



现代微生物技术丛书

微生物技术开发原理

曲音波 主编
林建强 肖敏 副主编

Principles



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

现代微生物技术丛书

微生物技术开发原理

曲音波 主编

林建强 肖敏 副主编



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物技术开发原理/曲音波主编. —北京: 化学工业出版社, 2005. 1

(现代微生物技术丛书)

ISBN 7-5025-6422-5

I. 微… II. 曲… III. 微生物-生物技术-技术开发 IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 007802 号

现代微生物技术丛书

微生物技术开发原理

曲音波 主编

林建强 肖敏 副主编

责任编辑: 孟嘉 周旭 邵桂林

责任校对: 陈静 李军

封面设计: 潘峰

*

化学工业出版社 出版发行

现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市前程装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 18 字数 324 千字

2005 年 3 月第 1 版 2005 年 3 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6422-5/Q·128

定 价: 35.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

《现代微生物技术丛书》编委会

编委会主任 曲音波

编委会成员 (以姓氏汉语拼音为序)

高培基	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
吉爱国	山东大学威海分校海洋生物工程系	教授
孔 健	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
李越中	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
曲音波	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
宋 欣	山东大学微生物技术国家重点实验室	副教授
汪天虹	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
肖 敏	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授
许 平	山东大学微生物技术国家重点实验室	教授

本书编写人员

主 编 曲音波

副 主 编 林建强 肖 敏

参编人员 曲音波 林建强 肖 敏 李建波

序

生命科学和生物技术是 21 世纪科学技术发展的前沿学科。微生物技术作为其中的主要分支,是生命科学和生物技术发展的重要基础和先导。特别是在解决 21 世纪人类面临的人口健康、资源紧缺、环境污染、粮食危机、生态破坏等严峻挑战方面,微生物技术具有无可替代的重要作用。

其中,资源和环境问题是人类在 21 世纪面临的最主要的挑战。生物质资源是可再生性资源,地球上每年光合作用的产物高达 1500 亿~2000 亿吨,是人类社会赖以生存的基本物质来源,其中 90% 以上为木质纤维素类物质。目前这部分资源尚未得到充分的开发利用。随着世界人口迅速增长和矿产资源日渐枯竭,开发高效转化木质纤维素类可再生资源的微生物技术,利用工农业废弃物等发酵生产人类急需的燃料、饲料及化工产品,具有极其重要的意义和发展前景。微生物技术除在生物质资源开发方面大有作为外,在难开采油气和矿产资源(如二次采油后的低产油井、低品位金属矿石和尾矿、海水中的重金属等)的开发、环境污染物(废水、废气和废渣)的治理、清洁生产工艺(全封闭、无排放、低能耗工艺)的研究、环境友好产品(生物可降解塑料、生物农药、生物肥料、氢能源等)的研制等方面都有非常巨大的潜力。我国在纤维素微生物降解、化能自养细菌、石油降解微生物的基础研究,以及生物可降解塑料、生物农药生产等方面都有相当的研究和开发应用基础。随着国家对资源、环境、生态等问题的日益重视,可持续发展战略已被提到与科教兴国战略并列的重要位置。微生物技术工作者对此责无旁贷,有必要投入更多的人力物力,开展关系国计民生与长远发展的战略性研究,同时培养和造就一大批优秀的微生物技术人才,为实现可持续发展做出应有的贡献。

微生物的应用研究对微生物菌株提出了众多的要求,单靠从自然界中筛选和对菌种随机诱变选育是难以实现上述目标的。研究和开发新的分子生物技术,有目的地改造乃至创造新的生物功能,是开发微生物应用新技术的必要前提。中国开展基因工程等现代分子生物技术研究已有二十余年的历史,在极端嗜酸化能自养菌——氧化硫硫杆菌的基因转移系统构建和抗砷浸矿用工程菌选育等方面取得过处于国际领先地位的研究成果。近年来,通过加强国际交流与合作,逐步开展了酵母菌和丝状真菌的分子生物技术研究,包括酿酒酵母木糖发酵代谢工程菌构建、丝状真菌高效表达载体构建、利用定向进化技术提高酶的比活力或改善酶学性质(如耐碱、低温下高活性)等的研究工作。今后的主要目标应是围绕生物质资源开发、环境污染治理等应用研究的需要,加强高效表达系统构建、代谢途径工程、蛋白质定向进化、高效

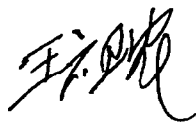
筛选系统建立等方面的研究，既为技术研究提供优良的工程菌株，又为微生物菌株的分子生物技术改造探索新方法新思路。

微生物技术的开发仅有优良的菌株还不够，还要研究如何使菌株的生产性能得以充分的发挥。传统的生物科学研究以观察描述为主，酒精发酵和酿造工业虽然早已进入规模化生产，但现代工业技术的应用还较少。20 世纪 40 年代以来，抗生素和氨基酸工业的崛起，使化学工程技术应用于微生物的大规模培养，促进了现代工业微生物技术的建立。而以基因克隆为代表的分子生物学技术的建立进一步促进了生命科学技术快速发展，并在生物制药规模化生产中的应用初现端倪。随着越来越多的生化工程工作者参与到微生物技术的开发研究中来，数量生理学、代谢网络控制理论、代谢流量分布分析、生物过程动力学模型构建、模糊控制和神经网络控制、新型生物反应器开发等研究都得到了飞跃发展。中国逐步建立起了自己的生化工程研究队伍。通过同微生物学专业研究人员的紧密配合，这支年轻的研究队伍已逐步成熟起来，研究活动十分活跃。今后该方向应侧重于开展代谢过程调控的研究，应用代谢流分布分析和代谢网络控制理论，开展代谢系统工程研究，在提高发酵产品的产率 and 生产速率的同时，努力探索代谢调控的一般规律，为其他发酵工艺的开发提供理论指导。

微生物的生理代谢机能多种多样，目前发酵工业中得到应用的仅是其中一小部分，特别是微生物的次生代谢产物还很少被利用。近年来，基因工程、细胞工程、生化工程等技术的迅猛发展，为人们创造生物新机能，开发发酵新菌种、新工艺、新产品提供了新的可能。绿色化学的兴起、可持续发展战略和循环型社会构建任务的提出，则使可再生性生物质（能）的转化和利用得到高度重视和广泛应用。

本套丛书包括《微生物技术开发原理》、《微生物分子育种原理与技术》、《资源环境微生物技术》、《药物微生物技术》、《微生物酶转化技术》、《农业微生物技术》6 个分册，均由在微生物技术国家重点实验室第一线的研究者撰写。丛书概括了上述发展背景，从理论与实践相结合的角度，侧重介绍最新的研究进展和可能的应用技术，通俗易懂，可为广大生物、化学化工、农业及环境资源各学科和行业的工程技术人员参考。

期望本丛书的出版能为推动我国微生物技术的研究开发和产业化做出微薄贡献。



2004 年 1 月

前 言

21 世纪人类面临资源紧缺、环境污染、粮食危机、生态破坏等一系列严峻的挑战,已经成为人类社会,特别是中国这样的发展中人口大国可持续发展的最主要瓶颈。微生物技术对我们克服和解决这些问题具有无可替代的重要作用。继医药生物技术和农业生物技术先后形成研究高潮之后,越来越多的研究者认为,以微生物技术为中心的工业生物技术、资源生物技术和环境生物技术目前发展最为迅速,正在酝酿重大的突破,逐步形成生物技术的第三次浪潮,将对人类经济社会发展产生巨大的引领和带动作用。发展战略生物高技术是解决资源环境问题、实现人与自然和谐发展的需要。国家正在这一战略高技术领域进行前瞻性布局,推动这一关系国民经济发展战略全局的高新技术更快成长。

随着世界人口迅速增长、石油等矿产资源日渐枯竭,开发高效转化木质纤维素类可再生资源的微生物技术,利用工农业废弃物等发酵生产人类急需的燃料、饲料及轻工、化工产品,推动未来经济体系的基础从面临枯竭的石油资源向可再生的生物质资源转化,构建可持续发展的循环型社会,具有极其重要的意义和光明的发展前景。生物质资源是地球上最重要的可再生性资源,每年光合作用的产物高达 1 500 亿~2 000 亿吨,是人类社会赖以生存的基本物质来源。其中,发展转化生物质资源为现代生物产品的高效生物加工业显得特别重要。正在制定中的国家中长期科技发展规划指出,发展资源生物技术,开发生物质能源/材料,对发展农村经济,推进农业工业化,转移农村富余劳动力,以及小城镇建设具有重要而现实的意义,有利于能源的多元化、保护环境、减缓能源紧张,以及可持续发展。到本世纪中叶,石油经济将在相当程度上为生物质(碳水化合物)经济所替代;经过半个多世纪已形成了成熟的烃类加工系统,生物质加工系统的建立也需要时间与努力;石油经济形成了一个经济平台,以微生物技术为主要技术支撑的碳水化合物经济也将以一个经济平台出现。

近年来,包括微生物技术在内的战略高技术及其产业发展已经成为国际竞争的焦点,正在促进世界科学技术日新月异地发展。而社会可持续发展对高技术的发展提出了新的需求,要求发展节材、节能、环境友好的高技术。微生物技术为解决资源和环境问题提供了新的选择,将为未来经济提供高效、安全、清洁的可持续发展之路。生物技术产业在未来 15 年左右将成为新的主导产业。微生物技术产业是 21 世纪的朝阳产业,前景十分广阔,微生物产品覆盖制药、农业、食品、化学、化妆品、环境、能源等许多方面,

具有巨大的商业价值和社会效益。而现代分子生物技术和发酵工程技术的发展和利用将使之成为现实。

要想利用微生物技术来解决上述难题，微生物菌株和微生物工艺技术必须满足众多的苛刻要求。许多工业、资源和环境微生物技术，如纤维素类物质发酵转化燃料酒精工艺，已有二三十年甚至更长的研究历史。美国等发达国家投入了数十亿美元和大量人力物力开展研发工作，但目前仍未能真正实现产业化。其重要的原因之一是，新的微生物技术面临石油化工等成熟工艺在经济上的严峻竞争。如何千方百计降低微生物工艺的生产成本，成为许多微生物工艺能否得以产业化发展的瓶颈。

首先，我们要继续从自然界中筛选微生物新菌种，特别是要注重极端环境微生物和未能培养微生物等新开发的领域，充分利用好微生物的极端多样性。同时，在继续开展微生物菌种随机诱变选育研究工作的基础上，要研究和发新的分子生物技术，特别是研究和利用最新的基因组学、蛋白质组学等系统生物学、生物信息学的知识，以及遗传工程等最新手段，加强代谢工程研究，有目的地改造乃至创造新的生物功能。另外，利用现代化学工程学和生物工程学的基本原理，改造和提高微生物工艺的调节控制水平，使微生物菌株的代谢潜力得以充分发挥，也是降低发酵工艺成本、实现新技术产业化的关键。这些都是战略微生物高技术创新和实用化的必要前提。

本书希望通过对微生物工艺技术开发基本原理的简单介绍，帮助微生物技术相关的大学生、研究生和科研开发工作者，系统了解和掌握有关的基本知识和最新的研究进展，推动微生物技术这一战略高新技术更快更好地发展，使之尽快发展成为新经济体系的重要基石。

本书分为九章。第一章、第四章由曲音波编写，第二章、第三章由肖敏编写，第五章、第六章、第七章、第九章由林建强编写，第八章由李建波编写。曲音波对全书进行了校阅和修改。

在本书编著过程中，编者参考了大量国内外的文献，引用了部分文献内容，在此对于原著者表示深深的敬意和感谢。由于编者自身水平和时间的限制，书中难免存在错误和不足，真诚地欢迎读者批评指正。

编 者
2004 年 12 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 微生物技术的发展	1
第二节 微生物技术的发展趋向	2
一、微生物基因组研究形成巨大推力	3
二、新微生物类群的发现将拓宽其应用领域	9
三、生物质资源导向型新经济体制的建立	10
四、可持续发展的重要基石	13
第三节 微生物技术的多学科性质	14
第四节 微生物技术开发的目标体系	15
一、技术可能性、经济可行性和环境相容性	15
二、产物浓度、得率和生产率的最大化	16
参考文献	22
第二章 微生物资源开发和菌株选育	23
第一节 常用的微生物类群	24
一、细菌	24
二、古菌	26
三、真核微生物	27
四、特殊的微生物资源	33
第二节 微生物的分类鉴定	34
一、微生物的分类地位	35
二、分类原理	36
三、分类特征	39
第三节 生产菌株的筛选	46
一、样品采集和筛选条件设计	46
二、微生物分离纯化技术	47
三、常规菌株改良方法	52
四、分子生物技术育种	60
五、高通量筛选与自动化	63
参考文献	64
第三章 微生物的生长代谢	67

第一节 微生物的营养需求	67
一、微生物的营养需求	67
二、微生物的营养类型	69
第二节 培养基	70
一、限定培养基和非限定培养基	70
二、选择性培养基和鉴别培养基	71
三、富集培养基和分离培养基	72
四、维持培养基和定性培养基	72
五、测定（或分析）培养基	72
六、工业用培养基	74
第三节 营养物质的运输	75
一、扩散	75
二、主动运输	75
三、基团转位	76
四、铁载体	76
第四节 微生物的生长	77
一、微生物的生长及生长曲线	77
二、影响微生物生长的因素	79
第五节 微生物的代谢	83
一、微生物分解代谢和合成代谢	83
二、微生物的次级代谢	84
第六节 微生物代谢的调节和控制	85
一、微生物代谢的自然调节	85
二、微生物代谢的人为控制	90
参考文献	93
第四章 微生物工艺优化的试验设计	95
第一节 发酵工艺的特点和工艺优化策略	95
一、微生物发酵工艺的特点	95
二、试验设计的常用术语	96
三、工艺研究的方法和策略	96
第二节 数理统计法试验设计	99
一、部分因子设计	99
二、正交试验设计	102
三、均匀设计法	106
四、中心组合设计	108
五、单纯形优化法	109

六、模式识别法	110
七、基于遗传算法的优化	111
第三节 试验结果的分析方法	111
一、多元回归分析	112
二、响应面方法	115
三、SAS 软件的应用	119
第四节 工艺条件优化的复杂性	120
参考文献	121
第五章 微生物反应的数量化和工艺过程模型构建	123
第一节 数量化方法基础	123
一、反应速度、得率系数	123
二、生物反应的化学计量学	129
第二节 生长和产物形成动力学	132
一、微生物生长动力学	132
二、产物形成动力学	135
第三节 非结构模型构建和参数估算	136
一、模型的分类与简化	136
二、细胞生长模型	138
三、底物消耗模型	142
四、模型参数估算	143
第四节 基本动力学方程的扩展	145
一、适用于生长滞后期与平衡期的模型	145
二、丝状菌生长模型	145
三、有生长抑制的动力学模型	147
四、多底物生长动力学模型	149
参考文献	150
第六章 选择和优化培养方式	151
第一节 分批培养过程	151
第二节 连续培养工艺	152
一、理想的连续搅拌培养方式	152
二、连续培养与分批培养菌体生产效率比较	155
三、连续培养时碳源的维持消耗与细胞的内源代谢	155
四、连续培养的产物形成	156
第三节 补料分批培养	157
第四节 其他培养技术	160
一、菌体循环的连续操作方式	160

二、多罐串联连续培养方式·····	161
第五节 产物类型与培养方式选择·····	163
参考文献·····	166
第七章 微生物过程的自动控制和最优化·····	169
第一节 过程参数的在线监测·····	169
一、直接参数的测量·····	169
二、间接参数的测量·····	173
第二节 发酵过程的自动控制·····	176
一、定值优化控制·····	176
二、动态优化控制·····	180
第三节 发酵过程的最优化·····	187
一、模型控制·····	187
二、利用模糊理论的“专家系统”控制·····	192
三、生理状态控制·····	197
参考文献·····	201
第八章 代谢工程·····	203
第一节 概述·····	203
一、代谢工程的产生及沿革·····	203
二、代谢工程的理论基础·····	205
三、代谢工程的研究概要·····	206
四、代谢工程的研究技术与工具·····	207
五、代谢工程的研究策略·····	208
六、代谢工程的重要应用和发展前景·····	210
第二节 代谢途径的分析与控制·····	213
一、细胞代谢的基本概念·····	213
二、代谢网络的结构分析及其应用·····	217
三、代谢网络定量分析·····	224
四、重组大肠杆菌与代谢工程·····	238
第三节 逆代谢工程·····	244
一、逆代谢工程的兴起·····	244
二、逆代谢工程的应用·····	245
三、逆代谢工程的发展前景·····	246
参考文献·····	247
第九章 微生物工艺的技术经济分析和环境影响·····	251
第一节 技术经济学基础·····	251
一、概述·····	251

二、技术方案经济评价的指标体系·····	253
第二节 技术经济分析中的基本计算与估算·····	253
一、投资估算·····	253
二、固定资产投资估算·····	255
三、成本估算·····	257
第三节 工艺设计方案的技术经济分析·····	259
一、经济效益的比较·····	259
二、工艺成本计算·····	259
三、工艺选优·····	262
第四节 工程建设项目的可行性分析·····	263
一、可行性研究的步骤·····	263
二、可行性研究的内容·····	264
第五节 环境影响和全周期评价·····	265
一、产品生命周期评价·····	266
二、生命周期评价的原则与框架·····	266
三、生命周期评价在木薯发酵乙醇汽油中的应用·····	270
参考文献·····	273

第一章 绪论

第一节 微生物技术的发展

微生物是一类微小的生物，小得让人们用肉眼难以看到它。但是，它们的数量和种类却多得惊人，1g 土壤中就可以有上亿个微生物在活动。谈起微生物，人们往往首先想到的是可怕的细菌和病毒，想到了恐怖的流行病。然而，地球上有害的微生物只是微生物大家族中很小的一部分。绝大部分微生物都对人类无害或有益，甚至不可或缺。微生物是地球的清洁工，一切动植物的残体和废弃的有机物都要由微生物降解后，才能进入再循环。一部分微生物还能够利用太阳能进行光合作用，或利用无机物氧化产生的能量将无机物转化为有机物。空气中的氮多半也要通过微生物的固氮作用，才能转换成植物可以吸收利用的形态。它们的活动构成了自然界物质循环的重要环节。可以说，没有微生物就没有当今的多彩世界。

除了微生物在自然界中默默无闻地发挥着巨大的作用外，人类很早就学会了主动利用微生物来为自己的生产和生活服务。人类对微生物的利用在人们创建有文字的历史以前就已经开始了。人类从实践中逐步学会了用葡萄和谷物等来酿制葡萄酒、果酒、黄酒、清酒和啤酒等各种各样的美酒，学会了发酵生产酱油、醋等调味料，用牛奶来发酵生产出酸奶或乳酪，并掌握了面粉发酵后再用来蒸馒头或烘烤面包的技术。虽然在相当长的时期里，人们根本就不知道微生物的存在，但人们已经在巧妙地利用微生物来制造食品，为近代微生物工业的建立和发展奠定了基础。这个阶段可以被称为自发利用阶段。

17 世纪中后期，荷兰人列文虎克 (Leeuwenhoek) 用自制的显微镜发现了微生物的存在。人们开始研究发酵与微生物的关系，发现了酵母是能够引起发酵的有生命的有机体。19 世纪 60 年代，酒变酸现象对欧洲酿造工业造成了巨大的危害。法国著名科学家巴斯德 (Pasteur) 通过实验证明了酒和醋的酿制过程都是微生物发酵的过程。他发现不同的微生物引起不同的发酵，酒变酸正是由有害微生物繁殖引起的，从而提出了科学的消毒方法——巴斯德消毒法，拯救了陷入困境的酿造行业。此后，德国人柯赫 (Koch) 发明了纯培养技术。利用灭过菌的琼脂平板，可以分离到由单一菌株形成的单菌落，从而使人们可以使用单一的纯种微生物来进行微生物发酵，避免了其他杂菌对发酵过程的干扰。纯培养技术的发明，使微生物工业正式进入了理性发展阶段。人类开始有目的地生产微生物的初级代谢产物，如生产酵母

菌体、丙酮、丁醇、乙醇、柠檬酸和甘油等。

1929 年, 弗莱明 (Fleming) 发现了青霉菌能抑制其菌落周围的细菌生长的现象, 并证明了青霉素的存在。但由于当时青霉素的产量非常低, 并未受到广泛重视。第二次世界大战爆发后, 对抗生素类药物的巨大需求, 推动了科学家们重新开展对青霉素的研究和对新抗生素的寻找。特别是液体通风深层发酵技术的建立, 为大规模发酵生产好氧微生物产品奠定了基础, 使以抗生素为代表的微生物次级代谢产物发酵工业发展起来。抗生素工业的发展, 拯救了无数病人的生命, 使人类对细菌引起的病害再也不那么可怕, 大大提高了人类的生活质量。20 世纪 50~60 年代, 生物化学基础研究的发展, 特别是代谢调控理论的建立, 使氨基酸工业和酶制剂工业等新型发酵工业也迅速发展起来。在这一阶段, 人们采用新技术和新方法定向选育菌种, 通过对酶和发酵动力学以及代谢调节技术的研究, 并结合现代自动化监测控制仪器设备的研究开发, 使微生物大量合成人类所需要的代谢产物, 从而形成了以现代大型好氧生物反应器为代表的现代工业发酵阶段。

进入 20 世纪 70 年代后期以来, 现代分子生物学和基因工程技术迅速发展起来。人类成功地将包括人类自身在内的动植物基因转入到微生物体内, 构建成了能表达外源基因产物的微生物基因工程菌。过去只能从动植物体中分离提取的微量生物活性物质, 如胰岛素、干扰素、生长激素、白细胞介素、单克隆抗体等, 现在开始可以通过微生物发酵过程来较大规模地进行工业化生产, 从而开创了利用现代分子生物技术理性地改造微生物, 使之更好地服务于人类社会的新时代。分子生物技术的导入成为划分传统生物技术和现代生物技术的分界线。经过人为改造过的微生物, 将在更广泛的领域中为满足人类社会长远发展的需要, 做出更多更大的贡献。现代微生物技术也将因之呈现出一系列新的特点和特色。

第二节 微生物技术的发展趋向

所谓微生物技术, 可以广义地定义为所有直接或间接地利用微生物、微生物的机能、微生物的组成部分或其代谢产物 (如酶) 来加工生产产品, 或为社会提供服务的技术。因而, 微生物技术不仅包括一般发酵工业生产过程, 还涉及医药、能源、矿产和农业等产业, 以及环境和生态保护。

发展到今日, 微生物技术已经同人类的生产、生活息息相关。不仅人们每天吃的面包和馒头, 喝的酒类和酸乳, 烹调用的酱油、醋和味精, 都是微生物的发酵产品, 连人们穿的棉麻织物也已有不少经过了微生物酶的加工处理, 使这些衣物穿起来更舒适、更美观, 而加酶的洗衣粉则使洗过的衣物更清洁、更柔软。以青霉素为代表的各种抗生素等生理活性物质, 仍然是人类健康的最大保护神。而微生物发酵生产的各种有机酸、氨基酸、核酸、酶制

剂、多糖和酒精等有机溶剂,也都在人类的生产和生活中发挥着越来越多的作用。毫无疑问,随着人们对微生物世界及其代谢活动认识的不断深入,人们会继续开发出更多更好的微生物发酵产品,来丰富和开创更美好的生活。

在现代生物技术发展的初期,人们寄希望于利用经过基因工程改造的微生物来发酵生产新型药物,因此微生物技术受到了广泛的重视。但随着分子生物学和基因工程技术的飞跃发展,特别是人类基因组计划和其他重要农作物基因组计划的实施和迅速进展,掀起了医药生物技术和农业生物技术的新高潮,人们对生物技术的注意更多地转向了动物、植物和人类自身。克隆技术、干细胞技术和转基因作物技术等新的生物技术层出不穷,发展迅猛。其间,微生物生物技术虽然也有较快的发展,但相比之下,其发展还是显得逊色。由此有人产生了疑问:微生物技术能否继续快速发展?能否发挥更大的作用?其主要发展趋向又是什么?

要很好地回答这些问题,首先要搞清楚技术发展的原动力是什么。从上一节对微生物技术发展简史的讨论中可以看出,一门科学技术的发展,一要靠基础研究的推动,二要靠社会需求的拉动。对微生物学的基础研究和微生物生物技术研究来说,新世纪无疑仍将是一个高速发展的辉煌时期。微生物学和微生物技术研究必将在科学的发展和人类的生产、生活中发挥越来越重要的作用。

一、微生物基因组研究形成巨大推力

首先,作为结构最简单、代谢最多样的生物类群,微生物仍将是人类揭开生命之谜最好的研究材料。各种现代分析测试技术的飞跃发展,为研究微生物生理代谢提供了越来越先进的研究手段。特别是 DNA 序列测定技术的进步,使微生物基因组研究的速度不断加快。人类基因组含有约 30 亿对碱基,其他高等生物的基因组也都非常巨大。其全序列测定往往需要数年,乃至更长。与此不同,微生物的基因组相对较小,通常都小于 1 000 万对碱基,而且重复序列比较少,特别有利于测定和拼接。可独立生存的最小的细菌,如生殖道支原体 (*Mycoplasma genitalium*),基因组只含有 580 070 对碱基,编码 470 个基因,比较容易完成全序列测定,从而成为最先完成基因组测序的细胞生物。随着测序技术的进步,许多微生物的基因组全序列测定工作只需要数月、数周乃至数日就可以完成。根据在 GOLD 数据库 (Genomes OnLine Database) 中公开发表的数据 (表 1-1),截止到 2004 年 1 月 13 日,包括大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、粗糙脉孢菌等常见常用微生物在内的 2 株酵母、1 株丝状真菌、131 株细菌和 17 株古菌的基因组测序工作已经完成。另有上千种病毒的基因组也已完成测序。另外,按 GOLD 数据库的不完全统计,还有 78 株真菌、404 株细菌和 22 株古菌的基因组研究计划正在进行中,很快就会取得进展。随着技术的进步,完成测序

的基因组的数目还在迅速增加 (参见 <http://wit.integratedgenomics.com>; <http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdb.html>)。由于测序工作每时每刻都可能新的进展, 另外还由于有一部分已完成测序的微生物因种种原因而未能及时公开发布, 以至于连从事微生物基因组研究的专家也常常难以精确说清, 目前已完成基因组测序的微生物到底有多少。Integrated Genomics, Inc. 公司 2004 年 1 月 28 日公布的最新统计显示, 已完成序列测定的细菌基因组已达 279 个, 古菌基因组达 26 个。多数测序结果都可以在公共数据库中取得, 并正在被学术界、医学界和工业界的科学家活跃地使用。许多过去不可能进行的比较研究都可以得以实现。

表 1-1 已经完成完整序列测定的微生物基因组
(根据 2004 年 1 月 13 日在 GOLD 数据库中的公布结果)

类 群	菌 种	时间	数据库	主要研究单位
真菌	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> sce	1997	GenBank	SGD MIPS
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> spo	2002	RefSeq	Sanger
变形菌类	<i>Neurospora crassa</i> OR74A	2003	NCBI	Whitehead Inst.
	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd hin	1995	GenBank	TIGR
	<i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655 eco	1997	GenBank	Wisconsin Colibri
	<i>Escherichia coli</i> K-12 W3110 ecj	2001	GenoBase	Nara
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 EDL933 ece	2001	GenBank	Wisconsin
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Sakai ecs	2001	GenBank	Osaka U
	<i>Salmonella typhi</i> CT18 sty	2001	GenBank	Sanger
	<i>Salmonella typhimurium</i> LT2 stm	2001	GenBank	Washington U
	<i>Yersinia pestis</i> CO92 ype	2001	GenBank	Sanger
	<i>Pasteurella multocida</i> PM70 pmu	2001	GenBank	U. Minnesota
	<i>Xylella fastidiosa</i> 9a5c xfa	2000	GenBank	Unicamp
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. Campestris ATCC 339131 xcc	2002	GenBank	Sao Paulo
	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. citri 306 xac	2002	GenBank	Sao Paulo
	<i>Vibrio cholerae</i> El Tor N16961 (serotype O1)vch	2000	GenBank	TIGR
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01 pae	2000	GenBank	PathoGenesis
	<i>Buchnera</i> sp. APS buc	2000	GenBank	RIKEN
	<i>Buchnera aphidicola</i> Sg (symbiont of <i>Schizaphis graminum</i>) bas	2002	GenBank	Uppsala
	<i>Buchnera aphidicola</i> Ap (symbiont of <i>Acyrtosiphon pisum</i>) baa	2002	GenBank	Uppsala
	<i>Neisseria meningitidis</i> MC58 (serogroup B)nme	2000	GenBank	TIGR
	<i>Neisseria meningitidis</i> Z2491 (serogroup A) nma	2000	GenBank	Sanger
	<i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000 rso	2002	GenBank	Genoscope
	<i>Helicobacter pylori</i> 26695 hpy	1997	GenBank	TIGR
	<i>Helicobacter pylori</i> J99 hpj	1999	GenBank	Astra
	<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC11168 cje	2000	GenBank	Sanger
	<i>Rickettsia prowazekii</i> Madrid E rpr	1998	GenBank	Uppsala