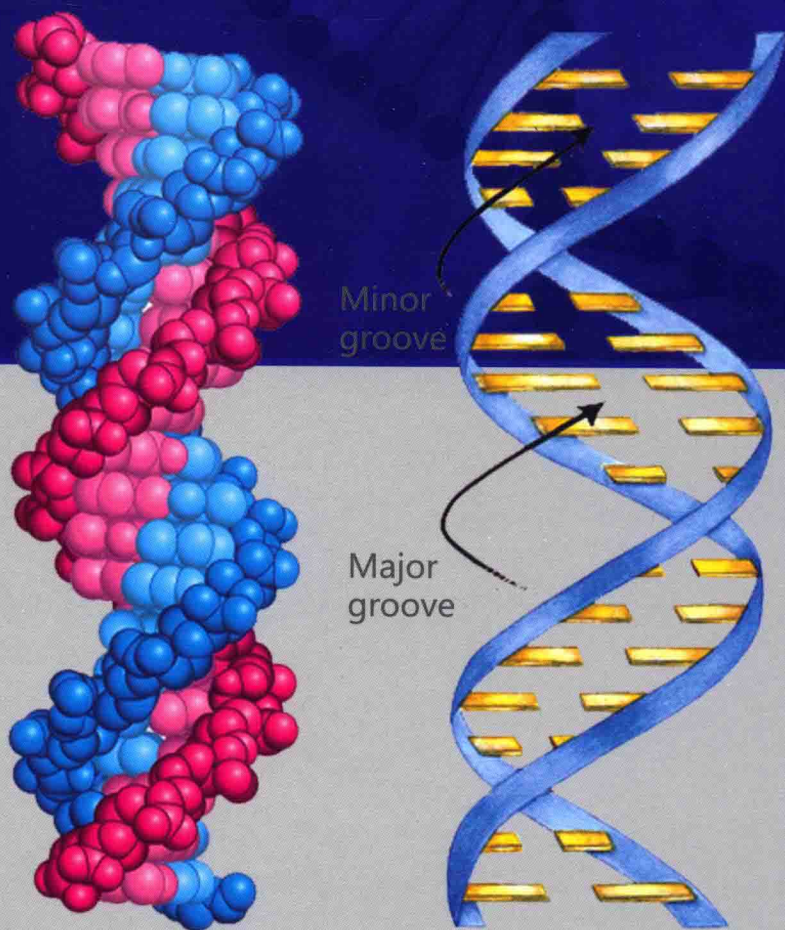


# 生物催化剂

## —— 酶催化手册

SHENGWU CUIHUAJI  
MEICUIHUA SHOUCHE

秦永宁 编著



化学工业出版社

# 生物催化剂

## ——酶催化手册

SHENGWU CUIHUAJI  
MEICUIHUA SHOUCHE

秦永宁 编著



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是我国首部生物催化剂——酶的催化手册。全书共九章。第一章概述，给出了酶催化剂的定义，论述了酶是生命产生、维持、延续、进化的关键物质，也是基因工程的核心。第二章是酶催化基本理论，包括：酶的催化特点、催化作用机制和催化反应动力学、酶催化活性及其测定方法。第三章至第八章收集了两千多种酶，根据酶系统分类法，按酶六大类催化反应汇编，分别是催化氧化还原反应的酶、催化功能基团转移反应的酶、催化底物（反应物）水解反应的酶、催化底物分解和加成的酶、催化底物分子异构化反应的酶、催化与ATP分解偶联形成各种键反应的酶，已经生产、应用的酶制剂。书后附有常用英文缩写注释表和中英文索引。

本书是生物工程、生物医学、化工与制药、食品科学与工程等科技人员的重要参考书和工具书，也可供各有关工业部门科技人员和高等院校相关专业的师生阅读。

### 图书在版编目 (CIP) 数据

生物催化剂：酶催化手册/秦永宁编著. —北京：化学工业出版社，2015.4

ISBN 978-7-122-23122-2

I. ①生… II. ①秦… III. ①酶-生物工程-技术手册 IV. ①Q814-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 039246 号

---

责任编辑：徐雅妮

文字编辑：刘志茹

责任校对：陶燕华

装帧设计：王晓宇

---

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011）

印刷：北京永鑫印刷有限责任公司

装订：三河市胜利装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张31 $\frac{3}{4}$  字数806千字 2015年7月北京第1版第1次印刷

---

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686） 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

---

定 价：150.00 元

版权所有 违者必究

京化广临字2015—4号



## 前 言

近二十年来,生命科学发展迅速。21世纪将成为生命科学发展的世纪。在研究生命起源、进化、基因工程、生物芯片、物种的改性和优化、克隆技术、生物医药、食品加工、生物医疗工程、生物能源、生物环保等方面,都涉及生命体中存在的一种特殊物质:生物催化剂——酶。可以说:“没有酶的催化作用,任何形式的生命现象都不会存在”。

酶与化学催化剂一样,能影响热力学上可能的反应,具有加速和定向作用,但不改变热力学平衡。与化学催化剂不同的是它还具有两个特殊的功能:

1. 自我复制,也就是“酶”通过自催化过程合成自身(酶);
2. 在20世纪后期,发现RNA和DNA类酶不仅具有酶的催化活性,而且还具有传递遗传信息的功能。酶就成了基因工程和生物芯片的关键物质。

这就是我编著生物催化剂——酶催化手册的初衷。

本书是我国首部生物催化剂——酶的催化手册。全书共分九章。第一章概述,论述酶是催化剂,蛋白质是催化剂的载体,具有载体效应的催化剂载体。初次给出了酶催化剂的定义。论述了酶是生命产生、维持、延续、进化的关键物质,也是基因工程的核心。第二章是酶催化基本理论,介绍酶的催化特点、催化作用机制和催化反应动力学、酶催化活性及其测定方法。第三章至第八章收集了两千多种酶,并列出了每种酶的名称、分类名、催化作用和催化反应。根据1961年国际酶学委员会(缩写EC)提出的酶系统分类法,按酶六大类催化反应编写。第三章介绍催化氧化还原反应的酶。第四章介绍催化功能基团转移反应的酶。第五章介绍催化底物(反应物)水解反应的酶。第六章介绍催化底物分解和加成的酶。第七章介绍催化底物分子异构化反应的酶。第八章介绍催化与ATP分解偶联形成各种键反应的酶。

(连接酶类)。第九章介绍已经生产、应用的酶制剂。附录部分包括常用英文缩写注释表和中英文索引。

本书的初稿是由秦永宁教授 2009 年完成的，后经天津大学丁彤、马智、天津科技大学张黎明、天津商业大学梁新义审核补充。全书由秦永宁教授统稿。天津市鹏翔科技有限公司乔冠东为本书的出版提供了帮助。

生命科学是正在迅速发展的学科。酶是生命科学中的核心，不断有新酶和酶的新功能被发现。由于编写人员的知识有限，参考文献又受时间和空间的限制，书中疏漏之处在所难免，敬请各位专家、读者不吝指教为感。

秦永宁  
于天津大学  
2015 年 1 月

# 目 录

<b>第一章</b>	<b>概述</b>	0
第一节	生物催化剂——酶	1
第二节	生命之源——酶	2
第三节	基因工程与酶	6
<b>第二章</b>	<b>酶的催化原理</b>	0
第一节	酶的催化特点	10
第二节	影响酶催化作用的主要因素及酶催化作用机制	12
第三节	酶催化反应动力学	16
第四节	酶催化活性及其测定方法	33
<b>第三章</b>	<b>催化氧化还原反应的酶</b>	0
第一节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{CH-OH} \\ \diagdown \end{array}$ 基团的氧化还原酶	37
第二节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C=O} \\ \diagdown \end{array}$ 基团氧化还原反应的酶	68
第三节	催化 $\text{CH-CH}$ 基团氧化还原的酶	77
第四节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{CH-NH}_2 \\ \diagdown \end{array}$ 基团氧化还原的酶	83

第五节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{CH—NH} \\ \diagdown \end{array}$ 基团氧化还原的酶	89
第六节	催化 NADH、NADPH 基团氧化还原的酶	93
第七节	催化含氮化合物氧化还原的酶	98
第八节	催化含磺基团氧化还原的酶	99
第九节	催化亚铁细胞色素氧化还原的酶	101
第十节	催化酚及相关物质氧化还原的酶	102
第十一节	催化过氧化物氧化还原的酶	103
第十二节	催化单加氧和双加氧反应的氧化还原酶	105
第十三节	催化过氧化物基团等其它氧化还原反应的酶	123

#### 第四章 催化功能基团转移反应的酶

第一节	催化碳基团转移的酶	126
第二节	催化醛基或酮基转移的酶	138
第三节	催化酰基转移的酶	138
第四节	催化糖基转移的酶	150
第五节	催化烷基或芳基转移的酶	174
第六节	催化含氮基团转移的酶	177
第七节	催化磷酸基转移的酶	186
第八节	催化含硫基团转移的酶	216

#### 第五章 催化底物（反应物）水解反应的酶

第一节	催化酯键水解的酶	221
第二节	催化糖苷键水解反应的酶	252
第三节	催化醚键水解反应的酶	269
第四节	催化肽键水解反应的酶	270
第五节	催化 C—N 键（不包括肽键）水解反应的酶	290
第六节	催化酸酐键水解反应的酶	304
第七节	催化 C—C 键水解反应的酶	309
第八节	催化卤键水解反应的酶	310
第九节	催化 P—N 键水解反应的酶	311
第十节	催化 S—N 键水解的酶	311

#### 第六章 催化底物分解和加成的酶（裂合酶类）

第一节	催化 C—C 键裂解的裂合酶	312
第二节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C—O} \\ \diagdown \end{array}$ 键裂解的裂合酶	331
第三节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C—N} \\ \diagdown \end{array}$ 裂解的裂合酶	344

第四节	催化 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C-S} \\ \diagdown \end{array}$ 键裂解的裂合酶 .....	347
第五节	催化裂解碳-卤键的裂合酶 .....	349
第六节	催化裂解 P-O 键的裂合酶 .....	349
第七节	其它裂合酶 .....	350

## 第七章 催化底物分子异构化反应的酶 (异构酶类) ○

第一节	消旋及差向异构化酶 .....	351
第二节	催化几何异化的酶 .....	356
第三节	催化分子内的氧化还原酶 .....	357
第四节	催化分子内基团转移的酶 .....	362
第五节	催化分子内基团裂合的酶 .....	364
第六节	其它异构酶 .....	365

## 第八章 催化与 ATP 分解偶联形成各种键反应的酶 (连接酶类) ○

第一节	催化形成 C-O 键的连接酶 .....	366
第二节	催化形成 C-S 键的连接酶 .....	369
第三节	催化形成 C-N 键的连接酶 .....	371
第四节	催化形成 C-C 键的连接酶 .....	379
第五节	催化形成磷酸键的连接酶 .....	380

## 第九章 酶制剂 ○

第一节	氧化还原酶类的酶制剂 .....	382
第二节	转移酶类的酶制剂 .....	390
第三节	水解酶类的酶制剂 .....	397
第四节	裂合酶类的酶制剂 .....	440
第五节	异构酶类的酶制剂 .....	443
第六节	连接酶类的酶制剂 .....	444

## 附录一 常用英文缩写注释表 ○ 445

## 附录二 中英文索引 ○ 447

## 参考文献 ○ 500



# 第一章 概述

## 第一节 生物催化剂——酶

在任何化学反应中，反应物分子必须超过一定的能阈，成为活化的状态，才能发生变化，生成产物。这种提高低能分子达到活化状态的能量，称为活化能（activation energy）。催化剂的作用主要是降低反应所需的活化能，以致于相同的能量能使更多的分子活化，从而加速反应的进行。酶和一般催化剂的作用机理都是降低反应的活化能。酶是生物催化剂（biological catalyst），它具有两方面的特性，既有与一般催化剂相同的催化性质，又具有一般催化剂所没有的特殊性。与非生物催化剂相比，生物催化剂具有极高的催化效率和温和的反应条件，它能在常温常压下反应，且反应速率快，其催化效率是一般催化剂的  $10^3 \sim 10^7$  倍；生物催化剂的催化作用专一，即一种酶只催化一种反应，酶与一般催化剂一样，只能催化热力学允许的化学反应，缩短达到化学平衡的时间，而不改变平衡点。酶作为催化剂在化学反应的前后没有质和量的改变。酶是生物体进行自我复制，新陈代谢不可缺少的生物催化剂。工业用的生物催化剂是游离或固定化的酶或细胞（酶的载体）的总称。死的细胞或干细胞制剂也具有催化作用，但其细胞已无新陈代谢能力，往往不能进行辅酶或辅基（酶的组成部分）的再生，只能进行简单的酶反应，属于一种不纯的酶催化剂。

酶学知识来源于生产实践，我国 4 千多年前的夏禹时代就盛行酿酒，周朝已开始制醋、酱，并用曲来治疗消化不良。酶的系统研究起始于 19 世纪中叶对发酵本质的研究。1867 年，德国人库内（Kuhne）使用酶（enzyme）这一术语表述催化活性。Enzyme 来自希腊文，原意为“在酵母中”（酵素），中文译为“酶”。Pasteur 提出，发酵离不了酵母细胞。1896 年，Buchner 兄弟成功地用不含细胞的酵母液实现发酵，能把 1 分子葡萄糖转化成 2 分子乙醇和 2 分子  $\text{CO}_2$ ，说明具有发酵作用的物质存在于细胞内，并不依赖活细胞，细胞只

是酶的载体。1913年, Michaelis 和 Menten 在总结前人工作的基础上, 根据中间产物学说提出了酶促反应动力学原理——米氏学说。米氏方程的建立对酶由定性到定量的研究和作用机理的探讨提供了方法。1926年, Sumner 首次从刀豆中提取出脲酶结晶, 并证明这种结晶能催化尿素水解, 产生  $\text{CO}_2$  和氨, 提出酶的本质是蛋白质。这个观点直到若干年后获得了胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶的结晶才被普遍接受, Sumner 因此获得了1947年诺贝尔化学奖, 现已有2000余种酶被鉴定出来, 其中有200余种得到结晶, 特别是近30年来, 随着蛋白质分离技术的进步, 酶的分子结构、酶作用机理的研究得到发展, 有些酶的结构和作用机理已被阐明。20世纪50~60年代, 发现酶有相当的柔性, Koshland 提出了诱导契合理论, 以解释酶的催化理论和专一性, 同时也弄清某些酶的活性与生理条件变化有关。1961年, Monod 及其同事提出了变构模型, 用于定量解释有些酶的活性可以通过结合小分子(效应物)进行调节, 从而提供了认识细胞中许多酶调控的基础。1969年, 首次报道了由氨基酸单体化学合成牛胰岛素核酸酶。这个化学合成定性地证明了酶和非生物催化剂没有区别。最近发现除了经典酶以外, 某些生物分子也有催化活性。1982年, Cech 小组发现, 四膜虫的 rRNA 前体能在完全没有蛋白质的情况下进行自我加工, 催化得到成熟的 rRNA 产物, 这可说明蛋白质也可能是酶的载体, 也许是能与酶相互作用, 具有载体效应的催化剂载体。这就是说, RNA 本身是生物催化剂, 可称之为“ribozyme”。总之, 酶与化学催化剂具有一样的属性。但它大量存在于生物体内, 是生命的源泉, 所以称它为“生物催化剂”。现在可以用定义化学催化剂的方法来定义酶:

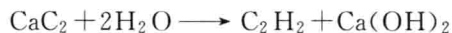
酶是生物体内能进行自我复制的生物催化剂。它与化学催化剂一样, 能影响热力学上可能的过程, 具有加速作用和定向作用。能在温和条件下(即生命体生存的条件下)高度专一, 有效地催化底物(即反应物)发生反应, 而反应之后, 本身没有变化, 不改变热力学平衡。

## 第二节 生命之源——酶

根据生命起源的化学演化学说, 原始生命诞生的时间可能在距今37亿~38亿年前后。在此之前是生命起源的化学演化阶段, 之后为生物进化阶段。生命起源的化学演化阶段大致可分为四个阶段。

### 一、从无机小分子生成有机小分子

大约在47亿年前, 与生命起源有关的元素 H、C、O、N、S、P 等之间进行化学反应生成无机小分子, 如:  $3\text{H} + \text{N} \rightleftharpoons \text{NH}_3$ ,  $2\text{H} + \text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{C} + \text{N} \rightleftharpoons \text{CN}$ ,  $\text{C} + \text{C} \rightleftharpoons \text{C}_2$ ,  $\text{C} + \text{O} \rightleftharpoons \text{CO}$ ,  $\text{C} + 2\text{O} \rightleftharpoons \text{CO}_2$ ,  $\text{N} + 2\text{O} \rightleftharpoons \text{NO}_2$  等。大约47亿~45亿年前, 地壳刚形成时, 火山爆发频繁, 地球核心中的金属碳化物被喷到地球表面, 与当时基本上由过热水蒸气组成的地球大气发生相互作用, 形成了各种碳氢化合物和碳氧化物的含氮、含氧衍生物。如



$\text{CH}_3\text{CHO} + \text{NH}_3$  形成碳氢化合物的含氮衍生物 ( $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—NH}_2$ ), 并可进行一系列化学演化过程生成了氨基酸。1953年, 米勒 (Miller SL) 设计了模拟早期地球条件的火花

放电的实验装置，在反应器烧瓶中放入甲烷（ $\text{CH}_4$ ）、氨（ $\text{NH}_3$ ）、氢和蒸气，在火花放电的作用下，反应一周后得到了 11 种氨基酸。米勒的实验为生命起源的化学演化提供了依据。1963 年，有人用甲醛为原料，经紫外线照射得到了核糖和脱氧核糖。

## 二、从有机小分子发展成生物大分子（主要是指蛋白质和核酸）

有学者认为在原始海洋中氨基酸和核苷酸经过长期积累，在适当条件下（例如，吸附在无机矿物黏土上，也可理解为在无机催化剂作用下），通过缩合或聚合作用形成了原始的蛋白质和核酸分子也就是已生成了具有催化活性的“酶”。生命的起源化学演化实质是蛋白质、核酸分子的形成与演化过程。生命起源于蛋白质还是核酸？现有三种说法。

以奥巴林和原田馨为代表的部分学者认为蛋白质首先起源，依据是蛋白质的合成不需要核酸为其编码，也就是不依靠核酸的作用，以蛋白质为模板定向酶促合成。1990 年，Hirata 等在酵母液泡膜  $\text{H}^+$ -ATPase 的  $\alpha$  亚基（VMA1）中首先发现了蛋白质自我剪接现象。此后，在古细菌、真细菌和真核细胞中陆续发现了这种现象。1994 年，Peler 等明确提出蛋白质自剪接是从前体蛋白质内切除内含肽，并将外显肽以肽键相连，产生成熟蛋白质的过程。1996 年，David Lee 及其同事在著名学术刊物 Nature 上首先报道了能自我复制的肽，发现了一种折叠成  $\alpha$ -螺旋并且具有酵母转录因子 GCN4 中一个区段样结构的 32 氨基酸的肽，能在溶液中促进 15-氨基酸片段和 17-氨基酸片段间的酰胺酸键缩合，自动催化自身的合成。这些为蛋白质首先起源提供了证据。

以里奇和奥格尔为代表的部分学者认为生命起源实质是核酸分子的形成与演化，在功能上是先有复制，后有代谢。因为核酸是遗传信息的载体，它控制着蛋白质的合成等。1983 年，Altman 和 Pace 发现大肠杆菌和枯草杆菌的 RnaseP 上的 RNA 部分就是酶，可独自加工 tRNA 前体，切断 5'-端特定位置上的磷酸二酯键。1986 年，Cech 确认四膜虫 rRNA 的内含子也是地道的酶，该内含子 RNA 可切除自身并连接两侧的外显子，它还可以催化两个以上内含子寡聚化反应，也能以自身携带的分子内模板为模板，以寡聚核苷酸为底物合成出多聚核苷酸，这种具有酶活性的 RNA 被定名为瑞珀酶。它既可以保存遗传信息，又可以提供酶活性，所以有学者提出在早期进化中有“RNA 世界”。20 世纪 90 年代，Cuenoud 等发现 DNA 也具有酶活性，他们根据共有序列设计合成了由 47 个核苷酸组成的单链 DNA-E47，可以催化两个底物 DNA 片段之间的连接，这说明 DNA 也具有保存遗传信息和酶活性的双重功能。RNA 和 DNA 的双重功能为核酸首先起源提供了依据。

以迪肯森为代表的部分学者认为核酸与蛋白质共同起源，复制与代谢两者相依为命。支持这一看法的事实是蛋白质合成的中间产物氨基酸腺苷酸盐既可以使氨基酸缩合成多肽，又因为它含有碱基可形成多核苷酸。

这三种生命起源学说都说明蛋白质和核酸分子（RNA、DNA）具有酶活性。生命的起源是生物催化剂酶。英国与芬兰的研究人员发现，RNA 聚合酶是所有活生物拥有的最重要的酶之一，具有传递遗传信息的功能。它有两种形式，即 DNA 依赖和 RNA 依赖。RNA 依赖 RNA 聚合酶是以 RNA 为模板合成的，它们既存在于一些病毒中，也存在于一些高级生物中。病毒利用这种酶复制自己的遗传物质，但在高级生物中，这种酶的作用就大不一样了，它们可繁殖出参与 RNA 干扰系统中的 RNA 分子。第一个 RNA 聚合酶可能是在“RNA 世界”时代出现的。按照现代理论，地球上最早的生命开始于 RNA 分子的繁殖。最早的活生物是 RNA 生物，没有蛋白质和 DNA，RNA 分子具有保留遗传信息的功能，也执

行着其他蛋白质现在完成的功能。RNA 生物在获得了合成多肽的能力后，RNA 聚合酶的功能就逐渐从 RNA 转向蛋白质，其中的一种蛋白质就是 RNA 依赖 RNA 聚合酶，它保证了这些生物的有效繁殖。研究人员认为，最早的 RNA 依赖 RNA 聚合酶应该是他们研究的蛋白质最简单的一种结构。这个最古老的酶包含一个 DPBB 结构域。后来，由于复制转变了两个 DPBB 结构。刚开始它们是一样的，以后出现了一些差别，其功能也随即不同。这意味着在这个阶段进化方向发生了分离：有些 RNA 聚合酶变成了 RNA 依赖，而其他的则变成了 DNA 依赖，也就是拥有了在 DNA 基础上合成 RNA 的能力。研究人员认为，他们的发现对生命起源学说提供了一个新证据。

### 三、由大分子组成多分子体系

这种多分子体系的实验模型主要有团聚体 (coacervate) 和类蛋白质微球体 (proteinoid microsphere)。

**团聚体模型：**20 世纪 50 年代奥巴林曾将白明胶水溶液和阿拉伯胶水溶液混合，发现使原澄清的液体变浑浊了，取少许制片，显微镜下观察到许多大小不等的小滴，把它称为团聚体。后来他还用蛋白质与核酸、组蛋白和多核苷酸、蛋白质与多糖、蛋白质与核酸和类脂制成多种多样的团聚体进行了有关特性的研究。发现在一定条件下团聚体可以进行所谓的生长、分裂，具备了原始生命的萌芽。

**类蛋白质微球体模型：**Fox 把多种氨基干热聚合形成的酸性类蛋白质放入稀薄的盐溶液中冷却，或将其溶于水使温度降低到 0℃，在显微镜下观察看到大量直径为 0.5~3μm 的均一球状体，即类蛋白质微球体。实验表明，当把微球体悬液的 pH 由 3.5 上升到 4.5 或 5.5 时，在显微镜下可看到微球体具有类似细胞膜的双层膜结构，微球体悬液放置一段时间，可以看到出芽。把芽分离出来，置于饱和的类蛋白质溶液中，并从 37℃ 冷却到 25℃ 时，芽开始生长，直到与原来的微球体 (母体) 一样大小，变成第二代微球体，然后在同样条件下又可重复以上过程，产生出芽、分裂、长大等仿生现象。Fox 认为类蛋白质微球是一种比较理想的多分子体系，这些类蛋白质微球是现代生物细胞的前体。

### 四、由多分子体系发展到原始生命

作为原始生命必须独立于环境并能不断地与环境进行物质和能量交换的开放系统。奥巴林曾利用组蛋白和多核苷酸构建的团聚体进行相关的研究。实验过程中，在这种团聚体内加入两种酶，葡萄糖转化酶 (a) 和 β-淀粉酶 (b)，团聚体的周围是葡萄糖-1-磷酸盐。发现此时团聚体可以从环境中吸收葡萄糖-1-磷酸盐，当它进入团聚体后，可以在 (a) 的作用下转变成淀粉，在 (b) 的作用下转变成麦芽糖，然后排出团聚体。如果 (a) 和 (b) 两种酶的活性相当，建立起的开放系统能长期保存下来。具体实验过程见图 1-1。

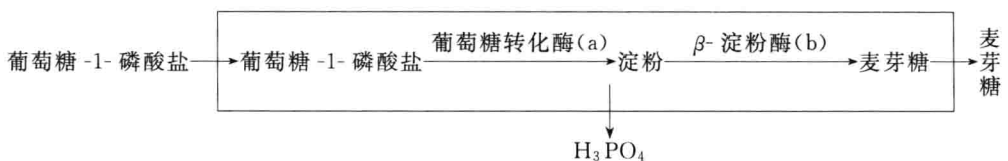


图 1-1 利用组蛋白和多核苷酸构建的团聚体进行相关的实验流程

这说明独立于环境的团聚体与周围环境可以进行物质和能量的交换。因此，可以说原始

生命已经诞生。酶在生命体的形成过程中起着极重要和关键的作用，在生命体的维持和发展中起着决定性作用。

人类细胞中的所有生物反应都依赖于酶的作用，它们作为催化剂促使生物反应在几毫秒内发生。美国科学家研究显示，在没有酶作用的情况下，某种生物反应的自然发生需要 23 亿年，相当于地球年龄的一半。研究人员称，这一反应对于血色素和叶绿素的生物合成必不可少，酶存在与否会造成如此巨大的差别。如果把人体比作一个化工厂，那么酶就是这个化工厂中几乎所有化学反应的催化剂。没有酶的催化，生命活动就会停止，世界就会一片沉寂，毫无生气。许多中毒性疾病导致死亡，就是毒物侵入人体使一些酶的催化活动停止，可见，酶对生命何等重要。可以说，生命活动就是由无数的生化反应组成的，而生化反应没有酶的参与是不可想象的。几千种酶在生命体内活动，几乎参与生命活动的全部。科学家经过观察发现，酶在人体内的变化主要表现在两方面，一是量的变化，另一个是质的变化，即酶的活性的变化。下列因素影响酶的变化：年龄、发育情况、生理病理变化、药物治疗、免疫功能、激素变化、环境适应、饮食结构以及学习、劳动、运动、休息、睡眠等，随着这些因素的变化，酶也发生相应的变化。年轻人体内酶的数量是充足的，随着年龄的增加，酶的数量反而渐渐减少。数量减少了，生化反应速率自然就会慢下来，人的活力不足。酶的催化反应还需要一个适宜的环境。科学家发现，一般在 37℃ 左右，接近中性的环境下，酶的催化效率非常高。因为酶是一种人体内的活的蛋白质，所以一切对蛋白质活性有影响的因素都会影响酶的活性。除了受温度、酸碱度影响外，酶催化的对象（即所谓底物）和酶液本身的浓度，都对酶的活性有影响。这就对许多专家强调要保持体内酸碱平衡和保持体内适宜的水分，不难理解了。酶催化反应的最佳环境是人在长期进化中形成的，任何或高或低的改变，都将影响酶的活性。

现代生物学表明，地球上的生命，从简单的细菌到复杂的人类，它们的基本代谢途径相同，遗传密码一致，遗传信息的传递方式近似。其中起主要作用的是两类大分子：一类是核酸，另一类是蛋白质（包括各种酶）。连目前已知的最简单的生命都是由这两类分子组成的多分子系统。生命的三大基本功能：自我调节、自我复制和独立的选择性反应都依赖于酶促催化反应来实现。

### 1. 自我调节

自我调节是生命的一个本质属性。任何生命在其存在的每一瞬间，都在不断地调节自己内部的各种机能的状况，调整自身与外界环境的关系。高等生物的自我调节是多层次的，其中包括分子的、细胞的、整体的调节。即使是原核生物也有自我调节，而且它也是通过多种途径实现的。例如，细菌有能力合成许多自身所需要的分子，可是某一分子是否合成，合成的速率如何，则随自身内部状态与环境的不同而不同。细菌内部所需要的分子，既不过多地产生，也不感到缺乏，而是靠自身的调节机制完成的。某一分子合成途径中的第一个酶的结构基因兼有调节的功能，即第一个酶既有酶的功能，又起着阻遏蛋白的作用。这种调节系统最初是在沙门杆菌组氨酸生物合成中发现的，随后在噬菌体、霉菌、哺乳动物中也同样发现其存在。

### 2. 自我复制

自我复制是生命系统不同于化学系统的特征。狭义地说，自我复制是指 DNA 分子的解旋、两链分开，各自合成互补链，从而形成两个新的然而又相同的分子。广义地说，包括细胞分裂、繁殖在内。就根据而言，分裂、繁殖也是在分子复制基础上进行的；就结果来说，



所形成的是两个相同的个体。自我复制靠酶来实现的，如 DNA 酶等。自我复制这种功能是生命系统固有的特点，已作为生命的基本属性。

### 3. 选择性反应

对体内外环境的选择性反应是生命系统的又一重要特征。反应是非生命物质与生命物质都具有的属性。不同的是，发生于非生命物质中的物理的、化学的反应，都不是自我完成的过程。只有生物有机体才独立地发生反应，而且这种独立的反应是有选择性的，它受有机体自身的控制，并随体内外环境条件的不同而不同。细胞与外界进行物质交换，固然也存在扩散与渗透作用，但是细胞膜吸收什么，排除什么，却有高度的选择性。一个明显的实例是，在细胞膜的主动运输中，物质逆浓度梯度而运转。又如，大肠杆菌既可利用葡萄糖，也可利用乳糖作为碳源。当环境中既有葡萄糖又有乳糖时，大肠杆菌的代谢反应首先利用的是葡萄糖而不是乳糖，这时只有组成酶系在起作用，而诱导酶系则是无关的。生物的选择性反应也是几个系统协调活动的结果。简单原核生物的反应是如此，高等生物的选择性反应更是如此。因为，高等生物体内存在各种不同的酶系，这些酶不仅以其高效率的催化为无机催化剂所不可比拟，而且具有严格的选择性。同时，生物体内酶的活性受到多方面因素的调节和控制，酶与酶之间、酶和别的蛋白质之间存在的相互作用，都会影响酶的活性，而且一个酶的产物对另一个酶的活性也有或正或负的影响。自我调节、自我复制和独立的选择性反应是生命区别于非生命的特征。虽然这三个基本属性的某一个，或某个属性的某些侧面，在无机界也可能存在，但只有在生命中这三个属性才有可能联系并相互结合在一个系统中。有关生命起源的问题，DNA、RNA 和蛋白质的关系就像连环套，经过科学家的不断努力，终于发现 RNA 可以自我复制，因此而产生“RNA 世界”假说。20 世纪 80 年代，科学家就已经设法在生物体内合成 RNA，使得这一假说开始有了真实性。这一假说认为在 40 亿年前的太古代，地球上某些地方已经诞生了同 RNA 自我复制系统——“RNA 世界”，之后 RNA 不但能与无机物合成，而且能与原始地球上出现的蛋白质互相作用，迎来它们的共生时代——“RNA-蛋白质世界”，逐渐形成原始生命。接着以 RNA 为模板合成了 DNA 和蛋白质，RNA 又将大多数催化功能交给具有更高活性的蛋白质，将遗传物质传递功能交给了在化学性上更稳定的 DNA。变成了现在的生物世界，也就是“DNA 世界”。近年来，美国斯克利浦斯研究院（Scripps Research Institute, TSRI）的研究人员通过一个体外进化加速过程（a process of accelerated in vitro evolution）成功地将一个核酶（ribozyme）转换成了脱氧核酶（deoxyribozyme），证明了这两种序列相似的分子系统间功能转移的可能性，也为 RNA 世界（RNA world）起源假说提供了新的证据。

由上述生命现象和功能分析，酶的催化作用决定了生命的产生、存在、维持和发展。随着酶学理论不断深入，必将对揭示生命本质研究做出更大的贡献。

## 第三节 基因工程与酶

基因是遗传学中的专用术语。遗传学的奠基人孟德尔（Gregor Johann Mendel, 1822~1884）于 1865 年 2 月在奥地利自然科学学会会议上报告了自己植物杂交研究结果，第二年在奥地利自然科学学会年刊上发表了著名的《植物杂交试验》的论文。文中指出，生物每一个性状都是通过遗传因子来传递的，遗传因子是一些独立的遗传单位。这样把可观察的遗传性状和控制它的内在的遗传因子区分开来了，遗传因子作为基因的雏形名词也就诞生了。

1909年,丹麦遗传学家约翰逊(W. Johansen, 1859~1927)在《精密遗传学原理》一书中提出“基因”概念,以此来替代孟德尔假定的“遗传因子”。从此,“基因”一词一直伴随着遗传学发展至今。摩尔根(Thoman Hunt Morgan, 1866~1945)和他的学生们利用果蝇作了大量的潜心研究。1926年他的巨著《基因论》出版,从而建立了著名的基因学说。他还绘制了著名的果蝇基因位置图,首次完成了当时最新的基因概念的描述,即基因以直线形式排列,它决定着一个特定的性状,而且能发生突变并随着染色体同源节段的互换而交换,它不仅是决定性状的功能单位,而且是一个突变单位和交换单位。1941年,比德尔(G. W. Beadle 1903~1989)和塔特姆(E. L. Tatum 1909~1975)提出一个基因一个酶学说,证明基因通过它所控制的酶决定着代谢中生化反应步骤,进而决定生物性状。1949年,鲍林(L. C. Pauling 1901~)与合作者在研究镰刀型细胞贫血症时推论基因决定着多肽链的氨基酸顺序,这样20世纪40年代末至50年代初,基因是通过控制合成特定蛋白质以控制代谢决定性状原理变得清晰起来。1944年,艾弗里(O. T. Avery, 1877~1955)、麦卡蒂(M. McCarty, 1911~2005)等人发表了关于“转化因子”的重要论文,首次用实验明确证实:DNA是遗传信息的载体。1952年,赫尔希(A. D. Hershey)和蔡斯(M. M. Chase, 1927~)进一步证明遗传物质是DNA而不是蛋白质。1953年,美国分子生物学家沃森(J. D. Watson)和英国分子生物学家克里克(F. H. C. Crick)通力协作,根据X射线衍射分析,提出了著名的DNA双螺旋结构模型,进一步说明基因成分就是DNA,它控制着蛋白质合成。基因本质的确定为分子遗传学发展拉开了序幕。1957年法国遗传学家本兹尔(Benzer)以T<sub>4</sub>噬菌体作为研究材料分析了基因内部的精细结构,提出了顺反子学说。这个学说打破了过去关于基因是突变、重组、决定遗传性状的“三位一体”概念及基因是最小的不可分割的遗传单位的观点,从而认为基因为DNA分子上一段核苷酸顺序,负责着遗传信息的传递,一个基因内部仍可划分若干个起作用的小单位,即可区分成顺反子、突变子和重组子。一个作用子通常决定一种多肽链的合成,一个基因包含一个或几个作用子。突变子指基因内突变的最小单位,而重组子为最小的重组单位,只包含一对核苷酸。所有这些均是基因概念的伟大突破。

基因的本质确定后,人们又把研究视线转移到基因传递遗传信息的过程上。20世纪50年代初人们已懂得基因与蛋白质间似乎存在着相应的联系,但基因中信息怎样传递到蛋白质上这一基因功能的关键课题在20世纪60~70年代才得以解决。从1961年开始,尼伦伯格(M. W. Nirenberg)和科拉纳(H. G. Khorana)等人逐步搞清了基因以核苷酸三联体为一组编码氨基酸,并在1967年破译了全部64个遗传密码,这样把核酸密码和蛋白质合成联系起来。然后,沃森和克里克等人提出的“中心法则”更加明确地揭示了生命活动的基本过程。1970年特明(H. M. Temin)以在劳斯肉瘤病毒内发现逆转录酶这一成就进一步发展和完善了“中心法则”,至此,遗传信息传递的过程已较清晰地展示在人们的眼前。过去人们对基因的功能理解是单一的,即作为蛋白质合成的模板。但是1961年法国雅各布(F. Jacob)和莫诺(J. L. Monod)的研究成果,又大大扩大了人们关于基因功能的视野。他们在研究大肠杆菌乳糖代谢的调节机制中发现了有些基因不起合成蛋白质模板作用,只起调节或操纵作用,提出了操纵子学说。从此根据基因功能把基因分为结构基因、调节基因和操纵基因。基因的概念随着遗传学、分子生物学、生物化学等领域的发展而不断完善。从遗传学的角度看,基因是生物的遗传物质,是遗传的基本单位——突变单位、重组单位和功能单位;从分子生物学的角度看,基因是负载特定遗传信息的DNA分子片段,在一定条件下能够表达物

种的遗传信息，变成特定的生理功能。有的生物基因为 RNA。从分子水平上来说，基因有三个基本特性：①基因可自体复制；②基因决定性状，即基因通过转录和翻译决定多肽链的氨基酸顺序，从而决定某种酶或蛋白质的性质，而最终表达为某一性状；③基因的突变，即基因虽很稳定，但也会发生突变。一般来说，新的突变的等位基因一旦形成，就可通过自体复制，在随后的细胞分裂中保留下来。基因成分就是 DNA，是负载特定遗传信息的 DNA 分子片段，有的生物基因为 RNA，它们都是具有保存遗传因子和酶活性的核酶。现代酶学中核酶指的是 RNA（核糖核酸）酶和 DNA（脱氧核糖核酸）酶。1983 年，Altman 等人在研究细菌 RNase P 时观察到组成 Pt 的 RNA 分子单独存在时，也能完成切割 rRNA 前体的反应，证明该 RNA 分子具有酶催化活性。1986 年，T. Cech 又发现 L-19 RNA 在一定条件下以高度专一性去催化寡聚核苷酸底物的切割与连接。人们将这类具有酶的催化特征，本质上又不是蛋白质而是核酸的分子定名为核酶。这从根本上改变以前只有蛋白质才具有催化功能的概念，Cech 和 Altman 因此获得 1989 年年度的诺贝尔化学奖。1994 年，Breaker 实验室首次发现一个小的单链 DNA 分子同样能够催化 RNA 磷酸二酯键的水解，随后又发现 DNA 还具有连接酶的活性等。这些具有催化活性的 DNA 称为脱氧核酶。根据催化功能的不同，可以将脱氧核酶分为 5 大类：切割 RNA 的脱氧核酶、切割 DNA 的脱氧核酶、具有激酶活力的脱氧核酶、具有连接酶功能的脱氧核酶、催化卟啉环金属整合反应的脱氧核酶。其中以对 RNA 切割活性的脱氧核酶更引人注目，不仅能催化 RNA 特定部位的切割反应，而且能从 mRNA 水平对基因进行灭活，从而调控蛋白的表达。20 世纪遗传学家就认识到基因的两个基本属性：自体催化和异体催化。用近代的观点分析，前一个是染色体（DNA）复制问题，后一个是蛋白质合成，即信息表达问题。因此，基因是具有特殊功能的催化剂（如 DNA 和 RNA 酶）。根据“基因”催化反应的产物，基因可分为编码蛋白质的基因，包括编码酶和结构蛋白质的调节基因；无翻译产物的基因，转录成为 RNA 以后不再翻译成为蛋白质的转运核糖核酸（tRNA）基因和核糖体核酸（rRNA）基因；不转录的却有特定功能 DNA 区段，如操纵基因等。一种生物的全基因组的大小或基因的数目不是绝对固定的，随着基因组结构的改变，基因的功能也发生变化。总之，基因是一个含有特定遗传信息的核苷酸序列，也就是含有遗传密码的生物催化剂。它是遗传物质的最小功能单位。

基因工程（genetic engineering）和遗传工程的英语是同一个词汇。从字面上看，遗传工程就是按人们的意思去改造生物的遗传特性、或创建具有新遗传物性的生物。遗传是由基因决定的，改建生物的遗传性，就是改建生物的基因，因此狭义的遗传工程就是基因工程。对多数生物来说，基因本质是 DNA，基因工程就是要改建 DNA，涉及 DNA 序列的重新组合和建造，所以基因工程的核心就是人工的 DNA 重组（DNA recombination）。因此，基因工程，也叫基因操作、重组 DNA 技术。它是一项将生物的某个基因通过基因载体运送到另一种生物的活细胞中，并使之无性繁殖（称之为“克隆”）和行使正常功能（称之为“表达”），从而创造生物新品种或新物种的遗传学技术。基因工程的核心是构建重组体 DNA 的技术，所以基因工程和重组 DNA 技术有时也就成为同义词。DNA 重组技术中对核酸的“精雕细刻”主要用酶作为工具。分子生物学研究过程中发现的酶，许多都用作工具，这类酶称作工具酶。如限制性核酸内切酶（restriction endonuclease）在重组 DNA 技术中有重要地位。1962 年发现这是因为细菌中含有特异的核酸内切酶，能识别特定的核酸序列而将核酸切断；同时又伴有特定的核酸修饰酶，最常见的是甲基化酶，能使细胞自身核酸特定的序列上碱基甲基化，从而避免受内切酶水解，外来核酸没有这种特异的甲基化修饰，就会被

细胞的核酸酶所水解。这样细胞就构成了限制—修饰体系，其功能就是保护自身的 DNA，分解外来的 DNA，以保护和维持自身遗传信息的稳定，这对细菌的生存和繁衍具有重要意义。这就是限制性核酸内切酶名称中“限制”二字概念的由来。重组、建造的 DNA 分子只有纯化繁殖才有意义。纯的无性繁殖系统称为克隆。纯化繁殖 DNA 就称为 DNA 克隆或分子克隆，基因的纯化繁殖就称为基因克隆。所以 DNA 重组和分子克隆是与基因工程密切不可分的，是基因技术的核心和主要组成部分。重组 DNA、分子克隆甚至成了基因工程的代名词。生物的遗传性状是由基因（即一段 DNA 分子序列）所编码的遗传信息决定的。基因工程操作首先要获得基因，才能在体外用酶进行“剪切”和“拼接”，然后插入由病毒、质粒或染色体 DNA 片段构建成的载体，并将重组体 DNA 转入微生物或动、植物细胞，使其复制（无性繁殖），由此获得基因克隆（clone，无性繁殖系的意思）。基因还可通过 DNA 聚合酶链式反应（PCR）在体外进行扩增，借助合成的寡核苷酸在体外对基因进行定位诱变和改造。克隆的基因需要进行鉴定或测序，控制适当的条件，使转入的基因在细胞内得到表达，即能产生出人们所需要的产品或使生物体获得新的性状。这种获得新功能的微生物称为“工程菌”，新类型的动、植物分别称为“工程动物”和“工程植物”，或“转基因动物”和“转基因植物”。基因工程操作过程大致可归纳为以下主要步骤：①分离或合成基因；②通过体外重组将基因插入载体；③将重组 DNA 导入细胞；④扩增克隆的基因；⑤筛选重组体克隆，对克隆的基因进行鉴定或测序；⑥控制外源基因的表达；⑦得到基因产物或转基因动物、转基因植物。

因此，基因工程和操作过程中主要是应用了酶的催化作用。

酶是生物催化剂，由于具有特殊的催化功能，在地球上创造了“RNA 世界”和“DNA 世界”，使地球生气蓬勃。它是地球上生命的精灵、创造动、植物的“上帝”。当然，也是人类的“上帝”。