

第三章 酶与辅酶

一、知识要点

在生物体的活细胞中每分每秒都进行着成千上万的大量生物化学反应，而这些反应却能有条不紊地进行且速度非常快，使细胞能同时进行各种降解代谢及合成代谢，以满足生命活动的需要。生物细胞之所以能在常温常压下以极高的速度和很大的专一性进行化学反应，这是由于生物细胞中存在着生物催化剂——酶。酶是生物体活细胞产生的具有特殊催化能力的蛋白质。

酶作为一种生物催化剂不同于一般的催化剂，它具有条件温和、催化效率高、高度专一性和酶活可调控性等催化特点。酶可分为氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂解酶类、异构酶类和合成酶类六大类。酶的专一性可分为相对专一性、绝对专一性和立体异构专一性，其中相对专一性又分为基团专一性和键专一性，立体异构专一性又分为旋光异构专一性、几何异构专一性和潜手性专一性。

影响酶促反应速度的因素有底物浓度（S）、酶液浓度（E）、反应温度（T）、反应 pH 值、激活剂（A）和抑制剂（I）等。其中底物浓度与酶反应速度之间有一个重要的关系为米氏方程，米氏常数（ K_m ）是酶的特征性常数，它的物理意义是当酶反应速度达到最大反应速度一半时的底物浓度。竞争性抑制作用、非竞争性抑制作用和反竞争性抑制作用分别对 K_m 值与 V_{max} 的影响是各不相同的。

酶的活性中心有两个功能部位，即结合部位和催化部位。酶的催化机理包括过渡态学说、邻近和定向效应、锁钥学说、诱导契合学说、酸碱催化和共价催化等，每个学说都有其各自的理论依据，其中过渡态学说或中间产物学说为大家所公认，诱导契合学说也为对酶的研究做了大量贡献。

胰凝乳蛋白酶是胰脏中合成的一种蛋白水解酶，其活性中心由 Asp₁₀₂、His₅₇ 及 Ser₁₉₅ 构成一个电荷转接系统，即电荷中继网。其催化机理包括两个阶段，第一阶段为水解反应的酰化阶段，第二阶段为水解反应的脱酰阶段。

同工酶和变构酶是两种重要的酶。同工酶是指有机体内能催化相同的化学反应，但其酶蛋白本身的理化性质及生物学功能不完全相同的一组酶；变构酶是利用构象的改变来调节其催化活性

的酶，是一个关键酶，催化限速步骤。

酶技术是近年来发展起来的，现在的基因工程、遗传工程、细胞工程、酶工程、生化工程和生物工程等领域都有酶技术的参与。

维生素是生物生长和生命活动中所必需的微量有机物，在天然食物中含量极少，人体自身不能合成，必须从食物中摄取。这些维生素既不是构成各种组织的主要原料，也不是体内能量的来源，它们的生理功能主要是在物质代谢过程中起着非常重要的作用，因代谢过程离不开酶，而结合蛋白酶中的辅酶和辅基绝大多数都含有维生素成份。机体缺乏某种维生素时，代谢受阻，表现出维生素缺乏症，而植物体内能合成维生素。

二、习 题

（一）名词解释

1. 米氏常数 (K_m 值)
2. 底物专一性 (substrate specificity)
3. 辅基 (prosthetic group)
4. 单体酶 (monomeric enzyme)
5. 寡聚酶 (oligomeric enzyme)
6. 多酶体系 (multienzyme system)
7. 激活剂 (activator)
8. 抑制剂 (inhibitor/inhibition)
9. 变构酶 (allosteric enzyme)
10. 同工酶 (isozyme)
11. 诱导酶 (induced enzyme)
12. 酶原 (zymogen)
13. 酶的比活力 (enzymatic compare energy)
14. 活性中心 (active center)

（二）英文缩写符号

1. NAD^+ (nicotinamide adenine dinucleotide)
2. FAD (flavin adenine dinucleotide)
3. THFA (tetrahydrofolic acid)
4. $NADP^+$ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
5. FMN (flavin mononucleotide)

6. CoA (coenzyme A) 7. ACP (acyl carrier protein)
 8. BCCP (biotin carboxyl carrier protein) 9. PLP (pyridoxal phosphate)

(三) 填空题

1. 酶是_____产生的，具有催化活性的_____。
2. 酶具有_____、_____、_____和_____等催化特点。
3. 影响酶促反应速度的因素有_____、_____、_____、_____、_____和_____。
4. 胰凝乳蛋白酶的活性中心主要含有_____、_____、和_____基，三者构成一个氢键体系，使其中的_____上的_____成为强烈的亲核基团，此系统称为_____系统或_____。
5. 与酶催化的高效率有关的因素有_____、_____、_____、_____、_____等。
6. 丙二酸和戊二酸都是琥珀酸脱氢酶的抑制剂。
7. 变构酶的特点是：(1)_____，(2)_____，它不符合一般的_____，当以V对[S]作图时，它表现出_____型曲线，而非_____曲线。它是_____酶。
8. 转氨酶的辅因子为_____即维生素_____。其有三种形式，分别为_____、_____、_____，其中_____在氨基酸代谢中非常重要，是_____、_____和_____的辅酶。
9. 叶酸以其_____起辅酶的作用，它有_____和_____两种还原形式，后者的功能作为_____载体。
10. 一条多肽链Asn-His-Lys-Asp-Phe-Glu-Ile-Arg-Glu-Tyr-Gly-Arg经胰蛋白酶水解可得到_____个多肽。
11. 全酶由_____和_____组成，在催化反应时，二者所起的作用

- 用不同，其中_____决定酶的专一性和高效率，_____起传递电子、原子或化学基团的作用。
12. 辅助因子包括_____、_____和_____等。其中_____与酶蛋白结合紧密，需要_____除去，_____与酶蛋白结合疏松，可以用_____除去。
13. T. R. Cech 和 S. Altman 因各自发现了_____而共同获得1989年的诺贝尔奖（化学奖）。
14. 根据国际系统分类法，所有的酶按所催化的化学反应的性质可分为_____、_____、_____、_____、_____、_____和_____。
15. 根据国际酶学委员会的规定，每一种酶都有一个唯一的编号。醇脱氢酶的编号是 EC1.1.1.1，EC 代表_____，4 个数字分别代表_____、_____、_____和_____。
16. 根据酶的专一性程度不同，酶的专一性可以分为_____、_____、_____和_____。
17. 酶的活性中心包括_____和_____两个功能部位，其中_____直接与底物结合，决定酶的专一性，是发生化学变化的部位，决定催化反应的性质。
18. 酶活力是指_____，一般用_____表示。
19. 通常讨论酶促反应的反应速度时，指的是反应的_____速度，即_____时测得的反应速度。
20. 解释别构酶作用机理的假说有_____模型和_____模型两种。
21. 固定化酶的优点包括_____，_____，_____等。
22. pH 值影响酶活力的原因可能有以下几方面：影响_____，影响_____，影响_____。
23. 温度对酶活力影响有以下两方面：一方面_____，另一方面_____。
24. 脲酶只作用于尿素，而不作用于其他任何底物，因此它具有_____。

- 专一性；甘油激酶可以催化甘油磷酸化，仅生成甘油-1-磷酸一种底物，因此它具有_____专一性。
25. 酶促动力学的双倒数作图 (Lineweaver-Burk 作图法)，得到的直线在横轴的截距为_____，纵轴上的截距为_____。
26. 磺胺类药物可以抑制_____酶，从而抑制细菌生长繁殖。
27. 判断一个纯化酶的方法优劣的主要依据是酶的和_____。
28. 维生素是维持生物体正常生长所必需的一类_____有机物质。主要作用是作为_____的组分参与体内代谢。 29. 根据维生素的_____性质，可将维生素分为两类，即_____和_____。
30. 维生素 B₁ 由_____环与_____环通过_____相连，主要功能是以_____形式，作为_____和_____的辅酶，转移二碳单位。
31. 维生素 B₂ 的化学结构可以分为二部分，即_____和_____，其中_____原子上可以加氢，因此有氧化型和还原型之分。
32. 维生素 B₃ 由_____与_____通过_____相连而成，可以与_____，_____和_____共同组成辅酶_____，作为各种_____反应的辅酶，传递_____。
33. 维生素 B₅ 是_____衍生物，有_____，_____两种形式，其辅酶形式是_____与_____，作为_____酶的辅酶，起递_____作用。
34. 生物素可看作由_____，_____，_____三部分组成，是_____的辅酶，在_____的固定中起重要的作用。
35. 维生素 B₁₂ 是唯一含_____的维生素，由_____，_____和氨基丙酸三部分组成，有多种辅酶形式。其中_____是变位酶的辅酶，_____是转甲基酶的辅酶。
36. 维生素 C 是_____的辅酶，另外还具有_____作用等。

(四) 选择题

1. 酶的活性中心是指:

- A. 酶分子上含有必需基团的肽段
B. 酶分子与底物结合的部位
C. 酶分子与辅酶结合的部位
D. 酶分子发挥催化作用的关键性结构区
E. 酶分子有丝氨酸残基、二硫键存在的区域

2. 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

3. 竞争性抑制剂作用特点是:

- A. 与酶的底物竞争激活剂
B. 与酶的底物竞争酶的活性中心
C. 与酶的底物竞争酶的辅基
D. 与酶的底物竞争酶的必需基团;
E. 与酶的底物竞争酶的变构剂

4. 竞争性可逆抑制剂抑制程度与下列那种因素无关:

- A. 作用时间
B. 抑制剂浓度
C. 底物浓度

D. 酶与抑制剂的亲和力的大小
E. 酶与底物的亲和力的大小

5. 哪一种情况可用增加[S]的方法减轻抑制程度:

- A. 不可逆抑制作用
B. 竞争性可逆抑制作用
C. 非竞争性可逆抑制作用
D. 反竞争性可逆抑制作用
E. 无法确定

6. 酶的竞争性可逆抑制剂可以使:

- A. V_{max} 减小, K_m 减小
B. V_{max} 增加, K_m 增加
C. V_{max} 不变, K_m 增加
D. V_{max} 不变, K_m 减小
E. V_{max} 减小, K_m 增加

7. 下列常见抑制剂中, 除哪个外都是不可逆抑制剂:

- A. 有机磷化合物
B. 有机汞化合物
C. 有机砷化合物
D. 氰化物
E. 磺胺类药物

8. 酶的活化和去活化循环中，酶的磷酸化和去磷酸化位点通常在酶的哪一种氨基酸残基上：
- A. 天冬氨酸 B. 脯氨酸 C. 赖氨酸
D. 丝氨酸 E. 甘氨酸
9. 在生理条件下，下列哪种基团既可以作为H⁺的受体，也可以作为H⁺的供体：
- A. His 的咪唑基 B. Lys 的 ε氨基 C. Arg 的胍基
D. Cys 的巯基 E. Trp 的吲哚基
10. 对于下列哪种抑制作用，抑制程度为 50%时，[I]=K_i： A
. 不可逆抑制作用 B. 竞争性可逆抑制作用
. 非竞争性可逆抑制作用 C. 反竞争性可逆抑制作用
E. 无法确定 11
- . 下列辅酶中的哪个不是来自于维生素：
- A. CoA B. CoQ C. PLP D. FH₂
E. FMN
12. 下列叙述中哪一种是正确的： A
. 所有的辅酶都包含维生素组分 B.
所有的维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分 C. 所
有的 B 族维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分
D. 只有B 族维生素可以作为辅酶或辅酶的组分
13. 多食糖类需补充：
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
14. 多食肉类，需补充：
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素 B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
15. 以玉米为主食，容易导致下列哪种维生素的缺乏：
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素 B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
16. 下列化合物中除哪个外，常作为能量合剂使用：
- A. CoA B. ATP C. 胰岛素 D. 生物素
17. 下列化合物中哪个不含环状结构：
- A. 叶酸 B. 泛酸 C. 烟酸 D. 生物素
E. 核黄素

18. 下列化合物中哪个不含腺苷酸组分：
 A. CoA B. FMN C. FAD D. NAD⁺
 E. NADP⁺
19. 需要维生素 B₆ 作为辅酶的氨基酸反应有：
 A. 成盐、成酯和转氨 B. 成酰氯反应 C. 烷基化反应
 D. 成酯、转氨和脱羧 E. 转氨、脱羧和消旋

(五) 是非判断题

- () 1. 酶促反应的初速度与底物浓度无关。
- () 2. 当底物处于饱和水平时，酶促反应的速度与酶浓度成正比。
- () 3. 某些酶的K_m 由于代谢产物存在而发生改变，而这些代谢产物在结构上与底物无关。
- () 4. 某些调节酶的 V-[S]的 S 形曲线表明，酶与少量底物的结合增加了酶对后续底物分子的亲和力。
- () 5. 测定酶活力时，底物浓度不必大于酶浓度。
- () 6. 测定酶活力时，一般测定产物生成量比测定底物消耗量更为准确。
- () 7. 在非竞争性抑制剂存在下，加入足量的底物，酶促的反应能够达到正常 V_{max}。
- () 8. 碘乙酸因可与活性中心-SH 以共价键结合而抑制巯基酶，而使糖酵解途径受阻。
- () 9. 诱导酶是指当细胞加入特定诱导物后，诱导产生的酶，这种诱导物往往是该酶的产物。
- () 10. 酶可以促成化学反应向正反应方向转移。
- () 11. 对于可逆反应而言，酶既可以改变正反应速度，也可以改变逆反应速度。
- () 12. 酶只能改变化学反应的活化能而不能改变化学反应的平衡常数。
- () 13. 酶活力的测定实际上就是酶的定量测定。
- () 14. 从鼠脑分离的己糖激酶可以作用于葡萄糖 (K_m =6×10⁻⁶mol/L) 或果糖 (K_m =2×10⁻³mol/L)，则己糖激酶对果糖的亲和力更高。
- () 15. K_m 是酶的特征常数，只与酶的性质有关，与酶浓度无

关

- () 16. K_m 是酶的特征常数, 在任何条件下, K_m 是常数。
- () 17. K_m 是酶的特征常数, 只与酶的性质有关, 与酶的底物无关。
- () 18. 一种酶有几种底物就有几种 K_m 值。
- () 19. 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 。
- () 20. 酶的最适 pH 值是一个常数, 每一种酶只有一个确定的最适 pH 值。
- () 21. 酶的最适温度与酶的作用时间有关, 作用时间长, 则最适温度高, 作用时间短, 则最适温度低。
- () 22. 金属离子作为酶的激活剂, 有的可以相互取代, 有的可以相互拮抗。
- () 23. 增加不可逆抑制剂的浓度, 可以实现酶活性的完全抑制。
- () 24. 竞争性可逆抑制剂一定与酶的底物结合在酶的同部位。
- () 25. 由 1g 粗酶制剂经纯化后得到 10mg 电泳纯的酶制剂, 那么酶的比活较原来提高了 100 倍。
- () 26. 酶反应的最适 pH 值只取决于酶蛋白本身的结构。
- () 27. 所有 B 族维生素都是杂环化合物。
- () 28. B 族维生素都可以作为辅酶的组分参与代谢。
- () 29. 脂溶性维生素都不能作为辅酶参与代谢。
- () 30. 除了动物外, 其他生物包括植物、微生物的生长也需要维生素的现象。
- () 31. 植物的某些器官可以自行合成某些维生素, 并供给植物整体生长所需。
- () 32. 维生素 E 不容易被氧化, 因此可做抗氧化剂。

(六) 问答题及计算题

1. 怎样证明酶是蛋白质? (2 种以上方法)
2. 简述酶作为生物催化剂与一般化学催化剂的共性及其个性?
3. 简述 Cech 及 Altman 是如何发现具有催化活性的 RNA 的?
4. 试指出下列每种酶具有哪种类型的专一性?
 - (1) 脲酶 (只催化尿素 NH_2CONH_2 的水解, 但不能作用于

$\text{NH}_2\text{CONHCH}_3$);

(2) β -D-葡萄糖苷酶 (只作用于 β -D-葡萄糖形成的各种糖苷,但不能作用于其他的糖苷,例如果糖苷);

(3) 酯酶 (作用于 R_1COOR_2 的水解反应);

(4) L-氨基酸氧化酶 (只作用于L-氨基酸,而不能作用于D-氨基酸);

(5) 反丁烯二酸水合酶[只作用于反丁烯二酸(延胡索酸),而不能作用于顺丁烯二酸(马来酸)];

(6) 甘油激酶 (催化甘油磷酸化,生成甘油-1-磷酸)。

5. 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 μg 酪氨酸,假定 1 个酶活力单位定义为每分钟产生 1 μg 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。

6. V_{max} 与米氏常数可以通过作图法求得,试比较 $V\sim[S]$ 图,双倒数图, $V\sim V/[S]$ 作图, $[S]/V\sim[S]$ 作图及直接线性作图法求 V_{max} 和 K_{m} 的优缺点?

7. (1) 为什么某些肠道寄生虫如蛔虫在体内不会被消化道内的胃蛋白酶、胰蛋白酶消化?

(2) 为什么蚕豆必须煮熟后食用,否则容易引起不适?

8. 使用下表数据,作图判断抑制剂类型(竞争性还是非竞争性可逆抑制剂)?

	[S] mmol/L	2.0	3.0
4.0	10.0	15.0	
每小时形成产物的量 (μmol)		13.9	17.9
21.3	31.3	37.0	
(没有抑制剂)			
每小时形成产物的量 (μmol)		8.8	12.1
14.9	25.7	31.3	