

细菌生理学

张宽厚 主编

人民卫生出版社



細菌生理學

張寬厚 主編

張寬厚 俞用川
梁業楷 王士嫻 編著

人民衛生出版社

一九六四年·北京

內 容 提 要

本书共分13章：前三章叙述細菌的构造、理化性质和染色原理。第四章至第十一章討論細菌的营养和代謝以及外界环境因素对于細菌的影响，并闡明葯物的抗菌机制。末两章闡述与傳染病診斷有关的主要培养基的功用、主要生化反应的原理，以及进行細菌生理研究的常用技术和原理。本书主要对象是医学微生物学的教学和研究人員，也可以供一般微生物学和生物化学工作者参考之用。

細 菌 生 理 学

开本：787×1092/16 印张：20 插页：1 字数：462千字

张 宽 厚 主 编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版

(北京书刊出版业营业许可证出字第〇四六号)

• 北京崇文区藻子胡同三十六号 •

人 民 卫 生 出 版 社 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 • 各地新华书店经售

统一书号：14048·3022

1964年7月第1版—第1次印刷

定价：(科八) 3.90 元

印 数：1—1,000

序 言

細菌生理學是一門研究細菌的生理活動及其規律的學科，它與細菌學實踐及有關工農業生產具有密切的關係。近 20 年來由於有關學科（特別是生物化學）的迅速發展，細菌生理學也獲得了很大的進展；但是中文的細菌生理學書籍尚付缺如，給微生物學教學和研究工作帶來一定的不便，這是促使我們編寫這本書的原因。

本書系以原中國醫學院細菌學系為細菌生理學進修班編寫的講義為基礎，並匯集近年來有關的文獻資料，加以修訂增編而成。內容以闡明細菌生理活動的機制和規律為主；至於細菌的一般生物學特性和技術，讀者可參閱一般微生物學教科書。書末介紹細菌生理學的實驗方法和常用研究技術，可供從事這門學科教學和研究工作者的參考。

細菌生理學的范围極為廣泛，文獻繁多，編者學識有限，內容不恰當或錯誤之處在所難免，希望讀者予以批評和指正。

張 寬 厚

中國醫科大學微生物教研組

1961 年，北京

目 录

緒論	1	三、复合染料	30
第一章 細菌的构造	3	四、单纯染料	30
第一节 研究細菌构造的方法	3	第三节 染色的程序	30
一、显微镜直接观察法	3	一、固定	30
二、微量化学和微量物理学方法	3	二、媒染剂的应用	30
三、免疫学方法	4	三、染色	30
第二节 細菌的构造	4	四、脱色	31
一、細胞壁	4	五、复染剂的应用	31
二、原生质	6	第四节 染色的一般原理	31
1. 細胞浆	8	一、物理学說	31
2. 胞浆膜	9	二、化学学說	32
3. 核	9	三、其他因素	32
三、荚膜	10	第五节 革兰氏染色	32
四、芽胞	12	一、革兰氏阳性物质的性质	33
五、鞭毛	13	二、影响革兰氏染色反应的因素	34
第二章 細菌的化学成分和物理性质	16	三、革兰氏阳性菌和阴性菌在生理性 质上的差异	34
第一节 細菌的化学成分	16	四、革兰氏染色的原理	34
一、水	16	1. 化学学說	34
二、矿物质	16	2. 等电点学說	34
三、蛋白质	17	3. 通透性学說	35
四、核蛋白和核酸	18	第六节 耐酸染色	36
五、醣	21	第七节 核质染色	39
六、脂类	22	第八节 负染色	39
七、其他成分	23	第九节 活体染色	39
第二节 細菌的物理性质	23	第十节 用染色方法测定細菌的等电点	40
一、細菌的带电现象	23	第十一节 荧光染色	40
二、多相胶体性质	24	第十二节 一些細菌学上常用的染料	41
三、細菌的混浊度	24	一、美藍	41
四、細菌的表面积	24	二、孔雀綠	41
五、布朗运动	24	三、煌綠	42
六、細菌吸收光綫的能力	24	四、中性紅	42
七、細菌的渗透压	25	五、沙黃	42
八、細菌的比重和重量	25	六、伊紅	42
第三章 細菌染色原理	27	七、复紅类	43
第一节 染料的一般化学	27	1. 硷性复紅	43
第二节 染料的种类	29	2. 酸性复紅	44
一、酸性染料	29	八、甲基紫	44
二、硷性染料	29		

第四章 細菌的营养和生长	47	第七节 胞内酶和胞外酶	85
第一节 营养物质的进入細菌細胞	47	第八节 酶的生成与环境的关系	86
一、細胞膜的通透性	47	第九节 病毒的酶	87
二、細胞内外营养物的濃度和营养物在細胞內的轉化速度	47	第六章 細菌的呼吸、厌氧培养和能量	90
三、营养物的溶解性	47	第一节 氧化的方式和呼吸酶	90
四、营养物的化学构造	47	一、氧化的方式	90
第二节 細菌的营养类型	48	二、氧化的途徑及其所需的酶系統	90
一、自养菌	48	三、呼吸酶的輔基	93
二、异养菌	48	第二节 細菌培养物的氧化还原电势	95
第三节 营养物的功用	49	一、氧化还原电势	95
一、水的功用	49	二、細菌培养物的氧化还原电势	96
二、盐类的功用	49	第三节 厌氧培养的原理	97
三、氮源的需要	51	第四节 能量	100
四、碳源的需要	53	一、能量的产生	100
五、气体的需要	53	二、能量的用途	102
第四节 生长因素的需要和功用	55	三、高能含磷化合物	102
一、尼克酸和尼克酰胺	56	四、在微生物生能代謝过程中高能含磷化合物的生成	103
二、高铁血紅素	57	五、在生物合成反应中高能含磷化合物的作用	104
三、硫胺素	57	第七章 研究細菌新陳代謝的意义和主要研究方法	107
四、核黄素	57	第一节 研究細菌新陳代謝的意义	107
五、生物素	58	第二节 研究細菌新陳代謝的主要方法	108
六、維生素乙 ₆	59	一、靜息細胞的应用	108
七、泛酸	59	二、瓦勃氏压力計法	109
八、对氨基苯甲酸和叶酸	60	三、还原試驗	110
九、維生素乙 ₁₂	61	四、分离和分析	111
十、硫辛酸	62	五、同位素法	111
十一、維生素丙	63	六、层析法	114
十二、維生素K	64	七、抑制和蓄积	115
第五节 細菌的生长和繁殖	64	八、代謝物的選擇性破坏和补充	116
一、細菌生长的測定方法	64	九、变异	116
二、細菌的生长曲綫	65	十、連續性适应	117
三、主要生长期的特点及其影响因素	65	十一、連續培养和通气培养	118
第五章 細菌的酶	74	十二、破坏細菌体的方法	118
第一节 細菌酶类的存在及其在医学上的重要性	74	第八章 酶和脂类的新陳代謝	121
第二节 酶的性質	75	第一节 酶的分解	121
第三节 輔酶和必要基	76	一、Embden-Meyerhof 途徑	122
一、一些主要輔酶的构造及其功能	76	二、磷酸己糖途徑和戊糖代謝	124
二、酶的必要基	82	三、Entner-Doudoroff 途徑	126
第四节 影响酶活性或反应速度的因素	82	四、Campbell 途徑	127
第五节 酶的抑制	83		
第六节 酶的分类和命名	85		

第二节 丙酮酸的代謝·····	129	变异性的关系·····	166
一、乳酸的生成·····	129	1. 脫氧核糖核酸在傳遞遺傳性上所起的作用·····	166
二、乙醛的生成·····	129	2. 遺傳性和变异性的物質基础·····	168
三、乙酰甲基甲醇的生成·····	130	七、核糖核酸和蛋白質合成的关系·····	169
四、甲酸和气体的生成·····	130	八、病毒核酸和蛋白質的合成·····	170
五、琥珀酸和丙酸的生成·····	131	第三节 氮循环·····	171
六、乙酰輔酶A的生成·····	131	一、固氮作用·····	171
七、丁醇的生成·····	133	二、硝化作用·····	172
八、丙氨酸的生成·····	133	三、硝酸盐还原为氨·····	172
九、丙酮酸的完全氧化(三羧酸循环)··	133	四、脫硝化作用·····	172
第三节 多醣的代謝·····	138	五、氨基酸的分解·····	173
一、多醣的分解·····	138	第四节 与致病作用有关的一些代謝产物和其他产品·····	173
二、多醣的合成·····	138	一、醣类·····	173
第四节 巴士德效应·····	140	1. 卵磷脂酶·····	173
第五节 光合作用·····	141	2. 透明質酸酶·····	173
第六节 脂类的新陈代谢·····	143	3. 胶原酶·····	174
第九章 含氮化合物的新陈代谢·····	143	4. 凝固酶·····	174
第一节 蛋白質的新陈代谢·····	143	5. 鏈球菌激酶或纖維蛋白溶解素·····	174
一、蛋白質的分解·····	143	6. 溶血素·····	174
二、肽和蛋白質的合成·····	149	7. 脫氧核糖核酸酶·····	175
三、氨基酸的分解·····	150	8. 鏈球菌A組的組織蛋白酶·····	175
1. 脫氨基作用·····	151	9. 硫胺素酶·····	175
2. 脫羧基作用·····	153	二、毒素·····	175
3. 脫氨基和脫羧基作用·····	153	1. 外毒素·····	175
4. 其他的分解作用·····	154	2. 內毒素·····	176
四、氨基酸的合成·····	154	三、热原質·····	176
1. 氮的利用·····	154	四、色素·····	177
2. 氨基移轉作用·····	155	五、抗菌素·····	177
3. 天门冬氨酸的合成·····	156	六、維生素和其他工业产品·····	177
4. 色氨酸的合成·····	156	七、培养物中結晶体的形成·····	177
5. 含硫氨基酸和經氨基酸的合成·····	156	第十章 环境对于細菌的影响(化学因素对于細菌的影响)·····	180
6. 芳香族氨基酸的合成·····	157	第一节 消毒剂·····	181
7. 谷氨酸氧化变为丙氨酸·····	157	一、酸类·····	181
第二节 核酸的新陈代谢·····	157	二、硷类·····	183
一、核酸的分解·····	158	三、盐类·····	184
二、嘌呤和嘧啶的分解·····	158	四、重金属·····	185
三、嘌呤和嘧啶的合成·····	160	1. 汞·····	185
四、核糖的合成·····	162	2. 銅·····	185
五、核酸的合成·····	164	3. 銀·····	186
1. 核苷酸的合成·····	164	4. 砷·····	186
2. 核糖核酸的合成·····	164		
3. 脫氧核糖核酸的合成·····	165		
六、脫氧核糖核酸与微生物遺傳性和			

五、氧化剂	186
1. 高锰酸钾	186
2. 过氧化氢	186
3. 卤素	186
4. 臭氧	188
5. 氧化乙烯	188
六、酚类	188
七、醇类	189
八、醚类	190
九、甲醛	190
十、染料	190
十一、去污剂	191
十二、胆汁和胆酸盐	192
十三、肥皂	192
十四、空气消毒剂	193
十五、防腐剂	193
十六、影响消毒作用的因素	193
十七、理想的消毒剂的条件	194
第二节 化学治疗剂	194
一、抗代谢物的抗菌机制	195
二、抗菌素的作用机制	199
1. 抑制细菌的某些酶系统	199
2. 妨碍细菌的氨基酸或蛋白质代谢	199
3. 抑制菌体核酸的合成	201
4. 妨碍细菌的醭代谢	202
5. 妨碍细菌对于矿物质的吸收	202
6. 对细菌呼吸的影响	203
7. 表面活动性	203
三、抗菌素及其他化学治疗剂的协同与拮抗作用	204
四、细菌耐药性的形成	205
第十一章 环境对于细菌的影响(物理因素对于细菌的影响)	209
第一节 温度	209
一、生长温度	209
1. 最低生长温度	210
2. 最适生长温度	210
3. 最高生长温度	210
二、影响加热杀菌的因素	210
1. 加热前的因素	210
2. 加热时的因素	211
三、加热杀菌的原理	212
四、代谢物和生长因素对加热后细菌生长的影响	214
五、低温对于细菌的影响	215
第二节 干燥	216
第三节 辐射	216

一、可见光谱	216
二、日光	217
三、紫外线	217
四、X线	220
五、放射性同位素	220
第四节 声波	221
第五节 表面张力	223
第六节 压力	223
第七节 电流	224
第八节 过滤	225
第十二章 主要培养基使用原理、生化反应和一些血清学反应的原理	228
第一节 培养基使用原理	228
一、概论	228
1. 水	228
2. 蛋白胨	228
3. 肉浸汁	228
4. 明胶	228
5. 琼脂	228
6. 无机盐类	229
7. 发酵化合物	229
8. 血液或体液	229
9. 抑菌剂	229
10. 培养基的分类	229
二、一些培养基的成分及其使用原理	230
1. 沙门氏菌选择性增菌培养基	230
2. 痢疾杆菌选择性增菌培养基	232
3. 选择性鉴别培养基	233
4. 结核菌培养基	235
5. 白喉杆菌培养基	237
6. 牛肉浸液培养基(血液培养用)	237
7. 流行性感胃杆菌培养基——巧克力培养基	238
8. 厌氧培养方法的原理	238
9. 布氏杆菌培养基	240
第二节 生化反应的原理	240
一、醭(醇)类发酵培养基概述	240
1. 糖发酵培养基	241
2. 半固体三糖培养基(鉴别肠道杆菌)	241
3. 克力格拉含铁双糖培养基(鉴别肠道杆菌)	242
4. 双糖含铁培养基(鉴别肠道杆菌)	243
5. 葡萄糖蛋白胨水培养基(V-P和甲基红试验)	243
6. 柠檬酸盐琼脂培养基(鉴别产气杆菌与大肠杆菌)	244

二、蛋白質分解試驗培养基·····	244	二、脂肪的測定·····	270
1. 醋酸鉛培养基(鑑定硫化氫的產生)·····	244	三、總氮的測定·····	271
2. 蛋白胨水培养基(鑑定凝基質的生成)·····	245	1. 微量凱氏法·····	271
3. 鹼性蛋白胨水培养基(霍亂紅反應用)·····	246	2. 奈氏法·····	273
4. 尿素培养基(鑒別變形桿菌)·····	246	四、蛋白質的測定·····	274
5. 硝酸盐培养基(硝酸盐还原試驗用)·····	247	五、醱類的測定·····	275
第三节 一些血清学反应的原理·····	248	六、核酸和其他含磷化合物的測定·····	277
一、胶体的性質·····	248	1. 核酸和其他含磷化合物的提取·····	277
二、胶体的带电現象·····	248	2. 核糖核酸的測定·····	278
1. 吸附·····	248	3. 脫氧核糖核酸的測定·····	278
2. 电离·····	249	4. 总磷的測定·····	279
三、胶体的稳定性·····	250	5. 酸溶性磷的測定·····	280
四、极性基·····	250	6. 磷脂的測定·····	280
五、凝集和沉淀反应的原理·····	251	7. 磷蛋白的測定·····	280
第四节 螢光抗体法·····	252	第三节 一些細菌酶类的測定·····	280
一、原理·····	253	一、細菌酶类的提取方法·····	280
二、方法·····	253	二、醛縮合酶的測定·····	281
1. 螢光抗体的制备·····	253	三、轉氨酶的測定·····	282
2. 直接螢光抗体法·····	253	四、谷酰胺酶的測定·····	284
3. 間接螢光抗体法·····	253	五、过氧化氢酶的測定·····	286
三、应用范围·····	254	六、脫氧酶的測定·····	287
第十三章 細菌生理学实验·····	256	1. 美藍技术·····	287
第一节 基本操作技术·····	256	2. T T C 法·····	288
一、玻璃仪器的使用 and 清洁方法·····	256	第四节 瓦勃氏技术和一些細菌代謝产物的測定·····	289
1. 玻璃仪器的使用方法·····	256	一、瓦勃氏技术·····	289
2. 玻璃仪器的清洁方法·····	257	1. 原理·····	289
二、分析天平的使用方法·····	258	2. 仪器·····	289
1. 天平使用規則·····	258	3. 材料·····	291
2. 称物法·····	258	4. 操作步骤·····	291
三、标准硷与硫代硫酸鈉溶液的配制和标定·····	260	5. 計算方法·····	292
1. 标准硷溶液的配制和标定·····	260	6. 溫度气压改变的校正·····	294
2. 标准酸溶液的配制和标定·····	261	7. 呼吸器常数計算譜·····	294
3. 标准硫代硫酸鈉的配制和标定·····	262	8. 反应瓶和測压計容积的測定方法·····	294
四、緩冲液的配制·····	263	9. 操作过程中注意事項·····	297
1. 原理·····	263	10. 反应瓶的洗滌方法·····	297
2. 磷酸二氫鉀和磷酸氫二鈉緩冲液·····	264	11. 測压計的洗滌方法·····	298
3. 磷酸氫二鈉和檸檬酸緩冲液·····	265	12. 水銀清洁法·····	298
五、指示剂的配制·····	265	二、氨氮的測定·····	293
1. 原理·····	265	1. 微量凱氏法·····	298
2. 指示剂的配制·····	266	2. 在瓦勃氏呼吸器反应瓶內微量氨氮的測定·····	298
六、光电比色計的使用方法·····	266	三、丙酮酸的測定·····	299
1. 原理·····	266	四、檸檬酸的測定·····	299
2. 溶液濃度測定法·····	267	五、乳酸的測定·····	300
3. 透光度与波长的关系·····	268	六、还原糖的測定·····	301
4. 滤光板的作用和选择·····	268	七、无机磷的測定·····	303
第二节 細菌体化学成分的測定·····	269	八、亚硝酸盐的測定·····	303
一、干重的測定·····	269	九、氨基酸的紙上层析法·····	304
		十、微生物学分析法·····	305
		第五节 放射性同位素技术·····	307

緒 論

細菌生理學是研究細菌的營養、新陳代謝、生長、繁殖等生理活動和這些活動的規律及其功能，以及細菌和外界環境的相互關係的學科。其中新陳代謝是細菌生理活動的主要環節。細菌是單細胞生物，沒有分化的組織和器官，它的代謝活動主要是各種物質的合成和分解過程，這些過程都是由細菌體內各種酶系統所控制的生物化學反應，所以細菌的生物化學是細菌生理學的主要內容。

細菌生理學雖然是一門闡明細菌生理活動規律的理論性學科，但因細菌種類繁多，代謝方式各異，有些細菌可以生成許多對人類有用的產物，一部分細菌可以引起人類和動植物的疾病，所以細菌生理學同工農業生產和保健事業具有密切的關係。茲舉其重要者概述如下：

一、研究細菌的營養和代謝，可以了解不同種屬細菌的營養需要及其代謝途徑，找出促進細菌生長和繁殖的規律。把這些規律應用在患者標本的分離培養上，可以加速細菌的生長，達到快速培養和提高培養陽性率的目的；應用在生物製品、抗菌素、醇類、酸類、細菌肥料等生產上，可以增加產量、提高質量。

二、細菌的代謝產物中除上述對人類有經濟價值和保健意義的產品外，一部分對人類是有害的，例如破傷風桿菌、白喉桿菌和肉毒桿菌所生成的毒素；產氣莢膜桿菌所產生的卵磷脂酶等產物，與某些疾病的发生和发展都有一定的關係。利用不同細菌的分解能力及其代謝產物的差異，可以幫助鑑定細菌的種類。

三、細菌與外界環境是互相影響的。各種物理學、化學和生物學的因素對於細菌的代謝活動和酶活性呈現各種不同的影響。探索這些影響的機制，可以進一步探討微生物變異的規律性，闡明輻射、溫度及藥物等理化因素的抗菌機制以及耐藥性的發生機制等。這就為提高藥物療效和尋找或合成新的有效藥物指出途徑或方向。反之，微生物的代謝活動也能影響外界環境，例如微生物在物質循環（氮、碳、硫、磷等元素的循環）上和土壤肥力的提高上，都起着重要的作用。

四、研究細菌體中重要化學成分（如核酸、蛋白質等）的代謝以及它們的化學結構和功能的关系，對於免疫和變異的研究具有很大的重要性。

五、食品工業、麻紡工業、皮革工業、石油的形成和勘探，動物和植物的病害，青草和糞肥的貯存等，都和微生物的生理活動有密切的關係。

明了和掌握細菌新陳代謝的規律，就有可能促進其有利的作用，控制其有害的作用，使其更好地為人民的保健事業和工農業生產服務。

生物化學的進展給細菌生理學的研究提供了理論根據和新的研究方法，因而大大地促進了它的发展。反過來，細菌生理機制的闡明，也豐富了生物化學的知識。雖然細菌的體積很小，構造也很簡單，但它在生命活動過程中所進行的生物化學反應的複雜性，並不亞於高等生物。例如，許多細菌經Embden-Meyerhof 途徑和三羧酸循環進行醃代謝；在氨基酸代謝上有脫氨基、脫羧基、氨基移轉等作用。這些代謝活動的途徑和所需要的酶系統，和高等生物都是一樣或相似的。在研究細菌營養過程中，發現了許多與人體和動物營

养有关的維生素。此外,細菌繁殖迅速,管理方便,并可用同位素加以标志来进行代謝的研究,这些特点使細菌成为研究生物化学的一种重要工具。再者,某些微生物的生长需要一定的氨基酸或維生素,因之可以利用它們来測定标本中这些营养物的含量(微生物学分析法)。

本书尽可能地把細菌生理活动与傳染病诊断及治疗的原理联系起来,例如,它闡明了与細菌鉴别(傳染病的診斷)有关的生物化学反应、血清学反应、染色反应等原理,討論了厌氧培养原理、各种理化因素的抗菌(抑菌或杀菌)机制等。书末叙述細菌生理学实验的常用技术及其原理,以供进行細菌生理学教学和研究工作的参考。

第一章 細菌的构造

細胞学是生物学的一枝,主要是研究細胞的形态、构造、功能、生长繁殖、变异和生活史。在細胞中形态和生理、构造和功能之間是緊密相依、互为因果的。細胞的构造和成分不但和代謝活动有关,而且受外界环境的影响。

細菌細胞学的发展較慢,虽然 1633 年已經发现了細菌,但直到发明了現代光学显微镜后,Coln(1872)才开始研究細菌細胞的形态和构造。他研究了一些細菌細胞的形状和排列,并在大型螺菌中观察了細胞內顆粒和鞭毛等,后来又观察了芽胞。由于菌体太小,而显微镜的放大倍数不够,且缺乏很好的分离培养方法和染色技术,所以本学科进展較慢,对許多构造多凭推测。近年来由于在染料化学、光学仪器和微量化学等方面有了很大的发展,促进了細菌細胞学的发展。在染色技术中使用了合成染料,且对固定过程和媒染剂的作用有了較多的了解,可以观察到許多以往未肯定的构造,如細胞壁、菌体内的空泡等,并且发现了重要的革兰氏染色反应和耐酸染色反应。电子显微镜和荧光显微镜发明以后,直接观察到許多細菌的构造,进行了許多有关細胞壁、鞭毛、芽胞以及内部结构的研究。利用微量化学試驗,得到了許多有关細胞构造和包涵体的化学組成的知識。近来酶在細菌学中也得到了普遍的应用,从而获得了比較純淨的构造,对于进一步研究細菌內各部組成的性質和功能,起了很大的作用。但是現在能直接应用于研究細菌細胞成分的有效化学反应,仍然不多。

細菌的主要結構有細胞壁 (cell wall) 和原生质 (protoplasm)。原生质包括胞浆膜 (cytoplasmic membrane)、細胞浆 (cytoplasm) 和核。此外,有的細菌尚有鞭毛、芽胞、荚膜等特殊构造。細菌細胞的模式結構見图 1-1(1)。

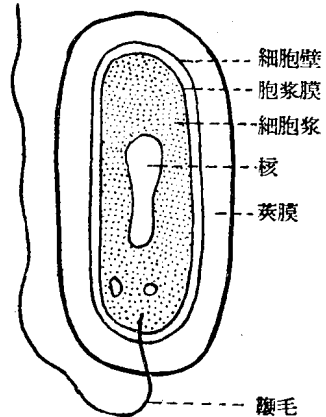


图 1-1 細菌細胞构造模式图。

第一节 研究細菌构造的方法

由于菌細胞非常微小,使細胞内部构造的研究工作发生許多困难,以致虽然在显微镜技术和微量化学方面已有很大的成就,而細菌构造上的一些問題至今仍未获得很好的解决。但应肯定,近年来的研究已說明細菌細胞与高等生物細胞的构造基本上是相同的,各种构造在細菌生活上都具有一定的功能。

一、显微镜直接观察法 用普通显微镜可以观察細菌經過各种特殊染色后的构造;用荧光显微镜和电子显微镜可以观察細菌的詳細結構;或用暗視野显微镜、相差显微镜观察活菌的形态;此外,可以利用显微解剖的方法研究細胞壁等結構。

二、微量化学和微量物理学方法 利用細菌各种构造在物理化学性質上的不同,来研究細菌細胞学。例如,測定溶解度可以証明細胞內各种包涵体的存在。有人利用 Schweizers 試剂(氢氧化銅溶于氨水中)可以溶解纖維素的性能,来檢查細菌在該試剂中

的溶解度,以証明纖維素的存在。丙酮能将脂肪包涵体溶解,从而可以推断菌体内是否含有这一类包涵体。也可以利用各种成分的不同折光度,来研究各种包涵体和細胞构造。此外,利用特异性化学反应可以測定各种化学基团的存在,以便进一步肯定某种构造是否存在,并証明其成分。例如,脫氧核糖核酸分解后生成醛基,遇Feulgen試剂則呈現紅色,因此可用Feulgen反应来帮助鉴定細菌的核酸和核质(参看“核质染色”)。大多数蛋白质含有酪氨酸,酪氨酸中的酚基与Millon試剂(含水銀和硝酸)一起加热,則出現紅色沉淀。近年来同位素法、电泳法、紙上层析法已經广泛地应用于細菌細胞学的研究。如利用紙上层析法研究細菌細胞壁中氨基酸和醣的組成和含量,用同位素法測定核质的部位等。此外,利用改变环境的方法也可以研究細菌的构造,因为細菌的构造和化学成分都受环境的影响。如除去合成培养基中細菌所需要的某种成分,或加入刺激或抑制生长的物质,然后观察細菌构造和成分的改变。

三、免疫学方法 利用免疫学方法可以測知細菌的构造,如以鞭毛抗体可以測定細菌是否具有鞭毛。邏輯的推理也有助于推測細菌的結構,假如一种抗体不能与完整的細菌起作用,但在細菌破坏后能和其中某种成分起作用,因而可以說明这种成分存在于菌体内部。Vi抗原可阻止抗O血清与O抗原发生凝集,說明Vi抗原部位比O抗原更表面些。

第二节 細菌的构造

一、細胞壁 細胞壁被包在原生质的外面。根据菌細胞对酸和硷的溶解作用具有抵抗力,以及細菌具有固定的外形和一定的硬度,推测細菌具有細胞壁。現在可用压碎法、胞浆分离和自溶法、特殊固定染色法、电子显微鏡等,証明細胞壁的存在(2)。Cooper等曾直接从金黄色葡萄球菌中分离出細胞壁,发现它的重量約为菌体干重的20%;一些其他革兰氏阳性菌的細胞壁重量也接近于菌体干重的20%;个别細菌如*Micrococcus lysodeikticus*則可达25—30%。革兰氏阴性菌細胞壁的重量可能少于此数(3)。

細胞壁是很薄的构造,在电子显微鏡下測定,鳥結核分枝杆菌細胞壁的厚度約为23m μ ,金黄色葡萄球菌为15—20m μ ,粪鏈球菌与此相近,大腸杆菌和鸡痢沙門氏菌(*Salmonella pullorum*)为10—15m μ 。細胞壁由内外两层組成,两层之間有一寬約20—30 Å的空隙(4)。

細胞壁有一定的硬度,它使原生质具有胞壁所規範的形状,并使細胞能对抗内部很高的渗透压。如用冷冻干燥法处理細胞壁,可保持細胞壁的原形不变,得到的杆菌細胞壁呈典型柱状。細胞壁也有一定的弹性,当伸张或弯曲后,仍能恢复原状。細胞壁对染料的結合力很弱,用一般染色法不易着色。

細胞壁的化学成分随細菌的种类而不同,一般是由醣、氨基酸和脂类組成的。細胞壁中含有两种特殊成分,它們尚未在其他生物中发现。一为羥丙酸氨基己糖(muramic acid),是氨基葡萄糖与乳酸的复合物,所有細菌的細胞壁均含有之。氨基醣与氨基酸构成粘肽(mucopeptide)。另一个特殊成分是二氨基庚二酸(diaminopimelic acid),含有二个氨基和羧基,存在于許多細菌的細胞壁中。Hayashi等(5)研究甲类鏈球菌的細胞壁,发现主要成分为氨基葡萄糖、鼠李糖、谷氨酸、賴氨酸、丙氨酸等。Baddiley等(6)发现磷酸核醇是阿拉伯糖乳杆菌(*Lactobacillus arabinosus*)和枯草杆菌細胞壁的主要成分。

Park指出,有青霉素存在时,葡萄球菌体内积聚一些物质,这些物质是尿嘧啶核苷二磷酸与乙酰氨基己糖(N-acetylmuramic acid)和某些氨基酸的复合物,其结构式如图1-2。后来知道羟丙酸氨基己糖和这些氨基酸是葡萄球菌细胞壁的成分。这说明青霉素具有抑制葡萄球菌合成细胞壁粘肽的作用⁽⁷⁾(参看“抗菌素的作用机制”)。

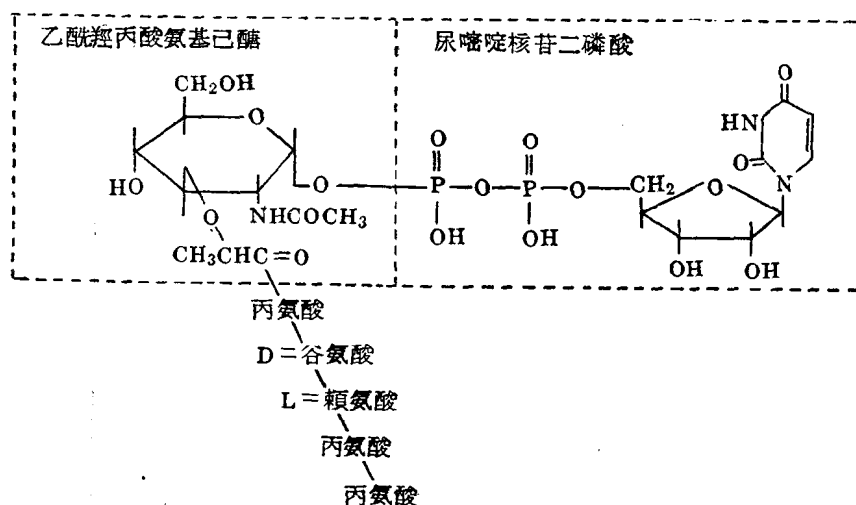


图1-2

Salton⁽³⁾研究革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的细胞壁组成时,发现有以下差别:革兰氏阳性菌细胞壁中氨基酸的种类比较少,没有芳香族氨基酸、含硫氨基酸、脯氨酸、组氨

表 1-1 一些细菌细胞壁中的氨基酸组成⁽⁸⁾

氨基酸	干酪乳杆菌 (g/100g)	粪链球菌 (g/100g)	大肠杆菌 (g/100g)
丙氨酸	8.4	12.0	5.6
精氨酸	—	—	3.8
天门冬氨酸	3.1	0.8	7.1
二氨基庚二酸	6.7	—	—
谷氨酸	7.2	5.4	6.9
甘氨酸	1.0	0.2	3.1
组氨酸	—	—	0.9
异亮氨酸	1.4	0.4	3.7
亮氨酸	1.4	0.4	5.3
赖氨酸	2.3	4.5	4.0
蛋氨酸	—	—	0.7
苯丙氨酸	—	—	3.0
脯氨酸	—	—	1.5
丝氨酸	0.6	0.2	3.7
苏氨酸	1.1	0.2	3.8
酪氨酸	—	—	3.3
缬氨酸	1.4	0.24	3.4

酸和精氨酸;而革兰氏阴性菌細胞壁中的氨基酸組成与普通蛋白質相似,含有芳香族和含硫氨基酸、脯氨酸、精氨酸(表 1-1)。其次,革兰氏阴性菌的細胞壁含有較多的脂类,含量約为 20%;而革兰氏阳性菌只含 1—2%。此外,革兰氏阳性菌的氨基醣含量比阴性菌高。表 1-2 示这两类細菌細胞壁中脂类、多醣和氨基醣含量的比較。

表 1-2 革蘭氏阴、阳性菌細胞壁中脂类、多醣和氨基醣含量的比較(8)

細 菌	为 細 胞 壁 干 重 的 %		
	脂 类	多 醣 (还原值)	氨 基 醣
①革兰氏阳性菌:			
枯草杆菌	2.6	34	8.5
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	<2	45	16—18
八叠球菌	<2	46	16
粪鏈球菌	2	61	22
化膿性鏈球菌	0	55—62	18—22
②革兰氏阴性菌:			
大腸杆菌	22	16	3.0
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	22	23	2
綠膿杆菌	11	16—17	2.1—2.7
鸡痢沙門氏菌	19	46	4.8
<i>Vibrio metchnikovi</i>	11	12	1.9
<i>Vibrio costiculus</i>	11.8	1.6	—

經過許多学者利用化学方法研究各种細菌細胞壁組成的結果,发现醣类、脂类和肽或蛋白質嵌鑲地排列,組成細菌的細胞壁。細胞壁中醣和蛋白質部分一般具有抗原性,而且是与免疫血清发生作用的部位。一般以荚膜或細胞壁的醣类抗原特异性来区分細菌的型別,而以蛋白質抗原的特异性来分族;但化膿性鏈球菌分型和分族的根据則与此一般規律相反,它的蛋白質抗原M具有型特异性,而醣类抗原C則有族特异性。

細胞壁的功用尚未完全明了。一般認為細胞壁可以維持細菌的外形和构造。細菌的渗透压很高,在一般培养基(渗透压比細菌低)中所以不至于崩解者,是由于細胞壁的保护作用。用溶菌酶溶解細菌壁,或用青霉素抑制細胞壁的合成,則菌体崩解(胞浆压出,参看“細菌的物理性質”)。McQuillen 証明除去細胞壁后,在等渗透压环境下,原生质合成蛋白質和核酸的能力并不受到严重的損害,从而認為細胞壁不是維持生命所必需的結構。

二、原生质 原生质位于細胞壁內,由細胞浆、胞浆膜和核組成。在一定情况下它可以完整地与細胞壁分离;除去了細胞壁的菌体称为原生质体(protoplast)。Tomcsik 等研究溶菌酶对巨大芽胞杆菌(*Bacillus megatherium*)的作用,先于本菌悬液中加入对其荚膜多醣有特异反应的抗血清,以便在相差显微鏡下从形态上可以辨別細胞壁与原生质。加入溶菌酶后,細胞壁立刻完全溶解,細菌原生质成为球形原生质体悬于介質中。新形成的原生质体很快地即变成空膜,然后破裂。上述研究是在生理盐溶液中进行,因菌体的渗透压較盐溶液为高,所以引起崩解。近来許多学者在細菌悬液中加入稳定剂(与菌体渗透压相近),因而得到了稳定的原生质体。例如,巨大芽胞杆菌的細胞壁被較高濃度的溶菌酶溶解后,立即形成原生质体;假如将原生质体保持在 0.1—0.2M 的蔗糖溶液(稳定剂)中,

原生质体即可稳定下来而不至于崩解。枯草杆菌原生质体的稳定剂为 0.05M 的磷酸盐和 0.5M 蔗糖溶液。原生质体具有渗透性能,放在高渗透压溶液中时,体积缩小。Mitchell⁽⁹⁾ 等从自溶的金黄色葡萄球菌得到的原生质体,其内部渗透压近于 20 大气压,对甘油有渗透性,而蔗糖和食盐则不能透过。在生物化学、代谢、功能等许多方面,原生质体与完整的细胞是相似的。如二者在内呼吸和氧化葡萄糖的速度上是相近的,金黄色葡萄球菌原生质体氧化葡萄糖的呼吸率为完整细胞呼吸率的 84%,可见原生质体具有完整细胞的许多酶系统。

利用上述方法制出革兰氏阳性菌原生质体,并使原生质体膜(protoplast membrane)分离,然后进行酶活性的测定,发现在巨大芽胞杆菌的表面构造上,有一些酶类存在^(10,11) (表 1-3)。

表 1-3 巨大芽胞杆菌表面构造中各种酶的相对量

	膜 部 分	可溶性原生质
琥珀酸脱氢酶	145.0	4.5
苹果酸脱氢酶	32.6	15.7
乳酸脱氢酶	41.2	57.2
异柠檬酸脱氢酶	3.5	112.6
延胡索酸酶	32.2	101.8
辅酶 I 氧化酶	261.0	1.0
己糖磷酸激酶	5.5	87.5
酸性磷酸酶	3.0	99.6

至于革兰氏阴性菌,由于它的外膜难于分离,因此,酶的定位较难。但也有人做过一些研究,报告该菌一些酶类的分布(表 1-4)。

表 1-4 假单胞菌酶的分布

	粗制细胞壁部分	原生质部分
琥珀酸脱氢酶	+	±
苹果酸脱氢酶	+	±
延胡索酸脱氢酶	-	+
丙氨酸脱氢酶	-	+
辅酶 I 氧化酶	+	微量

McQuillen 详细地研究了巨大芽胞杆菌原生质体利用含有 C¹⁴ 的各种作用物的能力,证明原生质体能利用各种作用物合成蛋白质和核酸。Nisman⁽¹²⁾ 发现大肠杆菌原生质体具有将各种 L-型氨基酸合成为蛋白质的能力, D-型氨基酸对这种合成有抑制作用。只有在各种氨基酸处于平衡的混合液中,且有合适浓度的镁离子和三磷酸腺苷等存在时,才能进行这种合成作用。枯草杆菌和巨大芽胞杆菌原生质体都能合成适应酶,也可以支持噬菌体的生长。Philip⁽¹³⁾ 发现巨大芽胞杆菌原生质体在含琥珀酸的培养基中进行通气培养时,

原生质体明显地生长。此时可以用相差显微镜、Feulgen 染色,以及分析磷脂磷、核酸、蛋白质等方法,研究其核质的合成、细胞学和化学变化。在玻片培养上原生质体长成平型,带有连续的核;在液体培养中则生长成为球体。原生质体合成脱氧核糖核酸(DNA)的速度与完整细胞相同,但核糖核酸(RNA)的增长较少,因此原生质体生长后其 RNA/DNA 的比例下降。虽然原生质体与细胞有许多相似之处,但原生质体仍然不能与完整的细胞相等。首先它失去了细胞壁;其次,它在受噬菌体感染、形成芽胞能力等方面,也有许多改变。

1. 细胞浆 细胞浆是细菌的基础物质,充满了细胞壁所造成的空间,外围有胞浆膜。Wamoscher 以微量技术证明细胞浆是可变胶体,普通为溶胶,在一定情况下可变为凝胶。

细菌细胞浆的化学组成变化很大,基本成分是水、蛋白质、核酸和脂类,也含少量的醣和盐类。

细菌细胞浆与其他细胞胞浆在化学成分上的主要区别是核糖核酸的含量较高。细菌中核糖核酸的含量可达到固形物的 15—20%;幼龄生长活泼的细菌,核糖核酸的含量更高,有较强的嗜硷性,易被硷性和中性染料所着色;而在菌龄较老的细菌中,核糖核酸被细菌作为氮和磷的来源而利用,含量较少,细菌的着色力也降低。一般革兰氏阳性菌的胞浆较革兰氏阴性菌者嗜硷性更强。

Bradfield^[2]曾用各种显微镜包括电子显微镜,结合染色和生物化学分析的方法,仔细地研究了金黄色葡萄球菌、乳链球菌、产气杆菌、鸟结核分枝杆菌等的细胞浆的组成情况,发现核与细胞浆的比例在 1:2 至 1:10 之间。细胞浆含有各种酶系统。此外,细胞浆含有异染性的球形纤回体(volutin)和其他包涵体(inclusionbody)颗粒、空泡等。在有鞭毛的细菌,胞浆内尚含有鞭毛的基础颗粒,它对胰酶的消化作用有很高的抵抗力。

细胞浆内各种包涵体是细菌的贮藏养料或代谢产物,沒有一定的构造。一般当细菌生长活跃时,包涵体很少;菌龄较老时,包涵体颗粒增多,它们可再被细菌所利用。包涵体的成分有醣类、脂类、含氮化合物以及无机物如硫和碳酸鈣等。醣类的包涵体含有糖原或淀粉颗粒,常在多种细菌中发现,在饥饿的细胞中可作为能量的来源。糖原且可与纤回体、脂类合在一起。纤回体是含核糖核酸或多磷酸盐的包涵体,广布于各种细菌中;白喉杆菌的 Babes-Ernst 颗粒、鼠疫杆菌的两极染色颗粒,都是纤回体。它们对于硷性和中性染料着色较深,所以有异染颗粒之称。一般在缺乏碳、磷、钾的培养基中不形成纤回体。纤回体和其他包涵体不同,它在生长的细菌中含量较多,在老龄的细胞内则作为磷和碳的来源而被利用。菌细胞中也常发现有脂类包涵体,在年老的培养物中更易堆积,在含大量碳源和少量氮源时即可形成。脂类在多数情况下与蛋白质或其他复杂基团结合,可被细菌利用作为能源和碳、氮的来源。无机包涵体如硫、碳酸鈣等,在硫细菌中存在。许多包涵体由于与细胞浆的折光指数不同,且有各种特性,可以在显微镜下或用特殊染色法观察之。由于细菌的发育阶段不同以及营养和环境的差异,各种细菌甚至同种细菌之间,包涵体的数量和成分也可以不同。同种细菌在相同的环境条件下常含有一定的包涵体,这有助于细菌的鉴定。

细胞浆是细菌的内环境,具有生命物质所有的各种特性,含有许多酶系统,可将由培养基中得到的营养物质合成转化为复杂的生活物质,同时也进行异化作用,不断地更新细菌内部的结构和成分,以维持细菌生长、代谢所需要的相对的稳定状态,并随时处于与外