



国外优秀科技著作出版专项基金资助

工业生物技术 译著系列

酶活检测

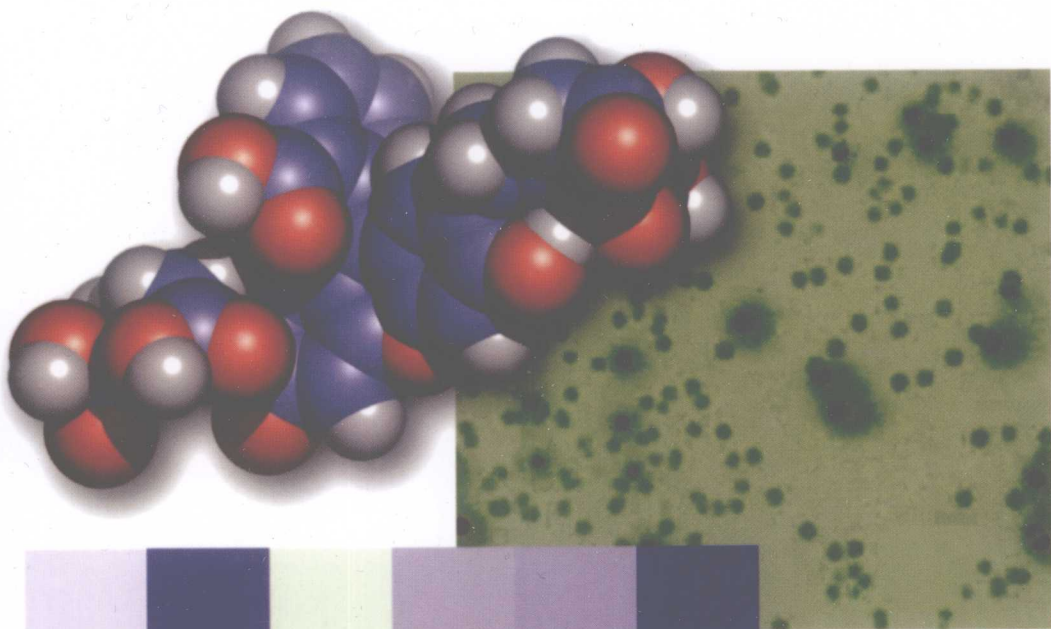
——高通量筛选，遗传选择以及指纹分析

Enzyme Assays

High-throughput Screening, Genetic Selection and Fingerprinting

[瑞士] 简-路易斯 雷蒙 Jean-Louis Reymond 编著

林章凛 蔡真 译



化学工业出版社



国外优秀科技著作出版专项基金资助

工业生物技术译著系列

酶活检测

——高通量筛选，遗传选择以及指纹分析

Enzyme Assays

High-throughput Screening,

Genetic Selection and Fingerprinting

[瑞士] 简-路易斯 雷蒙 (Jean-Louis Reymond) 编著

林章凇 蔡真 译



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目(CIP)数据

酶活检测——高通量筛选, 遗传选择以及指纹分析/[瑞士] 雷蒙 (Reymond, J.-L.) 编著; 林章凇, 蔡真译. —北京: 化学工业出版社, 2008. 1

书名原文: Enzyme Assays: High-throughput Screening, Genetic Selection and Fingerprinting

ISBN 978-7-122-01200-5

I. 酶… II. ①雷…②林…③蔡… III. 酶-检测 IV. Q55

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 148516 号

Enzyme Assays: High-throughput Screening, Genetic Selection and Fingerprinting/by Jean-Louis Reymond

ISBN 3-527-31095-9

Copyright©2006 by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

本书中文简体字版由 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分, 违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2006-2167

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 张春娥

责任校对: 凌亚男

装帧设计: 潘 峰

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

720mm×1000mm 1/16 印张 22 字数 392 千字 2008 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 49.00 元

版权所有 违者必究

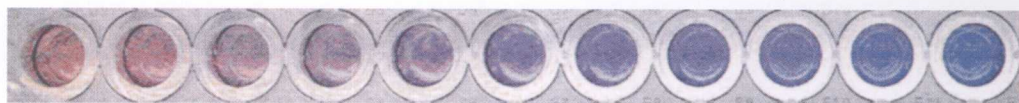


图 4.14 α -甲基缬氨酸酰胺 (α -methylvaline amide) 和 α -甲基缬氨酸 (α -methylvaline) 与 Cu^{2+} 络合后的互补校准溶液 (complementary calibration solution) 的颜色。颜色从紫红色 (左侧孔, 含 43mmol/L α -甲基缬氨酸酰胺) 到蓝色 (右侧孔, 含 43mmol/L α -甲基缬氨酸和 43mmol/L 氨) 变化。从左到右, 孔内 α -甲基缬氨酸和氨浓度逐渐增大 (每孔增加 4.3mmol/L), 并等量减少 α -甲基缬氨酸酰胺浓度

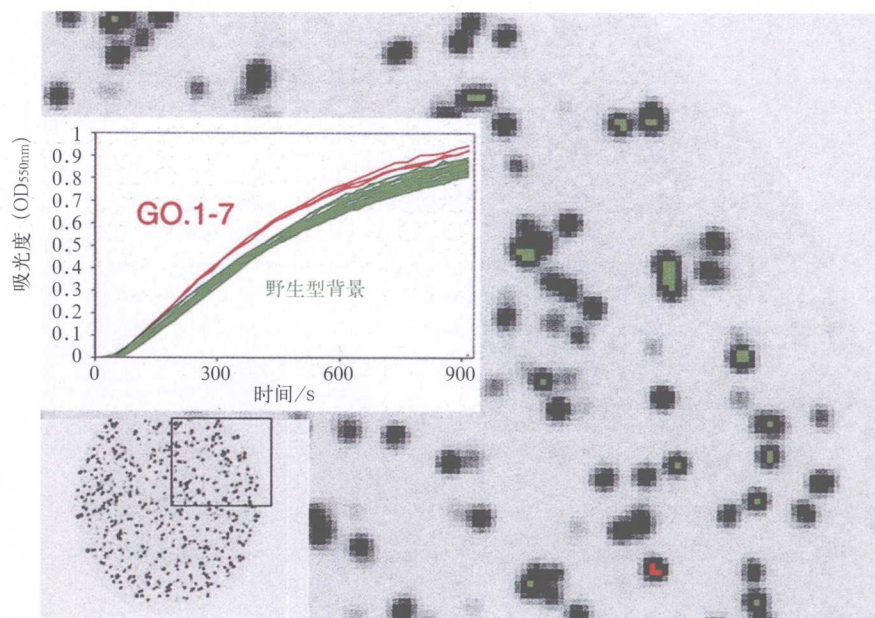


图 5.4 在大肠杆菌中表达的半乳糖氧化酶突变体的数字图像

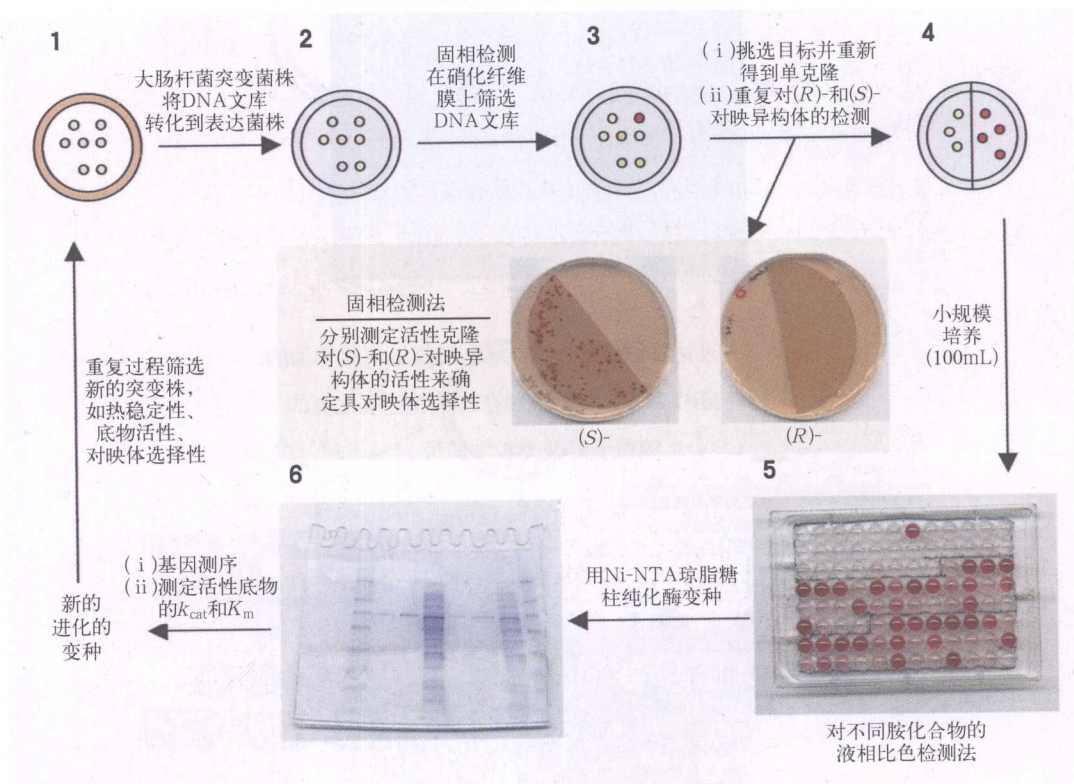


图 5.7 采用随机突变和分级筛选策略对一个胺氧化酶进行反复定向进化

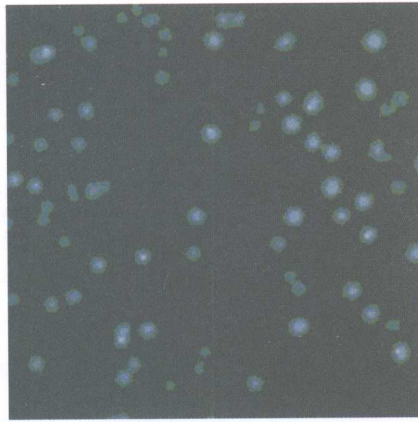


图 5.8 表达细胞色素P450cam和辣根过氧化物酶的
大肠杆菌BL21 (DE3) 细胞在含萘和过氧化氢的
平板上的荧光数字图像

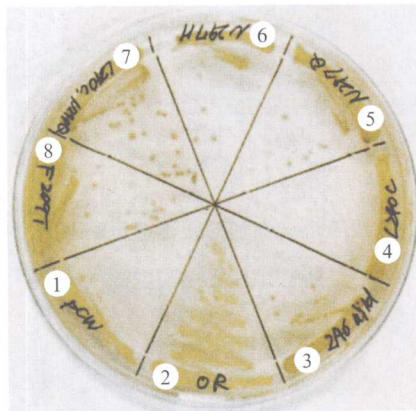


图 5.9 表达细胞色素 P450 2A6 的变种的大肠杆菌
显示有吡青产生

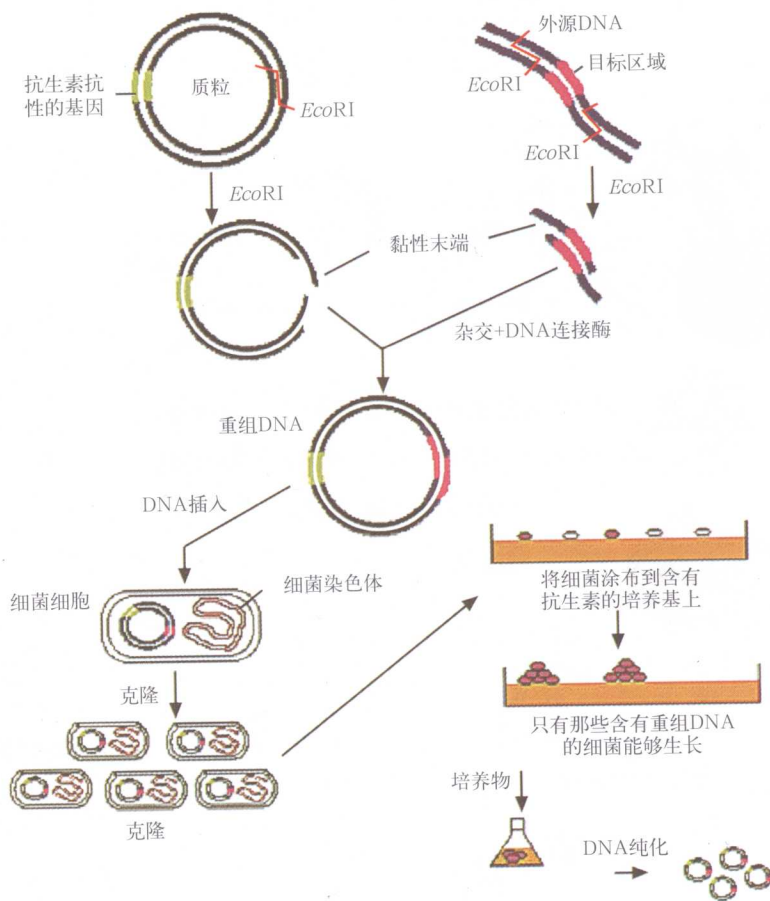


图 8.1 克隆技术的基本步骤示意图，这是分子生物学实验室中常用的一个步骤

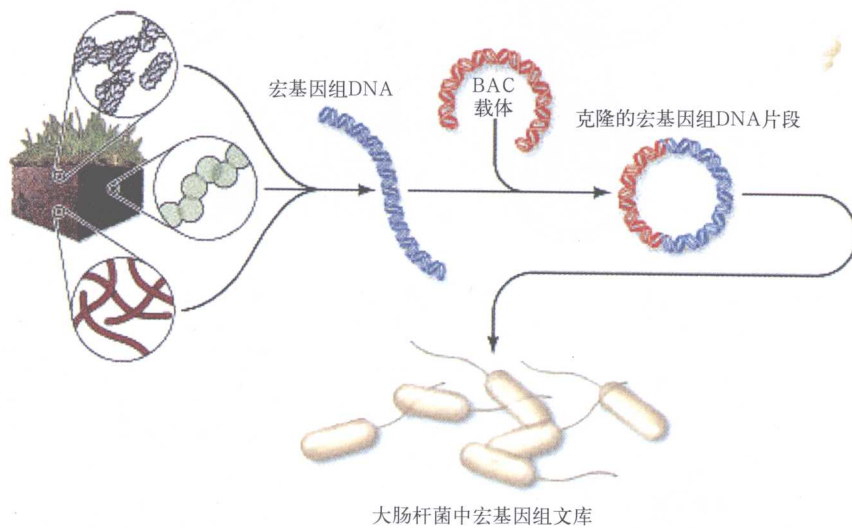


图 8.2 一个宏基因组文库的构建。从不能培养的土地微生物中得到大的DNA片段，将其连接到BAC载体中，并导入大肠杆菌宿主细胞中

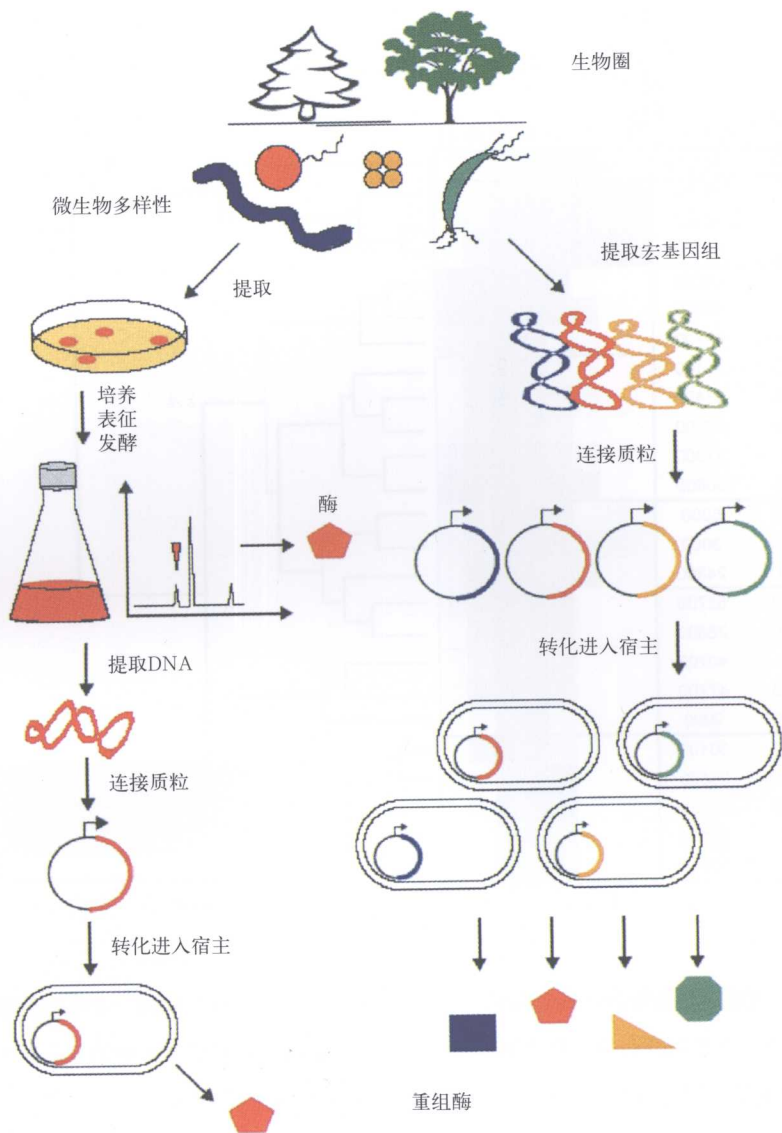


图 8.3 用培养（左）和宏基因组（右）策略来寻求新酶的比较示意图。在依赖于培养的策略中，只有一小部分微生物多样性能够被提取和生长在纯的培养基平板上。表征和发酵能培养的微生物后就能够直接得到产物或者通过随后的提取、克隆和表达其中的基因得到产物。不能培养的微生物只能通过它们的基因组来获得。因此，使用宏基因组的策略，可以提取一个给定的生活环境中所有的微生物基因组，并将其克隆到一个宿主系统中，用于后续的筛选和表达一系列潜在的新的产物

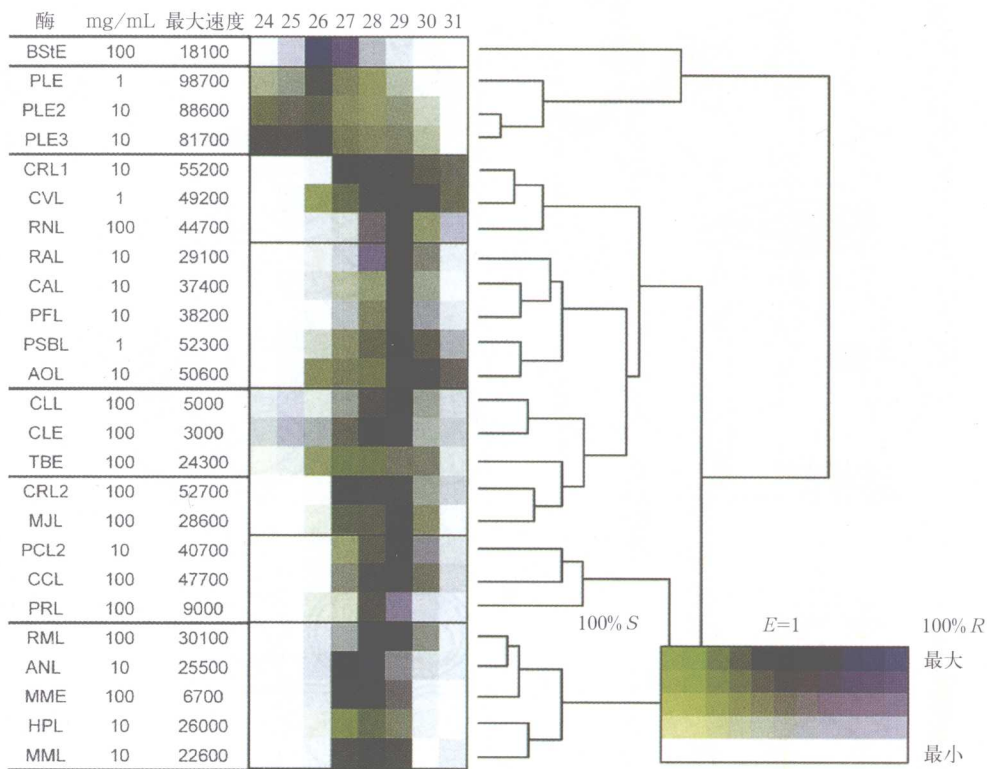


图 10.19 酯酶/脂肪酶指纹和等级树 (hierarchical tree)。每行代表一个不同的酶，每列代表一个不同的底物，每个颜色方格代表脂肪酶的两个对映体底物的反应速率（单独测量）相对于用相应酶（行）观察到的最大反应速率，用 $p \cdot (\text{mol/L}) \cdot \text{s}^{-1}$ 来表示（颜色指示在图右下方），等级聚合分类 (hierarchical agglomerative clustering) 是用基于欧几里得距离的Ward方法进行的

国外优秀科技著作出版专项基金

FUND FOR FOREIGN BOOKS OF
EXCELLENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY
(FFBEST)

管理委员会名单

名誉主任：成思危 全国人大常委会副委员长
主任委员：谭竹洲 中国石油和化学工业协会名誉会长
副主任委员：李学勇 王心芳 阎三忠 曹湘洪
潘德润 朱静华 王印海 龚七一
俸培宗 魏 然

委员（按姓氏笔画顺序排列）：

王子镐	王心芳	王印海	王光建	王行愚
申长雨	冯 霄	冯孝庭	朱家骅	朱静华
刘振武	杨晋庆	李 彬	李伯耿	李学勇
李静海	吴剑华	辛华基	汪世宏	欧阳平凯
赵学明	洪定一	俸培宗	徐 宇	徐静安
黄少烈	曹 光	曹湘洪	龚七一	盛连喜
阎三忠	葛 雄	焦 奎	曾宝强	谭竹洲
潘德润	戴猷元	魏 然		

秘 书 长：魏 然

副 秘 书 长：徐 宇

“工业生物技术译著系列”前言

生物技术 在 20 世纪 80 年代与 90 年代分别为生物医药与农业带来了革命性的飞跃。以生物催化与生物转化为主要内容的工业生物技术,被视为生物技术的第三次重大应用,已成为发达国家的重要科技与产业发展战略。我国在政府和同行专家的大力支持下于 2003 年批准了第一个生物催化和生物转化的国家 973 项目。在该 973 项目的组织过程中,我们首先注意到了一本由德国几位著名专家编写的“industrial biotransformations”。该书是迄今为止世界上第一部汇集工业生物转化过程的权威著作。因此,着手翻译了这本书,以供 973 项目组内部使用,并在化学工业出版社的建议和支持下于 2005 年 8 月公开出版该书。在此期间,我们又陆续看到国外出版的一些非常好的工业生物技术图书(主要是 Wiley 出版社),逐步产生了做一个“工业生物技术译著系列”的想法,以介绍国外该领域的工作经验和最新进展,为我国的工业生物技术的发展做些贡献。

“工业生物技术译著系列”得到了杨胜利院士和同行们的大力支持。该系列丛书由化学工业出版社出版。我们非常欢迎国内外同行推荐该领域的好书。原版书出版社不限于 Wiley。原则上,选择这些书的条件是:内容符合工业生物技术、水平较高、互相之间没有太多重叠、有较宽泛的读者群。

杨胜利

付幸康

2005 年 8 月 28 日

前言“酶学”译序

酶,作为工业生物技术的一个核心,如今已经成为学术界和工业界共同研究的热点。而无论是对酶学研究,还是对包括药物开发、生物催化在内的生物技术来说,如何用简单的方法来表征酶,是评价酶的功能和寻找更优的酶的一项关键技术。寻找一种合适的酶活检测方法,几乎是每个使用酶,或者从事与酶相关的人员都会遇到的问题。但是由于酶的种类众多,检测方法更是纷繁复杂,层出不穷,而且酶活检测涉及生物化学、分析化学、有机化学、催化化学等多个学科,所以一直以来都没有这方面的专著。当我们2006年见到Wiley出版社出版的“Enzyme assays”时,便开始着手翻译,以便能让更多的国内读者、同行和研究生见到这一优秀著作。

本书由资深专家编著,涵盖了近年来酶活检测的大部分进展。全书分12章系统而详细地介绍了各种酶活检测方法,尤其是那些在高通量筛选、遗传选择和酶指纹分析中所使用的方法。其中,部分章节以某一检测方法为主线,介绍这一方法在多种酶的活性检测中的应用,其他章节则主要针对某一类重要的酶,介绍它的各种检测方法。书中除介绍检测方法的原理、基本流程外,还给出了非常详细的具体操作步骤以及应用实例,并列举了大量的相关文献。对于从事与酶相关的人员来说,本书是一本系统性、操作性和实用性很强的书。

特别值得一提的是,本书第4章还展望了检测方法的工业前景,其作者是来自DSM公司的研究人员,他们站在工业的角度,论述了工业过程对酶活检测的要求,并通过多个实例,介绍了在他们的实际研究中所使用的检测方法。这些宝贵的研究经验,对于从事学术研究及工业应用的研究者来说都大有裨益。

清华大学的关宏、徐丽华、陈勇、李盼、张涛、陈博、任川、郑静、黄哲、吴伟、华卉、徐望晖、张婧青、马敦超、薛锐等参与了翻译和校对工作。翻译工作对我们自身来说也是一个很好的学习和提高的机会。同时,感谢化学工业出版社一如既往和耐心的支持。在本书的翻译工作过程中,译者之一(林章凜)的后代林小海出世并一直快乐地笑着成长,给翻译工作带来了很大的乐趣,所以也将此书献给他的后代林小海,并理性预测将来林小海同学和他父亲一样对酶有着同

样的和执着的兴趣。

最后，非常感谢我们的家人在该书翻译过程中的支持。

序

林章凛 蔡真
2007.9 于清华园

这本书是一个设计工作室在两年时间里，为一家大型企业设计品牌视觉识别系统（VIS）的过程记录。在开始之前，我们曾面临过许多挑战。首先，我们面对的是一家非常传统的国有企业，其品牌文化深厚，但缺乏现代品牌设计意识。其次，该企业所处的行业竞争激烈，品牌更新换代频繁。最后，该企业的设计团队规模较小，缺乏专业设计人才。面对这些挑战，我们决定采用一种全新的设计方法，即“品牌设计工作坊”（Brand Design Workshop）。这种方法强调设计师与企业员工的共同参与，通过一系列工作坊，逐步建立起企业的品牌文化。在实施过程中，我们遇到许多困难，但通过不断的沟通和协作，最终成功地完成了设计任务。本书旨在分享这一过程中的经验和教训，为其他企业品牌设计提供参考。

这本书的出版，首先要感谢我的妻子李静，她在这本书的写作过程中给予了无私的支持和鼓励。其次，感谢我的同事和朋友们，他们在这本书的写作过程中给予了宝贵的意见和建议。最后，感谢我的家人，他们在这本书的写作过程中给予了无私的支持和鼓励。这本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。

这本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。

本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。

本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。本书的出版，也离不开我的母校清华大学的支持。在清华园度过的岁月，是我人生中最宝贵的财富。这本书的出版，是我在清华园学习和生活的成果。希望这本书能为广大读者提供有益的参考。

Jean-Louis Raymond
2005.10 于清华园

科学出版社生命科学分社人缘路100号北京100070

真 蔡 黎 章 林

国 学 南 于 9.5002

序 言

当我与化学家讨论酶活检测方法时，我们的时间都花在了设计一个能将酶反应转变为一个可测信号的过程上。目前我们所面临的挑战是，检测中涉及的分子元件的合成以及它们是否具有预期的性质。如果需要将一个非天然的底物与酶的活性位点对接，那么酶活检测方法的设计则类似于药物的理性设计。酶活检测还为验证超分子功能装置的用途提供了一个试验平台。最终必将出现能完全改变酶分析方法的新的原理。

然后我转向生物化学家或者微生物学家。他们将酶活检测看作一个更广泛的组织（如一个有活性的酶的遗传筛选，或者其功能和机理方面的研究）中众多组成元件之一。我们通常满足于一个市售的探针，或者将酶反应与一个生物系统耦联起来。我们关注的是实验的基因设计或者其生物化学解释。当实验成功时，我们会惊讶于这些我们自己也一知半解的结果。

最后我接触了工业界的研究人员。由于他们迫切需要在一个较短时间内达到预定目标，因此我们的讨论被限制在紧紧围绕目的与方法的说明上。不过，科学家们不变的热情仍然在闪烁。此外，工业研究开发的累累硕果也表明了整个研究团体为此所付出的努力。

Romas Kazlauskas, Manfred Reetz, Huimin Zhao, Theo Sonke, Nick Turner, Dan Tawfik, Andrew Griffiths, Virginia Cornish, Valéria Maia de Oliveira, Gilson Paulo Manfio, Albin Hermetter, Jennifer Harris 和 Yao Qin Shao 都同意与我一起写一本关于酶活检测的书。这些作者都属于该领域的领军人物。他们以及他们的合著者为本书付出的时间和努力是不可或缺的，对此我深表感谢。同时也感谢我的合著者和学生 Johann Grognum, Renaud Sicard, 以及 Wiley-VCH 的 Elke Maase 和 Romy Kirsten, 感谢他们在编辑校订方面的宝贵帮助。

目前酶活检测领域发展相当迅速，并触及越来越多的应用。身为作者，我们认为现有的这些章节基本能涵盖当前该领域的进展。我们希望本书能为化学和生物学领域的读者提供有用的信息、灵感和参考。

Jean-Louis Reymond

2005.10 于伯尔尼

贡献者名单

Amir Aharoni

The Weizmann Institute of Science
Department of Biological Chemistry
Rehovot 76100
Israel

Roland Bezemer

DSM Food Specialties
Analysis
PO Box 1
2600 MA Delft
The Netherlands

Ruth Birner-Grünberger

Graz University of Technology
Department of Biochemistry
Petersgasse 12/2
8010 Graz
Austria

Souvik Chattopadhyaya

National University of Singapore
Department of Biological Science
3 Science Drive 3
Singapore 117543
Republic of Singapore

Virginia Cornish

Columbia University
Department of Chemistry
3000 Broadway, MC 3111
New York, NY 10027
USA

Lucien Duchateau

DSM Pharma Chemicals –
Advanced Synthesis
Catalysis & Development
PO Box 18
6160 MD Geleen
The Netherlands

Gert-Jan Euverink

University of Groningen
BioExplore
Groningen Biomolecular Sciences
and Biotechnology Institute
PO Box 14
9750 AA Haren
The Netherlands

Andrew D. Griffiths

University Louis Pasteur
Institut de Science et d'Ingénierie
Supramoléculaires (ISIS)
CNRS UMR 7006
8 allée Gaspard Monge, BP 70028
67083 Strasbourg Cedex
France

Johann Grogg

University of Berne
Department of Chemistry &
Biochemistry
Freistrasse 3
3012 Berne
Switzerland

Jennifer L. Harris

The Genomics Institute of the
Novartis Research Foundation
10675 John Jay Hopkins Drive
San Diego, CA 92121
USA
and

The Scripps Research Institute
Department of Molecular Biology
The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road
San Diego, CA 92121
USA

Huib Henderickx

DSM Resolve
PO Box 18
6160 MD Geleen
The Netherlands

Albin Hermetter

Graz University of Technology
Department of Biochemistry
Petersgasse 12/2
8010 Graz
Austria

Tyler W. Johannes

University of Illinois
Department of Chemistry
600 S. Mathews Ave
Urbana, IL 61801
USA

Romas J. Kazlauskas

University of Minnesota
Department of Biochemistry
Molecular Biology and Biophysics
and The Biotechnology Institute
1479 Gortner Avenue
Saint Paul, MN 55108
USA

Scott Lefurgy

Columbia University
Department of Chemistry
3000 Broadway, MC 3153
New York, NY 10027
USA

Alice Loidl

Graz University of Technology
Department of Biochemistry
Petersgasse 12/2
8010 Graz
Austria

Valéria Maia de Oliveira

Center of Chemistry, Biological
and Agricultural Research
CPQBA/UNICAMP, CP 6171
CEP 13081-970
Campinas, SP
Brazil

Gilson Paulo Manfio

Natura Inovação e Tecnologia
de Produtos Ltda.
CEP 07750-000
Cajamar, SP
Brazil

Manfred T. Reetz

Max-Planck-Institut für
Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1
45470 Mülheim/Ruhr
Germany

Jean-Louis Reymond

University of Berne
Department of Chemistry &
Biochemistry
Freistrasse 3
3012 Berne
Switzerland