



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

发酵原理

(第二版)

Principles of Fermentation



张星元 编著



科学出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

发 酵 原 理

(第二版)

张星元 编著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书分别从能量流、物质流和信息流三个方面揭示了微生物代谢的运动本质,首次提出了发酵学关于微生物生命活动的“三个基本假说”。并把微生物育种和微生物培养的工艺视为一个整体,以“三个基本假说”为依据,提出了关于现代工业发酵的一系列应用性推理,将工业发酵提升到现代生物技术及生物工程的高度。

本书认定微生物是工业发酵的行为发生主体,是发酵生产线上必不可少的细胞机器,并且为典型的工业发酵的细胞机器建立了工作模型,在这个模型的基础上提出了工业微生物代谢的“五段式”和工业发酵的“五字策略”。本书示范了与微生物平等友好、合作共赢的思维方式,希望能有益于读者在生物技术及其应用方面的开创性工作。

本书适合于生物工程、生物技术专业的高年级本科生使用,并可供生物工程、生物技术领域的教师、研究生和科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵原理/张星元编著. —北京:科学出版社,2011.3
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
ISBN 978-7-03-030333-2

I. ①发… II. ①张… III. ①发酵-理论-高等学校-教材 IV. ①TQ920.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 025135 号

责任编辑:单冉东 / 责任校对:宋玲玲
责任印制:张克忠 / 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年5月第一版 开本:787×1092 1/16

2011年3月第二版 印张:22

2011年3月第三次印刷 字数:520 000

印数:5 501—8 500

定价:42.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

第二版前言

本书是我国第一本系统地阐述工业发酵的生物学原理的专著,也是我国大学生物工程专业发酵原理课程的教科书(国家级规划教材)。

本书在突出生物学理念自成系统地解释发酵工程的基础上,推出微生物生命活动的“三个基本假说”,运用这“三个基本假说”来分析典型的工业发酵,提出了为工业发酵生产服务的若干推理和工业发酵新思路。这三个假说以及以它们为前提做出的推理和策略,构成了一个完整的思想体系,使这本书具有原创性。

本书第一版于2005年3月由科学出版社出版,与读者见面一晃已5年了。在我们编写、出版和使用本书的十年(1997~2007年)课堂教学中,始终坚持课程讨论会(或辩论会),师生互动,对教学内容(本书首版出版后对本书内容)进行了认真的、批判性的研讨和对话。特别值得一提的是,是使用这本书的第一批学生,对这本书和这两门课程的评述,已在科学网上发布:

本书作者直接面向学生,为本科生讲授发酵原理课,为研究生讲授工业发酵的生物学原理课。在发酵原理的十年(1997~2007年)课堂教学中,始终坚持课程讨论会(或辩论会),师生互动,对教学内容(本书首版出版后对本书内容)进行了认真的、批判性的研讨和对话。特别值得一提的是,是使用这本书的第一批学生,对这本书和这两门课程的评述,已在科学网上发布:

<http://bbs.sciencenet.cn/home.php?mod=space&uid=41364&do=blog&quickforward=1&id=243107>

对学生提出的有见地的意见,我是很欢迎的,并已经努力使它们在本书第2版中有所体现。这里留下作者的网址:

<http://blog.sciencenet.cn/?41364>

http://www.sciencenet.cn/m/user_index.aspx?blogusern=biozhang

E-mail 地址: biozhang@163.com

欢迎读者继续提出宝贵意见,必要时可以提供电子教案。

拿到本书(第二版)新书,您会发现它比第一版要薄一些。书变薄了,但内涵扩大了,系统性加强了。建议您先浏览一下绪论、第1章(工业发酵生产线上的细胞机器)和第5章(发酵学基本理论框架),然后浏览第2、第3、第4章(发酵学的“三个基本假说”)的目录,对本书的逻辑顺序有了一个大概的了解以后,再从头阅读,自然心知肚明。

作者已对本书第一版进行了全面的修订,主要表现在以下方面。

在形式上,更加突出新理论的系统性和开放性。第一版出版时,因为时间仓促来不及整合,只好将主体部分写入“原理篇”,将有关的基础知识编入“基础篇”,后者的编入主要是用备查的方式支持前者的新理论。这样的安排只是权宜之计,第二版已经将原“基础篇”的有关内容融入原创理论的相关部分,力求让新理论与基础知识融会贯通;有些章里还插入了建议阅读或参考阅读的内容,引导开放性的教与学。这样的安排不但为教与学

提供方便,而且可以精简掉不必要的重复,更加突出新理论的系统性和开放性。

在内容上,更加成熟丰满。工业发酵的生物学复杂系统是以微生物细胞群体作为行为主体的微生物复杂系统,其中每个微生物细胞又是这个复杂系统的子系统,也就是下一个层次的复杂系统。在显微镜下看到的仅仅是微生物的实体系统,关于这个实体结构,微生物学里已有详尽的描绘。本书第二版着重讨论了工业微生物的概念系统——细胞经济系统,这个系统是没有物理边界的、受信息强烈而持续束缚的过程系统;进而深入讨论了对应于实体系统和概念系统,微生物的实物结构和微生物的经济结构如何从状态和过程这两个互补的侧面来描绘微生物生命系统。本书第二版以工业发酵为对象认真探讨了与微生物细胞结构互补的代谢过程系统——细胞经济系统,期望读者能从中领略到微生物细胞在生物工程领域的真实面貌和奕奕神采。

在观点上,更加明朗而富有逻辑性。本书第二版重申在工业生产中,微生物的生存利益与人类的利益,也就是微生物的生命活动规律和人的意志,这两者既是对立的,又是统一的,科学和技术工作的目的就在于努力促使这两者的对立向统一转化;还从工业发酵的生产实践出发,揭示了发酵工程的基本矛盾,即人出于经济利益对微生物自主代谢的导向与微生物细胞的生存保障体系对这种导向的抵触或认同。微生物细胞的“整体协调维持生计”的经济管理原则体现了生命世界“以生为本”的核心价值取向,它不但是微生物自身生存的保障,也是工业发酵成功的保障。遗传改造所造成的不和谐局面之所以能在人为的培养条件优化的过程中得到化解,就是因为细胞的生命运动中这个细胞经济管理原则始终在起作用,微生物在求生存的方向上始终是主动的,人的意志有可能得到微生物细胞的响应,后者通过“整体协调”的方式化解矛盾,形成“维持生计”的新格局,在生命活动中为人类创造物质财富,实现和谐双赢。对于工业微生物学家和发酵工程师来说,如何在发酵工业生产中调动微生物客观上为人类服务的积极因素,始终是一个挑战性的问题。这些经过深思熟虑的思想已经写入本书第二版,期望生物工程、发酵学科的后来人,能从过去无人知晓的角度和深度来认识自组织的发酵世界,来理解核心价值取向始终如一的微生物“小兄弟们”;期望生物工程、发酵学科的后来人在科学实践中,头脑清醒、脚踏实地、沉着坚毅、勇于实践,做出我们应有的贡献。

著书立说,困难是难免的,一切都在不言之中了。在那难忘的日日夜夜,是我的夫人廖瑞云和我的女儿张可给了我理解和支持,是科学网的博友们、网友们以及我的学生们给了我希望和动力,是科学出版社的单冉东先生给了我冲刺的爆发力,他们同样对本书第二版的面世做出了重要的贡献。

张星元

2010年秋于无锡阳光城市花园悟空书斋

第一版前言

本书由“原理篇”和“基础篇”组成,并备有教学自学课件。发酵原理课程在大学本科教学中安排课堂教学 32 学时;课堂讨论(讨论会或辩论会)8 学时,共 40 学时。“原理篇”作为课堂教学的主题教材,“基础篇”作为主要辅助读物。

发酵原理是生物工程专业的基本理论课程,在科学发展观的指导下,从理论框架的构建入手进行生物工程专业的课程建设,在课程建设中不断丰富理论。通过实验研究和哲学思辨,认识发酵工程的生物学属性,进而建立发酵工程的核心理论,建设发酵原理课程。

目前国内外有关发酵工程和生物制药的科技书籍和大学教材,往往沿用以往“菌种(催化剂)—发酵(化学反应)—提炼(化学分离)”的体例描述发酵工业生产,这是从化工厂的工艺操作规程衍生出来的体例。按这样的体例编写的教材曾有效地推动了“作坊式发酵生产借鉴化学工程而实现工业化生产”的历史进程,但它们难于体现发酵工程的生物学属性,也难以将菌种和培养工艺作为一个整体,深入讨论发酵工业生产中的工业生物学问题。为了扭转忽视发酵工程的生物学属性的历史性倾向,为了实现发酵工程再一次飞跃,即从化工模式的传统发酵生产到生物工程的现代发酵生产;为了推进发酵工程的计算机控制和自动化进程;必须对生物工程和发酵工程科技人员和学生进行发酵科学理论的教育。

发酵原理是研究发酵科学理论的课程,其科学性主要体现在以下几个方面。

(1) 对微生物生命活动的完整的认识体系:第一假说提示微生物生命活动的前提(代谢能的持续供应);第二假说体现微生物生命活动的内容(能量、物质的转化关系);第三假说揭示微生物生命活动的法则(信息传递与细胞的自组织)。这三个基本假说从三个不同的角度来分析同一个问题(微生物的生命活动的问题):第一假说从代谢能对生命活动的支撑的角度认定,微生物细胞是代谢能转换器;第二假说从代谢的角度,认定微生物细胞是生物化学反应器和生物材料加工器;第三假说从生物信息学和代谢调节的角度,认定微生物细胞是生物信息编码器、信息传感器、细胞生命活动的自动控制器。微生物生命活动的三个基本假说,以及以它们为前提做出的关于发酵工业生产的若干应用性推理,构成了对微生物生命活动的完整的认识体系。

(2) 三个基本假说相互联系、相互支持和相互协调:能量代谢需借助代谢网络来实现,代谢网络的运行需要代谢能的支撑;能量代谢和物质代谢相互交叉,并且都受细胞经济规律的规范和制约。代谢网络中代谢流的流动依赖于代谢能支撑,受制于细胞经济规律;而对代谢能支撑和细胞经济的研究,又必须借助于它们的载体——代谢网络。

(3) 发酵工程的自然辩证法:通过对典型的工业发酵的深入研究,发现微生物生命活动的客观规律,提出代谢能支撑、代谢网络和细胞经济三个基本假说。代谢能支撑假说揭示了工业发酵的原动力;代谢网络假说把代谢途径和跨膜输送系统的有序组合作为一个整体来研究,这样有利于从宏观上把握微生物的代谢和生理,为工业发酵中原料的利用和产物的合成,提供分析的依据和实际操作的位点;细胞经济假说的提出,为正确处理工业发

醉中人的主观愿望与微生物生命活动的客观规律之间的对立统一关系提供了理论依据。

(4) 学科的交叉和渗透:认定现代发酵工程属于新兴的交叉学科,在教学内容上自然地将化学、生物化学、微生物学、分子生物学、细胞学、微生物生理学、分子细胞生物学等学科的知识与物理学、物理化学、化工原理、电工学、生态学、信息学、经济学、哲学等学科的知识渗透、交叉、交融起来;在思想认识上自觉地将这些不同学科的知识融会贯通,在此基础上学习和发展生物工程的微生物代谢原理,并将它们应用到生产和研究中去。

发酵原理教学的价值主要体现在:通过教学实践使教学双方深刻认识到,学生固然需要丰富的知识积累,更需要对科学性质(特别是自己所学的专业科学性质)的正确理解,对高层次的学生来讲,更有必要通晓科学家的思维方式和科学研究在思想上的连续性。本课程引导学生认真梳理以前所学到的相对零散的知识,进而用经过梳理的知识对发酵工程建立科学的理解;通过科学思维的示范,学科前沿内容的佐证,理性地激发学生的创造精神和科学实践的欲望。

自从1997年9月《发酵原理》内部开始试用,至今已历7年,经过批判性的、反复的锤炼,发酵学基本理论框架已经形成,有条件编著《发酵原理》了。作者对原《发酵原理》教材作了一些补充,编为本书的“原理篇”,还对前几年的讲义《工业发酵的生物学基础》略作修订编为“基础篇”,加上前言、后记等,完成了《发酵原理》的编著工作。如今拜托我最信服的出版社——科学出版社出版这本书。

著书立说,困难是难免的,一切都在不言之中了。在那难忘的日日夜夜,是我的家人和老同学们给了我理解和支持,是我的学生们给了我希望和动力,他们同样对《发酵原理》的面世做出了重要的贡献。

张星元

2004年夏写于社桥老轻院悟空书斋

目 录

第二版前言

第一版前言

英文缩写与中文全称对照表

绪论	1
复习题	5
第 1 章 工业发酵生产线上的细胞机器	6
1.1 工业发酵生产线上的细胞机器	6
1.1.1 生物机器和细胞机器的概念	6
1.1.2 发酵工厂关键的生产机器	7
1.2 微生物细胞机器的工作模式	7
1.2.1 活细胞的基本性能	8
1.2.2 微生物细胞机器的工作模式	8
1.2.3 创新思路的理论基础	11
复习题	11
参考文献	12
第 2 章 发酵学第一假说:代谢能支撑假说	13
2.1 微生物细胞过程的热力学	14
2.1.1 生命系统是开放系统	14
2.1.2 经典热力学与微生物代谢	14
2.1.3 吉布斯自由能和代谢能	15
2.2 微生物细胞内外的物质交换	15
2.2.1 微生物细胞与其所处环境的关系	16
2.2.2 化学物质的跨膜过程	20
2.3 化能异养型微生物的生物氧化	32
2.3.1 氧化还原反应	33
2.3.2 微生物进行生物氧化的细胞器及 ATP 合成酶	33
2.3.3 生物氧化过程中辅酶的关键作用	37
2.3.4 化能异养型微生物生物氧化的方式	40
2.4 化能异养型微生物代谢中的能量形式转换	48
2.4.1 氧化还原对及其氧化还原电位	48
2.4.2 电子载体与高能(磷酸)键载体	51
2.4.3 生物学体系中的能量耦合	52
2.4.4 与呼吸、发酵对应的代谢能转换机制	55
2.5 质子运动势和活细胞的质子回路	56

2.5.1	化学渗透假设及质子运动势	56
2.5.2	微生物细胞内代谢能的形式转换	60
2.6	代谢能对微生物生长和维持的支撑	66
2.6.1	微生物细胞的生长能学	66
2.6.2	用于维持的 ATP 消耗	75
2.6.3	微生物能量的储存	76
2.7	微生物细胞对所处环境的自主响应(参考阅读)	76
2.7.1	微生物对环境做出响应的机制	77
2.7.2	微生物活性与溶解氧的关系	78
2.7.3	氧化还原电位	84
2.7.4	对 CO ₂ 的响应	85
2.7.5	水活度对微生物活性的影响	86
2.7.6	氢离子浓度(pH)对微生物活性的影响	88
2.7.7	温度对微生物活性的影响	95
2.7.8	培养基的选择和设计	101
2.7.9	总体控制策略	107
复习题		107
参考文献		108
第3章	发酵学第二假说:代谢网络假说	110
3.1	微生物代谢网络的中心板块	113
3.1.1	葡萄糖的分解代谢途径	114
3.1.2	葡萄糖降解途径之间的关系	131
3.1.3	微生物代谢网络的中心代谢途径	132
3.2	微生物代谢网络的向心板块	136
3.2.1	向心途径在代谢网络和细胞机器工作模式中的位置	136
3.2.2	微生物分解代谢途径与代谢网络中的向心途径	136
3.3	微生物代谢网络的离心板块	146
3.3.1	离心途径在代谢网络和细胞机器工作模式中的位置	146
3.3.2	微生物的合成代谢途径与代谢网络的离心途径	146
3.4	代谢网络及“联网”问题	169
3.4.1	代谢网络	169
3.4.2	注入式的“联网”——发酵原料范围的扩展	170
3.4.3	延伸式的“联网”——发酵产品范围的扩展	173
3.5	代谢网络中代谢物流的形成	176
3.5.1	研究代谢网络中的代谢物流的思路	176
3.5.2	工业发酵的理想载流路径及其“五段式”	181
3.5.3	微生物代谢的多样性和生长环境对微生物代谢流的拉动	183
3.6	代谢网络假说的形成和发展	191
3.6.1	从目的产物假说到代谢网络假说	191

3.6.2 代谢网络假说的科学基础与应用前景	193
复习题	195
参考文献	195
第4章 发酵学第三假说:细胞经济假说	197
4.1 细胞经济假说的微生物学与分子生物学基础	198
4.1.1 微生物细胞中代谢调节的部位	199
4.1.2 微生物细胞中酶(蛋白质)的自动调节	202
4.1.3 微生物细胞质膜及其自动调节	227
4.1.4 微生物代谢途径的调节模式	235
4.1.5 信息传递与信息流	242
4.2 微生物细胞经济体系的运行规律	247
4.2.1 微生物的细胞经济体系	247
4.2.2 微生物细胞的经济结构——微生物代谢的三个子系统	247
4.2.3 微生物的细胞经济学	250
4.3 代谢网络中碳架物质流的调动	258
4.3.1 碳架物质在代谢网络中流经的节点及其流量分配	259
4.3.2 过量合成与微生物的异常代谢	261
4.3.3 溢出代谢	261
4.3.4 代谢流治理的可能性和现实性	263
4.4 细胞经济假说与细胞经济学	275
4.4.1 工业发酵与细胞经济的对立和统一	276
4.4.2 代谢网络刚性理论的包容性和代谢工程的精确性	278
4.4.3 细胞经济假说与细胞经济学的萌芽	282
4.5 遗传学与生理学相结合优化氨基酸的生产(参考阅读)	284
4.5.1 氨基酸生产的代谢基础	285
4.5.2 氨基酸生物合成的代谢流的流量分析	289
4.5.3 基质的跨膜吸收与氨基酸的跨膜输出	290
4.5.4 过量合成氨基酸的代谢设计策略	292
4.5.5 小结与展望	294
4.6 抗生素的设计育种(参考阅读)	295
4.6.1 次级代谢产物(抗生素)菌种改良的基本看法	295
4.6.2 用遗传工程的手段改良次级代谢产物(抗生素)菌种	296
复习题	300
参考文献	300
第5章 发酵学基本理论框架	302
5.1 科学研究与科学方法	302
5.1.1 观察	303
5.1.2 设问	304
5.1.3 多方求索	304

5.1.4	假说的构建	305
5.1.5	对假说的检验	305
5.1.6	理论和定律的导出	307
5.1.7	交流	308
5.1.8	有关概念	309
5.1.9	讨论(参考阅读)	310
5.2	发酵工程的基本理论	311
5.2.1	自然规律:微生物生命的3个基本假说	311
5.2.2	应用性推理:发酵工程的8个预测	313
5.2.3	创新思路	316
5.3	“五字策略”氨基酸设计在育种中的应用(参考阅读)	320
5.3.1	基质吸收的问题	320
5.3.2	回补反应的问题	321
5.3.3	引入生长限制的问题:L-Lys	323
5.3.4	酶活力的问题	324
5.3.5	表达水平的问题:L-Thr	324
5.3.6	分支点的问题:L-Trp	325
5.3.7	供氮问题	326
5.3.8	供硫问题:L-Cys	327
5.3.9	代谢流量的协同增长的问题:L-Ile	328
5.3.10	产物的选择性跨膜问题:输出	329
5.3.11	前景	329
5.4	生物学与经济学的哲学思考(建议阅读)	330
5.4.1	生物体和经济实体都是有机体	330
5.4.2	生物学与经济学是相通的	330
5.4.3	从细菌细胞入手研究生命活动	331
5.4.4	细菌细胞是典型的耗散结构	332
5.4.5	细菌细胞是复杂系统中的耗散结构	332
5.4.6	微生物生命活动的基本假说的提出	333
5.4.7	经济、细胞经济与细胞经济假说	333
5.4.8	复杂系统中的自主调节的框架	334
5.4.9	细胞经济体系只是维护其发生主体的利益	335
5.4.10	细胞经济学说正在发酵界萌芽	335
	复习题	336
	后记	337

英文缩写与中文全称对照表

A'	代表某化合物 A 的结构类似物	CMA	分支酸
A	标示对酶的激活	CoA	辅酶 A
AAs	泛指不止一种氨基酸	COH	化能有机异养型(化能异养型)
AAT	天门冬氨酸氨基转移酶	C ₃ P	3-磷酸甘油醛
AcAcCoA	乙酰乙酰辅酶 A	C ₄ P	4-磷酸赤藓糖
AcCoA	乙酰辅酶 A	C ₅ P(R-5-P)	5-磷酸核糖
α -AcHB	α -乙酰羟基丁酸	C ₅ 'P(Ru-5-P)	5-磷酸核酮糖
α -AcLA	α -乙酰乳酸	C ₅ ''P(Xu-5-P)	5-磷酸木酮糖
ACL-P	抗原载体脂的磷酸酯	C ₆ P	6-磷酸葡萄糖
ACP	酰基载体蛋白	C ₆ 'P	6-磷酸果糖
Ac-P	乙酰磷酸	C ₇ P	7-磷酸景天庚酮糖
ADP	腺苷二磷酸	CS	柠檬酸合成酶
AE	顺乌头酸酶	CTA	柠檬酸
AHAS	乙酰羟酸合酶	CTP	胞苷三磷酸
AK	天门冬氨酸激酶	Cys	半胱氨酸
AKPA	L-2-氨基-6-酮庚二酸	Cyt	胞嘧啶
Ala	丙氨酸	Cyt	若在后面加上小写英文字母,则表示不同类型的细胞色素
AMP	腺苷酸,腺苷一磷酸	DAP	二氨基庚二酸
APS	腺苷酰硫酸	DAH ₇ P	3-脱氧-2-酮-D-阿拉伯型庚酮糖酸-7-磷酸
Arg	精氨酸	DCA	代表二羧酸环
Arg-P	精氨酸磷酸	DDP	二氢二吡啶羧酸
Asn	天门冬酰胺	DHAP, DHA-P	磷酸二羟丙酮
Asp	天门冬氨酸	DHDPS	二氢吡啶二羧酸合酶
Asp- β -SA(ASA)	天门冬氨酸- β -半醛	DMS	二甲硫醚
ATase	腺苷酰基转移酶	DMSO	二甲基亚砷
ATP	腺苷三磷酸	DNA	脱氧核糖核酸
		DNP	二硝基苯酚
BTA	丁酸	DOT	溶氧压
BtCoA	丁酰辅酶 A	DS	DAH ₇ P 合成酶
		dTMP	脱氧胸苷酸
1C	一碳片段		
cAMP	环腺苷酸	E I	酶 I
CRP, CAP	环腺苷酸接受蛋白	EC	能荷
Cit	瓜氨酸		
CL	柠檬酸裂合酶		
CLA	化能无机自养型(化能自养型)		

ED 代表 ED 途径	GLUN 脂多糖分子脂质 A 部分的葡萄糖胺残基
EMP 代表 EMP 途径	Gly 甘氨酸
E-4-P(C ₄ P) 四磷酸赤藓糖	Glyc-3-P 3-磷酸甘油
FA 脂肪酸	GMP 鸟苷一磷酸
FA 甲酸	GOA 乙醛酸(代表乙醛酸循环)
FAD 黄素腺嘌呤二核苷酸	G-1-P 1-磷酸葡萄糖
FADH ₂ 还原型 FAD	G-6-P(C ₆ P, C6P) 6-磷酸葡萄糖
FCCP 羟基氰-对-三氟甲氧基苯胺	G6PDH 6-磷酸葡萄糖脱氢酶
FDP (F-1,6-2P) 1,6-二磷酸果糖	G6PE 6-磷酸葡萄糖酶
FDPA FDP 醛缩酶	GTP 鸟苷三磷酸
FDPE FDP 酶	GulNUAN 乙酰古洛糖胺醛酸
Fe-S-P 铁硫蛋白	HAc 乙酸
FGA 亚氨甲基谷氨酸	HD 高丝氨酸脱氢酶
FH ₄ 四氢叶酸	Hep 庚糖
f-Met 甲酰蛋氨酸	His 组氨酸
FMA 延胡索酸	HK 己糖激酶
FMN 黄素单核苷酸	HK 高丝氨酸激酶
FMNH ₂ 还原型 FMN	HMP 代表 HMP 途径
FP 氟代丙酮酸	HPK 代表从 6-磷酸果糖开始降解的 PK 途径
F-6-P(G ₆ 'P) 6-磷酸果糖	HPr PTS 中对热稳定的蛋白质
FR 延胡索酸还原酶	HSCoA 乙酰辅酶 A
FRD 延胡索酸还原酶	H-Ser, Homo-Ser(Hse) 高丝氨酸
G(Glc) 葡萄糖	Hx 次黄嘌呤
G ⁺ 代表革兰氏阳性细菌	I 标示对酶的抑制
G ⁻ 代表革兰氏阴性细菌	ICA 异柠檬酸
GA-3-P 3-磷酸甘油醛	ID, IDH 异柠檬酸脱氢酶
GAT 谷氨酸-天门冬氨酸移位酶	IL 异柠檬酸裂合酶
Gal 半乳糖	Ile 异亮氨酸
GalNAc N-乙酰半乳糖	IM 合成途径的起始物质
GD 谷氨酸脱氢酶	IMP 肌苷酸
GDP 鸟苷二磷酸	IPA 咪唑酮-5-丙酸
GK 谷氨酸激酶	α-KBA α-酮丁酸
GL 葡萄糖酸内酯	KD α-酮戊二酸脱氢酶
Glc 葡萄糖	KDO 2-酮-3-脱氧辛酮糖酸
III _{Glc} 对葡萄糖有特异性的因子 III	KDPG 2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸
GlcNAc N-乙酰葡萄糖胺	KDPG 代表 KDPG 醛缩酶途径
GlcNH ₂ 葡萄糖胺	α-KBA α-酮丁酸
Gln 谷氨酰胺	α-KG α-酮戊二酸
GlnS 谷氨酰胺合成酶	α-KIC α-酮异己酸
Glu 谷氨酸	

α -KIV α -酮异戊酸	P —PO ₃ ²⁻
α -KMV α -酮- β -甲基戊酸	P II A 能被尿苷三磷酸尿苷酰化的蛋白质
2-KDG 2-酮-D-葡萄糖酸	PAB 对-氨基苯甲酸
2-KLG 2-酮-L-葡萄糖酸	PBP 青霉素结合蛋白
KS α -酮戊二酸合成酶	PC 丙酮酸羧化酶
	PDC 丙酮酸脱羧酶
LA 乳酸	PDH(PD) 丙酮酸脱氢酶系统
Lac 乳糖	PEP 磷酸烯醇式丙酮酸
Leu 亮氨酸	PEPC PEP 羧化酶
LTA 乳酸	PEPCK PEP 羧激酶
Lys 赖氨酸	PEPS PEP 合成酶
	PFK 磷酸果糖激酶
Man 甘露糖	PFL 丙酮酸-甲酸裂合酶
MD 苹果酸脱氢酶	2-P-GA 2-磷酸甘油酸
ME 苹果酸酶	3-P-GA 3-磷酸甘油酸
Met 蛋氨酸(甲硫氨酸)	6-P-GA 6-磷酸葡萄糖酸
MK 甲基醌	1,3-2P-GA 1,3-二磷酸甘油酸
MLA 苹果酸	6PGDH 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶
MNs 泛指不止一种(单)核苷酸	6-P-GL 6-磷酸葡萄糖酸内酯
MOT 苹果酸- α -酮戊二酸移位酶	3-P-Glyc 3-磷酸甘油
MR 跨膜调节蛋白	PHB 多聚- β -羟基丁酸
mRNA 信息核糖核酸	Phe 苯丙氨酸
MS 苹果酸合成酶	pI 等电点
MurAc N-乙酰胞壁酸	PK 丙酮酸激酶
	PK 代表 PK 途径
N-AcGluNH 乙酰葡萄糖胺	PL 磷脂
N-AcGlu- γ -SA N-乙酰葡萄糖- γ -半醛	PLA 光能无机自养型(光能自养型)
N-AcOrn N-乙酰鸟氨酸	PMF 质子运动势
NAD ⁺ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	POH 光能有机异养型(光能异养型)
NADH 还原型的 NAD ⁺	PPA 预苯酸
NADP ⁺ 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸	PPG 肽聚糖
NADPH 还原型的 NADP ⁺	PPi 无机焦磷酸根
	PyPiDK 丙酮酸正磷酸二激酶
O 用来标示操纵子上的操纵基因的字母	PpGpp 鸟苷四磷酸
OAA 草酰乙酸	PPP 代表磷酸戊糖循环
ODC, OAADC 草酰乙酸脱羧酶	PPS 蛋白质合成系统
OMPs 泛指不止一种外膜蛋白	Pro 脯氨酸
Orn 鸟氨酸	PRPP 磷酸核糖焦磷酸
OSCP 寡霉素敏感授予蛋白	PS 丙酮酸合成酶
	PTG 肽聚糖
P 用来标示操纵子上的启动子的字母	PTA 泛酸
Pi 无机磷酸根(PO ₄ ³⁻)	PTS 磷酸转移酶系统

PYR 丙酮酸	SucAKPA 琥珀酰二氨基庚二酸
Q 苯醌, 醌, 辅酶 Q	TA 转二羟丙酮基酶
QH ₂ 还原型的辅酶 Q	TA 转酰胺基酶
R 用来标记 DNA 上的为阻遏蛋白编码的基因	TCA 代表三羧酸循环
R 标示对酶的阻遏	TDH 苏氨酸脱氢酶
RCO-ACP RCO-酰基载体蛋白	Thr 苏氨酸
rER 粗面内质网	TK 转羟乙醛酶
RNA 核糖核酸	TMAO 氧化二甲基
RPr 调节蛋白	tRNA 转移核糖核酸
R-1-P 1-磷酸核糖	Trp 色氨酸
R-5-P(C ₅ P, R5P) 5-磷酸核糖	Tyr 酪氨酸
rRNA 核糖体 RNA	UA 糖醛酸
Ru-5-P(C ₅ 'P) 5-磷酸核酮糖	UA 尿刊酸
SAM S-腺苷蛋氨酸	UMP 尿苷一磷酸
SCA 琥珀酸	UTase 尿苷酰基转移酶
ScCoA 琥珀酰辅酶 A	Val 缬氨酸
SCP 单细胞蛋白	VK ₂ 维生素 K ₂
SDH 琥珀酸脱氢酶	XDH 木酮糖脱氢酶
Ser 丝氨酸	XR 木糖还原酶
sER 滑面内质网	Xu-5-P(C ₅ 'P) 5-磷酸木酮糖
SMA 莽草酸	
Su-7-P(C ₇ P) 7-磷酸景天庚酮糖	

绪 论

请带着以下问题听课：

1. 发酵科学是复杂性科学。
2. 发酵原理课程的沿革。
3. 微生物是工业发酵的灵魂。
4. 研究从何入手。
5. “典型工业发酵”的界定。
6. “三种流动”和“三个基本假说”。
7. 工业发酵的新思路。
8. 发酵原理的研究方兴未艾。

1. 发酵科学是复杂性科学

20 世纪下半叶的发酵科学研究已经显示了学科的相互交叉与融合,21 世纪的发酵科学研究将更加突出学科的相互交叉与融合。生物化学、分子生物学、微生物生理学、遗传学等学科在发酵科学研究中的相互交叉与融合,发酵学、化学、生物学在发酵科学研究中的相互交叉与融合,以及自然科学、社会科学和哲学在发酵科学研究中的相互交叉与融合,正在推动发酵科学理论和方法的发展。随着生物化学、细胞生物学、应用分子生物学、遗传工程和代谢工程等学科的发展,以及分析、检测技术的成熟,工业发酵正在从技艺走向科学。

发酵科学的研究具有以下特点:①研究对象是复杂的微生物代谢体系;②研究方法是定性判断与定量计算相结合、微观分析与宏观分析相结合、还原论与整体论相结合、科学推理与哲学思辨相结合;③研究深度不只限于对客观事物的描述,而是着重于揭示客观事物构成的原因、演化的历程和复杂的机制,并尽可能准确地预测其未来的发展。因此,发酵科学是复杂性科学。

2. 发酵原理课程的沿革

我国大学自从 1952 年设立发酵工程专业方向以来,至今已经历半个多世纪。我国大学的发酵工程专业正在融入生物工程专业。发酵工程作为生物工程最贴近生产的组成部分越来越受到科学界和工程技术界的广泛重视。发酵原理课程就在这个过程中应运而生。

发酵原理课程经过 30 多年的酝酿,十几年的建设(包括理论建设、课程建设、教材建设、师资队伍建设),已成为生物工程专业的特色课程。发酵原理课程在生物工程专业课

程体系中的核心地位越来越明显了。

发酵原理课程既不同于细胞学,又不同于工艺学。它从发酵工业的现状出发,从生物学的视角,自成体系地展开工业发酵的科学道理,自然而然地在基础课、专业基础课与专业课之间架起桥梁,从而为专业知识的学习提供一个较高的起点。

发酵原理课程旨在提高相关专业本科生的科学素养,特别是生物科学和工程学本科生的素养,为我国生物工业的腾飞培养能与国际先进水平接轨的、有超越潜力的人才。

3. 微生物是工业发酵的灵魂

发酵原理课程在科学的水平上重新审视发酵工程,从生物科学和工程学的角度系统地讨论发酵工程的核心理论。微生物是工业发酵的“灵魂”,这句话强调微生物在工业发酵中的关键作用,以及工业发酵与工业化学过程、工业生物化学过程的不同属性。在工业化学过程中没有生物活性物质参与催化。工业生物化学过程属于由酶催化的体外酶反应过程,酶具有生物活性。但当酶失活、辅酶耗尽,过程就停止了。

工业发酵过程是活细胞参与的生命活动过程,没有微生物活细胞就没有工业发酵。微生物活细胞具有代谢能持续支撑、辅酶再生、代谢自主调节等机制。这个过程原则上可以进行到有机原料耗尽,或因代谢产物在细胞外累积造成环境极度恶化而影响微生物生存之时。

4. 研究从何入手

生命体,包括细胞生物(微生物、植物、动物)和非细胞生物(如病毒)都处于高度有序的状态,而这种高度有序状态的建立和维持,需要生物可以直接利用的能量——代谢能。细胞生物的代谢能从哪里来?只能由其他形式的能量转化而来。不同的细胞生物有不同的转化方法,这取决于它们各自的生存方式。

工业发酵要依靠微生物的生命活动,微生物是工业发酵的行为发生主体。我们该怎么认识微生物细胞呢?微生物细胞与其他生物细胞有什么不同的地方呢?在工业发酵过程中,人类与微生物细胞发生什么样的关系呢?

工业发酵过程是微生物群体生命活动的动态过程,这个过程是五花八门、千变万化的,表现出种种多样性。例如,微生物种群的多样性、微生物营养类型的多样性、微生物培养条件的多样性、微生物营养和目的产物的多样性、微生物生长与目的产物生成之间的偶联方式的多样性等。

世界真奇妙,微生物世界更奇妙;微生物世界真奇妙,工业发酵更奇妙!奇妙是客观存在的。面对如此奇妙的客观存在,必须找到研究的出发点,才有可能发现客观世界某一局部运行的规律,然后再一步一步地推进研究,向深度和广度发展。发酵原理的研究要落到实处首先必须确定工业发酵研究的出发点(即工业发酵的类群)。

研究的定位:①对发酵工业现状的感性认识;②对发酵工业现状的理性认识;③研究出发点的确定;④研究的逐步深入;⑤事物本质的揭示;⑥研究范围的扩展和延伸……

5. “典型工业发酵”的界定

最常见的工业发酵一般符合以下条件:①生产菌种属于化能异养型微生物;②目的产物属于初级代谢产物(或能量代谢副产物);③单一的目的产物在细胞内生成后被排放到细胞外。在这门课程里,我们把符合以上条件的工业发酵类群叫做典型的工业发酵。

对工业发酵的研究就从典型的工业发酵开始。这主要是因为化能异养型微生物的代谢与高等生物细胞的代谢有较多的相似之处,特别是从碳元素的代谢入手已有研究基础。从排出细胞的单一的初级代谢产物的生产入手,不但可以简化代谢网络的层次性,而且有利于建立从主要有机原料到目的产物的计量关系。

6. “三种流动”和“三个基本假说”

工业发酵过程依靠如下“三种流动”来维系,即伴随能量形式的转换而发生的能量流动、伴随异化和同化作用而发生的物质流动以及伴随不同水平上的自主代谢调节而发生的信息流动。在以上认识的基础上,我们提出了微生物(化能异养型微生物)生命活动的“三个基本假说”,并要把它们作为本课程的核心内容来讨论。

微生物生命活动的“三个基本假说”:①代谢能支撑假说:微生物细胞生命活动的驱动原理(微生物能学);②代谢网络假说:代谢网络与代谢物流图(微生物第二解剖学);③细胞经济假说:细胞经济运行与生存保障原理(细胞经济学)。

微生物生命活动的“三个基本假说”从三个不同的角度来分析同一个问题——微生物的生命活动的问题,并体现了三者的相互联系和相互协调。第一假说从生物能学和代谢能对生命活动的支撑角度认定微生物细胞是代谢能转换器;第二假说从生物化学和代谢生理学的角度认定微生物细胞是生化反应器和生物材料加工器;第三假说从生物信息学和代谢调节的角度认定微生物细胞是生物信息编码器和信息传递、传感和处理系统。

代谢能支撑假说挑明了微生物生命活动的前提,即微生物细胞代谢能的持续供应问题;代谢网络假说梳理了微生物生命活动的内容,具体化了微生物细胞的能量、物质的转化关系;细胞经济假说揭示了微生物生命活动的经济管理原则,这些原则是人和微生物成功合作的基础。

7. 工业发酵的新思路

从对工业发酵现状的分析和梳理,到典型的工业发酵的界定,是一个从特殊到一般的认识过程。我们以典型的工业发酵为研究的出发点,研究工业发酵,并期望在更高层次上建立一个从特殊到一般的认识,找到工业发酵的普遍规律。

运用这“三个基本假说”来分析典型的工业发酵,提出了为工业发酵生产服务的若干推理和工业发酵新思路(细胞机器的概念、载流路径和代谢主流的“五段式”、工业微生物育种和发酵工艺控制的“五字策略”)。这三个假说以及以它们为前提做出的推理和控制

策略,构成了一个完整的思想体系。

现代发酵工程依靠微生物来完成发酵工厂生产线上的必不可少的加工(或转化)步骤,在这个意义上,工业生产中所使用的菌种微生物细胞就是工业发酵生产线上必不可少的机器——微生物细胞机器。微生物细胞机器与普通意义上的机器不同,它们必须由代谢能直接驱动。在发酵工厂的生产线上,微生物必须完成微生物细胞机器的“在线制造”和“生产运行”的双重任务。

微生物细胞是生物学的概念,微生物细胞机器是工程学的概念。菌种微生物细胞是对应的工业发酵产物的微生物细胞机器,因此是有工业生产个性的微生物细胞。微生物细胞机器是从天然的微生物细胞改造而成的、遵循生命规律运行的机器,因此是具有生物学属性的机器。

微生物细胞在发酵工业上以细胞机器的身份出现时,必须体现人的意志。然而微生物细胞机器的微生物属性决定了它必须按微生物细胞固有的规律运行。如果两者不一致怎么办?

人和微生物同是地球上的居民,在理论上处于平等的地位,微生物没有为人类服务的义务。人贵有自知之明,因为人有思想;在理解的基础上与微生物主动合作,正是人的高明之处。

世上万物,本没有贵贱之分;纵然千变万化,万变不离其宗(自然规律)。千万年互动的物竞天择早已决定了微生物保障自身生存的价值取向(以生为本),而工业发酵中,人控制下的微生物细胞机器的价值取向是工业生产的效益。实际上,以上两种价值取向不一定一致。为了引导微生物为我们服务,必须发挥人的主观能动作用,遵循并灵活应用微生物细胞固有的运行规律(自然规律),正确处理工业发酵生产中人与微生物的对立统一关系,促成微生物与人的合作,合作的底线是微生物的生存。

8. 发酵原理的研究方兴未艾

生物科学技术、化学工程技术和计算机技术的发展,推动了工业微生物的菌种选育和发酵条件优化的研究,半个世纪以来,特别是最近 30 年来,工业发酵领域已累积了大量的事实资料;人们开始寻找各类各种工业发酵的内在联系,并一点一滴地做出理论的概括,试图建立系统的理论。

发酵工业发源于家庭和作坊式的生产,为实现工业化生产,发酵界的前辈首先向化学工业学习,引进化学工程的研究思路和方法,初创了发酵工业。发酵生产与化学和化学工程的结合促成了发酵生产的第一次飞跃。然而,在进一步按化学工程的正统思维去寻找工业发酵大规模生产过程控制这件事上,半个多世纪的奋斗没有多大进展。从成功的经验和失败的教训中,发酵界的同仁们逐步认识了工业发酵的难点和潜力,以及其特有的生物学属性。工业发酵过程中微生物生命活动的基本规律的研究为现代发酵学的诞生奠定了基础。现代发酵学的诞生,是以工业发酵从技艺走向科学为标志的,估计将促成发酵生产的第二次飞跃。

发酵原理是工业发酵的基本原理,也就是工业发酵的生物学原理。发酵原理是研究

微生物的与工业发酵有关的正常代谢与异常代谢的规律,探索关于提高发酵法工业生产能力的原理,探索关于开发工业发酵新原料、新产品、新工艺的理论根据。发酵原理是生物工程领域生物学理论的重要组成部分,随着它自身的不断完善,它将在生物工程领域发挥不可替代的、越来越重要的作用。

发酵原理的研究刚刚开始,以全新的思路研究发酵科学和发酵工程,任重而道远。发酵原理的研究有待于深入、完善和扩展。扩展和延伸的领域是显而易见的,主要是以下几个方面:①微生物营养类型的扩展;②不同元素代谢的扩展;③不同代谢空间的扩展;④不同代谢层面的扩展;⑤原料与目的产物的扩展;⑥“多原料和多产物”发酵生产方式方法的扩展。

小结:确立中国发酵学科的地位,加速我国发酵学科的系统升级进程。民族的尊严要靠对人类文明的贡献来支撑。从长远的观点看问题,机遇往往垂青于勤奋而有准备的人。

复 习 题

1. 为什么微生物是工业发酵的“灵魂”?
2. 与其他细胞生物相比较,微生物的生命活动有何特点?
3. 试述工业发酵的范畴。
4. 本课程将着重讨论哪三个基本假说?
5. 天然的微生物细胞与发酵工厂的微生物细胞机器在价值取向上是否一致?为什么?
6. 怎样理解人类与微生物的合作?
7. 如何认识发酵原理的研究任重而道远?

第1章 工业发酵生产线上的细胞机器

请带着以下问题听课：

1. 什么叫做机器？工厂的机器从哪里来？它们怎样为我们工作？
2. 我们能用生物体生产产品吗？
3. 微生物细胞怎样成为发酵工厂的机器？
4. 微生物细胞机器与人们心目中的机器有什么异同？
5. 微生物细胞作为细胞机器意味着什么？

1.1 工业发酵生产线上的细胞机器

走进现代发酵工厂，最引人注意的是，在排列整齐、纵横交叉的彩色管道的映衬下，一排排银灰色的庞然大物，它们的“名字”叫发酵罐。在庄重而祥和的发酵罐里亿万微生物“小兄弟们”正在为人类，也为自己的生存欢快地忙碌着。

面对此情此景人们不禁要问，工业发酵生产线上关键的生产机器是发酵罐还是微生物？

1.1.1 生物机器和细胞机器的概念

“生物机器”，顾名思义是指能像机器一样生产产品的生物体。例如，牛吃草而生产牛奶，苹果树从土壤中吸收营养在阳光雨露下产出苹果，微生物在工业发酵的条件下产出工业发酵目的产物。在这个意义上，牛奶工厂的奶牛、水果原料基地的果树、发酵工厂的菌种微生物则可分别称作动物生物机器（畜牧业的生物机器）、植物生物机器（农林业的生物机器）和微生物生物机器（工业的生物机器）。

动物体和植物体一般是多细胞生物体，情况比较复杂；微生物一般是以单细胞或细胞串的形式存在，情况要简单得多。微生物细胞直接面向其存在的环境，是细胞形态的生物机器，因此把它们当作典型的生物机器来研究。微生物细胞能独立存在和自主生活，因此微生物生物机器也就是微生物细胞机器，简称细胞机器。

“机器”最初的定义是由电或蒸汽甚至人力推动的、由各具一定功能的几个部分组成的、用于生产的装置，如纺纱机、织布机、缝纫机等。因此“机器”应该是属于工程学的概念。动物、植物、微生物的生命活动由代谢能来驱动，因此属于生物学的概念。人把动物、植物、微生物作为生产的“装置”使用，也就是人为地把它们纳入“机器”的范畴，并且把它们称为生物机器。因此生物机器和细胞机器都是从机器衍生的生物工程新概念。

1.1.2 发酵工厂关键的生产机器

多年来,我们从研究微生物生命活动的规律入手,从生物学的角度重新审视发酵工程,形成以下关于现代发酵工程的一条新思路:现代发酵工程依靠微生物活细胞来完成发酵工厂生产线上不可缺少的加工(或转化)步骤,在这个意义上,微生物活细胞就是工业发酵生产线上不可缺少的细胞机器,是发酵工厂关键的生产机器。细胞机器与普通意义上的机器不同,它们必须由代谢能(metabolic energy)直接驱动。在发酵工厂的生产线上,微生物必须完成微生物细胞机器的“在线制造”(细胞增殖)和“生产运行”(目的产物的合成和输出)的双重任务。

微生物细胞机器按其自身固有的规律运行。为了引导微生物为我们服务,必须深入研究微生物细胞机器的工作原理。要研究微生物细胞机器的工作原理,首先要建立微生物细胞机器的工作模式。

1.2 微生物细胞机器的工作模式

微生物细胞能独立存在和自主生活(free-living)。单个微生物细胞能独立地完成能量转化及其自身的生长、繁殖等生命过程,而不直接依赖于其他同一类型的或不同类型的细胞。微生物的生存单元一般是个体细胞或细胞串,它们直接面向它们所处的环境,在其所处的环境中自主生存,较之其他生命形式的细胞生物的生存单元,如动物、植物个体,有其特殊性。动物、植物个体的结构和功能远比单细胞微生物复杂,它们的细胞有分工,在自然界不能单独存活,只能作为动物、植物个体的一部分而存在,具有相互依赖性,如动物的组织细胞存在于组织中,血液和体液情况则更为复杂。

细胞是微生物生命活动的基本单位。微生物细胞是一个由细胞膜(外面一般有细胞壁)包围的,包含许多化学物质和亚细胞结构的整体。细胞膜将空间分为细胞内与细胞外的界面,也是对细胞有保护作用的屏障。

细胞膜包围的部分是细胞行使功能的结构和化学物质。细胞的关键结构是核(或拟核)以及细胞质,前者储存着用来制造更多细胞的生物信息,后者包含实现细胞生长和细胞功能的机构。

所有细胞都包含蛋白质、核酸、类脂和多糖等复杂的化学成分。因为整个生命世界都含有这些共同的化学成分,所以我们认为不同类型的细胞是从共同的祖先(universal ancestor)传承下来的,今天存在的无数不同类型的细胞是经亿万年进化而造就的。

观察和研究微生物都不能脱离其生存的环境,因为微生物细胞与其环境是一个整体,是一个复杂系统。虽然每种微生物细胞都有一定的结构和大小,但微生物细胞是动态的单位,是其所生存的环境中的微生物细胞,它们每时每刻都在自我更新,通过与环境不断的交换,保持相对稳定的存在方式。我们在显微镜下看到的、能够通过测得的实验数据描述的仅仅是它的实体系统,这些在微生物学都有更加详尽的描绘;本书还将讨论微生物的概念系统。

1.2.1 活细胞的基本性能

活细胞的基本性能主要包括以下 5 个方面。

(1) **自我复制**:自我复制是一切生物(包括非细胞生物和细胞生物)的基本性质。

(2) **代谢能支撑和自主代谢**:细胞生物的生命活性来源于组成其自身的活细胞。活细胞的生命活动,包括能源化合物被降解以前的激活和生物合成,以及细胞自身高度有序状态的维持,均需要代谢能的支撑。细胞中的所有生化反应,包括降解代谢、合成代谢和跨膜交流,是一个整体,叫做**代谢体系**。细胞依靠代谢体系能自主地进行生命活动;将其他形式的能量转变成代谢能,代谢能反过来又支撑细胞代谢体系,支持细胞的生命活动。

(3) **进化**:进化是指经自然选择而获得的遗传性变异。与无生命的化学结构不同,单细胞或多细胞有机体会进化。遗传性能的改变能以正的或负的方式影响微生物细胞的适应性,进化的结果是对最适合于在该特定环境中生活的那些微生物做出选择(适者生存)。

(4) **分化**:在生物体的生命循环过程的特定阶段,某些细胞类型在形式或功能方面发生改变的现象,通称分化。细胞分化时,某些分化前不能形成的物质或结构得以形成,而某些分化前可以形成的物质或结构不能再形成。微生物细胞分化时往往生成次生代谢产物。

(5) **通信**:细胞间一般可通过化学信号互相通信。多细胞生物(如植物、动物)由许多不同类型的细胞组成(分化的结果)。在多细胞生物中,这些不同类型的细胞之间的复杂的相互作用导致这些细胞的指定行为和功能。在微生物细胞中也存在化学通信,这方面的研究还有待于继续深入。

以上 5 个方面中,**代谢能支撑和自主代谢**是活细胞最基本的性能。没有生命就没有代谢能,没有代谢能的支撑就没有生命。生存和生长均需要代谢能来支撑。

1.2.2 微生物细胞机器的工作模式

为了研究微生物细胞机器的设计思想和工作原理,先建立微生物细胞机器的工作模式。要建立工作模式,必须比较透彻地了解微生物细胞机器及其所处的环境之间的关系。微生物细胞机器工作模式应该反映微生物细胞机器的运行特征。

1. 微生物细胞是个远离平衡状态的不平衡的开放体系

世界上的一切物体总是相互作用、相互关联,形成一个整体。世界作为一个整体是无法进行实验和研究的,为了实验和研究的方便,只好从这个整体分割出一部分(我们感兴趣的部分)来,这样分割出来的被界面包围的部分(准备进行研究的),被称为热力学的系统(或体系),与系统相互作用着的其余部分称为该系统的环境或外界。根据界面的性能,可将热力学的系统分成三类:①**孤立系统**(也称**隔离系统**),是指与环境既没有物质交换也没有能量交换的系统;②**封闭系统**,是指与环境没有物质交换,但可以有能量交换的系统;③**开放系统**,是指与环境既可有能量交换又可有物质交换的系统。

那么,微生物细胞属于哪一类系统呢?这还得从热力学第二定律说起。

德国克劳修斯(R. E. Clausius)发现的热力学第二定律(1850年)指出:热量不能自发地由低温物体向高温物体传递。也就是说,热力学系统的自发过程总是向有序性程序减少、无序程度增加(即熵增加)的方向发展。这个定律的经典热力学表述是:在孤立系统中,任何自发过程总是朝着越来越混乱的方向演化。把所研究的系统及其存在环境划在一个孤立系统中。在孤立系统中,有些子系统的熵值减小,有些子系统的熵值增加,然而总熵值趋于增大。微生物的活细胞任何时刻都离不开它生存的环境,只有在与环境的交换中才能维持细胞结构和生命活动(熵值减少),因此**微生物细胞绝不是孤立系统**。如果微生物细胞是封闭系统,那么根据熵增加原理,它们与它们所处的环境组成的孤立系统必将自发地走向混乱(熵值增加),其结果必将是微生物细胞的解体;因为微生物活细胞是客观存在的,所以**微生物细胞也不是封闭系统**。综上所述,微生物活细胞只能是开放系统。

微生物活细胞的生命活动是朝着有序的方向进行的,有序状态的形成和维持都需要与环境之间有交流的、开放的条件;而交换则要靠细胞内外的不平衡来推动。微生物活细胞总是不断地从环境取得营养物质(一般是低熵物质),在细胞内进行生物转化(补充“秩序”),同时把细胞内部的不可逆过程产生的“混乱”的一部分以废物和热量的形式排放到环境中去(排除“混乱”)。因此,**微生物细胞是不平衡的开放系统**。

微生物细胞靠消耗能量来维持细胞的低熵(高度有序)状态。为了使生物量有所增长,必须有足够的能量输入。能量输入超过临界值时,细胞状态会发生宏观变化,即出现一种新的有序状态(生长)。对于微生物细胞这个系统而言,细胞离开平衡状态越远,“混乱”的输出能力越强,细胞结构越稳定,细胞的活力越强。因此,**微生物活细胞是一个远离平衡状态的不平衡的开放系统**。

热力学第二定律不能说明体系由无序到有序、由低级的有序到高级的有序的演化和发展的趋向。作为经典热力学(描述静态、孤立系统)理论的延伸,非平衡态热力学(描述动态、远离平衡状态的开放系统)研究的是耗散结构,这种结构只能在远离热力学平衡状态的开放系统生成,并且需要不断输入能量来维持。

1969年比利时普利高津(I. Prigogine)提出**耗散结构理论**。所谓耗散结构(dissipative structure)是指一系列远离平衡状态的开放系统,它可以是力学的、物理的、化学的、生物的系统,也可以是社会的经济系统。偏离平衡态的开放系统与外界不断地进行物质和能量交换,当外界条件的变化达到一定的阈值时,可以从原有的无序或“低序的”混乱状态,转变为一种在时间、空间或功能上的有序的**耗散结构**。

综上所述,微生物活细胞作为一个热力学系统,它不仅是而且必须是一个远离平衡状态的不平衡的开放系统,是一种耗散结构。

微生物细胞结构及其高度有序的生命状态要靠消耗可被其自身直接利用的能量(代谢能)来维持;要做到这一点,微生物活细胞必须是能进行能量转换的有效的化学反应系统。细胞靠其结构来行使功能,而用来再造自身的生物学信息则存在于细胞结构之中,因此活细胞又是自我复制的系统。

工业发酵的被动性在于必须依赖微生物活细胞的生命活动。活细胞的生命活动要靠代谢能来维持。如果没有代谢能的自我支撑,系统(微生物细胞)的性质就会发生变化,微生物细胞与环境逐渐趋于平衡,细胞的生命活动就会停止,微生物细胞就不可能为我们工作了。

2. 微生物细胞机器的工作模式

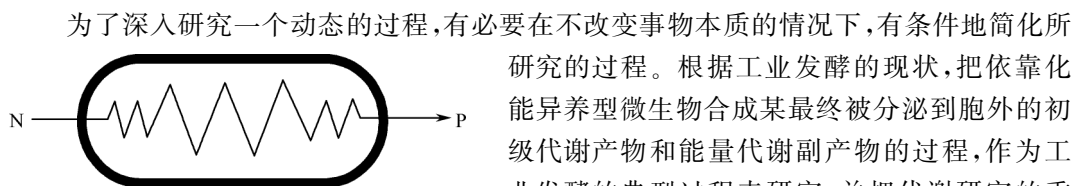


图 1-1 微生物细胞机器的工作模式

N: 营养; P: 产物

为了深入研究一个动态的过程,有必要在不改变事物本质的情况下,有条件地简化所研究的过程。根据工业发酵的现状,把依靠化能异养型微生物合成某最终被分泌到胞外的初级代谢产物和能量代谢副产物的过程,作为工业发酵的典型过程来研究,并把代谢研究的重点放在碳的代谢上,从而建立了微生物细胞机器(生物机器)在发酵工厂的工作模式(图 1-1)。

关于以上工作模式的几点说明:

(1) 适用于典型的工业发酵,即①生产者:化能异养型微生物;②产品:初级代谢产物或能量代谢副产物(胞内合成,胞外收获);③研究重点:碳元素代谢。

(2) 工业发酵生产阶段的细胞机器模型及各部分的含义:①椭圆:细胞机器的界面;②带箭头的曲线:载流路径及代谢主流。

(3) 涉及的重要概念:①载流路径:由“跨膜进入→向心途径→中心途径→离心途径→跨膜逸出”5段途径依次首尾衔接而成;②物质代谢流:从原料到产品的物质流动轨迹。也可分成贯穿细胞、横跨代谢网络三大板块的、相应的5段连续的代谢流。

(4) 工作模式的维持:微生物细胞机器有一个自我保障维持生计的本能,这倒不是指生产和输出任何产物,而是指它在运行过程中的自我更新。有了自我更新才能维持过程结构,同时有所输出。

3. 微生物细胞机器的运行特点

微生物细胞机器具有机器(工程学)和细胞(生物学)的双重属性,工业发酵所依赖的活细胞是能够依据其内存的生物信息对其所处环境自主地做出有利于自身生存的响应的天然机器。

细胞机器(天然机器)与普通意义上的机器(人造机器)不同,主要表现在以下几个方面。

(1) 细胞机器必须由代谢能(metabolic energy)直接驱动,而人造机器没有这个限制。

(2) 细胞机器的零件不断自我修复更新并随条件变化而自主调整,而人造机器的零件只会磨损不会自动更新。

(3) 细胞机器是自组织的、可以自我再生的,人造机器归根结底是受人控制的、不能自我再生的。

(4) 在发酵工厂的生产线上的细胞机器,必须完成微生物细胞机器自身的“在线制造”(细胞增殖)和“生产运行”(目的产物的合成和输出)的双重任务,而人造机器的任务一般只能完成一项任务(机器制造或产品加工)。

(5) 工业发酵的细胞机器来源于自然界(生产菌种从野生菌株育成),其细胞的构造原理和运行机制尚未透彻了解;而人造机器则完全是由人设计和制造的,因此是知根知底的。

细胞机器与微生物细胞不同,主要表现在以下几个方面。

(1) 细胞机器是经过人的改造或引导的、体现人的意志的细胞,而天然的微生物细胞则是经过自然竞争考验的;

(2) 细胞机器一般要求有配套的环境条件才能实现其功能,而天然的微生物细胞相比之下对环境有较强的适应性;

(3) 人对细胞机器的代谢调节机制已有一定的了解,而对天然的微生物细胞一般没有专一的了解;

(4) “微生物细胞”是生物学的概念,“细胞机器”是生物工程学的概念。

1.2.3 创新思路的理论基础

微生物细胞机器的工作模式的提出,把工业发酵的研究纳入研究微生物生命活动的轨道。研究工业发酵首先要研究微生物的生命活动,找出其规律,并应用这些规律对工业发酵进行再认识,从而对未来的工业发酵做出科学的预测。

我们从不同的角度研究微生物的生命活动,把现代生物学关于物质流动、伴随能量形式的转换而发生的电子流动以及信息流动这三种流动的观点引入发酵工程,提出了反映微生物生命运动客观规律的“三个基本假说”:代谢能支撑假说、代谢网络假说和细胞经济假说。

这三个假说分别认定了发酵工程的生物学属性,论证了生物产品与其有机原料在代谢网络上联网的可能性和现实性,理出了可用来解决微生物生存利益与人类的经济利益之间矛盾的基本思路。并在这三个假说的基础上,对发酵工程进行再认识,把微生物育种和微生物培养的工艺控制视为一个整体,将传统的发酵工艺与现代生物技术及工程学结合起来,用演绎推理的方法做出了体现工业发酵生物学属性的8个应用性推理,尝试对未来的发酵工程做出预测。

8个应用性推理分别是:①物质能量转化预测;②细胞资产流失预测;③原料与产物的预测;④新过程参数的预测;⑤细胞机器的预测之一;⑥细胞机器的预测之二;⑦细胞机器的预测之三;⑧扩大能量流失的预测。

前述的“三个基本假说”和8个应用性推理不但孕育了微生物细胞机器的创新思路,而且为工业发酵的生物学原理构建了理论框架。

小结:发酵原理的大门已为你敞开,路,要靠你自己走。“地上本没有路,走的人多了,也便成了路。”

复 习 题

1. 微生物细胞机器的概念是怎样形成的?
2. 为什么把微生物细胞作为一个系统来看待? 微生物细胞是个什么样的系统?
3. 微生物细胞有什么不同于动物植物的基本性能?
4. 为什么要建立微生物细胞机器的工作模式? 请对这个工作模式做简单解释。
5. 试述微生物细胞机器的运行特点。

6. 为什么说“三个基本假说”是反映微生物生命运动客观规律的基本假说,而不把它指认为微生物细胞机器的基本假说?

参 考 文 献

- 储炬,李又荣.2002.现代工业发酵调控学.北京:化学工业出版社
- 方宗熙.1973.生物的进化.北京:科学出版社
- 赫胥黎.1971.进化论与伦理学(旧译《天演论》).《进化论与伦理学》翻译组译.北京:科学出版社
- 胡文耕.2002.生物学哲学.北京:中国社会科学出版社
- 李如生.1986.非平衡态热力学和耗散结构.北京:清华大学出版社
- 伊·普里戈金等.1987.从混沌到有序.曾庆宏,等译.上海:上海译文出版社
- 俞大绂,李季伦.1985.微生物学.第二版.北京:科学出版社
- Bernstein R, et al. 1996. *Biology*. Dubuque, Iowa: Wm. C. Brown Publishers
- Brock T D, Madigan M T. 1991. *Biology of Microorganisms*. 6th ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall
- Brock T D, Madigan M T. 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. 11th ed. New Jersey: Prentice-Hall
- Dawes E A. 1986. *Microbial Energetics*; London; Blackie & Son Limited
- Dawes I W, et al. 1992. *Microbial Physiology*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications
- Enger E D, Ross F C. 2003. *Concepts in Biology*. 10th ed. Boston; McGraw-Hill Companies, Inc
- Hame B D, Hooper N M. 2000. *Instant Notes in Biochemistry*. 2nd ed. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited
- Lee S Y, et al. 1999. *Metabolic Engineering*. New York; Marcel Dekker, Inc
- Lodish H, et al. 2000. *Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York; W. H. Freeman and Company
- Mackenzie A, Boll A S, Virdee S R. 2001. *Instant Notes in Ecology*. 2nd ed. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited
- Madigan M, et al. 2006. *Biology of Microorganisms*. 11th ed. New Jersey; Pearson Prentice Hall
- Moat A G., Foster J W. 2006. *Microbial Physiology*. 3rd ed. New York, N. Y.; John Wiley & Sons
- Moo Young M. 1985. *Comprehensive Biotechnology*. Oxford; Pergamon
- Nicklin J, Graeme-Cook K, Killington R. 2002. *Instant Notes in Microbiology*. 2nd ed. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited
- Nicolls D G. 1982. *Bioenergetics*. London; Academic Press
- Ratledge C, Kristiansen B. 2001. *Basic Biotechnology*. 2nd ed. Cambridge; Cambridge University Press
- Sahm H, Wandrey C. 1996. *Metabolic Engineering, Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. vol. 54. Berlin; Springer
- Stephanopoulos G N, Aristidou A A, Nielsen J. 1998. *Metabolic Engineering—Principles and Methodologies*. New York(Tokyo, Boston, London, San Diego, Toronto); Academic Press
- Turner P C, McLennan A G, Bates A G, et al. 2000. *Instant Notes in Molecular Biology*. 2nd ed. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited
- Westhead D R, Parish J H, Twyman R M. 2002. *Instant Notes in Bioinformatics*. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited
- Winter P C, Hickey G I, Fletcher H L. 1998. *Instant Notes in Genetics*. Oxford; BIOS Scientific Publishers Limited

第2章 发酵学第一假说:代谢能支撑假说

请带着以下问题学习:

1. 怎么给代谢能下定义? 为什么代谢能支撑是细胞生物的基本性质?
2. 代谢能如何支撑微生物细胞的生命活动?
3. 为什么化能异养型微生物细胞属于开放系统?
4. 怎样认识生物氧化的氧化还原本质? 在生物氧化过程中,脱氢酶(或氧化酶)的辅酶有什么不可替代的作用?
5. 为什么说微生物细胞的质子回路是代谢能支撑生命活动的一种重要表现形式?
6. 发酵学的三个基本假说是针对典型的工业发酵提出的,所谓“典型的工业发酵”是什么样的发酵?

发酵学第一假说——代谢能支撑假说:能直接推动生命活动(或吸能的生化反应)的能量形式叫做代谢能。微生物细胞依靠其自备的能量转换机构,把化学能(或光能)持续地转化成代谢能,并直接用来支撑其自身的生命活动。

以上假说试图说明三个问题:①什么叫代谢能? ②微生物细胞怎样获得代谢能? ③代谢能与微生物的生命活动有什么关系?

生命活动是生物体高度有序的许多序列反应的总和,是耗能的、不可逆的过程。尽管不同的生物可以使用不同的能源;然而,实际上吸能的生物化学反应只能接受代谢能(metabolic energy),即可供细胞新陈代谢直接利用的能量形式。因此所有的生物都具有把其他形式的能量(化学能或光能)转化成代谢能的能力,都存在把其他形式的能量转化成代谢能的过程。

工业发酵过程主要是微生物细胞群体的生命活动过程。微生物细胞的生命活动当然也是耗能的,微生物细胞的大量生物化学反应和细胞过程也只能接受代谢能。但是,微生物细胞直接面向环境而独立存在的处境,以及微生物细胞自主应对环境变化的生存方式,要求微生物细胞必须自己解决能量形式转换等生死攸关的问题。也就是说微生物细胞必须自备与能源相对应的能量形式转换机构,并具备把能源提供的能量形式持续不断地转化成代谢能的能力,最终实现代谢能对微生物细胞生命活动的支撑。

能量经典地定义为物体做功的能力。一切运动过程都需要能量,因此能量是物质运动的一种度量。对应于物质不同的运动形式,能量也有不同的形式。代谢能是对应于生命运动、细胞做功(包括细胞所做的机械功、化学功和输送功)的能量形式,是生物体直接用来建设自身或维持生命活动的能量形式。

代谢能以高能磷酸键或电场的方式储存在代谢能载体中,腺苷酸和可以被能量化的生物膜是最常见的代谢能载体,ATP(“能量货币”)和 Δp (质子运动势,“能库”)是代谢能最常见的供体。

代谢能支撑假说是发酵学最基本的假说,它确立了微生物在工业发酵中的地位,规定了工业发酵的生物学属性。本章将以代谢能支撑假说为中心,阐述微生物细胞内外的物质交换、化能异养型微生物生物氧化的氧化还原本质,进而认识微生物细胞进行持续的能量代谢是微生物细胞的生命线,也是工业发酵成立的最起码条件。

2.1 微生物细胞过程的热力学

细胞过程的热力学研究各个细胞反应和以代谢网络为基础的代谢的可行性。

2.1.1 生命系统是开放系统

热力学把宇宙中我们感兴趣的部分定义为系统,如一个细胞或一个生物反应器,而把其他部分叫做它的环境。系统是开放的还是封闭的、隔离的,取决于其是否可与环境交换物质和能量(见第1章)。生命系统与它的环境不但有物质交流还有能量交流,因此它是开放系统。

热力学分为平衡态热力学(或经典热力学)和非平衡热力学。经典热力学只考虑平衡状态,因此,它对于细胞通过代谢途径而实现转化的特性的深入研究,几乎不能提供帮助。热力学第二定律加上吉布斯相平衡原理,能够确定某一反应或转化过程是否可行(是否可沿某一方向进行)等,但却不能给出反应速率。它们主要应用于封闭系统中的可逆反应,在封闭系统中,这些反应最终几乎总是达到平衡态。然而,生命系统是开放系统,它与它所处的环境之间不会达到平衡。

生物系统将高焓低熵的“原料”转化成低焓高熵的“废物”排到它的环境,同时将释出的自由能的一部分转化为代谢能以推动系统的有序化进程,其余部分以热量的形式释放到它的环境;因此,生物系统的有序化必然伴随着其环境的污染(混乱程度的增加)。

2.1.2 经典热力学与微生物代谢

系统状态由一组状态函数来定义。这些状态函数包括内能(U ,系统固有的全部能量的度量)、焓(H ,等于恒压条件下系统仅仅因为体积变化而吸收的热量)、熵(S ,系统混乱度的度量)。这些状态函数可用来表示和解释这两个热力学定律,经典热力学就是建立在这两个定律的基础上的。

这两个定律是:①热力学第一定律:能量既不能创生也不能消灭。用数学方式表达为: $\Delta U=0$,其含义是,在任何孤立系统中系统储藏的能量不变。②热力学第二定律:自发过程向熵值(宇宙的总的混乱程度)增加的方向进行。用数学方式表达为: $\Delta S>0$,其含义是,在任何孤立系统中,不违背第一定律的过程得以进行的最起码的条件是该系统的熵值增加。

在研究细胞过程时,自发性确实是一个非常重要的问题。然而,要确定整个宇宙的熵变化是不可能的,所以把自发过程引起的宇宙的混乱程度作为评估自发性的标准,是难以

操作的。而且,过程的自发性不能单独由所研究的系统的熵变来决定,因为即使在系统的熵减少(即 $\Delta S_{\text{系统}} < 0$ 的情况下),放热过程(即 $\Delta H_{\text{系统}} < 0$,也就是热量从系统放出)也可能自发进行。例如,变性的蛋白质自发折叠成高度有序($\Delta S_{\text{系统}} < 0$)的天然构象(native conformation),就是一例。当然在这种情况下,宇宙的总熵还是增加的,因为环境的熵的增加足以抵消系统的熵的减少。

如果把我们要研究的系统与它所处的有限环境加在一起,看作一个孤立系统(隔离系统)来进行推理:这个重新划定的孤立系统服从经典热力学。在这个重新划定的孤立系统中,根据热力学第一定律,任何过程都是能量守恒的,可以得到推理,系统产生的能量必须由它的环境吸收;根据热力学第二定律,过程的自发性取决于总的熵变,可以得到推理,系统有序程度的增加,必须由它的环境混乱程度的更多的增加来弥补。

2.1.3 吉布斯自由能和代谢能

由于熵在使用上的这些困难,自发性可由另一状态函数吉布斯自由能(G)来确定:

$$G = H - TS$$

式中, G 为吉布斯自由能; H 为物系的焓(描述恒压热效应); T 为绝对温度; S 为物系的熵(描述混乱程度)。

这个状态函数是由 J. Willard Gibbs 于 1878 年提出的。自由能是指在恒温、恒压情况下,系统自由能的减少等于物系所做的最大可逆有用功(不包括位移功)。由于活细胞中的所有生物化学过程几乎都是在恒温、恒压条件下进行的,在研究微生物的能量代谢时自然会对自由能的变化 ΔG 发生兴趣。

在恒温恒压条件下,各类化学反应能否自发进行,取决于自由能的变化 ΔG 的值,但反应的 ΔG 与变化的途径无关。

当 $\Delta G < 0$ 时,自发过程,被称为是“放能的”(exoergic)过程,它们可以用来做功;

当 $\Delta G = 0$ 时,反应已达到平衡,即其正向过程和逆向过程正好处于平衡;

当 $\Delta G > 0$ 时,非自发过程,被称为“吸能的”(endergonic)过程,必须“注入”自由能才能驱动此类过程。

在细胞中,能直接驱动吸能过程的自由能供体有两类:存在于细胞内流通的能量货币(以 ATP 为代表)和能化了的生物膜。它们一般在代谢过程中形成,在代谢过程中使用,特别是它们作为细胞的组成成分,在细胞的代谢中再生和周转。我们把这两类特殊能量形式的能量叫做代谢能。

特别提请注意:①虽然酶对于加速反应非常重要,但它们并不改变反应的 ΔG ,作为催化剂它们只能加快热力学平衡的达到,却不能使 ΔG 为正的反应进行。②反应或过程的吉布斯自由能随温度(T)等变化。

2.2 微生物细胞内外的物质交换

微生物细胞要活下去就必须进行能量代谢,能量代谢必须依赖于微生物细胞内外的