

氧化亚铁硫杆菌的细菌学描述

胡岳华 康自珍

(中南工业大学矿物工程系 长沙 410083)

从细菌学角度对氧化亚铁硫杆菌的分类地位、生存场所、营养、形成、结构、代谢、分离、改良作了全面系统的描述。

关键词 氧化亚铁硫杆菌 细菌学

1. 引言

自从1951年 Temple 和 Colmer 命名氧化亚铁硫杆菌(以下简称 T.F 菌)以来, T.F 菌已经成为生物浸出的主要菌种之一,对 T.F 菌的研究和应用的文章已散布于各种类型的生物和矿物学文献资料中,但就我们所知,专从细菌学角度对 T.F 菌进行阐述的文章几乎没有。本文从细菌学角度出发,对已发表的有关 T.F 菌的研究或应用的文章进行综述,以便对 T.F 菌有更全面的认识。

2. 分类地位

以《伯杰氏鉴定细菌学手册》为依据, T.F 菌属于原核生物界,化能营养原核生物门,细菌纲第12部分的硫化细菌科,硫杆菌属。

3. 生存场所

广泛生存在土壤、淡水、海水、垃圾、海底污泥、硫化矿水、硫磺泉和沉积硫内,尤以产硫化物的环境经常发生。

4. 营养与形态特征

化能自养,专性好氧,嗜酸,革兰氏阴性,菌长1.0到数微米,宽约0.5微米,杆状,端生鞭毛,能游动,腺嘌呤(C)+鸟嘌呤

(G)的摩尔百分含量为57~62%,细菌生长周期为6~10天,菌落为黑色,直径为0.5mm,菌落周围为分散的铁锈色斑渍区域,细菌和菌落形态分别见图1、图2:

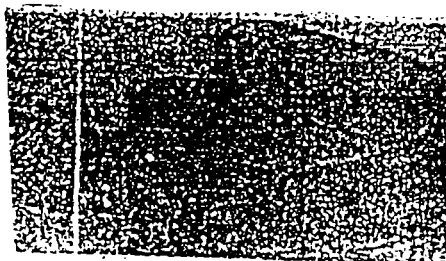


图1 革兰氏染色的 T.F 菌电镜图
(自 Donald)

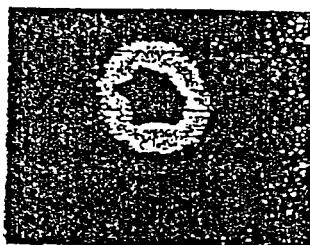


图2 T.F 菌的菌落
(放大20倍,白色部分代表铁锈色区域,自 Arthur 等)

一般认为, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 KCl 、 K_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 是 T.F 菌生长过程中所必需的, 它们以不同的量结合形成不同的培养基, 如 9K 培养基、里藤培养基、瓦克斯曼培养基等, 其中最重要的一种是 9K 培养基, 其成分如下:

第一部分: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3.0g
KCl	0.1g
K_2HPO_4	0.5g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0.01g
蒸馏水	700mL
第二部分: $5\text{mol/LH}_2\text{SO}_4$	1.0mL
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	14.7%
蒸馏水	300mL

5. 细胞结构

一个完整的细胞结构简图如图 3, 包括细胞壁、细胞膜、细胞质、细胞核(无核膜)。其中 T.F 菌的细胞膜的结构对其功能的作用是比较重要的, 主要分为三个部分: (1) 细胞质膜, 由磷脂和蛋白质组成, (2) 中心区, 包括肽聚糖和周质区, (3) 外膜, 包括粘膜、荚膜、鞭毛、散毛等, 由脂多糖、脂蛋白和磷脂构成。

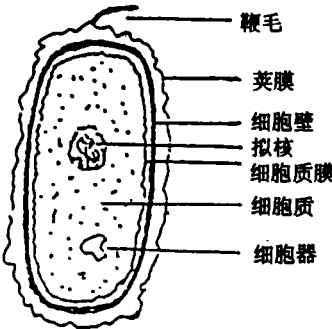
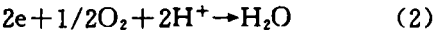
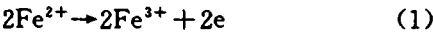


图 3 T.F 菌的细胞结构简图

6. 代谢

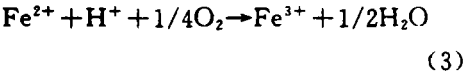
6.1 Fe^{2+} 的氧化⁽¹⁾

Fe^{2+} 的氧化分两点:

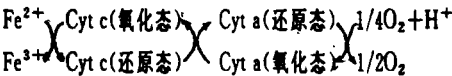


这两步是在细胞膜的两个部位进行的,

第一步是与外膜或周质区相联系的, 第二步则与细胞内膜相联系, 这种分离对阻止 Fe^{3+} 进入细胞及将 Fe^{3+} 及时送到膜外有重要意义, 总的反应式为:

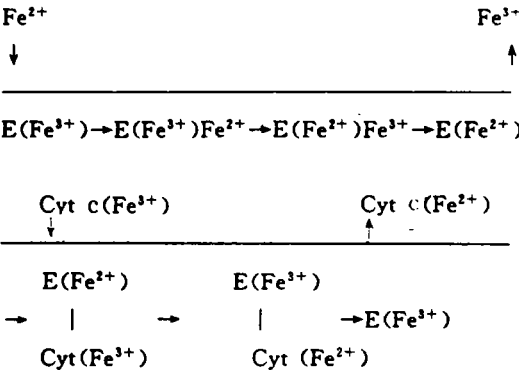


在 pH1.5~3.0 之间, 反应自由能 ΔG 为 7.8~5.9kcal/mol 时, Fe^{2+} 被氧化, 为了使 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 电位从 0.77V 降到 0, Fe^{2+} 与细胞内的有机分子形成一复合物, 电子通过呼吸链成对传递给氧, 每氧化 2mol Fe^{2+} , 细胞获得 14kcal 能量, 形成 1mol ATP。 Fe^{2+} 氧化传递过程如下:



辅酶 Q 起中间载体的作用, 在 Fe^{2+} 的氧化过程中, SO_4^{2-} 是必需的。

$\text{Fe} - \text{Cyt c}$ 氧化还原酶的反应机理称乒乓规则, 表示如下:

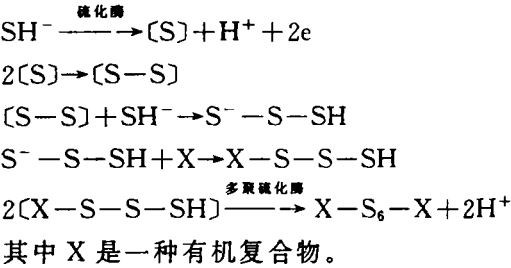


上图中 E 表示酶, Cyt c 表示细胞色素 C (呼吸链组分之一, 一种蛋白酶, Cyt 为 Cytochrome 的缩写, 即细胞色素), 以上过程是通过酶的变构来实现的。

6.2 硫的氧化⁽²⁾

S^{2-} 的氧化分两步, 第一步是在 S^{2-} 氧化酶的作用下, S^{2-} 失去两个电子, 结果发生了 S 原子的聚合; 第二步包括短链多聚硫化物到多聚硫复合物的氧化, 多聚硫化物的氧化是与细胞膜相连的, 而且必须有细胞质的

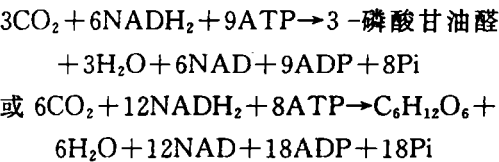
参与。反应过程如下：



6.3 CO₂ 的固定^(3,4)

T. F 菌是通过二磷酸核酮糖环(还原的磷酸戊糖环)途径来固定 CO₂ 的, 这个途径最初是由卡尔文(Calvin)等研究绿藻的

光合作用查明的, 所以又称卡尔文循环。这个途径的总反应式为:



NAD 是脱氢酸的辅基, 起传递 H 的作用, ATP 即腺苷三磷酸, 是一种能量载体, P_i 为磷酸基, $\text{ATP} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{P}_i + \text{能量}$ 。

具体途径见图 4

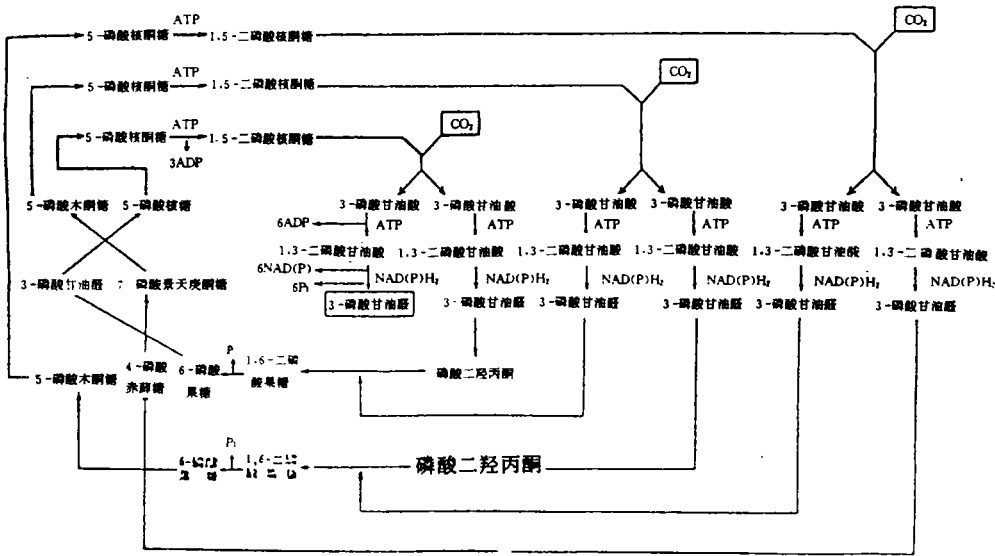
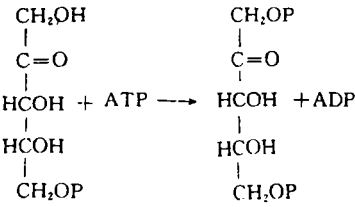


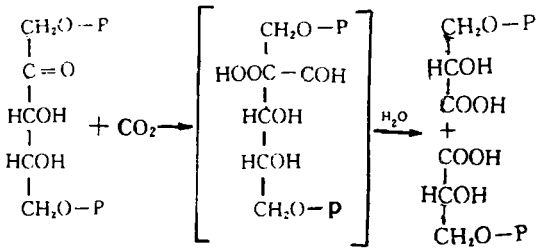
图 4 T. F 菌 CO₂ 同化的途径(Calvin 环)

在二磷酸核酮糖环中, 有两个特有的反应, 它们是: (1) 5-磷酸核酮糖在有关的激酶催化下, 生成 1,5-二磷酸核酮糖:



(2) 1,5-二磷酸核酮糖作为 CO₂ 的受

体, 在二磷酸核酮糖羧化酶催化下, 生成一个 6C 的中间化合物, 此化合物不稳定, 随即水解成 2 分子 3-磷酸甘油酸:



7. T. F 菌与矿物的作用特性⁽⁵⁾

细菌对矿物的吸附是有选择性的,细菌往往吸附在有缺陷的矿物表面,矿物晶格的形状、走向对细菌的吸附都是有影响的。不同细菌对矿物的吸附性也是不同的,以下的三个图表明了 T. F 菌对矿物的吸附及腐蚀作用。

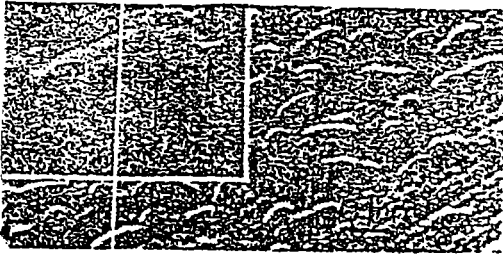


图5 细菌对黄铜矿的吸附作用
(箭头示鞭毛,自 Berry 等)



图6 灭菌的黄铜矿表面
(自 Berry 等)



图7 接种了 T. F 菌的黄铜矿表面
(示 T. F 菌的腐蚀作用)
(自 Berry 等)

细菌吸附到矿物表面,是摄取营养物质的需要,也是一种能量要求。细菌生存所需的物质如 Fe^{2+} 、 S^{2-} 等富集在固-液界面。细菌吸附到自由矿物表面可使体系自由能降低。

参与细菌-矿物之间吸附的生理结构是细菌细胞壁及外膜,而细胞内膜及其它细胞器几乎不影响吸附作用。外膜结构影响着细菌-矿物之间粘着强度和吸附速度。T. F 菌一端生有鞭毛,鞭毛使细菌可动并使吸附具有趋向性。粘膜中分布着许多膜蛋白,含有多极性基团,如羟基($-\text{OH}$)、羧基($-\text{COOH}$)、巯基($-\text{SH}$)、氨基($-\text{NH}_2$)等,这些极性基团使细菌表面带上电荷,可与矿物表面产生静电作用,还可与矿物表面或与溶液中的某些组分产生静电以外的其它化学键力,如氢键、范德华力等。

8. T. F 菌的分离⁽⁶⁾

T. F 菌的分离主要有五种方法:

(1)平板接种法:首先用修正的 9K 固体培养基平板接种,然后挑一个菌落,用 9K 液体培养基培养,然后再平板接种,再液体培养,为了保证纯的菌种,往往要重复几次。

(2)酸选育法:多数异养菌在酸度低于 $\text{pH}1.7$ 时不能生存,在 $\text{pH}\leq 1.9$ 时,用 9K 培养基富集 T. F 菌,除去不耐酸的杂菌,连续移种 6 次以上即可,理想的方法是将此法与下面的方法结合。

(3)稀释法:用显微镜对细胞计数,然后不同程度稀释后移种到不同的含培养基的试管中,稀释的程度要使大多数试管中不含细菌。当其中一支试管中有细菌生长时,在显微镜下计数,然后再重复操作。这种方法的好处在于两种以上 T. F 菌共存时,占优势的 T. F 菌被选育出来。

(4)单细胞分离法:用显微分析的方法分离出单个细胞。

(5)重金属离子选育法:比如在 9K 培

培养基中加入 1~5g/L Cu^{2+} 来培养 T₊F 菌, T₊F 菌对金属离子有较高的耐受性,而异养菌不易适应。

9. T₊F 菌的改良^(7,8)

一方面使用传统的紫外光诱变或利用诱变剂作用,另一方面则使用基因工程的方法对 T₊F 菌进行改良。基因工程的方法主要包括以下步骤:

(1)选出具有某种优良性状的菌株。

(2)制备 DNA 片段。从该菌株中分离纯化出 DNA 后,将 DNA 用限制性内切酶进行降解,以分离出大小合适的片段,作为克隆用。克隆就是由一个 DNA 片段制成多个相同结构的 DNA 片段,DNA 即脱氧核糖核酸,是双螺旋结构的遗传物质,在不同的限制性内切酶作用下降解成不同大小的 DNA 片段。

(3)DNA 片段与载体的连接。有用噬菌体作为载体,噬菌体是一种病毒,常以细菌作寄主。

(4)将重组体引入细菌细胞,体外包装噬菌体进行感染,或用转化的方法使质粒 DNA 进入细胞,转化就是游离的 DNA 片段的转移和重组。

(5)筛选鉴定基因组。用分子杂交、凝胶

电泳、DNA 测定等方法加以筛选。

(6)用鉴定的基因与载体连接形成重组 DNA。

(7)通过转化(感染)将重组 DNA 引入受体细胞。

(8)筛选出所需菌株。

10. T₊F 菌的繁殖

属于二分裂繁殖,即由一个细胞分裂后形成两个相同的细胞,这样细菌数目增加了,又保留了细菌原有的遗传特性。

参考文献

- 1 Lundgren D. G. , Reed R. et al. , Biotechnol. Bioeng. Symp. 1986, 16, 35~44
- 2 Aleem M. I. H. , Palnt and Soil, 1975, 587
- 3 Kelly D. P. , Ann. Rev. Microbiol. , 1971, 25, 177
- 4 Maciag W. J. and Lundgren D. G. , Biochem. Biophys. Res. Commun. , bacteriol, 1964. 17, 603
- 5 Solari J. A. et al. , Colloids and Surfaces. , 1992, 69, 159~166
- 6 Kinsel N. A. , J. Bacteriol. , 1960, 80, 628
- 7 International Symposium on Biohydrometallurgy, (1985), Fundamental and Applied Biohydrometallurgy, Amsterdam Elsevier, 1986
- 8 沈同、王镜岩主编,生物化学,高等教育出版社,第二版,1990,12

新书介绍:《铀金铜矿石堆浸原理与实践》

堆浸技术在当今已发展成为工业上处理低品位矿石及废石等物料、提取有价值金属的既简单又经济的一种有效方法。堆浸法的推广应用对降低生产成本,提高经济效益,扩大资源利用率有着特殊的意义。

本书作者李尚远等长期致力于铀、金、铜矿石堆浸技术研究和堆浸工程项目开发,在总结成果的基础上完成了本书的编著。希望本书的出版有助于国内外同行的交流,共同促进堆浸技术的发展。

本书共分九章:第1章概念,扼要介绍堆浸的发展史、堆浸的基本概念和技术特点等;第2、3章阐述堆浸的化学、物理原理和动力学特点;第4章介绍堆浸工艺和设备,其中包括堆浸场的设施和配置,矿石造粒工艺和设备,筑堆方法和基本技术参数,以及强化堆浸等内容;第5章介绍浸出液中金属回收工艺和设备;第6章分析堆浸中的结垢成因和预防措施;第7、8章讨论了堆浸工程中的环保问题和堆浸过程中的质量监测;第9章评述了堆浸工程的技术经济指标。

本书可供从事地质勘探、采矿、水冶的技术人员和生产人员使用,也可供大专院校有关专业师生参考。

本书由原子能出版社出版,新华书店发行,字数约25万字,估价:22元。预订者可与北京2108信箱一编室赵文惠联系。电话:(010)68417733 转 2310,邮编:100037。也可到当地新华书店购买。