

# Ten Commandments of Enzymology

Arthur Kornberg

Department of Biochemistry, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA

## DNA Polymerase

Journal of Bacteriology

Volume 182, No. 13 (July 2000) p. 3613-3618

Trends in Biochemical Sciences

Volume 28, Issue 10 (October 2003) p. 515-517

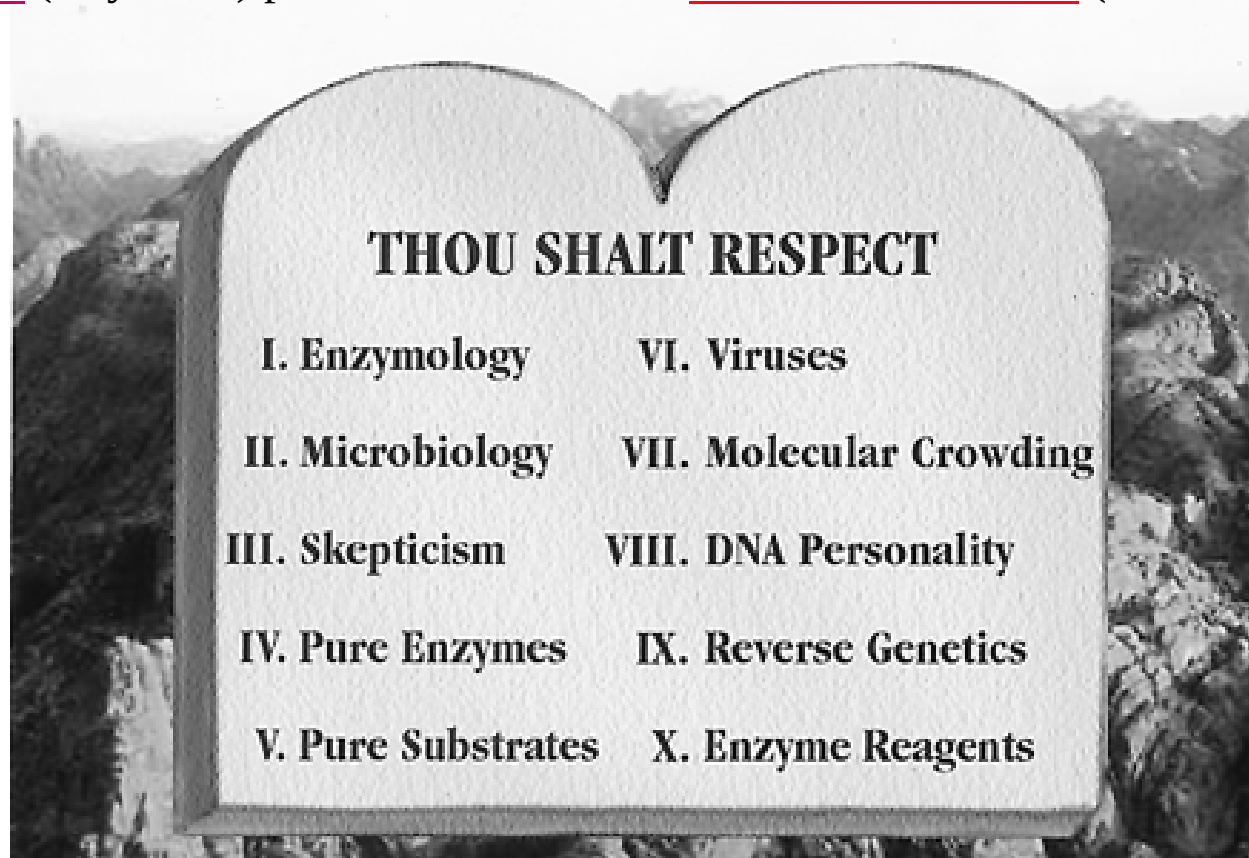
酵素學本質

生物學本質

科學本質

酵素

基質



遺傳學

細胞學

病毒學

放射化學

有機化學

酵素學原理十誡

# Ten Commandments of Enzymology

/

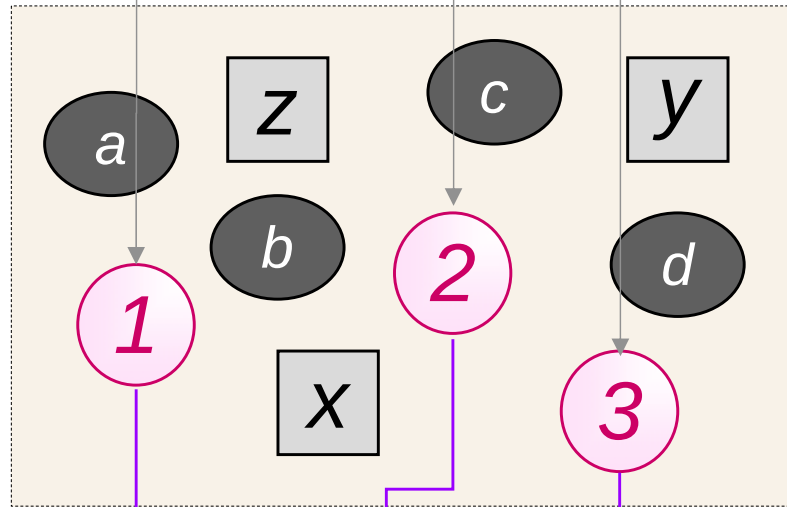
Rely on enzymology to resolve and reconstitute biologic events

分子生物學

生物化學

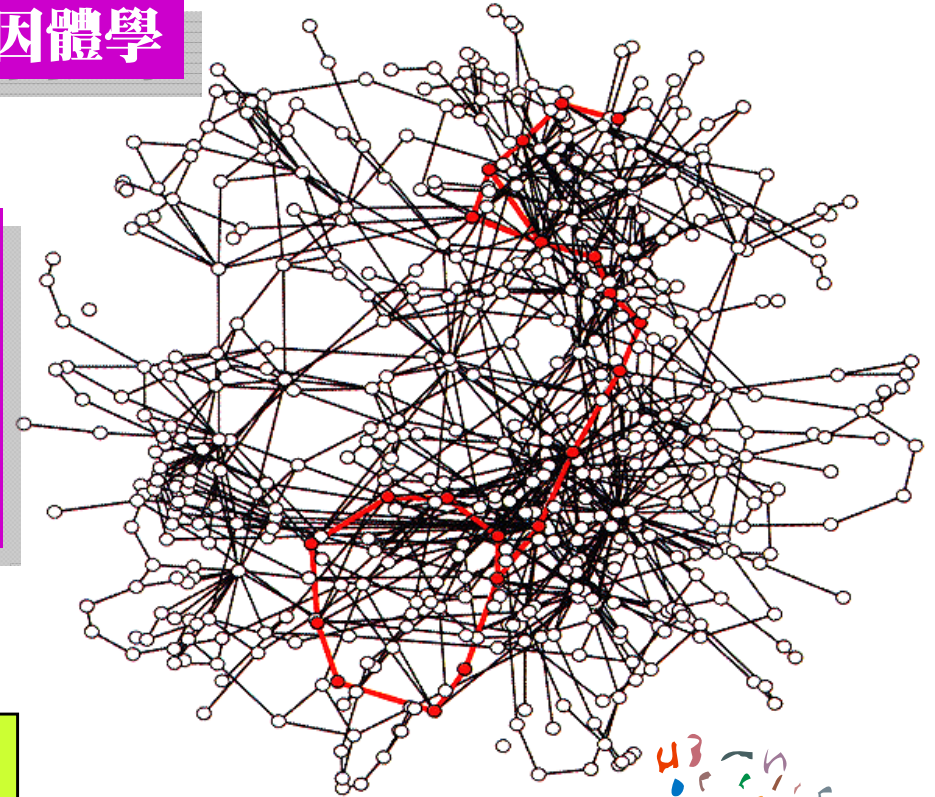
基因 1 基因 2 基因 3

基因體學



蛋白質純化與分析

蛋白質體學



代謝體學

Reconstitute



反應物



Metabolic pathway

生成物

Catalysis – Regulation - Interaction

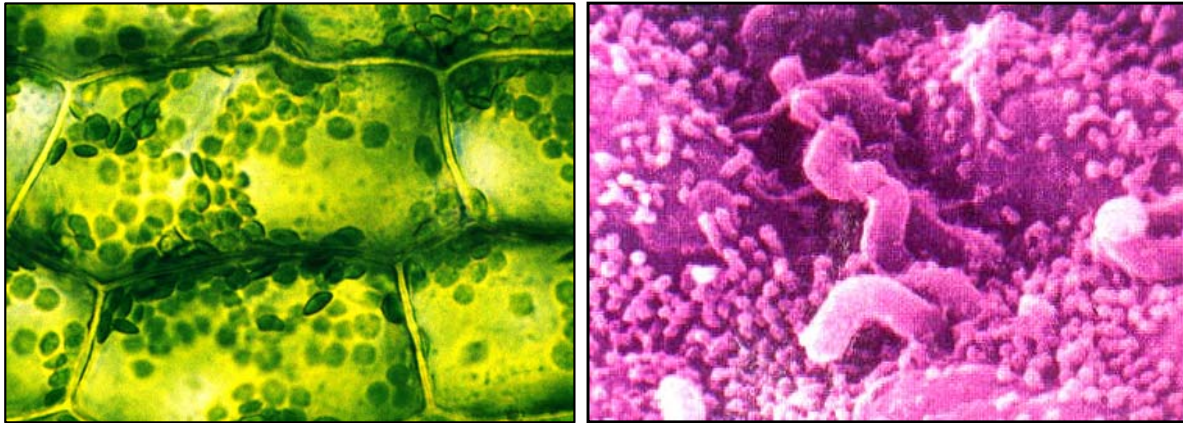
遵循酵素學原理分析酵素活性並重建生理現象



# Ten Commandments of Enzymology

// Trust the universality of biochemistry and the power of microbiology

信賴生物化學共通性與微生物學知識

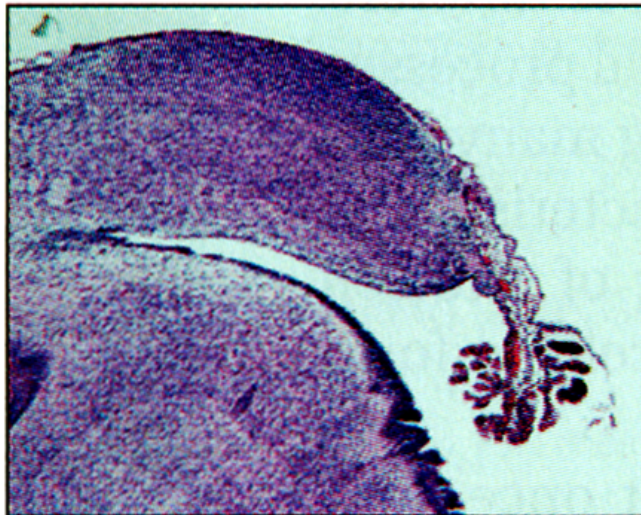


生物之間的對等蛋白可能十分相似並得以互換

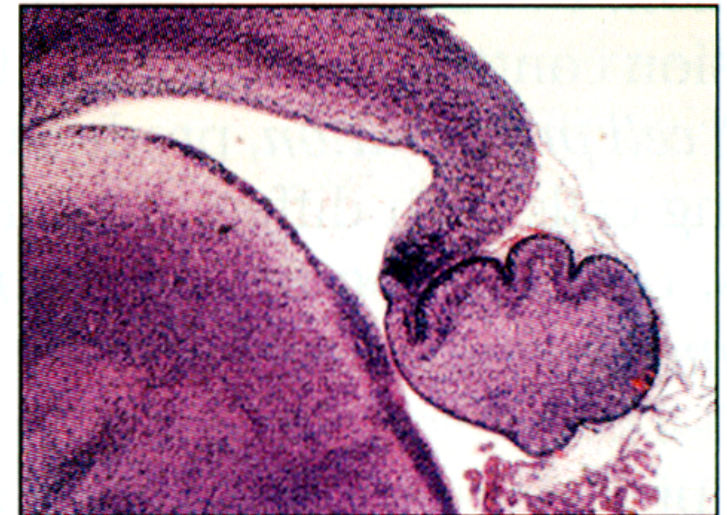
Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.1158

小白鼠小腦

小白鼠失去 Engrailed-1 蛋白質



以果蠅 Engrailed 蛋白質救助



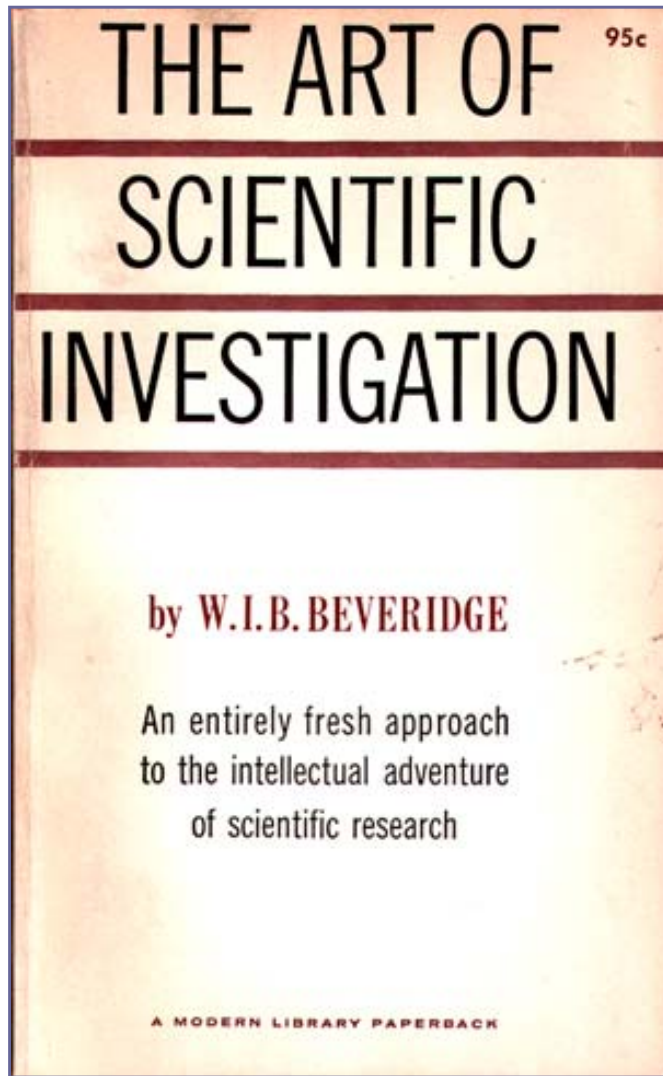


# Ten Commandments of Enzymology

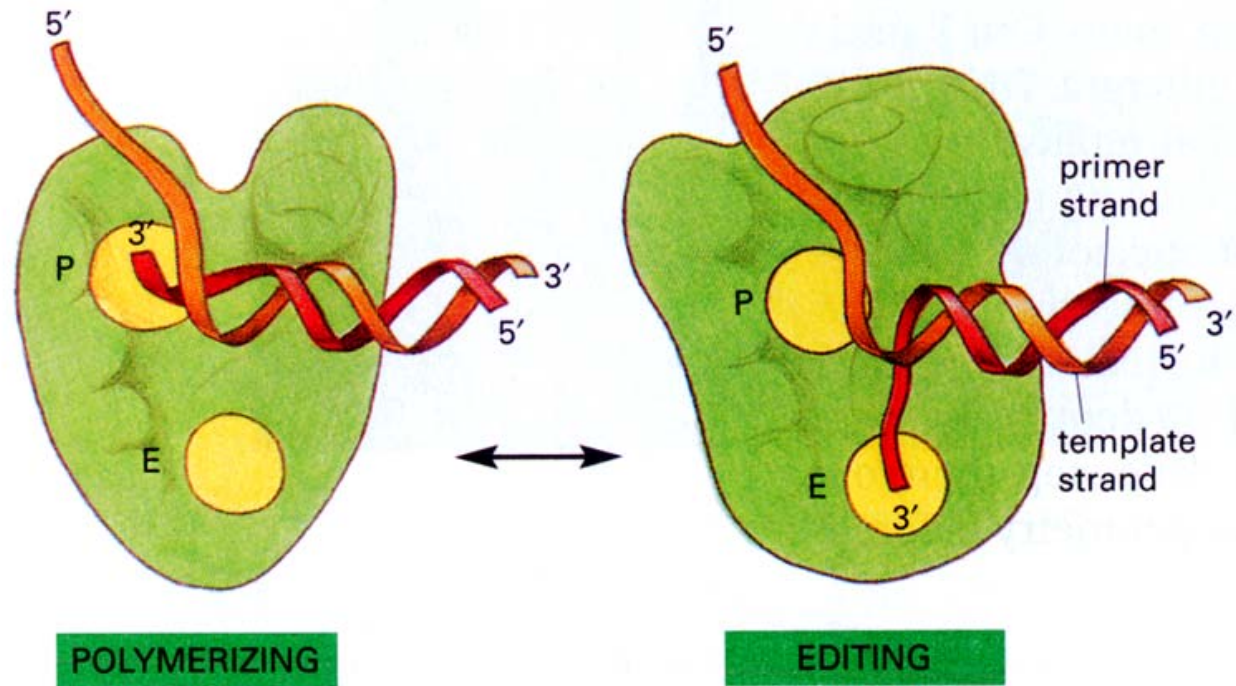
///

Not believe something just because you can explain it

科學之路：科學的哲學思考



DNA polymerase I



DNA polymerase 在剛發現的時候，一直以為被 DNase 污染，後來發現是 editing 附加功能。

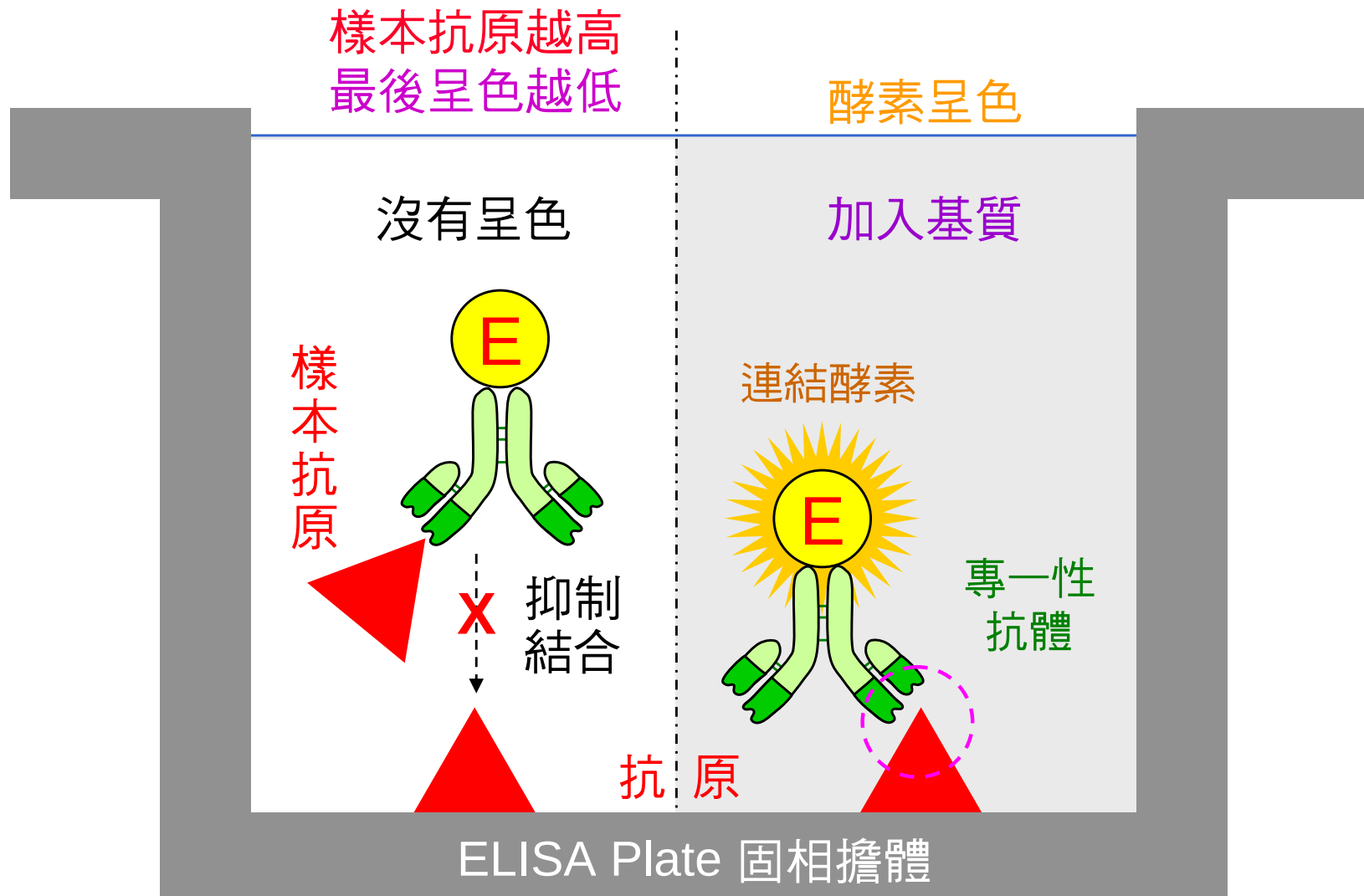
Catalytic RNA (Cech) 的例子

不因你能自我解釋就相信某件事物 (不要被已知事物所拘絆)

# Ten Commandments of Enzymology

///

## 抑制性酵素免疫分析



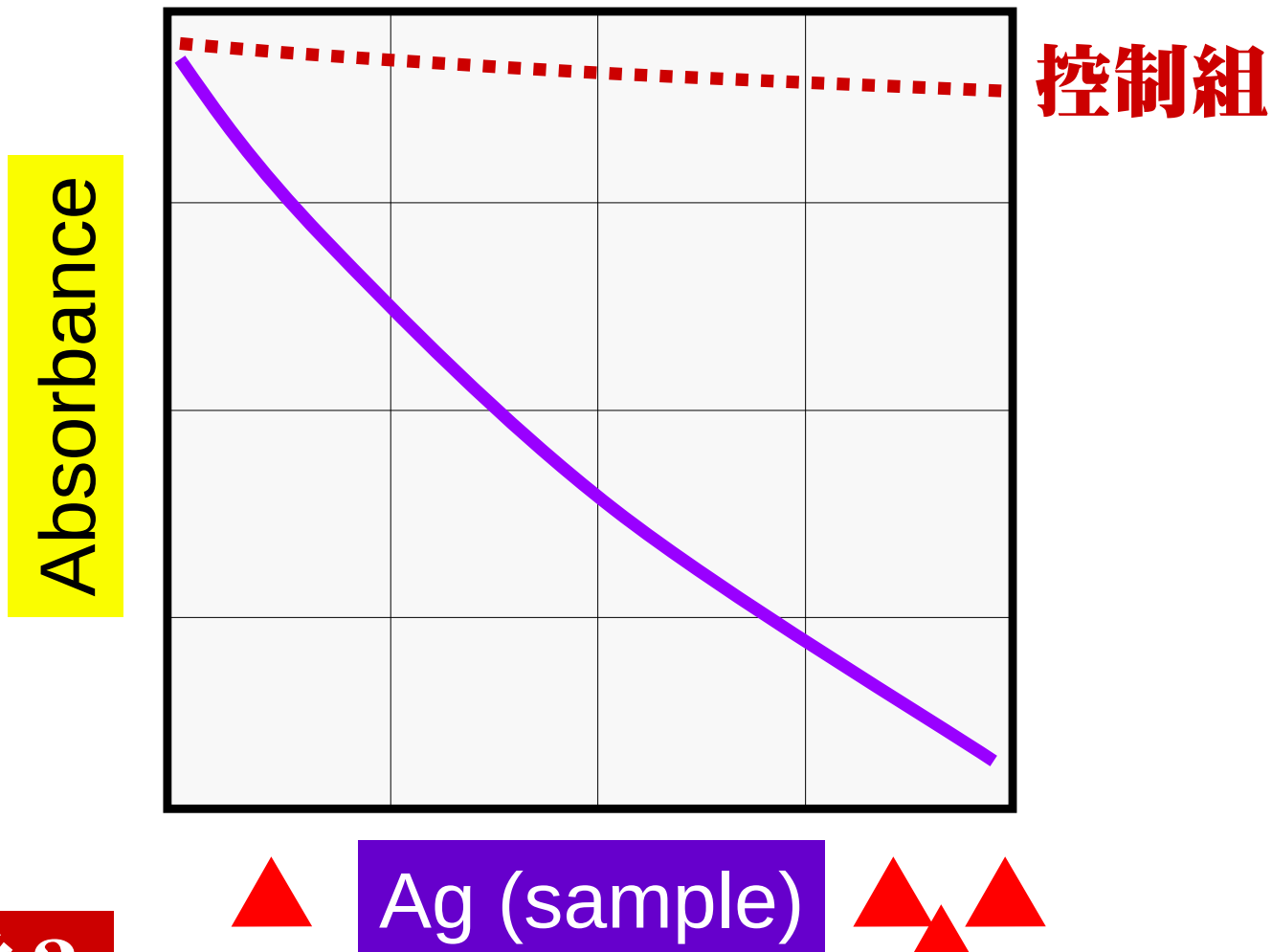
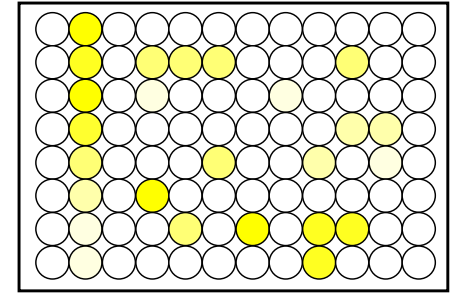
# Ten Commandments of Enzymology

///

抑制呈色酵素的活性

樣本抗原越高  
最後呈色越低

$\text{NaN}_3$



控制組怎麼做？

# Ten Commandments of Enzymology

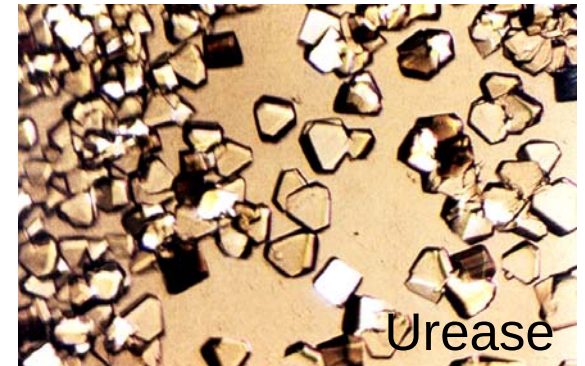
## IV

Not waste clean thinking on dirty enzymes

Extraction

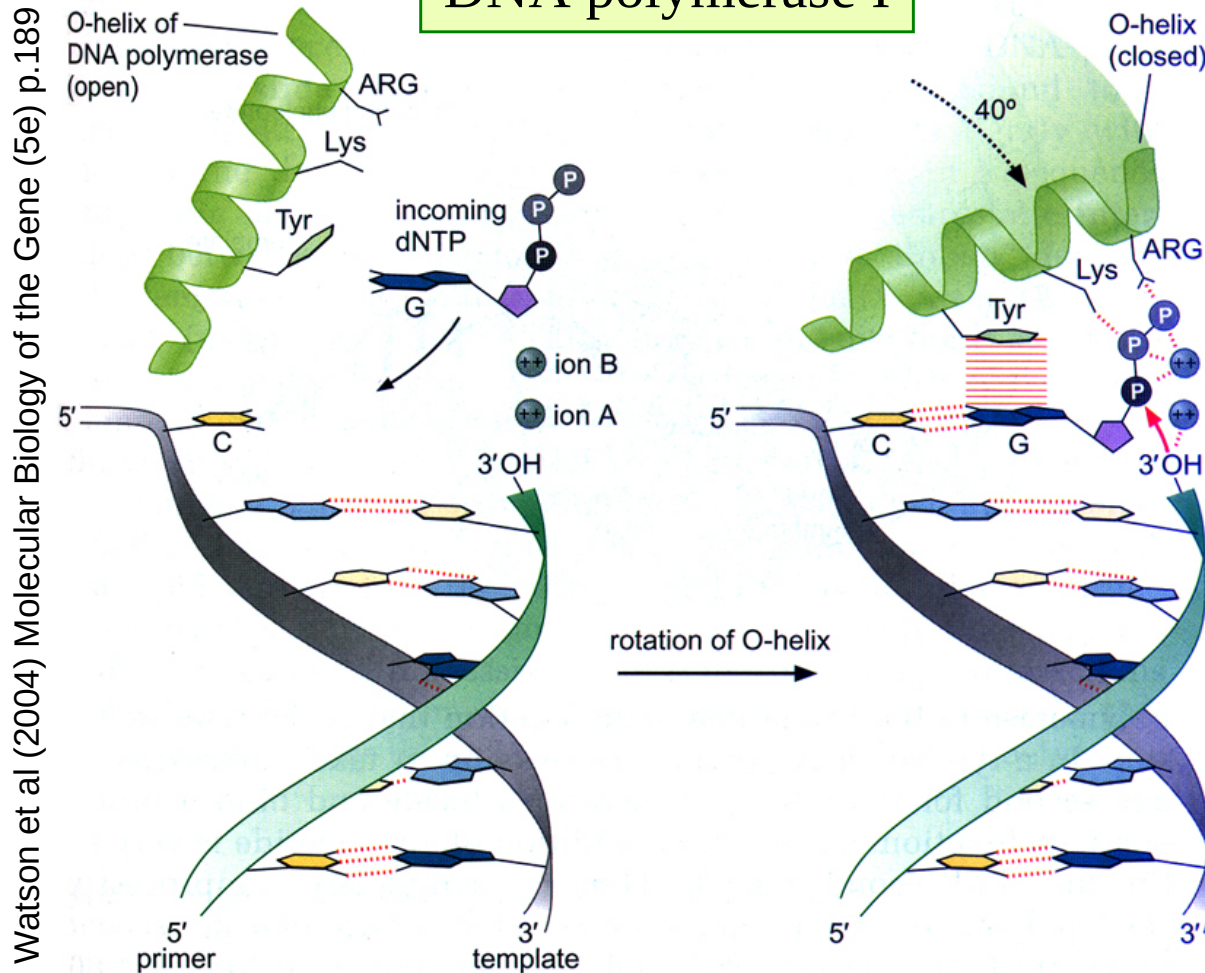
Purification

Pure enzyme



Urease

### DNA polymerase I



- (1) 構造與功能關係
- (2) 試管內功能重組
- (3) 蛋白質交互作用
- (4) 定點突變分析
- (5) 作為純質試劑

← DNA polymerase 反應混合液：  
大腸菌粗抽液、ATP、牛 thymus  
DNA 以及放射性 thymidine。

後來釐清含四種 dNTP 與六種酵素 (thymidine kinase, 四種 dNMP kinases, exonuclease III)，並認知反應液中 DNA 有多重角色：(a) 提供四種 dNTP 的來源；(b) 提供 template；(c) 做為 primer ends；(d) 所合成 DNA 產物的保護。

勿以不純酵素誤導清晰的思考



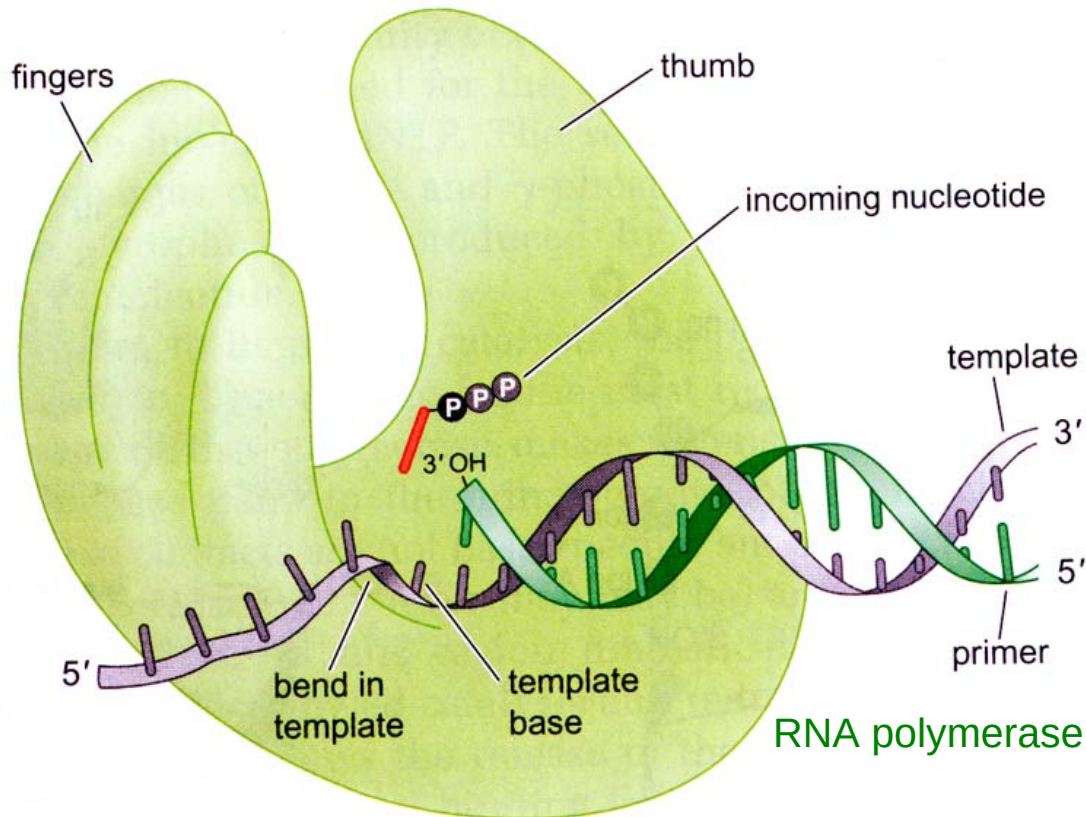
# Ten Commandments of Enzymology

V

## Not waste clean enzymes on dirty substrates

Watson et al (2004) Molecular Biology of the Gene (5e) p.190

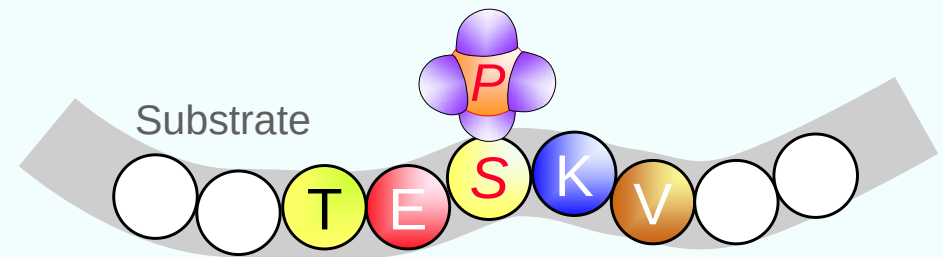
### DNA polymerase I



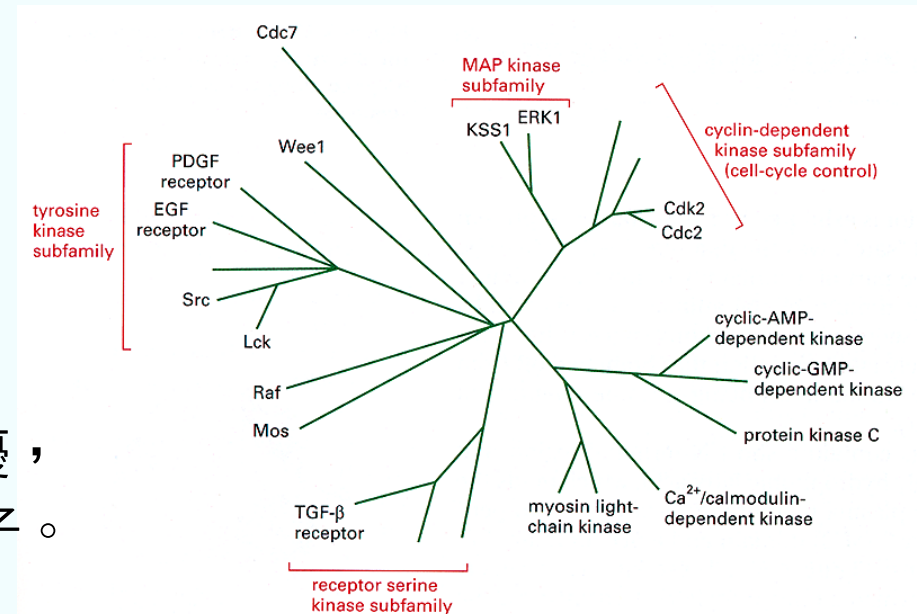
DNA 有多種形式，作為 pol I 基質時產生極大困擾，直到採用簡單的病毒單股 DNA，才發現 RNA 引子。

勿以不純基質浪費均質酵素

細胞中的 kinase 是一群大家族，各種 kinase 對基質專一性不同，而基質本身又經常不是均質。



General substrate: casein



Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.179



# Ten Commandments of Enzymology

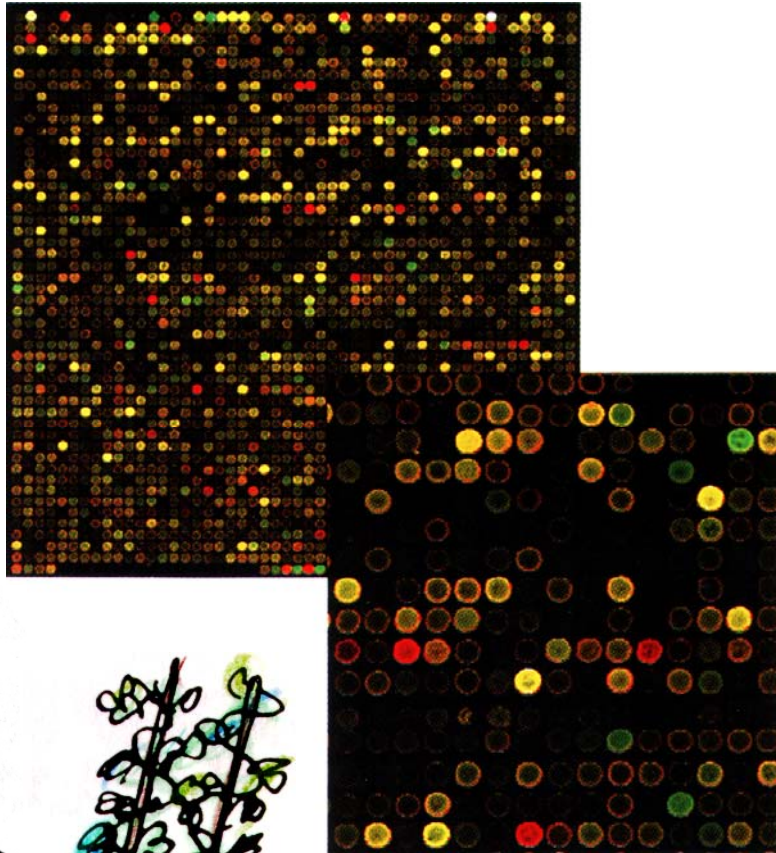
VI

Use genetics and genomics

小心利用遺傳學與基因體學工具

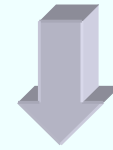
回歸生物生理

基因晶片是投石問路



看漫畫學遺傳 (1987) p.38

Genome



Transcriptome



Proteome

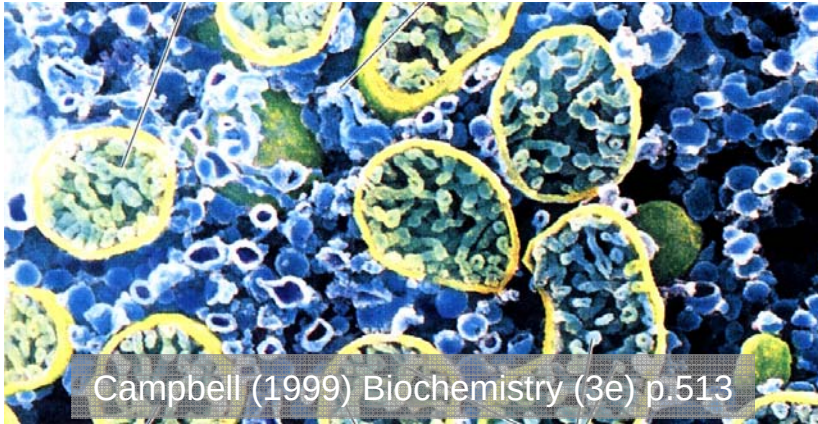
**注意：**只經由基因體或生物資訊的資料收集，無法確知目標蛋白質在細胞的真正生理作用，也無法預測其修飾或與蛋白質間的交互作用。



# Ten Commandments of Enzymology

VII

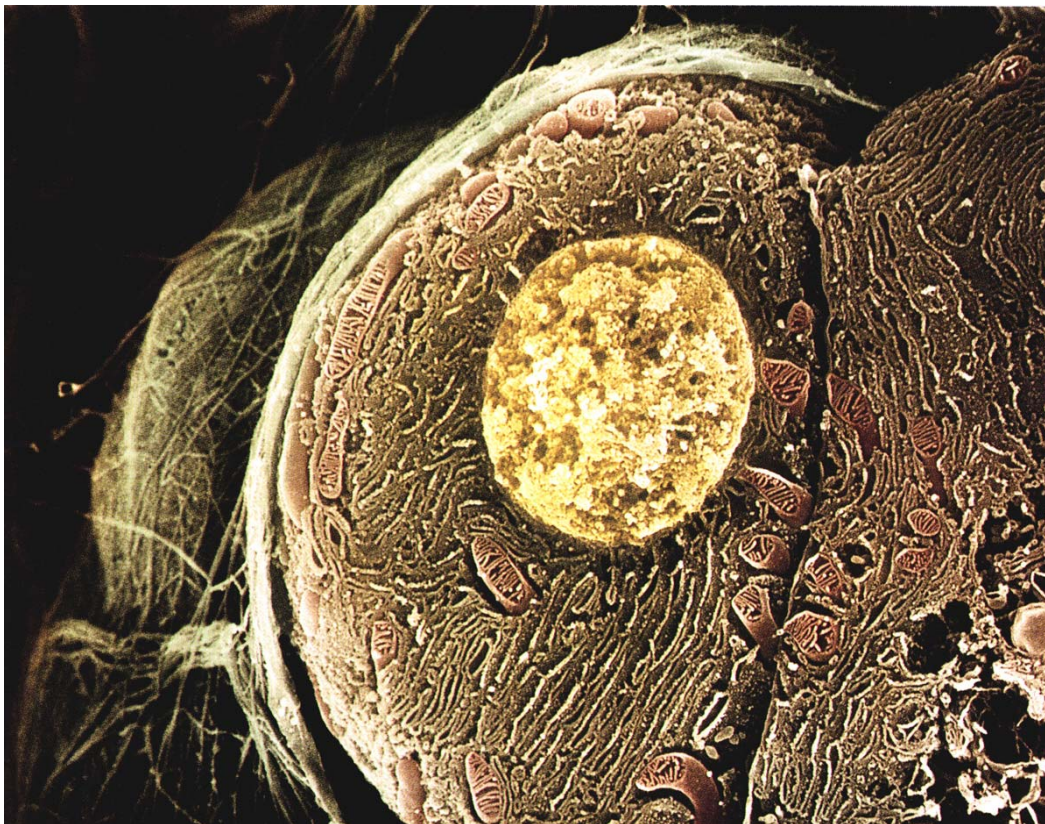
Be aware that cells are molecularly crowded



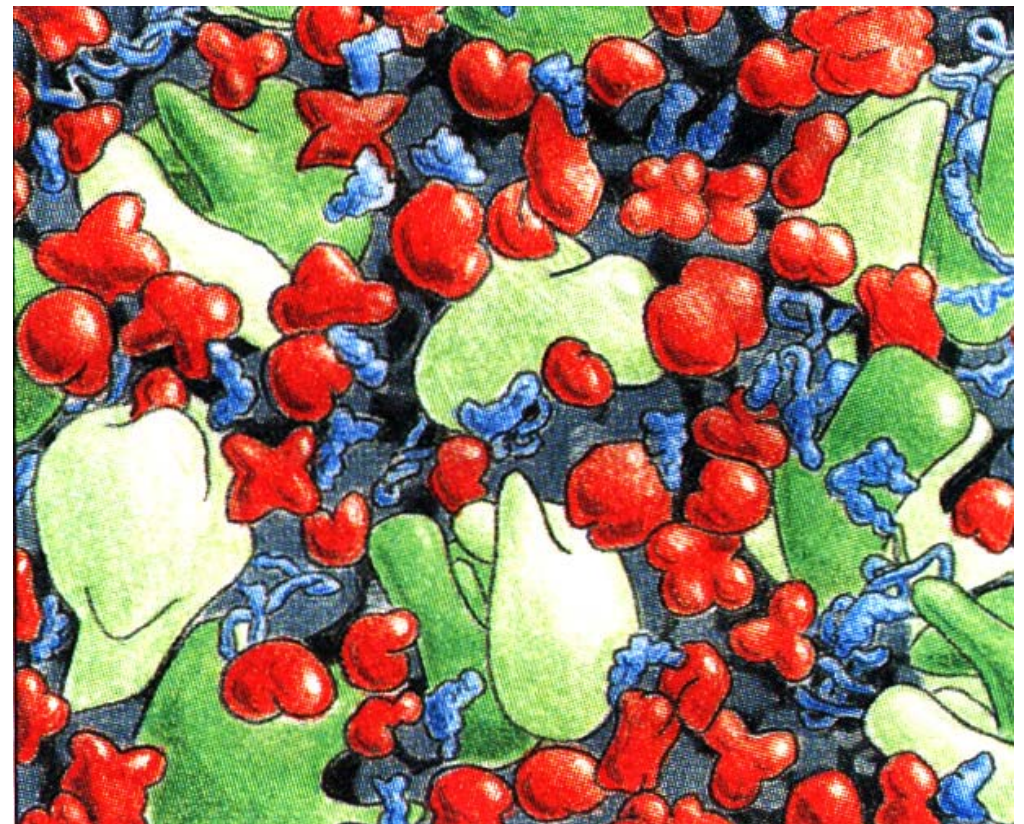
Campbell (1999) Biochemistry (3e) p.513

要注意細胞內擠滿了各式分子及胞器  
酵素與基質在細胞內生理濃度多少？  
酵素與基質存在細胞內的實際位置？

想像細胞原貌



Kleinsmith & Kish (1995) Principles of Cell & Molecular Biology (2e) p.1



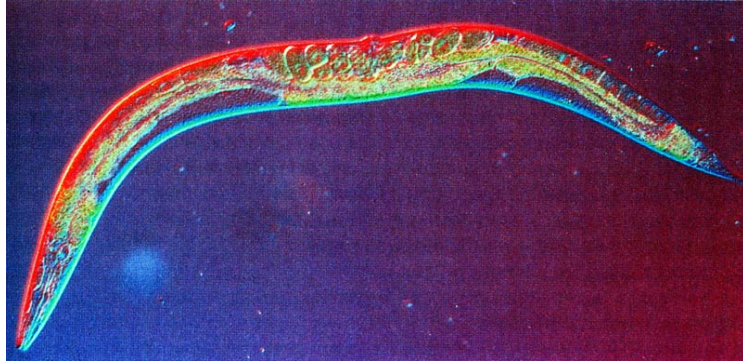
Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.78



# Ten Commandments of Enzymology

VIII

Depend on viruses to open windows



線蟲



果蠅

阿拉伯芥



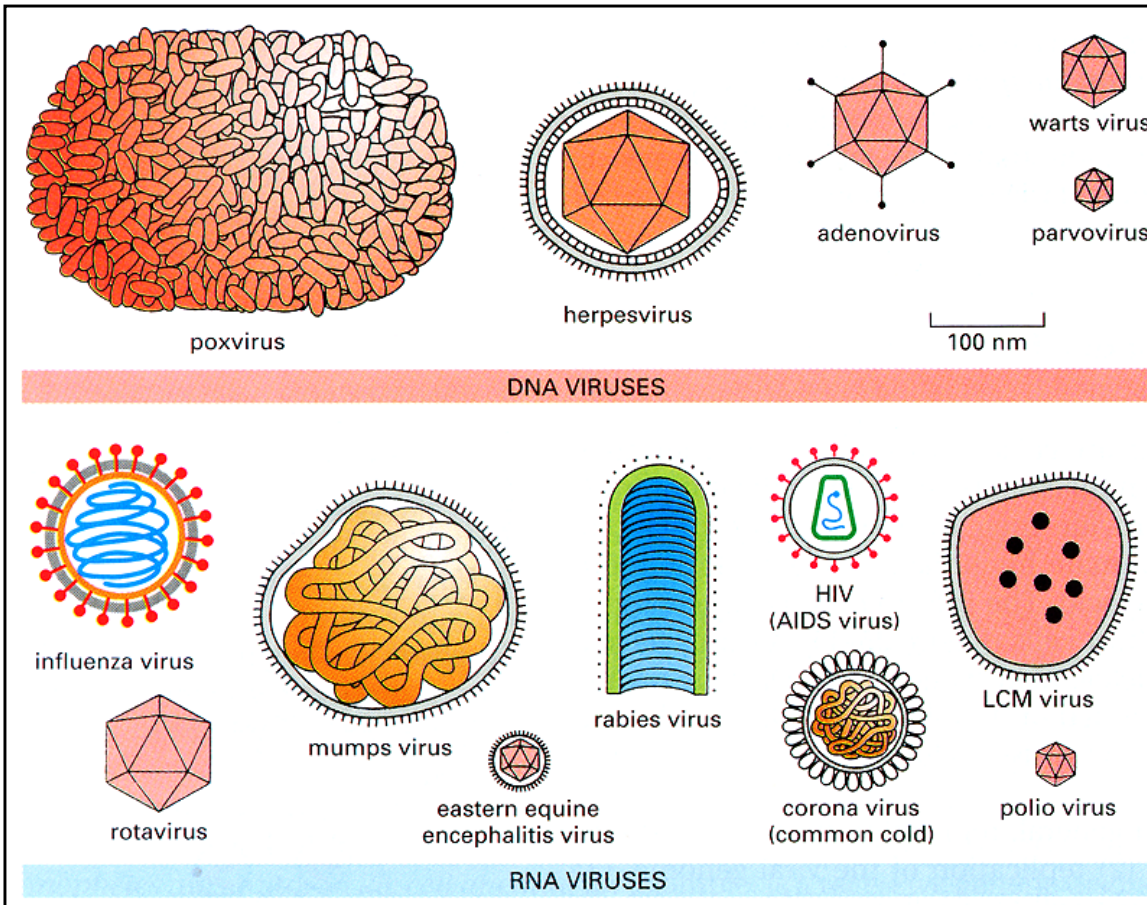
利用各種模式生物

研究病毒可開啟發現窗口

其實病毒也不簡單



Levine (1992) Viruses (Scientific American Library) p. 66



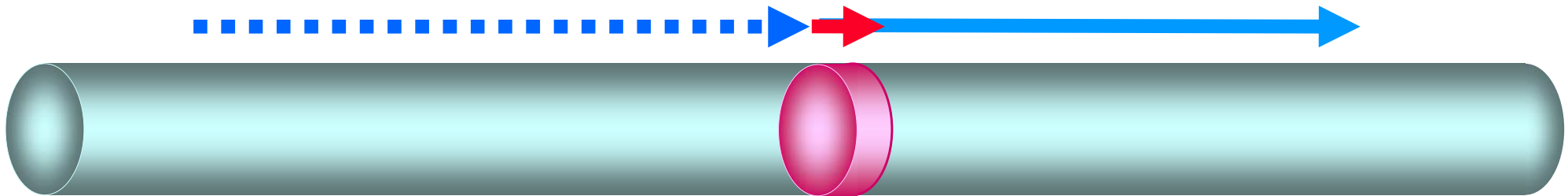


# Ten Commandments of Enzymology

IX

Remain mindful of the power of radioactive tracers

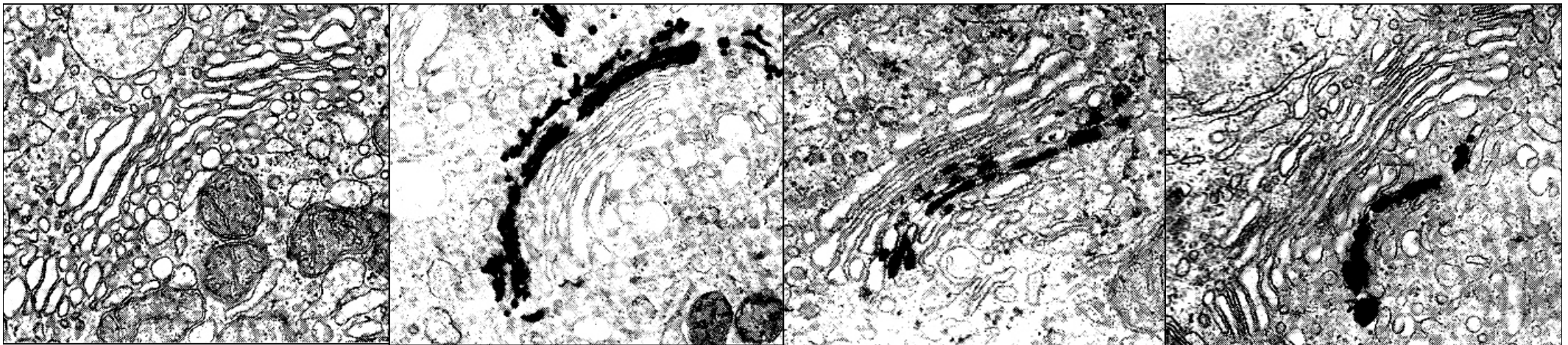
勿忘放射線追蹤工具的力量 以及 pulse-chase 實驗設計



**Chase** **Pulse**

抗體、GFP  
生物影像

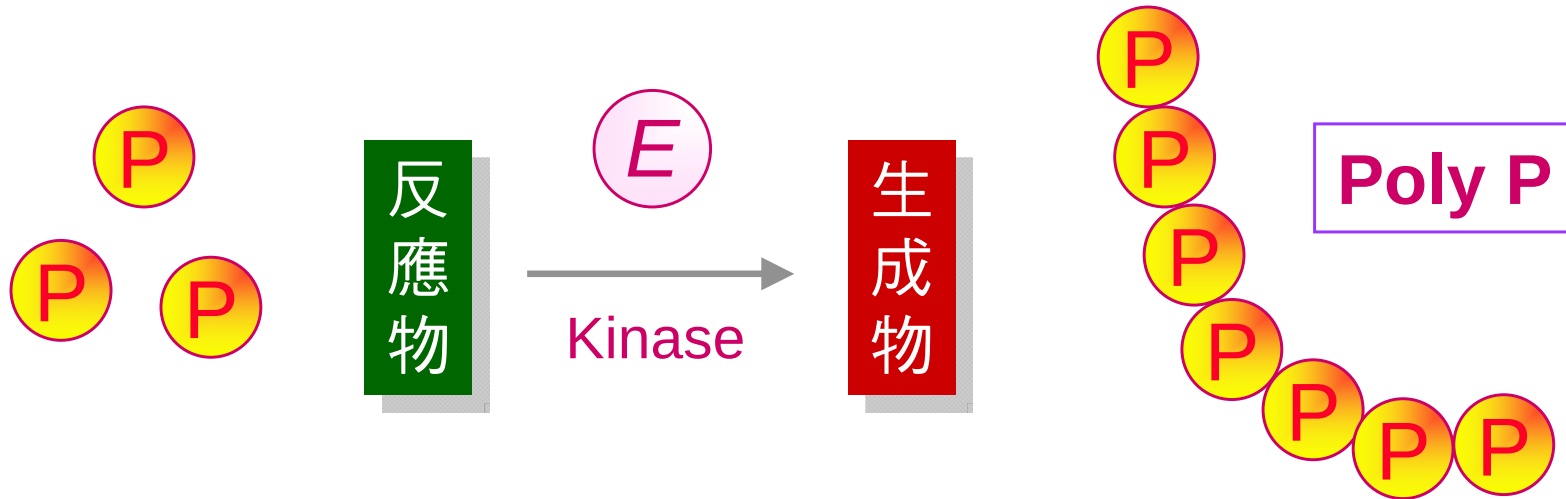
新合成蛋白質在高爾基氏體的輸入與輸出 Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.736-737



# Ten Commandments of Enzymology

X

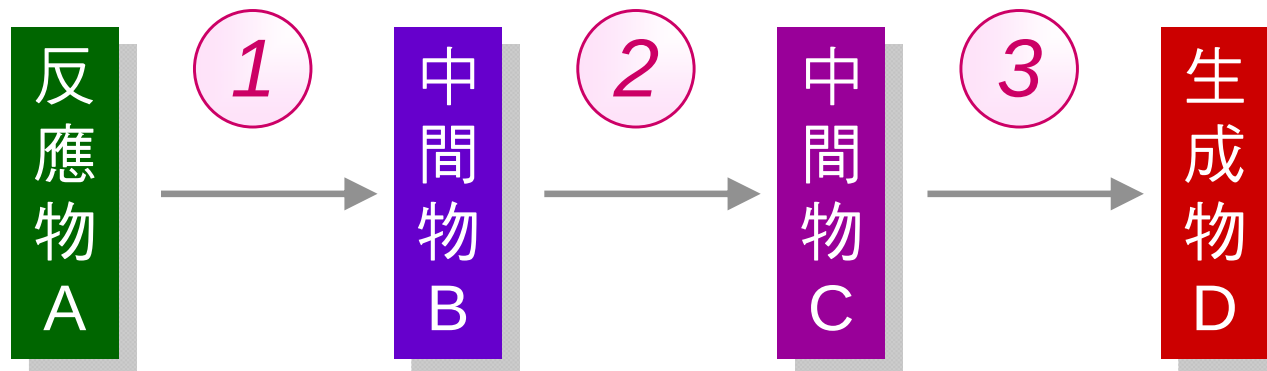
Employ enzymes as unique reagents



Zhang H, Gomez-Garcia MR, Brown MR, Kornberg A.

Inorganic polyphosphate in *Dictyostelium discoideum*: Influence on development, sporulation, and predation.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Feb 8



利用酵素為獨特的研究試劑

Reconstitute

Juang RH (2008) Enzymology

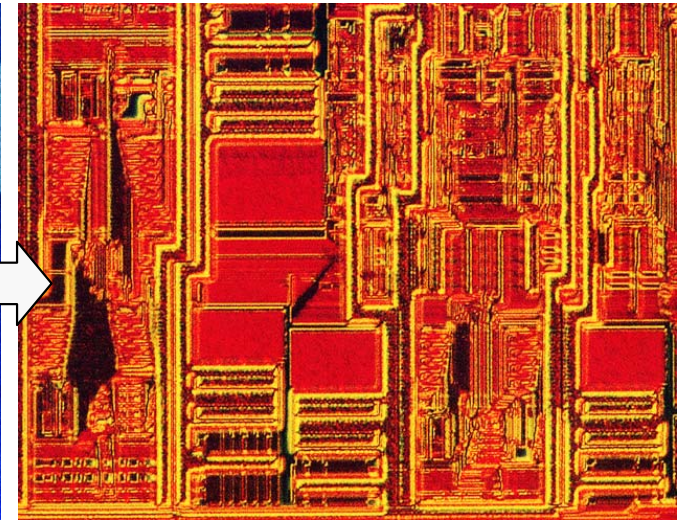
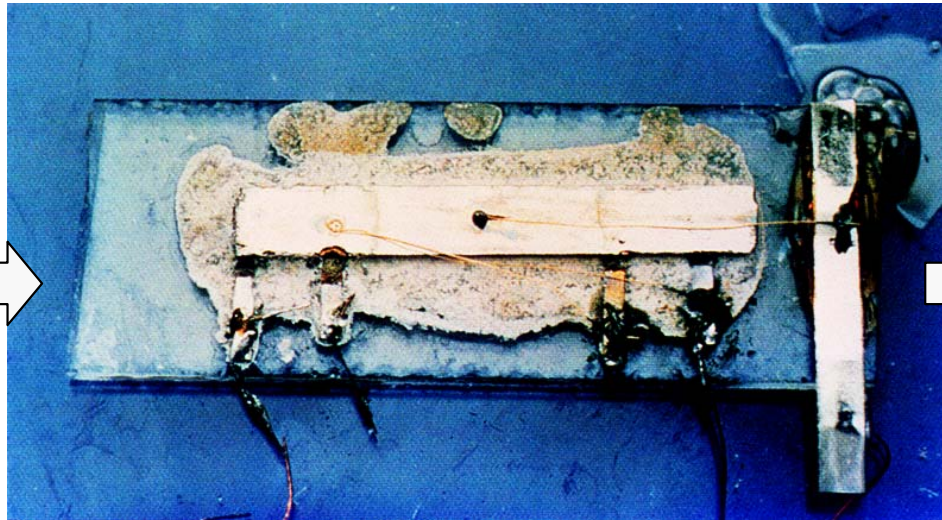
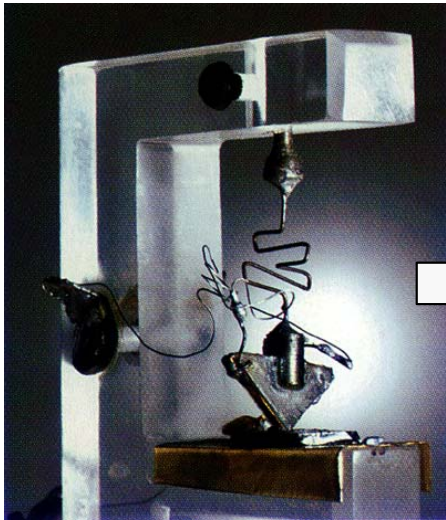


# Ten Commandments of Enzymology

0 *Thou shalt support basic research  
(and education)*

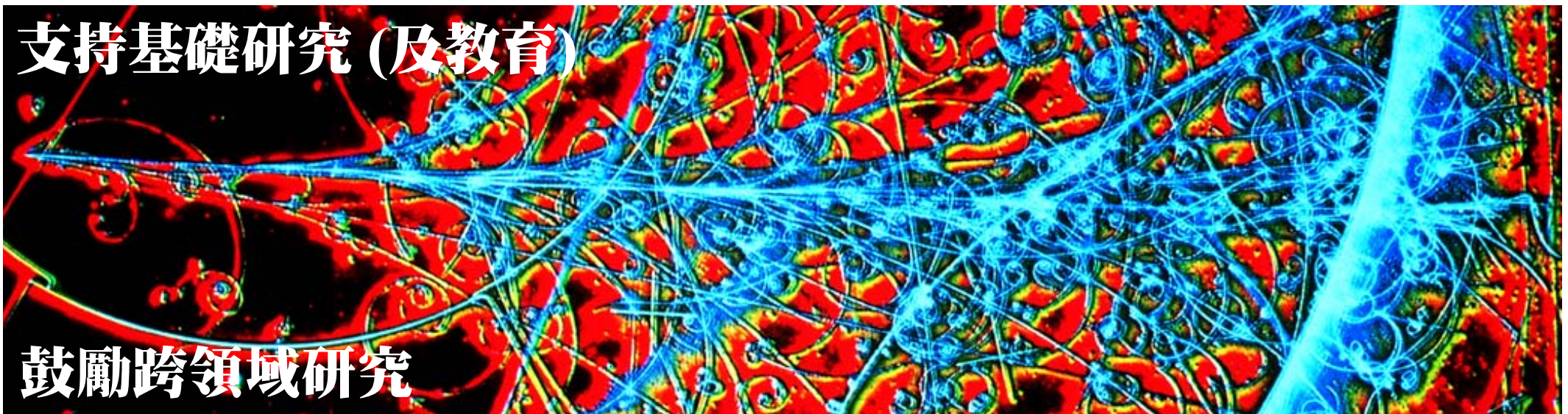
半導體 → 積體電路 → 微處理器 → 微電腦 → 個人電腦

Suplee (2000) Milestones of science (National Geographic) p. 221,236, 237



支持基礎研究 (及教育)

鼓勵跨領域研究





# Extra Commandments of Enzymology

Juang RH (2008) Enzymology

Frankenstein：『吾等信受奉行～～至死不悔～～』



- (1) 未經發表的研究成果，不算是完整的研究工作。
- (2) 我們理當努力發表我們的發現，但不必沈溺於 SCI 及 IF，應堅持走自己的路。
- (3) 所有因為研究成果所帶來的榮耀，都只是副產品。



研究生涯：  
現代科舉與科技八股文

摩西：『汝當捨棄 **Impact Factor** 為唯一真神！』