

普通高等学校规划教材

酶工程

Enzyme Engineering

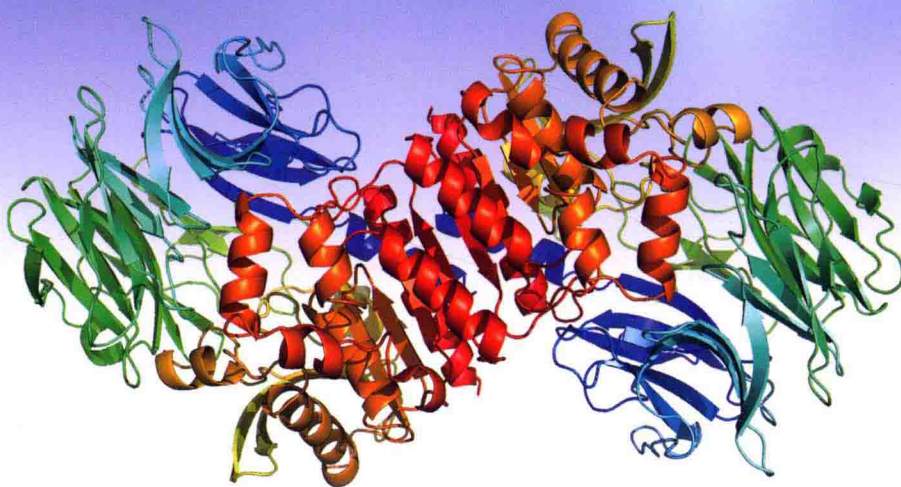
吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室 组织编写

● 罗贵民 主编

● 高仁钧 李正强 副主编

第3版

Third Edition



化学工业出版社

普通高等学校规划教材

酶工程

Enzyme Engineering

吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室 组织编写

- 罗贵民 主编
- 高仁钧 李正强 副主编



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

酶工程/罗贵民主编. —3 版. —北京: 化学工业出版社,
2016. 3

ISBN 978-7-122-25760-4

I. ①酶… II. ①罗… III. ①酶工程 IV. ①Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 282458 号

责任编辑: 傅四周 孟 嘉

装帧设计: 韩 飞

责任校对: 王素芹

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 25 字数 630 千字 2016 年 5 月北京第 3 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 60.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员

主 编：罗贵民

副 主 编：高仁钧 李正强

编写人员（以姓氏汉语拼音为序）：

高仁钧	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
郭 轶	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
姜大志	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
郎 超	吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室
李正强	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
刘俊秋	吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室
罗贵民	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
罗 毅	德克萨斯大学西南医学研究中心
吕绍武	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
盛永杰	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
王 磊	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
王 智	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
解桂秋	吉林大学药学院
徐 力	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室
张应玖	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室

前言

《酶工程》第1版于2002年5月问世,6年后,为介绍酶工程领域的进展而再版。如今又过去7个年头,生物技术在这期间得到了高速发展,酶工程领域同样日新月异,并且工业应用领域越来越多,许多酶工程技术已经成为维系当今社会发展进步不可或缺的动力。因此,我们有责任向读者介绍酶工程的新进展,撰写《酶工程》第3版。这次再版保留了第2版的编排结构,重点介绍最近几年的新动向,因此在内容编排上再次压缩了一些经典内容,重点突出新方法、新技术、新动向和研究热点,以反映酶工程领域当前的实际情况。

在章节安排上做了调整。第3版同样为十一章:第一章为经典酶学基础知识,增加了酶的调控和表达。酶表达技术的进步是酶得到广泛应用的关键,由于表达技术的进步,酶的来源更广,成本也大幅度下降,许多工业过程才得以实现。第二章(原第五章)为非水酶学,增加了该领域的最新研究进展。第三章为经典的酶化学修饰,内容做了适当的压缩。第四章为人工酶,增加了近年的研究进展。第五章为纳米酶,这是新增的一章,重点讲述纳米技术在酶学领域的应用,不少方法和策略非常新颖,是酶工程领域新的亮点之一。第六章为酶的非专一性催化,是新增的全新一章,本章以传统观点认为可能与酶催化毫不相干的反应为出发点,研究如何拓展酶的应用范围。此领域同样是当前酶工程领域的热点和新增长点,目前越来越受到重视,并直接影响到新酶筛选策略等方面。第七章为酶的稳定化和固定化,此研究领域一直是酶工程的重点内容,并直接和酶应用相关,近年出现了不少新方法和新手段。原第二章酶的固定化作为一节并入本章。第八章为抗体酶,加入了新的研究进展。第九章为核糖核酶和脱氧核糖核酶,本章按新进展重新编写。由于基因治疗和分子机器等领域的兴起,本领域也越来越受到重视。第十章为分子进化酶,从基因水平改造酶分子,这是创造新酶的重要手段,许多公司都已经将其自动化和规模化。原第十章杂合酶本质上也是分子水平改造酶,作为一节并入本章,不单独列出。第十一章为酶制剂的应用,在原来的基础上进行了内容补充。

参加本书第3版编写工作的有罗贵民(第一章),高仁钧(第一、三、十一章),王智(第二章),李正强(第三章),郎超(第四章),郭轶(第五章),徐力(第五章),王磊(第六章),吕绍武(第七章),刘俊秋(第八章),盛永杰、姜大志(第九章),张应玖(第十章),解桂秋、罗毅(第十一章)。

由于时间有限,难免会有疏漏之处,敬请广大读者批评指正。

高仁钧

2015年12月



第一版前言

应焦瑞身先生之邀,承担编写“现代生物技术丛书”中《酶工程》一书的任务,感到十分荣幸。在最近这十多年期间,生命科学,尤其是生物技术的发展极为迅猛,日新月异。这不仅表现在研究内容的深入与拓宽,而且在概念上也有相应的更替和创新,因此本书在编写上尽力包容酶工程领域的最新进展。

当前,生命科学正处于大综合、大发展时期。生物学将成为自然科学的领头学科,各学科间双向渗透、相互促进,同时引起许多边缘学科的蓬勃发展,酶工程是其中较突出者。酶鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等奇妙功能。酶的研究无疑会深刻影响酶工程乃至整个生物学领域,而且还会刺激许多其他学科研究,成为灵感的源泉。组合化学在生物学中的应用就是一个生动的例子。酶及其模拟体系应用于有机合成及工业上药物、化学品和精细化工产品的生产,有许多优点;在快速和高选择性、高灵敏度分析上,也极有用;在可再生资源、能源、环境保护等一些根本性重大问题上,也有引人入胜的前景。化学与生物技术的结合有可能使酶工程焕发出勃勃生机。

本书分四部分。第一部分即第一章,酶与酶工程,概括介绍酶学基本知识、酶学与酶工程的关系及工业上常用的大规模酶纯化方法。

第二部分讲的是化学酶工程,包括5章(第二章至第六章)。第二章固定化酶与固定化细胞介绍了酶及细胞的固定化技术、固定化后其性质的改变、表征及在实际应用上的新进展;第三章介绍酶化学修饰的原理和应用,在改善现有酶与创造新酶方面,与基因操纵技术相比,化学修饰法具有简单易行、经济实用的特点,常能完成基因操纵技术不能做的事情,因而有它的独到之处;第四章讲述了酶失活的原因,酶稳定化的方法、原理和应用,解决酶稳定性差的问题,无疑会扩大酶的应用潜力;第五章详细介绍了酶在有机溶剂中起催化作用的相关问题,酶能在非水介质中起催化作用,无疑是酶学史上的革命,它打破了酶只能在水相中起催化作用的传统观念,大大扩展了酶的应用范围,这显然是酶工程的一个新的生长点;第六章讲的是酶的人工模拟,重点介绍合成酶、抗体酶和分子印迹酶及其最新进展,本章与后面的进化酶、杂合酶一起构成了人工模拟酶的全貌,可以说,模拟酶研究生动地体现了各学科的相互渗透、相互促进以及各种技术的综合运用,相信会在基础理论研究和应用上发挥更大的作用。

第三部分是生物酶工程,包括三章(第七章至第九章)。这部分主要介绍生物酶工程的新进展,舍弃了酶基因的克隆和表达及酶基因的遗传修饰等基本的常识性内容。第七章核酶工程介绍了核酶的体外筛选、催化潜能、进化策略及其应用。核酸具有催化性能,突破了酶的本质是蛋白质的传统观念,为酶工程开辟了一个新的研究领域。第八章介绍了酶的定向进化的策略、基因文库技术及其应用。这是人为创造新酶的强有力工具,近年受到越来越多的关注。第九章介绍杂合酶。将一种酶的功能域,通过基因操纵技术(蛋白质工程技术等)转移到另一种蛋白质骨架上,或者将两种酶的功能基因组合在一起,从而产生新酶,用以改变

酶催化性质、底物专一性，改善酶的稳定性或创造其他所期望的特性等，这是近年发展起来的一种人工模拟酶的新策略。

第四部分即第十章，介绍了酶技术在各行各业的应用情况。虽然在前面的有关章节里介绍过酶技术的相关应用，这里则着重于工业规模的新进展，希望能对感兴趣的读者有所帮助。

本书由吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室的几位教授及其学生，在繁忙工作中抽空编写的，由我统编整理，因此，这是集体创作成果。本书的第一章、第四章由罗贵民编写；第二章由牟颖、罗贵民编写；第三章由曹淑桂、罗贵民编写；第五章由曹淑桂、王智编写；第六章由罗贵民、刘俊秋编写；第七章由张今、孔祥铎、张红缨编写；第八章由张今、苟小军、张红缨编写；第九章由牟颖、罗贵民编写；第十章由冯雁、王智编写。由于时间紧，加上涉及的内容广泛，书中难免出现错误和不足，敬请学术界同仁和广大读者批评和指正。

罗贵民

吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室

2001年10月 于长春



第二版前言

自《酶工程》第1版2002年5月问世以来,已经过去近6年了。这期间,随着生物技术的迅猛发展,酶工程这一领域也取得了令人瞩目的进展。我们认为有责任向读者介绍这些进展,开展《酶工程》再版工作。这次再版,力求保持原版的结构和体系,继续秉承第1版系统性、科学性、先进性、新颖性的特点,体现基础理论-技术-应用三结合,重点介绍5年来的最新进展。因此,在内容选择上,必然要压缩一些经典的方法,重点突出新兴的、具有发展潜力的研究领域和热点。每章均介绍了研究进展方面的内容。

在章节结构上稍有变动。第1版共有10章,抗体酶包含在酶的人工模拟一章中;第2版共有11章,将抗体酶单列一章,因为抗体酶属于生物酶工程范畴。第5章有机溶剂中的酶催化作用更名为非水酶学,因为这个名称不仅简捷,而且更能恰当地涵盖这个领域的研究内容。

参加本书第2版编写工作的有:曹淑桂(第3、5章),冯雁(第11章),龚平生(第8章),刘俊秋(第6、7章),吕绍武(第2、4章),罗贵民(第1、2、3、4、6、7、10章)。牟颖(第2、10章),王琳琳(第10章),王智(第3、5、11章),张应玖(第9章)。虽然各作者精心撰写,尽了最大努力,但书中难免出现错误和不足,敬请学术界同仁和广大读者批评和指正。

罗贵民
2008年3月

目 录

第一篇 基础酶学

第一章 酶学与酶工程	2
第一节 酶工程概述	2
一、酶与酶工程	2
二、酶工程简介	3
第二节 酶的分类、组成、结构特点和作用机制	4
一、酶的分类	4
二、酶的组成和结构特点	5
三、酶的作用机制	6
第三节 酶催化剂的特点	11
一、高效性	11
二、专一性	11
三、可调节性	13
第四节 影响酶活性的因素	14
一、酶活测定方式	14
二、酶联测定法	15
三、酶反应速率	15
四、底物浓度	16
五、酶浓度	16
六、温度	16
七、pH	16
第五节 酶反应动力学和抑制作用	17
一、米-曼氏模式	17
二、Lineweaver-Burk 作图	18
三、酶的抑制作用	18
第六节 酶的制备	20
一、酶的来源	20
二、蛋白质表达常见问题及解决方式	21
第七节 蛋白质、酶和重组蛋白的分离纯化	26
一、蛋白质纯化的一般考虑	26
二、蛋白质的粗分离	28
三、蛋白质的大规模分离纯化	32

总结与展望 36

参考文献 36

第二篇 实践酶学

第二章 非水酶学 40

第一节 概述 40

第二节 传统非水酶学中的反应介质 40

一、水-有机溶剂单相系统 40

二、水-有机溶剂两相系统 41

三、含有表面活性剂的乳液或微乳液系统 41

四、微水有机溶剂单相系统 42

五、无溶剂或微溶剂反应系统 42

六、气相反应介质 43

第三节 非水介质中酶的结构与性质 43

一、非水介质中酶的结构 43

二、非水介质中的酶学性质 46

第四节 影响非水介质中酶催化的因素以及调控策略 49

一、有机溶剂 49

二、水 51

三、添加剂 55

四、生物印迹 55

五、化学修饰 55

六、固定化酶 56

七、反应温度 57

八、pH 和离子强度 57

第五节 非水介质中酶催化的应用 57

一、酯的合成 57

二、肽的合成 59

三、高分子的合成与改性 60

四、光学活性化合物的制备 63

第六节 非水酶学的最新研究技术 64

一、非水酶学中的新型反应介质 64

二、非水酶学中的新技术 76

三、寻找和改造耐有机溶剂的酶 83

总结与展望 85

参考文献 85

第三章 酶的化学修饰 91

第一节 化学修饰的方法学 91

一、修饰反应专一性的控制	91
二、修饰程度和修饰部位的测定	93
三、化学修饰结果	94
第二节 酶蛋白侧链的修饰	95
一、羧基的化学修饰	95
二、氨基的化学修饰	95
三、精氨酸胍基的修饰	96
四、巯基的化学修饰	96
五、组氨酸咪唑基的修饰	97
六、色氨酸吲哚基的修饰	98
七、酪氨酸残基和脂肪族羟基的修饰	98
八、甲硫氨酸甲硫基的修饰	99
第三节 酶的亲和修饰	99
一、亲和标记	100
二、外生亲和试剂与光亲和标记	100
第四节 酶化学修饰的应用	101
一、化学修饰在酶的结构与功能研究中的应用	101
二、化学修饰酶在医药和生物技术中的应用	103
三、酶化学修饰的局限性	113
第五节 酶化学修饰的研究进展	114
一、非特异性的化学修饰	114
二、位点专一性的化学修饰	115
三、结合定点突变和化学修饰的位点选择性化学修饰	115
总结与展望	115
参考文献	116

第四章 人工酶 118

第一节 引言	118
第二节 人工酶概述	119
一、人工酶的概念	119
二、人工酶的理论基础	119
第三节 合成酶	120
一、主-客体酶模型	121
二、肽酶	127
三、半合成酶	128
四、聚合物人工酶	132
五、智能人工酶	134
第四节 印迹酶	137
一、分子印迹技术概述	137
二、分子印迹酶	142
三、生物印迹酶	144

第五节 人工酶研究进展·····	146
总结与展望·····	147
参考文献·····	148
第五章 纳米酶 ·····	151
第一节 概述·····	151
一、纳米酶的概念·····	151
二、纳米酶的理论基础·····	151
三、纳米酶的应用领域·····	154
第二节 用于纳米酶的纳米材料·····	154
一、金属纳米材料·····	155
二、磁性纳米材料·····	155
三、碳基纳米材料·····	156
四、其他纳米材料·····	158
第三节 影响纳米酶催化的因素以及调控策略·····	160
一、纳米材料的尺寸·····	160
二、纳米材料的形貌·····	161
三、表面包覆和修饰·····	162
四、活化和抑制·····	163
五、其他因素·····	163
第四节 纳米酶的应用进展·····	164
一、H ₂ O ₂ 检测 ·····	164
二、葡萄糖检测·····	165
三、DNA 检测 ·····	165
四、生物传感器·····	166
五、免疫分析·····	166
第五节 纳米酶研究进展·····	167
总结与展望·····	169
参考文献·····	169
第六章 酶非专一性催化 ·····	173
一、酶非专一性简介·····	173
二、酶反应条件非专一性·····	173
三、酶的底物非专一性·····	175
四、酶催化非专一性·····	176
五、酶催化非专一性的应用实例·····	177
总结与展望·····	195
参考文献·····	195
第七章 酶稳定化与固定化 ·····	198

第一节 酶蛋白的稳定性及其变性机制	198
一、酶蛋白稳定性的分子原因	198
二、测定蛋白质稳定性的方法	199
三、蛋白质不可逆失活的原因和机制	201
第二节 酶蛋白质的稳定化	205
一、固定化	206
二、非共价修饰	208
三、化学修饰	210
四、蛋白质工程	212
第三节 酶的固定化	214
一、固定化酶的定义	214
二、固定化酶的制备原则	215
三、酶的固定化方法	215
四、辅因子的固定化	223
五、固定化酶的性质变化	229
六、影响固定化酶性质的因素	231
第四节 酶稳定化与固定化的研究进展	234
一、生物化学及分子生物学基础研究	234
二、生物传感器	236
三、亲和分离系统	238
四、纳米材料	241
五、其他技术与方法的应用	242
总结与展望	247
参考文献	248
第八章 抗体酶	253
第一节 引言	253
第二节 抗体酶概述	253
第三节 抗体酶的制备方法	255
一、稳定过渡态法	255
二、抗体与半抗原互补法	255
三、熵阱法	256
四、多底物类似物法	257
五、抗体结合部位修饰法	257
六、蛋白质工程法	258
七、抗体库法	258
第四节 抗体酶活性部位修饰	259
一、定点突变	259
二、化学修饰法	260
第五节 抗体酶的结构	260
第六节 抗体酶的应用	263

一、抗体酶在有机合成中的应用	263
二、阐明化学反应机制	263
三、抗体酶在天然产物合成中的应用	263
四、抗体酶在新药开发中的应用	264
第七节 抗体酶研究进展	265
一、半抗原设计	265
二、抗体酶的化学筛选	266
三、抗体酶催化的化学转化	268
四、计算机辅助设计抗体酶	271
五、与兴奋剂相关的抗体酶制备	271
六、化学程序化的抗体酶	271
七、抗体酶在癌症治疗中的应用	273
总结与展望	276
参考文献	277
第九章 核酸酶	280
第一节 核酶	280
一、自身剪切类核酶	280
二、自身剪接类核酶	284
三、核开关核酶	284
第二节 脱氧核酶	286
一、分裂 RNA 的脱氧核酶	287
二、分裂 DNA 的脱氧核酶	288
三、具有激酶活性的脱氧核酶	289
第三节 核酸酶的筛选与进化	290
一、技术和历史	290
二、适体的选择	292
第四节 核酸酶的应用研究进展	294
一、核酸酶在医学上的应用	294
二、核酸酶与生物传感器	295
三、核酸酶在其他方面的应用	296
总结与展望	296
参考文献	296
第十章 进化酶	298
第一节 引言	298
第二节 酶的合理设计	298
一、定点突变	299
二、模块组装	299
第三节 酶的定向进化	300
一、基本策略	301

二、多样化的基本方法	303
三、多样性文库的构建	308
四、文库选择或筛选	309
第四节 自然界中蛋白质进化机制	311
一、基因复制	311
二、串联复制	312
三、环状变换	312
四、寡聚化	313
五、基因融合	313
六、结构域募集	313
七、外显子改组	313
第五节 环境库和噬菌体展示库的构建	314
一、环境库（宏基因组文库）的构建	314
二、噬菌体展示库的构建	316
第六节 环境库和噬菌体展示库的筛选	318
一、环境库的筛选	318
二、噬菌体展示库的选择	319
第七节 酶定向进化的应用	320
一、提高酶分子的催化活力	320
二、创造新的酶活性（功能）	320
三、提高酶分子的稳定性	321
四、适应特定的催化系统或环境	321
五、提高底物专一性或拓宽特异性底物范围	322
六、改变对映体选择性	322
总结与展望	322
参考文献	323

第三篇 应用酶学

第十一章 酶制剂的应用	330
第一节 概论	330
一、酶制剂的市场和发展历史	330
二、酶制剂的来源及特点	332
第二节 酶在食品加工方面的应用	334
一、制糖工业	335
二、啤酒发酵	338
三、蛋白制品加工	339
四、水果加工	339
五、酶改善食品的品质、风味和颜色	340
六、乳品工业	341

七、肉类和鱼类加工·····	342
八、蛋品加工·····	342
九、面包烘焙与食品制造·····	343
十、食品保藏·····	343
十一、其他·····	344
第三节 酶在轻工方面的应用·····	344
一、原料处理·····	345
二、轻工产品方面的应用·····	346
三、加酶增加产品的使用效果·····	350
第四节 酶在医学中的应用·····	352
一、疾病诊断·····	352
二、疾病治疗·····	354
三、药物生产·····	358
四、生物医学工程·····	361
第五节 在分析检测方面的应用·····	363
一、单酶反应检测·····	364
二、多酶偶联反应检测·····	364
三、酶联免疫反应检测·····	365
第六节 酶在能源开发方面的应用·····	366
一、乙醇生产·····	366
二、生物柴油·····	368
三、氢气·····	370
四、生物电池·····	371
五、沼气的生产·····	372
第七节 酶在环境保护方面的应用·····	372
一、水净化·····	373
二、石油和工业废油·····	374
三、白色污染·····	375
四、环境监测·····	376
第八节 极端酶的应用·····	376
一、极端微生物与极端酶·····	377
二、嗜热酶的应用·····	378
三、嗜冷酶的应用·····	379
四、嗜盐酶的应用·····	379
五、嗜碱酶的应用·····	380
六、嗜酸酶的应用·····	380
七、其他嗜极酶的应用·····	381
总结与展望·····	381
参考文献·····	381

第一篇

基础酶学

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □ □