

第3章 酶催化反应动力学 (2学时)

主要内容:

- 3.1 酶催化反应速度
- 3.2 底物浓度对酶促反应速度的影响
- 3.3 抑制剂对酶促反应速度的影响
- 3.4 其它因素对酶促反应速度的影响

• 酶催化反应动力学也称酶促反应动力学（kinetics of enzyme-catalyzed reactions），是研究酶促反应速度以及影响此速度的各种因素的科学。在研究酶的结构与功能的关系以及酶的作用机制时，需要酶促反应动力学提供相关的实验证据；为了找到**最有利的反应条件**从而提高酶催化反应的效率以及了解酶在代谢过程中的作用和某些药物的作用机制等，也需要我们掌握酶促反应动力学的相关规律。因此，对于酶促反应动力学的研究既有重要的理论意义又具有相当的实践价值。

酶的动力学研究包括哪些内容

?

- 酶促反应动力学以化学动力学为基础，通过对酶促反应速度的测定来讨论诸如底物浓度、抑制剂、温度、**pH** 和激活剂等因素对酶促反应速度的影响。

- 温度、pH 及激活剂都会对酶促反应速度产生十分重要的影响，酶促反应不但需要最适温度和最适 pH，还要选择合适的激活剂。而且在研究酶促反应速度以及测定酶的活力时，都应选择相关酶的最适反应条件。

3.1 酶催化反应速度

- 如果我们以产物生成量（或底物减少量）来对反应时间作图，便可以得到如图 3-1 所示的曲线图。

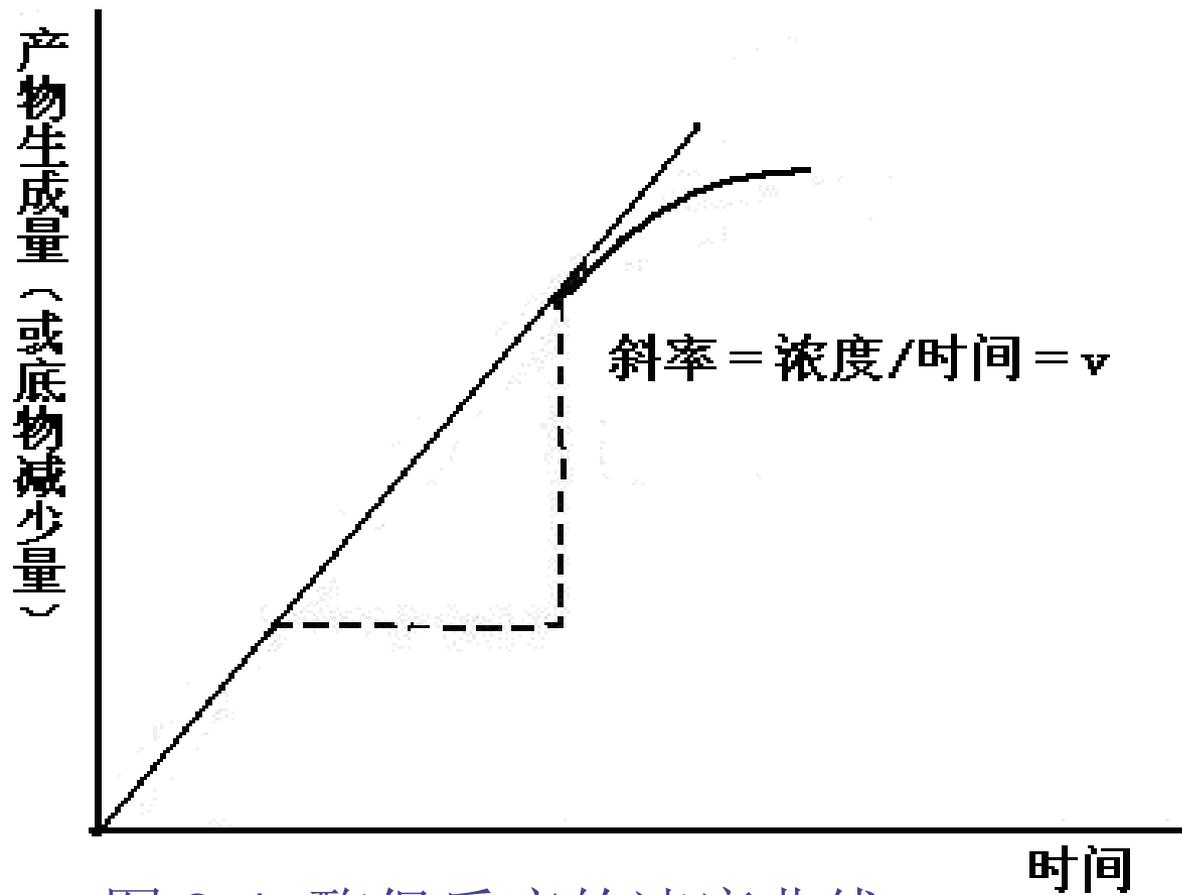


图 3-1 酶促反应的速度曲线

该曲线的斜率表示单位时间内产物生成量的变化，因此曲线上任何一点的斜率就是相应横坐标上时间点的反应速度。从图中的曲线可以看出在反应开始的一段时间内斜率几乎不变，然而随着反应时间的延长，曲线逐渐变平坦，相应的斜率也渐渐减小，反应速度逐渐降低，显然这时测得的反应速度不能代表真实的酶活力。

- 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。因此在测定酶活力时，应测定酶促反应的初速度，从而避免上述各种复杂因素对反应速度的影响。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。

酶活力测定时需注意：

- 1 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。
- 2 速度要快，取反应的初速度
- 3 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

测定酶活力的基本原理

酶蛋白的含量很低，很难直接测定其蛋白质的含量，且常与其他各种蛋白质混合存在，将其提纯耗时费力。故不能直接用重量或体积等指标来衡量。

- 测定产物增加量
- 测定底物减少量

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

3.2 底物浓度对酶促反应速度的影响

- 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，当酶浓度不变时，可以测出一系列不同底物浓度下的化学反应速度，以该反应速度对底物浓度作图，可得到如图 3-2 所示的曲线。

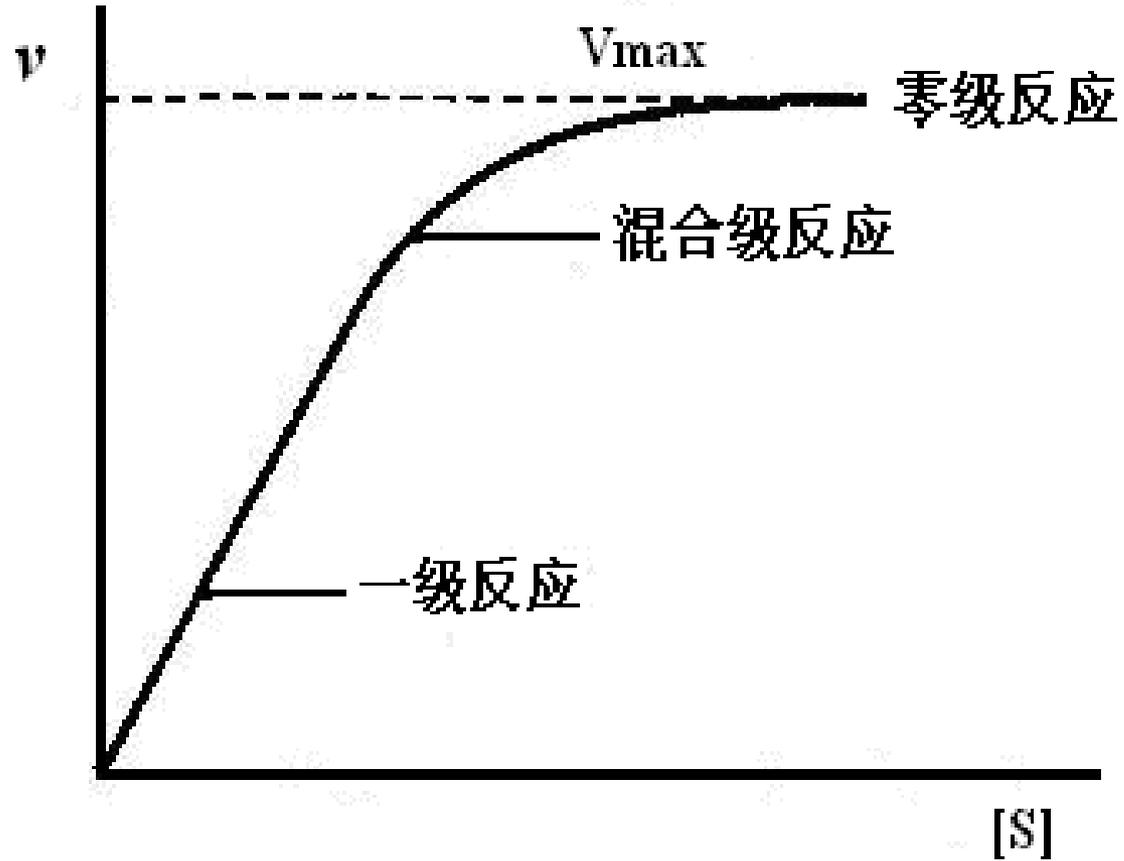
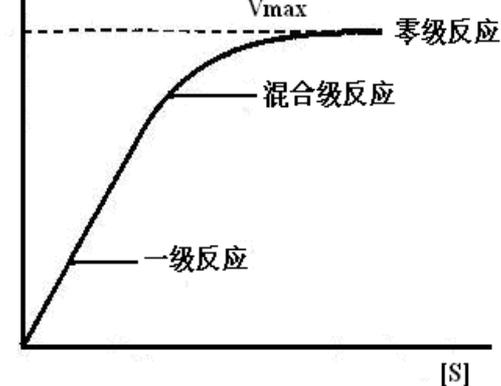


图 3-2 底物浓度对酶促反应速度的影响

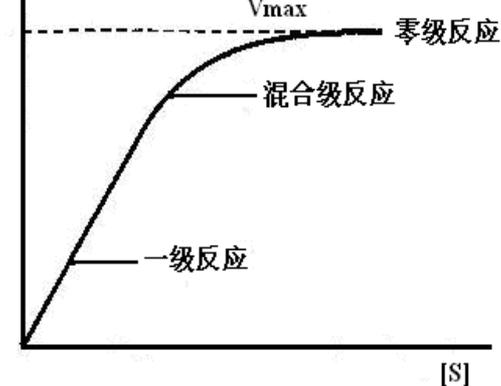
- 从该曲线图可以看出，当底物浓度较低时，反应速度与底物浓度的关系呈正比关系，反应表现为一级反应。然而随着底物浓度的不断增加，反应速度不再按正比升高，此时反应表现为混合级反应。当底物浓度达到相当高时，底物浓度对反应速度影响逐渐变小，最后反应速度几乎与底物浓度无关，这时反应达到最大反应速度（ V_{max} ），反应表现为零级反应。

- 根据这一实验结果， Henri 和 Wurtz 提出了酶促化学反应的酶底物中间络合物学说。该学说认为：当酶催化某一化学反应时，酶 (E) 首先需要和底物 (S) 结合生成酶底物中间络合物即中间复合物 (ES)，然后再生成产物 (P)，同时释放出酶。该学说可以用下面的化学反应方程式来表示：





我们根据中间络合物学说很容易解释图 3-2 所示的实验曲线，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，根据质量作用定律，中间复合物 **ES** 生成也不断增多，而反应速度取决于 **ES** 的浓度，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}** ）。当我们以底物浓度 **[S]** 对反应速度 **v** 作图时，就形成一条双曲线。在此需要特别指出的是，只有酶促催化反应才会有这种饱和现象，而与此相反，非催化反应则不会出现这种饱和现象。

酶促反应的动力学方程式（米氏方程）

- 1913 年 Michaelis 和 Menten 两位科学家在前人工作的基础上，根据酶促反应的中间络合物学说，推导出一个数学方程式，用来表示底物浓度与酶反应速度之间的量化关系，通常把这个数学方程式称为米氏方程：

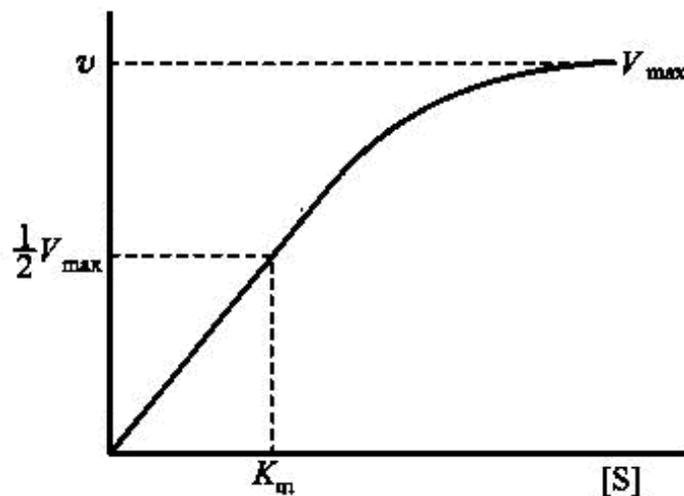
$$V = \frac{V_{max}[S]}{(K_m + [S])}$$

其中 K_m 称为米氏常数

米氏常数的含义

- K_m 值就代表着反应速度达到最大反应速度一半时的底物浓度。

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



米氏常数的应用价值

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

- ① **Km** 是酶的一个特征性常数：也就是说 **Km** 的大小只与酶本身的性质有关，而与酶浓度无关。
- ② **Km** 值还可以用于判断酶的专一性和天然底物，**Km** 值最小的底物往往被称为该酶的最适底物或天然底物。
- ③ **Km** 可以作为酶和底物结合紧密程度的一个度量指标，用来表示酶与底物结合的亲和力大小。
- ④ 已知某个酶的 **Km** 值，就可以计算出在某一底物浓度条件下，其反应速度相当于 **Vmax** 的百分比。
- ⑤ **Km** 值还可以帮助我们推断具体条件下某一代谢反应的方向和途径，只有 **Km** 值小的酶促反应才会在竞争中占优势。

3.3 抑制剂对酶促反应速度的影响

- 由于酶的本质是蛋白质，凡可使酶蛋白变性而引起酶活力丧失的作用都称为失活作用 (inactivation)。如果由于酶必需基团的化学性质发生改变，但酶并未发生变性，而引起酶活力降低或丧失的作用则称为抑制作用 (inhibition)。导致酶发生抑制作用的物质称为抑制剂 (inhibitor)。

- 由于抑制作用与变性作用从本质而言是不同的，因此与变性剂对酶的变性作用无选择性不同的是，抑制剂对酶的抑制作用是有选择性的，即一种抑制剂只能使某一种酶或对某一类酶产生抑制作用。

- 对酶抑制作用的探讨是研究酶的结构与功能、酶的催化机制以及阐明机体代谢途径的基本手段，也可以为医药产业中设计新药物和农业生产中设计新农药提供重要的理论依据，从这个角度而言，对酶抑制作用的研究不仅具有重要的理论意义，而且具有突出的实践价值。

3.3.1 抑制作用的类型

- 根据抑制剂与酶的作用方式的区别以及抑制作用是否可逆，我们可以将抑制作用分为两大类，即：
 - 不可逆的抑制作用
 - 可逆的抑制作用。

3.3.1.1 不可逆的抑制作用

- 由于抑制剂与酶的必需基团以共价键的形式结合而引起酶活力降低或丧失，因此不能用透析、超滤等物理方法去除抑制剂而使酶复活，这种抑制作用是不可逆的，我们称之为不可逆抑制。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。

不可逆抑制剂

- 通常把不可逆抑制剂分为两种类型，即非专一性不可逆抑制剂和专一性不可逆抑制剂。

① 非专一性不可逆抑制剂 主要包括以下六大类：

- a) 有机磷化合物
- b) 有机汞、有机砷化合物：抑制含巯基的酶。
- c) 重金属盐：能使酶蛋白变性而失活。
- d) 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。
- e) 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。
- f) 青霉素（ Penicillin ）：
 - 青霉素可通过与糖肽转肽酶活性部位丝氨酸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。

② 专一性不可逆抑制剂 可以分为 **Ks** 型和 **Kat** 型两大类。

- a) **Ks** 型不可逆抑制剂：具有与底物相类似的结构
- b) **Kat** 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** ）。

3.3.1.2 可逆的抑制作用

- 由于抑制剂与酶以非共价键的形式结合而引起酶活力降低或丧失，但是能用透析、超滤等物理方法除去抑制剂而使酶复活，这种抑制作用是可逆的，我们称之为可逆抑制 (reversible inhibition)

。

- 根据可逆抑制剂与底物的关系，我们将可逆抑制作用分为三种类型，它们分别是竞争性抑制、非竞争性抑制和反竞争性抑制。

• ① 竞争性抑制 (**competitive inhibition**)

:

- 是最常见的一种可逆抑制作用。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。这是由于酶的活性部位不能同时既与底物结合又与抑制剂结合，所以在底物和抑制剂之间会产生竞争，从而形成一定的平衡关系。

- 对于绝大多数竞争性抑制剂而言，其结构与底物结构十分类似，因此也能与酶的活性部位结合形成可逆的酶 - 抑制剂复合物 **EI**，但酶 - 抑制剂复合物 **EI** 不能分解成产物 **P**，导致相应的酶促反应速度下降。其抑制程度取决于底物和抑制剂的相对浓度，可以通过增加底物浓度的方法来解除这种抑制作用。这类抑制最典型的例子是丙二酸和戊二酸竞争与琥珀酸脱氢酶结合，但不能催化脱氢反应。

- ② 非竞争性抑制 (**noncompetitive inhibition**) :

— 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**。但是这种中间的三元复合物，即酶 - 底物 - 抑制剂复合物 **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。

— 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 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 等对酶的抑制作用也属于这一类。

③ 反竞争性抑制 (uncompetitive inhibition) :

- 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, 即酶 - 底物 - 抑制剂复合物 **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。目前已经证明，胍类化合物对胃蛋白酶的抑制作用、氰化物对芳香硫酸酯酶的抑制作用、**L-Phe** 和 **L-** 同型精氨酸等多种氨基酸对碱性磷酸酶的抑制作用都属于反竞争性抑制。

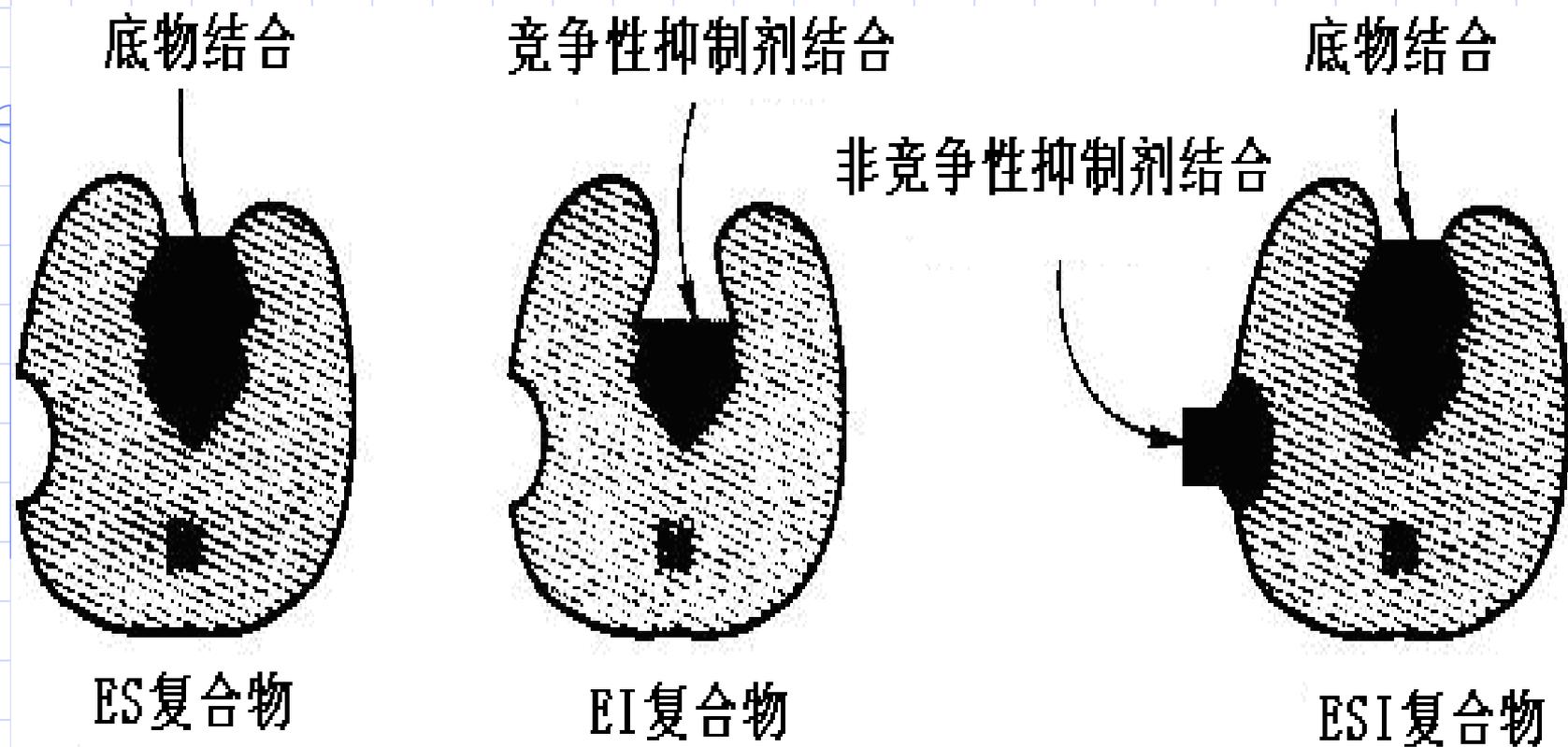


图 3-3 酶与底物或抑制剂结合的中间物

3.3.2 可逆抑制作用和不可逆抑制作用的鉴别

- 鉴别可逆抑制作用和不可逆抑制作用，除了用透析、超滤和凝胶过滤等物理方法能否除去抑制剂来判断外，还可采用化学动力学的方法来区分。

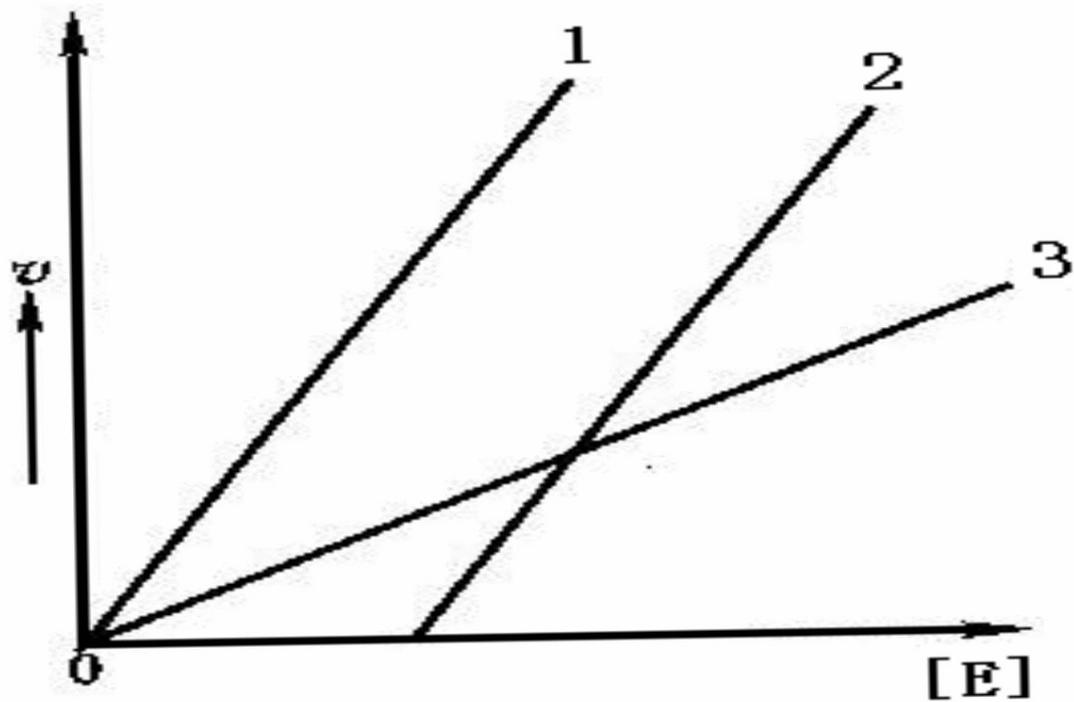


图 3-4 可逆抑制剂与不可逆抑制剂的区别 (一)
曲线 1, 无抑制剂; 曲线 2, 不可逆抑制剂; 曲线 3, 可逆抑制剂

- 在测定酶活力的系统中加入一定量的抑制剂，然后测定不同酶浓度条件下的酶促反应初速度，以酶促反应初速度对酶浓度作图。在测定酶活力的系统中不加抑制剂时，以酶促反应初速度对酶浓度作图得到如图 3-4 曲线 1 所示的一条通过原点的直线；当测定酶活力的系统中加入一定量的不可逆抑制剂时，由于抑制剂会使一定量的酶失活，因此只有加入的酶量大于不可逆抑制剂的量时，才表现出酶活力。

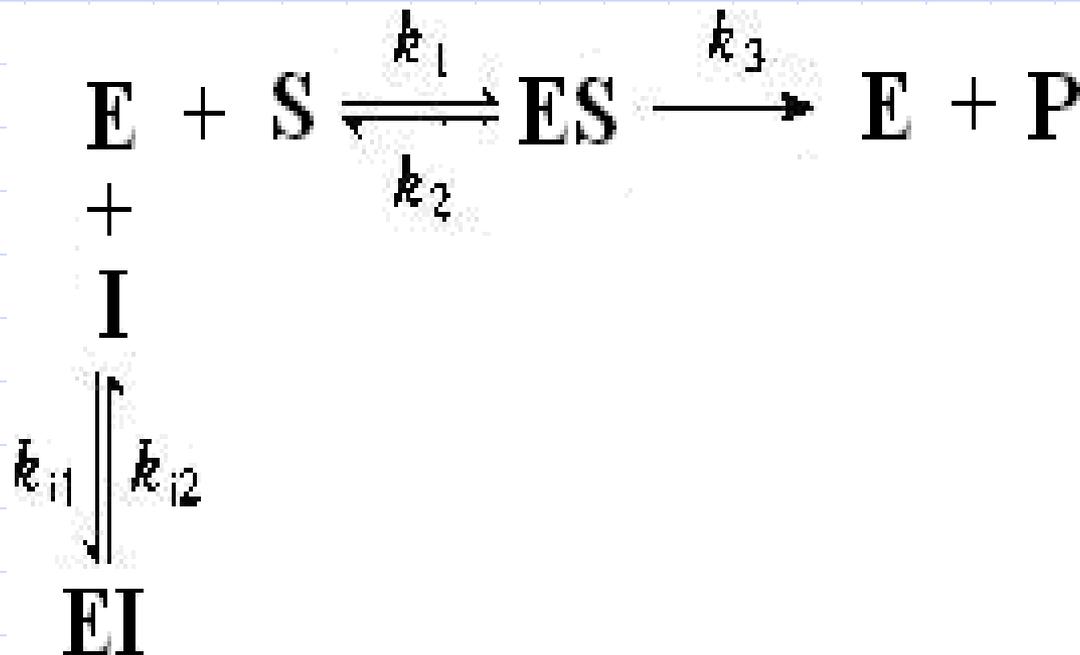
以酶促反应初速度对酶浓度作图得到如图 3-4 曲线 2 所示的一条与曲线 1 平行的相交于横坐标正侧的直线，所以不可逆抑制剂的作用相当于把原点向右移动；当测定酶活力的系统中加入一定量的可逆抑制剂时，由于抑制剂的量是恒定的，因此以酶促反应初速度对酶浓度作图得到如图 3-4 曲线 3 所示的一条通过原点，但斜率较低于曲线 1 的直线。

3.3.3 可逆抑制作用动力学

- 对于可逆抑制剂与酶结合后产生的抑制作用，可以根据米氏学说基本原理加以推导，来定量说明可逆抑制剂对酶促反应速度的影响，下面着重讨论三种类型可逆抑制作用的化学动力学。

3.3.3.1 竞争性抑制

- 在竞争性抑制中，底物 (S) 或抑制剂 (I) 与酶 (E) 的结合都是可逆的，因此存在着如下的化学平衡式：



- 在加入竞争性抑制剂后， V_{max} 不变， K_m 变大， $K_m' > K_m$ ，而且 K_m 随抑制剂浓度 $[I]$ 的增加而增加。抑制分数与抑制剂浓度 $[I]$ 成正比，而与成反应物浓度 $[S]$ 反比。双倒数作图所得直线相交于纵轴，这就是竞争性抑制作用的特点。

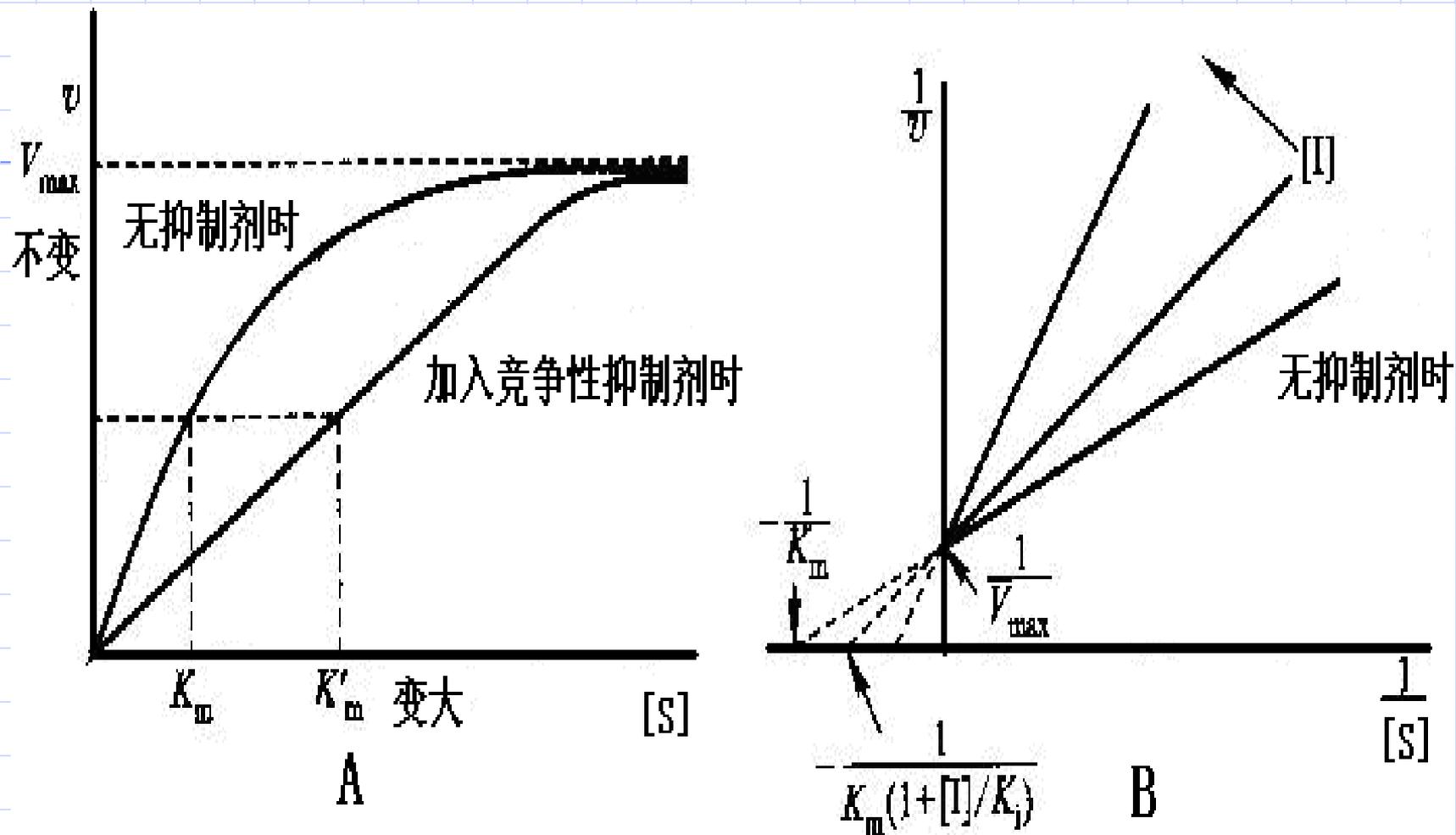
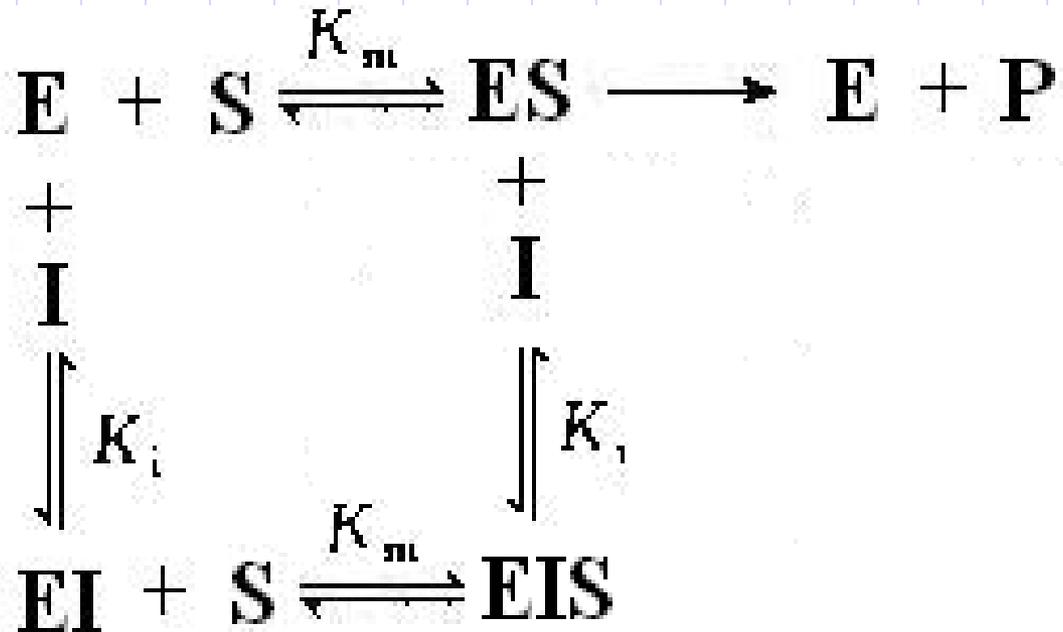


图 3-5 竞争性抑制曲线

3.3.3.2 非竞争性抑制

- 在非竞争性抑制中，抑制剂 (I) 与酶 (E) 或酶 - 底物复合物 (ES) 以及底物 (S) 与酶 - 抑制剂复合物 (EI) 的结合都是可逆的，因此存在着如下的化学平衡式：



- 在加入非竞争性抑制剂后， K_m 值不变， V_{max} 变小，而且 $K_m' = K_m$ ， V_{max} 随 $[I]$ 的增加而减小。抑制分数与抑制剂浓度 $[I]$ 成正比，而与底物浓度 $[S]$ 无关，即 $[I]$ 不变时，任何 $[S]$ 的抑制分数是一个常数。双倒数作图所得直线相交于横轴，这是非竞争性抑制作用的特点。

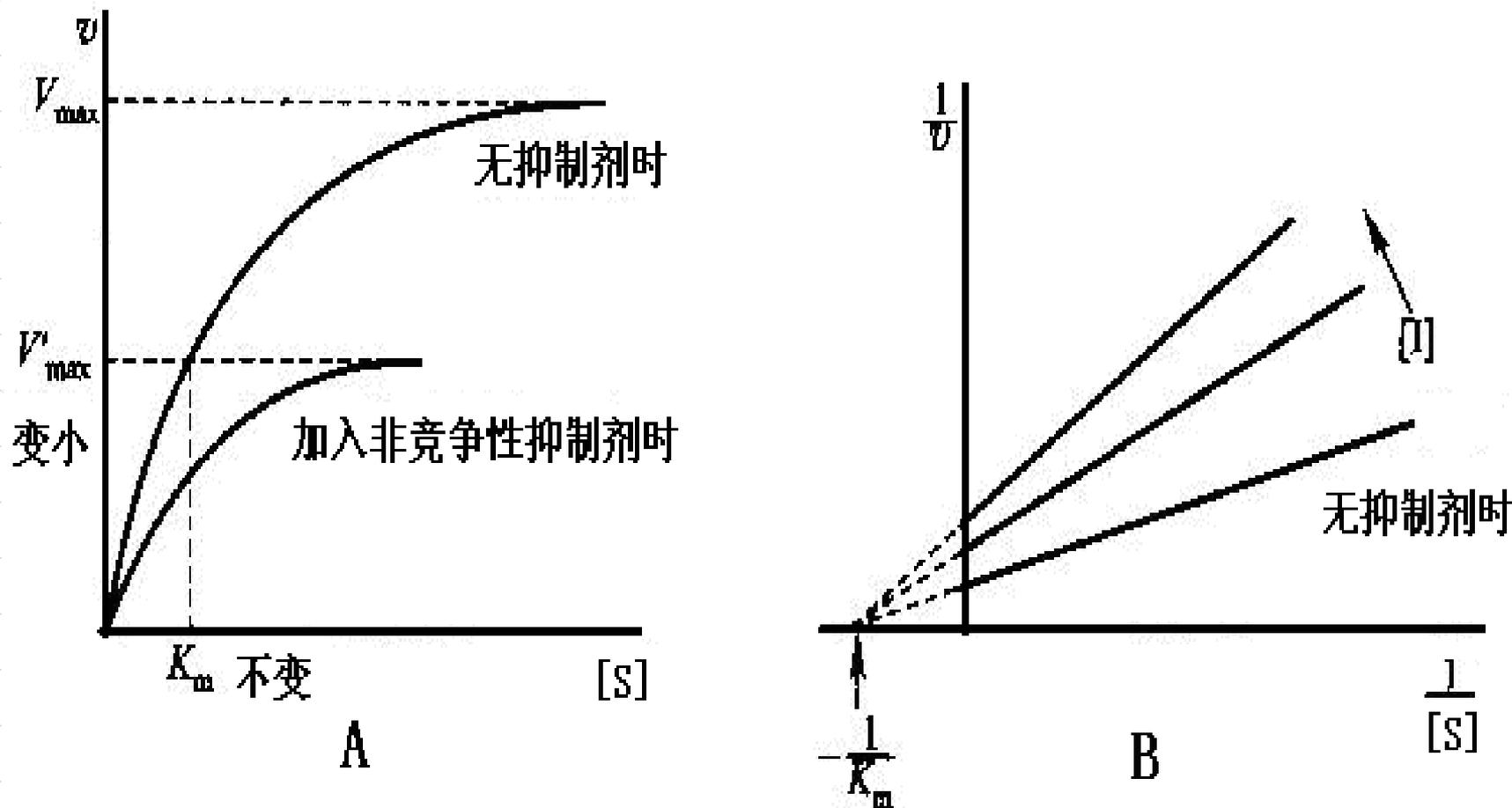


图 3-6 非竞争性抑制曲线

- 在加入反竞争性抑制剂后， K_m 及 V_{max} 都变小，而且 $K_m' < K_m$ ， $V_{max}' < V_{max}$ ，即表观 K_m 及表观 V_{max} ，都随 $[I]$ 的增加而减小。抑制分数既与抑制剂浓度 $[I]$ 成正比，也与底物浓度 $[S]$ 成正比。双倒数作图为一组平行线，这是反竞争性抑制作用的特点。

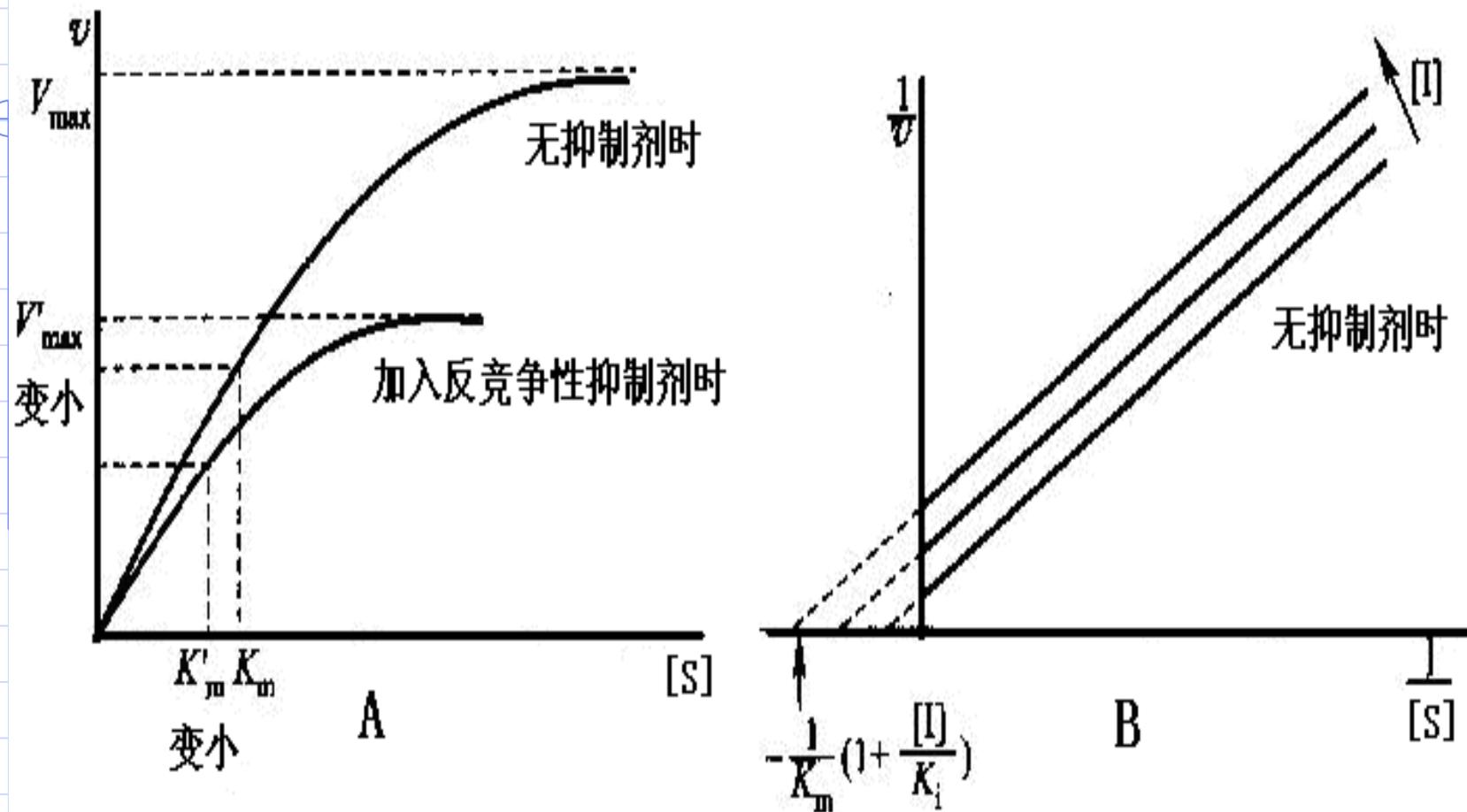


图 3-7 反竞争性抑制曲线

- 为了方便理解和记忆，我们现将无抑制剂和有抑制剂等不同情况下的米氏方程和 V_{\max} 及 K_m 的变化总结归纳在表 3-1 中。

表 3-1 各种不同情况下的米氏方程和常数

类型	方程式	V_{\max}	K_m
无抑制剂	$v = V_{\max} [S] / (K_m + [S])$	V_{\max}	K_m
竞争性抑制	$v = V_{\max} [S] K_i / (K_m K_i + K_m [I] + K_i [S])$	不变	增加
非竞争性抑制	$v = V_{\max} [S] K_i / (K_m + [S]) (K_i + [I])$	减小	不变
反竞争性抑制	$v = V_{\max} [S] K_i / (K_m K_i + [S] K_i + [S] [I])$	减小	减小

- 为了便于比较三种抑制类型的区别，我们可以用 Dixon 作图法求 K_i ，只要以抑制剂浓度 $[I]$ 为横坐标，以酶促反应速度的倒数 $1/v$ 为纵坐标，采用一个以上的底物浓度 $[S]$ ，然后给出不同 $[S]$ 时的直线，再由这些直线的交点即可以得到 K_i ，如图 3-8 所示。

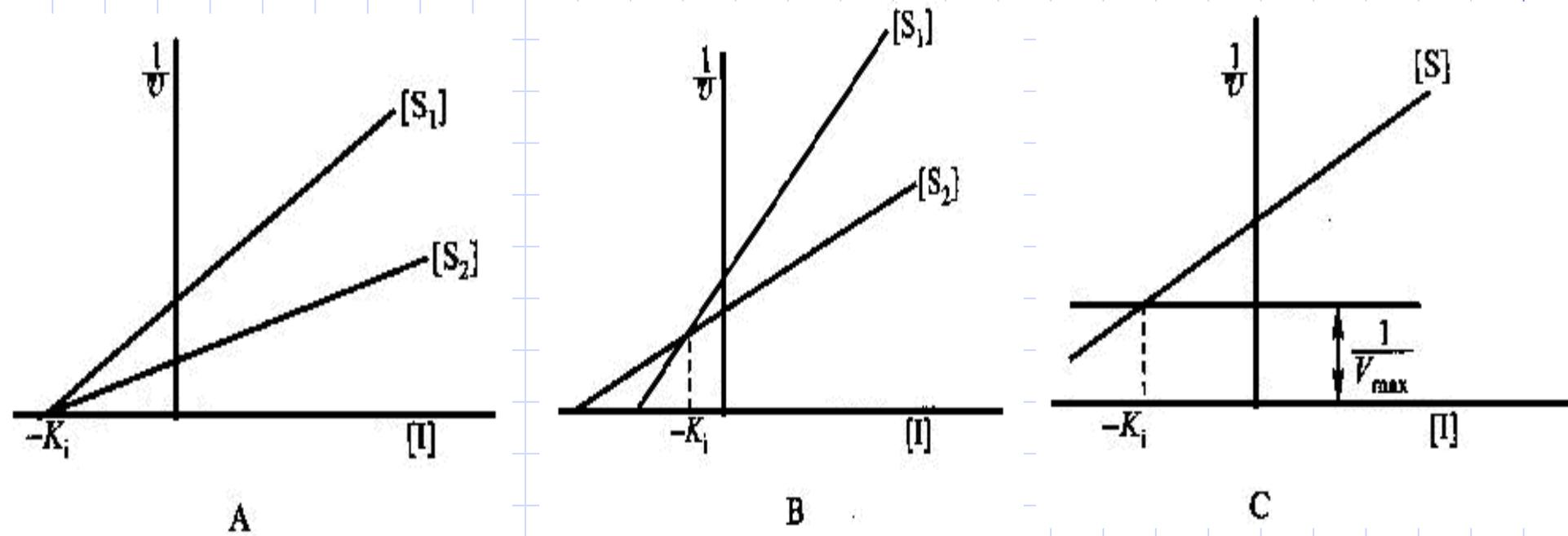
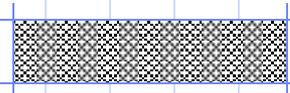


图 3-8 Dixon 作图法求 K_i ($[S_2] > [S_1]$)

- A. 非竞争性抑制 B. 竞争性抑制 C. 反竞争性抑制



3.4 其它因素对酶促反应速度的影响

- 其它各种影响酶促反应速度的因素主要包括温度、pH 和激活剂等。

3.4.1 温度对酶促反应速度的影响

- 和绝大多数化学反应一样，酶促化学反应速度也和温度密切相关。温度对酶促化学反应速度的影响主要表现在两个方面，其一是当温度升高时，与一般化学反应一样，反应速度加快，这种影响可以用反应的温度系数来衡量。

- 所谓反应的温度系数是指反应温度提高 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，其反应速度与原来反应速度之比，通常用 Q_{10} 来表示。对大多数酶而言，酶促化学反应的温度系数 Q_{10} 多为 2，即温度每升高 10°C ，酶促化学反应速度为原反应速度的 2 倍。其二是由于酶的本质是蛋白质，因此随着温度逐渐升高，酶蛋白会因逐渐变性而失活从而导致酶促化学反应速度下降。

在不同温度条件下进行某种酶促化学反应，然后将所测得的酶促反应速度相对于温度来作图，即可得到如图 3-9 所示的钟罩形曲线。从该曲线我们可以看出，在较低的温度范围内，酶促化学反应速度随温度升高而增大，但在超过一定温度后，酶促化学反应速度不见上升反而下降，因此只有在某一温度条件下，酶促化学反应速度达到最大值，通常把这个温度称为酶促化学反应的最适温度 (optimum temperature)。在一定条件下每种酶都有其催化反应的最适温度。

酶所表现的最适温度是上述两种影响综合作用的结果。在酶促化学反应的最初阶段，酶蛋白的变性尚未表现出来，第一个方面的影响占主导地位，因此反应速度随温度升高而增加；但当反应温度逐渐高于最适温度时，酶蛋白变性逐渐突出，第二个方面的影响逐渐取代第一个方面的影响从而占主导地位，反应速度随温度升高的效应也将逐渐被酶蛋白变性效应所抵消，反应速度开始迅速下降，因此表现出酶促化学反应的最适温度。

- 一般来说，动物细胞内的酶最适温度一般为 $35 \sim 40^{\circ}\text{C}$ ，植物细胞中的酶最适温度较动物细胞中稍高，通常在 $40 \sim 50^{\circ}\text{C}$ 之间，而微生物中的酶最适温度差别则较大，如用于进行 PCR 反应的 Taq DNA 聚合酶的最适温度可高达 70°C 。

- 需要指出的是，最适温度不是酶的特征物理常数，相反它常常受到其他各种条件如底物种类、作用时间、pH 和离子强度等因素影响。如最适温度随酶促反应进行时间的长短而改变，这是因为温度使酶蛋白发生变性效应是随时间而逐步累加的。一般而言，酶促反应进行时间长时酶的最适温度低，酶促反应进行时间短则最适温度高，所以只有在规定的酶促反应时间内才可确定酶的最适温度。

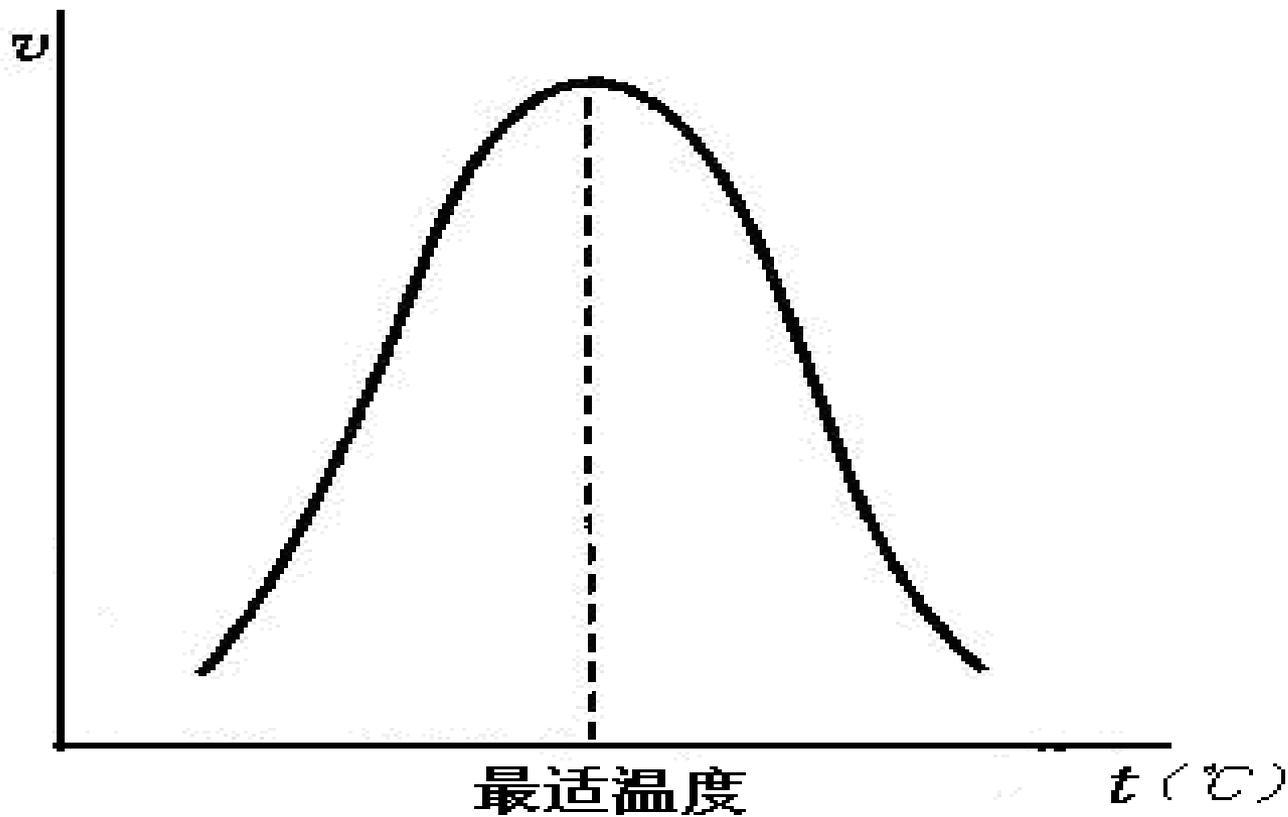


图 3-9 温度对酶促反应速度的影响

酶在固体状态下比在溶液中对温度的耐受力更高。酶的冰冻干粉制剂通常在冰箱中可存放几个月以上，而酶溶液一般在冰箱中只能保存数周。所以酶制剂以固体保存为佳。

4.5.2 pH 对酶促反应速度的影响

- 除温度影响之外，酶的活力还受到环境 pH 的影响。通常在一定 pH 下，酶会表现出最大活力，而一旦高于或低于此 pH，酶活力就会降低，我们把表现出酶最大活力时的 pH 称为该酶的最适 pH，在不同 pH 条件下进行某种酶促化学反应，然后将所测得的酶促反应速度相对于 pH 来作图，即可得到如图 3-10 所示的钟罩形曲线。

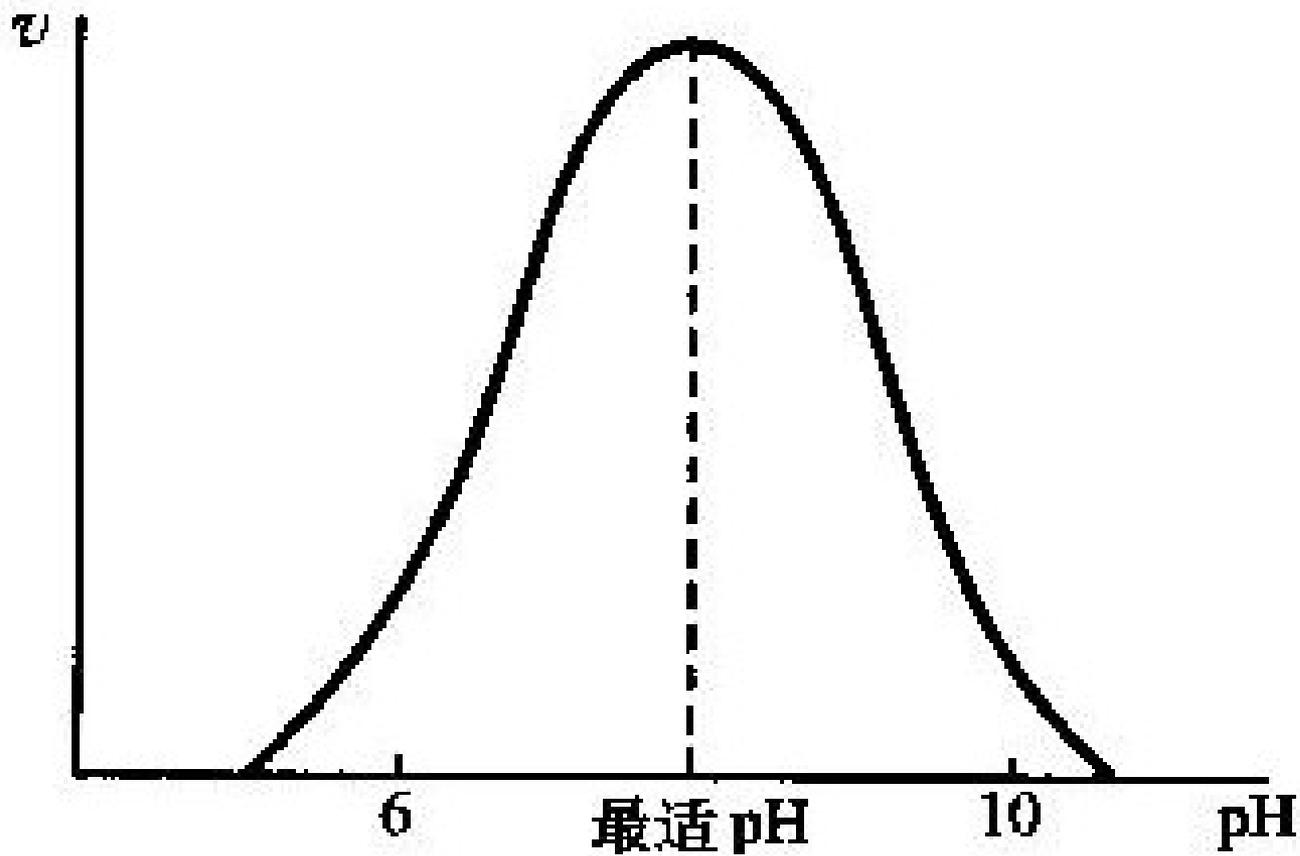


图 3-10 pH 对酶活力的影响

- 与酶促化学反应的最适温度不同的是，各种酶在一定条件下都有其特定的最适 pH，因此最适 pH 是酶的特性之一。但是酶的最适 pH 并不是一个常数，它受诸如底物种类和浓度、缓冲液种类和浓度等众多因素的影响，因此只有在一定条件下最适 pH 才有意义。

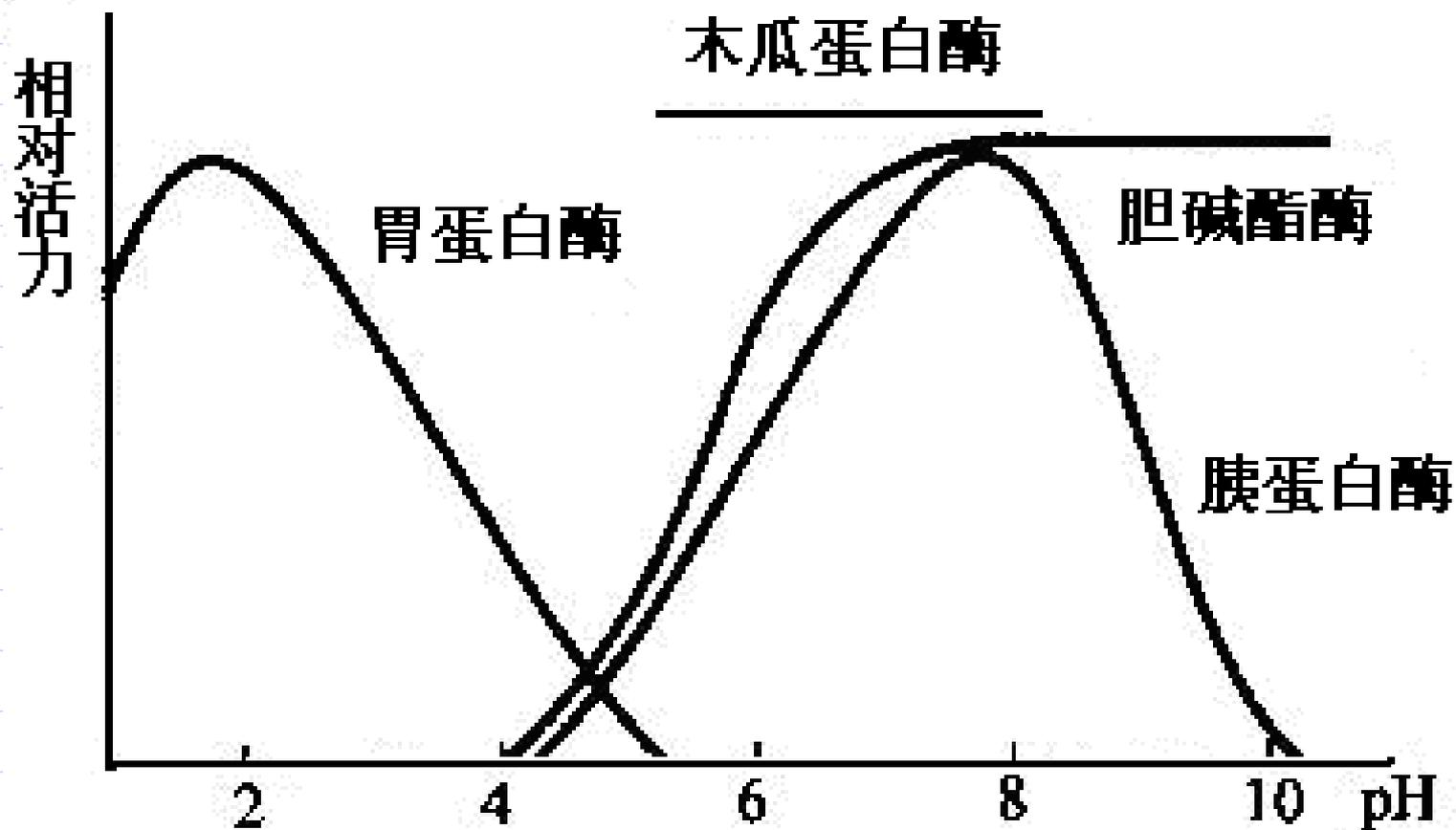
- 绝大多数酶的最适 pH 在 5 ~ 8 之间，动物体内的酶最适 pH 多在 6.5 ~ 8.0 之间，植物及微生物中的酶最适 pH 多在 4.5 ~ 6.5 左右。但并不排除例外，如胃蛋白酶的最适 pH 为 1.5，肝中精氨酸酶最适 pH 为 9.7 等等。

● pH 影响酶活力的原因可能包括以下几个方面：

- (1) 过酸或过碱使酶的空间结构遭到破坏，引起酶变性从而导致酶构象的改变、酶活性随之丧失。
- (2) 当 pH 改变不是十分剧烈时，酶虽未发生变性，但其活力已经受到影响。这是由于 pH 影响了底物的解离状态或酶分子活性部位上有关基团的解离状态或酶 - 底物复合物的解离状态，而使底物不能与酶结合形成酶 - 底物复合物，或者形成酶 - 底物复合物后不能生成产物，使酶活性降低。

- (3)pH 影响了与维持酶分子空间结构有关的基团解离，从而改变酶活性部位的构象，进而降低了酶的活性。

4种 pH- 酶活性曲线



3.4.3 激活剂对酶促反应速度的影响

- 与抑制剂相对的是，凡是能提高酶活性的物质都称为激活剂 (activator)，而激活剂中大部分是无机离子或简单的有机化合物。作为激活剂的金属离子主要包括 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 及 Fe^{2+} 等离子，无机阴离子主要包括 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 CN^- 、 PO_4^{4-} 等。如 Mg^{2+} 可以作为多种激酶及合成酶的激活剂， Cl^- 可以作为唾液淀粉酶的激活剂。

● 激活剂对酶的作用具有一定程度的选择性，即一种激活剂只对某种酶起激活作用，而对另一种酶可能不起任何作用或起抑制作用，如对脱羧酶而言有激活作用的 Mg^{2+} 对肌球蛋白腺三磷酶却有抑制作用；而对脱羧酶而言有抑制作用的 Ca^{2+} 对肌球蛋白腺三磷酶却有激活作用。有时各种离子之间有拮抗作用，如被 K^+ 激活的酶会受 Na^+ 的抑制，被 Mg^{2+} 激活的酶会受 Ca^{2+} 的抑制。有时金属离子的作用也可以相互替代，如作为激酶的激活剂的 Mg^{2+} 可被 Mn^{2+} 所代替。

- 除此以外，可因浓度不同，同一种激活剂对于同一种酶会起不同的作用，如对于 NADP^+ 合成酶，当 Mg^{2+} 浓度为 $(5 \sim 10) \times 10^{-3} \text{mol} / \text{L}$ 时起激活作用酶活性上升，但当浓度升高到 $30 \times 10^{-3} \text{mol} / \text{L}$ 时酶活性下降；如果用 Mn^{2+} 代替 Mg^{2+} ，则在 $1 \times 10^{-3} \text{mol} / \text{L}$ 起激活作用酶活性上升，高于此浓度时则起抑制作用酶活性下降。

- 除了上面提到的金属离子之外，有些小分子有机化合物也可作为酶的激活剂。例如对木瓜蛋白酶和甘油醛 3- 磷酸脱氢酶等含巯基的酶而言半胱氨酸，还原型谷胱甘肽等还原剂对其有激活作用，它们可使酶中二硫键还原成巯基从而提高酶活性。因此在分离纯化木瓜蛋白酶和甘油醛 3- 磷酸脱氢酶等含巯基的酶过程中，往往需加半胱氨酸，还原型谷胱甘肽等还原剂，以保护巯基不至于在分离纯化过程中被氧化。

- 1、酶的动力学研究包括哪些内容？以 L-B 图式表示竞争性抑制、非竞争性抑制及反竞争性抑制的区别。
- 2、简述米氏常数的含义及应用价值，可逆抑制和不可逆抑制的区别？