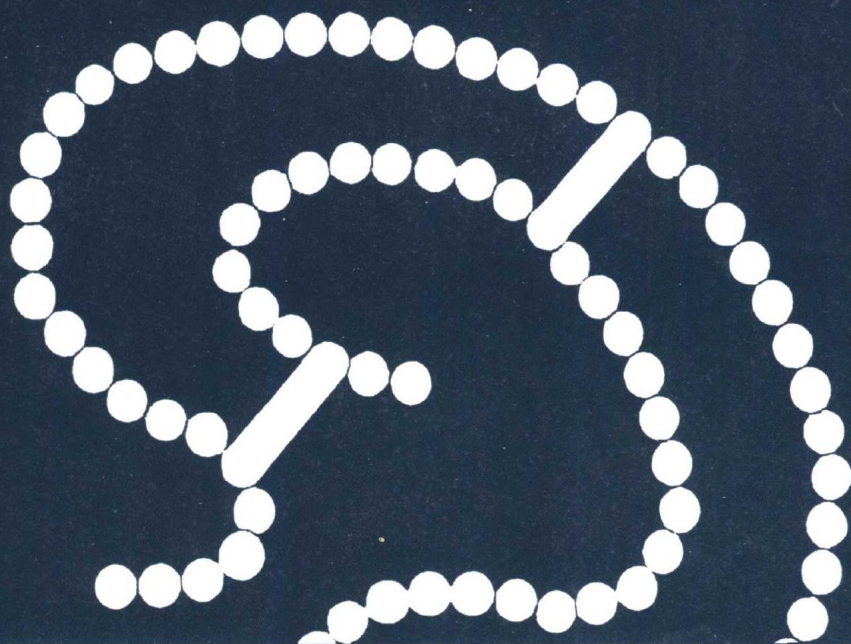


# 分子酶学导论

姜涌明 戴祝英 编著  
陈俊刚 胡健



FEN ZI MEI XUE DAO LUN



中国农业大学出版社

# 分子酶学导论

姜涌明 戴祝英 编著  
陈俊刚 胡 健

中国农业大学出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

分子酶学导论/姜涌明等编著. —北京:中国  
农业大学出版社,2000.1  
ISBN 7-81066-163-9

I. 分… II. 姜… III. 酶学 IV. Q55

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 52073 号

**责任编辑** 李成霞

**封面设计** 郑 川

**出版  
发行** 中国农业大学出版社

**经销** 新华书店

**印刷** 北京市社科印刷厂

**版次** 2000 年 1 月第 1 版

**印次** 2000 年 1 月第 1 次印刷

**开本** 16 印张 10.25 千字 243

**规格** 787×1092

**印数** 1~1200

**定价** 25.00 元

## 内 容 提 要

全书共分九章,即绪论、酶活力测定、酶促反应动力学、酶的抑制作用、酶活性部位、酶作用机理、同工酶、别构酶以及酶工程。本书较系统地介绍了酶学的基本理论及其应用,并反映了现代酶学的最新进展和成就。每章末附思考题。

本书可以作为农业、医学、师范等高等院校生命科学各专业研究生的主要教学参考书,亦可供生物技术专业本科生教学参考。

## 前 言

酶学是生物化学的一门分支学科,亦是分子生物学的主要领域。它与生物学、农学、医学、化学等学科有广泛的联系,并相互交叉渗透。近年来,随着生物技术与分子生物学的飞速发展,酶的理论研究取得了重大进展,酶的应用越来越广泛深入。许多准备和正在从事生物学、农学、医学研究的学生和教师都需要一本较为全面的酶学教材与参考书,本书编写的目的就是希望能基本上满足这一要求。

本书系统地介绍了酶的基本理论、基本知识、基本研究方法以及酶的应用。并在此基础上努力描绘现代酶学概貌,反映近年来的新进展。姜涌明和戴祝英两位教授曾给研究生讲授了十多年的酶学课。本书是以讲稿和酶学讲义为基础,经过多次修改补充而编成的。

由于我们的水平有限,书中难免存在不妥或错误之处,恳切希望广大读者、专家批评指正。

本书的出版得到扬州大学研究生教材基金的资助,得到研究生部、生物科学与技术学院、教材科的大力支持和帮助。在此作者对他们表示衷心的感谢!

姜涌明  
(扬州大学)  
1999年4月

# 目 录

|                    |      |
|--------------------|------|
| 第一章 绪论             | (1)  |
| 第一节 酶学发展简史         | (1)  |
| 第二节 酶学研究的新进展       | (1)  |
| 一、新酶的发现和鉴定         | (1)  |
| 二、酶一级结构与活力的关系      | (1)  |
| 三、酶分子高级结构的测定       | (2)  |
| 四、酶活性部位结构及催化机理的研究  | (2)  |
| 五、酶的调节作用           | (2)  |
| 第三节 对于酶和生物催化剂概念的认识 | (2)  |
| 一、ribozyme         | (3)  |
| 二、抗体酶              | (4)  |
| 三、探针酶              | (5)  |
| 四、人工酶              | (5)  |
| 五、模拟酶              | (5)  |
| 六、克隆酶和突变酶          | (5)  |
| 第四节 酶的催化特性         | (6)  |
| 第五节 酶的组成、分类及命名     | (7)  |
| 一、酶的组成             | (7)  |
| 二、酶的分类             | (7)  |
| 三、酶的系统分类及命名        | (7)  |
| 第六节 酶的重要性及应用       | (10) |
| 一、酶的重要性            | (10) |
| 二、酶的应用             | (10) |
| 思考题                | (11) |
| 第二章 酶活力测定          | (12) |
| 第一节 酶活力            | (12) |
| 一、酶活力定义            | (12) |
| 二、酶活力单位及比活力        | (12) |
| 三、酶反应的初速度          | (13) |
| 第二节 酶活力的测定方法       | (14) |
| 一、终点法              | (15) |
| 二、动力学法             | (15) |
| 三、酶偶联法             | (17) |
| 四、电化学法             | (18) |

|                            |      |
|----------------------------|------|
| 第三节 酶活力测定的过程及注意事项 .....    | (19) |
| 一、酶活力测定过程 .....            | (19) |
| 二、酶活力、比活力及酶浓度计算实例 .....    | (20) |
| 三、酶活力测定时的注意事项 .....        | (22) |
| 第四节 酶活力测定在农业及医疗上的应用 .....  | (23) |
| 一、在农业上的应用 .....            | (23) |
| 二、在医疗上的应用 .....            | (24) |
| 思考题 .....                  | (24) |
| <b>第三章 酶促反应动力学</b> .....   | (25) |
| 第一节 反应的级数 .....            | (25) |
| 一、一级反应 .....               | (25) |
| 二、二级反应 .....               | (26) |
| 三、零级反应 .....               | (27) |
| 第二节 前稳态酶促反应动力学 .....       | (28) |
| 一、前稳态和稳态 .....             | (28) |
| 二、前稳态动力学与稳态动力学的比较 .....    | (29) |
| 三、酶反应的分析 .....             | (30) |
| 四、前稳态酶促反应动力学 .....         | (31) |
| 五、反应速度常数( $k$ )的测定 .....   | (32) |
| 第三节 单底物酶促反应稳态动力学 .....     | (35) |
| 一、底物浓度对酶促反应初速度的影响 .....    | (35) |
| 二、酶浓度对酶促反应初速度的影响 .....     | (40) |
| 三、温度对酶促反应初速度的影响 .....      | (41) |
| 四、pH 值对酶促反应初速度的影响 .....    | (42) |
| 五、激活剂和抑制剂对酶促反应初速度的影响 ..... | (43) |
| 第四节 双底物酶促反应稳态动力学 .....     | (44) |
| 一、按底物数分类的酶促反应 .....        | (44) |
| 二、多底物酶促反应机制的命名 .....       | (44) |
| 三、双底物酶促反应机制的类型 .....       | (45) |
| 四、双底物酶促反应稳态动力学 .....       | (47) |
| 思考题 .....                  | (54) |
| <b>第四章 酶的抑制作用</b> .....    | (55) |
| 第一节 概述 .....               | (55) |
| 一、抑制作用的概念 .....            | (55) |
| 二、抑制程度的表示方式 .....          | (55) |
| 三、抑制作用的分类 .....            | (55) |
| 四、研究酶的抑制剂及其抑制作用的意义 .....   | (56) |
| 第二节 可逆抑制作用 .....           | (56) |
| 一、竞争性抑制作用 .....            | (56) |

|                                    |       |
|------------------------------------|-------|
| 二、反竞争性抑制作用·····                    | (60)  |
| 三、非竞争性抑制作用·····                    | (61)  |
| 四、混合型抑制·····                       | (63)  |
| 五、抑制常数(inhibitor constant)的求取····· | (65)  |
| 六、其它类型的可逆性抑制作用·····                | (66)  |
| 第三节  不可逆抑制作用·····                  | (67)  |
| 一、非专一性不可逆抑制作用·····                 | (67)  |
| 二、专一性不可逆抑制作用·····                  | (70)  |
| 思考题·····                           | (74)  |
| <b>第五章  酶活性部位</b> ·····            | (75)  |
| 第一节  活性部位·····                     | (75)  |
| 一、活性部位概念·····                      | (75)  |
| 二、必需基团·····                        | (75)  |
| 第二节  结合部位和催化部位·····                | (76)  |
| 一、结合部位·····                        | (76)  |
| 二、催化部位·····                        | (77)  |
| 三、结合部位与催化部位的关系·····                | (77)  |
| 第三节  酶活性部位的拓扑学(局部解剖学)·····         | (78)  |
| 第四节  酶活性部位的研究方法·····               | (78)  |
| 一、X-射线衍射法·····                     | (78)  |
| 二、化学修饰法·····                       | (79)  |
| 三、基因定位突变法·····                     | (82)  |
| 第五节  活性部位肽段的氨基酸序列及其研究方法·····       | (83)  |
| 思考题·····                           | (83)  |
| <b>第六章  酶的作用机理</b> ·····           | (85)  |
| 第一节  酶作用专一性机理·····                 | (85)  |
| 一、酶作用专一性·····                      | (85)  |
| 二、酶作用专一性机理·····                    | (85)  |
| 第二节  酶催化机理·····                    | (87)  |
| 一、过渡态中间物和活化自由能·····                | (87)  |
| 二、降低活化自由能的几个因素·····                | (89)  |
| 三、酶催化机理的实例·····                    | (94)  |
| 思考题·····                           | (106) |
| <b>第七章  同工酶</b> ·····              | (108) |
| 第一节  概述·····                       | (108) |
| 第二节  同工酶的种类·····                   | (108) |
| 一、原级同工酶·····                       | (108) |
| 二、次级同工酶·····                       | (109) |
| 第三节  同工酶的结构·····                   | (109) |



|                         |       |
|-------------------------|-------|
| 一、同工酶亚基的体外杂交 .....      | (109) |
| 二、同工酶亚基的体内杂交 .....      | (110) |
| 第四节 同工酶的活力及性质差异 .....   | (110) |
| 一、同工酶的活力大小 .....        | (110) |
| 二、多基因位点同工酶的性质差异 .....   | (111) |
| 第五节 同工酶的分离及鉴定 .....     | (111) |
| 一、常用分离、测定同工酶的几种方法 ..... | (111) |
| 二、同工酶类型的鉴别 .....        | (113) |
| 第六节 同工酶的命名 .....        | (114) |
| 一、组织命名法 .....           | (114) |
| 二、数字命名法 .....           | (114) |
| 三、A、B、C 命名法 .....       | (114) |
| 四、用分子式表示同工酶各组分 .....    | (114) |
| 第七节 同工酶的生物学意义 .....     | (115) |
| 一、同工酶与遗传的关系 .....       | (115) |
| 二、同工酶与个体发育的关系 .....     | (116) |
| 三、同工酶与代谢调节的关系 .....     | (116) |
| 第八节 同工酶的应用 .....        | (117) |
| 一、在临床诊断上的应用 .....       | (117) |
| 二、在遗传育种中的应用 .....       | (117) |
| 思考题 .....               | (118) |
| <b>第八章 别构酶</b> .....    | (119) |
| 第一节 别构效应和别构酶 .....      | (119) |
| 第二节 别构酶的结构特征 .....      | (119) |
| 一、异促别构酶的结构特征 .....      | (119) |
| 二、同促别构酶的结构特征 .....      | (120) |
| 第三节 别构酶动力学 .....        | (120) |
| 一、正协同别构酶的动力学特征 .....    | (120) |
| 二、负协同别构酶的动力学特征 .....    | (120) |
| 第四节 别构酶活性调节的机制 .....    | (122) |
| 一、MWC 模式 .....          | (122) |
| 二、KNF 模式 .....          | (123) |
| 第五节 别构酶的实例 .....        | (123) |
| 第六节 别构酶对代谢的调节作用 .....   | (128) |
| 一、异促协同效应 .....          | (128) |
| 二、同促协同效应 .....          | (128) |
| 思考题 .....               | (129) |
| <b>第九章 酶工程简介</b> .....  | (130) |
| 第一节 概述 .....            | (130) |

|                        |       |
|------------------------|-------|
| 第二节 酶制剂.....           | (130) |
| 一、酶制剂的生产 .....         | (130) |
| 二、酶制剂的应用 .....         | (132) |
| 第三节 固定化酶和固定化细胞.....    | (134) |
| 一、固定化酶的制备 .....        | (134) |
| 二、固定化细胞 .....          | (138) |
| 三、固定化酶和固定化细胞的应用 .....  | (139) |
| 第四节 酶电极.....           | (139) |
| 一、酶电极的结构、原理及制备.....    | (140) |
| 二、酶电极的性能及应用 .....      | (141) |
| 第五节 酶反应器.....          | (142) |
| 一、酶反应器的特点 .....        | (142) |
| 二、酶反应器的类型 .....        | (143) |
| 三、酶反应器的选择 .....        | (145) |
| 第六节 酶的化学修饰、改造与模拟 ..... | (145) |
| 一、酶的化学修饰 .....         | (145) |
| 二、利用基因工程技术改造酶 .....    | (148) |
| 三、酶分子的模拟 .....         | (149) |
| 思考题.....               | (150) |
| 参考文献.....              | (151) |

# 第一章 绪 论

## 第一节 酶学发展简史

对于酶的认识,从一开始就是与人类的生活和生产实践密切相关的。我国早在周朝时,民间就用风干麦芽粉来制饴。这实际上就是一种酶促反应。1833年,Payen和Persoz发现了第一个酶。他们用乙醇沉淀法从麦芽的水抽提物中得到了一种能使淀粉水解成可溶性糖的糖化酶。1835年,Berzelius明确地提出了酶是催化剂的概念;1963年,测出了第一个酶(牛胰RNA酶A)的一级结构;1965年,阐明了第一个酶(鸡卵清溶菌酶)的三维结构;1969年,人工化学合成了第一个酶(RNA酶)。

对于酶的化学本质问题,不同时期有过不同的认识。早先,Willstätter认为,酶不一定是蛋白质,而是一种胶质载体。1926年,Sumner首先从洋刀豆中获得了第一个结晶脲酶,并证实该酶的本质是蛋白质。此后,又有人提纯得到了胃蛋白酶、胰蛋白酶等的结晶,更肯定了酶的化学本质是蛋白质的概念。然而,到20世纪80年代中期,由于Zaug A. J和Cech T. R发现了四膜虫居间序列核糖核酸(L-19 IVS RNA)是一类具有催化活性的生物大分子,因此,酶的本质是蛋白质的概念,受到了一次巨大的冲击。最近,又有人报道,DNA也具有催化活性。因此,对酶的本质问题又将引起新的争论,引进更新的内容。

## 第二节 酶学研究的新进展

酶化学是生物化学领域中的一个主要分支。它的研究和发展,是与人类的生活和生产实践密切相关的。随着生产力的不断发展和相关学科新的研究成果的不断涌现,酶化学也出现了飞速的发展。

酶学研究有下列主要进展:

### 一、新酶的发现和鉴定

迄今为止,已发现的酶逾25 000种,大约有数千种酶被鉴定,并达到均一的纯度。数百种酶得到了结晶。数百种酶的一级结构被测出来了。每年都有新酶被发现。新酶的发现主要和下列研究有关:首先,与研究激素作用过程和作用机理有关;第二,与研究基因表达和蛋白质的生物合成有关;第三,同工酶的研究也促进了新酶的发现。

### 二、酶一级结构与活力的关系

过去主要用化学修饰法研究酶一级结构与活力的关系。近年来,采用下列新的方法和技术对此问题做了更深入的研究:

1. 过渡态类似物,此技术可应用到抗体酶的研究中。

2. 自杀性底物。
  3. 光亲合标记基团的底物类似物。
  4. 基因定位突变技术,可任意改变酶分子上任何一个氨基酸残基,为研究酶一级结构与活力的关系,提供了极为有效的手段。
  5. 计算机模拟法,可以模拟改变酶的一级结构,从而推断其功能的变化。
- 应用上述方法与技术可以使化学修饰局限在酶分子的活性部位上。

### 三、酶分子高级结构的测定

对酶分子高级结构的测定,目前 X-射线衍射法仍然是十分有效的方法。但是,近年来二维核磁共振技术的应用越来越广泛。它可以测定溶液中酶分子构象及其变化过程。运用上述技术使越来越多的酶分子构象得到了测定。

### 四、酶活性部位结构及催化机理的研究

这是酶学研究最核心的问题之一。近年来,运用下列技术研究酶活性部位结构及催化机理,取得了重要进展:

1. 应用 X-射线衍射法研究结晶态酶-底物(ES)复合物结构,可以确定酶活性部位的结构以及酶分子与底物分子结合的情况。
2. 应用二维核磁共振技术可以测定酶活性部位上解离基团的 pK 值,以及催化过程中质子转移的情况。
3. 应用隧道电镜技术可以观察酶催化过程中质子和电子转移的情况。
4. 酶作用的动力学研究,现已应用计算机编程序,对 ES 作用方式和可能存在的酶分子各种形式做出判断。
5. 应用同位素交换技术,可以解决一般方法不能解决的问题,如用同位素交换技术发现碳酸酐酶的底物是  $\text{HCO}_3^-$ ,而非  $\text{H}_2\text{CO}_3$ 。

### 五、酶的调节作用

酶反应速度快慢的调控,各反应环节的相互制约和调节,主要是别构酶的研究。这亦是现今为众多研究者所瞩目的研究内容之一。

## 第三节 对于酶和生物催化剂概念的认识

以往讨论酶的定义和本质时,我们会毫不犹豫地说:“酶是活细胞产生的,具有极高催化效率,高度专一性的生物催化剂;酶的本质是蛋白质。”但是,这一概念由于 ribozyme 的发现,而受到了巨大的冲击。

首先,酶是否必须由活细胞产生?随着数以百计的酶的一级结构被阐明和人工合成蛋白质的技术越来越完善,因此,人工合成结构不太复杂的酶,已不是太困难的事了。

其次,酶的本质是否一定是蛋白质?近年来的实验指出:RNA 分子也可以是高活性的酶。从 80 年代初至今,已发现几十种 RNA 催化剂,其中,研究得较为详细的就是 L19 RNA。

## 一、ribozyme

关于 ribozyme 的中文译名,有“核糖酶”、“核酶”、“类酶 RNA”、“酶性 RNA”、“酶 RNA”等。上述中译名都有不太完善之处,至今尚无定论,因此,我们仍以 ribozyme 来定名。

1. ribozyme 的发现 1977 年以来,发现许多真核细胞 mRNA 前体的拷贝区不是连续的,而是由一至数段居间序列(Intervening Sequence, IVS)分开的,这些 IVS 在 mRNA 成熟过程中被除去。后来又有研究发现,一些真核细胞的 rRNA 前体和 tRNA 前体中也有 IVS。在其后的研究中,发现某些低等真核生物的细胞核 rRNA 前体、线粒体 mRNA 前体和 rRNA 前体在成熟过程中存在着自我剪接(self-splicing)反应。这些 rRNA、mRNA 的前体能自我催化,除去自身的 IVS。反应过程不需要蛋白质参加。

1981 年,Cech T. R 发现,原生动物四膜虫的 26S rRNA 前体,在成熟过程中,其 IVS 通过剪接反应而被除去。此剪接反应不需要蛋白质酶的催化,亦不需要 ATP 或 GTP。

1983 年,Altman 证明,在较高浓度的  $Mg^{2+}$  存在下,单独的  $M_1$  RNA 可以催化 tRNA 前体的成熟,而单独的蛋白质酶则无催化活力。对于 RNA 酶 P 来说,其中的蛋白质是辅基,RNA 是真正的催化剂。

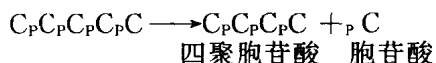
1986 年,Zaug A. J 和 Cech T. R 在 Science 上联名发表论文,提出四膜虫 rRNA 前体的居间序列核糖核酸(L-19 IVS RNA,简称 L19 RNA)是一种酶。L19 RNA 是一种少了前 19 个核苷酸的 IVS RNA,它具有多种催化功能,称之为 ribozyme。

2. 为什么称 L19 RNA 是一种酶? 首先,研究者发现,L19 RNA 在一定条件下,能高度专一地催化下列反应,具有相应的酶活性:

### (1) 核苷酸转移酶活性



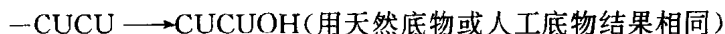
### (2) 磷酸二酯酶活性



### (3) 磷酸转移酶活性



### (4) RNA 限制性内切酶活性



第二,L19 RNA 对底物具有反应专一性。对多聚核糖核苷酸显示特异性反应,而对五聚脱氧胞苷酸(dpC<sub>5</sub>)或五聚脱氧腺苷酸(dpA<sub>5</sub>)无催化反应。

第三,L19 RNA 对竞争性抑制剂敏感,五聚脱氧胞苷酸 dpC<sub>5</sub> 是 L19 IVS RNA 的竞争性抑制剂, $K_i = 260 \mu\text{mol/L}$ 。

现在,可以把 ribozyme 分为三类:自我剪接型 ribozyme、自我剪切型 ribozyme 和催化分子间反应的 ribozyme。ribozyme 的底物也由 RNA 扩大到 DNA、糖类、氨基酸酯等。人们在实验室还可以设计并合成出一系列的 ribozyme。

3. Ribozyme 发现的重大意义 对 ribozyme 的发现,至少有两个方面的重大意义:在生命起源理论上,能较好地解决自然界中先有核酸,还是先有蛋白质的问题,对于生命起源和生

命进化的研究有着重要的启示;在实践上,由于 ribozyme 有内切酶的活性,切割位点高度特异,因此,可以用来切割特定的基因转录产物。只要设计时使 ribozyme 的配对区碱基与要被其降解的 mRNA 有合适的配对,就能进行特异切割,从而破坏了 mRNA,抑制了基因表达。这就为基因、病毒和肿瘤治疗提供了一个可行的途径。

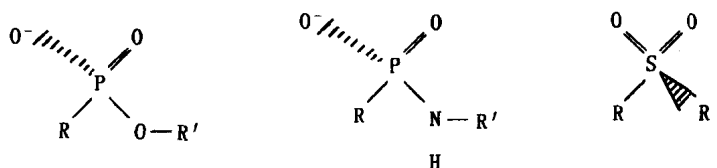
4. Ribozyme 的研究动向及应用前景 目前,国内外对 ribozyme 的研究,越来越引起科学工作者的重视,不久的将来,将会发现更多的有自我剪接或自我剪切功能的 RNA 分子,还可设计出更多的人造 ribozyme;人们正在寻找以非 RNA 为底物的 ribozyme;ribozyme 的固定化已初步成功,在工业和医学上的应用已为期不远;将 ribozyme 基因导入细胞或体内,以阻断基因表达和抗病毒感染,将会取得突破性进展。

## 二、抗 体 酶

1. 抗体酶的定义 80 年代后期出现的抗体酶是抗体的高度选择性(专一性)与酶的高效催化能力巧妙结合的产物。其本质是,具有催化功能的免疫球蛋白,在其高可变区赋予了酶的属性。所以,抗体酶是一类具有催化活力的抗体。

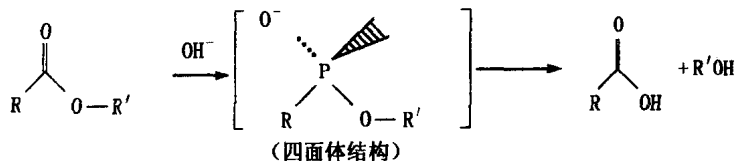
2. 抗体酶的作用及应用前景 抗体酶一般是用人工合成的半抗原(过渡态类似物)免疫动物,使该动物产生过渡态抗体。这种过渡态抗体具有酶催化功能和抗体专一性。最早报道的是英国的 Tramotano 等人。他们用一种碳酸盐化合物(含酯结构)过渡态的类似物作为半抗原而产生了单克隆抗体。此抗体能使酯水解加速 15 000 倍,而且还具有底物特异性、pH 值依赖性以及可被抑制剂抑制等特性。该抗体仍保留着与抗原专一结合的功能。

作为半抗原的中间类似物,一般具有四面体结构,如:



四面体过渡态类似物的半抗原结构

以羧酸酯及酰胺的水解反应为例:



酯与酰胺的水解反应机制

除了人工合成的抗体酶以外,近年来的研究结果表明,抗体酶的催化反应类型已远远超过了酯水解的范围,而且,在人体内已找到了具有催化活性的抗体(称为催化性自身抗体)。这种抗体不仅具有与抗原结合、沉积于组织器官的作用,而且还可能具有参与代谢调节,直接导致组织损伤等生理和病理的作用。

根据抗体酶的性质和作用,人们希望在药物设计中先合成“前药”,经过酶的作用,形成有

效药物,再进入有关组织发挥药效。这种药物针对性强,药效高。抗体酶还可以直接作为药物,进入机体组织,以达到治疗效果。更引人注目的是,将来有可能制造出对氨基酸序列分析特异的“抗体酶”。它们能像限制性内切酶切割 DNA 分子一样,限制性地切断多肽链,以加快蛋白质结构与功能的研究步伐。科学家们正在研制治疗艾滋病和各类癌症的抗体酶,如获成功,将成为人类的特大福音。

### 三、探 针 酶

人们希望有一种探针酶(工具酶),既保持高度的反应性,又能在 DNA 中任意选定的区域内进行切割。美国科学家研究指出,探针酶能在单链 DNA 中任意选定的区域内进行切割。

以前的研究发现,EDTA·Fe(Ⅱ)·X 为探针酶。其中,X 为探针,能与 DNA 结合。例如:EDTA·Fe(Ⅱ)·溴化乙锭(EB),由于 EB 与 DNA 能任意结合,所以,在 DNA 上的切点是随机的。

由于 distamycin(偏端霉素)能与 DNA 中富含 A·T 碱基对的区域相结合,因此,EDTA·Fe(Ⅱ)·偏端霉素在 DNA 中与 5~7 个连续 A·T 碱基对的区域结合,并在其附近切割 DNA。

探针酶和限制性内切酶相比较,其特点是:①切割位点不够精确,有的可能在左右相距 4 个核苷酸的范围内变动;②有较大的灵活性,可在任意选定的位置切割 DNA。

探针酶有较大的应用前景。由于探针酶能切割 DNA,可以期望它破坏致病基因(病毒 RNA 和 DNA,癌基因等),用于治疗疾病;同时,由于它可以结合在 DNA 中任意选定的位置上,可用于修饰基因。

### 四、人 工 酶

人工合成的具有催化活性的蛋白质或多肽,称为人工酶。据 1977 年 Dhar 等报道,人工合成的 Glu-phe-Ala-Glu-Glu-Ala-Ser-phe 八肽具有溶菌酶的活力。其活力为天然溶菌酶的 50%。1990 年,Steward 等使用酪氨酸乙酯作为胰凝乳蛋白酶的底物,用计算机模拟胰凝乳蛋白酶的活性部位,构建出一种由 73 个氨基酸残基组成的多肽,其活性部位由 His、Asp、Ser 组成。此多肽对烷基酯的水解活力为天然胰凝乳蛋白酶的 1%,并显示出底物专一性以及胰凝乳蛋白酶抑制剂的敏感性。

### 五、模 拟 酶

利用有机化学合成的方法合成一些比酶结构简单得多的具有催化功能的非蛋白质分子。这些物质分子可以模拟酶对底物的结合和催化过程,既可以达到酶催化的高效率,又可以克服酶的不稳定性,这样的物质分子被称为模拟酶。酶的模拟工作可以分为三个层次:①合成具有类似酶活力的简单络合物;②酶活性部位模拟;③整体模拟。目前,模拟酶的工作主要集中在第二层次上。利用环糊精已成功地模拟了胰凝乳蛋白酶、核糖核酸酶、转氨酶、碳酸酐酶等。其中,胰凝乳蛋白酶的模拟酶,其活性已与天然胰凝乳蛋白酶的活性相接近。

### 六、克隆酶和突变酶

用基因工程技术生产的酶,称为克隆酶。用于医药或工业上的青霉素 G 酰化酶、 $\alpha$ -淀粉

酶、尿激酶原、凝乳酶、组织纤溶酶原激活剂等都已用此法工业生产。用基因定位突变技术修饰天然酶基因,然后用基因工程技术生产该突变基因的酶,此酶被称为突变酶。例如:运用蛋白质工程技术将枯草杆菌蛋白酶的 Asp99 和 Glu156 替换成 Lys 之后,产生了活性很高的枯草杆菌突变蛋白酶。

综上所述,可以看出,ribozyme、抗体酶、探针酶、克隆酶、突变酶、人工酶以及模拟酶,它们除了在催化功能上与传统的酶极其相似之外,在来源和化学本质方面,不同于传统酶,且各有特点。

ribozyme 虽来源于生物体,但它们的化学本质是 RNA。抗体酶、克隆酶、突变酶都是通过生物体产生的蛋白质属性的酶,但是,它们的产生离不开人工的免疫过程、人为的基因克隆以及基因定位突变技术等。人工酶虽然具有催化活性的多肽或蛋白质,但是,它的产生完全依赖于体外的人工合成法。模拟酶是人工合成的既非蛋白质又非 RNA 的物质。

上述各种酶的出现对酶的传统概念提出了挑战。长期以来,人们一直将酶与生物催化剂视为等同的概念,认为:酶是生物催化剂;酶的化学本质是蛋白质。ribozyme 的出现使学术界遇到了困难。如果把生物催化剂作为“属”的概念,把酶和 ribozyme 作为“种”的概念,那么,酶和 ribozyme 都属于生物催化剂。随着科学的发展,如果今后再发现生物体中存在的非蛋白质非 RNA 的具有催化活性的其它分子,可以取用新名词,仍归于生物催化剂这一范畴,而不必更改已有的酶定义。我们可以把抗体酶、克隆酶、突变酶、蛋白质工程新酶、人工酶作为酶的“亚种”概念。因为它们的名称,在酶字前面都加有定语,其意义是明确的。它们都是具有催化活性的蛋白质。与传统酶的区别在于,它们的产生具有人为加工的成分。模拟酶是既非蛋白质又非 RNA 的物质,可以称为模拟生物催化剂。

## 第四节 酶的催化特性

迄今为止,人们所发现的酶,绝大多数是蛋白质。它具有蛋白质的各种理化特性,具有蛋白质的一、二、三、四级结构。酶是生物催化剂,除了具有化学催化剂的共同特性之外,还具有下列特殊的性质:

1. 酶是由生物细胞所产生的 酶对周围环境很敏感,遇高温、高压、强酸、强碱、重金属盐以及紫外线等因素,极易失去催化活性。因此,酶是在温和条件下进行催化反应的。化学催化剂一般是在剧烈的条件(如高温、高压)下催化反应的。

2. 酶具有很高的催化效率 酶的催化活性通常要比化学催化剂的催化活性高出  $10^6 \sim 10^{13}$  倍。例如: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ , 1 mol 过氧化氢酶在一定条件下可以催化  $5 \times 10^6$  mol 过氧化氢分解;而每摩尔铁离子(化学催化剂)只能催化  $6 \times 10^{-4}$  mol 过氧化氢分解。由此可见,酶的催化效率是很高的。

3. 酶具有高度的专一性 所谓高度专一性,是指酶对所催化的反应和底物有严格的选择性。酶往往只能催化一种或一类反应,作用于一种或一类底物;而化学催化剂对反应物没有这样严格的选择性。例如:氢离子可以催化蛋白质、脂肪、淀粉等物质的水解反应;而蛋白酶只能催化蛋白质水解,不能催化脂肪和淀粉水解;淀粉酶只能催化淀粉水解,不能催化蛋白质和脂肪水解。

不同的酶对底物的选择程度是不同的。有些酶对底物结构有绝对的要求,只能作用于某一



种底物,大多数酶对底物结构有相对要求,可以作用于一类底物。

酶的立体异构专一性是相当普遍的现象,几乎所有酶对于立体异构体都有高度的专一性。所谓立体异构专一性,就是指,酶只能作用于底物立体异构体中的一种。

4. 酶活性受到调节控制 在生物体内进行的各种化学反应,虽然种类繁多,但协调有序。这种协调是通过对酶活性的调控来实现的,酶活性是可以受到调控的,其调控的方式很多,如:反馈调节、共价修饰调节、抑制剂调节、激素调节、酶原活化等。

## 第五节 酶的组成、分类及命名

### 一、酶的组成

根据组成可以将酶分成简单蛋白质(单成分酶)和复合蛋白质(双成分酶)两类。有些酶属于简单蛋白质,如胰蛋白酶等;有些酶属于复合蛋白质,如脱氢酶等。

双成分酶分子中,其蛋白质部分称为酶蛋白,非蛋白质部分称为辅助因子。酶蛋白或辅助因子单独存在时,没有催化活性,结合在一起组成全酶之后,才表现明显的催化活性。

酶蛋白+辅助因子→全酶

辅助因子,有的是小分子有机化合物,如: $\text{NAD}^+$ 、 $\text{NADP}^+$ 、 $\text{FAD}$ 、 $\text{FMN}$ 等;有的是金属离子,如: $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 等。酶蛋白以自身侧链上的极性基团,通过共价键、配位键或离子键,与辅助因子相结合。其中,与酶蛋白结合比较牢固的,不能用透析法除去的小分子有机化合物,称为辅基;与酶蛋白结合得比较松弛,通过透析即可除去的小分子有机化合物,称为辅酶。辅基与辅酶,两者并无严格的界限,可以统称为辅酶。辅酶大多是维生素及其衍生物。辅酶在酶催化反应过程中,常常直接参加反应,起着传递电子、原子或某些基团的作用。

作为辅助因子的金属离子,有的直接参与活性部位而起催化作用;有的在酶与底物结合过程中起桥梁作用;有的则是稳定酶分子活性构象的必需成分。含有金属离子的酶,称为金属酶。

### 二、酶的分类

根据酶蛋白的分子特点可以将酶分为单体酶(monomeric enzyme)、寡聚酶(oligomeric enzyme)和多酶体系(multienzyme Systems)等三类。

1. 单体酶 只有一条多肽链,一般分子量在13~35 kD,没有四级结构,通常是催化水解反应的酶。如:溶菌酶、核糖核酸酶等。

2. 寡聚酶 由几个到几十个相同或不同的亚基组成。分子量从35 kD到几百万道尔顿不等。如:乳酸脱氢酶等。

3. 多酶体系 由几种酶彼此嵌合,形成一种复合体,分子量一般在几百万道尔顿以上。例如:丙酮酸脱氢酶复合体就是由丙酮酸脱氢酶、二氢硫辛酸乙酰转移酶和二氢硫辛酸脱氢酶组成的。

### 三、酶的系统分类及命名

1. 习惯命名法 这是多年来习惯沿用的命名方法。通常根据底物的名称和反应类型来命名,但不要求十分精确。例如:催化蛋白质水解反应的酶,叫蛋白水解酶;催化乳酸脱氢变成丙