

第八次 2016-11-8 课堂讨论问题整理

第一组：

1、 只有植物和微生物次生代谢，动物没有类似的代谢么？

答：问得好！有采用层析色谱手段，研究四种海洋底栖动物（三种西沙海绵和一种海洋草苔虫）的次生代谢产物的化学结构及其生物活性的工作。发现了 8 个新化合物。对部分化合物的抗微生物、抗疟疾、抗利什曼虫、细胞毒、抗丙肝、大麻素受体(CB receptor)亲和等活性进行了评价。（2012 第二军医大学 博士学位论文）

2、 酵母的三种发酵工艺：（1）Py---乙醛---乙醇

（2）Py---磷酸二羟基丙酮 ----甘油

（3）pH》7.6 乙醛会发生歧化反应

第二组：

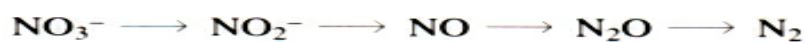
1、 固氮共生菌是如何形成的？

答：是和植物共同进化的结果。共生固氮微生物与绿色植物互利共生，共生固氮微生物异养需氧型，共生固氮微生物向绿色植物提供氮肥，寄主植物向类菌体供给碳水化合物，主要形式是蔗糖。类菌体利用这些糖进行呼吸作用，产生电子和 ATP，将 N₂ 还原成 NH₄⁺。

成熟根瘤中的根瘤菌失去鞭毛而成为不能移动的一类菌体(bacteriod)，根瘤中的固氮作用只在类菌体内进行。

2、 硝酸盐细菌如何处理二氧化氮的毒害作用？

答：将反应进行到底，直到最终转化为 N₂。确切地说是反硝化细菌。



第三组：

1、 为什么固氮基因是“可能”在质粒上？基因定位的难度在哪里？

答：非常好！固氮酶是由固氮基因 nif 编码的，根据来源不同，通常 nif 位于细菌染色体或质粒上，不同物种的固氮酶基因有着较高的同源性。研究这些基因定位并不难。

2、 厌氧的光合细菌进行污水处理的机制和原理是什么？

答：光合细菌简称 PSB，是在厌氧条件，能够进行不放氧光合作用的一类细菌的总称。光合细菌细胞内只有一个光系统，即 **PSI**，在有光照缺氧的环境中，光合作用的原始供氢体不是水，而是 **H₂S**（或一些有机物），这样它进行光合作用的结果是产生了 **H₂**，分解有机物，同时还能固定空气的分子氮生氨。

光合细菌在自身的同化代谢过程中，又完成了产氢、固氮、分解有机物三个自然界物质循环中极为重要的化学过程。

光合细菌广泛分布于水田、池塘及江河湖海中，尤其在有机物污染的积水(如粪便、堆肥污水等)处较多。光合细菌包括绿硫细菌、红硫细菌、红螺菌三个科,其中红螺科的一些属(如红假单胞属)能在厌氧光照、好氧黑暗条件下迅速利用低分子有机物，故可用来处理有机废水。

原理：从废水中分离出来的 **PSB** 是红螺菌科的一些细菌种，其细胞可进行光合磷酸化和光氧化还原反应。在好氧黑暗条件下，红螺菌缺少载色体，此时它通过三梭酸循环来进行有机酸代谢，但当转变成厌氧光照时又很快形成载色体，利用光能进行光合作用，以有机物作为 **H** 供体，同化二氧化碳。这种随生长条件变化而灵活地改变代谢类型的特性，使 **PSB** 在厌氧光照、黑暗好氧、明亮好氧的条件下均可降解有机物，而且它所要求的条件也不像一般的专属好氧菌和专属厌氧菌那样严格。

3、 肽聚糖的复杂性与微生物的进化意义有何帮助？

答：值得进一步查找研究进展。

4、 同型和异型乳酸发酵的选择性是什么？

答：发酵类型与菌种有关，比如由 **E M P** 途径的关键产物丙酮酸出发，在不同的微生物中可进入不同的发酵途径，如酵母的酒精发酵，乳杆菌的同型乳酸发酵。

同型、异型乳酸发酵与葡萄糖降解途径有关，归根到底还是与菌种（基因）有关。有些乳酸菌因为缺乏 **E M P** 途径中的醛缩酶和异构酶等若干重要酶，所以葡萄糖降解需要完全依赖于 **H M P** 途径，由此途径发酵产生除乳酸以外的乙醇、乙酸、**CO₂** 等，所以被称为异型乳酸发酵。

5、 为什么根瘤菌只能和豆科植物共生？

答：因为一类有固氮作用的菌可以和豆科植物共生，形成根瘤，所以这类菌被称为根瘤菌。现在已经发现根瘤菌属中有十几种根瘤菌。

进一步原理：豆科植物的根毛能够分泌一类特殊的蛋白质，与根瘤菌细胞的表面存在着多糖物质能产生特异性结合。

6、对于无反硝化的菌，如何排出二氧化氮等有害物质？

答：要么进化中被淘汰，或者在群落中不占优势，或者进化出抗 NO_2 的机制。

第四组：

1、嗜盐菌是如何进化出独特的光合途径的？ P128

答：具体进化过程不清楚，但事实是嗜盐菌具有紫膜和红膜。

2、为何只有丙酮丁酸梭菌能满足大规模生产？

答：因为战争导致的工业需求，对此菌研究多，达到了大规模生产，而且它是厌氧菌。其他很多好氧菌已经大规模生产了，如酿造业的酵母等等。

3、为何高等生物的代谢多以碳为能源？

答：是想说“多以有机物”为能源吧？其实绝大多数原核生物、全部真菌和原生动物都是化能异养型，以有机物为能源。只有小部分微生物可以以无机物为能源（化能无机自养型），高等植物还以光能为能源。

第五组：字看不清

第六组：

1、为什么固氮酶会进行产氢反应？这种反应浪费了还原力，为什么在漫长的进化史中没有将其舍弃？

答：还不清楚。如果根据存在即合理的原则，一定有其意义。

2、类菌体是如何形成的？豆血红蛋白是如何在双方基因编码下合成的？

答：在根毛顶端的根瘤菌分泌一种纤维素酶，将根毛顶端的细胞壁溶解掉。随后，根瘤菌从根毛顶端侵入到根的内部，并形成感染丝（感染丝是指根瘤菌排列成行，外面包有一层黏液状物质）。根瘤菌就这样不断地进入根内，并且大量繁殖。在根瘤菌侵入的刺激下，根细胞分泌一种纤维素，将感染丝包围起来，形成一条分支或不分支的纤维素鞘，这样的结构叫做侵入线。侵入线不断地向内延伸，一直到

达根的内皮层。根的内皮层处的薄壁细胞受到根瘤菌分泌物的刺激，不断进行细胞分裂，从而使该处的组织膨大，最终形成根瘤。

成熟根瘤中的根瘤菌失去鞭毛而成为不能移动的一类菌体(bacteriod)，根瘤中的固氮作用只在类菌体内进行。

3、 非环式光合磷酸化要在有氧条件下进行？据其他资料考证，不是这样说的，不是必要条件。

4、 为什么青霉素只能对新生细菌合成细胞壁有效果，却有很好的杀菌效果？
猜想是生病的人体内青霉素只有抑制新细菌的合成，而原来存在的细菌由免疫系统来清除。

答：对。

第七组：

1、 地球上第一种光合生物是哪一种？

答：可能是厌氧光合细菌，因为据认为地球早期没有氧气。

2、 蓝细菌的异形胞有阻止氧气进入细胞的外膜，但为什么有如此高的呼吸强度？

答：因为固氮需要耗能，所以呼吸强度高，产能多。

3、 根瘤菌和植物共生合成含铁蛋白，若分开的话，如何实现纯培养条件下的固氮？

答：根瘤菌在纯培养条件下，一般不固氮。只有当严格控制在微好氧条件下时，才能固氮。

4、 为什么高等植物没有保留化能自养途径？

答：该途径产能少，不能满足快速生长的需要。而且高等植物具有进行光合作用的各种条件。（一家之言）

第八组：

1、 血红蛋白和球蛋白是以何种机制合成豆血红蛋白？如何由根瘤菌和豆科植物诱导合成？

答：有待进一步查证。详见第十一组第二题。

2、 原核生物呼吸链的 p/o 比一般较真核细胞线粒体的低是什么原因？

答：因为原核生物中还有化能自养微生物，它们还原 CO₂ 所需要的还原力往往需要消耗 ATP，所以最后 p/o 低。

补充：1940年，S. Ochoa 用同位素实验测定了在呼吸链中 O₂ 的消耗与 ATP 生成的关系，为此提出 P/O 比的概念。

当一对电子经呼吸链传给 O₂ 的过程中所产生的 ATP 分子数。实质是伴随 ADP 磷酸化所消耗的无机磷酸的分子数与消耗分子氧的氧原子数之比，称为 P/O 比。

NADH 的 P/O 比为 3，ATP 是在 3 个不连续的部位生成的：第一个部位是在 NADH 和辅酶 Q 之间（NADH 脱氢酶）；第二个在辅酶 Q 和细胞色素 C 之间（细胞色素 C 还原酶）；第三个在细胞色素 a 和氧之间（细胞色素 c 氧化酶）。

呼吸过程中，消耗的 O₂ 和产生的 ATP 分子数之比。一般为 3，即 2e⁻通过呼吸链传至 O₂ 所产生的 ATP 的分子数。NADH 途径产生 ATP 为 2.5，FADH₂ 产生 ATP 为 1.5。

3、好氧性自主固氮菌既然好氧，但为什么又要呼吸驱氧，不会影响呼吸么？

答：菌的生长需要氧，特定结构行使固氮作用，要厌氧，所以通过呼吸消耗掉周围的氧，利于固氮。

第九组：

1、微生物过量产生次生代谢产物对自身有什么好处？

答：不明确，是否可以理解成轻度失控？

2、固氮菌自身好氧，酶却厌氧，为什么会这样？

答：固氮只是菌代谢的一个方面，而且在有氮源的时候，固氮作用被抑制。好氧菌是指分解代谢产能过程中氧气作为最终电子受体。

3、只有 HMP 途径而无 EMP 途径的微生物有何特点？

答：代谢产物有差异，比如 HMP 途径的菌进行异型乳酸发酵，而具有 EMP 途径的微生物进行同型乳酸发酵。

第十组：

1、固氮酶固氮过程中 Mg-ATP 结合是如何结合的？为什么镁离子而不是其它二价离子？

答：不知道。

2、丙酮丁酸梭菌发酵是严格厌氧菌中唯一可大规模生产发酵，为什么唯独其可大规模生产？厌氧菌难以大规模生产原因？

答：更主要是因为当时的战争需要。厌氧菌容易生产，因为没有供氧需求。

第十一组：

1、 如何抑制代时缓慢的菌生长（鉴于青霉素只能抑制代谢活跃的菌）

答：依然可以用青霉素。代时缓慢只说明菌生长慢，只要有代谢发生，都可以抑制。

2、 血红蛋白分子由植物与根瘤菌共同编码，如何协作？如何组装？

答：有待进一步核实。目前查到仅由植物合成。

大豆中的血红蛋白基因是一类在根瘤中特异表达的隐性基因,它为一个多基因家族,其中包括 4 个主要基因 lba、lbc1、lbc2、lbc3[8-11]。这些基因编码的大豆血红蛋白在根瘤的固氮反应中发挥重要作用,一方面为类菌体的末端氧化酶提供足够的氧,另一方面防止位于类菌体中的氧气敏感的固氮酶失活,并且根瘤中大豆血红蛋白的含量与固氮酶活性呈正相关性[12-13]。因此,只有含大豆血红蛋白丰富的红色根瘤是具有固氮作用的有效根瘤,白色或青绿色的根瘤则是没有固氮作用的无效根瘤。

有研究通过分子生物学和基因工程手段,将大豆血红蛋白基因导入根瘤菌内,构建出能够自身合成大豆血红蛋白的根瘤菌工程菌株,从而确保固氮作用正常进行,增强根瘤的固氮效率,为大豆植株提供充足的氮源。

3、 菌绿素嫁接到植物可行么？

答：植物有叶绿素。

4、 “氧障”机制是什么？

答：隔离氧气的屏障，如类菌体外膜就为固氮提供了很好的氧障。

第十二组：

1、 根瘤菌灭菌的滤液能诱导生成根瘤（不完备）=根瘤由植物主导？

答：不是，共生。比如根瘤菌中有与结瘤有关的基因。

2、 植物固氮与土壤含氮量的相关性？

答：成正比。

3、 肽聚糖是从内向外还是从外向内合成的？（标记分子？）

答：不清楚。可以查阅。

4、 嗜盐基因导入作物能产生耐盐植物，为何仍无法推广？

答：如果不是转基因限制，应该可以推广。

5、 视紫红质与细菌视紫红质的亲缘关系？

答：有同源性。

第十三组：

1、 类菌体的周膜是什么结构？

答：在大豆根瘤中发现，这些细菌与自由生活的根瘤菌不同，在细胞外有一层囊膜，而且发现根瘤中每一个细菌都有，是细菌必不可少的组成成分。而且随着发育，细菌体积变大，周膜的表面积也迅速增加。而且当2个或更多细菌靠近时，周膜也会融合。

前面提到，成熟根瘤中的根瘤菌失去鞭毛而成为不能移动的一类菌体(bacteriod)，根瘤中的固氮作用只在类菌体内进行。而固氮需要一个厌氧环境，多个类菌体被一层周膜包围，周膜就提供了固氮的厌氧场所。周膜将固氮细胞与根部细胞隔离开，起到防氧屏障的作用。周膜直接影响结瘤基因和固氮基因的表达，在根瘤形成和固氮中起着主要作用。

除了氧障之外，周膜还是固氮菌与植物细胞进行物质交换、能量供应和信息传递的唯一通道。

参考文献：韩善华。豆科根瘤类菌体周膜的功能。生命科学，1997，7（1）

2、固氮菌是好氧菌但是固氮酶是厌氧的，这样的结构机制是否太麻烦了，固氮菌能否直接进化成厌氧菌的？

答：由于固氮菌可以通过与其他生物共生或者特化出异形胞等特殊结构，解决固氮所需要的厌氧环境，所以依然快乐地生存着，也许比从头进化成厌氧菌更能够适应环境。

补充：

1、关于固氮：遗传工程发源于分子生物学和微生物学、而自然界有生物固氮能力的生物只限于极少数低等的原核微生物(细菌和蓝藻)，微生物学中的基因重组和细胞融合等遗传操作新技术为改造生物提供了强有力的手段。对于固氮微生物来说，固氮基因(nif)操纵和调节固氮酶(Nitrogenase)的合成，从而使固氮微生物具有固氮作用。如果将固氮基因进行人工转移，就可能获得具有固氮作用的新物种。

从目前的研究现状来看，试图通过基因工程将固氮基因(nif)从豆科植物转移到非豆科农作物中难度比较大，在短期内很难实现，而采用细胞工程方法将根瘤菌导入非

宿主农作物细胞内则切实可行。除此之外，由于 *Frankia* 菌具有对宿主的侵染范围宽、固氮活性比较强和对氨气不敏感等特性，在生物固氮研究中对 *Frankia* 菌的研究将更为重要，有可能由此会找到新的突破口。在 *Frankia* 菌与农作物之间建立起新的共生固氮体系将具有更大的可能性。

第25卷 第1期
2013年1月

生命科学
Chinese Bulletin of Life Sciences

Vol. 25, No. 1
Jan., 2013

文章编号: 1004-0374(2013)01-0113-06

固氮分子机理及固氮基因转移研究进展

马贵兴, 井申荣*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650504)

摘要: 生物固氮在自然界生态系统氮循环中发挥重要作用, 也在农林业生产中具有重大的潜在应用价值。固氮是一个多基因调节, 多种相关分子参与的过程。为了阐明固氮中各基因的作用以及相关分子过程, 科学家进行了长期深入的研究, 以期最终能够使现有不能固氮的作物获得固氮能力。对近几年固氮中相关分子研究进行总结, 希望获得对固氮分子机理的及固氮基因转移研究进展的总体认识。

关键词: 固氮; 分子机理; 固氮转移

中图分类号: Q939.9; Q78; S154.3 文献标志码: A

Research advances in molecular mechanism of
nitrogen fixation and gene transformation

MA Gui-Xing, JING Shen-Rong*

2、关于二氧化氮的毒害: [《浙江大学》2009年](#)

二氧化氮胁迫下樟树的生理生化响应研究

[陈卓梅](#)