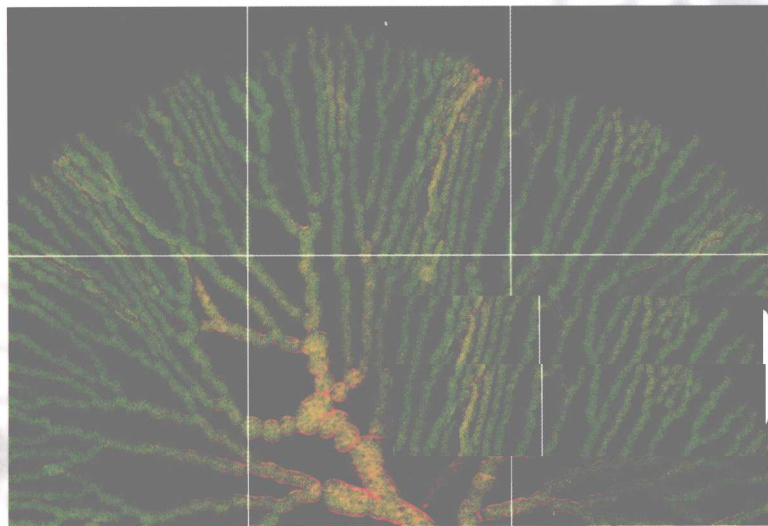


精要速览系列

Instant Notes

MICROBIOLOGY (THIRD EDITION)

微生物学 (第三版)



· 中译版 ·

Simon Baker, Jane Nicklin,
Naveed Khan, Richard Killington

编著

李明春 杨文博 主译

 科学出版社
www.sciencep.com



第五版 第五版 第五版

第五版

MICROBIOLOGY

微生物学



第五版 第五版 第五版

第五版 第五版 第五版

第五版 第五版 第五版



精要速览系列

Microbiology

Third Edition

微生物学

(第三版, 中译版)

S. Baker, J. Nicklin, N. Khan, R. Killington 编著

李明春 杨文博 主译

科学出版社

北京

图字:01-2009-2755号

内 容 简 介

“精要速览系列”(Instant Notes Series)丛书是国外教材“Best Seller”榜的上榜教材。该系列结构新颖、视角独特,重点明确、脉络分明,图表简明清晰,英文自然易懂,被国内多所重点院校选用作为双语教材。

本书第三版沿袭第二版的编写特点,但对全书进行了全面的修订。本书分为12个部分,包括微生物的细胞结构、分类、代谢、遗传、生态、感染和免疫以及真菌、藻类、原生生物和病毒等内容,增加了系统学、微生物学、RNA代谢、细胞DNA和RNA操作、细菌生物武器、寄生性原生生物等章节。本书第三版强化了普通微生物学部分,突出了细菌学内容,同时更加关注从分子生物学角度阐明微生物学相关知识,并将微生物学的理论知识与实验操作有机地结合在一起,既全面、重点地概括了微生物学的基本概念和原理,又突出介绍了本学科发展的前沿热点问题。

本书适合普通高等院校生命科学、医学、农学等相关专业使用,也可作为双语教学参考教材使用。

S. Baker, J. Nicklin, N. Khan, R. Killington

Instant Notes in Microbiology, 3rd edition

© 2006 by Taylor & Francis Group

ISBN0-4153-9088-5

All Right Reserved. Published by arrangement with Taylor & Francis Books Ltd, 2 & 4 Park Square, Milton Park, Abingdon, OX14 4RN, UK.

Licensed for sale in the Mainland of China only, booksellers found selling this title outside the Mainland of China will be liable to prosecution. Copies of this book sold without a Taylor & Francis sticker on the cover are unauthorized and illegal.

本授权版本图书仅可在中国大陆范围内销售,中国大陆范围以外销售者将受到法律起诉。本书封面贴有 Taylor & Francis 防伪标签,未贴防伪标签属未获授权的非法行为。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学/(英)贝克尔(Baker, S.)等编著;李明春,杨文博主译.—3版.

—北京:科学出版社,2010.6

(精要速览系列)

ISBN 978-7-03-028057-2

I. 微… II. ①贝…②李…③杨… III. ①微生物学-双语教学-高等学校-教材 IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 115964 号

责任编辑:单冉东 / 责任校对:宋玲玲

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>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2000年9月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2004年9月第 二 版 印张:22

2010年6月第 三 版 字数:521 000

2010年6月第一次印刷 印数:1—4 000

定价:56.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

译者名单(按姓氏笔画排序)

李明春 李国强 杨文博
张 飙 梁 勇 蔡 峻

译者前言

微生物学是生命科学重要的基础学科,它在生命科学重大基础理论和现代生物技术的形成与发展中起着重要作用;同时微生物学又是应用性很强的学科,它与数理化和信息科学交叉渗透,与人类的经济、社会发展、社会进步和日常生活特别是与人类目前面临的食物、健康、医药、能源和环境等热点问题息息相关。因此,微生物学是当代生命科学前沿中最具有活力和创造力的学科之一。微生物学界引以为豪的是,20世纪诺贝尔生理学或医学奖获得者中有超过1/3的获奖者是从事微生物学研究的学者。

随着教育部教学质量工程的建设,选用一流的国内外教材成为教学环节的重要组成部分。目前我国所引进的国外优秀微生物学教材多是美国版本,如 *Brock Biology of Microorganisms* (已有11th中译版)、*Prescott/Harley/Klein's Microbiology* (已有5th中译版)、*Microbiology: Principles and Explorations* (已有6th中译版)。这几本外文书的特点都是内容丰富、知识广泛、图表精美、更新迅速。上述3类教材目前已分别连续发行了12版、7版和7版。但对于我们教师来说,如何在有限的学时内,将这些丰富多彩的微生物学理论知识传授给学生是一项极具挑战性的工作,需要我们根据授课对象的不同、学时的多少,有选择地取舍。

Instant Notes 系列图书是全球畅销的优秀教材,由英国著名大学具有丰富教学经验的一流教授编写的。2003年科学出版社已将《微生物学》分册第二版以影印版发行,2004年的9月,该版的中文版也面市。本书的编写和排版与我国多数教材及美国教材不同,其风格独特、简明扼要、通俗易懂、取材新颖、插图简洁。本书便于阅读、理解和记忆,各章节都有要点、相关主题和进一步阅读书目,重点突出,主线明确,国内许多高校将其作为双语对照教材,可以让学生快速掌握微生物学基础知识,同时也锻炼了英语阅读能力。因此,本书影印版累计印刷了8次,达22000册,中文版共印刷了6次,达15500册,这在国内微生物学外文教材中是不多见的,足以看出广大读者对该教材的渴求与钟爱。

本书第三版沿袭第二版的编写特点,但对全书进行了全面的修订。本书分为12个部分,包括微生物的细胞结构、分类、代谢、遗传、生态、感染和免疫以及真菌、藻类、原生生物和病毒等内容,增加了系统学、微生物学、RNA代谢、细胞DNA和RNA操作、细菌生物武器、寄生性原生生物等章节。本书第三版强化了普通微生物学部分,突出了细菌学内容,同时更加关注从分子生物学角度阐明微生物学相关知识,并将微生物学的理论知识与实验操作有机地结合在一起,既全面、重点地概括了微生物学的基本概念和原理,又突出介绍了本学科发展的前沿热点问题。

为了便于国内从事微生物学教学的教师扩展教学内容、搜寻教学参考资料,也为了使广大学习微生物学专业的学生增加知识、拓宽眼界,我们在林稚兰教授翻译的第二版基础上翻译了 *Instant Notes Microbiology* 第三版,参加本书翻译的人员有李国强(A、B、C、D部分)、蔡峻(E、F部分)、梁勇(G、H部分)、李明春(I、J、K部分)、张飙(L部分),杨文博教授和李明春教授对全书做了校对和统稿。在整个翻译过程中得到了科学出版社单冉东编辑的热情帮助和支持,特表示衷心地感谢。翻译中的错误与疏漏在所难免,敬请广大读者批评指正,在此表示感谢。

本书可作为大专院校学生学习微生物学的双语对照教材和(或)参考读物,也可供教师、相关科研人员参考。

李明春 杨文博
南开大学生命科学学院
2009年12月于天津

目 录

译者前言

A 微生物世界	1
A1 微生物世界	1
B 系统学	4
B1 原核生物的系统学	4
B2 细菌的鉴定	6
B3 基于 rRNA 基因序列的系统发育推理	8
C 微生物学	11
C1 发现和历史	11
C2 原核生物的多样性	13
C3 细菌的实验室培养	16
C4 微生物计数	19
C5 微生物观察	23
C6 原核生物的主要类群	29
C7 典型原核细胞的组成	37
C8 细菌的细胞壁	42
C9 细胞分裂	47
C10 细菌的鞭毛及其运动	50
C11 原核生物及其环境	52
D 微生物的生长	56
D1 微生物生长的测量	56
D2 实验室中的分批培养	62
D3 大规模培养和连续培养	64
E 微生物的代谢	68
E1 酶学	68
E2 异养微生物代谢途径	73
E3 电子传递、氧化磷酸化和脂肪酸 β 氧化	80
E4 自养微生物代谢	85
E5 生物合成途径	90
F 原核生物 DNA 和 RNA 代谢	94
F1 DNA——初级信息大分子	94
F2 基因组	97
F3 核酸的结构	101
F4 杂交	105
F5 DNA 复制	109
F6 转录	114

F7	RNA 和遗传密码	122
F8	翻译	126
F9	信号转导和环境感应	129
F10	突变	132
F11	DNA 修复	137
F12	细胞间 DNA 的转移	140
F13	重组	143
F14	噬菌体	147
F15	质粒	151
F16	细胞 DNA 和 RNA 的操作	153
G	原核生物在工业中的应用	161
G1	原核生物在工业中的应用	161
H	细菌感染	164
H1	人类的细菌感染	164
H2	细菌感染:类型、侵入部位、传播方式、细菌感染出现/扩散的诱发因素及其共同特征	173
H3	细菌感染的发病机制及毒力	177
H4	细菌毒素	180
H5	一种模式细菌病原体——大肠杆菌	184
H6	人类的防御机制	190
H7	细菌对免疫系统的逃避	194
H8	细菌感染的控制	197
H9	细菌生物武器	200
I	真核微生物概述	203
I1	分类学	203
I2	真核细胞结构	205
I3	细胞分裂与倍增	210
J	真菌及其相关门类	215
J1	真菌的结构与生长	215
J2	真菌的营养	219
J3	真菌的繁殖	221
J4	有益影响	227
J5	有害影响	230
K	绿藻门和原生生物	231
K1	分类学与结构	231
K2	营养与代谢	238
K3	生活史	243
K4	有益影响	249
K5	有害影响	251
K6	寄生性原生生物	253
L	病毒	267
L1	病毒的结构	267
L2	病毒的分类学	271

L3 病毒的蛋白质	275
L4 病毒的核酸	281
L5 细胞培养与病毒的生长	287
L6 病毒的检测	290
L7 病毒的复制	294
L8 病毒感染	300
L9 病毒与免疫系统	305
L10 病毒疫苗	308
L11 抗病毒的化学疗法	311
L12 植物病毒	315
L13 朊病毒和传染性海绵状脑病	319
进一步阅读书目	324
索引	327

A 微生物世界

A1 微生物世界

要点

微生物横跨生物界中的 3 个主要域:细菌域、古生菌域和真核生物域。细胞核的存在是真核生物的重要标志,由于细菌和古生菌都不具有细胞核而被称为原核生物。除细胞核外,原核生物和真核生物在生理生化性质方面还存在着许多差异。

何谓微生物

微生物(microbe)是一群形态结构多样的生物体,包括病毒、单细胞类群(古生菌、细菌、原生生物以及一些真菌和绿藻)和一小部分具有简单得多细胞结构的生物体(大型真菌和绿藻)。这些大型微生物通常呈丝状、片状或薄壁状,这些形状并不是它们的真实组织。在不借助显微镜的情况下,多数微生物均不为人的肉眼可见。

微生物学

微生物学(microbiology)是指以微生物为研究对象的一门学科。目前,微生物学除研究传统的微生物结构和生理学之外,还包括微生物分子生物学和微生物功能生态学。微生物学于 17 世纪后期出现,其标志是安东·范·列文虎克(Antonie van Leeuwenhoek)利用简单的显微镜从混合自然培养物中发现了细菌。但是,直到 19 世纪五六十年代路易·巴斯德(Louis Pasteur)才用简单的灭菌牛肉汤实验推翻了争论已久的微生物自然发生说(spontaneous generation),使微生物学成为主流科学。

早期,微生物学的研究对象主要包括土壤和沉积物环境中的微生物、自然发酵产物以及具有传染能力的微生物。直到 19 世纪后期,罗伯特·柯赫(Robert Koch)建立的微生物纯培养技术才使微生物学研究进入到简约化(reductionist)阶段,此时微生物在实验室获得了分离并进行了表征。

20 世纪,微生物学家的研究重点主要集中在发现和表征大量不同的微生物上,包括发现并建立了一个新的生物界——古生菌界,发现了新的细菌病原体军团菌(*Legionella*)和抗二甲氧基苯青霉素金黄色葡萄球菌(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA),以及含有人体免疫缺陷病毒(human immune deficiency virus, HIV)的复合真菌病原体,如肺孢子虫(pneumocystis)。生活在极端环境中的具有耐高温脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)聚合酶的微生物群落的发现,使微生物学开辟了一个新的研究领域——分子生物学(molecular biology)。

分子生物学技术的快速发展使微生物学的研究又回到了自然环境中。像变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)和单链构象多态性(single stranded conformation polymorphism, SSCP)、DNA 芯片和原位杂交等技术成为我们在分子水平上研究微生物生态学的工具。微生物学研究又回到了它的根源。

细菌、古生菌和真核生物

微生物界包括由同一个祖先进化而来的 3 个细胞谱系(图 A. 1)。这些谱系称为域(domain),域的划分依据是所有生物的基因组成中具有共有的 DNA 序列(参见 B3)。这 3 个域分别是细菌域(以前称为真细菌)、古生菌域(以前称为古细菌)和真核生物域。与古生菌和细菌相比,真核生物(eukarya)本质是含有细胞核。通常将不含有细胞核的细胞谱系(细菌和古生菌)称为原核生物。除极少数外(参见 C6),原核生物都是微生物,但是真核生物域不仅包括属于微生物的真菌、绿藻和原生生物(参见 I),还包括动植物等高等生物。

原核生物细胞结构的最大特点是没有细胞核,但同时它也缺少产生能量的细胞器,如线粒体和叶绿体。原核微生物能量的产生是通过跨膜的细胞质底物水平磷酸化和氧



图 A.1 由共同祖先进化而来的 3 个细胞谱系

化磷酸化实现的(参见 E3)。除这些主要的区别之外,原核生物和真核生物在生理生化性质方面也存在着许多差异,主要的差异见表 A.1。细菌和古生菌之间的差异(参见 C6)将在其他章节详细论述。

表 A.1 原核生物和真核生物的主要区别

原核生物(prokaryote)	真核生物(eukaryote)
遗传物质的组织和复制	
DNA 游离于细胞质中	DNA 由膜结构包裹
一个染色体——通常是单倍体,环状	多于一个染色体——通常是双倍体,线性
DNA 与类组蛋白结合	DNA 与组蛋白结合
可能含有作为基因组成分的核糖体外 DNA	细胞器可能含有独立的染色体,但很少在细胞质中发现游离的 DNA
细胞以二分裂或出芽方式增殖	细胞以有丝分裂方式增殖
以接合、转导、转化方式转移遗传物质	只在有性生殖阶段转移遗传物质
细胞组织	
用类何帕烷强化细胞膜(不包括古生菌)	用固醇强化细胞膜
细胞壁由肽聚糖、脂多糖或磷壁酸组成,古生菌细胞壁结构组成差异较大	通常缺少刚性细胞壁,但有由微管组成的细胞骨架可以提供刚性。如果存在细胞壁,则由几丁质或纤维素薄层构成
能量在细胞膜上产生	能量在线粒体和叶绿体膜上产生
内膜是进行特殊生化反应的场所(如氨氧化、光合作用)	许多细胞中都含有内膜(如内质网、高尔基体等)
鞭毛中只含有一种蛋白质(鞭毛蛋白)	原纤维以 9+2 的形式组成多蛋白鞭毛
70S 核糖体	80S 核糖体

本卷所涉及主题的综述

系统学 细菌系统学(bacterial systematics)使微生物学家可以合理地命名、分类和鉴定(identification)细菌和古生菌。分子生物学在微生物学中的重要性表现在 16S rRNA [核糖体核糖核酸(ribosomal ribonucleic acid)]序列在微生物系统发育中的突出地位。**普通微生物学(general microbiology)** 微生物学作为一门科学经历了漫长的发展过程,但我们也仅仅是刚开始在微生物的生态、生化和基因多样性方面对其进行研究。现在已经建立了许多在实验室中测定微生物生长的精确方法。我们对微生物的认识已经取得了进展,完全可以对原核生物的精细胞结构进行研究,不再简单地认为它只是一个装有酶的口袋。对微生物分裂和运动的认识也使我们在真核生物生物学方面取得了重大突破。尽管在病原微生物学方面的研究比较深入,但我们也逐渐认识到微生物在地球生物化学循环中所担当的重要角色。

微生物生长 在实验室条件下,限制大多数原核生物在分批或连续培养过程中的分裂增殖的因素可以用数学模型考察。从这些模型可以看出在设计任何发酵罐之前都要对罐中培养物的需氧量进行优化。

分子生物学 遗传学的研究促进了微生物学的发展,DNA 的新陈代谢、体内和体外的

遗传操作贯穿整个生物学。DNA 复制法则、mRNA 转录和蛋白质翻译都首先在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中进行了表征。结合我们对转录调控和细胞间 DNA 转移机制的详细了解,现在我们已经使细菌成为一种 DNA 重组技术的强大工具。

真核微生物 大量真核微生物的类群已经被基于网络生命树的分类系统所确认。普通细胞生物学和真核微生物的细胞分裂已经进行了阐述,随后在独立的章节中将详细介绍真菌、光合和非光合原生生物的结构、生理和繁殖。同时阐述各个类群微生物对其环境的有益及有害影响,对原生生物寄生虫的分类及致病性也将进行比较深入的论述。

B 系 统 学

B1 原核生物的系统学

要 点

分类和分类学

分类是组织信息的一种方法。虽然可以根据微生物的生长特征进行分类(如化能自养细菌、反硝化细菌),但正规的还是根据林奈系统对其进行分类。微生物分类的全部内容称为微生物分类学。每一种微生物都可以用它们独特的种名和属名加以区分。

原核生物的鉴定

鉴定的目的是确认新分离微生物的分类地位,通常要确定它们的种属地位。然而,在原核生物中种的定义一直没有高等真核生物那样明确。

原核生物的系统发育

微生物类群之间的进化关系称为微生物的系统发育。根据微生物的 DNA 序列确定它们的进化关系即系统发生学。细菌和古生菌的分类学在很大程度上反映了它们的系统发育历程。

相关主题

细菌的鉴定(B2)

基于 rRNA 基因序列的系统发育分析(B3)

原核生物的多样性(C2)

原核生物及其环境(C11)

分类和分类学

随着分子生物学方法的出现,鉴定、分类和进化关系的差别已经变得模糊。在细菌生物学中分类(classification)只是一种组织信息的简单方法。这种组织方法可能只有潜在的含义或者根本没有任何含义。我们可以根据细菌在琼脂平板上生长时所形成的菌落颜色对其进行分类,通过这种分类方法我们可以给出黄色和红色细菌的明显差别。然而,大部分细菌将被归到具有乳白色菌落的类群。早期,我们常根据微生物细胞的形状对其进行分类,按照这种分类方法杆状细菌(现在也称为棒状细菌)形成数量最大的一个类群,而球状、丝状及其他形状的细菌则形成数量较小的类群。必须强调的是这种分类方法比较武断,但至今仍一定程度上应用。现在,微生物学家通常根据微生物的生长特征(厌氧生物、化能无机营养生物、甲基营养生物等,参见 C2 和 D1)对其进行分类。

微生物学分类的基本方法是林奈分类系统(Linnaean system),通常也要考虑其他生物学信息。林奈系统是一个等级分类系统,各主要分类群都被依次划分到最低级的种分类水平(图 B.1)。



图 B.1 完整的林奈分类系统

大肠杆菌的完整分类是原核生物域、细菌界、变形菌门、 λ 变形菌纲、肠杆菌目、肠杆菌科、埃希氏菌属、大肠杆菌种。每个分类等级都称为一个分类单元(taxon, 复数 taxa)。这种分类系统使生物学家可以将鉴定的任何一种独特的微生物仅仅根据合适的种属地位将其归到更高的域和界分类单元中。大肠杆菌的全称就代表了它的分类地位,林奈系统是一种分类系统。

在这本书中,古生菌和细菌(原核生物)以及个别的界都用正确的域名和界名表示。少数较早的分类系统用真细菌和古细菌等界名表示,但在本书中很少使用这些界名表示。

原核生物的
鉴定

通过对原核生物进行适当的系统分类,现在微生物学家开始将生物体划归到该分类框架内,并用系统分类来描述和鉴定这些物种。在实验室中,当一个生物被首次纯化后,通常称为分离物(isolate),并给其一个编号,用以同其他生物进行区分。在不同时间或不同地点分离得到的不同分离物可能具有相同的遗传学性质。

通常将一个新分离的细菌划归到适当的属不存在什么争议,可以将新分离的微生物用属名加编号表示,如 *Paracoccus* (副球菌属) strain NCIMB 8944。与动物界相比,由于存在着非常大的遗传多样性,因此我们很难将种(species)的概念应用到细菌和古生菌中。所以,通常用亚种(subspecies)来区分那些属于同一个种但又存在微小差异[通常是指菌株(strain)]的生物变种(biovar)。例如,引起鼠疫的鼠疫耶尔森氏菌(*Yersinia pestis*)又被分为包括东部亚种和中部亚种在内的不同生物变种。同一个种中的不同菌株有时用亚种表示;植物病原菌胡萝卜软腐欧文氏菌(*Erwinia carotovora*)包括黑腐亚种和软腐亚种等。在这种情况下,不同亚种的成员表示引起植物病的病理不同。在微生物学研究中,定义种的意义在于在记录一个生物时可以很好地反映其原始分离编码,便于在不同的实验室中对其历史进行追踪。

尽管微生物学家对将每个细菌和古生菌的分类单元定义到属水平意见比较统一,但是否将种作为生物多样性的最基本单位仍有待讨论。属中一个种(即 DNA 同源性低于一定的数值)的定义并不适用于另一个种,这个问题在人类病原菌中更为突出(参见 B2)。如果我们不能正确并一致地定义种,那么将生物鉴定到种的水平似乎存在问题。原核微生物的鉴定方法,即将我们新的分离物进行分类,将在 B2 节中详细论述。

原核生物的
系统发育

系统发育(phylogeny)是指对各分类单元之间进化关系的描述。在微生物学中更倾向于利用 DNA 序列而不是形态特征(就像动植物的形态)作为系统发育的依据。因此,通常将其称为系统发生学(phylogenetics)。就我们目前所知,多数细菌和古生菌的分类都反映了它们的系统发育。当然,任何分类系统都存在着争论,许多种属确切的系统发育学和分类学地位仍在不断地讨论中。

B2 细菌的鉴定

要点

细菌的鉴定

在微生物实验室中,新分离细菌的鉴定多数是根据它们的生化性质,基因序列通常作为它们后续分类的指标之一。

基于生长特征的鉴定

新分离细菌在选择、鉴别(诊断)培养基上的生长情况可以为其鉴定提供帮助。数值分类是根据细菌在不同糖培养基上的生长能力和它们拥有的关键酶进行的。通过参考商业化数据库或伯杰氏系统细菌学手册,利用数值分类可以对细菌进行鉴定。

其他鉴定方法

我们还可以通过分析细菌在特定条件下产生的脂肪酸(FAME-脂肪酸甲酯化分析)或分析其 16S rRNA 序列对细菌进行鉴定。

病原体的鉴定

与非临床研究机构相比,医学实验室更倾向于通过分离的纯培养物的生化特征对其进行分类而不是分子生物学技术。由于聚合酶链反应(**polymerase chain reaction, PCR**)测试的成本越来越低,医学实验室也逐渐开始利用分子生物学技术对病原菌进行鉴定。病原菌的鉴定更依赖于它们引起疾病的特征而不是它们的系统发育,这种情况在细菌鉴定中比较特殊。

相关主题

原核生物的系统学(B1)

基于 rRNA 基因序列的系统发育分析(B3)

细菌的鉴定

尽管分子生物学方法(参见 B3)在细菌的**鉴定(identification)**和分类中变得越来越重要,但在大多数临床实验室中通常采用较为便宜的生长和生化方法对细菌进行鉴定。此外,将任何一个细菌鉴定到可以发表的水平都需要进行多相分类鉴定步骤,即包括菌株的分子、生化和生长等方面的表征。如果一个细菌可以在临床或者环境样本中生长,对它分类或鉴定的第一步就是对其生长特征进行研究,接着就是分析该细菌中可能包含的酶类,最后是对其基因组进行分子生物学分析。

基于生长特征的鉴定

对于一个未知的细菌分离物,可以将其在许多不同种类的固体和液体培养基上进行再培养,这样有助于它的鉴定。总的来说,这些培养基可以分为两种类型:**选择性培养基(selective medium)**,这种培养基可以用来培养某一类细菌,但抑制该类细菌以外的细菌生长;**鉴别培养基(differential medium)**或**诊断培养基(diagnostic medium)**,这种培养基通常含有某些视觉指示剂,指示剂的变化通常与一个微生物类群独特的生化性质密切相关(参见 C3)。如果未知菌株可以纯化,就可以用**革兰氏染色(Gram stain)**和形态学检测对其进行进一步的鉴定。一旦获得了微生物生长的全景图,就可以对它们的糖利用能力(如果它们在糖利用过程中产酸)和含有的特定酶进行详细的评价与分析。综合这些信息,并将其与其他已知微生物的性质进行比较评分完成未知菌株初步的**数值分类(numerical taxonomy)**。由于所需要的试剂盒在市场上都可以买到,所以这个过程可以实现半自动化操作。但是目前所生产的试剂盒仅限于一些特定类群的原核生物,尤其是肠细菌。对于那些从环境中分离到的非致病性细菌和古生菌的鉴定必须以标准的细菌鉴定手册,如**伯杰氏系统细菌学手册(Bergey's manual of systematic bacteriology)**为指导进行鉴定工作。

其他鉴定方法

如果一种未知的微生物可以在许多参考菌株生长的条件下生长,那么微生物学工作者就可以利用其他鉴定方法对其进行鉴定。可以将纯培养物的脂质抽提、酯化并利用气相色谱进行定量分析。利用气相色谱(**gas chromatography, GC**)得到的脂肪酸甲酯(FAME)图谱可以利用计算机与在相同培养基及相同培养条件下培养的其他已知菌株的图谱进行比较鉴定。这是一种经济、快速的鉴定方法,但是鉴定结果的解释比较困

难,并且不适合鉴定那些在特殊条件下生长的微生物。任何一种微生物的 FAME 图谱都会随着培养基的不同而变化,这也给这种方法的应用增加了难度。磷脂脂肪酸分析(phospholipid-linked fatty acid analysis, PLFA)技术是在 FAME 分析方法的基础上进行了改进,逐步发展成为一种特异性强、敏感度高的分析技术。

随着 DNA 序列分析变得越来越容易,价格越来越便宜,DNA 序列信息逐步成为用来补充生理生化鉴定结果的标准步骤,常用的 DNA 序列是 16S rRNA 的基因序列(参见 B3)。尽管这项鉴定技术使鉴定和系统发育的界限模糊,且可以简单快速地获得结果,但如果在分离阶段就利用这项技术往往会得到错误的结果。

病原体的鉴定

从某种程度上讲,医学微生物学(medical microbiology)在其致病微生物鉴定的方法上落后于其他微生物学。考虑到费用,病原体的常规鉴定仍依靠传统的细菌学方法来完成。医学工作者通常是首先用肉汤或琼脂培养基从临床样本中富集或分离细菌,并从这种初始培养物中获得一种纯培养物,接着使用显微镜、利用细菌的生长特征或 PCR 技术鉴定获得的细菌。这种生长依赖型病原体鉴定方法往往会忽视一些普通的病原体。例如,由于弯曲杆菌属(*Campylobacter*)(参见 H1)的成员在实验室条件下很难培养,致使这种经常引起食物中毒的微生物被忽视了许多年。由于 PCR 的成本持续下降,医学微生物学在提高诊断可靠性的同时一定要有可见但不可培养的概念(意思是一些微生物可以被检测到但是在实验室条件下不可培养),现在这种概念在环境微生物学中已经被作为定律接受。

病原体(pathogen)的鉴定和命名主要是根据其所引起疾病的症状而不是它们的性质。例如,肠细菌属在遗传学上的关系都非常近,但是可以引起许多不同的疾病(表 B. 1)。目前,通过在分子水平上的检测发现属于革兰氏阳性菌的芽孢杆菌属(*Bacillus*)中的致病性菌株可能属于同一个种,但是具有不同的质粒(表 B. 2)。

表 B. 1 肠细菌引起的疾病

属	疾病
埃希氏菌属(<i>Escherichia</i>)	肠病源性腹泻
致贺氏菌属(<i>Shigella</i>)	志贺氏细菌性痢疾
沙门氏菌属(<i>Salmonella</i>)	伤寒病、肠胃炎
弧菌属(<i>Vibrio</i>)	霍乱、肠胃炎
克雷伯氏菌属(<i>Klebsiella</i>)	肺炎
耶尔森氏菌属(<i>Yersinia</i>)	鼠疫

表 B. 2 芽孢杆菌相近的种引起的疾病

种	疾病
枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)	没有致病性
炭疽芽孢杆菌(<i>Bacillus anthracis</i>)	炭疽热
蜡状芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)	肠胃炎
苏云金芽孢杆菌(<i>Bacillus thuringiensis</i>)	昆虫病原体

B3 基于 rRNA 基因序列的系统发育推理

要点

细菌的系统发育

分子系统发育学技术的发展使微生物学家更容易对细菌的系统发育进行研究。

分子时钟的概念

DNA 或蛋白质序列在相当长的一段时期的变化可以反映出共同祖先所有的进化变异。**进化计时器(evolutionary chronometer)**的选择原则应该是分布广泛、功能同源和拥有保守序列。为了能够区分不同的变异速度,所选择的分子还应该具有保守区和高可变区。

核糖体 RNA

细胞色素 c 曾被认为是一个合适的进化计时器,但是作为计时器,16S rRNA 被接受的程度更高。16S rRNA 的大小适合于多种序列分析方法,但是其有效性仍然受到某些质疑。目前,RDP(Ribosomal Database Project)数据库中已经大约有 185 000 种细菌的 rRNA 序列。

16S 序列的获得

虽然目前还没有发现一套可以扩增出所有已知物种的 16S rRNA 基因的引物,但是多数生物体中的 16S rRNA 基因都可以用一套**通用引物(universal primer)**扩增获得。在多物种存在的体系中,利用通用引物扩增通常会产生错误的结果,这是由于 PCR 产物是从不只一条模板链产生的。

16S 生物信息学

一旦获得了 16S rRNA 基因的 PCR 产物,并对其进行了序列分析,我们就可以比较它与其他 16S rRNA 基因的系统发育关系。首先与序列相似的 16S rRNA 基因进行比对,然后对部分 16S rRNA 基因进行剪切,以保证队列中所有的 16S rRNA 基因序列长度相同。系统进化树可以通过邻接法或最大简约法生成。同一组数据利用这些方法通常能够生成许多不同的进化树,但是可以通过自举法标示出每种进化树每个分枝的可信度。

相关主题

原核生物的系统学(B1)

细菌的鉴定(B2)

细胞 DNA 和 RNA 的操作(F16)

细菌的系统发育

细菌之间的关系已经在本书的其他章节进行了论述(参见 C6),并利用传统分类学方法对大多数主要的门(革兰氏阳性菌、蓝细菌等)进行了归类。其分类地位也已经被承认了几十年。最近,分子系统发育学方法(**molecular phylogenetic method**)的发展使微生物学家更容易对细菌的系统发育进行研究。

分子时钟的概念

微生物学家可以将任何一种微生物归入基于它与其他微生物的关系及所有生物体都进化自一个共同的祖先所确定的框架内。为了完成这项工作,必须选择一个能够反映生物体随时间发生微小变化的进化时钟。生物大分子,如蛋白质和核酸,都有作为**进化计时器(evolutionary chronometer)**的潜力,但是作为理想的进化计时器需要满足以下标准:

- 普遍存在——存在于所有已知(或即将发现的)生物体中。
- 功能同源——所选择的分子在所有生物体中执行相同的功能。功能不同的分子可能因差异太大而不存在任何序列同源性。
- 拥有保守序列——一个理想的进化计时器应该具有序列高度保守的区域,以便能够反映出生物体在很长的一段时期内非常缓慢的变化。同时也应该具有中度或高度可变区域,以便用来解释生物体最近的变化。

微生物学家已经提出了大量作为计时器的生物大分子,包括细胞色素 c(参见 E3)、ATP 酶(参见 E3)、RecA(参见 F13)及 16S/18S rRNA。大多数蛋白质分子计时器都不