



交叉学科研究生高水平课程系列教材

■ 解孝林 赵 峰/丛书总主编

# 微生物天然药物化学研究

张勇慧/主编

WEISHENGWU TIANRAN YAOWU HUAXUE YANJIU

 华中科技大学出版社  
<http://www.hustp.com>



交叉学科研究生高水平课程系列教材

# 微生物天然药物化学研究

WEISHENGWU TIANRAN YAOWU HUAXUE YANJIU

主 编 / 张勇慧

副主编 / 王小川 李 华 朱虎成

编 者 / (以姓氏拼音为序)

陈春梅 (华中科技大学同济医学院药学院)  
辜良虎 (华中科技大学同济医学院药学院)  
胡正喜 (华中科技大学同济医学院药学院)  
黄 芳 (华中科技大学同济医学院基础医学院)  
李 华 (华中科技大学同济医学院药学院)  
李华强 (华中科技大学同济医学院药学院)  
孙伟光 (华中科技大学同济医学院药学院)  
王文静 (华中科技大学同济医学院药学院)  
王小川 (华中科技大学同济医学院基础医学院)  
吴灿荣 (华中科技大学同济医学院药学院)  
张勇慧 (华中科技大学同济医学院药学院)  
郑梦竹 (华中科技大学同济医学院药学院)  
周 渊 (华中  
朱虎成 (华中



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

中国·武汉

## 内 容 简 介

本书是交叉学科研究生高水平课程系列教材之一。

本书共分为6篇,21章,内容包括天然产物活性成分的发现,天然产物活性的虚拟筛选,活性筛选,天然产物活性成分的全合成、仿生合成和结构修饰,天然产物生物合成以及真菌次级代谢产物来源药物的研究开发。

本书可供高等院校药学、中药学及其相关专业的研究生使用,同时可作为相关专业的青年教师和科技人员的自学参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物天然药物化学研究/张勇慧主编. —武汉:华中科技大学出版社,2019.10  
高水平交叉学科研究生教材  
ISBN 978-7-5680-5743-1

I. ①微… II. ①张… III. ①微生物-药物化学-研究生-教材 IV. ①R914.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2019)第 228994 号

微生物天然药物化学研究

张勇慧 主编

Weishengwu Tianran Yaowu Huaxue Yanjiu

策划编辑:周琳

责任编辑:丁平

封面设计:杨玉凡

责任校对:阮敏

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

电话:(027)81321913

武汉市东湖新技术开发区华工科技园

邮编:430223

录排:华中科技大学惠友文印中心

印刷:湖北恒泰印务有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:21.5

字数:548千字

版次:2019年10月第1版第1次印刷

定价:89.00元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换  
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务  
版权所有 侵权必究

# 交叉学科研究生高水平课程系列教材

## 编委会



总主编 解孝林 赵 峰

---

编 委 (按姓氏拼音排序)

---

陈吉红 陈建国 金人超 刘宏芳 刘劲松

潘林强 施 静 史岸冰 王从义 王连弟

解 德 闫春泽 杨家宽 张胜民 张勇慧

秘 书 郑金焱 周 琳 张少奇

---

# 总序

Zongxu

2015年10月国务院印发《统筹推进世界一流大学和一流学科建设总体方案》，2017年1月教育部、财政部、国家发展改革委印发《统筹推进世界一流大学和一流学科建设实施办法（暂行）》，此后，坚持中国特色、世界一流，以立德树人为根本，建设世界一流大学和一流学科成为大学发展的重要途径。

当代科技的发展呈现出多学科相互交叉、相互渗透、高度综合以及系统化、整体化的趋势，构建多学科交叉的培养环境，培养复合创新型人才已经成为研究生教育发展的共识和趋势，也是研究生培养模式改革的重要课题。华中科技大学“交叉学科研究生高水平课程”建设项目是华中科技大学“双一流”建设项目“拔尖创新人才培养计划”中的子项目，用于支持跨院（系）、跨一级学科的研究生高水平课程建设，这些课程作为选修课对学术型硕士生和博士生开放。与之配套，华中科技大学与华中科技大学出版社组织撰写了本套交叉学科研究生高水平课程系列教材。

研究生掌握知识从教材的感知开始，感知越丰富，观念越清晰，优秀教材使学生在学习过程中获得的知识更加系统化、规范化。本套丛书是华中科技大学交叉学科研究生高水平课程建设的重要探索。不同学科交叉融合有不同特点，教学规律不尽相同，因此每本教材各有侧重，如：《学习记忆与机器学习实验原理》旨在提高学生在课程教学中的实践能力和自主创新能力；《代谢与疾病基础研究实验技术》旨在将基础研究与临床应用紧密结合，使研究生的培养模式更符合未来转化医学的模式；《高分子材料3D打印成形原理与实验》旨在将实验与成形原理呼应形成有机整体，实现基础原理和实际应用的具体结合，有助于提升教学质量。本套丛书凝聚着编者的心血，熠熠生辉，此处不一一列举。

本套丛书的编撰得到了各方的支持和帮助，我校100余位师生参与其中，涉及基础医学院、机械科学与工程学院、环境科学与工程学院、化学与化工学院、药学院、生命科学与技术学院、同济医院、人工智能与自动化学院、计算机科学与技术学院、光学与电子信息学院、船舶与海洋工程学院以及材



料科学与工程学院 12 个单位的 24 个一级学科, 华中科技大学出版社承担了编校出版任务, 在此一并向所有辛勤付出的老师和同学表示感谢! 衷心期望本套丛书能为提高我校交叉学科研究生的培养质量发挥重要作用, 诚恳期待兄弟高校师生的关注和指正。

解孝林

2019 年 3 月于喻园

# 前言

Qianyan

作为华中科技大学“双一流”建设项目“拔尖创新人才培养计划”中的子项目，在创新研究院支持下，我们开展了交叉学科研究生高水平课程，编写了微生物天然产物研究方法的研究生教材。

本书的编写人员由分别从事天然药物化学、天然药物生物合成、天然药物化学全合成、药理学教学科研工作的人员组成，编写人员的学科方向优势互补，涵盖了包括天然先导化合物的发现、药物靶点发现、药物靶点的快速确证、药物分子的活性评价、药物分子的作用机制和毒理学评价等天然药物化学研究的所有领域。教材注重理论联系实际，旨在通过具体的研究实例，介绍微生物天然产物研究方法中涉及的天然产物活性成分的发现、活性的虚拟筛选、活性筛选、药理作用机制研究、天然产物结构修饰、天然产物生物合成等内容，并着重介绍研究生需要了解的新方法和新技术。将先导化合物开发成创新药物是天然药物化学研究的最重要的任务，因此本书在最后部分介绍了微生物天然药物开发成新药的研究过程。本书的使用对象以高等院校药学、中药学及其相关专业的研究生为主，同时本书可作为相关专业的青年教师和科技人员的自学参考书。

本教材由张勇慧(第一篇第一章)，朱虎成和王文静(第一篇第二章)，胡正喜和李华强(第一篇第三章)，李华和吴灿荣(第二篇第一章)，孙伟光和郑梦竹(第二篇第二章)，王小川(第三篇第一章)，黄芳(第三篇第二章)，辜良虎(第四篇)，周渊(第五篇)，陈春梅(第六篇)等共同编写完成。张勇慧任主编，王小川、李华、朱虎成任副主编，陈春梅兼任秘书。

在本书编写过程中，我们得到了华中科技大学“学术前沿青年团队”及“重大疾病创新药物和转化医学研究团队”等项目团队和有关同行和兄弟院校的热情鼓励与大力支持，获得了很多宝贵的意见和建议，在此一并表示衷心的感谢！

我们在编写过程中做了很多努力，但是因编者学术水平和编写能力有限，不当之处在所难免，敬请广大师生和读者予以指正。

编者

# 目录

Mulu

## 第一篇 天然产物活性成分的发现

<b>第一章 真菌培养</b>	/2
第一节 微生物次级代谢产物	/2
第二节 真菌的培养	/4
第三节 真菌分离培养研究实例	/12
<b>第二章 提取分离方法</b>	/25
第一节 微生物活性成分的提取	/25
第二节 微生物活性成分的分	/26
第三节 活性成分提取分离研究实例	/33
第四节 手性分离	/36
第五节 手性化合物拆分研究实例	/40
<b>第三章 天然产物的结构鉴定技术</b>	/43
第一节 常规波谱解析方法	/43
第二节 量子化学计算方法	/51
第三节 化学方法	/60
第四节 晶体衍射方法	/64

## 第二篇 天然产物活性的虚拟筛选

<b>第一章 基于分子对接的虚拟药物筛选</b>	/77
第一节 虚拟药物筛选背景	/77
第二节 靶点蛋白质结构的获得方法和途径	/78
第三节 基于分子对接的虚拟筛选常用软件和天然产物数据库	/81
第四节 化合物活性的实验性验证方法	/84
第五节 天然产物活性成分的虚拟筛选和分子对接	/86



<b>第二章 天然产物-蛋白质共结晶技术</b>	/94
第一节 分子克隆技术和原理	/94
第二节 重组蛋白的分离纯化技术及相关原理	/97
第三节 蛋白质结晶技术与原理、蛋白质共结晶技术	/98
第四节 研究实例:甘草次酸与 11 $\beta$ -HSD1 重组蛋白共结晶	/101

### 第三篇 活性筛选

<b>第一章 化合物活性在细胞水平的筛选及检测</b>	/112
第一节 原代及传代细胞培养	/112
第二节 细胞给药处理	/115
第三节 化合物的细胞毒性检测	/116
第四节 细胞中相关酶活性检测	/119
第五节 细胞中相关蛋白水平检测	/122
第六节 细胞中相关蛋白转录水平检测	/125
第七节 细胞中蛋白间相互作用水平检测	/129
第八节 细胞中相关蛋白质亚细胞定位分布检测	/132
第九节 FRET 技术	/134
<b>第二章 活性化合物在小鼠体内作用效果及机制</b>	/137
第一节 小鼠饲养及动物模型选择	/137
第二节 小鼠给药方法	/149
第三节 小鼠行为学检测	/153
第四节 小鼠血样及组织取材	/158
第五节 小鼠脑内神经元电生理检测	/160
第六节 小鼠组织中相关酶活性、蛋白质水平检测	/166
第七节 组织形态学检测	/166

### 第四篇 天然产物活性成分的全合成、仿生合成和结构修饰

<b>第一章 天然产物全合成</b>	/180
第一节 天然产物的结构确认	/180
第二节 天然产物结构修正	/185
第三节 天然产物样品制备	/190
第四节 丰富有机化学理论	/197
<b>第二章 天然产物的仿生合成</b>	/203
第一节 细胞松弛素的仿生合成	/204
第二节 Hyperjaponols A—C 的仿生合成	/208
第三节 Homodimericin A 的仿生全合成	/211
第四节 天然产物 paeoveitol 的首次仿生合成	/212

第五节 一锅法全合成具有复杂环结构的 portentol	/213
第三章 天然产物的结构修饰或简化	/215
第一节 简化分子结构和增加代谢稳定性	/215
第二节 减少手性碳原子	/216
第三节 增强活性	/217
第四节 改善物理化学性质	/218

## 第五篇 天然产物生物合成

第一章 绪论	/228
第一节 真菌天然产物合成通路研究	/228
第二节 基于合成生物学的新天然产物的发现	/240
第二章 真菌基因组 DNA 的提取	/247
第三章 真菌总 RNA 的提取及逆转录 PCR	/253
第一节 真菌总 RNA 的提取	/253
第二节 逆转录 PCR(RT-PCR)	/255
第四章 基因克隆及敲除盒的构建	/258
第一节 基因片段扩增	/258
第二节 基因敲除盒的构建	/261
第五章 丝状真菌原生质体制备和转化	/264
第一节 丝状真菌原生质体制备	/264
第二节 基因敲除盒的原生质体转化	/267
第六章 生物合成基因的异源表达	/273
第一节 双酶切法表达载体构建	/273
第二节 In-Fusion 技术载体构建	/278
第三节 Golden Gate 技术构建表达载体	/281
第四节 表达载体的酵母转化	/283
第七章 天然产物体外酶促生物转化	/287
第一节 大肠杆菌中蛋白过表达和纯化	/287
第二节 酵母中蛋白过表达和纯化	/290
第三节 异戊烯基转移酶(PT)生化功能的鉴定	/292
第四节 化学酶法合成	/295

## 第六篇 真菌次级代谢产物来源药物的研究开发

第一章 从真菌中开发新药的方式	/301
第二章 真菌次级代谢产物来源的新药研究开发的阶段	/306
第一节 新药研究阶段	/306
第二节 新药开发阶段	/307

第三章 真菌次级代谢产物来源的新药研究的方法及需注意的问题	/310
第一节 真菌次级代谢产物来源的新药研究过程	/310
第二节 真菌次级代谢产物新药研究中需要注意的问题	/311
第四章 真菌次级代谢产物来源的新药研究的实例	/313
第一节 新药芬戈莫德的研究开发	/313
第二节 从土曲霉次级代谢产物中发现抗阿尔茨海默病活性的先导化合物	/323

---

## 第一篇

# 天然产物活性成分的发现

---



# 第一章

## 真菌培养

### 第一节 微生物次级代谢产物

微生物是指难以用肉眼观察到的微小生物,包括细菌、真菌、放线菌、病毒、立克次体、支原体、衣原体以及螺旋体八大类。有些微生物是肉眼可见的,如隶属于高等真菌的蘑菇和灵芝等。微生物与人类生活密切相关,广泛应用于医药、食品、工农业、环境保护等诸多领域。现代天然药物化学研究的微生物主要包括真菌、细菌和放线菌。

#### 一、微生物代谢产物

微生物的发现始于安东尼·列文虎克(Antony van Leeuwenhoek)发明显微镜,他利用能放大50~300倍的显微镜,首次发现和揭示了一个崭新的微生物世界。19世纪中期,以法国巴斯德和德国柯赫为代表的科学家将微生物的研究从形态描述推进到生理学研究阶段,并建立了分离、培养、接种和灭菌等一系列独特的微生物技术。

新陈代谢是指生物体与外界环境之间的物质和能量交换以及生物体内物质和能量的转变过程,是生命的基本特征。代谢作用也是微生物的最基本特征之一,代谢作用的正常进行,可以保证微生物的生长与繁殖。

微生物代谢产物(microbial metabolites)是微生物在生长繁殖过程中产生的多种代谢产物。根据产物与微生物生长繁殖的关系,可以分为初级代谢产物(primary metabolites)和次级代谢产物(secondary metabolites)。

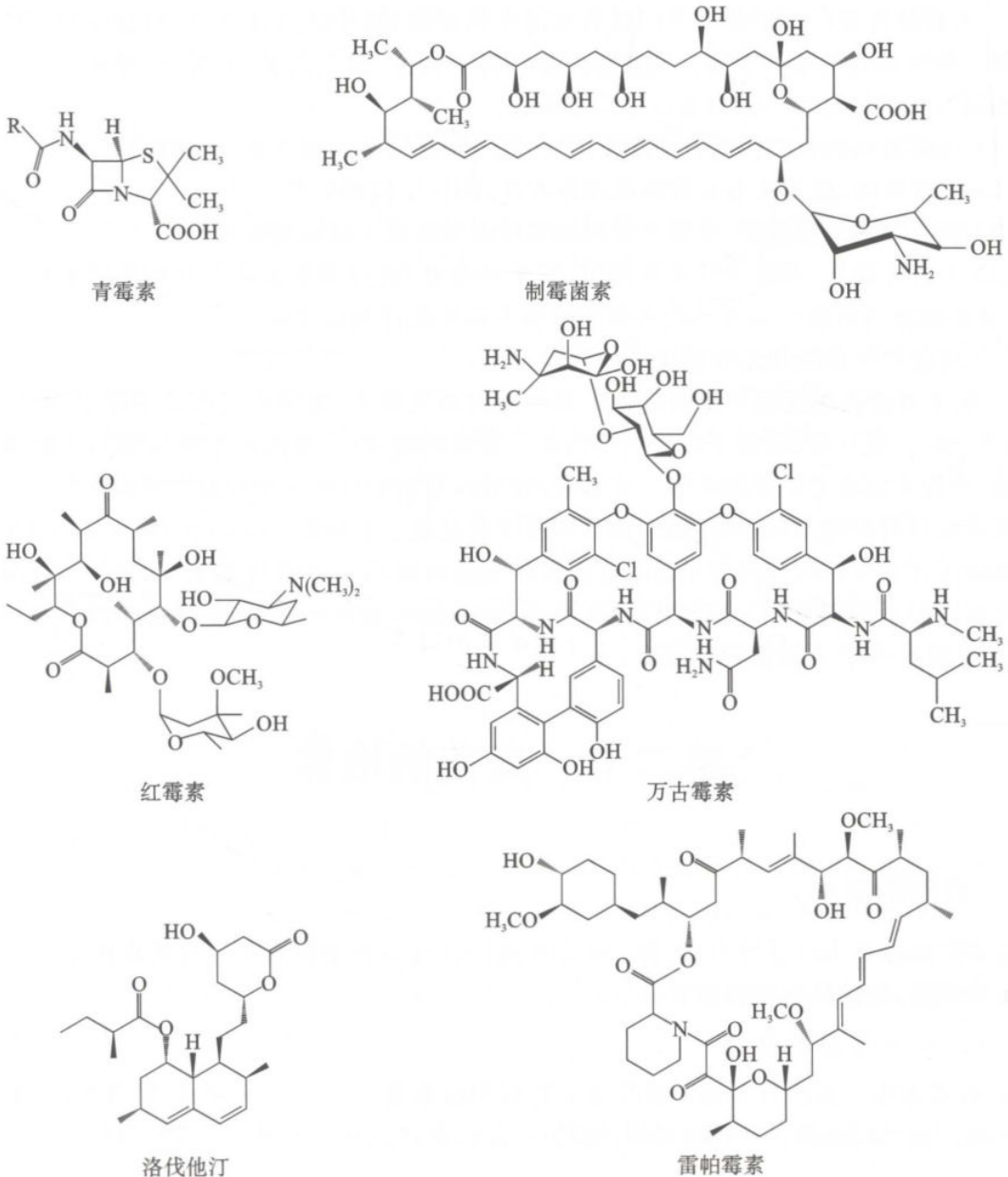
初级代谢产物指微生物通过代谢活动产生的、自身生长和繁殖所必需的物质,如氨基酸、多糖、核苷酸、脂类、维生素等。不同种类的微生物初级代谢产物的种类基本相同。任何一种初级代谢产物的合成发生障碍都会影响微生物正常生命活动,轻则导致生长停止,重则引起机体发生突变或死亡。

次级代谢产物是指微生物生长到一定阶段才产生的,并非是微生物生长和繁殖必需的物质,如抗生素、激素、毒素、色素等。不同种类的微生物所产生的次级代谢产物种类不尽相同,它们可能积累在细胞内,也可能排到外界环境中。次级代谢产物大多具有生物活性,因此是微生物代谢产物研究的重点。

## 二、微生物次级代谢产物的研究意义及真菌次级代谢产物研究

### (一) 微生物次级代谢产物的研究意义

天然产物主要来源于植物和微生物。次级代谢产物的产生是植物和微生物长期进化和适应环境的结果,有助于植物和微生物与其他物种竞争和抵御昆虫侵害等。天然产物是药物最重要的源泉,1981年至今上市的小分子药物中有超过60%直接或间接来源于天然产物。微生物来源的天然产物的结构多样性赋予其广泛的生物活性,是药物先导化合物的重要来源。在过去的80多年时间里,有30 000~50 000种微生物来源的天然产物被发现,其中10 000多种具有较好的生物活性。临床上广泛应用的抗生素(青霉素,红霉素,万古霉素)、抗菌药(制霉菌素)、降脂药(洛伐他汀)、免疫抑制剂(雷帕霉素)等均来源于微生物次级代谢产物。微生物的次级代谢产物具有结构多样性、活性广泛性和临床有效性,其中许多化合物或其衍生物已经成为临床治疗多种疾病的药物。因此,微生物次级代谢产物的研究对新药的发现具有重要意义。



## (二) 真菌次级代谢产物研究

真菌(fungi)广泛分布于地球表面,从高山、原野到湖泊、森林,从高空、海洋到赤道、两极,处处都有真菌。真菌的次级代谢产物结构多样,具有广泛的生物活性,是现代天然产物研究的重点及新药研发的重要宝库。

1. 真菌分类 真菌通常可以分为3类,即酵母、霉菌和蕈菌(大型真菌)。

(1) 酵母:一种肉眼看不见的微小单细胞微生物,能将糖发酵成二氧化碳和乙醇。广泛分布于整个自然界,是典型的兼性厌氧微生物,在有氧和无氧条件下均能存活,是一种天然发酵剂。

(2) 霉菌:是形成分枝菌丝的真菌的统称,即“发霉的真菌”,通常能形成分枝繁茂的菌丝体。在潮湿温暖的地方,很多物品上长出的一些肉眼可见的绒毛状、絮状或蛛网状的菌落,就是霉菌。

(3) 蕈菌:能形成大型肉质子实体或菌核组织的真菌,如灵芝和木耳等。

2. 真菌的特征 真菌是一个广泛分布的生物群体,除了纯真菌外,还包括卵菌、黏菌、地衣以及一些单细胞的原核生物。虽然它们都归属于真菌,但在营养、生长、生理和遗传等方面各不相同。典型的真菌一般具备以下5个特征。

(1) 边缘清晰的核膜包围着细胞核,且在同一细胞内可以包含多个细胞核。

(2) 除酵母外,通常具有分枝繁茂的菌丝体,菌丝呈顶端生长。

(3) 具有较硬的细胞壁,多数真菌的细胞壁主要由几丁质和葡聚糖组成。

(4) 不含叶绿素,不能进行光合作用,属于异养型,通过细胞表面自周围环境中吸收营养物质,分泌的胞外酶将不被吸收的多聚物降解为简单化合物而吸收。

(5) 通过产生有性和无性孢子进行繁殖。

3. 基于真菌次级代谢产物的药物 真菌药材历史悠久,我国古代医书中记载的灵芝、茯苓、猪苓、猴头、银耳等,都属于名贵的中药材。新中国成立后,我国科学家从猪苓中提取的猪苓多糖,对许多癌症有明显的疗效。青霉素的问世,开创了真菌次级代谢产物研究的先河。头孢霉素不仅具有青霉素的主要优点,而且不易引起过敏。土曲霉(*Aspergillus terreus*)等真菌中提取的他汀类降胆固醇药物是治疗心血管疾病的有效药。1976年瑞士Sandoz公司首次报道了从挪威山土壤真菌——膨大弯颈霉(*Tolypocladium inflatum*)中发现环孢菌素A,此后,13种环孢菌素A产生菌被陆续报道。

## 第二节 真菌的培养

### 一、真菌的分离

真菌广泛存在于自然界中,且同一生态环境中往往存在多株真菌。分离真菌的样品可以分为土壤样品、植物样品和动物样品等。

#### (一) 土壤真菌的分离

1. 样品采集 分离真菌的土壤样品一般采集自地表下1~5 cm深处、相对肥沃、未开垦过的土壤。也可以选择一些特殊环境,如高原、原始森林、溶洞、深海、工厂排污口等。

2. 样品预处理 将采集的土壤去除草根、石块等杂质,称取 10 g,放入盛有 90 mL 无菌水的三角烧瓶中,振荡约 15 min,静置 2 min,即为编号为  $10^{-1}$  的土壤悬浮液。取 4 支装有 9 mL 无菌水的试管,分别编号  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 。用无菌移液枪吸取  $10^{-1}$  浓度的土壤悬浮液 1 mL 并加入编号为  $10^{-2}$  的无菌试管中,混匀,即为  $10^{-2}$  浓度的稀释液。由此类推,将  $10^{-2}$  土壤悬浮液依次稀释为  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  浓度。

3. 分离 用无菌移液枪从浓度最小的稀释液开始,依次吸取 0.5 mL 稀释液到对应编号的含氯霉素的 PDA 平板上(氯霉素可以抑制细菌的生长,增加真菌的分出率),再用无菌三角涂布棒将加入的土壤稀释液在平板上均匀涂布,并将多余的稀释液吸走。最后将接种好的平板用封口膜封好,写上标签,倒置放入 28 °C 恒温培养箱。每天观察,待培养基中长出菌丝,挑选形态不同的菌落分别接种到普通的 PDA 平板上,经纯化后得到单一菌落。

## (二) 植物内生菌的分离

植物内生菌是一定阶段或全部阶段生活于健康植物器官或组织中的真菌或细菌,具有生物多样性的特点,不仅能够参与植物次级代谢产物的合成以及对植物次级代谢产物进行转化,还能独立产生丰富的次级代谢产物。因此,从植物内生菌中寻找和发现新的活性化合物成为微生物次级代谢产物研究的热点之一。

1. 样品采集 植物样品可以选择药用植物或某地特有植物的根、茎、叶、果实等。尽量避免选择幼小或过于老化的植物样品。

2. 样品预处理 将采集的植物样品用无菌水冲洗,除去表面的大颗粒杂质(若样本太大,可以适当地分为几个部分),再用 75% 的乙醇溶液浸泡 5 min,无菌水冲洗 2~3 次。

### 3. 分离

(1) 叶片样本:将预处理后的叶片剪成小块,用镊子揭开表皮,露出的叶肉朝下,置于含氯霉素的 PDA 平板上,每个平板放置 4~6 块,28 °C 恒温培养。每天观察,待培养基中长出菌丝,挑选形态不同的菌落分别接种到普通的 PDA 平板上,经纯化后得到单一菌落。

(2) 根茎样本:将采集的根茎切成小段,切开,断面向下置于含氯霉素的 PDA 平板上,每个平板放置 4~6 块,28 °C 恒温培养。每天观察,将形态不同的菌落分别接种到普通的 PDA 平板上,经纯化后得到单一菌落。

(3) 果实样本:将预处理后的样本切成小块,断面向下置于含氯霉素的 PDA 平板上,28 °C 恒温培养。每天观察,挑选形态不同的菌落分别接种到普通的 PDA 平板上,经纯化后得到单一菌落。

## (三) 动物内生菌的分离

动物内生菌与植物内生菌类似,不仅能独立产生次级代谢产物,还有可能对寄生动物的次级代谢产物进行转化,也是现代微生物天然产物研究的热点。

1. 样品预处理 将采集的动物样本处死(不要破坏样本完整性),75% 乙醇溶液冲洗 2~3 次,再用无菌水冲洗 2~3 次。进行解剖,取动物肠道(动物内生菌主要集中在肠道)。

2. 分离 将动物肠道切成小段,剪开,朝内的一面向下置于含氯霉素的 PDA 平板上,每个平板放置 4~6 块,28 °C 恒温培养。每天观察,挑选形态不同的菌落分别接种到普通的 PDA 平板上,经纯化后得到单一菌落。

## (四) 极端环境真菌的分离

极端环境真菌是在极端环境中存活的一类特殊真菌,如在高盐、高碱、高温、低温、高压、强

酸、强碱等特殊环境中生长的真菌。分离这类真菌时需要考虑它们生长繁殖所需的特殊条件,在原有的培养基基础上,有针对性地设计分离与培养条件。如嗜热真菌的最适生长温度可高达 $80^{\circ}\text{C}$ ,分离嗜盐真菌时培养基中盐的浓度可高达 $2.5\text{ mol/L}$ 。

## 二、真菌的培养基

培养基主要是给真菌的生长和繁殖提供营养物质,由不同的营养物质组合配制而成,一般包含碳水化合物、含氮物质、无机盐(微量元素)等。

### (一) 培养基成分

1. 碳源 真菌细胞干重的一半是由碳组成的,这显示了碳在真菌生长繁殖过程中的重要性。在真菌的生理学中,碳提供了2种基本功能。

(1) 构成细胞关键组分的基本骨架,如蛋白质、核酸等。

(2) 碳源的氧化为真菌的基本生命过程提供能源。

真菌能利用多种碳源,包括小分子的糖、乙醇、有机酸以及大分子的蛋白质、多糖、木质素和脂质等。实验室常用的碳源有葡萄糖、甘露醇、乳糖、蔗糖、淀粉等,根据真菌的生长需要,可以选择单一的碳源,也可采用多种碳源混合培养。

2. 氮源 氮源对于真菌的生长和发育是必不可少的,其主要作用是合成各种关键的细胞组分,包括蛋白质、氨基酸、核酸、嘌呤、嘧啶、几丁质以及各种维生素等。实验室常用的有机氮源包括蛋白胨、牛肉膏、玉米浆、黄豆饼粉、花生饼粉等;无机氮源包括硫酸铵、氨水、硝酸盐、亚硝酸盐等。通常培养基中碳与氮的质量比应大于10。

大多数真菌在培养基中加入无机或有机氮源时都能生长,小部分真菌能够利用氨和有机氮源,但是不能利用硝酸盐,仅有很少数的真菌只能利用有机氮源而不能利用无机氮源。

3. 无机盐 在真菌生长繁殖过程中,当培养基中缺乏某些无机元素时,菌体生长缓慢或繁殖能力降低,这些无机元素被称为必需的无机营养元素。无机元素的主要功能有以下几种。

(1) 作为细胞结构物质的组成部分。

(2) 参与酶的组成并调节酶的活性。

(3) 维持生物大分子和细胞结构的稳定性。

(4) 调节并维持细胞的渗透压平衡。

(5) 控制细胞的氧化还原电位。

如无机盐中的磷、镁、钾、钠等参与能量转移、构成物质、控制渗透压等。微量元素铁、铜、锌、锰、钴、钼等是酶的辅基成分或酶的激活剂。

真菌生长繁殖所需的无机元素的量与碳源和氮源相比很低,一般每升培养基只需几百毫克。不同的菌株、不同的培养基以及不同的培养环境下,维持菌体最适生长速度所需的无机元素的量各不相同。

4. 生长因子 真菌在生长过程中需要一些少量的有机物质,这些物质不像碳源、氮源、无机盐一样作为营养物质,而是起一种更精细的作用,称为生长因子。生长因子是微生物细胞生长不可缺少的微量有机物质,主要包括维生素、嘌呤、嘧啶、氨基酸、脂肪酸等。

不同的真菌对生长因子的需求量不同。大部分真菌不需要外源生长因子也能正常生长,但有些菌株自身合成生长因子的能力有限,必须在培养基中加入外源生长因子才能生长。在实验室培养中,常用酵母膏、牛肉膏、玉米浆、麦芽汁等天然物质作为生长因子来源。