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. Древса, 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 микро-организмов / 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 хемогетеротрофными 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 C, O, H, N, P, S.

Кроме того, для построения клеток необходимы важные в качестве электролитов щелочные металлы (K, 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	Неорга-нические вещества	CO_2	Нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии, железобактерии
Хемолитоге-теротрофия	» »	» »	Органичес-кие вещества	Метаногенные, сульфатредуцирующие бактерии
Хемоорганo-автотрофия	» »	Органи-ческие вещества	CO_2	Факультативные метилотрофные бактерии
Хемоорганo-гетеротрофия	» »	» »	Органичес-кие вещества	Большинство бактерий (энтеробактерии, молоч-нокислые бактерии, масля-нокислые бактерии и др.)

Тип питания	Источник энергии	Донор электро-нов	Источник углерода	Представители
Фотолито-автотрофия	Солнечный свет	Неорганические вещества	CO_2	Некоторые виды пурпурных и зеленых бактерий, цианобактерий
Фотолито-гетеротрофия	» »	» »	Органические вещества	Некоторые виды пурпурных и зеленых бактерий
Фотоорганоавтотрофия	» »	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:

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\textit{Каталаза}} 2H_2O + O_2$$

$$H_2O_2 + НАДН \xrightarrow{\textit{Пероксидаза}} 2H_2O + НАД^+$$

Супероксиды разлагаются под действием супероксиддисмутазы:

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\textit{Супероксиддисмутаза}} H_2O_2 + O_2$$

Источники азота для микроорганизмов

Одним из основных элементов, из которых построены клетки микроорганизмов, является азот. Большинство микроорганизмов потребляют азот в востановленной 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 транпорт 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 каналообразующих 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 преносчиков (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 *Zymomonas 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 транпорта 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 (Δр). 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 сбраживании 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

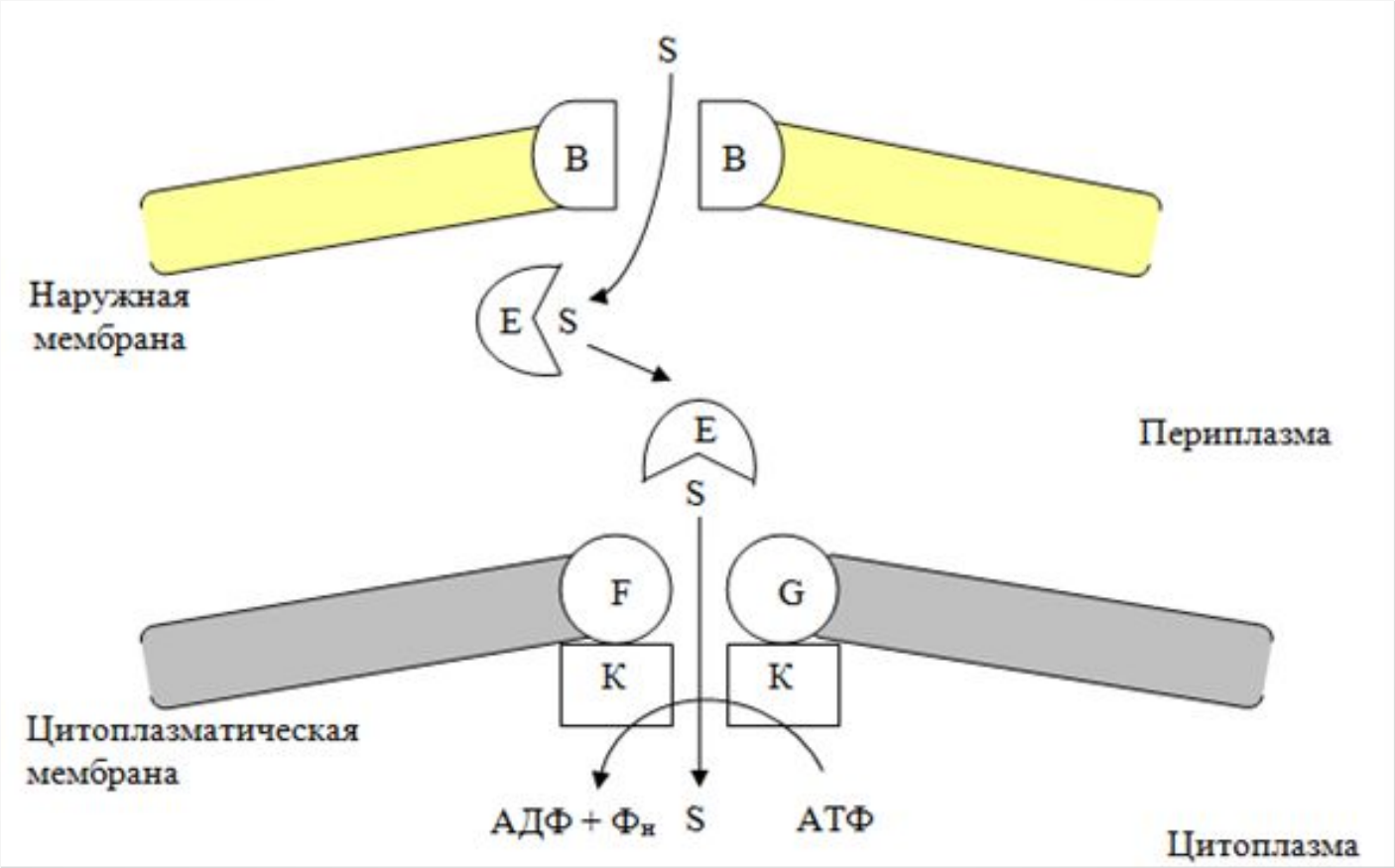
Ко второму классу транспортных систем относится также ***транспорт веществ***, ***зависимый от периплазматических субстратсвязывающих белков***.

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.

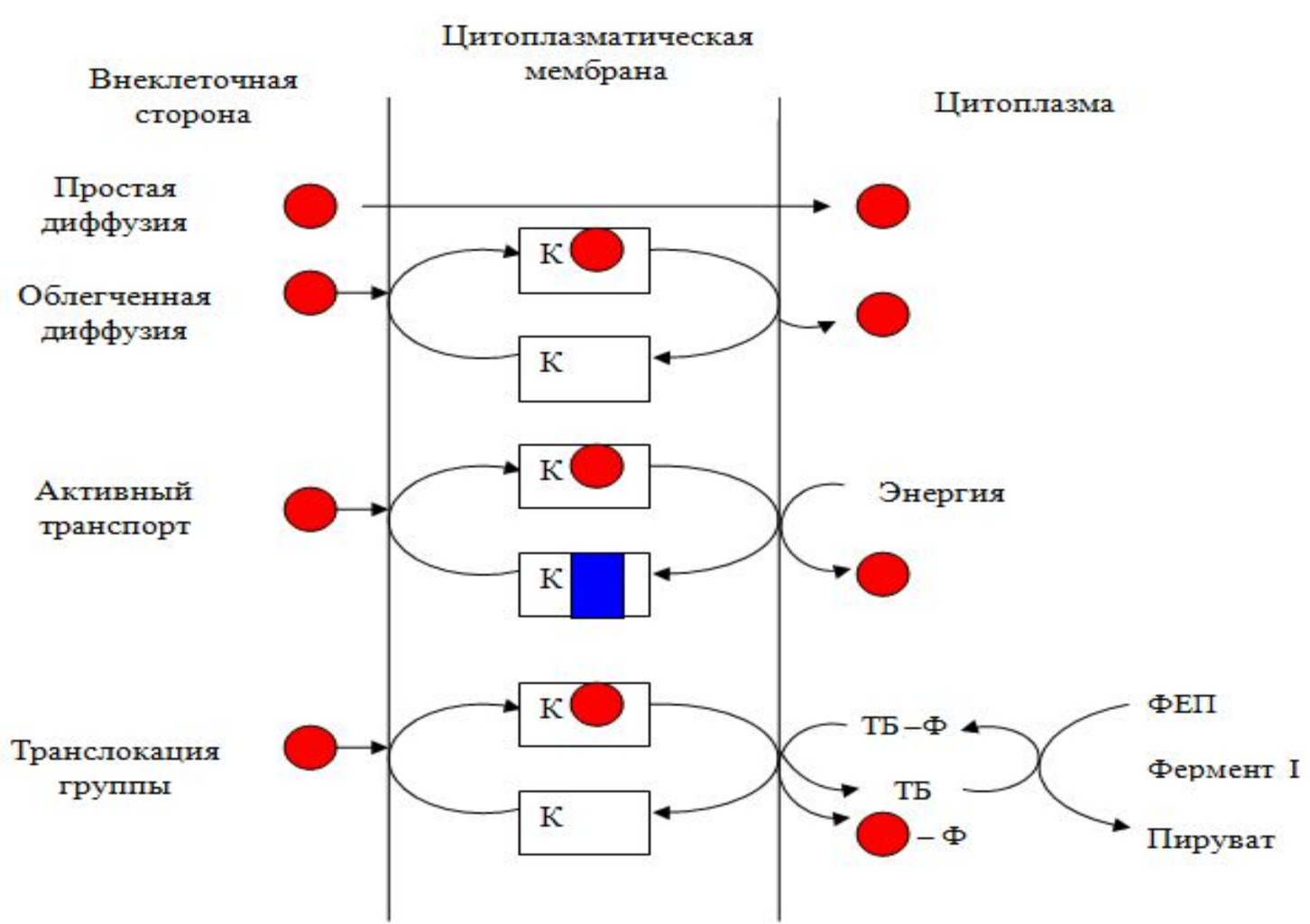
Процесс катализирует мембраносвязанная, биотинзависимая декарбоксилаза.

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.

$$\text{Фосфоенолпируват} + \text{ТБ} \xrightarrow{\text{Фермент I}} \text{пируват} + \text{ТБ-Ф},$$

$$\text{ТБ-Ф} + \text{углевод} \xrightarrow{\text{Фермент II}} \text{углевод-Ф} + \text{ТБ}.$$

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

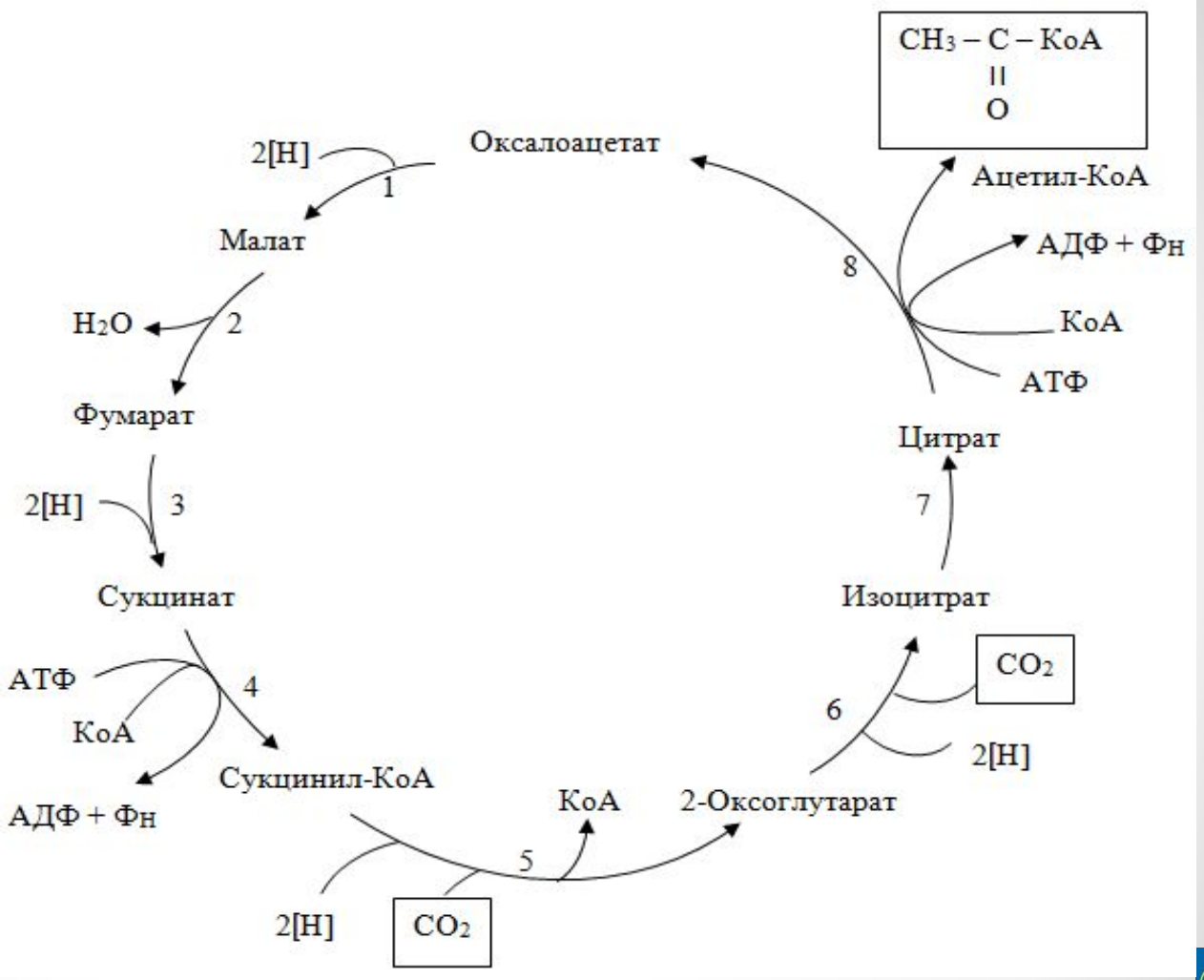

Цитоплазматическая мембрана
Внеклеточная сторона
Цитоплазма
Простая диффузия
Облегченная диффузия
К
К
Активный транспорт
К
К
Энергия
Транслокация группы
К
К
ТБ–Ф
ТБ
– Ф
ФЕП
Фермент I
Пируват

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 архебактерий (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 архебактерий. Этот циклический механизм, по которому происходит синтез глиоксилата из двух молекул бикарбоната, описывается следующим уравнением:

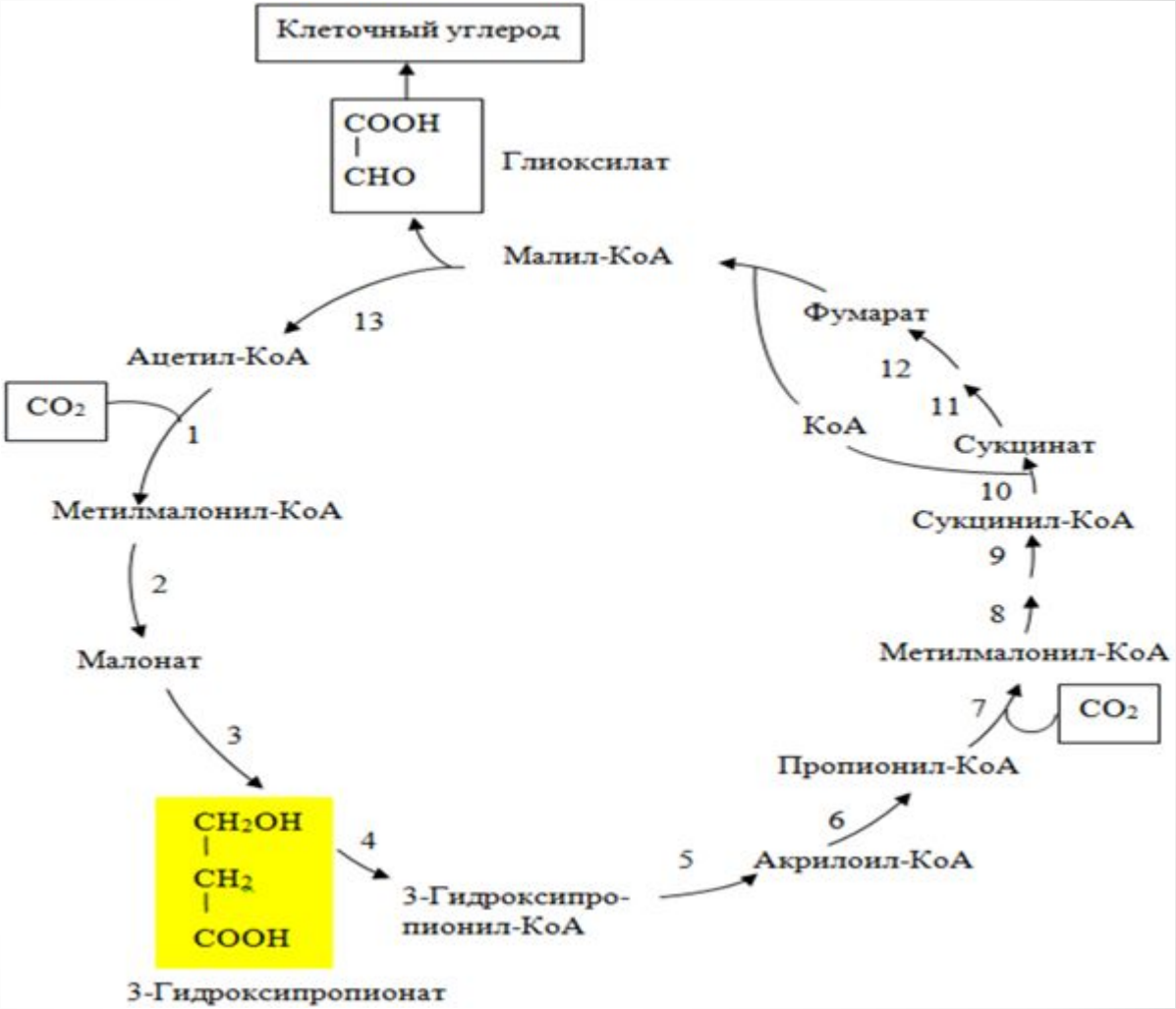
$$2HCO^-_3 + 2НАДФН + 3H^+ + 3АТФ \longrightarrow CHO - COO^- + 2НАДФ^+ + 3АДФ + Ф_Н$$

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	Ацетил-КоА + CO_2 + $Фд_{восст}$ → пируват + $Фд_{ок}$ + КоА-SH
Пируваткарбок-силаза	Пируват	Пируват + CO_2 + АТФ → оксалоацетат + АДФ + $Ф_н$
Фосфоенолпирувaткарбоксилаза	Фосфоенолпируват (ФЕП)	ФЕП + CO_2 → оксалоацетат + $Ф_н$
ФЕП-карбоксикиназа	ФЕП	ФЕП + CO_2 + АДФ → оксалоацетат + АТФ
ФЕП-карбокситранс-фосфорилаза	ФЕП	ФЕП + CO_2 + $Ф_н$ → оксалоацетат + $ФФ_н$

Реакции включения CO_2 в метаболиты клеток

Фермент	Акцептор CO_2	Реакция
Ацетил-КоА-карбоксилаза	Ацетил-КоА	Ацетил-КоА + CO_2 + АТФ → малонил-КоА + АДФ + $Ф_н$
Пропионил-КоА-карбоксилаза	Пропионил-КоА	Пропионил-КоА + CO_2 + АТФ → метилмалонил-КоА + АДФ + $Ф_н$
Изоцитратдегидрогеназа	2-Оксоглутарат	α-Кетоглутарат + CO_2 + НАДФН → изолимонная кислота + $НАДФ^+$
Малатдегидрогеназа	Пируват	Пируват + CO_2 + НАДФН → яблочная кислота + $НАДФ^+$
α-Кетобутират-синтаза	Пропионил-КоА	Пропионил-КоА + CO_2 + $Фд_{восст}$ → α-кетобутират + $Фд_{ок}$ + КоА-SH
α-Кетоглутарат-синтаза	Сукцинил-КоА	Сукцинил-КоА + CO_2 + $Фд_{восст}$ → α-кетоглутарат + $Фд_{ок}$ + КоА-SH