

Микробиология Александр Иванович годовая курс

Экзамен в мае; зачет по практикумам. Отработок нет. лекций. Проверки на лекциях; перед каждым практикумом - опрос. Возможность досроча, досроч легче, если его не сдать, идеальна экзамен. Возможность автомата.

Учебники: Нетрусов, Котова "Микробиология. Университетский курс" 2002
Основной учебник

Для практикума: Нетрусов (ред.) "Практикум по микробиологии" 2005г. кое-что надо подправить.

Полезная книга: Нетрусов (ред.) Экология микроорганизмов, 2013г. есть некоторые опечатки.

Для продвинутых: Древе и др. (ред.) "Современная микробиология" 2 тома 2005 года;

Брюханов; Рыбак; Нетрусов "Молекулярная микробиология". 2012

Шлегель "История микробиологии" 2002.

На ночь: Поль де Ключи "Охотники за микробами" 1987
Микробиология.



• Почвенная → Общая микробиология
• Водная → Геологическая
участие микроорганизмов в глобальных циклах элементов.

- Атмосферная бактерии в воздухе
- Ветеринарная
- Космическая вз-е г-ка и бактерий в космосе
- Палеонтологическая окаменевшие организмы
- Сельскохозяйственная
- Астробиология перенос организмов в космос
- Медицинская
- Промышленная
- Санитарная мониторинг окрут. среды на содержание патогенов.

Ван Левенгук увидел впервые микроорганизмы.
70-е годы 19 века: Луи Пастер: доказал, что жизнь может быть в бескислородных условиях; разработал вакцину против бешенства.

Роберт Кох: открытие возбудителя туберкулеза; разработал дифференцирующую окраску микроорганизмов в тканях.

20 век: Экология микроорганизмов.
С.Н. Виноградский; Бейринг
Открытие хемосинтеза.

1929г - открытие антибиотиков (А. Флеминг) - пенициллин
Работал с золотистым стафилококком, кр-ый приводил к смерти раненых и ослабленных (Staphylococcus aureus)
Гриб из рода Penicillium выделяет мощный антибиотик, подавляет рост грамп+ бактерий.
Открытие пенициллина - в 1939 году в США
Penicillium notatum - у Флеминга. 1-2 мкг (ед)/мл
Penicillium chrysogenum - 7 ед/мл
Современные штаммы - 70 000 ед/мл (путем мутагенеза и селекции).

Доза для укола - 100 000 ед/мл
Ермольева - отечественный пенициллин
Пенициллин: сильный антибиотик; неаллерген; но к нему много устойчивых штаммов.
от 5 до 10 лет - период ш-у повл. невелико антибиотика и повл. устойч. к нему штаммы

Пенициллин действует на синтез пептидогликана, мурамина.
Зелман Вахман - открыл антибиотический (антибактериальный), образующий много разных антибиотиков. Насекают пачку, еще воздух и воду.

средних- стрептомицеты (стрептобактерии) - из них - стрептомицины (подавл. грам- и частично грам+).

Очень малые антибиотики токсичны для человека. лишь небольшое кол-во антибиотиков используются.

Устойчивость к антибиотикам часто определяется введением антибиотиков из клеток транслокациями (вводное использование). Это энергозатратный процесс. Он контролируется мастером генов, к-рые легко передаются от организма и организму, так устойчивость распространяется, причем к ряду антибиотиков. Микроорганизмы в основном поражают ослабленных людей.

Антибиотики стратегического резерва применяются в самых крайних случаях, и все выделения такого больного обрабатываются, чтобы антибиотик не вызвал в природе устойчивых штаммов. Применение антибиотиков в сельском хозяйстве не ограничивается и не контролируется, хотя 90% антибиотиков применяются здесь. В основном птицы получают антибиотик с кормом. Но и остальные тоже. И тут же появляются устойчивые к ним штаммы, и с ними ничего уже нельзя сделать.

Альтернатива: пробиотики - живые организмы, к-рые входят в организм с пищей, и они защищают организм от болезнетворных бактерий. Мощный способ защиты от инфекций и расстройств

За открытие и разработку способа очистки пенициллина Флори и Чейн; а за открытие стрептомицина и способов его очистки Зейман Вагшам получили Нобелевские премии.

Сейчас: в ферментерах выращивают бактерии-продуценты белков, гормонов, витаминов, антибиотиков и пр.

А так же получение топливного этанола; метанола; водорода на основе целлюлозы; биол. отходов; пеницил. сырья и пр. при помощи бактерий.

Иштиняк: Карл Вёз: поиск молекул, по последовательности которых можно сравнивать разные организмы и строить филогенетические деревья. Сначала брали цитохром с, но часто его последовательности совпадали у некоторых организмов.

Карл Вёз взял рибосому. Рибосомальные РНК: 5S и 23S (или 28S) на большой; 16S (17S) на малой субъединице. Их можно сравнивать, и они очень консервативны.

5S - консервативно слишком

16S - середина варибельна, края консервативны. Срединку можно использовать. Она используется как универсальная филогенетическая молекула.

23S (28S) - слишком большая молекула для филогенет. деревьев. Если организм на 97% совпадает по 16S с другим, то это принадлежность к виду. Если меньше 97% - то это уже новый вид.

Бактериологический таксономический код: определяет, как должны называться организмы и куда их можно отнести.

Домен - самый высокий таксономический ранг
все живые организмы у Веза распались на 3 домена: Археи (Archaea), бактерии (Bacteria) и эукариоты (Eukarya)

Филум (филогенетическая ветвь)

класс

порядок

семейство

род

вид

Escherichia coli:

Домен: Bacteria

Филум: протобактерии

класс: γ -протобактерии

порядок: Enterobacteriales

семейство: Enterobacteriaceae

род: *Escherichia*

вид: *E. coli*

подвид: серовар; генотип

подвиды (патогенные, непатогенные)

Молочнокислые решены на порядок по способу сбраживания.

Серовар - определение по сыворотке;

Геновар - определение по шивенсу последоват.

Операционные таксономические единицы: привязаны к шивенсу 16 S рнк:

Вид: с типовым штаммом совпадения 97%.

Род: от 94 до 97%

Семейство: от 92%

Порядок: от 90%

Класс: от 85%

Филум: от 80%

Архей: 3 филума:

В последнее время найдено еще
Nanoarchaeota.

• Euryarchaeota (много)

• Crenarchaeota (~100)

• Korarchaeota (~2)

Бактерии от архей отличаются:

• Липидный состав мембран

• Метаболизм

• Клеточная стенка

Отто Kandler: замечено лишь
одно различие, обнаружил
резкое различие липидов архей и
бактерий.

Хлоропласты и мтх - по 16S рнк относятся к баци.

Euryarchaeota: мезофильные; термоархей (11% от 30%)

Crenarchaeota: бактерии-экстремофилы.

Korarchaeota ("юные архей" - недавно открытая ветвь

Nanoarchaeota (совсем недавно открыты, 1 представитель в чистой культуре).

Euryarchaeota: метаногеи, строго анаэробные, разлагают органич. в-ва, выделяют метан и CO_2 ("биогаз"), живут в рубце жвачных млекопитающих (водородиспользующие).

Метаногеи используют водород, ацетат, этанол, CO_2 . Поэтому существуют вместе с другими типами организмов, чтобы иметь средства к существованию.

• Термоархей: высокая соленость (соленые озера). Ярко окрашенные. Имеют бактериородопсин-светособирающий белок; трансмембр. поперечные, светозависимая протонная помпа (вытесняет протон в периплазматическое пространство). Их несколько типов, некоторые реагируют на освещенность и задают бактерии направление движения. Родопсин не играет основную роль в энергетическом метаболизме. Это аэробные, хеморганотрофные организмы, и энергию получают в процессе дыхания.

Их применяют в качестве стимуляторов или ингибиторов отбегота КРС: или кормят КРС.

Crenarchaeota: Растут в экстремальных местах обитания:

- высокотемпературные выбросы газов (и на глубинах тоже)

- Разломы земной коры

- вулканические озера

Они могут быть и авто-, и гетеротрофами.

• Окисляют H_2S или HS^-

• Растут при высоких t° (90° и выше) до 121°С

• выделяют H_2SO_4 , поэтому устойчивы к низким рН. (некоторые растут при рН=0,6).

• Nanoarchaeota - очень маленькие

Korarchaeota - выделено 2 представителя.

митохондрии и хлоропласты тоже сюда относятся.

Synechococcus - цианобактерия, очень близкая к хлоропластам. Цианобактерии - первые с оксигенным фотосинтезом. До этого был только анаэробный фотосинтез.

Ветви:

- Thermus } термофилы; принадлежат к корню эукариотич.
- Thermotoga } древо, что означает, что земные штаммы были
- Aquifex } горячая, и теплые организмы сначала были в горячих условиях.
- Thermococcus } термофилы, но архей (Euryarchaeota).
- Helamtrix

Универсальный общий предок: в основании ветви бактерии. Археи и эукариоты сначала были одной ветвью, потом разделились, а бактерии отделились первыми.

Поэтому у архей и эукариот сходные св-ва:

- совпадают чувств. к антибиотикам
- сходный липидный состав

У Эукариот:

- Zea mays } стоит гораздо ближе друг к другу, чем разные ветви бактерий и архей.
- Homo sapiens
- Saccharomyces

У прокариот расхождение между родами, видами и пр. гораздо больше, чем у эукариот.

Различия прокариотич. организмов.

- Структура клеточной стенки

Пептидогликан - гетерополимер, обволакивающий клетку. (мурейн) грамм - до 40 слоев пептидогликана, их трудно разрушить

грам - 1 слой пептидогликана, в периплазматич. пространстве.

Археи: пептидогликана нет, клеточная стенка либо "неправильная", либо ее нет.

- Псевдомурейн
- Белковые субъединицы, покрывающие внешнюю сторону клетки, образуют упорядоченные слои разных конфигураций - "неправильная" клет. стенка: ромбы, многоугольники, шары и другие конфигурации белковых субъединиц. Эти слои белка - S-слои. Клетка затрачивает на них до 30% своих белков.

• Ригидная, усиленная улиткообразная мембрана.

- Липиды

• Бактерии - типичная бислойная мембрана с гидрофильными

• Археи - между липидными ветвями встраиваются гидрофильными

гетероциклы, или те хвосты липидов заходят друг на друга - гидрофильными

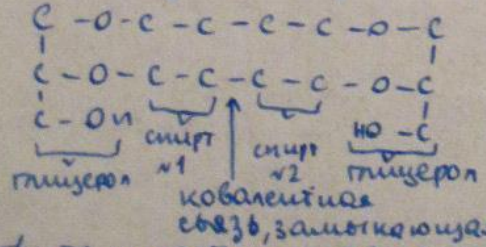


принадлежит к экстремальным условиям.

Сами липиды:

• Бактерии: сложной эфир молекулы глицерола и жирных к-т (эукариот тоже)

• Археи: простой эфир глицерола и алифатического спирта. Концы спиртов формируют C-C связи:

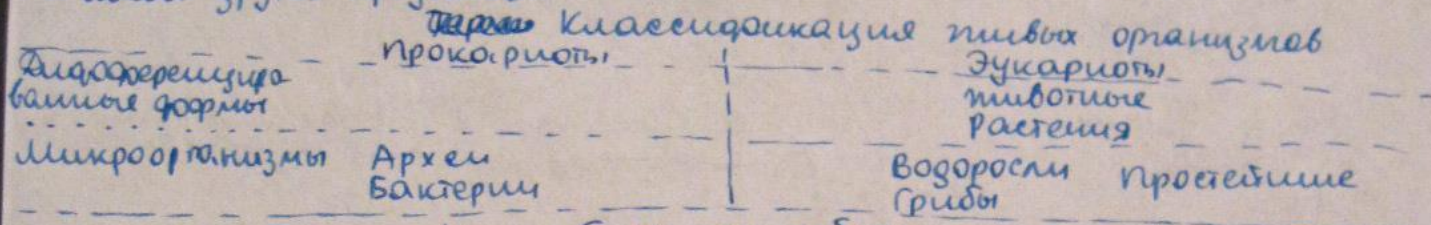


- Чувствительность к токсинам

• Clostridium botulinum - дифтерийная бактерия, образует много полисахаридов в плотке человека, и полисахариды способны закупорить плотку.

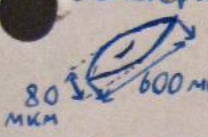
В рибосомах - фактор элонгации 2. У архей и эукариот он чувств. к дифтерийному токсину; у бактерий - нет.

- Клиндамицин и хлорамфеникол - антибиотики.
- Археи - не чувств.; Эукариоты - не чувств.; Бактерии - чувств.
- Анизомицин - еще антибиотик.
- Археи - чувств.; Бактерии - не чувств.
- ДНК-зависимая РНК-полимераза у бактерий чувствительна к антибиотику-рифампицину.
- у архей - нет, у эукариот - нет.
- по строению АТФаз
- Археи и Эукариоты имеют одни АТФазы, бактерии - другие.
- и много других признаков.



Микробное разнообразие.

100 микрон (0,1 мм) - предел разрешения человеческого глаза.



Бактерия из кишечника рыбы - хирурга: *Erylorisium Fishelsonii*

из центральной цепи при делении выходит несколько дочерних; быстро движется (2,4 см/сек).

Мембрана клетки высокоскладчатая, чтобы увеличить площадь поверхности. Много рибосом, большая ядерная область.

Некоторые спиросеты - в длину 500 мкм.

Еще организм: сфера с $D = 750$ мкм; формируют цепочки. В зоне апвеллинга, окисляют H_2S , откладывают S в крупную вакуолю внутри себя, и клетка отражает из-за этого свет.

Thiomargarita namibiensis. Могут образовывать большую биомассу.

$V, \text{мкм}^3$	размер, мкм	название
$200 \cdot 10^6$	750	<i>Thiomargarita namibiensis</i>
$3 \cdot 10^6$	600×80	<i>Erylorisium Fishelsonii</i>
$1 \cdot 10^6$	160×50	<i>Bezzia sp.</i>
1-2	$1-2 \times 0,5$	<i>E. Coli</i>

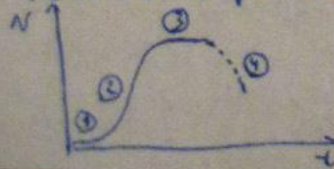
Наноэукариот эукариотический организм, очень маленький. $D = 1,0-2,0$ мкм - эукариотический

Рост микроорганизмов.

Типы питания микроорганизмов:

Источники E	Донор e	Источники C	Название	РАСТЕНИЯ
свет	неорг. в-во (H_2O)	неорг. в-во (CO_2)	Фотолитоавтотрофы	некоторые микроорганизмы
свет	орг. в-во	неорг. в-во	фотоорганогетеротрофы	только микроорганизмы
свет	неорг. в-во	орг. в-во	фотоорганогетеротрофы	
свет	орг. в-во	орг. в-во	хемотрофотрофы	
хим. в-во	неорг. в-во	неорг. в-во	хемотрофотрофы	
хим. в-во	орг. в-во	неорг. в-во	хемотрофотрофы	только микроорганизмы
хим. в-во	неорг. в-во	орг. в-во	хемотрофотрофы	
хим. в-во	орг. в-во	орг. в-во	хемотрофотрофы	

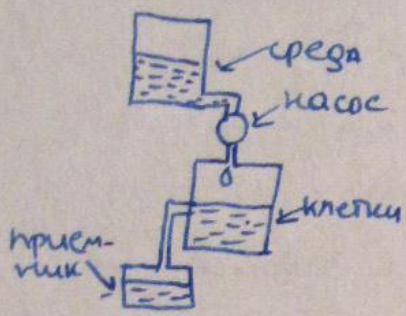
Рост микроорганизмов: по кривой роста.



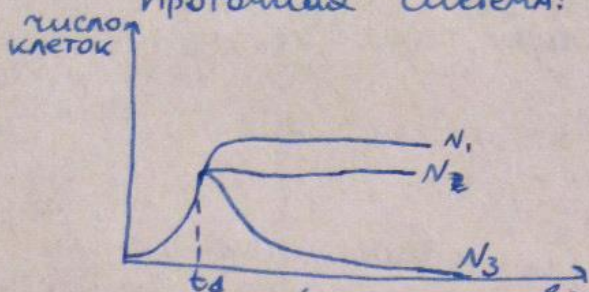
- 1- лаг-фаза
- 2- фаза экспоненциального роста
- 3- стационарная фаза
- 4- фаза старения.

В лог-фазе деления нет, но есть биохим. активность. Экспоненциальная фаза - максимальная скорость размножения клеток. Очень узкий диапазон времени. Зависит от окруж. среды. Стационарная фаза - динамич. равн-е м/у живыми и мертвыми клетками.

Фаза отмирания - культура гибнет. Как оставить культуру в одной фазе роста? Системы для непрерывного культивирования:

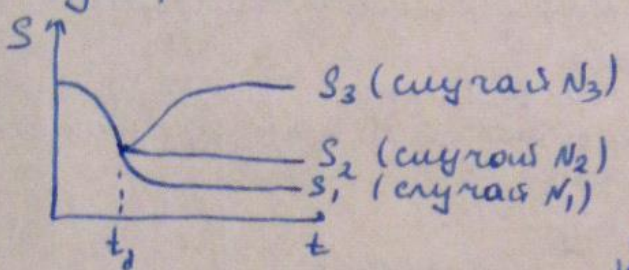


С какой скоростью подаем среду - с такой вымывается содержимое в приемник. Среда все время обновляется. Проточная система:



t_d - время вымывания потока.

- N_2 - стационарное состояние (идеальная скорость потока - равна скорости роста клеток)
- Если скорость потока больше скорости роста, то культура вымывается (N_3)
- N_1 : если скорость роста ненамного больше скорости потока.



Хемостатное культивир-е - культуры ограничены по субстрату, контроль и регуляция идет по субстрату.

Контроль по оптической плотности культуры: подача среды изменяется в зависимости от оптич. плотности культуры. Более тонкая система.

Недостаток: клетки могут оседать на стенках и на датчике, что вносит помехи.

Контроль за скоростью роста (μ - $\mu_{ва}$, подавляем, рост)

- В-ва, повреждающие поверхность клет. структур (н-р, цитопл. мемб.)
 - 70% -ный этанол
 - На споры не действует
 - Крезолы, фенолы, ПАВы
- Ферментные яды
 - Ионы тит. Ме, свлезыв. SH-группы ферментов, выводе их из строя.
 - CO } блокир-е передачи е с цитохромоксидазы на O_2 .
 - CN }
 - Оксиацетоил - разобн.дыхание и окисл. фосфо.
 - Арсенаты - подавл. субстр. фосфорилир-е.
 - Хлорацетат - блокирует ЦТК
- Аналоги норм. метаболитов, конкурируюц. за активные центры ферментов.
 - Сульфрамиды
 - Фальшивая к-та - в составе ферментов переходят S₁-группы.
 - Микроорганизмы могут синтезировать фолаты из парааминобензойной к-ты. Ее аналог - сульфрамид, к-рый прекращает синтез фолатов.
- Специфич. нарушают синтез полимеров (ДНК, РНК, белки)
 - (антибиотики)
 - Стрептомицин } дейст. на 70S-рибос.
 - Тетрациклин
 - Хлорамфеникол
 - неомицин
 - рифамицин - синтез НК
 - пенициллин - синтез пептидогликанов.

Автотрофия

В-ва, вытягивающие воду и другие в-ва из микроорганизмов.
 NaCl коша и другие
 Сахароза коша и другие
 Микроорганизмы имеют транспортные системы, выносящие все изобилие наружу, (многочисленная лекарственная устойчивость).

Физиология микроорганизмов. Действие химических факторов.

1. Соль.
 - Галотолерантные - не требуют высоких конц-ий NaCl (0-2M)
 - Н-р, стрептококки.
 - Слабые галофилы 0,2-0,5 M светящиеся бактерии Vibrio, Велеская
 - Средние галофилы 0,5-2,5 M Морские организмы
 - Экстремальные галофилы 2,5-5,2 M - галоархеи.

5,2 M - насыщ. конц-я NaCl при н.у.
 Halobacterium salinarum - архей. В их клетках конц-я ионов сравнялись со средой.

	Среда	клетка
Na ⁺	3,3	98
K ⁺	0,05	5,3
Mg ²⁺	0,13	0,12
2. pH.	3,3	3,3

Выбор: клетки активно выкачивают Na⁺ и выкачивают K⁺ (сметена антипорт).
 При этом тратится энергия.
 Это и есть их механизмы устойчивости
 Возможно, Na⁺ более чем K⁺, воздейству-
 ет на ферменты в клетке.

Helicobacter pylori - причина язвы желудка. Способен обитать в желу-
 дке, даже у здоровых, но у них он язвы не вызывает, может выз-
 вать рак поджелуд. железы. pH = 1-2 в желудке. Helicobacter уло-
 дит в стенку желудка и выбрасывает NH₄⁺, повышая pH.
 E. coli в среде на снижение pH синтезируют шапероны, приходя-
 щие белки ее в норму. Клетка активно борется с изменением pH.

3. Активность воды

Давление паров воды над р-ром $0 \leq a_w \leq 1,0$
 $a_w = \frac{\text{Давление паров над чистой водой}}{\text{Давление паров над р-ром}}$ 0 - абсолют. сухость

Микроорганизмы могут существовать 1,0 - абсолют. влажность при разных осмотических условиях.

Грамм + : тургорное давление до 20 атм

В-во	a_w	Микроорганизмы
вода	1,000	Salobacter, Spirillum
Кровь	0,995	Streptococcus, E. coli
морская вода	0,980	Pseudomonas, Vibrio
хлеб	0,950	Грамм + палочки
ветчина; кленовый сироп	0,900	Грамм + кокки
салати	0,850	Saccharomyces rouxi
фруктовый ржеч	0,800	Penicillium
Соленая рыба, соленье озера	0,750	Halobacterium, Halococcus

Кукурузные хлопья, кон-феты, сухофрукты
 ксерофильные грибы: Xeromyces bisporus и пр.

В-ва, удерживающие воду внутри клетки - осмолиты, или собесе-
 тельные растворители. Такие в-ва синтезируются у многих органи-
 змов.

Бактерии - не фототрофы $a_w \text{ min } 0,90$ глицин-бетаин, пролин (грам+),
 глутамат (грам-).

Глицин-бетаин обнаружен в свекле (Beta): свекла отклады-
 вает сахарозу, и осмотич. давление возрастает. Чтобы удержать
 воду, синтезируется глицин-бетаин.

• Пресноводные цианобакт.	0,98	Сахароза, трегалоза
• Морские цианобактерии	0,92	2-глицерил глицерол
• Морские водоросли	0,92	маннит, пролин, разное гли- козиды, диметилсульфонпропио- нат.

• Цианобактерии солевых озер	0,90 - 0,75	Глицерин-бетаин
• Галофильные океанские фотосинтез. бактерии	0,90 - 0,75	Глицерин-бетаин, трелалоза, эритин.
• <i>Escherichia coli</i>		
• Эритроциты у фототрофных и метанотрофных бактерий (окисл. одиоуглеродное соед), используется в убивающих кремах		
• Эктотермальные галофильные археи (<i>Halococcus</i> и др.)	0,75	Закачивают K^+ в обиде, на ions Na^+
• <i>Dunaliella</i> (морская водоросль)	0,75	Глицерол
• Используется в синтезе глицерола; фотосинтезирующая; 90 30%		глицерол
• Глицерола от веса клетки.	0,70	глицерол
• Ксерофильные дрожжи		глицерол
• Ксерофильные грибы	0,60	глицерол

4. Радиация

Получение мутантов: ультрафиолет ($\lambda = 260 \text{ nm}$ - тик поглощ. ДНК) радиоактивность.
 Ультрафиолет - самый опасный. Механизмы защиты:
 1) Темновая репарация
 Без воздействия света клетки восстанавливают поврежденные (тиминовые димеры). Релитриказы вырезают тиминовый димер, полимераза синтезируют заново.
 2) Фотореактивация
 То же самое, только ферменты активируются видимым светом.

Получение ультрафиолетовых мутантов: погибают 99,9% микроорганизмов, в оставшихся - максимальное число мутантов.

Устойчивые к радиации: *Deinococcus radiodurans* выдерживают дозы рентгена в 10000 раз больше, чем *E. coli*.

Обычно в природе если уж есть неблагоприят. факторы, то их несколько. Но микроорганизмы приспособлены и к этому.

5. Температура

Thermus aquaticus - растет при 91°C, найден в Йеллоустонском заповеднике.

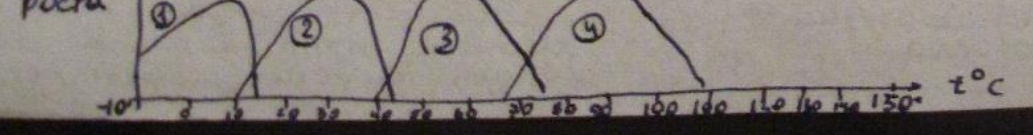
Таг-полимераза - термодфильная полимераза, выделенная из этого организма; используется в ПЦР.

организм	верхняя t° для развития
животные	
- водные позвоночные	30 38°C
- насекомые	30 50°C
растения	30 50°C

Микроорганизмы		Верхний теор. предел в районе 150°C.
- эукариоты		
• простейшие	47°C	
• водоросли (<i>Cyanidium caldarium</i>)	70°C	
• грибы	58°C	
- прокариоты		
• фототрофные	84°C	
• хемолитотрофы	121°C (Methanopyrus kandleri)	
• гетеротрофы	110°C	

Обитают: на дне океанов в горячих источниках также термодфильы. 121°C - температура для стерилизации.

Отношение микроорганизмов в целом к температуре:



- ① Психрофильные - растут при низких t°
 - ② Мезофильные
 - ③ Термофильные
 - ④ Экстремальные термофилы
- Закон Q₁₀: при повыш. температуры на 10° скорость р-ии воз-растает в 2-4 раза. До определенного предела действует этот закон, затем происходит переход к/з максимум и резкое падение скорости роста. И наконец, по достижению определенной t° они вообще не развиваются, мембраны становятся застывшими (наличие тугоплавких липидов).

Развитие при низких t° : водоросль при -36°С растет (*Chlamydomonas nivalis*). У нее в мембране липиды осодешные, они остаются твердыми даже при -36°. В цитоплазме много криопротекторов, н-р, глицерол. Но не ясно, как существует ДНК при таких низких (или высоких) температурах. Выделенная ДНК экстремалов ведет себя примерно так же, так и мезофилов (тавится при 95°С и пр.)

Причины экстремальной термофиллии:

- Термостабильные белки
- Тугоплавкие липиды
- Большие гликопептиды
- ДНК/РНК G-C типа (тавится хуже)
- Рибосомы термостабильны
- Монослойные мембраны (см. мембрана архей).

6. Давление

Давление на дне Марианской впадины - более 1000 атм. и там есть жизнь. Есть микроорганизмы, не растущие при меньшем давлении, чем 600 атм (барофильные).

Микроорганизмы:

- Пьезочувствит (= барочувств) - до 1 атм. Имеют газобые вакуоли, фототрофы.
- Пьезотолерантные - до 400 атм. *E. coli* - до 200 атм никак не влияло на нее.
- Пьезофильные - от 400 до 1000 атм. До 400 атм не растут. Глубины океана от 4 км и выше;

Черные курильщики - из дна океана просачиваются CH_4 , H_2 , SiH_4 и пр. Хемолитоавтотрофы используют эти газы, и дают начало пищевой цепи.

7. Кислород

Кислород появился ок. 1 млрд лет назад благодаря фототрофам (цианобактерии). И клетки смогли его использовать в процессе дыхания (кислород - мощный окислитель; высокая разность потенциалов; возможность больше запасаать энергии).

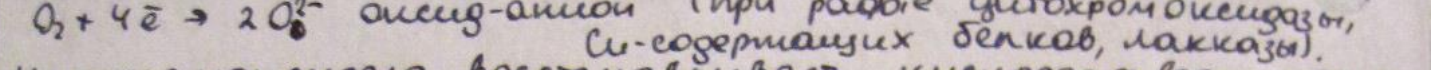
Активные формы кислорода - опасны. И у аэробов - есть системы защиты от АФК. Анаэробы не имеют систем защиты, и в кислородной атмосфере гибнут.

Аэробы - растут быстрее; анаэробы - получают энергию брожения; мало энергии получают и субстрат используют не полностью.

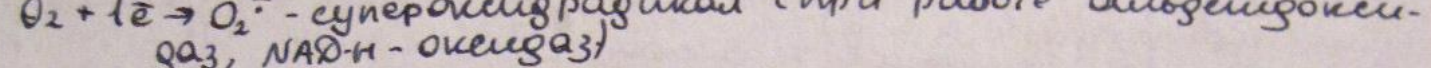
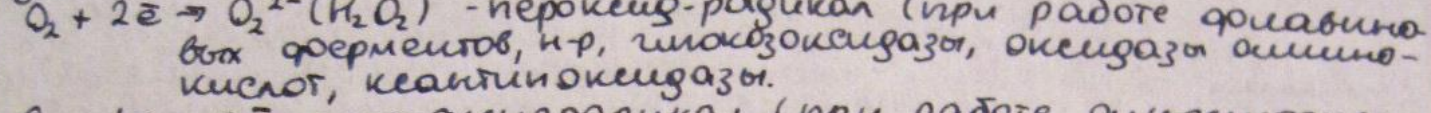
Микроорганизм	Отношение к O ₂	Тип метаболизма	Пример	Место обитания
Аэробы	требуют	аэробное дыхание	<i>Micrococcus luteus</i>	кастишки пыли, коня вода
Факультативные	растут лучше с O ₂ , но не требуют обязательно	Аэробное брожение	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Spirillum</i>	толст. киш. млекопитающих; винограда
Микроаэрофилы	требуют O ₂ в малых концентрациях	Аэробное дох.	<i>Beddingtonia Spirillum</i>	поверхность водоема; озерная вода, озерный ил
Анаэробы				

Аэротолеранты	Не требуют O_2 , рост кислородом не стимулируется	Брошесие; Анаэробное дыхание	Streptococcus Lactococcus	Верхние дыхат. пути; молочные кислые продукты
Облигатные анаэробы	Отрицательно отко- сается к O_2 . Кисло- род приводит к гибели	Брошесие; Анаэробное дыхание	Метаномои, Ацетогемои, Сульфидогены	Илы, болота, метантенки

АФК образуются постоянно у живущих кислородом организмов при переносе на кислород электронов.

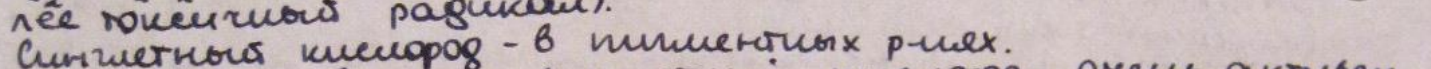


Цитохромоксидаза восстаивает кислород до воды, по мере добавления переносит по $1e^-$.

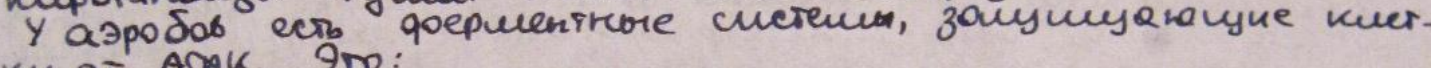


Супероксиоксидаза - нейтрализует его.

Один из самых неприятных АФК.

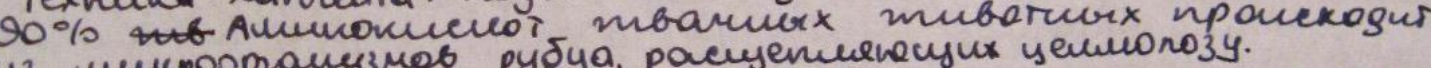
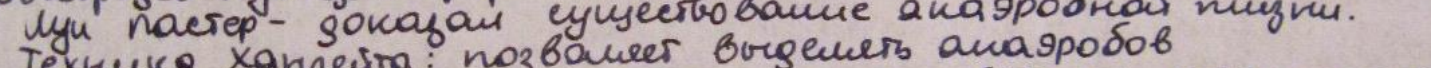
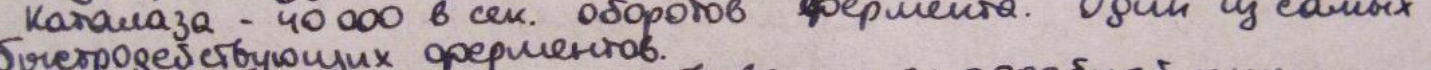


Симметричный кислород - в симметричных р-ях.



Каротиноиды - "тушат" симметричный кислород.

У аэробов есть ферментные системы, разрушающие клетку от АФК. Это:



Каталаза - 40000 в сек. оборотов фермента. Один из самых биотурбодействующих ферментов.

Мини пастер - доказал существование анаэробной жизни.

Техника Хамметта: позволяет выращивать анаэробов

90% ~~из~~ Ациномицетов тибетских тибетских происхождения из микроорганизмов руды, разлагающих цементозу.

Техника Хамметта - вертикальная пробирка с апаром по стеклу, $1/3$ кверху пропускают азот и петлей в которую вносят спираль (посев)

Анаэробные доксы: внутри вентильатор проищает газ $1/3$ катализатор, на к-ром гидроксилирующ. O_2 реагирует с H_2 , и образуется H_2O . Вода впитывается смесью с индикатором, показывающим, насколько он наполнен водой. Есть в банке шлюз, $1/3$ к-рой вносятся проба, затем газ 3 раза откачивается и запаивается бескислородной смесью.

По отношению к O_2 строение анаэробов ведут себя поразительно. Некоторые - мёртут сразу.

Н.р. многие метаномои в смеси чувств. к кислороду.

Другие микроорганизмы могут активно бороться с O_2 .

Н.р. "сульфатное дыхание" у некоторых анаэробов морских осадков - *Desulfovibrio*. Их сажают в плоские каминьеры Петриельева и вносили туда пузырек воздуха.

Клетки окружают этот пузырек, и если кто-то выходит "за грани" в область аэробную, то эта клетка срочно оттуда сбегает (знают, у них есть сенсоры). Клетки "на грани" активно потребляют кислород за счет ферментов:

$H_2 + \text{нитрогеназа} \xrightarrow{E} \text{цианокроб} C_3 \xrightarrow{E} O_2 \rightarrow H_2O$
 преобразование кислорода в воду со скоростью 1,5 мкмоль/мин на мг белка. Такая скорость не совмещается с получением энергии, поэтому эти организмы просто кислород ликвидируют.

Некоторые метаногеи могут выдерживать контакт с O_2 .
 Н-р, на рисовых полях вокруг корней слышится анаэробное дыхание бактерий, они выделяют метан, метан гидроксилируется в корень; и выделяется в атмосферу из растения. Поэтому он недоступен метанокисляющим организмам. После осушения поля и начала заливки воды метанокисление восстанавливается почти сразу. Т.е. у метаногеов есть какие-то защитительные антиоксидантные ферменты.

Метанозаргина баркер; - очень активная катализа. Сходна с катализатором быка. Найдены и супероксиддисмутазы активные. Все эти белки активно регулируются - усиливается их экспрессия в ответ на наличие свободного O_2 или H_2O_2 . Но все же эти белки синтезируются всегда - вдруг O_2 возникнет неожиданно. Т.е. есть 2 уровня защиты - постоянный и усиленный.

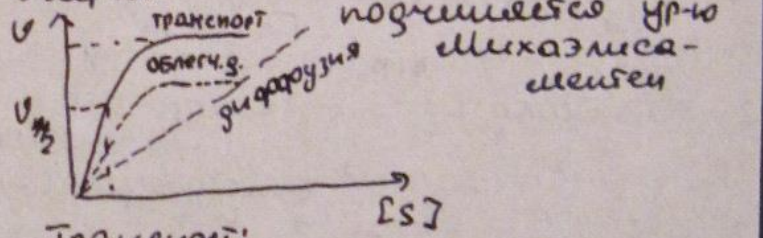
Сульфатредукторы из Черного моря - еще более устойчивы к действию кислорода. Возможно, они даже анаэробны.

Сульфатредукторы - бездельники, и чтобы преодолеть образ-е CO_2 , необходимо среду обработать кислородом. Но если они так к нему устойчивы, то как с ними бороться? А H_2S - высококоррозионное в-во.

Транспорт в-в в клетку.

- Диффузия
 Закапывается, когда кону-я в-в по обе стороны барьера выравнивается.
- простая диффузия
 из наименее концентрируемой мембры. сама собой.
- Облегченная диффузия
 за счет белков-переносчиков, идет быстрее. Обычно E не тратится, но на р-не тратится, только ее мало.

Транспорт всегда активный процесс; с затратой энергии.



- Транспорт:
- первичный перенос ит $\Delta \psi$ цитоплазматической мембраны.
 - Вторичный
 - Все остальное

Механизмы вторичного транспорта:

- симпорт
 Транспортные белки и градиент протонов, наведенный первичным транспортом. Перенос чего-то вместе с протоном.
- Электронейтральный - H^+ + An^- переносится внутрь вместе
- Электрогенный - H^+ + S незаряд. переносится внутрь.
- Антипорт
 - Электронейтральный перенос H^+ внутрь, а An^- - наружу.
 - Электрогенный - перенос H^+ внутрь, а S незаряд. - наружу.
- Унипорт
 Из клетки - анион, в клетку - катион. Всегда электрогенный.

- Перенос групп
 При переносе переносимое в-во модифицируется.
 $ФЕП \rightarrow \text{Белок E} + Ф \rightarrow \text{Белок HPr} + Ф \rightarrow \text{переносимый}$
 тиробат (Hgsidine protein) $A \rightarrow B \rightarrow \text{транспортируемое в-во}$

Фосфорилируемая в-во попадает на Белок С, в мембране, фосфат не переносится на маннитол, при этом маннитол переносится снаружи внутрь.

Есть еще переносчики A_2, B_2 и C_2 для транспорта глюкозы. Глюкоза при передаче вкл. превр. в глюко-6-ф.

Переносчики A_3, B_3 и C_3 - для маитозы аналогично. (маитозил-фосфат).

Энергия для транспорта - из фосфоэтанпирувата. Для этого транспорта не нужен градиент протонов.

Метаболизм микроорганизмов.

Биохимическое единство жизни (Альберт Келоввер) - у всего живого сходные принципы метаболизма (гликолиз, н-р, у всех одни и тот же).

- Катаболизм - расщепление субстратов, получение энергии
- Анаболизм - постройка макромолекул, затраты энергии.
- Амфиболизм - перестройки молекул для построения макромолекул.

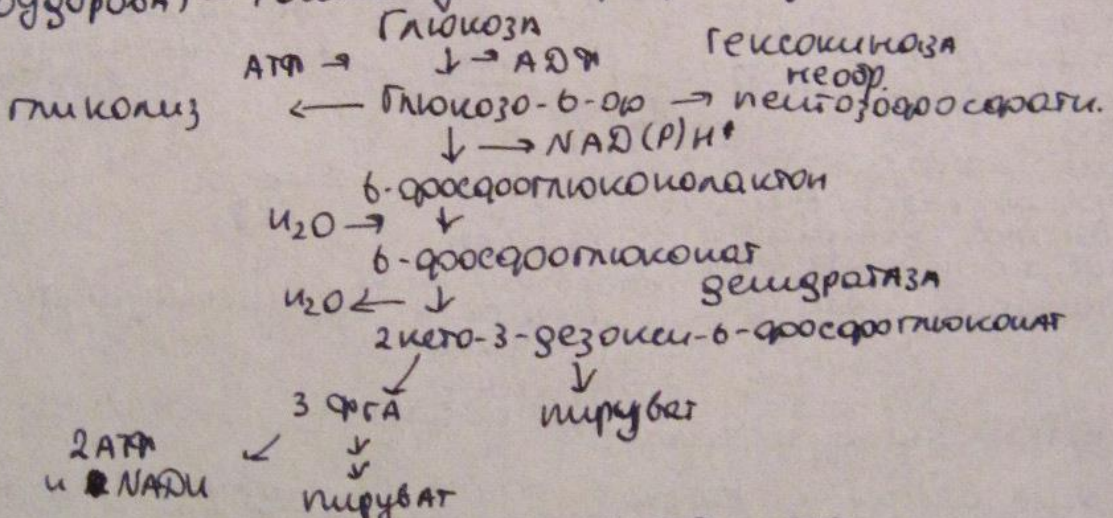
Начало метаболизма - с расщепления в-в и получение энергии и неких в-в, окисляющихся или глатящихся.

3 пути расщепления сахаров

1. Гликолиз (путь Эндера-Мейерхофа-Париса). Оканчивается получением 2 ПВК; 2 АТФ; 2 НАДН + 2 ит.
2. Пентозофосфатный путь (путь Варбурга-Диккенса-Хареккера) 3 глюкозы \rightarrow фосфоглицеральдегид + 3 CO_2 + 6 НАДФН + 6 ит + 2 фруктозо-6-фосфата.

у растений

3. 2-кето-3-дезоксик-6-фосфоглюконоидный путь (к ДРГ, путь Энтнера-Дугорова) - только у микроорганизмов.



Глюкоза \rightarrow 2 пирувата + НАДН + НАДФ + АТФ.

5 путей окисления ПВК.

1. ПВК + КоА + НАД⁺ \rightarrow Ацетил-КоА + CO_2 + НАД-Н + CO_2 .
ПДК - у всех аэробов. поставка субстрата для ушиса Кребса.
2. ПВК + КоА + 2 Ф_g \rightarrow Ацетил КоА + CO_2 + 2 Ф_gН \rightarrow H_2 ↑
пируват ферредоксин оксидоредуктаза
Ф_g - ферредоксин
3. ПВК + КоА \rightarrow ацетил КоА + формат \rightarrow CO_2
пируват формат лиаза
формат деидрогенази. комплекс
и H_2 и аэробактерии
фототрофные анаэробн (пур. баки).

4. Пируват \rightarrow ацетальдегид + CO_2 (пируват декарбоксилаза)
 аццентор \bar{e}

5. Пируват + коА + ФАД \rightarrow ацетил-коА + CO_2 + ФАДН₂
 Брожение.

Не требуется ЭТЦ и градиента протонов, что можно для клетки
 Запасание АТФ:

- Субстр. фосфорилир-е
 - Окисл. фосфорил-е
 - Фотофосфор-е
- Субстр. фосфор-е: мембранные.

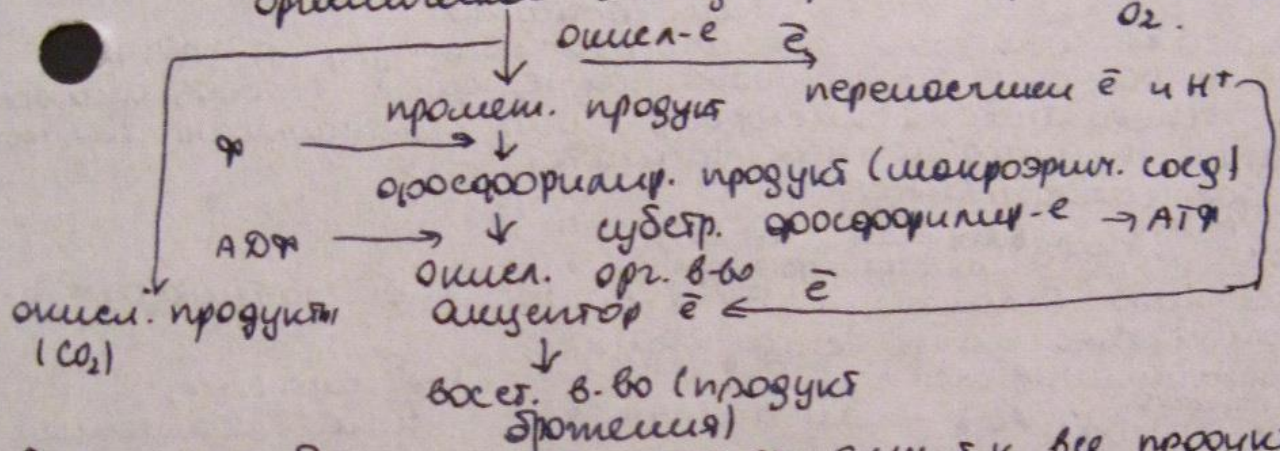
1. 1,3-дифосфоглицер. к-та + АДФ \rightarrow 3-ФГК + АТФ

2. ФЕИ + АДФ \rightarrow пируват + АТФ

3. Ацетилфосфат + АДФ \rightarrow ацетат + АТФ.
 (или бутирилфосфат) (или бутират)

У кистридий - образ-е АТФ с бутиратом - малымощное бро-
 жение.

Особенности всех брожений.
 ограничено в-во (глюкоз) Брожение - без доступа O_2 .



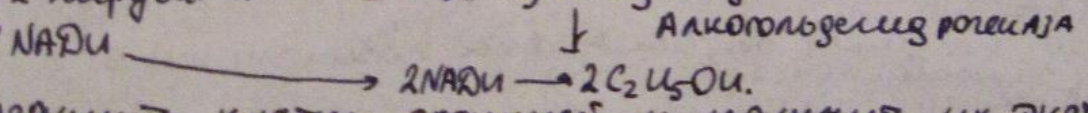
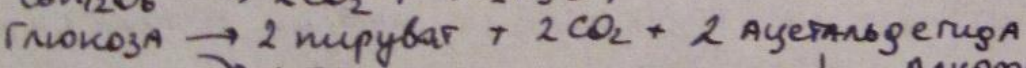
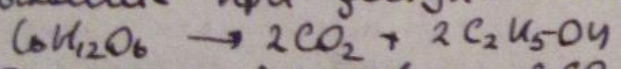
В природе брожения идут по-разному, т.к. все продукты еконо-
 мичнее тут не используются другими организмами.

1. Спиртовое брожение

Открыто Пастером.

В анаэробных условиях дрожжи могут делиться только браз из-за
 фосфорилиров, к-рые должны синтезироваться на воздухе.

Пастер доказал, что есть жизнь без кислорода.
 Эрхардт Пастеро-перемещение дрожжей с брожения на
 дыхание при доступе кислорода.



Если разрушить клетки дрожжей и получить их экстракт,
 то они проводят то же самое брожение за счет только фер-
 ментативной активности.

при добавл. к дрожжам $NaHSO_3$ получим: II форма бро-я по
 Нейбергу
 $NaHSO_3 + C_2H_5CHO \rightarrow C_2H_5CH_2SO_3Na$ ("ловушка метаболита").

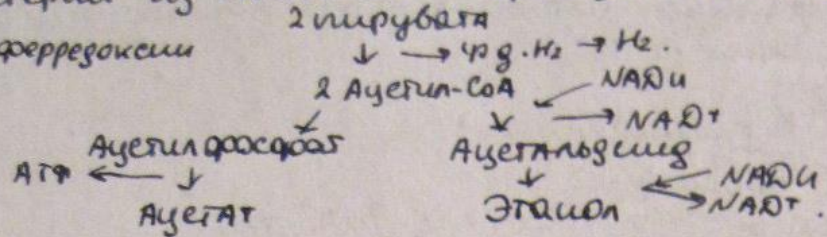
Клетки не могут сбросить e^- и H^+ на ацетальдегид, т.к. он
 выводится, и тогда они используют для этой цели пируват:
 продукты: CO_2 , глицерол, связанный альдегид.

при добавл. фосфата:

продукты: ацетат, этанол, глицерол. (III форма брожения по
 Нейбергу)

Zymomonas mobilis - по пути Зигнера-Дугорова обрабатыв. глюкозу, а потом производит спиртовое брожение. Используется в производстве топливного этанола в Бразилии. Милут при $t^{\circ} = 40^{\circ}$.

7D-ферредоксины



Термофильны;
 Этанол не пре-
 ется, а уже к-ту
 можно использо-
 зовать дальше

Клюстридии могут расщеплять целлюлозу.

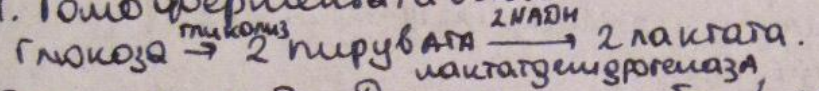
Молоко-кислые бактерии:

Гомоферментативные
 из глюкозы образуют только
 молочную к-ту.

Гетероферментативные
 половину глюкозы пребр. в молоч.
 к-ту, половину - в ацетат и CO_2 ;
 также - бифидобактерии (нет CO_2 ,
 только лактат и ацетат, но в дру-
 гом соотнош.)

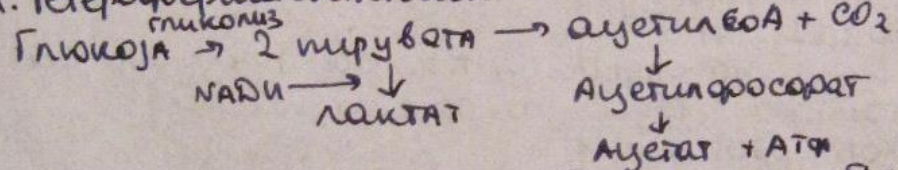
Молочнокисл. бактерии филогенетически друг с другом
 не связаны. Все они неспорообразующие, кроме 1 рода, они все
 анаэробы, толерантные к кислороду. Могут синтезировать пепт., но
 на дыхание никогда не переключаются.

1. Гомоферментативные:



Образуется либо D-лактат, либо L-лактат, либо рацемат (в за-
 висимости от типа лактатдегидрогеназы).

2. Гетероферментативные:



Н-р, *Lactococcus*
 (шниц, квашеные
 капуста, колбасы
 салями).

Развиваются медленно, биомассу образуют небольшую, но
 быстро заквашивают свою среду (молоко).

Образуют бактериоцины - антибиотики пептидного типа, действ.
 на близкородственные виды; действ. на оболочки клеток,
 "продраиваемая" цитоплазма, мембрану.

Н-р, низин (2...3,5 кДа), 2 пептидные цепи. Действует в основном
 на грам+. Хороший консервант (соленки, колбасы, молочные
 продукты). 10г на кг продукта - разрешенная доза, т.к. в мкг он раз-
 лагается.

Котта млечники выделяют тоже полипептидный антибиотик. Ко-
 та человека - тоже.

Пробиотики - живые клетки микроорганизмов, к-рые при введе-
 нии в организм ч-ка и животных в определенном коли-ве оказы-
 вают благоприятное на него воздействие.

Пребиотики - в-ва, к-рые способствуют росту пробиотиков (природные
 полисахариды, не перевариваемые человеком организмом,
 но перевариваемые пробиотиками).

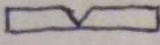
Синбиотики - смеси пребиотика и пробиотика.

Бифидобактерии
 грам+ бактерии в кишечнике грудных детенышей при пита-
 нии молоком. Вначале кишечник колонизируется *E. coli*, она
 эволюционно поощр. O_2 из кишечника, что дает возможность
 развития анаэробов в кишечнике, и закладываются бифидобакте-
 рии. В молоке матери - бифидогенные факторы.

Они могут сбраживать глюкозу:

Глюкоза \rightarrow пропионат + H_2O ; $\Delta G' = -140$ кДж/моль.

Это грамположительные бактерии; актинобактерии в процессе развития как бы разламываются, но остаются связанными в одной точке:

 V ^ N W - так они выглядят под микроскопом. Являются микроаэрофилами. Имеют супероксиддисмутазу, каталазу и пр.

2 группы:

- **квашенные** - растут в молочных средах и твердых сырах. Довольно много видов.
- **кислотные** - образуют угревую сыпь. Их 5 видов. Постоянные обитатели кожи человека, защищают ее, образуя пропионовую к-ту. Короткие спирты (формиат, лактат, ацетат) - ингибиторы цитохромоксидазы. Селятся в ~~порах~~ потовых протоках, но развиваются медленно. Гормональные возбудители м-ка стимулируют развитие угревой сыпи.