化什么也未指明。淀粉酶究竟是催化合成反应还是分解反应也不清楚等。为避免混乱，必须进行科学分类命名，因现在已发现的酶达二千余种，新的酶还在不断发现，根据习惯命名很难一致。

(二) 系统命名法

1961 年，国际酶学委员会以酶的分类为依据，制订了与分类法相适应的系统命名法。系统命名法规定每一酶都有一个系统名称，它标明酶的所有底物与反应性质，底物名称之间用冒号（:）隔开，并附 4 个数字的分类编号，即属于第几大类、第几亚类、第几亚亚类以及在该亚亚类中的编号。如 L- 乳酸脱氢酶的系统命名为 L- 乳酸：NAD⁺ 氧化还原酶，属于第 1 大类、第 1 亚类、第 1 亚亚类，在第 1 亚亚类中的编号为 27，故此酶的专有编号为 EC 1.1.1.27。这种命名和编号相当严谨，没有“同名同姓”，而且从酶的名称中就直观地知道其所参与的是何种底物，催化何种反应类型，缺点是名称过长且繁琐。为此，国际酶学委员会又从每种酶的数个习惯名中选用一种公认的习惯名作为推荐名，如 L- 乳酸：NAD⁺ 氧化还原酶的推荐名为 L- 乳酸脱氢酶。

第六节 酶与医学的关系

一、酶与疾病发生的关系

酶的催化作用是机体实现物质代谢以维持生命活动的必要条件。当某种酶在体内的生成或催化作用发生障碍时，机体的物质代谢过程常可失常，失常的结果则表现为疾病。如酪氨酸酶缺乏的患者不能将酪氨酸转变成黑色素，皮肤、毛发中缺乏黑色素而成白色，称为白化病；又如，体内生物氧化过程中不断产生超氧阴离子，它可损伤细胞，而超氧化物歧化酶则可消除超氧阴离子，细胞衰老的机制可能与超氧化物歧化酶的活力降低有关；有先天性乳糖酶缺乏的婴儿，不能水解乳汁中的乳糖，导致腹泻等胃肠道紊乱，称为乳糖酶缺乏症。由此可见，许多疾病的发病机制或病理生理变化，都直接、间接地与酶的参与有关。

二、酶与疾病诊断的关系

许多遗传性疾患是由于先天性缺乏某种有活性的酶所致，故在出生前，可从羊水或绒毛膜中，检出该酶的缺陷或其基因表达的缺失，从而可采取早期流产，防患于未然。

当某些器官组织发生病变时，由于细胞的坏死或破损，或细胞膜通透性增高，细胞内的某些酶可释放进入体液，使得体液中该酶的含量、活性增高。通过对血、尿、脑脊液等





体液和分泌液中某些酶活性的测定,可以反映某些组织器官的病损情况,从而有助于疾病的诊断。临床上通过测定血中一些酶的活性以诊断某些疾病,具有重要的诊断价值。例如,测定血及尿中的淀粉酶活性,是急性胰腺炎的有力佐证;测定血中谷丙转氨酶的活性,可判断肝炎的活动情况;测定血中肌酸激酶和谷草转氨酶的活性,是诊断急性心肌梗死的重要指标。

在某些疾病中,某些酶的活性又可显著降低,例如,有机磷农药中毒时,血中胆碱酯酶的活性减弱。此外血清同工酶的测定对于疾病的器官定位有一定意义。

三、酶与疾病治疗的关系

1. 替代治疗 因消化腺分泌不足所致的消化不良,可补充胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰脂肪酶及胰淀粉酶等以助消化。中药助消化药鸡内金,系鸡胃黏膜,含丰富的活力极强的胃蛋白酶。因某些酶的基因缺陷所致的先天性代谢障碍,正在试用相应酶的替代疗法,如以脂质体包裹酶引入体内,或设法引入该酶的基因。

2. 抗菌治疗 凡能阻断或抑制细菌重要代谢途径中的酶活性,即可达到杀菌或抑菌的目的。如磺胺类药物,可竞争性抑制细菌中的二氢叶酸合成酶,使细菌的核酸代谢障碍而阻遏其生长增殖。氯霉素因抑制某些细菌的转肽酶活性,而抑制其蛋白质的生物合成。某些对青霉素耐药的细菌,是因为该菌生成一种能水解青霉素的 β -内酰胺酶。新设计的青霉素衍生物具有不被该酶水解的结构特点,如头孢西丁,其被 β -内酰胺酶分解的速度只有青霉素V的十万分之一。

3. 抗癌治疗 肿瘤细胞有其独特的代谢方式,若能阻断相应的酶活性,就可达到遏制肿瘤生长的目的。L-天冬酰胺是某些肿瘤细胞的必需氨基酸,若给予能水解L-天冬酰胺的天冬酰胺酶,则肿瘤细胞因其必需的营养素被剥夺而趋于死亡。又如甲氨蝶呤可抑制肿瘤细胞的二氢叶酸还原酶,使肿瘤细胞的核酸代谢受阻而抑制其生长繁殖。

4. 对症治疗 如菠萝蛋白酶等可用于溶解及清除炎症渗出物,消除组织水肿,溶解纤维蛋白血凝块。链激酶及尿激酶可溶解血栓,多用于心、脑血管栓塞的治疗。DNA酶可水解呼吸道黏稠分泌液中的DNA,使痰液变稀,易于引流咳出。

5. 调整代谢,纠正紊乱 如抑郁症系脑中兴奋性神经介质(如儿茶酚胺)与抑制性神经介质的不平衡所致,给予单胺氧化酶抑制剂,可减少儿茶酚胺类的代谢灭活,提高突触中的儿茶酚胺含量而抗抑郁,这是许多抗抑郁药的设计依据。

6. 核酶与抗体酶的临床应用 核酶是具有催化活性的RNA,其临床治疗比较适用于一些病毒感染性疾病,如艾滋病和肝炎等。人免疫缺陷病毒(HIV)突变率很高,用免疫方法比较困难,但病毒的启动子、剪接信号区或包装信号区等区域的序列较为保守,针对该序列的靶核酶可以扩大抗病毒亚型的作用,减少突变体的逃避。在乙型肝炎的治疗上,已设计了针对HBV前RNA和编码HBV表面抗原、聚合酶以及X蛋白质mRNA的发夹型核酶,这些核酶由载体带入肝细胞后可抑制HBV达83%。抗体酶是具有催化功能的免疫球蛋白,既有酶的高效催化能力,又有抗体的高度选择性。抗体酶的设计制造可用于临床疾病的治疗,一个长远的目标是希望获得抗肿瘤和细菌的抗体酶,现在已经有动物实验用特异的抗体酶治疗小鼠的狼疮。

四、酶在医药学中的其他用途

酶在医药学上的应用是极其广泛的。例如,药物设计中寻找某些酶的特异性抑制剂或激活剂,如抗代谢物。又如,用化学方法将酶交联在惰性物质表面,构成固相酶,对于慢性肾衰竭患者,含氮废物尿素等不能从肾中滤出,需要进行人工透析清除废物,使用含有固相化脲酶的透析管,则流经透析管的血液易于将尿素清除,这是因为尿素经脲酶作用后生成的氨





和 CO_2 透过透析管的速度，远比尿素的透过速度快。又如，临床化验中常用酶作为工具，以分析血液中的某些可受该酶作用的物质含量。例如将葡萄糖氧化酶固定在玻璃电极上，可测定血中葡萄糖的含量，称为酶电极。将不同的酶固定在不同的酶电极上，可分别测定许多不同的物质。

小结

酶是最主要的生物催化剂，大多数酶的本质是蛋白质。核酶是近些年发现的具有催化作用的核酸。酶按分子组成可分为单纯酶和结合酶（全酶）两类。前者分子中只含氨基酸组分，后者除酶蛋白部分外尚有辅助因子。酶蛋白决定反应特异性，辅助因子决定反应的种类和性质。辅助因子是金属离子或小分子有机化合物，根据其于酶蛋白结合的紧密程度可分为辅酶与辅基。许多 B 族维生素参与辅酶或辅基分子的组成。酶分子中一些在一级结构上可能相距很远的必需基团，在空间结构上彼此靠近，组成具有特定空间结构的区域，能与底物特异结合并将底物转化为产物，这一区域称为酶的活性中心。

酶促反应具有催化效率高、特异性强、不稳定性和可调节性。其催化机制是酶与底物诱导契合形成酶-底物复合物，通过邻近效应、定向排列、多元催化及表面效应等使酶发挥高效催化作用。

酶促反应动力学研究影响酶促反应速度的各种因素，包括底物浓度、酶浓度、温度、pH、抑制剂和激活剂等。底物浓度对反应速度的影响可用米氏方程表示：

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

其中， K_m 为米氏常数，等于反应速度为最大速度一半时的底物浓度，具有重要意义。 $V_{\max}$ 和 K_m 可用米氏方程的双倒数作图来求取。酶促反应在最适 pH 和最适温度时活性最高，但它们不是酶的特征性常数，受许多因素的影响。酶的抑制作用包括不可逆性抑制作用与可逆性抑制作用两种。可逆性抑制中，竞争性抑制作用的表观 K_m 值增大， $V_{\max}$ 不变；非竞争性抑制作用的 K_m 值不变， $V_{\max}$ 减小；反竞争性抑制作用的 K_m 值和 $V_{\max}$ 均减小。

机体内对酶的活性与含量的调节是调节代谢的重要途径之一。别构酶是与一些效应剂可逆地结合，通过改变酶的构象而影响酶的活性。多亚基的别构酶具有协同效应，是体内快速调节酶活性的重要方式。酶的共价修饰使酶在相关酶的催化下可逆地共价结合某些化学基团，实现有活性酶与无活性酶的互变。这是体内实现对代谢快速调节的另一重要方式。体内有些酶以无活性的酶原形式存在，只有在需要发挥作用时才转化为有活性的酶。同工酶是指催化的化学反应相同，酶蛋白的分子结构、理化性质乃至免疫学性质不同的一组酶。同工酶在不同的组织与细胞中具有不同的代谢特点。酶量的调节包括酶生物合成的诱导与阻遏，以及对酶降解的调节。

酶可分为六大类，分别是氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和合成酶类。酶的命名有习惯命名和系统命名两种。按酶的系统分类法所分成的六大类，每一酶均有四位数字的编号。

酶与医学的关系十分密切。许多疾病的发生发展与酶的活性异常有关。机体内某些疾病可通过血清酶的测定予以反映。许多药物可通过作用于细菌或人体内的某些酶以达到治疗目的。酶可以作为诊断试剂和药物对某些疾病进行诊断与治疗。





自测题

一、名词解释

1. 酶的活性中心 2. 同工酶 3. 酶原 4. 酶的绝对特异性 5. 活化能
6. 米氏常数 (K_m) 7. 竞争性抑制作用 8. 别构调节 9. 共价修饰

二、选择题

- 关于酶的叙述正确的是
 - 所有的酶都是蛋白质
 - 大多数酶是由活细胞产生的具有催化作用的蛋白质
 - 温度越高, 酶促反应速度越快
 - pH 越低, 酶促反应速度越快
 - 酶能改变反应的平衡常数
- 全酶是指
 - 酶与底物结合的复合物
 - 酶与抑制剂结合的复合物
 - 酶与激活剂结合的复合物
 - 酶与别构效应剂结合的复合物
 - 酶与辅助因子结合的复合物
- 关于酶的活性中心, 描述**错误**的是
 - 酶的活性中心是由一级结构上相互邻近的基团组成
 - 酶的活性中心是有一定空间的构象, 能与底物特异结合的区域
 - 酶的活性中心外的必需基团是维持酶空间构象所必需
 - 酶原激活是酶活性中心形成或暴露的过程
 - 当底物与酶分子相接近时, 可引起酶活性中心构象改变
- 金属离子在酶促反应中的作用**不包括**:
 - 稳定酶分子的构象
 - 增加反应中的静电斥力
 - 降低反应中的静电斥力
 - 传递电子
 - 在酶和底物间起连接桥梁作用
- 不能**区分酶和一般催化剂的特点的是
 - 催化效率高
 - 反应前后无质和量的改变
 - 特异性强
 - 不稳定性
 - 可调节性
- 酶催化效率高的原因是
 - 降低反应的活化能
 - 升高反应的活化能
 - 减少反应的自由能
 - 降低底物的能量水平
 - 降低产物的能量水平
- 酶诱导契合学说是指
 - 抑制剂诱导酶改变构象
 - 别构酶激活的机制
 - 酶原激活的机制
 - 底物与酶相互诱导改变构象, 相互适应, 进而相互结合
 - 产物诱导酶改变构象, 使其适应产物
- 下列**不是**酶促反应机制的是
 - 邻近效应
 - 协同效应
 - 定向排列
 - 酸碱催化
 - 表面效应
- 下列**不是**影响酶促反应速度的因素是
 - 底物浓度
 - 酶浓度
 - 酶原浓度
 - 反应温度
 - 环境的 pH
- K_m 值的特点是
 - 与酶的性质无关
 - 与同一种酶的各种同工酶无关
 - 与酶对底物的亲和力无关
 - 与酶的浓度有关
 - 是反应速度达到 $1/2 V_{max}$ 时的底物浓度





11. 酶浓度通常对酶促反应速度影响的图形为
- 矩形曲线
 - S 形曲线
 - 抛物线
 - 直线
 - 在纵轴上截距为 $1/V_{\max}$ 的直线
12. 关于温度对酶促反应速度影响的错误描述是
- 低温可保存酶
 - 低温使酶变性失活
 - 高温可灭菌
 - 温度对酶促反应速度呈现双重影响
 - 通常温度高于 $50 \sim 60^{\circ}\text{C}$ ，酶开始变性失活
13. 有关 pH 对酶促反应速度影响的错误描述是
- pH 改变可影响酶的解离状态
 - pH 改变可影响底物的解离状态
 - pH 改变可影响酶与底物的结合
 - 酶促反应速度最高时的 pH 为最适 pH
 - 最适 pH 是酶的特征性常数
14. 有机磷化合物对于胆碱酯酶的抑制属于
- 不可逆抑制作用
 - 可逆性抑制作用
 - 竞争性抑制作用
 - 非竞争性抑制作用
 - 反竞争性抑制作用
15. 酶竞争性抑制作用的强弱取决于
- 竞争部位
 - 结合的牢固程度
 - 与酶结构的相似程度
 - 酶的结合基团
 - 底物与抑制剂浓度的相对比例
16. 一种酶作用于几种底物时，其天然底物所对应的 K_m
- 最大
 - 中间
 - 最小
 - 与其他底物相同
17. 有关别构酶的错误叙述是
- 别构剂以共价键结合到别位
 - 构象的改变使酶与底物的亲和力发生变化
 - 体内快速调节酶活性的重要方式
 - 别构剂与酶活性中心外的某一部位可逆地结合，使酶构象改变，因而酶活性改变
 - 正协同效应底物浓度曲线呈 S 形
18. 同工酶的正确描述为
- 催化功能不同，理化、免疫学性质相同
 - 催化功能、理化性质相同
 - 同一种属一种酶的同工酶 K_m 不同
 - 同工酶无器官特异性
 - 不同种属的同一种酶
19. 关于酶原及其激活的正确叙述为
- 酶原无活性是因为酶蛋白肽链合成不完全
 - 酶原无活性是因为缺乏辅酶或辅基
 - 体内的酶初泌时都以酶原的形式存在
 - 酶原激活过程是酶活性中心形成或暴露的过程
 - 所有酶原都有自身激活功能
20. 酶分子中能使底物转变为产物的基团是
- 调节基团
 - 催化基团
 - 结合基团
 - 亲水基团
 - 酸性基团
21. 酶促反应速度 (V) 达到最大反应速度 ($V_{\max}$) 的 80% 时，底物浓度 $[S]$ 为
- $1K_m$
 - $2K_m$
 - $3K_m$





- D. $4K_m$
E. $5K_m$
22. 对可逆性抑制剂的描述, 正确的是
- A. 抑制剂与酶非共价结合
B. 抑制剂与酶共价结合
C. 抑制剂与酶结合后用透析等物理方法不能解除抑制
D. 抑制剂与酶的变构基团结合, 使酶的活性降低
E. 抑制剂使酶变性

三、简答题

1. 试述酶的特异性的类型。
2. 试述三种可逆性抑制作用的区别和动力学特点。
3. 试述酶原激活的本质及其生理意义。

案例 3-1 分析

有机磷农药, 如美曲磷酯(敌百虫)、敌敌畏等能特异地与胆碱酯酶活性中心丝氨酸残基的羟基($-OH$)共价结合, 在体内形成磷酰化胆碱酯酶, 使其活性受到抑制。正常机体在神经兴奋时, 神经末梢释放乙酰胆碱, 乙酰胆碱发挥作用后, 被胆碱酯酶水解为乙酸和胆碱。若胆碱酯酶被抑制, 神经末梢分泌的乙酰胆碱不能及时分解而聚集在突触间隙, 使胆碱能神经过度兴奋, 引起迷走神经的毒性兴奋状态, 出现神志不清、抽搐、呕吐等症状, 严重时可导致死亡, 故这类物质又称神经毒剂。上述病例显示有机磷化合物(有机磷农药美曲磷酯)不可逆性抑制胆碱酯酶活性。

临床上常用碘解磷定治疗有机磷农药中毒。碘解磷定为肟类复能剂, 可解除有机磷化合物对羟基酶的抑制作用。

催吐和导泻的作用是促进消化道内未吸收的有机磷毒剂排出体外; 反复补液和利尿的作用是促进吸收的毒剂尽快排泄; 阿托品能消除或减轻中枢神经系统症状, 改善呼吸中枢抑制; 碘解磷定静脉注射是置换与有机磷结合的羟基酶, 包括胆碱酯酶, 解除不可逆性抑制作用。

(徐世明)

