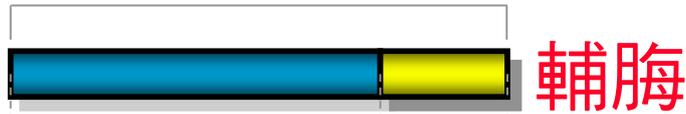


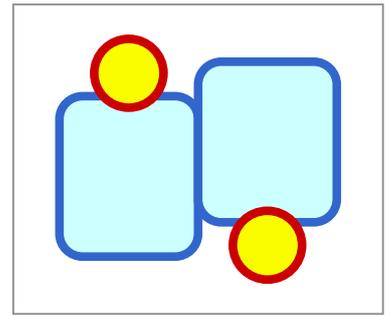
## 2.1 酵素的構成

Holoenzyme

全酶



多元體



Cofactor 金屬

Coenzyme

維生素

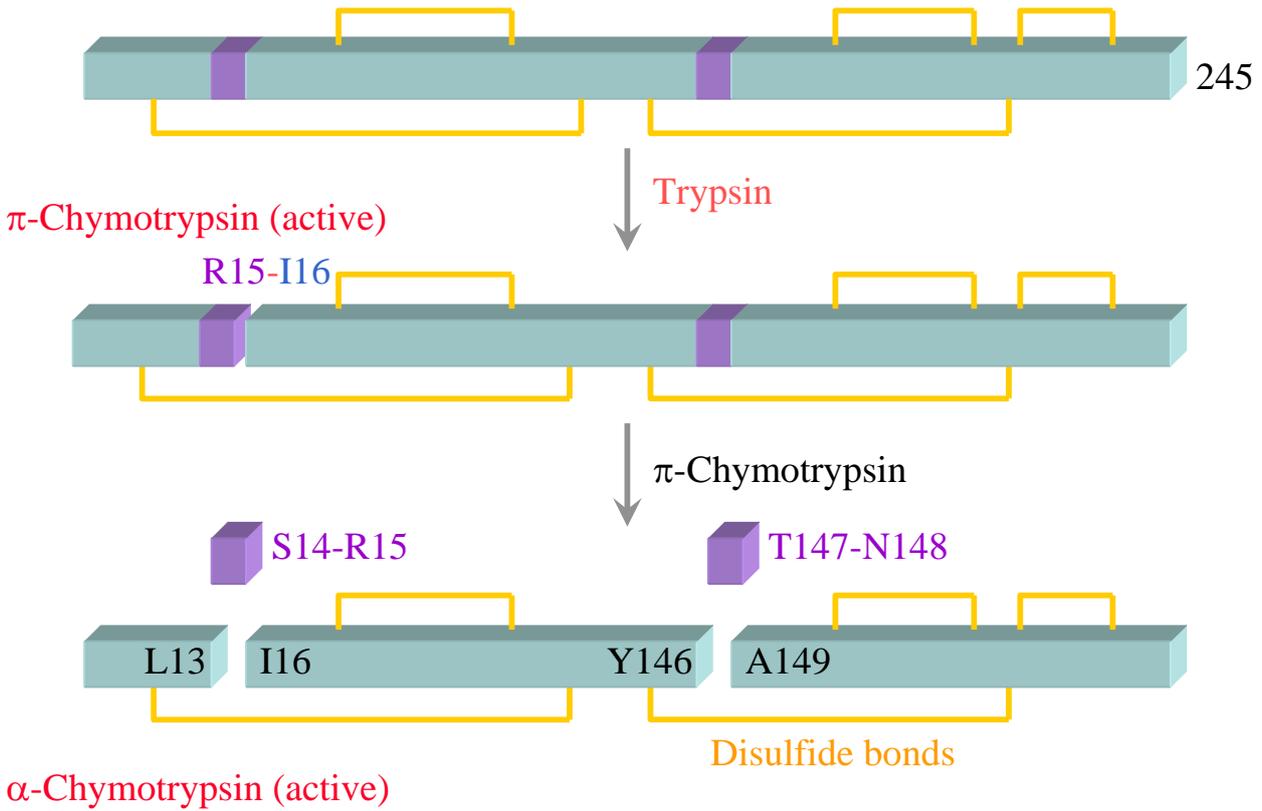
Juang RH (2007) BCbasics

**部份** 酵素本身只有蛋白質，但很多酵素另需加上其他種類的小分子，才能成為完整的酵素，稱為 **全酶 (holoenzyme)**。這些小分子通稱為輔助因子，又分成微量金屬及輔酶兩大類，後者多屬維生素。輔助因子都是人體無法自行合成，須由外界攝取者；我們日常吃的維他命丸 (如善存)，就幾乎全是輔助因子。

有些蛋白質要聯合兩個或數個相同或不同的次單元體，連結在一起之後，才能成為具有功能的酵素；相反的，有些蛋白質則要先切除掉其分子上的某些胜肽片段，才會具有催化活性 (例如 chymotrypsinogen → chymotrypsin 及胰島素 insulin，請注意胰島素是荷爾蒙而非酵素)。

# 許多酵素要先經裂解後才有活性

Chymotrypsinogen (inactive)

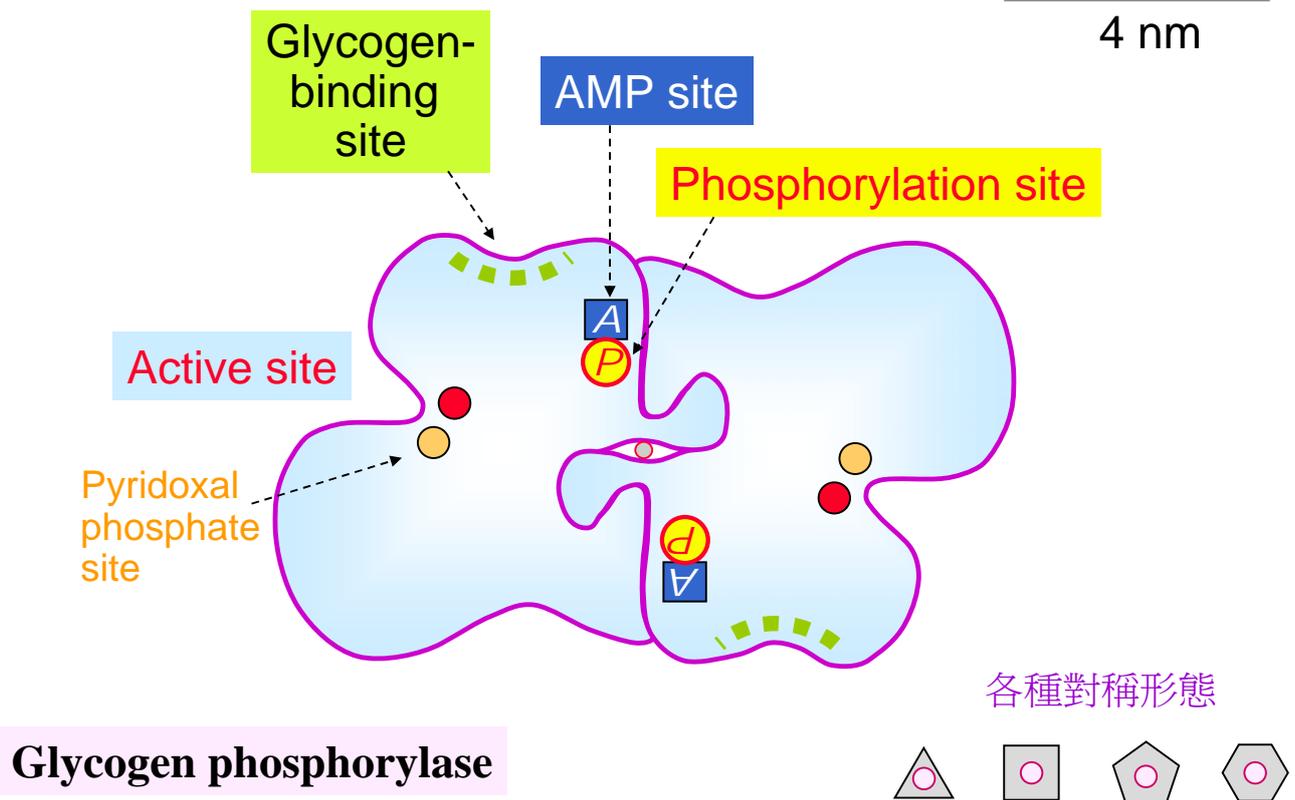


Adapted from Campbell (1999) Biochemistry (3d) p.179

**凝乳胰蛋白酶** (chymotrypsin) 剛轉譯出來的時候，並無活性；要經過裂解之後，才因為分子構型的改變而產生催化活性。為何要如此麻煩？因為這些酵素在細胞中負責蛋白質水解，可能也會裂解無關的重要蛋白質，因此在需要有其活性前，先以非活化型存在。所有的蛋白酶大多以酶原的形式做控制，也可以把這些危險酵素集中在胞器中隔離。

Chymotrypsin 是極為重要的模型酵素，在催化機制中將詳細討論，也會說明為何反而在裂解後才会有活性。

# 肝糖磷解酶是同質二元體

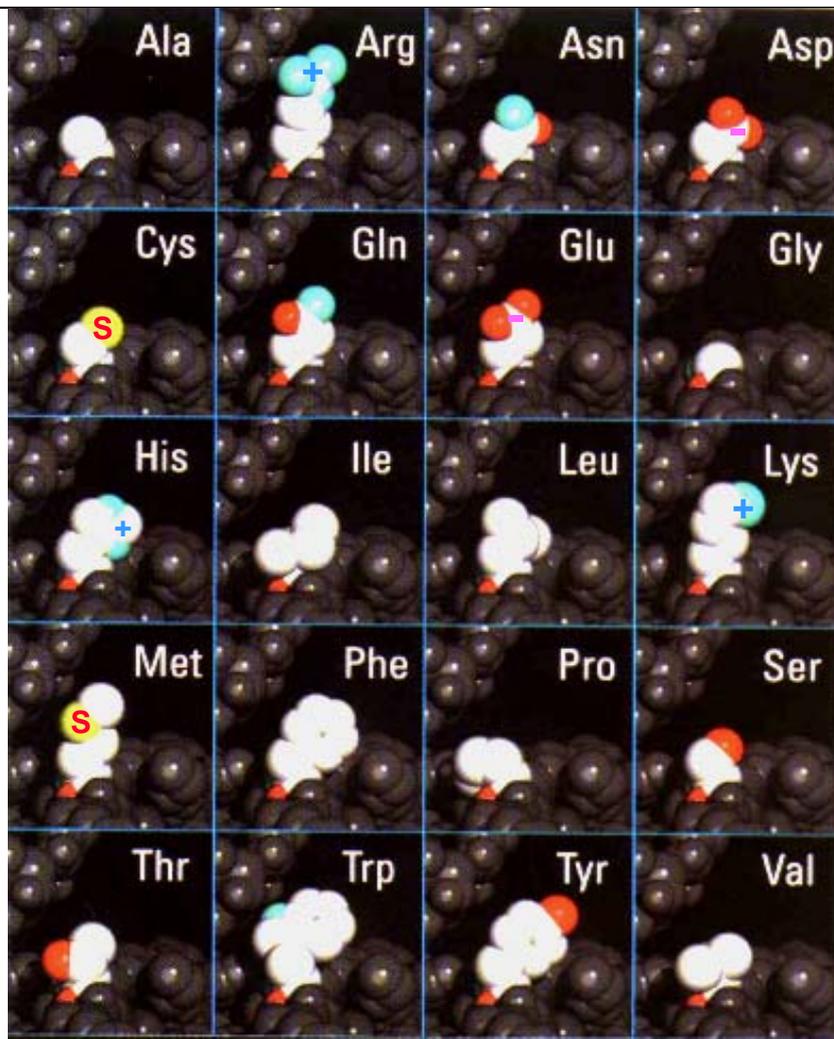


Adapted from Stryer (1995) Biochemistry (4e) p.592

與 chymotrypsin 一樣，肝糖磷解酶 (glycogen phosphorylase, GP) 是一個重要的典型酵素，在糖類代謝上非常重要，而且因為已被詳細研究，因此其構造與性質極為清楚。與 chymotrypsin 不同的是，GP 由兩個相同的次體組成，因此有四級構造，其活性受到精密調控。我們將在第六章酵素的調節作用中，深入說明。

GP 有四級構造，是由兩個相同的次體對稱結合而成。上圖的 GP 分子中央，有一隻看來像眼睛的圖案，事實上是一種表示對稱的記號，以眼珠為中心轉 180 度後會回復原狀。右下方還有一些其他的對稱標記，三角形表示轉 120 度 ( $360 \div 3$ )，是由三個次體組成的四級構造，其餘類推。

# 形形色色的胺基酸側基



有大有小  
有正有負  
有極性  
非極性

都沒有強烈的反應基團

Bio-Lab 廣告 Cell 83 (4), 1995

**雖然** 二十種胺基酸很稱職地組合成蛋白質的立體構造，但是其反應性基團的活性都不是非常高，無法提供極強力的官能基，以供催化反應時的活性基團。因此，許多蛋白質合成出來之後，經常還要進行各種修飾 (例如磷酸化)，或添加其它輔助因子 (如金屬或輔酶)，以便達成更複雜的任務。

# 為何需要用輔酶

胺基酸官能基的強度不足酵素反應所需！

→ 找 幫手

- 
- |                  |            |            |
|------------------|------------|------------|
| 1. 改變蛋白質構形：      | Coenzyme ↓ | [Cofactor] |
| Carboxypeptidase |            | Zn         |
| Hexokinase       | ATP        |            |
- 
- |               |      |  |
|---------------|------|--|
| 2. 基團轉移暫存區：   |      |  |
| Dehydrogenase | NADH |  |
- 
- |               |            |    |
|---------------|------------|----|
| 3. 提供強力反應基團：  |            |    |
| Pyruvate      | Vit. B1    | Zn |
| decarboxylase | (thiamine) |    |
- 

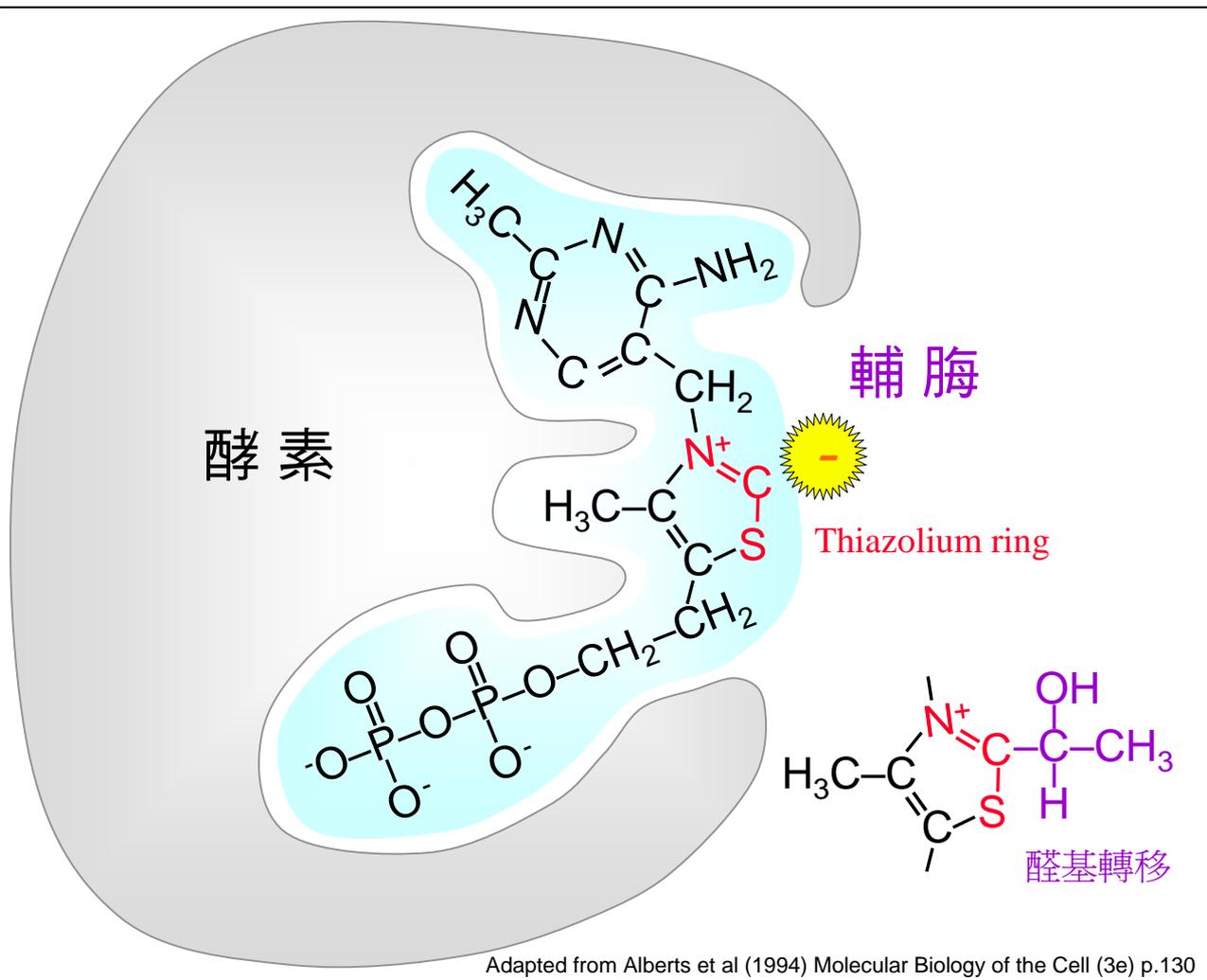
Juang RH (2007) BCbasics

**組成** 蛋白質所用的二十種胺基酸的基團中，不是屬於非極性者，就是相當溫和的酸性或鹼性機團；因此整個蛋白質分子上，也少有特別具反應性的基團。為了補足此一缺點，以增加酵素的反應能力，酵素分子通常可以加入其他的化學小分子或金屬離子，作為幫手，以達致其最適當的狀況。這些小分子即稱為輔酶，與金屬離子統稱輔助因子。

輔助因子除了可以直接參與酵素的催化反應外 (3)，通常它的加入會對酵素的分子構形有影響 (1)。同時，輔酶也提供一個場所，讓催化反應中的基團轉移作為暫存區 (2)。

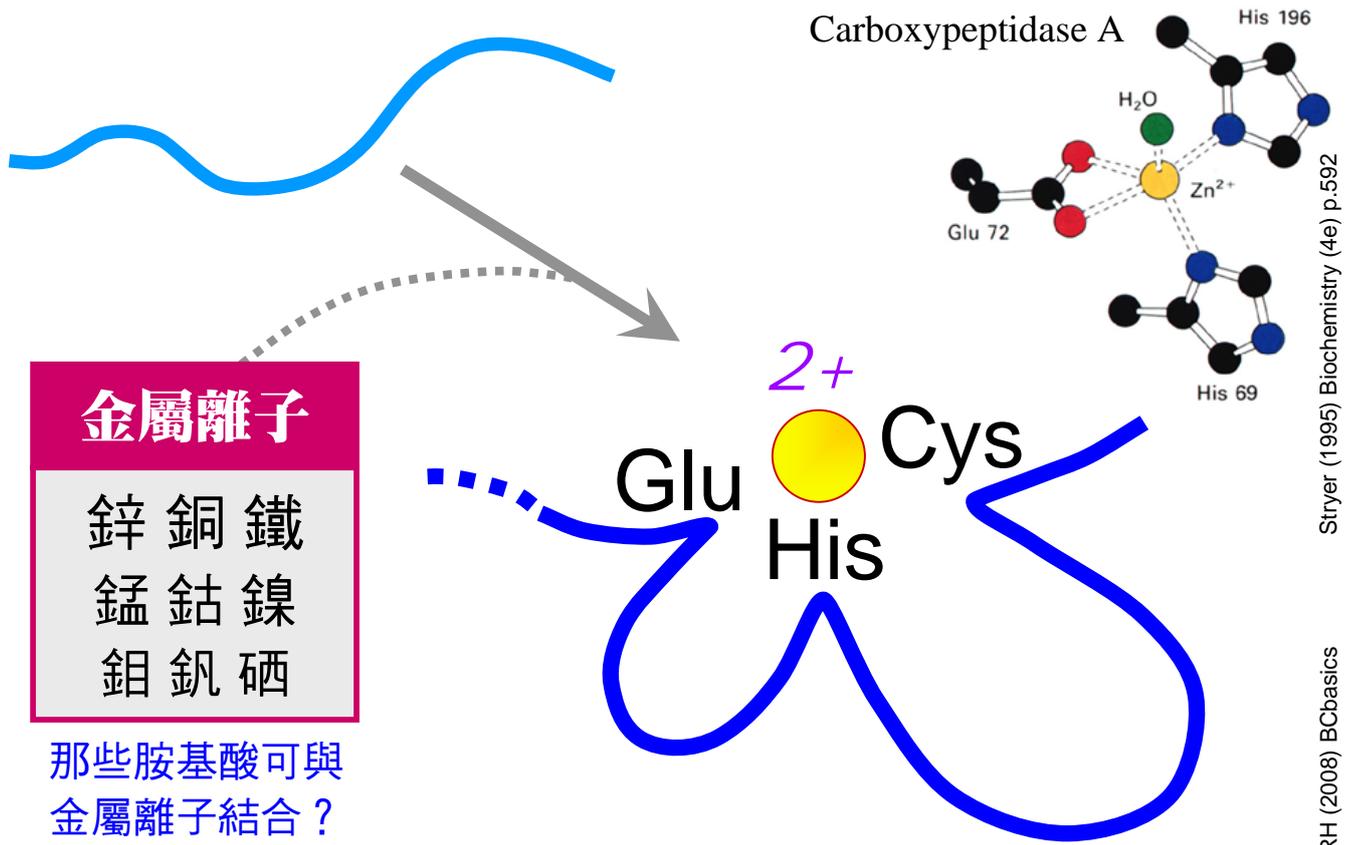
請盡量在此先把各種輔酶的構造與功能學好，因為在往後的各種代謝過程，其所用的許多酵素都含有輔酶。我們以一種最重要的輔酶為例，說明其構造與功能，此即所有的去氫酶都會用到的 NADH。

# 輔酶可提供強力反應基團



**維生素 B1** 是一種輔酶，由上面的構造即可發現，是一種反應性相當高的小分子，其分子構形剛好可以鑲入酵素的輔酶結合區，其上的 thiazolium 環具有強烈負電荷，可與醛基反應作為暫存區，達成輔酶的任务。請注意酵素與輔酶之間的結合，也是經由專一性的吸引力，酵素分子上有輔酶的專一性結合區。

# 金屬離子可維持蛋白質分子構形



Stryer (1995) Biochemistry (4e) p.592

Juang RH (2008) BCbasics

重金屬為何有毒性？

部份蛋白質結構要再加上某些金屬離子

**金屬** 離子帶有強烈的正電荷，可以填補到某些蛋白質上的適當位置，與上面所帶的負電性胺基酸基團結合；此舉不但使蛋白質帶上一個金屬，蛋白質構形也因此而有所改變，甚至成為活性型。有些酵素上面的金屬，不但有上述增強構形的功用，甚而參加酵素的催化反應，尤其在一些氧化還原反應上，更有重要角色。

酵素所含的金屬大多為過渡元素，是因為過渡元素的原子軌域 (d) 較大，可經由配位鍵與多個官能基結合。

# 維生素含有輔酶具有重要生理功能



Todd (1957)

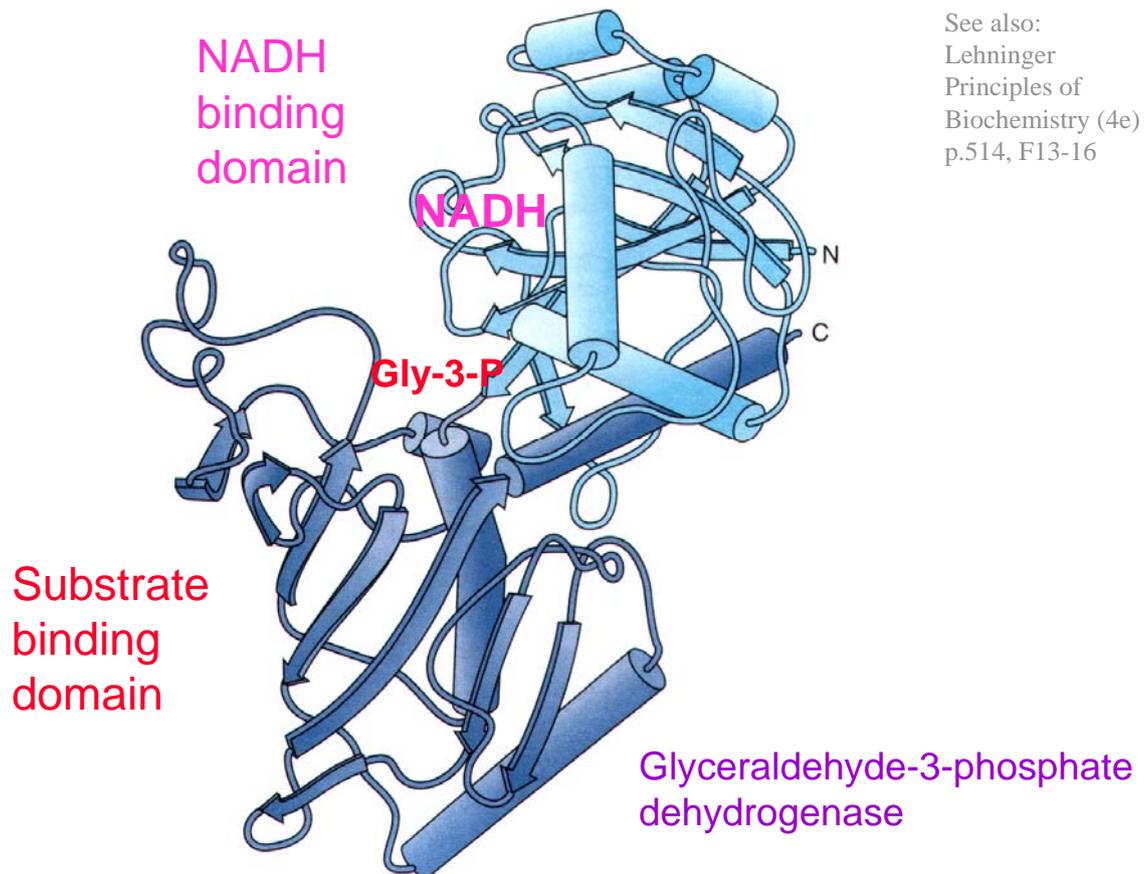
B2	Riboflavin (FADH)	氧化還原反應 H <sup>+</sup>
B3	Niacin (NADH, NADPH)	氧化還原反應 H <sup>+</sup>
B1	Thiamine (thiamine pyrophosphate)	醛基 活化及轉移
B5	Pantothenic acid (coenzyme A)	乙醯基 活化及轉移
B6	Pyridoxine (pyridoxal phosphate)	胺基酸 活化
	Biotin	CO <sub>2</sub> 活化及轉移
	Lipoic acid (lipoamine)	醯基 活化 氧化還原
	Folic acid (tetrahydrofolate)	單碳 的活化及轉移
B12	Cobalamin	異構化及 甲基 轉移

其他：ATP 轉移磷酸根；UDP-Glc 轉移葡萄糖

Adapted from Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.170

**輔酶** 都在負責各種重要基團的轉移，在代謝上不可或缺，人體細胞也無法自行合成，因此都是維生素中的一員。以上所有的輔酶，在往後的代謝課程中，將一一再度呈現，目前請先把它們的名稱與用途，先清楚瞭解，以後再探究其分子構造。

# 許多酵素要加上輔酶才有活性



See also:  
Lehninger  
Principles of  
Biochemistry (4e)  
p.514, F13-16

Kleinsmith & Kish (1995) Principles of Cell and Molecular Biology (2e) p.25

**Gly-3-P** dehydrogenase 的兩個 domains 各有不同的功能：其一與其基質 Gly-3-P 結合以進行催化作用，另一與輔酶 NADH 結合。細胞中的去氫酶都有類似的 NADH domain，因為它們要催化類似的去氫反應，以 NADH 接受去氫反應中氫離子的暫存。

# 輔酶 NADH 的吸光特性

NAD<sup>+</sup>/NADH 的轉換可以  
耦合 340 nm 吸光度變化：

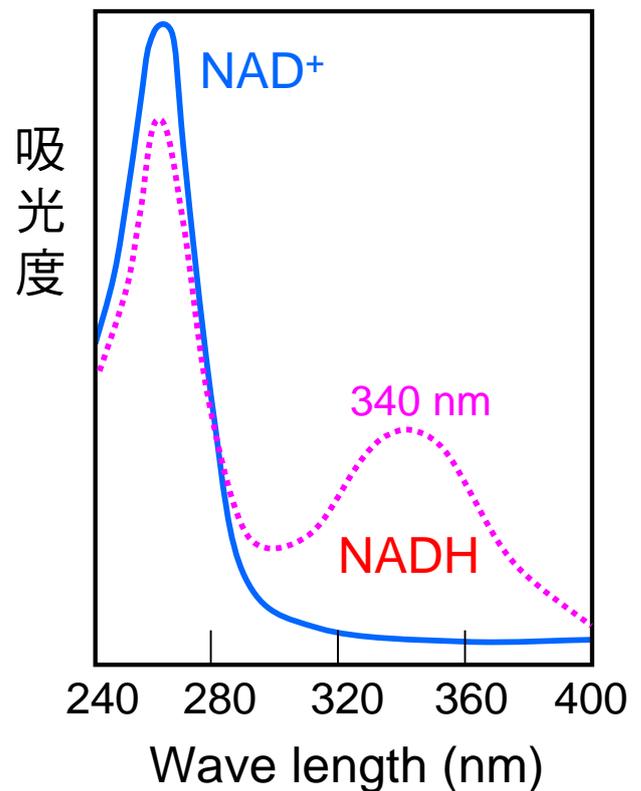


## Dehydrogenase (去氫酶)

Glyceraldehyde-3-P deHase

● 所有的去氫酶都以 NADH  
或 NADPH 為輔酶

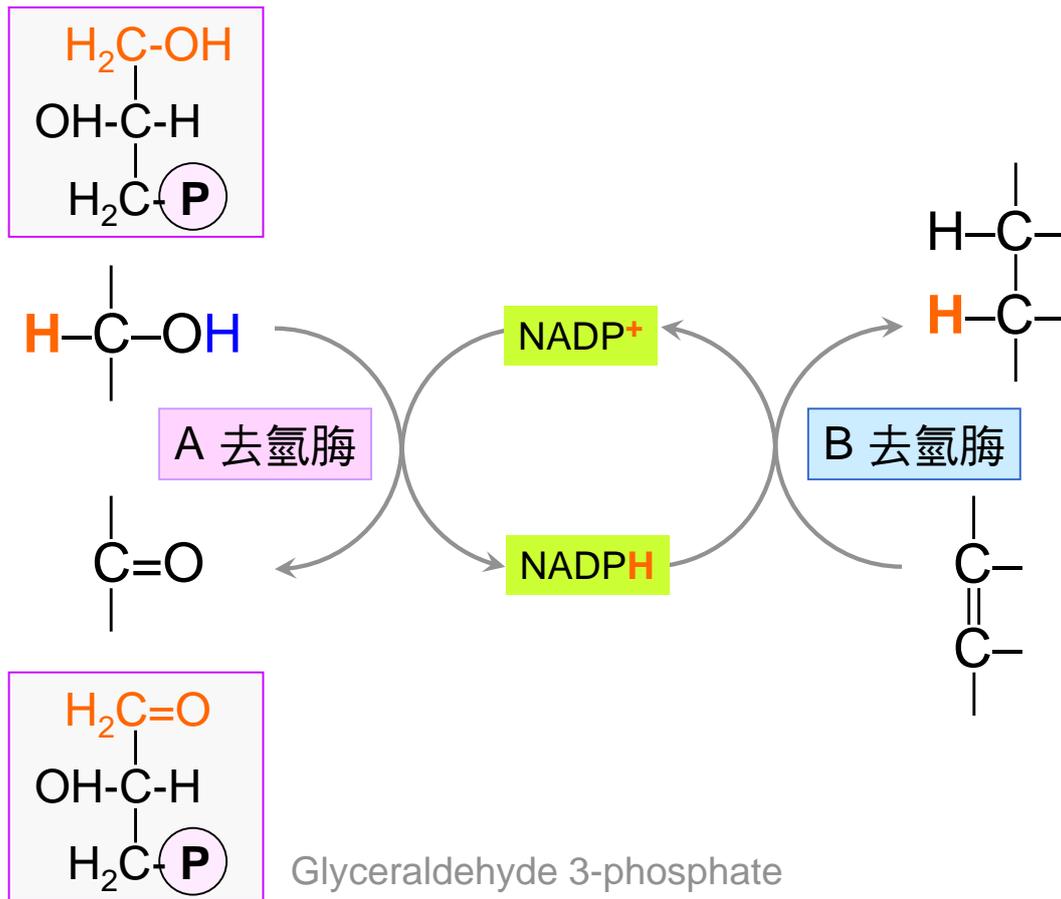
● 都有相似的 NAD<sup>+</sup> 結合  
domain (同源演化)



Juang RH (2007) BCbasics

**因為** 自然界中的去氫酶實在太多了，而且許多反應更可以用耦合的方式，接軌到去氫反應，因此去氫酶在研究工作上，就變得極常見且重要。最方便的是，所有去氫反應，都伴隨著 NAD<sup>+</sup> 與 NADH 的改變，也造成吸光上面的消長，而得以測量反應速率。

# NADH 可耦合氧化及還原反應



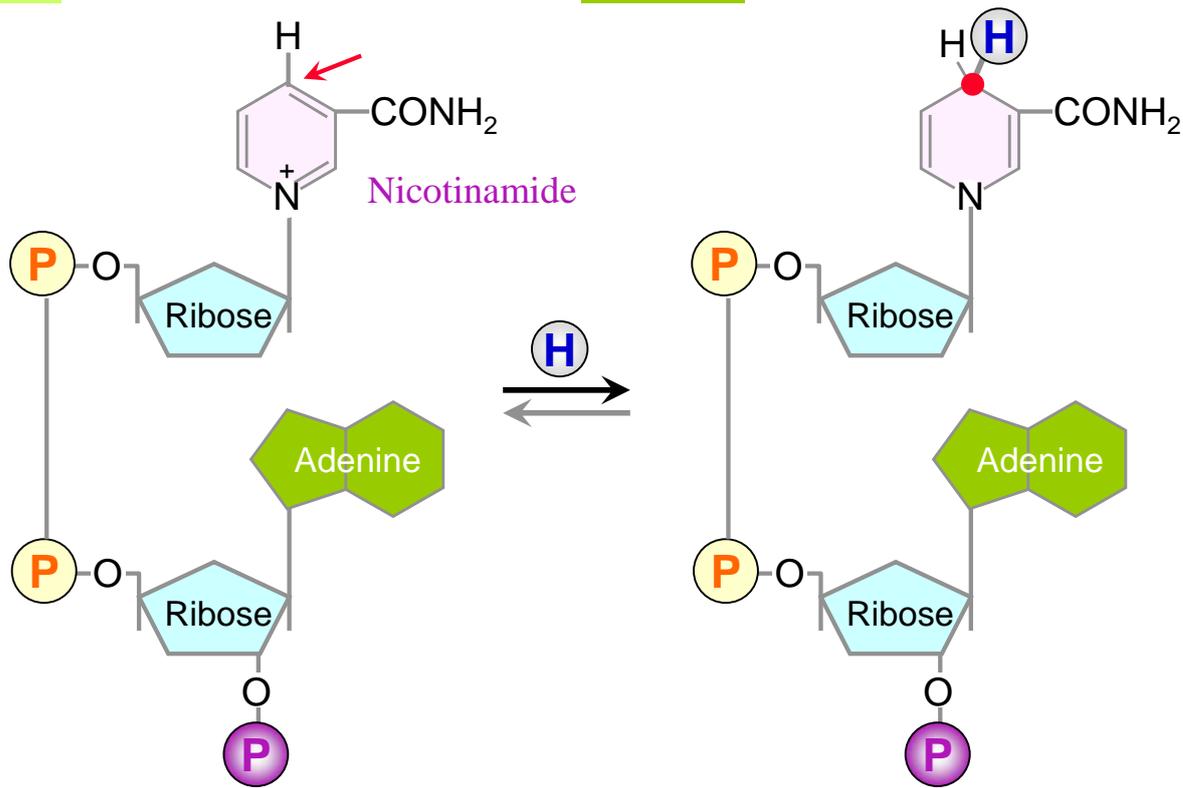
Adapted from Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.86

**在** 細胞中， $\text{NAD}^+$ - $\text{NADH}$  循環可以作為氧化與還原反應的耦合，上面 A 去氫酶先行氧化反應，把氫暫留在  $\text{NADH}$  上，再由 B 去氫酶把氫還原到另一個分子上。

# Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Phosphate)

NADP<sup>+</sup> 氧化型

NADPH 還原型



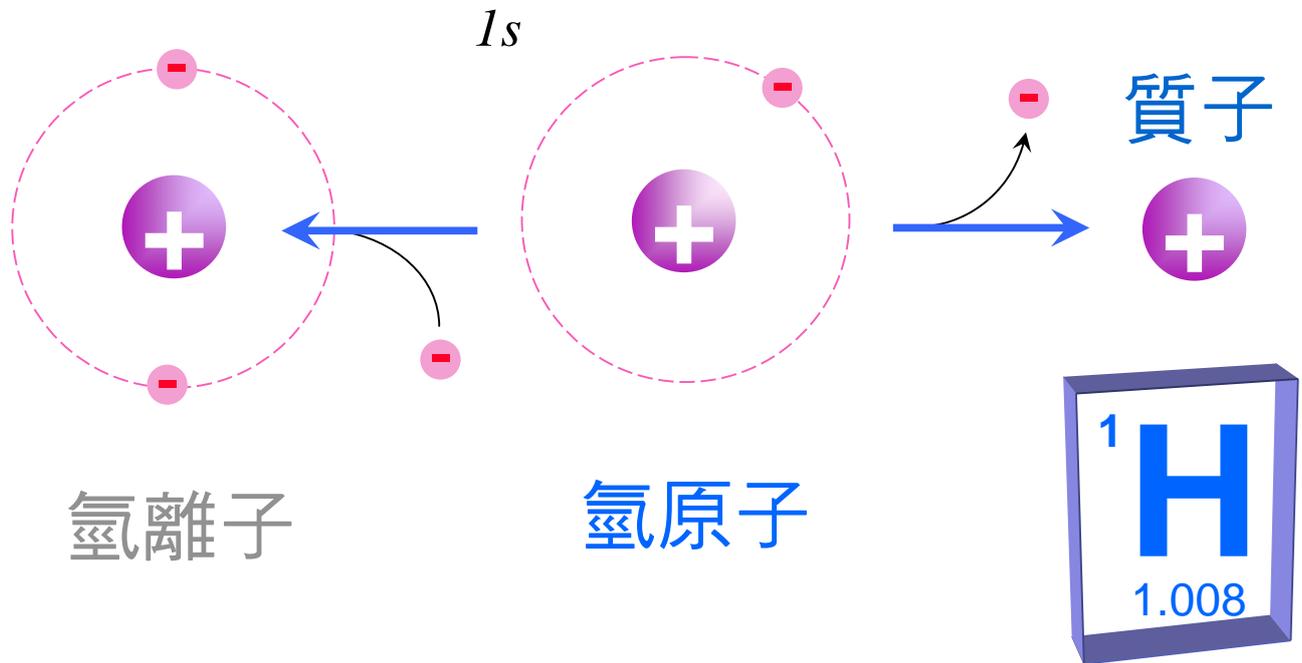
Adapted from Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.86

**NADH** 實在太重要了，請徹底明瞭上面的構造，以及所進行的反應；同時，檢討 **NADH** 的名稱與構造的關係，以及為何氫的加入或失去會影響吸光度（前頁）。注意 **NAD<sup>+</sup>** 上面的 nicotinamide 環相當穩定，在上圖箭頭所指處加入 hydride 後成為 **NADH**，反而因為電子數目增加而較不穩定，因此是一個高能化合物，可以再轉換成 **ATP**。

其實，上面的構造應該是 **NADP<sup>+</sup>** 與 **NADPH**，也就是在分子上面都加了一個磷酸（下方的核糖 2' 碳上）；這種加有磷酸的輔酶，專門用在葉綠體等胞器內。大體而言，細胞內進行同化方向的酵素，使用 **NADP<sup>+</sup>-NADPH** 系統；而異化作用方向者，則使用 **NAD<sup>+</sup>-NADH** 系統。這是一種細胞內的分工，以及重要共通資源 (**NAD<sup>+</sup>-NADH**) 的分流，以免代謝方向相反的酵素，爭取相同的資源。

# 氫離子 hydride → 氫原子 hydrogen → 質子 proton

*hydride*

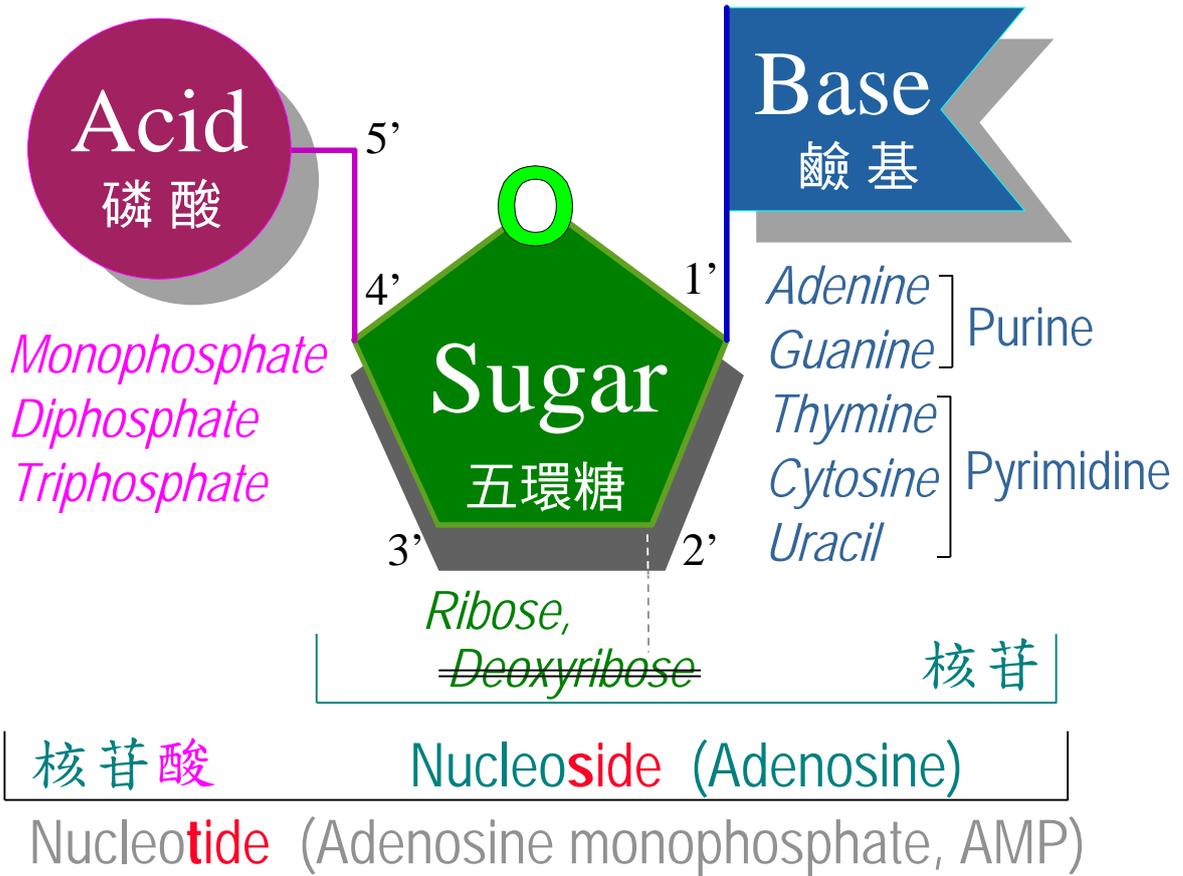


Juang RH (2007) BCbasics

**氫原子** 是唯一不含有中子的原子，因為原子核中只有一個質子，所以不須要中子介入。氫原子有一個電子，當它獲得一個額外電子，即成為氫離子 (稱 hydride, :H<sup>-</sup>)；若 hydride 丟掉一個電子，就變回氫原子；當氫原子再失去一個電子，就剩下質子 (H<sup>+</sup>)。

雖然環境中到處充斥著質子，但以能量而言質子並無貢獻；因為質子已經失去了電子，而電子是生物界的能量根源。但具有一個額外電子的 hydride 就是具有能量位階的粒子，是自然界中能量的貯藏處。NADH 所攜帶的氫原子，就是這種具有能量位階的 hydride。

# 許多輔酶分子都含有核苷酸部份



Juang RH (2007) BCbasics

核苷酸是由三部份構造所組成，每一部份又可有數種選擇；例如五碳糖部分，可能是核糖 (ribose) 或是去氧核糖 (deoxyribose)，此種差別造成了DNA 與 RNA 在性質與構造上的不同。含有核糖的核苷酸 (不是去氧核糖)，不但出現在遺傳物質 RNA 中，也經常出現在輔酶分子構造中，也是攜帶能量的分子 (ATP)。這些事實，隱約指引出下一張圖片的主題：RNA world。

# RNA World

(1) Ribozyme 有催化能力，  
可主導反應。



(2) RNA 帶有遺傳訊息，  
可自行複製。



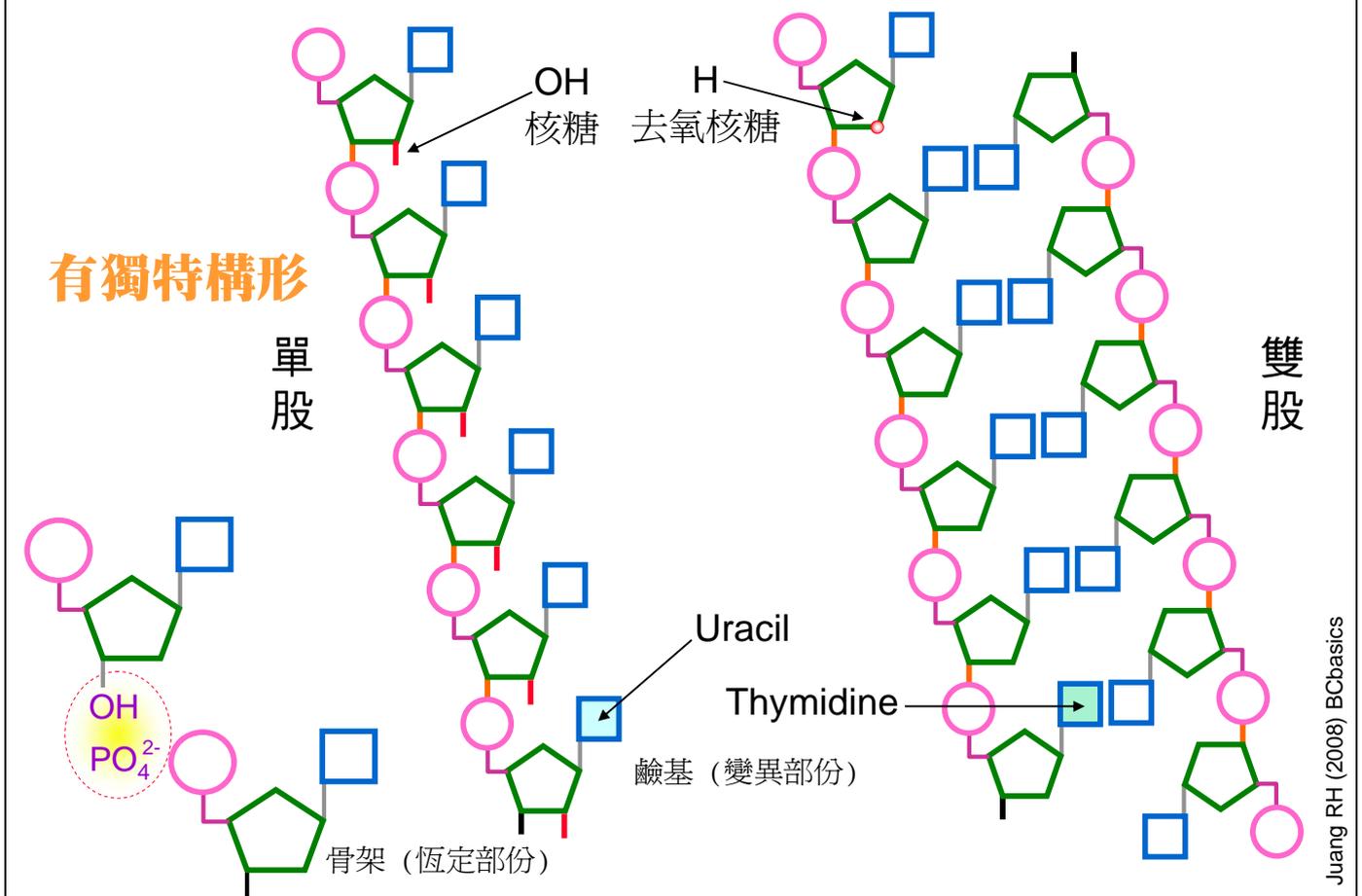
(3) 一些輔酶、能量分子  
(ATP, NADH) 都含有  
RNA 的單位分子。



Juang RH (2007) BCbasics

**今日** 留存的許多跡象，可以證明最早稱霸在地球上的巨分子可能是 RNA，而非 DNA。至少有以上三個理由，不過一定還有其他的觀察與證據，請多花心思再想想看。

# 核糖核酸 RNA vs 去氧核糖核酸 DNA



**除了** 前面三個論點可支持地球演化之初為 RNA 世界外，尚有其他反面考量可以加強此一觀念。例如，RNA 是核糖核酸，而 DNA 是去氧核糖核酸；在自然界中，應該先有核糖，然後再產生去氧核糖才是。另外，RNA 分子的不穩定，鹼基序列容易突變，在早期地球的旺盛分子演化，反而是一種有利的因素。

最後，DNA 的確是一個非常好的信息貯藏分子，它的雙股長鏈把鹼基包在分子內側，以防紫外線對鹼基造成的破壞；核糖核酸去除氧分子後，變得非常穩定，不會像 RNA 一樣容易因水解而消滅；DNA 也把 RNA 上的 U 換成 T 鹼基 (多一個甲基)，使得因誤讀所造成的突變大為降低。不過，DNA 分子實在很長，除了貯藏信息外無法有其他顯著生理功能；在早期的分子世界中，只能貯藏信息的分子是沒有很大生存優勢的。

**因此**，一般推測早期的地球是先有 RNA 及蛋白質巨分子，當 RNA 衍生出一套複製規則 (A=U, C≡G)，開始了分子演化的序幕。某些 RNA 可能以自己的信息指導有用蛋白質的合成，而此蛋白質可回頭催化 RNA 的複製，因而形成一個極為有效的搭檔關係。當此搭檔收納到一脂質薄膜所圍成的小球後，即形成最原始的細胞形式。接著 RNA 為了有效保存其核酸序列，把其信息交給少數 DNA 分子貯藏，再由 DNA 複製多個 RNA 來製造蛋白質，也可以增加表現的效率。如此，便成為今日所有細胞中的中心大法 (Central dogma)：DNA → RNA → Protein。上面所說那個催化 RNA 複製的原始蛋白質，很可能就是今日酵素的始祖。



**回顧** 一下地球剛形成不久的原始濃湯裡，充滿了能量與物質，也開始了種種可能的分子組合遊戲。上面想像圖的濃湯中可能充滿了各種不同 RNA 的長鏈，由 RNA 稱霸地球，也會製造蛋白質作為服侍臣僕；但是到了後來卻由 DNA 取代為傳遞遺傳信息，RNA 則要努力依照 DNA 的指示去生產蛋白質。而且，攜有 DNA 遺傳信息的 mRNA，其命運極為悲慘，在依照指示完成蛋白質合成的任務後，馬上會被銷毀。

