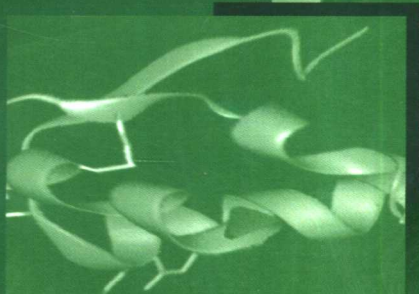
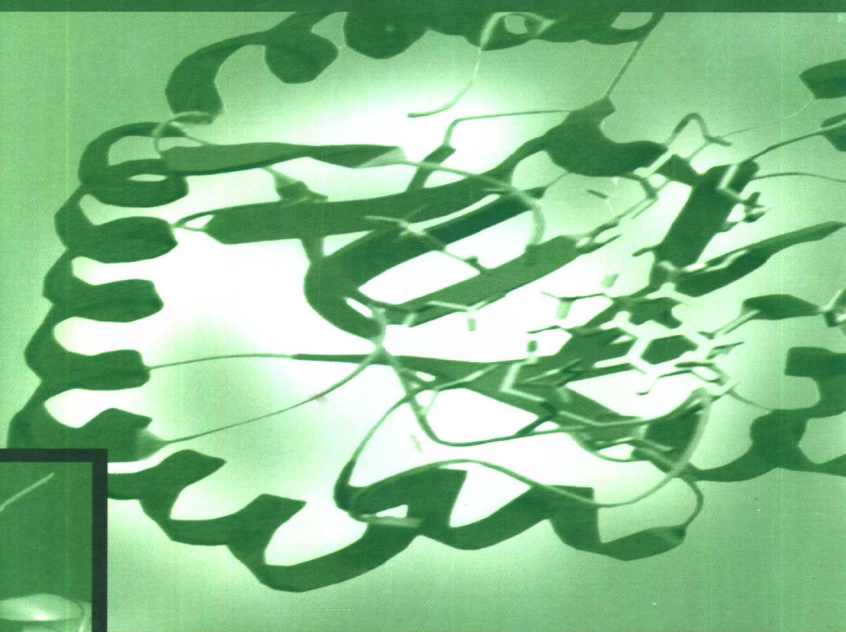


“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

酶工程

罗贵民 主 编
曹淑桂 副主编
张 今



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

酶 工 程

罗贵民 主编
曹淑桂 张 今 副主编

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

酶工程/罗贵民主编. —北京: 化学工业出版社,
2002.2

(现代生物技术丛书)

ISBN 7-5025-3704-X

I. 酶… II. 罗… III. 工业发酵 IV. TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 007473 号

现代生物技术丛书

酶 工 程

罗贵民 主编

曹淑桂 张 今 副主编

责任编辑: 孟 嘉 莫小曼

责任校对: 马燕珠

封面设计: 于 兵

*

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

北京市彩桥印刷厂印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 25½ 字数 616 千字

2002 年 5 月第 1 版 2002 年 5 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-3704-X/Q·18

定 价: 50.00 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

“现代生物技术丛书”编委会

编委会主任 焦瑞身

编委会成员(以姓氏汉语拼音为序)

郭礼和	中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所	研究员
贾士荣	中国农业科学院生物技术中心	研究员
焦瑞身	中国科学院上海植物生理生态研究所	研究员
伦世仪	江南大学 中国工程院院士	教授
俞俊棠	华东理工大学	教授
张树政	中国科学院微生物研究所 中国科学院院士	研究员
朱宝泉	上海医药工业研究院	研究员

本册主编与编写人员

主 编 罗贵民

副 主 编 曹淑桂 张 今

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
苟小军	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	讲师
孔祥铎	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	讲师
刘俊秋	吉林大学超分子结构与材料教育部重点实验室	副教授
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	副教授
王 智	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	讲师
张红缨	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授
张 今	吉林大学分子酶学工程教育部重点实验室	教授

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与工程,经美、英、法、德、日、中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^①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)。近十年间 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 4 420 万公顷, 比 1999 年增长 11%, 2001 年又在 2000 年的基础上增长 19%, 达 5 260 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。最近, Wilmut 等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海门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 5 000 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，并进一步培养成红血球、白血球和血小板。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”（含有多個降解烃类的质粒）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、食品、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

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，以及包括产品提取纯化、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。丛书包括 15 个分册，即基因工程、蛋白质工程、酶工程、生物信息学、植物细胞工程、动物细胞工程、微生物工程、生物制药技术、高级生物传感器、环境生物工程、农业生物工程、糖生物工程、生物技术与疾病诊断——兼论基因治疗、组织工程、生物工程下游技术。

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。

焦瑞身 袁士学

2002 年 1 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、酶工程的发展极为迅猛，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，生物技术、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，敬请学术界同人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

内 容 提 要

“现代生物技术丛书”是化学工业出版社重点策划、隆重推出的一套精品图书，已被国家新闻出版总署列为“十五”国家重点图书。该套书由我国著名生物技术专家焦瑞身先生担任编委会主任，各相关领域科研、教学、产业一线具有权威性的专家学者共同撰写。

《酶工程》概括介绍了酶学的基本知识、酶学与酶工程的关系，主要介绍的是化学酶工程和生物酶工程的研究和应用技术，如酶的固定化技术、酶的化学修饰、酶在有机溶剂——非水介质中的催化作用、酶稳定化、酶的人工模拟技术（包括合成酶、抗体酶、分子印迹酶、杂合酶等）、核酶的研究应用和酶的定向进化策略等。

从中不仅可以看到酶工程发展给医学、医药工业、化学工业、轻工业、环境保护、能源工业等带来的新活力，还可以了解到酶技术各个领域中的应用情况和应用前景。

《酶工程》既可以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。

目 录

第一章 酶学与酶工程	1
第一节 酶工程概述	1
一、酶与酶工程研究的重要意义	1
二、酶学研究简史	1
三、酶工程简介	3
第二节 酶的分类、组成、结构特点和作用机制	5
一、酶的分类	5
二、酶的组成和结构特点	6
三、酶的作用机制	7
第三节 酶作为催化剂的显著特点	11
一、催化能力	12
二、专一性	12
三、调节性	13
第四节 影响酶活力的因素	15
一、酶的测定	15
二、酶联测定法	16
三、酶速度	16
四、底物浓度	16
五、酶浓度	17
六、温度	17
七、pH	17
第五节 酶动力学和抑制作用	17
一、米-曼氏模式	17
二、Lineweaver-Burk 作图	18
三、酶的抑制作用	19
四、不可逆抑制作用	19
五、可逆的竞争性抑制	19
六、可逆的非竞争性抑制	20
第六节 蛋白质、酶和重组蛋白质的分离纯化	21
一、蛋白质纯化的一般考虑	21
二、蛋白质的粗分离	23
三、蛋白质的大规模分离纯化	29
参考文献	36
第二章 固定化酶与固定化细胞	37
第一节 引言	37

第二节 酶的固定化	37
一、固定化酶的定义	38
二、固定化酶的制备原则	38
三、酶的固定化方法	39
四、固定化酶的性质	46
五、影响固定化酶性能的因素	48
第三节 辅酶的固定化	52
一、辅酶的定义及分类	52
二、辅酶的固定化方法	53
三、辅酶的再生	56
第四节 细胞的固定化	57
一、固定化细胞分类、形态特征和生理状态	58
二、固定化细胞的制备	58
三、固定化细胞的性质	59
四、总结与展望	61
第五节 固定化酶和固定化细胞的表征	62
一、评价固定化酶(细胞)的指标	62
二、载体活化程度和固定化配基密度的测定	63
三、亲和技术中固定化配基的容量和活性的测量	67
第六节 固定化酶与固定化细胞的应用	68
一、生物化学及分子生物学基础研究	68
二、亲和分离系统	74
三、药物控释载体	75
四、生物传感器	77
五、其他	81
参考文献	82
第三章 酶蛋白的化学修饰	83
第一节 化学修饰的原理	83
一、影响酶蛋白功能基反应性的因素	83
二、酶蛋白功能基的超反应性	84
三、修饰剂反应性的决定因素	85
第二节 化学修饰的方法学	86
一、修饰反应专一性的控制	86
二、修饰程度和修饰部位的测定	88
三、化学修饰结果的解释	90
第三节 酶蛋白侧链的修饰	91
一、羧基的化学修饰	91
二、氨基的化学修饰	91
三、精氨酸胍基的修饰	92
四、巯基的化学修饰	93

五、组氨酸咪唑基的修饰	94
六、色氨酸吲哚基的修饰	94
七、酪氨酸残基和脂肪族羟基的修饰	95
八、甲硫氨酸甲硫基的修饰	95
第四节 酶的亲和修饰	96
一、亲和标记	96
二、外生亲和试剂与光亲和标记	96
第五节 酶的化学交联	98
第六节 酶化学修饰的应用	98
一、化学修饰在酶的结构与功能研究中的应用	99
二、化学修饰酶在医药和生物技术中的应用	101
三、蛋白质化学修饰的局限性	113
参考文献	114
第四章 蛋白质的稳定性和稳定化	115
第一节 蛋白质的稳定性	115
一、蛋白质稳定性的分子原因	115
二、测定蛋白质稳定性的方法	118
第二节 蛋白质不可逆失活的原因和机理	120
一、蛋白水解酶和自溶作用	121
二、聚合作用	121
三、极端 pH	121
四、氧化作用	122
五、表面活性剂和去污剂	122
六、变性剂	123
七、重金属离子和巯基试剂	124
八、热	124
九、机械力	124
十、冷冻和脱水	125
十一、辐射作用	125
第三节 蛋白质的稳定化	125
一、固定化	126
二、非共价修饰	129
三、化学修饰	130
四、蛋白质工程	134
五、酶的失活和再活化	136
第四节 各种酶稳定化方法的比较	137
参考文献	137
第五章 有机溶剂中的酶催化作用	139
第一节 非水介质中酶学基础	139
一、非水介质中酶的结构与性质	140

二、水·····	148
三、有机溶剂·····	152
四、有机溶剂中酶催化活性和选择性的调控·····	154
五、动力学·····	163
第二节 酶在非水介质中的催化反应及应用·····	172
一、酶催化反应的类型·····	172
二、光学活性化合物的制备·····	177
三、糖和类固醇的选择性酰化·····	183
四、功能高分子的合成·····	184
五、用于生产精细化工产品的酶——生物催化剂·····	197
六、组合生物催化·····	202
参考文献·····	207
第六章 酶的人工模拟 ·····	212
第一节 模拟酶的理论基础和策略·····	212
一、模拟酶的概念·····	212
二、模拟酶的理论基础·····	212
第二节 模拟酶的分类·····	213
一、主-客体酶模型·····	214
二、胶束模拟酶·····	221
三、肽酶·····	223
四、半合成酶·····	223
第三节 抗体酶·····	224
一、抗体酶概述·····	224
二、抗体酶的制备方法·····	225
三、抗体酶的结构·····	231
四、抗体酶的应用·····	234
五、抗体酶研究进展·····	237
第四节 印迹酶·····	240
一、分子印迹技术概述·····	240
二、分子印迹酶·····	251
三、生物印迹酶·····	256
第五节 模拟酶研究进展·····	258
参考文献·····	261
第七章 核酶工程 ·····	264
第一节 天然核酶·····	264
一、锤头型核酶·····	264
二、发夹型核酶·····	266
三、蛋白质-RNA 复合酶·····	266
四、组 I 内含子 (group I intron) 和组 II 内含子 (group II intron)·····	266
第二节 功能性核酸的体外选择·····	267

一、技术和历史	267
二、适体的选择	269
三、核酶的体外选择	270
第三节 脱氧核酶	275
一、切割 RNA 的脱氧核酶	276
二、切割 DNA 的脱氧核酶	277
三、具有激酶活力的脱氧核酶	277
四、连接酶功能的脱氧核酶	278
五、催化卟啉环金属整合反应	278
第四节 核酶/脱氧核酶的催化潜能和进化策略	278
一、引入其他催化基团	279
二、扩大筛选库的容量	280
三、模拟自然进化的合理性设计	280
第五节 核酶/脱氧核酶的应用	281
一、基因治疗	281
二、药用核酶的特点	283
参考文献	286
第八章 酶分子的定向进化	288
第一节 酶分子定向进化简介	288
一、理论来源	288
二、基本原理	288
三、发展方向	289
四、定向进化的选择策略	289
第二节 酶分子定向进化的历史	290
一、萌芽阶段	290
二、奠基阶段	291
三、发展阶段	291
第三节 定向进化的策略	292
一、易错 PCR 技术为代表的无性进化	292
二、DNA 改组技术为代表的有性进化	292
三、基因家族之间的同源重组	293
四、外显子改组	294
五、杂合酶	294
六、计算机辅助设计	296
七、突变库的构建及应用	296
第四节 定向进化的应用	301
一、提高酶分子的催化活力	301
二、提高酶分子稳定性的定向进化	303
三、适应人工环境中提高酶活力或稳定性的进化	304
四、提高底物的专一性和增加对新底物催化活力的进化	305

五、对映体选择性的定向进化·····	305
六、变换催化反应专一性·····	305
第五节 总结与展望·····	306
参考文献·····	307
第九章 杂合酶 ·····	310
第一节 杂合酶的构建策略·····	310
一、点突变及二级结构互换·····	311
二、功能域替换·····	311
三、融合蛋白·····	320
第二节 杂合酶的制备方法·····	326
第三节 杂合酶的应用·····	327
一、非催化特性的改变·····	327
二、创造新催化活性酶·····	327
三、用来产生双功能或多功能蛋白质·····	329
四、确定蛋白质的结构与功能关系·····	329
第四节 展望·····	329
参考文献·····	330
第十章 酶制剂的应用 ·····	332
第一节 概论·····	332
一、工业用酶制剂的市场和发展历史·····	332
二、工业酶制剂的来源及特点·····	334
第二节 酶在食品加工方面的应用·····	336
一、制糖工业·····	337
二、啤酒发酵·····	342
三、在蛋白制品加工方面的应用·····	342
四、在水果、蔬菜加工方面的应用·····	343
五、酶改善食品的品质、风味和颜色·····	345
六、乳品工业·····	345
七、肉类和鱼类加工·····	346
八、蛋品加工·····	347
九、面包烘焙与食品制造·····	348
十、食品保藏·····	348
十一、其他·····	348
第三节 酶在轻工业方面的应用·····	349
一、原料处理·····	349
二、轻工产品方面的应用·····	352
三、加酶增加产品的使用效果·····	357
第四节 酶在医学中的应用·····	359
一、在疾病诊断方面的应用·····	359
二、在疾病治疗方面的应用·····	360