

# 第二章 酶促反应动力学

---

**第一节：酶促反应动力学作用机制假说（了解）**

**第二节：米氏方程的推导（掌握）**

**第三节：影响酶促反应的因素（重点掌握）**

**第四节：酶活力的测定及酶活力单位（了解）**

# 第一节：酶促反应动力学作用机制假说

---

## □ 酶促反应动力学

研究各种因素对酶促反应速度的影响。

## □ 影响因素包括有

酶浓度、底物浓度、pH、温度、  
抑制剂、激活剂等。

## □ 酶促反应动力学研究的意义

---

- 找到最有利的反应条件从而提高酶催化反应的效率
- 帮助了解酶在代谢过程中的作用规律。
- 对于酶促反应动力学的研究既有理论意义又具有相当的实践价值。

## □ 酶作用机制的三种假设

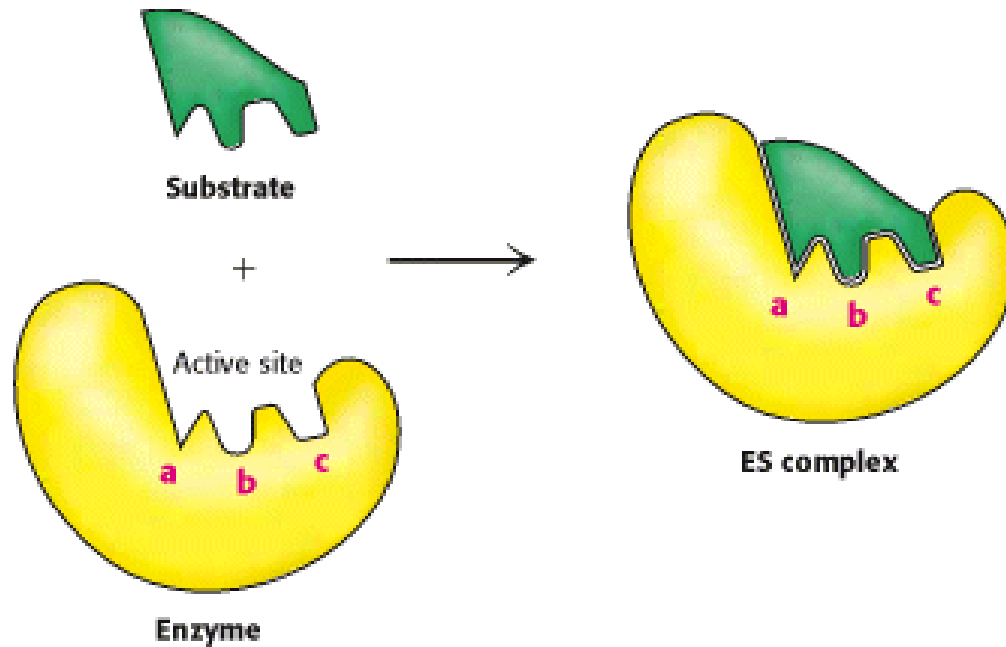
- 锁-钥假说
- 诱导契合假说
- 中间络合物假说

# 1、锁-钥学说

---

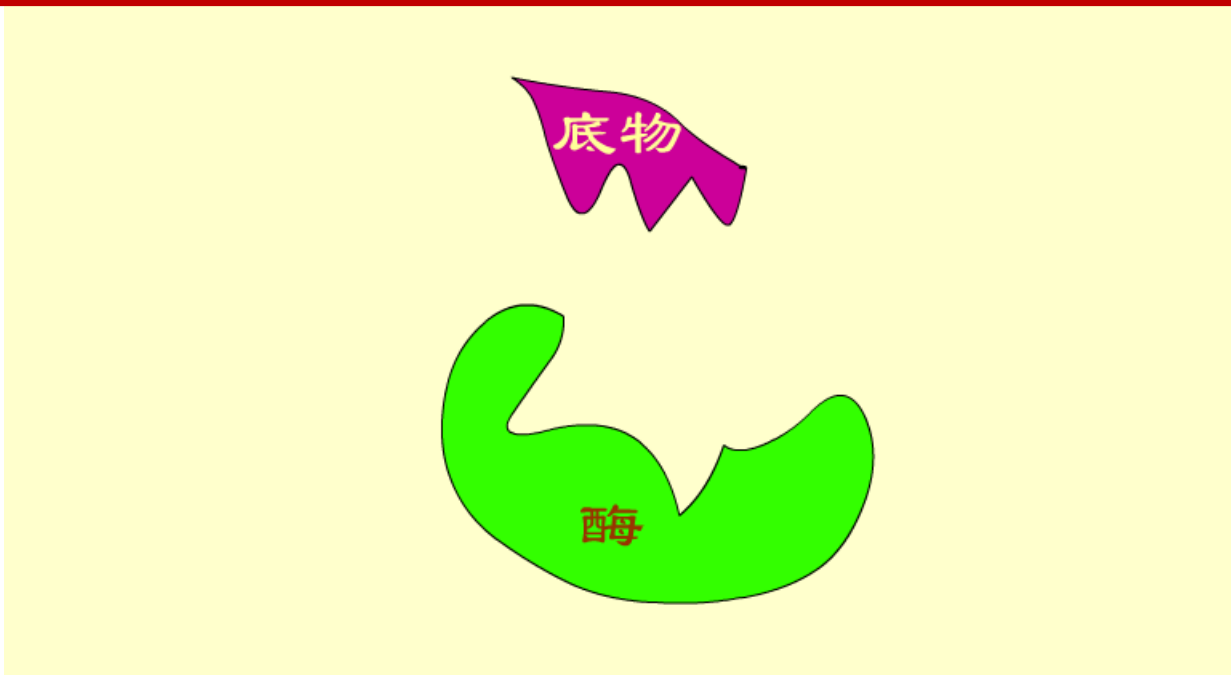
- **关于酶作用专一性的假说之一。**
- **早在1894年费歇尔 (E. Fischer) 提出了该假说。**
- **这一学说认为酶与底物结合方式可用锁钥结合 (或多点结合) 假设作解释。**
- **酶对底物就显专一性, 同时也可以解释为什么酶变性后就不再具有催化作用。**

- 根据这种假设，底物至少有3个功能团与酶的3个功能团相结合。底物与酶的反应基团皆需有特定的空间构象，如果有关基团的位置改变，则不可能有结合反应发生。



整个酶的天然构象是具有刚性结构的，酶表面具有特定的结构。

## 2、酶-底物复合物的形成与诱导契合假说



- 当底物与酶结合时,酶分子上的某些基团常常发生明显的变化。
- 另外,酶常常能够催化同一个生化反应中正逆两个方向的反应。
- 锁钥学说拥有较大的局限性,与大量实验证明不相吻合。
- 1959年由D. E. Koshland提出了诱导契合学说 (induced-fit theory), 最终取代了锁钥学说的地位。

- 酶的活性中心是柔软的而非刚性的。
- 当底物与酶相遇时，可诱导酶活性中心的构象发生相应的变化，从而使酶和底物契合而结合成中间络合物，并引起底物发生反应。
- 反应结束当产物从酶上脱落下来后，酶的活性中心又恢复了原来的构象。

### 酶底物复合物



\*诱导契合假说(induced-fit hypothesis)

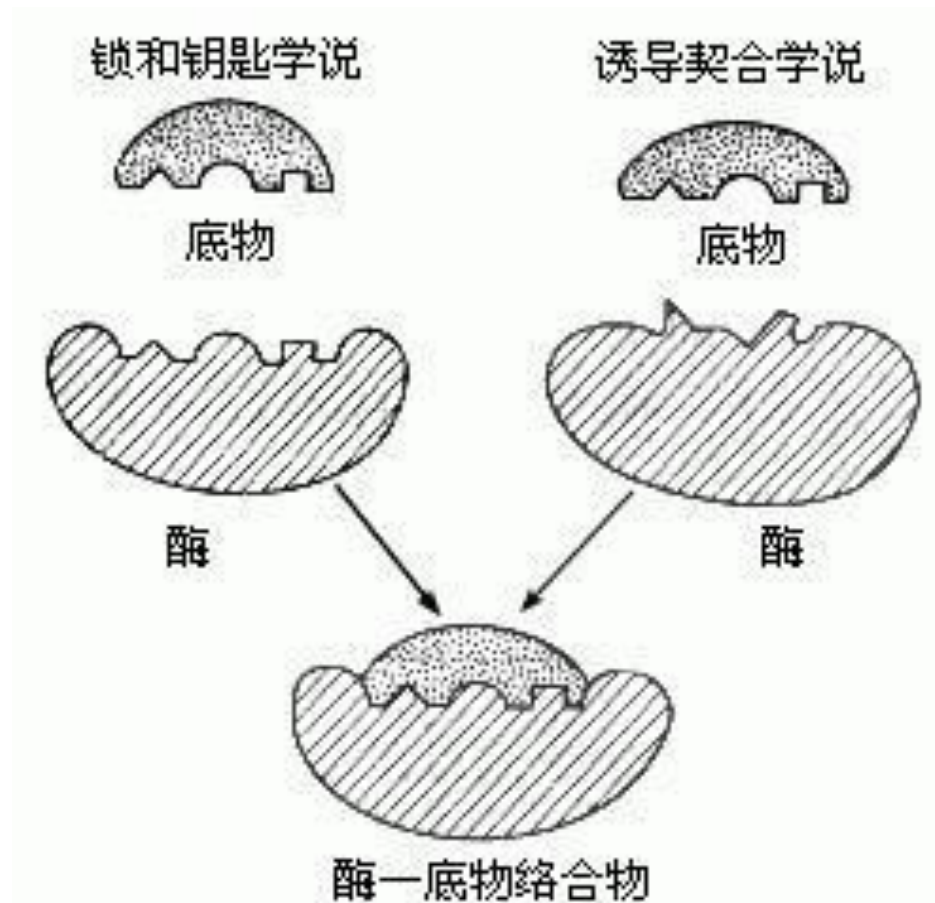
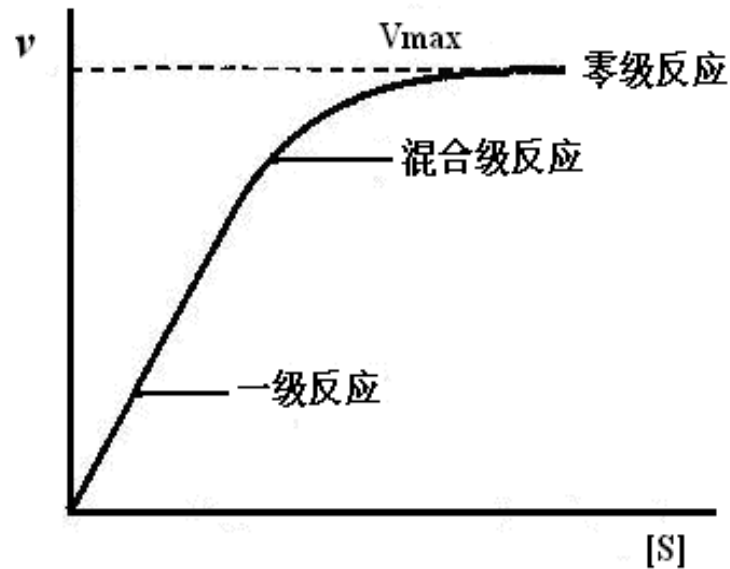


图 3-1 酶和底物的结合机理示意图

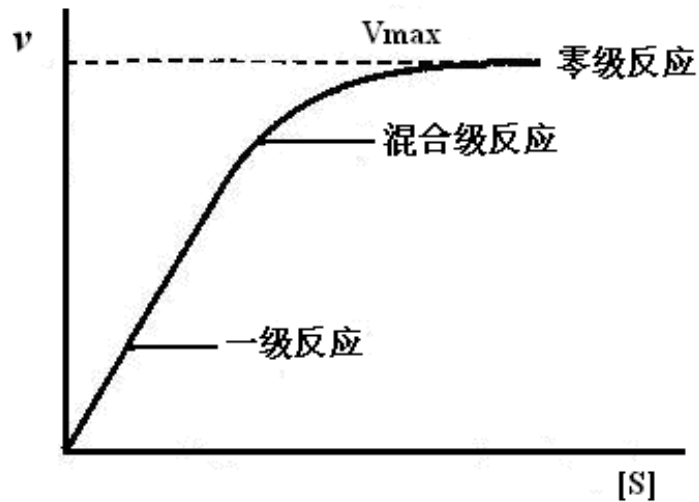
## 诱导契合假说(induced-fit hypothesis)

### 3、中间络合物学说

- 中间络合物学说也称**酶底物中间络合物学说**，最早是由Henri和Wurtz两位科学家提出的。
- 在1903年，Henri在用蔗糖酶水解蔗糖实验研究化学反应中**底物浓度与反应速度的关系**时发现的。

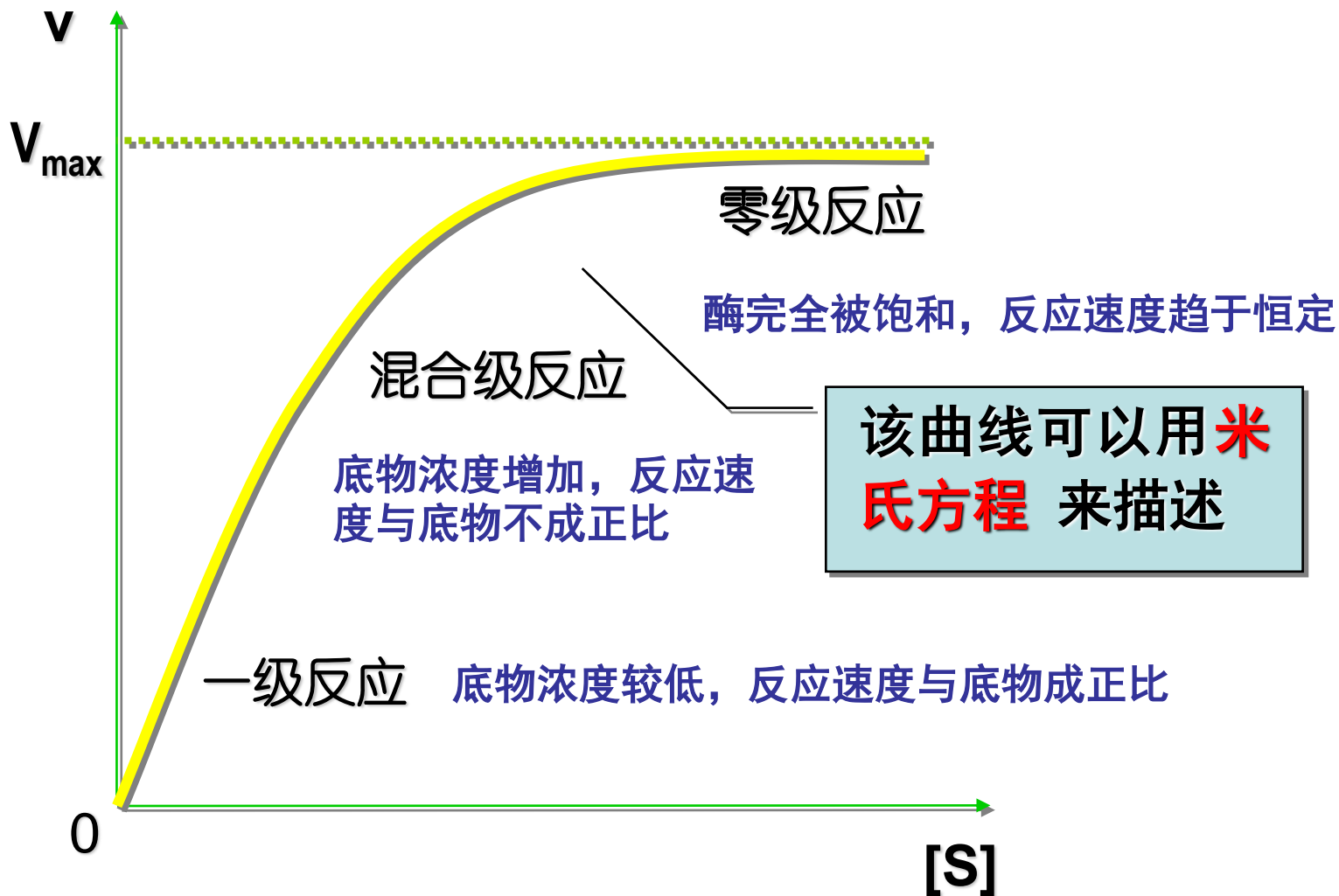


底物浓度对酶促反应速度的影响



- 在酶浓度恒定这一前提条件下，**当底物浓度很小时**酶还未被底物所饱和，这时反应速度取决于底物浓度并与之成正比。
- 随着**底物浓度不断增大**，中间复合物ES生成也不断增多，故反应速度也随之增高但此时二者不再成正比关系。
- 当**底物浓度达到相当高的程度时**，溶液中的酶已经全部被底物所饱和，此时溶液中再也没有多余的酶，虽增加底物浓度也不会有更多的中间复合物ES生成，因此酶促反应速度变得与底物浓度无关，而且**反应达到最大反应速度 ( $V_{max}$ )**。

对于简单的酶反应，当酶浓度和其他条件恒定时：



### 3、中间络合物学说

---

- 酶的高效催化效率是由于酶首先与底物结合，生成不稳定的中间产物（又称中心复合物central complex），然后分解为反应产物而释放出酶。

# Michaelis & Menten



米氏方程 (Michaelis-Menten equation)

# 第二章 酶促反应

---

第一节：酶促反应动力学

**第二节：米氏方程的推导（掌握）**

第三节：影响酶促反应的因素

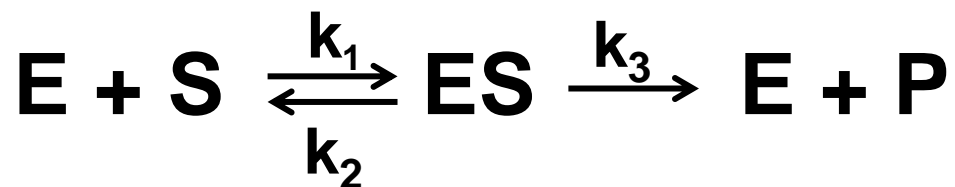
第四节：酶活力的测定及酶活力单位

# 研究前提

- I. 单底物、单产物反应
- II. 酶促反应速度用单位时间内底物的消耗量和产物的生成量来表示

米—曼氏方程式推导基于几个假设：

1. [S] 超过 [E]，[S] 的变化可忽略不计。
2. 反应刚刚开始，产物的生成量极少，逆反应可不予考虑。
3. 稳态假设
4. 酶在反应中不被消耗，只是或以游离形式E存在或以结合形式ES存在，因此游离酶浓度[E]和中间复合体浓度[ES]只和等于初始酶浓度或总酶浓度。



※Michaelis和Menten提出反应速度与底物浓度关系的数学方程式，即**米—曼氏方程式**，简称米氏方程式(Michaelis equation)。

$$V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

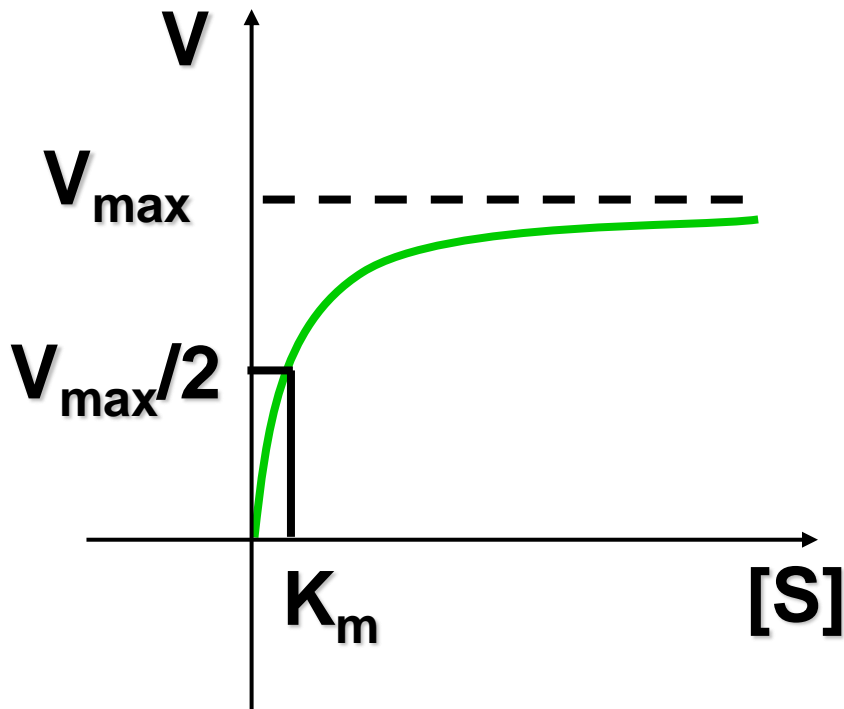
用来表示底物浓度与酶反应速度之间的量化关系

反应速度逐渐趋近的恒定值称为最大反应速度 $V_{\max}$ 。对于给定酶量的可以定义为处于饱和底物浓度的起始反应速度。

$K_m$ 称为米氏常数

# $K_m$ 米氏常数的含义

1.  $K_m$ 值等于酶促反应速度为最大反应速度一半时的底物浓度，单位是mol/L。



当 $v=V_{\max}/2$ 时

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

⇒  $K_m = [S]$

2.  $K_m$ 可近似表示酶对底物的亲和力；

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

$K_m$ 值近似等于ES的解离常数

当 $K_2 \gg K_3$ 时,  $K_m \approx K_s$



3.  $K_m$ 是酶的特征性常数之一：经常表示酶与底物的亲和力。 $K_m$ 值越大，亲和力越小。

# 双倒数作图法(double reciprocal plot), 又称为 林-贝氏(Lineweaver- Burk)作图法

$$V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

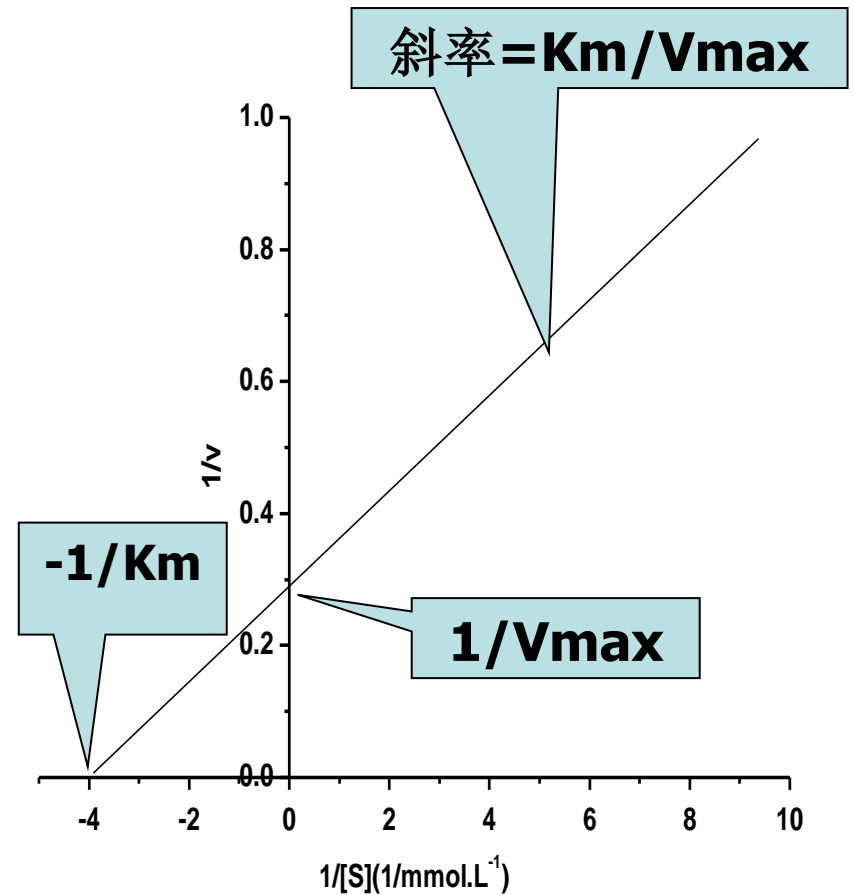
↓ 两边同取倒数

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (\text{林-贝氏方程})$$

# Lineweaver-Burk的作图法 — 双倒数作图法。

取米氏方程式的倒数形式：

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$



# K<sub>m</sub>的意义和作用

1. K<sub>m</sub>值等于酶促反应的初速度为V<sub>max</sub>的一半时所需的底物浓度。
2. K<sub>m</sub>值近似等于ES的解离常数，1/ K<sub>m</sub>近似地表示酶对底物亲和力的大小。
3. K<sub>m</sub>是酶的特征性常数，在一定程度上代表酶的催化效率。

4. 当温度和离子强度恒定时， $K_m$ 只和酶及底物的性质有关，而与酶的浓度无关。
5. 一种酶能催化几种底物时就有不同的 $K_m$ ，其中 $K_m$ 最小的底物一般认为是该酶的天然底物或最适底物。

酶	底物	$K_m$ (mmol/L)
胰凝乳蛋白酶	苯甲酰酪胺酰胺	2.5
	甲酰酪胺酰胺	12.0
	乙酰酪胺酰胺	32.0

6. 当 $K_m$ 已知时，可求得任何底物浓度下酶活性部位被底物分子饱和的分数（FES）。

7. **分辨同工酶**：测定几个同工酶对同一底物的 $K_m$ ，可估计这组同工酶是原级同工酶还是次生性同工酶，前者的 $K_m$ 常有差异，后者的则比较接近或相同。
8. **探讨代谢规律**：肌肉中的A型醛缩酶，对果糖-1,6-二磷酸的 $K_m$ 为 $3\mu\text{mol/L}$ ，对3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮的 $K_m$ 分别为 $1\text{mmol/L}$ 和 $2\text{mmol/L}$ ，可知其在体内主要催化糖酵解而难于参与糖异生。

9. 有助于寻找代谢的限速步骤：如酶1, 2, 3分别催化A → B → C → D 三步连续反应，三个酶的 $K_m$ 分别为10 mmol/L, 1 mmol/L, 0.1 mmol/L，而细胞内A, B, C的浓度相同，可推知酶1催化的A → B为限速反应。

10. 指导生化实验：利用工具酶来测定某一底物的浓度时，可根据米式公式的积分式来计算工具酶的用量。工具酶的  $K_m$ 越大，所需加入的酶量也越大。

10. 鉴别抑制类型

# 第二章 酶促反应

---

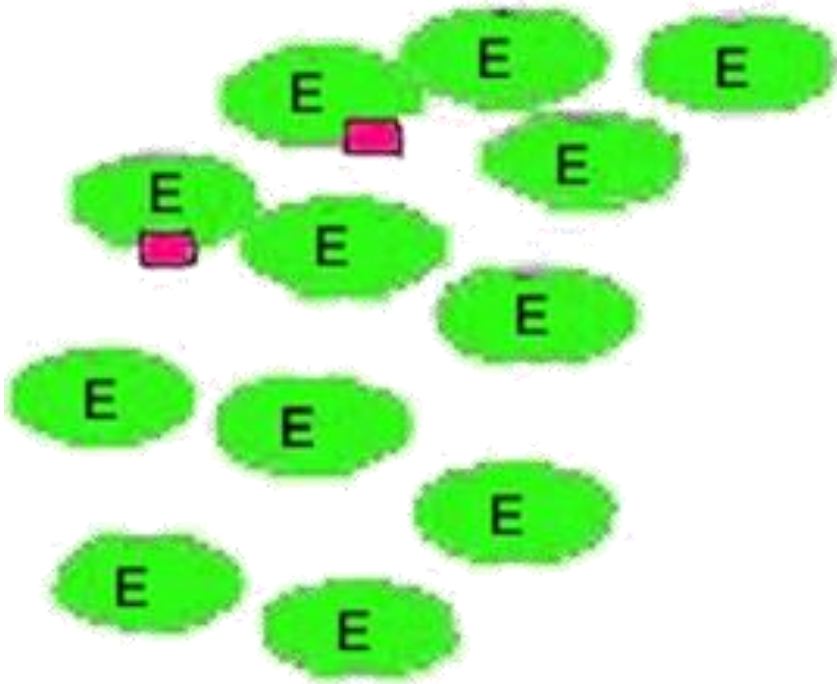
第一节: 酶促反应动力学

第二节: 米氏方程

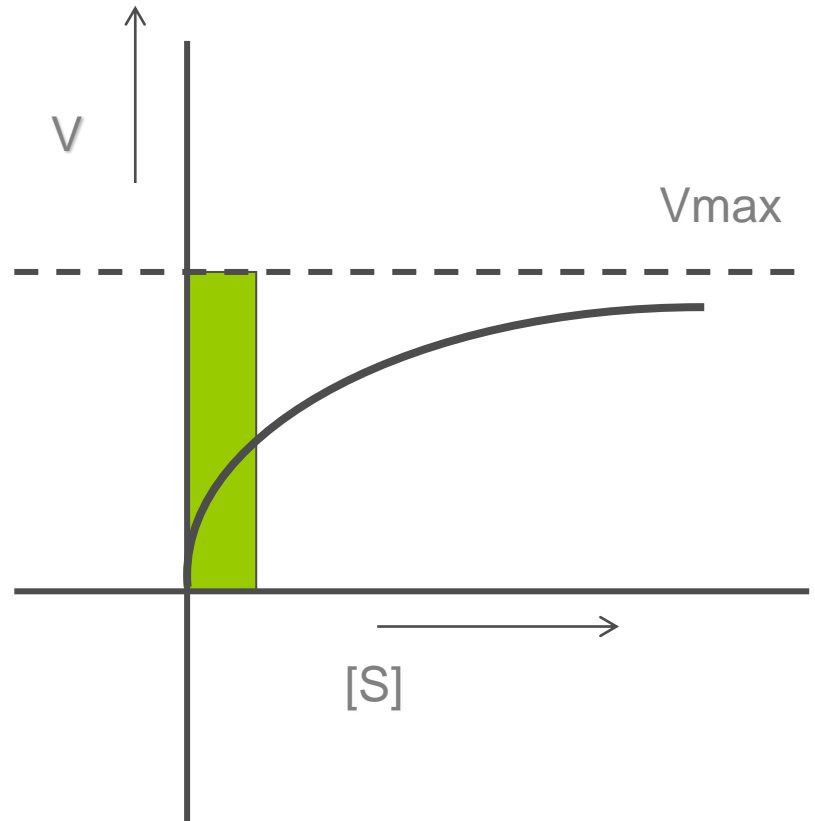
**第三节: 影响酶促反应的因素 (重点掌握)**

第四节: 酶活力的测定及酶活力单位

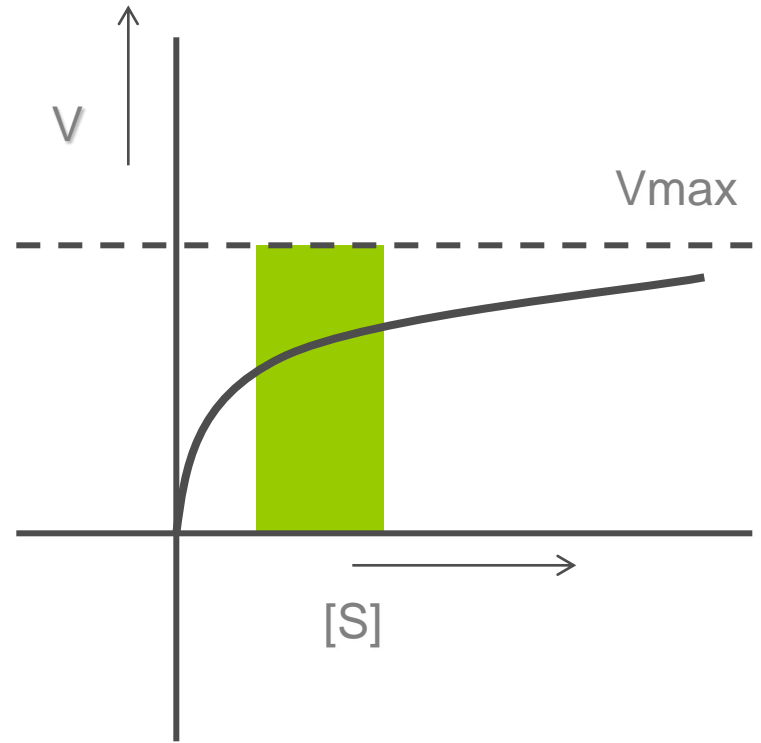
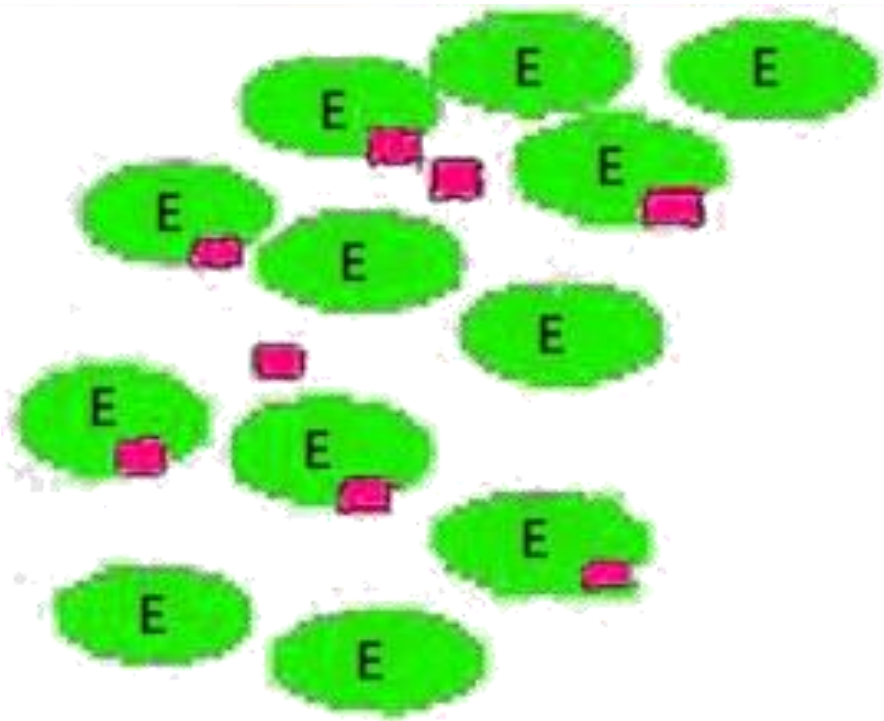
# 1、底物浓度对反应速度的影响



当底物浓度较低时

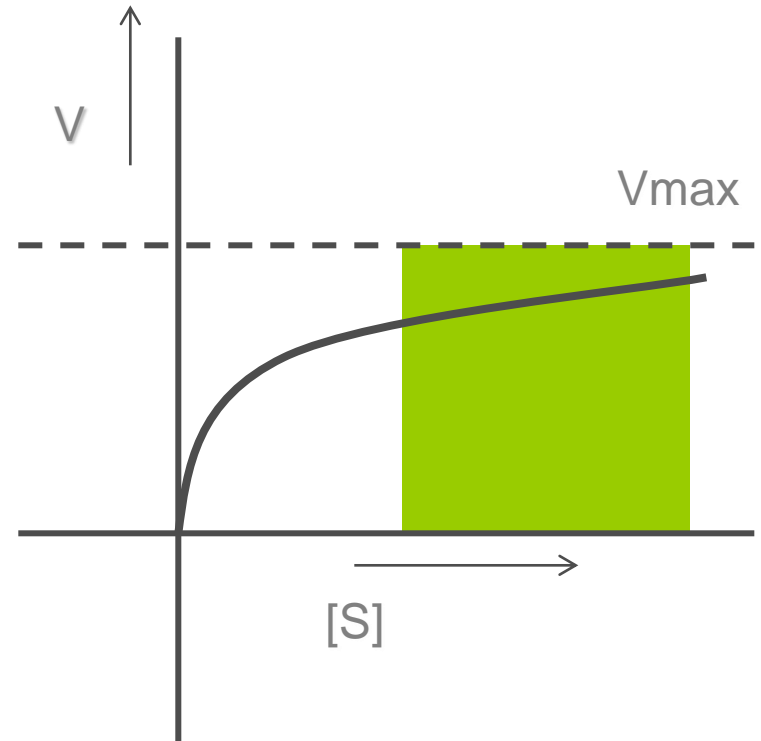
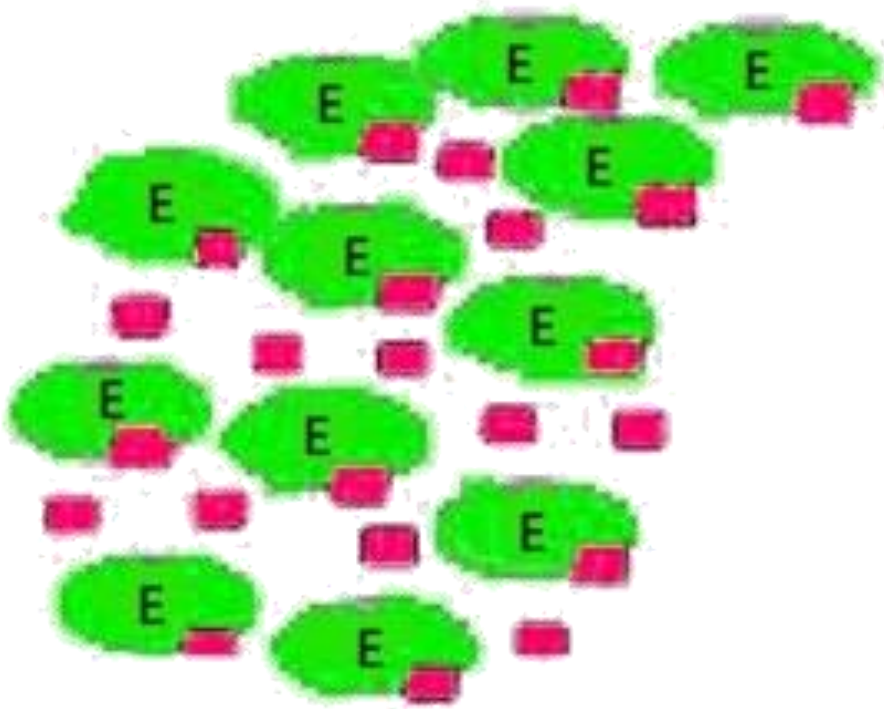


反应速度与底物浓度成正比；反应为一级反应。



随着底物浓度的增高

**反应速度不再成正比例加速；反应为混合级反应。**

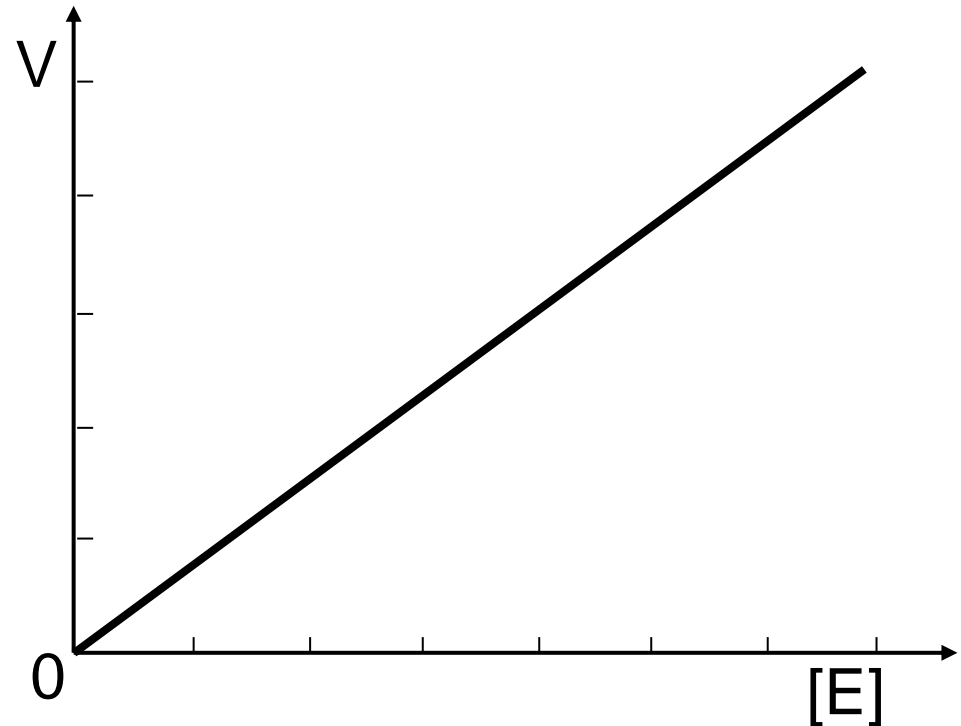


当底物浓度高达一定程度

**反应速度不再增加，达最大速度；反应为零级反应**

## 2、酶浓度对反应速度的影响

- 当底物饱和的情况下（所有E都与S结合），反应速度与酶浓度成线性比例。

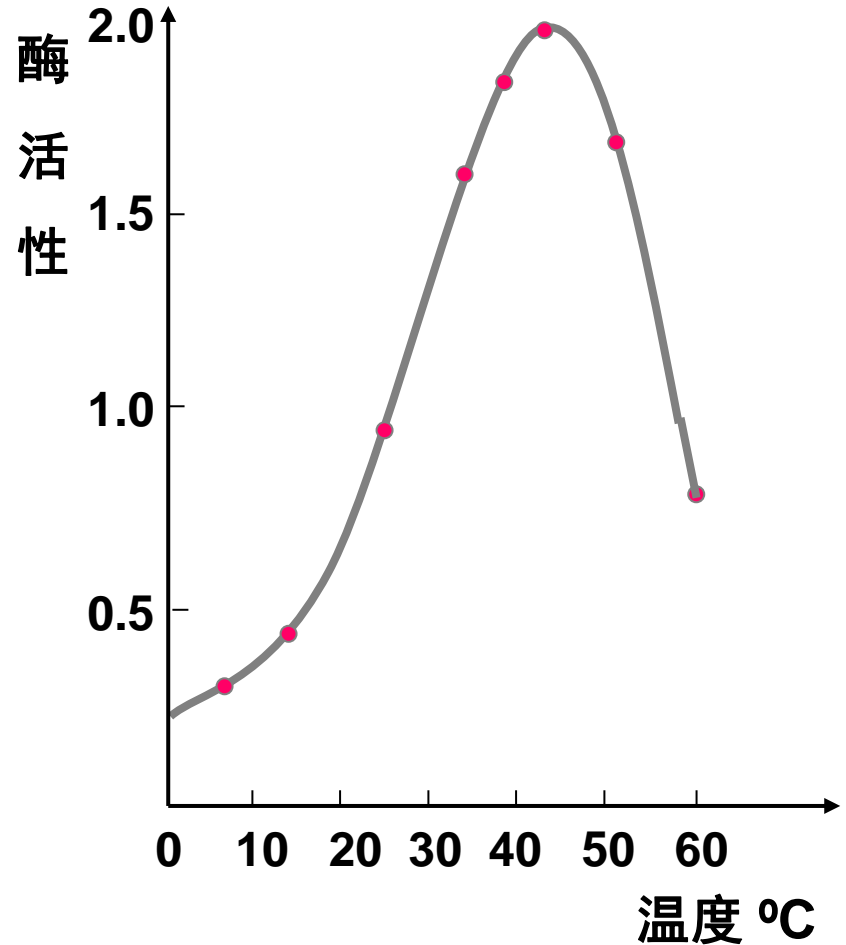


# 3、温度对反应速度的影响

- 双重影响
- 最适温度 (optimum temperature):

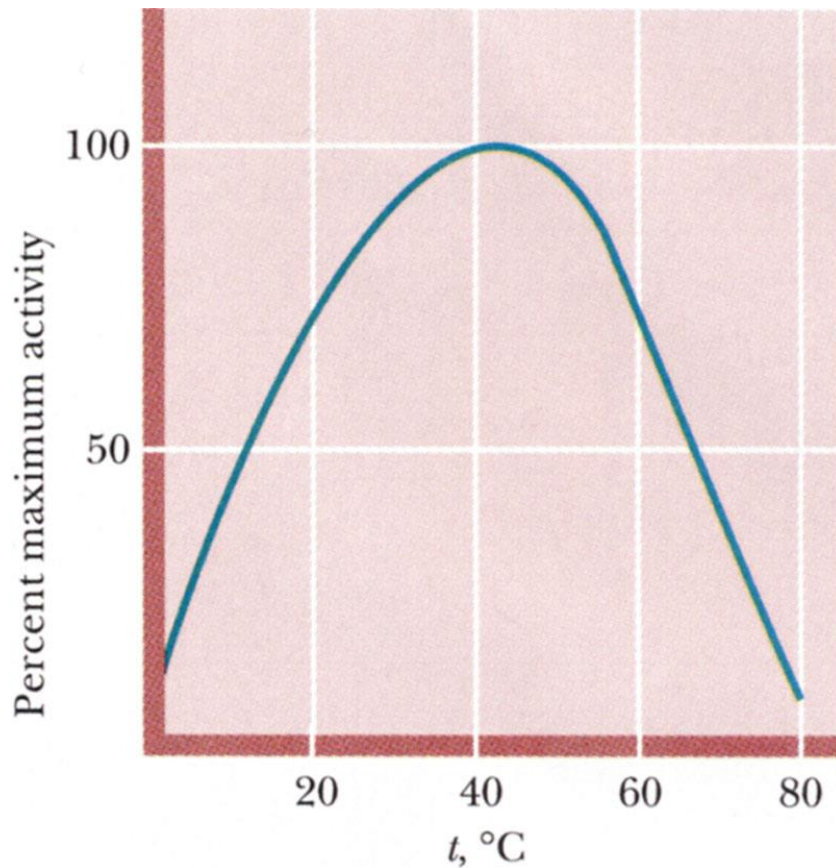
酶促反应速度最快时的环境温度。

\* 低温的应用



- 随着温度的升高，反应速度会加快
- 随着温度的升高，酶蛋白会失活，使反应速度下降
  - 60 °C以上酶变性速度加大，活力迅速下降；80 °C以上酶几乎完全变性失去活性

因此，在这双重因素的综合作用下，酶促反应具有一最适温度。

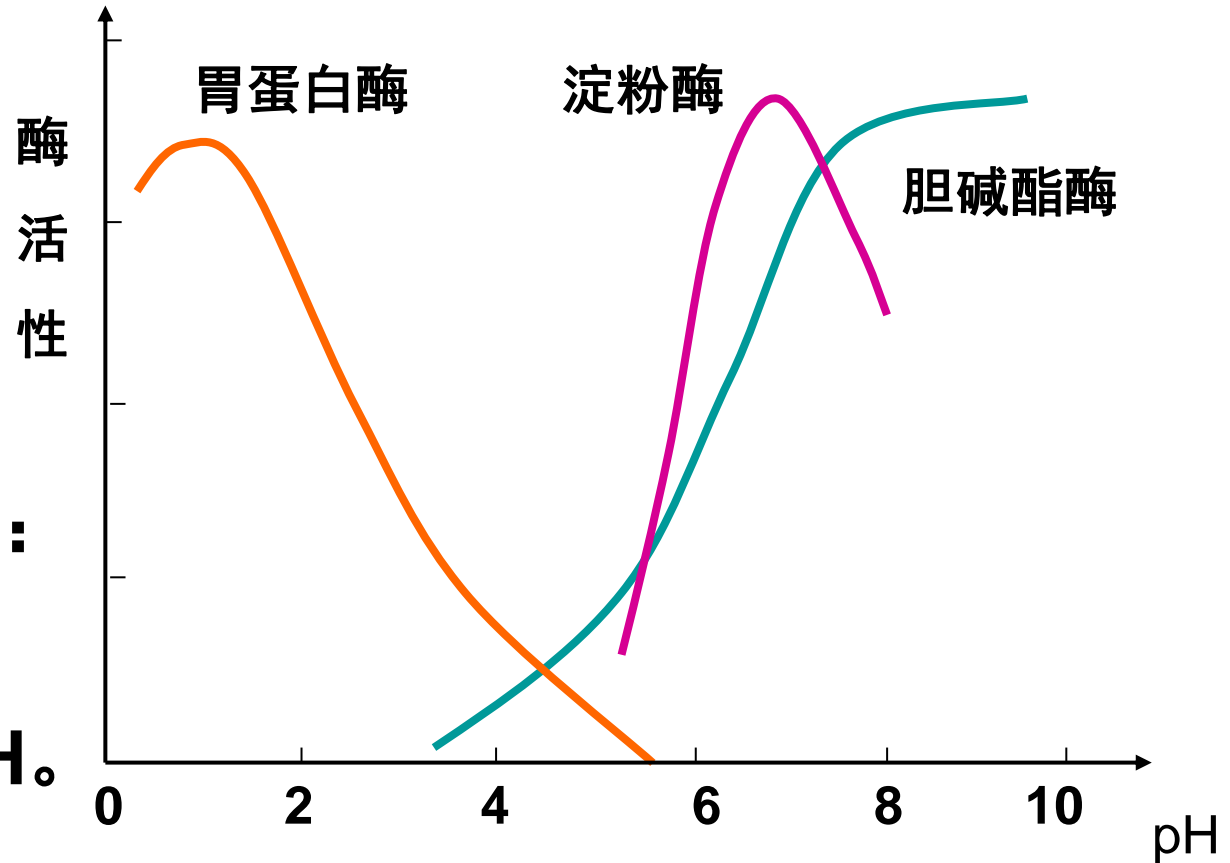


不同酶的最适温度也不一样。动物酶的最适温度一般在 $35\sim 40^\circ\text{C}$ ，植物酶为 $40\sim 50^\circ\text{C}$ 。

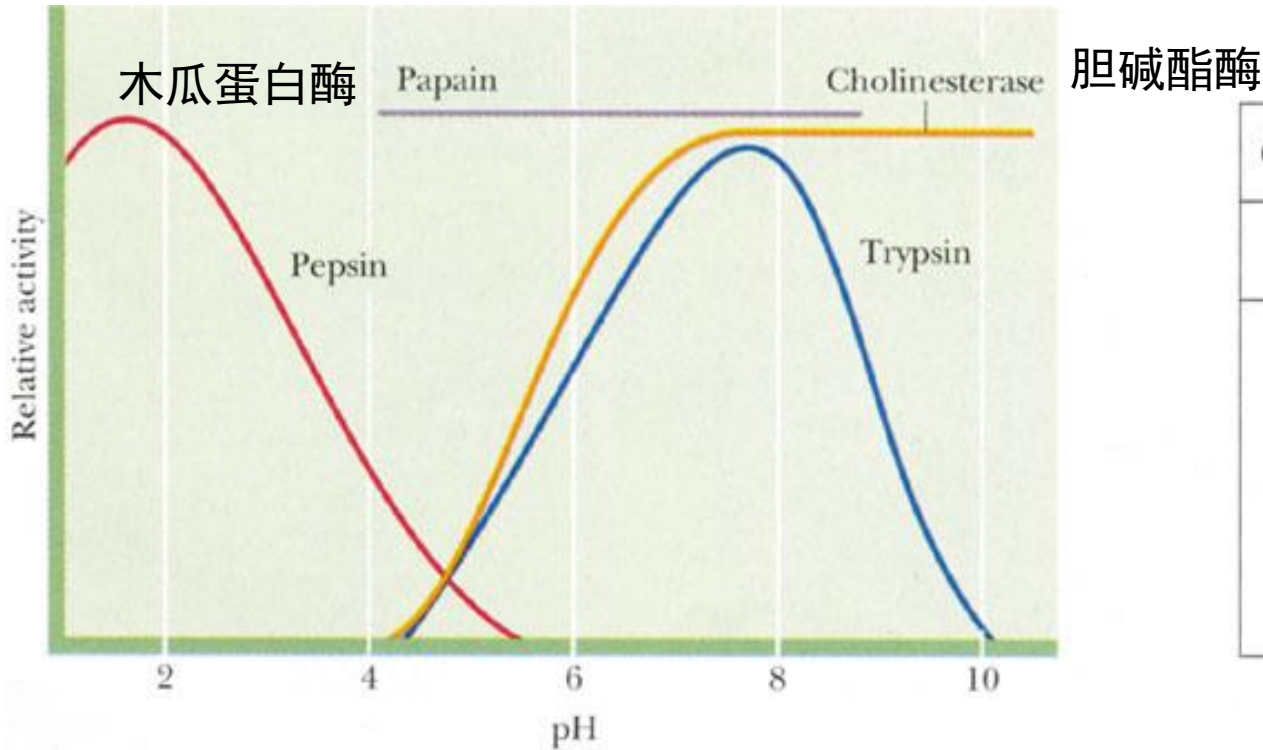
酶的最适温度并非酶的特征性常数，它与底物、作用时间等因素有关。

## 4、pH对反应速度的影响

□ 最适pH  
(optimum pH):  
酶催化活性最大时的环境pH。



## 反应速度和pH的关系见下图：



Enzyme	Optimum pH
Pepsin	1.5
Catalase	7.6
Trypsin	7.7
Fumarase	7.8
Ribonuclease	7.8
Arginase	9.7

酶的最适pH一般在7左右。也有很多例外，如胃蛋白酶的最适pH只有1.5，木瓜蛋白酶(5.6)，胰蛋白酶(7.8)。

酶的最适pH并非酶的特征性常数，它与底物的种类、浓度等因素有关。

**pH对酶反应速度的影响较大。其原因有：**

- **pH影响酶分子解离状态。**
- **pH影响底物的解离，从而影响酶与底物的结合。**
- **极度pH的条件引起酶蛋白的变性。**

**每种酶只能在一定的pH范围内表现出它的活性，且在某一pH值范围内活性最高，其两侧活性都下降。**

**∴ 酶促反应具有一最适pH。**

# 5、激活剂对反应速度的影响

---

## ➤ 激活剂(activator)

使酶由无活性变为有活性或使酶活性增加的物质。

- 必需激活剂 (essential activator)
- 非必需激活剂 (non-essential activator)

## 主要的激活剂有：

### ➤ 无机离子：

主要是金属离子，它们有的本身就是酶的辅助因子，有的是酶的辅助因子的必要成分。

如：激酶需要 $Mg^{2+}$ 激活

唾液淀粉酶需要 $Cl^-$ 激活

➤ **有机小分子：**

**一些还原剂，如抗坏血酸( $V_C$ )、半胱氨酸，使含-SH的酶处于还原态**

**金属螯合剂，如EDTA(乙二胺四乙酸)，可络合一些重金属杂质，解除它们对酶的抑制，从而使酶活升高。**

## 6、抑制剂对反应速度的影响

---

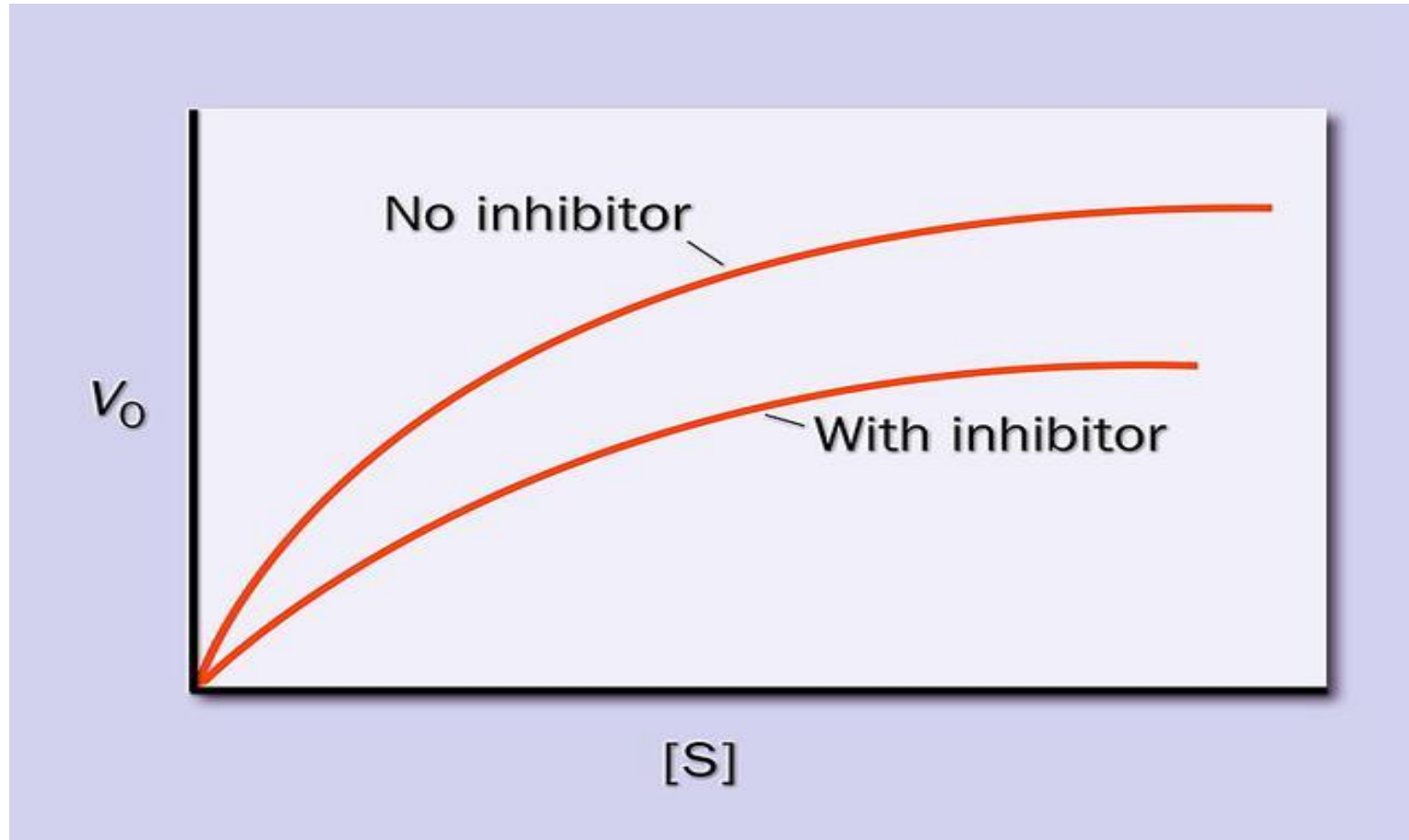
### ➤ 酶的抑制剂(inhibitor)

凡能使酶的催化活性下降而不引起酶蛋白变性的物质统称为酶的抑制剂。

### ➤ 区别于酶的变性

抑制剂对酶有一定选择性，而变性的因素对酶没有选择性。

**抑制作用：**有些物质与酶结合后，引起酶的活性中心或必需基团的化学性质发生改变，从而使酶活力降低或丧失。



## ➤ 抑制作用的类型

### 不可逆性抑制 (irreversible inhibition)

- 非专一性抑制剂
- 专一性抑制剂

### 可逆性抑制 (reversible inhibition):

- 竞争性抑制 (competitive inhibition)
- 非竞争性抑制 (non-competitive inhibition)
- 反竞争性抑制 (uncompetitive inhibition)

# 不可逆性抑制作用

## \* 概念

抑制剂不可逆与酶结合，通常以共价键与酶活性中心的必需基团相结合，使酶失活，不能用透析、超滤等方法予以除去。敏感基团包括Ser和Cys残基。

此时被抑制的酶分子受到抑制剂对其不同程度的化学修饰，因此不可逆抑制从本质上来说就是酶的修饰抑制。

- 非专一性不可逆抑制剂
- 专一性不可逆抑制剂。

# 非专一性不可逆抑制剂

## 主要包括以下六大类：

- ① 有机磷化合物
- ② 有机汞、有机砷化合物：抑制含巯基的酶。
- ③ 重金属盐：能使酶蛋白变性而失活。
- ④ 烷化剂：与酶必需基团中的巯基、氨基、羧基、咪唑基和硫醚基等结合，从而抑制酶活性。
- ⑤ 硫化物、氰化物和CO：这类物质能通过 与酶中金属离子形成较为稳定络合物的形式，来抑制酶的活性。
- ⑥ 青霉素（Penicillin）：青霉素可通过与糖肽转肽酶活性部位Ser羟基共价结合的方式，使糖肽转肽酶失活，导致细菌细胞壁合成受阻，从而损害细菌生长。

常见的不可逆抑制剂：

➤ **碘乙酸 (ICH<sub>2</sub>COOH)**

是一种烷化剂，可使巯基烷化：



所以它是巯基酶的抑制剂。

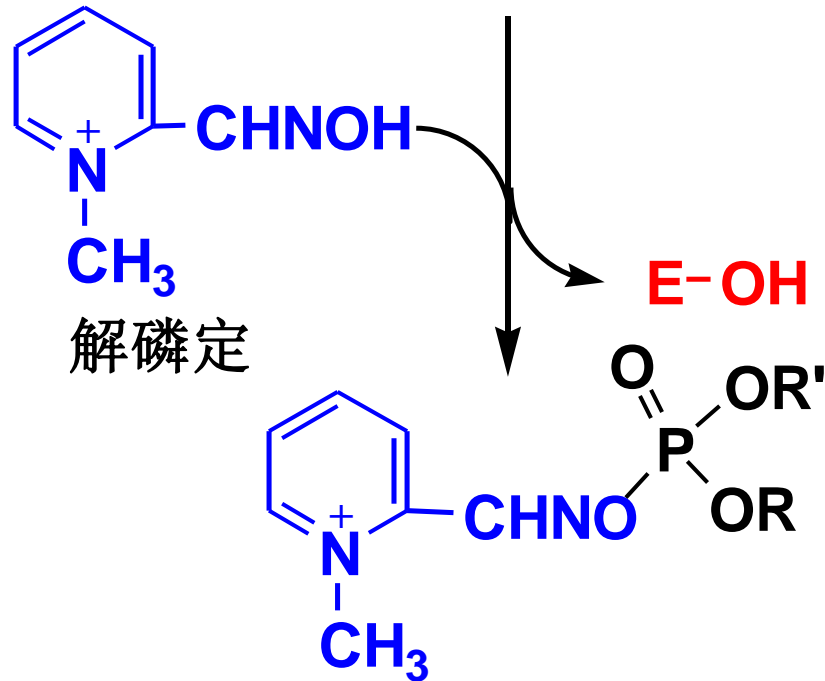
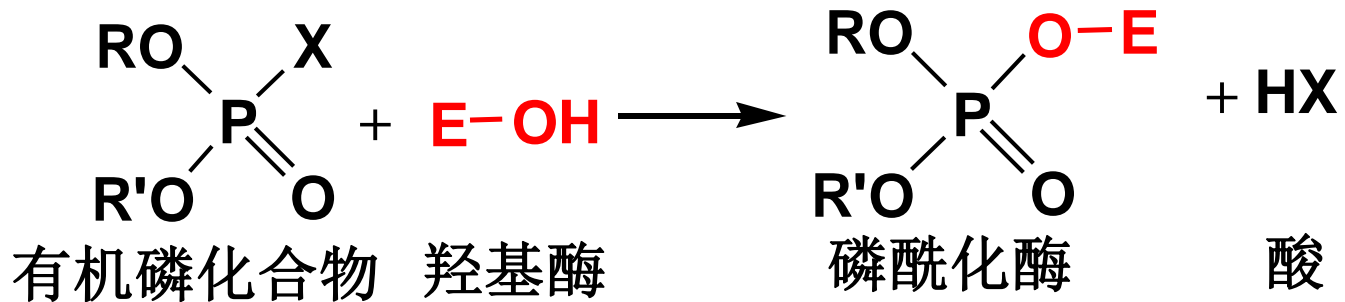
如抑制3-磷酸甘油醛脱氢酶、脲酶、 $\alpha$ -淀粉酶等

## ➤ 有机磷化合物

可使丝氨酸的-OH磷酸化，所以它是活性中心有Ser残基的酶的抑制剂，如与中枢神经系统有关的胆碱酯酶。

如：常见的有机磷农药，在乙酰胆碱酶的活性部位与Ser残基作用，不可逆的抑制酶。

# 有机磷化合物对羟基酶的抑制



杀灭昆虫的机理：抑制乙酰胆碱酯酶的活性，该酶的作用是将神经递质乙酰胆碱水解，若它被抑制，会导致乙酰胆碱的积累，使神经过度兴奋，引起昆虫的神经系统功能失调而中毒致死。

## 专一性不可逆抑制剂可以分为K<sub>s</sub>型和K<sub>at</sub>型两大类

---

- ① **K<sub>s</sub>型不可逆抑制剂**：具有与底物相类似的结构
- ② **K<sub>at</sub>型不可逆抑制剂**：该类抑制剂不但具有与天然底物相类似的结构，而且抑制剂本身也是酶的底物，这类不可逆抑制剂的特点是专一性极高，因此也被称为自杀性底物 (suicide substrate) 。

# 可逆性抑制作用

---

## \* 概念

抑制剂以非共价键与酶或酶-底物复合物可逆性结合，使酶的活性降低或丧失；抑制剂可用透析、超滤等方法除去。

## \* 类型

竞争性抑制

非竞争性抑制

反竞争性抑制

- **同位抑制作用：** 抑制剂与酶活性中心结合或与酶-底物复合物结合，从而阻止底物形成产物。这类抑制剂与酶分子的结合部位基本上和底物相近，故称为同位抑制剂（isosteric inhibitor）。
- **别构抑制作用：** 抑制剂与酶活性中心以外的部位结合，通过酶分子空间构象的改变而影响酶与底物的 $K_m$ 。由于抑制剂和酶的结合部位不同于底物的结合部位，故这种抑制剂称为别（构）位抑制剂（allosteric inhibitor），这类抑制作用叫别构抑制作用。

# ① 竞争性抑制作用 (competitive inhibition)

---

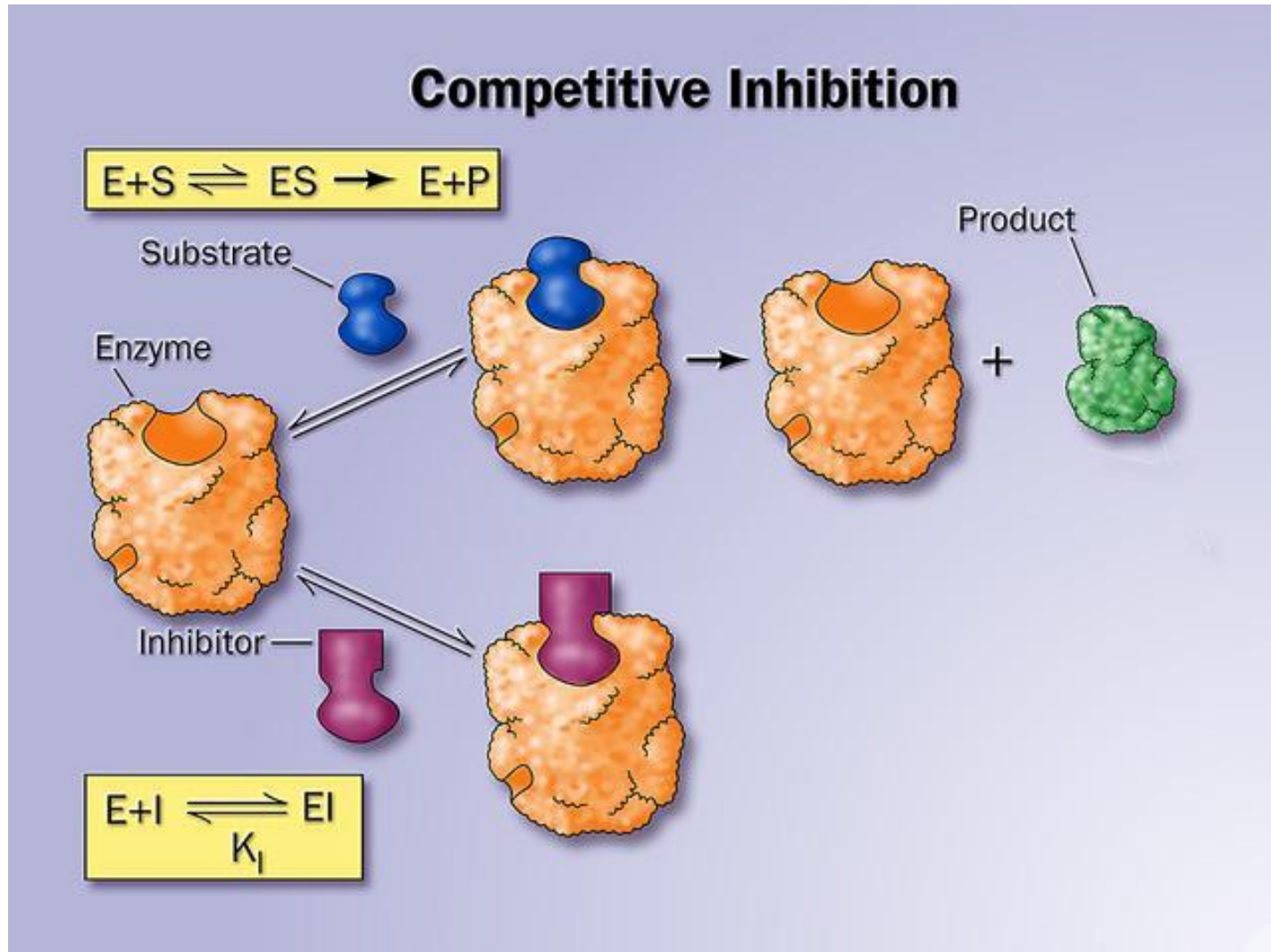
## 定义

抑制剂与底物的结构相似，能与底物竞争酶的活性中心，从而阻碍酶底物复合物的形成，使酶的活性降低。

抑制剂(I)与底物(S)竞争酶(E)的同一结合部位，因此抑制剂的存在直接影响底物与酶的正常结合。

是最常见的一种可逆抑制作用

# 竞争性抑制作用 (competitive inhibition)



Substrate	Product	Competitive inhibitor
$  \begin{array}{c}  \text{COO}^- \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{COO}^-  \end{array}  $	$  \begin{array}{c}  \text{SDH} \\  \xrightarrow{\quad} \\  \downarrow \\  2\text{H}  \end{array}  $	$  \begin{array}{c}  \text{COO}^- \\    \\  \text{CH} \\     \\  \text{HC} \\    \\  \text{COO}^-  \end{array}  $
$  \begin{array}{c}  \text{COO}^- \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{COO}^-  \end{array}  $		
Succinate	Fumarate	Malonate

琥珀酸

延胡索酸

丙二酸

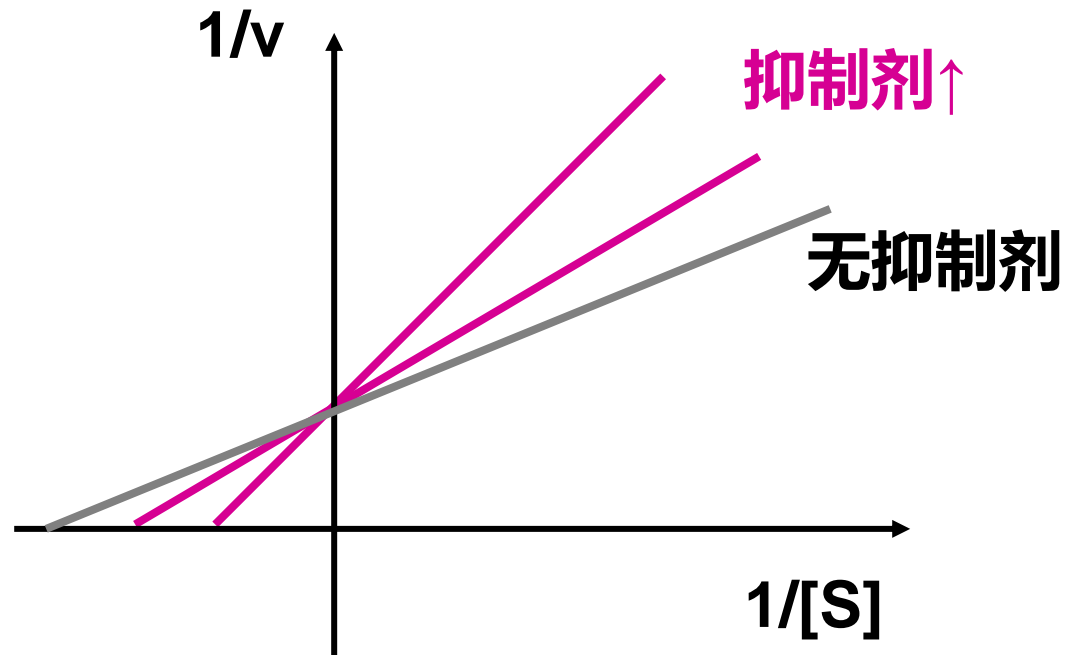
例如，丙二酸和戊二酸竞争与琥珀酸脱氢酶结合。

# 举例某些药物或体内代谢物对酶的竞争性抑制作用

药物（抑制剂）	被抑制的酶	竞争底物	临床应用及机理
磺胺药	二氢叶酸合成酶 (细菌)	苯甲酸	抗菌作用（抑制四氢叶酸）
氨基蝶呤	二氢叶酸还原酶	二氢叶酸	抗白血病
5-氟尿嘧啶（5-FU）	尿嘧啶核苷磷酸化酶（胸腺嘧啶核苷磷酸化酶）	尿嘧啶（胸腺嘧啶）	抗癌作用（抑制核苷酸合成）
别嘌呤醇	黄嘌呤氧化酶	黄嘌呤，次黄嘌呤	抗痛风（抑制尿酸生成）
6-氨基己酸	纤溶酶	-赖氨酸-氨基酰	止血，抗纤溶（抑制纤溶酶）
苯丙胺（麻黄素）	单胺氧化酶	肾上腺素（去甲肾上腺素）	中枢兴奋，抗哮喘

## \* 特点

- I与S结构类似，竞争酶的活性中心；
- 抑制程度取决于抑制剂与酶的相对亲和力及[S]；
- 动力学特点： $V_{\max}$ 不变，表观 $K_m \uparrow$ 。

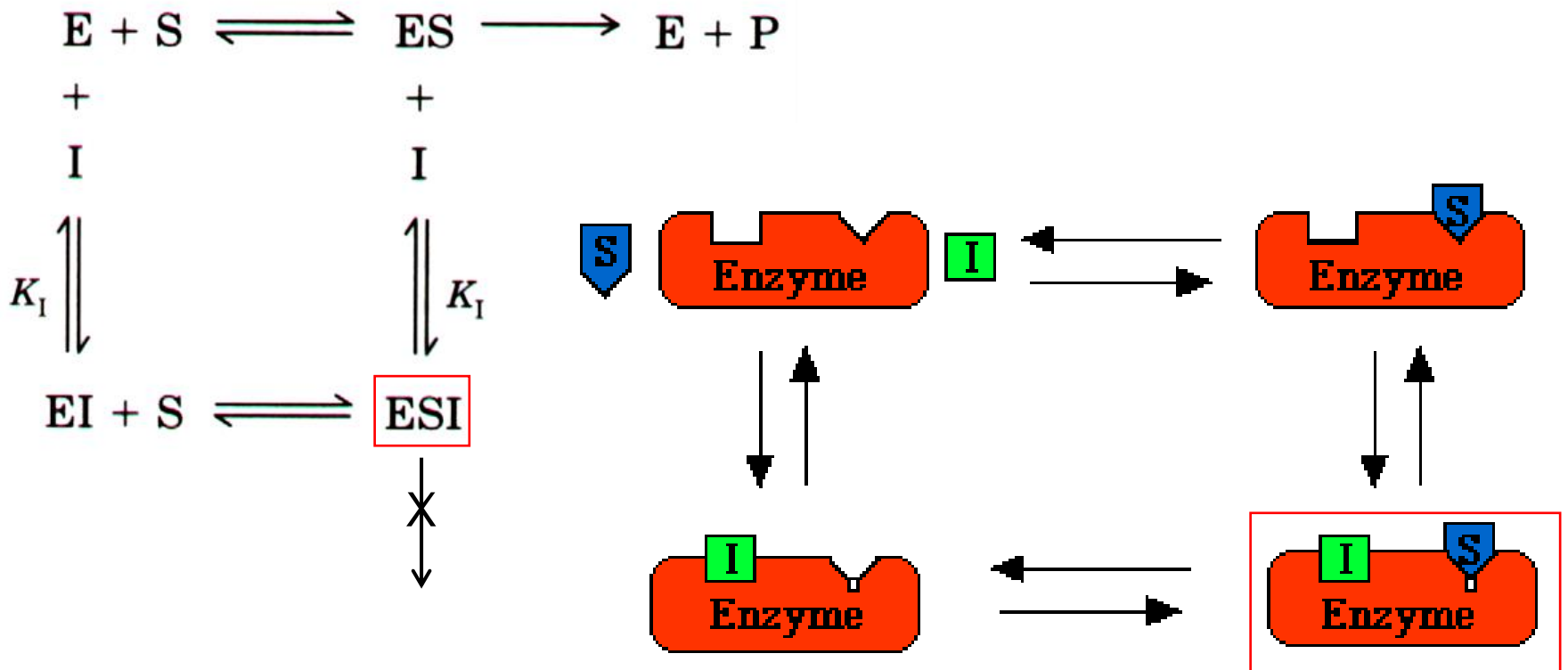


竞争性抑制中，  
 $V_{\max}$ 不变，  
 $K_m$ 增大

可通过增加底物浓度而使整个反应平衡向生成产物的方向移动，因而能削弱或解除这种抑制作用。

## ② 非竞争性抑制 (noncompetitive inhibition)

抑制剂与酶活性中心外的必需基团结合，  
底物与抑制剂之间无竞争关系。



- 这类抑制作用的特点是底物(S)和抑制剂(I)可以同时与酶(E)结合，两者之间不存在竞争关系。
- 但是在酶与抑制剂结合后，还可以进一步与底物结合形成酶-底物-抑制剂复合物ESI。
- 酶与底物结合后，也可以进一步与抑制剂结合形成酶-底物-抑制剂复合物ESI。
- 但ESI不能进一步分解产生产物，因此相应的酶促反应速度下降。

- 由于这类抑制剂与酶活性部位以外的基团相结合，因此其结构与底物结构并无相似之处，而且不能用增加底物浓度的方法来解除这种抑制作用，故称非竞争性抑制。
- 这类抑制最典型的例子是亮氨酸是精氨酸酶的一种非竞争性抑制剂。
- 还有某些重金属离子如 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 等对酶的抑制作用也属于这一类。

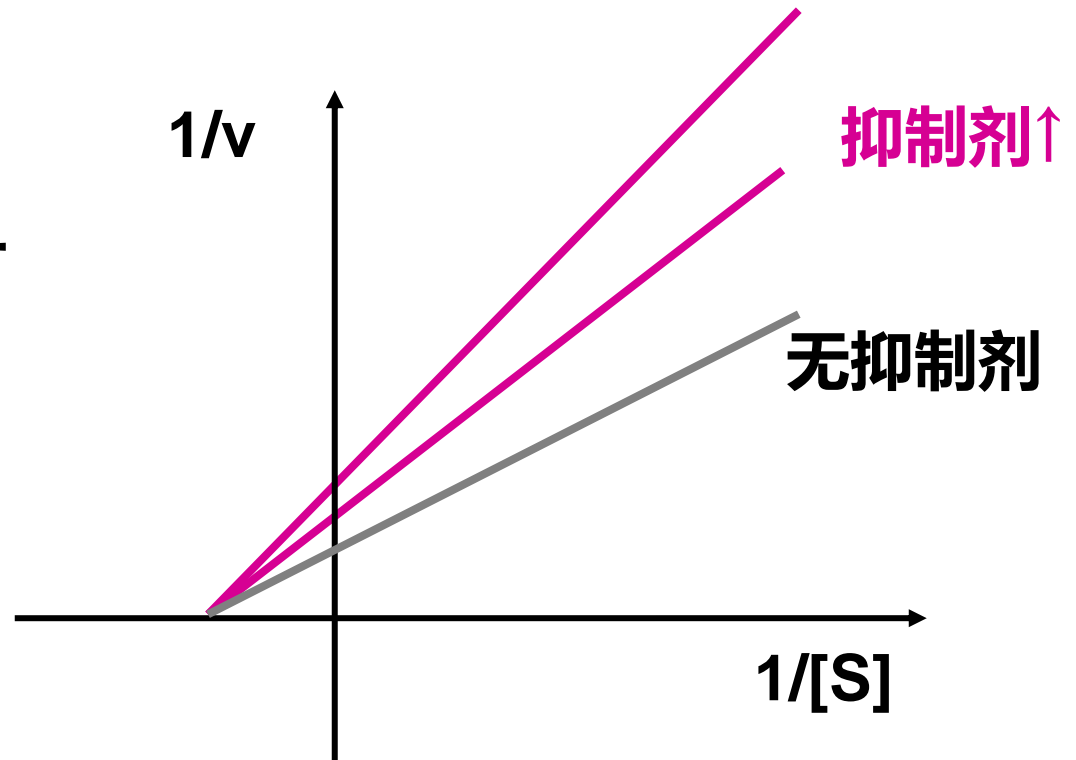
## 非竞争性抑制的特点

- S和E 或EI都能结合，两者结合的亲和力相等。
- I也能和E 或ES结合，两者的亲和力相等。

S和I与酶的结合既不互相排斥，也不互相促进

## \* 特点

- 抑制剂与酶活性中心外的必需基团结合；
- 抑制程度取决于  $[I]$  ；
- 动力学特点：  
 $V_{\max} \downarrow$ ，表观  $K_m$  不变。



非竞争性抑制中，  
 $V_{\max}$ 变小，  
 $K_m$ 不变

这种抑制作用不能  
用增加底物浓度的  
方法来消除。

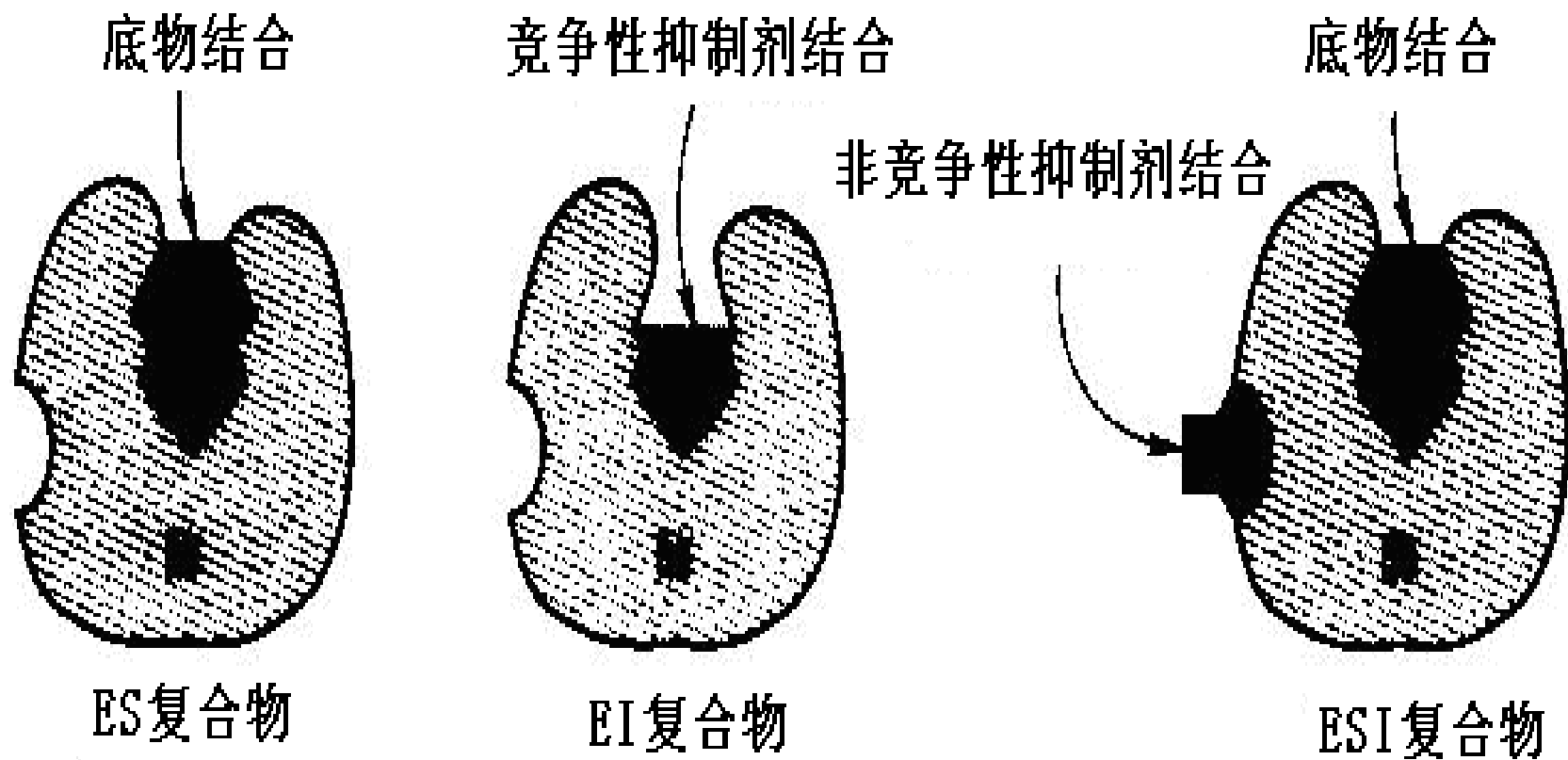
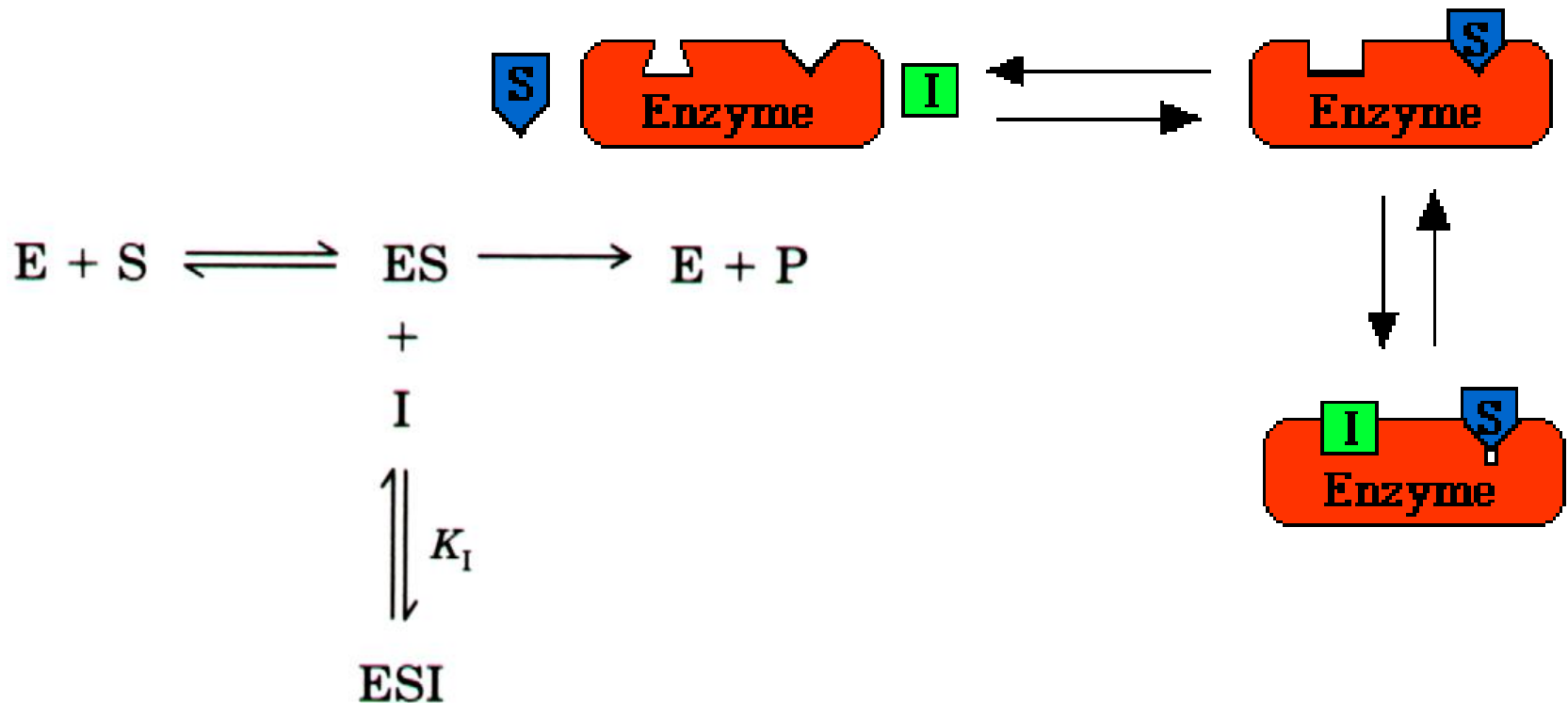


图3-3酶与底物或抑制剂结合的中间物

### ③ 反竞争性抑制 (uncompetitive inhibition)

抑制剂仅与酶和底物形成的中间产物结合，  
使ES的量下降。



- 这类抑制作用的特点是**只有在酶(E)与底物(S)结合后，才能与抑制剂(I)结合**，形成酶-底物-抑制剂复合物ESI
- 与非竞争性抑制相似，这种**中间的三元复合物ESI**不能进一步分解产生产物，因此相应的酶促反应速度下降。
- 这种抑制作用在单底物反应中比较少见，而**常见于多底物反应中**。

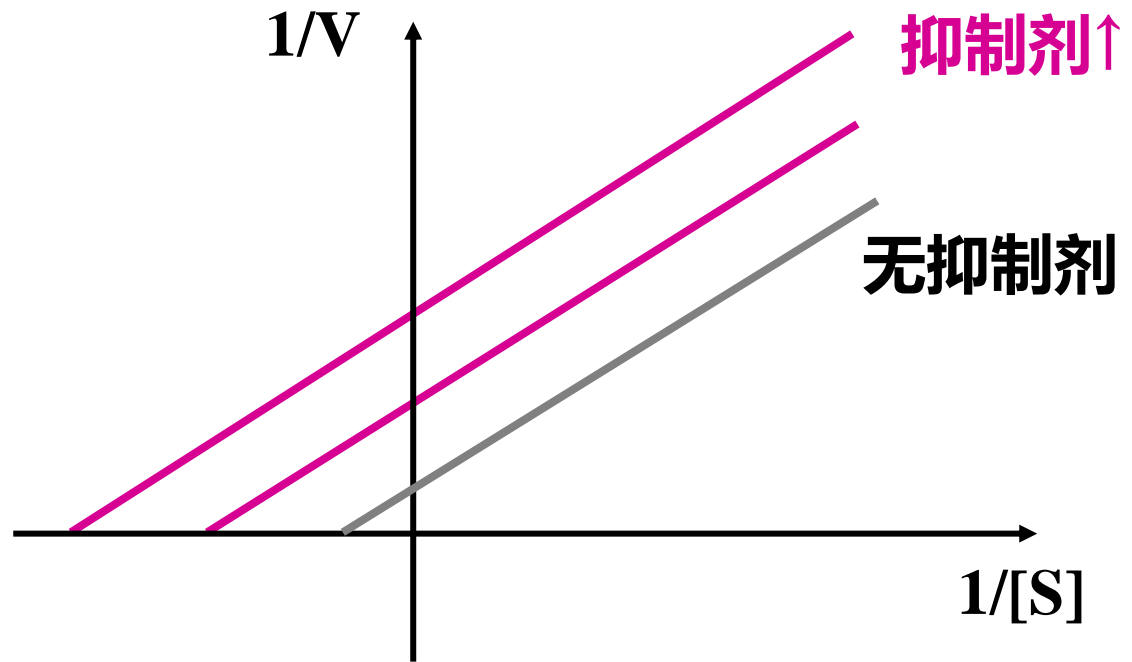
## \* 特点

➤ 抑制剂只与ES结合；

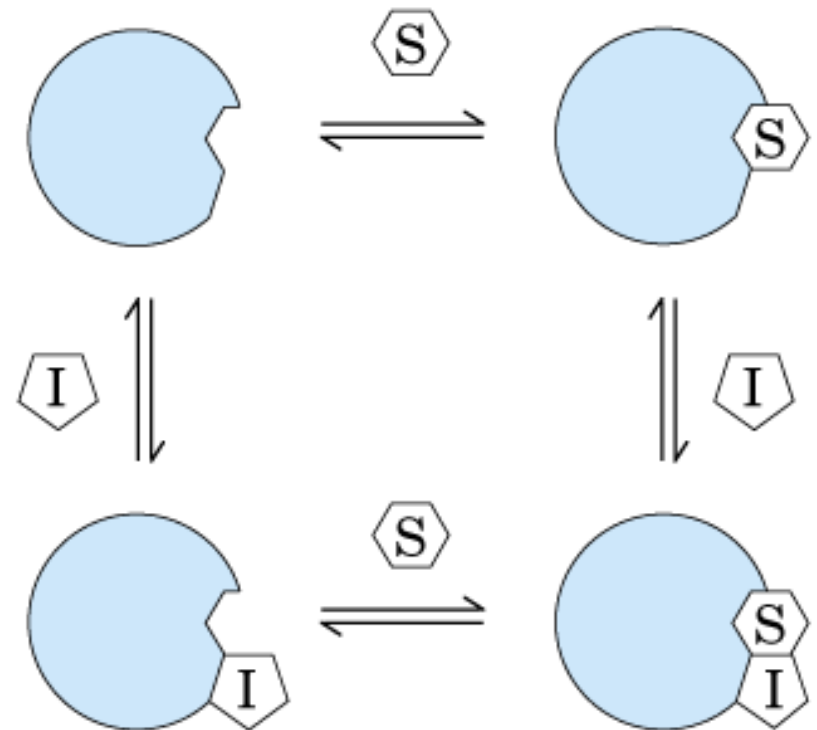
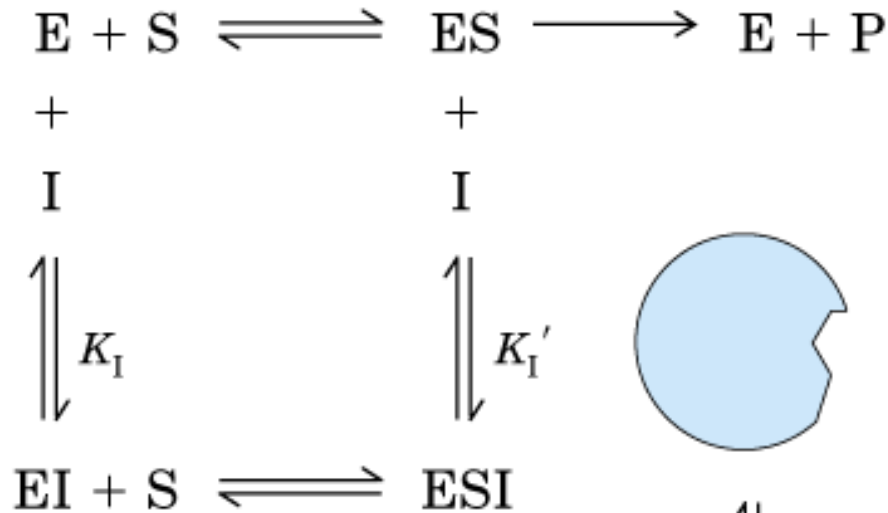
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

➤ 抑制程度取决于 [I] 及 [S]；

➤ 动力学特点：  
 $V_{\max} \downarrow$ ，表观  
 $K_m \downarrow$ 。



## ④ 混合性抑制作用



- **S**和**E** 或**EI**都能结合，**I**也能和**E** 或**ES**结合，但亲和力都不相等。
- **S** 和**I**对**E**的结合互有影响。
- 相当于纯非竞争性和部分竞争性抑制作用的混合系统。

(c) Mixed inhibition

# Summary

表 7-5 抑制类型及其特征的比较

类 型	公 式	$V_{\max}$	$K_m$	斜 率
无抑制剂（正常）	$v = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]}$	$V_{\max}$	$K_m$	$K_m / V_{\max}$
竞争性抑制剂	$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m(1 + [I] / K_i) + [S]}$	不变	增大	增大
非竞争性抑制剂	$v = \frac{V_{\max} [S]}{(1 + [I] / K_i)(K_m + [S])}$	减小	不变	增大
反竞争性抑制剂	$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + (1 + [I] / K_i)[S]}$	减小	减小	不变

# 酶抑制剂的应用

## ① 医学上应用：青霉素类药物

➤  $\beta$  内酰胺类抗生素与D-丙氨酰-D-丙氨酸类似，抑制细菌细胞壁中肽聚糖的形成。

➤ 细菌耐药性：

长期使用青霉素，细菌中产生  $\beta$ -内酰胺酶，可水解青霉素中的内酰胺环，使之成为不杀菌的青霉酸酰。

（不能形成D-丙氨酸-D-丙氨酸结构，丧失了杀菌能力）

## ② 农业生产上的应用

---

- 农药杀虫的机理-抑制生物体中的靶酶；
- 例如：有机磷的杀虫原理

### ③ 工业生产上应用

- 食品加工过程中由于多酚氧化酶的作用，发生酶促褐变，使果蔬类加工食品货架寿期缩短。多酚氧化酶是含铜金属蛋白，因而许多金属螯合剂是其抑制剂。



# 第二章 酶促反应

---

第一节: 酶促反应动力学

第二节: 米氏方程

第三节: 影响酶促反应的因素

**第四节: 酶活力的测定及酶活性单位 (了解)**

# 酶活性测定和酶活性单位

---

## 酶的活性单位：

在规定条件下，酶促反应在单位时间（s、min或h）内生成一定量（mg、 $\mu\text{g}$ 、 $\mu\text{mol}$ 等）的产物或消耗一定数量的底物所需的酶量。

## 国际单位 (IU)

在特定的条件下，每分钟催化1  $\mu\text{mol}$  底物转化为产物所需的酶量为一个国际单位。

## 催化量单位 (kat)

1 催化量 (kat) 是指在特定条件下，每秒钟使 1 mol 底物转化为产物所需的酶量。

kat 与 IU 的换算：  
1 IU =  $16.67 \times 10^{-9}$  kat  
1 kat =  $6 \times 10^7$  IU

# 酶的转换数和催化周期

---

- 酶的转换数 $K_{cat}$ ，又称摩尔催化活性，是指**每个酶分子每分钟催化底物转化的分子数**，即每摩尔酶每分钟催化底物转化为产物的摩尔数。
- 酶转换数的倒数称为酶的催化周期，催化周期是指酶进化一次催化所需的时间，单位为毫秒（ms）或微秒（us）

# 酶活力测定方法

---

- **选择适宜的底物**
- **确定酶催化反应的温度, pH值, 底物浓度, 激活剂浓度等反应条件**
- **在一定条件下, 将一定量的酶与底物混合液混合均匀, 适时记录反应开始的时间**
- **反应到一定时间, 取出适量的反应液, 运用各种生化检测技术, 检测产物的生产量和底物的减少量**

# 酶活力测定时需注意：

---

- 选择反应的最适温度，根据不同的底物和缓冲液选择反应的最适pH。
- 速度要快，取反应的初速度
- 底物浓度要足够大（一般在 $10K_m$ 以上）
  - 使酶被底物饱和，以充分反应待测酶的活力

引起酶促反应速度随反应时间延长而降低的原因很多，如底物浓度的降低、产物浓度增加从而加速了逆反应的进行、产物对酶的抑制或激活作用以及随着反应时间的延长引起酶本身部分分子失活等等。

# 测定酶活力常用的方法：

---

- 分光光度法 (spectrophotometry)
- 荧光法 (fluorometry)
- 同位素法 (isotope method)
- 电化学方法 (electrochemical method)
- 其他方法：如旋光法、量气法、量热法和层析法等

由于反应初速度与酶量呈线性关系，因此可以用测定反应初速度的方法来测定相关制剂中酶的含量。

# 终止酶反应的方法

---

- **沸水煮沸**
- **加入适宜的酶变形剂，使酶失活**
- **加入酸或碱，使反应液的pH值远离催化反应的最适pH值**
- **取出反应液立即置于冰箱，冰粒堆，使反应液低等温度迅速减低至10°C以下**

# 第二章 酶促反应动力学 小结

---

**第一节：酶促反应动力学作用机制假说（了解）**

**第二节：米氏方程的推导（掌握）**

**第三节：影响酶促反应的因素（重点掌握）**

**第四节：酶活力的测定及酶活力单位（了解）**