

酶和底物分子之间相互作用力对 扩散控制反应速率的影响*

江 寿 平

(中国科学院上海生物化学研究所)

摘 要

本文是探讨在溶液中酶和底物分子之间相互作用力对扩散控制反应速率的影响,特别考虑到酶分子具有活性中心这一空间结构,及其产生的力场作用,以处理非球形对称扩散过程。我们可看到作用力是如何控制底物分子的扩散及其在酶分子活性中心上的定向作用,以及各种分子力对扩散控制反应速率的影响。文中指出酶与底物分子结合的最大反应速率,而且解释了一些实验结果。此外,给出了在溶液中酶-底物分子反应体系的力场等高线和浓度等高图。

酶是生命活动中一种活跃物质,在常温、常压下,具有催化能力高、专一性强的特性。研究它不仅对了解生命现象十分重要,并且有很大的实际意义,因而引起人们的重视并进行了大量研究工作。为了明了它的催化作用原理,不仅要知道酶分子的结构,也必须研究它与底物之间的相互作用过程,才能较全面地理解它。在溶液中酶和底物分子之间存在着各种相互作用力,这些力对酶-底物扩散控制反应速率的影响还不清楚。过去,在处理溶液中双分子反应时,通常用扩散控制反应理论来估计它的最大反应速率,但没有考虑力场的作用。Debye^[1] 计算了离子溶液中反应速率,Alberty 和 Hammes^[2] 把它搬到酶动力学。可是,他们都仅考虑到库仑力的作用,以球形对称扩散图象来处理。其实,他们都只注意到矛盾的共性,但是,尤其重要的是必须注意矛盾的个性,才有可能了解它的特殊本质和原因。由于酶分子是大分子,它与底物分子之间存在着不止一种力的综合作用;尤其重要的是它具有活性中心,底物分子并不是与酶分子整个表面起反应,力场也不是均一的,因而不是球形对称扩散。“许多理论的真实性是不完全的,经过实践的检验而纠正了它们的不完全性。”正是由于以前球形对称扩散反应理论的不完全性,随着实验技术不断改进提高,使出现了不能解释实验结果的情况。我们以前一些工作,虽引入空间因素和力场因素,但是力场还是以球形对称来处理,也还没有很好表现出活性中心这一个性^[3-6]。

一、酶和底物分子之间的相互作用力

在溶液中,酶和底物分子之间存在着各种力(分子力),关于对这些力的本性和强度的了

本文 1976 年 5 月 3 日收到。

* 周国城、郭志鲲同志参加了本文的讨论。

解,对酶催化作用原理的理解是很重要的.它控制着带电或不带电底物分子的扩散及其在活性中心上定向作用,提供了酶和底物分子结合和克服催化反应的活化能位垒的能量,这些力是:

1. 色散力(伦敦力): 是分子间总是存在的一种一般是没有方向性的吸引力,故是加速反应. 根据 Langbein^[7] 的计算,两个球形大分子或一个大分子与一个小分子间色散位能 U_1 (图 1):

$$U_1(r) \sim \begin{cases} \frac{1}{d} & (\text{当 } d < R_1, R_2 \text{ 时}), \\ \frac{1}{d^6} & (\text{当 } d \gg R_1, R_2 \text{ 时}), \end{cases} \quad (1)$$

式中 $d = r - R_0$, $R_0 = R_1 + R_2$.

Langbein 指出 $d = 0$ 时,即当两球形分子相接触时, $U_1(r) = U_1(R_0)$ 为有限值. 其实, $U_1(R_0)$ 就是两球形分子结合时的色散位能. 对于一般蛋白质与中性小分子在溶液中结合时的色散位能 $U_1(R_0)$ 是每克分子几千卡的大小. 现有资料中色散位能表示式,由于酶和底物的一些参数并不知道,不能直接应用. 但知道了结合时 $U_1(R_0)$, 根据(1)式色散力相互作用位能可以下式表示:

$$U_1(r) = \begin{cases} -U_1(R_0) & (d \leq R_a), \\ -\frac{U_1(R_0)R_a}{d} & (R_a \leq d \leq R_d), \\ -\frac{U_1(R_0)R_a R_d^5}{d^6} & (d \geq R_d), \end{cases} \quad (2)$$

式中 R_a 取 $0.2 \text{ \AA}$, R_d 取 $2.5 \text{ \AA}$. 这个表达式比我们前几篇文章^[3-6]所用的范德华结合位能表示式要自然,合理些. 但通过计算表明,两者相差不大,所以对计算结果影响很小.

2. 离子-离子相互作用(库仑力): 酶分子不仅活性中心以外蛋白质分子上有净电荷,活性中心上也有净电荷,而且后者更为重要. 它们与底物的相互作用位能^[1](图 2):

$$U_2(r, \theta) = \frac{1}{2} \left[\frac{e^{\kappa R_1}}{1 + \kappa R_1} + \frac{e^{\kappa R_2}}{1 + \kappa R_2} \right] \frac{Z_1 Z_2 e^2}{\epsilon r} e^{-\kappa r} \\ + \frac{1}{2} \left[\frac{e^{\kappa R_2}}{1 + \kappa R_2} + \frac{e^{\kappa R_3}}{1 + \kappa R_3} \right] \frac{Z_2 Z_3 e^2}{\epsilon d} e^{-\kappa d} \quad (3)$$

式中 $\kappa = \left[\frac{8\pi N e^2}{10^3 \epsilon k T} I \right]^{\frac{1}{2}}$, $d = r^2 + (R_1 - R_3)^2 - 2(R_1 - R_3)r \cos \theta$, I 是离子强度, Z_1 、 Z_2 、

Z_3 各为蛋白质分子、底物分子、活性中心上净电荷数, ϵ 是介电常数, r 为酶与底物分子中心的距离, d , R_3 分别表示活性中心上净电荷到底物分子中心和到酶分子表面的距离,设 $R_3 = 1.5 \text{ \AA}$. 此外, N 是 Avogadro 常数, k 是 Boltzmann 常数.

3. 离子-偶极相互作用: 酶分子上有净电荷,底物分子是极性分子,则有离子-偶极相互作用,其作用位能:

$$U_3(r, \theta) = \frac{Z_3 e \mu_2}{\epsilon d^2}, \quad (4)$$

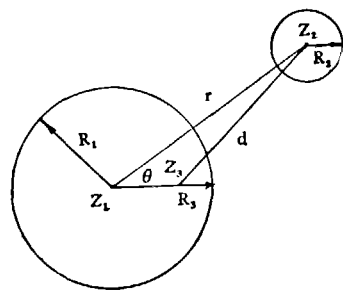


图 2 酶与底物静电相互作用

式中 μ_2 是底物分子偶极矩, 取 $\mu_2 = 2$ 德拜. U_3 是与偶极矩轴和离子相对取向有关, 上式是它们相互作用位能最大和最小时的表示式. 当 Z_3 是负的, 起着吸引作用, 正的则相反. 因活性中心与底物的相互作用是主要的, 故这里和以下仅考虑活性中心上的净电荷或偶极子与底物分子相互作用.

4. 偶极-偶极相互作用: 极性分子的永久偶极子间有静电相互作用, 作用力不仅与它们之间距离还与它们的相对取向有关, 在两偶极子头尾相接取向时的位能, 近似地表示为:

$$U_4(r, \theta) = -\frac{2\mu_2\mu_3}{\epsilon d^3}, \quad (5)$$

其中 μ_3 是活性中心上偶极矩, 取 $\mu_3 = 1.5$ 德拜. 依 μ_2, μ_3 的不同取向, 作用力可以是吸引或排斥, 而上式表示相互作用最大时的情况.

5. 离子-诱导偶极相互作用: 所有的分子在电场中会产生诱导偶极矩, 它的大小由电场的强度和这分子性质决定, 其位能:

$$U_5(r, \theta) = -\frac{3RZ^2e^2}{8\pi N\epsilon^2 d^4}, \quad (6)$$

式中 R 是克分子折射度, 对于酶取 30 毫升/克分子^[8], 底物取 10 毫升/克分子. Z 是活性中心或底物上电荷数, U_5 是相互吸引作用. 除了上述各种作用力外, 还有偶极-诱导偶极相互作用力, 因它作用甚小, 可不考虑它.

二、数学物理处理及结果

酶和底物分子近似地看作是球形分子, 酶分子上有活性中心(图 3), 底物只能在占酶分子总表面积的一小部分活性中心上起反应, 而且由于它的存在出现了力场的不均一性. 因而用球形对称扩散的图象来描绘, 是没有如实地反映客观实际的, 所以我们下面是以非球形对称扩散来描述.

在溶液中, 设酶分子固定, 底物分子在远处浓度为 c_0 , 在活性中心处相遇而起反应(设活化能 $E = 0$). 由于浓度梯度的存在, 底物分子向酶分子扩散, 这个扩散力 $= -\frac{kT}{c} \nabla c$, 扩散过程受到阻力 $= -\rho \frac{d\mathbf{r}}{dt}$, 以及分子之间相互作用力 $-\nabla U$, 则底物分子在溶液中运动的微分方程:

$$-\nabla U - \rho \frac{d\mathbf{r}}{dt} - \frac{kT}{c} \nabla c = m \frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} = 0, \quad (7)$$

其中 $U = U_1 + U_2 + U_3 + U_4 + U_5$, ρ 是摩擦系数, c 及 m 各是底物分子的浓度和质量. 按照我们以前的论文同样处理^[3], 得到流密度:

$$\mathbf{i} = -D e^{-U/kT} \nabla c^*, \quad (8)$$

式中 $c^* = c e^{U/kT}$, $D = D_E + D_S$. D_E , D_S 各为酶和底物分子的扩散系数, T 是绝对温度. 在定态时:

$$\nabla \cdot (e^{-U/kT} \nabla c^*) = 0. \quad (9)$$

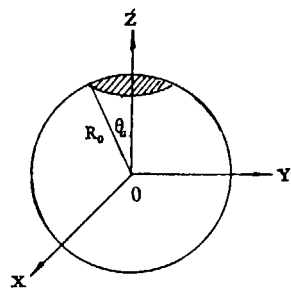


图 3 R_0 是酶分子半径与底物分子半径之和
(斜线部分是活性中心)

边界条件是^[6,9]:

$$\begin{aligned}c^* \Big|_{r \rightarrow \infty} &= c_0 \quad (0 \leq \theta \leq \pi), \\ \frac{\partial c^*}{\partial r} \Big|_{r=R_0} &= 0 \quad (\theta_a < \theta \leq \pi), \\ \frac{\partial c^*}{\partial r} \Big|_{r=R_0} &= \frac{z^*}{D} c^* \quad (0 \leq \theta < \theta_a),\end{aligned}\tag{10}$$

这里 $z^* = \sqrt{\frac{kT}{2\pi m^*}} e^{-E/kT}$, E 是活化能, m^* 是酶分子和底物分子的折合质量, 取 $150^{[1]}$. 由 (8) 式, 得到单位时间扩散到酶分子活性中心的底物分子数是:

$$I = \iint_{S_{R_0}} (-D e^{-U/kT} \nabla c^*)_{r=R_0} \cdot d\mathbf{S}.\tag{11}$$

由此得到酶的扩散控制反应速率的最大限度:

$$k_{\text{lim}} = \frac{1}{c_0} \iint_{S_{R_0}} (D e^{-U/kT} \nabla c^*)_{r=R_0} \cdot d\mathbf{S}.\tag{12}$$

式中 U 和 c 都是 r, θ 的函数.

有了(12)式, 为了分析比较, 我们可以通过计算机来计算下列一些相互作用体系:

1. 设酶和底物分子都是中性非极性分子, 这时仅有位能 U_1 . 也就是说只考虑位能 U_1 .
2. 酶有净电荷, 底物是中性非极性分子, 这时有色散力和由电荷诱导引起的偶极的相互作用 $U_{1,5} = U_1 + U_5$.
3. 酶带电荷, 底物是极性分子, 则相互作用位能应是 $U_{1,3,5} = U_1 + U_3 + U_5$. 这里 Z_3 取 -2 .
4. 设酶和底物分子都仅有偶极子, 则 $U_{1,4} = U_1 + U_4$.
5. 酶和底物分子都只带电荷时, 即带电底物情况, 这时有 $U_{1,2,5} = U_1 + U_2 + U_5$. 计算时 $Z_1 Z_2 = -2$, $Z_2 Z_3 = -4$.
6. 各种作用力都存在时 $U_{1-5} = U_1 + U_2 + U_3 + U_4 + U_5$.
7. 如没有作用力, 即不存在力场时, $U_0 = 0$.
8. 如仅计及酶和底物分子间库仑力相互作用:
 - a) U'_2 是仅由于活性中心和底物分子上净电荷 ($Z_2 Z_3 = -4$) 的作用.
 - b) U'_2 是仅由于蛋白质和底物分子上净电荷 ($Z_1 Z_2 = -4$) 的作用²⁾.

计算结果以 k_{lim} 为纵坐标, θ_a 为横坐标作图 (图 4). 图 4 中曲线 1 表示力场是 U_{1-5} 或 $U_{1,2,5}$ 时的情况, 曲线 2 是相应于 $U_{1,3,5}$ 时, 曲线 3 表示 U_1 , $U_{1,4}$ 或 $U_{1,5}$ 三种情况, 曲线 4 是仅 $Z_2 Z_3 = -4$ 和曲线 5 是仅 $Z_1 Z_2 = -4$ 时带电荷相互作用时情况, 最后 $U_0 = 0$ 以曲线 6 表示. 由于 U_4, U_5 作用很小, 以致不同力场在图中是以同一曲线表示. 对于活性中心最大偏角 $\theta_a = 10^\circ$ 时的计算结果, 列表如下页.

计算时所用的参数, 除上面已经提到和另有注明外(以下同)是:

- 1) m^* 几乎就等于底物分子的质量, 而在我们计算的例子中, 底物分子的质量是几十和一百多, 因它对计算结果没有什么影响, 为了简化计算起见, 就都用 150.
- 2) 这里 Z_1, Z_2 取 -4 是为了便于和 a) 进行比较.

U	U_{1-4}	$U_{1,2,3}$	$U_{1,3,5}$	$U_{1,4}$	$U_{1,5}$	U_1	U'	U''	U_0
$k_{lim} 10^{10}$ 升/克分子·秒	4.056	4.052	3.069	3.058	3.057	3.057	1.352	0.422	0.20

$T = 298K$, $\epsilon = 78.54$, $I = 0.001$, $D = 9 \times 10^{-6}$ 厘米²/秒, $R_1 = 39.5 \text{ \AA}$, $R_2 = 2.5 \text{ \AA}$, $E = 0$, $U = -5$ 千卡/克分子.

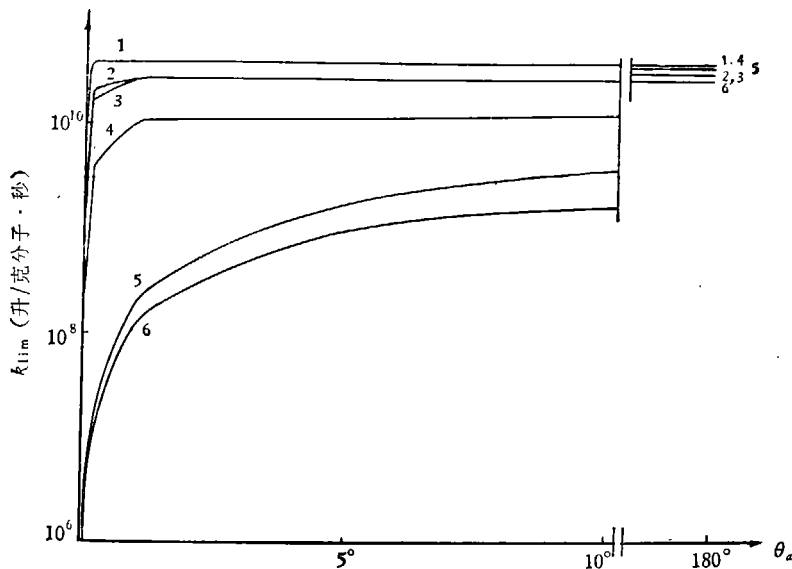


图 4 在各种位能时 k_{lim} 随 θ_a 的变化

三、计算结果的分析讨论

现对上面计算的结果进行一些分析和讨论:

1. k_{lim} 与 θ_a 的关系: 图 4 是表示在各种相互作用力(力场)时 k_{lim} 随 θ_a 变化的情况. 不考虑力场时(图 4 中曲线 6), k_{lim} 随着 θ_a 的加大而增大. 在有力场时, 即 $U \neq 0$ (图 4 中曲线 1—4), 对于一定的作用位能, 当 θ_a 大到某个值, 如 $\theta_a = \Theta$ 后, k_{lim} 随 θ_a 变化很小, 可认为是没变化. 而相互作用的吸引力愈大, 则 Θ 愈小, 并且随着相互作用力的增大而急剧变化. 这是由于力场的存在, 增大了底物分子扩散的推动力, 加速了反应. 可见, 力场对 k_{lim} 的影响与 θ_a 相比, 前者起着主导作用. 而酶-底物分子间有强的相互作用力, 所以计算反应速率时没有考虑它是没有完全反映客观情况. 可是, Koenig 和 Brown^[10] 指出: 把碳酸酐酶分子的整个表面当作活性中心, 按一般扩散控制反应速率公式(没有计及力场)计算, 所得的最大二级反应速率常数和实验结果一致. 这可由图 4 中看见, 在 $\theta_a = 180^\circ$ 处, 即当整个酶分子表面均能起反应, 有力场的 k_{lim} (图 4 中曲线 1—4) 大于无力场时的值(图 4 曲线 6), 这是因为力场的作用, 加速了底物分子向酶分子的扩散, 因而加大了 k_{lim} . 但是它们都在 10^{10} 数量级, 相差又不大, 所以, 在此情况下, 没有考虑力场对结果影响不大. 但是, 酶分子根本不存在整个表面起反应, 并且有力场作用, 如在 $\theta_a = 10^\circ$ 时, 有力场的 k_{lim} 均达到 10^{10} 升/克分子·秒. 有力场的和无力场的 k_{lim} 相差一个数量级(见图 4, 比较曲线 1—4 和曲线 6). 故酶-底物结合反应的 k_{lim} 不是长期以来所认为的是 10^9 升/克分子·秒, 而应该是 10^{10} 升/克分子·秒.

(如用更大的 U_1 和 U_2 进行计算, k_{lim} 可达到 10^{11} 升/克分子·秒, 但客观上是否存在如此情况, 缺乏实验证据)。再比较图 4 中各条曲线, 不难看出色散力和库仑力对 k_{lim} 的影响起主要作用, 离子-偶极相互作用居次, 而偶极-偶极相互作用和离子-诱导偶极的影响是很小的。

2. 定向作用: 为了解释酶有高的催化能力, 有各种说法, 其中 Koshland 提出邻近效应 (Proximity Effects) 和定向效应 (Orientation Effects) 作用, 并定量估计了它们加速酶反应速率的程度, 但没有计及分子间作用力。1970 年他又提出一个有趣的轨道取向 (Orbital Steering) 概念^[11], 但是无论从理论上和实验上都缺乏有说服力的证明, 引起了不少争论。

酶-底物分子之间存在着强的作用力, 这些力随着它们之间距离减小而很快增大, 并使它们以相互作用位能为最小的方式结合, 或认为是使反应基团以最适宜的方式配置。由图 4 中曲线 1—3 可见, 当酶与底物分子结合时, 在 $\theta_a = 0.1^\circ$ 左右时, k_{lim} 就达到 10^{10} 升/克分子·秒的数量级, 也就是说, 它们可被限制在很小的范围内相互作用, 这是酶反应加速的原因之一。比较有力场(图 4 中曲线 1—3)和无力场(图 4 中曲线 6)时的 k_{lim} 值, 在 $\theta_a = 180^\circ$ 时, 二者相差很小; 在 $\theta_a = 10^\circ$ 时, 相差 10 以上; $\theta_a = 1^\circ$ 时, 相差 10^3 以上; 而在 $\theta_a = 0.1^\circ$ 时, 则相差 10^4 左右。它们的差值随着 θ_a 的减小而加大。由此可见, 作用力对定向作用所起的重要作用。这些结果和轨道取向的概念^[11]有共同点。

以上直接说明了由于分子之间作用力引起定向作用, 它们可在很小角度范围内结合, 定量地给出了它的大小, 也意味着酶分子有使反应分子定向的能力, 是酶催化反应比一般化学反应速率加速的因素之一。

四、活性中心上净电荷及其力场等高线

前面所讨论的是考虑了酶分子活性中心及它以外蛋白质综合的作用结果, 但由于活性中心在酶催化反应中起着主导的作用, 现在就来看一下活性中心上净电荷对反应速率的影响。Hammes 和 Alberty^[12] 曾研究净电荷对酶-底物络合物形成速率的影响, 他们是以球形对称扩散出发, 又加了一道客观上不存在的刚性墙, 机械地把底物分子的扩散效应去掉一半来处理。然而, 把酶分子上所有净电荷都集中在分子中心来处理^[4], 是没表现出活性中心这—个性, 也未能较客观地反映酶分子的特性。

近年来, 一些结晶酶分子的 x 光衍射结果表明: 酶分子上带电基团不是均匀地分布在分子表面, 在等电点时, 活性中心上净电荷并不等于零。因而为了更合理地研究酶分子上净电荷对反应速率的影响, 应把酶分子上净电荷分成二部分: 即由活性中心上净电荷和它以外蛋白质上净电荷二部分组成。由于底物分子只能在活性中心处起反应, 它们很接近, 故相互作用力很强, 把底物分子拉向活性中心, 有很大的定向作用, 故它在反应中起主要作用。在图 4 中曲线 4 是表示仅活性中心上净电荷的作用 ($Z_2Z_3 = -4$); 曲线 5 表示只蛋白质分子上有净电荷 ($Z_1Z_2 = -4$) 时作用, 这时净电荷是假设位在分子中心。从图 4 可见, 仅活性中心上有净电荷, 在 $\theta_a = 10^\circ$ 时, k_{lim} 就可达到 10^{10} 升/克分子·秒。比较曲线 4 和 5 可见, 在 $\theta_a = 10^\circ$ 时, 两者的 k_{lim} 相差数倍, 其差值随 θ_a 的减小而增大, 这就说明了如把活性中心上净电荷看成是集中在分子中心来处理的不合理性。

图 5 表示在 $\theta_a = 10^\circ$ 时, $Z_2Z_3 = -4$, k_{lim} 随 Z_1Z_2 变化的情况, 其中曲线 1 是相应于 $R_0 = 42 \text{ \AA}$, 曲线 2 是 $R_0 = 20 \text{ \AA}$, 其它参数具有 $U_{1,2,5}$ 的相同。由图 5 可见, 当酶分子与底

物分子带异性电荷时, 则 k_{lim} 随着电荷数增加而增大; 而带同性电荷时, 情况恰相反. 再比较曲线 1 和 2 可见, 曲线 2 随电荷变化比曲线 1 大, 反映了把净电荷集中在酶分子中心时对 k_{lim} 的影响, 随着分子减小而加大. 意味着把酶分子上所有净电荷, 特别活性中心上净电荷看成是位于分子中心来处理, 随着分子增大而愈偏离实际情况. 但从图 5 又可见, 它们的差别随着 $-Z_1Z_2$ 的增大而减小. 因而, 对酶这样大分子, 不能无条件地照搬处理小分子的方法.

现在再来考察一下酶分子周围力场的分布情况: 计算结果以 r 和 θ 作为坐标轴, 描绘相互作用位能等值线, 得到图 6, 它表示酶分子周围力场分布情形, 图中坐标原点: $\theta = 0$ 和

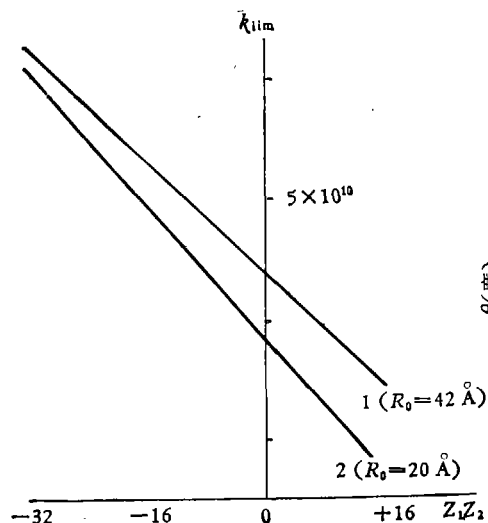


图 5 当 $Z_1Z_2 = -4$ 时, k_{lim} 随 Z_1Z_2 的变化

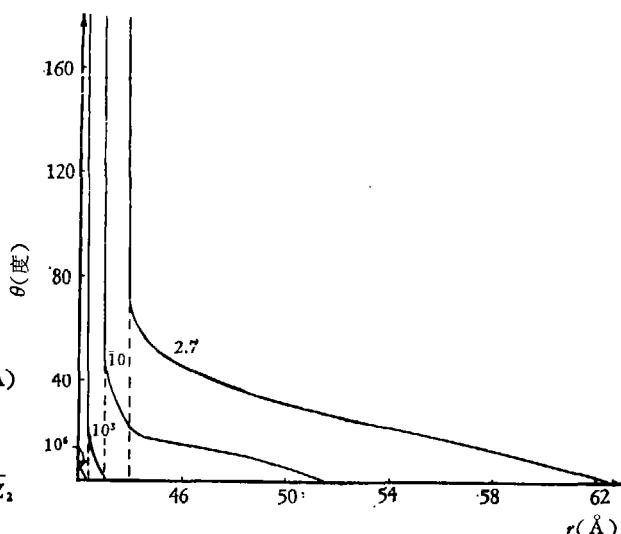


图 6 酶分子周围力场等高线
(图中数字是 $e^{-U/kT}$ 值)

$r = R_0 = 42 \text{ Å}$. 实线曲线表示具有全部作用力时(其中 $Z_1Z_2 = +2$)和虚线表示 $U_{1,3,5}$ 时的力场等高线. 如以相互作用位能减小到等于 kT 时的距离作为作用距离, 由图 6 可见, 如从酶分子中心算起, 这时库仑力作用距离可达到 60 Å 左右, 是远程力. 但如把净电荷集中在酶分子中心来处理, 显然这时力场是以分子为中心的同心圆线, 与球分子方向无关. 如取 $Z_1Z_2 = -4$, 则在 $R_0 = 42 \text{ Å}$ 处, 位能就小于 kT , 因而如把活性中心上的净电荷把它位于酶分子中心上来处理, 就会得到它对反应速率影响很微小这样不恰当的结论. 在从图 6 可见, 由于 U_3 、 U_5 作用小, 而 U_1 是球形对称的, 故 $U_{1,3,5}$ 的位能曲线几乎与 θ 无关. 而 U_{1-5} 中含有库仑位能, 在活性中心净电荷附近(参看图 2), 位能很强, 并随着 r 、 θ 很大变化. 这可想像为在活性中心附近有很大的作用力, 它把底物分子拉向活性中心, 并使底物分子定向, 这些或许是较客观地反映了活性中心在酶和底物分子结合过程中的作用.

五、酶-底物反应体系浓度等高图

在溶液中, 酶与底物相互作用过程中的浓度分布, 对于无力场存在, 球形对称扩散时的情况是简单的, 但对有力场存在, 非球形对称时情况如何还未曾见到. 如果有了浓度分布图, 能帮助人们较形象地了解作用全景, 有助于对催化作用的理解. 我们通过计算机计算, 给出了在

$\theta_a = 10^\circ$ 时,酶和底物相互作用体系的底物浓度等高图(图 7). 图中酶分子是通过它的球形分子中心的剖面图(参看图 3), 活性中心最大偏角 $\theta_a = 10^\circ$ 如图 7 中所示, 图中曲线是围绕着酶分子表面的底物浓度等高线(每一条曲线表示一种浓度), 实线表示的作用是 $U_{1,3,5} = U_1 + U_3 + U_5$, 而虚线表示的是仅酶分子活性中心处净电荷 ($Z_2 Z_3 = -4$) 作用时的浓度分布情况, 曲线旁边的数字表示底物分子的浓度值. 设在酶分子远处底物浓度 $c_0 = 1$, 图中仅表示出距酶分子不远处的浓度分布情况. 距酶分子愈远, 底物分子浓度分布愈与 θ 无关, 愈接近 c_0 . 由图 7 中曲线可见:

1. 在力场 $U_{1,3,5}$ 时,酶分子表面底物分子浓度甚高, 而且随距离增大而急骤下降, 它比远处可大数百倍. 对于仅活性中心处有净电荷(有库仑力)时, 酶表面不出现高的浓度, 由此可见, 酶表面高的底物分子浓度是色散力在起主要作用. 正是它的表面有高浓度梯度, 加快了向活性中心扩散, 因而加大了扩散反应速率.

2. 仅活性中心处有净电荷存在产生的作用, 则在它的附近底物浓度高于远处, 因而有足够分子起反应.

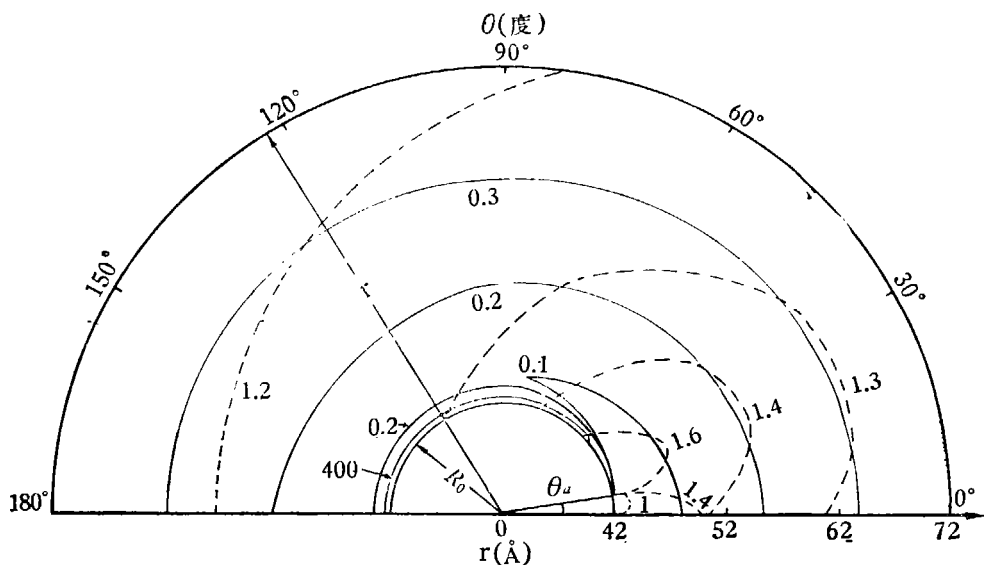
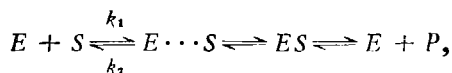


图 7 酶分子周围底物分子浓度等高图

由上可见,考虑了力场以后,在酶分子表面和活性中心附近,底物分子浓度提高了,用不着如 Koenig 和 Brown^[10]为了解释碳酸和碳酸酐酶结合反应的二级反应速率常数大于传统的扩散控制反应公式计算所得的结果,而在原来公式加进在酶分子邻近,由于 $H^+ + CO_3^{2-} \rightarrow H_2CO_3$ 的复合反应,使在活性部位有足够的 H_2CO_3 流这样一项.

六、大分子结合反应的例子

酶反应可表示成:



E , S 及 P 各代表酶、底物和产物。在溶液中酶-底物结合反应如以扩散控制过程进行时, k_1 的最大值是扩散控制反应速率最大限度 $k_{lim}(E=0)$, 而一般是小于 k_{lim} 。长期以来, k_{lim} 是以 10^9 升/克分子·秒作为最大限度, 但是一些酶反应, 实验得到的 k_1 值打破了这个最大限度, 其中有:

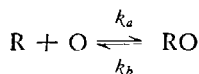
1. 碳酸酐酶: 碳酸在碳酸酐酶的作用下进行脱水反应^[10], 实验测得 $k_1 = 1.5 \times 10^{10}$ 升/克分子·秒, 而按传统二级反应速率常数最大限度是 10^9 升/克分子·秒, 相差一个数量级, 考虑了色散力后, k_{lim} 可达到 10^{10} 升/克分子·秒的数量级^[3]。实际上, 底物 H_2CO_3 虽不带电荷, 但它是极性分子, 应考虑偶极-离子相互作用, 所以它的作用位能不单是 U_1 , 而应该是 $U_1 + U_3 + U_5$ 。若取 $R_0 = 20 \text{ \AA}$, $D = 7 \times 10^{-6}$ 厘米²/秒, 在 $\theta = 10^\circ$ 时, 计算得 $k_{lim} = 1.3 \times 10^{10}$ 升/克分子·秒, 和实验结果一致。

2. 反丁烯二酸酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶: Alberty 和 Hammes^[2] 研究了反丁烯二酸酶和反丁烯二酸离子的反应, 指出在 25°C , $I = 0, 0.001$ 时, 二级反应速度常数 k_1 的最小值各为 3×10^{10} 、 1.7×10^{10} 升/克分子·秒, 他们假设每个活性中心带 2 个正电荷, 而蛋白质分子上净电荷为零, 又设每个酶分子有 6 个活性中心, 要酶分子与底物分子上电荷乘积 $Z_e Z_s = -24$, 计算所得 k_{lim} 值, 在 $I = 0$ 时才大于实验值。然而, 如把酶上所有净电荷都位于分子中心, 仅仅考虑这库仑力的作用, 要得到同样的 k_{lim} 值, 所需的电荷数还要大得多, 是不符合客观的。但如按我们前面那样处理, 设活性中心上净电荷 +2, 蛋白质分子上的净电荷 -1, 底物分子上带有一2的电荷来计算, 仅考虑 $U = U_1 + U_2 + U_5$, $I = 0.001$, $R_0 = 42 \text{ \AA}$ 。在 $\theta_a = 10^\circ$ 时的 $k_{lim} = 3.5 \times 10^{10}$ 升/克分子·秒。如仅考虑活性中心上净电荷的作用, 前面已谈到, 只要 $Z_e Z_s = -4$, 就可达到 1.35×10^{10} 升/克分子·秒。

Kirschner^[13] 和他的同事研究酵母甘油醛-3-磷酸脱氢酶和 NAD^+ 结合反应, 得到二级反应速率常数是 10^{10} 升/克分子·秒, 超过了通常扩散控制反应速率的上限。这个酶和它的底物均带电荷, 按前面计算可知, 它完全可达到 10^{10} 升/克分子·秒的数量级。

除了酶与底物结合反应速率有超过 10^9 升/克分子·秒的例子, 就是蛋白-核酸相互作用反应速率也有不符合按传统的扩散控制反应速率公式的结果。

3. *lac* 阻遏物——操纵子相互作用: Riggs^[14] 等研究阻遏物和操纵子的结合反应, 以下式表之:



R 、 O 各代表阻遏物和操纵子, k_a 和 k_b 各为缔合和解离速度常数。他们实验测到 $k_0 = 7 \times 10^9$ 升/克分子·秒, 按传统公式计算得到 RO 形成的最大速率常数是 10^8 升/克分子·秒的数量级, 相差一个数量级。他们的计算是没有计及 R 与 O 之间的相互作用力, 其实, 它们之间存在着色散力和库仑力等。正如他们实验表明的, 静电力在 R 与 O 结合中起重要作用。因而, 如按我们方法处理, 考虑了色散力和库仑力的作用, 就可达到实验值。

参 考 资 料

- [1] Debye, P., *Trans. Electrochem. Soc.*, **82** (1942), 265.
- [2] Alberty, R. A. & Hammes, G. G., *J. Phys. Chem.*, **62** (1958), 154.
- [3] Chou, K. C. & Jiang, S. P., *Scientia Sinica*, **17** (1974), 664.
- [4] Chou, K. C., Kuo, C. K. & Li, T. T., *ibid.*, **18** (1975), 366.
- [5] Li, T. T. & Chou, K. C., *ibid.*, **19**(1976), 117.
- [6] Chou, K. C., *ibid.*, **19** (1976), 505.
- [7] Langbein, D., *Phys. Rev. B.*, **2** (1970), 3371.
- [8] Webb, J. L., *Enzyme and Metabolic Inhibitors*, Vol. 1, 1963, Chap. 6, P 193, New York and London: Academic Press.
- [9] 李子才、江寿平,酶-底物反应体系的浓度分布和数值解法(待发表).
- [10] Koenig, S. H. & Brown, R. D., *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **69** (1972), 2422.
- [11] Strom, D. R. & Koshland, D. E. Jr., *ibid.*, **66** (1970), 445.
- [12] Hammes, G. G. & Alberty, R. A., *J. Phys. Chem.*, **63** (1959), 274.
- [13] Kirschner, K. et al., *J. Mol. Biol.*, **58** (1971), 29.
- [14] Riggs, A. D., et al., *ibid.*, **53** (1970), 401.