

DOI:10.13398/j.cnki.issn1673-260x.2019.02.011

## 试论高温致酶失活时反应底物是否还在进行反应的问题

赵 毅

(华南农业大学 生命科学学院生物化学与分子生物学系, 广东 广州 510642)

摘要:高温致酶失活时,反应底物的活化分子还在生成,故还在进行反应.只是由于生成的活化分子数少,反应速率远不及有酶催化时的程度,所以不一定能够测定出反应速率.

关键词:高温;酶;失活;底物分子;反应

中图分类号:Q55 文献标识码:A 文章编号:1673-260X(2019)02-0034-02

温度影响酶活性之规律,是酶促反应动力学中的一个重要内容.前人的研究工作表明,在温度从低到高的变化过程中,酶活性的变化呈现“吊钟形曲线”,即随着温度由低温向高温变化,酶活性先是随温度的升高而增加,当升至某一温度时,酶活性达到最大,即达到最适温度(optimum temperature);而随着温度的进一步升高,酶活性却逐渐下降,直至酶不表现酶活性.这在一般的生物化学理论教材中都有介绍<sup>[1-9]</sup>.至于如何解释这种温度影响酶活性的“吊钟形曲线”规律,不同的教材<sup>[1-9]</sup>中一般都谈到,一方面随着温度的升高,酶促反应速率加快,而另一方面,由于酶的化学本质是蛋白质,在高温时会变性失活,故随着温度的升高,酶活性会下降.有的进一步指出,由于这两方面的对立统一,故在最适温度<sup>[1-3]</sup>或0~40℃<sup>[9]</sup>之前,随着温度的升高而酶活性增加,即以前一种情况为主,而超过最适温度之后,则随着温度的升高而酶活性下降,即以后一种情况为主.

那么,在高温致酶失活时,反应底物是否还在进行反应呢?

关于这个问题,不妨做如下分析.生物化学理论讲到<sup>[1-9]</sup>,酶只能催化热力学上能够进行的反应.因此,在考察酶促反应速率的规律时,首先必须注意到在该反应条件下反应物本身是否能进行反应,其次是酶的催化作用以及影响酶活性的因素可能带来的影响.因此,当在一个适于反应物进行反应的条件,一旦加入了酶这种生化反应的催化剂后,酶便是决定该反应体系中反应物的化学反应速率的根本性的、主导性的因素了.生物化学理论<sup>[1-9]</sup>已经指出,一旦加入了酶,则由其催化作用所致的该反应体系中反应物(即该酶的底物)的化学反应速率比只有反应物(即该酶的底物)分子时甚至是

加入了非酶催化剂时所能进行的反应速率往往可以高达多个数量级.显然,这就是测酶活性时实验数据的主要来源.因此,一旦酶活性受到某种因素的影响,则酶催化底物进行的反应速率就会受到影响.

具体来分析温度影响酶活性的规律之前,不妨先看看以下这些例子.

许强等<sup>[10]</sup>利用圆二色性光谱技术对产自嗜热放线菌 M1033 菌株的葡萄糖异构酶受温度的影响进行了研究,证实在所取 20℃、40℃、60℃、70℃、80℃这几个温度点,随着温度的升高,酶的 $\alpha$ -螺旋度降低,酶分子构象发生改变,结构趋于松散.在其最适温度 70℃时,酶的构象中的 $\alpha$ -螺旋度为 11.6%.可见,酶分子构象中的 $\alpha$ -螺旋度适当,才有利于酶催化反应.酶分子构象中的 $\alpha$ -螺旋度过大,则因其结构紧密而不利于葡萄糖的结合;而酶分子构象中的 $\alpha$ -螺旋度过小,则会彻底破坏酶蛋白的氢键结构或其他结构而导致酶结构不可逆的破坏.总之,葡萄糖异构酶分子的构象受温度的影响而发生了变化,其变化与酶活力的变化有明显的对应关系.

王延枝课题组<sup>[11]</sup>利用圆二色性光谱,考察了在非最适温度 25℃与最适温度 37℃条件下纯化的大豆液泡膜 H<sup>+</sup>-ATPase 的二级结构的变化,证实该酶的圆二色性光谱对温度敏感.在 25℃、37℃分别保温 10 分钟和 20 分钟时,酶蛋白 $\alpha$ -螺旋含量减少,而且与 25℃相比较,37℃保温时酶蛋白构象的变化更为剧烈、迅速.该课题组<sup>[12]</sup>在用荧光猝灭技术分别考察了该酶的蛋白质疏水区域和亲水区域在 25℃与 37℃条件下的变化后发现,在温度上升越多、在高温条件下处理时间越长时,酶蛋白的折叠程度越大,其疏水区 and 亲水区的构象更趋于紧密.

刘映秋等<sup>[13]</sup>在对蕹菜类囊体膜蛋白磷酸酯酶

收稿日期:2018-10-19

荧光性质的研究中证实,在 10 到 30℃ 范围内,蛋白荧光峰位置和强度变化不大,而在 40 到 90℃ 范围内荧光强度升高再下降.有意思的是,其荧光强度升高的区域又恰在其最适温度 50℃ 附近.

这些例子都表明,在温度由低温升至最适温度以及由最适温度继续升温的过程中,酶本身的构象都程度不一地有所变化,并与酶的催化作用的变化相对应.

在研究温度影响酶活性的规律的反应体系中,除温度发生变化外,其他条件都要保持不变.现有生物化学理论告诉我们,当在温度由低温向高温的变化过程中,反应物分子中的活化分子毫无疑问是逐步增加的,其反应速率也是增加的<sup>[1-9]</sup>,即使没有酶这个催化剂的存在也是如此.因此,从以上分析可以看到,而一旦加入了酶后,酶对底物分子间的反应速率的主导性影响便显现出来.由于酶的化学本质是蛋白质,故温度的变化会对其构象产生影响,从而影响到酶活性.在温度由低温升至最适温度的过程中,酶的构象逐渐变化,从而更加适宜于催化反应的进行,酶的催化能力也就越大.这时,反应体系中的底物分子中的活化分子数就不仅仅因为温度的升高而增加,同时也更因为酶的催化作用的增强而大大增加,故而所测得的酶活性就越大.而在温度由最适温度继续升高的过程中,酶的构象虽也逐渐变化,但却更加不适宜于催化反应的进行,酶的催化能力也就逐渐变小以至于完全因酶变性而失去.这时,尽管反应体系中的底物分子中的活化分子数仍然会因为温度的升高而增加,然而原本因酶的催化作用所致的底物分子中的活化分子数大大增加的情况却因此而逐渐减弱以至于消失,故而此时所测得的酶活性就会逐渐降低以至于因为底物分子中的活化分子数少而不足以显示出能够测定到的反应速率值.实际上,当酶变性失活时,所测反应体系中的反应速率也就无所谓酶活性或酶促反应的速率了.

从以上分析可知,当高温致酶构象变化失活而不能进行催化反应时,底物分子中的活化分子仍然生成,但此时其生成的程度远不能达到酶的催化作用存在时的程度,以至于底物的反应虽然还在进行,但不一定能测得出来.

由此进一步分析可知,由于在酶促反应体系中,酶是影响决定酶促反应速率的根本性因素,而温度升高导致底物分子不断活化从而加快反应的进行这一因素却属于次要因素,所以才导致温度对酶活性的影响呈现“吊钟形曲线”这个现象.也正因为这样,如果现在教材里面比较详细地做上述分析的话,初学者就会比较容易理解目前教材里面对温度影响酶活性的机制的解释,即本文开头一段介绍的目前教材里面的内容.

目前,酶在涉及工农业生产方面的基础研究与应用过程中,仍然有相当重要的作用<sup>[14-17]</sup>.本文的探讨将有助于分析理解影响酶活性的因素的作用,以提高酶的利用效率.

#### 参考文献:

- [1] 李宪臻.生物化学[M].武汉:华中科技大学出版社,2008.124-175.
- [2] 许激扬.生物化学(第2版)[M].南京:东南大学出版社,2010.69-94.
- [3] 刘祥云,蔡马.生物化学(第三版)[M].北京:中国农业出版社,2010.44-76.
- [4] 朱圣庚,徐长法.生物化学(上册,第4版)[M].北京:高等教育出版社,2017.212-277.
- [5] 张楚富.生物化学原理[M].北京:高等教育出版社,2003.100-156.
- [6] 张洪渊.生物化学原理[M].北京:科学出版社,2006.169-189.
- [7] 杨志敏,蒋立科.生物化学(第2版)[M].北京:高等教育出版社,2010.140-189.
- [8] 赵宝昌.生物化学(第2版)[M].北京:高等教育出版社,2009.69-98.
- [9] 赵武玲.基础生物化学(第2版)[M].北京:中国农业大学出版社,2013.110-155.
- [10] 许强,黄友梅.温度对葡萄糖异构酶影响的光谱研究[J].内蒙古石油化工,1997(23):12-16.
- [11] 王志强,董彩华,王延枝.温度和底物对大豆液泡膜 H<sup>+</sup>-ATPase 二级结构的影响[J].生物物理学报,2000,16(3):489-493.
- [12] 董彩华,王志强,王延枝.大豆液泡膜 H<sup>+</sup>-ATPase 功能与构象关系的初步研究[J].生物化学与生物物理进展,2000,27(6):624-628.
- [13] 刘映秋,杜林方,张年辉.金属离子等因素对蕈菜类囊体膜蛋白磷酸酯酶荧光性质的影响[J].四川大学学报(工程科学版),2003,35(3):74-78.
- [14] 梁东丽,谷洁,秦清军,李生秀,高华.农业废弃物静态高温堆肥过程中纤维素酶活性的变化[J].环境科学学报,2009,29(2):323-329.
- [15] 温玉龙,张文娟,邵长芬,朱冠宇,郭金丽.高温和干旱胁迫对2种景天植物膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2014,35(3):37-40.
- [16] 张勃,赵春海,霍宁波.低温淀粉酶菌种分离纯化与发酵生产研究[J].食品研究与开发,2018,39(10):158-163.
- [17] 方程,张佩华.饲用酶制应用研究进展[J].湖南饲料,2018(2):30-32,38.