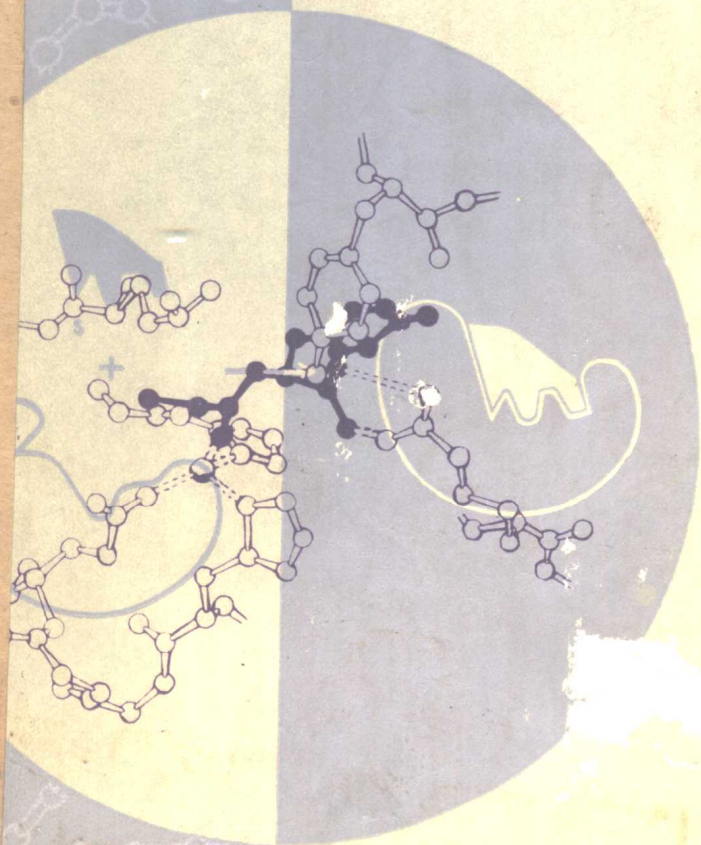


酶的作用原理

学丛书

酶的作用原理

许根俊 编著



出版社

酶的作用原理

许根俊 编著

科学出版社

1983

内 容 简 介

本书是中国科学院生物化学研究所近年来举办生化训练班的教材之一。内容包括:酶的基本概念、酶的纯化与活力测定的各种方法;对酶的动力学和作用原理作了较详细的讨论:包括基本动力学、抑制作用、pH 和温度对酶促反应的影响、在多底物动力学方面对近年来广泛应用的 Cleland 命名规则及 King-Altman 推导速度方程的方法等也作了专门的介绍;在酶的作用原理的章节中用物理有机化学的理论探讨了酶催化高效率 and 专一性的原因;此外还以两章的篇幅论述了酶的调节与控制,包括别构调节、共价修饰调节以及这些调节的生理意义。

本书可作为高等院校生物化学课程的参考书,亦可供研究生、有关科技工作者、教师等从事研究工作或进修时参考。

酶 的 作 用 原 理

许根俊 编著

责任编辑 吴铁双

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

*

1983 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

1983 年 3 月第一次印刷 印张:9 3/4

印数:0001—6,050 字数:221,000

统一书号:13031·2170

本社书号:2973·13—10

定价:1.55 元

序 言

生物化学研究所举办的生化训练班始自 1950 年,开始时着重实验室训练,我们的目的是为了使青年生化工作者掌握这门学科研究的一些新方法、新技术。以后随着我所高研人员的增多,又添加了讲课内容,围绕当时的生化生长点,系统地讲述国际生化的新进展。课文内容逐渐发展充实,并结合在上海科技大学讲授高级生化课的需要,编写成高级生化训练班讲义。1960 年中国科学院在上海召开第一次全国生化学术会议,会议期间各地代表纷纷要求生化所举办一次大型高级生化训练班,为全国各有关单位培训生化人才。因此,生化所于 1961 年举办了一次有四百多学员参加的高级生化训练班,以系统介绍生化学科新知识为主,部分学员并参加了实验训练。十几年来,我们发现通过该次训练班学习的学员,大部分已成为各有关单位的生化科研或教学骨干。这个发现给予生化所同志以极大鼓舞。文化大革命中,高级生化训练班横遭批判,但 1972 年以后,各方面仍不断有呼声,要求生化所再次举办高级生化训练班。1976 年我们在所内作一次小型尝试,着重发挥部分中级科研人员在教学中的作用,从编写讲义到讲课。1979 年在中国科学院一局的催促和支持下,为克服住宿的困难,我们再次在沪杭两地同时举行一次大型高级生化训练班,人数近五百人,课程内容大为扩充,包括十余年来进展最迅速的生化或分子生物学领域。如分子遗传、DNA 重组、生物膜、免疫生化等等。为适应国内广大生化工作者的需要,特将上述讲课内容整理成书,分册付印,定名为“生物化学丛书”。尚望国内同行对本书内容不吝批评指正,供今后再版时修改参考。

王 应 睐

前 言

新陈代谢是生命活动最重要的特征，而构成新陈代谢的千千万万的化学变化都是在酶的催化之下进行的。没有酶的作用，生命活动一刻也不能进行。因此对于从事生物学及有关学科的工作者来说，都或多或少地需要对酶有所了解。特别是现代生物学的发展，已经日益深入到分子水平，日益深入到在生物大分子结构与功能的基础上来说明生命现象的本质。无论是生物学中经典的分支学科，如分类学，还是新兴的分支学科，如神经科学；无论是研究微观世界的细胞学或是宏观世界的生态学；也无论是上述这些基础学科分支，或者是在实际应用上有重要意义的分支学科，如病理学、毒理学等，都离不开对生物大分子特别是酶的基础知识的理解。

我国关于酶学的专著不多。有些译著，虽然在当时都不失为有参考价值的著作，但现代科学发展甚快，十年前出版的著作，现在来看已经令人深感不足了。例如酶的别构现象，在二十年前几乎不为人所知，如今已成为现代酶学的一个重要组成部分。有人估计在所有已知的酶中约有三分之一具有别构性质，并在代谢调节上起着重要的作用。又如在十年前的教科书上还找不到“过渡态中间物抑制剂”的介绍，现在不仅已成为研究酶作用机理的重要工具，在实际应用上也开始崭露头角。

值得特别提到的是这本书在酶的作用动力学方面有它的特点。不少人常会对酶的动力学望而生畏，还有的则对其在整个酶学中的地位与作用认识不足。当然并非所有生物学工作者都有熟练掌握动力学工具的必要。我想在此强调的是，首先对于那些在工作中需要和酶打交道的同志，掌握酶的基本动力学概念应该是必不可少的要求。其次，熟练掌握基本的动力学工具也不是一件十分困难的事，它所需的教学基础并不十分高深，大学一年级的高等数学即已足够。对于在工作中需要对酶的知识有定量的，而不仅仅是定性的了解的同志，花一定时间掌握本书所介绍的一些基本动力学知识，一定会对其工作有所裨益的。

邹 承 鲁

目 录

第一章 概论.....	1
酶是什么和酶学研究的重要性	1
酶的作用特点	2
酶的分类和命名	14
第二章 酶的提纯和活力测定.....	21
酶的均一性	21
酶的提纯	22
酶的活力测定	29
第三章 酶作用动力学.....	32
Michaelis-Menten 方程.....	32
关于 Michaelis-Menten 方程的讨论	34
根据 Michaelis-Menten 方程用作图法求 K_m 和 V	36
酶偶联法测活力的一些问题	38
稳态前的动力学	40
第四章 酶的抑制作用和抑制作用动力学.....	44
不可逆抑制作用	46
King-Altman 方法推导速度方程.....	52
可逆抑制作用	55
第五章 酶作用于多底物时的动力学.....	67
Ordered Bi Bi 机制	69
Random Bi Bi 机制	72
Ping Pong Bi Bi 机制	73
对抑制作用的判断	74
第六章 调节酶的性质.....	78
MWC 模型.....	79
KNF 模型	83
别构酶的调节功能	87
第七章 pH 和温度对酶反应的影响	91
pH 对酶反应的影响	91
温度对酶反应的影响	96
第八章 酶的作用机制.....	99
酶和底物结合的作用力	100
基元催化反应	103
一些使酶反应加速的因素	106
溶菌酶	108
羧肽酶 A	113
第九章 酶原的活化和凝血因子.....	117

胰凝乳蛋白酶原的活化	117
凝血因子和凝血机制	125
关于几个问题的讨论	129
附录.....	131
参考文献.....	148
后记.....	149

第一章 概 论

酶是什么和酶学研究的重要性

生物系统的化学反应,除极少数例外,都是在一类催化剂的催化下进行的。在生物体内起催化作用的催化剂是一类蛋白质(包括复合蛋白质),我们把这种由生物体产生的具有催化作用的蛋白质叫做酶。

要准确地说出酶是在什么时候由谁首先发现的,那是件很困难的事情。很早人们就感觉到它的存在,但是并没有能够真正地认识它。从有记载的资料中知道,我国在周朝民间就已经用风干磨碎的麦芽粉来制饴,也就是这个时候就已经利用了酶。国外知道酶的存在是和发酵联系在一起的。1878年 Kühne 首先把这类物质称为酶(Enzyme)。Enzyme 这个字来自希腊文,其意思是“在酵母中”。以后又在动物的胃液中发现了它的存在。直到1833年 Payen 和 Persoz 从麦芽的水抽提物中,用酒精沉淀得到了一种对热不稳定的物质,它可以促使淀粉水解成可溶性的糖,他们把这种物质称之为淀粉糖化酶(diastase),其意思是“分离”,表示可以从淀粉中分离出可溶性糖来。虽然我们现在知道他们得到的是一个很粗的淀粉酶的制剂,但是由于他们采用了最简单的抽提、沉淀等提纯方法,得到了一个无细胞制剂,并指出了它的催化特性和热不稳定性,至少开始触及了酶的一些本质性问题,所以人们还是认为 Payen 和 Persoz 首先发现了酶。早期对于酶的研究,导致 Berzelius 在1835年至1837年提出了催化作用的概念。这个概念的产生对于化学的发展是非常重要的,今天催化化学已经成了化学这门学科的一个独立的分枝。Berzelius 当时在描述催化作用这种未知力时说,由于“它的存在,可以发挥它的影响,引起其他复杂物质亲和力与反应能力,从而引起这个复杂物质的组成的重排”。可见,对于酶的认识一开始就是和它具有催化作用的能力联系在一起的。

我们说物质和运动是不可分割的。或者说,运动是物质的存在方式。因此,不同的化学成分或者运动的不同形式构成了物质的多样性。在生物体内的催化作用,就是酶存在的一种形式。它的特点就是它的催化功能;同时,这种催化功能又是和生物体内起作用的特定条件相联系着的。因此就产生了一些重要的属性。也就是说,这种催化作用是受到生物体内各种各样的因素调节和控制的,否则就不能产生生物体的生命活动。一个失去了调节控制的酶,虽然它还具有催化能力,甚至有时可以具备和体内相同或者更高的催化能力,但是它不能和其他部分配合,成为一个失效的成分,这样就会引起非常严重的后果。如同电子仪器中某个已经短路的电子元件一样,尽管其阻抗很小,还能够导电,但是不能和其他电子元件配合,使仪器发挥正常的作用。例如红血球的丙酮酸激酶,它是酵解过程中已经知道的限制速度的酶之一,它具有别构作用,其活力可以受到磷酸烯醇丙酮酸的浓度的调节。反常的丙酮酸激酶,没有别构作用,容易形成单体,体内如果丙酮酸激酶是以这种反常的形式存在于红血球中,那么就会产生溶血性的贫血病。因此我们可以把酶称为一种可以受多种因素调节控制的由生物体内产生的催化剂;从化学成分来看,酶的

主要成分是蛋白质,也有一些酶,除了主要的由氨基酸构成的蛋白质以外,还有辅基、磷脂等其他成分。和一般蛋白质相比,所不同的是酶具有催化作用这一特殊的运动方式。这样使得酶既是蛋白质,又不是一般的蛋白质。

第一个酶的结晶是 Sumner 在 1926 年得到的脲酶,Sumner 提出,酶本身就是一种蛋白质。但是一直到 1930 年至 1936 年 Northrop 等得到了胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的结晶并用相律的方法证实了酶是一种蛋白质以后,Sumner 的上述观点才普遍地被接受。现在已经发现生物体内存在的酶有上千种,而且每年都有新的酶发现,数百种已经纯化达到了均一的纯度,大约有 150 种以上的酶得到了结晶。随着许多代谢途径的阐明,说明了生命现象是和生物体内存在着的由酶催化的许许多多丰富多彩的化学反应历程紧密地联系在一起的。可以说离开了酶在生物体内的催化作用,生命也就停止了。因此酶的研究,对于阐明生命现象的本质,是十分重要的。酶学是生物科学的一门基础理论科学。由于酶的独特催化功能,所以它在工、农和医各个方面都有重大的实际意义。它的特性将在下面几章分别进行介绍。它的高效率,专一性,不需要高温、高压、强酸、强碱的作用条件,对于普通的化学催化反应来说是一个决定性的飞跃。所以对酶研究的成果将会给催化理论、催化剂的设计、药物的设计和作用原理的了解,疾病的诊断和治疗以及遗传和变异等各个方面提供理论依据和新的思想、新的概念。

酶的作用特点

酶作为一种蛋白质,它具有一般蛋白质的物理化学性质,特别是具有一级结构(肽链的氨基酸残基的排列顺序,不同的酶有不同的氨基酸排列顺序)、二级结构(主链原子的局部的空间排列,主要指肽链形成的 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角等结构)、三级结构(整个分子或亚基的空间排列,但不包括亚基的相互作用)和四级结构(即亚基的相互作用。有的酶有四级结构,有的酶不具有四级结构)。有了二级和三级结构(我们称之为高级结构)之后,才具有酶的催化功能。这里不准备介绍酶具有蛋白质所具有的一般性质,只着重介绍与酶表现为生物催化剂这一独特功能有关的一些特殊性质。

一、具有很高的催化效率

在相同的条件下,酶的存在可以使一个反应的反应速度大大地加快,然而要把一个酶的催化反应和一个非催化反应,或者把一个酶的催化反应和一个由其他催化剂催化进行的反应作定量的比较,却是十分困难的。许多比较往往只能估计出一个下限。因为一方面酶催化的反应,非酶催化的反应以及非催化的反应的反应历程是不同的;另一方面,一些反应在酶的催化下可以顺利地进行,但是在没有酶存在下,则以几乎测量不出的速度进行。生物体所处的条件是常温、常压、中性酸碱度,这样一来,生物体内的化学反应,在体外没有酶存在的情况下,几乎都不能进行,因此,要把它们来进行比较是极为困难的。拿一个最简单的二氧化碳水合反应来说,见式(1-1),在生物体内是由碳酸酐酶催化进行的。如果没有碳酸酐酶存在,二氧化碳从组织到血液然后再到肺泡的空气中的反应,就会很不完全。碳酸酐酶的催化反应,是目前已知的最快的酶的催化反应之一。每个酶分子,在一

秒钟内,可以使 10^5 个二氧化碳分子发生水合反应,酶的催化反应比非酶反应要快 10^7 倍,由于这两类反应的历程不同,所以这种估计可能只是一个下限。



尿素的水解反应,在水溶液中是一个假一级反应,在 100°C 时,是不受 pH 影响的,其一级反应速度常数为 $4.15 \times 10^{-5} \text{秒}^{-1}$,活化能为 32.7 千卡/克分子。而尿素被脲酶催化水解的反应,在 20.8°C , pH 8.0 时,一级反应速度常数为 $3 \times 10^4 \text{秒}^{-1}$ 。其活化能为 11 千卡/克分子。换算到非酶反应在 20.8°C 时的一级反应速度常数,应该是 $3 \times 10^{-10} \text{秒}^{-1}$,其活化能相差 22 千卡/克分子,因此,酶催化反应比非酶反应至少要快 10^{14} 倍。

酶催化反应的高效率是长期以来最吸引人的研究课题之一,它不仅有很大的理论意义,而且 also 具有很大的实际意义。

二、高度的专一性

一般地说,酶具有两方面的专一性:一方面对于被作用的反应物是专一的,另一方面对于被催化的反应是专一的。被酶作用的反应物,通常称为底物。

一种酶通常只催化特定的底物进行特定的反应,酶的命名即是以酶在这两方面的专一性为根据的,如琥珀酸脱氢酶、谷丙转氨酶等。

不同的酶其专一的程度颇不相同。有的酶只作用于一种底物,这叫做绝对专一性。脲酶就被认为是具有绝对专一性的一个例子。另一个例子是 DNA 聚合酶 I,这个酶催化四种脱氧核苷酸的单体合成 DNA。在合成 DNA 时,要求有一条 DNA 链作为样板,合成的 DNA 链的排列顺序完全由样板 DNA 链的排列顺序决定。据估计,它催化合成的 DNA 链和原来的样板 DNA 的排列顺序不符合的地方,仅仅只有百万分之一。因此,从这个角度来看 DNA 聚合酶 I 也可以说具有绝对专一性。此外 DNA 聚合酶 I 还具有纠正 DNA 结构错误的功能。

蛋白水解酶可以催化肽键水解。不同的蛋白水解酶的专一性很不相同,它们属于族专一性的酶。

凝血酶是使血液发生凝块反应的酶系中的一个酶,专一程度比较高,它对于被水解的肽键羧基一端和氨基一端都有比较严格的要求。羧基一端的氨基酸要求是 L-精氨酸残基,氨基一端的氨基酸要求是甘氨酸残基。另外凝血酶还能水解氨基被保护的 L-精氨酸的酯类。它的作用专一性见图 1-1。

胰蛋白酶的专一性比凝血酶差一些,但是也有一定的要求。它水解的肽键的羧基一端必须是 L-精氨酸或 L-赖氨酸,但对于肽键的氨基一端则没有什么特殊的要求,只要不是脯氨酸残基就可以了。胰蛋白酶还可以水解 N-酰基 L-精氨酸或 L-赖氨酸的酯、酰氨、酰肼等化合物。

细菌中的蛋白水解酶,如枯草杆菌蛋白酶则对于被作用的肽键两边都没有什么严格的要求,只要肽键的氨基一端有一个疏水基团存在就行了。

还有一些酶仅仅催化一种类型的反应,而不管作用键的两边邻近基团的性质如何,就是说它对于被催化的反应是专一的,叫反应专一性。例如脂肪水解酶可以催化有机酸的酯类水解,也可以水解脂肪,但不能催化酰胺水解。对于不同的底物,水解的速度不同,短

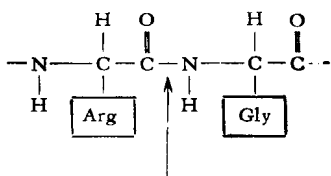


图 1-1 凝乳酶的专一性(箭头表示作用点)

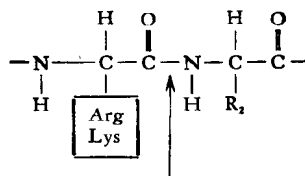
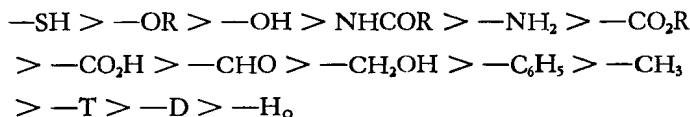


图 1-2 胰蛋白酶的专一性(箭头表示作用点)

链的脂肪水解的速度较快,长链脂肪水解的速度较慢。

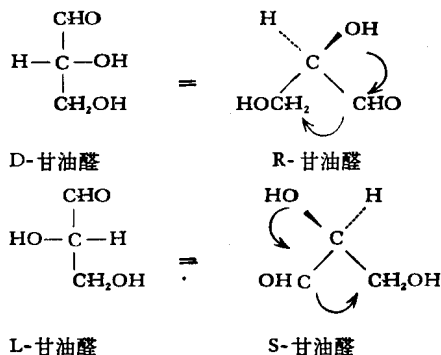
酶的专一性往往不是绝对的,还和对酶的认识的程度有关系。例如 D-甘油醛-3-磷酸脱氢酶,催化 D-甘油醛-3-磷酸脱氢。从脱氢的反应来说,它对于底物的要求是专一的,但是它还可以催化另一个完全不同的反应,即乙酸-对-硝基苯酯水解,虽然催化乙酸-对-硝基苯酯反应在生物体内是不会存在的,但是它确可以催化不同类型的反应。应该指出,绝对专一性和族的专一性都可以看成是反应专一性的特殊情况。

还有一类专一性叫立体专一性。酶只能作用于底物的立体异构物中的一种。现在普遍采用的描述不对称碳原子的规则是 RS 规则。其中 R 表示 Rectus,意思是右的;S 表示 Sinister,意思是左的。根据 RS 规则,不对称碳原子叫做手性中心(Chiral Centre),和手性中心连接的原子或基团可以按照它们的原子序数和质量排列成一个顺序,常见的原子或基团的排列顺序为:

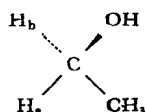


安排顺序的原则是首先看连接手性中心的原子序数的大小,原子序数相同则看质量的大小,如果二者都相同,则进一步看和这个原子相连接的其他原子的原子序数和质量的大小。其中 $-\text{CHO}$ 基团中有 $\text{C}=\text{O}$, 因此可以看成是这个碳原子结合了二个氧原子,而 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 则是碳原子上结合了一个氧原子,因此 $-\text{CHO}$ 安排在 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 的前面。

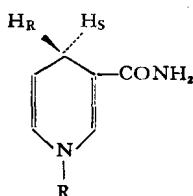
在确定一个化合物是 R 构型还是 S 构型时,我们可以先找出手性中心的碳原子,然后从排列次序最低的原子或基团的反面去看,如果其他的三个配基的安排是依顺时针方向依次减少的,那末就称为 R 构型;反之,其他三个配基的安排是依逆时针方向依次减少的,那末就称为 S 构型。例如



采用了 RS 规则,对具有多个不对称碳原子的化合物和具有复杂结构的化合物都可以很方便地指出它的构型。甚至于对那些对称性的碳原子,它的四个价键其中二个是结合了相同的原子或基团时,RS 规则也可以把它们区分开来。例如乙醇的结构为:



我们可以任意指定一个H原子,如 H_b 为排列次序最低的原子,这样 H_a 就处在R平面上,称之为R面上的氢;而 H_b 则为S面上的氢。假使我们指定 H_a 为排列次序最低的原子,按RS规则得到的结果也是一样的。这样的命名,在讨论脱氢酶对辅酶的专一性时很有用处。许多脱氢酶都需要辅酶 I (NAD^+) 或辅酶 II ($NADP^+$) 为辅酶,它们的脱氢或加氢作用都是发生在菸酰胺的4位碳原子上,不同的酶可以专一的作用于一种氢原子,也就是说,碳原子上的这二个氢原子,对于酶来说是能够区别的。还原辅酶的结构为:



醇脱氢酶可以专一地作用于R面上的氢;谷氨酸脱氢酶可以专一地作用于S面上的氢。因此我们可以把脱氢酶分为二类:一类对辅酶的专一性和醇脱氢酶相同,称为A型的脱氢酶;另一类对辅酶的专一性和谷氨酸脱氢酶相同,称为B型的脱氢酶(表1-1)。

酶通常只能作用于底物立体异构物中的一种。譬如,胰蛋白酶只作用L-型氨基酸的肽键或酯键,L-乳酸脱氢酶只催化L-型乳酸脱氢。酶的立体专一性表明酶与底物结合,至少存在三个结合点。

表 1-1 脱氢酶对辅酶的专一性

脱 氢 酶	辅 酶	对辅酶的专一性
醇脱氢酶	辅酶 I	A 型
乳酸脱氢酶	辅酶 I	A 型
苹果酸脱氢酶(可溶性)	辅酶 I	A 型
异柠檬酸脱氢酶	辅酶 II	A 型
谷氨酸脱氢酶	辅酶 II	B 型
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶	辅酶 II	B 型
3-甘油磷酸脱氢酶	辅酶 I	B 型
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	辅酶 I	P 型

三、酶的活性是受调节控制的

生命现象表现了它内部化学反应历程的有序性,这种有序性是受多方面的因素调节和控制的,一旦破坏了这种有序性,就会产生病态甚至死亡。酶的调节控制的方式很多,主要的几种介绍如下。

1. 调节酶的浓度

酶浓度的调节主要有两种方式:一种是诱导或抑制酶的合成;一种是调节酶的降解。

例如乳糖操纵子合成半乳糖苷酶、半乳糖苷通透(性)酶和转乙酰酶,它们可以受乳糖或诱导物异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)的诱导而促进。乳糖或者 IPTG 的存在可以和原来存在于该系统的阻遏物结合,从而使得阻遏物和 DNA 的结合能力降低大约 1,000 倍,解除了阻遏物对乳糖操纵子生物合成的抑制,上述三个酶由于生物合成的增加而提高了浓度。大肠杆菌有一种所谓葡萄糖效应,就是当有葡萄糖存在下,它不利用乳糖,表明了葡萄糖抑制上述三个酶的合成。现在知道,这种葡萄糖效应是因为葡萄糖影响了环化酶的活力,降低了环一磷酸腺苷的浓度,于是进一步影响到一个“代谢物基因活化蛋白”(CAP),使其不能有效地和乳糖操纵子的 P 部位结合,最后阻遏了上述三个酶的合成。

调节酶降解的例子有动物肝脏的精氨酸酶,在动物饥饿时,其含量增加。这种情况以及动物色氨酸氧化酶在色氨酸浓度提高时酶的水平也随之升高,都很可能是与抑制了这些酶的降解有关。

2. 生理调节或称为激素调节

这种调节也和生物合成有关系,但调节方式有所不同。例如乳腺组织合成乳糖是由

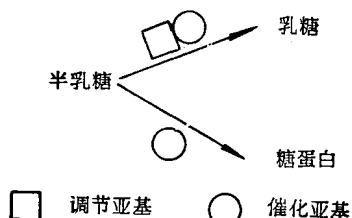


图 1-3 乳糖合成酶的调节

乳糖合成酶催化的。这个酶有两个亚基,催化亚基和修饰亚基。催化亚基本身不能合成乳糖,但它可以催化半乳糖以共价键的方式连接到蛋白上形成糖蛋白。修饰亚基和催化亚基结合后,改变了催化亚基的专一性,可以催化半乳糖和葡萄糖反应生成乳糖(见图 1-3)。修饰亚基的水平是由激素控制的。妊娠期间,修饰亚基在乳腺生成。分娩时,由于激素水平急剧的变化,修饰亚基大量

合成,它和催化亚基结合,大量合成乳糖。

3. 共价修饰调节

这种调节方式本身又是通过酶催化进行的。在一种酶分子上,共价地引入一个基团,从而改变它的活性。引入的基团又可以被第三种酶催化除去。常见的引入的基团是磷酸基。磷酸化酶和使它磷酸化的激酶以及糖原合成酶就是以这种方式调节它们的活力。一般的磷酸基是连在丝氨酸或苏氨酸的羟基上,它可以通过磷酸酯酶的作用脱除磷酸基。此外还有通过腺苷酸化和去腺苷酸化调节的,如大肠杆菌谷氨酰胺合成酶。

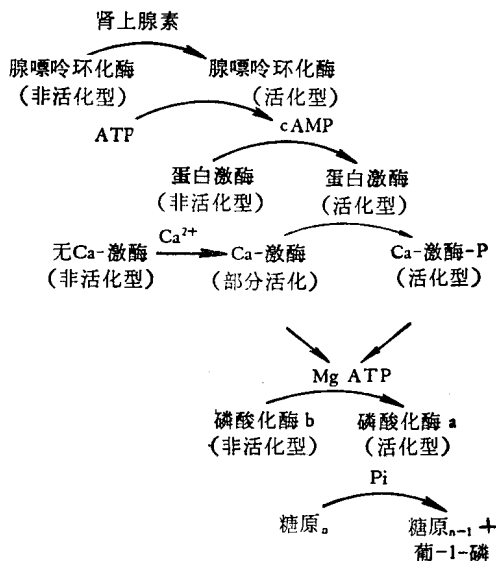


图 1-4 共价修饰改变酶活性。ATP——腺三磷, cAMP——环腺一磷, P_i ——无机磷, 激酶——磷酸化酶 b 激酶, 激酶-P——磷酸化的激酶

4. 酶原的活化

事实上也是一种共价修饰的调节方

式,但是在生物体内是不可逆地单方向地进行的。有一些酶在体内是以一种非活化的前体形式合成出来,叫做酶原。在适当的条件下,酶原被活化成酶。消化系统的一些水解酶,如胰蛋白酶就是如此。它在胰脏里合成的是胰蛋白酶原的形式,在小肠里被其他蛋白水解酶限制性地切去一段小肽,活化成酶。示意图见图 1-5。

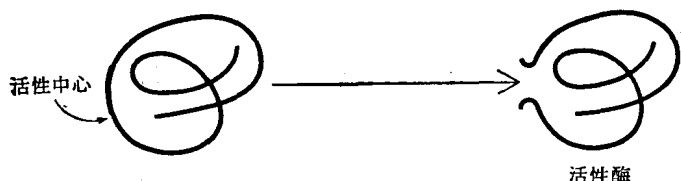
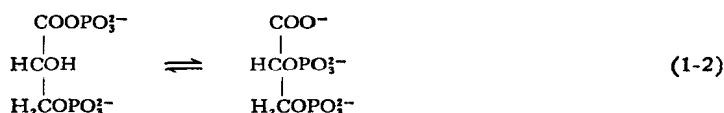


图 1-5 酶原的活化示意图

凝血系统中的一些酶也是以这种方式进行调节以控制它们的活性。

5. 抑制剂的调节

酶的活力受到大分子抑制剂或小分子物质抑制,从而影响它们的活力。大分子抑制剂如胰脏的胰蛋白酶抑制剂,它抑制胰脏的胰蛋白酶,不使它表现活力。小分子的抑制剂物质如一些反应的产物。2, 3-二磷酸甘油酸是其变位酶作用于底物 1, 3-二磷酸甘油酸的产物,也是这个酶的抑制剂。产物堆积后,酶活力受到抑制,从而对这一反应进行调节。



6. 反馈调节

许多小分子物质的合成是由一连串的反应组成的,催化此物质生成的第一步的酶,往往可以被它的终端产物抑制。这种抑制叫反馈抑制,见图 1-6。

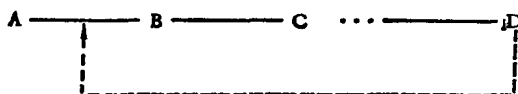


图 1-6 反馈抑制作用

异亮氨酸合成的第一步由苏氨酸脱氨酶催化,终端产物异亮氨酸可以通过别构作用抑制苏氨酸脱氨酶。异亮氨酸的浓度降低到一定水平时,抑制作用解除,合成反应又重新开始。利用这种调节控制方式,可以避免能量浪费。由于某些化合物是合成多种终端产物的原料,反馈抑制又和同功酶的作用配合在一起进行调节。例如天门冬氨酸是合成赖氨酸、甲硫氨酸和苏氨酸的原料,合成这些氨基酸的第一步是共同的,是由天门冬氨酸激酶催化生成天门冬氨酸磷酸。天门冬氨酸激酶至少有三种同功酶:一种受赖氨酸反馈抑制;一种受甲硫氨酸反馈抑制;一种受苏氨酸反馈抑制。另外赖氨酸、甲硫氨酸和苏氨酸的反馈抑制作用不止一个作用点,这样就可以达到天门冬氨酸这个共同的原料合理地分配的目的。

7. 金属离子和其它小分子化物的调节

有一些酶需要 K^+ 活化, NH_4^+ 往往可以代替 K^+ , 但 Na^+ 不能活化这些酶, 有时还有抑制作用。这一类的酶有 L-高丝氨酸脱氢酶、丙酮酸激酶、天门冬氨酸激酶和酵母丙酮酸羧化酶。相反有一些酶需要 Na^+ 活化, K^+ 起抑制作用。如肠中的蔗糖酶可以受 Na^+ 激活。二价金属离子如 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 往往也为一些酶表现活力所必需, 它们的调节作用还不很清楚可能和维持酶一定的三级结构、四级结构有关, 有的和底物的结合和催化反应有关。这些离子的浓度变化都会对活力有些影响。

丙酮酸羧化酶是催化从丙酮酸合成葡萄糖这一途径中限制速度一步的一个酶, 丙酮酸的浓度影响这个酶的活力, 其催化的反应如下:



丙酮酸、乳酸、辅酶 I 和还原辅酶 I 四种化合物又通过乳酸脱氢酶维持平衡。因此, 丙酮酸的浓度是由辅酶 I 和还原辅酶 I 的比值决定的, 而还原辅酶 I 和辅酶 I 的总量在体内差不多是恒定的。还原辅酶 I 的浓度相对地提高了, 丙酮酸的浓度就要降低。

与此相类似的 ATP、ADP、AMP 的总量在体内也是差不多恒定的, 其中 ATP、ADP、AMP 的相对量的变化也可以影响一些酶的活性。Atkinson 提出能荷 (Energy Charge) 作为一个物理量, 这个物理量数值的变化和某些酶的活力变化有一定关系。

$$\text{能荷} = \frac{[ATP] + \frac{1}{2} [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]} \quad (1-4)$$

式中 $[ATP]$ 、 $[ADP]$ 和 $[AMP]$ 表示这些腺苷酸的浓度。能荷的数值是 0 到 1。当腺苷酸全部以 AMP 的形式存在, 能荷数值等于 0, 当腺苷酸全部以 ATP 的形式存在, 能荷数值为 1。细胞内的能荷数值一般在 0.8—0.9 之间, 在这个范围内, 能荷数值的增加可以使和 ATP 再生有关的一类酶, 如果糖磷酸激酶、丙酮酸激酶、丙酮酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶和柠檬酸合成酶等反应速度降低; 而使另一类和利用 ATP 有关的酶, 如天门冬氨酸激酶, 磷酸核糖焦磷酸合成酶等的反应速度增加。

此外, 还有酶的区域化 (Compartmentation) 和多酶复合体等都和酶活力的调节控制有密切的关系。

四、酶的辅助因子

辅助因子是指酶蛋白以外的部分, 这部分是酶表现完全活力所必需的。酶在辅助因子不存在的时候, 或者不表现活力, 或者活力很低。辅助因子有时本身也具有催化能力, 但是辅助因子和酶在一起作用时, 催化能力可大大提高。文献上有辅助因子、辅酶、辅基和辅底物、载体底物等名称。这些名称由于历史的原因, 在应用上有一些紊乱, 但一般认为辅助因子可分为二类: 一类是必需离子; 一种是辅酶。辅酶是指这样的一些辅助因子, 它在酶反应过程中起着运载底物的电子或某类基团的作用, 在这个反应中, 它虽然发生了变化, 但是通过其他酶或其他的反应, 可重新恢复到原来的状态。按照它们和酶结合的紧密程度不同, 那些运载底物电子或基团的辅酶, 在反应后离开酶的活性部位, 成为另一个酶的底物, 通过其他反应, 再生成原来形式的称做载体底物, 或称辅底物, 或简称辅酶。如

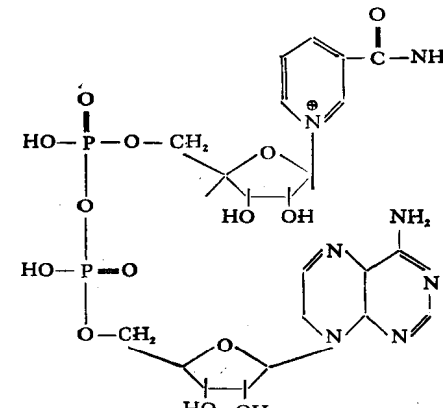
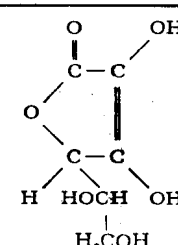
NAD^+ 和 NADP^+ 等。习惯上又把 NAD^+ 称为辅酶 I, NADP^+ 称为辅酶 II。还有一类辅酶,它们在酶的反应过程中,一直结合在酶的活性部位,成为活性部位的一部分,它们再生为原来的形式时,也不离开原来的酶的活性部位,这类的辅酶称为辅基。如黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 是琥珀酸脱氢酶的辅基,血红素是过氧化氢酶的辅基等。金属离子作为一些酶的辅助因子举例见表 1-2。

表 1-2 金属离子作为一些酶的辅助因子

金属离子	酶	金属离子	酶
Zn^{2+}	醇脱氢酶 羧肽酶 转醛缩酶 碳酸酐酶	Mo^{6+} Fe^{2+} Cu^{2+}	果糖-1, 6-二磷酸酯酶 磷酸基转移酶类 黄嘌呤氧化酶 含血红素辅基的酶 酪氨酸酶 细胞色素氧化酶
Mg^{2+}	磷酸酯水解酶类 磷酸基转移酶类		
Mn^{2+}	精氨酸酶		

常见的辅酶见表 1-3。

表 1-3 常见的辅酶

名称	结 构	转移基团		分类
		基 团	所处部位	
1. 菸酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+) 或称辅酶 I		$\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	菸酰胺环 C4 位。	载体
1. 菸酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADP^+), 或称辅酶 II	与 NAD^+ 结构相同, 但在腺嘌呤核苷的核糖 C2 位上加一磷酸基团	$\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	菸酰胺环 C4 位	载体
2. 抗坏血酸 (维生素 C)		$2\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	可能在 C2 和 C3	载体

名称	结 构	转移基团		分类
		基 团	所处部位	
3. 泛醌 (辅酶 Q)		$2\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	醌的碳原子	载体
4. 谷胱甘肽		$\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	-SH 基	载体
5. 血红素辅酶		$\text{H}^{\oplus}, \text{e}^{\ominus}$ $2\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	Fe(III)- 血红素 Fe(III)- 血红素	载体 辅基*
6a. 黄素 单核苷酸 (FMN)		$\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	5 位 N	辅基
6b. 黄素 腺嘌呤二核 苷酸(FAD)		$\text{H}^{\oplus}, 2\text{e}^{\ominus}$	黄素上的 5 位 N	辅基 载体
7. 核苷二 磷酸和核苷 三磷酸 (ADP, UDP, CDP, IDP, GDP); (ATP, UTP, CTP, ITP, GTP)				载体