



微生物基础知识讲座



普通微生物学

(三) 微生物生命活动中的酶

北京大学制药厂生物化学专业 72 届工农兵学员

微生物的种类虽然很多,但其基本生活机能有共同之处。微生物在生命的过程中,一刻不停地进行着代谢活动,诸如微生物细胞从周围环境中摄取营养物质,营养物质进入体内以后在细胞内进行各种代谢过程,微生物的生长和繁殖的能力,以及对周围环境的各种反应等等都是新陈代谢的结果。伟大领袖毛主席教导我们:“我们看事情必须要看它的实质,而把它的现象只看作入门的向导”。生物体的新陈代谢都是生物体内一系列复杂的化学变化的结果,而这些化学变化都必须在酶的催化作用下才能进行。因此,在我们讨论微生物的各种生命活动规律之前,有必要先介绍一下微生物的酶。

一、酶是什么?

酶是蛋白质,它由活的生物体(包括动物、植物和微生物)产生,能在常温常压下促进体内一系列的分解代谢与合成代谢的各种反应,具有高度的专一性和高效性,是生物体内特殊的催化剂。

生物的全部代谢活动都与酶的活动密切相关。各种生物具备有不同的酶系,决定着它能否进行某一种化学变化,因而也就决定了各种生物的生物学特性。例如好气性细菌具有一套氧化酶体系,使它能吸收利用氧气;但厌气性细菌不具备这一套氧化酶体系,因而在有氧的环境中不能生长。黑曲霉具有淀粉酶,可以利用淀粉作碳源;而酵母菌没有淀粉酶,不能利用淀粉,只能利用葡萄糖、蔗糖或麦芽糖等简单的碳源。固氮菌具有固氮酶,能将空气中的氮还原成为氨,所以不必供给任何氮源就可生长,而一般的微生物则无这种能力。

酶虽然都是由活细胞产生,但在一定条件下,细胞死亡或经人工破碎后,酶可被分离出来而仍保持其活

性。因此可以从生物体中制成各种酶制剂。有的酶已被提纯结晶,对它的结构和功能进行了详细的研究,不仅阐明了生物体内各种化学变化的本质,而且还被广泛应用在食品、纺织、制革和医药等各种领域。近十年来,更进一步发展了固相酶的技术,为酶的研究和应用开辟了新的途径。

二、酶的特性

(一) 酶是蛋白质

所有的酶都是蛋白质,分子量很大,在水溶液中呈胶体状态,具有很大的吸着表面,不能通过半透性膜或通过极慢,酶是两性化合物,水解后形成多种氨基酸,并具有一定的等电点。各种酶的等电点不同,如脲酶为 $pH5.0$,淀粉酶为 $pH5.75$,酶一般不耐热,较高温度($60-80^{\circ}C$)即可使大部分的酶变性。重金属离子及一切可使蛋白质变性的因素都可破坏酶的作用。酶也具有蛋白质的颜色反应。根据这些理化性质,说明酶是蛋白质。

有些酶如脲酶、脂酶、淀粉酶等本身就具有催化活性的蛋白质,称单成分酶。另外一些酶,除蛋白质外,还含有非蛋白质的辅基或辅酶,称双成分酶。辅基或辅酶和酶蛋白结合在一起,组成全酶。例如过氧化氢酶含铁卟啉辅基,乳酸脱氢酶的辅酶是辅酶 I (NAD),异柠檬酸脱氢酶的辅酶是辅酶 II (NADP),仅有酶蛋白或仅有辅酶都不能有催化活性,二者必须同时存在。

辅酶在酶的催化反应中所起的作用通常是作为电子、原子或某些化学基团的传递者。例如辅酶 I 和辅酶 II 的分子是由尼克酰胺核苷酸与腺嘌呤核苷酸组成的二核苷酸,在它们传递氢时是依靠其中尼克酰胺部分的还原和氧化而实现的;铁卟啉辅基中的铁离子可逆地变化于三价与二价之间,这是它起作传递电子功

能的基础。

许多酶需要金属离子才有活性。有些金属离子本身就是酶的组成部分,如铁是细胞色素氧化酶的组成部分,钼和铁是固氮酶的组成部分等。另外有些金属离子对酶起激活作用,如丙酮酸脱羧酶需要镁离子激活,蛋白酶需要钙离子和镁离子的激活,这些离子称激活剂。

(二) 酶的催化效率高

酶是生物催化剂,其催化效率要比一般无机催化剂高得多,一般无机催化剂需要高温高压条件,而酶的催化作用在常温常压下就可进行。例如合成氨时用铁作催化剂,要在 500℃ 以上及 300 个大气压的条件下才能进行,而固氮酶的催化作用在 30℃, 0.1 个大气压下就可进行,而且速度要快得多。

(三) 酶的催化作用具有高度专一性

一种酶只能催化一种反应或一类反应,有的酶催化反应只能发生在特殊的化学键上。例如蛋白酶只能催化蛋白质水解,淀粉酶只能催化淀粉水解,二者不可互相代替。不仅如此,有的淀粉酶只能分解葡萄糖的 1,4 糖苷键,使淀粉成为分子较小的糊精及麦芽糖和葡萄糖。而有的淀粉酶则有分解葡萄糖的 1,6 糖苷键,因而可使支链淀粉进行水解。

(四) 酶的催化作用要求在一定的环境条件下进行

1. 温度的影响:酶的催化速度在一定温度范围内和温度的增高成正比,催化速度最快时为该酶的最适温度。一般酶的最适温度在 40—50℃ 之间,超过最适温度愈多,蛋白质变性愈快,60—80℃ 大部分酶即失去活性,温度接近 100℃ 时,酶的作用完全停止。

2. pH 值的影响:介质的氢离子浓度对酶的催化活性有很大影响,每种酶有其最适的 pH 值,在此 pH 值下,酶的催化活性最大,如酸性蛋白酶在 pH 2—5 时酶活力最大,中性蛋白酶在 pH 7—8 时,碱性蛋白酶在 pH 9.5—10.5 时酶活力最大。

3. 激活剂:有些物质对酶的催化作用有促进的效果,这些物质称酶的激活剂,例如胃蛋白酶初由细胞分泌时没有活性,在酸性溶液中可被氢离子激活成为活性酶。镁离子对烯醇化酶、磷酸化酶都有激活作用,有些还原剂能激活含-SH 基的酶。

4. 抑制剂:许多重金属离子如铜、汞、金、银、铁等可抑制或破坏酶的活性。三氯乙酸、鞣酸、磷钨酸等能将酶蛋白沉淀而使酶失去活性。氰化物对含铜或铁的氧化酶类有特殊抑制作用,由于铜或铁是这类酶的辅基,因此氰化物与之结合后,酶就会失去活性。

5. 酶的浓度和底物的浓度:在其他条件相同时,

酶的浓度愈高,反应速度愈快。但达到一定速度之后,再提高酶的浓度也不能缩短反应完成的时间。

被酶作用的物质称为底物,底物对酶作用的影响和酶浓度相似,在一定范围内,提高底物的浓度可加速反应,超过一定范围,再提高底物浓度也不能再增加反应速度。

由此可见,生物体内化学反应速度和进行的方向,是和酶生成的多少以及底物的有无密切相关的。

其他如紫外线、X-射线、超声波等强烈因素,都能引起酶蛋白质的破坏,失去活性。根据上面所介绍的酶的各种特性,在我们提取酶或应用酶进行催化反应时,都要控制严格的条件,才能表现最大活力。但在生产实践中各种因子往往是同时起作用的,因此选择条件还应有全局观点。

三、酶的种类

1. 根据酶存在的地方,可分胞外酶和胞内酶两大类。胞外酶在细胞内合成后,透过细胞膜渗透到培养基中,在细胞外起作用,使微生物营养成分中复杂的大分子水解为简单的小分子。常见的胞外酶如纤维素酶、果胶酶、淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶及尿酶等,对微生物营养起着重要作用。大分子的营养物质必须由胞外酶水解后才能进入细胞。胞外酶不必破碎细胞即可直接从发酵液中提取。胞内酶存在于生物细胞内的一定部位与活动区域,它们种类最多。生物合成中参与分解与合成反应的酶,基本都是胞内酶。例如细胞膜的表面存在有吸收及传递营养物质的酶类;与呼吸有关的酶多数与原质体内膜和细胞质内的微细结构(如线粒体)结合在一起;而与发酵有关的酶类则以游离状态溶解于细胞质内。因为酶在细胞内分布位置不同,并有专一的功能,所以使得细胞内的一切反应均有条不紊地循序进行。提取胞内酶时首先要用各种手段先将细胞破坏。

2. 根据酶的催化反应的类型,又可将酶分为水解酶类、氧化还原酶类、转移酶类、裂解酶类、异构酶类及合成酶类等 6 种。它们的作用将在以后再行介绍。

四、微生物酶的应用

(一) 利用微生物的酶进行菌种鉴定工作

前面已经说过,各种不同的生物所特有的生物学性质是由于它们具备不同酶体系的结果,在微生物鉴定菌种工作中,常依据微生物是否具有分解酪化牛乳或液化明胶的蛋白酶,分解滤纸的纤维素酶,分解淀粉的淀粉酶,分解脂肪的脂肪酶,以及能否产生过氧化氢酶或过氧化物酶等生化特性借以鉴定菌种。

(二) 微生物酶制剂在实践中的应用

目前已知的酶有 1000 多种,用于生产的却只有几

十种,其中大部我国均已生产,有的正在试制。由于微生物繁殖快,培养不受季节限制,易于培育新的菌株,所以从微生物制取酶要比其他来源更为有利。

目前酶制剂在工业和医药方面的应用日益广泛,优越性很多。例如食品工业应用酶制剂后普遍能节约粮食,饴糖厂利用枯草杆菌的淀粉酶代替了过去使用的大麦芽中的淀粉酶制造饴糖,每年可为国家节约大量粮食。酿造业采用纤维素酶和淀粉酶对原料进行预处理,用黑曲霉纯种制糖化曲代替过去的大曲,不仅节约粮食,还提高了原料的利用率。制糖工业采用葡萄糖异构酶将葡萄糖转变为果糖,为不产糖的地区能从淀粉生产食用糖开辟了途径。

纺织工业应用淀粉酶于纺织品退浆,产品质量比化学退浆法要好。利用蛋白酶及脂肪酶进行羊毛脱脂、蚕丝脱胶及毛织品的洗涤,提高了产品的质量。

制革工业利用蛋白酶代替老式灰碱法脱毛后,不仅产品质量有所提高,且可缩短生产周期,改善劳动条件,节约化工原料,过去含碱的工业污水对农田有害,改用酶法后,污水成为肥力很高的灌溉用水。

酶在医药方面的应用也很广泛,某些酶制剂已成为一些老大难疾病的有效治疗药物。除去淀粉酶和蛋白酶早已用于助消化剂外,近来发现大肠杆菌的天门冬酰胺酶可用于治疗白血病。右表是一些常用微生物酶制剂的代表。

此外在分析化验方面,酶制剂也有十分广泛的应用价值,例如用葡萄糖氧化酶测定葡萄糖;用谷氨酸脱羧酶测定谷氨酸,这类分析方法不但灵敏,而且特异性高,不受其他物质的干扰。

(三) 固相酶技术

酶作为一种催化剂,理论上在催化过程中酶本身不应发生什么变化,可以连续使用。但酶在水溶液中不很稳定,而且酶液和底物作用后,不易回收,因此只能使用一次。由于这些原因,设法用物理或化学方法,使酶与一种不溶的支持物相结合,变为不溶于水但仍有酶活性的酶的衍生物,被作用的物质通过这种支持物时,便发生酶的催化反应,生成了产物,而酶仍结合

一些常用的微生物酶制剂

酶 名	来 源	用 途
淀粉酶(液化型)	枯草杆菌	水解淀粉制葡萄糖、饴糖,纺织品退浆
淀粉酶(糖化型)	黑曲霉、红曲霉、根霉	酶法制葡萄糖,酿酒,制酱,制醋使原料糖化
蛋白酶	枯草杆菌、栖土曲霉、灰色链霉菌	皮革脱毛,丝绸脱胶,胶卷回收,水解蛋白制剂的生产,制明胶,洗涤剂
脂肪酶	假丝酵母	缂纺脱脂,羊毛脱脂,洗涤剂
纤维素酶	木 霉	发酵原料预处理,糖化饲料
果胶酶	黑曲霉、宇佐美曲霉	柑桔脱囊衣,果汁及酒类澄清,麻的精炼
5' 磷酸二酯酶	桔青霉	制 5'-核苷酸
天门冬酰胺酶	大肠杆菌	治白血病
链激酶	链球菌	溶血栓
葡萄糖异构酶	放线菌	制果糖
过氧化氢酶	青霉、黑曲霉	防止食品变质
葡萄糖氧化酶	青霉、黑曲霉	防止食品变质,除去干蛋片中的葡萄糖,制检验试纸
谷氨酸脱羧酶	大肠杆菌	分析试剂,测谷氨酸
蜜二糖酶	橄榄色链霉菌的变异株	分解妨碍蔗糖结晶的棉子糖
酰化酶	放线菌	D、L 型氨基酸的分析

在支持物上,并未发生变化,仍可继续使用。这种形式的酶即称水不溶酶,简称不溶酶,又称固相酶。如将不溶酶制成酶柱,还可使酶反应连续化、自动化,简化产品的后处理工艺,提高产品的纯度,增加产品收率,是二十世纪六十年代发展起来的一项新技术。我国已开始研究制备各种糖化型淀粉酶、核糖核酸酶、酰化酶的不溶酶,获得了一定成效。