

第3单元 酶和辅酶

（一）名词解释

1. 米氏常数 (Michaelis constant); 2. 寡聚酶 (oligomeric enzyme); 4. 变构酶 (allosteric enzyme); 5. 同工酶 (isozyme); 6. 活性中心 (active center); 7. 竞争性抑制作用 (competitive inhibition); 8. 非竞争抑制作用 (noncompetitive inhibition); 9. 反竞争性抑制作用 (uncompetitive inhibition) 10. 抗体酶 (abzyme); 11. 酶原的激活 (activation of zymogen); 12. 别构效应 (allosteric effect); 13. 正协同效应 (positive cooperative effect); 14. 共价修饰调节 (covalent modification regulation); 15. 酶活力 (enzyme activity); 16. 不可逆抑制作用 (irreversible inhibition); 17. 可逆抑制作用 (reversible inhibition)。

（二）填空题

1. 变构酶活性中心外还有_____，当以 v 对 $[S]$ 作图时，它表现出_____型曲线，而不是典型的米氏酶所具有的_____曲线。
2. 酶活性的国际单位 (I.U.) 定义为在最适条件下，将底物转化为产物的速度为_____的酶量。
3. 对于符合米氏方程的酶， v - $[S]$ 曲线的双倒数作图 (Lineweaver-Burk 作图法) 得到的直线，在横轴的截距为_____，纵轴上的截距为_____。
4. 若同一种酶有 n 个底物就有_____个 K_m 值，其中 K_m 值最_____的底物，一般为该酶的最适底物。
5. 蛋白质磷酸化时，需要_____酶，而蛋白质去磷酸化需要_____酶。
6. 当底物浓度等于 $0.25K_m$ 时，反应初速度与最大反应速度的比值是_____。
7. 酶催化反应的实质在于降低反应的_____，使底物分子在较低的能量状态下达到_____态，从而使反应速度_____。
8. _____抑制剂不改变酶促反应 V_{max} ，_____抑制剂不改变酶促反应 K_m 。
9. 含有腺苷酸的辅酶主要有_____、_____、_____和_____。
10. NAD^+ 和 $NADP^+$ 还原时，在_____增加一个吸收峰。
11. 维生素 A 缺乏可引起_____症；儿童缺乏维生素 D 引起_____；成人缺乏维生素 D 引起_____；维生素 C 缺乏引起_____；维生素 PP 缺乏引起_____；脚气病是由于缺乏_____引起的；口角炎是由于缺乏_____引起的；维生素 B_{12} 缺乏引起_____；叶酸缺乏引起_____。
12. 维生素 B_1 在体内的活性形式是_____，维生素 B_2 在体内的活性形式是和_____。维生素 PP 可形成_____和_____两种辅酶。维生素 B_6 是以_____和_____形式作为转氨酶的辅酶，以_____形式作为氨基酸脱羧酶的辅酶。叶酸是_____的辅酶，叶酸在体内的活性形式是_____。生物素在体内的作用是_____。泛酸在体内的活性形式有和_____。

（三）选择题（在备选答案中选出 1 个或多个正确答案）

1. 酶催化作用对能量的影响在于
A. 增加产物能量水平 B. 降低活化能 C. 降低反应物能量水平
D. 降低反应的自由能 E. 增加活化能
2. 下列哪些项是 K_m 值的意义？
A. K_m 值是酶的特征性物理常数，可用于鉴定不同的酶
B. K_m 值可以表示酶与底物之间的亲和力， K_m 值越小，亲和力越大
C. K_m 值可以预见系列反应中哪一步是限速反应
D. 用 K_m 值可以选择酶的最适底物
E. 比较 K_m 值可以估计不同酶促反应速度

3.酶原激活的实质是

- A. 激活剂与酶结合使酶激活
- B. 酶蛋白的变构效应
- C. 酶原分子一级结构发生改变从而形成或暴露出酶的活性中心
- D. 酶原分子的空间构象发生了变化而一级结构不变
- E. 以上都不对

4.同工酶的特点是

- A. 催化相同的反应，但分子结构和理化性质不同的一类酶
- B. 催化相同反应，分子组成相同，但辅酶不同的一类酶
- C. 催化同一底物起不同反应的酶的总称
- D. 多酶体系中酶组分的统称
- E. 催化作用，分子组成及理化性质相同，但组织分布不同的酶

5.米氏方程在推导过程中引入了哪项假设

- A. 酶浓度为底物浓度一半
- B. 由于 ES 的存在使底物初始浓度降低
- C. 由于酶浓度很大，所以[E]基本不变
- D. 忽略反应 $ES \rightarrow E + S$ 的存在
- E. 由于 $P \rightarrow 0$ ，所以不考虑反应 $E + P \rightarrow ES$ 的存在

6.乳酸脱氢酶（LDH）是一个由两种不同的亚基组成的四聚体。假定这些亚基随机结合成四聚体，这种酶有多少种同工酶？

- A. 两种
- B. 三种
- C. 四种
- D. 五种
- E. 六种

7.酶的比活力是指

A. 以某种酶的活力作为 1 来表示其他酶的相对活力

B. 每毫克蛋白的酶活力单位数

- C. 任何纯酶的活力与其粗酶的活力比
- D. 每毫升反应混合液的活力单位
- E. 一种酶与另一种酶的活力比

8.下列哪一项叙述是正确的

- A. 所有的辅酶都是维生素
- B. 所有的水溶性维生素都可作为辅酶或辅酶的前体
- C. 所有的辅酶都含有维生素
- D. 前列腺素是由脂溶性维生素衍生而来

（四）判断题

- 1.测定酶活力时，底物浓度不必大于酶浓度。
- 2.当 $[S] \gg K_m$ 时， v 趋向于 V_{max} ，此时只有通过增加[E]来增加 v 。
- 3.酶的最适温度与酶的作用时间有关，作用时间愈长，则最适温度愈高。
- 4.别构酶的速度-底物关系曲线均呈 S 形曲线。
- 5.酶的过渡态底物类似物与底物类似物相比较，是更有效的竞争性抑制剂。
- 6.能催化蛋白质磷酸化反应的酶，称为磷酸化酶。
- 7.在酶的催化反应中，组氨酸残基的咪唑基既可以起碱化作用，也可以起酸化作用。
- 8.维生素对人体有益，所以摄入的越多越好。
- 9.摄入的维生素 C 越多，在体内储存的维生素 C 就越多。

（五）分析和计算题

1.称取 25mg 蛋白酶配成 25mL 溶液，取 2mL 溶液测得含蛋白氮 0.2mg，另取 0.1mL 溶液

测酶活力，结果每小时可以水解酪蛋白产生 1500 μ g 酪氨酸，假定 1 个酶活力单位定义为每分钟产生 1 μ g 酪氨酸的酶量，请计算：（1）酶溶液的蛋白浓度及比活。（2）每克纯酶制剂的总蛋白含量及总活力。

2.试比较酶的竞争性抑制作用与非竞争性抑制作用的异同。

3.何谓酶的专一性？酶的专一性有哪几类？如何解释酶作用的专一性？研究酶的专一性

有何意义？

- 4.阐述酶活性部位的概念。可使用哪些主要方法研究酶的活性中心？
- 5.影响酶反应效率的因素有哪些？它们是如何起作用的？
- 6.哪些因素影响酶的活性？酶制剂宜如何保存？

参考答案

（一）名词解释

1.米氏常数 (K_m 值)：是米氏酶的一个重要参数。 K_m 值是酶反应速度 (v) 达到最大反应速度 (V_{max}) 一半时底物的浓度 (单位 mol 或 mmol)。米氏常数是酶的特征常数，只与酶的性质有关，不受底物浓度和酶浓度的影响。

2.寡聚酶：有两个或两个以上亚基组成的酶称为寡聚酶。寡聚酶中的亚基可以是相同的，也可以是不同的。亚基间以非共价键结合，容易用酸碱，高浓度的盐或其它的变性剂分离。寡聚酶的相对分子质量从 35 000 到几百万。

4.变构酶：或称别构酶，一般具有多个亚基，在结构上除具有活性中心外，还具有可结合调节物的别构中心，活性中心负责酶对底物的结合与催化，别构中心负责调节酶反应速度。

5.同工酶：是指有机体内能够催化同一种化学反应，但其酶蛋白本身的分子结构组成及理化性质却有所不同的一组酶。

6.活性中心：酶分子中直接与底物结合，并催化底物发生化学反应的部位，称为酶的活性中心。由若干个在一级结构上相距很远，但在空间结构上彼此靠近的氨基酸残基集中在一起形成具有一定空间结构的区域，该区域与底物相结合并将底物转化为产物，对于结合酶来说，辅酶或辅基往往是活性中心的组成成分。

7.竞争性抑制作用：通过增加底物浓度可逆转的一种酶抑制类型。竞争性抑制剂因具有与底物相似的结构，通常与正常的底物或配体竞争酶的结合部位。这种抑制使得 K_m 增大，而 V_{max} 不变。

8.非竞争抑制作用：抑制剂与酶活性中心以外的基团结合，形成酶-抑制剂或酶-底物-抑制剂复合物的一种酶促反应抑制作用。这种抑制使得 V_{max} 变小，但 K_m 不变。这种抑制不能通过增加底物浓度的方法解除。

9.反竞争性抑制作用：抑制剂与酶-底物复合物结合，而不与游离酶结合的一种酶促反应抑制作用。这种抑制作用使得 V_{max} 和 K_m 都变小，但 V_{max}/K_m 比值不变。

10.抗体酶：也叫催化性抗体，是抗体的高度选择性和酶的高效催化能力巧妙结合的产物，本质上是一类具有催化能力的免疫球蛋白，在其可变区赋予了酶的属性。

11.酶原的激活：有些酶在细胞内合成和初分泌时，并不表现有催化活性，这种无活性状态的酶的前身物称为酶原。在一定条件下，受某种因素的作用，酶原分子的部分肽键被水解，使分子结构发生改变，形成酶的活性中心，无活性的酶原转化成有活性的酶称为酶原的激活。

12.别构效应：又称为变构效应，当某些寡聚蛋白的别构中心与别构效应剂（变构效应剂）发生作用时，可以通过蛋白质构象的变化来改变酶的活性，这种改变可以是活性的增加或减少。别构效应剂（变构效用剂）可以是蛋白质本身的作用物也可以是作用物以外的物质（如底物、激活剂、抑制剂等）。

13.正协同效应：当底物与一个亚基上的活性中心结合后，引起酶分子构象的改变，使其它亚基的活性中心与底物的结合能力增强的作用，称为正协同效应。

14.共价修饰调节：指一类可在其它酶的作用下对其结构通过共价修饰（如磷酸化、腺苷酰化），使该酶在活性形式与非活性形式之间相互转变，这种调节称为共价修饰调节。

15.酶活力：也称酶活性，指酶催化一定化学反应的能力，可用在一定条件下它所催化的某一化学反应的速度表示。单位：浓度/单位时间。

16.不可逆抑制作用：某些抑制剂通常以共价键与酶蛋白中的必须基团结合，而使酶失活，抑制剂不能用透析、超滤等物理方法除去，由这样的不可逆抑制剂引起的抑制作用称不可逆抑制作用。

17.可逆抑制作用：可逆抑制作用的特点是抑制剂以非共价键与酶蛋白中的必须基团结合，可用透析等物理方法除去抑制剂而使酶重新恢复活性。

（二）填空题

1.变构中心，S，直角双； 2. $1\mu\text{mol}/\text{min}$ ； 3. $-1/K_m$ ， $1/V_{\max}$ ； 4. n，小； 5. 蛋白激；蛋白磷酸酯； 6. 1:5； 7. 活化能，活化，加快； 8. 竞争性，非竞争性； 9. FAD， NAD^+ ， NADP^+ ， B_{12} 辅酶； 10. 340nm； 11. 夜盲，佝偻病，软骨病，坏血病，糙皮病，维生素 B_1 ，维生素 B_2 ，恶性贫血，巨幼红细胞性贫血； 12. TPP，FMN，FAD， NAD^+ ， NADP^+ ，磷酸吡哆醛，磷酸吡哆胺，磷酸吡哆醛，一碳单位转移酶，四氢叶酸，羧化酶的辅酶，ACP，CoA；

（三）选择题

1. (B) 酶是生物催化剂，在反应前后其含量没有发生变化，酶之所以能使反应快速进行，就是它降低了反应的活化能。

2. (A,B,C,D) K_m 值是酶的特征性常数，只与酶的性质有关，与酶的浓度无关。酶的种类不同， K_m 值不同，同一种酶与不同底物作用时， K_m 值也不同， K_m 值愈小，酶与底物亲和力愈大。

3. (C) 酶原激活实质上是水解一定的肽键，使酶的活性中心形成或暴露的过程。

4. (A) 同工酶是指催化的化学反应相同但分子结构和理化性质有所不同的一组酶。这类酶存在于生物的同一种属或同一个体的不同组织、甚至同一组织或细胞中。

5. (E) 在反应初速率阶段，产物浓度很低，反应 $\text{E}+\text{P}\rightarrow\text{ES}$ 的速率极小，可以忽略不计；通常参与反应的底物浓度远高于酶浓度，因此被酶结合的底物量非常少，可以忽略不计。

6. (D) 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)，具有五种分子组成形式： $\text{LDH}_5 (\text{M}_4)$ 、 $\text{LDH}_4 (\text{M}_3\text{H})$ 、 $\text{LDH}_3 (\text{M}_2\text{H}_2)$ 、 $\text{LDH}_2 (\text{M}\text{H}_3)$ 、 $\text{LDH}_1 (\text{H}_4)$ 。

7. (B) 酶的比活力是指单位质量的酶蛋白所含的活力单位数。

8. (B) 有些辅酶不是来自维生素，脂溶性维生素也不是合成前列腺素的前体，所有的B族维生素和维生素C都是辅酶或是辅酶的前体。

（四）判断题

1. 错。底物应该过量才能更准确的测定酶的活力。

2. 对。当 $[\text{S}]\gg K_m$ 时， v 趋向于 $V_{\max}$ ，因为 $v=k_3[\text{E}]$ ，所以可以通过增加 $[\text{E}]$ 来增加 v 。

3. 错。酶最适温度与酶的作用时间有关，作用时间越长，则最适温度低。

4. 错。别构酶的速度-底物关系曲线不一定均呈S形曲线，负协同效应为平坦的双曲线形式。

5. 对。过渡态互补学说认为，酶与底物形成中间物的过程中，酶和底物的结构均会发生一定的变化，与酶结合的是底物的过渡态，因此，过渡态类似物更容易与酶的活性部位结合。

6. 错。能催化蛋白质磷酸化反应的酶称为蛋白激酶。

7. 对。

8. 错。维生素摄入不足能引起疾病，摄入过多的脂溶性维生素可以在体内储存而引起维生素中毒。

9. 错。维生素 C 是水溶性的，在体内不能储存。

(五) 分析和计算题

1. (1) 蛋白浓度 = $0.2 \times 6.25 \text{ mg} / 2 \text{ mL} = 0.625 \text{ mg/mL}$;

(2) 比活力 = $(1500 / 60 \times 1 \text{ mL} / 0.1 \text{ mL}) \div 0.625 \text{ mg/mL} = 400 \text{ U/mg}$;

(3) 总蛋白 = $0.625 \text{ mg/mL} \times 1000 \text{ mL} = 625 \text{ mg}$;

(4) 总活力 = $625 \text{ mg} \times 400 \text{ U/mg} = 2.5 \times 10^5 \text{ U}$ 。

2. 竞争性抑制是指抑制剂 I 和底物 S 对游离酶 E 的结合有竞争作用，互相排斥，已结合底物的 ES 复合体，不能再结合 I；同样已结合抑制剂的 EI 复合体，不能再结合 S。多数竞争性抑制在化学结构上与底物 S 相似，能与底物 S 竞争与酶分子活性中心的结合，因此，抑制作用大小取决于抑制剂与底物的浓度比，加大底物浓度，可使抑制作用减弱甚至消除。竞争性抑制作用的双倒数曲线与无抑制剂的曲线相交于纵坐标 $1/V_{\max}$ 处，但横坐标的截距，因竞争性抑制存在而变小，说明该抑制作用，并不影响酶促反应的最大速度 $V_{\max}$ ，而使 K_m 值变大。非竞争性抑制是指抑制剂 I 和底物 S 与酶 E 的结合互不影响，抑制剂 I 可以和酶 E 结合生成 EI，也可以和 ES 复合物结合生成 ESI。底物 S 和酶 E 结合成 ES 后，仍可与 I 结合生成 ESI，但一旦形成 ESI 复合物，再不能释放酶 E 和形成产物 P。其特点是：I 和 S 在结构上一般无相似之处，I 常与酶分子活性部位以外的化学基团结合，这种结合并不影响底物和酶的结合，增加底物浓度并不能减少 I 对酶的抑制程度。非竞争性抑制剂的双倒数曲线与无抑制剂的曲线相交于横坐标 $-1/K_m$ 处，但纵坐标的截距，因竞争性抑制存在变大，说明该抑制作用，不影响酶促反应的 K_m 值，而使 $V_{\max}$ 值变小。

3. 酶的专一性是指酶对催化的反应和反应物所具有的选择性。根据对底物的选择性，酶的专一性可以分为结构专一性和立体异构专一性。结构专一性指每对底物的特征结构——化学键或功能团等有选择，例如肽酶只能水解肽键，酯酶只作用酯键。立体异构专一性指酶对底物的构型有选择。例如只作用于 L 构型或只作用于顺式构型。根据过渡态互补假说，酶的专一性实质上是酶与底物分子在结构上互补。研究酶的专一性可以揭示酶的催化机理，获得有关酶的结构与功能信息，为酶的应用、酶分子设计或分子修饰提供指导。在生物化工中运用酶的专一性可以减少副反应，特别是利用酶的立体异构专一性进行不对称合成或不对称拆分。

4. 酶的活性中心往往是若干个在一级结构上相距很远，但在空间结构上彼此靠近的氨基酸残基集中在一起形成具有一定空间结构的区域，该区域与底物相结合并将底物转化为产物，对于结合酶来说，辅酶或辅基往往是活性中心的组成成分。酶的活力中心通常包括两部分：与底物结合的部位称为结合中心，决定酶的专一性；促进底物发生化学变化的部位称为催化中心，它决定酶所催化反应的性质以及催化的效率。有些酶的结合中心与催化中心是同一部分。对 ES 和 EI 的 X-射线晶体分析、NMR 分析、对特定基团的化学修饰、使用特异性的抑制剂和对酶作用的动力学研究等方法可用于研究酶的活性中心。

5. 影响酶催化效率的有关因素包括：(1) 底物和酶的邻近效应与定向效应，邻近效应是指酶与底物结合形成中间复合物后，使底物和底物（如双分子反应）之间，酶的催化基团与底物之间结合于同一分子而使有效浓度得以极大的升高，从而使反应速率大大增加的一种效应；定向效应是指反应物的反应基团之间和酶的催化基团与底物的反应基团之间的正确取位产生的效应。(2) 底物的形变和诱导契合（张力作用），当酶遇到其专一性底物时，酶中某些基团或离子可以使底物分子内敏感键中的某些基团的电子云密度增高或降低，产生“电子张力”，使敏感键的一端更加敏感，底物分子发生形变，底物比较接近它的过渡态，降低了反应活化能，使反应易于发生。(3) 酸碱催化，酸碱催化是通过瞬时的向反应物提供质子或从反应物接受质子以稳定过渡态，加速反应的一类催化机制。(4) 共价催化，在催化时，亲核催化剂或亲电子催化剂能分别放出电子或接受电子并作用于底物的缺电子中心或负电

中心，迅速形成不稳定的共价中间复合物，降低反应活化能，使反应加速。（5）微环境的作用：酶的活性部位形成的微环境通常是疏水的，由于介电常数较低，可以加强有关基团之间的静电相互作用，加快酶促反应的速度。在同一个酶促反应中，通常会有上述的 3 个左右的因素同时起作用，称作多元催化。

6.底物浓度、酶含量、温度、pH、产物等均影响酶的活性，此外称为激活剂或抑制剂的某些无机或有机化学物质也会强烈影响酶的活性。天然酶在其自然环境中（细胞或组织中）是受到细胞调控的。细胞对酶的活性的控制主要是通过代谢反馈、可逆的共价修饰、细胞区室化（不同的区室 pH、底物浓度等不同，可以避免产物的积累）和酶原激活等控制。制备酶制剂时，要尽量避免高温、极端 pH、抑制剂等的影响，酶制剂应尽可能制成固体，并在低温下保存。无法制成固体的酶，可在液态低温保存，但要注意某些液态酶在冰冻时会失去活性。