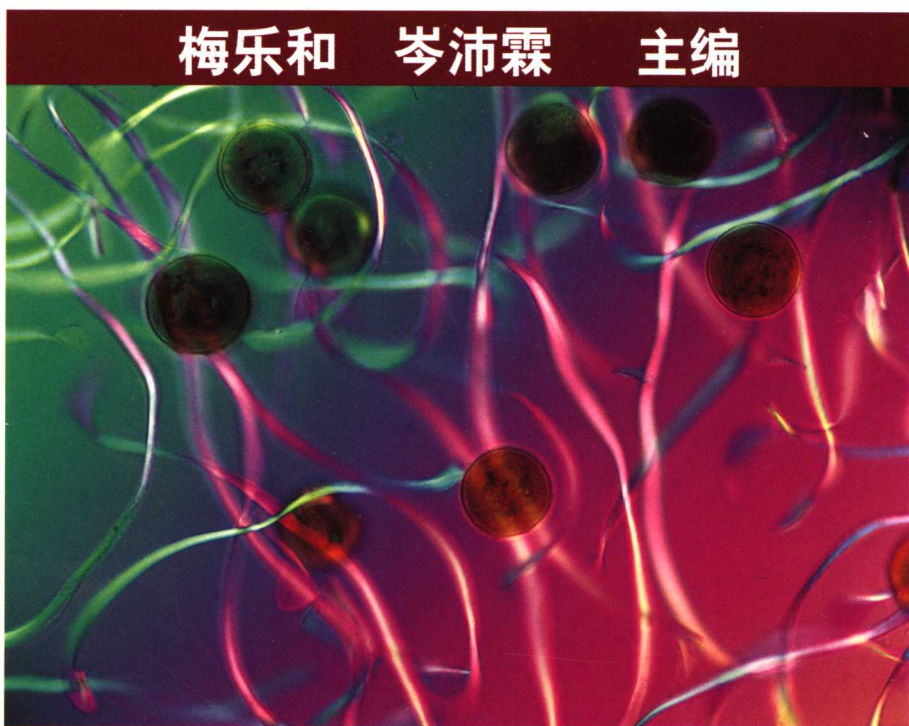


高等学校教材

# 现代酶工程

梅乐和 岑沛霖 主编



Chemical Industry Press



化学工业出版社  
教材出版中心

浙江省高等院校重点教材

高等学校教材

# 现代酶工程

梅乐和 岑沛霖 主编  
金志华 应国清 盛清 参编



化学工业出版社  
教材出版中心

·北京·

**图书在版编目(CIP)数据**

现代酶工程/梅乐和, 岑沛霖主编. —北京: 化学工业出版社, 2006. 1

浙江省高等院校重点教材

高等学校教材

ISBN 7-5025-8032-8

I. 现… II. ①梅…②岑… III. 酶-生物工程-高等学校-教材 IV. Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 000306 号

---

浙江省高等院校重点教材

高等学校教材

**现代酶工程**

梅乐和 岑沛霖 主编

金志华 应国清 盛清 参编

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 焦欣渝

责任校对: 陶燕华

封面设计: 胡艳玮

\*

化学工业出版社 出版发行  
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

\*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 15½ 字数 394 千字

2006 年 2 月第 1 版 2006 年 2 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8032-8

定 价: 28.00 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

## 内 容 提 要

本书在编排上结合酶工程的特点，力求反映近年来酶工程领域内涉及的新理论和新进展，系统地介绍了酶的分类和命名、酶的来源和生产、酶催化原理、酶催化反应动力学等酶工程基础知识，阐述了酶的固定化技术和应用、酶的化学修饰和生物改造的原理和应用、酶工程的新进展，着重介绍了核酶、抗体酶、模拟酶以及非水介质中的酶催化反应，最后介绍了酶工程的应用。

本书可作为高等院校生物工程、发酵工程、食品科学和工程、生命科学、生物技术、制药工程等专业的教材使用，也可作为与生物工程有关的科研、设计和工厂的工程技术人员参考用书。

# 前 言

生物工程正在成为发展最快、应用最广、潜力最大、竞争最为激烈的领域之一，也是最有可能取得关键性突破的学科之一，它与人们日常生活、经济和社会的关系密切，并且已经渗透到工程科学、物理、化学、数学、管理科学、经济学、人文科学等几乎所有的学科。而生物工程产业作为一个正在崛起的主导性产业，已成为产业结构调整的战略重点和新的经济增长点，将成为我国赶超世界发达国家生产力水平，实现后发优势和跨越式发展最有前途、最有希望的领域。

作为生物工程重要组成部分的酶工程同样在迅猛发展。酶工程是酶学和工程学相互渗透结合并发展而形成的一门新的技术科学，是酶学、微生物学的基本原理与化学工程等有机结合而产生的边缘学科，作为生物工程中必不可少的重要组成部分，不但受到业内的广泛重视，也日益受到其它各领域内研究者的普遍关注。作为生物催化剂的酶具有催化专一性好、效率高、作用条件温和等优点，已广泛应用于医药、食品、轻工、化工、能源、环保、检测、生物技术等领域，深刻影响着许多重要的科学和实践领域。随着人类基因组计划的完成及许多重要动物、植物和微生物基因组的确定，可以预料，今后将有更多的酶被鉴别，并出现一批基因工程表达的酶制剂，酶的许多特殊功能将被发现。同时也可以预见，蛋白质工程为酶的性质改造和赋予新的功能提供了有力的工具，人们有理由期待，酶工程将在新世纪中大放异彩。

我国自1998年在生物化工（部分）、微生物制药、生物化学工程（部分）、发酵工程等专业的专业基础上设置生物工程专业以来，相关的教学和科学研究取得了迅猛发展。据不完全统计，截至2003年全国已有148所高校设立生物工程专业，本科生招生数已经超过14000人。由于教学的需要，迫切需要有一本适合生物工程及相关专业使用的酶工程教材。浙江大学1988年以来一直在生物化工、生物工程等相关专业开设“酶工程”课程，并编写《酶工程》讲义。为了满足教学、科研和生产的需要，结合多年来的教学体会，对原讲义进行多次修改、增删后形成本书。本书在编排上结合酶工程的特点，系统地介绍了酶的分类和命名、酶的来源和生产、酶催化原理、酶催化反应动力学等酶工程基础知识，阐述了酶的固定化技术和应用、酶的化学修饰和生物改造的原理和应用、酶工程的新进展，系统地介绍了核酶、抗体酶、模拟酶以及非水介质中的酶催化反应，最后对酶工程的应用进行了分析，并力求反映近年来酶工程领域内涉及的新理论和最新进展。

本书由浙江大学梅乐和教授和岑沛霖教授、浙江大学宁波理工学院金志华副教授、浙江工业大学应国清教授、浙江理工大学盛清副教授等共同编写。编写过程中得到了许多人士的关心和帮助，并被浙江省教育厅列为浙江省高校重点教材，在诸多方面给予支持，书中参考了许多学者的相关著作，在此一并表示感谢。

鉴于编者水平有限，书中难免会有错误或不妥之处，恳请读者不吝赐教，提出宝贵意见。

编者

2005年于杭州西子湖畔

# 目 录

<b>1 绪论</b> .....	1	4.1.3 流化床反应器	94
1.1 酶与生命 .....	1	4.1.4 鼓泡式反应器	94
1.2 酶工程 .....	5	4.1.5 膜反应器	94
<b>2 酶工程基础</b> .....	7	4.1.6 喷射式反应器	95
2.1 酶的分类和命名 .....	7	4.2 酶反应器的选择	95
2.1.1 国际系统分类法 .....	7	4.2.1 根据酶的应用形式选择反应器	96
2.1.2 国际系统命名法 .....	14	4.2.2 根据酶反应动力学性质选择反应器	96
2.1.3 习惯名或常用名 .....	14	4.2.3 根据底物酶反应动力学性质选择反应器	97
2.2 酶的化学本质、来源和生产 .....	14	4.3 酶反应器的设计	97
2.2.1 酶的组成和化学本质 .....	14	4.4 酶反应器的放大	100
2.2.2 辅助因子和辅酶 .....	15	4.4.1 经验放大法	100
2.2.3 酶的结构 .....	15	4.4.2 其它放大	101
2.2.4 酶的活性中心 .....	16	4.5 酶反应器的操作	103
2.2.5 单体酶、寡聚酶、多酶复合体和多酶融合体 .....	17	<b>5 酶的分子修饰和改造</b> .....	106
2.2.6 酶的来源和生产 .....	21	5.1 酶的化学修饰 .....	106
2.3 酶催化原理 .....	31	5.1.1 酶的化学修饰的基本原理	106
2.3.1 酶催化反应的特点 .....	31	5.1.2 酶的化学修饰方法学	107
2.3.2 酶催化作用的机制 .....	35	5.2 酶蛋白分子侧链的修饰 .....	108
2.4 酶催化反应动力学 .....	42	5.2.1 羧基的化学修饰	108
2.4.1 简单酶催化反应动力学 .....	43	5.2.2 氨基的化学修饰	109
2.4.2 多底物酶催化反应动力学 .....	51	5.2.3 胍基的化学修饰	110
2.4.3 酶催化反应的抑制动力学 .....	54	5.2.4 巯基的化学修饰	110
<b>3 酶的固定化和固定化酶反应动力学</b> .....	66	5.2.5 组氨酸咪唑基的修饰	112
3.1 酶的固定化 .....	66	5.2.6 色氨酸吡啶基的修饰	112
3.1.1 固定化酶的定义 .....	66	5.2.7 酪氨酸残基和脂肪族羟基的修饰	113
3.1.2 固定化酶的制备方法 .....	67	5.2.8 甲硫氨酸甲硫基的修饰	113
3.2 辅酶的固定化 .....	75	5.3 酶的表面化学修饰 .....	114
3.2.1 辅基的固定化 .....	75	5.3.1 有机大分子对酶的化学修饰	114
3.2.2 辅酶的固定化 .....	76	5.3.2 小分子物质对酶的化学修饰	121
3.2.3 辅酶的再生 .....	77	5.3.3 修饰剂对酶修饰的影响	122
3.3 固定化酶催化反应动力学 .....	78	5.4 酶蛋白分子的亲和修饰 .....	123
3.3.1 固定化对酶活性及酶反应系统的影响 .....	78	5.4.1 亲和标记	123
3.3.2 固定化酶反应动力学 .....	81	5.4.2 外生亲和试剂与光亲和标记	124
<b>4 酶反应器的设计和放大</b> .....	92	5.5 酶的化学交联 .....	125
4.1 酶反应器 .....	92	5.6 修饰酶的性质及特点 .....	126
4.1.1 搅拌罐式反应器 .....	92	5.7 酶的生物法改造 .....	130
4.1.2 填充床式反应器 .....	93	5.7.1 酶分子定向进化的基本原理	130

5.7.2	酶分子定向进化的基本策略	131	8.2	印迹酶	164
5.7.3	酶分子定向进化的应用和展望	133	8.2.1	分子印迹原理	164
<b>6</b>	<b>核酶与脱氧核酶</b>	<b>134</b>	8.2.2	分子印迹聚合物的制备方法	166
6.1	核酶的催化类型	135	8.2.3	分子印迹酶	168
6.1.1	I型内含子的自我剪接	135	<b>8.3</b>	<b>环糊精模拟酶</b>	<b>171</b>
6.1.2	异体催化剪切型	136	8.3.1	环糊精的结构	171
6.1.3	自体催化剪切型	137	8.3.2	$\alpha$ -胰凝乳蛋白酶的模拟	173
6.2	天然核酶	137	8.3.3	核糖核酸酶的模拟	173
6.2.1	锤头形核酶	137	8.3.4	转氨酶的模拟	174
6.2.2	发夹形核酶	138	<b>8.4</b>	<b>冠醚化合物的模拟酶</b>	<b>174</b>
6.2.3	蛋白质-RNA复合酶	139	8.4.1	水解酶的模拟	174
6.2.4	组I内含子和组II内含子	140	8.4.2	肽合成酶的模拟	175
6.3	脱氧核酶	141	<b>8.5</b>	<b>超氧化物歧化酶的模拟</b>	<b>175</b>
6.3.1	10-23脱氧核酶	141	8.5.1	Cu, Zn-SOD活性中心的模拟	175
6.3.2	8-17脱氧核酶	141	8.5.2	SOD的功能模拟	176
6.3.3	手枪形脱氧核酶	142	<b>8.6</b>	<b>模拟酶研究进展</b>	<b>176</b>
6.3.4	“二分”型结构脱氧核酶	142	<b>9</b>	<b>非水介质中的酶催化反应</b>	<b>178</b>
6.3.5	环状结构脱氧核酶	142	9.1	非水介质反应体系	178
6.4	核酶或脱氧核酶的应用	143	9.2	酶在非水介质中的性质	180
<b>7</b>	<b>抗体酶</b>	<b>145</b>	9.2.1	热稳定性	180
7.1	抗体的结构	145	9.2.2	底物专一性	181
7.2	抗体酶的设计	146	9.2.3	对映体选择性	182
7.2.1	以过渡态类似物免疫为基础的抗体酶设计	146	9.2.4	区域选择性	182
7.2.2	工程抗体催化	147	9.2.5	化学键选择性	182
7.3	抗体酶的筛选和选择	147	9.2.6	pH记忆	182
7.4	抗体酶的制备方法	149	9.3	非水介质反应体系中有有机溶剂对酶催化反应的影响	183
7.4.1	拷贝法	149	9.3.1	有机溶剂对酶的结合水的影响	183
7.4.2	引入法	150	9.3.2	有机溶剂对酶结构的影响	184
7.4.3	诱导法	150	9.3.3	有机溶剂对底物和产物的影响	184
7.4.4	抗体与半抗原互补法	151	9.3.4	有机溶剂对酶选择性的影响	184
7.4.5	嫁接法	151	9.4	水对非水介质中酶催化的影响	185
7.4.6	多底物类似物法	152	9.4.1	必需水	185
7.4.7	抗体库法	152	9.4.2	水对酶催化反应速度的影响	186
7.5	抗体酶催化的反应	153	9.4.3	水活度	188
7.6	抗体酶的应用和发展前景	156	9.4.4	水对酶活性的影响	190
7.6.1	抗体酶用于阐明化学反应机制	156	9.5	非水介质中的酶催化反应类型	191
7.6.2	抗体酶在有机合成中的应用	156	9.5.1	C—O键的形成	191
7.6.3	抗体在疾病治疗过程中的应用	158	9.5.2	C—N键的反应	192
<b>8</b>	<b>模拟酶</b>	<b>161</b>	9.5.3	C—C键的形成	193
8.1	模拟酶的分类	161	9.5.4	还原反应	193
8.1.1	主客体酶模型	161	9.5.5	氧化反应	194
8.1.2	胶束模拟酶	162	9.5.6	异构化反应	194
8.1.3	肽酶	163	9.5.7	C—X的反应	194
8.1.4	半合成酶	163	9.6	非水介质酶催化的应用	195

9.6.1	光学活性化合物的制备	195	10.7.4	用酶水解腈生产相应有机酸	214
9.6.2	旋光性聚合物的合成	196	10.8	手性化合物的酶法合成和拆分	215
<b>10</b>	<b>应用酶工程</b>	<b>199</b>	10.8.1	手性化合物的酶法合成	216
10.1	淀粉酶	200	10.8.2	手性化合物的酶法拆分	221
10.1.1	$\alpha$ -淀粉酶	200	10.9	酶与生物传感器	225
10.1.2	$\beta$ -淀粉酶	200	10.10	酶在物质分析检测方面的应用	227
10.1.3	葡萄糖淀粉酶	202	10.10.1	单酶反应分析	227
10.1.4	异淀粉酶	202	10.10.2	多酶偶联反应分析	228
10.2	蛋白酶	204	10.10.3	酶标免疫分析	228
10.3	脂肪酶	206	10.11	用于疾病诊断和治疗的酶	231
10.4	青霉素酰化酶与半合成抗生素	207	10.11.1	用于疾病诊断的酶	231
10.5	淀粉酶、葡萄糖异构酶与果葡糖浆的生产	210	10.11.2	用于疾病治疗的酶	232
10.6	酶法生产 L-氨基酸	212	10.12	靶酶及酶标药物	233
10.6.1	DL-氨基酸的酶法拆分	212	<b>11</b>	<b>酶工程发展展望</b>	<b>234</b>
10.6.2	酶法合成 L-天冬氨酸	213	11.1	新酶的发现	234
10.6.3	酶法生产 L-丙氨酸	213	11.2	天然酶的改造	235
10.7	酶法生产有机酸	213	11.3	仿生酶的研究	236
10.7.1	酶法合成 L-苹果酸	213	11.4	酶应用范围的扩大	237
10.7.2	酶法合成 L-酒石酸	214	11.5	新应用领域中酶催化动力学研究	238
10.7.3	酶法合成长链二羧酸	214	<b>参考文献</b>	<b>239</b>	



# 1 绪 论

酶是一类生物催化剂，其化学本质为蛋白质，同时又具有催化剂的功能。生物体内，组成生命活动的大量生化反应都是在酶的催化作用下得以有序而顺利地进行，进而保证了正常代谢途径的畅通而不发生中间代谢产物的积累。几乎所有生物的生理现象都与酶的作用紧密相关，可以这样说，没有酶的存在，就没有生物体的生命活动。

对酶的认识最早起源于酿酒、造酱、制饴和治病等生产与生活实践。我国祖先在几千年以前就已经开始利用酶，早在夏禹时代，人们就会酿酒；《周礼》上也已有造酱、制饴的记载；春秋战国时期，已有采用曲治疗消化不良等疾病的案例。在西方，随着人们对酿酒发酵过程研究的深入，从19世纪起对酶的认识也逐渐深入。1810年 Jaseph-Lussac 发现酵母可将糖转化为酒精，之后 Pasteur 对发酵作了很多研究，并作出了很大的贡献，但他却错误地认为只有活的酵母细胞才能进行发酵。Liebig 在研究酿酒过程中对这种观念提出了挑战，首次认为发酵现象是由于酵母细胞中含有发酵酶，是发酵酶催化糖发酵产生酒精，但由于当时科学和技术的限制，他未能从酵母细胞中制备出可催化发酵的无细胞酶制品。但从此时开始，人们对具有生物催化作用的酶已经有了模糊的认识。1835~1837年间，Berzelius 提出了催化作用的概念，对酶学的发展起了非常重要的作用，实际上，正是此概念的产生使对酶的研究一开始就与它具有的催化作用联系在一起。1876年 Kuhne 创造了“enzyme”一词，目的是为了与“ferment”一词的混淆。一般认为真正的酶学的研究始于 Buechner 兄弟的发现，1887年 Buechner 兄弟用细沙研磨酵母细胞，压取出汁液，证明了不含酵母细胞的酵母提取液也能使糖发酵生成酒精，实验证实了发酵与细胞的活力无关，并表明了酶能够以溶解的、有活性的状态从破碎的细胞中分离出来，从而推动了酶的分离以及对酶的理化性质的进一步探讨和研究，也促进了各种与生命活动过程有关的酶系统的深入研究。

历史上对酶化学本质的认识经历了一个曲折的过程。20世纪20年代初，Willstatter 认为酶不一定是蛋白质，他将过氧化物酶纯化了12000倍后，酶的活性很高，但却检测不到蛋白质，所以他错误地认为酶是由活动中心与胶质载体组成的，活动中心决定酶的催化能力及专一性，胶质载体的作用在于保护活动中心，蛋白质只是保护胶质载体的物质，并以此来解释酶纯度越高越不稳定的实验现象。这一错误的观点是由于当时对蛋白质检测水平的限制而造成的，但由于 Willstatter 的权威地位，使这一观点在当时较为流行。1926年，Sumner 第一个获得了脲酶的蛋白质结晶，并提出了酶是蛋白质的观点，但仍无法推翻 Willstatter 的观点。直到 Northrop 和 Kunitz 得到了胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶的蛋白质结晶，并用令人信服的实验方法证实了酶是一种蛋白质后，酶的蛋白质属性才被人们普遍接受。到20世纪80年代初，所发现的酶已经超过4000种，这些酶都是由生物体自然产生的具有催化能力的蛋白质。

## 1.1 酶与生命

无论是低等微生物还是高等动植物，体内成千上万个错综复杂的化学反应构成了新陈代谢的网络，这些反应在井井有条、绵绵不断地进行着，那么生物体内这样有规律、有秩序的

反应是如何维持的呢？大量的科学研究表明，这些反应都是在生物催化剂——酶的作用下进行的，许多酶构成了一个庞大而有规律的酶反应体系，控制和调节着生物体复杂的新陈代谢。生物体内的每一个细胞内存在着许许多多的物质分子，它们之间可以发生各种各样的生化反应。组成生命活动的大量生化反应都是由一套特异的酶所催化的，细胞利用这些酶使复杂的生化反应得以有序地进行，从而保证生命体的正常代谢途径畅通而不发生副反应。

从目前的研究结果来看，生物体内几乎所有生化反应都是由酶催化的，新陈代谢就是酶催化的许多同化与异化反应的复杂体系，生物的发育、生长、繁殖等都涉及酶的催化作用。酶系统的完整性和协调性是生命的关键，一旦生物体内酶系统的完整性和协调性受到破坏，将会引起疾病，甚至危及生命。毫不夸张地说，几乎所有生物的生理现象都与酶的作用紧密相关。离开了酶，生命活动就一刻也不能维持；失去了酶，也就失去了整个生物界。

已经知道，细胞内通常含有很多相互关联的酶，这些酶构成了一个又一个的酶系并分布于特定的细胞组分之中，因此，某些调节因子就可以比较特异地影响某细胞组分中的酶活性，而不使其它组分中的酶受到影响。在生物体的各个不同的部位都存在着酶，各种酶均可在不同物种的生命体内发现，但在不同的生命体内或相同的生物体内的不同部位，酶的种类及分布是不同的。表 1.1~表 1.6 分别列出了哺乳动物细胞内某些组分所含的部分酶。

表 1.1 分布于细胞核中的酶

细胞核中的位置	酶
核膜	酸性磷酸酶、6-磷酸葡萄糖酶
染色质	三磷酸核苷酶、RNA 核苷酸转移酶 II、RNA 核苷酸转移酶 III、DNA 核苷酸转移酶、烟酰胺核苷酸腺苷酰转移酶
核仁	RNA 核苷酸转移酶 I、RNA 甲基转移酶、核糖核酸酶
核内可溶性部分	醇解酶系、磷酸戊糖途径酶系、精氨酸酶、乳酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶

表 1.2 分布于细胞质中的一些酶

酶的功能	酶	
参与糖代谢的酶	醇解酶系	糖原合成酶、二磷酸果糖酶、磷酸化酶激酶、蛋白激酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶
	磷酸戊糖途径酶系	苹果酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、柠檬酸裂合酶、1-磷酸葡萄糖尿苷酸转移酶
参与脂代谢的酶	脂肪酸合成酶复合体、乙酰辅酶 A 羧化酶、3-磷酸甘油脱氢酶	
参与氨基酸、蛋白质代谢的酶	天冬氨酸转移酶、丙氨酸氨基转移酶、精氨酸酶、精氨酸琥珀酸合成酶、精氨酸琥珀酸裂解酶	
参与核酸合成的酶	核苷激酶、核苷酸激酶	

表 1.3 分布于内质网的酶

分布位置	酶
光滑内质网	胆固醇合成酶系、固醇羟化酶系、(C <sub>12</sub> ~C <sub>20</sub> ) 脂肪酸碳链延长酶系、肉毒碱酰基转移酶、磷酸甘油酰基转移酶、药物代谢酶系(芳环羟化、侧链氧化、脱氨、脱烷基、脱卤等反应)
粗糙内质网(细胞质一侧)	蛋白质合成酶系、三磷酸腺苷酶、5'-核苷酸酶、细胞色素 b <sub>5</sub> 还原酶、NADPH-细胞色素还原酶、GDP 甘露醇 α-D-甘露糖基转移酶、胆固醇酰基转移酶
粗糙内质网(内腔侧)	二磷酸核苷酸、6-磷酸葡萄糖酶、β-D-葡糖苷酸酶、UDP-葡糖苷酰基转移酶

表 1.4 分布于线粒体内的酶

分布位置	酶
外膜	酰基辅酶 A 合成酶、甘油磷酸酰基转移酶、磷酸胆碱转移酶、NADH 脱氢酶、细胞色素 b <sub>5</sub> 还原酶、单胺氧化酶、狗尿酸原羟化酶、磷脂酶 A <sub>3</sub> 、腺苷酸激酶、己糖激酶
膜间腔	核苷激酶、腺苷酸激酶、L-木酮糖还原酶
内膜	NADH 脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、3-羟丁酸脱氢酶、3-磷酸甘油脱氢酶、细胞色素 C 氧化酶、ATP 酶、己糖激酶、肉毒碱软脂酰转移酶
基质	三羧酸循环酶系、脂肪酸 $\beta$ 氧化酶系、氨甲酰磷酸合成酶、鸟氨酸氨甲酰转移酶、丙酮酸羧化酶、谷氨酸脱氢酶

表 1.5 分布于溶酶体的酶

酶的功能	酶
水解蛋白质的酶	组织蛋白酶、弹性蛋白酶、胶原蛋白酶
水解糖苷类的酶	$\beta$ -葡萄糖醛苷酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、 $\alpha$ -甘露糖苷酶、 $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、葡聚糖酶、透明质酸酶、溶菌酶、神经氨酸糖苷酶
水解核酸的酶	核糖核酸酶 II、脱氧核糖核酸酶 II
水解脂类的酶	磷脂酶 A、胆固醇酯酶
其它水解酶	酸性磷酸酯酶、芳基硫酸酯酶

表 1.6 分布于过氧化酶体的酶

酶 类	酶
氧化酶类	乙醇酸氧化酶、酯酰 CoA 氧化酶、尿酸氧化酶、D-氨基酸氧化酶、L-氨基酸氧化酶、甲醇氧化酶、聚胺氧化酶、甘油磷酸氧化酶
脱氢酶类	L- $\beta$ -羟脂酰 CoA 脱氢酶、苹果酸脱氢酶、甘油脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、黄嘌呤脱氢酶
合成酶类	脂酰 CoA 合成酶、乙酰 CoA 合成酶、烯脂酰合成酶、丙酮酸合成酶
酰基转移酶类	肉毒碱乙酰 CoA 转移酶、肉毒碱辛酰 CoA 转移酶、酰基 CoA 二羧丙酮酸转移酶
转氨酶类	谷氨酸-乙醛酸转氨酶、丝氨酸-乙醛酸转氨酶、关氨酸草酰转氨酶、丙酮酸-乙醛转氨酶、丝氨酸-丙酮酸转氨酶、亮氨酸-乙醛转氨酶
乙醛酸循环酶类	异柠檬酸裂解酶、苹果酸合成酶、柠檬酸合成酶、乌头酸酶
膜上的酶类	细胞色素 C 还原酶、脂酶

酶的分布不仅有物种的差异，而且还存在部位的差异，在同一生物的不同细胞和组织，甚至不同的发育过程，酶的种类与含量会有很大的差异。表 1.7 列出了大鼠的一些器官组织中酶的分布情况。图 1.1 为大鼠肝脏发育过程中一些酶的活力变化。

表 1.7 大鼠的各组织中一些酶的分布情况

酶的名称	肝	肾	脾	心	骨骼肌	肺	小肠	大肠	胰腺	脑	睾丸	血液
$\alpha$ -淀粉酶			0	0	0		0.7		100	0	18	0.5
$\beta$ -半乳糖苷酶	45	100	68	5			44		13	4		
组织蛋白酶	46	100	88		8	48				21		
天冬酰胺酶	38	100	26			14			16	29		
谷氨酰胺酶	8	46	6	5		6	33		7	100		
精氨酸酶	100	15	5	0	4				2	1		
鸟嘌呤脱氨酶	80	76	92		0				57	100		
腺嘌呤脱氨酶	11	35	100									
三磷酸腺苷酶	47	74	48	100	82	80			42	25		
二磷酸果糖醛缩酶	6	5	3	12	100	1.5	1		0.2	8		

续表

酶的名称	肝	肾	脾	心	骨骼肌	肺	小肠	大肠	胰腺	脑	睾丸	血液
柠檬酸合成酶	8	16		100	8							
碳酸酐酶	100	19	25			0	0		100	31		
延胡索酸水化酶	68	66		100								
顺乌头酸水化酶	77	100				18	10			8		
烯醇化酶	9	15	6	13	100					9		
磷酸葡萄糖异构酶	21	0.5		1	0.5	5	15	100	1.5			
丙酮酸羧化酶	100	66		0	0					0		

注：每种酶的分布为组织间相对比较值（以酶量最多的组织中为100）。

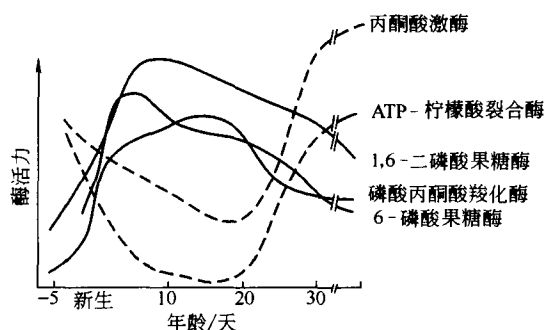


图 1.1 大鼠肝脏发育过程中一些酶的活力变化情况

从表 1.7 可以看出，有些酶分布极为广泛，如二磷酸果糖醛缩酶、三磷酸腺苷酶、磷酸葡萄糖异构酶、谷氨酰胺酶等分布于大鼠的众多组织或器官中，但有些酶却仅仅存在于某一些组织内，而在其它组织或器官内则没有分布，如丙酮酸羧化酶仅在大鼠的肝脏和肾脏存在，在脾脏、心脏等组织却没有分布。同样，在不同的组织或器官中分布的酶的种类和酶量也有很大的区别，例如，在大鼠的肝脏和肾脏就存在表中列出的所有酶，而在睾丸、大肠等组织或器官中分布的酶的种类相对就比较少。

值得注意的是，有些酶在某些组织或器官中的活性特别高，例如，表 1.7 中的  $\alpha$ -淀粉酶和碳酸酐酶在胰腺中的含量就特别高，这可能与该器官组织的特征有相关的联系。通常可以将只分布于细胞内某个特定组分的酶称为标志酶，在实践上，可以将它作为细胞组分鉴别的依据，甚至可以判别组织或器官是否发生病变。表 1.8 列出了细胞各部分的标志酶和生化功能。

表 1.8 细胞各部分的标志酶和生化功能

细胞部分	标志酶	主要生化功能
细胞核	烟酰胺单核苷酸、NMN 腺苷酰转移酶	DNA、RNA、NAD 的生物合成
线粒体	琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶	电子转移、氧化磷酸化、尿素循环、三羧酸循环、脂肪酸氧化、血红素生物合成
溶酶体	酸性磷酸酶	细胞成分的水解
微粒体(核蛋白体、多核蛋白体、内质网)	6-磷酸葡萄糖酶、NADPH-细胞色素 C 还原酶	蛋白质的合成,药物的解毒,黏多糖、葡萄糖苷酸、胆固醇、磷脂的生物合成
可溶性部分	乳酸脱氢酶	氨基酸的活化、糖酵解、糖的异生作用、戊糖磷酸旁路、脂肪酸的生物合成

需要指出的是，在某些生物中，酶的差异能显示种属的特征，不同生物所含酶的种类和酶量是有区别的，即使不同生物所含的一些酶相同，其一级结构往往也有差异，并能体现出进化上亲缘关系的远近。

综上所述，酶能鲜明地体现出生物识别、催化、调节等功能，一切生命活动都是在酶的作用下通过各种生物化学反应的正常进行来维持的，酶是促进一切代谢反应的物质，没有

酶，代谢就会停止，生命也就会随之终止。探讨酶与生命活代谢调节、疾病、生长发育等的关系，对于阐明生命现象的本质和规律具有十分重要的意义，在整个生物学领域中有重要的作用。

## 1.2 酶工程

酶工程是酶学和工程学相互渗透结合并发展起来的一门新的技术科学，是酶学、微生物学的基本原理与化学工程等有机结合而产生的边缘学科。它是从应用的目的出发研究、利用酶的特异性催化功能，并通过工程化将相应的原料转化为有用物质的技术，其特点是利用酶或含酶细胞器作为生物催化剂完成重要的化学反应。酶工程作为生物工程中必不可少的重要组成部分，不但受到生物化学、生物化工等工作者的重视，也日益受到其它各领域内研究者的关注。

酶工程的形成是建立在酶或酶制剂的应用基础上的，酶反应动力学理论的发展和运用化学工程原理建立起的多种反应器、大规模的酶应用为酶工程学科的产生和形成奠定了重要的基础。一般认为，酶工程的发展历史应从 20 世纪 40 年代日本采用深层液体发酵技术大规模成功生产  $\alpha$ -淀粉酶，使酶制剂生产应用进入工业化阶段算起。20 世纪 50 年代采用葡萄糖淀粉酶催化淀粉水解生产葡萄糖新工艺的研究成功，彻底废除了原来葡萄糖生产中采用的高温、高压酸水解工艺，使淀粉的得糖率由 80% 左右上升为 100% 以上，这项新工艺的成功大大促进了酶在工业上的应用，揭开了现代酶制剂工业的序幕。之后，许多酶制剂都采用微生物发酵方法进行生产，酶的生产和应用得以大规模发展。到了 20 世纪 60 年代，科学家提出了操纵子学说，阐明了酶生物合成的调节机理，使酶的生物合成可以按照人们的意愿加以调节控制，并显著提高了发酵生产过程酶的产率。而在这一时期内，固定化酶的出现使酶制剂的应用面貌焕然一新，日本科学家千铎一郎成功地将固定化氨基酰化酶拆分氨基酸技术用于 DL-氨基酸的拆分生产 L-氨基酸，开创了固定化酶应用的新局面。就是在这样的背景下，第一次国际酶工程会议于 1971 年顺利召开，会上总结了此前酶工程的研究和应用成果，并提出酶工程研究内容，主要包括酶的生产、分离纯化、酶的固定化、酶及固定化酶的反应器、酶与固定化酶的应用等内容。到了 20 世纪 70 年代后期，由于微生物学、基因工程及细胞工程等的迅猛发展为酶工程的进一步纵深发展带来了勃勃生机，不仅扩大了酶工程的研究和应用领域，而且取得了迅猛的发展。此后，固定化天冬氨酸酶生产 L-天冬氨酸、固定化葡萄糖异构酶生产高果糖浆、固定化青霉素酰化酶生产半合成青霉素或头孢菌素、固定化  $\beta$ -半乳糖苷酶生产低乳糖奶等的工业化生产陆续取得成功，极大地推动了酶工程的发展。

随着酶在工业、农业、医药和食品等领域中应用的迅速发展，酶工程也不断地增添新的内容。目前从自然界中发现和鉴定的酶已经超过 4000 种，但大规模生产和应用的商品酶只有数十种，只占很少的一部分，大量的自然酶还没有得到很好的应用。其主要原因是大多数自然酶脱离其生理环境后极不稳定，而在生产和应用过程中的条件往往与其生理环境相差甚远，且酶的分离纯化工艺过于复杂、成本过高。为了更好地应用酶，通常可以采用自然酶的化学修饰、化学人工酶或采用酶学与基因工程相结合的手段，改造自然酶产生修饰酶甚至是自然界中不曾存在的新酶，这使得酶工程的研究和应用领域逐渐得以扩大，内容也日渐丰富。按现代观点来看，酶工程包括以下几个方面的研究内容：①酶的分离、纯化和大量生产，以及它们在细胞外的应用；②新颖酶的发现、研究和应用；③酶的固定化技术和固定化酶反应器的研究；④基因工程技术应用于酶制剂的生产及遗传修饰酶的研究；⑤酶分子改造与化学修饰以及酶的结构与功能之间关系的研究；⑥有机介质中酶反应的研究；⑦酶的抑制

剂、激活剂的开发及应用研究；⑧抗体酶、核酸酶的研究；⑨模拟酶、合成酶以及酶分子的人工设计、合成的研究等。

目前，酶工程已经广泛地用于科学研究、医药、疾病诊断、分析检测、日常生活、工农业生产及环境保护。酶催化反应的规模大至上千万吨，如淀粉水解及高果玉米糖浆（HF-CS）生产，小到几个分子的检测，如蛋白质芯片。随着人类基因组计划的完成及许多重要动物、植物和微生物基因组的确定，可以预料今后将有更多的酶被鉴别，并出现一批基因工程表达的酶制剂，酶的许多特殊功能将被发现。同时也可以预见，蛋白质工程将为酶的性质改造和赋予新的功能提供有力的工具。

## 2 酶工程基础

在长期的研究过程中，人们对酶的基本知识和理论进行了大量的描述，形成了一整套酶的命名原则和方法，明确了酶的化学本质和来源，并根据实际情况，利用动物、植物和微生物制备和规模化生产酶制剂。根据酶催化反应的现象和规律，总结出了相应的酶催化机制和动力学特点，从而奠定了酶工程的基础。本章将介绍酶工程的基本概念和基本知识。

### 2.1 酶的分类和命名

由于酶的种类繁多，在酶学研究的初期，尚没有一个系统的命名法则，酶的名称都是习惯沿用的，绝大多数是依据酶催化作用的反应物（或称为底物）来命名的，如淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等；有时也根据酶所催化的反应性质来命名，如氧化酶、转氨酶等；也有一些酶结合了上述两点进行命名，如胆固醇氧化酶、醇脱氢酶、谷丙转氨酶等；此外，还有在这些命名法的基础上，加上酶的来源或酶的其它特点等对酶进行命名，如心肌黄酶、胰蛋白酶、碱性磷酸酯酶等。虽然这些命名法的沿用时间很长，也比较简单，但存在严重的局限性，缺乏系统性，常常会不可避免地出现一酶数名或一名数酶的混乱情况。

为了避免这种混乱，国际生物化学联合会（International Union of Biochemistry, IUB）在 1955 年就酶的分类和命名问题成立了国际委员会，并在 1961 年提出了酶的系统命名法和系统分类法，经 1965 年、1972 年、1978 年和 1984 年几次修改、补充后，形成了现在已得到普遍承认的分类和命名法。

#### 2.1.1 国际系统分类法

国际酶学委员会根据已知的酶催化反应类型和作用的底物，将酶分为氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类、合成酶或连接酶类六大类，其催化的反应类型如下。

##### 2.1.1.1 氧化还原酶类

氧化还原酶类催化的是氧化还原反应，包括了参与催化氢和/或电子从中间代谢产物转移到氧的整个过程中的各种酶，也包括促成某些物质进行氧化还原转化的各种酶。这类酶在体内参与氧化产能、解毒和某些生理活性物质的合成，在生命过程中起着很重要的作用，在生产实践中，应用也十分广泛。重要氧化还原酶类有各种脱氢酶、氧化酶、过氧化物酶、氧化酶、细胞色素氧化酶等。图 2.1 为葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化为葡萄糖内酯。

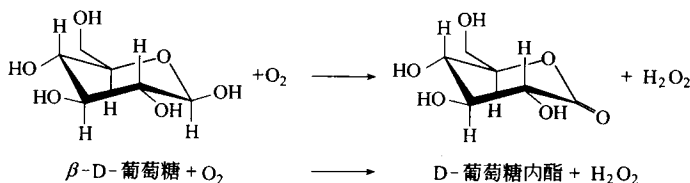


图 2.1 葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化为葡萄糖内酯

##### 2.1.1.2 转移酶类

转移酶类可催化各种功能基团从一种化合物转移到另一种化合物，在生物机体内参与核酸、蛋白质、糖类及脂肪等的代谢，对核苷酸、核酸、氨基酸、蛋白质等的生物合成有重要

作用，并可为糖、脂肪酸的分解与合成准备各种关键性的中间代谢产物，此外，转移酶类还能催化诸如辅酶、激素和抗生素等生理活性物质的合成与转化，并能促成某些生物大分子从潜态转入功能状态。这类酶包括了一碳基转移酶、酮醛基转移酶、酰基转移酶、糖苷基转移酶、烃基转移酶、含氮基转移酶、含磷基转移酶和含硫基团转移酶等。图 2.2 为天冬氨酸转氨酶催化氨基转移反应。

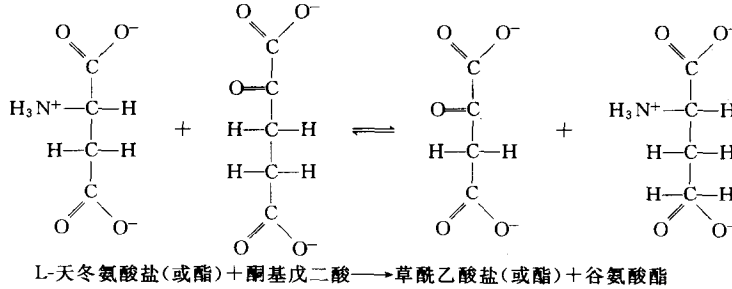


图 2.2 天冬氨酸转氨酶催化氨基转移反应

### 2.1.1.3 水解酶类

水解酶类是目前应用最广的一类酶，催化的是水解反应或水解反应的逆反应，可催化水解酯键、硫酯键、糖苷键、肽键、酸酐键等化学键，在体内外起降解作用，包括酯酶、淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶、糖苷酶、核酸酶、肽酶等。水解酶一般不需辅酶。图 2.3 为凝乳酶水解  $\kappa$ -干酪素生成 para- $\kappa$ -干酪素和 caseino macropeptide。

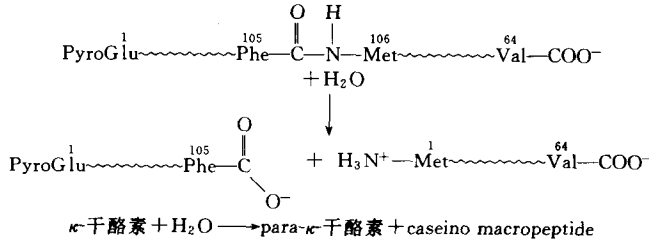


图 2.3 凝乳酶水解  $\kappa$ -干酪素生成 para- $\kappa$ -干酪素和 caseino macropeptide

### 2.1.1.4 裂合酶类

这类酶能催化底物进行非水解性、非氧化性分解，可脱去底物上某一基团而留下双键，或可相反地在双键处加入某一基团，催化的主要化学键有 C—C、C—O、C—N、C—S、C—X (X=F, Cl, Br, I) 和 P—O 键等。重要的裂合酶有谷氨酸脱羧酶、草酰乙酸脱羧酶、醛缩酶、柠檬酸解酶、烯醇化酶、天冬氨酸酶、DDT 脱氯化氢酶、顺乌头酸酶等。图 2.4 为组氨酸酶催化 L-组氨酸生成 urocanate 和铵盐。

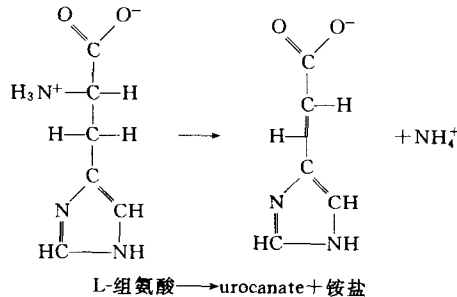


图 2.4 组氨酸酶催化 L-组氨酸生成 urocanate 和铵盐



### 2.1.1.5 异构酶类

此类酶催化某些物质进行分子异构化，可进行化合物的外消旋、差向异构、顺反异构、醛酮异构、分子内转移、分子内裂解等，包括消旋酶、差向异构酶、顺反异构酶、醛酮异构酶、分子内转移酶等，为生物代谢所需要。重要的异构酶类有谷氨酸消旋酶、醛糖-1-差向异构酶、视黄醛异构酶、D-葡萄糖异构酶、磷酸甘油变位酶、谷氨酸变位酶、四氢叶酸甲基转移酶等。图 2.5 为葡萄糖异构酶将葡萄糖异构化生产 D-果糖。

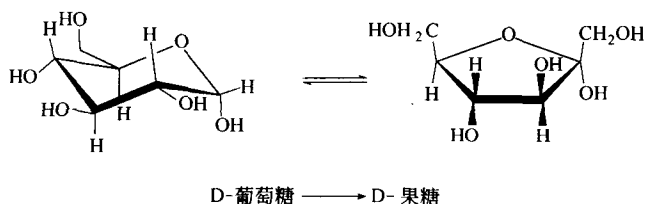
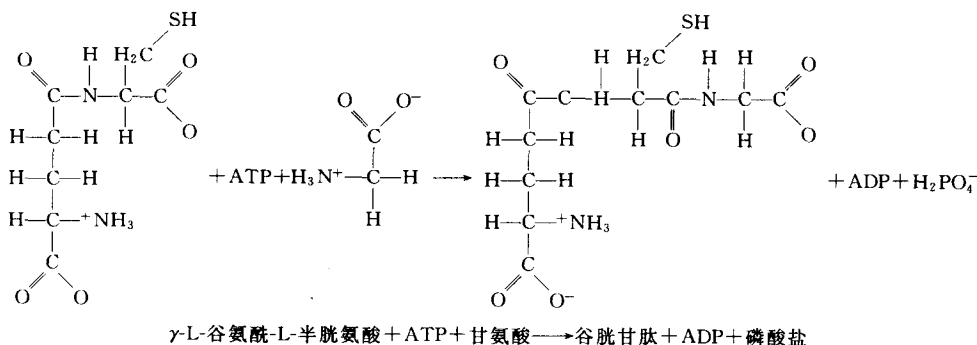


图 2.5 葡萄糖异构酶将葡萄糖异构化生产 D-果糖

### 2.1.1.6 合成酶或连接酶类

合成酶类或连接酶类能催化利用 ATP 或其它 NTP 供能而使两个分子连接的反应，能够形成 C—O 键（与蛋白质合成有关）、C—S 键（与脂肪酸合成有关）C—C 键和磷酸酯键等化学键。这类酶关系到很多重要的生命物质的合成，其特点是需要三磷酸腺苷等高能磷酸酯作为结合能源，有的还需金属离子辅助因子。图 2.6 为甘氨酸连接酶、谷胱甘肽合成酶催化  $\gamma$ -L-谷氨酰-L-半胱氨酸、ATP 和甘氨酸生成谷胱甘肽、ADP 和磷酸盐。



$\gamma$ -L-谷氨酰-L-半胱氨酸 + ATP + 甘氨酸  $\longrightarrow$  谷胱甘肽 + ADP + 磷酸盐

图 2.6 甘氨酸连接酶、谷胱甘肽合成酶催化  $\gamma$ -L-谷氨酰-L-半胱氨酸、ATP 和甘氨酸生成谷胱甘肽、ADP 和磷酸盐

根据上述分类，EC 规定每一种酶都有一个由四组数字组成的编号，每个数字之间用“.”分开，并在此编号的前面冠以 EC (enzyme commission 的简称)。编号中的第一个数字表示该酶所属的大类，分别为：①氧化还原酶类；②转移酶类；③水解酶类；④裂合酶类；⑤异构酶类；⑥合成酶或连接酶类。第二个数字表示在该大类下的亚类，亚类的划分有些是根据所作用的基团，有些则反映了所催化反应的亚类，表 2.1 列出了酶的国际分类。第三个数字表示各亚类下的亚亚类，它更精确地表明酶催化反应底物或反应物的性质，例如氧化还原酶大类中的亚亚类区分受体的类型，具体指明受体是氧、细胞色素还是二硫化物等。第四个数字表示亚亚类下具体的个别酶的顺序号，一般按酶的发现先后次序进行排列。编号中的前三个数字表明了该酶的特性，如反应物的种类、反应的性质等。例如：EC 1.1.1.1 代表乙醇脱氢酶。第一个数字 1 表明这是一种氧化还原酶；第二个数字 1 说明作用于分子中的羟