

环境微生物学复习笔记 2020 年 12 月 20 日于 6407

体积小、比表面积大、形态简单
 吸收多、转化快
 生长旺、繁殖快、数量多
 适应强、易变异
 分布广、种类多

	微生物 Micro-organisms	大(高等)生物 Macro-organism	所属原界
原核细胞物 prokaryotes	真细菌 eubacteria	(无)	真细菌原界 Bacteria
	原始细菌 archaebacteria	(无)	古细菌原界 Archaea
真核细胞生物 eucaryotes	真菌 fungi 藻类 algae	动物 Animals 植物 Plants	真核生物原界 Eucarya

如何简单判断病毒还是细菌感染？

可以看白细胞计数(WBC)和中性粒细胞比率(N%)。如果有感染症状，WBC 和 N 明显增多，判断可能存在细菌感染，WBC 正常或低于正常值，淋巴细胞明显升高，判断可能存在病毒感染。

原核生物，真核生物比较

细胞大小、细胞壁主要成分、细胞膜呼吸酶/光合组分、细胞质、细胞核（核膜、核仁、染色体、DNA、组蛋白、分裂方式）、鞭毛结构、固氮能力（真核生物无）、氧化代谢部位、光合作用部位、繁殖方式（真核生物是有性生殖、无性生殖）

真核微生物

	酵母菌	霉菌	微型藻类	原生动物
分布	含糖较高的偏酸性环境，烃类含量高的环境			
细胞结构	细胞核：核膜（核孔），核仁，染色体 细胞壁：葡萄糖、蛋白质、甘露聚糖、纤维素、几丁质	无隔膜菌丝（单细胞、多核）有隔膜菌丝（多细胞）	光合作用 叶绿体、光合色素	

	细胞膜：脂质双层结构 + 甾醇 细胞质：80s 核糖体，异染粒等贮藏物，液泡（水解酶、营养物）、中心体、线粒体			
形态	球形、椭球形、圆柱形 假菌丝		个体微小 低等植物	
繁殖方式	无性繁殖：芽殖 / 裂殖 / 无性孢子 有性繁殖：子囊和子囊孢子 / 担子和担孢子	无性孢子： 孢囊孢子 / 分生孢子 / 节（粉）孢子 / 厚垣孢子 有性孢子： 卵孢子 / 接合孢子 / 子囊孢子 菌丝断片		
培养特征	固体培养基（菌落） 液体培养基：均匀生长	大、疏松、绒毛状、蛛网状、絮状、颜色、液面		
代表属及应用	发酵型酵母菌：食品加工 氧化型酵母菌：石油脱蜡，重金属监测 废水处理	青霉素	绿藻、硅藻、甲藻	鞭毛虫 变形虫 游泳型纤毛虫、漫游虫 草履虫、扭头虫、钟虫 吸管虫、胞囊

发酵：微生物（酵母、霉菌、细菌）分解有机物，产生乳酸或乙醇和二氧化碳的作用过程

病毒

真病毒：至少含有核酸和蛋白质两种组分

亚病毒：类病毒 只含具单独侵染性 RNA 组分

拟病毒 只含无单独侵染性 RNA 组分

朊病毒 只含有蛋白质一种组分

（1）核酸内芯（核髓）：DNA 或 RNA

（2）衣壳：由衣壳粒（蛋白质亚单位）组成

核酸内芯 + 衣壳 = “核衣壳” —— 病毒粒子

(3) 包膜（被膜）：脂肪、多糖

病毒的感染（繁殖）过程

吸附

侵入

复制与合成

装配

释放

水 微生物组分：原生质胶体

作用：吸收过程的媒介

生化反应的溶媒

参与反应

调节温度

碳源

能源 辐射能：太阳光

化学能：还原态无机物

氮源

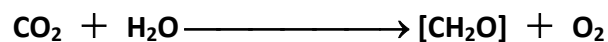
无机盐

生长因子 维生素、氨基酸、生物素（维生素 H）、嘌呤和嘧啶碱基

按碳源分	自养(无机营养)型	异养(有机营养)型
按能源分	碳源: 无机碳	碳源: 有机物
光能营养型能源:太阳光	蓝细菌、藻类、多数光合细菌	紫色非硫细菌
化能营养型能源:还原态无机物或有机物的氧化	硫化细菌、硝化细菌、铁细菌、氢细菌	多数细菌、放线菌、真菌、原生动物、病毒

藻类/蓝细菌:

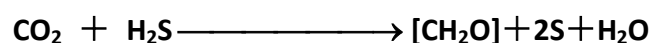
$h\nu/\text{chlorophyll}$



C-source *H-donator*

绿/紫硫细菌:

$h\nu/\text{bacteriochlorophyll}$



紫色非硫细菌:

OH

h /Bacteriochlorophyll



硝化细菌: $\text{NH}_3 / \text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^-$

硫化细菌: $\text{H}_2\text{S}, \text{S}, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}, \text{SO}_3^{2-} \longrightarrow \text{SO}_4^{2-}$

铁细菌: $4\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + 4\text{H}^+ \longrightarrow 4\text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+$

氢细菌: $2\text{H}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+$

腐生——利用无生命的有机物

寄生——依赖于寄主营养、生长、繁殖

兼性腐生或兼性寄生

培养基(medium)配制原则:

组成合理: 适应微生物特性

配比恰当: 碳氮磷比

条件适宜: 酸度、渗透压、电位

容易获得: 价廉、实用

物质通过细胞膜的四种主要机制的比较

比较项目	被动扩散	促进扩散	主动运送	基团移位
物质运送方向	由浓至稀	由浓至稀	可由稀至浓	可由稀至浓
平衡时内外浓度	相等	相等	内部高得多	内部高得多
能量消耗	不需要	不需要	需要	需要
载体蛋白的参与	无	有	有	有
运送速度	慢	快	快	快
运送分子特异性	无	有	有	有
载体饱和效应	无	有	有	有
类似物质竞争性	无	有	有	有
运送抑制剂	无	有	有	有
运送前后物质分子	不变	不变	不变	改变

被动扩散(passive diffusion)污染物进入细胞体的主要方式

主动运送(active transport)运送无机离子、有机离子和糖类等营养物质

微生物生长的测定

总菌数 (total cell count)

涂片染色法

计数器法

电子自动计数器法

测菌悬液浓度比浊法

活菌数（viable count）

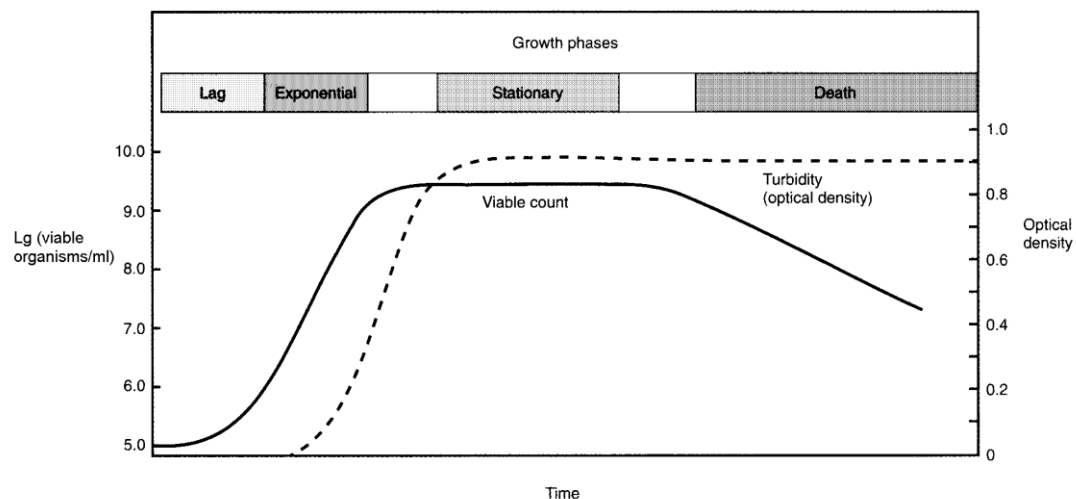
平皿涂布法

平皿倾注法

试管稀释法

薄膜过滤法

微生物群体生长规律



延滞期：缺乏完善的特定反应酶体系

影响微生物生长的因素

温度 高温消毒 煮沸消毒法

巴氏消毒法 ~65°C, 15~30min.

高温灭菌 干热灭菌法

湿热灭菌法

酸碱度 pH 污水生物处理（曝气池）pH6.5~8.5

固体废弃物堆肥 pH5——pH8.5——pH7~8

厌氧消化 pH6.6~7.6

氧

水活度与渗透压（盐度）

辐射与超声波

化学药剂

格里菲斯肺炎双球菌转化实验

以 R 型和 S 型菌株作为实验材料进行遗传物质的实验，他将活的、无毒的 R II 型（无荚膜，菌落粗糙型）肺炎双球菌或加热杀死的有毒的 S III 型肺炎双球菌注入小白鼠体内，结果小白鼠安然无恙；将活的、有毒的 S III 型（有荚膜，菌落光滑型）肺炎双球菌或将大量经加热杀死的有毒的 S III 型肺炎双球菌和少量无毒、活的 R II 型肺炎双球菌混合后分别注射到小白鼠体内，结果小白鼠患病死亡，并从小白鼠体内分离出活的 S III 型菌。格里菲斯称这一现象为转化作用，实验表明，S III 型死菌体内有一种物质能引起 R II 型活菌转化产生 S III 型菌，

1944 年美国的埃弗雷(O. Avery)、麦克利奥特(C. Macleod)及麦克卡蒂(M. McCarty)等人在格里菲斯工作的基础上,对转化的本质进行了深入的研究(体外转化实验)。他们从 SIII 型活菌体内提取 DNA、RNA、蛋白质和荚膜多糖,

将它们分别和 RII 型活菌混合均匀后注射入小白鼠体内,结果只有注射 SIII 型

菌 DNA 和 RII 型活菌的混合液的小白鼠才死亡,这是一部分 RII 型菌转化产生

先用³²P 标记噬菌体的 DNA,用³⁵S 标记噬菌体的蛋白质,使噬菌体吸附在 ~~右表的~~ ~~右表的~~ ~~SIII 型菌所致~~ ~~并且它们的后代都具有右表~~ ~~右表的~~ 大肠杆菌上,然后用组织捣碎器将二者分开,这时发现几乎全部³⁵S 的放射性都可以从细胞上拉下来,而大部分³²P 则被注入到细胞内,噬菌体在细胞内照样正常地进行增殖。至于进入细胞内的少量³⁵S,在后代噬菌体中几乎没有出现,相反一半以上的³²P 出现在后代噬菌体的 DNA 中。这个实验证明噬菌体的 DNA 是决定遗传性的物质。

基因——遗传功能单位

结构基因:蛋白质的结构编码与合成控制

操纵区:操纵结构基因的表达

调节基因:控制结构基因

基因突变 (gene mutation)

自发性

稀有性:突变率 $10^{-6} \sim 10^{-9}$

诱变性:提高 $10 \sim 10^5$ 倍

不对应性:变量试验 (fluctuation test)

涂布试验 (Newcombe experiment)

独立性:

稳定性:可遗传

可逆性:正向突变 (forward mutation)

回复突变 (reverse mutation)

机制:碱基置换(转换,颠换),碱基对缺失、添加

基因重组 (gene recombination)

转化 (transformation):受体菌直接吸收了来自供体菌的 DNA 片段,并把它整合到自己的基因组中,从而获得供体菌部分遗传性状。

感受态细胞 (competent cell):理化方法诱导细胞,使其处于最适摄取和容纳外来 DNA 的生理状态。

意义:将构建好的载体转入感受态细胞进行表达,不仅可以检验重组载体是否构建成功,最主要的是感受态细胞作为重组载体的宿主可以进行后续实验,如蛋白质表达纯化等工作。

转染 (transfection):抽提噬菌体或其他病毒的 DNA 或 RNA,用以感染感受态的宿主细胞,进而产生正常的噬菌体或病毒后代。

转导 (transduction):以缺陷噬菌体为媒介,将供体菌的 DNA 片段带到受体菌

细胞中，使后者获得前者部分遗传性状。

接合（conjugation）：通过供体菌和受体菌完整细胞间的直接接触而传递大段DNA。

原生质体融合(protoplast fusion)：通过人为方法，使遗传性状不同的两个细胞原生质发生融合，并进而发生遗传重组以产生同时带有双亲性状的、遗传性稳定的融合子。

基因工程的重要环节：

目的基因的获得（目的基因的获取）

反转录法，化学合成法，PCR 技术

载体的选择 微生物：细菌质粒，噬菌体

动物：SV40 病毒

植物：Ti 质粒

目的基因与载体 DNA 的体外重组（基因表达载体的构建）

限制性核酸内切酶处理、DNA 末端结构人为改性

重组载体引入受体细胞（将目的基因导入受体细胞）

重组基因的表达及功能验证（目的基因的检测与鉴定）

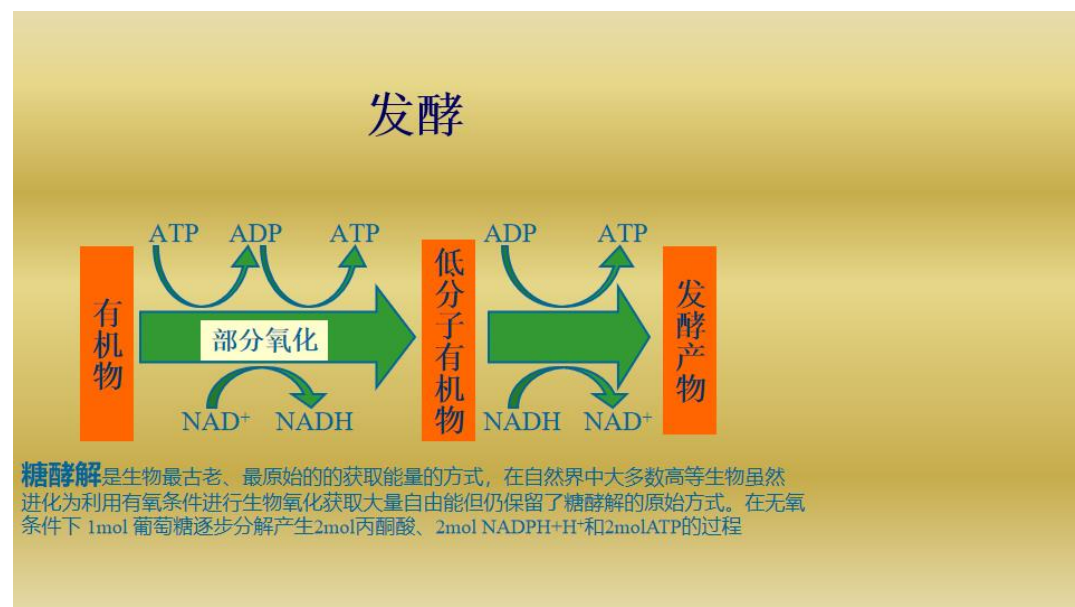
微生物的产能代谢

能量的转移中心——ATP

化能异养微生物的产能：发酵、好氧呼吸、无氧呼吸

光能利用微生物的产能：非产氧型、产氧型

化能自养微生物的产能：氢细菌、硝化细菌、硫细菌



葡萄糖酵解途径 EMP

Stage I Preparatory reactions

Stage II Oxidation

Stage III Reduction（还原）

三羧酸(TCA)循环

无氧呼吸

NO₃⁻为最终电子受体

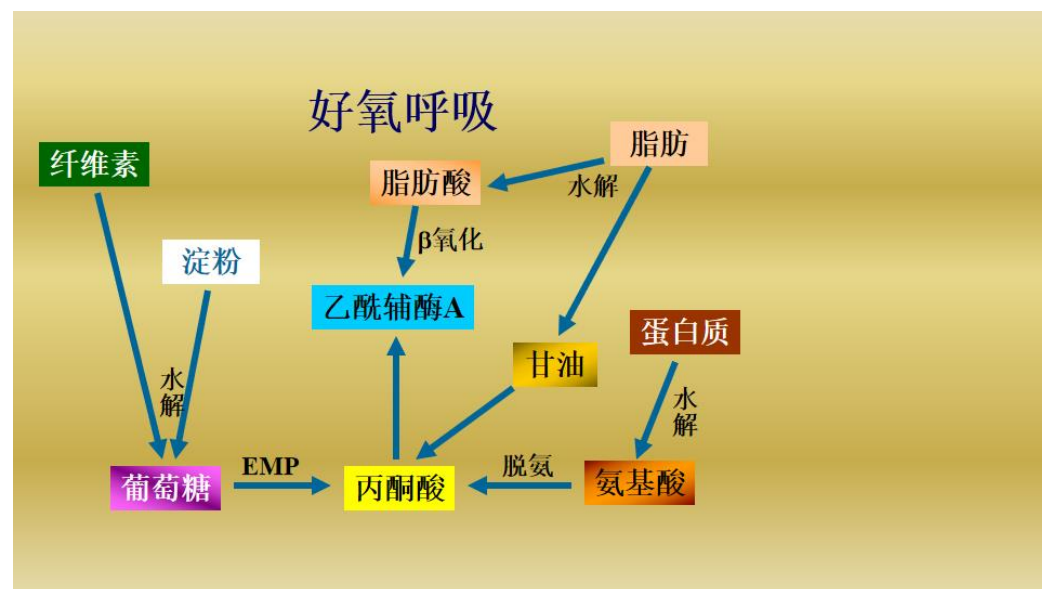
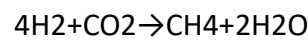
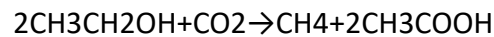
——硝酸盐还原（全部成氮气）、反硝化、脱氮

SO₄²⁻为最终电子受体

——硫酸盐还原（SO₄²⁻→H₂S）、反硫化、脱硫

CO₂、CO₃²⁻为最终电子受体

——碳酸盐还原、产甲烷



酶的组成

单成分酶：酶蛋白（加速生化反应、决定催化专一性和催化高效率）

双成分酶（全酶）：酶蛋白

非蛋白质成分（辅基或辅酶）：金属离子

传递电子、原子、化学基团 含金属的有机化合物

小分子的复杂有机化合物

影响酶活力的因素（米门公式）

酶的浓度、底物的浓度、温度、PH、激活剂、抑制剂

革兰氏染色

革兰氏染色（Gram Staining）是用来鉴别细菌的一种方法：这种染色法利用细菌细胞壁上的生物化学性质不同，可将细菌分成两类，即革兰氏阳性（Gram Positive）与革兰氏阴性（Gram Negative）。革兰氏阳性菌呈蓝紫色，革兰氏阴性菌呈红色。

一般包括初染、媒染、脱色、复染等四个步骤，具体操作方法是：

1) 涂片固定。

2) 草酸铵结晶紫染 1 分钟。

- 3) 蒸馏水冲洗。
- 4) 加碘液覆盖涂面染约 1 分钟。
- 5) 水洗，用吸水纸吸去水分。
- 6) 加 95%酒精数滴，并轻轻摇动进行脱色，20 秒后水洗，吸去水分。
- 7) 蕃红染色液（稀）染 1 分钟后，蒸馏水冲洗。干燥，镜检。

染色的差异主要是阴性与阳性细菌细胞壁的差异所引起的。

其重要的临床意义在于：1. 鉴别细菌 2. 选择药物 3. 与致病性有关：革兰氏阳性菌能产生外毒素，革兰氏阴性菌能产生内毒素；而内毒素主要是指革兰氏阴性菌胞壁成分中的脂多糖，两者的致病作用不同。