江 宁 主编

Microbiotechnology

微生物生物技术

微生物培养基、动力学

微生物代谢的调节

筛选和育种

微生物基因操作

6类原核生物基因操作系统

2类真核生物基因操作系统

辅因子及其再生

发酵工程放大、设备和后处理

代谢网络、网络定量分析

化学工业出版社
生物·医药出版分社

江 宁 主编

Microbiotechnology

微生物生物技术

化学工业出版社
生物·医药出版分社
·北京·

本书介绍了微生物和微生物学在生物技术领域的应用概貌。内容概括了从传统微生物学方法到现代生物技术的各个主要领域。

全书共分八章。第一、二、三章主要介绍了与生物技术有关的微生物学基础，包括微生物的生长、代谢和遗传；第四、五章以基因工程为中心，着重介绍了微生物分子操作的基础与基因操作系统；第六、七、八章分别介绍了微生物酶工程、发酵工程和代谢工程的基本概念及其研究和应用的进展。

本书可作为微生物学、生物工程、分子生物学等专业的研究生、高年级本科生作为微生物生物技术的入门教材和参考书，也可供从事环境、农业、能源、化工、医药、食品、轻工等应用微生物领域研究、生产的科研人员和工程技术人员参考。

图书在版编目（CIP）数据

微生物生物技术/江宁主编．—北京：化学工业出版社，2008.4
ISBN 978-7-122-02325-4

Ⅰ．微… Ⅱ．江… Ⅲ．微生物学-生物技术 Ⅳ．Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2008）第 032299 号

责任编辑：孟 嘉 周 旭　　文字编辑：张春娥
责任校对：顾淑云　　装帧设计：张 辉

出版发行：化学工业出版社 生物·医药出版分社
（北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011）
印 刷：北京市振南印刷有限责任公司
装 订：三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张 20 字数 514 千字 2008 年 5 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：55.00 元

版权所有 违者必究

前　言

微生物生物技术是一门利用微生物并通过生物技术手段来实现一定应用目标的现代科学技术。

人类利用微生物的历史可以追溯到古代。无论在东方或西方，几千年前人类就已经利用微生物酿酒、造醋以及发酵食品，尽管那时人们并不知道微生物的存在。显微镜的发明和微生物的发现、无菌操作和纯培养技术的出现奠定了微生物学研究的基础，而抗生素的发现和应用则使微生物真正走上了产业舞台。到20世纪中叶，利用微生物发酵已可以生产抗生素、氨基酸、酶制剂等多种产品，有人将这些也归入微生物生物技术。但是，生物技术（biotechnology）这一名词始于20世纪70年代后期，是建立在重组DNA技术基础之上出现的。因此，微生物生物技术作为一门现代科学技术，应从基因工程技术建立以后算起。

微生物的特点可以用三“大”一“小”来概括，即资源量大、生物量大、可塑性大和个体小。微生物资源量之大是其他生物所无法比拟的，它覆盖了古菌（Archaea）、真细菌（Bacteria）和真核生物（Eukarya）三域，是自然界种类最多、分布最广的生命形式，该特点使得微生物为生物技术提供了极其丰富的资源和材料。微生物生物量之大表现在它生长繁殖的迅速，这也是其他生物不可及的。微生物生物量的获得不但经济、方便、迅速、密集，而且不受地域、季节、气候等自然条件的限制，该特点使得微生物成为最经济高效的生物反应器。微生物的可塑性大同样是其他生物所无法比拟的，这使得微生物更容易服从人类的意志、根据人类的需求改变自己，成为生物学研究和生物技术操作的理想材料。而微生物的个体小则使得它携带方便、操作和保藏容易。

由于微生物的上述特点，使其在生物技术中发挥了重要的作用。现代生物技术是从微生物发展起来的，两大关键生物技术，即以重组DNA技术为核心的分子操作技术以及细胞培养技术都依赖于微生物。重组DNA技术是从微生物开始的，其中所用的工具酶也绝大多数来自微生物；细胞培养的方法，无论动物还是植物，都借鉴了微生物的培养技术。因此，微生物生物技术对整个现代生物技术的建立和发展，在历史上有着不可磨灭的重大贡献，至今仍具不可取代的重要地位。

微生物生物技术涵盖了工业生物技术、农业生物技术、能源生物技术、环境生物技术、医学生物技术等诸多领域。这些领域有时相互交叉，难以明确区分。例如，利用微生物发酵生物质来生产燃料酒精，就可能涉及能源、工业、环境、农业等几个领域。

自1973年人类第一次成功地在大肠杆菌中表达了外源基因之后，生物技术的第一个高潮出现在了医学生物技术领域。20世纪70年代后期，许多基因直接产物如胰岛素、干扰素、各种疫苗、细胞因子等可通过构建基因工程菌用微生物发酵生产，至今，医药生物技术仍方兴未艾，其中微生物生物技术始终是主角。80年代中后期，在土壤杆菌中分离出的Ti质粒成功转化植物象征着生物技术的第二个高潮出现在农业生物技术领域，许多转基因农产品相继从实验室走向市场。微生物生物技术在其中暂时充当了配角。90年代以后，代谢工程（metabolic engineering）以及其后随着人类基因组测序的完成发展起来的系统生物学（systems biology）的兴起，使得用分子操作技术解决多基因甚至整个细胞全局的复杂问题成为可能，从而在工业生物技术、能源生物技术与环境生物技术领域形成了生物技术的第三个高潮。在此，微生物生物技术又再次成为主角。进入21世纪后，随着能源、资源和环境

问题日益突出，微生物生物技术在新能源的开发、可再生资源的利用、绿色生产以及环境治理等方面正在发挥越来越大的作用。有人预言，人类社会将从以石油资源和石油化工为主导的碳氢化合物时代进入以生物质资源和生物炼制（biorefining）为主导的碳水化合物时代。

微生物生物技术是在综合了微生物学、微生物（发酵）工程和分子生物学的有关知识的基础上发展起来的。微生物学为微生物生物技术提供了微生物分类、鉴定、特性、生理、生化、代谢、遗传等基础知识，是微生物生物技术研究对象和应用材料的基础。微生物工程为微生物生物技术提供了微生物培养、放大、过程优化和控制、产物分离、生物反应器等工程技术，是微生物生物技术的产业化基础。分子生物学为微生物生物技术提供了微生物分子育种的新技术、新方法，是微生物生物技术区别于传统应用微生物学的主要标志。本书的内容基本上以这三方面为框架，第一、二、三章主要介绍了与生物技术有关的微生物学基础，第四、五章着重介绍了微生物分子操作的基础，第六、七、八章分别介绍了微生物酶工程、发酵工程和代谢工程。

本书以微生物生物技术的基础知识为主，同时尽可能介绍有关领域的新进展。既可作为相关专业研究生、高年级本科生的微生物生物技术的入门教材，又可供从事这一领域研究和生产的科研和工程技术人员参考。

参加本书编写的还有沈安副研究员（第一章）、贺鹏副研究员（第二章、第四章）、程海荣博士（第三章）、颜华博士（第五章）、郭长缨博士（第六章）、王淑豪博士（第七章）和伍昌胜博士（第八章）。

江　宁

2008 年 3 月

试读结束：需要全本请在线购买：　www.ertongbook.com

生物技术相关图书书目

书　　名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
微生物生物技术	江宁 主编	2008	16	平	55.00
现代生物技术丛书——酶工程(第二版)	罗贵民	2008	16	平	55.00
现代生物技术丛书——纺织生物技术	陈坚　等	2008	16	平	59.00
现代生物技术丛书——生物化学工程	谭天伟	2008	16	平	49.00
英汉生命科学与基础医学词汇	章静波　王惠	2008	32	平	35.00
实用酶技术丛书——酶制剂技术	罗立新	2008	小16	平	29.00
生物软件选择和使用指南	李军　等	2008	B5	平	29.00
生物实验室系列——环境微生物实验技术	陈坚　刘和　等	2008	16	平	45.00
生物实验室系列——分子免疫学实验技术指南	黎燕　等 主编 沈倍奋 主审	2008	16	平	59.00
生物实验室系列——酶的凝胶电泳检测手册(原著第二版)	[俄]G. P. 曼琴科 著	2008	16	精	99.00
生物实验室系列——分子克隆实验指南精编版	[美]J. 萨姆布鲁克 D. W. 拉塞尔著　黄培堂　主译	2007	16	平	97.00
类胡萝卜素功效与生物技术	姜建国	2008	小16	平	29.00
生物信息学应用技术	王禄山　高培基	2007	16	平	39.00
新型纺织酶制剂的发酵与应用	陈坚　华兆哲 堵国成　著	2007	16	平	59.00
药食用真菌生物技术	陶文沂　等 编	2007	小16	平	37.00
蛋白质科学与技术丛书——蛋白质微阵列	M. 谢纳 编 童明庆　等译	2007	16	平	49(估价)
动物细胞培养工程	张元兴	2007	16	平	39.00
生物信息学算法导论	N. C. 琼斯 P. A. 帕夫纳 著 王翼飞　等译	2007	B5	平	39.00
现代生物技术丛书——生物信息学:智能化算法及其应用	王翼飞　史定华　主编	2007	16	平	35.00
生物实验室系列——人肿瘤细胞培养	R. 弗雷纳　R. I. 弗雷谢尼 章静波译	2006	小16	平	49.00
生物实验室系列——PCR 技术实验指南(原著第 2 版)	C. W. 迪芬巴赫　等编 种康　等译	2006	16	平	75.00
生物实验室系列——分子生物学与蛋白质化学实验方法	茹炳根等	2006	16	平	25.00
生物实验室系列——生物安全实验室建设	俞詠霆	2006	小16	平	49.00
生物实验室系列——植物分子生物技术应用手册	彭学贤	2006	16	平	49.00
生物实验室系列——小鼠胚胎操作实验手册	[美]安德拉斯·纳吉　等 著	2006	小16	平	90.00
生物实验室系列——医学微生物学实验技术	管远志　王艾琳　等	2006	小16	平	69.00
生物实验室系列——DNA 分子标记技术在植物研究中的应用	周延清	2005	小16	平	39.00
生物实验室系列——分子生物学实验参考手册	[美]简·罗斯凯姆斯 琳达·罗杰斯　编	2005	小16	平	28.00
生物实验室系列——生物安全柜应用指南(原理、使用和验证)	李劲松	2005	小16	平	30.00

续表

书　　名	作者	出版时间	开本	装订	单价(元)
生物实验室系列——流式细胞术原理与科研应用简明手册	[瑞士]瑞菲尔·努纳兹(Rafael Nunez)著	2005	小16	平	18.00
生物实验室系列——PCR最新技术原理、方法及应用	黄留玉 主编	2005	16	平	60.00
现代生物技术丛书——生物传感器	张先恩	2006	16	平	59.00
现代生物技术丛书——生物芯片技术	陈忠斌	2005	16	平	76.00
现代生物技术丛书——生物制药技术	朱宝泉	2004	16	平	60.00
现代生物技术丛书——生物工程下游技术(第二版)	刘国诠	2003 重印	16	平	45.00
现代生物技术丛书——农业生物工程(第二版)	莽克强	2004	16	平	40.00
现代生物技术丛书——微生物工程	焦瑞身	2003	16	平	78.00
现代生物技术丛书——动物细胞工程	徐永华	2005 重印	16	平	35.00
现代生物技术丛书——植物细胞工程	朱至清	2005 重印	16	平	30.00
现代生物技术丛书——蛋白质工程	王大成	2003 重印	16	平	36.00
现代生物技术丛书——基因工程	陈永青　陆德如	2003 重印	16	平	30.00
纳米生物技术丛书——纳米药物学	张阳德	2006 重印	小16	平	45.00
纳米生物技术丛书——纳米分析化学及分子生物学	张阳德	2005 重印	小16	平	29.00
纳米生物技术丛书——纳米生物材料学	张阳德	2005	小16	平	32.00
现代植物科学系列——植物组织培养导论	M. K. 拉兹丹[印度]编著 肖尊安译	2006	16	平	45.00
生物信息学与功能基因组学(译著)	孙之荣	2006	16	平	95.00
生物医学传感器与检测技术	杨玉星	2005	16	平	36.00
制药生物技术(原著第二版)	吉爱国等译	2005	16	平	49.00
人胚胎干细胞——科学和治疗潜力概论	A. A. 基斯林,S. C. 安德森, 章静波等译	2005	16	平	29.00
感染性疾病免疫学	S. H. E. 考夫曼等 朱立平　译	2005	16	平	86.00
农业生物技术系列——草坪草生物技术及应用	林忠平	2006	小16	平	30.00
农业生物技术系列——微生物农药研发与应用	周燏　喻子牛等	2006	小16	平	38.00
农业生物技术系列——现代生物技术与畜禽疾病防治	陈溥言	2005	小16	平	32.00
农业生物技术系列——新型蛋白质饲料开发与利用	计成	2006	小16	平	27.00
农业生物技术系列——新型饲料添加剂开发与应用	石波	2005	16	平	30.00
农业生物技术系列——植物检疫方法与技术	洪霓	2006	16	平	39.00
生物实验室系列——植物分子生物技术应用手册	彭学贤	2006	16	平	估价50.00
植物生物技术导论	H. S. 查拉夫 编著	2005	16	平	68.00
植物生物技术	肖尊安	2005	16	平	38.00
药用植物大规模组织培养	高文远　贾伟	2005	小16	平	48.00
植物生物活性物质	唐传核	2005	16	精	58.00
中国生物技术产业发展报告(2007)	中国生物工程学会 编写	2008	大16	平	98.00
中国生物技术产业发展报告(2006)	中国生物工程学会 编写	2007	大16	平	98.00

邮购电话/传真：010-64518888 或 010-64518899 E-mail：yougou@cip.com.cn

如果您需要了解更多信息，欢迎登录我社网站：www.cip.com..cn

目　录

第一章　微生物的生长 …… 1
第一节　微生物生长的条件 …… 1
一、微生物生长的物质条件 …… 1
二、微生物生长的环境条件 …… 4
第二节　培养基 …… 10
一、培养基的分类 …… 10
二、培养基的主要成分 …… 13
三、培养基的灭菌 …… 16
第三节　生长动力学 …… 19
一、微生物的生长与繁殖 …… 19
二、微生物生长的数学描述 …… 22
参考文献 …… 25

第二章　微生物的代谢 …… 26
第一节　代谢的概念 …… 26
第二节　微生物的初级代谢 …… 27
一、糖代谢 …… 27
二、氨基酸的合成代谢 …… 33
三、核苷酸的合成代谢 …… 38
第三节　微生物的次级代谢 …… 40
一、次级代谢的意义 …… 40
二、次级代谢产物 的生物合成 …… 41
三、青霉素和头孢菌素 …… 42
第四节　重要的微生物代谢产物 …… 44
一、醇、多元醇和有机酸 …… 45
二、氨基酸 …… 46
三、核苷酸及其类似物 …… 47
四、抗生素 …… 48
五、微生物多糖和聚酯 …… 53
六、维生素 …… 55
第五节　微生物代谢的调节 …… 57
一、代谢调节概论 …… 57
二、酶合成的调节——诱导与阻遏 …… 60
三、酶活性的调节——激活和抑制 …… 66
四、微生物代谢调节的模式 …… 69
参考文献 …… 72

第三章　微生物的遗传与遗传育种 …… 73
第一节　遗传的物质基础 …… 73
一、DNA 是遗传物质 …… 73
二、基因的表达 …… 74
第二节　基因突变与诱变育种 …… 83
一、基因突变 …… 83
二、诱变育种 …… 86
第三节　突变株的筛选 …… 92
一、平皿快速检测法 …… 92
二、形态变异的利用 …… 93
三、抗药性定向筛选的利用 …… 93
四、利用抗反馈抑制来筛选突变体 …… 93
五、营养缺陷型的利用 …… 94
六、计算机技术的应用 …… 94
七、高通量的筛选方法 …… 95
八、分析方法的利用 …… 95
第四节　原生质体融合育种 …… 95
一、原生质体制备 …… 96
二、原生质体融合 …… 98
三、融合子的筛选 …… 99
四、基因组改组 …… 100
参考文献 …… 101

第四章　微生物基因工程 …… 104
第一节　基因工程概论 …… 104
一、基因工程的基本材料 …… 104
二、基因工程的基本过程 …… 107
第二节　工具酶 …… 115
一、限制性核酸内切酶 …… 115
二、聚合酶 …… 115
三、连接酶、激酶及磷酸酶 …… 120
四、核酸酶 …… 121
五、蛋白水解酶（蛋白酶 K） …… 124
六、溶菌酶 …… 124
第三节　目的基因的获得 …… 124
一、基因的化学合成 …… 124
二、利用聚合酶链反应合成目的基因 …… 125
三、通过构建基因文库筛选目的基因 …… 125
第四节　基因工程菌的鉴定 …… 128
一、分子杂交技术——细菌菌落或噬菌斑的原位杂交筛选法 …… 129
二、从表达文库中筛选目的基因 …… 130
三、DNA 片段的序列分析 …… 133
参考文献 …… 137

第五章　微生物基因操作系统 …… 138
第一节　大肠杆菌基因操作系统 …… 138
一、载体 …… 138
二、外源基因的导入 …… 143
三、外源基因在大肠杆菌中的表达 …… 143
第二节　芽孢杆菌基因操作系统 …… 150
一、枯草杆菌表达系统 …… 150
二、球形芽孢杆菌和短芽孢杆菌基因操作系统 …… 154
第三节　链霉菌基因操作系统 …… 154
一、链霉菌载体和遗传转化系统 …… 154
二、链霉菌表达分泌系统 …… 156
三、链霉菌表达系统的优缺点 …… 159
第四节　其他原核生物基因操作系统 …… 160
一、蓝藻基因操作系统 …… 160
二、乳酸杆菌基因操作系统 …… 160
三、双歧杆菌基因操作系统 …… 161
第五节　酵母菌基因操作系统 …… 161
一、酵母作为基因表达宿主所需要具备的条件 …… 161
二、酿酒酵母基因操作系统 …… 161
三、巴氏毕赤酵母表达系统 …… 166
第六节　丝状真菌基因操作系统 …… 171
一、概述 …… 171
二、丝状真菌基因表达系统的宿主 …… 171
三、载体和转化方法 …… 172
四、细胞外蛋白的生产 …… 173
参考文献 …… 176

第六章　微生物酶工程 …… 179
第一节　微生物的酶与生化反应 …… 179
一、酶的基本概念 …… 179
二、酶的动力学 …… 185
第二节　重要的工业酶制剂 …… 186
一、淀粉酶 …… 186
二、糖化酶 …… 188
三、蛋白酶 …… 188
四、脂肪酶 …… 189
五、其他重要的糖苷酶 …… 189
第三节　生物转化 …… 194
一、手性化合物的生物转化 …… 194
二、甾体化合物的生物转化 …… 197
第四节　辅因子与辅因子再生 …… 198
一、ATP/NTP 的再生 …… 198
二、吡啶核苷酸辅因子的再生 …… 199

三、固定化辅酶及辅酶再生 …… 209
第五节 蛋白质工程与酶分子的改造 …… 210
一、酶的化学修饰 …… 210
二、定点突变 …… 214
三、易错 PCR …… 217
四、DNA 改组 …… 218
五、融合蛋白与杂合酶 …… 221
第六节 固定化酶和固定化细胞 …… 224
一、固定化酶 …… 224
二、固定化细胞 …… 234
参考文献 …… 237

第七章 发酵工程 …… 238
第一节 发酵工程的基本概念 …… 238
一、发酵工程的产物 …… 238
二、发酵的方式和种类 …… 239
第二节 发酵过程与设备 …… 241
一、种子扩大培养 …… 241
二、发酵过程的无菌操作 …… 242
三、发酵过程控制 …… 244
四、微生物发酵设备 …… 253
五、发酵过程的放大 …… 257
第三节 发酵工程的后处理 …… 259
一、后处理概述 …… 259
二、发酵液的预处理及固-液分离 …… 261
三、微生物细胞的破碎 …… 264
四、膜分离 …… 267
参考文献 …… 268

第八章 微生物代谢工程 …… 270
第一节 代谢工程概述 …… 270
一、代谢工程的形成与发展 …… 270
二、反向代谢工程与代谢组学 …… 271
第二节 代谢网络 …… 272
一、代谢网络的概念 …… 273
二、代谢网络的节点 …… 274
三、代谢网络的基本类型 …… 275
四、代谢网络的响应 …… 275
五、主要节点刚性的评估 …… 276
第三节 代谢网络定量分析 …… 280
一、代谢物流分析 …… 280
二、代谢控制分析 …… 288
第四节 代谢工程应用举例 …… 293

试读结束：需要全本请在线购买： www.ertongbook.com

一、头孢菌素 C …… 293
二、维生素 C …… 293
三、莽草酸 …… 296
四、发酵木糖生产酒精 …… 299
五、组合生物合成 …… 302
参考文献 …… 305

第一章　微生物的生长

第一节　微生物生长的条件

微生物同其他生物一样，必须有一个适合生存和生长的环境，并从环境中获取物质和能量以进行新陈代谢。微生物生长应当同时具备物质条件与环境条件。

一、微生物生长的物质条件

1. 水

水是自然界含量最丰富的物质，也是细胞内含量最丰富的物质。对于微生物的生长，水是必不可少的。

水作为微生物细胞原生质的主要组成部分，使得原生质处于溶胶状态，以保证代谢活动的正常进行。水在各种微生物细胞中的含量不尽相同，一般细菌为75%～85%，酵母菌为70%～80%，霉菌可达90%左右。有些微生物在干燥条件下可形成休眠状态。水的比热容高，并有较好的导热性，能有效地吸收代谢过程中所放出的热量，可作为热的缓冲剂，即当外界温度有波动时，可使细胞的温度不至于急剧变化而相对稳定，因此能对微生物起保护作用。

细胞的一切生命活动都离不开水，如营养物质的吸收、代谢活动、生长、繁殖等，水是生理过程的必要溶剂，具溶剂与运输介质的作用，营养物质需先溶于水，才能被吸收或分泌，参加代谢反应。参与细胞的一系列化学反应，以及水能溶解许多物质，主要是由于水的偶极性。盐和离子型化合物，由于分子中含有的正负离子间的静电引力作用，故要分开这些离子需相当大的能量，但在水中，水偶极子与正负离子间产生的静电引力超过正负离子间的静电引力，能把正负离子拉开，形成很稳定的水化离子，即水在离子周围形成水化层，使解离作用朝离子化方向进行。对于非离子的极性化合物如糖、醇、醛、酮等也易溶于水，这是因为水偶极子与这类化合物的极性官能团（如羟基、羰基）形成氢键之故；水也能维持蛋白质、核酸等大分子稳定的天然构象；水本身还直接参与一些重要的生化反应，通过水合作用与脱水作用控制由多亚基组成的结构，如酶、微管、鞭毛及病毒颗粒的组装与解离等。

水化作用也有对细胞生理过程不利的一面，例如离子水化使离子直径增大，有碍于离子向细胞内转移，水化层越厚，转移的阻力越大（表1-1）。水化层也影响离子与蛋白质的结合，蛋白质和膜之间形成水化层会影响其生理活性等。

表1-1　某些离子的水化特性

离子	结晶的直径(d)/nm	水化离子直径(d)/nm	每个离子的水分子数
Li^+	0.07	0.25	6.0
Na^+	0.10	0.23	4.6
K^+	0.13	0.19	2.3
Rb^+	0.15	0.18	1.7
Cl^-	0.18	—	2.9
I^-	0.22	—	0

水对微生物的作用可用水的活度（water activity，a_w）表示。水的活度（又称水分活性）是在相同温度、压力条件下，溶液中水的蒸气压（p_w）与纯水蒸气压（p_w^0）之比，即 $a_w = p_w / p_w^0$。常温常压下，$p_w^0 = 1.00$，当纯水中溶有溶质，溶液的 a_w 值降低；溶解的溶质愈多，溶液的 a_w 值愈低。

每种微生物均有其最适生长 a_w 值，一般在 a_w 0.60～0.99 的条件下生长，低于 0.90 一般不能生长，或迟缓期延长，比生长速率和总生长量减少。表 1-2 是一些微生物生长所需的最小 a_w 值范围。有些极端微生物可在高溶质浓度下生长，如嗜盐（*Halobocterium* sp.）细菌能生长在 $a_w = 0.75$（相当于 5.5mol/L NaCl）的溶液中，少数酵母和耐旱真菌能生长在 $a_w = 0.6$ 的浓糖液中。表 1-3 列出了几种溶液的水活度值。

表 1-2 各种微生物生长的水活度（a_w）极限表

细 菌	a_w	酵母菌	a_w	真 菌	a_w
大多数细菌	0.94～0.99	大多数酵母	0.88～0.94	大多数霉菌	0.73～0.94
枯草杆菌	0.95	啤酒酵母	0.94	刺状毛霉	0.93
大肠杆菌	0.92	产朊酵母	0.94	青霉	0.80～0.90
黏质赛氏杆菌	0.94	高渗酵母	0.65	黄曲霉	0.90
蕈状芽孢杆菌	0.99			黑曲霉	0.84
八叠球菌	0.92			耐旱真菌	0.60
金黄色葡萄球菌	0.86				
耐盐细菌	0.75				

表 1-3 几种溶液的水活度值（a_w）

溶 液	a_w	溶 液	a_w
30%葡萄糖溶液	0.964	饱和 NaCl 溶液	0.78
1%葡萄糖＋20%甘油	0.955	饱和 $CaCl_2$ 溶液	0.30
1%葡萄糖＋40%蔗糖	0.964	饱和 $MgCl_2$ 溶液	0.30
饱和蔗糖溶液或 76%果糖	0.76		

2. 微生物生长需要的其他物质

为完成生长、繁殖等各项生命活动，微生物还需要一系列的其他营养物质，包括碳、氮、氧、氢、磷、硫、钾、钙、镁、铁等元素，锰、铜、锌、钼、钴、镍、钒、硼、氯、钠、硅等微量元素，以及维生素、氨基酸等生长因子。碳是有机物的特有元素，是生物分子的结构中心。碳原子可彼此反应并形成稳定的共价结合的碳碳键化合物，可产生链式或环式结构，其长度和大小几乎是无限度的，并成为各种有机分子的骨架。碳可与许多如氢、氧、氮、硫、磷等元素形成稳定的共价键。碳原子的四面体构型产生了大量的同分异构体。而碳原子如此多样而稳定的结合方式是导致生物分子种类繁多的原因之一。

氮素是生命有机体生长发育必需的主要营养，从分子态氮、无机态氮到有机氮化物等都能作为不同微生物的氮源，主要是提供合成原生质和细胞其他结构的原料，对于少数细菌如硝化细菌还可利用 NH_4^+、NO_3^- 能源，有些氨基酸经反应变为有机酸，可进入三羧酸循环而作为碳源和能源被利用。

无机元素是微生物生长不可缺少的营养要素，其功能包括：组成细胞的成分或作为酶或辅酶的组成部分，调节细胞渗透压、pH 和氧化-还原电位以及作为某些自养菌的能源。

生长因子一般包括三类物质，即维生素、氨基酸和嘌呤（或嘧啶）碱基。维生素作为酶的辅酶和辅基的成分，是酶活性中心的重要组成部分。某些微生物需要氨基酸作为生长因子是因为这些微生物不能自己合成某些氨基酸，因而必须在培养基中加入这些氨基酸才能满足

其生长繁殖的需要。嘌呤和嘧啶是构成细胞核酸的组成成分，也是构成某些酶的辅酶或辅基的组成成分。

营养物质是生命活动的物质基础，其进入细胞后经过一系列生化反应为细胞内大分子的合成与分解等提供能量以及必需的物质基础等，同时也形成了一些细胞本身不需要的代谢产物。也就是说，这些营养物质被微生物吸收以后可参与微生物细胞的组成、构成酶的活性成分和提供微生物各种生命活动所需要的能量等。

3. 微生物的营养类型

微生物种类繁多，其营养类型（nutritional type）比较复杂，根据碳源、能源以及电子供体性质的不同可将绝大部分微生物的营养类型分为四大类。

（1）光能无机营养型　光能无机营养型（光能自养型，photolithoautotrophy）微生物能以 CO_2 作为唯一碳源或主要碳源，利用光能作为生活所需的能源，以水、硫化氢、硫代硫酸钠等无机物作为氢供体同化 CO_2 合成细胞的有机物质。根据氢供体的不同又可分为两类：一类是各种含有光合色素，可以在完全无机的环境中生长的藻类和少数细菌如红硫细菌（Chromatiaceae）和绿硫细菌（Chlorobacteriaceae）。它们以硫化氢作为氢供体，依靠叶绿素或细菌叶绿素，利用光能进行循环光合磷酸化，所产生的 ATP 和还原力用于同化 CO_2，这种光合作用是不产氧的光合作用。另一类是高等绿色植物包括蓝细菌和绿色藻类，与前一类不同之处是以 H_2O 作为氢供体，依靠叶绿素，利用光能同化 CO_2 进行非循环光合磷酸化、产氧光合作用。嗜盐古细菌则利用特殊的紫膜进行特殊的光能转换。

（2）光能有机营养型　光能有机营养型（光能异养型，chotoorganoheterotrophy）类微生物利用光能作为能源，利用有机化合物作为氢供体以还原 CO_2 并合成细胞有机物质。如紫色非硫细菌中的深红红螺菌（*Rhodospirillum rubrum*）可利用简单有机物甲基乙醇作为氢供体。这种类型的微生物进行的也是循环光合磷酸化和不产氧的光合作用，属于兼性光合细菌，在无光条件下好氧异养生长良好，所以在生长过程中多数需要外源的生长因子。

（3）化能无机营养型　化能无机营养型（化能自养型，chemolithoautotrophy）类微生物能利用无机营养物（如 NH_4^+、NO_2^-、H_2S、S^0、H_2 和 Fe^{2+} 等）氧化分解释放的化学能，在以 CO_2 或碳酸盐作为唯一碳源或主要碳源的完全无机的环境中进行生长，并合成细胞物质。其产能的途径是借助于经过呼吸链的氧化磷酸化反应。绝大多数化能自养型菌是好氧菌。化能自养型菌不仅在同化 CO_2 时消耗 ATP，而且当其生产还原力时也需经过逆呼吸链电子传递，消耗 ATP 才能产生同化 CO_2 的还原力。化能自养型菌广泛分布于土壤、水域等环境，在自然界物质循环和转换过程中起重要作用。常见的化能自养型菌有硝化细菌、硫化细菌、氢细菌与铁细菌等。产甲烷细菌和产乙酸细菌虽然其营养类型也是化能无机营养型，但有其特殊性，它们严格厌氧，利用分子氢将 CO_2 还原为甲烷和（或）乙酸，并获得所需的 ATP。

（4）化能有机营养型　目前已知的微生物大多数属于这种营养类型。化能有机营养型（化能异养型，chemoorganoheterotrophy）菌的碳源、能源和氢供体都是有机物，如淀粉、糖类、纤维素、有机酸等。利用有氧呼吸、无氧呼吸和发酵产生其生命活动所需的能量。常见的化能异养型微生物种类和数量很多，包括绝大多数细菌、放线菌以及几乎全部的真菌。在化能异养型菌中又根据它们所利用有机物的特性不同分为腐生型和寄生型两类。前者利用无生命活动的有机物作为生长碳源，后者则寄生于活细胞内并从细胞中获得所需要的营养。寄生型化能异养菌往往是人和动物的致病菌。在腐生与寄生之间存在着不同程度的既可腐生又可寄生的中间类型，称为兼性腐生或兼性寄生。

上述四大营养类型的划分不是绝对的，有些细菌在以光源不同分成的自养型和化能型之

间存在过渡型，如深红红螺菌在光和厌氧条件下能利用光能同化 CO_2，此时是光能营养型，而在黑暗和有氧条件下则利用有机物氧化所产生的化学能推动代谢作用，此时是化能营养型。

此外，就碳源的不同所分成的自养型和异养型之间也没有绝对的界限。有些微生物在缺乏有机碳源时可自养生活；当供给合适的有机碳源时便可异养生活。这类微生物被称为兼性自养微生物。而就异养微生物对 CO_2 的利用也说明自养型和异养型之间是没有绝对界限的。它们的主要区别在于：自养微生物可以利用 CO_2 或碳酸盐作为唯一碳源，并同化为细胞的物质，所需的能量来自光或无机物的氧化；异养微生物可以固定 CO_2，但其主要的碳源来自有机物，所需的能量来自有机物的氧化。

二、微生物生长的环境条件

微生物只能在一定的环境条件下生长，这些环境条件包括温度、渗透压、氧气、pH 等。微生物与其所处环境之间存在着明显的相互影响。微生物运用特殊的形态结构、生理机制、遗传机制等抵抗、适应环境的某些改变。而环境条件的改变可使微生物的形态、生理、生长、繁殖特征等引起改变。研究环境因素与微生物间的相互影响，可揭示微生物适应环境的机制，并可为微生物生物技术的应用打下基础。

1. 温度

(1) 微生物的生长温度　温度是影响微生物生长与存活的最重要的环境因素之一。微生物在一定条件下只能在一定的温度范围内生长，这个温度范围称为微生物的生长温度，其上下限分别为最高和最低生长温度，微生物生长速率最快时的温度称为最适生长温度。最适生长温度与产生某种代谢产物的最适温度并不完全一致。在生长温度范围之外，微生物不能生长，但不一定死亡。当然，微生物也只能在一定的温度范围内存活，微生物可以存活的温度范围称为微生物的耐受温度。显然，耐受温度范围要大于生长温度范围。许多微生物能在低温甚至是 0℃以下的温度生存。由于温度低能够降低微生物体内的代谢活性，使其存活的时间更为长久，这就是低温保藏的原理（Schmidt-Lorenz，1970）。

温度对微生物的影响表现在两个方面，即直接效应和间接效应。直接效应包括影响微生物的生长速率、酶活性、细胞组成和营养需求等。间接效应包括影响溶质分子的溶解性、离子的运输和扩散以及细胞膜的渗透压及表面张力等。不同的微生物其生长温度也是不同的，已报道的细菌的最低生长温度是－12℃、真菌和酵母菌的最低生长温度是－34℃。已报道的极端嗜热古细菌可在 115℃生长。

人们将微生物按其生长温度的不同分为低温微生物、中温微生物和高温微生物等不同的类群。当前生物技术中应用的微生物大多数是中温微生物，生长温度范围在 20～45℃。

(2) 低温对微生物生长的影响　在低温条件下生活着一类微生物，这就是冷适应微生物（cold adapted microoganism）。一类是嗜冷菌（psychrophile），即必须生活在低温条件下且其最高生长温度不超过 20℃，最适生长温度在 15℃以下，在 0℃可生长繁殖的微生物。另一类是耐冷菌（psychrotroph），其最适和最高生长温度分别高于 15℃和 20℃，在 0～5℃可生长繁殖的微生物。

低温影响微生物对营养物质的吸收。嗜冷菌能在 0℃氧化外源葡萄糖。中温微生物在低于 5℃时无代谢活性，但却能代谢内源物质。这是由于中温菌在接近 0℃时细胞不能转运外源营养物质进入细胞（Morton H，1978）。嗜冷菌比中温菌具有比较低的代谢速率，这是低温微生物最显著的特征。随着温度的降低，嗜冷菌的生长速率降低得较慢［图 1-1(a)］。嗜冷菌比中温菌的温度系数（Q_{10}）低。温度降低，细胞内蛋白质的生成速率也降低，其一是

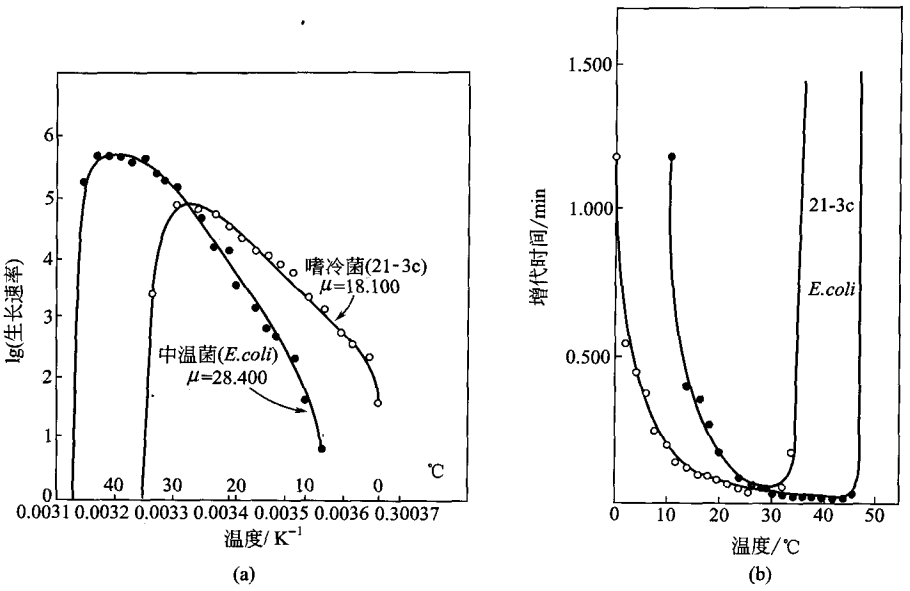

图 1-1　嗜冷菌生长特性（Janes M J，1978）

（a）嗜冷假单胞菌（21-3c）和大肠杆菌的 Arrhenius 曲线（示生长速率）；

（b）温度对嗜冷假单胞菌（21-3c）和大肠杆菌增代时间的影响

因为低温下分子内氢键增加导致酶的折叠增加，从而降低了酶的催化活性。其二是由于在低温下单个酶分子的合成减少。但温度影响蛋白质合成的精确机制还不完全清楚。低温可影响中温菌蛋白质合成过程中 mRNA 翻译的精确程度，而低温微生物则不受影响。温度升高会影响冷适应微生物细胞分裂的正常进行［图 1-1(b)］。这或者是通过影响分裂早期 DNA 的复制及新 DNA 分子的分开，或者是通过影响细胞分裂晚期新细胞壁的分开（Gounot A M，1976）。嗜冷菌和耐冷菌均在环境温度超过它们的最适温度时 RNA 的合成便停止。当温度升高时冷适应微生物细胞中的阻遏蛋白可能发生空间构象的变化，从而更紧密地与 DNA 结合并阻碍酶的形成。

冷适应微生物由于长期生活在低温环境中或短暂忍受中温环境，它们形成了一系列在低温条件下完成生命活动的机制。当微生物生长的温度条件发生变化时，细胞首先感受这一变化并将这一信号传递到细胞内，然后通过不同基因的表达产生应激反应以适应改变了的环境。细菌通过“双成分”调节系统感受环境信号。“感受器”分子通常是一个位于细胞膜中的组氨酸激酶；当其磷酸化时被激活并通过转移磷酸基团而将信号传递给细胞质中的“调节蛋白”。调节蛋白一般作为转录激活因子通过改变基因的表达而起作用。但对细菌如何感受环境中的温度变化所知甚少。在病原菌耶尔森菌中，基因 *LcrF* 被认为与感受温度有关（Hoe N P，1993）。也有人认为在细菌中是核糖体感受外界温度的变化，从而引起细胞内不同基因的表达调控，以此适应环境的变化。

膜中脂的组成提供了膜流动和相结构（固相和液相）的正确条件从而保证膜中镶嵌的蛋白质发挥正确的功能，如离子和营养的吸收、电子转移等。膜中脂类的改变会引起膜流动性的改变。当微生物处于低温时最经常看到的变化是增加细胞膜中不饱和脂肪酸的比例，不饱和脂肪酸某种程度的增加会引起脂类熔化点的降低，从而使膜中脂类处于液态和流动态，因此微生物必须通过调节膜中脂类的组成来调节膜的流动性和相的结构并以此适应环境温度的变化。中温酵母和嗜冷酵母同时处于低温状态时嗜冷酵母合成的不饱和脂肪酸含量高于中温

试读结束：需要全本请在线购买：　www.ertongbook.com