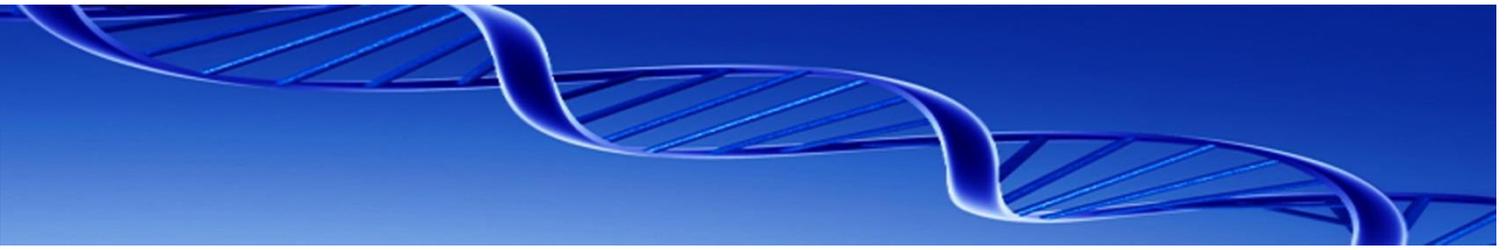


第六章 微生物的生长及其控制



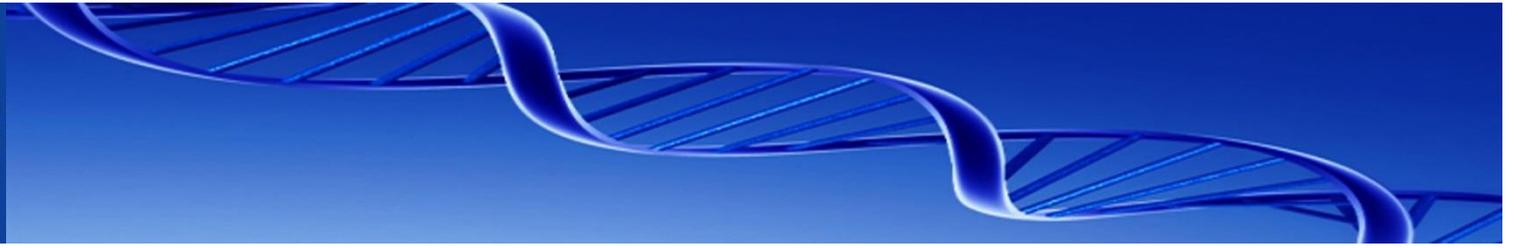
- 微生物生长繁殖的定义

微生物**生长**是细胞物质有规律的、不可逆的增加，导致细胞**体积**扩大的生物学过程。

繁殖是微生物生长到一定阶段，由于细胞结构的复制与重建并通过特定方式产生新的生命个体，引起生命个体**数量**增加的生物学过程。

群体生长=个体生长+个体繁殖

在微生物学里，**生长**定义为群体生长，注重于个体数量的增加。



• 微生物生长繁殖

物质合成：结构单体的合成
核苷酸合成
氨基酸合成

多聚化
DNA复制、RNA转录
多肽、蛋白质合成



一、染色体DNA的复制和分离

细菌中DNA的复制和细胞分裂两个过程的控制是不连接的。

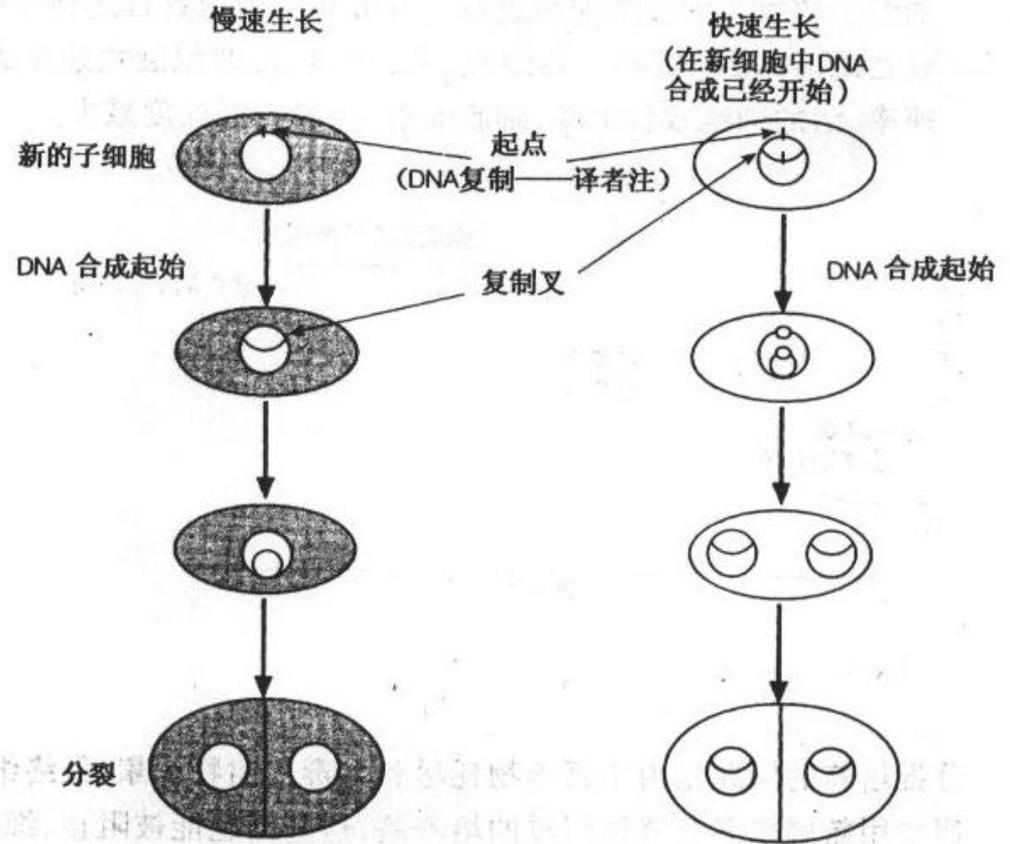
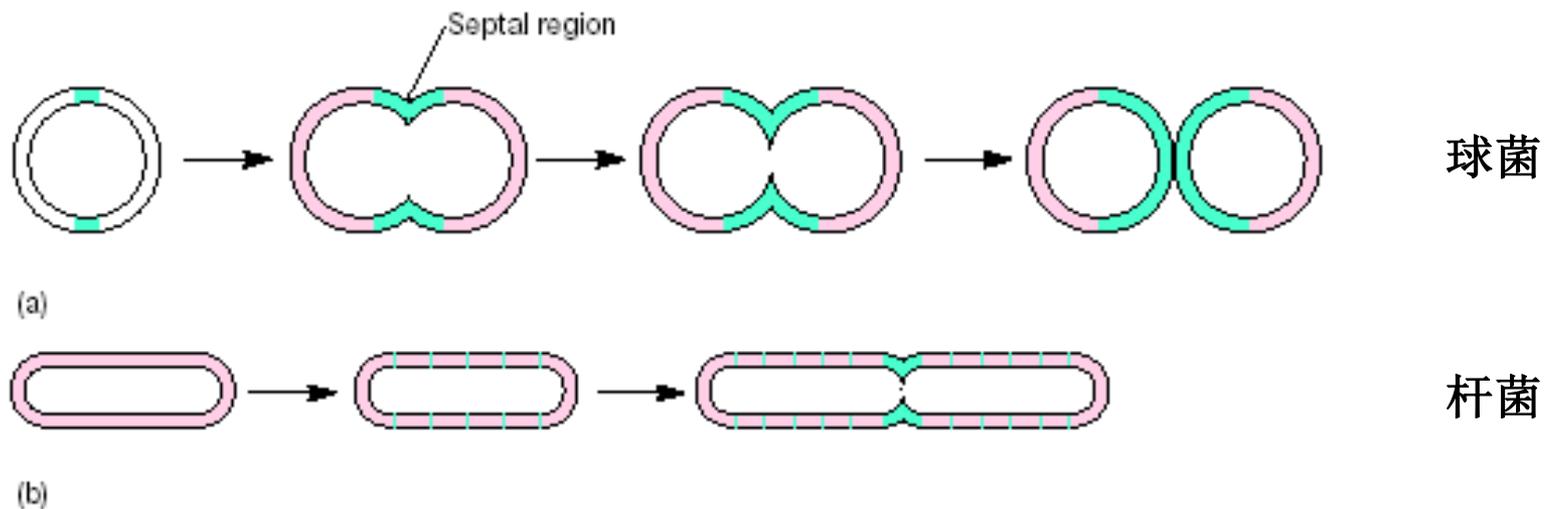


图 D8.2 慢速生长和快速生长的细菌中 DNA 合成与细胞分裂的协调



二、细菌的分裂与调节



Binary fission

细胞壁扩增



第一节 测定微生物生长繁殖的方法

➤ 以生物量为指标测定微生物的生长

➤ 1、重量法

➤ 2、生理指标法

➤ 3、比浊法

➤ 以数量变化对微生物生长情况进行测定

➤ 1、培养平板计数法

➤ 2、膜过滤培养法

➤ 3、显微镜直接计数法



➤ 以生物量为指标测定微生物的生长

- 1、重量法：
 - 可以用于单细胞、多细胞及丝状体微生物
 - 湿重：离心或过滤分离菌体，洗涤，直接称重。发酵：g菌/L
 - 干重：105℃烘干至恒重
- 2、生理指标法
 - 蛋白质量：细菌中蛋白质含量大约为65%，蛋白质含氮量16%，
凯氏定氮法（蛋白质→氨离子→蒸馏→滴定）
 - DNA，ATP等含量
 - 微生物的呼吸强度，耗氧量，酶活性，生物热以及产酸、产气等
“吹口气查胃病”：¹³C尿素呼气法快速鉴定幽门螺杆菌（尿素酶）感染
（ NH_3 和 $^{13}\text{CO}_2$ ）



以生物量为指标测定微生物的生长

3、比浊法

相对值，不能区分死活菌

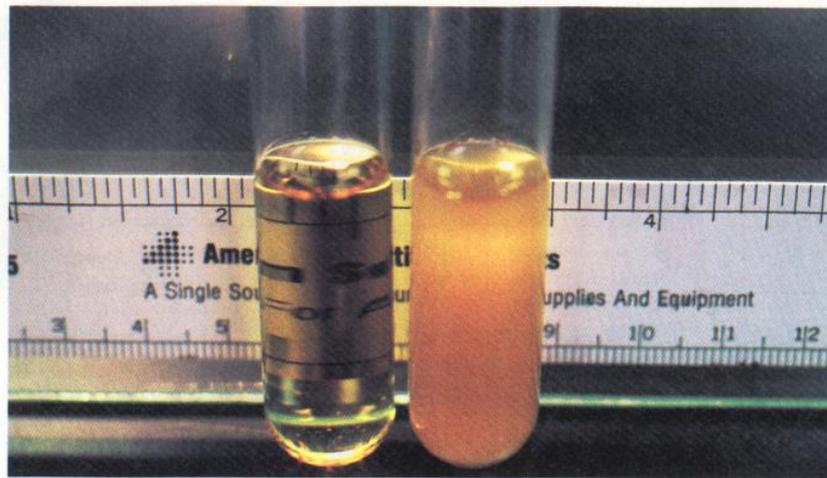


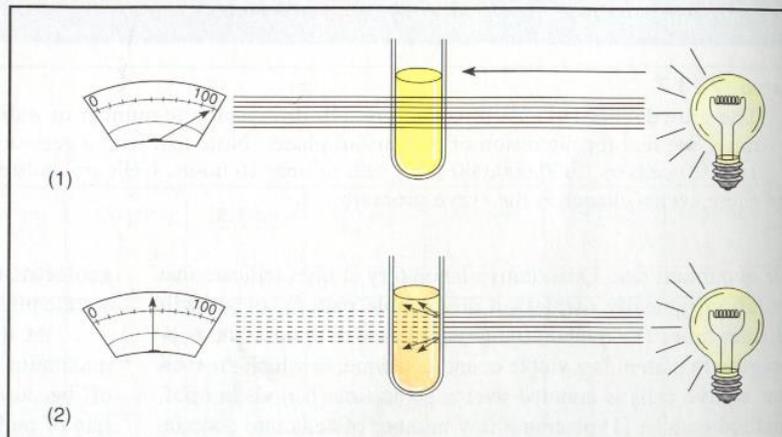
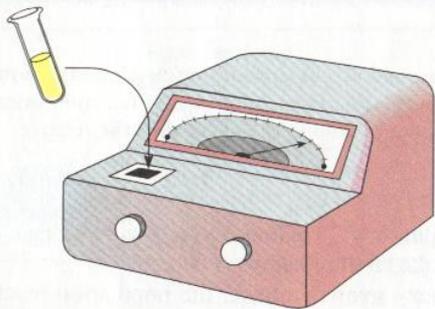
Figure 7.18

Turbidity measurements as indicators of growth. (a) Holding a broth to the light is

在一定波长下，测定菌悬液的光密度，以光密度 (optical density, 即O.D.)表示菌量。

measurements can be made with a spectrophotometer. (1) A tube with no growth transmits more light and gives a higher reading.

实验测量时应控制在菌浓度与光密度成正比的线性范围内，否则不准确。

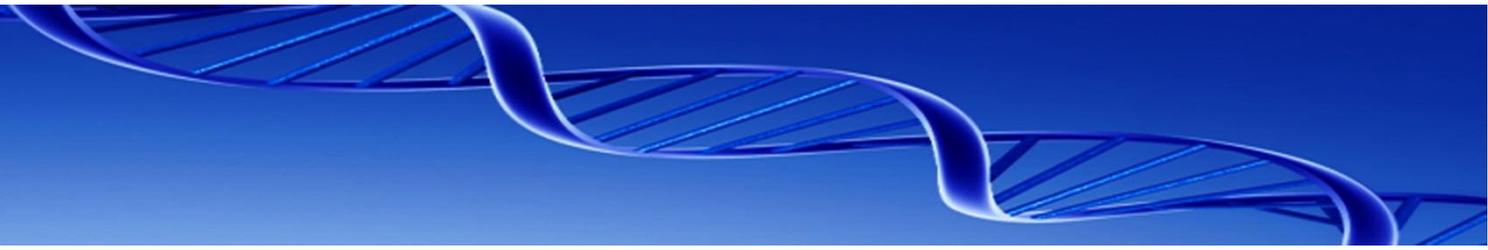




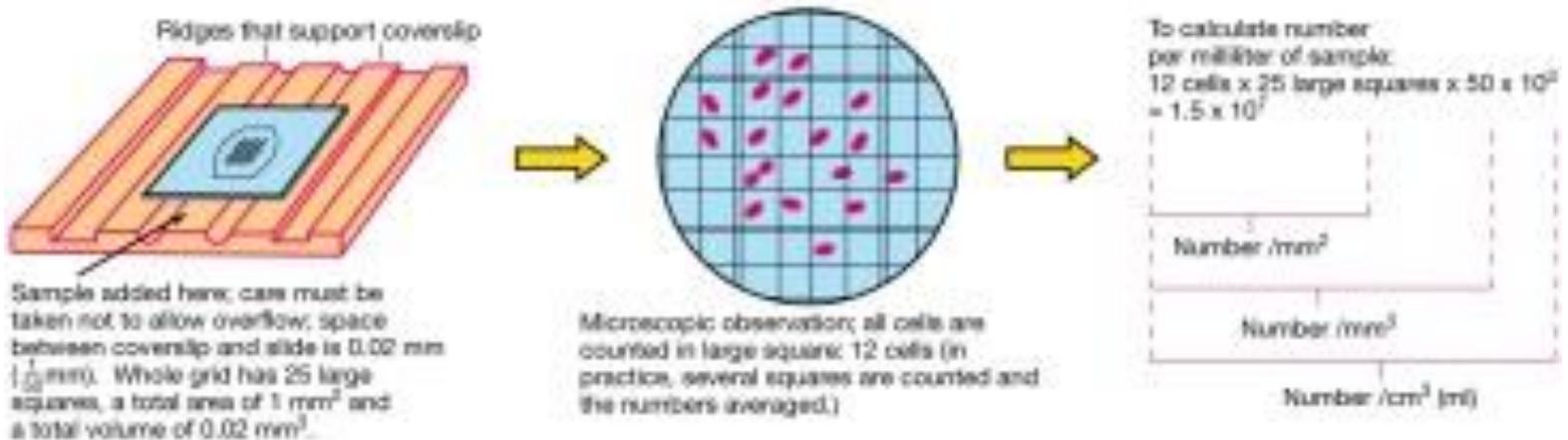
➤ 以数量变化对微生物生长情况进行测定

计数法：细菌、孢子、酵母菌等单细胞微生物的数量

- 直接计数法：显微镜，细菌计数板、血细胞计数板
- 间接计数法：（活菌计数法）
 - 平板菌落计数法 cfu (colony forming unit) 菌落形成单位
e. g. : 100 cfu/ml
- MPN方法：最大或然数 (most probable number) 计数法
稀释液体培养计数
- 膜过滤法：主要用于液体样品中菌数很低时



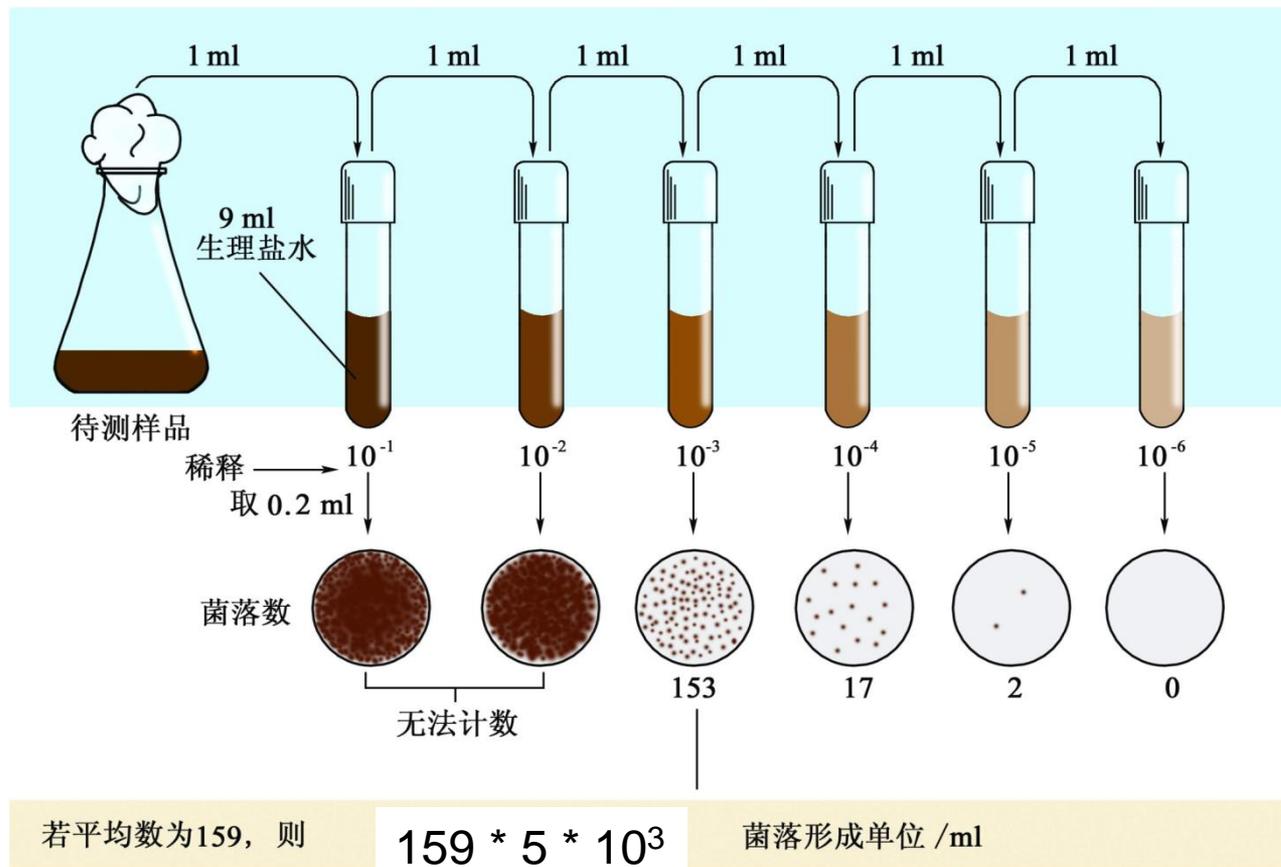
直接计数法：显微镜、细菌计数板/血细胞计数板



间接计数法:

(活菌计数法) 平板菌落计数法 cfu
(colony forming unit) 菌落形成单位

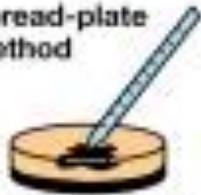
e. g. : 100cfu/ml



Procedure for **viable counting**
using serial dilutions of the sample
and the pour plate method.

涂布平板

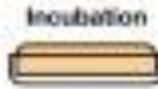
Spread-plate method



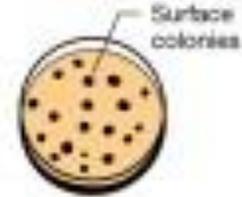
Sample is pipetted onto surface of agar plate (0.1 ml or less)



Sample is spread evenly over surface of agar using sterile glass spreader



Incubation



Typical spread-plate results

浇注平板

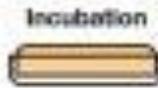
Pour-plate method



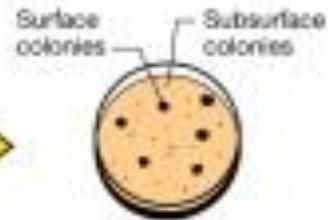
Sample is pipetted into sterile plate



Sterile medium is added and mixed well with inoculum



Incubation

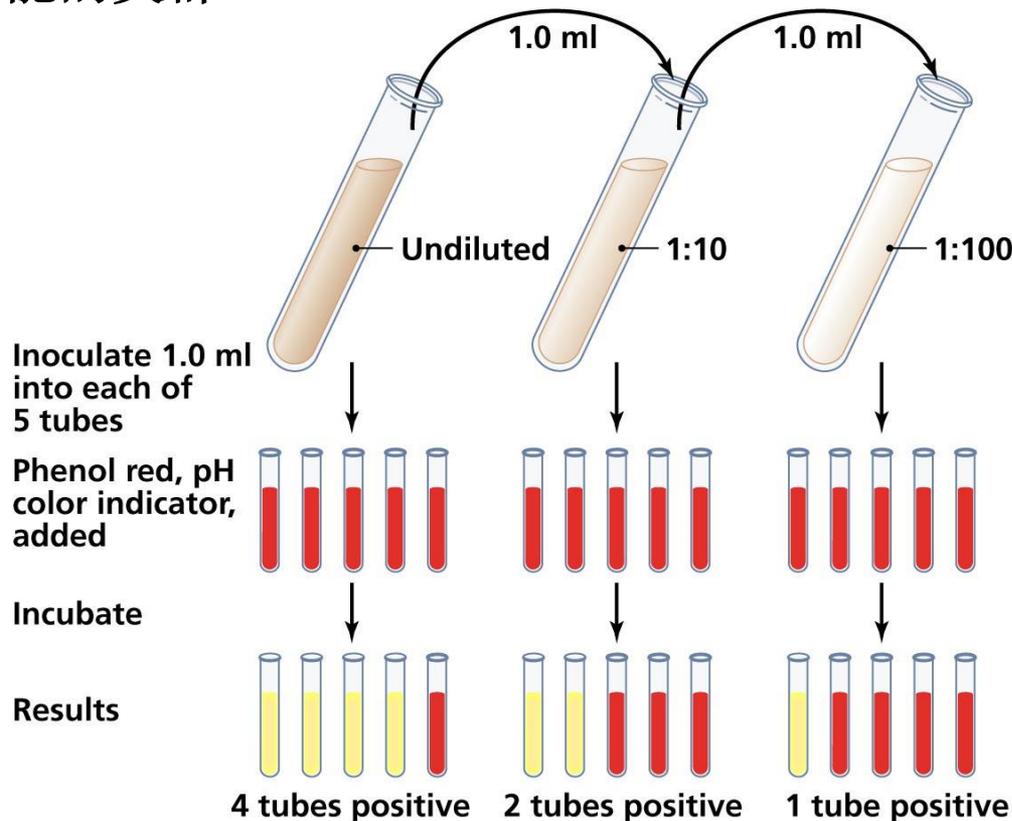


Typical pour-plate results

Two methods of performing a viable count (plate count). In either case the sample must usually be diluted before plating.

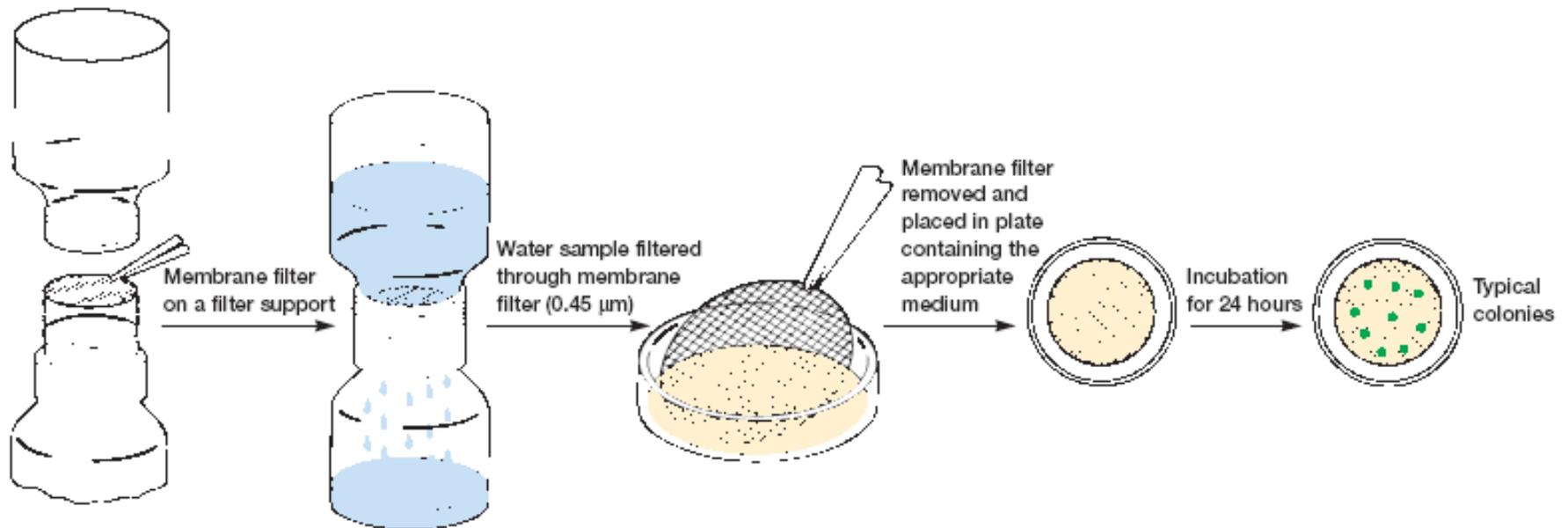
MPN方法：最大或然数 (most probable number) 计数法，又称 稀释液体培养计数。

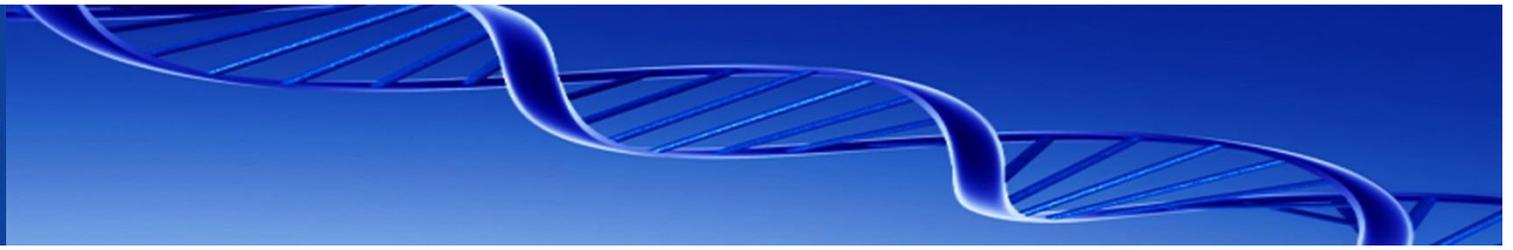
适用于测定在一个混杂的微生物群落中虽不占优势，但却具有特殊生理功能的类群。



出现阳性份数			每 100mL 水样 中细菌数的最 可能数	95%可信限值		出现阳性份数			每 100mL 水 样中细菌数 的最可能数	95%可信限值	
3mL 管	1mL 管	0.1mL 管		下限	上限	10mL 管	1mL 管	0.1mL 管		下限	上限
0	0	0	< 2			4	2	1	26	9	78
0	0	1	2	< 0.5	7	4	3	0	27	9	80
0	1	0	2	< 0.5	7	4	3	1	33	11	93
0	2	0	4	< 0.5	11	4	4	0	34	12	93
1	0	0	2	< 0.5	7	5	0	0	23	7	70
1	0	1	4	< 0.5	11	5	0	1	34	11	89
1	1	0	4	< 0.5	15	5	0	2	43	15	110
1	1	1	6	< 0.5	15	5	1	0	33	11	93
1	2	0	6	< 0.5	15	5	1	1	46	16	120
2	0	0	5	< 0.5	13	5	1	2	63	21	150
2	0	1	7	1	17	5	2	0	49	17	130
2	1	0	7	1	17	5	2	1	70	23	170
2	1	1	9	2	21	5	2	2	94	28	220
2	2	0	9	2	21	5	3	0	79	25	190
2	3	0	12	3	28	5	3	1	110	31	250
3	0	0	8	1	19	5	3	2	140	37	310
3	0	1	11	2	25	5	3	3	180	44	500
3	1	0	11	2	25	5	4	0	130	35	300
3	1	1	14	4	34	5	4	1	170	43	190
3	2	0	14	4	34	5	4	2	220	57	700
3	2	1	17	5	46	5	4	3	280	90	850
3	3	0	17	5	46	5	4	4	350	120	1000
4	0	0	13	3	31	5	5	0	240	68	750
4	0	1	17	5	46	5	5	1	350	120	1000
4	1	0	17	5	46	5	5	2	540	180	1400
4	1	1	21	7	63	5	5	3	920	300	3200
4	1	2	26	9	78	5	5	4	1600	640	5800
4	2	0	22	7	67	5	5	5	≥ 2400		

膜过滤法：主要用于液体样品中菌数很低时





- 哪些方法在厌氧菌的测定中可以使用？
- 哪些方法在混合微生物的测定中可以使用？
- 哪些方法适合于高浓度微生物（如：粪便）检测，哪些方法适用于饮用水中的微生物检测？
- 有多种微生物混在一起的情况下我要检测其中某一种微生物量，应该怎么做？



第二节 微生物的生长规律

**细菌生长繁殖的规律（标准生长曲线）
及控制技术（连续培养的概念与方法）**

了解细菌群体生长规律， 对其进行研究与利用



一、同步培养 (Synchronous culture)

研究微生物个体生长的方法(间接)

1、环境条件诱导法

- (1) 温度 (短期热休克法)
- (2) 培养基成分 (用氯霉素抑制细菌蛋白质合成)
- (3) 明显的生理周期 (藻类细胞的光照、黑暗控制)

2、机械筛选法

- (1) 密度梯度离心法
- (2) 过滤分离法
- (3) 膜洗脱法

同步培养物：一种理想的材料

生理与遗传特性的研究；
工业发酵的种子；

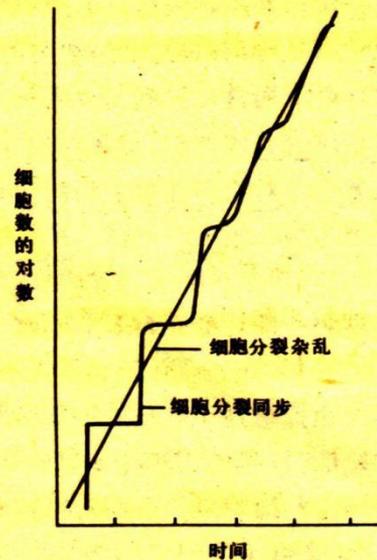


图 6-9 细菌的同步生长与非同步生长

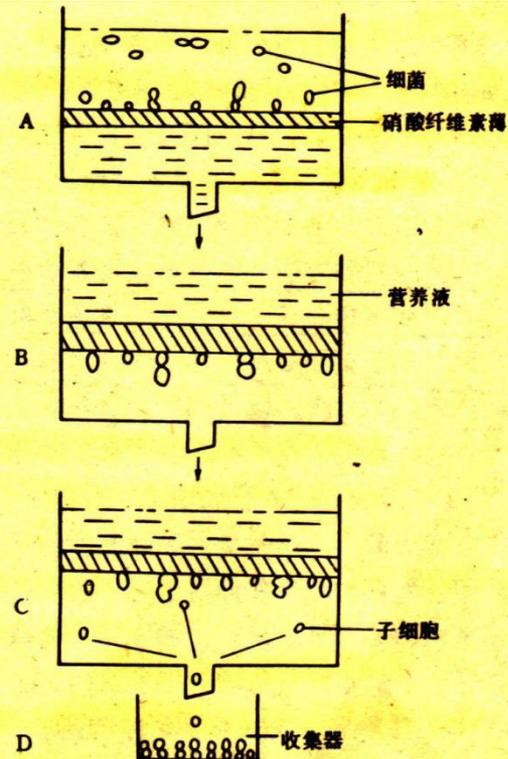


图 6-10 硝酸纤维素薄膜法

硝酸纤维素滤膜法是最经典的获得同步生长的方法

由于细胞的个体差异，同步生长往往只能维持2-3个世代，随后又逐渐转变为随机生长。



二、细菌群体生长规律

生长曲线 (growth curve) : 定量描述群体菌数变化规律

时间为横坐标、活菌数对数作为纵坐标

生长速率常数 (growth rate constant)

(R: 每小时分裂次数)

延滞期

Lag phase

对数生长期

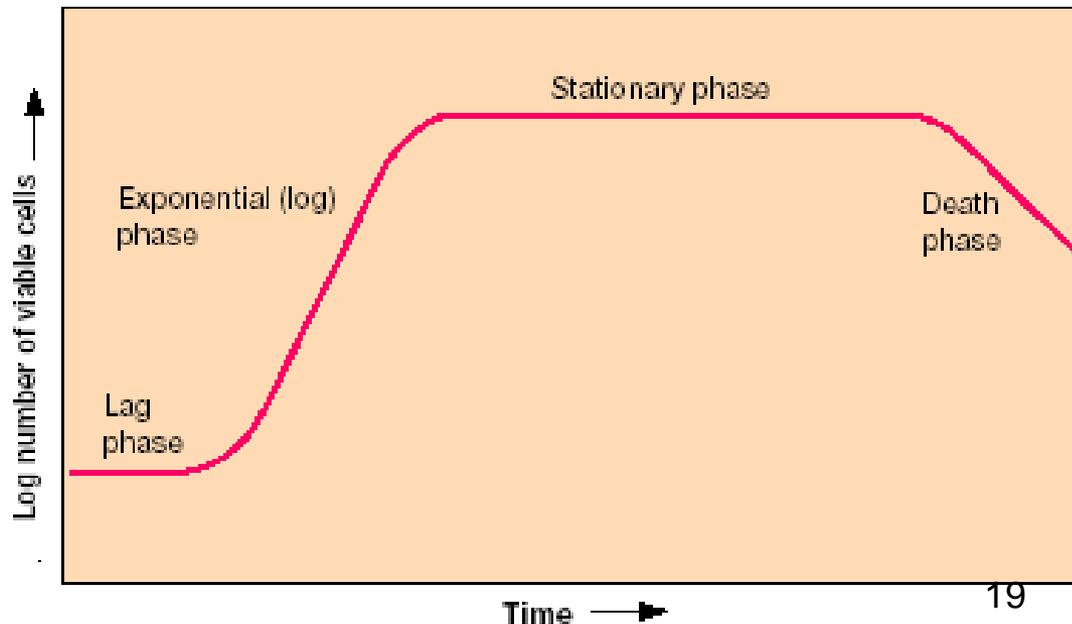
Exponential phase

稳定生长期

Stationary phase

衰亡期

Death phase



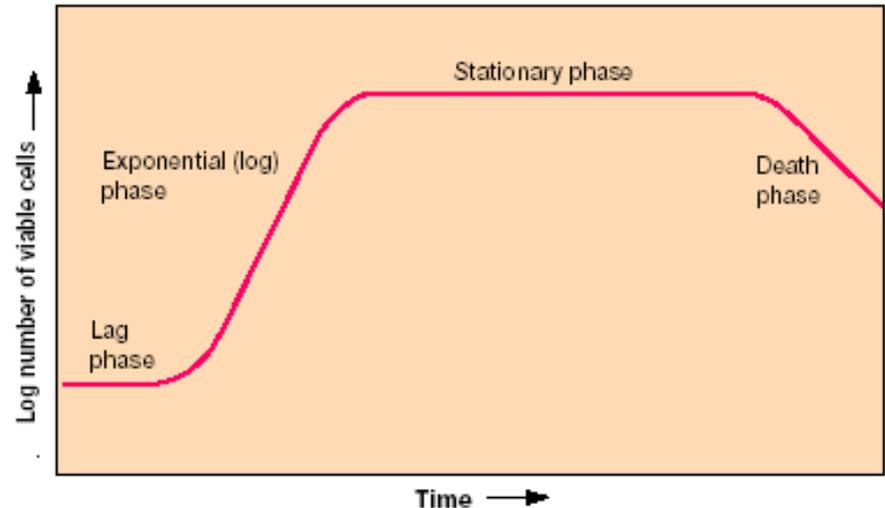


1、延滞（迟缓）期

特点： 生长速率接近零
细胞形态变大或增大
rRNA含量增高
合成代谢十分活跃
对环境比较敏感

原因： (1) 种子老化
(2) 适应新环境的酶系统没有表达

解决方法： (1) 接种龄 - 指数期种子最好
(2) 接种量 - 实验室：3-5%，工业发酵：~10%
(3) 培养基：发酵与种子培养基成分接近





2、指数（对数）期：

- 特点：
 - 生长速率常数最大
 - 菌体成分均匀
 - 代谢旺盛

对数期菌种是研究微生物基本代谢的良好材料；也常在生产上用作种子，使发酵的迟缓期缩短

- 影响指数期微生物代时长短的因素

- 菌种
- 营养成分
- 营养物质浓度
- 培养温度

指数期的三个参数：

N，繁殖代数

G，代时（倍增时间）

R，生长速率常数

$$G = \frac{t_1 - t_0}{n}$$

$$R = 1/G$$

- ❖ **生长限制因子**（growth-limited factor）：凡是处于较低浓度范围内，可影响生长速率的营养物成分，就称为生长限制因子。

Let N_0 = the initial population number
 N_t = the population at time t
 n = the number of generations in time t

n , 繁殖代数

$$N_t = N_0 \times 2^n.$$

$$\log N_t = \log N_0 + n \cdot \log 2, \text{ and}$$

$$n = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0.301}.$$

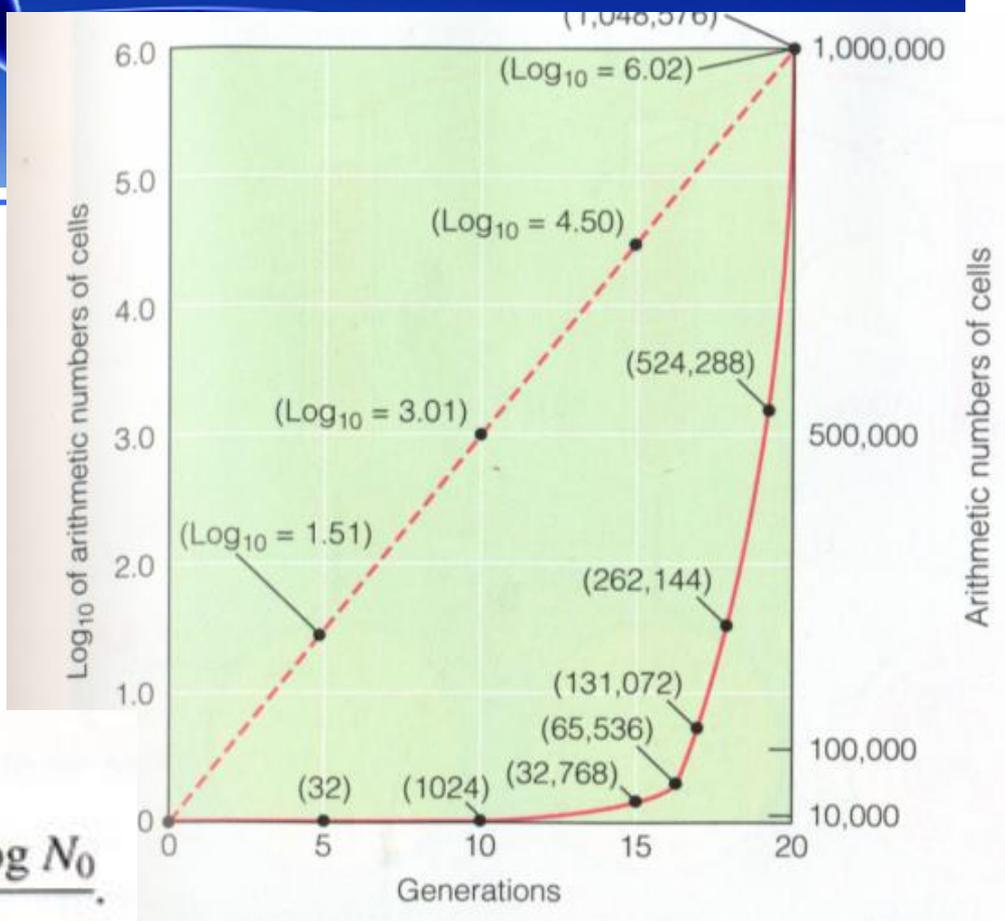


Figure 6.13 A growth curve for an exponentially increasing population, plotted logarithmically (dashed line) and arithmetically (solid line).

If the arithmetic line were plotted for two more generations, would it still be on the page?

凡是处于较低浓度范围内，可影响生长速率和菌体产量的营养物质成分，就称为生长限制因子，用C表示，稳定期C=0

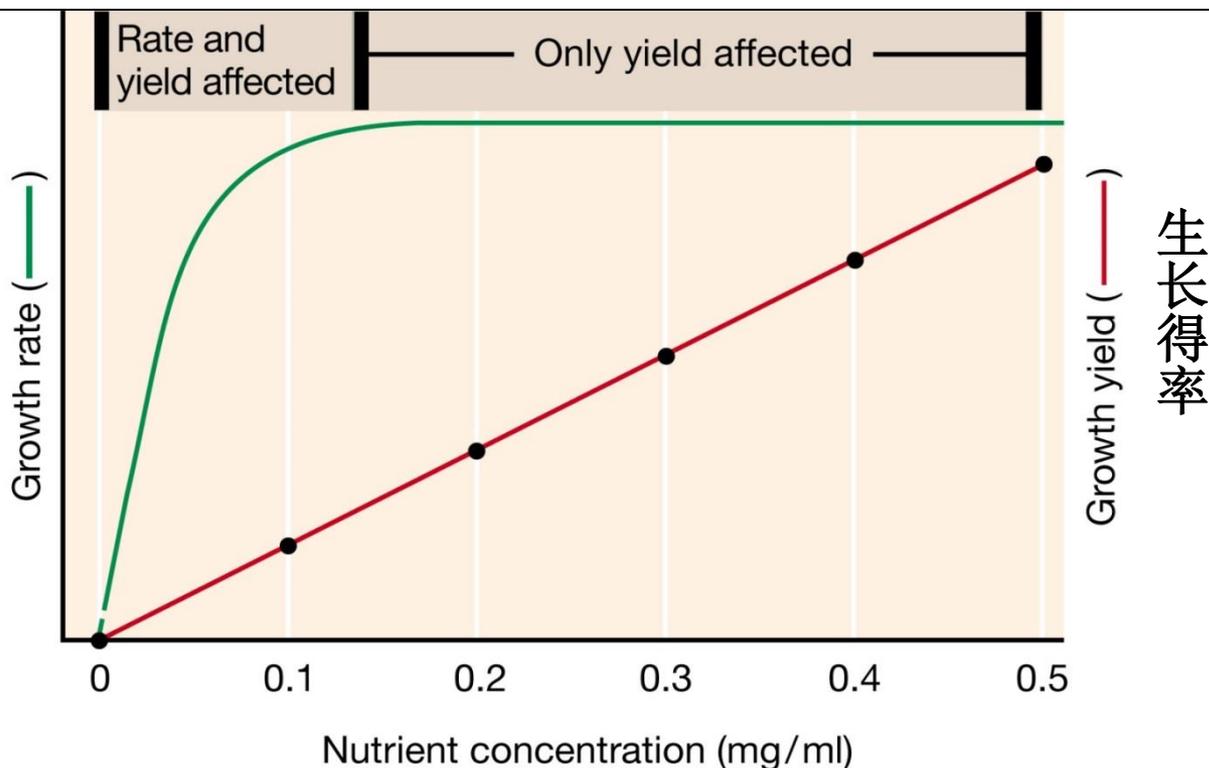
3) 营养物质浓度，在一定范围内，生长速率与营养物质浓度呈正比

生长得率:

$$Y=(X-X_0)/(C_0-C)$$

X: 微生物生物量

C: 底物量



Relationship between nutrient concentration, **growth rate (green curve)**, and **growth yield (red curve)** in a batch culture (closed system). At low nutrient concentrations both growth rate and growth yield are affected. $Y=(X-X_0)/(C_0-C)$



3、稳定生长期:

- **特点:**

- 生长速率为零（增量等于死亡数），活菌数最多
- 开始储存糖原等内含物
- 芽孢杆菌：形成芽孢
- 次生代谢物（secondary metabolites）

- **原因:**

- 营养物质耗尽/比例失调/pH、氧化还原势等环境变化

获得更多的菌体物质或积累更多的代谢产物

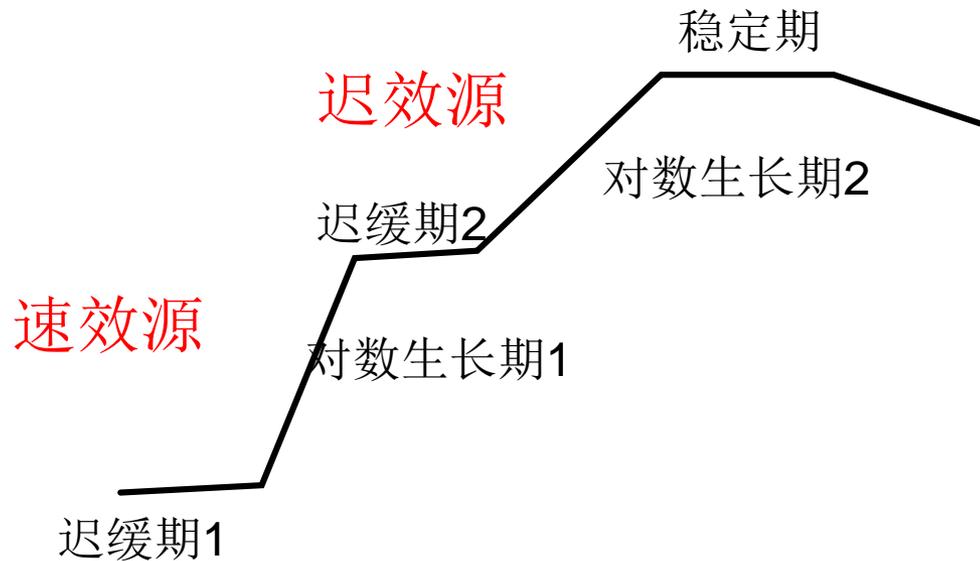
生产上延长稳定期的方法:

补料或取走代谢产物、
调节pH、温度、
对好氧菌增加通气、搅拌



4、衰亡期 (death phase):

- 现象:
 - 代谢活性降低、衰老自溶 (autolysis)
 - 芽孢杆菌: 释放芽孢
- 原因:
 - 营养物质耗尽
 - 有毒代谢产物大量积累



- 葡萄糖效应

当培养基中存在葡萄糖时，其他碳源的利用会严格受到抑制，直到葡萄糖完全消耗为止。

Jacob和 Monod首次研究了葡萄糖效应，提出了操纵子概念，由此获得了诺贝尔奖。他们的工作开创了原核基因调控的时代。



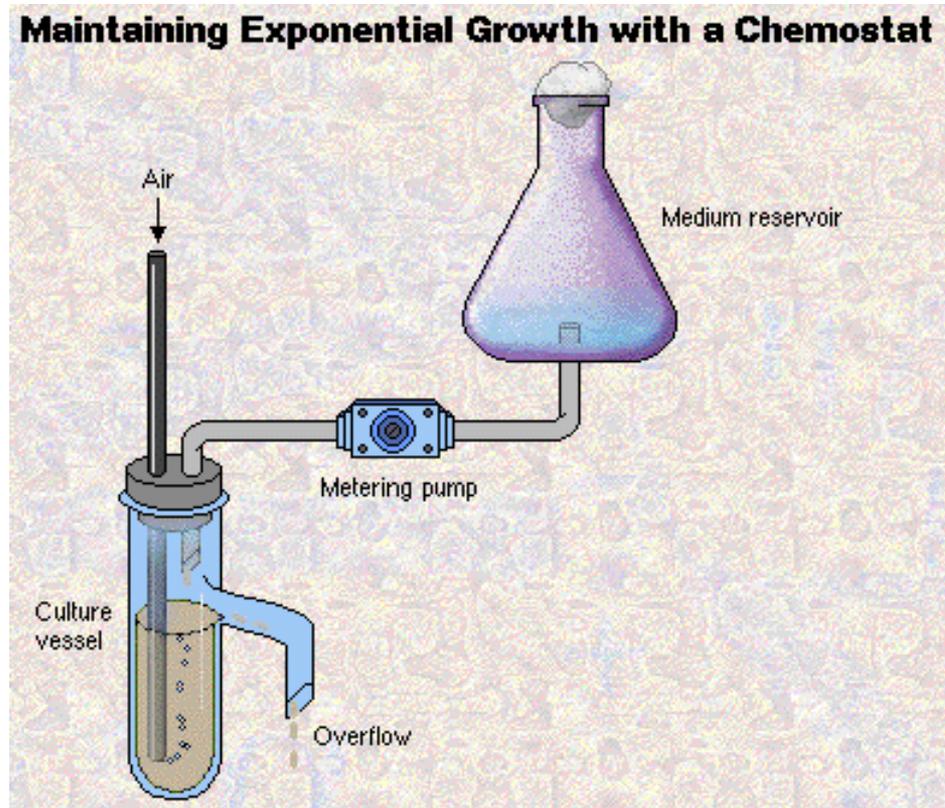
三、连续培养 (开放培养)

单批培养 (密闭) -----连续培养 (开放)

在微生物的整个培养期间，通过一定的方式使微生物能保持在**指数期的平衡生长状态和恒定的生长速率**的一种培养方法。

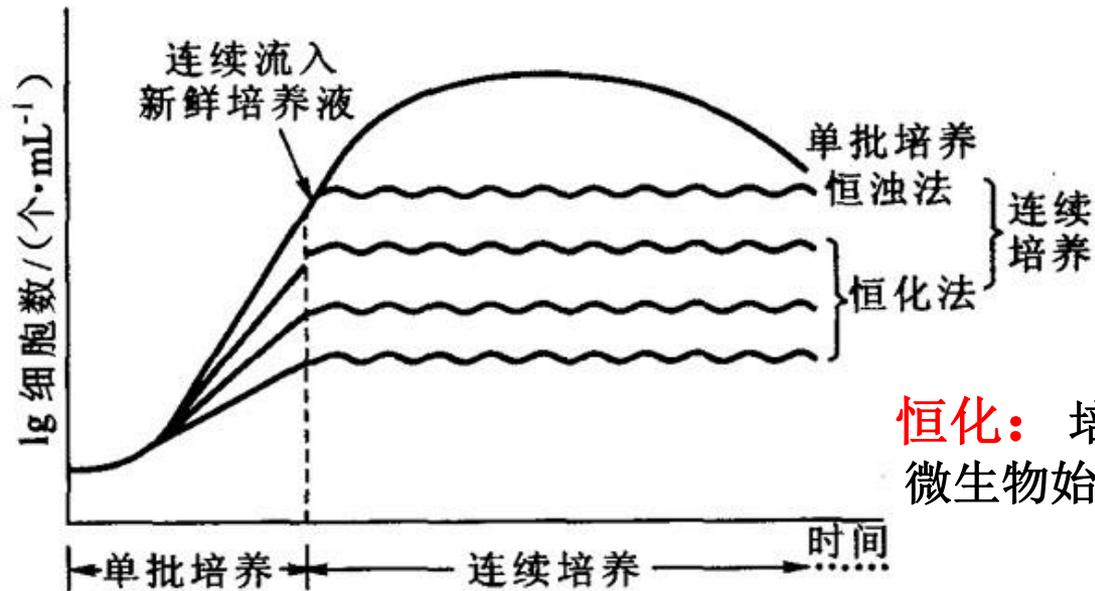
基本原则：
不断补充营养物质
移出培养物

按照控制方式分：
恒化器连续培养 (外控制)
恒浊器连续培养 (内控制)



恒浊：微生物量恒定（菌体密度）

过量的必需营养物，菌体维持最高的生长速率。



恒化：培养液流速保持不变及 R （限定因子）微生物始终在低于其最高生长速率下进行生长繁殖。

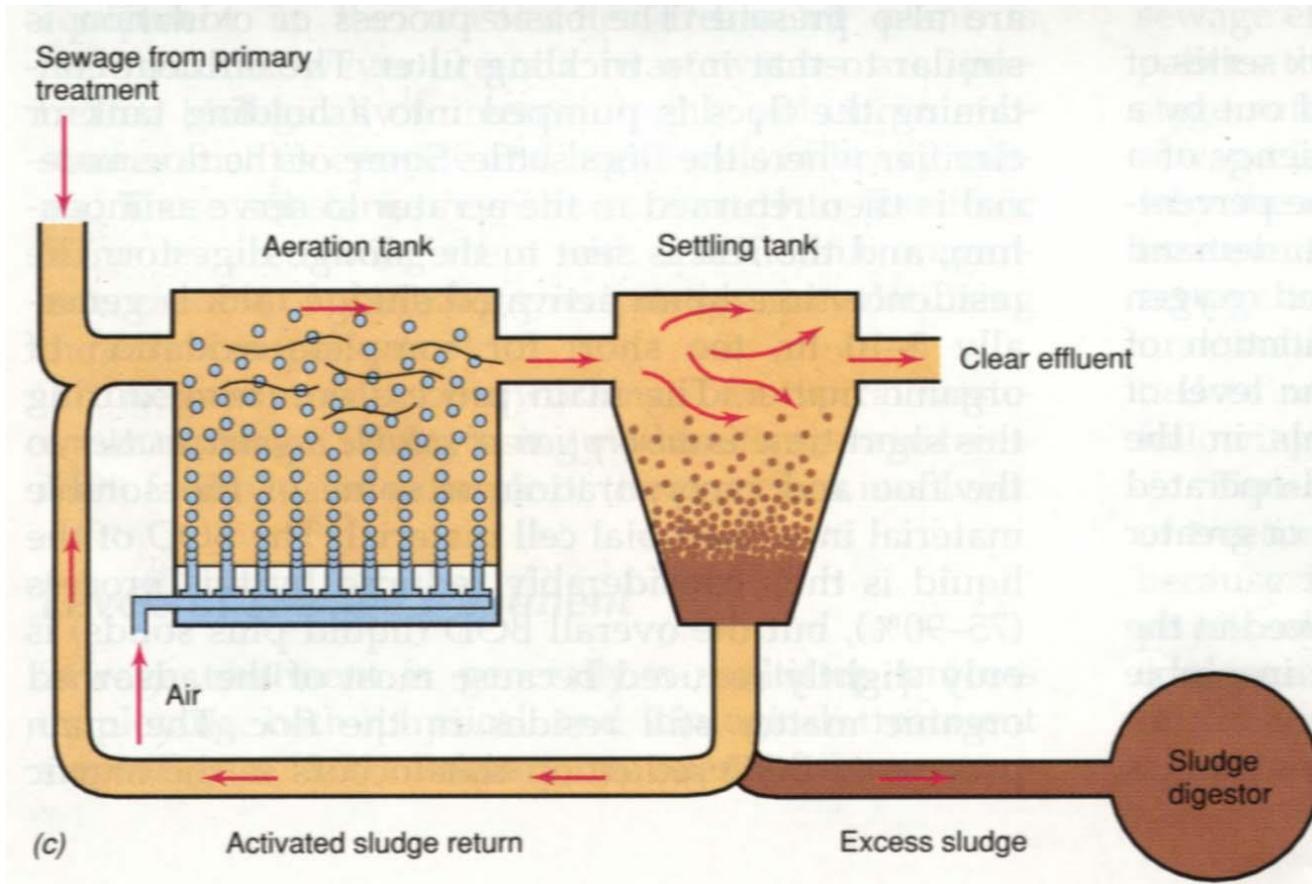
单批培养与连续培养的关系



按照培养器级数分：

- 单级连续培养（如单批恒浊）：**产物产生速率与菌体生长速率相平行**
- 多级连续培养器（multi-step continuous fermentor）：**产物与菌体生长速率不平行**
 - 丙酮、丁醇发酵（by *Clostridium acetobutylicum* 丙酮丁醇梭菌）
 - 前期：菌体生长期（trophophase）
37 °C, dilution rate: 0.125/h
 - 后期：产物合成期（idiophase）
33 °C, dilution rate: 0.04/h

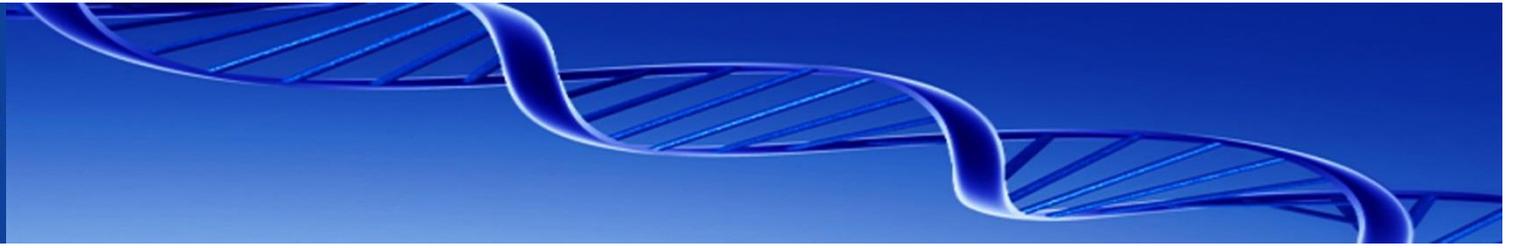
连续培养的应用例子：生活污水微生物净化





四、微生物的高密度培养 (high cell-density culture, HCDC)

- 超过常规培养10倍以上时的生长状态或培养技术
 - *E.coli*工程菌生产多肽类药物的实践中发展
 - *E.coli* W3110: 174g (湿重) /L
- 进行高密度培养方法
 - 选取最佳培养基
 - 适时补料
 - 提高溶解氧浓度
 - 防止有害代谢产物生成
 - 保持合适pH



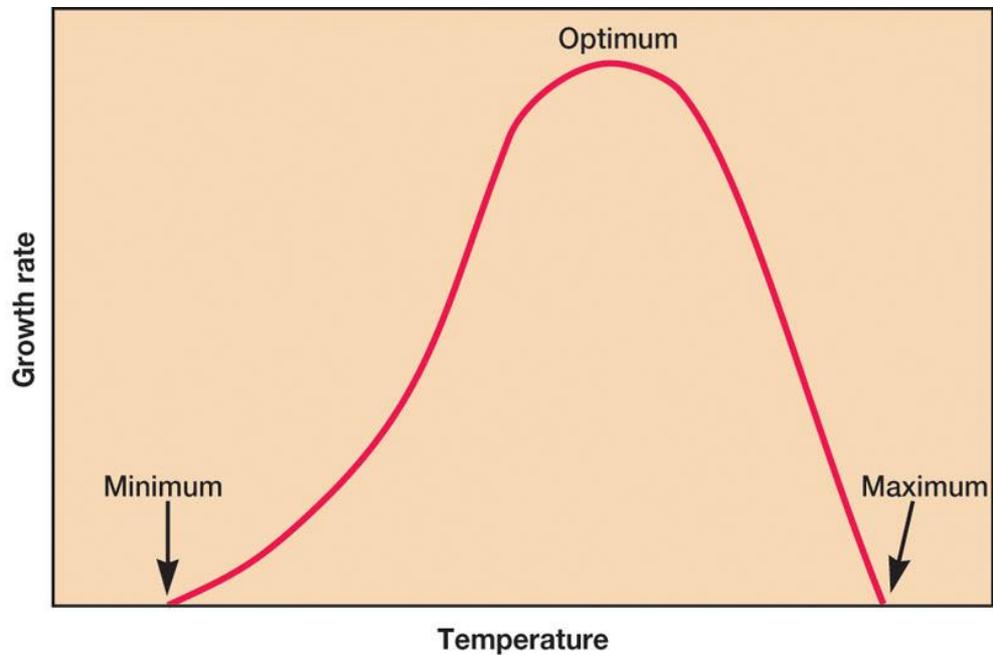
第三节 影响微生物生长的主要因素

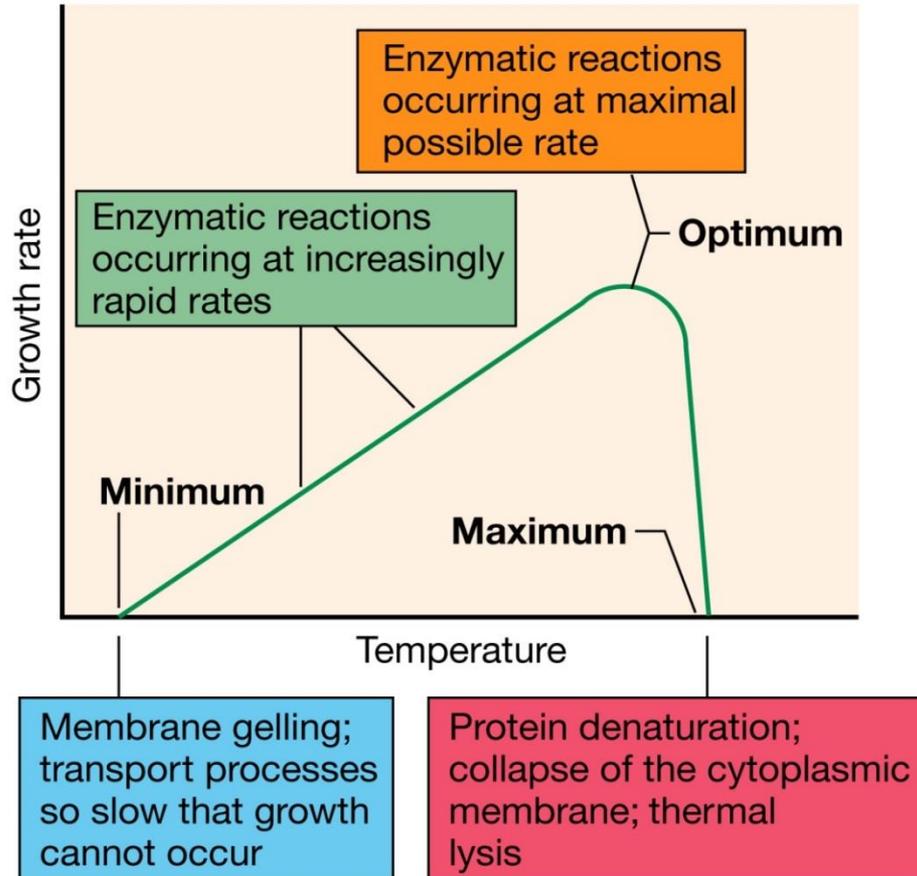
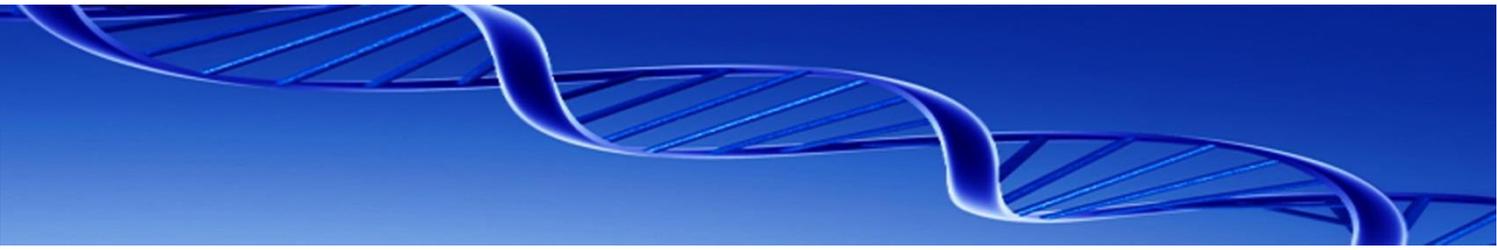
温度、氧气、pH



一、温度

温度三基点（对同一种微生物）：最适、最高、最低生长温度



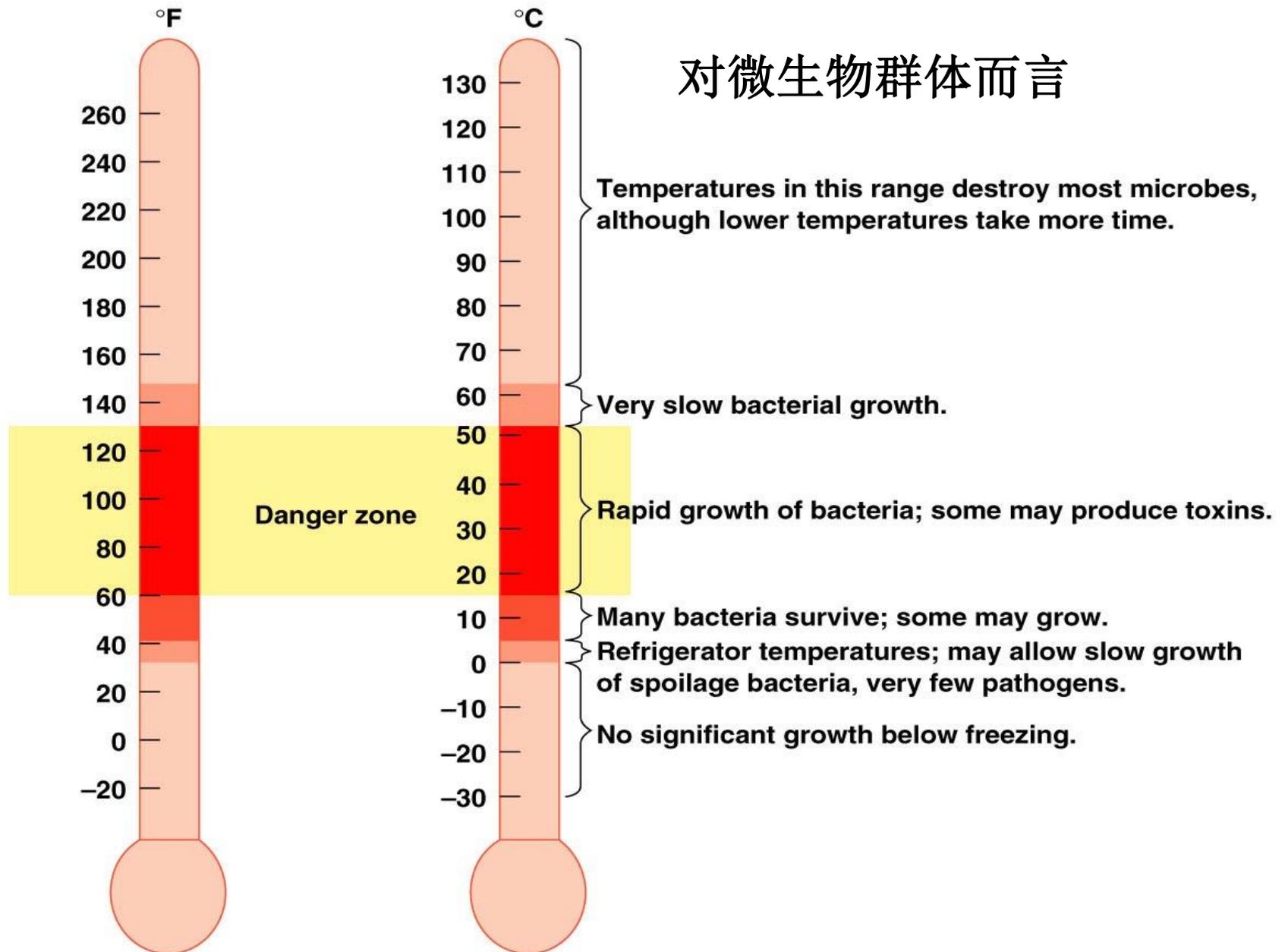


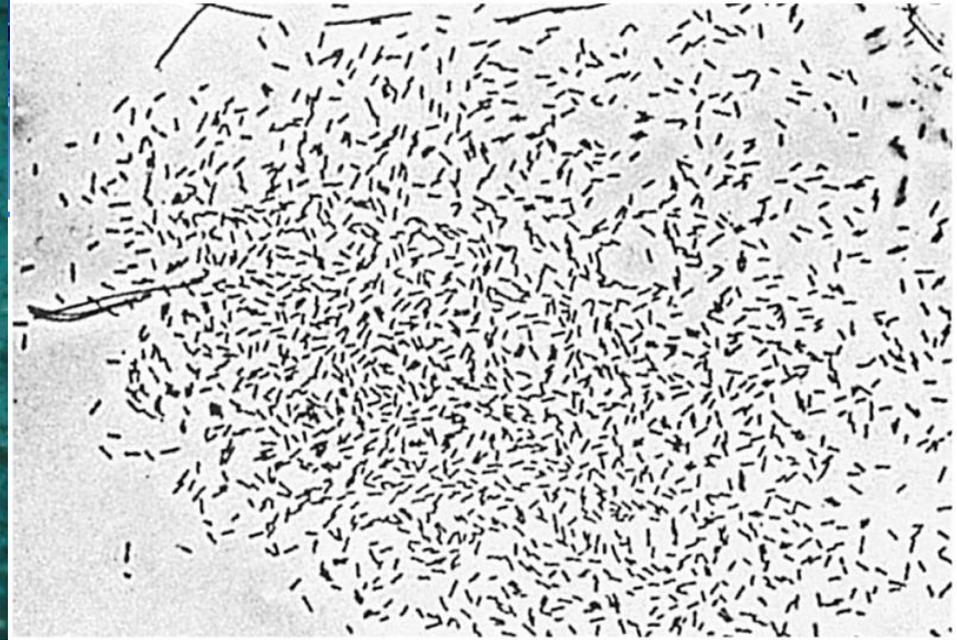
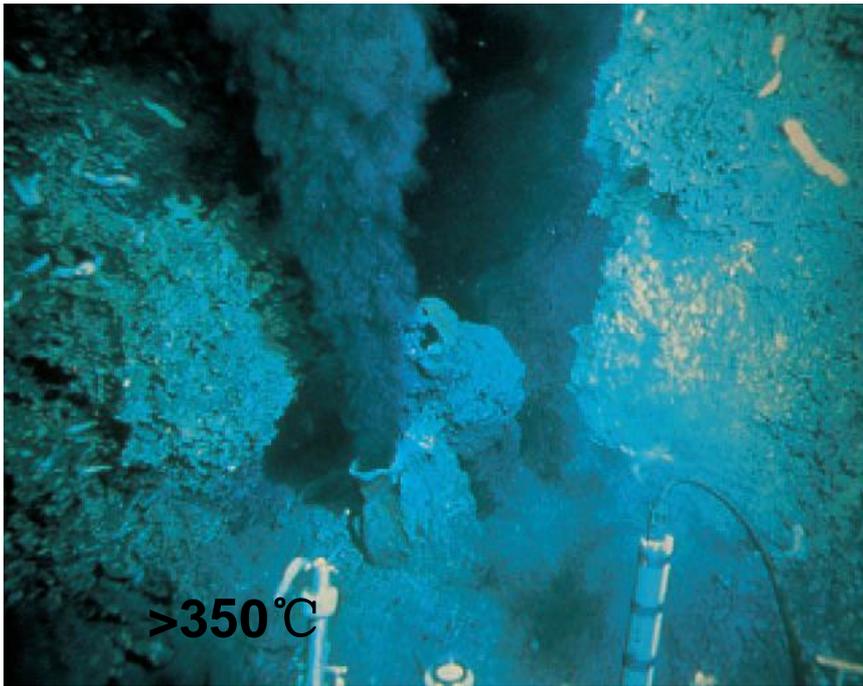
温度对微生物生长的具体影响：

- (1) 酶活性；
- (2) 细胞质膜的流动性（低温凝固，高温破裂）；
- (3) 物质的溶解度。

Effect of temperature on growth rate and the molecular consequences for the cell. The three cardinal temperatures vary by organism.

对微生物群体而言

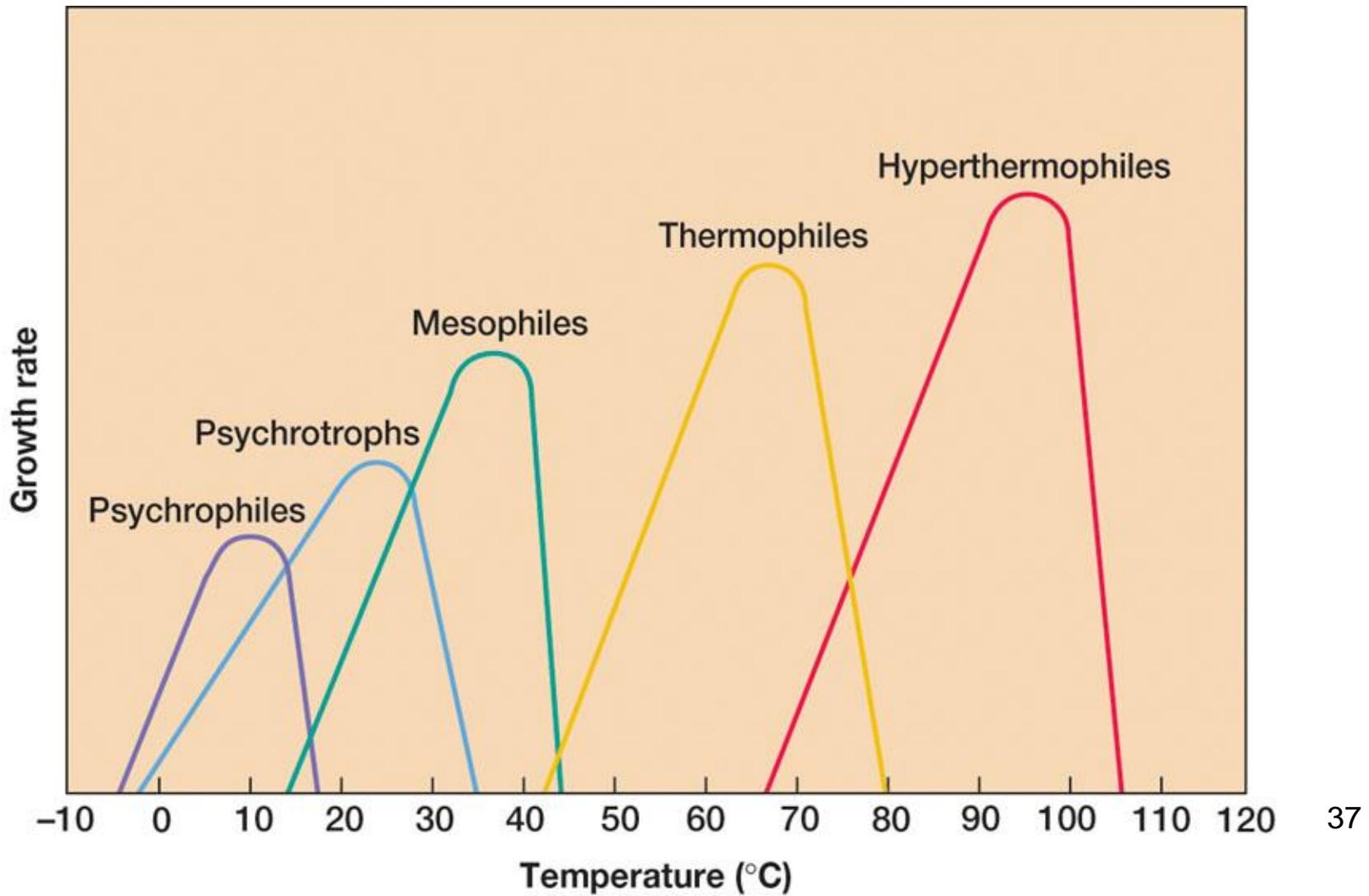
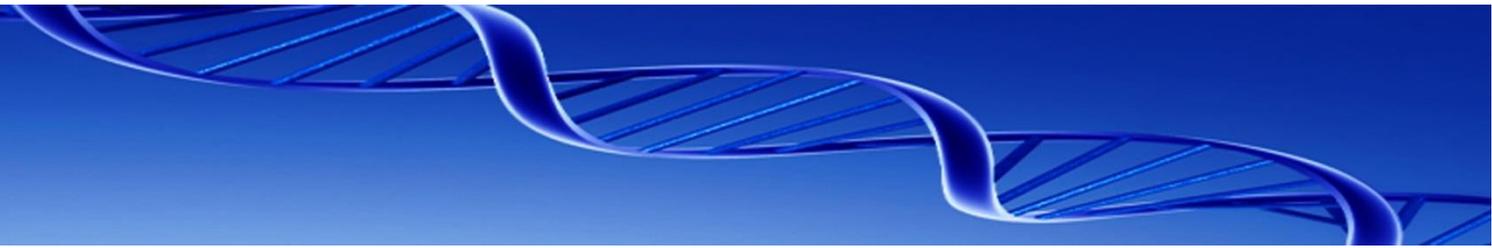




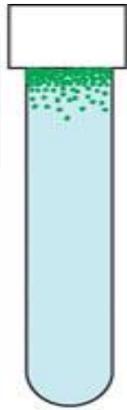
Growth of hyperthermophiles in boiling water.



Yellow Stone National Park



二、氧气



Obligate aerobe

专性好氧菌

Enzyme content

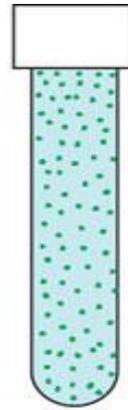
+ SOD
+ Catalase



Facultative anaerobe

兼性厌氧菌

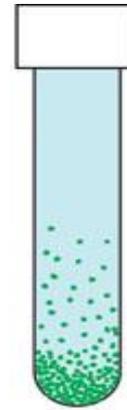
+ SOD
+ Catalase



Aerotolerant anaerobe

耐氧菌

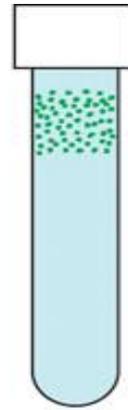
+ SOD
- Catalase



Strict anaerobe

厌氧菌

- SOD
- Catalase



Microaerophile

微好氧菌

+ SOD
+/- Catalase
(low levels)

Obligate aerobe

Completely dependent on atmospheric O_2 for growth.

Facultative anaerobe

Does not require O_2 for growth, but grows better in its presence.

Aerotolerant anaerobe

Grows equally well in presence or absence of O_2

Obligate anaerobe

Does not tolerate O_2 and dies in its presence.

Microaerophile

Requires O_2 levels below 2–10% for growth and is damaged by atmospheric O_2 (20%).



关于厌氧菌的氧毒害机制



1971年McCord和Fridovich提出关于专性厌氧生活的超氧化物歧化酶（SOD）学说。

- ▶ 在氧还原为水的过程中，可形成某些有毒的中间产物，例如，过氧化氢（ H_2O_2 ）、超氧阴离子（ O_2^- ）等。
- ▶ 超氧阴离子自由基为活性氧，性质极不稳定，反应力极强，可破坏膜和重要生物大分子，对微生物造成毒害或致死。
- ▶ 好氧微生物具有降解这些产物的酶，如SOD、过氧化氢酶、过氧化物酶等，
- ▶ 严格厌氧菌缺乏SOD等，故不能解除某些氧代谢产物的毒性而死亡。

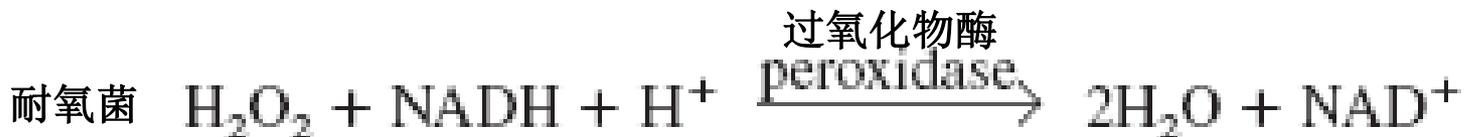


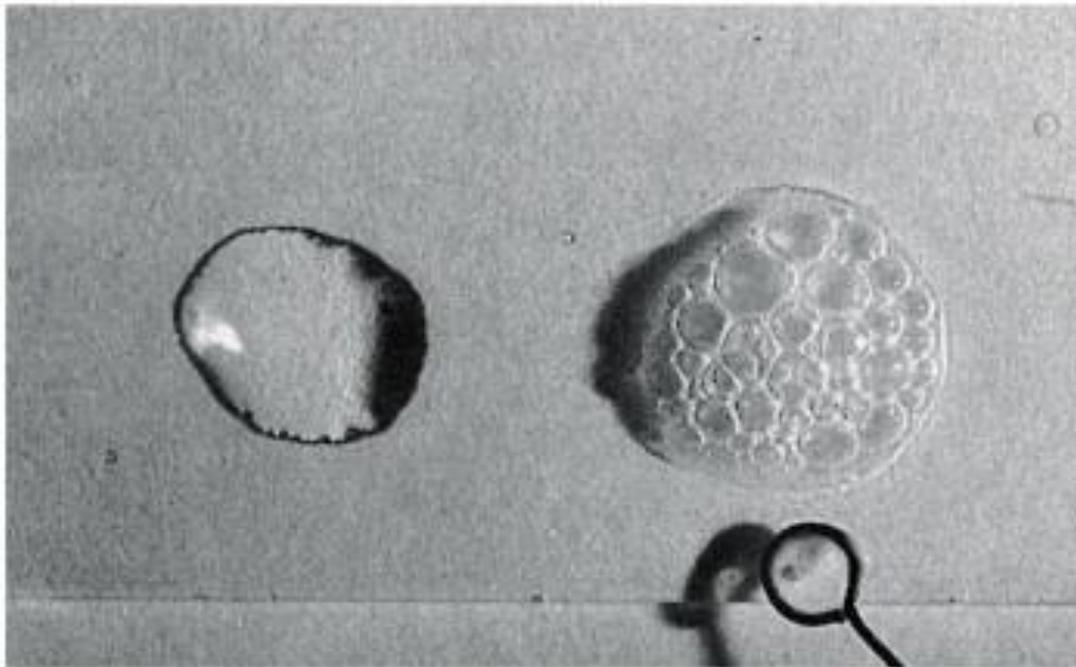
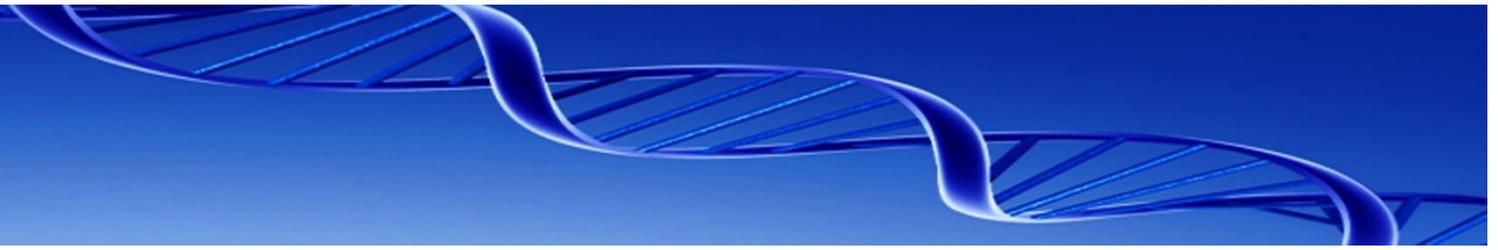
关于厌氧菌的氧毒害机制

氧的毒副作用



及其解毒

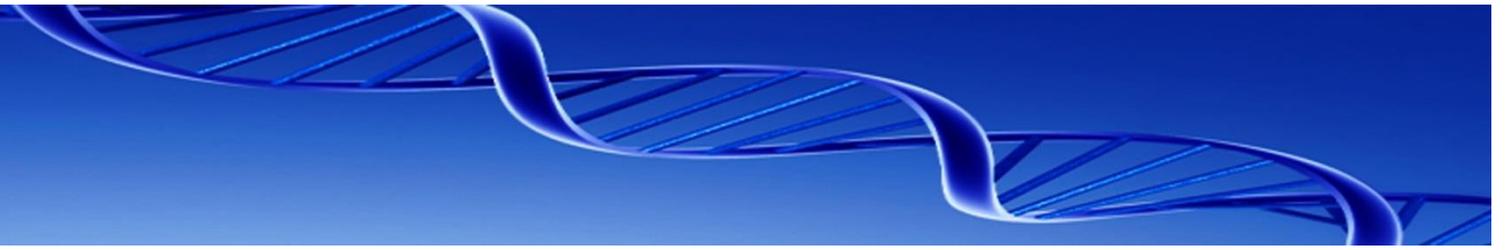




检测过氧化氢酶：
待检菌（悬液）上
滴一滴30% H_2O_2 ，
观察气泡情况

Caption:

Method for testing a microbial culture for the presence of catalase. A heavy loopful of cells from an agar culture was mixed on a slide with a drop of 30% hydrogen peroxide. The immediate appearance of bubbles is indicative of the presence of catalase. The bubbles are O_2 produced by the reaction $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.



- 对不同类型微生物采取不同的培养方式:

- 好氧: 振荡、通气
- 专性厌氧: 除氧, 加还原剂
- 耐氧型: 深层静止培养

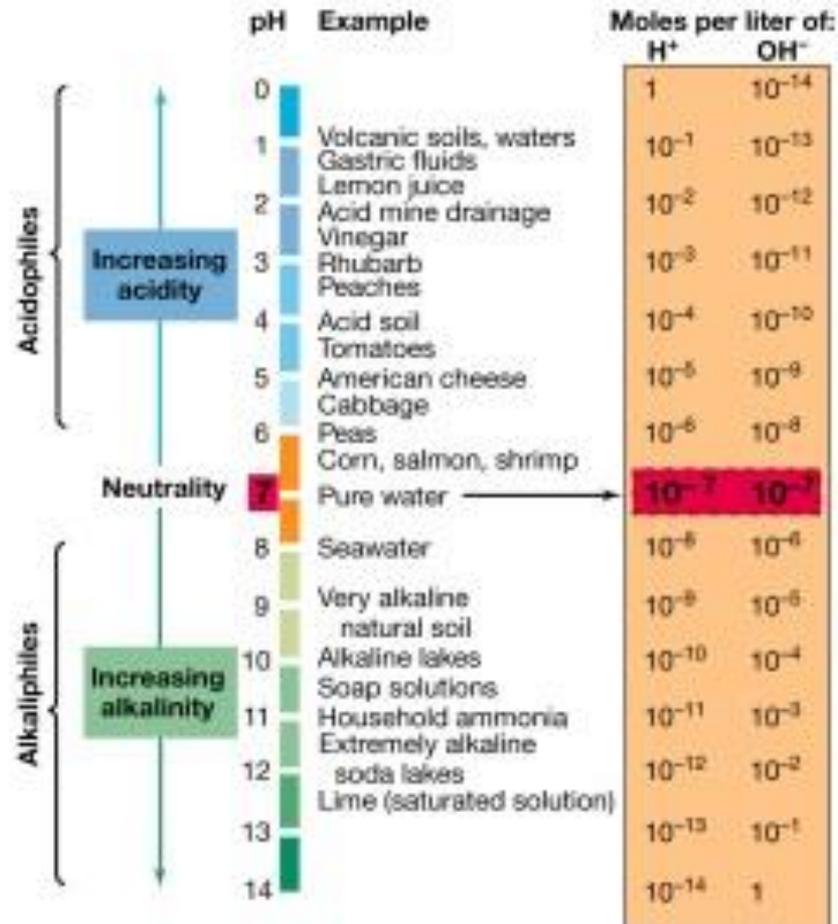
- 厌氧产气袋?

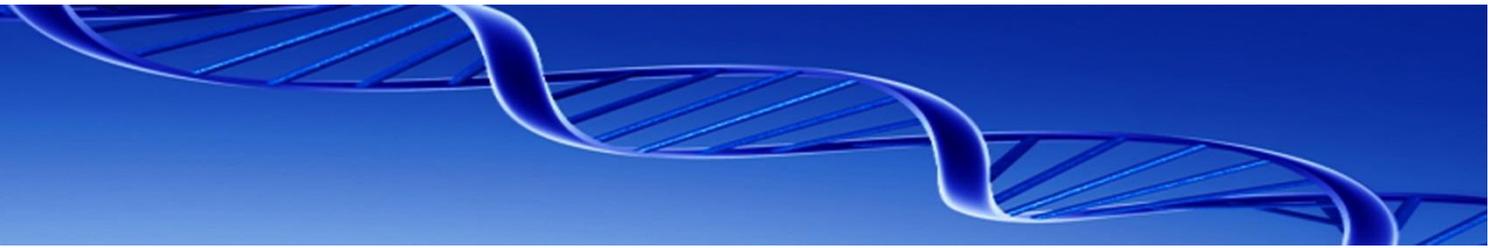
- 是由日本三菱瓦斯化学株式会社发明并拥有专利的一类产品, **其基本原理是将密闭空间中的氧气完全或者部分吸收掉, 然后产生二氧化碳。**

- 铁粉、Vc、活性炭等

柠檬酸+碳酸氢钠----二氧化碳

三、pH





- **pH对微生物生长的具体影响：**
 - 细胞内环境中的pH却相当稳定，胞内酶的最适pH接近内环境pH
 - 周质空间的酶和胞外酶的最适pH则接近环境pH

直接影响：

酸破坏DNA、ATP、叶绿素等
碱破坏RNA、磷脂

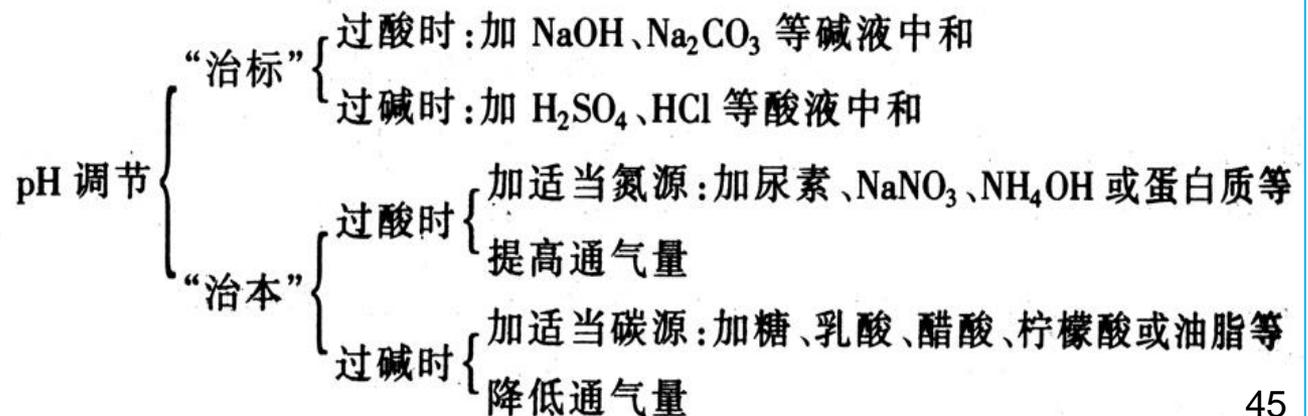
间接影响：

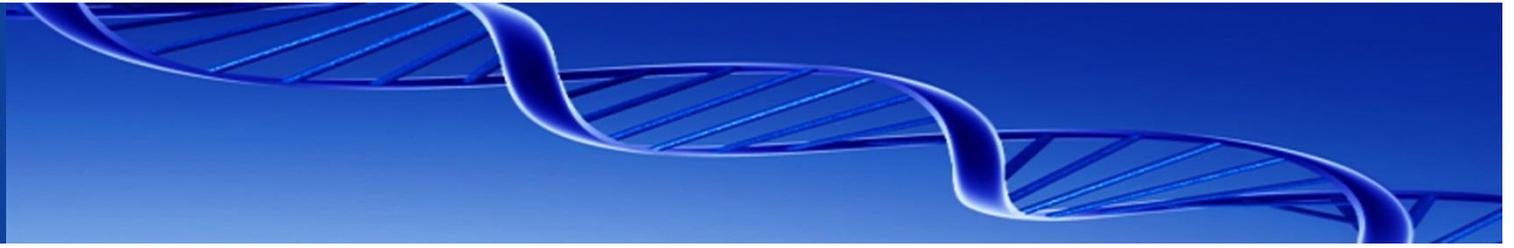
- (1) 营养物质的离子化程度
- (2) 营养物质的吸收
- (3) 有害物对微生物的毒害
- (4) 代谢反应中各种酶活性

• 微生物代谢活动可改变pH值

糖类	→	发酵、氧化	→	有机酸	→	变酸
脂肪	→	水解	→	有机酸	→	变酸
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	→	吸收 NH_4^+ 离子	→	H_2SO_4	→	变酸
蛋白质	→	脱羧	→	胺类	→	变碱
NaNO_3	→	吸收 NO_3^- 离子	→	NaOH	→	变碱

• pH调节





第四节 微生物培养法



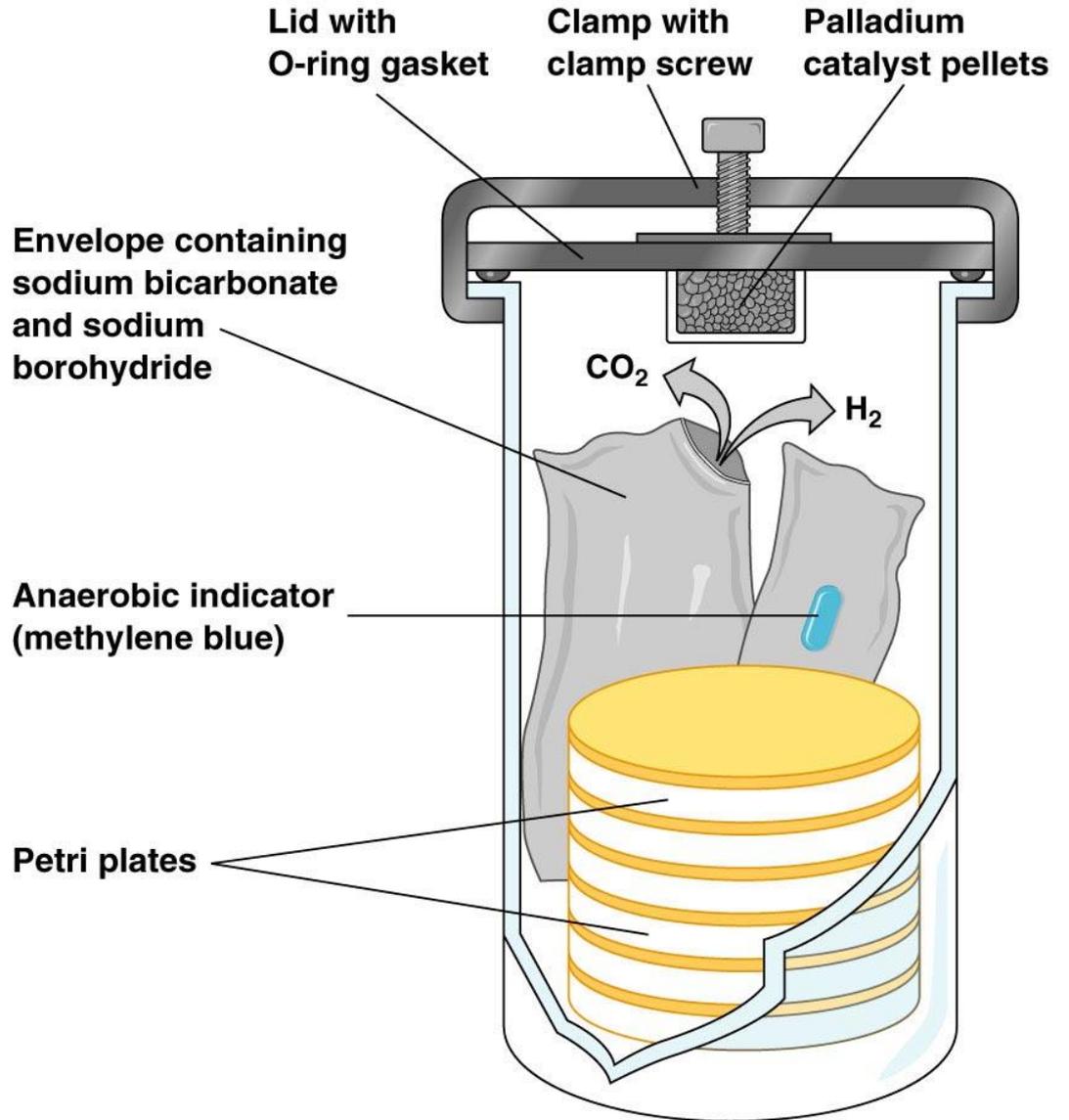
一、实验室培养法

- (一) 固体培养法
 - 1. 好氧菌的固体培养
 - 试管斜面 (test-tube slant)
 - 琼脂平板 (agar-plate)
 - 2. 厌氧菌的固体培养
 - 亨盖特滚管技术 (Hungate roll - tube technique)
 - 厌氧罐 (anaerobic Jar)
 - 厌氧手套箱 (anaerobic glove box)



Deborah O. Jung and M. T. Madigan

(a)



厌氧罐
p168



- (二) 液体培养法
 - 1. 好氧菌的液体培养
 - 摇瓶培养 (shake-flask cultivation)
 - 台式发酵罐 (benchtop fermentor)
 - 2. 厌氧菌的液体培养
 - 上层去氧
 - 添加还原剂
 - 有机还原剂: 巯基乙酸、半胱氨酸、维生素C
 - 无机还原剂: 硫化钠, 铁丝



二、生产实践中培养微生物的装置

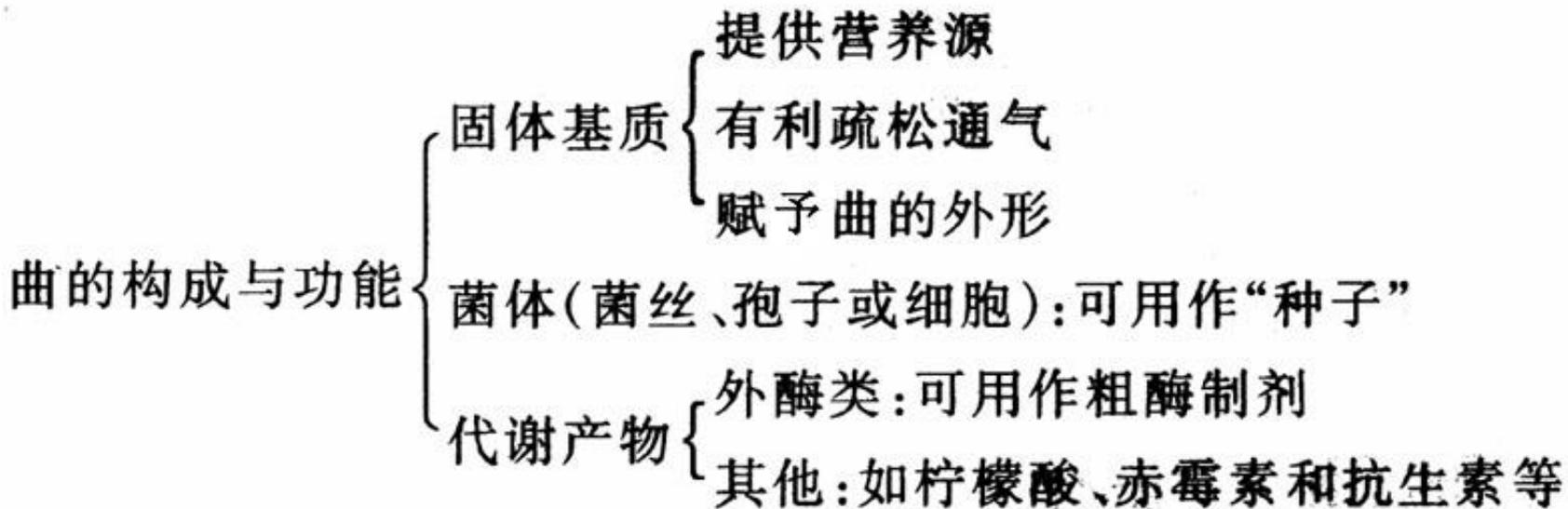
- (一) 固体培养法
 - 好氧菌的曲法培养
 - 厌氧菌的堆积培养

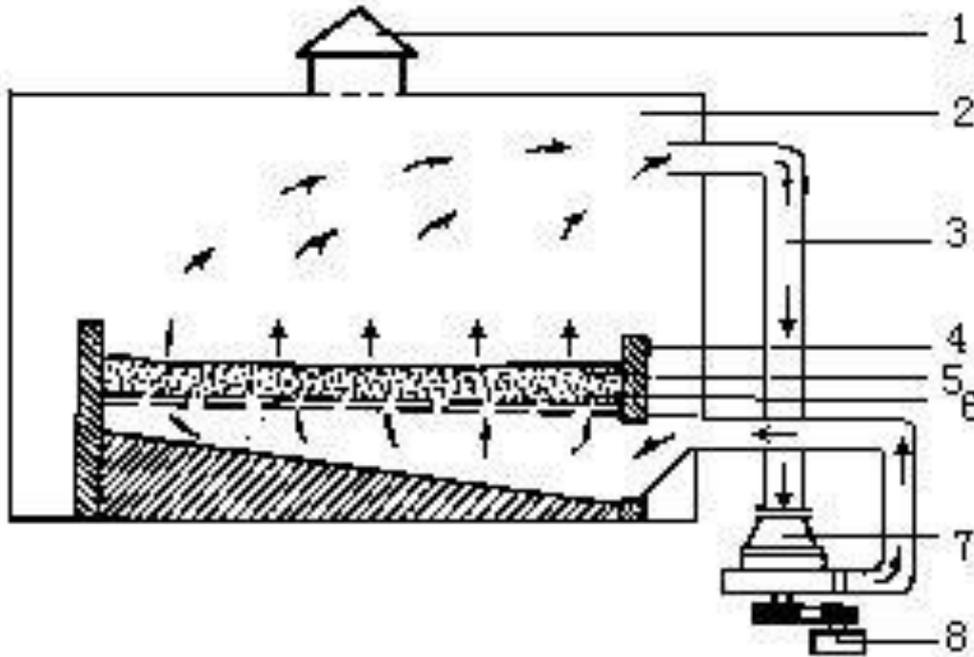
- (二) 液体培养法 好氧菌的培养



(一) 固体培养法

1. 好氧菌的曲法培养





通风曲槽结构模式图

1. 天窗；2. 曲室；3. 风道；4. 曲槽；5. 曲料；
6. 篾架；7. 鼓风机；8. 电动机



(二) 液体培养法：发酵罐

1、好氧菌的培养

发酵罐的主要作用：

- 1) 丰富而均匀的养料；
- 2) 良好的通气和搅拌；
- 3) 适宜的温度和酸碱度；
- 4) 防止杂菌的污染。

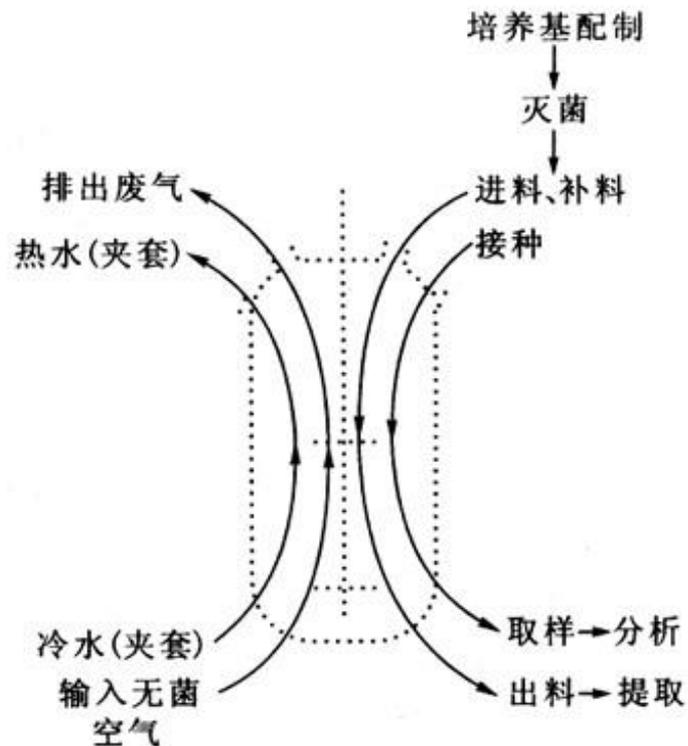
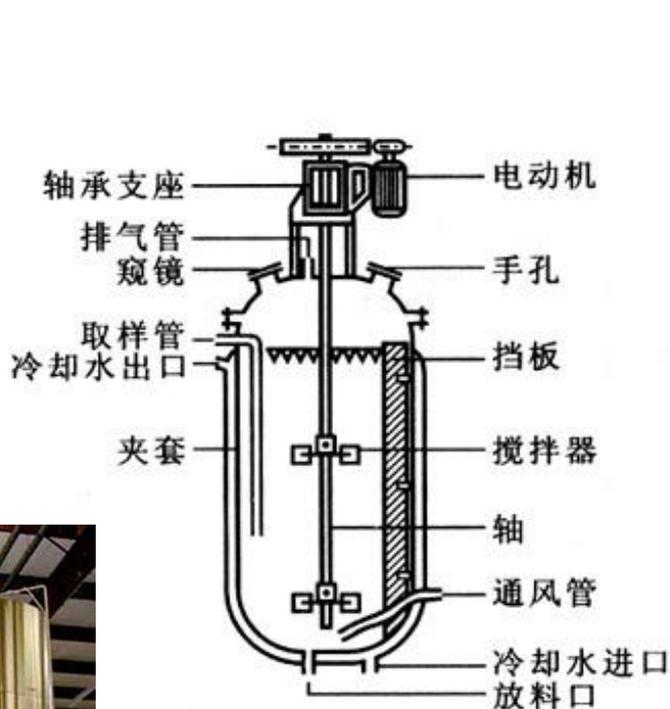
所需装置

- 1) 合理结构的罐体
- 2) 培养基配制系统
- 3) 蒸汽灭菌系统
- 4) 空气压缩和过滤系统
- 5) 发酵产物的后处理系统

2、厌氧菌的培养

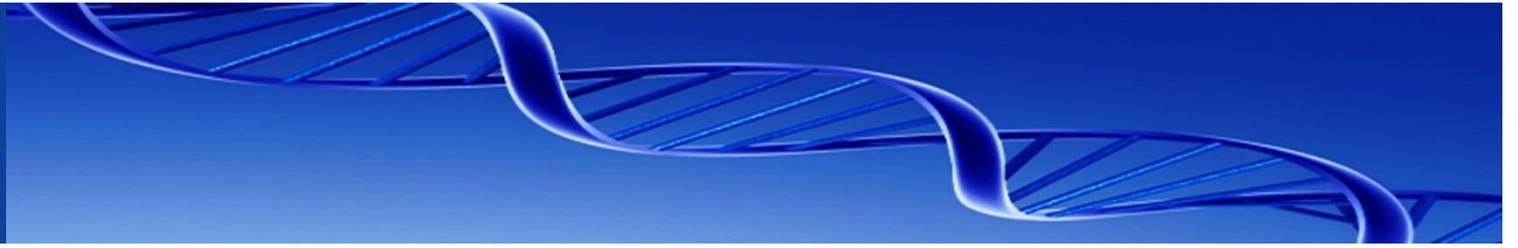
也用发酵罐，但结构比好氧发酵罐简单

典型发酵罐的构造及其运转原理



典型发酵罐的构造及其运转原理

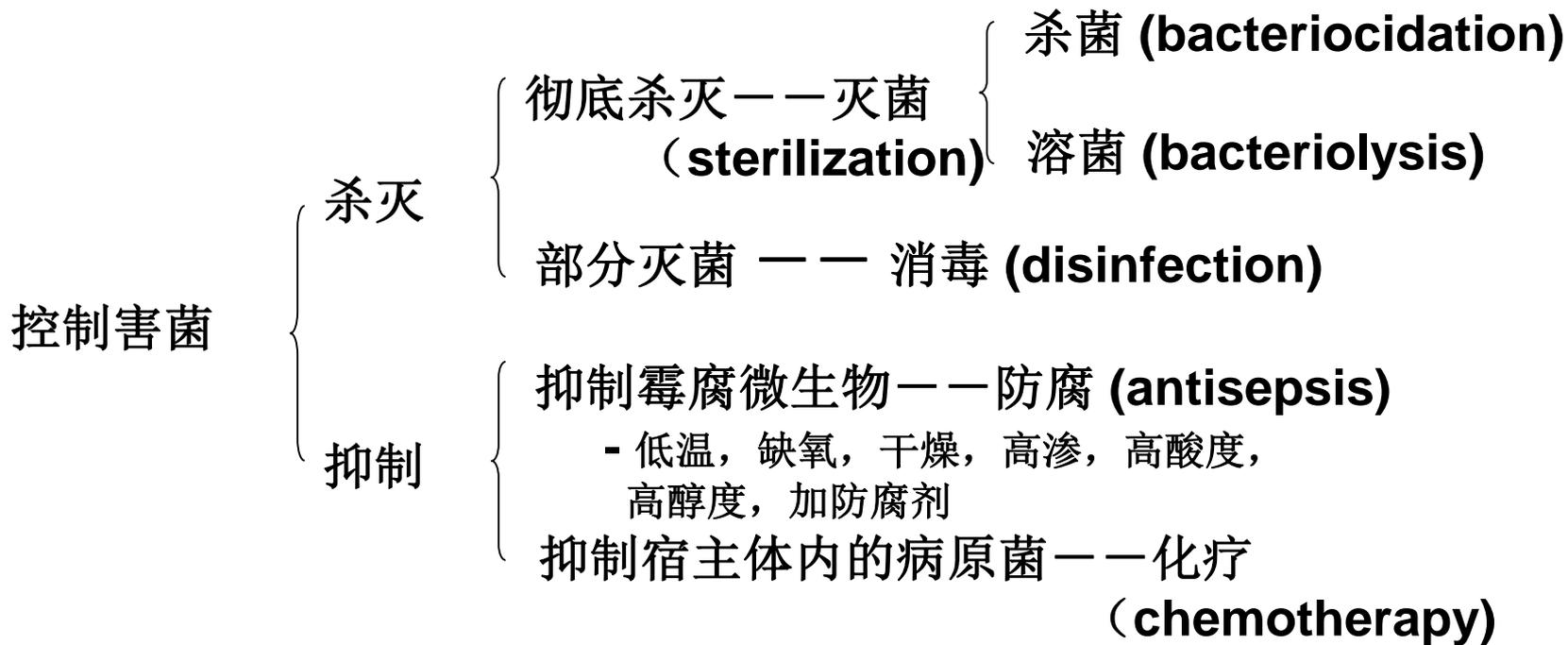


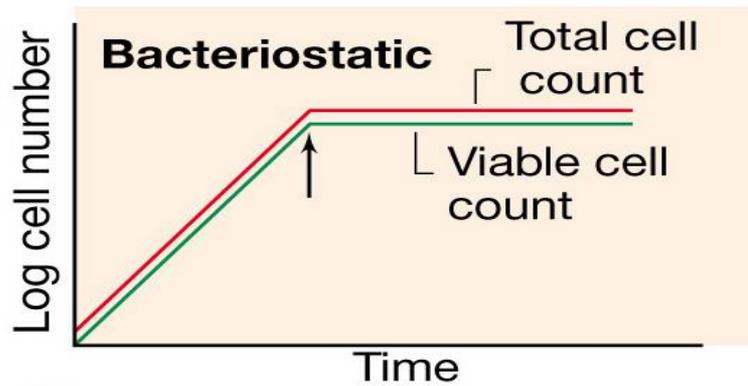


第五节 微生物生长繁殖的控制



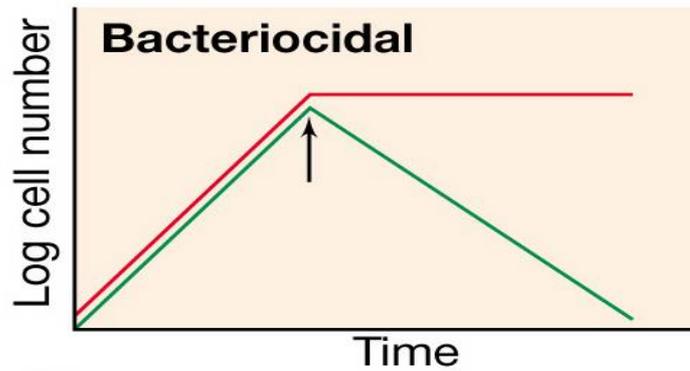
一、几个基本概念





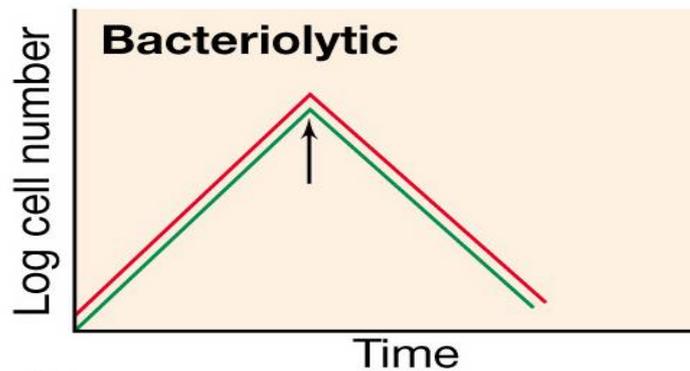
抑菌

(a)



杀菌

(b)



溶菌

(c)



抑制(Inhibition): 生长停止, 但不死亡;

防腐(Antisepsis): 防止或抑制霉腐微生物在食品等物质上的生长;

化疗(Chemotherapy): 杀死或抑制宿主体内的病原微生物;

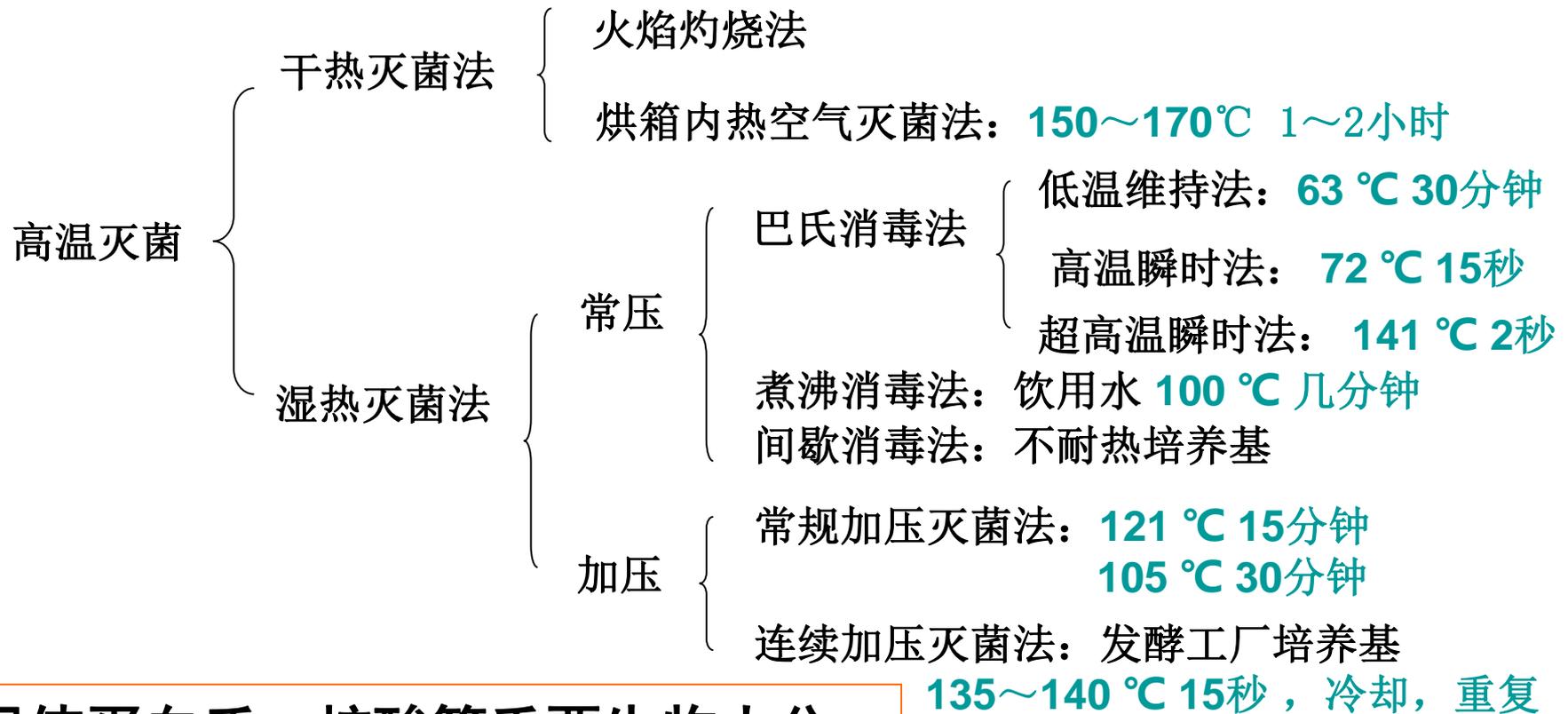
死亡(Death): 生长能力不可逆丧失;

消毒(Disinfection): 杀死或灭活病原微生物 (营养体细胞) ;

灭菌(Sterilization): 杀死包括芽胞在内的所有微生物;



二、物理灭菌因素的代表-高温



高温使蛋白质、核酸等重要生物大分子发生变性、破坏, 以及破坏细胞膜上的类脂成分, 导致微生物死亡。

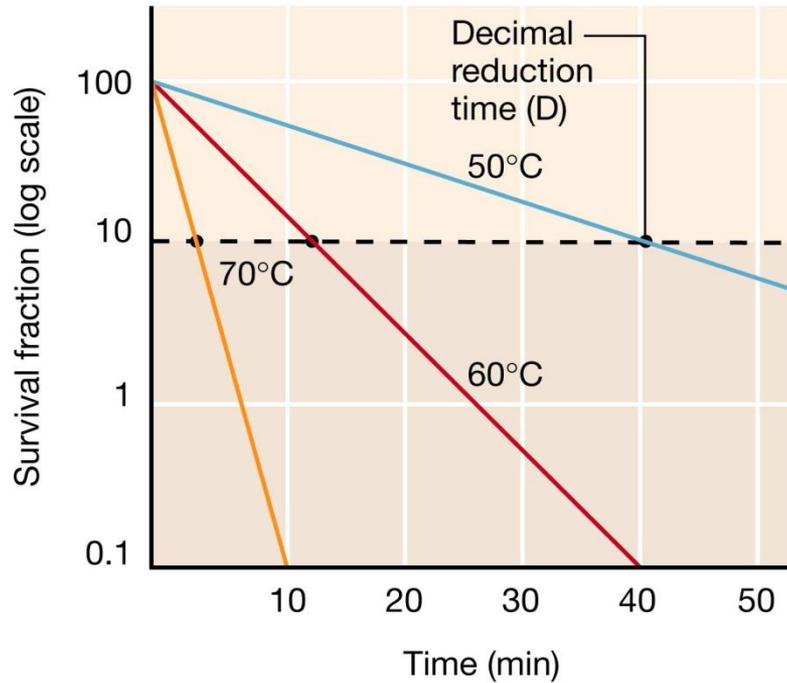
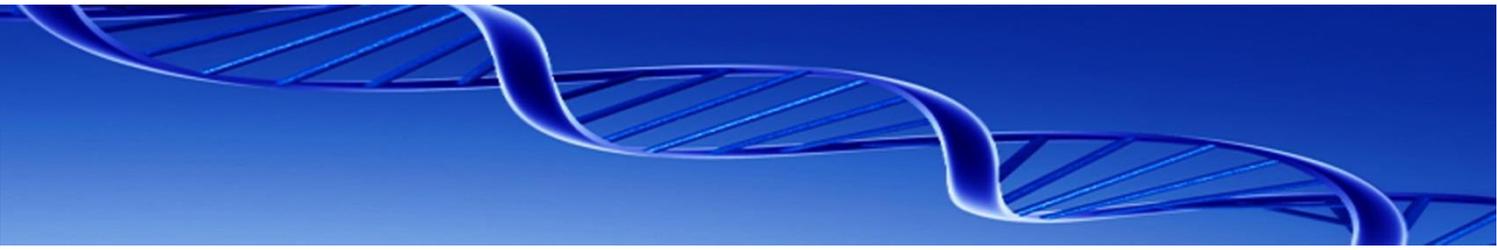


Table 7.2 Approximate Conditions for Moist Heat Killing

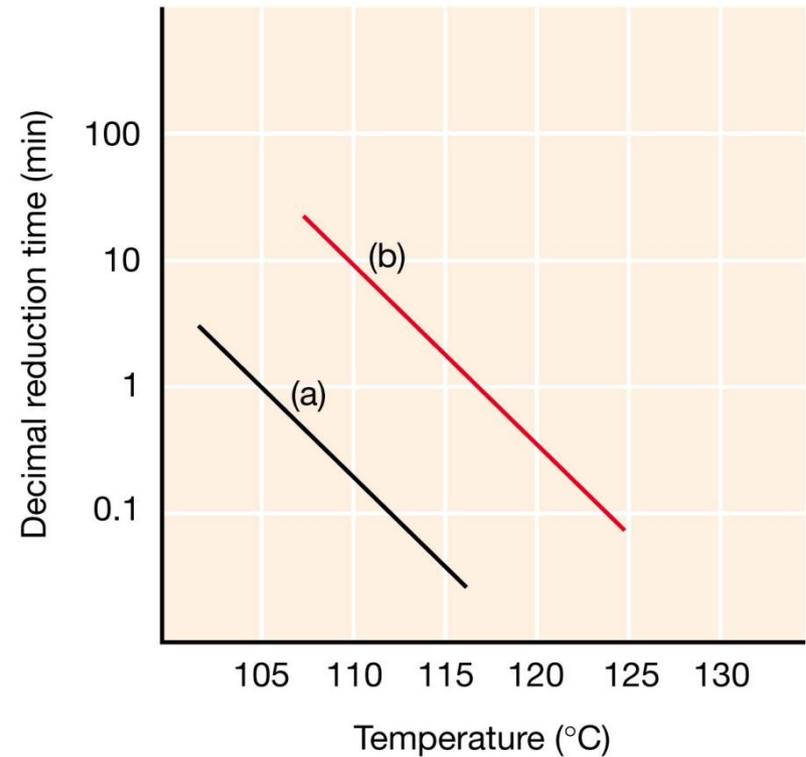
Organism	Vegetative Cells	Spores
Yeasts	5 minutes at 50–60°C	5 minutes at 70–80°C
Molds	30 minutes at 62°C	30 minutes at 80°C
Bacteria ^a	10 minutes at 60–70°C	2 to over 800 minutes at 100°C 0.5–12 minutes at 121°C
Viruses	30 minutes at 60°C	

^aConditions for mesophilic bacteria.

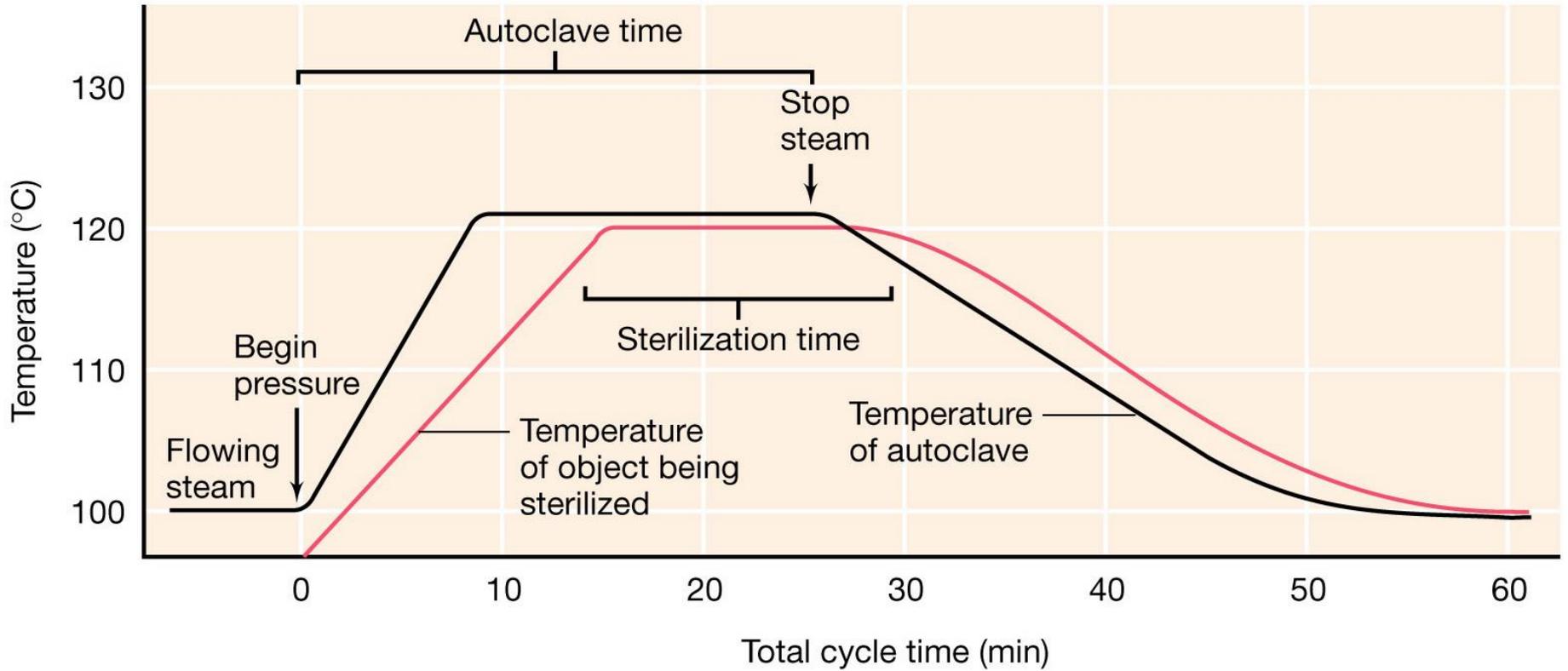
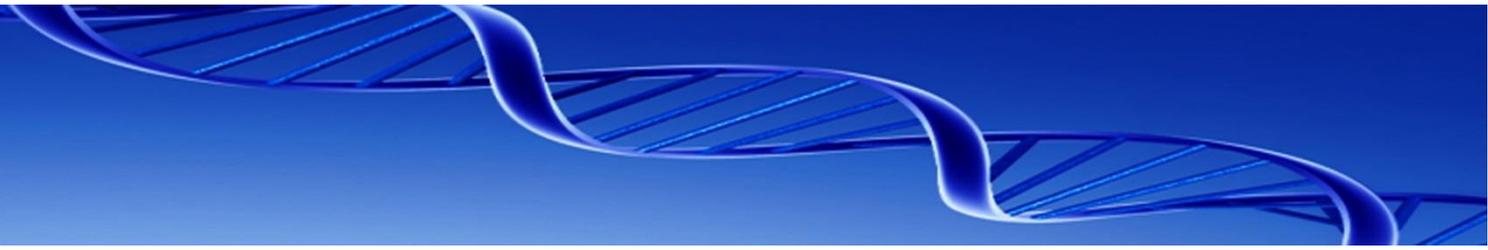
多数细菌、真菌营养细胞：60°C 5-10 min
 酵母菌细胞、真菌孢子：80°C 30min
 细菌芽孢：121°C 15min



The effect of temperature on the viability of a mesophilic bacterium.



(a) a mesophile
(b) a thermophile





- 影响加压蒸气灭菌效果的因素
 - 灭菌物体含菌量
 - 灭菌锅内空气派出程度
 - 灭菌对象体积
 - 加热与散热速度
- 高温对培养基影响
 - 形成沉淀
 - 破坏营养，提高色泽(褐变)
氨基化合物和羧基化合物间复杂反应
 - 改变pH
- 防治法
 - 分别灭菌
 - 低压灭菌
 - 过滤(Filtration)除菌法



其它物理灭菌/抑菌方法

辐射作用

- 微波 产生热来杀菌
- 紫外线 **DNA**损伤
- **X**射线、 γ 射线 氧化、自由基破坏生物大分子

过滤作用:

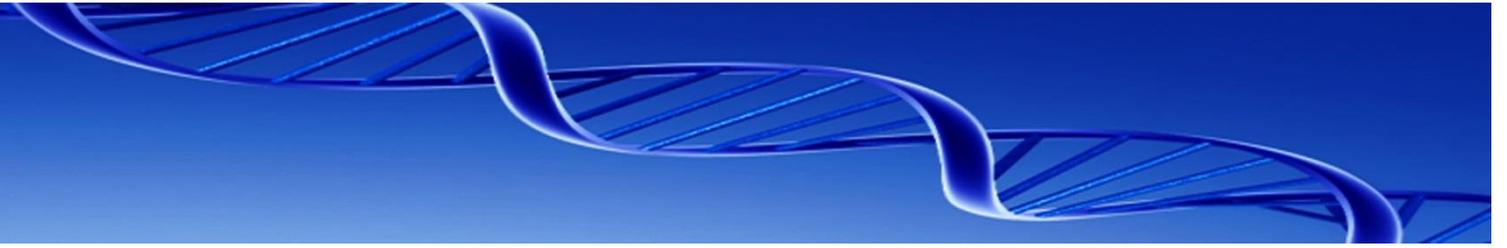
微生物不能通过小孔径滤膜 **0.22 μm**

高渗作用: 降低 a_w , 细胞质脱水, 质壁分离

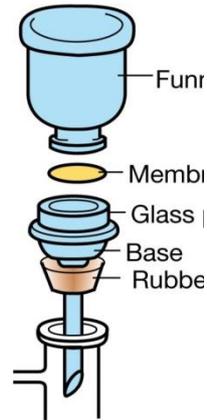
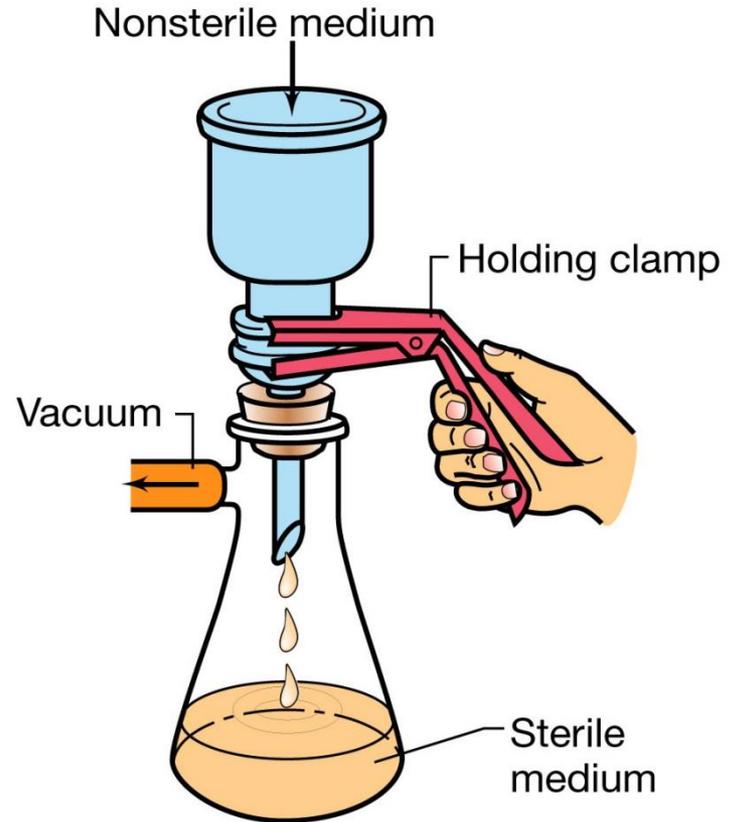
- 腌制 **10~15%** 盐
- 果脯、蜜饯 加糖**50~70%**

干燥

低温



J. Martinko



(a)



三、控制微生物的化学物质

抗微生物剂：杀死微生物或抑制微生物生长的化学物质 人工/天然

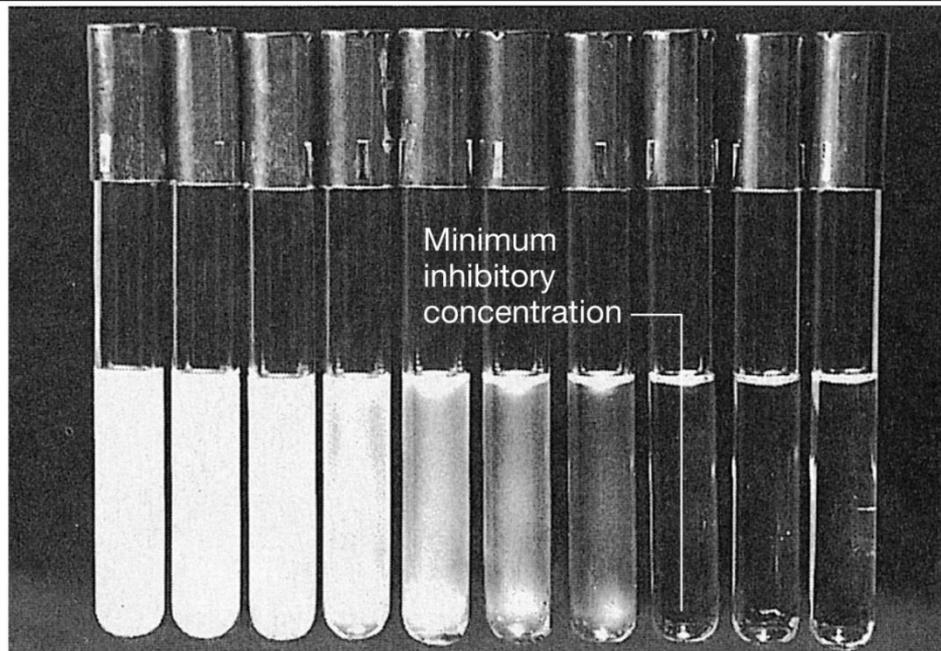
根据**抗微生物程度**分为，

- (1) 抑菌剂：抑制但不能杀死
- (2) 杀菌剂：杀死细胞，但不能使细胞破裂
- (3) 溶菌剂：细胞裂解

根据**施用对象和用途**分为，

- (1) 消毒剂：抑制或杀死物体表面上的微生物
- (2) 防腐剂：防止食物腐败或生物材料霉变，但对动物和人体无毒害

最低抑制浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)
半致死剂量 (50%lethal dose, LD50)
最低致死剂量 (minimum lethal dose, MLD) } 对试验动物



(一) 表面消毒剂 (surface disinfectant)

对一切活细胞都有毒性、不能用作活细胞或机体内治疗用的化学药剂。

- 氯消毒：游泳池消毒，自来水消毒
- 环氧乙烷(气体)消毒：手术器械，毛皮

• 石炭酸系数 (phenol coefficient, P. C.)

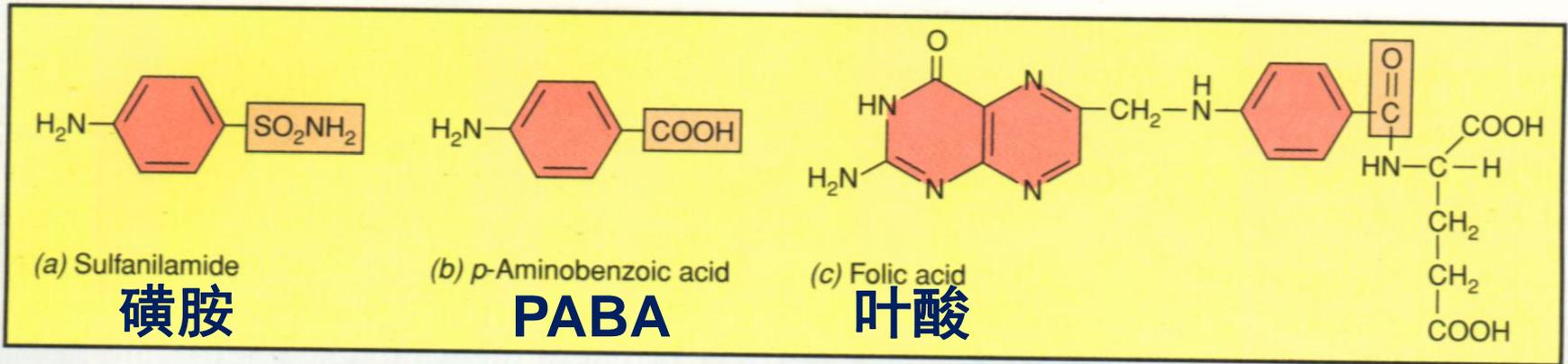
- 同一时间内(10 min)被试药剂能杀死全部供试菌(伤寒沙门氏菌)的最高稀释度与达到同效的苯酚的最高稀释度之比。



(二) 抗代谢药物 (antimetabolite)

- 代谢类似物 (metabolite analogue)
- 具有良好的选择毒力
- 作用机制
 - 竞争酶的活性中心 **如磺胺**
 - 假冒，合成出假产物
 如8-重氮鸟嘌呤取代鸟嘌呤，产生无正常功能RNA
 - 类似于终产物，利用反馈调节破坏正常调节机制
 如6-巯基腺嘌呤，抑制腺嘌呤核苷酸合成

磺胺是叶酸组成部分-对氨基苯甲酸(PABA)的结构类似物

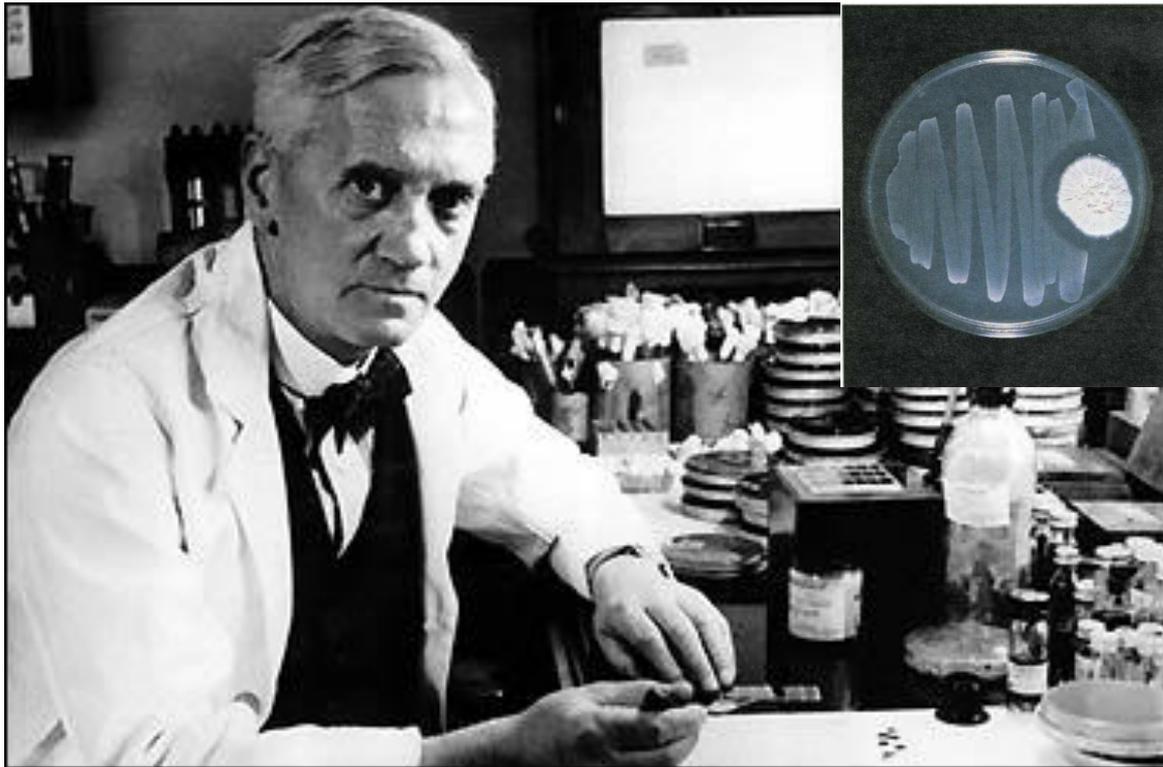


磺胺的抑菌作用是因为很多细菌需要自己合成叶酸而生长。

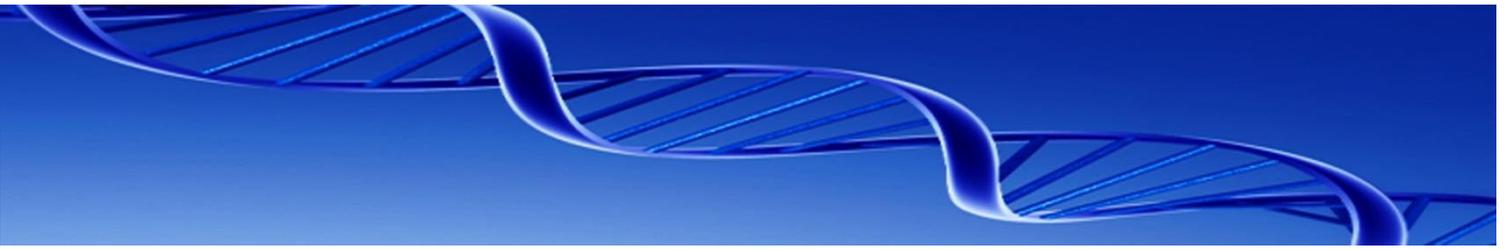
磺胺对人体细胞无毒性，因为人缺乏从对氨基苯甲酸合成叶酸的相关酶——二氢叶酸合成酶，不能用外界提供的对氨基苯甲酸自行合成叶酸，而必须直接利用叶酸为生长因子进行生长。

(三) 抗生素 (antibiotics)

次级代谢产物或人工衍生物



Alexander Fleming (1929) and penicillin



抗生素(antibiotics): 次级代谢产物或其衍生物

- 找到1万种以上, 合成7万多种半合成抗生素, 临床常用五六十种

(1) 抑制细胞壁合成:

青霉素 (peniciline)、头孢菌素 (cephalosporin)、 万古霉素,

(2) 干扰细胞膜:

多粘菌素、短杆菌肽

(3) 抑制蛋白质合成:

链霉素 (streptomycin)、卡那霉素 (kanamycin)、四环素 (tetracyclines)、氯霉素、红霉素 (erythromycin)

(4) 抑制DNA合成

萘啶酮酸、丝裂霉素

(5) 抑制RNA合成

放线菌素D、利福平 (rifampin)

Cell wall synthesis

- Cycloserine
- Vancomycin 万古霉素
- Bacitracin 青霉素
- Penicillins 青霉素
- Cephalosporins 头孢菌素
- Monobactams
- Carbapenems

RNA elongation

- Actinomycin 放线菌素

DNA gyrase

- Nalidixic acid
- Ciprofloxacin (quinolones)
- Novobiocin

Folic acid metabolism

- Trimethoprim
- Sulfonamides

DNA-directed RNA polymerase

- Rifampin 利福平
- Streptovaricins

Protein synthesis (50S inhibitors)

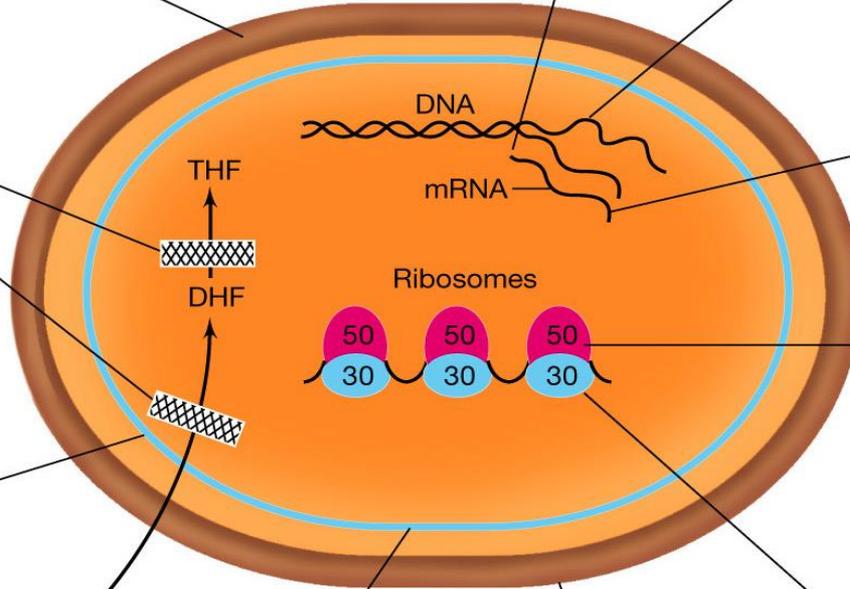
- Erythromycin (macrolides) 红霉素
- Chloramphenicol 氯霉素
- Clindamycin
- Lincomycin

Protein synthesis (30S inhibitors)

- Tetracyclines 四环素
- Spectinomycin 链霉素
- Streptomycin 链霉素
- Gentamicin, tobramycin
- Kanamycin (aminoglycosides) 卡那霉素
- Amikacin
- Nitrofurans

Protein synthesis (tRNA)

- Mupirocin
- Puromycin



Cytoplasmic membrane

PABA

Cytoplasmic membrane structure

Polymyxins

Cell wall

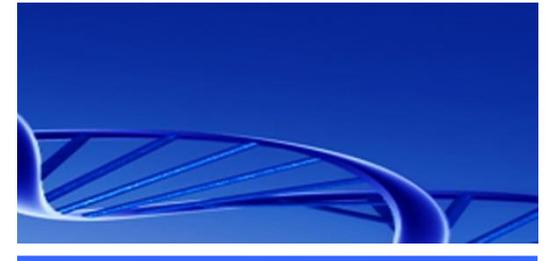
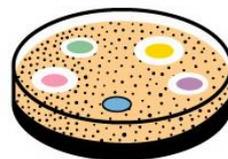
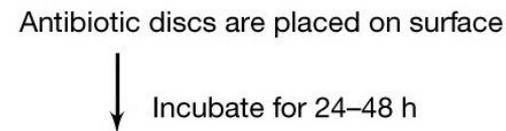
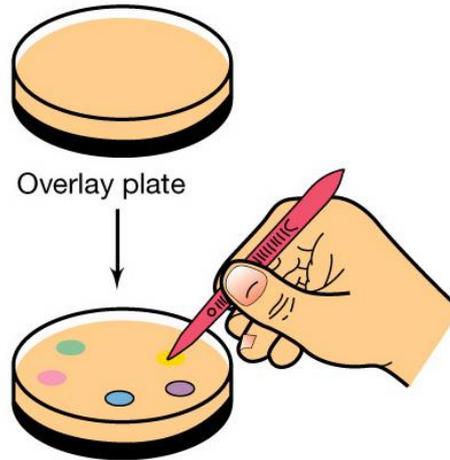
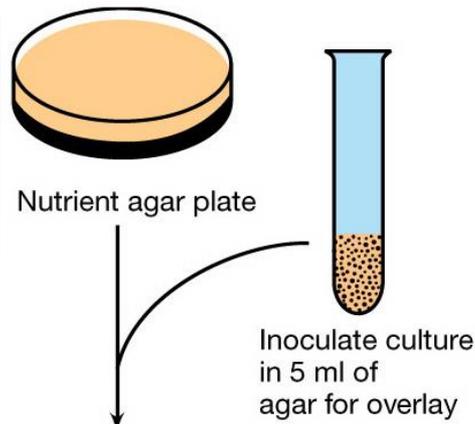
Table 35.4 Mechanisms of Antibacterial Drug Action

Drug	Mechanism of Action
Cell Wall Synthesis Inhibition	
Penicillin Ampicillin Carbenicillin Methicillin Cephalosporins Vancomycin Bacitracin	Inhibit transpeptidation enzymes involved in the cross-linking of the polysaccharide chains of the bacterial cell wall peptidoglycan. Activate cell wall lytic enzymes. Binds directly to the D-Ala-D-Ala terminus and inhibits transpeptidation. Inhibits cell wall synthesis by interfering with action of the lipid carrier that transports wall precursors across the plasma membrane.
Protein Synthesis Inhibition	
Streptomycin Gentamicin Chloramphenicol Tetracyclines Erythromycin and clindamycin Fusidic acid	Binds with the 30S subunit of the bacterial ribosome to inhibit protein synthesis and causes misreading of mRNA. Binds to the 50S ribosomal subunit and blocks peptide bond formation through inhibition of peptidyl transferase. Bind to the 30S ribosomal subunit and interfere with aminoacyl-tRNA binding. Bind to the 50S ribosomal subunit and inhibit peptide chain elongation. Binds to EF-G and blocks translocation.
Nucleic Acid Synthesis Inhibition	
Ciprofloxacin and other quinolones Rifampin	Inhibit bacterial DNA gyrase and thus interfere with DNA replication, transcription, and other activities involving DNA. Blocks RNA synthesis by binding to and inhibiting the DNA-dependent RNA polymerase.
Cell Membrane Disruption	
Polymyxin B	Binds to the plasma membrane and disrupts its structure and permeability properties.
Metabolic Antagonism	
Sulfonamides Trimethoprim Dapsone Isoniazid	Inhibit folic acid synthesis by competition with <i>p</i> -aminobenzoic acid. Blocks tetrahydrofolate synthesis through inhibition of the enzyme dihydrofolate reductase. Interferes with folic acid synthesis. May disrupt pyridoxal or NAD metabolism and functioning. Inhibits the synthesis of the mycolic acid “cord factor.”

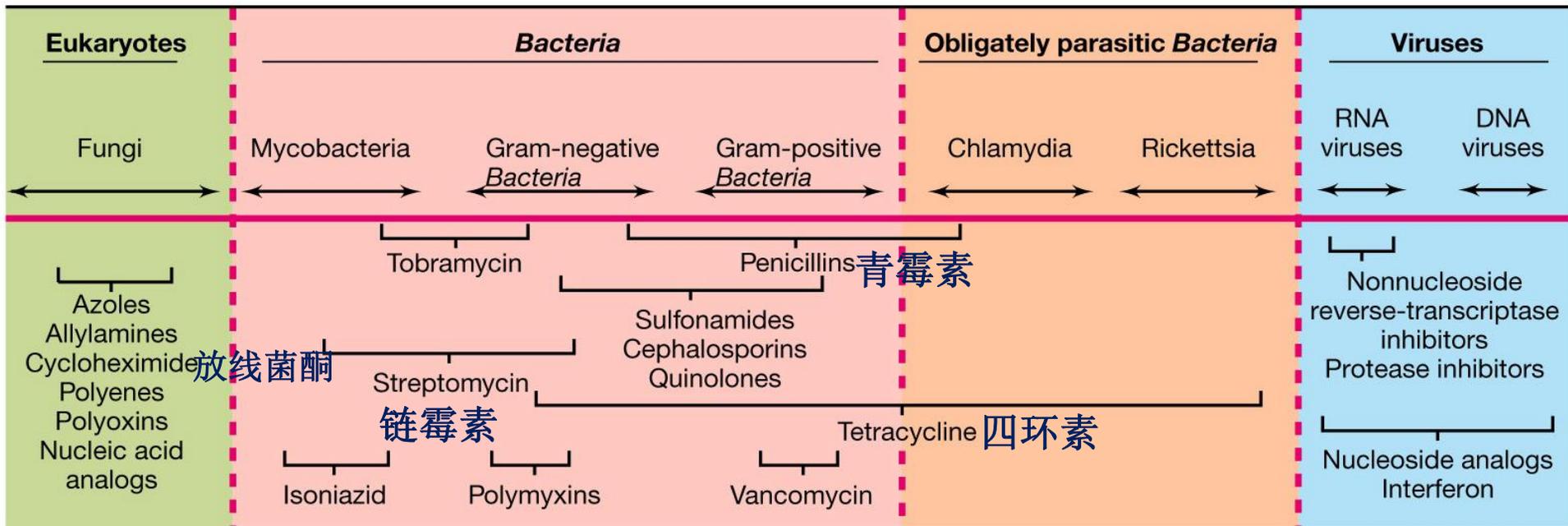
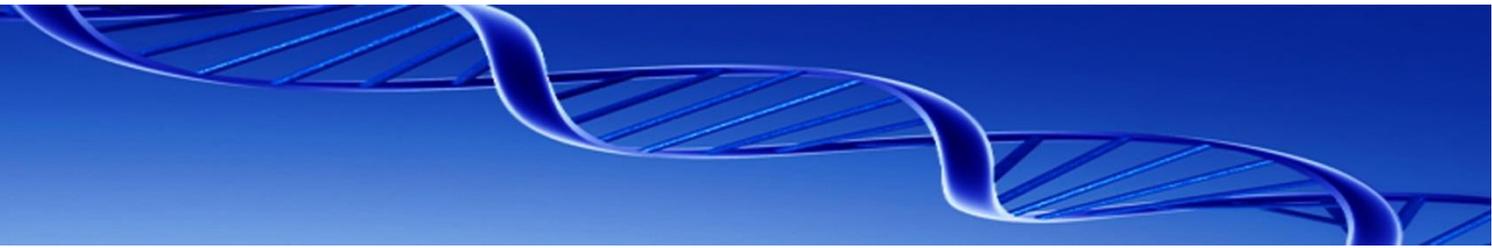
Table 35.1 Properties of Some Common Antibacterial Drugs

Drug	Primary Effect	Spectrum	Side Effects ^a
Ampicillin	Cidal	Broad (gram +, some -)	Allergic responses (diarrhea, anemia)
Bacitracin	Cidal	Narrow (gram +)	Renal injury if injected
Carbenicillin	Cidal	Broad (gram +, many -)	Allergic responses (nausea, anemia)
Cephalosporins	Cidal	Broad (gram +, some -)	(Allergic responses, thrombophlebitis, renal injury)
Chloramphenicol	Static	Broad (gram +, -; rickettsia and chlamydia)	Depressed bone marrow function, allergic reactions
Ciprofloxacin	Cidal	Broad (gram +, -)	Gastrointestinal upset, allergic responses
Clindamycin	Static	Narrow (gram +, anaerobes)	Diarrhea
Dapsone	Static	Narrow (mycobacteria)	(Anemia, allergic responses)
Erythromycin	Static	Narrow (gram +, mycoplasma)	(Gastrointestinal upset, hepatic injury)
Gentamicin	Cidal	Narrow (gram -)	(Allergic responses, nausea, loss of hearing, renal damage)
Isoniazid	Static or cidal	Narrow (mycobacteria)	(Allergic reactions, gastrointestinal upset, hepatic injury)
Methicillin	Cidal	Narrow (gram +)	Allergic responses (renal toxicity, anemia)
Penicillin	Cidal	Narrow (gram +)	Allergic responses (nausea, anemia)
Polymyxin B	Cidal	Narrow (gram -)	(Renal damage, neurotoxic reactions)
Rifampin	Static	Broad (gram +, mycobacteria)	(Hepatic injury, nausea, allergic responses)
Streptomycin	Cidal	Broad (gram +, -; mycobacteria)	(Allergic responses, nausea, loss of hearing, renal damage)
Sulfonamides	Static	Broad (gram +, -)	Allergic responses (renal and hepatic injury, anemia)
Tetracyclines	Static	Broad (gram +, -; rickettsia and chlamydia)	Gastrointestinal upset, teeth discoloration (renal and hepatic injury)
Trimethoprim	Cidal	Broad (gram +, -)	(Allergic responses, rash, nausea, leukopenia)
Vancomycin	Cidal	Narrow (gram +)	Hypotension, neutropenia, kidney damage, allergic reactions

^aOccasional side effects are in parentheses. Other side effects not listed may also arise.



药敏实验



由于不同微生物之间的细胞化学结构和代谢的差异，不同的抗生素的抗菌谱各异

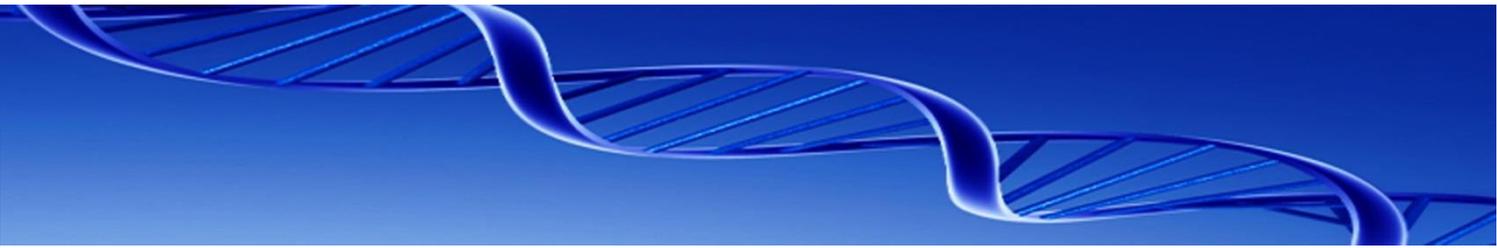


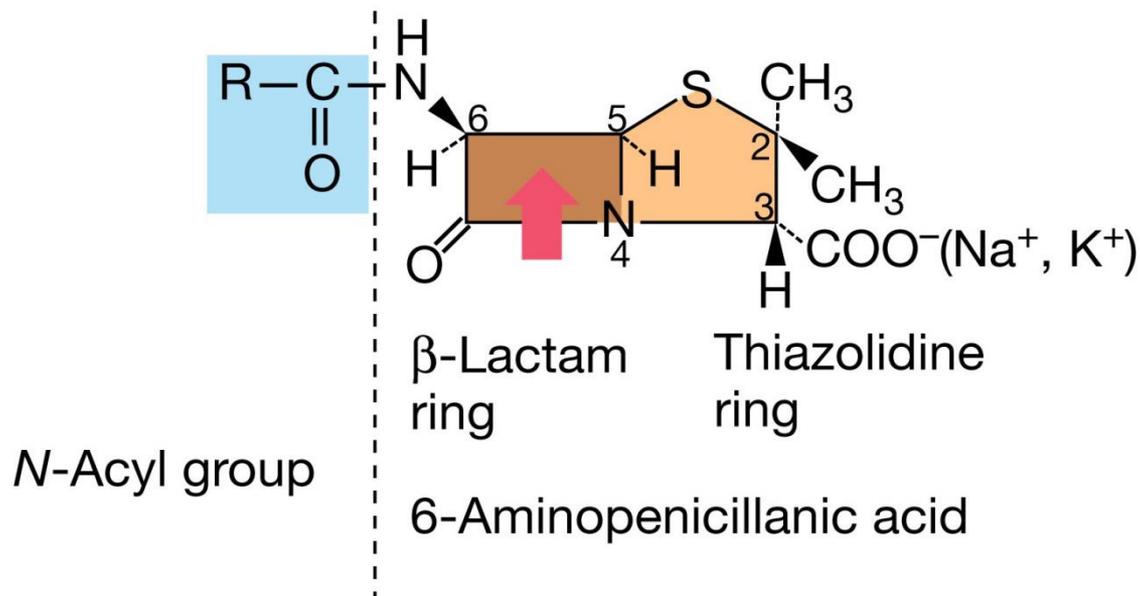
Table 35.2 Microbial Sources of Some Antibiotics

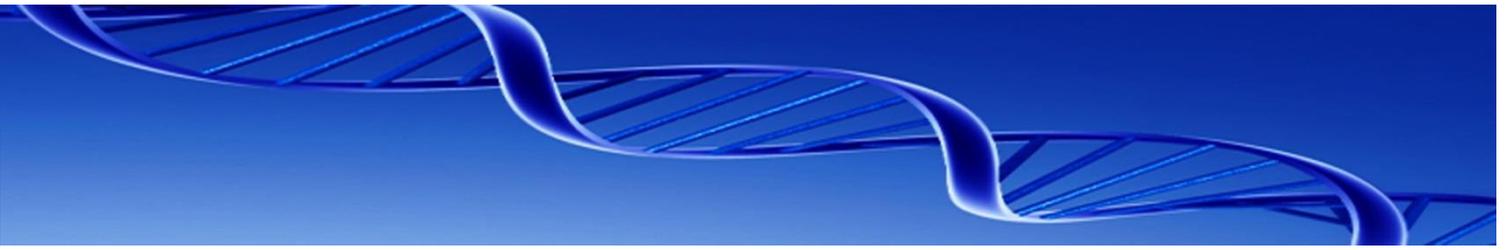
Microorganism	Antibiotic
Bacteria	
<i>Streptomyces</i> spp.	Amphotericin B Chloramphenicol (also synthetic) Erythromycin Kanamycin Neomycin Nystatin Rifampin Streptomycin Tetracyclines Vancomycin
<i>Micromonospora</i> spp.	Gentamicin
<i>Bacillus</i> spp.	Bacitracin Polymyxins
Fungi	
<i>Penicillium</i> spp.	Griseofulvin Penicillin
<i>Cephalosporium</i> spp.	Cephalosporins

链霉菌

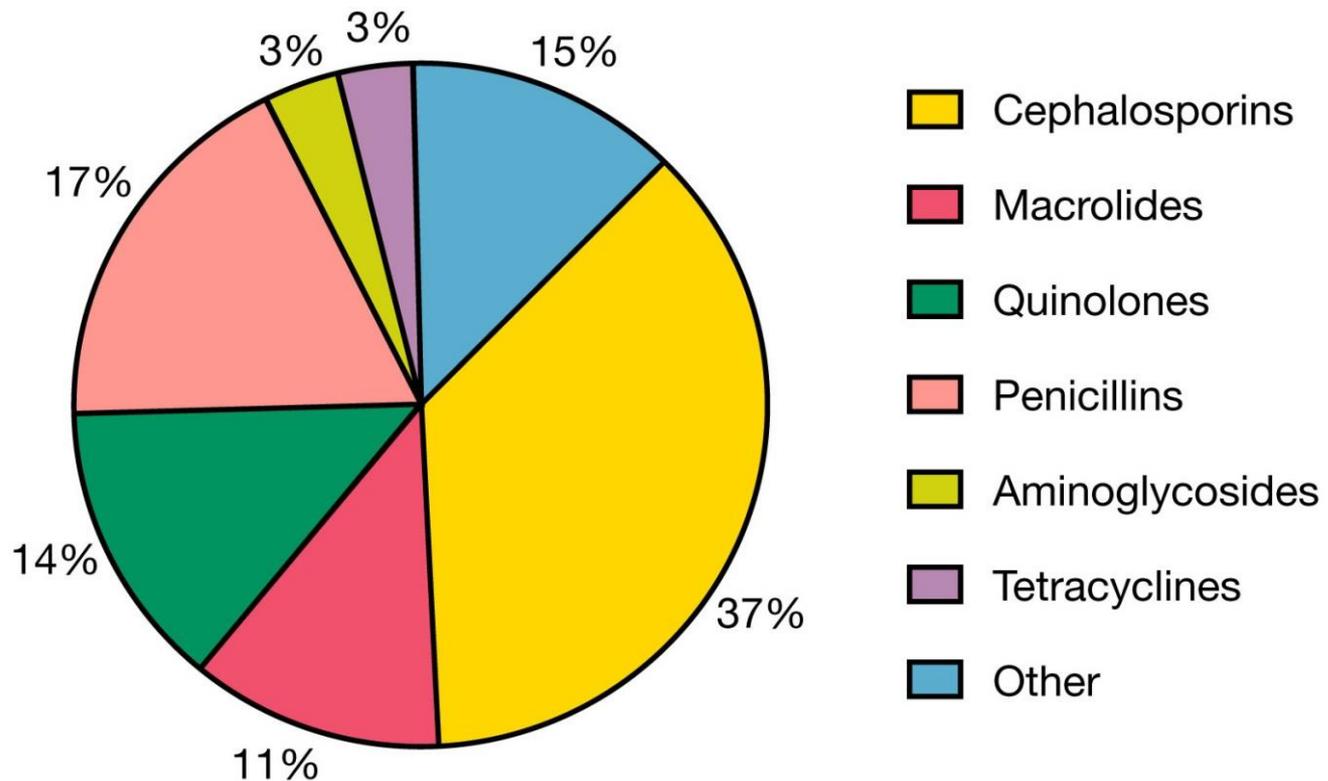
- 半合成抗生素 (**semi-synthetic antibiotics**)

- 氨苄青霉素 (ampicillin)

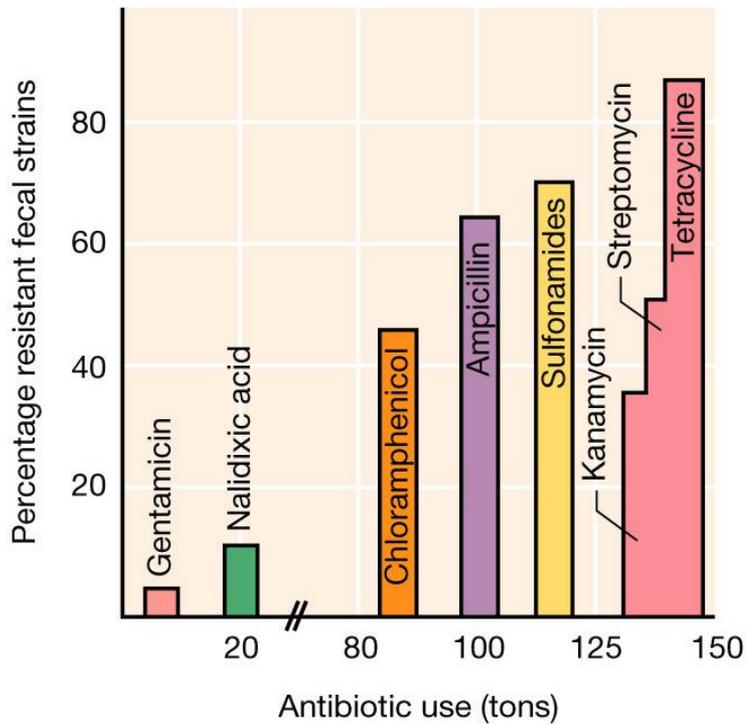
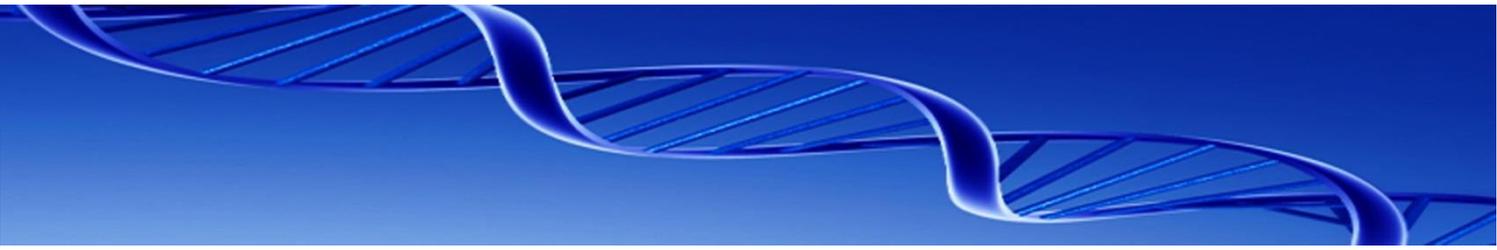




头孢菌素

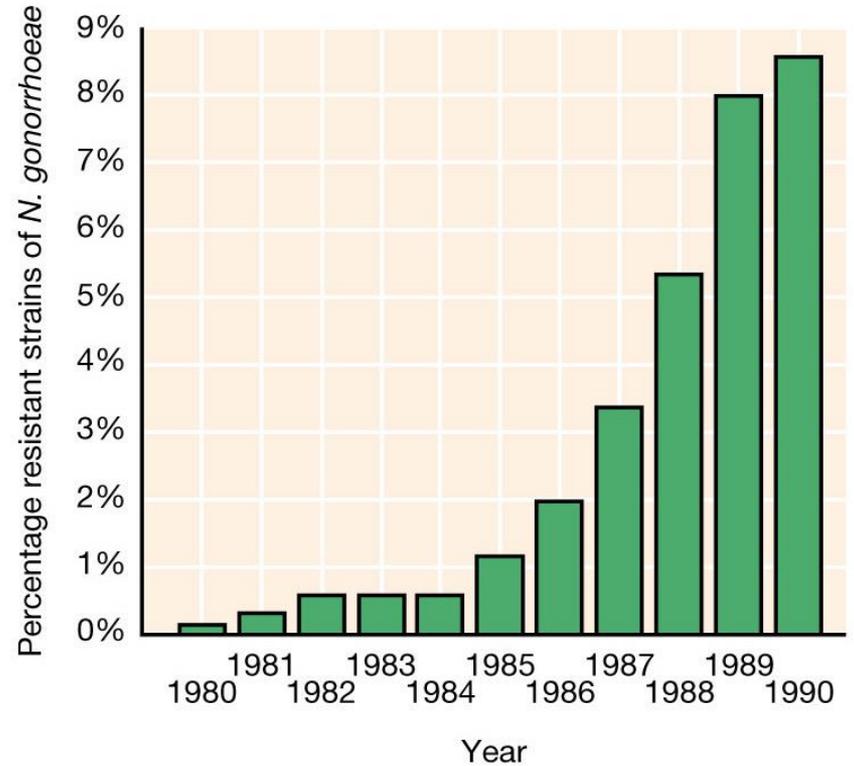


Annual worldwide production and use of antibiotics.



(a)

各种抗生素使用量增加



(b)

淋病奈瑟菌

抗药性菌株比例增加 82



抗性菌株、耐药性

- (1) 细胞质膜透性改变，抗生素不能进入胞内
- (2) 作用靶位点被修饰改变，对抗生素不敏感
- (3) 合成修饰抗生素的酶，使抗生素失去抗菌活性
- (4) 发生遗传变异，合成新物质，替代受抑制物质

抗性菌株释放到环境中的危险!!! 抗性转移

避免出现细菌的耐药性的措施：

- (1)第一次使用的药物剂量要足（用药时间足）；
- (2)避免在一个时期或长期多次使用同种抗生素；
- (3)不同的抗生素(或与其他药物)混合使用；
- (4)对现有抗生素进行改造；
- (5)筛选新的更有效的抗生素；