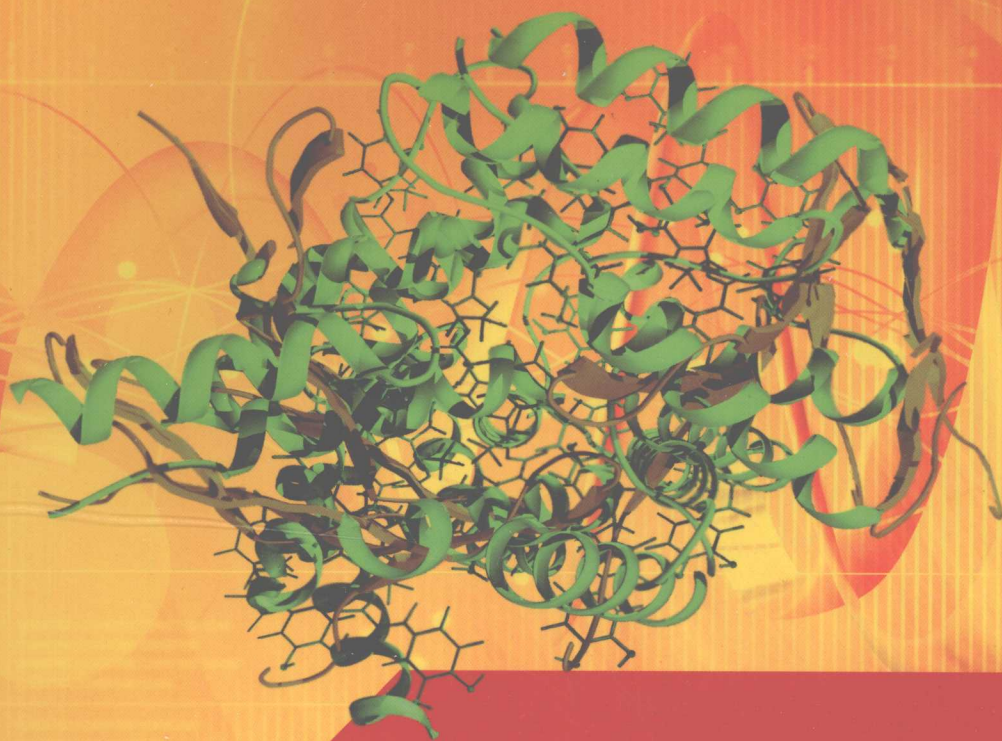




高职高专“十一五”规划教材

★ 生物技术系列



酶工程

周济铭 主编

MEIGONGCHENG

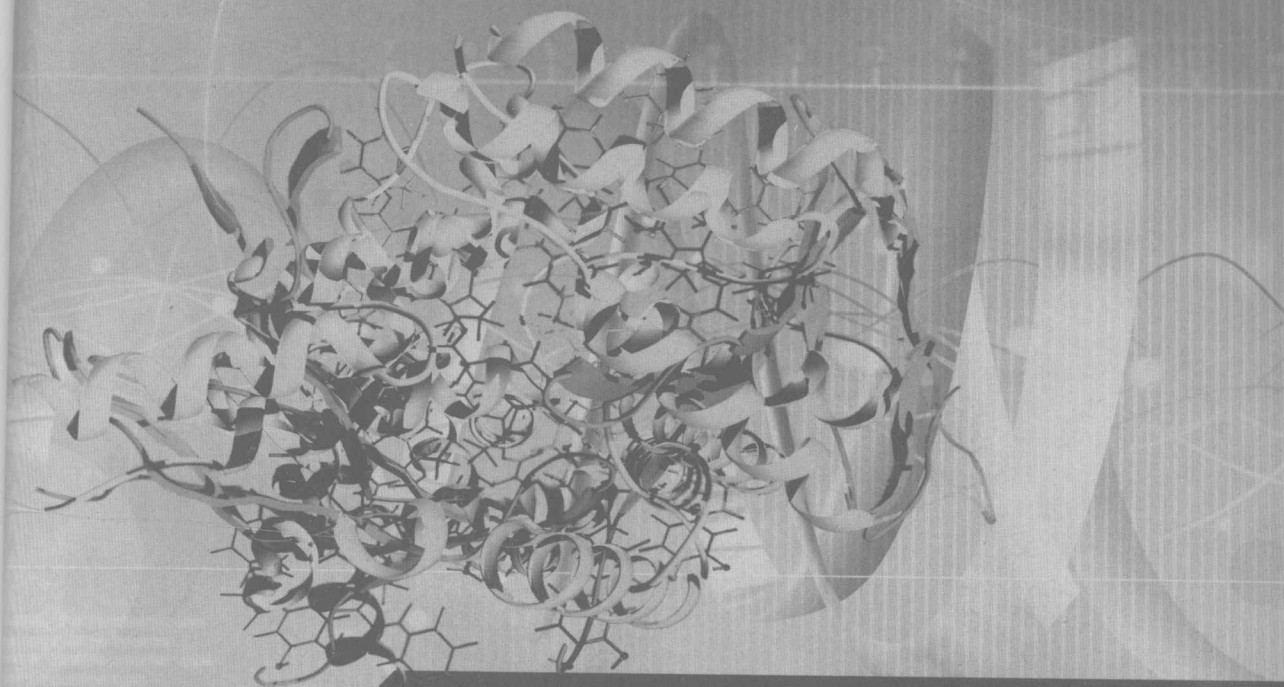


化学工业出版社



高职高专“十一五”规划教材

★生物技术系列



酶工程

周济铭 主编

MEIGONGCHENG



化学工业出版社

·北京·

本书是高职高专“十一五”规划教材★生物技术系列之一。教材在内容安排上注重基础知识、基本技能,加强实践教学内容,突出实用性。内容包括酶及酶工程概论、微生物发酵产酶、动植物细胞培养产酶、酶的提取与分离纯化、酶的活力测定、酶及细胞固定化、酶的特殊利用、酶制剂的应用等。每章后都设置有体现酶工程的新知识、新工艺、新方法和新技术的实训项目,以求强化学生的实践能力。

本教材可作为高职高专生物技术及应用、食品生物技术、生物制药等专业学生用书,也可供相关行业的技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

酶工程/周济铭主编. —北京:化学工业出版社, 2008.5
高职高专“十一五”规划教材★生物技术系列
ISBN 978-7-122-02564-7

I. 酶… II. 周… III. 酶-生物工程-高等学校: 技术学院-教材 IV. Q814

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第065255号

责任编辑:李植峰 郎红旗 梁静丽
责任校对:周梦华

文字编辑:张春娥
装帧设计:张辉

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)

印装:化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张14½ 字数352千字 2008年7月北京第1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: 25.00 元

版权所有 违者必究

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设委员会委员名单

(按姓名笔画排序)

主任委员 陈电容

副主任委员 王德芝

委员 (按姓名笔画排序)

王云龙	王方林	王幸斌	王德芝	李崇高	李敏骞	吴高岭
员冬梅	辛秀兰	宋正富	张胜	张海	张文雯	张温典
张德新	陆旋	陈红	陈电容	陈忠辉	陈登文	周庆椿
郑璜	郑强	赵凤英	赵书芳	胡红杰	娄金华	钱志强
黄根隆	崔士民	程云燕				

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 编审委员会委员名单

主任委员 章静波

副主任委员 辛秀兰 刘振祥

委员 (按姓名笔画排序)

王利明	王幸斌	王晓杰	卞勇	叶水英	包雪英	兰蓉
朱学文	任平国	刘振祥	关力	江建军	孙德友	李燕
李双石	李玉林	李永峰	李晓燕	李晨阳	杨贤强	杨国伟
杨洪元	杨福林	邱玉华	余少军	辛秀兰	宋京城	张文雯
张守润	张星海	张晓辉	张跃林	张温典	张德炎	陈玮
陈可夫	陈红梅	罗合春	金小花	金学平	周双林	周济铭
赵俊杰	胡斌杰	贺立虎	夏红	夏未铭	党占平	徐安书
徐启红	郭晓昭	陶令霞	黄贝贝	章玉平	章静波	董秀芹
程春杰	谢梅英	廖威	廖旭辉			

高职高专生物技术类“十一五”规划教材

建设单位名单

(按汉语拼音排序)

- | | |
|--------------|--------------|
| 安徽第一轻工业学校 | 湖北荆门职业技术学院 |
| 安徽万博科技职业学院 | 湖北荆州职业技术学院 |
| 安徽芜湖职业技术学院 | 湖北三峡职业技术学院 |
| 安徽医学高等专科学校 | 湖北生态工程职业技术学院 |
| 北京城市学院 | 湖北十堰职业技术学院 |
| 北京电子科技职业学院 | 湖北咸宁职业技术学院 |
| 北京吉利大学 | 湖北中医学院 |
| 北京协和医学院 | 湖南省药品检验所 |
| 北京医药器械学校 | 湖南永州职业技术学院 |
| 重庆工贸职业技术学院 | 华中农业大学 |
| 重庆三峡职业学院 | 江苏常州工程职业技术学院 |
| 甘肃农业职业技术学院 | 江西景德镇高等专科学校 |
| 广东科贸职业学院 | 江西应用技术职业学院 |
| 广西职业技术学院 | 开封大学 |
| 广州城市职业学院 | 山东滨州职业技术学院 |
| 贵州轻工职业技术学院 | 山东东营职业学院 |
| 河北承德民族师范专科学校 | 山东福瑞达医药集团公司 |
| 河北承德职业技术学院 | 陕西杨凌职业技术学院 |
| 河北旅游职业学院 | 上海工程技术大学 |
| 河南安阳工学院 | 四川工商职业技术学院 |
| 河南工业大学 | 苏州农业职业技术学院 |
| 河南科技学院 | 武汉软件工程职业学院 |
| 河南漯河职业技术学院 | 武汉马应龙药业有限公司 |
| 河南濮阳职业技术学院 | 武汉生物工程学院 |
| 河南三门峡职业技术学院 | 浙江大学 |
| 河南信阳农业高等专科学校 | 浙江金华职业技术学院 |
| 黑龙江农业职业技术学院 | 浙江经贸职业技术学院 |
| 呼和浩特职业学院 | 浙江医药高等专科学校 |
| 湖北大学知行学院 | 郑州牧业工程高等专科学校 |
| 湖北恩施职业技术学院 | 郑州职业技术学院 |
| 湖北黄冈职业技术学院 | 中国食品工业(集团)公司 |

《酶工程》编写人员

主 编 周济铭

副主编 孟泉科

参编人员 (按姓名笔画排序)

邓玉营 常州工程职业技术学院

杨国伟 北京电子科技职业学院

宋京城 苏州农业职业技术学院

周济铭 杨凌职业技术学院

孟泉科 三门峡职业技术学院

赵美琳 漯河职业技术学院

贺立虎 杨凌职业技术学院

出版说明

“十五”期间，我国的高职高专教育经历了跨越式发展，高职高专教育的专业建设、改革和发展思路进一步明晰，教育研究和教学实践都取得了丰硕成果。但我们也清醒地认识到，高职高专教育的人才培养效果与市场需求之间还存在一定的偏差，课程改革和教材建设的相对滞后是导致这一偏差的两大直接原因。虽然“十五”期间各级教育主管部门、高职高专院校以及各类出版社对高职高专教材建设给予了较大支持和投入，出版了一些特色教材，但由于整个高职高专教育尚未进入成熟期，教育改革尚处于探索阶段，故而现行的一些教材难免存在一定程度的不足。如某些教材仅仅注重内容上的增减变化，过分强调知识的系统性，没有真正反映出高职高专教育的特征与要求；编写人员缺少对生产实际的调查研究和深入了解，缺乏对职业岗位所需的专业知识和专项能力的科学分析，教材的内容脱离生产经营实际，针对性不强，新技术、新工艺、新案例、新材料不能及时反映到教材中来，与高职高专教育应紧密联系行业实际的要求不相适应；专业课程教材的编写缺少规划性，同一专业的各门课程所使用的教材缺乏内在的沟通衔接等。为适应高职高专教学的需要，在总结“十五”期间高职高专教学改革成果的基础上，组织编写一批突出高职高专教育特色，以培养适应行业需要的高级技能型人才为目标的高质量教材不仅十分必要，而且十分迫切。

“十一五”期间，教育部将深化教学内容和课程体系改革作为工作重点，大力推进教材向合理化、规范化方向发展。2006年，教育部不仅首次成立了高职高专40个专业类别的“教育部高等学校教学指导委员会”，加强了对高职高专教学改革和教材建设的直接指导，还组织了普通高等教育“十一五”国家级规划教材的申报工作。化学工业出版社申报的200余本教材经教育部专家评审，被列选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，为高等教育的发展做出了积极贡献。依照教育部的部署和要求，2006年化学工业出版社与生物技术应用专业教育部教改试点高职院校联合，邀请50余家高职高专院校和生物技术相关企业作为教材建设单位，共同研讨开发生物技术类高职高专“十一五”规划教材，成立了“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材建设委员会”和“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研、整体规划的基础上，编写出版一套生物技术相关专业基础课及专门课的教材——“高职高专‘十一五’规划教材★生物技术系列”。该批教材将涵盖各类高职高专院校的生物技术及专业、生物化工工艺专业、生物实验技术专业、微生物技术及应用专业、生物科学专业、生物制药技术专业、生化制药技术专业、发酵技术专业等专业的核心课程，从而形成优化配套的高职高专教材体系。该套教材将于2007~2008年陆续出版。目前，该套教材的首批编写计划已顺利实施。首批编写的教材中，《化学》、《细胞培养技术》和《药品质量管理》已列选为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。

该套教材的建设宗旨是从根本上体现以应用性职业岗位需求为中心，以素质教育、创新教育为基础，以学生能力培养为本位的教育理念，满足高职高专教学改革的需要和人才培养的需求。编写中主要遵循以下原则：①理论教材和实训教材中的理论知识遵循“必需”、“够用”、“管用”的原则；②依据企业对人才的知识、能力、素质的要求，贯彻职业需求导向的

原则；③坚持职业能力培养为主线的原则，多加入实际案例、技术路线、操作技能的论述，教材内容采用模块化形式组织，具有一定的可剪裁性和可拼接性，可根据不同的培养目标将内容模块剪裁、拼接成不同类型的知识体系；④考虑多岗位需求和学生继续学习的要求，在职业岗位现实需要的基础上，注重学生的全面发展，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向，体现与时俱进的原则；⑤围绕各种具体专业，制订统一、全面、规范性的教材建设标准，以协调同一专业相关课程教材间的衔接，形成有机整体，体现整套教材的系统性和规划性。同时，结合目前行业发展和教学模式的变化，吸纳并鼓励编写特色课程教材，以适应新的教学要求；并注重开发实验实训教材、电子教案、多媒体课件、网络教学资源等配套教学资源，方便教师教学和学生学习，满足现代化教学模式和课程改革的需要。

在该套教材的组织建设和使用过程中，欢迎高职高专院校的广大师生提出宝贵意见，也欢迎相关行业的管理人员、技术人员与社会各界关注高职高专教育和人才培养的有识之士提出中肯的建议，以便我们进一步做好该套教材的建设工作；更盼望有更多的高职高专院校教师和相关行业的管理人员、技术人员参加到教材的建设工作和编审工作中来，与我们共同努力，编写和出版更多高质量的教材。

化学工业出版社

前 言

高等职业技术教育是我国高等教育的重要组成部分，已形成一种新的教育类型，具有其特有的教育教学规律。随着经济的发展、科技的进步以及教育的国际化趋势不断提高，我国对高职教育提出了更新、更高的要求。根据教育部有关文件精神，吸收近年来高职人才培养模式和教学体系改革的相关成果，结合自身教学实践经验，围绕培养技能型、应用性高职人才培养目标，我们编写了《酶工程》高职教材。

生物工程已成为发展最快、应用最广、潜力最大、竞争最为激烈的科技领域之一，也是最有希望取得关键性突破的学科之一。生物工程产业作为一个正在崛起的主导性产业，已成为产业结构调整的战略重点和新的经济增长点，将成为我国赶超世界发达国家生产力水平、实现后发优势和跨越式发展最有前途、最有希望的领域。

酶工程是生物工程的重要组成部分，是酶学和工程学相互渗透结合而发展而形成的一门新的技术科学，是酶学、微生物学的基本原理与化学工程等有机结合而产生的边缘学科。酶作为生物催化剂具有催化专一性好、效率高、作用条件温和等优点，已广泛应用于医药、食品、轻工、化工、能源、环保、检测、生物技术等领域，深刻影响着许多重要的科学和实践领域。

本教材针对我国高职教育特点和实践教学现状，在内容安排上注重基础知识、基本技能介绍，并加强实践教学内容，突出了实用性和应用性。力求使教材具有结构合理、内容全面、适应面广、实训突出、技术实用的特点，以强化学生动手能力的培养。教材共分八章，分别从酶及酶工程概论、微生物发酵产酶、动植物细胞培养产酶、酶的提取与分离纯化、酶的活力测定、酶及细胞固定化、酶的特殊利用和酶制剂的应用方面进行了介绍。每章后均设置有体现新知识、新技术、新工艺的实训项目。

三门峡职业技术学院的孟泉科，苏州农业职业技术学院的宋京城，漯河职业技术学院的赵美琳，北京电子科技职业学院的杨国伟，常州工程职业技术学院的邓玉营，杨凌职业技术学院的周济铭、贺立虎参加了教材编写，由周济铭负责全书的统稿和定稿，孟泉科参与了部分章节的统稿。本教材在编写过程中得到了许多人士的关心和帮助，在诸多方面给予了支持，在此表示感谢。

本教材可作为高职生物技术及应用、食品生物技术、生物制药等专业学生用书，也可供相关行业的技术人员参考。

鉴于编者水平有限，书中难免会有疏漏或不妥之处，恳请读者不吝赐教，提出宝贵意见。

编者

2008年4月

目 录

第一章 酶及酶工程概论	1
第一节 酶工程发展概况	1
一、酶及酶工程研究的重要意义	1
二、酶及酶工程发展史	2
三、酶工程简介	3
第二节 酶的分类与命名	6
一、蛋白类酶的分类与命名	6
二、核酸类酶的分类与命名	8
三、其他分类和命名	9
第三节 酶催化作用的特点	11
一、催化作用的高效性	11
二、催化作用的专一性	12
三、催化作用的条件温和	13
四、催化作用的环境敏感性	13
五、催化作用的可控性	13
第四节 影响酶催化作用的因素	14
一、底物浓度	15
二、酶浓度	15
三、温度	15
四、pH	16
五、酶抑制剂	16
六、酶激活剂	17
本章小结	18
复习思考题	18
技能实训 1-1 酶促反应中初速度时间范围测定	18
技能实训 1-2 pH对酶活力的影响——最适pH的测定	20
技能实训 1-3 温度对酶活力的影响——最适温度的测定	21
技能实训 1-4 米氏常数和最大反应速度的测定	22
技能实训 1-5 抑制条件下米氏常数和最大反应速度的测定及抑制类型判定	24
第二章 微生物发酵产酶	28
第一节 常用产酶微生物	29
一、常用产酶微生物	29
二、高产菌种的选育	35
三、菌种保藏及复壮	41

四、国内外菌种保藏机构	44
第二节 微生物发酵产酶工艺	45
一、产酶菌种的筛选、细胞活化及扩大培养	45
二、培养基配制	46
三、环境条件控制	47
四、提高酶产量的措施	49
本章小结	51
复习思考题	52
技能实训 2-1 微生物分离与纯化	52
技能实训 2-2 发酵罐的培养与调控	54
技能实训 2-3 α -淀粉酶的固定化活细胞发酵生产	55
技能实训 2-4 碱性蛋白酶的吸附固态发酵生产	57
技能实训 2-5 纤维素酶的固态发酵生产	59
第三章 动植物细胞培养产酶	62
第一节 植物细胞培养产酶	63
一、植物细胞培养的特点	63
二、培养基组成与配制	64
三、植物细胞培养产酶的工艺条件控制及其流程	66
第二节 动物细胞培养产酶	67
一、动物细胞培养的特点	68
二、培养基组成与配制	68
三、动物细胞培养的工艺条件控制及其流程	70
第三节 细胞培养装置	72
一、植物细胞培养反应器	72
二、动物细胞培养反应器	74
本章小结	78
复习思考题	79
技能实训 3-1 动物细胞培养基的配制	79
技能实训 3-2 动物细胞培养	81
技能实训 3-3 植物细胞培养	82
第四章 酶的提取与分离纯化	84
第一节 细胞分离与破碎	84
一、细胞分离	84
二、细胞破碎	84
第二节 酶的提取	86
一、酶提取方法	86
二、影响酶提取的主要因素	87
第三节 酶的分离纯化	87
一、沉淀分离	87

二、离心分离	90
三、膜分离	92
四、萃取	93
五、层析分离	96
六、电泳分离	104
第四节 酶的干燥	111
一、真空干燥	111
二、冷冻干燥	111
三、喷雾干燥	111
第五节 酶的结晶	112
一、酶结晶的原理	112
二、酶结晶条件的选择	113
三、酶结晶的方法	114
本章小结	115
复习思考题	116
技能实训 4-1 琼脂糖凝胶电泳法分离乳酸脱氢酶同工酶	116
技能实训 4-2 疏水层析法分离纯化 α -淀粉酶	118
技能实训 4-3 超氧化物歧化酶的分离纯化	119
技能实训 4-4 溶菌酶的提纯结晶	122
第五章 酶的活力测定	125
第一节 酶的结构与性质	125
一、酶的组成和结构特点	125
二、酶的理化性质	126
三、酶的作用机制	126
第二节 酶活力测定方法	129
一、酶活力	129
二、酶活力测定	130
本章小结	132
复习思考题	132
技能实训 5-1 肝脏谷丙转氨酶活力测定	132
技能实训 5-2 血清谷丙转氨酶活力测定	134
技能实训 5-3 α -淀粉酶活力测定	136
技能实训 5-4 酸性磷酸酯酶的提取和酶活力测定	138
技能实训 5-5 溶菌酶的制备及活力测定	140
第六章 酶的固定化	143
第一节 酶的固定化	144
一、酶固定化的方法	144
二、固定化酶的特性	148
三、固定化酶的应用	149

第二节 细胞固定化	151
一、细胞固定化的方法	151
二、微生物细胞固定化	153
三、植物细胞固定化	154
四、动物细胞固定化	154
第三节 原生质体固定化	155
一、原生质体的制备	155
二、固定化原生质体的特点	156
三、原生质体固定化的方法	156
四、固定化原生质体的应用	157
第四节 固定化酶活力测定	158
一、固定化酶的活力	158
二、固定化酶的活力测定	158
三、固定化酶比活力测定	159
四、酶结合效率与酶活力回收率的测定	159
五、相对活力测定	159
本章小结	159
复习思考题	160
技能实训 6-1 果胶酶的固定化	160
技能实训 6-2 糖化酶的固定化	162
技能实训 6-3 κ -角叉胶包埋法固定酿酒酵母	164
技能实训 6-4 固定化酶活力测定	165
第七章 酶的修饰和非水相催化	167
第一节 酶分子的化学修饰	167
一、金属离子置换修饰	167
二、酶分子侧链基团修饰	168
三、酶的大分子修饰	170
四、其他修饰方法	171
五、酶分子修饰的应用	173
第二节 酶的非水相催化作用	175
一、非水介质中酶催化研究概况	176
二、酶在非水介质中的催化反应及应用	178
本章小结	185
复习思考题	185
技能实训 7-1 胆绿素还原酶的修饰与活性基团的鉴定	185
技能实训 7-2 非水相中脂肪酶催化生产生物柴油	187
第八章 酶制剂的应用	190
第一节 酶制剂在食品加工方面的应用	190
一、酶在食品生产方面的应用	191

二、酶在食品保藏方面的应用·····	195
三、酶在食品添加剂生产方面的应用·····	195
第二节 酶在轻化工业方面的应用·····	197
一、酶在原料处理方面的应用·····	197
二、酶在轻化工业生产方面的应用·····	198
三、酶制剂在饲料加工中的应用·····	198
第三节 酶在医学方面的应用·····	200
一、酶在疾病诊断方面的应用·····	200
二、酶在疾病治疗方面的应用·····	202
三、酶在药物生产方面的应用·····	202
第四节 酶在环境保护方面的应用·····	204
一、酶在水净化方面的应用·····	204
二、酶在环境监测方面的应用·····	206
三、酶在生物降解方面的应用·····	206
第五节 酶在生物技术领域中的应用·····	207
一、酶在细胞处理方面的应用·····	207
二、酶在大分子处理方面的应用·····	207
本章小结·····	209
复习思考题·····	209
技能实训 8-1 利用固定化葡萄糖异构酶生产果葡糖浆·····	210
技能实训 8-2 转谷氨酰胺酶催化大豆蛋白和乳清蛋白合成耐热性聚合蛋白·····	211
技能实训 8-3 酶法水解玉米淀粉制备脂肪模拟物·····	213
参考文献·····	215

第一章 酶及酶工程概论

知识目标

- 了解酶及酶工程发展史；
- 熟悉酶的分类及命名原则；
- 了解酶促反应的特点。

技能目标

- 能测定酶促反应中初速度时间范围；
- 能测定酶促反应中最适 pH；
- 能测定酶促反应中最适温度值；
- 能测定酶促反应中米氏常数和最大反应速度，并据此判断抑制类型。

第一节 酶工程发展概况

一、酶及酶工程研究的重要意义

1. 酶的研究对揭示生命的本质具有重要意义

酶是由细胞产生的具有催化作用的生物大分子物质，大部分存在于细胞内，少部分可分泌到细胞外。一切生物的生命活动都是以新陈代谢为基础，而代谢中的各种化学反应是由各种酶的催化来实现的。没有酶，代谢可能停止，生命亦终止。

在生命活动过程中，个别酶缺乏或者酶活性受到抑制，就会使新陈代谢受阻或紊乱，从而引起疾病。例如：某些儿童由于缺少苯丙氨酸羟化酶而产生严重的苯基酮尿症。这是因为苯丙氨酸羟化酶的缺乏使苯丙氨酸正常的降解途径受阻，而改变成为另一条降解途径，即苯丙氨酸与 γ -酮戊二酸发生转氨反应，产生苯丙酮酸。此物质积累在血液中，最后由尿排出体外。血液中过量的苯丙酮酸妨碍儿童大脑的正常发育，造成严重的智力迟钝。又如：有机磷农药，由于能抑制胆碱酯酶活性，具有能杀死害虫的作用，同样也可使人畜中毒死亡。因此，研究酶的结构与功能以及其动力学，对于阐明生命的本质和活动规律，以及阐明发病机理进而进行诊断治疗具有极其重要的意义。

2. 酶是分子生物学研究的重要工具

1970 年，美国学者史密斯 (Smith) 等从细菌中分离出能识别特定核苷酸序列，且切点专一的限制性内切酶，命名为 *Hind* II。用该酶降解病毒 SV40 DNA (脱氧核糖核酸)，并绘制了酶切图谱。从此，*Hind* II 成为分子克隆技术中不可缺少的工具酶，史密斯 (Smith) 等人因此也荣获 1979 年诺贝尔生理医学奖。限制性核酸内切酶、DNA 聚合酶、DNA 连接酶等的发现和应用促进了 DNA 重组技术的诞生，推动了基因工程的发展。

3. 酶工程是生物工程的一个重要分支

生物工程又称生物技术、生物工艺学，是 20 世纪 70 年代发展起来的一门新的综合性技

术学科。它综合性地运用生物学、化学和工程学的技术,改造现有物种,创造新物种,分离和改造生物体中的某些组分(如酶、蛋白质、核酸、细胞器等),利用生物体的某些特殊机能(如酶的催化功能、抗体的免疫功能等),为工农业生产以及医疗卫生服务。

生物技术的发展将促进工农业生产的根本变革,对人类的生产和生活将产生深远的影响。世界各国都在大力开展生物技术研究,我国也将其列为国家重点研究课题。现在,用生物技术手段生产的贵重生化药物,如人胰岛素、干扰素、乙肝疫苗、生长激素等,已经上市,并产生了较大的经济效益和社会效益。

通常,把生物工程分为发酵工程(微生物工程)、酶工程、基因工程和细胞工程四个分支。它们相互依存、相互渗透、相互促进。酶工程已成为生物工程的重要组成部分。

酶和酶工程的研究已深刻影响着生物化学以至整个生物学领域,有力地推动了工业、农业、医药、食品、能源、环保等多个行业的发展。

二、酶及酶工程发展史

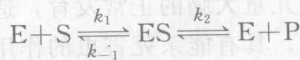
据有关资料记载,我国早在 4000 多年前就已经掌握了酿酒技术,在 3000 多年前就会制造饴糖、豆酱等食品,在 2500 多年前就能利用曲治疗消化不良等疾病。我们的祖先在生产和生活过程中已经无意识地利用酶的催化作用来制造食品和治疗疾病。但人类真正认识酶和有目的的利用酶是从 19 世纪 30 年代开始的。100 多年来,人类对酶的认识和利用经历了一个不断发展、逐步深入的过程。

1833 年,佩恩(Payen)和帕索兹(Persoz)从麦芽的水抽提物中,用乙醇沉淀得到了一种可使淀粉水解生成可溶性糖的物质,称其为淀粉酶,并指出了它的热不稳定性,这初步触及了酶的一些本质问题,被认为是酶的发现者。

1878 年德国昆尼(Kuhne)首先将酵母中进行乙醇发酵的物质称为 Enzyme。Enzyme 来自希腊文,意为“在酵母中”,中文译为酶。

1896 年,德国学者巴克纳(Buchner)兄弟发现酵母的无细胞抽提液也能将糖发酵成乙醇。这就表明酶不仅在细胞内,而且在细胞外也可以在一定的条件下进行催化作用。其后,不少科技工作者对酶的催化特性和催化作用的理论进行了广泛的研究。巴克纳兄弟被认为是酶学研究的开创者。

1902 年,亨利(Henri)根据蔗糖酶催化蔗糖水解的实验结果提出了中间产物学说,认为底物在转化成产物之前,必须首先与酶形成中间复合物,然后再转变为产物,并重新释放出游离态的酶,即:



1913 年,米彻利斯(Michaelis)和曼吞(Menton)根据中间产物学说,推导出酶催化反应的基本动力学方程——米氏方程:

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m + [S]}$$

在将近一百多年的时间里,人们认识到“酶是生物体产生的具有生物催化功能的物质”,但是尚未搞清楚究竟是哪一类物质。1920 年,德国化学家威尔斯塔特(Willstater)将过氧化物酶纯化 12000 倍,结果是检测到酶活性很高,但是检测不到蛋白质,所以认为酶不是蛋白质。这是由于当时的检测技术较为落后所致。

1926 年,萨姆纳(Sumner)首次从刀豆提取液中分离纯化得到脲酶结晶,并证明它具有蛋白质的性质。后来对一系列酶的研究都证实酶的化学本质是蛋白质。在此后的 50 多年

中,人们普遍接受了“酶是具有生物催化功能的蛋白质”这一概念。

1960年,雅各(Jacob)和莫诺德(Monod)提出操纵子学说,阐明了酶生物合成的基本调节机制;1963年,牛胰核糖核酸酶A的一级结构被确定;1965年,蛋清溶菌酶的空间结构被阐明;1969年,核糖核酸酶的人工合成取得成功。这一系列的成果推动了酶学的迅速发展。

1982年,切克(Cech)等人发现四膜虫细胞的26S rRNA前体具有自我剪接功能。该RNA前体约有6400个核苷酸,含有1个内含子(或称为间隔序列)和2个外显子,在成熟过程中,通过自我催化作用,将间隔序列(内含子)切除,并使2个外显子连接成成熟的RNA,此过程称为剪接。这种剪接不需要蛋白质存在,但必须有鸟苷或5'-GMP和镁离子参与。切克将之称为自我剪接反应,认为RNA亦具有催化活性,并将这种具有催化活性的RNA称为核酸类酶(ribozyme)。

1983年,阿尔特曼(Altman)等人发现核糖核酸酶P的RNA部分M1 RNA具有核糖核酸酶P的催化活性,可以在高浓度镁离子存在的条件下,单独催化tRNA前体从5'端切除某些核苷酸片段成为成熟的tRNA,而该酶的蛋白质部分C₅蛋白却没有酶活性。RNA具有生物催化活性这一发现改变了有关酶的概念,被认为是最近20多年来生物学领域最令人鼓舞的发现之一。为此,切克(Cech)和阿尔特曼(Altman)共同获得1989年度的诺贝尔化学奖。

近20多年来,新发现的核酸类酶越来越多。现在知道,核酸类酶具有自我剪接、自我剪切和催化分子间反应等多种功能,作用底物有RNA、DNA、糖类、氨基酸酯等。研究表明,核酸类酶具有完整的空间结构和活性中心,有独特的催化机制,具有很高的底物专一性,其反应动力学亦符合米氏方程。可见,核酸类酶具有生物催化剂的所有特性,是一类由RNA组成的酶。由此引出“酶是具有生物催化功能的生物大分子(蛋白质或RNA)”的新概念。也即酶有两大类,一类主要由蛋白质组成,称为蛋白类酶(P酶);另一类主要由核糖核酸组成,称为核酸类酶(R酶)。

1986年,斯可特斯(Schultz)和雷尼尔(Learner)两个研究小组报道,用事先设计好的过渡态类似物作半抗原,按标准单克隆抗体制备法获得了具有催化活性的抗体,即抗体酶(abzyme)。这一重要突破为酶的结构与功能研究、抗体与酶的应用开辟了新的研究领域。

迄今,人类已发现生物体内存在的酶有几千种,而且每年都有新酶发现。其中有数百种酶已纯化达到了均一纯度,有200多种酶得到了结晶。并了解了溶菌酶(129个氨基酸残基)、胰凝乳蛋白酶(245个氨基酸残基)、羧肽酶(307个氨基酸残基)、多元淀粉酶A(460个氨基酸残基)等的结构和作用机理。

三、酶工程简介

简单而言,酶工程就是将酶或者微生物细胞、动植物细胞、细胞器等在一定的生物反应装置中,利用酶所具有的生物催化功能,借助工程手段将相应的原料转化成为有用物质的一门科学技术。它的内容主要包括酶制剂制备、酶的固定化、酶的修饰与改造及酶反应器等。

酶工程是在酶的生产 and 应用过程中逐步形成并发展起来的学科。虽然酶的应用已经有几千年的历史,但是过去人类对酶的应用是不自觉的。目的明确地进行酶的生产 and 应用是从19世纪末开始的。目前酶工程的应用主要集中于食品工业、轻工业以及医药工业中。

自18世纪初斯伯塞尼发现酶后,经过一个多世纪,人们未能将酶应用到生产上。直到1894年,日本的高峰让吉首先从米曲霉中制备得到淀粉酶,淀粉酶作为助消化药物首先登