

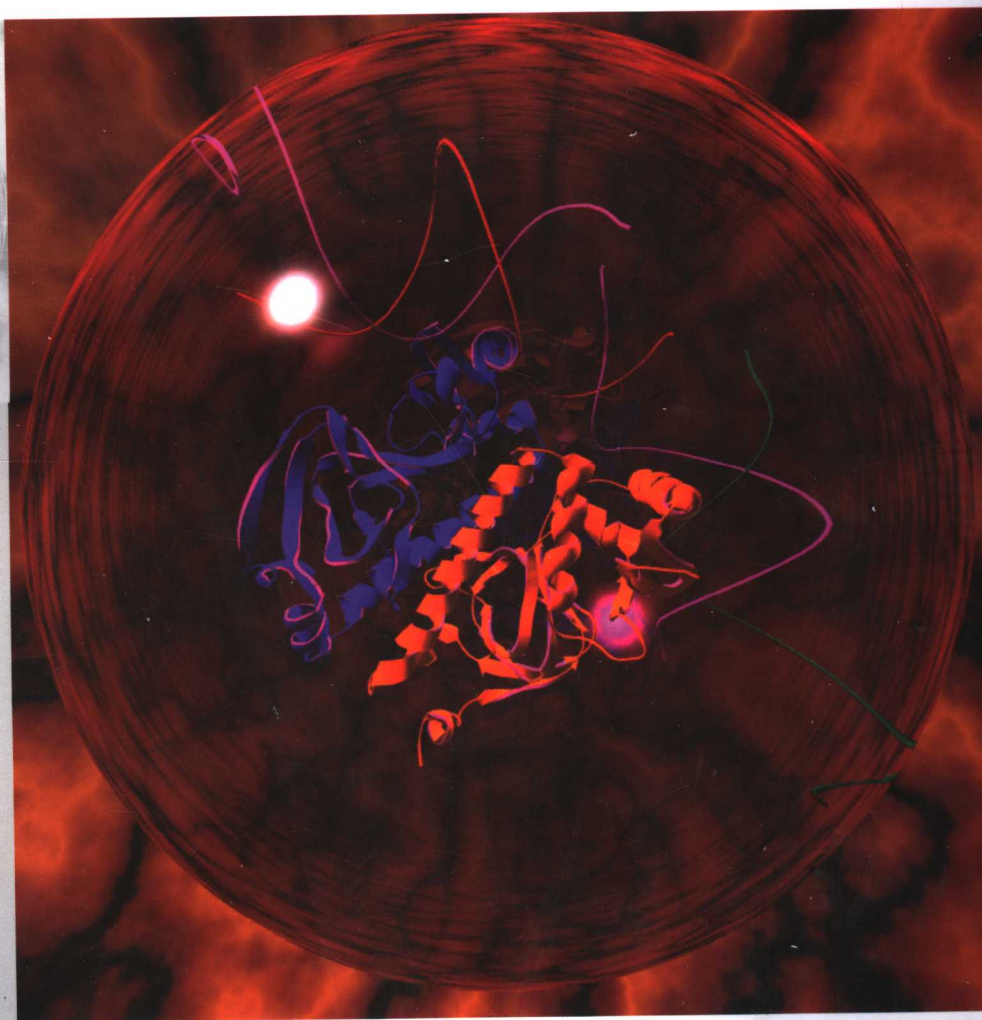
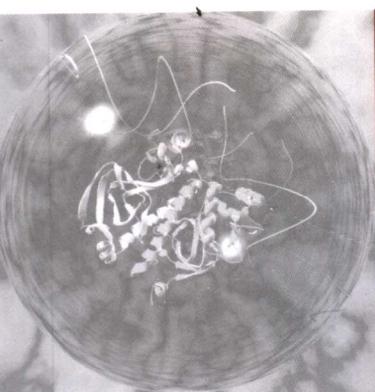
国·家·十·五·重·点·图·书

现代生物化学工程丛书

酶与酶工程

ENZYMES AND
ENZYME ENGINEERING

袁勤生 / 主编
赵 健



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

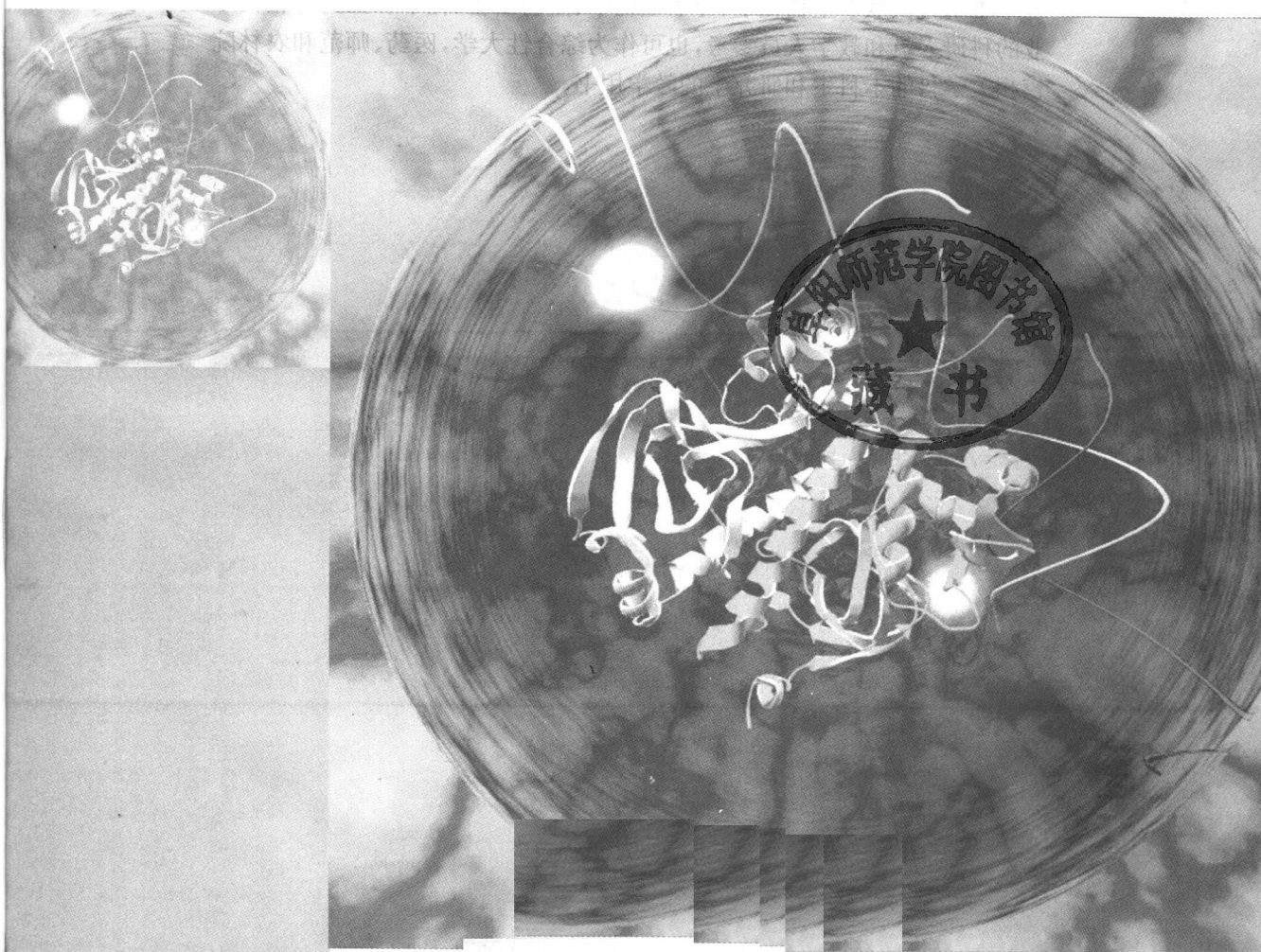
国·家·十·五·重·点·图·书

现代生物化学工程丛书

酶与酶工程

ENZYMES AND
ENZYME ENGINEERING

袁勤生 / 主编
赵 健



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

酶与酶工程/袁勤生,赵健主编. —上海:华东理工大学出版社,2005.8

(现代生物化学工程丛书)

“十五”国家重点图书

ISBN 7-5628-1751-0

I. 酶... II. ①袁... ②赵... III. 酶-生物工程-高等学校:技术学校-教材 IV. Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 072140 号

“十五”国家重点图书

现代生物化学工程丛书

酶与酶工程

主 编/袁勤生 赵 健

责任编辑/胡 景

封面设计/王晓迪

责任校对/张 波

出版发行/华东理工大学出版社

地址:上海市梅陇路 130 号,200237

电话:(021)64250306(营销部)

传真:(021)64252707

网址:www.hdlgpress.com.cn

印 刷/上海展强印刷有限公司

开 本/787×1092 1/16

印 张/34.25 插页 1

字 数/872 千字

版 次/2005 年 8 月第 1 版

印 次/2005 年 8 月第 1 次

印 数/1-4100 册

书 号/ISBN 7-5628-1751-0/Q·5

定 价/48.00 元

内 容 提 要

本书是根据华东理工大学研究生教材《现代酶学》和本科生的专业教材《应用酶学》的基本内容,经多次修改补充编写而成的。主要包括酶理论、酶工程和酶应用三部分,重点介绍酶作用动力学,酶的作用机制,酶的活性调节;酶的分离工程,酶的生产,酶的固定化技术,非水介质中酶反应,酶的分子工程;核酶,抗体酶,模拟酶,分子印迹酶,组合生物催化,酶分子的定向进化,蛋白酶抑制剂的设计及酶在医药、食品、轻化工、环境等方面的应用。

本书可供从事生物化学、分子生物学、生物工程、化学和医药等相关专业的科研人员和教学人员参考,也可作为综合性大学,医药、师范和农林院校相关学科的本科生和研究生的教学用书。

本书编委会

主编	袁勤生	华东理工大学生物工程学院	教授
	赵 健	华东理工大学生物工程学院	副教授
编委	袁勤生	华东理工大学生物工程学院	教授
	赵 健	华东理工大学生物工程学院	副教授
	李素霞	华东理工大学生物工程学院	副教授
	王富军	上海中医药大学	副教授
	郭 勇	华南理工大学食品与生物工程学院	教授
	周海梦	清华大学生命科学与技术系	教授
	李文杰	中科院上海生物化学与细胞研究所	研究员
	胡红雨	中科院上海生物化学与细胞研究所	研究员
	崔玉敏	华东理工大学生物工程学院	副教授

前 言

21 世纪生命科学日新月异的发展,促进了酶与酶工程的发展。而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,又如何利用新酶的过程。酶与酶工程亦并非纯粹的学科,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,在世纪相交的今天,深入探讨酶与酶工程的过去、今天和明天是十分有意义的。

本书是在《现代酶学》、《应用酶学》基础上为适应当代大学生、研究生、科技工作者需要而重新编写的专业书籍。本书除保留原书的基本内容,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,内容新颖性、深度和广度都作了适当的调整。本书力求在介绍酶的基础理论和实际应用的基础上,努力描绘酶与酶工程的概貌和特点,并反映这个领域的最新进展。

全书分三篇共 24 章,第一篇为基础篇,主要介绍酶的基础知识,这是了解酶,认识酶工程的基本前提。第二篇是全书的重点,主要内容有酶分析法、酶的分离工程、酶的生产、酶的固定化、非水介质中的酶反应、酶的分子工程、核酶、抗体酶、模拟酶、分子印迹酶、酶的组合生物催化及酶的定向进化、蛋白酶抑制剂的设计,在内容安排上既有最基础的酶技术,又有酶学研究的热点和酶工程研究的许多新的生长点。第三篇为酶的应用,主要介绍酶在各行各业的实际应用,虽在有关章节中也有酶的应用,但这里着重介绍酶在工业方面的应用。

本书的参编者大都是《现代酶学》、《应用酶学》的编委,第三篇特别邀请华南理工大学郭勇教授编写。参加本书编写的各位教授、博士在承担繁重的科研教学工作的同时,挤出时间积极参与本书的撰写工作,编者的许多在读研究生也参与书稿的电脑输入、图表制作和文稿的校对,因此本书是集体智慧的结晶,也是集体创作的成果。由于时间紧、杂务忙及学术水平有限,书中难免出现错漏或不足,恳切希望广大读者批评指正。

编 者

2005 年 6 月于上海

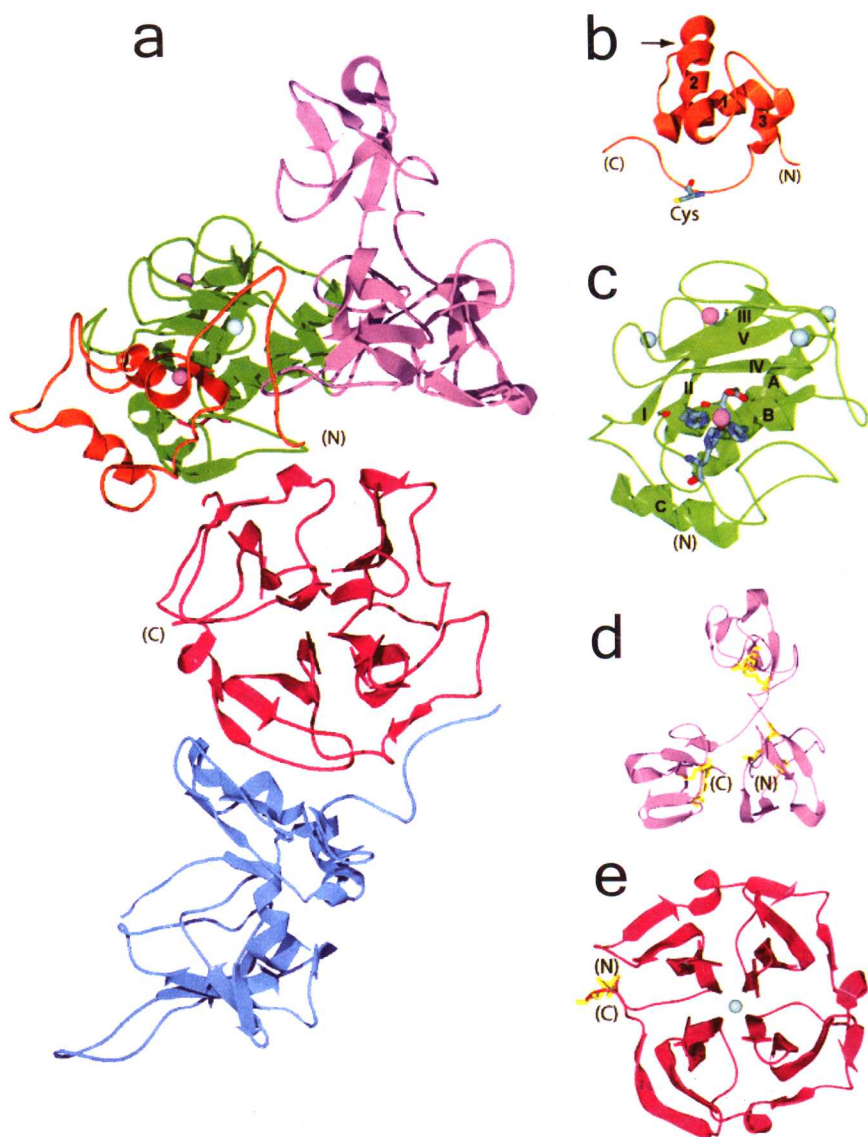


图4-74 MMPs的空间结构

- a: ProMMP-2-TIMP-2 复合物 (1GXD)。黄色代表前肽；绿色代表结构域；粉色代表纤连蛋白结构域；红色代表血色素结合蛋白结构域；蓝色代表TIMP-2。锌原子用粉色表示，钙原子为灰色。
- b: MMP-2前肽。表示了半胱氨酸开关结构特征中的半胱氨酸，箭头表示导致酶活性部分活化的初始切割位置。
- c: MMP-1的催化结构域。 β 链以 I ~ V 表示。 α -螺旋以 A ~ C 表示。从N末端到C末端 α -螺旋和 β 链的顺序为 I-A-II-III-IV-V-B-C。组氨酸螯合活性部位的锌原子和活性部位的谷氨酸也在图中展示。
- d: MMP-2的三个纤连蛋白结构域和它们各自的两对二硫键。
- e: MMP-1血色素结合蛋白结构域和四个 β -螺旋桨叶结构。在 I 和 IV 桨叶间可见一个二硫键。

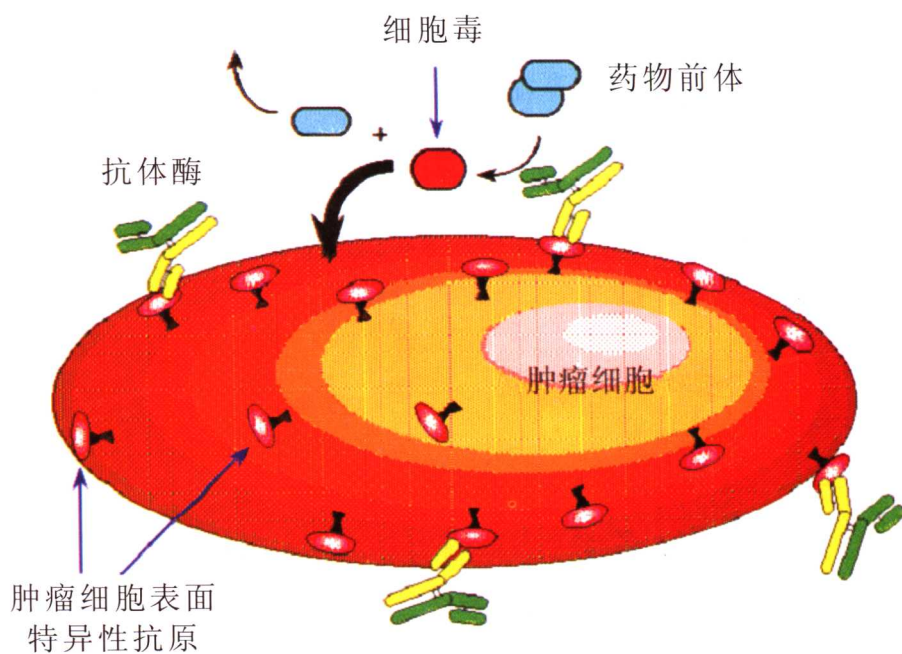


图14-14 ADAPT法示意图

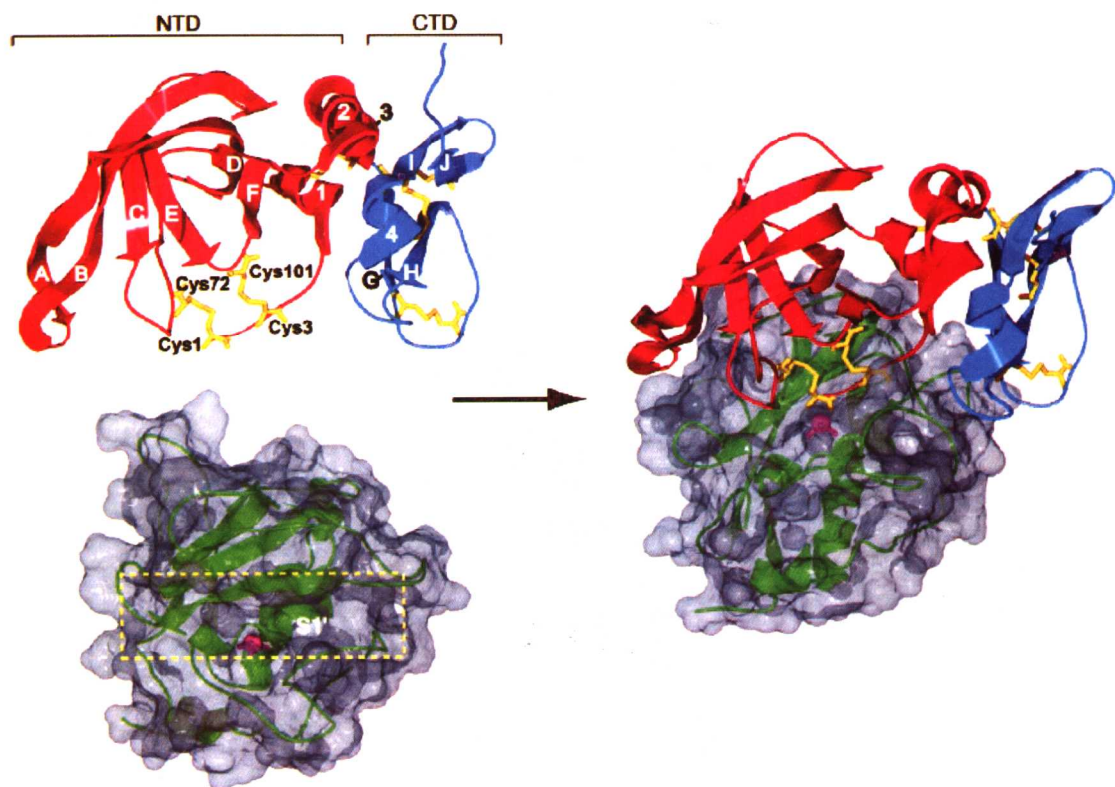


图18-10 TIMP对MMP的抑制作用

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 酶工程	4
1.2.1 酶结构与功能的研究	6
1.2.2 生物催化过程的研究	6
1.2.3 改造酶的催化特性及新酶设计	7
1.2.4 应用酶工程	7
参考文献	8
2 酶的分类组成及结构特征	9
2.1 酶的分类和命名	9
2.1.1 酶学委员会的分类系统	9
2.1.2 酶学委员会推荐的命名法	14
2.1.3 同工酶	14
2.1.4 多酶体系	15
2.2 酶的组成及结构特征	15
2.3 酶作为催化剂的特点	16
2.3.1 酶的催化能力及酶活性	16
2.3.2 酶的专一性	16
2.3.3 酶的调节性	18
2.4 酶的辅(助)因子	20

参考文献	21
3 酶作用动力学和酶的抑制作用	22
3.1 酶的基本动力学	22
3.1.1 Michaelis - Menten 方程	22
3.1.2 Briggs - Haldane 修饰的 Michaelis - Menten 方程	23
3.1.3 米氏方程的意义	24
3.1.4 米氏方程中 K_m 、 V_{max} 的测定	26
3.1.5 可逆反应的 Haldane 关系式	28
3.2 King - Altman 法推导酶动力学方程	29
3.3 酶的抑制动力学	35
3.3.1 酶的可逆抑制	36
3.3.2 酶的不可逆抑制	42
参考文献	60
4 酶的作用机制	62
4.1 酶催化的化学机制	62
4.1.1 酸碱催化	62
4.1.2 共价催化	63
4.1.3 多元催化	64
4.1.4 金属离子催化	64
4.1.5 微观可逆原理	66
4.2 酶催化的专一性与高效性	66
4.2.1 过渡态和活化能	66
4.2.2 酶和底物的结合作用	67
4.2.3 邻近和定向效应	68
4.2.4 底物的形变和酶的诱导契合模型	69
4.2.5 微环境的影响	70
4.3 酶的活性部位柔性的假说	70
4.3.1 酶的活性丧失和整体构象变化的关系	71
4.3.2 酶活性部位的柔性	72
4.3.3 酶活性部位柔性和整体结构刚性的实例	72
4.4 辅因子在酶促反应中的作用	73
4.4.1 金属激活酶和金属酶	73
4.4.2 辅酶	75
4.5 酶作用机制的研究方法	84
4.5.1 动力学研究	84
4.5.2 “捕捉”酶-底物复合物	86
4.5.3 X 射线晶体衍射法	87

4.5.4	质谱法	87
4.5.5	氨基酸侧链的化学修饰	88
4.5.6	定点突变	89
4.6	酶反应机制实例	91
4.6.1	丝氨酸蛋白酶	91
4.6.2	乳酸脱氢酶	102
4.6.3	超氧化物歧化酶	107
4.6.4	基质金属蛋白酶	112
	参考文献	119
5	酶活性的调节和酶的转换	120
5.1	通过配体诱导酶构象改变的活性调节	120
5.1.1	配体和蛋白质的结合	120
5.1.2	变构酶	128
5.2	通过酶共价结构改变的活性调节	136
5.2.1	共价结构不可逆改变的活性调节	136
5.2.2	共价结构可逆改变的活性调节	138
5.3	代谢途径中酶活性的调节	140
5.3.1	磷酸果糖激酶	140
5.3.2	磷酸化酶	143
5.4	酶的转换	144
5.4.1	酶合成的调节	145
5.4.2	酶降解的调节	145
	参考文献	146
第二篇	酶工程	147
6	酶分析法	149
6.1	酶活力测定	149
6.1.1	初速度	149
6.1.2	酶反应条件的设计	150
6.2	酶活力测定方法	152
6.2.1	中止法测定酶活力	152
6.2.2	连续法测定酶活力	154
6.2.3	酶活力的定义与表示方法	157
6.2.4	酶活性测定实例	158
6.3	酶法分析	159
6.3.1	终点法	159
6.3.2	动力学法	159

6.3.3 实例	160
参考文献	161
7 酶的分离工程	162
7.1 酶分离纯化的一般原则	162
7.1.1 建立一个可靠和快速的测活方法	162
7.1.2 酶原料的选择	162
7.1.3 酶的提取	163
7.1.4 酶的提纯	163
7.1.5 酶的纯度检验	163
7.2 酶提取方法的选择	164
7.2.1 生物材料的破碎	164
7.2.2 抽提方法	165
7.3 酶纯化方法的选择	165
7.3.1 调节酶溶解度的方法	166
7.3.2 根据酶分子大小、形状不同的分离方法	170
7.3.3 根据酶分子电荷性质的分离方法	171
7.3.4 根据酶分子的专一性结合的方法	174
7.3.5 酶的结晶	193
7.3.6 对各种纯化方法的评价	195
7.4 酶纯度的评价	195
7.4.1 酶纯度的检验	195
7.4.2 酶活性的检验	198
7.4.3 酶活性部位确定	198
参考文献	198
8 酶的生产	199
8.1 酶的生产方法	199
8.1.1 提取法	199
8.1.2 生物合成法	200
8.1.3 化学合成法	200
8.2 酶生产的工艺过程	201
8.2.1 原料选择	201
8.2.2 微生物酶制剂的发酵	201
8.2.3 酶的提取	204
8.2.4 酶的纯化	207
8.3 酶工业化生产实例	210
8.3.1 L-天冬酰胺酶	210
8.3.2 尿激酶	212

8.3.3	胰蛋白酶	215
8.3.4	超氧化物歧化酶	219
	参考文献	222
9	酶的固定化技术	224
9.1	概述	224
9.1.1	酶的固定化	225
9.1.2	微生物酶的固定化	226
9.1.3	微生物生活细胞的固定化	227
9.1.4	细胞器及动植物细胞的固定化	227
9.2	酶的固定化方法	227
9.2.1	酶的固定化方法	227
9.2.2	微生物的固定化方法	230
9.2.3	整细胞的固定化方法	232
9.2.4	细胞器的固定化方法	235
9.2.5	动植物细胞的固定化	239
9.3	固定化酶(细胞)的性质及评价指标	242
9.3.1	固定化酶(细胞)的性质	242
9.3.2	固定化酶(细胞)的评价指标	248
9.4	固定化酶(细胞)反应器	249
9.4.1	填充床反应器	250
9.4.2	恒流搅拌罐反应器	251
9.4.3	流化床反应器	251
9.4.4	空心纤维反应器	252
9.4.5	其他类型反应器	252
9.5	固定化酶(细胞)的应用	253
9.5.1	固定化酶(细胞)在工业上的应用	253
9.5.2	固定化酶在酶传感器方面的应用	255
9.5.3	固定化酶(细胞)在食品工业上的应用	255
9.5.4	固定化酶(细胞)的应用趋势	261
	参考文献	263
10	非水介质中酶的催化反应	264
10.1	非水介质中酶的催化反应及其特征	264
10.2	非水介质中酶的结构与性质	265
10.2.1	非水介质中酶的结构	265
10.2.2	非水介质中的酶学性质	267
10.3	微水有机溶剂的影响与反应介质工程	269
10.3.1	水的作用及其调控	270

10.3.2	有机溶剂的影响与反应介质工程	275
10.3.3	酶的选择与催化剂工程	279
10.4	“pH 值记忆”与“分子印迹”技术	284
10.5	反向胶团的酶学研究	284
10.5.1	反向胶团的形成与酶的包覆	285
10.5.2	反向胶团包覆酶的催化特性	286
10.5.3	反向胶团的酶学应用	287
10.6	水-有机溶剂两相体系	287
10.6.1	两相体系的特点与构成	287
10.6.2	固定化催化剂在两相体系中的应用	288
10.6.3	两相体系的应用	289
10.7	酶在非水介质中的催化反应	289
10.7.1	酶催化反应的类型	289
10.7.2	脂肪酶及其对映体的催化作用原理	293
10.8	应用实例	296
10.8.1	光学活性化合物的制备	296
10.8.2	旋光性高分子	298
10.8.3	功能高分子的合成	299
10.8.4	用于生产精细化工产品的酶	301
	参考文献	304
11	酶的分子工程	306
11.1	设计酶化学修饰的注意点	306
11.2	影响酶化学修饰的主要因素	307
11.2.1	影响酶蛋白功能基的反应性	307
11.2.2	影响修饰剂的反应性	309
11.3	酶化学修饰方法	310
11.3.1	修饰反应专一性的控制	310
11.3.2	修饰程度和修饰部位的测定	312
11.4	酶分子侧链基团的化学修饰	314
11.4.1	几种重要的修饰反应	315
11.4.2	特定氨基酸残基侧链基团的化学修饰	316
11.4.3	化学修饰反应的条件控制	322
11.5	酶的亲和修饰	322
11.5.1	亲和标记	323
11.5.2	外生亲和试剂与光亲和标记	324
11.6	有机大分子对酶的化学修饰	325
11.6.1	聚乙二醇	325

11.6.2	右旋糖酐及右旋糖酐硫酸酯	328
11.6.3	糖肽	330
11.6.4	具有生物活性的大分子物质	330
11.6.5	酶的化学交联	332
11.6.6	蛋白质类及其他	332
11.7	酶化学修饰实例——SOD 的化学修饰	334
11.7.1	修饰剂与修饰方法	334
11.7.2	修饰 SOD 的性质	339
11.8	修饰酶的性质及特点	341
11.8.1	热稳定性	341
11.8.2	抗原性	342
11.8.3	最适 pH 值	343
11.8.4	酶学性质的变化	344
11.8.5	对组织的分布能力变化	344
	参考文献	345
12	核酶	347
12.1	核酶的分类	347
12.2	大分子核酶的结构及催化机理	348
12.2.1	I 型内含子的自我剪接	348
12.2.2	II 型内含子的自我剪接	352
12.2.3	Rnase P 核酶	353
12.3	小分子核酶的结构及催化机理	354
12.3.1	锤头状核酶	354
12.3.2	发夹状核酶	355
12.3.3	肝炎 δ 病毒(HDV)核酶	356
12.3.4	VS 核酶	358
12.4	脱氧核酶	359
12.4.1	具有水解酶活性的脱氧核酶	360
12.4.2	具有 N-糖基化酶活性的 DRz	361
12.4.3	具有连接酶活性的 DRz	361
12.4.4	其他酶活性	362
12.5	核酶的应用	362
12.5.1	抗 HIV 感染	363
12.5.2	抗肝炎病毒感染	363
12.5.3	肿瘤治疗	363
12.5.4	其他	364
12.6	脱氧核酶的应用	365

参考文献	365
13 模拟酶	368
13.1 环糊精模拟酶模型	368
13.1.1 水解酶的模拟	369
13.1.2 核酸酶的模拟	370
13.1.3 转氨酶的模拟	371
13.1.4 氧化还原酶的模拟	372
13.2 大环聚醚及其模拟酶	372
13.2.1 水解酶的模拟	373
13.2.2 肽合成酶的模拟	373
13.3 膜体系及其模拟酶	374
13.4 聚合物及其模拟酶	376
13.4.1 功能聚合物	376
13.4.2 杯芳烃	376
13.5 金属卟啉及其模拟酶	377
13.6 肽酶	377
13.7 SOD 的模拟	378
13.7.1 Cu,Zn-SOD 的模拟	378
13.7.2 Mn-SOD 的模拟	379
13.7.3 Fe-SOD 的模拟	379
13.7.4 超氧化物歧化酶的功能模拟	380
参考文献	380
14 抗体酶	382
14.1 抗体酶诞生的理论基础	382
14.2 抗体酶的制备方法	383
14.2.1 诱导法	383
14.2.2 引入法	384
14.2.3 拷贝法	385
14.2.4 基因工程方法	385
14.3 抗体酶催化的反应类型	386
14.3.1 磷酸酯水解反应	387
14.3.2 磺酸酯闭环反应	387
14.3.3 酰基转移反应	387
14.3.4 重排反应	388
14.3.5 氧化-还原反应	388
14.3.6 金属螯合反应	389
14.3.7 光诱导反应	389

14.3.8 其他反应	389
14.4 抗体酶的应用	390
14.4.1 有机合成手性药物拆分	390
14.4.2 前药的应用	391
14.5 抗体酶的研究展望	392
参考文献	394
15 分子印迹酶	396
15.1 分子印迹概念	396
15.2 分子印迹技术的分类	397
15.2.1 预组织法	397
15.2.2 自组装法	398
15.2.3 分子自组装和分子预组织相结合方法	399
15.2.4 金属离子配位作用	399
15.3 分子印迹聚合物的制备	400
15.3.1 分子印迹聚合物的制备方法	400
15.3.2 影响分子印迹聚合物选择性的因素	401
15.4 分子印迹酶应用实例	402
15.4.1 人工合成抗体酶	402
15.4.2 人工模拟受体	403
15.4.3 药物筛选	405
15.4.4 生物印迹酶	406
15.4.5 利用新型单体分子印迹树枝状分子聚合物	407
参考文献	409
16 组合生物催化	410
16.1 组合生物催化的理论基础和特点	410
16.1.1 理论基础	410
16.1.2 组合生物催化的特点	411
16.2 组合生物催化中的酶	412
16.2.1 生物催化组合合成	412
16.2.2 用于组合生物催化反应的酶的特点	413
16.3 组合生物催化的类型	416
16.3.1 非水介质中的生物催化	416
16.3.2 酶作为组合生物合成的脱保护工具	417
16.3.3 固定化酶催化	417
16.4 组合生物催化实例	419
16.4.1 构建小分子库	419
16.4.2 构建天然产物库	419