

Practical

Enzymology

酶学实验手册

[德] H. 比斯瓦根 (Hans Bisswanger) 著

刘晓晴 译



化学工业出版社
生物·医药出版分社

Practical
Enzymology

酶学实验手册

[德] H. 比斯瓦根 (Hans Bisswanger) 著

刘晓晴 译



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

酶学实验手册/[德] 比斯瓦根 (Bisswanger, H.)
著; 刘晓晴译. —北京: 化学工业出版社, 2008.9
书名原文: Practical Enzymology
(生物实验室系列)
ISBN 978-7-122-03522-6

I. 酶… II. ①比…②刘… III. 酶学-实验-技术手册 IV. Q55-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 122922 号

Practical Enzymology, by Hans Bisswanger

ISBN 3-527-30444-4

Copyright © 2004 by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

本书中文简体字版由 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分, 违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2006-3436

责任编辑: 傅四周 郎红旗

装帧设计: 关 飞

责任校对: 李 林

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

720mm×1000mm 1/16 印张 15 $\frac{3}{4}$ 字数 268 千字 2009 年 2 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 45.00 元

版权所有 违者必究

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和发展的实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化学工业出版社组织出版了“生物实验室系列”图书。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。而单项实验技术则以深入介绍某一专项

技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列”图书的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域（如医学、药学、农学）的专业研究人员，企业或公司的生产、研发、管理技术人员，以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列”图书的出版能够服务于我国生命科学的发展需要，同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅能对已出版图书提供宝贵意见和建议，也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者，以便我们能够集思广益，将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种，推陈出新。

谨向所有关心和热爱生命科学，为生命科学的发展孜孜以求的科学工作者致以崇高的敬意！

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂，欣欣向荣！

化学工业出版社
生物·医药出版分社

前 言

许多关于一般生物化学方法的优秀教科书通常都包括酶的内容，如酶的制备、结构、催化机制和动力学等，然而很少有全面的酶分析包括酶测定的描述。当然这不排除由于太多的测定方法不能压缩在一本书中的原因，确实，一般性的酶学著作或者需要大量的篇幅，比如“Methods in Enzymology”，或者是超出了期望的规模就简单地终止，如 Bergmeyer 的经典著作“Methods of Enzymatic Analysis”或 Boyers 所著的《酶》(The Enzymes)。这种情况实际上对实验学者或在临床和分析实验室的实验人员是没有实际帮助的，他们需要的是贴近实验室的基本实验方案，所以一本包含选择好的有限实验方案而且没有声称很全面的书可能比那些在很远的图书馆里纷乱的大量文献更有帮助。本着这种目的，本书集中在酶分析这很窄的方向，尤其是酶的测定方法，当然还包括配体或效应物结合的检测方法。书中主要描述了基本的理论和常用仪器，酶操作的一般规则和它们的技术应用。由于页面有限，制备方法和更大范围的技术应用（像电泳技术）没有被包括在内。

为了便于理解，重点放在了各自方法的原理上。由于不是每个酶的测定都进行了描述而且不是性质截然不同的酶系统的所有要求都能进行预期，本书也可以作为适合特殊条件的实验方案和发展特殊酶测定的指导。因此，并不是那些经常应用的测定方法被提到，同时也包括需要专一性技术的测定方法。对于不同的方法，比如光谱滴定或平衡透析，只给出了一个或几个方案作为一般步骤的实例。它们既可以让实验者直接照此操作而熟悉这种方法，也可以作为一个特殊系统的样板。这些例子特别适合学生实验，既给出了明显的信号而且不会有严重的问题，同时使用的仪器也不需要最高水平的灵敏度。

我在这里要强调 Rainer Figura、Klaus Möschel 和 Meriem Nouaimi-Bachmann 博士对本书酶固定化部分所做出的有价值贡献，还要感谢 Comfort U. Inyang 博士对文字的修改。

Hans Bisswanger

译 者 序

随着生物化学和分子生物学的迅猛发展，酶的理论研究和应用研究都取得了突破性进展。但由于酶涉及的领域十分宽广，不同的书选择的内容、深度和广度都不同。目前市面有大量关于分子酶学、现代酶学和酶工程等方面的专著，但涉及实际应用的实用酶学方面的书则很少见。这本书的作者 Hans Bisswanger 教授一直从事酶学领域的研究而且有着几十年的教学经验，他敏锐地发现了这一点，在总结教学实践和科学研究的基础上，编写了这本《酶学实验手册》。这本书既包括酶反应、酶测定的基本理论，又包含酶的实验室操作、技术应用和测定仪器等实用性内容，最大的特点是列出了大约 60 种不同的酶的具体测定方法，同时还有蛋白质结合和固定化酶的测定方法，是一本实用性非常强的实验室酶学手册。

在此我要感谢参加翻译工作的崔玉娟、李璟纯、刘石安、王璐和薛娴静，正是他们的大力协助才使得翻译工作顺利完成。我还要感谢化学工业出版社的相关编辑，由于他们的努力，这本书才能有中文版本。由于译者的学术水平有限，再加上时间紧、杂务多，肯定会存在很多错误和不妥，恳请广大读者批评指正。

刘晓晴
2008 年 4 月于北京

缩 写

A, B, C	特异性结合配体 [specific binding ligands (e. g. enzyme substrate)]
A	吸收 (absorption)
$[\alpha]$	比旋光 (specific rotation)
AA	活性放大 (activity amplification)
AAT	天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase)
ABTS	2,2'-联氨-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸二胺盐) (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ADH	乙醇脱氢酶 (alcohol dehydrogenase)
AM	活性调节 (activity modulation)
AMSA	S-乙酰巯基丁二酸酐 (S-acetylmercaptosuccinic anhydride)
ANS	8-(苯基氨基)-1-萘磺酸 (8-anilinonaphthalene sulfonate)
BAPNA	N'-苯甲酰-L-精氨酸-对硝基苯胺 (N'-benzoyl-L-arginine <i>p</i> -nitroanilide)
BCA	双喹啉-4-羧酸 (bicinchoninic acid)
BSA	牛血清白蛋白 (bovine serum albumine)
CoA	辅酶 A (coenzyme A)
CPG	可控孔度玻璃 (controlled pore glass)
CS	柠檬酸合成 (citrate synthase)
cyt c	细胞色素 c (cytochrome c)
<i>d</i>	相对密度 (relative density)
DMSO	二甲基亚砷 (dimethylsulfoxide)
DPIP	2,6-二氯靛酚 (2,6-dichlorophenolindophenol)
DTE	1,4-二硫赤藓糖醇 (1,4-dithioerythritol)
DTT	1,4-二硫-L-苏糖醇 [1,4-dithio-L-threitol (clelands reagent)]
ϵ	吸收系数 (absorption coefficient)
E	酶 (enzyme)
<i>E</i>	电动势 (electromotive force)
Elp	PDHC 中的丙酮酸脱氢酶组分 (pyruvate dehydrogenase component of PDHC)
Elo	OGDHC 中 α -酮戊二酸脱氢酶组分 (α -oxoglutarate dehydrogenase component of OGDHC)

E2p	PDHC 中二氢硫辛酰胺转乙酰基酶组分 (dihydrolipoamide acetyltransferase component of PDHC)
E2o	OGDHC 中二氢硫辛酰胺转琥珀酰酶组分 (dihydrolipoamide succinyltransferase component of OGDHC)
E3p, E3o	PDHCO和 GDHC 中二氢硫辛酰胺脱氢酶组分 (dihydrolipoamide dehydrogenase component of PDHCO and GDHC)
EDTA	乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid)
EGTA	乙二醇-双(2-氨基乙基)四乙酸 [ethylene glycol-bis(β -aminoethyl ether)- N,N,N',N' -tetraacetic acid]
EIA	酶免疫测定 (enzyme immunoassays)
ELISA	酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay)
F	法拉第常数 (Faraday constant)
GAPDH	甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)
GluDH	谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase)
GLUPHEPA	N -戊二酰-L-苯丙氨酸-4-硝基苯胺 (N -glutaryl-L-phenylalanin-4-nitroanilide)
GOD	葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase)
G6PDH	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase)
h	普朗克常量 (Planck's constant)
HK	己糖激酶 (hexokinase)
H ₂ O	水 (常指无菌水) [water (used generally for distilled water)]
I	光强度 (light intensity)
IU	国际单位 (international unit)
k	速度常数 (rate constant)
k_{cat}	催化常数 (catalytic constant)
kat	开特 (Katal)
K_d	解离常数 (dissociation constant)
K_m	米氏常数 (Michaelis constant)
LAP	亮氨酸氨肽酶 (leucine aminopeptidase)
LDH	乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase)
MBS	3-马来亚酰胺苯甲酰- N -羟基琥珀酰亚胺酯 (3-maleimidobenzoyl- N -hydroxysuccinimide ester)
MDH	苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase)
M_r	相对分子质量 (relative molecule mass)
OGDHC	α -酮戊二酸脱氢酶复合体 (α -oxoglutarate dehydrogenase complex)

ONPG	邻硝基苯- β -D-半乳糖吡喃糖苷 (<i>o</i> -nitrophenyl β -D-galctopyranoside)
ORD	旋光色散 (optical rotatory dispersion)
P, Q, R	产物 (products)
PAGE	聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis)
PBS	磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline)
PDC	丙酮酸脱羧酶 (pyruvate decarboxylase)
PDHC	丙酮酸脱氢酶复合体 (pyruvate dehydrogenase complex)
PGK	3-磷酸甘油酸激酶 (3-phosphoglycerate kinase)
PGM	磷酸葡萄糖变位酶 (phosphoglucomutase)
PK	丙酮酸激酶 (pyruvate kinase)
PMSF	苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride)
PN	产量 (productivity number)
POD	过氧化物酶 (peroxidase)
PTA	磷酸转乙酰基酶 (phosphotransacetylase)
R	气体常数 (gas constant)
RIA	放射免疫测定 (radioimmunoassay)
RT	室温 (room temperature)
S	底物 (substrate)
SA	酶比活力 (specific enzyme activity)
SMCC	4-(<i>N</i> -马来酰亚胺甲基) 环己胺-1- <i>N</i> -羟基琥珀酰胺酯 (4-{ <i>N</i> -maleimidomethyl } cyclohexane-1-carboxylic acid- <i>N</i> -hydroxysuccinimide ester)
SUPHEPA	<i>N</i> -琥珀酰-L-苯基丙氨酸 <i>p</i> -硝基苯胺 (<i>N</i> -succinyl-L-phenylalanine <i>p</i> -nitroanilide)
TCA	三氯乙酸 (trichloroacetic acid)
TCLK	L-1-氯-3-(4-甲苯磺酰基氨基)-7-氨基-2-庚酮 [L-1-chloro-3-(4-tosyl-amido)-7-amino-2-heptanone]
TES	<i>N</i> -[三(羟甲基)甲基]-2-氨基乙磺酸 (<i>N</i> -tris[hydroxymethyl]-methyl-2-aminomethanesulfonic acid)
ThDP	焦磷酸硫胺素 (thiamin diphosphate)
TPCK	L-1-氯-3-(4-甲基磺酰基氨基)-4-苯基-2-丁酮 [L-1-chloro-3-(4-tosyl-amido)-4-phenyl-2-butanone]
Tris	三羟甲基氨基甲烷 [tris (hydroxymethyl) aminomethane]
U	酶单位 ($\mu\text{mol}/\text{min}$) [enzyme units ($\mu\text{mol}/\text{min}$)]
V	最大速率 (maximum velocity)

目 录

1 引言	1
2 酶命名	4
3 酶反应	6
3.1 酶反应理论	6
3.1.1 反应级数	6
3.2 米氏方程	8
3.3 酶测定理论	13
3.3.1 反应曲线分析	13
3.3.2 如何进行酶测定	16
3.3.3 酶活力	22
3.4 偶联酶反应理论	26
3.4.1 双偶联酶反应	26
3.4.2 三偶联酶反应	28
3.5 底物测定	29
3.5.1 终点法	29
3.5.2 偶联酶反应	30
3.5.3 动力学方法测定底物	31
3.5.4 酶的循环	31
3.6 仪器方面	33
3.6.1 分光光度法	33
3.6.2 电化学方法	43
3.6.3 释放或消耗气体的反应的分析	45
3.7 酶的测定	46
3.7.1 总论	46
3.7.2 应用方面	49
3.7.3 缓冲液和溶液	49
3.7.4 氧化还原酶测定	54

3.7.5	丙酮酸脱氢酶复合体 (PDHC)	73
3.7.6	α -酮戊二酸脱氢酶复合体 (OGDHC)	82
3.7.7	转移酶	84
3.7.8	水解酶	91
3.7.9	蛋白酶	104
3.7.10	裂解酶	117
3.7.11	异构酶	121
3.7.12	由酶循环确定烟酰胺核苷酸	124
3.8	多种方法	128
3.8.1	蛋白质测定	128
3.8.2	磷酸测定	139
3.8.3	酶溶液浓缩	140
3.9	酶免疫测定	145
3.9.1	非竞争固相酶免疫测定	146
3.9.2	竞争固相酶免疫测定	146
3.9.3	酶免疫测定方法	146
4	结合测定	153
4.1	不可逆结合、可逆结合、特异性结合和非特异性结合	153
4.1.1	总论	153
4.1.2	实验	155
4.2	根据大小不同进行结合测定	157
4.2.1	超滤	157
4.2.2	平衡透析	158
4.2.3	结合测定的计算	162
4.2.4	凝胶过滤	163
4.2.5	超离心	165
4.3	分光光度技术	166
4.3.1	示差分光光度法	167
4.3.2	荧光分光光度法	173
4.4	结合测定的其他方法	178
4.4.1	放射性标记	178
4.4.2	反射计干涉分光光度法	179
5	酶的技术应用	180
5.1	酶固定化原理	180

5.1.1	吸附	181
5.1.2	包埋	182
5.1.3	微囊法	182
5.1.4	交联	183
5.1.5	共价结合到固体支持物	184
5.2	酶固定化方法	186
5.2.1	微胶囊化尼龙珠	186
5.2.2	丙烯酰胺包埋	187
5.2.3	酶在非孔玻璃表面的共价固定化	188
5.2.4	可调孔玻璃的固定化	190
5.2.5	共价固定化酶到聚酰胺	192
5.2.6	用三乙基氧四氟硼酸的烷基化	193
5.2.7	聚酰胺部分水解后固定化酶到氨基	195
5.2.8	聚酰胺部分水解后固定化酶到羧基	197
5.2.9	固定化酶到聚酯	198
5.2.10	用碱水解和氯甲苯活化的固定化	199
5.2.11	碱水解和由二吡啶碳酰的活化	200
5.3	固定化酶的分析	201
5.3.1	蛋白质测定	201
5.3.2	酶测定	202
5.4	酶反应器	204
5.4.1	批式反应器（搅拌罐式反应器）	205
5.4.2	膜式反应器	206
5.4.3	固体床式反应器	206
5.4.4	固定化细胞	207
5.5	生物传感器	207
5.5.1	酶电极	207
5.5.2	免疫电极	211
5.5.3	其他生物传感器	211
5.5.4	生物亲和传感器	212
5.6	固定化酶与治疗	212
附录	酶的 EC 号列表	214
索引		230

1 引言

至今，人们已经了解了 3000 多种酶的特性，但是只有不足 1/10 的酶可以商品化生产。据目前的估计，可能存在大约 25000 种酶，酶的一个显著功能就是有效地催化反应的进行，绝大多数反应没有酶的参与是不能进行的，即便可以也需要很长的时间。酶可以使自发反应的转化速率提高 $10^8 \sim 10^{10}$ 倍，有时可以达到 10^{12} 倍 (Menger, 1993)。令人惊奇的一个例子是鸟氨酸-5-磷酸脱羧酶所催化的反应：当反应自发进行时，反应的半衰期是 7.8×10^7 年，而酶可以使反应速度系数提高 10^{17} 倍 (Radzicka 和 Wolfenden, 1995)。磷酸丙酮酸异构酶可以加速磷酸二羟丙酮的异构化超过 10^9 倍 (Albert 和 Knowles, 1976)。

一些反应可以自发进行，比如在呼吸链中氢和氧可以形成水（尽管认为自发反应时释放的能量不可能保存）。即使这样的反应是由酶催化进行的，在代谢中每一步反应也都是由一种专一的酶调控，这样看来酶除了催化作用外，还有更广泛和更重要的作用。催化反应的优势不仅是可以使反应尽快达到反应平衡，而且可以通过增加和去除催化剂的量来控制反应的进行。作为催化剂的酶有附加的能力，即酶的效能可以通过外源的调节表现为正效应和负效应，这种效应是通过激活或者是抑制底物来实现的而不是通过改变催化剂的量来完成的。因此，在细胞内存在一个精确调控的网络，没有这个网络，生命是无法想象的，由此也可以说酶的最重要的功能是在细胞代谢中的调节作用。

作为蛋白质特性的酶具有理想的双重功效，一方面它提供功能性的氨基酸残基作为结合位点和催化中心，另一方面它具有柔性使得形成和稳定过渡态复合物以及诱导构象的变化来调整催化效率。绝大多数酶是由组成蛋白质的 20 种氨基酸构成的，这些氨基酸具有的亲水性、疏水性、酸性或碱性的侧链足以能专一性结合底物和调节分子以及识别催化反应。但是对于后一种功能经常也包括非蛋白成分在内，比如可以解离的结合成分辅酶或是不可以解离的辅基。NAD (P)、焦磷酸硫胺素、辅酶 A 可被认为是辅酶，而 FAD、细胞色素、嘌

呤、嘧啶、硫辛酸、生物素、四氢叶酸构成辅基。很多酶在行使功能或稳定方面需要金属离子来进一步辅助， Mg^{2+} 介导焦磷酸与 ADP、ATP 的结合及 ThDP 和酶的结合，铁离子在细胞色素，钴离子在卟啉环系统，铜离子（细胞色素氧化酶，酪氨酸酶）、锌离子（羧化酶，醇脱氢酶）、锰离子（酶）、镁离子（精氨酸酶，木糖/葡萄糖异构酶）、镉离子（过氧化酶）支持酶反应。

酶的蛋白质属性使得它们能通过突变专一性结合配体，这种特性正广泛地应用于生物技术领域通过定点突变的方法来改变酶的专一性和功能。利用分子模型（蛋白设计）不同的修饰，首先是假设，然后通过各自的突变实现假设。例如，羟异己酸脱氢酶催化 α -酮酸还原转化为手性的羟己酸——含羟基的氨基酸的类似物，这个酶的最适底物是 α -酮己酸，如果类似物底物是异酮己酸则催化效率明显降低。通过定点突变后，对于同样的底物其催化效率 k_{cat}/K_m 值增加了 10^4 倍，对于苯基乙醛酸，与它的生理底物相比较增加了 10^2 倍（Feil 等，1994）。

另一方面蛋白质属性使得酶对环境影响非常敏感，比如极端 pH、离子强度、温度等，这就要求在严格的条件下才能使酶达到最适活性。在细胞的自然环境里，有机体生存在适合条件下（尽管温度不能总被保证，尤其是微生物），然而在极端条件下一些酶被证明具有明显的抗性。虽然蛋白质被普遍认为对温度非常敏感，但有些细菌，像栖热菌（*Thermus*）、栖热袍菌（*Thermotoga*）和热原体（*Thermoplasma*），它们的酶忍受的温度可高达 100°C 。由于在不同的地质年代，地球的环境温度缓慢地降低，推测在生物有机体的进化中古代有机体和它们的组分比目前存在的能承受高得多的温度，因此目前酶在古代前体一定都是嗜热性的，而随着温度的降低这种特性消失了，这也能解释大自然“决定”了“选择”蛋白质而不是选择比它们更稳定的核酸作为生物催化剂，虽然也发现了一些具有催化活性的 RNA。

在这本书中，介绍了一些酶的测定方法和相关方法，比如蛋白质的测定，尤其还强调了固定化酶，经常应用的测定方法都包括在内，还包括了很多不同的酶类型和方法以及一些特殊的测定方法。当然这样一个广阔的领域在有限的页面里是不可能全部包括的，可能选择素材有时也很主观，如果需要了解更详细的内容读者可以查阅酶学的权威书籍。

参考文献

- Albert W J, Knowles J R. 1976. *Biochemistry*, 15: 5631-5640
Feil I K, Lerch H P, Schomburg D. 1994. *Eur J Biochem*, 223: 857-863
Menger F M. 1993. *Acc Chem Res*, 26: 206-212

Radzicka A., Wolfenden R. 1995. Science, 267: 90-93

权威书籍

Advances in Enzymology. New York: Wiley

Bergmeyer H U, ed. 1983. Methods of Enzymatic Analysis. 3rd edn. Weinheim, Verlag Chemie

Methods in Enzymology. San Diego: Academic Press

Schomburg D, ed. 2001f. Springer Handbook of Enzymes. Berlin: Springer

The Enzymes. San Diego: Academic Press

2 酶命名

通常使用的酶名称都是习惯名，这种叫法是由来已久的，有时与它们催化的反应没有任何相关性，例如心肌黄酶（硫辛酰胺脱氢酶）、间酶（6-磷酸葡萄糖脱氢酶）、黄酶（ NADPH^+ ：受体氧化还原酶）。酶的习惯名经常是至少给一些参考，但不是系统地描述反应，例如，习惯名 L-乳酸脱氢酶暗指乳酸的 $-\text{OH}$ 氧化为 $-\text{O}-$ ，但是没有关于受体的任何信息，而系统名称 (S)-乳酸： NAD^+ 氧化还原酶则表示 NAD^+ 为受体。但是这样的名称在实验室使用太复杂了，人们经常使用习惯名，甚至在一些正式场合（像商品交易中）也是如此。酶的命名推荐使用确认的习惯名（“推荐名”），在酶的列表中每种酶都有专一的名称。

为了确定具体的酶并且把很多部分酶活性很相近的酶区分开，国际生物化学组织（IUB）在 1956 年成立了由 M. Florkin 教授领导的国际酶学委员会（International Commission of Enzymes），这个委员会制定出所有已知酶的命名和分类的原则，随后在 1961 年该委员会由酶标准委员会（Standing Committee on Enzyme）取代，而在 1969 年又由酶专家委员会（Expert Committee on Enzymes）替代，直到现在该委员会将酶命名（见参考列表）在“European Journal of Biochemistry”上定期发表补充。这个列表中包含 3000 多种酶，进入列表的要点是每个酶拥有一个四位数的代码和它们的系统名称。

酶的命名（包括习惯名）存在一定的规则，一般酶名称的结尾是 $-\text{ase}$ 。酶的名称应该表明催化反应的特点，而不是离奇的名字（ reparase , caspase ）。如果酶催化不止一个反应，例如由几个不同的亚基组成的酶完成连续的部分反应，它应该加上“ system ”，尽管这个功能单位经常被称作复合体 [丙酮酸脱氢酶系统（复合体），脂肪酸合酶系统（复合体）]。既然酶是按照它们催化的反应分类的，那么催化同一反应的酶，比如来源于不同的生物体或同功酶就被划分为同一系统名和同一代码，尽管它们在历史上是有区别的，像酸性磷酸酶、碱性磷酸酶或乙酰胆碱酯酶和胆碱酯酶。没有催化任何化学反应的蛋白质