

国外名校名著

代谢工程

——原理与方法

METABOLIC ENGINEERING

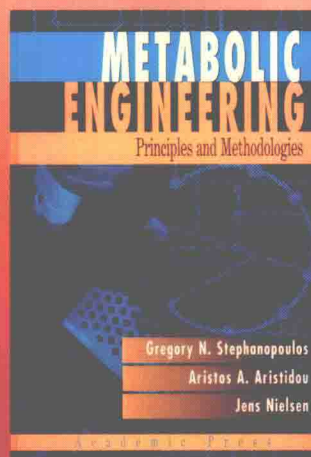
——Principles and Methodologies

[美] Gregory N. Stephanopoulos

[美] Aristos A. Aristidou 著

[丹麦] Jens Nielsen

赵学明 白冬梅 等译



国外名校名著

代谢工程

——原理与方法

METABOLIC ENGINEERING

——Principles and Methodologies

[美] Gregory N. Stephanopoulos

[美] Aristos A. Aristidou

[丹麦] Jens Nielsen

赵学明 白冬梅 等译



化学工业出版社

·北京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

代谢工程: 原理与方法/[美]斯蒂芬那保罗 (Stephanopoulos G.N.),
[美]阿里斯泰道(Aristidou A.A.), [丹麦] 尼尔森 (Nielsen J.) 著;
赵学明, 白冬梅等译. —北京: 化学工业出版社, 2003.12
书名原文: Metabolic Engineering—Principles and Methodologies
ISBN 7-5025-4568-9

I. 代… II. ①斯…②阿…③尼…④赵…⑤白… III. 代谢-生物工程 IV.Q591

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 093746 号

METABOLIC ENGINEERING—Principles and Methodologies/
by Gregory N. Stephanopoulos, Aristos A. Aristidou, Jens Nielsen
ISBN 0-12-666260-6

Copyright © 1998 by Academic Press.

Translation Copyright © 2003 by Chemical Industry Press. All rights reserved.

本书中文简体字版由 Academic Press 授权化学工业出版社独家出版发行。
未经出版者许可, 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: 01-2001-4512

国外名校名著

代谢工程

——原理与方法

METABOLIC ENGINEERING

——Principles and Methodologies

[美] Gregory N. Stephanopoulos

[美] Aristos A. Aristidou 著

[丹麦] Jens Nielsen

赵学明 白冬梅 等译

责任编辑: 骆文敏

文字编辑: 丁建华

责任校对: 郑捷

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

化学工业出版社印刷厂印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张 28 字数 685 千字

2003 年 12 月第 1 版 2003 年 12 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4568-9/G·1237

定 价: 39.00 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

原 序

代谢工程是关于代谢途径的分析与修饰的科学。该领域出现于过去 10 年,并由来自应用分子生物学和反应工程的技术所驱动,目前正变成生物学、生物化学工程、细胞生物学和应用微生物学等许多学科研究活动的一个焦点。虽然途径操作的概念以前已讨论过,但代谢工程的远景以独特的方式作为一个明确定义的学科是 1991 年由 Bailey 首先提出的,之后很快就被生物工程师和生命科学家所接受,他们看到捕获由基因组学研究所产生的序列和其它信息的潜力方面所存在的机遇。

1993 年,我们首先在 MIT (美国麻省理工学院) 开设的一门课中对我们的学生传授表达了代谢工程的基本概念及其引起的兴奋与激动。这种试验在 1995 年、1997 年又重复进行几次。在那时,一个明确的教学大纲和一套教学笔记作为这些奉献的结果出现了。在丹麦工业大学 (DTU) 有一个类似的发展:在本科生和研究生的生物化学工程课程中代谢工程已成为一个中心主题。1996 年首次正式提供了关于代谢工程的标准的一学期课程。对代谢工程增长着的兴趣及分享该课程教学材料的需求导致我们确定写这本书。在这样做的过程中,我们试图对酶反应途径的分析构建一个定量生物化学的框架。在这种意义上,本书反映了焦点从设备向单个细胞的变换,焦点集中到细胞生物化学功能的阐明与操作上。因此,这本教科书可向研究生和高年级本科生提供一门代谢工程课程以补充生物化学工程领域目前开出的课程。

本书初稿曾用于 MIT 和 DTU 的代谢工程教学,也曾用于 MIT 的暑期代谢工程课程。本书的内容可覆盖一个学期而没有先修特定课程的要求,当然先修一些生物化学入门性的课程是有帮助的。该学年的第一个四分之一从生物化学书中指定了一些阅读材料以补充本书的第一部分。有助于理解基本概念习题集将在下面列出的网页上定期公布。虽然本书的焦点是代谢,但途径分析的概念是广泛的,因而对其它类型的反应系列一般都是可以应用的,这包括蛋白质表达、翻译后修饰或信号转导途径等过程的分析。

写一本仍在形成中的学科方面的书是一种挑战,接受这种挑战也就增加了责任。为此,我们设定的目标是:详细说明对于途径设计和分析处于中心位置的核心原理,同时用从最近研究中得出的方法加以补充。我们期待着这些方法进一步发展,并希望这本书在“催化”这种活动中起作用。实现这些方法的软件可在相关的网页上找到。此外,本书中的数学复杂性已经保持到一个最低的水平,并在可能的地方提供了背景材料,以辅助尽可能少地采用数学。我们知道这个任务的挑战性以及满足读者范围广泛的各个层面的困难。我们鼓励读者继续对本书的评审,而不要被任何暂时的困难所阻挡。

我们要感谢很多人,其中一些对本书做出过直接的贡献,一些在该任务的计划及执行中提供了间接的帮助。首先,我们对我们学生的无穷的干劲及高度的创新性表示感谢,特别是: Maria Klapa 对代谢通量分析深入细致的核查; Troy Simpson 的研究提供了复杂途径分析的基础。同样,我们感谢 Martin Bastian Pedersen 对很多图的绘制; Christian Muller, Susanne Sloth Larsen, Birgitte Karsbol 和 Kristen Nielsen 在最后确定初稿中提供的帮助。我们感谢我们的同事们,特别是: Tony Sinskey 对代谢工程的无限广阔可能性的热情; Sue

Harrison 和 Eduardo Agosin 所作的最具建设性的评论。最后，我们感谢我们的合作者和朋友，特别是：Barry Buckland, Bernhard Palsson, John Villadsen, Maish Yarmush 和 D. Ramkrishna, 对他们的洞察力和对许多重要问题坚定不移的支持。

Gregory N. Stephanopoulos

Aristos A. Aristidou

Jens Nielsen

中译本序

五年以前，我们的教科书“代谢工程——原理和方法”出版了。从那时起，我们的著作成功地用于国际上若干大学的教学，而且两年以前该书已译成日文出版发行。对这部著作的兴趣很可能是由于工业生物技术的迅速发展。在工业生物技术领域，通过对特定细胞工厂引入定向基因修饰而进行的新的生物过程的开发正被越来越多的世界一流发酵公司所应用。随着中国生物技术的迅速发展及中国大学教育标准的提高，中国已使自己处于工业生物技术领域一个主要的国际参赛者的位置。在这种情况下，出版一本中文代谢工程的教科书是非常及时的。我代表本书的共同作者 Gregory N. Stephanopoulos 教授和 Aristos A. Aristidou 博士谨对选用我们的著作译成中文深表感激。我们感谢本书译者们所做的贡献及付出的辛勤劳动。我们希望本书中译本对中国的新一代代谢工程工作者能起鼓舞和激励作用。

Jens Nielsen

2003年9月16日

译 序

人们利用微生物生产有用产品已有很长的历史,但自然界的微生物只能生产微量产品而且所需的生产条件很难在工业条件下实现。因此需要对这些微生物菌种进行改进才能满足工业生产的需要。五十多年来,人们用随机诱变及筛选的方法进行菌种改进,已在抗生素、氨基酸、有机酸等工业生产上取得很大进展。代价是随机性大,需要漫长的时间,而且生产能力低,往往在经济上竞争不过化学路线,因而远远不能满足工业生产的需要。原因是我们对细胞的生理特性理解不深,不能定向施加必要的遗传变化和(或)环境条件来改进细胞的性能。20世纪80年代发展起来的重组技术引起了人们通过引入赋有所希望性质的基因进行菌种定向改进的兴趣;具有上百年历史的化学工程技术,在对从分子水平到整个生产过程乃至生态环境复杂系统分析与集成中,积累了丰富的理论知识和实践经验。由于发展的需要及支撑技术提供的可能性,于是诞生了一门新学科——代谢工程。

代谢工程是应用分子生物学与反应工程技术不断发展融合的结果,是对细胞(包括微生物、植物、动物乃至人体细胞)内代谢途径网络系统分析的基础上进行定向地有目的地改变,以更好地理解 and 利用细胞代谢进行化学转化、能量转导和超分子组装。代谢工程可在细胞与分子水平上认识和改造细胞过程,其不仅在解释细胞生理特性上具有重要的科学意义,而且其潜在的应用跨越了生物技术的全部领域,主要包括:(1)异源蛋白的生产;(2)扩大底物利用范围;(3)生产原来不存在的新物质;(4)对环境有害物质的降解;(5)提高菌体对环境的适应能力;(6)阻断或降低副产物的生成;(7)代谢产品生产速率和生产能力的提高;(8)植物代谢工程;(9)动物代谢工程;(10)人体和组织代谢工程——新药发现及人类疾病诊断和基因治疗。

1991年美国加州理工学院和麻省理工学院化学工程系教授 Bailey 和 Stephanopoulos 等在同一期《Science》上分别发表了:“Toward a Science of Metabolic Engineering”和“Network Rigidity and Metabolic Engineering in Metabolite Overproduction”两篇重要文章,标志着代谢工程新学科的诞生。1993年 Cameron 等发表了“Cellular and Metabolic Engineering”的长篇综述文章,举出了100多个细胞和代谢工程的实例。1995年 Bailey 又发表了“Chemical Engineering of Cellular Processes”的长篇文章,详细讨论了生物网络工程及代谢工程。1996年召开了第一次国际代谢工程会议。此后,国际代谢工程会议定期两年举行一次。1998年本书作者 Stephanopoulos G., Aristidou A. 及 Nielsen J. 出版了国际上第一部代谢工程教科书。1999年以 Bailey 教授为主编的《Metabolic Engineering》刊物正式出版。此后,代谢工程研究及工业实践发展迅速,大量研究论文及综述文章不断发表,这可从本书两位作者近两年的综述文章看到。Stephanopoulos 教授的文章包括:“After a decade of progress, an expanded role for metabolic engineering” (Adv. Biochem. Eng., 2001), “How to make a superoor cell” (Science, 2001), “Metabolic engineering as an integrating platform for strain development” (Cur. Opi. Biotech., 2001), “Metabolic engineering: a new frontier of chemical reaction engineering” (Chem.Eng.Sci., 2002), “Metabolic engineering by genome shuffling” (Nature Biotech., 2002)。Nielsen 教授的文章:“Metabolic engineer-

ing" (Appl. Microbiol. Biotechnol., 2001), "An expanded role for microbial physiology in metabolic engineering and functional genomics: moving toward systems biology" (FEMS Yeast Research, 2002), "A functional genomics approach using metabolomics and in silico pathway analysis" (Biotechnol. Bioeng., 2002)。他们的文章总结了代谢工程的研究进展,进一步阐明了后基因组时代代谢工程的任务及研究方法。

代谢工程诞生仅十余年,引起了全世界学术界、企业界及政府部门的广泛重视。1995年底,美国科学技术政策办公室下属的生物技术分委员会发布了“21 世纪的生物技术——新展望”报告,确定了若干优先研究领域,代谢工程为其中之一,并成立了由国家科技专家组成的“代谢工程工作组”(MEWG),专门协调美国各部委以促进代谢工程的研究。该工作组通过组织美国八个部委(基金委、能源部、农业部、国防部、国家卫生研究院、国家标准局、国家环保局、国家航空宇航局)共同资助代谢工程研究。从 1998~2003 年已连续资助五年代谢工程的科学基础研究,资助金额已达 2800 万美元。同时,由于代谢工程潜在的应用价值,许多公司投巨资与学校及研究机构(如 DuPont 公司与 Genencor, Merck 公司与 MIT)合作进行代谢工程研究改进菌种。欧盟多次在其“框架计划”中专门设立“细胞工厂”研究项目,大力资助代谢工程研究。由于生物科学技术的飞速发展、多学科交叉、政府的高额资助及企业的积极参与,使得代谢工程研究在科学基础及应用方面均取得巨大进展,集中体现在如下两篇评论文章:BBA 以“用途径工程进行化学品的商业生产”为题介绍了代谢途径工程与发酵技术的集成在芳香化合物、有机酸(琥珀酸、乳酸、维生素 C)、醇(乙醇、甘油、1,3-丙二醇)和次级代谢物(类异戊二烯、聚酮、非核糖体肽)等生产中的成功例子[BBA, 1543, 434~455 (2000)];《Science》以“如何制造性能优良的细胞”为题介绍了用大肠杆菌制造靛蓝、合成 β -胡萝卜素的金色水稻、用链霉菌制造优良的聚酮分子、通过导入一个编码红细胞葡萄糖传递蛋白的人类基因(*glut1*)把专性硅藻菌转化为一个异养菌,从而改变了其代谢途径而能在没光的情况下代谢葡萄糖。所有这些均是在对细胞代谢网络及调控机理深入研究的基础上的重要科学发现,具有划时代的科学意义及工业和医用价值。

本书作者所在学校(美国麻省理工学院和丹麦工业大学)是国际上从事代谢工程研究最早最活跃的单位,Stephanopoulos 和 Nielsen 两位教授在代谢工程及相关领域发表科学论文都在 200 篇以上,他们都因在代谢工程领域的开拓性贡献以及在将生物学成功结合到化学工程研究中的领导作用而分别当选为美国工程科学院院士和丹麦工程科学院院士。他们都分别担任过国际代谢工程会议的主席。在 Bailey 教授两年前病逝后,他们分别担任“代谢工程”刊物的主编与副主编。两位教授在生物工程教学中不断进行学科交叉的创新与改革,并分别获得优秀教学奖。本书不仅是代谢工程科学发展及大量实例的总结,而且对代谢工程的原理及方法首次进行了科学的阐述,为代谢工程乃至复杂生物系统的研究奠定了坚实的基础。相信本书中译本的出版将会大大促进我国代谢工程的教学、科研以及生物技术产业的发展。

从 1999 年开始,本书英文版就作为我校“生物反应与代谢工程”科研组的主要参考书,并先后作为硕士、博士研究生学位课的双语教学用书。2000 年在新加坡-MIT 研讨会上,译者向本书作者 Stephanopoulos 教授请教了代谢工程教学中的一些问题。他对双语教学的做法表示肯定,同时表示如果出版中译本,他们可以提供全书所有插图(电子版)。为了促进我国代谢工程研究的发展,也为了加深对“代谢工程”一书的理解,2003 年 3 月我们邀请本书作者 Nielsen 教授来校讲学一周。除了当面讨论外,我们就翻译中的一些问题经常通过

电子邮件进行交流。我们非常感谢 Nielsen 教授和 Aristidou 博士所提供的所有电子版插图, 非常感谢 Nielsen 教授多次通过电子邮件对所提问题的及时回答与解释。

参加本书翻译工作的有天津大学化工学院生物工程系的有关教师、博士后及参加双语教学的博士研究生, 他们是: 白冬梅、赵学明 (第 1、2 章); 娄凯、白冬梅、赵学明 (第 3、4 章); 李文钊、班睿、赵学明 (第 5 章); 李文钊、赵学明 (第 6 章); 王昌禄、李文钊、赵学明 (第 7、8 章); 王国海、赵学明 (第 9、10 章); 陈涛、赵学明 (第 11、12 章); 沈玉宝、孔庆学、赵学明 (第 13 章); 马红武、白冬梅、赵学明 (第 14 章); 专业词汇 (陈洵、马平生); 索引 (白冬梅); 符号说明 (白冬梅)。白冬梅博士还承担了全书图表的翻译工作、有关物质名词和菌种名称的翻译或核对工作、全书格式调整及符号统一工作等。

由于原著是国际上第一本代谢工程书籍, 译者对其中一些内容缺乏科研及教学的实践经验, 再加上时间仓促, 错误之处在所难免, 如蒙读者指出, 我们将不胜感谢。

赵学明

2003 年 9 月 16 日于天津大学化工学院

符号说明

下面是本书中常用的一些符号。这里所用的单位为最典型的用法,在某些情况下可能有其它的单位。

英文符号

a_{cell}	细胞的比表面积 [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (干重)]
$\mathbf{a}$	含有式 (8.26) 中的目标函数中的单个变量权重的行向量
A_i	第 i 个反应的亲和力 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
c	浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
c_i	第 i 个化合物的浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
c_i^f	加入到生物反应器中的第 i 个化合物的浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
C_i^J	第 i 个酶对第 j 个稳态通量 J_j 的通量控制系数
$*C_i^{J_j}$	第 i 个组对稳态通量 J_j 的组通量控制系数
$C_i^{X_j}$	第 i 个酶对第 j 个代谢物浓度的浓度控制系数
$*C_i^{X_j}$	第 i 个组对第 j 个代谢物浓度的组浓度控制系数
$\mathbf{C}^J$	包含通量控制系数的矩阵
$\mathbf{C}^X$	包含浓度控制系数的矩阵
d_{men}	细胞质膜的厚度 (m)
D	稀释速率 (h^{-1})
D_{mem}	膜扩散的扩散系数 ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
D_i^I	式 (11.84) 给出的偏差指数
E_i	第 i 个酶的活性 (或浓度)
$\mathbf{E}$	元素组成矩阵或包含弹性系数的矩阵
$\mathbf{E}_c$	未测量化合物的元素组成矩阵
$\mathbf{E}_m$	已测量化合物的元素组成矩阵
f	式 (11.87) 所给的通量扩增因子
f_{ij}	通量 j 与通量 i 的比值 [由式 (11.50) 给出]
F	进入生物反应器的体积流速 ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$)
F_{out}	流出生物反应器的体积流速 ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$)
$\mathbf{F}$	方差-协方差矩阵
g_{ij}	在第 j 个反应中的第 i 个胞内代谢物的化学计量系数
G	吉布斯函数 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
ΔG	吉布斯自由能的变化 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
ΔG^0	在所有反应物和产物均为标准态时的吉布斯自由能变化 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
$\mathbf{G}$	含有胞内代谢物化学计量系数矩阵
$\mathbf{G}_c$	含有通量未被测量的反应中, 胞内代谢物的化学计量系数矩阵
$\mathbf{G}_m$	含有通量已被测量的反应中, 胞内代谢物的化学计量系数矩阵
$\mathbf{G}_{\text{ex}}$	含有正、反两个方向所有反应的化学计量系数的代谢模型的化学计量系数矩阵
h	由方程式 (4.29) 给出的检验函数

$R_{x_i}^j$	式 (11.7) 给出的响应系数
$\mathbf{R}$	式 (4.17) 给出的冗余矩阵
$\mathbf{R}_r$	含有 $\mathbf{R}$ 的独立行的缩减冗余矩阵
S	熵函数 [$\text{kJ} \cdot (\text{K} \cdot \text{mol})^{-1}$]
S_i	第 i 个底物
T	温度 (K)
$\mathbf{T}$	含有式 (8.12) 确定的化学计量系数的矩阵
v_j	第 j 个关联的比速率 [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$\sum v^i$	第 i 个反应组的总比速率 (活性) [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$v_{\max}$	酶催化反应的最大比速率 ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1}$)
$\mathbf{v}$	反应速率向量 (或胞内稳态通量) [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$\mathbf{v}_c$	未测量的反应速率向量 [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$\mathbf{v}_m$	测量的反应速率向量 [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
V	生物反应器的体积 (L)
x	菌体浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
$X_{\text{macro}, i}$	第 i 个大分子库的浓度 [$\text{g} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$X_{\text{met}, i}$	第 i 个胞内代谢物的浓度
Y_{ij}	得率系数 [$\text{mmol}(j) \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
Y_{ij}^{true}	真实得率系数 [$\text{mmol}(j) \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
Y_{xATP}	细胞生长的 ATP 需要 [$\text{mmol (ATP)} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$Y_{\text{xATP}, \text{growth}}$	细胞合成的 ATP 需要 [$\text{mmol (ATP)} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$Y_{\text{xATP}, \text{lysis}}$	由于细胞自溶浪费的细胞生长所需的 ATP [$\text{mmol (ATP)} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
$Y_{\text{xATP}, \text{leak}}$	由于泄漏和无效循环的 ATP 需要 [$\text{mmol (ATP)} \cdot \text{g}^{-1} (\text{干重}) \cdot \text{h}^{-1}$]
Z	式 (14.48) 给出的表观化学计量关系

希腊字母

α_{ji}	第 j 个反应中的第 i 个底物的化学计量系数
$\mathbf{A}$	含有底物化学计量系数的矩阵
β_{ji}	第 j 个反应中的第 i 个代谢产物的化学计量系数
$\mathbf{B}$	包含代谢产物化学计量系数的矩阵
χ	式 (14.49) 给出的力比
χ_i	式 (11.78) 中的参数
δ	测量误差向量
ϵ	式 (4.20) 给出的残差向量
$\epsilon_{x_j}^i$	式 (11.11) 给出的弹性系数
ϕ_i	式 (11.103) 给出的代谢物扩增因子
Φ_i	耗散函数 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
γ_{ji}	第 j 个反应中的第 i 个大分子库的化学计量系数
$\mathbf{\Gamma}$	包含大分子库的化学计量系数矩阵
η_{th}	热力学效率
κ	一般化还原度
μ	比生长速率 (h^{-1})
μ_i	第 i 个化合物的化学势 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
μ_i^0	在参考状态下的第 i 个化合物的化学势 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
$\pi_{p_i}^i$	式 (11.19) 给出的参数弹性系数
τ	特征时间 (h)

$h_{s,i}$	第 i 个底物的碳含量 ($\text{C}\cdot\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)
$h_{p,i}$	第 i 个代谢产物的碳含量 ($\text{C}\cdot\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)
H	焓函数 ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
H_j	式 (14.29) 给出的热力学函数
$\mathbf{I}$	单位矩阵, 即, 矩阵所有对角线元素为 1, 其它元素为 0
j	式 (14.46) 给出的流比
J_i	通过分支路径 i 的稳态通量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{J}$	稳态通量向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{J}_{\text{dep}}$	非独立通量向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{J}_{\text{in}}$	独立通量向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
k	速率常数
K	分析中所考虑的胞内代谢物的数目
K_{eq}	平衡常数
K_{par}	在液膜和培养基之间的分配系数 (无因次的)
K_{m}	Micheaelis-Menten 常数 (或饱和常数) ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
K_i	抑制常数 ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
$\mathbf{K}$	符合式 (12.7) 的核心矩阵
L_{ij}	表观系数
m_{ATP}	维持代谢的 ATP 需要
M	分析中所考虑的代谢产物的数目
N	分析中所考虑的底物的数目
p	影响反应速率的参数 [在式 (11.5) 中用到]
P	渗透系数 ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
P_i	第 i 个代谢产物
$\mathbf{P}$	残差的方差-协方差矩阵或含有参数弹性系数的矩阵
q	耦合度
Q	分析中所考虑的大分子库的数目
Q_{heat}	与菌体生长相关的热量生成 [$\text{kJ}\cdot\text{C}\cdot\text{mol}^{-1}$ (菌体)]
r	比速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
r_{ATP}	ATP 的生成速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
r_i	式 (11.86) 所给的活性扩增因子
$r_{\text{macro},i}$	第 i 个大分子库的比生成速率 [$\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$r_{\text{met},i}$	第 i 个胞内代谢物的比生成速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
r_{p}	产物比生成速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
r_{s}	底物比消耗速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
r_{tran}	穿过细胞膜的比运输速率 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{c}}$	非测量的比速率向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{m}}$	测量的比速率向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{macro}}$	含有大分子的比生成速率向量 [$\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{met}}$	含有胞内代谢物的比生成速率向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{p}}$	含有代谢产物的比生成速率向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
$\mathbf{r}_{\text{s}}$	含有底物的比消耗速率向量 [$\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (干重) $\cdot\text{h}^{-1}$]
R	气体常数 [$=0.008314\text{kJ}\cdot(\text{K}\cdot\text{mol})^{-1}$]
R_i	式 (13.40) 给出的活性扩增参数

目 录

符号说明

第1章 代谢工程的实质	1
1.1 代谢工程的重要性	5
1.2 本书的概要	8
参考文献	11
第2章 细胞代谢综述	12
2.1 细胞代谢概述	12
2.2 运输过程	15
2.2.1 被动运输	15
2.2.2 促进扩散	17
2.2.3 主动运输	19
2.3 供能反应	21
2.3.1 糖酵解	21
2.3.2 发酵途径	26
2.3.3 TCA循环和氧化磷酸化	28
2.3.4 回补途径	30
2.3.5 脂类、有机酸和氨基酸的分解代谢	32
2.4 生物合成反应	33
2.4.1 氨基酸的生物合成	33
2.4.2 核酸、脂肪酸和其它结构单元的生物合成	36
2.5 聚合反应	38
2.6 生长能学	41
参考文献	44
第3章 细胞反应的综合模型	48
3.1 细胞反应的化学计量学	48
3.2 反应速率	52
3.3 动态质量平衡	54
3.4 产率系数与线性速率方程	59
参考文献	66
第4章 物质平衡与数据一致性	67
4.1 黑箱模型	67
4.2 元素平衡方程式	68
4.3 热平衡	73
4.4 超定系统的分析——过失测量误差的识别	75
参考文献	83

第5章 代谢途径的调控	85
5.1 酶活性的调控	86
5.1.1 酶动力学概述	87
5.1.2 简单可逆抑制系统	90
5.1.3 不可逆抑制	94
5.1.4 别构酶	95
5.2 酶浓度调节	98
5.2.1 转录起始的控制	98
5.2.2 翻译的控制	101
5.3 总体调控：在完整细胞水平上的调控	102
5.4 代谢网络的调控	107
5.4.1 分支点分类	110
5.4.2 耦合反应与总体流通代谢物的作用	112
参考文献	114
第6章 途径操作实例——代谢工程实践	116
6.1 产品得率及生产能力的提高	116
6.1.1 乙醇	117
6.1.2 氨基酸	121
6.1.3 溶剂	126
6.2 扩大底物范围	128
6.2.1 戊糖代谢生产乙醇的代谢工程	128
6.2.2 纤维素-半纤维素解聚作用	132
6.2.3 乳糖和乳清利用	132
6.2.4 蔗糖利用	134
6.2.5 降解淀粉的微生物	134
6.3 扩展产物范围，增加新产品	135
6.3.1 抗生素	135
6.3.2 聚酮化合物	136
6.3.3 维生素	139
6.3.4 生物聚合物	140
6.3.5 生物色素	145
6.3.6 氢	146
6.3.7 戊糖：木糖醇	147
6.4 细胞性能的改进	148
6.4.1 氮代谢的改造	148
6.4.2 提高氧的利用	148
6.4.3 过度代谢的防止	149
6.4.4 底物吸收的改变	151
6.4.5 遗传稳定性的维持	152
6.5 异生物的降解	152

6.5.1 多氯联苯 (PCBs)	153
6.5.2 苯、甲苯和对二甲苯混合物 (BTX)	154
参考文献	156
第7章 代谢途径合成	166
7.1 代谢途径合成算法	167
7.2 算法综述	173
7.3 实例研究——赖氨酸生物合成	176
7.3.1 草酰乙酸的作用	179
7.3.2 其它替代途径	179
7.3.3 关于最高得率的限制	179
7.4 算法的讨论	180
参考文献	181
第8章 代谢通量分析	182
8.1 理论	184
8.2 超定系统	196
8.3 不定系统-线性规划	201
8.4 敏感性分析	204
参考文献	206
第9章 利用同位素标记实验测定代谢通量的方法	207
9.1 根据标记富集度分数直接确定通量	208
9.1.1 根据瞬时强度测量确定代谢通量	208
9.1.2 代谢稳态和同位素稳态实验	209
9.2 涉及同位素标记代谢物完全列出的应用	214
9.2.1 来自标记丙酮酸的 TCA 循环同位素标记代谢物的分布	216
9.2.2 来自标记乙酸的 TCA 循环同位素标记代谢物的分布	221
9.2.3 实验数据整理	222
9.3 碳平衡	232
9.3.1 直接碳平衡	232
9.3.2 原子作图矩阵的应用	237
参考文献	240
第10章 代谢通量分析的应用	241
10.1 由谷氨酸细菌生产氨基酸	242
10.1.1 谷氨酸菌的生物化学与调节	242
10.1.2 理论得率的计算	245
10.1.3 <i>C. glutamicum</i> 菌中赖氨酸生物合成网络的代谢通量分析	250
10.1.4 <i>C. glutamicum</i> 特定缺失突变株的代谢通量分析	257
10.2 哺乳动物细胞培养中的代谢通量	261
10.2.1 胞内通量的确定	261
10.2.2 通过 ¹³ C 标记研究证实通量估计	265
10.2.3 通量分析在细胞培养基设计中的应用	268

参考文献	268
第 11 章 代谢控制分析	270
11.1 代谢控制分析的基础	271
11.1.1 控制系数和加和定理	272
11.1.2 弹性系数和连接定理	274
11.1.3 MCA 理论的一般化	276
11.2 通量控制系数的确定	277
11.2.1 确定通量控制系数的直接法	279
11.2.2 确定通量控制系数的间接法	282
11.2.3 瞬态代谢物测量的应用	284
11.2.4 动力学模型	286
11.3 线性途径的 MCA	286
11.4 分支途径的 MCA	291
11.5 大偏差理论	299
11.5.1 未分支的网络	299
11.5.2 分支网络	304
11.5.3 对营养物浓度和外部效应物变化的响应	307
11.5.4 讨论	307
参考文献	308
第 12 章 代谢网络的结构分析	311
12.1 在单一分支点处通量分布的控制	313
12.2 反应分组	316
12.2.1 组通量控制系数	316
12.2.2 独立途径的识别	317
12.3 实例研究——芳香族氨基酸的生物合成途径	322
12.3.1 <i>S. cerevisiae</i> 中芳香族氨基酸生物合成模型	322
12.3.2 独立途径的确定	326
12.3.3 连接代谢物的识别和组通量确定	328
参考文献	338
第 13 章 代谢网络的通量分析	339
13.1 组控制系数与单个控制系数之间的关系 (自下而上法)	339
13.2 由通量测量确定组控制系数 (自上而下法)	341
13.2.1 从三个扰动确定 gFCCs	341
13.2.2 从已表征的扰动确定 gFCCs	343
13.2.3 gCCCs 的确定	344
13.2.4 扰动的可观察性	344
13.3 实例研究	345
13.3.1 组控制系数的解析确定 (自下而上法)	345
13.3.2 gFCCs 实验确定的模拟 (自上而下法)	350
13.4 交叉代谢物反应组控制分析的扩展	352

13.4.1 扰动常数	352
13.4.2 多分支点上重叠反应组的分析	352
13.4.3 实例研究	354
13.5 通量扩增的优化	355
13.5.1 优化算法的推导	355
13.5.2 实例研究	357
13.6 一致性检验与实验证实	359
13.6.1 利用多次扰动发展一致性检验	360
13.6.2 对预苯酸分支点的应用	363
13.6.3 测量误差的影响	364
参考文献	365
第 14 章 细胞过程热力学	366
14.1 热力学原理：综述	366
14.2 热力学可行性	371
14.2.1 算法	372
14.2.2 利用基团贡献法确定 $\Delta G^{0'}$	377
14.3 非平衡热力学	384
14.4 热动力学在代谢控制分析中的应用	396
参考文献	400
专业词汇	402
索引	410