

第3章

微生物细胞的结构与功能

学习提示



Chapter Outline



现实案例：欧洲肠出血性大肠杆菌 O104：H4

2011年5月，德国出现了一波由毒黄瓜引起的肠出血性大肠杆菌感染的疫情，造成了数千人感染，50多人死亡，一度在欧洲引起恐慌。患者感染后出现腹泻和肠道出血，并常并发溶血性尿毒症综合征。经病原追踪，最终确认德国下萨克森州一处农场生产的豆芽菜是病原菌的源头，而罪魁祸首是一株罕见的携带多种毒素基因和耐药基因的大肠杆菌。鉴定该大肠杆菌的表面成分的血清型，确认它的血清型是O104：H4。在这之前，只有一例人感染大肠杆菌O104：H4的报道。

请对下列问题给予回答和分析：

1. O104 和 H4 的含义各是什么？
2. 细菌的表面结构与致病性的关系是怎样的？
3. 细菌的表面结构在病原检测和溯源中有何价值？

参考文献：

- [1] Buchholz U, et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104: H4 associated with sprouts[J]. N Engl J Med, 2011,365(19):1763-1770.
- [2] Scheutz F, Strockbine N A. Genus I. *Escherichia* Castellani and Chalmers 1919, 941^{TAL}. In: Garrity G, Brenner D J, Krieg N R, et al. *Bergey's manual of systematic bacteriology, the proteobacteria, Part B: the gammaproteobacteria*. New York: Springer, 2005.

在具有细胞构造的微生物中,按其细胞,尤其是细胞核的构造和进化水平的差别,可以分成原核微生物和真核微生物两个大类。前者包括细菌(Bacteria,旧称“真细菌”Eubacteria)和古菌(Archaea,旧称“古细菌”Archaeobacteria),后者则包括真菌、原生动物和显微藻类等。

第一节 原核微生物

原核微生物是指一大类细胞微小,遗传物质DNA外没有膜结构包围的原始单细胞生物。原核生物分为细菌和古菌两个域,细菌域的种类很多,包括细菌(狭义)、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次氏体和衣原体等,它们的共同点是细胞壁中含有独特的肽聚糖(无细胞壁的支原体例外),细胞膜含有由酯键连接的脂质,DNA序列中一般没有内含子。古菌域发现得较晚,虽然它们在某些细胞成分和重要生化反应上与真核生物关系较为密切,但其细胞构造属于原核类型。

原核微生物细胞的模式构造见图3-1。图中“一般结构”指一般原核微生物都具有的构造,而“特殊构造”指部分种类才有的或一般种类在特定环境下才形成的构造。

一、细胞壁

细胞壁(cell wall)是位于细胞最外的一层厚实、坚韧的外被,有固定细胞外形和保护细胞等多种生理功能。通过染色、质壁分离(plasmolysis)或制成原生质体后再在显微镜下观察,可证实细胞壁的存在;用电子显微镜观察细菌超薄切片等方法,更可确证细胞壁的存在。细胞壁的主要功能有:①固定细胞外形和提高机械强度,使其免受渗透压等外力的损伤。例如,有报道说大肠杆菌(*Escherichia coli*)的膨压(turgor pressure)可达 2.03×10^5 Pa(2个大气压,相当于汽车内胎的压力)。②为细胞生长、分裂和鞭毛运动所必需,失去了细胞壁的原生质体,也就丧失了这些重要功能。③阻拦酶和某些抗生素等大分子物质进入细胞,保护细胞免受有害物质的损伤。④赋予细菌特定的抗原性、致病性以及对抗生素和噬菌体的敏感性。

原核生物的细胞壁除了具有一定的共性以外,在革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和抗酸细菌,以及古菌中均具有各自的特点,而支原体则是一类无细胞壁的原核生物。以下分别讨论这几类原核微生物的细胞壁的特点。

1. 革兰氏阳性菌的细胞壁

丹麦学者革兰(C. Gram)于1884年发明的革兰氏染色法是一种极其重要的鉴别染色法,该法用结晶紫初染和碘液媒染,形成不溶于水的紫色复合物,然后用乙醇脱色,沙黄等红色染料复染。染色结果若呈紫

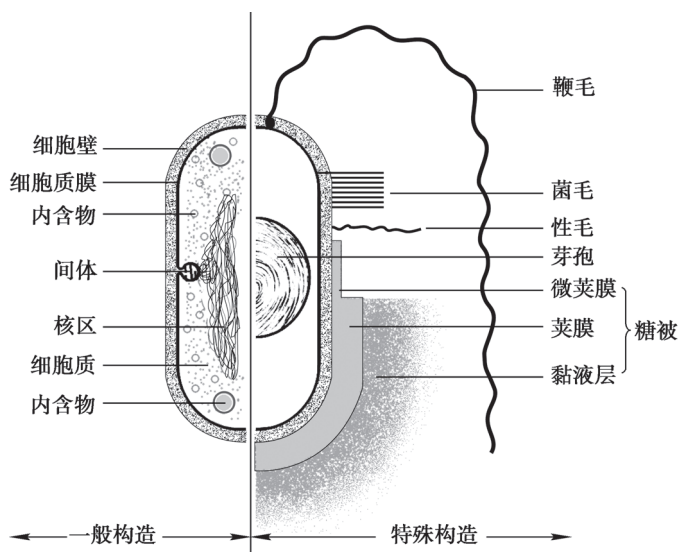


图3-1 原核微生物细胞构造模式图

色，即为革兰氏阳性菌；若被脱色、经复染后呈红色，则为革兰氏阴性菌。这种简易的方法可以很好地反映微生物细胞壁的基本结构特征。

革兰氏阳性菌细胞壁的特点是厚度大（20~80 nm），化学组分简单。它一般只含有 90% 肽聚糖和 10% 磷壁酸，与层次多、厚度低、成分复杂的革兰氏阴性菌的细胞壁形成明显的差别（图 3-2）。

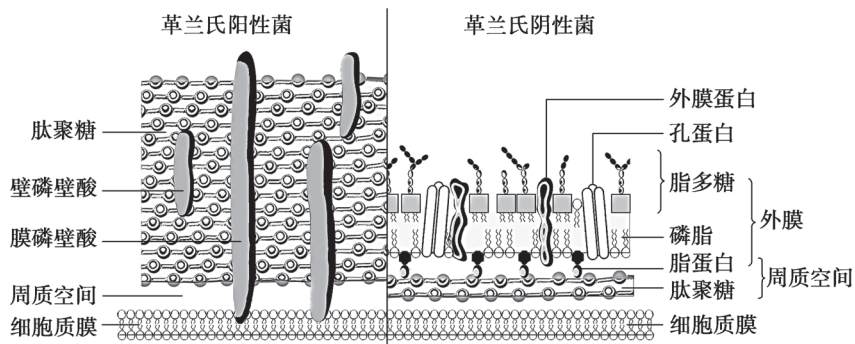


图 3-2 革兰氏阳性菌与阴性菌细胞壁的比较

（1）肽聚糖

肽聚糖（peptidoglycan）又称胞壁质（murein），是细菌细胞壁中的特有成分。革兰氏阳性菌——金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）具有典型的肽聚糖层，其厚度为 20~80 nm，由 25~40 层的网格状分子交织成的“网套”覆盖在整个细胞上。肽聚糖分子由肽与聚糖两部分组成，其中的肽有四肽尾和肽桥两种，聚糖则由 *N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰胞壁酸相互间隔连接而成，呈长链骨架状（图 3-3）。

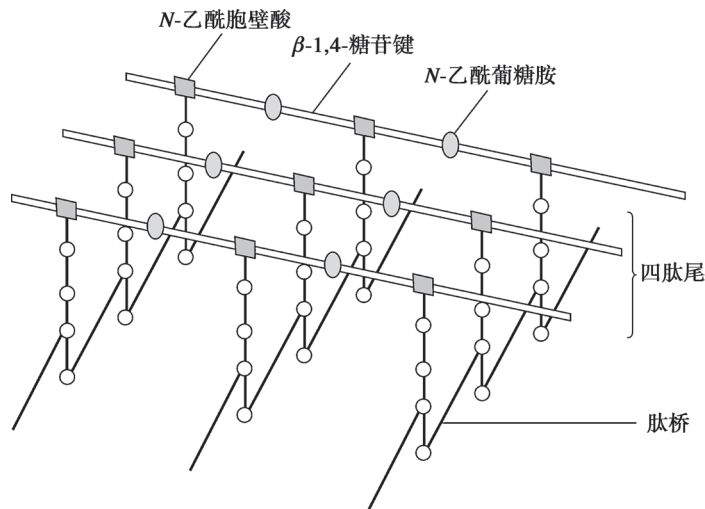


图 3-3 革兰氏阳性菌肽聚糖的结构模型

肽聚糖由肽聚糖单体聚合而成，每一肽聚糖单体由 3 部分组成（图 3-4）：

① 双糖单位：由一个 *N*-乙酰胞壁酸分子和一个 *N*-乙酰葡萄糖胺分子通过 β -1, 4-糖苷键相连构成。其中 *N*-乙酰胞壁酸为原核生物特有的己糖。双糖单位中的 β -1, 4-糖苷键很容易被一种广泛存在于卵清、人的泪液和鼻涕以及部分细菌和噬菌体中的溶菌酶（lysozyme）水解，从而导致细菌细胞壁的“散架”，细菌死亡。两个双糖单位之间同样通过 β -1, 4-糖苷键相连，但溶菌酶并不能降解该 β -1, 4-糖苷键。

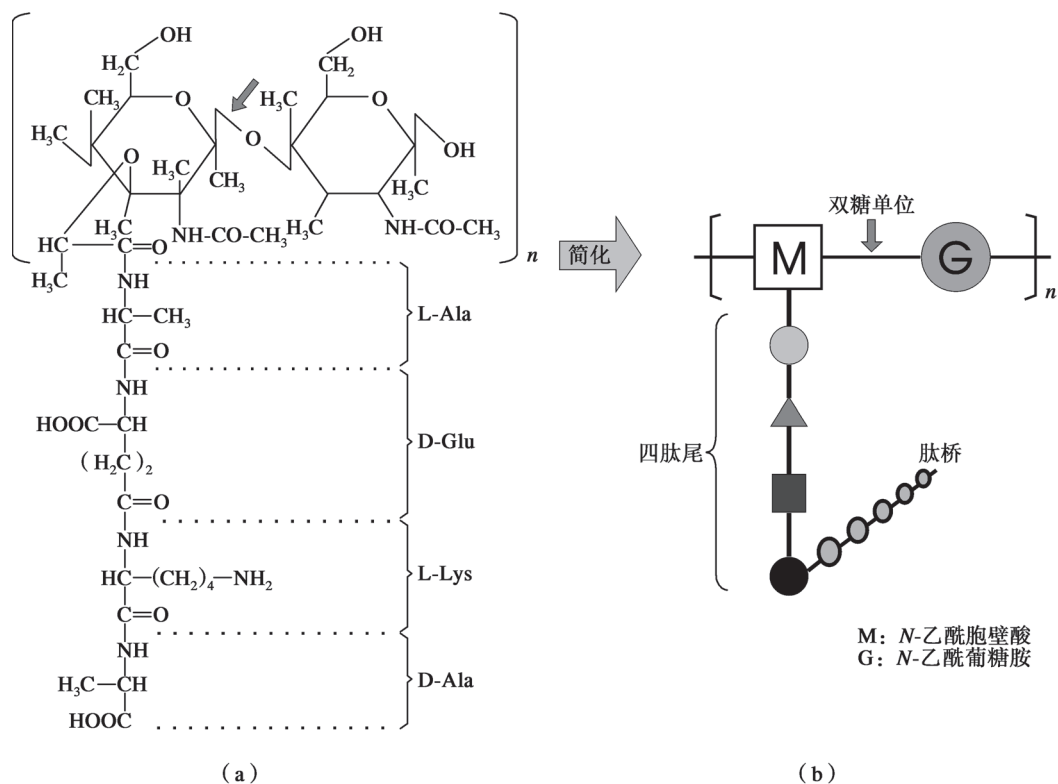


图 3-4 革兰氏阳性菌肽聚糖分子的单体构造

(a) 单体的分子构造; (b) 简化的单体分子 (箭头处为溶菌酶的水解点)

② 四肽尾或四肽侧链 (tetrapeptide side chain): 连在 *N*-乙酰胞壁酸上的一段 4 个氨基酸组成的肽链, 由 L 型与 D 型氨基酸交替。在金黄色葡萄球菌中的四肽尾为 L-Ala → D-Glu → L-Lys → D-Ala, 其中两种 D 型氨基酸在细菌细胞壁之外很少出现。

③ 肽桥或肽间桥 (peptide interbridge): 金黄色葡萄球菌肽聚糖中的肽桥为甘氨酸五肽, 它起着连接前后两个四肽尾分子的“桥梁”作用。目前所知的肽聚糖已经超过 100 种, 主要的变化发生在肽桥上。四肽尾成分中的任一氨基酸均可出现在肽桥中, 此外, 在肽桥上还可以出现甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸和天冬氨酸等, 但从未发现支链氨基酸、芳香氨基酸、含硫氨基酸或组氨酸、精氨酸和脯氨酸。

(2) 磷壁酸

磷壁酸 (teichoic acid) 是革兰氏阳性菌细胞壁上的一种酸性多糖, 主要成分为甘油磷酸或核糖醇磷酸。磷壁酸可以分两类, 其一为壁磷壁酸, 它与肽聚糖分子共价结合, 其含量会随培养基成分而发生变化, 一般占细胞壁质量的 10%, 有时可接近 50%; 其二为跨越肽聚糖层并与细胞膜相交联的膜磷壁酸 (又称脂磷壁酸), 它通过甘油磷酸链分子与细胞膜上的磷脂共价结合。其含量与培养条件关系不大。磷壁酸有 5 种类型, 主要为甘油磷壁酸和核糖醇磷壁酸两类, 前者在干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*) 等细菌中存在, 后者在金黄色葡萄球菌和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 等细菌中存在。图 3-5 表示甘油磷壁酸的构造及其与肽聚糖分子中的 *N*-乙酰胞壁酸的连接方式。

磷壁酸的主要生理功能为: ① 其磷酸分子带较多的负电荷, 可提高细胞周围 Mg^{2+} 的浓度, 并最终转运到细胞内, 满足细胞的需要; ② 贮藏磷元素; ③ 在一些致病菌, 如 A 族链球菌 (*Streptococcus*) 中, 可以增强细菌对宿主细胞的粘连, 避免被白细胞吞噬, 也有抗补体的作用; ④ 赋予革兰氏阳性菌以特异的表面抗原; ⑤ 可以作为噬菌体的特异性吸附受体; ⑥ 能调节细胞内自溶素 (autolysin) 的活力, 防止细胞因自

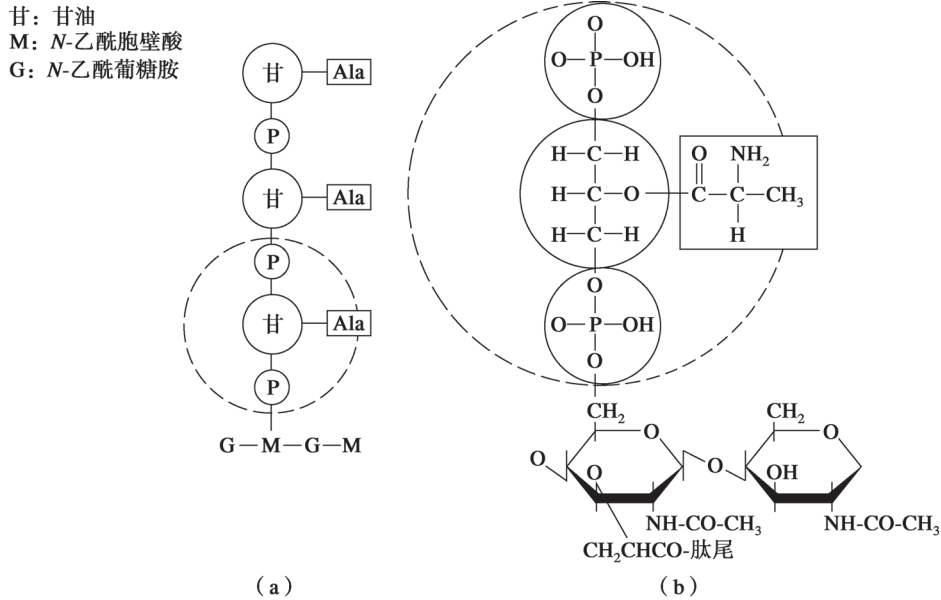


图 3-5 甘油磷酸壁酸的结构模式 (a) 及其单体 (虚线范围内) 的分子结构 (b)

溶而死亡, 因为在细胞正常分裂时, 自溶素可使旧壁适度水解并促使新壁不断插入, 而当其活力过强时, 细菌则会因细胞壁迅速水解而死亡。

2. 革兰氏阴性菌的细胞壁

革兰氏阴性菌的细胞壁比阳性菌更复杂, 除了肽聚糖层以外, 近有外膜和周质空间。

(1) 肽聚糖

革兰氏阴性菌的肽聚糖可以大肠杆菌为代表。它的肽聚糖埋藏在外膜层内, 是仅由 1~2 层肽聚糖网格状分子组成的薄层 (2~3 nm), 含量占细胞壁总量的 5%~10%。其结构单体与革兰氏阳性菌基本相同, 差别仅在于 (图 3-6): ① 四肽尾的第 3 个氨基酸不是 L-Lys, 而是一种只有在原核微生物细胞壁特有的内消旋二氨基庚二酸 (meso-DAP); ② 没有特殊的肽桥, 其前后两个单体间的连接仅通过甲四肽尾的第 4 个氨基酸 (D-Ala) 的羧基与乙四肽尾的第 3 个氨基酸 (meso-DAP) 的氨基直接相连。革兰氏阴性菌细胞壁的肽聚糖含量和连接方式决定了其肽聚糖层较为稀疏, 机械强度也较革兰氏阳性菌细胞壁差。

(2) 外膜

外膜 (outer membrane) 位于革兰氏阴性菌细胞壁外层, 由脂多糖、磷脂和脂蛋白等蛋白质组成, 有时也称为外壁。虽然其基本结构与细胞质膜相似, 均为双层脂膜, 但因其外层嵌入了大量的脂多糖, 而内层嵌入了脂蛋白, 因此与细胞质膜有很大的差别 (图 3-6)。外膜是革兰氏阴性菌的一层保护屏障, 可阻止或减缓胆汁酸等有害物质的进入, 也可防止周质酶和细胞成分的外流。

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 位于革兰氏阴性菌细胞壁最外层, 厚度 8~10 nm, 由类脂 A、核心多糖 (core polysaccharide) 和 *O*-特异侧链 (*O*-specific side chain, 或称 *O*-多糖或 *O*-抗原) 3 部分组成。其中类脂 A 嵌入外膜, *O*-抗原暴露于细菌的表面。脂多糖的主要功能为: ① 类脂 A 是革兰氏阴性菌致病物质——内毒素 (endotoxin) 的物质基础; ② 带较多的负电荷, 故与磷壁酸相似, 也通过静电吸附提高 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等阳离子在细胞表面浓度的作用; ③ 结构多变, 决定了革兰氏阴性菌细胞表面抗原决定簇的多样性, 例如, 根据 LPS 的抗原性, 国际上已报道的沙门氏菌属 (*Salmonella*) 的抗原型多达 2 107 种 (1983 年); ④ 是许多噬菌体在细胞表面的吸附受体; ⑤ 具有控制某些物质进出细胞的部分选择性屏障功能。例如, 它

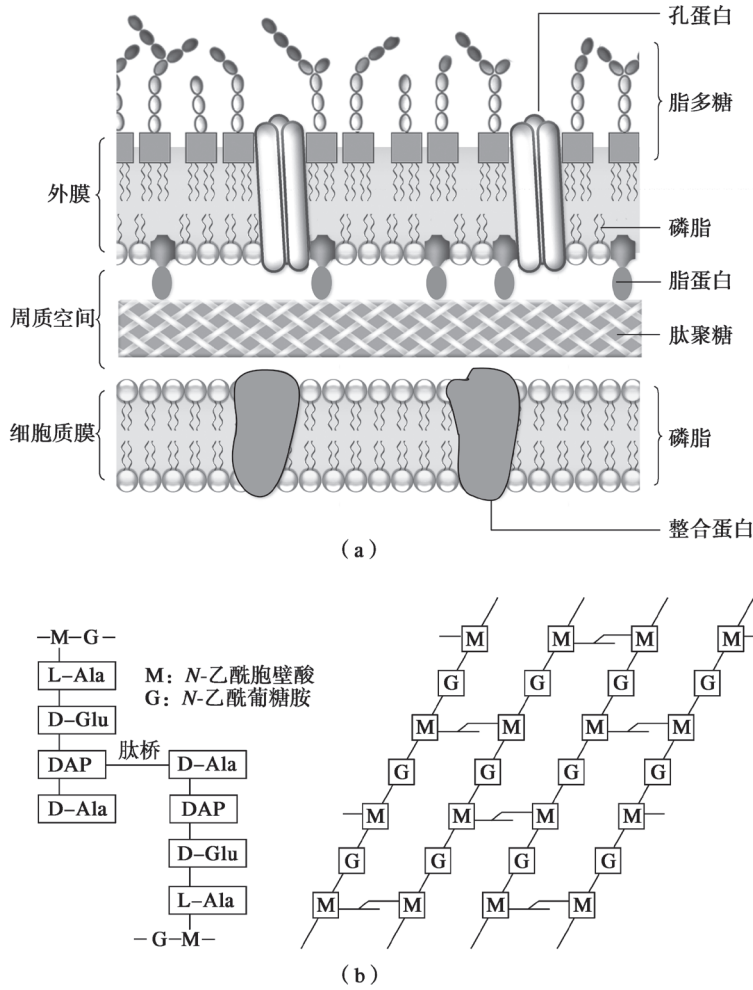
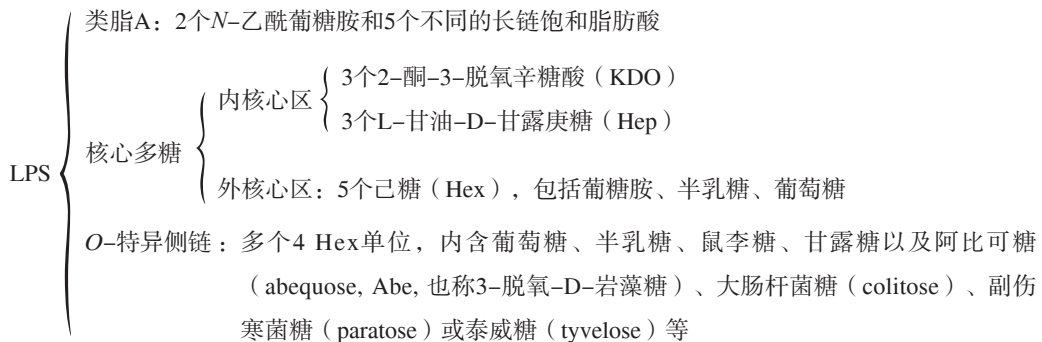


图 3-6 革兰氏阴性菌——大肠杆菌的肽聚糖结构模式图
(a) 细胞壁的剖面; (b) 肽聚糖网的一部分及肽桥的连接方式

可透过水、气体和若干种较小的分子(嘌呤、嘧啶、双糖、肽类和氨基酸等),但能阻挡溶菌酶、抗生素(青霉素等)、去污剂和某些染料等较大分子进入细胞膜。革兰氏阴性菌因含有LPS外膜,比革兰氏阳性菌更能抵抗某些毒物的影响。例如,革兰氏阳性和阴性菌的RNA聚合酶均可被利福平抑制,但因前者的细胞壁上无LPS,故对利福平的敏感性比后者高1000倍。要维持LPS结构的稳定性,必须有足够的Ca²⁺存在。如果用EDTA等整合剂去除Ca²⁺,降低离子键强度,就会使LPS解体。这时,其内壁层的肽聚糖分子就会暴露出来,从而容易被溶菌酶水解。

LPS与磷脂相似,有一亲水头和一疏水尾,其分子结构较为复杂,表解如下:



能还不清楚。其中脂蛋白 (lipoprotein) 一端嵌入外膜的内层, 另一端通过共价键连接到肽聚糖, 使外膜层牢固地连接到细胞壁。另有一类蛋白研究得较为清楚, 称为孔蛋白 (porin)。每个孔蛋白分子由 3 个相同的蛋白亚基组成三聚体跨膜蛋白, 每个蛋白亚基有 1 个孔道, 同时, 三个亚基中间另外形成 1 个直径约 1 nm 的孔道, 通过这些孔的开、闭, 可控制某些物质进出外膜。孔蛋白可以分成非特异性和特异性, 非特异性孔蛋白可通过相对分子质量较小的任何亲水性分子, 如双糖、氨基酸、二肽和三肽; 特异性孔蛋白上有专一性结合位点, 只允许一种或少数几种相关物质通过, 其中最大的孔蛋白可通过相对分子质量较大的物质, 如维生素 B₁₂ 和核苷酸等。除此以外, 外膜上还有许多蛋白与细菌的物质转运、黏附和致病有关。有些外膜蛋白也被作为噬菌体吸附位点或与细菌素的作用有关。

(4) 周质空间

周质空间 (periplasmic space) 又称周质 (periplasm) 或壁膜间隙, 指革兰氏阴性菌中外膜与细胞膜之间的狭窄空间, 宽 12~15 nm。周质呈胶状, 肽聚糖薄层夹在其中, 周质空间中, 还有多种周质蛋白 (periplasmic protein), 包括: ① 水解酶类, 如蛋白酶、核酸酶等; ② 合成酶类, 如肽聚糖合成酶; ③ 结合蛋白 (具有运送营养物质的作用); ④ 受体蛋白 (与细胞的趋化性相关)。周质蛋白可通过渗透休克法 (osmotic shock) 或称“冷休克”的方法释放。此法的原理是突然改变渗透压使细胞发生物理性裂解。其主要步骤是: 将细菌放入用 Tris 缓冲液配制、含 EDTA 的 20% 蔗糖溶液中保温, 使其发生质壁分离, 接着快速地用 4℃ 的 0.005 mol/L MgCl₂ 溶液稀释并降温, 使细胞外膜突然破裂并释放周质蛋白, 经离心即可从上清液中提取周质蛋白。一般认为革兰氏阳性菌是无周质空间的, 故许多水解酶会直接释放到外环境中。

以上介绍了革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌在细胞壁构造和成分上的差异。重要的是, 这些差异还反映出它们在细胞形态、构造、化学组分、染色反应、生理功能和致病性等一系列生物学特性上的差别, 因此革兰氏染色反应对微生物学理论研究和实际应用工作都有重要的意义 (表 3-1)。

表 3-1 革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌主要特性的比较

项目		革兰氏阳性菌	革兰氏阴性菌
细胞壁	厚度	厚 (20~80 nm)	薄 (8~11 nm)
	层次	1	2
	肽聚糖层厚度	厚	薄
	磷壁酸	有	无
	外膜 (LPS)	无	有
	孔蛋白	无	有
	脂蛋白	无	有
	周质空间	无或窄	有
	溶质通透性	强	弱
肽聚糖	四肽尾中 Lys	有	无
	四肽尾中 meso-DAP	无	有
	Gly 五肽等肽桥	有	无
细胞	细胞硬度	硬实	柔软
	产芽孢	有些产	不产
	鞭毛基体	有 2 个环	有 4 个环

续表

项目		革兰氏阳性菌	革兰氏阴性菌
对理化因子抗性	机械力	抗性强	抗性弱
	青霉素、磺胺	敏感	较抗
	链霉素、氯霉素、四环素	抗性较强	敏感
	阴离子去污剂	敏感	抗性较强
	碱性染料	敏感	抗性较强
	溶菌酶处理后	形成原生质体	形成球状体
其他	产毒素	以外毒素为主	以内毒素为主

3. 抗酸细菌的细胞壁

抗酸细菌 (acid-fast bacteria) 是若干难以用普通革兰氏染色法鉴别的细菌之一, 虽革兰氏染色反应呈阳性, 但其细胞壁结构与革兰氏阳性菌和阴性菌都有不同。抗酸细菌的细胞壁中含有大量分枝菌酸 (mycolic acid) 等蜡质, 被酸性复红染上色后, 就不能再被盐酸乙醇脱色, 故称抗酸细菌。分枝杆菌属尤其是其中的结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 和麻风分枝杆菌 (*M. leprae*) 是两种最常见的抗酸细菌。

以往认为抗酸细菌细胞壁上的这一厚实、无定形的蜡质层会是营养物、染料和抗菌药物透入细胞的严重障碍, 因而导致这类细菌生长极其缓慢 (培养数天至数星期才能形成微小菌落), 并对药物和染料有极强的抗性。进一步研究发现分枝菌酸分子在细胞壁上整齐地排成两层, 亲水头在外表, 疏水尾在内侧, 形成一种高度有序的膜, 同时也嵌埋着许多有透水孔的蛋白质, 以适应物质运送。

在抗酸细菌的细胞壁中含有约 60% 的类脂 (包括分枝菌酸和索状因子等), 肽聚糖含量则很少, 从其类脂外壁层 (相当于革兰氏阴性菌的 LPS 外膜) 和肽聚糖内壁层的结构来看, 与革兰氏阴性菌的细胞壁更为相似 (图 3-9)。

分枝菌酸是一类含 60~90 个碳原子的分支长链 β - 羟基脂肪酸, 它连接在由阿拉伯糖 (Ara) 和半乳糖 (Gal) 交替连接形成的杂多糖链上, 并通过磷酸键与肽聚糖链相连接 (图 3-10)。

分枝菌酸的化学结构在不同的菌种中有一定的差别, 例如结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 的分枝菌酸结构为:

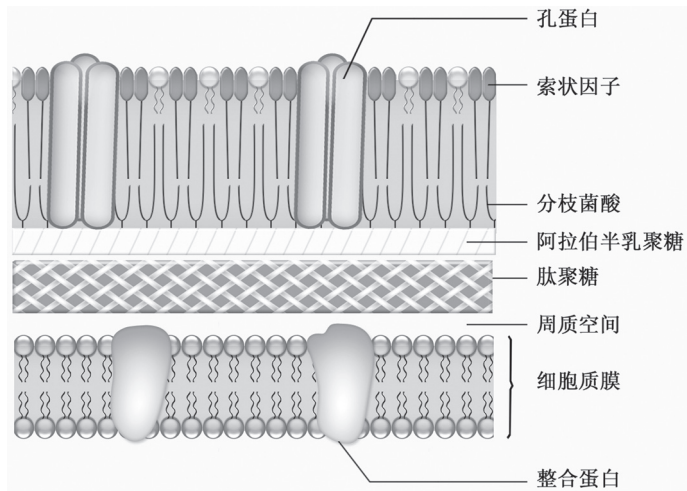
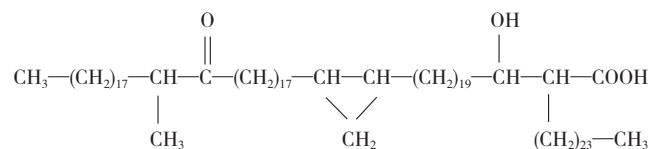
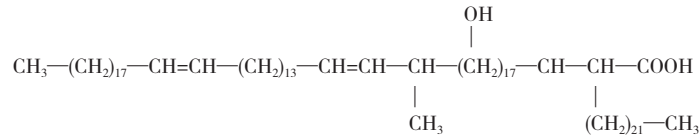


图 3-9 抗酸细菌细胞壁的构造

而耻垢分枝杆菌 (*M. smegmatis*) 的分枝菌酸结构为:



索状因子 (cord factor) 是分枝杆菌细胞表层的一种糖脂, 即 6, 6-二分枝菌酸海藻糖 (6, 6-dimycolyltrehalose)。结核分枝杆菌在液体培养基中培养时, 菌体可因索状因子而“肩并肩”地聚集, 细菌呈长链状缠绕, 致使菌体沿器壁发生索状生长, 直达培养基表面而形成菌膜。索状因子与结核分枝杆菌的致病性密切相关, 其分子结构见图 3-11。

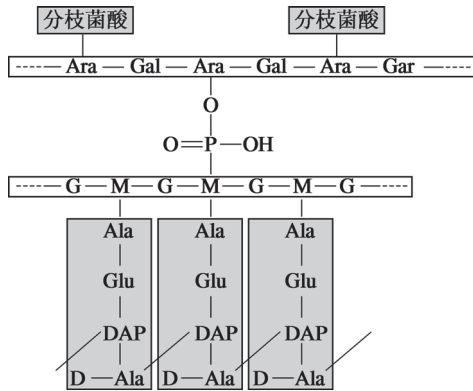


图 3-10 分枝菌酸的结构及其与肽聚糖的连接
Ara: 阿拉伯糖; Gal: 半乳糖; G: *N*-乙酰葡萄糖胺;
M: *N*-乙酰胞壁酸; DAP: *m*-二氨基庚二酸

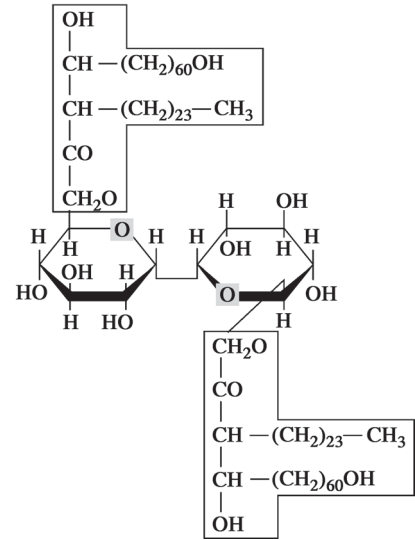


图 3-11 分枝杆菌外壁层索状因子的结构

4. 古菌的细胞壁

在古菌中, 除了热原体属 (*Thermoplasma*) 没有细胞壁外, 其余都具有与细菌类似功能的细胞壁。然而, 两者细胞壁的化学成分差别甚大, 古菌的细胞壁非常多样, 其中没有真正的肽聚糖, 而是由多糖 (假肽聚糖)、糖蛋白或蛋白质构成的。

(1) 假肽聚糖细胞壁

甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*) 等革兰氏阳性古菌的细胞壁是由假肽聚糖 (pseudopeptidoglycan) 组成的 (图 3-12)。它的多糖骨架是由 *N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰塔罗糖胺糖醛酸 (*N*-acetylalosaminouronic acid) 以 β -1, 3 糖苷键 (不被溶菌酶水解!) 交替连接而成, 连在后一氨基糖上的肽链由 L-Glu、L-Ala 和 L-Lys 3 个 L 型氨基酸组成, 肽桥则由 L-Glu 一个氨基酸组成。

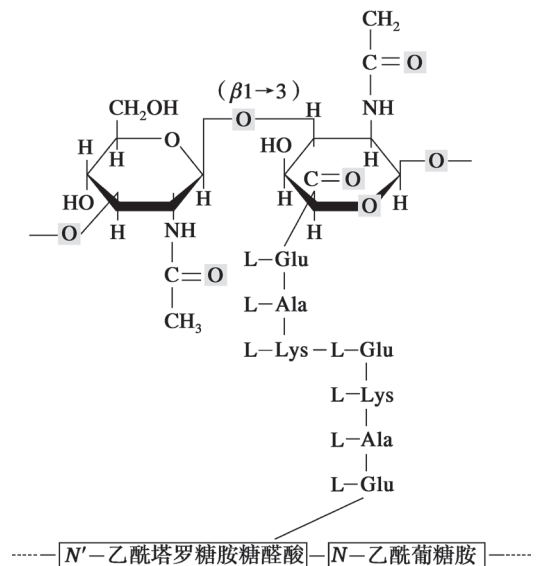


图 3-12 甲烷杆菌细胞壁中假肽聚糖的结构 (单体)

(2) 独特多糖细胞壁

甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina*) 的细胞壁含有独特的多糖, 并可使细胞染成革兰氏阳性。这种多糖含半乳糖胺、葡萄糖醛酸、葡萄糖和乙酸, 不含磷酸和硫酸。

(3) 硫酸化多糖细胞壁

革兰氏阳性极端嗜盐古菌——盐球菌属 (*Halococcus*) 的细胞壁是由硫酸化多糖组成的。其中含葡萄糖、甘露糖、半乳糖和相应的氨基糖, 以及糖醛酸和乙酸。

(4) 糖蛋白细胞壁

极端嗜盐的另一属古菌——盐杆菌属 (*Halobacterium*) 的细胞壁是由糖蛋白 (glycoprotein) 组成的, 其中包括葡萄糖、葡糖胺、甘露糖、核糖和阿拉伯糖, 而它的蛋白部分则由大量酸性氨基酸尤其是天冬氨酸组成。这种带强负电荷的细胞壁可以平衡环境中高浓度的 Na^+ , 从而使其能很好地生活在 20% ~ 25% 高盐溶液中。

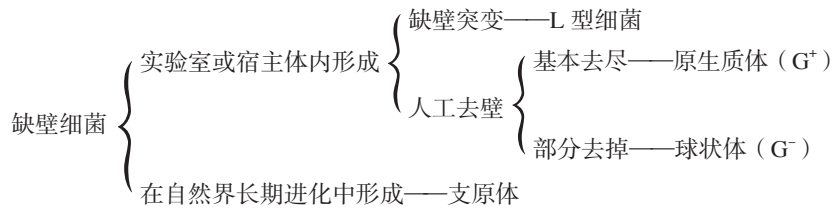
(5) 蛋白质细胞壁

少数产甲烷菌的细胞壁是由蛋白质组成的, 它们呈革兰氏染色的阴性反应。但有的是由几种不同蛋白质组成, 如甲烷球菌属 (*Methanococcus*) 和甲烷微菌属 (*Methanomicrobium*), 而另一些则由同种蛋白的许多亚基组成, 如甲烷螺菌属 (*Methanospirillum*)。

近年来的研究发现, 几乎所有古菌的表面都有蛋白质排列形成的类结晶表面层 (S 层), 为由一种蛋白质或糖蛋白组成的对称结构, 少数情况下也可由两种蛋白质组成。这些蛋白质通常排列成正六边形对称, 也有正方形或正三角形对称排列。S 层位于古菌的最外层, 起到保护细胞的作用, 同时可具有选择性通透等功能*。

5. 缺壁细菌

细胞壁是原核生物最基本结构, 但在自然界的长期进化和在实验室菌种传代中的自发突变都会导致出现缺少细胞壁的种类。此外, 还可以用人为的方法抑制新生细胞壁的合成, 或对已有的细胞壁进行酶解而获得缺壁细菌。



(1) L 型细菌

1935 年, 英国李斯特预防医学研究所发现一种由自发突变形成的细胞壁缺损细菌——念珠状链杆菌 (*Streptobacillus moniliformis*), 它的细胞膨大, 对渗透敏感, 在固体培养基上形成“油煎蛋”似的小菌落。由于李斯特 (Lister) 研究所名称的第一个字母是“L”, 故称 L 型细菌 (L-form bacteria)。后来发现, 许多革兰氏阳性或阴性细菌在实验室或宿主体内都可形成 L 型。严格地说, L 型细菌专指那些在实验室或宿主体内通过自发突变形成的遗传性稳定的细胞壁缺陷菌株。这类细菌可用于认识细胞分裂机制及其起源。同时, 也有人认为这类细菌具有特殊的致病性。

(2) 原生质体与球状体

原生质体 (protoplast) 是指在人为条件下, 用溶菌酶除净原有的细胞壁或用青霉素抑制新生细胞细胞壁

* Albers S V, Meyer B H. The archaeal cell envelope [J]. Nat Rev Microbiol, 2011, 9 (6): 414-426.

合成后, 所得到的仅有一层细胞膜包裹着的圆球状体。原生质体一般由革兰氏阳性菌形成。

球状体 (sphaeroplast) 又称原生质球, 指还残留部分细胞壁成分的细胞, 一般由革兰氏阴性菌形成。

原生质体和球状体的共同特点是: 无完整的细胞壁, 细胞呈球状, 对渗透压极其敏感, 革兰氏染色阴性, 即使有鞭毛也不能运动, 对相应的噬菌体不敏感, 细胞不能正常分裂, 等等。当然, 在形成原生质体或球状体以前已有噬菌体侵入, 则它仍能正常复制、增殖和裂解; 同样, 如在形成原生质体前正在形成芽孢, 则该芽孢也仍能正常形成。原生质体或球状体与 L 型细菌的一个重要区别是前二者不能繁殖, 或虽能繁殖, 但子代将恢复细胞壁结构, 而后者则有正常的繁殖能力, 子代仍然为缺少细胞壁。原生质体或球状体比正常有细胞壁的细菌更易导入外源遗传物质, 故是研究遗传规律和进行原生质体融合育种的良好实验材料。

(3) 支原体

支原体 (mycoplasma) 是一类在长期进化过程中形成的、适应自然生活条件的无细胞壁的原核生物。因它的细胞膜中含有一般原核生物所没有的甾醇, 所以即使缺乏细胞壁, 其细胞膜仍有较高的机械强度。

6. 革兰氏染色的机制

20 世纪 60 年代初, 萨顿 (Salton) 曾提出细胞壁在革兰氏染色中的关键作用。至 1983 年, 贝弗里奇 (T.Beveridge) 等用铂代替革兰氏染色中媒染剂碘的作用, 再用电子显微镜观察到结晶紫与铂复合物可被细胞壁阻留, 这就进一步证明了革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌主要由于其细胞壁化学成分的差异而引起了物理特性的不同, 导致染色反应结果的不同。其中的细节为: 通过结晶紫初染和碘液媒染后, 在细胞内形成了不溶于水的结晶紫与碘的复合物 (crystal violet-iodine complex, CVI complex)。革兰氏阳性菌由于其细胞壁较厚, 肽聚糖网层次多、交联致密, 故遇乙醇或丙酮作脱色处理时, 因失水反而使网孔缩小, 再加上它不含类脂, 故乙醇处理不会溶出缝隙, 因此结晶紫与碘复合物会牢牢留在壁内, 使其仍呈紫色。反之, 革兰氏阴性菌因其细胞壁薄、外膜类脂含量高、肽聚糖层薄和交联度差, 在遇脱色剂时, 以类脂为主的外膜迅速溶解, 薄而松散的肽聚糖网不能阻挡结晶紫与碘复合物的溶出, 因此, 脱色后细胞褪成无色。这时, 再经沙黄等红色染料进行复染, 就使革兰氏阴性菌呈现红色, 而革兰氏阳性菌则仍保留紫色 (实为紫加红色) 了。

二、细胞壁以内的构造

原核细胞细胞壁以内主要由细胞质膜、细胞质和拟核 (核区) 3 部分组成。

1. 细胞质膜

细胞质膜 (cytoplasmic membrane) 又称质膜 (plasma membrane), 是紧贴在细胞壁内侧、包围着细胞质的一层柔软、脆弱、富有弹性的半透性薄膜, 厚 7~8 nm, 由磷脂 (占 20%~30%) 和蛋白质 (占 50%~70%) 组成。原核生物与真核生物细胞膜的主要差别是前者的蛋白质含量特别高, 一般无甾醇 (仅支原体例外), 而后者则蛋白质含量低并普遍含有甾醇。

(1) 细菌的细胞质膜

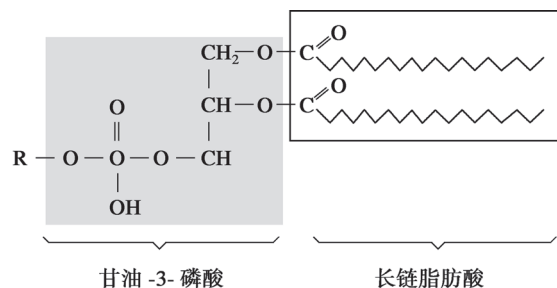
细菌的细胞质膜可通过质壁分离、鉴别性染色或原生质体破裂等方法在光学显微镜下观察到。用电子显微镜观察细菌的超薄切片, 则可更清楚地观察到它的存在。电镜观察到的细胞质膜, 是在上下两暗色层之间夹着一浅色中间层的双层膜结构。这是因为, 细胞膜的主要成分为磷脂, 由两层磷脂分子按一定规律整齐地排列而成, 每一个磷脂分子由一个带正电荷、能溶于水的极性头 (磷酸端) 和一个不带电荷、不溶于水的非极性尾 (烃端) 构成。极性头分别朝向内外两表面, 呈亲水性, 而非极性尾则埋入膜的内层, 从而形成了一个磷脂双分子层。在极性头的甘油 C3 位, 不同种微生物具有不同的 R 基, 形成磷脂酸、磷脂酰甘油、磷脂

酰乙醇胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸或磷脂酰肌醇等(图 3-13)。原核生物的细胞质膜多数含磷脂酰甘油,在革兰氏阴性菌中,多数还含有磷脂酰乙醇胺,在分枝杆菌中则含磷脂酰肌醇,等等。而非极性尾则由长链脂肪酸通过酯键连接在甘油 C1 和 C2 位上组成,其链长和饱和度因细菌种类和生长温度而异,通常生长温度要求越高的种,其饱和度也越高,反之则低。

在常温下,磷脂双分子层呈液态,其中嵌埋着多种具运输功能的整合蛋白(integral protein, 又称跨膜蛋白 transmembrane protein 或内嵌蛋白 intrinsic protein),在磷脂双分子层的外表面则“漂浮着”许多具有酶促作用的周边蛋白(peripheral protein, 又称膜外蛋白 extrinsic protein)。它们都可在磷脂的表层或内层作侧向移动,以执行其生理功能。

关于细胞质膜结构及其功能的解释,以 1972 年由辛格(J. S. Singer)和尼科尔森(G. L. Nicolson)所提出细胞质膜的液态嵌合模型(fluid mosaic model)较有代表性,其要点为:① 膜的主体是脂质双分子层;② 脂质双分子层具有流动性;③ 占膜蛋白总量 70%~80% 的整合蛋白因其表面呈疏水性,故可“溶”入脂质分子层的疏水性内层中,且不易把它们抽提出来;④ 占膜蛋白含量 20%~30%、与膜结合得较松散的周边蛋白,因其表面的亲水基团而通过静电引力与脂质双分子层表面的极性头相连;⑤ 脂质分子间或脂质分子与蛋白质分子间无共价结合;⑥ 脂质双分子层犹如一“海洋”,周边蛋白可以在其上作“漂浮”运动,而整合蛋白则似“冰山”状沉浸在其中作横向移动。细胞质膜的模式构造见图 3-14。

细胞膜的生理功能为:① 选择性地控制细胞内、外的营养物质和代谢产物的运送;② 维持细胞内正常渗透压;③ 是合成细胞壁和糖被的各种组分(肽聚糖、磷壁酸、LPS、荚膜多糖等)的重要基地;④ 膜上



- R 有多种形式: ① -H (磷脂酸)
 ② -CH₂-CH₂-NH₃⁺ (磷脂酰乙醇胺)
 ③ -CH₂-CH₂-N(CH₃)₃ (磷脂酰胆碱)
 ④ -CH₂-CHOH-CH₂OH (磷脂酰甘油)

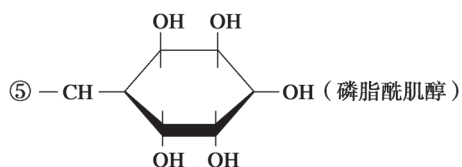


图 3-13 磷脂的分子结构

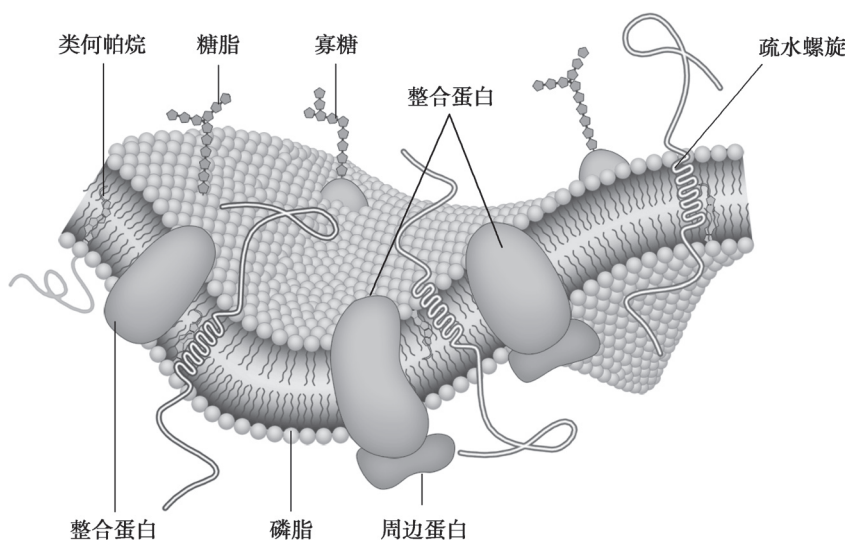


图 3-14 细菌细胞质膜构造的模式图

含有氧化磷酸化或光合磷酸化等能量代谢的酶系,是细胞的产能场所;⑤是鞭毛基体的着生部位和鞭毛旋转的供能部位;⑥膜上某些蛋白受体与趋化性有关。

原核生物的细胞质膜上一般不含胆固醇等甾醇,这一点与真核生物明显不同。但缺乏细胞壁的原核生物——支原体则属例外。其细胞膜因含有甾醇而增强了坚韧性,在一定程度上弥补了因缺少细胞壁而带来的不足。菲律宾

霉素、制霉菌素和杀假丝酵母菌素等多烯类抗生素因可破坏含甾醇的细胞质膜,故可抑制支原体和真核生物,但对其他的原核生物则无抑制作用。虽然原核生物的细胞质膜上一般不含甾醇,但在许多细菌的质膜中发现类似甾醇的五环固醇样分子,称为类何帕烷(图3-14,图3-15),具有维持膜稳定的作用。此外,原核生物的质膜上还含有与呼吸作用和光合作用有关的蛋白,而真核细胞则没有。

(2) 古菌的细胞质膜

研究发现,古菌的细胞质膜虽然在本质上也由磷脂组成,但与细菌和真核生物的细胞膜相比,具有明显的差异(表3-2):①亲水头(甘油)与疏水尾(烃链)间是通过醚键而不是酯键连接的;②组成疏水尾

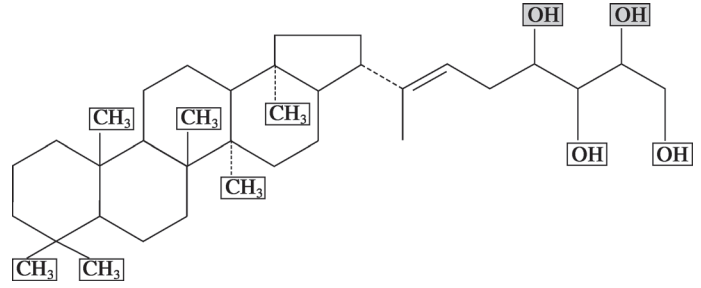


图3-15 类何帕烷的分子结构



的长链烃是异戊二烯的重复单位(如四聚体植烷、六聚体鲨烯等),它与甘油通过醚键连接成甘油二醚(glycerol diether)或二甘油四醚(diglycerol tetraether)等,而在细菌或真核生物中的疏水尾则是脂肪酸;③古菌的细胞质膜中存在着独特的单分子层质膜或单、双分子层混合膜,而细菌或真核生物的细胞质膜都是双分子层;具体地说,当磷脂为二甘油四醚时,连接两端两个甘油分子间的两个植烷(phytanyl)侧链间会发生共价结合,形成二植烷(diphytanyl),这时就形成了独特的单分子层膜(图3-16);单分子层膜多存在于嗜高温的古菌中,其原因可能是这种膜的机械强度要比双分子层质膜更高;④甘油的C3位上可连接多种与细菌和真核生物细胞质膜不同的基团,如磷酸酯基、硫酸酯基以及多种糖基等;⑤细胞质膜上含有多种独特的脂质,仅嗜盐菌类就已发现有菌红素(bacterioruberin)、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、番茄红素、视黄醛[retinal,可与蛋白质结合成细菌视紫红质(bacteriorhodopsin)]和萘醌等。

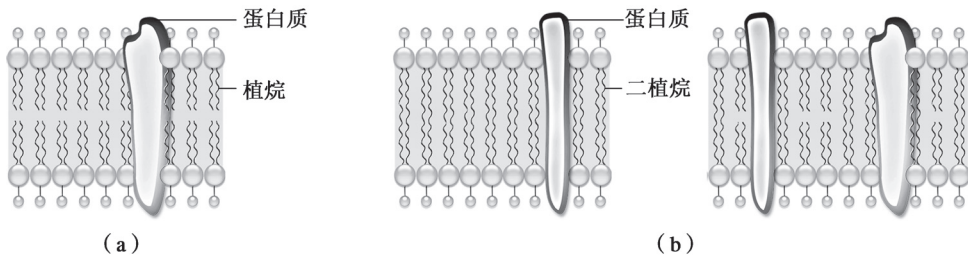


图3-16 细菌和古菌的细胞膜结构示意图

(a) 细菌;(b) 古菌

表 3-2 细菌、古菌和真核生物细胞质膜的比较

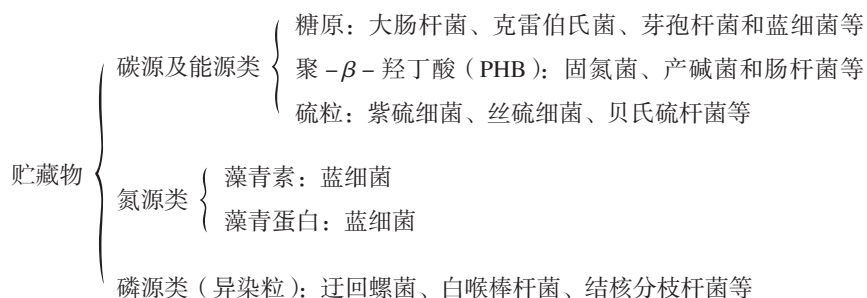
项目	细菌	古菌	真核生物
蛋白质含量	高	高	低
类脂结构	直链	分支	直链
类脂成分	磷脂	硫脂, 糖脂, 非极性类异戊二烯酯, 磷脂	磷脂
类脂连接	酯键	醚键(二醚和四醚)	酯键
甾醇	无(支原体例外)	无	有

2. 细胞质和内含物

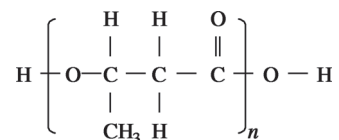
细胞质(cytoplasm)或称细胞质基质(cytoplasmic matrix),是细胞质膜包围的除拟核以外一切物质的总称。细胞质呈胶状,含水量70%~80%。细胞质的主要成分为核糖体(70S,大小约14 nm×20 nm,相对分子质量约 2.7×10^6 ,数量很多)、贮藏物、质粒、酶类、中间代谢物和吸入的营养物等,有些细菌还有类囊体、羧酶体、气泡、伴孢晶体或磁小体等。形状较大的颗粒状或泡囊状构造,称为内含体(inclusion body)。

(1) 贮藏物

原核生物的细胞质内存在一些由不同化学成分累积而成的不溶性沉淀颗粒,主要功能是贮存营养物,称为贮藏物(reserve materials)。其种类很多,表解如下:



① 聚-β-羟丁酸(poly-β-hydroxybutyrate, PHB): 直径为0.2~0.7 μm的小颗粒,是存在于许多细菌细胞质内属于类脂的碳源类贮藏物。不溶于水,可溶于氯仿,可用尼罗蓝或苏丹黑染色。具有贮藏能量、碳源和降低细胞内渗透压的作用。真核细胞中未发现有PHB。当巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)在含乙酸或丁酸的培养基中生长时,细胞内贮藏的PHB可达其干重的60%。在棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)的胞囊中也含有PHB。PHB的结构(式中的 n 一般大于 10^6)是:

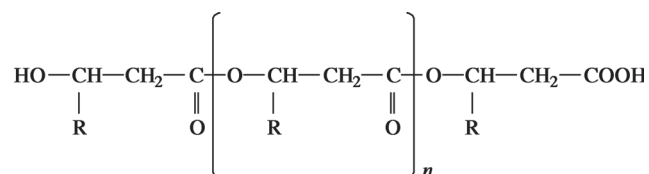


PHB于1929年被发现,目前已知60属以上的细菌能合成并贮藏。由于它无毒、可塑、易降解,是生产医用塑料、生物降解塑料的良好原料。若干产碱菌(*Alcaligenes* spp.)、固氮菌(*Azotobacter* spp.)和假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)是主要的生产菌种。近年来,又发现在一些革兰氏阳性和阴性好氧菌、光合厌氧细菌中,都存在PHB类化合物,它们与PHB仅是R基不同(R=CH₃时即为PHB)。这类化合物可通称为聚羟链

网上学习 3-1
细菌的运输系统

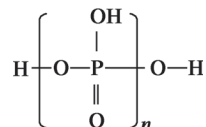


烷酸 (polyhydroxyalkanoate, PHA), 其结构是:

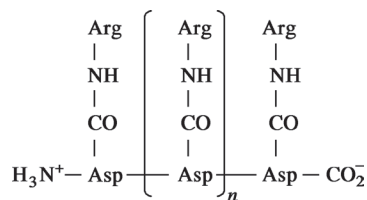


② 多糖类贮藏物: 包括糖原和淀粉类。在细菌中以糖原为多。糖原可用碘液染成褐红色, 在光学显微镜下可见。颗粒直径为 20~100 nm, 均匀分布在细胞质中。

③ 异染粒 (metachromatic granules): 又称迂回体或掇转菌素 (volutin granules), 这是因为它最早是在迂回螺菌 (*Spirillum volutans*) 中被发现并可被亚甲蓝 (美蓝) 或甲苯胺蓝染成紫红色的缘故。颗粒大小为 0.5~1.0 μm, 是无机偏磷酸的聚合物, 分子呈线状, n 值在 2~10⁶ 间。它一般在含磷丰富的环境下形成, 功能是贮藏磷元素和能量, 并可降低细胞的渗透压。在白喉棒杆菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) 和结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 中极易见到, 因此可用于有关细菌的鉴定。异染粒的化学结构为:



④ 藻青素 (cyanophycin): 通常存在于蓝细菌中, 是一种内源性氮源贮藏物, 同时还兼有贮存能源的作用。一般呈颗粒状, 由含精氨酸和天冬氨酸残基 (1:1) 的多分支多肽所构成, 相对分子质量在 25 000~125 000 范围内。例如, 柱胞鱼腥蓝细菌 (*Anabaena cylindrica*) 藻青素的结构为:



(2) 磁小体

1975年, 由布莱克莫尔 (R. P. Blakemore) 在一种称为折叠螺旋体 (*Spirochaeta plicatilis*) 的趋磁细菌中首先发现。目前所知的趋磁细菌主要存在于磁螺菌属 (*Magnetospirillum*, 旧称水生螺菌属 *Aquaspirillum*) 和嗜胆球菌属 (*Bilophococcus*) 中, 常见种如向磁磁螺菌 (*M. magnetotacticum*)。这些细菌细胞中含有大小均匀、数目不等的磁小体 (magnetosome), 其成分为 Fe₃O₄ 或 Fe₃S₄, 外有一层磷脂、蛋白或糖蛋白膜包裹, 是单磁畴晶体; 无毒, 大小均匀 (20~100 nm), 每个细胞内有 2~20 颗, 呈链状排列, 颗粒的形状为截角八面体、平行六面体或平行六棱柱体等。其具有导向作用, 借鞭毛游向对该菌最有利的泥、水界面微氧环境处生活。趋磁菌在生产磁性定向药物或抗体, 以及制造生物传感器等方面有一定的应用前景。

(3) 羧酶体

羧酶体 (carboxysome) 又称羧化体, 是存在于一些自养细菌细胞内的多面体内含物。其大小与噬菌体相仿, 直径约 100 nm, 内含 1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶, 在自养细菌的 CO₂ 固定中起着关键作用。在排硫硫杆菌 (*Thiobacillus thioparus*)、那不勒斯硫杆菌 (*T. neapolitanus*)、贝日阿托氏菌属 (*Beggiatoa*)、硝化细菌和一些蓝细菌中均可找到羧酶体。

(4) 气泡

气泡 (gas vacuole) 是存在于许多光合营养型、无鞭毛运动的水生细菌中的一种充满气体的泡囊状内含物, 大小为 (0.2~1.0) μm × 75 nm, 内由数排柱形小空泡组成, 外有 2 nm 厚的蛋白质膜包裹, 功能是调节

细胞密度以使细胞漂浮在最适的水层中获取光能、O₂和营养物质。每个细胞含几个至几百个气泡。如鱼腥藻细菌属 (*Anabaena*)、顶孢蓝细菌属 (*Gloeostrichia*)、盐杆菌属 (*Halobacterium*)、暗网菌属 (*Pelodictyon*) 和红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas*) 的一些种中都有气泡。

3. 拟核

拟核 (nucleoid), 又称核区 (nuclear region, nuclear area)、核质体 (nuclear body)。指原核生物所特有的无核膜结构、无固定形态的原始细胞核。用富尔根 (Feulgen) 染色法染色后, 可见到紫色的形态不定的拟核。大多数原核微生物的染色体是一个大型环状双链 DNA 分子, 有的则由两个或多个大型环状或线形双链 DNA 分子构成。此外, 一些原核微生物还有一个到数个较小的环状 DNA 分子, 称为质粒 (plasmid)。DNA 与少量蛋白结合, 聚集成拟核。每个细胞所含的拟核数一般仅为一个, 但霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 中存在一大一小两个染色体。此外, 拟核数还和细菌的生长速度有关, 一般有 1~4 个相同的染色体复制体。在快速生长的细菌中, 拟核可占细胞总体积的 20%。细菌拟核除在染色体复制的短时间内呈双倍体外, 一般均为单倍体。拟核是细菌负载遗传信息的主要物质基础, 有关内容, 将在第 8 章中详细介绍。

4. 特殊的休眠构造——芽孢

1876 年, 科赫在研究炭疽芽孢杆菌 (*Bacillus anthracis*) 时首先发现了细菌的芽孢。1877 年, 英国学者丁达尔 (J. Tyndall) 证明枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 有两种存在状态, 一种是经过几分钟煮沸就可杀死的状态, 另一种是煮沸几小时都不能使其死亡的状态。同年, 德国学者科恩 (F. Cohn) 又在形态学上证明芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和梭菌属 (*Clostridium*) 的耐热构造是其芽孢。

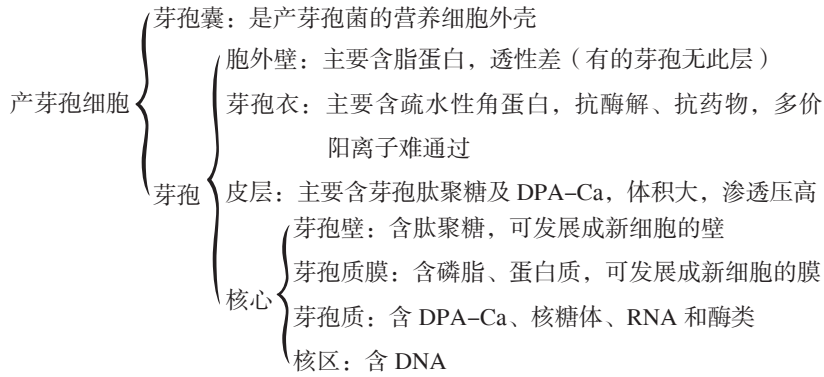
某些细菌在其生长发育后期, 在细胞内形成一个圆形或椭圆形、厚壁、含水量极低、抗逆性极强的休眠体, 称为芽孢 (endospore 或 spore, 偶译“内生孢子”)。由于每一营养细胞内仅生成一个芽孢, 故芽孢无繁殖功能。芽孢是整个生物界中抗逆性最强的生命体之一, 在抗热、抗化学药物、抗辐射和抗静水压等方面, 更是首屈一指。一般细菌的营养细胞不能经受 70℃ 以上的高温, 可是, 它们的芽孢却有惊人的耐高温能力。例如, 肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*) 的芽孢在 100℃ 沸水中要经过 5.0~9.5 h 才能被杀死, 至 121℃ 时, 平均也要 10 min 才被杀死; 热解糖梭菌 (*C. thermosaccharolyticum*) 的营养细胞在 50℃ 下经数分钟即可杀死, 但其芽孢经 132℃、4.4 min 处理才能杀死 90%。芽孢的抗紫外线能力一般是其营养细胞的 2 倍。巨大芽孢杆菌芽孢的抗辐射能力要比大肠杆菌的营养细胞强 36 倍。芽孢的休眠能力更是突出。在其休眠期间, 不能检查出任何代谢活力, 因此称为隐生态 (cryptobiosis)。一般的芽孢在普通条件下可以保持几年至几十年的生活力。但文献中还有许多更突出的记载, 如环状芽孢杆菌 (*B. circulans*) 的芽孢在植物标本上 (英国) 已保存 200~300 年; 一种高温放线菌 (*Thermoactinomyces* sp.) 的芽孢在建筑材料中 (美国) 已保存 2 000 年; 普通高温放线菌 (*T. vulgaris*) 的芽孢在湖底冻土中 (美国) 已保存 7 500 年; 一种芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 在包埋在琥珀内的蜜蜂肠道中 (美国) 已保存了 2 500 万~4 000 万年。

(1) 产芽孢细菌的种类

能产芽孢的细菌属不多, 最主要的是属于革兰氏阳性菌的两个属——好氧性的芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和厌氧性的梭菌属 (*Clostridium*), 球菌中只有芽孢八叠球菌属 (*Sporosarcina*) 产生芽孢, 螺菌中的孢螺菌属 (*Sporospirillum*) 也产芽孢。此外, 还发现少数其他杆菌可以产生芽孢, 如芽孢乳杆菌属 (*Sporolactobacillus*)、脱硫肠状菌属 (*Desulfotomaculum*)、考克斯体属 (*Coxiella*)、鼠孢菌属 (*Sporomusa*) 和高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*) 等。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。

(2) 芽孢的构造

从图 3-17 和以下的表解中可以了解芽孢的细致构造和主要功能。



皮层 (cortex) 在芽孢中占有很大体积 (36% ~ 60%), 内含大量特有的芽孢肽聚糖, 其特点是呈纤维状, 交联度小, 负电荷强, 可被溶菌酶水解。此外, 此层中还含有占芽孢干重 7% ~ 15% 的吡啶二羧酸钙盐 (calcium dipicolinate, DPA-Ca), 但不含磷壁酸。皮层的渗透压可高达 2.03×10^6 Pa (20 个大气压) 左右, 含水量约 70%, 略低于营养细胞 (约 80%), 但比芽孢整体的平均含水量 (40% 左右) 高出许多。芽孢的核心 (core) 又称芽孢原生质体, 由芽孢壁、芽孢质膜、芽孢质和核区 4 部分组成, 它的含水量很低 (10% ~ 25%), 因而特别有利于抗热、抗化学物质 (如 H_2O_2), 并可避免其中酶的失活。除芽孢壁中不含磷壁酸以及芽孢质中含 DPA-Ca 外, 核心中其他成分与一般细胞相似。图 3-18 示芽孢特有的芽孢肽聚糖和 DPA-Ca 的分子构造。

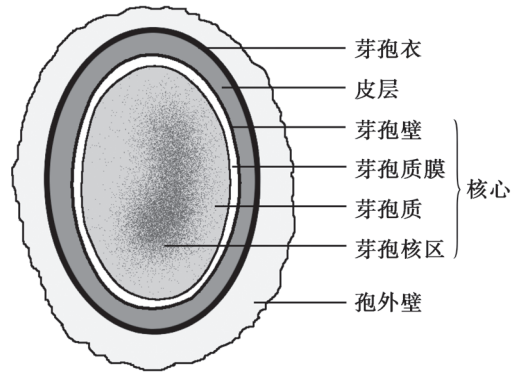


图 3-17 细菌芽孢构造模式图

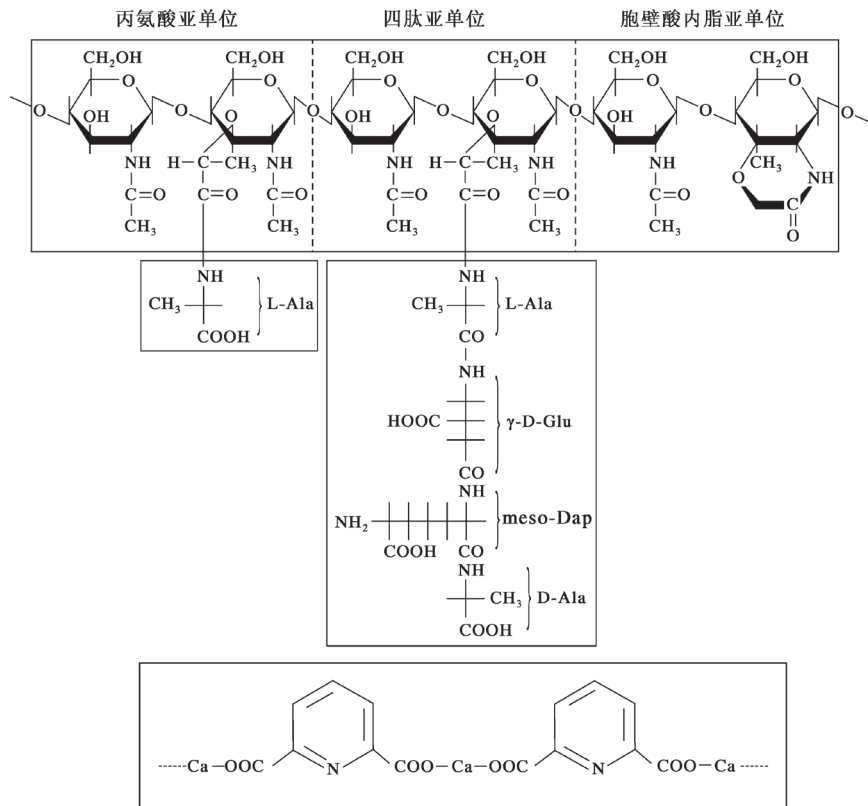


图 3-18 芽孢特有的芽孢肽聚糖 (上) 和 DPA-Ca 的分子构造 (下)

(3) 芽孢形成

产芽孢的细菌当其细胞停止生长及环境中缺乏营养或有害代谢产物积累过多时，就开始形成芽孢。从形态上来看，芽孢形成 (sporulation, sporogenesis) 可分7个阶段 (图 3-19)：① DNA 浓缩，束状染色质形成；② 细胞膜内陷，细胞发生不对称分裂，其中小体积部分即为前芽孢 (forespore)；③ 前芽孢的双层隔膜形成，这时芽孢的抗辐射性提高；④ 上述两层隔膜间充填芽孢肽聚糖后，合成 DPA，积累钙离子，开始形成皮层，再经脱水，使折光率增高；⑤ 芽孢衣合成结束；⑥ 皮层合成完成，芽孢成熟，抗热性出现；⑦ 芽孢囊裂解，芽孢游离外出。在枯草芽孢杆菌中，芽孢形成过程约需 8 h，其中参与的基因约有 200 个。在芽孢形成过程中，伴随着形态变化的还有一系列化学成分和生理功能的变化 (图 3-20)。

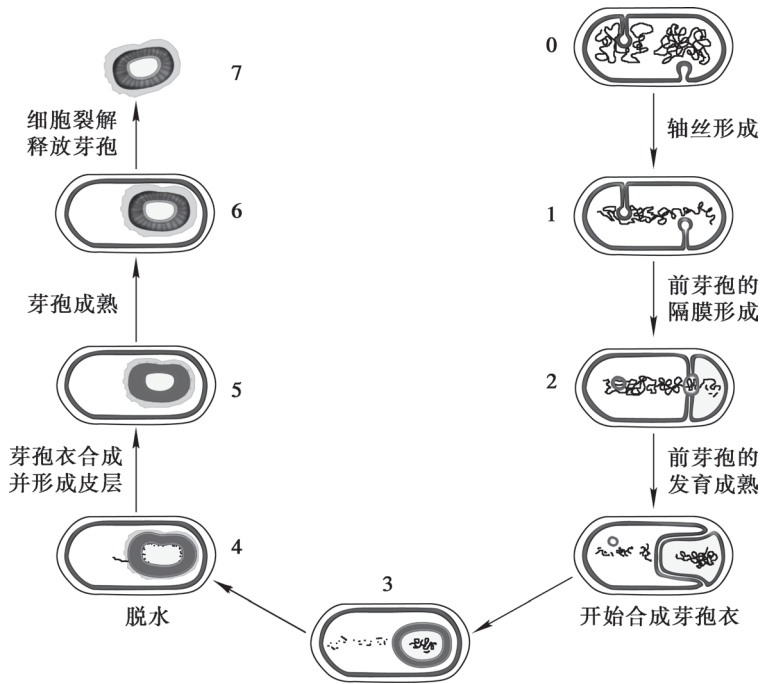


图 3-19 芽孢形成的7个阶段

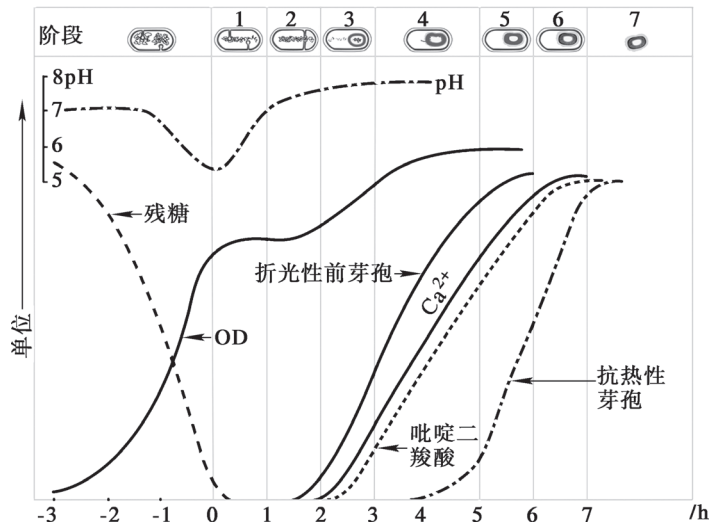


图 3-20 好氧芽孢杆菌在芽孢形成过程中的形态与生理变化

(4) 芽孢萌发

由休眠状态的芽孢变成营养状态细菌的过程,称为芽孢萌发(germination),它包括活化(activation)、出芽(germination)和生长(outgrowth)3个阶段。在人为条件下,活化作用可由短期热处理或用低pH、强氧化剂的处理而引起。例如,枯草芽孢杆菌的芽孢经7d休眠后,用60℃处理5min即可促进其发芽。当然也有要用100℃加热10min才能促使活化的芽孢。由于活化作用是可逆的,故处理后必须及时将芽孢接种到合适的培养基中去。有些化学物质可显著促进芽孢的萌发,称作萌发剂(germinants),如L-丙氨酸、Mn²⁺、表面活性剂(*n*-十二烷胺等)和葡萄糖等。相反,D-丙氨酸和碳酸氢钠等则会抑制某些细菌芽孢的发芽。发芽的速度很快,一般仅需几分钟。这时,芽孢衣中富含半胱氨酸的蛋白质的三维空间结构发生可逆性变化,使芽孢的透性增加,随之促进与发芽有关的蛋白酶活动。接着,芽孢衣上的蛋白质逐步降解,外界阳离子不断进入皮层,于是皮层发生膨胀、溶解和消失。最后外界的水分不断进入芽孢的核心部位,使核心膨胀,各种酶类活化,并开始合成细胞壁。在发芽过程中,为芽孢所特有的耐热性、光密度和折射率等特性都逐步下降,DPA-Ca、氨基酸和多肽逐步释放,核心中含量较高的可防止DNA损伤的小酸溶性芽孢蛋白(small acid-soluble spore protein, SASP)迅速减少,接着就开始其生长阶段。这时,芽孢核心部分开始迅速合成新的DNA、RNA和蛋白质,出现了发芽并很快转变成新的营养细胞。当芽孢发芽时,芽管可以从极向或侧向伸出,这时,它的细胞壁还是很薄甚至是不完整的,因此,出现了很强的感受态(competence)——接受外来DNA而发生遗传转化的可能性增强了,这一特性有利于某些研究或遗传育种工作。有关芽孢和营养细胞特点的比较可见表3-3。

表3-3 营养细胞和芽孢特点比较

特 点	营养细胞	芽 孢
外形	一般为杆状	球状或椭圆状
外包被层次	少	多
折光率	差	强
含水量	高(80%~90%)	低(核心为10%~25%)
染色性能	良好	极差
含Ca量	低	高
含DPA	无	有
含SASP	无	有
含mRNA量	高	低或无
细胞质pH	约7	5.5~6.0(核心)
酶活性	高	低
代谢活力	强	接近0
大分子合成	强	无
抗热性	弱	极强
抗辐射性	弱	强
抗酸或化学药剂	弱	强
对溶菌酶	敏感	抗性
保藏期	短	长或极长

(5) 芽孢的耐热机制

关于芽孢耐热的本质至今尚无公认的解释。G. W. Gould 和 G. J. Dring 于 1975 年提出的渗透调节皮层膨胀学说 (osmoregulatory expanded cortex theory) 有一定的说服力。该学说认为, 芽孢的耐热性在于芽孢衣对于多价阳离子和水分的透性差和皮层的离子强度很高, 使皮层产生极高的渗透压去夺取芽孢核心中的水分, 造成皮层充分膨胀, 而核心部分的细胞质却变得高度脱水, 最终导致核心具有极强的耐热性。从皮层成分看, 它含有大量交联度低 (约 6%)、负电荷强的芽孢肽聚糖, 它与低价阳离子一起赋予皮层的高渗透压特性, 从而使皮层的含水量增高, 随之体积增大 (图 3-21)。由此可知, 芽孢整体的含水量少, 并不说明其各层次的含水量都很少, 其中皮层与核心间的差别是极其明显的。芽孢有生命部位——核心部位含水量稀少 (10% ~ 25%), 才是其耐热机制的关键所在。

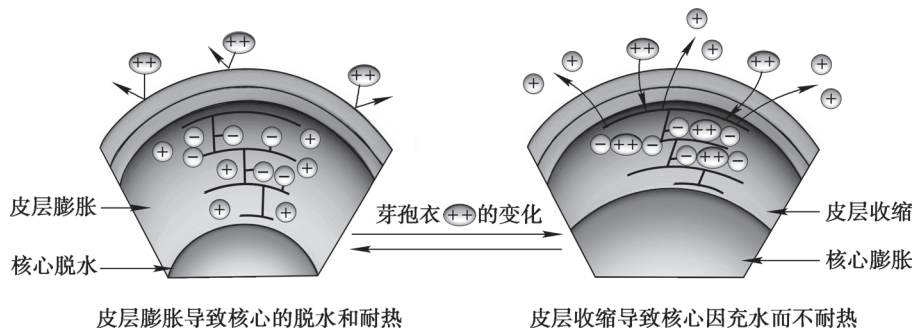


图 3-21 芽孢皮层的膨胀与收缩的图示

除渗透调节皮层膨胀学说外, 还有一些别的学说试图解释芽孢的高度耐热机制。例如, 针对在芽孢形成过程中会合成大量的为营养细胞所没有的 DPA-Ca, 不少学者提出, Ca^{2+} 与 DPA 的螯合作用会使芽孢中的生物大分子形成一种稳定而耐热性强的凝胶; 还有学者认为, 芽孢中独特的小分子酸性芽孢蛋白因可与 DNA 紧密结合, 也可保护它免受射线和化学物质的危害。总之, 芽孢耐热机制涉及多方面因素, 是一个重要的有待进一步深入研究的基础理论问题。

(6) 研究芽孢的意义

芽孢是细菌分类、鉴定中的重要形态学指标。由于芽孢具有高度耐热性, 所以用高温处理含菌试样, 可轻而易举地提高芽孢产生菌的筛选效率。芽孢的休眠期特别长, 为产芽孢菌的长期保藏带来了极大的方便。由于芽孢具有高度耐热性和其他抗逆性, 因此, 是否能消灭一些代表菌的芽孢是衡量各种消毒灭菌手段的最重要指标。例如, 肉类易污染产芽孢的肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*), 该菌繁殖后会产生极毒的肉毒毒素, 危害人体健康。为此, 食品加工厂在对肉类罐头进行灭菌时, 应在 121°C 下维持 20 min 以上确保完全消灭芽孢。在外科器材灭菌中, 常以有代表性的产芽孢菌——破伤风梭菌 (*C. tetani*) 和产气荚膜梭菌 (*C. perfringens*) 这两种严重致病菌的芽孢耐热性作为灭菌程度的依据, 即要在 121°C 灭菌 10 min 或 115°C 下灭菌 30 min 才可。在发酵工业中, 经常会遇到耐热性强的嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*) 的污染, 造成严重的损失。已知其芽孢至少要在 121°C 下维持 12 min 才能被杀死, 由此就规定了工业培养基和发酵设备的灭菌至少要在 121°C 下保证维持 15 min 以上。若用热空气进行干热灭菌, 则芽孢的耐受性更高, 因此, 就规定干热灭菌的温度必须在 $150 \sim 160^{\circ}\text{C}$, 并维持 1 ~ 2 h。

(7) 伴孢晶体

少数芽孢杆菌, 例如苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 在形成芽孢的同时, 会在芽孢旁形成一颗菱形或双锥形的碱性蛋白晶体—— δ 内毒素, 称为伴孢晶体 (parasporal crystal)。它的干重可达芽孢囊重的 30% 左右, 由 18 种氨基酸组成。由于伴孢晶体对 200 多种昆虫尤其是鳞翅目的幼虫有毒杀作用, 因此这

类产伴孢晶体的细菌可以用作有利于环境保护的生物农药——细菌杀虫剂, 而 δ 内毒素基因还广泛用来构建各种抗虫转基因植物, 有助于减少化学农药的使用。有的苏云金芽孢杆菌除产生上述毒素外, 还会产生 3 种外毒素 (α 、 β 、 γ) 和其他杀虫毒素。

(8) 细菌的其他休眠构造

细菌的休眠构造除上述的芽孢外, 还有胞囊 (cyst, 由固氮菌产生)、黏液孢子 (myxospore, 由黏球菌产生)、蛭胞囊 (bdello cyst, 由蛭弧菌产生) 和外生孢子 (exospore, 由嗜甲基细菌和红微菌产生) 等等。胞囊是固氮菌 (*Azotobacter*) 尤其是棕色固氮菌 (*A. vinelandii*) 等少数细菌在营养缺乏的条件下, 由营养细胞的外壁加厚、细胞失水而形成的一种抗干旱但不抗热的圆形休眠体, 一个营养细胞仅形成一个胞囊, 因此与芽孢一样, 也没有繁殖功能。胞囊在适宜的外界条件下, 可发芽和重新进行营养生长。有关胞囊的特性及其与芽孢的比较可见表 3-4。

网上学习 3-2 芽孢形成过程的群体调控



表 3-4 芽孢与胞囊的比较

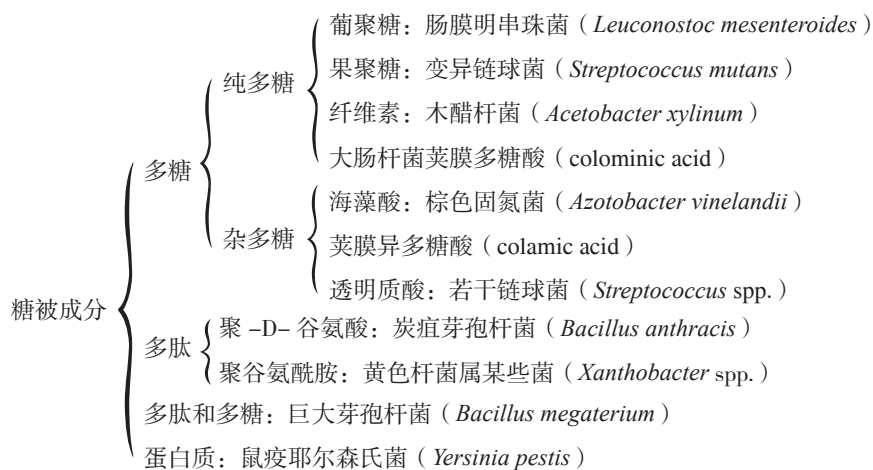
特 点	芽 孢	胞 囊
形成方式	在细胞内浓缩后再外包	整个细胞变圆, 外层加厚
外壁层次	4 层以上	3 层左右
外壁成分	蛋白质、肽聚糖 (近 G^+ 菌)	磷脂、脂多糖 (近 G^- 菌)
抗性	强, 抗热、辐射及药物等	抗干旱, 稍抗热及紫外线
贮藏物	无特殊贮藏物	有 PHB 贮藏
代表菌	芽孢杆菌属, 梭菌属	固氮菌属, 黏细菌等

三、细胞壁以外的构造

在某些原核生物的细胞壁外, 会着生一些特殊的附属物, 包括糖被、S 层、鞭毛、菌毛和性毛等。

1. 糖被

包被于某些细菌壁外的一层厚度不定的胶状物质, 称为糖被 (glycocalyx)。糖被的有无、厚薄除与菌种的遗传背景相关外, 还与环境 (尤其是营养) 条件密切相关。糖被主要可以分为荚膜 (capsule) 和黏液层 (slime layer) 两类。荚膜是常见的一种糖被, 其与细胞壁结合紧密, 含水量很高, 经脱水和特殊染色后可在光学显微镜下看到。在一般实验室中, 可利用荚膜能排斥细微碳粒的特点而方便地用碳素墨水对产荚膜菌进行负染色 (又称背景染色), 以便在光学显微镜下清楚地观察到它的存在。黏液层结构疏松, 且不能排斥碳粒, 故不能用这种负染色法染色。糖被的主要成分是多糖、多肽或蛋白质, 尤以多糖居多。少数细菌如黄色杆菌属 (*Xanthobacter*) 的菌种既具有 α - 聚谷氨酰胺荚膜, 又有含大量多糖的黏液层。这种黏液层无法通过离心沉淀, 有时甚至将培养容器倒置时, 呈凝胶状的培养基仍不会流出。糖被的主要成分及其代表菌表解如下:



糖被的功能有: ① 保护作用, 其上大量极性基团可保护菌体免受干旱损伤; 可防止噬菌体的吸附和感染; 一些动物致病菌的荚膜还可以保护它们免受宿主白细胞的吞噬。例如, 有荚膜的肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 就更易引起人的肺炎。又如, 肺炎克雷伯氏菌 (*Kelbsiella pneumoniae*) 的荚膜既可使其黏附于人体呼吸道并定殖, 又可防止白细胞的吞噬。② 贮藏养料, 以备营养缺乏时重新利用, 如黄色杆菌的荚膜等。③ 作为透性屏障或(和)离子交换系统, 可保护细菌免受重金属离子的毒害。④ 表面附着作用促进生物被膜的形成, 例如唾液链球菌 (*Streptococcus salivarius*) 和变异链球菌 (*S. mutans*) 分泌一种己糖转移酶, 使蔗糖转变成果聚糖, 它可使细菌牢牢黏附于牙齿表面, 这些细菌发酵糖类产生的乳酸, 可腐蚀牙表珐琅质层, 引起龋齿; 某些水生丝状细菌的鞘衣状荚膜也有附着作用。⑤ 细菌间的信息识别作用, 如根瘤菌属 (*Rhizobium*)。⑥ 堆积代谢废物。

细菌糖被在科学研究和生产实践中也有重要的应用。糖被的有无及其性质的不同可用于菌种的鉴定, 例如某些具有难以观察到的微荚膜的致病菌, 只要用极为灵敏的血清学反应即可鉴定。在制药工业和试剂工业中, 人们从肠膜明串珠菌的糖被中提取葡聚糖以制备“代血浆”或葡聚糖生化试剂(如“Sephadex”); 利用野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 的黏液层可提取十分有用的胞外多糖——黄原胶(xanthan或Xc, 又称黄杆菌胶, 图3-22), 它可用于石油开采中的钻井液添加剂, 也可用于印染、食品等工业中。产生糖被的细菌在污水的微生物处理中具有分解、吸附和沉降有害物质的作用。当然, 有些细菌的糖被也可对人类带来不利的影响。

2. S层

S层(S layer)是一层包围在原核生物细胞壁外、由大量蛋白质或糖蛋白亚基以方块形或六角形方式排列的连续层, 类似于建筑物中的地砖。有的学者认为S层是糖被的一种。在革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和古菌中都可找到S层结构。例如, 常见的细菌有芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、梭菌属 (*Clostridium*)、乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*)、棒杆菌属

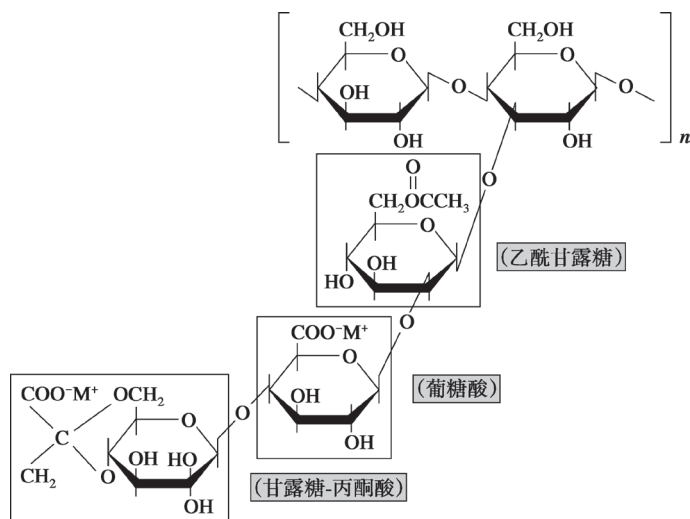


图3-22 黄原胶的分子构造 (M^+ 为 Na^+ 、 K^+ 或 $1/2Ca^{2+}$)

网上学习 3-3

细菌糖被与生物被膜



(*Corynebacterium*)、弯曲菌属 (*Campyrobacter*)、异常球菌属 (*Deinococcus*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、水螺菌属 (*Aquaspirillum*)、密螺旋体属 (*Treponema*) 以及一些蓝细菌等。

S层与细胞壁表面的结合方式在不同的菌中有所不同。在革兰氏阳性菌中, S层一般结合在肽聚糖层表面。在革兰氏阴性菌中, S层一般都直接黏合在细胞壁的外膜上。而在有些古菌中, S层可直接紧贴于细胞质膜外, 由它取代了细胞壁。

3. 鞭毛

生长在某些细菌体表的长丝状、波曲形的蛋白质附属物, 称为鞭毛 (flagellum, 复 flagella), 其数目为一至数十根, 具有运动功能。至今所知道的细菌中, 约一半种类有运动能力, 而鞭毛是最重要的运动结构。

(1) 原核生物的典型鞭毛

原核生物鞭毛的长度一般为 15~20 μm , 直径为 0.01~0.02 μm 。观察鞭毛最直接的方法是用电子显微镜。用特殊的鞭毛染色法使染料沉积在鞭毛上, 加粗后的鞭毛也可用光学显微镜观察。在暗视野中, 对水浸片或悬滴标本中运动着的细菌, 也可根据其运动方式判断它们是否具有鞭毛。在下述两种情况下, 单凭肉眼观察可初步推断某细菌是否存在鞭毛: ① 在半固体 (0.3%~0.4% 琼脂) 直立柱中用穿刺法接种某一细菌, 经培养后, 若在穿刺线周围有呈混浊的扩散区, 说明该菌具有运动能力, 并可推测其长有鞭毛, 反之, 则无鞭毛; ② 根据平板培养基上的菌落外形也可推断它有无鞭毛, 一般地说, 如果该菌长出的菌落形状大, 薄且不规则, 边缘极不圆整, 说明该菌运动能力很强, 反之, 若菌落外形圆整, 边缘光滑, 厚度较大, 则说明它是无鞭毛的细菌。

原核生物 (包括古菌) 的鞭毛由基体、钩形鞘和鞭毛丝 3 部分组成。革兰氏阳性菌和阴性菌在基体的构造上稍有区别。革兰氏阴性菌的鞭毛最为典型, 现以大肠杆菌的鞭毛为例。① 基体 (basal body), 由 4 个盘状物即环 (ring) 组成, 最外层的 L 环连在细胞壁最外层的外膜上, 接着是连在肽聚糖内壁层的 P 环, 第三个是靠近周质空间的 S 环, 它与第四个环即 M 环连在一起称 MS 环或内环, 共同嵌埋在细胞质膜和周质空间上。MS 环十分类似于马达的转子, 它被十多个绕成一圈的相当于马达定子的 Mot 蛋白包围, 由 Mot 蛋白中的跨膜质子通道引导膜外的质子流入膜内, 从而驱动 MS 环快速旋转。在 MS 环基部是 Fli 蛋白, 它是鞭毛马达的键钮, 可依据细胞提供的信号, 指令鞭毛的正向或逆向旋转。与之相连的是位于细胞质中的 C 环。C 环由 FliM 和 FliN 蛋白构成这一精致、超微型的鞭毛马达, 其能量来自细胞膜内外的质子梯度或质子动势 (proton motive potential, proton motive force)。据计算, 鞭毛旋转一周约需消耗 1 000 个质子动势。② 钩形鞘 (hook, 即鞭毛钩), 连接鞭毛丝和基体的构造, 弯形, 可作 360° 旋转, 使鞭毛加大运动幅度。钩形鞘的直径约为 17 nm, 比鞭毛丝略宽, 由 120 个蛋白亚基组成。③ 鞭毛丝 (filament), 由许多直径为 4.5 nm 的鞭毛蛋白 (flagellin) 亚基沿着直径为 20 nm 的中央孔道螺旋状排列而成, 每周为 8~10 个亚基。鞭毛丝末端有一冠蛋白 (或称封盖蛋白)。鞭毛蛋白是一种球状或卵圆状蛋白, 相对分子质量为 30 000~60 000。它在细胞质内靠近鞭毛基体的核糖体上合成, 由鞭毛基部通过中央孔道输送到鞭毛的游离端进行自装配。因此, 鞭毛的形成方式是在其顶部延伸而非基部延伸。据研究, 鞭毛的合成和行使运动功能需要 40 余个基因的协调控制, 重要的如 *fla*、*fli* 和 *flg* 等。少数细菌, 如霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 和蛭弧菌 (*Bdellovibrio* sp.) 的鞭毛被一层膜或鞘包裹, 如蛭弧菌鞭毛就被一层脂多糖鞘包裹着。图 3-23 为革兰氏阴性菌鞭毛构造的模式图。

革兰氏阳性菌的鞭毛构造较为简单, 例如, 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的鞭毛基体仅有 S 和 M 两个环, 而鞭毛丝和钩形鞘则与革兰氏阴性菌相同。

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。有关鞭毛运动的机制曾有过“旋转论” (rotation theory) 和“挥鞭论” (bending theory) 的争议。1974 年, 美国学者西佛曼 (M.

Silverman) 和西蒙 (M. Simon) 曾设计了一个“拴菌”实验 (tethered-cell experiment), 设法把单毛菌鞭毛的游离端用相应抗体牢牢“拴”在载玻片上, 然后在光学显微镜下观察细胞的行为。结果发现, 该菌是在载玻片上不断打转 (而非伸缩挥动), 从而肯定了“旋转论”是正确的。鞭毛菌的运动速度极快, 例如, 螺菌鞭毛转速可达 40 周/s, 超过一般电动机的转速。端生鞭毛菌的运动速度明显高于周生鞭毛菌。一般速度在 20 ~ 80 μm/s, 最高可达 100 μm/s, 即每分钟移动距离达体长的 3 000 倍, 超过了陆上跑得最快的动物——猎豹 (每分钟 1 500 倍体长, 或 110 km/h)。

在各类细菌中, 弧菌、螺菌类普遍都有鞭毛。杆状细菌中约有一半种类长有鞭毛, 其中的假单胞菌类都长有端生鞭毛, 其他的有的着生周生鞭毛, 有的没有。球菌中, 仅个别的属, 例如动球菌属 (*Planococcus*) 的种才长鞭毛。鞭毛在细胞表面的着生方式多样, 主要有单端鞭毛菌 (monotricha)、端生丛毛菌 (lophotricha)、两端鞭毛菌 (amphitricha) 和周毛菌 (peritricha) 等几种。列举如下:

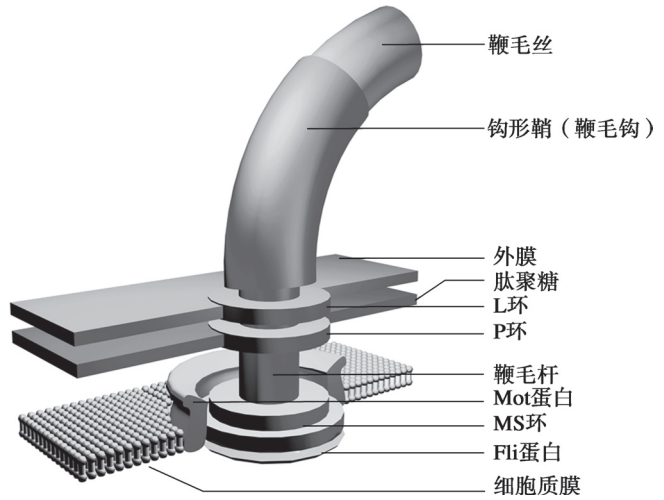


图 3-23 革兰氏阴性菌的鞭毛构造



鞭毛的有无和着生方式在细菌的分类和鉴定中是一项十分重要的形态学指标。特别对于致病性的革兰氏阴性菌来说, 位于细胞表面的鞭毛, 与 LPS 一起构成了细菌的两个最主要的抗原。鞭毛蛋白变化多, 大肠杆菌共有 56 种不同的鞭毛血清型。临床上把鞭毛血清型 (称为 H- 抗原) 和 LPS 的 O- 抗原血清型 (大肠杆菌中有 180 多种) 共同作为确定菌株的指标, 用于菌株的检测和跟踪, 如, 近年在世界范围内经常引起流行和死亡的大肠杆菌 O157: H7。

(2) 螺旋体的周质鞭毛

与大多数细菌的游离型鞭毛不同, 在螺旋体细胞的表面, 长有独特的固定型鞭毛, 称为周质鞭毛 (periplasmic flagella) 或称轴丝 (axial filaments)。一般每个细胞长有两条, 例如, 齿密螺旋体 (*Treponema denticola*) 等, 少数种也有长着近百条周质鞭毛的。这两条成对着生的鞭毛, 其一端都着生在细胞的一端上, 随后以螺旋方式缠绕在细胞上, 一般仅达细胞全长的大半; 细胞的另一端着生有另一对鞭毛, 并沿着相对方向缠绕。两对鞭毛在细胞中部会合。这两对周质鞭毛都被细胞壁的外膜层覆盖着 (图 3-24)。

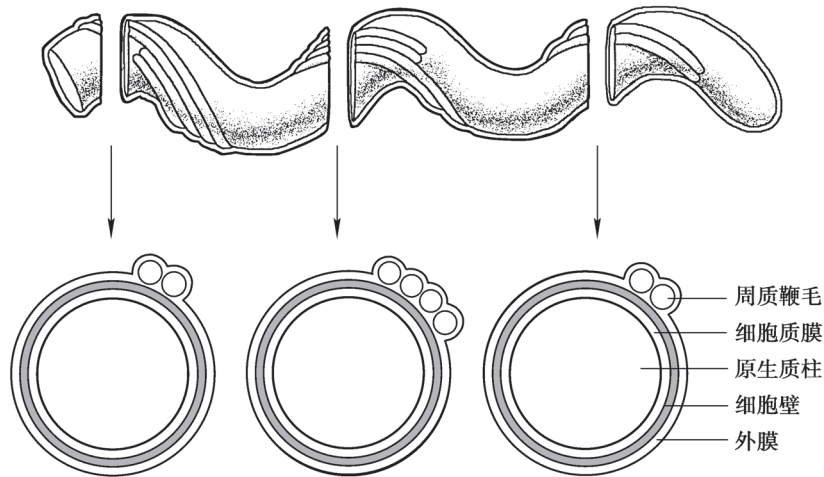


图 3-24 螺旋体的周质鞭毛及其 3 处横切面 (模式图)

周质鞭毛的运动机制可能是：通过鞭毛的快速旋转，使细胞表面的螺旋凸纹不断伸缩移动，由此推动细胞作拔塞钻状快速前进。这一独特的运动方式，对生活在污泥或动物黏膜表面等半固态环境中的螺旋体，提供了良好的适应性。

4. 菌毛

菌毛 (fimbria, 复数 fimbriae) 曾有多种译名 (纤毛, 伞毛, 线毛或须毛等), 是一种长在细菌表面的纤细、中空、短直、数量较多的蛋白质类附属物, 具有使菌体附着于物体表面的功能。它的结构较鞭毛简单, 无基体等复杂构造。它着生于细胞膜上, 穿过细胞壁后伸展于细菌表面 (全部或仅两端), 直径 3~10 nm, 长度可达数微米。由许多菌毛蛋白 (pilin) 亚基围绕中心作螺旋状排列, 呈中空管状。每个细菌有 250~300 条菌毛。有菌毛的细菌一般以革兰氏阴性致病菌居多, 借助菌毛可把它们牢固地黏附于宿主的呼吸道、消化管、泌尿生殖道等的黏膜上, 进一步定殖致病, 有的种类还可使同种细胞相互粘连而形成浮在液体表面上的菌簇等群体结构。淋病的病原菌——淋病奈瑟氏菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 长有大量的菌毛, 它们可把菌体牢牢黏附在患者的泌尿生殖道的上皮细胞上, 尿液无法冲掉它们, 待其定殖、生长后, 就会引起严重的性病。

- 试图示革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁的主要构造, 并简要说明它们的异同。
- 试图示肽聚糖单体的模式构造, 并比较革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌在此构造上的差别。
- 什么是抗酸细菌, 其细胞壁的成分和构造有何独特之处?
- 古菌的细胞壁有什么特点?
- 试图示并简要说明细菌鞭毛的构造和各部分的功能。
- 研究细菌芽孢有何理论和实践意义?

5. 性毛

性毛 (pili, 单数 pilus) 又称性菌毛 (sex-pili 或 F-pili) 或接合性毛 (conjugative pili), 构造和成分与菌毛相同, 但比菌毛长, 较粗 (直径为 9~10 nm), 数量仅一至几根。性毛一般见于革兰氏阴性菌的雄性菌株 (即供体菌) 中, 其功能是向雌性菌株 (即受体菌) 传递遗传物质。有的性毛还是 RNA 噬菌体的特异性吸附受体。

第二节 真核微生物

凡是细胞核具有核膜，细胞能进行有丝分裂，细胞质中存在线粒体或同时存在叶绿体等细胞器的生物，称为真核生物（eukaryote）。微生物中的真菌、显微藻类、原生动物以及地衣均属于真核生物。真核细胞与原核细胞相比，其形态更大，结构更为复杂。真核生物的细胞质中有许多由膜包围着的细胞器（organelle），如内质网、高尔基体、溶酶体、微体、线粒体和叶绿体等，更为重要的是，它们有由核膜包裹着的完整的细胞核，其中存在着构造极其精巧的染色体，它的双链 DNA 长链与组蛋白和其他蛋白密切结合，以更完善地执行生物的遗传功能。真核生物与原核生物之间的差别列在表 3-5 中。

表 3-5 真核生物与原核生物的比较

比较项目		真核生物	原核生物
细胞大小		较大（通常直径 $> 2 \mu\text{m}$ ）	较小（通常直径 $< 2 \mu\text{m}$ ）
若有壁，其主要成分		纤维素，几丁质等	多数为肽聚糖
细胞膜中甾醇		有	无（仅支原体例外）
细胞膜含呼吸或光合组分		无	有
细胞器		有	无
鞭毛结构		如有，则粗而复杂（9+2 型）	如有，则细而简单
细胞质	线粒体	有	无
	溶酶体	有	无
	叶绿体	光合自养生物中有	无
	真液泡	有些有	无
	高尔基体	有	无
	微管系统	有	锥形
	流动性	有	无
	核糖体	80 S（指细胞质核糖体）	70 S
	间体	无	部分有
	贮藏物	淀粉、糖原等	PHB 等
细胞核	核膜	有	无
	DNA 含量	低（约 5%）	高（约 10%）
	组蛋白	有	少
	核仁	有	无
	染色体数	一般 > 1	一般为 1
	有丝分裂	有	无
	减数分裂	有	无
生理特性	氧化磷酸化部位	线粒体	细胞膜
	光合作用部位	叶绿体	细胞膜
	生物固氮能力	无	常见
	专性厌氧生活	罕见	常见
	化能合成作用	无	有些有
鞭毛运动方式	挥鞭式	旋转马达式	
遗传重组方式	有性生殖、准性生殖等	转化、转导、接合等	
繁殖方式	有性、无性等多种	一般为无性（二等分裂）	

一、细胞壁

具有细胞壁的真核微生物主要是真菌（包括酵母菌、丝状真菌、蕈菌）和藻类。

1. 真菌的细胞壁

真菌细胞壁的主要成分是多糖，另有少量的蛋白质和脂质。多糖构成了细胞壁中有形的微纤维与无定形基质（matrix）的物质基础。微纤维部分似建筑物中的钢筋，都是单糖的 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 聚合物，可使细胞壁保持坚韧；基质似混凝土等充填物，包括甘露聚糖、 $\beta(1 \rightarrow 6)$ 和 $\beta(1 \rightarrow 3)$ 葡聚糖以及少量蛋白质。许多研究发现，不同的真菌，其细胞壁所含多糖的种类也不同，低等真菌以纤维素为主，酵母菌中以葡聚糖为主，而发展至高等陆生真菌时，则以几丁质（chitin）为主（表3-6）。

表 3-6 不同分类地位真菌的细胞壁多糖

真菌的分类地位	细胞壁多糖	代表菌
集孢黏菌目	纤维素，糖原	盘基网柄菌（ <i>Dictyostelium discoideum</i> ）
卵菌亚纲	纤维素，葡聚糖	德巴利腐霉（ <i>Pythium debaryanum</i> ）
丝壶菌纲	纤维素，几丁质	某种根前毛菌（ <i>Rhizidiomyces</i> sp.）
接合菌亚纲	几丁质，壳多糖	鲁氏毛霉（ <i>Mucor rouxianus</i> ）
子囊菌纲	葡聚糖，甘露聚糖	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）
半知菌纲	葡聚糖，甘露聚糖	产朊假丝酵母（ <i>Candida utilis</i> ）
担子菌纲	几丁质，甘露聚糖	红掷孢酵母（ <i>Sporobolomyces roseus</i> ）
毛菌纲	半乳聚糖，聚半乳糖胺	寄生变形毛菌（ <i>Amoebidium parasiticum</i> ）
子囊菌纲	几丁质，葡聚糖	粗糙脉孢菌（ <i>Neurospora crassa</i> ）
担子菌纲	同上	群集裂褶菌（ <i>Schizophyllum commune</i> ）
半知菌纲	同上	黑曲霉（ <i>Aspergillus niger</i> ）
壶菌纲	同上	某种异水霉（ <i>Allomyces</i> sp.）

即使是同一种真菌，在其不同的生长阶段，细胞壁的成分也会出现明显的变化，且与其功能和进化历史相关，例如，鲁氏毛霉（*Mucor rouxianus*）细胞壁的几丁质含量在孢囊孢子中仅2%，至酵母型阶段含8%，菌丝型阶段为9%，而在孢囊梗中则含有18%。真核微生物细胞壁的功能与原核微生物类似，具有固定外形、保护细胞免受各种外界因子（渗透压、病原微生物等）损伤等功能。

（1）酵母菌的细胞壁

酵母菌细胞壁的厚度为25~70 nm，质量约占细胞干重的25%，主要成分为葡聚糖、甘露聚糖、蛋白质和几丁质（总共超过90%），另有少量脂质。它们在细胞壁上自外至内的分布次序是甘露聚糖、蛋白质、葡聚糖（图3-25）。葡聚糖（glucan）位于细胞壁的内层，是赋予酵母细胞机械强度的主要物质基础。它分为两类，一类占含量的85%，相对分子质量为240 000，为 $\beta(1 \rightarrow 3)$ 葡聚糖，呈长扭曲的链状；另一类为含量较低、呈分支的网状分子，是以 $\beta(1 \rightarrow 6)$ 方式连接的葡聚糖。甘露聚糖（mannan）是甘露糖分子以 $\beta(1 \rightarrow 6)$ 相连的分支状聚合物，位于细胞壁外侧；若把它去除后，细胞仍维持正常形态。蛋白质夹在葡聚糖和甘露聚糖中间，呈三明治状，它常与甘露聚糖通过共价结合形成复合物。蛋白质含量一般仅为甘露聚糖的

1/10。它们除少数为结构蛋白外，多数是起催化作用的酶，如葡聚糖酶、甘露聚糖酶、蔗糖酶、碱性磷脂酶等。几丁质在酵母细胞壁中的含量很低，仅在其形成芽体时合成，然后分布于芽痕周围。与真菌细胞壁密切相关的4种糖的结构见图3-26。

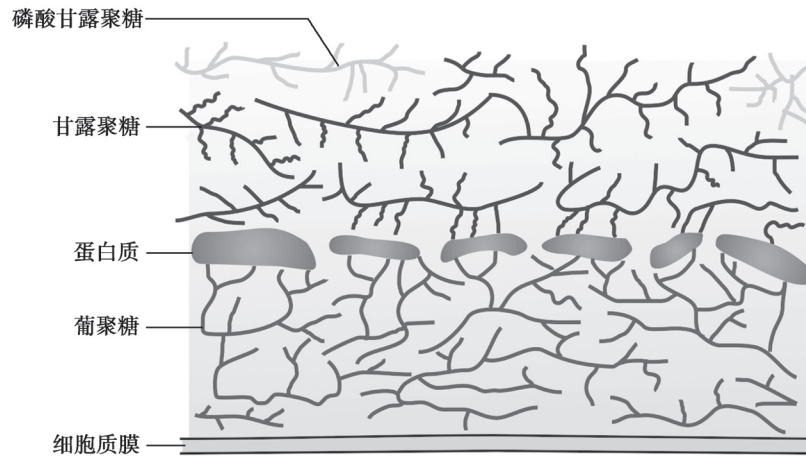


图 3-25 酵母细胞壁中几种主要成分的排列

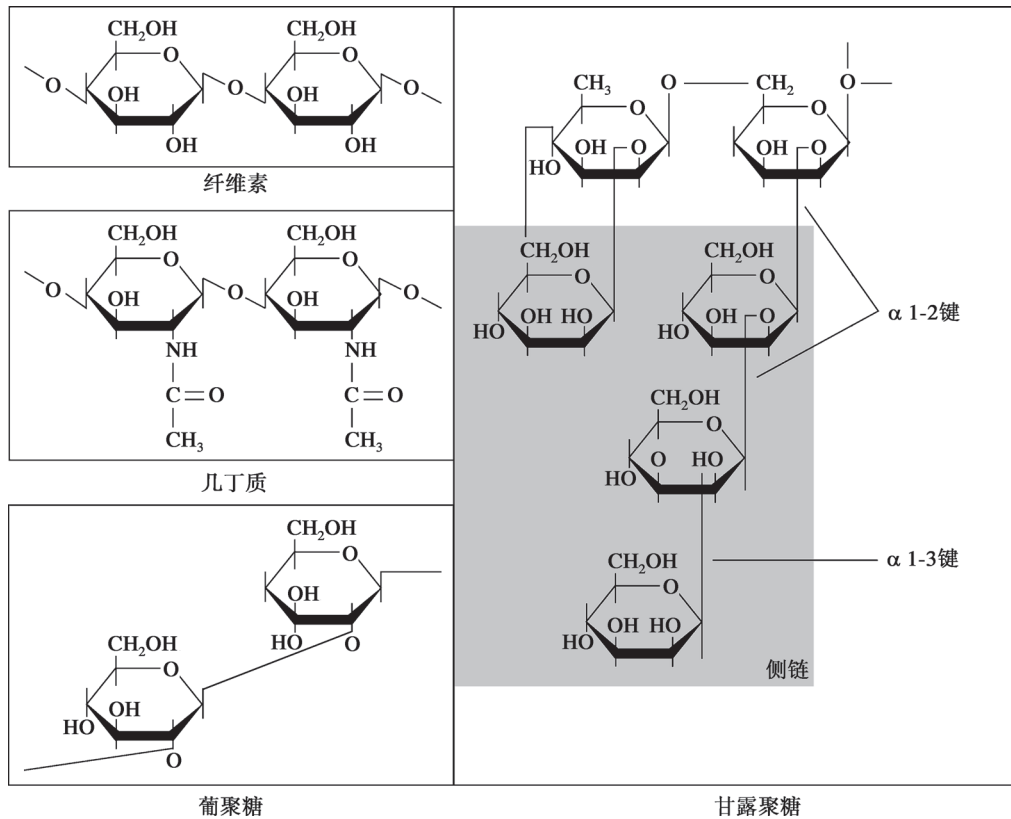


图 3-26 纤维素、几丁质、葡聚糖和甘露聚糖的结构

不同种、属酵母菌的细胞壁成分差异也很大，且并非所有酵母菌都含有甘露聚糖。例如，点滴酵母 (*Saccharomyces guttulatus*) 和荚膜内孢霉 (*Endomyces capsulata*) 的细胞壁成分以葡聚糖为主，只含少量甘

露聚糖；一些裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces* spp.) 则仅含葡聚糖而不含甘露聚糖，取代甘露聚糖的是含量较多的几丁质。

(2) 丝状真菌的细胞壁

以研究得较多的粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 为例，其最外层由 $\beta(1 \rightarrow 3)$ 和 $\beta(1 \rightarrow 6)$ 无定形葡聚糖组成 (厚度为 87 nm)；接着是由糖蛋白组成的、嵌埋在蛋白质基质层中的粗糙网 (厚 49 nm)；再下为蛋白质层 (厚 9 nm)；最内层的壁由放射状排列的几丁质微纤维组成 (厚 18 nm) (图 3-27)。

2. 藻类的细胞壁

藻类细胞壁的厚度一般为 10~20 nm，也有更薄的，如蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidis*) 的壁仅为 3~5 nm。其结构骨架多由纤维素组成，占干重的 50%~80%，以微纤丝的方式成层状排列，其余为间质多糖。间质多糖在多细胞的大型藻类 (不属于微生物) 中特别发达，其主要成分是杂多糖，还含少量蛋白质和脂质。杂多糖的具体种类随种而异，例如：① 在褐藻中是

褐藻酸 (alginate)，它由

D-甘露糖醛酸和 L-葡萄糖醛酸聚合而成；② 在岩藻中是岩藻素 (fucoidin)，它是硫酸酯化的 L-岩藻糖的聚合物；③ 在红藻——石花菜属 (*Gelidium*) 中是琼脂，它是半乳糖和 3,6-脱水半乳糖的聚合物，经提取后制成的产品在微生物培养基的制造和食品工业等领域中有着广泛的用途；④ 在小球藻中主要是半乳糖和鼠李糖通过 β -糖苷键连接的多聚体；等等。

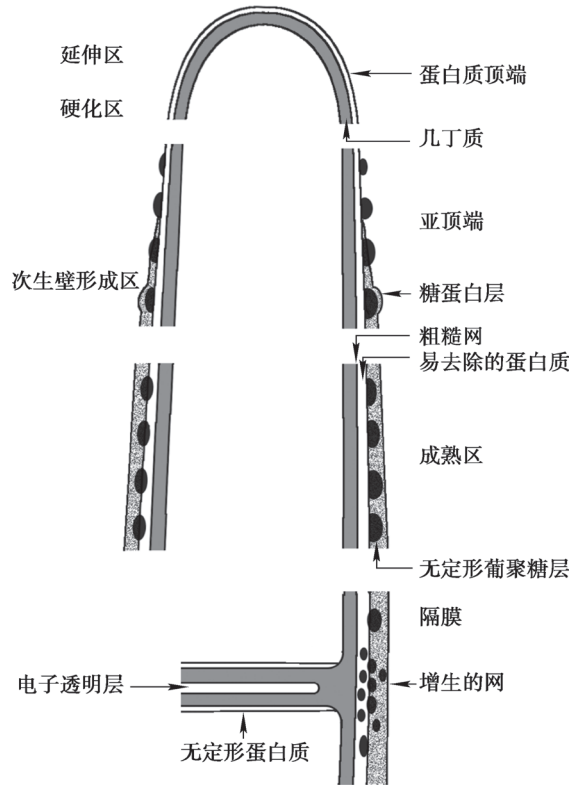


图 3-27 粗糙脉孢菌菌丝的细胞壁构造

网上学习 3-4

产生巨大压力的真菌附着胞



二、鞭毛与纤毛

在有些真核微生物细胞的表面长有或长或短的毛发状细胞器，具有运动功能，较长 (150~200 μm) 且数目较少者称鞭毛，较短 (5~10 μm) 且数量较多者则称纤毛 (cilia, 单数 cilium)。真核生物的鞭毛与原核生物的鞭毛在运动功能上虽相同，但在构造、运动机制和所耗能源形式等方面都有显著差别。真核生物细胞的鞭毛以挥鞭的方式推动细胞运动，挥动速度为 10~40 次/s。

具有鞭毛的真核微生物有鞭毛纲 (Flagellata) 的原生动物以及藻类和低等水生真菌的游动孢子或配子等。具有纤毛的真核微生物主要是属于纤毛纲 (Cilata) 的各种原生动物，如常见的草履虫 (*Paramecium* spp.) 等。

鞭毛与纤毛的构造基本相同，都由伸出细胞外的鞭毛杆 (shaft)、嵌埋在细胞质膜上的基体 (basal body) 及把二者相连的过渡区共 3 部分组成。鞭毛杆的横切面呈“9+2”型，即中心有一对包在中央鞘中相互平行的中央微管，其外围绕一圈 (9 个) 微管二联体 (doublets)，整个鞭毛杆由细胞质膜包裹。每条微管二联体由 A、B 两条中空的亚纤维组成，其中 A 亚纤维是一完全微管，即每圈由 13 个球形微管蛋白 (tubulin) 亚基环绕而成，而 B 亚纤维则是由 10 个亚基围成，所缺的 3 个亚基与 A 亚纤维共用。A 亚纤维上伸出内外

两条动力蛋白臂 (dynein arms), 这是一种能被 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 激活的 ATP 酶, 可水解 ATP 以释放供鞭毛运动的能量。通过动力蛋白臂与相邻的微管三联体的作用, 可使鞭毛作弯曲运动。在相邻的微管三联体间有微管连接蛋白 (nexin) 使之相连。此外, 在每条微管三联体上还有伸向中央微管的放射辐条 (radial spoke), 其端部呈游离状态 (图 3-28)。基体的结构与鞭毛杆接近, 直径为 120~170 nm, 长 200~500 nm。但在电镜下其横切面呈 “9+0” 型, 即外围是 9 个三联体, 中间没有微管和鞘。

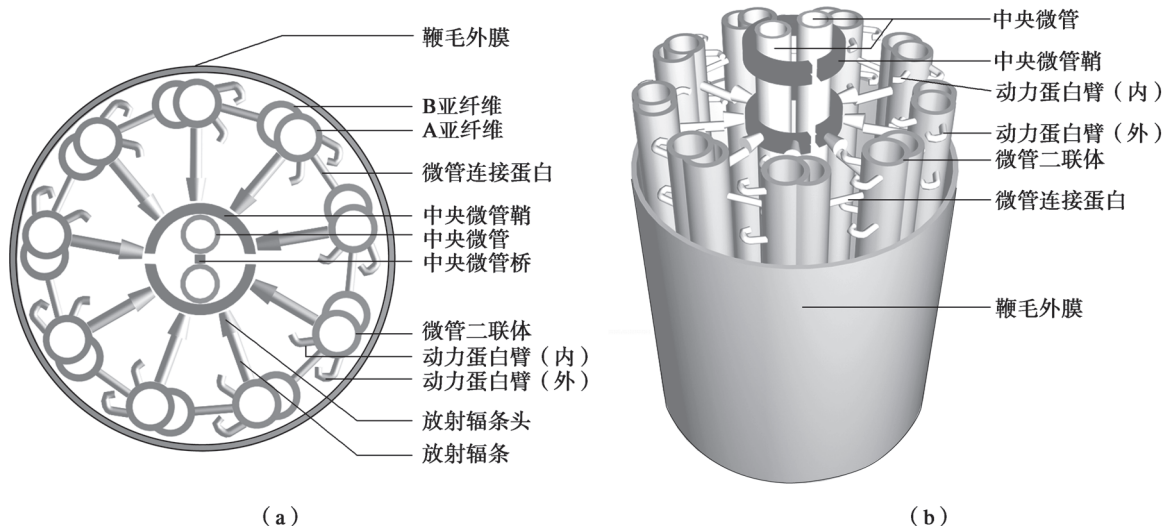


图 3-28 真核微生物的 “9+2” 型鞭毛
(a) 鞭毛杆横切面; (b) 鞭毛杆的立体模型

三、细胞质膜

真核生物的细胞都有细胞质膜构造。对那些没有细胞壁的真核细胞来说, 细胞质膜就是它的外部屏障。真核细胞与原核细胞在其质膜的构造和功能上十分相似, 二者的主要差别见表 3-7。

表 3-7 真核生物与原核生物细胞质膜的差别

项目	原核生物	真核生物
甾醇	无 (支原体例外)	有 (胆固醇、麦角固醇等)
磷脂种类	磷脂酰甘油和磷脂酰乙醇胺等	磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺等
脂肪酸种类	直链或分支、饱和或不饱和脂肪酸; 每一磷脂分子常含饱和与不饱和脂肪酸各一	高等真菌: 含偶数碳原子的饱和或不饱和脂肪酸 低等真菌: 含奇数碳原子的多不饱和和脂肪酸
糖脂	无	有 (具有细胞间识别受体功能)
电子传递链	有	无
基团转移运输	有	无
胞吞作用*	无	有

* endocytosis, 包括吞噬作用 (phagocytosis) 和胞饮作用 (pinocytosis)。

四、细胞核

细胞核(nucleus)是细胞内遗传信息(DNA)的储存、复制和转录的主要场所,外形为球状或椭圆体状。真核生物都有形态完整、有核膜包裹的细胞核,它对细胞的生长、发育、繁殖和遗传、变异等起着决定性的作用。每个细胞通常只含一个核,有的含两至多个,如须霉属(*Phycomyces*)和青霉属(*Penicillium*)的真菌,有时每个细胞内竟含20~30个核,占了细胞总体积的20%~25%,而在真菌的菌丝顶端细胞中,常常找不到细胞核。真核生物的细胞核由核被膜、染色质、核仁和核基质等构成。

1. 核被膜

核被膜(nuclear envelope)是包在细胞核外、由核膜和核纤层(nuclear lamina)两部分所组成的外被,其上有许多核孔(nuclear pores)。其中的核膜由两层厚度为7~8 nm的膜组成,两膜间夹着宽10~50 nm的空间,称核周间隙(perinuclear space)。核纤层位于核膜内侧,成分为核纤层蛋白(lamin),厚度随细胞种类而异。核孔的数目很多,是细胞核与细胞质间进行物质交流的选择性通道。

2. 染色质

当细胞处于分裂间期时,细胞内由DNA、组蛋白、其他蛋白和少量RNA组成的一种线形复合构造,其基本单位是核小体(nucleosome)。因可被苏木精等碱性染料染色,故名染色质(chromatin)。在光学显微镜下观察染色后的染色质,可发现一种由或粗或细的长丝交织成的网状物,称为常染色质(euchromatin),另外还可见到由常染色质紧缩而成的较粗大、染色较深、常附着在核被膜内侧的团块,称为异染色质(heterochromatin)。染色质中的蛋白质有组蛋白和非组蛋白两类。组蛋白富含碱性氨基酸,如赖氨酸和精氨酸,是碱性蛋白质,易与带负电荷(磷酸基团)的DNA相结合。在染色质中,组蛋白与DNA的含量大致相等。已知构成核小体核心结构的组蛋白八聚体是由H2A、H2B、H3和H4分子各一对所组成,在八聚体外有以左手方向盘绕2周(约200 bp)的DNA,另有一个组蛋白分子H1与连接DNA(linker DNA)结合,锁住了核小体的进出口,以稳定它的结构。染色质中的非组蛋白部分包括一些与DNA的复制和转录有关的酶,如DNA聚合酶和RNA聚合酶等。有关核小体的构造及DNA在其上的盘绕方式见图3-29。

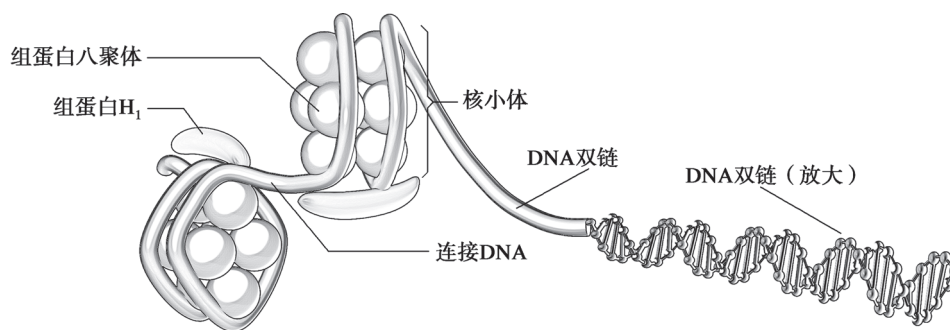


图3-29 核小体构造的模式图

当细胞进行有丝分裂或减数分裂时,染色质丝经盘绕、折叠、浓缩后,变成在光学显微镜下可见的棒状结构即染色体(chromosome)。这一过程较为复杂,目前还不十分明了。主要是先折叠成外径约30 nm、内径10 nm、螺距11 nm的中空螺线管(solenoid),每周螺线由6个核小体组成;螺线管进一步折叠成许多超螺旋环,最终浓缩成染色体。这样,原先极长的染色质经过4~5级的折叠、压缩,终于变成长度仅约原来

万分之一的染色体。真菌染色体较小，不易染色和鉴别。根据遗传分析法的测定，构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 的 $n=8$ ，粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 为 7，酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 为 17，双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*) 为 13，里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 为 6，等等。真菌细胞核 DNA 的相对分子质量 ($6 \times 10^9 \sim 30 \times 10^9$) 比植物或哺乳动物的要小得多。

3. 核仁

核仁 (nucleolus) 是指细胞核中一个没有膜包裹的圆形或椭圆形小体，是细胞核中染色最深的部分，它依附于染色体的一定位置上，在细胞有丝分裂前期消失，后期又重新出现。每个核内有一至数个。富含蛋白质和 RNA。其大小随细胞中蛋白质合成的强弱而相应变化，是真核细胞中合成 rRNA (核糖体 RNA) 和装配核糖体的部位。

4. 核基质

核基质 (nuclear matrix) 是充满于细胞核空间由蛋白纤维组成的网状结构，具有支撑细胞核和提供染色质附着点的功能。

五、细胞质和细胞器

位于细胞质膜和细胞核间的透明、黏稠、不断流动并充满各种细胞器的溶胶，称为细胞质 (cytoplasm)。组成真核生物细胞质的有细胞基质、细胞骨架和各种细胞器。

1. 细胞基质和细胞骨架

在真核细胞质中，除可分辨的细胞器以外的胶状溶液，称细胞基质 (cytoplasmic matrix 或 cytomatrix) 或细胞溶胶 (cytosol)，它含有赋予其一定机械强度的细胞骨架 (cytoskeleton) 和丰富的酶等蛋白质 (占细胞总蛋白的 25% ~ 50%)、各种内含物以及中间代谢物等，是细胞代谢活动的重要基地。

细胞骨架是由微管、肌动蛋白和中间丝 3 种蛋白纤维构成的细胞支架。其主要功能是保证真核细胞的形态、细胞内物质和细胞器的分布和移动，在细胞运动和细胞分裂等方面也有关键的作用。微管 (microtubules) 是直径为 24 nm 的中空管状纤维，其成分是微管蛋白 (tubulin)。它含有 α 和 β 两个亚基，这种双体分子按螺旋方式盘绕成只有一层分子的微管壁。微管可分散或成束存在于细胞基质中，具有支持功能和运输功能，还可构成细胞分裂时的纺锤体以及鞭毛和纤毛。肌动蛋白丝 (actin filament) 又称微丝，是一种直径 4 ~ 7 nm、由肌动蛋白 (actin) 组成的实心纤维。其单体呈哑铃状，许多单体连成长串，两条长串以右手螺旋方式缠绕成束后即为肌动蛋白丝，若对它提供 ATP 形式的能量，就能发生聚合和延伸，由此引起特征性的细胞质流动即细胞质环流 (cytoplasmic streaming)，以此达到营养物均匀分配等生理功能，也使变形虫和黏菌具有运动能力。中间丝即中间纤维 (intermediate filament)，是一种直径为 8 ~ 10 nm (介于微管与肌动蛋白丝之间) 的蛋白纤维，由角蛋白等数种蛋白组成，具有支持和运动功能。

2. 内质网和核糖体

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 指细胞质中一个与细胞基质相隔离、但彼此相通的囊腔和细管系统，由脂质双分子层围成。其内侧与核被膜的外膜相通，核周间隙也是内质网腔的一部分。内质网分两类，

网上学习 3-5

原核生物中也有细胞骨架吗?



它们间相互连通, 其中之一在膜上附有核糖体颗粒, 称糙面内质网 (rough ER), 具有合成和运送胞外分泌蛋白至高尔基体中去的功能; 另一类为膜上不含核糖体的光面内质网 (smooth ER), 它与脂质代谢和钙代谢等密切相关, 是合成磷脂的主要部位, 主要存在于某些动物细胞中。

核糖体 (ribosome) 具有蛋白质合成功能, 直径 25 nm, 主要成分是蛋白质 (约 40%) 和 RNA (约 60%), 二者共价结合在一起。蛋白质分子分布在核糖体表面, RNA 位于内层。每个细胞含大量核糖体, 例如, 一个生长旺盛的真核细胞——HeLa 细胞 (体外培养的人宫颈癌细胞) 中, 就含有 $10^6 \sim 10^7$ 个核糖体。连最简单的原核生物——支原体细胞中也含有数百个核糖体。真核细胞的核糖体较原核细胞的大, 其沉降系数为 80S, 它由 60S 和 40S 的两个小亚基组成。不同的真核生物, 其核糖体的大小有 10% 左右的变化。酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是一典型的真核微生物, 其核糖体的 60S 大亚基由 28S、5.8S 和 5S 3 种 rRNA 和约 40 ± 5 种 r 蛋白质 (核糖体蛋白质) 组成, 而其小亚基则由一个 18S rRNA 和约 30 ± 5 种 r 蛋白质组成。核糖体除分布在内质网和细胞基质中外, 还分布于线粒体和叶绿体中, 但它们都是与原核生物相同的 70S 核糖体。有关真核生物核糖体的细节及其与原核生物的比较, 可见表 3-8。

表 3-8 真核生物与原核生物核糖体的比较

项目	真核生物			原核生物		
	沉降系数	相对分子质量	种数	沉降系数	相对分子质量	种数
完整核糖体	80 S	4.8×10^6		70 S	2.5×10^6	
完整大亚基	60 S	3.2×10^6		50 S	1.6×10^6	
大亚基 RNA	28 S	1.6×10^6 (4 700 核苷酸)		23 S	1.2×10^6 (2 900 核苷酸)	
	5.8 S	0.05×10^6 (160 核苷酸)		5 S	0.03×10^6 (120 核苷酸)	
	5 S	0.03×10^6 (120 核苷酸)				
大亚基蛋白质			约 49			L1~L34
完整小亚基	40 S	1.6×10^6		30 S	0.9×10^6	
小亚基 RNA	18 S	0.9×10^6 (1 900 核苷酸)		16 S	0.6×10^6 (1 540 核苷酸)	
小亚基蛋白质			约 33			S1~S21

3. 高尔基体

高尔基体 (Golgi apparatus, Golgi body) 又称高尔基复合体 (Golgi complex), 是一种由若干 (一般 4~8 个) 平行堆叠的扁平膜囊 (sacculles) 和大小不等的囊泡所组成的膜聚合体, 其上无核糖体颗粒附着。由糙面内质网合成的蛋白质输送到高尔基体中浓缩, 并与其中合成的糖类或脂质结合, 形成糖蛋白和脂蛋白的分泌泡, 再通过外排作用分泌到细胞外。因此, 高尔基体是合成、分泌糖蛋白和脂蛋白以及对某些蛋白质原 (proprotein) 如胰岛素原、胰高血糖素原和血清清蛋白原等进行酶切加工, 以使它们具有生物活性的重要细胞器, 也是为合成新细胞壁和质膜提供原材料的重要细胞器。总之, 高尔基体是协调细胞生化功能和沟通细胞内外环境的一个重要细胞器, 通过它的参与和对“膜流”的调控, 把细胞核被膜、内质网、高尔基体和分泌泡囊的功能联合成一体。

4. 溶酶体

溶酶体 (lysosome) 是一种由单层膜包裹的、内含多种酸性水解酶的囊泡状细胞器, 其主要功能是细胞内的消化作用。动物、真菌和一些植物细胞中都存在着溶酶体。其中常含 40 种以上的酸性水解酶, 它们的

最适 pH 在 5 左右, 因此只在溶酶体内部发挥作用。它可以水解外来蛋白质、多糖、脂质以及 DNA 和 RNA 等大分子。不同生物或是同一生物细胞内溶酶体的数目、大小和所含酶类变化很大, 在不同生理条件下也有不同。一般为球形, 直径为 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 。溶酶体的功能是进行细胞内消化, 它与吞噬泡或胞饮泡结合后, 可消化其中的颗粒状或水溶性有机物, 也可消化自身细胞产生的碎渣, 因而具有维持细胞营养及防止外来微生物或异物物质侵袭的作用。溶酶体的种类很多, 根据其所结合对象的性质可分吞噬溶酶体 (与吞噬泡结合)、多泡体 (与胞饮泡结合) 或自噬溶酶体 (与内源性结构结合) 等; 根据溶酶体与吞噬泡结合程度又可分为初级溶酶体、次级溶酶体和后溶酶体等。当细胞坏死时, 溶酶体膜破裂, 其中的酶会导致细胞自溶 (autolysis)。

5. 微体

微体 (microbody) 是一种由单层膜包裹的, 与溶酶体相似的球形细胞器。其中所含的酶与溶酶体不同。分两种, 其一称过氧化物酶体 (peroxisome), 含有一种或几种氧化酶类, 主要是依赖于黄素 (FAD) 的氧化酶和过氧化氢酶, 它们共同作用可使细胞免受 H_2O_2 的毒害。在动、植物和真核微生物细胞中, 普遍存在着过氧化物酶体。细胞中约有 20% 脂肪酸是在过氧化物酶体中被氧化分解的。与溶酶体相似, 在不同生物、不同个体和不同的内外条件下, 过氧化物酶体的数目、形态和功能有所不同。例如, 在糖液中生长的酵母菌, 其过氧化物酶体很小, 在甲醇溶液中较大, 而其生长在脂肪酸培养基中时, 则它非常发达, 并可迅速把脂肪酸分解成可供细胞很好利用的乙酰辅酶 A。另一种微体称为乙醛酸循环体 (glyoxysome), 主要存在于植物细胞中, 其功能是使细胞中的脂质转化为糖类, 因此在种子萌发形成幼苗时特别活跃。

6. 线粒体

线粒体 (mitochondria) 是一种进行氧化磷酸化反应的重要细胞器, 其功能是把蕴藏在有机物中的化学潜能转化成生命活动所需能量 (ATP), 故是一切真核细胞的“动力车间”。在光学显微镜下, 典型的线粒体外形和大小酷似一个杆菌, 其直径一般为 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$, 长度为 $1.5 \sim 3.0 \mu\text{m}$ 。不同细胞种类或是在不同生理状态下, 其形态和长度变化很大。每个细胞所含线粒体的数量一般为数百至数千个, 变化也很大, 例如, 有的鞭毛虫只有一个线粒体, 而巨大变形虫则有 50 万个线粒体。

线粒体的构造较为复杂, 外形囊状, 由内外两层膜包裹, 囊内充满液态的基质 (matrix)。外膜平整, 内膜则向内伸展, 从而形成了大量由双层内膜构成的嵴 (cristae) (图 3-30)。在真菌中, 嵴的形状有两种, 其一是与高等植物和藻类的线粒体相似的管状嵴, 为含纤维素细胞壁和无壁的卵菌、前毛壶菌和黏菌等所具有; 另一类为板状嵴, 为一些具有几丁质细胞壁的壶菌、接合菌、子囊菌和担子菌等较高等的真菌所具有。嵴的存在, 极大地扩展了内膜进行生物化学反应的面积。

在内膜的表面上着生有许多基粒 (elementary particle) 或 F_1 颗粒, 即 ATP 合成酶复合体, 每个线粒体中有 $10^4 \sim 10^5$ 个 (见第 5 章)。此外, 内膜上还有 4 种脂蛋白复合物, 它们都是电子传递链 (呼吸链) 的组成部分。位于内、外膜间的空间称为膜间隙 (intermembrane space), 其中充满着含有各种可溶性酶、底物和辅助因子的液体。由两层内膜形成的狭窄空间即嵴内隙 (intracristal space), 它是膜间隙的延伸, 二者相通。由内膜和嵴包围的空间即基质, 内含三羧酸循环的酶系, 并含有一套为线粒体所特有的 DNA 链和 70S 核糖体, 用以合成一小部分 (约 10%) 专供线粒体自身需要的蛋白质。在真菌中, 线粒体 DNA 呈闭环状, 长

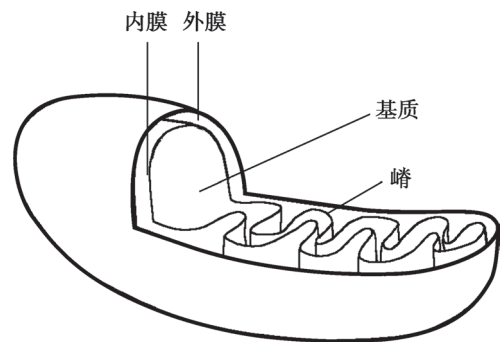


图 3-30 线粒体构造的模式图

19~26 μm , 小于植物线粒体 DNA (30 μm), 而大于动物的线粒体 DNA (5~6 μm)。

线粒体的功能是将底物通过电子传递链和氧化磷酸化反应的偶联而实现呼吸产能。在酵母菌的实验中, 过去曾因电镜制片技术的缺陷而认为它在无氧条件下进行发酵时是没有线粒体的, 后来用冷冻蚀刻技术 (freeze-etching) 发现, 在无氧条件下, 酵母菌形成的是只有外膜而无内膜和嵴的极其简单的线粒体, 当把它转移到有氧条件进行呼吸产能时, 线粒体从无功能的简单结构, 变成有正常结构和功能。

7. 叶绿体

叶绿体 (chloroplast) 是一种由双层膜包裹、能把光能转化为化学能的绿色颗粒状细胞器, 只存在于绿色植物 (包括藻类) 的细胞中。具有进行光合作用即把 CO_2 和 H_2O 合成葡萄糖并放出 O_2 的重要功能, 可以说, 叶绿体是真核细胞内的“食品车间”。叶绿体的外形多为扁平的圆形或椭圆形, 略呈凸透镜状, 但在藻类中叶绿体的形态变化很大, 有的呈螺旋带状, 如水绵属 (*Spirogyra*), 有的呈杯状, 如衣藻属 (*Chlamydomonas*), 也有呈板状或星状的。叶绿体的平均直径为 4~6 μm , 厚度为 2~3 μm 。在高等植物的每个叶肉细胞中含 50~200 个, 而藻类中通常只有一个、两个或少数几个。叶绿体在细胞中的分布与光照有关, 有光时, 常分布在细胞的外围, 黑暗时则流向内部。

叶绿体由叶绿体膜 (chloroplast membrane, 或称外被 outerenvelope)、类囊体 (thylakoid) 和基质 (stroma) 3 部分组成, 其膜又分外膜、内膜和类囊体膜 3 种, 并由此使叶绿体内的空间分隔为膜间隙 (在外膜与内膜间)、基质和类囊体腔 3 种彼此独立的区域 (图 3-31)。

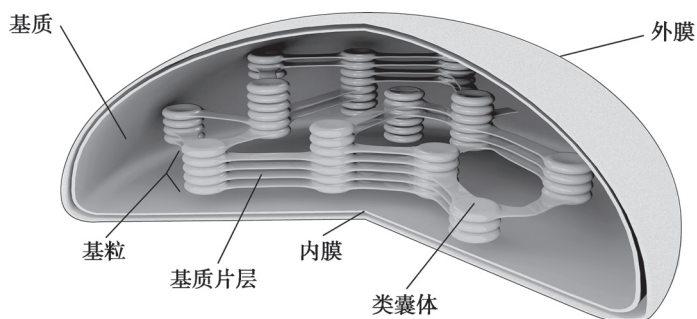


图 3-31 叶绿体的模式构造

叶绿体膜是控制代谢物进出叶绿体的屏障。外膜的特点是通透性大, 内膜是选择性强。基质是一种充满在叶绿体膜与类囊体之间的胶状物质, 内含核糖体 (70S)、双链环状 DNA 以及 RNA、淀粉粒和核酮糖二磷酸羧化酶等蛋白质。类囊体是位于叶绿体基质中由单位膜封闭而成的扁平小囊, 数量很多, 彼此连通各个作业小组。类囊体之间的连接方式有的简单, 有的较复杂。例如, 在藻类中, 红藻的类囊体是由许多单独个体沿叶绿体的长轴平行排列的, 刚毛藻则是两个类囊体叠成一组, 而褐藻则是 3 层一组沿叶绿体长轴平行排列的。

在高等植物细胞中, 许多类囊体有规律地层层相叠, 形成一个个基粒 (grana), 类似于一摞金属钱币。每一基粒中类囊体的数目可从几个至几十个。各基粒之间由许多大型的基质类囊体 (stroma thylakoid) 连接, 把各基粒中的每个类囊体彼此串连成一个整体。在类囊体的膜上分布有大量的光合色素和电子传递载体。主要的光合色素是叶绿素 a, 另有若干辅助色素, 它们在不同植物中是不同的, 如陆生植物和绿藻中为叶绿素 b, 硅藻和褐藻中为叶绿素 c, 红藻中为叶绿素 d 等; 此外, 所有光合生物中还含有另一类辅助色素, 如胡萝卜素 (主要是 β -胡萝卜素) 和叶黄素等。

叶绿体的主要功能是进行光合作用。光合作用由光反应和暗反应组成, 前者是在类囊体膜上进行的, 由它完成吸收、传递和转换光能为化学能, 即形成 ATP、NADPH 并释放 O_2 , 而后者则在叶绿体的基质中进行, 不需要光照, 作用是利用光反应中产生的 ATP 和 NADPH 的化学能来固定 CO_2 , 使 CO_2 还原成糖等有机物。

由上可知, 叶绿体不论在形态、构造或是在进化上都与线粒体有许多

网上学习 3-6

真核细胞细胞器的内共生起源学说



惊人的相似处，尤其是在其基质中同样也有自身特有的环状 DNA 基因组和原核生物特有的 70S 核糖体，能为自身合成部分特需蛋白质，因此，也与线粒体一样，属于真核细胞中的半自主性复制的细胞器。这些现象为有关真核生物起源的内共生假说提供了重要的证据。

8. 其他细胞器

(1) 液泡

液泡 (vacuole) 是存在于真菌、藻类和其他植物细胞中的一种由单位膜分隔的细胞器，其形态、大小因细胞年龄和生理状态不同而变化，一般细胞有大而明显的液泡。在真菌的液泡中，主要含有糖原、脂肪、多磷酸盐等贮藏物，精氨酸、鸟氨酸和谷氨酰胺等碱性氨基酸，以及蛋白酶、酸性和碱性磷酸酶、纤维素酶和核酸酶等各种酶类。液泡不仅有维持细胞渗透压、贮存营养物质等功能，而且还有溶酶体的功能，因为它可以把蛋白酶等水解酶与细胞质隔离，防止细胞损伤。

(2) 膜边体

膜边体 (lomasome) 又称边缘体、须边体或质膜外泡，为许多真菌细胞所特有。是一种位于菌丝细胞四周的质膜与细胞壁间、由单层膜包裹的细胞器。形态呈管状、囊状、球状、卵圆状或多层折叠膜状，其内含含有泡状物或颗粒状物。膜边体可由高尔基体或内质网的特定部位形成，各个膜边体能互相结合，也可与别的细胞器或膜相结合。功能不甚清楚，可能与分泌水解酶或合成细胞壁有关。

(3) 几丁质酶体

几丁质酶体 (chitosome) 又称壳体，是一种活跃于各种真菌菌丝顶端细胞中的微小泡囊，直径 40~70 nm，内含几丁质合成酶。在离体条件下，几丁质酶体可把 UDP-N-乙酰葡萄糖胺合成几丁质微纤维。其功能是通过不断形成和向菌丝尖端移动，把其中的几丁质合成酶源源不断地运送到细胞壁表面，通过该处几丁质微纤维的合成而使菌丝尖端不断向前延伸。

(4) 氢化酶体

氢化酶体 (hydrogenosome) 是一种由单层膜包裹的球状细胞器，内含氢化酶、氧化还原酶、铁氧化还原酶、铁氧还蛋白和丙酮酸。通常存在于鞭毛基体附近，可为其运动提供能量。氢化酶体只存在于厌氧性的真菌和原生动物细胞中，有类似线粒体的作用。近年来，在牛、羊等反刍动物的瘤胃中除发现存在许多厌氧性的原生动物外，还发现了 20 余种厌氧性真菌，它们的分类地位接近壶菌属，多数产生游动孢子，如 *Neocallimastix huricyensis* 等，在这类厌氧性真核生物的细胞中都有氢化酶体。原生动物毛滴虫属 (*Trichomonas*) 的氢化酶体含有各种铁硫蛋白和黄素蛋白，用作使丙酮酸氧化为乙酸、CO₂ 和 H₂ 过程中的电子传递链组分 (其最终电子受体为质子)。从阴道毛滴虫 (*T. vaginalis*) 中分离到的氢化酶体，可在厌氧条件下还原甲硝唑 (灭滴灵)，并产生对细胞有毒的衍生物。在活体内，这一还原产物可损伤氢化酶体或其他靶体，因此，甲硝唑可以治疗阴道滴虫病。

- ?
- 真菌的细胞壁有哪些主要类型?
 - 细胞骨架是由什么组成的，它的生理功能如何?
 - 什么是溶酶体，它有何生理功能?

小结

1. 原核生物的细胞直径细小，共同特点是细胞核的结构原始，无核膜包裹，细胞壁含独特的肽聚糖 (支原体和古菌除外)，细胞内无细胞器的分化。通过革兰氏染色法不但可把所有的原核生物分成革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌两个大类，而且还可揭示它们之间在结构、功能、生理、遗传和生态特性等方面的显著差别。

2. 原核生物细胞的共同结构有细胞壁 (支原体例外)、细胞质膜、细胞质、拟核和各种内含物等，部分

种类的细胞壁外还具有糖被(荚膜或黏液层)、鞭毛、菌毛和性毛等特殊构造,少数细菌还可形成芽孢或胞囊等具有抵御不良环境条件功能的休眠构造,其中的芽孢高度耐热。

3. 真核微生物细胞的直径较粗大,其特点为细胞核有核膜包裹,染色质由DNA和组蛋白构成,细胞以有丝分裂或减数分裂方式繁殖,细胞内有多种功能专一的细胞器的分化。细胞质膜、细胞质、细胞核和细胞器为各种真核细胞所共有,而细胞壁则仅为真菌和藻类所有;此外,在许多种类的细胞(包括性细胞)外还长有与原核生物截然不同的“9+2型”结构的运动细胞器——鞭毛或纤毛。

4. 由细胞骨架等物质组成的细胞间质支撑着真核生物的细胞质,其内包含着各种执行重要生理功能的细胞器,例如内质网、高尔基体、溶酶体、微体、线粒体和叶绿体(仅存于光合生物中)等,其中的线粒体和叶绿体在结构和功能(能量转化和产生)上有许多相似处,加之在它们的基质中都含有独特的环状DNA和部分蛋白质的合成机构,故属半自主性细胞器,这些均为真核生物起源于原核生物的内共生假说提供了有力的证据。

网上更多……



复习题



思考题



现实案例简要答案

(周德庆 钟江)