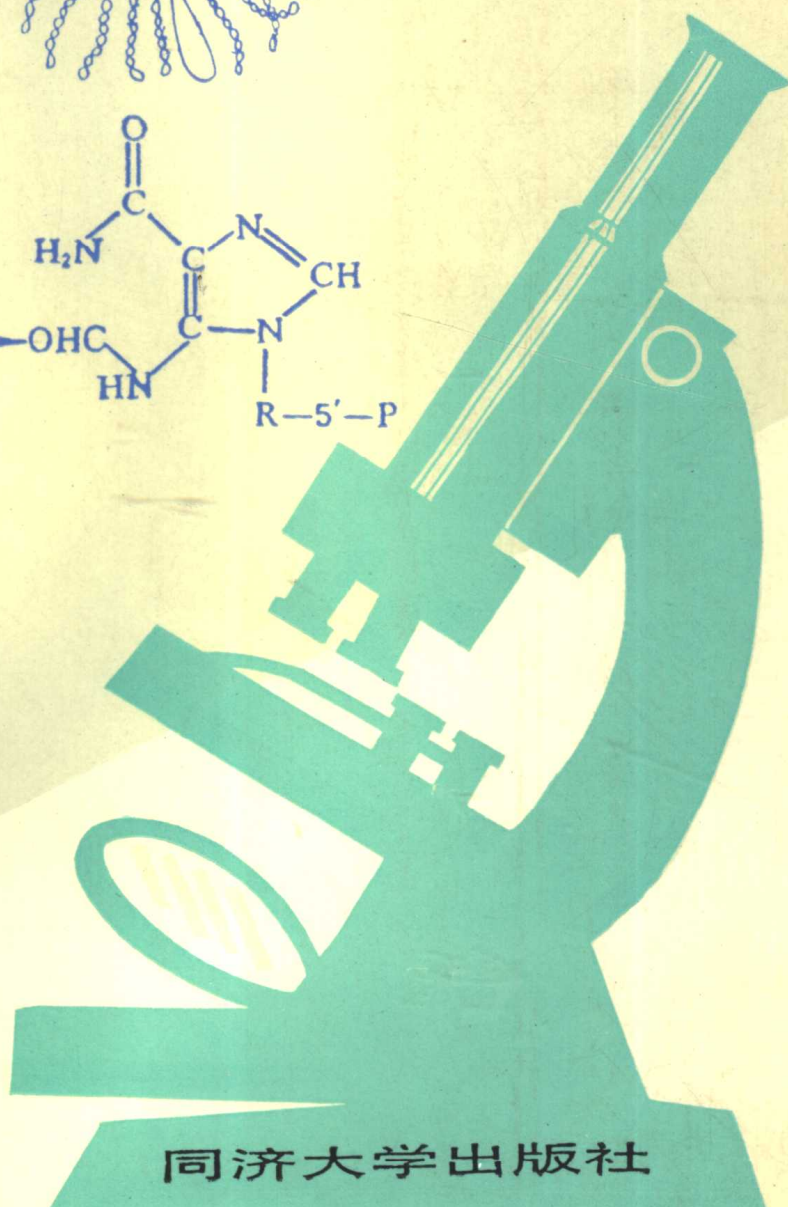
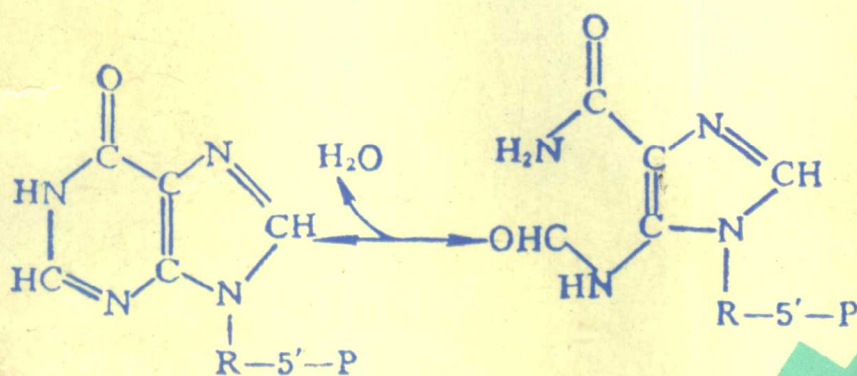
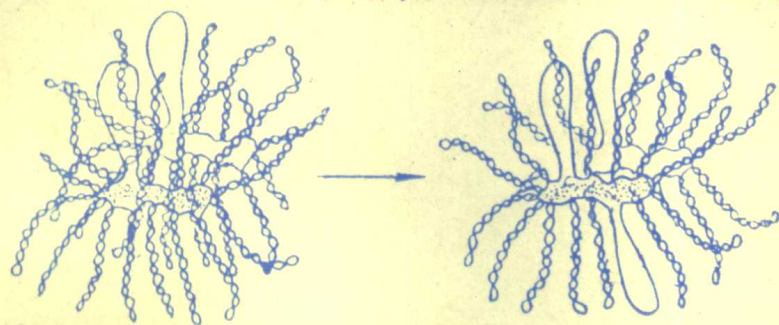


微生物生理学原理

陈世和 陈建华 王士芬 编 著



同济大学出版社

微生物生理学原理

陈世和 陈建华 王士芬 编著

同济大学出版社

(沪)新登字204号

内 容 提 要

本书主要从微生物生理学和生物化学角度研究微生物的生命活动规律,系统地介绍了微生物细胞的结构与功能、酶反应动力学、能量代谢、有机物降解、合成代谢、代谢调节、生长以及废水好氧及厌氧处理的微生物学原理等。

本书的特点是以微生物生理学基础理论为主体,与水污染控制工程中的各种理论和应用技术紧密结合。

本书可供高等院校给排水工程专业和环境科学专业本科师生和研究生作为教材或教学参考;还可供工矿企业环保技术人员、给排水工程师和环境工程科技干部进修使用。

责任编辑 李炳钊
封面设计 邹越非

微 生 物 生 理 学 原 理
陈世和 陈建华 王士芬 编著
同济大学出版社出版
(上海四平路1239号)

新华书店上海发行所发行
常熟市印刷二厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 23.25 字数 520 千字

1992年10月第1版 1992年10月第1次印刷

印数: 1—2000 定价 6.35元

ISBN 7-5608-0986-3/X·10

前 言

随着我国工业生产和城市建设的发展,搞好污水处理工作,对于保护环境和综合利用水资源,具有十分重要的意义。对城市生活污水和含有各种有机污染物的工业废水,生物处理仍是主要的处理方法。近几十年来,国内外对这方面的技术进行很多研究,取得不少进展,但在其机理方面仍有大量问题尚未得到充分的阐明。

污水中含有的有机污染物质种类繁多,在活性污泥(或生物膜)上栖息着多种多样的微生物组成的生物群落,它们通过酶系统的作用,对污水中的各种有机污染物,经过一系列的生化反应、降解而达到净化目的。这一净化过程,其机理是很复杂的。为了阐明净化过程的机理,对于环境工程专业人员来说,不仅应当从工程方面进行大量的调查研究和理论探讨工作,还应当和生物学、化学、物理等学科领域密切配合,尤其是从微生物生理、生态方面来研究微生物在污水净化反应中的机制,以便更科学地发挥微生物在生化处理中的作用。

本书原名《微生物生理生化基础》,是为环境工程专业研究生开设的一门课程。其内容以微生物生理学理论为基础,结合生物处理中的有关机理,旨在提高环境工程专业研究生在微生物生理学方面的基础理论知识,编者在1978年开设本课程,通过教学实践,经多次修改调整,现在原教材基础上,由陈建华、王士芬参与共同执笔编写,并将书名改为《微生物生理学原理》。本课程开设已历时十多年,虽经屡次修改补充,限于编者水平,难免有谬误或不足之处,请专家、学者和广大读者批评指正。

陈世和

1991年4月于同济大学 环境工程学院

目 录

前言

第一章 微生物细胞的结构与功能	1
第一节 细胞表面及其附属物	1
第二节 原生质体	13
第二章 微生物的营养和营养物质的吸收	25
第一节 微生物的营养	25
第二节 营养物质的吸收	36
第三章 酶反应动力学及酶的固定化	50
第一节 酶的基本性质	50
第二节 酶反应动力学	57
第三节 多底物反应动力学	67
第四节 固相酶与细胞固定化	75
第四章 微生物的能量代谢	80
第一节 自由能与高能化合物	80
第二节 厌氧发酵	86
第三节 微生物的呼吸	95
第四节 光能微生物的能量来源	106
第五节 化能自养微生物的能量来源	114
第五章 环境中有机物的降解	121
第一节 糖类的降解	121
第二节 脂类的降解	134
第三节 烃类的降解	141
第四节 含氮化合物的降解	151
第五节 微生物脱氮和脱磷	162
第六节 难降解物质的降解	170
第六章 微生物的合成代谢	181
第一节 糖类的合成	181

第二节	二氧化碳的同化与还原力的产生	189
第三节	脂类的合成	196
第四节	氨基酸与蛋白质的合成	203
第五节	核苷酸与核酸的合成	218
第六节	微生物的固氮	227
第七章	微生物的代谢调节	235
第一节	微生物代谢调节的基本特性	235
第二节	酶活性的调节	236
第三节	酶合成的调节	250
第四节	代谢调节理论在实践中应用的举例	257
第八章	微生物的生长	259
第一节	微生物的个体生长	259
第二节	分批培养	272
第三节	微生物的连续培养	281
第九章	好氧生物处理法中的微生物	292
第一节	活性污泥法中的微生物	292
第二节	生物膜法中的微生物	309
第三节	好氧生物处理法在水处理中的应用	320
第十章	厌氧生物处理法中的微生物	331
第一节	厌氧消化的微生物学本质	332
第二节	厌氧消化法	346
第三节	厌氧生物处理法在水处理中的应用	358

第一章 微生物细胞的结构与功能

细胞是生物形态结构和生命活动的基本单位。生物界除病毒等少数有机体不具备细胞形态外,绝大多数的生物都属细胞生物。

单细胞生物如细菌的细胞是整个微生物机体一切生命活动的基地,组成细胞的每一种结构都具有一定的功能。由于微生物的体积微小,要观察及了解其内部结构有一定的困难。20世纪30年代电镜的问世,使这项研究逐渐由表及里不断深化,将电镜技术结合其它学科的新技术,如超离心超薄切片,X线衍射以及放射性同位素等技术,使微生物细胞结构的研究进入到亚细胞水平和分子水平。在细胞形态、细胞生理和细胞化学等方面都有很大的进展。并有可能从亚细胞水平和分子水平深入探讨生命现象及其本质。可以认为,离开对微生物细胞结构和功能的研究,要阐明物种的生长繁殖、遗传以及生命活动等的基本原理将是不可能的。

第一节 细胞表面及其附属物

许多微生物细胞表面存在一组复杂的结构,包围着原生质体。由于其中许多成分与外界环境相接触,所以称为细胞表层结构。它们包括鞭毛、荚膜和细胞壁等。近年来,对细胞表层结构的化学组成及物理结构的研究有了较大的进展,在此基础上加深对其结构的机能和性质的认识。从而能更有效地控制微生物的生命活动。

一、丝状体结构

微生物细胞可通过各种方式进行运动,但对大多数进行活跃运动的游泳细胞来说,其运动常取决于从细胞表面突出的丝状结构的特殊运动器。存在于原核生物的细菌中的这种丝状结构就是鞭毛;在真核生物中有鞭毛和纤毛,原生动物的中就两类被特别称为鞭毛虫和纤毛虫,鞭毛和纤毛成了不同生物的特征。另外,在许多细菌表面还存在一些非鞭毛状的丝状结构——纤毛和线毛。它们在化学成分上同鞭毛相似,但与运动无关。

(一) 鞭毛(flagella)和纤毛(Cilia)

鞭毛和纤毛都是细胞表面特化的运动结构。它们都起源于细胞膜下的基体(basal body),穿过细胞膜和细胞壁向外延伸。两者极为相似,没有明显的形态与生理特征的区别。但一般来说,描述纤毛意味着它比细胞长度要短,数量较多;而鞭毛比细胞长,数量少。鞭毛和纤毛都有很大的活动范围。纤毛的活动有的是剧烈的、活跃的推进,随后慢慢恢复;有的是以旋转的活动,拍打的频率在不同的细胞类型之间可以有所变化,每分钟可达1500次。鞭毛通常显示波浪形的运动,在此情况下,一个收缩波从鞭毛的基部传到末端(图1-1)。

1. 鞭毛和纤毛的结构和化学组成 鞭毛和纤毛都是一种较大的丝状结构。鞭毛都呈螺旋形结构,内部是由微管组成的轴,轴的基部与基体相连。在真核生物中,各种细胞的鞭

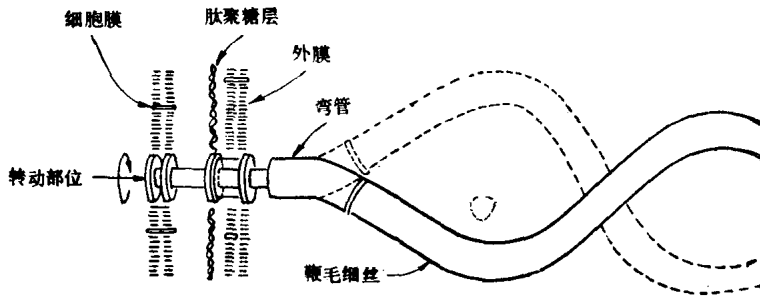


图 1-1 细菌鞭毛的转动

毛或纤毛的轴，典型的结构都呈 $9+2$ 图形(图 1-2)。中央有 2 根微管，外周有 9 根二联管微管环绕，中央的 2 根微管之间有架桥相连，外包中央鞘。外周的二联管由 A 管和 B 管组成，由 A 管向中央鞘伸出突起，称为辐条。A 管和相邻二联管的 B 管间有细纤维丝相连。由这种 $9+2$ 微管结构组成的轴称为轴丝，其外有细胞质膜包裹着。鞭毛通过一个基板或“生毛体”插入细胞质的外层，生毛体本身来自一个能自我复制的中心粒。

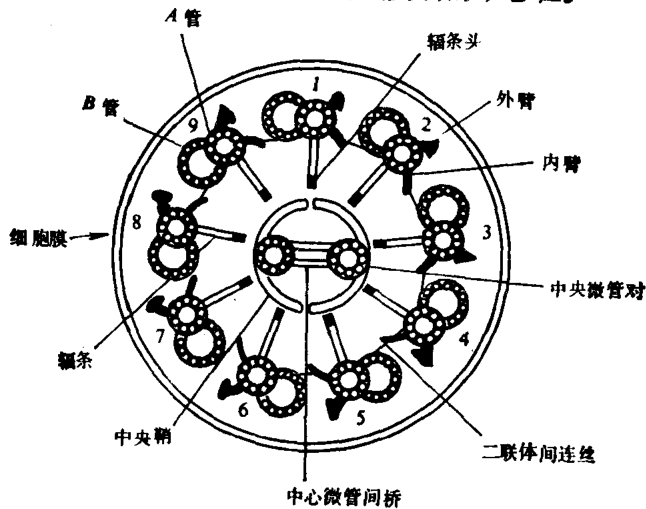


图 1-2 真核微生物鞭毛的 $9+2$ 结构(横断面模式图)

真核生物的鞭毛长度可达 $150\ \mu\text{m}$ ，直径约 $150\text{--}300\ \text{nm}$ 。纤毛的长度约 $5\text{--}10\ \mu\text{m}$ ，直径 $0.3\text{--}0.5\ \mu\text{m}$ ，在光学显微镜下就能观察到。通过生化分析表明，其化学组成主要为蛋白质，并含有少量的脂类、多糖和核酸。被称作动力蛋白(dynein)和微管蛋白(tubulin)的两种蛋白质是较主要的。动力蛋白具有 ATP 酶活性，是构成周围微管上短臂的蛋白质。由 $14\ \text{s}$ 及 $30\ \text{s}$ 两部分组成， $14\ \text{s}$ 部分为小球形分子，分子量约 $540\ 000$ 。 $30\ \text{s}$ 部分呈短的丝状结构，分子量约 $5\ 000\ 000$ 。微管蛋白是构成微管的蛋白质，有 A 和 B 两种，为小球形分子，分子量 $55\ 000\text{--}60\ 000$ 。蛋白质的氨基酸组成均属普通氨基酸，其中天门冬氨酸和谷氨酸的含量较高。

原核生物中细菌的鞭毛不具 $9+2$ 结构。不同细菌的鞭毛有其不同的直径，通常为 $12\text{--}18\ \text{nm}$ ，长度可达 $20\ \mu\text{m}$ 左右，因此细菌鞭毛及其运动只能在暗视野照明下才能观察到。一般来说，最容易看到鞭毛的方法是通过特殊的染色方法，使染料沉积在鞭毛上，再用光学显微镜或电子显微镜来观察。细菌的鞭毛丝状体是由单一蛋白质——鞭毛蛋白的亚基所构

成，约占细胞干重的2%，鞭毛蛋白是一种很好的抗原，即H抗原(德文为 Hanch, 故称H型)。这些亚基以螺旋序列围绕着柱形轴整齐地排列着。因此，鞭毛的结构是由蛋白质亚基的特性所决定的。鞭毛有三部分组成：即鞭毛丝；接近细胞表面的鞭毛钩——弯曲部分；以及把鞭毛固定在细胞质膜和细胞壁上的基部(图1-3)。鞭毛丝呈波浪形(图1-1所示)，其

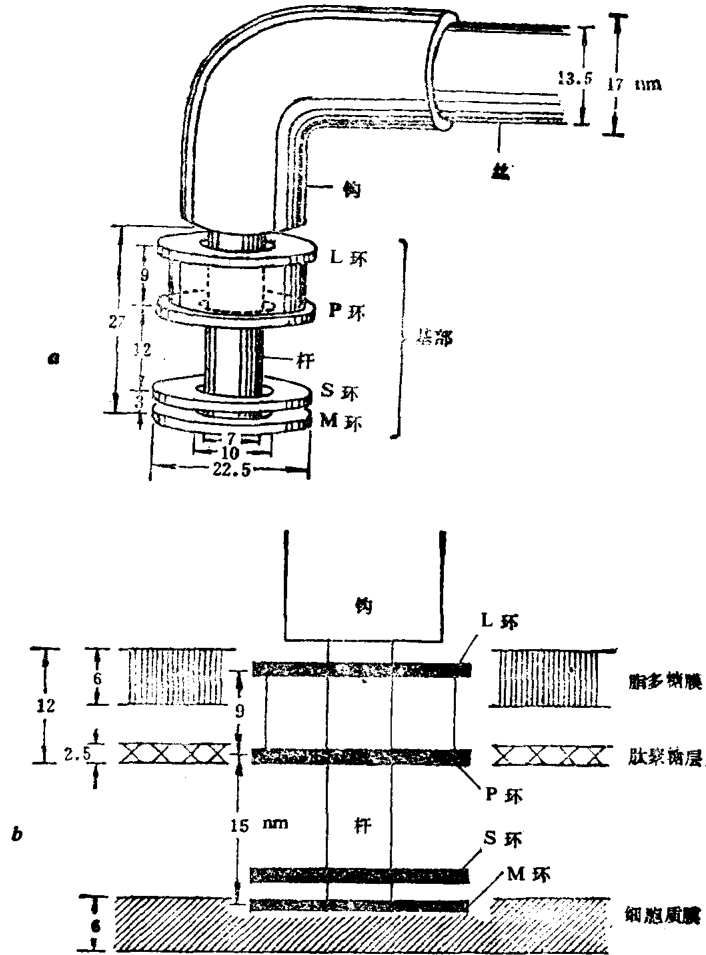


图1-3

a. 细菌鞭毛基本结构模式图(G⁻); b. 革兰氏阴性细菌的鞭毛固着在细胞壁和细胞质膜上

蛋白质分子量一般在30 000—54 000，在低pH(pH 3—4)或在去垢剂溶液中不稳定，易分解。组成蛋白质的氨基酸有胱氨酸、组氨酸、酪氨酸等，一般不含半胱氨酸。弯曲部分位于鞭毛丝的基部。主要由单个多肽亚基组成，结构比较稳定，分子量因种而异。例大肠杆菌和沙门氏菌的多肽亚单位分子量为42 000，枯草杆菌为33 000。基部结构比前面两部分要复杂得多，它贯穿细胞壁，定位于细胞膜。在革兰氏阴性细菌中，基部是由一个其上有两对环的中央核心所组成。外面的一对环——L环和P环，定位在细胞壁的外层和内层的水平面上，而里面的一对环——S环和M环，则位于细胞质膜外层的水平面上(图1-3所示)。因为革兰氏阳性细菌不存在外面的一对环，因此可设想，对鞭毛运动来说，只有内部一对环才是必要的。基部结构由9种多肽组成，其分子量变化较大。

由于细菌鞭毛仅有单一蛋白质组成的结构，对它的自身装配较为简单，但对鞭毛的形成

过程还不完全了解。一些实验资料证明,鞭毛蛋白的亚单位在细胞质内合成,然后通过鞭毛中央的空腔输送到鞭毛的远端,进行装配,使鞭毛延长,鞭毛的生长在一定程度上是连续的。在此过程中,有多个基因控制亚单位的合成装配与鞭毛的转动。

2. 鞭毛和纤毛的运动和运动机制 鞭毛由螺旋状缠绕的丝所组成,生有鞭毛的微生物能以极高的速度运动。巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)的运动速度为 1.6 mm/min,而霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)为 12 mm/min,即相当于每分钟移动细胞长度的 300—3 000 倍的距离。鞭毛可以相当高的频率来转动,在具有鞭毛的螺菌中,约为 3 000 r/min,这种鞭毛转动的结果,引起细菌体以约为此速度的 1/3 作反方向旋转,鞭毛运动的方向由鞭毛转动的方式和方向来控制,鞭毛可改变其旋转方向,这种改变既可自发进行,也可因对外界刺激的反应而进行。在某些有极生鞭毛的细菌中,改变其旋转方向可导致运动方向的逆转。例如,在奥氏着色菌(*Chromatium okenii*)中,为对光刺激作出反应而改变旋转方向,可形成鞭毛束来控制菌体的运动方向。在一种长有单端鞭毛的大型光合螺菌(*Thiospirillum jensenise*)中,当它作后退运动时,其鞭毛束并不朝前方拍击,而是倒转过来覆盖在菌体上。周生鞭毛菌如大肠杆菌(*E. Coli*)的运动可借鞭毛的反向旋转使菌体翻滚(翻筋斗)。一般说来,周生鞭毛是不能拉动细胞前进的。

草履虫等原生动物具有纤毛,同样,纤毛的摆动是在高度协调系统的控制下进行的。例如,有一种虫体长 100 μ m 的草履虫,周身布满了约 2500 根纤毛,具有绝顶的游泳技巧,一秒钟内走过的路程近似于虫体长度的 10 倍左右,遇到障碍就立即倒退,或朝任何方向机灵地转弯。这是一种特技。

关于鞭毛和纤毛的确切运动机制,目前还停留在学说推论的阶段。对于存在 9+2 结构的鞭毛运动,过去曾认为是由于微管的伸长和收缩,使其产生了快击,或称有效摆动,即收缩说。但是,在鞭毛和纤毛运动时却没有发现微管的长度和粗细发生改变。近年来,由于对鞭毛和纤毛内蛋白成分的分析,及受肌纤维中肌丝滑行学说的影响,因而提出鞭毛和纤毛的运动是由于二联体微管间的滑行引起的,当改变了各组微管间的相对位置时,就使鞭毛和纤毛摆动,即滑动说。

根据滑动说, Satir(1974 年)精确地观察了在纤毛顶端不同平面上的微管排列图形,测量了每个微管的长度和宽度后得到证实。纤毛的运动是由于放射辐和中央鞘之间的连接与脱离连续往返地进行,引起周围的二联体微管一组挨一组地互相滑动,每一组微管均能发出一个纵行的冲击,推动相邻的微管,从而带动丝状体转动,使细胞运动,这是目前一般都能接受的一种学说。这过程中所需的能量来自 ATP 的水解。在真核微生物中,鞭毛和纤毛均具有 ATP 酶,水解 ATP 产生自由能,成为运动所需的能量。

原核生物中,有关细菌鞭毛旋转的分子机制还不十分清楚。主要靠鞭毛基部的“转动子”导致 S 和 M 环相对旋转而工作, M 环位于细胞膜的水平面上,要使两环的相对旋转能推动细菌的运动,估计 S 环也附着在细胞壁的内表面上。因为除去细胞壁的原生质体,即使带有完整的鞭毛也不能运动。以下试验可说明鞭毛推动细胞运动的事实。西尔弗曼(Silverman)与西蒙(Simon)在 1974 年,用诱变方法获得大肠杆菌的聚弯状结构突变体,通过培养制备聚弯状结构制剂,将其免疫动物,制备抗血清。然后将这种血清涂片,再将突变体的菌悬液滴在涂片上作镜检,结果发现菌体作反方向转动。这是由于聚弯状结构突变体通过抗原抗体反应,使菌体通过聚弯状结构固定在玻片上,而此时鞭毛基部的转动子仍在起作用,

由于鞭毛丝状体已被固定不能转动,结果引起菌体的转动。鞭毛的转动也需要能量,现尚未在细菌鞭毛中发现有 ATP 酶,目前认为细菌鞭毛转动的能量来自细胞内的质子运动力。质子运动力在生物中除了作为鞭毛运动的动力以外,还同生物中的能量转换和物质进出细胞的过程有着密切的关系(第二章)。也有人认为细菌鞭毛转动的能量可来自细胞内 ATP 的水解,在这里,鞭毛的基部起着能量转换器的作用,将能量从细胞质或细胞膜传送到鞭毛,推动鞭毛运动。

在一般情况下,具有鞭毛的细菌在液体环境中是处于持续不断的随机运动中的。但是如果遇到某种环境因素对其有所影响时,大多数运动细菌具有对环境刺激作出改变其运动方向的能力,显示出趋避性。如光合细菌对光反应而运动,菌体聚集到照明区,依赖于光以满足其能量的供应,还有某些细菌通过运动,显示出它们的代谢能力与氧或空气的关系。在放置载玻片和盖玻片的菌悬液中,可发现好氧细菌聚集在接近盖玻片的边缘处或气泡的附近,说明它们需要好氧条件,而专性厌氧菌会汇集在盖玻片的中央,这就是对氧的趋避性。趋避性运动对于有运动能力的细菌来说,是对外界环境的一种适应,利用其具有变化旋转速度和方向的能力,细菌趋向有利它生活的环境,逃避它不利的环境。

(二) 繖毛(fimbria)和线毛(pilus)

繖毛是比鞭毛更细,短和硬,不显波形,数量较多的细丝结构。其直径 7—10 nm,长度 200—2000 nm。在细胞上的数量较多,多达数百根。繖毛也由蛋白质组成,所不同的是没有运动功能。繖毛的类型很多,不同的繖毛其作用也不同。普通繖毛根据其形态、分布和吸附特性等又可分成六种类型,其主要功能是粘连作用。其中最常见的是 I 型繖毛,它能牢固地吸附在动植物、真菌以及多种其他细胞上。有的是噬菌体的吸附位点。

有一种同细菌结合有关的繖毛叫性繖毛,是细菌接合的工具。细菌的接合是将遗传物质从供体传递到受体菌株的一种方式,作为供体或受体的能力是由它的遗传性决定的。当不同的细菌结合时,可通过性繖毛,供体菌株可将遗传物质传递给受体菌株,使之也能产生性繖毛,至于传递过程的确切理论,正待进一步研究,但有一点是十分肯定的,性繖毛在接合过程中起着重要作用。

线毛和繖毛有一定的区别,在细胞上的数量比繖毛少,通常只有 1—10 根,其作用也不同。线毛主要是细胞配对时,可将供体菌的遗传物质传递到受体菌上,以改变受体菌株的多种特性。

二、荚膜和粘液层

荚膜是细胞分泌的一种粘性物质。包围着整个细胞,并封闭了细胞壁。使细胞与外界环境有明显的边缘。其厚度一般都在 0.2 μm 以上,有时也称大荚膜,可用振荡培养和离心技术从细胞表面提取完整的荚膜物质。通常用负染色法就能很容易地在光学显微镜下观察到荚膜的存在,也可采用金属离子、醇类等媒染剂引起荚膜物质沉淀,进行观察。还有一种被称为微荚膜的物质,其厚度在 0.2 μm 以下,不易用光学显微镜观察到,通过免疫学方法可以证明它的存在,用胰蛋白酶可很容易地将这类与细胞结合很紧的微荚膜移去。

产生荚膜的能力是微生物的一种遗传特性,也与环境条件密切相关。培养基中的碳氮比以及通气情况等都与荚膜的形成有直接的关系。有些细菌的荚膜物质的形成还需有专一性的底物存在。例如当培养基中含有蔗糖时,许多微生物才能形成更多的粘液。一个众所

周知的实例是肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*), 它可迅速地把蔗糖的溶液转化为葡聚糖构成的粘稠冻胶。这种转变在细胞外进行, 是由胞外葡聚糖蔗糖的糖基转移酶所催化:

n 蔗糖 + (1, 6- α -葡萄糖基) $_m$ \rightarrow n 果糖 + (1, 6- α -葡萄糖基) $_{m+n}$ 此过程将蔗糖分解为游离的果糖, 并将分解出来的 α -葡萄糖连续地接到受体上。利用蔗糖作为底物合成葡聚糖和果聚糖时, 只要通过转糖基作用就能延长多糖的链。此过程中利用的能量只是蔗糖分子中糖苷键的能量的转化, 不需消耗 ATP。对这些细菌来说, 蔗糖是合成葡聚糖和果聚糖的专一性底物, 只有当环境中存在蔗糖时, 才能合成这些荚膜物质。因此, 这些细菌在含蔗糖的培养基上形成的菌落与在含葡萄糖或其它糖类物质的培养基上形成的菌落也是完全不同的。通常情况下, 具有荚膜物质的细菌在固体培养基上形成的菌落表面湿润, 有光泽, 呈粘液状, 称为光滑型菌落; 而无荚膜物质的细菌形成的菌落表面比较干燥, 无粘性, 称为粗糙型菌落。荚膜不是组成细胞的必要的成分, 它的存在与否不影响细胞功能和结构的完整性, 也不影响其生活能力。但荚膜的存在却能使某些病原细菌提高抵御吞噬作用和致病能力, 当其失去了形成荚膜物质的能力以后, 它们的毒性就明显降低或丧失。例如, 能引起肺炎的肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*) 总是有荚膜的, 这使宿主的吞噬细胞难以吞入和消灭。另一种肺炎双球菌则有两种情况, 有荚膜的肺炎双球菌是能很好地在人体内生长从而引起疾病; 而没有荚膜的肺炎双球菌是非致病性的。因此说明荚膜在微生物侵袭宿主过程中有一定的重要性。

荚膜的化学组成因菌种而异, 水约占 90%, 除水之外大多数细菌, 例如变异链球菌(*Streptococcus mutans*)、唾液链球菌(*Streptococcus salivarius*) 的荚膜成分是多糖, 它们除了含葡聚糖、果聚糖之外, 还含有氨基酸, 鼠李糖, 各种糖的糖醛酸等。多糖又有同型多糖和异型多糖之分。同型多糖是由一种单糖组成, 如前面已提到过的肠膜明串珠菌的粘液就是由葡萄糖残基所构成的葡聚糖。葡聚糖可作血浆的代用品, 提高水溶液的粘度, 也可用以

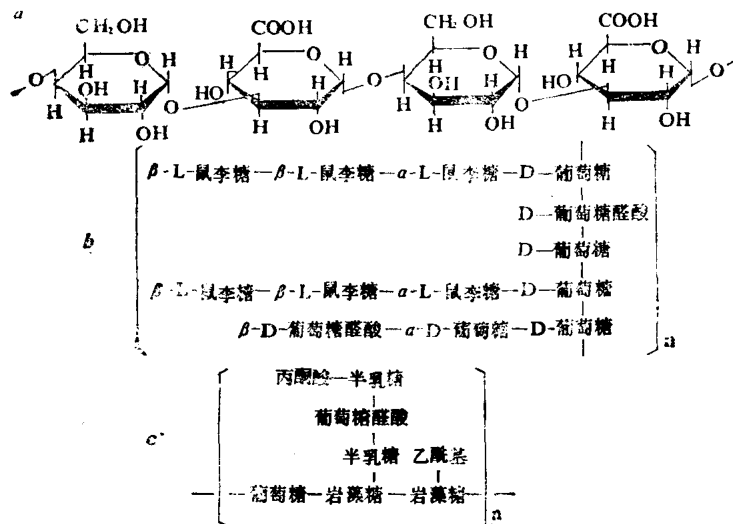


图 1-4 细菌荚膜多糖重复单位
a. 肺炎双球菌 II 型荚膜多糖; b. 肺炎双球菌 I 型荚膜多糖;
c. 鼠伤寒沙门氏菌的粘液多糖

生产葡聚糖商品。异型多糖是指由一种以上的单糖或单糖衍生物等组成的多糖，如铜绿色假单胞菌的多糖由 D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、D-鼠李糖和 D-葡萄糖醛酸等组成。异型多糖的组成方式很多，不同细菌的荚膜，其多糖重复单位的构成不同(图 1-4)。多糖的生物合成有两种机制：(1)借细胞外酶由双糖形成葡聚糖和果聚糖，(2)大多数多糖的成分是不依赖细胞底物的，它们的生物合成途径与胞壁质和脂多糖相类似。

荚膜或粘液层对菌体本身起保护作用，在废水生物处理的活性污泥中，具有荚膜的细菌互相粘集在一起，形成具有各种形状的菌胶团。荚膜可防止干燥和防吞噬，并可作为贮存物质，当外界环境中碳氮比高时有利于细菌荚膜物质的形成，而当环境中缺乏碳源时细菌就可利用荚膜物质生长。但当废水中营养物比例中氮和磷不足温度较低的情况下，活性污泥中明显有高粘性的多糖类物质积累，使活性污泥的沉降性能恶化。这就是高粘性污泥膨胀，这种物质的组成有葡萄糖、甘露糖、阿拉伯戊糖、果糖等多聚糖，其性质和荚膜、粘液层是相当一致的。

三、细胞壁

细胞壁是绝大多数微生物细胞的主要结构，它是位于细胞表面的一层富有弹性的坚韧组织。不同微生物的细胞壁有其不同的化学组成和结构。要分析细胞壁的化学成分，可通过高压冷冻等方法将细胞破碎后，利用差速离心从细胞破碎物中分离出细胞壁，并测定其化学组成。观察细胞壁的结构，可将细胞在高渗培养液中使其质壁分离，染色后在光学显微镜下观察。也可在细胞的超薄切片上，用电子显微镜观察到细胞壁的结构。从各种微生物材料中分离得到的细胞壁厚度约 10—20 μm ，它们所占细胞干重的量常随菌龄、培养条件而变化，通常占细胞干重的 20—30%。

微生物细胞具有各种形状，每种形状都是由细胞壁中某些大分子的排列所决定的。因此很难笼统阐述细胞壁的结构。我们将以细菌细胞壁为主介绍其结构和功能。

(一) 细菌的细胞壁

细菌细胞壁的组成成分复杂，它是决定革兰氏染色反应的结构成分。细菌细胞壁的化学组成与其他真核微生物的化学组成有着显著的区别。

1. 细菌细胞壁的基本骨架 细菌细胞壁的支持骨架是肽聚糖，又称粘肽。这是一种几乎存在于所有细菌中的异型多糖。这一大分子是由 N-乙酰葡萄糖胺 GICNAO 及其乳酸酯——N-乙酰胞壁酸(MurNAO)相间隔排列，以 1, 4- β 糖苷键交联的分子链所组成的异聚糖。这些异聚糖是没有分支的直链，由它们形成肽聚糖结构的主干。每条聚糖链含 20—60 个双糖单位，长度为 50—100 μm 。在链中的胞壁酸单位上有短肽，它们通过肽键接在胞壁酸的乳酸酰残基上。这些短肽的典型氨基酸种类是 L-丙氨酸、D-谷氨酸，m-二氨基庚二酸或 L-赖氨酸和 D-丙氨酸。其中二氨基酸——m-二氨基庚二酸和 L-赖氨酸在形成分子内的网络中起了重要作用。因为它们的两个氨基都可参与肽键的形成。这样，它们就可以连接两条直链异聚糖链，聚糖链又可以通过肽侧链互相交叉连接成一种网状结构的大分子(图 1-5)。细菌不同，其短肽之间的连接方式也不同(图 1-6a)。组成肽聚糖的聚糖链以及聚糖链之间的交叉连接的程度也不同。实际上交联并不总像图中那么有规则，特定的交联型决定了各种细菌的形状。在革兰氏阳性细菌中，肽聚糖占据细胞壁干重的 30—70%，胞壁酸的四肽侧链是通过肽间链(例如五甘氨酸肽)相连接的，其中所含的氨基酸在不同的菌

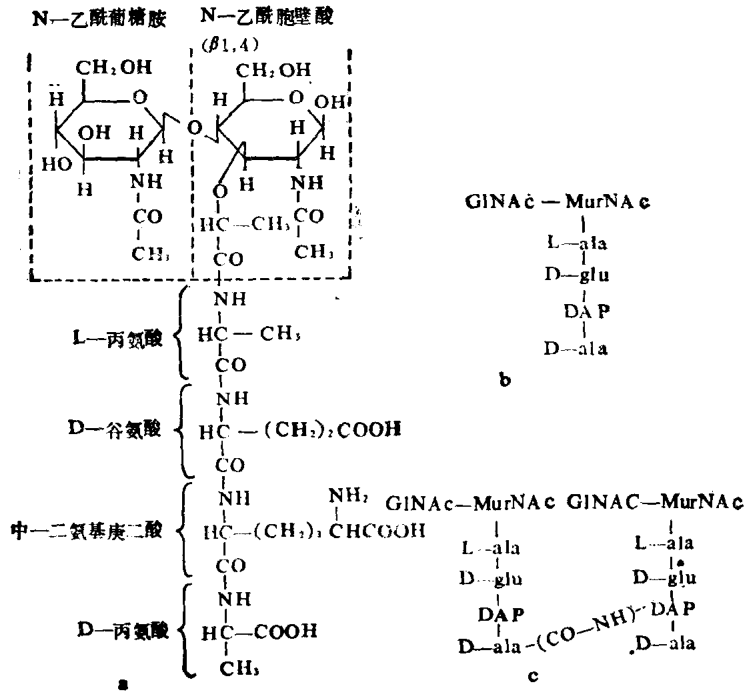
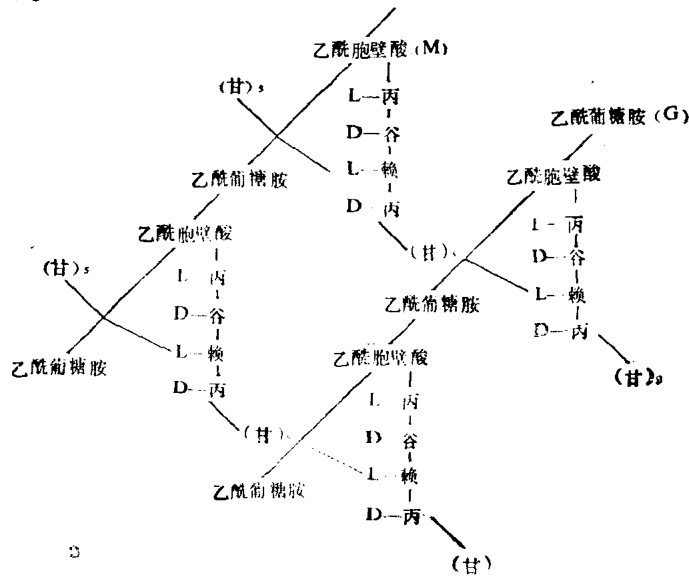


图 1-5 肽聚糖的一般构造

a 单个亚单位的完整构造,表示构成聚糖链的两个氨基酸之间的键合,以及胞壁酸和短肽链的四个氨基酸之间的键合; b 是 a 所示构造的简化示意图; c 表明一个亚单位上的 D-丙氨酸的末端羧基和近邻亚单位上二氨基酸(二氨基庚二酸)的自由氨基之间的交联方式

种中是有变化的。肽链之间的交联程度高,肽聚糖约有 40 层构成。而在革兰氏阴性细菌中,肽聚糖只占细胞壁干重的 10%,肽链之间的交联程度较低,交联的和未交联的肽链数目几乎相等(图 1-6 b)。



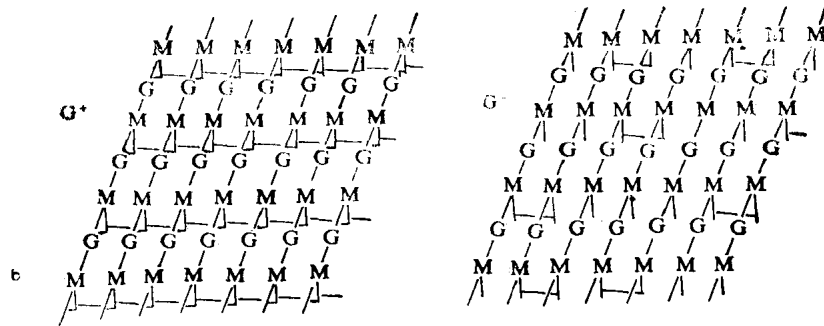


图 1-6 细菌细胞壁中肽聚糖的交联图

a. 革兰氏阳性细菌肽聚糖四肽连接方式; b. 革兰氏阴性菌和阳性菌肽链交联比较少

肽聚糖是一种独特的物质,其组成成分是在动植物中从未见到过的。因此细胞壁中肽聚糖层的存在几乎是一切原核生物的鉴别性特征。由于细菌细胞壁的成分和结构与动植物有根本的差别,故对细菌细胞壁及其合成有专一抑制作用的化学治疗剂应该对其宿主是无毒的。大例如抗生素中青霉素干扰肽聚糖的合成。因此,如果细菌在青霉素存在下生长,菌体增而坚固的肽聚糖层并不扩大,在用青霉素处理细菌时,可观察到的最显著的变化就是所谓 L 型细菌的产生,这是由于被处理的细胞在长度和直径方面不规则生长的结果,由此引起了与原细胞相比在体积上增加了好几倍的细胞。当细胞的体积超过较弱的膜层所能支持的程度时,细胞就失去了保护,就会破裂,这就是青霉素对细菌的致死效应。微生物的细胞壁还可以通过相应的溶菌酶处理,使其从细胞上除去。在革兰氏阳性细菌中,肽聚糖是溶菌酶的作用位点。溶菌酶分解肽聚糖中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰葡萄糖胺之间的糖苷键,分解的结果使细胞产生了原生质体。原生质体已被证明是没有细胞壁的成分,不含任何胞壁酸或二氨基庚二酸。细胞壁的溶解并不影响细胞的代谢,原生质体可像完整细胞那样进行呼吸。但一般来说,它不能再合成细胞壁,且无法吸附噬菌体。用溶菌酶处理革兰氏阴性细菌,由于其细胞壁成分较复杂,故对细胞壁的去除不彻底,一般称其为原生质球状体,原生质球状体往往能重新合成新的细胞壁,恢复原来的细胞形态。

2. 其它聚合物 细菌细胞壁除了由肽聚糖组成的网络结构外,还有其他一些聚合物附属于肽聚糖的骨架上。例如磷壁酸、多糖类和多肽或蛋白质等。在革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌间,参与的聚合物和组成结构都是不同的(表 1-1)。

革兰氏阳性和阴性细菌的细胞壁形态和化学组成比较 表 1-1

成分	细菌细胞壁	
	革兰氏阳性	革兰氏阴性
壁厚度(nm)	10—80	10—15
肽聚糖层	约 40 层	不超过 2 层
肽聚糖量 (占细胞壁(%))	30—70	10
外壁层(外膜)	—	+
蛋白质	+或—	+
脂多糖	—	+
磷壁酸	+	—

革兰氏阳性细菌的细胞壁 革兰氏阳性细菌的细胞壁较厚, 约 10-80 nm, 除了肽聚糖外, 磷壁酸的存在是一个重要的特征。磷壁酸是一种多糖磷酸, 分为核糖醇(ribitol)型和甘油型(glycerol)。前者是由磷脂键连结起来的五碳糖醇的聚合体, 后者是通过磷脂键连结起来的三碳糖醇的聚合体(图 1-7)。细胞壁所含磷壁酸的类型因菌种不同而异, 它们由磷

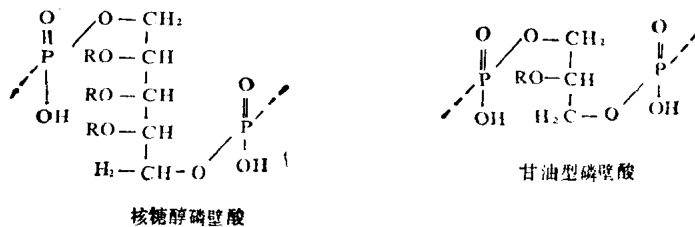


图 1-7 磷壁酸的类型与基本结构

酸甘油或核糖醇分子的重复单位借磷酸酯桥相连而成的链。磷壁酸可以是核糖醇磷壁酸也可以是甘油磷壁酸, 它们以共价键的方式结合到肽聚糖的 N-乙酰胞壁酸上, 位于肽聚糖的表面, 构成革兰氏阳性菌的重要的表面抗原。例如在乳酸葡萄球菌中, 大约有 60% 的肽聚糖连接有磷壁酸, 这些磷壁酸通过三个甘油磷酸和一个 N-乙酰葡萄糖胺组成的连接单位与肽聚糖相连接, 这些链的长度可达 30 个或更多的重复单位, 但通常是 10 个或 10 个以下的重复单位(图 1-8)。它们组成细胞壁的单层结构物, 一层一层地重叠起来, 形成了厚而清晰的连续层并使细胞壁具有坚韧性, 以维持细胞完整外形。

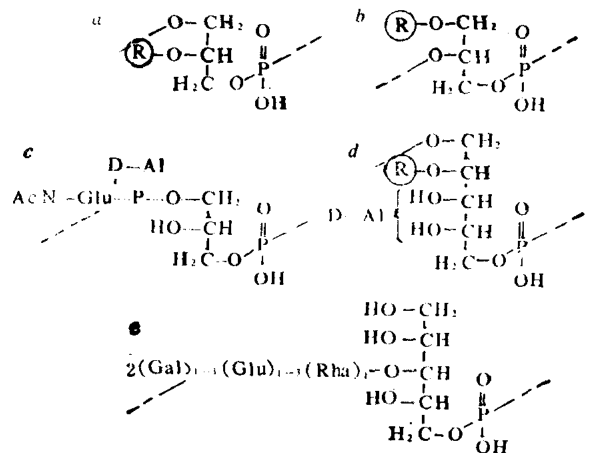


图 1-8 某些磷壁酸的重复单位

a. *Lactobacillus casei* 7469 的甘油磷壁酸 (R=D-丙氨酸); b. *Actinomyces antibioticus* 的甘油磷壁酸 (R=D-丙氨酸); c. *Staphylococcus lactis* 的甘油磷壁酸, D-丙氨酸出现在 N-乙酰葡萄糖胺的第 6 位置上; d. *Bacillus subtilis* (R=葡萄糖) 和 *Actinomyces streptomycini* (R=琥珀酸) 的核糖醇磷壁酸, D-丙氨酸附着在核糖醇的第 3 或 4 位置上; e. 6 型肺炎球菌荚膜的核糖醇磷壁酸

大部分磷壁酸含有 D-丙氨酸, D-丙氨酸通常附着在甘油的第 2 或 3 位置上, 或者附着在核糖醇的第 3 或 4 位置上。但在某些较复杂的磷壁酸中, D-丙氨酸只附着在其中的一种糖基上。除了 D-丙氨酸外, 其它取代基如葡萄糖、乳糖等可以附着在甘油醇和核糖醇的自由羟基上。

磷壁酸的存在使细胞呈负电性，通过静电引力在细胞的一定区域维持高浓度的二价离子，如镁离子等，以保持细胞壁结构的稳定和提高了有关合成细胞壁的酶活性。同时磷壁酸在细胞表面构成了噬菌体的特殊受体部位。

在有些革兰氏阳性细菌中，目前也发现有少量蛋白质存在，它们通常有规则地排列在细胞壁的外表面，主要是结构蛋白和酶蛋白，在细胞壁装配和修饰中起重要作用。

革兰氏阴性细菌的细胞壁 革兰氏阴性细菌的细胞壁呈多层结构，厚约10—15 nm，不含磷壁酸，肽聚糖是一薄层结构，还有位于肽聚糖表面的外壁层。组成革兰氏阴性细菌的细胞壁成分除了肽聚糖外，还有大量的脂蛋白、脂多糖和其他类脂。它们都附着于肽聚糖骨架的外表面上，以共价键方式结合，含量达到了细胞壁干重的80%。

外壁层的化学组成与功能 在电子显微镜观察的超薄切片中，外壁层类似于细胞质膜，是典型的非对称性的磷脂双层结构，因此常被称作外膜(图1-9)。它是细菌细胞对外界的物理性和功能性保护屏障，含有脂多糖、蛋白质、磷脂等复杂的成分。

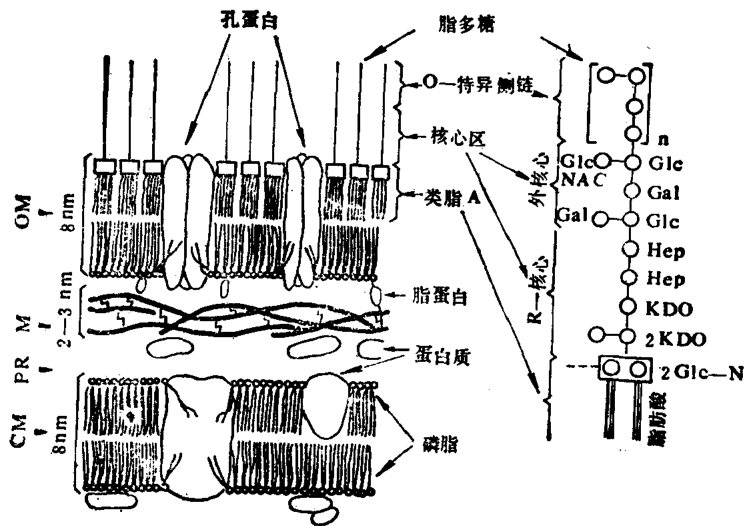


图1-9 革兰氏阴性细菌的细胞外壁或外膜(OM)模型

胞壁质层(M)围绕着细胞质膜(CM)和壁膜间隙(PR)，并且具有与其共价结合的脂蛋白的亲水末端。脂蛋白的亲脂末端包埋类脂双层膜中，该膜含有磷脂和脂多糖的类脂A区。在图的上端可看到脂多糖的亲水性O-特异的异聚糖侧链。右图为脂多糖的详细结构(其中组成类脂A的脂肪酸为C₁₂、C₁₄和C₁₆)。Glc，葡萄糖；Glc-N，葡萄糖胺；Glc-NAc，N-乙酰葡萄糖胺；Gal，半乳糖；Hep，庚糖；KDO，2-酮-3-脱氧辛糖酸

引自陆卫平等译：《普通微生物学》。

脂多糖 脂多糖是外膜的主要成分，由类脂A，一个核心和O-特异多糖三部分组成。类脂A由葡萄糖胺双糖所构成，其双糖的羟基已被C₁₂、C₁₄和C₁₆脂肪酸所脂化，这部分分子决定了它的疏水特性。朝细胞外表面方向的核心多糖与类脂A相结合，它由一组糖类所组成，在革兰氏阴性细菌中，一般是由一个与磷酸乙醇胺相连的2-酮3-脱氧辛糖酸(KDO)三糖两个庚糖分子和外核心层组成。核心区段的多糖成分有差别，其中KDO是共有的成分。