

实用生物技术丛书

酶的生产 与应用

郭 勇 编著



化学工业出版社

实用生物技术丛书

酶的生产与应用

郭 勇 编著

化学工业出版社

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

酶的生产与应用/郭勇编著. —北京: 化学工业出版社, 2003.9

(实用生物技术丛书)

ISBN 7-5025-4752-5

I. 酶… II. 郭… III. 酶-制造 IV. TQ925

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 078821 号

实用生物技术丛书

酶的生产与应用

郭 勇 编著

责任编辑: 梁 虹

文字编辑: 温建斌

责任校对: 洪雅姝

封面设计: 郑小红

*

化学工业出版社出版发行

(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

聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张 16 $\frac{1}{4}$ 字数 389 千字

2003 年 10 月第 1 版 2003 年 10 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4752-5/Q·67

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

《实用生物技术丛书》编委会

编委会主任：郭 勇

编委会委员：（以姓氏笔画为序）

杨汝德 华南理工大学 教授

赵树进 广州军区广州总医院 教授，博士生导师

郭 勇 华南理工大学 教授，博士生导师

梁世中 华南理工大学 教授，博士生导师

彭志英 华南理工大学 教授，博士生导师

序

生物技术 (biotechnology) 又称为生物工程, 是生物科学与工程技术相结合而形成的新学科, 是 20 世纪后半叶迅速发展起来的新技术。

回顾 20 世纪, 生物工程迅速崛起, 已在理论与应用领域取得举世瞩目的成果, 为新物种的形成和新物质的生产开辟了崭新的途径。

展望 21 世纪, 伴随着人类基因组计划取得划时代的成果、基因组学和蛋白质组学的诞生以及生物信息学的迅速发展, 生物工程可望以更快的速度腾飞, 将在世界科技与经济的发展中起支柱与骨干的作用。

生物工程主要包括基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程。

一、基因工程

基因工程又称为重组 DNA 技术, 是通过人工操作, 在分子水平上进行基因重组、改造和转移, 以获得具有新的遗传特性的细胞, 合成人们所需物质的技术过程。1973 年, 科亨 (Cohen) 和波伊尔 (Boyer) 发明了克隆技术, 成功地将外源基因转入大肠杆菌细胞并得以表达, 宣告了基因工程的诞生。其后各种基因工程药物层出不穷, 转基因动物和转基因植物不断涌现, 取得了激荡人心的丰硕成果。

21 世纪基因工程的发展前沿是基因组和功能基因组的研究和开发。1990 年启动的“人类基因组计划”已经于 2003 年 4 月完成, 已经全部阐明了人类染色体 DNA 的约 30 亿对碱基的排列顺序, 接着将继续进行功能基因组的研究, 以阐明其中的 3 万多个基因的序列、位置及其功能。到时人们对疾病的诊断和治疗将在基因水平上进行, 这对提高人体素质、保障人体健康有着划时代的意义。同时还将逐步开展对其他物种的基因组研究, 这将使人们对物种的改良和对所需物质的生产提高到一个前所未有的高度。

二、细胞工程

细胞工程是在细胞水平上改变细胞的遗传特性或通过大规模细胞培养以获得人们所需物质的技术过程。1975 年, 科勒 (Kohler) 和米尔斯坦 (Milstein) 首创杂交瘤技术, 开创了细胞工程的新纪元。细胞融合技术、植物组织培养技术、植物细胞培养技术、动物体细胞克隆技术、杂交瘤细胞培养技术、干细胞培养技术等都在世界范围内发出夺目的光彩。

21 世纪细胞工程发展的重点是动、植物细胞培养技术。动物细胞和植物细胞都可以如微生物细胞那样, 在人工控制条件的生物反应器中培养, 以获得各种所需的产物。

动物细胞培养主要用于生产激素、疫苗、单克隆抗体、酶、多肽等功能性蛋白质以及皮肤、血管、心脏、大脑、肝、肾、胃、肠等组织器官。在医药工业和医学工程的发展中占有重要的地位。

植物细胞培养主要用于色素、香精、药物、酶等次级代谢物的生产。具有缩短周期、提高产率等显著特点, 不占用耕地, 并且可以不受地理环境和气候条件等的影响, 对于农业产品的工业化生产具有深远的意义。

三、酶工程

酶工程是酶的生产与应用的技术过程。即是通过人工操作, 获得人们所需的酶, 并通过各

种方法使酶发挥其催化功能的技术过程。1969年,固定化氨基酰化酶首次在工业上成功地用于氨基酸的拆分,有力地推动了酶工程的发展。其后,酶分子修饰技术,酶、细胞、原生质体固定化技术,有机介质中酶的催化技术等的发展,为酶的生产和应用开辟了崭新的途径。

21世纪酶工程的发展焦点是新酶的研究与开发应用。随着生物工程的发展,被研究和开发的新酶将越来越多,其中最令人注目的有核酸类酶(ribozyme)、抗体酶(abzyme)和端粒酶(telomerase)等。此外,酶的优化生产和高效应用也将进一步发展到前所未有的水平。

四、发酵工程

发酵工程又称为微生物工程,是在人工控制的条件下,通过微生物的生命活动而获得人们所需物质的技术过程。1944年,青霉素液体深层发酵的成功,标志着现代发酵工程时代的到来。随后各种抗生素、氨基酸、核苷酸、维生素等的发酵生产蓬勃发展,使发酵工程进入了全盛时期。

21世纪发酵工程的发展策略是利用DNA重组技术获得更加符合人们需要的优良的微生物细胞,并进行全面的代谢调节控制。由于传统的从自然界直接获得的微生物或者经过筛选、诱变得到的微生物已难以满足人们的需要,21世纪用于发酵工程的微生物大多数都是经过基因重组、改造、转移而获得的具有优良特性的工程菌。利用这些工程菌进行发酵,需要进行一系列的代谢调节控制,才能获得理想的发酵效果。故此,21世纪的发酵工程将根据代谢工程的理论对优良的工程菌进行全面的代谢调控,以获得人们需要的各种代谢产物。

由此可见,生物工程不仅对于物种的改良和进化具有极其重大的意义,而且在医药、食品、工业、农业、环保、能源等方面有重要的应用价值,将对人类的健康、长寿和世界科技、经济、社会的发展产生深远的影响。

为了加速我国生物工程的发展,使生物技术的研究成果尽快产业化,加速生物技术各个领域的应用,特组织有关专家学者编写《实用生物技术丛书》。

本丛书的编写宗旨是以实用生物技术为特色,以生物技术在医药、食品、轻工、化工、环保、能源等领域的应用为主线,理论与实际紧密结合,推动生物技术和产业化的进程。为此,本丛书不是面面俱到地介绍各种生物技术的基本理论和基本知识,而是有重点地选择介绍一些实用性强、前景看好,与产业化关系密切的生物技术的原理、方法及其应用的最新研究进展与发展趋势。本丛书由下列各分册组成:

- 《基因克隆技术在制药中的应用》
- 《细胞融合技术与应用》
- 《植物细胞培养技术与应用》
- 《动物细胞培养技术与应用》
- 《酶的生产与应用》
- 《固态发酵技术与应用》
- 《非热杀菌技术与应用》

各分册均由有实践经验的在职专家撰写,在简明介绍基本理论和基本知识的基础上,重点阐述技术的原理和方法及其应用的最新研究进展和发展趋势。期望本丛书的出版对我国生物技术研究、开发和产业化能够起到积极的推动作用。

郭 勇

2003年5月于广州

前 言

本书是《实用生物技术丛书》的组成部分，主要介绍酶的生产与应用的基本理论、基本技术以及酶在医药、食品、轻工、化工、能源、环保、检测、生物技术等领域实际应用的最新进展和发展趋势。

酶的生产与应用的技术过程称为酶工程，就是说，酶工程是通过人工操作，获得人们所需的酶，并通过各种方法使酶发挥其催化功能的技术过程。

酶工程是生物工程的重要组成部分。酶工程的主要内容包括：酶的生产，酶的分离纯化，酶分子修饰，酶、细胞与原生质体固定化，酶在有机介质中的催化，以及酶在医药、食品、轻工、化工、能源、环保等领域的应用等。

酶的生产方法主要有提取分离法、生物合成法和化学合成法等。提取分离法是采用各种生化分离技术从含酶的动物、植物组织、器官、细胞或微生物细胞中将酶提取出来，再经过分离纯化而得到所需的酶，是酶生产中最早采用的方法，至今仍在使用。而且酶的分离纯化在用其他方法生产酶的过程中以及在酶学研究过程中，也是必不可少的环节；生物合成法，是在人工控制条件的生物反应器中，通过微生物细胞、植物细胞或动物细胞的生命活动而合成所需的酶的方法，是当今应用最广泛的方法，其中通过微生物的生命活动而获得所需酶的方法又称为发酵法；化学合成法是采用化学方法合成所需的酶，由于要求所使用的氨基酸单体有很高的纯度，合成过程复杂，成本高，至今仍未能工业化生产。但是化学合成法在酶分子修饰和模拟酶的研究、开发方面具有重要意义和使用价值。

酶的应用是酶工程的主要内容，通过酶的催化作用，可以得到人们所需要的物质或者将不需要的甚至有害的物质除去，以利于人体的健康、环境的保护、经济的发展和社会的进步。在酶的应用过程中，必须运用酶反应动力学的知识，控制好酶催化反应的各种条件，使酶的催化作用达到预定的效果。

酶分子修饰技术，酶、细胞和原生质体固定化技术以及酶在有机介质中的催化技术等是针对酶的生产与应用过程中存在的问题而研究、开发的技术。这些技术对酶的优化生产和高效应用起到促进作用，进一步推动了酶工程的发展。

本书的编写宗旨是以实用技术为特色，以酶在医药、食品、轻工、化工、环保、能源等领域的应用为主线，理论与实际紧密结合，推动酶工程的发展和产业化的进程。

本书可供从事酶的研究、开发、生产与应用的科学工作者，工程技术人员，生产工作者以及高等院校生物工程、酶工程、发酵工程、生物技术、生物科学、食品科学与工程等有关专业的师生使用。

由于酶工程发展神速，新的技术和方法不断涌现，加上编者水平所限，不当之处，诚请读者指正。

编者

2003年5月

作者简介

郭 勇,男,汉族,广东大埔人,1942年12月生,1966年7月毕业于华南理工大学。毕业后一直在华南理工大学任教,1979~1980年在日本东京大学进修,1988~1989年赴美国爱达荷大学合作科研,被聘为客座教授。1992年1月晋升为教授,1993年12月经国务院学位委员会评审批准为博士生导师。1992年开始享受政府特殊津贴。现任华南理工大学食品与生物工程学院副院长,生物工程系系主任,广州生物制药研究所所长。兼任中国生物化学与分子生物学学会理事,中国酶工程学会理事,中国化工学会生物化工专业委员会委员,中国药学会生化药物委员会委员,广东生物化学与分子生物学学会副理事长,广州市微生物学会理事长。

长期从事生物化学与分子生物学,以及生物工程领域的教学、科研工作。在酶工程、植物细胞培养、基因工程等的研究中取得显著成果。主持国家自然科学基金项目、广东省自然科学基金项目、国家重点攻关项目、广东省和广州市重点科研项目等20多项,在国内外发表论文200多篇,已经出版的教材、专著有《酶学》,《酶工程》,《生物制药技术》,《现代生化技术》,《食品增味剂》,《酶在食品工业中的应用》等9本。获奖科技成果11项,1993年获广东省“南粤优秀教师”奖。

内 容 提 要

本书是《实用生物技术丛书》的组成部分，其编写宗旨是以实用技术为特色，以酶的应用为主线，理论与实际紧密结合，推动酶工程的发展和产业化的进程。

本书主要介绍酶的生产与应用的基本理论、基本技术以及酶在医药、食品、轻工、化工、能源、环保、检测、生物技术等领域实际应用的最新进展和发展趋势。内容包括：绪论，酶的生物合成法生产，酶的提取与分离纯化，酶分子修饰与应用，酶、细胞和原生质体固定化与应用，酶在有机介质中的催化与应用，酶在医药方面的应用，酶在食品方面的应用，酶在其他领域的应用等九章。

本书可供从事酶的研究、开发、生产与应用的科学工作者，工程技术人员，生产工作者以及高等院校生物工程、酶工程、发酵工程、生物技术、生物科学、食品科学与工程等有关专业的师生使用。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 酶的基本知识	1
一、酶催化作用的特点	2
二、酶的分类与命名	5
三、影响酶催化作用的因素	11
四、酶的活力测定	15
第二节 酶工程发展概况	18
第三节 酶的生产方法	20
一、提取分离法	20
二、生物合成法	21
三、化学合成法	21
第四节 酶的应用前景	22
第二章 酶的生物合成法生产	24
第一节 酶生物合成的基本理论	24
一、RNA 的生物合成——转录	24
二、蛋白质的生物合成——翻译	31
三、酶生物合成的调节	37
第二节 微生物发酵产酶	44
一、常用的产酶微生物	45
二、发酵工艺条件及其控制	48
三、酶发酵动力学	56
四、固定化微生物细胞发酵产酶	61
五、固定化微生物原生质体发酵产酶	65
第三节 植物细胞培养产酶	66
一、植物细胞的特性	66
二、植物细胞培养的特点	67
三、植物细胞培养产酶的工艺条件及其控制	68
第四节 动物细胞培养产酶	73
一、动物细胞的特性	73
二、动物细胞培养的特点	74
三、动物细胞培养方式	74
四、动物细胞培养产酶的工艺条件及其控制	75
第三章 酶的提取与分离纯化	79
第一节 细胞破碎	79
一、机械破碎法	79

二、物理破碎法	80
三、化学破碎法	81
四、酶促破碎法	81
第二节 酶的提取	81
一、酶提取的方法	82
二、影响酶提取的主要因素	83
第三节 沉淀分离	84
一、盐析沉淀法	84
二、等电点沉淀法	85
三、有机溶剂沉淀法	86
四、复合沉淀法	86
五、选择性变性沉淀法	87
第四节 离心分离	87
一、离心机的选择	87
二、离心方法的选用	88
三、离心条件的确定	89
第五节 过滤与膜分离	91
一、非膜过滤	91
二、膜分离技术	92
第六节 层析分离	94
一、吸附层析	94
二、分配层析	97
三、离子交换层析	98
四、凝胶层析	101
五、亲和层析	106
六、层析聚焦	109
第七节 电泳分离	110
一、纸电泳	111
二、薄层电泳	112
三、薄膜电泳	112
四、凝胶电泳	112
五、等电点聚焦电泳	115
第八节 萃取分离	117
一、有机溶剂萃取	117
二、双水相萃取	117
三、超临界萃取	119
四、反胶束萃取	120
第九节 结晶	121
一、盐析结晶法	121
二、有机溶剂结晶法	122

三、透析平衡结晶法·····	122
四、等电点结晶法·····	122
第十节 浓缩与干燥·····	122
一、浓缩·····	123
二、干燥·····	123
第四章 酶分子修饰与应用 ·····	125
第一节 酶分子的主链修饰·····	125
一、主链的切断修饰·····	125
二、主链的连接修饰·····	127
第二节 酶的侧链基团修饰·····	127
一、氨基修饰·····	128
二、羧基修饰·····	129
三、巯基修饰·····	129
四、胍基修饰·····	130
五、酚基修饰·····	130
六、咪唑基修饰·····	130
七、吡啶基修饰·····	130
八、分子内交联修饰·····	130
九、大分子结合修饰·····	131
十、亲和修饰·····	133
第三节 酶的组成单位置换修饰·····	134
一、酶分子组成单位置换修饰的作用·····	134
二、定点突变技术在酶分子修饰中的应用·····	135
第四节 金属离子置换修饰·····	136
第五节 酶分子的物理修饰·····	137
第六节 酶分子修饰的应用·····	137
一、在酶学研究方面的应用·····	138
二、在医药方面的应用·····	139
三、在工业方面的应用·····	139
四、在抗体酶研究开发方面的应用·····	140
五、在核酸类酶人工改造方面的应用·····	141
六、在有机介质酶催化反应中的应用·····	142
第五章 酶、细胞、原生质体固定化与应用 ·····	143
第一节 固定化酶的制备与特性·····	144
一、固定化酶的制备方法·····	144
二、固定化酶的特性·····	148
第二节 微生物、植物和动物细胞固定化·····	149
一、细胞固定化的方法·····	149
二、固定化微生物细胞的特点·····	151
三、植物细胞固定化·····	152

四、动物细胞固定化·····	153
第三节 原生质体固定化·····	155
一、原生质体的制备·····	155
二、原生质体固定化·····	156
第四节 固定化技术的应用·····	156
一、固定化酶的应用·····	157
二、固定化微生物细胞的应用·····	159
三、固定化原生质体的应用·····	161
第六章 酶在有机介质中的催化与应用·····	162
第一节 有机介质反应体系中水和有机溶剂对酶催化反应的影响·····	162
一、有机介质反应体系·····	162
二、水对有机介质中酶催化的影响·····	163
三、有机溶剂对有机介质中酶催化的影响·····	165
第二节 酶在有机介质中的催化特性·····	166
一、底物专一性·····	166
二、对映体选择性·····	167
三、区域选择性·····	167
四、键选择性·····	168
五、热稳定性·····	168
六、pH 印记·····	169
第三节 有机介质中酶催化的条件及其控制·····	169
一、有机介质中酶催化反应的类型·····	169
二、酶的选择·····	171
三、底物的选择和浓度控制·····	171
四、有机溶剂的选择·····	172
五、水含量的控制·····	172
六、温度控制·····	173
七、pH 值的控制·····	173
第四节 有机介质中酶催化的应用·····	174
一、手性药物的拆分·····	174
二、手性高分子聚合物的制备·····	175
三、酚树脂的合成·····	176
四、导电有机聚合物的合成·····	177
五、发光有机聚合物的合成·····	177
六、食品添加剂的生产·····	177
七、生物柴油的生产·····	178
八、多肽的合成·····	179
九、甾体转化·····	179
第七章 酶在医药方面的应用·····	180
第一节 酶在疾病诊断方面的应用·····	180

一、根据体内酶活力的变化诊断疾病·····	180
二、用酶测定体液中某些物质的变化诊断疾病·····	187
第二节 酶在疾病治疗方面的应用·····	191
一、蛋白酶·····	192
二、 α -淀粉酶·····	193
三、脂肪酶·····	193
四、溶菌酶·····	193
五、超氧化物歧化酶·····	193
六、L-天冬酰胺酶·····	193
七、尿激酶·····	194
八、纳豆激酶·····	194
九、降纤酶·····	194
十、凝血酶·····	195
十一、激肽释放酶·····	195
十二、组织纤溶酶原激活剂·····	195
十三、弹性蛋白酶·····	195
十四、乳糖酶·····	196
十五、核酸类酶·····	196
第三节 酶在药物制造方面的应用·····	196
一、青霉素酰化酶制造半合成抗生素·····	197
二、 β -酪氨酸酶制造多巴·····	199
三、核苷磷酸化酶制造阿糖腺苷·····	199
四、无色杆菌蛋白酶制造人胰岛素·····	200
五、多核苷酸磷酸化酶生产聚肌胞·····	200
六、 β -D-葡萄糖苷酶制造抗肿瘤人参皂苷·····	200
第八章 酶在食品方面的应用·····	202
第一节 酶在食品保鲜方面的应用·····	203
一、食品除氧保鲜·····	203
二、蛋类制品脱糖保鲜·····	203
三、食品灭菌保鲜·····	204
第二节 酶在淀粉类食品生产方面的应用·····	204
一、葡萄糖的生产·····	204
二、果葡糖浆的生产·····	205
三、饴糖、麦芽糖的生产·····	206
四、糊精、麦芽糊精的生产·····	206
五、环状糊精的生产·····	206
第三节 酶在蛋白质类食品生产方面的应用·····	207
一、水解蛋白的生产·····	208
二、氨基酸的生产·····	208
三、明胶的生产·····	208

四、干酪的生产.....	208
五、肉类的嫩化.....	209
六、低乳糖奶的生产.....	210
第四节 酶在果蔬类食品生产方面的应用.....	211
一、柑橘制品去除苦味	211
二、柑橘罐头防止白色浑浊.....	211
三、果蔬制品的脱色.....	211
四、酶在果汁生产中的应用.....	212
五、酶在果酒生产中的应用.....	213
第五节 酶在食品添加剂生产方面的应用.....	213
一、酶在酸味剂生产中的应用.....	214
二、酶在增味剂生产中的应用.....	216
三、酶在甜味剂生产中的应用.....	219
四、酶在乳化剂生产中的应用.....	221
第六节 酶在改善食品的品质与风味方面的应用.....	221
第九章 酶在其他领域的应用.....	223
第一节 酶在轻工、化工方面的应用.....	223
一、酶在原料处理方面的应用.....	223
二、酶在轻工、化工产品制造方面的应用.....	225
三、加酶增强产品的使用效果.....	228
第二节 酶在环保、能源方面的应用.....	229
一、酶在环境监测方面的应用.....	229
二、酶在废水处理方面的应用.....	230
三、酶在可生物降解材料开发方面的应用.....	231
四、酶在乙醇生产方面的应用.....	231
五、酶在生物柴油制造方面的应用.....	231
六、酶在氢气生产方面的应用.....	232
第三节 酶在分析检测方面的应用.....	232
一、单酶反应检测.....	232
二、多酶偶联反应检测.....	234
三、酶标记免疫反应检测.....	235
第四节 酶在生物技术方面的应用.....	235
一、酶在除去细胞壁方面的应用.....	236
二、酶在大分子切割方面的应用.....	237
三、酶在分子拼接方面的应用.....	240
主要参考文献.....	243

第一章 绪 论

酶是具有生物催化功能的生物大分子，按照其组成的不同，可以分为蛋白类酶（P 酶）和核酸类酶（R 酶）两大类。P 酶主要由蛋白质组成，R 酶主要由核糖核酸（RNA）组成。

在一定的条件下，所有的动物、植物、微生物细胞都可以合成各种各样的酶。所以人们可以采用适宜的生物细胞，人工控制好各种条件，以生产各种所需的酶。

生物体内的各种生化反应，几乎都是在酶的催化作用下进行的。故此，酶是生命活动的产物，又是生命活动必不可缺的条件之一。只要条件适宜，在生物体外，酶亦可催化各种生化反应。

酶的催化作用具有催化效率高、专一性强和作用条件温和等显著特点，在医药、食品、轻工、化工、环保、能源、分析检测和生物工程等领域广泛应用。

酶的生产与应用的技术过程称为酶工程，就是说，酶工程是通过人工操作，获得人们所需的酶，并通过各种方法使酶发挥其催化功能的技术过程。

第一节 酶的基本知识

几千年前，我们的祖先就已经不自觉地利用酶的催化作用来制造食品和治疗疾病。例如，《战国策》中有“仪狄作酒，禹饮而甘之”，《书经》中有“若作酒醴，尔维麴蘖”的记载，表明我国在 4000 多年前的夏禹时代就会酿酒；《周礼天官篇》中“膳夫掌王馈食酱有百二十瓮”，《六书考》中“以米蘖煎材为白饴也”等记载，表明我国在 3000 多年前的周朝，就已经掌握制饴、造酱技术；《左传》中“有麦麴乎，曰无，叔展曰，河鱼腹疾，奈何”等记载，表明在 2500 多年前的春秋战国时期，我们的祖先就懂得用麴治病。

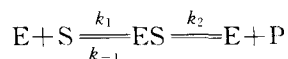
然而，真正认识酶的存在和作用，是从 19 世纪开始的。100 多年来，人们对酶的认识经历了一个逐步深入、不断发展的过程。

1833 年，佩恩（Payen）和帕索兹（Persoz）从麦芽的水抽提物中用酒精沉淀得到一种可使淀粉水解生成可溶性糖的物质，称之为淀粉酶（diastase），并指出了它的热不稳定性，初步触及了酶的一些本质问题。

19 世纪中叶，巴斯德（Pasteur）等人对酵母的酒精发酵进行了大量研究，指出在活酵母细胞内有一种物质可以将糖发酵生成酒精。1878 年库尼（Kunne）首次将酵母中进行酒精发酵的物质称为酶（enzyme），这个词来自希腊文，其意思是“在酵母中”。

1896 年，巴克纳（Buchner）兄弟在研究酵母时发现，酵母的无细胞抽提液也能将糖发酵成酒精。这就表明酶不仅在细胞内，而且在细胞外也可以在一定的条件下进行催化作用。其后，对酶的催化特性和催化作用理论进行广泛的研究。

1902 年，亨利（Henri）根据蔗糖酶催化蔗糖水解的实验结果，提出中间产物学说，他认为在底物转化成产物之前，必须首先与酶形成中间复合物，然后再转变为产物，并重新释放出游离的酶。即



式中，E 为酶；S 为底物；ES 为中间复合物；P 为产物； k_1 、 k_{-1} 、 k_2 为反应速率

常数。

1913年,米彻利斯(Michaelis)和曼吞(Menten)根据中间产物学说,推导出酶催化反应的基本动力学方程——米氏方程:

$$v = \frac{v_m S}{K_m + S}$$

在这近一百年中,人们认识到“酶是生物体产生的具有生物催化功能的物质”,但是尚未搞清楚究竟是哪一类物质。1920年,德国化学家威尔斯塔特(Willstater)将过氧化物酶纯化12000倍,酶活性很高,但是检测不到蛋白质,所以认为酶不是蛋白质。这是由于当时的检测技术较为落后所致。

1926年,萨姆纳(Sumner)首次从刀豆提取液中分离纯化得到脲酶结晶,并证明它具有蛋白质的性质。后来对一系列酶的研究,都证实酶的化学本质是蛋白质。在此后的50多年中,人们普遍接受“酶是具有生物催化功能的蛋白质”这一概念。

1960年,雅各(Jacob)和莫诺德(Monod)提出操纵子学说,阐明了酶生物合成的基本调节机制。

1982年,切克(Thomas Cech)等人发现四膜虫(*Tetrahymena*)细胞的26S rRNA前体具有自我剪接功能(self-splicing)。该RNA前体约有6400个核苷酸,含有一个内含子(intron)或称为间隔序列(intervening sequence, IVS)和两个外显子(exon),在成熟过程中,通过自我催化作用,将间隔序列切除,并使两个外显子连接成成熟的RNA,这个过程称为剪接。这种剪接不需要蛋白质存在,但必须有鸟苷或5'-GMP和镁离子参与。切克(T. Cech)将之称为自我剪接反应,认为RNA亦具有催化活性。并将这种具有催化活性的RNA称为ribozyme。

1983年,阿尔特曼(Sidney Altman)等人发现核糖核酸酶P(RNase P)的RNA部分M1 RNA具有核糖核酸酶P的催化活性。可以在高浓度镁离子的存在条件下,单独催化tRNA前体从5'-末端切除某些核苷酸片断而成为成熟的tRNA。而该酶的蛋白质部分C₅蛋白却没有酶活性。

RNA具有生物催化活性这一发现,改变了有关酶的概念,被认为是最近20年来生物学领域最令人鼓舞的发现之一。为此,T. Cech和S. Altman共同获得1989年度的诺贝尔化学奖。

20年来,新发现的ribozyme越来越多。现在知道的ribozyme具有自我剪接、自我剪切和催化分子间反应等多种功能;作用底物有RNA、DNA、糖类、氨基酸酯等;研究表明,ribozyme具有完整的空间结构和活性中心,有其独特的催化机制,具有很高的底物专一性,其反应动力学亦符合米氏方程的规律。可见,ribozyme具有生物催化剂的所有特性,是一类由RNA组成的酶。由此引出“酶是具有生物催化功能的生物大分子(蛋白质或RNA)”的新概念。即是,酶有两大类,一类主要由蛋白质组成,称为蛋白类酶(P酶);另一类主要由核糖核酸组成,称为核酸类酶(ribozyme, R酶)。

一、酶催化作用的特点

酶是生物催化剂,与非酶催化剂相比,具有专一性强、催化效率高和作用条件温和等显著特点。

(一) 酶催化作用的专一性强

酶催化作用的专一性是酶的最重要的特性之一,也是酶与其他非酶催化剂的最主要的不