

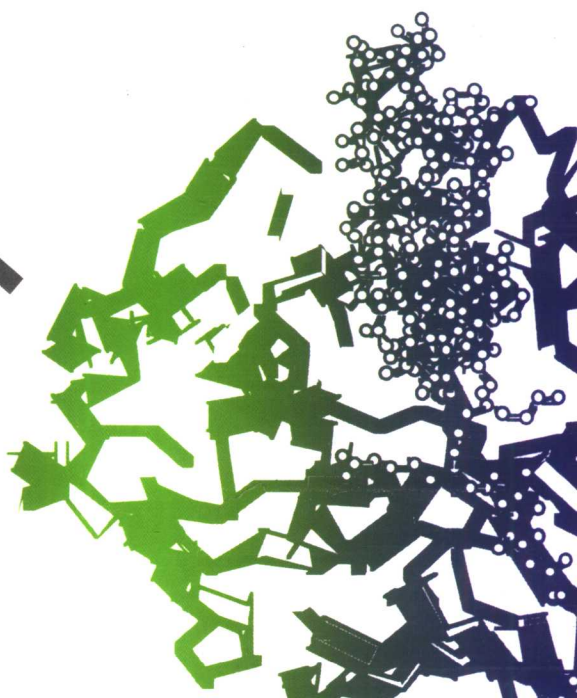


酶催化动力学 ——方法与应用

Enzyme Kinetics *A Modern Approach*

[加] A. G. 马兰戈尼 著
A. G. Marangoni

赵裕蓉 张鹏 译



化学工业出版社

酶催化动力学

——方法与应用

Enzyme Kinetics

A Modern Approach

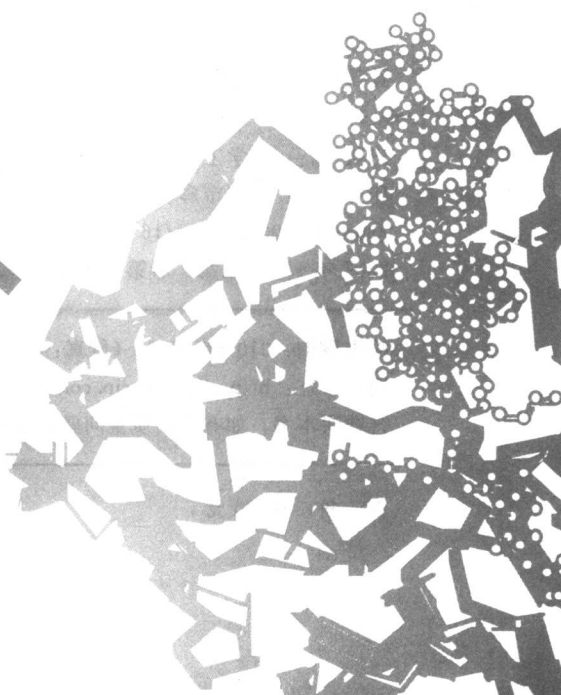
[加] A. G. 马兰戈尼 著
A. G. Marangoni

赵裕蓉 张鹏 译



化学工业出版社

· 北京 ·



图书在版编目 (CIP) 数据

酶催化动力学——方法与应用/[加] 马兰戈尼
(Marangoni, A. G.) 著; 赵裕蓉, 张鹏译. —北京:
化学工业出版社, 2007. 1
书名原文: Enzyme Kinetics: A Modern Approach
ISBN 978-7-5025-9843-3

I. 酶… II. ①马…②赵…③张… III. 酶-催化-反应
动力学 IV. Q550. 8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 011614 号

Enzyme Kinetics: A Modern Approach/by A. G. Marangoni

ISBN 0-471-15985-9

Copyright © 2003 by John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by John Wiley & Sons, Inc.

本书中文简体字版由 John Wiley & Sons 出版公司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。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2005-2970

/

责任编辑: 傅四周 孟 嘉

文字编辑: 张春娥

责任校对: 洪雅姝

封面设计: 关 飞

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 装: 北京市彩桥印刷有限责任公司

720mm×1000mm 1/16 印张 13 字数 253 千字

2007 年 4 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: 36.00 元

版权所有 违者必究

可供图书书目

书 名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
动物细胞培养工程	张元兴	2007. 1	16	平	
生物实验室系列——发酵工程实验技术	陈坚	2004 重印	16	平	56.00
现代发酵工程丛书——发酵过程解析、控制与检测技术	史仲平	2005	小 16	平	45.00
现代发酵工程丛书——现代发酵微生物实验技术	诸葛健	2005	小 16	平	28.00
现代生物技术丛书——生物传感器	张先恩	2006	16	平	59.00
现代生物技术丛书——生物芯片技术	陈忠斌	2005	16	平	76.00
现代生物技术丛书——生物制药技术	朱宝泉	2004	16	平	60.00
现代生物技术丛书——生物工程下游技术(第二版)	刘国詮	2003 重印	16	平	45.00
现代生物技术丛书——农业生物工程(第二版)	莽克强	2004	16	平	40.00
现代生物技术丛书——微生物工程	焦瑞身	2003	16	平	78.00
现代生物技术丛书——动物细胞工程	徐永华	2005 重印	16	平	35.00
现代生物技术丛书——植物细胞工程	朱至清	2005 重印	16	平	30.00
现代生物技术丛书——蛋白质工程	王大成	2003 重印	16	平	36.00
现代生物技术丛书——基因工程	李建凡	2003 重印	16	平	30.00
现代生物技术丛书——环境生物工程	陈坚	2002 重印	16	平	45.00
现代生物技术丛书——酶工程	罗贵民	2004 重印	16	平	50.00
现代生物技术丛书——生物技术与疾病诊断	卢圣栋	2003 重印	16	平	25.00
现代生物技术丛书——组织工程	杨志明	2003 重印	16	平	48.00

续表

书 名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
实用生物技术丛书——非热杀菌技术与应用	李汴生 阮征	2004	16	平	35.00
实用生物技术丛书——动物细胞培养技术与应用	王捷	2004	16	平	32.00
实用生物技术丛书——基因克隆技术在制药中的应用	杨汝德	2004	16	平	45.00
实用生物技术丛书——细胞融合技术与应用	罗立新	2004	16	平	25.00
实用生物技术丛书——酶的生产与应用	郭勇	2005 重印	16	平	35.00
有机化学中生物转化(原著第四版)	吉爱国 等译	2006	小 16	平	39.00
生物资源中活性物质的开发与利用	刘建文	2005	16	平	69.00
微生物重要代谢产物——发酵生产与过程解析	陈坚	2005	16	平	68.00
生物催化工艺学	孙志浩	2005	16	精	98.00
生物催化和生物降解——有机化合物的微生物转化	沈德中 译	2005	小 16	平	35.00
海洋生物技术研究进展	王长海	2005	16	平	58.00
纤维素生物技术	陈洪章	2005	16	平	45.00
代谢工程的途径分析与优化	修志龙	2005	小 16	精	45.00
发酵工程关键技术及其应用	欧阳平凯	2005	16	平	49.00
发酵过程原理	叶勤	2005	小 16	平	30.00
生物化学仪器分析与实验技术	周先碗 胡晓倩	2005 重印	16	平	45.00
现代应用生物技术	刘仲敏	2004	16	精	98.00
重组蛋白分离与分析	范代娣	2004	大 32	平	28.00
生物过程工程与设备	陈洪章	2004	16	精	68.00
立体选择性生物催化	方唯硕	2004	16	精	120.00
生物体系中的化学测量	Kent K. Stewart Richard E. Ebel 著	2003	大 32	平	26.00

续表

书 名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
环境生物技术与工程	陈欢林	2003	16	平	60.00
肽核酸	何为 马立人	2003	大 32	平	30.00
生物质能现代化利用技术		2003	16	平	35.00
生物技术与抗除草剂作物	苏少泉	2003 重印	32	平	20.00
生物超分子体系	李惟	2003 重印	大 32	平	24.00
生物芯片(第二版)	马立人	2003 重印	大 32	平	35.00
生物催化的手性合成	张玉彬	2003 重印	大 32	平	30.00
污染环境的生物修复	沈德中	2002 重印	16	平	45.00
制药生物技术(原著第二版)	吉爱国等 译	2005	16	平	49.00
海洋生化工程概论	王长海	2004	小 16	平	40.00
生物化工新产品与新技术开发指南(第二版)	戎志梅	2004	16	平	78.00
生物化工产品生产工艺技术及应用	任凌波	2004 重印	32	平	40.00
生化反应动力学与反应器(第二版)	戚以政	2004 重印	大 32	平	24.00
现代微生物技术丛书——微生物分子育种原理与技术	汪天虹	2005	小 16	平	45.00
现代微生物技术丛书——农业微生物技术	孔健	2005	小 16	平	30.00
现代微生物技术丛书——微生物技术开发原理	曲音波	2005	小 16	平	35.00
现代微生物技术丛书——资源环境微生物技术	高培基 许平	2004	小 16	平	48.00
现代微生物技术丛书——微生物酶转化技术	宋欣	2004	小 16	平	35.00
现代微生物技术丛书——药物微生物技术	李越中	2004	小 16	平	30.00
农业生物技术系列——草坪草生物技术及应用	林忠平	2006	小 16	平	30.00
农业生物技术系列——微生物农药研发与应用	周兢 喻子牛 等	2006	小 16	平	38.00
农业生物技术系列——现代生物技术与畜禽疾病防治	陈溥言	2005	小 16	平	32.00

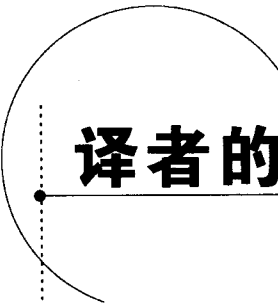
续表

书 名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
微生物重要代谢产物——发酵生产与过程解析	史仲平	2005	16	平	65.00
现代发酵工程丛书——现代发酵微生物实验技术	诸葛健	2005	小 16	平	28.00
多尺度微生物过程优化	张嗣良	2003	16	平	45.00
海洋微生物及其代谢产物	林永成	2003	16	平	68.00
现代微生物遗传学	陈三凤	2004 重印	16	平	35.00
植物生物活性物质	唐传核	2005	16	精	58.00
植物细胞培养工程	元英进	2004	小 16	平	38.00
植物化学成分	陈业高	2004	16	平	40.00
植物组织培养与工厂化育苗	崔德才 徐培文	2004 重印	大 32	平	28.00
中国生物技术产业发展报告(2005)	中国生物工程学会	2006	大 16	平	98.00
中国生物技术产业发展报告(2004)	中国生物工程学会	2005	大 16	平	80.00
中国生物技术产业发展报告(2003)	中国生物工程学会	2004	大 16	平	60.00
中国生物技术产业发展报告(2002)	中国生物工程学会	2004 重印	大 16	平	45.00
生物技术投资必读——如何投资生物技术与生命科学板块	[美]唐马克	2005	大 32	平	28.00
海绵形态学辞典	[法]尼古拉·伯雷-伊斯奈尔特	2003 重印	大 32	平	15.00
汉英生物技术词汇	安利佳 包永明	2003	32	精	60.00
英汉生物技术词汇	安利佳	2003 重印	大 32	精	68.00

邮购电话/传真: 010-64518888 或 010-64518899 E-mail: yougou@cip.com. cn

如果您需要了解更多信息, 欢迎登录我社网站: www. cip. com. cn

谨以此书献给 Dianne, Isaac 和 Joshua!



译者的话

近几年来,我国的生物技术尤其是基因组学和蛋白质组学取得了可喜的成绩,生化反应工程和过程工程也有了一定的基础,但是有关酶动力学研究中如何建立模型和如何以实验的方法利用模型来分析酶动力学数据等内容的专著国内还没有,因此,我们翻译了《酶催化动力学——方法与应用》一书,希望能够提供有价值的补充。

本书与以往的一些酶学的书籍不同,强调对如何得到动力学模型的理解,了解它们的限制是什么,以及在实际工作中如何应用它们来分析酶动力学数据。书中既介绍了传统的动力学分析的方法和技术,又介绍了酶活特征和酶稳定性特征、可逆与不可逆酶抑制、机理性抑制、酶催化反应的 pH 依赖性和瞬时状态、多位酶和协同酶、固定化酶和界面酶,以及酶动力学原理的实际运用和在蛋白质结构-功能关系研究中的应用等。可以说这是一本内容全面的酶动力学方面的工具书。

本书共 15 章,其中第 1、3、7、8、11、12、14、15 章由赵裕蓉同志翻译,第 2、4、5、6、9、10、13 章由张鹏同志翻译,于明锐、王满意博士参加了第 2、4、5、6、9、10、13 章的翻译工作。

由于译者的水平有限,译文难免有不当之处,敬请读者批评指正。

译者
2007 年 2 月

前言

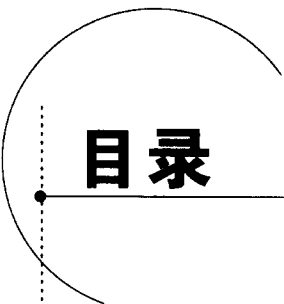
我们生活在生物学时代——我们已经排列出人类和许多其他生物体的基因组序列，同时我们开始搞清楚决定行星上生命的新陈代谢机制的功能。人类已经发现了成千上万种新的基因，其中许多是未知功能酶的密码。弄清楚酶的动力学性质，将了解它的生理学作用提供线索。从生物工艺学观点来看，设计以固定化酶为基础的生产过程需要了解酶的催化性能。生物转化对于制药和食品工业十分重要，掌握酶的催化性能是必不可少的。本书可使读者了解酶动力学的原理和如何利用数学模型来描述酶的催化作用。其涉及到的信息资源不可能是详尽无遗的，有许多关于酶动力学的著作对这方面的问题做出了透彻而深入的论述。本书的重点放在理解原理及其使用上，是这方面权威性论述（如 Segel 的“Enzyme Kinetics”）的补充。

本书首先介绍在动力学分析中采用的方法和技巧。接着，短小的一章——“酶是如何工作的？”体现了本书的宗旨。本书依次介绍了酶活性的特性描述；可逆与不可逆抑制；pH 值对酶活性的影响；多底物酶、固定化酶、界面酶和变构酶动力学；酶反应瞬变相和酶稳定性。在各章中，首先根据原理建立模型，然后清楚地叙述和讨论假设，最后介绍它们的应用。

本书对酶动力学的论述与传统方法有根本的区别。在本书中，作者力图强调应明确怎样建立模型，它们的限制条件是什么以及如何能以实际的方法利用它们来分析酶动力学数据。由于计算机的出现，模型的线性转换已无必要，因而本书对酶动力学模型的线性转换不加以介绍，重点放在非线性回归技术的使用上。进行酶动力学数据的分析不需要线性转换。在本书中，特别是在研究 pH 值对催化活性和多底物酶的影响中，作者提出了一些分析酶动力学数据的新方法。在大部分传统的酶动力学研究中，处理数据常常线性化，因此作者删除了这部分内容，既减少了其所必需的信息量，又能对使用的模型有更深入的了解。因此，这将提高模型使用的效能。

时间是当今最为宝贵的东西。作者在写作本书时牢记了这一点，所以论述的范围力求完整和全面、详尽，但一定保持简明扼要。

A. G. 马兰戈尼
2001 年 9 月于 Guelph



目录

第1章 动力学分析的方法和技巧	1
1.1 概述	2
1.2 基本速度定律	3
1.2.1 速度方程	3
1.2.2 反应级数	4
1.2.3 速度常数	4
1.2.4 积分速度方程	4
1.2.5 反应级数和速度常数的实验测定	10
1.3 反应速度与温度的关系	12
1.3.1 理论根据	12
1.3.2 活化能	15
1.4 酸-碱化学催化作用	17
1.5 反应速度理论	20
1.6 复杂反应途径	22
1.6.1 数值积分和回归	23
1.6.2 精确解析解（非稳态近似）	32
1.6.3 精确解析解（稳态近似）	32
第2章 酶是如何工作的	34
第3章 酶活特性	37
3.1 过程曲线和反应速度的测定	38
3.2 催化模型：平衡和稳态	40
3.2.1 平衡模型	41
3.2.2 稳态模型	42

3.2.3 v 对 $[S]$ 曲线图	43
3.3 测定催化常数 K_m 和 V_{max} 的一般方法	44
3.4 实例	45
3.5 根据过程曲线测定酶催化参数	49
第 4 章 可逆的酶抑制	52
4.1 竞争性抑制	53
4.2 反竞争性抑制	54
4.3 线性混合型抑制	55
4.4 非竞争性抑制	56
4.5 应用	56
4.5.1 琥珀酸抑制延胡索酸酶	57
4.5.2 β -苯丙酸抑制胰凝乳蛋白酶 A	58
4.5.3 可选策略	60
第 5 章 酶的不可逆抑制	61
5.1 简单不可逆抑制	63
5.2 底物存在下的简单不可逆抑制	64
5.3 与时间相关的简单不可逆抑制	65
5.4 底物存在时与时间相关的简单不可逆抑制	67
5.5 与时间相关的抑制和与时间不相关的抑制之间的区别	68
第 6 章 酶催化反应的 pH 依赖性	69
6.1 模型	70
6.2 催化参数的 pH 依赖性	72
6.3 测定催化相关功能基团 pK 值的新方法	74
第 7 章 双底物反应	80
7.1 随机序列 Bi Bi 机制	82
7.1.1 固定 $[A]$	83
7.1.2 固定 $[B]$	83
7.2 有序序列 Bi Bi 机制	85

7.2.1 固定 $[B]$	85
7.2.2 固定 $[A]$	86
7.2.3 底物结合的顺序	87
7.3 乒乓 Bi Bi 机制	87
7.3.1 固定 $[B]$	88
7.3.2 固定 $[A]$	88
7.4 机制之间的区分	89
第 8 章 多位酶和协同酶	91
8.1 连续相互作用模型	93
8.1.1 基本假设 (原理)	93
8.1.2 相互作用系数	94
8.1.3 微观与宏观解离常数	95
8.1.4 模型的推广	96
8.2 协同转变或对称模型	97
8.3 应用	100
8.4 现实性检查	102
第 9 章 固定化酶	103
9.1 批式反应器	104
9.2 活塞流式反应器	106
9.3 连续搅拌式反应器	106
第 10 章 界面酶	108
10.1 模型	110
10.1.1 界面结合	110
10.1.2 界面催化	111
10.2 单位体积界面面积的测定	113
10.3 饱和界面的酶覆盖率测定	114
第 11 章 酶反应的瞬变相	115
11.1 快速反应技术	116

11.2 反应机理	118
11.2.1 反应的初期	119
11.2.2 反应的末期	120
11.3 弛豫技术	120
第 12 章 酶稳定性	124
12.1 动力学分析	125
12.1.1 模型	125
12.1.2 半衰期	126
12.1.3 90%递减时间	127
12.1.4 活化能	128
12.1.5 Z 值	129
12.2 热力学分析	130
12.3 举例	133
12.3.1 稳定性的热力学表征	133
12.3.2 稳定性的动力学表征	136
第 13 章 机理性抑制	138
13.1 交替底物抑制	140
13.2 自杀抑制	142
13.3 例子	147
13.3.1 交替底物抑制	147
13.3.2 自杀抑制	148
参考文献	149
第 14 章 动力学原理在实际中的应用	151
14.1 测定初始速度吗?	152
14.2 Michaelis-Menten 模型适合吗?	154
14.3 初始 $[S]$ 与速度关系图看起来像什么?	156
14.4 使用的 $[S]$ 范围适当吗?	158
14.5 在动力学模型中是否有一致性?	161
14.6 结论	166

参考文献	166
第 15 章 在研究蛋白质的结构与功能关系中酶动力学数据的使用	167
15.1 用类似于天然蛋白质的各种微生物体系表达蛋白质吗?	168
15.2 把酶原转变成活性酶的机理是什么?	170
15.3 在活性酶的活化和结构与功能方面前肽起什么作用?	173
15.4 特殊结构和(或)残基在酶结构与功能中起什么作用?	176
15.5 能通过突变使酶的结构对环境条件稳定吗?	178
15.5.1 电荷分布	178
15.5.2 N-Frag 突变型	180
15.5.3 二硫键	182
15.6 结论	184
15.7 突变研究中使用的缩写	184
参考文献	186
主要参考文献	188
图书	188
参考论文	189
索引	190

第1章

动力学分析的方法和技巧

- 1.1 概述
- 1.2 基本速度定律
- 1.3 反应速度与温度的关系
- 1.4 酸-碱化学催化作用
- 1.5 反应速度理论
- 1.6 复杂反应途径

1. 1

概 述

化学家们所关心的是化学相互作用的规律。解释这些化学相互作用所阐述的理论主要是以实验结果为基础的。过去一直用热力学和动力学两种主要方法来解释化学反应。在热力学中结论是在一个系统中伴随化学变化的能量和熵变化的基础上得出的，从反应自由能变化的大小和迹象能够预知将要发生的化学变化的方向。可是热力学的量并不能在化学反应的速度和机理方面提供任何信息。对过程动力学的理论分析能提供关于这些过程的根本机理的有用信息，为此，必须建立体现假设机理的数学模型，通过所得方程的解是否与实验数据一致，就能肯定或者否定这个假设。

对于一个简单反应 $A+B \rightleftharpoons C$ ，按照质量定律，反应物 A 转化成生成物 C 的速度是与参与化学反应、可利用的 A 分子数成比例的。A 或 B 的浓度加倍，则导致生成物生成的分子之间碰撞数加倍。

反应的化学定量关系是反应物分子数对生成物分子数的简单比例关系。对于反应机理来讲这是不会错的，例如三分子氢与一分子氮反应生成氨： $N_2 + 3H_2 \rightleftharpoons 2NH_3$ 。

反应的分子性是反应物分子参与单步完成的简单反应，反应可以是单分子的、双分子的和三分子的。单分子反应可以包括异构化 ($A \rightarrow B$) 和分解 ($A \rightarrow B+C$)，双分子反应包括缔合 ($A+B \rightarrow AB$; $2A \rightarrow A_2$) 和交换反应 ($A+B \rightarrow C+D$ 或 $2A \rightarrow C+D$)，少量的三分子反应也可能发生 ($A+B+C \rightarrow P$)。

动力学家的任务是预测反应在给定实验条件下的速度，最好能使提出的机理在定性和定量方面与已知的实验动力学测量结果相符合。提出机理的准则为：①与实验结果一致，②极大的可能性，③微观可逆性，④与类似反应的一致性。例如放热的或吸热很少的步骤很可能在反应中是最重要的步骤。微观可逆性系指对于基本反应来说，必须以完全相同路线在相反方向进行的逆向反应。因此，如果反应是逆向的，一定包括按反应机理所发生的任一步骤。