第一章 绪论

第一节 微生物学的研究对象与任务

研究对象--微生物：微生物（Microorganism,,microbe）是一切肉眼看不见或看不清的微小生物的总称。
微生物在生物界的地位：包括属于原核生物的细菌、放线菌、蓝细菌、；属于真核生物的真菌（包括藻状菌纲、担子菌纲、子囊菌纲、半知菌纲）；以及属于非细胞结构的病毒。
微生物学的任务：利用有利的一面为人类造福、变有害为有利。
微生物与人类的关系：疾病、物质的霉变、工农业生产、生态。

第二节 微生物学的发展

第一阶段--推测期；第二阶段--观察期；第三阶段--生理期；第四阶段--分子生物学时期。
1944 年，Avery 证明遗传的物质基础为 DNA；1953 年，Watson & Crick DNA 双螺旋结构；
1961 年，Jacob＆ Monod 操纵子学说；1972 年，Berg Boyer & Cohen DNA 克隆技术；
1982 年，Prusiner 发现朊病毒；1985 年 Saiki PCR 技术(聚合酶链式反应)；
1997 年，Wilmut 克隆羊
20 世纪以核酸研究为核心：50 年代 双螺旋结构；60 年代 操纵子学说；70 年代 DNA 重组；80 年代 PCR 技术；90 年代 DNA 测序。
人类基因组测序计划提前 5 年完成，现由结构向功能转移（后基因组时代（post-genomics））。
从基因组到蛋白质组。
功能基因组学(functional genomics)，蛋白质组学(proteome)，生物信息学(Bioinformatics)。
模式生物：背景清楚、基因组小、便于测定和分析、可从中获取经验改进技术方法。

第三节 我国微生物学的发展

古代对微生物学的认识与利用：酿酒，轮作，种痘。
微生物学简况：见课本 7－8 页。

第二章 微生物形态与结构Ⅰ原核微生物

第一节 细菌

细菌的形态和大小：形态：球状、杆状、螺旋状；大小：以微米为度量单位。
细菌－原生质膜（plasma membrance）、原生质体（protoplast）、原生质。

细菌细胞的一般结构
细胞壁（cell wall）
在细胞最外层、多孔性的、具有一定屏障作用，水和某些化学物质可以通过，但对大分子物质有阻拦作用。
功能：韧性、弹性。
化学组成：肽聚糖。

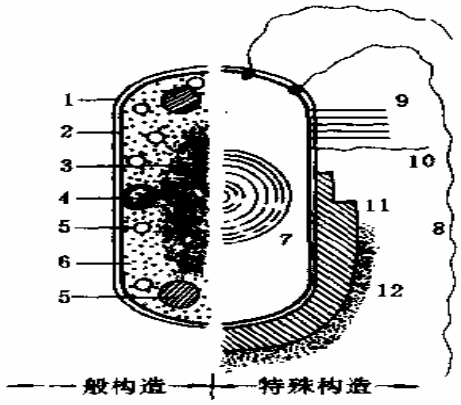


图 2-2 细菌细胞构造的模式图
1. 细胞壁；2. 细胞膜；3. 核质体；4. 间体；5. 贮藏物；6. 细胞质；7. 芽孢；8. 鞭毛；9. 菌毛；10. 性菌毛；11. 荚膜；12. 粘液层

G^+菌与 G^-菌的细胞壁结构

G+菌	G-菌
细胞壁为一层 （20~80nm 厚的肽聚糖层）	内壁层(2-3nm 肽聚糖层) 外壁层(8-10nm 脂多糖层)

脂多糖：O-侧链(具有抗原性)———核心———脂质(内毒素的毒性中心)

G^+菌与 G^-菌的细胞壁组成与结构比较

性质	G^+菌	G^-菌
肽聚糖含量	多(40~90%)	少(10%)
链连接方式	通过五肽连接	直接连接
氨基酸组成	D-Glu-NH_2	D-Glu
	L-Lys	DAP
脂多糖	无	有
脂蛋白	无	有
垣酸	有	无

细胞壁与革兰氏染色

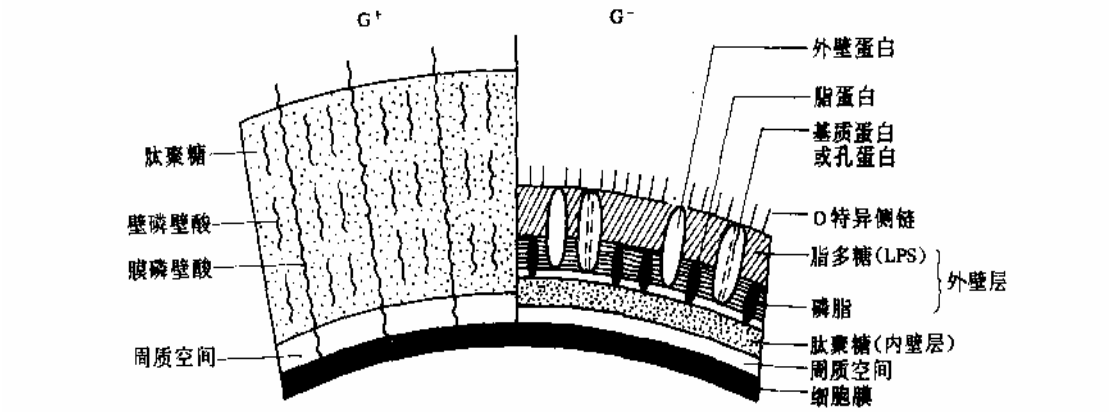


图 2-3 革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌细胞壁构造的比较

原生质体和球形体

原生质体(protoplast)：指在人为条件下，用溶菌酶除尽原有细胞壁或用青霉素抑制新生细胞壁的合成后，所留下的仅有一层细胞膜包裹着的圆球状渗透敏感细胞，一般由革兰氏阳性菌形成。脆弱，高渗溶液

球形体：指还残留了部分细胞壁的原生质体，一般由革兰氏阴性菌所形成。

细胞膜(cell membrane)

紧贴在细胞壁内侧的一层由磷脂和蛋白质组成的柔软、富有弹性的半透性薄膜。

功能：主要为控制营养物质及代谢产物进出细胞。

组成：磷脂蛋白质。　　结构：流动镶嵌模型。

间体(mesosome) 拟线粒体

细胞质(cytoplasm)

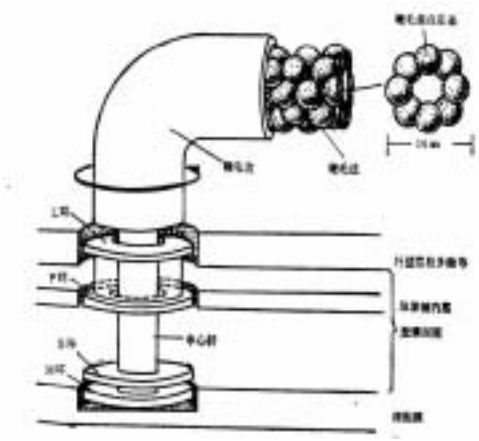
被细胞膜包围着的除核质体外的一切透明、胶状、颗粒状物质，可总称为细胞质。

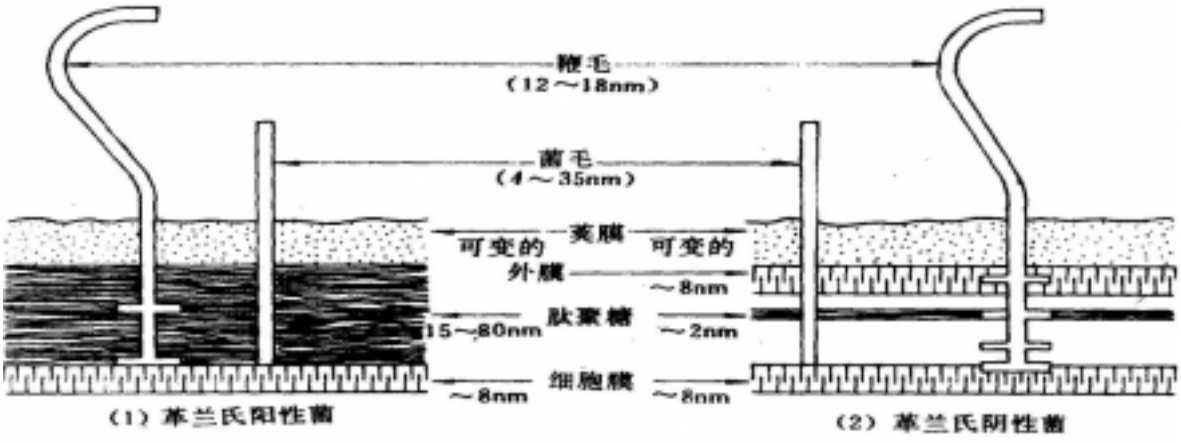
主要成分：核糖体、贮藏物、各种酶类、中间代谢物、无饥盐、载色体和质粒等，少数细菌还存在羧化体、伴孢晶体或气泡等构造。

核糖体(ribosome)

65%为核糖核酸，35%为蛋白质。是蛋白质合成的场所。原核生物 70S，真核生物 80S。

贮藏物(reserve materials)
一类有不同化学成分累积而成的不溶性颗粒。
在营养过剩时，聚合成各种贮藏颗粒，在营养缺乏时又被分解利用。
气泡(gas vacuoles)
存在于许多光能营养型、无鞭毛运动水生细菌中的泡囊状内含物，内中充满气体。外由仅2nm 厚的蛋白质膜所包围，具有调节细胞比重，以使其漂浮在合适水层中的作用，借以获取光能、氧和营养物质。
核质体(nuclear body)
又称拟核，指原核生物所持有的无核膜包裹、无固定形态的原是细胞核，是遗传的物质基础。
质粒(plasemid)
核外基因(细胞质基因)。
质粒的特性：1.环状双链小分子片段；2.决定细菌的某些遗传特性；3.独立自我复制，可转移，能携带一定的遗传信息；4.可自行消失。
细菌细胞的特殊结构
荚膜(capsule)
某些细菌细胞壁外存在的一层厚度不定的胶状物质。
包括微荚膜(<200nm)；荚膜(200nm)；粘液层(无明显界面)；菌胶团(几个菌共有的)。
荚膜的主要成分：多糖。
荚膜的功能：1.保护细菌（致病菌）免受白细胞的吞噬；2.菌体外的贮存物。
有荚膜的菌大多为致病菌 ;有荚膜　菌落为光滑型　致病 ;无荚膜　菌落为粗糙型　不致病。
通过负染色法可观察到
鞭毛(flegellum)和菌毛(pilus , fimbria)
鞭毛：长在细菌的体表，着生在细胞膜上的长丝状、曲波的附属物。
功能：为细菌的运动器官，运动的支点在细胞壁上。　　成分：为蛋白质。
结构：鞭毛丝，鞭毛钩，基体。
观察：显微镜，半固体穿刺。
分类：单端鞭毛菌、端生丛毛菌、两端鞭毛菌、周毛菌。
鞭毛的位置和数目具有细菌分类鉴定的意义。
菌毛：性菌毛，普通菌毛。

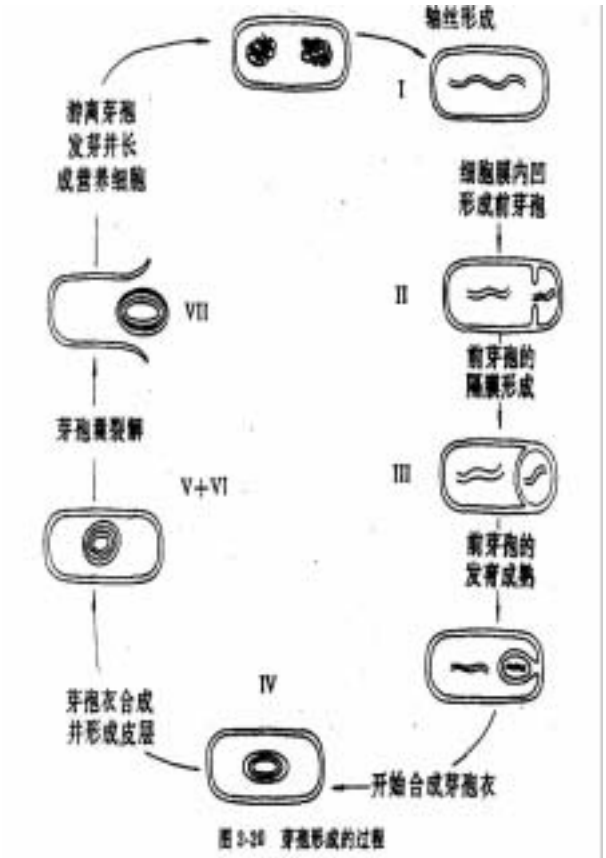


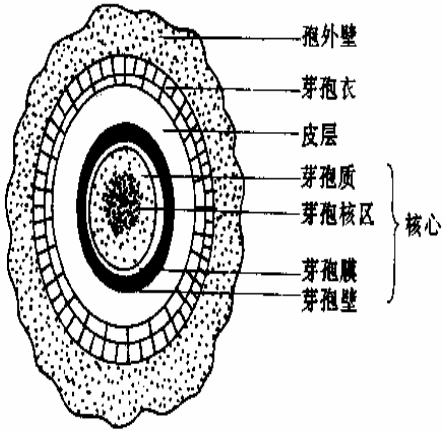


芽孢(endospore spore)

产芽孢的菌有两类：好气：Bacillus（枯草芽孢杆菌属）；厌气：Clostridium(梭状芽孢杆菌属)。

定义：某些细菌在其生长发育后期，可在细胞内形成的一个圆形或椭圆形、厚臂、含水量低、抗逆性强的休眠构造。





芽孢形成过程 ①束状染色质形成；②细胞膜内陷，细胞发生不对称分裂，其中小体积部分即为前芽孢(forespore)；③前芽孢的双层隔壁形成，这时抗辐射性提高；④在上述两层隔壁间充填芽孢肽聚糖后，合成 DPA，累积钙离子，开始形成皮层，折光率增高；⑤芽孢衣合成结束；⑥皮层合成完成，芽孢成熟，抗热性出现；⑦芽孢囊裂解，芽孢游离。

特性：含水量低，耐热，含 DPA-Ca。

几种位置和形状：

如何观察：

伴孢晶体(parasporal crystal；spore-companioned crystal)

在形成芽孢的同时，在芽孢旁形成的一颗菱形、方形或不规则形的碱溶性蛋白质晶体。

为有毒蛋白质，一般一个细菌产生一个，作为生物农药。

例：苏云金芽孢杆菌（*Bacillus thuringiensis*）

细菌的群体形态

菌落(colony)：将单个细菌（或其他微生物）或一小堆同种细胞接种在固体培养基的表面(有时为内层)，当它占有一定的发展空间并给予适宜的培养条件时，该细胞就会迅速生长繁殖并形成细胞堆，此即菌落。

菌落就是在固体培养基上（内）以母细胞为中心的一堆肉眼可见的、有一定形态、构造等特征的子细胞集团。

菌落特征：一般呈现湿润、较光滑、较透明、较粘稠、易挑取、质地均匀、以及菌落正反面或边缘与中央部位的颜色一致等。

单菌落表面特征

群体效应

细菌的繁殖

无性繁殖：不经过两性细胞的结合，只是营养细胞的分裂或营养菌丝分化而形成同种新个体的过程。

裂殖（横分裂法）：同型，异型。

繁殖的过程：细胞核和细胞质的分裂；横隔壁的形成；子细胞的分离。

趣味卡片：最小和最大的细菌

最小的细菌：芬兰 EO Kajander 等发现的纳米细菌（nanobacteria），直径 50nm，引起尿结石

最大的细菌：德国 HN Schulz 等发现的硫细菌（sulfur bacterium）：0.1~0.3mm

Thiomargarita namibiensis 纳米比亚硫磺珍珠。

第二节 放线菌

放线菌（Actinomyces）一类呈菌丝状生长、主要以孢子繁殖和陆生性强的原核生物。

是抗生素的主要产生菌。

大多是 G^+菌。

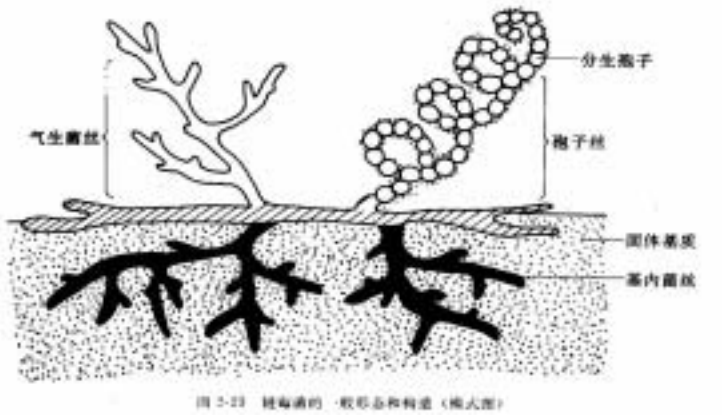
细胞壁成分为肽聚糖。

菌丝状。

分布情况：土壤中较多，

适宜中性或偏碱性环境。

最佳生长温度：28-30℃。

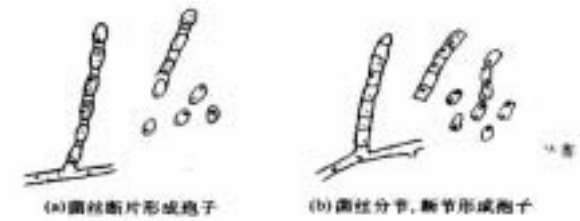


放线菌的形态构造

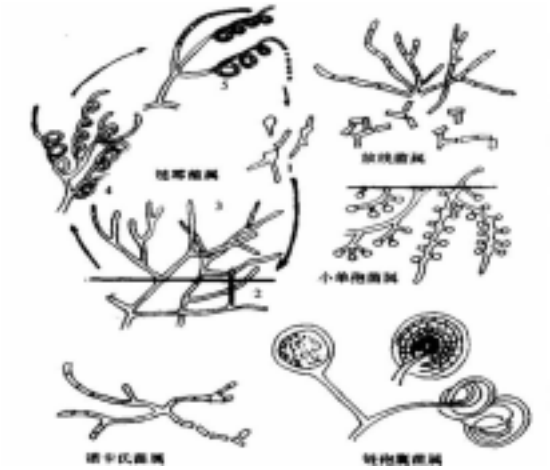
菌体由菌丝组成，许多菌体形成菌丝体。

根据菌丝的形态和功能，分为三种：基内菌丝(substrate mycelium)，气生菌丝(aerial mycelium)，孢子丝(sporal mycelium)。

放线菌的生活史



放线菌的菌落：干燥、不透明、表面呈致密的丝绒状，上有一薄层彩色的“干粉”；菌落和培养基的连接紧密，难以挑取；菌落的正反面颜色常不一致，以及在菌落边缘的琼脂有变形的现象等等。



放线菌的繁殖

根据电子显微镜对放线菌超薄切片进行观察，发现放线菌孢子的形成只有横割分裂而无凝聚分裂方式。横割分裂可通过两种途径实现：①细胞膜内陷，再由外向内逐渐收缩，最后形成一个完整的横割膜，从而把孢子丝分割成许多分生孢子；②细胞壁和细胞膜同时内陷，并逐步向内缢缩，最终将孢子丝缢裂成一串分生孢子。

放线菌的代表属

放线菌与细菌的比较

大小相近，生长的 pH 相近，均为原核微生物，细胞壁组成均为肽聚糖，放线菌为丝状菌。

第三节 蓝细菌 立克次氏体 支原体 衣原体

蓝细菌(Cyanobacteria)

进行光合作用；营养要求不高，空气，阳光，水分，少量无机盐；有很多具有固氮作用。

细胞壁构造与革兰氏阴性菌相似。

蓝细菌的细胞有几种特化形式，较重要的是异形胞、静息孢子和链丝段。

立克次氏体(Rickettsia)

处于细菌和病毒之间，但更接近细菌。G^-菌

特点：具有细胞壁，不能通过细菌滤器；专性细胞内寄生，不能在人工培养基上培养。

支原体(Mycoplasma)

介于细菌和立克次氏体之间，是原核生物中最小的，具有致病性。

50-60 年代称为 PPLO

特点：无细胞壁，可通过细菌滤器；能在人工培养基但条件苛刻 (需补充血清)；菌落形态似荷包蛋。

衣原体(Chlamydia)

介于立克次氏体和病毒之间。

以前将衣原体归于病毒，沙眼衣原体

特点：具有细胞壁，但能通过细菌滤器，专性细胞内寄生（能量寄生)。

支原体、立克次氏体、衣原体和病毒的比较

比较项目	支原体	立克次氏体	衣原体	病毒
细胞构造	有	有	有	无
含核酸类型	DNA 和 RNA	DNA 和 RNA	DNA 和 RNA	DNA 和 RNA
核糖体	有	有	有	无
细胞壁	无	有（含肽聚糖）	有(不含肽聚糖)	无
细胞膜	有（含甾醇）	有（无甾醇）	有（无甾醇）	无
繁殖时个体完整性	保持	保持	保持	不保持
大分子合成能力	有	有	无	无
产 ATP 系统	有	有	无	无
氧化谷氨酰胺能力	有	有	无	无
对抑制细菌抗生素的反应	敏感(对抑制细胞壁合成者例外)	敏感	敏感（青霉素例外）	有抗性

第三章　微生物的形态与构造 II 真核微生物

原核生物与真核生物的比较

原核生物即广义的细菌，指一大类细胞核无核膜包裹，只存在称作核区（nuclear region）的裸露 DNA 的原始单细胞生物，包括真细菌（eubacteria）和古生菌（archaea）两大类群。其中除少数属古生菌外，多数的原核生物都是真细菌。

真核生物是一大类细胞核具有核膜，能进行有丝分裂，细胞质中存在线粒体或同时存在叶绿体等多种细胞器的生物。真菌、显微藻类和原生动物等是属于真核生物类的微生物，故称为真核微生物（eukaryotic micro-organisms)。

第一节　酵母菌(yeast)

存在的地方：含糖量较高的偏酸性环境（如果园)，利用烃类的酵母菌可在油田或煤油厂附近分离到。

用途：理论研究；工业生产：食品工业(馒头发酵酿酒)，制药业（提取核苷酸)，作为菌体蛋白；有害的酵母菌：白色念珠菌（口腔溃疡)，表皮癣菌属（足癣）

细胞的形态构造：形态：卵圆形，假丝状。

大小：比细菌大约十倍。

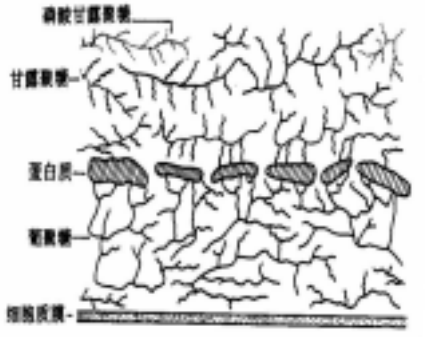


图 3-21　酵母细胞壁中主要成分的排列

构造：细胞壁：葡聚糖(glucan)，甘露聚糖(mannan)；细胞膜：甾醇；细胞核：真核(如涂片好能看到的黑点即为细胞核)。

繁殖方式：

无性繁殖：芽殖（主要方式），芽裂(产生横隔壁，较少见)，裂殖（二分分裂）。

有性繁殖：形成子囊孢子进行有性繁殖，过程：质配→ 核配→减数分裂(核配形成的双倍体可单独存在，因为双倍体的酵母菌生活力强，所以工业生产上的酵母菌一般为二倍体。)

减数分裂包括二次细胞分裂和一次核分裂。在减数分裂过程中可发生基因重组。

菌落特征：易挑起，乳白色，湿润，粘稠，比细菌的菌落大而且厚，酒香味。

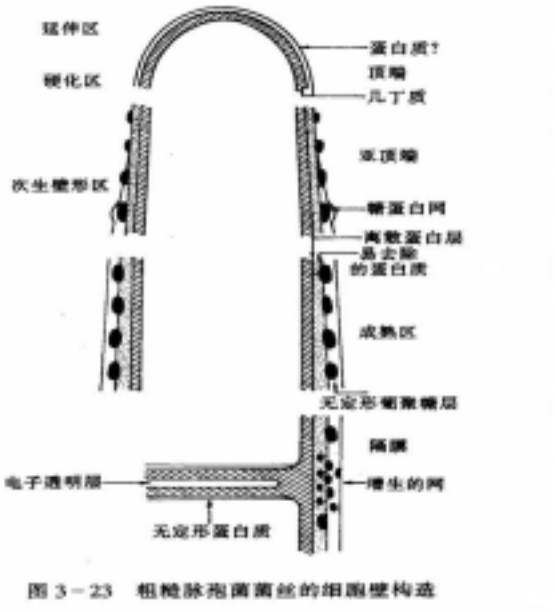


图 3－23 粗糙脉孢菌菌丝的细胞壁构造

第二节 丝状真菌——霉菌(mold)

营养来源：主要为糖类和少量氮、矿物盐类，极易在含糖的食品（饼干、面堡、各种谷物和水果）上生长。

用途：工业上；理论研究。

有害的霉菌：食品的霉变等。

霉菌的形态结构：与放线菌一样为丝状菌，但菌丝比放线菌粗约 10 倍。

有单细胞和多细胞之分。

菌丝也有三种：基内菌丝，气生菌丝，孢子丝。

细胞壁成分：几丁质（为多糖，由 N－乙酰葡糖胺通过β-1,4 糖苷键相连而成）。

细胞膜：甾醇。

霉菌的特征性菌丝：

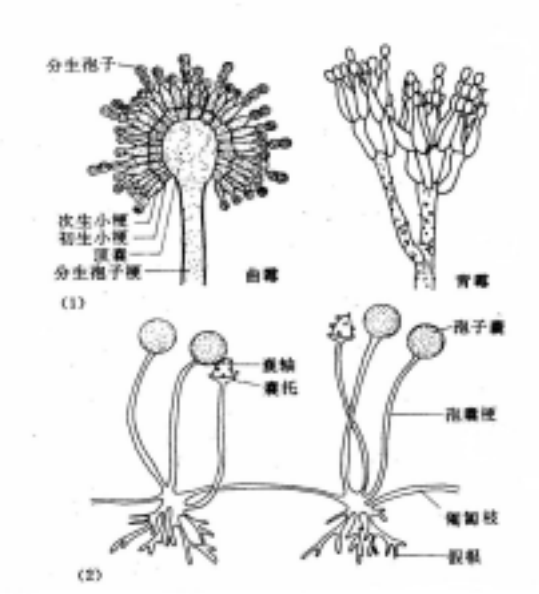
根霉（假根） 毛霉（）

青霉（青霉穗）曲霉（足细胞）

菌落特征：不易挑起，菌落疏松，产色素。

繁殖方式：无性繁殖：通过无性孢子繁殖；

有性繁殖：也是三个阶段。



第四章 微生物的形态和构造III非细胞型生物

第一节 病毒(virion)

病毒的特性：个体极小，只能在电子显微镜下观察到，能通过细菌过滤器；专性活细胞内寄生；无细胞结构。

病毒是超显微的、无细胞结构的、专性活细胞内寄生的实体。

病毒的两重性：活细胞外具一般化学大分子特征，活细胞内具生命特征。

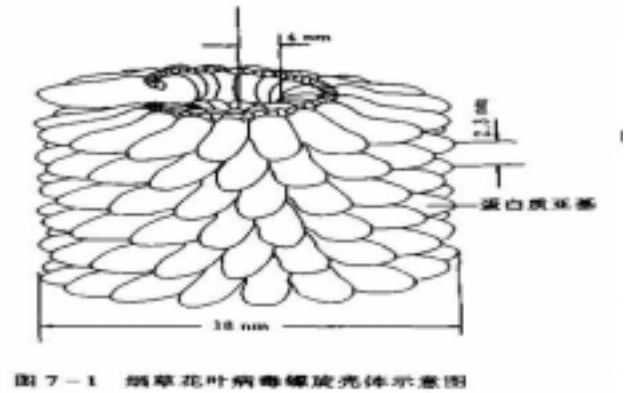


图 7－1 烟草花叶病毒螺旋壳体示意图

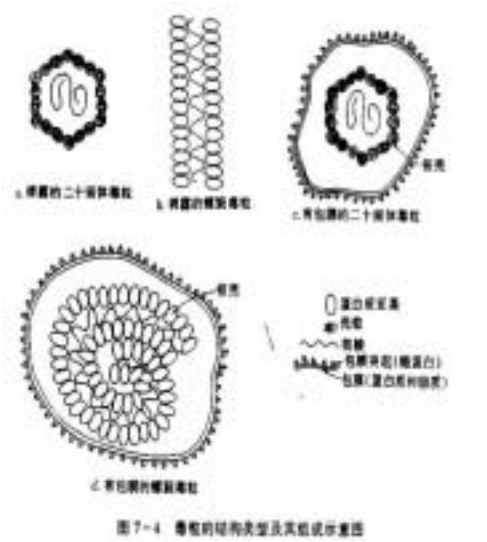


图 7-4 噬菌体结构类型及其组成示意图

病毒的形态构造和化学组成

病毒的大小：以纳米为单位。

病毒的形态：动物病毒：圆形（球形）；植物病毒：杆形；微生物病毒(噬菌体)：蝌蚪形。

病毒的化学组成：蛋白质（外壳），DNA 或 RNA。

病毒的结构：

衣壳粒(capsomere) →衣壳(capsid) (蛋白质外壳)；

衣壳＋核髓(core) (DNA 或 RNA)→核衣壳 (nucleocapsid)

蛋白质外壳的作用：构成病毒粒子外壳，起保护病毒核酸的作用。

核髓的作用：贮存病毒的遗传信息，控制病毒的遗传变异、增殖及对宿主的感染性。

动物病毒：线状双链 DNA 或单链 RNA；植物病毒：线状 RNA；噬菌体：线状双链 DNA。

病毒的群体形态

包涵体(inclusion body)：某些病毒寄生在宿主中会产生在光学显微镜下可见的小体，是病毒或尚未装配的病毒亚基的聚集体，属蛋白质性质，是有毒蛋白，作为生物农药。

优点：专一性高；毒性强；使用方便；对人、畜安全；保护环境。

噬菌斑(plaque)：在菌苔上逐步形成的噬菌体群体，由于其侵蚀宿主细胞的结果，会使菌苔上出现一个个具有一定形状、大小、边缘和透明度的噬菌斑。

第二节 病毒的繁殖

噬菌体(bacteriophage)的繁殖

吸附(adsorption)：吸附是特异性的，即在受体细胞上有吸附位点，这样的吸附不仅宿主细胞表面和噬菌体之间形成牢固的化学结合，而且病毒粒子本身在结构上也发生了变化。

当宿主细胞发生突变后，就不能被噬菌体吸附⇒抗噬菌体菌株。

宿主细胞：有吸附点；有调节机制：可以修复细胞壁的微小损伤；修复能力是有限的：一旦被噬菌体大量吸附，细胞就裂解而噬菌体没有增殖（自外裂解）

侵入（pentration）

尾部的酶水解肽聚糖，使细胞壁产生一小孔，注入核酸，而蛋白质外壳则留在细胞的外面。尾鞘可以明显提高噬菌体核酸的注入速率

增殖（replication）

核酸的复制；蛋白质的生物合成；噬菌体 DNA 一旦进入细胞中，细胞的活动受噬菌体 DNA 的支配，细胞核自动裂解成碎片，根据噬菌体的基因复制噬菌体的核酸、蛋白质等外壳

成熟（maturity）或装配

裂解(lysis)或释放(release)

在固体培养基表面可见噬菌斑；在液体培养基中可见培养物被溶解，培养基变清。

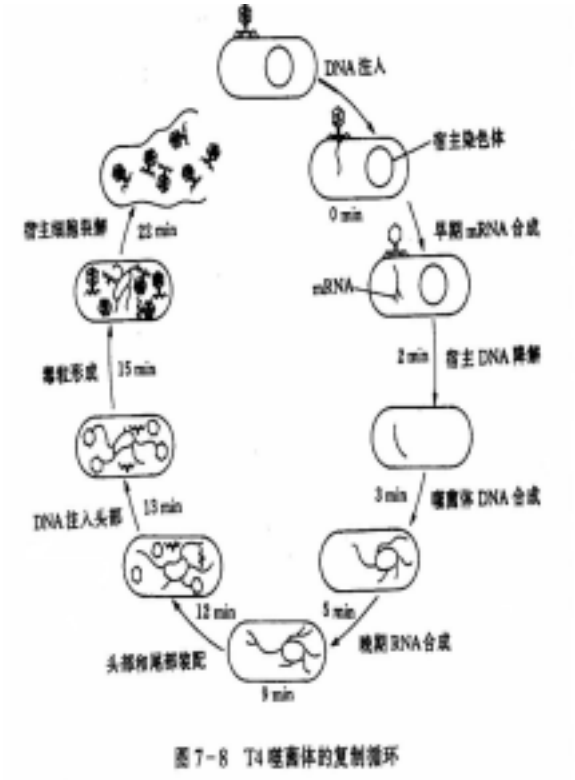


图 7-8 T4 噬菌体的复制循环

噬菌斑及噬菌体效价（titre）：在这里，效价表示每毫升试样中所含有的具侵染性的噬菌体粒子数，又称为噬菌斑形成单位数。

一步生长曲线(one-step growth curve)

潜伏期(latent phase)，裂解期(rise phase)，平稳期(burst size)。

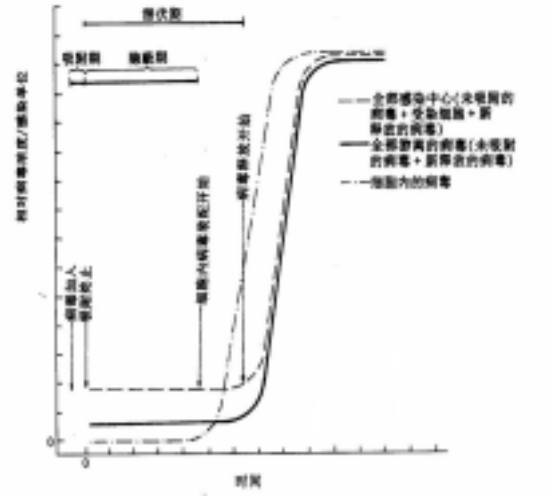


图 7-5 病毒繁殖的一步生长曲线

溶原性细菌（lysogen; lysogenic bacteria）

当温和噬菌体侵入宿主细菌细胞后，噬菌体 DNA 复制，但不合成蛋白质，宿主细胞也不裂解，继续进行正常的分裂繁殖，即在核染色体上整合有前噬菌体并正常生长。

在偶尔情况下，某一代发生裂解时放出新的子代噬菌体，故具有潜在释放成熟时菌体的能力。

溶原性细菌的特征：稳定遗传，自发裂解，诱发裂解，免疫性。

溶原性细菌的复愈：溶源转变。

溶原性（lysogeny）

烈性噬菌体（lytic phage）；

温和噬菌体（temperate phage）。

噬菌体 DNA 侵入宿主细胞后，噬菌体 DNA 随宿主细胞 DNA 复制，噬菌体蛋白质不能合成，宿主细胞也不裂解，继续进行正常的分裂繁殖。

原（前）噬菌体（prophage）：

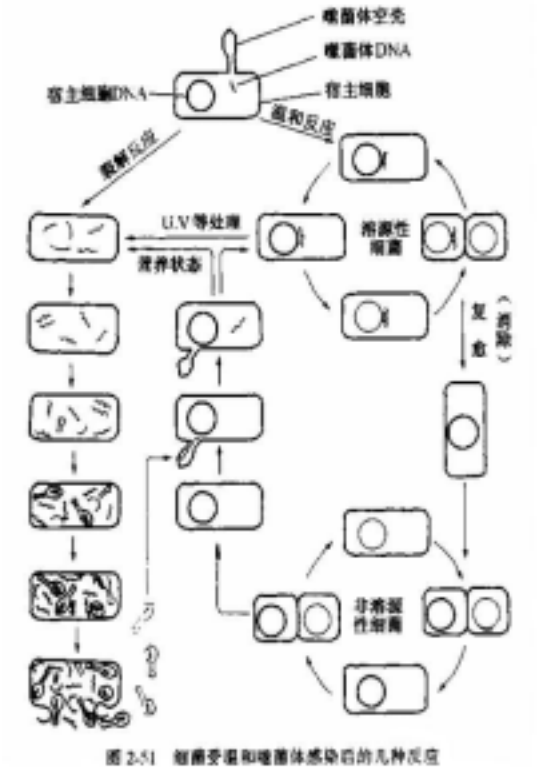


图 2-51 细菌受噬菌体感染后的几种反应

第二节 亚病毒（subvirus）

类病毒(viroid)

1971 年首次报道；现已鉴定的有 20 多种。

分子结构：含 246~375 个核苷酸的单链环状 RNA 分子，没有蛋白质外壳。

专性活细胞内寄生。

例：马铃薯纺锤形块茎类病毒(PSTV)；鳄梨白斑类病毒。

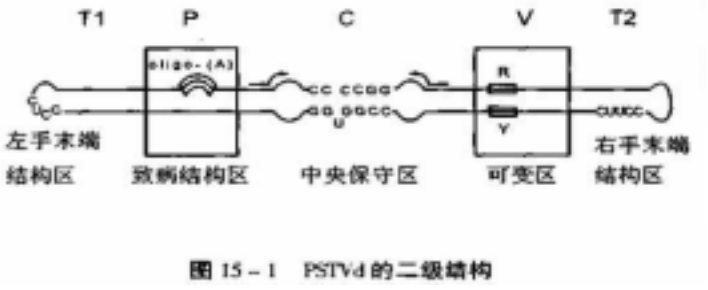


图 15-1 PSTVd 的二级结构

卫星 RNA（satellite RNA）

依赖辅助病毒(helper virus)进行复制的小分子单链 RNA 片段（拟病毒）

特性：必须依赖辅助病毒才能进行侵染和复制，可干扰辅助病毒的复制。

卫星病毒：必须依赖辅助病毒才能复制。

例：卫星烟草花叶病毒 STMV(Satellite tobacco moscire virus)。
丁型肝炎病毒（Hepatitis delta virus,HDV）δ肝炎病毒；辅助病毒：乙型肝炎病毒。

朊病毒（prion）

是蛋白质侵染因子(protein infection)；为疏水蛋白质。
1982 年美国斯坦利•普鲁西内尔 (S.B. Prusiner)提出；于 1997 年获诺贝尔生理学与医学奖。
朊病毒病：库鲁病（Kuru）；克－雅氏病（CJD，Creutzfeldt-Jakob disease）；GSS 综合症(Gerstmann-Straussler-Scheinker)；致死性家族失眠症（FFI，fatal familial insomnia）。
潜伏期长
人的朊病毒病三种形式：传染型，遗传型，散发型。

第三节 病毒与实践

噬菌体与发酵工业

噬菌体的分离培养：分离；纯化；制备；噬菌斑及效价测定。
噬菌体的防治：
污染的原因：生产菌株本身；环境及发酵罐本身；空气过滤器；环境；操作人员。
防治：识别：正确的判断，普及知识；消灭污染源：罐及管道的死角，控制活菌体的排放（摇瓶，排气），净化环境，筛选抗噬菌体菌株。

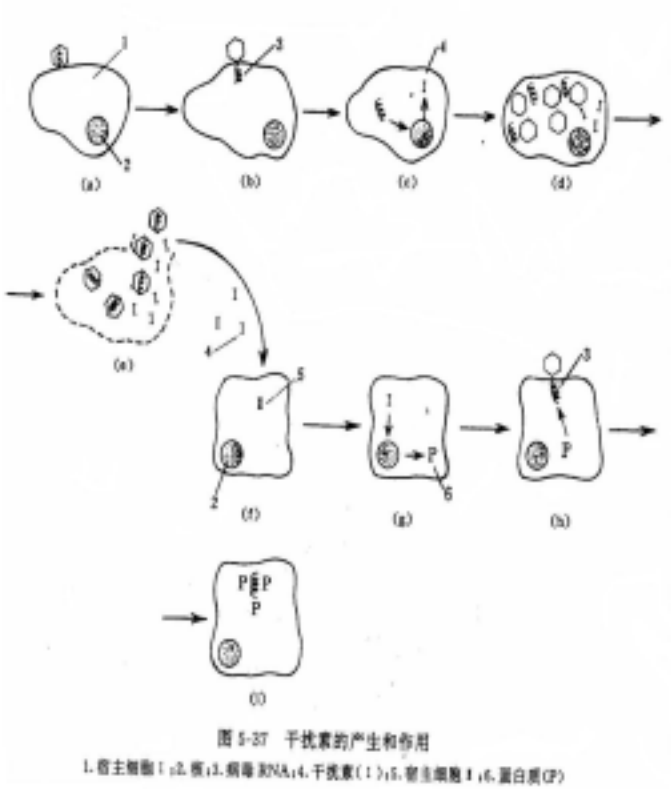


图 5-37 干扰素的产生和作用
1.宿主细胞Ⅰ；2.核；3.病毒 RNA；4.干扰素(Ⅰ)；5.宿主细胞Ⅱ；6.蛋白质(P)

病毒与人类的疾病

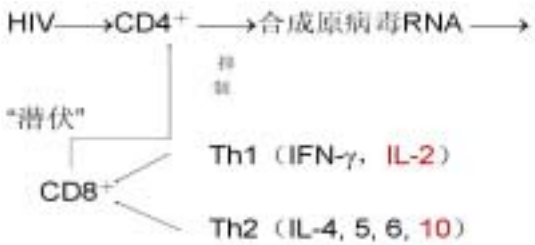
干扰素

1957 年发现，为糖蛋白，由大多数脊椎动物对病毒感染应答产生，天然的抗病毒物质。
干扰素诱导剂作用于活细胞后，由活细胞产生的一种蛋白质，当它再作用于其它细胞时，该细胞即可获得抗病毒和抗肿瘤等方面的免疫力
干扰素的作用机制 蛋白质和病毒核酸结合⇒ 抑制病毒的反转录
干扰素的种类
α- 干扰素：白细胞干扰素
β- 干扰素：成纤维细胞干扰素
γ- 干扰素：免疫干扰素（是由淋巴细胞接受抗原刺激而产生的）。
天然产生的很少，一般是由基因工程菌产生的

人类的病毒病

一般的病毒病：天花；小儿麻痹症(脊髓灰质疫苗)；肝炎(乙肝疫苗、甲肝疫苗)；脑膜炎。
理想的药物不多,一般注射疫苗加以预防。
肿瘤：1911 年，病毒可以使鸡致癌。
现在认为人体存在癌基因，癌基因有防癌的作用，但当它发生细胞突变时，其结构发生变化，失去抑制细胞生长的能力，从而导致癌变。
艾滋病（Aids）：全称为人类获得性免疫缺陷综合症(Acquired Immune Dificiency Syndrome)，由人体免疫缺损病毒（HIV）引起。 1987 年定名。

HIV 病毒为球形。有两种：HIV-1 危害人体（9 型，A B C D E F G H O）。
致病原理：
正常的免疫系统：抗原传递给 T 细胞⇒B 细胞⇒产生抗体。



HIV 病毒与 T 细胞相似，从而破坏了正常的免疫系统，由于没有了抗体，故表现出抵抗力差。原先寄生于中非猴类上的小小病毒

1981 年首先在中美洲发现
1983 年从病原体上分离到了该病毒
1987 年定名为 HIV

治疗：疫苗：灭活疫苗，重组疫苗。药物：AZT(叠氮脱氧胸腺嘧啶核苷)。
传播途径：不正常性行为，血液，注射器，母婴传给幼儿。
防止策略：抑制病毒 HIV 的增殖，增强机体的免疫力，杜绝传播途径。
病毒在基因工程中的应用
只有一半左右的基因参与其生命活动，因此可插入分子量较大的 DNA 片段。
λ噬菌体：科斯质粒（cosmid）：λ噬菌体的粘性末端和质粒构建而成。
特点：感染力强；cos 位点连接形成环状，似质粒；可克隆大片段。
用途：理论研究；包涵体：昆虫病毒的多角体用于生物防治；吞噬绿脓杆菌。
危害：工业发酵的污染；人类的疾病。

第五章　微生物的营养和培养基

营养(nutrition)：生物体从外部环境中摄取对其生命活动必须的能量和物质，以满足正常生长和繁殖需要的一种最基本的生理功能。
营养物(nutrient)：具有营养功能的物质。

第一节　微生物的六种营养要素

细胞的化学组成：元素：C、H、O、N、矿物元素；存在形式：有机物、无机物。
微生物是杂食性的：一般生物能利用的，微生物能利用；一般生物不能利用的，微生物也能利用；一般生物有害的，微生物还能利用。
微生物的营养要素：碳源、氮源、能源、生长因子、无机盐、水。
碳源(carbon source)：有机碳源：淀粉、葡萄糖等；无机碳源：Na_2CO_3 等。
葡萄糖、乳糖的二次生长。
氮源(nitrogen source)：有机氮源：蛋白胨、黄豆粉、玉米浆；无机氮源：NH_4NO_3、$(NH_4)_2SO_4$；速效氮源，迟效氮源。
能源(energy source)：化学物质，辐射能。
生长因子(growth factor)：有三类：氨基酸，维生素，核苷酸。
无机盐：提供矿物元素和微量元素。
水：水是良好的溶剂；生化反应在水中进行；水的比热大。

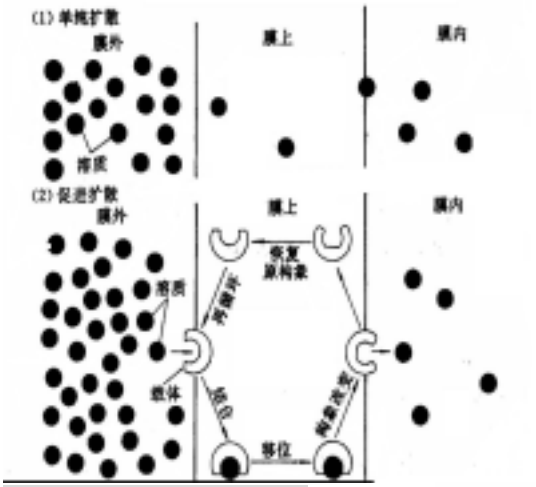
第二节　微生物的营养类型

划分依据：碳源和能源。

碳源\能源	化学能	光能
有机物	化能异养型	光能异养型
无机物	化能自养型	光能自养型

第三节 营养物质进入细胞的方式

营养物质的吸收与代谢产物的分泌，涉及到物质的运输，而关键是细胞膜。
运输：不耗能运输（单纯扩散，促进扩散）；耗能运输（主动运送，基因移位）。

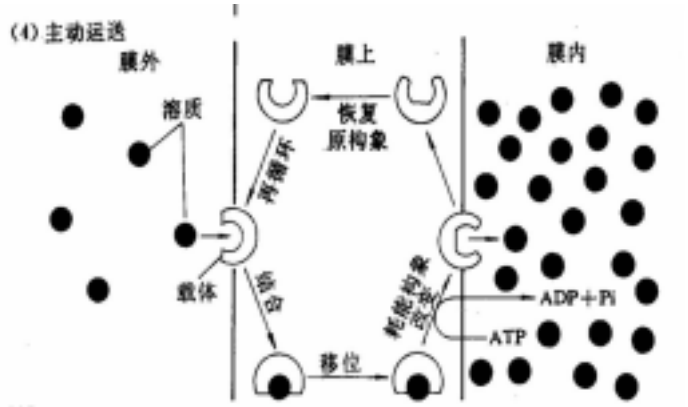


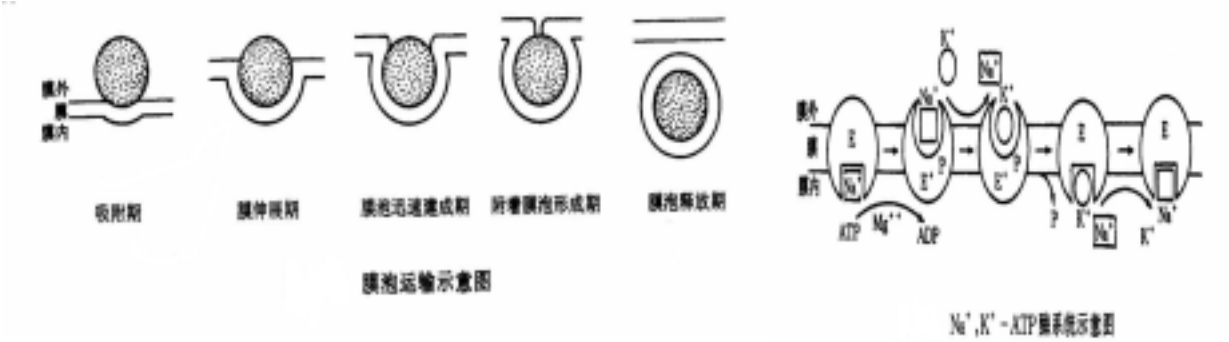
单纯扩散(simple diffusion)
氧、二氧化碳、乙醇、某些氨基酸等小分子；亲脂性分子从高浓度到低浓度的扩散来运输
它利用细胞膜的通透性，细胞膜是一道屏障。
又称被动运输(passive transport)

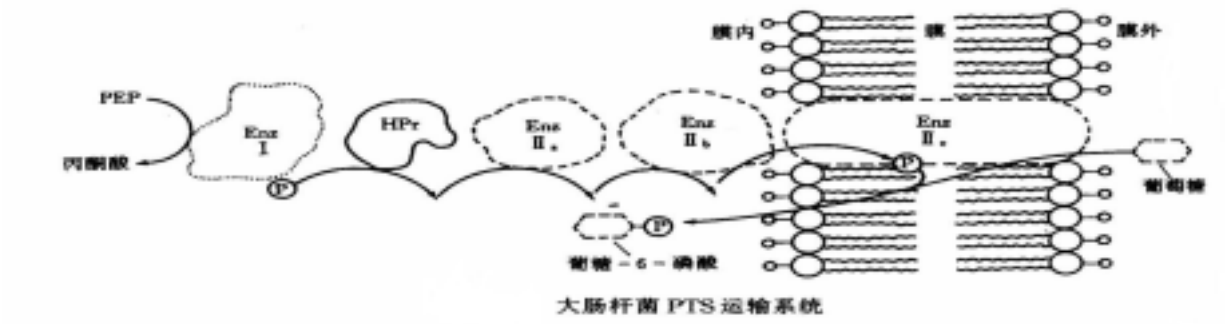
促进扩散(facilitated diffusion)
需要特异性载体蛋白(carrier protein)，即渗透酶（大多为诱导酶）。
每种载体蛋白运输相应的物质。
从高浓度到低浓度。
原理：利用膜内、膜外被运输物质和载体蛋白的亲和力的不同。

主动运送(active transport)
是微生物吸收营养的主要方式。
需要特异性载体蛋白
需要能量来改变载体蛋白的构象。
是逆浓度梯度的运输。

基团移位(group translocation)
在运输过程中，物质分子发生了化学变化。
每输入一个葡萄糖分子，就要消耗一个 ATP 的能量。







第四节 培养基

培养基(medium，culture medium)：是一种人工配制的、适合微生物生长繁殖或产生代谢产物用的混合养料。

选用和设计培养基的原则和方法

四个原则：目的明确（根据不同微生物的营养需要配制不同的培养基）；营养协调（注意营养物的浓度和配比，特别是碳氮比（ C/N ））；物理化学条件适宜（PH、渗透压、水活度）；经济节约。

四种方法：生态模拟，查阅文献，精心设计，试验比较。

培养基的种类及其应用

按对培养基的了解来分

天然培养基(complex medium, undefined medium)，较经济，一般用于大规模生产

组合培养基(defined medium)或称合成培养基(synthetic medium)，较昂贵，一般用于研究工作（代谢、遗传分析），特点：组份精确，重复性好。

按培养基外观的物理状态来分

固体培养基(solid medium)，一般加有凝固剂，凝固剂含量一般为 1～2%

作为凝固剂的条件：不被微生物分解利用，生长温度范围内保持固体状态，凝固点温度对微生物无害，不因灭菌而破坏，透明度好、配制方便、价格低。

用途：由于固体培养基能提供表面，形成单菌落，因此可用于：菌种分离、鉴定、保藏等

半固体培养基(semi-solid medium)，凝固剂含量一般约为 0.5%

用途：观察细菌的运动，测定噬菌体效价等。

液体培养基(liquid medium)，培养基中没有凝固剂。

用途：大量培养微生物，研究生理代谢等。

按培养基的功能来分

选择培养基(selected medium)

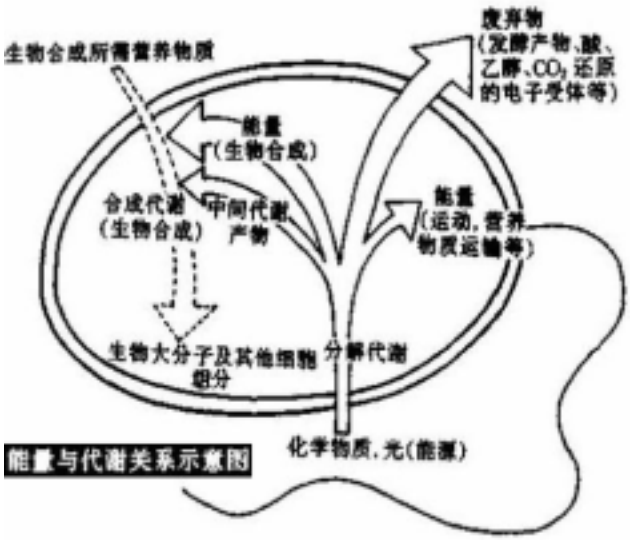
用途：将混合军中所需的目的微生物分离出来

加富培养基(enriched medium)

鉴别培养基(differential medium)

用途：细菌学检验遗传研究

第六章 微生物的代谢和发酵

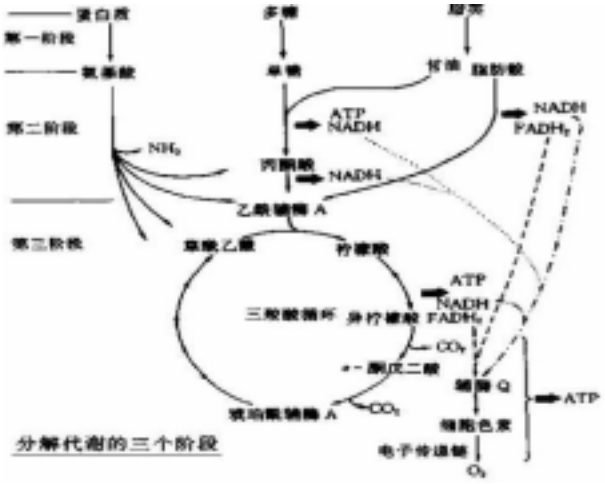


能量与代谢关系示意图

新陈代谢(metabolism)简称代谢，是指发生在活细胞中的各种分解代谢(catabolism)和合成代谢(anabolism)的总和。即新陈代谢＝分解代谢＋台成代谢

分解代谢又称异化作用，是指复杂的有机物分子通过分解代谢酶系的催化产生简单分子、能量(一般以腺苷三磷酸即 ATP 形式存在)和还原力(或称还原当量，一般用[H]来表示)的作用。

合成代谢又称同化作用，与分解代谢正好相反，是指在合成代谢酶系的催化下，由简单小分子、ATP 形式的能



量和[H]形式的还原力一起，共同合成复杂的生物大分子的过程。

$$\text{复杂分子（有机物）} \xrightleftharpoons[\text{合成代谢酶系}]{\text{分解代谢酶系}} \text{简单分子} + \text{ATP} + [\text{H}]$$

初级代谢：

次级代谢：

最初的能源（primary energy sources）：有机物，还原态无机物，日光辐射能。

通用能源（universal energy source）：ATP。

第一节 微生物的能量代谢

生物氧化：脱氢、递氢、受氢。

形式	过程	功能
与氧结合	脱氢（电子）	产 ATP
脱氢	递氢（电子）	产还原力[H]
失去电子	受氢（电子）	小分子中间代谢物

发酵：基质为有机物，最终电子受体为有机物。

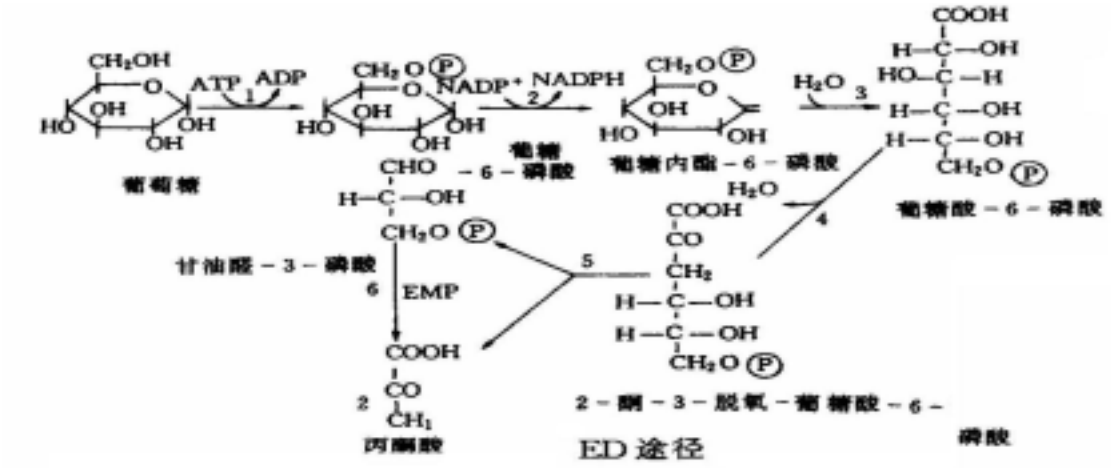
葡萄糖→ 丙酮酸（EMP 途径）

产生 2 个 ATP（ 底物水平磷酸化）

由于基质氧化不彻底，发酵的结果仍积累有机物，所以产生的能量较少。

例：葡萄糖→ 丙酮酸→乳酸，产生 54 kcal 的能量

不同的微生物发酵可产生不同的产物，例：葡萄糖→ 丙酮酸→乳酸 or 乙醇 or 丙酮丁醇



1. 己糖激酶 2. 磷酸葡萄糖脱氢酶 3. 内脂酶 4. 磷酸葡萄糖酸脱水酶
5. 2－酮－3－脱氧－6－磷酸葡萄糖酸醛缩酶 6. EMP 途径中有关的酶

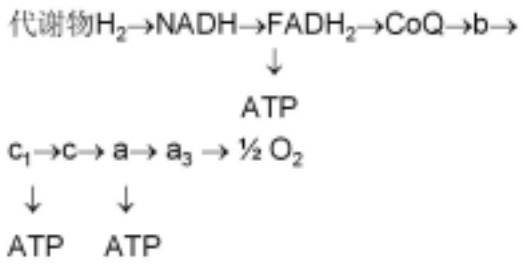
有氧呼吸：彻底的氧化过程。基质为有机物，最终电子受体为分子氧。

葡萄糖→CO_2 + H_2O

产生 38 个 ATP，其中底物水平磷酸化产生 2 个 ATP，氧化磷酸化产生 36 个 ATP

EMP 途迳：葡萄糖→丙酮酸；丙酮酸→乙酰 CoA（氧化脱羧体系）；TCA 循环。

电子传递链



无氧呼吸：

基质为有机物，最终电子受体为无机物。

$C_6H_{12}O_6+12KNO_3 \rightarrow 6CO_2+12KNO_2+6H_2O$ ＋ 429kcal

三种生物氧化方式的产能水平比较

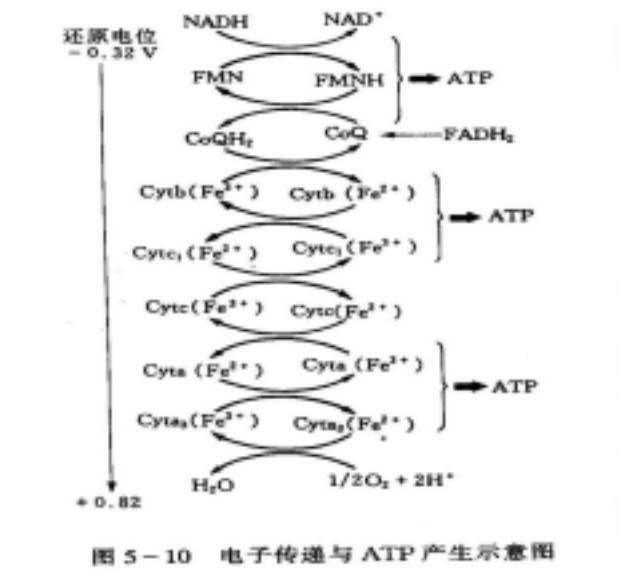


图 5－10 电子传递与 ATP 产生示意图

最高：有氧呼吸，第二：无氧呼吸，最低：发酵。

“鬼火”的生物学解释：

在无氧条件下，某些微生物在没有氧、氮或硫作为呼吸作用的最终电子受体时，可以磷酸盐代替，其结果是生成磷化氢(PH_3)，一种易燃气体。当有机物腐败变质时，经常会发生这种情况。若埋葬尸体的坟墓封口不严时．这种气体就很易逸出。农村的墓地通常位于山坡上，埋葬着大量尸体。在夜晚，气体燃烧会发出绿幽幽的光，长期以来人们无法正确地解释这种现象，将其称之为“鬼火”。

烃类化合物的分解

烃类化合物主要是被氧化，是一个绝对需氧的过程，在缺氧条件下，烃类完全不受微生物影响。（所以地下沉积的石油会长期不变）

能分解烃类的微生物：细菌（假单胞菌，分枝杆菌，棒状杆菌）；放线菌（链霉菌，诺卡氏菌）；酵母菌。一般在油田及炼油厂附近都能分离到。

应用：萘被假单胞菌利用生成水杨酸；丙烯氰生成丙烯酰胺；石油脱蜡；石油代替粮食发酵；石油探测。

绝对好氧：优点：石油不被破坏；缺点：发酵过程需通入大量氧气，消耗动力；发酵培养基中需要加乳化剂（因为烃类石油类物质，与水不相容）。

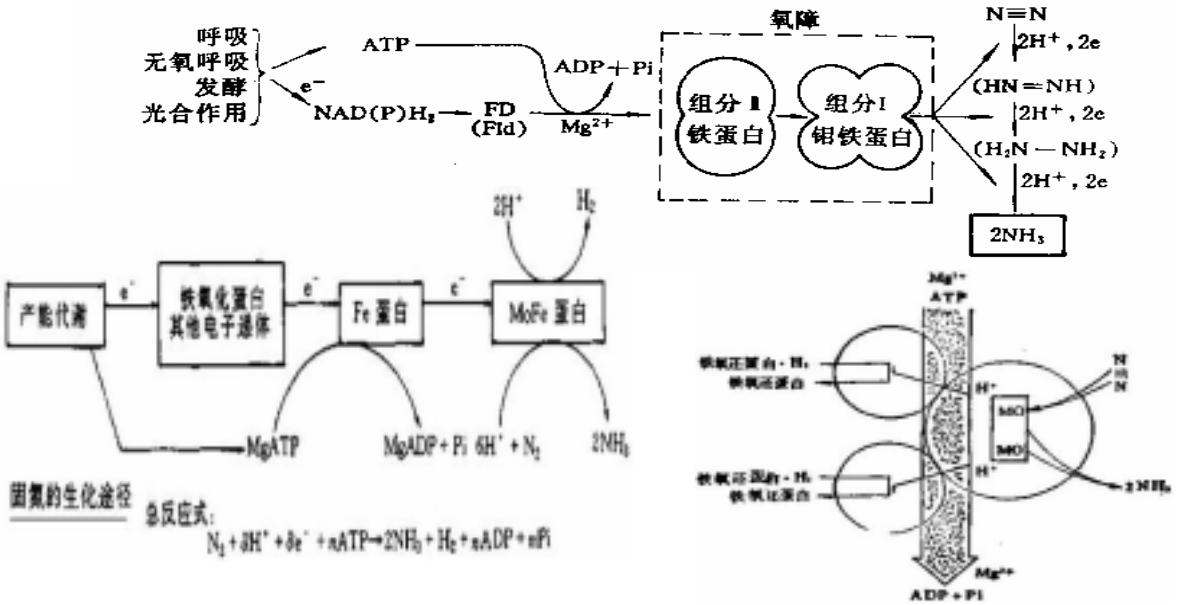
第二节 生物固氮

固氮生物：能使氮分子还原成氨的生物。 一般均为原核生物，于 1888 年分离到。

能固氮的微生物：自生固氮菌，共生固氮菌，联合固氮菌。

固氮的生化机制：固氮反应的必要条件：固氮酶(nitrogenase)，能量（ATP），还原力，严格的厌氧微环境。

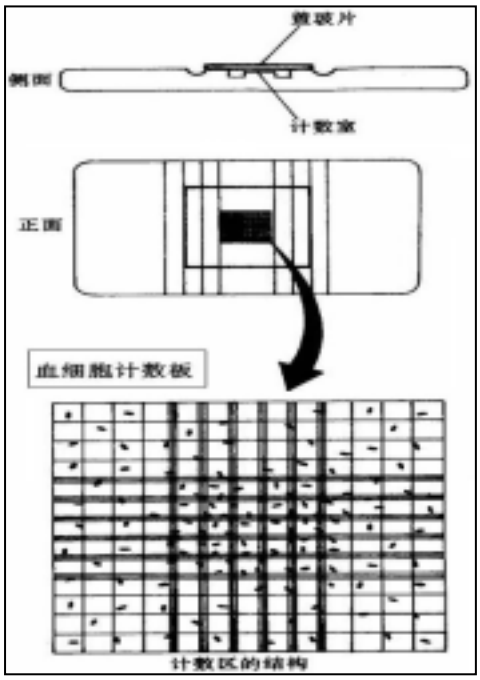
固氮的生化途径：$N_2+8[H]+18\sim24ATP\rightarrow2NH_3+H_2+18\sim24ADP+18\sim24Pi$



第七章　微生物的生长及其控制

生长(growth)：个体体积或重量的变化；繁殖(reproduction)：个体数量的变化。
个体生长→个体繁殖→群体生长；群体生长＝个体生长＋个体繁殖。
生长和繁殖是交替进行的。
衡量群体生长的量：重量、体积、密度、浓度、个体数目等。

第一节　测定生长繁殖的方法



纯培养的分离法
自然界中的微生物都是杂居在一起的，每种微生物的生长情况是不同的。
纯种分离：稀释到平皿法；平板划线分离法；单细胞挑取法；利用选择培养基分离法。
微生物生长的测定
测定生长量：测体积；称干重；比浊法；生理指标法(测含氮量；测含碳量；测磷、DNA、RNA、ATP。)
测细胞的个数：比例计数法、血球计数法、平板活菌计数法。

第二节　微生物的生长规律

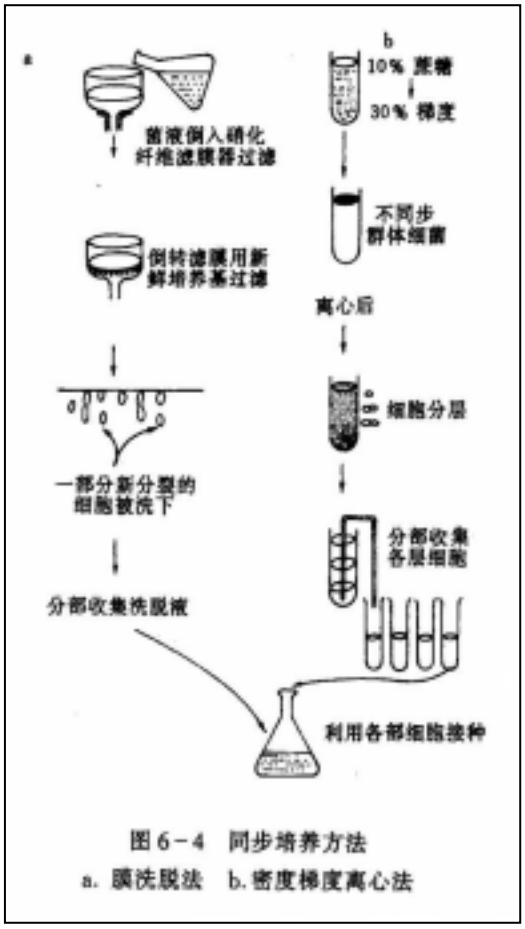
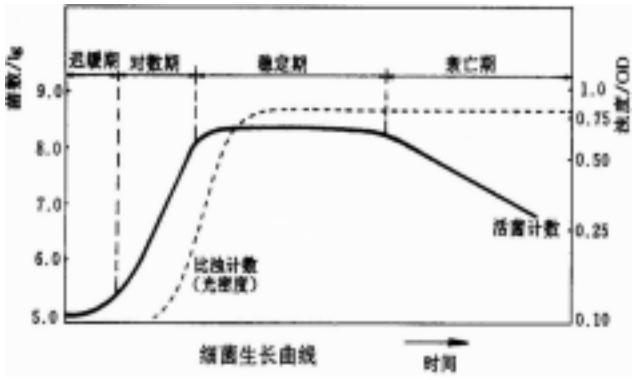


图 6－4　同步培养方法
a. 膜洗脱法　b. 密度梯度离心法

细菌的个体生长和同步生长。
研究细菌个体的生长方法：用电子显微镜观察细胞的超薄切片；
同步培养(synchronous culture)：使群体中的所有个体细胞尽可能的处于同样细胞生长和分裂期中。
同步生长（synchronous growth）：通过同步培养使细胞群体处于分裂步调一致的状态。
获得同步生长的方法：选择法，诱导法。
典型生长曲线(growth curve)
四个阶段：
延滞期、指数期、稳定期、衰亡期。



生长速率常数(growth rate constant)：每小时分裂的代数 R。

延滞期(lag phase)

特点：生长速率常数为零，代谢活跃，对外界不良环境敏感，细胞变大，RNA(特别是 rRNA)含量增高。

如何缩短延滞期：种龄，接种量，培养基成分。

指数期(exponential phase)

特点：生长速率常数最大，代时(generation time)最短，细胞平衡生长，酶系活跃，代谢旺盛。

作为发酵生产的良好种子，可缩短延滞期。

稳定期(stationary phase)

特点：生长速率常数为零，菌体产量达最高点，菌体产量与营养物消耗有一定的比例关系。

稳定期到来的原因：营养物耗尽，营养物比例失调，积累了有害代谢产物，理化条件不适宜。

如何延长稳定期：补料（增加养料，调节 PH）。

细胞开始贮存糖原、异染颗粒和脂肪等贮藏物，芽孢杆菌开始形成芽孢，积累次级代谢产物。

初生代谢物(primary metabolites)，次生代谢物(secondary metabolites)，稳定期产物(idiolites)，菌体生长期(trophophase)，代谢产物合成期(idiophase)。

衰亡期(decline phase；death phase)

特点：负生长，菌体自溶。

如何利用生长曲线指导生产？种龄：利用对数生长期的种子；延长稳定期；确定放罐时间。

微生物的连续培养：单（分）批培养(batch culture)，密闭培养(closed culture)，连续培养(continuous culture)，开放培养(open culture)。

恒浊器（turbidostat）

改变培养基的流速，以控制菌的浓度恒定。

微生物在恒浊器中始终以最高的生长速率进行生长。

用于获得大量菌体、与菌体生长相平行的代谢产物的生产。

恒化器（chemostat；bactogen）

培养基的流速恒定，以某一营养物为生长限制因子。

用于与生长速率相关的理论研究。

单级连续培养器(one-step continuous fermentor)：

代谢产物的生产速率与菌体生长速率平行。

多级连续培养器(multi-step continuous fermentor)：

代谢产物的生产速率与菌体生长速率不平行。

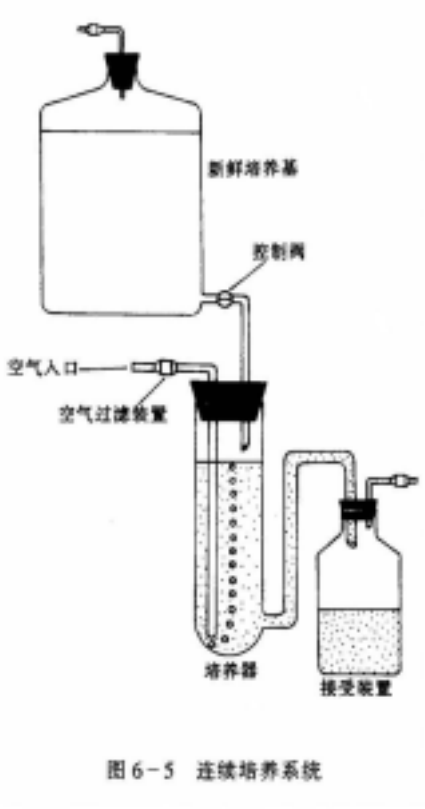


图 6-5 连续培养系统

连续发酵（continuous fermentation）

连续培养用于生产实践时，就称为连续发酵

连续培养的优缺点

优点：高效，便于自动控制，产品质量稳定。

缺点：菌种易退化，易污染杂菌，培养基利用率低。

高密度培养（high cell-density culture） 基因工程菌

提高产物的比生长率：单位时间单位体积内的产物量。

提高分离提取的效率（下游工程 down-stream processing）。

关键问题：补料，提高溶解氧浓度。

第三节 影响微生物生长的主要因素

温度 从两个方面来看：

温度上升，反应速率加快，生长速率加快；温度上升，蛋白质、核酸被破坏。

微生物的生长有一个温度范围，在这个范围内有一个生长的最适温度、最低温度和最高温度。

最适温度：菌代时最短，生长速率最高。

氧气

专性好氧菌(strict aerobe)，兼性厌氧菌(facultative aerobe)，微好氧菌(microaerophilic bacteria)，耐氧菌(aerotolerant anaerobe)，厌氧菌(anacerobe)。

好氧生物因为有SOD,因此剧毒的超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot -}$) 被歧化成毒性稍低 的H_2O_2，在过氧化氢酶的作用下，H_2O_2 再变成无毒的 H_2O。

PH

最适 PH，最低 PH，最高 PH。

PH 的影响：影响营养物的离子化程度，影响环境中有毒物质对微生物的粗性，影响代谢反应中各种酶的活性。

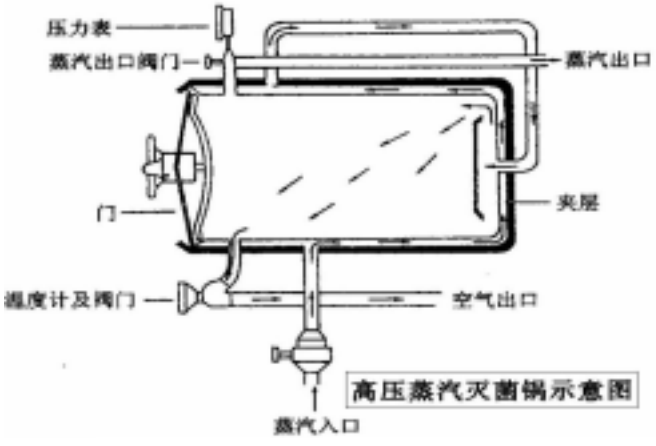
第四节 有害微生物的控制

灭菌(sterilization)：采用强烈的理化因素使任何物体内外部的一切微生物永远丧失其生长繁殖能力的措施，称为灭菌。

消毒(disinfection)：采用较温和的理化因素，仅杀死物体表面或内部一部分对人体或动植物有害的病原菌，而对被消毒的对象基本无害的措施。

防腐(antisepsis)：利用某种理化因素完全抑制霉腐微生物的生长繁殖，即通过制菌作用（becteriostasis）防止食品、生物制品等对象发生霉腐的措施。

化疗(chemotherapy)：利用具有高度选择毒力（selective toxicity）即对病原菌具高度选择毒力而对其宿主基本无毒的化学物质来抑制宿主体内病原微生物的生长繁殖，借以达到治疗该宿主传染病的一种措施。



高压蒸汽灭菌锅示意图

物理杀菌因素的代表——温度

利用高温杀菌：干热灭菌（焚烧灭菌，灼烧灭菌）；湿热灭菌（煮沸消毒法，高压蒸汽灭菌法，间歇灭菌法，巴斯德消毒法）

化学杀菌剂或抑菌剂

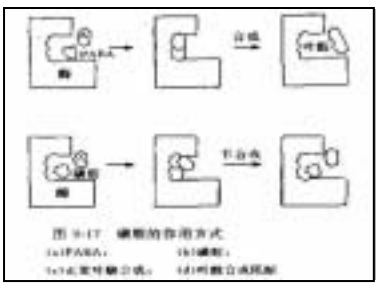
表面消毒剂（重金属盐类：红汞；有机化合物：酚类、醇类、酸类、醛类；氧化剂：卤素及其化合物；表面活性剂：新洁尔灭，肥皂；染料：龙胆紫；气体：环氧乙烷）。

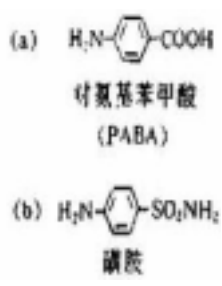
抗代谢药物的代表

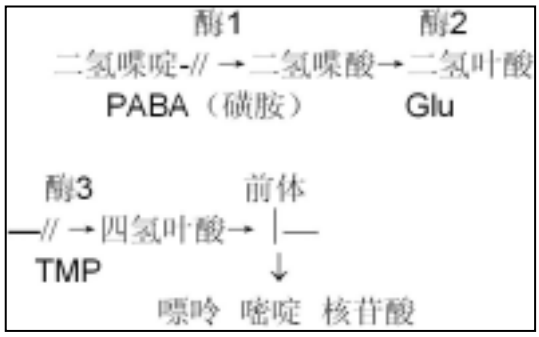
——磺胺类药物

抗代谢药物一类在化学结构上与细胞内必要代谢物的结构相似，并可干扰其正常代谢活动的化学物质。

SMZ：磺胺二甲恶唑（sulfamethoxazole）







抗生素

抑制细胞壁的形成－青霉素（青霉素不能口服，它不耐酸，在胃中被降解）；
影响细胞膜的功能－多粘菌素；
干扰蛋白质合成－链霉素；
阻碍核酸的合成－博莱霉素。
微生物的抗药性。

微生物对环境的适应性

产生钝化酶；改变细胞膜的透性；细胞内被药物作用的部位发生改变。

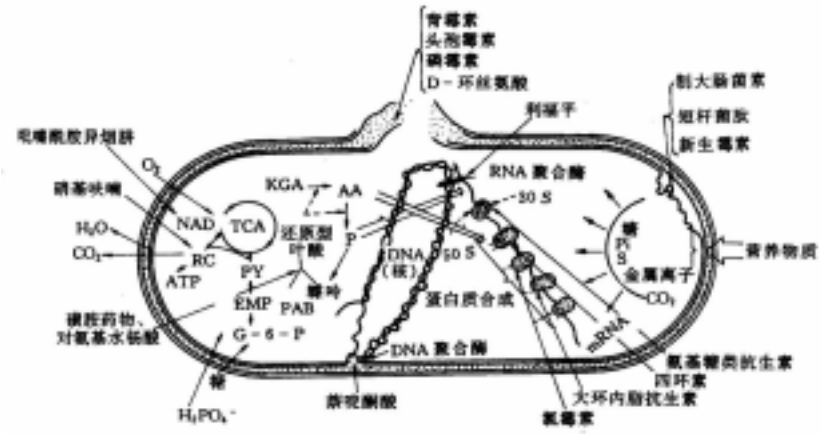


图 6－14 某些抗生素的作用部位

AA. 氨基酸 KGA. α－酮戊二酸 TCA. 三羧酸循环 PY. 丙酮酸 RC. 呼吸链 P. 嘌呤或嘧啶

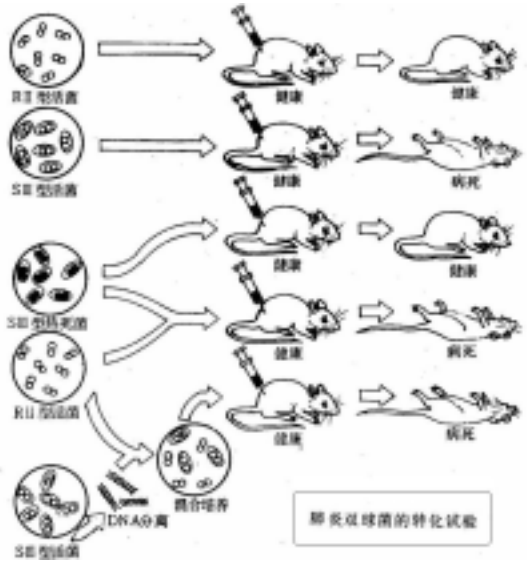
利用抗药性来指导生产

例：如何利用抗磺胺类药物的菌株生产对氨基苯甲酸？
磺胺
对氨基苯甲酸
如果对氨基苯甲酸增加，磺胺药疗效降低，所以寻找抗磺胺药的菌株就可增加对氨基苯甲酸的产量。

第八章 微生物的遗传变异和育种

遗传性：亲代具有把他所有的形状给子代的特性。
变异性：子代具有改变亲代遗传性状的特征。
遗传型（genotype），表型（phenotype），变异（varition），饰变（modification）。

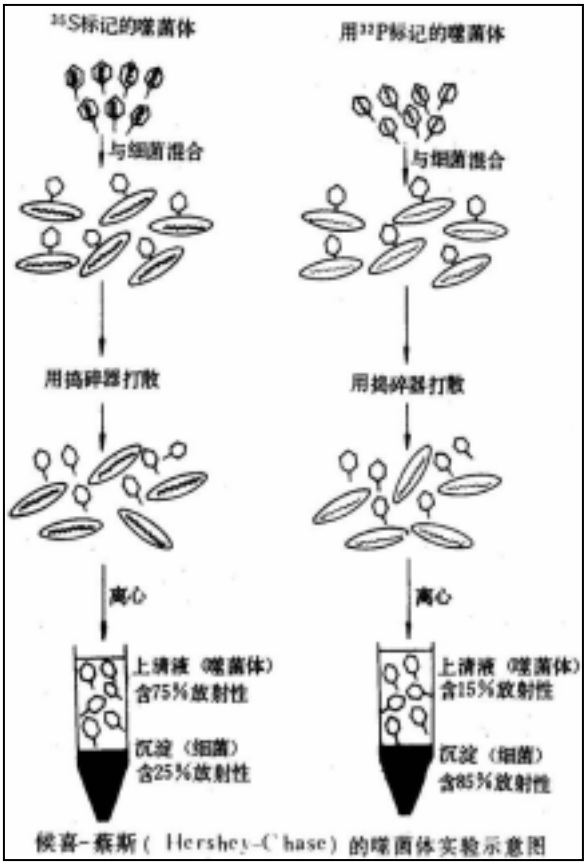
第一节 遗传变异的物质基础



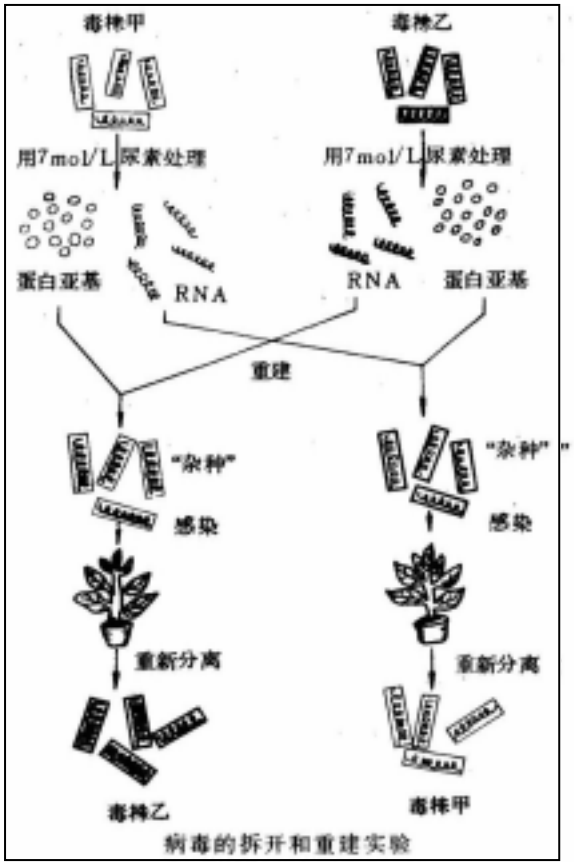
三个经典实验：
转化试验：1928 年，F. Griffith，肺炎双球菌，Streptococcus pneumoniae。
1944 年,O.T.Avery

DNA	RNA	蛋白质	多糖	DNA+DNA 酶
R II	R II	R II	R II	R II
少量 SIII	-	-	-	___

噬菌体感染试验:1952 年,A. D. Hershey（侯喜）M. Chase（蔡斯）
病毒的重建试验: 1956 年，H. Fraenkel-Conrat（弗朗克－康勒脱）
噬菌体感染试验和病毒的重建试验的说明图见下页



候喜-蔡斯（Hershey-Chase）的噬菌体实验示意图



病毒的拆开和重建实验

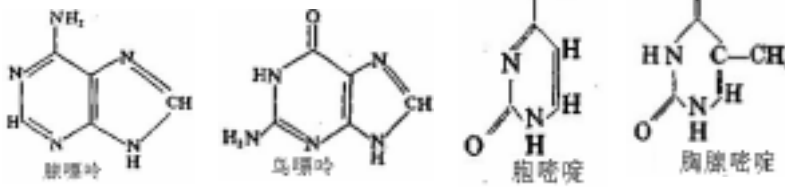
朊病毒的发现和思考：蛋白质是否是遗传的物质基础？prp^{sc}，蛋白质折叠。

DNA 的结构

基本单位是核苷酸：核糖(戊糖)＋碱基＋磷酸。

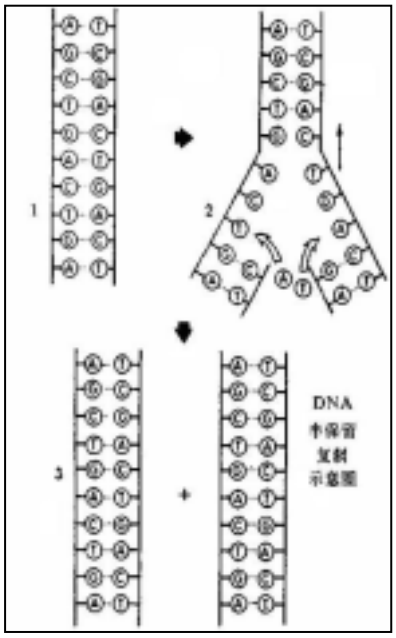
碱基有四种：腺嘌呤（A），鸟嘌呤（G），胸腺嘧啶（T），胞嘧啶（C）。





单链上的碱基不受配对的限制，决定了遗传的多样性。

半保留的自我复制保证了生物遗传的相对稳定。



第二节 基因突变和诱变育种

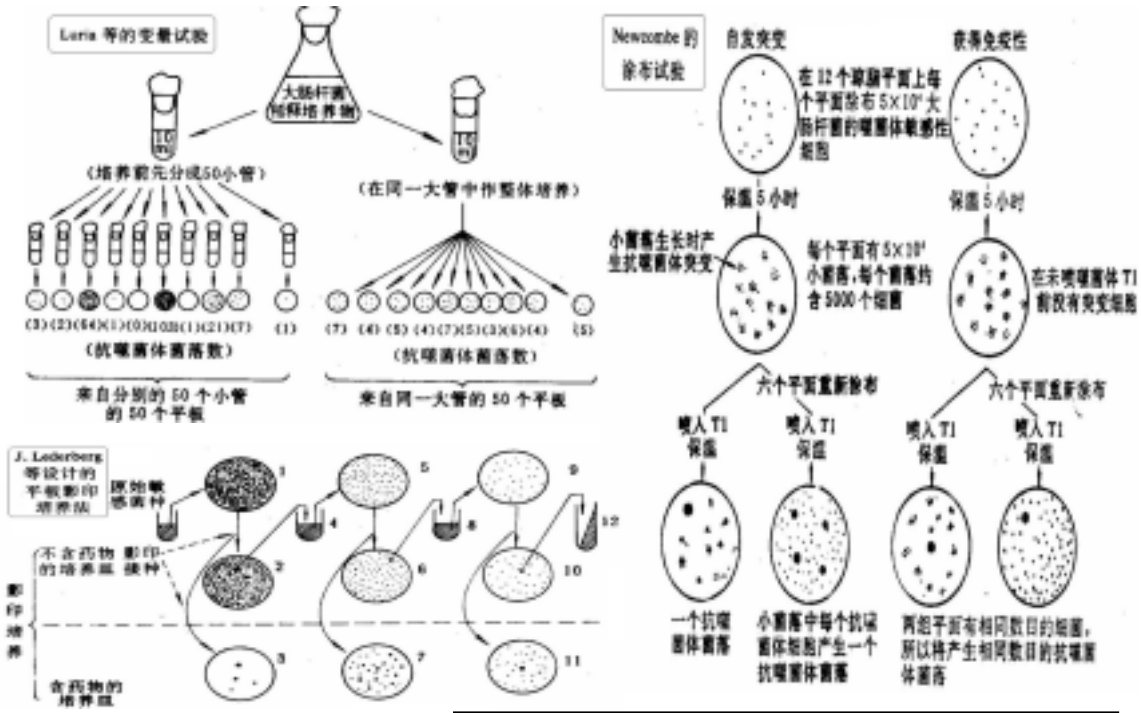
基因突变（gene mutation）：突变细胞的遗传物质的分子结构或数量发生可遗传的变化。

突变的类型：

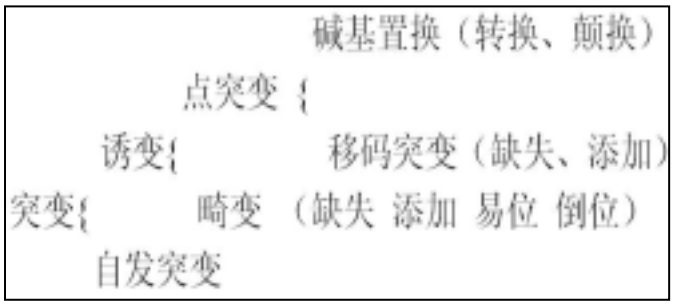
营养缺陷型（auxotroph）菌株:野生型菌株发生基因突变而丧失合成一种或几种生长因子的能力,从而不能在基本培养基上生长的变异菌株。

抗性突变型（resistant mutant）菌株:野生型菌株发生基因突变而对某化学药物或致死物理因子产生抗性的菌株。

条件致死突变型（conditional lethal mutant）菌株:菌株发生基因突变后,在某种条件下可正常生长，而在另一种条件下无法生长。
形态突变型（morphological mutant）菌株:菌株发生基因突变，而在个体形态或菌落形态上发生突变的菌株。
抗原突变型（antigenic mutant）菌株:菌株发生基因突变，而在细胞抗原结构上发生变异的菌株。
产量突变型（metabolite quantitative mutant）菌株:菌株发生基因突变，在代谢产物产量上明显有别于原始菌株的突变株。
正变株（plus-mutant）；负变株（minus-mutant）。
突变率（mutation rate）：一个细胞每一世代某一性状突变的几率；群体中每一世代（分裂一次）产生突变的个数。 突变率：10^{-8}
基因突变的特点：
不对应性：突变的性状与引起突变的原因之间没有直接的对应关系；
自发性（10^{-6}～10^{-9}）；稀有性；独立性；可诱变性；稳定性；
可逆性：回复突变（reverse(back)mutation）。
证明基因突变自发性和不对应性的实验：
变量试验(fluctuation test)：波动试验、彷徨试验；1943 年；S. E. Luria & M. Delbruck。
涂布试验：1949 年，H.B.Newcombe
影印平板培养法(replica plating):1952 年,J. Lederberg



微生物产生抗药性的途径：
基因突变而产生抗药性；
抗药性质粒的获得(R 因子)；
生理上的适应。
基因突变及其机制：
右图为突变的类型。



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/166114204203011045