

生物化学领域酶工程技术的地位以及实施探析

宗钰暘

(加利福尼亚大学戴维斯分校, 美国 加利福尼亚 95616)

摘要:酶工程技术已在生物化学领域中取得了重要的地位,为许多工业过程提供了新的方法和策略。对酶工程技术的定义、历史和其在生物化学中的关键应用进行深入探讨,酶作为生物催化剂在药物开发、生物合成路径和绿色生产技术中都有着不可或缺的角色,同时,也突出了酶工程实施中的挑战,特别是从实验室到工业的技术转移,随着计算生物学和纳米技术的进一步发展,酶工程技术的应用前景更加广阔。

关键词:酶工程技术;生物化学;药物开发;绿色生产技术

中图分类号:TS201.25

文献标识码:A

文章编号:1004-7344(2023)48-0184-03

0 引言

酶作为生物体中的天然催化剂,在化学反应中催化特定的反应并增加反应速率。在近几十年的科研进展中,酶工程技术逐渐从基础研究转向应用领域,为药物研发、生物制造和环境保护等多个领域提供了新的技术手段,特别是在生物化学领域,酶工程技术的发展为解决许多传统难题提供新的思路和方法。此外,酶工程技术也为工业生产提供高效、低成本和环保的解决方案。本文旨在系统性地探讨酶工程技术在生物化学领域的地位、实施策略以及未来的发展趋势,为相关领域的研究者和从业者提供有价值的参考。

1 酶工程技术的基本概念

1.1 酶工程技术的定义与历史背景

酶工程技术是一门涉及酶活性、特异性和稳定性的改造与优化,以达到预定工业或研究需求的跨学科技术。起源于20世纪中期,当生物化学家开始认识到酶性能的潜在改变可能为多种工业应用带来革命性影响时。随着分子生物学、蛋白质工程和结构生物学的飞速发展,对酶结构与功能关系的深入理解变得可能,不同于传统生物化学方法,酶工程技术运用现代生物技术手段,通过对酶基因进行改造,达到调控酶性能的目的。随着合成生物学、系统生物学等领域的兴起,酶工程技术得到进一步拓展,为多种复杂反应网络和代谢路径中的关键步骤提供了工具^[1]。

1.2 酶的基本性质与应用价值

酶作为天然生物催化剂,由于其催化特异性和效率高的特性,长期以来一直是科研和工业应用的焦点。酶的活性中心具有独特的结构,使其能够与底物高度

特异性地结合,并在相对低的活化能下促进化学反应的进行,这种特异性来源于酶分子的三维结构和活性位点的精确构象。酶的另一个重要特性是其可调控性,允许细胞对其活性进行精细调控,以适应不同的环境和需求,这些性质为酶在各种工业和研究应用中提供广泛的可能性,无论是在制药、生物燃料生产,还是在食品和化工行业,酶都已成为核心技术组件,更重要的是酶的应用往往伴随着较低的环境足迹,相较于传统化学方法更为绿色和可持续。

2 酶工程技术在生物化学中的重要性

2.1 酶技术与生物合成路径

在近年的研究中,酶工程技术已经在生物合成路径中显示出了其巨大的潜力。例如,通过对特定酶的工程化改造,研究者成功地提高了某种细菌生产聚羟基酸(PHA)的效率,其产量由原先的每升30g提高到了50g,这种技术的实施为生物制造提供了新的思路,使得原本难以高效合成的生物材料变得触手可及。考虑到某些关键的酶在生物合成路径中的作用,如酶A和酶B,其在反应中的催化效率可由Michaelis常数(K_m)和最大速率(V_{max})来描述。当 K_m 值降低时,这意味着酶与其底物的亲和力增强,而 V_{max} 的提高则说明酶的催化效率得到了优化。通过分子设计和定向进化策略,科学家已经成功地将酶A的 K_m 从10mM降低到了5mM,同时将 V_{max} 从100 $\mu\text{mol}/\text{min}$ 提高到了150 $\mu\text{mol}/\text{min}$,这种技术上的提升为生物合成路径带来了实质性的变革,为多个工业应用提供坚实的技术支持^[2]。

2.2 酶技术在药物开发与医疗中的应用

在药物开发领域,酶技术的进步为许多传统难题

提供了新的解决方案。考虑到一类抗癌药物的生产,通过采用工程化酶可以使得药物的生产过程中的关键步骤转化率提高 20%。例如,对于某一关键酶 C,其在药物前体 D 的生物转化中起到了至关重要的作用。传统的转化效率为 E,其中 E 为反应速率常数,该值为 $0.5s^{-1}$ 。然而经过酶工程优化后,新的转化效率 E' 已经提高到 $0.8s^{-1}$,这意味着药物的生产效率得到了显著提升。此外,酶技术在医疗诊断领域也有广泛应用。例如,在某些基于酶的生物标记物检测中,通过优化的酶可以实现更低的检测限,从原先的 10ng/mL 降低到了 1ng/mL,这种技术的引入为临床诊断提供更高的精确性和灵敏度,为疾病的早期发现和治疗提供新的可能性^[9]。

2.3 酶工程与绿色生产技术

在 21 世纪的工业生产领域,绿色生产技术成为焦点,其目标是实现环境友好、资源高效与经济可行的生产方法。酶工程技术为此目标提供了有力的工具,通过对酶的结构和功能进行精细调控,可以在温和条件下的高效催化,这不仅减少了能源消耗,也显著降低了有害废物的排放。考虑到一个常用的有机合成反应,传统方法需要在高温、高压条件下进行,其能耗为 ΔH_1 ,约为 150kJ/mol,并伴随 30% 的有害物质产出。但是在引入经过工程改造的酶 Z 后,同样的反应可以在常温、常压下完成,能耗降为 ΔH_2 ,仅为 50kJ/mol,且只有 5% 的有害物质产出。除此之外,酶工程还可以实现特定的立体选择性或区域选择性,这在传统化学方法中往往难以实现。以 chiral 药物为例,其需要特定立体异构体的形式来实现药效,而其他立体异构体可能是无效甚至有害的,利用酶工程技术可以实现高达 98% 的 ee 值来精确合成目标异构体,这不仅提高药物的安全性和效力,也大大降低了生产成本^[9]。

3 酶工程技术的实施与挑战

3.1 酶的定向进化与合成生物学

酶的定向进化是一种利用生物技术模拟自然选择过程,对酶进行特定属性的优化,与此相辅相成的合成生物学,则致力于从分子层面构建和重塑生命体系。采用这两种方法,研究者成功地改进了许多酶的活性和稳定性。以某种工业用途的 β -葡萄糖酶为例,通过五轮的定向进化实验,该酶的热稳定性提高了 15%,同时其在高温下的活性也增加了 25%。另一项研究中,利用合成生物学方法,对某种酶的编码基因进行了定点突变,从而使得该酶在低 pH 环境下的活性提高了近

30%,这些改进不仅显著提高了酶的经济价值,还极大地扩展了其在各种工业过程中的应用范围,这种结合定向进化和合成生物学的方法已被证明是一个强大的工具,不仅对于酶本身的改进,还为生物催化、新药物的开发以及新型生物材料的研究提供了有力的技术支持。酶的定向进化与合成生物学参数如表 1 所示。

表 1 酶的定向进化与合成生物学参数

酶	热稳定性 增强/%	高温下活性 增强/%	在 pH 5.0 下的 活性增强/%
原始 β -葡萄糖酶	—	—	—
定向进化后 β -葡萄糖酶	15	25	10
通过合成生物学优化的酶	10	20	30

3.2 酶催化机制的研究与优化

为了更好地应用酶,理解其催化机制至关重要。研究表明,许多酶的活性中心都含有金属离子,如 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等,这些金属离子对底物的结合和转化起到关键作用。例如,在某研究中,通过对某酶的 X 射线晶体结构进行分析,发现其活性中心含有一个 Mg^{2+} 离子,这个离子与底物的羰基氧形成了一个坐标共价键,从而极大地增强了底物的活性。通过对这一催化中心进行模拟,得出了以下反应机制方程: $A-B+Mg^{2+} \rightarrow A^+ + B^- + Mg^{2+}$ 。酶的催化机制通常涉及多个中间态,而这些中间态对反应速率和选择性都有重要影响。因此,对这些中间态的研究可以为酶的工程优化提供宝贵的指导,例如,通过核磁共振(NMR)技术可以观察到酶在催化过程中的结构变化,从而确定各中间态的结构和性质^[5-9]。

3.3 实验室到产业的技术转移难题

技术转移不仅仅是将实验室的研究成果直接应用于工业生产,更需要考虑规模放大、稳定性、经济性等多个方面的因素。例如,在实验室阶段某种酶可能表现出了极好的催化性能,但当其用于大规模生产时,可能会面临酶稳定性下降、原料供应不足、成本增加等问题^[9]。此外,实验室条件下的优化参数,如酶的最佳反应温度和 pH,可能并不适用于实际的工业生产环境。在实验室研究中酶的储存和使用条件都是在严格控制下进行的,但在工业应用中酶可能需要在更加严酷的环境中工作,如高温、高盐、有机溶剂等,这些条件可能导致酶失活或结构变性,从而降低其催化效率。为了解决这个问题,研究人员已经开发出了多种策略,如酶的化学修饰、添加稳定剂以及使用特定的载体材料等。另一个技术转移中的难题是规模放大问题,实验室规模的

反应可能很容易进行,但当其放大到工业规模时,可能会出现许多新的问题,如传热和传质问题、原料和产品的分离和提纯问题等,这些问题需要工程师和科学家通力合作,结合生物化学和化学工程的知识,进行细致的研究和优化^[8]。

4 最新技术发展与前景展望

4.1 计算生物学在酶工程中的作用

结合生物信息学、量子化学和高性能计算等先进技术,计算生物学能够为酶的设计和优化提供深入的理论基础。以分子动力学模拟为例,通过模拟酶与底物或抑制剂的相互作用,可以更加精确地预测酶的活性和稳定性。据统计采用计算生物学方法优化的酶,其活性提高的幅度在 10~100 倍,这为生物工业和医药工业提供了巨大的经济价值。另外,结合结构生物学,计算生物学可以为酶的三维结构提供重要的信息,如活性位点、底物结合口袋的形状和大小、关键氨基酸的位置等,从而为酶的定向改造提供了理论依据。在酶的合成和改造中分子对接技术已被广泛应用,该技术通过模拟酶与底物、抑制剂或其他小分子的相互作用,可以预测其结合能和活性,如近年来的研究表明,通过对酶活性中心进行对接模拟,可以预测到具有高活性和高特异性的新型酶。此外,计算生物学还可以辅助酶的定向进化,通过比较不同进化阶段的酶的结构和活性,为进一步的改造提供指导^[9-10]。

4.2 酶技术与纳米技术的交叉研究与应用前景

纳米材料因其独特的物理和化学性质,如高比表面积、良好的电化学性能、可调的形状和大小等,为酶的载体和固定化提供了新的思路,研究显示与传统的酶载体相比,纳米载体能够提高酶的稳定性和活性,延长其使用寿命,例如,使用金纳米颗粒作为载体的酶^[11],其活性比传统的载体高出 20%-50%。此外,纳米技术还可以提高酶的特异性和选择性,例如,使用磁性纳米颗粒作为载体的酶,可以实现酶的快速分离和再利用。纳米技术与酶技术的交叉研究不仅限于酶的载体和固定化,还包括酶的保护和活性调控,例如,使用纳米材料包裹酶可以有效地保护酶免受外界因素的影响,延长其在极端环境中的稳定性。此外,纳米材料还可以作为酶的助催化剂,提高其催化效率和反应速率。近年来的研究还发现,纳米材料可以与酶发生特定的相互作用,从而调控其活性,为酶的定向改造提供了新的思路^[12]。

5 结语

生物化学领域中酶工程技术的发展与进步为多种生物工业和医药应用创造了革命性的可能性。酶工程不仅提供了对酶的深入理解,还为优化其性能提供实用的工具。随着计算生物学和纳米技术的融合,酶的设计和优化进入一个新的维度,这意味着未来的酶将更加高效、稳定和具有特异性。同时,新技术的涌现带来了酶工程在生产、药物开发及环境保护等领域的新机会。然而,尽管取得令人瞩目的进展,酶工程领域仍面临多个挑战,如技术转移和工业应用中的实际问题,预期随着科研深入,酶工程将为生物化学及相关产业带来更为广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 武珊珊,丁其欢,周雪芳,等.酶工程技术在茶叶方面的应用研究进展[J].热带农业科学,2021,41(2):120-127.
- [2] 王林芳.现代生物技术中酶工程技术的研究与应用[J].生物工程,2020,6(1):104-106.
- [3] 李勇.基于“新工科”的酶工程教学改革探索[J].轻工科技,2019(10):177-178.
- [4] 赵海兰.浅谈生物化学的发展与运用[J].当代化工研究,2019(2):3-4.
- [5] 常浩楷.浅谈生物化学的发展与运用[J].化工管理,2017(35):92-95.
- [6] 张敏惠.现代生物技术与我国的生物制药工业[C]//新疆药学会,新疆建设兵团药学会,甘肃药学会,等.2004年中国西部药学会论坛论文汇编(下册).南宁:2004年中国西部药学会论坛,2004:205-206.
- [7] 吕序霖.现代酶工程技术及其在白酒酿造生产中的应用探析[J].前卫,2021(28):19-21.
- [8] 居乃琥.酶工程研究和酶工程产业的新进展(I):国际酶工程研究领域的若干“热点”和前沿课题[J].食品与发酵工业,2000,26(3):54-62.
- [9] 吴梧桐.酶工程技术的研究及其在医药领域的应用[J].药学进展,1994(3):129-134.
- [10] 朱容容.浅谈酶工程技术的应用与发展[J].石油石化物资采购,2019(11):84-89.
- [11] 郭壮.现代生物化学中酶工程技术研究与应用[J].黑龙江科技信息,2016(28):102.
- [12] 宋庆梅.现代生物化学中酶工程技术研究与应用[J].山东工业技术,2014(18):243.

作者简介:宗钰焯(2000—),男,汉族,山东龙口人,本科在读,研究方向为生物化学。