

884

206
1476

酶 学

陈石根 周润琦 编著



A0940123

复旦大学出版社

第一部分 概 论

第一章 酶 和 酶 学

地球上到处有生命,从参天的大树到显微镜下才能看到的细菌、病毒,从天上飞的鸟到水中游的鱼,形形色色,种类繁多。但是不管生物如何多种多样,凡有生命的地方几乎都有酶(enzyme),都需要酶。酶和生命活动密切相关,它几乎参与了所有的生命活动、生命过程。

酶在生产实践中同样起着十分重要的作用,推动着生产的发展和人类文明的进步,它几乎渗入了人们生活的各个领域。

酶的发现和应用可溯源到千百年前,但酶的本质直到近几十年才被逐渐认识。

酶学(Enzymology)是研究酶的性质、酶的作用规律、酶的结构和作用原理、酶的生物学功能及酶的应用的科学。学习酶学就是为了更好地了解酶、掌握酶,使酶更好地为人民所用。

第一节 酶是生物催化剂⁽¹⁻⁴⁾

一、酶是催化剂

催化剂(catalyst)是一类能改变反应速度,但不改变反应性质、反应方向和反应平衡点,而且本身在反应后也不发生变化的外因因素。例如,核酸水解为核苷酸,蛋白质水解为氨基酸,淀粉水解为葡萄糖,就其热力学性质而言,这些反应完全能够进行,而且甚至可以达到彻底水解的程度;但是,在通常情况下,这些反应进行得极为缓慢。为了加速反应,必须加入某些外因因素,例如,少量的酸、碱或酶。酸、碱和酶在这个过程中本身不消耗,它们起的就是催化剂的作用。

那么,酶和酸、碱有什么不同呢?

二、酶是一种特殊的催化剂

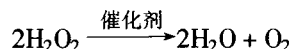
酶和酸、碱等无机或有机的催化剂相比,其特点是:

1. 酶是高效催化剂

(1) 酶能在温和条件下,例如,常温、常压和近中性的 pH 条件下,大大加速反应;

(2) 在可比较的情况下,酶的催化效率相对其他类型的催化剂而言,可达 $10^7 \sim 10^{12}$ 倍。

以 H_2O_2 分解为例:



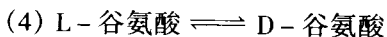
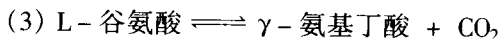
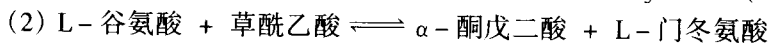
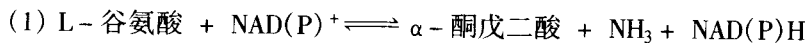
以铁离子催化,反应速度为 $5.6 \times 10^{-4} \text{ mol}/(\text{mol} \cdot \text{s})$;

以血红素催化,接近 $6.0 \times 10^{-1} \text{ mol}/(\text{mol} \cdot \text{s})$;

而以过氧化氢酶催化时,可达 $3.5 \times 10^6 \text{ mol}/(\text{mol} \cdot \text{s})$ 。

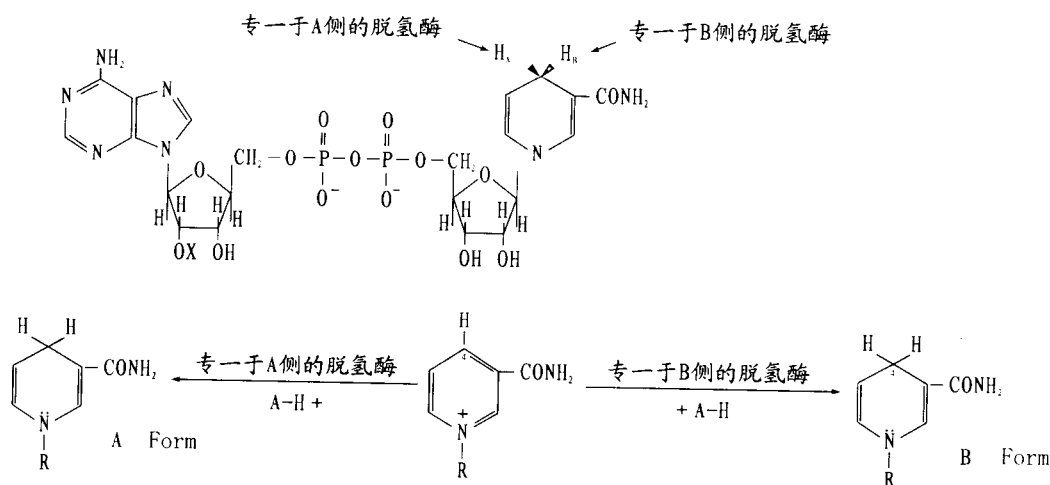
2. 酶具有高的作用专一性

所谓高的作用专一性(specificity),乃是指酶通常只能催化一种或一类反应,作用一种或一类极为相似的物质。以谷氨酸可能进行的几种反应为例:



这些反应如果用吡哆醛和铜催化,则后面三种反应,即反应(2)—(4)都能加速;但用酶催化时,则不同的反应需要不同的酶:(1)需用谷氨酸脱氢酶;(2)需用谷草转氨酶;(3)需用谷氨酸脱羧酶;(4)需谷氨酸异构酶。酶的这种性质称为酶的反应专一性。类似地,如果将谷氨酸换成其他氨基酸,那么,采用的酶也须作相应的更改,这种性质称为酶的底物专一性(注意:酶学中反应物称为底物(substrate))。在底物专一性方面,有的酶显示“绝对”专一

(A)



(B)

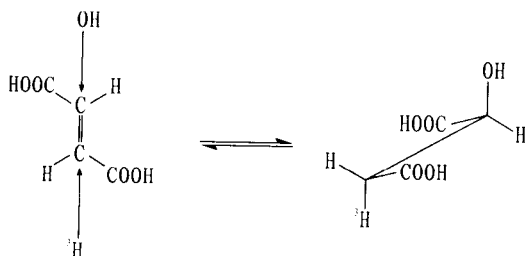
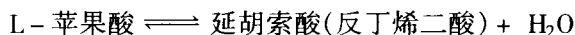


图 1.1 NAD(P)的尼克酰胺环及脱氢酶表现的潜手性专一性(A)
延胡索酸酶表现的潜手性专一性(B)

性;不过,更多的酶表现相对专一性,即容许底物分子上有小的变动。底物专一性的一个重要特征就是酶对底物的立体异构体和顺反异构体具有高度选择能力,表现立体专一性(stereospecificity)和顺反专一性(cis-trans specificity),就是说,当酶作用的底物和形成的产物具有立体异构体或顺反异构体时,酶能够加以识别,并选择地催化其中之一进行反应或催化其中之一形成。例如,L-谷氨酸脱氢酶只能作用 L-谷氨酸或催化 L-谷氨酸形成,而非 D-谷氨酸。又如,延胡索酸酶催化的反应:



该酶在反应式的一端专一于反丁烯二酸,而在另一端专一于 L-苹果酸。值得特别提到的是,大多数脱氢酶对尼克酰胺核苷酸辅酶 NAD(P)^+ 或者 NAD(P)H 中的尼克酰胺环第四位碳原子(C-4)上的两个氢表现特殊的立体专一性,称为潜手性(prochirality)专一性。虽然尼克酰胺环上的 C-4 既非不对称碳,也无顺反异构特征,但脱氢酶却都能专一地识别并作用这个碳原子上两个氢中的一个。正因为这个原故,以尼克酰胺核苷酸为辅酶的脱氢酶可以此分为 A, B 两型,如图 1.1(A);潜手性专一性也可在脱氢酶以外的其他酶反应中观察到,例如延胡索酸酶对 L-苹果酸就表现这种专一性(图 1.1(B))。

酶具有高度的作用专一性也表现在某些酶能及时地修正其催化过程中产生的错误(proof-reading or editing)。例如,DNA 聚合酶 I 能识别并除去错配的核苷酸,从而保证了 DNA 复制时的误参率在 $10^{-8} \sim 10^{-10}$ 以下;类似地,氨(基)酰-tRNA 合成酶也能自动地消除其作用过程中误活化的氨基酸,从而使蛋白质合成时的氨基酸错误参入率低于 10^{-4} 。

酶的这些催化特点和它的化学本质有关。

3. 酶的化学本质是蛋白质

酶的化学本质是蛋白质的根据有:

(1) 酶是高分子胶体物质,而且是两性电解质,在电场中酶能像其他蛋白质一样泳动,酶的活性-pH 曲线和两性离子的解离曲线相似;

(2) 导致蛋白质变性的因素,如酸、碱、热、紫外线、表面活性剂、重金属盐以及其他蛋白质变性剂,也往往能使酶失效;

(3) 酶通常都能被蛋白水解酶水解而丧失活性;

(4) 对所有已经高度纯化、而且达到均一程度的酶进行组成分析,都表明:它们或者是单纯的蛋白质,或者是蛋白质与小分子物质构成的络合物;

(5) 根据核酸酶(RNase)的一级结构,人们已从氨基酸开始人工合成了具有相同催化活性的蛋白质产物。

在已知的酶中,许多酶进行催化时需要有辅助因子(cofactor)参加。辅助因子通常是一些小分子物质,可大致分为两类:辅酶物质(coenzyme)和活化剂(activator)。这两类物质的主要区别是:

(1) 辅酶在结构上多是较为复杂的有机分子,其中极大部分是 B 族维生素衍生物,如尼克酰胺核苷酸、黄素核苷酸及硫胺素焦磷酸等。某些辅酶结构中包含金属,如含铁的血红素。个别辅酶本身就是金属离子,如酰化酶中的钴。而活化剂则往往是一些简单的离子化合物,如 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cl^- 等。

(2) 酶(蛋白)分子与辅酶分子之间通常有一定的比例关系,通过透析等方法除去辅酶物质后,酶活性就会降低、甚至失去活力;而活化剂和酶之间则没有严格的比例关系,其作用主要是提高酶的活力,没有它,酶也有某种程度的催化能力。活化剂的有效浓度一般为 $10^{-5} \text{ mol/L} \sim 10^{-3} \text{ mol/L}$, 大于 10^{-3} mol/L 时还可能抑制酶的活性。对于需要辅酶物质的酶来说,包含辅酶物质的酶称为全酶(holoenzyme),除去辅酶物质后的蛋白质部分则称为酶蛋白(apoenzyme);辅助因子相对酶蛋白来说,有时称为配基(ligand)。

(3) 酶对活化剂的选择性一般不高,相似的离子常可替代,例如, Mn^{2+} 就可替代 Mg^{2+} , Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 等可替代 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 等。辅酶物质则不然,它们以特定方式参与相应的酶反应,不能相互替代。辅酶物质根据其作用方式及其与酶蛋白结合的紧密程度,又可进一步分为三类:载体底物(carrier substrate)、辅酶和辅基(prosthetic group)(表 1.1)。

表 1.1 载体底物、辅酶、辅基

类 型	载 体 底 物	辅 酶	辅 基
化学性质	小 分 子 有 机 化 合 物		
作用方式	参 加 反 应	催 化 剂 的 组 成 部 分	
与 酶 组 合	松		紧
例	NAD(P)^+	硫胺素焦磷酸	FMN, FAD

辅酶物质本身也有弱的催化能力,但其催化效率远不能和酶相比,例如,血红素是过氧化氢酶的辅基,但它的催化效率只不过是过氧化氢酶的百万分之一。同时,其作用选择性也很低,只有在与酶蛋白结合以后,才表现出高度专一的催化活性,例如,磷酸吡哆醛可催化上述与谷氨酸有关的多种反应;然而,只有和特定的蛋白质结合后,它们才能形成各种具有高度专一性的酶,如谷氨酸脱羧酶、谷草转氨酶等。这说明:即使是需要辅酶物质的酶,蛋白质仍然是酶高效和高度专一催化特性的主导因素。

酶的化学本质是蛋白质的观念在本世纪 70 年代后期、特别是 80 年代初期,由于某些发现而受到了强有力的冲击。因为某些酶,如核糖核酸酶 P(RNase P)、1,4- α -糖原支链酶(1,4- α -D-glucan 6- α (1,4- α -)glucan transferase)、磷酸果糖激酶等,在其结构成分中除了蛋白质外,还包含 RNA,而且, RNA 成分在催化过程中起着不可或缺的作用,以 RNase P 为例,它是催化 tRNA 前体 5'-端成熟的内切核酸酶,由 77% 的 RNA 和 23% 的蛋白质组成。Altman 等发现:该酶能经受胰蛋白酶的作用,但在微球菌核酸酶或核糖核酸酶 A 处理后失去活性;通过柱层析或电泳可将其蛋白质和 RNA(M1 RNA)成分分开,得到的蛋白质和 RNA 在 $10 \text{ mmol/L Mg}^{2+}$ 存在条件下,单独都不表现 RNase P 的活性,但重组后活性立即恢复,说明 M1 RNA 和 RNase P 活性有十分密切的关系。不过,当时在观念上尚未突破酶是唯一的生物催化剂的基本框架。只有到了 80 年代,由于 Cech 等的发现,才使人们对 RNA 在催化过程中的作用有了认识上的根本改变。

Cech 等在研究 rRNA 前体加工成熟为 26S rRNA 的过程中发现:① 某些原生动物,如四膜虫(Tetrahymena),在它们的 rDNA 中,有的包含插入顺序(intervening sequence, IVS),例如, *T. Thermophila* 的 rDNA IVS 为 413 个碱基对,但 *T. Pigmentia* 8ALP 的 rDNA 中没有 IVS,说明 IVS 与四膜虫的生存无关。② 四膜虫的细胞核在低浓度的一价阳离子体系中能

转录合成 rRNA 前体,生成的 rRNA 前体在 75 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、5 ~ 10 mmol/L MgCl_2 以及 1 $\mu\text{mol/L}$ 鸟核苷化合物(如 GTP、GDP、GMP 或 GR 等)存在的条件下具有自我剪接(splicing)的转录后加工成熟能力,即先从前体切下 IVS,余下的主体部分再连接形成成熟的 rRNA;游离出来的 IVS 被先后去掉一个包含 15 个碱基的核苷酸片段和一个包含 4 个碱基的核苷酸片段,分别形成环状(C)和线性(L)的 C-15、L-15、C-19、L-19 IVS。引人注意的是, rRNA 前体的这种自我剪接能力可经受 SDS-酚的抽提、SDS 存在条件下的煮沸以及蛋白酶的处理。③ 为了排除 rRNA 前体中可能带有痕量的蛋白质性质的酶发挥作用,将包含有 IVS 的 rDNA 与 Lac UV5 在体外进行了重组,重组子再克隆于大肠杆菌 EK 系,得到的 DNA 中包含: Lac UV5 的 35 个碱基对、rRNA 5'-端外显子 261 个碱基对、IVS 413 个碱基对和 rRNA 3'-端外显子 624 个碱基对。然后再以此 DNA 作为模板,用大肠杆菌 RNA 聚合酶 I 在体外进行转录。结果表明这样得到的 rRNA 前体同样具有自我剪接成熟的能力。根据这些事实,Cech 等认为,该 rRNA 前体本身就具有自我催化能力,是一种 RNA 性质的生物催化剂。以后的研究又进一步证明,L-19 IVS 还具有磷酸酯酶、磷酸二酯酶、核酸酶以及核苷酸转移酶等多种催化活性。

继 Cech 等人的工作之后,Altman 和 Pace 两家实验室也同时完成了另一项重要的进展,他们发现:① RNase P 层析或电泳分离后得到的 M1 RNA 组分在大于 20 mmol/L Mg^{2+} 条件下,或在 10 mmol/L Mg^{2+} 和 1 mmol/L 亚精胺存在条件下,和 RNaseP 同样,也具有催化 tRNA 前体 5'-端成熟的活性;② 将 M1 RNA 的基因在体外进行转录,可得到包含 413 ~ 414 个碱基的转录产物 RNA,该 RNA 产物同样能催化 tRNA 前体的 5'-端成熟。这些说明 M1 RNA 本身就具有 RNase P 的活性,本身就是一种生物催化剂。

此后又有许多类似的报道。到现在为止,这种催化 RNA 前体加工成熟的 RNA 催化剂至少已发现四种类型:① 异体催化的剪切(trimming)加工,如上述 RNase P 中的 M1 RNA 催化的 tRNA 前体 5'-端成熟;② 自身催化的剪切加工,如植物类病毒 RNA、卫星 RNA 等进行的滚筒式复制的最后一步加工;③ I 型内含子的自我剪接,如四膜虫 rRNA 前体的加工;④ II 型内含子的自我剪接加工,某些 mRNA 前体的加工属之。所有这些事实说明,某些 RNA 的确具有催化活性。为了和蛋白质性质的生物催化剂——酶(ENZYME)相区别,Cech 等将他们发现的 RNA 性质的生物催化剂称为 RIBOZYME。

RNA 型生物催化剂的发现应该说是现代生物学中的一个重大突破,因为:第一,它表明 RNA 除了作为遗传信息的载体外,还可能具有其他生物学功能;第二,它表明除了蛋白质性质的酶外,还可能存在着其他类型的生物催化剂;第三,为分子生物学研究、特别是为 RNA 的研究提供了又一种新工具;第四,为探索地球上最早的生命物质、研究地球上最早的生命起源提供了一种新的信息,也就是说,提供了又一条新的、值得考虑的重要线索。因为以后人们又陆续发现 Ribozyme 还具有核苷酸聚合酶的活性,即具有自我复制的活性;特别是最近又发现,蛋白质合成中的关键一步——肽键形成也是由 23S 核糖体 RNA 催化进行的;而且,Ribozyme 的衍生物还能催化甲硫氨酰-tRNA 水解,因此,Cech 等认为,第一个氨酰-tRNA 也可能就是在 RNA 催化下形成的。此外,Ribozyme 的作用底物虽然绝大多数是 RNA,但近年来越来越多地发现了其他一些能为 Ribozyme 作用的物质,例如,氨基酸酯、多糖和 DNA 等。正因为这些发现具有巨大理论与实践意义,Cech 和 Altman 在 1989 年度获得了诺贝尔化学奖。

近年来,不仅有大量 RNA 催化剂的研究,也出现了 DNA 具有催化活性的报道。

但是,应该指出的是, RNA 性质的催化剂的发现,甚至 DNA 催化剂的出现,都未否定“酶的化学本质是蛋白质”的结论。因为:第一,现在已知的酶基本上都是蛋白质性质的,或以蛋白质为主导核心成分;第二,“酶是蛋白质性质的生物催化剂”这一概念并不排斥还存在着其他类型的生物催化剂。

三、酶是生物催化剂

1. 所有的酶都是由生物体产生的

已知的酶都是由生物体合成的,反之,几乎所有的生物都能合成酶,甚至病毒也是这样。有的病毒包括腺病毒、痘病毒等 DNA 病毒和反转录病毒、劳氏肉瘤病毒、呼肠孤病毒等 RNA 病毒,它们本身就能合成多种酶,如 RNA 聚合酶、反向转录酶以及 DNA 甲基转移酶等;有的病毒本身虽然不包含酶,但带有合成某些酶的基因,在感染寄主后能利用寄主的转录、翻译系统,合成其复制过程中所需要的各种酶,如噬菌体等属于这种类型。当然,也还有一些病毒目前尚未发现它们能够合成酶,或者带有编码酶的基因。

对于病毒来说,它们合成的或编码的各种酶起着三种作用。以 T₄噬菌体为例,它至少编码 30 种以上的酶,通过这些酶,保证了 T₄噬菌体在感染了大肠杆菌后:① 优先、快速地复制自身的染色体 DNA;② 选择地降解寄主的 DNA;③ 能够改变寄主的 RNA 聚合酶,使之在感染的不同阶段里能选择性地转录噬菌体的相应基因。再例如,有一些较小的病毒,如 SV40、Φ-174 等,它们本身带有酶的遗传信息虽然很少,主要依靠寄主的酶系来完成自身的蛋白质与核酸的合成。但即使如此,这些病毒仍能编码一些酶或蛋白质来选择性地引发自身 DNA 的合成。

2. 酶和生命活动密切相关

(1) 酶参与了生物体内所有的生命活动和生命过程

酶在生物体内发挥四种类型的作用:① 执行具体的生理机能。例如,肌球蛋白具有 ATP 酶的活性,它和肌动蛋白共同完成肌肉收缩任务;又如,乙酰胆碱酯酶能水解乙酰胆碱,参与神经传导。② 清除有害物质,起着保卫作用。例如,限制性内切核酸酶,能选择性地水解外源 DNA,抵制外源物质的入侵;又如,超氧歧化酶,能破坏超氧负离子(O⁻),防止脂质过氧化;再如,细胞色素 P-450,能催化某些物质的加氧羟化,促进药物、毒物进行生化转化。③ 协同激素等生理活性物质在体内发挥信号转换、传递和放大作用,调节生理过程和生命活动。例如,腺苷酸环化酶,它存在于肾上腺素受体的细胞膜上,当它接受上述受体转达来的激素信号后,就会催化 cAMP 生成,后者再和蛋白激酶、糖原磷酸化酶以及糖原合成酶等组合,协同发挥作用,形成级联反应系统(cascade),将微量的激素信号加以转化、放大,调节糖类的代谢水平,以满足生理活动的需要。④ 催化代谢反应,建立各种各样代谢途径和代谢体系。

生物有两个基本特征:① 都由核酸、蛋白质等生命物质组成;② 都需要不断地进行新陈代谢。这两者之间有着密切的联系,其中,核酸是最根本的生命物质,决定生物的特性和发展方向;蛋白质(包括酶)是体内最活跃的物质,通过它,机体实现各种生理活动。核酸通过酶等的作用进行自我复制,进行转录和翻译,将它密码的遗传信息表达翻译成相应的蛋白

质和酶;酶再催化糖、脂肪等进行代谢,为各种生命活动,包括各种物质的分解与合成代谢,提供能量。因此,在生物体内代谢反应和代谢途径虽然错综复杂,但是,最主要的是两类:生命物质的复制与合成和能量的生成与转换。而在所有这些代谢过程中,酶都起着关键的作用,没有酶,代谢就不可能有条不紊、高速地进行。

(2) 酶的组成和分布是生物进化与组织功能分化的基础

生命物质的复制与合成和能量的生成与转换为一切生物所必需,因此,不论是动物、植物,还是微生物都具有与此相关的酶系和辅酶。但是,另一方面,不同生物又都有各自特征的代谢途径和代谢产物,因此,也有各自特征的酶系和酶谱。所以,即使是同类生物,酶的组成与分布也有明显的种属差异。例如,精氨酸酶只存在于排尿素动物的肝脏内;排尿素的动物则没有。而且,就是同种生物,各种组织内酶的分布也有所不同,例如,肝脏是氨基酸代谢与尿素形成的主要场所,因此,精氨酸酶几乎全部集中于肝脏。不仅如此,即使是同一组织中的同一类酶,由于生长发育阶段的不同,由于功能需要和所处的环境不同,酶的含量也可能有显著差异。例如,与三羧酸循环、氧化磷酸化有关的酶系在心肌中的含量就远比骨骼肌为高,而与酵解有关的酶,如醛缩酶等则恰恰相反。而且,为适应特定功能的需要,甚至在同一细胞内,乃至同一细胞器内,酶的组成和分布也不是均一的。例如,呼吸链中与氧化磷酸化有关酶系就主要集中于线粒体内膜上;并且,这些酶在内膜中的分布也有一定规律。

(3) 酶能在多种水平上进行调节以适应生命活动的需要

生物机体在长期的进化过程中,为适应外界条件的千变万化,保证生命活动的正常进行,不论在酶的合成水平上,还是在酶的结构、活性水平上都已形成了一整套调节机制。一般来说,和生长发育有关的“恒态酶”多通过酶的合成机构进行调节;而和“快反应”有关的代谢关键酶则多在酶的结构、活性水平上进行调节;或者通过这两种方式共同调节。所以,酶不仅通过它本身的作用,通过它的分布,而且也通过它的动态调节来满足生命的各种需要。

综上所述,对于酶,可以这样定义:酶是一种高效、高度专一、和生命活动密切相关的、蛋白质性质的生物催化剂。

第二节 酶(学)与生产实践^(5—8)

酶(学)和工农业生产与医学实践有着密切的关系,可概括为三个方面:

一、酶制剂的应用

这是应用最早,效益最显著,研究也十分活跃的一个方面。

1. 酶制剂在工农业生产上的应用

酶制剂首先可用于加工生产。例如,用相应的水解酶水解淀粉、蛋白质和核酸以生产葡萄糖、氨基酸和核苷酸;用核苷磷酸基转移酶使肌苷磷酸化生产肌苷酸;用葡萄糖异构酶转化葡萄糖为果糖;用青霉素酰胺酶水解天然青霉素合成新型青霉素;用无色杆菌来源的蛋白酶或胰蛋白酶水解、更换猪型胰岛素 B 链羧基端的 Ala 为 Thr,使之改造为人型胰岛素;用金属蛋白酶合成低热量、高甜度的新型甜味二肽 Aspartame 等。

其次,可用于改进产品质量。例如,用脂肪酶水解乳脂为低级脂肪酸,使之增加奶油风

味;用果胶酶澄清果汁、果酒;用橙皮苷酶消除罐头白浊;用柚苷酶、花青苷酶使果汁脱苦去色;用葡萄糖苷酶、醛氧化酶等去除大豆生臭;还可在食品中添加葡萄糖氧化酶用以抗氧化,添加溶菌酶用以杀菌防腐。

酶制剂也可用于革新工艺。例如,纺织工业利用淀粉酶褪浆,不仅能节省化工原料、缩短工艺时间,还可减轻劳动强度,提高产品质量;制革工业应用蛋白酶等,既能加速皮革浸水、软化、脱毛等过程,又可从根本上改变旧工艺脏、累、臭的状况;至于加酶洗涤剂,它的优点是洗涤时间短、去污力强、能延长纺织品寿命。值得提到的还有近年开发的酶法氧化乙烯、丙烯制备环氧乙烷、丙烷的工艺。环氧乙烷、丙烷是合成洗涤剂、合成树脂等的重要工业原料,这条新的工艺路线不仅可免除旧工艺需要高温、高压、容易爆炸、三废严重等缺点,而且投资少、效益高,副产品还是可食用的纯果糖。

此外,酶制剂也能在三废处理上发挥很大作用,现在的趋势是应用固定化酶或固定化微生物处理法代替传统采用的微生物曝气法。例如,用固定化的假单孢杆菌脱卤酶处理废弃塑料;用固定化的混合微生物去除有机磷残留;又例如,将从茄病镰刀霉中分离出来的分解氰化物的酶系作成固定化酶柱,据报道,氰含量高达 2 000 ppm 的废水只需通过该酶柱一次,就能将其中的氰全部去除。

酶制剂在工农业生产上应用的主要问题是:寻找更合适的酶源,降低酶的生产成本,制成安全、有效的剂型和建立优化的高产工艺条件。

2. 酶制剂在医疗实践上的应用

现在用于医疗实践的酶有以下类型:

(1) 消化酶。这是最早的医用酶,包括蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶等水解酶。后来发现有色人种多缺乏乳糖酶,婴幼儿在摄取牛奶时不易消化而下痢,因此有时也包括乳糖酶。消化酶的问题是如何将上述各种酶以合理的配比,做成适于各种要求的、稳定的剂型。

(2) 消炎酶。人们很早就已经知道蛋白酶具有消炎作用,例如,临床上采用胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、菠萝蛋白酶等治疗炎症和浮肿疾患,以清除坏死组织。作为消炎酶的还有核酸酶、溶菌酶等。链激酶、尿激酶、尿酸酶也可划属消炎酶。前两者可用于移去凝血块,治疗血栓静脉炎等;后者可用以分解尿酸,治疗关节炎。消炎酶的需求量正迅速上升,有超过消化酶之势。

(3) 抗肿瘤酶。和其他抗肿瘤药物的治疗机制完全不同。以 L-门冬酰胺酶治疗白血病为例。在正常细胞中由于具有合成 L-门冬酰胺的相关酶类,因此可从 L-门冬氨酸、L-谷氨酰胺和 α -酮基琥珀酸酰胺等直接合成细胞所需要的 L-门冬酰胺;但是,白血病肿瘤细胞不同,它们缺乏这些酶,而必须通过血液循环从正常细胞获取所需的 L-门冬酰胺。因此,对于白血病患者来说,如果给他们投注 L-门冬酰胺酶,并切断 L-门冬酰胺的外源供应,这些肿瘤细胞就会由于缺少必要的 L-门冬酰胺而“饿死”,从而达到治疗的目的。同理,据报道,谷氨酰胺酶、精氨酸酶、丝氨酸脱水酶、苯丙氨酸氨解酶和亮氨酸脱氢酶等也具有抗肿瘤作用。类似地,喋呤脱氨酶由于能使喋呤、叶酸等脱氨,切断嘧啶核苷酸等的供应,因而,同样有抗肿瘤活性。

(4) 遗传缺失疾患治疗酶。现在已知由于酶基因缺失而引起的遗传病至少有 10 种以上。从理论上说,治疗的办法有三种:一是通过遗传学手段在染色体基因组中补进所需要

的缺失基因,这一方面目前已有一些转基因成功的例证,但从技术角度而言尚难广泛应用;二是供给患者特种食物,即在该种食物中不包含、同时在机体摄入后也不会转化为所缺失的酶的底物成分,这一办法相当复杂而且代价高昂;第三种途径是向患者提供所缺失的酶,这一设想已在 1964 年开始实验,主要用于治疗溶酶体有关的酶缺失疾患。例如,用淀粉葡萄糖苷酶治疗糖原堆积症已获得成功;又如,用 PEG 修饰的牛肠腺苷脱氨酶治疗免疫缺陷病已经 FDA 批准用于临床。

(5) 其他治疗酶。包括用超氧歧化酶(SOD)来消除超氧负离子,防止脂质过氧化;用透明质酸酶提高毛细管的通透性,增进药物的吸收效果;用右旋糖酐酶防止龋齿等。

药物酶是一个十分重要、而且有广阔前景的领域,但目前还远未达到预期的水平,特别是以注射方式使用的药物酶还存在着一些急需解决的问题,例如:作为异体蛋白在体内易引起免疫反应;容易被降解、被代谢,药效期短;酶制剂本身的纯度不高,杂质可能导致某些副作用;如何将药物定向地分布到所需要的组织细胞中去等。药物酶的发展方向之一是微型胶囊化(microencapsulation);另一则是制成酶的衍生物。例如,可将酶包埋固定于水溶性或水不溶性高分子载体中,也可将酶包埋于血影细胞(erythrocyte ghost)或脂质体(liposome)中,这样既能使酶和免疫系统、蛋白酶等隔开,将酶保护起来,同时也有助于被细胞吸收。某些情况下,还可在脂质体等载体上引入一定的基团起导向作用,以便将药物酶引向相应的靶部位。还有一种发展趋势就是将相应的药物酶固定后,组成“人工脏器”用于治疗先天性酶缺失及组织功能衰竭等所引起的疾患。

3. 酶制剂工业状况

酶制剂工业近十年来发展十分迅速,1974 年全世界酶制剂销售总量不过 4 000 万美元,但 1984 年已增长到近 4 亿美元,1993 年达 10 亿美元,至 1997 年为 15 亿美元。和其他产业一样,国际酶制剂市场竞争也非常激烈,不断兼并、扩建、重组,整个格局最终趋于垄断。据 1985 年统计,世界上酶制剂生产厂约 25 家,集中于西欧和美国,其中 9 家公司的产值占世界的 90%,其余 16 家占 10%;控制世界市场的是丹麦的 NOVO Nordisk、荷兰的 Gist - Brocade 和美国/芬兰的 Genencor Inter;但是在 1995 年后,Genencor Inter 先后兼并了 Gist - Brocade 和比利时的 Solvag,NOVO Nordisk 也收买了 Shova Derhom,从而使 NOVO Nordisk 和 Genencor Inter 最终垄断了世界绝大部分酶制剂的生产和销售,这两家 1997 年的销售额达 11 亿美元,占世界市场的 70% 以上;特别是 NOVO Nordisk,如果说,世界市场今后几年的销售额大约以 7% ~ 8% 的速度增长的话,那么,NOVO Nordisk 预测将保持 10% ~ 15% 的增长速度。表 1.2 列举了近十年来国际酶制剂市场的销售额和其中各种工业用酶所占有的比率。至于我国酶

表 1.2 近十年国际酶制剂的销售额和各种工业用酶所占的比率

年 份	1974	1984	1993	1995	1996	1997
销售额及各品种比例						
总销售额(亿美元)	0.4	4	10	11	13	15
洗涤剂用酶(%)			40	37	34	38
淀粉加工用酶(%)			12	11	12	11
纺织工业用酶(%)			13	13	11	9
其他(%)			35	39	43	42

制剂工业,近十年虽有很大发展,据 1996 年的统计,酶制剂的产量是 24 万吨,但这个数字和发达国家相比相距甚远。

二、酶分析的应用

酶分析(enzyme analysis)是通过酶反应速度的测定以达到临床检验和化学分析目的的一类分析。包括两种类型:一是以酶为分析对象的分析,称为活力测定(enzyme assay);二是以酶为分析工具的分析,又称为酶法分析(enzymatic analysis)。这两类分析在原理和方法上基本相同。

1. 酶活力测定

在科学研究、工农业生产和医学实践中经常要进行酶的活力测定,因为机体的机能状况、产品质量的好坏常会在某种或某些酶的含量和活性上得到反映,而这些只有通过活性测定才能确定,因此酶活力测定具有重要的理论与实用意义。这类分析现已广泛用于临床辅助诊断。

酶在细胞内合成,各种组织细胞都有体现各自特征的标志酶,这些酶在正常情况下,很少渗出细胞。但当机体发生病变时,它们在组织和体液内的活性就会发生变化,因此,人们可通过检定其中某些酶的活力作为早期诊断、鉴别诊断以及预后的参考。以体液内的酶活力为例,引起其改变大致有以下几种原因:① 组织病变导致膜平衡的破坏,如谷草转氨酶(GOT)在心肌中含量最高,但心肌梗死情况下,细胞透性增大,因而患者的血清中 GOT 显著升高,高峰时可达正常值的 10 倍以上。② 细胞病变引起合成机能异常,例如,一种称为“血浆特异酶”的卵磷脂胆固醇转酰基酶(LCAT),它是在肝细胞中合成的,而后分泌到血液中发挥作用,肝炎患者此酶合成下降,因而它在血清中的水平低于正常。③ 疾病导致酶的分泌排出受阻,使酶转而流入血液中,因此血清中酶的活性水平改变。如梗阻性黄疸或癌转移至肝脏使胆管阻塞,故而血清中碱性磷酸酯酶升高。④ 药物直接影响酶活性,如有机磷能不可逆地抑制血清中乙酰胆碱酯酶。

酶用于临床诊断有一定参考价值,但存在一个根本性的问题,即特异性不高。例如:血清淀粉酶常作为急性胰腺炎的诊断指标,然而,唾液腺炎、急性腮腺炎、穿孔性肠膜炎,特别是十二指肠溃疡等疾病都可能引起血清淀粉酶升高。解决的办法有:① 进一步寻找组织特异酶;② 测定同工酶酶谱,有些酶虽然不是组织特异的,但同一种酶在不同组织中往往表现为不同的同工酶谱,可通过电泳等方式加以鉴别;③ 进行酶谱比较,或同时测定两种或多种酶,或进行血液酶和尿液酶比较。例如,同时测定 GOT/GPT(谷丙转氨酶);又例如,急性胰腺炎初期血清淀粉酶升高,后期尿液酶升高;而慢性胰腺炎、胰肠癌则主要是尿液酶变化。

酶活力测定的发展方向:① 简便化,制成各种检定纸片,如市售的 Bactostrip 就是用 2,3,4-三苯基四唑浸渍的纸片作成的细菌检定纸片,该纸片在细菌还原酶作用下生成红色,根据颜色的改变可以判断细菌的污染情况;② 自动化,这在需要进行大量测定时特别重要,包括从加样、反应、检测到数据处理的全自动化测定与从加样、反应、检测到纪录的半自动测定,前一种类型的测定仪每小时可检测 1 200 个左右的样品。

2. 酶法分析

这是借助酶高效、高度专一的催化作用,以酶作为分析试剂或分析工具进行的一类分析,可用以检测样品(如食品、药物以及体液等)中某种物质的含量。测定的范围很广,凡是与酶反应有关的物质,如酶的底物、辅助因子、甚至酶的抑制剂等都能采用这类分析方法。在具体实施时,只需根据待分析对象选择一种适宜的“工具酶”,并在该分析对象存在条件下进行反应,然后借助物理方法或化学方法跟踪检测,最后根据待测对象与酶反应的关系,将测得的结果进行动力学分析处理,就可以求知所要检测的物质的含量。例如,要测定发酵液中某氨基酸的含量,可选择专一于该氨基酸的脱羧酶作为工具酶进行催化。在这种情况下,被测对象是酶的底物,所以根据酶反应过程中放出的 CO_2 ,就可计算出该氨基酸的含量。

和一般化学分析法相比,酶法分析的特点是它具有较高的选择性,在待分析对象与其他相似物质混杂的复杂系统中能直接通过酶的专一性选择地催化待测物进行反应,然后根据测得的反应速度或酶活性与待测成分的对应相关性,求知待测成分的含量,从而免除了一般化学分析需要事先进行的一系列萃取和精制预处理,同时不受类似物的干扰,能简便地获得可靠的结果。此外,某些物质如辅酶 A、有机磷等有时很难找到,甚至根本没有直接、简便的纯化学分析法可供选用,这种情况下却能借助酶法分析加以解决。

酶法分析的主要问题是需要有适宜的、高纯度、高比活力的工具酶,因而所需的代价也较大。其次,如上所述,工具酶在酶法分析中仅起一种温和而专一的预处理作用,最终仍需采用化学方法或物理化学方法进行检测,因此,酶法分析本身需要不断地吸取分析化学,特别是近代仪器分析的先进成果来武装自己,发展自己。

酶法分析的发展趋势是:① 简便化,作成“检测试纸”等应用形式。例如,可将葡萄糖氧化酶、过氧化物酶和邻联茴香胺类的色源底物组合在一起并固定于滤纸上制成尿糖试纸,检测时只要将这种试纸在病人小便中浸湿,根据一定时间后产生的颜色深浅,即可估测出其中葡萄糖的含量。② 微量化、连续化和自动化。通常的办法是将工具酶制成酶电极,或将工具酶固定化制成酶管或酶柱并和检测装置偶联,例如,临床上现在发展的一种葡萄糖氧化酶电极,只要通过观测氧阴极上氧含量的变化,就可简便地检测体液中微量的葡萄糖。

3. 酶免疫分析(Enzyme Immunoassay, EIA)

在 70 年代初,从免疫化学发展出了一种称为“酶标免疫”的分析方法,它是将免疫学的专一性和酶的高效催化能力有机地结合在一起,建立的一种高度特异、灵敏的分析方法。酶标免疫分析法是以酶作为标记物质,标记抗原(或抗体),作成酶标抗原(或抗体),然后根据待测抗体(或抗原)与酶标抗原(或抗体)专一、定量的结合关系,通过测定结合后的标记酶活力,就可计算出抗体(或抗原)的含量。

酶标免疫分析法和荧光免疫分析法或放射免疫分析法相比,优点是:不需要特殊复杂的设备和仪器;灵敏度高;重复性好;对健康无害。因此,近年来受到极大的重视。这种方法现在已扩展到许多学科领域,检测对象不仅是抗原或抗体,也包括许多药物、激素和抗生素,甚至是酶本身。

三、酶生物学知识的应用

作为生物催化剂,酶和生命活动密切相关。一方面,酶在体内的活性水平反映了生物的生理状况;另一方面,如果控制机体内酶的活性水平,就能对生物的机能活动作出相应的调整。因此,了解酶的生物学规律和知识对于生产实践有着极为重要的意义。例如,在工农业生产中,特别是在发酵生产中,通过对外界条件的控制或遗传因子的改造,进行代谢调控,就有可能提高产量;在医学和农业上,根据机体正常与病理情况下酶或酶系的活性变化,就有可能找出发病的原因,从而指导药物的筛选和应用。

1. 提高发酵代谢产物的产量

(1) 添加酶的抑制剂。以柠檬酸的生产为例。在柠檬酸的发酵生产中往往会伴随形成一定量的异柠檬酸,这是因为菌体内同时存在有顺乌头酸酶的原故,这种酶能使部分柠檬酸转化为异柠檬酸。为此,如果在发酵系统中添加氟乙酸等抑制剂,或在培养基中限制 Fe 的供应,使顺乌头酸酶的活力受到抑制,就可能减少异柠檬酸的生成,提高柠檬酸的产量。基于同样的道理,通过诱变获得了对氟乙酸敏感的突变株,结果柠檬酸产率也同样得到了显著的提高。

(2) 控制代谢系统中的关键酶。以赖氨酸的生产为例。赖氨酸可采用多种菌株进行生产,其中较常用的为黄色棒状短杆菌。在这种细菌的赖氨酸合成调节机构中,赖氨酸和苏氨酸对该代谢途径中的第一个酶,即门冬氨酸激酶表现协同性反馈抑制效应;但和大肠杆菌不同,赖氨酸对分枝途径的第一个酶——二氢吡啶羧酸合成酶无反馈调控作用。根据这一特点,显然只要通过控制苏氨酸的浓度,克服协同性反馈抑制,赖氨酸就可大量合成。基于这一认识,诱变获得了高丝氨酸脱氢酶缺失的变异株(不能合成苏氨酸)!在进行该营养缺陷型变异株的培养时,如果同时限制外源苏氨酸和甲硫氨酸的供应,那么赖氨酸的产量可提高到 40 g/L 以上。

(3) 添加酶制剂。仍以发酵生产为例,在发酵过程中,如果向体系中添加某些酶制剂,增大菌体细胞的通透性,促进产物的分泌,克服反馈抑制,就应能使产量显著提高;事实也表明,通过这条途径往往可获得预期的效果。例如,用嗜氨小杆菌生产谷氨酸,以 7% 的甜菜糖蜜为碳源时,如果在发酵 10 h 后添加 0.08% 的溶菌酶,则 48 h 后,谷氨酸产量可提高 6 倍;如果在发酵 4 h 后添加 10 u/ml 的脂肪酶,则 48 h 后的产量可提高 12 倍。

2. 药物、农药、毒物和解毒药物的设计

现在应用的许多药物和农药,事实上都是酶的抑制剂,它们的作用是抑制代谢途径中的“关键酶”,或者防止异常代谢出现,或者造成菌、虫、“害”的代谢和机能紊乱,从而达到消除病害,恢复健康的目的。例如,高血压是人类常见的疾病,在体内最强的升压物质之一是血管紧张素,而这种物质是由血管紧张素原通过血管紧张素原转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)催化生成的,因此,如果能设法抑制 ACE,那么就有可能控制高血压。ACE 是一种羧基端解二肽酶,结构上和羧肽酶 A 相似,也是含锌蛋白;已知羧肽酶 A 的抑制剂是一种苄基丁二酸;而肽酶的强力抑制剂的末端氨基酸多为脯氨酸。为此,有人最初设计了丁二酰脯氨酸,实验表明它能抑制 ACE,但是一种较弱的竞争性抑制剂,后来将巯基取代了原有羧基,

它的抑制能力大大增强,达到 $K_i = 1.7 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$,而且可以口服,这就是现在常用的一种控制高血压药物:开博通(Captopril)。又例如,为人熟知的常用磺胺药,它是根据某些细菌在代谢途径中,特别是在核酸合成代谢中需要以对氨基苯甲酸为核心成分的叶酸辅酶;磺胺是对氨基苯甲酸的类似物,它能竞争性地抑制上述叶酸辅酶参与的反应,从而达到抑制细菌生长,治疗疾病的目的。再例如,有机磷药物,它的作用机理是能强烈地抑制乙酰胆碱酯酶,引起动物的生理失调,最后导致动物死亡。根据对该酶结构功能的研究,现在已经设计、制造出多种高亲和力、高度专一的有机磷化合物,它们都是高效的毒物。而解毒药物如解磷定等,则是基于同样机理,从“相反的方向”竞争性地将有机磷化合物从酶上拉下来,使酶从抑制中解脱出来,恢复正常的生理功能。酶的抑制剂和国防事业也直接关联,例如,有机磷毒物最初就是战争中发明出来的一种神经毒气(nerve gas),而现在用的解磷定等也正是当时适应国防需要而设计出来的解毒药物。类似地,二巯基丙醇也是当时英国用来对付发泡糜烂性的“路易斯”毒气产生的解毒药物,故称为“英国抗路易斯(British anti-Lewisite, BAL)”。

现在已经能制造许多强有力的农药或治疗药物,它们对菌、虫、杂草和病理组织如癌细胞都有着强烈的抑制、杀伤作用。但是,又往往都缺乏选择性,在杀死菌、虫、杂草、癌细胞等的同时,也可能伤害到正常的作物和正常的组织细胞,或者残留下来影响人畜健康,从而限制了它们的应用。这就是人们正在努力探索解决的药物专一性问题。途径之一同样是利用酶的生物学知识,即根据不同生物体中酶或酶系的特征差异、正常和病理组织中酶或酶系的特征差异来设计、制造高专一性的农药和治疗药物。例如,一种称为 DCPA (3,4-二氯丙酰替苯胺)的除草剂,它能有效地杀死稗草,但却不伤害它的“近亲”——稻,原因就在于稻的茎叶中有能分解 DCPA 的水解酶,而稗草中没有。又例如,人们根据某些癌细胞中酯酶的活力远低于正常组织的特点,设计了 2,2-二(2-氧乙硫)乙酸乙酯,这种药物能抑制肿瘤生长,但进入正常细胞后就会被迅速水解,化为低毒物质后代谢排出,因此,它能“专攻”某些癌细胞,用于治疗何杰金氏病及乳房癌等,临床表明具有良好疗效。再例如,艾滋病(AIDS)的防治是当前颇受人们关注的重大问题,现努力正从各个角度寻求专一的治疗办法,其中也包括设计和寻找某些关键酶的抑制剂,例如,已知在 AIDS 病毒(human immunodeficiency virus, HIV-1)的增殖、加工成熟以及侵染过程需要反向转录酶和特殊的蛋白酶,根据这些酶的结构特点,人们已分别设计了二脱氧次黄嘌呤(ddi)与含乙烯的寡肽等作为专一的治疗药物。

一般地说,只要能够找出不同生物间、正常和病理细胞间的酶和酶系统的特征差异,就可能在强有力的抑制剂上加上“导弹”形成“生物导弹(biomissile)”,使药物直达靶细胞,从而达到选择性地发挥作用的目的。

酶的生物学知识也有助于解决药物和农药的耐药性问题。例如,长期使用卡那霉素,就可能在带有 R 因子的细菌体内诱导出卡那霉素磷酸激酶或转乙酰基酶,分别作用卡那霉素的 3'-OH 基形成磷酸酯衍生物,或作用 6'-NH₂形成酰胺衍生物,导致卡那霉素失效,产生耐药性。显然,了解到耐药性形成的原因,将这种药物的相应基团改造成上述酶不能作用的衍生物后,就有可能提高该药物的抗耐药性的能力。

酶(学),正在生产实践中发挥着很重要的作用,而且蕴藏着巨大的潜力。随着酶学的发展,它的应用也必将跃入更新的境界,展现更加宽广的前景。

第三节 酶学与基础理论⁽⁹⁻¹¹⁾

酶(学)和基础理论的关系表现在两个方面:

一、酶学 and 现代化学

现代化学已经形成了一个完整的反应理论体系。它不仅为酶(促)反应动力学规律的建立、酶催化机理的阐明奠定了基础,也为酶学的进一步发展提供了依据,为新的酶学理论提供了有机反应实验模型,因此酶学的进步和现代化学有着十分密切的关系。

现代化学虽然使人们能够大量获得各种性能优异的物质。可是,当前采用的化学反应大都需要相当猛烈的反应条件,而且反应过程常常伴随着产生其他副产品。以工业合成氨为例,反应往往要求几百度的高温、数百个大气压(高压法达 700 个以上的大气压),这样既不安全,又要消耗大量能源。反之,地球上的固氮生物却能在常温、常压下,每年从空气中将 1 亿吨左右的氮固定下来。这里的关键在于生物固氮是在固氮酶的催化下进行的。因此,阐明固氮酶的催化机理,无疑会对化学工业和催化理论产生重大的影响。

酶的作用原理包括两个范畴:催化机制和调节机制。调节机制在现代化学中目前还未深入触及,因此,酶作用调节原理的揭示也必将进一步充实现代化学理论。

二、酶学与分子生物学

1. 酶是分子生物学有力的研究工具

分子生物学的任务是要从分子水平上阐明生命的本质和规律。核酸和蛋白质是生命的物质基础,因此,研究核酸、蛋白质的结构与功能关系是分子生物学的一个中心课题。酶,可以在这一课题中发挥十分重要的作用。以核酸、蛋白质的一级结构测定为例: Sanger 等在 1955 年首先完成了由 51 个氨基酸组成的胰岛素的一级结构测定,并为蛋白质结构分析奠定了坚实的基础,从而使数以百计的蛋白质(包括酶)的一级结构测定得以迅速解决。而在这种测定中,第一步就是采用胰蛋白酶、葡萄球菌蛋白酶以及化学方法等将待测蛋白质进行专一性的部分水解,使之片断化,然后借助“二甲氨基苯磺酰氯 - Edman 顺序降解法”进行片段的氨基酸序列测定,最后再通过“片段重叠法”确定整个蛋白质分子的结构序列。与此相对应的,核酸的结构分析比蛋白质的难度要高,因为核酸的分子大,而且核苷酸单体种类少,所以,过去几十年这方面的研究进展较为缓慢。70 年代后期,由于新技术、新方法的应用,特别是由于某些专一性的工具酶的出现以及它们的巧妙应用,核酸结构的研究才有了重大突破。在 DNA 的测定方面,现在有 Sanger 和 Maxam 与 Gilbert 以及我国学者们分别发展的各种方法,通过它们就能在短时间内完成大分子 DNA 全部一级结构测定。DNA 测定的战略不同于蛋白质,它不是通过直接测定 DNA 片段中的核苷酸顺序,而是先用不同方法进行专一性处理以分别得到四种核苷酸结尾的片段,然后再根据它们的长短,从聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱自下而上地依次读出核苷酸的排列顺序。就具体方法而言,这种序列测定可大体分为两种类型:酶法和化学法。这些方法和与之相关的其他方法如足印法(foot-printing)等的第一步一般都要将 ^{32}P 标记的 DNA 通过酶法,例如,用适宜的限制性内切核酸酶进行水解;应用酶法测序时,还需要用 DNA 聚合酶合成各种核苷酸片段。至于 RNA 的结构测定,有两

类方法:其一是用类似于蛋白质分析的片段重叠法。另一则是借鉴于 DNA 分析采用的直读法,也就是先用聚核苷酸激酶将³²P 标记到待测 RNA 的 5' - 末端,然后再用高专一的 RNase T、RNase U、RNase A 和 RNase I 等酶切成各种相应的片段,最后再通过电泳进行分析;或利用依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶或者反向转录酶合成一系列对应的、不同链长的 RNA 或 DNA 片段,然后进行电泳分析。除了核酸的一级结构测定外,酶,在绘制基因地图,进行基因定位、体外基因重组(即基因工程)以及蛋白质的定位突变等研究与应用中也是非常重要的有效工具。

2. 酶是分子生物学的重要研究对象

酶是具有催化功能的蛋白质,因此它也是分子生物学的重要研究对象。酶的分子生物学就是要从酶的分子水平出发探讨生命的本质与规律。它包括以下方面的内容:酶的结构与功能;酶与细胞结构;酶和生命活动、生命过程;酶与代谢调节;酶和生物的生长发育、生物进化;以及酶与疾病等。

第四节 酶学的发展历史⁽¹²⁻¹³⁾

酶学一般认为始于 1887 年 Buchner 的发现,因为它表明酶能够以溶解的、有活性的状态从破碎的细胞中分离出来,从而推动了酶的分离及其理化性质的进一步探讨,也促进了各种与生命过程有关酶系统的深入研究。

以后,酶学沿着两个方向发展,一是从 1894 年 Takamine 等开始的酶的应用研究。这个领域的工作者将酶的合成调节理论应用于酶的生产获得了明显的成效,他们采用酶的各种分离纯化技术制备了不同规格的酶制剂,发展了固定化酶技术,并将它们投入了不同规模的生产。同时根据酶反应动力学理论,运用化学工程的成果建立了多种类型的酶反应器。酶工程实际上也就是这一基础上逐渐形成和发展起来的。

另一方面,则是从事理论探讨,其中有的侧重于酶的物理化学性质与催化性质的研究,例如:Summer 和 Northrop 等为酶的分离纯化开辟了道路;Sanger、Moore 和 Stein 等建立了蛋白质一级结构测定方法;Kendrew 和 Perutz 以及 Phillips 发展了 X - 衍射晶体分析技术,并将它用于蛋白质、酶的结构与功能的研究;Michaelis 和 Menten 等为酶反应动力学打下了坚实的基础;Fischer 和 Koshland 等提出了酶作用的锁和钥匙学说及诱导契合学说。这些研究使人们对酶有了更深入的认识。另一方面,也有相当多的学者更侧重于酶的生物学研究,例如: Hill 和 Meyerhof 等确立了糖酵解系统;Krebs 等建立了三羧酸循环;Jacob、Lwoff 和 Monod 提出了酶合成调节机制——操纵子学说;Claude、Palade 及 de Duve 探讨了真核生物体内细胞器的结构和功能;Temin 和 Baltimore 发现了反向转录酶;Arbert、Smith 和 Nathans 对限制性内切核酸酶的作用及应用作了奠基的工作;Michell 揭示了氧化磷酸化的机制,提出了化学渗透学说;Koshland 和 Monod 等对别构酶的调节机制作了系统研究,分别提出了对称齐变学说和序变学说。这些研究为酶的分子生物学建立了一座座里程碑,有力地推动了酶学的发展。但不管是应用研究,或是酶的物理化学性质、催化性质的研究,还是酶的生物学研究,它们都不是孤立的,而是相互关联、相互渗透、相互促进的。

现代酶学正沿着两个方向:酶的分子生物学和酶工程(学)在发展。酶分子生物学的任

务则是要更深入地揭示酶的结构和功能的关系,酶的催化机制与调节机制;揭示酶和生命活动的关系;进一步设计酶、改造酶;在基因水平上进行酶的调节和控制。酶工程(学)的任务是要解决如何更经济有效地进行酶的生产、制备与应用,将基因工程、分子生物学成果用于酶的生产,进一步开发固定化酶技术与酶反应器。

参 考 文 献

一、酶是生物催化剂

- (1) Radzicka A, Welfenden R. *Science*, 1995, **267**:90
- (2) Corey MJ, Corey E. *Proc. Natl. Acad Sci. USA*, 1996, **93**(21):11 428
- (3) Uessugi, S. *化学と生物*, 1997, **50**(7):970
- (4) Li Y, Sen D. *Biochemistry*, 1997, **36**(18):5 589

二、酶(学)与生产实践

- (5) Neidleman SL. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1992, **3**(2):119; 1994, **5**(2):206
- (6) Fabor K, Franssen MCR. *Trends Biotechnol.*, 1993, **11**(11):461
- (7) Tarbit MH, Bayliss MK. *Biochem. Soc. Trans.*, 1993, **21**(4):1 018
- (8) Godfreg T, West S(eds). *Industrial Enzymology: The Application of Enzyme in Industry*. New York: Stockton Press, 1996

三、酶学与基础理论

- (9) Turner MK. *Trends Biotechnol.*, 1995, **13**(5):173
- (10) Kuchner O, Arnold FH. *ibid.*, 1997, **15**(12):523
- (11) Flynn DL, Aboud NA & Holwerda BC, *Curr. Opin Chem. Biol.*, 1997, **1**(2):190

四、酶学的发展历史

- (12) Colin JS. *Enzyme Chemistry: impact and Applications*, 2nd ed.. London: Capman and Hall, 1990
- (13) Cannon WR, Siingleton SF & Benkovic SJ. *Nat. Struct. Biol*, 1996, **3**(10):821