

现代生物技术丛书

全国优秀畅销书、“十五”国家重点图书《酶工程》的最新版本

酶工程

第二版

吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室 组织编写

罗贵民 主编

曹淑桂 冯雁 副主编

- 酶学与酶工程
- 酶与细胞的固定化
- 酶的化学修饰
- 酶蛋白的稳定性和稳定化
- 非水酶学
- 人工酶
- 抗体酶
- 核酶和脱氧核酶
- 进化酶
- 杂合酶
- 酶制剂的应用



化学工业出版社
生物·医药出版分社

TQ925
L657-2

现代生物技术丛书

酶 工 程

(第二版)

吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室 组织编写

罗贵民 主编

曹淑桂 冯 雁 副主编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北 京 ·

本书概括介绍了酶学基础知识、酶学与酶工程的关系,主要介绍了化学酶工程和生物酶工程的研究领域和应用技术。

本书为第2版,其特点是:①将酶工程分为化学酶工程和生物酶工程两部分,化学酶工程包括固定化酶、化学修饰酶、酶稳定化、非水酶学、人工酶,生物酶工程包括抗体酶、核酶、进化酶、杂合酶等;②每章重点介绍研究进展;③详细介绍了酶工程在医药工业、化学工业、轻工业、能源工业和环境保护中的应用情况和应用前景。

本书既可作为生物技术及酶应用相关专业的教师和学生用书,也可作为相关研究领域研究人员参考书,还会对生产应用单位的技术人员有所帮助。

图书在版编目(CIP)数据

酶工程/罗贵民主编. —2版. —北京:化学工业出版社,
2008.4

(现代生物技术丛书)

ISBN 978-7-122-02366-7

I. 酶… II. 罗… III. 酶-生物工程 IV. Q814

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第035444号

责任编辑:孟嘉 傅四周

文字编辑:焦欣渝

责任校对:李林

装帧设计:关飞

出版发行:化学工业出版社 生物·医药出版分社(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:三河市延风装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张22 字数619千字 2008年5月北京第2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:55.00元

版权所有 违者必究

现代生物技术丛书

分册书目

(详情参见我社网站 www.cip.com.cn)

- | | |
|-----------------------------|------------|
| 1 . 基因工程 | 陆德如 陈永青 编著 |
| 2 . 微生物工程 | 焦瑞身 主编 |
| 3 . 酶工程(第二版) | 罗贵民 主编 |
| 4 . 植物细胞工程 | 朱至清 编著 |
| 5 . 动物细胞工程 | 徐永华 主编 |
| 6 . 蛋白质工程 | 王大成 主编 |
| 7 . 组织工程 | 杨志明 主编 |
| 8 . 生物技术与疾病诊断
——兼论人类基因治疗 | 卢圣栋 主编 |
| 9 . 环境生物工程 | 伦世仪 主编 |
| 10 . 生物制药技术 | 朱宝泉 主编 |
| 11 . 生物工程下游技术(第二版) | 刘国詮 主编 |
| 12 . 农业生物工程(第二版) | 莽克强 主编 |
| 13 . 生物芯片技术 | 陈忠斌 主编 |
| 14 . 生物传感器 | 张先恩 编著 |
| 15 . 生物信息学
——智能化算法及其应用 | 王翼飞 史定华 主编 |
| 16 . 生物化学工程 | 谭天伟 主编 |
| 17 . 纺织生物技术 | 陈 坚 编著 |

《现代生物技术丛书》编辑委员会名单

主任委员 焦瑞身（中国科学院上海植物生理研究所，研究员）
副主任委员 朱宝泉（上海医药工业研究院，研究员）
陆德如（上海第二军医大学，教授）
委员（以姓氏汉语拼音为序）
郭礼和（中国科学院上海细胞生物所，研究员）
贾士荣（中国农业科学研究院生物技术中心，教授）
姜卫红（中国科学院上海分院，研究员）
焦瑞身（中国科学院上海植物生理研究所，研究员）
李友荣（华东理工大学生物工程学院，教授）
陆德如（上海第二军医大学，教授）
伦世仪（中国工程院院士；无锡轻工业大学，教授）
俞俊棠（华东理工大学生物工程系，教授）
张树政（中国科学院院士；中国科学院微生物所，研究员）
朱宝泉（上海医药工业研究院，研究员）

本书编写人员

主 编 罗贵民
副 主 编 曹淑桂 冯 雁
编 写 人 员（以姓氏汉语拼音为序）

曹淑桂	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授
冯 雁	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授
龚平生	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	讲师
刘俊秋	吉林大学分子超分子结构与材料国家重点实验室	教授
吕绍武	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	讲师
罗贵民	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授
牟 颖	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授
王琳琳	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	博士
王 智	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	副教授
张应玖	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授

出版者的话

现代生物技术(生物工程)建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及工程技术、计算机技术等基础之上,是21世纪最重要的技术和产业领域之一,正迅速改变着传统的产业格局与人们生活的方方面面。

化学工业出版社一直致力于生物技术类图书的出版工作。早在20世纪80年代末、90年代初,就出版了由我国著名的微生物学家焦瑞身先生组织编写的国内第一套《生物工程丛书》。这是一套普及性科技图书,共有8个分册:《遗传学基础》、《生物化学基础》、《微生物学基础》、《生物工程概论》、《生物化学工程》、《细胞工程》、《酶工程》、《微生物工程》。《生物工程丛书》一经出版,就受到了读者的广泛好评,对促进20世纪90年代我国生物技术的发展起到了积极的推动作用。

进入20世纪90年代后期,生物科学研究更加活跃,新成果层出不穷,并与许多学科交叉融合,涌现了许多新学科、新技术。为此,化学工业出版社于2000年组建了现代生物技术与医药科技出版中心,专门从事生物技术、生物科学及医药科技类图书的出版工作,其宗旨在于:传播生命科学、服务生物产业、促进医药发展。出版中心成立伊始,即着手《生物工程丛书》的修订工作,组成了以焦瑞身先生为首的编委会,在广泛调研、充分论证的基础上,顺应生物技术的发展潮流,对丛书重新设题,推陈出新,更名为《现代生物技术丛书》。

第一批《现代生物技术丛书》共组织了15个分册,其中14个分册已于2000~2006年陆续出版:《基因工程》、《微生物工程》、《酶工程》、《植物细胞工程》、《动物细胞工程》、《蛋白质工程》、《组织工程》、《生物技术与疾病诊断——兼论人类基因治疗》、《环境生物工程》、《生物制药技术》、《生物工程下游技术》(第二版)、《农业生物工程》(第二版)、《生物传感器》、《生物信息学——智能化算法及其应用》,所余分册《糖生物工程》也计划于近期出版。参与编撰《现代生物技术丛书》的专家有180多人,特别是焦瑞身先生尽管年事已高,仍欣然挂帅,多方联系和推荐作者,逐一审订各分册的提纲,并亲自主编凡100多万言的《微生物工程》。老一辈科学家鞠躬尽瘁的奉献精神与严谨务实的科学态度,深深地感染了新一代科研专家和出版者,激发了大家认真高效的工作热情,这是该丛书在较短时间内高质量出版的强大动力与工作基础。已出版的12个分册在首印后陆续重印,得到社会广泛好评,无疑是对众多编者辛勤笔耕的最好回馈!

鉴于现代生物技术日益丰富的内涵、较快的技术更新速度以及读者多样化的需求,化学工业出版社拟将《现代生物技术丛书》的出版之路不断延伸下去,分阶段地补充新技术、新内容,力争使丛书跟上生物技术本身的发展步伐,涵盖生物技术的方方面面。为此,近期将推出《现代生物技术丛书》第二批书目,或吸纳近年发展起来的新技术、交叉学科,或赋予

传统学科以新内涵，包括《生物芯片技术》、《生物化学工程》、《纺织生物技术》等。

作为出版者，我们衷心希望《现代生物技术丛书》能够更好地服务于读者，为我国生物技术乃至生命科学的快速发展作出应有的贡献，我们也将为此付出最大的努力。同时，欢迎广大读者就丛书的后续书目贡献良策，以及就书中存在的不足和问题随时与我们交换意见。请联系：mj@cip.com.cn。

化学工业出版社
生物·医药出版分社

序

建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及化工、计算技术等基础之上的现代生物技术（生物工程），是 20 世纪后半期国际上突飞猛进的技术领域之一，它为人类保健、农牧业、食品工业、环境保护以及精细化工等产业的发展提供了前所未有的动力。展望新世纪，可以预料生物技术的前景更为光辉灿烂。本丛书将就该领域的研究动态逐个进行详细介绍，这里我们仅概述其突出进展与读者分享。鉴于各领域发展迅速和编者水平有限，丛书定有遗漏和不足之处，敬请读者指正。

一、基因组和后基因组学

人类基因组计划（HGP）正式启动于 1990 年，这是一个跨世纪、跨国界的最伟大的生命科学工程，经美国、英国、法国、德国、日本、中国 6 国的合作和努力，已于 2001 年完成全部序列测定。这一成就可以与原子弹计划和登月计划相媲美，它将对生命科学和人类健康产生巨大影响。应用各种技术，上千个与疾病相关的基因已被定位，并有近百个疾病基因被克隆。毫无疑问，这将为新药研究设计和疫苗制备提供依据，且已有多个物质进入临床试验。

与此同时，小家鼠、果蝇、线虫、拟南芥、水稻、啤酒酵母，以及多种真菌、细菌的基因组研究相继开展，其中拟南芥基因组的全序列测定业已完成。由于微生物的基因组远小于多细胞真核生物，且细菌和酵母基因中不存在内含子，因而便于分析，迄今已在酵母基因组中发现了一些与人类疾病基因同源的基因，研究这些基因在酵母中的生理功能，将有助于了解相关疾病的发病机理。

今天，一个崭新的领域——生物信息学迅速发展，它将基因的结构、蛋白质功能以及物种的进化在基因信息的基础上统一起来。这一学科的发展，对基因组和后基因组学研究及对人类健康和农业发展将产生深远的影响。

二、基因工程（重组 DNA 技术）

体外 DNA 重组技术始于 1972 年，首先在大肠杆菌中获得成功，继而扩展到其他微生物，生产出了多种新型发酵产品。美国批准上市的基因工程产品有人类胰岛素、人类生长因子、白介素、干扰素、牛型生长激素疫苗等，并不断有新的品种进入临床应用。重组微生物的应用，也为高等生物作为表达外源基因的宿主提供了技术和经验，如哺乳动物细胞株、昆虫细胞株、转基因动物、转基因植物，都有可能作为生产需要糖基化的重组蛋白质的宿主。

我国基因工程研究起步较晚，自 1986 年“863”计划实施以来，生物技术药物的研究和产业化获得迅猛发展，至 1998 年已有 14 种基因工程药物、3 个基因工程疫苗和数十个重组诊断试剂投放市场。

三、转基因作物及其他农业生物工程

农业生物技术中最重要的是转基因作物（GMC）。近 10 年来 GMC 发展速度极快，1996～2001 年全球 GMC 的种植面积增长了 30 倍。2000 年达 4420 万公顷，比 1999 年增长 11%，2001 年又在 2000 年的基础上增长 19%，达 5260 万公顷。GMC 种植面积占相关作物全球种植面积的比例依次为：大豆 46%、棉花 20%、油菜 11%、玉米 7%。

我国 GMC 的种植面积在 13 个国家中居第四位。国产转基因 Bt 抗虫棉的育成和推广，开创了国内基因工程农业应用的成功范例，仅 2001 年种植面积就达 60 万公顷。抗虫棉的杀虫性强，农药用量可减少 70%~80%，既降低了用工成本，又保护了环境。

继获得第一代 GMC（抗除草剂、抗虫、抗病等）之后，第二代转基因作物已呼之欲出，重点是进一步改良作物品质，提高其营养水平（如“金稻米”等），或以植物作为生物反应器生产医疗保健产品（如口服疫苗等）。同时，针对旱、涝、盐碱、低温等恶劣自然环境，培育各类抗逆作物。

此外重组根瘤菌、重组联合固氮菌、抗病杀虫重组微生物的开发和应用也取得了明显的成效。

四、克隆动物及转基因动物

动物体细胞克隆技术的发展为生产蛋白质类药物、器官移植、挽救珍稀濒危动物以及培育优良品种等奠定了基础。有科学家用山羊胚胎的核转入去核未受精的卵母细胞，产生了克隆动物——Dolly 羊，成为科学上的重大突破，并在多种动物中得到重复。

转基因动物的成功引导了一种新型制药工业，即利用转基因山羊、绵羊和乳牛的乳汁来生产治疗人类疾病的蛋白质类药物。转基因动物发展的另一动向是克隆修饰的猪，为人体器官移植提供外源器官，以缓解临床上对人体器官的迫切需求。

体细胞克隆山羊在我国的上海市转基因研究中心及陕西的中国杨凌克隆动物基地都获得了成功。

五、细胞工程和组织工程

多年来我国植物组织培养和细胞工程研究在国际上是领先的。我国学者通过花药和花粉单细胞培养培育出烟草、水稻、小麦、大麦、油菜、甘蔗等作物的新品种、新品系，种植面积逾 100 万公顷。脱病毒快速繁殖的主要作物有香蕉、马铃薯、甘蔗、木薯、香草兰、草莓、柑橘、苹果、葡萄、花卉和观赏植物。紫草、三七等植物细胞已可在发酵罐中大量培养。我国的传统中药涉及 5000 种左右植物，细胞培养是中药资源开发的一个重要方面。

我国学者在动物细胞工程方面也作出了重要贡献。例如亲缘关系远近不同的鱼类可进行各种核质组合，在变种间、属间及科间都获得了具有独特性状的核质重组鱼。

动物发育工程中另一重大进展是干细胞株的建立，这已成为国际上研究的热点。干细胞是指未充分分化、但具有再生为各种组织器官和个体潜在功能的细胞。血液干细胞能够分化、生成整个血液系统，用造血干细胞移植来治疗白血病和一些遗传血液病，是医学界正在探索的课题。最近，以色列科学家首次从胚胎干细胞培养出人类心脏组织，它可以正常跳动，并且有新生心脏组织的电特性和机械特性。波兰科学家用脐血干细胞成功地培育出了脑细胞，有可能被用于帕金森病、脑震荡等疾病的治疗和脑部损伤的修复。美国科学家最近成功地将胚胎干细胞分化成人类骨髓中的造血先驱细胞，并进一步培养成红细胞、白细胞和血小板。这些结果预示着人类有可能获得取之不尽的血源。我国科学家已成功地将干细胞体外培养成胃和肠黏膜组织，这是继利用干细胞原位培养皮肤组织全能修复之后，人类再生组织器官方面的又一重大成果。

六、环境生物工程

我国是环境污染较严重的国家，环境生物工程在防治各种污染中将起重要作用。众所周

知，油轮海上倾油可引起大面积海域污染，国外虽采用“超级细菌”（含有多个降解烃类的质粒）进行海面浮油处理，但其效果尚有待改进。化学农药对土壤的污染虽可用具专一性降解能力的特种细菌处理，但作用也甚缓慢。相对而言，较为先进的方法是采用可被降解的生物农药。此外，河流、湖泊水域的污染防治，酸雨危害以及城市垃圾的处理等，也都是亟待解决的问题。

七、酶工程

酶工程是现代生物技术的重要组成部分，其特点是利用酶、含酶细胞器或细胞（微生物、植物、动物）作为生物催化剂来完成某些重要的化学反应。应用范围包括医药工业、食品工业、化学工业、诊断分析和生物传感器等。涉及的品种不少，诸如糖化酶、淀粉酶、洗涤用酶以及与 β -内酰胺抗生素生产有关的青霉素酰化酶、7-ACA 酰化酶等，其市场需求、生产规模和产值均很可观，并已产生巨大的经济效益。随着酶的大量应用，各种酶反应器和固定化技术应运而生，更进一步地推动了酶工程的发展。

当代酶工程发展的趋势之一是寻找耐极端条件的酶，如耐高温、耐酸碱、耐盐等。这些酶存在于嗜高温、嗜酸碱、嗜高盐的细菌中。近年来对这些细菌的研究进展迅速，这将为酶工业提供源源不断的新型酶类。

八、新型能源和清洁能源的开拓

随着化石能源逐年减少，再生能源的研制开发已备受国际关注。虽然我国石油和煤炭储量丰富，但从长远考虑，还需对这一课题予以重视。展望未来，新型能源，特别是清洁能源的开发很有必要。

氢气是无污染的清洁能源，燃烧后不产生二氧化碳、硫、氮氧化物等有害物质，国外的燃氢汽车已研制成功。产氢的微生物甚多，值得重视的是光合细菌，该菌可利用工业废水产氢，同时具有农用肥效的作用。

巴西和美国是燃料乙醇生产技术和商业应用比较成熟的国家。作物秸秆、废报纸等生物材料是生产再生能源的最廉价原料，所生产的燃料乙醇成本可低到每加仑 1.10 美元，虽然仍高于每加仑 0.80~0.90 美元的汽油批发价，但随着技术的改进，生产成本将会逐步降低。

九、新型生物传感器的研制

要研制新型生物传感器，需要新型的酶和生物材料，这些酶需能耐高温、酸、碱或低温。已发现的这类特殊生物材料有嗜盐细菌的紫膜，这是一种光敏材料，可转化光子为 ATP。另一个例子是磁细菌细胞中的微小磁石（ Fe_3O_4 ），对细胞起导航作用。当代正竞相研制 DNA 芯片，以色列学者已用其建成简单的计算机。

生物传感器应用范围广泛，包括临床检测、免疫反应、反应罐过程检测、环保毒物检测等，不胜枚举。

十、生化工程

生化工程包括发酵工艺、过程检测与控制、反应模型建立、反应器的设计和应用，以及产品提取纯化、包装在内的下游加工工艺等方面，这是生物技术产业化的最后重要过程。

本丛书以应用生物技术为主，包括必要的基础知识和前景展望。丛书第一批包括 15 个分册，即《基因工程》、《蛋白质工程》、《酶工程》、《生物信息学——智能化算法及其应用》、《植物细胞工程》、《动物细胞工程》、《微生物工程》、《生物制药技术》、《生物传感器》、《环

境生物工程》、《农业生物工程》(第二版)、《糖生物工程》、《生物技术与疾病诊断——兼论人类基因治疗》、《组织工程》、《生物工程下游技术》(第二版)。

每册均由工作在第一线的专家撰写,概要阐述了国内外生物技术的进展和趋势。期望本丛书的出版能够对推动我国生物技术的研究开发及产业化作出微薄的贡献。

编者衷心寄语青年朋友,认识生物技术的光辉前景,祝愿你们以聪明才智为我国的生物技术作出创新贡献。

焦瑞军 袁士学

第二版前言

自《酶工程》第一版 2002 年 5 月问世以来,已经过去近 6 年了。这期间,随着生物技术的迅猛发展,酶工程这一领域也取得了令人瞩目的进展。我们认为有责任向读者介绍这些进展,开展《酶工程》再版工作。这次再版,力求保持原版的结构和体系,继续秉承第一版系统性、科学性、先进性、新颖性的特点,体现基础理论-技术-应用三结合,重点介绍 5 年来的最新进展。因此,在内容选择上,必然要压缩一些经典的方法,重点突出新兴的、具有发展潜力的研究领域和热点。每章均介绍了研究进展方面的内容。

在章节结构上稍有变动。第一版共有 10 章,抗体酶包含在酶的人工模拟一章中;第二版共有 11 章,将抗体酶单列一章,因为抗体酶属于生物酶工程范畴。第 5 章有机溶剂中的酶催化作用更名为非水酶学,因为这个名称不仅简捷,而且更能恰当地涵盖这个领域的研究内容。

参加本书第二版编写工作的有:曹淑桂(第 3、5 章),冯雁(第 11 章),龚平生(第 8 章),刘俊秋(第 6、7 章),吕绍武(第 2、4 章),罗贵民(第 1、2、3、4、6、7、10 章)。牟颖(第 2、10 章),王琳琳(第 10 章),王智(第 3、5、11 章),张应玖(第 9 章)。虽然各作者精心撰写,尽了最大努力,但书中难免出现错误和不足,敬请学术界同仁和广大读者批评和指正。

罗贵民
2008 年 3 月

前 言

应焦瑞身先生之邀,承担编写“现代生物技术丛书”中《酶工程》一书的任务,感到十分荣幸。在最近这十多年期间,生命科学,尤其是生物技术的发展极为迅猛,日新月异。这不仅表现在研究内容的深入与拓宽,而且在概念上也有相应的更替和创新,因此本书在编写上尽力包容酶工程领域的最新进展。

当前,生命科学正处于大综合、大发展时期。生物学将成为自然科学的领头学科,各学科间双向渗透、相互促进,同时引起许多边缘学科的蓬勃发展,酶工程是其中较突出者。酶鲜明地体现了生物体系的识别、催化、调节等奇妙功能。酶的研究无疑会深刻影响酶工程乃至整个生物学领域,而且还会刺激许多其他学科研究,成为灵感的源泉。组合化学在生物学中的应用就是一个生动的例子。酶及其模拟体系应用于有机合成及工业上药物、化学品和精细化工产品的生产,有许多优点;在快速和高选择性、高灵敏度分析上,也极有用;在可再生资源、能源、环境保护等一些根本性重大问题上,也有引人入胜的前景。化学与生物技术的结合有可能使酶工程焕发出勃勃生机。

本书分四部分。第一部分即第一章,酶与酶工程,概括介绍酶学基本知识、酶学与酶工程的关系及工业上常用的大规模酶纯化方法。

第二部分讲的是化学酶工程,包括5章(第二章至第六章)。第二章固定化酶与固定化细胞介绍了酶及细胞的固定化技术、固定化后其性质的改变、表征及在实际应用上的新进展;第三章介绍酶化学修饰的原理和应用,在改善现有酶与创造新酶方面,与基因操纵技术相比,化学修饰法具有简单易行、经济实用的特点,常能完成基因操纵技术不能做的事情,因而有它的独到之处;第四章讲述了酶失活的原因,酶稳定化的方法、原理和应用,解决酶稳定性差的问题,无疑会扩大酶的应用潜力;第五章详细介绍了酶在有机溶剂中起催化作用的相关问题,酶能在非水介质中起催化作用,无疑是酶学史上的革命,它打破了酶只能在水相中起催化作用的传统观念,大大扩展了酶的应用范围,这显然是酶工程的一个新的生长点;第六章讲的是酶的人工模拟,重点介绍合成酶、抗体酶和分子印迹酶及其最新进展,本章与后面的进化酶、杂合酶一起构成了人工模拟酶的全貌,可以说,模拟酶研究生动地体现了各学科的相互渗透、相互促进以及各种技术的综合运用,相信会在基础理论研究和实用上发挥更大的作用。

第三部分是生物酶工程,包括3章(第七章至第九章)。这部分主要介绍生物酶工程的新进展,舍弃了酶基因的克隆和表达及酶基因的遗传修饰等基本的常识性内容。第七章核酶工程介绍了核酶的体外筛选、催化潜能、进化策略及其应用。核酸具有催化性能,突破了酶的本质是蛋白质的传统观念,为酶工程开辟了一个新的研究领域。第八章介绍了酶的定向进化的策略、基因文库技术及其应用。这是人为创造新酶的强有力工具,近年受到越来越多的关注。第九章介绍杂合酶。将一种酶的功能域,通过基因操纵技术(蛋白质工程技术等)转移到另一种蛋白质骨架上,或者将两种酶的功能基因组合在一起,从而产生新酶,用以改变酶催化性质、底物专一性,改善酶的稳定性或创造其他所期望的特性等,这是近年发展起来的一种人工模拟酶的新策略。

第四部分即第十章,介绍了酶技术在各行各业的应用情况。虽然在前面的有关章节里介绍过酶技术的相关应用,这里则着重于工业规模的新进展,希望能对感兴趣的读者有所帮助。

本书由吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室的几位教授及其学生,在繁忙工作中抽空编写的,由我统编整理,因此,这是集体创作成果。本书的第一章、第四章由罗贵民编写;第二章

由牟颖、罗贵民编写；第三章由曹淑桂、罗贵民编写；第五章由曹淑桂、王智编写；第六章由罗贵民、刘俊秋编写；第七章由张今、孔祥铎、张红缨编写；第八章由张今、苟小军、张红缨编写；第九章由牟颖、罗贵民编写；第十章由冯雁、王智编写。由于时间紧，加上涉及的内容广泛，书中难免出现错误和不足，敬请学术界同仁和广大读者批评和指正。

罗贵民

吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室

2001 年 10 月 于长春

目 录

第一篇 基础篇

第一章 酶学与酶工程	2	四、底物浓度	14
第一节 酶工程概述	2	五、酶浓度	15
一、酶与酶工程	2	六、温度	15
二、酶工程简介	3	七、pH	15
第二节 酶的分类、组成、结构特点和 作用机制	4	第五节 酶动力学和抑制作用	16
一、酶的分类	4	一、米-曼模式	16
二、酶的组成和结构特点	5	二、Lineweaver-Burk 作图	16
三、酶的作用机制	6	三、酶的抑制作用	17
第三节 酶作为催化剂的显著特点	10	四、不可逆抑制作用	17
一、催化能力	10	五、可逆的竞争性抑制	17
二、专一性	11	六、可逆的非竞争性抑制	18
三、调节性	12	第六节 蛋白质、酶和重组蛋白的分离 纯化	18
第四节 影响酶活性的因素	13	一、蛋白质纯化的一般考虑	19
一、酶的测定	13	二、蛋白质的粗分离	20
二、酶联测定法	14	三、蛋白质的大规模分离纯化	25
三、酶速度	14	总结与展望	30
		参考文献	30

第二篇 化学酶工程篇

第二章 酶与细胞的固定化	34	一、评价固定化酶(细胞)的指标	57
第一节 酶的固定化	34	二、载体活化程度和固定化配基密度的 测定	58
一、固定化酶的定义	34	三、亲和技术中固定化配基的容量和 活性的测量	58
二、固定化酶的制备原则	34	四、比活性的测量	59
三、酶的固定化方法	35	第五节 固定化酶与固定化细胞的应用研究 进展	59
四、固定化酶的性质	42	一、生物化学及分子生物学基础研究	59
五、影响固定化酶性能的因素	44	二、亲和分离系统	62
第二节 辅酶的固定化	47	三、药物控释载体	64
一、辅酶的定义及分类	47	四、生物传感器	65
二、辅酶的固定化方法	48	五、其他	69
三、辅因子的固定化方法	51	总结与展望	72
四、辅酶的再生	51	参考文献	72
五、辅因子的再生	52	第三章 酶的化学修饰	75
第三节 细胞的固定化	53	第一节 化学修饰的方法学	75
一、固定化细胞分类、形态特征和生理 状态	54	一、修饰反应专一性的控制	75
二、固定化细胞的制备	54		
三、固定化细胞的性质	55		
第四节 固定化酶和固定化细胞的表征	57		

二、修饰程度和修饰部位的测定	77	五、环糊精衍生物对酶的稳定作用	120
三、化学修饰结果的解释	78	总结与展望	123
第二节 酶蛋白侧链的化学修饰	78	参考文献	123
一、羧基的化学修饰	79		
二、氨基的化学修饰	79	第五章 非水酶学	125
三、精氨酸胍基的化学修饰	79	第一节 非水酶学中的反应介质	126
四、巯基的化学修饰	81	一、水-有机溶剂单相系统	126
五、组氨酸咪唑基的化学修饰	81	二、水-有机溶剂两相系统	126
六、色氨酸吲哚基的化学修饰	82	三、含有表面活性剂的乳液或微乳液系统	126
七、酪氨酸残基和脂肪族羟基的化学修饰	82	四、微水有机溶剂单相系统	127
八、甲硫氨酸甲硫基的化学修饰	83	五、无溶剂或少溶剂反应系统	127
第三节 酶的亲和修饰	83	六、超临界流体系统	127
一、亲和标记	84	七、离子液体	128
二、外生亲和试剂与光亲和标记	84	八、气相反应介质	129
第四节 酶的化学交联	85	第二节 非水介质中酶的结构与性质	129
第五节 酶化学修饰的应用	86	一、非水介质中酶的结构	129
一、化学修饰在酶的结构与功能研究中的应用	86	二、非水介质中酶的性质	132
二、化学修饰酶在医药和生物技术中的应用	87	第三节 影响非水介质中酶催化的因素以及调控策略	140
三、酶化学修饰的局限性	98	一、有机溶剂	141
第六节 酶化学修饰的研究进展	99	二、水	145
一、非特异性的化学修饰	99	三、添加剂	150
二、位点专一性的化学修饰	100	四、生物印记	152
三、结合定点突变和化学修饰的位点选择性化学修饰	100	五、化学修饰	152
总结与展望	100	六、固定化酶	153
参考文献	101	七、温度	154
		八、pH 和离子强度	154
		九、超声辐射	155
		十、蛋白质工程和抗体酶技术	156
第四章 酶蛋白的稳定性和稳定化	102	第四节 非水介质中酶催化的典型反应	156
第一节 酶蛋白的稳定性及其变性机理	102	一、C—O 键的形成	156
一、酶蛋白稳定性的分子原因	102	二、C—N 键的反应	158
二、测定蛋白质稳定性的方法	104	三、C—C 键的形成	158
三、蛋白质不可逆失活的原因和机理	106	四、还原反应	159
第二节 酶蛋白的稳定化	110	五、氧化反应	159
一、固定化	110	六、异构化反应	160
二、非共价修饰	111	七、C—X 的反应——卤化反应	160
三、化学修饰	112	第五节 非水介质中酶催化的应用	161
四、蛋白质工程	115	一、酯的合成	161
五、酶的失活和再活化	117	二、肽的合成	164
第三节 酶蛋白稳定化研究进展	117	三、高分子的合成与改性	165
一、应用纳米材料进行酶的稳定化	117	四、光学活性化合物的制备	172
二、应用胶囊进行酶的稳定化	118	总结与展望	174
三、电解液及离子流体用于酶的稳定化	119	参考文献	175
四、乙醛酰脂糖被广泛的用于酶的稳定化	119		
		第六章 人工酶	177

第一节 概述	178	五、聚合物人工酶	192
一、人工酶的概念	178	第三节 印记酶	193
二、人工酶的理论基础	178	一、分子印记技术概述	193
第二节 合成酶	179	二、分子印记酶	199
一、主-客体酶模型	179	三、生物印记酶	203
二、胶束人工模拟酶	188	第四节 人工酶研究进展	206
三、肽酶	189	总结与展望	207
四、半合成酶	190	参考文献	208

第三篇 生物酶工程篇

第七章 抗体酶	211	三、脱氧核酶的设计	233
第一节 抗体酶的制备方法	211	四、核酶的高级结构、切割位点等	
一、稳定过渡态法	211	研究	234
二、抗体与半抗原互补法	211	五、PCR 技术应用于核酶研究	235
三、螯阱法	211	第五节 核酶的修饰	236
四、多底物类似物法	212	第六节 核酶/脱氧核酶的导入及表达	237
五、抗体结合部位修饰法	213	一、导入	237
六、蛋白质工程法	213	二、核酶表达启动子的选择	237
七、抗体库法	213	第七节 核酶/脱氧核酶的应用	238
第二节 抗体酶活性部位修饰	214	一、抗病毒感染性疾病	238
一、定点突变	214	二、抗肿瘤的研究	239
二、化学修饰法	214	三、其他领域的研究	240
第三节 抗体酶的结构	216	总结与展望	240
第四节 抗体酶的应用	217	参考文献	241
一、抗体酶在有机合成中的应用	217		
二、阐明化学反应机制	217	第九章 进化酶	243
三、抗体酶在天然产物合成中的应用	218	第一节 蛋白质定向进化	244
四、抗体酶在新药开发中的应用	218	一、基本策略	244
第五节 抗体酶研究进展	220	二、多样化基本方法	245
一、半抗原设计	220	三、多样性文库的构建	249
二、抗体酶的化学筛选	221	四、文库选择或筛选	250
三、抗体酶催化的化学转化	222	第二节 自然界中蛋白质进化机理	252
四、与兴奋剂相关的抗体酶制备	223	一、基因复制	252
五、化学程序化的抗体酶	223	二、串联复制	252
总结与展望	224	三、环状变换	253
参考文献	225	四、寡聚化	253
		五、基因融合	253
第八章 核酶和脱氧核酶	226	六、结构域募集	253
第一节 天然核酶	226	七、外显子改组	253
第二节 脱氧核酶	229	第三节 环境库和噬菌体展示库的构建	254
第三节 核酶/脱氧核酶的体外筛选	230	一、环境库的构建	254
一、SELEX 技术	230	二、噬菌体展示库的构建	255
二、动态组合筛选法	231	第四节 环境库和噬菌体展示库的筛选	257
第四节 核酶/脱氧核酶的人工设计	231	一、环境库的筛选	257
一、核酶/脱氧核酶的设计的发展和		二、噬菌体展示库的选择	258
新领域	232	第五节 定向进化的应用	258
二、核酶的设计	232	一、提高酶分子的催化活力	258