




彭志英 主编

食品生物技术



 中国轻工业出版社

TS201
43

食品生物技术

主 编 彭志英

编 者 赵谋明 刘通讯 刘洁生

张毅 吴晖 曹劲松 徐建祥

 中国轻工业出版社

内 容 简 介

本书较全面、系统地介绍了生物技术在食品工业中的应用,属高新技术图书之一。内容包括第一章绪论;第二章基因工程及其在食品工业中应用;第三章酶工程及其在食品工业中应用;第四章发酵工程及其在食品工业中应用;第五章细胞工程及其在食品工业中应用;第六章生物技术在饮料工业中应用;第七章生物传感器在食品工业中应用;第八章生物技术在食品工业废水处理中应用。每章后面均附有参考文献。

本书除作为高等院校食品科学与工程学科有关专业师生、研究生参考外,也可供有关研究单位和企事业高、中级食品科技工作者参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

食品生物技术/彭志英主编. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.8

ISBN 7-5019-2485-6

I. 食... I. 彭... III. 食品工业-生物技术 IV. TS201

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 17102 号

2P36/25

责任编辑: 熊慧珊 鲁莉蓉

策划编辑: 熊慧珊 责任终审: 滕炎福 封面设计: 北京达冠桂仁图文设计公司

版式设计: 赵益东 责任校对: 方敏 责任监印: 胡兵

*

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

印 刷: 中国人民警官大学印刷厂

经 销: 各地新华书店

版 次: 1999 年 8 月第 1 版 1999 年 8 月第 1 次印刷

开 本: 787×1092 1/16 印张: 21.25

字 数: 516 千字 印数: 1—3000

书 号: ISBN 7-5019-2485-6/TS·1511 定价: 45.00 元

· 如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换 ·

前 言

生物技术在食品工业中的应用日益广泛和深入，极大地推动了食品工业的革新，在以基因工程为核心内容，包括细胞工程、酶工程和发酵工程的生物技术领域中，逐渐形成崭新的食品生物技术重要分支学科，并受到各国政府和国内外食品科技工作者的重视。当今，这一分支学科已逐步形成产业化，其应用的基础研究正不断深入和发展。

本书旨在介绍国内外食品生物技术领域的研究和开发进展，阐明生物技术在食品工业中的应用范围和内容。全书共分8章，内容包括：绪论，基因工程及其在食品工业中的应用，酶工程及其在食品工业中的应用，发酵工程及其在食品工业中的应用，细胞工程及其在食品工业中的应用，生物技术在饮料工业中的应用，生物传感器在食品工业中的应用，生物技术在食品工业废水处理中的应用等。

参加本书编写的除本人外均为取得博士学位的年轻副教授，他们是：赵谋明、刘通讯、刘洁生、张毅、吴晖和讲师曹劲松、徐建祥等。编写分工：第一、二、四章彭志英；第三章刘通讯；第五章张毅；第六章徐建祥；第七章刘洁生；第八章吴晖。曹劲松、徐建祥对全稿文字及插图进行了校对，在此谨表示致谢。

由于食品生物技术的研究和应用日新月异，尽管主观上力求把本书写得圆满，但由于编者水平所限，不当之处实为难免，仅作为抛砖引玉，希望读者给予批评、指正。

主编 彭志英

1999年1月于华南理工大学

目 录

第一章 绪论.....	(1)
第一节 食品生物技术研究的内容.....	(1)
一、基因工程 (Gene engineering)	(1)
二、细胞工程 (Cell engineering)	(1)
三、酶工程 (Enzyme engineering)	(2)
四、发酵工程 (Fermentation engineering)	(2)
第二节 分子生物学研究进展.....	(2)
一、基因的本质.....	(2)
二、DNA 结构与功能	(3)
三、RNA 结构与功能	(6)
四、蛋白质的生物合成.....	(7)
五、蛋白质合成的调节控制.....	(9)
参考文献	(12)
第二章 基因工程及其在食品工业中应用	(14)
第一节 工具酶	(14)
一、限制性内切酶	(14)
二、DNA 连接酶.....	(16)
三、DNA 聚合酶 I	(17)
四、碱性磷酸酯酶	(17)
五、T ₄ 多聚核苷酸激酶	(17)
六、S ₁ 核酸酶	(17)
七、反向转录酶	(18)
第二节 目的基因	(18)
一、生物学方法	(18)
二、酶促合成法	(18)
三、化学合成法	(19)
第三节 基因载体	(19)
一、质粒	(20)
二、λ-噬菌体	(21)
三、M ₁₃ 噬菌体	(21)
第四节 基因重组	(23)

第五节 转化、增殖和表达	(23)
一、转化	(23)
二、基因表达	(25)
第六节 基因工程在食品工业中应用	(26)
一、改良食品加工的原料	(26)
二、改良微生物菌种性能	(26)
三、应用于酶制剂的生产	(28)
四、改良食品加工工艺	(33)
五、应用于生产保健食品的有效成分	(33)
第七节 蛋白质工程	(33)
一、蛋白质结晶学	(34)
二、基因修饰技术	(34)
三、蛋白质工程的应用	(36)
第八节 基因工程食品卫生安全管理规范	(39)
参考文献	(41)
第三章 酶工程及其在食品工业中应用	(42)
第一节 酶法应用于水解纤维素	(43)
一、纤维素酶的研究概况	(43)
二、纤维素酶的种类与来源	(43)
三、纤维素酶的提取、精制及回收	(44)
四、纤维素酶活力测定的方法	(45)
五、纤维素酶作用的影响因素	(46)
六、纤维素酶在食品工业中应用	(47)
第二节 酶法应用于淀粉糖类的生产	(48)
一、淀粉糖酶类作用特性及其来源	(48)
二、果葡糖浆的生产	(53)
三、超高麦芽糖浆的生产	(58)
第三节 酶法生产新型低聚糖	(62)
一、新型低聚糖的研究进展	(62)
二、新型低聚糖的酶法生产	(63)
第四节 酶法应用于干酪制品的生产	(75)
一、酶法制造干酪的研究进展	(75)
二、干酪制造工艺	(75)
三、干酪生产的酶类及其作用	(76)
四、影响干酪质地的因素	(79)
五、干酪风味物质的形成	(83)
六、加速干酪的成熟	(87)
第五节 酶法应用于环状糊精的生产	(90)

一、环状糊精的酶法生产	(90)
二、环状糊精的应用	(92)
第六节 其他酶在食品加工中的应用	(94)
一、固定化木瓜蛋白酶应用于啤酒澄清	(94)
二、固定化细胞应用于柠檬酸的生产	(94)
三、固定化技术应用于牛乳中乳糖的分解	(95)
四、转谷氨酰胺酶在食品加工中应用	(95)
五、葡萄糖氧化酶应用于蛋粉加工	(97)
参考文献	(98)
第四章 发酵工程及其在食品工业中应用	(100)
第一节 发酵法生产单细胞蛋白	(100)
一、SCP 生产菌种和原料	(102)
二、SCP 的发酵生产	(105)
三、SCP 的分离、纯化	(117)
四、SCP 的功能特性	(122)
五、高活性干酵母的生产及其应用	(122)
第二节 螺旋藻的培养生产及其应用	(125)
一、螺旋藻研究开发的进展及其药理评价	(126)
二、螺旋藻的化学组成和营养	(127)
三、螺旋藻的形态、分类及生态	(130)
四、螺旋藻的生产	(130)
五、螺旋藻的分离方法	(139)
六、藻类在废水处理中应用	(139)
第三节 发酵法生产新型食品胶	(140)
一、黄原胶的发酵生产	(140)
二、结冷胶的发酵生产	(151)
三、茁霉多糖的发酵生产	(160)
第四节 发酵法生产食用色素	(164)
一、发酵法生产红曲色素	(165)
二、发酵法生产 β -胡萝卜素	(168)
第五节 发酵法生产其他有机酸	(169)
一、 γ -亚麻酸	(169)
二、EPA 和 DHA	(170)
三、苹果酸	(170)
参考文献	(171)
第五章 细胞工程及其在食品工业中应用	(174)
第一节 细胞融合技术	(174)
一、细胞融合技术研究进展	(174)

二、细胞融合技术涵义	(174)
三、促进细胞融合的方法	(175)
四、原生质体融合具体步骤	(176)
五、细胞融合技术的应用	(178)
第二节 动物细胞工程及其应用	(180)
一、无血清细胞培养基	(180)
二、动物细胞培养方法	(182)
三、动物细胞大量培养的应用	(182)
第三节 植物细胞工程及其应用	(184)
一、植物细胞培养的研究进展	(184)
二、植物细胞培养的特性与营养	(185)
三、植物细胞培养的类型与技术	(192)
四、植物细胞培养生物反应器的类型及其放大	(204)
五、植物细胞培养的应用	(206)
参考文献	(215)
第六章 生物技术在饮料工业中应用	(220)
第一节 发酵乳酸饮料	(220)
一、发酵乳的分类	(220)
二、发酵乳的功能与特性	(221)
三、发酵乳用发酵剂	(225)
四、发酵乳生产	(228)
第二节 植物蛋白饮料	(237)
第三节 果胶酶应用于果汁饮料生产	(238)
一、果汁提取	(238)
二、果汁澄清	(239)
三、果酒澄清、过滤	(239)
四、果实脱皮	(240)
五、其他物质的提取	(240)
第四节 酶工程应用于啤酒生产	(240)
一、固定化啤酒酵母的应用	(240)
二、 β -葡聚糖酶提高啤酒的持泡性	(241)
三、酶法降低双乙酰含量	(242)
第五节 生物技术应用于保健饮料的生产	(242)
一、用于生产保健饮料的基料	(243)
二、保健饮料的生产	(245)
参考文献	(250)
第七章 生物传感器及其在食品工业中应用	(252)
第一节 生物传感器原理	(252)

一、生物传感器基本概念	(252)
二、生物传感器基本原理	(255)
第二节 生物传感器敏感膜的成膜技术	(262)
一、概述	(262)
二、活性物质的固定化技术	(263)
三、几种新的成膜技术	(269)
第三节 生物传感器在食品工业中应用	(270)
一、检测食品鲜度	(270)
二、检测食品滋味及熟度	(273)
三、在食品分析中的应用	(274)
四、在食品卫生检测中的应用	(277)
第四节 生物传感器应用展望	(280)
参考文献	(281)
第八章 生物技术在食品工业废水处理中应用	(284)
第一节 食品工业废水生物处理概况	(284)
一、废水的来源及分类	(284)
二、废水的性质	(285)
三、废水生物处理的可行性	(289)
四、废水生物处理工艺	(290)
第二节 废水生物处理的应用	(293)
一、肉类加工厂的废水处理	(293)
二、鱼类加工厂的废水处理	(295)
三、罐头加工厂的废水处理	(297)
四、淀粉加工厂的废水处理	(299)
五、节约用水的方向	(302)
第三节 高浓度有机废水生物处理进展	(302)
一、厌氧接触法	(305)
二、厌氧污泥床	(308)
三、厌氧生物膜法	(310)
四、两相厌氧生物处理法	(315)
五、酵母菌生物处理法	(317)
六、其他微生物处理法	(323)
七、清洁生产新工艺技术	(326)
参考文献	(328)

第一章 绪 论

第一节 食品生物技术研究的内容

从本世纪 50 年代开始, 由于分子生物学和生物化学的发展, 对生物细胞核中存在的脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic acid, 简称 DNA) 结构与功能有了比较清晰的阐述, 70 年代初实现了 DNA 重组技术 (Recombinant technology of DNA) 或称克隆技术 (Cloning technology), 逐步形成了以基因工程为核心内容, 包括细胞工程、酶工程和发酵工程的生物技术。这一新技术之所以列入当今世界七大高科技领域之一, 是因为它是在分子生物学、生物化学、应用微生物学、化学工程、发酵工程和电子计算机的最新科学成就基础上所形成的综合性学科, 并广泛应用于食品、医药、化工、农业、环保、能源和国防等许多部门。其发展已日益显示其巨大的潜力, 将为世界面临的蛋白质、能源、环保和癌症等问题的解决提供美好的前景。

食品生物技术 (Food biotechnology) 是生物技术的重要分支学科。其定义虽然未有确切的提法, 但是其涵义主要是指生物技术在食品工业上的应用, 主要包括如下内容:

一、基因工程 (Gene engineering)

以分子遗传学为基础, 以 DNA 重组技术或称克隆技术为手段, 实现动物、植物、微生物等种之间的基因转移或 DNA 重组, 达到食品原料或食品微生物的改良。或者在此基础上, 采用 DNA 分子克隆对蛋白质分子进行定位突变 (Site directed mutagenesis) 的所谓蛋白质工程 (Protein engineering), 这对提高食品营养价值及食品加工性能, 具有重要的科学价值和应用前景。

二、细胞工程 (Cell engineering)

应用细胞生物学方法, 按照人们预定的设计, 有计划地改造遗传物质和细胞培养技术, 包括细胞融合技术以及动物、植物大量控制性培养技术, 以生产各种保健食品有效成分、新型食品和食品添加剂。

三、酶工程 (Enzyme engineering)

酶是活细胞产生的具有高度催化活性和高度专一性的生物催化剂。为了提高酶催化各种物质转化,以实现控制性工程的能力,因此,酶工程的主要内容是把游离酶固定化,称为固定化酶,或者把经过培养发酵产生目的酶活力高峰时的整个微生物细胞再固定化,称为固定化细胞。这样,便可直接应用于食品生产过程中物质的转化。

四、发酵工程 (Fermentation engineering)

这是采用现代发酵设备,使经优选的细胞或经现代技术改造的菌株进行放大培养和控制性发酵,获得工业化生产预定的食品或食品的功能成分。

生物技术起源于传统的食品发酵,并首先在食品加工中得到广泛的应用。例如,改良面包酵母菌种是基因工程应用于食品工业中的第一个例子。其原理是将具有较高活性的酶基因转移至面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*),便能使面包酵母显著地提高麦芽糖透性酶(maltose permease)及麦芽糖酶(maltase)的活性,使面团发酵时产生大量的CO₂,形成膨发性能良好的面团,从而提高面包质量和生产效率。又例如制造干酪的凝乳酶,过去是从小牛胃中提取的,为了满足世界干酪的生产,每年大约需要宰掉5000万头小牛。而现在,采用基因工程技术,把小牛胃中凝乳酶的基因转移至大肠杆菌(*E. coli*)或酵母中,便可通过微生物发酵方法生产凝乳酶,并通过基因扩增来适应干酪的生产。此外,酶法转化或酶工程的应用能有效地改造传统的食品工业。如在美国从70年代初开始采用这一新技术,使玉米淀粉经酶法液化、糖化和葡萄糖异构化,并采用固定化技术,已成功地工业化生产第一代、第二代和第三代的高果糖浆(High fructose glucose syrup,简称HFGS),代替蔗糖用作饮料和食品的甜味剂。仅美国的可口可乐和百事可乐两个饮料公司,每年就消耗高果糖浆五至六百万吨以代替原来进口的蔗糖,既提高了饮料质量,又有利于人的健康。这是一个非常成功的技术革新。采用生物技术不仅可以改良食品工业原料和材料品种,提高和改善食品用酶的稳定性,还可以修饰蛋白质分子,提高其营养价值,也可使食品工厂的废料变废为宝。

第二节 分子生物学研究进展

一、基因的本质

早在1865年,奥地利修道士格里哥尔·孟德尔(Gregor Mendel)就用庭院种植的豌豆(*Pisum sativum*)做过8年的育种研究。通过杂交育种观察遗传因子由亲代传至子代,第一子代不显示亲代的特征,而可能在第二子代显示出来,第一子代隐藏的亲代的

性状称为“隐性”。研究认为，遗传性状是由一对遗传因子决定的，称为孟德尔遗传规律。1909年，托马斯·亨特·摩尔根（Thomas Hunt Morgan）选用果蝇（*Drosophila melanogaster*）做了遗传基因的实验，从饲养的成千个红眼的果蝇中发现有白眼的雄性果蝇，首次提出“突变”（Mutation）的概念，突变型一旦发生也能代代相传，由于突变导致物种的变异，突变这一概念对遗传学的发展十分重要。1911年，丹麦人约翰生（W. Johanssen）把遗传因子重新命名为“基因”（Gene）。1926年摩尔根（Morgan）出版了“基因论”一书，创立了基因学说，认为基因是控制性状表现的遗传基础，呈线状排列于染色体上。基因学说的最大贡献是把决定性状的基因确切地落实到染色体上，基因不再是抽象的概念，而是存在于细胞核染色体中。1928年弗雷德·格里非斯（Fred Griffith）做了肺炎双球菌的转化实验，采用血清学方法从肺炎双球菌分离出能致病带荚膜菌和无致病能力不带荚膜菌，把前者注射小白鼠则死亡而后者注射小白鼠则正常。然后在试管内将致病带荚膜菌落的抽提物作为供体，而无致病能力的菌落作为受体混合进行“转化”（Transformation）实验，转化后的产物注射小白鼠而致病死亡，并从这个小白鼠中分离出致病而带荚膜的菌落。1943年，O. T. Avery 等^[1]研究证实这种转化因子是DNA。就这样，经过一系列的研究证明，基因的本质是DNA，基因存在于细胞染色体上，DNA是遗传物质，DNA大分子中蕴藏着成百上千个基因，基因决定蛋白质结构及性状。现代科学认为，所谓基因是具有生物学功能的DNA分子中一个片断，是一个分子遗传的功能单位。

二、DNA 结构与功能

1953年，美国遗传学家华生（J. D. Watson）和英国生物化学家克里克（F. H. C. Crick）根据对DNA晶状的X-射线衍射结构分析，在英国《自然》杂志上发表《DNA的结构》一文^[2]，提出了DNA双螺旋结构模型，首次阐明了DNA结构与功能，为遗传信息的贮存、传递和利用提供了科学依据，创立了现代分子遗传学。DNA双螺旋结构分子模型如图1-1和图1-2所示，其结构要点说明如下：

(1) DNA是由两条极性相反并互补的多聚核苷酸链，围绕中心轴构成的双螺旋结构。此螺旋为右螺旋，并存在大沟和小沟。

(2) 两条链中的碱基之间按照A配对T、G配对C的互补原则，通过氢键连接层叠于螺旋内侧，其中碱基平面与螺旋中心轴垂直。脱氧核糖通过磷酸二酯键构成的主链为螺旋的骨架，糖环平面与中心轴平行。DNA两链间的维系主要靠氢键，其中A与T之间形成二条氢键，G与C之间形成三条氢键。

(3) 双螺旋的直径为2nm，2个相邻碱基的间距为0.34nm，每10个碱基的间距为3.4nm，构成一段完整的螺旋结构，其相邻碱基的夹角为36°。

(4) 两条多聚核苷酸链间的碱基配对互补规律为：A配对T、G配对C，而且其分子比率为1。

天然存在的DNA几乎都是右旋DNA，但后来在人工合成的DNA小片断晶体中，发现过左旋DNA，这种左旋DNA称为Z-DNA。1959年发现细菌细胞质中的DNA为双螺

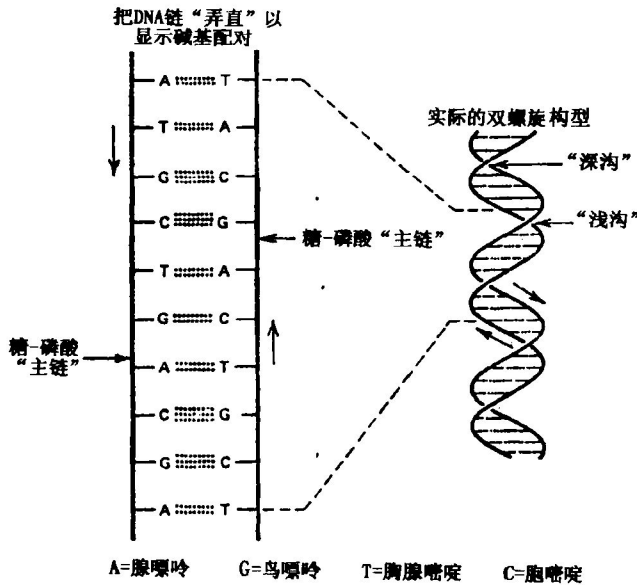


图 1-1 DNA 分子双螺旋结构模型

(引自 Price, F. W. Basic Molecular Biology, 孙冠文等译本, 1985, P373)

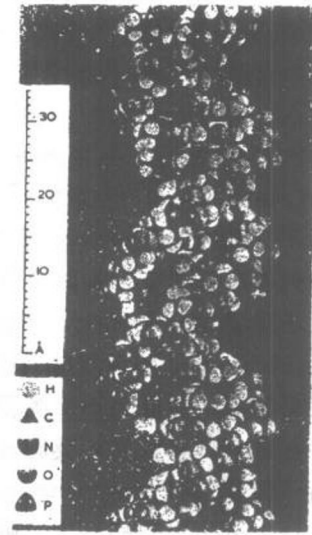


图 1-2 DNA 双螺旋结构分子模型

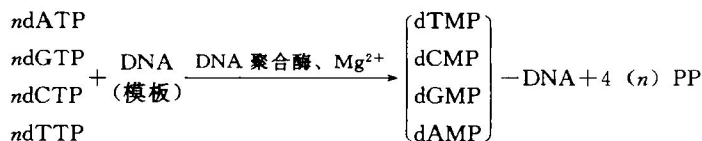
(引自 Price, F. W. Basic Molecular Biology, 孙冠文等译本, 1985, P374)

旋闭环,称为质粒 (Plasmid), 还发现细菌噬菌体 $\phi \times 174$ DNA 为单链闭环。现在, 质粒 DNA 在基因工程中作为基因的主要载体。

DNA 双螺旋结构模型的提出,为分子生物学的诞生和发展奠定了理论基础。因为,根据其结构,可以从分子水平上阐明其生物学功能:

(1) DNA 分子能自我复制。有生命物质与无生命物质的主要区别在于自我复制和繁殖能力,并将遗传信息传递到子代。根据 DNA 双螺旋结构模型,在两条多聚核苷酸链中,任何一条都可作为另一条生物合成的模板,这一点显著地不同于其它生物大分子。经过自我复制出来的每一个 DNA 分子都包含一条原来分子中的“旧”链和一条“新”链,原来 DNA 分子中的一条链被保留下来。这种复制,称为半保留复制 (Semi conservative replication) (如图 1-3)。

上述 DNA 自我复制结果,已由 A. Kornberg^[3]在离体实验中得到证实。他成功地从大肠杆菌 (*E. coli*) 中提取一种 DNA 聚合酶,在离体条件下,用腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶的脱氧核糖核苷三磷酸作为 DNA 的前体并以预先制备好的 DNA 作为“模板”或“引物”,在 DNA 聚合酶的催化作用下,便可以从核苷三磷酸前体的混合物合成和模板一样的新生 DNA,其合成的反应式如下:



这种把亲代的遗传信息传递到子代，其遗传基因再进一步通过转录、翻译，最终生物合成的蛋白质结构及特征保留了亲代的特征，称为分子遗传。

(2) DNA 是遗传基因的载体，其相对分子质量很大，可以大至数 10 万 u (道尔顿)。DNA 是由两条多聚核苷酸链组成，每一条链由众多核苷酸通过磷酸二酯键连接而成。一个核苷酸由一分子脱氧核糖、1 个磷酸基和 4 种碱基 (腺嘌呤: A、胞嘧啶: C、鸟嘌呤: G、胸腺嘧啶: T) 中的任一种组合而成。DNA 双螺旋结构模型的一段可直观表示如下:

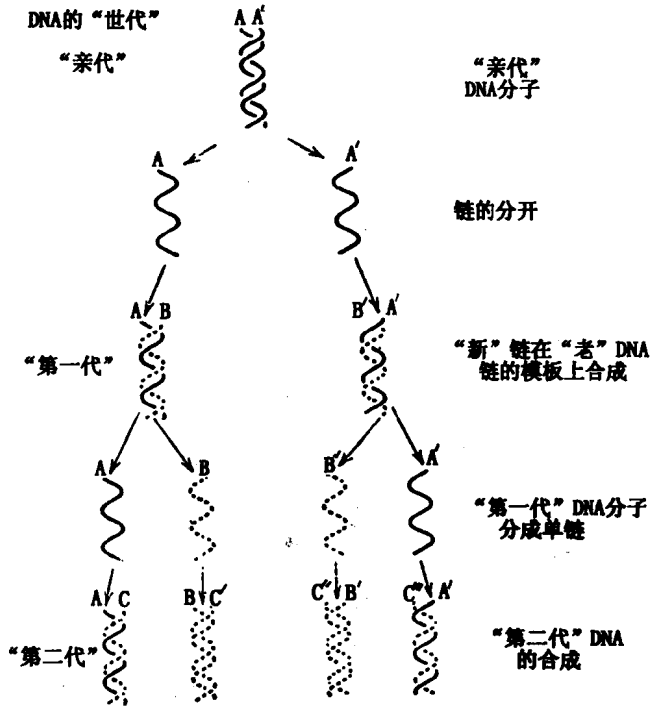
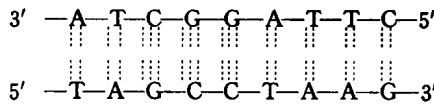


图 1-3 半保留复制示意图



注: 虚线表示氢键

这种生物大分子，以碱基种类不同和排列方式的差异，可容纳大量基因信息，譬如一种微小的细菌 DNA 可蕴藏着数千个基因，便可复制、转录和翻译合成数千个结构和特性不同的蛋白质。

(3) DNA 双螺旋结构模型为遗传信息的保存、传递和利用提供了基础。同时，根据后来 Crick^[4]等人提出的遗传学中心法则，其遗传信息传递从 DNA 分子中基因的自我复制开始，通过转录合成信息核糖核酸 (mRNA)，然后在核糖体核糖核酸 (rRNA)、运送核糖核酸 (tRNA) 及多种酶、化学能及微量元素参与下翻译合成特定的蛋白质。换句话说，特定的蛋白质是由特定的 DNA 基因所决定的，是由特定 DNA 基因信息传递的结果。虽然 DNA 并不直接参与蛋白质合成，但它控制和调节着蛋白质的合成，决定着物种特性和蛋白质结构及其生物学功能。因此，只要采用科学方法育种 (或改变 DNA 结构)，便可使物种产生遗传或变异，向着有利于人类或生产需要的方向进行调节控制，生产出许许多多发酵食品及生化制品。

三、RNA 结构与功能

细胞是生命的基本单位。它之所以能显示其生命活动，与其细胞中的生物大分子和各种化学成分分不开，即细胞中的 DNA 与其他组分协同作用发挥其生物学功能。经研究证实，细胞中最为重要的物质是核酸，核酸有两类：第一类为脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, 简称 DNA)，主要存在于细胞核中，其结构及功能如上述。但少数 DNA 存在于细胞质中，其结构为双螺旋闭环或单螺旋闭环，在基因重组中是担当着载体的角色。另一类为核糖核酸 (ribonucleic acid, 简称 RNA)，主要存在于细胞质中。根据其结构与功能的不同，RNA 又可分为三种：rRNA、tRNA 和 mRNA。

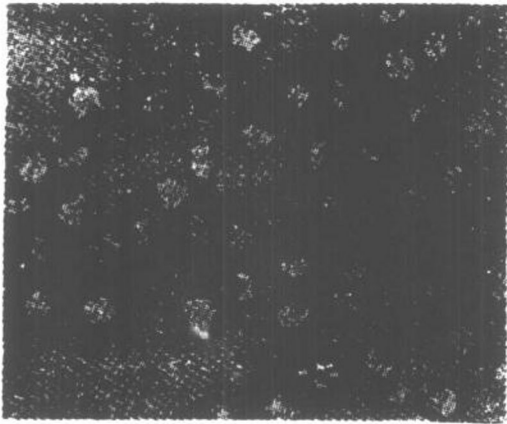


图 1-4 30S 和 50S 的核糖体电子显微镜照片 (放大 45 万倍)

1941 年, J. Brachet 和 T. Caspersson 根据电子显微镜观察发现, 在大量合成蛋白质的细胞中, RNA 特别多, 而且大部分属于核糖体 (Ribosome) 粒子中的 RNA, 称为核糖体 RNA (Ribosome RNA, 简称 rRNA), 如图 1-4 所示。核糖体是一种微小的细胞器, 是蛋白质生物合成的场所, 在合成蛋白质过程中, 许多核糖体聚集在一起, 称为多聚核糖体^[5] (Polyribosome)。核糖体大部分附着在内质网上, 其余呈游离状态。核糖体包含两个亚单位, 其中原核生物核糖体由 30S 和 50S 两个亚单位组成; 真核生物核糖体由 60S 和 40S 两个亚单位组成 (S 为超速离心机沉降

系数 Svedberg 的简称, 量纲为秒, $1S = 1 \times 10^{-13}s$, 至于 rRNA 的三维空间构象仍有待研究确定。

存在于细胞中的另一种 RNA 起运送氨基酸至蛋白质合成的地方的作用, 称为转移 RNA (Transfer-RNA, 简称 tRNA)。其相对分子质量比较小, 大约为 23 000~28 000u, 由 70~80 个核苷酸组成, 在细胞质中, 其含量占 RNA 的 10%~15%。1964 年, R. W. Holley^[6]首次测定酵母 tRNA 的核苷酸顺序, 并与丙氨酸 (Alanine, 简称 Ala) 进行专一性结合, 称为丙氨酰-tRNA (或 tRNA^{Ala}), 它含有 77 个核苷酸和一些稀有碱基 (如甲基嘌呤、双氢尿嘧啶、假尿嘧啶等), tRNA 的二级空间结构已被阐明, 已测定的有 160 多种 tRNA, 皆为“三叶草型”。如图 1-5 所示。

在单链“三叶草型”的 tRNA 结构中, 其分子的 CCA 碱基顺序 3'-末端核糖是氨基酸的结合位点, 每一种 tRNA 都具有对氨基酸专一的三联体密码。因此, 存在 20 种以上的 tRNA。氨基酸通过氨酰 tRNA 合成酶的作用与 tRNA 专一地结合, 在蛋白质生物合成起运送氨基酸的作用, 同时, tRNA 结构中有一个反密码突环, 其反密码三联体, 恰与 mRNA 上一个三联体密码互补, 对应识别并翻译成相应的氨基酸, 从而合成多肽或蛋白质。

第三种 RNA 是由 DNA 转录而合成的核糖核酸,其分子长链中构成许许多多所谓“三联体”信息密码。因此,这种 RNA 称为信息核糖核酸 (Messenger RNA, 简称 mRNA),存在于细胞质中,相对分子质量为 0.6×10^6 ,其含量占总 RNA 的 2%~5%。mRNA 的结构虽然尚未研究清楚,但许多实验证明,mRNA 是一条不定形的单链,在细胞中每一条 mRNA 的存在半衰期很短,其生物学功能是合成蛋白质的信息链,可直接作为合成蛋白质的模板。

四、蛋白质的生物合成

关于由 mRNA 翻译和合成蛋白质的机制也已阐明,翻译过程是从酶催化以 ATP (腺嘌呤核苷三磷酸) 的能量使氨基酸激活而开始的。活性的酶把氨基酸加到 tRNA 上形成氨基酰-tRNA,它和核糖体及 mRNA 联结起来。这三种核苷酸碱基 (反密码子) 在 rRNA 碱基中与 mRNA 核苷酸三联体密码 (密码子) 相配对。多肽链的发生与成长是由于一系列复杂的反应而出现的,直至最终产物蛋白质合成出来为止。

蛋白质生物合成的机制如图 1-6:

(1) 一个经氨基酸活化形成的 tRNA^A 识别其互补的 mRNA 链上的三联体密码,并处于 A 部位的旁边,通过氢键和碱基配对机理“组装”起来 [图 1-6 (1)]。

(2) 氨基酸的羧基与 tRNA 中 3'-核糖的羟基所构成的酯键断裂,其羧基与新加上去的氨基酸的氨基形成了肽键,这一过程由肽基转移酶所催化并有 K^+ 参与。此时,占据 P 部位上的游离 tRNA 便离开了核糖体 [图 1-6 (2)]。

(3) 新的 tRNA^A 移到 P 部位上,这一作用称为移位,同时, mRNA 分子也向同一方向移动,而下一个密码就放到 A 部位的旁边,为增加新的氨基酸作好准备 [图 1-6 (3)]。

上述三个阶段表达比较简单,但实际上是十分复杂的:以 mRNA 作为模板, tRNA 为运送氨基酸工具,核糖体作为蛋白质合成场所,有多种酶参与;ATP 或 GTP 作为能量,尚有起始因子 (Initiative factor)、延长因子 (Elongation factor)、终止因子 (Release factor) 等因素参与。几个阶段反复循环,直至多肽链合成终止。这样,特定的 mRNA 链上的密码顺序便被翻译为多肽链中相应的氨基酸残基顺序。多肽链合成后,尚须进行胞内的分子修饰,形成折叠二级和三级卷曲的蛋白质结构。

多聚核糖体是蛋白质合成的活性位置。核糖体 (70S) 的结构分析表明,它们是由两

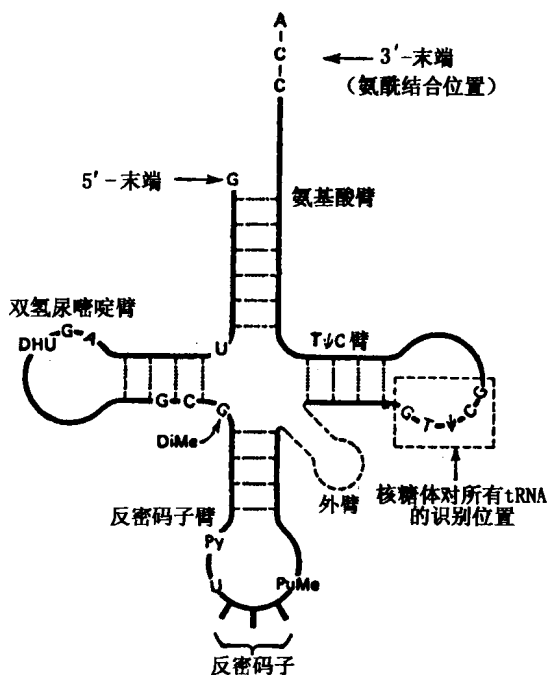


图 1-5 tRNA“三叶草型”分子结构示意图

G—鸟嘌呤 C—胞嘧啶 U—尿嘧啶 ψ—假尿嘧啶
Pu—嘌呤 Me—甲基 Py—嘧啶
DHU—双氢尿嘧啶 DiMe—二甲基

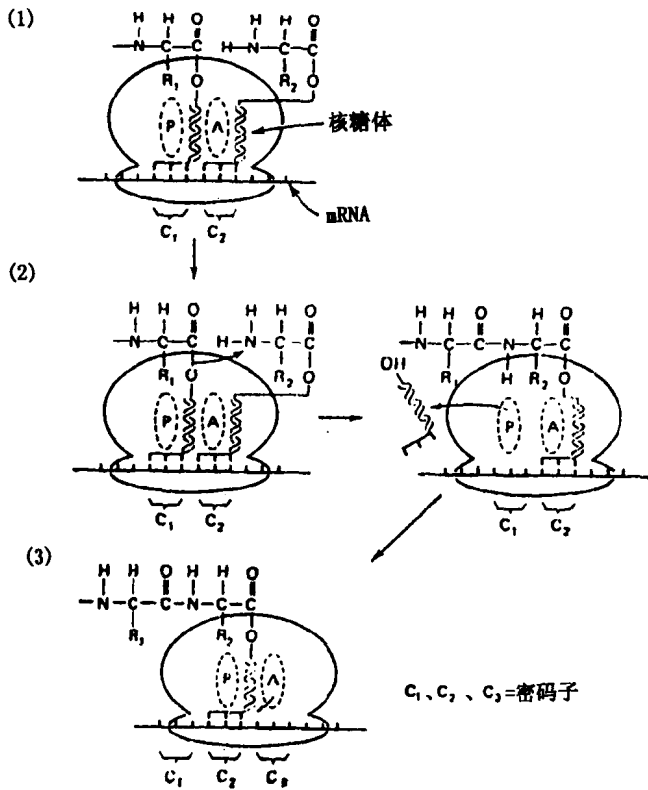


图 1-6 多肽链在核糖体上的合成^[7]

Nirenberg 及 Matthaei 指出合成的多聚核苷酸可以作为人工信使。许多人工合成的 mRNA 已经由 Knorana 及其同事合成出来。Nirenberg 及 Matthaei 发现多聚尿苷酸 (Poly-U) 促进了苯丙氨酸的合成。这一发现随着 Crick 所证明的遗传论据一起, 提出了一种以三联体密码为基础的密码子假说。

Nirenberg 和 Ochoa 通过进一步研究, 应用共聚核苷酸无细胞体系的实验, 建立起一个 20 种氨基酸的密码表。遗传密码的破译具有特别重要的意义, 建立一套遗传变异的信息系统, 可把整个生物界从分子水平上统一起来。如表 1-1 所示, 该表揭示出密码子是重复的或简并的, 因为许多密码可以规定同样的氨基酸, UUU 密码可以规定亮氨酸及苯丙氨酸。这样, 密码就是通用的了, 而且是所有生物都是基本一样的。如兔的血红蛋白, 可以由兔的网状组织细胞 (Reticulocytes) 及埃希氏大肠杆菌细胞在细胞外合成出来。由多瘤病毒 (Polyoma viruses) 及牛痘病毒 (Vaccinia viruses) 这些动物病毒提取出来的 DNA, 可以传染到枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis) 细胞内。目前生物机体中有一种基本的合成多肽的遗传密码。

种被称为“原体” (Eosomes) (30S) 和“新体” (Neosomes) (50S) 的亚单位组成的。每一个亚单位对氨基酸受体 (tRNA)、遗传信息 (mRNA) 和成长中的多肽链都有特殊的连结位置。因此, 氨基酰-tRNA 及伸长的蛋白质链接上“新体”, mRNA 则接上“原体”。核糖体把这些成分联系在一起, 倘若有适当的 tRNA、mRNA 及酶存在, 核糖体的这些成分在合成蛋白质过程中起着翻译作用。mRNA 的寿命是很短的, 这种形成的 RNA 把遗传信息传递到核糖体。mRNA 在 DNA 模板上形成, 而且是单链 DNA 的一部分的复制品。mRNA 接上核糖体, 把核糖体连在一起, 形成多聚核糖体, 与单一的 mRNA 同时对几个核糖体起作用。

DNA 如何决定氨基酸在蛋白质中的顺序, 1961 年, Niren-