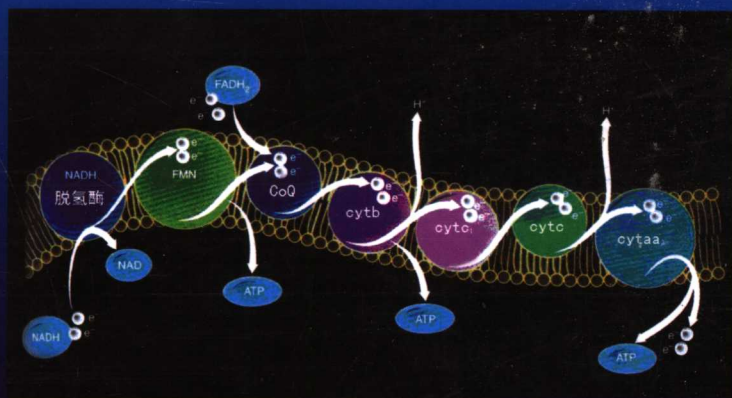


高 等 学 校 教 材



Microbial Physiology

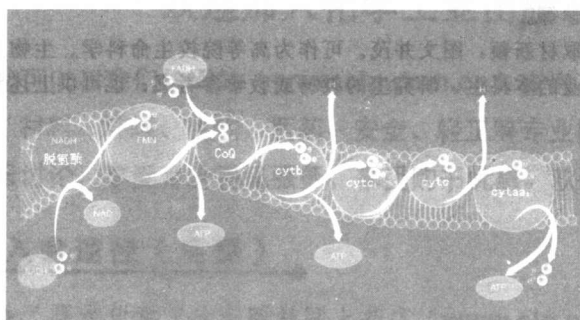
微生物生理学

杨生玉 王 刚 沈永红 主编



化学工业出版社

高 等 学 校 教 材



Microbial Physiology

微生物生理学

杨生玉 王 刚 沈永红

主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书主要从微生物生理学角度阐述微生物的生命活动规律,系统地介绍了微生物生理学的基础理论、基本方法及进展情况,融新理论、新技术、新方法为一体,力求反映微生物生理学的最新发展动态及趋势。重点内容包括:微生物细胞的结构和功能、微生物的营养与物质运输、微生物的分解代谢、微生物的合成代谢、微生物的代谢调节、微生物的次级代谢及其调节、微生物的生长繁殖与环境、微生物的分化、基因组时代的微生物生理学等。

本书内容全面系统,取材新颖,图文并茂。可作为高等院校生命科学、生物工程、生物技术、微生物制药、环境工程及相关专业的本科生、研究生的教材或教学参考书;也可供上述专业的科研人员、技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物生理学/杨生玉,王刚,沈永红主编. —北京:
化学工业出版社, 2007. 2

高等学校教材

ISBN 978-7-122-00019-4

I. 微… II. ①杨…②王…③沈… III. 微生物学:
生理学 IV. Q935

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 022889 号

责任编辑:梁静丽 孟 嘉

文字编辑:张春娥

责任校对:战河红

装帧设计:韩 飞

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:三河市延风装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张20 字数530千字 2007年3月北京第1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: 34.00 元

版权所有 违者必究

编审人员名单

主 编 杨生玉 王 刚 沈永红

编 者 (以姓氏笔画为序)

于成德 卫 军 王 刚 王 森

孙新城 杨生玉 沈永红 陈双喜

主 审 刘仲敏

前 言

微生物生理学是微生物学的一个重要分支，它从生理学的角度研究微生物的结构、生命活动规律等，大大丰富了现代生物化学及分子生物学的概念，对生命科学的基本理论研究做出了重要贡献，而且还涉及轻工业、食品工业、医药工业、化学工业、农林渔牧业和环境保护等许多领域。正是微生物独有的生长特性和代谢活动为这些研究和生产创造了有利的条件，这些理论研究与实践的结合又促进了现代生物技术产业的迅猛发展，使生物工程成为第三次工业革命的前沿技术之一。所以说，微生物生理学与工农业生产 and 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，在国民经济的发展中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，人类对微生物的研究和应用正在不断地深入和拓展。20 世纪 70 年代以来，DNA 重组技术等分子生物学技术的不断发展以及人类基因组计划的推动，使生命科学在理论和技术上取得了一系列重大突破，更促进了微生物生理学的发展，使得人们能进一步地掌握微生物内在的调节规律、各种生理机能、代谢网络的调控机制，进而使得微生物的改造更容易按照人类的意志进行。可以预料，微生物生理学在 21 世纪将会得到更大的发展。

本书是作者近年来为本科生、研究生讲授微生物生理学课程的基础上，参考国内外相关资料编写而成。在多年的教学实践和对相关院校的了解中，我们深切地感到目前《微生物生理学》教科书较为短缺。这与微生物生理学的发展以及高等院校相关专业的建设是不相称的，因此，我们编写了这本《微生物生理学》。本书分为十一章，内容包括：微生物细胞的结构和功能、微生物的营养与物质运输、微生物的分解代谢、微生物的合成代谢、微生物的代谢调节、微生物的次级代谢及其调节、微生物的生长繁殖与环境、微生物的分化、基因组时代的微生物生理学等。

在本书的编写过程中，我们一方面注重学科的系统性和完整性，另一方面强调了微生物生理学的特殊性。在内容的选择上，力求基本理论可靠、论述准确、信息量大，尽可能包括微生物生理学的最新进展和研究成果。在不影响完整性的前提下，对与其他学科间重复或交叉的内容做了合理简化。由于微生物生理学是一门涉及领域广、尚在发展之中的学科，加之该书内容多，工作量大，而编著者自身的学术、技术水平和经验有限，书中难免有疏漏与不足之处，我们真诚希望有关专家、学者和读者不吝赐教，提出宝贵意见与建议。

本书由杨生玉、王刚、沈永红任主编。各章分别由下列人员编写：第一章 杨生玉、王刚，第二章 卫军，第三章、第四章和第五章 沈永红，第六章第一节～第六节、第十节和第七章第四节 王刚，第六章第七节～第九节 陈双喜，第七章第一节～第三节和第八章 杨生玉，第九章 于成德，第十章 王淼，第十一章 孙新城。全书由河南大学生命科学学院杨生玉教授统稿，并由河南省科学院生物研究所刘仲敏教授主审。

本书在编著和出版过程中，得到了河南大学、郑州轻工业学院、河南省科学院生物研究所等单位的支持，在此表示衷心感谢。

编 者

于河南大学明伦园

2007 年 2 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 微生物生理学研究对象与范围	1
一、研究对象	1
二、研究范围	2
第二节 微生物生理学研究常用的技术与方法	2
第三节 微生物生理学的发展和展望	4
一、微生物生理学的发展	4
二、21 世纪微生物生理学的展望	6
主要参考文献	9
第二章 微生物细胞的结构和功能	10
第一节 原核微生物	10
一、细胞壁	11
二、细胞质膜和间体	17
三、细胞质和内含物	19
四、核区	28
五、细胞壁以外的构造	28
第二节 真核微生物	33
一、细胞壁	33
二、鞭毛与纤毛	34
三、细胞质膜	35
四、细胞核	35
五、细胞质和细胞器	36
第三节 原核微生物与真核微生物的比较	41
一、一般特性的比较	42
二、古生菌、真细菌与真核微生物的比较	43
主要参考文献	44
第三章 微生物的营养与物质运输	45
第一节 微生物的营养	45
一、微生物细胞的化学组成	45
二、微生物的营养类型	46
三、微生物的营养要素	47
第二节 微生物营养物质的运输	53
一、单纯扩散	53
二、促进扩散	53
三、主动运输	54
四、基团转移	56
五、膜泡运输	57
第三节 营养物质运输的调节	58
一、营养物质本身的性质	58
二、环境条件	58
三、载体物质生物合成调节	58
四、载体物质生理活性调节	59
第四节 代谢产物的分泌	60
一、氨基酸的分泌	60
二、核苷酸的分泌	61
三、胞外酶的分泌	61
主要参考文献	62
第四章 异养微生物的生物氧化	63
第一节 代谢概论	63
一、代谢类型	63
二、微生物代谢的研究方法	64
三、生物能学原理	66
第二节 葡萄糖酵解途径	69
一、EMP 途径	69
二、HMP 途径	70
三、ED 途径	71
四、WD 途径	72
五、葡萄糖直接氧化途径	74
第三节 发酵作用	74
一、发酵平衡	75
二、乙醇发酵和甘油发酵	75
三、乳酸发酵	76

四、丙酸发酵	77	三、核酸的分解	90
五、丁酸发酵与丙酮-丁醇发酵	77	第七节 其他单糖物质的分解	91
六、混合酸发酵与丁二醇发酵	78	一、果糖的分解	91
第四节 呼吸作用	80	二、甘露糖的分解	91
一、有氧呼吸	81	三、半乳糖的分解	92
二、无氧呼吸	84	四、戊糖的分解	92
第五节 能量产生	85	第八节 其他化合物的生物氧化	92
一、底物水平磷酸化	85	一、含氮化合物的分解	92
二、氧化磷酸化	86	二、脂类物质的分解	96
三、光合磷酸化	87	三、烃类化合物的分解	100
第六节 生物大分子的降解	87	四、芳香族化合物的分解	101
一、多糖和二糖的分解	88	五、聚 β -羟基丁酸的分解	101
二、蛋白质的分解	90	主要参考文献	103

第五章 自养微生物的生物氧化

第一节 化能自养微生物的生物氧化	105	五、嗜盐细菌的光能转换	111
一、氨的氧化	105	第三节 甲基营养型细菌的生物氧化	112
二、硫的氧化	106	一、甲基营养型细菌	112
三、铁的氧化	107	二、一碳化合物的氧化	113
四、氢的氧化	107	第四节 产甲烷细菌的生物氧化	114
第二节 光合微生物的光能转换	108	一、产甲烷细菌的特征	114
一、光能无机营养微生物	109	二、产甲烷细菌的生物氧化和甲烷的 形成	114
二、光合色素	109	主要参考文献	115
三、光合单位	110		
四、光合磷酸化	110		

第六章 微生物的合成代谢

第一节 生物合成三要素与合成代谢的 一般原则	116	二、固氮的生化机制	138
一、生物合成三要素	116	三、固氮作用的调节	141
二、合成代谢的特点	117	四、防氧保护机制	142
第二节 二氧化碳的固定	117	五、固氮酶的检测	142
一、自养型微生物 CO_2 的固定	117	六、共生固氮作用	144
二、异养型微生物 CO_2 的固定	120	第七节 氨基酸的生物合成	146
第三节 二碳化合物的同化	122	一、谷氨酸族氨基酸的合成	146
一、乙醛酸循环	122	二、天冬氨酸族氨基酸的合成	148
二、甘油酸途径	122	三、丙酮酸衍生类型氨基酸的生物合成	152
第四节 糖类的合成	123	四、丝氨酸-甘氨酸族氨基酸的合成	153
一、单糖的合成	123	五、芳香族氨基酸的合成	154
二、糖核苷酸的合成及相互转化	125	六、组氨酸的生物合成	154
三、多糖的合成	125	第八节 核苷酸的生物合成	156
第五节 脂类的合成	132	一、嘌呤核苷酸的生物合成	156
一、脂肪酸的合成	132	二、嘧啶核苷酸的生物合成	158
二、磷脂的合成	135	三、脱氧核糖核苷酸的合成	160
三、萜烯及其有关化合物的合成	136	四、辅酶核苷酸的生物合成	161
第六节 生物固氮	137	第九节 核酸的合成	161
一、固氮微生物和固氮体系	137	一、DNA 的合成	162
		二、RNA 的合成	164

三、核酸合成的抑制剂	165	二、转运 RNA	168
第十节 蛋白质的合成	167	三、蛋白质的合成过程	169
一、信使 RNA	167	主要参考文献	172
第七章 微生物代谢调节	174		
第一节 代谢调节的部位	175	二、酶合成的阻遏	186
一、细胞（及细胞器）膜	175	三、酶的诱导和阻遏的调节方式	188
二、酶本身	176	四、酶合成调节的分子机制	191
三、酶与底物的相对位置及间隔状况 （代谢通道）	176	五、反馈抑制与反馈阻遏比较	197
第二节 酶活性的调节	176	第四节 代谢调控	198
一、激活和抑制	177	一、产能代谢的调节：能荷调节	198
二、酶活性调节的方式	178	二、细胞渗透性调控	199
三、酶活性调节的分子机制	181	三、菌种遗传特性的改变	200
第三节 酶合成的调节	185	四、发酵工艺条件的控制	204
一、酶合成的诱导	185	主要参考文献	205
第八章 微生物的次级代谢及其调节	206		
第一节 次级代谢与次级代谢产物	206	三、氮代谢物的调节	228
一、次级代谢产物类型	206	四、磷酸盐的调节	229
二、次级代谢的特点	208	五、ATP 调节	229
三、次级代谢的生理功能	210	六、酶的诱导调节	230
第二节 次级代谢产物的生物合成	212	七、反馈调节	230
一、次级代谢产物的生源	212	八、细胞膜通透性调节	231
二、次级代谢产物生物合成的基本过程	217	九、金属离子和溶解氧的调节	232
第三节 次级代谢的调节控制	227	十、微生物生长速率的调节	232
一、初级代谢对次级代谢的调节	227	主要参考文献	232
二、碳代谢物的调节	227		
第九章 微生物的生长繁殖与环境	234		
第一节 单细胞微生物的生长	234	三、补料分批培养	254
一、细菌个体的生长	234	四、同步分裂培养	254
二、细菌群体的生长	236	第五节 环境因素对微生物生长的影响	256
三、酵母菌的生长	238	一、影响微生物生长的环境因素	256
第二节 丝状真菌和放线菌的生长	240	二、微生物生长繁殖的控制	261
一、丝状真菌的生长	240	第六节 微生物对环境的反应	269
二、放线菌的生长	243	一、微生物的趋向性与运动	269
第三节 微生物的生长曲线和生长的测定	244	二、微生物抗高温的方式	270
一、微生物的生长曲线	244	三、微生物对极端 pH 的抗性	272
二、微生物生长的测定	248	四、微生物的抗药性	273
第四节 微生物生长动力学	249	五、微生物对重金属离子的抗性	274
一、分批培养	249	六、微生物的渗透调节	275
二、连续培养	250	主要参考文献	275
第十章 微生物的分化	276		
第一节 细菌芽孢的形成	277	二、芽孢的结构	278
一、枯草芽孢杆菌的生活周期	277	三、芽孢的形成过程及遗传控制	279

第二节 黏细菌的分化	285	二、柄细菌细胞结构的发育	289
一、黏细菌的生活周期	285	三、柄细菌分化的遗传控制	289
二、营养体的生长	286	第四节 酵母菌的生长与分化	290
三、细胞聚集	286	一、芽殖为主的无性繁殖	290
四、子实体形成	287	二、酵母菌子囊孢子的形成	290
第三节 柄细菌的分化	288	主要参考文献	293
一、新月柄细菌的生活周期	288		
 第十一章 基因组时代的微生物生理学	294		
第一节 基因组学和蛋白质组学工具	294	一、突变筛选技术	301
一、基因组的克隆	294	二、荧光标定细胞分离技术	302
二、DNA 序列测定	294	三、报告基因	302
三、网络科学：DNA 序列分析的互联网 工具	296	四、聚合酶链反应	303
四、基因置换	298	五、凝胶迁移率及超迁移率实验	303
五、基因芯片	298	六、分子印迹检测技术	305
六、蛋白质组学	299	七、双杂交分析	306
第二节 传统研究工具	301	主要参考文献	308

第一章 绪 论

第一节 微生物生理学研究对象与范围

一、研究对象

微生物生理学 (microbial physiology) 的研究对象是各类微生物。它是微生物学的一个重要分支,是从生理生化的角度研究微生物细胞的形态结构和功能、新陈代谢、生长繁殖等微生物生命活动规律的学科。微生物生理学诞生于 19 世纪中后期,伴随着微生物学的发展而发展,其奠基人是法国的巴斯德和德国的科赫。20 世纪获得全面发展,特别是 20 世纪 40 年代以后微生物生理学促进了整个生命科学的发展。

细胞是微生物个体的基本结构单位。对微生物细胞的细胞壁、细胞膜、细胞核以及某些细胞器等结构的深入研究,不仅揭示了原核生物和真核生物、革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌,以及各种微生物之间的细胞结构和功能上的重要差异,同时也为药物筛选、发酵工业条件控制、菌种改良等方面提供了理论依据。

新陈代谢是生物体与周围环境进行物质交换的过程,是宇宙间普遍的不可抵抗的规律。新陈代谢包括分解代谢和合成代谢。分解代谢(异化作用)指的是由复杂的营养物质分解成简单化合物的过程,它为细胞的合成代谢提供中间代谢物,为细胞的生命活动和代谢活动提供能量,不同的微生物、不同的环境条件可引起不同的分解途径,产生不同的代谢产物,这种现象在理论研究和工业发酵实践上有着重要意义。合成代谢(同化作用)是指将简单化合物合成复杂的生物大分子物质的过程,这些简单化合物可以由分解代谢提供或由环境提供,这些生物大分子可以是细胞结构性大分子如细胞组分、细胞器等,或者是功能性大分子如多糖、酶等。同样,在不同条件下,不同微生物可进行不同的合成途径,产生不同的合成产物。

新陈代谢是在酶催化下有序进行的生化反应,它的突出特点是具有灵敏的自动调节性能,对于环境给予的信号能在细胞各种结构的协助下迅速做出反应。代谢调节控制酶的生物合成数量及酶的催化反应速度,前者称反馈阻遏,后者为反馈抑制。通过调节可保证生命活动的有序性、生物对环境的适应性,保证体内一系列复杂代谢途径中数以千计的生物化学反应以精确的方式进行,“令行禁止”既保证了维持正常生命活动所需物质的合成,又避免了浪费能量及原材料于合成多余的产物。微生物代谢调节机理的研究已为人类控制和利用微生物代谢活动以及研究现代发酵工业提供了理论依据。

生长繁殖是生物体的重要生理功能,可分为个体生长和群体生长。微生物通过新陈代谢将外界营养物质转化为自身细胞物质,使个体长大或菌丝体延长,质量增加,并进行必需的细胞结构的复制和细胞分裂的过程称为个体生长。微生物通过细胞分裂、孢子萌发或菌丝断裂等方式使群体数目增加,称群体生长。生长的重要条件是由适宜的环境不断提供营养,使细胞在新陈代谢中同化作用的速度超过异化作用,从而原生质总量增加,实现生长。

微生物生理学既是基础理论科学,又是应用科学。研究微生物的结构、生命活动规律等

大大丰富了现代生物化学及分子生物学的概念，对生物科学的基本理论研究做出了重要贡献。而正是这些理论与实践的结合导致了现代工业发酵的迅猛发展，从而使得生物工程成为第三次工业革命的前沿技术之一。

二、研究范围

1. 研究微生物细胞的重建方式与一般规律

研究微生物细胞的重建方式与一般规律即研究微生物的蛋白质、核酸与多糖等生物大分子合成，这些生物大分子如何建成新细胞结构以及产生新的生命个体的方式、特点与规律，包括营养物质及其吸收、能量的产生与消耗、各个生理活动的互相调节以及完成各种生理活动的细胞结构与其功能等。通过研究这些内容逐步阐明生命起源的基本理论问题。

2. 研究微生物与周围环境之间的关系

通过研究微生物在适宜环境、不适宜环境、有害环境条件下其生长、繁殖、形态发生与细胞分化的特点和规律，从而可以有效地对微生物进行控制，同时从另一个角度来阐述生命的本质。

3. 研究微生物生理活动与人类的关系

微生物的生理活动与人类的关系极为密切，几乎涉及人们日常生活的各个方面以及国民经济的诸多方面。

第二节 微生物生理研究中常用的技术与方法

近代生物学研究技术的发展对于微生物生理学的发展起到了根本性的作用。飞速发展的**电子显微镜技术**对于阐明细胞的结构和功能之间的关系起着决定性作用。当采用匀浆化及分级提取的方法研究细胞组成时，由于不同细胞的结构已经被严重破坏，无法确定结构与组分之间的关系。而应用现代电子显微镜技术即可免除上述人工损伤，在数分钟内就完成对细胞及其周围的半液态内含物的固定，使细胞器及其所附的大分子一如活时那样如实地保存下来，从而可以对细胞在接近于自然结构的情况下进行研究，为人们认识细胞的超显微结构及其功能，探讨生物微观世界提供了可能。同时，**DNA 分子铺展技术**的发现给电子显微镜应用于分子生物学研究开辟了方向，使长链 DNA 分子铺展于变性蛋白质单分子薄层上，用重金属真空喷涂，旋转投影，就可检查细菌、噬菌体的染色体结构，还可进行动态跟踪，观察到制备瞬间由噬菌体中释放出来的 DNA。

超离心技术是纯化生物大分子及亚细胞部分的最有用技术之一。如差速离心通过逐级提高离心速度（离心场强度），可以分离沉降速度差别在一个或几个数量级的颗粒。再如密度梯度离心是通过介质的密度梯度来维持重力的稳定性，抑制对流，使比介质重的颗粒向下移动，而轻的向上漂浮，直至处于密度相同的区带内停止，形成沿密度梯度的不同密度颗粒的区带分离，可用于沉降速度差别较小的颗粒的分离。密度梯度离心常用的介质有蔗糖（或甘油、Ficoll）、重金属盐。将蔗糖先制成特定密度范围的不连续密度梯度或连续密度梯度，处于离心管上部的样品经离心后进入各自相同密度的区带中而分开。重金属盐如氯化铯可制成与样品分子密度相近的均一溶液，经较长时间离心后，盐分子在离心场中自行形成梯度，样品分子则呈区带分开，这种离心也称平衡密度梯度离心。

光谱技术用于研究化合物的结构和反应已有数十年的历史，由于一般情况下它不会损伤所研究的分子且易于精确化和自动化，因此对生物化学研究更为适宜。采用特殊的方法可以在纯度较低的系统中检测和分析含量极低的组分。可见光分光光度法可用于生物组分如蛋白质、肽、氨基酸、磷、糖类、核糖核酸、类固醇等的测定。紫外分光光度法用于 DNA 和蛋白质的扫描、定量及在线检测等。荧光光谱用于酶、蛋白质构象变化动力学研究、常规定量

分析等。红外分光光度法及拉曼光谱可由偶极矩变化和极性变化的原子振动研究中等大小分子的定性指数。原子吸收分光光度法和火焰分光光度法常用于金属元素。电子自旋共振波谱研究酶、自由基在环境中的变化。核磁共振波谱用于分子质量小于 20000u ^① 的有机分子结构的研究。质谱用于微量物质 ($10^{-9}\sim 10^{-6}\text{g}$) 的定性及快速测定肽的一级结构等。

同位素技术在生物化学研究中常用于示踪代谢途径。在微生物培养环境中加入一种放射性物质,在不同时间取样,经提取、分离后定位放射性,从而得出有关代谢途径的重要资料,由此研究同化或异化过程,研究营养物质的吸收和转移的机制、途径以及最终积累部位,研究特殊化合物的代谢周转期。在酶催化反应中,利用同位素标记的底物可研究酶作用部位及其作用机制等,并用于分子生物学的 DNA 顺序分析和基因探针。同位素技术中常用的测定方法有闪烁计数、放射自显影等。

层析技术是一种从混合物中分离纯化一种或几种化合物的方法。在生物化学上常利用的层析方法有吸附层析、离子交换层析、分配层析(如纸层析)、气液层析、通透层析(如凝胶过滤)、亲和层析、膜分离技术、高压液相色谱等,这些方法分别根据被分离物质的荷电情况、分子大小、在不同溶剂中的分配系数、与固定相的吸附或溶入情况及特殊的亲和关系等分开不同的化合物。

电泳技术也是根据生物分子具有可电离基团,在溶液中能形成离子,不同分子由于荷电量的不同、分子大小的不同,因而荷质比不同,在电场中迁移状况不同而分离。利用某种物质掩盖生物分子原来所带电荷的区别,则其电泳迁移状况只与分子大小有关,故而可用于测定此物质的分子量(即 SDS-PAGE)。在 pH 梯度的介质中进行电泳分离时,各种生物分子移向与其等电点相一致的 pH 位置,由于在此位置分子不再呈现电性,从而不再在电场中泳动,由此可测定等电点及分离等电点不同的物质(即等电聚焦)。

其他技术,如电位、电势、极谱技术,测压技术、超声破碎、染色技术等也广泛应用于微生物生理学研究。这些技术使微生物生理学的研究水平逐步深入,由细胞到亚细胞水平、分子水平,由宏观的生长到能量代谢、物质代谢以及代谢调节机制的研究。随着量子力学的发展,科学家们正把生物学研究推向更高的水平——电子水平。量子力学创始人 Schrödinger 的名著《生命是什么》(*What is life*) 为物理学和生物学的结合,为微生物生理学的发展架起了桥梁,从电子结构来研究核酸组成及活性、蛋白质的性质、酶和底物的作用、酶与辅酶的作用、酶催化反应的特点、药物作用、变异等,这必将从新的高度推动微生物生理学的发展。

微生物生理活动的研究主要从以下几方面开展。

1. 生物化学方面

① 研究微生物初级代谢的调节、次级代谢产物合成途径与次级代谢的调节、能量转换的基础等。

② 研究一些特殊类型微生物的生理活动,如纤维素分解菌、产甲烷细菌、石油分解菌、有机农药分解菌、单细胞蛋白产生菌等人工合成大分子物质的分解菌、共生菌、寄生菌等。

2. 研究生物大分子结构与功能

以微生物的核酸与蛋白质生物大分子为例,研究:

① 阐明微生物遗传信息传递与表达的方式和规律,研究膜结构与功能;

② 继续发现与研究新的细胞结构与功能;

③ 研究极端环境条件下微生物抗性与敏感性的机理及其调节,从分子水平上阐明生命的本质。

① $1\text{u}=1.66054\times 10^{-27}\text{kg}$ 。

3. 研究微生物细胞的重建、形态发生、分化过程与趋向性

① 重点是研究微生物组建成一个完整的有生物活性细胞结构的过程。

② 研究微生物形态发生与分化的分子机理。

③ 研究微生物的趋向性（趋化性、趋光性、趋磁性等）与运动的本质和生命与环境之间的本质联系等。

第三节 微生物生理学的发展和展望

一、微生物生理学的发展

关于微生物生理现象的初步知识是在人类与疾病做斗争和利用微生物酿造各种食品、改良土壤以及控制微生物腐败的过程中逐步积累起来的，这个过程可以追溯到公元前数千年，但由于当时科学水平有限，这些知识只能是经验性的。

长期以来，世界各地的人民在生产实践中累积了许多利用有益微生物和防治有害微生物的经验，例如发面、天然果酒和啤酒的酿造，牛乳和乳制品的发酵，以及利用霉菌来治疗一些疾病等。在当时应用水平较高并独树一帜的应首推我国人民在制曲、酿酒方面的伟大创造。

我国人民在距今约 8000 年至 4500 年间，就发明了制曲酿酒工艺，在 2500 年前的春秋战国时期已知制酱和制醋。在宋代，已采用老的曲子——“曲母”来进行接种，还根据红曲菌有喜酸和喜温的生长习性，利用酸大米和明矾水在较高温度下培养，以制造优良的红曲。在 900 年前，人们利用自养细菌生命活动的胆水浸铜法（类似于今日的细菌沥滤）已正式用于生产铜。在 2000 年前，人们已发现豆科植物的根瘤有增产作用，并采用积肥、沤粪、压青和轮作等农业措施，来利用和控制有益微生物的生命活动，从而提高作物产量。在医药方面，我们的祖先早在 2500 年前就知道利用麦曲治疗腹病，另外，在对传染病及其流行规律的认识，对消毒、灭菌措施的利用等方面都有过一定的贡献。此外，在宋代还创造过“以毒攻毒”的免疫方法，发明用种人痘来预防天花，这要比英国人琴纳（E. Jenner）在 1796 年发明种牛痘预防天花早半个多世纪。

19 世纪中后期，微生物生理学伴随着微生物学的发展而开始了卓有成效的发展，举例如下。

- 1840 年，库津（Akutzing）发现酒变质是由一种生物引起的。

- 1857 年，路易斯·巴斯德（Louis Pasteur）用加热杀死培养基中生物的方法，证明发酵过程的本质是由微生物引起的化学过程；另外，实验结果也证明酒变质是由其他生物引起的；含糖培养基中一种生物可以引起乳酸发酵，另一种生物可引起酒精发酵，从而认为“在化学上不同的发酵是由生理上不同的生物所引起”，它使微生物学的研究进入了一个新的时期——微生物生理学时期，奠定了微生物生理学的科学基础。

- 1861 年，巴斯德又发现酪酸发酵可以分为由糖变成乳酸和由乳酸变成酪酸两个阶段，这两个阶段都由生物完成，并且还分离到了乳酸菌；巴斯德在研究乙酸发酵与丁酸发酵时，还发现在厌氧时可生成丁酸，从而把发酵分成有氧发酵与兼性发酵两种类型。

- 科赫（Robert Koch）是与巴斯德同时代的一位德国乡村医生。他首先证明动物炭疽病的病原是细菌，并发明了分离和培养纯菌的方法。他提出的著名的证病律（即 Koch's hypothesis），至今仍指导着动物病原、植物病原的确定。

- 1866 年，沃罗宁（Woronin）发现豆科植物根瘤中有细菌。

- 1888 年，贝杰林克（Beijerinck）从根瘤中分离出根瘤细菌。自巴斯德和科赫奠定了微生物生理学后，进一步的发展应归功于荷兰的微生物学家贝杰林克和俄国的微生物学家维

诺格拉德斯基 (Виноградский)。维诺格拉德斯基的主要贡献是发现了微生物的自养生活, 在他研究硫细菌的过程中, 证明这类细菌能氧化 H_2S 获得能量并可利用 CO_2 作为碳源而生长, 这种化能无机营养型的细菌生活方式, 既不同于光能无机营养的植物的代谢类型, 也不同于化能有机营养的微生物和动物的代谢类型。其后他又研究了铁细菌和硝化细菌, 再次揭示和确定了这类自养细菌的特性。贝杰林克利用加富培养的方法, 首先自土壤中分离出能固定空气中氮素的好氧固氮菌 (azotobacter) 和蓝细菌 (cyanobacteria)。其后, 他又成功地自豆科植物根瘤中分离出根瘤菌。贝杰林克和维诺格拉德斯基的开创性的工作, 不仅推动了微生物生理学的发展, 也为土壤微生物学奠定了基础。

- 1894 年, 维诺格拉德斯基分离出能固氮的巴氏梭菌。

- 1897 年, 巴克纳 (Eduar Büchner) 用石英砂与硅藻土研磨酵母菌细胞, 再用这种新鲜的酵母滤液进行发酵, 可以完成糖发酵到乙醇, 证实了酵母菌酒精发酵是酶的催化作用, 将发酵生理和生物化学紧密联系起来, 相互促进, 推动了微生物生理学研究 and 发酵工业的发展, 这样将发酵过程的研究工作深入到非细胞水平, 为酶学发展打下了基础。这是微生物生理学发展的一个重要转折点, 从此微生物生理学的研究进入到分子水平, 并诞生了生物化学。此后, 这两个学科紧密结合, 共同发展。自 1900~1960 年间, 许多重要的代谢途径都是首先利用微生物作为研究对象而被阐明, 然后在高等生物中得到证实。

- 1929 年, 弗莱明 (Fleming) 发现青霉素。

- 1931 年, 凡尼尔 (Van Niel) 发现细菌光合作用的机制。

- 20 世纪开始, 微生物学研究进入微生物基本生理机制特别是代谢作用的研究阶段, 在 Cohn、Виноградский、Beijerinck、Kluyer、Stepheson 和其他科学家的研究工作和科研思想推动下, 微生物学和生物化学的联系愈来愈密切, 生物化学上的许多基本机制的发现, 如酵母酒化酶的分离 (Büchner, 1897)、有机辅酶的分离 (Harden 和 Young, 1904)、磷脂化作用 (Harden 和 Young, 1905; Lohman, 1929; Lipmann, 1941; Meyerhof, 1944 等)、生物氧化的脱氢作用 (Weiland, 1913)、活化氧分子的生物氧化作用 (Warburg, 1920)、细胞色素 (Keilin, 1925)、高能键 (Lipmann, 1941) 等的报道均促进了微生物生理学的发展。

- 20 世纪 40 年代, 随着生物学的发展, 许多难以解决的理论和技术问题显得十分突出, 特别是遗传学上的争论问题, 使得微生物这样一种简单而又具完整生命活动的小生物成了生物学研究的“明星”, 微生物生理学很快与生物学主流汇合, 并被推到了整个生命科学发展的前沿, 获得了迅速的发展, 在生命科学的发展中做出了贡献。使微生物生理学从物质和能量的转化以及各种代谢途径的研究转向代谢调控的研究, 并进一步将微生物生理学、生物化学和遗传学结合在一起, 形成了分子生物学。

其中一些重要的研究成果有: 1952 年 N. Zinder 等描述了沙门氏菌的转导作用; 1953 年 Watson 和 Crick 提出 DNA 由嘌呤和嘧啶间的氢键联结的两个螺旋缠绕的链构成的模型; 1955 年 Benzer 研究出大肠杆菌噬菌体 T_4 遗传物质的精细结构; 1957 年 Taylor 等使用氘化胸腺嘧啶做高分辨率放射自显影, 以研究染色体复制机理; 1958 年 Crick 发现 tRNA; 1961 年, Jacob 和 Monod 提出操纵子学说; 1966 年 Gast 和 Yanofsky 确定大肠杆菌遗传图的阅读方向; 1967 年 Goulian 等体外合成生物活性 DNA 成功; 1965 年 Hayes 鉴定第一个质粒 *E. coli* F 因子; 1970 年 Khorana 报道酵母丙氨酸 tRNA 基因全合成, H. Smith 等从流感嗜血菌 Rd 提取液中分离纯化一种限制性内切酶; 1973 年 Cohen 粘接两种不同性状的质粒成功, 并转移到 *E. coli* 细胞中, 杂种质粒能自我复制, 表达两亲本质粒的遗传信息, 这是遗传工程实验的首次成功; 1975 年 Ames 试验法建立; 1975 年 G. Köhler 和 C. Milstein 建立淋巴细胞杂交瘤技术, 用以产生单克隆抗体, 引起免疫学的革命, F. Sanger 建立 DNA 顺序

快速分析法, Southern 确立 DNA 转移技术; 1976 年 Fodor 和 Schaeffer 用聚乙二醇 (PEG) 诱导细菌原生质体融合成功; 1978 年 K. Itakura 用大肠杆菌工程菌生产人胰岛素 A、B 链成功; 1982 年 Okayama 建立高效克隆全长双链 cDNA 的方法等。这些成果同样也与生物化学实验技术的发展有密切联系。

在 20 世纪 40 年代后, 微生物生理学的应用也获得了重大进展。这一时期的起始标志是青霉素的工业开发获得成功, 因为它带动了一批微生物次级代谢物 and 新的初级代谢物产品的开发, 并激发了原有生物技术产业的技术改造。1956 年以谷氨酸发酵成功为标志, 通过代谢控制发酵的建立 (即微生物代谢途径的研究和利用), 使发酵工业真正进入了生机勃勃的发展时期。目前抗生素的生产已成为现代化高新技术生产项目之一; 微生物酶制剂已广泛应用于工、农、医各方面; 微生物的其他代谢产物, 如有机酸、氨基酸、维生素、核苷酸等, 都可利用微生物进行大量生产。利用微生物的动力已引发了一项新兴的发酵工业, 并逐步朝着人为有效控制的方面发展。80 年代初, 在基因工程的带动下, 传统的微生物发酵工业已从多方面发生了质的变化, 成为现代生物技术的重要组成部分。

正如前面几节中所表述的, 微生物学已深刻地影响着社会, 它的将来又怎样呢? 科普作家 Bernard Dixon 凭借两种理由对微生物学的将来非常乐观, 第一, 微生物学比许多其他学科有更清楚的使命; 第二, 由于它重要的实用性, 对于它的价值满怀信心。Dixon 指出: 微生物学对于人类面临的新发和复发的传染病威胁以及发展高效而不破坏环境的工业技术都是必需的。

二、21 世纪微生物生理学的展望

20 世纪的微生物生理学走过了辉煌的历程, 重要性的象征之一是在诺贝尔生理医学奖获得者中约 1/3 是关于微生物学或微生物生理学问题研究的科学家。面对 21 世纪展望微生物生理学的未来, 哪些是最有前途的领域? 微生物生理学家们面对的是怎样的挑战? 下面将简单勾勒一下 21 世纪微生物生理学发展的趋势。

1. 微生物生理学的基础研究继续得到加强

(1) 微生物生命现象的特性和共性将更加受到重视 由于微生物相对简单, 所以它是研究生物学中各种基础性问题的极好材料。例如, 复杂细胞结构是如何发育的, 细胞相互之间如何通讯, 又如何应答环境? 这使得微生物生命现象的特性和共性将更加受到重视。

① 微生物具有其他生物不具备的生物学特性——例如可在其他生物无法生存的极端环境下生存和繁殖, 具有其他生物不具备的代谢途径和功能, 如化能营养、厌氧生活、生物固氮和不释放氧的光合作用等, 反映了微生物极其丰富的多样性。

② 微生物具有其他生物共有的基本生物学特性——生长、繁殖、代谢、共用一套遗传密码等, 甚至其基因组上含有与高等生物同源的基因, 充分反映了生物高度的统一性。

③ 易操作性——微生物具有个体小、结构简单、生长周期短、易大量培养、易变异、重复性强等优势, 十分易于操作。

(2) 微生物基因组学研究将全面展开 所谓“基因组学”1986 年由 Thomas Roderick 首创, 至今已发展为一专门的学科领域, 包括全基因组的序列分析、功能分析和比较分析, 是结构、功能和进化基因组学交织的学科。

许多微生物的基因组已被测序, 在今后几年内, 将会有更多的基因组序列被测定。这些序列对于了解基因组与细胞结构是怎样的关系, 以及什么是生命存在所必需的最低限度基因组合提供了重要信息。基因组及其功能的分析将伴随生物信息学领域和应用计算机研究生物学问题等领域的发展而迅速发展。目前已经完成基因组测序的微生物主要是模式微生物、特殊微生物及医用微生物。随着基因组作图测序方法的不断进步与完善, 基因组研究将成为一种常规的研究方法, 从而使微生物生理学的发展产生质的飞跃, 并将带动分子微生物学等基

基础研究学科的发展。

2. 继续从微生物代谢产物中发现新的化合物、新的具有特殊功能的生物催化剂

据估计,已经培养的微生物种群还不到地球上的1%。因此,我们必须研究开发新的分离技术和新的筛选方法,继续从微生物代谢产物中发现新的化合物、新的具有特殊功能的生物催化剂。对于已经发现并分离的微生物,要采用新的筛选方法以发现新化合物;更重要的是要不断地寻找新的、生活在特殊环境(如高温、低温、特殊pH及离子强度、特殊有机物和深海)中以及在实验室中不能培养的微生物。从这些新的微生物中往往能够发现新的代谢产物和代谢途径,发现的极端微生物还将可能引导工业制造更加进步和增强环境控制。

遗传学和分子生物学等领域的最新研究成果在工业微生物中的应用,可大大增加新的微生物代谢产物和代谢途径的种类,如提高传统发酵产物的产量或生产新的基因工程产品。从目前的进展来看,以基因重组技术为代表的包括代谢工程及蛋白质工程在内的方法在工业微生物菌种选育中有着良好的应用前景。但是,基因工程菌在多级扩大培养中遗传性能的稳定性问题尚未得到解决,因此,许多工业上有重要价值的发酵产品仍不能采用基因工程菌生产。这有必要进一步完善和开发各种受体-载体系统,进一步开展基因结构与功能的研究,特别是高产基因的结构、克隆、表达和调控机理的研究;研究重组微生物的生理学;研究提高基因工程菌在传代过程中的遗传稳定性的机理和方法;进一步研究基因表达产物的积累、分离纯化和后加工的技术。

3. 与其他学科实现更广泛的交叉

微生物生理学既是一门基础学科又是一门应用性很强的学科,它的发展与其他学科有着密切关系,既有赖于微生物学、生物化学等基础科学的研究进展,同时也为基础学科的发展提供了动力和应用验证的场所。与工程学科,如化学工程、控制工程和设备制造工程之间也存在着互相依赖、互相促进的关系。随着各学科的迅速发展和人类社会的实际需要,各学科之间的交叉和渗透将是必然的发展趋势。过去的历史(如青霉素发酵的工业化)已经充分证明了这种重要性,今后的发展更离不开学科间的交叉和合作。随着计算机技术的普及和发展,计算机在发酵过程控制方面得到了初步的应用,并取得了良好的效果。计算机控制包括各种参数的自动检测和监控,数据储存和分析,各种间接参数的估算和控制,各种发酵的数学模型的建立,过程的最优化控制等工作。

4. 在解决人类所面临的许多重大问题中,微生物生理学将发挥重要作用

(1) 医药和健康 随着社会物质文明和精神文明水平的不断进步,人们对健康的要求也越来越高,对与健康有密切关系的医药和保健品就提出了更高的要求。目前,对人类健康威胁极大的癌症、艾滋病等的治疗用药物的研究和开发已经取得了不少进展,但是至今还缺乏对症治疗的特效药;对于给人类带来许多痛苦的常见病、多发病,如心血管系统疾病、消化系统疾病、呼吸系统疾病、老年痴呆症及肥胖等,人们迫切需要有更好疗效的药物;对于那些特殊的疾病,如遗传病,希望能够有可靠的诊断和治疗方法;同时人们出于对健康长寿的考虑,也希望能出现更多的免疫调节剂和保健品。如今,抗生素、维生素、激素这三大类药物几乎都是通过微生物发酵而生产的。近年来,其产量不断增加,品种也在不断扩大。人干扰素、胰岛素、生长激素、乙肝疫苗等大批新型药物已由基因工程菌发酵生产。此外,抗肿瘤、抗艾滋病等重要药物正在研制之中,微生物不但为新药的研究开发提供了巨大的新化合物资源,也为基因工程药物提供了最好的宿主细胞体系。随着人类基因组计划初步完成及对疾病致病机理认识的不断深入,针对各种致病关键酶的酶抑制剂、免疫调节剂及针对每个人不同病因的“个性化药物”等将有良好的应用前景;利用基因芯片进行疾病诊断也正向着实用化的方向发展。同时随着代谢工程和蛋白质工程的研究进展及在抗生素、蛋白质及其他生物活性物质发酵工业中的应用,微生物制药工业的生产水平将进一步提高,成本也将不断