



21世纪高等院校教材

生·物·工·程·系·列

简明微生物工程

● 曹军卫 马辉文 张甲耀 编著



科学出版社

www.sciencep.com

21 世纪高等院校教材——生物工程系列

简明微生物工程

曹军卫 马辉文 张甲耀 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是为配合生物技术、生物工程等专业的学科建设而编写的本科生教材,在《微生物工程》(第二版)基础上压缩诸多知识点编写而成。全书将理科的有关知识与必要的工程技术知识有机结合,使学生既能掌握比较专业的理论知识,又能掌握基本的计算和设计工艺流程的原理和方法。

本书在保持原书编写特色的同时,重视生产应用开发实例,保留了卫生保健产品、食品和饮料发酵、食品添加剂和补充剂、微生物生物量的生产、微生物酶类、燃料和工业化学品、环境微生物技术等专题的核心内容。对原书部分拓展性内容、公式推导、参考文献、图片表格等进行压缩,从而使课时较短的院校有针对性地提高教学使用效率。

全书共分四大部分26章:第一部分微生物工程原理(8章),第二部分微生物工程下游加工工程(7章),第三部分微生物工程生产设备(4章),第四部分微生物工程生产工艺和产品举例(7章)。

本书适合于普通高等院校生物技术、生物工程、制药工程、食品科学、轻化工等相关专业使用,也可供相关工程技术人员和高校师生参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

简明微生物工程/曹军卫,马辉文,张甲耀编著. —北京:科学出版社, 2008

21世纪高等院校教材——生物工程系列

ISBN 978-7-03-021892-6

I. 简… II. ①曹…②马…③张… III. 微生物-生物工程-高等学校-教材 IV. TQ93

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第064287号

责任编辑:单冉东/责任校对:陈玉凤

责任印制:张克忠/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008年6月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008年6月第一次印刷 印张:19 3/4

印数:1—4 000 字数:452 000

定价:30.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换<长虹>)

前 言

在病毒及病原微生物国家重点实验建设项目、微生物学教育部重点实验室建设项目、国家教育部理科基地建设项目、湖北省高等学校教学研究项目“生物技术专业教学计划和课程结构研究”和武汉大学教材建设项目的支持下，为了配合新兴的理工结合的生物技术专业的学科建设，我们编写了本科生教材《微生物工程》，于2002年9月由科学出版社出版第一版，2007年3月出版第二版。由于广大读者的热情支持和好评，结合相关专业教学改革、课时调整等变化，应科学出版社的邀请，作者编写了本简明教材。

本书共分为四大部分，包括26章。第一部分微生物工程原理包括8章，第二部分微生物工程下游加工工程包括7章，第三部分微生物工程生产设备包括4章，第四部分微生物工程生产工艺和产品举例包括7章。本书保留了《微生物工程》第二版的绝大部分章节，但在内容方面作了大量精简，使重点更加突出，学生更容易理解。目的是使生物技术专业类的本、专科学生对微生物工程的成就、原理和生产方法等有较全面的了解，扩大学生的眼界，使其能够更加适应市场经济和学科发展的需要。

在本书的编著过程中，参考了大量国内外相关的书籍和文献资料，在此再一次向这些前辈和同行们表示衷心地感谢！也欢迎这些前辈和同行们，以及广大读者在使用本简明教材的过程中，提出宝贵意见。

曹军卫 马辉文 张甲耀

目 录

前言

第一部分 微生物工程原理

§ 1 微生物工程概论	1
1.1 微生物工程的发展简史	1
1.2 微生物工程的应用	3
§ 2 生产菌种的来源	9
2.1 生物物质产生菌的筛选	9
2.2 菌种的分离	10
§ 3 微生物的代谢调节和代谢工程	15
3.1 微生物的代谢类型和自我调节	15
3.2 酶活性调节	16
3.3 酶合成的调节	18
3.4 分支生物合成途径的调节	23
3.5 能荷调节	26
3.6 代谢调控	26
3.7 次级代谢与次级代谢调节	29
§ 4 优良菌种选育	33
4.1 自然选育	34
4.2 诱变选育	34
4.3 杂交育种	38
4.4 原生质体融合技术	42
4.5 基因工程技术	44
§ 5 菌种保藏的原理和方法	46
5.1 斜面保藏法和穿刺保藏法	46
5.2 沙土管干燥保藏法	47
5.3 真空冷冻干燥保藏法	47
5.4 液氮保藏法	48
5.5 悬液保藏法	48
5.6 低温保藏法	48
§ 6 培养基	50
6.1 培养基的成分	50
6.2 营养物质的调节	55
6.3 培养基的类型	57

§ 7 发酵工艺控制	58
7.1 温度对发酵的影响及其调节控制	58
7.2 pH 对发酵的影响及控制	62
7.3 氧对发酵的影响	65
7.4 二氧化碳对发酵的影响及控制	73
7.5 泡沫对发酵的影响与控制	75
§ 8 微生物反应动力学	79
8.1 发酵类型	79
8.2 分批培养动力学	80
8.3 连续培养动力学	85

第二部分 微生物工程下游加工工程

§ 9 微生物工程下游加工工程概论	89
9.1 微生物工程下游加工工程的特点和重要性	89
9.2 微生物工程下游加工工程的基本原理	90
9.3 微生物工程下游加工工程的一般程序	93
§ 10 发酵液的预处理和过滤	94
10.1 发酵液的预处理	94
10.2 发酵液的过滤	96
10.3 微生物细胞的破碎和分离	98
§ 11 沉淀法	104
11.1 盐析法	104
11.2 等电点沉淀法	109
11.3 有机溶剂沉淀法	110
11.4 非离子型多聚物沉淀法	112
11.5 聚电解质沉淀法	113
§ 12 溶剂萃取法	114
12.1 溶剂萃取的原理	114
12.2 有机溶剂的选择	115
12.3 影响水相溶质溶解度的因素	116
12.4 乳化与去乳化	118
12.5 萃取方法和理论得率计算	120
§ 13 吸附法	123
13.1 吸附过程的基础理论	123
13.2 吸附类型	123
13.3 影响吸附的因素	124
13.4 大网格聚合物吸附剂	125
§ 14 离子交换法	127
14.1 离子交换树脂的分类	127
14.2 离子交换树脂的命名法	128
14.3 离子交换树脂的物理化学性能测定	129

14.4	离子交换动力学	130
14.5	树脂的选择和操作条件控制	131
§ 15	结晶法	132
15.1	晶体的一般性质	132
15.2	生物物质形成晶体的条件	133
15.3	结晶的方法	134

第三部分 微生物工程生产设备

§ 16	培养基灭菌及灭菌设备	135
16.1	灭菌的方法	135
16.2	培养基的灭菌	136
16.3	培养基的分批灭菌	140
16.4	培养基的连续灭菌	142
§ 17	发酵设备	147
17.1	机械搅拌发酵罐	147
17.2	其他类型的发酵罐	153
§ 18	空气除菌设备	160
18.1	介质除菌的原理	160
18.2	介质过滤效率和过滤器计算	162
18.3	空气除菌设备	164
§ 19	产品纯化设备	172
19.1	两相分离设备	172
19.2	蒸发浓缩设备	180
19.3	干燥设备	185

第四部分 微生物工程生产工艺和产品举例

§ 20	卫生保健产品	190
20.1	抗生素	190
20.2	麦角生物碱	197
20.3	类固醇的生物转化	198
20.4	菌苗和疫苗	201
20.5	重组治疗用肽和蛋白质	203
§ 21	食品和饮料发酵	208
21.1	酒精饮料	208
21.2	醋的生产	225
21.3	奶制品发酵	227
21.4	益生菌	230
21.5	其他传统发酵食品	231
§ 22	食品添加剂和补充剂	232
22.1	风味剂	233

22.2	脂类	234
22.3	天然食品防腐剂	234
22.4	核苷酸和相关化合物	236
22.5	维生素	236
§ 23	微生物生物量的生产	239
23.1	面包酵母加工	239
23.2	单细胞蛋白生产	240
23.3	蘑菇	243
§ 24	微生物酶类	245
24.1	商业微生物酶的生产	249
24.2	去垢剂酶	250
24.3	淀粉处理酶类和有关的糖酶	251
24.4	干酪生产用酶	252
24.5	用于植物汁液生产的酶	253
24.6	纺织品加工用酶	253
24.7	皮革加工用酶	254
24.8	在木质纸浆中使用的酶	254
24.9	用于有机合成催化剂的酶	255
§ 25	燃料和工业化学品	256
25.1	烷烃	256
25.2	丁醇	257
25.3	工业生产乙醇	259
25.4	氢气	263
25.5	电力	264
25.6	氨基酸	264
25.7	有机酸	272
25.8	聚羟基链烷酸酯(或盐)	276
25.9	多元醇	277
25.10	微生物的胞外多糖	277
25.11	生物乳化剂	281
§ 26	环境生物技术	283
26.1	废物和污水的处理	283
26.2	肥料堆制	297
26.3	青贮饲料	297
26.4	异型生物物质的生物降解	298
26.5	生物补救	298
26.6	生物采矿(矿石浸提)	299
26.7	煤的微生物脱硫	302
26.8	生物杀虫剂	302
主要参考文献		305

第一部分 微生物工程原理

§ 1 微生物工程概论

生物技术在 21 世纪将成为带动人类社会经济发展的关键技术。其中的微生物生物技术由于发展迅速,给人类带来了巨大经济利益,同时对其他生物技术产生重要影响,一直处于生物技术的领先地位。以往多用发酵技术一词来描述微生物技术,随着微生物技术快速发展,微生物技术已走出了曾给其带来里程碑转折发展的发酵罐时期,广泛用于发酵罐以外形式的环境保护、细菌冶金、细菌勘探和能源开发等领域,特别是基因工程菌的大量产生和使用,因而用“微生物工程”一词更能准确地概括所有微生物的应用领域。

微生物工程的主体是利用微生物生长代谢活动产生的各种生理活性物质来生产商业产品。这项工程需要微生物学、生物化学、化学工程学、药学和市场营销学等有关知识来共同营建。面对 21 世纪市场经济发展的大潮,需要有更多交叉学科知识的人才来参加微生物工程的研究、开发、生产和市场营销。因而微生物工程已成为微生物学、生物化学、化学工程学和药学等多学科密切相关的交叉性学科。

1.1 微生物工程的发展简史

1.1.1 传统的微生物发酵技术——天然发酵

人类利用微生物的代谢产物作为食品和医药,已有几千年的历史了。众多原始部族由含糖的果实储藏时发酵,而学会了酒精发酵。公元前 4000~前 3000 年,古埃及人已熟悉了酒、醋的酿造方法。约在公元前 2000 年,古希腊人和古罗马人已会利用葡萄酿造葡萄酒。在巴黎卢浮宫保存的“蓝色纪念碑”上,记载着公元前 3 世纪古巴比伦居民利用谷物酿造某些品种的啤酒,有约 20 种不同啤酒品种,如用大麦芽酿造的含乳酸的酸啤酒。因而可知,当时巴比伦存在有专业的酿造行业。古埃及人对古巴比伦的外销啤酒评价很高。随后就发明出用烘焙的“啤酒面包”酿造的黑啤酒,以及加入了红花和各种植物果实作为香料的啤酒。并且许多啤酒的酒精含量高达 12%~15%。但是随着古埃及帝国的解体,古代的酿造技术随之失传了。

据考古证实,我国在距今 4200~4000 年前的龙山文化时期已有酒器出现,公元前 1000 多年前,商朝甲骨文中“醋、酒、鬯”的记载。“周礼夫官篇”记载了当时能酿造出久陈不坏的黄酒。北魏时期据《齐民要术》记录了我国劳动人民已能用麴制造饴糖,用散曲中的黄曲霉的蛋白质分解力和淀粉糖化力制造酱和酿醋等。属于传统的微生物发酵技术产品的还有酱油、泡菜、奶酒、干酪等,此外还有面团发酵,粪便和秸秆的沤制,用发霉的豆腐制腐等技术。但那时人们并不知道微生物与发酵的关系,因而很难人为控制发酵过程,生产也只能凭经验,口传心授,所以被称为天然发酵时期。

1.1.2 第一代微生物发酵技术——纯培养技术的建立

1680年,荷兰人安东尼·列文虎克(Anthony Leeuwenhoek, 1632~1723年)制成了放大率为40~150倍的显微镜,第一个通过显微镜观察到用肉眼看不见的微生物,包括细菌、酵母等。1857年法国著名生物学家巴斯德(Louis Pasteur, 1822~1895年)用巴氏瓶实验,证明了酒精发酵是由活酵母引起的,各种不同的发酵产物是由不同的微生物产生的。1897年德国的毕希纳(Eduard Buchner, 1860~1917年)将酵母细胞磨碎,得到的酵母汁仍能使糖液发酵产生酒精,他将这种具有发酵能力的物质称为酒化酶(zymase)。在这之后,德国人柯赫(Robert Koch, 1843~1910年)1905年因其关于肺结核的出色工作获得了诺贝尔奖,他首先发明固体培养基,得到了细菌的纯培养物,由此建立了微生物的纯培养技术。这就开创了人为控制发酵过程的时期,再加上简单密封式发酵罐的发明,发酵管理技术的改进,发酵工业逐渐进入了近代化学工业的行列。这时期的产品有酵母、酒精、丙酮、丁醇、有机酸、酶制剂等,主要是一些厌氧发酵和表面固体发酵产生的初级代谢产物。

1.1.3 第二代(近代)微生物发酵技术——深层培养技术

1928年英国细菌学家弗莱明发现能够抑制葡萄球菌的点青霉(*Penicillium notatum*),其产物被称为青霉素,而当时弗莱明的成果并没有引起人们的重视。20世纪40年代初,第二次世界大战中对于抗细菌感染药物的极大需求,促使人们重新研究了青霉素。经过多年的发展,在1945年大规模地投入生产。同时由于采用了深层培养技术,即机械搅拌通气技术,从而推动了抗生素工业乃至整个发酵工业的快速发展。随后链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、四环素等好氧发酵的次级代谢产物相继投产。经过半个多世纪的发展,不仅抗生素产品的种类在不断增加,发酵水平也有了大幅度的提高。以青霉素为例,发酵的效价单位从最初的40U/ml提高到目前的90 000U/ml,菌种的活力提高了2000倍以上。在产品分离纯化上,由最初纯度仅20%左右,得率约35%,提高到现在的纯度99.9%,得率约90%。

抗生素工业的发展很快促进了其他发酵产品的出现。如20世纪50年代氨基酸发酵工业,在引进了“代谢控制发酵技术”后,得以快速发展,即将微生物通过人工诱变,获得代谢发生改变的突变株,在控制条件下,选择性地大量生产某种人们所需要的产品。这项技术也被用于核苷酸、有机酸和抗生素的生产中。又如20世纪60年代,发现许多石油及石油产品可以代替糖质原料进行发酵,而出现了石油发酵。已开始利用醋酸为原料发酵生产谷氨酸、赖氨酸等氨基酸,利用正构石蜡发酵生产柠檬酸等有机酸及单细胞蛋白。同时也有抗生素、酶制剂、辅酶和维生素等的石油发酵研究。可以说,这是一个近代发酵工业的鼎盛时代。新产品、新技术、新工艺、新设备不断出现,应用范围也日益扩大,如广泛应用于能源开发、环境保护、细菌冶金和石油勘探等。

1.1.4 第三代微生物发酵技术——微生物工程

1953年,美国Watson和Crick发现了DNA双螺旋结构。1973年,美国加利福尼亚大学旧金山分校Herber Boyer和斯坦福大学Stanley Cohen将两个质粒用EcoR I酶切

后,在连接酶存在条件下连接起来,获得了具有两个复制起始位点的杂合质粒,并转化大肠杆菌。尽管他们的实验并没有涉及任何目的基因,但意义却极为重大深远,为基因工程的理论和实际应用奠定了基础。此后很快全世界各国的研究人员发展出大量基因分离、鉴定和克隆的方法,不但构建出高产量的基因工程菌,还使微生物产生出它们本身不能产生的外源蛋白质,包括植物、动物和人类的多种生理活性蛋白。而且很快形成了产品,如胰岛素、生长激素、细胞因子及多种单克隆抗体等基因工程药物和产品已正式上市。

1.2 微生物工程的应用

微生物工程在基因工程、细胞工程、蛋白质工程等现代生物技术的支持下,可以产生众多新的产品,应用的范围进一步扩大,已深入到工农业生产、医疗保健、环境保护,甚至微电子领域,促进了传统产业的技术改造和新兴产业的产生,对人类社会生活将产生深远的影响,同时也具有巨大的经济效益潜力。

1.2.1 微生物工程在食品工业中的应用

食品工业是世界上最大的工业之一。在工业化国家,食品消费要占家庭消费的20%~30%。食品工业也是微生物技术最早开发应用的领域,至今其产量和产值仍占据微生物工程的首位。

食品加工:以各种原料生产的单细胞蛋白,包括细菌(螺旋蓝细菌属、假单胞菌、链丝菌、噬甲烷或噬甲醇细菌等)、酵母(产朊酵母、假丝酵母、毕卡酵母等)、真菌(曲霉、地霉、内孢霉、镰刀霉、木霉等)、藻类(螺旋藻、杜氏盐藻等)等。

含醇饮料:以糖类物质(水果汁、树汁、蜂蜜等)和淀粉类物质(谷物或根类等)为主要原料酿造或加工的葡萄酒、果酒、黄酒、白酒、啤酒、白兰地、威士忌、伏特加、香槟酒、朗姆酒等。

发酵乳制品:奶酒、乳酪、酸奶等。

调味品和发酵食品:味精、肌苷酸、鸟苷酸和以豆类 and 谷物等生产的酱、酱油、醋、豆豉、豆腐乳、饴糖、泡菜等。

甜味剂:葡萄糖、麦芽糖、果葡糖浆、甘露糖醇、甜味肽、甜蛋白等。

食品添加剂:面包酵母、赖氨酸、柠檬酸、色素、右旋糖酐葡聚糖和茁霉多糖(增稠剂)、葡萄糖氧化酶和维生素C(食品保鲜剂)、乳链菌肽(食品防腐剂)、匹马霉素(食品保护剂)等。

食品检验:食品免疫检验方法可检测含量极低的微量残留物、真菌毒素、抗生素、毒素、细菌毒素等。

1.2.2 微生物工程在医药卫生中的应用

医药卫生领域是微生物工程应用最广泛,成绩最显著,发展最迅速,潜力也最大的领域。这是因为可以利用微生物工程从各方面改进医药的生产,开发新的药品,改善医疗手段,从而提高人类的医疗水平,并且也可以从中获得巨大的经济利益。

1.2.2.1 抗生素

现在发现的抗生素有 6000 余种,其中绝大多数是由微生物产生的,已形成产品的医用和兽用的(包括半合成抗生素)有百余种。

抗细菌抗生素:杆菌肽(bacitracin)、头孢菌素(cephalosporin)、氯霉素(chloramphenicol,抗斑疹伤寒)、金霉素(chlortetracycline,抗 G^+ 和 G^-)、环丝氨酸(cycloserine,抗结核菌)、红霉素(erythromycin,抗 G^+)、庆大霉素(gentamycin,抗 G^+ 和 G^-)、卡那霉素(kanamycin,抗 G^+ 和 G^-)、青紫霉素(lividomycin,抗 G^+ 和 G^-)、柱晶白霉素(leucomycin,抗 G^+)、林可霉素(lincomycin,抗 G^+)、麦迪霉素(mydecamycin,抗 G^+)、新霉素(neomycin,局部使用)、新生霉素(novomycin,抗 G^+)、竹桃霉素(oleandomycin,抗 G^+)、土霉素(oxytetracycline,抗 G^+ 和 G^-)、巴龙霉素(paramomycin,兼治阿米巴)、青霉素(penicillin,抗 G^+)、磷霉素(phosphonomycin,抗 G^+ 和 G^-)、多黏菌素(polymyxin,抗 G^+)、核糖霉素(ribostamycin,抗 G^+ 和 G^-)、利福霉素(rifomycin,抗结核菌)、相模湾霉素(sagamycin,抗 G^+ 和 G^-)、紫苏霉素(sisomycin,抗 G^+ 和 G^-)、螺旋霉素(spiramycin,抗 G^+)、链霉素(streptomycin,抗结核菌)、四环素(tetracycline,抗 G^+ 和 G^-)、托普霉素(tobramycin,抗 G^+ 和 G^-)、短杆菌肽(tyrothricin,抗 G^+)、万古霉素(vancomycin,抗 G^+)、紫霉素(viomycin,抗结核菌)等。

抗真菌抗生素:两性霉素 B(amphotericin B)、杀假丝菌素(candididin)、灰黄霉素(griseofulvin,抗皮肤真菌)、制霉菌素(nystatin)等。

抗原虫抗生素:烟古霉素(fumagillin)、古曲霉素(trichomycin,抗滴虫)等。

抗肿瘤抗生素:放线菌素(actinomycin)、阿德里亚(阿)霉素(adriamycin)、博来霉素(bleomycin)、光神霉素(mithramycin)、丝裂霉素(mitomycin)、内瘤霉素(sarkomycin)等。

起免疫抑制作用的抗生素:如环孢菌素 A 等。

半合成抗生素:某些天然抗生素在长期的使用中,会诱使一些病原菌产生抗药性。为了解决抗药性,同时也为了扩大抗菌谱,采用半合成的方法,将天然抗生素的侧链去掉,再用化学法加上新的侧链,如此产生的抗生素被称为半合成抗生素。研究最多的为青霉素型和头孢菌素型半合成抗生素。

青霉素型半合成抗生素:如对青霉素酶稳定的甲氧苄青霉素、乙氧萘青霉素、苯唑青霉素、邻氯苯唑青霉素,广谱的氨苄青霉素、羟氨苄青霉素,抗绿脓杆菌的羧苄青霉素、磺苄青霉素等。

头孢菌素型半合成抗生素:头孢 I 号(噻唑霉素)、头孢 II 号(头孢利定)、头孢 III 号(头孢甘氨酸)、头孢 IV 号(头孢力新)、头孢 V 号(唑啉头孢菌素)、头孢 VI 号(环己烯胺头孢菌素)、吡硫头孢菌素、氰甲基头孢菌素。

其他半合成抗生素:丁胺卡那霉素、甲烯土霉素、强力霉素(去氧土霉素)、二甲胺四环素、四氢吡咯甲基四环素、去甲基金霉素、利福平、氯林肯霉素、去甲基林肯霉素、乙酰螺旋霉素等。

1.2.2.2 氨基酸

氨基酸在医药中除用作大输液外,还广泛地用于临床治疗,如精氨酸、鸟氨酸、瓜氨酸

酸、天门冬氨酸、谷氨酸等可以治疗高氨血症、肝机能障碍等疾病;天门冬氨酸钾盐和镁盐的混合物,可用于恢复疲劳,治疗心脏病、肝病、糖尿病;某些氨基酸的类似物如 S-氨甲酰基-半胱氨酸(天门冬酰氨的类似物)、N-乙酰-L-苯丙氨酸、N-乙酰-L-缬氨酸等可以作为癌细胞的抑制剂等。

现可经发酵获得的氨基酸有谷氨酸、赖氨酸、丙氨酸、精氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、鸟氨酸等。

可用酶法获得的氨基酸有天门冬氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、赖氨酸、酪氨酸、半胱氨酸等。

1.2.2.3 维生素

目前可用发酵获得的维生素或合成维生素的中间产物有维生素 B₂(核黄素)、维生素 B₁₂(氰钴素)、2-酮基-古龙酸(维生素 C——抗坏血酸的前体)、β类胡萝卜素(维生素 A 的前体)、麦角甾醇(维生素 D₂ 的前体)等。

1.2.2.4 甾体激素

甾体激素是由化学法合成的,但在合成过程的转化步骤中,如用化学法进行甾体转化,工序复杂且得率极低,成本也很高。用微生物进行转化,则操作工序大为减少,得率高,而成本低,并且可在甾体核的许多位碳原子上进行转化(如 7 和 11 位碳原子)。如可的松(17-羟基-脱氧皮质酮)、氢化可的松、泼尼松(脱氢可的松或强的松)、氢化泼尼松(强的松龙)、肤轻松(氟氢可的松)、地塞米松(9-氟-16-甲基脱氢皮质醇)、确氨舒松(氟羟脱氢皮质醇)等,均用微生物进行转化产生。

1.2.2.5 生物制品

生物制品通常是指含抗原制品,包括由减毒或死的病毒和立克次氏体制造的疫苗,如牛痘和斑疹伤寒疫苗;减毒或死的病原菌制造的菌苗,如卡介苗和伤寒菌苗;类毒素如白喉类毒素,以及含抗体的制品。现在由基因工程技术制造的生物制品,包括亚单位疫苗(如单纯疱疹病毒疫苗、口蹄疫病毒疫苗、肽疫苗等)、活体重组疫苗(如流感病毒载体疫苗、乙肝病毒载体疫苗等)、避孕疫苗、肿瘤疫苗、DNA 疫苗等。它们可用于预防、诊断或治疗相关疾病。

1.2.2.6 治疗用酶

蛋白酶和核酸酶可用于加速坏死组织、脓汁、分泌物、血肿的去除;胃蛋白酶、脂肪酶、蛋白酶可帮助消化;尿激酶、链激酶可溶化血栓;胰蛋白酶可释放激肽;天门冬酰氨酶是抗肿瘤药物;超氧化物歧化酶可治疗因 O₂⁻ 毒性引起的炎症等。

1.2.2.7 酶抑制剂

如棒酸可抑制细菌产生的 β-内酰胺酶对青霉素的破坏;α-淀粉酶的抑制剂可治疗糖尿病;胆固醇抑制剂作为治疗高血压、高血脂的药物;抑肽酶素用于治疗胃溃疡;抑氨肽酶素作为免疫活性物质用在肿瘤放疗中;多巴丁有降血压作用等。

1.2.2.8 其他

核苷酸类药物:如肌苷、辅酶 A 可治疗心脏病、白血病、血小板下降、肝病等;5'-腺苷酸(AMP)用于治疗循环系统紊乱、风湿病;三磷酸腺苷(ATP)可治疗代谢紊乱、肌肉萎缩、心脏病、肝病;黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)可治疗维生素 B 缺乏症、肝病、肾病;辅酶 I (NAD)可治疗糙皮症、肝病、肾病;胞苷二磷酸(CDP)胆碱可治疗头部外伤或大脑外伤引起的意识模糊。

其他发酵药物:如麦角新碱可促进产后子宫复原,麦角胺可治疗偏头痛等。

基因工程药物:已知很多蛋白质是生理活性物质,因此它们的缺乏与人类的各种疾病密切相关。如侏儒症与病人缺乏生长激素有关,有些糖尿病是由于胰岛素合成不足引起,出血不止的血友病则是因凝血因子Ⅷ或Ⅸ的基因突变而造成这些因子的严重缺乏。基因工程技术提供了大量获得人源蛋白药物的基因工程菌,使原来需要由人或动物中制取的蛋白药物,可以从微生物的发酵中获得。并且可通过对蛋白质基因结构的修饰改造,使蛋白药物的性质更稳定,活性更高,副作用更小。自 1980 年世界上第一个基因工程药物——人胰岛素正式批准上市以来,现已有几十种获准上市。

1.2.3 微生物工程在轻工业中的应用

由微生物生产出许多种可用于轻工业加工的酶,主要类型如下。

糖酶: α -淀粉酶(淀粉液化生成糊精及少量麦芽糖和葡萄糖)、 β -淀粉酶(淀粉水解为麦芽糖)、葡萄糖苷酶即糖化酶(水解淀粉、糊精、麦芽糖为葡萄糖)、支链(异)淀粉酶(水解支链淀粉)、转化酶(蔗糖酶,能将蔗糖和棉子糖水解为葡萄糖及果糖)、异构酶(葡萄糖异构为果糖)、半乳糖酶(水解乳糖为葡萄糖和半乳糖)、纤维素酶类(水解纤维素为葡萄糖)等。

蛋白酶:碱性蛋白酶(用于洗涤剂、皮革鞣化、胶片银的回收、啤酒去浊)、酸性蛋白酶(用于饮料、食品的冷藏,制作蛋白水解物)、中性蛋白酶(用于皮革脱毛、蚕丝脱胶、蛋白胍制备)。

果胶酶:水解果胶物质,用于果汁、果酒的澄清,苧麻脱胶等。

脂肪酶:分解脂肪为脂肪酸和甘油。

凝乳酶:凝固蛋白质制作干酪。

氨基酸化酶:用于拆分化学合成的 DL-氨基酸,获得 L-氨基酸。

甘露聚糖酶:水解甘露聚糖为甘露糖,生产山梨糖醇。

过氧化氢酶:将 H_2O_2 水解为 H_2O 和 O_2 。

1.2.4 微生物工程在化工能源产品中的应用

醇及溶剂:乙醇、甘油、异丙醇、丙酮、二羟丙酮、丁醇、丁二醇、甘露糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、赤藓糖醇等。

有机酸:醋酸、丙酸、乳酸、丁酸、琥珀酸、延胡索酸、苹果酸、酒石酸、衣康酸、环氧琥珀酸、柠檬酸羟基羧基戊二酸己二烯二酸、葡萄糖酸、酮葡萄糖酸、柠酸、曲酸、水杨酸、长链二元酸等。

多糖:右旋糖酐、黄原胶、霉菌多糖、海藻酸等。
烷烃:甲烷。
清洁能源:氢气、微生物燃料电池等。
此外还有藻类产油等。

1.2.5 微生物工程在农业中的应用

农业是世界上规模最大和最重要的产业,在许多发达国家中,农业总产值占国民生产总值的 20% 以上。发达的农业经济很大程度上依赖于科学技术的进步,微生物工程技术和产品为农业的发展提供了有利的支持。

1.2.5.1 生物农药

微生物杀虫剂:包括病毒杀虫剂,如核型多角体病毒、质型多角体病毒、颗粒体病毒、重组杆状病毒;细菌杀虫剂,如苏云金杆菌、重组苏云金杆菌;真菌杀虫剂,如虫霉菌杀虫剂、造成“僵病”的白僵菌杀虫剂;动物杀虫剂,如原生动物微孢子虫杀虫剂,线虫如新线虫和索线虫动物杀虫剂等。

防治植物病害微生物:如细菌(假单胞菌属、土壤杆菌属等)、放线菌(细黄链菌)、真菌(木霉)、病毒(各种弱病毒),以及农用抗生素(如杀稻瘟菌素、灭瘟素 S、春日霉素、庆丰霉素等)等。

1.2.5.2 生物除草剂

主要是利用杂草的病原微生物,包括真菌(如锈菌、链刀菌、炭疽病菌等)、线虫、病毒等。

1.2.5.3 生物增产剂

有共生固氮菌,如根瘤菌属(*Rhizobium*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、弗氏放线菌属(*Frankia*)、蓝细菌;联合固氮菌,如圆褐固氮菌、拜氏固氮菌、产脂固氮螺菌、粪产碱杆菌等;钾细菌(如硅酸盐菌)、磷细菌等。

1.2.5.4 食用菌

可以用多种农作物副产品来生产,也是一项经济效益很高的农产品。主要品种有蘑菇、草菇、香菇、猴头菌、银耳、木耳等。其中多种具有药用价值,如灵芝、银耳、木耳等。

1.2.6 微生物工程在环境保护中的应用

随着工农业的发展,人口的快速增长,人类生活需要的增长,各行业和生活产生的废水、废气、废渣对江河湖海、大气和我们生活的环境造成了不同程度的污染,全球环境正在急剧恶化。过去人们通常采用焚烧和化学处理法来处理废弃物。但这些方法成本很高,并且会产生新的污染。20 世纪 60 年代中期,人们发现一些土壤微生物可以降解非生物源物质,如除草剂、杀虫剂、制冷剂。它们大多数属于假单胞菌属,可分解 100 多种有毒废弃物。经研究发现,与有毒废弃物降解有关的酶有多种,编码这些酶的基因大多数存在

于微生物细胞内的质粒上,也有的存在于染色体上,有的同时存在于质粒和染色体上。于是发明了有毒废弃物的微生物处理技术,可以分为厌气发酵法和好气发酵法。

厌气发酵法:如专性厌气微生物梭菌、拟杆菌、瘤胃球菌、丁酸弧菌、乙酸菌、甲烷菌等,兼性厌气微生物大肠杆菌、芽孢杆菌等。多用于沼气、肥料、饲料发酵。

好气发酵法:在有氧条件下,用某些产生菌胶的细菌和某些原虫的混合物处理工业和生活污水以及废气。现在已有属于悬浮生物体系和固定生物体系两大类的各种处理技术。

1.2.7 微生物工程在细菌冶金中的应用

利用氧化亚铁硫杆菌等自养细菌有把亚铁氧化为高铁、把硫和低价硫化物氧化为硫酸的能力,将含硫金属矿石(主要是尾矿、贫矿)中的金属离子形成硫酸盐而释放出来。用此法浸出的金属有铜、钴、锌、铅、铀、金等。

1.2.8 微生物工程在高技术研究中的应用

微生物在高技术研究中,发挥了极为重要的作用,如为基因工程研究提供的质粒、黏粒和病毒载体,限制性内切酶、连接酶、磷酸酶、磷酸激酶等。医学诊断和工业过程检验用的生物传感器(酶、微生物电极、DNA 芯片),以及可能会用于微电子中的生物芯片等。

总之,微生物工程技术的应用十分广泛,它的发展推动了其他生物技术的快速发展,同时随着基因工程、蛋白质工程、细胞工程技术的研究,将会进一步扩大微生物工程技术的应用范围,为工农业生产和人类健康做出更为巨大的贡献。

§ 2 生产菌种的来源

微生物工程的工业生产水平由三个要素所决定,即生产菌种的性能,发酵及提纯工艺条件和生产设备。其中第一步也就是优良的菌种是最重要的。生产上有用的菌种,最初都是来自于自然界,如土壤、空气、江、河、湖、海等各种自然环境。人类通过数千年的知识积累和科学研究,已经发明创造了许多行之有效的筛选有用菌种的方法。本章将介绍这些筛选方法。

2.1 生物物质产生菌的筛选

2.1.1 微生物是生物活性物质的丰富资源

微生物是地球上分布最广、物种最丰富的生物种群,种类之多,至今仍是一个难以估计的未知数。它们除了能生活在动物、植物可以生长的环境中外,还可以生活在动物、植物不能生长的环境中。为适应环境对它们生存造成的压力,它们进化出许多特殊的生理活性物质。所以微生物过去、现在以及将来都是人类获取生物活性物质的丰富资源。

但是在什么地方、如何筛选产生新的生物活性物质的微生物呢?关键在于要根据生产实际需要,目的代谢产物的性质,可能产生所需产物微生物菌种的分类地位,这类微生物分布、特性以及生态环境等,设计选择性高的分离筛选方法,才能快速从可能的环境和混杂的多种微生物中获得所需菌种。

多年来,筛选的重点主要放在有医疗作用的抗生素方面,如抗细菌的青霉素、头孢霉素和四环类抗生素等,抗肿瘤的丝裂霉素、博来霉素等,抗真菌的灰黄霉素。还有其他有治疗作用的药物,如治疗高血压药物和免疫调节剂等。这些产生新的生物活性物质的微生物的成功筛选,都是由于采用了有选择性并且灵敏的筛选方法。

一般菌种分离纯化和筛选步骤如下:标本采集 → 标本材料的预处理 → 富集培养 → 菌种初筛 → 菌种复筛 → 性能鉴定 → 菌种保藏。

以上许多步骤都可引入选择压力,以提高筛选的效率。

2.1.2 含微生物材料的标本采集

在采集菌种标本时,遵循的原则是材料的来源越广泛,越有可能获得新的菌种。特别是在一些极端环境中,如高温、高压、高盐、高 pH、低 pH 以及海洋中,存在着大量适应了各种环境压力的微生物类群,都是尚待开发的重要资源。对这类微生物已有一些成功筛选的例子。

土壤是微生物聚集最丰富的场所,因土壤组成、有机物浓度、pH 等条件的不同,微生物的种群分布差异较大。如菜园和农田耕作层土壤含有丰富的有机物,常以细菌和放线菌较多;果园树根土壤中酵母菌含量较高;动物和植物残骸及腐殖土中霉菌较多;根瘤菌多在豆科植物根系土壤中;分解石油的微生物,常在油田和石油炼油厂附近的土层中分布最多等。