

高职高专 **制药技术类** 专业

“十二五”系列规划教材



药用微生物技术

主 编 郝乾坤



重庆大学出版社
<http://www.cqup.com.cn>

高职高专制药技术类专业“十二五”系列规划教材

药用微生物技术

主 编 郝乾坤

副主编 陈忠杰 杨思远

参 编 (按姓氏汉语拼音排序)

李光霞 桑姝丽 杨秀丽

重庆大学出版社

内容提要

本书以职业能力培养为目标,本着基础性、实用性和职业性的要求,采用理论与实训相结合,体现“学中做、做中学”的高职教学理念编写而成。全书共有8大学习情境,下设31个项目,具体为微生物及微生物学认识、微生物形态观察技术、微生物控制技术、微生物培养基制备技术、微生物人工培养技术、微生物育种技术、微生物鉴定技术和免疫学技术。书中大量采用了知识链接、案例分析等模块,将新知识、新技术、新工艺、新设备及时介绍给读者,扩大视野,激发兴趣,联系实践,学以致用。每个项目后均有精炼的小结和习题,聚焦重点,化解难点,以练促学,巩固知识,检查效果。

本书可供高职高专院校药物制剂、中药制药、生物制药、生物技术、药物分析等相关专业师生使用,也可作为医药企业培训的教材和相关从业者的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

药用微生物技术/郝乾坤主编. —重庆:重庆大学出版社,2015.8

高职高专制药技术类专业“十二五”系列规划教材

ISBN 978-7-5624-9210-8

I. ①药… II. ①郝… III. ①药理学—微生物学—高等职业教育—教材 IV. ①R915

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 138297 号

药用微生物技术

主 编 郝乾坤

策划编辑:袁文华

责任编辑:李定群 版式设计:袁文华

责任校对:关德强 责任印制:赵 晟

*

重庆大学出版社出版发行

出版人:邓晓益

社址:重庆市沙坪坝区大学城西路21号

邮编:401331

电话:(023) 88617190 88617185(中小学)

传真:(023) 88617186 88617166

网址: <http://www.cqup.com.cn>

邮箱: fxk@cqup.com.cn (营销中心)

全国新华书店经销

重庆市远大印务有限公司印刷

*

开本:787×1092 1/16 印张:20.75 字数:518千

2015年8月第1版 2015年8月第1次印刷

印数:1—2 000

ISBN 978-7-5624-9210-8 定价:39.00元

本书如有印刷、装订等质量问题,本社负责调换

版权所有,请勿擅自翻印和用本书

制作各类出版物及配套用书,违者必究

高职高专制药技术类专业“十二五”系列规划教材

编委会

(排名不分先后,以姓氏拼音为序)

陈胜发	房泽海	符秀娟	郭成栓	郝乾坤
黑育荣	洪伟鸣	胡莉娟	李存法	李荣誉
李小平	林创业	龙凤来	聂小忠	潘志恒
任晓燕	宋丽华	孙 波	孙 昊	王惠霞
王小平	王玉姝	王云云	徐 洁	徐 锐
杨军衡	杨俊杰	杨万波	姚东云	叶兆伟
于秋玲	袁秀平	翟惠佐	张 静	张 叶
赵珍东	朱 艳			

高职高专制药技术类专业“十二五”系列规划教材

参加编写单位

(排名不分先后,以单位拼音首字母为序)

安徽中医药大学

安徽中医药高等专科学校

毕节职业技术学院

广东岭南职业技术学院

广东食品药品职业学院

海南医学院

海南职业技术学院

河北化工医药职业技术学院

河南牧业经济学院

黑龙江民族职业学院

黑龙江生物科技职业学院

呼和浩特职业学院

湖北生物科技职业学院

湖南环境生物职业技术学院

淮南联合大学

江苏农牧科技职业学院

江西生物科技职业技术学院

江西中医药高等专科学校

乐山职业技术学院

辽宁经济职业技术学院

陕西能源职业技术学院

深圳职业技术学院

苏州农业职业技术学院

天津渤海职业技术学院

天津生物工程职业技术学院

天津现代职业技术学院

潍坊职业学院

武汉生物工程学院

信阳农林学院

杨凌职业技术学院

重庆广播电视大学

淄博职业学院



前言

本书从现代高职教育的实际出发,以职业能力培养为目标,本着基础性、实用性和职业性的要求,参照 GMP、中国药典、执业资格及职业工种考试大纲,紧跟企业行业的实际需要,依据工作过程构建教材内容体系,采用理论部分与实训部分相结合的编写策略,交替编排,体现“学中做、做中学”的高职教学理念,基本知识、基本理论以“必需够用”为编写原则。编写队伍由来自教学一线的老师 and 生产一线的技术骨干组成,熟悉高职高专教育教学工作,了解高职高专学生的特点和需求,具有丰富的微生物教学与生产经验。

全书共分 8 大学习情境,下设 31 个项目,分别是微生物及微生物学认识、微生物形态观察技术、微生物控制技术、微生物培养基制备技术、微生物人工培养技术、微生物育种技术、微生物鉴定技术和免疫学技术。

本书中大量采用了知识链接、案例分析等模块,将新知识、新技术、新工艺和新设备及时介绍给读者,以达到扩大视野,激发学习兴趣和热情的目的;联系生活,联系生产,使内容生活化、具体化、实用化,实现教学与生产无缝对接。每个学习情境后都有精炼的小结,指出重点,化解难点,加深理解,同时配有精选的练习题,学做结合,以练促学,巩固知识,检查效果。本书可供高职高专院校药物制剂、中药制药、生物制药、生物技术、药物分析等相关专业师生使用,也可作为医药企业培训的教材和相关从业者的参考用书。

本书由杨凌职业技术学院郝乾坤担任主编;河南牧业经济学院陈忠杰和黑龙江民族职业学院杨思远担任副主编;参与编写的还有信阳职业技术学院李光霞、潍坊职业学院桑姝丽、呼和浩特职业学院杨秀丽。

具体编写分工为:学习情境 1 和学习情境 6 由陈忠杰编写;学习情境 2 和附录由杨思远编写;学习情境 3 由郝乾坤编写;学习情境 4 由李光霞编写;学习情境 5 由桑姝丽编写;学习情境 7 由杨秀丽编写;学习情境 8 由郝乾坤和桑姝丽共同编写;全书最后由郝乾坤统稿。

由于编者水平有限,编写时间仓促,难免有疏漏、不妥之处,敬请读者批评指正。

编 者

2015 年 4 月

目录 CONTENTS

学习情境 1 微生物及微生物学认识

项目 1 微生物的认识	2
任务 1.1 微生物的概念及特点	2
任务 1.2 微生物与人类健康及医药生产的关系	4
任务 1.3 微生物的命名	5
项目 2 微生物学的认识	7
任务 2.1 微生物学的定义与分科	7
任务 2.2 微生物学的发展简史	8
【学习情境 1】技能实训	12
技能实训 1.1 环境和人体表面的微生物检查	12
【情境小结】	13
【目标测试 1】	14

学习情境 2 微生物形态观察技术

项目 3 细菌	16
任务 3.1 细菌的形态和大小	16
任务 3.2 细菌的结构	18
任务 3.3 细菌的繁殖	24
任务 3.4 细菌的群体形态	25
任务 3.5 常见的细菌	27
项目 4 放线菌	32
任务 4.1 放线菌的形态结构	32
任务 4.2 放线菌的繁殖	34
任务 4.3 放线菌的群体特征	34
任务 4.4 重要的放线菌属	35
项目 5 真菌	38
任务 5.1 酵母菌的形态、结构、繁殖及群体特征	38
任务 5.2 霉菌的形态、结构、繁殖及群体特征	41
任务 5.3 重要的真菌	44



项目 6 病 毒	48
任务 6.1 病毒的形态	48
任务 6.2 病毒的结构	49
任务 6.3 噬菌体	50
任务 6.4 常见的病毒	54
项目 7 细菌形态检查方法	56
任务 7.1 不染色标本检查法	56
任务 7.2 染色标本检查法	56
【学习情境 2】技能实训	58
技能实训 2.1 普通显微镜油镜的使用	58
技能实训 2.2 微生物细胞大小的测量	60
技能实训 2.3 显微镜直接计数	62
技能实训 2.4 细菌和酵母菌的制片及简单染色	64
技能实训 2.5 放线菌和霉菌的制片及简单染色	66
技能实训 2.6 革兰氏染色法	68
技能实训 2.7 细菌芽孢染色	70
技能实训 2.8 细菌荚膜染色	71
【情境小结】	73
【目标测试 2】	74

学习情境 3 微生物控制技术

项目 8 物理消毒灭菌方法	78
任务 8.1 热力灭菌法	78
任务 8.2 辐射灭菌法	79
任务 8.3 滤过除菌法	81
项目 9 化学消毒灭菌法	82
任务 9.1 常用的化学消毒剂	82
任务 9.2 影响化学消毒效果的因素	83
项目 10 药物的体外抗菌试验	85
任务 10.1 药物的体外抑菌试验	85
任务 10.2 药物的体外杀菌试验	87
任务 10.3 联合抗菌试验	87
任务 10.4 影响抗菌试验的因素	88
【学习情境 3】技能实训	89
技能实训 3.1 玻璃器皿的洗涤、包扎和干热灭菌	89
技能实训 3.2 高压蒸汽湿热灭菌法	91
技能实训 3.3 化学消毒剂的抑菌试验	93

技能实训 3.4 抗生素的体外抗菌试验	94
【情境小结】	95
【目标测试 3】	96

学习情境 4 微生物培养基制备技术

项目 11 微生物的营养物质及其生理功能	99
任务 11.1 水分	100
任务 11.2 碳源物质	101
任务 11.3 氮源物质	102
任务 11.4 无机盐类	102
任务 11.5 生长因子	103
项目 12 微生物的营养类型	104
项目 13 微生物对营养物质的吸收	105
任务 13.1 简单扩散	105
任务 13.2 促进扩散	106
任务 13.3 主动运输	107
任务 13.4 基团移位	107
项目 14 培养基的制备技术	109
任务 14.1 配制培养基的基本原则	109
任务 14.2 培养基的分类及应用	111
【学习情境 4】技能实训	115
技能实训 4.1 牛肉膏蛋白胨培养基制备	115
技能实训 4.2 高氏一号培养基制备	118
技能实训 4.3 PDA 培养基制备	119
技能实训 4.4 豆芽汁培养基制备	120
【情境小结】	122
【目标测试 4】	122

学习情境 5 微生物人工培养技术

项目 15 微生物生长所需的环境因素	125
任务 15.1 温度	125
任务 15.2 pH	127
任务 15.3 氧气	128
项目 16 微生物的生长规律及应用	130
任务 16.1 微生物生长的测定	130
任务 16.2 微生物的生长规律	131



项目 17 微生物的培养技术	134
任务 17.1 实验室纯培养方法	134
任务 17.2 工业规模化培养方法	135
项目 18 微生物的接种技术	137
任务 18.1 接种工具	137
任务 18.2 接种方法	138
任务 18.3 无菌操作	141
项目 19 病毒的人工培养技术	143
任务 19.1 病毒的增殖	143
任务 19.2 人工培养方法	145
【学习情境 5】技能实训	149
技能实训 5.1 微生物的接种技术	149
技能实训 5.2 平板菌落计数法	152
技能实训 5.3 微生物的分离纯化技术——土壤中微生物的分离与纯化	154
技能实训 5.4 病毒的禽胚培养技术	156
【情境小结】	159
【目标测试 5】	159

学习情境 6 微生物育种技术

项目 20 微生物遗传变异的物质基础	162
任务 20.1 核酸是遗传物质的经典证明试验	162
任务 20.2 遗传物质在细胞中的存在方式	165
项目 21 遗传物质的转移和重组	168
任务 21.1 转化	168
任务 21.2 接合	169
任务 21.3 转导	170
任务 21.4 原生质体融合	170
项目 22 基因突变	172
任务 22.1 基因突变的概念和类型	172
任务 22.2 基因突变的机制	173
任务 22.3 基因突变的规律	177
项目 23 微生物的菌种选育技术	179
任务 23.1 自然选育	179
任务 23.2 诱变育种	182
任务 23.3 杂交育种	186
项目 24 微生物菌种保藏与复壮技术	189
任务 24.1 菌种衰退与复壮	189

任务 24.2 菌种的保藏技术	192
【学习情境 6】技能实训	197
技能实训 6.1 紫外线诱变选育 α -淀粉酶高产菌株	197
技能实训 6.2 亚硝酸诱变筛选乳糖发酵突变株	198
技能实训 6.3 冷冻干燥法保藏微生物	200
【情境小结】	202
【目标测试 6】	203

学习情境 7 微生物鉴定技术

项目 25 经典鉴定技术	207
任务 25.1 经典鉴定指标	207
任务 25.2 细菌分解代谢产物检测	212
任务 25.3 细菌合成代谢产物临床意义	217
项目 26 现代鉴定技术	219
任务 26.1 DNA 碱基比例的测定	219
任务 26.2 核酸分子杂交法	221
任务 26.3 rRNA 寡核苷酸编目分析法	223
任务 26.4 微生物全基因组序列测定	223
任务 26.5 微生物快速鉴定和自动化分析方法	224
【学习情境 7】技能实训	228
技能实训 7.1 大分子物质的水解试验	228
技能实训 7.2 糖发酵试验	230
技能实训 7.3 IMViC 试验	231
【情境小结】	233
【目标测试 7】	234

学习情境 8 免疫学技术

项目 27 免疫的概念、功能和类型	239
任务 27.1 免疫的概念	239
任务 27.2 免疫的基本功能	239
任务 27.3 免疫的类型	240
项目 28 固有免疫	241
任务 28.1 屏障结构	241
任务 28.2 吞噬细胞及吞噬作用	242
任务 28.3 补体系统	243
任务 28.4 固有免疫的生物学功能	247



项目 29 适应性免疫	248
任务 29.1 抗原	248
任务 29.2 免疫器官与细胞	254
任务 29.3 免疫分子	260
任务 29.4 适应性免疫应答	267
项目 30 超敏反应	272
任务 30.1 I 型超敏反应	272
任务 30.2 II 型超敏反应	275
任务 30.3 III 型超敏反应	276
任务 30.4 IV 型超敏反应	278
项目 31 免疫学检测方法及其原理	280
任务 31.1 抗原与抗体反应的特点	280
任务 31.2 常见的抗原抗体反应类型	280
【学习情境 8】技能实训	285
技能训练 8.1 抗人红细胞免疫血清的制备	285
技能训练 8.2 直接凝集试验	287
技能训练 8.3 双向免疫扩散试验	289
技能训练 8.4 酶联免疫吸附试验	291
【情境小结】	293
【目标测试 8】	293
附 录	298
附录 1 染色液的配制	298
附录 2 培养基的配制	301
附录 3 洗涤液的配制与使用	310
综合模拟测试	312
【目标测试】部分参考答案	316
【综合模拟测试】参考答案	318
参考文献	319

学习情境 1

微生物及微生物学认识



【学习目标】

1. 掌握微生物的概念及特点。
2. 熟悉微生物学研究内容及发展简史。
3. 了解微生物与人类健康及医药生产的关系。
4. 能在网上浏览微生物专业网站。

项目1 微生物的认识

任务 1.1 微生物的概念及特点

1.1.1 微生物的概念及主要类群

微生物(microorganism, microbe)是对所有形体微小(一般 $<0.1\text{ mm}$),肉眼看不见或看不清生物的总称。这些生物形体非常微小,细胞结构也比较简单,大多为单细胞,或简单得多细胞,还包括一些无细胞结构的生物。这些微小的生物遍布于人们的生活环境中(见图 1.1),通过技能实训 1.1 的学习,你将充分认识到这一点。

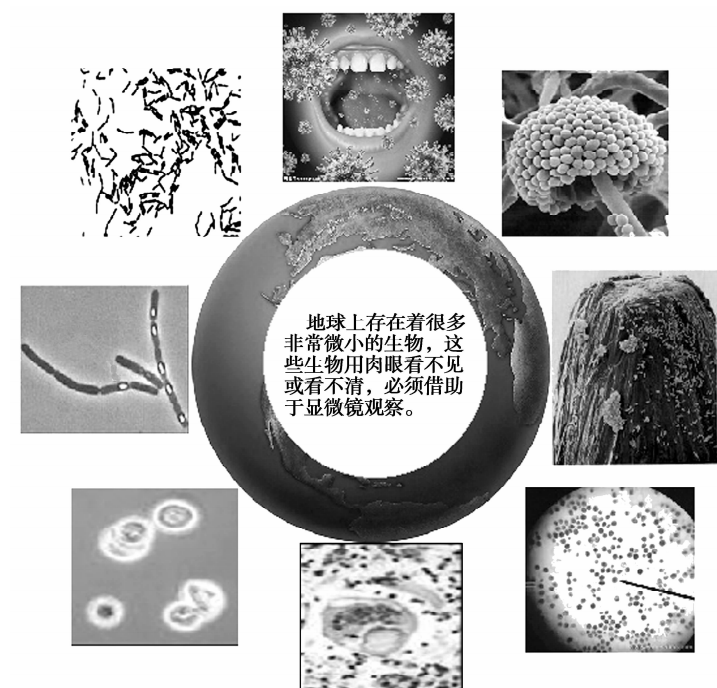


图 1.1 微生物的概念

微生物家族成员非常庞大,包括属于原核类的细菌(真细菌和古生菌)、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次氏体、衣原体;属于真核类的真菌(酵母菌、霉菌和蕈菌)、显微藻类和原生动物;以及属于非细胞类的病毒和亚病毒(类病毒、拟病毒和朊病毒)。



关于微生物的概念

并不是所有的微生物都看不见,如近年来发现有的细菌是肉眼可见的。1993年正式确定为细菌的 *Epulopiscium fishelsoni* 以及1998年报道的 *Thiomargarita namibiensis*, 均为肉眼可见的细菌。因此,上述微生物学的定义是指一般的概念。微生物学家 Roger Stanier 提出,微生物有别于动植物在于其研究技术,微生物学家通常要首先从群体中分离出特殊的微生物纯种,然后还要进行培养,因此研究微生物要使用特殊的技术,如消毒灭菌和培养基的应用等,这是研究微生物所必需的。

1.1.2 微生物的特点

微生物也是生物,具有与高等生物相同的基本生物学特点:具有细胞结构(病毒类除外);构成细胞成分的主要物质为蛋白质、核酸、多糖、脂类等;能量代谢都以 ATP 作为能量载体;能够遗传进化;等等。由于个体微小,结构简单,这个群体还具有一些独特的特点,这些特点为微生物所独有,是其他生物不能比拟的。

1) 代谢能力强

微生物的代谢能力比动植物强得多,它们体积虽小,但有极大的表面积,能迅速与周围环境进行物质交换,吸收营养和排泄废物。从单位质量来看,微生物的代谢强度比高等生物大几千倍到几万倍。如在适宜环境下,大肠杆菌每小时可分解自重 1 000 ~ 10 000 倍的乳糖,乳酸细菌每小时可产生自重 1 000 倍的乳酸,产朊假丝酵母(*Candida utilis*)合成蛋白质的能力是大豆的 100 倍,是肉用公牛的 10 万倍。微生物的这个特性为其高速生长和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,以细胞为工厂可快速、高效地生产人类需要的食品、工业用品。

2) 生长繁殖快

微生物的生长繁殖速度是其他生物不可比拟的。例如,大肠杆菌(*E. coli*)在合适的生长条件下,每 20 min 就分裂 1 次(繁殖 1 代),每 24 h 可分裂 72 代,由 1 个细胞增殖为 4.7×10^{21} 个,总质量可达 4 722 t。事实上,由于环境、营养的限制,微生物的生长不会一直维持在这么高的速度。

微生物的快速繁殖能力在科研、生产上具有重要的实践意义。在科学研究上,它使科学研究周期大为缩短。在发酵生产上,它使生产效率提高,生产周期缩短。另外,微生物的这一特性也为人类带来很多危害,像病原菌的快速繁殖会给疾病的治疗和防控带来困难,粮食、食物会快速的腐败变质。

3) 易培养

微生物培养容易,能在常温常压下利用简单的营养物质,甚至工农业废弃物进行培养。这使发酵生产更变得易于进行。发酵生产一般在常温下进行,这就优于化工生产对高温高压的要求;发酵生产的原料都是一些农副产品,这些原料来源广泛,廉价易得,更重要的是这些原料都是可再生的。

4) 易变异

由于个体微小,结构简单,具有与外界环境直接接触等特点,微生物容易发生变异。对个体来讲即使变异频率十分低(一般为 $10^{-9} \sim 10^{-5}$),但由于繁殖快,也可在短时间内产生出大量变异的后代。这种特性对于生产、生活既有有利的一面,也有不利的一面。有利的一面是利用这种特性,人工或自然变异菌种,从变异的菌种中筛选出产量更高、适应性更强、生产效率更高的菌株。例如,青霉素生产菌株产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*),1943年生产时仅分泌约20单位的青霉素,通过不断地变异、筛选,现在的生产能力已超过8万单位。不利一面则是这种特性会使菌种生产能力退化,生产性能下降。在医疗上,更是给治疗带来很大困难。例如,有一种称为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的致病菌,在青霉素刚问世时,其耐药菌株仅占1%,而到20世纪末时已超过90%。又如,一种被称为“超级细菌”的MRSA(耐甲氧西林金黄色葡萄球菌),自1961年在英国首次发现后,从1974年占正常菌的2%至20世纪80年代末已发展成全球最严重的医院内感染菌之一。2005年,仅美国感染MRSA者就达9.4万人,其中1.9万人死亡。

5) 分布广泛,种类繁多

微生物在自然界分布极为广泛。不论在动植物体内外,还是土壤、河流、空气、平原、高山、污水、垃圾,即使一些极端环境如冰川、盐湖、沙漠、油井甚至火山口附近,都有微生物活动。

广泛的分布,多样的环境,造就了多样的微生物种类。微生物的种类繁多,迄今为止,人们所知道的微生物有近15万种,现在仍然以每年发现几百至上千个新种的趋势在增加。有人估计已发现的微生物种类至多也不超过自然界中微生物总数的10%。它们具有各种生活方式和营养类型,大多数是以有机物为营养物质,还有些是寄生类型。微生物的生理代谢类型之多是动植物所不及的。分解地球上储量最丰富的初级有机物——天然气、石油、纤维素、木质素的能力,是微生物专有的。微生物有着多种产能方式,如细菌光合作用、自养细菌的化能合成作用、各种厌氧产能途径;生物固氮作用;合成各种复杂有机物的能力;对复杂有机物分子的生物转化能力。自然界的物质循环是由各种微生物参与才得以完成的。

任务 1.2 微生物与人类健康及医药生产的关系

微生物是很多疾病发生的元凶,是威胁人类生命健康的主要敌人。在人类发展史上,造成人类大面积死亡的原因不是自然灾害,不是战争,而是一些病原微生物的流行、传播。例如,6世纪、14世纪和20世纪初的3次鼠疫流行共导致2亿人口死亡,大大地超过两次世界大战的死亡人数(7350万,分别为1850万和5500万);发生于1918—1919年的“西班牙流感”曾导

致 5 000 万以上人口死亡;1981 年发现的艾滋病,至今已导致约 4 000 万人口死亡;直到今天,很多传染病仍然在严重地威胁着人类的健康,一些疾病无药可治,甚至没有疫苗可以预防,如禽流感、疯牛病、SARS(非典型性肺炎)、埃博拉等。

在另一方面,一些微生物却是人们对抗疾病的有力武器。哪一种药物是治疗感染、治疗炎症的最有效药物?答案是“抗生素”。抗生素的生产就是通过培育一些微生物,然后提取其代谢产物或进一步进行化学合成而生产的。抗生素是人类对抗传染病的有力武器,由于抗生素的广泛使用,使许多细菌感染的疾病基本上得到了控制。例如,死亡率很高的鼠疫,传染性很强的流行性脑膜炎,病死率很高的细菌性心内膜炎,严重威胁儿童生命的肺炎,以及肺结核等在抗生素出现以后都能得到很好的治疗,再也没有出现大面积的传染、死亡事件。

除了抗生素,通过微生物生产的药品还有维生素、氨基酸、核酸、酶及酶抑制剂、生物制品、载体激素等。通过基因工程,微生物细胞更是能够提供医疗所必需的一些多肽类药物,如胰岛素、干扰素、细胞因子等。



知识链接

传染病危害

假想一下:几个近亲、两个最要好的朋友和你的许多邻居患上了令人痛苦的疾病,且很快将要死去;医院中没有可利用的床,大部分医生和护士因为害怕被传染而放弃了工作;地方电视台开始每天广播最近死亡数字和最新爆发的疫情,每次外出,你几乎都会看见出殡的队伍。

几个世纪以来,人们无数次发现自己就处在以上虚构的情境中。一次又一次,人口中大多数人被斑疹、伤寒症、天花和淋巴腺鼠疫等传染病所侵染。14 世纪中叶(1347—1357 年),仅黑死病就在短短的 5 年中毁灭了 2 500 万人(占欧洲和相邻地区人口的 1/4)。在过去几十年间,疫苗和抗生素在很大程度上控制了传染性疾病,甚至清除了如天花那样的昔日祸源。更重要的是,我们拥有的知识水平让我们已不像古人面对传染性疾病爆发时惊慌失措,如今,我们对传染性疾病的认识远非过去可比。

任务 1.3 微生物的命名

微生物的命名有两种:一是俗名(common name),二是学名(scientific name)。俗名即通俗的名称,具有通俗易懂,大众化和简明等特点。例如,“结核杆菌”是 *Mycobacterium tuberculosis* 的俗名,“红色面包霉”是 *Neurospora crassa* 的俗名。俗名往往是区域性的称呼,同种微生物在不同的国家或不同的使用目的时,往往有不同的俗名。例如,酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)可用于酿酒、生产啤酒、酒精、做面包等,各个工厂就分别称它为“面包酵母”“酒精酵母”“啤酒酵母”“酿酒酵母”等。这些名称很容易混淆,尤其不便于国际间的学术交流。因此,每种微生物