

# 第一章 绪论

## 第一节 食品酶学涵义

任何生物体 包括细胞 要生长、发育、繁殖及进行复杂的新陈代谢，需要几千种化学反应，而且是在常温、常压下进行的。这种生命现象的解释 至少在 100 多年前是不可理解的。1857年法国著名微生物学家巴斯德首先对酒精发酵机理作了理论解释，认为酒精发酵是酵母活细胞引起的，因为酵母中存在一种“酵素”(Ferment)，并认为这种酵素在活细胞中才能起作用，提出“活体酵素”和“非活体酵素”的概念，实质上代表了“生机论”观点。当时 Liebig、Berzelius 和 Wohler 等人提出不同看法，认为酒精发酵本质是物质的作用。因而这两派围绕酒精发酵的本质在科学史上发生了长达半个世纪的学术论战。1876年德国学者 Kühne<sup>[1]</sup> 首先提出“Enzyme”一词 希腊文中 En 相当于英文中的 in, Zyme 相当于 yeast，故其涵义是指在酵母中的酶。1897年德国学者 Buchner 兄弟俩在制造医药品时，用石英砂磨碎酵母细胞，经陶器过滤得到完全不含酵母活细胞的滤液（抽提物），为了防腐在滤液中添加了蔗糖，意外地发现发酵现象，从而奇迹般地发现了酶离开活细胞也可起作用。这是酶学发展史上一个划时代的发现，不仅从理论上阐明生命现象是物质的作用（即酶的催化作用），而且为酶制剂的开发应用奠定了科学依据。

关于酶的定义，1964年 Dixon 等人<sup>[2]</sup>认为酶是具有催化功能的一种特殊蛋白质。1975年 Stryer<sup>[3]</sup>指出酶是一类蛋白质，其显

著的特性是具有催化能力、催化作用的专一性、作用条件的限制性。同年, Lemninger<sup>[4]</sup>认为酶是一种专一地催化生化反应的蛋白质, 具有非常高的催化效能和高度专一性。1979年 Wyun<sup>[5]</sup>指出酶是来源于生物体的一种分子, 它能提高某一特定反应的速度, 而不影响已确认的最终平衡状态, 酶可以从反应终了的混合物中回收。1981年 Schwimmer<sup>[6]</sup>认为酶作用具有高度的专一性、高度的催化效能以及高度的受控性。总结起来, 酶是活细胞产生的具有高效催化功能、高度专一性和高度受控性的一类特殊蛋白质。

酶学研究包括酶在细胞内生物合成机理、酶的发酵生产及调节控制、酶分离提纯、酶的作用特性和反应动力学、酶的催化作用机制、酶的固定化技术和酶的应用等内容。第一部系统论述酶的专著是1930年英国 T. B. S Haldane 所著的《Enzymes》。1932年在德国出版了 Haldane 和 Stern 合著的《General chemistry of enzymes》。1957年在美国出版了 Mchler 所著的《Introduction to enzymology》。1983年出版了由 T. Godfrey 和 J·Reichelt 编著的《Introduction to industrial enzymology》, 1993年 Adlercreutz 编著的《Immobilized Enzymes》一书出版。随后国内外出版了一系列关于酶学和酶在食品工业中应用的论著。为了适应生物工程及酶工程日新月异的发展 国内从20世纪60年代开始出版了系列有关酶学的专著、丛书 包括1964年鲁宝重编著的《酶学概论》、1984年张树政主编的《酶制剂工业》(上、下册)、1987年陈石根、周润琦编著的《酶学》、1988年郭显章编著《酶的生产技术》、1989年熊振平等编著的《酶工程》、1990年王璋编著的《食品酶学》、1994年陈陶声、胡学智编著的《酶制剂生产技术》、1994年郭勇编著的《酶工程》、1999年彭志英主编的《食品生物技术》等, 这些专著的出版在促进我国食品、发酵等工业与科技领域的发展, 培养高层次专门人才和对繁荣我国食品科技等方面均起着重要作用。食品酶学是酶学基本理论在食品科学与技术中应用的科学, 是酶学的一

个重要分支学科。由于酶在生命活动中的重要位置，以及酶在食品工业、医药工业和环保等部门的重要作用，因此，食品酶学是以普通酶学为基础，重点研究食品加工及保藏中新的酶源及其应用，研究酶法制造保健食品及新型食品添加剂，研究酶与食品质量的监控及安全卫生等内容。由于酶学不仅是生物科学的基础，而且是食品科学的基础，因此，懂得酶学才能理解酶在动植物原材料及其加工过程中的变化和作用，才能理解食物在体内的生理作用和营养功能。此外，酶对食品质量（包括食品的感官指标、理化指标及卫生要求等）的影响是很大的，有可能产生好的效果，也有可能产生坏的作用。例如，植物性食物的褐变在很大程度上是由于酚类物质在多酚氧化酶的酶促作用下引起的。但有些酶促反应却能提高食品色素的质量，例如蛋粉加工中添加葡萄糖氧化酶可促使蛋粉中葡萄糖氧化成葡萄糖酸，便可避免在蛋粉中发生美拉德（Maillard）反应而产生褐变。但是这种反应对另一些食品加工又是有利的，例如在制造面包及其它油炸食品时。又如在屠宰后的动物胴体中注入触酶，使过氧化氢分解，可防止由于屠宰后肌肉中所积聚的过氧化氢使肌红蛋白氧化为褐色。食品的风味（香味及滋味）物质绝大部分是食物原料在生长过程中，乃至收获后或屠宰后产生的，例如蒜的辛辣成分是一些二硫化物，其中主要是二烯丙基二硫化物，它来源于蒜氨酸（S-烯丙基半胱氨酸亚砷）当蒜的组织细胞破损时，其中蒜氨酸裂合酶将蒜氨酸分解为蒜素（二烯丙基次磺酸），蒜素被还原为二烯丙基二硫化物。蒜素及二硫化物是蒜臭及辛辣味的成分。因此，要制备适口的大蒜饮料，需在加工前将蒜加热，以破坏蒜氨酸裂合酶。又例如肉类在屠宰后要经过一段时间后才变得鲜美，因为经屠宰后肌肉中的三磷酸腺苷（ATP）受ATP酶水解为二磷酸腺苷（ADP）。2分子ADP在腺苷酸激酶的作用下转变为ATP和一磷酸腺苷（AMP）。AMP在AMP脱氨酶的作用下脱去氨基，成为具有肉鲜味的肌苷酸（IMP）。酶与食品的质构也有很大关系。例如，同样是大豆蛋白质，豆浆是一种溶

胶豆腐则是一种凝胶 两者的组织结构不同 表现出食品流动、变形等流变学特性不同，便产生不同口感。此外，控制食品加工中酶活力，对于确定果蔬罐头最佳灭菌公式也有重要价值。

当今 酶工程 (Enzyme engineering) 的发展日新月异 并与现代的基因工程 (Gene engineering)、发酵工程 (Fermentation engineering) 和细胞工程 (Cell engineering) 紧密结合 对改良产酶的菌种和采用细胞固定化技术等新技术，改造传统的食品、发酵、医药和环保工业等起着越来越大的作用。

## 第二节 食品酶学发展简史

任何一门科学有其一定的形成和发展历程，而且与其它科学的发展紧密相关。食品酶学自身的发展，可划分为三个时期：

### 一、史前时期

对酶的认识可追溯至距今 4000 多年前我国龙山文化时期 出土文物发现，当时酒已盛行，能利用天然酵母酿酒。另据记载，公元前 12 世纪已会制饴、制酱。《书经》记载“若作酒醴 尔惟曲蘖”；“曲”是指长霉菌的谷物，“蘖”是指谷芽。《左传》一书中也有记载用“曲”、“蘖”治病等。这些都说明酶学起源于古代劳动人民的生产实践。

### 二、近代发展

在 1859 年第一位提出酶是一种蛋白质的人是 Liebig<sup>[7]</sup> 但“Enzyme”一词是 1876 年由德国学者 kuhne 首先引用。1897 年 Buchner 兄弟俩阐述了酵母的酒精发酵及离体酶的作用，这一科学发现为酶制剂产业化奠定了理论依据。1902 年 Pikelharing<sup>[8]</sup> 指出胃蛋白酶是一种蛋白质。1909 年德国 Rohm 制取胰酶制革，并用于洗涤剂。1894 年日本人高峰让吉从米曲霉中制得高峰淀

粉酶 Takadiastase 用作消化剂。1908 年法国学者 Boidin 制得了细菌淀粉酶，用于纺织退浆。1911 年美国 Wallestein 制得木瓜蛋白酶，用于啤酒澄清。1926 年美国人 Sumner<sup>[9]</sup> 第一个从刀豆中制得结晶脲酶，进一步证实酶的化学本质是蛋白质，为研究酶的理化特性研究奠定了基础。

从 20 世纪 30 年代开始酶学理论的研究发展很快。1930 ~ 1936 年, Northrop 等人制取胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白等酶的结晶 Hill 和 Meyerhof 等人提出糖酵解途径, Krebs 等人发现三羧酸循环及脂肪氧化降解途径, 并指出这些复杂的新陈代谢途径是由一系列酶催化而实现的。关于酶的催化反应机制早在 1890 年由 Fischer 和 Koshland 提出锁匙学说和诱导契合学说, 后来, 又提出中间复合物理论及微环境概念, 1913 年 Michaelis 和 Menten 首次推导酶反应动力学方程, 酶作为生物催化剂其催化效率高, 专一性强, 同时又能在温和条件起作用, 这些理论问题在近代生命科学史上已得到阐明。

### 三、现代酶学发展

20 世纪 50 年代开始 由于分子生物学和生物化学的发展 对生物细胞核中存在的脱氧核糖核酸 (DNA) 的结构与功能有了比较清晰的阐述, 70 年代初实现了 DNA 重组技术或称克隆技术 极大地推动着食品科学与工程的发展, 也促使酶学研究进入新的发展阶段。

新型保健食品或食品添加剂离不开基因工程, 基因工程又离不开酶学的发展。所谓“工具酶”(Enzyme of tools) 就是基因工程中所应用的系列酶的总称。1970 年 Hopkins 大学的 Kelly、Smith 和 Wilcox 等人从流感嗜血杆菌 d 中分离纯化出第一个限制性内切酶 II, 为基因工程的诞生奠定了基础。后来陆续发现其它限制性内切酶 II 及其它工具酶。至目前为止, 在基因工程中应用的工具酶已有 500 多种。主要工具酶有限制内切酶 II、DNA 连接酶、

DNA聚合酶 I、碱性磷酸酯酶、 $T_4$ 多聚核苷酸激酶、 $S_1$ 核酸酶及反向转录酶等，它们极大地促进了基因重组技术的酶生产工艺的革新。克隆酶的新技术不断出现，特别在微生物中高效表达，并通过发酵进行大量生产，目前已有 100 多种酶基因克隆成功。例如 制造干酪的凝乳酶，过去是从小牛胃中提取的，为了满足世界干酪的生产 每年大约需要宰掉 500 万头小牛。而现在，采用基因工程技术，把小牛胃中凝乳酶的基因转移至大肠杆菌 (*E. coli*) 或酵母菌中，便可通过微生物发酵方法生产凝乳酶了。

从 20 世纪 50 年代初开始，酶及产酶细胞的固定化技术<sup>[10]</sup>从酶学理论到生产实践得到迅速的发展，引起食品、发酵工业一场大变革。例如 美国从 20 世纪 70 年代初开始采用这一新技术 使玉米淀粉经酶法液化、糖化和异构化并采用固定化技术，已成功地工业化生产第一代、第二代和第三代高果糖浆 High fructose glucose syrup 简称 HFGS)，代替蔗糖作为可口可乐、百事可乐等饮料食品的甜味剂，提高了饮料质量，适应人们身体健康的需要，是一个非常成功的技术革新。

从 20 世纪 50 年代中期开始在酶学理论方面的研究也十分活跃 在蛋白质 或酶 的生物合成理论方面获得了许多突破性进展。1957 年 Kornberg 等人发现 DNA 聚合酶并进行 DNA 复制的系列研究；1959 年 Weiss 和 Gladstone 分离得到四种核苷酸及一个 DNA 引物，1961 年 Jacob 和 Monod 提出控制蛋白质（或酶）合成的操纵子假说，Nirenberg 和 Matthei 用人工合成 mRNA Poly(U) 和 poly(A) 进行蛋白质体外合成。1963 年 Monod 提出酶的变构理论 1967 年 Phillips 等人测定了溶菌酶的三维结构，达到 0.2nm 分辨率的水平。

1982 年美国的 Cech 研究组发现 RNA 分子中含有一个具有自身切接功能的片段，称为内含子 Intron) 这种具有催化功能的 RNA 称为核酸类酶(Ribozyme)。1983 年 Atman 和 Pace 发现核糖核酸酶 P 中的 RNA 单独催化前体 t-RNA 切除某些片段生

成 t-RNA。即从现在的发现看，少数具有催化功能的物质并不是蛋白质。

到目前为止，已发现自然界存在的酶有 3000 多种，但真正形成工业规模生产的只有几十种。因此，当今食品酶学的研究开发具有广阔的发展前景。

### 第三节 酶的分类和命名

酶的种类和数量很大，根据国际生物化学协会酶委员会的统计<sup>[11]</sup>，1978 年公布的数字为 2122 种，到 1980 年可能接近 3000 种。酶的分类方法比较复杂，可分为下列三种。

#### 一、习惯命名法

##### (一) 根据酶催化的化学反应性质分类

根据酶催化的化学反应性质，分为六大类：

- (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) 合成酶类(连接酶)

##### (二) 根据酶在代谢调节中的作用分类

根据酶在代谢调节中的作用，分为三大类：

- (1) 静态酶或组成酶；
- (2) 潜在酶，包括酶原、非活力型酶和与抑制剂结合的酶；
- (3) 调节酶(包括诱导酶、变构酶(即具有变构效应的酶)同工酶和多功能酶等。

##### (三) 根据酶的来源和作用底物分类

根据酶的来源和作用底物，分为三大类：

(1) 动物酶 又可按酶在动物细胞内所处位置区分 如唾液淀粉酶、胰蛋白酶等；

(2) 植物酶 又可以按植物种类划分 如木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶等；

(3) 微生物酶，又可按微生物种类划分，如细菌淀粉酶、霉菌淀粉酶等。

#### (四) 根据酶的最适作用 pH 与作用底物分类

根据酶的最适作用 pH 与作用底物，分为中性蛋白酶、碱性蛋白酶和酸性蛋白酶等。

#### (五) 根据酶在细胞中合成后存在部位分类

根据酶在细胞中合成后存在部位分为胞内酶、胞外酶等

#### (六) 根据酶作用体系是否外加酶分类

根据酶作用体系是否外加酶分为内源酶和外源酶。前者为体系中 或原料 存在的酶 后者为加工时添加的酶。

#### (七) 根据酶在基因工程中的应用分类

根据酶在基因工程中的应用 总称为工具酶 包括限制性内切酶 II、DNA 连接酶、DNA 聚合酶 I、碱性磷酸酶和反向转录酶等 400 多种工具酶。

## 二、国际系统命名法

1961 年国际生物化学协会酶委员会提出一套系统命名方案，以酶所催化的整体反应为基础，明确标明酶作用的底物（或作用物）及催化反应的性质。当酶作用的底物有两个时，要同时列出，并用 : 分开。若其中一种底物为水 则可省略。

例如：乳酸脱氢酶（习惯名称）

L-乳酸：NAD<sup>+</sup> 氧化还原酶（系统名称）

$L\text{-乳酸} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{丙酮酸} + \text{NADH} + \text{H}^+$

（催化反应式）

又如：谷丙转氨酶（习惯名称）

L-丙氨酸： $\alpha$ -酮戊二酸氨基转移酶（系统名称）

L-丙氨酸 +  $\alpha$ -酮戊二酸  $\rightleftharpoons$  丙酮酸 + L-谷氨酸

（催化反应式）

### 三、国际系统分类法及编号

由于国际系统命名比较冗长，使用不方便，1978年国际生物化学协会酶委员会又将自然界发现的2000种以上的酶重新进行了分类。根据催化反应的性质，将酶分为六大类，分别用阿拉伯字1、2、3、4、5、6表示；再根据底物中被作用的基团或化学键等特点，将每一大类分为若干亚类、次亚类，最后再排列各个具体的酶，采用四位数字编号系统，其中第一位数为酶的大类，第二位数为亚类，第三位数为次亚类，第四位数为次亚类中的具体酶的编号，前面冠以“E.C”标志，为酶学委员会“Enzyme commission”的缩写。

例如醇脱氢酶的编号为E.C.1.1.1.1，其中大类位置的“1”表示氧化还原酶类，亚类位置的“1”表示底物供体是CH—OH，次亚类位置的“1”表示受体底物是NAD<sup>+</sup>或NADP<sup>+</sup>，最后位置的“1”表示次亚类中的第一个酶。又例如胰蛋白酶的编号E.C.3.4.21.4，其中“3”表示第3大类，“4”表示4亚类，主要作用于肽键，“21”表示4亚类的21次亚类，“4”为具体酶编号。此外，乳酸脱氢酶编号为E.C.1.1.1.27，己糖激酶的编号为E.C.2.7.1.1，腺苷三磷酸酶编号为E.C.3.6.1.3，果糖-二磷酸醛缩酶编号为E.C.4.1.2.13，三糖磷酸异构酶的编号E.C.5.3.1.1等等。

这种分类法比较科学，每种酶均有特定的编号，并可从中了解酶的性质，新发现的酶也可对号入座，不会造成紊乱，也便于计算机科学管理。

酶的具体作用方式按六大类分述如下。

#### （一）氧化还原酶类

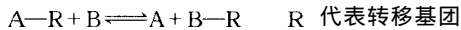
氧化还原酶类约占酶总数的27%，其催化反应为：



- (1) 多酚氧化酶(E. C. 1. 10. 3. 1)
- (2) 乳酸脱氢酶(E. C. 1. 1. 1. 27)
- (3) 过氧化氢酶(E. C. 1. 11. 1. 6)
- (4) 葡萄糖氧化酶(E. C. 1. 1. 3. 4)
- (5) 脂肪氧合酶(E. C. 1. 13. 1. 13)

## (二) 转移酶类

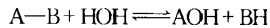
转移酶类约占酶总数的 24% 其催化反应为：



- (1) 葡萄糖激酶(E. C. 2. 7. 1. 2)
- (2) 己糖激酶(E. C. 2. 7. 1. 1)

## (三) 水解酶类

水解酶类约占酶总数的 26% 其催化反应为：



### 1. 聚糖水解酶类

- (1)  $\alpha$ -淀粉酶(E. C. 3. 2. 1. 1)
  - (2)  $\beta$ -淀粉酶(E. C. 3. 2. 1. 2)
  - (3) 葡萄糖淀粉酶(E. C. 3. 2. 1. 3)
  - (4) 异淀粉酶(E. C. 3. 2. 1. 9)
  - (5) 普鲁兰(Pullulans)酶(E. C. 3. 2. 1. 41)
  - (6) 聚半乳糖醛酸酶(E. C. 3. 2. 1. 15)
  - (7) 纤维素酶(E. C. 3. 2. 1. 4)
  - (8) 半纤维素酶
    - 内切  $\beta$ -1,4-D-木聚糖酶(E. C. 3. 2. 1. 8)；
    - 外切  $\beta$ -1,4-D-木糖苷酶(E. C. 3. 2. 1. 37)
  - (9) 溶菌酶(E. C. 3. 2. 1. 17)
- ### 2. 糖苷水解酶类
- (1) 转化酶或蔗糖酶(E. C. 3. 2. 1. 48)
  - (2) 乳糖酶(E. C. 3. 2. 1. 22)
  - (3) 柚皮苷酶

①  $\beta$ -L-1-鼠李糖苷酶 E.C.3.2.1.43)

②  $\beta$ -葡萄糖苷酶(E.C.3.2.1.21)

### 3 蛋白质水解酶类

#### (1) 内切蛋白酶(蛋白酶)

木瓜蛋白酶(E.C.3.4.22.21)

菠萝蛋白酶(E.C.3.4.22.4)

胰蛋白酶(E.C.3.4.21.4)

胰凝乳蛋白酶(糜蛋白酶)A(E.C.3.4.21.1)

凝乳酶(E.C.3.4.4.3)

⑥ 枯草杆菌中性蛋白酶(E.C.3.4.24.4)

⑦ 米曲霉酸性蛋白酶(E.C.3.4.23.6)

⑧ 米曲霉中性蛋白酶(E.C.3.4.24.4)

⑨ 米曲霉碱性蛋白酶(E.C.3.4.21.14)

#### (2) 外切蛋白酶

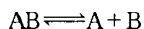
氨肽酶(E.C.3.4.1.11)

羧肽酶(E.C.3.4.16.17)

二肽酶(E.C.3.4.1.3)

#### (四) 裂合酶类

裂合酶类约占酶总数的 12% 其催化反应为:



例如:果糖-二磷酸醛缩酶 E.C.4.1.2.13)

#### (五) 异构酶类

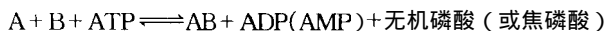
异构酶类约占酶总数的 5% 其催化反应为:



例如:果糖磷酸异构酶(E.C.5.3.1.1)

#### (六) 合成酶类

合成酶类约占酶总数的 6% 其催化反应为:



例如:异亮氨酰转移核酸合成酶(E.C.6.1.1.5)

## 参 考 文 献

- [1] Kuhne. W. V. Behavior of various organized and So - called unformed ferments, Trypsin (Enzyme of the pancreas) Proc Natl Hist and Med. Soc of Heidelberg (German) 1876. 122 ~ 126
- [2] Dixon. M and Webb. Enzymes and Edition New York: Academic Press, 1964
- [3] Stryer. L Biochemistry, 1975
- [4] Lemniger. A. L, Biochemistry, 1975
- [5] Wyun. C. H. The structure and function of Enzymes, Edward Arnold, London: Edward Arnold, 1979
- [6] Schwinner. Source book of Food Enzymology. USA: The AVI publishing company Inc., 1981
- [7] Liebig, J. Fdmiliar. Letters on Chemistry, London, 1859
- [8] Pikelharing, C. A Communication on pepsin. Z. Physiol Chem (German) 1902, 35: 8 ~ 30
- [9] Summer, J. B. Note the recrystallization of urease, J. Biol. Chem, 1926, 70: 97 ~ 98
- [10] Blanch. H. W et al. Immobilized Biocatalysts. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996
- [11] Enzyme Nomenclature Recommendation (1978) of the Nomenclature committee of The International Vnion of Biocemistry on The Nomenclature and classification of Enzymes. New york: Acad press, 1979

## 第二章 酶的合成与发酵生产

阐明酶的生物合成机制，是生物科学中极为重要的理论问题。随着分子生物学的发展，特别是 DNA 结构与功能的阐明，对揭示酶生物合成机制及其在发酵生产中调节控制具有重大科学意义。

### 第一节 分子生物学进展

#### 一、基因本质

早在 1865 年奥地利修道士格里哥尔·孟德尔 (Gregor Mendel) 经过多年豌豆育种研究，发现遗传因子从亲代传至子代，即使第二代不显示亲代的特征，也可能在第三代显示出来，实质上第二代隐藏了亲代的性状，称为“隐性基因”。他认为遗传性状是由一对遗传因子决定的，称为孟德尔遗传规律<sup>[1]</sup>。

1909 年托马斯·亨特·摩尔根 (Thomas Hunt Morgan) 选用果蝇做了遗传基因实验，从饲养的成千个红眼果蝇中发现白眼雄性果蝇，首次提出遗传“突变”(mutation) 概念<sup>[2]</sup>。突变一旦发生便能代代相传，“突变”会导致物种变异或改良。这是遗传学发展中一个十分重要的理论概念。直至 1911 年丹麦学者约翰生 (W. Johannsen) 才把遗传因子命名为“基因”(Gene)。1926 年摩尔根创立了基因学说，并出版了专著《基因论》一书，认为基因是控制物种性状的遗传基础，呈线状排列于染色体上。从此“基因”不再是一个抽象概念，而是存在于细胞染色体中的物质。

1928 年弗雷德·格里菲斯 (Fred Griffith) 做了肺炎双球菌的

转化实验，从肺炎双球菌中分离出能致病带荚膜菌和无致病能力不带荚膜 Capsule 的菌落 把前者注射小白鼠则死亡 而后者注射小白鼠能正常活着。然后在试管内将致病带荚膜菌落的抽提物作为供体，而无致病能力的菌落作为受体混合进行转化实验，再将转化后的产物注射小白鼠而致病死亡，并从中分离出致病而带荚膜的菌落，说明被转化的肺炎菌的后代仍然获得合成荚膜物质能力，并且一代一代地相传下去。1943年 O. T. 艾弗里 (O. T. Avery)<sup>[3]</sup> 从有荚膜的肺炎菌落中分离出转化因子，证实了这种转化因子不是蛋白质 也不是 RNA 而是 DNA 分子。经过上述一系列研究证明 基因本质是 DNA, DNA 存在于细胞核染色体上，DNA 是遗传物质的载体，DNA 大分子中蕴藏着成百上千个基因，决定着蛋白质结构及物种性状，现代科学认为，基因是 DNA 分子一个片断，是一个遗传功能单位。

为了证实 DNA 具有遗传功能，科学家们是从研究病毒开始的。19世纪末科学家发现了比细菌更小的病原体，例如，家畜口蹄疫是由能通过细菌过滤器的病原体引起的，这种病原体称为病毒 (virus)。植物病毒感染植物，动物病毒感染动物，人类的病毒（如麻疹、流行性腮腺炎、水痘、小儿麻痹症、狂犬病和流行性感冒等病毒）感染人体使人得病。1917年法国细菌学家戴雷勒 (F. Derelle) 发现了能杀死细菌的抗微生物体，后来证实，抗微生物体在繁殖时溶化细菌，使细菌膜变得透明生成溶菌斑，并认为其本身不能增殖 但能吞噬细菌而增殖 称为噬菌体 (Prophage)。1939年 马斯·德尔布吕克 Max Delbrück 研究了噬菌体生活史时认为 噬菌体先附着在细菌上，20min 以后被浸染的细菌破裂，放出约 100 个子代噬菌体。

1952年阿戴·赫尔希和玛莎·蔡斯 (Martha Chase) 研究  $T_2$  - 噬菌体时指出：噬菌体在浸染细菌时，它的蛋白质部分留在外边，只有噬菌体 DNA 进入细菌内部，传递给子代。通过对噬菌体的电镜及放射性磷和硫标记实验，再一次证明 DNA 的遗传功能。

DNA是一种极其重要的生物大分子，其分子质量一般要比任何蛋白质大得多。如  $T_2$ -噬菌体只有一个 DNA 分子 而其分子质量为  $1.2 \times 10^8 u^{[4]}$ 。

## 二、DNA 结构与功能

1953 年美国遗传学家詹姆斯·沃森 (James Watson)和英国生物学家弗朗西斯·克里克 Francis Crick 根据 X 射线衍射分析 提出 DNA 双螺旋结构模型<sup>[5]</sup> 在英国《自然 Nature》杂志上发表“DNA 的分子结构”一文，并阐明了其分子内四种核苷酸碱基的配对规律，这是遗传学发展史上划时代的发现，为现代分子生物学诞生和发展奠定了理论基础。

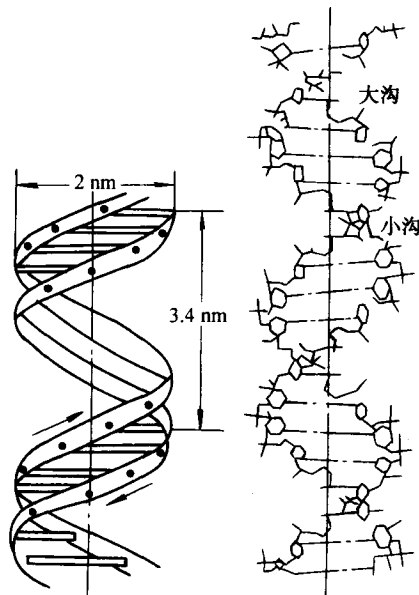


图 2-1 DNA 双螺旋结构

DNA 双螺旋结构模型如图 2-1 所示。其结构要点如下：

(1) DNA 是由两条极性相反并互补的多聚核苷酸链围绕中心轴构成的双螺旋结构。此螺旋为右螺旋并存在着大沟和小沟。

(2) 两条链中的核苷酸碱基之间按照 A 配对 T, G 配对 C 的互补原则, 通过氢键连接层叠于螺旋内侧, 其中碱基平面与螺旋中心轴垂直。脱氧核糖通过磷酸二酯键构成主链为螺旋骨架, 糖环平面与中心轴平行。DNA 两链间的维系主要靠氢键, 其中 AT 之间形成两个氢键, GC 之间形成三个氢键。

(3) 双螺旋的直径为 2nm 两个相邻碱基距离为 0.34nm 每 10 个碱基为 3.4nm, 构成一段完整的双螺旋结构, 其相邻碱基的夹角为  $36^\circ$ 。

(4) 两条多聚核苷酸链间碱基配对并互补规律为:  $A = T$ 、 $G \equiv C$ 或  $T = A$ 、 $C \equiv G$ , 而且其两者的分子比例为 1。

天然存在的 DNA 几乎都是右旋 DNA 称为 B-DNA 但后来在人工合成的 DNA 小片断晶体中发现过左旋 DNA 称为 Z-DNA, 在一定条件下两者可以互相转化。1959 年发现细菌细胞质中的 DNA 为双螺旋闭环 DNA 称为质粒 (Plasmid), 还发现细菌噬菌体  $\phi 174$  DNA 为单链闭环。这些 DNA 同样能自我复制, 在基因重组操作中作为基因片断载体。

DNA 的主要生物功能有如下几个方面。

### (一) DNA 的自我复制

一般而言 亲代 DNA 基因信息传给了子代, 而其子代的蛋白质性状与其亲代相类似, 这种作用称为遗传。而在某些特殊条件下, 由于 DNA 复制发生错误 形成子代 DNA 与亲代 DNA 有差异 导致其子代蛋白质性状改变, 这种作用称为变异。在细胞刚要分裂时, 每个染色体都分裂为完全相同保留一对染色单体。染色单体就是亲代染色体保留复制物, 它们均由亲代染色体中 DNA 分子复制而产生。在有丝分裂期间, 染色单体分开, 每对染色单体中的一个染色单体分别移入两个新的子细胞。因此, 原始细胞遗传信息的准确复制物就传给了它的后代。

