

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

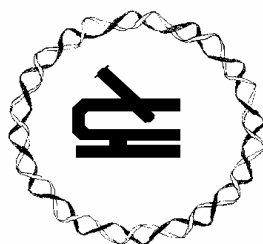
Єлинська Н. О., Гудзенко Т. В., Галкін М. Б.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ

КЛІТИНИ

ЧАСТИНА 1
ПРОКАРІОТИ

КУРС ЛЕКЦІЙ



ОДЕСА
ОНУ
2018

УДК 579.23(07)
Є513

Рекомендовано до друку Вченою радою біологічного факультету
ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 7 від 19.04.2018 р.

Рецензенти:

Л. В. Капрельянц, доктор технічних наук, професор кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування Одеської національної академії харчових технологій;

Б. Н. Мілкус, доктор біологічних наук, професор кафедри селекції, генетики і захисту рослин Одеського державного аграрного університету;

Л. В. Попова, кандидат біологічних наук, доцент кафедри захисту, генетики і селекції рослин Одеського державного аграрного університету.

Єлинська Н. О.

Є513 Молекулярна біологія клітини. Ч. 1 : Прокаріоти : курс лекцій /
Н. О. Єлинська, Т. В. Гудзенко, М. Б. Галкін. – *Одеса : Одес. нац.
ун-т ім І. І. Мечникова*, 2018. – 60 с.

Курс лекцій розкриває сучасні уявлення щодо молекулярної будови клітини прокаріот. У курсі викладено інформацію щодо структури прокаріотичної клітини, та принципів її функціонування.

Рекомендовано для студентів біологічного факультету, що отримують освітній рень «магістр» за спеціальностями «біологія» та «біотехнологія».

УДК 579.23(07)

ВСТУП

Мікроорганізми - живі істоти, невидимі неозброєним оком (тобто мають розміри менше 0,2 мм), здатні до самовідтворення. До мікроорганізмів відносять мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші, бактерії, ціанобактерії і віруси.

Вважається, що перші живі організми, що здатні для самовідтворення (прокаріоти) - найбільш древня форма організації життя - з'явилися на Землі 3,5-4 млрд років тому, набагато раніше, ніж перші еукаріотичні організми, виникнення яких на Землі оцінюється у 1,5 млрд років тому. В даний час мікроорганізми являють собою за кількістю найзначнішу і різноманітну частину організмів, які населяють біосферу Землі.

Вперше мікроорганізми в окреме царство *Protista* виділив німецький біолог Геккель у другій половині XIX століття. С кінця XIX століття почали накопичуватися дані про неоднорідність царства *Protista*, що призвело до поділу цієї групи на вищих і нижчих найпростіших. Група вищих найпростіших включає найпростіші, мікроскопічні водорості (крім синьо-зелених або ціанобактерій), мікроскопічні гриби (цвілі або мікроміцети і дріжджі). Група нижчих найпростіших включає бактерії і ціанобактерії.

В даний час всі клітинні форми життя діляться на (Мари, 1968): *Procaryotae* (прокаріоти) і *Eucaryotae* (еукаріоти).

У 1969 році Віттекер запропонував схему, за якою всі живі істоти, що мають клітинну будову діляться на 5 царств:

1. Царство *Monera* включає прокаріотні організми, що знаходяться на примітивному рівні клітинної організації, тобто бактерії і ціанобактерії.
2. Наступні 4 царства представлені еукаріотні організмами.
3. Царство *Protista* включає мікроскопічні водорості, мікроскопічні гриби (мікроміцети, дріжджі) і найпростіші тварини.
4. Царство *Fungi* включає вищі гриби, що володіють осмотрофним типом харчування (всмоктують поживні речовини).

5. Царство *Plantae* включає рослини, що володіють фототрофним типом харчування.
6. Царство *Animalia* включає тваринні організми, що володіють голозойним типом харчування (загарбання і перетравлення твердої їжі).

У 1981 р Дайхоф і Шварц опублікували роботу, в якій розглядали послідовності амінокислот в білках - цитохромах, на підставі чого визначили еволюційну спорідненість і отримали еволюційне дерево, яке схоже з деревом, отриманим за даними анатомічного порівняння і вивчення викопних решток. Виняток становлять тварини, які на підставі цієї роботи були розділені на хребетні і безхребетні.

До мікроорганізмів, які не мають клітинної будови, відносять віруси, які виділені в окреме царство *Vira*.

Даний курс лекцій висвітлює інформацію щодо будови та функціонування клітин прокаріот на молекулярному рівні. У ньому розглянуту особливості будови і функцій клітинних покривів та внутрішньоклітинного апарату прокаріотичної клітини у відповідності до сучасних уявлень.

Хімічний склад і фізико-хімічні властивості бактеріальної клітини

Хімічний склад бактеріальної клітини схожий з хімічним складом інших живих організмів. Компонентами бактеріальної клітини є вода, мінеральні речовини і органічні сполуки - білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди (табл. 1).

Таблиця 1

Приблизний хімічний склад бактеріальної клітини

(Luria S.E. et al., 1981)

Компонент		Доля від загальної маси клітини, %	Число типів молекул
Вода		70	1
Неорганічні молекули		1	20
Малі молекули	Цукри та їх попередники	3	200
	Амінокислоти	0,4	100
	Нуклеотиди	0,4	200
	Ліпіди	2	50
	Інші малі молекули	0,2	≈200
Макромолекули (полісахариди, білки, нуклеїнові кислоти)		22	≈5000

Клітинна вода становить 75-90% маси вегетативної клітини і знаходиться в двох станах: 1) вільна - є розчинником, бере участь в процесах асиміляції і дисиміляції; 2) пов'язана з клітинними колоїдами, визначає стійкість бактерій до низьких і високих температур, тобто бере участь у зміні значень криоскопічної точки цитоплазми.

Мінеральний склад. З 110 відомих в даний час елементів до складу живої речовини найчастіше входять тільки 22, з них лише 16 елементів зустрічаються у всіх групах організмів. Шість основних елементів - C, H, N, O, P, S - складають 90-95% сухої біомаси клітини бактерій.

Зміст від сухої речовини клітини: вуглець - 50%, кисень - 20%, азот - 14%, водень - 8%, фосфор - 3%, сірка, калій, натрій - 1%, кальцій, магній, хлор - 0,5% , залізо - 0,2%, всі інші елементи - 0,3%.

Деяким мікроорганізмам для росту необхідні мікроелементи (рідкісні елементи). Так, наприклад, азотобактер не може фіксувати азот з атмосфери при відсутності молібдену або ванадію.

За значенням елементи можна розділити на суттєві і не дуже. Відсутність перших призводить до порушення росту і розмноження бактерій. Другі (несуттєві) можуть бути замінені іншими елементами. Наприклад, для деяких бактерій калій можна замінити на рубідій.

Частина елементів входить до складу мінеральних солей. Зміст мінеральних солей варіює залежно від складу середовища та віку культури. Мінеральні солі складають 2-30% сухого залишку. У молодих клітинах їх в 6-7 разів більше, ніж в старих.

Велика частина елементів знаходиться в бактеріальній клітці в складі біомолекул (амінокислот, азотистих основ, цукрів, жирних кислот і т. д.).

Ліпіди бактерій значно різноманітніші ніж ліпіди у вищих організмів. Представлені вищими жирними кислотами, фосфоліпідами, нейтральними жирами і воском, загальний вміст яких варіює від 5% у *Corynebacterium diphtheriae* до 30-40% у *Mycobacterium tuberculosis*.

Насичені жирні кислоти найбільш широко поширені у бактерій і представлені молекулами з прямою ланцюгом з 16-18 вуглецевими атомами. Найчастіше зустрічаються капронова і пальмітинова кислоти. Число вуглецевих атомів у бактеріальних жирних кислот зазвичай не перевищує 20.

Ненасичені жирні кислоти представлені виключно кислотами з одним подвійним зв'язком. Незвичайні жирні кислоти містять циклопропанове кільце з

17-19 вуглецевими атомами. Ці кислоти характерні для грацілікутних, а також для стрептококів і лактобацил. У фірмікутних міститься велика кількість кислот з розгалуженим ланцюгом, що включає 15-17 атомів вуглецю.

З оксікислот часто зустрічаються міколові, які локалізовані в клітинній стінці і надають клітині гідрофобний характер.

Зміст жирних кислот коливається в залежності від виду культури і умов культивування (у *Salmonella typhi* їх 5%, у *Mycobacterium leprae* - 30%). Кишкова паличка при зростанні на середовищі з аланіном містить до 8% ліпідів, при зростанні на звичайних середовищах - 4-5%. У молодих культурах бактерій ненасичених ЖК значно більше, ніж насичених, з віком це співвідношення змінюється.

Зміст фосфоліпідів у різних видів також відрізняється: 0,4% (у збудника дифтерії) і 6,5% (у збудника туберкульозу). Представлені фосфатидного кислотою, Фосфатидилсерин, фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін (або лецитин - зустрічається набагато рідше, ніж в клітинах еукаріот) і ін. У бактеріальних фосфоліпідах переважають жирні кислоти з розгалуженою ланцюгом (з 15-17 атомами вуглецю), на відміну від фосфоліпідів еукаріот - переважають насичені і ненасичені жирні кислоти з нерозгалуженим ланцюгом.

Нейтральні жири представлені пальмітиновою, масляною, лауріною, ліполевою жирними кислотами.

Воски містять кислотостійкі бактерії. Так у збудника туберкульозу міститься більше 60% "неомиленого воску".

Бактерії, на відміну від еукаріот не містять поліненасичених жирних кислот, позбавлені і не мають потреби в стеринах або стероїдах (за винятком мікоплазм, які адсорбують із зовнішнього середовища холестерин).

Археї відрізняються хімічною будовою ліпідів. Їх гліцероліпіди являють собою етери гліцерину і жирних кислот, а етери - гліцерину і високомолекулярних спиртів. Завдяки наявності в мембранних ліпідах дібіфітанільних гліцерольних ефірів окремі види архей утворюють одношарову

липидную мембрану, що володіє підвищеною жорсткістю, що дозволяє джгутикам у термоплазм функціонувати навіть за відсутності клітинної стінки.

Функції ліпідів різноманітні - акумулятори енергії (полі- β -окісмасляная кислота), структурні елементи клітини (цитоплазматична мембрана), беруть участь у метаболізмі вуглеводів, в енергетичному обміні, входять до складу антигенів, визначають кислотостійкість бактерій.

Вуглеводи в бактеріальній клітці складають 12-30% її сухої маси. Представлені целюлозою, глікогеном (що характерно і для еукаріот), і унікальними полісахаридами - Тейхоеві кислотами, декстраном, пептидогліканів і ін.

За функціональної активності полісахариди поділяються на внутрішньо-і позаклітинні. Перші - виконують функцію запасних поживних речовин, входять до складу клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани, ендотоксинів; другі - до складу капсули бактерій.

Білки становлять 40-80% маси бактеріальної клітини. Представлені простими (протеїнами: складаються тільки з амінокислот) і складними (протеїдами: амінокислоти + речовини небілкової природи) білками. Амінокислотний склад білків різних видів бактерій відрізняється: у сарцин багато лізину, у протей - триптофану, у бацил - глютамінової кислоти. У клітинній стінці бактерій знаходиться діамінопімелінова кислота і амінокислоти в D-формі - аланін і глютамінова кислота (немає у еукаріот).

Деякі бактерії самі синтезують всі необхідні амінокислоти (кишкова паличка), деякі потребують готових амінокислот. Наприклад, для збудника черевного тифу необхідний тільки триптофан, для бактерій роду *Leuconostoc* - 17-18 амінокислот.

Функції різні - це ферменти, деякі гормони, антигени, токсини, транспортні, структурні білки. Багато виконують кілька функцій одночасно.

Фізико-хімічні властивості бактеріальної клітини. Як фізико-хімічних властивостей клітини вивчають: показник заломлення, щільність (у стафілокока - 1,118, у кишкової палички - 1,094), в'язкість (в середньому в 800 разів

перевищує в'язкість води), еластичність, броунівський рух (притаманне клітинам розміром менше 4 мкм) , електричний заряд (більшість бактерій заряджені негативно), окислювально-відновний потенціал, змочуваність (більшість бактерій гідрофільні, кислотостійкі - гідрофобні), здатність до неспецифічної аглютинації, адсорбції іонів, осмотичний тиск, здатність до випромінювання світла (відбувається завдяки окисленню субстрату люциферина ферментом люциферазою, зміст якого досягає 5% від всіх розчинних білків). Ці показники в більшості залежать від віку культури, видових особливостей, складу зовнішнього середовища.

Розмір клітин бактерій

Середні розміри бактерій складають: палички мають середню довжину 1-10 мкм, ширину 0,5-1 мкм; коки - діаметр - 0,5-2 мкм. Найдрібніші клітини у мікоплазм, їх розміри становлять 0,1-0,25 мкм. Найбільші клітини - у спирохет, їх довжина становить від 100 до 500 мкм, ширина до 1 мкм.

1. Диплококи - діляться в одній площині і після поділу їх клітини розташовуються попарно (*Neisseria gonorrhoeae*).
2. Стрептококи - діляться багаторазово в одній площині і після поділу їх клітини розташовуються у вигляді ланцюжків (*Streptococcus*).
3. Сарцини - коки, які діляться в трьох взаємно перпендикулярних площинах і після поділу розташовуються у вигляді пакетів, що складаються з 8, 16, 32 і т.д. клітин (*Sarcina*).
4. Стафілококи - діляться в декількох площинах, після поділу їх клітини розташовуються у вигляді утворень неправильної форми (виноградне гроно) (*Staphylococcus aureus*)

Паличкоподібна форма (гр. *bacteria* - паличка, лат. - *bacillum* - паличка) характерна для більшості бактерій (рис. 4).

Паличкоподібні бактерії поділяють на:

1. циліндричні, які в свою чергу ділять на що утворюють (*Bacillus*, *Clostridium*) і не утворюють ендоспори (бактерії родини *Enterobacteriaceae*, роду *Pseudomonas*) бактерії.

2. спіралеподібні, які розрізняються кількістю і характером завитків. За кількістю завитків спіралеподібні бактерії можна поділити на:

а) вібріони (лат. *vibrare* - коливатися, тремтіти), що мають вигляд зігнутої палички (*Vibrio cholerae*);

б) спірили (лат. *spirio* - вигин), що мають малу кількість завитків (*Spirillum*);

в) спірохети (лат. *spira* - вигин, грец. *chaite* - хохол), що мають близько 12 завитків (*Spirochaeta*, *Treponema*).

3. нитчасті бактерії (тріхомніе, грец. *Trichoma* - волосся) мають довжину від 20 мкм, або з'єднані в довгі ланцюжки, що об'єднуються або слизом, або чохлами (*Beggiatola*, *Thioploca*).

Археї морфологічно менш різноманітні, ніж еубактерії. Це коки, палички спірили. Відсутні складні багатоклітинні форми. Однак, вони можуть утворювати клітини незвичайної форми, що не зустрічаються у еубактерій - зіркоподібні, квадратні і пластинчасті подібні шматочках битого скла (бактерії родів *Haloarcula*, *Methanoplanus*).

БУДОВА КЛІТИНИ БАКТЕРІЙ

Будь-який різновид клітин складається з трьох основних частин: **поверхневого апарату, цитоплазми і генетичного апарату.**

Поверхневий апарат

Поверхневий апарат включає: клітинну стінку, джгутики, фімбрії, пілі, капсули, слизові шари і чохлаи.

Клітинна стінка бактерій. За будовою клітинної стінки бактерії можна розділити на 3 групи: грампозитивні, грамнегативні бактерії і археї.

Будова клітинної стінки грампозитивних бактерій

Клітинна стінка грампозитивних прокаріотів (рис. 1) виглядає як електроніщільний шар, прилеглий до цитоплазматичної мембрани (ЦПМ), товщина якого коливається від 20 до 80 нм.

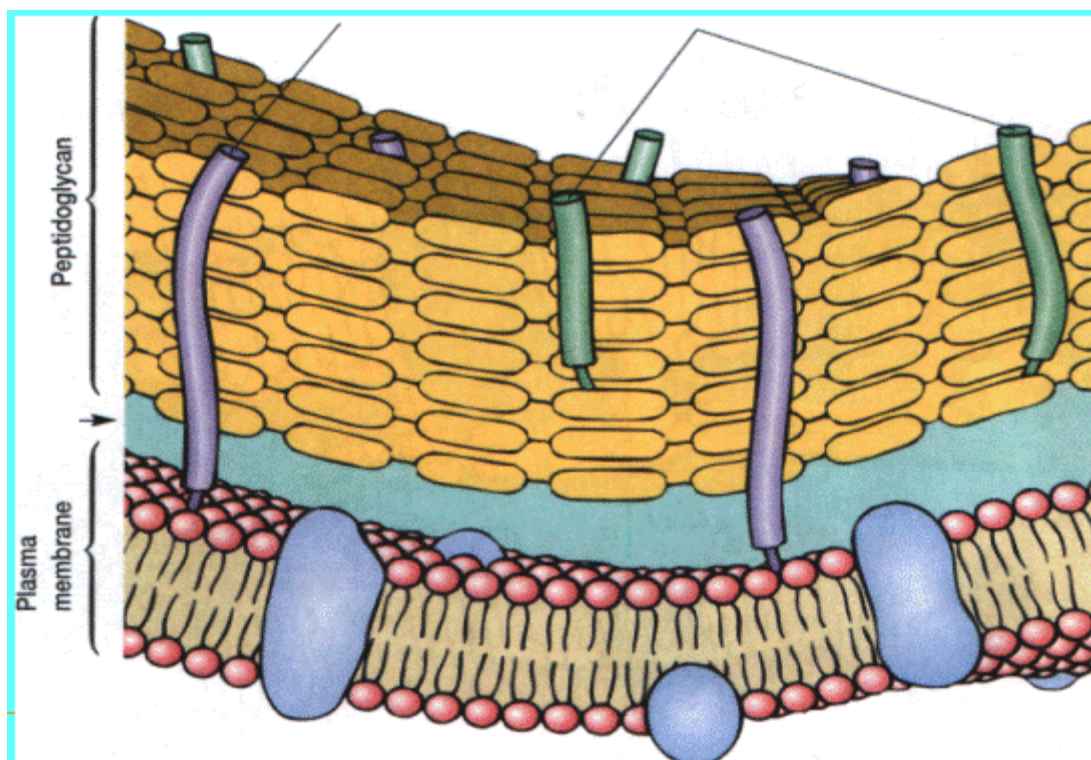


Рис. 1. Будова клітинної стінки грампозитивних бактерій

До складу клітинної стінки грампозитивних бактерій входить

гетерополісахарид, який отримав назву пептидоглікан або муреїн (50-90% від усіх речовин, які входять до складу клітинної стінки). Він побудований з ланцюжків 2-х мономерів N-ацетилглюкозаміну і N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних між собою β -1,4-глікозидними зв'язками. N-ацетилглюкозамін - похідне глюкози, в якому гідроксильна група при другому атомі вуглецю заміщена аміногрупою (до останньої приєднаний ацетильний залишок). N-ацетилмурамова кислота являє собою ефір N-ацетилглюкозамін і молочної кислоти. Довжина молекул пептидоглікану, наприклад, у *Bacillus subtilis* варіює від 30 до 590 одиниць дисахариду.

До карбоксильного залишку молочної кислоти, що входить до складу N-ацетилмурамової кислоти, приєднані амінокислоти, такі як L- і D - аланін, D-глутамінова кислота і діамінокислоти (напр., L-лізин і LL-мезо-діамінопімелінова кислота). Такий "пептидний хвіст" зазвичай складається з 4-5 амінокислот, але частіше це тетрапептид.

Діамінокислоти грають велику роль в просторовій організації пептидоглікана, беручи участь в міжмолекулярних зшиваннях, тому що утворюють пептидні зв'язки за участю обох аміногруп і таким чином можуть зв'язати дві гетерополімерні ланцюга пептидоглікана між собою. Частота "зшивок" між N-ацетилмурамовими кислотами різна, тому що не всі пептидні хвости одного гетерополімерного ланцюга пов'язані з пептидними хвостами іншого ланцюга. Частина їх знаходиться у вільному стані, а частина - утворює ковалентні зв'язки з іншими молекулами, що входять до складу клітинної стінки. Склад діамінокислот залежить від виду бактерій, наприклад у *Staphylococcus aureus* - це лізин, у *E.coli* - мезо-діамінопімелінова кислота, у коринебактерій - 2, -4-діаміномасляная, у спирохет - L-орнітин.

Клітку грампозитивних бактерій оточує до 40 шарів гетерополімерних ланцюгів пептидоглікану. Існує понад 100 хемотіпов муреїна, які поділяються на групи в залежності від положення зшивання пептиду (третього або другого амінокислотного залишку) і на підгрупи - в залежності від амінокислотного складу пептидів.

Крім пептидоглікану до складу клітинної стінки грампозитивних бактерій входять тейхоєві кислоти (від грец. - "тейхос" - стінка) і тейхуронові кислоти.

Тейхоєві кислоти складаються з п'ятиатомного спирту рибітолу або триатомного спирту гліцерину, залишки яких з'єднані між собою фосфодіефірними зв'язками. Тейхоєві кислоти - довгі лінійні молекули, що пронизують шар пептидоглікану наскрізь. Одна молекула тейхоєвої кислоти зазвичай включає 7-15, іноді до 50 спиртових залишків. Велика частина вільних гідроксильних груп тейхоєвих кислот ковалентно з'єднана з N-ацетилмурамовою кислотою, менша - з ЦПМ. Як правило один вид бактерій містить 1 тип спирту. Виняток становлять бактерії роду *Streptomyces*, що містять одночасно обидва типи. Зміст тейхоєвих кислот значно коливається: у *Staphylococcus aureus* - 25-40%, у *Bacillus subtilis* - 60% від сухої маси клітини. Виступаючі назовні кінці тейхоєвих кислот є O-антигенами грампозитивних бактерій. Як поліаніонні, тейхоєві кислоти впливають на катіонний обмін клітини (наприклад, Mg^{2+}); визначають її поверхневий заряд; беруть участь в регуляції активності автолітичних гідролаз - ферментів, здатних руйнувати власний муреїн; у пневмококів їх цукрові компоненти входять до складу рецепторів для деяких бактеріофагів.

Тейхуронові кислоти утворені залишками уронових кислот і N-ацетилглюкозаміну. При певних умовах середовища (нестачі фосфору) можуть заміщати тейхоєві кислоти.

Крім цього, в складі клітинної стінки грампозитивних бактерій знайдені полісахариди і в невеликих кількостях білки і ліпіди.

Шар білкових молекул може бути розташованим у певному порядку. Ці білки синтезуються на рибосомах, пов'язаних з цитоплазматичною мембраною, виділяються з клітини і в процесі самозборки формують білковий шар, який, мабуть, несе захисну функцію. Подібні структуровані шари клітинної стінки описані для багатьох фірмікутних, в тому числі для бактерій родів *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Sporosarcina*.

Іноді на поверхні клітинної стінки фірмікутних бактерій присутні білкові молекули, що не утворюють структур певної форми. Характерна особливість таких білкових молекул полягає в формуванні ними α -спіралей, певним чином орієнтованих на поверхні клітини. Наприклад, молекули білка А стафілококів формують одномолекулярного антипаралельну структуру причому на кінці молекули знаходиться ділянка, що визначає рецепторні властивості білка. Молекула укріплена в оболонці кінцем, що несе вільну карбоксильну групу. Білок А розташований по всій поверхні бактеріальної клітини, він має високу біологічну активність, викликає аглютинацію еритроцитів, є імунодепресантом, пригнічує фагоцитоз, комплемент, перешкоджає трансформації лімфоцитів.

У стрептококів групи А на поверхні клітин розташовані білкові вирости, довжиною 50 нм, утворені М-протеїном. Кожен такий білковий виріст складається з двох спарених молекул, які також пов'язані з муреїном клітинної стінки своїми термінальними карбоксильними групами. Кінцеві ділянки М-білка визначають його здатність склеювати клітини стрептокока один з одним і прикріплюватися до клітин епітелію. М-білок володіє антифагоцитарною активністю. За своєю будовою він близький до тропоміозину - регуляторному м'язевому білку хребетних. Можливо, М-білок визначає імунологічну мімікрію клітин стрептокока, оскільки проти власних білків макроорганізм антитіл не виробляє.

Тейхоеві кислоти, амінокислоти в D-формі, LL-діамінопімелінова кислота грамполозитивних і мезо-діамінопімелінова кислота грамнегативних бактерій зустрічаються тільки в клітинах прокаріотів. У клітинах еукаріотичних організмів ці сполуки не встановлені.

Синтез пептидоглікана проходить ряд стадій, здійснюваних в цитоплазмі, на рівні цитоплазматичної мембрани і в клітинній стінці. Повторювані елементи пептидоглікана синтезуються в цитоплазмі, будучи пов'язані з нуклеотидом урідиндіфосфат. Потім вони переносяться на C55-полиизопреновой ліпід (бактопренол), що функціонує як переносник в мембрані. В ЦПМ субодиниці з'єднуються і виходять на зовнішню поверхню

ЦПМ в точці зростання пептидогліканового мішка. У поперечному зв'язуванні між пептидними залишками бере участь фермент, розташований на зовнішній частині мембрани, що каталізує реакцію транспептидації, при цьому зв'язуються D-аланін і мезо-діамінопімелінова кислота.

Синтез пептидоглікана може бути пригнічений рядом антибіотиків, що інактивують певні ферменти, що беруть участь в синтезі або зв'язуються з ліпідним переносником в мембрані або утворюють комплекс з точкою росту ланцюга муреїна. До інгібіторів ряду ферментів відносяться D-циклосерин і 0-карбамід-D-серин, що пригнічують активність аланінрацемази, що каталізує перетворення L-аланіну в D-аланін, і приєднання останнього до пептиду. З молекулами переносника взаємодіють бацитрацин, ванкоміцин і ристоцетін А і В, вони пригнічують стадію перенесення на зростаючу ланцюг муреїна дісахарідпентапептидфосфоліпіда. Активність транспептидази пригнічує цефалоспорин. Синтез муреїна також пригнічує гліцин, який у високих концентраціях здатний включатися в пептидні ланцюга замість L-аланіну.

Будова клітинної стінки грамнегативних бактерій

Клітинна стінка грамнегативних бактерій складається з декількох шарів: зовнішньої мембрани, пептидоглікана і переплазми.

Зовнішній шар являє зовнішня мембрана, яка має товщину 8-10 нм. Для зовнішньої мембрани характерна більш жорстка і впорядкована структура, ніж для цитоплазматичної. Вона перешкоджає проникненню в клітину великих молекул і тим самим визначає стійкість бактерій до багатьох впливів, окрема актіноміцину Д, ферментам, наприклад, лізоциму, барвникам, детергентам, жирним кислотам.

Цілісність зовнішньої мембрани може бути порушена при впливі ЕДТА, що витягує з мембрани двовалентні катіони, необхідні для її стабільності. При низьких температурах також порушується цілісність мембрани: замерзають ліпіди, вона втрачає еластичність і руйнується під дією внутрішнього тиску

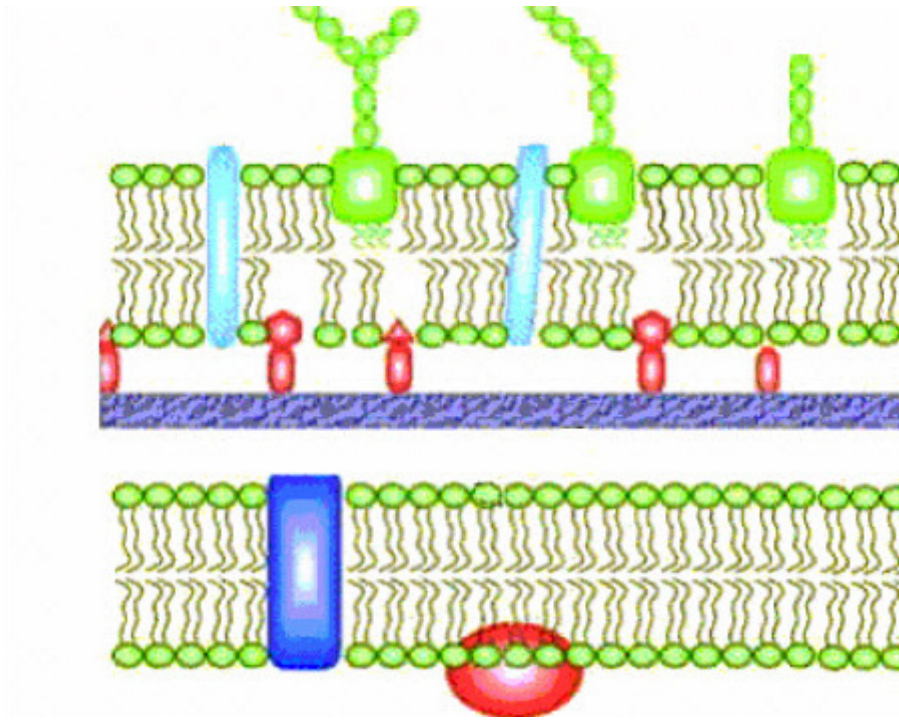


Рис. 2. Будова клітинної стінки грамнегативних бактерій

Будова зовнішньої мембрани дещо відмінна від цитоплазматичної мембрани. Зовнішня мембрана складається з ліпополісахаридів (ЛПС), фосфоліпідів, ліпопротеїну (ЛП) і білків. У мембрані *E.coli* на 1 мкм² поверхні знаходиться по 10⁵ молекул ЛПС і білків і по 10⁶ молекул ЛП і фосфоліпідів. ЛПС займає близько 30-40% поверхні мембрани і локалізується тільки в зовнішньому її шарі, фосфоліпіди - знаходяться тільки у внутрішньому шарі.

Ліпополісахарид (ЛПС) більшості бактерій є токсичним для тваринного організму і позначається як ендотоксин, оскільки звільняється з клітин після їх руйнування. В організмі тварини ЛПС викликає ендотоксичну реакцію, лихоманку, лейкоцитоз, токсичний шок, а при високих дозах - смерть.

ЛПС взаємодіє з системою комплементу, надає пірогенний ефект, тобто викликає підвищення температури тіла, стимулює внутрішньосудинне згортання крові.

Однак, ЛПС не тільки токсичний, він викликає неспецифічне підвищення резистентності організму, стимулює вироблення інтерферону, володіє антипухлинною активністю.

Є окремі повідомлення, які свідчать про біологічну активність ЛПС щодо організму рослини. Так, виявлено підвищення резистентності рослин тютюну до бактеріальної інфекції під впливом ЛПС фітопатогенних псевдомонад або кишкових бактерій.

ЛПС зовнішньої мембрани мають складну будову: вони складаються з ліпиду А, ядра і олігосахарідного ланцюжка, яка є О-антигеном (від нім. Ohne Nauch - що не утворюють нальоту на агарі, що не мають джгутиків і відповідно їх Н-антигену, у рухливих форм маскує О-антиген) грамнегативних бактерій. Ліпід А не володіє антигенними властивостями і не визначає утворення специфічних антитіл.

ЛПС у різних бактерій може значно відрізнятися, однак, загальний план його будови у всіх бактерій однаковий.

Ліпід А включає глюкозаміндісахарід, до гідроксильних груп якого ефірними зв'язками приєднані жирні кислоти.

Далі у напрямку назовні знаходиться ядро або R-серцеподібна зона. Ядро ЛПС несе негативні заряди, що сприяють інтеграції ЛПС з іншими компонентами мембрани пов'язаними через двовалентні катіони. У ядрі розрізняють внутрішню і зовнішню області. Це трисахарид, що складається з трьох залишків 2-кето-3-дезоксіоктонової кислоти (КДО). За нею йдуть 2 молекули гептози і зовнішня серцевинна зона, що складається з розгалуженої ланцюга, що містить глюкозу, галактозу і N-ацетилглюкозамин. Ця базова структура однакова у всіх сальмонел. Зовнішній гетерополісахарідний ланцюжок є видо- і штаммспецифічним (О-антиген) і має велике значення у бактеріологічній діагностиці для ідентифікації культури і шляхів поширення епідемії. Характер будови О-специфічних бічних ланцюгів визначає серовар штаму. Для бактерій роду *Salmonella* відомо понад 1200 сероварів.

Число олігосахаридних послідовностей в різних молекулах ЛПС може значно варіювати. У *Salmonella typhimurium* деякі ланцюги складаються з 30-35 повторів, тоді як деякі молекули ЛПС зовсім позбавлені О-ланцюгів. Довжина їх може досягати 150 нм.

Синтез О-антигенних ланцюгів відбувається незалежно від синтезу решти молекули ЛПС і визначається активністю комплексу специфічних ферментів. Як переносник глікозильних залишків на рівні мембрани виступає поліізопренол. При синтезі ЛПС, так само як і інших компонентів клітинної стінки, дотримується принцип - "один фермент - одна зв'язок". Ферменти, що каталізують синтез вуглеводної ланцюги, локалізовані в ЦПМ і переносяться в зовнішню мембрану через спеціальні ділянки. У сальмонел таких ділянок близько 200, у кишкової палички - 10-50.

О-антигенні ланцюга не тільки дуже різноманітні за своєю будовою, але і легко змінюються в результаті фагової конверсії або мутацій. В результаті мутацій зміни в О-специфічних ланцюгах відбуваються набагато частіше, ніж в базальній частині молекули полісахариду, що можна розглядати як корисне пристосування патогенних бактерій, але вже на рівні генома. При мутаціях з'являються клітини, що не реагують з антитілами, специфічними до вихідних бактеріям.

Бактерії, які синтезують повну структуру ЛПС, мають S-фенотип (від smooth - гладкий) і на агарі утворюють колонії з рівною блискучою слизовою поверхнею. Бактерії, у яких відсутні О-специфічні бічні ланцюги або виявляються інші зміни в структурі ЛПС називають R-мутанти (від rough - нерівний). На щільних середовищах вони утворюють матові і шорсткі колонії.

R- мутанти добре ростуть в лабораторних умовах, нерідко навіть витісняючи S-форму, тобто мають селективну перевагу. Однак, R-мутанти зазвичай менш пристосовані до існування в природному середовищі, у них підвищена чутливість до різних токсичних агентів, вони легко фагоцитуються і втрачають вірулентність. З цього правила, правда, є винятки. Так, ЛПС в R-формі містять природні вірулентні штами збудника чуми *Yersinia pestis*. У цій бактерії є капсула, полісахарид якої виконує функції О-антигенних ланцюгів.

Показано, що О-антигенні ланцюга ЛПС бульбочкових бактерій беруть участь в розпізнаванні і перших етапах взаємодії бактеріальної клітини з поверхнею кореневого волоска бобових рослин.

Фосфоліпіди зовнішньої мембрани майже не відрізняються від фосфоліпідних компонентів клітин еукаріот.

Ліпопотеїн - один з основних компонентів зовнішньої мембрани. Ліпопротеїн представників родини *Enterobacteriaceae* був детально вивчений американським вченим Брауном, тому в літературі його нерідко іменуються ліпопротеїдом Брауна. ЛП має молекулярну масу близько 7000. Увага дослідників звертає на себе досить висока стабільність мРНК, що визначає синтез білкової частини ліпопротеїну. Час її життя 11,5 хв. (Час життя іРНК цитоплазматических білків - близько 2 хв.). Білок ЛП відносно невеликий, складається з 58 амінокислот, причому всі гідрофобні амінокислоти розташовані з одного боку молекули. Аміногрупа N-термінального кінця пов'язана одна з 10-12 мезо-діамінопімелінових кислот, що входять до складу муреїна. До C-термінальної амінокислоти приєднані жирні кислоти.

Отримано мутанти *E.coli*, позбавлені ліпопротеїну. Вони виділяють в навколишнє середовище періплазматическом білки і мають підвищену чутливість до багатьох токсичним агентам, в тому числі до ЕДТА. Мутанти життєздатні, але у них порушена функція зовнішньої мембрани.

Білки зовнішньої мембрани представлені білками основи (major) і мінорними білками.

Білки основи присутні в зовнішній мембрані в кількості 100 000 молекул на клітину, що становить 80% білка зовнішньої мембрани. У *E.coli* є близько 10 різних білків основи, однак, у даній клітини одночасно може 2-3, але не більше 5 різних білків. Молекулярна маса білків 29 000 - 50 000.

Одна з функцій білків - формування в мембрані гідрофільних пір, через які здійснюється дифузія молекул з масою до 600, іноді і дещо більшою, але не більше 900. Це означає, що через пори можуть проходити цукру, амінокислоти, невеликі олігосахариди і пептиди, але не тетрасахариди і пентапептиди. Білки, що утворюють гідрофільні пори, називають поринами.

Гіпотетична схема організації пори і зв'язку поринів з ліпопротеїдом і муреїном виглядає наступним чином. Відповідно до цієї схеми 3 молекули

поринів, що утворюють β -структуру, оточують водну пору діаметром 1,5-2 нм. Кожна молекула поринів стабілізована трьома скрученими молекулами ліпопротеїну, з яких одна ковалентно з'єднана з муреїном. Різні представники родини *Enterobacteriaceae* виявляють серологічну спорідненість білків основи зовнішньої мембрани, що свідчить про значне консерватизмі відповідних генів.

Крім транспорту речовин, порини можуть служити рецепторами для F-пілей, вірусів і коліцінів, грають істотну роль в стабілізації зовнішньої мембрани.

Міnorні білки зовнішньої мембрани представлені більш ніж 50 видами. Міnorні білки поліфункціональні - несуть транспортні і рецепторні функції. До міnorних білків, відносять білок *E.coli*, що розпізнає і транспортує вітамін B₁₂. Одночасно він є рецептором для фага і коліціну E. На поверхні клітини є 200-250 таких рецепторів.

Міnorні білки мають особливо важливе значення при транспорті в клітину заліза. Багато сапрофітних і патогенних бактерій виробили спеціальні механізми, що забезпечують їх залізом. *E.coli* K 12 володіє трьома специфічними системами для транспорту заліза. Так, система транспорту Fe-цитрату активується у присутності цитрату, при цьому в зовнішній мембрані з'являється новий білок, що розпізнає цитрат. Більш ефективними є системи, які включають синтезовані мікроорганізмами сполуки, що хелатують залізо. Це перш за все сідерофори - низькомолекулярні речовини. *E.coli* на середовищах з нестачею заліза синтезує і виділяє ентерохелін, що ефективно відщеплюється Fe²⁺ навіть від залізовмісних білків. Комплекс ентерохеліна з залізом здатний зв'язуватися зі специфічним білком зовнішньої мембрани; в клітині сідерофори гідролізується, звільняючи залізо.

У зовнішній мембрані присутній білок, пов'язаний з певною ділянкою хромосоми, що, мабуть, має значення для регуляції клітинного циклу бактерії.

Показано, що характер колоній, утворених на агарових середовищах, в значній мірі визначається білками зовнішньої мембрани.

За зовнішньою мембраною розташований зазвичай один шар пептидоглікану (товщина 1-3 нм). Його зміст 1-10% від усіх речовин клітинної стінки. Будова і хімічний склад пептидоглікана грамнегативних бактерій відрізняється від грампозитивних. З діамінокіслот в клітинній стінці грамнегативних бактерій присутня тільки мезо-діамінопімелінова кислота і немає лізину, також відсутні тейхоеві кислоти.

За шаром пептидоглікану розташована периплазма. Її товщина зазвичай близько 10 нм, але обсяг залежить від умов середовища, перш за все, від осмотичних властивостей розчину, тому вона может включати до 20% всієї води що знаходиться в клітині. У периплазмі знаходяться гідролитичні і транспортні білки, олігосахариди (які відіграють вирішальну роль в осморегуляції клітини грацілікотов) і неорганічні речовини. Периплазма грає істотну роль у взаємодії ЦПМ і клітинної стінки.

Будова клітинної стінки архей

У клітинній стінці всіх архей немає муреїну. Археї фарбуються за Грамом позитивно (бактерії родів *Methanobacterium*, *Methanobrevibacterium*) або негативно (*Methanococcus*, *Methanogenium*), але клітинні стінки їх не ідентичні грампозитивним або грамнегативним бактеріям і різноманітні за будовою і складом. Так, у *Methanosarcina barkeri* масивна регідая оболонка складається з гетерополісахаридів (цукри, аміоцукри, уронові кислоти), у бактерій родів *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanococcus* - з глікопротеїну або протеїну, у *Halococcus* - сульфатовані гетерополісахариди.

У архей, що забарвлюються за Грамом, в клітинних стінках міститься псевдомуреїн - глікопептид, у якого замість мурамової кислоти є талозомінуринова кислота і відсутні Д-амінокислоти в пептидних містках. У *Methanospirillum hungatii* над клітинною стінкою є чохол з овальних білкових субодиниць. Клітини розташовані в чохлі одна за одною. Між клітинами є простори - спейсери, за якими може відбуватися розрив чохла.

У архей роду *Thermoplasma* клітинна стінка відсутня.

Функції клітинної стінки прокариотів:

- механічно захищає клітинну стінку від впливів навколишнього середовища (наприклад, клітинна стінка грампозитивних бактерій, завдяки її структурі, має високу міцність і може витримувати тиск до 30 атмосфер;
- забезпечує підтримку форми клітин;
- дає можливість існування клітин в гіпотонічних розчинах;
- бере участь в клітинному метаболізмі, тому що через неї виділяються гідролітичні ферменти, що розщеплюють органічні субстрати, забезпечуючи проникнення їх в клітку. Ці ж ферменти розщеплюють власний клітинний матеріал, що виділяється клітиною в навколишнє середовище з цитоплазми;
- у бактерій, що мають джгутики, клітинна стінка є компонентом локомоторного механізму;
- бере участь в поділу клітин.

Бактерии, позбавленні клітинної стінки

Протопласти - сферичної форми клітини, позбавлені клітинної стінки. Їх отримують лабораторним шляхом, впливаючи на клітину літичними ферментами, зокрема, лізоцимом, що міститься в яєчному білку, сльозах, слині. У протопластах здійснюються основні процеси життєдіяльності: дихання, синтез білків, нуклеїнових кислот, спороутворення. Вони можуть збільшуватися в розмірах, у азотфіксуючих бактерій - фіксувати азот, проте, не здатні розмножуватися, ресинтезувати клітинну стінку і не адсорбують фаги.

Сферопласти - клітини частково позбавлені клітинної стінки. Утворюються при дії на бактеріальні клітини антибіотиком пеніциліном. Пеніцилін запобігає утворенню пептидоглікана, порушуючи процес утворення поперечних зв'язків між ланцюжками мууреїна. Сферопласти відрізняються від протопластів тим, що можуть розмножуватися, адсорбувати фаги і при усуненні факторів, що викликали їх утворення, можуть регенерувати клітинну стінку.

L-форми бактерій - організми, позбавлені клітинної стінки, але на відміну від протопластів і сферопластів, одержуваних лабораторним шляхом,

утворюються в природі, зокрема, організмі людини при тривалому застосуванні антибіотикотерапії. L-форми мають пристосувальне значення для клітини - спосіб переживання несприятливих умов.

Були відкриті в 1935 році Е.Клінебергер у *Streptobacillus moniliformis* в інституті ім. Листера в Англії (звідси і назва L-трансформація бактерій). Е. Клінебергер з культури стрептобацилл виділила незвичайні варіанти, які росли у вигляді маленьких, характерних колоній з вростаючою в агар центральною і фестончастою напівпрозорою периферійною зонами. У цих колоніях виявлялися найрізноманітніші по морфології структури: ниткоподібні, волокнисті, колбасоподібні, кулясті структури і дрібні гранули розміром 0,1-0,15 мкм (фільтрівні форми бактерій).

Утворюються під дією антибіотиків, що пригнічують синтез клітинної стінки (пеніциліну, цефалоспоринов, ванкоміцину та ін.), ферментів (лізоцим, амидаз, ендопептидаз), при дії амінокислот у високих концентраціях (гліцин, фенілаланін).

При руйнуванні муреїнового шару клітина як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій втрачає ригідність і механічну міцність. Зазвичай грампозитивні бактерії легше схильні до подібних вождействіям, тоді як для руйнування оболонки грамнегативних бактерій, що мають додатковий бар'єр проникності - зовнішню мембрану, необхідні додаткові дії, наприклад ЕДТА, ліпазами, трипсином та ін.

В умовах звичайних поживних середовищ і в середовищах природних бактеріальна клітина має певний тургор, тоді як внутрішньоклітинний осмотичний тиск, звичайно дорівнює у бактерій 5-30 атмосферам, вище осмотичного тиску середовища. Мембрани знаходяться під постійним тиском зсередини, яке врівноважується за рахунок механічної міцності оболонки, перш за все її муреїнового компонента. При порушенні муреїнового шару клітина за рахунок внутрішнього тиску округляється і роздувається, її обсяг збільшується в кілька разів за рахунок розтягування мембрани, але потім мембрана лопається і клітина руйнується. Слід мати на увазі, що надмірний внутрішньоклітинний

тиск є зазвичай основною, але не єдиною причиною лізису. Істотний вплив на цей процес надають такі чинники, як температура, присутність в розчині різних речовин, особливо сполук, що так чи інакше впливають на стан мембран.

Якщо структура муреїна порушена, то муреїновий шар оболонки зберігається, але відбувається порушення процесів ділення і зростання клітини, утворюються клітини неправильної форми, зазвичай подовжені, роздуті, часто грушоподібні, колбасоподібні, іноді вигнуті або спіраль - так звані інволюційні або гетероморфними форми. Вони або ростуть і діляться і при знятті фактора, що викликав їх освіту, дають нормальне потомство, або поступово відмирають.

У певних умовах клітини, навіть повністю позбавлені муреїнового шару, можуть і не лізуватись. Основною умовою стабілізації таких клітин є досить висока концентрація розчинених речовин в середовищі. Часто використовують сахарозу або маніт в концентраціях 0,1 - 1,0 М, але для цілісності таких клітин потрібні певні значення рН, температури, необхідна наявність енергетичного субстрату, визначених катіонів і т.п. Всі ці умови специфічні.

Клітини зі зруйнованою клітинною стінкою приймають округлу форму. Якщо вони оточені тільки цитоплазматичної мембраною, їх називають протопластами, якщо оболонка зруйнована в повному обсязі - сферопласти. Грацілікутніе бактерії зазвичай утворюють сферопласти, у яких зберігаються елементи зовнішньої мембрани. Протопласти і сферопласти в 3-10 разів більші за вихідних клітин. Вони здійснюють обмін речовин, характерний для вихідних клітин, наприклад, фіксують азот, утворюють спори. Зрештою протопласти і сферопласти або ревертують в нормальні бактеріальні форми при знятті чинника, який руйнує муреїн, або трансформірується в L-форми, або гинуть. Легше ревертують в вихідні форми сферопласти, протопластів як правило відмирають або перетворюються в L-форми. Характерна особливість сферопластов і протопластів - відсутність у них внутрішньоклітинних мембран типу мезосом, які в процесі трансформації клітини викидаються в навколишнє середовище. Отримання протопластов широко практикується в дослідженнях, пов'язаних з вивченням бактеріальних мембран.

Сферопласти, протопласти або подібні до них форми гетероморфного зростання можуть з'явитися перехідною стадією в процесі перетворення бактерій в L-форми. Як L-форми позначають бактерій, здатних до розвитку при відсутності у них клітинної стінки. Перехід бактерій в L-форму відбувається під впливом специфічних або неспецифічних агентів, що порушують структуру чи синтез клітинної стінки. В експериментальній практиці в якості такого впливу найчастіше використовують пеніцилін. Невідомо від чого залежить доля клітини, яка втратила клітинну стінку, більшість їх гине і лише деякі переходять в L-форми.

Морфологія L-форм мало залежить від морфології вихідної бактерії. У культурі L-форм виявляються клітини розміром 0,2-50 мкм. Вони кулясті, але присутні ниткоподібні структури і безструктурні маси. На відміну від протопластів в клітинах L-форм присутні внутрішні мембранні системи і мієліноподібні структури. L-форми краще ростуть на агарі, ніж в рідкому середовищі, вони утворюють колонії, які проникають в агар і мають характерну форму перевернутої капелюхи. Міцели агару, мабуть, сприяють поділу L-форм. Колонії ростуть повільно, але іноді досягають значних розмірів. При пересіві таких колоній повторний ріст вдається отримати тільки при перенесенні досить великої біомаси L-форм. Останні легко руйнуються при механічних впливах, наприклад, в процесі приготування мікроскопічних препаратів за допомогою бактеріологічної петлі, а також при змінах осмотического тиску середовища, хоча можуть розвиватися і в середовищах відносно невисокою концентрації. Іноді L-форми розвиваються тільки на середовищах з сироваткою або виявляють інші потреби, не характерні для вихідних форм бактерій.

Через відсутність клітинної стінки у L-форм немає певної форми і не функціонують нормальні механізми клітинного ділення. У колоніях зазвичай присутні: 1) так звані елементарні тіла розміром 0,2 - 1 мкм - мінімально здатні до репродукції елементи L-форм; 2) кулясті або неправильної форми тіла розміром 1-5 мкм; 3) великі тіла розміром 5-50 мкм; 4) ниткоподібні структури

різного діаметру; 5) безструктурні маси, у яких межі окремих клітин не помітні. На відміну від нормальних клітин L-форми часто містять великі вакуолі.

Описано декілька способів формування елементарних тіл L-формами. Вони можуть відбруньковуватися від поверхні клітини або від мембрани вакуолі, а також в результаті відділення мембраною ділянки всередині клітини або дроблення її вмісту.

У L-форм спостерігається не тільки поділ, а й злиття що, мабуть, має значення при формуванні колоній. Якщо в колонії присутні елементи з різним геномом, в результаті злиття клітин може відбуватися рекомбінація, що призводить до утворення гібридних клітин.

L-форми утворюють як сапрофітні, так і патогенні бактерії. L-форми відомі для збудників гонореї, туберкульозу, черевного тифу, менінгіту та інших захворювань. За одним з літературних джерел - L-форми хвороботворних бактерій патогенні, однак, вірулентність у них знижена в зв'язку з втратою різних факторів патогенності (адгезії, інвазії, ендотоксину); за іншими - вони здатні продукувати токсини, які синтезуються або в цитоплазмі, або в цитоплазматичній мембрані. Захворювання, обумовлені L-формами, характеризуються тривалістю перебігу (захворювання з гострої форми переходить в хронічну), більшою інвалідністю, але меншою кількістю випадків смерті.

Швидкість формування L-форм у різних видів варіює від декількох днів (у гонококів) до декількох тижнів і місяців (збудник дифтерії).

У більшості L-форм порушується функція розмноження, але зберігається функція зростання в результаті чого значно збільшуються розміри клітин, які перетворюються в гігантські (0,2 мкм до 50 мкм) кулясті, ниткоподібні, грушоподібні, гранулярні. У процесі порушення синтезу клітинної стінки грампозитивні культури перетворюються в грамнегативні. На відміну від протопластів в L-формах присутні внутрішні мембранні системи і мієлінподібні структури.

Вони здатні рости тільки в анаеробних або мікроаерофільних умовах. Потребують холестерин, сироватковий білок.

Існують нестабільні і стабільні L-форми.

Нестабільні - утворюються коли генетичний контроль синтезу клітинної стінки зберігається. На поживних середовищах утворюють великі (діаметром 500 мкм) пофарбовані від жовтого до коричневого кольору колонії. Легко ревертують у вихідні бактеріальні клітини при видаленні фактора, що призвів до їх утворення, адсорбують фаги і лизуються ними. Вони є проміжними формами між бактеріями і стабільними L-формами. У них є переривчастий шар муреїну і при його відновленні молекули пептидоглікану включаються в клітинну стінку нерегулярно і некоординовані. Можуть відновлювати клітинну стінку, однак, цей процес відбувається дуже повільно і триває протягом 2-4 тижнів. Реверсія клітинної стінки може бути повною (завершеною) з відновленням всіх властивостей культури і незавершеною.

Стабільні L-форми з'являються коли генетичний контроль синтезу клітинної стінки порушений необоротно, тобто L-трансформація набуває незворотного характеру. Такі L-форми за своїми морфологічними, культуральними та іншим властивостям стають не відрізнятися від мікоплазм. На поживних середовищах утворюють дрібні (діаметром 10 мкм) кратероподібної, ніжні колонії. Чи не адсорбують фаги, значно змінюють антигенну структуру, у них повністю відсутня клітинна стінка.

Капсули, слизові шари, чохли бактерій

Зовні клітинна стінка часто буває оточена слизовими речовинами, які називаються капсули або слизові шари.

Капсули - слизові структури, що важко відокремлюються від клітинної стінки, тому що досить щільно з нею пов'язані (*Azotobacter*). Капсули утримуються на поверхні клітинної стінки в основному за рахунок іонних зв'язків, у деяких бацил - ковалентних. У грамнегативних бактерій

макромолекули капсули на одному з кінців мають ліпідний компонент, який пов'язаний з ліпідним бішаром зовнішньої мембрани.

Капсулу можна виявити різними методами:

1. Методом негативного контрастування
2. Фазово-контрастною мікроскопією при обробці специфічними антикапсульними антигенами.
3. Складними методами мікроскопії з попередніми протравленням препарату.
4. Електронної мікроскопії. Але цей метод менш придатний, тому що призводить до зміни структури капсули.

Розрізняють мікрокапсулу (товщина менше 0,2 мкм) і макрокапсулу. Відмінності в локалізації та товщині шару капсули обумовлено кількістю полімеру, що утворюється і його розчинність в воді. Капсульну речовину можна легко відокремити від клітинної стінки: механічно (центрифугуванням) або хімічно (витягом у вигляді водних або буферних розчинів).

За будовою капсули бувають:

1. Нормальної (суцільної) будови - рівномірним шаром оточують клітину;
2. Суцільні, що містять поперечно-смугасті фібрили, які складаються з ниток целюлози;
3. Складні капсули, що складаються з локалізованих ділянок полісахаридів і поліпептидів
4. Переривчасті капсули.

Хімічний склад капсул є різноманітним. Зазвичай це речовини з високою молекулярною масою - до 1 000 000, гідрофільні, часто несуть негативний заряд.

1. Капсули полісахаридної природи

- а) гомогенні, що складаються з однієї речовини, наприклад, глюкана (*Agrobacterium*, *Leuconostoc*), целюлози (*Acetobacter*), галактози (*Klebsiella*);
- б) гетерополісахаридні, що складаються, наприклад,

- з коланової кислоти (глюкоза, галактоза, фукоза, глюкуронова і піровиноградна кислота) утворюють деякі ентеробактерії;
- з поліуроніди (маннурова і глюкуронова кислоти) утворюють *P. aeruginosa* і *Azotobacter*;
- з декстранов (глюкоза і фруктоза) утворюють деякі стрептококи;
- з леванів (фруктоза і глюкоза) утворюють псевдомонади, бацили, стрептококи.

2. Капсули, що складаються з поліпептидів і полісахаридів (наприклад, поліглутамінової кислоти) утворює збудник сибірської виразки - *Bacillus anthracis*.

Хімічний склад капсул родо-, видо- і штаммоспецифічний.

Капсули можуть містити компоненти, однакові з клітинною стінкою.

У синтезі речовин капсул бере участь клітинна мембрана. Синтез може відбуватися з витратою АТФ і без витрати, тому що синтез з сахарози здійснюється екзогенно, шляхом послідовного приєднання глікозильних одиниць до акцепторної молекули сахарози. Це можливо завдяки збереженню енергії глікозидної зв'язку в дисахарид. Подовження ланцюга здійснюється в результаті трансглікозирования. Тобто декстрини і Льова не можуть синтезуватися з вільних моносахаридів. Внаслідок цього бактерії, що утворюють декстрини, синтезують капсульні речовини тільки на середовищах, що містять сахарозу.

У деяких патогенних бактерій формування капсули стимулюється присутністю або контактом з тваринною тканиною. Капсульна речовина є К-антигеном бактерій.

Слизові шари мають аморфний, безструктурний вигляд і досить легко відділяються від поверхні клітини прокаріотів.

До складу слизових оболонок та капсул найчастіше входять полісахариди гомогенної або гетерогенної природи (декстрини, левани), іноді - поліпептиди.

Чохли (піхви - термін, що вживається в систематики синьо-зелених водоростей) - утворює велика група бактерій, що мешкають в стічних водах, наприклад, хламідобактерії. Чохли є трубкоподібними структурами, в які укладені вегетативні клітини. Хімічний склад чохлів складніший, ніж склад капсул і слизових оболонок. Вони можуть складатися з гетерополісахаридів, бути інкрустовані солями заліза і марганцю. Вегетативні клітини в чохлах можуть розташовуватися в один ряд (хламідобактерії) або в кілька рядів (деякі ковзаючі бактерії).

Джгутики бактерій

Джгутики є органами руху (локомоторними органами) клітин прокаріотів .

Довжина джгутиків прокаріотів становить 15-30 мкм, ширина - 12-18 нм. У деяких бактерій довжина джгутиків у багато разів перевищує довжину клітин (*Bdellovibrio*). У бактерій, вирощених в рідких поживних середовищах, старі клітини мають довші джгутики, ніж молоді. Наприклад, у спирилл довжина джгутиків молодих клітин становить 1-20 мкм, старих - 70 мкм.

За будовою джгутики можна розділити на прості і складні. Прості зустрічаються у більшості рухомих бактерій і складаються з однієї фібрили флагеліну. Складні додатково стабілізовані клітинною стінкою. Наприклад, у *Bdellovibrio bacteriovorus* підставу джгутика покриває чохол, який представляє собою продовження клітинної стінки, шириною 7,5 мкм. Сама нитка джгутика має ширину 13 мкм. Складні джгутики мають також бактерії родів *Proteus*, *Vibrio* і деякі інші.

Число і розташування джгутиків родо- і видоспецифічні (табл. 2). Наприклад, у спирилл (лофотрихи) їх число коливається від 5 до 30, у вібрінов - 1-3, у *Proteus vulgaris*, *Clostridium tetani* - 50-1000. У перітріхів протягом клітинного циклу число джгутиків у клітини подвоюється, і кожна дочірня клітина отримує приблизно однакову їх кількість. Є відомості про існування механізмів, що забезпечують синхронність формування джгутиків і клітинного ділення.

Як видно, швидкість руху бактерій різних видів неоднакова і коливається від 20 до 100 мкм / сек., Що відповідає приблизно 300-3000 довжин тіла в хвилину. Для холерного вібріона зафіксована швидкість, при якій за годину він може проплисти близько 80 см. Швидкість руху залежить не від числа джгутиків, а від їх розташування (бактерії з термінальним розташуванням джгутиків рухаються швидше, ніж з перитрихально) і властивостей середовища, в якій знаходиться клітина (в'язкість, температура, рН, осмотичний тиск).

Спрямованість руху бактерій обумовлюється характером розташування джгутиків. Моно-і лофотрихи рухаються прямолінійно, перитрихи - безладно, часто міняючи напрямок руху ("перекидаються").

Пучок джгутиків у лофотрихи утворює одну масивну спіраль (рис. 12). У перітріх з невеликим числом джгутиків при русі вони теж збираються в пучок. Характер роботи джгутиків у перітріх з великим числом джгутиків, наприклад, у гігантських клітин *Proteus*, поки мало зрозумілий. Такі бактерії в рідкому середовищі не рухаються прямолінійно, часто перекидаються, однак добре переміщаються по вологій поверхні щільного субстрату.

Зазвичай джгутик розташований на задньому кінці клітини що рухається, але джгутик або пучок джгутиків, розташовані спереду теж можуть ефективно рухати клітку, і в цьому випадку вони спрямовані назад і обертаються збоку від неї. Обертання джгутика викликає обертання клітини, але в протилежному напрямку, однак, оскільки клітина все ж значно масивніший джгутика, вона робить набагато менше оборотів.

Наявні дані щодо частоти обертання джгутиків і клітин досить суперечливі. Очевидно, що швидкість обертання нитки джгутика, а отже, і швидкість поступального руху організму залежать від видової приналежності бактерії, її фізіологічного стану, температури, складу середовища. Частоту обертання пучка джгутиків у бактерій можна визначити за допомогою темнопольної мікроскопії, але з достатньою достовірністю тільки у великих бактерій. Так, частота обертання пучка джгутиків спірілли близько 40 об / с, а тіло обертається при

цьому зі швидкістю 12-14 об / хв. У *Chromatium okenii* джгутики здійснюють 40-60 об / с.

Таблиця 2

Типи джгутикування прокаріот

Схема розположення джгутиків	Тип джгутикування	Представник	Швидкість руху, мкм/сек
Один джгутик на дистальному кінці клітини	Монополярне	<i>Vibrio</i> ,	30-100
	Монотрихіальне	<i>Bdellovibrio</i> ,	50-60
		<i>Nitrobacter</i>	30
Пучок джгутиків на дистальному кінці клітини	Монополярне політрихіальне (лофотрихи)	<i>Pseudomonas</i> , <i>Chromatium</i> ,	40-56
2 пучка джгутиків на двох кінцях клітини	Біполярне політрихіальне (амфітрихіальне)	<i>Tiospirillum</i>	87
Велика кількість джгутиків по всій поверхні клітини	Перитрихіальне	<i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i>	16-28 30

Джгутик складається з трьох частин: 1) фібрили (нитки), 2) гака, 3) базального тіла.

Фібрила джгутика є довгою тривимірною порожнистою лівозакрученою спіральною ниткою що складається з одного типу молекул - білка флагеліну (лат. - flagellum - джгутик). Зміст флагеліну може досягати 2% від маси бактерії. У різних видів бактерій флагелін може різнитися амінокислотним складом і молекулярною масою. Молекулярна маса флагеліну коливається від 14 до 60 тис. (У сінної палички 33000, у кишкової - 60000). Містить 16

амінокислот. Переважають глутамінова і аспірагінова амінокислоти. Відсутні триптофан, цистеїн, цистин.

Зазвичай у бактерії є тільки один структурний ген флагеліну і відповідно утворюється тільки один тип цього білка. Однак, у *Caulobacter crescentis* джгутик складається з двох флагеліну, що розрізняються молекулярною масою і подібних за амінокислотним складом. Ці білки - продукти двох близько розташованих на хромосомі генів, ймовірно, утворилися в результаті дуплікації вихідного єдиного гена. Проксимальна частина нитки джгутика збагачена флагеліном В, а дистальна - флагеліном А.

У *E.coli* ген флагеліну позначається - *hag*-ген. Бактерії роду *Salmonella* володіють двома генами флажеліну H-1 і H-2, причому активним в даний момент може бути тільки один з них, що визначає фазову мінливість антигенної специфічності флагеліну сальмонел. Активність генів змінюється з частотою порядку 10-3 на клітку на генерацію.

За допомогою електронної мікроскопії встановлено, що нитка джгутика - полярна. Ділянка, що звернена до тіла бактерій (Н-кінець) - опуклий, дистальний (Т-кінець) - має виїмку.

Жорсткість нитки джгутика приблизно в 100 разів більше, ніж жорсткість нитки білка F-актину.

Субодиниці білка розташовуються по спіралі, закрученої навколо порожнистої серцевини (близько 3 нм діаметром). Молекули флагеліну, синтезовані або накопичені в цитоплазмі (пул флагеліну у *Proteus vulgaris* становить до 0,07% маси клітини), підходять до серцевини джгутика.

Нарощування нитки джгутика здійснюється з дистального Т-кінця, куди субодиниці білків надходять по порожньому каналу.

Швидкість зростання нитки джгутика залежить від видової приналежності організму, стадії розвитку і умов культивування. У *Pseudomonas aeruginosa* в оптимальних умовах зростання джгутик відбувається у дочірньої клітини до моменту поділу клітин і повністю відростає протягом 30 секунд після їх поділу. Повний синтез нитки джгутика *E.coli* проходить за 10 хвилин і

більше. У *Salmonella typhimurium* при 37 °С зростання нитки джгутика відбувається зі швидкістю 0,12-0,14 мкм / сек, у інших бактерій вона може досягати 0,3-0,5 мкм / сек. Однак, швидкість росту джгутика експоненціально знижується зі збільшенням його довжини, можливо, через складність проходження молекулами флагеліну каналу джгутика. Довжина повністю сформованої нитки джгутика зазвичай відповідає приблизно трьом довжинам тіла бактерій і дорівнює в більшості випадків 10-20 мкм, а у деяких спірилл довжина джгутиків може досягати 70 мкм і більше.

Нитки джгутиків різних видів бактерій відрізняються довжиною та амплітудою витка, які є постійними величинами. Отримано мутанти з так званими кучерявим джгутиками, що мають в 2 і більше разів зменшену "довжину хвилі", а також мутанти з прямими джгутиками. Такі бактерії не здатні до нормального руху.

Флагелін є термостійким. Джгутики деяких бактерій, напр. *Thiobacillus thiooxydans* не руйнуються при 70°C. Для джгутиків *Bacillus* критична температура, при якій відбувається скручування спіралі, знаходиться в межах від 54 до 77 °С. Флагелін стійкий до сечовини, додецилсульфату натрію, 1 N H₂SO₄.

При зниженні або підвищенні рН спостерігається зміна характеру спіралі, спочатку в кілька разів знижується крок, а потім вона з нормальною левозакрученої стає правозакрученою. Припускають, що подібні зміни відбуваються і під час функціонування джгутика.

При обробці гуанідином або детергентами відбувається розчинення джгутика, і молекули флагеліну переходять в розчин. Розчинені молекули при відповідному зміні умов можуть шляхом самозборки знову утворювати нитку. Умови, необхідні для самозборки флагеліну різного походження, можуть істотно різнитися. Зазвичай самозборка відбувається в сольових розчинах, наприклад, в 33% -ному сульфаті амонію для флагеліну *Salmonella typhimurium*. Залежно від умов утворюються нитки прямі або спіральні. Зазвичай для самозборки необхідна запал - шматочок нитки джгутика.

Бактерії рухаються тільки тоді, коли нитка джгутика обертається проти годинникової стрілки. Якщо нитка джгутика обертається за годинниковою стрілкою - клітини нерухомі. Нитка джгутика обертає тільки М-кільце. Решта структури джгутика нерухомі.

Сам джгутик є антигеном і називається Н-антигеном. У сальмонел молекула флажеліну містить 9 антигенних детермінант, з них 4 штаммоспецифічні, а решта є загальними для групи штамів - груповими. Однак, навіть флажеліну одного антигенного типу можуть мати відмінності в первинній структурі. Легко можуть бути отримані мутанти зі зміненою антигенною специфічністю флажеліну, повністю зберіг функціональну повноцінність. Періодична зміна антигенної специфічності флажеліну для сальмонел, що паразитують в організмі тварин, повинно мати пристосувальне значення.

Подібний широкий поліморфізм флагелінов у бактерій передбачає наявність в його молекулах поряд з консервативними легко мінливих ділянок. У альмонел мутації в останній (термінальної частини гена флажеліну (Н-гена) призводять до появи безджгутикових мутантів, тобто це суттєві ділянки молекули флажеліну. В центрі гена лінійно розташовані сайти, що визначають антигенну специфічність молекули, але не її функції. Відповідна їм частину молекули білка знаходиться на поверхні нитки джгутика. Можливі тут амінокислотні заміни, делеції або вставки зазвичай не впливають на здатність молекул до самосборки у нитку джгутика. Відмінності молекулярних мас флажеліну різних бактерій також визначаються різницею амінокислотних послідовностей саме в цій ділянці молекули. Разом з тим істотною для функціонування частини молекули флажеліну відзначена значна гомологія амінокислотних послідовностей навіть у систематично далеких бактерій - *Bacillus* і *Salmonella*. Ці консервативні ділянки молекули флажеліну розташовані по обох її кінцях. Мутації що призводять до кучерявості пов'язані зі змінами в Н-термінальній частині молекули, а мутанти з прямими джгутиками мають порушення в С-термінальній частині молекули.

Нитка джгутика у поверхні клітинної стінки переходить в вигнуту структуру, яка називається гак. Гак становить 1% маси джгутика. Товщина гака 20-90 нм. Гак може бути товщим за нитки джгутика, наприклад, у *Proteus vulgaris* і *E.coli*, або, як у *Proteus mirabilis*, мати той же діаметр, що й нитка. Довжина гака у різних бактерій варіює в межах від 30 до 90 нм. У складних джгутиків *Pseudomonas rhodus* гак теж складний і складається з центрального циліндра чохла.

За хімічним складом він також складається з флагеліну, але відрізняється від флагеліну нитки молекулярною масою і антигенною специфічністю. Білок гака стійкіше флагеліну до низьких значень рН, нагріванню, сечовини та ін.

Синтез білка гака у *E.coli* визначається геном *flaK*, але є ще ген, що регулює його довжину. Отримано мутанти, що утворюють суперкрюкі, що складаються з такого ж білка, але довші, тобто характеризуються порушенням термінації збірки гака.

У різних серотипів *Salmonella* білки гаків антигенно не розрізняються. Взаємодія клітин з антитілами до білка гака не призводить до їх знерухомлення. Мабуть, мінливість антигенних властивостей гака не має для сальмонел пристосувального значення.

Функції гака: служить для забезпечення гнучкого з'єднання нитки джгутика з базальним тілом.

Базальне тіло (досягає 1% від маси джгутика) знаходиться всередині клітинної оболонки, складається з 9-12 різних білків з молекулярними масами від 9000 до 60000. Базальна структура може бути відділена від клітини при досить жорстких обробках, наприклад, після розчинення муреїна лизоцимом, а мембран - детергентами.

Базальне тіло являє собою стрижень, вставлений в систему кілець. Два внутрішніх (проксимальних) кільця S (стартер) і M (мотор) обов'язкові для всіх бактерій, що мають джгутики. Зовнішні (дистальні) кільця L (ліпополісахарид) і P (пептидоглікан) мають тільки грамоотріцательніе бактерії. S-кільце розташовується в периплазмі грамнегативних бактерій або в шарі

пептидогликана грампозитивних бактерій. М-кільце розташовується в самій мембрані, або безпосередньо під нею. Можна сказати, що для нормального функціонування джгутика, потрібні тільки S і M кільця, кільця L і P необхідні тільки для кращого прикріплення до клітинної стінки грамнегативних бактерій. Синтез білків базальної структури визначається *fla*-генами, порушення яких призводять до Fla- - фенотипу. Fla- - мутанти нерухомі за рахунок порушення в джгутикових структурах. Однак, можуть бути отримані мутанти, що володіють усіма структурами жгутикового апарату, але нерухомі. Це Mot-мутанти з "паралізованими" джгутиками. Такі бактерії легко можуть бути відселекціонованих в присутності фага, який прикріплюється до жгутику, закручуючи навколо джгутика свої базальні нитки. За рахунок обертання джгутика відбувається переміщення фага до його основи, де і відбувається ін'єкція фагової ДНК в клітину господаря. Нерухомі клітини не схильні до дії фага. Гени *fla*, *mot*, *che*, що забезпечують реакції хемотаксису, згруповані в трьох визначених ділянках хромосоми, причому розташування джгутикових генів на хромосомі *E.coli* відображає особливості їх функціонування. Гени з подібними функціями зазвичай групуються разом, часто в одному опероні. Гени *fla* з різних районів хромосоми несуть і різні функції. Транскрипція джгутикових генів контролюється за ієрархічним принципом, при якому транскрипція однієї групи генів регулюється продуктами іншої. Система циклічний АМФ-регуляторний білок контролюється вираз *fla* 1 *fla* I-оперона, продукти якого є позитивними ефекторами вираження групи певних *fla*-генів. Продукти останніх в свою чергу є позитивними ефекторами третьої групи генів, що включає деякі *fla*-гени, все *mot*- і *che*-гени. Істотно, що ген флагеліну, тобто найбільш рясно синтезованого жгутикового білка, знаходиться в основі цієї піраміди. Існує механізм, що визначає тимчасову і просторову організацію збірки джгутикового апарату. На основі вивчення Fla-мутантів була виявлена послідовність синтезу і складання елементів базальної структури.

Механізм роботи джгутика

Гіпотетична схема роботи жгутикового мотора була запропонована в 1978 р А.Н.Глаголевым і В.П. Скулачовим. Рух джгутика здійснюється за рахунок енергії трансмембранного електрохімічного потенціалу - $\Delta\mu_{\text{H}}^+$, тобто клітина має здатність перетворювати електрохімічний форму енергії в механічну.

Припускають, що локалізоване в цитоплазматичній мембрані М-кільце містить на периферії пояс з -NH₂ груп. Одна із серії аміногруп откривається в верхній протонпровідні шлях. Аніонна група, наприклад, карбоксильная, прикріплена до мембрани на початку нижнього протонпровідні шляху. Протонирование -NH₂ призводить до електростатичного напрузі між --NH₃⁺ і -COO⁻ групами. Оскільки -NH₃⁺ прикріплена до М-кільцю, колесо повертається, щоб зблизити --NH₃⁺ і -COO⁻ групи.

Постулюється, що відстань між двома протонними полуканалами дорівнює відстані між двома сусідніми аміногрупами. Обертання М-кільця призводить до переміщення наступної аміногрупи до верхнього протонному шляху. Протонирование -COO⁻ -NH₃⁺ групою супроводжується викидом H⁺ через нижній полуканал в цитоплазму. Число транслоцироваться за один поворот протонів дорівнює числу -NH₂ груп. Припускають, що на один оборот мотора витрачається близько 10³ протонів.

Для прокаріотів джгутики грають роль локомоторних органів (тобто органів, відповідальних за рух клітин). Для діагностичних цілей - джгутики є Н-антигенами, що дозволяє ідентифікувати бактерії до роду або виду.

У спірохет, рухливих бактерій, органи руху, хоча і можна віднести до поверхневого апарату клітин, однак, вони не виступають назовні, а, на відміну від джгутиків, знаходяться всередині клітинної стінки у вигляді двох пучків білкових ниток, прикріплених до двох кінцях клітини і йдуть уздовж довгої осі до середини клітини. Причому обидва пучка ниток перекриваються тільки в центрі клітини. Число ниток у різних видів варіює від 2 до 100 і більше. Нитки

з'єднані з протоплазматическім циліндром за допомогою гака і базальної структури, у якій є 1-2 кільця (залежить від виду).

Спірохети дуже рухливі і здатні здійснювати різноманітні рухи, при цьому тіло вигинається, утворюючи вторинні спіралі, обертається на одному місці або робить поступальний рух.

Спроби пояснити механізм руху спірохет робилися багаторазово, однак, до теперішнього часу є лише більш-менш правдоподібні гіпотези. Однак, встановлено, що клітини здійснюють поступальний рух, якщо нитки, укріплені на протилежних кінцях клітини, обертаються в протилежних напрямках. При цьому ведучий кінець клітини спіраль, а задній -крючкообразно зігнутий.

таксиси бактерій

Рухливі бактерії активно і цілеспрямовано переміщуються. Спрямовані переміщення бактерій називаються Таксис. Напрямок руху визначають: наявність або відсутність кисню в середовищі - аеротаксис; поживні речовини - хемотаксис, освітленість - фототаксис, в'язкість середовища - віскозیتаксис і ін. Бактерії прагнуть переміститися в ту область, в якій умови для них найбільш сприятливі.

Найбільшу увагу дослідників притягнуто до вивчення хемотаксису, тобто руху в певному напрямку щодо джерела хімічної речовини - ефектора. Бактерії визначають наявність градієнта концентрації ефектора в просторі і в часі. Для кожного організму всі речовини можуть бути розмежовані на що не викликають таксисов і на ефектори - аттрактанти і репеленти. Аттрактанти - це речовини, які залучають бактерій, репеленти - речовини їх відлякують. Чутливість бактерій до градієнту дуже висока, бактерії іноді реагують на різницю концентрації речовини між полюсами клітини в $1/10^6$. Здатність бактерій реагувати на градієнти відповідних речовин визначається наявністю у бактерій специфічних хеморецепторів, наприклад, у *E.coli* їх не менше 30. Рецептори являють собою білки, які володіють специфічністю, тобто кожен рецептор здатний зв'язуватися тільки з певними, зазвичай родинними речовинами. Деякі рецептори, наприклад, рецептори галактози, мальтози і

рибози у у кишкової палички, є періплазматичними білками і одночасно як білки-переносники беруть участь в транспорті цих цукрів, хоча це і не є обов'язковим для рецепції.

Сигнал від деяких рецепторів передається на метілаццепторніе білки, що входять до складу цитоплазматичної мембрани. При цьому утворюється комплекс ефектора, рецептора і метілаццепторного білка. У кишкової палички біохімічно охарактеризовано три метілаццепторних білка і збільшення концентрації аттрактанта призводить до посилення їх метилування (тому що кожен білок може метилірованої в декількох ділянках). У метилировании бере участь метилтрансфераза, що переносить метильную групу з 3-аденозілметіонін на білок. У мутантів |, дефіцитних по метіоніну, при відсутності в середовищі метіоніну хемотаксис може бути порушений.

Метілаццепторний білок може деметильованих ферментом метілестеразой. Взаємодія процесів метилування і деметилирования визначає частоту перекидань клітини. Метілаццепторніе білки, таким чином, є елементом хімічної пам'яті бактерій і пов'язані з механізмами адаптації.

Для передачі сигналу від рецепторів до "мотору" джгутика потрібні продукти 23 генів.

Фімбрії і пілі бактерій

Фімбрії (від лат. *Fimbria* - бахрома). Фімбрії і пили за хімічним складом однорідні і складаються з білка піліна. Однак, вони розрізняються функціональними особливостями. Фімбрії були вперше виявлені у *Escherichia coli* K12.

Фімбрії - тонкі, довгі прямі нитки, діаметром 7 нм з отвором - 2,0-2,5 нм, довжиною до 1,5 мкм. Пілін має молекулярну масу 17 000 - 30000. Міцно пов'язані з клітиною. Стійкі до хімічних впливів - 6 М сечовини, 1 N NaOH, детергентів і трипсину. Руйнуються тільки при кип'ятінні в розчинах з низьким значенням рН, що викликає необоротну денатурацію білка. Без руйнування білка фімбрії можна відокремити за допомогою насиченого розчину гуанідіндігідрохлоріда.

Синтез фімбрій кодується хромосомними генами. Розташовуються в клітині перитрихально. Їх число може досягати від 10 до кількох тисяч.

Можуть зустрічатися як у бактерій, що мають джгутики, так і у нерухомих, позбавлених джгутиків, форм бактерій. Зазвичай в культурі присутні клітини що мають фімбрії, так і позбавлені їх. Клітини з фімбріями отримують переважно при вирощуванні культури в рідкому середовищі без аерації. При цьому вони утворюють плівку.

Функції:

- служать для з'єднання окремих клітин в зіркоподібні агрегати (*Agrobacterium*);
- сприяють прикріпленню клітин до епітелію або слизовій оболонці (*Escherichia coli* або *Neisseria gonorrhoeae*);
- можуть брати участь в транспорті метаболітів;
- надають клітині гідрофобність;
- знижують електрофоретична рухливість клітин;
- викликають аглютинацію еритроцитів (в присутності манози гемаглютинація порушується, оскільки фімбрії прикріплюються до поверхневих рецепторів, що містить манозу).

Мікробна адгезія: механізм

Потужним поштовхом до вивчення бактеріальної адгезії стало припущення, висловлене в 1977 р І. ОФЄК з Тель-Авівського університету, Д. Мірелманом з Вейцмановського інституту і Н. Шароном і складалося в тому, що прилипання бактерій опосередковано лектинами на поверхні бактеріальної клітини, зв'язуються з комплементарними цукрами на клітинах організму-господаря. Роботами багатьох лабораторій встановлено, що бактерії виробляють лектини, специфічні до певних вуглеводів, і що саме ці лектини обумовлюють здатність бактерій прилипати до тканин господаря - перший етап у розвитку інфекції.

Бактеріальним лектинам було присвячено багато робіт, найбільш добре вивчені фимбрії типу 1 у *E. coli*, які переважно зв'язуються з поверхневими глікопротеїнами, що містять манозу.

К. Сванборг-Еден і її колеги з Гетеборзького університету детально досліджували Р-фимбрії *E. coli*, які специфічно взаємодіють з фактором Р, які мають значення для групи крові, - широко поширеними гліколіпідом, що містить дисахарид галабіозу. Під керівництвом К.-А. Карлссона з Гетеборзького університету і В. Гінзбурга з Національних інститутів здоров'я була визначена специфічність лектинів широкого спектру інших видів і штамів бактерій.

Як показали ці дослідження, бактерії зв'язуються не тільки з кінцями поверхневих вуглеводів - іноді вони приєднуються до цукру, розташованим у внутрішній частині вуглеводної молекули. Притому різні бактерії можуть взаємодіяти з різними частинами одного і того ж вуглеводу. На клітинній поверхні може бути експонована лише якась частина молекули олігосахариду, і з цією клітиною будуть зв'язуватися бактерії тільки одного виду. Тому здатність клітинних поверхневих цукрів служити місцем прикріплення бактерії залежить не тільки від самого факту наявності цих цукрів, але також від їх доступності та характеру їх подання.

До теперішнього часу накопичилося достатньо багато вельми переконливих даних на користь висновку про те, що будь-яка інфекція починається зі зв'язування бактерії з поверхневими цукрами клітин господаря.

Наприклад, у тих, що рідко зустрічаються людей, в крові яких немає фактора Р, епітеліальні клітини сечових шляхів не пов'язують *E. coli*, що несуть Р-фимбрії. Такі індивіди значно менше схильні до інфекцій цієї бактерії в порівнянні з іншими людьми. Однак експериментально встановлено, що якщо їх епітеліальні клітини покрити синтетичним гліколіпідом, що містить галабіозу, то ці клітини набувають здатність зв'язуватися з *E. coli*.

Аналогічно епітеліальні клітини кишечника у поросят, стійких до збудника діареї *E. coli* K88, позбавлені великого вуглеводу, до якого

приєднується дана бактерія. Точна структура цього вуглеводу поки не встановлена. Відомо, що він є у сприйнятливих поросят, але не у дорослих свиней. Тому не дивно, що бактерії, які не здатні атакувати і заселяти кишечник дорослих свиней, легко викликають інфекцію у молодих тварин.

Розглянемо ще один цікавий приклад. Штам *E. coli* K99, подібно K88, викликає діарею у сільськогосподарських тварин, але не у людей. Однак він менш специфічний, ніж K88, вражаючи не тільки поросят, але також телят і ягнят. Бактерії K99 специфічно зв'язуються з незвичайним гліколіпідом, що містить N-гліколоїлнейрамінову кислоту (особливий тип сіалова кислоти), з'єднану з лактозилцерамідом. Цей гліколіпід, наявний у поросят, ягнят і телят, відсутній у дорослих свиней і людини, у яких замість нього є N-ацетілнейраміновою кислота - не зв'язується з бактеріями аналог сіалова кислоти. В даному випадку невелике розходження в надзвичайно схожих цукрів, а саме заміна ацетильної групи на гліколоїльную, легко розпізнається бактерією, визначаючи коло господарів збудника інфекції.

Розглянуті вище положення знайшли подальше підтвердження при дослідженні двох фімбріального лектинів *E. coli*, інфікувати сечові шляхи людини і собаки. Обидва лектини дізнаються галабіозу, але один зв'язується з епітеліальними клітинами сечових шляхів тільки людини, а інший - тільки собаки. Поверхневі гліколіпіди, що містять галабіозу, представлені у цих двох видів дещо по-різному, від чого і залежить специфічність штамів *E. coli* щодо господаря.

Пілі (англ. Pile - волосок) від фімбрій відрізняються числом в клітині і функціями. Не викликають аглютинацію еритроцитів, не сприяють утворенню плівки в рідкому середовищі. Число пілей в клітці - 1-2, а в анаеробних умовах і на багатому середовищі - до 5 пілей. У клітин з відірваними пілями швидко відростають нові, за 30 сек. Піля досягає нормальної довжини і повністю формується за 4-5 сек. Їх формування кодується плазмідними генами.

Статеві F-пили мають вигляд білкових трубочок довжиною 1-2 мкм, товщиною 8-35 нм. Молекулярна маса піліна 11 800 (до 40 000). У піліна

відсутні пролін, цистеїн, гістидин, аргінін, є багато кислих і гідрофобних амінокислот, ковалентно пов'язаних з двома фосфатними групами і залишком D-глюкоза. Пілін синтезується на рибосомах, пов'язаних з ЦПМ, і в цитоплазмі не виявляються. На поверхні ЦПМ здійснюється складання трубочок у пілі. Трубочки проходять через клітинну стінку і виступають назовні. Формуються F-пілі тільки у активно зростаючої клітини за 4-5- хв. І протягом такого ж періоду часу зберігаються на її поверхні, потім скидаються. Для освіти F-пілей необхідна активність, принаймні, 13 генів.

F-пілі легко дисоціюють в розчинах додецилсульфату натрію і руйнуються органічними розчинниками, що пов'язано з гідрофобністю піліна. Бактерії, що мають F-пілі, набувають нового антиген, у них змінюється поверхневий заряд. Бактерії з F-пілями мало рухливі, виявляють тенденцію до автоаглютінації, наприклад, при зниженні значення рН середовища.

Пілі, які визначаються факторів Col 1, утворені іншим пилина, на них не адсорбуються фаги, специфічні для F-пілей, але є специфічні для них фаги.

R-плазмід (фактори резистентності або R-фактори) містять гени, які роблять клітку стійкою, наприклад, до стрептоміцину, хлорамфеніколу, тетрацикліну, важким металами (ртуті, нікелю, кадмію, кобальту). R-плазміда несе дві групи генів: гени, відповідальні за передачу плазмід шляхом кон'югації (гени *tra*), - вони утворюють так званий "фактор переносу стійкості" (RTF, resistance transfer factor); 2) гени, що зумовлюють власне, резистентність (вони складають лише невелику частину плазмід).

Шипи - своєрідні структури, що являють собою порожнисті циліндри довжиною до 1-3 мкм і товщиною близько 65 нм, що розширюються біля основи. Виявлено на поверхні клітин деяких планктонних морських бактерій, близьких до псевдомонад. Шипи укріплені на поверхні клітинної стінки і досить легко можуть бути відірвані при механічних впливах, наприклад, при обробці бактерій в гомогенизаторе, але стійкі до хімічних впливів.

Шипи утворені білком спініном (лат. Spina - шип) з молекулярною масою 19 000. В умовах, сприятливих для їх формування, кожна клітина має близько

10 шипів. Це відповідає приблизно 2,5-105 молекулам спініна, тобто на його частку припадає в цьому випадку значна частина від загальної кількості білка бактерії. Клітини, забезпечені шипами, можуть мати полярний джгутик і пили, але частіше утворюються або джгутик і пили, або шипи. Клітини з шипами зазвичай нерухомі. На інтенсивність утворення шипів сильно впливають умови середовища - температура, величина рН, концентрація солей.

Молекули спініна укладені в щільну спіраль, субодиниці міцно пов'язані з ходу спіралі і між її витками. Шипи формуються в результаті самозборки білкових молекул.

Бактерії з шипами швидше осідають, ніж клітини без шипів, завдяки більшій їх щільності. При низьких значеннях рН такі клітини мають тенденцію до аглютинації, але при цьому не утворюють компактних мас і зберігають хороший контакт із середовищем. Є відомості про те, що бактерії з шипами неохоче з'їдаються безхребетними. Формування шипів безсумнівно, сприяє виживанню бактерій в природному середовищі, але основна їх функція, поки невідома.

Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) клітин прокаріотів

Цитоплазматична мембрана про- і еукаріот за будовою практично не відрізняється. Відмінності стосуються хімічного складу.

Цітоплазматична мембрана прокаріотів, що оточує клітку, складається з ліпідного бішару, білків і вуглеводів. ЦПМ клітин прокаріотів, також як і еукаріот, має рідкокристалічну структуру, тому що ліпіди і білки утворюють рухливу мозаїку. Товщина ЦПМ 7-8 нм.

Ліпіди зазвичай складають 15-50% від сухої маси мембрани. І представлені двома класами: фосфо (70-90%) і гліколіпідами. Гідрофобні кінці молекул фосфо і гліколипидов спрямовані всередину, а гідрофільні "головки" - назовні. Завдяки гідрофобним властивостям між залишками жирних кислот, що входять до складу ліпідів, і електростатичного взаємодії між гідрофільними "головками" мембрана стабілізується. Функціональної стабільності мембрани

сприяють також іони Mg^{2+} і Ca^{2+} , при цьому велике значення має іонна сила. У розчинах з низькою іонною силою відбувається відділення від мембрани слабо пов'язаних з нею білків, при цьому мембрана втрачає відповідні функції.

Всі ліпіди - похідні гліцерину, містять один або кілька залишків жирних кислот. Це в основному насичені або мононенасичені жирні кислоти з 16-18 вуглецевими атомами. Крім того, в ЦПМ прокариот зустрічаються циклопропанові жирні кислоти і розгалужені жирні кислоти з 15-17 вуглецевими атомами в ланцюзі, не характерні для еукаріот. Головна функція ліпідів - підтримка механічної стабільності мембрани і надання їй гідрофобних властивостей.

Мембрани архей володіють особливим складом ліпідів, хоча вони теж є похідними гліцерину. Гліколіпіди архей містять пари ідентичних ізопреноїди-розгалужених повністю насичених C_{20} фітанов або C_{40} біфітанов, з'єднаних ефірними зв'язками. Діефір є єдиним гліколіпідом у деяких вкрай галофільних бактерій. Тетраефіри присутні у Термофіли *Thermoplasma* і *Sulpholobus*. Ді-і тетраефіри містяться також в мембранах метаноутворюючих бактерій. Завдяки наявності цих сполук знижується плинність мембрани, що сприяє виживанню архей в екстремальних умовах (при підвищених температурах, солоності і т.п.).

Діефіри архей здатні утворювати біліпідні мембрани. Молекула тетраефіра має довжину близько 4,5-7,5 нм, тоді як товщина всієї мембрани близько 7 нм. Очевидно, що мембрана, утворена тетраефірами, являє собою ліпідний моношар. Крім того, при сколюванні заморожених бактерій такі мембрани не розщеплюються на дві пелюстки.

Білки становлять 50-75% від сухої маси мембрани. У мембрані білки можуть розташовуватися таким чином: пронизують мембрану наскрізь (порінов), вбудовані в ліпідний бішар (інтегральні), розташовані біля поверхні ліпідного бішару (периферичні). Приблизно 10% мембрани утворено міцно пов'язаними білково-ліпідними комплексами. Молекула будь-якого вбудованого в мембрану білка оточена 45-130 і більше ліпідними молекулами. Близько половини вільних ліпідів пов'язано з периферійними білками

мембрани. Білки і ліпіди в мембрані можуть бути пов'язані ковалентно за рахунок електростатичного і гідрофобного взаємодій. Ілковий склад ЦПМ більш різноманітний, ніж ліпідний. Так, в цитоплазматичній мембрані *E. coli* до 12 виявлено близько 120 різних білків.

Особливі різновиди мембран виявлені у вкрай галофільних бактерій, наприклад, бактерій роду *Halobacterium*. При приміщенні їх клітин в дистильовану воду їх оболонки розчиняються. З отриманого гомогенату можна виділити фракції червоних і пурпурних мембран. Червоні мембрани містять бактеріоруберіни - характерні для галобактерій червоні пігменти, фракція пурпурних мембран - білок бактеріородопсин, подібно родопсину очі тварин пов'язаний з ретиналь. Пурпурні мембрани являють собою спеціалізовані ділянки цитоплазматичної мембрани і можуть становити до 50% її поверхні. Вони утворюються при вирощуванні бактерій на світлі в анаеробних умовах. Молекули бактеріородопсина лежать в одній площині і зібрані по 3 в групи, які розташовані гексагонально в мембрані. Молекула білка в значній її частині представлена спіраллю і, пронизуючи мембрану наскрізь, виконує функцію протонного насоса, що працює за рахунок енергії світла, що здійснює синтез АТФ. Таким чином, пурпурні мембрани здійснюють особливий тип фотосинтезу і постачають клітину АТФ.

Білки - в основному ферменти, здійснюють різні функції. У мембрані містяться майже всі цитохромні білки клітини, до 90% активності дегідрогеназ, фосфатази, а також рибонуклеаза, ферменти фосфорилування. Однак, частина білків позбавлена ферментативної активності і підтримує структуру ЦПМ.

Функції мембран прокаріотів

- транспортна (бар'єрна) - з одного боку, пропускає речовини різної хімічної природи, необхідні клітці, з іншого, перешкоджає проникненню в клітину токсичних речовин і відіграє роль внутрішнього осмотичного бар'єру;

- властива енергетична і дихальна функції: вона володіє АТФ-азною активністю, в ній локалізовані окислювальні ферменти і ферменти транспорту електронів, вага фотосинтетичний апарат у пурпурних бактерій;
- бере участь в реплікації і наступному поділі хромосоми;
- властива біосинтетична активність. У ній здійснюється синтез мембранних ліпідів, компонентів клітинної стінки і капсули, а також синтез білка на рибосомах, пов'язаних з мембраною.

Внутрішньоклітинні мембранні структури

У бактеріальній клітині можуть існувати інтрацитоплазматичні мембрани, які мають назву мезосоми. Вони зберігають тісний зв'язок з зовнішньою мембраною і зустрічаються у фотосинтезуючих бактерій і ціанобактерій. Характер мезосом і їх кількість в клітинах однієї і тієї ж бактерії може сильно варіювати. Мезосоми розрізняються локалізацією в клітці і формою. Розрізняють ламеллярні (пластинчасті), везикулярні (бульбашки), тубулярні (трубчасті) мезосоми.

Порівняно багатьма спостереженням відповідає схема мембранного комплексу, наведена на рис. 19. Мезосомний комплекс обмежений мішкоподібною інвагинацією цитоплазматичної мембрани.

Мембрана мезосоми в свою чергу сполучена трубчастим виростом, тісно закрученим в клубок. Загальна довжина трубочок такого комплексу може досягати 10 мкм.

Мезосоми у фірмікутних бактерій виявляються частіше, ніж у грацілікутних

Функції мезосом:

- збільшення загальної робочої площі мембран, для інтенсифікації енергетичного метаболізму;
- у грампозитивних бактерій грають роль в секреторних процесах;
- у грамнегативних бактерій (азотфіксуючих, нитрифікуючих, метанокислюючих) забезпечують високу активність дихання і здатність метаболізувати розчинені в рідкому середовищі газоподібні сполуки.

Цитоплазма бактерій

Вміст клітини, оточене цитоплазматичної мембраною, називається цитоплазма. Цитоплазма прокаріотів включає цитозоль, немембранні компоненти, включення. У цитоплазмі розташований нуклеоїд. Фракція цитоплазми, що має однорідну консистенцію, називається цитозоль. Цитозоль - рідка колоїдна маса, складається на 70-80% з води і також містить набір розчинних нуклеїнових кислот (РНК), ферментних білків, продуктів і субстратів метаболізму. У клітинах прокаріотів не спостерігається перетікання цитоплазми. Крім того, цитоплазма не має внутрішніх білкових структур, на зразок тубулінових, складових цитоскелет еукаріотів. У цитоплазмі прокаріотів, на відміну від клітин еукаріот, немає вторинних мембранних структур (компартментов). У цитоплазмі знаходяться рибосоми і генетичний апарат. У деяких видів бактерій в цитоплазмі містяться включення.

Включення

Кілька невизначеним терміном включення зазвичай позначають такі структури в клітинах бактерій, які не є абсолютно необхідними для їх життєдіяльності і або присутні в клітинах або відсутні. Природа і функції включень можуть бути абсолютно різними. Їх можна поділити на включення, оточені білковою мембраною, і включення, позбавлені цієї мембрани.

До включень, оточених мембраною, відносять газові вакуолі, утворені скупченнями газових бульбашок. Газова бульбашка являє собою порожнистий циліндр довжиною 200-1000 нм і діаметром близько 75 нм, оточений білковою мембраною, товщиною 2 нм. Білкові молекули в мембрані укладені в щільну спіраль. Їх гідрофобні амінокислоти обращені всередину бульбашки, гідрофільні - назовні. Склад газу в бульбашках бактерій відповідає складу газів в навколишнє середовище, при перепадах тиску бульбашки легко спадаються і знову не можуть бути наповнені газом. Газові вакуолі зустрічаються у представників різних груп бактерій: грацілікутних, фірмікутних і архей.

Зазвичай це мешканці планктону, у яких газові вакуолі служать для зниження питомої маси організму.

У бактеріальній клітині можуть бути присутні включення запасних живильних речовин, які накопичуються при надлишку екзогенних субстратів, перш за все енергетичних, і використовуються кліткою при нестачі подібних речовин. Найчастіше це полісахариди (глікоген - тваринний крохмаль, гранулеза), жири (полі- β -гидроксималяна кислота - ПОМ), поліфосфати (волютин), сірка. Ці сполуки не розчинні у воді, тобто знаходяться в клітці в інертному формі.

Важливою функцією запасних поживних речовин є забезпечення, перш за все енергетичне, синтезу індукцйбельних ферментів в період адаптації клітин до середовища, в яких не має інших доступних клітинам джерел енергії крім субстратів цих ферментів.

Полі- β -гидроксималяна кислота (ПОМ) являє собою поліефір β -оксималяної кислоти, де мономери з'єднані складною ефірним зв'язком. Є превалюючим запасним речовиною у *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Zooglea*, *Bacillus*, фототрофних бактерій. У деяких випадках ПОМ може становити до 80% від маси клітини. Гранули ПОМ оточені білковою мембраною, товщина якої варіює у різних видів бактерій від 2 до 8 нм. При приміщенні клітин, що містять гранули ПОМ, в середу без джерела вуглецю і енергії вони починають енергійно використовувати ПЗЗ, який в цих умовах є єдиним субстратом ендогенного метаболізму.

Полісахаридні включення бактерій представляють собою глікоген і утворені D - глюкозою. Це гранулеза і глікоген. Накопичення полісахаридів для деяких бактерій може грати важливу екологічну роль. Наприклад, що мешкають в ротовій порожнині людини стрептококи в умовах, несприятливих для швидкого зростання, і при надлишку глюкози, близько 90% асимільованої глюкози трансформують в полісахарид, зміст якого при цьому може досягти 50% від маси клітини. Надалі запасений полісахарид може служити єдиним джерелом вуглецю та енергії для розвитку бактерії. Що мешкають в ротовій

порожнині людини бактерії, а також представники роду *Neisseria* можуть здійснювати синтез внутрішньоклітинного глюкана з сахарози за рахунок активності ферменту амілосахарази.

Волютин (метахроматін) накопичується в клітинах багатьох мікроорганізмів. Назва походить від видового назви великої спірили *Spirillum volutans*, для якої характерні численні великі включення, що складаються, правда не з волютина, а з ПОМ. У значних кількостях накопичується в клітинах *Corynebacterium diphtheriae* називають тільцями або зернами Бабеша-Ернста в честь вчених, вперше звернули на них увагу. Зерна волютина розчиняються в гарячій воді і слабкій лузі, нерозчинні в спирті, ефірі, хлороформі. Різні штами одного і того ж виду істотно розрізняються за здатністю до накопичення волютина, один штам може накопичувати 2-3%, інший - до 9-12% від маси клітини. Залежно від організму і умов культури різної може бути ступінь полімеризації поліфосфатів волютиновими гранул.

Включення сірки присутні в клітинах бактерій, що окислюють сірководень, наприклад в клітинах *Beggiatoa*. У світловому мікроскопі вони мають вигляд округлих крапельок, розположені в цитоплазмі, проте вивчення ультратонких зрізів показало, що в дійсності крапельки розташовані в інвагінацію цитоплазматичної мембрани, тобто в періплазме.

Магнітосоми присутні в клітинах бактерій, що володіють магнетотаксис, тобто здатних плисти вздовж ліній магнітного поля. Магнітосоми є оточені мембраною частки Fe_3O_4 . У різних видів бактерій форма, число і характер розподіл магнітосом в клітці можуть відрізнятися.

Рибосоми прокаріотів

Рибосоми - не мембранні компоненти клітини. Являють собою Мультиферментний комплекс, що складається з білків і РНК.

Кожна рибосома складається з двох субодиниць - великої і малої, які в клітці, а то й відбувається синтезу білка, знаходяться в дисоційованому стані. При синтезі білка велика і мала субодиниці рибосом збираються в єдине ціле.

Бактеріальна клітина містить від 1,5 до 50 тисяч рибосом.

Коефіцієнт седиментації (швидкість осадження при центрифугуванні) рибосом прокаріотів становить 70 S (одиниць Сведберга), при цьому малої субодиниці - 30 S, великий - 50 S. Розміри рибосом: довжина - 29 нм, ширина - 21 нм. Молекулярна маса цілої рибосоми рівна 2 800 000, при цьому: малої субодиниці - 1 000 000, великий - 1 800 000. Форма малих субодиниць рибосом архей відрізняється від справжніх бактерій наявністю носика (або дзьоба) і відсутністю лопатей, що спостерігаються у рибосом еукаріот.

До складу бактеріальної хромосоми входить 3 молекули РНК, при цьому до складу великої субодиниці - 2 молекули (коефіцієнт седиментації однієї 5 S, містить 130 нуклеотидів; коефіцієнт седиментації інший - 23 S, містить 3000 нуклеотидів); до складу малої субодиниці - 1 молекула РНК, яка містить 1500 нуклеотидів і коефіцієнт седиментації дорівнює 16 S.

Визначення послідовності нуклеотидів в рибосомальній 16S-РНК використовується в бактеріологічній практиці в якості філогенетических маркерів. Гени, що кодують 16SpРНК, високо консервативні, і рРНК дуже повільно змінюються в процесі еволюції. Ці інформаційні молекули розглядаються як молекулярних хронометрів, що відображають походження і розвиток мікроорганізмів. Для визначення послідовності 16SpРНК її розрізають за допомогою ферменту рибонуклеази T1 на ділянки різної довжини, які потім аналізують. Створюють олігосахарідним карту, яка зазвичай складається з 50-60 олігонуклеотидів, що включають сумарно 500-600 нуклеотидів. Потім розраховують коефіцієнт подібності SAB, що характеризує подібність 16SpРНК у порівнюваних бактерій. Коефіцієнт отримують шляхом ділення суми нуклеотидних залишків, які перебувають в загальних для двох організмів олігонуклеотидів, на суму нуклеотидних залишків, що містяться в усіх отриманих у двох порівнюваних організмів олігонуклеотидів. Використовуючи значення SAB, будують для досліджуваних об'єктів Дендрограма - граф. В даний час послідовності 16S (і 18S у еукаріот) рРНК вивчені більш ніж у 200

організмів, що належать до різних царств живих істот. Це призвело до відкриття третьої групи архей (клас *Archeobacteria*).

До складу бактеріальної рибосоми входить приблизно 55 молекул білків (до складу великої - 34, малої - 21 білок). Білки позначаються відповідно буквами S - для малої і L - для великої субодиниці. Кожен білок унікальний, тобто представлений однією молекулою. Велика частина білкою має основний характер, для багатьох встановлена первинна структура.

Функції рибосом - синтез білка. Синтез білка проходить на матричній РНК в напрямку від 5' до 3' кінця. На матричну РНК сідають рибосоми, до них подаються амінокислоти - доставляються тРНК. На одній мРНК зазвичай знаходиться кілька рибосом, розташованих на відстані 80 нуклеотидів один від одного. Така складна структура називається полісома. В цілому, процес синтезу білка в прокариотичній клітці не відрізняється від такого еукаріотичної. Новосинтезовані білки стають активними відразу після відділення від рибосоми. У процесі синтезу в поліпептид включається близько 20 амінокислот в 1 секунду, так що повний синтез білка середнього розміру займає зазвичай 20-60 секунд.

Архебактерії відрізняються від еубактерій особливостями будови 16S рРНК, формою малих субодиниць (мається носик або дзьоб і відсутні лопаті, що спостерігаються у рибосом еукаріот). Склад рибосомних білків дещо інший, ніж у еубактерій. Унікально будова ДНК-залежних РНК-полімерази, що відрізняються по субодиничному складу (у архей входить 9-11 субодиниць, у еубактерій - 4-8 субодиниць) і чутливості до антибіотиків від РНК-полімерази справжніх бактерій.

Генетичний апарат прокаріотів

Генетичний апарат прокаріотів представлений ковалентно замкнутою кільцевою (показано за допомогою радіографічного методу) молекулою ДНК (нуклеоїд) і короткими, також кільцевими, ділянками ДНК (плазмід).

Нуклеоїд - це гігантська молекула ДНК з молекулярною масою $1-3 \times 10^9$ Д. Величина генома бактерій - $1-8 \times 10^6$ пар основ (у грибів роду *Aspergillus* - 4×10^6 , у людини - $2,9 \times 10^9$). Зміст пар основ в ДНК (гуаніну і цитозину) постійно для кожного виду і є важливою діагностичною ознакою, що використовується в ідентифікації бактерій. Зміст ГЦ пар в ДНК бактерій становить 23-78 моль%. Довжина ДНК залежить від виду бактерій і становить у мікоплазм 0,25 мм, у еубактерій - 1 мм, ціанобактерій - 3 мм.

Хромосоми бактерій - високоупорядочені компактні структури двох типів: пов'язані з елементами оболонки і вільні, вони мають відповідно константи седиментації 3200-7000 S і 1600-2000S .. ДНК в них знаходиться в суперспіралізованому стані і утворює 20-140 петель, з'єднаних з щільної центральної областю, що складається з РНК, яка відповідальна за підтримку компактної форми. У згорнутих хромосомах виявляється білок, в основному це РНК-полімераза, у деяких ціанобактерій і мікроплазми (*Thermoplasma acidophilum*) - гістоноподібні білки. У переважної більшості прокариот гістони не виявлені.

Згідно з однією з моделей структури активного нуклеоїда *in vivo*, яка враховує тісний зв'язок у бактерій процесів трансляції та транскрипції, в центрі нуклеоїда розташовані суперспіралізовані петлі неактивної ДНК, а по його периферії - деспіралізовані петлі активної ДНК, що беруть участь в синтезі мРНК. Завдяки впорядкованій організації бактеріальної хромосоми можлива реплікація ДНК, яка здійснюється напівконсервативним шляхом і в нормі завжди передують поділу клітини. На відміну від еукаріот, у прокариотів не спостерігається істотних змін в стані нуклеоїда в процесі клітинного циклу, за винятком його ущільнення перед спороутворенням. У деяких бактерій - внутрішньоклітинних паразитів і симбіонтів (роду *Blattabacterium* - симбіонти тарганів) - виявлений інший тип локалізації нуклеоїда у вигляді безлічі дрібних ДНК-мських ділянок, деталі організації яких вивчаються. У бактеріальній клітині відбувається безперервний синтез ДНК і приблизно 1-3% сухої маси клітини припадає на ДНК.

Молекула ДНК несе безліч негативних зарядів завдяки наявності іонізованих гідроксильних груп фосфатних залишків. Негативні заряди молекули ДНК прокаріот нейтралізуються поліамінами (сперміном і спермідін), а також іонами магнію Mg^{2+} .

Хромосома завжди пов'язана з мембраною (число точок зв'язку моржет досягати 20 і більше) специфічними мембранними білками або через рибосоми, пов'язані з мембраною.

У клітинах прокаріотів може бути кілька нуклеоидів і кілька копій хромосоми (у *Bacillus subtilis* - 2-9 хромосом в декількох нуклеоида, у *Azotobacter vinelandii* - близько 40 хромосом в одному нуклеоиде).

Число геномів залежить від умов культивування. Так, число геномів *E. coli* в періодичній культурі збільшується з 1 до 2-4, у азотобактера - до 20-25. Від впливу різних хімічних речовин (наприклад, антибіотиків) число геномів також збільшується.

Розподіл більшості клітин прокаріотів - бінарне, мітоз і мейоз відсутні.

З розвитком методів досліджень на молекулярному рівні стало можливим вивчення первинної структури нуклеїнових кислот і белков. Сравнивають молярне зміст суми гуаніну і цитозину (ГЦ) у відсотках від загальної кількості підстав ДНК у різних бактерій. Молярне зміст ГЦ-підстав у еубактерій коливається від 23 до 78%, у вищих рослин і тварин - 35-45%. У бактерій одного сімейства або роду, як правило, вони мають близькі значення. Завдяки цим дослідженням виникла ідея створення геносистематики бактерій. Однак не завжди є подібними за змістом пар основ в ДНК (гуаніну і цитозину) постійно для кожного виду і є важливою діагностичною ознакою, що використовується в ідентифікації бактерій. Зміст ГЦ пар в ДНК бактерій становить 23-78 моль%. Зміст ГЦ свідчить про спорідненість організмів (наприклад, *Pseudomonas aeruginosa* і *Mycobacterium phlei* містять по 66% ГЦ). Для більш точного визначення генетичної схожості використовують метод гібридизації їх ДНК, визначаючи ступінь їх гомології. Для цього здійснюють реасоціації фрагментів одноонітевих ДНК, виділених від різних видів

бактерій, і за кількістю утворилася двухцепочечной гетеродуплексной ДНК судять про подібність двох бактерій. Недолік методів класифікації бактерій за подібністю їх геномів полягає в оцінці їх сумарної генетичної інформації. Всі ці методи доповнюють один одного і можуть спільно використовуватися в класифікації бактерій.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Назвіть приблизний хімічний склад клітини прокаріот
2. Вкажіть особливості будови клітинної стінки грампозитивного типу
3. Вкажіть особливості будови клітинної стінки грамнегативного типу
4. Опишіть хімічний склад та особливості побудови макромолекулярного комплексу пектидоглікан.
- 5 Опишіть хімічний склад та особливості побудови макромолекулярного комплексу ліпополісахарид
6. Вкажіть особливості будови та функціонування джгутиків бактерій
7. Опишіть механізм роботи джгутика
8. Вкажіть особливості будови та функціонування фімбрій та пілій
9. Опишіть типи фімбрій у бактерій
- 10 Опишіть інші поверхневі структури прокаріот (капсули, слизовий шар, чохли, шипи)
11. Опишіть особливості мембран прокаріотів.
12. Вкажіть особливості будови та функціонування зовнішніх покривів архей.
14. Вкажіть особливості будови та функціонування цитоплазми у прокаріотів.
15. Опишіть цитоплазматичні включення. Розкрийте особливості їх хімічного складу та значення.
16. Опишіть будову бактеріальних спор та процесу спороутворення у бактерій.
17. Опишіть особливості побудови бактеріальних рибосом та синтезу білка.
18. Опишіть особливості побудови та функціонування генетичного апарату у прокаріот

ЗМІСТ

ВСТУП	3
Хімічний склад і фізико-хімічні властивості бактеріальної клітини	5
Розмір клітин бактерій	9
Будова клітини бактерій	11
Поверхневий апарат	11
Будова клітинної стінки грампозитивних бактерій	11
Будова клітинної стінки грамнегативних бактерій	15
Будова клітинної стінки архей	21
Бактерії, позбавлені клітинної стінки	22
Капсули, слизові шари, чохли бактерій	27
Джгутики бактерій	30
Механізм роботи джгутика	38
Фімбрії і пили бактерій	40
Мікробна адгезія: механізм	41
Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) клітин прокаріотів	45
Функції мембран прокаріотів	47
Внутрішньоклітинні мембранні структури	48
Цитоплазма бактерій	49
Включення	49
Рибосоми прокаріотів	51
Генетичний апарат прокаріотів	53
Контрольні питання	57

Навчальне видання

Єлинська Наталія Олексійовна

Гудзенко Тетяна Василівна

Галкін Микола Борисович

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ КЛІТИНИ

ЧАСТИНА 1 ПРОКАРІОТИ

Курс лекцій

В авторській редакції

Підп. до друку 20.12.2018. Формат 60х84/16.

Ум.-друк. арк.3,49. Тираж 20 пр.

Зам. № 1820.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова

Україна, 65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12

Тел.: (048) 723 28 39. E-mail: druk@onu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р. Р 51