



现代微生物学_与实验技术

林稚兰 黄秀梨 主编

科学出版社

现代微生物学与实验技术

林稚兰 黄秀梨 主编

科学出版社

内 容 简 介

本书概述了近几年来在微生物学一些重要领域中的研究进展及其实验技术。主要内容有基因工程（包括基因工程原理、抗生素基因工程、植物抗病毒基因工程、基因重组菌培养工程等）、微生物细胞工程、微生物发酵工程、特殊（生理）类型微生物的研究进展（包括固氮菌、烃细菌、厌氧菌、极端环境微生物等）及其他若干领域研究进展（如真核微生物的金属硫蛋白、真菌细胞壁、微生物杀虫毒素等）。

本书既可作为高等院校微生物学专业本科生和硕士生的辅助教材，亦可作为从事微生物学教学和科学研究人员的参考用书。

图书在版编目（CIP）数据

现代微生物学与实验技术/林稚兰，黄秀梨主编．—北京：科学出版社，2000．6

ISBN 7-03-008092-0

I．现… II．①林… ②黄… III．微生物学-实验 IV．Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（1999）第 69706 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号
邮政编码：100717

科地五印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2000 年 6 月第 1 版 开本：850×1168 1/32
2000 年 6 月第一次印刷 印张：12.5/8
印数：1—3 800 定价：32.00 元

定价：28.00 元

（如有印装质量问题，我社负责调换〈新欣〉）

《现代微生物学与实验技术》

主 编：林稚兰 黄秀梨

编著者：(以姓氏笔画为序)

门大鹏	王苏燕	叶 寅
刘 挺	李 俊	辛明秀
林稚兰	罗大珍	武 艺
俞梅敏	钱存柔	黄秀梨
程光胜	彭仁旺	葛 诚

前 言

微生物学是当代生物科学中的一门重要学科,对生命科学的发展作出了巨大贡献,它在国民经济中已显示出越来越重要的作用。20 世纪 70 年代初在分子生物学、细胞生物学、遗传学、微生物学、化学和物理学基础上发展起来了生物工程技术体系,它包括基因工程、细胞工程、酶工程、微生物发酵工程、生化工程等,其中基因工程是生物工程的核心,而微生物发酵工程则是基因工程、酶工程的基础和必要条件。无论在实践上或理论研究上,微生物学均对生物工程学的发展起着重要作用。本书概述了近年来在微生物学发展中一些重要问题的研究进展。主要涉及五个方面,即:基因工程(包括基因工程原理、抗生素基因工程、植物抗病毒基因工程、基因重组菌培养工程等)、微生物细胞工程、微生物发酵工程、特殊(生理)类型微生物的研究进展(包括固氮菌、烃细菌、厌氧菌、极端环境下的微生物等)和若干重要领域的研究进展(包括真菌的类金属硫蛋白、真菌细胞壁和微生物杀虫毒素等)。

本书主要由北京大学、北京师范大学、中国科学院微生物研究所和中国农业科学院土壤肥料研究所的教授、副教授、博士生等共同编写。他们长期从事这方面的研究工作,有较丰富的教学和科学研究经验。书中除介绍研究进展外,还能深入浅出地阐述其基本理论,还附有相应的实验技术。本书可作为高等院校微生物学专业硕士生和本科生的辅助教材,亦可作为从事微生物学教学和科学研究人员的参考用书。本书出版工作得到林崧曾教授、董燕、代忠新先生的协助,并得到科学出版社大力支持,特此致谢!书中有不当之处,请批评指正。

编者

2000 年 2 月于北京

· i ·

目 录

前言

第一篇 基因工程

第一章 基因工程原理	(3)
一、基因工程概念	(3)
二、基因工程的操作技术	(4)
(一) 超高速离心	(5)
(二) 限制性内切酶和连接酶	(5)
(三) 凝胶电泳	(5)
(四) 分子杂交	(5)
(五) DNA 序列分析	(8)
(六) 分子转化和筛选	(8)
(七) 检验	(8)
三、基因工程概貌	(9)
(一) 基因工程概貌图解	(9)
(二) 外源片段插入方法简介	(10)
(三) 载体传递	(11)
(四) 筛选	(11)
四、基因工程载体——质粒和 λ 噬菌体	(12)
(一) 基本概念	(12)
(二) 质粒 DNA 的纯化	(13)
(三) 质粒克隆载体的性质	(15)
(四) 载体质粒的构建	(16)
(五) λ 噬菌体	(19)

实验：用 λ 噬菌体构建基因组文库	(22)
实验一 外源 DNA 片段与 λ 噬菌体 DNA 的连接 及连接产物的体外包装	(24)
实验二 文库效价(滴度)的测定	(27)
实验三 基因组文库的筛选	(29)
实验四 λ 噬菌体的生长和繁殖	(31)
实验五 λ -DNA 的提取和纯化	(32)
参考文献	(33)
第二章 质粒的稳定性与重组菌的培养	(34)
一、质粒的稳定性	(34)
(一) 测定质粒稳定性的方法	(34)
(二) 质粒不稳定的类型	(35)
二、提高质粒稳定性的方法	(40)
(一) 选择压力法	(40)
(二) 非选择压力法	(41)
三、重组工程菌的培养	(45)
(一) 分段培养	(45)
(二) 细胞高密度培养	(46)
参考文献	(47)
第三章 利福霉素产生菌 GS 酶基因工程研究进展	(48)
一、地中海诺卡氏菌的发现及特点	(48)
二、硝酸盐对利福霉素合成途径的全面调控作用	(50)
(一) 硝酸盐对三羧酸循环关键酶活力的调节	(51)
(二) 硝酸盐对地中海诺卡氏菌氮代谢的调节	(52)
(三) 硝酸盐对(C_7N)合成及莽草酸途径的调节	(53)
三、地中海诺卡氏菌谷氨酰胺合成酶的基因克隆及 表达	(56)
(一) 地中海诺卡氏菌 GS 酶基因克隆的意义	(56)
(二) 谷氨酰胺合成酶的基因克隆方法简介	(57)

(三) 质粒 pLT1 的酶切图谱分析	(59)
(四) 硝酸盐对 <i>E. coli</i> YMC11 (pLT1) 谷氨酰胺 合成酶比活力的促进	(60)
(五) 质粒 pLT1 的亚克隆及亚克隆子的酶切图谱分 析	(61)
(六) 谷氨酰胺合成酶结构基因的确定	(62)
(七) 地中海诺卡氏菌 GS 酶基因转录方向的确定	(63)
(八) 含双质粒菌株的筛选及硝酸盐调节区的定位	(66)
(九) 重组质粒的稳定性研究	(67)
参考文献	(69)
第四章 植物抗病毒基因工程	(70)
一、概述	(70)
二、对当前采用策略的评价	(71)
(一) 外壳蛋白 (CP)	(71)
(二) 病毒卫星 RNA 基因策略	(73)
(三) 反义 RNA	(75)
(四) 复制酶	(76)
(五) 核酶	(77)
(六) 移动蛋白 (MP)	(78)
三、提高工程植株抗性的联合策略	(79)
(一) 多抗性基因共同转化植物以获得不同抗性基 因的表达	(79)
(二) 多基因共同转化植物的途径	(79)
四、抗病毒策略的探讨	(80)
(一) 阻断病毒基因功能表达	(80)
(二) 植物本身的应急反应	(81)
(三) 正在研究的途径——抗体基因	(82)
(四) 抗病毒的新概念	(82)

实验：获得表达卫星 RNA 和外壳蛋白的高抗黄瓜花叶	
病毒的转基因烟草	(84)
参考文献	(96)

第二篇 微生物细胞工程

第五章 微生物的原生质体融合及应用	(101)
一、融合子的选择方法	(102)
(一) 利用营养缺陷型选择融合子	(102)
(二) 利用抗药性选择融合子	(103)
(三) 应用灭活原生质体选择融合子	(104)
(四) 利用荧光染色选择融合子	(105)
(五) 利用不同碳源选择融合子	(105)
二、原生质体融合的应用	(106)
(一) 病毒传递	(106)
(二) 核的转移	(106)
(三) 质粒转移	(107)
(四) 耐热性研究及菌种筛选	(108)
(五) 改良菌种	(108)
(六) 抗生素研究	(109)
(七) 酶的研究	(110)
实验：细菌和酵母菌原生质体融合	(111)
实验一 细菌原生质体融合	(112)
实验二 酵母菌单倍体原生质体融合	(117)
实验三 电场诱导酵母原生质体融合	(120)
参考文献	(123)

第三篇 微生物发酵工程

第六章 微生物工程	(127)
-----------------	---------

一、生物工程的概念和意义	(127)
(一) 何谓生物工程	(127)
(二) 生物工程的内容	(128)
(三) 生物工程的优越性	(129)
二、生物工程的发展	(130)
三、生物工程中的常用微生物	(131)
四、微生物发酵过程的简介	(134)
(一) 氨基酸发酵常用的微生物类型和菌株	(135)
(二) 具体实例——谷氨酸棒杆菌 <i>hom⁻</i> 突变株的 赖氨酸发酵	(136)
五、新技术在工业微生物育种上的应用	(137)
(一) 原生质体融合	(137)
(二) 体外基因重组	(138)
实验：高产壳聚糖酶及蛋白酶真菌菌株的筛选	(144)
参考文献	(148)

第四篇 特殊(生理)类 型微生物的研究进展

第七章 微生物的固氮作用	(151)
一、前言	(151)
二、生物固氮的种类	(153)
(一) 好氧固氮微生物	(155)
(二) 兼性厌氧固氮微生物	(158)
(三) 厌氧固氮微生物	(162)
(四) 蓝细菌(蓝绿藻)	(163)
三、非豆科树木-弗氏放线菌共生固氮系统	(167)
四、豆科植物-根瘤菌共生固氮系统	(168)
(一) 豆科植物及其结瘤情况	(168)
(二) 豆科植物和根瘤菌的相互作用	(169)

(三) 豆科植物寄主-根瘤菌之间的识别·····	(176)
(四) 根瘤菌及其分类·····	(177)
(五) 豆科植物-根瘤菌系统在农牧业上的应用·····	(180)
五、生物固氮中的几个遗传学问题·····	(184)
(一) 固氮基因群·····	(184)
(二) 结瘤基因·····	(187)
实验: 细菌 16S rRNA 序列测定·····	(192)
参考文献·····	(201)
第八章 芳香烃的微生物降解及其遗传控制 ·····	(202)
一、概述·····	(202)
二、芳香族化合物的微生物降解·····	(203)
(一) 降解芳香烃的微生物·····	(203)
(二) 降解芳香烃化合物的途径·····	(204)
(三) 对多环芳香烃裂解途径·····	(214)
(四) 对卤代芳烃的降解·····	(215)
(五) 对苯氧基烷基羧酸的降解·····	(216)
三、降解质粒及其遗传控制·····	(218)
(一) 降解质粒·····	(218)
(二) 降解途径的遗传控制·····	(221)
四、遗传工程菌的构建·····	(223)
(一) 质粒转移构建多质粒菌株·····	(224)
(二) 利用质粒突变筛选高效降解菌·····	(225)
(三) 遗传工程菌株构建·····	(228)
实验: 降解苯酚微生物的选育·····	(231)
参考文献·····	(235)
第九章 厌氧菌的生物学 ·····	(237)
一、前言·····	(237)
二、厌氧菌研究简史及研究方法的发展·····	(239)
三、厌氧菌的定义·····	(240)
四、厌氧菌的类型·····	(241)

五、厌氧菌的生理生化特性	(242)
(一) 底物的氧化	(243)
(二) 还原型辅酶的重新氧化	(246)
(三) 合成代谢	(248)
(四) 细菌适应氧化还原电位的改变	(248)
(五) 氧对好氧菌及厌氧菌的毒性	(250)
六、厌氧菌与人类的生活	(252)
(一) 厌氧过程对环境的影响	(252)
(二) 厌氧菌的工业应用	(254)
实验: 厌氧技术和厌氧菌的分离培养	(257)
参考文献	(262)
第十章 极端环境微生物	(263)
一、极端嗜热菌	(264)
(一) 一般习性	(264)
(二) 代表菌种	(265)
(三) 微生物耐高温的机制	(268)
(四) 嗜热菌的实际应用	(269)
二、极端嗜盐菌	(270)
(一) 一般特性	(270)
(二) 嗜盐菌的生理	(271)
(三) 嗜盐菌的紫膜	(273)
三、极端嗜碱菌	(273)
(一) 极端嗜碱菌的生理	(275)
(二) 嗜碱菌的研究意义	(276)
四、极端嗜酸菌	(277)
五、极端嗜冷菌	(278)
六、极端嗜压菌	(279)
七、极端微生物与古细菌的关系	(280)
(一) 古细菌在生物界的位置	(280)
(二) 古细菌的重要特征	(282)

参考文献	(286)
------------	---------

第五篇 若干重要领域的研究进展

第十一章 真核微生物的类金属硫蛋白	(289)
-------------------------	---------

一、蛋白质的理化特性	(290)
------------------	---------

(一) 类似哺乳动物的 MT	(291)
----------------------	---------

(二) 类似植物的 chelatin	(293)
--------------------------	---------

(三) 半胱氨酸含量低的第三类	(293)
-----------------------	---------

(四) 既含 MT, 又含 chelatin	(294)
------------------------------	---------

二、MTs 和 PCs 的结构	(295)
-----------------------	---------

(一) 类 MTs 结构	(295)
--------------------	---------

(二) PCs 的结构	(298)
-------------------	---------

(三) 真核微生物 Cu-MT 的“铜簇”	(298)
-----------------------------	---------

三、MT 的基因结构、基因放大及基因调控	(299)
----------------------------	---------

(一) 基因结构	(299)
----------------	---------

(二) 基因放大	(303)
----------------	---------

(三) 酵母菌 MT 基因的调控	(308)
------------------------	---------

四、酵母菌 MTs 的应用	(314)
---------------------	---------

(一) 生物药学	(314)
----------------	---------

(二) 金属回收	(315)
----------------	---------

(三) MT 启动子的应用	(316)
---------------------	---------

(四) <i>CUP1</i> 基因座调控外源基因的放大	(319)
------------------------------------	---------

实验: 酿酒酵母金属硫蛋白发酵	(320)
-----------------------	---------

参考文献	(325)
------------	---------

第十二章 真菌细胞壁的研究概况	(328)
-----------------------	---------

一、真菌细胞结构的概述	(328)
-------------------	---------

(一) 基本结构及其特点	(328)
--------------------	---------

(二) 厌氧真菌细胞的特殊结构	(330)
-----------------------	---------

二、真菌细胞壁的研究意义及研究方法	(331)
-------------------------	---------

(一) 研究意义	(331)
(二) 研究方法简介	(332)
三、真菌细胞壁的结构和成分	(335)
(一) 真菌细胞壁的成分及其分类	(335)
(二) 粗糙脉孢菌及酿酒酵母的细胞壁成分	(337)
(三) 真菌中的几丁质	(338)
四、几丁质的合成及真菌细胞壁的生长	(340)
(一) 真菌细胞壁的生长	(340)
(二) 几丁质的合成部位	(341)
(三) 几丁质的合成作用	(347)
五、细胞壁成分变化与细胞分化过程的相关性	(353)
(一) 概述	(353)
(二) 培养中成分变化对真菌细胞壁组成的影响	(354)
(三) 有性及无性孢子和营养菌丝细胞壁成分的不同	(356)
(四) 真菌激素对细胞壁结构成分的影响	(357)
实验: 真菌细胞壁成分的分离和检测	(360)
参考文献	(364)
第十三章 微生物杀虫毒素的研究概况	(366)
一、杀虫细菌——苏云金杆菌的毒素	(366)
(一) δ -内毒素的形态和结构	(366)
(二) 蛋白质晶体的生化 and 血清学特性	(367)
(三) 蛋白质晶体的多样性	(368)
(四) 蛋白质晶体毒素的致病机理	(369)
(五) Bt δ -内毒素的分子生物学研究进展	(372)
二、苏云金杆菌的其他毒素	(376)
(一) 热稳定性外毒素—— β -外毒素	(376)
(二) α -外毒素	(377)
(三) γ -外毒素	(377)
三、杀虫真菌——球孢白僵菌的毒素	(378)

(一) 球孢白僵菌产生的毒素种类及其性质	(378)
(二) 白僵菌毒素的杀虫机理	(380)
实验：球孢白僵菌毒素的分离、纯化及生物测定	(382)
参考文献	(384)

第一篇

基因工程

