

<<食品酶学导论>>

图书基本信息

书名：<<食品酶学导论>>

13位ISBN编号：9787501933907

10位ISBN编号：7501933901

出版时间：2002-1-1

出版时间：中国轻工业出版社

作者：彭志英

页数：264

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

<<食品酶学导论>>

内容概要

食品酶学是基础酶学一个分支，酶技术是生物工程的重要组成部分。当今，酶工程发展日新月异，酶的固定化、细胞固定化技术及基因工程等技术已在食品、医药、化工、农业、环保等部门得到广泛应用。《食品酶学导论》力求创新，内容新颖，理论联系实际，文字简练，阐述清晰，每章附有参考文献书目。可作为食品科学与工程学科专业研究教学参考教材，也可供从事食品工业生产的高、中级科技人员阅读和参考。

<<食品酶学导论>>

书籍目录

第一章 绪论 第一节 食品酶学涵义 第二节 食品酶学发展简史 第三节 酶的分类和命名 参考文献第二章 酶的合成与发酵生产 第一节 分子生物学进展 第二节 酶蛋白合成过程(机制) 第三节 酶合成的调节 第四节 酶的合成与基因工程 第五节 食品级酶发酵法生产 参考文献第三章 酶的分离、纯化技术 第一节 酶的分离、纯化程度 第二节 酶的抽提 第三节 酶溶液的浓缩 第四节 酶的纯化 第五节 酶的提纯标准及剂型 参考文献第四章 酶的分子结构与催化功能 第一节 酶分子组成 第二节 酶的结构与功能 第三节 酶的催化作用机制 参考文献第五章 酶催化反应动力学 第一节 酶反应速度的测定 第二节 酶活力测定举例 第三节 单底物酶促反应动力学 第四节 多底物酶促反应动力学 第五节 其它因素对酶促反应的影响 参考文献第六章 酶分子改造和修饰 第一节 采用蛋白质工程技术修饰酶 第二节 酶法有限水解 第三节 氨基酸置换修饰 第四节 亲和标记修饰 第五节 大分子结合修饰 参考文献第七章 固定化酶和固定化活细胞第八章 食品酶学的应用附录一 国内外著名微生物菌种保藏单位及地址附录二 常见酶学中英文名词及缩写

章节摘录

书摘 (1)盐浓度 常采用等渗溶液即0.15mol/L NaCl和0.02~0.05mol/L磷酸缓冲溶液或碳酸缓冲溶液。

含金属离子的酶,需避免其解离,尚需添加金属离子螯合剂(如EDTA等)并使用柠檬酸钠缓冲溶液或焦磷酸钠缓冲溶液。

如果能溶解在水溶液中或者与细胞颗粒结合不太紧的酶,细胞破碎后选择适当稀盐溶液便可达到提取的目的。

(2)pH pH与酶的稳定性紧密相关,一般在提取操作时控制在偏离等电点(pI)两侧为宜,这样可增大酶或蛋白质的溶解度,例如细胞色素C和溶菌酶属碱性蛋白质,在提取时常用稀酸提取,肌肉甘油醛—3—磷酸脱氢酶属酸性蛋白质,则在稀碱溶液中提取。

此外,如果细胞中的酶与其它物质以离子键结合,则需控制pH在3—6范围,对解离离子键有利。

(3)温度 一般在低温(5℃以下)操作,以防止酶变性失活。

但是有少数酶对温度耐受力较高,则可适当提高温度,使杂质蛋白在变性条件分离,以利于一步提纯。

(4)辅助因子 在提取操作时,适当加入底物或辅酶成分,可改变酶分子表面电荷分布,提高其提取效果。

此外,为了提高酶的稳定性,防止蛋白酶发生破坏性水解作用,往往加入苯甲基磺酰氟(PMSF),而防止其氧化,则加入半胱氨酸、惰性蛋白和底物等。

酶经提纯后,酶的活力提高,但这并不是酶的纯度标准。

为了了解所获得的样品是否均一纯净,还要进行纯度鉴定。

酶均一纯净性的鉴定主要有以下几种方法: 1.电泳法 电泳法分辨率高,能在电泳谱带上分辨其是否均一。

此法包括醋酸纤维素薄膜电泳、聚丙烯酰胺不连续电泳和聚焦电泳,特别是后二者有极高的分辨力。聚焦电泳不仅分辨率高,而且当有杂质存在时,从谱带位置还可了解杂蛋白的解离性质,有利于采取进一步的纯化措施。

2.超离心法 在高达6万多转每分钟的离心力场情况下观察离心谱带,根据沉降峰的情况进行具体分析判断。

3.免疫学法 纯化的酶样品在琼脂胶上与相应的抗体进行免疫反应,然后进行分析比较。

二、酶制剂的剂型 为适应各种需要,并考虑到经济和应用效果,酶制剂有如下几种剂型: (一)液体酶制剂 液体酶制剂包括酶液和浓缩酶液。

,一般需要经过除去菌体和除渣后,纯化直接制成或加以浓缩。

比较经济,但要加稳定剂,然后出厂。

(二)固体粗酶制剂 固体粗酶制剂有的是发酵液经过杀菌后直接浓缩干燥制成;有的是发酵液滤去菌体后喷雾干燥制成;有的则加有淀粉等填充料。

这些制剂多用于皮革软化脱毛、水解纤维素等方面。

固体粗酶制剂便于运输和短期保存,成本也不高。

(三)食品级固体酶制剂 食品级固体酶制剂对纯度不一定要严格要求,但强调安全卫生,要严格按照国家制订标准执行,采用乙醇沉淀提取,然后制成颗粒状或粉状。

(四)纯酶制剂 纯酶制剂包括结晶酶在内,通常用作分析试剂或用作医疗药物,要求有较高的纯度。用作分析工具酶时,除了要求没有干扰作用的杂酶存在外,还要求单位质量的酶制剂中酶活力达到一定单位数。

用作基因工程的工具酶要求不含非专一性的核酸酶,或完全不含核酸酶。

作为蛋白质结构分析对象的酶必须“绝对地”纯净,而注射用的医用酶则应设法除去热原类物质。

(三)邻近效应 化学反应速度与反应物浓度成正比,若反应系统的局部区域的底物浓度增高,反应速度也随之增高。

因此,提高酶反应速度的最简单的方式是使底物分子进入酶的活力部位,即增大活力部位的底物有效

<<食品酶学导论>>

浓度。

酶的活力部位(区域)与底物可逆地接近结合, 这种效应称为邻近效应(Approximation)。

有实验证实, 当底物浓度由0.001mol/L提高到100mol/L时, 其酶的活性可提高10.5倍左右。

(四)亲核催化作用 若一个被催化的反应, 必须从催化剂供给一个电子对到底物才能进行时, 称为亲核催化作用。

这种亲核“攻击”在一定程度上控制着反应速度。

一个好的电子供体必然是一个良好的亲核催化剂。

例如, 许多蛋白酶和脂酶类在其活性部位上, 亲核的氨基酸侧链基团(丝氨酸的羟基、半胱氨酸—SH, 组氨酸的咪唑基团等)可以作为肽类和脂类底物上酰基部分的供体, 然后把酰基转移。

例如, 咪唑基催化对—硝基乙酸酯的水解, 其亲核催化作用反应式如图。

若能用适当的方法将酶蛋白的肽链进行有限水解, 既可保持酶活力, 又可降低其抗原性, 对酶蛋白的应用是极为有利的。

常用于水解蛋白质的酶有木瓜蛋白酶、真菌蛋白酶、胰酶和胃蛋白酶等。

例如: 木瓜蛋白酶由180个氨基酸连结而成, 若用蛋白酶有限水解, 除去整条肽链的三分之二, 即除去120个氨基酸组成的肽段, 可保持其酶活力, 而其抗原性大大降低。

又如酵母的烯醇化酶除去150个氨基酸组成的肽段后, 酶活力仍可保持。

另外, 有些酶蛋白原来没有活性或者酶活力不高, 利用蛋白酶对这些蛋白质进行有限水解后, 除去一部分氨基酸或肽段, 可使酶的空间构型发生某些精细的改变从而提高酶的催化能力[9-12, 体内酶原的激活实质上便是一种自发的有限水解修饰。

X射线衍射结果表明(分辨率0.2nm) α -胰凝乳蛋白酶具有球型的三维结构, 5个氨基酸残基即N-末端的Ile16、Asp194、Asp102、Ser195和His57对该酶的活力来说是重要的, 酶的活力部位之所以具有催化反应的活力就是这5个氨基酸残基协同作用的结果。

这些氨基酸残基在酶蛋白的一级结构中是分得很开的。

生物体内首先合成的胰蛋白酶原A和B是没有活力的。

胰凝乳蛋白酶原A是由245个氨基酸残基构成的一条多肽链, 当连接Arg15和Ile16的肽键被胰蛋白酶裂开时, 酶原转变成有活力的 $2r$ -胰凝乳蛋白酶, π -胰凝乳蛋白酶经自我消化作用除去两个肽后产生 α -胰凝乳蛋白酶。

在体外, 也可以利用这一方法来提高酶蛋白的催化活力。

例如, 胰蛋白酶原用蛋白酶修饰, 除去一个六肽, 即可显示出胰蛋白酶的催化活力。

用胰蛋白酶从天冬氨酸酯酶的C端切去十多个氨基酸的肽段后, 活力提高4.5倍。

又如, 天冬氨酸酶用胰蛋白酶水解, 结果可使该酶的活力提高约千倍。

除可用蛋白酶对酶进行有限水解修饰外, 也可用其它方法使肽链部分水解, 以达到修饰目的。

例如, 枯草杆菌中性蛋白酶, 先用EDTA等金属螯合剂处理, 再经纯水或稀盐溶液透析, 可使蛋白酶部分水解, 得到仍有蛋白酶活力的小分子肽段, 用作消炎剂时, 不产生抗原性, 表现出良好的疗效。

但蛋白质的化学方法水解修饰, 常常由于作用条件剧烈, 易导致蛋白质功能特性及生物活性的降低或丧失。

酶的催化能力及其稳定性主要依赖于酶的空间结构, 而酶蛋白的空间结构主要靠副键(二硫键、盐键、酯键、疏水键和范德华力等)来维持, 而各种副键的形成是由氨基酸基团决定的。

例如, 半胱氨酸残基上的巯基可形成二硫键, 碱性氨基酸残基上的氨基和酸性氨基酸的羧基可形成盐键等。

若将肽链上的某一个氨基酸换成另一个氨基酸, 则可能引起酶蛋白空间结构的某些改变。

这种修饰方法, 称为氨基酸置换修饰。

通过氨基酸置换修饰, 可使酶蛋白的结构发生某些精细的改变, 从而提高酶活力或增加酶的稳定性。

例如, 酪氨酰—tRNA合成酶催化酪氨酸和其对应的tRNA合成酪氨酰—tRNA, 若将该酶第51位的苏氨酸由脯氨酸置换, 则可使酶活力提高25倍, 使该酶对ATP的亲合性提高近100倍。

又如将丁4溶菌酶分子中第3位的异亮氨酸变成半胱氨酸，使之与第97位的半胱氨酸形成二硫键，经过这个氨基酸置换修饰后，T4溶菌酶活力保持不变，但该酶对温度的稳定性大大提高。

氨基酸置换修饰技术不但在酶分子修饰中应用，而且可用来修饰其它功能蛋白质或多肽。

例如，在 干扰素和白细胞介素的修饰中取得显著效果。

干扰素的稳定性很差，这是由于分子中有三个半胱氨酸，其中两个半胱氨酸的巯基会与一分子干扰素的游离巯基结合成二硫键而使干扰素失去活性，若将这个半胱氨酸换成丝氨酸，便可使干扰素的稳定性大大提高。

这种修饰后的干扰素在低温条件下，保存半年之久其活性不变，为临床使用创造了条件。

化学方法进行氨基酸置换修饰存在着许多困难，但近年来兴起和发展的蛋白质工程，却为氨基酸置换修饰提供了可靠的手段。

.....

<<食品酶学导论>>

媒体关注与评论

前言生命的重要特征自我复制和新陈代谢，这种复杂的生物化学变化是由数千种酶所催化的。蛋白质是生命的体现者，而蛋白质(包括酶)是由活细胞中DNA作为基因信息载体，通过mRNA作为模板，在rRNA、tRNA、ATP、辅助因子及酶的作用下合成的。因此，了解酶的生物合成机理，对于开发新酶源、阐明酶催化特性及其应用，具有重要理论指导意义。

食品酶学是基础酶学一个分支，酶技术是生物工程的重要组成部分。当今，酶工程发展日新月异，酶的固定化、细胞固定化技术及基因工程等新技术已在食品、医药、化工、农业、环保等部门得到广泛应用。丹麦Novozyme公司是世界上最大的酶制剂生产企业之一，目前，该公司所生产的酶制剂品种(包括食品级酶)有60%以上是通过基因工程改良微生物菌种生产的，同时研究证明，这些食品级酶是安全、无毒的。

食品酶学是食品科学与工程一级学科的重要专业理论课程。国内许多院校已把该门课程列为培养研究生的必修课。本书作者在多年来为研究生讲授《食品酶学》的基础上，搜集了国内外大量文献资料，同时得到曹劲松、徐建祥两位博士的大力协助，结合我国国情和现代生物技术发展，经过多年来教学实践，编著而成《食品酶学导论》。该书力求创新，内容新颖，理论联系实际，文字简练，阐述清晰，每章附有参考文献书目。可作为食品科学与工程学科专业研究生教学参考教材，也可供从事食品工业生产的高、中级科技人员阅读和参考。

由于水平所限，不足之处难免，恳请读者批评指正。

彭志英

华南理工大学

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>