

*E*nzyme technology
and application
in edible oil industry

酶技术及其 在油脂工业中的应用

于殿宇 编著



科学出版社

酶技术及其在油脂工业中的应用

于殿宇 编著

近查(CI)目解到并并国

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书系统地论述了酶技术及其在油脂工业中的应用,主要包括酶反应动力学,酶的作用原理,酶的发酵生产,酶的提取与分离纯化,酶、细胞、原生质体固定化,催化酶及酶在油脂工业中的应用共八章。

本书可供粮食、油脂及植物蛋白工程、食品科学与工程等方面的科研、生产、设计、教学人员阅读和参考。

图书在版编目(CIP)数据

酶技术及其在油脂工业中的应用/于殿宇编著. —北京:科学出版社,2013
ISBN 978-7-03-037938-2

I. ①酶… II. ①于… III. ①酶-应用-油脂化学-化学工业 IV. ①
TQ641

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 134044 号

责任编辑:席 慧 刘 丹 韩书云 / 责任校对:李 影
责任印制:阎 磊 / 封面设计:迷底书装

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>

铭浩印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 6 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013 年 6 月第一次印刷 印张:14

字数:348 000

定价:39.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

近年来，酶技术得到了越来越广泛的应用，酶技术在油脂工业中的应用也不断扩大，对油脂工业的发展起到了很大的推动作用。在油脂制取方面，油料水酶法处理技术、饼粕酶法脱毒、微生物油脂、酶解蛋白等得到了推广应用；在油脂精炼深加工方面，酶法脱胶技术，油脂改性技术生产低热量油脂及中碳链油脂，生物柴油生产技术，废水处理技术等也在推广和研究中。总之，酶技术在油脂工业中逐渐发挥着巨大的作用。

本书系统地论述了酶技术及其在油脂工业中的应用，阐述了酶制剂的结构、特性、酶反应和变化规律。全书论述了酶反应动力学，酶的作用原理，酶的发酵生产，酶的提取与分离纯化，酶、细胞、原生质体固定化，催化酶及酶在油脂工业中的应用等内容。

本书的编著旨在利用酶技术为油脂工业发展奠定一定理论基础，书中介绍了编者多年潜心研究的科研成果，对酶在油脂工业中的应用进行了深入研究，并得到了同行业的认可。同时，在编著的过程中得到了有关院校专家的指点和支持，保证了编著工作的顺利进行，在此深表谢意。

由于编者水平有限，书中不妥之处在所难免，恳请专家、读者批评指正，以便不断进行改进和完善。

于殿宇

2013年1月于哈尔滨

目 录

前言

第一章 概论	1
第一节 酶的概况	1
第二节 酶的分类与命名	3
一、蛋白类酶的分类与命名	5
二、核酸类酶的分类和命名	6
第二章 酶反应动力学	10
第一节 底物浓度对酶催化反应速率的影响	10
一、米氏方程的推导	10
二、关于米氏方程的讨论	12
三、双底物反应	17
第二节 酶抑制动力学	19
一、抑制剂的类型	20
二、可逆抑制动力学	21
三、不可逆抑制动力学	24
第三节 pH 对酶催化反应速率的影响	24
一、酶促反应的最适 pH	24
二、pH 对酶稳定性影响	25
三、pH 对酶催化反应速率的影响	27
第四节 温度对酶催化反应速率的影响	30
一、酶促反应的最适温度	30
二、酶的热稳定性	30
三、温度对酶反应速率的影响	32
第三章 酶的作用原理	34
第一节 酶的活性部位的本质	34
一、活性部位中的催化部位	34
二、活性部位中的结合部位	37
三、活性亚部位及活性部位的大小	38
第二节 酶作用的专一性机制	40
一、锁钥配合学说	40
二、诱导契合学说	40
第三节 酶反应的催化机制	41
一、邻近和定向效应	41
二、广义酸碱催化	43

三、亲核催化与亲电催化	44
四、底物的形变扭曲导致催化	45
五、金属离子的催化	45
六、多元催化与协同效应	45
七、微环境的影响	45
第四章 酶的发酵生产	47
第一节 酶发酵生产常用微生物	47
一、产酶细胞的基本条件	47
二、产酶常用的微生物	47
第二节 酶发酵工艺条件及控制	50
一、一般发酵产酶	50
二、固定化微生物细胞发酵产酶	58
三、固定化微生物原生质体发酵产酶	61
第三节 植物细胞培养产酶	62
一、植物细胞的特性	62
二、植物细胞培养的特点	63
三、植物细胞培养产酶的工艺条件及其控制	64
第四节 动物细胞培养产酶	68
一、动物细胞的特性	69
二、动物细胞培养的特点	69
三、动物细胞培养方式	70
四、动物细胞培养产酶的工艺条件及其控制	71
第五章 酶的提取与分离纯化	75
第一节 细胞破碎	75
一、机械破碎法	75
二、物理破碎法	76
三、化学破碎法	77
四、酶促破碎法	77
第二节 酶的提取	78
一、酶提取的方法	78
二、影响酶提取的主要因素	79
第三节 沉淀分离	80
一、盐析沉淀法	81
二、等电点沉淀法	82
三、有机溶剂沉淀法	83
四、复合沉淀法	83
五、选择性变性沉淀法	83
第四节 离心分离	84
一、离心机的选择	84
二、离心方法的选用	84

三、离心条件的确定	86
第五节 过滤与膜分离	87
一、非膜过滤	87
二、膜分离技术	88
第六节 层析分离	90
一、吸附层析	91
二、分配层析	94
三、离子交换层析	95
四、凝胶层析	97
五、亲和层析	100
六、层析聚焦	103
第七节 电泳分离	104
一、纸电泳	105
二、薄层电泳	105
三、薄膜电泳	106
四、凝胶电泳	106
五、等电点聚焦电泳	109
第八节 萃取分离	111
一、有机溶剂萃取	111
二、双水相萃取	111
三、超临界萃取	113
四、反胶束萃取	114
第九节 结晶	115
一、盐析结晶法	116
二、有机溶剂结晶法	116
三、透析平衡结晶法	116
四、等电点结晶法	117
第十节 浓缩与干燥	117
一、浓缩	117
二、干燥	118
第六章 酶、细胞、原生质体固定化	119
第一节 酶的固定化	120
一、酶的固定化方法	120
二、固定化酶的特性	125
三、固定化酶的应用	126
第二节 细胞固定化	129
一、细胞固定化的方法	129
二、微生物细胞固定化	131
三、植物细胞固定化	132
四、动物细胞固定化	134

第三节 原生质体固定化	137
一、原生质体的制备	137
二、原生质体固定化	138
三、固定化原生质体的特点	138
四、固定化原生质体的应用	139
第七章 催化酶	140
第一节 淀粉酶	140
一、 α -淀粉酶	140
二、 β -淀粉酶	142
三、 γ -淀粉酶	143
四、异淀粉酶	143
五、葡萄糖淀粉酶	143
第二节 纤维素酶	144
一、纤维素酶及其性质、来源	144
二、天然纤维素的结构及纤维素酶的作用方式	145
三、纤维素酶的生产	145
四、影响纤维素酶作用的因素	145
五、纤维素酶应用中应注意的问题	146
六、纤维素酶的应用	147
第三节 蛋白酶	149
一、定义及分类	149
二、蛋白酶的特异性要求	151
三、应用	152
第四节 磷酸酯水解酶	153
一、磷酸单酯水解酶	153
二、磷酸二酯水解酶	154
第八章 酶在油脂工业中的应用	156
第一节 油料水酶法预处理制油技术	156
一、油料水酶法预处理的作用机制	157
二、油料水酶法预处理的基本技术方案	157
三、影响水酶法预处理制油工艺效果的主要因素	159
四、水酶法预处理提取油脂与蛋白质工艺应用	160
第二节 酶法油脂改性技术	162
一、脂肪酶简介	162
二、油脂酶法改性的方法	163
三、油脂酶法改性的产品	163
四、改性产品的分离纯化	166
五、油脂酶法改性的应用	168
第三节 磷脂酶及固定化脱胶技术	171
一、油脂酶法脱胶	171

二、大豆油磷脂·····	172
三、磷脂酶·····	172
四、磷脂酶脱胶·····	174
五、固定化酶法脱胶工艺·····	175
第四节 酶法大豆蛋白肽制取技术·····	176
一、以大豆分离蛋白为原料的高纯度大豆肽酶法加工技术·····	177
二、降血压大豆肽的酶法加工技术·····	178
三、防醉、解酒大豆肽酶法加工技术·····	178
四、酶法改性·····	179
五、酶法提取米糠蛋白质的依据·····	180
第五节 微生物油脂·····	182
一、微生物油脂概述·····	182
二、微生物合成油脂的生物化学机制·····	185
三、微生物生产油脂的培养过程·····	189
四、产油脂微生物及其脂质特征·····	191
第六节 酶法制取生物柴油·····	202
一、酯交换法制取生物柴油原理·····	202
二、油脚或皂脚为原料制备生物柴油·····	205
三、细胞生物催化剂在生物柴油生产中的应用·····	206
四、生物柴油的应用特点·····	207
第七节 酶在生产植物甾醇酯中的应用·····	207
一、酶生产阿魏酸酯的应用·····	208
二、磷脂酶改性磷脂技术·····	208
参考文献·····	212

第一章 概 论

酶是指具有生物催化功能的生物大分子,具有高效专一的催化特性。酶分为两大类,分别是蛋白类酶和核酸类酶。酶的理化特性和催化特性的理论研究推动了酶的应用研究。随着酶在生产生活中应用发展的不断深入,更促进了对酶反应机制的系统研究。日新月异的科学技术使人类不仅能体外生产酶,更使人类具有定向改造酶的能力。

第一节 酶的概况

酶是具有生物催化功能的生物大分子,按照其组成成分的不同,可以分为蛋白类酶(P酶)和核酸类酶(R酶)两大类型。P酶主要由蛋白质组成,R酶主要由核糖核酸(RNA)组成。这些酶大部分位于细胞体内,少部分分泌到体外。

各种细胞在适宜的条件下都可以合成各种各样的酶,因此可以通过各种方法选育得到优良的微生物、动物或植物细胞,在人工控制条件的生物反应器中进行生产,而获得各种所需的酶。

生物体生命活动的最主要特征是新陈代谢,一切生命活动都是由代谢的正常运转来维持的,而生物体代谢中的各种化学反应都是在各种酶的作用下进行的。酶是促进代谢反应的物质,如果没有酶,就没有新陈代谢,也就没有生命现象。如果酶反应一旦失控,就会引起代谢紊乱,导致机体患病甚至死亡。

要准确地说出酶是什么时候、由谁先发现的,是件很困难的事。人们很早就感觉到它的存在,但是真正认识它、利用它还只是近百年的事。从我国有记载的资料得知,4000多年前的夏禹时代酿酒已盛行。酒是酵母发酵的产物,是细胞内酶作用的结果。公元10世纪左右,我国已能用豆类做酱。豆酱是在霉菌蛋白酶作用下,将豆类蛋白质水解所得的产品。约3000年前,利用麦曲含有淀粉酶将淀粉降解为麦芽糖,制造了饴糖。用曲治疗消化障碍症也是我国人民最早发现的。曲富含酶和维生素,至今仍是常用的健胃药。春秋战国时期,漆已被广为利用,那时所用的漆是漆树的树脂被漆酶作用的氧化产物。

国外知道酶的存在是与发酵和消化现象联系在一起的。1833年,Payen和Personz对麦芽的水抽提物用乙醇沉淀,得到了某种对热不稳定的活性物质,它可促进淀粉水解成可溶性糖。他们把这种物质称为淀粉酶制剂(diastase),其意为“分离”,表示可从淀粉中分离出可溶性糖。虽然现在已知当时得到的是一种很粗的淀粉酶制剂,但是由于他们采用了最简单的抽提、沉淀等提纯方法,得到了一种无细胞酶制剂,并指出了它的催化特性和热不稳定性,开始触及了酶的一些本质问题,因此有人认为Payen和Personz首先发现了酶。

19世纪50年代,Pasteur用酵母进行乙醇发酵研究,认识到在活酵母细胞内有一种可以将糖发酵生成乙醇的物质。1878年,Kuhne首次将酵母中进行乙醇发酵的物质称为酶(enzyme),这个词来自希腊文,意思是“在酵母中”。

1896年,德国学者Buchner兄弟发现了用石英砂磨碎的酵母细胞或无细胞滤液能和酵母细胞一样将1分子葡萄糖转化成2分子乙醇和2分子 CO_2 ,他把这种能发酵的蛋白质成分

称为酒化酶 (eymase), 表明了酶能以溶解状态、有活性状态从破碎细胞中分离出来而非细胞本身, 从而说明了上述化学变化是由溶解于细胞液中的酶引起的。此项发现促进了酶的分离和对其理化性探讨, 也促进了对有关各种生命过程中酶系统的研究。一般认为酶学研究始于 1896 年 Buchner 兄弟的发现。

20 世纪初, 酶学得到了迅速发展。一方面, 发现了更多的酶, 并注意到某些酶的作用需要有小分子物质 (辅酶) 参加; 另一方面, 在物理、化学技术发展的影响下, Menten 总结了前人工作, 根据中间产物学说于 1913 年提出了酶促反应动力学原理。这一学说的提出, 对酶反应机制的研究是一个重要突破。1926 年, Summer 从刀豆中得到脲酶结晶 (这是第一个酶结晶), 并证实这种结晶催化尿素水解, 产生 CO_2 和氨, 提出酶本身就是一种蛋白质。但这个观点直到获得了胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶的结晶后才被普遍接受, 并获得 1947 年的诺贝尔奖。现已发现生物体内存在的酶有近 8000 种, 而且每年都有新酶发现。迄今, 数百种酶已纯化达到了均一纯度, 大约有 200 种酶得到了结晶。由于蛋白质分析分离技术的飞速发展, 特别是在运用 X 射线衍射分析等方法后, 人们相继弄清了溶菌酶 (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) 等的结构和作用机制。现在对于细胞基本代谢过程中的各种酶, 很多已有比较清楚的认识, 但有关遗传过程中的酶还有待深入研究。

20 世纪五六十年代, 发现酶有相当的柔性, 因而 Koshland 提出了诱导契合理论, 以解释酶的催化理论和专一性, 同时也搞清了某些酶的催化活性与生理条件变化有关。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, 首次报道由氨基酸单体化学合成牛胰核糖核酸酶, 虽然这是一个很大的进展, 但其纯度和活性很低。化学合成只是定性证明了酶和非生物催化剂没有区别。

1982 年, Cech 等发现四膜虫 (*Tetrahymena*) 细胞的 26S rRNA 具有自我剪接 (self-splicing) 功能, 表明 RNA 也具有催化活性, 并将这种具有催化活性的 RNA 称为核酸类酶。

1983 年, Altman 等发现核糖核酸酶 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_5 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 年来生物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部位, 有其独特的催化机制, 具有很高的底物专一性, 其反应动力学也符合米氏方程的规律。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。由此引出酶的新概念, 即“具有生物催化功能的生物大分子”。酶可以分为蛋白类酶和核酸类酶两大类型, 蛋白类酶分子中起催化作用的主要组分是蛋白质, 核酸类酶分子中起催化作用的主要组分是核糖核酸 (RNA)。1986 年, Schultz 和 Learner 两个小组同时报道, 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得到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功能研究和抗体与酶的应用开辟了新的研究领域。

近年来, DNA 重组技术用于酶学研究得到高度重视。用定点突变法在指定位点突变, 可以改变酶的催化活性与专一性。这有助于认识酶的作用机制, 并为设计特定需要的酶奠定了基础。例如, 乳酸脱氢酶可以通过在活性部位引入 3 个特定的氨基酸侧链突变成成为苹果酸

脱氢酶。

考察酶研究的历程可知，对酶的研究一直是沿着两个方向发展的：理论研究方向和应用研究方向。理论研究包括酶理化性质及催化性质的研究。例如，酶作用的锁钥学说及诱导契合学说的提出，使人们对酶有了更深入的了解；米氏方程的建立开拓了对酶由定性到定量，以及作用机制的探讨，奠定了酶学发展的里程碑；脲酶结晶的获得，不仅弄清了酶的蛋白质本质，而且奠定了现代酶学、蛋白质化学的基础。

Sanger 等建立的蛋白质一级结构测定方法，有力地推动了酶学的发展，也为酶的分子生物学建立奠定了基础。当今，酶学研究的任务是要从分子水平更深入地揭示酶和生命活动的关系；阐明酶的催化机制和调节机制，探索作为生物大分子的酶蛋白的结构与性质、功能间关系；有手段有目的地实施酶的定向改造，以获得更多有益于人类生活生产的酶。

第二节 酶的分类与命名

现在已知的酶近 8000 种，为了准确地识别某一种酶，以免发生混乱或误解，在酶学和酶工程领域，要求对每一种酶都有准确的名称和明确的分类。

按其组成不同，酶可以分为两大类型：主要由蛋白质组成的酶称为蛋白类酶（P 酶）；而主要由核糖核酸组成的酶称为核酸类酶（R 酶）。

两大类型的酶有各自的分类和命名原则。

现把酶的分类归纳为图 1-1。

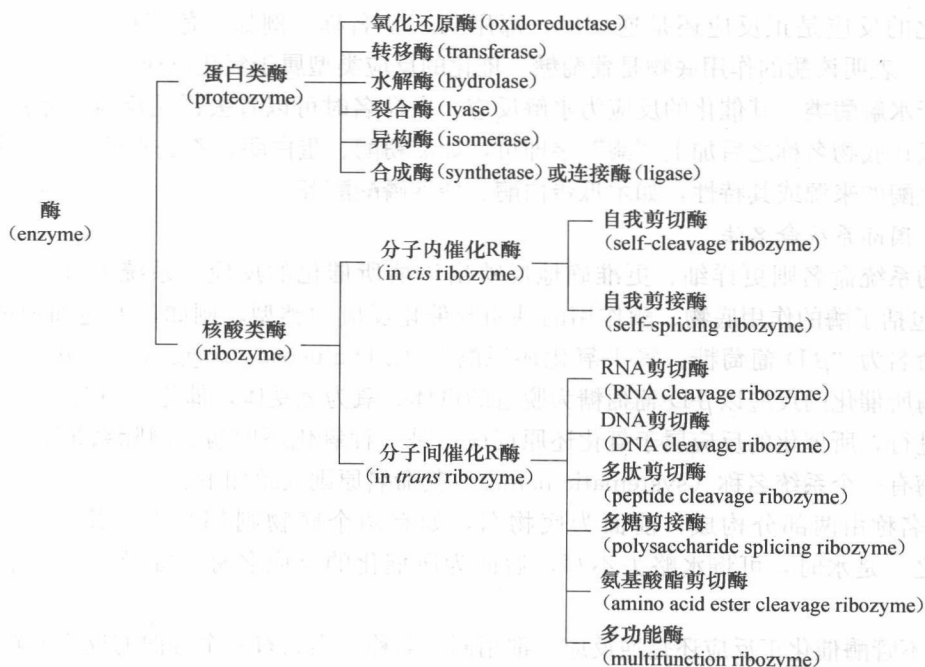


图 1-1 酶的分类

国际酶学委员会 (International Commission of Enzymes) 成立于 1956 年，受国际生物化学与分子生物学联合会 (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) 及

国际理论化学和应用化学联合会 (International Union of Pure and Applied Chemistry) 领导。该委员会一成立,第一件事就是着手解决当时混乱的酶的名称问题。在当时,酶的命名没有一个普遍遵循的准则,而是由酶的发现者或其他研究者根据个人的意见给酶定名,这就不可避免地产生混乱。有时,一种酶有两个或多个不同的名称。例如,催化淀粉水解生成糊精的酶,就有液化型淀粉酶 (liquefacient amylase)、糊精淀粉酶 (dextrine amylase)、 α -淀粉酶 (α -amylase) 等多个名字。相反,有时一个名称却用以表示两种或多种不同的酶。例如,琥珀酸氧化酶 (succinate oxidase) 这一名字,曾经用于琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase)、琥珀酸半醛脱氢酶 (succinate-semialdehyde dehydrogenase) 和 NAD(P)^+ 琥珀酸半醛脱氢酶 [succinate-semialdehyde dehydrogenase NAD(P)^+] 等多种不同的酶。有些酶的名称则令人费解,如触酶 (catalase)、黄酶 (yellow enzyme)、间酶 (zwischen ferment) 等。而高峰淀粉酶 (taka-diastrase) 则来自日本学者高峰让吉的姓氏,他于 1994 年首次从米曲霉中制备得到一种淀粉酶制剂,用作消化剂并命名为高峰淀粉酶。由此可见,确立酶的分类和命名原则,在当时是急需解决的问题。国际酶学委员会于 1961 年在“酶学委员会的报告”中提出了酶的分类与命名方案,获得了国际生物化学与分子生物学联合会的批准,此后经过多次修订,不断得到补充和完善。

根据国际酶学委员会的建议,每一种具体的酶都有其推荐名和系统命名。

(1) 推荐命名法

推荐名是在惯用名称的基础上,加以选择和修改而成的。酶的推荐名一般由两部分组成:第一部分为底物名称,第二部分为催化反应的类型,后面加一个“酶”字 (-ase)。不管酶催化的反应是正反应还是逆反应,都用同一个名称。例如,葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase),表明该酶的作用底物是葡萄糖,催化的反应类型属于氧化反应。

对于水解酶类,其催化的反应为水解反应,在命名时可以省去说明反应类型的“水解”字样,只在底物名称之后加上“酶”字即可,如淀粉酶、蛋白酶、乙酰胆碱酶等。有时还可以再加上酶的来源或其特性,如木瓜蛋白酶、酸性磷酸酶等。

(2) 国际系统命名法

酶的系统命名则更详细、更准确地反映出该酶所催化的反应。系统名称 (systematic name) 包括了酶的作用底物、酶作用的基团及催化反应的类型。例如,上述葡萄糖氧化酶的系统命名为“ β -D-葡萄糖:氧 1-氧化还原酶” (β -D-glucose: oxygen 1-oxidoreductase),表明该酶所催化的反应以 β -D-葡萄糖为脱氢的供体,氧为氢受体,催化作用在第一个碳原子基团上进行,所催化的反应属于氧化还原反应,是一种氧化还原酶。国际系统命名法规定,每一种酶有一个系统名称 (systematic name),其命名原则大致如下。

1) 名称由两部分构成,前面为底物名,如有两个底物则都写上,并用“:”分开,若底物之一是水时,可将水略去不写,后面为所催化的反应名称,如 ATP: 己糖磷酸基转移酶 。

2) 不管酶催化正反应还是逆反应,都用同一名称。当只有一个方向反应能够被证实,或者只有一个方向反应有生化重要性时,就以此方向来命名。有时也带有一定的习惯性。例如,在包含有 NAD^+ 和 NADH 相互转化的所有反应中 ($\text{DH}_2 + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{D} + \text{NADH} + \text{H}^+$),命名为 $\text{DH}_2: \text{NAD}^+$ 氧化还原酶,而不采用其反方向命名。

现就其分类和命名方法进行总结。

一、蛋白类酶的分类与命名

对于蛋白类酶(P酶)的分类和命名,国际酶学委员会做了大量的工作。

蛋白类酶(P酶)的分类原则有以下4点。①按照酶催化作用的类型,将蛋白类酶分为六大类,即第一大类,氧化还原酶;第二大类,转移酶;第三大类,水解酶;第四大类,裂合酶;第五大类,异构酶;第六大类,合成酶(或称连接酶)。②在每个大类中,按照酶作用的底物、化学键或基团的不同,分为若干亚类。③每一亚类中再分为若干小类。④每一小类中包含若干个具体的酶。

根据系统命名法,每一种具体的酶除了有一个系统名称以外,还有一个系统编号。系统编号采用四码编号方法。第1个号码表示该酶属于六大类酶中的某一大类,第2个号码表示该酶属于该大类中的某一亚类,第3个号码表示属于亚类中的某一小类,第4个号码表示这一具体的酶在该小类中的序号。每个号码之间用圆点“.”分开。例如,上述葡萄糖氧化酶的系统编号为EC 1.1.3.4。其中,EC表示国际酶学委员会;第1个号码“1”表示该酶属于氧化还原酶(第一大类);第2个号码“1”表示该酶属于氧化还原酶的第1亚类,该亚类所催化的反应系在供体的 $-\text{CH}_2-\text{OH}$ 基团上进行的;第3个号码“3”表示该酶属于第1亚类的第3小类,该小类的酶所催化的反应是以氧为氢受体的;第4个号码“4”表示该酶在小类中的特定序号。

现将六大类酶简介如下。

1. 氧化还原酶

催化氧化还原反应的酶称为氧化还原酶(oxidoreductases)。其催化的反应通式为: $\text{AH}_2 + \text{B} \longrightarrow \text{A} + \text{BH}_2$ 。

被氧化的底物(AH_2)为氢或电子供体,被还原的底物(B)为氢或电子受体。系统命名时,将供体写在前面,受体写在后面,然后再加上氧化还原酶字样。例如,醇:NAD⁺氧化还原酶表明其氢供体是醇,氢受体是NAD⁺。其推荐名采用某供体脱氢酶,如醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase)(醇+NAD⁺→醛或酮+NADH+H⁺);或者某受体还原酶,如延胡索酸还原酶(fumarate reductase)(琥珀酸+NAD⁺→延胡索酸+NADH+H⁺);以氧作氢受体时则用某受体氧化酶的名称,如葡萄糖氧化酶(葡萄糖+O₂→葡萄糖酸+H₂O₂)等。

根据所作用的基团不同,该大类酶分为20个亚类。

2. 转移酶

催化某基团从供体化合物转移到受体化合物上的酶称为转移酶(transferases)。其反应通式为: $\text{AB} + \text{C} \longrightarrow \text{A} + \text{BC}$ 。

其系统命名是“供体:受体某基团转移酶”。例如,L-丙氨酸:2-酮戊二酸氨基转移酶,表明该酶催化氨基从L-丙氨酸转移到2-酮戊二酸。推荐名为“受体(或供体)某基团转移酶”,如丙氨酸氨基转移酶(L-丙氨酸+α-酮戊二酸→α-丙酮酸+L-谷氨酸)等。该大类酶根据其转移的基团不同,分为8个亚类。

3. 水解酶

催化各种化合物进行水解反应的酶称为水解酶(hydrolases)。其反应通式为: $\text{AB} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{AOH} + \text{BH}$ 。

该大类酶的系统命名是先写底物名称,再写发生水解作用的化学键位置,后面加上“水

解酶”。例如，核苷酸磷酸水解酶，表明该酶催化反应的底物是核苷酸，水解反应发生在磷酸酯键上。其推荐名则在底物名称的后面加上一个酶字，如核苷酸酶（核苷酸+H₂O→核苷+H₃PO₄）等。该大类酶根据被水解的化学键的不同，分为 11 个亚类。

4. 裂合酶

催化一个化合物裂解成为两个较小的化合物及其逆反应的酶称为裂合酶（lyases）。其反应通式为： $AB \rightleftharpoons A+B$ 。

一般裂合酶在裂解反应方向只有一个底物，而在缩合反应方向却有两个底物。催化底物裂解为产物后产生一个双键。

该大类酶的系统命名为“底物-裂解的基团-裂合酶”。例如，L-谷氨酸-1-羧基裂合酶，表明该酶催化 L-谷氨酸在 1-羧基位置发生裂解反应。其推荐名是在裂解底物名称后面加上“脱羧酶”（decarboxylase）、“醛缩酶”（aldolase）、“脱水酶”（dehydratase）等，在缩合反应方向更为重要时，则用“合酶”（synthase）这一名称，如谷氨酸脱羧酶（L-谷氨酸→γ-氨基丁酸+CO₂）、苏氨酸醛缩酶（L-苏氨酸→甘氨酸+乙醛）、柠檬酸脱水酶（柠檬酸→顺乌头酸+水）、乙酰乳酸合酶（2-乙酰乳酸+CO₂→2-丙酮酸）。该大类酶分为 7 个亚类。

5. 异构酶

催化分子内部基团位置或构象的转换的酶称为异构酶（isomerases）。其反应通式为： $A \rightarrow B$ 。

异构酶按照异构化的类型不同，分为 6 个亚类。命名时分别在底物名称的后面加上“异构酶”（isomerase）、“消旋酶”（racemase）、“变位酶”（mutase）、“表异构酶”（epimerase）、“顺反异构酶”（*cis-trans*-isomerase）等。例如，木糖异构酶（D-木糖→D-木酮糖）、丙氨酸消旋酶（L-丙氨酸→D-丙氨酸）、磷酸甘油酸磷酸变位酶（2-磷酸-D-甘油酸→3-磷酸-D-甘油酸）、醛糖 1-表异构酶（α-D-葡萄糖→β-D-葡萄糖）、顺丁烯二酸顺反异构酶（顺丁烯二酸→反丁烯二酸）等。

6. 连接酶或合成酶

连接酶（ligases）是伴随着 ATP 等核苷三磷酸的水解，催化两个分子进行连接反应的酶。其反应通式为： $A+B+ATP \rightarrow AB+ADP+P_i$ （或 $AB+AMP+PP_i$ ）。

该大类酶的系统命名是在两个底物的名称后面加上“连接酶”，如谷氨酸：氨连接酶（L-谷氨酸+氨+ATP→L-谷氨酰胺+ADP+P_i）。而推荐名则是在合成名称之后加上“合成酶”（synthetase），如天冬酰胺合成酶（L-天冬氨酸+氨+ATP→L-天冬酰胺+AMP+PP_i）。

二、核酸类酶的分类和命名

自 1982 年以来，被发现的核酸类酶（R 酶）越来越多，对它的研究也越来越深入和广泛。但是由于历史不长，对于其分类和命名还没有统一的原则和规定。

根据酶催化反应的类型，可以将 R 酶分为 3 类：剪切酶、剪接酶和多功能酶。根据酶催化的底物是其本身 RNA 分子还是其他分子，可以将 R 酶分为分子内催化（in *cis*，或者称为自我催化）和分子间催化（in *trans*）两类。根据 R 酶的结构特点不同，可分为锤头型 R 酶、发夹型 R 酶、含 I 型 IVS R 酶、含 II 型 IVS R 酶等。

根据核酸类酶的作用底物、催化反应类型、结构和催化特性等的不同,对 R 酶采用下列分类原则。①根据酶作用的底物是其本身 RNA 分子还是其他分子,将核酸类酶分为分子内催化 R 酶和分子间催化 R 酶两大类。②在每个大类中,根据酶的催化类型不同,将 R 酶分为若干亚类,如剪切酶、剪接酶和多功能酶等。据此,可将分子内催化的 R 酶分为自我剪切酶 (self-cleavage)、自我剪接酶 (self-splicing) 两个亚类;分子间催化的 R 酶可以分为作用于其他 RNA 分子的 R 酶、作用于 DNA 分子的 R 酶、作用于多糖分子的 R 酶和作用于氨基酸酯的 R 酶等亚类。③在每个亚类中,根据酶的结构特点和催化特性的不同,分为若干小类。例如,自我剪接酶中,可分为含 I 型 IVS 的自我剪接酶和含 II 型 IVS 的自我剪接酶两个小类等。④在每个小类中,包括若干个具体的 R 酶。⑤在可能与蛋白类酶 (P 酶) 混淆的情况下,标明 R 酶,以示区别。

根据现有资料,将 R 酶的初步分类简介如下。

(一) 分子内催化 R 酶

分子内催化 R 酶是指催化本身 RNA 分子进行反应的一类核酸类酶。这类酶是最早发现的 R 酶。该大类酶均为 RNA 前体。由于这类酶是催化本身 RNA 分子反应,冠以“自我” (self) 字样。

根据酶所催化的反应类型,可以将该大类酶分为自我剪切和自我剪接两个亚类。

1. 自我剪切酶

自我剪切酶 (self-cleavage ribozyme) 是指催化本身 RNA 进行剪切反应的 R 酶。具有自我剪切功能的 R 酶是 RNA 的前体。它可以在一定条件下催化本身 RNA 进行剪切反应,使 RNA 前体生成成熟的 RNA 分子和另一个 RNA 片段。例如,1984 年 Apirion 发现 T_4 噬菌体 RNA 前体可以进行自我剪切,将含有 215 个核苷酸 (nt) 的前体剪切成为含 139 个核苷酸的成熟 RNA 和另一个含 76 个核苷酸的片段。

2. 自我剪接酶

自我剪接酶 (self-splicing ribozyme) 是在一定条件下催化本身 RNA 分子同时进行剪切和连接反应的 R 酶。

自我剪接酶都是 RNA 前体。它可以同时催化 RNA 前体本身的剪切和连接两种类型的反应。根据其结构特点和催化特性的不同,自我剪接酶可分为含 I 型 IVS R 酶和含 II 型 IVS R 酶等。

I 型 IVS 均与四膜虫 rRNA 前体的间隔序列 (IVS) 的结构相似,在催化 rRNA 前体的自我剪接时,需要鸟苷 (或 5'-鸟苷酸) 及镁离子 (Mg^{2+}) 参与。II 型 IVS 则与细胞核 mRNA 前体的 IVS 相似,在催化 mRNA 前体的自我剪接时,需要镁离子参与,但不需要鸟苷或鸟苷酸。

每一个小类中分别包括若干种具体的 R 酶,举例如表 1-1 所示。

表 1-1 一些自我剪接酶的结构特点和催化特性

R 酶	鸟苷或 5'-鸟苷酸	Mg^{2+}	环状结构	套环结构
四膜虫 26S rRNA 前体	+	+	+	
红色面包霉菌细胞色素 b mRNA 前体	+	+	+	

续表

R 酶	鸟苷或 5'-鸟苷酸	Mg ²⁺	环状结构	套环结构
酵母细胞色素 b mRNA 前体	+	+	+	
大肠杆菌 T ₄ 噬菌体 dTMP 合成酶 mRNA 前体	+	+	+	
酵母核糖体大亚基 rRNA 前体	+	+	+	
酵母托普基细胞色素 b mRNA 前体		+		+
酵母色素细胞氧化酶 mRNA 前体		+		+
酵母细胞色素 c 氧化酶 mRNA 前体		+		+
细胞核 mRNA 前体		+		+

注：“+”表示需要的辅因子或具有的结构

(二) 分子间催化 R 酶

分子间催化 R 酶是催化其他分子进行反应的核酸类酶。

根据所作用的底物分子的不同，可以分为若干亚类。根据现有资料介绍如下。

1. 作用于其他 RNA 分子的 R 酶

该亚类的酶可催化其他 RNA 分子进行反应。根据反应的类型不同，可以分为若干小类，如 RNA 剪切酶、多功能 R 酶等。

(1) RNA 剪切酶

RNA 剪切酶是催化其他 RNA 分子进行剪切反应的核酸类酶。1983 年，Altman 发现大肠杆菌核糖核酸酶 P (RNase P) 的核酸组分 M1 RNA 在高浓度镁离子存在的条件下，具有该酶的催化活性，而该酶的蛋白质部分 C₅ 蛋白并无催化活性；M1 RNA 可催化 tRNA 前体的剪切反应，除去部分 RNA 片段，而成为成熟的 tRNA 分子。后来的研究证明，许多原核生物的核糖核酸酶 P 中的 RNA (RNase P-RNA) 也具有剪切 tRNA 前体生成成熟 tRNA 的功能。

(2) 多功能 R 酶

多功能 R 酶是指能够催化其他 RNA 分子进行多种反应的核酸类酶。1986 年，Cech 等发现四膜虫 26S RNA 前体通过自我剪接作用，切下的间隔序列 (IVS) 经过自身环化作用，最后得到一个在其 5' 端失去 19 个核苷酸的线状 RNA 分子，称为 L-19 IVS。它是一种多功能 R 酶，能够催化其他 RNA 分子进行下列多种类型的反应。

RNA 剪接作用： $2C_pC_pC_pC_pC \rightarrow C_pC_pC_pC_pC + C_pC_pC_pC$

末端剪切作用： $C_pC_pC_pC_pC \rightarrow C_pC_pC_pC + C_p$

限制性内切作用： $\text{---}C_pU_pC_pU_pG_pN\text{---} \rightarrow \text{---}C_pU_pC_pU_p\text{---} + G_pN\text{---}$

转磷酸作用： $C_pC_pC_pC_pC_pC + U_pC_pU \rightarrow C_pC_pC_pC_pC_pC + U_pC_pU_p$

去磷酸作用： $C_pC_pC_pC_pC_pC \rightarrow C_pC_pC_pC_pC + P_i$

2. 作用于 DNA 的 R 酶

该亚类的酶是催化 DNA 分子进行反应的 R 酶。1990 年，发现核酸类酶除了以 RNA 为底物外，有些 R 酶还可以以 DNA 为底物，在一定条件下催化 DNA 分子进行剪切反应。据目前所知的资料，该亚类 R 酶只有 DNA 剪切酶一个小类。

3. 作用于多糖的 R 酶

该亚类的酶是能够催化多糖分子进行反应的核酸类酶。兔肌 1,4- α -D-葡聚糖分支酶