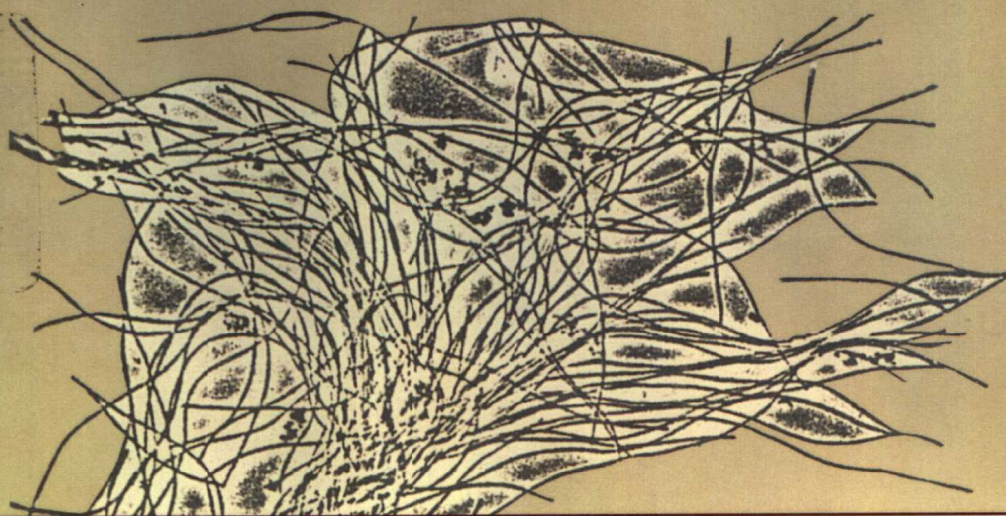


高温菌生物学

■ 和致中 彭 谦 陈俊英 编著



科学出版社

高温菌生物学

和致中 彭 谦 陈俊英 编著

国 家 自 然 科 学 基 金
云 南 省 自 然 科 学 基 金
云 南 大 学 “211” 工 程 专 项 基 金
教 育 部 微 生 物 资 源 开 放 研 究 重 点 实 验 室

资助项目

科 学 出 版 社

2001

内 容 简 介

本书以高温菌分类学研究成果为重点,分9章介绍属于古生菌域和细菌域的高温菌70余个属,约140种以及高温菌分类地位、高温菌起源与系统进化、生命三域概念、高温菌化学分类、高温菌生理学、高温菌生态学等。本书可使读者从物种、细胞形态与组分、生理代谢、生态系统、分子水平等诸多方面了解高温菌的生物多样性,认识多姿多彩的高温微生物世界,同时通过细胞壁的生物化学等几方面,加深对生命三域概念的认识。

本书可作微生物学研究生教材,亦可供有关高等院校师生和科研院所微生物学科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

高温菌生物学/和致中,彭谦,陈俊英编著. —北京:
科学出版社,2000
ISBN 7-03-008567-1

I. 高… II. ①和…②彭…③陈… III. 高温菌-生物学
IV. Q939.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2000)第72252号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

源海印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2000年11月第一版 开本:787×1092 1/16

2001年2月第二次印刷 印张:15 1/4

印数:701—2700 字数:347 000

定价:48.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

前 言

高温菌(thermophiles)是具有极其重要科学价值和应用前景的生物资源。自 Brock T. D. (1969)从美国黄石国家公园的温泉中分离到最适生长温度高达 70℃的水生栖热菌(*Thermus aquaticus*)以后,世界各国科学家不断地从陆地温泉和深海海底温泉等高温生态环境分离到许多新的、生长温度更高的高温菌、超高温菌(hyper-thermophiles),并采用最先进的研究手段对这些高温菌的分类、生理、生化、生态、遗传、生物工程等进行了广泛深入的研究。经过近 30 年的研究,对高温菌这类“嗜极生物”(extremophiles)有了一连串惊人的发现,对它的生存环境有了较多的了解。最近美国政府决定资助一项跨国界跨学科的跨行星研究:寻找宇宙母细胞。科学家相信,生命无处不在,宇宙中可能有所有生物的共同祖先——宇宙母细胞等待着人类去发现。根据高温菌研究的现状和美国政府作出的“寻找宇宙母细胞”这一重大举措,可以肯定地说,高温菌将是 21 世纪生物学研究领域中的热点之一。

近 30 年来,高温菌研究取得了重要的进展,首先,从陆地—海洋温泉以及许多其它高温生态环境发现了约 70 个属 140 种高温菌,其中有生长温度高达 113℃的,有自养型的,也有异养型的;有化能营养的,也有光能营养的;有好氧的,也有厌氧的;有产甲烷的,也有产氢的;有从陆地火山区分离到的,也有从海底火山区分离的,还有从其它人为高温生态环境分离的;有球状的,也有杆状的,有螺旋状的,还有许多多形态的……。本书描述属于细菌域(原称真细菌)高温菌 47 个属 102 种,属宽广古生菌(Euryarchaeota)高温菌 9 个目 7 个科 11 个属 17 个种,属于矿泉古生菌(Crenarchaeota)的高温菌 4 个目 6 个科 11 个属 18 个种,目的在于使读者对现代多姿多彩的高温菌世界有一个框架性的了解。

其次,生命三域(真核生物域、古生菌域和细菌域)概念的提出、确立和完善,与高温菌的发现有密切的关系。Woese(1977)最初提出产甲烷菌不是细菌并提出“古细菌”(archaeobacteria)一词的依据,取自对热自养甲烷杆菌(*Methanobacterium thermoautotrophiles*)的研究结果。另外,不仅细菌域中存在许多高温菌,而且古生菌域中的矿泉古生菌界完全是生长在极端环境下的高温菌。现在已有越来越多的研究成果支持和丰富了生命三域概念(学说),包括在许多古生菌高温菌基因组中发现内含子,其它有细胞壁的结构、组分和生物合成;细胞膜脂的结构和组分;依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶类型;对抗生素的敏感性;生态环境(特别是生长温度);某些生理学特征等等,都为生命三域学说提供了充分的证据。

第三,事实表明,生命三域学说的建立、形成和每一个高温菌新属新种的鉴定无一不与现代先进的化学分类方法、手段的介入相关。介入高温菌的化学分类方法包括核酸分析[DNA 中 G+C mol%含量测定、DNA-DNA(rDNA)分子杂交,16S(23S)rRNA 核苷酸序列分析,基因组分析]、蛋白质分析(RNAP 类型分析,其它蛋白质分析)、胞壁分析、膜脂分析、多胺分析等。

第四,通过高温菌生理生化的研究,证明了 EM 和 ED 糖酵解途径以及 TCA 在高温菌代谢中的存在;同时证明了修正的 EM 途径(即 3-磷酸甘油醛:铁氧还蛋白氧化还原酶代替了 3-磷酸甘油醛脱氢酶/磷酸甘油酸激酶)和非磷酸化 ED 途径在超高温古生菌 *Thermococcus*、*Desulfurococcus*、*Thermoproteus* 和 *Sulfolobus* 以及超高温真细菌 *Thermotoga* 中的存在和分布。在超高温古生菌 *Pyrococcus furiosus* 中还发现代表系统进化中最古老的糖发酵途径——高温糖酵解(pyrolycolysis)途径;发现了以 L-丙氨酸为还原性末端产物的发酵途径;发现了在生物系统中罕见利用的钨对超高温古生菌代谢类型的影响(通过醛铁氧还蛋白氧化还原酶,AOR;AOR 是一种钨-铁-硫蛋白)。此外还发现了与高温菌的生长温度密切相关的六胺(hexamine C19)、高温六胺(caldohexamine,C20)、同型高温六胺(homo-caldohexamine,C20)和逆转回旋酶(I 型拓扑异构酶)等等。

第五,高温菌不仅具有重要的科学价值,而且还具有迷人的应用前景。高温菌发现不久就引起了生物工程学家的关注,对高温菌在高温下的生长需要、高温菌动力学和调控、高温菌的发酵产物和应用诸多方面展开了研究,分析了高温系统的优点和缺点,明确了高温菌处理系统中的工程难题,提出了解决有关难题的一些途径。估计在高温菌的应用方面意义最大、前景最好的莫过于应用产耐热纤维素酶高温菌从纤维素生产乙醇或葡萄糖了。但至今因产酶菌种和其它一些生物工程问题尚未解决,与实际应用尚有相当距离。现在高温菌的应用最成功的例子当属由水生栖热菌产生的耐热 DNA 聚合酶了,由于它的应用使 DNA 体外扩增实现了自动化,大大促进了生物学的发展。

本书以分类学研究成果为重点,分 9 个部分向读者介绍约 70 个属 140 个种的高温菌、高温菌的化学分类、高温菌分类地位与生命三域概念、高温菌生理学等内容。目的在于使读者对高温菌的概貌有所了解,引起对高温菌的重视和研究兴趣,为高温菌的研究作出新的更大的贡献。

作者水平有限,书中缺点和错误在所难免,诚望读者批评指正。在编著过程中尤其对某些属名、种名的翻译有一定的牵强附会之感,如面对 *Thermoanaerobium*、*Thermoanaerobacter* 和 *Thermoanaerobacterium* 3 个属名,就词的结构与组成分析,统译为“高温厌氧杆菌属”没有错,但要把 3 个属区分开,只好结合它们的鉴别特征,把 3 个属分别译为“高温厌氧非芽孢菌属”、“高温厌氧杆菌属”和“高温厌氧芽孢菌属”似乎别无它法。书中还有其它类似例子,有何不妥望读者、同仁指正。

另外,编著本书所用文献均采用 1998 年前优先发表或有效发表的科技文献,此书无论以何等快的速度出版,都会有遗漏的文献,因为高温菌研究进展太快,论文太多了,几乎每期“Int. J Syst Bacteriol”、“Syst Appl Microbiol”、“Arch Microbiol”、“Appl Environ Microbiol”上都有高温菌新属新种及其它研究的报道,请读者鉴谅。

和致中

1998 年 11 月

目 录

前言

第一章 绪论	(1)
一、高温菌的定义	(1)
二、高温菌的起源与进化	(2)
(一) 高温菌的系统发育	(2)
(二) 高温菌和地球化学历史	(3)
三、生命三域概念	(4)
(一) 生物界级分类系统的简要回顾	(4)
(二) 生命三域的定义	(6)
(三) 生命三域特征的比较	(7)
(四) 生命三域的起源和系统进化关系	(7)
四、从细胞壁的生物化学看生命三域概念	(10)
(一) 细胞壁生物化学的重要性	(10)
(二) 三个生命域的细胞壁特征	(10)
(三) 产甲烷菌细胞壁多样性及生物合成	(13)
五、高温菌的分类地位	(20)
(一) 属于细菌界中的高温菌	(20)
(二) 属于宽广古生菌界的高温菌	(20)
(三) 矿泉古生菌界的高温菌	(21)
第二章 高温菌的化学分类	(22)
一、高温菌化学分类信息	(22)
(一) 核苷酸分析	(23)
(二) 蛋白质分析	(29)
(三) 膜脂分析	(30)
(四) 胞壁分析	(32)
(五) 多胺分析等	(36)
二、化学分类对高温菌分类学的贡献	(37)
三、结语	(39)
第三章 高温菌的营养与生理学	(40)
一、高温菌的营养学特征	(40)
二、真细菌高温菌生理学	(41)
(一) 需氧性高温菌的生理学	(41)
(二) 厌氧性高温菌生理学	(46)
三、古生菌高温菌生理学	(50)

(一) 产甲烷高温菌的生理学特征	(50)
(二) 超高温古生菌强烈炽热球菌(<i>Pyrococcus furiosus</i>)的生理学	(54)
四、超高温古生菌和真细菌 E-M 与 E-D 糖酵解途径的比较	(60)
(一) 超高温菌的系统进化位置	(60)
(二) <i>Thermococcus celer</i> 和 <i>T. litoralis</i> 的糖酵解途径	(63)
(三) 古生菌解淀粉脱硫球菌葡萄糖降解途径	(63)
(四) <i>Thermoproteus tenax</i> 的葡萄糖降解途径	(63)
(五) 好氧性古生菌(<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>)的葡萄糖降解途径	(63)
(六) 超高温古生菌和真细菌 <i>Thermotoga</i> 中 E-M 型糖酵解途径的比较	(63)
(七) 超高温古生菌与真细菌 <i>Thermotoga</i> 葡萄糖降解途径的比较	(64)
第四章 高温菌生态学	(66)
一、地热生境	(66)
二、其它高温生境	(67)
三、高温古生菌的生态学	(67)
(一) 陆地火山区的极端嗜热古生菌的生态	(67)
(二) 海底火山区的极端嗜热古生菌的生态	(68)
(三) 产甲烷高温菌的生态	(69)
四、嗜热细菌的生态学	(70)
五、高温菌的多样性	(74)
第五章 矿泉古生菌界高温菌的描述	(75)
一、硫化叶菌属(新属)(<i>Sulfolobus</i> gen. nov.)	(75)
二、脱硫叶菌属(新属)(<i>Desulfurolobus</i> gen. nov.)	(77)
三、嗜酸热类球菌属(新属)(<i>Acidianus</i> gen. nov.)	(78)
四、生金球菌科(浸矿球菌科 <i>Metallosphaeraceae</i>)	(80)
五、生金球菌属(新属)(浸矿球菌属 <i>Metallosphaera</i> gen. nov.)	(80)
六、栖冥河菌属(新属)(哈得斯叶菌属 <i>Stygiolobus</i> gen. nov.)	(82)
七、高温球菌目(<i>Thermococcales</i> Zillig ord. nov.)	(83)
八、高温球菌属(<i>Thermococcus</i>)	(83)
九、炽热球菌属(新属)(<i>Pyrococcus</i> gen. nov.)	(85)
十、葡萄状嗜热菌属(新属)(<i>Staphylothermus</i> gen. nov.)	(86)
十一、海洋古生菌 NS-C 菌株	(86)
十二、超高温球菌属(新属)(<i>Caldococcus</i> gen. nov.)	(87)
十三、古球菌属(新属)(<i>Archaeoglobus</i> gen. nov.)	(88)
十四、超高温类球菌属(新属)(<i>Hyperthermus</i> gen. nov.)	(92)
十五、好氧炽热球菌属(新属)(<i>Aeropyrum</i> gen. nov.)	(93)
十六、铁球菌属(新属)(<i>Ferroglobus</i> gen. nov.)	(93)
十七、硫球菌属(新属)(<i>Sulfosphaerellus</i> gen. nov.)	(94)
第六章 宽广古生菌界高温菌的描述	(96)
一、产甲烷菌分类简况	(96)
二、甲烷嗜热菌属(<i>Methanothermus</i>)	(100)

三、甲烷杆菌属(<i>Methanobacterium</i>)	(101)
四、甲烷球菌属(<i>Methanococcus</i>)	(105)
五、产甲烷菌属(<i>Methanogenium</i>)	(105)
六、超高温甲烷菌属(新属)(<i>Methanopyrus</i> gen. nov.)	(106)
七、甲烷丝状菌属(<i>Methanotherix</i>)	(107)
八、甲烷八叠球菌属(<i>Methanosarcina</i>)	(109)
九、嗜酸球菌科(新科)(<i>Picrophilaceae</i> fam. nov.)	(109)
十、嗜酸球菌属(新属)(<i>Picrophilus</i> gen. nov.)	(109)
十一、热质体属(<i>Thermoplasma</i>)	(110)
第七章 属细菌域的高温菌(一)高温神袍菌目和产水细杆菌	(112)
一、高温神袍菌属(新属)(<i>Thermotoga</i> gen. nov.)	(112)
二、高温套管菌属(新属)(<i>Thermosipho</i> gen. nov.)	(113)
三、地球神袍菌属(新属)(<i>Geotoga</i> gen. nov.)	(115)
四、石油神袍菌属(新属)(<i>Petrotoga</i> gen. nov.)	(115)
五、高温小杆菌属(新属)(<i>Fervidobacterium</i> gen. nov.)	(117)
六、产水细杆菌属(新属)(<i>Aquifex</i> gen. nov.)	(120)
第八章 属细菌域的高温菌(二)形成芽孢的高温菌	(121)
一、芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)中的高温菌	(121)
二、环状脂肪酸芽孢杆菌属(<i>Alicyclobacillus</i>)中的高温菌	(128)
三、嗜热产芽孢氢细菌 MA48 株	(130)
四、嗜酸硫化杆菌(新种)(<i>Sulfobacillus acidophilus</i> sp. nov.)	(130)
五、嗜中温螺旋杆菌(新种)(<i>Helibacterium modesticaldum</i> sp. nov.)	(131)
六、梭状芽孢杆菌属(<i>Clostridium</i>)中的高温菌	(132)
七、脱硫肠状菌属(<i>Desulfotomaculum</i>)中的高温菌	(144)
八、高温厌氧芽孢杆菌属(新属)(<i>Thermoanaerobacterium</i> gen. nov.)	(149)
九、高温厌氧杆菌属(<i>Thermoanaerobacter</i>)	(152)
第九章 属细菌域的高温菌(三)非芽孢高温菌	(156)
一、栖热菌属(<i>Thermus</i>)	(156)
二、高温微菌属(新属)(<i>Thermomicrobium</i> gen. nov.)	(162)
三、红嗜热盐菌属(新属)(<i>Rhodothermus</i> gen. nov.)	(163)
四、嗜热嗜油杆菌属(新属)(<i>Thermoleophilum</i> gen. nov.)	(165)
五、高温丝状菌属(新属)(<i>Thermonema</i> gen. nov.)	(166)
六、热酸杆菌属(新属)(<i>Acidothermus</i> gen. nov.)	(168)
七、网络球杆菌属(<i>Dictyoglomus</i>)	(169)
八、产醋酸栖热菌属(新属)(<i>Acetothermus</i> gen. nov.)	(171)
九、嗜酸栖热菌属(<i>Acidothermus</i>)	(172)
十、高温拟杆菌属(<i>Thermobacteroides</i>)	(172)
十一、分叉柄状菌属(新属)(<i>Dichotomicrobium</i> gen. nov.)	(173)
十二、高温毛发菌属(<i>Thermothrix</i>)	(175)

十三、好氧球杆菌属(新属)(<i>Sphaerobacter</i> gen. nov.)	(175)
十四、盐盒菌属(<i>Haloarcula</i>)	(176)
十五、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)	(177)
十六、黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)	(177)
十七、产氢杆菌属(<i>Hydrogenobacter</i>)	(178)
十八、热解纤维素果汁杆菌属(<i>Caldicellulosiruptor</i>)	(178)
十九、高温脱硫杆菌属(新属)(<i>Thermodesulfobacterium</i> gen. nov.)	(178)
二十、还原硫的极端嗜热真细菌——NS-E 株	(179)
二十一、脱硫短杆菌属(新属)(<i>Desulfurella</i> gen. nov.)	(180)
二十二、高温脱硫弧菌属(<i>Thermodesulfovibrio</i>)	(183)
二十三、酸小杆菌属(<i>Acidimicrobium</i>)	(184)
二十四、高温互养杆菌属(新属)(<i>Thermosyntrophia</i> gen. nov.)	(185)
二十五、厌气杆菌属(新属)(<i>Anaerobaculum</i> gen. nov.)	(186)
二十六、栖热分枝菌属(<i>Thermobrachium</i>)	(186)
二十七、亚栖热菌属(新属)(<i>Meiothermus</i> gen. nov.)	(188)
二十八、高温黄杆菌属(新属)(<i>Thermo flavobacterium</i> gen. nov.)	(189)
二十九、一株极端嗜热分解木聚糖的菌株	(189)
三十、光合细菌——微温着色菌(<i>Chromatium tepidum</i>)	(190)
三十一、绿曲挠丝状菌属(<i>Chloroflexus</i>)	(190)
三十二、高温厌氧非芽孢菌属(新属)(<i>Thermoanaerobium</i> gen. nov.)	(194)
三十三、共生小杆菌属(新属)(<i>Symbiobacterium</i> gen. nov.)	(195)
三十四、喜热菌属(<i>Caloramator</i>)	(196)
三十五、螺旋体属(<i>Spirochaeta</i>)	(200)
第十章 某些典型高温菌的电镜照片	(204)
参考文献	(222)

第一章 绪 论

一、高温菌的定义

事实表明,微生物在略低于水的冰点直到沸点温度范围内都能生长和繁殖,这不是说某一种微生物在从 0~100 C 这个温度范围内都可以生长。对于具体的一种微生物而言,它们的生长温度范围是有限的,跨度难以超过 40 C。因此导致根据它们的基本生长温度即最低($T_{\min}$)、最适(T_{opt})和最高($T_{\max}$)生长温度而形成确认的分类系统。Stanier 等(1970)在《微生物世界》一书中所列生长温度跨度在 -5~22 C 者为“嗜冷菌”(psychrophiles),跨度在 10~47 C 者为常温菌或“中温菌”(meso-philes),跨度在 40~80 C 者为“高温菌”(thermophiles)。

现在认为,根据微生物的基本生长温度直接将它们分为嗜冷菌、中温菌和嗜热菌并不令人满意。比如有许多微生物生长温度范围较宽,对它们进行鉴定,作者根据自己的观点可将它当作中温菌,也可以把它作为嗜热菌。再说生长温度常因培养条件而变化。目前认为嗜热细菌包括生长跨度在 40~100 C 之间的细菌,并认为低于这一生长温度范围的嗜热细菌不同于上述嗜热菌。人们已作过许多尝试,企图将嗜热菌再往下细分,详见表 1.1。表 1.1 中即 Williams(1975)分类系统中提出了“Caldoactive”这一名字;这是 Heinen 和 Heinen(1972)给在 70 C 以上温度生长的细菌提出的最新名称。

表 1.1 嗜热细菌的分类系统

文 献	专 有 名 词	定 义
Miehe(1907)	嗜热生物	$T_{\min} > 25\text{ C}$
	定向嗜热生物	$T_{\max} > 60 \sim 70\text{ C}$
	耐热生物	$T_{\max} > 50 \sim 55\text{ C}$
Robertson(1927)	耐热的中温生物	在 20 和 50 C 之间生长,经巴氏灭菌仍存活
Imsenechi & Solnzeva(1945)	真正的嗜热生物	$T_{\text{opt}} 55 \sim 60\text{ C}$
	狭温性嗜热生物	$T_{\min} > 28\text{ C}, T_{\max} < 60\text{ C}$
	适广温嗜热生物	在 60 C 和 28~30 C 均能生长
Farrell & Cambell (1969)	严格或专性嗜热生物	$T_{\text{opt}} 65 \sim 70\text{ C}, T_{\min} > 40 \sim 42\text{ C}$
	兼性嗜热生物	$T_{\max} 50 \sim 60\text{ C}, T_{\min}$, 室温
	耐热生物	$T_{\max} 45 \sim 50\text{ C}$
Williams (1975)	高度嗜热菌	$T_{\max} > 90\text{ C}, T_{\text{opt}} > 65\text{ C}, T_{\min} > 40\text{ C}$
	嗜热菌	$T_{\max} > 60\text{ C}, T_{\text{opt}} > 50\text{ C}, T_{\min} > 30\text{ C}$
Brock (1986)	极端嗜热菌	$T_{\text{opt}} \geq 60\text{ C}$
Stetter et al. (1990)	超高温菌	$T_{\text{opt}} \geq 80\text{ C}$

二、高温菌的起源与进化

Arrhenius(1927)提出了这样的论点:嗜热生物来源于金星,而后它们借助太阳射线的帮助转移到地球。这种外源学说不能解释已确认的事实;当前确认的事实说明,常温细菌和嗜热细菌有共同的来源。例如在许多原核生物包括蓝绿藻、光合细菌、芽孢菌(需氧性芽孢杆菌和厌氧芽孢梭菌)、放线菌、硫氧化还原细菌、甲烷氧化菌和产甲烷细菌以及革兰氏阴性需氧菌中均发现嗜热微生物。在原生动物、藻类和真菌中也发现一些嗜热真核生物。嗜热微生物的多样性以及它们的结构和代谢过程均与常温菌相似,这些事实表明它们有共同的起源。而且发现常温菌和嗜热菌中的许多酶和酶系统,像核糖体、ATPase 都十分相似;这些结构物和蛋白质反映了 DNA 的组成。从常温菌和嗜热细菌获得的同源蛋白质之间的相似性问题,已被广泛确认。

曾提出嗜热生物首先发育进化形成,而后它们再适应于在较低温度下生长。而 Kluryver 和 Baars(1932)提出,嗜热生物是自发突变的结果,也就是说是一次突变出现的。这是很难令人相信的。嗜热细菌中的酶和蛋白质除它们的热稳定性较高外,都与常温菌同源蛋白相似,许多研究者注意到,嗜热细菌许多蛋白质热稳定性较高乃是内在性的,它们依赖于同源蛋白质之间氨基酸组成和顺序的差异。因此一次突变可以改变一种蛋白质的热稳定性,但要常温菌转化为嗜热细菌需要多次有效的突变才能实现。因此一次突变出现嗜热细菌这是不可能的。如果一次突变可以使常温菌转化为嗜热细菌,那意味着在细胞中存在赋予绝大多数酶和蛋白质热稳定性的嗜热因子。但这样的因子至今未鉴定出。因此至今没有发现利用诱变剂将常温菌转变为嗜热细菌任何成功的例子。

Golikowa(1926)和 Brock(1967)等人提出,在常温菌出现之前嗜热微生物已经形成。细菌生命开始形成的时候是一个还原性的炽热的环境,因而厌氧性微生物和嗜热微生物的出现先于常温菌和需氧菌这是很有道理的。需氧性嗜热细菌直接从厌氧性嗜热细菌进化而来或从需氧性常温菌进化而来都是可能的,或者从不同类型的细菌进化而来都是可能的。很可能不同类型的细菌进化形成的顺序问题将来会得到解决。同源蛋白如像铁氧还蛋白、细胞色素已从越来越多的细菌中分离到;这些蛋白质的形成是有顺序的,从同源学观点可以论述它们的演化路线。因此核糖体 RNAs 编目的发现对于确定系统发育是非常有用的。

(一) 高温菌的系统发育

细菌是按实践中可以区别和鉴定的项目进行分类的。这意味着,如果使用不同的标准,具有相同性状的细菌将会分类为不同的类群。长期以来,人们所希望的以进化关系为根据的自然分类一直未能实现。然而,近年来已发生了迅速的改变,实现了生物大分子测序和主要通过核酸序列分析的可能性。

关于这方面的工作是以 Woese 和他的同事们采用 16S rRNA 寡核苷酸序列分析,接着采用全序列分析开始的。从此类研究资料清楚地表明,古生菌的多样性也和细菌那样丰

富。

嗜热细菌在细菌树的所有主要类群中均有分布。但是特别有趣的是,高温菌往往是它们各自那个类群中、甚至是细菌界中最古老的类型。例如 *Thermotoga*、*Thermomicrobium*、*Chloroflexus* 和 *Thermus* 就是这样的例子。它们都是比较古老的类群,也就是说系统进化树中它们具有深的分支。面对这一事实提出了这样的论点:嗜热性是在细菌进化的早期出现的,以至说祖先细菌就是高温菌。这一结论是特别有趣的,因为 Woese 以前曾提出了相似的论点:祖先古生物是代谢硫的高温菌。综合这些论点提出,嗜热性是生命在地球上进化的很早时期进化形成的特殊性状。

(二) 高温菌和地球化学历史

在生物圈的进化和地球外壳的产生中微生物起到重要的作用,这已被人们普遍接受。认为地球起源于 46 亿年前陨石的碰撞或者空间尘埃的收集。继后这些物质获得热量、熔化,导致气体的释放和水在表面的凝结。最原始的地球大气层含有还原性化学物质如氢气、甲烷和氮气。此外还含有 CO_2 ,但不含氧。在开始的时候地球的表面层一定非常的热,然后缓慢冷却。这冷却期有多长不知道,但过去一般假定,生命在这个星球上起源的时候,地球温度与现在的温度很接近。

人们认为,早在 40 亿年前生命已在地球上存在了。已知最古老的岩石,包括可作为化石解释的岩石存在于 31 亿至 32 亿年前。在 28 亿年的石灰石中发现了垫藻岩结构,为那时蓝细菌的存在提供了证据。

地球上的第一个生物是高温菌而不是通常假定的常温菌,这种推测是很有趣的。现在没有反驳这种推测的地质学证据。事实上,有些地质学家认为,在 30 亿年前地球比现在更热。

现在地球上从一个空间(地点)到另一空间平均波动温度至少 80°C 。另外,我们可以指出,温泉在地球上总是存在的,而且它们的分布或许最初比现在更广泛。因此也可以理解为生命起源于温泉。硫磺区热土的还原性化学条件与早期地球情况大概相符。而且代谢,特别是发酵性和利用硫的厌氧性古生物也和早期地球环境很吻合。所有这些,似乎都支持古生菌和细菌的祖先都是嗜热性祖先,然后再形成真核生物的理论。

根据现在的研究资料作者认为,高温菌是在与地热有关的各种高温生态环境中独自进化形成的,常温菌来源于高温菌,高温菌的起源也就是生命的起源,最原始的生命形式或者说生命最早的祖先是高温菌——是生长温度最高的严格厌氧的高温菌,如凯氏炽热甲烷菌(*Methanopyrus kandleri*)之类。根据如下:

(1) 目前发现的高温菌(高温微生物),就其分类进化级位覆盖 3 个域,或者说几乎所有生物分类单元中都有高温菌的存在,其细胞形态、组分和营养类型的多样性不亚于常温菌;

(2) 系统进化地位越低级生长温度(最适或上限温度)越高,如古生菌上限生长温度($T_{\max}$)= 113°C ,细菌 $T_{\max}=90^\circ\text{C}$,真菌 $T_{\max}=60\sim 62^\circ\text{C}$,藻类 $T_{\max}=55\sim 60^\circ\text{C}$,原生动物 $T_{\max}=56^\circ\text{C}$,维管束植物 $T_{\max}=49^\circ\text{C}$,鱼类和其它水生脊椎动物 $T_{\max}=38^\circ\text{C}$;

(3) 至今发现的最适生长温度超过 80°C 的高温菌无一不是严格厌氧的;

(4) 地球与大气圈形成和演化的历史状态表明,地球形成后的原始状态为炽热高温,尔后逐步冷却;大气圈最初缺氧,尔后才有氧;这种原始状态与现在发现的、和前细胞生物距离最近的、生长温度最高的凯氏炽热甲烷菌的基本生物学特征相对应。

三、生命三域概念

(一) 生物界级分类系统的简要回顾

生命从起源形成到今天经历了漫长的进化过程;人类对生命起源进化的认识也几经周折,至今也未完结,但总是日臻完善,越来越反映生物进化的客观历程。众所周知,人类仅凭感官认识客观事物的时候,只知道生物分类为土著的动物和植物两大类群,直至1866年 Haeckel E. 才提出原生生物不宜归到动物或植物,应单独建立一新分支,即生命进化树的第三个分支——原生生物界。后来, Copeland H. F. (1938) 提出将最初称为“微动物”,以后归在植物界裂殖菌纲的“细菌”作为第四个分支——细菌界。20年之后 Whittaker R. H. (1959) 提出了第五个分支——真菌界。从此直至1977年 Whittaker 提出的动物界、植物界、真核原生生物界、真菌界和原核生物界的五界生物进化分类系统,以及生物从非细胞进化为细胞以后沿着原核生物和真核生物两条线进化的观点,被绝大多数学者所接受。

事实表明,每一种学说、概念、认识的形成、产生,无不打上时代的烙印;无不与时代所能提供的研究手段(技术)以及应用这些技术所获得的研究成果、发现密切相关。由于近代生物化学、分子生物学和分子遗传学的迅速发展,极大地促进了生物系统分类学的发展。以 Woese、Stetter、Fox 和 Zillig 为代表的科学家,他们以称之为细菌“化石”的16S rRNA

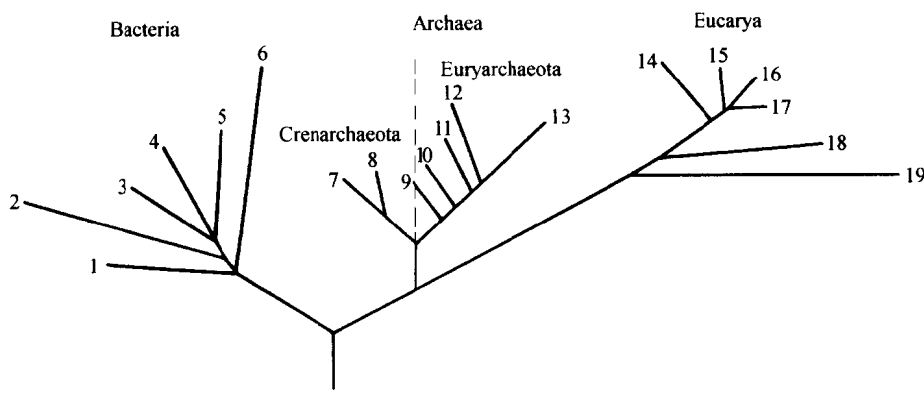


图 1.1 表明生命三域的根型系统进化树

细菌:1. 高温神孢菌目(Thermotogales);2. 黄杆菌及相关菌;3. 蓝藻细菌;4. 紫色细菌;5. 革兰氏阳性细菌;6. 绿色非硫细菌。古核生物:矿泉古生菌界(Crenarchaeota);7. 炽热盘网菌属(*Pyrodictium*);8. 高温变形菌属(*Thermoproteus*)。宽广古生菌界(Euryarchaeota);9. 高温球菌目;10. 甲烷球菌目;11. 甲烷杆菌目;12. 甲烷微菌目;13. 极端嗜盐菌。真核生物:14. 动物;15. 纤毛虫(*Ciliales*);16. 绿色植物;17. 真菌;18. 鞭毛虫;19. 微孢子虫。

注:资料取自 Woese C. R. (1987) Microbiol Rev. 51:221—271(分支顺序和分支长度是以比较 rRNA 序列为根据绘制的。根的位置是通过比较形似性(paralogus)基因配对的顺序确定的)

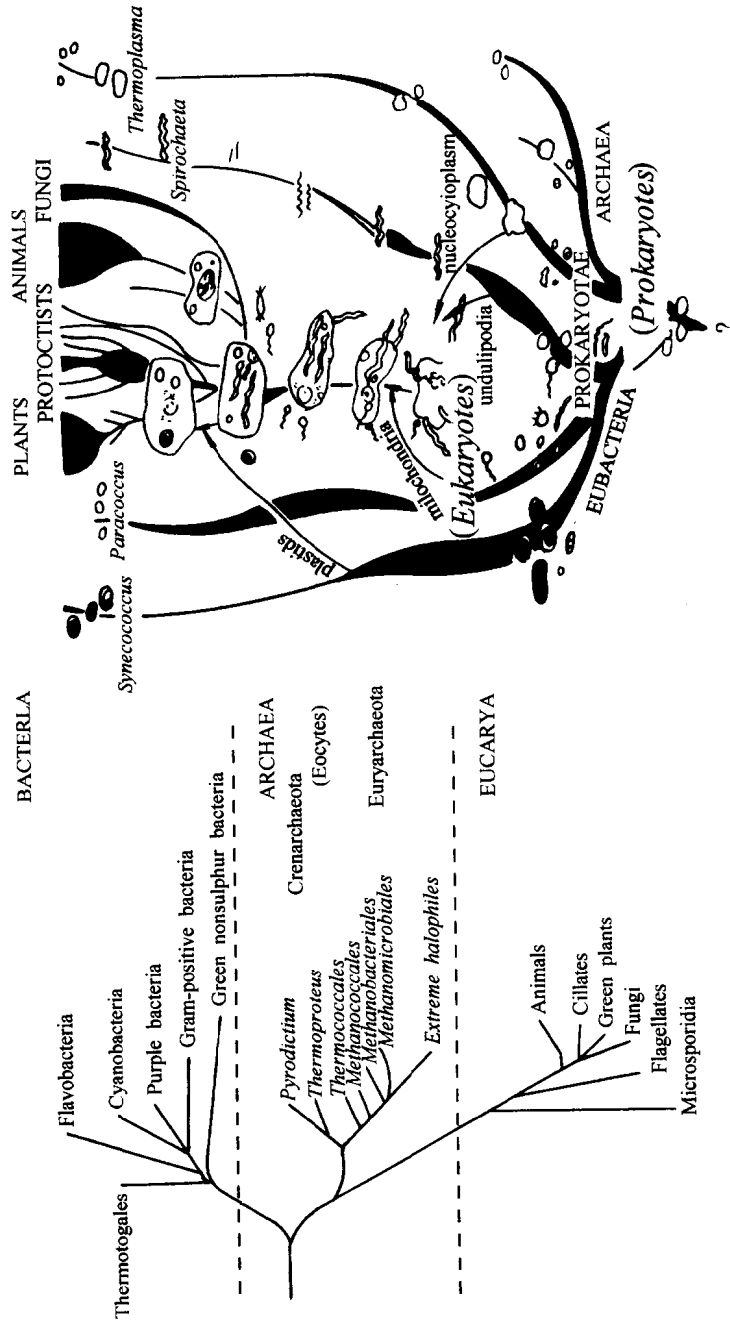


图 1.2 生命三域的模式(此图取自 Margulis L. 1996)

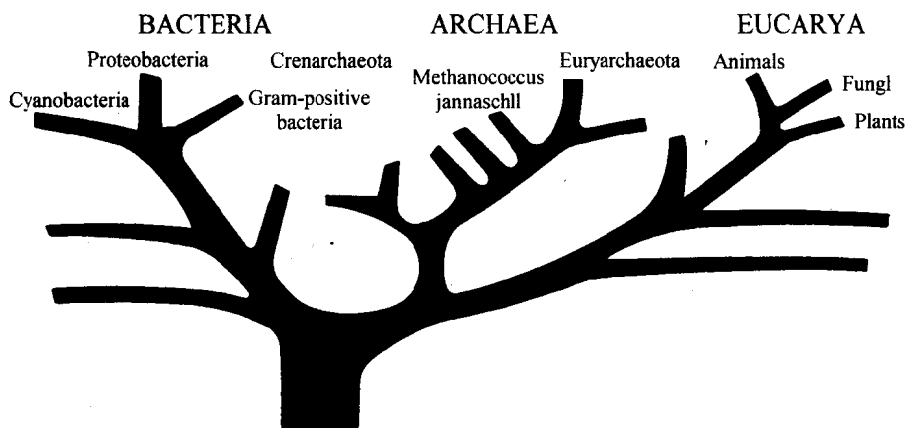


图 1.3 表明生命三域的总的系统进化树。古生菌域分为两界：由极端嗜盐菌和产甲烷菌组成的宽广古生菌界和由嗜酸嗜热菌(也称为 eocytes)组成的矿泉古生菌界，它们都是在高温和高酸度条件下生长的古生菌。(此图取自 Gray M. W., 1996)

的核苷酸序列分析为主的一系列研究结果表明，在分子水平上将原核生物区分为两个不同的类群，分别称为真细菌(Eubacteria)和古细菌(Archaeobacteria)；这两个类群彼此的 16S rRNA 的核苷酸序相似系统(S_{AB} 值)仅在 0.1 左右。而且，真细菌和古细菌各自与真核生物的 S_{AB} 值也是 0.1 左右；可见古细菌、真细菌和真核生物三者之间的进化距离几乎是相等的，因而提出了古细菌界(Archaeobacteria)、真细菌界(Eubacteria)和真核生物界(Eucarya)的三界学说，在此基础上，Woese et al. (1990)提出了趋向自然的生命三域(three domains)进化系统。即古生菌域(domain archaea)、细菌域(domain bacteria)和真核生物域(domain eucarya)，认为现代生物都是从一个共同祖先——前细胞(pre-cells)^①分三条线进化形成的，并构建了有根系统进化树(图 1.1、图 1.2、图 1.3)，界定了三域。通过对延伸因子 EF-1a 编码基因顺序进行比较表明 eocytes(极端嗜热、代谢硫的古生菌)与真核生物的关系最密切(姊妹类群)。

(二) 生命三域的定义

真核生物域：细胞为真核细胞；细胞膜脂主要是甘油脂肪酰二脂；核糖体含真核生物型 rRNA。

细菌域：细胞为原核细胞；细胞膜脂主要是酰基甘油二脂；核糖体含真细菌型 rRNA。

古生菌域：细胞为原核细胞；膜脂主要是类异戊基甘油二醚或二甘油四醚；核糖体含古生菌型 rRNA。此域分为宽广古生菌界(Euryarchaeota)和矿泉古生菌界(Crenarchaeota)。

宽广古生菌界：它们的生态栖居域(niches)比较广泛，代谢类型比较多样；核糖体含宽广古生菌类型 rRNA。

矿泉古生菌界：与古生菌域的祖先的表型十分相似；核糖体含古生菌型 rRNA。

^① “前细胞”被界定为只有多聚体的短的碎片，而没有表型和基因型之间的进化联系的最原始的实体。

(三) 生命三域特征的比较

至今已有越来越多的研究成果支持和丰富了生命三域的概念(学说)详见表 1.2

表 1.2 细菌和古生菌特征的比较

特 征	细 菌	古 生 菌
细胞壁组分	肽聚糖	伪肽聚糖、蛋白质多糖
膜 脂	甘油脂肪酸	甘油异戊基醚
方形或扁平结构	—	+
内生孢子	+	—
tRNA“共同臂”含有	胸腺嘧啶核糖核苷	伪尿嘧啶核苷或 1-甲基伪尿苷
乙酰基化的起始 tRNA 甲基化	+	—
基因组中的内含子	—	+
真核生物型 RNAP*	—	+
编码小 RNAP 亚单位 H 的基因	—	+
特殊辅酶	—	+
最高生长温度	90℃	113℃
完全的光合作用	+	—
产生甲烷	—	+
在 CO ₂ 固定中使用卡尔文循环	+	—

* RNAP=依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶。

(四) 生命三域的起源和系统进化关系

尽管最基本的生化特征(如蛋白质氨基酸,遗传密码等等)三个域都共有,证明这个星球上的生命的统一,可是有许多进化特征只在三个域中的一个或两个域中发现。在许多情况下,在三个域中只有两个域发现的那些进化特征的分布与图 1.1 中表述的根据系统发育树描绘的二叉分枝顺序不符。事实上,三个域中三个可配对中的每一个,似乎都是姊妹群(sistergroups),决定于认定的特征,如图 1.4 引用的例证。

正如 Forterr(1993)在“古生物的分子生物学”专题学术讨论会上所指出的,三个域内特征的准随机分布不能满意的解释从融合或吞噬导致的任何一类最原始的早期发生的嵌合现象。然而,它可以解释具有生命的早期前细胞多表型物种的细胞性(细胞化)的、近期提出的非双叉多样化图解。

图 1.5 说明,生命是通过无机的氧化还

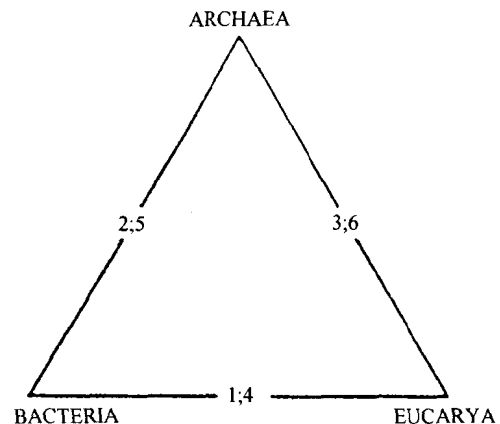


图 1.4 三个生命域中生物特征准随机分布的图解。数字表示两个域共有而第三个域缺失的特征。
1. acyester lipids(酰基酯?); 2. 环状基因组; 3. 蛋白延伸因子 EF Tu 1; 4. ATP-磷酸果糖激酶; 5. 转录单位; 6. V-ATP 酶。

原能量和电子流驱使 CO_2 还原和有机物合成,在原始的无机世界的水热圈中逐渐形成的。根据 Wachtershauser(1988 a,b,1992)指出,黄铁矿(天然的二硫化铁)的形成是一个很普通的地球化学过程($\text{H}_2\text{S} + \text{FeS} \rightarrow \text{FeS}_2 + \text{H}_2$, $G^\circ = 11.9\text{kJ/mol}$),此过程在高温条件下自然发生(Drobner et al., 1990)是合情合理的,虽然它仍然只是推测的原始的 CO_2 还原和有机化合物合成的还原力。支持这种推测的还有用 $\text{FeS}/\text{H}_2\text{S}$ 作为还原力来源使 NO_3 还原为 NH_3 以及许多有机化合物等已被证明的事实。

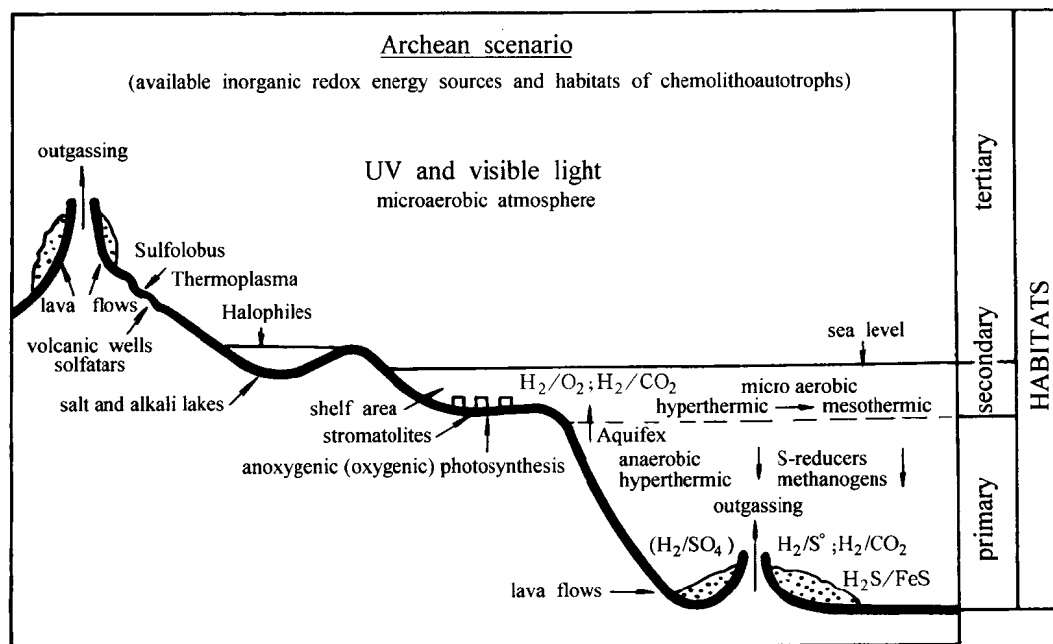


图 1.5 早和晚太古时期(early and late Archean period)生命起源与早期多样化生态条件的图解说明

在生物化学进化的最早时期,可以氢氧化为基础提供氧化还原能量来源,最终代替土著氧化还原能量来源,即推测的自发性黄铁矿(FeS_2)的形成。从而更广泛的底物成为可用的了,进化的生命将冒险(敢于)进入更广泛的生态环境。无机氧化还原的能量来源虽然只被古生菌域中的无机化能自养的超高温成员使用,氧化还原偶联剂 $\text{H}_2/\text{S}^\circ$ 和 H_2/CO_2 ,在太古代时期,至少在广泛的火山区是有用的,但是偶被古核生物利用的 H_2/SO_4 偶联反应只在含硫贫乏的太古代海洋中的富含硫的岩浆热水孔附近地带有用。在大气层中已形成低氧浓度以及由于强烈的紫外线辐射使水蒸汽发生光化学暴烈出现的表面水层中, H_2/O_2 氧化还原偶联是有用的。在微量氧和生态环境中阐明的最上层(upper zones),尚存在极端嗜热的超高温菌 Aquifex 和 Hydrogenobacter 菌群,表明无机化能自养型生命的存在。与此同时,光合作用也发生进化,致使生命不再依赖于地球化学氧化还原能量。由于在老化成熟并不断冷却的地球上,环境连续的变化,导致生态环境的进一步多样化,使原始生命有充分的机会,在不同的无机化能自养型营养基础上具有许多表型特征。伴随着从无机化能自养型生命衍生的有机物的积累,专性异养型生命也有了机会进化形成。

从尚存的 3 个生命域看,最终达到的共同祖先的状态或许就是前细胞的多表型特征种群,即显示有细胞的大多数基本性质,但不能在允许基因库和物种分离水平上限制遗传