

生物科学
生物技术
系 列

INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

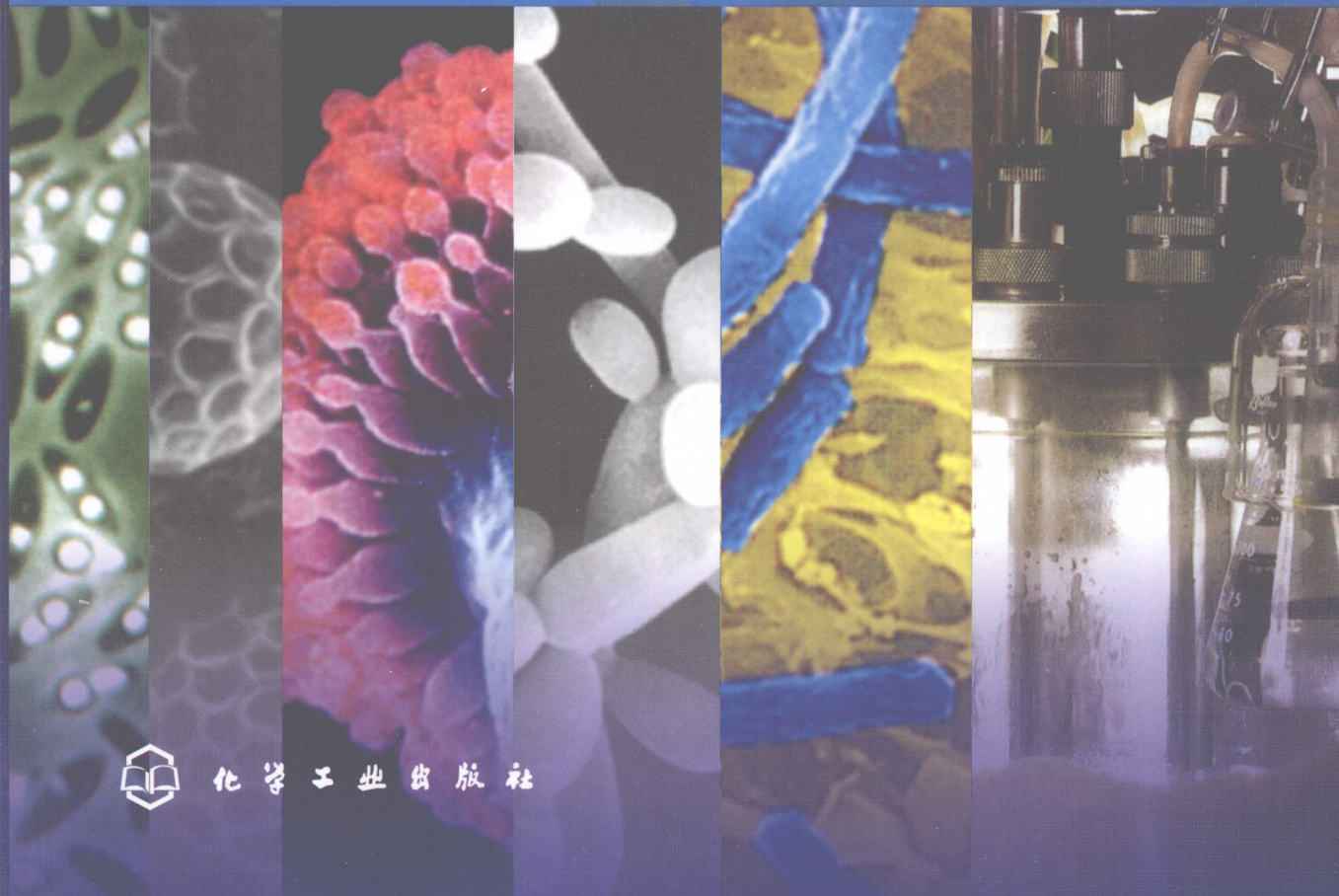


普通高等教育“十一五”国家级规划教材

工业微生物学

第二版

岑沛霖 蔡 谨 编著



化学工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

工业微生物学

第二版

岑沛霖 蔡 谨 编著



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

工业微生物学/岑沛霖, 蔡谨编著. —2 版. —北京:
化学工业出版社, 2008.7

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978-7-122-03168-6

I. 工… II. ①岑…②蔡… III. 工业微生物学-高
等学校-教材 IV. Q939.97

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 093725 号

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 刘 畅

责任校对: 吴 静

装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 26 $\frac{3}{4}$ 字数 719 千字 2008 年 9 月北京第 2 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

第二版前言

自 2000 年《工业微生物学》第一版出版发行后，得到了广大读者的认可、支持和鼓励，重印了六次。许多读者在使用本书过程中也提出了不少宝贵的意见和建议。

在本书成稿后的近十年间，工业微生物学与生物科学和生物技术的其他分支学科一样，得到了飞速发展。工业微生物学的一个重大进展是许多微生物基因组完成了测序。据基因组在线数据库（Genome OnLine Database）的统计，到 2007 年年中，已经有 400 多种微生物完成了基因组测序，另外有超过 1000 种微生物基因组的测序正在进行中。巨大的微生物基因库资源为生物科学的发展、对了解和改造微生物提供了强有力的支持。虽然由于微生物的多样性，无数种微生物的基因组还有待于测定，但从某种意义上说，微生物学也进入了后基因组时代。许多利用基因组数据进行分析、探索及利用的工具已建立，如“Entrez Gene”、“Integr8”、“CMR”、“ERGO”及“BLAST”等，它们为微生物的分类、遗传和进化等领域研究提供了强有力的工具。从工业微生物学的角度分析，微生物基因组的信息为代谢工程、蛋白质工程等应用创造了条件，为获得新的微生物代谢产物及提高已经工业化生产的微生物代谢产物产量等都将做出重要贡献。与微生物基因组研究成果相适应的是工业微生物学的另一项重大的技术进展：微生物高通量筛选技术。多年来的实践已经证明，无论是从自然界中筛选微生物，还是从传统的微生物诱变育种后筛选高产菌株、或利用 DNA 重排技术筛选性能更优良的生物催化剂，所筛选的菌株数越多，获得优良性状微生物菌株的可能性也越高。而高通量筛选技术的发展就为我们提供了更有力的手段。已经发展起来的一系列通过各种物理、化学和生物方法对微生物进行鉴别的技术、各种机器人及自动化设备，可以快速地对大量样本进行筛选，以获得所需性状的微生物菌株。近年来，许多工业发酵产物，特别是次级代谢产物产量的大幅度提高就得益于上述技术的发展。

近年来，以原油为代表的一次性能源价格的大幅度提升为工业微生物学的发展提供了新的契机。人们正面临着从碳氢化合物经济向碳水化合物经济过渡的发展模式转变。利用微生物将碳水化合物等原料转化为燃料（如生物乙醇和生物柴油等）、基本化工原料（如各种烃、醇、酸、酯等）及新材料（如生物高分子材料、生物纳米材料等）的过程正在加速研究开发并实现工业化。一些传统的石油化工产品已经或即将成为以碳水化合物为原料通过生物技术生产的产品，如氢气、甲烷、乙醇、丙酮、乳酸、丁醇、丁酸等。由这些化合物出发，又可以进一步转化成乙烯、丙烯酸、丁二烯等及相应的高分子材料。

为了更好地反映工业微生物学领域的最新进展，我们对第一版的内容进行了补充和修改。在第二版的上篇中，反映了在微生物分类学和遗传育种等方面的新进展，下篇中则改写了第 6 章和第 11 章。由于篇幅所限，附录部分做为网上资料，可登录 www.cip.com.cn 免费下载，我们也将及时更新。

由于时间和作者的学术水平的限制，第二版中仍会留下许多遗憾，希望读者能够理解并继续给予支持。

编著者

于西子湖畔求是园

2008 年 4 月

第一版前言

工业微生物学是微生物学的一个重要分支，它的研究对象是那些通过工业规模培养能够获得特定产物或达到特定社会目标的微生物。研究这些微生物的形态、营养及生长规律；研究它们的代谢及其调节和控制；研究改变微生物的遗传和代谢特性的方法，达到强化特定产物或特定功能的目的。

工业微生物学涉及轻工业、食品工业、医药工业、化学工业、农林渔牧业和环境保护等诸多领域，与工农业生产和人们的日常生活有着极其密切的关系，对可持续发展战略有着十分重要的意义。工业微生物学的相关产业已成为整个国民经济的支柱，具有举足轻重的地位。

无论是传统的发酵工业还是以基因工程为核心的现代生物技术，都离不开微生物这个主角，是微生物独有的生长特性和代谢活动造就了这些研究和生产领域。事实上，也正是工业微生物发酵所带来的巨大经济和社会效益，使得人类对微生物这类微小的生物更加刮目相看，人类对微生物的研究和应用正在不断地深入和拓展。可以预料，工业微生物学在 21 世纪中将会得到更大的发展。

在多年的教学实践和对相关院校的了解中，我们深深地感到目前缺少一本《工业微生物学》教科书。这与工业微生物学的发展以及大专院校中相关专业的不断建立是不相称的，这正是我们编写这本《工业微生物学》教科书的主要原因。本书分为上、下两篇。上篇（第 1 至第 5 章）主要是介绍微生物学的基本理论和方法：包括绪论、微生物的形态和分类、微生物的营养和生长、微生物的代谢和调控、微生物菌种选育等章节。下篇（第 6 至第 12 章）介绍工业微生物学的具体应用：第 6 章到第 10 章中，介绍了有机溶剂及有机酸、氨基酸、核苷酸、酶制剂和抗生素这些重要的工业微生物发酵产物，阐述了这些产物的发酵微生物及合成途径、代谢及调控机理、筛选和育种方法等；第 11 章介绍了利用微生物作为宿主进行基因重组的特点、方法和注意事项；第 12 章介绍了用于环境保护的微生物及其生长和代谢的特点。

在本书的编写过程中，我们一方面注意保持学科的系统性和完整性，另一方面强调了工业微生物的特殊性。在内容的选择上，力求基本理论可靠、论述准确、信息量大、尽可能包括工业微生物学的最新进展和研究成果。在不影响完整性的前提下，对与其他学科重复的内容做了简化。

本书可以作为下列专业大学本科或研究生的教科书或教学参考书：生物工程、生物技术、生物化工、微生物学、发酵工程、制药工程、食品工程及环境工程等。本书对从事医药、食品、酶制剂、有机酸、溶剂等微生物发酵生产，及其他生物技术和环境保护等领域的生产，管理、研究和开发的科技人员也有一定的参考价值。

本书的上篇由蔡谨撰写，下篇由岑沛霖撰写；北京化工大学谭天伟教授和浙江工业大学周晓云教授对本书进行了细致的审阅，提出了许多宝贵的修改意见和建议。在本书的出版过程中，还得到了生物化工专业教学指导委员会的大力支持。化学工业出版社为本书的编辑出版付出了大量的心血，在此，我们表示衷心感谢。

由于作者的水平有限，书中的缺点和错误在所难免，我们衷心地欢迎本书的读者批评指正。

编著者

于西子湖畔求是园

一九九九年九月

目 录

上篇 工业微生物学基础

1 绪论	3
1.1 微生物及其特点	3
1.1.1 微生物	3
1.1.2 微生物的特点	3
1.1.2.1 体积小、面积大	4
1.1.2.2 吸收快、转化快	4
1.1.2.3 生长旺、繁殖快	4
1.1.2.4 易变异、适应性强	5
1.1.2.5 种类多、分布广	6
1.2 微生物学的发展简史	6
1.2.1 古代中国对微生物的利用	6
1.2.2 微生物的发现及微生物学的发展	7
1.2.2.1 微生物学的启蒙时期——形态	
学期	7
1.2.2.2 微生物学的奠基时期——生理	
学期	8
1.2.2.3 微生物学的分子时代——分子	
生物学期	14
1.3 工业微生物学及其研究的对象和	
任务	16
1.3.1 工业微生物学及其研究对象	16
1.3.2 我国工业微生物学的研究概况	16
1.3.3 现代工业微生物学的发展趋势	17
复习思考题	20
2 微生物的形态与分类	21
2.1 微生物在生物界中的地位	21
2.2 微生物的分类与命名	24
2.2.1 微生物的分类和鉴定方法	25
2.2.1.1 传统的微生物分类方法	25
2.2.1.2 现代微生物分类方法	26
2.2.1.3 数值分类法	28
2.2.2 微生物的分类系统	29
2.2.2.1 细菌的分类系统	29
2.2.2.2 放线菌分类系统	30
2.2.2.3 真菌分类系统	30
2.2.3 微生物的命名法则	31
2.3 原核微生物的形态	33
2.3.1 微生物细胞	34
2.3.2 染色技术	35
2.3.2.1 正染和负染	35
2.3.2.2 染料	36
2.3.3 细菌	36
2.3.3.1 细菌的形态	36
2.3.3.2 细菌细胞大小	39
2.3.3.3 细菌细胞的结构	39
2.3.3.4 细菌的繁殖方式	60
2.3.3.5 细菌的培养特征	60
2.3.3.6 常见的细菌	63
2.3.4 放线菌	64
2.3.4.1 放线菌的形态构造	64
2.3.4.2 放线菌菌落形态	66
2.3.4.3 放线菌的生活史	66
2.3.4.4 放线菌的繁殖	66
2.3.4.5 放线菌生理	67
2.3.4.6 放线菌的代表属	68
2.3.4.7 放线菌与细菌的比较	69
2.3.5 蓝细菌	69
2.3.6 立克次体, 支原体, 衣原体	71
2.3.6.1 立克次体	71
2.3.6.2 支原体	71
2.3.6.3 衣原体	72
2.4 真核微生物	73
2.4.1 酵母菌	73
2.4.1.1 酵母菌的形态和大小	74
2.4.1.2 酵母菌的细胞构造	75
2.4.1.3 酵母菌的繁殖方式和生活史	78
2.4.1.4 酵母菌的菌落	82
2.4.1.5 酵母菌的分类	82
2.4.1.6 工业上常见的酵母菌	83
2.4.2 霉菌	85
2.4.2.1 霉菌的形态和构造	85
2.4.2.2 霉菌菌落的形态特征	87
2.4.2.3 霉菌的个体形态和结构	87

2.4.2.4	霉菌的繁殖方式	89	繁殖	105	
2.4.2.5	霉菌的生活史	93	2.5.1.3	噬菌体的生活史	108
2.4.3	担子菌	96	2.5.1.4	噬菌体的分离	109
2.4.3.1	担子菌的一般形态构造	96	2.5.1.5	噬菌体的污染与防治	110
2.4.3.2	担子菌的繁殖方式	97	2.5.1.6	干扰素	110
2.4.3.3	担子菌的生活史	98	2.5.2	类病毒	111
2.5	非细胞型微生物	98	2.5.3	拟病毒	112
2.5.1	病毒	98	2.5.4	朊病毒	112
2.5.1.1	病毒的形态及构造	99	复习思考题	113	
2.5.1.2	病毒(噬菌体)的生长				
3	微生物的营养和生长	116			
3.1	微生物的营养	116	3.3.2	液体培养	146
3.1.1	微生物的营养类型	116	3.3.2.1	实验室常见的液体培养	147
3.1.1.1	光能自养型或称光能无机自养型	116	3.3.2.2	生产中常见的液体培养	147
3.1.1.2	光能异养型	117	3.3.3	连续培养	149
3.1.1.3	化能自养型	117	3.3.3.1	恒化培养	149
3.1.1.4	化能异养型	117	3.3.3.2	恒浊培养	150
3.1.2	微生物的营养要素	118	3.3.3.3	多级连续培养	151
3.1.2.1	水	118	3.3.3.4	固定化细胞连续培养	151
3.1.2.2	碳源	119	3.3.3.5	连续培养的限制性	152
3.1.2.3	氮源	120	3.3.4	补料分批培养	153
3.1.2.4	无机盐	120	3.3.5	混菌培养	154
3.1.2.5	生长因子	121	3.4	影响微生物生长的环境因素	155
3.1.2.6	能源	122	3.4.1	物理因子对微生物生长的影响	155
3.1.3	微生物的培养基	123	3.4.1.1	温度对微生物生长的影响	155
3.1.3.1	培养基的配制原则	123	3.4.1.2	水分对微生物生长的影响	159
3.1.3.2	培养基的种类	124	3.4.1.3	表面张力对微生物生长的影响	160
3.1.4	营养物质的跨膜运输	128	3.4.1.4	辐射对微生物生长的影响	160
3.1.4.1	营养物质的被动扩散	129	3.4.1.5	液体静压力(对微生物生长的影响)	161
3.1.4.2	微生物对营养物质的主动运输	130	3.4.1.6	声波对微生物生长的影响	161
3.2	微生物的生长	133	3.4.2	化学因子对微生物生长的影响	162
3.2.1	微生物生长的测定	133	3.4.2.1	氢离子浓度对微生物生长的影响	162
3.2.1.1	直接法	133	3.4.2.2	氧化还原电位对微生物生长的影响	163
3.2.1.2	间接法	136	3.5	消毒和灭菌	164
3.2.2	微生物的群体生长规律	137	3.5.1	常见的灭菌和消毒的物理方法	165
3.2.2.1	分批培养	138	3.5.1.1	干热灭菌法	165
3.2.2.2	连续培养	140	3.5.1.2	湿热灭菌法	166
3.2.2.3	同步分裂培养	140	3.5.1.3	过滤除菌法	171
3.2.2.4	微生物生长与产物形成的关系	141	3.5.1.4	紫外线灭菌	174
3.3	微生物的培养方法	142	3.5.1.5	γ 射线灭菌	175
3.3.1	固体培养	143	3.5.1.6	微波灭菌	175
3.3.1.1	实验室常见的固体培养	143	3.5.2	常用控菌的化学方法	175
3.3.1.2	生产中常见的固体培养	145			

3.5.2.1	化学表面消毒剂	175	3.6.2.2	液体石蜡保藏法	182
3.5.2.2	防腐剂	177	3.6.2.3	沙管保藏法、土壤保藏法	182
3.5.2.3	化学治疗剂	177	3.6.2.4	麸皮保藏法	182
3.6	菌种保藏	179	3.6.2.5	蒸馏水保藏法	182
3.6.1	菌种的退化及防治	179	3.6.2.6	冷冻干燥保藏法	183
3.6.1.1	菌种退化	179	3.6.2.7	液氮超低温保藏法	184
3.6.1.2	菌种退化的原因	179	3.6.2.8	甘油保藏法	185
3.6.1.3	菌种退化的防治	180	3.6.3	国内外菌种保藏机构	186
3.6.2	菌种保藏的原理和方法	181	复习思考题		187
3.6.2.1	定期移植保藏法	181			
4	微生物代谢的调节	189	4.4	代谢的人工控制及其在发酵工业中的应用	199
4.1	酶合成的调节	189	4.4.1	遗传学的方法	200
4.1.1	酶的诱导	189	4.4.1.1	营养缺陷型突变株的应用	200
4.1.2	酶合成的阻遏	191	4.4.1.2	抗反馈控制突变株的应用	201
4.1.2.1	末端代谢产物阻遏	192	4.4.1.3	选育组成型和超产突变株	203
4.1.2.2	分解代谢物阻遏	193	4.4.1.4	增加结构基因数目	203
4.2	酶活性的调节	195	4.4.2	生物化学方法	203
4.3	微生物代谢调节的模式	196	4.4.2.1	添加前体绕过反馈控制点	203
4.3.1	直线式代谢途径的反馈控制	196	4.4.2.2	添加诱导剂	203
4.3.2	分支代谢途径的反馈控制	197	4.4.2.3	发酵与分离过程耦合	203
4.3.2.1	协同或多价反馈控制	197	4.4.2.4	控制细胞膜的通透性	204
4.3.2.2	合作反馈控制	197	4.4.2.5	控制发酵的培养基成分	204
4.3.2.3	累积反馈控制	198	复习思考题		205
4.3.2.4	顺序反馈控制	198			
4.3.2.5	同工酶控制	198			
5	微生物的菌种选育	206	5.3	杂交育种	231
5.1	从自然界中获得新菌种	206	5.3.1	真核微生物的基因重组	231
5.1.1	采样	206	5.3.1.1	酵母菌的有性杂交	231
5.1.2	增殖	207	5.3.1.2	霉菌的准性生殖	232
5.1.3	纯化	207	5.3.2	原核微生物的基因重组	233
5.1.4	性能鉴定	208	5.3.2.1	细菌的接合	234
5.2	基因突变和微生物菌种选育	208	5.3.2.2	F因子转导	236
5.2.1	遗传的物质基础	208	5.3.2.3	转导	236
5.2.1.1	遗传物质化学本质的确证	208	5.3.2.4	转化	239
5.2.1.2	核酸的结构与复制	210	5.4	原生质体融合	240
5.2.2	基因突变	213	5.4.1	选择亲株	241
5.2.2.1	突变现象	213	5.4.2	原生质体制备	241
5.2.2.2	突变的诱发因素	214	5.4.3	原生质体融合	242
5.2.2.3	基因突变的特点	215	5.4.4	原生质体再生	243
5.2.2.4	突变机制	218	5.4.5	筛选优良性状融合重组子	243
5.2.3	自发突变与定向培育	220	5.5	基因工程	243
5.2.4	诱变育种	221	5.6	微生物育种新思路	245
5.2.4.1	诱变剂及其诱发机理	221	5.6.1	拓展自然界中菌种筛选的范围和手段	245
5.2.4.2	诱变育种方法	227	5.6.2	以定点突变为代表的理性设计	246
5.2.4.3	致突变物和致癌物的微生物检测	230			

5.6.3 以定向进化为代表的非理性设计	247	5.7.3 特殊变异菌的筛选方法	253
5.6.4 合成生物学	249	5.7.3.1 营养缺陷型突变株的筛选	253
5.7 菌种筛选	251	5.7.3.2 抗性突变菌株的筛选	257
5.7.1 菌种筛选方案	251	5.7.3.3 组成酶变异株的筛选	259
5.7.2 一般变异菌的筛选方法	251	5.7.3.4 高分子废弃物分解菌的筛选	259
5.7.2.1 从菌体形态变异分析	251	5.7.3.5 无泡沫菌株及高凝聚性菌株的筛选	259
5.7.2.2 平皿快速检测法	252	复习思考题	260
5.7.2.3 摇瓶培养法	253		

下篇 工业微生物学应用

6 微生物能量代谢产物	265		
6.1 从碳氢化合物经济向碳水化合物经济过渡中微生物能量代谢产物的地位	265	6.3.3 发酵法生产 2, 3-丁二醇的微生物	274
6.2 微生物能量代谢产物的发展历史和代谢途径	267	6.3.4 乳酸发酵的微生物	275
6.2.1 微生物能量代谢产物生产的发展历史	267	6.3.5 丙酸发酵的微生物	277
6.2.2 微生物能量代谢产物的代谢途径	268	6.3.6 丁酸发酵的微生物	278
6.3 微生物厌氧发酵的能量代谢产物	269	6.4 好氧发酵的能量代谢产物	278
6.3.1 酒精发酵的微生物	269	6.4.1 柠檬酸发酵的微生物	278
6.3.1.1 葡萄糖发酵生产酒精的酵母	270	6.4.1.1 利用淀粉作为碳源发酵生产柠檬酸的黑曲霉	279
6.3.1.2 葡萄糖发酵生产酒精的细菌	270	6.4.1.2 利用烷烃生产柠檬酸的假丝酵母	280
6.3.1.3 戊糖发酵生产酒精的微生物	270	6.4.2 好氧发酵产生的其他有机酸	281
6.3.2 丙酮/丁醇发酵	274	6.4.2.1 葡萄糖酸发酵	281
7 氨基酸发酵的微生物	283	6.4.2.2 衣康酸发酵	281
7.1 概述	283	6.4.2.3 其他有机酸发酵	282
7.1.1 微生物发酵法生产氨基酸的历史和发展趋势	283	复习思考题	282
7.1.2 发酵法生产氨基酸的微生物	284	氨基酸产生菌	286
7.2 氨基酸发酵机理和菌种选育	285	7.2.2.2 选育生产氨基酸的代谢调节突变菌株	289
7.2.1 氨基酸发酵机理	285	7.2.3 利用氨基酸生物合成的前体生产氨基酸	293
7.2.2 发酵法生产氨基酸的菌种选育	286	7.2.4 利用基因重组技术获得氨基酸生产菌种	294
7.2.2.1 从营养缺陷型突变株选育		复习思考题	295
8 核苷、核苷酸及其类似物的微生物发酵	297		
8.1 引言	297	8.3.1 核苷酸类物质生产菌的分离	299
8.2 核苷酸的代谢机理	298	8.3.1.1 生长圈法	299
8.2.1 嘌呤类核苷酸的生物合成途径及调节机制	298	8.3.1.2 特殊平板培养法	299
8.2.2 嘧啶核苷酸的生物合成途径和调节机制	298	8.3.2 核苷酸类物质生产菌选育	300
8.3 核苷酸类物质生产菌的分离和选育	299	8.4 发酵法生产核苷酸类物质	301
		8.4.1 发酵法生产 5'-IMP	301
		8.4.2 直接发酵生产 5'-IMP	302

8.4.3	直接发酵法生产 5'-GMP	302	腺苷酸类似物	304	
8.4.3.1	发酵法生产 AICAR	303	8.4.5	发酵法生产 S-腺苷-L-蛋氨酸	304
8.4.3.2	发酵法生产鸟苷	303	复习思考题	306	
8.4.4	发酵法生产腺苷、腺苷酸和其他				
9	微生物和酶制剂工业	307			
9.1	概述	307	9.3.1	产酶菌种的筛选	314
9.1.1	酶的分类和命名	307	9.3.2	微生物产酶的诱导及组成型变异株的选育	315
9.1.2	主要的微生物酶制剂	309	9.3.3	酶合成的反馈阻遏及其解除	316
9.1.3	产酶微生物的来源和特点	310	9.3.4	酶的分解代谢阻遏及其解除	317
9.2	酶合成的调节和控制	312	9.3.5	酶生物合成与微生物生长的关系	319
9.2.1	原核生物中酶合成的基因水平调节和控制	312	9.4	酶蛋白的释放	319
9.2.2	真核微生物产酶的基因水平调节和控制	314	9.5	应用基因重组技术获得酶制剂的生产菌种	321
9.3	微生物中酶生物合成调节和控制	314	复习思考题	323	
10	微生物发酵生产抗生素	324			
10.1	概述	324	10.4.1	研究抗生素生物合成途径的方法	339
10.1.1	微生物次级代谢产物	324	10.4.1.1	示踪剂技术	339
10.1.2	抗生素的定义和分类	324	10.4.1.2	利用阻断突变技术确定中间代谢产物	339
10.2	抗生素生产菌的微生物学基础	328	10.4.1.3	酶的鉴别	340
10.2.1	芽孢杆菌属	328	10.4.2	抗生素生物合成反应和途径	340
10.2.2	假单胞菌属	328	10.4.2.1	类型 I 反应: 初级代谢产物转化为生物合成的中间产物	340
10.2.3	链霉菌和链轮丝菌	329	10.4.2.2	类型 II 反应: 小分子代谢产物的聚合	343
10.2.3.1	氨基环多醇类抗生素	329	10.4.2.3	类型 III 反应: 基本结构的修饰	350
10.2.3.2	含聚酮链结构的抗生素	330	10.5	抗生素生物合成的调节	351
10.2.3.3	聚酮链经取代、还原后的次级代谢产物	330	10.5.1	反馈调节	351
10.2.3.4	多肽类抗生素	331	10.5.2	营养物质浓度的调节	352
10.2.3.5	核苷类抗生素	332	10.5.2.1	碳源阻遏	352
10.2.4	其他放线菌生产的抗生素	332	10.5.2.2	氮源调节	352
10.2.4.1	诺卡菌形放线菌	332	10.5.2.3	磷酸盐控制	353
10.2.4.2	游动放线菌	333	10.5.3	自调节因子和多效应影响因子	353
10.2.4.3	足分枝菌	333	10.6	微生物对抗生素的自抗性	354
10.2.5	黏细菌	334	10.7	抗生素生产菌种的选育	356
10.2.6	曲霉	334	10.7.1	菌种的提纯	356
10.2.7	青霉	334	10.7.2	诱变和筛选	356
10.2.8	生产抗生素和次级代谢产物的其他微生物	335	10.7.3	基因工程在抗生素生产菌选育中的应用	359
10.3	新抗生素生产菌种的筛选	335	复习思考题	360	
10.3.1	抗生素的基本筛选方法	335			
10.3.2	提高筛选效率	336	11	微生物和基因工程	361
10.3.2.1	改进筛选方法	336	11.1	概述	361
10.3.2.2	改进抗生素生物活性的试验方法	337	11.2	基因工程工具酶	363
10.4	抗生素的生物合成机理	338			

11.2.1 限制性内切酶	363	11.8.1 利用抗生素抗性基因筛选	380
11.2.2 连接酶	364	11.8.2 营养缺陷互补法筛选	381
11.2.3 其他常用的基因工程工具酶	366	11.8.3 核酸杂交法筛选	381
11.3 获得目的基因	366	11.8.4 通过免疫反应筛选	382
11.3.1 PCR法	367	11.8.5 通过酶活性筛选	382
11.3.2 获得原核生物目的基因	368	11.9 目的基因的高效表达	382
11.3.3 真核生物目的基因的获得	369	11.9.1 质粒设计对目的基因表达的 影响	382
11.4 基因工程载体	370	11.9.2 目的基因的高效分泌型表达	383
11.4.1 用于原核生物宿主的载体	370	11.9.3 重组细胞培养基设计和培养条件 优化	383
11.4.1.1 质粒载体	371	11.9.4 利用细胞培养工程手段提高基因 表达水平	384
11.4.1.2 噬菌体载体	372	11.9.5 提高基因工程菌的质粒 稳定性	384
11.4.1.3 柯斯质粒	373	11.9.5.1 引起基因工程菌质粒不稳定 的原因	384
11.4.2 用于真核生物宿主的载体	374	11.9.5.2 生长速率引起的质粒不 稳定	385
11.4.3 基因工程载体的设计	374	11.10 代谢工程	385
11.5 目的基因与载体 DNA 的连接	376	11.11 蛋白质工程及基因重排	387
11.6 宿主细胞选择	377	11.12 基因工程的应用与发展前景	388
11.7 目的基因导入宿主细胞	378	复习思考题	389
11.7.1 转化	378		
11.7.2 转导	379		
11.7.3 显微注射	379		
11.7.4 高压电穿孔法	379		
11.7.5 多聚物介导法	379		
11.7.6 粒子轰击法	380		
11.8 重组体的筛选	380		
12 微生物与环境保护	390		
12.1 环境中微生物的相互作用	390	12.4.1.1 无色硫细菌	403
12.2 环境保护中常见的微生物群	393	12.4.1.2 光养型硫细菌	405
12.2.1 好氧微生物群	393	12.4.2 降解木质素及多环芳烃的 微生物	407
12.2.1.1 好氧的有机化能异养型 微生物	393	12.4.2.1 黄孢原毛平革菌	408
12.2.1.2 原生动物	395	12.4.2.2 彩绒革盖菌	409
12.2.1.3 与污泥膨胀有关的 微生物	396	12.4.2.3 白腐菌在造纸工业中的 应用	410
12.2.2 厌氧微生物群	396	12.4.2.4 白腐菌在多环芳烃降解和 染料降解中的应用	411
12.2.2.1 水解发酵细菌	397	12.4.3 降解含氯有机化合物的 微生物	412
12.2.2.2 产氢、产乙酸细菌	398	12.4.3.1 氯代烃的降解机理	412
12.2.2.3 产甲烷细菌	399	12.4.3.2 微生物共代谢在含氯有机物 降解中的作用	413
12.3 利用微生物降解有毒、难分解的 污染物	402	12.5 生物修复	413
12.4 降解有害有毒污染物的特殊 微生物	403	复习思考题	414
12.4.1 硫细菌	403		
附录1 微生物学发展史上相关事件及有关的诺贝尔奖	415		
附录2 伯杰氏细菌系统分类学手册	415		
附录3 病毒的分类	415		
参考文献	416		

上篇 工业微生物学基础

- 1 绪论
- 2 微生物的形态与分类
- 3 微生物的营养和生长
- 4 微生物代谢的调节
- 5 微生物的菌种选育

1 绪 论

微生物是生物界中数量极其庞大的一个类群，它是自然界生态平衡和物质循环中必不可少的重要成员，与人类及其生存环境的关系十分密切。对它们的研究可以扩展我们对生命的了解，也为新药物、新酶制剂、新的生物能源及新的生物反应过程的开发提供了巨大的潜力。对于微生物个体来说，它的存在对我们人类有时是有利的，有时既无利也无害，有时又是有害的，但总体来说是利大于害。无数事实已经证明，自从人类认识微生物并逐渐掌握其活动规律后，就可能将原来无利的微生物变成有利的，小利的变成大利的，有害的变成小害、无害甚至有利，从而大大改善了人类的生活质量并推动了人类的文明进步。目前，微生物在解决人类的粮食、能源、健康、资源和环境保护等问题中正显露出越来越重要且不可替代的独特作用。

21 世纪的微生物学研究也面临着巨大挑战：尽管许多微生物的全基因组序列已被测定，但是确定每个基因对生物体功能的影响还很困难，另外，了解基因组对生命演化的影响也是微生物学所面临的重要挑战；据估计自然界中 99% 的微生物仍无法培养，对这部分微生物的生态、遗传以及代谢性能了解很少。在工农医等方面被利用并获得经济和社会效益的微生物仍很少，只有数百种，大部分微生物的功能还有待于发掘利用；虽然我们对微生物多样性已经有所认识，但是这种多样性对于生态系统功能的影响还不是很清楚。

1.1 微生物及其特点

1.1.1 微生物

微生物 (microorganism, microbe) 并不是生物分类学上的名词，它是包括所有形体微小的单细胞，或个体结构简单的多细胞，或没有细胞结构的低等生物的通称。微生物是一群进化地位较低的简单生物，其类群十分庞杂，有原核类的细菌、放线菌、蓝细菌、立克次体、衣原体和支原体，真核类的酵母菌、霉菌、担子菌、原生动物和显微藻类，还有不具细胞结构的病毒和类病毒等。因为肉眼在一定 (25cm) 的明视距离处难以分辨小于 0.2mm 的物体细节，而绝大多数微生物都小于 0.1mm，所以，必须借助光学显微镜甚至电子显微镜才能观察微生物的形态结构和大小。但也有例外，在非洲纳米比亚海岸的海床沉积物中，科学家发现了目前肉眼可见的世界上最大细菌——纳米比亚硫珍珠状菌 (*Thiomargarita namibiensis*)，这种细菌呈球状，一般直径有 0.1~0.3mm，有的可达 0.75mm，它们比一般细菌大 1000 倍以上；另外，一些真核微生物的个体，如霉菌的菌丝体肉眼可见，有些个体更大，如蘑菇、木耳、马勃等担子菌。个别担子菌体形巨大，很多学者认为世界上最大生物属于这些巨型蘑菇。当然，对于大多数微生物来讲，显微镜是观察和研究它们的必备条件。

1.1.2 微生物的特点

在生命科学研究和工业发酵生产广泛采用微生物为材料和对象的根本原因是由于微生物个体一般是一个能自我增殖、多功能和大交换面积的单细胞反应体系。其特点可概括为体积

小、面积大，吸收快、转化快，生长旺、繁殖快，易变异、适应性强，种类多、分布广五大特性。

1.1.2.1 体积小、面积大

通常，微生物个体都极其微小，它们的测量单位是微米 (μm ，即 10^{-6}m)，甚至是纳米 (nm ，即 10^{-9}m)。各类微生物个体大小的差异十分明显。粗略估计，真核微生物、原核微生物、非细胞微生物、生物大分子、分子和原子之间大小之比，大都以 10 比 1 的比例递减。

杆状细菌的平均长度和宽度约 $2\mu\text{m}$ 和 $0.5\mu\text{m}$ ，3000 个头尾衔接的杆菌的长度仅为一粒粳米的长度，而 60~80 个肩并肩排列的杆菌长度仅为一根头发的直径。至于细菌的体重就更微乎其微，每毫克的细菌约含有 10 亿~100 亿个。

球菌的体积约为 10^{-12}cm^3 ，密度为 $1.1\text{g}/\text{cm}^3$ ，每个细胞质量为 $1.1 \times 10^{-12}\text{g}$ ，即每克细菌含 9000 亿个细胞。

众所周知，任何物体被分割得越细，其单位体积中物体所占的表面积就越大。物体的表面积和体积之比称为比表面积。若以人体的“面积/体积”比值为 1，则大肠杆菌的“面积/体积”比值为 30 万。不言而喻，微生物这种小体积、大比表面积的体系，特别有利于它们与周围环境进行物质交换和能量、信息交换。这就是微生物与一切大型生物相区别的关键所在，也是赋予微生物如下的四大特性的根本所在。

1.1.2.2 吸收快、转化快

生物界的一个普遍规律是，某一生物的个体越小，其单位体重所消耗的食物就越多。例如，有一种体重仅 3g 的地鼠，每日要消耗与体重相等的粮食；而体重不足 1g 的闪绿蜂鸟，每日消耗其体重两倍的食物；单细胞的微生物个体，比上述的动物不知要小多少倍，而且其整个细胞表面都有吸收营养物的功能，这就使它们的“胃口”变得特别大。例如在适合的环境中，大肠杆菌每小时就能轻而易举地消耗掉相当于自重 2000 倍的糖。（而人则需要 40 年）。若以成年人每年消耗的粮食相当于 200kg 糖来计，那么，一个细菌一小时内消耗的糖按重量比相当于一个人在 500 年时间内所消耗的粮食；另外，产脲假丝酵母合成蛋白质的能力比大豆强 100 倍、比食用公牛强 10 万倍；在呼吸速率方面，一些微生物也比高等动植物强几十到几百倍见表 1.1.1。

表 1.1.1 若干微生物和动、植物组织的比呼吸速率

生物材料名称	温度/ $^{\circ}\text{C}$	$-Q_{\text{O}_2}^{\text{Q}}/[\mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{h})]$	生物材料名称	温度/ $^{\circ}\text{C}$	$-Q_{\text{O}_2}^{\text{Q}}/[\mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{h})]$
固氮菌	28	2000	面包酵母	28	110
醋杆菌	30	1800	肾和肝组织	37	10~20
假单胞菌	30	1200	根和叶组织	20	0.5~4

① $-Q_{\text{O}_2}^{\text{Q}}$ 为每小时每毫克生物（干重）所消耗 O_2 的微升数。

营养物吸收快、转化快的结果是微生物迅速地生长繁殖，同时，使人类能利用微生物这一特性，将廉价原料高效转化成食品、化工和医药产品。

1.1.2.3 生长旺、繁殖快

在生物界中，微生物具有惊人的繁殖速度，其中，以二等分裂的细菌最为突出。例如：培养在 37°C 下的牛奶中的大肠杆菌，12.5min 就能繁殖一代。若以 20min 分裂一次计算，单个细菌经过 24h 可产生 4722×10^{21} 个后代，设定一个大肠杆菌重量为 $1 \times 10^{-12}\text{g}$ ，那么，总重可达 $4722 \times 10^3\text{kg}$ ，若将细菌平铺在地面，能将整个地球表面覆盖。经过 48 小时，单个细菌可变成 2.2×10^{43} 个，总重量达 $2.2 \times 10^{28}\text{kg}$ ，相当于 4000 个地球的重量。当然，由于种种条件的限制，细菌不可能始终以这种几何级数的繁殖速度，细菌几

何级数生长速度只能维持数小时。一般在液体培养时，每毫升培养液内细菌个数只能达到 $10^8 \sim 10^9$ ，最多达到 10^{10} ，很少超过 10^{11} 。尽管如此，它们的繁殖速度仍然比高等动植物高上亿倍。

另外，以寄生在细菌或放线菌体内的噬菌体为例，它们在宿主细胞内，能在不到半小时的时间内，从原先的1个增加到150个左右的后代（如大肠杆菌 T₂ 噬菌体），多者可达一千（如大肠杆菌 $\phi \times 174$ 噬菌体），甚至一万个（如噬菌体 f₂）。

微生物的高速繁殖特性，为工业发酵生产等实际应用提供了产量高、周转快等有利条件。例如生产单细胞蛋白的酵母菌，每隔 8~12h 就可“收获”一次，每年可“收获”数百次。这是其他任何农作物不可能达到的；一只 500kg 重的食用公牛，一天只能从食物中转化 0.5kg 的蛋白质；同等重量的大豆，在合适的栽培条件下，一天可产生 50kg 的蛋白质；同样重量的酵母菌一天却能产生 50000kg 的优质蛋白质。一个占地总面积 20m² 左右的发酵罐一天生产的优质单细胞蛋白的量相当于一头牛。这在畜牧业更是无法想象的。据计算，一个年产 105t 酵母菌的工厂，如以酵母菌的蛋白质含量为 45% 计，则相当于在 562500 亩农田上所生产的大豆的蛋白质质量，高产的同时还 不受气候和季节影响。

微生物生长旺、繁殖快的特性也为理论研究带来了便利——使科研周期大大缩短，效率提高。当然，对于危害人、动植物的病原微生物或使物品霉变的霉腐微生物，它们的这个特性也给人类带来了极大的麻烦和祸害。

1.1.2.4 易变异、适应性强

微生物个体一般都是单细胞，通常是单倍体，加之它们具有繁殖快、数量多及与外界环境直接接触等原因，即使变异的频率十分低（一般为 $10^{-10} \sim 10^{-5}$ ），也可在短时间内出现大量的变异后代。因此，微生物的变异性使其具有极强的适应能力，诸如抗热性、抗寒性、抗盐性、抗干燥性、抗酸性、抗缺氧、抗高压、抗辐射及抗毒性等能力。这是微生物在漫长的进化历程中所经受各种复杂环境条件的选择和影响的结果。

在医疗实践中，常见致病菌对抗生素产生抗药性变异。例如，1943 年青霉素刚问世时，它对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的作用浓度是 0.02 μ g/ml，二十年后，有的菌株抗药性比原始菌株提高了一万倍（即 200 μ g/ml）。40 年代初刚使用青霉素时，即使严重感染的病人，只要每天分数次共注射 10 万单位青霉素即可，而至今，成人每天要 100 万单位左右。病情严重时，要用到数千万甚至上亿单位。

青霉素产生菌产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*) 的产量变异同样也说明了微生物变异的潜力很大。1943 年，每毫升青霉发酵液中只有约 20 单位的青霉素，经育种工作者的努力，1955 年达到了 8000U/ml，1969 年已达 15000U/ml，该菌产量变异逐渐积累，至今，在最佳的发酵条件下，其发酵水平可达每毫升 5 万单位以上，甚至有接近 10 万单位。利用变异使产量大幅度提高，这在动植物育种工作中简直是不可思议的。

而对于微生物学工作者来讲，这是菌种选育和发酵生产中需要特别关注的。变异不仅有可能提高产量，还能改善产品质量。减少或去除发酵副产物，简化产物分离提纯工艺，降低成本。如青霉素的原始生产菌株产黄青霉 Wis Q-176 在深层发酵中会产生黄色素，很难除去，影响产品质量。经过诱变育种获得的无色突变株 DL3D10 不再产生黄色素。

微生物对各种环境条件尤其是极端恶劣的环境具有惊人的适应能力。许多微生物具有耐酸碱、耐缺氧、耐毒性、抗辐射、抗渗透压等特性。例如在海洋深处的某些硫细菌可在 250℃ 甚至 300℃ 的高温条件下正常生长；大多数细菌能耐 0~ -196℃（液氮）的低温，甚

至在 -253°C （液体氢）下仍能保持生命；一些嗜盐菌能在约32%的饱和盐水中正常生活；许多微生物尤其是细菌芽孢可在干燥环境中保存几十年、几百年甚至上千年。氧化硫硫杆菌（*Thiobacillus thiooxidans*）是耐酸菌的典型，它的一些菌株能生长在5%~10%（0.5~1.0mol/L, pH0.5）的 H_2SO_4 中。有些耐碱的微生物如脱氮硫杆菌（*Thiobacillus denitrificans*）生长的最高pH值为10.7，有些青霉和曲霉也能在pH9~11的碱性条件下生长；在抗辐射方面，人和其他哺乳动物的辐射半致死剂量低于1000R，大肠杆菌是10000R，酵母菌为30000R，原生动物为100000R，而抗辐射能力最强的生物——耐辐射微球菌（*Micrococcus radiodurans*）则可达到750000R；在抗静水压方面，酵母菌为50MPa，某些细菌、霉菌为300MPa，植物病毒可抗500MPa。

1.1.2.5 种类多、分布广

由于微生物的发现比动植物要迟得多，加上微生物种的分类和鉴定较为复杂和困难，所以，目前已确定的微生物种数仅十万种左右，但是，从生理类型、代谢产物和生态分布等角度看，微生物种数应大大超过动植物种数。据估计目前至多只确定了10%~20%，而得到开发利用的只占1%。据估计微生物的生物量占整个地球生物量的60%，而现在已知的微生物物种数量占地球上实际存在物种数量的10%还不到。

如此众多的微生物世界充满整个地球，它们的分布可谓无处不在。生物界的许多极限都是微生物开创的。从生物圈、土壤圈、水圈直至大气圈、岩石圈，到处都有微生物家族的踪迹。例如万米深、水压高达 $1.155 \times 10^8 \text{ Pa}$ 的深海底部有硫细菌生存；在85km的高空，近 100°C 的温泉， -250°C 的环境下，中均有微生物的存在。前苏联科学家在南极冰川钻探时，于地下4.5~293m不同深度的岩心中多次发现有球菌、杆菌和微小的真菌。而人类正常生活和生产的环境，也正是微生物生长生活的适宜环境。因此，人类生活在微生物的汪洋大海之中，每一个健康人的皮肤上、口腔里、胃肠道、呼吸道等器官里都生活着成千上万，甚至数也数不清的微生物，而胃肠道里面的微生物数量和种类最多，它们足有1kg重！皮肤和与外界相通的腔道，如口腔、鼻咽腔、肠道、泌尿生殖道均含大量的各类微生物寄居，它们成为人体不可缺少的一部分。通常情况下，寄居人体的正常微生物对人体有益而无害，但在特定条件下会致病。

微生物数量最多的地方是土壤，土壤是各种微生物的大本营，任取一把土，就是一个微生物世界。在肥沃的土壤中，每克土含有20亿个微生物，即使贫瘠的土壤，每克土也含有3亿到5亿个微生物。

空气中悬浮无数细小的尘埃和水滴，它们是微生物在空气中的藏身之处。哪里尘埃多，哪里的微生物就多。一般来说，陆地上空比海洋上空的微生物多，城市上空比农村上空的多，杂乱肮脏地方的空气比清洁卫生地方的空气里多。160m高空的微生物比5300m处要多100倍。

各种水域中也有无数微生物。居民区附近的河水，容易受污染，微生物较多，而大湖和海水中微生物较少。

微生物代谢类型和代谢产物的多样性也是其他任何动植物无法比拟的。因此，微生物资源极为丰富，是一个亟待开发和利用的宝地。

1.2 微生物学的发展简史

1.2.1 古代中国对微生物的利用

我国是世界文明发达最早国家之一。勤劳勇敢的中国人民，在长期的生产实践中，对微