

研究生教学用书

教育部学位管理与研究生教育司推荐

现代工业发酵调控学

第二版

*Modern Concepts of
Industrial Fermentation*

Second Edition

储 炬 李友荣 编著



化学工业出版社
高等教育教材出版中心

研究生教学用书

教育部学位管理与研究生教育司推荐

现代工业发酵调控学

第二版

Modern Concepts of Industrial Fermentation

Second Edition

储 炬 李友荣 编著



化学工业出版社
高等教育教材出版中心

· 北 京 ·

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. —2 版. —北京:
化学工业出版社, 2006. 6
研究生教学用书
ISBN 7-5025-8779-9

I. 现… II. ①储…②李… III. 发酵-过程控制-研究生-
教材 IV. TQ920. 6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 061831 号

研究生教学用书

教育部学位管理与研究生教育司推荐

现代工业发酵调控学

第二版

储 炬 李友荣 编著

责任编辑: 赵玉清

责任校对: 李 林

封面设计: 胡艳玮

*

化学工业出版社 出版发行
高等教育教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

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

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市前程装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 22½ 字数 578 千字

2006 年 8 月第 2 版 2006 年 8 月北京第 4 次印刷

ISBN 7-5025-8779-9

定 价: 39.80 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

第二版前言

发酵调控学是生物工程中的重要研究方向，是进行过程优化的基础。只有充分了解与深入研究微生物的内部代谢调节规律，掌握微生物生理和代谢的协调，才能打破其固有的遗传守恒，充分表达其潜在的遗传型。世界上借助细胞培养的产品已占生物技术的40%以上，达数百亿元的产值。要提高生产水平，无不涉及细胞代谢及其调控的研究。由此生产的抗生素、氨基酸、维生素等在整个医药产品中占很大比例。目前大量生物技术已从实验室成果走向产业化，特别是基因工程药物、疫苗、单克隆抗体等现代生物技术产品已进入商品化阶段，成为国民经济重要的支柱产业。

发酵实际上是各种生化反应的综合过程，只要某一条件成为限制因素，就会对最终生产产生影响。如何发现和控制这些限制因素就成为重要的研究课题。发酵过程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，还要有工程学的概念与技巧，才能驾驭研究和生产的对象。发酵过程调控应与计算机在线传感监控手段相结合，才能实现过程优化。

本书的特色是以工业发酵过程的调控为主线，运用微生物的生理生化和分子生物学的知识来阐述微生物的代谢调节与发酵规律，并应用工程化的概念去实现生物过程研究成果的产业化。整个教材内容贯穿怎样才能充分表达菌种的生产潜力及如何运用发酵调控的理论和手段来分析和解决发酵研究及生产中遇到的实际问题。

本书旨在让读者系统了解与发酵有关的微生物生理生化、代谢网络、产物合成与调控、代谢工程技术原理及微生物的代谢规律和发酵调控的基本知识；从分子、细胞和工艺工程水平去探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、控制；重点介绍典型代谢产物的生产与调节，从物料或能量流的变化去发现其中的代谢本质，判断发酵进程的各种参数变化规律，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及放大策略。

发酵调控学是我校生物化工及发酵工程两个硕士点的学位课程，自开课十几年来，曾采用《发酵生理学》及一些参考文献作教材。通过新老教师的共同努力，已出版了相应的教材《现代工业发酵调控学》，并获2002年第六届石油和化学工业优秀教材二等奖。教学方式也进行了摸索，取得了较好课堂效果，获2002年度研究生课堂教学一等奖。

本书初版自2002年问世以来，一直受到有关读者的欢迎与关注，多次印刷。在这几年里发酵调控学的内涵又有了新的发展，如组合生物化学，代谢系统工程方法在发酵工程上的应用；生物信息，包括基因组学，代谢物组学，蛋白组学，相互作用组学等各种组学技术在工业微生物技术中的应用，运用多尺度（水平）及系统生物学的理论来全局性地优化微生物发酵过程。为了跟上现代发酵技术的发展步伐，第二版经多次修改，删除了一些过时的内容，补充了国内外有关文献的最新内容及科研生产方面的新进展和本校科研的最新成果，并被教育部学位管理与研究生教育司推荐为研究生教学用书。书中的重点概念均用**黑体**标注，

并在每一章的后面列出相应的参考文献和复习思考题。

尽管编者与出版社编辑对再版作了很大的努力，以尽量满足有关读者的需求，但难免有错误与遗漏之处，欢迎有关专家与读者批评指正。

编 者
于华东理工大学
2006年5月

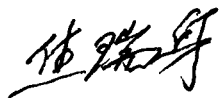
序 言

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，总的来说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，做到理论与实践的密切结合。

两位作者是对我国抗生素事业做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学专业，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做出重大贡献。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的方向，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，才能控制研究或生产的对象。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，过程正常与否，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和经验，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做了不懈的努力, 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

目 录

1 微生物生长与调节	1	electron)	30
1.1 微生物的生长	1	1.3.1.4 基于热的产生的得率 Y_{kcal} (yield based on heat production) ...	30
1.1.1 生长的形式	1	1.3.1.5 以氧耗为基准的得率系数 (yield in terms of O_2 consumed) Y_O	31
1.1.1.1 细菌的生长	1	1.3.1.6 基于 ATP 消耗的得率 (yield based on ATP consumed) Y_{ATP}	31
1.1.1.2 酵母的生长	2	1.3.2 测定生长效率时应注意的 实际问题	31
1.1.1.3 菌丝的生长	3	1.3.2.1 分批与恒化培养	32
1.1.1.4 细胞群体的生长	4	1.3.2.2 培养基组成	32
1.1.1.5 细菌群体的生长周期	4	1.3.2.3 流出液的控制	32
1.1.2 生长的测量	6	1.3.2.4 取样与代谢物的分析	32
1.1.2.1 细胞数目的测量	6	1.3.3 基本代谢流——同化与异化	32
1.1.2.2 细胞量的测量	8	1.3.4 对细胞得率的化学计量限制	32
1.1.2.3 菌浓的间接测量	9	1.3.5 用于生物量形成的能量需求	33
1.1.2.4 生物量的在线测量	12	1.3.6 细胞组分	34
1.1.3 环境对生长的影响	15	1.3.7 碳源的运输	35
1.1.3.1 物理环境	15	1.3.7.1 糖的运输	35
1.1.3.2 化学环境	18	1.3.7.2 有机酸的运输	36
1.1.4 生长的变量和约束	22	1.3.8 呼吸效率	36
1.1.4.1 细胞的大分子成分	22	1.3.9 维持能与环境因素的关系	37
1.1.4.2 限制步骤	22	1.3.9.1 渗透压	37
1.1.4.3 生长对能量的需求	23	1.3.9.2 水活度	37
1.1.4.4 微生物热的释放	23	1.3.9.3 氧和二氧化碳分压	37
1.2 细胞周期	24	1.3.9.4 温度	39
1.2.1 染色体复制与细胞分裂的调节	24	1.3.9.5 pH	39
1.2.2 染色体复制的启动	25	1.3.9.6 副产物对生长得率的影响	40
1.2.3 细胞周期的研究方法	25	1.4 生长调节	41
1.2.3.1 镜检法	25	1.4.1 菌丝顶端生长	41
1.2.3.2 同步培养 (synchrony) 法	25	1.4.1.1 菌丝顶端生长机制	41
1.2.3.3 同位素示踪法	25	1.4.1.2 泡囊如何在菌丝顶端聚集	41
1.2.4 生长速率与细胞个子大小 的关系	27	1.4.1.3 菌丝生长过程	41
1.2.5 生长速率对细胞内 DNA 含 量的影响	27	1.4.2 菌丝分枝规律	42
1.2.6 生长速率对细胞组分的影响	29	1.4.2.1 分枝的形成	42
1.3 生长效率	29	1.4.2.2 菌丝生长单位	43
1.3.1 得率系数 (yield coefficient)	29	1.4.3 微生物生长分化的调节	44
1.3.1.1 分子得率系数 (molar yield coefficient)	29	1.4.3.1 极化生长的调节	44
1.3.1.2 碳转化效率 (carbon conversion efficiency)	29	1.4.3.2 菌丝分枝启动的调节	44
1.3.1.3 以电子平均数为基准的得率 $Y_{\text{ave e}^-}$ (yield per average			

1.4.3.3 菌丝空间分布的调节	45	2.3 微生物的组成代谢	75
1.4.3.4 链霉菌生长的调节	45	2.3.1 C ₁ 的同化	75
1.5 运输过程	46	2.3.2 分子氮的同化	76
1.5.1 载体概念	47	2.3.3 硝酸盐的同化	77
1.5.2 溶质运输的机制与能学	47	2.3.4 氨的同化	78
1.5.3 运输动力学	49	2.3.5 硫酸盐的同化	78
1.5.4 大分子的运输	50	2.3.6 氨基酸的生物合成	78
思考题	51	2.3.6.1 谷氨酸簇	79
参考文献	51	2.3.6.2 天冬氨酸簇	80
2 微生物的基础代谢	53	2.3.6.3 芳香氨基酸簇	81
2.1 能量代谢原理	53	2.3.6.4 丝氨酸簇	83
2.1.1 能量代谢的热力学	54	2.3.6.5 丙氨酸簇	83
2.1.1.1 热力学第一定律和热焓	54	2.3.6.6 组氨酸的生物合成	84
2.1.1.2 热力学第二定律和熵	54	2.3.6.7 经氨基酸途径的含氮化合物 的生物合成	84
2.1.1.3 测定自由能的方法	55	2.3.7 核苷酸的生物合成	85
2.1.2 能量的产生与偶合	56	2.3.7.1 核糖核苷酸的生物合成	85
2.1.2.1 能量的产生	56	2.3.7.2 脱氧核糖核苷酸的生物 合成	86
2.1.2.2 高能化合物	57	2.3.7.3 细菌对外源嘌呤和嘧啶碱及 其核苷的利用	88
2.1.2.3 能量的偶合	58	2.3.8 脂质的生物合成	88
2.1.2.4 用于细胞的能量转换	59	2.3.8.1 脂肪酸的合成	88
2.2 微生物的分解代谢	59	2.3.8.2 不饱和脂肪酸的生物合成	91
2.2.1 葡萄糖分解代谢	60	2.3.8.3 磷脂的生物合成	94
2.2.1.1 酵解 (EMP) 途径	60	2.3.9 聚类异戊二烯化合物的合成	94
2.2.1.2 己糖单磷酸支路 (HMS)	60	2.3.10 甾类化合物	94
2.2.1.3 恩特纳-多多罗夫 (ED) 途径	61	2.3.11 糖磷酸酯与糖核苷酸	97
2.2.1.4 磷酸解酮酶 (PK) 途径	61	2.3.12 多糖的生物合成	98
2.2.1.5 各种葡萄糖分解途径的 相互关系	61	思考题	100
2.2.1.6 三羧酸 (TCA) 循环	61	参考文献	100
2.2.1.7 乙醛酸循环	62	3 代谢调节与代谢工程	102
2.2.2 多糖和单糖的利用	62	3.1 酶活性的调节	103
2.2.3 厌氧代谢过程	63	3.1.1 代谢调节的部位	103
2.2.3.1 乙醇发酵	63	3.1.2 共价修饰	103
2.2.3.2 丙酮、丁醇、乙酸、丁酸 发酵	64	3.1.2.1 可逆共价修饰	103
2.2.3.3 乳酸、丁二醇、甲烷发酵	67	3.1.2.2 不可逆共价修饰	104
2.2.4 脂肪酸, 脂烃和芳香烃的氧化	70	3.1.3 变构控制	104
2.2.5 氮的循环和氨基酸的降解	70	3.1.3.1 协同作用	104
2.2.5.1 氮的循环	70	3.1.3.2 变构效应的由来	106
2.2.5.2 氨基酸的降解	71	3.1.3.3 变构效应的解释	106
2.2.6 硫的代谢	72	3.1.3.4 变构调节的特征	107
2.2.7 核苷酸的降解和有机磷的代谢	73	3.1.4 其他调节方式	108
2.2.8 聚合物的氧化	73	3.1.4.1 缔合与解离	108
2.2.8.1 淀粉	73	3.1.4.2 竞争性抑制	108
2.2.8.2 纤维素	74	3.2 酶合成的调节	108

3.2.1 诱导作用	109	3.4.2 氨基酸合成的调节	133
3.2.1.1 诱导作用的分子水平的 机制	109	3.4.3 核苷酸合成的调节	134
3.2.1.2 顺序诱导作用	110	3.4.3.1 肌苷	134
3.2.1.3 诱导物的种类与效率	110	3.4.3.2 鸟苷	135
3.2.1.4 诱导调节的克服	111	3.5 代谢工程	135
3.2.1.5 组成型突变株的获得	112	3.5.1 概论	135
3.2.2 分解代谢物阻遏	112	3.5.2 代谢流(物流、信息流)的 概念	136
3.2.2.1 分解代谢物阻遏效应	113	3.5.2.1 有关术语	136
3.2.2.2 分解代谢物阻遏的分子 机制	113	3.5.2.2 物流与酶的关系	137
3.2.2.3 分解代谢物阻遏作用的 克服	114	3.5.2.3 物流限制作用的克服	138
3.2.2.4 耐分解代谢物阻遏的突 变株的获得	115	3.5.2.4 反馈抑制与限制途径物流的 关系	138
3.2.2.5 氮分解代谢物的调节	115	3.5.3 代谢物流分析	139
3.2.3 反馈调节	116	3.5.3.1 物流分布的测量	139
3.2.3.1 反馈阻遏在分子水平上的 作用机制	116	3.5.3.2 代谢物流分析的应用	140
3.2.3.2 反馈调节作用的消除	117	3.5.4 代谢控制分析	143
3.2.3.3 分离耐末端代谢产物调节的 突变株的方法	118	3.5.4.1 物流控制分析的概念	143
3.2.3.4 反馈抑制	120	3.5.4.2 节点及其判断	145
3.2.4 分支途径的调节方式	120	3.5.4.3 代谢流的控制	146
3.2.4.1 分支途径中末端产物的 调节	120	3.5.4.4 代谢控制分析在代谢产物合 成方面的应用	146
3.2.4.2 微生物代谢调节机制的 多样性	122	3.5.5 代谢工程的应用	147
3.2.5 避开微生物固有代谢调节, 过 量生产代谢产物	123	3.5.5.1 胞内代谢物的测量	147
3.2.5.1 积累末端产物	123	3.5.5.2 基质谱的扩展	148
3.2.5.2 细胞膜通透性的改变	124	3.5.5.3 降解异型生物质的新代谢 途径	149
3.2.5.3 能荷的调节	125	3.5.6 推定代谢工程与反向代谢工程	150
3.2.5.4 无机聚磷酸的代谢与 功能	125	3.5.7 重要工业微生物表型的进化 工程	152
3.3 代谢系统的分子控制机制	126	3.6 系统生物学与组学研究概况	152
3.3.1 遗传控制	126	3.6.1 代谢工程的组学研究	153
3.3.2 DNA 结合蛋白: 激活剂与阻 遏物	127	3.6.2 导致细菌表型改进的基因组 改组	155
3.3.3 双组分调节系统	128	思考题	155
3.3.4 RNA 水平的调节机制: 衰减器 模型	128	参考文献	156
3.4 代谢调节	129	4 微生物次级代谢与调节	159
3.4.1 糖代谢调节	129	4.1 引论	159
3.4.1.1 巴斯德效应或氧效应	129	4.1.1 微生物次级代谢的特征	159
3.4.1.2 克列勃特里或葡萄糖效应	132	4.1.2 次级代谢产物的类型	160
		4.1.2.1 糖类	161
		4.1.2.2 多肽类	161
		4.1.2.3 聚酯酰类	161
		4.1.2.4 核酸碱基类似物类	162
		4.1.2.5 其他类型	162
		4.1.3 抗生素的生源学	162

4.1.4	初级与次级代谢途径相互连接	162	4.5.2	次级代谢产物生物合成的调节与控制	204
4.2	次级代谢物生物合成的前体	163	4.5.2.1	参与抗生素合成作用的酶的诱导及解除阻遏	204
4.2.1	前体的概况	163	4.5.2.2	抗生素生物合成启动的控制	204
4.2.1.1	内源前体的来源	164	4.5.2.3	碳源分解代谢物的调节	206
4.2.1.2	外源前体的来源	167	4.5.2.4	氮源分解代谢物的调节	207
4.2.2	前体的作用	169	4.5.2.5	磷酸盐的调节作用	208
4.2.2.1	起抗生素建筑材料作用	169	4.5.2.6	分解代谢产物对次级代谢控制的作用部位	210
4.2.2.2	诱导抗生素生物合成的作用	169	4.5.2.7	分解代谢产物对次级代谢产物合成的胞内调控因子	211
4.2.2.3	前体与诱导物的区别	169	4.5.2.8	抗生素生物合成的终止	212
4.2.2.4	研究前体作用的方法	170	4.5.2.9	人工克服微生物次级代谢调控作用的限制	213
4.2.2.5	新抗生素的定向生物合成	170	4.5.2.10	定向抗生素生物合成	213
4.2.3	前体的限制性	171	4.5.3	基因工程在提高生产性能上的应用	213
4.2.3.1	前体合成的调节机制	171	4.5.3.1	强化表达网络调控机构的正向调节	213
4.2.3.2	前体导向抗生素的合成	171	4.5.3.2	改变表达体系	214
4.2.3.3	添加前体的策略	171	4.5.3.3	扩增抗生素产生菌的抗性基因	214
4.3	次级代谢物的生物合成原理	172	4.5.3.4	提高编码关键酶的基因剂量	214
4.3.1	把前体引入次级代谢物生物合成的专用途径	172	4.5.3.5	提高转译水平的表达效率	216
4.3.2	前体聚合作用过程	172	4.5.3.6	增强重组菌的生长能力	216
4.3.3	次级代谢物结构的后几步修饰	172	4.5.3.7	调节性启动子	216
4.3.4	复合抗生素中不同部分的装配	173	4.5.3.8	提高菌在限氧下的生长与生产能力	217
4.3.5	次级代谢物合成酶的专一性	173	思考题		218
4.4	抗生素的生物合成	174	参考文献		218
4.4.1	以短链脂肪酸为前体的抗生素	174	5	发酵过程控制与优化	221
4.4.1.1	大环内酯类抗生素	174	5.1	发酵过程技术原理	221
4.4.1.2	四环类抗生素	183	5.1.1	分批发酵	221
4.4.1.3	萜环类抗生素	187	5.1.1.1	分批发酵的基础理论	221
4.4.2	以氨基酸为前体的抗生素	187	5.1.1.2	重要的生长参数	223
4.4.2.1	青霉素簇抗生素	188	5.1.1.3	分批发酵的优缺点	224
4.4.2.2	头孢菌素簇抗生素	191	5.1.2	补料-分批发酵	225
4.4.2.3	其他 β 内酰胺类抗生素	193	5.1.2.1	理论基础	225
4.4.2.4	肽类抗生素的生物合成	195	5.1.2.2	分批补料的优化	225
4.4.3	已经修饰的糖为前体的抗生素	196	5.1.3	半连续发酵	226
4.4.3.1	链霉素的生物合成	198	5.1.4	连续发酵	227
4.4.3.2	氨基糖苷类抗生素的调节	199	5.1.4.1	单级连续发酵的理论基础	227
4.4.3.3	次要组分的调控	200			
4.4.3.4	调节因子	200			
4.4.3.5	突变生物合成	202			
4.5	微生物次级代谢作用的调控	202			
4.5.1	微生物的次级代谢与其生命活动的关系	202			
4.5.1.1	次级代谢在微生物中所起的作用	202			
4.5.1.2	次级代谢与生长,分化的关系	203			

5.1.4.2	多级连续培养	228	5.2.5.4	pH 的监控	253
5.1.4.3	连续培养在工业生产中的应用	229	5.2.6	氧的供需对发酵的影响及其控制	254
5.1.4.4	连续培养中存在的问题	229	5.2.6.1	临界氧	254
5.1.5	与产物回收结合的培养	231	5.2.6.2	溶氧作为发酵异常的指示	255
5.1.5.1	膜分离与发酵偶合	232	5.2.6.3	溶氧的控制	256
5.1.5.2	溶剂萃取与发酵偶合	236	5.2.6.4	溶氧参数在过程控制方面的应用	259
5.1.5.3	膜固定化细胞反应器的原理和应用	236	5.2.6.5	通过溶氧的控制提高产物合成的事例	260
5.1.5.4	挥发性产物的回收与发酵偶合	237	5.2.7	二氧化碳和呼吸商	262
5.1.5.5	吸附发酵	237	5.2.7.1	CO ₂ 对发酵的影响	262
5.1.6	高细胞密度培养	237	5.2.7.2	呼吸商与发酵的关系	263
5.1.6.1	研究应用概况	237	5.2.8	加糖, 补料对发酵的影响及其控制	264
5.1.6.2	达到高细胞密度的手段	238	5.2.8.1	补料的策略	264
5.1.6.3	存在问题	239	5.2.8.2	补料的判断和依据	266
5.1.6.4	进展与前景	239	5.2.8.3	补料的优化	267
5.1.7	混合或共培养系统	239	5.2.9	比生长速率的影响与控制	269
5.1.8	固态发酵	239	5.2.9.1	程序控制器/反馈补偿器系统	269
5.2	发酵条件的影响及其控制	240	5.2.9.2	谷胱甘肽	270
5.2.1	培养基对发酵的影响	241	5.2.9.3	酿酒酵母	270
5.2.1.1	养分的需求	241	5.2.9.4	对 α -淀粉酶的影响	270
5.2.1.2	生长能量学对产物形成的影响	242	5.2.10	混合效果	271
5.2.1.3	碳和能量限制	243	5.2.10.1	斜 6 平叶涡轮式搅拌器及不同进料方式	271
5.2.1.4	氮或硫限制对产物合成的影响	245	5.2.10.2	栅桨式搅拌器	271
5.2.1.5	钾限制对产物形成的影响	245	5.2.11	超声波、微波、磁场、电流对发酵的影响	272
5.2.1.6	磷、镁或铁限制对产物形成的影响	246	5.2.11.1	超声波	272
5.2.1.7	基质浓度对发酵的影响及其控制	247	5.2.11.2	微波	272
5.2.1.8	培养基的优化	247	5.2.11.3	磁场	272
5.2.2	灭菌情况	250	5.2.11.4	电流	272
5.2.3	种子质量	250	5.2.12	氧化还原电位对发酵的影响	273
5.2.3.1	接种菌龄	250	5.2.13	菌丝生长形式对发酵的影响	273
5.2.3.2	接种量	250	5.2.14	发酵过程参数的相关分析	274
5.2.4	温度对发酵的影响	250	5.2.15	发酵规模的缩小与放大	274
5.2.4.1	温度对产物合成的影响	251	5.3	泡沫对发酵的影响及其控制	275
5.2.4.2	最适温度的选择	251	5.3.1	泡沫的产生及其影响	275
5.2.5	pH 的影响	251	5.3.2	发酵过程中泡沫的消长规律	275
5.2.5.1	发酵过程中 pH 变化的规律	251	5.3.3	泡沫的控制	276
5.2.5.2	培养基 pH 对初级代谢产物合成的影响	252	5.3.3.1	机械消沫	276
5.2.5.3	最适 pH 的选择	252	5.3.3.2	消泡剂消沫	276
			5.3.3.3	消沫剂的应用	277
			5.4	发酵终点的判断与自溶的监测	277

5.4.1	发酵终点的判断	277	6.2.3	计算机在发酵监控方面的应用	299
5.4.2	补料分批培养中生产经济上的 优化	278	6.3	用于控制的生物过程建模	299
5.4.3	自溶的监测	278	6.3.1	传统过程模型	300
5.4.4	影响自溶的因素	279	6.3.2	线性黑箱模型	301
5.5	发酵染菌的防治及处理	279	6.3.3	非线性“黑箱”模型	301
5.5.1	染菌的途径分析	279	6.3.4	生产过程建模	302
5.5.2	染菌的判断和防治	280	6.4	发酵过程估算技术	303
5.5.3	生产技术管理对染菌防止的重 要性	281	6.4.1	传统的基于模型的估算	303
5.6	基因工程菌培养与表达	281	6.4.2	基于线性黑箱模型的估算	304
5.6.1	源自克隆基因的蛋白	281	6.4.3	基于非线性黑箱模型的估算	304
5.6.1.1	人血清白蛋白基因的合成 及其表达	282	6.5	发酵过程的控制策略	305
5.6.1.2	胰岛素	282	6.5.1	发酵过程的PID控制	305
5.6.1.3	生长激素	282	6.5.2	发酵过程的推理控制	305
5.6.1.4	促红细胞生成素	283	6.5.3	发酵过程的适应性(预估) 控制	306
5.6.1.5	人 β_2 -糖蛋白	283	6.5.4	发酵过程的非线性控制	306
5.6.1.6	白细胞介素	283	6.5.5	发酵的优化和优化控制	307
5.6.1.7	GFP-融合监测法在在线优 化中的应用	284	6.5.6	用于发酵监督与控制的知识库 系统	307
5.6.2	干扰素	285	6.5.7	工业规模的发酵故障分析系统	308
5.6.2.1	高密度细胞培养的策略	285	6.6	用于发酵诊断和控制的数据分析	308
5.6.2.2	重组菌的高密度培养和 α 干扰素的表达	285	6.6.1	发酵测量与估算变量分类	309
5.6.2.3	酿酒酵母的高密度培养及人 免疫干扰素的表达	285	6.6.1.1	生物过程的输入-输出表 示法	309
5.6.3	氨基酸	286	6.6.1.2	计算关联	311
5.6.3.1	基因技术在氨基酸生产方面的 应用成果	286	6.6.1.3	动态过程代谢状态的在线 化学计量与鉴别	312
5.6.3.2	利用重组大肠杆菌生产色 氨酸	286	6.6.2	代谢速率(生理变量, PVs) 的计算	313
5.6.4	肌苷酸和鸟苷酸	288	6.6.2.1	普通平衡方程	313
5.6.5	微生物多糖	288	6.6.2.2	消耗(吸收)速率	313
5.6.6	植酸酶	289	6.6.2.3	生产速率	316
思考题		289	6.6.3	不能直接测量的生物过程参数 的估算	317
参考文献		289	6.6.3.1	概念和实例介绍	317
6	发酵过程参数检测与计算机监控	293	6.6.3.2	估算方法	318
6.1	发酵过程参数监测的研究概况	293	6.6.3.3	用监察器进行状态估算	324
6.1.1	设定参数	293	6.6.3.4	不同技术的评估	327
6.1.2	状态参数	293	6.6.4	积分与平均数量的计算	327
6.1.3	间接参数	294	6.6.4.1	积分变量	327
6.1.4	发酵样品的离线分析	295	6.6.4.2	平均变量	328
6.2	生物过程控制的特征	296	6.6.5	生理状态变量(PSVs)的 计算	328
6.2.1	对生物过程控制规范化的要求	296	6.6.5.1	生理状态变量的分类	328
6.2.2	在线发酵仪器的研究进展	297	6.6.5.2	生理状态细胞水平级的监 测方法	330

6.6.5.3 生理状态控制结构	331	6.7.3 用于监控的时序的量变曲线分析 (具体例子)	338
6.6.5.4 利用转录曲线与代谢物曲 线指导发酵生产过程	332	6.8 结论	342
6.7 基于模式识别技术的新方法	335	思考题	342
6.7.1 模式识别的好处	335	参考文献	342
6.7.2 模式识别方法与数据分析	336		

1 微生物生长与调节

1.1 微生物的生长

活细胞的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秩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。有许多迹象表明，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。根据革兰染色的不同，可分为革兰阳性和阴性细菌，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，如图 1-1 所示，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。这两种菌的细胞壁合成方式不同，阳性菌是沿着中纬带，而阴性菌是沿着整个细胞壁，以居间并生方式合成的。

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。细菌的个子很小，一般为 1×10^{-6} 左右。它们以单个，成双，

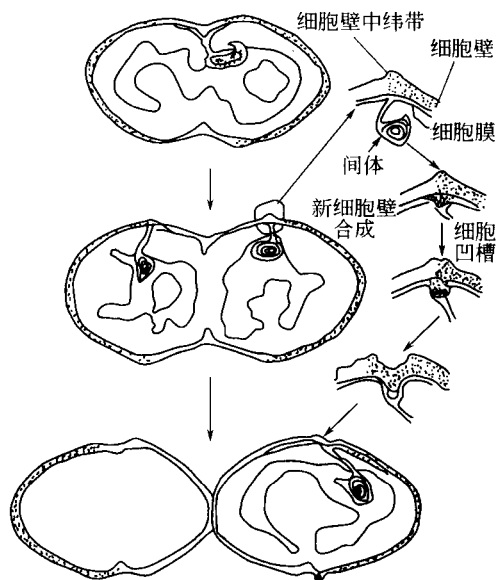


图 1-1 粪链球菌细胞壁生长模式