

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
- 

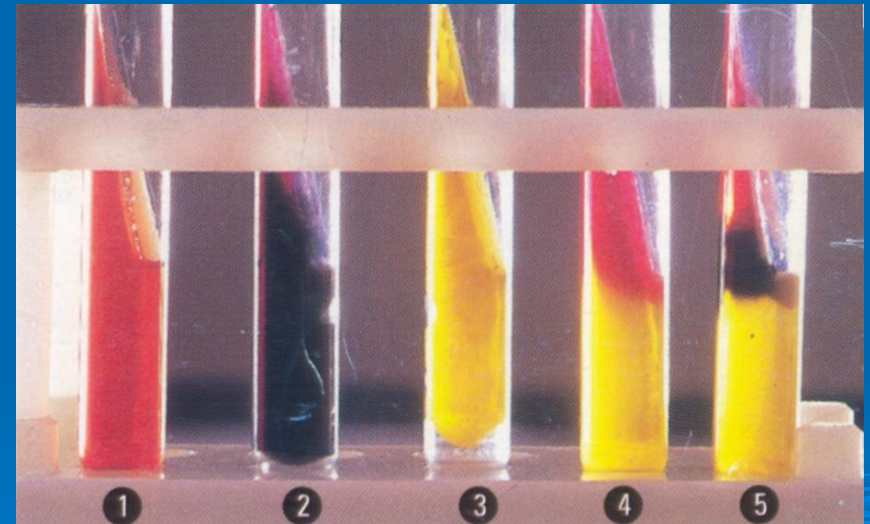
Ферменты бактерий

- 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

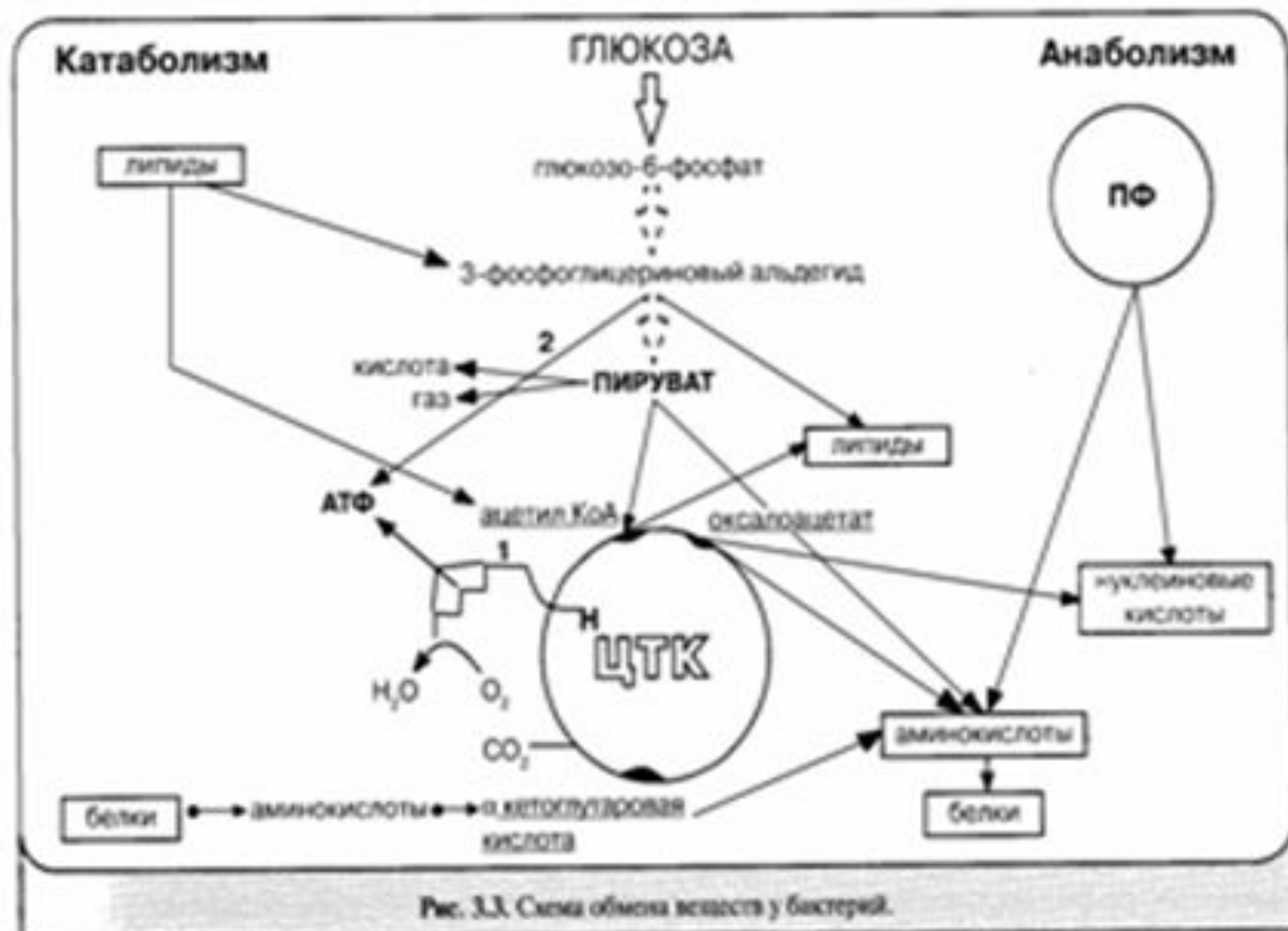
- Процесс получения энергии в реакциях окисления-восстановления, сопряженных с окислительным фосфорилированием, в которых донором электронов является органическое соединение, а акцептором неорганическое соединение

Брожение

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

Брожение

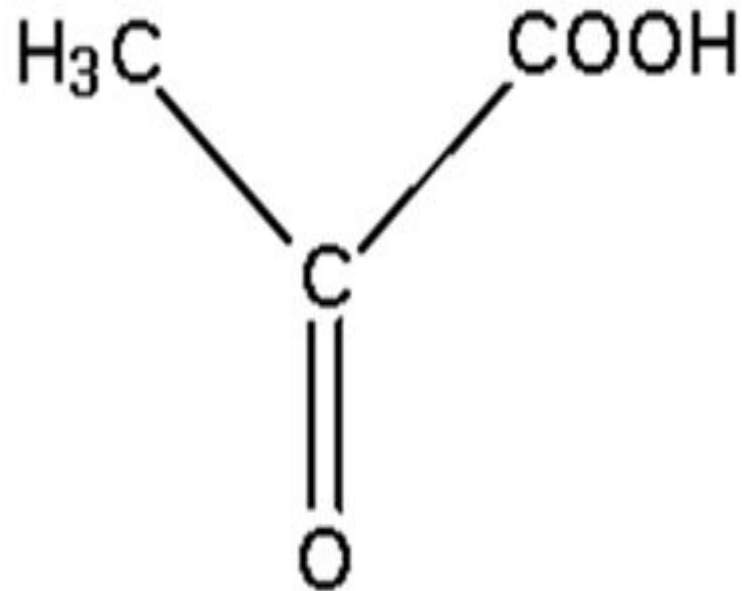
- **Не сбраживаются:**
- 1. липиды
- 2. ароматические соединения
- 3. стероидные соединения



ПИРУВАТ

Является
исходным
соединением
в процессах
распада и
биосинтеза

пируват



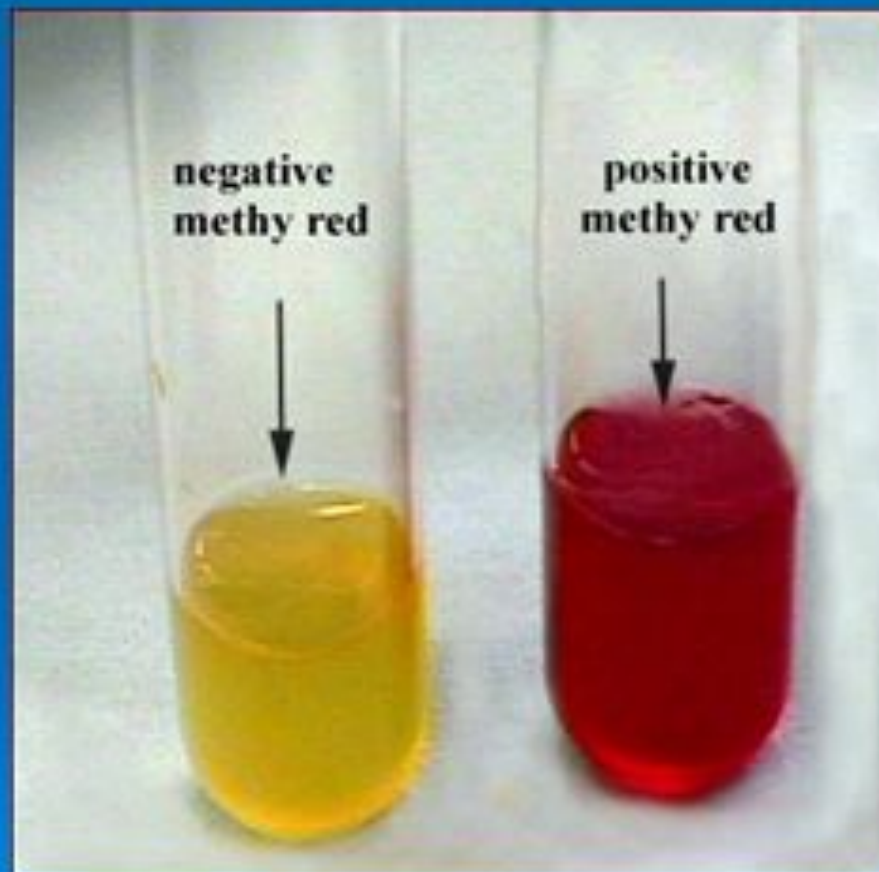
Продукты дыхания и брожения.

- 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**

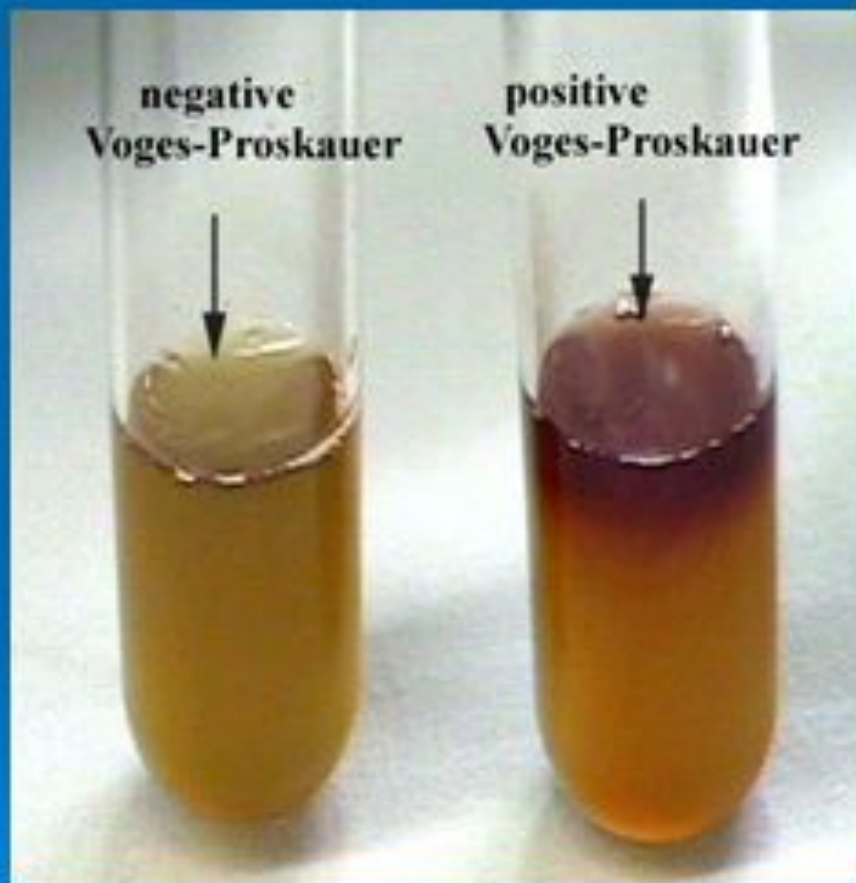
Метил рот



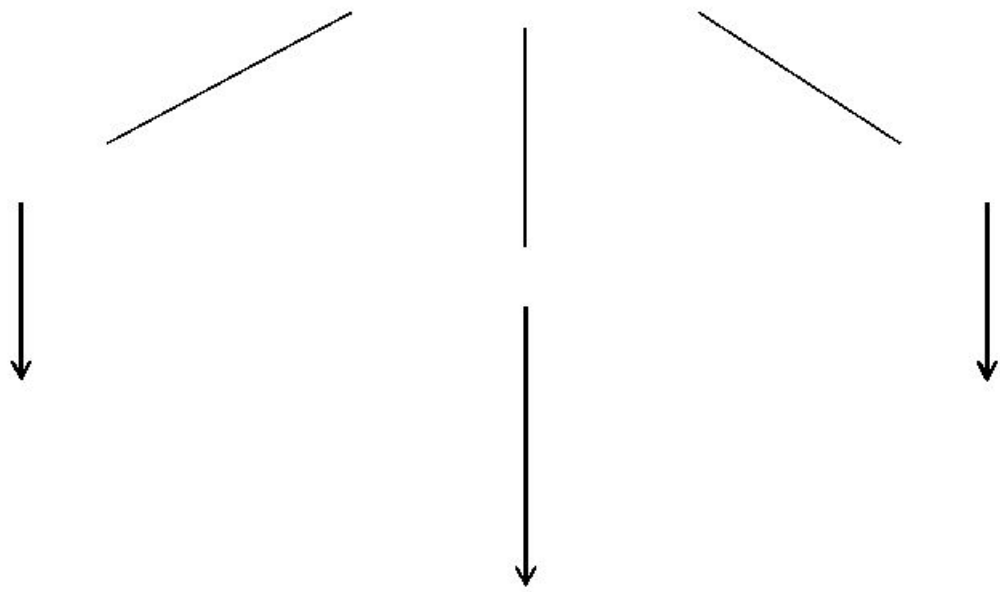
Муравьинокислое брожение

- По второму варианту происходит конденсация 2 молекул пирувата с последующими двумя декарбоксилированием с образованием ацетоина, который выявляется в реакции Фогес-Проскауэра

Реакция Фогес-Проскауэр



МОЛОЧНОКИСЛОТНОЕ БРОЖЕНИЕ



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.

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**

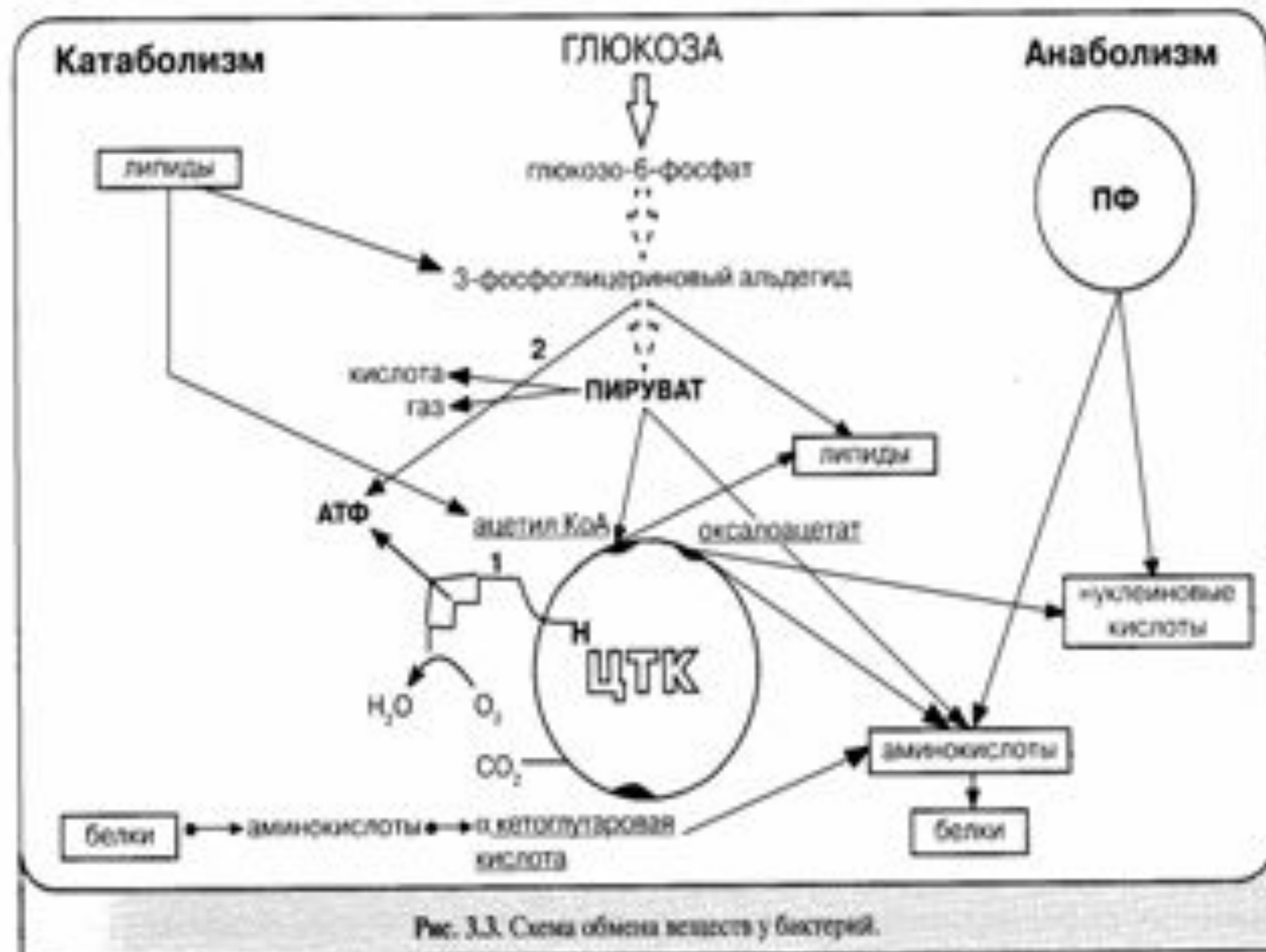
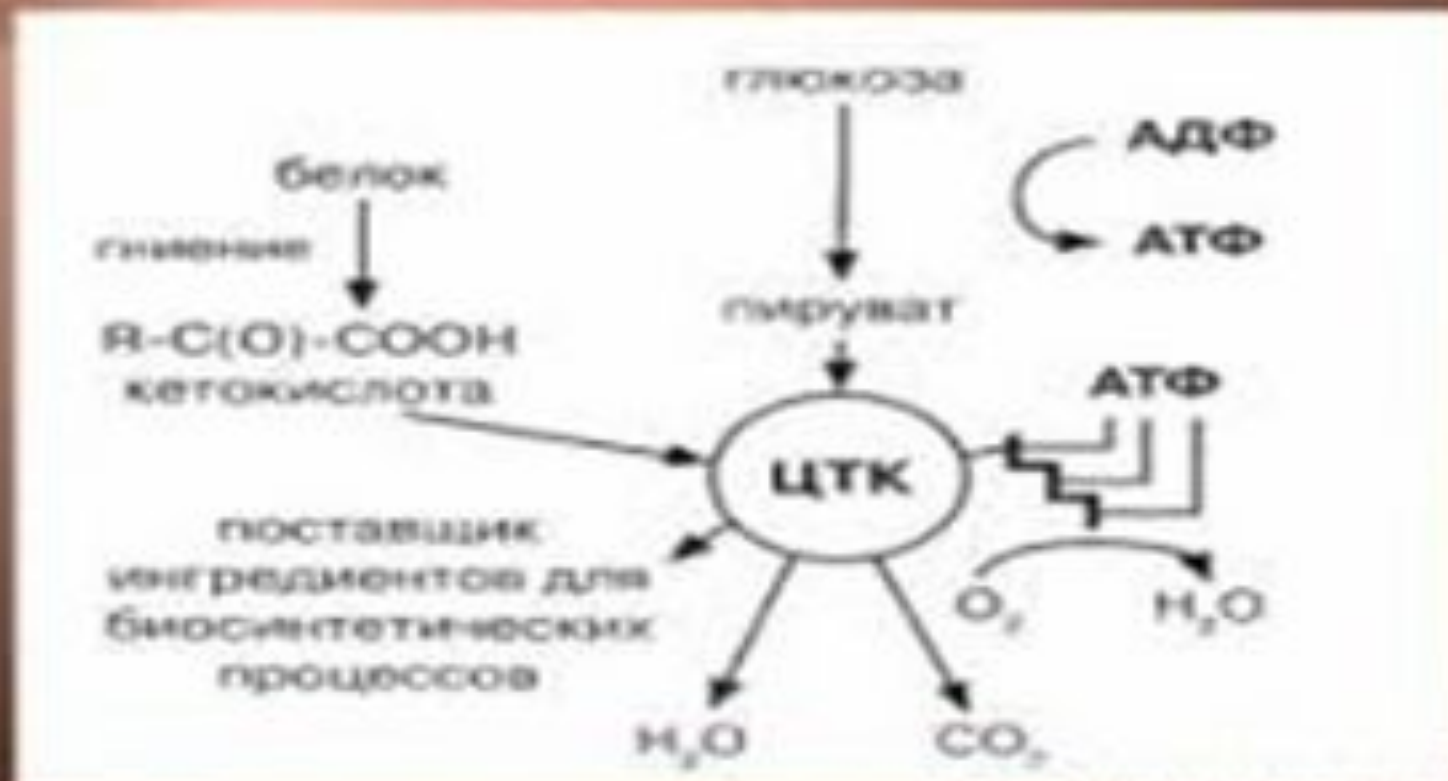
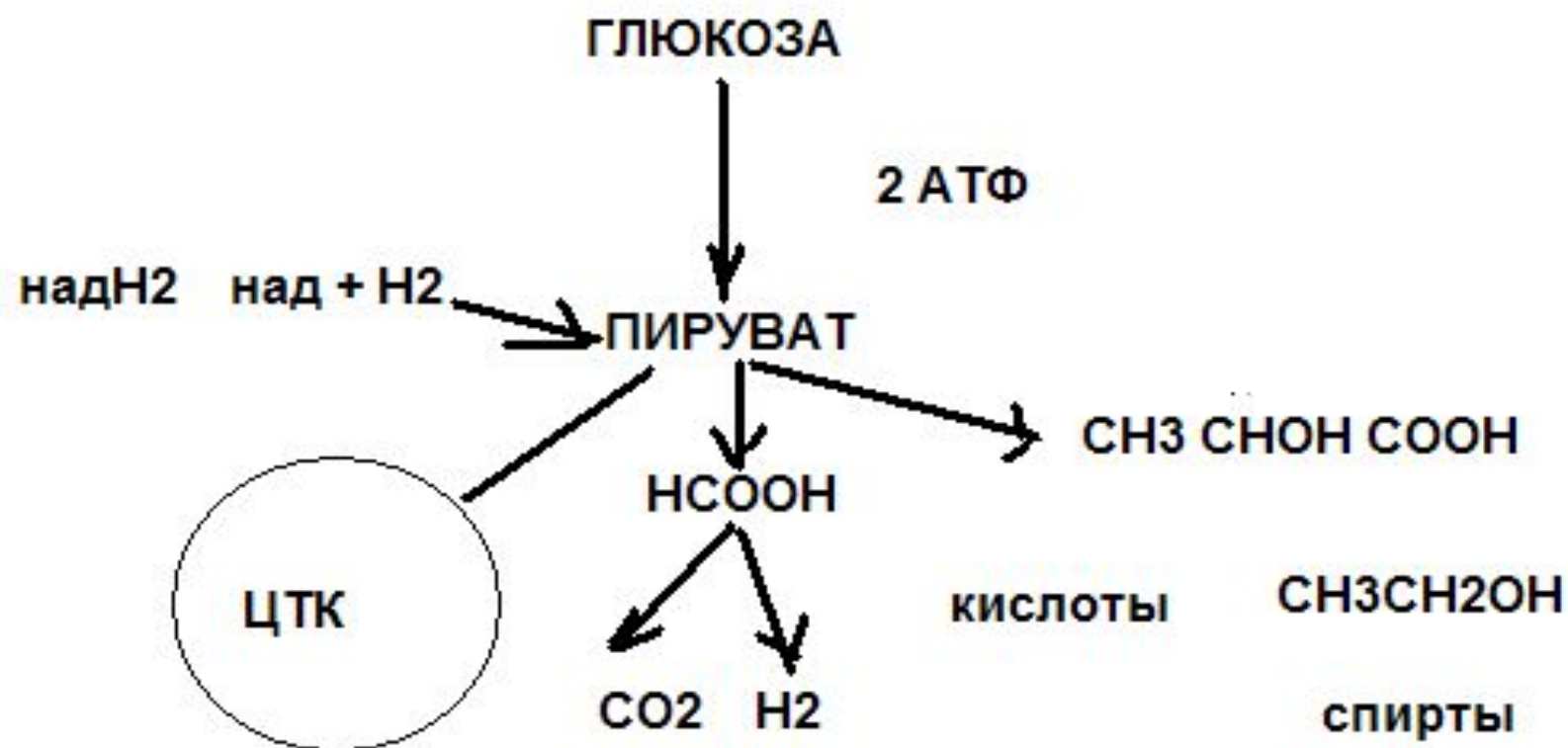


Рис. 3.3. Схема обмена веществ у бактерий.

Окислительный метаболизм у бактерий (дыхание)



бродильный механизм у бактерий



источник
ингредиентов для
биосинтетических
процессов

газы

кислоты

СН3СН2ОН

спирты

Отношение бактерий к кислороду

По использованию кислорода

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 $H_2O_2 + O_2$
- $2H_2O_2$ катапаза $2H_2O + O_2$



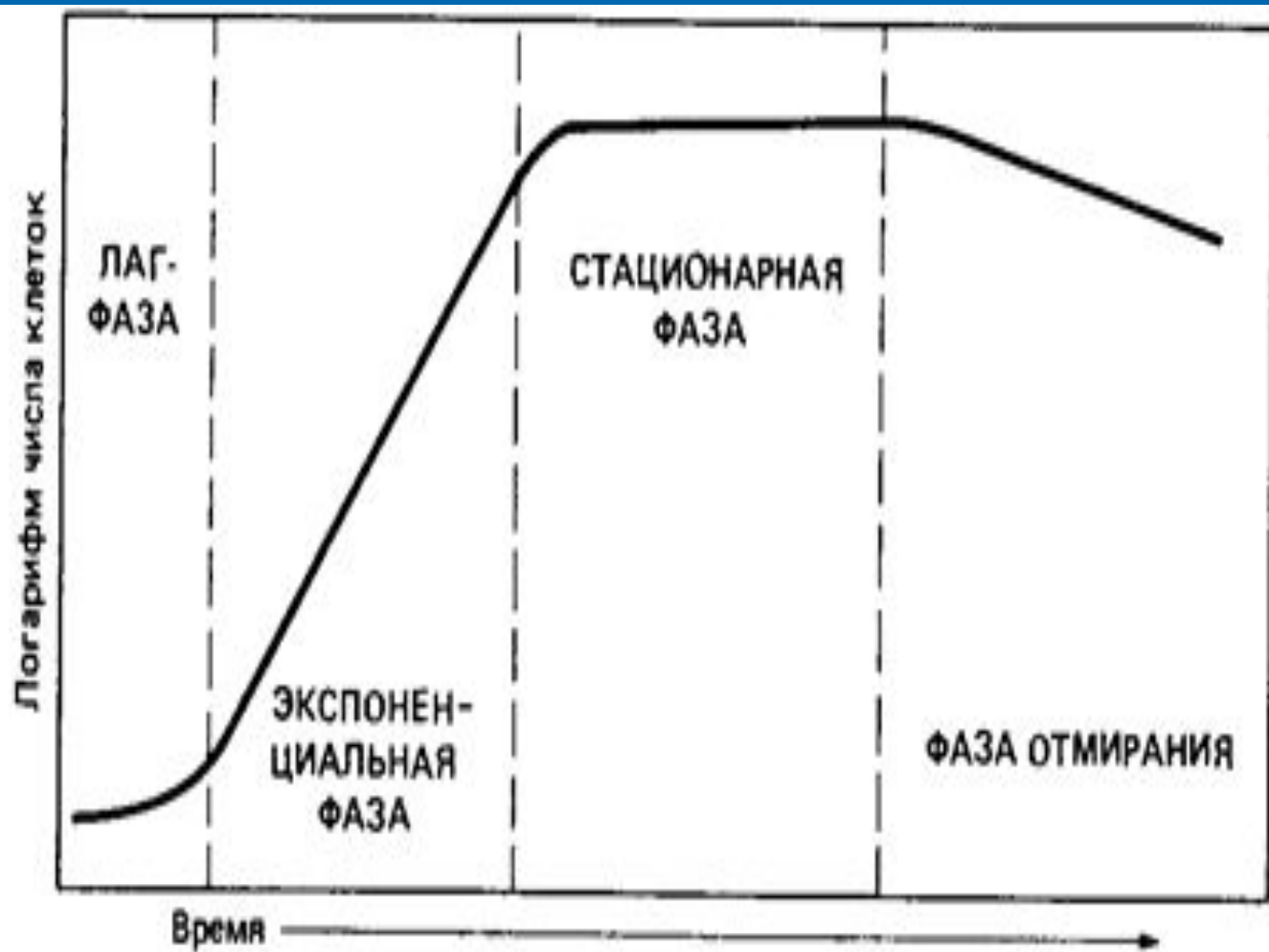


Рис. 6.6. Кривая роста бактериальной культуры.

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

Quorum sensing

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



БИОПЛЕНКА

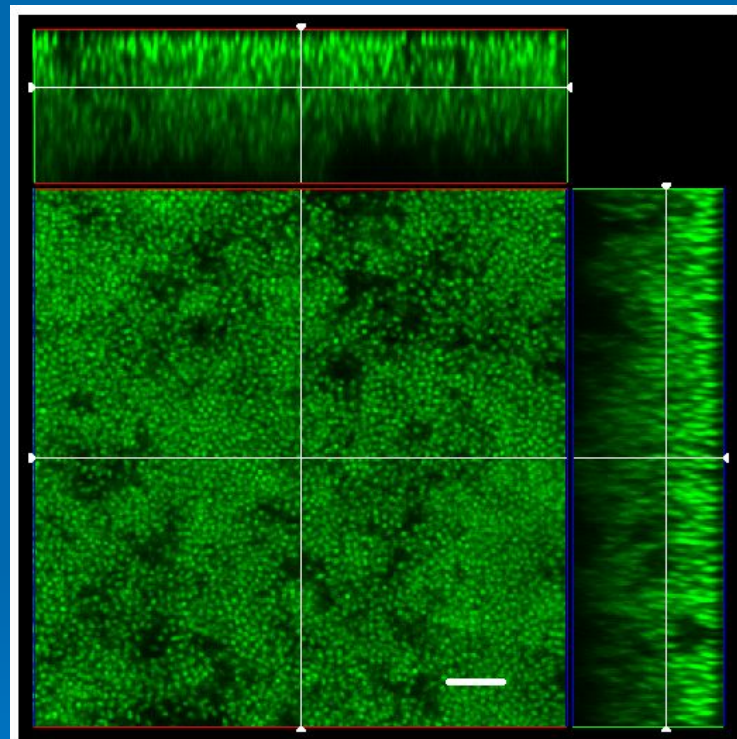
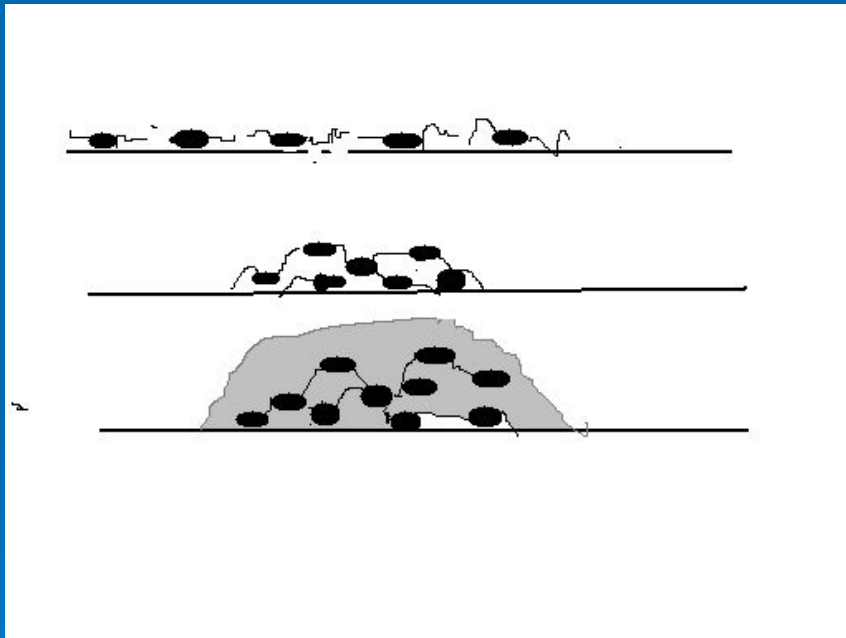
- Высокоорганизованное сообщество бактерий, необратимо прикрепленных к субстрату и друг к другу, защищенных продуцируемым этими клетками внеклеточным полимерным матриксом

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

Бактериальный геном

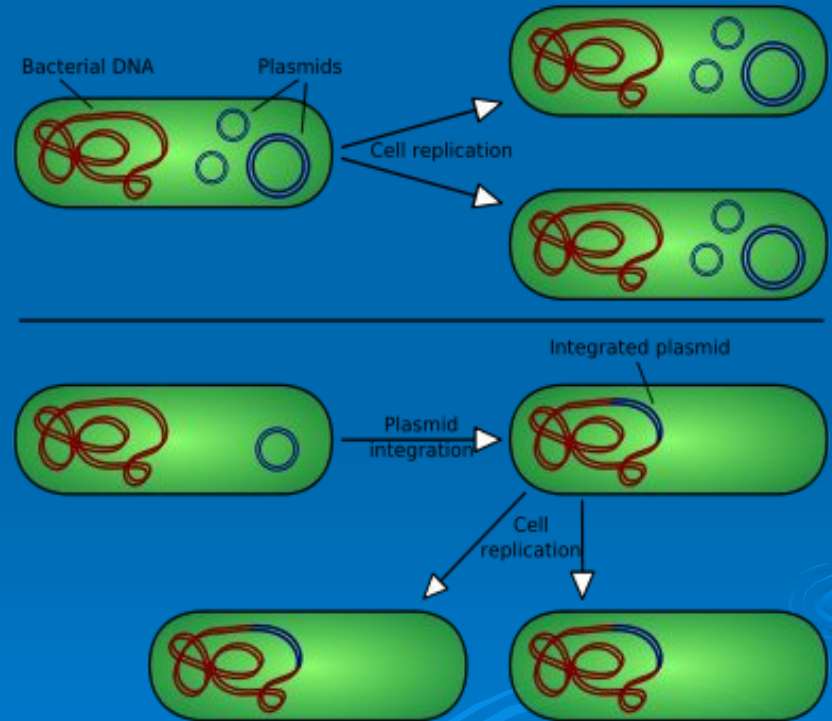
- Состоит из:
- 1. хромосомы: **двунитчатой молекулы ДНК**, содержащей гаплоидный набор генов, которая может быть как **кольцевой**, так **линейной формы**.
- В бактериальной клетке может быть как **одна**, так и **несколько** хромосом

Бактериальный геном

- 2. **Плазмид**, дополнительных генетических элементов, которые представлены двухнитчатыми молекулами ДНК, которые могут быть, как кольцевой, так и линейной форм
- В состав генома (хромосомы и плазмид) могут входить: 1. **подвижные генетические элементы**, 2. интегроны и 3. **острова патогенности**

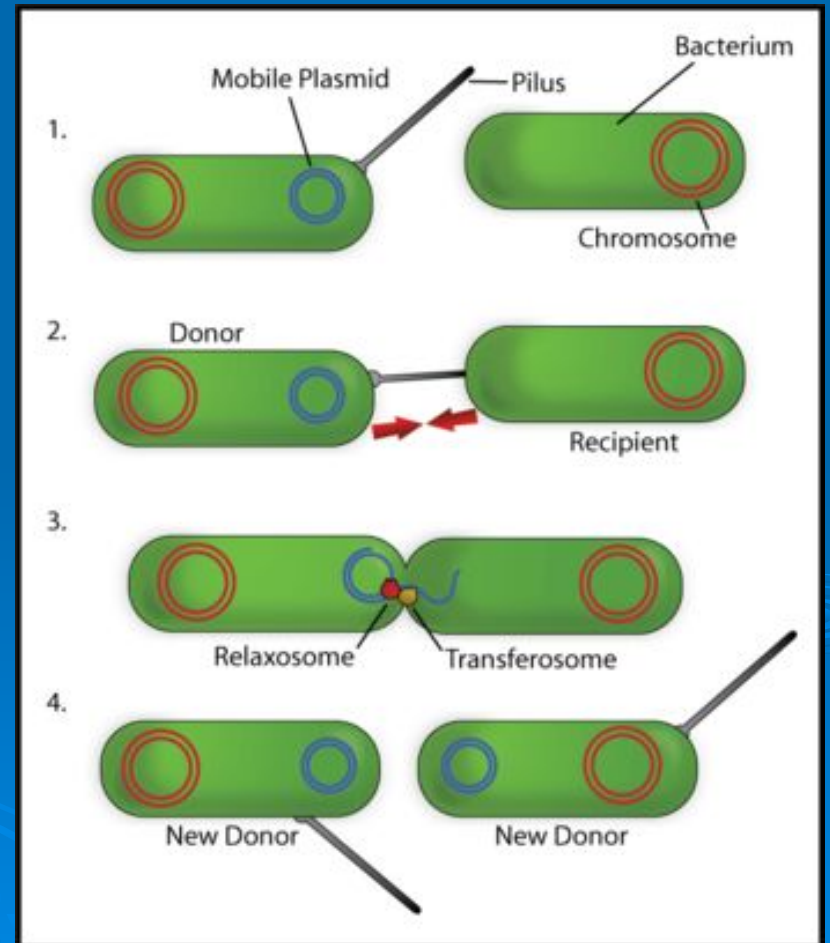
Типы плазмид

- Трансмиссивные
- Нетрансмиссивные
- Интегративные
- Неинтегративные
- Совместимые
- Несовместимые



Типы плазмид

- **Трасмиссивные плазмиды** обладают *tra*-опероном, который обеспечивает процесс конъюгации, т.е. передачу плазмиды из одной клетки в другую



Типы плазмид

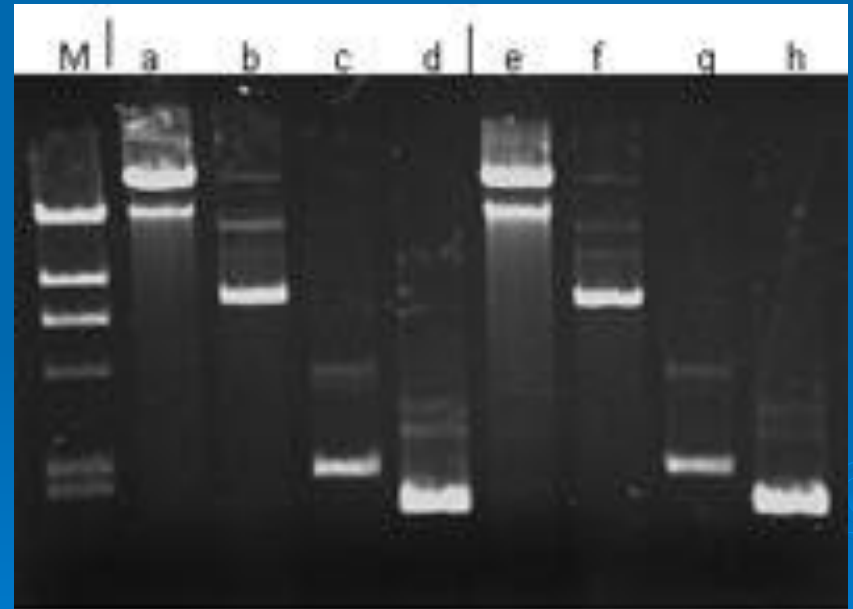
- .
- *Fertility-F-плазмида* содержит tra-оперон. Обеспечивает процесс конъюгации
- *Resistance-(R) фактор*, содержит гены, обеспечивающие резистентность к антибиотикам.

Типы плазмид

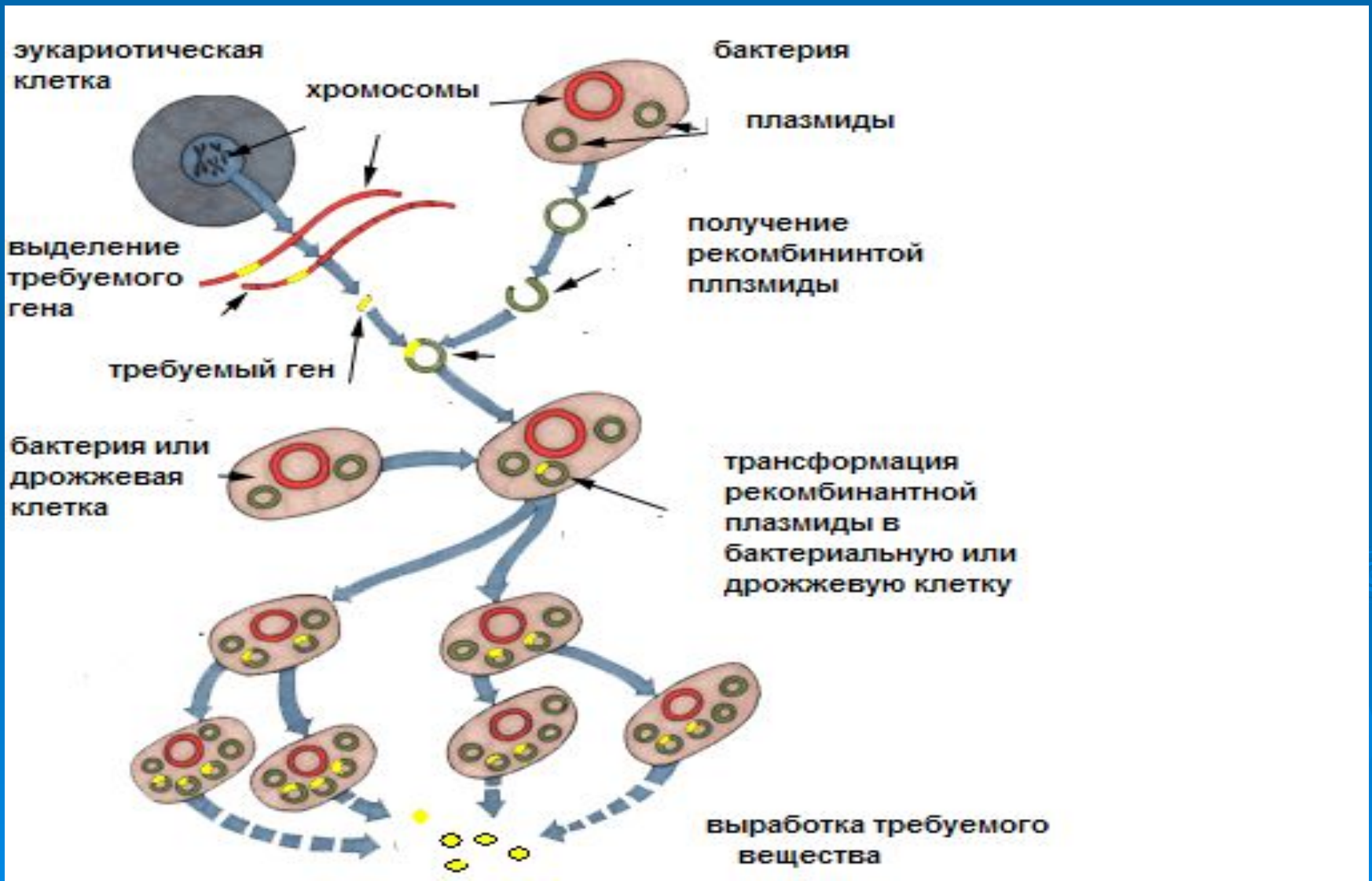
- *Col-плазмида, кодирующая синтез бактерицинов, которые убивают другие бактерии.*
- *Плазмиды вирулентности – кодируют факторы агрессии у патогенных микробов*

Определение плазмидного профиля бактерий.

- Плазмидный профиль позволяет произвести внутривидовую идентификацию бактерий. Для этого из бактериальной клетки выделяют плазмидную ДНК, которую разделяют электрофорезом в агарозном геле, для определения количества и размеров плазмид.



Использование плазмид



□ Подвижные генетические элементы обнаружены в составе бактериального генома, как в бактериальной хромосоме, так и в плазмидах. К подвижным генетическим элементам относятся вставочные последовательности и транспозоны.

ПОДВИЖНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ

- Перемещение подвижных генетических элементов принято называть репликативной или незаконной рекомбинацией.
- В отличие от бактериальной хромосомы и плазмид подвижные генетические элементы не являются самостоятельными репликонами, так как их репликация — составной элемент репликации ДНК репликона, в составе которого они находятся.

□

IS-элементы

- IS-элементы имеют размеры - 1000 н. п. и содержат лишь те гены, которые необходимы для их собственного перемещения — транспозиции: ген, кодирующий фермент *транспозазу*, обеспечивающую процесс исключения IS-элемента из ДНК и его интеграцию в новый локус, и ген, детерминирующий синтез репрессора, который регулирует весь процесс перемещения

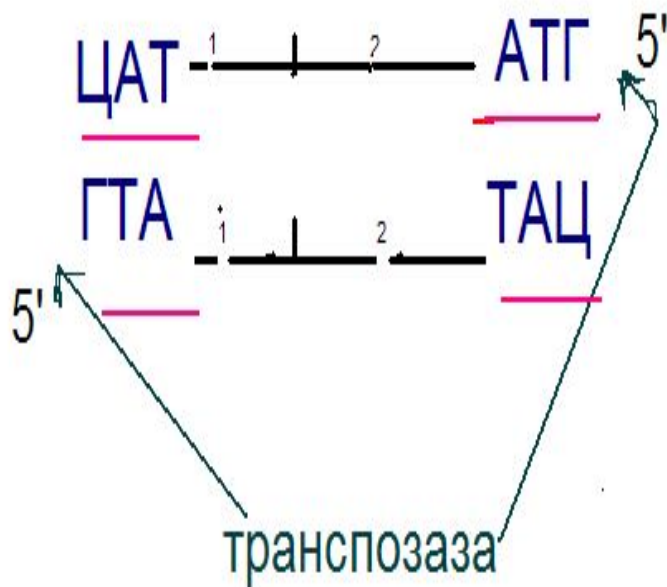
IS-элементы

- Эти гены по флангам окружены *инвертированными повторами*, которые служат сайтами рекомбинации, сопровождающей перемещения вставочной последовательности при участии транспозиционных ферментов, в частности транспозаз.

-

палиндромы

СТРОЕНИЕ IS - ЭЛЕМЕНТА

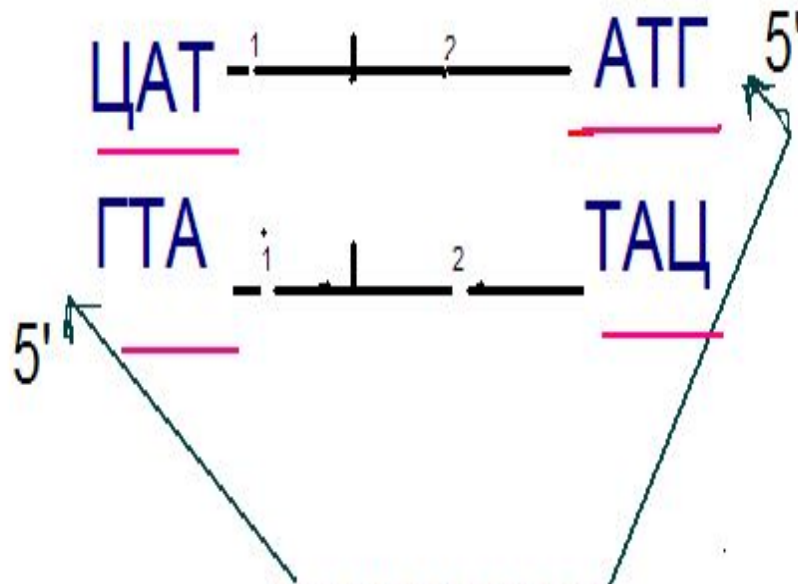


- Вор в лесу сел в ров
- КАБАК
- ШАЛАШ
- ЗАКАЗ

IS-элементы

- **Инвертированные повторы** узнает **транспозаза**, она делает одноцепочечные разрывы цепей ДНК, расположенных по обе стороны от IS элемента. Оригинальная копия IS-элемента остается на прежнем месте, а ее реплицированный дубликат перемещается на новый участок.

СТРОЕНИЕ IS - ЭЛЕМЕНТА

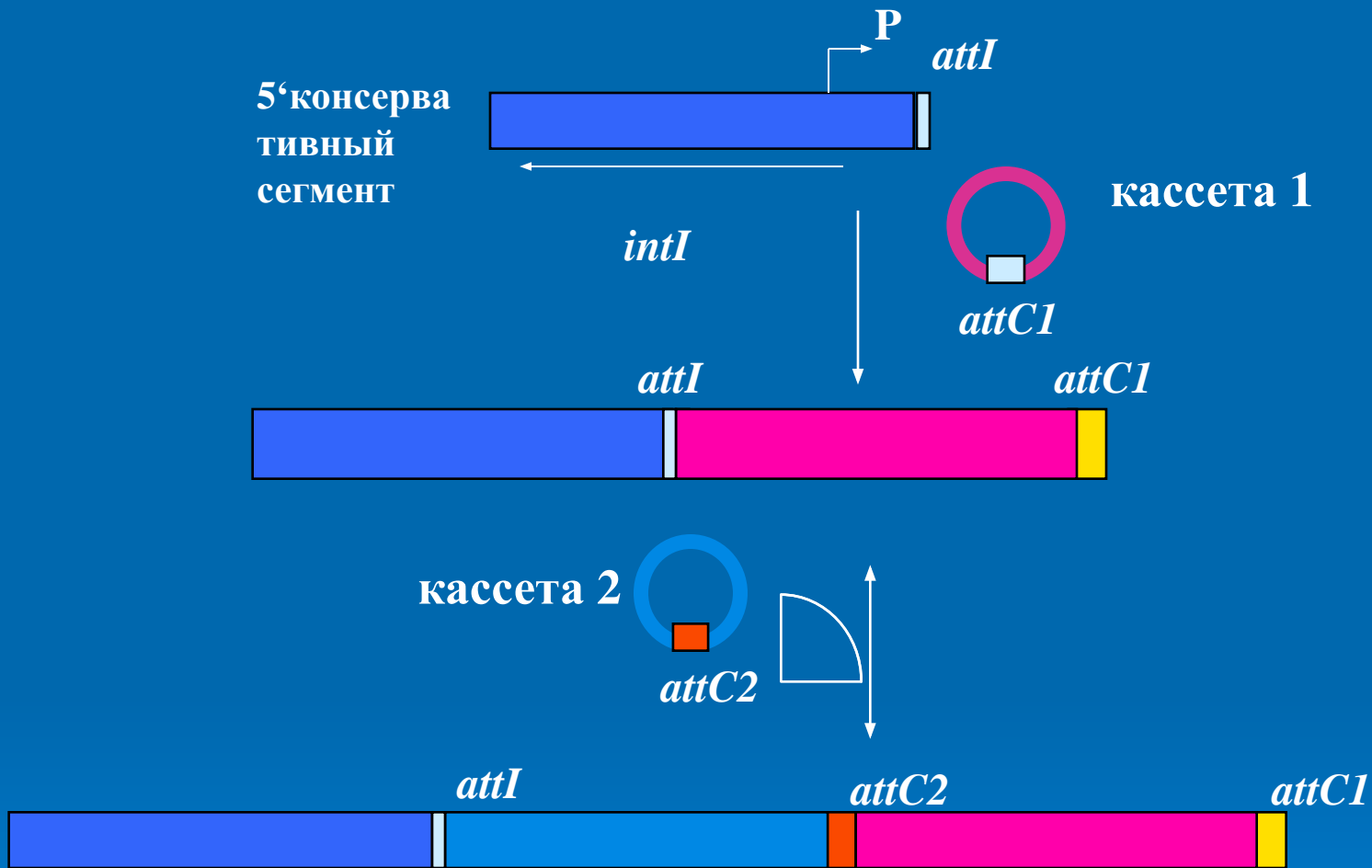


Подвижные генетические элементы

- **Транспозоны** — это сегменты ДНК, обладающие теми же свойствами, что и IS-элементы, но имеющие в своем составе структурные гены, например ген токсина, гены, обеспечивающие устойчивость к антибиотикам.

Перемещение подвижных генетических элементов по репликону или между репликонами, вызывает:

- 1. Инактивацию генов тех участков ДНК, куда они, переместившись, встраиваются.
- 2. Образование повреждений генетического материала.
- 3. Слияние репликонов, т. е. встраивание плазмиды в хромосому.
- 4. Распространение генов в популяции бактерий, что может приводить к изменению биологических свойств популяции, смене возбудителей инфекционных заболеваний, а
- также способствует эволюционным процессам среди микробов.



Интегроны-система захвата и экспрессии генов
 которая состоит из гена *intI*, кодирующего интегразу,
 рекомбинационного сайта *attI* и промотора.

Защита бактерий от

антибиотиков

осуществляется при помощи:

Плазмид

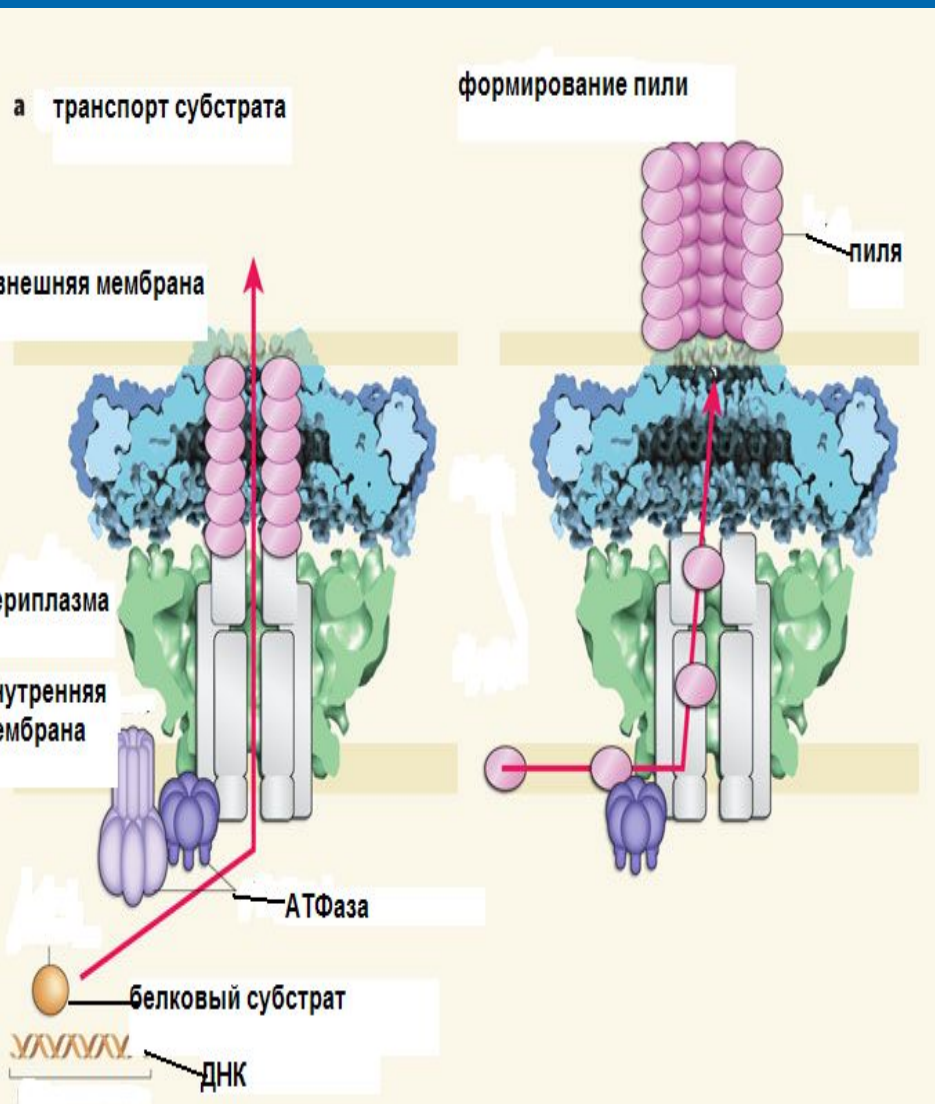
- **Транспозонов**

- **Интегронов**

ПЕРЕДАЧА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ МЕЖДУ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

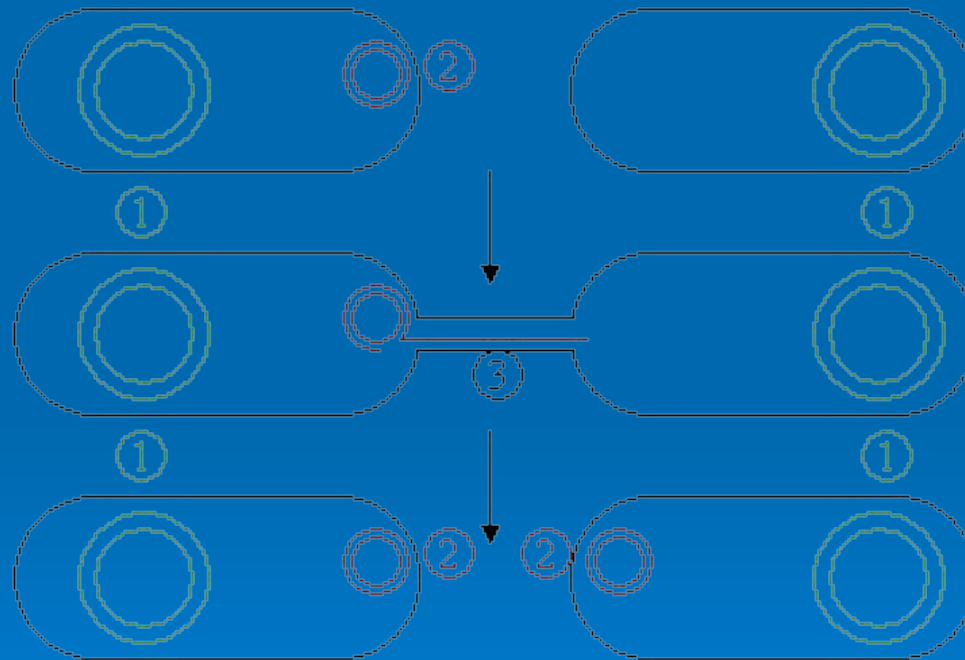
- 1. **КОНЪЮГАЦИЯ** (*при участии трансмиссивной плазмиды*)
- 2. **ТРАНСДУКЦИЯ** (*опосредуется бактериофагом*)
- 3. **ТРАНСФОРМАЦИЯ** (*опосредуется высокополимеризованной ДНК*)

4 типа секреторная система

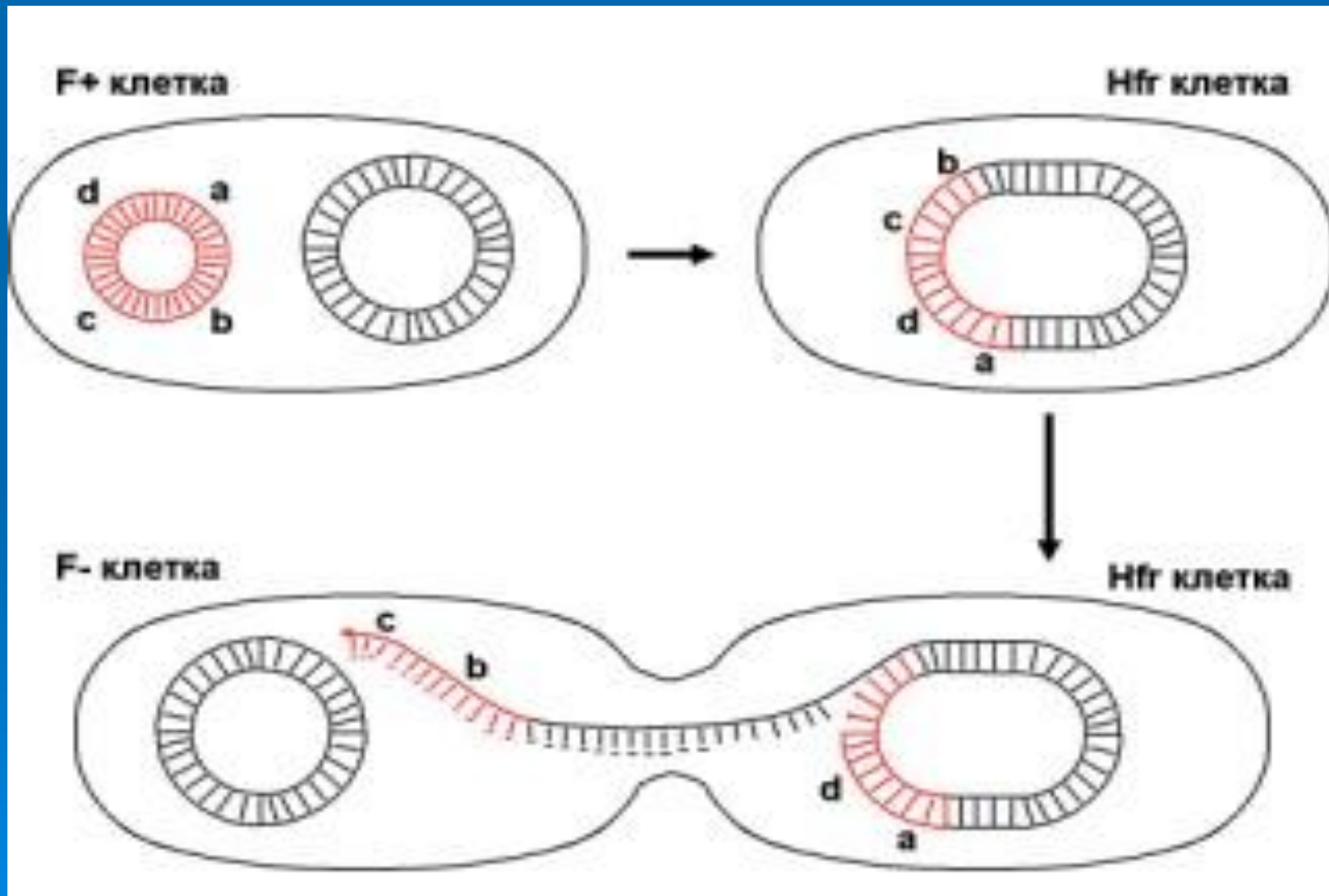


- **T4СС** —наноструктура бактериальной клетки, которая транслоцирует ДНК и белковые компоненты при непосредственном межклеточном контакте
- Она подразделяется на 2 типа: **транслокатор субстратов** и **конъюгационную систему**, которая обеспечивает передачу ДНК конъюгацией, способствуя тем самым распространением **антибиотикорезистентности**

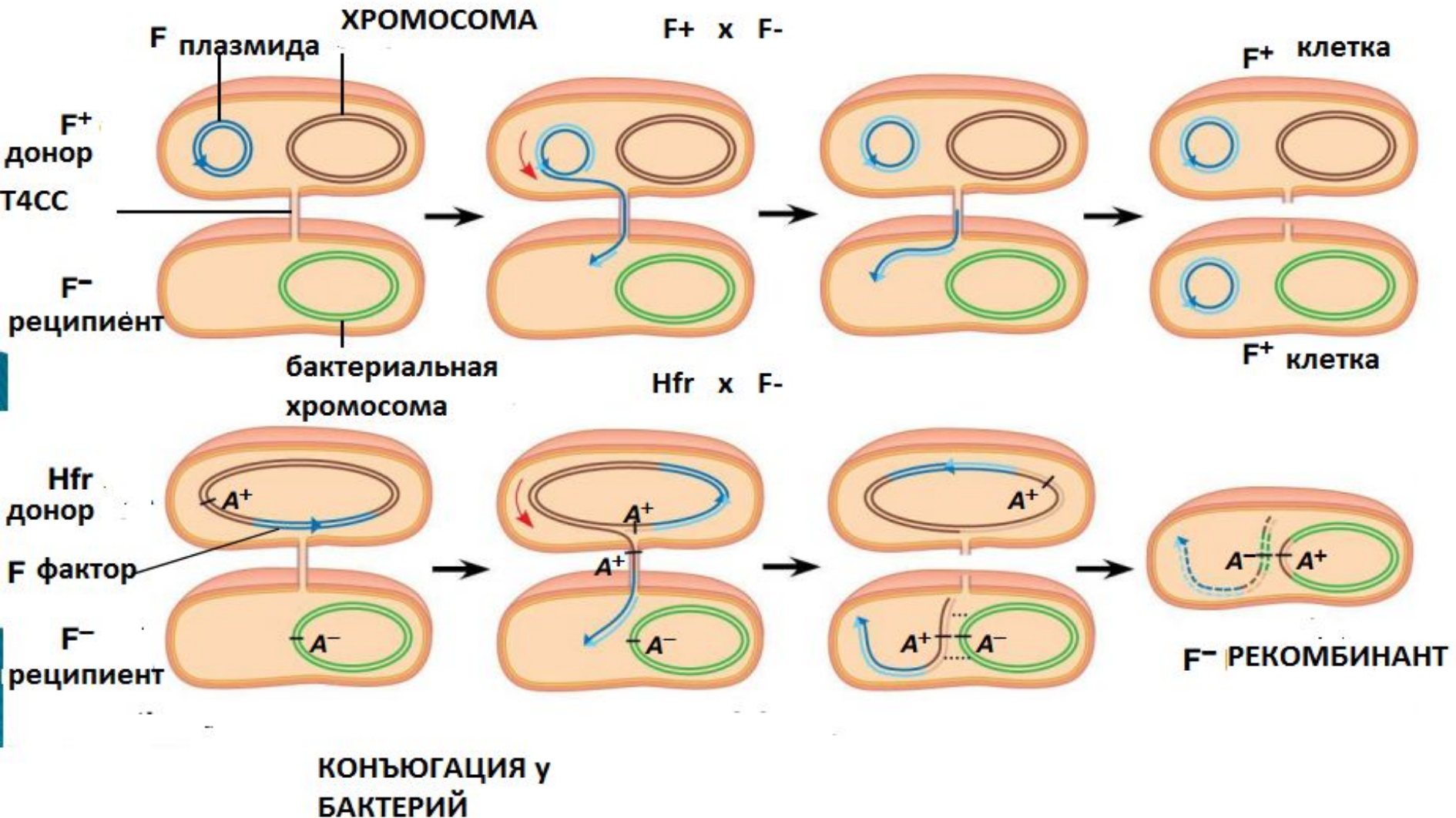
Скрещивание $F+ \times F-$



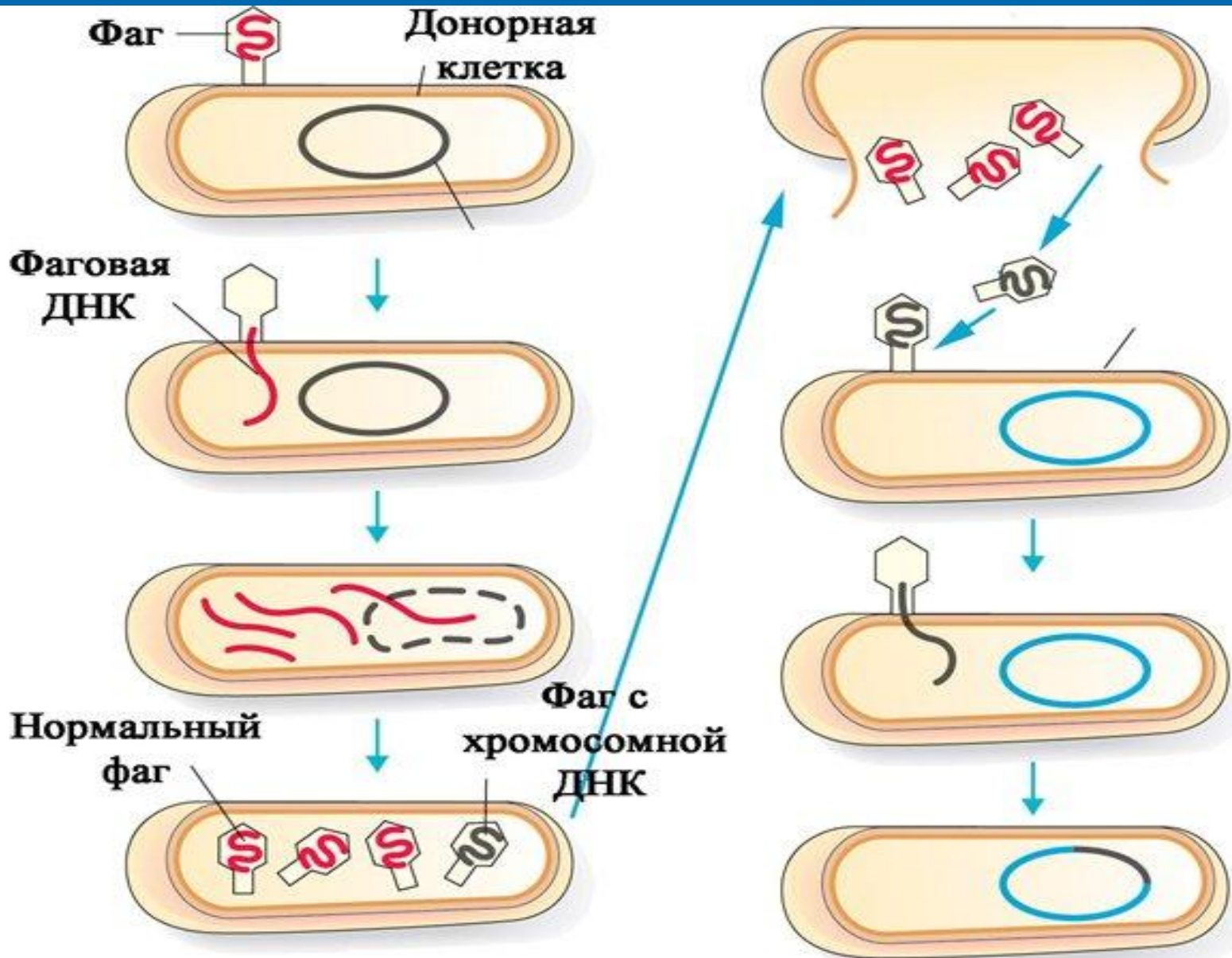
Hfr x F-



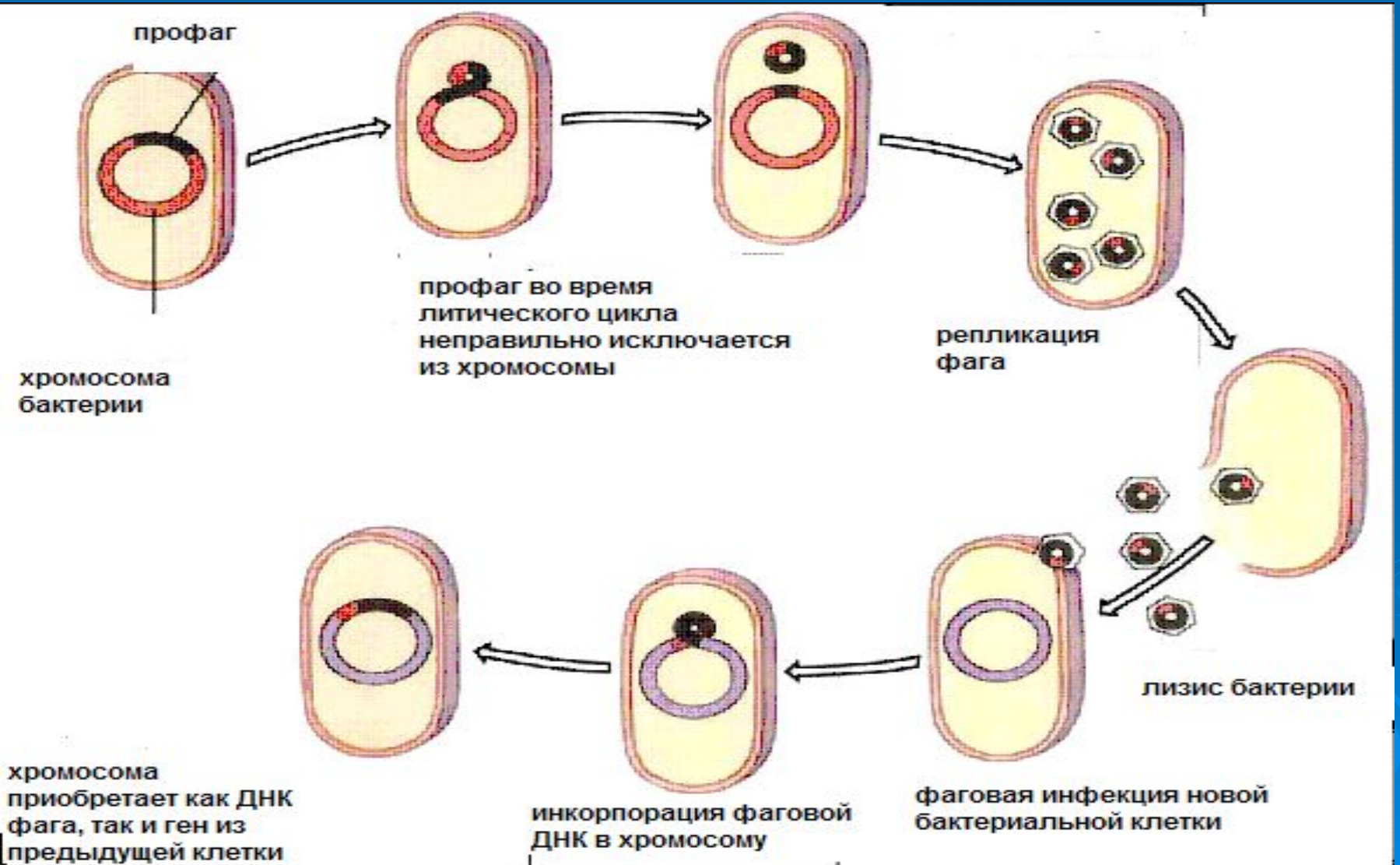
Конъюгация у бактерий



Общая трансдукция



Специфическая трансдукция



Трансформация

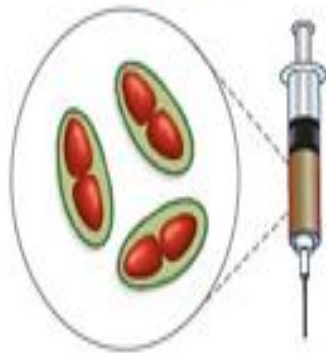
R штамм



Мыши выжили

A

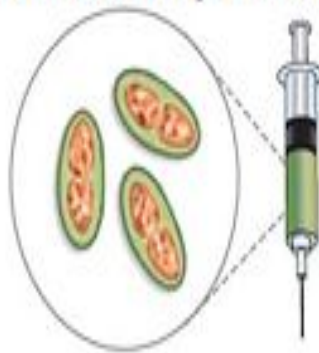
S штамм



Мыши погибли

Б

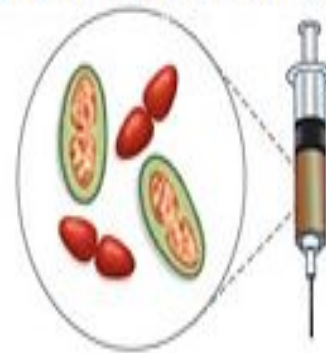
Клетки S штамма,
убитые нагревом



Мыши выжили

В

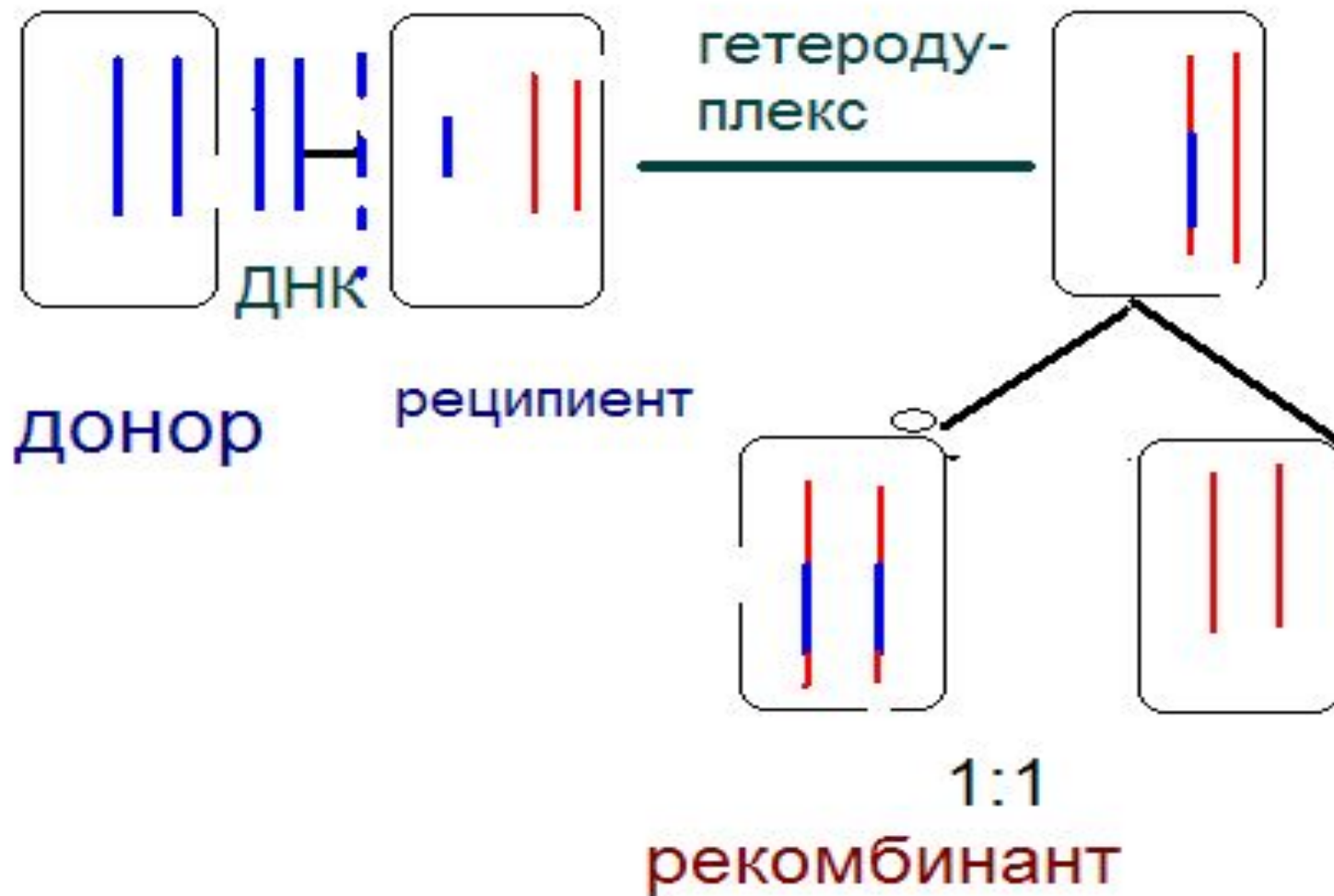
R штамм + убитые
нагревом S бактерии



Мыши погибли

Г

Схема трансформации



* Адаптивный иммунитет бактериальной клетки, к повторному проникновению в нее умеренного фага, плазмиды реализуется комплексом sPHK- Cas 9 через *CRISPR* (clustered regularly interspaced short palindromic repeated).

*

* Иммуниет к заражению подобным фагом

* *CRISPR* представляет короткие палиндромные повторы, которые разделены вставками, представляющие чужеродный генетический материал (ДНК умеренных фагов и плазмид). При повторном попадании в бактериальную клетку ДНК фага или плазмиды s-РНК транскрибируется с *CRISPR*, соединяется с Cas 9, обладающим эндонуклеазной активностью, и этим комплексом соединяется с комплементарным участком внедренной ДНК, разрушая ее.

