

K. J. 荣德勒

酶作用的化学动力学

科学出版社

酶作用的化学动力学

K. J. 莱德勒 著

朱德煦 译

科 学 出 版 社

1965

Keith J. Laidler
THE CHEMICAL KINETICS OF
ENZYME ACTION
Oxford University Press, 1958

內 容 簡 介

本书对酶作用的动力学(包括鈍化过程)作了一般說明。第一部分(1—8章)着重介紹酶作用的一般原理,包括动力学基本定律和推論酶作用的机制。第二部分(9—13章)选择几个研究較多的个别酶体系;叙述它們的主要特征。本书尤对从事酶研究的工作者极有参考价值。

可供生物化学研究者、高等院校生化专业师生以及化学工业、食品工业、医药工业等有关方面人員参考。

酶作用的化学动力学

(英) K. J. 萊德勒 著

朱 德 煦 译

*

科学出版社出版

北京朝陽門內大街117号

北京市书刊出版业营业許可証出字第061号

商务印书館上海厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店經售

*

1965年10月第一版

开本:850×1168 1/32

1966年10月第一次印刷

印张:14 1/4

精裝:0001—1,800

插頁:3

平裝:0001—1,150

字數:279,000

統一書号:13031·2174

本社書号:8308·13—10

定价: [科七] 精裝本 2.90 元
平裝本 2.40 元

医

序 言

目前在酶反应的各个方面正进行着相当大量的工作，其中某些是关于酶分子的结构，某些则涉及酶作用的机制和动力学。酶特别引人注意，因为它们的研究工作处于生物科学和物理科学之间的边缘上，因此从事这方面的研究必须具备这两个领域内的一些知识。即使要获得在酶的这两方面进行工作的知识也需要大量的劳动，本书是基于这样的想法写成的，即希望本书在物理学方面收集发展的某些主要成果和概念或许是有帮助的。

编写一个有关正在迅速发展的题目的作者，势必面临这样的情况，即他的书中的某些部分在一段相当短的时间内，甚至在出版之前，就要成为过时。有鉴于此，我决定把重点较多地放在一般原理上，而较少地放在个别酶体系的细节上。这些或多或少完整的原理有许多已存留了一些时期。虽然这些原理都仍然不断地在发展，但是至少它们之中有些看来是可以被证明为已经很好地建立起来了。然而，根据我们关于个别酶体系的知识看来，很可能在几年之内，就会引起我们在概念上的巨大变化。

本书前八章主要涉及酶作用的较一般的方面，例如第二、三、四章涉及动力学的基本定律，这几章中所论及的原理和方法，在今后若干时期内或许将仍然有效。第五、六、七章则具有较多的推理性质，主要包括根据动力学或其他方面的研究推论酶作用的机制。第八章论述流体静压的效应，这是一个尚处于萌芽状态的课题，但可以预期在今后几年内会有相当大的发展。

第九到十二章的四章涉及个别酶体系，著者并没有力求详尽的意图，而只是论述一小部分酶的某些主要特征。我编写这几章的原则是：选择几个已经进行了足够的工作，而使人们感到其作用的某些主要特点已得到明确的酶加以叙述，然而在所有的情

下，进一步的工作很可能为这种論述带来全然不同的見解。因为采取了上述的取舍原則，所以便略去了某些酶，特别是那些至今尚未詳尽研究过的糖酶，在我看来日前对这些酶进行詳述似嫌过早（这主要是由于糖酶至今还未能制成純淨的状态）。我自己的研究兴趣到现在为止主要是在水解酶方面，研究其他类型的酶的工作者无疑地将会感到第十一和十二两章的討論是很粗略的。对这些酶已有了好几篇卓越的綜述，事实上我确曾考虑将这两章完全删去，而使本书只限于对水解酶作用的討論；然而，由于在前面几章中的关于基本原理的許多討論，有很多都是仰仗于对那些非水解酶的了解，所以把它們删了去似乎又不甚合适。

另一方面，有关离子对酶作用的效应这一領域的工作者将认为，本书对相应方面的論述是不充分的。关于这一方面的材料，本书只分散在各章作簡略的討論；将这一論題总括起来作为一个整体編写一章也許是必要的。然而，經過再三的考虑，我认为这一領域的知識进展得頗为有限（虽然已进行了許多卓越的工作），这样的一章必然只具有极其暂时的价值，以致不值得着手編写。或許在若干年內这一尝试将会是有价值的。

我要感謝我的許多同事，在本书的編著过程中，他們曾給我直接和間接的帮助。（下略）

K. J. 萊德勒

1957年11月5日于渥太华

目 录

第一章	酶的化学特征	1
第二章	动力学的一般原理	20
第三章	酶学动力学中的速度定律	59
第四章	酶反应的时间过程	100
第五章	氢离子浓度的影响	125
第六章	关于酶作用机制的某些推論	176
第七章	酶作用的分子动力学	201
第八章	压力对酶反应的影响	226
第九章	蛋白水解酶	243
第十章	其他水解酶	277
第十一章	氧化酶	323
第十二章	过氧化氢酶和过氧化物酶	341
第十三章	蛋白质的变性作用	363
第十四章	結束語	437
附录:	有关某些最近工作的注解	441
内容索引		447

第一章 酶的化学特征

酶是生物体系重要的和基本的组分，它们的功能是催化为生命所不可缺少的化学反应。没有酶的有效催化，这些化学过程的进行速度将大大减慢，或者甚至完全不能进行。

本书主要讨论由酶催化的一些反应的动力学，以及这些反应进行时所遵循的机制。至于酶的一般性质已有许多书和综合性文章讨论了¹⁾。这一章将只对酶的特征作一个很扼要的叙述，关于这些特征的某些知识是了解酶的动力学所必需的。本章考虑的主要问题是酶的化学本质，酶促反应的定性特点以及酶分子的活性中心的本质。

一、酶的化学本质²⁾

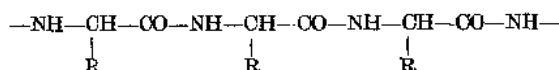
目前有許多酶已制成高度提純的状态，它们的化学性质也已比較詳細地研究了。1926年苏姆納(Sumner)作出了重要的进展，他成功地将脲酶結晶出来，并証明它是一个純蛋白质。自此以后，許多其他的酶也被制成了純淨状态，而且証明它们的本质都是純蛋白质，或大部分是由蛋白质組成的。大多数蛋白质均溶于水，稀盐溶液和醇的稀水溶液。大多数蛋白质不溶于含有高比例醇的水中，并可被中性盐的水溶液盐析出来，也可被苦味酸、磷鎢酸等試剂沉淀。所有这些都是酶的典型性质。

蛋白质的基本結構单位是由許多 α -氨基酸殘基結合而成的

¹⁾ 关于酶的詳細討論見 J. B. Sumner 和 K. Myrback 編: *The Enzymes*, Academic Press, New York (1951). 更精確的討論見 K. J. Laidler 著: *Introduction to the Chemistry of Enzymes*, McGraw-Hill Book Co., New York (1954).

²⁾ 蛋白质一般性质的詳細討論見 H. Neurath 和 K. Bailey 編: *The Proteins*, Academic Press, New York (1954).

一条长鏈，这些殘基是以肽鍵(—CO—NH—)相連，其結構可用下式表示：



这种結構称为肽鏈或多肽鏈。式中 R 所代表的基团可以是氫(如果該氨基酸为甘氨酸)，也可以是相应的各种氨基酸的許多基团中的一个。通常在单个蛋白质分子中就含有相当大量的不同的氨基酸，但所有这些氨基酸毫无例外都属于 L-构型。蛋白质中氨基酸的性质及比例，可以借将蛋白质完全水解，并分析各种氨基酸而测知。然而，要解决氨基酸的排列顺序，則是一个困难得多的問題，但目前这个問題正在有效地解决中¹⁾。

另一具有很大意义的問題是氨基酸鏈所呈的精确构象²⁾的問題。在第十三章中将比較詳細地討論这个問題，現在則只作簡單的論述。蛋白质分为两种主要的类型，即纖維蛋白和球蛋白，前者的各个分子长而細，而后者則比較接近球狀。在纖維蛋白中似乎可以肯定多肽鏈的排列呈頗緊密的直螺旋狀，螺旋每轉一圈大約包括四个氨基酸殘基(第十三章图 76)。在球蛋白中这种螺旋仍然存在，但每个螺旋均呈摺疊狀(第十三章图 78)。这种构象是靠各种化学鍵維持的。蛋白质的許多重要性质都取决于多肽鏈本身的排列形式和鏈間的相互排列形式。

特別是酶催化某一化学反应的能力，苛刻地取決肽鏈的构象。已經知道自生物材料新鮮抽提出来的酶，才具有最大的催化效率。

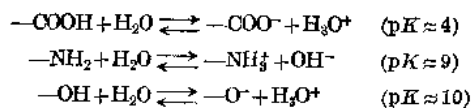
1) 关于胰岛素的最近工作見 F. Sanger 和 H. Tuppy, *Biochem. J.* **49**, 463, 481 (1951); F. Sanger 和 E. O. P. Thompson, *Biochem. J.* **53**, 353—366 (1953); F. Sanger, E. O. P. Thompson 和 R. Kitai, *Biochem. J.* **59**, 509 (1954); H. Brown, F. Sanger 和 R. Kitai, *Biochem. J.* **60**, 556 (1954)。

2) 构象(conformation)一詞指的是分子的一般形状，有别于构型(configuration)一詞，后者指的是分子中原子或基团的相对排列。一个分子的各个构象也叫做旋轉异构体，只需通过单鍵的轉动就能互变，而无主要鍵的断裂或形成，但在有些例子中，例如蛋白质可以允許氫鍵或其他弱鍵的断裂和形成，使一种构象变到另一种构象。关于构象在有机化学中的意义的最近綜述，可見 D. H. R. Barton 和 R. C. Cookson, *Quart. Revs.* **10**, 44 (1956)。

攔置以及特別在熱、酸、鹼和尿素等其他物質的作用下，酶的催化活性就會不斷降低。這種過程稱為酶的失活，已經知道失活是一種稱為變性的更為普遍的過程的特殊形式，這種過程可見於所有的蛋白質。變性在本质上是由於蛋白質構象的改變。關於蛋白質變性的動力學和機制，將在第十三章中較為詳細地討論。

酶的許多特性都是由於它們的分子巨大引起的。因為擴散速度很慢，所以酶在生物體系中不易從一處移到另一處，特別是它們一般不能通過細胞膜。

酶（以及其他蛋白質）的其他特性是由於它們的帶電性引起的。蛋白質的側鏈 R 常含有電離基團，例如 $-\text{COOH}$ ， $-\text{NH}_2$ ，酚基 $-\text{OH}$ 等。在酸度適宜的條件下這些基團即電離成帶電的基團：



在接近於中性的溶液中，就象在通常的生理條件下那樣，許多電離基團都是以帶電的形式存在的，結果使酶分子中含有相當數量的或帶正電或帶負電的基團。以後還有許多證據說明這種電離基團的存在和酶的催化活力有密切的關係。在第五章中將詳細討論，酶的催化活性的這種隨著 pH 的改變而顯著的改變，這和其中某些基團的解離狀態的改變有關。另外饒有興趣的是蛋白質的帶電基團都傾向於和外来離子（例如金屬離子）結合，而酶的作用往往和這些離子的結合密切有關。

由於蛋白質分子的電離而導致的另一效應，是蛋白質分子可以在電場中移動，這個現象稱為電泳。在足夠酸的溶液中，蛋白質分子中的羧基以不解離的形式 $-\text{COOH}$ 存在，而氨基則以帶電的形式 $-\text{NH}_3^+$ 存在，由於此時蛋白質分子淨帶正電，所以當施以電位時，蛋白質分子就向負極移動。反之，在低酸度的溶液中，蛋白質分子中的羧基和氨基以 $-\text{COO}^-$ 和 $-\text{NH}_2$ 的形式存在，分子淨帶負電，故向正極移動。在中間的某一 pH 下，正電的數目和負電

的数目相等，就整个分子来说则为不带电，因此在电场中不移动。此时的 pH 称为等电点，具有等电点是蛋白质的特性之一。

二、辅基

某些酶，象胃蛋白酶和脲酶，经仔细的分析后，已证明是纯蛋白质。但发现另外一些酶除蛋白质外，尚含有非蛋白质的部分。在这种情况下，酶的蛋白质部分就称为酶蛋白，而非蛋白质部分则称为辅基。酶作为一个整体，包括酶蛋白和辅基，称为全酶。辅基有时很容易和酶蛋白分离，这样的辅基有时即称为辅酶，例如乳酸脱氢酶(第十一章)，就很容易被分解成酶蛋白和另外一个被称为二磷酸吡啶核苷(diphosphopyridine nucleotide, 简称 DPN)或称为辅酶 I 的物质，此辅酶为乳酸脱氢酶的活性所不可缺少的。在另外一些酶中，发现酶蛋白和一些离子相联结，将这些离子除去，就会使酶失去活性；这种离子通常被称为激活剂，而不称为辅酶。在上述的例子中，利用透析能方便地把酶蛋白和辅基分开，辅基能通过膜，而把酶蛋白留下。

另外有一些酶，它们的酶蛋白和辅基牢固地结合，不能用透析或其他简单方法分开，过氧化氢酶就是这样的例子(第十二章)，其蛋白质部分牢固地和它的辅基正铁血红素相结合。有些酶的酶蛋白和金属牢固地结合，这些金属不易移去。辅酶和辅基的区别只是和酶蛋白结合的牢固程度不同，而酶的功能显然和酶蛋白的结合力无关。

三、酶是催化剂

催化剂¹⁾的基本特征在于它能影响化学反应的速度，而在反应过程中，它本身不被消耗，因此在理想的情况下，当反应終了时，催化剂可以回收。当然这并不意味着催化剂是借其某些外在的效

¹⁾ 对各种类型催化剂的詳細討論可見 P. H. Emmett 編: *Catalysis*, Reinhold, New York, vol. 1 (1954), vol. 2 (1955), vol. 3 (1956), vol. 4 (1957), vol. 5 (1957).

应发生作用,而本身并不参与于反应之中。相反,现已确定在所有的催化类型中,催化剂都和底物(即反应物)形成某种形式的复合物,此复合物最后分解成反应的产物和催化剂。通常可以发现催化反应的速度直接和催化剂的浓度成正比;在没有催化剂存在的情况下,那些速度慢到难以察觉出来的反应表明,如以这些反应的速度对催化剂的浓度作图,就应得到一条通过原点的直线。

以相同程度催化正逆反应,是催化剂的特性之一,下面經簡化了的論証可以說明为什么是这样的(不是严密的証明)。以化学平衡: $A+B \rightleftharpoons C+D$ 为例。在一定条件下,此反应速度可以表示为:

$$v_1 = k_1[A][B], \quad (1)$$

其中 k_1 是速度常数, $[A]$ 和 $[B]$ 为两个反应物的浓度。从右到左的反应速度则可相似地表示为:

$$v_{-1} = k_{-1}[C][D]. \quad (2)$$

达到平衡时反应速度必定相等,因此,

$$k_1[A][B] = k_{-1}[C][D], \quad (3)$$

所以,

$$\frac{[C][D]}{[A][B]} = \frac{k_1}{k_{-1}} = K, \quad (4)$$

K 等于 k_1/k_{-1} , 是反应的平衡常数。因为催化剂不能改变反应的最終結果,所以不能影响反应进行的程度,亦即不能影响 K 。如果加入催化剂,則速度 v_1 即按一定因数增加, k_1 必然也按此相同的因数增加,所以 k_{-1} 、 v_{-1} 也随之按此相同的因数增加。

就上述的各方面看来,酶显示出催化剂的典型性质。但在某些方面,它們又表现出其他催化剂所没有的不平常的特性:这样的特性有:对热和强酸碱性 pH 的敏感,即在這些条件下,它們表现出蛋白质的典型性质。另一异乎寻常之处就是在分子的基础上比較,它們的催化效率显然比其他类型的催化剂高。所謂轉換率是一个很粗略的,但有时却是很有用的表示酶的催化效率的方法。轉換率的定义是:在一分钟内,催化剂的一个分子能催化而发生反

应的分子数。在一定条件下，过氧化氢酶的轉換率約为 5,000,000。这比其他能催化过氧化氢分解的催化剂的效率要高 10 的許多次方。这虽然是一个极端的例子，但所有的例子都显示天然的酶具有比任何其他催化剂高的轉換率。

四、专 一 性

酶的催化特性的另一不寻常方面，是它們的专一性。已經观察到有各种不同类型的专一性，以下是几种特别重要的专一性类型：

1. 绝对专一性 当一个酶只能催化唯一的底物使之进行反应时，就认为該酶具有绝对专一性。脲酶是一个著名的例子，它只能催化尿素水解为氨和二氧化碳，但对其他物质（包括結構非常相似的甲基尿素 $\text{CH}_3\text{NHCOCNH}_2$ ）却毫无作用。琥珀酸脫氢酶催化琥珀酸氧化也是绝对专一的。此外对輔酶的绝对专一也是經常遇見的。

2. 族专一性 某些酶的专一程度較低，可以对好多种底物作用，但这些底物的分子中都必需有一定的原子基团。例如胃蛋白酶可以水解某些肽键，但它的要求之一是在肽键的一定位置上有一个芳香基。至于精确的要求将在以后述及（第九章）。絕大多數蛋白水解酶都显示为这种族专一性。

3. 反应专一性 专一性程度最低的酶是那些能够催化一定类型的反应，而不管底物中被作用键的附近有什么基团。例如酯酶可以催化任何有机酯（包括脂类化合物）的水解。但通常对不同的底物水解速度各不相同，例如有些酯酶对短鏈酸酯的水解作用比对长鏈酸酯的水解作用快，而另一些酯酶則恰相反。族专一性和绝对专一性事实上可以看成是反应专一性的一些特殊情况，即对某些底物的反应速度为零的特例。

4. 立体化学专一性 經常可以发现，一个酶只能催化底物的一种立体化学构型。例如蛋白水解酶通常只对 L-型氨基酸构成的肽起作用。相似地，乳酸脫氢酶只能催化 L-乳酸氧化，而对

D-乳酸沒有作用。

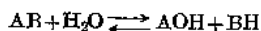
关于在分子水平上对专一性的解釋，尚留有許多工作要做，只有当酶分子的精确結構知識更多地发展之后，才可能充分了解。已提出的一些概念将在第六章中討論，現在只简单地提出酶和底物分子的严密适合为酶反应所不可缺少的条件。某一个基团被另一个基团置换之后，就会因为各种原因而影响这种适合关系；一个基团可以简单地由于其形状和大小的改变，而妨碍酶的活性部分和底物分子紧密接触，或由于某一基团的改变而引起底物分子通常构象的改变。

五、酶 的 分 类

由于存在着許多不同种类的酶，为便于討論，可将它們分为几类。分类的方法很多，但沒有一种能使人完全滿意，从动力学和作用机制的观点出发，最实用的是以酶催化的反应类型来分类。这儿不打算写出酶的完整的分类，因为这已在許多别的地方做了^[1]。但給出一些催化分解反应的酶类是合宜的，这将主要限于本书以后要特別加以討論的那些酶。有許多酶虽然在生物学上具有重要性和广泛的兴趣，但从动力学和作用机制的观点来看，对它們的研究还很少，因此在本书中只偶然提及。

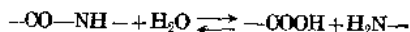
已經研究了动力学的几类主要的酶是：1. 水解酶，2. 氧化酶，3. 加合(和分解)酶和 4. 轉移酶。这些可进一步討論如下：

1. 水解酶 催化如下类型的反应：



主要的水解酶有：

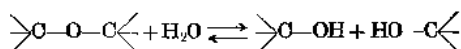
1. 蛋白水解酶 这类酶催化肽鍵的水解：



例如，胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶和羧肽酶，它們可作用于蛋白质和某些合成的肽。这四种酶的反应动力学已有較詳細的研究，将于第九章中叙述。

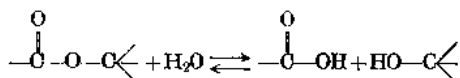
[1] O. Hoffmann-Ostenhof, *Adv. Enzymol.* **14**, 219 (1953).

2. 糖酶 这类酶催化存在于双糖、多糖和其他物质中的糖苷键的水解。

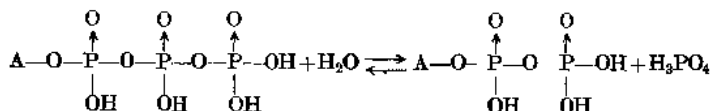


例如蔗糖酶能催化蔗糖水解成葡萄糖和果糖的作用。对这些酶的某些方面已进行了一些动力学研究,但因为知識是片断的,故只在本书的不同部分扼要地述及。

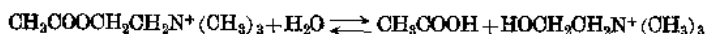
3. 酯酶 这类酶水解酯成为酸及醇:



例如脂肪酶水解脂肪,磷酸酶水解磷酸酯。在生物学上具有巨大重要意义的一个磷酸酶是三磷酸腺苷酶 (adenosinetriphosphatase, 简称 ATP 酶), 也即肌球蛋白, 它能催化三磷酸腺苷水解为二磷酸腺苷:

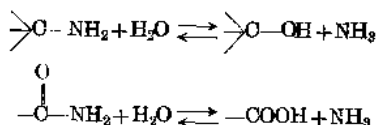


(A = 腺苷)。胆碱酯酶是在生物学上具有巨大重要意义的另一个酯酶, 它能催化乙酰胆碱分解为胆碱和醋酸:



主要由于 ATP-酶和胆碱酯酶具有重要的生物学意义 (分别地对肌肉和对神经), 所以已从动力学的观点, 相当详细地研究了它们, 在第十章中将加以讨论。然而, 其他酯酶多少由于提纯和鉴定上的困难, 所以还很少从动力学的观点加以研究。

4. 脱氨酶和酰胺酶 它们催化胺和酰胺的水解而释出氨:



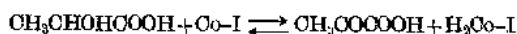
一个重要的例子是脲酶, 它催化尿素的分解:



这个反应的动力学已被相当詳細地研究过,将在第十章中討論.

2. 氧化酶 这类酶涉及各种类型的氧化:

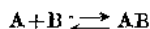
1. 脱氢酶 催化自底物的分子脱去两个氢原子的反应,并将氢原子传递给輔酶(在某些例子中輔酶参与蛋白质分子的结构).例如乳酸脱氢酶,可氧化乳酸为丙酮酸,其两个氢原子为輔酶 I 所取得,輔酶 I 为这个酶的功能所必需有的组分.



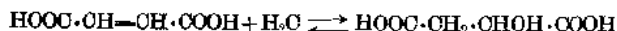
脱氢酶的动力学及作用机制将于第十一章中討論.

2. 氧化酶 可将氢原子直接轉移給分子氧,而完成氧化过程.这类酶也将在第十一章中簡要說明.

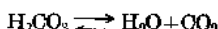
3. 加合酶 催化如下简单的加合反应:



由于它們也催化从右到左的反应,故也可以看成是分解酶.反丁烯二酸酶是这样的一个例子,它催化反丁烯二酸和苹果酸的互变:



另一个例子是碳酸酐酶,它催化碳酸分解为二氧化碳和水,以及二氧化碳和水結合成碳酸的反应:



4. 轉換酶 催化两个分子間基团互相交换的反应:



过氧化物酶是在动力学方面已相当詳細研究的一个重要例子,它催化氧从过氧化氢分子上轉換到适当的受体上:



六、酶的活性中心

在对酶系統进行的各种研究过程中,逐渐明确了酶的催化性质并非整个酶分子的基本性质,酶活性只决定于酶分子中某些相对較小区域的存在.据信能解釋酶的主要作用的这些小区域,为

方便起见，可称为活性中心，或活性部位。在这些活性中心上，酶和底物结合，并发生化学反应。这些活性中心，至少在某些例子中已证明具有比较复杂的结构，它们包含排列得恰能适应底物的若干不同的化学基团。某些这种基团是靠氢键或其他方式和底物结合的。

关于酶作用本质的这种见解，和早期的设想截然不同，按照以前的想象，酶分子表面的大部分都具有催化活性。目前已经制备了许多纯酶，因而有可能根据直接的证据对此问题进行推论。以后要述及在许多例子中只有一小部分表面具有活性。事实上，对某些酶已经证明每个分子只有一个活性中心，其区域的相应直径可能只有几埃(Ångström)。在另外一些酶的分子中，则发现有两个或较多的活性中心，在这种例子中有证据说明，酶分子可能是结合起来的。

由此见解，就有可能在某些情况下，将酶分子分裂成较小的片断，其中有些片断仍然保持着酶的活性，对这种仍具有高效酶活性

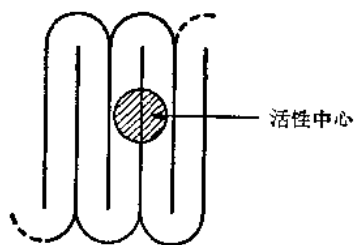


图1 折叠肽链的示意图，表明酶的活性中心跨在肽链的两个部分

的小分子的探索，确是研究酶的一个重要和饶有兴趣的方面，而且无疑对阐明酶的作用机制会作出许多贡献。培尔门(Perlmann)^[2]特别成功地将胃蛋白酶分子分裂成片断，其中某些片断虽然小到足以通过透析膜，但仍具有酶的活性。

在强调酶的活性中心的重要性时，不应完全忽视分子的其余部分的重要性。酶的结构当有较小的改变时，就会失却活性这一事实，有力地显示了酶活性中心的存在，有赖于蛋白质分子的特殊折叠形式，这种情形可以图1的模式来表示。在这模式中，活性中心的组成包含在蛋白质分子的两条不同肽链中。当酶蛋白发生变性时，活性中心的各个组分即彼

[2] G. Perlmann, *Nature* 173, 406 (1954).

此脱离,而丧失活性。在培尔門的蛋白质片断中,可以推测尽管酶分子发生了普遍的分解,但在关键区域的肽鏈摺叠状态多少仍保持不变。可以提及,活性中心的这种复合式見解受到底物往往能保护酶使它免于失活的事实支持,因为底物能保持肽鏈以原来的摺叠形式結合在一起。

目前关于某些个别酶的活性中心的詳細性质已积累了許多証据,而且弄清楚了每个酶分子具有的活性中心的数目。其中有些証据在本书以后論及某些一定的酶时再討論。現在先叙述已經用来測定活性中心数的一般方法,并总结主要結果是有好处的。

測定每个酶分子所具有的活性中心数目的方法,有些是可以普遍应用的,有些則只适用于个别特例。通常較具普遍性的方法是研究能够和一个酶分子結合的某一激活剂或某一抑制剂的分子数。这方法应同时測定这种結合对酶活性的影响。由于激活剂或抑制剂也可能和酶分子上与反应无关的那些部位結合,所以这种方法往往得出活性中心数的上限。至于有多少抑制剂或激活剂和酶相結合,可以用好几种方法測定。在某些例子中,激活剂或抑制剂和酶分子結合得很牢固,因此有可能将一定的酶-激活剂复合物,或酶-抑制剂复合物分离和純化并研究其組成。例如抑制剂二-异丙基氟磷酸(di-isopropylfluorophosphate, 简称 DFP) 可以和胰凝乳蛋白酶及其他一些酶結合,形成很稳定的复合物,在好几个例子中发现这种复合物的每一个酶分子就含有一个抑制剂殘基^[3]。鋅也可以和羧肽酶形成一个稳定的复合物,而且发现每个蛋白质分子和一个鋅原子結合时,才具有最大活性^[4]。

在另外一些例子中,酶和活化剂或抑制剂形成的复合物太容易解离,以致不允许分析其組成,因而必需用間接的方法研究其結合的本质。让酶和一已知总濃度的抑制剂或激活剂相接触,然后用超离心法或透析平衡法,把酶和溶液分开^[5],从結果溶液的組成

[3] A. K. Balls and E. F. Nutting, *Adv. Enzymol.* **13**, 321 (1952).

[4] B. L. Vallee and H. Neurath, *J. Biol. Chem.* **217**, 253 (1955).

[5] Cf. I. M. Klotz, F. M. Walker and R. B. Pivan, *J. Amer. Chem. Soc.* **68**, 1486 (1946).