

Физиология бактерий

Профессор Бойченко М.Н.



Классификация бактерий по типам питания и получения энергии

□ По источнику

С:

□ 1. Аутотрофы

□ 2. Гетеротрофы

□ По механизму

получения

энергии:

□ 1. фототрофы

□ 2. хемотрофы

хемотрофы

- Донор электронов **неорганическое** соединение – **литотрофы**
- Донор электронов **органическое** соединение -**органотрофы**

Требования, предъявляемые к питательным средам

- 1. Вода
- 2. Органический источник С .
- 3. Осмотическая емкость
(изотоничность создается NaCl).
- 4. Определенный pH
- 5. Прозрачность
- 6. Стерильность

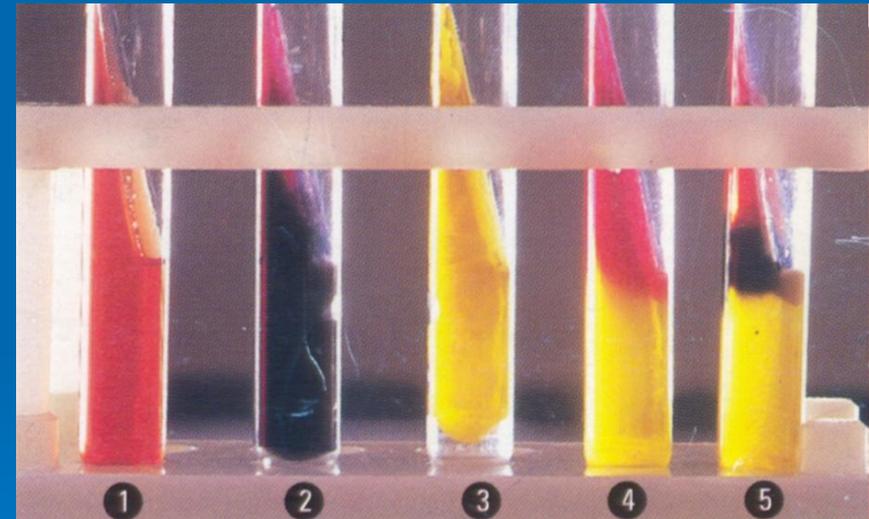
Ферменты бактерий

- 1. **ОКСИРЕДУКТАЗЫ** (оксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза)
- 2. **ТРАНСФЕРАЗЫ** (декарбоксилазы)
- 3. **ГИДРОЛАЗЫ** (пептидазы, липазы, глюкозидазы, гиалуронидаза)
- 4. **ИЗОМЕРАЗЫ**
- 5. **ЛИАЗЫ** (аденилатциклаза)
- 6. **ЛИГАЗЫ**

Ферменты бактерий

- Синтезируются **постоянно** – **конститутивные**
- Синтезируются при **наличии индуктора** – **индуцибельные**

Дифференциально- диагностические среды



Транспорт веществ внутрь клетки

- Энергонезависимый, протекающий по градиенту концентрации:
- 1. Простая диффузия
- 2. Облегченная диффузия

Транспорт веществ внутрь клетки

- ▣ *Энергозависимый, протекает против градиента концентрации*
- ▣ **1. активный транспорт** (без химическакой модификации переносимого вещества
- ▣ **2. транслокация радикалов** (химическая модификация переносимого вещества)

Дыхание

- Процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с окислительным фосфорилированием, в которых донором электронов является органическое соединение, а акцептором неорганическое соединение

Брожение

- Процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с реакциями субстратного фосфорилирования, при котором **донором и акцептором электронов являются органические соединения**

Брожение

- **Не сбраживаются:**
- 1. липиды
- 2. ароматические соединения
- 3. стероидные соединения

Гниение

- **Гниение — это процесс глубокого окислительного разложения белковых веществ микроорганизмами.**

Продукты гниения

- **1.кислоты, спирты.**
- **2.фенол, крезол, скатол, индол**
— вещества, обладающие очень неприятным запахом.
- **3.Меркаптаны, обладающие**
запахом тухлых яиц

Значение гниения

- 1. Процесс гниения устраняет мертвые организмы на суше и в воде
- 2. Превращение отбросов животных и растений в навоз и перегной – удобряет почву
- 3. В процессе гниения в аэробных условиях происходит полная минерализация белка до углекислого газа, аммиака и сероводорода.

Пути расщепления глюкозы

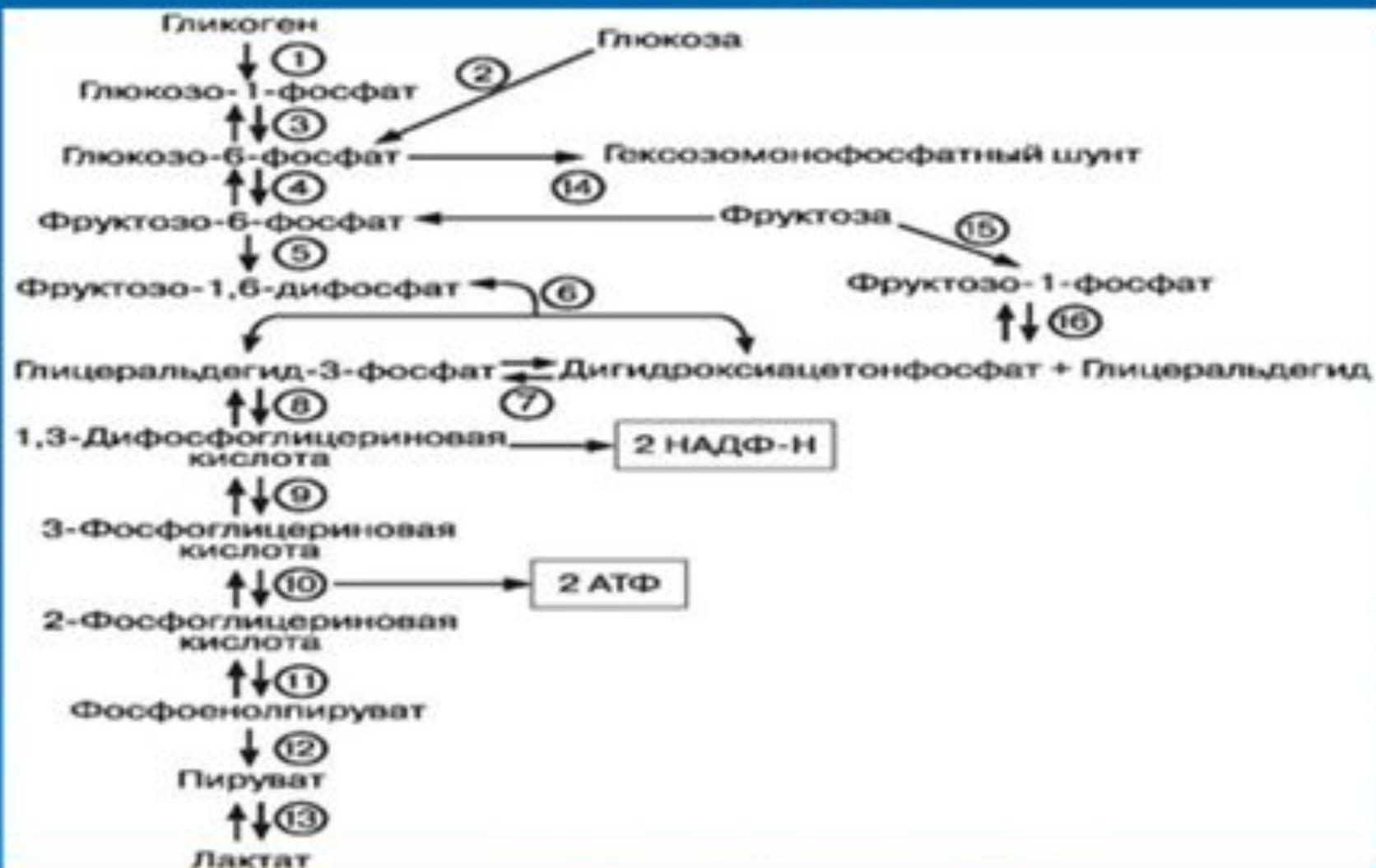
- 1. ФДФ (фруктозо 1,6-дифосфатный путь: Эбдена Мейергофа-Парнаса)
- 2. Пентозный цикл (окислительный ментозофосфатный путь: Варбурга-Дикенса-Хорегера)
- 3. Этнера-Дудорова (2 кето, 3 дезокси-6-фосфоглюконовая кислота) (КДФГ-путь)

Расщепление глюкозы

Глюкоза-6-фосфат

- Глюкоза вначале фосфорилируется в положение 6
- **Глюкоза-6-фосфат** – метаболически активная форма глюкозы-исходное соединение для всех 3 путей ее распада

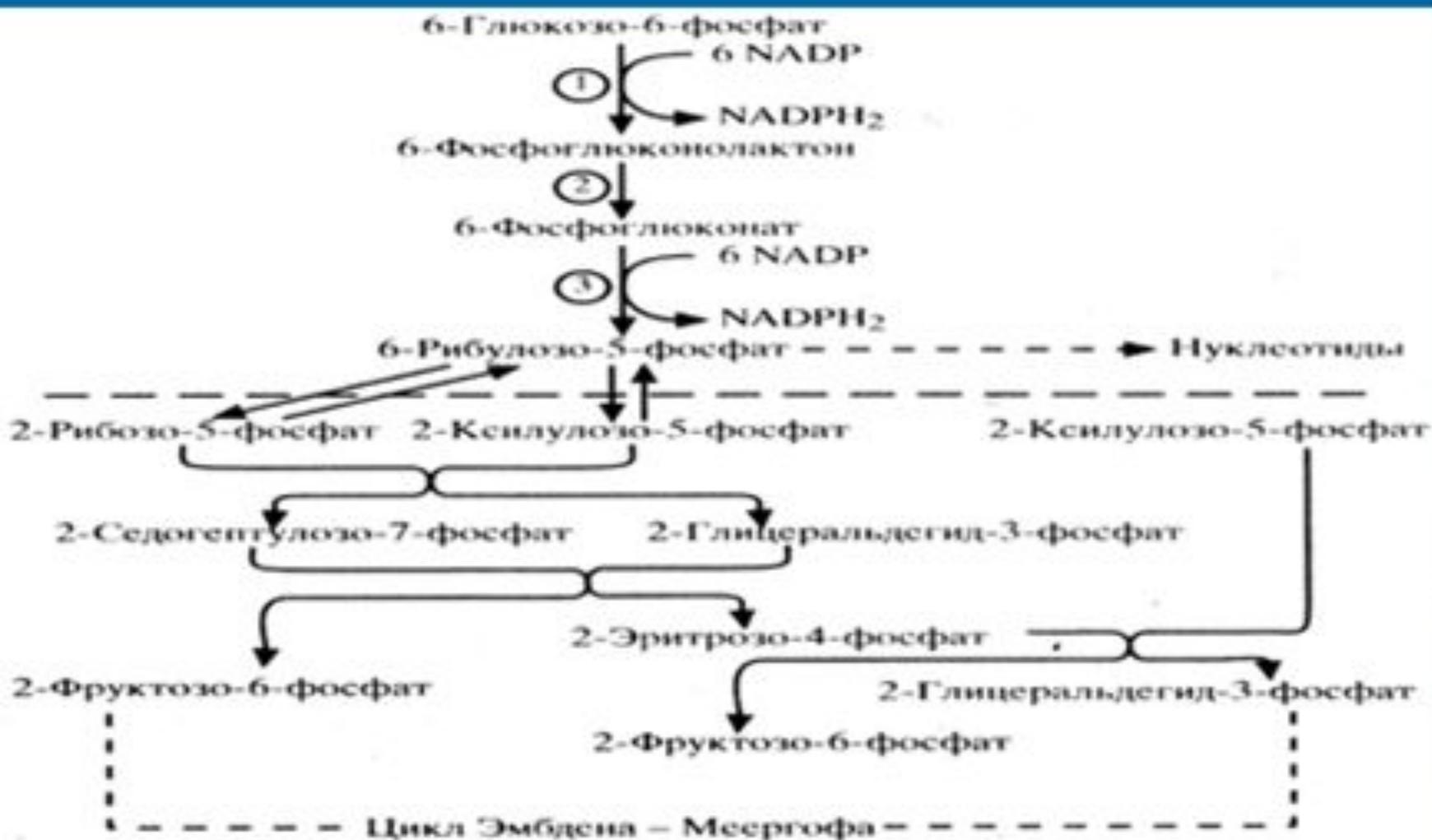
ФДФ-путь



ФДФ-путь

- Все реакции обратимы за исключением **ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ, ГЕКСОКИНАЗЫ и ПИРУВАТКИНАЗЫ**
- **Баланс: 2 пирувата**
- **2 АТФ**
- **2 НАД Н**

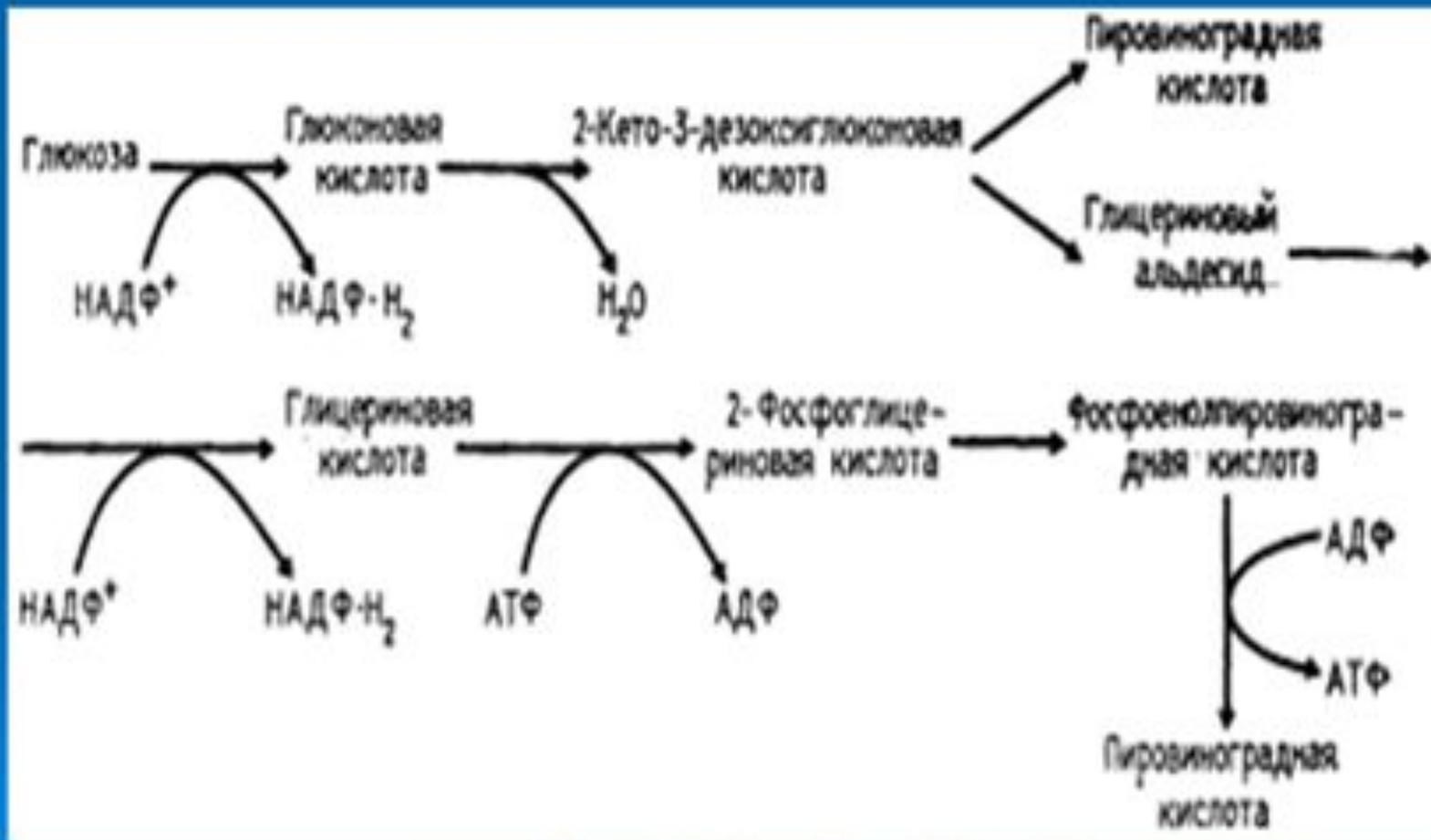
Пентозный цикл



Пентозный цикл

- Итог: подготовка исходных веществ для биосинтетических процессов.
(пентозофосфаты= предшественники нуклеотидов)
- 1 CO_2
- 2 НАДФН

КДФГ



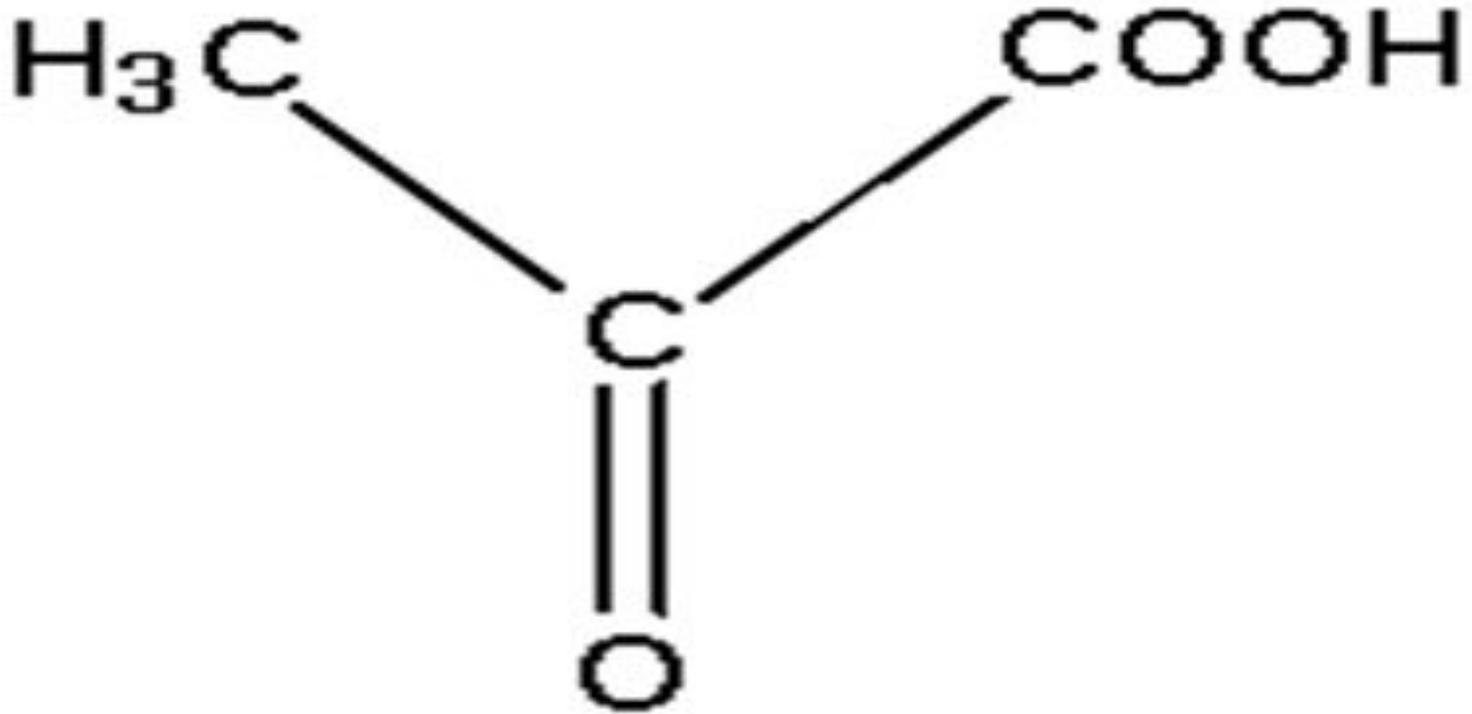
КДФГ-путь

- Принципиальное значение имеет при использовании глюконовой кислоты в качестве источника С и энергии.

Баланс: 1 НАДФ Н

- 1 НАД Н
- 1 АТФ
- 2 пирувата
- Используется псевдомонадами

пируват



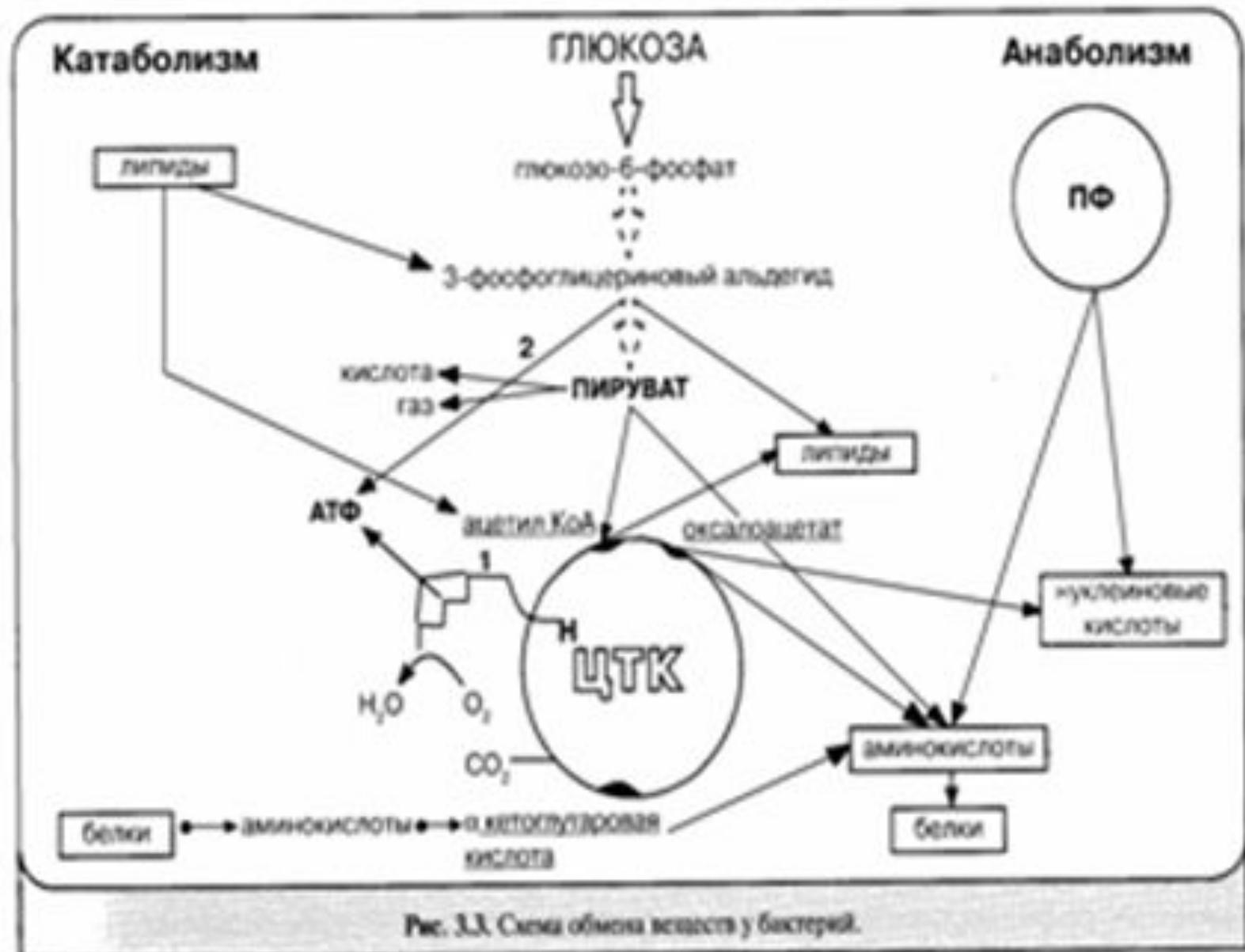
ПИРУВАТ



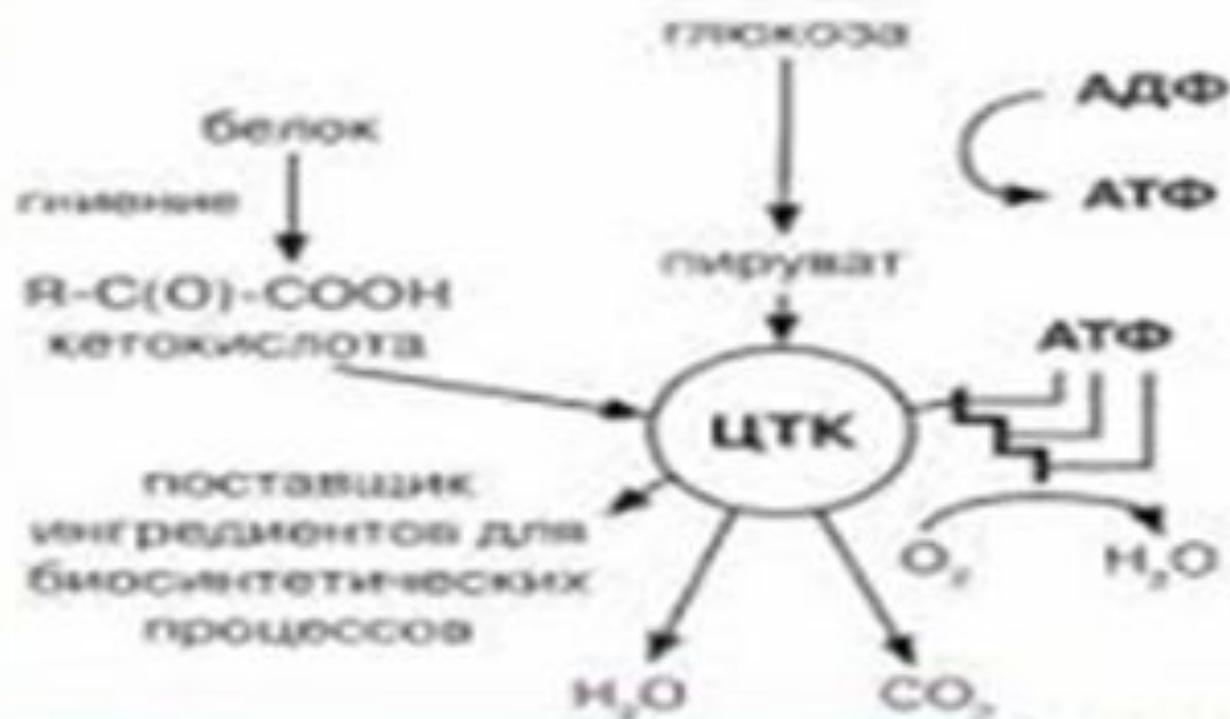
- **Пировиноградная кислота является исходным соединением в процессах биосинтеза и распада**

Типы метаболизма

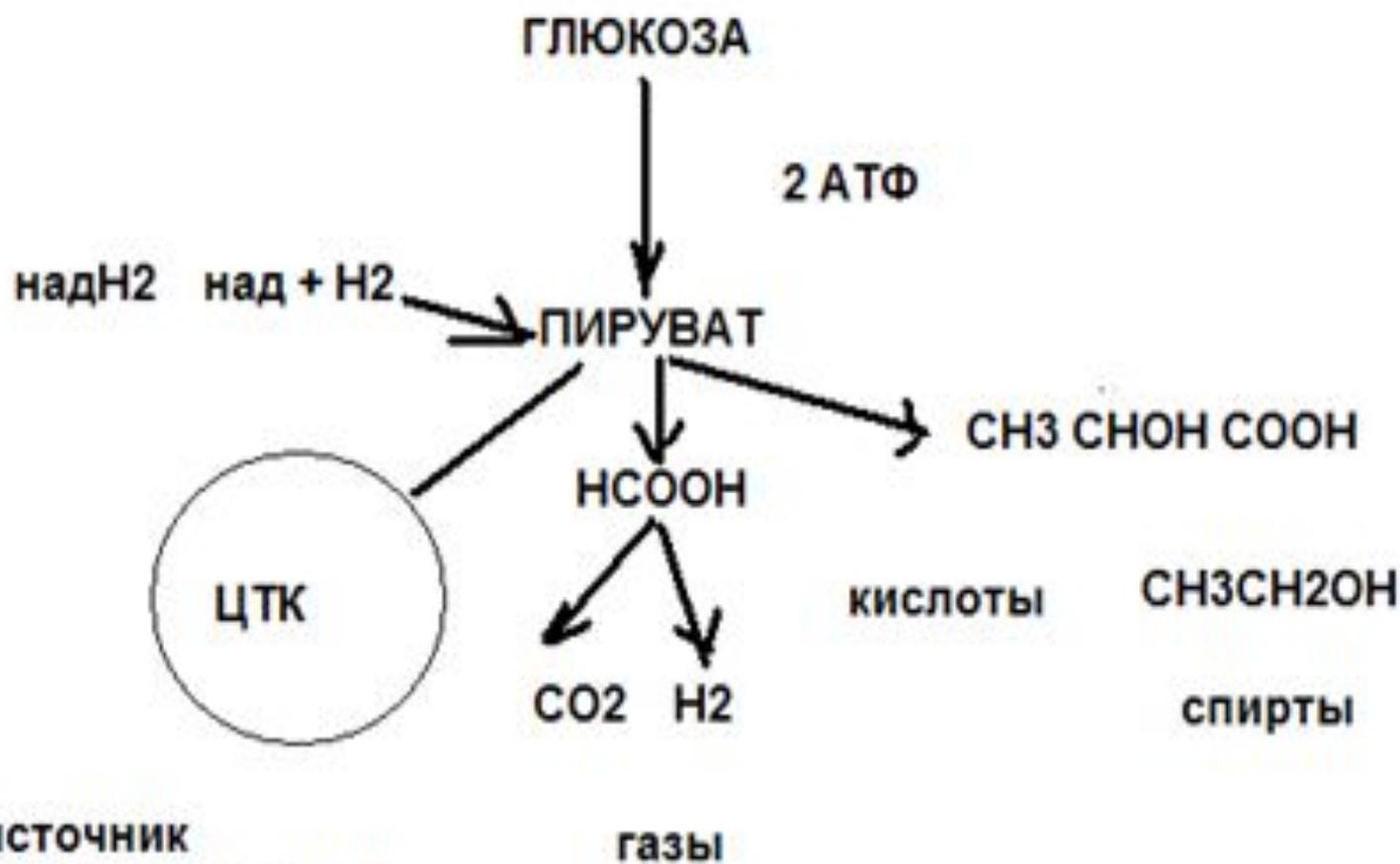
- **1. Окислительный** (глюкоза и окислившийся белок полностью окисляется в ЦТК до углекислого газа и воды, а одщепившиеся ионы водорода поступают в дыхательную цепь)
- **2. Бродильный**



Окислительный метаболизм у бактерий (дыхание)



бродильный механизм у бактерий



источник
ингредиентов для
биосинтетических
процессов

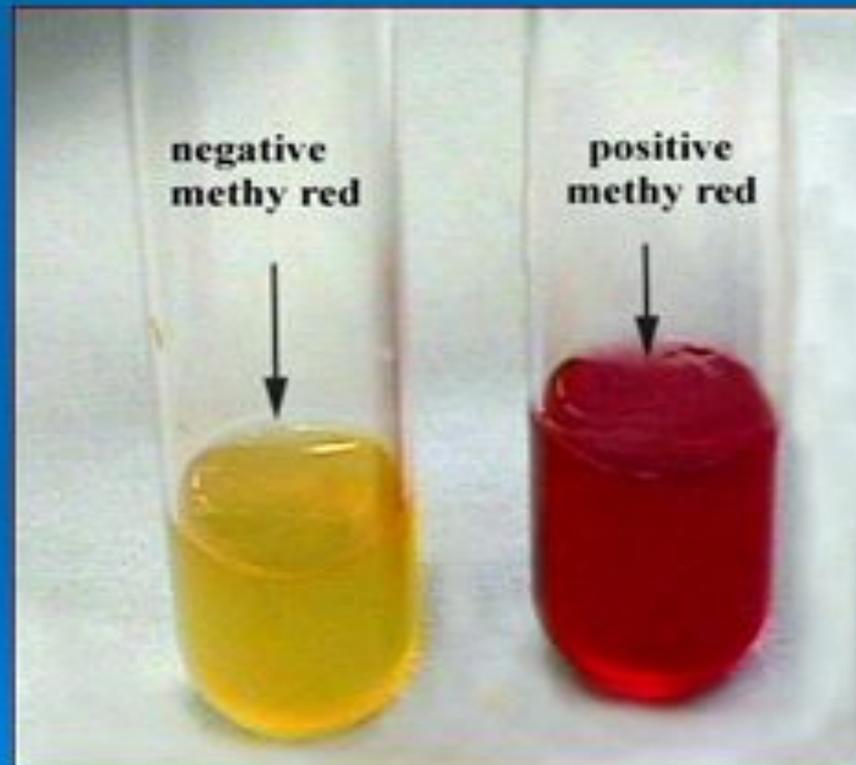
Продукты дыхания и брожения.

- При использовании глюкозы и других сахаров в результате их окисления образуются CO_2 и вода, а
- В результате их ферментации (сбраживания) образуются кислоты, спирты, газы

Муравьинокислое брожение

- $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$
- HCOOH ← Ac CoA
- H_2 CO_2
- Происходит образование **кислот и газов**, которые выявляются в реакции **метил-рот**

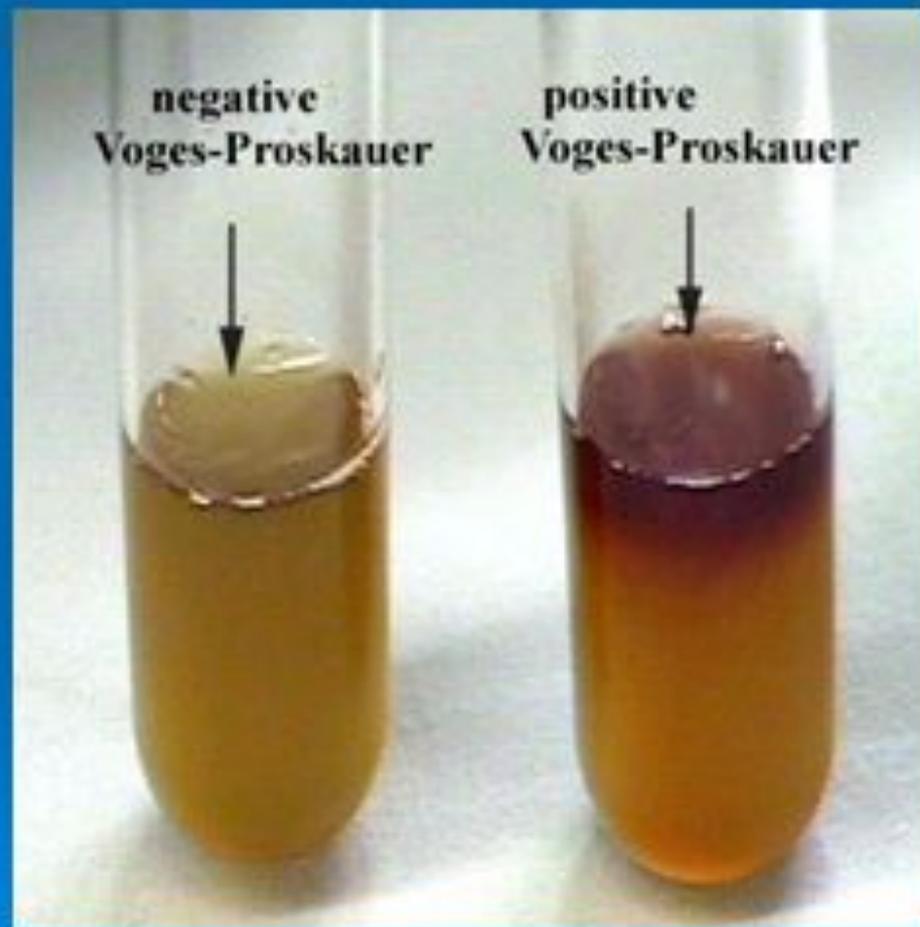
Метил рот



Муравьинокислое брожение

- По второму варианту происходит конденсация 2 молекул пирувата с последующими двумя декарбонированием с образование ацетона, который выявляется в реакции Фогес-Проскауэра

Реакция Фогес-Проскауэр



Реакция Стикланда

- Сопряженное сбраживание 2 аминокислот-реакция Стикланда
- Пептолитические кластридии гидролизуют белки с образованием аминокислот, которые сбраживаются друг с другом

Реакция Стикленда

- Аланин сбраживается с глицином
- Аланин – днор (H^+)
- Глицин –акцептор (H^+)
- Донор дезаминируется с образованием кетокислоты
- Кетокислота окислительно декарбоксилируется в жирную
- Эти превращения сопряжены с фосфорилированием, т.е. получением энергии

Реакция Стикленда

- Аланин + глицин + H₂O \longrightarrow
- 3CH₃COOH + 3NH₃ + CO₂

Катаболическая репрессия

- Приспособление клетки к использованию в первую очередь наиболее легко усвояемых источников энергии
- При присутствии в среде одновременно глюкозы и лактозы, сначала используется глюкоза, так как она препятствует синтезу ферментов лактозного оперона, обеспечивающих утилизацию лактозы, уменьшая количества ц-АМФ

Катаболическая репрессия

- К.Р. Связана с фосфотрансферной системой
- ФТС обеспечивает накопление в клетке глюкозы, маннозы, манитола в виде фосфорных эфиров (гл.-1-ф)
- В процессе транспорта этих углеводов, ФТС переносит на их молекулы фосфорильные группы от ФЕП с участием специфических ферментов и белков -переносчиков

Катаболическая репрессия

- При низкой концентрации глюкозы в среде происходит накопление ФЕП, который способен активировать аденилатциклазу, повышая уровень ц-АМФ, который активирует лактозный оперон, способствуя утилизации лактозы

Отношение бактерий к кислороду

По использованию кислорода

```
graph TD; A[По использованию кислорода] --> B[Облигатные аэробы]; A --> C[Факультативные анаэробы]; A --> D[Облигатные анаэробы];
```

Облигатные
аэробы

Факультативные
анаэробы

Облигатные
анаэробы

Облигатные аэробы

- 1. **строгие**
- 2. **микроаэрофилы** (растут при пониженном парциальном давлении кислорода. Для этого создается атмосфера 5% CO₂)

Облигатные анаэробы

- 1. **Строгие** (гибнут в присутствии кислорода)
- 2. **Аэротоллератные** (Не используя кислород, могут существовать в его атмосфере)

Кислородное дыхание

-
- $2O_2 + 2H$ супероксидди смутаза
 $H_2O_2 + O_2$
- $2H_2O_2$ каталаза $2H_2O + O_2$



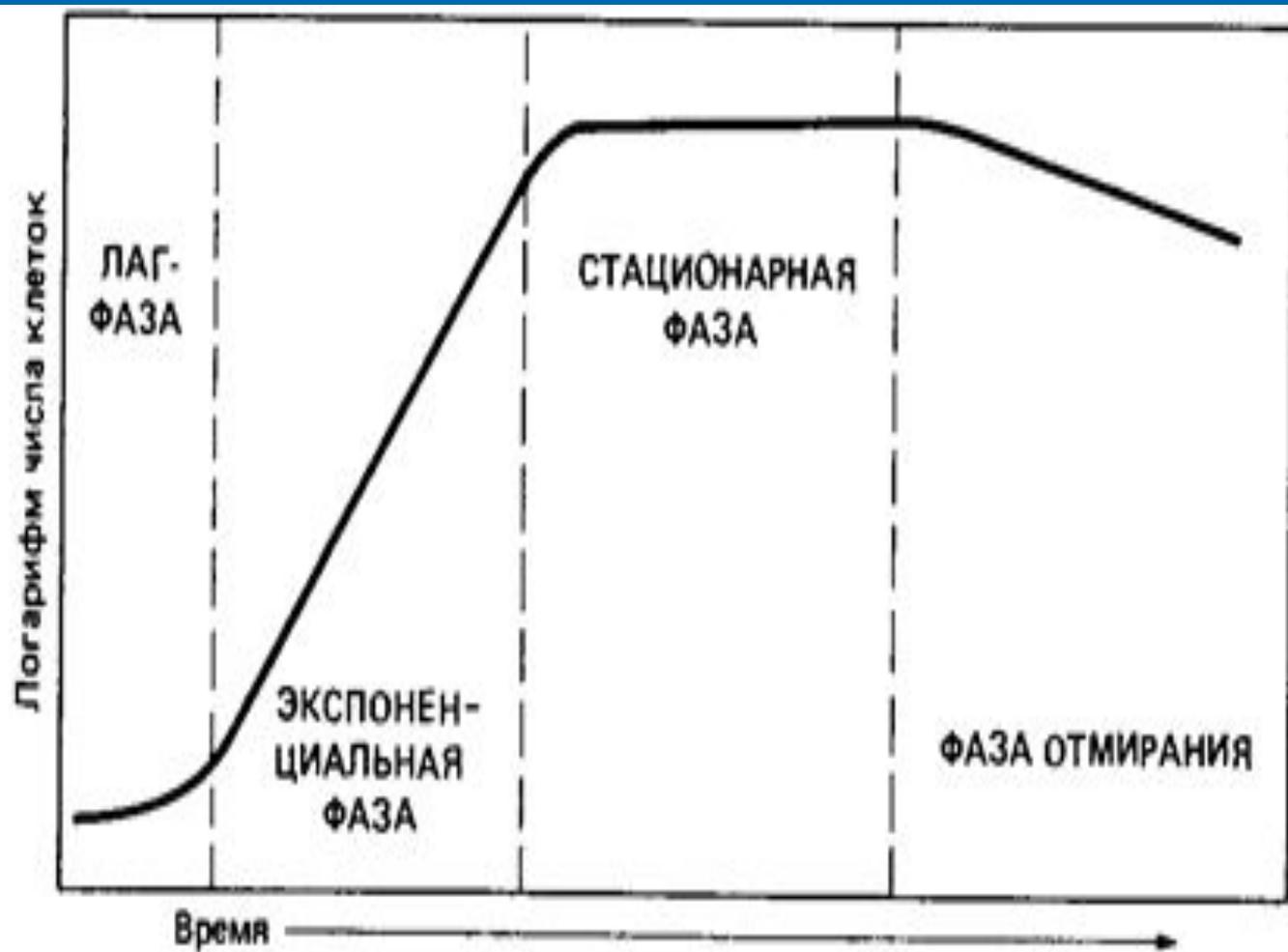


Рис. 6.6. Кривая роста бактериальной культуры.

Рост в периодической культуре

- Рост в периодической культуре описывается классической кривой
- Рост в периодической культуре ограничен концентрацией субстрата



Параметры кривой роста

- **1. Время генерации** (время удвоения бактериальной клетки варьирует от 20 мин до 24 часов в зависимости от вида бактерий)
- **2. Продолжительность lag-фазы** (показатель эффективности питательной среды)
- **3. Урожай клетки** (*разность между количеством клеток в стационарной и lag фазой*)

Условия культивирования бактерий

- 1. Оптимальная питательная среда
- 2. Атмосфера культивирования
- 3. Температура культивирования (*мезофилы: 30-40 C; термофилы: 40-60 C; психрофилы: 0-20 C*)
- 4. Время культивирования (*зависит от времени генерации*)
- 5. Стерильные условия

Секреторная система 1 типа

- Одноэтапный перенос при помощи 3 белков:
- 1. белка клеточной стенки, формирующего пору
- 2. белка, пронизывающего периплазматическое пространство
- 3. белка, формирующего пору в ЦПМ
- АТФ-азы

- ***Переносит формирующие пору ферменты (гемолизин)***

Секреторная система 2 типа

- Транслоказа (SEC –белок) узнает сигнальную последовательность на N-терминальном конце вновь синтезированной пептидной цепи сразу после трансляции.
- В периплазматическом пространстве сигнальная последовательность отщепляется

Секреторная система 2 типа

- Взаимодействие с шаперонами формирует четвертичную структуру
- Зрелый белок через порины выходит в окружающую среду



Секреторная система 5 типа

- В переплазматическом пространстве из С-конца полипептидной цепи формируется бета-цилиндрическая структура, выполняющая роль поры, через которую проходит N-терминальный конец
- Внеклеточный протеолиз переводит белок в активное состояние

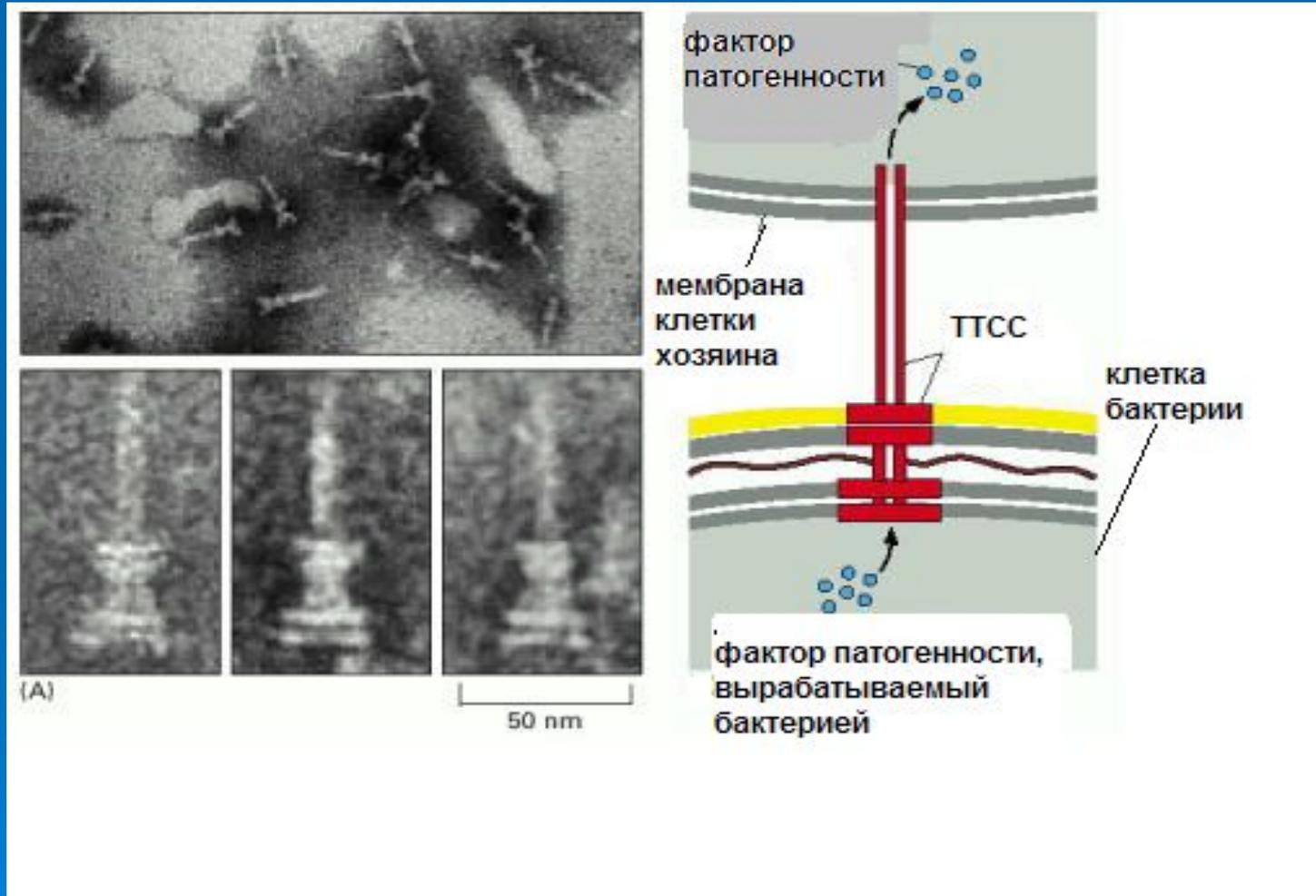
-

Секреторная система 3 типа

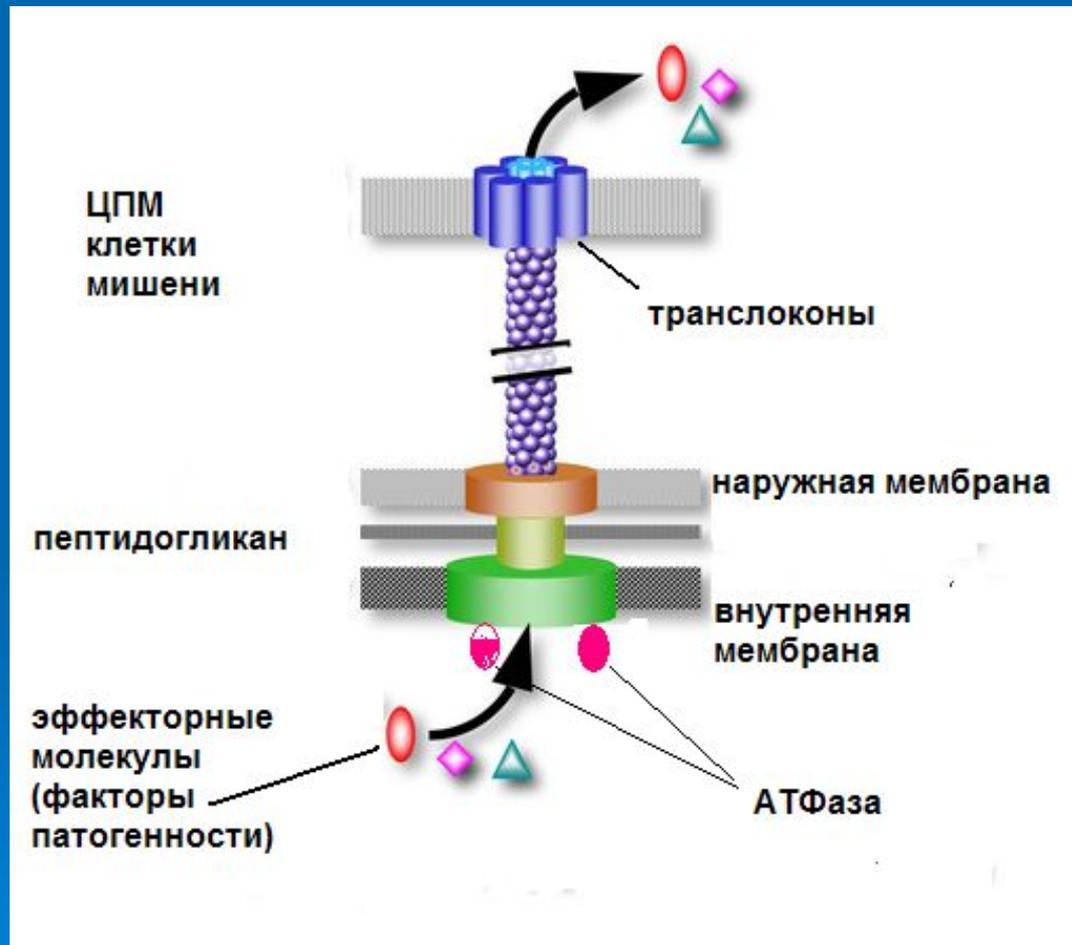
- Направленная доставка в эукариотическую клетку бактериальных эффекторных молекул, нарушающих функции эукариотической клетки



Секреторная система 3 типа

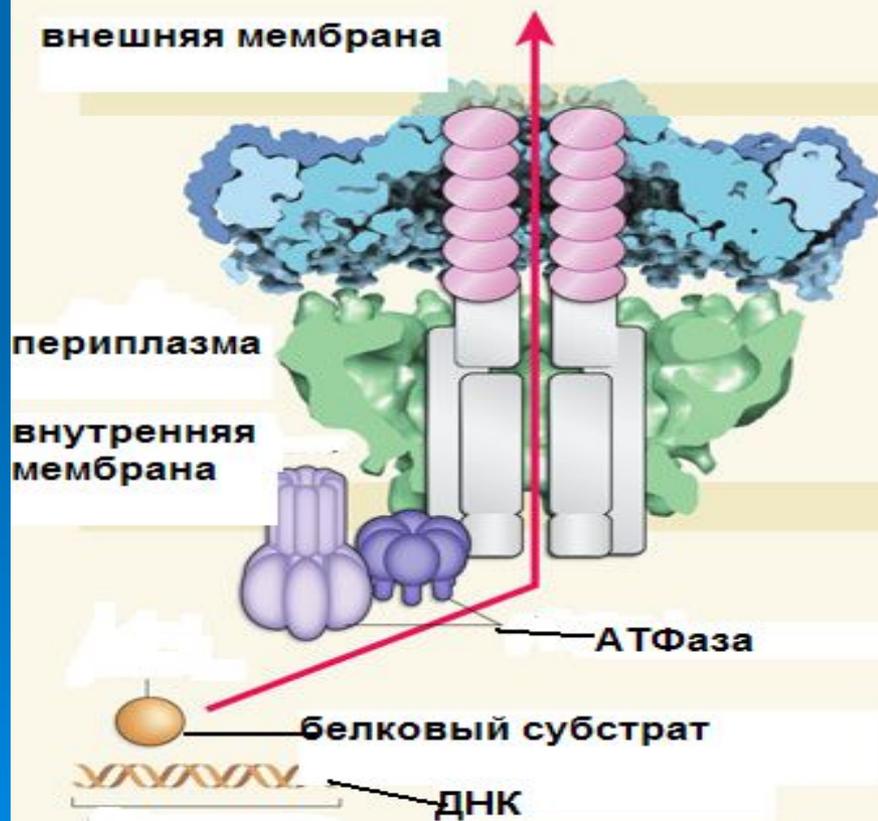


Секреторная система 3 типа

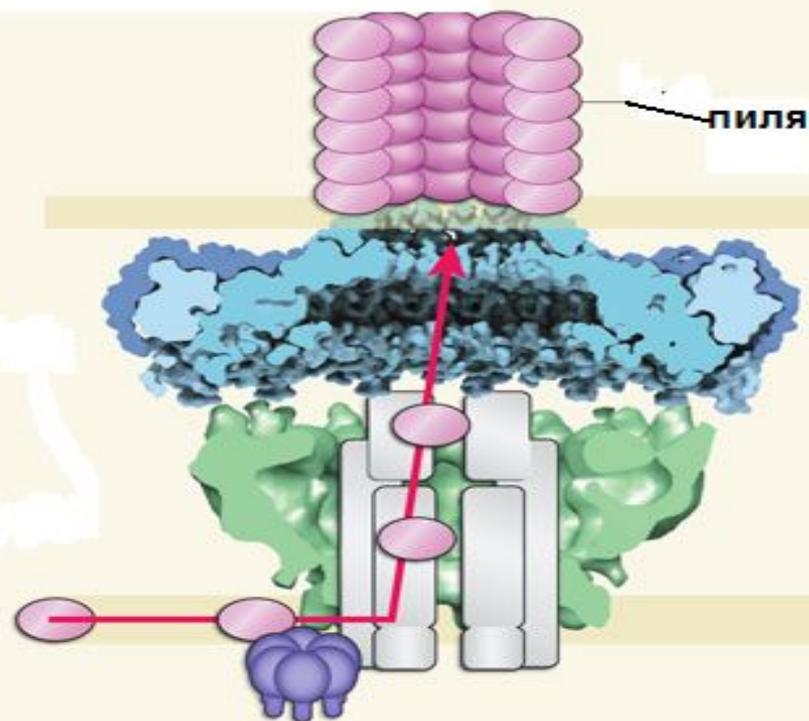


4 типа секреторная система

а транспорт субстрата



формирование пили



Quorum sensing

- Механизм бактериального общения, предназначенный для контроля экспрессии генов в зависимости от плотности популяции



БИОПЛЕНКА

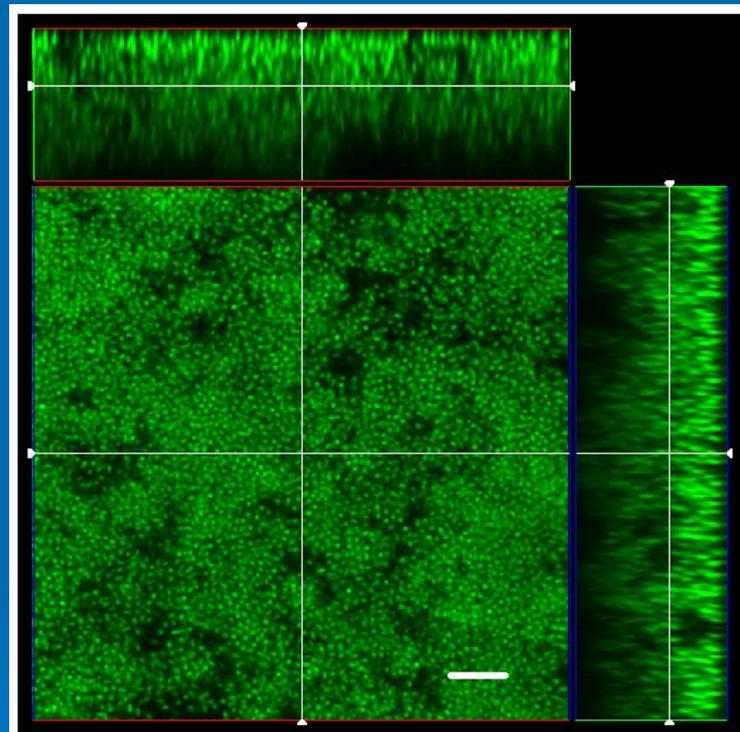
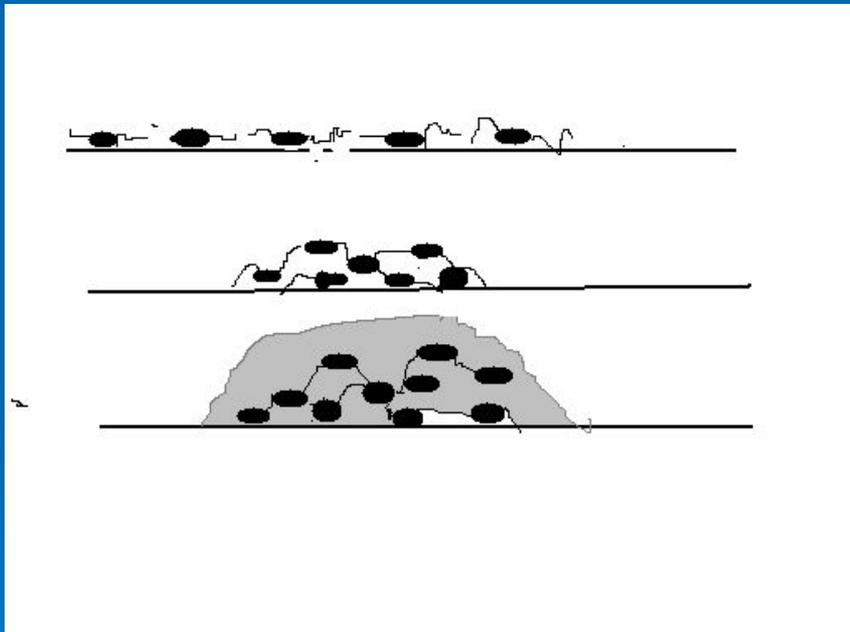
- Высокоорганизованное сообщество бактерий, необратимо прикрепленных к субстрату и друг к другу, защищенных продуцируемым этими клетками внеклеточным полимерным матриксом

БИОПЛЕНКА

- В биопленке бактерии защищены от действия
- антибиотиков,
- дезинфектантов,
- бактериофагов



Биопленка



Биопленка, сформированная *Burkholderia cenocepacia* на стекле. Представлена трехмерная проекция. Бактерии окрашены акридиновым оранжевым и сфотографированы с помощью метода конфокальной лазерной сканирующей микроскопии на микроскопе Zeiss Axiovert 200M LSM510 (Германия). Маркер 5 мкм

Методы хранения бактериальных культур

- **Непродолжительное хранение**
- 1. периодическое пересевание на свежую среду с выращиванием при пониженной температуре с последующим хранением в холодильнике не более 14 дней
- 2. в полужидком агаре, залитом стекрильной вазелином (хранят максимально в течение 1 года)

Методы хранения бактериальных культур

- Длительное хранение:
 - 1. лиофилизация
 - 2. ультразамораживание в жидком азоте (-196 С)

Методы хранения бактериальных культур

- **Лиофилизация** заключается в удалении воды из замороженных клеток путем сублимации при низком давлении.
- При этом вода испаряется без перехода в жидкую фазу.
- В процессе лиофилизации добавляют **криопротекторы** (20% лошадиная сыворотка; 12% раствор сахарозы)

Методы хранения бактериальных культур

- Ультразамораживание проводят с добавлением криопротекторов: 10% глицерола; ДМСО.
- Они замещают воду в качестве гидратной оболочки, уменьшая повреждающее действие кристаллов льда при замерзании воды