

ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Лектор доцент Лысак В.В.



ЛИТЕРАТУРА

- **Основная**

Готтшалк, Г. Метаболизм бактерий / Г. Готтшалк. М.: Мир, 1982.

Гусев, М. В. Микробиология / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. М. :
Издательский центр «Академия», 2003.

Лысак, В. В. Микробиология / В. В. Лысак. Минск : БГУ, 2008.

Современная микробиология Прокариоты: В 2-х т. / под ред.
Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005.

Шлегель, Г. Общая микробиология / Г. Шлегель. М. : Мир, 1987.



ЛИТЕРАТУРА

•Дополнительная

Белясова, Н.А. Микробиология / Н.А. Белясова. Минск: Выш. шк., 2012.

Гутина, В.Н. Очерки по истории физиологии микроорганизмов / В.Н. Гутина. М.: Наука, 1988.

Емцев, В.Т. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. М.: Дрофа, 2005.

Работнова И.Л. История и перспективы общей физиологии микроорганизмов / И.Л. Работнова. М.: МаксПресс, 2012.

Стейниер, Р. Мир микробов: в 3 т. / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм. М.: Мир, 1979.

Шлегель, Г. История микробиологии /Г. Шлегель. М.: Едиториал У РСС, 2002.



ПИТАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

1. Транспорт веществ в
клетки микроорганизмов

2. Автотрофные способы
питания
микроорганизмов

3. Ассимиляция CO_2
хемотротрофными
микроорганизмами

Питание микроорганизмов

Питание микроорганизмов – включение в метаболические реакции любого характера тех или иных соединений внешней среды.

Все химические элементы, необходимые для жизнедеятельности микроорганизмов, подразделяют на макро- и микроэлементы. К основным макроэлементам, из которых состоят биополимеры микроорганизмов, относятся С, О, Н, N, Р, S.

Кроме того, для построения клеток необходимы важные в качестве электролитов щелочные металлы (К, Na), щелочноземельные металлы (Mg, Ca), выполняющие функции кофакторов ферментов.



Питание микроорганизмов

К микроэлементам относятся металлы переходной группы (V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Wo) и неметаллы (Se, B, Cl и др.). Некоторые из микроэлементов встречаются в форме оксианионов, таких как SeO_3^- (селенит), WoO_4^{2-} (вольфрамат) и MoO_4^{2-} (молибдат). В клетках микроорганизмов они подвергаются ферментативному восстановлению, приобретая валентность, необходимую для ассимиляции.

Далее в таблице представлены физиологические группы питания микроорганизмов.



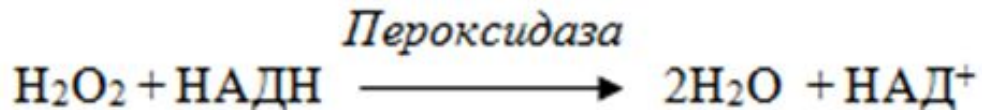
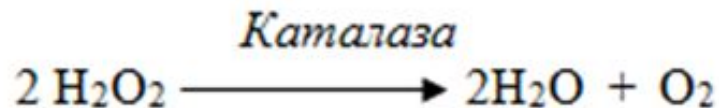
Тип питания	Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Представители
Хемолито-автотрофия	Окислит.-восстан. реакции	Неорганические вещества	CO ₂	Нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии, железобактерии
Хемолитогетеротрофия	» »	» »	Органические вещества	Метаногенные, сульфатредуцирующие бактерии
Хемоорганотрофия	» »	Органические вещества	CO ₂	Факультативные метилотрофные бактерии
Хемоорганогетеротрофия	» »	» »	Органические вещества	Большинство бактерий (энтеробактерии, молочнокислые бактерии, маслянокислые бактерии и др.)

Тип питания	Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Представители
Фотолитоавтотрофия	Солнечный свет	Неорганические вещества	CO ₂	Некоторые виды пурпурных и зеленых бактерий, цианобактерий
Фотолитогетеротрофия	» »	» »	Органические вещества	Некоторые виды пурпурных и зеленых бактерий
Фотоорганавтотрофия	» »	Органические вещества	CO ₂	Некоторые виды пурпурных бактерий
Фотоорганогетеротрофия	» »	» »	Органические вещества	Некоторые виды пурпурных и зеленых бактерий, цианобактерий, галобактерий

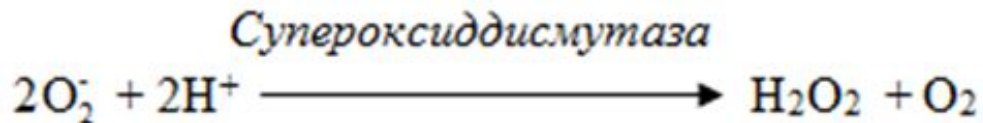


Механизмы, обеспечивающие детоксикацию сильных окислителей у аэробных микроорганизмов

Многие клетки синтезируют ферменты каталазу и пероксидазу, защищающие их содержимое от токсичного действия радикалов кислорода:



Супероксиды разлагаются под действием супероксиддисмутазы:



Источники азота для микроорганизмов

Одним из основных элементов, из которых построены клетки микроорганизмов, является азот. Большинство микроорганизмов потребляют азот в восстановленной форме. Окисленные формы азота также могут усваиваться различными группами микроорганизмов. Некоторые бактерии способны использовать атмосферный азот.

Среди азотфиксирующих микроорганизмов выделяют как свободноживущие (бактерии родов *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Azospirillum*, некоторые виды родов *Clostridium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, некоторые цианобактерии, пурпурные бактерии и зеленые серные бактерии и др.), так и симбиотические (бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Frankia*, некоторые виды родов *Chromatium*, *Klebsiella*, некоторые цианобактерии и др.).



Железо как элемент питания

Микроорганизмам для осуществления жизнедеятельности требуется также в относительно больших количествах железо. Оно входит в состав гемов, FeS-центров и активных центров многих ферментов. Однако, несмотря на достаточно широкое распространение железа в земной коре (по степени распространения является четвертым элементом после кислорода, кремния и алюминия), оно не относится к числу легкодоступных веществ.

В аэробных условиях железо присутствует в среде в окисленной форме, Fe^{3+} , образуя практически нерастворимые гидраты оксида железа $FeO(OH)$, карбонат железа $Fe_2(CO_3)_3$ и магнетит Fe_3O_4 . Эти соединения растворимы только при крайне низких значениях pH.



Железо как элемент питания

Поэтому большинство аэробных микроорганизмов для поглощения железа синтезируют и секретируют в среду *сидерофоры* – органические соединения, образующие хелаты с Fe^{3+} .

Далее в виде комплексов с сидерофорами железо поглощается микробными клетками. Поглощение железа микроорганизмами в аэробных условиях – сложный, строго регулируемый процесс, включающий несколько стадий: 1) синтез сидерофоров; 2) выделение сидерофоров из клетки; 3) транспорт хелатных комплексов Fe^{3+} с сидерофорами в клетку; 4) высвобождение Fe^{3+} из хелатного комплекса и восстановление до Fe^{2+} и 5) включение Fe^{2+} в состав коферментов и простетических групп.



Транспорт веществ в клетку бактерий

Различают следующие способы поступления веществ в клетку бактерий: простая, или пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт и транслокация группы.

Простая, или пассивная, диффузия – неспецифическое поступление веществ в клетку за счет разницы концентраций, т.е. происходит передвижение молекул из более концентрированного раствора в менее концентрированный – по градиенту концентрации.

Этот процесс не связан с затратой энергии.

Скорость перемещения веществ через мембрану путем простой диффузии невелика.



Транспорт веществ в клетку бактерий

Таким путем осуществляется транспорт газов, таких как O_2 , N_2 , CO_2 , H_2 и NH_3 , а также низкомолекулярных веществ (например, воды и спиртов), ядов, ингибиторов, гидрофобных (растворимых в липидах) соединений, к которым относятся алифатические (например, бутанол) и ароматические соединения (например, бензол).

У грамотрицательных бактерий дополнительным барьером является наружная мембрана. . Она непроницаема для гидрофильных веществ, таких как углеводы, аминокислоты, белки и др. Перенос этих молекул через наружную мембрану происходит с помощью каналобразующих белков, которые представляют собой наполненные водой поры и поэтому называются **поринами**.



Облегченная диффузия (унипорт)

Перенос веществ при *облегченной диффузии (унипорте)* также происходит по градиенту концентрации переносимого вещества.

Этот процесс не требует затраты метаболической энергии и осуществляется с участием специальных переносчиков (транслоказ, или пермеаз).

Переносчики – вещества белковой природы, локализованные в мембране и характеризующиеся высокой субстратной специфичностью, – связываясь с субстратом они подвергаются конформационным изменениям и вследствие этого приобретают способность к перемещению субстрата с одной стороны цитоплазматической мембраны на другую, где происходит его высвобождение.



Облегченная диффузия (унипорт)

Путем облегченной диффузии происходит транспорт в клетку:
глюкозы у бактерий *Zyotomonas mobilis*,
лизина у бактерий *Bacillus stearothermophilus*,
глицерола и ионов аммония у многих бактерий, и др.



Активный транспорт

Активный транспорт – основной механизм избирательного переноса веществ через цитоплазматическую мембрану в клетку против градиента концентрации.

Этот процесс, так же как и облегченная диффузия, протекает при участии локализованных в цитоплазматической мембране транспортных белков пермеаз.

В отличие от облегченной диффузии для активного транспорта необходимы затраты энергии.

Источником энергии может быть ионный потенциал или молекулы АТФ.



Активный транспорт

Различают активный транспорт первого и второго класса.

Наиболее распространенным механизмом активного поглощения субстратов является *транспорт с использованием энергии электрохимического протонного потенциала* (активный транспорт первого класса), который называют термином, предложенным П. Митчеллом, – протондвижущая сила (Δp). Энергия, запасенная в виде электрохимического протонного потенциала или потенциала других ионов, например Na^+ (*система первичного транспорта*), используется в *системах вторичного транспорта* для осуществления движения растворенных веществ против градиента их концентрации.

Системы вторичного транспорта действуют по механизму симпорта и антипорта.



Активный транспорт

Примерами симпорта является перенос протона (H^+) и молекулы лактозы у бактерий *E.coli*, перенос пролина и иона Na^+ у бактерий *E.coli*, поглощение глутамата у *E.coli* и двух ионов натрия и др.

В случае **антипорта** два вещества транспортируются в противоположных направлениях.

Принцип антипорта состоит в сопряжении двух потоков – движущего потока (происходит по градиенту концентрации субстрата) и движимого потока (происходит против градиента), таким образом, что один поток невозможен в отсутствие другого.



Активный транспорт

Хорошо изучены механизмы антипорта **субстрата и продукта реакции**, например,

антипорт малат/лактат при сбразживании малата до лактата у *Lactococcus lactis*,

транспорт оксалат/формиат у *Oxalobacter formigenes*,

лактоза/галактоза и аргинин/орнитин у молочнокислых бактерий, а также механизмы антипорта **относительно различающихся соединений**, например,

фосфата и сахарофосфата у *E.coli*, или

токсичных соединений и продуктов их детоксикации (например, антипорт катион/тетрациклин).



Активный транспорт

В системах активного транспорта второго класса *перенос растворенного вещества сопряжен с синтезом или гидролизом АТФ.*

К этому классу относятся АТФазы, или АТФ-синтазы. АТФазы участвуют в переносе небольших одновалентных (H^+ , K^+ , Na^+) или двухвалентных (Ca^{2+} , Mg^{2+}) катионов, превращая энергию фосфатной связи АТФ в электрохимический градиент переносимого иона или наоборот – энергию градиента в энергию АТФ, как и в случае АТФ-синтаз, сопряженных с дыхательной цепью.



Активный транспорт

Ко второму классу транспортных систем относится также *транспорт веществ, зависимый от периплазматических субстратсвязывающих белков.*

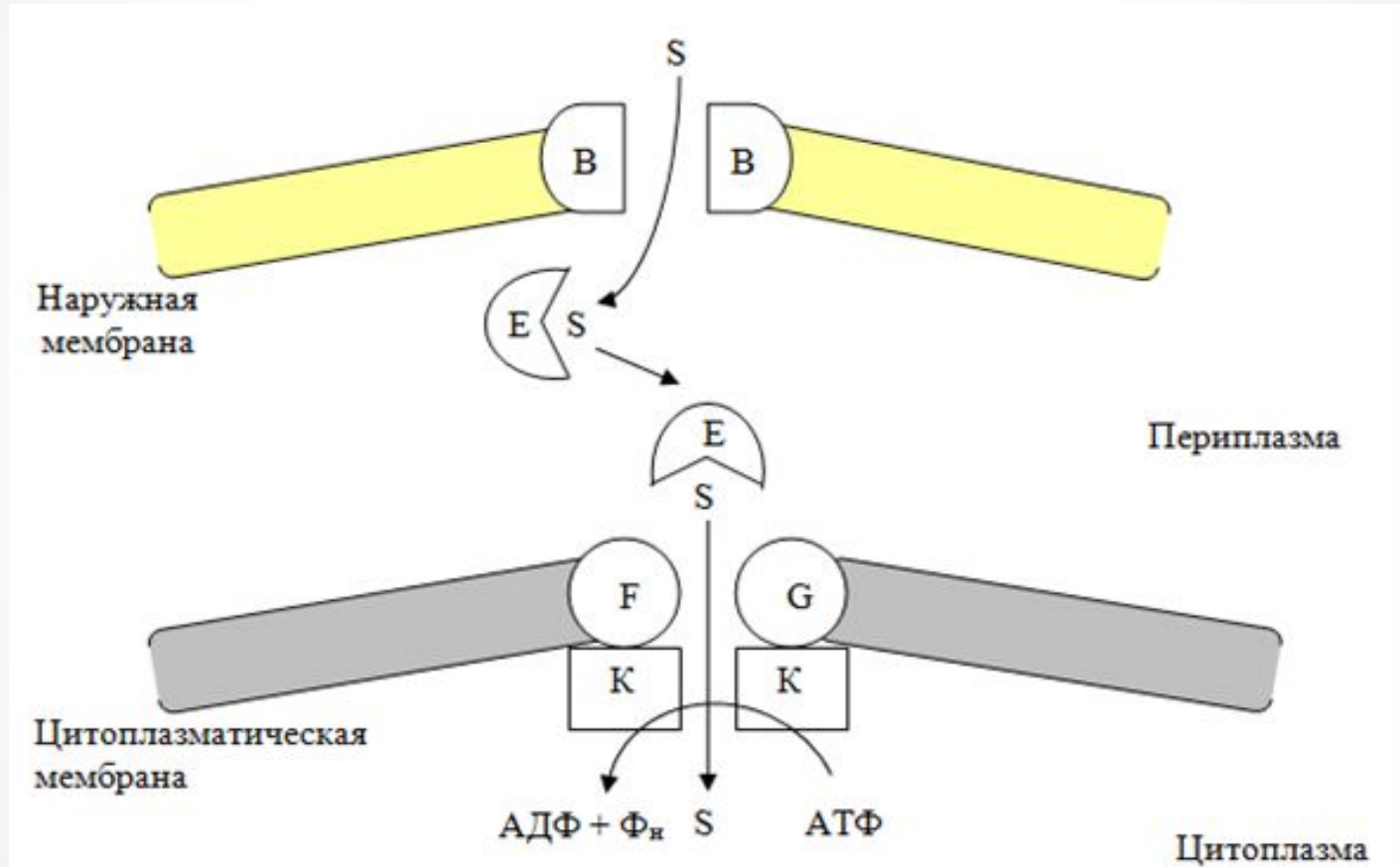
Этот транспорт связан с гидролизом АТФ и присутствует в основном у грамотрицательных бактерий.

Системы поглощения субстратов, зависящие от периплазматических субстрат-связывающих белков, характеризуются однонаправленностью транспорта.

Они обладают высоким сродством к субстрату и отличаются относительно низкой максимальной скоростью транспорта.



Система поглощения мальтозы, зависящая от субстратсвязывающих белков у *E.coli*



К третьему классу активного транспорта относятся специфические транспортные системы, которые осуществляют ***выделение из клеток ионов натрия, сопряженное с декарбоксилированием.***

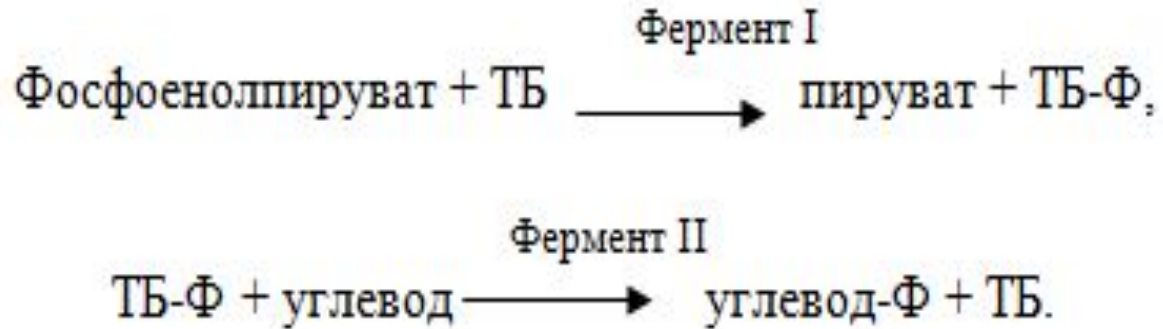
Эти системы открыты у бактерий *Propionigenium modestum*, *Klebsiella pneumoniae* и *Salmonella typhimurium*.

Декарбоксилированию подвергаются карбоновые кислоты, например оксалоацетат или метилмалонил-КоА.

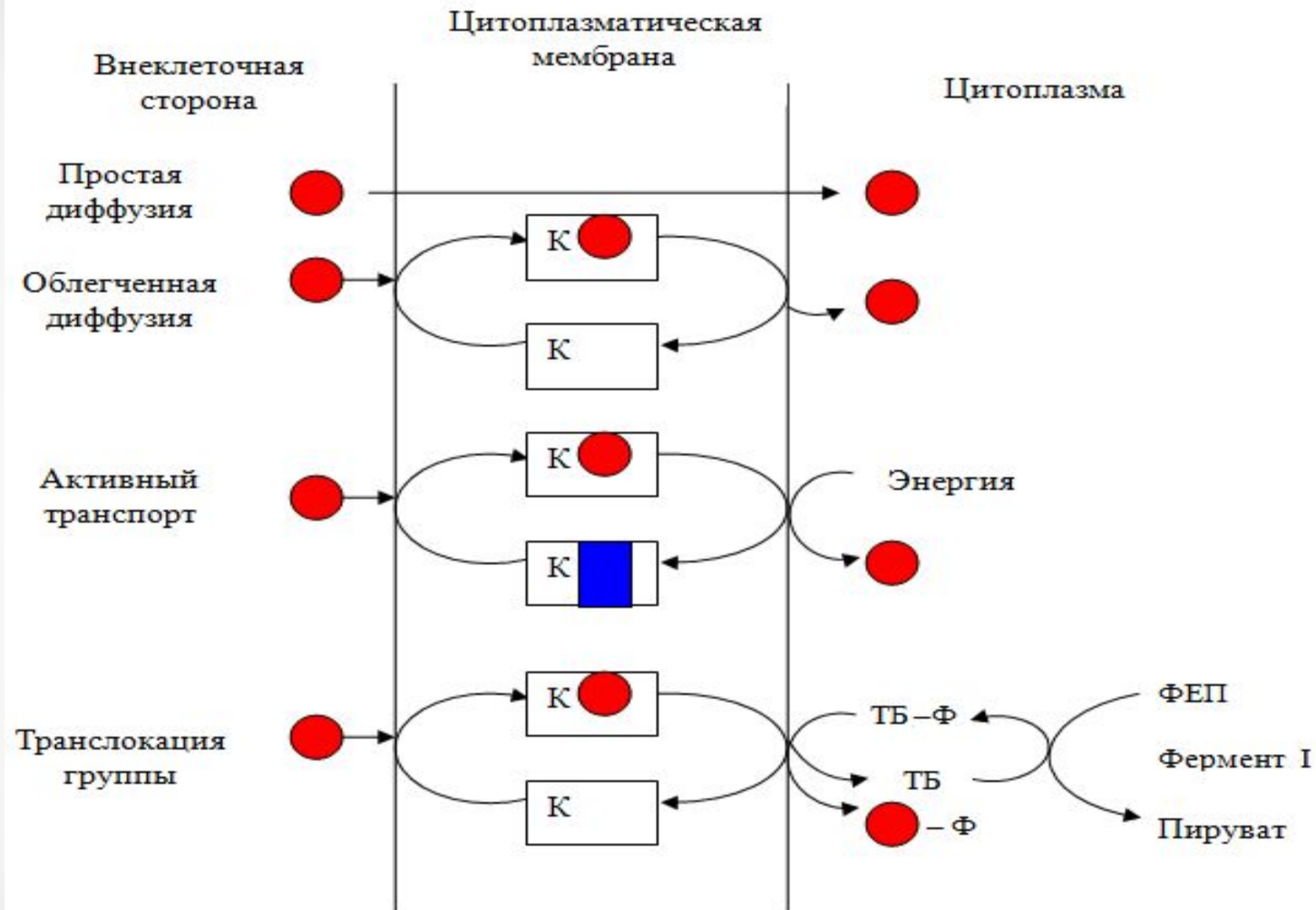
Процесс катализирует мембраносвязанная, биотинзависимая декарбоксилаза.



При *транслокации группы* происходит химическая модификация переносимых молекул, тогда как при пассивной диффузии, облегченной диффузии и активном транспорте они поступают в клетку в химически неизмененном виде.



На следующем рисунке представлены основные способы переноса веществ через мембрану в клетки бактерий.



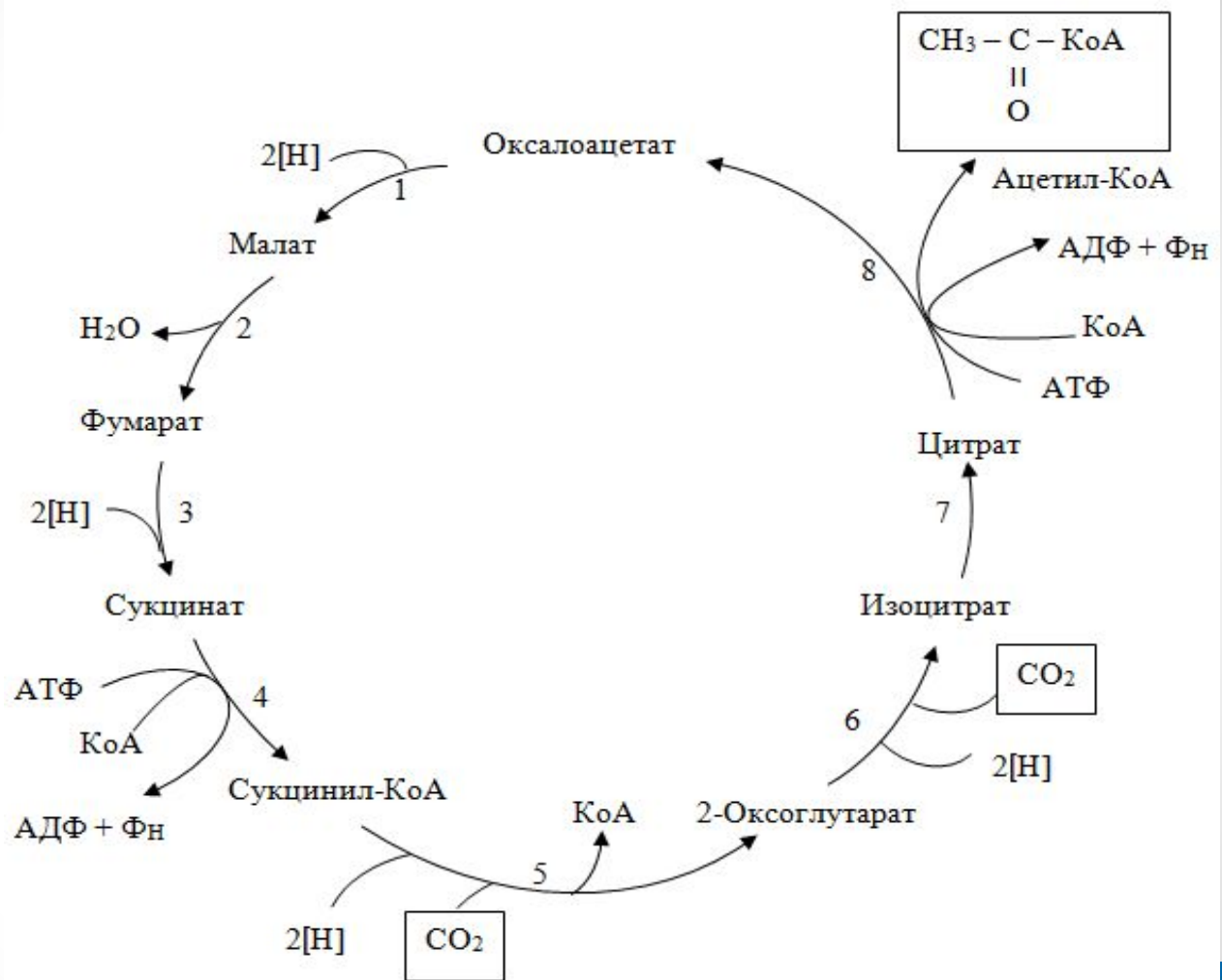
Автотрофные способы питания микроорганизмов

Известно четыре различных механизма фиксации CO_2 . Наиболее распространен у прокариот цикл Кальвина, осуществляющийся также в хлоропластах растений. Он характерен для аэробных бактерий, хотя у аэробных архебактерий он, по-видимому, отсутствует.

Второй механизм фиксации CO_2 – восстановительный цикл трикарбоновых кислот (цикл Арнона), который функционирует у зеленых серных бактерий рода *Chlorobium*, у некоторых сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfobacter*, у термофильных водородных бактерий рода *Hydrogenobacter*, окисляющих водород в микроаэробных условиях, и у анаэробных сульфатредуцирующих архебактерий рода *Thermoproteus*.



Восстановительный цикл трикарбоновых кислот



Автотрофные способы питания микроорганизмов

На рисунке представлены реакции восстановительного цикла трикарбоновых кислот:

1 – малатдегидрогеназа;

2 - фумаратгидратаза (фумараза);

3 – фумаратредуктаза;

4 – сукцинил-КоА-синтаза;

5 – 2-оксоглутарат: ферредок-синоксидоредуктаза;

6 – изоцитратдегидрогеназа;

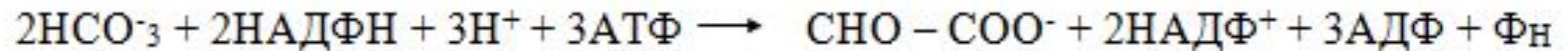
7 – аконитатгидратаза (аконитаза);

8 – АТФ-цитратлиаза.



Третий механизм автотрофной фиксации CO_2 – восстановительный ацетил-КоА путь осуществляется у некоторых сульфатредуцирующих бактерий (род *Desulfobacterium*) и археобактерий (род *Archaeoglobus*), а также у большинства ацетогенных и метаногенных бактерий, т.е. только у строгих анаэробов.

Четвертый путь – 3-гидроксипропионатный цикл – пока обнаружен только у фототрофной зеленой несерной бактерии *Chloroflexus aurantiacus*, по-видимому, он функционирует и у некоторых аэробных археобактерий. Этот циклический механизм, по которому происходит синтез глиоксилата из двух молекул бикарбоната, описывается следующим уравнением:



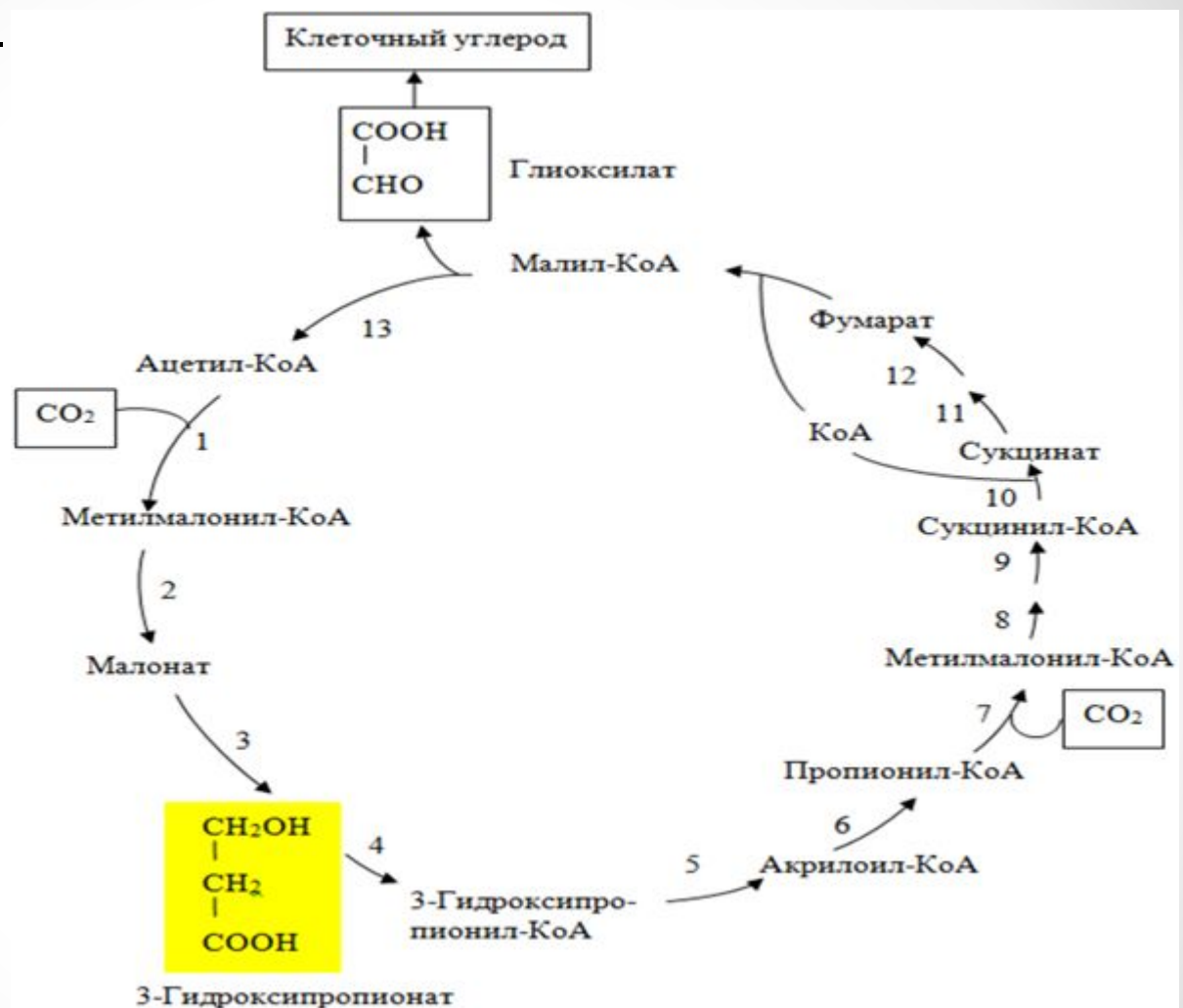
Глиоксилат относится к метаболитам-предшественникам, используемым в биосинтетических реакциях.

На рисунке представлены реакции 3-гидроксипропионатного цикла.

1 – ацетил-КоА-карбоксилаза; 2 – дегидрогеназа малонового полуальдегида; 3 – 3-гидроксипропионатдегидрогеназа; 4 – 3-гидроксипропионат-КоА-лигаза; 5 – акрилоил-КоА-гидратаза; 6 – акрилоил-КоА-редуктаза; 7 – пропионил-КоА-карбоксилаза; 8 – метилмалонил-КоА-эпимераза; 9 – метилмалонил-КоА-мутаза; 10 – сукцинил-КоА:малат-КоА-трансфераза; 11 – сукцинатдегидрогеназа; 12 – фумаратгидратаза; 13 – малил-КоА-лиаза.



3-гидроксипропионатный цикл



Ассимиляция CO_2 хемогетеротрофами

Все гетеротрофные микроорганизмы с помощью определенных ферментативных реакций активно включают диоксид углерода в метаболизм, при этом у прокариот пути использования его намного многообразнее, чем у эукариот.

Диоксид углерода у прокариот активно используется по путям как конструктивного, так и энергетического метаболизма. В **конструктивном метаболизме** он входит в состав веществ клетки. В **энергетическом метаболизме** ряда анаэробных эубактерий, получающих энергию в процессе брожения, а также некоторых эубактерий и архебактерий, осуществляющих анаэробное дыхание, CO_2 служит для удаления избытка восстановителя, т.е. используется как конечный акцептор электронов.



Ассимиляция CO_2 хемогетеротрофами

В этом случае, CO_2 , участвующий в реакциях энергетического метаболизма, не включается в вещества клетки, а продукты его восстановления (в виде молекул метана, формиата, ацетата) накапливаются в среде.

Основным путем включения CO_2 в вещества клетки у хемогетеротрофных прокариот служат реакции карбоксилирования (см. следующую таблицу).



Реакции включения CO_2 в метаболиты клеток

Фермент	Акцептор CO_2	Реакция
Пируватсинтаза	Ацетил-КоА	$\text{Ацетил-КоА} + \text{CO}_2 + \Phi_{\text{Д,восст}} \rightarrow$ пируват + $\Phi_{\text{Д,ок}}$ + КоА-SH
Пируваткарбок- силаза	Пируват	$\text{Пируват} + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \rightarrow$ оксалоацетат + $\text{АДФ} + \Phi_{\text{H}}$
Фосфоенолпирува ткарбоксилаза	Фосфоенолпи руват (ФЕП)	$\text{ФЕП} + \text{CO}_2 \rightarrow$ оксалоацетат + Φ_{H}
ФЕП- карбоксикиназа	ФЕП	$\text{ФЕП} + \text{CO}_2 + \text{АДФ} \rightarrow$ оксалоацетат + АТФ
ФЕП- карбокситранс- фосфорилаза	ФЕП	$\text{ФЕП} + \text{CO}_2 + \Phi_{\text{H}} \rightarrow$ оксалоацетат + $\Phi\Phi_{\text{H}}$

Реакции включения CO_2 в метаболиты клеток

Фермент	Акцептор CO_2	Реакция
Ацетил-КоА-карбоксилаза	Ацетил-КоА	$\text{Ацетил-КоА} + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \rightarrow \text{малонил-КоА} + \text{АДФ} + \text{Ф}_\text{H}$
Пропионил-КоА-карбоксилаза	Пропионил-КоА	$\text{Пропионил-КоА} + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \rightarrow \text{метилмалонил-КоА} + \text{АДФ} + \text{Ф}_\text{H}$
Изоцитратдегидрогеназа	2-Оксоглутарат	$\alpha\text{-Кетоглутарат} + \text{CO}_2 + \text{НАДФН} \rightarrow \text{изолимонная кислота} + \text{НАДФ}^+$
Малатдегидрогеназа	Пируват	$\text{Пируват} + \text{CO}_2 + \text{НАДФН} \rightarrow \text{яблочная кислота} + \text{НАДФ}^+$
α -Кетобутират-синтаза	Пропионил-КоА	$\text{Пропионил-КоА} + \text{CO}_2 + \text{Фд}_{\text{восст}} \rightarrow \alpha\text{-кетобутират} + \text{Фд}_{\text{ок}} + \text{КоА-SH}$
α -Кетоглутарат-синтаза	Сукцинил-КоА	$\text{Сукцинил-КоА} + \text{CO}_2 + \text{Фд}_{\text{восст}} \rightarrow \alpha\text{-кетоглутарат} + \text{Фд}_{\text{ок}} + \text{КоА-SH}$