

470

中学生文库

JU SHENG WEN KU

酶工程浅说



上海教育出版社

8

110280

0629.8
7731

中学生文库



ZHONGXUESHENG WENKU

酶工程浅说

周润琦 乔学婴 毕东海



京电力大 00163190

上海教育出版社

责任编辑 陆风清
封面设计 范一辛

中学生文库 工程浅说

周润琦 乔学婴 毕东海

上海教育出版社出版发行

(上海永福路 123 号)

各地新华书店经销 宜兴市南漕印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 3.25 插页 2 字数 58,000

1989 年 4 月第 1 版 1989 年 4 月第 1 次印刷

印数 1—6,300 本

ISBN 7-5320-1091-6/G·1062 定价: 1.00 元

前 言

酶工程是生物工程领域内一项引人注目的分支。因此，在一本很有限的小册子里要把酶工程的全部内容说清楚，是一件难以做到的事。但是，作者尽其所能，以勤补拙，希望能对酶工程这一宏楼大厦勾划一二。

这几年酶工程发展很快，这跟生物工程的迅猛发展是相一致的。例如用重组DNA技术组建许多理想的工程菌，用这些工程菌作成固定化菌体(细胞)，或者用来提取酶。又如使 α -淀粉酶基因克隆入枯草芽孢杆菌，使酶活力提高许多倍；将某种纤维素酶基因克隆进大肠杆菌，可能得到生产纤维素酶的菌株；还可将糖化酵母的葡萄糖淀粉酶基因克隆进啤酒酵母等。酶工程的研究，不论是酶固定化技术，还是生物反应器技术，近年都有重大进展。在有机溶剂中应用酶，无疑是一大突破，它为酶的广泛应用开拓出新的途径。所以说酶工程的前景是可喜的。它会对化工工业、食品工业、发酵工业、制药等工业产生深远影响。

酶工程这一技术学科的形成时间不长，许多工作还刚

ABE 24/06

刚起步,有关的理论尚待进一步探索研究,技术还需要继续完善和改进。我们借此一页,向那些已经为酶工程的诞生作过贡献的前人,正在为酶工程开发研究的今人,将来准备为酶工程的发展和提高而奋斗的后人,表示敬意。在本书编写过程中,得到陈石根先生的热情支持和帮助,在此表示谢意。

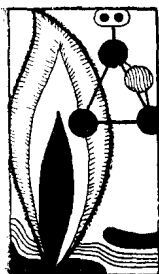
由于我们掌握的资料有限,书中难免有挂一漏万之嫌。希望读者向我们指出,以便在再版时补充修改。

编者

1987年10月

目 录

1. 酶——特殊的生物催化 剂.....	1
古老的酿造.....	1
酶的发现.....	4
神奇之物.....	7
酶的特点.....	10
催化秘密.....	14
酶与生命现象.....	16
酶的一家.....	22
2. 酶工程应运 而生.....	25
什么是酶工程.....	25
提高酶产量的途径.....	30
酶提纯技术.....	36
酶的固定化技术.....	42
生物反应器和生物传感器.....	45
从改造酶到模拟酶.....	49
崛起的酶产业.....	55



3. 酶工程方兴未艾.....	58
酶法新工艺.....	58
化废为宝.....	70
酶到病除.....	75
酶分析,大有为.....	82
科学家的“手术器械”	
——工具酶.....	87
立足于酶,开发新药.....	90
“酶花”正开时.....	95

1. 酶——特殊的生物催化剂

在自然界，蕴藏于生物体内的酶不下3000种。但是真正被人类发现和利用的酶并不多。那么，在远古的时候人类又是怎样发现酶的呢？这就需要从酿造谈起。

古老的酿造

酒，这一饮料到底从什么年代开始酿造，一时还难以说清。不过，根据考古发掘，我们的祖先在4000年前就会酿酒，能制造盛酒、饮酒用的青铜器。埃及人也在几千年前掌握了酿造啤酒的方法。这就说明，人类的祖先在很早以前就知道酿酒了。古人，肯定经过无数次失败和成功才总结出酿酒技术的。即便现在，你想自己做一些美酒，也未必一定成功。但是，经过几次摸索，你也一定能酿出酒香扑鼻的好酒来。

你到食品店里买一块酒药，按一定比例将它跟已蒸好的糯米饭拌匀，放在温热的地方，一两天后就可以得到醇郁

香甜的酒酿。就这么一个今天看来十分简单的方法，我们的祖先却花了漫长的岁月才摸索出来。

最初，他们注意到果汁在空气中存放一段时间后会发生变化。大多数情况下，果汁变酸并发出腐臭气味，饮用后会引起疾病。但是，有时候果汁却变得芬芳沁人，醇味浓郁，作为饮料，它能使人亢奋舒畅。以后又发现，如果将已变成果酒的果汁加到新鲜的果汁中去时，它就会像种子一样，使新鲜果汁很容易地、也很快地变成果酒。大概就在差不多时候，我们的祖先发现煮熟的糯米饭在空气中放置一段时间后也可能变成酒，酒酿也可使更多的糯米饭加速酿成酒。不仅如此，他们还观察到，麦粉和水一起搓揉成的面团经过一段时间后，同样会发生各种变化，其中一种变化就是面团变软、变大，而产生许多气泡和小孔，用火烘烤或隔水蒸煮，则会变成我们常吃到的松软可口的面包或馒头。同样，如果将已变软的面团加到新鲜面团中一起搓揉，这种变化可大大加速。

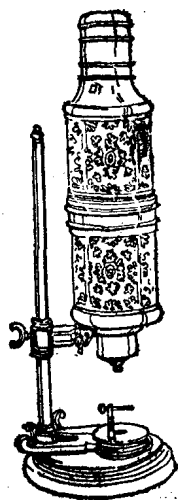
我们的祖先在漫长的生产实践中，不仅会生产酒，会制造面包以及其他调味品——酱油和米醋，虽然方法不同，但都有某种东西在起作用，发生某些化学变化。这些变化，我们祖先把它叫做发酵。那么发酵的真正原因又是什么呢？

经过长期观察，确认发酵是由酵母引起的。酵母酵母，发酵之母也！

酵母，它一方面能引起发酵；另一方面还可以通过发酵了的果汁、米酒或面团，将发酵的能力传下去。这倒确实使

人感到奇怪。酵母到底是什么东西呢？仍然是个谜。

这个谜，直到16世纪才解开。对此作出重要贡献的，是荷兰商人列文虎克。他以出色的才能制成了世界上第一架显微镜。利用这架显微镜，他看到了人们用肉眼无法看到的许多东西。他发现软木塞由无数个蜂窝状的小室组成，他也对动物的各种组织、微血管等进行过细致的观察和描述，同时他发现了奇异的微生物世界。把我们平时认为十分干净的一点清水放在显微镜下，你往往可以看到无数个很小很小的会动的物体浮游其中，列文虎克把这些物体叫做微生物。由于他的介绍，人们才知道自然界还存在着这样一个微观世界。正如他曾在一



列文虎克
发明的显微镜



巴斯德

封信中这样写道：“我家里的几位女眷想要看看醋里的线虫，可是她们看了之后都厌恶地发誓再也不用醋了。要是有人告诉他们，在口腔的牙垢里生活着的微小动物比全国人口还多时，她们将怎样反应呢？”是的，您读到这儿，不知有什么想法？是显微镜打开了人类认识自然的又一窗口。列文虎克最先详细地描写了原生动物、细菌和藻类等微生物。到了大约1830年，

一个叫德拉图尔的法国人，用较复杂的显微镜观察了变得松软的面团，他观察到了在里面起作用的酵母的迅速增长，看到了它们活生生的个体。到1850年，著名的法国科学家巴斯德也证实了这样的事实：面团发酵是由于微生物活动的结果。这些微生物就是酵母菌。

那末，酵母菌为什么能发挥这种作用呢？

酶的发现

酶的发现，如同其他领域的发现一样，经过相当长的过程，中间也有不少故事。1750年前后，意大利自然科学家列俄牟尔，对鹰的消化过程进行了仔细的观察。大家知道，鹰是一种食肉性的猛兽，有尖利的嘴和爪，它吃动物的时候，只将猎物撕裂就连毛带骨直接吞入胃中。列俄牟尔为了了解这些猎物在鹰胃内的消化过程，设计了一根金属管，管中放着新鲜的碎肉，管的两端用金属丝网封罩，然后让鹰吞下金属管。经过一段时间后，再将金属管取出。结果发现，金属管中充满了澄澈的液体，碎肉不见了，就像糖在水中溶化了似的。由于金属管能阻止鹰胃对碎肉的直接研磨，只容许胃液渗入到管中，因此列俄牟尔推断，在鹰的胃液中一定存在着能使碎肉消化的某种物质。到了1824年，科学家斯普劳尔证明了在胃液中含有酸。由于当时人们已经知道酸能使淀粉分解成糖，所以他认为，鹰胃中的碎肉能被消化是由于胃酸的缘故。但是，11年后，德国科学家施万从胃液

中制取出一种粉末。这种粉末对肉有强烈的消化作用，但没有酸性。施万把这种粉末叫做胃蛋白酶。这样，人们的认识又前进了一步，认为鹰胃里碎肉的消化不仅仅是由于酸的存在，可能胃蛋白酶在其中起着重要的作用。

在同一时期，法国的两位化学家，帕因和波索兹，从发酵的麦芽汁中分离出大量的酵母。他们经过一番艰苦卓绝的劳动，从酵母中提取出一种催化淀粉变为单糖的物质，叫它淀粉酶。此后，又有一些类似作用的物质相继从酵母中发现并分离出来。这类物质都是能催化淀粉等发生化学转化的催化剂。科学家给了它们一个名称：酵素，也叫做酶。

随着研究的深入，科学家发现，酶这类生物催化剂不仅在酵母中存在，同样也存在于动物、植物的细胞内。生命现象总是跟酶的存在密切相关。由于当时条件的限制，不可能对酶进行富有成效的详尽研究。研究工作是零星的，多少都带有点偶然性。直到19世纪，对酶的研究才进入一个新时期。

19世纪中叶，法国科学家巴斯德，在微生物学领域中作出了杰出的贡献。当时，法国葡萄酒的生产者在酿酒过程



猎隼的实验

中遇到了困难，他们发现葡萄酒得了一种不知其因的“疾病”，使葡萄酒的生产受到影响。为了找出原因，他们便向巴斯德请教。那时，巴斯德正在研究发酵作用的机制。对于葡萄酒生产者们的的问题，表示很乐意帮助解决。巴斯德经过研究、分析，很快找出这一问题的根源。原来生产中所进行的乙醇发酵，部分地被另一种发酵过程所代替了，在葡萄酒内不单有乙醇，同时有糖部分地变成了乳酸，使可口的葡萄酒变酸。他通过显微镜在变质的葡萄酒中找到了跟酵母形态不一样的杆状或球状生物体。巴斯德把它们叫做活跃因子或新酵母。现在我们已经知道，这些异样的生物体就是乳酸杆菌。巴斯德不仅找出病根，而且提出治疗的办法——对酒或糖液进行灭菌处理，这方法收到显著效果，后来被叫做巴斯德灭菌法。



葡萄酒变酸了

巴斯德对发酵机制的研究，前后长达20年，他以自己特有的实验方法否认了“自然发生学说”。他认为：一切发酵过程都是微生物作用的结果。发酵是在没有空气条件下的生命过程。微生物是引起化学变化的作用者。无疑，巴斯德指出微生物是发酵过程

的作用者是正确的，但这不是最终的解答。微生物又是以什

么物质去参与发酵过程的呢？

到1897年，巴斯德的结论受到了挑战。由科学家布希纳兄弟俩对此揭开了更深的奥秘。当时，布希纳兄弟俩因为医用研究的需要，得到了许多酵母汁。他们将酵母加沙研磨，然后用高压榨出液汁。当时采用只能透过小分子的滤膜，滤得清澈透明的酵母液，其中不含任何酵母细胞。为了保存这种酵母液，他们像往常一样，向里面添加大量蔗糖作为防腐剂。令他们吃惊的是，一段时间以后，蔗糖竟然也会发酵，产生二氧化碳和酒精。本来他们完全可以再换用别的防腐剂来避免这种意外现象，以达到原来的目的。但是，布希纳兄弟却紧紧地抓住这一现象进行了反复的实验研究。最后他们终于揭示了其中的奥妙，得出这样的结论：在酵母中包含一种或多种催化剂，通过这些催化剂的作用，生活的酵母就得以使糖发酵成为酒精；另外，这些催化剂能从细胞中抽出，并在体外，即不是以生活细胞存在的形式下，单独或联合发挥作用。

这一结论同样适用于其他生物细胞（动物和植物）中的酶。布希纳兄弟的发现，为开发和研究新的酶开拓出一条道路。酶，终于被人们发现了，认识了。

神 奇 之 物

生物化学家在研究酶的催化过程中，观察到一种极有趣的现象。就是不管反应物（被酶催化发生反应的物质）是

否预先经过加热处理,在冷却后都能被酶作用;但是反过来,如果酶先经加热处理,冷却后再加入反应物中,它催化反应的能力(活力)往往丧失。这意味着酶相当脆弱,对热比较缺乏抵抗力。另一方面,当时人们已经知道,在生物体内存在着—类对热相当敏感的蛋白质,因此人们自然地联想到,酶是否会是一类蛋白质?基于这种想法,科学家对酶和蛋白质进行了各种比较,结果发现,酶和蛋白质极为相似。例如,凡是可使蛋白质分解破坏的一切外界条件,都同样能使酶的催化能力丧失。特别是那些专门破坏和分解蛋白质的蛋白酶,通常也能使酶失效。此外,还有很多物理化学性质,酶和蛋白质也十分相像。由此推测,酶可能就是一类蛋白质。

可是,在20世纪20年代初,德国一位著名的化学家、诺贝尔奖金获得者威尔斯塔特,提出了一个截然不同的观点。他认为酶不是蛋白质。这位科学家为了确定酶究竟是一种什么样的物质,曾采用当时可用的一切手段,将酶纯化到前所未有的程度,结果获得了催化活力极高的酶溶液。他对酶溶液进行检测,无法测出蛋白质来,因而得出了酶不是蛋白质的结论。由于威尔斯塔特的赫赫声望,他的观点曾一度占据着统治地位。

事物总是不断发展的,以后更大量的实验事实却跟威尔斯塔特的看法相悖。关于酶是不是蛋白质的争论,到1926年达到白热化的程度。当时,美国科学家萨姆纳从刀豆中提取到一种物质,它能催化尿素分解为氨和二氧化碳。萨姆

纳称这种物质为尿素酶。为了制成纯的样品，他设法使尿素酶沉淀出来，但结果却获得了一种结晶。这种结晶溶于水后，表现很强的尿素酶活力。这一事实连萨姆纳自己也不免感到意外，因为以前从来没有人得到过酶的结晶，也不知道酶可以结晶。所以，最初他认为这种结晶并不是纯的酶，只是其中包含有酶而已。

为了证实这种想法，他想尽办法企图将酶从晶体中分离出来，但是没能做到。相反却发现，任何破坏或损坏这种结晶的条件或做法，都会使酶活力丧失。这样，萨姆纳不得不承认，他获得的晶体本身就是尿素酶！接着他又继续研究，结果发现，无论用什么方法进行测定，都表明这种晶体是一种蛋白质。于是他得出结论：酶是一种蛋白质，并可以结晶。

萨姆纳的发现，无疑是对威尔斯塔特观点的有力冲击。为了说服威尔斯塔特，萨姆纳甚至专程从美国奔赴德国，重演他的实验，这种短兵相接的争论持续了几年。1930年，另一位美国生物化学家诺斯罗普和他的同事们又相继获得了胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶等酶的结晶，并证明这些酶都是蛋白质。这样，萨姆纳的结论终于得到公认。现在，数以百计的酶已经高度纯化，百多种酶制成了结晶。如果谁要问“酶是何物？”现在可以这样回答：酶是生物体产生的具有催化功能的蛋白质。

关于什么是酶的争论早已结束。如果我们想要从这场论战中总结出一点有益的教训，那就是科学的问题毕竟只

能用科学来解决,任何马虎都来不得。威尔斯塔特为什么会得出酶不是蛋白质的结论呢?究其原因,是他当时采用的测定蛋白质的仪器和方法的灵敏度太低,很难测出微量蛋白质的缘故。威尔斯塔特被现象所迷惑,他没有想到溶液中的酶是一种含量极微的特殊的生物催化剂。



酶是特殊的生物催化剂

酶 的 特 点

酶是一种特殊的生物催化剂,它的催化本领极高。和一般催化剂相比,酶可以使生化反应速度提高 $10^8 \sim 10^{12}$ 倍。或许你要问,酶何来如此奇妙本领,它们又是怎样催化化学反应的呢?

大家知道,对于任何一个化学反应来说,例如A变成B,或者B变成A($A \rightleftharpoons B$),都要考虑三个问题。一是反应能不能进行?二是反应可以进行到什么程度?三是反应进行的速度怎样?前面两个问题,由反应性质决定。一般地说,那些属于放热反应的化学过程比较容易进行。而需要能量的化学反应,除非由外面提供能量,否则很难完成。在能够进