

Лекция № 3.

Химическая структура, биохимические свойства и ферменты бактерий

МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

2014-2015

Клетка- универсальная единица живой материи. По химическому составу существенных отличий прокариотических и эукариотических клеток нет.

Химические элементы, входящие в состав живой материи, можно разделить на три основные группы.

1. Биогенные химические элементы (С, О, N, H). На их долю приходится 95% сухого остатка, в т.ч. 50%- С, 20%- О, 15%- N, 10%- H).

2. Макроэлементы- P, S, Cl, K, Mg, Ca, Na. На них приходится около 5%.

3. Микроэлементы- Fe, Cu, I, Co, Mo и др. На них приходятся доли процента, однако они имеют важное значение в обменных процессах.

Химические элементы входят в состав различных веществ- воды, белков, липидов, нейтральных жиров, углеводов, нуклеиновых кислот. Синтез соединений контролируется генами. Многие вещества бактериальная клетка может получать извне- из окружающей среды или организма хозяина.

Вода составляет от 70 до 90 % биомассы. Содержание воды больше у капсульных бактерий, меньше всего- в спорах.

Белки встречаются во всех структурных элементах клетки. Белки могут быть более простые (протеины) и сложные (протеиды), в чистом виде или в комплексе с липидами, сахарами. Выделяют структурные

(структурообразующие) и функциональные (регуляторные) белки, к последним относятся ферменты.

В состав белков входят как обычные для эукариотов L-аминокислоты, так и оригинальные- *диаминопимелиновая, D-аланин, D-глутамин*, входящие в состав пептидогликанов и капсул некоторых бактерий. Только в спорах находится *дипиколиновая кислота*, с которой связана высокая резистентность спор. Жгутики построены из белка *флагеллина*, обладающего сократительной способностью и выраженными антигенными свойствами. Пили (ворсинки) содержат особый белок- *пилин*.

Пептидную природу имеют капсулы представителей рода *Bacillus*, возбудителя чумы, поверхностные антигены ряда бактерий, в том числе стафилококков и стрептококков. *Белок А* - специфический белок *S.aureus* - фактор, обуславливающий ряд свойств этого возбудителя. *Белок М* - специфический белок гемолитических стрептококков серогруппы А, позволяющий дифференцировать серовары (около 100), что имеет эпидемиологическое значение.

Ряд белков содержит наружная мембрана грамотрицательных бактерий, из которых 3 - 4 *мажорных* (основных) и более 10- второстепенных, выполняющих различные функции. Среди мажорных белков - *порины*, образующие диффузные поры, через которые в клетку

могут проникать мелкие гидрофильные молекулы.

Белки входят в состав **пептидогликана** - биополимера, составляющего основу бактериальной клеточной стенки. Он состоит из остова (чередующиеся молекулы двух аминсахаров) и двух наборов пептидных цепочек- боковых и поперечных. Наличие двух типов связей- гликозидных (между аминсахарами) и пептидных, которые соединяют субъединицы пептидогликанов, придают этому гетерополимеру структуру *молекулярной сети*. *Пептидогликан - наиболее устойчивое соединение, которое образует ригидную мешковидную макромолекулу, определяющую постоянную форму бактерий и ряд их свойств.*

1. Пептидогликан содержит родо - и видоспецифические антигенные детерминанты.
2. Он запускает классический и альтернативный пути активации системы комплемента.
3. Пептидогликан тормозит фагоцитарную активность и миграцию макрофагов.
4. Он способен инициировать развитие гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).
5. Пептидогликан обладает противоопухолевым действием.
6. Он оказывает пирогенное действие, т.е. вызывает лихорадку.

Из соединений белков с небелковыми компонентами наибольшее значение имеют *липопротеиды, гликопротеиды и нуклеопротеиды*.

Удивительное таинство жизни - синтез белка осуществляется в *рибосомах*. Существует два основных типа рибосом - 70S (S- константа седиментации, единица Сведберга) и 80S. Рибосомы первого типа встречаются только у прокариотов. Антибиотики не действуют на синтез белка в рибосомах типа 80S, распространенных у эукариотов.

Липиды (главным образом *форфолипиды*) содержатся в цитоплазматической мембране (липидный бислой), в также в наружной мембране грамотрицательных бактерий. Есть микроорганизмы, содержащие большое количество липидов (до 40% сухого остатка)- микобактерии. В состав липидов входят различные *жирные кислоты*, весьма специфичные для разных групп микроорганизмов. Их определение имеет в ряде случаев диагностическое значение, например у анаэробов, микобактерий.

У микобактерий туберкулеза в составе липидов имеется ряд кислотоустойчивых жирных кислот- *фитиновая, миколовая* и др. Высокое содержание липидов и их составе определяют многие свойства микобактерий туберкулеза:

- устойчивость к кислотам, щелочам и спиртам;

- трудная окрашиваемость красителями (используют специальные методы окраски, чаще- по Цилю-Нильсену);
- устойчивость возбудителя к солнечной радиации и дезинфицирующим средствам;
- патогенность.

Тейхоевые кислоты встречаются в клеточных стенках грамположительных бактерий. Представляют собой водорастворимые линейные полимеры, содержащие остатки глицерина или рибозы, связанные фосфодиэфирными связями. С тейхоевыми кислотами связаны главные поверхностные антигены ряда грамположительных бактерий.

Углеводы встречаются чаще в виде *полисахаридов*, которые могут быть экзо- и эндоклеточными. Среди экзоклеточных полисахаридов выделяют каркасные (входят в состав капсул) и истинно экзополисахариды (выходят во внешнюю среду). Среди бактериальных полисахаридов многие находят медицинское применение. *Декстраны*- полисахариды с большой молекулярной массой, по виду напоминают слизь. 6% раствор- кровезаменитель полиглюкин. Декстрановый гель *сефадекс* используется в колоночной хроматографии как молекулярное сито. Эндоклеточные полисахариды- запасные питательные вещества клетки (крахмал, гликоген и др.).

Липополисахарид (ЛПС) - один из основных компонентов клеточной стенки грамотрицательных бактерий, это соединение липида с полисахаридом. ЛПС состоит из комплекса:

1. Липид А.
 2. Одинаковое для всех грамотрицательных бактерий *полисахаридное ядро*.
 3. Терминальная сахаридная цепочка (*О- специфическая боковая цепь*).
- Синонимы ЛПС- эндотоксин, О- антиген.

ЛПС выполняет две основные функции- определяет антигенную специфичность и является одним из основных факторов патогенности. Это- эндотоксин, токсические свойства которого проявляются преимущественно при разрушении бактериальных клеток. Его токсичность определяется липидом А. ЛПС запускает синтез более 20 биологически активных веществ, определяющих патогенез эндотоксикоза, обладает пирогенным действием.

Нуклеиновые кислоты - ДНК и РНК. *Рибонуклеиновые кислоты* (РНК) находятся главным образом в рибосомах (р-РНК- 80- 85%), т (транспортные)- РНК- 10%, м(матричные)- РНК- 1- 2%, главным образом в одноцепочечной форме. ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) может находиться в ядерном аппарате (хромосомная ДНК) или в цитоплазме в

специализированных образованиях- плаزمидах- плазмидная (внехромосомная) ДНК. Микроорганизмы отличаются по структуре нуклеиновых кислот, содержанию *азотистых оснований*. Генетический код состоит всего из четырех букв (оснований) - А (аденин), Т (тимин), Г (гуанин) и Ц (цитозин). Наиболее часто для характеристики микроорганизмов используют как таксономический признак процентное соотношение Г/Ц, которое существенно отличается у различных групп микроорганизмов.

Микроорганизмы синтезируют различные **ферменты**- специфические белковые катализаторы. У бактерий обнаружены ферменты 6 основных классов.

1. Оксидоредуктазы- катализируют окислительно-восстановительные реакции.
2. Трансферазы- осуществляют реакции переноса групп атомов.
3. Гидролазы- осуществляют гидролитическое расщепление различных соединений.
4. Лиазы- катализируют реакции отщепления от субстрата химической группы негидролитическим путем с образованием двойной связи или присоединения химической группы к двойным связям.
5. Лигазы или синтетазы- обеспечивают соединение двух

молекул, сопряженное с расщеплением пиррофосфатной связи в молекуле АТФ или аналогичного трифосфата.

6. Изомеразы - определяют пространственное расположение групп элементов.

В соответствии с механизмами генетического контроля у бактерий выделяют три группы ферментов:

- *конститутивные*, синтез которых происходит постоянно;
- *индуцибельные*, синтез которых индуцируется наличием субстрата;
- *репрессибельные*, синтез которых подавляется избытком продукта реакции.

Ферменты бактерий делят на *экзо- и эндоферменты*. Экзоферменты выделяются во внешнюю среду, осуществляют процессы расщепления высокомолекулярных органических соединений. Способность к образованию экзоферментов во многом определяет *инвазивность* бактерий - способность проникать через слизистые, соединительнотканые и другие тканевые барьеры.

Примеры: *гиалуронидаза* расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного вещества, что повышает проницаемость тканей (клостридии, стрептококки, стафилококки и многие другие микроорганизмы); *нейраминидаза* облегчает преодоление

слоя слизи, проникновение внутрь клеток и распространение в межклеточном пространстве (холерный вибрион, дифтерийная палочка, вирус гриппа и многие другие). К этой же группе относятся энзимы, разлагающие антибиотики.

В бактериологии для дифференциации микроорганизмов по биохимическим свойствам основное значение часто имеют конечные продукты и результаты действия ферментов. В соответствии с этим существует микробиологическая (рабочая) классификация ферментов.

1. Сахаролитические.
2. Протеолитические.
3. Аутолитические.
4. Окислительно-восстановительные.
5. Ферменты патогенности (вирулентности).

Ферментный состав клетки определяется геномом и является достаточно постоянным признаком. Знание биохимических свойств микроорганизмов позволяет идентифицировать их по набору ферментов. Основные продукты ферментирования углеводов и белков - кислота, газ, индол, сероводород, хотя реальный спектр для различных микроорганизмов намного более обширный.

Основные ферменты вирулентности - гиалуронидаза, плазмокоагулаза,

лецитиназа, нейраминидаза, ДНК-аза. Определение ферментов патогенности имеет значение при идентификации ряда микроорганизмов и выявления их роли в патологии.

Ряд ферментов микроорганизмов широко используется в медицине и биологии для получения различных веществ (аутолитические, протеолитические), в генной инженерии (рестриктазы, лигазы).