

前 言

我开始从事酶学研究时,我所信崇的读物只有 Dixon 和 Webb 合著的《酶》(Enzymes)和《酶学方法》(Methods in Enzymology)头 10 卷。这些资源,对丰富我的实验经验和培养我的学术思想都卓有成效,但它们往往还尚存不足,那其实是因为当时的研究人员对酶动力学、催化作用和调控作用缺乏全面的认识。随着中心代谢途径的完美确立和分子生物学大纲的出现,一代生物化学家建立了现代酶学科,这些生物化学家包括我的导师 Herb Fromm 和 Earl Stadtman 以及他们的导师 Paul Boyer 和 Fritz Lipmann。认识到需求一本综合性多卷本酶动力学专著以后,在创始编辑 Nate Kaplan 和 Sydney Colowick 以及科学出版社主任 Jim Barskyd 的热情鼓励下,30 年前我被授权编写《酶学方法》(Methods in Enzymology)中的 6 卷《酶动力学和机理》(Enzyme Kinetics and Mechanism)子系列丛书。最近,我寻求完成一部单卷本的酶动力学参考书,以满足生物化学家、分子生物学家以及物理科学家和工程师们企望了解酶如何工作的愿望。我曾承诺,自己将用 7 年时间完成这部书的写作任务,并且希望这部书将被证明是易于理解的、趣味性的、知识性的、特别实用的书。我还记得从物理学和工艺学进入酶学科的那些人的需求,并为他们另外添加了典型酶动力学书中所缺少的基础信息。

生物化学、分子生物学和细胞生物学之所以致力于了解酶是如何工作的,仅仅是因为酶是所有生物体的动力,积极发挥着数不清的体内必需的作用,包括细胞内和细胞间的物质、能量和信息的流动。几乎在每一个细胞过程研究中,一个或多个酶将发挥不可缺少的作用,而且正是因为认识到这一点才激发起对酶作用的广泛兴趣。目前估计酶催化的反应约有 2 万个。尽管某些代谢过程具有普遍性,但生物体还是按照自己的一套独特的选择性压力在进化。在这方面,在任何两个物种中催化相同反应的酶可能有不同的氨基酸序列,并且同样不太可能表现出相同的催化性能(例如,底物专一性、催化效率、灵敏度、代谢终产物等)。由于物种的数量很容易超过 30 万,所以,任何一种单个酶,例如己糖激酶或乙醇脱氢酶,一定具有无数的独特的分子形式,特别是在任何一个有机体中发现有组织特异性同工酶时更是如此。任何单一酶的突变都有可能影响完整的代谢途径的性能,甚至损害整个机体的健康。因此,尽管人们可以得出有关新陈代谢一般的推论,然而各种生命形式的生理学一定能在某种程度上反映酶的广泛的多样性,而且,研究酶动力学特性的空间之广是惊人的。

所有酶的主要特征都是具有催化作用,要表征一种酶的特性就要考察和测定这种酶的依赖时间的反应过程。一种分析复杂的酶系统的催化机制的方法是确定在整个反应过程中各个步骤发生的时间,即追求所谓的“动力学”。这个策略可让研究者评估从一个步骤转换到下一步骤的结构上和能量上的决定因素。通过确定时间线上的空隙,可以考虑存在其他合适的中间体的可能性,并最终确定所有初级反应的机制。动力学是一个需要高度分析能力和智能的学科,它深深扎根于化学和物理学中,而且,酶化学家直观地创造性地应用化学家和物理学家的工具来研究生物过程。酶动力学家同样可以利用物理

有机化学, 结构化学和光谱学的成就将酶机制解剖成按时间排序的各个步骤。动力学的具有说服力的逻辑也体现了科学方法严格地应用于分子生命科学, 特别是生物化学和生物物理学、分子和细胞生物学以及药理学、免疫学, 甚至神经系统科学。总之, 酶动力学揭示生命的节奏, 从光合作用中几乎瞬时的光子吸收到弗罗斯特所谓的“无烟燃烧缓慢的衰减”现象尽在其中。

我写这本参考书的目的是介绍和解释把酶学推向先进水平的动力学原理, 使学生阅读和理解过去和现在的研究成果, 并且通过应用这些原理及阐明新的原理, 进一步推动酶学的发展。在我 35 年多的教学生涯中, 我一直在努力给学生打好牢固的蕴藏在酶学中的化学原理方面的基础, 从而使他们能深切体会和理解酶学的魅力。这就要求理解基础化学动力学, 正确评价初始速度和快速反应技术解决问题的能力及其应用范围、动力学同位素效应的起源和变构效应的壮阔。以 Herb Fromm 教授在爱荷华州立大学讲授的为时一学期的酶动力学课程的课堂记录笔记和 Earl Stadtman 在国家卫生研究院讲授的令人尊敬的生物化学课程中使用的笔记为开端, 我在下述课程中发展和巩固了自己关于酶催化和调控作用的想法: Chem 242, 生物系统的化学方面、Chem 252, 酶动力学和机理。我在加州大学圣巴巴拉分校化学系年年讲这两门课程, 总共讲了 11 年之久。其他论题是我于过去 24 年里在佛罗里达大学讲授下述课程开发的: BCH 6206, 高级代谢作用; BCH 6740, 物理生物化学和结构生物学; BCH 7515, 分子生命科学中的动态过程。我还在几个药物公司和其他大学讲授过酶动力学的短期课程。我的经验是, 当你提供了合乎逻辑的解释, 特别是一开始就逐步地进行引导, 那么即使背景差异很大的学生也能很容易地理解、鉴赏和应用酶动力学理论的逻辑。

由于化学家、工程师和生理学家也对酶动力学原理和实验特别感兴趣, 所以这本书还介绍了基本的背景资料, 以使他们顺畅地理解生物化学和有机化学原理。随着分子生命科学的出现, 也涌现出一代全新的生物物理学家与结构生物学家。为了方便他们使用这本书, 我在第一次提及某个酶时, 大多列出了这个酶催化的反应, 也提供了生化现象的附加的描述和对调节概念的解释, 这些可能是化学、工程学和物理学专业的学生在他们的课程里所看不到的。

一些生物化学专业的学生可能终身对酶动力学怀有激情。我的经验表明, 几乎所有的分子生命科学家会受益于深刻理解动力学原理及其在测试模型中的精确性。了解到很多学生在研究生毕业多年后仍然保留和使用我的课程笔记, 这促使我写一本严格的有详细解释的参考书。虽然这本书设计为全面的参考书, 但仍然适合于作为酶动力学和酶学的专题课程。本书的部分章节的范围和细节对于课堂教学而言似有百科全书的性质, 但这些章节在实验室和编写研究报告和出版物的中应该是一种宝贵的资源。

酶动力学包括的实验方法, 每一个都适合于特定的任务或时间域。抛开技术而言, 暗藏的玄机是开发定量分析目标酶的模型。动力学模型显然是由多个反应组合而成, 要表征每一个反应物, 也需要速度常数和平衡常数来规范它们之间的相互作用。本书始终强调动力学模型的建立。第 1 章介绍了酶催化的历史和范围, 以及酶速度加强理论, 而第 2 章提供了酶活性中心的化学基础。接下来的九章重点放在我认为是酶动力学的核心议题上: 第 3 章的重点是化学动力学的基本原理; 第 4 章重点在于酶反应速度测量; 第 5 章是单底物酶反应的初始速度理论; 第 6 章是多底物酶反应的初始速度行为; 第 7 章

是影响酶活性的各种因素；第8章是酶的可逆和不可逆抑制作用；第9章重点是利用同位素揭示不可见的酶催化作用；第10章是快速反应技术；第11章是酶的协同性和酶动力学的调控；而第12和13章在酶动力学书籍中是独特的，分别涵盖了单分子酶动力学和那些产生力量的机械力酶的反应动力学。

为了让读者直接访问关于酶动力学的研究文献，本书引用了2600多篇原始研究报告和评述文章。即使如此，引用的参考文献列表肯定不够完整，我要向那些没有被包含在内的贡献卓越的科学家道歉。对于书中值得进一步研究的部分，我也欢迎给予评论、更正和增加必要的内容。只要有可能，我就会试图引用别人的观点，而且，我将会第一个告诉人们，在酶学的科研领域里钻研和学习的人，永远都是一名学生，极少数会被称为大师。人类的弱点就是常常意识不到自己的无知，这个明显的不足几乎显现于所有学术领域中。对于我无法充分地解释某个重要概念或误解了别人的结果，我提前道歉，并欢迎改进的建议。

正如2001年我在《生化科学动向》(26卷, 417页)指出的那样，生物催化作用并不要求共价键的破坏和形成：一些类底物和类产物的状态仅在非共价键合作用上有所不同。因此，我重新定义酶是催化化学键（包括共价键和非共价键）的形成和破坏的生物制剂。我还建议需要将催化所谓ATP酶或GTP酶反应的特殊酶归类为一类新酶，这类酶能将共价键能转换为机械能。在所有已知的情况下，这些所谓的能量酶(energyase)反应可用一种机制来描述，这种机制有一个或多个能源驱动的亲调制结合作用，很像ATP依赖的肌动嵌蛋白(actoclampin)，Richard Dickinson教授和我最近称其为产生力量的机制，负责细胞蠕动。这本参考书率先推出一个完全集成的新概念——能量酶型机械力酶(mechnoenzymes)，并且描述了动力学如何揭示能量酶型反应的基本特征。

在写作本书的过程中，我受惠于很多朋友的意见和建议，特别是我博士和博士后期间的实验室合作伙伴Fred Rudolph和Charles Y. Huang，以及Bryce Plapp, Jeremy Knowles和Dan Koshland。(Fred、Jeremy和Dan的去世是酶学界的巨大损失)。我同样高兴地感谢我的佛罗里达大学的同事，尤其是与我合作写作其他图书的Linda Bloom和David Silverman以及R. Donald Allison教授。我同样感谢Giulio Magni、Silverio Ruggieri和Nadia Raffaelli教授将意大利安科纳的马尔凯理工大学生物工程生物化学研究院建设成为远离家乡并备受欢迎的知识和文化家园。在这本书中提出的许多思想都是先在安科纳构思、孕育和(或)试验，那是在安科纳度过的非常愉快的时日。最后，我很感激我的学生和博士后科学家。在美国加州大学和佛罗里达大学的教室里我教过他们，实际上，他们也教了我。他们的执着和有见地的问题令我作为一名教师、化学家、分子生命科学家的职业生涯更加厚重而富有意义。

我十分伤感地得知，我的博士后导师Earl R. Stadtman最近逝世了。他是一位高尚的科学家，能不知不觉地让他的所有学生都沉迷于酶学和代谢调控。

Elsevier出版集团的Jacqueline Holding和Caroline Johnson的熟练协助和我的得力学生Mathew Neu的文字编辑加工使我的手稿很快变成这本参考书。我也感谢我合作伙伴Li Lu在我奋力写书期间给予的理解和不断的鼓励。

最重要的是，我感谢Herbert J. Fromm教授，在他的实验室，我开始了我的研究

生涯。我惊叹于他的工作理念，他的工作重点和力度，和他对科学的持久兴奋和激情。他的多底物酶动力学机制的开创性研究和他的不朽著作《初始速度酶动力学》(Initial Rate Enzyme Kinetics)鼓舞了一代科学家将研究酶动力学和机理作为他们追求的职业。为了赞誉他在人品和职业操守上的高风亮节以及我们 40 多年的友谊，我谦恭地为他献上这本书。

Daniel L. Purich

2009 年 10 月

盖恩斯维尔，佛罗里达

(罗贵民 译)