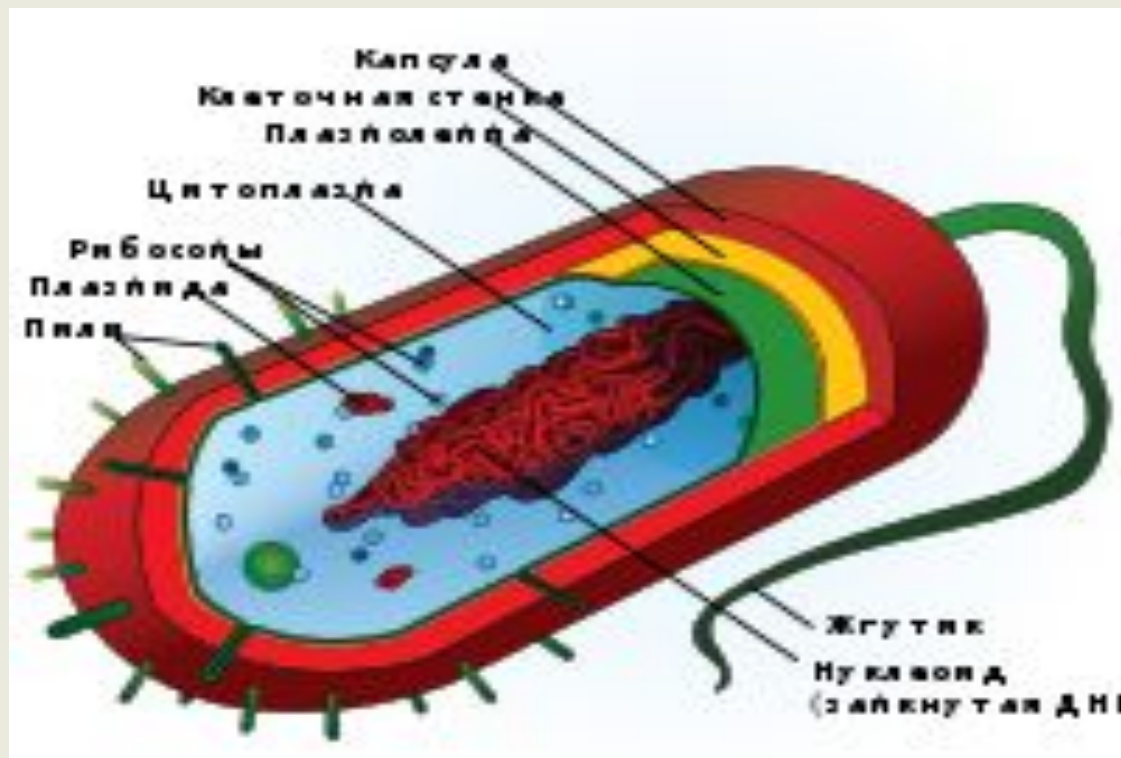
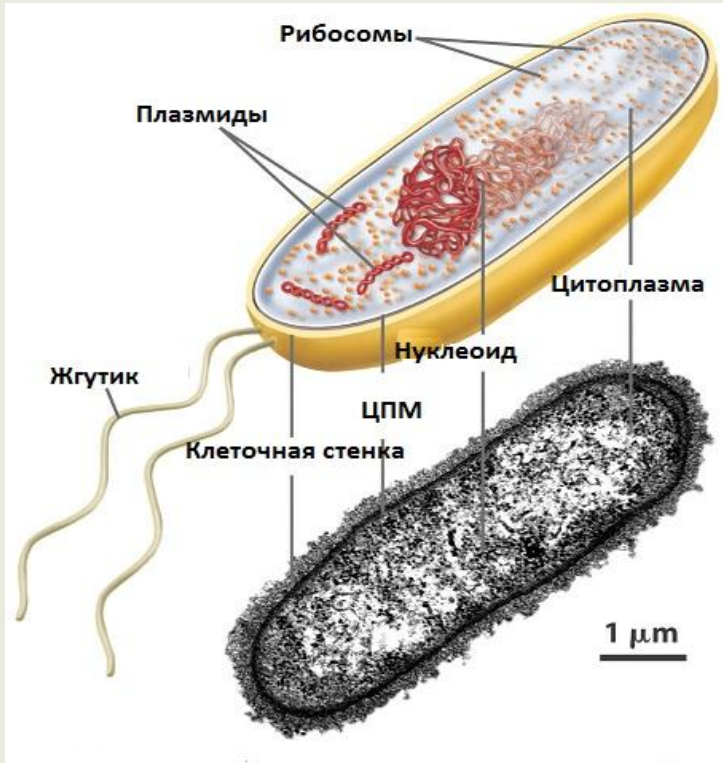


Ультраструктура бактериальной клетки



Особенности организации прокариотической клетки



- ❑ Отсутствие клеточных структур, ограниченных элементарной мембраной
- ❑ Генетический материал – нуклеоид и плазмиды
- ❑ Рибосомы – 70 S типа
- ❑ Клеточная стенка содержит пептидогликан
- ❑ Отсутствие стеролов в мембране

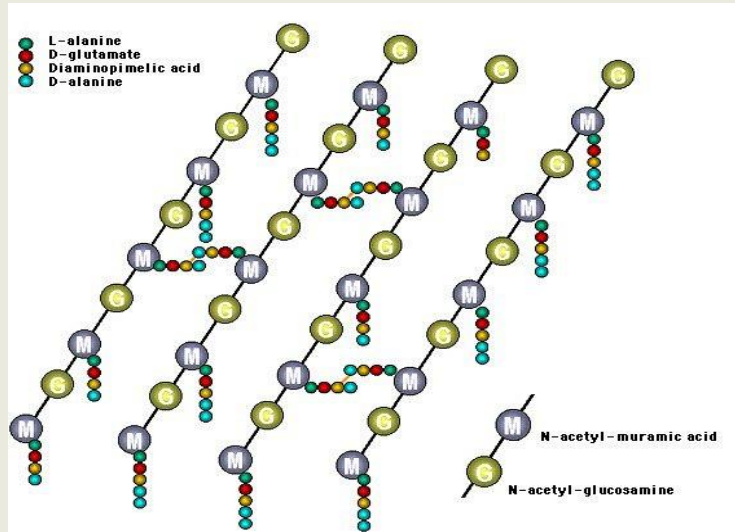
Обязательными компонентами бактериальной клетки являются:

- ❑ Клеточная стенка
- ❑ Цитоплазматическая мембрана
- ❑ Цитоплазма с органоидами и включениями

Клеточная стенка бактерий (КС)

- ❑ КС обеспечивает постоянную форму клетки, механическую и осмотическую защиту, взаимосвязь с окружающей средой, несет рецепторы для бактериофагов, является важнейшим компонентом системы деления бактериальных клеток, обеспечивая формирование перетяжки.
- ❑ Отдельные соединения в составе КС обладают целым спектром *иммунобиологических свойств*: участвуют в адгезии, угнетении фагоцитоза, обладают иммуномодулирующей активностью и т.д.
- ❑ Химический состав и строение клеточной стенки постоянны и являются важным таксономическим признаком.
- ❑ В зависимости от строения клеточной стенки прокариоты, относящиеся к эубактериям, делятся на две большие группы: грамположительные и грамотрицательные

Клеточная стенка бактерий (КС)

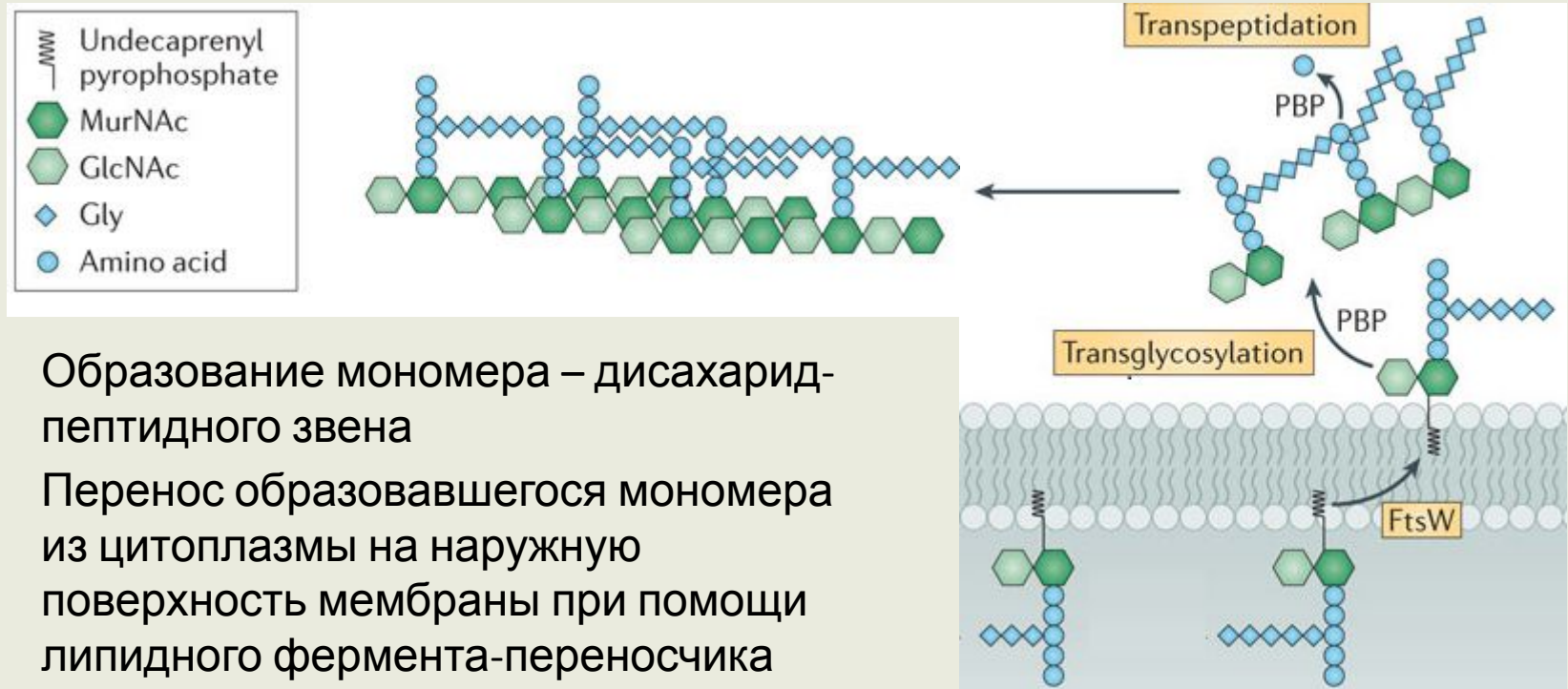


Пептидогликан: принципиальная схема организации полимерной молекулы

M - N-ацетил-мурамовая кислота
G - N-ацетил-глюкозамин

- ❑ Основу клеточной стенки всех бактерий составляет специфический гетерополимер - пептидогликан, обеспечивающий ригидность и эластичность КС.
- ❑ Структура пептидогликана представлена параллельными полисахаридными (гликановыми) цепями, состоящими из чередующихся звеньев **N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты**, соединенных между собой посредством гликозидных связей (мономер).
- ❑ К каждому остатку N-ацетилмурамовой кислоты присоединен короткий пептид из 5 аминокислот.
- ❑ Две особенности пептидного хвоста заслуживают внимания: наличие аминокислот в D-форме (неприродная конфигурация) и высокое содержание аминокислот с двумя аминогруппами. Это имеет принципиальное значение для пространственной организации пептидогликана. Обе аминогруппы этих аминокислот могут участвовать в образовании пептидных связей.
- ❑ У грамположительных эубактерий пептидогликан составляет основную массу вещества клеточной стенки (от 40 до 90%), у грамотрицательных — его содержание значительно меньше (1—10%).

Синтез клеточной стенки

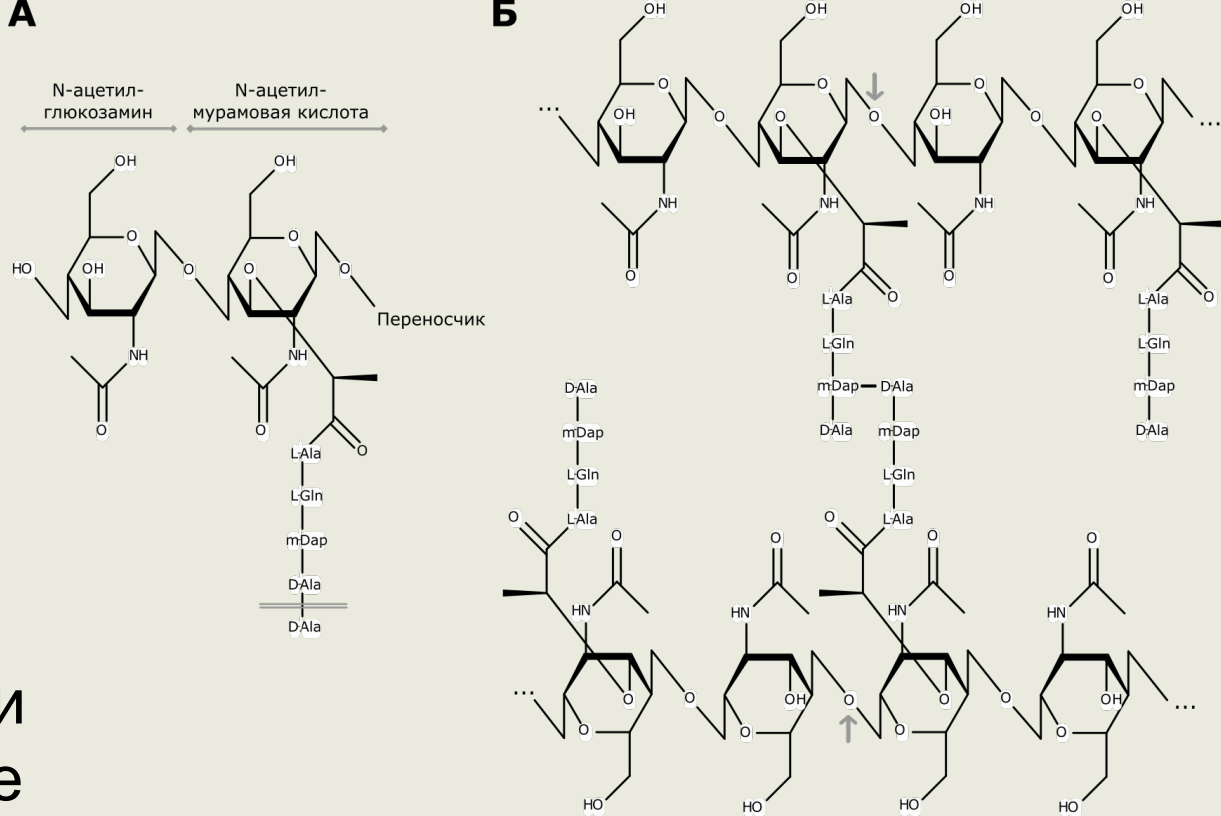


- Образование мономера – дисахарид-пептидного звена
- Перенос образовавшегося мономера из цитоплазмы на наружную поверхность мембраны при помощи липидного фермента-переносчика ундекапептилфосфата (бактопrenoла)
- Здесь мономер становится субстратом для *пенициллин-связывающих белков*

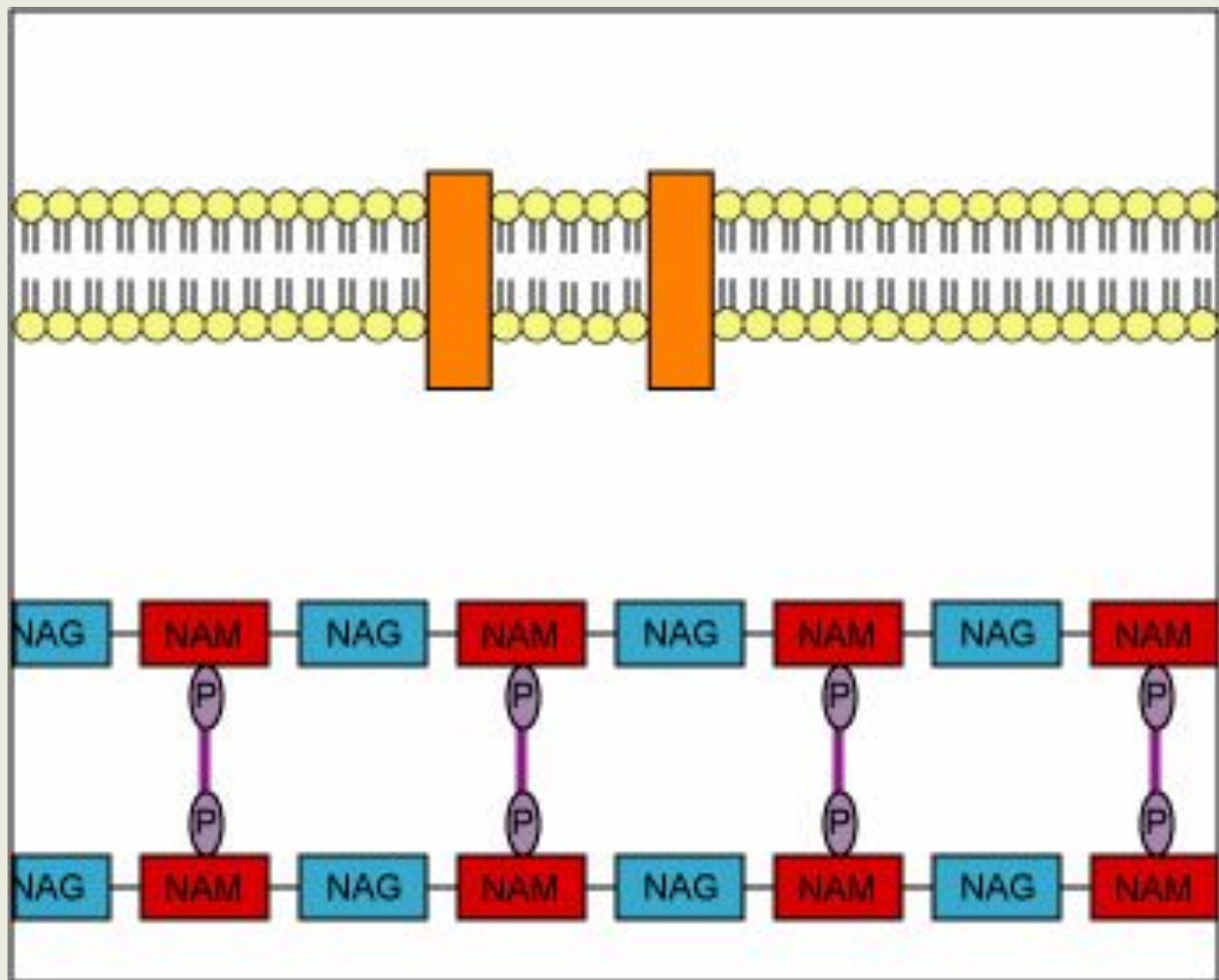
(PBP)

«Пенициллинсвязывающие белки» - это ферменты: их трансгликозилазные домены соединяют между собой мономеры β -1,4-гликозидными связями, формируя длинные полисахаридные цепи; транспептидазные домены отщепляют от пептидов концевую аминокислоту и соединяют пептиды разных цепей на уровне 3 и 4 аминокислот, формируя *поперечные сшивки* пептидогликана.

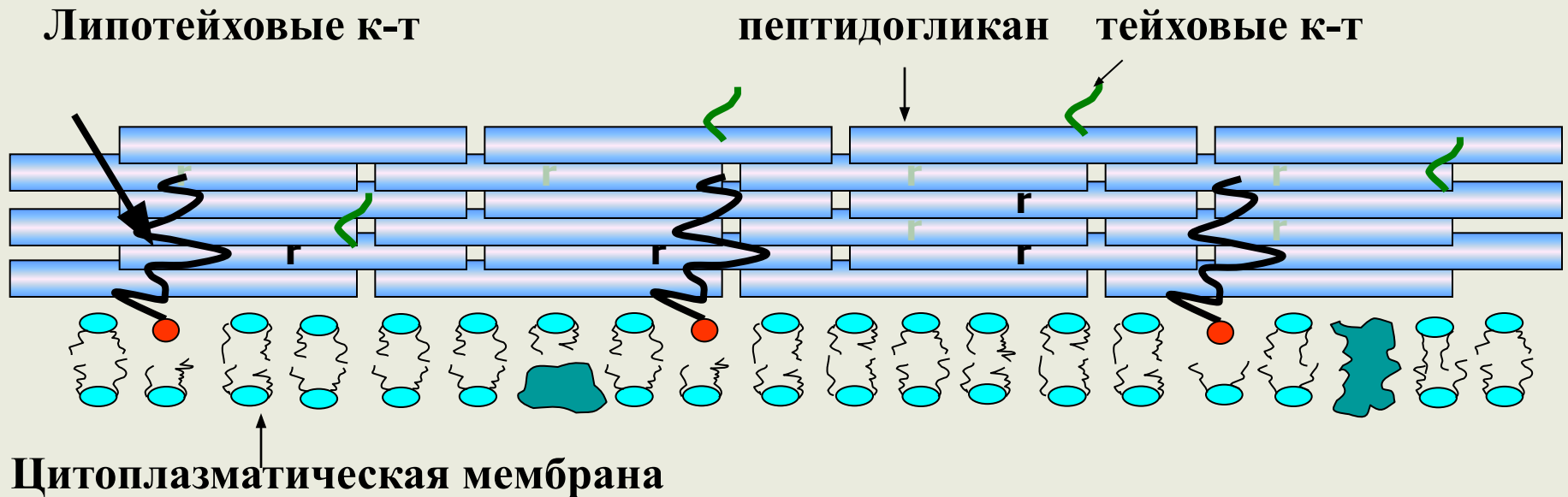
Пептидогликан представляет собой трехмерную сеть из поперечно сшитых полисахаридных цепей, которая легко пропускает различные низкомолекулярные и высокомолекулярные вещества, но при этом обладает значительной механической прочностью.



Типичная схема строения бактериального пептидогликана (А) Мономер пептидогликана, используемый в процессе синтеза. Связь между 4 и 5 аминокислотами, расщепляемая транспептидазами или карбоксипептидазами, пересечена двойной линией. (Б) Фрагмент молекулы пептидогликана с одной поперечной сшивкой. Связи, разрушаемые лизоцимом человека, отмечены стрелочками.

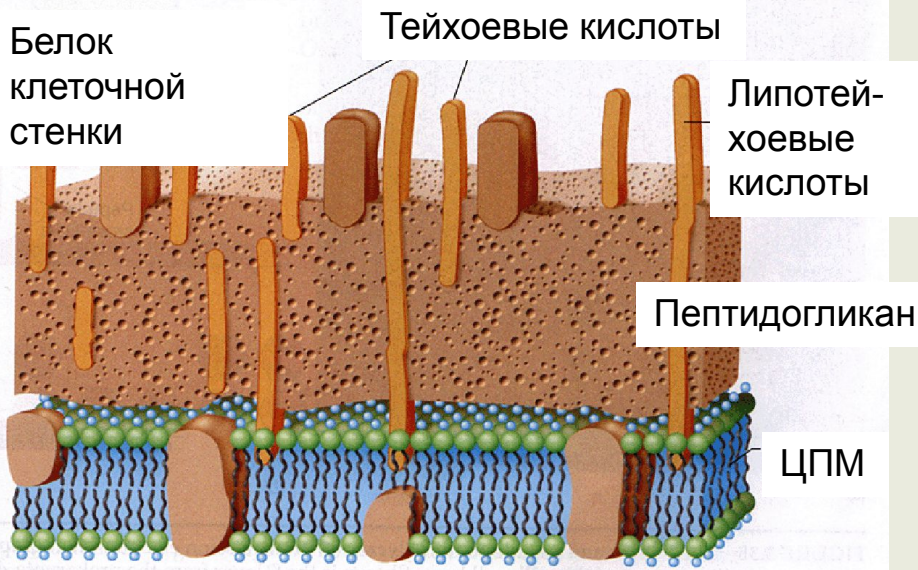


Клеточная стенка грам + бактерий



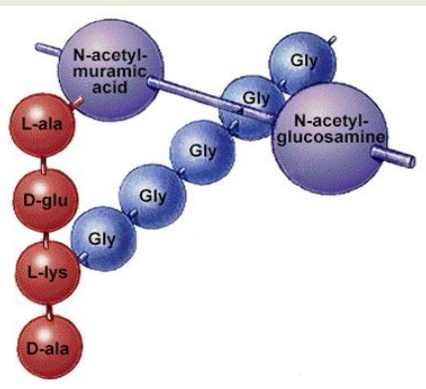
- ❑ Клеточная стенка грамположительных бактерий достаточно плотно прилегает к ЦПМ.
- ❑ Многослойный пептидогликан пронизывают теиховые кислоты – полифосфатные соединения на основе рибитола или глицерина.
- ❑ Теиховые кислоты ковалентно могут соединяться с N-ацетилмурамовой кислотой (собственно теиховые или стеночные) или с гликолипидом ЦПМ (липотейховые).
- ❑ Свободные гидроксилы фосфорной кислоты придают теиховой кислоте свойства полианиона, определяющего поверхностный заряд клетки.

Клеточная стенка грамположительных бактерий



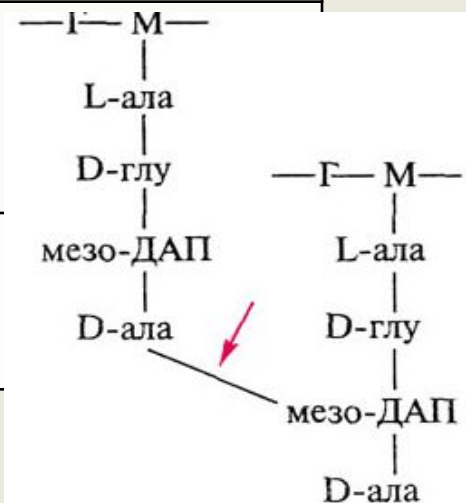
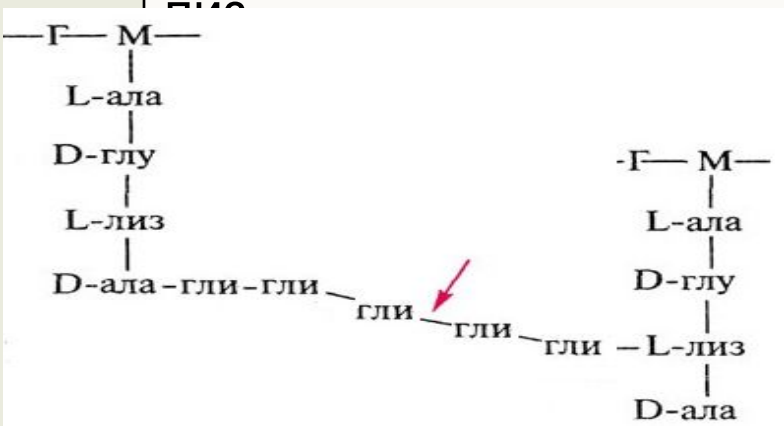
- ❑ Тейхоевые кислоты характеризуются большой вариабельностью строения
- ❑ могут связываться с клеточными мембранами животных клеток и осуществлять процесс адгезии.
- ❑ участвуют в регуляции синтеза пептидогликана и деления клеток,
- ❑ влияют на чувствительность к антимикробным молекулам,
- ❑ обладают антигенными свойствами.

- ❖ Пептиды грамположительных бактерий связаны через пептидный мостик из 5 остатков глицина.
- ❖ У грамотрицательных бактерий ацетилмурамовые кислоты в каждой гликановой цепи связаны через 2 однотипных тетрапептида.

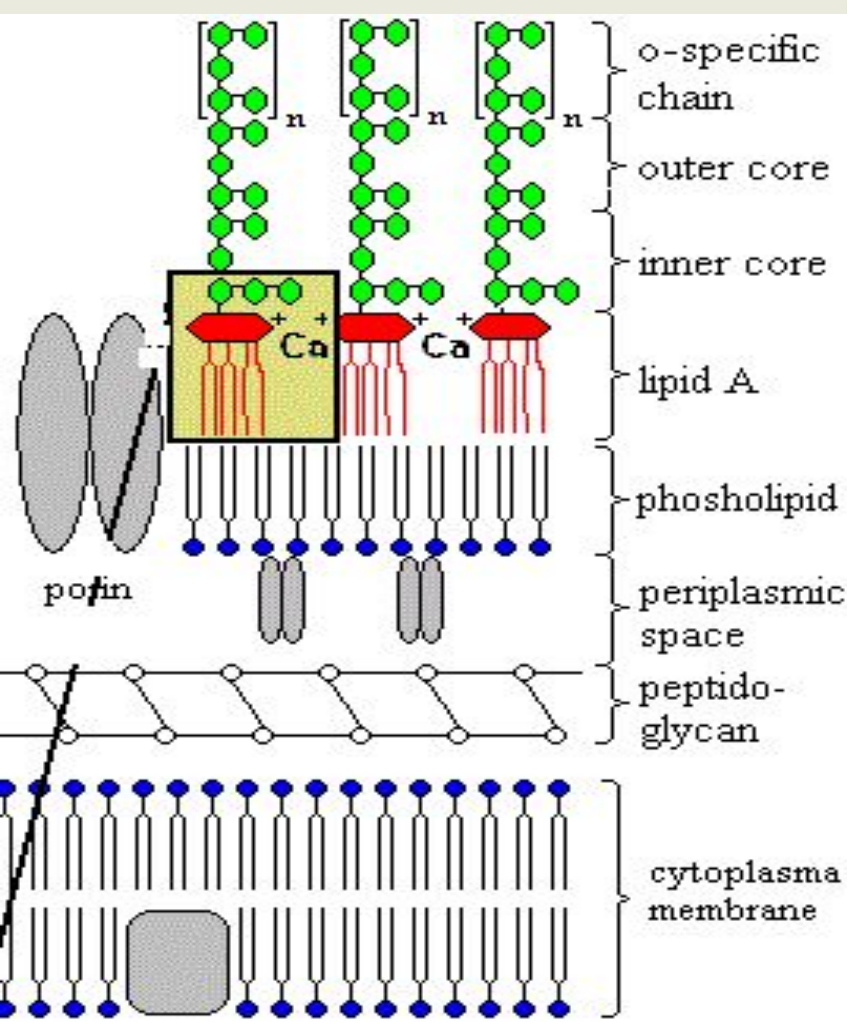


Пептидогликан

Грамположительных (+)	Грамотрицательных (-)
Наличие аминокислот в D-форме (неприродная конфигурация) и L-форме	
	Диаминопимелиновая кислота (ДАП) пептидного мостика
Пептиды связаны через пептидный мостик из 5 остатков глицина.	Ацетилмурамовые кислоты в каждой гликановой цепи связаны через 2 однотипных тетрапептида
Аминокислоты : D-, L-ала, глy, гли	Аминокислоты : D-, L-ала, глy, ДАП

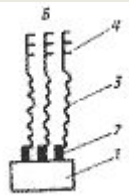
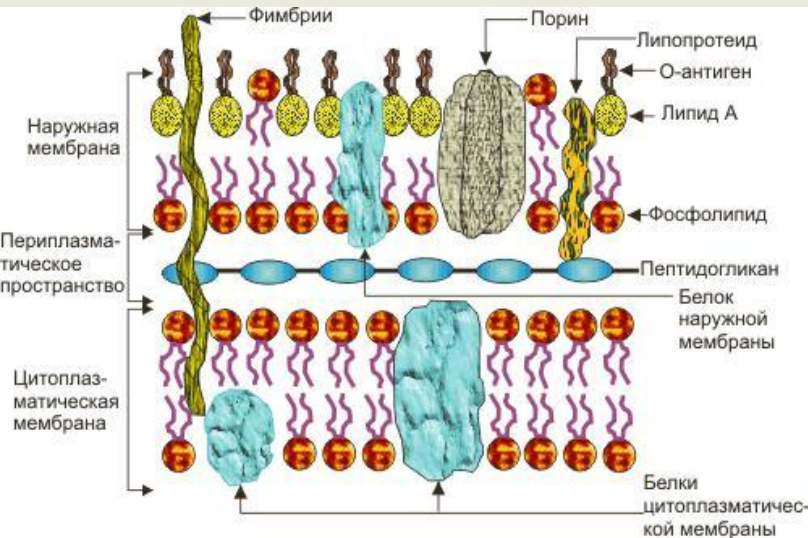


Клеточная стенка грамотрицательных бактерий



- Клеточная стенка грамотрицательных бактерий устроена намного сложнее.
- Пептидогликан образует только тонкий внутренний слой клеточной стенки, неплотно прилегающий к ЦПМ.
- У большинства видов пептидогликан образует одно- или двухслойную структуру, характеризующуюся весьма редкими поперечными связями между гетерополимерными цепями.
- Снаружи от пептидогликана располагается дополнительный слой клеточной стенки — наружная мембрана: внутренний листок состоит из фосфолипидов и по составу эквивалентен цитоплазматической мембране; внешний листок наружной мембраны в большинстве случаев содержит *липополисахарид* (ЛПС).
- ЛПС сложного молекулярного строения, занимает около 30—40% поверхности наружной мембраны и является ее важнейшим компонентом.

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

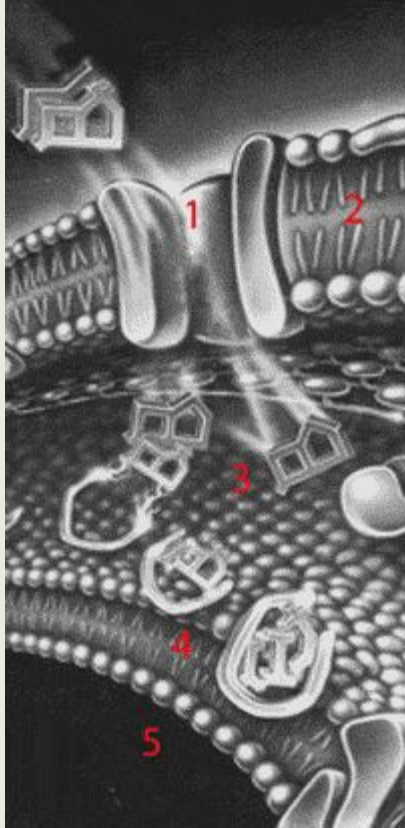


Строение молекулы липополисахарида:

- 1 — липид А;
- 2 — внутреннее полисахаридное ядро;
- 3 — наружное полисахаридное ядро;
- 4 — О-антиген

- ЛПС построен из **липид А**, который собственно формирует наружный листок мембраны, олигосахаридного ядра, обычно содержащего заряженные фосфатные группы, и **О-антигена**, который состоит из повторяющихся углеводных звеньев и является высоковариабельным.
- Липополисахарид выполняет барьерную функцию и обеспечивает поверхностный заряд клеток грамотрицательных бактерий.
- В организме человека липид А специфически связывается с рецепторами системы врожденного иммунитета, в больших дозах проявляя токсические свойства (что определяет другое название липополисахарида – *эндотоксин*), а повторяющиеся углеводные звенья О-антигена могут распознаваться системой приобретенного иммунитета.
- Наружная мембрана также содержит большое количество белков, которые обеспечивают специфический и неспецифический транспорт различных веществ..

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий

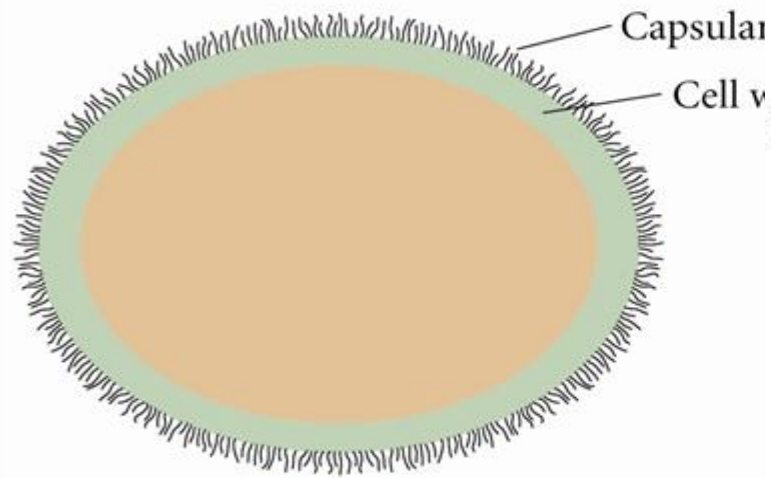


Схематическое изображение инактивации антибиотиков в периплазматическом пространстве клеточной стенки грамотрицательной бактерии.

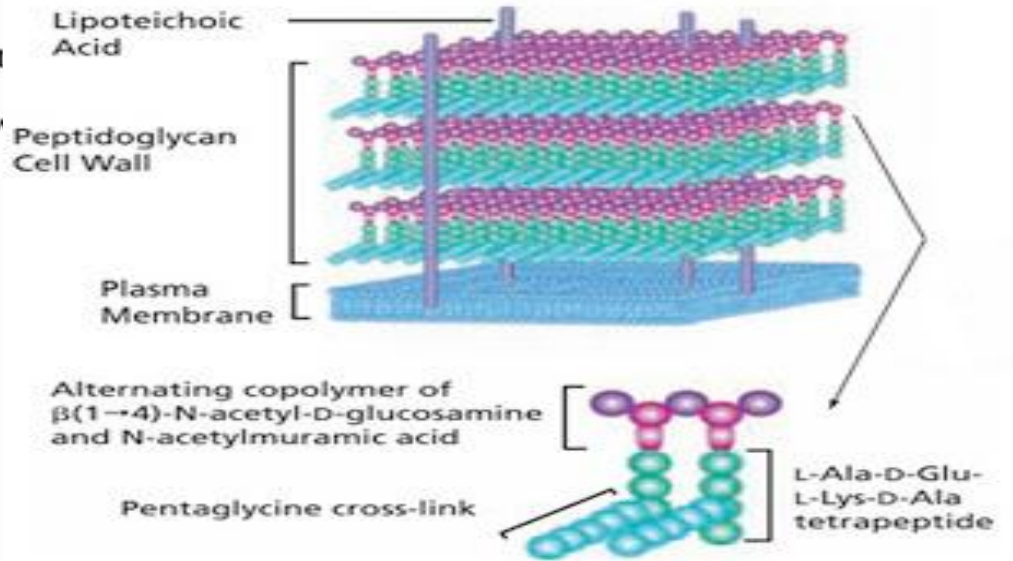
1. Пример поринового белка.
2. Наружная клеточная оболочка.
3. Периплазматическое пространство.
4. Внутренняя мембрана.
5. Цитоплазма.

- ❑ Пептидогликан отделен от ЦПМ и наружной мембраны *периплазматическим пространством* – специализированная метаболически активная область или компартмент бактериальной клетки.
- ❑ Область заполнена коллоидным раствором, содержащим ряд функционально значимых белков: транспортных, синтетических и гидролитических ферментов, шаперонов (участвуют в формировании нативной конформации белков).
- ❑ Периплазматическое пространство выполняет синтетические функции (посттрансляционная модификация или созревание белков и других макромолекул, в том числе компонентов клеточной стенки), гидролитические (многие бактерии способны в больших количествах вырабатывать ферменты, гидролизующие все типы полимерных молекул).
- ❑ Так, бета-лактамазы и другие ферменты с повышенным сродством к антибиотику являются основной причиной формирования антибиотикорезистентности у грамотрицательных

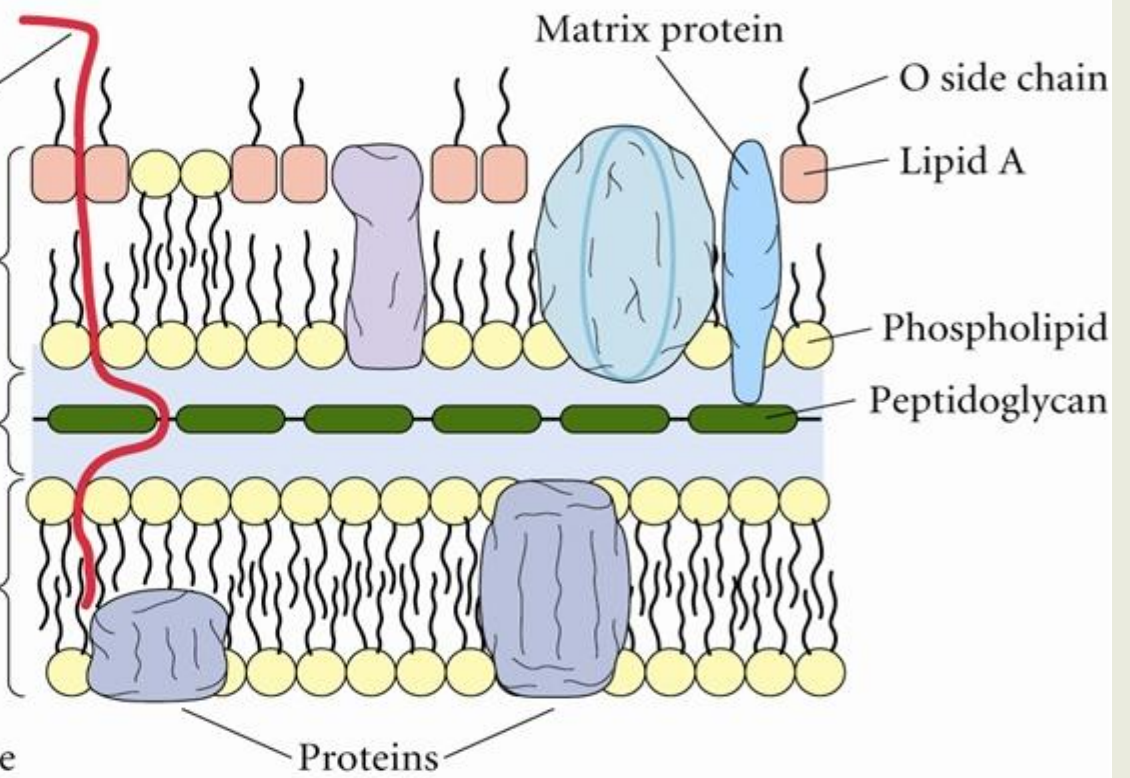
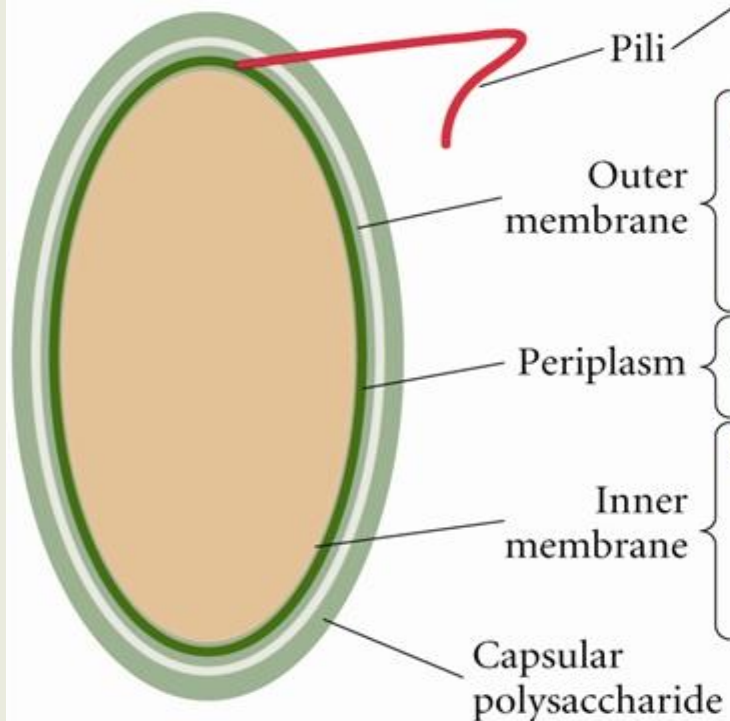
Gram-positive bacteria



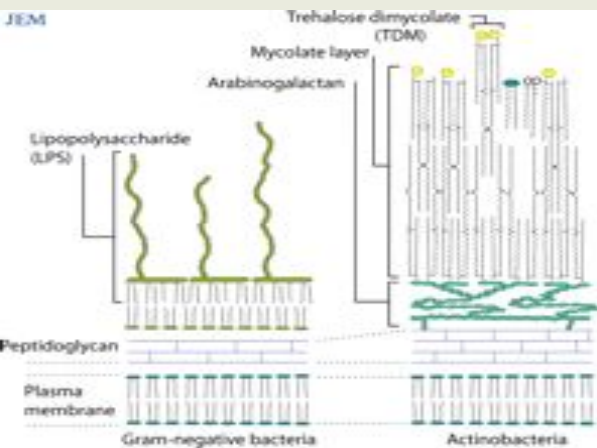
Gram-Positive Bacterial Cell Wall



Gram-negative bacteria

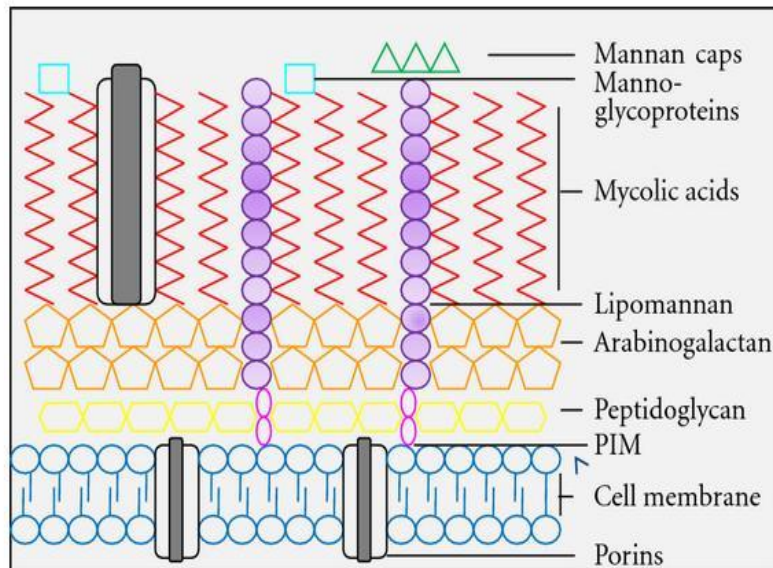


Кислотоустойчивый тип клеточной стенки

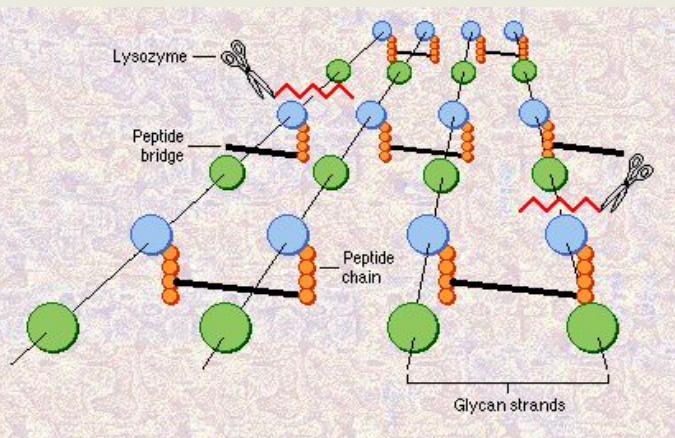
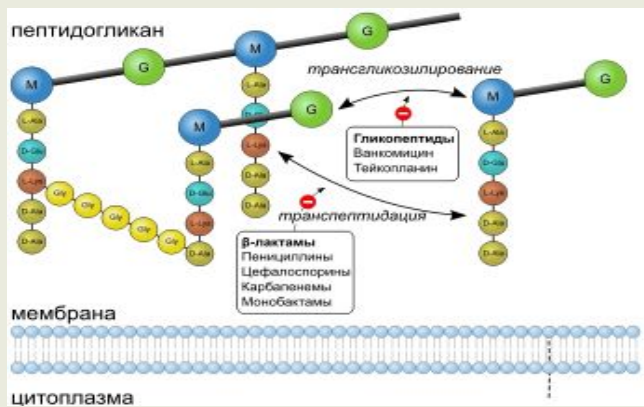


- Для многих представителей порядка *Corynebacteriales* характерен особый тип строения клеточной стенки – кислотоустойчивая (acid fast), которая придает им высокую резистентность к действию различных факторов внешней среды. Наиболее значимым микроорганизмом, обладающим кислотоустойчивой клеточной стенкой, является *Mycobacterium tuberculosis* – возбудитель туберкулеза.

Поверх его пептидогликана располагается полисахаридный слой из арабиногалактана. Поверх него располагается гидрофобный слой, содержащий миколовые кислоты – особый класс разветвленных жирных кислот, содержащих до 90 атомов углерода. В этом слое располагаются корд-фактор (димиколат трегалозы), фтиоцерол димикоцерозат, сульфолипиды, липоманнан и другие липидные молекулы. Благодаря малопроницаемому гидрофобному слою возбудитель туберкулеза обладает высокой резистентностью к высушиванию, кислотам и щелочам, многим антибиотикам.

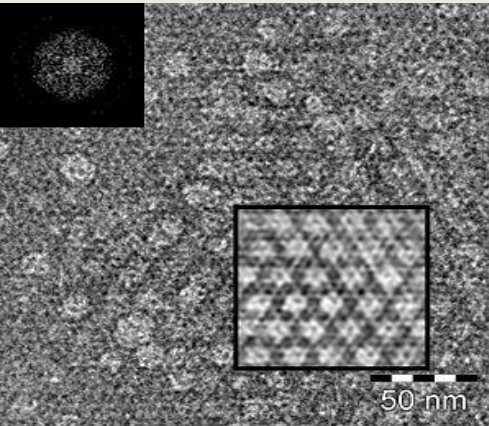
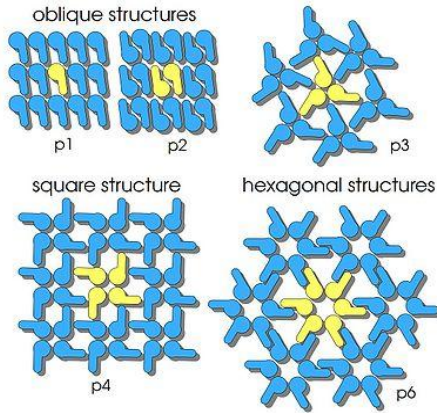


Клеточная стенка бактерий. L-формы



- Если бактерии частично или полностью утратили клеточную стенку, но сохранили способность к размножению, они называются L-формами.
- L-формы бактерий образуются под воздействием препаратов, ингибирующих синтез пептидогликана (антибиотик пенициллин) или разрушающих пептидогликан (лизоцим).
- L-формы разных видов бактерий (палочковидных, кокковидных) морфологически неразличимы.
- Существуют нестабильные L-формы, частично сохраняющие клеточную стенку и способные к ее полному восстановлению, и стабильные L-формы, не способные к реверсии в исходное состояние.
- Изучают L-формы в фазово-контрастном микроскопе.

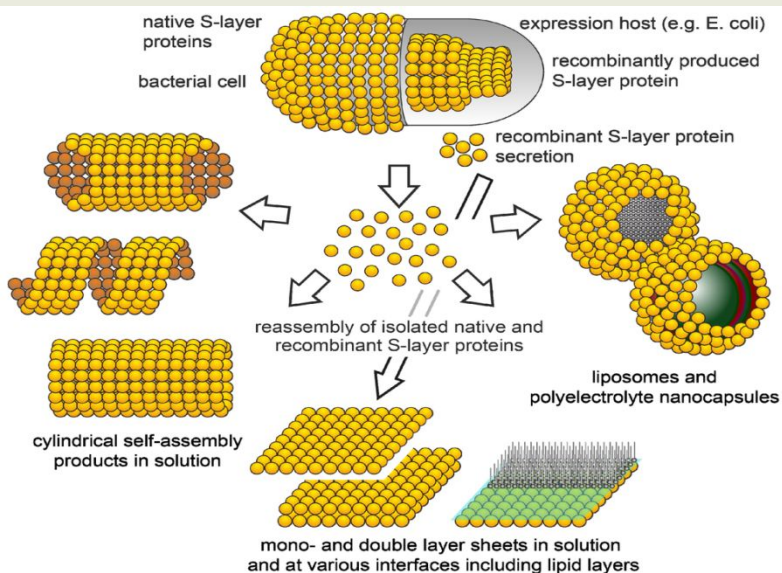
Поверхностные структуры бактериальной клетки



- **S -слой (от англ. surface - поверхность):** сравнительно тонкая оболочка, образованная белками, способными к самоорганизации (самосборке) в двумерные кристаллические структуры, белки S -слоя образуют на поверхности клеточной стенки большинства бактерий мономолекулярную кристаллическую решетку.

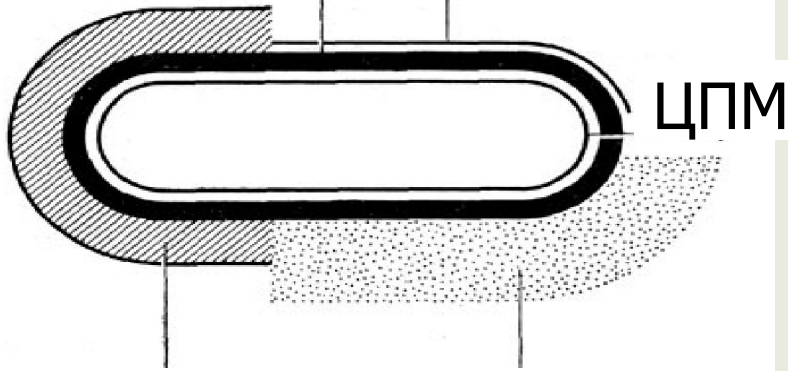
- Полезные свойства S-слоев: формирование методом самосборки, высокая стабильность, широкий спектр белков и возможность их химической модификации без

Туннельная спектроскопия слоя у грамотрицательных бактерий S-слои прилегают непосредственно к внешней мембране, нековалентно связываясь с ЛПС, у грамположительных – ассоциированы с поверхностью пептидогликана. S-слои, выполняющие защитную функцию, могут участвовать в адгезии и формировании биопленок. Среди патогенных микроорганизмов S-слой обнаруживается у *Campylobacter fetus*, *Clostridium difficile*, *Bacillus anthracis*.



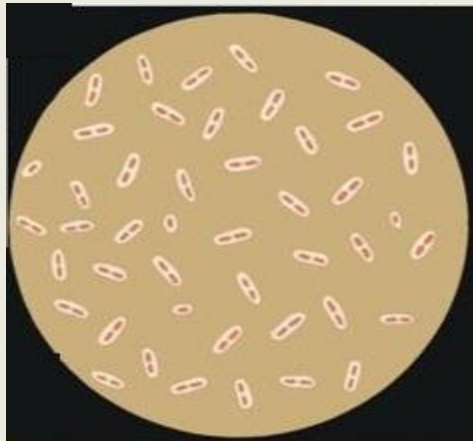
Поверхностные структуры бактериальной клетки

клеточная стенка
микрокапсула



капсула
слизистый слой

- ❑ **Капсула** - слизистая структура толщиной более 0,2 мкм, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий и имеющая четко очерченные внешние границы.
- ❑ Она защищает бактериальную клетку от механического повреждения, высыхания, фагоцитоза.
- ❑ Некоторые бактерии образуют капсулы только в организме человека и животных, другие формируют их и при культивировании на средах.
- ❑ В большинстве случаев капсулы бактерий являются полисахаридными (например, у питательных представителей родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Klebsiella*).
- ❑ У представителей рода *Bacillus* встречаются полипептидные капсулы, например, капсула из полимера D-глутаминовой кислоты у возбудителя

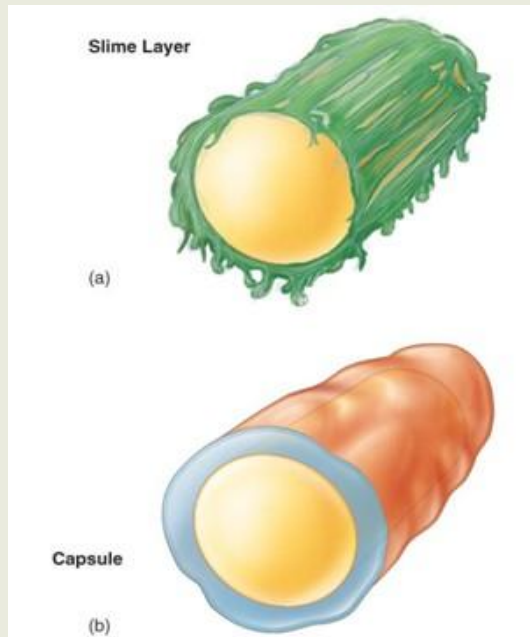


Капсулы вокруг клеток. Метод Бурри-Гинса

KLEBSIELLA PNEUMONIA

Поверхностные структуры бактериальной клетки

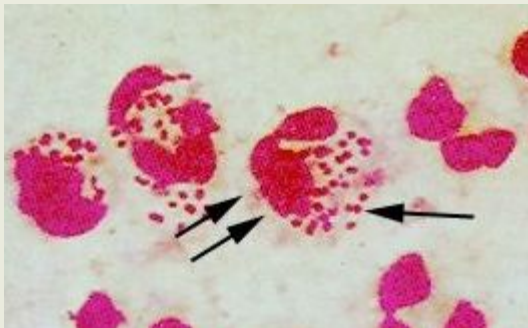
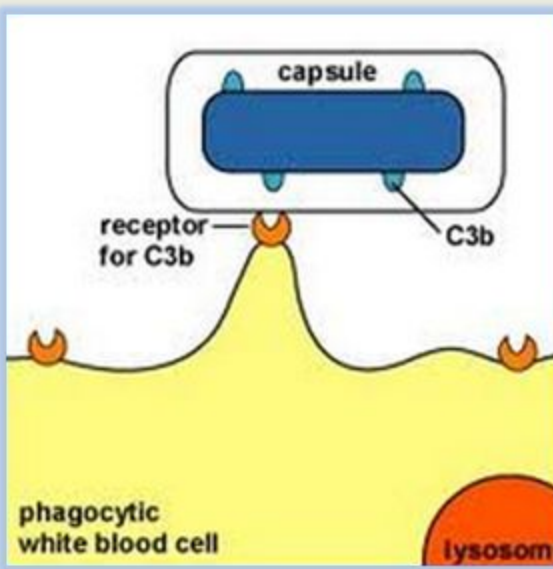
- ❑ Капсулы имеют консистенцию геля и плохо удерживают краситель,
- ❑ для их выявления чаще всего применяют методы негативного контрастирования.
- ❑ Капсулы можно выявить в мазках-отпечатках из органов зараженных животных, для этого достаточно окрасить мазки простым методом или по Граму.
- ❑ При микроскопии на фоне окрасившейся ткани органа (печени, селезенки) видны окрашенные тела бактерий, окруженные белым ореолом капсулы, так как сама капсула не окрашивается.
- ❑ Многие бактерии образуют **микрокапсулу** - слизистое образование толщиной менее 0,2 мкм, выявляемое лишь при электронной микроскопии. От капсулы следует отличать **слизистый слой** - мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких границ и прочных связей с клеточной стенкой



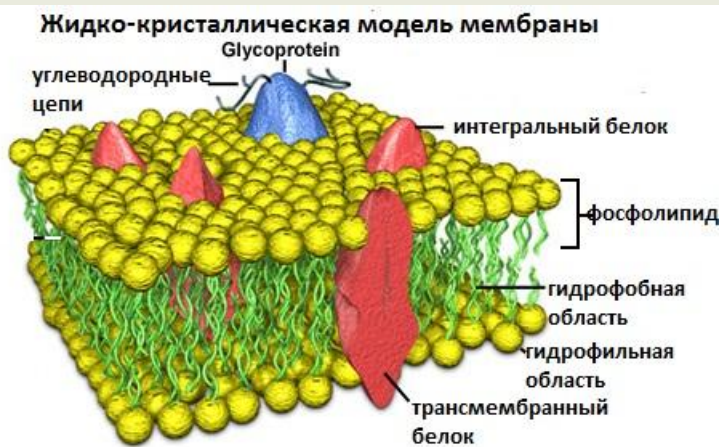
Поверхностные структуры бактериальной клетки

Функции капсул и слизи:

- защитная (предохраняют клетку от механических повреждений, высыхания и т. п.);
- создают дополнительный осмотический барьер;
- служат барьером для бактериофагов, препятствуя их адсорбции на клетках бактерий;
- обеспечивают прикрепление клеток к поверхности субстрата (адгезия);
- а также являются источником запасных питательных веществ;
- объединяют клетки в группы, цепочки.
- В организме человека и животных капсула защищает патогенные бактерии от фагоцитоза и гуморальных факторов иммунитета, определяет антигенную специфичность микроорганизмов.



Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ)



- ❑ **ЦПМ** – обязательный структурный элемент любой клетки, нарушение целостности которого приводит к потере клеткой жизнеспособности.
- ❑ Структурная организация не отличается от общего плана строения биологических мембран: бислоем фосфолипидов, в который погружены белки.
- ❑ При "биологических" температурах мембранные липиды находятся в жидкостно-кристаллическом состоянии, характеризующемся частичной упорядоченностью структуры. "Жидкая" структура мембран обеспечивает определенную свободу молекул белков и обуславливает высокую эластичность мембран; они легко сливаются друг с другом.

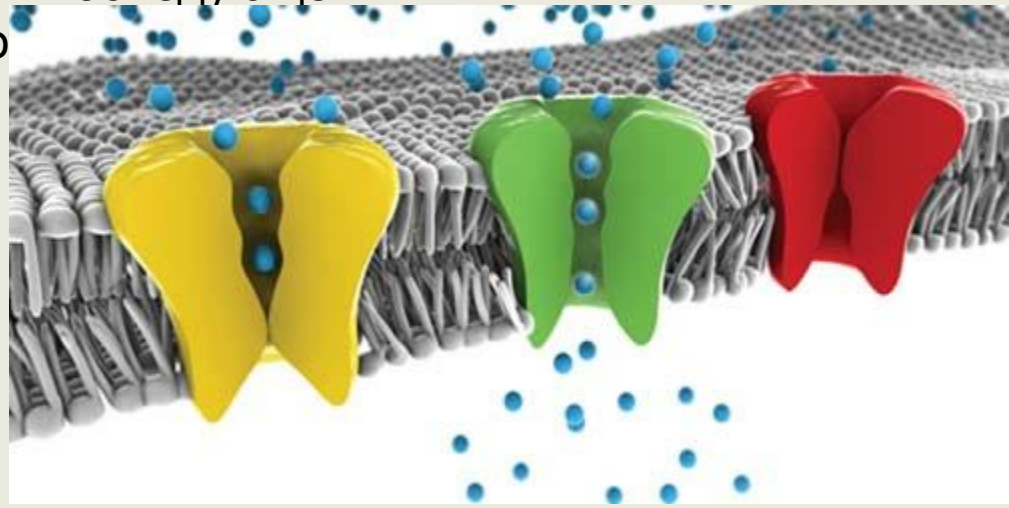
Отличие мембраны прокариот – отсутствие стерина (кроме микоплазм)

Мембранные белки условно можно разделить на интегральные, периферические и поверхностные в зависимости от расположения в мембране и характера связи с липидным слоем; структурные и белки-ферменты по функциональной нагрузке.

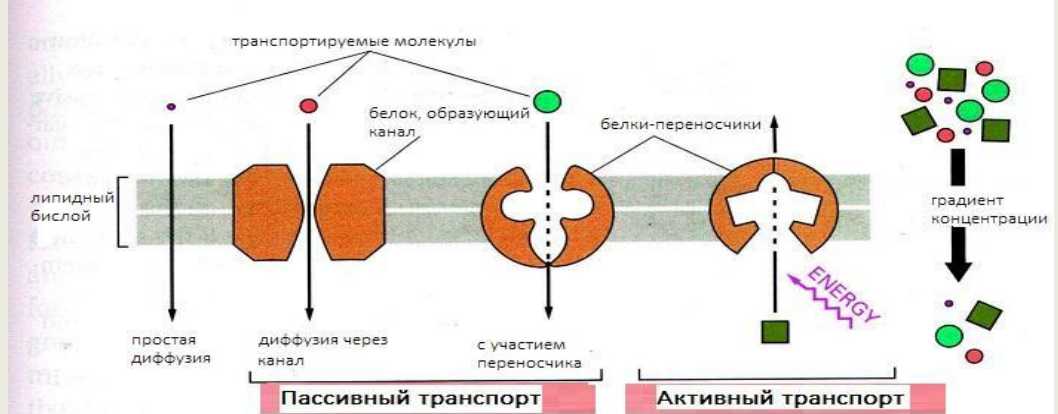
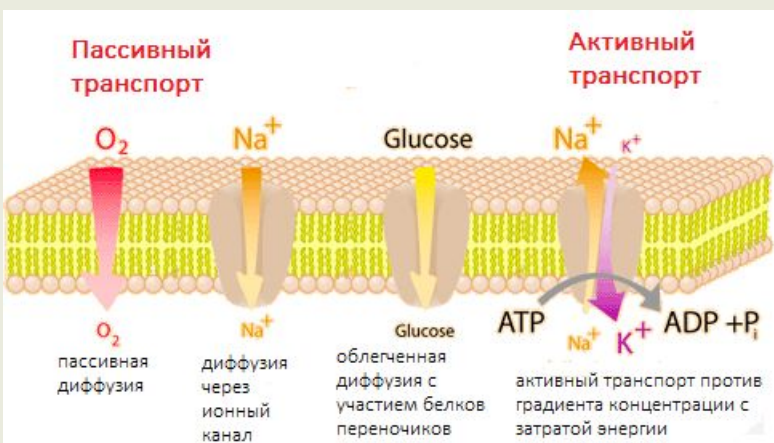
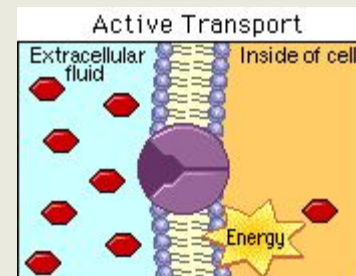
Главная функция липидов — поддержание механической стабильности мембраны и придание ей гидрофобных свойств. Все липиды эубактерий - производные глицерина. Набор их в значительной степени родо- и даже видоспецифичен.

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ). Функции

- ❑ барьерная (избирательный перенос молекул и ионов);
- ❑ синтетическая (в ней локализованы ферменты, катализирующие конечные этапы синтеза мембранных липидов, компонентов клеточной стенки и некоторых других веществ);
- ❑ энергетическая (мембрана является местом превращения энергии при окислительном фосфорилировании);
- ❑ интегрирующая (показан перенос электрохимической энергии и электронов вдоль мембран; рассматривается также возможность транспорта жирорастворимых субстратов и молекулярного кислорода);
- ❑ принимает участие в репликации и последующем разделении хромосомы прокариот
- ❑ содержит рецепторы, воспринимающие различные сигналы из внешней среды



Проницаемость ЦПМ



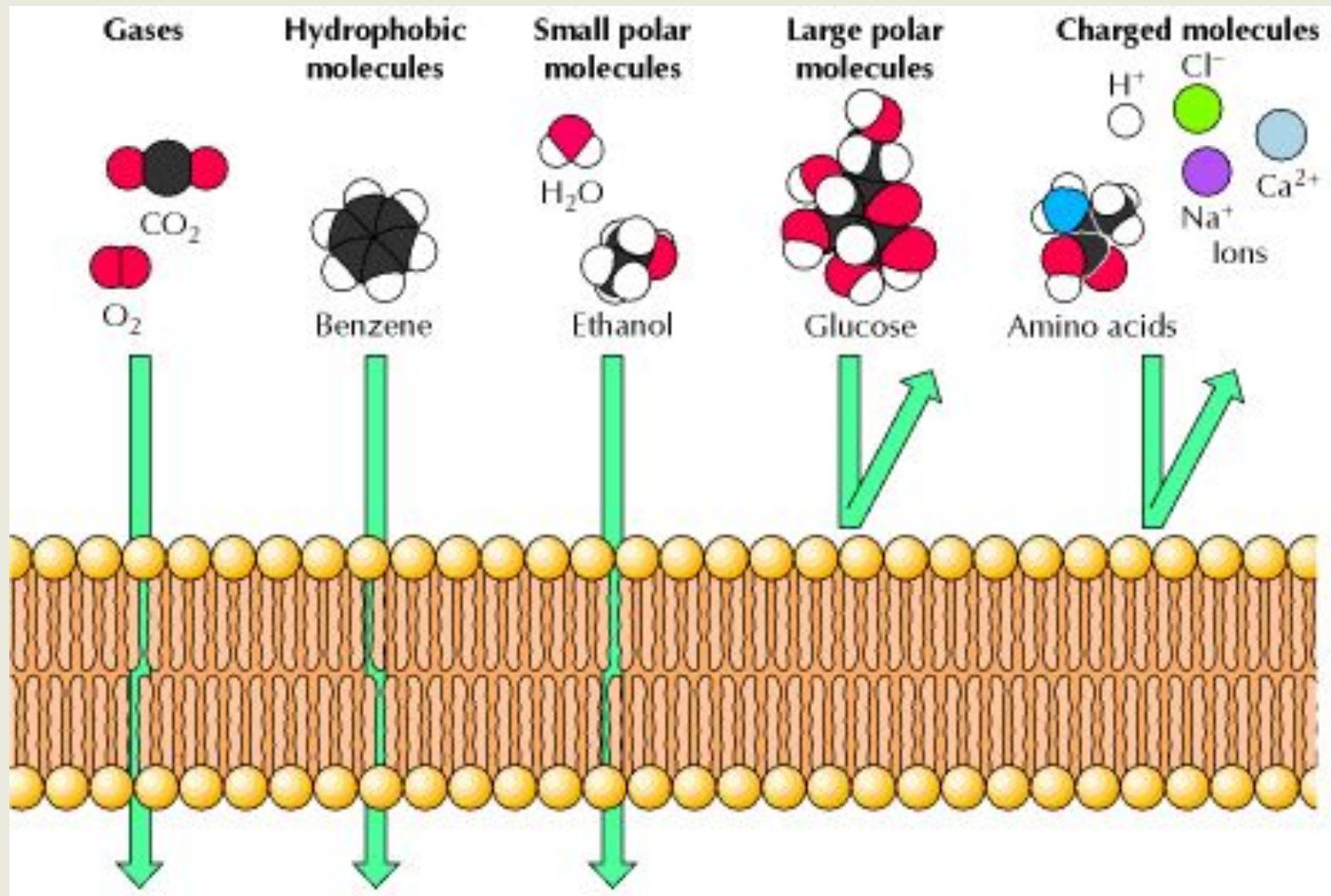
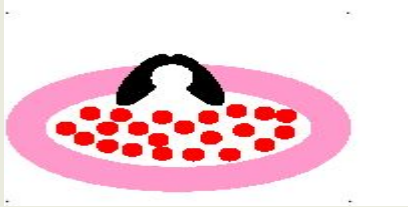
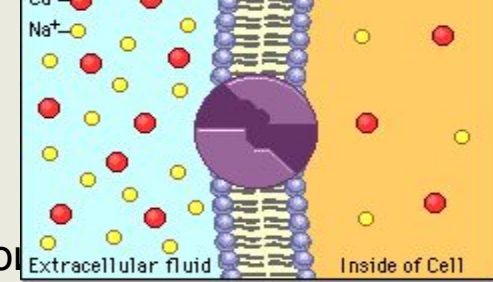


Figure 12.15. Проницаемость бислоистой фосфолипидной мембраны Газы, гидрофобные молекулы (бензол), малые полярные не заряженные молекулы могут диффундировать через бифосфолипидную мембрану. Большие полярные молекулы не могут.

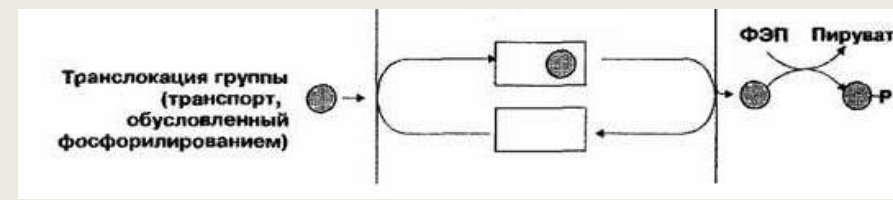


Транспортные системы



Выделяют **4 типа транспортных систем**, с участием которых происходит проникновение молекул в бактериальную клетку: пассивную диффузию, облегченную диффузию, активный транспорт и перенос химически модифицированных молекул.

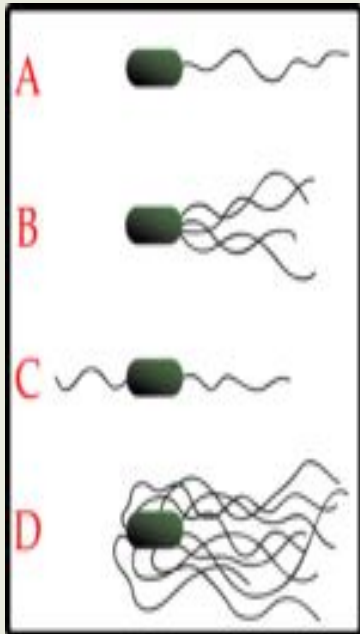
1. Посредством пассивной диффузии проходят через ЦПМ внутрь клетки молекулы воды, некоторых газов (например, O_2 , H_2 , N_2) и углеводов, концентрации которых во внешней среде выше, чем в клетке. Движущей силой этого процесса служит градиент концентрации вещества по обе стороны мембраны.
2. Большинство (если не все) гидрофильных веществ поступает в клетку за счет функционирования систем, в состав которых входят специальные переносчики (транслоказы, или пермеазы), Этот механизм транспорта не получил широкого распространения у прокариот.
3. Основным механизмом избирательного переноса веществ через ЦПМ прокариот является активный транспорт, позволяющий "накачивать" в клетку молекулы и ионы против их концентрационных и электрических градиентов.
4. У прокариот известны системы транспорта, с помощью которых осуществляется поступление в клетку ряда сахаров, при этом процесс их переноса через мембрану сопровождается химической модификацией молекул. Так происходит, например, поступление в клетки многих прокариот молекул глюкозы, в процессе которого они фосфорилируются.





Жгутики бактерий

- поверхностные структуры, определяющие способность клетки к движению в жидкой среде.
- их число, размеры, расположение являются постоянными для вида признаками, т.е. могут служить таксономическим показателем.
- Бактерии могут иметь один **А** (**монотрихи**, род *Vibrio*) или несколько жгутиков, располагающихся по всей поверхности тела **Д** (**перитрихи**; энтеробактерии, возбудители столбняка, ботулизма), либо собранные в пучки **В** **лофотрихи**; род *Pseudomonas*), у **амфитрихов** **С** жгутики (один или пучок) расположены на обоих полюсах клетки (род *Spirillum*).



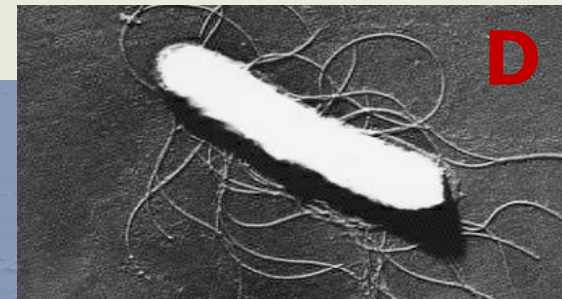
А монотрихи *Vibrio cholerae*



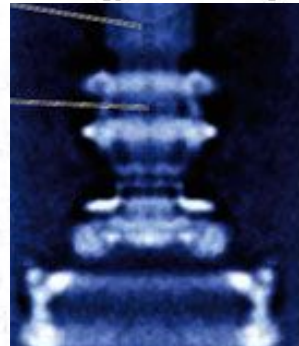
В лофотрихи
Helicobacter pylori



С амфитрихи *Campylobacter jejuni*



Д перитрихи
Escherichia coli



14 нм

Нить

Нить

Крюк

Направление вращения

Жгутик

Enlargement of region

3 мкм

Р-кольцо

Пептидогликан

S-M-кольцо

H⁺

Моторный белок

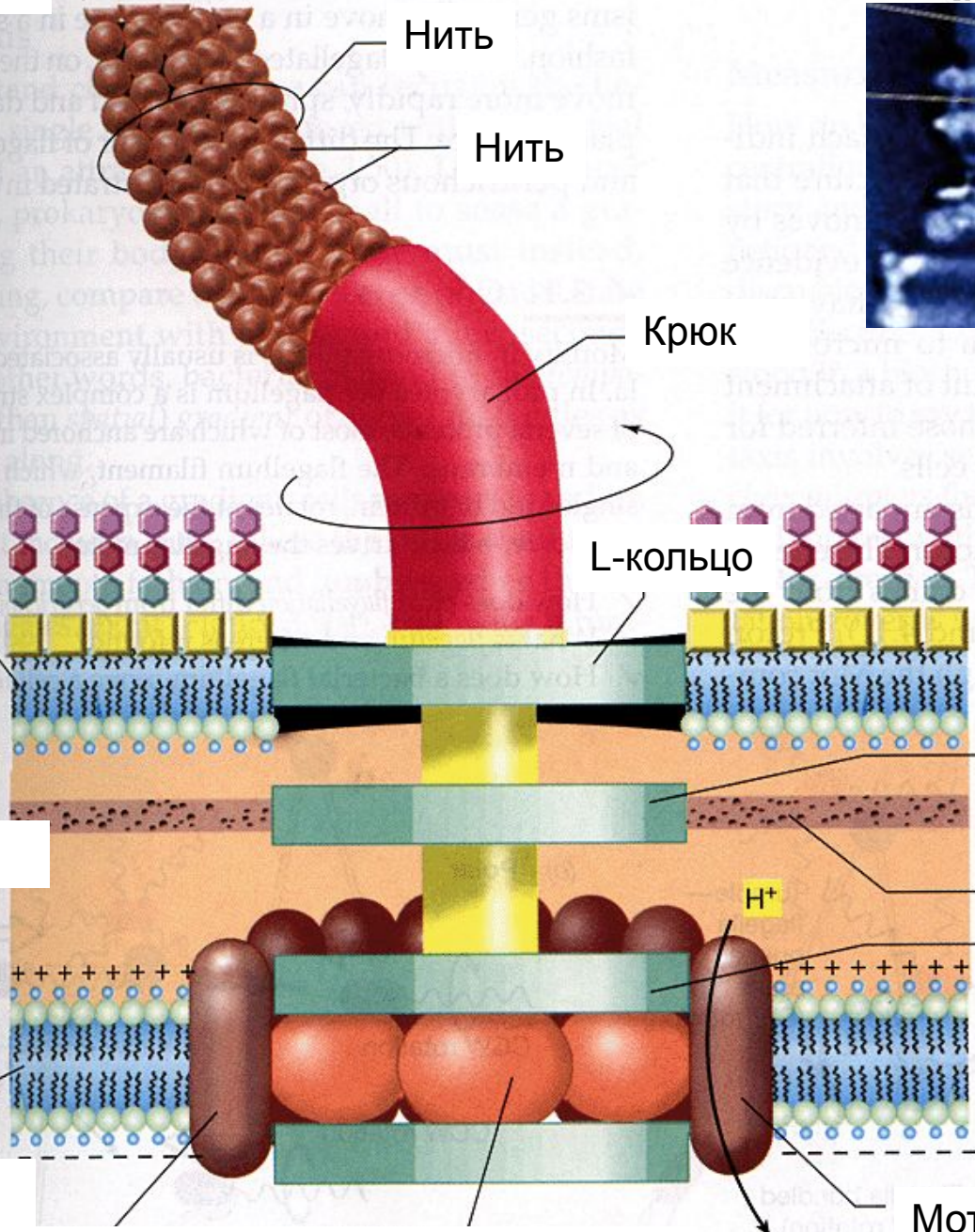
Наружная мембрана (ЛПС)

Периплазма

ЦПМ

Моторный белок

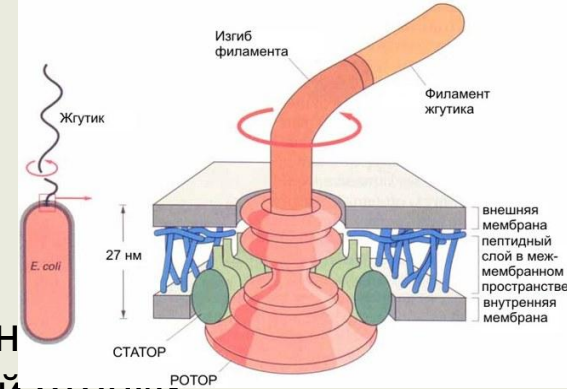
Fli-белки





Жгутики бактерий

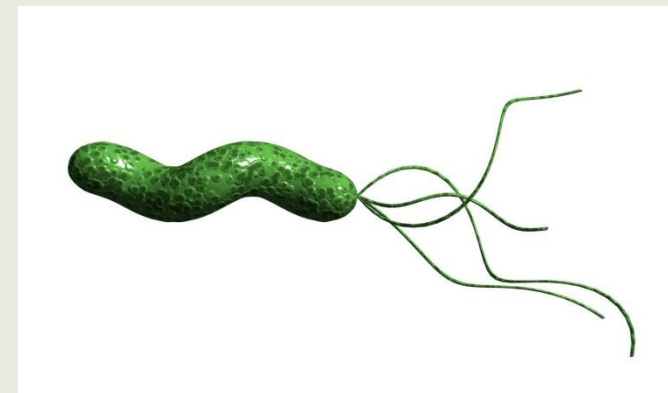
- Основную массу жгутика составляет длинная спирально закрученная нить (фибрилла), у поверхности клеточной стенки переходящая в утолщенную изогнутую структуру — крюк.
- Нить с помощью крюка прикреплена к базальному телу, вмонтированному в ЦПМ и клеточную стенку.
- У большинства прокариот нить состоит из специфического белка **флагеллина**, который по своей структуре относится к сократительным белкам типа миозина.
- Вращение жгутиков передается клетке, начинающей вращаться в противоположном направлении, и обеспечивает эффективное движение (плавание) в жидкой среде и более медленное перемещение по поверхности твердых сред.
- Движение жгутиковых прокариот обеспечивается энергией трансмембранного электрохимического потенциала,
- Таким образом, прокариотическая клетка обладает механизмом, позволяющим превращать электрохимическую форму энергии непосредственно в механическую. Движение бактерий позволяет им выбрать оптимальные условия существования.





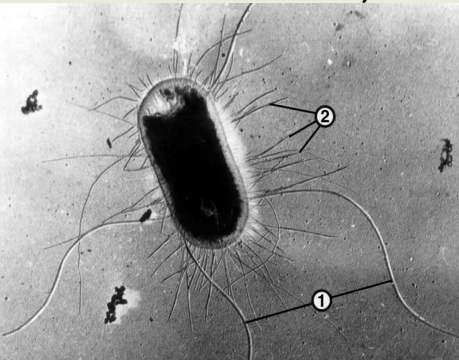
Жгутики бактерий

- ❑ Размеры жгутиков (толщина 10-20 нм, длина 3-15 мкм) не позволяют их увидеть в обычном световом микроскопе без особого метода сверхокраски, например, метод серебрения, при котором жгутики искусственно утолщаются и становятся видимыми в иммерсионном микроскопе.
- ❑ Изучать подвижность бактерии можно как с помощью микроскопических методов (фазово-контрастная микроскопия препаратов «висячая» или «раздавленная» капля), так и посевом уколом в полужидкий агар.

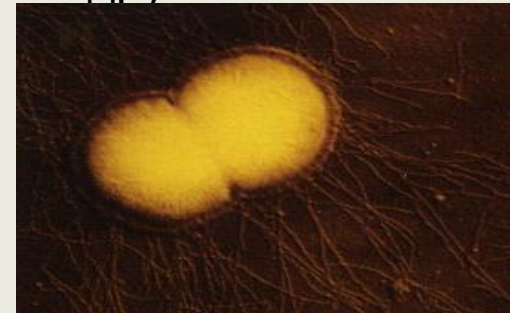


Ворсинки (фимбрии и пили)

- ❑ Белковые образования на поверхности ряда бактерий
- ❑ При электронной микроскопии они выглядят как похожие на волосы выросты, могут располагаться на одном конце клетки либо более равномерно по всей ее поверхности.
- ❑ Они короче и тоньше жгутиков, их ширина 10-12 нм и длина до 12 мкм.
- ❑ Пили, покрывающие поверхность энтеробактерий построены из одного вида белка - **пилина**, субъединицы которого организованы в виде полой внутри нити и берут начало от ЦПМ.
- ❑ В составе **пилина** есть консервативные и вариабельные участки. Перестройки хромосом, ведущие к экспрессии любого из множества неактивных генов пилина, сопровождаются изменениями их антигенного состава, что позволяет микроорганизмам ускользать от иммунного ответа.
- ❑ Различают F-pili (половые пили) и common pili (пили общего типа, ответственные за адгезию).
- ❑ Фимбрии принципиально устроены так же, но образованы другими белками, например, М-белок стрептококков.



Жгутики (1) и пили
(2) E.coli



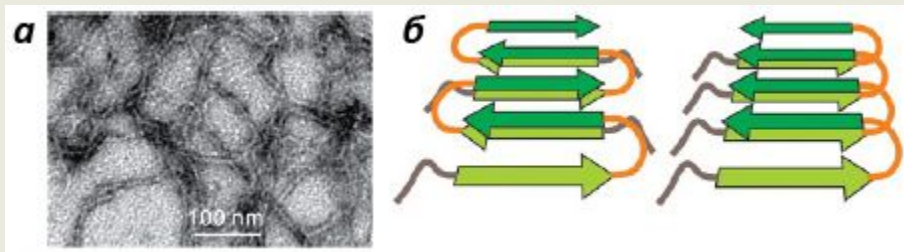
Фимбрии Neisseria gonorrhoeae

Пили

- Пили типа 1 - common pili (пили общего типа, ответственные за адгезию) - прочно связаны с клеткой, устойчивы к химическим воздействиям; располагаются по всей поверхности бактерии, кодируются генами хромосомы, вызывают гемагглютинацию; взаимодействуют с поверхностными рецепторами, содержащими маннозу
- Пили типа 2 сходны с пиями 1-го типа, но не вызывают агглютинации эритроцитов, не способствуют образованию бактериями пленки в жидкой среде; антигенно близки к пиям 1 типа и, по-видимому, представляют собой их мутантную форму.
- Пили 3 типа – половые пили F-pili, участвуют в конъюгации, кодируются плазмидой F (половой фактор)
- Пили IV типа используются многими бактериям для обеспечения поверхностьассоциированной подвижности; участвуют в адгезии как к абиотическим, так и биотическим поверхностям; высокоафинны к ДНК; могут участвовать в качестве связки между клеткой и экстрацеллюлярным матриксом.

Амилоидные белки поверхности микроорганизмов

- **Амилоиды** (т. е. вещество, сходное с крахмалом — amyllum) — особый способ укладки белка, при котором отдельные, амилоидогенные, участки образуют фибриллярные полимеры с кросс- β -структурой (то есть, состоящие из β -слоев, направленных перпендикулярно оси фибриллы)

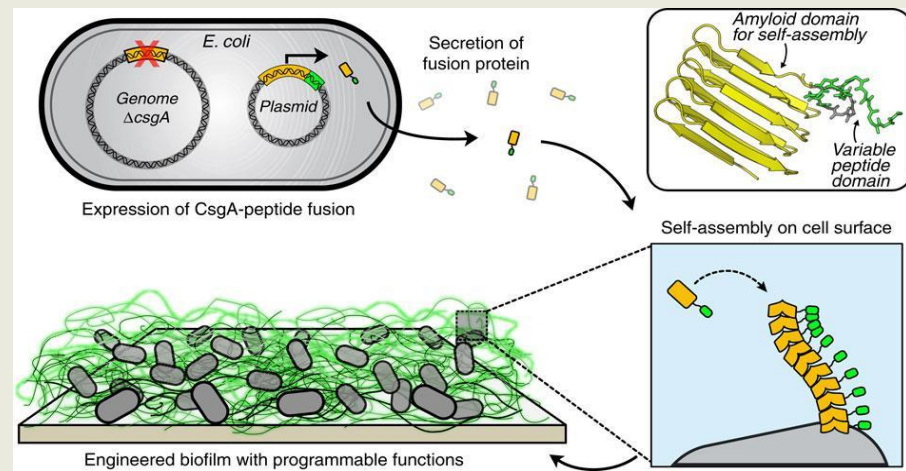
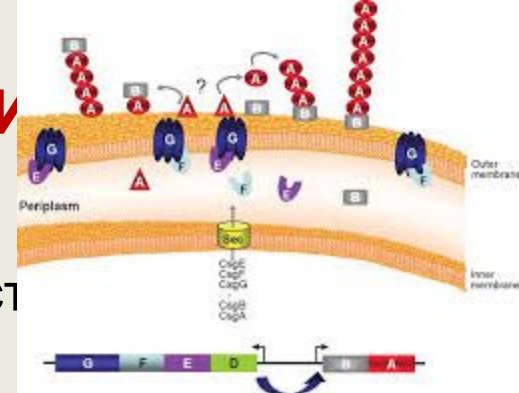


- В отличие от образования актиновых филаментов и микротрубочек, полимеризация белка в амилоидную фибриллу происходит без участия молекул АТФ и ГТФ. По этой причине амилоидные фибриллы могут собираться «самопроизвольно»
- Устойчивы к действию протеаз, денатурирующих агентов
- «Функциональные» амилоиды идентифицированы во всех царствах живых организмов

Амилоидные белки поверхности микроорганизмов

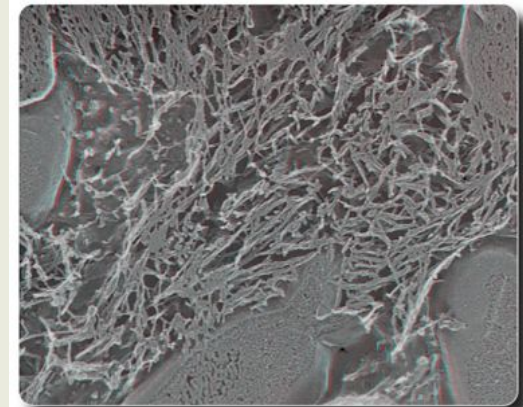
- Многие микроорганизмы имеют на своей поверхности амилоидные белки.
- Тонкие агрегативные фимбрии (Thin aggregative fimbriae (Tafi), позже названные **курли** (curli, от англ. curl — завиток), описанные у *Escherichia*, *Neisseria*, *Yersinia*, *Shigella*, *Salmonella*, *M.tuberculosis*- единственные фимбрии, использующие внеклеточный путь формирования
- Курли представляют собой фибриллярные структуры, одним концом закрепленные на внешней мембране

- **Курли бактерий** состоят из двух гомологичных белков — CsgA и CsgB (curl specific gene), при этом основным структурным компонентом фибрилл является белок CsgA, формирующий амилоидные фибриллы

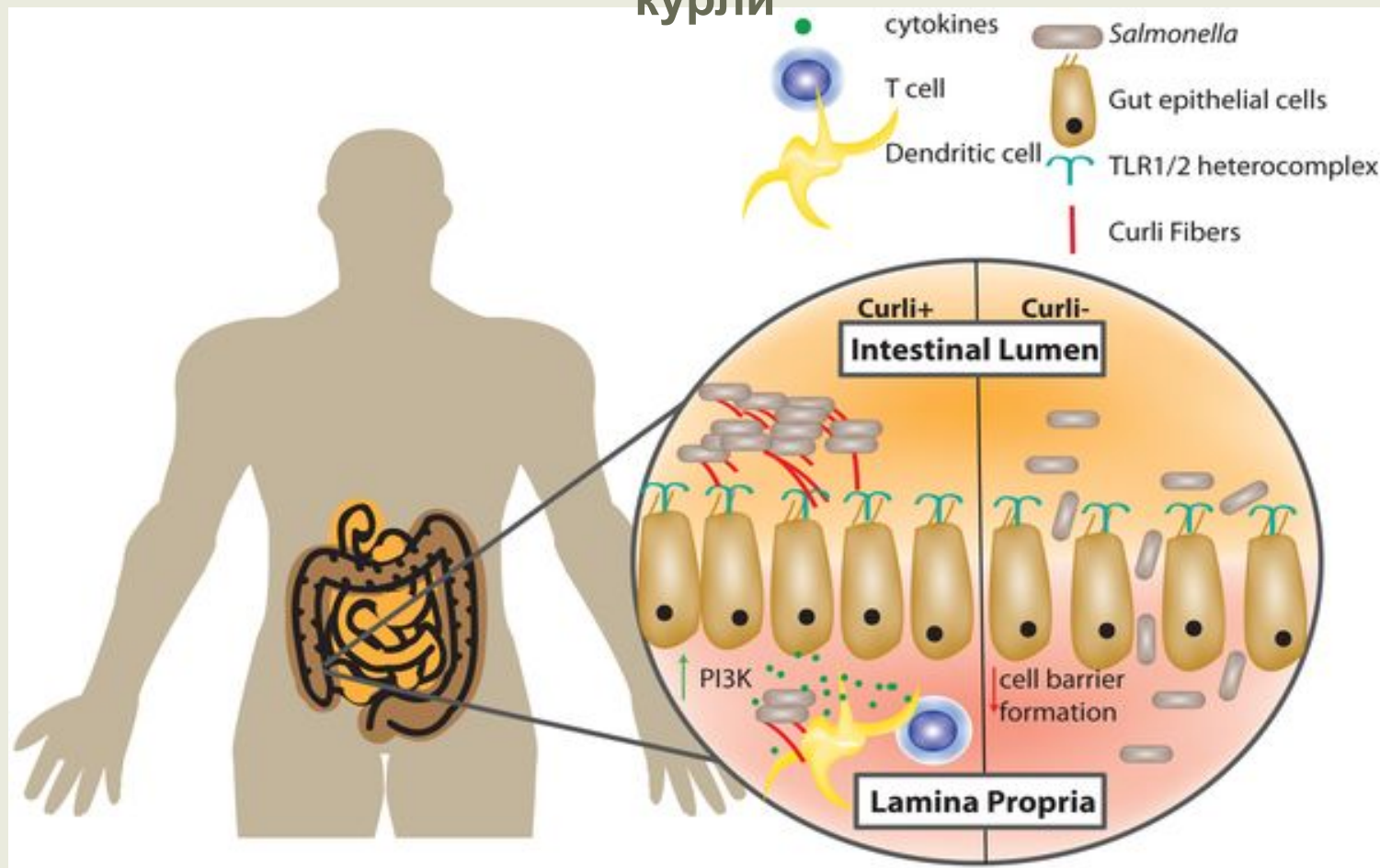


Курли

- Курли *E. coli* связываются со многими белками человека, в частности с фибронектином, ламинином, коллагеном I типа, молекулами главного комплекса гистосовместимости I класса, плазминогеном и некоторыми другими, и способствуют патогенезу, облегчая микроорганизму последующее внедрение в организм хозяина.
- Необходимы для формирования бактериальных биопленок и являются основным белковым компонентом образующегося при этом внеклеточного матрикса; обеспечивают устойчивость системы и персистенцию
- Некоторые функциональные амилоиды обладают цитотоксичностью для соседних клеток
- Могут выполнять роль физического барьера для антимикробных агентов



Эпителиальные клетки кишечника и иммунная система «узнают» курли





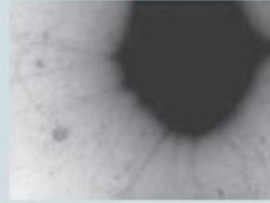


Salmonella and *E. coli* - обитатели кишечника, чьи курли распознаются клетками кишечника хозяина с помощью гетерокомплекса TLR1/2, и в хозяйских клетках запускается сигнальный каскад.

В результате начинается формирование барьера эндотелия

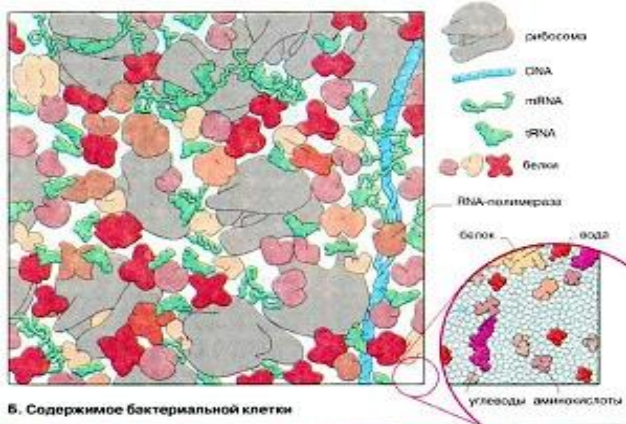
Salmonella, образующая курли, вызывает активную реакцию Т лф и дендритных клеток.

Мутанты *Salmonella*, не образующие курли, не вызывают формирования барьера и

	Gram-negative bacteria			Gram-positive bacteria	
	Type I pili	Type IV pili	Curli pili	Fibrils	Pili
Examples of species	<i>Escherichia coli</i> (EPEC)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Neisseria</i> spp. and <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> (some strains)	<i>Streptococcus salivarius</i> K ⁺	<i>Streptococcus</i> spp. and <i>Corynebacterium</i> spp.
Electron microscopy					
Morphology	Rigid rod with flexible tip adhesin	Flexible rod; some form bundles (BFP/TFP)	Coiled, aggregative filament	Short, thin rod	Flexible rod
Length and diameter	1–2 μm; 7-nm shaft and 2–3-nm tip	1–2 μm; 5–6 nm	1–2 μm; 1–2 nm	0.07–0.5 μm; 1–2 nm	0.3–3 μm; 3–10 nm
Pilin proteins	4–5	More than 2	2	2	2–3
Pilus biogenesis	Chaperone/usher pathway	Type II secretion system	Extracellular	ND	Sortase mediated (some species)
Adhesin receptors	Glycoproteins and glycolipids (D-mannose component)	CD46, glycolipids and C4BP	Fibronectin, laminin, plasminogen and plasminogen activator	Fibronectin	Collagen
Functions	Host-tissue adhesion, co-aggregation, immunomodulation, biosensor, and biofilm formation	Host-tissue adhesion, co-aggregation, immunomodulation, motility and DNA uptake	Host-tissue adhesion, co-aggregation, immunomodulation and biofilm formation	Host-tissue adhesion and co-aggregation	Host-tissue adhesion, co-aggregation and immunomodulation

BFP, bundle-forming pilus; C4BP, complement-component-4-binding protein; EPEC, enteropathogenic *Escherichia coli*; ND, not determined; TFP, type IV pilus.

Цитоплазма

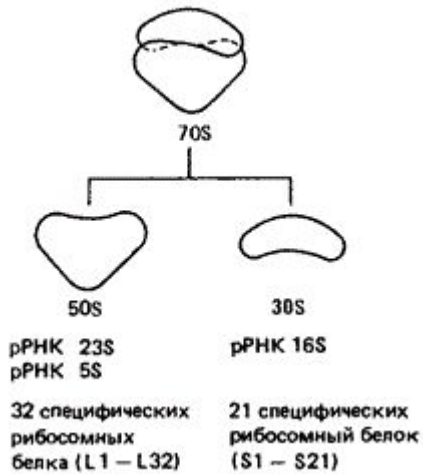


- -содержимое клетки, окруженное ЦПМ
- Состоит из цитозоля и органоидов (нуклеоид, рибосомы) и включений
- Цитозоль – коллоидный раствор, содержащий набор растворимых РНК, ферментных белков, продуктов и субстратов метаболических реакций
- Основная функция – место протекания метаболических процессов
- Свойство коллоидных растворов менять консистенцию – фазовые переходы гель-золь может играть роль регулятора активности процессов
- В отличие от эукариот движение цитоплазмы отсутствует

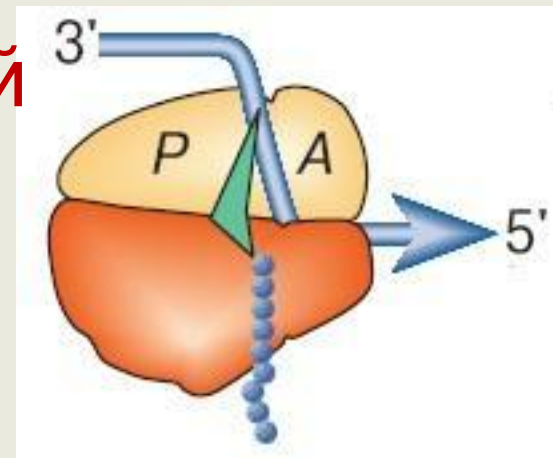
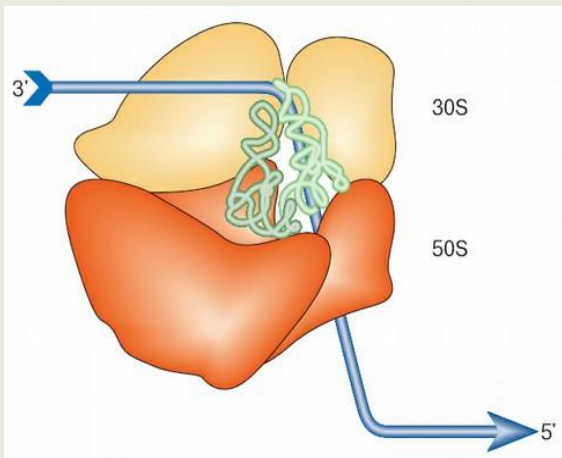


Рибосомы бактерий

- ❑ Рибосома представляет собой компактную частицу специфической формы, лишенную внутренней и внешней симметрии
- ❑ Состоят из рибосомальной РНК и белков, образующих в комплексе друг с другом компактную частицу.
- ❑ Так как интактные рибосомы бактерий при ультрацентрифугировании оседают со скоростью, составляющей около 70 единиц Сведберга (S), их называют 70S рибосомами
- ❑ Рибосомы состоят из двух субъединиц: 30S и 50S.
- ❑ Каждая субъединица содержит одну молекулу высокополимерной рРНК (16S РНК в малой и 23S рРНК в большой субъединице, последняя содержит 1-2 молекулы 5S РНК) и по одной молекуле 20-30 видов белков.
- ❑ Рибосомная РНК формирует ядро рибосомной субчастицы, а белки в среднем тяготеют к периферии
- ❑ Специфическая структура рРНК определяет форму и функции рибосомы, организацию рибосомных белков.
- ❑ Большая часть рибосомальных белков выполняет структурную функцию и могут непосредственно участвовать в функциях связывания субстратов и каталитических функциях рибосомы .
- ❑ В цитоплазме рибосомы находятся в диссоциированном состоянии, сборка полной рибосомы происходит на стадии инициации трансляции.
- ❑ Аналогично эукариотам образуют полисомы.

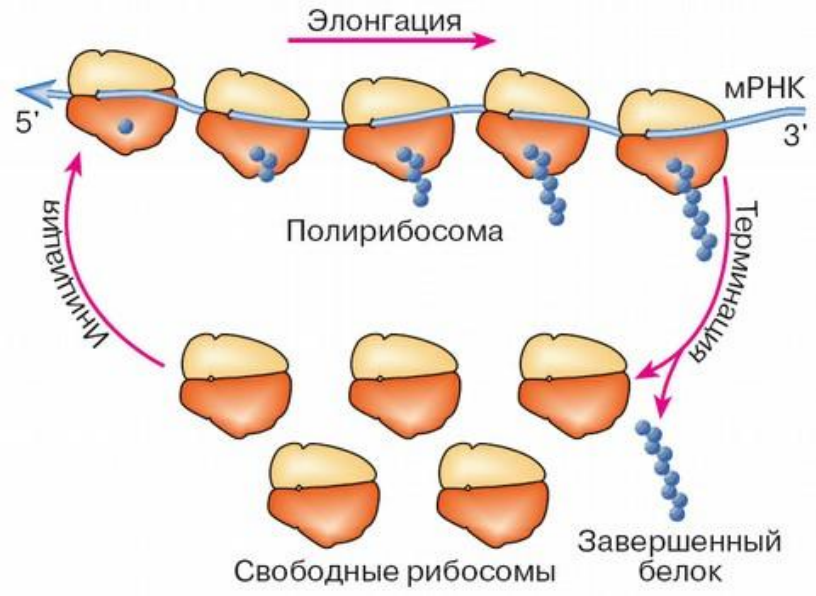


Рибосомы бактерий



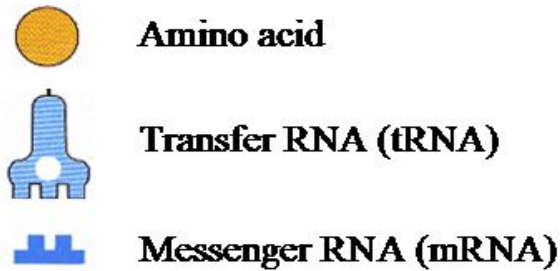
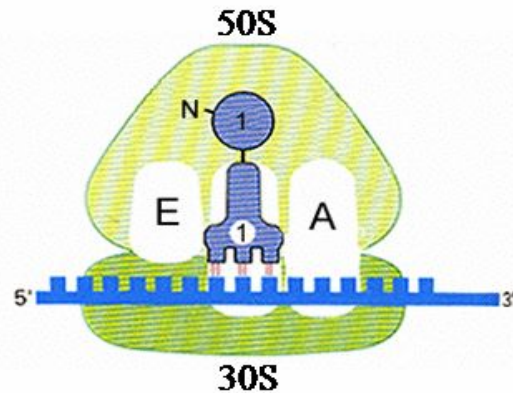
- ❑ Основная морфологическая черта электронно-микроскопических изображений рибосомы - борозда, разделяющая две рибосомные субчастицы
- ❑ Эта борозда сильно расширяется в одном месте: виден так называемый "глаз" рибосомы.
- ❑ Указанная особенность отражает реальный факт существования значительной полости между двумя рибосомными субчастицами.
- ❑ Именно в этой полости размещаются основные субстраты рибосомы - молекулы пептидил-тРНК и аминоксил-тРНК, участвующие в образовании полипептидной цепи. Это тРНК-связывающий центр рибосомы.
- ❑ Малая субчастица в составе полной транслирующей рибосомы имеет два тРНК-связывающих участка, обозначаемых как аминоксил-тРНК-связывающий участок (А-участок) и пептидил-тРНК-связывающий участок (Р-участок).

Рибосомы бактерий. Синтез белка



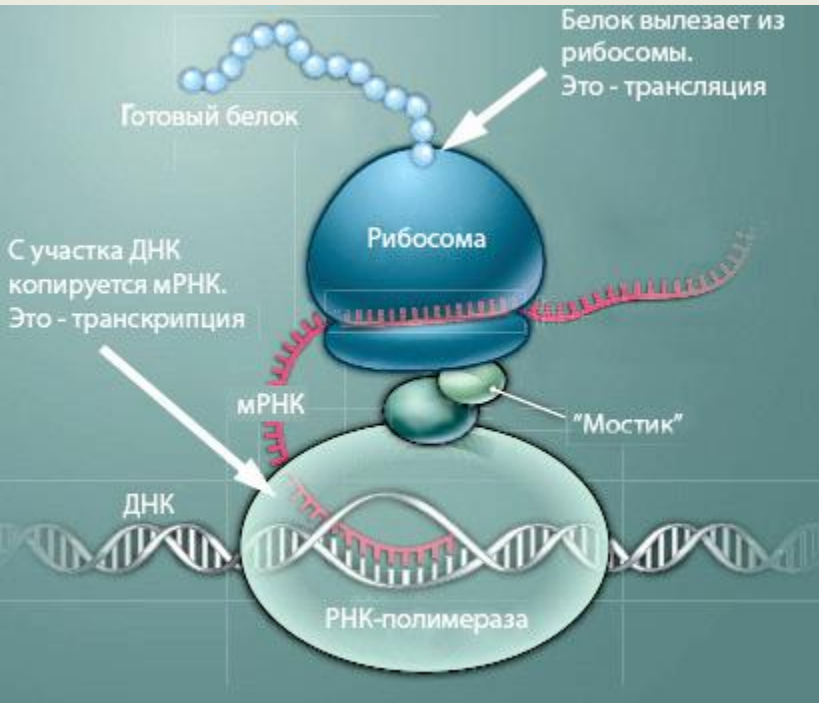
Функционально рибосома - это молекулярная машина, протягивающая вдоль себя цепь мРНК, считывающая закодированную в мРНК генетическую информацию и параллельно, в соответствии с кодом, синтезирующая полипептидную цепь белка из поступающих в нее аминокислотных остатков. В процессе работы рибосома потребляет энергию гидролиза гуанозинтрифосфата (ГТФ).

- Именно малая субчастица рибосомы (30S у прокариот и 40S у эукариот) связывается с мРНК, то есть служит первичным приемником генетической информации для белоксинтезирующего аппарата.
- Лишь впоследствии, при завершении этапа инициации трансляции, к ней присоединяется большая субчастица (50S у прокариот и 60S у эукариот), образуя полную рибосомную частицу (70S у прокариот и 80S у эукариот), которая и будет производить элонгацию.



- ❑ В процессе элонгации рибосома удерживает мРНК и движется относительно ее (или протягивает ее сквозь себя) в направлении от 5'-конца к 3'-концу.
- ❑ Удержание мРНК на рибосоме есть целиком и полностью функция малой рибосомной субчастицы
- ❑ Существует четкое разделение труда между двумя неравными субчастицами рибосомы: малая субчастица выполняет генетические функции, будучи ответственной за прием и декодирование генетической информации, в то время как большая участвует в энзиматических реакциях в процессе трансляции

Синтез белка. Отличия от эукариот



- ❑ У прокариот транскрипция и трансляция идеально сопряжены при помощи механизма управления РНК-полимеразой.
- ❑ Когда идет транскрипция, то есть когда РНК-полимераза ползет по ДНК и считывает с нее мРНК, на только что появившийся кончик мРНК немедленно садится рибосома — и тут же начинает синтезировать белок
- ❑ Эти два процесса идут не просто одновременно — они идут с одинаковой скоростью.
- ❑ Смысл в том, чтобы работа РНК-полимеразы не шла впустую и контролировалась рибосомой. В этом смысле рибосома — сенсор метаболизма клетки.

- ❑ Ген, кодирующий 16S рРНК – идеальный маркер для идентификации микроорганизмов, «визитная карточка» бактерий. Этот ген есть в геноме всех известных бактерий, но отсутствует у эукариот и вирусов, имеет как консервативные участки, одинаковые у всех прокариот, так и видоспецифичные.
- ❑ Различия между рибосомами бактерий (70S) и эукариот (80S) имеют решающее значение для борьбы с инфекционными болезнями; некоторые антибиотики частично или полностью подавляют синтез белка, протекающий на рибосомах 70S, но не затрагивают функции рибосом 80S.

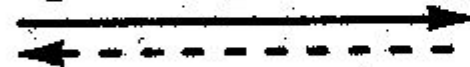
Центральная догма биологии

Репликация

Репликация

ДНК

Транскрипция



Обратная

транскрипция

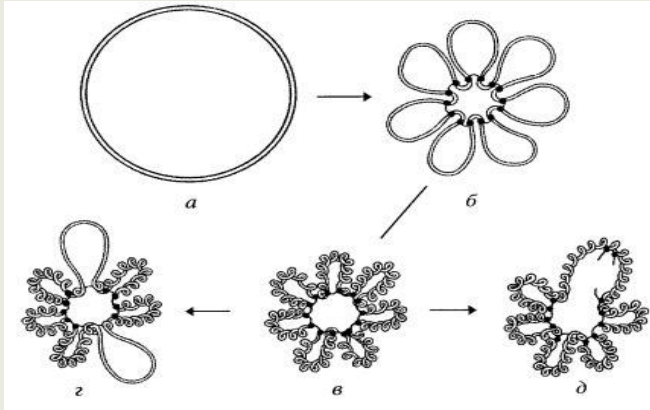
РНК

Трансляция

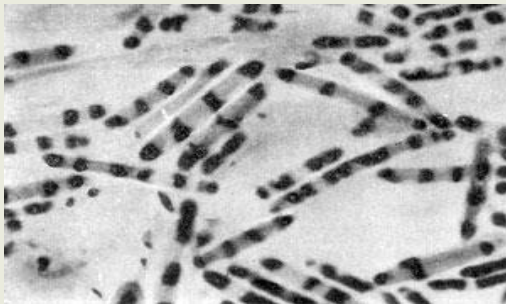


Белок

Генетический аппарат бактерий



Модель конденсации
бактериальной хромосомы



нуклеоид

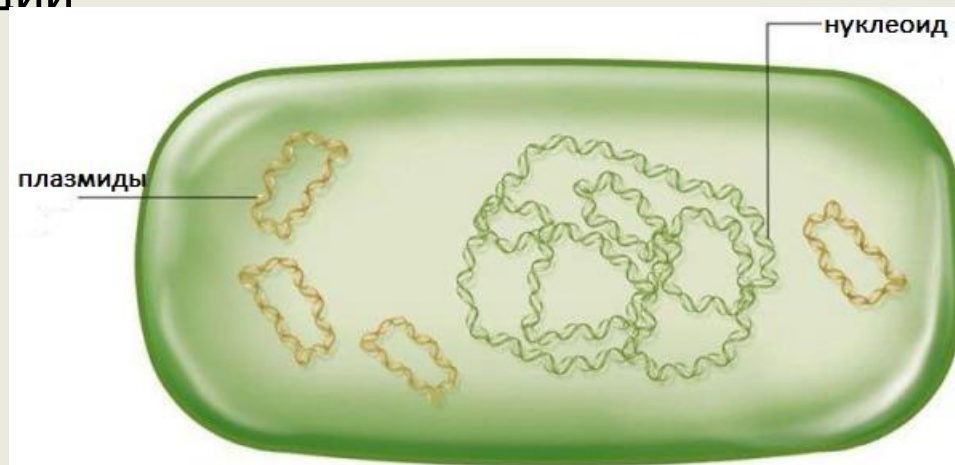


- Основной генетический аппарат бактерий- нуклеоид-представлен одной хромосомой (гаплоидный геном).
- С молекулярной точки зрения бактериальная хромосома представляет собой очень длинную, замкнутую в кольцо суперспирализованную молекулу ДНК, которая компактно упакована с помощью РНК и белков (РНК-полимераза, ДНК-топоизомераза, гистонподобные белки) с образованием многочисленных петель.
- При этом важно следующее: каждая петля удерживается у основания таким образом, что свободных концов не образуется.
- В нуклеоиде бактерий содержится основная наследственная информация, которая реализуется в синтезе специфических белковых молекул.
- С ДНК бактериальной клетки связаны системы репликации, репарации, транскрипции и трансляции.
- Обычно в покоящейся клетке содержится один нуклеоид, но в фазе логарифмического роста их может быть 4 и более, что объясняется отсутствием синхронизации между скоростью роста клетки, скоростью деления клетки и нуклеоида.
- Количество ДНК в прокариотических клетках значительно меньше, чем в клетках эукариот.
- Нуклеоид достаточно четко выявляется при световой микроскопии после специфической окраски

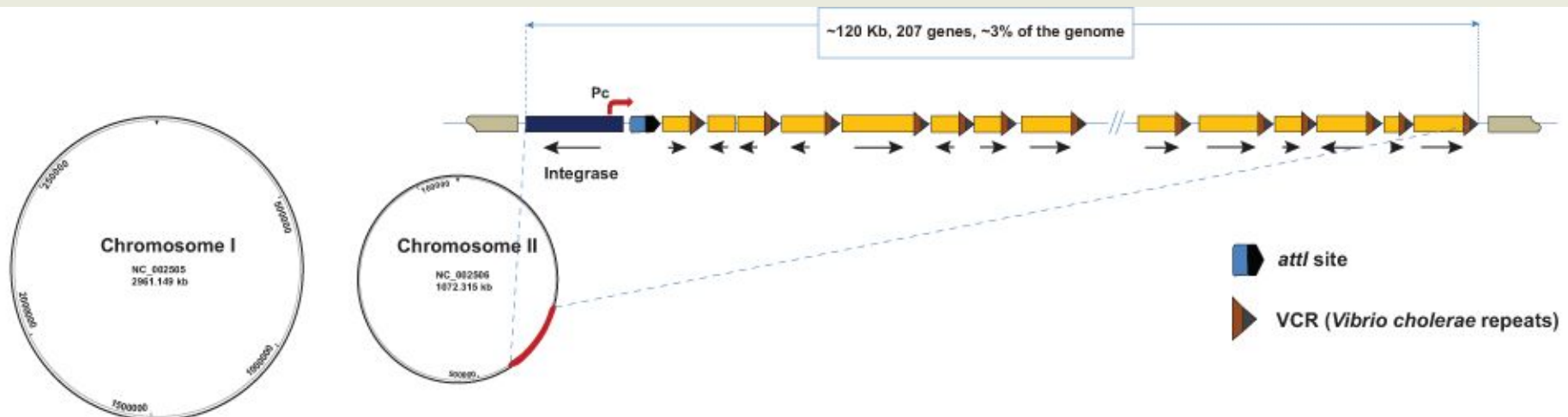
Генетический аппарат бактерий.

Плазмиды

- ❑ Отличительной особенностью организации генетического аппарата прокариот является то, что помимо нуклеоида, в цитоплазме могут находиться особого типа молекулы ДНК — дополнительные генетические детерминанты, получившие название плазмид.
- ❑ Они не являются обязательными для бактериальной клетки, но их наличие придает бактерии дополнительные выгодные для нее свойства.
- ❑ Плазмиды – кольцевые ДНК, способные к автономной репликации



- У некоторых групп микроорганизмов организация хромосом и плазмид значительно отличается от классической.
- Например, представители родов *Borrelia* и *Streptomyces* имеют линейные, а не кольцевые, хромосомы и плазмиды.
- Представители рода *Vibrio* содержат две хромосомы сравнимого размера, необходимые для жизнедеятельности.





ДНК

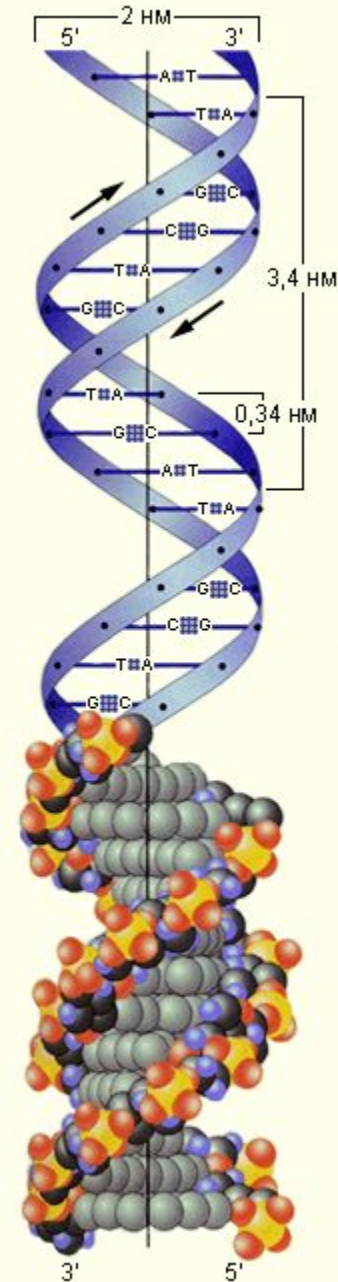
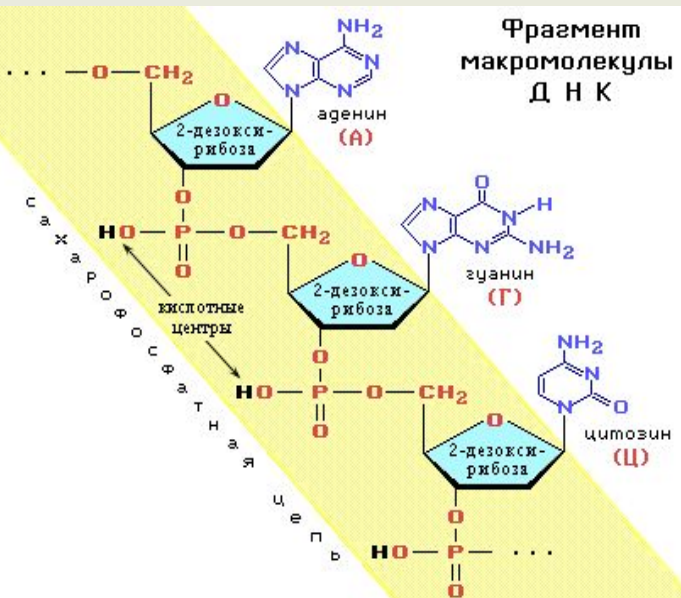
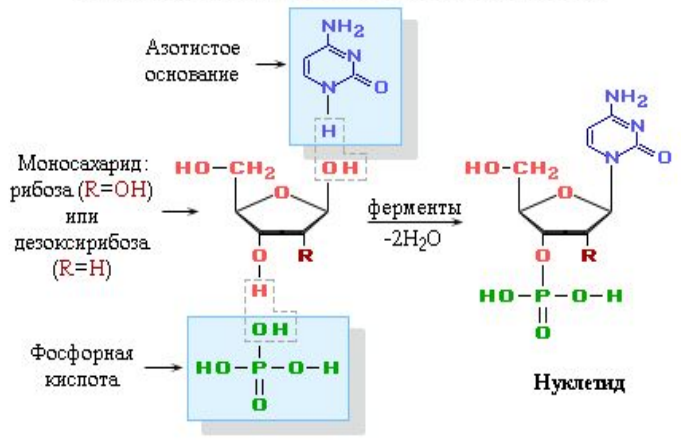
□ ДНК-биополимер, мономерами которого являются нуклеотиды

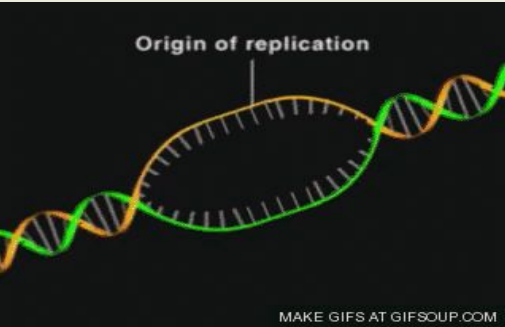
□ **Первичная структура**- линейная последовательность дезоксирибонуклеотидов в одной цепочке определяет все свойства ДНК

Вторичная структура – две полинуклеотидовые цепочки, каждая из которых закручена в спираль вправо и обе закручены вправо вокруг одной оси. Две цепочки удерживаются рядом за счет водородных связей между азотистыми основаниями разных цепочек. Каждый виток – 10 пар оснований. Цепи удерживаются водородными связями между комплементарными основаниями

Третичная структура ДНК и структуры более высокого порядка представляют собой дальнейшую спирализацию и

Строение и составные части нуклеотида





Репликация ДНК

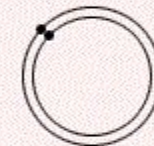
- Транскрипция ДНК в ходе деления клеток начинается с разделения двух цепей, каждая из которых становится матрицей, синтезирующей нуклеотидную последовательность новых цепей.
- У бактерий репликация начинается со специфической точки в кольцевой ДНК (**область начала репликации**) и продолжается в обоих направлениях. В результате образуются две **репликативные вилки**, которые продвигаются в противоположных направлениях, т. е. обе цепи реплицируются одновременно.
- ДНК способна реплицироваться, не распрямляясь в линейную молекулу, то есть в кольцевой форме.
- Область начала репликации соответствует точке прикрепления кольцевой молекулы ДНК к ЦПМ. Дочерние хромосомы остаются прикрепленными к мембране. Репликация молекул ДНК происходит параллельно с синтезом мембраны в области контакта ДНК с ЦПМ. Это приводит к разделению дочерних молекул ДНК и оформлению обособленных хромосом.

Кольцевая бактериальная ДНК



Модель с одной репликативной вилкой

Начало репликации

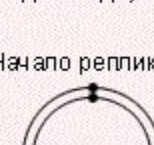


Исходный момент



Движение вилки

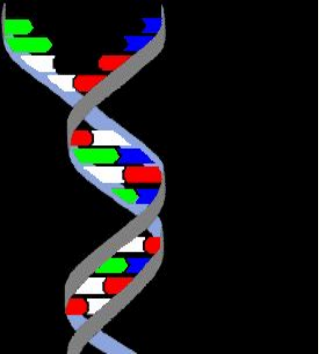
Начало репликации



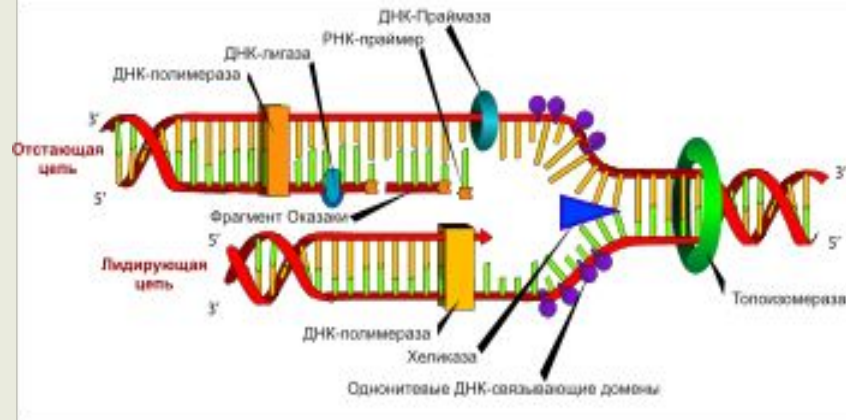
Исходный момент



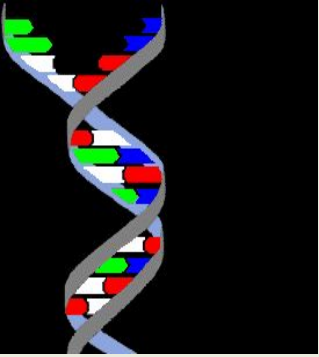
Движение вилки



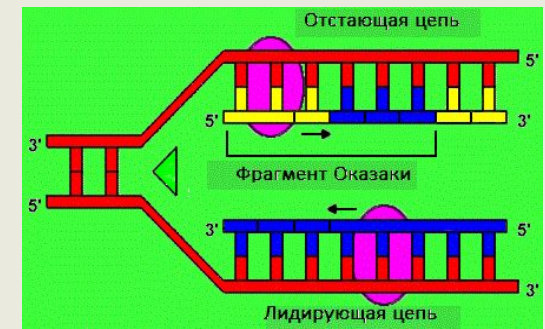
Репликация ДНК



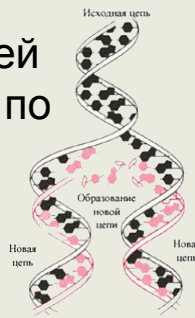
- ❑ Хеликаза, топоизомераза и ДНК-связывающие белки расплетают ДНК, удерживают матрицу в разведённом состоянии и вращают молекулу ДНК.
- ❑ Правильность репликации обеспечивается точным соответствием комплементарных пар оснований.
- ❑ Репликация катализуется несколькими ДНК-полимеразами, а транскрипция – ферментом РНК-полимеразой.
- ❑ После репликации дочерние спирали закручиваются обратно уже без затрат энергии и каких-либо ферментов.
- ❑ Матричная цепь всегда читается в направлении $3' \rightarrow 5'$, только одна из цепей может считываться непрерывно-лидирующая
- ❑ Другая цепь (отстающая) считывается в направлении, противоположном движению репликативной вилки. В результате на матрице вначале синтезируются короткие фрагменты новой цепи ДНК, так называемые фрагменты Оказаки.



Репликация ДНК



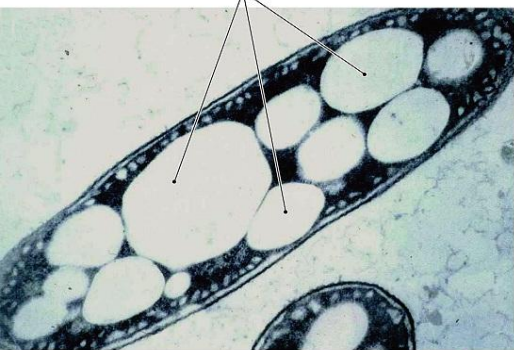
- Каждый фрагмент Оказаки начинается с короткой РНК-затравки (праймера), необходимой для функционирования ДНК-полимеразы.
- Праймер синтезируется специальной РНК-полимеразой («праймаза»)
- ДНК-полимераза III достраивает этот праймер до фрагмента ДНК длиной 1000-2000 дезоксирибонуклеотидных звеньев.
- Синтез этого фрагмента далее прерывается, и новый синтез начинается со следующего РНК-праймера.
- Индивидуальные фрагменты Оказаки первоначально не связаны друг с другом и все еще имеют РНК на 5'-концах.
- На некотором расстоянии от репликативной вилки **ДНК-полимераза I** начинает замещать РНК-праймер последовательностью ДНК.
- В завершение остающиеся одноцепочечные разрывы репарируются **ДНК-лигазой**.
- В образованной таким образом двойной спирали ДНК только одна из цепей синтезирована заново. Поэтому говорят, что репликация ДНК происходит по полуконсервативному механизму.



Цитоплазматические включения

- ❑ активно функционирующие структуры (структуры, содержащие пигменты у фотосинтезирующих бактерий)
- ❑ продукты клеточного метаболизма, не выделяющиеся наружу, но откладывающиеся внутри клетки
- ❑ включения, имеющие приспособительное значение (газовые вакуоли)
- ❑ запасные вещества, отложение которых клеткой происходит в условиях избытка питательных веществ в окружающей среде, а потребление наблюдается, когда организм попадает в условия голодания (полисахариды, липиды, полипептиды, полифосфаты, отложения серы).
- ❖ Из полисахаридов в клетках откладываются крахмал и крахмалоподобное вещество - гранулеза - специфический запасной полисахарид клостридий; полисахариды построены из остатков глюкозы и в неблагоприятных условиях они используются в качестве источника углерода и энергии).
- ❖ Липиды накапливаются в виде гранул, резко преломляющих свет и поэтому хорошо различимых в световой микроскоп. Например, бета-оксимасяная кислота.

Гранулы поли-бета-оксимасяной кислоты



Газовые вакуоли

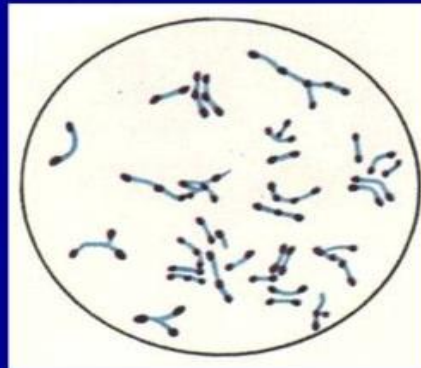
Цитоплазматические включения

- ❖ Для прокариот, метаболизм которых связан с соединениями серы, характерно отложение в клетках молекулярной серы. Сера накапливается, когда в среде содержится сероводород, и окисляется до сульфата, когда весь сероводород среды оказывается исчерпанным. Для аэробных бактерий, окисляющих H_2S , сера служит источником энергии, а для анаэробных - является донором электронов.
- ❖ Полифосфаты содержатся в гранулах – волютиновые или метахроминовые зерна. Используются клетками как источник фосфора. Полифосфаты содержат макроэргические связи и, таким образом, являются депо энергии, хотя считается, что их роль как источника энергии незначительна

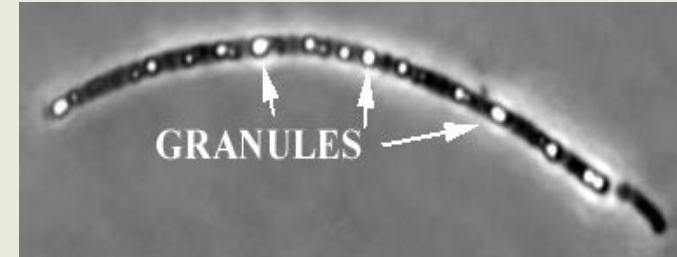
Гранулы волютина



Метод Нейсера



Метод Леффлера



Гранулы серы

Споры бактерий

- ❑ Споры бактерий можно рассматривать как форму сохранения наследственной информации бактериальной клетки в неблагоприятных условиях внешней среды.
- ❑ Способностью к спорообразованию обладает сравнительно небольшое число как патогенных, так и непатогенных грамположительных бактерий.
- ❑ К первым относятся бактерии родов *Bacillus*, *Clostridium*. Бактерии рода *Bacillus* имеют споры, не превышающие диаметр клетки. Бактерии, у которых размер споры превышает диаметр клетки, называются клостридиями, (лат. *Clostridium* - веретено).

❑ Отличия от вегетативной клетки:

- ❑ репрессия генома,
- ❑ повышена концентрация ионов кальция и магния
- ❑ уникальным компонентом спор является дипиколиновая кислота (фактор, обеспечивающий термоустойчивость).
- ❑ почти полное отсутствие обмена веществ
- ❑ отсутствие свободной воды

- ❑ За механическую прочность отвечают споровые оболочки, содержащих белок, богатый цистеином (что делает его похожим на кератин), который препятствует осуществлению диффузии и проникновению веществ из внешней среды.
- ❑ Инактивация спор с полной потерей жизнеспособности может быть достигнута автоклавированием



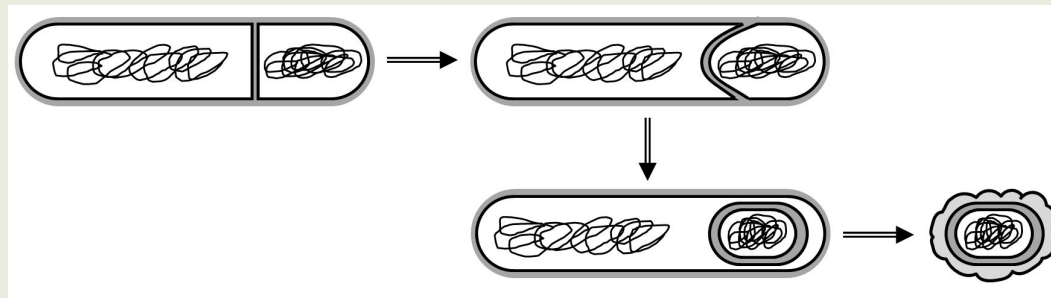
Bacillus Anthracis
Диаметр спор не превышает диаметр клетки



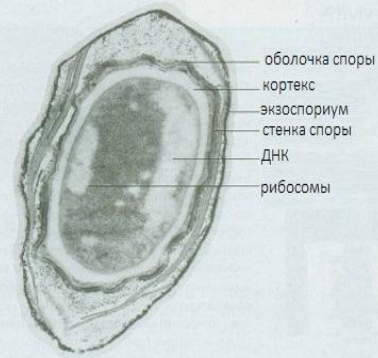
Clostridium Tetani
Диаметр спор превышает диаметр клетки

Спорообразование

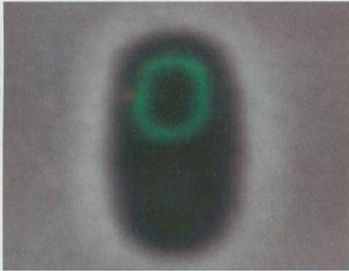
- Споробразование начинается при изменении температуры, влажности, недостатке питательных веществ или накоплении продуктов обмена
 - Процесс начинается с асимметричного бинарного деления клетки.
 - После него более крупная клетка обволакивает и поглощает более мелкую.
 - В результате формирующаяся спора оказывается внутри бактериальной клетки, окруженная собственной цитоплазматической мембраной, модифицированным пептидогликаном и второй мембраной, образовавшейся в ходе процесса обволакивания.
 - Поверх них формируются дополнительные кристаллоподобные белковые слои – *споровые оболочки*, у многих бактерий поверх них также образуется белковый *экзоспориум*.



Спорообразование



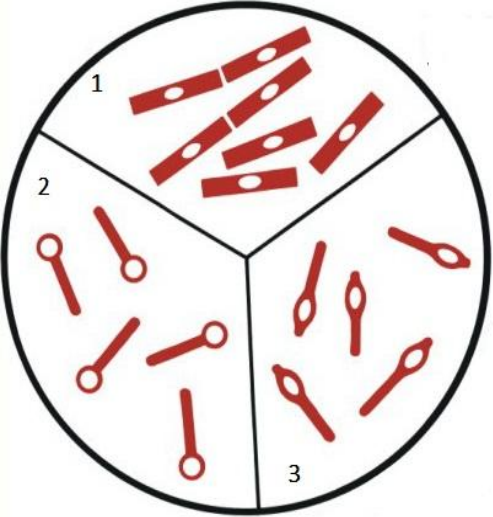
(a)



- В ходе созревания будущая спора подвергается обезвоживанию – содержание воды в цитоплазме падает до 25-55%, вместо неё в высоких концентрациях накапливается дипиколинат кальция.
- Цитоплазматическая мембрана споры подвергается латеральному сжатию и переходит в фазу геля, теряя текучесть и проницаемость для воды.
- ДНК компактизируется, связываясь с малыми кислоторастворимыми белками.
- Обмен веществ в споре практически прекращается.
- При гибели наружной клетки созревшая спора попадает внешнюю среду.
- При попадании споры в благоприятные условия происходит метаболическая активация, разрушение наружных оболочек, впитывание воды и формирование полноценной вегетативной клетки.

Эндоспора *Bacillus subtilis*

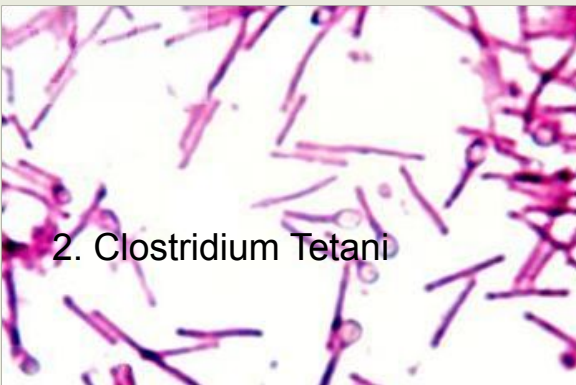
Трансмиссивная
электронная
микрофотография и
флуоресцентная
микрофотография



Эндоспоры



3. Clostridium Botulinum

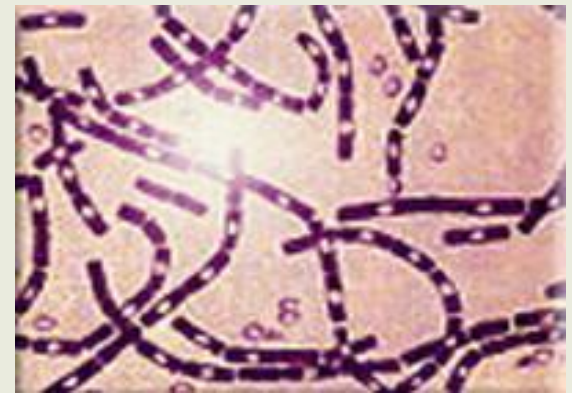


2. Clostridium Tetani

- Эндоспоры в теле клетки может располагаться:
 - 1. центрально — возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis*;
 - 2. терминально — на конце палочки (возбудитель столбняка *Clostridium Tetani*);
 - 3. субтерминально — ближе к концу (возбудитель ботулизма, *Clostridium botulinum*).
- Способность бактерий образовывать споры, различающиеся по форме размерам и локализации в клетке, является таксономическим признаком, который используется для их дифференцировки



1. Bacillus anthracis



Прорастание споры

□ Активация споры:

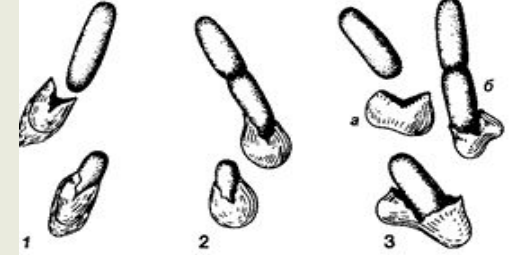
- прорастание споры активируется при прогревании
- активируют прорастание глюкоза и другие углеводы , многие аминокислоты (в первую очередь L- аланин), а также некоторые ионы

□ Инициация прорастания

- заключается в дерепрессии генома, мобилизации метаболических процессов;
- спора активно накачивает воду,

□ Собственно прорастание споры:

- характеризуется удалением из клетки дипиколиновой к-ты, ионов кальция, разрушением пептидогликана кортекса.
- в споре происходят глубокие физиологические изменения: усиливается дыхание, увеличивается активность ферментов
- этот процесс сопровождается снижением устойчивости споры к температуре, превращением в метаболические споры, из которых образуются вегетативные особи;
- выходящая из споры ростовая трубка бывает окружена очень тонкой и, видимо, неполностью сформированной клеточной стенкой
- в этот период спора утрачивает терморезистентность

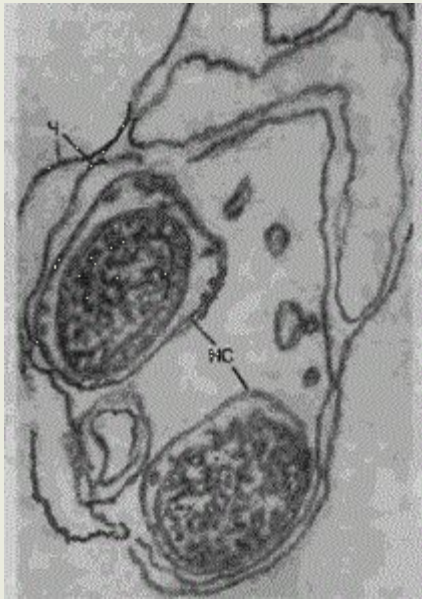


Прорастающие споры.
1 – полярное прорастание споры *Clostridium* (с экзоспорием); 2 – полярное прорастание споры *Bacillus megaterium* (споровые оболочки не отделились); 3 – латеральное прорастание спор у бацилл (а – *B. cereus*; б – *B. subtilis*).

Другие покоящиеся формы (цисты)



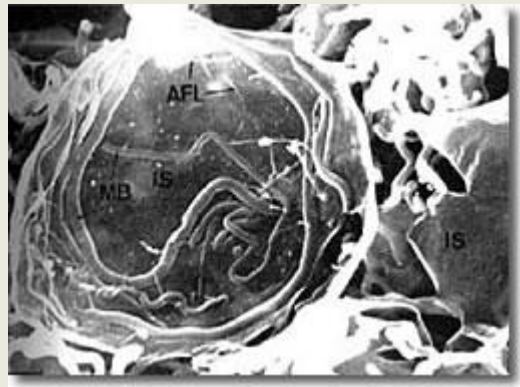
Бледная трепонема



Инцистированная бледная трепонема. Срез цисты. Циста имеет, кроме наружной стенки (НО, «чехол» (Ч), состоящий из нескольких слоев, x 70 000.

- ❑ Многие неспорообразующие бактерии, в том числе и патогенные микроорганизмы, в определенных условиях могут переходить в покоящееся состояние, оставаясь при этом жизнеспособными.
- ❑ Цисты встречаются у разных групп зубактерий: азотобактера, спирохет, миксобактерий, риккетсий.
- ❑ Циста - покоящаяся форма существования, предназначенная для переживания в неблагоприятных условиях существования.
- ❑ Стенка таких цист состоит из одного или нескольких слоев сходного или различного химического состава, цитоплазма содержит мало свободной воды, обмен веществ и энергии резко заторможен.
- ❑ В отличие от спор при неблагоприятных условиях в цисту превращается вся вегетативная клетка.
- ❑ Например, спирохеты (одна или несколько) компактно сворачиваются и покрываются непроницаемой муциновой оболочкой.
- ❑ Цисты могут длительное время находиться в организме больного, не проявляя патогенности.

Цисты возбудителя лайм-боррелиоза



Трансмиссивная электронная микрофотография образования цисты *Borrelia burgdorferi*-возбудитель болезни Лайма

Сканирующая электронная микрофотография возбудителя лайм-боррелиоза

- Показано, что боррелии – возбудители болезни Лайма способны образовывать цисты внутри В лимфоцитов, эозинофилов, нейтрофилов