

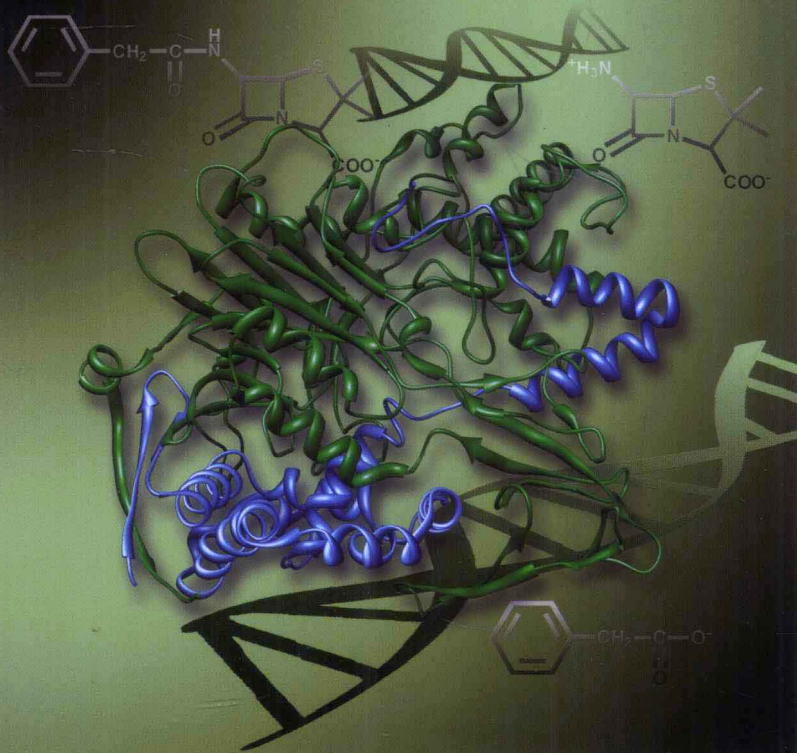


生物技术与生物工程专业  
能力培养型系列教材

Principles of Enzyme Engineering

# 酶工程原理

由德林 主编



科学出版社



清华大学出版社  
TSINGHUA UNIVERSITY PRESS

Principles of Enzymatic Engineering

# 酶工程原理

第二版 王璋



ISBN 7-302-11111-1

生物技术与生物工程专业能力培养型系列教材

# 酶工程原理

由德林 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书由上海交通大学、山东大学多位教师合作编写。包括酶学理论、酶工程原理、酶的应用三大部分,涵盖酶的生产、酶的固定化、酶反应器、酶的分子改造和酶的模拟等方面的酶工程原理,并从酶与生物催化、酶与生物降解和酶与代谢工程等方面介绍酶的应用。

本书注重酶工程的基本原理和方法以及与工程的结合,主线清晰、内容精简,具有鲜明的理工结合特色,可供高等院校生物科学、生物工程专业的研究生和本科生作为教材使用。也可作为相关专业教学、科研人员的参考用书。

### 图书在版编目(CIP)数据

---

酶工程原理/由德林主编. —北京:科学出版社,2011.6  
(生物技术与生物工程专业能力培养型系列教材)  
ISBN 978-7-03-031675-2

I. ①酶… II. ①由… III. ①酶工程-高等学校-教材 IV. Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 115115 号

---

责任编辑:单冉东 周 辉 / 责任校对:朱光兰  
责任印制:张克忠 / 封面设计:科地亚盟

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号  
邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

骏志印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2011 年 7 月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2011 年 7 月第一次印刷 印张:21 1/2

印数:1—4 000 字数:430 000

定价: 35.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

# 生物技术与生物工程专业能力培养型系列教材编委会

主 任

李志勇 上海交通大学

委 员(按姓氏汉语拼音排序)

陈 峰 上海交通大学

冯 雁 上海交通大学

黄志伟 东华大学

蒋 群 上海交通大学

马 伟 上海交通大学

乔中东 上海交通大学

肖凯军 华南理工大学

由德林 上海交通大学

张兴群 东华大学

## 系列教材书目

细胞工程(第二版)	李志勇	编著	
酶工程原理	由德林	主编	
微生物工程	陈峰	主编	
基因工程原理	乔中东	主编	
生物工程设备	张兴群	主编	
生物反应工程	张兴群	蒋群	主编
生物分离工程	肖凯军	主编	
代谢工程	黄志伟	主编	
蛋白质工程	冯雁	主编	
实用生物信息学技术	马伟	主编	
生物工程原理与技术(第二版)	李志勇	蒋群	主编
生物工程综合实验	蒋群	李志勇	主编

# 从 书 序

一般认为,生物技术的发展经历了传统生物技术(酿造)、近代生物技术(微生物发酵)、现代生物技术(生物工程)三个阶段。生物工程(bioengineering)是运用生物学、化学和工程学等学科相结合的方法,利用生物体制造人类所需产品、改造环境的一门多学科交叉的应用技术。生物工程在食品、医药、轻工业、农业、环境保护、能源等领域发挥了重要作用,已经产生了巨大的经济效益与社会效益。20世纪70年代开始,转基因技术、系统生物学、生物信息学、化学生物学、基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等学科或技术的建立与发展极大地推动了生物工程的快速发展。研究对象从微生物扩展到微藻、动植物细胞,研究领域从陆地扩展到海洋、太空。在微生物工程(发酵工程)、酶工程、基因工程、细胞工程、生物反应工程、生物分离工程等经典生物工程技术基础上,诞生了代谢工程、蛋白质工程、组织工程等新型生物工程技术。目前,生物工程已经成为与微电子技术、新材料技术和新能源技术并列的重要科学技术,对解决人类面临的粮食、健康、环境、能源等重大问题将发挥越来越重要的作用。

生物工程专业是我国众多高校优先和重点发展的学科专业之一,生物工程专业教材的系统化建设是培养高质量生物工程专业人才的前提。目前生物工程一体化的系列教材相对欠缺。为满足我国普通高等教育的需要,上海交通大学受科学出版社委托,组织上海交通大学、华南理工大学、东华大学等一批工作在生物技术、生物工程教学、科研第一线的老师编写了本套“生物技术与生物工程专业能力培养型系列教材”。全套计划由12部教材组成,其中2部是在第一版基础上的修订版,而《细胞工程》(第二版)被入选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材。本套教材具有以下特点。

(1) 系统全面。不仅包括《微生物工程》、《酶工程原理》、《基因工程原理》、《细胞工程》(第二版)、《生物工程设备》、《生物反应工程》、《生物分离工程》、《生物工程综合实验》,而且包括了具有前沿性的《代谢工程》、《蛋白质工程》以及与生物工程研发关系日益紧密的《实用生物信息学技术》。

(2) 适用面广。除编写了包括可以满足生物技术、生物工程专业教学的专业教材外,还编写了供通识教育选用的《生物工程原理与技术》(第二版)教材。

(3) 注重经典与前沿、理论与技术、科研与教学、课堂与课外的紧密结合。在

传授知识的同时,注重学生综合能力的培养。

希望系列教材能对我国高等院校的生物工程技术人才培养发挥积极作用。不妥之处敬请各位同仁、老师、同学批评指正!

李志勇

2010年5月于上海交通大学



# 前 言

酶工程是在一定的生物反应器中利用酶的催化性质,将相应原料转化成有用物质的技术。作为生物工程的主要内容之一,它是由生物学、化学和过程工程学等多学科交叉发展而成的一门技术科学。由于用酶作为催化剂完成的生物催化过程具有催化效率高、反应条件温和,可以进行手性化合物和复杂结构、具有生物活性的大分子化合物的合成,以及具有环境友好等优势,已经在工农业生产、环境保护等方面得到了广泛地应用。随着以酶为核心的生物催化逐渐大规模地生产出人类所需的化学品、医药、能源、材料等产品,使它成为解决人类目前面临的健康、能源及环境危机的重要手段。

酶工程既包含酶的基本理论和方法,又包含工程学的原理和过程,具有跨学科和覆盖面广的特点。因此,希望本书体现主线清晰、内容精炼等特点,帮助生物学科特别是生物工程专业的学生掌握该交叉领域的诸多知识。

本书内容包括酶学理论、酶工程原理和酶的应用 3 部分共 8 章。第 1 章从酶工程的发展历程,酶的结构和功能,酶催化反应的本质,酶动力学,酶的稳定性和非水酶学方面简述酶学基础理论。第 2 章介绍酶的来源、纯化及其制剂。第 3 章讲述酶的固定化和酶反应器,重点介绍酶反应器的类型、设计原则、操作、规模放大及实际应用。第 4 章从酶的化学修饰、蛋白质工程、体外定向进化 3 个主题介绍酶的分子改造。第 5 章主要从合成简单络合物、模拟活性中心及整体模拟 3 个层次简述酶的模拟。第 6 章、第 7 章和第 8 章分别从酶与生物催化,酶与生物降解和酶与代谢工程,介绍酶在药物合成、有机合成上的应用和进展。

限于时间和水平,本书编写难免会有疏漏和不足,诚恳希望得到读者的批评指正。

本书由上海交通大学生命科学技术学院、上海交通大学药学院和山东大学微生物技术国家重点实验室从事相关酶工程教学和科研工作的几位教师联合汇编而成。第 1、4、5 章为由德林编写;第 2、7 章由马翠卿编写;第 3 章由周文文、周潭澈、王志龙和钟建江编写;第 6 章由陈代杰、由德林编写;第 8 章由林双君编写。在撰写本书过程中承蒙上海交通大学罗九甫教授的热情关怀,并在全书内容安排上给予了悉心指导,谨致衷心感谢。感谢华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室的许建和教授、浙江大学材料与化学工程学院的杨立荣教授等对本书内容提出

的宝贵建议。感谢曹博、张维克、姚芬、李磊、朱琛琛、黄婷婷、雷璇、朱涛协助图表制作和文稿校对。同时感谢科学出版社和国家自然科学基金委员会生命科学部一如既往地支持。最后,感谢所有作者的家人在撰写此书过程中给予的理解和支持。

由德林

2010年盛夏于上海交通大学哲生馆

# 目 录

丛书序

前言

<b>1 酶与酶工程</b> .....	1
1.1 酶工程的发展历程 .....	1
1.2 酶作为催化剂的特点 .....	3
1.2.1 酶的高效催化能力 .....	3
1.2.2 酶的专一性 .....	4
1.2.3 酶的作用条件温和 .....	5
1.2.4 酶的活性可调节 .....	5
1.3 酶的命名及分类 .....	5
1.4 酶催化功能的结构基础 .....	8
1.4.1 酶的高级结构是其发挥活性的基础 .....	9
1.4.2 酶的活性中心 .....	9
1.4.3 酶的活性部位模型假说 .....	10
1.5 酶催化反应的本质 .....	11
1.5.1 酶促反应的过渡态 .....	11
1.5.2 邻近效应和定向效应 .....	13
1.5.3 共价催化 .....	14
1.5.4 酸碱催化 .....	15
1.5.5 金属离子催化 .....	15
1.5.6 微环境影响 .....	16
1.6 酶动力学 .....	16
1.6.1 影响酶反应速率的因素 .....	17
1.6.2 单底物反应 .....	17
1.6.3 双底物反应动力学 .....	18
1.6.4 失活(稳定性)动力学 .....	20
1.7 酶的稳定性 .....	21
1.7.1 酶的失活模型 .....	22
1.7.2 酶蛋白不稳定的原因 .....	22

1.7.3	稳定酶的方法	25
1.8	非水酶学	26
1.8.1	非水介质中酶催化反应的特征	26
1.8.2	非水介质中酶的催化基础	27
1.8.3	底物特异性	31
	<b>【思考题】</b>	33
	<b>【参考文献】</b>	34
2	<b>酶的生产、分离纯化和制剂</b>	37
2.1	原料的选择	37
2.2	产酶微生物发酵技术	39
2.2.1	培养基	39
2.2.2	发酵工艺控制	41
2.3	工程菌的高密度发酵	43
2.3.1	基因工程菌的构建	44
2.3.2	基因工程菌的培养方式	45
2.3.3	高密度发酵工艺	46
2.4	提高酶产量的方法	49
2.4.1	酶合成的调控机理	49
2.4.2	通过条件控制提高酶产量	51
2.4.3	通过基因突变提高酶产量	52
2.4.4	通过体内基因重组提高酶产量	54
2.4.5	通过体外基因重组提高酶产量	54
2.4.6	定向进化提高酶产量	55
2.5	酶分离纯化的原理与方法	55
2.5.1	酶分离纯化的基本原则	55
2.5.2	目标蛋白从生物机体内的释放	58
2.5.3	粗分离	59
2.5.4	根据相对分子质量不同的纯化方法	60
2.5.5	根据分子电荷不同的纯化方法	63
2.5.6	根据分子极性不同的纯化方法	65
2.5.7	根据蛋白质亲和力不同的纯化方法	66
2.6	酶的剂型与保存	69
2.6.1	酶的剂型	69

2.6.2 酶的稳定性与保存 .....	70
【思考题】 .....	71
【参考文献】 .....	71
<b>3 酶的固定化和酶反应器</b> .....	<b>73</b>
3.1 酶的固定化 .....	73
3.1.1 酶固定化的方法 .....	73
3.1.2 固定化酶性质的表征 .....	89
3.1.3 固定化酶的应用 .....	94
3.2 酶反应器 .....	99
3.2.1 酶反应器的类型 .....	99
3.2.2 酶反应器的设计原则与性能评价 .....	107
3.2.3 酶反应器的操作 .....	109
3.2.4 酶反应器的模型化与规模放大 .....	112
3.2.5 酶反应器的各种应用 .....	120
【思考题】 .....	125
【参考文献】 .....	125
<b>4 酶的分子改造</b> .....	<b>131</b>
4.1 酶的化学修饰 .....	131
4.1.1 酶分子侧链基团的化学修饰 .....	132
4.1.2 修饰反应类型和反应条件 .....	138
4.1.3 亲和标记 .....	138
4.1.4 酶的化学交联 .....	140
4.1.5 单功能聚合物化学修饰 .....	142
4.1.6 小分子化合物化学修饰 .....	145
4.1.7 辅因子引入 .....	146
4.1.8 化学修饰突变 .....	146
4.1.9 结合定点突变的化学修饰 .....	147
4.1.10 酶化学修饰的应用 .....	148
4.2 酶的蛋白质工程 .....	150
4.2.1 蛋白质工程的基本流程 .....	150
4.2.2 蛋白质分子设计 .....	151
4.2.3 定位诱变技术 .....	158
4.2.4 蛋白质工程改造酶分子的实际应用 .....	162

4.3 酶的定向进化 .....	169
4.3.1 酶定向进化的原理和步骤 .....	169
4.3.2 酶定向进化中随机突变的策略 .....	171
4.3.3 酶定向进化中的筛选和选择策略 .....	174
4.3.4 定向进化的应用 .....	178
【思考题】.....	179
【参考文献】.....	179
<b>5 酶的模拟</b> .....	<b>183</b>
5.1 模拟酶的理论基础和策略 .....	183
5.1.1 模拟酶的酶学基础 .....	183
5.1.2 主客体化学和超分子化学 .....	184
5.2 模拟酶的分类 .....	184
5.3 主-客体酶模型 .....	184
5.3.1 冠醚模型 .....	184
5.3.2 环糊精模型 .....	185
5.3.3 杯芳烃模型 .....	187
5.4 分子印迹酶模型 .....	188
5.4.1 分子印迹概念 .....	188
5.4.2 分子印迹技术的原理 .....	189
5.4.3 分子印迹酶 .....	190
5.4.4 生物印迹酶 .....	194
5.5 抗体酶 .....	195
5.5.1 抗体和酶的差别 .....	195
5.5.2 抗体酶的理论基础 .....	196
5.5.3 抗体酶的设计策略 .....	197
5.5.4 抗体酶的制备方法 .....	201
5.5.5 抗体酶的应用和挑战 .....	204
【思考题】.....	205
【参考文献】.....	205
<b>6 酶与生物催化</b> .....	<b>209</b>
6.1 药物合成中的生物转化 .....	209
6.1.1 生物转化与手性药物合成 .....	209
6.1.2 脂肪酶在制药工业中的应用 .....	219

6.1.3 醇脱氢酶在制药工业中的应用 .....	231
6.1.4 环氧化物水解酶在制药工业上的应用 .....	240
6.1.5 其他一些酶在制药工业中的应用 .....	249
6.2 有机合成中的生物转化 .....	252
6.2.1 脲水合酶催化合成丙烯酰胺 .....	253
6.2.2 嗜热菌蛋白酶催化合成阿斯巴甜 .....	254
6.2.3 氨基酰化酶制备 L-氨基酸 .....	255
6.2.4 乳糖酶制备脱乳糖牛奶 .....	257
【思考题】.....	257
【参考文献】.....	258
7 酶与生物降解 .....	260
7.1 生物易降解性物质 .....	260
7.1.1 淀粉的分解 .....	260
7.1.2 果胶质的分解 .....	262
7.1.3 蛋白质的分解 .....	264
7.2 生物难降解物质 .....	266
7.2.1 纤维素的降解 .....	266
7.2.2 木质素的降解 .....	268
7.2.3 半纤维素的降解 .....	269
7.2.4 环境污染物的降解 .....	270
7.2.5 塑料的降解 .....	291
【思考题】.....	293
【参考文献】.....	293
8 酶与代谢工程 .....	295
8.1 代谢工程的实质 .....	295
8.1.1 代谢工程的定义 .....	295
8.1.2 代谢工程的实质 .....	296
8.2 酶对代谢途径的调控 .....	298
8.2.1 酶活力的调节 .....	298
8.2.2 酶量的调节 .....	305
8.3 酶与次级代谢产物的生物合成 .....	307
8.3.1 聚酮类化合物的生物合成机制及其代谢工程的应用 .....	308
8.3.2 非核糖体肽类化合物的生物合成机制和代谢工程的应用 .....	314

---

8.3.3 聚酮-聚肽杂合化合物的生物合成机制及代谢工程的应用·····	316
8.3.4 其他次级代谢产物的生物合成·····	317
8.4 代谢工程的应用·····	318
8.4.1 乙醇·····	318
8.4.2 脂肪酸·····	320
8.4.3 青蒿素·····	322
【思考题】·····	324
【参考文献】·····	324
索引·····	327



# 1 酶与酶工程

酶是由活细胞产生的具有催化功能的蛋白质性质的催化剂。与普通的化学催化剂相比,酶具有催化效率高、专一性强、反应条件温和及活性可调节的特点。酶作为高效的催化剂在生物体内的各种生理活动中发挥着重要作用,催化生理活动所需的各种化学反应。通过这些反应,营养分子被降解,化学能被储存或转移,简单的前体分子被合成为生物高分子。通过调节酶的作用,使代谢途径高度协调,并使维持生命所必需的各种物质代谢、能量传递、信息转录、神经传导、免疫调节、细胞衰老及生长发育等生命活动得以有效和谐地进行。随着人们对酶的结构和功能、酶的性质以及作用机理认识的逐步深入,酶在医药、食品、轻工、化工、环保和能源等领域得到了广泛应用。酶的应用研究促进了**酶工程(enzyme engineering)**的产生。酶工程是在一定的生物反应器中利用酶的催化性质,将相应原料转化成有用物质的技术。是酶学和工程学相互渗透结合发展而成的一门新的技术科学。是生物工程的主要内容之一。

## 1.1 酶工程的发展历程

人类对酶的利用已经有几千年的历史(表 1.1),中国古代的酿造技术以及欧洲早期用小牛胃凝乳酶(chymosin)生产奶酪等都是对酶不自觉地利用。有目的地生产和应用酶是从 19 世纪开始的,1894 年,日本的高峰让吉(Takamine)从米曲霉(*Aspergillus oryzae*)中提取出**高峰淀粉酶(Taka-diastrase)**,用于治疗消化不良,开创了人类有目的地生产和应用酶的先例。1908 年,德国人罗姆(Otto Röhm)将胰酶[胰蛋白酶(trypsin)、胰淀粉酶(amylopsin)和胰脂肪酶(pancrelipase)的混合物]用于制革,并于 1913~1915 年开发成洗涤剂。1917 年法国人波一登(Boidin)将枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)产生的热稳定的淀粉酶(amylase)用于纺织品的退浆<sup>[1]</sup>。在此后的近半个世纪内,酶的生产应用一直停留在从动植物和微生物的组织或细胞中提取酶的方式上。这种生产方式不仅工艺复杂,而且原料有限,所以很难进行大规模的工业生产。

表 1.1 酶工程发展的相关历史事件

年代	发现人	事件
公元前	未知	中国古代的酿造技术 用牛胃、羊胃的凝乳酶生产奶酪
1894 年	高峰让吉(Takamine)	从米曲霉中提取“高峰淀粉酶”用于治疗消化不良
1908 年	罗姆(Otto Röhm)	获得胰酶处理皮革的专利