



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

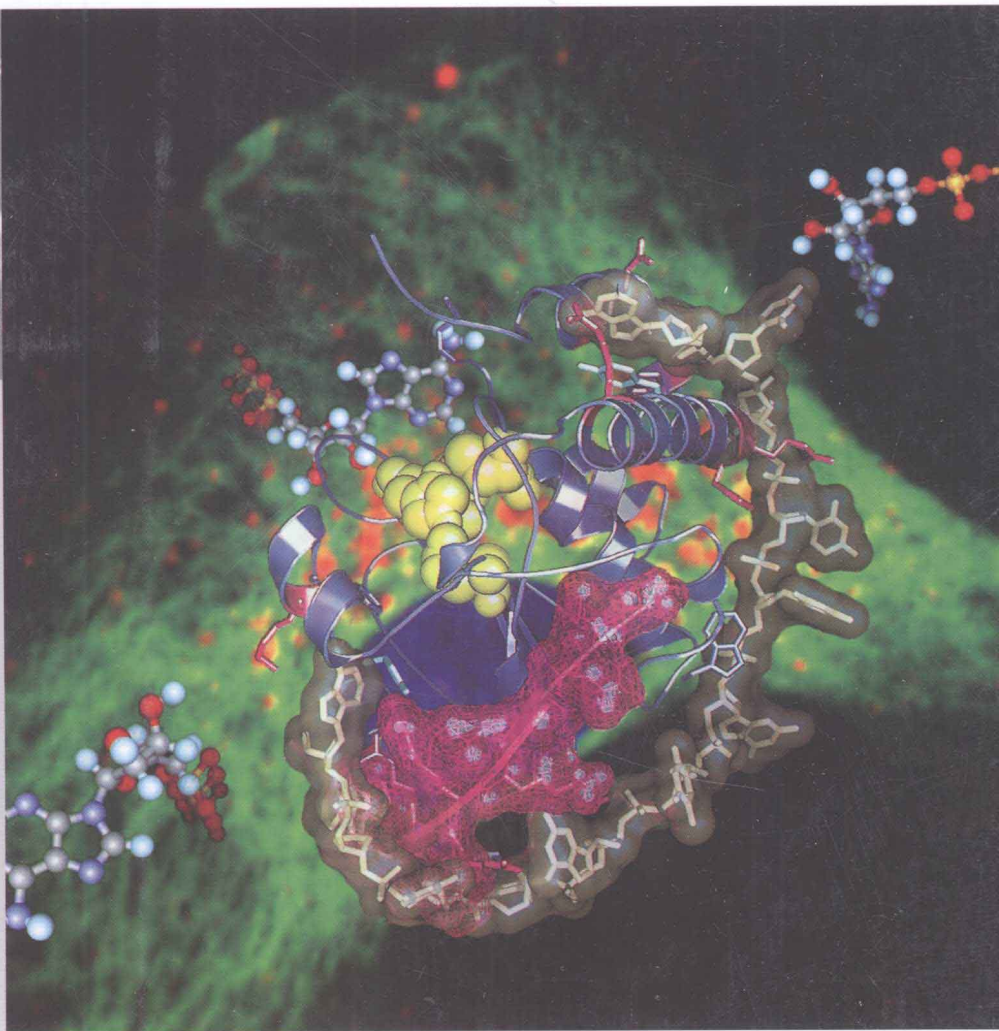
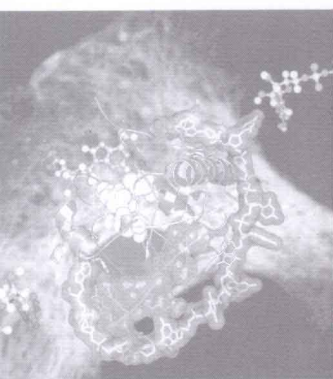
现代生物化学工程丛书

酶与酶工程

ENZYMES AND (第二版)

ENZYME ENGINEERING

袁勤生 / 主编



华东理工大学出版社
EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

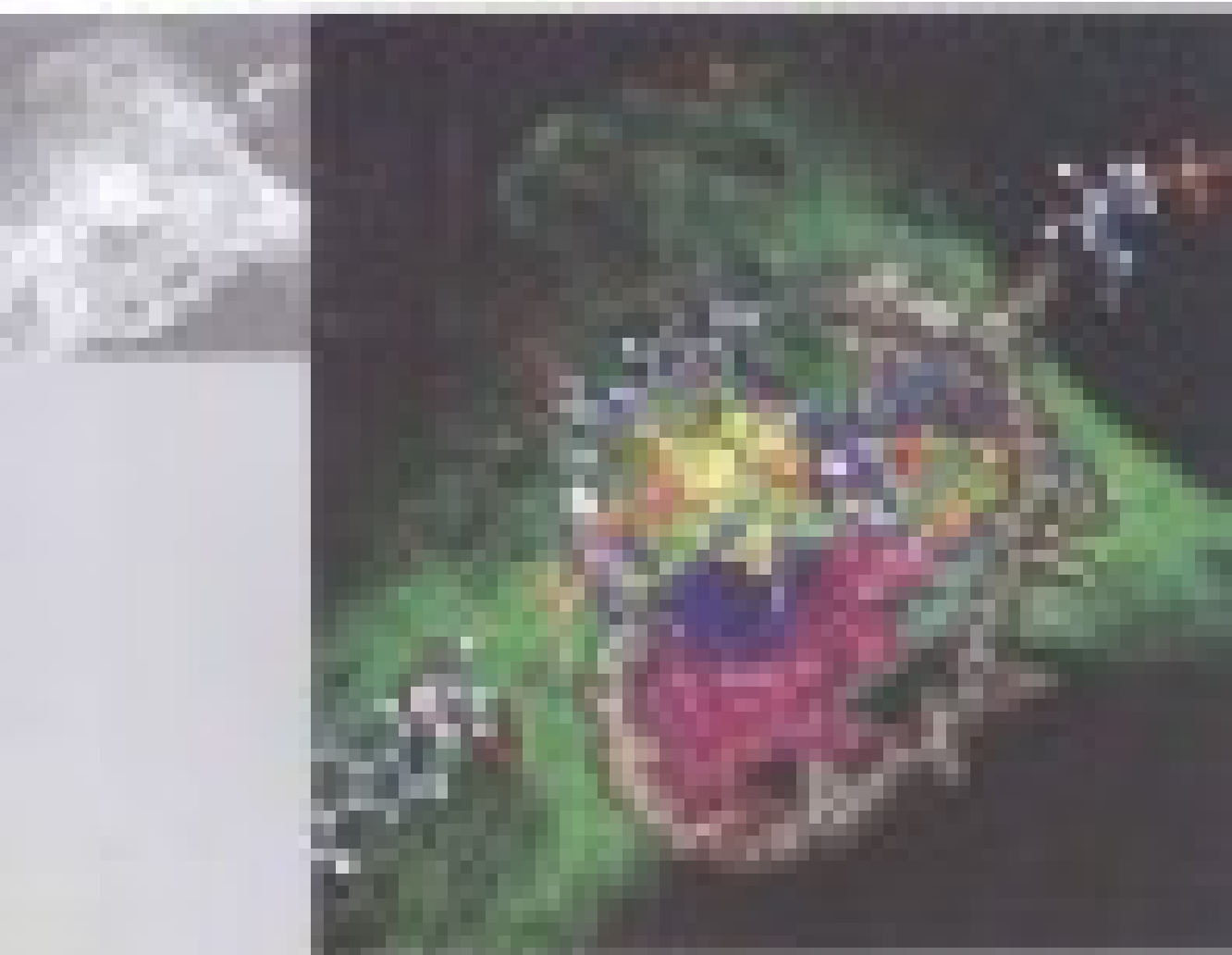


ENZYME TECHNOLOGY
A SERIES OF TEXTBOOKS

酶与酶工程

ENZYMES AND (H=H)

ENZYME ENGINEERING (H=H)



ENZYME ENGINEERING

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
现代生物化学工程丛书

酶 与 酶 工 程

(第二版)

袁勤生 主编

图书在版编目(CIP)数据

酶与酶工程/袁勤生主编. —2版. —上海:华东理工大学出版社,2012.8

普通高等教育生物类专业规划教材

ISBN 978-7-5628-3297-3

I. ①酶... II. ①袁... III. ①酶学-高等学校-教材
②酶工程-高等学校-教材 IV. ①Q55②Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 122147 号

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

现代生物化学工程丛书

酶与酶工程(第二版)

主 编/袁勤生

责任编辑/焦婧茹

责任校对/金慧娟

封面设计/王晓迪 裘幼华

出版发行/华东理工大学出版社有限公司

地 址:上海市梅陇路 130 号,200237

电 话:(021)64250306(营销部)

64252344(编辑室)

传 真:(021)64252707

网 址:press.ecust.edu.cn

电子邮箱:press@ecust.edu.cn

官方微博:e.weibo.com/ecustpress

印 刷/常熟华顺印刷有限公司

开 本/787mm×1092mm 1/16

印 张/28.25

字 数/728 千字

版 次/2005 年 8 月第 1 版

2012 年 8 月第 2 版

印 次/2012 年 8 月第 1 次

书 号/ISBN 978-7-5628-3297-3

定 价/58.00 元

(本书如有印装质量问题,请到出版社营销部调换。)



作者简介

袁勤生, 教授, 博士生导师, 1940年6月生, 江苏武进入。1964年毕业于上海科技大学生物物理化学系, 毕业后留校任教; 1972年调入华东化工学院(现华东理工大学)工作; 1985年晋升副教授, 1990年晋升教授。曾任华东理工大学生物工程学院院长。主要兼职有: 国家新药评审委员会委员(生物制品); 国家药典委员会委员

(2000年版); 中国药学会理事, 中国药学会生化与生物技术药物专业委员会主任委员, 中国生物化学与分子生物学会常务理事, 中国生物化学与分子生物学会工业生物化学与分子生物学会分会理事长; 上海市药学会生化药物专业委员会名誉主任委员; 中国生化制药工业协会专家委员会特聘委员; 《中国生化药物杂志》、《药物生物技术》副主编以及《中国生化与分子生物学报》、《食品与药品》、《华东理工大学学报》等多家期刊杂志的编委。

袁勤生教授的主要业务专长为: 酶与酶工程、生化与生物技术药物。近年来出版的著作及教材有: 《药品集》生化药物部分, 参编, 上海科学技术出版社(1983); 《酶工程》, 参编, 化学工业出版社(1991); 《生物制药工艺学》, 主要编委, 中国医药科技出版社(1994); 《应用酶学》, 主编, 华东理工大学出版社(1994); 《现代酶学》, 主编, 华东理工大学出版社(2001); 《化工大辞典》, 分编主任, 化学工业出版社(2003); 《酶与酶工程》, 主编, 华东理工大学出版社(2005); 《实用生物制药学》, 副主编, 人民卫生出版社(2007); 《现代生物工艺学》, 参编, 华东理工大学出版社(2007); 《超氧化物歧化酶》, 主编, 华东理工大学出版社(2009); 《生物催化工程》, 参编, 华东理工大学出版社(2009); 《酶类药物学》, 责任主编, 中国医药科技出版社(2011)。

袁勤生教授长期以来从事生化及应用生化的教学和科学研究, 尤其在酶与酶工程、生物医药等领域颇有建树; 在国内外重要刊物上共发表论文300余篇, 其中有关超氧化物歧化酶(SOD)的论文近200篇, 并获得多项专利及省部级科技成果。袁勤生教授是我国SOD研究与应用领域的开拓者之一, 所在协作组研究开发的国家二类新药“肌注射超氧化物歧化酶”已通过卫生部新药评审, 研制的SOD产品荣获1994年美国匹兹堡国际博览会发明与新产品金奖。此外, 他还开发了10多种生物技术新产品。

由于袁勤生教授在教学和科学研究上的杰出贡献, 1992年其享受国务院特殊津贴, 1994年被美国ABI权威机构载入国际名人录, 2001年中国药学会和中国药学会发展基金会授予他首届“中国药物发展奖”提名奖。

本书编委会

主 编 袁勤生 华东理工大学生物工程学院 教授 博导
副主编 赵 健 华东理工大学生物工程学院 教授
王凤山 山东大学药学院 教授 博导

编委(以姓氏笔画为序)

王凤山 山东大学药学院 教授 博导
王富军 上海中医药大学 副教授
李素霞 华东理工大学生物工程学院 副教授
吴兴中 复旦大学上海医学院 教授 博导
张兴群 东华大学化工与生物工程学院 副教授
张晓彦 华东理工大学生物工程学院 博士
范立强 华东理工大学生物工程学院 副教授
郑伟娟 南京大学生命科学学院 教授
胡红雨 中科院上海生物化学与细胞研究所 研究员 博导
赵 健 华东理工大学生物工程学院 教授
袁勤生 华东理工大学生物工程学院 教授 博导

前言

21 世纪生命学科日新月异的发展,促进了酶与酶工程的发展。酶与酶工程的发展过程其实就是人类如何认识酶、改造酶和构建新酶,又如何利用酶的过程。酶与酶工程并非是一门纯粹的学科,它与基因工程、蛋白质工程、细胞工程、发酵工程及生物技术等密切相关,共同形成了相互渗透交叉的不可分割的整体。

为适应当前新技术的发展,我们在原书基础上重新编写了《酶与酶工程》这本专业书籍。本书除保留原书的基本内容外,还增加了许多新的内容。由于酶与酶工程涉及的内容十分广泛,故我们在编写过程中对章节的安排、内容的新颖性、深度和广度作了适当的调整,特别增加了酶的研究方法和应用方面的内容,这样使本书既有酶学的基础理论,又有研究热点和最新的研究进展。

全书分三篇共 20 章,第 1 章至第 5 章为酶理论篇;第 6 章至第 14 章为酶工程篇,是本书的重点,主要内容有酶的分离工程、非水介质中酶的催化反应、组合生物催化、酶的固定化技术、新酶的发现与筛选、生物酶工程、化学酶工程、酶抑制剂设计与药物开发以及酶的信号传导等内容;第 15 章至第 20 章为酶应用篇,重点介绍酶在工业、医药、食品、环境、能源上的应用以及极端酶的开发应用。

本书的参编者大多是原编委,新增加的编委山东大学王凤山教授、南京大学郑伟娟教授、复旦大学吴兴中教授和东华大学张兴群副教授,他们都是这个领域的著名专家。他们目前都承担着繁重的科研教学工作,还专门挤出时间积极参与本书的撰写工作,在此表示衷心的感谢。另外,本书主编的研究生也参与了书稿的电脑输入、图表制作和文稿校对,因此本书是集体智慧的结晶,也是集体创作的成果。由于作者较多,各人从事研究的内容又不同,因此文字风格、表达方式会不一致,再加上本人琐事繁忙和学术水平有限,书中难免出现错漏或不足之处,恳切希望广大读者批评指正。

目 录

CONTENTS

第一篇 酶理论	1
1 酶与酶工程	3
1.1 酶学研究概况	3
1.2 从分子水平研究酶的结构与功能	4
1.3 用分子生物学方法改进酶的催化特性及设计新酶	4
1.3.1 酶结构与功能关系的研究	4
1.3.2 基因工程酶	5
1.3.3 酶的蛋白质工程构建	5
1.4 构建新酶——核酶、抗体酶、模拟酶和分子印迹酶	6
1.4.1 核酶	6
1.4.2 抗体酶	6
1.4.3 模拟酶	7
1.4.4 分子印迹酶	7
1.5 酶工程中的若干研究热点	8
1.5.1 非水介质中的酶反应	8
1.5.2 组合生物催化	8
1.5.3 生物催化的重要课题——酶法拆分	8
1.5.4 开辟酶生物转化合成的新途径	9
1.5.5 开发极端环境条件下的新酶种	9
1.5.6 发挥酶和微生物在环境整治中的作用	9
参考文献	10

2	酶的分类与命名	11
2.1	酶的系统分类和命名	11
2.2	同工酶	12
2.3	多酶系统	13
2.4	酶的辅因子	13
2.5	酶的理化特性	14
2.5.1	酶的高效性	14
2.5.2	酶的专一性	14
2.5.3	酶容易失活	18
2.5.4	酶的活性调节	18
2.6	新型酶	19
	参考文献	19
3	酶的作用与机理	20
3.1	酶活性中心的概念	20
3.2	影响酶催化效率的因素	21
3.2.1	邻近效应与定向效应	21
3.2.2	底物形变和诱导契合	22
3.2.3	酸碱共同催化	22
3.2.4	共价催化	23
3.2.5	疏水环境的影响	23
3.2.6	金属催化	23
3.3	酶的活性部位柔性的假说	24
3.3.1	酶的活性丧失和整体构象变化的关系	25
3.3.2	酶活性部位的柔性	25
3.3.3	酶活性部位柔性和整体结构刚性的实例	26
3.4	辅因子在酶促反应中的作用	27
3.4.1	金属激活酶和金属酶	27
3.4.2	辅酶	29
	参考文献	36
4	酶的催化反应动力学	38
4.1	酶的活性	38
4.1.1	酶活力的表示方法	38
4.1.2	酶活力单位	39
4.2	酶促反应动力学	39
4.2.1	底物浓度对酶促反应速率的影响	39
4.2.2	酶浓度对酶促反应速率的影响	46
4.2.3	温度对酶促反应速率的影响	47

4.2.4	pH 对酶促反应速率的影响	48
4.2.5	激活剂对酶促反应速率的影响	49
4.2.6	抑制剂对酶促反应速率的影响	49
4.3	多底物反应的动力学	49
4.3.1	多底物反应的类型	50
4.3.2	多底物反应的酶促动力学	52
4.4	酶抑制动力学	54
4.4.1	抑制作用的类型	54
4.4.2	可逆抑制作用的分类	55
4.4.3	可逆抑制作用的酶促反应动力学	56
4.4.4	不可逆抑制剂	60
4.4.5	可逆抑制剂	63
	参考文献	64
5	酶的活性调节	65
5.1	通过配体诱导酶构象改变的活性调节	65
5.1.1	配体和蛋白质的结合	65
5.1.2	变构酶	73
5.2	通过酶共价结构改变的活性调节	80
5.2.1	共价结构不可逆改变的活性调节	80
5.2.2	共价结构可逆改变的活性调节	83
5.3	代谢途径中酶活性的调节	85
5.3.1	磷酸果糖激酶	86
5.3.2	磷酸化酶	88
5.4	酶的转换	89
5.4.1	酶合成的调节	90
5.4.2	酶降解的调节	90
	参考文献	91
第二篇	酶工程	93
6	酶的分离工程	95
6.1	酶分离纯化的一般原则	95
6.1.1	建立一个可靠和快速的测活方法	95
6.1.2	酶原料的选择	95
6.1.3	酶的提取	96
6.1.4	酶的提纯	96
6.1.5	酶的纯度检验	96
6.2	酶提取方法的选择	97

6.2.1	生物材料的破碎	97
6.2.2	抽提方法	98
6.3	酶纯化方法的选择	98
6.3.1	调节酶溶解度的方法	99
6.3.2	根据酶分子大小、形状不同的分离方法	104
6.3.3	根据酶分子电荷性质的分离方法	110
6.3.4	根据酶分子的极性进行分离的方法	116
6.3.5	根据酶分子的专一性结合的方法	117
6.3.6	酶的结晶	121
6.3.7	对各种纯化方法的评价	123
	参考文献	123
7	非水介质中酶的催化反应	124
7.1	非水介质中酶的催化反应及其特征	124
7.2	非水介质中酶的结构与性质	125
7.2.1	非水介质中酶的结构	125
7.2.2	非水介质中的酶学性质	126
7.3	微水有机溶剂的影响与反应介质工程	129
7.3.1	水的作用及其调控	129
7.3.2	有机溶剂的影响与反应介质工程	135
7.3.3	酶的选择与催化剂工程	138
7.4	酶在非水介质中的催化反应	142
7.4.1	酯酶和脂肪酶的酯合成反应、转酯反应及酸酐水解反应	142
7.4.2	糖苷键的水解核形成	143
7.4.3	C—N 键反应——肽的合成	143
7.4.4	C—C 键形成	144
7.4.5	还原反应	145
7.4.6	氧化反应	145
7.4.7	C—X 的反应——卤化反应	146
7.4.8	异构化反应	146
	参考文献	146
8	组合生物催化	148
8.1	组合生物催化的理论和特点	148
8.1.1	理论基础	148
8.1.2	组合生物催化的特点	149
8.2	组合生物催化中的酶	150
8.2.1	生物催化组合合成	150
8.2.2	用于组合生物催化反应中酶的特点	151

8.3	组合生物催化的类型	154
8.3.1	非水介质中的生物催化	154
8.3.2	酶作为组合合成的脱保护工具	155
8.3.3	固定化酶催化	156
8.4	组合生物催化实例	158
8.4.1	构建小分子库	158
8.4.2	构建天然产物库	158
8.4.3	展望	161
	参考文献	161
9	酶的固定化技术	163
9.1	概述	163
9.1.1	酶的固定化	164
9.1.2	微生物酶的固定化	164
9.1.3	微生物生活细胞的固定化	165
9.1.4	细胞器及动植物细胞的固定化	165
9.2	酶的固定化方法	166
9.2.1	酶的固定化方法	166
9.2.2	微生物的固定化方法	168
9.2.3	整细胞的固定化方法	170
9.2.4	细胞器的固定化方法	172
9.2.5	动植物细胞的固定化	175
9.3	固定化酶(细胞)的性质及评价指标	179
9.3.1	固定化酶(细胞)的性质	179
9.3.2	固定化酶(细胞)的评价指标	185
9.4	固定化酶(细胞)反应器	186
9.4.1	填充床反应器(PBR)	187
9.4.2	恒流搅拌罐反应器(CSTR)	187
9.4.3	流化床反应器	188
9.4.4	空心纤维反应器	188
9.4.5	其他类型反应器	188
	参考文献	189
10	新酶的发现和筛选	191
10.1	新酶的来源	191
10.2	微生物新酶的获得途径及优劣比较	192
10.2.1	从市场供应的酶库中筛选	192
10.2.2	从微生物菌种保藏库筛选	192
10.2.3	从自然界筛选产酶微生物	192

10.2.4	从基因克隆库中筛选	192
10.3	新酶筛选的策略	193
10.3.1	新酶筛选的一般规律	193
10.3.2	生物反应过程中的用酶设计	193
10.3.3	建立高效的筛选方法	193
10.4	从自然界中筛选产酶微生物的一般方法与步骤	194
10.4.1	样品采集	195
10.4.2	富集培养	195
10.4.3	纯种分离	196
10.4.4	初筛	197
10.4.5	复筛	198
10.4.6	高产菌株的选育	198
10.5	从基因组 DNA 筛选酶的方法	198
10.6	基于机理的新酶设计	202
	参考文献	203
11	生物酶工程	204
11.1	酶的基因克隆和异源表达	204
11.1.1	酶基因克隆的基本步骤	205
11.1.2	酶基因克隆的常用方法	211
11.1.3	酶的异源表达	213
11.2	酶理性设计与定点突变	216
11.2.1	酶的遗传修饰与理性设计	217
11.2.2	酶定点突变方法	217
11.3	酶的定向进化	222
11.3.1	酶分子定向进化的基本原理	222
11.3.2	酶分子定向进化的策略	223
11.3.3	定向进化的应用	237
11.4	酶的半理性设计	241
11.5	融合蛋白和融合酶	243
11.5.1	融合蛋白与融合酶简介	243
11.5.2	融合蛋白与融合酶的构建策略	243
11.5.3	融合蛋白与融合酶的制备	244
11.5.4	融合蛋白与融合酶的应用	245
	参考文献	248
12	化学酶工程	249
12.1	酶的化学修饰	249
12.1.1	酶的化学修饰反应	250

12.1.2	影响酶化学修饰的主要因素	263
12.1.3	修饰程度和修饰部位的测定	266
12.1.4	酶化学修饰的应用	268
12.1.5	酶的亲和修饰	273
12.1.6	酶化学修饰的专一性控制	275
12.1.7	酶化学修饰实例——SOD 的化学修饰	276
12.2	模拟酶	283
12.2.1	环糊精模拟酶模型	283
12.2.2	大环聚醚及其模拟酶	286
12.2.3	胶束体系及其模拟酶	288
12.2.4	聚合物及其模拟酶	290
12.2.5	金属卟啉及其模拟酶	290
12.2.6	肽酶	291
12.2.7	氧化酶的模拟	291
12.2.8	过氧化物酶的模拟	291
12.2.9	SOD 的模拟	292
12.3	分子印迹酶	295
12.3.1	分子印迹概念	295
12.3.2	分子印迹技术的分类	296
12.3.3	分子印迹聚合物的制备	298
12.3.4	分子印迹酶	300
	参考文献	303
13	酶抑制剂设计与药物开发	304
13.1	天冬氨酸蛋白酶类抑制剂	304
13.1.1	血管紧张素转化酶	304
13.1.2	HIV 蛋白酶抑制剂的设计	306
13.2	基质金属蛋白酶	311
13.2.1	基质金属蛋白酶抑制剂	312
13.2.2	抑制剂的设计	313
13.3	丝氨酸蛋白酶抑制剂	314
13.3.1	体内凝血过程中丝氨酸蛋白酶抑制剂的作用	314
13.3.2	Xa 因子的抑制剂	314
13.3.3	组合肽库法	315
13.4	半胱氨酸蛋白酶	317
13.4.1	半胱氨酸蛋白酶在人体内的病理学作用	317
13.4.2	溶酶体半胱氨酸蛋白酶(LCP)	317
13.4.3	溶酶体半胱氨酸蛋白酶的结构和作用机理	318

13.4.4	酶原激活	319
13.4.5	溶酶体半胱氨酸蛋白酶的天然抑制剂	319
13.4.6	半胱氨酸蛋白酶抑制剂的设计	319
13.4.7	肽基醛型半胱氨酸蛋白酶抑制剂	320
13.4.8	缩氨基脲型半胱氨酸蛋白酶抑制剂	322
13.5	酶抑制剂研究进展	323
13.5.1	酶抑制剂药物的现状	323
13.5.2	酶抑制剂药物的研发模式	324
13.5.3	酶抑制剂药物研究展望	324
	参考文献	325
14	酶的信号传导	327
14.1	鸟嘌呤核苷三磷酸水解酶(GTPase)的信号传导	328
14.1.1	G蛋白的基本特征	328
14.1.2	结构特点	328
14.1.3	活化的作用机制	329
14.1.4	GTPase 参与的信号传导	331
14.2	核苷酸环化酶的信号传导	336
14.2.1	腺苷酸环化酶(Adenylyl Cyclase, AC)的信号传导	336
14.2.2	鸟苷酸环化酶的信号传导	338
14.3	磷脂酶介导的信号传导	341
14.3.1	磷脂酶的概述	341
14.3.2	磷脂酶的结构	344
14.3.3	磷脂酶参与的信号传导	346
	参考文献	350
第三篇	酶应用	353
15	酶在工业上的应用	355
15.1	工业酶的应用现状	356
15.1.1	工业酶制剂的来源及特点	356
15.1.2	工业酶制剂国内外产业化现状	358
15.2	酶在轻工业上的应用	359
15.2.1	酶在原料处理方面的应用	360
15.2.2	酶在轻工业产品制造上的应用	361
15.3	酶在化工方面的应用	363
15.4	酶在其他方面的应用	363
15.4.1	加酶洗涤剂	363
15.4.2	加酶牙膏	363

15.4.3	加酶饲料	364
15.4.4	加酶护肤品	364
	参考文献	364
16	酶在医药上的应用	365
16.1	酶类药物	365
16.1.1	与治疗胃肠道疾病有关的酶类药物	365
16.1.2	与治疗炎症有关的酶类药物	366
16.1.3	与溶解血纤维有关的酶类药物	367
16.1.4	具有抗肿瘤作用的酶类药物	367
16.1.5	药典收载的酶类药物	368
16.2	诊断用酶	370
16.2.1	根据体液内酶活力的变化诊断疾病	370
16.2.2	用酶测定体液中某些物质质量的诊断疾病	370
16.3	酶在药物制造方面的应用	371
16.3.1	青霉素酰化酶制造半合成抗生素	371
16.3.2	β -酪氨酸酶制造多巴	373
16.3.3	核苷磷酸化酶制造阿糖腺苷	374
16.3.4	无色杆菌蛋白酶制造人胰岛素	374
16.3.5	多核苷酸磷酸化酶生产聚肌胞	375
	参考文献	375
17	酶在食品工业上的应用	376
17.1	酶在食品保健方面的应用	377
17.1.1	食品除氧保鲜	377
17.1.2	食品灭菌保鲜	377
17.2	酶在淀粉类食品生产方面的应用	377
17.2.1	葡萄糖的生产	378
17.2.2	果葡糖浆的生产	378
17.2.3	环状糊精的生产	379
17.3	酶在蛋白质类食品生产方面的应用	379
17.3.1	氨基酸的生产	380
17.3.2	明胶的生产	380
17.3.3	干酪的生产	380
17.3.4	肉类的嫩化	381
17.4	酶在果蔬类食品生产方面的应用	381
17.4.1	柑橘罐头防止白色浑浊	381
17.4.2	果蔬制品的脱色	381
17.4.3	酶在果汁生产中的应用	382

17.4.4	酶在甜味剂生产中的应用	382
	参考文献	384
18	极端酶的开发与应用	385
18.1	嗜热极端酶	386
18.1.1	嗜热极端菌	386
18.1.2	嗜热极端酶的种类及应用	387
18.1.3	嗜热极端酶的耐热机理研究	391
18.2	嗜冷极端酶	392
18.2.1	嗜冷极端微生物	392
18.2.2	低温酶	393
18.2.3	低温酶耐冷或嗜冷机理的研究	394
18.3	嗜盐酶	395
18.3.1	嗜盐微生物	395
18.3.2	嗜盐酶及其应用	396
18.3.3	嗜盐酶的耐盐机理	397
18.4	嗜碱菌及碱性酶的研究和应用	397
18.4.1	嗜碱菌	397
18.4.2	碱性酶	397
18.5	酸性酶	399
18.5.1	嗜酸极端微生物	399
18.5.2	酸性酶的种类及应用	399
18.6	耐压酶类	401
18.6.1	耐压菌和嗜压菌	401
18.6.2	嗜压酶和耐压酶	402
18.7	耐有机溶剂酶	402
18.8	耐重金属微生物及相应酶	403
18.9	结论和展望	404
	参考文献	404
19	酶在环境治理方面的应用	405
19.1	酶与环境保护	405
19.2	酶在环境污染治理中的应用	406
19.2.1	酶在废水处理工程中的应用	406
19.2.2	酶在石油和工业废油处理工程中的应用	408
19.2.3	酶与白色污染治理	408
19.2.4	酶与环境监测	409
19.2.5	酶与污染土壤修复	409
	参考文献	415