

後20858

應用新科技

酵 素

船津 勝教授編
歐 靜 枝譯著

應用新科技

酵 素

船津 勝教授編
歐 靜 枝譯著

復漢出版社印行

序

酵素是有觸媒能的蛋白質，至於觸媒能與酵素蛋白質構造的關係，近年來導入物理研究法——特別是X光回折法，解明蛋白質的三次構造、酵素·基質（擬抗阻害劑）複合體的立體構造，顯現活性部位的微細構造，觸媒反應的機構也漸明白，酵素的物性研究正邁向新的時代。

對生體細胞內的酵素動態，在分子水平中，也獲得很多知識，亦即，酵素不只是觸媒，也是有生化學反應控制機能的蛋白質，已瞭解生體內酵素的真面目。

生化學反應大都為酵素觸媒反應，酵素受細胞高度調節，因而生化學反應也受高度控制，目前已得知各種酵素調節機構，有酵素的生合成與崩壞——亦即細胞內酵素濃度的遺傳調節或基質，反應生產物及其他代謝產物所致的 allosteric 調節；在細胞內生合成為不活性型的酵素往活性型之變換也受環境因子精細調節；生體及細胞內酵素的局部存在性在生化學反應控制中也有重要功用。

酵素也是生命情報的傳達者，亦即酵素對呈現、維持生命現象所必要的生化學反應傳達情報，亦即，酵素以觸媒的形式將情報——反應起動的指令——傳給特定的生化學反應，在此意義下，在生命情報傳達機構或生命情報的流傳中，酵素與荷爾蒙、cAMP 同樣為一種使者。

本書並非要整理集錄今天酵素的龐大資料，而是止於細胞內的酵素動態，敘述瞭解它所需最低限度的酵食物性知識，本書是敘述酵素生理機能的概念，未詳細觸及研究方法。

編者 謹識

1978年5月

酵 素 / 目 次

第 1 章 酵素學發展史	1
第 2 章 酵素的分類與命名	5
2.1 酵素命名法	5
2.2 酵素的分類與酵素番號	6
2.3 酵素的日本名稱	7
第 3 章 身為蛋白質的酵素	8
3.1 生物體內的酵素狀態	8
3.2 酵素的分離、精製	9
3.2.1 酵素的安定性	9
3.3 酵素的形態與補酵素	12
3.3.1 關連氫 (電子) 之轉移的補酵素	20
(氧化還原反應 的補酵素)	14
3.3.2 關連氫以外的基	
3.3.3 金屬 之轉移的補酵素	27
3.3.4 補助因子 (Cofactor)	27
3.4 酵素的構造與活性	27
3.5 oligomer 酵素	32
第 4 章 作為觸媒的酵素	35
4.1 酵素的特異性	35
4.2 酵素的活性單位	39
4.3 酵素反應的速度	40
4.3.1 酵素反應速度的測定	40
4.3.2 酵素反應速度論	45
4.4 酵素反應機構	58

4.4.1	速度論研究途徑	58	4.4.4	酵素蛋白質構造 的解析與蛋白質 的修飾	63
4.4.2	同位體的利用	58			
4.4.3	阻害劑的利用	62			
第5章 酵素與代謝調節					76
5.1	利用代謝產物調節酵素活性	76			
5.1.1	酵素阻害所致的 控制 (Negative feed back)	76	5.1.3	酵素控制的機序	81
5.1.2	利用酵素活性化 的控制	78	5.1.4	allosteric 酵素的 活性中心與控 制中心的分離	83
5.2	利用酵素濃度 (生合成) 的調節	85			
5.2.1	誘導酵素系	86	5.2.2	抑制酵素系	88
5.3	利用荷爾蒙的調節	91			
5.3.1	荷爾蒙所致磷酸 化酶的活性化	92	5.3.3	cAMP 與代謝	95
5.3.2	2-messenger				
第6章 酵素的生合成					100
6.1	酵素蛋白質的生合成機構	100			
6.1.1	蛋白質生合成的 概要	100	6.1.7	蛋白質生合成的 暗號解讀機構	112
6.1.2	氨基酸的活性化	102	6.1.8	多肽鏈的延長	119
6.1.3	tRNA (trans- fer RNA)	103	6.1.9	蛋白質生合成的 終結反應	123
6.1.4	Ribosome	106	6.1.10	可溶性因子的 ribosome 結合 部位	124
6.1.5	遺傳情報 (Genetic code)	110			
6.1.6	ribosome 上的				
6.2	酵素蛋白質生合成的調節	125			

6.2.1	構造遺傳子.....	126	6.2.5	分解產物抑制 (catabolite repression)	132
6.2.2	誘導性酵素與抑制性酵素.....	127	6.2.6	抑制物質的單離與其性質.....	133
6.2.3	調節遺傳子與抑制物質.....	128	6.2.7	lac operator 的鹽基配列.....	137
6.2.4	operon, operator, promoter.....	130			
6.3	酵素的前驅體與其活性化.....	139			
6.3.1	醣原活性化.....	139		素.....	143
6.3.2	單量體會合而生成 oligomer 酵		6.3.3	不活性會合體解離所致的活性化	143
第 7 章 酵素與細胞小器官..... 149					
7.1	生體內的酵素.....	149			
7.2	細胞小器官的形成與酵素.....	150			
7.3	細胞小器官的變容與酵素.....	156			
7.4	細胞小器官間的交涉與酵素.....	157			
7.5	細胞小器官內部的反應與酵素.....	158			
第 8 章 酵素的應用..... 159					
8.1	酵素利用上應考慮的事項.....	159			
8.2	酵素的實際利用.....	163			
8.2.1	在分析上的利用	163	8.2.3	產業上的利用.....	171
8.2.2	醫藥利用.....	170	8.2.4	家庭用酵素.....	174
8.3	酵素未來的用途.....	176			
附表.....180					

1. 酵素學發展史

酵素與其他科學一樣到 20 世紀才有顯著的發展，往昔視為生命力（vital force），無法脫離生命，只在概念上認識其存在的酵素。1897 年才由 Buchner 當成 I 物質從酵母取出，脫離生命也保持機能可引起與活酵母中同樣的現象，人類如此將可說是生命碎片的酵素取入手中，啓開近代酵素學之門。

此前，對酵素有合理研究的是 18 世紀的事情，Leomür（1713）及 Spallanzani（1783）報告鳥的胃液會消化肉，Lavoisier 在 1789 年將呼吸視為氧化反應。

進入 19 世紀後，1814 年 Kirchhoff 首先闡明加水分解的現象，發見澱粉與稀酸加熱時，會引起加水分解，形成葡萄糖；穀物的種子發酵時，產生還原糖，故推定在此過程引起加水分解；將種子的水抽出液加於浸入水中的穀物時也有同樣的現象；並證明大麥麥芽抽出液作用於澱粉時會生成麥芽糖（maltose）；這一連串有關加水分解的研究闡明穀物或麥芽的抽出液有活穀物或麥芽的特性——亦即加水分解的能力，換言之，“活”穀物或麥芽加水分解的能力依存於其中所含的水溶性物質，證明酵素為一物質。

1826 年 Mitscherlick 提倡有溶於水的酵素（非組織酵素，unorganized ferment）存在，Kühne 1830 年須將此水溶性酵素命名 Enzyme（en：在其中，zym'e：酵母）。

Payen 及 Persoz 1833 年頃試從麥芽水溶液分離酵素，亦即雖可溶於水或稀酒精，却將酵素分離成不溶於濃酒精的白色無定形粉末，命名澱粉酶（diastase），即今天的 amylase，不過，diastase 的名稱是要拋棄 Kühne 的 Enzyme，而指酵素全體。

1835 年 Berzelius 建立「酵素為一種觸媒」的金字塔，以澱粉酶的分離為前驅，使有關酵素的研究活潑化，但主要限於加水分解酵素；Liebig 及 Wöhler 利用苦杏仁酶（emulsin）分解苦杏仁苷（

amygdalin) 也是 1837 年的事情。

廣用於蛋白質、酵素的分離，精製而可視為層析法 (chromatography) 原型的吸着劑選擇性吸着法是 1862 年 Danielewsky 用於從胰臟胰蛋白酶 (trypsin) 粗製劑分離澱粉酶。

加水分解以外的新型酵素是 1894 年 Bertrand 分離進行 lacrase (漆酶) 氧化反應的酵素；1886 年 McMunn 發見今天稱為細胞色素 (cytochrome) 的 histohaematin，後來 1925 年由 Keilin 再度發見。

Pasteur 長期與 Liebig 爭論發酵的觀念，亦即 1857 年提出活酵母屬性的發酵觀念，認為發酵經數階段的過程進行，各過程分別有特定的酵素參與，這些酵素只在活酵母中才有機能，Buchner (1897) 兄弟的研究使此論爭終止，這是 Pasteur 死後 2 年的事情，Buchner 以石英砂磨碎酵母，以素陶器過濾，調整完全不含活酵母細胞的濾液，添加砂糖引起發酵，亦即以前認為只有活酵母才能引起的發酵現象可由沒有生命的酵母提液達成，證明 Pasteur 主張的組織酵素 (organized ferment) 也與其他非組織酵素同樣可與生命脫離關係，此研究成為有名的論文“無酵母的酒精發酵”，1911 年得諾貝爾獎。

如此隨 20 世紀展開近代酵素學，Buchner 取出者為今天的釀酶 (zymase)，Halden 和 Young (1910) 追究其實態，認為酵素是低分子的耐熱性化合物結合於蛋白質般的高分子物質，進行透析時，低分子化合物通過半透膜而逃逸，高分子物質殘留透析膜內，全無酵素作用，若加透析膜外的低分子化合物，又再度呈現酵素作用，結果認為低分子化合物才是酵素本身，蛋白質般高分子化合物只不過為其擔體，此稱擔體說 (Träger Theorie)，低分子化合物稱為 cofactor。

此擔體說由以 Willstätter 為首的德國學派支持，爭論高分子蛋白質的生理意義或酵素的本態，亦即是否所有的酵素都由 cofactor 與其擔體組成，cofactor 的能力為何結合擔體蛋白質就上昇數千倍；另一方面，Willstätter 一派也進行酵素的低分子化，但都不成功，未得擔體說的突證，終止此論爭的是 1926 年 Sumner 所提尿素酶的結晶化及 1~2 年後 Northrop 一派的胃蛋白酶 (pepsin)、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶 (chymotrypsin) 的結晶化；這些結晶酵素曾以當時所有的方法檢查，完全不含 cofactor，為單純的蛋白質。

酵素不都有 cofactor，也有單純蛋白質的酵素，酵素本體為蛋白質，cofactor——亦即今天的 coenzyme 只是補助因子，換言之，還需 10 年的歲月才認識酵素為一種觸媒蛋白質。

蛋白質的本體為多肽 (polypeptide)——F. Hofmeister 及 E. Fischer (1902) 發見此事實以來，有關蛋白質構造的研究顯著進展，自從認定酵素為觸媒蛋白質以來，酵素蛋白質的研究步上一般蛋白質研究的正軌，酵素蛋白質的構造及構造與機能之關係的研究在過去 30~40 年中顯著進步；1960 年 Kendrew 及 Perutz 藉 X 光回折法闡明 myoglobin (肌紅蛋白) 的三次元構造，1965 年 Phillips 決定溶菌酶 (lysozyme) 的三次元構造，闡明活性中心的實體，推定對基質的反應機構；其後以 X 光回折法解明很多酵素的三次元構造，具體討論反應機構。

酵素的有機化學合成也在很多研究室進行，Denkewalter 與 Hirschmann，Gutte 與 Merrifield 兩組人士在 1969 年成功合成核糖核酸酶 (ribonuclease)。

在補酵素方面，1929 年 Warburg 確認呼吸酵素中含有血補酵素，1932 年 Warburg 及 Theorell 發見黃色酵素，1935~36 年 V. Euler Theorell 及 Warburg 闡明維他命與補酵素 (包含 NAD，黃素 (flavin) 補酵素) 的關係；1929 年 Lohmann，Fiske 及 Subbarow 發見 ATP；1939~40 年 F. Lipmann 闡明高能量磷酸化合物的生理意義。

今天瞭解酵素反應上，最重要的 Michaelis 及 Menten 公式是在 1913 年提出，Michaelis 常數至今在酵素反應動力學中仍是中心角色。

在研究取自生體的酵素本體的同時，關於細胞內酵素的動態也約在 1920 年展開活潑的研究，解明代謝系與有關的酵素，1932 年 Krebs 及 Henseleit 發見鳥氨酸 (ornithin) 回路，1937 年 Krebs 及 Knoop 與 Martius 發見三羧酸回路，1953 年 Horecker 及 Dickens 發見己糖 - 1 - 磷酸回路；1938 年 Braunstein 和 Kritzman 解明在氨基酸代謝中有重要功能的氨基轉移反應及氨基酸移轉酶的存在。

1940 年以後發見蛋白質 (酵素) 生合成的遺傳子 DNA 的機能，這是遺傳學上的重要發見，1961 年 Jacob 及 Monod 對蛋白質生合成遺傳調節提出抑制物質 (repressor) 的概念；1963 年 Changeux，

Jacob 及 Monod 提出 allosteric 調節的觀念，為酵素活性調節機構開創新境界，其後盛行研究 oligomer 酵素。

最後，荷爾蒙與酵素的關係曾長期為未解懸案，亦即有關荷爾蒙的生物學與生化學間有未開發的領域，阻礙化學上瞭解荷爾蒙的作用機構，1956年 Sutherland 發見環狀AMP，使荷爾蒙與酵素建立關係，解明 Enzyme cascade 等荷爾蒙所致酵素活性的調節機構，現在生體內的酵素調節為酵素研究的主流之一。

參考文獻

M. Florkin, E. H. Stotz, *Comprehensive Biochemistry*, vol. 30, Elsevier, Amsterdam (1972).

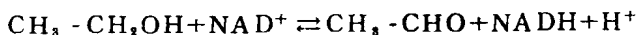
2. 酵素的分類與命名

生化學的進步解明各種代謝經路，新酵素的發見使酵素種類急增，發見者自由命名，例如黃色酵素，中間酵素之類不知有何觸媒反應，也有不同酵素用同一名稱者，非常混亂而不統一，所以1955年國際生化學同盟（I.U.B.）決定新置酵素分類與命名法的國際委員會，酵素委員會數度開會，在1961年提出最終報告，同時出版酵素表，1965年小規模改訂和追加新酵素，1972年大幅改訂並追加新酵素，今後仍將依必要而追加、改訂，這些報告也記載酵素活性單位的定義，反應速度參數的表記法，各種電子傳達體的分類與命名法等。

2.1 酵素命名法

區別酵素的特異性質是它們觸媒的化學反應，依其反應形式，而將酵素分類、命名。

酵素名稱通常由“基質名”與“反應形式 ase”兩部份形成，如此可知何種化合物承受何種化學變化；正確的記述需要很長的系統名（systematic name），例如將酒精分子的氫移到 NAD^+ 的反應——亦即酒精的脫氫反應的觸媒酵素表成下式



基質為酒精與 NAD^+ 兩者，因觸媒其間的氧化還原反應，所以系統名為 alcohol : NAD^+ oxidoreductase，但不方便，故設較短的常用名，亦即使酒精脫氫反應的觸媒酵素稱為 alcohol dehydrogenase，此名稱未明示接受酒精之氫的物質為 NAD^+ ，但酵素表中記有常用名、系統名、酵素番號、反應等，可參考之。

素來的慣用酵素名大都為公認常用名，也有的因不合命名法的體系而廢止。

2.2 酵素的分類與酵素番號

酵素依據系統名分類，採用 4 組數字組成的酵素番號。

第 1 數字表示酵素下示某群 (group)。

- 1 oxidoreductase 氧化還原酵素
- 2 transferase 轉移酵素
- 3 hydrolase 加水分解酵素 (水解酵素)
- 4 lyase 脫離酵素
- 5 isomerase 異性化酵素
- 6 ligase 合成酵素

1, 3, 5 不用說明，2 為甲基或氨基等基的轉移觸媒；4 為不利用加水分解而從基質取得某基的反應——亦即脫離反應觸媒；6 是與 ATP 或其他核甘 (nucleoside) 三磷酸之焦磷酸結合加水分解反應共軛而結合 2 個分子的反應，亦即合成反應觸媒。

第 2、第 3 數字是細分類之際表示該酵素屬於何一次群 (subgroup)，第 4 數字為該次群內的一系列番號；1 的 oxidoreductase 依基質的官能基種類或電子容體的種類，賦予下示第 2、第 3 數字而細分類。

1.1 以 CH-OH 為電子供給體的酵素

1.1.1 以 NAD⁺ 或 NADP⁺ 為電子受容體的酵素

1.1.2 以細胞色素 (cytochrome) 類為電子受容體的酵素

1.1.3 以 O₂ 為電子受容體的酵素

1.1.99 以其他物質為電子受容體的酵素

1.2 以羰基 (carbonyl) (>C=O) 為電子供給體的酵素

：

(以下依此類推而細分類)

前面例示的 alcohol dehydrogenase 是以酒精的 CH-OH 為電子供給體，以 NAD⁺ 為電子受容體的 oxidoreductase，故為 1.1.1 次群的一員，酵素委員會 (EC) 指定其中的一系列番號為 1，故成 EC 1.1.1.1；以群番號由新酵素發見者依據反應形式或其質種類而決定，但第 4 數字由酵素委員會決定而登記於酵素表。

書末附表為酵素的分類與本書所用的代表性酵素。

2.3 酵素的日本名稱

將英語的酵素名翻譯成日本名尚未制訂規則，有下示三種表示法：

- (1) 酵素名稱全以日本化學會的字譯規定音譯。
- (2) 只翻譯基質名的部份，反應形式 *ase* 的部份音譯成片假名。
- (3) 全部翻譯。

用(3)法時，*synthetase* 與 *synthase* 無區別，*kinase* 或 *phosphatase* 之類常只能音譯成片假名，故不實用；(1)法很理想，但排起來太長，似以(2)為妥；酵素委員會的常用名不太離譜的話，可沿用素來的慣用名稱。

參考文獻

- (1) *Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry 1961*, Pergamon, 1961; 田官信雄譯，酵素名・酵素反應記號一覽，共立，1963。
- (2) *Enzyme Nomenclature, Recommendations (1964) of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes, together with their Units and the Symbols of Enzyme Kinetics*, Elsevier, 1965.
- (3) *Enzyme Nomenclature, Recommendations (1972) of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the International Union of Biochemistry*, Elsevier, 1973.
- (4) *ibid.*, Supplement 1: Corrections and Additions (1975); *Biochim. Biophys. Acta*, **429**, 1 - 45 (1976).
- (5) 日本化學會，化學之工業，**25**(4)，276 (1972).

3. 身爲蛋白質的酵素

有生理機能的機能蛋白質或生理活性蛋白質之一的酵素爲將生化學反應催化的觸媒蛋白質；酵素的觸媒機能依存於酵素蛋白質的高次構造，酵素蛋白質的高次構造因變性等而破壞時，酵素會失去機能，爲了瞭解酵素蛋白質中何種構造發揮機能，須能解明觸媒性的基盤——酵素蛋白質的構造或性質，故須從生物試料取出酵素，當成蛋白質精製成均勻狀態。

3.1 生物體內的酵素狀態

酵素在生物體內的存在狀態因酵素種類而異，也有在血液、淋巴液、消化液、乳汁等體液中成游離狀態存在的酵素，不過，大部份的酵素包含於細胞內；微生物方面有分泌於培地中的游離酵素與細胞內酵素；細胞內的酵素有細胞質或細胞粒等之中游離狀態的酵素，也有結合於細胞膜或細胞器（organella）膜等生體膜的酵素；亦即酵素依其種類而以游離型或結合型存在於生體內。

大部份的酵素成爲活性型存在於生體內，某種酵素成爲前驅體或酶原（proenzyme）之類的不活性型存在；不活性型中，除了原以不活性型生合成者之外，也有當成活性型生合成後，特異的蛋白性阻害劑結合於該酵素而成不活性型；植物種子或穀類中某種酵素以某種機構成爲不活性型（6.3）。

酵素形態有單純蛋白質的酵素與結合補酵素的複合蛋白質酵素，補酵素與蛋白質（apo蛋白質）的結合樣式或結合強度因酵素而異；另有單一分子的酵素（單量體酵素，monomeric enzyme）與有分子集合體形態的酵素——所謂的oligomeric酵素；複雜形態的脂肪酸合成酵素系之類，參與一系列生化反應的數種類酵素集合，形成多酵素複合體（multi-enzyme complex）而存在於細胞內。

3.2 酵素的分離、精製

如前所述，生物體內的酵素有不同的存在狀態、形態，安定性也大不相同；欲分離酵素的生物試料有蛋白質、脂質、碳水化合物等共存的複雜組成；也有的含有作用於酵素而減低其活性的蛋白酶，所以酵素的精製相當困難。

因酵素的本身為蛋白質，所以酵素的分離、精製適用一般蛋白質所用的方法，不過須調查各操作中酵素活性的變動，導致活性降低的操作須除外，例如在等電點使蛋白質沉澱的操作常用為一般蛋白質的分離法，但在酵素常招致不可逆的失活，不可無條件使用；所以在蛋白質的分離，精製之前，要充分檢討目的酵素的活性測定法，並確立之；酵素活性因環境條件（特別是環境的 pH、溫度、鹽類種類和濃度），需要補酵素的酵素則因補酵素的濃度等而敏銳變動，所以分離、精製的前提條件是調查從生物體試料抽出的抽出液中酵素的安定性，須在酵素的安定領域內分離、精製、保存。

在此不敘述酵素的分離、精製方法，這方面可參考其他專書，現在主要是針對單量酵素，單量體酵素的精製法已約略常法化，以往將等電沈澱、硫酸鹽析、吸着劑的選擇吸着等視為唯一的方法，不過，蛋白質的分離、精製法因層析法的開發而長足進步，對蛋白質單量體已約略完成，但是，oligomer 酵素——特別是形成不安定會合體的 oligomer 酵素的精製，若無條件使用離子交換層析法等，常因會合體破壞而招致失活，此種酵素的精製要開發更緩和的方法。

下面敘述處理酵素時的基本事項。

3.2.1 酵素的安定性

A. 熱安定性

酵素溶液在各種溫度保持一定時間後，急速回到活性的最適溫度，測定活性，則得圖 3.1 所示的熱安定曲線，大部份的酵素約在 50°C 開始熱變性，溫度愈高時變性速度愈大，急速減低活性；不降低活性而保持安定的溫度稱為熱安定領域或溫度安定領域，安定領域因酵素種類而異；雖有例外的酵素，通常酵素在低溫很安定，大部份的酵素凍結也很

安定，可藉凍結乾燥而粉末化，此種酵素可作成凍結乾燥粉末，並凍結水溶液而長期間保存，不過，水溶液狀態若在 $0 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 長期間保存，會徐徐變性，並被微生物污染，被微生物產生的蛋白酶破壞，此時可用硫酸銨使水溶液飽和，將酵素鹽析的懸濁液保存於 $0 \sim 4^{\circ}\text{C}$ 的冷處；光——特別是紫外線也會使酵素失活，所於酵素應保存於暗處。

也有不少酵素因凍結或凍結乾燥而失活，polyphenoloxidase（多酚氧化酶）或 catalase（過氧化氫酶）之類的金屬酵素會因凍結而失活，故將上示的硫酸銨鹽析沉澱保存於冷處。

也有在低溫中不安定的酵素，例如細菌的麥酰胺酸脫羧酶在 0°C 急激失活，1 小時後活性減半，線粒體（mitochondria）的三磷酸腺苷酶（adenosine triphosphatase）在 0°C 也急激失活，在室溫反較安定。

另一方面，相對於高溫，大部份酵素約 70°C 時完全失活，但也有耐 70°C 以上高溫的酵素，蛋白溶菌酶在 $70 \sim 80^{\circ}\text{C}$ ，廣大 pH 領域都很安定；腺嘌呤核苷酸激酶在 pH 1 及 100°C 也很安定；在高溫生活的細菌的酵素也是耐熱性酵素，例如從 *Bacillus stearothermophilus* 分離的 α -澱粉酶在 90°C 加熱 1 小時也保有 90 % 活性；此種耐熱性酵素的熱安定性可用於分離、精製。

酵素的純度很影響酵素的熱安定性，一般是愈不純者，熱安定性愈高；溶液的 pH，加熱時間也大大影響熱安定性，有基質共存的話，酵素增大安定性。

熱所致酵素的不活性化在特定條件會因冷卻而復活，成可逆性；此時，在變性回復的同時也回復活性，例如核苷酸焦磷酸酶（nucleotid pyrophosphatase）會因 70°C 加熱 10 分鐘而完全失活，若立即冷卻到 37°C ，則完全回復活性。

B. pH 安定性

將酵素溶液的 pH 調整成各種 pH，放置一定時間後，回復最適 pH，測定活性，即得圖 3.2 的 pH 安定曲線；pH 安定領域因酵素種類而異，蛋白溶菌酶有 pH 3 ~ 11 的廣大安定領域，但胃蛋白酶只在 pH 1 ~ 5 強酸性中安定，pH 6 以上時失活；胰蛋白酶在酸性會失活，但回復微鹼性時又復活。

1411A

酵素的安定領域與酵素蛋白質的等電點無關係，在 pH 4~5 到 7~10 之間有安定領域的酵素最多；酵素的 pH 安定性取決於放置時間、溫度，安定性也因酵素純度而異。

單量體酵素或由同一 subunit 形的 oligomer 酵素的精製標品是否為單一蛋白質——亦即蛋白質是否均勻？很難確認；subunit 不同的蛋白質 oligomer 酵素因複雜。

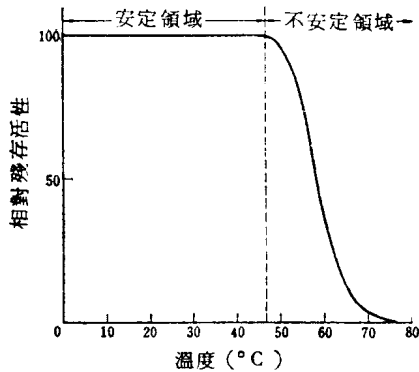


圖 3-1 酵素的熱安定曲線

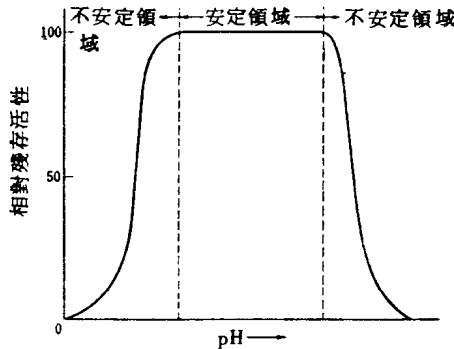


圖 3-2 pH 安定曲線

現在檢討均勻性的方法是測定表示均勻性的分子量，電氣性質、溶解度、化學構造等之一，取平均值，1 種方法只能表示均勻性的一面，因而用超離心分析獲得單一對稱離心像時，應說是超離心性均勻，而不