

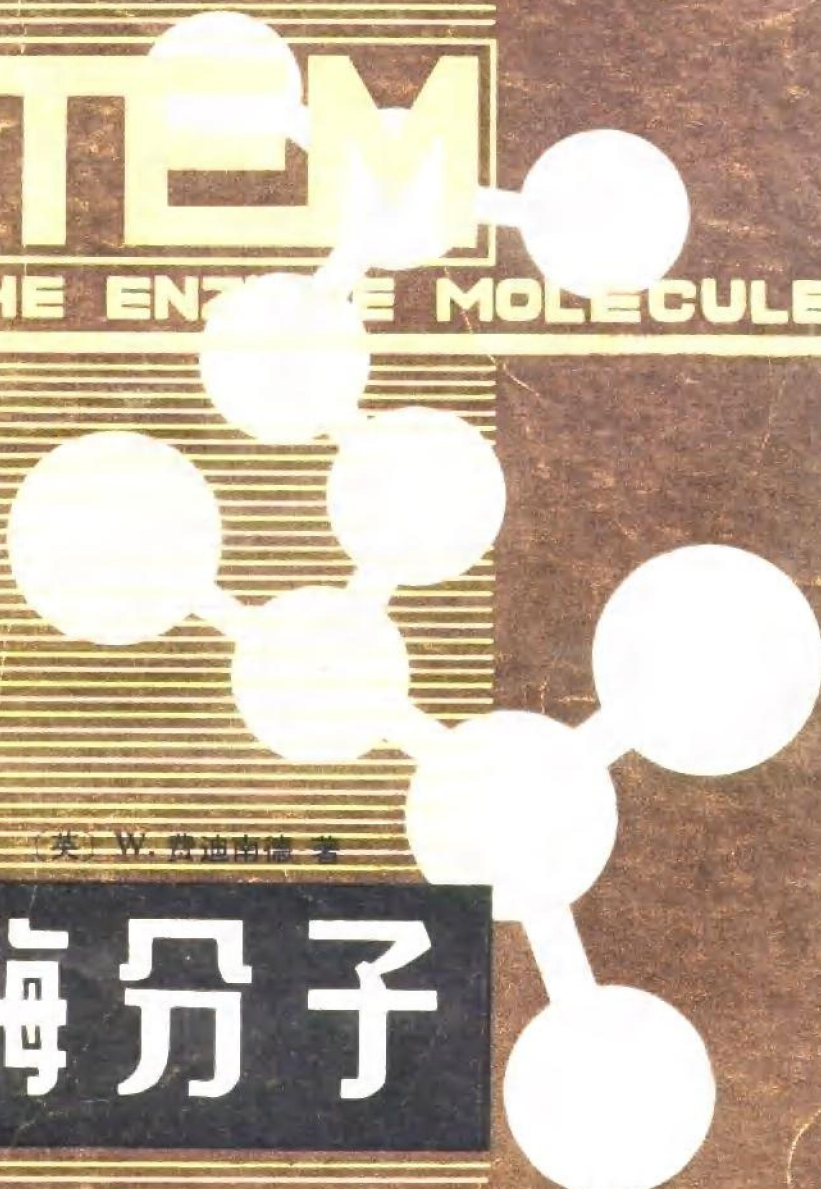
TEM

THE ENZYME MOLECULE

〔英〕W. 费迪南德 著

酶分子

科学出版社



内 容 简 介

本书的主要内容是：酶的基本知识，酶的动力学和热力学，酶的结构和催化机理，酶的代谢控制等等。可供生物化学和有关的科研工作者，大专院校师生参考。

W. Ferdinand

THE ENZYME MOLECULE

John Wiley & Sons 1976

酶 分 子

[英] W. 费迪南德 著

王志美 何忠效 孟广震 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980年7月第一版 开本：787×1092 1/32

1980年7月第一次印刷 印张：11.3/8

印数：0001—4,200 字数：255,000

统一书号：13031·1283

本社书号：1783·13—10

定价：1.75 元

译 者 的 话

有关近代基础酶学的著作国内甚缺，这使许多从事生物化学科研与教学的同志深感不便。一九七七年我们从新书中发现英国谢菲尔德大学费迪南德教授所写的“酶分子”这本著作。基于作者多年的教学经验，这本书在分子水平上系统地总结了近些年来酶学主要领域的最新成就，同时也兼顾到有关基础知识，不失为一本颇有参考价值的著作。在一些同志的赞助下，我们完成了这本书的翻译工作。本书在出版前虽经反复校阅，但因水平所限，仍难免有错误和不妥之处，请读者批评指正。本书第二、五、六三章由王志美同志翻译；第三、四章及附录 2 由何忠效同志翻译；其余各部分由孟广震同志翻译。

1978 年 10 月

前 言

要写一本书的理由无疑是多方面的和复杂的,但是促使我写这本书主要有两个理由。近十年来在谢菲尔德大学(Sheffield University)给二年级学生讲授酶学的经验使我深深地感到需要有一本适合于这个水平的该专题的教科书。诚然,现在已经有了许多关于酶的卓越著作,一些生物化学的标准教科书也都用大量的章节来论述酶学的各个方面。但是,仍然缺乏一本可以介绍给大学生们的内容先进而又简洁的著作,使学生们在书中能找到他们所必须知道的有关酶的生物学、酶的结构和动力学研究的全部内容。我试图加以满足的就是这样一个需要。促使我动笔的第二个原因是由于我深信,应该对酶进行研究的最好理由要到酶在生物学里所起的核心作用中去寻找。酶是极其复杂而又性质奇妙的大分子,化学家对它肯定是感兴趣的,这就是化学家们对酶进行研究的一个很充分的理由,我自己对酶开始感兴趣的原因也是如此。但是现在我认为,酶应该首先作为一个生物学实体而不是作为一个化学实体来加以研究;研究的手段大部分是化学的,但是研究的目的则在于更深刻地理解酶所调节的生物学过程。

因此,这本书的对象是那些正在学习酶学的大学生,在学习生物化学,植物学,细胞生物学,遗传学,微生物学,天然产物化学,生理学和动物学时,酶学是他们课程中的一个部分。此外,对于打算研究酶学的研究生,本书作为入门也不失其参考价值。

本书的头两章涉及酶在生物学中所具有的总的重要意义和研究酶学所需要的一些动力学和热力学方面的基本方法。第三章和第四章用化学和三维空间分子方面的术语说明酶的结构和催化机理，这就为用动力学和调节方面的术语来思考和估价酶的生物学功能搭起了一个架子，这方面的内容在本书的其余章节中讨论。只要有可能，我总是尽量用实际的酶来说明各个论点。从六大类酶中总共选取了三十七个酶作为例子。我希望这样使得读者粗通这个科目，而不必用过于频繁地提到好几千种已知的酶来难为他们。有一些酶，特别是核糖核酸酶 A 和天冬氨酸转氨甲酰酶，讨论得略为详细一些。在每一章的末尾*，我都开列了一些重要的参考文献，以供那些想对某些特殊领域中的研究了解得更为详细的读者参阅。

全书中凡是需要用到数学公式的地方我都毫不犹豫地引用之。我认为学习酶学的大学生不接触数学概念和数学的简单表达法是不合宜的。这里涉及到的一些数学概念都是很简单，任何一个大学生只要具有代数基础，熟悉微分运算，就不会碰到什么困难。不过因为很多学生生物学的大学生都把数学还给中学老师了，所以在最初阶段，对各个方程我都尽量逐步地加以推导，使读者跟起来不致于感到吃力。

W. 费迪南德

1975 年 11 月

* 实际上是在全书的最后。——译者注

使用的符号表

- D 扩散系数
 D 速度方程式中的分母
 e 自然对数的底数
 e_0 各种形式的酶之总浓度
 E 酶
 EX 酶—X 复合物
 E 能量
 F 自由能
 ΔF 自由能改变
 ΔF^\ddagger 活化自由能
 F 通过代谢途径的流量
 h Hill 系数
 h 普朗克常数
 H 焓或热含
 ΔH 焓变或热含的变化
 ΔH^\ddagger 活化焓
 k 速度常数
 k 波尔兹曼常数
 K 或 K_{eq} 平衡常数
 K_d 解离常数
 K_m 米氏常数
 K_x 从 EX 解离为 X 的解离常数
 K 酶的可控制性

- L 配基
M 分子量
 n 寡聚体中的亚基数
N 阿伏加德罗常数
 \bar{N} 每个蛋白质分子结合的某一配基分子的平均数
R 普适气体常数
S 熵
 ΔS 熵变
 ΔS^\ddagger 活化熵
S 沉降系数
T 绝对温度
 ν 反应速度
 ν_0 反应初速度
 V_m 酶促反应的最大速度
 \bar{V} 微分比容
[X] X的浓度
 \bar{Y} 蛋白质为配基结合的饱和度
Z 酶的敏感性
T 质量作用比值
 ϵ 酶的弹性
 ϵ_1 介电常数
 μ 离子强度
 ρ 不平衡比值

目 录

使用的符号表.....	xi
第一章 细胞中的酶.....	1
细胞对酶的需要	1
酶学的历史	3
细胞中酶的多样性	4
酶在细胞活动的自我调节中的作用	7
酶学的目的	10
研究酶的一些原因	12
在化疗和医学中的酶	12
在分化和发育中的酶	14
酶与化学工业	15
酶的命名和分类	16
第二章 生物力能学和动力学.....	17
热力学方面的考虑	17
酶通过提高原来是慢反应的反应速度而起作用	17
酶作为一种生物化学绳索和滑轮	19
自由能变化的测量和它们对浓度的依赖关系	23
酶学中的焓和熵	25
动力学方面的考虑	26
反应速度的测量	27
酶的催化效应	31
Michaelis-Menten 假说	32
Briggs-Haldane 假说	36
K_m 和 V_m 的测量	40
酶的测定	44
第三章 蛋白质的结构和性质.....	50

在蛋白质中发现的氨基酸	50
蛋白质分子量的测定	57
超离心测定分子量	57
凝胶过滤	58
SDS—凝胶电泳	59
蛋白质的一级结构	61
蛋白质的空间结构——二级和三级结构	73
1. 疏水性相互作用	74
2. 氢键	78
3. 静电相互作用	85
4. 电子脱位作用	87
5. 范德华力	87
中心法则	88
蛋白质的四级结构	91
关于蛋白质三维结构的 X-射线衍射研究	95
影响蛋白质构象的因素	96
第四章 酶的结构与功能	100
配基结合部位	100
酶的辅因子	101
配基结合部位的实验检定和特性	108
Scatchard 作图	113
化学修饰研究	119
亲和标记	126
诱导-契合假说	127
活性部位与别构部位	129
专一性	132
酶原、同功酶和突变	135
酶的激活、钝化和抑制	138
1. 通过改变酶的共价结构来改变酶活的试剂	139
2. 通过改变酶的环境来改变酶活的试剂	139

3. 通过可逆地、非共价结合配基来改变酶活力	140
催化作用	141
过渡态	142
活化能	143
过渡态类似物	146
酶降低反应活化自由能的方式	151
熵因子: 邻近作用和定向作用	151
焓因子: 应变和一般的酸碱催化	153
牛胰核糖核酸酶 A 的作用机制	158
第五章 酶动力学 I: 独立活性部位的动力学	165
一底物酶动力学	167
酶浓度接近于底物浓度时的影响	169
产物对酶促反应速度的影响	169
Haldane 关系式	173
中间复合物异构作用的影响	174
酶异构作用的影响	175
抑制剂与活化剂的影响	177
pH 对酶促反应速度的影响	193
温度对酶促反应速度的影响	196
离子强度及介电常数对酶促反应速度的影响	198
动力学模型	198
速度方程式的结构	199
两底物酶	200
随机机理或分支机理	201
有序机理或不分支机理	212
超过两个底物或产物的酶	226
第六章 酶动力学 II: 相互作用部位的动力学	227
同位相互作用和异位相互作用	227
与配基有关的构象变化	228
Hill 图与 Hill 系数	232

Adair 假说	235
Monod, Wyman 和 Changeux (M.W.C) 模型	237
M. W. C 模型的结合曲线	240
Koshland 的序列模型	247
别构酶的一个实例: 天门冬氨酸转氨甲酰酶	254
催化亚基	259
调节亚基	260
ATCase 寡聚体	262
第七章 酶和代谢控制 I: 酶活力的细调	265
导言	265
稳态流	265
流量的反馈调节	268
代谢途径中的近平衡和非平衡反应	273
饱和的或不依赖底物的反应: V_m 的重要性	278
管道的比喻: 定步者和狭路	278
Kacser 和 Burns 理论	279
开关机制	285
近平衡反应在保持代谢物浓度方面的作用	288
作为一种调控方法的间隔作用	290
第八章 酶和代谢控制 II: 酶活力的粗调	292
粗调	292
Jacob 和 Monod 的操纵子学说	293
操纵基因和阻遏物	294
什么因素控制着酶的降解速度?	298
影响蛋白质更新的因素	299
结论	301
附录1. 酶的命名和分类	302
命名法	302
1. 系统名称	302
2. 常用名或俗名	303

3. 多酶复合物的命名	303
4. 种和组织的差异	304
分类	304
酶的编号和分类的要点	305
1. 氧化还原酶	305
2. 转移酶	308
3. 水解酶	309
4. 裂解酶	311
5. 异构酶	312
6. 连接酶(合成酶)	312
关于命名规则的某些注意事项	313
本书所涉及的酶一览表(按字母排列)	315
附录 2. 蛋白质的提纯	319
沉淀方法	319
1. 硫酸铵沉淀	319
2. 用其他可溶性盐沉淀蛋白质	323
3. 有机溶剂的使用	323
色谱方法	324
1. 分子筛色谱或凝胶过滤	324
2. 离子交换色谱	327
3. 吸附色谱	329
4. 亲和色谱	329
电泳方法	331
1. 区带电泳	331
2. 等电聚焦	333
提纯方法的选择和顺序	334
纯度的标准	335
参考文献.....	336
题目索引.....	341

第一章 细胞中的酶

自从 19 世纪早期 Schwan 和 Schleiden 建立细胞学说以来,关于细胞是所有生物的基本单位这一点已基本清楚了。研究细胞是细胞生物学这门正在生长中的学科的固有内容,从这一观点出发开始讨论生物的基本问题是合宜的。

细胞对酶的需要

任何细胞最主要的特征是以一个膜为界限,膜里包含着细胞浆(或称细胞质)。膜的类型、外观和化学组成,以及是否为一种坚硬的外皮所加强,这些在不同种的细胞中都彼此各异。但在所有情况下,膜都起着限定细胞的作用。可以认为膜内的东西是有生命的,而膜外则是非生命的外界环境。

任何特定类型的细胞之另一特征是胞内物质的成分在非常有限的范围内保持恒定。可是在某种条件下,其数量趋于增加,那就是说细胞能够生长,但这仅在消耗外界环境中的物质的条件下才有可能。

如果我们试着设想,怎样着手设计一个简单的单细胞有机体,这将帮助我们了解细胞生长过程中的一些问题。首先,我们必须能构成一种膜,保持这层膜以抵御外部环境的破坏,并在细胞生长时加大这层膜。已发现膜含有两个主要成分——蛋白质和脂。

外部环境可以含有这些物质,也可以不含有这些物质,即便含有,也不一定正好是适合于假想的单细胞所需要的那类

蛋白质和脂。因此，细胞必须能从环境中现有的简单材料合成这类物质。由于蛋白质和脂由相当复杂的有机化合物组成（蛋白质由氨基酸组成，脂由甘油、脂肪酸和各种含氮碱基组成），首先需要有一个合成机器来建造这些成分，然后再将它们合起来构成适当类型的蛋白质和脂。

但现在发生了另一个问题，为了确保内环境的恒定，细胞膜一定不能让在外环境中遇到的各类化合物都自由透进来，也一定不能让细胞所需要的有用化合物漏出去。细胞膜必须是一种有高度选择性的半透膜。为了达到这种选择性，膜本身必定有一些机制在起作用，使得膜只能识别那些被允许穿过膜的物质，而且主动促进这些物质向适当的方向转运。显然，为了实现这些特殊的功能，膜里的蛋白质和脂以及它们的相互排列必须是高度特化的。

尽管胞外基质中可能提供给细胞一些复杂化学结构的物质（如蛋白质），但在这些物质进入细胞之前，细胞通常把它们分解成比较简单的成分，然后再按细胞本身的特异性重建，这是活细胞的一个特点。在大多数情况下，降解是相当容易的，许多像蛋白质这类复杂化合物长时间单独放置，它们实际上会自发地水解。但细胞不能等待发生这种自发的水解，如果等待，细胞自身很可能就被分解成它的组成成分了，因此需有某些方法加快这一过程。进而则是把这些成分重建成诸如细胞膜这样的复杂结构。这种逆过程不会自发地发生，细胞需要利用一些能源，以便为制造本身的复杂结构提供动力。这种能量只能来自外部，所有细胞必须能利用作为食物提供给它们的一部分物质，以便产生为保持和发展细胞自身而利用其他部分物质时所需要的能量。植物细胞还可以把日光直接作为能源。

已经可以看到只简单地有个分界面（即膜），再加上一个

稳定的内环境[即体内平衡 (homeostasis)]就导致了细胞内部的高度复杂性。因此需要有复杂的机构和组织,在保持内环境的稳定过程中,合成过程一定一次又一次地十分准确地进行,很少有出错的余地。然而,除此以外,这些过程还不应太慢,因为细胞内的高度有组织的结构易受不可避免的衰败过程的损害。这种衰败过程虽然很慢,但肯定普遍地发生。细胞避免这种情况的唯一方法是分解食物、取得能量,以比自然降解的破坏过程更快的速度修复自己。可惜细胞内正常代谢活动中的许多化学反应本来是未必可能发生的缓慢过程,除非在活细胞中,它们几乎不曾发生过。这些观测结果向前一代科学家提出一个严肃的问题,并引起了细胞的“生命力”的观点,说这种“生命力”神秘地指导细胞的化学反应。

对速度问题的答案,当然全赖于生物催化剂(酶)的存在,这些酶加速了那些生命过程所需要的化学反应。单单为了生命生存下去,不需要这些酶特别快地工作。可是一旦进行生存竞争,那就意味着,具有能迅速工作的酶之细胞可以取胜。从概念上讲,酶是细胞得以生存的一张“王牌”,一般说来酶可以被看作生命的基础,因为酶提供了一条途径来防止无序化的总趋势。有关能力学的细节以后将要提到。

酶 学 的 历 史

在 19 世纪后半世纪这段时间里逐渐发现了酶。像 Dixon^[1] 所写的酶学的历史颇为引人入胜。发现的功劳大概应归于 Payen 和 Persoz, 他们在 1833 年发表的一篇报告中说麦芽的提取物可以把淀粉水解为葡萄糖。对这一发现的真正意义一直争论到 1897 年才被普遍认识,在那一年, E. Buchner 报告了一个标志着转折点的实验,它本身并不是

什么惊人的实验,简直是个偶然事件。用研磨粉研磨酵母以破坏细胞壁,制成活酵母提取物,为把得到的清液保存下来以便进一步研究,加进了糖,结果出现了发酵这个意外的现象,就像有活酵母细胞存在似的,但可以证明其中一个酵母细胞也没有。就这样弄清楚了实现一个典型的代谢过程,并不需要完整的“活”细胞,而酵母中的某个或某些催化剂便能引起从糖到酒精的整个过程,在揭示酶的本质之前,需要许多研究者(并不奇怪其中有些是酿造家)的工作。或许是酶和酒精之间这种早期联系,使酶学对那么多的生物化学家具有这样一种吸引力。细胞中的每一种酶催化一个特定化学反应或一组密切相关的反应。是酶的这种特异性,连同酶引起的反应速度的极大增加,使它们有别于无机催化剂,并赋予酶在细胞中的重要性。像以后我们将要看到的那样,酶在其他方面,特别是在脆弱性方面和无机催化剂也表现得一样。但有一点它们是相似的,催化反应的速度总是正比于催化剂的浓度,这一点并非总是弄得很清楚的,值得特别加以强调。在一定体积里,催化剂增加一倍反应速度也增加一倍。

细胞中酶的多样性

已分离到几百种不同的酶,发现所有的酶都是蛋白质,那是由氨基酸聚合形成的长链大分子。细胞从氨基酸合成酶蛋白,在许多细胞里又从更简单的前体合成氨基酸,这些都要求催化这些过程的另一些酶的参与。人们已能开始认识细胞代谢的复杂性的某些情况,活细胞的所有过程都是相互关连、相互依赖的。回过头来再考虑单细胞生物体的情况,必须把起降解作用的酶排出细胞以便把复杂分子分解为构成它们的成分。在膜里又需要酶去支配和催化小分子进出细胞的运输过

程，另一些酶催化某些小分子的氧化，以便提供能量，还有另一些酶利用这些能量催化包括所有酶在内的大分子的组装。每种酶作用于一种特定类型的底物分子，催化它转化为产物，而该产物又可作为别的酶的底物，如此等等。这样的酶促反应链，由最初的底物出发，经过若干中间步骤，到达最终产物，便构成了生物体的代谢途径。

由于单细胞依存的外界环境不稳定，对于把所有这些活动组织起来并使其保持同步的问题更不利了。细胞要处理的原料种类时时刻刻都在变化，当然这种变化也可能正是细胞本身的活动所造成的。鉴于这种潜在的混乱状态，显然需要某种全面的程序，要有一种办法来规定在某一特定的时间里该制造某一种酶，以便使细胞的代谢能力与其食物供应相配合。还需要某种机制来决定某一种酶以多快的速度工作，以便保证各种活力不致脱节，否则便会造成浪费，这对细胞来讲是不够经济的。换句话说，整个细胞组织需要调节。如果我们不准备回到19世纪活力论的观点上去，显然细胞必须依靠自我调节，因为没有别的什么东西还能在调节细胞活动中起作用。

在考虑细胞自我调节之前，还应该详细说一说我们所假定的单细胞生物体所碰到的另一个困难，就是需要一个信息贮存中心，这种需要起因于细胞大分子(特别是蛋白质)结构的复杂性。因为每种蛋白质由共价结合的长链氨基酸组成，又因为氨基酸有20种之多，很容易知道它们可能组成极大数量的不同蛋白质。这种多样性对细胞是非常有用的，但这肯定提出一个信息问题。例如：细胞膜里的每种酶，每种结构蛋白很可能有其独特的结构(固有的氨基酸序列)。为制造更多的特异蛋白，细胞里的某种东西必须“知道”将其组成氨基酸连接起来的正确顺序。这种信息存在于所有细胞的另一种