

现代

工业发酵调控学

● 储炬 李友荣 编著



现代生物技术
与医药科技出版中心

现代工业发酵调控学

储 炬 · 李友荣 编著

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

现代工业发酵调控学/储炬, 李友荣编著. —北京:
化学工业出版社, 2002.1
ISBN 7-5025-3358-3

I. 现… II. ①储…②李… III. 工业发酵-过程
控制 IV. TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 093722 号

现代工业发酵调控学

储 炬 李友荣 编著

责任编辑: 赵玉清

责任校对: 陶燕华

封面设计: 田彦文

*

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) 64918013

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

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

北京市彩桥印刷厂装订

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 22³/₄ 字数 558 千字

2002 年 1 月第 1 版 2002 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-3358-3/G·911

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

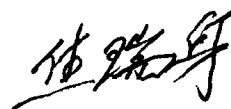
序 言

微生物种类繁多，包括细菌、真菌、病毒、单细胞藻类和原生动物。在生物圈中，微生物分布范围最为广泛，在生物圈的物质循环具有关键功能，对人类生活和社会发展也起着其他生物不能替代的作用。

因为微生物形体微小，被认为是简单的生命，但微生物细胞内生化反应是错综复杂，各个反应过程之间是相互制约、彼此协调的，可随环境条件的变化而迅速调整代谢反应的速度，有效地利用养分，维持生存与发展。其调节方式是各式各样的，例如酶活性调节有变构调节、修饰调节；合成途径的反馈抑制更是花样繁多，总的是不过量合成不需要的物质。微生物技术的目的却是要想方设法破坏微生物细胞的自主调节，使产物大量积累。这就要在微生物的遗传性能上加以改变、阻断或者延伸。此外，微生物技术还要在环境条件上争取优化，使改变了的遗传性状得到充分的发挥。“现代工业发酵调控学”就是调节微生物细胞活力朝着有用产物积累的方向发展。作者对微生物生长、基础代谢、代谢调节以及次生代谢合成都作了深入的阐述，笔者尚未见到对微生物调节功能如此详尽综合的书。作者还对发酵过程控制与优化、参数检测与在线监控，进行了比较全面的介绍，作到理论与实践的密切结合。

两位作者是对我国抗生素事业作出贡献的集体中的主要成员。远在 20 世纪 50 年代抗生素事业在我国开创之际，就在当时的华东化工学院设立抗生素制造工专业，后来改为生化工程系。50 年来生化工程系为国家输送了几千名技术骨干。笔者和生化工程系多年来保持着联系，有幸参加与该系有关的一些活动，如研究生的答辩、承担历届国家生物技术课题的验收、申请反应器国家重点实验室的论证等，参与诸多盛事，感到无比欣慰，今适逢本书的出版更是分外高兴。

本书是两位作者多年来研究生教学的结晶，糅合了当代学科前沿与科研生产经验，是呕心沥血之作。笔者衷心向读者推荐，这是一本值得认真学习的书。



2001.10.30

前 言

本书是在华东理工大学（前华东化工学院）生化工程系的“发酵生理学”课程的基础上，结合作者多年从事本科生的“发酵生理学”以及研究生的“发酵调控学”学位课程的教学心得和发酵调控学方面科研经验而编写的。在内容方面既兼顾系统的基础理论知识，又尽可能介绍研究与工业生产应用方面的最新进展。本书适合作为发酵调控学、生物工艺学、工业微生物、工业生化、发酵工程、微生物制药与抗生素工艺学的专业教材，也可作为医药、轻工、农林与师范的专业参考书以及从事生物技术、生化工程、工业发酵方面的研究与生产人员的进修与参考资料。每章后都列有大量的参考文献，供读者进一步参阅。

微生物是地球上不可缺少的生物成员，它与动、植物及人类有着唇齿相依的关系，并为他们与环境的改造不断作出重大贡献。利用微生物酿造是人类在文字出现以前就已掌握的技术，直到今日，微生物工程已发展到各个领域的广泛应用。由于微生物细胞相对简单，它又是研究生命活动的基本材料。通过细胞与分子水平的研究，现已掌握了大量有关细胞生理生化与代谢调节的知识，且能运用这些知识来改造微生物，使之造福于人类。

微生物的生理代谢活动涉及由多种代谢途径组成的网络，其中有上千种酶，这些酶的活性在野生型菌株中受到严密的控制。为了适应环境，他们能及时调整自身的生理代谢机能，使之合理地利用养分，以求生存与发展。在自然界，微生物从不过量合成一些它所不需要的物质。因此，过量生产某些化合物对生产菌来说，是一种‘病态’过程，其固有的调节机制随时可能恢复到有利于其生长繁殖方向来，这也许就是生产菌种经多次传代，其生产性能容易蜕变的原因之一。

如果人们掌握了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，便能操纵微生物，充分满足生产菌种过量合成某些代谢产物的环境需求，让它始终按人们需要的方向发展。

好的发酵工艺不仅要由生产性能优良的菌株，还要有合适的环境条件，才能使其生产潜力充分表达出来。一般而言，能表达生产菌种的最大潜力的90%，便很不错。通常，高产菌种对工艺控制的要求更高，对一些影响因素更敏感，因此，如果没有发酵调控的基本知识，就很难保证生产的稳定与发展。

基因工程技术的引进，使得菌种的改造更容易按人的意志转移。因此，要得到一株高产，甚至能合成新产物的重组菌，已不是高不可攀。但要从实验室研究进入生产开发阶段，到产品问世却非轻而易举的事。重组菌的充分表达，高产菌株潜力的挖掘，需要相应的发酵工艺与设备条件的紧密配合才能做到。

尽管对微生物的一些主要代谢途径与产物合成途径已积累了相当多的知识，但对许多天然产物的合成调节机制仍是一知半解。近年来，生物工厂的上游与下游工段引进了不少新的生产方法与监控策略，特别是设备的改进，发酵调控策略的更新，过程监控方法的日益完善使得这些公司得益不浅。

工业发酵过程是实现产物合成所必需的重要生产步骤。许多生物活性物质，如抗生素和基因工程菌产物能否顺利表达获得高产，关键在于发酵调控的正确与否。发酵过程的控制除

了要详细了解对象的动态生物特性，对与生产有关的代谢网络作定量分析，还要有工程的概念与技巧，才能驾驭研究或生产的对象。本人从分子、细胞和工艺工程水平去研讨微生物产物合成与调节的内在机制及外在环境条件的优化和控制。

本书的特色是以工业发酵过程的调控为主线，将微生物的生理生化和分子生物学的知识运用于阐述微生物的代谢调节与发酵规律，并结合生化反应过程原理，解释影响发酵过程的各种因素，如何进行数据分析，过程与否正常，怎样实现优化控制。介绍各类典型代谢产物的生产与调节和各种用于判断发酵进程的参数，分析各参数与产物合成之间的关系，介绍计算机在发酵工程中的应用和定量生物工程研究与开发以及代谢调控的新进展，如代谢工程。本书注重理论联系实际，学以致用，经典与现代相结合。

本书的内容共分为6章。第1章微生物生长与调节是研究微生物的个体细胞及整个菌群的生长现象及其调控规律，对内是研究生长、分化、营养、呼吸与运输；对外是研究其受周围环境的影响，作出相应的调节。通过细胞周期与生长效率的阐述，剖析了生长速率对细胞大小与胞内核酸含量的影响，以及各种环境因素对生物量得率的影响。第2章介绍微生物的基础代谢，包括能量代谢的热力学，分解与组成代谢。活细胞是一开放的、永不平衡的系统；生命的进程是不可逆的。应用热力学来了解活细胞，通过引入“不平衡”或“不可逆”热力学可以克服其中若干限制。分析一些远离平衡的生化系统，包括进出物料流系统，由中枢与支路代谢途径和运输步骤组成的代谢网络将有助于了解微生物的生长繁殖和代谢产物合成的规律。第3章是在前一章的基础上论述微生物的代谢协调方式，了解通过哪些方式来控制酶活及酶的合成，并通过实例来阐明如何运用推理筛选与基因工程等手段打破或避开微生物的固有代谢调节机制，过量生产所需代谢产物。对近年来兴起的代谢工程的一些基本概念，代谢流（物流、信息流）分析，代谢控制分析，对基因操纵目标的分析与代谢设计均作了详细介绍。第4章，次级代谢产物的合成与调节着重研讨抗生素的生物合成机制与调节对抗生素工业生产的指导意义；微生物的表达调控技术在提高生产性能上的应用。第5章以较大篇幅阐述发酵过程技术原理、动力学、影响产物合成的各种因素，论述如何实现发酵过程的优化控制，并介绍基因工程产物的研究开发动向。第6章介绍表征发酵进程生理状态的各种参数的监测，各种参数间的相互关系及其与产物合成的关系，介绍用于控制的生物过程建模，发酵过程的估算技术与控制策略，用于发酵诊断和控制的数据分析。

本书综合收集整理了国内外大多数学者与专家在代谢调控与发酵控制方面的观点与经验，材料内容较为新颖，可反映出发酵调控学的最新水平，且理论与工业生产实践密切结合。

本书的基础理论部分引用的一些经典著作，主要有 Rehm H-J 等主编的“Biotechnology” 2nd ed. Vol. 1 ‘Biological Fundamentals’ 和 Vol. 3 ‘Bioprocessing’；Stouthamer A H 编的“Quantitative Aspects of Growth and Metabolisms of Microorganisms”；Betina V 编的“Bioactive Secondary Metabolites of Microorganisms”；Fiechter A. 主编的“Adv. in Biochem. Eng. /Biotechnol. Vol. 51”；Mandelstam J 等编的“Biochemistry of Bacterial Growth”；Vining L C 编的“Biochemistry and Genetic Regulation of Commercial Important Antibiotics”；Rose A H. 编的“Secondary Products of Metabolism”；李友荣，马辉文编的《发酵生理学》；Fiechter A 编的“Modern Biochemical Engineering”；Bu Lock J D 等编的“Basic Biotechnology”；Stanbury P F 等编的“Principles of Fermentation Technology”；俞俊棠，唐孝宣主编：《生物工艺学》，上册，Yoshida T, Shioya S. (eds) Proceeding of the 7th International Conference on Computer Application in Biotechnology。

本书的编撰获得焦瑞身研究员的鼓励和帮助，并且得到上海市研究生教育课程改革与教材建设委员会及本校的关心与资助，生物工程学院与生化工程系的领导对本书的申请和编写给予支持和协助，化学工业出版社对本书的出版作了不懈的努力，赵玉清编辑对书稿作了精心的审阅修改，特此表示由衷的感谢。尽管我们对本书作了多次校对，但错漏在所难免，欢迎专家与读者批评指正。

编者 于华东理工大学
2001年8月

内 容 提 要

本书以工业发酵过程的调控为主线，将微生物的生理生化和分子生物学知识运用于阐述微生物的代谢调节与发酵规律，并结合生化反应过程原理，解释影响发酵过程的各种因素（如：怎样进行数据分析、过程正常与否的判断、怎样实现优化控制等）；介绍了各类典型代谢产物的生产与调节和各种用于判断发酵进程的参数，分析各参数与产物合成之间的关系，并介绍了计算机在发酵工程中的应用、定量生物工程研究与开发以及代谢调控的新进展。书中对微生物生长、基础代谢、代谢调节、以及次生代谢合成都作了深入的阐述，对发酵过程控制与优化、参数检测与在线监控，也做了较全面的介绍；在内容方面既兼顾系统的基础理论知识又尽可能介绍研究与工业生产应用方面的最新进展，作到理论与实践的密切结合。

本书可作为医药、轻工、农林与师范的专业参考书以及从事生物技术、生化工程、工业发酵方面的研究与生产人员的进修与参考的资料，也适合作为发酵调控学、生物工艺学、工业微生物、工业生化、发酵工程、微生物制药与抗生素工艺学的专业教材。每章结尾都列有大量参考文献，可供读者进一步参阅。

目 录

| | |
|---------------------------------|----|
| 1. 微生物生长与调节 | 1 |
| 1.1. 微生物的生长 | 1 |
| 1.1.1. 生长的形式 | 1 |
| 1.1.2. 生长的测量 | 6 |
| 1.1.3. 环境对生长的影响 | 15 |
| 1.1.4. 生长的变量和约束 | 23 |
| 1.2. 细胞周期 | 25 |
| 1.2.1. 染色体复制与细胞分裂的调节 | 25 |
| 1.2.2. 染色体复制的启动 | 26 |
| 1.2.3. 细胞周期的研究方法 | 27 |
| 1.2.4. 生长速率与细胞大小的关系 | 29 |
| 1.2.5. 生长速率对细胞内 DNA 含量的影响 | 30 |
| 1.2.6. 生长速率对细胞组分的影响 | 31 |
| 1.3. 生长效率 | 31 |
| 1.3.1. 得率系数 | 31 |
| 1.3.2. 测定生长效率时应注意的实际问题 | 34 |
| 1.3.3. 基本代谢流——同化与异化 | 34 |
| 1.3.4. 对细胞得率的化学计量限制 | 35 |
| 1.3.5. 用于生物量形成的能量需求 | 35 |
| 1.3.6. 细胞组分 | 36 |
| 1.3.7. 碳源的运输 | 37 |
| 1.3.8. 呼吸效率 | 38 |
| 1.3.9. 维持能与环境因素的关系 | 39 |
| 1.4. 生长调节 | 43 |
| 1.4.1. 菌丝顶端生长 | 44 |
| 1.4.2. 菌丝分枝规律 | 45 |
| 1.4.3. 微生物生长分化的调节 | 46 |
| 1.5. 运输过程 | 49 |
| 1.5.1. 载体概念 | 49 |
| 1.5.2. 溶质运输的机制与能学 | 50 |
| 1.5.3. 运输动力学 | 53 |
| 1.5.4. 大分子的运输 | 53 |
| 参考文献 | 54 |
| 2. 微生物的基础代谢 | 56 |
| 2.1. 能量代谢原理 | 56 |

| | |
|------------------------------------|------------|
| 2.1.1. 能量代谢的热力学 | 56 |
| 2.1.2. 能量的产生与耦合 | 59 |
| 2.2. 微生物的分解代谢 | 63 |
| 2.2.1. 葡萄糖分解代谢 | 63 |
| 2.2.2. 多糖和单糖的利用 | 66 |
| 2.2.3. 厌氧代谢过程 | 67 |
| 2.2.4. 脂肪酸、脂烃和芳香烃的氧化 | 74 |
| 2.2.5. 氮的循环和氨基酸的降解 | 75 |
| 2.2.6. 硫的代谢 | 76 |
| 2.2.7. 核苷酸的降解和有机磷的代谢 | 77 |
| 2.2.8. 聚合物的氧化 | 78 |
| 2.3. 微生物的组成代谢 | 79 |
| 2.3.1. C_1 的同化 | 80 |
| 2.3.2. 分子氮的同化 | 81 |
| 2.3.3. 硝酸盐的同化 | 82 |
| 2.3.4. 氨的同化 | 82 |
| 2.3.5. 硫酸盐的同化 | 83 |
| 2.3.6. 氨基酸的生物合成 | 83 |
| 2.3.7. 核苷酸的生物合成 | 90 |
| 2.3.8. 脂质的生物合成 | 93 |
| 2.3.9. 聚类异戊二烯化合物的合成 | 99 |
| 2.3.10. 甾类化合物 | 101 |
| 2.3.11. 糖磷酸酯与糖核苷酸 | 104 |
| 2.3.12. 多糖的生物合成 | 105 |
| 参考文献 | 106 |
| 3. 代谢调节与代谢工程 | 107 |
| 3.1. 酶活性的调节 | 108 |
| 3.1.1. 代谢调节的部位 | 108 |
| 3.1.2. 共价修饰 | 108 |
| 3.1.3. 变构控制 | 110 |
| 3.1.4. 其他调节方式 | 113 |
| 3.2. 酶合成的调节 | 114 |
| 3.2.1. 诱导作用 | 115 |
| 3.2.2. 分解代谢物阻遏 | 119 |
| 3.2.3. 反馈调节 | 123 |
| 3.2.4. 微生物的代谢调节方式 | 127 |
| 3.2.5. 避开微生物固有代谢调节, 过量生产代谢产物 | 135 |
| 3.3. 代谢系统的分子控制机制 | 138 |
| 3.3.1. 遗传控制 | 138 |
| 3.3.2. DNA 结合蛋白: 激活剂与阻遏物 | 139 |

| | |
|----------------------------|------------|
| 3.3.3. 二元调节系统 | 140 |
| 3.3.4. RNA 水平的调节机制：衰减器模型 | 140 |
| 3.4. 代谢调节 | 141 |
| 3.4.1. 糖代谢调节 | 141 |
| 3.4.2. 氨基酸合成的调节 | 146 |
| 3.4.3. 核苷酸合成的调节 | 147 |
| 3.5. 代谢工程 | 149 |
| 3.5.1. 概论 | 149 |
| 3.5.2. 代谢流（物流、信息流）的概念 | 149 |
| 3.5.3. 代谢物流分析 | 152 |
| 3.5.4. 代谢控制分析 | 154 |
| 3.5.5. 代谢工程的应用 | 158 |
| 参考文献 | 163 |
| 4. 微生物次级代谢与调节 | 165 |
| 4.1. 引论 | 165 |
| 4.1.1. 微生物次级代谢的特征 | 165 |
| 4.1.2. 次级代谢产物的类型 | 166 |
| 4.1.3. 抗生素的生源学 | 168 |
| 4.1.4. 初级与次级代谢途径相互连接 | 170 |
| 4.2. 次级代谢物生物合成的前体 | 170 |
| 4.2.1. 前体的概况 | 170 |
| 4.2.2. 前体的作用 | 179 |
| 4.2.3. 前体的限制性 | 182 |
| 4.3. 次级代谢物生物合成原理 | 183 |
| 4.3.1. 把前体引入次级代谢物生物合成的专用途径 | 183 |
| 4.3.2. 前体聚合作用过程 | 184 |
| 4.3.3. 次级代谢物结构的后几步修饰 | 184 |
| 4.3.4. 复合抗生素中不同部分的装配 | 184 |
| 4.3.5. 次级代谢物合成酶的专一性 | 185 |
| 4.4. 抗生素的生物合成 | 186 |
| 4.4.1. 以短链脂肪酸为前体的抗生素 | 186 |
| 4.4.2. 以氨基酸为前体的抗生素 | 199 |
| 4.4.3. 以经修饰的糖为前体的抗生素 | 207 |
| 4.5. 微生物次级代谢作用的调控 | 213 |
| 4.5.1. 微生物的次级代谢与其生命活动的关系 | 213 |
| 4.5.2. 次级代谢产物生物合成的调节与控制 | 215 |
| 4.5.3. 基因工程在提高生产性能上的应用 | 225 |
| 参考文献 | 228 |
| 5. 发酵过程控制与优化 | 230 |
| 5.1. 发酵过程技术原理 | 230 |

| | |
|--------------------------|------------|
| 5.1.1. 分批发酵 | 230 |
| 5.1.2. 补料-分批发酵 | 234 |
| 5.1.3. 半连续发酵 | 236 |
| 5.1.4. 连续发酵 | 236 |
| 5.1.5. 与产物回收结合的培养 | 240 |
| 5.1.6. 高细胞密度培养 | 248 |
| 5.1.7. 混合共培养系统 | 250 |
| 5.2. 发酵条件的影响及其控制 | 250 |
| 5.2.1. 培养基对发酵的影响 | 251 |
| 5.2.2. 灭菌情况 | 261 |
| 5.2.3. 种子质量 | 262 |
| 5.2.4. 温度对发酵的影响 | 262 |
| 5.2.5. pH的影响 | 263 |
| 5.2.6. 氧的供需对发酵的影响及其控制 | 266 |
| 5.2.7. 二氧化碳和呼吸商 | 274 |
| 5.2.8. 加糖, 补料对发酵的影响及其控制 | 276 |
| 5.2.9. 比生长速率的作用与控制 | 279 |
| 5.2.10. 混合效果 | 281 |
| 5.2.11. 物理因素对发酵的影响 | 283 |
| 5.3. 泡沫对发酵的影响及其控制 | 283 |
| 5.3.1. 泡沫的产生及其影响 | 283 |
| 5.3.2. 发酵过程中泡沫的消长规律 | 284 |
| 5.3.3. 泡沫的控制 | 284 |
| 5.4. 发酵终点的判断与自溶的监测 | 286 |
| 5.4.1. 发酵终点的判断 | 286 |
| 5.4.2. 自溶的监测 | 286 |
| 5.4.3. 影响自溶的因素 | 287 |
| 5.5. 发酵染菌的防治及处理 | 288 |
| 5.5.1. 染菌的途径分析 | 288 |
| 5.5.2. 染菌的判断和防治 | 288 |
| 5.5.3. 生产技术管理对染菌防止的重要性 | 290 |
| 5.6. 基因工程菌培养与表达 | 290 |
| 5.6.1. 源自克隆基因的蛋白 | 290 |
| 5.6.2. 干扰素 | 293 |
| 5.6.3. 氨基酸 | 295 |
| 5.6.4. 肌苷酸和鸟苷酸 | 297 |
| 5.6.5. 微生物多糖 | 298 |
| 参考文献 | 298 |
| 6. 发酵过程参数检测与计算机监控 | 302 |
| 6.1. 发酵过程参数监测的研究概况 | 302 |

| | |
|------------------------------|-----|
| 6.1.1. 设定参数 | 303 |
| 6.1.2. 状态参数 | 303 |
| 6.1.3. 间接参数 | 303 |
| 6.1.4. 离线发酵分析方法 | 304 |
| 6.1.5. 在线发酵仪器的研究概况 | 305 |
| 6.2. 生物过程的控制特征 | 305 |
| 6.2.1. GMP 与市场压力下的发展 | 306 |
| 6.2.2. 在线发酵仪器的研究进展 | 306 |
| 6.2.3. 计算机在发酵监控方面的应用 | 308 |
| 6.3. 用于控制的生物过程建模 | 309 |
| 6.3.1. 传统过程模型 | 309 |
| 6.3.2. 基于线性黑箱模型估算法 | 310 |
| 6.3.3. 非线性“黑箱”模型 | 311 |
| 6.4. 发酵过程估算技术 | 312 |
| 6.4.1. 传统的基于模型的估算 | 312 |
| 6.4.2. 基于线性黑箱模型的估算 | 313 |
| 6.4.3. 基于非线性黑箱模型的估算 | 314 |
| 6.5. 发酵过程的控制策略 | 314 |
| 6.5.1. 发酵过程的 PID 控制 | 314 |
| 6.5.2. 发酵过程的推理控制 | 315 |
| 6.5.3. 发酵过程的适应性(预估)控制 | 316 |
| 6.5.4. 发酵过程的非线性控制 | 316 |
| 6.5.5. 发酵的优化和优化控制 | 316 |
| 6.5.6. 用于发酵监督与控制的知识库系统 | 317 |
| 6.5.7. 工业规模的发酵故障分析系统 | 318 |
| 6.6. 用于发酵诊断和控制的数据分析 | 318 |
| 6.6.1. 发酵测量与估算变量分类 | 319 |
| 6.6.2. 代谢速率(生理变量, PVs)的计算 | 322 |
| 6.6.3. 不能直接测量的生物过程参数的估算 | 326 |
| 6.6.4. 积分与平均数量的计算 | 337 |
| 6.6.5. 生理状态变量($PSVs$)的计算 | 337 |
| 6.7. 基于模式识别技术的新方法 | 341 |
| 6.7.1. 模式识别 | 341 |
| 6.7.2. 模式识别方法到数据分析的概述 | 341 |
| 6.7.3. 用于监督和控制的时间量变曲线的实时趋势分析 | 343 |
| 6.8. 结论 | 348 |
| 参考文献 | 348 |

1. 微生物生长与调节

1.1. 微生物的生长

活细胞最基本的生命特征是生长和繁殖。对生长的定义，不同学科的学者有不同的见解。细胞生物学家关注单细胞的形态变化，特别是细胞的分裂方式；而生化学者对成千个与生长有关的酶反应动力学及代谢途径感兴趣，认为生长是所有化学成分有序地相互作用的结果。生物物理学者则认为，细胞是热力学不平衡的开放系统，与其周围环境进行物质与能量的交流，特别表现在熵的溢流上。生化工程师把生长看做是生物催化剂数量的增长，通常以质量和细胞数目的增长来表达细胞的生长。分化（differentiation）则是生物的细胞形态和功能向不同的方向发展，由一般变为特殊的现象。

为了控制菌体的生长，需要了解生长的方式，细胞分裂和调节的规律，测量微生物生长的各种办法，微生物生长繁殖的形式与工业生产的联系，环境变化对微生物生长的影响，在此基础上设计合理的培养基配方和工艺条件。许多迹象表明，微生物的分化和产孢子的过程与次级代谢产物的合成有某种联系。因此，研究微生物的生长分化规律无疑是发酵调控原理的一个重要组成部分。

1.1.1. 生长的形式

为了测量微生物的生长，需研究不同类别微生物的生长性质，确立其生长测定的若干原理。研究的对象将主要放在工业生产菌种上，着重研究其物理性质、复制的机制和生长的形式。

1.1.1.1. 细菌的生长

细菌属于原核生物。尽管其代谢方式各式各样，但都有相似的细胞结构和繁殖机制。根据革兰氏染色的结果不同，可分为革兰氏阳性和阴性细菌，前者的细胞壁的主要组成是含有 30 分子层的多糖胞壁质；后者的细胞壁主要是由单层的多糖胞壁质，以及脂多糖和脂蛋白组成。原核生物没有核膜和细胞器。

细菌是通过一分为二的裂殖过程繁殖的。新生的两个细胞具有相同的形态和组成，其细胞组分，蛋白、RNA 和基因组是一样的。细胞的分裂（图 1-1），是由细胞壁的向内生长启动的，最终形成一横断间隔，继而间隔分裂，形成两个相同的子细胞。每个子细胞均保留亲代细胞壁的一半。两种细菌的细胞壁合成方式不同：阳性菌是沿着中纬带；

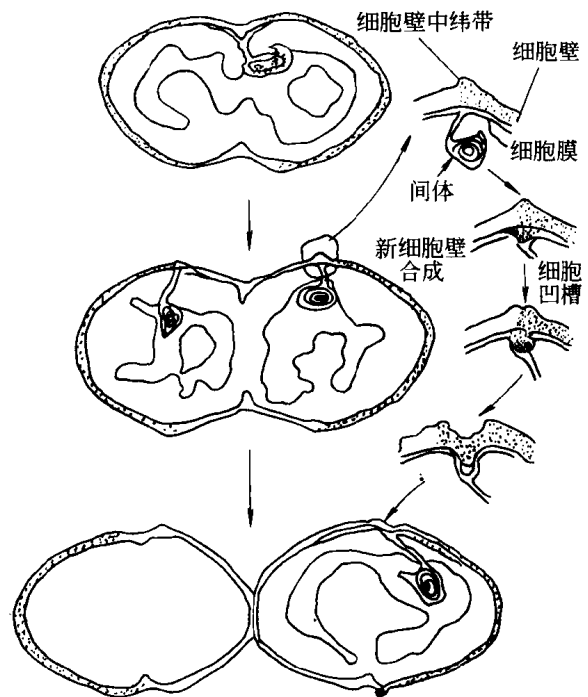


图 1-1 粪链球菌细胞壁生长模式

而阴性菌是沿着整个细胞壁，以居间共生方式合成的。

细菌的菌龄一般以培养时间表示，但实际上其真实菌龄应以繁殖的代数表示。细菌的个体很小，一般为 $1\mu\text{m}$ 左右。它们以单个、成双、呈链或簇状存在，有些带鞭毛，能运动，有些能形成芽孢。典型细菌的湿重为 $1.05 \sim 1.1\text{g}/\text{cm}^3$ ，单个细胞的干重约为 10^{-12}g ，其密度为 $1.25\text{g}/\text{cm}^3$ 。有些细菌（如大肠杆菌）的倍增时间在最佳生长条件下为 $15 \sim 20\text{min}$ ，在一般情况下为 $45 \sim 60\text{min}$ 。细菌的大小随生长速率而异（详见 1.4. 节），其在双碟上的菌落形态具有种的特异性。

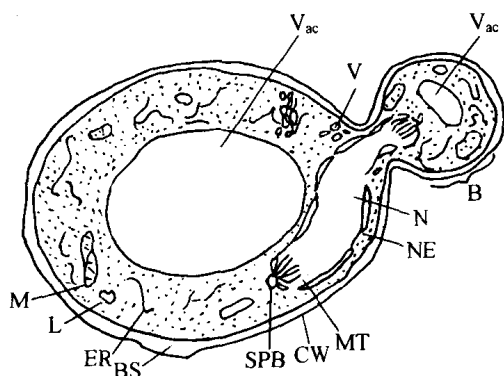


图 1-2 萌芽酵母形态示意图

B—萌发中的芽；BS—芽痕；CW—细胞壁；
ER—内质网；L—脂质球；M—线粒体；
MT—纺锤器微管；N—细胞核；NE—核外膜；
SPB—中心粒；V—泡囊；V_{ac}—液泡

1.1.1.2. 酵母的生长

酵母属于真核生物，它不形成分生孢子或气生菌丝。在其生长周期中部分时间以单细胞形式存在。其常见的生长方式是出芽繁殖，酵母细胞的体积起初逐渐增大，到一定程度便开始出芽。在芽成长期间母细胞加上子芽的体积维持几乎不变，芽长大的同时母细胞缩小（图 1-2）。在子细胞与母细胞间形成横隔后，子细胞脱离。新生的子细胞比其母细胞小些，生长速率快些，最终长成跟母细胞一样。子细胞脱离后在母细胞表面留下一个芽痕。按其出现的位置可将酵母芽殖方式分为两类：一类是两极性，母细胞轮番在其两端同一位置上萌芽；另一类是多极性的，母细胞萌芽每次出现在不同的位置上，如酿酒酵母。通过芽痕的数目有可能确定酵母的菌龄。如子细胞不

与母细胞脱离，便形成链状，称之为假菌丝（图 1-3）。酵母菌个体大小取决于其生长速率，其倍增时间愈短，细胞愈大。

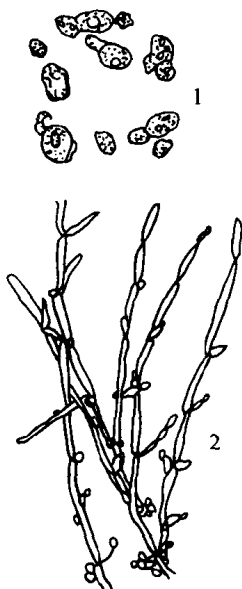


图 1-3 热带假丝酵母
1—营养体；2—假菌丝

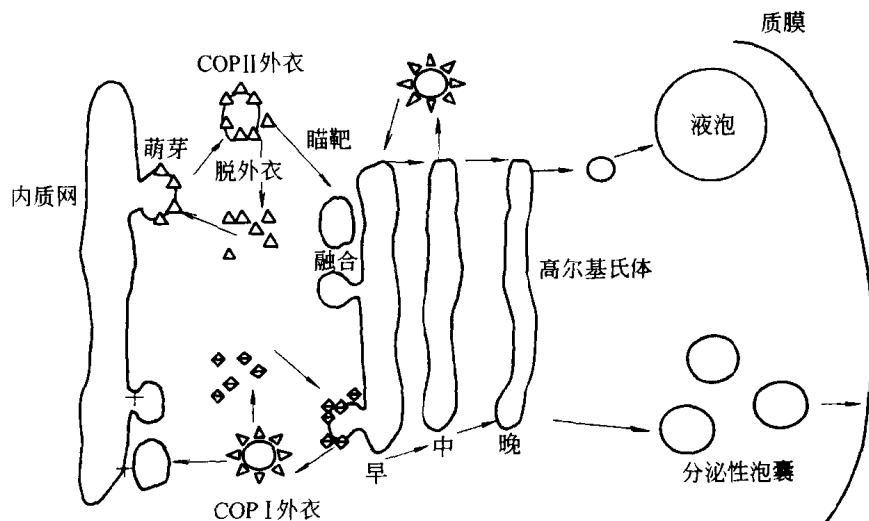


图 1-4 酵母的分泌途径

Yoda 等对酵母的泡囊运输与高尔基氏体作过一篇较全面的综述^[1]。酵母细胞构建了一种复杂的胞内膜系统，把细胞分隔成几个能就地地进行高效生化反应的间室。它们也建立了输送适当材料到各间室的系统。泡囊运输是一种连接细胞中大多数主要细胞器的投递系统。高尔基氏体占据了内质网与核内体（endosome）/液泡、质膜之间的交通中心位置。投递是通过材料的成熟与分拣过程。他们通过研究高尔基氏体，鉴别了泡囊运输的每一种特性。现已能充分地分子水平解释如何借货物的分拣、给体萌芽、拴接、入坞与融合到目标处来进行运输，以及泡囊的生成、消耗的循环（图 1-4）。

待分泌的蛋白从内质网被集中于罩上外衣的 COP II 泡囊，然后输送到早期高尔基氏体间室，在那里被修饰、分类和输送到其最终目的地。可溶性蛋白与膜蛋白通过其固有的固位机制维持其适当的定位作用。这类固位机制部分涉及蛋白-蛋白的相互作用与逆行输送到罩上外衣的 COPI 泡囊处。

1.1.1.3. 菌丝的生长

霉菌和放线菌均为丝状微生物。其生长方式是菌丝（hyphae）末梢伸长、分枝（图 1-5）和交错成网（图 1-6），称为菌丝体（mycelium）。一定长度的真菌菌丝，其横切面有间隔膜。真菌属真核生物，为多细胞，每个细胞含有多个细胞核和各种细胞器。细胞一旦形成后便保持其完整性，且与其相邻细胞的菌龄不同，越靠近末梢的菌丝，越年轻。放线菌、链霉菌和诺卡氏菌属均属于放线菌属，为原核生物，革兰氏染色呈阳性。它们无核膜和细胞器，其菌丝直径（约 $1\mu\text{m}$ ）比霉菌（ $2\sim 10\mu\text{m}$ ）细，易折断。许多真菌能形成孢子，称为分生孢子。

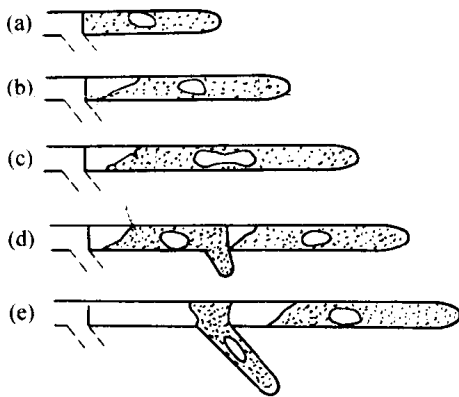


图 1-5 一种无孔间隔真菌的生长方式

- (a) 顶端细胞充满细胞质；
- (b) 顶端伸长；
- (c) 核分裂；
- (d) 形成间隔；
- (e) 细胞质流向新形成的分枝

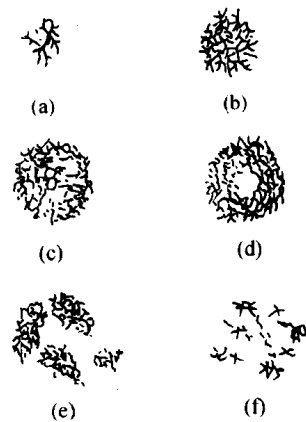


图 1-6 产黄青霉的菌团形成与解体变化过程

- (a)~(c) 菌丝生长成团；
- (d)~(f) 菌丝球破裂自溶

图 1-6 显示产黄青霉菌丝团形成与解体过程的形态变化。菌团生长的密实程度受培养条件（如搅拌，供氧和温度）的影响，特别与碳源的性质有关。已知使产黄青霉生长过程中菌团变得密实的条件有：添加易利用的碳源（如葡萄糖）；搅拌加快；供氧改善。反之，用乳糖、搅拌缓慢或供氧跟不上，则菌团变得疏松。如溶氧低于某一临界值，菌丝则不成菌团，结果发酵液的粘度增加，搅拌效果差，溶氧更低，导致菌的生长和产物的合成受到严重的影响。因此，控制球状产黄青霉的生长状况成为青霉素高产的关键之一。

菌丝长度受遗传控制并与生长环境有关。在沉没培养时以分散的菌丝体或菌丝团（球）形式存在。环境对菌丝生长的形式有很大影响，如在深层培养时易受搅拌器的剪切作用，反

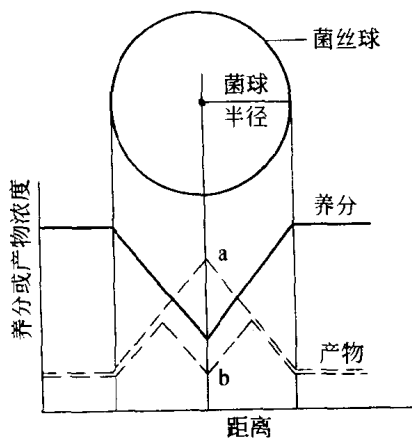


图 1-7 菌丝团中养分与产物浓度的分布
a—产物在菌丝球内合成；
b—菌丝球中心(此处的细胞缺氧或已失活)

过来，菌丝生长的形式亦会影响菌丝团内部的理化环境。菌丝团内细胞所处的环境与菌团外部或分散生长的细胞所处的不同(图 1-7)，菌团内部的营养物质与代谢产物的分布是不均匀的。由于分解代谢和扩散阻力，越靠近菌团中心，养分浓度越低。菌团大而紧会因内部缺氧和养分而自溶。此外，菌团内部代谢产物的积累会使菌的生长处于不利的环境中。

1.1.1.4. 细胞群体的生长

细菌借二等分分裂繁殖，但两个子细胞可能以不同的生长速率生长，其分裂也不一定同步。因此，在一正在生长的群体中存在范围广的不同世代时间 (generation time)，故群体的“倍增时间”(doubling time)这一术语通常是指测量的时间，而不是平均世代时间。尽管个体世代时间有不同，一般，只要外界环境无太大变化，细胞群体以相对恒定的倍增时间增殖。因此，细胞群体(数目 N) 经培养一代时间 (t_d)，便产生 $2N$ 个子细胞，再过一代便得 $2^2 N$ 个子细胞。这一进程可用指数系列表示：

$$2^0 N_0 \rightarrow 2^1 N_0 \rightarrow 2^2 N_0 \rightarrow 2^3 N_0 \rightarrow 2^4 N_0 \rightarrow 2^n N_0$$

式中 N_0 为初始群体数目； n 是经时间 (t) 的培养物倍增的次数。由此可得： $n = t/t_d$ 。

因此，在 n 次倍增后细胞的数目 (N_t) 与初始细胞数目的关系可用式 (1-1) 表达：

$$N_t = 2^{t/t_d} N_0 \quad (1-1)$$

以对数方式表示，得

$$\ln N_t - \ln N_0 = (t/t_d) \ln 2 = t(0.693/t_d)$$

故以细胞数目的对数与培养时间作曲线可得一直线，其斜率为 $0.693/t_d$ 。

另一种表示生长速率的方法是，假定在任何时间 (t) 与细胞数目的增长速率 (dN/dt) 正比于已经存在的总细胞数目，则得：

$$dN/dt = \mu N \quad (1-2)$$

式中 μ 为比生长速率， h^{-1} 。

式 (1-2) 经积分得：

$$\ln N_t - \ln N_0 = \mu t, \quad \ln(N_t/N_0) = \mu t, \quad N_t = N_0 \cdot e^{\mu t}$$

由此，可确立比生长速率与倍增时间之间的关系。对一倍增时间 $t = t_d$ ， $N_t = 2N_0$ 的培养物，

$$\ln(2N_0/N_0) = \mu \cdot t_d$$

$$\mu = \ln 2 / t_d = 0.693 / t_d \quad (1-3)$$

由于生物量的测定一般比细胞数目的测量要准确，基本的生长方程式通常用质量而不是数量来表达。常规表示菌浓和比生长速率分别用 x 和 μ 表示 ($\mu = dx/xdt$)。

比生长速率 μ 受环境条件很大的影响。在自然界生态系统中微生物的比生长速率的变化很大，而在实验室，可以控制培养物的比生长速率长时间不变。

1.1.1.5. 细菌群体的生长周期

将少量细菌接种到适当的培养基中，一般不会立即开始生长，存在一可变的停滞期 (lag phase)。一旦生长开始便很快 (常少于 10 次倍增时间) 进入对数或指数生长期 (logari-