



普通高等教育“十一·五”精品课程建设教材

SHIPIN MEI GONG CHENG

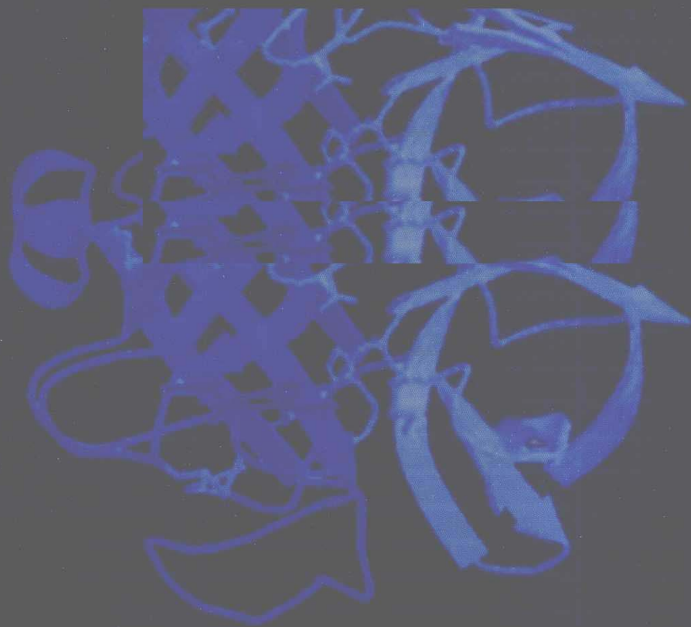
SHIPIN MEI GONG CHENG

SHIPIN MEI GONG CHENG

# 食品酶工程

李 斌 于国萍◎主编

贾英民◎主审



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等教育“十一五”精品课程建设教材

# 食品酶工程

李 斌 于国萍 主编  
贾英民 主审

中国农业大学出版社  
· 北京 ·

## 图书在版编目(CIP)数据

食品酶工程/李斌,于国萍主编. —北京:中国农业大学出版社,2010.6  
ISBN 978-7-81117-997-2

I. ①食… II. ①李… ②于… III. ①酶学-应用-食品工程学 IV. ①TS201.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 067960 号

书 名 食品酶工程  
作 者 李 斌 于国萍 主编

---

策划编辑	宋俊果 刘 军	责任编辑	田树君
封面设计	郑 川	责任校对	王晓凤 陈 莹
出版发行	中国农业大学出版社		
社 址	北京市海淀区圆明园西路 2 号	邮政编码	100193
电 话	发行部 010-62731190,2620 编辑部 010-62732617,2618	读者服务部	010-62732336
网 址	<a href="http://www.cau.edu.cn/caup">http://www.cau.edu.cn/caup</a>	出 版 部	010-62733440
经 销	新华书店	e-mail	cbsszs @ cau.edu.cn
印 刷	北京国防印刷厂		
版 次	2010 年 7 月第 1 版		2010 年 7 月第 1 次印刷
规 格	787×1 092 16 开本		28.25 印张 640 千字
印 数	1~4 000		
定 价	39.00 元		

---

图书如有质量问题本社发行部负责调换

# 出版说明并代序

承蒙广大读者厚爱，食品科学与工程系列教材出版6年来，业已成为目前全国高等学校本科食品类专业教育使用最为广泛的教科书。出版之初，这套教材便被整体列为教育部“面向21世纪课程教材”，至今已累计发行33万册，其中《食品生物技术导论》、《食品营养学》、《食品工程原理》、《粮油加工学》、《食品试验设计与统计分析》等书已成为“十五”、“十一五”国家级规划教材。实践证明，这套教材的设计、编写是成功的，它满足了这一时期我国食品生产发展和学科建设的需要，为我国食品专业人才培养做出了积极的贡献。

教材建设是学科建设的重要内容，是人才培养的重要支柱，也是社会和经济发展的反映。近年来，随着我国加入世界贸易组织，食品工业在机遇和挑战并存的形势下得以持续快速的发展，食品工业进入到了一个产业升级、调整提高的关键时期。食品产业出现了许多新情况和新问题，原有的教材无论在内容的广度上，还是在深度上，都已经难以满足时代的需要。教材建设无疑应该顺应时代发展，与时俱进，及时反映本学科科学技术发展的最新内容以及产业和社会经济发展的最新需求。正是在这样的思想指导下，我们重新修订和补充了这套教材。

在中国农业大学出版社的支持下，我们组织了全国40多所大专院校、科研院所的300多位一线专家教授，参与教材的编写工作，专家涉及生物、工程、医学、农学等领域。在认真总结原有教材编写经验的基础上，综合一线任课教师和学生的使用意见，对新增教材进行了科学论证和整体策划，以保证本套教材的系统性、完整性和实用性。新版系列教材在原有15本的基础上新增了20本，主要涉及食品营养、食品质量与安全、市场与企业管理等相关内容，几乎覆盖所有食品学科专业的骨干课程和主要选修课程。教材既考虑到对食品科学与工程最新理论发展的介绍，又强调了食品科学的具体实践。该系列教材力求做到每本既相对独立又相互衔接，互为补充，成为一个完整的课程体系。本套教材除可作为大专院校的教科书外，也可作为食品企业技术人员的参考材料和技术手册。

感谢参与策划、编写这套教材的所有专家学者，他们为这套教材贡献了经验、智慧、心血和时间，同时还要感谢各参与院校和单位所给予的支持。

由于本系列教材的编写工程浩大，加之时间紧、任务重，不足之处在所难免，希望广大读者、专家在使用过程中提出宝贵意见，以使这套教材得以不断完善和提高。

罗云波

2008年8月16日

于马连洼

# 前 言

酶工程是酶学和微生物学的基本原理与化学工程相互渗透、结合发展而形成的一门交叉的科学技术。随着生物工程的进展,作为生物工程重要组成部分的酶工程同样迅猛发展,在科学研究和生产实践中显示出重要的意义和作用。为了将酶工程中涌现的许多新理论、新概念和新方法更好地融入食品生产与技术之中,我们编写了《食品酶工程》一书。

全书共 12 章,系统地介绍了酶学基础理论、酶的生产、酶的分离纯化等酶学理论知识,阐述了酶分子修饰与改造、酶与细胞固定化、酶反应器与传感器技术体系,介绍了有机相中的酶催化、极端酶、人工模拟酶、生物酶工程等酶工程的新进展,最后对食品酶工程的应用给予全面的介绍。

本书是全国高等学校食品类专业系列教材之一。全书由国内 14 所高等院校的专家教授共同编写,编者来自各高校食品领域教学、科研的第一线,有着丰富的酶工程与食品生产知识和实践,编写过程中力求做到理论准确、技术实用、体系完整,尽量包括最新的研究进展和成果。编写中参考了较多国内外同行的相关文献和资料,在此表示诚挚的感谢。

在本书完稿之时,河北科技大学贾英民教授在百忙中对全书稿进行了认真的审阅,在此深表谢意!

由于编者水平有限,书中难免存在错误和不足之处,敬请读者批评赐教。

编 者

2009 年 11 月

# 目 录

第 1 章 绪论 .....	1
1.1 酶学和酶工程研究的历史与现状 .....	2
1.1.1 史前期酶的应用 .....	2
1.1.2 近代酶学和酶工程研究历史 .....	3
1.1.3 现代酶学和酶工程研究进展 .....	4
1.2 酶学与基础理论 .....	9
1.2.1 酶学与现代化学 .....	9
1.2.2 酶学与现代物理学 .....	9
1.2.3 酶学与生物学 .....	10
1.3 食品酶工程研究内容与技术方法 .....	11
1.3.1 食品酶工程研究内容 .....	11
1.3.2 食品酶工程研究的技术方法 .....	11
1.4 酶与生产实践 .....	12
1.4.1 酶在食品工业领域中的应用 .....	12
1.4.2 酶制剂在其他领域的应用 .....	14
第 2 章 酶学基础理论 .....	21
2.1 酶的分类和命名 .....	22
2.1.1 国际系统分类法 .....	22
2.1.2 国际系统命名法 .....	25
2.1.3 习惯名或常用名 .....	26
2.2 酶的结构与性质 .....	26
2.2.1 酶的化学本质及其组成 .....	26
2.2.2 酶的分子结构 .....	28
2.2.3 酶催化作用的特点 .....	30
2.2.4 酶的作用机制 .....	36
2.3 酶催化反应动力学 .....	45
2.3.1 酶催化反应速率 .....	45
2.3.2 底物浓度对酶反应的影响 .....	46
2.3.3 酶浓度对酶促反应的影响 .....	53
2.3.4 温度对酶促反应的影响 .....	53
2.3.5 pH 对酶促反应的影响 .....	54

2.3.6	抑制剂对酶促反应的影响 .....	56
2.3.7	激活剂对酶促反应的影响 .....	60
2.4	酶活力及其测定 .....	62
2.4.1	酶的活力单位 .....	62
2.4.2	酶的比活力 .....	62
2.4.3	常用酶活力测定方法原理 .....	63
2.5	酶在生物体内存在的几种形式 .....	66
2.5.1	单体酶、寡聚酶、多酶复合体 .....	66
2.5.2	同工酶 .....	69
2.5.3	别构酶与修饰酶 .....	70
2.5.4	结构酶与诱导酶 .....	72
2.5.5	胞内酶与胞外酶 .....	72
<b>第3章</b>	<b>酶的生产</b> .....	<b>82</b>
3.1	酶的生产方法 .....	83
3.1.1	提取分离法 .....	83
3.1.2	生物合成法 .....	84
3.1.3	化学合成法 .....	85
3.2	酶的发酵生产 .....	85
3.2.1	优良产酶菌的特点 .....	86
3.2.2	主要的产酶菌 .....	87
3.2.3	产酶菌的获得 .....	89
3.2.4	产酶菌的培养 .....	93
3.2.5	食品酶制剂发酵工艺实例 .....	100
3.3	提高酶发酵产量的方法 .....	106
3.3.1	酶的合成调控机制 .....	106
3.3.2	控制发酵条件提高酶产量 .....	113
3.3.3	通过基因突变提高酶产量 .....	120
3.3.4	通过基因重组提高酶产量 .....	121
3.3.5	其他提高酶产量的方法 .....	121
<b>第4章</b>	<b>酶的分离纯化</b> .....	<b>124</b>
4.1	酶分离纯化的一般原则 .....	125
4.1.1	减少或防止酶的变性失活 .....	125
4.1.2	根据酶不同特性采用不同的分离纯化方法 .....	126
4.1.3	建立快速可靠的酶活性检测方法 .....	126
4.1.4	尽量减少分离纯化步骤 .....	126
4.2	酶的提取 .....	127
4.2.1	预处理和细胞破碎 .....	127
4.2.2	提取 .....	129

4.2.3	浓缩	131
4.3	酶的纯化	132
4.3.1	根据酶溶解度不同进行纯化	132
4.3.2	根据酶分子大小、形状不同进行纯化	135
4.3.3	根据酶分子电荷性质进行纯化	138
4.3.4	根据酶分子专一亲和作用进行纯化	144
4.3.5	高效液相层析法	147
4.3.6	酶的结晶	150
4.3.7	酶纯化方法评析	152
4.4	酶的纯度与保存	152
4.4.1	酶纯度的检验	152
4.4.2	酶活性的检验	154
4.4.3	酶的剂型	154
4.4.4	酶的稳定性与保存	155
<b>第5章</b>	<b>酶分子化学修饰与生物改造</b>	<b>156</b>
5.1	酶分子的化学修饰	157
5.1.1	酶分子化学修饰的基本原理	157
5.1.2	金属离子置换修饰	159
5.1.3	大分子修饰	160
5.1.4	肽链有限水解修饰	162
5.1.5	分子侧链的修饰	164
5.1.6	氨基酸置换修饰	171
5.1.7	核苷酸剪切/置换修饰	173
5.1.8	酶分子的亲和修饰	174
5.1.9	酶分子化学修饰的应用	176
5.2	酶分子的生物改造	179
5.2.1	克隆酶	180
5.2.2	突变酶	181
5.2.3	从头设计酶	183
<b>第6章</b>	<b>酶与细胞固定化</b>	<b>186</b>
6.1	固定化酶的定义及特点	187
6.1.1	酶固定化技术发展简史	187
6.1.2	固定化酶的定义	188
6.1.3	固定化酶的制备原则	189
6.1.4	酶的固定化方法	189
6.1.5	固定化酶的形状与性质	195
6.1.6	影响固定化酶性能的因素	197
6.2	辅酶的固定化	199



6.2.1	辅因子的定义及分类	199
6.2.2	辅因子的固定化方法	200
6.3	细胞的固定化	205
6.3.1	固定化细胞的分类和形态	205
6.3.2	固定化细胞的性质和特点	207
6.3.3	固定化细胞的制备方法	208
6.4	固定化酶和固定化细胞的表征	210
6.4.1	固定化酶(细胞)的活力	211
6.4.2	固定化酶(细胞)的操作半衰期	212
6.4.3	固定化酶(细胞)的结合效率	212
6.4.4	固定化酶的结合效率与酶活力回收率	212
6.4.5	相对酶活力	213
6.5	固定化酶和固定化细胞在食品工业中的应用	213
6.5.1	固定化酶在乳制品中的应用	213
6.5.2	固定化酶在油脂工业中的应用	213
6.5.3	固定化酶在果汁中的应用	213
6.5.4	固定化酶在茶叶加工中的应用	214
6.5.5	固定化酶在啤酒工业上的应用	214
6.5.6	固定化酶用于高果糖浆的生产	215
6.5.7	固定化酶在食品添加剂和食品配料中的应用	215
<b>第7章</b>	<b>酶反应器与酶传感器</b>	<b>217</b>
7.1	酶反应器	218
7.1.1	酶反应器的类型	218
7.1.2	酶反应器的选择	226
7.1.3	酶反应器的设计	228
7.1.4	酶反应器的应用	232
7.2	酶传感器	236
7.2.1	生物传感器概述	236
7.2.2	酶传感器的结构与工作原理	238
7.2.3	酶传感器的制备及性能	241
7.2.4	酶传感器的应用	247
<b>第8章</b>	<b>非水介质中的酶催化</b>	<b>253</b>
8.1	酶催化反应的非水介质体系	255
8.1.1	水-有机溶剂两相体系	255
8.1.2	水不互溶单相有机溶剂体系	256
8.1.3	反相胶束体系	256
8.1.4	单相水-有机溶剂体系	258
8.1.5	超临界流体体系	258

8.1.6	离子液	258
8.1.7	低共熔混合体系	259
8.2	非水介质中酶的结构和性质	259
8.2.1	非水介质中酶的结构	259
8.2.2	非水介质中的酶学性质	261
8.3	非水介质中水对酶催化反应的影响	264
8.3.1	水—酶构象的润滑剂	264
8.3.2	水活度	266
8.3.3	水活度的调控	267
8.3.4	水对酶活性的影响	268
8.4	非水介质中有机溶剂对酶催化反应的影响	270
8.4.1	有机溶剂对酶结合水的影响	270
8.4.2	有机溶剂对底物和产物的影响	270
8.4.3	有机溶剂对酶结构、活性中心的影响	271
8.4.4	酶活力与溶剂属性的定量关系模型	271
8.5	有机溶剂中酶催化活性和选择性的调控	274
8.5.1	酶的选择与催化剂工程	274
8.5.2	水活度的调控	277
8.5.3	介质工程	277
8.5.4	温度	279
8.5.5	pH 和离子强度	279
8.5.6	反相胶束中酶活力的调控	279
8.6	非水介质中酶催化反应在食品工业中的应用	280
8.6.1	在油脂工业中的应用	281
8.6.2	表面活性剂合成	282
8.6.3	食品添加剂改性	284
8.6.4	酯类香料的合成	284
8.6.5	橙花醇的分离	285
8.6.6	寡糖和烷基糖苷的合成	285
第9章	极端酶	288
9.1	极端酶的种类	290
9.1.1	天然极端酶	290
9.1.2	人工极端酶	297
9.2	极端酶的结构特点与应用	299
9.2.1	极端酶的结构特点	299
9.2.2	极端酶的筛选与生产	300
9.2.3	极端酶在食品工业中的应用	302
9.2.4	极端酶工程研究进展	305

<b>第 10 章 人工模拟酶</b> .....	309
10.1 模拟酶的理论基础和策略 .....	310
10.1.1 模拟酶的概念 .....	310
10.1.2 模拟酶的分类 .....	310
10.1.3 模拟酶的理论基础 .....	311
10.2 合成酶 .....	312
10.2.1 主-客体酶模型 .....	312
10.2.2 胶束模拟酶 .....	316
10.2.3 肽酶 .....	318
10.2.4 半合成酶 .....	318
10.3 印迹酶 .....	319
10.3.1 分子印迹技术概述与原理 .....	319
10.3.2 生物印迹 .....	323
10.3.3 分子印迹酶 .....	324
10.3.4 生物印迹酶 .....	325
<b>第 11 章 生物酶工程</b> .....	330
11.1 核酸酶 .....	331
11.1.1 天然核酶 .....	332
11.1.2 脱氧核酶 .....	336
11.1.3 核酶/脱氧核酶的应用 .....	340
11.2 进化酶 .....	342
11.2.1 酶分子定向进化简介 .....	342
11.2.2 定向进化的策略与方法 .....	344
11.2.3 定向进化的应用 .....	348
11.3 杂合酶 .....	349
11.3.1 杂合酶的构建策略 .....	350
11.3.2 杂合酶的制备方法 .....	361
11.3.3 杂合酶的应用 .....	364
11.4 抗体酶 .....	368
11.4.1 抗体酶的催化特征 .....	369
11.4.2 抗体酶的催化作用机理 .....	371
11.4.3 抗体酶的制备 .....	373
<b>第 12 章 食品酶工程的应用</b> .....	382
12.1 食品工业酶制剂的应用概况 .....	383
12.1.1 概述 .....	383
12.1.2 食品工业酶制剂国内外产业化现状 .....	386
12.1.3 食品工业酶制剂的来源及特点 .....	388
12.2 酶在食品工业上的应用 .....	390

12.2.1	酶在食品保鲜上的应用 .....	390
12.2.2	酶在淀粉类食品加工中的应用 .....	394
12.2.3	酶在蛋白类食品加工中的应用 .....	399
12.2.4	酶在果蔬类食品加工中的应用 .....	405
12.2.5	酶在发酵食品加工中的应用 .....	409
12.2.6	酶在食品添加剂生产中的应用 .....	413
12.2.7	酶在功能食品生产中的应用 .....	416
12.3	酶在食品分析检测中的应用 .....	423
12.3.1	酶法分析测定食品成分 .....	423
12.3.2	酶法分析评价食品质量安全 .....	428

## 第1章 绪论

### ► 教学目的和要求

1. 了解食品酶学和酶工程的研究发展历史、研究内容及主要的技术方法；
2. 掌握酶学与化学、物理学、生物学等学科的关系；
3. 认识酶在生产实践、尤其是食品工业中的应用及意义。

民以食为天。现代生活中琳琅满目的食品,其加工的最初原料主要来源于生物材料。生物,无论动物、植物还是微生物,区别于非生物的核心特征是其具有生命活动,新陈代谢是生命活动最重要的特征。新陈代谢中各种化学反应都是在酶的作用下进行的,酶是促进一切代谢反应的物质,没有酶,代谢就会停止,生命也即停止。

何谓酶?现代生物学的研究表明,酶(enzyme)是由活细胞产生的、具有高效、专一催化功能的生物大分子。按照分子中起催化作用的主要组分不同,酶可以分为蛋白类酶(proteozyme,P酶)和核酸类酶(ribozyme,R酶)两大类。酶鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等奇妙功能。20世纪以来,化学与生物学的学科交叉,先后形成了生物化学、生物技术等新兴学科和研究领域。生物技术(biotechnology)被誉为21世纪高新技术的核心,将为人类在可持续发展上化解食品、资源、能源、环境、人口等危机发挥重要作用。

酶工程(enzyme engineering)是生物技术的重要分支,它是酶学和微生物学的基本原理与化学工程有机结合而产生的交叉科学技术,它是从应用的目的出发,研究酶的生产与应用的一门技术性学科。酶工程可分为化学酶工程和生物酶工程。化学酶工程主要指天然酶、化学修饰酶、固定化酶及化学人工酶的研究与应用;生物酶工程是酶学和以基因重组技术为主的现代分子生物学技术相结合的产物,主要包括:①用基因工程技术大量生产酶(克隆酶);②修改酶基因产生遗传修饰酶(突变酶);③设计新的酶基因,合成自然界不曾有的新酶。酶工程的主要任务是经过预先设计,通过人工操作,获得人们所需要的酶,并通过各种方法使酶充分发挥其催化功能。

食品酶工程(enzyme engineering of food)是将酶工程的理论与技术应用于食品工业领域,将酶学基本原理与食品工程相结合,为新型食品及食品原料的发展提供技术支持。酶工业是现代工业的重要组成部分,在食品工业领域,酶制剂的生产和应用具有非常重要的地位,食品原料的储藏、保鲜、改性;食品加工工艺的改进、食品品质的提高等都离不开酶工程。

因此研究学习食品酶工程的理论与技术具有重要的理论及实践意义。

## 1.1 酶学和酶工程研究的历史与现状

### 1.1.1 史前期酶的应用

人类对酶的认识经历了从无知到有知,从不自觉到自觉、乃至主动应用的过程,这一过程最初是从对发酵食品和消化作用的认识开始的。

据美国《国家科学院学报》2009年4月14日报道,美国宾夕法尼亚州大学考古和人类学博物馆帕特里克·麦戈文带领的小组发现:古埃及人5000多年前就懂得向酒中添加辅料治病。酒是酵母发酵的产品,是细胞内酶作用的结果。

据龙山遗址的考证,我国早在4000年以前就掌握了酿酒技术;夏禹时代,酒的酿制普遍流行。公元10世纪左右,我国已能用豆类做酱,《齐民要术》这部古代科学巨著详细记载了豆酱制造的原料配比及酿制方法。豆酱是在霉菌蛋白酶作用下,水解豆类蛋白质的

产品。约3 000年前,古人利用含淀粉酶的麦曲将淀粉降解为麦芽糖,制造了饴糖。用酶来治病的记载也不少。我国2 500年前最早发现用酒曲可治疗消化不良症。酒曲富含消化酶和维生素,至今仍是常用的健胃药。用鸡内金治疗消化不良,用动物的胃液来制造干酪,用胰脏软化皮革等。这一系列事例表明,人类很早已感觉到酶的存在,但是真正认识、利用酶还是近百年的事情。

### 1.1.2 近代酶学和酶工程研究历史

1783年,意大利科学家 Spallanzani 设计了一个钢丝小笼盛肉饲鹰实验,待小笼代谢排出时,笼中的肉已“消失”,这才意识到胃液有某些可以消化肉的物质存在,动摇了“胃壁机械碾磨”的蠕动消化理论。

1810年,药物学家 Planche 在植物的根中发现了一种能使创木脂氧化变蓝的物质,并分离出了这种耐热且水溶性的物质。

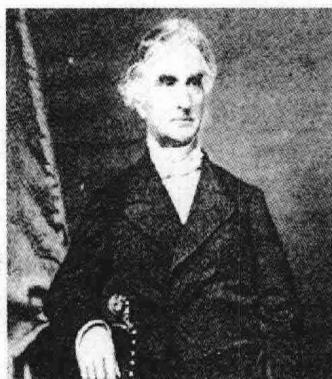
1814年 Kirchoff 研究了水解现象。他发现淀粉经稀酸加热水解为葡萄糖,而某些谷物种子在发芽时也能生成还原糖。若把种子发芽时的水提取物加到泡在水里的谷物中,也能发生相同的水解反应。很显然,活的谷物种子的水解能力取决于包含在水溶性物质,这种水溶性物质脱离了生物体后仍能发挥作用。

1833年,Payen 和 Person 从麦芽的水抽提物中,用酒精沉淀分离出了一种能溶于水和稀酒精,不溶于浓酒精,对热不稳定的白色无定形粉末,它可促使淀粉水解成可溶性糖。他们把这种物质称为淀粉酶(diastrase),其意思是分离,表示它具有从淀粉颗粒的不溶解包膜内分离出可溶性糖的能力,并将其用于棉布退浆。

1878年德国的 Kuhne 首次提出“酶”(enzyme)的概念,此字来源于希腊文,由“En(在)”和“Zyme(酵母)”二字组合,表示酶包含在酵母中。

1898年,Duelaux 提出引用 diastrase 的最后三个字母“ase”作为酶命名的词根。例如:oxide(氧化物)→oxidase(氧化酶),pectin(果胶)→pectinase(果胶酶)。

19世纪中叶,围绕酒精发酵机制科学界展开的一场持续数十年的争论,对酶学和生物化学的产生和发展具有划时代的意义。以德国 Liebig(图 1-1)为代表的化学家强调:酵母



Justus von Liebig(1803—1873)



Louis Pasteur(1822—1895)



Eduard Buchner(1860—1917)

图 1-1 早期从事发酵研究的有关科学家

发酵生成酒精是纯化学反应;而以法国细菌学家 Pasteur(图 1-1)为代表的生物学家则坚持:发酵是活酵母细胞生命活动的结果。

这场长达半个世纪的争论,直到 Pasteur 逝世三年后的 1897 年,才由德国化学家 Buchner(图 1-1)兄弟画上了终止符。他们用石英砂磨碎酵母细胞,并制备了不含酵母细胞的抽提液,用它能使蔗糖发酵,从而阐明了发酵是酶的作用的化学本质。这是理论上的飞跃,他们的成功为 20 世纪酶学和酶工程学的发展揭开了序幕, Buchner 因此获得了 1907 年诺贝尔化学奖。



图 1-2 Emil Fischer(1852—1919)

1894 年, Emil Fisher(图 1-2)提出了酶与底物作用的锁钥学说,用以解释酶作用的专一性。这个学说认为:酶与底物分子或底物分子的一部分之间,在结构上有严格的互补关系。当底物契合到酶蛋白的活性中心时,很像一把钥匙插入一把锁中,因而使底物发生催化反应。

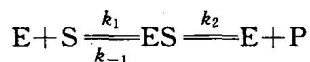
在上述研究基础上,各国科学家开始对酶的催化特性及催化作用机制等进行广泛研究,取得了一系列重要进展,为现代酶学和酶工程的发展奠定了坚实的理论基础。

### 1.1.3 现代酶学和酶工程研究进展

#### 1.1.3.1 现代酶学研究进展

20 世纪初,酶学研究发展迅速。其中,亨利(Henri)和米彻利斯(Michaelis)等人关于酶催化作用的中间产物学说对酶催化作用机理的发展做出了卓越的贡献。

1902 年,亨利(Henri)根据蔗糖酶催化蔗糖水解的实验结果,提出中间产物学说,他认为底物必须首先与酶形成中间复合物,然后再转变为产物,并重新释放出游离的酶,即



1913 年, Leonor Michaelis 和 Maud Lenora Menten(图 1-3)根据中间产物学说,推导出描述酶催化反应动力学的著名 Michaelis-Menten 方程,简称米氏方程:

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

这一学说的提出是酶反应机理研究的一个重大突破。

1925 年, George E. Briggs 和 J. B. S. Handane 对米氏方程做了重要修正,提出了拟稳态学说。这些学说为酶学研究奠定了理论基础,提出这些学说的科学家被誉为酶动力学的开拓者。

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,并证实这种结晶催化尿素水解,产生  $CO_2$  和氨,提出酶本质就是一种蛋白质。在此后的 50 多年中,对胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶的结晶等一系列酶的研究,都证实酶的化学本质是蛋



白质,于是人们普遍接受“酶是具有生物催化功能的蛋白质”这一概念。Summer 因此而获得 1947 年的诺贝尔化学奖。



Maud Lenora Menten(1879—1960)



Leonor Michaelis(1875—1949)

图 1-3 酶动力学的奠基人

1958 年 Daniel E. Koshland(图 1-4)发现酶有相当的柔性,提出了诱导契合学说,以解释酶的催化理论和专一性,同时也发现了某些酶的催化活性与生理条件变化有关。这个学说认为:酶分子的构象与底物原来并非恰当吻合,只有当底物分子与酶分子相碰撞时,可诱导酶蛋白的构象变得能与底物配合,才结合形成中间络合物,进而引起底物分子发生相应的化学变化。

1961 年,Monod 及其同事提出了变构模型,用以定量解释有些酶的活性可以通过结合小分子(效应物)进行调节,从而提供了认识细胞中许多酶调控作用的基础。

1969 年,美国的梅里菲尔德(Bruce Merrifield)等人首次人工合成含有 124 个氨基酸的核糖核酸酶 A(蛋白质),并发明“固相合成”新方法。这一研究突破定性证明:酶和非生物催化剂没有区别。

1982 年,切克(Cech)等人发现四膜虫(*Tetrahymena*)细胞的 26S rRNA 前体具有自我剪接(self-splicing)功能,表明 RNA 亦具有催化活性,并将这种具有催化活性的 RNA 称为“ribozyme”(核酸类酶)。

1983 年,阿尔特曼(Altman)等人发现核糖核酸酶 P(RNase P)的 RNA 部分(M1 RNA)具有核糖核酸酶 P 的催化活性,而该酶的蛋白质部分(C<sub>5</sub> 蛋白)却没有酶活性。

RNA 和 DNA 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 多年来生物科学领域最令人鼓舞的发现之一。为此,Cech 和 Altman 共同获得 1989 年度的诺贝尔化学奖。

20 多年来的研究表明,核酸类酶具有完整的空间结构和活性中心,有其独特的催化机制,具有很高的专一性,其反应动力学亦符合米氏方程的规律,核酸类酶具有生物催化剂

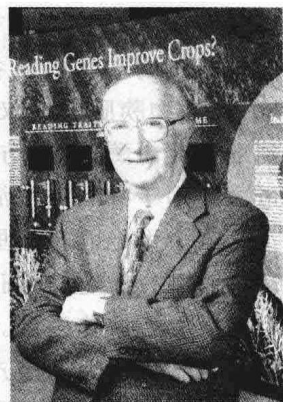


图 1-4 Daniel E. Koshland (1920—2007)