

## 微生物学笔记(沈萍版)

### 第一章

#### 1. 巴斯德的工作

- (1) 发现并证实发酵是由微生物引起的 (2) 彻底否定了自然发生学说  
(3) 免疫学 (4) 预防接种 (5) 其他贡献：巴斯德消毒法等

#### 2. 柯赫的工作

##### (1) 微生物学基本操作技术方面的贡献

- a) 细菌纯培养方法的建立 b) 配制培养基  
c) 流动蒸汽灭菌 d) 染色观察和显微摄影

(2) 对病原细菌的研究作出了突出的贡献：

- a) 具体证实了炭疽病菌是炭疽病的病原菌。 b) 发现了肺结核病的病原菌  
c) 证明某种微生物是否为某种疾病病原体的基本原则：柯赫原则

- 1 在每一病例中都出现这种微生物； 2 要从寄主分离出这样的微生物并在培养基中培养出来；  
3 用这种微生物的纯培养接种健康而敏感的寄主，同样的疾病会重复发生；  
4 从试验发病的寄主中能再度分离培养出这种微生物来。

微生物的类群及特点：个体小、结构简、胃口大、食谱广、繁殖快、易培养、数量大、分布广、种类多、级界宽、变异易、抗性强、休眠长、起源早、发现晚。

### 第三章

特殊细胞壁的细菌：某些分枝杆菌和诺卡氏菌的细胞壁主要由一类被称为霉菌酸

(Mycolic acid) 的枝链羟基脂质组成，后者被认为与这些细菌感染能力有关。

由磷脂分子形成的双分子膜中加入甾醇类物质可以提高膜的稳定性：

真核生物细胞膜中一般含有胆固醇等甾醇，含量为 5%-25%。

原核生物与真核生物的最大区别就是其细胞膜中一般不含胆固醇，而是含有 hopanoid (藿烷类化合物)。

硫粒：很多化能自养菌在进行产能代谢或生物合成时，常涉及对还原性的硫化物如  $H_2S$ ，硫代硫酸盐等的氧化。

在环境中还原性硫素丰富时，常在细胞内以折光性很强的硫粒的形式积累硫元素。当环境中还原性硫缺乏时，可被细菌重新利用。

微生物储藏物的特点及生理功能：

- 1) 不同微生物其储藏性内含物不同。例如厌气性梭状芽孢杆菌只含 PHB，大肠杆菌只储藏糖原，但有些光合细菌二者兼有。  
2) 微生物合理利用营养物质的一种调节方式。当环境中缺乏能源而碳源丰富时，细胞内就储藏较多的碳源类内含物，甚至达到细胞干重的 50%，如果把这样的细胞移入有氮的培养基时，这些储藏物将被作为碳源和能源而用于合成反应。  
3) 储藏物以多聚体的形式存在，有利于维持细胞内环境的平衡，避免不适合的 pH，渗透压等的危害。例如羟基丁酸分子呈酸性，而当其聚合成聚- $\beta$ -羟丁酸 (PHB) 就成为中性脂肪酸了，这样便能维持细胞内中性环境，避免菌体内酸性增高。  
4) 储藏物在细菌细胞中大量积累，是重要的自然资源。

气泡的膜只含蛋白质而无磷脂。二种蛋白质相互交连，形成一个坚硬的结构，可耐受一定的压力。膜的外表面亲水，而内侧绝对疏水，故气泡只能透气而不能透过水和溶质。

细菌芽孢的特点：

整个生物界中抗逆性最强的生命体，是否能消灭芽孢是衡量各种消毒灭菌手段的最重要的指标。

芽孢是细菌的休眠体，在适宜的条件下可以重新转变成为营养态细胞；产芽孢细菌的保藏多用其芽孢。

芽孢的有无、形态、大小和着生位置是细菌分类和鉴定中的重要指标。

芽孢与营养细胞相比化学组成存在较大差异，容易在光学显微镜下观察。（相差显微镜直接观察；芽孢染色）

细菌糖被的特点

（1）主要成分是多糖、多肽或蛋白质，尤以多糖居多。经特殊的荚膜染色，特别是负染色（又称背景染色）后可在光学显微镜清楚地观察到它的存在。

（2）产生糖被是微生物的一种遗传特性，其菌落特征及血清学反应是细菌分类鉴定的指标之一。

（3）荚膜等并非细胞生活的必要结构，但它对细菌在环境中的生存有利。（详见 P 57-58）

（4）细菌糖被与人类的科学研究和生产实践有密切的关系。（详见 P58）

细菌的趋避运动：鞭毛的功能是运动，这是原核生物实现其趋性（*taxis*）即趋向性的最有效方式。（参见 P60）

化学趋避运动或趋化作用（*chemotaxis*）：细菌对某化学物质敏感，通过运动聚集于该物质的高浓度区域或低浓度区域。

光趋避运动或趋光性（*phototaxis*）：有的细菌能区别不同波长的光而集中在一定波长光区内。

趋磁运动或趋磁性（*magnetotaxis*），趋磁细菌根据磁场方向进行分布。

放线菌的形态与结构

t 单细胞，大多由分枝发达的菌丝组成；

t 菌丝直径与杆菌类似，约 1mm；t 细胞壁组成与细菌类似，革兰氏染色阳性（少数阴性）；

t 细胞的结构与细菌基本相同，

按形态和功能可分为营养菌丝、气生菌丝和孢子丝三种。

1、养菌丝：匍匐生长于培养基内，吸收营养，也称基内菌丝。

2、气生菌丝：营养菌丝发育到一定阶段，伸向空间形成气生菌丝，

3、孢子丝：气生菌丝发育到一定阶段，其上可分化出形成孢子的菌丝，即孢子丝，又称产孢丝或繁殖菌丝。

其形状和排列方式因种而异，常被作为对放线菌进行分类的依据。

立克次氏体：

1) 某些性质与病毒相近

a、专性活细胞寄生物，除五日热（战壕热）立克次氏体（*Rickettsia wolhynica*）外均不能在人工培养基上生长繁殖。这是因为它们体内酶系不完全，一些必需的养料需从宿主细胞获得；细胞膜比一般细菌的膜疏松，营养物质较易通过，细胞内物质也容易漏出。这种可透性膜，一方面使它们有可能容易从宿主细胞获得大分子物质，另一方面也决定了它们一旦离开宿主细胞则易死亡）

b、大小介于病毒与一般细菌之间，除伯氏立克次氏体（*Rickettsia burneti*）外，均不能通过细菌过滤器（球状体：0.2-0.5 mm；杆状体：0.3-0.5 x 0.3-2 mm；）

2) 由于长期适应的结果，立克次氏体形成了一种必须从一种宿主传至另一宿主的特殊生活方式，它们几乎都有自己的天然动物宿主，主要以节肢动物（虱、蜱、螨等）为媒介，寄生在它们的消化道表皮细胞中，然后通过节肢动物叮咬和排泄物传播给人和其他动物。有的立克次氏体能引起人类的流行性斑疹伤寒、恙虫热、Q 热等严重疾病，而且立克次氏体大多是人兽共患病原体。对热、干燥、光照、脱水及普通化学试剂的抗性均差，离开宿主仅能存活数小时至数日，但如随节肢动物粪便排出，在空气中自然干燥后，其抗性变得相当强。有的可在室温下保持毒力二年左右。

支原体：

1) 无细胞壁，只有细胞膜，细胞形态多变；

2) 个体很小，能通过细菌过滤器，曾被认为是最小的可独立生活的细胞型生物。

3) 可进行人工培养，但营养要求苛刻，菌落微小，呈典型的*i*油煎荷包蛋*i*；

4) 一些支原体能引起人类、牲畜、家禽和作物的病害疾病，如肺炎支原体；

5) 应用活组织细胞培养病毒或体外组织细胞培养时, 常被支原体污染。

衣原体:

1) 细胞结构与细菌类似; 具有类似的细胞壁, 细胞壁内也含有胞壁酸、二氨基庚二酸等。核糖体也是由 30S 和 50S 二个亚基组成。

2) 细胞呈球形或椭圆形, 直径为 0.2-0.3  $\mu\text{m}$ , 能通过细菌滤器;

3) 专性活细胞内寄生; 衣原体有一定的代谢活性, 能进行有限的大分子合成, 但缺乏产生能量的系统, 必须依赖宿主获得 ATP, 因此又被称为能量寄生型生物;

4) 在宿主细胞内生长繁殖具有独特的生活周期, 即存在原体和始体两种形态。具有感染性的原体通过胞饮作用进入宿主细胞, 被宿主细胞膜包围形成空泡, 原体逐渐增大成为始体。始体无感染性, 但能在空泡中以二分裂方式反复繁殖, 形成大量新的原体, 积聚于细胞质内成为各种形状的包涵体 (inclusion body), 宿主细胞破裂, 释放出的原体会感染新的细胞。

5) 衣原体广泛寄生于人类、哺乳动物及鸟类, 少数致病, 如沙眼衣原体是人类砂眼的病原体, 甚至引起结膜炎、角膜炎、角膜血管翳等临床症状, 成为致盲的重要原因。1956 年, 我国微生物学家汤飞凡等应用鸡胚卵黄囊接种法, 在国际上首先成功地分离培养出沙眼衣原体。现衣原体可用多种细胞培养。

6) 衣原体不耐热, 60 度 10 分钟即被灭活, 但它不怕低温, 冷冻干燥可保藏多年。对红霉素、氯霉素、四环素敏感。

粘细菌生活史:

1、营养细胞: 杆状、柔软、缺乏坚硬的细胞壁, 无鞭毛, 产生粘液, 可在固体表面作滑行运动, 以分类方式进行繁殖。

2、子实体: 营养细胞发育到一定阶段, 在适宜的条件下彼此向对方移动, 在一定位置聚集成团, 形成形态各异, 肉眼可见的子实体。单个子实体中可能含有 10<sup>9</sup> 个或更多由某些营养细胞转变而成的休眠结构, 称为拈孢子 (mycospore)。能形成子实体是粘细菌区别于其它原核微生物的最主要标志。而在营养生长阶段如果有足够的养料就不形成子实体, 当营养耗尽时, 营养细胞群就开始形成子实体。子实体干燥后, 可借助风力、水力等到处传播, 遇到适宜的环境又萌发成为营养细胞。

蛭弧菌特性:

1、鞭毛多为偏端单生;

2、生活方式多样: 寄生、兼性寄生, 极少数腐生。一般认为后者为突变株;

3、可能成为防治有害细菌的一种有力武器。

蓝细菌特性:

1) 分布极广;

2) 形态差异极大: 有球状、杆状和丝状体, 个体直径一般为 3-10  $\mu\text{m}$ , 有的可达 60  $\mu\text{m}$ 。当许多个体聚集在一起, 可形成肉眼可见的、很大的群体。若繁茂生长, 可使水的颜色随菌体颜色而变化。

3) 细胞中含有叶绿素 a, 进行产氧型光合作用。它被认为是地球上生命进化过程中第一个产氧的光合生物, 对地球上从无氧到有氧的转变、真核生物的进化起着里程碑式的作用。

4) 具有原核生物的典型细胞结构: 细胞核无核膜, 也不进行有丝分裂, 细胞壁含胞壁酸和二氨基庚二酸, 革兰氏染色阴性。

5) 营养极为简单, 不需要维生素, 以硝酸盐或氨作为氮源, 多数能固氮, 其异形细胞 (heterocyst) 是进行固氮的场所。

6) 分泌粘液层、荚膜或形成鞘衣, 因此具有强的抗干旱能力。

7) 无鞭毛, 但能在固体表面滑行, 进行光趋避运动。

8) 许多种类细胞质中有气泡, 使菌体漂浮, 保持在光线最充足的地方, 以利光合作用。

古生菌:

1977 年, Carl Woese 以 16S rRNA 序列比较为依据, 提出的独立于真细菌和真核生物之外的生命的第三种形式。在分类地位上与真细菌和真核生物并列为三域 (Domain), 并且在进化谱系上更接近真核生物。在

细胞构造上与真细菌较为接近，同属原核生物。

多生活于一些生存条件十分恶劣的极端环境中，例如高温、高盐、高酸等。

真菌：一类低等真核生物

1、具有细胞核，进行有丝分裂； 2、细胞质中含有线粒体但没有叶绿体，不进行光合作用，无根、茎、叶的分化；

3、以产生有性孢子和无性孢子二种形式进行繁殖； 4、营养方式为化能有机营养（异养）、好氧；

5、不运动（仅少数种类的游动孢子有 1-2 根鞭毛）； 6、种类繁多，形态各异、大小悬殊，细胞结构多样；

霉菌：

「丝状真菌」的统称，不是分类学上的名词。霉菌菌体均由分枝或不分枝的菌丝（hypha）构成。许多菌丝交织在一起，称为菌丝体（mycelium）。

霉菌在自然界分布极广，土壤、水域、空气、动植物体内外均有它们的踪迹。常在潮湿的气候下大量生长繁殖，长出肉眼可见的丝状、绒状或蛛网状的菌丝体，有较强的陆生（可能因为好氧，在液体中生活不好）。它们同人类的生产、生活关系密切，是人类实践活动中最早认识和利用的一类微生物。

食物、工农业制品的霉变（据统计全世界平均每年由于霉变而不能食（饲）用的谷物约占 2%，这是一笔相当惊人的经济损失。

有用物品的生产（如风味食品、酒精、抗生素（青霉素、灰黄霉素）、有机酸（柠檬酸、葡萄糖酸、延胡索酸等）、酶制剂（淀粉酶、果胶酶、纤维素酶等）、维生素、甾体激素等。在农业上用于饲料发酵、植物生长刺激素（赤霉素）、杀虫农药（白僵菌剂）等）

引起动植物疾病，可引起约 3 万种植物病害，是植物传染性病害的主要病原微生物，例如，我国在 1950 年发生的麦锈病和 1974 年发生的稻瘟病，使小麦和水稻分别减产了 60 亿公斤；

霉菌可引起多种人及动物的皮肤疾病及其他一些深层病变，如既可侵害皮肤、粘膜，又可侵害肌肉、骨骼、内脏，如可引起肺炎，此外，一些被霉菌感染的食品也可使人得病，如大米、花生中黄曲霉素、黄米毒素等均可引起动物致癌）

腐生型霉菌在自然界物质转化中也有十分重要的作用；

菌丝的特化：

1) 菌环：菌丝交织成套状 2) 菌网：菌丝交织成网状

捕虫菌目（Zoopagales）这是在长期的自然进化中形成的特化结构，主要功能是用于吸收营养物质。这些生长在土壤中真菌是捕食者，形成的特异菌丝构成巧妙的网，可以捕捉小型原生动物或无脊椎动物，捕获物死后，菌丝伸入体内吸收营养。

3) 附枝：匍匐菌丝、假根（类似树根，吸收营养），功能是固着和吸收营养，例如根霉（Rhizopus）匍匐枝和基质接触处分化出来的根状结构。

4) 附着枝：若干寄生真菌由菌丝细胞生出 1-2 个细胞的短枝，以将菌丝附着于宿主上，这种特殊的结构即附着枝。

5) 吸器：一些专性寄生真菌从菌丝上分化出来的旁枝，侵入细胞内分化成指状、球状或丝状，用以吸收细胞内的营养。为吸收菌丝，进入藻类或植物细胞，二者共生。

6) 附着胞，许多植物寄生真菌在其芽管或老菌丝顶端发生膨大，并分泌粘性物，借以牢固地粘附在宿主的表面，这一结构就是附着胞，附着胞上再形成纤细的针状感染菌丝，以侵入宿主的角质层而吸取营养。

7) 菌核：是一种休眠的菌丝组织。由菌丝密集地交织在一起，其外层较坚硬、色深，内层疏松，大多呈白色。有些寄生性真菌与宿主共同形成假菌核。例如冬虫夏草：

8) 子座：菌丝交织成垫状、壳状等，在子座外或内可形成繁殖器官。

霉菌菌落的特点：

由粗而长的分枝状菌丝组成，菌落疏松，呈绒毛状、絮状或蜘蛛网状，比细菌菌落大几倍到几十倍，有的没有固定大小。各种霉菌，在一定培养基上形成的菌落大小、形状、颜色等相

对稳定，所以菌落特征也为分类依据之一。

霉菌的繁殖方式：

1) 无性孢子繁殖

不经两性细胞配合，只是营养细胞的分裂或营养菌丝的分化（切割）而形成新个体的过程。

无性孢子有：厚垣孢子、节孢子、分生孢子、孢囊孢子等。

2) 有性孢子繁殖

两个性细胞结合产生新个体的过程：

a) 质配：两个性细胞结合，细胞质融合，成为双核细胞，每个核均含单倍染色体（ $n+n$ ）。

b) 核配：两个核融合，成为二倍体接合子核，此时核的染色体数是二倍（ $2n$ ）。

c) 减数分裂：具有双倍体的细胞核经过减数分裂，核中的染色体数目又恢复到单倍体状态。

霉菌有性孢子繁殖的特点：

a) 不如无性繁殖那么经常与普遍，在自然条件下较多，在一般培养基上不常见。

b) 方式因菌种不同而异，有的两条营养菌丝就可以直接结合，有的则由特殊的性细胞（性器官）相互交配，形成有性孢子。

c) 核配后一般立即进行减数分裂，因此菌体染色体数目为单倍，双倍体只限于接合子。

d) 霉菌的有性繁殖存在同宗配合和异宗配合两种情况。

e) 霉菌的有性孢子包括接合孢子、卵孢子、子囊孢子等。

霉菌的生活史：

无性繁殖阶段：菌丝体（营养体）在适宜的条件下产生无性孢子，无性孢子萌发形成新的菌丝体，多次重复。

有性繁殖阶段：在发育后期，在一定条件下，在菌丝体上分化出特殊性器官（细胞），质配、核配、减数分裂后形成单倍体孢子，再萌发形成新的菌丝体。

有一些霉菌，至尽尚未发现其生活史中有有性繁殖阶段，这类真菌称为半知菌。

霉菌孢子的特点：

霉菌具有极强的繁殖能力，可以通过无性繁殖或有性繁殖方式产生大量新个体。虽然其菌丝体上任一部分的菌丝碎片都能进行繁殖，但在正常自然条件下，它们还主要靠形形色色的无性或有性孢子进行繁殖。

霉菌的孢子具有小、轻、干、多以及形态色泽各异、休眠期长和抗逆性强等特点。但与细菌的芽孢却有很大的差别。霉菌孢子形态常有球形、卵形、椭圆形、礼帽形、土星型、肾形、线形、镰刀形等。每个个体所产生的孢子数量，经常是成千上万的，有时竟然达到几百亿、几千亿，甚至更多。孢子的这些特点，都有助于真菌在自然界中随机散播和繁殖。

对人类的实践来说，孢子的这些特点有利于接种、扩大培养、菌种选育、保藏和鉴定等工作。对人类不利之处则是易于造成污染、霉变和易于传播动植物的真菌疾病。

真菌孢子与细菌芽孢的比较

项目	霉菌孢子	细菌芽孢
大小	大	小
数目	一条菌丝或一个细胞产多个	1个细胞只产1个
形态	形态、色泽多样	形态简单
形成部位	可在细胞内或细胞外形成	只在细胞内形成
细胞核	真核	原核
功能	最重要的繁殖方式	不是繁殖方式，是抗性构造（休眠方式）
抗热性	不强，在 60-70℃ 下易杀死	极强，一般 100℃ 数十分钟才能杀死

产生菌 绝大多数种类可以产生 少数细菌可产生

酵母菌的菌落：与细菌菌落类似，但一般较细菌菌落大且厚，表面湿润，粘稠，易被挑起，多为乳白色，少数呈红色。

酵母菌的分布及与人类的关系：

- 1、多分布在含糖的偏酸性环境，也称为「糖菌」。
- 2、重要的微生物资源；
- 3、重要的科研模式微生物；
- 4、有些酵母菌具有危害性；

酵母菌的繁殖及生活史：

#### 1、无性繁殖

- 1) 芽殖：主要的无性繁殖方式，成熟细胞长出一个芽，到一定程度后脱离母体继续长成新个体。
- 2) 裂殖：少数酵母菌可以象细菌一样借细胞横割分裂而繁殖，例如裂殖酵母。

#### 2、有性繁殖

酵母菌以形成子囊和子囊孢子的形式进行有性繁殖：

- 1) 两个性别不同的单倍体细胞靠近，相互接触；
- 2) 接触处细胞壁消失，质配；
- 3) 核配，形成二倍体核的接合子；

A、以二倍体方式进行营养细胞生长繁殖，独立生活；

下次有性繁殖前进行减数分裂。

B、进行减数分裂，形成 4 个或 8 个子囊孢子，而原有的营养细胞就成为子囊。子囊孢子萌发形成单倍体营养细胞。

#### 3、生活史

酵母菌单倍体和双倍体细胞均可独立存在，有三种类型：

- 1) 营养体只能以单倍体形式存在（核配后立即进行减数分裂）
- 2) 营养体只能以双倍体形式存在（核配后不立即进行减数分裂）
- 3) 营养体既可以单倍体也可以双倍体形式存在，都可进行出芽繁殖。

酵母菌中尚未发现其有性阶段的被称为假酵母

微生物的营养类型：

1. 光能无机自养型（光能自养型）能以  $\text{CO}_2$  为主要唯一或主要碳源；进行光合作用获取生长所需要的能量；

以无机物如  $\text{H}_2$ 、 $\text{H}_2\text{S}$ 、 $\text{S}$  等作为供氢体或电子供体，使  $\text{CO}_2$  还原为细胞物质；

例如：藻类及蓝细菌等和植物一样，以水为电子供体（供氢体），进行产氧型的光合作用，合成细胞物质。红硫细菌，以  $\text{H}_2\text{S}$  为电子供体，产生细胞物质，并伴随硫元素的产生。

2. 光能有机异养型（光能异养型）

不能以  $\text{CO}_2$  为主要或唯一的碳源；以有机物作为供氢体，利用光能将  $\text{CO}_2$  还原为细胞物质；在生长时大多数需要外源的生长因子；

例如，红螺菌属中的一些细菌能利用异丙醇作为供氢体，将  $\text{CO}_2$  还原成细胞物质，同时积累丙酮。

3. 化能无机自养型（化能自养型）

生长所需要的能量来自无机物氧化过程中放出的化学能；

以  $\text{CO}_2$  或碳酸盐作为唯一或主要碳源进行生长时，利用  $\text{H}_2$ 、 $\text{H}_2\text{S}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_3$  或  $\text{NO}_2^-$  等无机物作为电子供体使  $\text{CO}_2$  还原成细胞物质。

4. 化能有机异养型（化能异养型）

生长所需要的能量均来自有机物氧化过程中放出的化学能；

生长所需要的碳源主要是一些有机化合物，如淀粉、糖类、纤维素、有机酸等。

氧化还原电位：又称氧化还原电势（redox potential），是度量某氧化还原系统中的

的还原剂释放电子或氧化剂接受电子趋势的一种指标，其单位是 V（伏）或 mV（毫伏）。

配制培养基时应尽量利用廉价且易于获得的原料作为培养基成份,特别是在发酵工业中,以降低生产成本。

以粗代精:对微生物来说,各种粗原料营养更加完全,效果更好。而且在经济上也节约。

以野代家:以野生植物原料代替栽培植物原料,如木薯、橡子、薯芋等都是富含淀粉质的野生植物,可以部分取代粮食用于工业发酵的碳源。

以废代好:以工农业生产中易污染环境的废弃物作为培养微生物的原料。例如,在微生物单细胞蛋白的工业生产过程中,常常利用糖蜜(制糖工业中含有蔗糖的废液)、乳清(乳制品工业中含有乳糖的废液)、豆制品工业废液及黑废液(造纸工业中含有戊糖和己糖的亚硫酸纸浆)等都可作为培养基的原料。在再如,工业上的甲烷发酵主要利用废水、废渣作原料,而在我国农村,已推广利用人畜粪便及禾草为原料发酵生产甲烷作为燃料。另外,大量的农副产品或制品,如麸皮、米糠、玉米浆、酵母浸膏、酒糟、豆饼、花生饼、蛋白胨等都是常用的发酵工业原料。

以简代繁:生产上改进培养基成分时,一般都以加法居多,即设法使其营养越来越丰富、含量越来越高。这对微生物生长不一定都有利,有时可尝试使用减法,即用稀薄的培养基成分或成分较少的培养基来取代原有的培养基成分,以求取得更好的效果。

以烃代粮:以石油或天然气副产品代替糖质原料来培养微生物。除了生产石油蛋白外,还可以将石油产品转化成一些产值更高的高级醇、脂肪酸、环烷酸等化工产品和若干合成物,以及对石油产品的品质进行改良,如脱硫、脱蜡等。

以纤代糖:开发利用纤维素这种世界上含量最丰富的可再生资源。将大量的纤维素农副产品转变为优质饲料、工业发酵原料、燃料及人类的食物及饮料。

以无机氮代蛋白质:即以大气氮、铵盐、硝酸盐或尿素等一类非蛋白质或非氨基酸廉价原料用作发酵培养基的原料,让微生物转化成菌体蛋白质或含氮的发酵产物供人们利用。

## 第五章

燃烧与生物氧化的比较:

比较项目 燃烧 生物氧化

反应步骤 一步式快速反应 顺序严格的系列反应

条件 激烈 由酶催化,条件温和

产能形式 热、光 大部分为ATP

能量利用率 低 高

生物氧化的形式包括某物质与氧结合、脱氢或脱电子三种;

生物氧化的功能则有产能(ATP)、产还原力[H]和产小分子中间代谢物三种;

呼吸作用与发酵作用的根本区别:电子载体不是将电子直接传递给底物降解的中间产物,而是交给电子传递系统,逐步释放出能量后再交给最终电子受体。

能进行硝酸盐呼吸(即能使硝酸盐还原)的细菌被称为硝酸盐还原细菌,主要生活在土壤和水环境中,它们当中有假单胞菌、依氏螺菌、脱氮小球菌等。在土壤及水环境中,由于好氧性机体的呼吸作用,氧被消耗,造成局部的厌氧环境,这时如果环境中有硝酸盐存在,硝酸盐还原细菌就能通过厌氧呼吸进行生活,但如果在有氧条件下,这些菌则是通过有氧呼吸进行生活-----氧的存在可抑制位于细胞膜上的硝酸盐还原酶的活性。这类菌通常也被作为兼性厌氧菌。

硝酸盐还原菌的反硝化作用对农业生产及地球物质循环都具有重要意义:

1)反硝化作用可使土壤中植物能利用的氮(硝酸盐  $\text{NO}_3^-$ )还原成氮气而消失,从而降低了土壤的肥力,对农业生产不利。克服反硝化作用的有效方法之一是松土,保持土壤的疏松状态,排除过多的水分,保证土壤中有良好的通气条件(此时菌行有氧呼吸)

2)反硝化作用在氮素循环中也有重要作用。硝酸盐是一种容易溶解于水的物质,通常通过水从土壤流入水域中。如果没有反硝化作用,硝酸盐将在水中积累,会导致水质变坏与地球上氮素循环的中断。

厌氧呼吸的产能较有氧呼吸少,但比发酵多,它使微生物在没有氧的情况下仍然可以通过电子传递和氧化磷酸化来产生ATP,因此对很多微生物是非常重要的。除氧以外的多种物质可被各种微生物用作最终电子

受体，充分体现了微生物代谢类型的多样性。

异养微生物和自养微生物在最初能源上尽管存在着巨大的差异，但它们生物氧化的本质却是相同的，即都包括脱氢、递氢和受氢三个阶段，其间经过与磷酸化反应相偶连，就可以产生生命活动所需要的通用能源，ATP。但从具体类型看，自养微生物中的生物氧化与产能的类型很多、途径复杂，有些化能自养菌的生物氧化与产能过程至今还了解很少。不论是化能无机营养型，还是光能无机营养型的微生物，在它们生命活动中最重要的反应就是把 CO<sub>2</sub> 先还原成[CH<sub>2</sub>O]水平的简单有机物，然后再进一步合成复杂的细胞成分。这是一个大量耗能和耗还原力[H]的过程。在化能无机营养型微生物中，其所需能量 ATP 是通过还原态无机物经过生物氧化产生的，还原力[H]则一般是通过耗 ATP 的无机氢的逆呼吸链传递而产生的；

化能自养微生物以无机物作为能源，一般产能效率低，生长慢，但生态学角度看，它们所利用的能源物质是一般化能异养生物所不能利用的，因此它们与产能效率高、生长快的化能异养微生物之间并不存在生存竞争。

嗜盐菌的细胞膜可分成红色和紫色二部分，前者主要含细胞色素和黄素蛋白等用于氧化磷酸化的呼吸链载体，后者则十分特殊，在膜上呈斑片状（直径约 0.5 μm）独立分布，其总面积约占细胞膜的一半，这就是能进行独特光合作用的紫膜。

含量占紫膜 75%的是一种称为细菌视紫红质（bacteriorhodopsin）的蛋白质，它与人眼视网膜上的柱状细胞中所含的一种蛋白质-----视紫红质（rhodopsin）十分相似，二者都以紫色的视黄醛（retinal）作为辅基。

四种生理类型的微生物在不同光照和氧下的 ATP 合成

微生物 ATP 的合成

有氧 无氧

光照 黑暗 光照 黑暗

光合细菌 “+” “+”

绿藻 “+” “+”

兼性厌氧菌（E. coli） “+” “+” “+” “+”

盐生盐杆菌 “+” “+” “+” “+”

目前认为，细菌视紫红质与叶绿素相似，在光量子的驱动下，具有质子泵的作用，产生质子的跨膜运输而形成 ATP。嗜盐菌只有在环境中氧浓度很低和有光照的条件下才能合成紫膜。这时，通过正常的氧化磷酸化已无法满足其能量需要，转而由紫膜的光合磷酸化来提供。

通过紫膜的光能转化而建立的质子梯度除了可驱动 ATP 的合成外，还可为嗜盐菌在高盐环境中建立跨膜的钠离子电化学梯度，并由此完成一系列的生理生化功能。

嗜盐菌紫膜光合磷酸化的发现，使经典的叶绿素和细菌叶绿素（菌绿素）所进行的光合磷酸化之外又增添了一种新的光合作用类型。紫膜的光合磷酸化是迄今为止所发现的最简单的光合磷酸化反应，这是研究化学渗透作用的一个很好的研究模型。

## 第六章

采用培养平板计数法要求操作熟练、准确，否则难以得到正确的结果：

- 1) 样品充分混匀；
- 2) 每支移液管及涂布棒只能接触一个稀释度的菌液；
- 3) 同一稀释度三个以上重复,取平均值；
- 4) 每个平板上的菌落数目合适，便于准确计数；

一个菌落可能是多个细胞一起形成，所以在科研中一般用菌落形成单位（colony forming units，CFU）来表示，而不是直接表示为细胞数。

The most probable number method（液体稀释法）

- 1) 未知样品进行十倍稀释；
- 2) 取三个连续的稀释度平行接种多支试管并培养；
- 3) 长菌的为阳性，未长菌的为阴性；
- 4) 查表推算出样品中的微生物数目（统计学原理）；



迟缓期的特点:

- 1) 细胞形态变大或增长, 例如巨大芽孢杆菌, 在迟缓期末, 细胞的平均长度比刚接种时长 6 倍。一般来说处于迟缓期的细菌细胞体积最大;
- 2) 细胞内 RNA, 尤其是 rRNA 含量增高, 合成代谢活跃, 核糖体、酶类和 ATP 的合成加快, 易产生诱导酶。
- 3) 对外界不良条件反应敏感。

以上特征说明细胞处于活跃生长中, 只是分裂迟缓。在此阶段后期, 少数细胞开始分裂, 曲线略有上升。对数期到稳定期的转变是细胞重要的分化调节阶段:

- 1) 开始储存糖原等内含物;
- 2) 形成芽孢或建立自然感受态 (芽孢杆菌);
- 3) 发酵过程积累代谢产物的重要阶段; 某些放线菌抗生素的大量形成也在此时期

衰亡期特点:

- 1) 细菌代谢活性降低;
- 2) 细菌衰老并出现自溶;
- 3) 产生或释放出一些产物; 如氨基酸、转化酶、外肽酶或抗生素等。
- 4) 菌体细胞呈现多种形态, 有时产生畸形, 细胞大小悬殊; 有些革兰氏染色反应阳性菌此时会变成阴性反应

恒浊连续发酵与单批发酵相比的优点:

- 1) 缩短发酵周期, 提高设备利用率;
- 2) 便于自动控制;
- 3) 降低动力消耗及体力劳动强度;
- 4) 产品质量较稳定;

磺胺是叶酸组成部分对氨基苯甲酸的结构类似物

磺胺的抑菌作用是因为很多细菌需要自己合成叶酸而生长。

磺胺对人体细胞无毒性, 因为人缺乏从对氨基苯甲酸合成叶酸的相关酶----二氢叶酸合成酶, 不能用外界提供的对氨基苯甲酸自行合成叶酸, 而必须直接利用叶酸为生长因子进行生长。

青霉素 b-内酰胺环结构与 D-丙氨酸末端结构相似, 从而能占据 D-丙氨酸的位置与转肽酶结合, 并将酶灭活, 肽链之间无法彼此连接, 抑制了细胞壁的合成。

湿热比干热灭菌更好: 1) 更易于传递热量; 2) 更易破坏保持蛋白质稳定性的氢键等结构;

湿热对一般营养体和孢子的杀灭条件:

- 1) 多数细菌和真菌的营养细胞: 在 60℃左右处理 5-10 分钟;
- 2) 酵母菌和真菌的孢子: 用 80℃以上温度处理;
- 2) 3) 细菌的芽孢: 121℃处理 15 分钟以上

## 第七章

1939 年, Max Delbruck & Emory Ellis 对噬菌体 (E. coli / bacteriophage) 生长特征的测定:

- 1、用噬菌体的稀释液感染高浓度的宿主细胞;
- 2、数分钟后, 加入抗噬菌体的抗血清 (中和未吸附的噬菌体);
- 3、将上述混合物大量稀释, 终止抗血清的作用和防止新释放的噬菌体感染其它细胞;
- 4、保温培养并定期检测培养物中的噬菌体效价 (对噬菌体含量进行计数);
- 5、以感染时间为横坐标, 病毒的感染效价为纵坐标, 绘制出病毒特征性的繁殖曲线;

有尾噬菌体: 注射方式将噬菌体核酸注入细胞

- 1) 通过尾部刺突固着于细胞;
- 2) 尾部的酶水解细胞壁的肽聚糖, 使细胞壁产生小孔;
- 3) 尾鞘收缩, 核酸通过中空的尾管压入胞内, 蛋白质外壳留在胞外;

λ噬菌体的的溶源性反应:

- 1) 早期基因表达, 产生 gpcII, gpCro 及 gpCI, 后者可防止宿主的裂解酶对 gpcII 的降解。
- 2) gpcII 的积累促使阻遏蛋白 cI 的表达
- 3) 阻遏蛋白 cI 的积累导致噬菌体基因转录的终止, 形成原噬菌体。
- 3) 早期表达的 gpCro 与 cI 的竞争最终确定 λ噬菌体是进入溶源状态, 还是进入裂解循环。

- 4) ( gpCro 表达得早, 但与基因组的结合能力较 cI 弱)
- 5) 阻遏蛋白 cI 的同样可以抑制其它新侵入的  $\lambda$  噬菌体的表达, 从而使溶源性细菌具有免疫性;
- 6) 阻遏蛋白 cI 在一般情况下通过自身的转录激活保持低水平的表达, 但有时种种原因转录水平下降, 偶尔导致溶源性噬菌体进入裂解循环 (10<sup>-5</sup>~10<sup>-2</sup>)。
- 7) 外界因素如紫外线可引起宿主的染色体的破坏, 宿主产生应急反应合成具有 DNA 重组活性的 RecA 蛋白, 导致 cI 的被降解, 噬菌体进入裂解循环。
- 8) 诱发裂解是检查是否存在溶源性细菌的有效方法

## 第八章

遗传型: 是指生物所携带的全部遗传因子及基因, 是遗传的物质基础;

表型 (表现型): 具有一定遗传型的个体, 在特定环境条件下通过生长发育所表现出来的形态等生物学特征的总和。

表型饰变: 同样遗传型的生物, 在不同的外界条件下, 会呈现不同的表型, 但这种表型的差异只与环境有关, 表现为暂时性和不可遗传性, 并且表现为全部个体的行为!

遗传型变异 (基因变异、基因突变): 由于环境因素等的影响, 导致遗传物质改变, 导致生物特性改变, 与表型的饰变相比, 这种变异是可以遗传的, 而由于遗传物质的变异的频率一般很低, 所以这种变异也常常表现为群体中极少数个体的行为 (突变频率通常 10<sup>-6</sup>-10<sup>-9</sup>)。

基因组 (genome) 一个物种的单倍体的所有染色体及其所包含的遗传信息的总称。

微生物基因组结构的特点:

### 1、原核生物 (细菌、古生菌) 的基因组

1) 双链环状的 DNA 分子 (单倍体), 2) 基因组上遗传信息具有连续性, 大肠杆菌和其它原核生物中基因数基本接近由它的基因组大小所估计的基因数; 一般不含内含子, 遗传信息是连续的而不是中断的。3) 功能相关的结构基因组成操纵子结构

操纵子 (operon): 功能相关的几个基因前后相连, 再加上一个共同的调节基因和一组共同的控制位点 (启动子、操作子等) 在基因转录时协同动作。4) 结构基因的单拷贝及 rRNA 基因的多拷贝, 5) 基因组的重复序列少而短;

古生菌的基因组在结构上类似于细菌。但是信息传递系统 (复制、转录和翻译) 则与细菌不同而类似于真核生物。具体内容在微生物遗传学中学习

### 2、真核微生物 (啤酒酵母) 的基因组

#### 1) 典型的染色体结构

该基因大小为 13.5 $\times$  10<sup>6</sup>bp, 分布在 16 条染色体中。

象所有其它的真核细胞一样, 酵母菌的 DNA 也是与四种主要的组蛋白 (H2A、H2B、H3 和 H4) 结合构成染色质 (chromatin) 的 14bp 核小体核心 DNA;

染色体 DNA 上有着丝粒 (centromere) 和端粒 (telomere),

2) 没有明显的操纵子结构,

3) 有间隔区 (即非编码区) 和内含子序列。

而原核生物中非编码区或内含子均非常少, 而人类基因组测序后发现了大量的非编码区, 被称为基因组上的荒漠, 估计只有 5-10% 用于编码基因。

#### 4) 重复序列多

质粒的检测:

a) 提取所有胞内 DNA 后电泳观察;

b) 根据质粒的分子大小和结构特征, 通过超速离心或琼脂糖凝胶电泳可将质粒与染色体 DNA 分开

c) 对于常用菌, 可用质粒所带的某些特点, 如抗药性初步判断。(一般将菌点在相应的抗性平板上, 若抗性还在, 证明质粒可能还在, 否则则可能质粒已经丢失, 在实验中经常采用这种方法对含质粒的菌株进行初步检测)

d) 但这种方法并不保险，因为质粒可能会整合到染色体上，或者细菌由于某种突变而产生抗药性等。

产细菌素的质粒 (Bacteriocin production plasmid)

抗生素

抑制或杀死近缘，甚至同种不同株的细菌

较广的抗菌谱

通过核糖体直接合成的多肽类物质

一般是次级代谢产物

编码细菌素的结构基因及相关的基因一般位于质粒或转座子上

一般无直接的结构基因，相关酶的基因多在染色体上

很多细菌能产生能抑制或杀死近缘。甚至同种不同株的细菌的因子（细菌蛋白），被称为细菌素，以和抗生素相区别。抗生素一般具有较广的抗菌谱。此外，抗生素一般是微生物的次级代谢产物（通过代谢过程而产生），而细菌素一般是直接通过核糖体直接合成的多肽类物质。编码细菌素的结构基因及涉及细菌素运输及发挥作用（processing）的蛋白质、及赋予宿主对该细菌素具有免疫力i的相关产物的基因一般都位于质粒或转座子上，因此，细菌素可以杀死同种但不携带该质粒的菌株。细菌素一般根据产生菌的种类进行命名，例如大肠杆菌（E. coli）产生的细菌素为 colicins（大肠杆菌素），而质粒被称为 Col 质粒。而枯草芽孢杆菌（B. subtilis）产生的细菌素被命名为 subtilisin（枯草杆菌素）。等等。

细菌素首先发现于大肠杆菌中，有多种 col 质粒和产生多种 colicins，其发挥作用的原理各不相同。例如，有的 colicins 从产生菌中释放后，结合到敏感菌细胞膜特定的受体上，而该受体一般是负责一些重要物质，如一些生长因子的运输的；而另外，有些 colicins 则阻止一些重要的细胞功能的进行。还有一些 colicins 则在细胞膜上形成通道，造成钾离子和质子的外泄，使细胞失去能化膜而不能产生能量。Colicin E2 是一种 DNA 内切酶，能切断细胞 DNA，而 colicin E3 是一种核酸酶，能在 16SrRNA 的特定位置点进行切割从而使核糖体失活。

由 G+细菌产生的细菌素或与细菌素类似的因子与 colicins 有所不同，但通常也是由质粒基因编码，有些甚至有商业价值，例如一种乳酸细菌产生的细菌素 NisinA 能强烈抑制某些 G+细菌的生长，而被用于食品工业的保藏。

诱变剂与致癌物质i i Ames 试验

原理：诱变剂的共性原则，即化学药剂对细菌的诱变率与其对动物的致癌性成正比：超过 95%的致癌物质对微生物有诱变作用；而 90%以上的非致癌物质对微生物没有诱变作用

利用细菌突变来检测环境中存在的致癌物质是一种简便、快速、灵敏的方法。可以通过某待测物质对微生物的诱变能力间接判断其致癌能力。

该方法是由美国加利福尼亚大学的 Ames 教授首先发明，因此又称 Ames 试验。

该试验是利用鼠伤寒沙门氏菌（Salmonella typhimurium）的组氨酸营养缺陷型菌株(his-)的回复突变性能来进行的。

普遍性转导中外源 DNA 的三种后果

1)进入受体的外源 DNA 通过与细胞染色体的重组交换而形成稳定的转导子。

2) 如果转导 DNA 不能进行重组和复制，其上的基因仅经过转录而得到表达，就成为流产转导 (abortive transduction)，其特点是在选择培养基平板上形成微小菌落。DNA 不能复制，因此群体中仅一个细胞含有 DNA，而其它细胞只能得到其基因产物，形成微小菌落。

3) 3) 被降解，转导失败，在选择平板上无菌落形成。

2.局限性转导(specialized transduction)

温和噬菌体感染受体菌后，其染色体会整合到细菌染色体的特定位置点上，从而使宿主细胞发生溶源化，例如 λ 噬菌体，其插入位点的二侧分别是 gal 和 bio 基因；

如果该溶源菌因诱导而发生裂解时，在前噬菌体二侧的少数宿主基因，(对 λ 噬菌体分别是 gal 和 bio 基因)，会因偶尔发生的不正常切割而连在噬菌体 DNA 上，由此产生了一类特殊的噬菌体----缺陷噬菌体，

缺陷噬菌体除含大部分自身的 DNA 外，缺失的基因被几个位于前噬菌体整合位点附近的宿主基因取代，这样形成的杂合 DNA 分子在宿主细胞内能够象正常的  $\lambda$  DNA 分子一样进行复制、包装，提供所需要的裂解功能，形成转导颗粒。

但该缺陷噬菌体没有正常噬菌体的溶源性和增殖能力，感染受体细胞后，通过 DNA 整合进宿主染色体而形成稳定的转导子。

局限性转导与普遍性转导的主要区别：

- 1) 被转导的基因共价地与噬菌体 DNA 连接，与噬菌体 DNA 一起进行复制、包装以及被导入受体细胞中。而完全转导包装的可能全部是宿主菌的基因；
- 2) 局限性转导颗粒携带特定的染色体片段并将固定的个别基因导入受体，故称为局限性转导。

溶源转变与转导的不同：

1. 温和噬菌体不携带任何供体菌的基因，当宿主丧失这一噬菌体时，通过溶源转变而获得的形状也同时消失
2. 这种噬菌体是完整的，而不是缺陷的；

枯草芽孢杆菌的自然转化模型：

- a) 细菌生长在一定的培养条件下生长到一定阶段，以枯草芽孢杆菌为例是在葡萄糖基本培养基中培养到对数生长期末期到稳定期，细胞向胞外分泌一种小分子的蛋白质，称为感受态因子，其分子量为 5000 到 10000 道尔顿。
- b) 当培养液中的感受态因子积累到一定浓度后，与细胞表面受体相互作用，通过一系列信号传递系统诱导一些感受态一特异蛋白质(competence specific protein)表达，其中一种是自溶素(autolysin)，它的表达使细胞表面的 DNA 结合蛋白及核酸酶裸露出来，使其具有与 DNA 结合的活性。c) DNA 以双链形式在细胞表面的几个位点上结合并遭到核酸酶的切割，核酸内切酶首先切断 DNA 双链中的一条链，被切断的链遭到核酸酶降解，成为寡核苷酸释放到培养基中，另一条链与感受态一特异蛋白质结合，并被引导进入细胞，
- d) 进入细胞的外源 DNA 通过同源重组以置换的方式整合进受体染色体 DNA，经复制和细胞分裂后形成重组体。

枯草芽孢杆菌的自然转化的特点：

- 1) 枯草芽孢杆菌等革兰氏阳性菌细胞对双链 DNA 的吸附和摄取是没有特异性的，转化是否成功及转化效率的高低主要取决于转化给体菌株和转化受体菌株之间的亲缘关系，关系越近，则 DNA 之间的同源性也越高，就越容易在 DNA 之间发生重组，产生转化子。
- 2) 自然感受态除了对线型染色体 DNA 分子的摄取外，也能摄取质粒 DNA，但在通常情况下质粒的自然转化效率要低得多，这是因为质粒作为细菌染色体外独立存在的遗传物质和染色体 DNA 同源性很差（否则会因为和染色体 DNA 之间的重组而不稳定），这样被切割成单链后进入细胞的质粒 DNA 将很难通过重组重新恢复成有活性的状态（双链闭合环状），或通过整合进染色体而使相关性状得到表达；如要提高质粒的自然转化效率，可以用二种方法：i) 使质粒形成多聚体，这样进入细胞后重新组合成有活性的质粒的几率大大提高；ii) 在质粒上插入受体菌染色体的部分片段，或将质粒转化进含有与该质粒具有同源区段的质粒的受体菌-----重组获救。

3) 噬菌体 DNA 也可被感受态细胞摄取并产生有活性的病毒颗粒，这个过程被称为转染(transfection)，其特点是提纯的噬菌体 DNA 以转化的（而非病毒感染）途径进入细胞并表达后产生完整的病毒颗粒。

现在把 DNA 转移至动物细胞的过程也称转染。

主要有如下几个因素会对微生物菌种的稳定性造成影响：

1. 变异：即通过变异而失去重要的遗传特性，例如发酵生产能力下降，或研究中所需要的营养缺陷型由于回复突变等而改变
2. 污染：由于微生物在自然界中种类多，分布广，空气、桌面、皮肤表面都有大量的各种微生物存在，因此在进行微生物菌种操作（包括接种、培养等）时非常容易污染，从而造成菌种的丢失。

3. 死亡：微生物容易在实验室里用人工配制的各种培养基培养，但如果超过时间不转接菌种，由于疏忽培养条件发生改变，及其它各种以外情况（如冰箱停电）都容易造成菌种的死亡。而且这种损失有时是不可挽回的。

菌种保藏：在一定时间内使菌种不死、不变、不乱

## 第九章

目前常用的三种体外 DNA 连接方法为：

- ① 用 T4 或 E.coli DNA 连接酶可连接具有互补粘性末端的 DNA 片段；
- ② 用 T4 DNA 连接酶连接具有平末端的 DNA 片段；
- ③ 先在 DNA 片段末端加上人工接头，使其形成粘性末端，然后再行连接。
- ④ 将粘性末端补平或修平（用单链酶，如绿豆芽核酸酶）连接

柯斯质粒用于克隆大片段的 DNA 分子特别有效，而这种特性对于研究高等生物的基因组十分重要。其特点：

1) 具有  $\lambda$  噬菌体的特性：在克隆了外源片段后可在体外被包装成噬菌体颗粒，高效地感染对  $\lambda$  噬菌体敏感的大肠杆菌细胞。进入寄主的柯斯质粒 DNA 分子，按照  $\lambda$  噬菌体 DNA 的方式环化，但无法按噬菌体的方式生活，更无法形成子代噬菌体颗粒。

2) 具有质粒载体的特性：在寄主细胞内如质粒一样进行复制，携带有抗性基因和克隆位点，并具氯霉素扩增效应。

3) 具有高容量的克隆能力：柯斯质粒本身一般只有 5~7kb 左右，而它克隆外源 DNA 片段的极限值竟高达 45kb，远远超过质粒载体及  $\lambda$  噬菌体载体的克隆能力。同时，由于包装限制，柯斯质粒载体的克隆能力还存在一个最低极限值。例如，5 kb 大小的柯斯质粒载体，插入的外源片段至少不能小于 30 kb。

M13 是大肠杆菌丝状噬菌体，其基因组为环状 ssDNA，大小为 6407bp。其生活史为：

- 1) 通过性毛感染雄性 (F+ 或 Hfr) 大肠杆菌，或通过转染进入雌性大肠杆菌细胞；
- 2) 进入细胞后，转变成复制型 (RF) dsDNA，然后以滚环方式制出 ssDNA。每当复制出单位长度正链，即被切出和环化，并被立即组装成子代噬菌体和以出芽方式（即宿主细胞不被裂解）被释放至胞外。

M13 克隆载体是对野生型 M13 进行改造后建成，其特点是虽然克隆外源 DNA 的能力较小，一般只适于克隆 300~400bp 的外源 DNA 片段，但特别适合用于制备克隆基因的单链 DNA。主要被用于制备测序用单链 DNA 模板、特异的单链 DNA 探针，进行定位诱变等，也可用于噬菌体展示 (phage display)

## 第十章 微生物的生态

有关基本概念：

生态系统：在一定的空间内生物的成分和非生物的成分通过物质循环和能量流动互相作用、互相依存而构成的一个生态学功能单位。

生态学：研究生物与其周围生物和非生物环境之间相互关系

微生物生态学：研究微生物与其周围生物和非生物环境之间相互关系

### 第一节 自然界中的微生物

#### 一、空气中的微生物

分布特点：1. 无原生的微生物区系 2. 来源于土壤、水体及人类的生产、生活活动，

3. 种类主要为真菌和细菌，一般与其所在环境的微生物种类有关 4. 数量取决于尘埃数量

5. 在空气中的停留时间和尘埃大小、空气流速、湿度、光照等因素有关 6. 与人类生活关系密切

#### 二、水体中的微生物

##### 一) 江河水 特点：

- 1) 数量和种类与接触的土壤有密切关系；
- 2) 分布上更多的是吸附在悬浮在水中的有机物上及水底；
- 3) 淡水中的微生物是可以运动的，而且某些淡水中的细菌例如柄细菌具有很异常的形态，这些异常形态使得菌体的表面积与体积之比增加，从而使这些微生物能有效地吸收有限的营养物；
- 4) 靠近城市或城市下游水中的微生物多，并且有很多对健康不利的细菌，因此不宜作为饮用水源；
- 5) 水体自身存在自我净化作用；

##### (二) 海水

- 1) 嗜盐, 真正的海洋细菌在缺少氯化钠的情况下是不能生长的。
- 2) 低温生长, 除了在热带海水表面外, 在其它海水中发现的细菌多为嗜冷菌。
- 3) 耐高压 (特别是生活在深海的细菌), 少数微生物甚至可在 600 个大气压下生长,
- 4) 大多数海洋细菌为  $G_{-}$  细菌, 并具有运动能力;

### (三) 水体的富营养化作用和*i*水花*i*、*i*赤潮*i*

当水体接受了大量的有机物或无机物, 特别是磷酸盐和无机氮化合物, 引起水的富营养化。由于水中含有过多的含氮、磷等的营养物质, 引起藻类过量生长, 产生大量的有机物 (藻类) 异养微生物氧化这些有机物, 耗尽水中的氧, 使厌氧菌开始大量生长和代谢, 并分解含硫化物, 产生  $H_2S$ , 从而导致水有难闻的气味, 并由于缺氧引起鱼和好氧微生物的死亡, 最终引起水出现大量沉淀物和水体颜色异常。上述过程又称富营养化作用, 它是水体受到污染并使水体自身的正常生态失去平衡的结果。在水体的富营养化作用中, 藻类、蓝细菌等的大量繁殖使水体出现颜色, 并变得浑浊, 许多藻类团块漂浮在水面上, 从而形成所谓的*i*水花*i*或*i*水华*i* (water bloom) 在海洋中, 某些甲藻类大量繁殖也可也可以形成水花, 从而使海水出现红色或褐色, 即所谓的赤潮或红潮 (red tides)。

### 三、土壤中的微生物

- 1) 土壤微生物的数量和分布主要受到营养物、含水量、氧、温度、pH 等因子的影响, 并随土壤类型的不同而有很大变化。
- 2) 土壤微生物的数量和分布受季节影响;
- 3) 微生物的数量也与于土层的深度有关, 一般土壤表层微生物最多, 随着土层的加深, 微生物的数量逐步减少。

### 四、工农业产品上的微生物

1. 微生物引起的工业产品的霉腐
2. 食品、农副产品上的微生物

### 五、极端环境下的微生物

极端环境下微生物的研究有三个方面的重要意义: (1) 开发利用新的微生物资源, 包括特异性的基因资源; (2) 为微生物生理、遗传和分类乃至生命科学及相关学科许多领域, 如: 功能基因组学、生物电子器材等的研究提供新的课题和材料; (3) 为生物进化、生命起源的研究提供新的材料。

- 1、嗜热微生物
- 2、嗜冷微生物
- 3、嗜酸微生物
- 4、嗜碱微生物
- 5、嗜盐微生物
- 6、嗜压微生物

### 六、不可培养的微生物

在自然界中存在的微生物中, 已为人们所认识的仅占很小一部分 (通常认为仅 10%, 有人认为在土壤中生活的微生物仅有 1% 可用目前的方法在实验室进行培养), 其中的原因就在于在自然界中存在的大多数微生物在目前的条件下不能在实验室进行人工培养, 不可能得到其纯培养并对其进行形态及生理、遗传等特性进行研究。CARL WOESE 在 1977 就提出的用 rRNA (原核的 16s 和真核的 18s) 揭示生物的系统发育的方法为我们研究并开发不可培养微生物提供了可能。其方法通常是用各种特定的引物 (例如所有真细菌 (eubacteria) 的保守 16s rRNA 区段或某种微生物的特异 DNA 或 16s rRNA 保守序列等) 进行 PCR 从各种生态环境中克隆 16s rRNA, 并对其进行序列分析和同源性分析, 发现和开发不可培养微生物。

### 第二节 微生物与生物环境间的相互关系

自然环境中的微生物一般都不是单独存在的, 存在个体、种群、群落和生态系统从低到高的组织层次群体 (population): 具有相似特性和生活在一定空间内的同种个体群, 是组成群落的基本组分。

群落 (community): 在一定区域或一定生态环境内, 各种生物群体构成的一个生态学结构单位, 群落中各生物群体之间存在各种相互作用。

生态系统 (ecosystems): 生物群落和它们所生活的非生物环境结合起来的一个整体。生态系统是生物圈的组成单元, 生物圈内的任何一个相对完整的自然整体都可以被看作为生态系统, 如一个池塘, 一片森林, 一个污水处理池, 等等。

生物圈 (biosphere): 地球上所有生物及其所生活的非生命环境的总称。

一般来说, 在生态系统中生物之间的相互关系归纳起来有如下三种:

1. 有利关系：一种生物的生长和代谢对另一种生物的生长产生有利的影响，或相互有利；
2. 有害关系：一种生物的生长对另一种生物的生长产生有害的影响，或相互有害；
3. 中性关系：二种生物生活在一起时，彼此对对方的生长代谢无明显的有利或有害影响。

微生物间及微生物与其它生物间最常见的几种相互关系

#### 一、互生

二种可以单独生活的生物，当它们生活在一起时，通过各自的代谢活动而有利于对方，或偏利于一方的一种生活方式。因此，这是一种*i*可分可合，合比分好*i*的相互关系

(一) 微生物间的互生关系 在自然界中，微生物间的互生关系非常普遍，也很重要。

(二) 人体肠道正常菌群 人体肠道正常菌群与宿主间的关系，主要是互生关系，但在某些特殊条件下，也会转化为寄生关系。

#### 二、共生

二种生物共居在一起，相互分工协作、相依为命，甚至形成在生理上表现出一定的分工，在组织和形态上产生了新的结构的特殊的共生体。

共生一般有二种情况：互惠共生（二者均得利）和偏利共生（一方得利，但另一方并不受害）

(一) 微生物间的共生关系

例如地衣 地衣是微生物间典型的互惠共生形式，它是藻类和真菌的共生体，

结构上的共生： 生理上的共生：这种共生关系具有重要的生态学意义，对土壤形成具有重要作用。

(二) 微生物和植物间的共生关系

根瘤菌与豆科植物间的共生关系就是典型的例子-----形成根瘤共生体。根瘤菌固定大气中的气态氮为植物提供氮素养料，而豆科植物的根的分泌物能刺激根瘤菌的生长，同时，还为根瘤菌提供保护和稳定的生长条件。

(三) 微生物与动物的共生关系

1. 与昆虫的共生关系 1) 外共生； 2) 内共生；
2. 与反刍动物的共生关系

反刍动物，如牛、羊、骆驼、长颈鹿等以植物的纤维素为主要食物，它们在瘤胃中经微生物发酵变成有机酸和菌体蛋白再供动物吸收利用。与此同时，瘤胃也为里面居住的微生物提供了必要的营养和生长条件

三、寄生 所谓寄生，一般指一种小型生物生活在另一种相对较大型生物的体内或体表，从中取得营养和进行生长繁殖，同时使后者蒙受损害甚至被杀死的现象。前者称为寄生物（parasite），后者称为寄主或宿主（host）

(一) 微生物间的寄生 1. 噬菌体*i* 细菌； 2. 蛭弧菌*i* 细菌； 3. 真菌*i* 真菌； 4. 真菌、细菌*i* 原生动物；

(二) 微生物与动植物

各种各样的致病菌多是行寄生生活

择生生物，现一般称为悉生生物或定菌生物（Gnotobionte）指整个个体不携带或只携带已知微生物的生物。与通常携带众多种类微生物且数量很多的普通生物相比，用它做实验研究有很多优点：干扰因素少，操作易控制，既可进行定性分析，也可进行定量分析，实验结果准确、可靠，对于了解微生物与宿主之间复杂的关系及其机理具有十分重要的作用。

四、拮抗 所谓拮抗，系指某种生物产生的代谢产物可抑制它种生物的生长发育甚至将后者杀死。

在一般情况下，拮抗多是指微生物间的*i*化学战术*i*，最典型的的就是抗菌素所产生的能抑制其它生物生长发育的抗生素；

此外，有时因某种微生物的生长而引起的其它条件的改变（例如缺氧、pH 改变等），从而抑制它种生物的现象也称拮抗。

五、竞争 竞争：两个种群因需要相同的生长基质或其它环境因子，致使增长率和种群密度受到限制时发生的相互作用，其结果对两种种群都是不利的。

六、捕食 捕食：一种种群被另一种种群完全吞食，捕食者种群从被食者种群得到营养，而对被食者种群产生不利影响。

对微生物来说，一般有如下几种情况：

1. 原生动物吞食细菌和藻类；
2. 粘细菌吞食细菌和其它微生物；
3. 真菌捕食线虫和其它原生动物；

### 第三节 微生物在生态系统中的作用

生态系统是生物群落和它们所生活的非生物环境结合起来的一个整体

特点：在一定的空间内，生物的成分和非生物的成分通过物质循环和能量流动互相作用、互相依存而构成的一个生态学功能单位。

生物成分按其在生态系统中的作用，可划分为三大类群：生产者（从无机物合成有机物，例如植物、某些微生物）、消费者（利用有机物进行生活，一般不能将有机物直接分解成有机物，例如动物、某些微生物）和分解者（分解有机物成无机物，形成完整的物质循环）。微生物可以在多个方面但主要作为分解者而在生态系统中起重要作用。

## 第十一章

病原微生物(Pathogenic microorganism)：寄生于生物(包括人)机体并引起疾病的微生物。又称病原体(pathogen)。

感染(infection)，又称传染：机体与病原体在一定条件下相互作用而引起的病理过程。

病原体、宿主和环境是决定传染结局的三个因素

感染的建立，首先需有病原体的接触。它们具有侵袭宿主体，在其中生长繁殖和产生毒性物质等能力。

感染不是疾病的同义词，

大多数的感染为亚临床的、不明显的、不产生任何显著的症状与体征。

有些病原体在最初感染后，潜伏影响可持续多年。病原体亦可与宿主建立起共生关系。

传染病：由有生命力的病原体引起的疾病，与由其它致病因素引起的疾病在本质上有区别的。

传染病的基本特征是有病原体，有传染性，有流行性、地方性和季节性，有免疫性。

免疫(immunity)：生物体能够辨认自我与非自我，对非我做出反应以保持自身稳定的功能，

传统的免疫概念是机体抵抗病原微生物的能力，即抗传染免疫。随着科学的发展，免疫的现代概念已大大超出了抗传染免疫的范围。实际上，机体除了对微生物的刺激，能发生免疫反应外，对一切抗原异物甚至改变了的自身成分也能发生反应，并且反应的结果可能是对身体有利的，也可能是有害的。

免疫功能的分类：

类别

功能正常 功能异常 免疫防御

抵御病原体的侵害和中和其毒素（抗传染免疫）

变态反应、反复感染或免疫缺陷综合症

免疫稳定

清除体内自然衰老或损伤的细胞，进行免疫调节，以维护机体内环境的相对稳定性

识别紊乱，导致自身免疫病的发生

免疫监视

某些免疫细胞发现并清除突变的自身细胞（癌细胞）

功能失调时，导致癌变或持续感染的发生

一、感染的途径与方式

### 1. 感染的途径

外源性感染：来源于宿主体外的感染称为外源性感染，主要来自病人、健康带菌(毒)者和带菌(毒)动、植物。

内源性感染：而当滥用抗生素导致菌群失调或某些因素致使机体免疫功能下降时，宿主体内的正常菌群可引起感染称内源性感染。



## 2. 感染的部位及方式

### 二、微生物的致病性

1. 细菌的致病性：细菌的致病性是对特定宿主而言，能使宿主致病的为致病菌，反之为非致病菌，但二者并无绝对界限。有些细菌在一般情况下不致病，但在某些条件改变的特殊情况下亦可致病，称为条件致病菌(opportunistic pathogen)或机会致病菌。病原菌致病力的强弱称为毒力，其侵袭力和毒素是构成毒力的基础。

2. 1) 侵袭力(invasiveness)：病原菌突破宿主防线，并能于宿主体内定居、繁殖、扩散的能力，称为侵袭力。

(1) 吸附和侵入能力：细菌通过具有粘附能力的结构如革兰氏阴性菌的菌毛粘附于宿主的呼吸道、消化道及泌尿生殖道粘膜上皮细胞的相应受体，于局部繁殖，积聚毒力或继续侵入机体内部。例如淋病奈瑟氏球菌的菌毛可使其吸附于尿道粘膜上皮的表面而不被尿液冲走；变异链球菌(Streptococcus mutans)能用蔗糖合成葡聚糖，使细菌与牙齿表面粘连成菌斑，而其它细菌例如乳杆菌(Lactobacillus)可在菌斑上进一步发酵蔗糖产生大量有机酸(pH降低至4.5左右)，二者共同作用，导致牙釉质和牙质脱钙，造成龋齿。病原菌宿主细胞表面后，有的不再侵入，仅在原处生长繁殖并引起疾病，如霍乱弧菌(Vibrio)，有的侵入细胞内生长繁殖并产生毒素，使细胞死亡，造成溃疡，例如痢疾志贺氏菌(Shigella dysenteriae)，有的则通过粘膜上皮细胞或细胞间质侵入表层下部组织或血液中进一步扩散，例如溶血链球菌(Streptococcus haemolyticus)引起的化脓性感染等。

(2) 繁殖与扩散能力：产生、分泌水解性酶类，使组织疏松、通透性增加，有利于病原菌扩散。例如链球菌产生的透明质酸酶(水解机体结缔组织中的透明质酸，从而使该组织疏松、通透性增加，有利于病原菌迅速扩散，引起全身感染)、链激酶、链道酶等可协助细菌扩散。

(3) 对宿主防御机能的抵抗能力：a) 细菌的荚膜和微荚膜具有抗吞噬和体液杀菌物质的能力，有助于病原菌于在体内存活，例如肺炎球菌的荚膜。b) 致病性葡萄球菌产生的血浆凝固酶有抗吞噬作用(加速血浆凝固成纤维蛋白屏障，以保护病原菌免受宿主的吞噬细胞和抗体的作用)；c) 有些可分泌一些活性物质如溶血素，抑制白细胞的趋化作用；d) 有的具抵抗在吞噬细胞内杀被死的能力，能在吞噬细胞内寄生(二者力量平衡时，则细胞内寄生状态可持续存在，若失去平衡，则必有一方受到伤害)，等等。

### 外毒素与内毒素的比较

#### 项目

外毒素 内毒素 产生菌 革兰氏阳性菌为主 革兰氏阴性菌

化学成分 蛋白质 脂多糖(LPS) 释放时间 一般随时分泌菌体死亡裂解后释放

致病特异性 不同外毒素各不相同 不同病原菌的内毒素作用基本相同 毒性 强\* 弱 抗原性 完全原，  
抗原性强 不完全抗原，抗原性弱 制成类毒素 能 不能 热稳定性 差 耐热性强

\*1mg 肉毒毒素纯品可杀死 2 亿(2000 万)只小鼠或一百万只豚鼠，中毒的死亡率几近 100%，但及时注射抗毒素及对症治疗可使之降低。1mg 破伤风毒素可杀死 100 万只小鼠，1mg 白喉毒素可杀死 1000 只豚鼠。

### 传染的类型：

#### 1. 隐性传染

如果宿主的免疫力很强，而病原体的毒力相对较弱，数量又较少，传染后只引起宿主的轻微伤害，且很快就将病原体彻底消灭，因而基本上不表现临床症状。

#### 2. 带菌状态

如果病原体与宿主双方都有一定的优势，但病原体仅被限制于某一局部且无法大量繁殖，二者长期处于僵持状态，就称为带菌状态。这种长期处于带菌状态的宿主，称为带菌者。在隐性传染或传染病痊愈后，宿主有可能会成为带菌者，如不注意，就成为该传染病的传染源，十分危险。这种情况在伤寒、白喉等传染病中时有发生。

#### 3. 显性传染

如果宿主的免疫力较低，或入侵病原菌的毒力较强、数量较多，病原菌很快在体内繁殖并产生大量有毒产物，使宿主的细胞和组织蒙受严重损害，生理功能异常，于是就出现了一系列临床症状，这就是显性传染。按发病时间的长短，可将显性传染分为急性传染和慢性传染二种。前者的病程仅数日至数周，如流行性脑膜炎和霍乱等；后者的病程往往长达数月甚至数年，如结核病、麻风病等。

急性传染病一般由对宿主吞噬细胞吞噬敏感的病原体造成，这些病原体在机体内被吞噬细胞吞噬后即被迅速破坏，属于细胞外寄生物，即它们伤害宿主组织仅在吞噬细胞外的时间内。而与此相反，细胞内寄生物能在细胞内存活和繁殖，常引起慢性病。

非特异性免疫：

一、 生理屏障

二、 1. 皮肤与粘膜：

1) 机械的阻挡和排除作用：健康机体的外表面覆盖着连续完整的皮肤和粘膜结构，其外面的角质层是坚韧的，不可渗透的，组成了阻挡微生物入侵的有效屏障。

2) 分泌液中所含化学物质有局部抗菌作用：汗腺分泌物中的乳酸和皮肤腺分泌物中的长链不饱和脂肪酸均有一定的杀菌抑菌能力。多种分泌性体液含有杀菌的成分，如唾液、泪水、乳汁、鼻涕及痰中的溶菌酶、胃液的胃酸、精液的精胺等。

机体呼吸道、消化道、泌尿生殖道表面由粘膜覆盖，其表面屏障作用较弱，但有多种附件和分泌物。粘膜所分泌的粘液具有化学性屏障作用，并且能与细胞表面的受体竞争病毒的神经氨酸酶而抑制病毒进入细胞。当微生物和其它异物颗粒落入附于粘膜面的粘液中，机体可用机械的方式如纤毛运动、咳嗽和喷嚏而排出，同时还有眼泪、唾液和尿液的清洗作用。

3) 共生菌群 人的体表和与外界相通的腔道中存在大量正常菌群，通过在表面部位竞争必要的营养物质，或者产生如象大肠杆菌素、酸类、脂类等抑制物，而抑制多数具有疾病潜能的细菌或真菌生长。临床上长期大量应用广谱抗菌素，肠道内对药物敏感的细菌被抑制，破坏了菌群间的拮抗作用，则往往引起菌群失调症，如耐药性金黄色葡萄球菌性肠炎。

2.生理上的屏障结构

体内的某些部位具有特殊的结构而形成阻挡微生物和大分子异物进入的局部屏障，对保护该器官，维持局部生理环境恒定有重要作用。

1) 血脑屏障：不是一种专有的解剖结构，主要由软脑膜、脉络丛、脑毛细血管壁及其外的脑星形细胞组成的，具有细胞间连接紧密、胞饮作用弱的特点，可阻挡病原体及其有毒产物从血液透入脑组织或脑脊液，从而保护了中枢神经系统的稳定。婴幼儿因其血脑屏障还未发育完善，故易患脑膜炎或流行性乙型脑炎等传染病。

2) 血胎屏障：由怀孕母体子宫内壁的基蜕膜和胎儿的绒毛膜滋养层细胞共同组成，当它发育成熟（一般在妊娠3个月）后，能阻挡病原微生物由母体通过胎盘感染胎儿，但并不妨碍母子间的物质交换。

二、细胞因素

三、体液因素

四、炎症(inflammatory)

免疫应答的基本过程

免疫应答十分复杂，其过程分为感应阶段、反应阶段和效应阶段。

1. 感应阶段

这是机体接受抗原刺激的阶段。巨噬细胞（非特异性免疫的细胞因素）在此阶段起重要作用，抗原进入机体后，一般到达周围淋巴器官，在那里发生免疫应答。除少数可溶性物质可直接作用于淋巴细胞外，大多数抗原都要经过巨噬细胞的处理。经过处理后，抗原决定簇与巨噬细胞的RNA组成复合物，可增强免疫原性。

巨噬细胞将抗原信息传递给T细胞，引起细胞免疫。

大多数引起体液免疫的抗原，也要经巨噬细胞处理后，将抗原信息传递给辅助性T细胞，再传给B细胞，

少数抗原可不经巨噬细胞，直接刺激 B 细胞，由抗原诱导免疫应答，免疫活性细胞表面有抗原受体，所以能够识别抗原。每个淋巴细胞表面只有一种抗原受体，只能识别一种抗原，当它们结合后，抗原刺激细胞增殖、分化而产生免疫应答。

## 2. 反应阶段

淋巴细胞识别抗原后，即活化进入反应阶段。

在这一阶段中，T 细胞转化为淋巴母细胞，再增殖、分化，成为有免疫效应的致敏淋巴细胞。

B 细胞被活化后，转化为浆母细胞，再增殖、分化为浆细胞，分泌抗体。

致敏淋巴细胞和浆细胞是终末细胞，不再分化，寿命短，只有几天。

受抗原刺激的淋巴细胞，在分化过程中，还有一部分细胞在中途停顿下来，不再增殖分化，成为记忆细胞，在体内能较长时间存在。当再次受到同种抗原刺激时，能迅速分化增殖成大量致敏淋巴细胞和浆细胞，分别产生大量淋巴因子及抗体。

## 3. 效应阶段

在免疫应答的效应阶段，抗原成为被打击的对象。抗体和致敏淋巴细胞都可以与抗原结合产生特异性免疫反应。当同种抗原再次侵入机体时，致敏 T 细胞可直接作用于抗原，同时释放多种淋巴因子消灭抗体，行使细胞免疫功能。抗体也可直接作用于抗原，或与巨噬细胞、补体等协同作用，消灭或破坏抗原，完成体液免疫作用。

## 第十二章

建立 16 S r RNA 系统发育树的意义

a) 使生物进化的研究范围真正覆盖所有生物类群；

传统的生物进化研究，主要基于复杂的形态学和化石记载，因此多限于研究后生生物 (metazoa)，而后者仅占整个生物进化历程的 1/5

b) 提出了一种全新的正确衡量生物间系统发育关系的方法；

c) 对探索生命起源及原始生命的发育进程提供了线索和理论依据；

d) 突破了细菌分类仅靠形态学和生理生化特性的限制，建立了全新的微生物分类、鉴定理论；

e) 为微生物生物多样性和微生物生态学研究建立了全新的研究理论和研究方法，特别是不经培养直接对生态环境中的微生物进行研究。

Taxonomists' counts suggest that insects dominate the diversity game, but new analyses reveal that microbes are the real winners.

核酸的碱基组成和分子杂交：

与形态及生理生化特性的比较不同，对 DNA 的碱基组成的比较和进行核酸分子杂交是直接比较不同微生物之间基因组的差异，因此结果更加可信。

### 1. DNA 的碱基组成(G+Cmol%)

DNA 碱基组成是各种生物一个稳定的特征，即使个别

基因突变，碱基组成也不会发生明显变化。

分类学上，用 G+C 占全部碱基的克分子百分数(G+Cmol%)来表示各类生物的 DNA 碱基组成特征。

1) 每个生物种都有特定的 GC%范围，因此后者可以作为分类鉴定的指标。细菌的 GC%范围为 25--75%，变化范围最大，因此更适合于细菌的分类鉴定。

2) GC%测定主要用于对表型特征难区分的细菌作出鉴定，并可检验表型特征分类的合理性，从分子水平上判断物种的亲缘关系。

3) 使用原则：

G+C 含量的比较主要用于分类鉴定中的否定每一种生物都有一定的碱基组成，亲缘关系近的生物，它们应该具有相似的 G+C 含量，若不同生物之间 G+C 含量差别大表明它们关系远。

但具有相似 G+C 含量的生物并不一定表明它们之间具有近的亲缘关系。

同一个种内的不同菌株 G+C 含量差别应在 4~5%以下；同属不同种的差别应低于 10~15%。所以 G+C

含量已经作为建立新的微生物分类单元的一项基本特征，它对于种、属甚至科的分类鉴定有重要意义。若二个在形态及生理生化特性方面及其相似的菌株，如果其 G+C 含量的差别大于 5%，则肯定不是同一个种，大于 15%则肯定不是同一个属。

在疑难菌株鉴定、新种命名、建立一个新的分类单位时，G+C 含量是一项重要的，必不可少的鉴定指标。其分类学意义主要是作为建立新分类单元的一项基本特征和把那些 G+C 含量差别大的种类排除出某一分类单元。