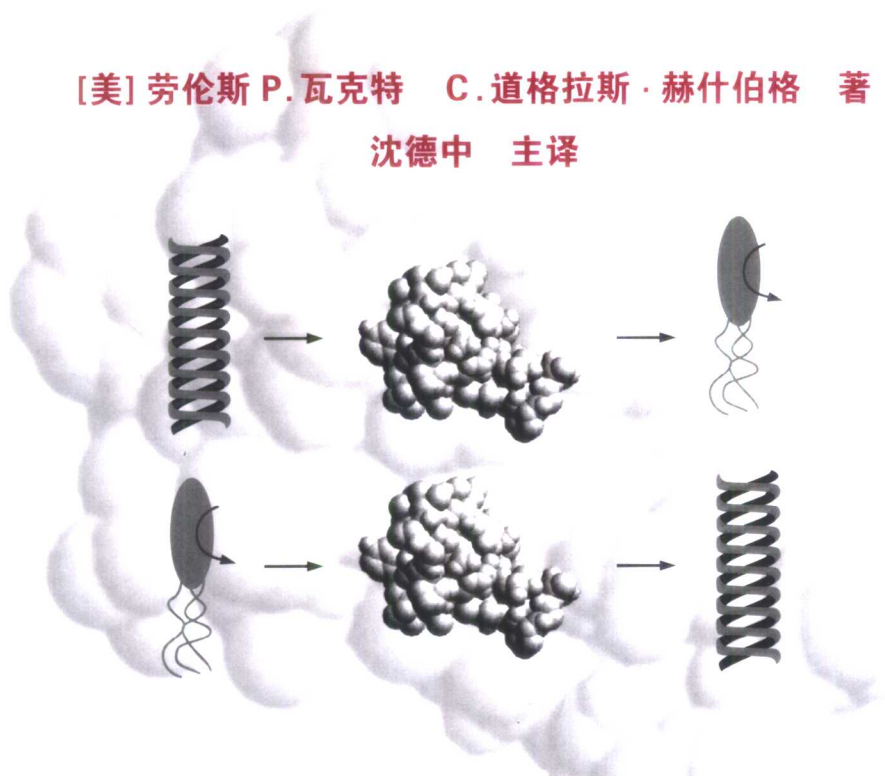


生物催化和生物降解

——有机化合物的微生物转化

[美] 劳伦斯 P. 瓦克特 C. 道格拉斯·赫什伯格 著

沈德中 主译



Chemical Industry Press



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心



生物催化和生物降解

——有机化合物的微生物转化

[美] 劳伦斯 P. 瓦克特 C. 道格拉斯·赫什伯格 著
Lawrence P. Wackett C. Douglas Hershberger

沈德中 主译



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生物催化和生物降解: 有机化合物的微生物转化 / [美] 瓦克特 (Wackett, L. P.) [美] 赫什伯格 (Hershberger, C. D.) 著; 沈德中主译. —北京: 化学工业出版社, 2005. 1

书名原文: Biocatalysis and Biodegradation: Microbial Transformation of Organic Compounds

ISBN 7-5025-6118-8

I. 生… II. ①瓦…②赫…③沈… III. ①有机化合物-微生物催化作用②有机化合物-微生物降解 IV. 0621

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 123593 号

Biocatalysis and Biodegradation: Microbial Transformation of Organic Compounds
/by Lawrence P. Wackett, C. Douglas Hershberger

ISBN 1-55581-179-5

Copyright ©2003 by ASM Press. All rights reserved.

Translated and published by arrangement with ASM Press.

本书中文简体字版由 ASM Press 出版公司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。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2003-5525

生物催化和生物降解

——有机化合物的微生物转化

[美] 劳伦斯 P. 瓦克特 C. 道格拉斯·赫什伯格 著

沈德中 主译

责任编辑: 郎红旗 孟 嘉

文字编辑: 梁静丽

责任校对: 陶燕华

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行

现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京兴顺印刷厂印刷

北京兴顺印刷厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 17 字数 307 千字

2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6118-8/Q·116

定 价: 35.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

译者前言

多年以前，我就开始使用美国明尼苏达大学的生物催化-生物降解数据库（UM-BBD，<http://umbbd.ahc.umn.edu>）。这个数据库内容十分丰富，涉及与生物催化和生物降解有关的微生物、酶、代谢途径等多方面的内容，而且检索、使用十分方便。明尼苏达大学同时还有一门同名的高级课程来指导学生使用这个数据库。2001年美国微生物学会出版社又出版了一本同名的书籍，对数据库的内容从理论方面作了系统和全面的阐述。2002年秋季在我给研究生开设的“微生物生态学”课上将该书作为参考书请听课同学分头翻译了全书并进行交流，同学们感到颇有收获。随后我建议化学工业出版社翻译出版该书，他们积极支持这一建议，立即向美国的出版社联系版权转让事宜，在中国农业大学微生物系的袁红莉老师以及环境科学与工程系的官小燕老师和宋瑞平老师的大力帮助下，我对学生们的翻译初稿进行了大量校订工作，才使本书得以出版，在此我要向为本书出版做出贡献的同志们、同学们和朋友们表示感谢。在这里我还要特别感谢中国农业大学微生物系教授、中国科学院院士李季伦教授和中国农业大学生物学院孟繁静教授，他们在百忙之中为本书的译稿作最后的审定，使本书生色不少。两位教授长期从事微生物代谢和生理生化方面的教学与研究工作，成果甚丰。对本书所涉及的领域十分熟悉。他们对本书译稿提出的意见使本书的译校者受益匪浅。

如前所述，本书与数据库是一个完整的体系。图书更概括、理论性更强，而数据库则比较具体，涉及到各个代谢过程、各种酶和各个微生物菌株等，变化、更新也相当快。在1999年8月数据库涉及650多种反应、600多种化合物、400多种酶和250多种菌株，而截止到2004年2月，该数据库已发展成为包括908种反应、853种化合物、578种酶、328种菌株、139种代谢途径、251种生物转化规则、50种有机物官能团，以及羰基-1,2-双加氧酶的76种反应、甲苯双加氧酶的109种反应。而且每个月都公布新的发现和订正。故在阅读本书的同时最好上网查询该数据库以了解最新进展。该书主编之一 Wackett 是明尼苏达大学生物化学系著名教授，他领导的实验室主要从事微生物分解代谢酶学、功能基因组学、酶进化和生物技术应用等方面的研究。他领导建立的生物催化-生物降解数据库从1996年以来有9次获奖，是最受微生物科学工作者和环境科学工作者欢迎的数据库之一，报道化合物的中间代谢、酶进化和代谢途径预测是其特色，在消除和预防化学品的环境污染方面起着重要作用。

本人才疏学浅，加之在讲课和科研之余整理译稿时间有限，不当之处在所难免，请读者不吝赐正。

沈德中

2004年2月

序

本书写于生物科学史上最令人激动的时期。它第一次以微生物学、生物化学和化学等学科为基础汇集了生物降解和生物催化这两个相关领域从诞生到发展过程的资料，反映了研究者们集体智慧。本书将重点放在了从传统微生物化学向新兴领域转化的这一时期，这些新兴领域包括基因组学（结构和功能）、蛋白质组学和生物信息学。新的发现和对发展前景的预测贯穿于各个章节之中，并把重点放在各种或各类新生物催化剂的功能与开发的研究上，而不是像传统的教科书那样只描述微生物对特定类型有机物质的降解途径上。

在本序言中，我选择以 Frederick Gowland Hopkins 爵士作为“催化剂”，以剑桥大学作为“反应器”来展开生物降解和生物催化这一主题的论述。Hopkins 爵士是从 20 世纪初到第二次世界大战结束这一时期剑桥大学最杰出的生物化学家，正是他鼓励 Marjory Stephenson 完成了她的经典著作《细菌的代谢》（该书于 1930 年初版，分别在 1940 年和 1949 年再版和第三次出版）。Stephenson 对微生物的兴趣可以追溯到巴斯德（Pasteur）于 1859 年发表的论文“*Mémoire de la Fermentation dite lactique*”（乳酸发酵记录），这一研究最初遭到当时著名的化学家 Berzelius 和 Liebig 的批评，然而 Pasteur 却坚持将乳酸发酵解释为活细胞生长和繁殖的结果。这些观察结果标志着细菌代谢理论的产

生, 1949 年 Stephenson 将细菌代谢定义为“从生物化学和生物物理学的角度, 在自身生长、繁殖以及与周围化学和生物环境相互作用等方面阐明细菌细胞的生理活动”。

Hopkins 爵士还鼓励生物化学学院的教师 Ernest Baldwin 撰写《生物化学动力学》, 该书于 1947 年初版。尽管 Stephenson 和 Baldwin 当时同在生物化学学院, 但是令人惊奇的是这两本书几乎没有相互重叠的部分。Baldwin 的教材曾用于为生物化学专业的初学者介绍平衡热力学的冷方程, 《生物化学动力学》极好地实现了这一目标。《生物化学动力学》连同 Stephenson 的《细菌的代谢》, 可以为 Hopkins 著名的格言“生命是在多相系统中的动态平衡”提供大量的证据。

Baldwin 专心执教, 他发现学生容易理解和记忆用图表示的反应式。他的“旋转”模型是优美的彩色图的前驱, 这些模型至今仍在微生物学和生物化学教科书中使用。英国在二战后不久出现了三部每周一次的笑话, 即《豆宴 (The Beano)》《奇才 (Wizard)》和《花花公子 (Dandy)》。每期笑话有 3~4 个部分是正在发生的故事, 意在吸引 7~10 岁儿童的注意, 但是每一故事完全用文字进行叙述, 没有一张图片或卡通画。在那个时期, 英国的儿童渴望得到所谓的“美国连环画”, 美国连环画在战后得到英国新闻署的许可而在英国发行, 家长们普遍担心“超人”中的卡通形象会在孩子个性形成期抑制他们的想像力, 从而降低英国整个教育系统的水平。然而, 追溯既往的分析表明这种担心实际上是没有根据的。尽管 Baldwin 的旋转模型无法与飞行超人的图形表现形式相比, 然而他们却能够将 ATP 的结构描述为 $A-P \sim P \sim P$ 的形式。Baldwin 用“ $\sim$ ”代表“高能”磷酸键, 这与后来 Stanley Dagley 所说的“它可以很快使 ATP 达到爆发的水平”不谋而合。Baldwin 指出 ATP 的重要性在于“末端的磷酸根容易转化 4.6 kJ (1.1 kcal) 自由能的全部或部分”, 同时他继续应用 $A-P \sim P \sim P$ 结构来说明 ATP 如何在活细胞的能量转换中发挥重要作用。这里有一个非常值得注意的现象, “ $\sim$ ”所代表的高能磷酸键几乎在从 1947 年至今的每一本生物化学教科书中都能无一例外地找到, 但是它总是伴随着否认高能磷酸键存在的解释。

第二次世界大战之后的 20 年中, 在生物化学和所有的生物学领域发生了史无前例的变化。DNA、RNA 和 mRNA 结构和功能的测定为分子生物学领域的发展奠定了基础。约翰·霍普金斯大学的 Albert Lehninger 同他的前辈 Baldwin 一样, 认识到教科书需要将热力学原理与代谢活动联系在一起。他的著作《生物能学: 生物能量转换的分子基础》是为分子生物专业的低年级研究生编写的。该教材应用优雅、简洁的文字指出, 热力学原理“蕴含着

生物学中核心的和统一的主题”。在文章中，代谢可以看成是细胞内总化学反应，术语“分解作用”和“合成作用”分别代表细胞组分的降解和合成。

分解作用和合成作用之间的关系可以通过碳素循环得以体现，碳素循环在全球范围内代表了光合作用和呼吸作用之间的平衡。太阳能被植物、藻类和某些细菌利用并驱动二氧化碳和适宜的电子供体合成细胞组分。这些分子中固定的碳在异养微生物的分解代谢作用下，最终以二氧化碳的形式释放到大气中。例如，葡萄糖通过糖酵解途径（Embden-Meyerhoff Pathway）经过一系列的反应逐步分解生成丙酮酸盐。这个过程中，合成反应所需要的 ATP 通过底物水平磷酸化作用生成，氧化反应中氢的转移由 NADH 介导。对葡萄糖的连续降解依赖于氧化态的 NAD^+ 的再生。在发酵微生物中，这一过程可以通过将电子传递给有机物来实现。例如，酵母菌将还原态的等价物转移给乙醛而重新生成 NAD^+ ，其反应的终产物为乙醇。哺乳动物在氧浓度较低时也有相同的途径，只不过利用氢和电子将丙酮酸盐还原成乳酸盐。而好氧微生物通过三羧酸循环将丙酮酸盐氧化为二氧化碳和水，氢和电子通过一系列氧化还原蛋白传递给氧分子，同时通过氧化磷酸化产生 ATP。在厌氧环境中，发酵产生的酸类和醇类可以作为其他种类细菌的生长基质，将之转变成乙酸盐、氢和二氧化碳。这些产物在产甲烷菌的作用下又转变为甲烷。甲烷又在甲基营养菌的作用下被氧化成二氧化碳，从而完成碳素循环。尽管氧是好氧生物（从细菌到人类）的最终电子受体，但是其他微生物，如铁细菌、硫酸盐还原菌和硝酸盐还原菌则采用不同的方式生活，同时人们仍然在继续寻找磷酸盐还原菌（R. S. Wolfe, 个人通讯, 2000）。

人们通过研究微生物的分解代谢和合成代谢，已经相当透彻地了解了碳水化合物、脂类、蛋白质以及其他一些细胞组分的降解或合成的过程，这些代谢过程展示了中心代谢或中间代谢领域的知识，因此有必要弄清楚中心代谢途径是怎样与生物降解和生物催化发生联系的。在本文中，“分解代谢”和“合成代谢”被看成是与活细胞基本活动直接相关的非常重要的术语，而将“生物降解”和“生物催化”用来确定代谢范围内的某个特定目标。广义上说，生物降解是指一种化合物在好氧微生物和厌氧微生物作用下经过微生物分解代谢活动转变成成为能够进入中心代谢途径的小分子物质的过程。例如，木质纤维素是木本植物的主要结构成分，木质纤维素的生物降解是陆生生物合成化合物再生循环的最重要过程。这个过程是微生物介导的依次进行的热力学有利的反应：某些真菌利用胞外依赖过氧化氢的酶使木质纤维素发生解聚反应；由木质素酶作用释放出的芳香醇类和醚类物质，连同游离纤维素，可以作为多种微生物的碳源和能源，最后固定在木质纤维素中的碳又以

二氧化碳的形式重新回到大气中。与生物降解不同，生物催化是指导致特定代谢产物积累的分解和合成反应。乙醇脱氢酶催化乙醛还原为乙醇的反应和由 6-磷酸葡萄糖异构酶催化产生的高果糖浆的反应是生物催化典型的例子。

尽管在自然界中生物降解和生物催化的例子比比皆是，然而直到 Rachel Carson 的著作《寂静的春天》出版后的这 38 年中生物降解才作为一个研究领域得到人们的重视，其重点是利用微生物代谢途径和反应降解环境污染物。因此了解环境污染物的性质是顺理成章的事。然而，对污染物目前还没有一个统一的概念适于所有情况。简而言之，污染物被认为是超过一定浓度对所有生命形式均有害的化合物，不管这些生物是在食物链的底层还是在顶层。在 19 世纪末 20 世纪初，伦敦的制帽匠用水银使高帽熠熠发光，结果这类人群中痴呆症发病率升高。在 Lewis Carroll 的《爱丽丝漫游奇境记》中“傻子帽匠”就是这种情况，这是由于肠道内的细菌形成了神经性毒物二甲基汞所造成的。最近发生的具有广泛影响的事件是在日本渔村水俣发生的村民二甲基汞中毒事件，原因是一家氯气工厂将汞排放到村子附近的河口，在厌氧沉积物中的产甲烷菌产生二甲基汞，它可以通过食物链进入鱼体，最终进入渔民及其家人的体内。

在自然界的碳素循环中，假定生物合成的所有有机物是可生物降解的，然而，应当考虑到在碳素循环和生物降解方面还存在着第二个有机化合物的来源。自从前寒武纪以来，每年在被微生物完全转化为二氧化碳之前都有少量的浮游生物被埋藏在古代海洋之下。这些物质在成岩作用下，经历热力学稳定化作用，最终变成石墨。初期的成岩作用发生在较浅的沉积层内，那里的有机物处于极端的 pH 和氧化还原条件下。这一时期，尽管整个系统稳定，但是碳碳键断裂，氧和其他元素被取代，暂时形成新的较复杂的化合物（腐殖酸）。最终，这些物质中大部分转变为一类未知结构的复杂聚合物——油母岩质（keragen）。当沉积物下沉到更低的地方时，油母岩质遇到更高的温度和压力，并由于岩石组分的催化反应最终导致了原油的生成。从地质学的发展来看，原油代表了从油母岩质到石墨的中间时期，这一认识非常重要，所以没有两种原油在化学组成上是完全相同的。

当前，石油工业对工业国家的经济发展起了巨大的推动作用，但是，毋庸置疑，原油及其产品又会在不知不觉的情况下进入环境。新千年伊始，公众依然陶醉于应用细菌清除溢油的事件。然而，美国石油研究所资助的研究工作表明，石油的化学结构非常复杂，同时还认识到完全生物降解石油需要很长的时间，所以使用生物修复技术来对付像 Exxon Valdez 号油船那样的灾难性溢油事件将会持续下去。大多数原油含有大量直链烷烃，能够降解这

些烃类的细菌在环境中无处不在，向油污染的环境中投加氮源和磷源可以加速土著微生物的生物降解作用（生物促进作用），并已经取得了一些成功，原因可能是促进了以直链烷烃、部分小分子的脂环烃化合物和芳香烃化合物为碳源的微生物的生长。

利用微生物修复人为的环境破坏已有很多成功的案例，每个案例的解决方案都源自基础研究结果。例如，20 世纪 60 年代，在英国兰开夏郡的 Liverpool 可以看到大量泡沫漂浮在 Mersey 河上，后来发现“肇事者”是带有疏水性烷基侧链的洗涤剂。解决这一环境问题的方法是用直链烷基侧链替代支链烷基侧链，而使洗涤剂的活性保持不变。有一个值得注意的有趣现象，四个甲基取代的烷烃是石油工业的产物，在自然界中未曾发现过，然而，如前所述，直链烷烃却普遍存在。因此提出这样一种可能的解释：微生物经历数百万年的进化才产生了降解直链烷烃的酶系，而微生物接触四个甲基取代烷烃才不到一个世纪。关于生物降解途径进化的最新解释将在本书后几章中讨论。

令人遗憾的是，并不是所有的环境污染物都像不可生物降解的洗涤剂那样因为生成泡沫而易于观察到。DDT 作为杀虫剂已经使用很多年了，直到后来才发现它是导致秃鹰和其他猛禽几乎完全灭绝的主要原因。另外，对环境样品中 DDT 的分析表明，多氯联苯（polychlorinated biphenyls, PCBs）是广泛存在于环境中的主要污染物。通过气相色谱和高分辨率质谱联用可以用来测定土壤和沉积物样品中的 DDT 和 PCBs。今天这些技术已用作监测不同环境中特定污染物的浓度及转归的常规方法。值得注意的是，50 多年前 Kern 第一次从环境中检测到多环芳烃，即从土壤中分离出了苯并吡啉（chrysene）。然而在 20 年后，可以认为 1947 年 Kern 发现的土壤样品中确实包含各种多环芳烃，其数目达 10^5 。这是由于分析精度提高了几个数量级。还有一个被 Max Blumer 称为“纯粹无知”即“无知却不自知”的例子。例如，随着分析技术的每一次进步，无知的边界并不像预料的那样离人们更近，事实上而是离人们更远，而且人们也没有理由因为在不久的将来将达到这一边界而沾沾自喜。事实上人类对自然界中有机物的知识还很不全面，因而要预测化学物质在环境中的生物效应显得尤为困难；同样，对不同生态位中的细菌群落组成亦“纯粹无知”。直到最近，人们还是用纯培养和单一基质培养来获得生物降解和生物催化领域的大部分知识。现在人们普遍认为，在单个土壤或沉积物样品中能分离和描述其特征的细菌还不到 1%。在一个土壤或沉积物样品中，存在着 4000 种不同的细菌和 100 000 种有机化合物，其结构和生理活性尚不清楚，这是对人们毅力和想像力提出的挑战；这又是

一个证明人类在细菌和化合物多样性方面表现出“纯粹无知”的一个令人沮丧的例子。

毫无疑问，有机物的筛选、分离和鉴别等分析技术的发展在细菌代谢的一般研究中以及在生物降解和生物催化的特殊研究中均起到重要作用。到1970年，对细菌降解环境污染物代谢途径的鉴定取得了重大进展，这主要是由于中间代谢产物得到了分离和鉴定，随后又证明酶的存在决定了中间代谢产物的形成以及进一步的代谢反应。这些工作的大部分是在纯培养和单一底物的条件下进行的。例如，芳香烃及其相关化合物是一类使用与精炼原油以及用木质纤维素造纸工艺中产生的环境污染物。最初的研究表明，某些微生物将许多简单的芳香族化合物经芳烃顺式二醇转变为儿茶酚或原儿茶酸盐，最初的反应由多组分酶系统将两个氧加到芳香烃的苯环上，该酶系统属于Rieske非血红素铁加氧酶。反应得到的芳烃顺式二醇通过依赖嘧啶核苷的脱氢酶[取代在最初的二羟基化反应中所使用的NAD(P)H]被重新芳环化。形成的产物儿茶酚或原儿茶酸盐是开环的双加氧酶的底物，该酶催化芳环在羟基间的断裂（正位裂解）或羟基之外相邻位点的断裂（偏位裂解）。正位裂解得到的开环产物是一种普通的中间代谢物 β -酮己二酸烯醇内酯，而偏位裂解开环产物在大多数情况下是2-氧-4-羧基戊酸盐。这两条途径的末端产物经过代谢成为中间代谢物进入三羧酸循环。

通过对前述单个反应及其酶系的研究，使人们明了这些途径以及其他分解代谢途径。得到的结果可以作为组装每条代谢途径的构件。Stanley Dagley积极倡导简化方法（reductionist approach），这点可以从他的陈述中看出来，“探求自然最明智的选择是尽量简化，但是过于简化的回答虽然符合期望，但会进一步引发新问题”。关于这一预言经典的例子是细菌降解芳香族化合物的途径最终会汇聚于一点，这些观察结果激励 Gunsalus 及其同事探索编码催化芳香族物质代谢的酶基因的组织 and 基因表达，因为这种代谢汇聚被看成是减少细胞中基因总数的机制。他们在该领域的研究导致 NAH、SAL 和 TOL 等可转移分解代谢质粒的发现，同时为生物降解和生物催化领域中新的分子生物学方法的研究奠定了基础。

多年来假单胞菌类一直被认为是环境中最“杂食”的微生物，这一观点的论据可以追溯到1926年荷兰 Delft 的 der Dooren de Jong 的论文，在论文中他列出了可以维持 *Pseudomonas putida*（恶臭假单胞菌）生长的80种化合物。加利福尼亚大学伯克利分校的 Stanier、Palleroni 和 Doudoroff 对假单胞菌属进行了详细的分类，进一步支持了上述观点。然而今天，假单胞菌在生物降解的研究中已占优势，利用传统的富集培养技术可以优先分离到它们，

而且“伪微生物学家”总把革兰阴性运动的杆菌都认为是假单胞菌。比较 16S rRNA 序列使人们认识到 *Rhodococcus* (红球菌属)、*Sphingomonas* (鞘氨醇单胞菌属)、*Comamonas* (丛毛单胞菌属)、*Burkholderia* (伯克霍尔德菌属)、*Ralstonia* (罗尔斯通菌属) 以及其他一些菌种表现出分解代谢的多功能性。人们还发现新的菌种有新的代谢能力,例如,虽然没有成文但普遍假定芳香烃类在厌氧条件下不能降解,但是硝酸盐还原菌、硫酸盐还原菌和铁还原菌却与之不同。另一个例子是在 Hudson 河上游的厌氧沉积物以及其他被 PCB 污染的环境中,抗降解的多氯联苯发生了还原脱卤。“自然”生物降解的一个共同的特性是去除污染物的速率较低。这告诫人们自然界有着它自身的节律,由于人类的活动而产生过多的化学物质冲击着自然界,使它难以承受。

值得庆幸的是,由 DNA 重组技术衍生的分子生物学技术对生物降解和生物催化的研究产生了深刻的影响。今天,已经可能优化微生物降解各种环境污染物所需要的条件。Timmis 和 Pieper 所列举的例子包括分离所需要的表型菌株,构建新的代谢途径以消除产生非产物的副反应和减少有毒中间产物的产生,必要时提高酶的活性。另外,万维网的出现促进了数据库的发展,可以用来预测新化学物质的生物降解途径。生物降解的讨论贯穿于后面各章,此处不再赘述。

近年来生物催化发展是因为工业上需要合成环境友好的化学品。理想的合成系统应与 Trost 提出的“原子经济”相结合,所谓原子经济就是在反应物中的所有原子都存在于产品之中。这将对加成反应有利,对消去反应不利。这种情况从合成化学家的角度来看并不总是可行的。与之不同的是,许多生成商品的生物催化途径是加成反应,它们包括由 Rieske 非血红素铁双加氧酶所催化的非对称双羟基化反应。不仅此处,而且在本书的许多章节中,生物降解与生物催化同时出现。在受污染的地下水中很容易检测到分解甲苯的细菌,已经阐明它们至少有 5 种不同的甲苯降解途径。*Pseudomonas putida* F1 的二氢二醇途径是由甲苯双加氧酶催化的,这种酶将两个氧原子加到苯环上形成同手性 (+)-顺-(1S,2R)-二羟基-3-甲基环己烷-3,5-二烯(甲苯顺式二氢二醇)。人们发现二氢二醇在生物活性物质的合成中可以作为手性合成子(chiral synthon),例如前列腺素 E_2 的合成。甲苯双加氧酶以及相关的萘双加氧酶最突出的特征是它们能够将 200 多种底物氧化成一种对映异构体——顺式芳烃二醇。事实上,通过生物催化反应合成以上这些物质以及其他手性物质的潜力还没有很好地发挥,它们将是合成化学家在未来研究环境友好化学品的有利工具。

1949 年 Marjory Stephenson 预言, 在未来的 25~50 年中, 用生物化学方法描述细胞生长几乎可以实现, 因而她提出“我们所了解的生物化学和微生物学将成为冷星(黑洞), 并将会被一个新领域所取代, 其特性我们只能朦胧地猜测”。2000 年 6 月 26 日公布了人类基因组 DNA 序列, 据此人们对这位科学家的预言感到惊讶不已。这距第一个基因组即 *Haemophilus influenzae* (流感嗜血菌) 的 DNA 序列发表只有 5 年。至今已经测定了三十多种生物的全部基因组, 其中包括 *Enterococcus faecium* (粪性肠球菌), 有 2.98×10^6 bp, 其测序在一天内完成。自动化核苷酸测序使生物学发生革命性变化, 同时还诞生了基因组学、结构基因组学、蛋白质组学和毒理基因组学, 毫无疑问还将有更多“组学”即将诞生。这些新领域正是 Stephenson 所构想的。这些新领域还是有利的工具, 它使科学家根据调节蛋白的活动清晰地描绘细菌生长的过程, 而调节蛋白在整个细胞生长周期中控制着基因表达的时间和水平。每周科技出版物都会有赞扬这些实验以及相关实验的报道, 同时还有一些文章告诫在新兴的后基因组生物学(postgenomic biology)领域中会遇到的困难。

本书有许多引人入胜之处, 特点之一就是将生物降解和生物催化的产生和发展整合到前基因组和潜在的后基因组时代。因此, 看来用 Arthur Kornberg 在“十诫: 来自 DNA 复制酶学的教训”中的一句话来结束本序言是适当的——Kornberg 在 2000 年 7 月一期的《细菌学杂志》上发表了这篇客座评论文章, 文章中强调了研究纯酶在生物学中的价值, 他还引用支持这一观点的早期代表人物 Frederick Gowland Hopkins (1931) 的话(见前)。在我的实验中, 我一直踌躇地祈求高等生物的思想和戒律。尽管如此, Kornberg 认为聚磷是“一种无机聚合物, 它由成百上千磷酸残基通过‘高能’酸酐键连接起来”, 由此引出了第十一诫: 考虑生物学在任何领域的产生与发展都不应当忽视热力学。

David T. Gibson

爱荷华大学微生物学系

爱荷华州爱荷华市

(宫小燕 译 沈德中 校)

推荐读物

- Baldwin, E. 1952. *Dynamic Aspects of Biochemistry*. Cambridge University Press, London, United Kingdom.
- Blumer, M. 1975. Organic compounds in nature: limits of our knowledge. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 14:507-514.
- Dagley, S. 1984. Introduction, p. 1-10. In D. T. Gibson (ed.), *Microbial Degradation of Organic Compounds*. Marcel Dekker, New York, N.Y.
- Dagley, S. 1987. Lessons from biodegradation. *Annu. Rev. Microbiol.* 41:1-23.
- Dooley, J. E., C. J. Thompson, D. E. Hirsch, and C. C. Ward. 1974. Analyzing heavy ends of crude. *Hydrocarb. Process* 53:93-100.
- Gibson, D. T. 1975. Microbial degradation of hydrocarbons, p. 667-696. In E. D. Goldberg (ed.), *The Nature of Seawater. Physical and Chemical Sciences Research Report*. Dahlem Konferenzen, Berlin, Germany.
- Gibson, D. T. 1988. Microbial metabolism of aromatic hydrocarbons and the carbon cycle, p. 33-58. In S. R. Hagedorn, R. S. Hanson, and D. A. Kunz (ed.), *Microbial Metabolism and the Carbon Cycle*. Harwood Academic Publishers, New York, N.Y.
- Gibson, D. T., and R. E. Parales. 2000. Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11:236-243.
- Gibson, D. T., and V. Subramanian. 1984. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons, p. 181-252. In D. T. Gibson (ed.), *Microbial Degradation of Organic Compounds*. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.
- Gunsalus, I. C. 1984. Learning. *Annu. Rev. Microbiol.* 38:xiii-xliv.
- Hudlicky, T., D. Gonzales, and D. T. Gibson. 1999. Enzymatic dihydroxylation of aromatics in enantioselective synthesis: expanding asymmetric methodology. *Aldrichim. Acta* 32:35-62.
- Kornberg, A. 2000. Ten commandments: lessons from the enzymology of DNA replication. *J. Bacteriol.* 182:3613-3618.
- Lehninger, A. L. 1965. *Bioenergetics*. W.A. Benjamin, Inc., New York, N.Y.
- Ourisson, G., P. Albrecht, and M. Rohmer. 1984. The microbial origin of fossil fuels. *Sci. Am.* 251:44-51.
- Reineke, W. 1998. Development of hybrid strains for the mineralization of chloroaromatics by patchwork assembly. *Annu. Rev. Microbiol.* 52:287-331.
- Stephenson, M. 1949. *Bacterial Metabolism*. Longmans, Green and Co., London, United Kingdom.
- Timmis, K. N., and D. H. Pieper. 1999. Bacteria designed for bioremediation. *Trends Biotechnol.* 17:201-204.

前 言

本书认为对生物降解和生物催化方面不断出现的问题进行界定比借口该领域有很多最重要的问题需要回答更重要。James Thurber 更简洁地讲述了这个观点，“认清一部分问题远比获得所有的答案更好”。在这本书中我们提出了以下种种问题：微生物新陈代谢的程度究竟如何？微生物如何参与特定的代谢转化？根据广泛开展的基因测序如何定义微生物代谢？微生物的生物催化和生物降解将来如何在商业上应用？以上问题有些在较短的时间内就可以得到答案，而更多的问题将会在很长的一段时间内困扰着人们。事实上，重要问题是微生物的新陈代谢是否已被人类完全认识，微生物进化出新的分解活动的速度是否快于科学家对它们的研究进展？

在回答书中提出的各色问题之前，我们必须使用一种简化的方法，这与某些人的观点恰恰相反，他们认为综合的问题需要完整的或是全面的试验方法。在这本书中，详细的微生物催化的分子学基础知识贯穿始终。我们应该将复杂的系统简化，先了解它的组成部分，再研究各个部分如何组合起来作为一个整体发挥功能。为了全面地了解微生物的催化作用，重要的是将深入研究和阶段性的综合回顾结合起来。

简化的方法源自生物降解和生物催化本身的二元性：研究被转化物质的化学和研究发生物质转化的微生物学。微

生物学和化学之间存在着千丝万缕的必然联系。本书的第一部分（第二章～第四章）集中讲述微生物及其在实验室中的分离方法和研究方法；第五章着重讲述化学物质及其来源与在地球上的分布；第六章～第八章从微生物学和化学的角度讨论酶、进化和代谢逻辑理论；最后的部分（第九章～第十三章）涵盖了时下的热点问题，如可生物降解代谢的预测、基因组学以及生物催化和生物降解的工业应用前景。

同时本书试图介绍生物催化和生物降解的复杂性，全面展示微生物生态系统以及其整体的代谢活动，它们是大自然美丽画卷中绚丽多彩的一部分。Edward O. Wilson 是用这样的术语描述这种复杂性：未经简化的复杂性之爱产生艺术，而经简化的复杂性之爱产生科学。本书强调了有机分子的复杂性（已知的有机物超过一千万种），同时微生物代谢也相应地经历复杂进化以转化这些有机物质。

本书关注分子水平上发生的事件，这区别于当前其他的有关生物降解的书籍，后者强调生物修复工程和其他影响生物降解的综合过程，例如土壤和水的微生物学。还有的生物降解书籍着重于不同的化学物质是如何被微生物代谢掉的。本书的不同之处在于寻求描述微生物生物催化的逻辑理论。所谓逻辑理论，我们指的是在分子水平上的概念性框架，包括酶是如何工作的，各个途径是如何相互作用的，生理系统如何支持生物降解的微生物的。总之，我们希望本书能成为一本合适的研究生教材，并对学术界和企业界中对生物催化和生物降解感兴趣的专业人士有所帮助。由于微生物基因组测序项目为各种原核生物的研究提供了一个崭新的方法，人们期望微生物催化的研究步入黄金时代。比以往更重要的是微生物代谢的基本逻辑理论可以更好地被认识，这样我们可以更好地诠释基因序列的含义，更好地利用生物催化理论解决实际问题。

这本书如果没有多人的帮助是不可能问世的，在这里向帮助我们的人表示感谢！本书的大部分手稿是由明尼苏达州 Zumbro Falls 的 Yoss 牧场（我们感谢 Kathe Yoss 和 Robert Yoss 的热情招待）和加利福尼亚州圣迭哥市的 Dow 化学公司完成的，在后续阶段 Mani Subramanian 为作者之一提供了一个安静的写作环境，并且 Davetta Adams 帮助我们收集了资料。

同时我们还要感谢以下人士，他们审阅了书稿并提出建议。他们是：Alasdair Cook、Mervyn deSouza、David Gibson、Jack Richman、Jennifer Seffernick、Alfred Spormann、Lisa Strong、Mani Subramanian 和 Gregg Whited。此书灵感的重要源泉是明尼苏达大学生物催化-生物降解数据库（University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database, UM-BBD），

这个数据库已经被广泛应用，有 75 个国家的用户超过 2 000 000 次点击，数据库的成功源于很多人的努力，其中最著名的是主编之一 Lynda Ellis，同时很多志愿者和同事也作出了很多贡献，在这里我们希望对他们的所有努力表示感谢！最后，要感谢我们两个家庭的所有成员，感谢他们在整个项目完成过程中表现出的耐心和理解，特别要感谢 Deborah Allan、Adrian Wackett、Katherine Wackett、Yifat Bar-Dagan、Charlie Hershberger 和 Joy Hershberger。

劳伦斯 P. 瓦克特

生物化学、分子生物学和生物物理学系 / 生物过程技术研究所
(Department of Biochemistry, Molecular Biology Biophysics and Biological
Process Technology Institute)

C. 道格拉斯·赫什伯格

生物过程技术研究所
(Biological Process Technology Institute)
240 Gortner Laboratory
1479 Gortner Avenue
University of Minnesota
St. Paul, MN 55108-1030

(宋瑞平 译 沈德中 校)