



А. И. Коротяев, С. А. Бабичев

УЧЕБНИК ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ

# МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Санкт-Петербург  
СпецЛит

**Сергей Анатольевич Бабичев  
Александр Иванович Коротяев**

**Медицинская микробиология,  
иммунология и вирусология**

**Серия «Учебник для  
медицинских вузов»**

*[http://www.litres.ru/pages/biblio\\_book/?art=10244909](http://www.litres.ru/pages/biblio_book/?art=10244909)*

*Медицинская микробиология, иммунология и вирусология:  
ISBN 978-5-299-00425-0*

### **Аннотация**

Учебник состоит из семи частей. Часть первая – «Общая микробиология» – содержит сведения о морфологии и физиологии бактерий. Часть вторая посвящена генетике бактерий. В части третьей – «Микрофлора биосферы» – рассматривается микрофлора окружающей среды, ее роль в круговороте веществ в природе, а также микрофлора человека и ее значение. Часть четвертая – «Учение об инфекции» – посвящена патогенным свойствам микроорганизмов, их роли в инфекционном процессе, а также содержит сведения об антибиотиках и механизмах их действия. Часть пятая – «Учение об иммунитете» – содержит современные представления об иммунитете. В шестой части – «Вирусы

и вызываемые ими заболевания» – представлены сведения об основных биологических свойствах вирусов и о тех заболеваниях, которые они вызывают. Часть седьмая – «Частная медицинская микробиология» – содержит сведения о морфологии, физиологии, патогенных свойствах возбудителей многих инфекционных заболеваний, а также о современных методах их диагностики, специфической профилактики и терапии.

Учебник предназначен для студентов, аспирантов и преподавателей высших медицинских учебных заведений, университетов, микробиологов всех специальностей и практических врачей.

5-е издание, исправленное и дополненное

# Содержание

ПРЕДИСЛОВИЕ	7
ВВЕДЕНИЕ	11
Часть первая	19
Глава 1	19
Глава 2	52
Иммерсионная световая микроскопия	53
Фазово-контрастная микроскопия	56
Аноптральная микроскопия (амплитудно-контрастная, фазово-темнопольная)	58
Интерференционная микроскопия	59
Поляризационная микроскопия	60
Темнопольная микроскопия	61
Люминесцентная микроскопия	61
Электронная микроскопия	63
Глава 3	67
Четыре царства жизни	67
Принципы систематики и классификации микроорганизмов	73
Современные методы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний	79
Современная классификация бактерий	82
Вопрос о самозарождении и развитии жизни на Земле	102

Глава 4	106
Формы бактерий	106
Строение бактериальной клетки	111
Клеточная стенка	114
Особенности клеточной стенки грамположительных бактерий	119
Особенности клеточной стенки грамотрицательных бактерий	120
L-трансформация бактерий	126
Цитоплазматическая мембрана бактерий	131
Цитоплазма	134
Периплазматическое пространство	136
Капсулы	137
Жгутики	139
Эндоспоры и спорообразование	149
Генетический контроль спорообразования	153
Некультивируемые формы бактерий	155
Глава 5 Физиология бактерий. Механизмы питания	158
Механизмы питания бактерий	159
Секреция продуктов жизнедеятельности бактериальной клеткой	165
Способы питания	168
Углеродное питание	168
Азотное питание	178

Ферменты	185
Метаболизм	187
Глава 6	190
Состав белоксинтезирующей системы	190
Основные этапы биосинтеза белка	196
Конец ознакомительного фрагмента.	213

**Сергей Бабичев,  
Александр Коротяев  
Медицинская  
микробиология,  
иммунология и вирусология**

**ПРЕДИСЛОВИЕ**

В учебник внесены существенные дополнения и уточнения на основании опубликованных за последние годы новых научных данных. В частности, в соответствии с новым Определителем бактерий Берги (George M. Garrity, Julia A. Bell, Timothy G. Lilburn. Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition. Release 5.0, May 2004) уточнена классификация бактерий: их принадлежность к доменам, типам и классам, а для многих бактерий, которые чаще всего вызывают заболевания у людей и о которых идет речь в учебнике, к семействам, родам и видам. Приведены сведения о возбудителе так называемой атипичной пневмонии, уточнены сведения о хантавирусах, вирусе TTV, возможных механизмах возникнове-

ния нового пандемического варианта вируса гриппа А, новейших молекулярно-биологических методах диагностики инфекционных болезней (геномная дактилоскопия, варианты ПЦР и др.). Полнее описаны особенности генетического контроля синтеза факторов патогенности у бактерий, мобильные генетические элементы и «острова патогенности», роль конвертирующих фагов, плазмид вирулентности, IS-элементов и транспозонов в горизонтальной передаче генов патогенности у бактерий. Представлены данные о новых синтетических индукторах синтеза эндогенного интерферона, которые используют для лечения вирусных инфекций. Внесены также уточнения и дополнения во многие другие разделы учебника. Специальный раздел учебника посвящен руководителям кафедр микробиологии многих медицинских вузов России за всю историю этих кафедр. Авторы выражают глубокую благодарность нынешним руководителям кафедр микробиологии, любезно предоставившим необходимые сведения обо всех своих коллегам-предшественниках. 5-е издание учебника отличается от предыдущих тем, что в нем, помимо неизбежных уточнений и дополнений, связанных с накоплением новых научных данных, полностью переработана заключительная глава (глава 74). Она посвящена обсуждению той роли, которую сыграли две главные системы информации – генетическая, присущая всем живым существам, и умственная (интеллектуальная), свойственная исключительно человеку, в возникновении и развитии как

биологической, так и общественной, социальной жизни.

Система умственной информации возникла в ходе эволюции предка человека в сторону *Homo sapiens* благодаря тем генетическим предпосылкам, которые привели к образованию двух новых аппаратов – мышления и голосового, а вместе с ними к возникновению главной кодовой единицы новой, умственной системы информации – слова. Слово (словесный код) и стало главным «орудием разума», как его определил Л. Н. Толстой.

Умственная информация, в отличие от генетической, не передается по наследству. Она формируется заново у каждого человека в течение всей его жизни. С помощью словесного кода эта информация материализуется и поэтому передается от поколения к поколению, определяя форму уклада общественной жизни.

Авторы заранее благодарят читателей за критические замечания, которые могут быть высказаны по обсуждаемым вопросам, отдавая себе полный отчет в том, что все эти вопросы будут еще долгое время занимать умы многих людей и окончательный ответ на них будет получен лишь в результате новых научных достижений. В подготовке к изданию учебника оказали неоценимую помощь наши дорогие жены Р. А. Коротяева и Н. В. Бабичева, сыновья А. И. Коротяева Борис и Михаил, а также Т. Л. Коротяева. Без их огромной поддержки и помощи мы вряд ли смогли бы осилить такую работу. Мы безгранично благодарны им за все.

*Авторы*

# ВВЕДЕНИЕ

Прежде чем приступить к изучению той или иной науки, будущий специалист должен убедиться в том, что эти знания действительно необходимы для его успешной деятельности. Для чего нужно будущему врачу изучать микробиологию, иммунологию и вирусологию? Во-первых, чтобы узнать о природе так называемых заразных (инфекционных) болезней, о том, какие микроорганизмы и каким образом их вызывают. Во-вторых, для овладения современными методами их диагностики, эффективными способами профилактики и лечения. Все эти вопросы, безусловно, имеют громадное прикладное значение. Наконец, изучение иммунологии дает возможность узнать, какими мощными естественными механизмами самозащиты и самоисцеления, с помощью которых, главным образом, поддерживается на протяжении всей жизни состояние здоровья и осуществляется противостояние болезням, обладает наш организм.

Природа многообразна и едина. Все, что ее составляет, взаимосвязано. В конечном счете между собою взаимодействуют все живые существа, и, вместе с тем, на них воздействуют различные абиотические факторы окружающей среды.

Здоровье человека – это бесценный дар природы, но оно постоянно подвергается атаке со стороны самых различ-

ных внешних сил, которые и вызывают болезни. Организм человека как бы постоянно балансирует между состоянием здоровья и болезнью, переход между которыми может быть незаметным, постепенным. Это хорошо понимали врачи древности. Гален (131 – 211): *«Здоровье есть состояние, при котором тело человека по натуре и по сочетанию (частиц) таково, что все исходящие от него действия (совершаются) здраво и полностью. Болезнь есть состояние человеческого тела противоположное этому, а (третье) состояние не есть ни здоровье, ни болезнь»*.

Авиценна (XI в. н. э.): *«Бывает тело, здоровое до предела, тело здоровое, но не до предела; тело не здоровое, но и не больное... затем тело в хорошем состоянии, быстро воспринимающее здоровье; затем – тело, больное легким недугом, затем – тело, больное до предела»*.

Существуют различные определения болезни, однако самое простое, лаконичное и понятное для всех определение дал Карл Маркс. По его мнению, болезнь – это *«стесненная в своей свободе жизнь»*. Но из этого следует, что здоровье – это ничем не стесненное проявление жизни.

Наиболее полное определение здоровья дано специалистами Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ): *«Здоровье – это состояние полного физического, психического и социального благополучия, а не только отсутствие болезней или физических дефектов»*. Причин болезней, а стало быть самих болезней, очень много. Но факторы (причи-

ны), их вызывающие, можно свести к нескольким категориям:

- механические повреждения, являющиеся причиной многочисленных травматических заболеваний;
- физические факторы, среди которых наибольшую опасность представляет радиоактивное облучение;
- химические факторы. Загрязнение окружающей среды (воздуха, воды, почвы) вредными для здоровья живых существ химическими веществами уже привело к экологической катастрофе, выход из которой возможен только усилиями всех стран мира;
- биологические факторы, прежде всего микроорганизмы, являющиеся причиной инфекционных болезней;
- особую группу составляют наследственные заболевания, в основе которых лежат передача родителями по наследству поврежденных генов или нарушение механизмов обмена генами.

Инфекционных, т. е. вызываемых микроорганизмами, заболеваний очень много. Практически ими болеет в течение своей жизни хотя бы раз, а то и несколько каждый человек. К микроорганизмам относятся живые существа, размеры которых столь малы, что они не видны невооруженным глазом.

**Медицинская микробиология** изучает морфологию, физиологию обмена веществ, факторы патогенности, механизмы их реализации на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях у возбудителей инфекционных заболеваний

человека и разрабатывает специфические методы их диагностики, лечения и профилактики.

**Медицинская вирусология** – наука, изучающая молекулярно-генетическую структуру вирусов, их свойства, механизм взаимодействия с клеткой, их роль в жизни человека как возбудителей различных инфекционных заболеваний, а также разрабатывает методы специфической диагностики, лечения и профилактики этих болезней. В методическом отношении вирусология существенно отличается от микробиологии, поскольку вирусы, в отличие от других микробов, не размножаются на искусственных питательных средах, и для их культивирования используют другие приемы.

**Иммунология** – наука, изучающая биологические механизмы самозащиты организма, направленные на распознавание и уничтожение с помощью специальных иммунных систем любых чужеродных веществ и клеток, проникающих в него или образующихся в нем, и способствующие поддержанию его структурной и функциональной целостности и биологической индивидуальности. Основную роль в формировании и сохранении иммунитета играют системы интерферонов, макрофагов, комплемента, Т- и В-лимфоцитов; различные киллерные клетки, главная система гистосовместимости и антитела. Для изучения функций этих систем иммунология использует свои особые методы. Предметом иммунологии является также разработка специфических методов диагностики, лечения и профилактики различных болезней

и изучение заболеваний самой иммунной системы.

Теоретическое значение изучения этих наук трудно переоценить. Достижения микробиологии, вирусологии, в особенности генетики микроорганизмов, а также иммунологии позволили понять фундаментальные процессы жизнедеятельности, протекающие на молекулярно-генетическом уровне. Они обуславливают современное понимание сущности механизмов развития заболеваний (патогенеза болезни) и намечают пути их наиболее эффективного предупреждения и лечения.

Практическое значение этих наук определяется тем, что инфекционные болезни по-прежнему представляют грозную опасность для здоровья и жизни людей. По данным ВОЗ, из 51 млн человек, ежегодно умирающих в мире в последнее время, более чем у 16 млн причиной смерти являются инфекционные болезни. В России ими ежегодно болеют от 30 до 50 млн человек. В XX в. мировому сообществу удалось ликвидировать только одну болезнь – натуральную оспу, а столкнулось человечество с 36 новыми и «возникающими» инфекциями, т. е. болезнями, которые либо неожиданно появляются, либо быстро распространяются среди людей (СПИД, болезнь Лайма, болезни Эбола, Марбурга, легионеров, вирусные гепатиты, геморрагические лихорадки и др.).

Впервые в истории человечества возникла реальная угроза использования международными террористами биологи-

ческого оружия, в качестве которого могут быть применены возбудители особо опасных и некоторых других заболеваний и продуцируемые ими токсины.

Исторический опыт показал, что основным оружием в борьбе с инфекционными болезнями является создание у людей коллективного иммунитета к возбудителям соответствующих заболеваний. Именно благодаря иммунизации против оспы, осуществленной под эгидой ВОЗ, в октябре 1977 г. была полностью ликвидирована эта одна из самых опасных болезней. Этот опыт послужил основой для создания международной службы по ликвидации инфекционных заболеваний. Разработанная ВОЗ расширенная программа иммунизации предполагает создание у всех детей первого года жизни иммунитета против туберкулеза, гепатита В, дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита и кори. Таковы впечатляющие успехи медицины в борьбе с этой категорией болезней человека. Однако здесь остается еще много сложных проблем, решение которых зависит от развития микробиологии, вирусологии и иммунологии. Активная иммунизация населения позволяет управлять этими заболеваниями, т. е. существенно снижать заболеваемость вплоть до полной их ликвидации.

Существует два пути решения этой проблемы: а) эрадикация инфекции, т. е. искоренение возбудителя как биологического вида; б) элиминация инфекции, т. е. практическое прекращение заболеваемости, когда циркуляция возбу-дителей

ля сохраняется только в форме носительства. Именно благодаря иммунизации в октябре 1977 г. была полностью ликвидирована на всей Земле оспа – одна из самых опасных болезней. С помощью иммунизации был ликвидирован полиомиелит в 1994 г. в Американском регионе ВОЗ, в 2000 г. – в регионе Западной части Тихого океана. 21 июня 2002 г. зоной, свободной от полиомиелита, объявлены Россия и весь Европейский регион ВОЗ (25 стран). Близок день, когда вслед за оспой на Земле будет полностью ликвидирован полиомиелит.

Несмотря на ликвидацию полиомиелита в нашей стране, наблюдаются нередкие случаи так называемого вакцино-ассоциированного паралитического полиомиелита (ВАПП), причиной которого служит вакцинный штамм. В связи с этим для ликвидации случаев ВАПП предложено использовать либо инактивированную полиомиелитную вакцину (ИПВ), либо ее комбинацию с живой оральной поливакциной (ОПВ).

В 2008 г. исполнилось 25 лет со времени открытия возбудителя ВИЧ-инфекции французским ученым Л. Монтанье, который был награжден Нобелевской премией. За эти годы многое сделано в изучении ВИЧ-инфекции. К сожалению, пандемия ВИЧ-инфекции продолжает оставаться одной из самых сложных проблем мирового здравоохранения, так как до сих пор нет высокоэффективных вакцин для ее профилактики и препаратов для лечения.

ВОЗ разработана расширенная программа иммунизации (РПИ) не только против оспы и полиомиелита, но и против таких тяжелых заболеваний, как дифтерия, корь, коклюш, краснуха, эпидемический паротит, гепатиты В и А, столбняк, туберкулез. По этой программе предусмотрено создание к 2025 г. средств для иммунопрофилактики еще 25 – 30 инфекций. Ближайшими целями ВОЗ поставлены эрадикация полиомиелита во всем мире и ликвидация кори в Европе к 2007 г., а к 2010 г. – во всем мире.

Для успешного решения программы ВОЗ по иммунизации широко ведутся исследования по улучшению биотехнологии изготовления вакцин и повышению их иммуногенной активности. Ведется разработка около 350 вакцин – кандидатов против 100 различных заболеваний. Уже предложен целый ряд новых препаратов, таких как комбинированная вакцина против гепатитов А и В, цельнокультуральная пероральная поливалентная менингококковая АВС-вакцина, тетравакцина для предотвращения возможной пандемии гриппа, которая содержит антигены как вируса гриппа человека H1N1 и H3N2, так и вируса птичьего гриппа H5N1 и др. С 2007 г. в России вступили в силу разработанные ВОЗ особые международные медико-санитарные правила (ММСП), направленные на предотвращение распространения опасных заболеваний.

# **Часть первая**

# **ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ**

## **Глава 1**

### **Краткий исторический очерк становления и развития микробиологии, иммунологии и вирусологии**

Размеры микроорганизмов лежат за пределами разрешающей способности человеческого глаза, поэтому до изобретения микроскопа человек не знал о существовании столь мелких живых существ. Однако, не зная об этом, люди на протяжении тысячелетий научились широко использовать в своих целях процессы жизнедеятельности многих микробов, в частности, для приготовления кумыса и других молочно-кислых продуктов, получения вина, уксуса, пива, силосования кормов, мочки льна и т. п. В течение многих веков природа процессов брожения оставалась неясной. Наряду с этим человек давно познал и другую сторону жизнедеятельности микроорганизмов: их способность вызывать поварные за-

разные («прилипчивые») болезни, от которых погибало множество людей. Происхождение и причины таких болезней также тысячелетиями были непонятны. Вместе с тем давно подмечено, что существует определенное сходство между процессами брожения и гниения, с одной стороны, и заразными болезнями, часто сопровождаемыми образованием гноя, с другой. Родство слов «гниль» и «гной» говорит о давности такого мнения. Поэтому много веков назад возникла мысль, что решение вопроса о природе брожения и гниения приведет к пониманию и природы заразных болезней. Особенно четко эту мысль выразил в XVII в. английский ученый Р. Бойль, который пророчески предсказал, что природу заразных болезней разгадает тот, кто отгадает тайну брожения.

О природе заразных болезней высказывались различные предположения, в том числе и такое, что их возбудителями являются какие-то мельчайшие живые существа – контагии. В наиболее законченной форме эта идея была сформулирована в XVI в. выдающимся итальянским ученым, поэтом и врачом Джироламо Фракасторо. В своем главном медицинском труде «О контагии, контагиозных болезнях и лечении» (1546) он четко сформулировал положение, что зараза – это материальное начало («контагий телесен»). По его мнению, заражение происходит тремя путями: через непосредственное соприкосновение, опосредованно через предметы и на расстоянии, но при обязательном участии мельчайших невидимых контагий («зародышей болезней»). Фракасторо

же впервые использовал термин «инфекция» в медицинском смысле. Идея Фракасторо была правильной и плодотворной, но для ее научного доказательства не было еще необходимых научно-технических предпосылок – не было микроскопа.



Дж. Фракасторо (1478 – 1553)



А. Левенгук (1632 – 1723)

Открытие микробов смогло осуществиться лишь во второй половине XVII в., когда в связи с развитием торговли назрела потребность в усовершенствовании оптики для мореплавания (подзорные трубы, телескопы и т. п.). Впервые микроскоп был сконструирован в Голландии Гансом и Захарием Янсенами в 1590 г., но он давал еще очень слабое увеличение (всего в 32 раза) и не позволял увидеть бактерии. Открытие мира микробов связано с именем А. Левенгука.

С помощью своего микроскопа, дающего увеличение до 300 раз, он в 1674 г. обнаружил и описал эритроциты человека, лягушек и рыб, в 1675 г. – простейших, в 1677 г. – сперматозоиды. А. Левенгук наблюдал клетки более чем 200 видов растений и животных. Свои наблюдения он описывал в письмах (всего их было около 300), направляя их в Лондонское Королевское Общество. Членом этого Общества он был избран в 1680 г. Первое из этих писем направил его друг, голландский ученый Р. Грааф, в 1673 г. В 1683 г. А. Левенгук подробно описал и зарисовал основные формы бактерий. С открытия Левенгука начинается период зарождения микробиологии как науки и ее становления. Этот период получил название «микрографического», так как изучение микроорганизмов сводилось лишь к описанию различных их форм, доступных исследованию при помощи далеко не совершенного микроскопа. Их биологические свойства и значение для человека долго еще оставались во многом непонятными.

Первые сведения о микроорганизмах были весьма скудными, поэтому К. Линней в XVIII в. выделил их в один род под названием *Chaos* и отнес к червям. В развитии микробиологии в этом периоде, продолжавшемся до середины XIX в., большое значение имели работы русских исследователей М. М. Тереховского (1740 – 1796) и Д. С. Самойловича (Сущинского). Большая заслуга М. М. Тереховского состоит в том, что он одним из первых использовал экспериментальный метод в микробиологии: он изучал влияние на мик-

роорганизмы электрических разрядов разной силы, температуры, различных химических веществ; изучал их размножение, дыхание и т. п. К сожалению, его работы были мало известны в то время и не смогли оказать большого влияния на развитие микробиологии. Работы выдающегося русского врача Д. С. Самойловича получили самое широкое признание. Он был избран членом 12 зарубежных академий наук. Д. С. Самойлович вошел в историю микробиологии как один из первых (если не первый) «охотников» за возбудителем чумы. Впервые он принял участие в борьбе с чумой в 1771 г. во время вспышки ее в Москве, а затем с 1784 г. участвовал в ликвидации вспышек чумы в Херсоне, Кременчуге (1784), Тамани (1796), Одессе (1797), Феодосии (1799). С 1793 г. он был главным доктором карантинной юга России. Д. С. Самойлович был убежденным сторонником гипотезы о живой природе возбудителя чумы и за сто с лишним лет до открытия микроба пытался обнаружить его. Лишь несовершенство микроскопов того времени помешало ему сделать это. Он разработал и применил целый комплекс противочумных мероприятий. Наблюдая за чумой, он пришел к выводу, что после перенесения чумы к ней остается иммунитет. Одна из главных научных заслуг Д. С. Самойловича – идея о возможности создания искусственного иммунитета против чумы с помощью прививок. Своими идеями Д. С. Самойлович выступил как провозвестник зарождения новой науки – иммунологии. В это же время (конец XVIII – нача-

ло XIX вв.) английский врач Э. Дженнер впервые успешно осуществил древнюю мечту человечества: обуздать одну из самых страшных болезней человека – натуральную оспу – с помощью вакцинации (искусственных прививок возбудителя коровьей оспы).



Д. С. Самойлович (1744 – 1805)



Э. Дженнер (1749 – 1823)

По мере расширения методов изучения свойств микроорганизмов стала возможной и их систематика. В 1786 г. О. Мюллер выделил два рода бактерий – *Monas* и *Vibrio* – и отнес их к группе инфузорий. В 1838 г. К. Эренберг переименовал их в семейства *Monadna* с одним родом (*Monas*) и *Vibrionia*, в котором выделил четыре рода: *Bacterium*, *Spirillum*, *Vibrio* и *Spirochaeta*. Большой вклад в систематику микробов внес один из основоположников отече-

ственной микробиологии Л. С. Ценковский (1822 – 1887). В своей работе «О низших водорослях и инфузориях» (1855) он установил место бактерий в системе живых существ, указав на близость их к растениям. Л. С. Ценковский описал 43 новых вида микроорганизмов, выяснил микробную природу клека (слизеподобная масса, образуемая на измельченной свекле). Впоследствии, независимо от Пастера, он получил сибиреязвенную вакцину, а будучи профессором Харьковского университета (1872 – 1887), способствовал организации Пастеровской станции в Харькове.

В 1857 г. П. Негели выделил все бактерии в одну самостоятельную группу *Schizomycetes* (грибы-дробянки). Вывод Л. С. Ценковского о природе бактерий поддержал в 1872 г. Ф. Кон, который отделил бактерии от простейших и отнес их к царству растений.

Второй период микробиологии – период ее подлинного рождения как самостоятельной биологической науки и стремительного развития – связан прежде всего с именами Л. Пастера, Р. Коха и их учеников. Любая наука рождается только тогда, когда для этого созреют необходимые научные и технические предпосылки, а также социально-экономические потребности в ней. Это общее правило. К середине XIX в. научно-технические условия для рождения такой науки, как микробиология, вполне созрели: были сконструированы микроскопы с высокой разрешающей способностью и обнаружено много различных видов микроорганизмов. На-

ступило время выяснить и доказать их важную роль для человека, в частности, в качестве виновников различных заболеваний людей, животных и растений, а также в процессах брожения и гниения.

В медицине в это время господствовала клеточная теория патологии Р. Вирхова (1821 – 1902), в соответствии с которой «все болезни в конце концов сводятся к активным или пассивным повреждениям большего или меньшего количества клеток», но она ничего не говорит о причинах, их вызывающих. В то же время у больных животных и людей в организме находили различные микроорганизмы. Нужно было решить вопрос: являются ли они следствием болезни или ее причиной?

К середине 50-х гг. XIX в. стало ясно, что пока не будет выяснена природа гнойных осложнений ран, дальнейший прогресс медицины вообще, и хирургии в особенности, не возможен. Наконец, незнание биологических основ технологических процессов, лежащих в основе производства вина и пива, наносило большой экономический ущерб. Таким образом, сама жизнь требовала решения этих проблем.

Окончив в 1847 г. Эколь Нормаль (одно из лучших высших учебных заведений Франции), Л. Пастер выполнил две докторские диссертации – по химии и физике. Последняя была посвящена изучению явлений, относящихся к вращательной поляризации жидкостей. В ходе изучения изомеров винной кислоты он впервые непосредственно столкнулся с

деятельностью микроорганизмов. Добавляя плесневой грибок в оптически неактивную смесь двух изомеров винной кислоты, Л. Пастер обнаружил, что через некоторое время эта смесь начинает вращать плоскость поляризации влево вследствие разрушения правого изомера грибом. Это обстоятельство натолкнуло его на мысль о возможном участии микроорганизмов в процессах брожения. Действительно, после нескольких лет напряженных исследований Л. Пастер установил, что процессы брожения вызываются микроорганизмами, причем каждый вид брожения – определенным видом. Позднее он установил, что и гниение (разложение белковых продуктов) – результат жизнедеятельности микроорганизмов. Таким образом, природа процессов брожения и гниения была наконец выяснена. Трудно переоценить все значение этих открытий Л. Пастера. Благодаря им были заложены основы технической (промышленной) микробиологии, выяснена роль микробов в круговороте веществ в природе, открыты анаэробные организмы. На основе этих работ Л. Пастера Дж. Листером (1827 – 1912) были разработаны принципы антисептики, а затем Л. Пастер дополнил их принципами асептики, благодаря которым и стал возможен дальнейший прогресс в хирургии. Исходя из своих исследований, Л. Пастер смог установить природу болезней вина и пива, показав, что они также являются результатом жизнедеятельности микроорганизмов. Он предложил и метод их предупреждения, названный впоследствии пастеризацией, а затем (после

решения проблемы самозарождения) были разработаны методы стерилизации (автоклавирование), столь необходимые для обеспечения принципов асептики в медицине и развития консервной промышленности. Выяснение природы процессов брожения и гниения вновь поставило на повестку дня вопрос о возможности самозарождения жизни, теперь уже на уровне микроорганизмов. Оппоненты Л. Пастера утверждали, что в субстратах, подвергающихся брожению или гниению, их возбудители самозарождаются. Безупречными экспериментами Л. Пастер доказал, что микроорганизмы проникают из окружающей среды, а не самозарождаются. Своими исследованиями Л. Пастер подготовил научную общественность к пониманию того непреложного положения, что главными виновниками заразных болезней человека и животных являются микроорганизмы. Однако это нужно было доказать на конкретных примерах. Не будучи врачом, Л. Пастер привлек к своим работам высоко талантливого врача Э. Ру (1853 – 1933) и приступил к изучению болезнетворных бактерий. Пастер выделил из крови больного сибирской язвой животного палочку, получил ее чистую культуру и, заражая ею здоровое животное, наблюдал его гибель от сибирской язвы. Аналогичные опыты он поставил с куриной холерой и получил такие же результаты. Этими безукоризненными опытами была бесспорно доказана микробная природа заразных болезней.



Л. Пастер (1822 – 1895)



Р. Кох (1843 – 1910)

В 1876 г. заявил о себе и другой исследователь, оказавший огромное влияние на становление и развитие медицинской микробиологии, – Роберт Кох. В своей работе Р. Кох подвел окончательную черту под многолетней дискуссией о природе бактерий, обнаруживаемых у больных сибирской язвой животных. Дискуссия шла по вопросу: являются ли обнаруживаемые бактерии случайными спутниками болезни или причиной ее? Р. Кох точными экспериментами доказал, что воз-

будителем сибирской язвы является микроорганизм *Bacillus anthracis*. «Благодаря французу Пастеру было верно понято значение сибиреязвенных палочек, а благодаря немцу Коху было доказано их значение как единственных возбудителей сибирской язвы» (И. И. Мечников). Р. Коху микробиология обязана прежде всего тем, что он усовершенствовал бактериологическую методику. Он предложил метод выделения чистых культур из изолированных колоний на плотных средах, способы окраски бактерий анилиновыми красителями и внес усовершенствования в технику микроскопирования – конденсор Аббе и иммерсионные объективы. Все это способствовало широкому распространению экспериментальных исследований микроорганизмов и разработке бактериологических методов диагностики инфекционных болезней. Кроме того, Р. Коху принадлежит огромная историческая заслуга в открытии возбудителей тяжелейших заболеваний человека – туберкулеза и холеры.

Так благодаря Л. Пастеру и Р. Коху возникла и начала быстро развиваться новая наука – микробиология. Такое название ей дал соратник Л. Пастера П. Дюкло, а Пастер назвал ее вначале «микробией». Все невидимые простым глазом живые существа Ч. Седийо в 1878 г. предложил называть микробами. Открытия возбудителей заразных заболеваний после работ Пастера следовали буквально одно за другим:

1874 г. – палочка проказы (Г. Хансен);

1879 г. – гонококк (А. Нейссер);

1880 г. – палочка брюшного тифа (К. Эберт);

1880 г. – малярийный плазмодий (А. Лаверан);

1880 – 1884 гг. – стафилококк (Л. Пастер, А. Огстон, А.

Розенбах);

1882 г. – туберкулезная палочка (Р. Кох);

1883 г. – холерный вибрион (Р. Кох);

1884 г. – дифтерийная палочка (Ф. Леффлер);

1886 г. – пневмококк (А. Френкель).

С 1874 по 1900 г. были открыты возбудители более чем 35 заболеваний человека и животных; открытия продолжаются и в наше время.

Л. Пастер после обоснования микробной природы заразных болезней и открытия ряда их возбудителей поставил далее своей главной целью не поиски других патогенных бактерий, а разработку общего принципа борьбы с заразными болезнями. И эту задачу он также блестяще решил. Однажды Пастер обнаружил любопытный факт: хранившиеся долгое время в термостате возбудители куриной холеры утратили свою заразительность для кур. Нужны были наблюдательность и гений Пастера, чтобы на основании этого маленького факта сделать выводы, которые определили основные направления борьбы с заразными заболеваниями. Пастер предположил, что ослабленные бактерии могут сыграть роль, подобную осповакцине Дженнера, которая надежно предохраняет от натуральной оспы. Оставалось только найти способы ослабления (аттенуации) заразительности бактерий. Пастер

решил добиться ослабления заразительности сибиреязвенной палочки и получить из нее вакцину (этот термин со времен Дженнера он сохранил, и ныне все препараты, используемые для создания искусственного активного иммунитета, называют «вакцинами») методом, сходным с получением вакцины из возбудителей куриной холеры. Он выращивал сибиреязвенную палочку не при 37 °С, а при более высокой температуре (42 – 43 °С) и получил два варианта вакцины – более и менее ослабленную.

5 мая 1881 г. на ферме Пуй ле Фор под Парижем начался невиданный в истории медицины публичный эксперимент: 27 животных (главным образом овцы) были привиты полученной Пастером сибиреязвенной вакциной. 17 мая им была сделана прививка повторно, но уже менее ослабленной вакциной, а 31 мая наступил решающий момент: всех вакцинированных животных и столько же невакцинированных заразили смертельной дозой сибиреязвенной палочки. Перед этим опытом Пастер уверенно заявил, что все вакцинированные животные устоят перед инфекцией, а невакцинированные – умрут. Так и получилось. Блестящий успех этого эксперимента показал, что человечество получило надежное оружие борьбы против инфекционных болезней. Так, начав с изучения природы брожения, решая одну за другой практические задачи общества, Пастер совершил одно из величайших открытий и заложил научные основы наиболее эффективной борьбы с заразными болезнями с помо-

щью искусственной иммунизации. Завершая свою научную деятельность, Л. Пастер после долгих и упорных опытов получил вакцину против бешенства. Сложность решения этой задачи состояла в том, что возбудителем бешенства является вирус, которого Пастер не мог увидеть под микроскопом и который не размножался на искусственных питательных средах. Только благодаря гению Пастера удалось превратить уличный вирус бешенства в вакцину против бешенства, которая до сих пор является единственным средством защиты от этой страшной болезни. Высокая эффективность вакцины против бешенства быстро подтвердилась. Ее стали называть «пастеровской», и вскоре в различных странах мира (раньше всего в России, в Одессе, И. И. Мечников) стали открывать пастеровские станции, где людям, пострадавшим от нападения бешеных животных, спасали жизнь с помощью пастеровской вакцины. Успех идей Пастера был настолько велик, что для него в Париже на собранные по международной подписке деньги был построен и открыт 14 ноября 1888 г. специальный институт (Пастеровский институт), ставший мировым научным центром микробиологии. 22 декабря 1892 г. Пастеру исполнилось 70 лет, его чествование имело международный характер. Юбиляру была вручена специальная золотая медаль, на которой выгравированы такие слова: «Пастеру в день его семидесятилетия – благодарная наука и человечество». Скончался Л. Пастер 22 сентября 1895 г. Его тело погребено в гробнице Пастеровского института. Над ар-

кой перед входом в усыпальницу выбито всего три слова: «Ici repose Pasteur» («Здесь покоится Пастер»). На мемориальной доске, установленной на здании Эколь Нормаль, так лаконично записана хронология научной жизни Пастера:

«Здесь была лаборатория Пастера.

1857 г. Брожение.

1860 г. Самопроизвольное зарождение.

1865 г. Болезни вина и пива.

1881 г. Зараза и вакцина.

1885 г. Предохранение от бешенства».

Пастер не только создал микробиологию как фундаментальную биологическую науку, но и определил ее основные разделы, которые затем выделились в качестве самостоятельных научных дисциплин со своими целями и задачами: общая микробиология (изучает фундаментальные закономерности биологии микроорганизмов); техническая (промышленная) микробиология (изучает различные типы процессов брожения, которые используются для получения спиртов, ацетона, глицерина и т. п., а также разрабатывает и организует производство с помощью микробов продуцентов антибиотиков, витаминов и других биологически активных соединений); сельскохозяйственная микробиология (изучает почвенную микрофлору, ее роль в круговороте веществ в природе и влияние на структуру и плодородие почв, а также болезни растений, методы предупреждения и борьбы с ними и т. п.); ветеринарная микробиология (изучает биологию

возбудителей заразных болезней животных и разрабатывает методы специфической диагностики, профилактики и лечения их; она тесно связана с медицинской микробиологией, так как имеются болезни, общие для животных и человека и передающиеся от животных к человеку).

Из всех разделов микробиологии наибольшее значение для человечества имело развитие медицинской микробиологии – науки, которая занимается изучением биологии болезнетворных микробов и особенностей взаимодействия их с организмом человека. Задачей медицинской микробиологии является не только выяснение этиологии инфекционных заболеваний, но и разработка специфических методов их диагностики, профилактики и лечения. Как известно, здесь достигнуты громадные успехи, которыми мы в значительной степени обязаны тому, что в ходе исторического развития микробиологии возникли и стали бурно развиваться такие новые биологические науки, как иммунология, вирусология, учение об антибиотиках и плазмидах.

То, что человек, переболевший заразной болезнью, повторно ею, как правило, не болеет, было известно очень давно. Однако о механизмах, обеспечивающих такую приобретенную устойчивость (иммунитет), стало известно лишь в результате исследований И. И. Мечникова, П. Эрлиха и их многочисленных учеников.

Выдающийся русский ученый И. И. Мечников не только был одним из основоположников микробиологии, в том чис-

ле и отечественной, но по праву считается вместе с П. Эрлихом основоположником иммунологии. Он открыл явление фагоцитоза и впервые в истории медицины показал, что целебные силы организма связаны с особой группой клеток, названных им «фагоцитами». Идеи И. И. Мечникова горячо поддержал Л. Пастер, он пригласил его и предложил возглавить лабораторию в Пастеровском институте. Здесь и работал И. И. Мечников с 1887 г. до конца жизни. После того как было установлено, что против бактерий и их токсинов в организме вырабатываются различные антитела (антитоксины, бактериолизины, опсонины, агглютинины и т. п.), П. Эрлих предложил гуморальную теорию иммунитета. В многолетней и на редкость плодотворной научной дискуссии между сторонниками фагоцитарной теории иммунитета Мечникова и гуморальной – Эрлиха – фактически были раскрыты многие механизмы иммунитета и родилась иммунология. Обе теории оказались правомочными – И. И. Мечникову и П. Эрлиху за исследования по иммунитету в 1908 г. была присуждена Нобелевская премия.



И. И. Мечников (1845 – 1916)



П. Эрлих (1854 – 1915)

В развитие иммунологии большой вклад внесли ученики И. И. Мечникова – А. М. Безредка (1870 – 1940), Л. А. Тарасевич (1868 – 1927), И. Г. Савченко, В. И. Исаев – и такие ученые, как Э. Ру, А. Иерсен, Э. Беринг, Ш. Китазато, Ж. Борде, О. Жангу, Г. Рамон и др.

В результате последующих многочисленных исследований было установлено, что и наследственный, и приобретенный иммунитеты обеспечиваются согласованной деятельно-

стью пяти основных систем: макрофагов; комплемента; Т- и В-лимфоцитов; интерферонов; главной системы гистосовместимости. Они и обеспечивают различные формы иммунного ответа.

12 февраля 1892 г. на заседании Российской академии наук Д. И. Ивановский сообщил о том, что возбудителем мозаичной болезни табака является фильтрующийся вирус. Эту дату можно считать днем рождения вирусологии, а Д. И. Ивановского – ее основоположником. Очень скоро выяснилось, что вирусы вызывают заболевания не только растений, но и человека, животных и бактерий. Они оказались столь же вездесущими, как и другие микроорганизмы. Развитие вирусологии, также ставшей фундаментальной биологической наукой, определялось совершенствованием методов исследования вирусов и их культивирования. Необычные свойства вирусов на многие годы затянули решение вопроса об их природе. Только после расшифровки природы гена и генетического кода вирусы были признаны живыми существами, хотя они по многим свойствам отличаются от всех других организмов. Л. Пастер, создавая вакцину против бешенства, вплотную подошел к открытию вирусов, во всяком случае, он предсказал их существование. Здесь прослеживается историческая связь микробиологии с вирусологией. Между созданием вакцины против бешенства и открытием вирусов Д. И. Ивановским прошло всего 8 лет.



Д. И. Ивановский (1864 – 1920)



А. Флеминг (1881 – 1955)

Следующим важным этапом в развитии микробиологии было открытие антибиотиков. В 1929 г. А. Флеминг открыл пенициллин, и началась новая эра – эра антибиотикотерапии, которой суждено было произвести подлинную революцию в медицине. А изучение природы лекарственной устойчивости, которая стала эпидемически распространяться среди бактерий, привело к очередному важному открытию. Оказалось, что у многих бактерий, устойчивых к ан-

антибиотикам и иным химиопрепаратам, существует два генома – хромосомный и плазмидный. Изучение плазмид привело к выводу о том, что они представляют собой еще более простые организмы, чем вирусы, и в отличие от последних не разрушают бактерии, а наделяют их дополнительными важными биологическими свойствами. Открытие плазмид и изучение их свойств расширили и углубили представление о формах существования жизни и путях ее эволюции.

Новый этап развития микробиологии, иммунологии и вирусологии начался во второй половине XX в. в связи с рождением молекулярной генетики и молекулярной биологии. В 1944 г. в опытах по трансформации пневмококков впервые было доказано, что носителем генов является ДНК. Использование бактерий, вирусов, а затем и плазмид в качестве объектов молекулярно-генетических и молекулярно-биологических исследований привело к более глубокому пониманию фундаментальных процессов, лежащих в основе жизни. В области иммунологии исследования на молекулярно-генетическом и молекулярно-биологическом уровне позволили раскрыть структуру антител; выяснить, как осуществляется генетический контроль их биосинтеза, каковы механизмы дифференцировки иммунокомпетентных клеток и их взаимодействия в выдаче различных вариантов иммунного ответа. Иммунология вплотную подошла к раскрытию основных принципов и закономерностей саморегуляции иммунной системы на всех ее уровнях. Открываются широкие пер-

спективы использования иммунобиологических модуляторов для лечения различных форм иммунодефицитов, включая рак. За последние годы расшифрована молекулярно-генетическая организация многих вирусов, изучены механизмы их взаимодействия с клетками, особенности противовирусного иммунитета, открыты и изучены различные вирусы, в том числе относящиеся к семейству *Retroviridae* (ВИЧ), выяснены в общих чертах механизмы, с помощью которых онковирусы вызывают трансформацию нормальных клеток в опухолевые. Большие успехи достигнуты в изучении генетического, в том числе плазмидного, контроля факторов патогенности и механизма действия многих бактериальных экзотоксинов. Разработаны принципы получения и производства, в том числе генно-инженерными методами, новых поколений вакцин. Созданы реальные предпосылки для ликвидации ряда инфекционных заболеваний уже в ближайшее время с помощью массовой вакцинации. Успешный опыт по ликвидации на Земле оспы позволяет надеяться, что с помощью расширенной программы иммунизации, осуществляемой под эгидой ВОЗ, такие болезни, как полиомиелит, краснуха, корь, эпидемический паротит, также будут ликвидированы, а заболеваемость туберкулезом, дифтерией, столбняком, коклюшем и некоторыми другими болезнями будет значительно снижена.

За открытия в области микробиологии Нобелевских премий удостоены многие выдающиеся ученые: Э. Беринг

(1901), Р. Кох (1905), И. И. Мечников, П. Эрлих (1906), Ш. Лаверан (1907), Ш. Рише (1913), Ж. Борде (1919), Ш. Николь (1928), К. Ландштейнер (1930), Г. Домагк (1939), А. Флеминг, Х. Флори, Э. Чейн (1945), М. Тейлер (1951), С. Ваксман (1952), Ф. Робинс, Д. Эндерс, Т. Веллер (1954), Д. Ледерберг (1958), А. Корнберг, С. Очоа (1959), Ф. Бернет, П. Медавар (1960), Ф. Крик, М. Х. Уилкинс, Д. Уотсон (1962), Ф. Жакоб, А. Львов, Ж. Моно (1965), Ф. Раус (1966), М. Ниренберг, Р. Холли, Х. Корана (1968), М. Дельбрюк, А. Херши, С. Лурия (1969), Д. Балтимор, Р. Дульбекко, Х. Темин (1970), Б. Блюмберг, К. Гайдушек (1976), В. Арбер, Д. Натанс, Х. Смит (1978), Ж. Доссе, Б. Бенасерраф, Д. Снелл (1980), Б. Мак-Клинтон (1983), Г. Келлер, Ц. Мильштейн, Н. Эрне (1984), С. П. Прузинер (1997).

Российским ученым принадлежит большая заслуга в развитии микробиологии, иммунологии и вирусологии. Рядом с именами И. И. Мечникова, Д. И. Ивановского по праву можно поставить имена и многих других выдающихся ученых. С. Н. Виноградский является основоположником почвенной микробиологии и одним из организаторов Русского микробиологического общества (1903 г.). С 1932 г. и до конца жизни он руководил агробиологическим отделом Пастеровского института в Париже. П. Ф. Боровский (1863 – 1932) и Ф. А. Леш (1840 – 1903) – первооткрыватели патогенных простейших, лейшманий и дизентерийной амебы. И. Г. Савченко установил стрептококковую этиологию скарла-

тины, первым использовал антитоксическую сыворотку для ее лечения, предложил вакцину против нее, создал Казанскую школу микробиологов в России и вместе с И. И. Мечниковым изучал механизм фагоцитоза и проблемы специфической профилактики холеры. Д. К. Заболотный (1866 – 1929) – крупнейший организатор борьбы с чумой, установил и доказал ее природную очаговость. Он создал первую самостоятельную кафедру бактериологии в Петербургском женском медицинском институте в 1898 г.



С. Н. Виноградский (1856 – 1953)



И. Г. Савченко (1862 – 1932)



В. Д. Тимаков (1904 – 1977)

Большой вклад в развитие общей, технической и сельскохозяйственной микробиологии внесли академики В. Н. Шапошников (1884 – 1968), Н. Д. Иерусалимский (1901 – 1967), Б. Л. Исаченко (1871 – 1947), Н. А. Красильников (1896 – 1973), В. Л. Омелянский (1867 – 1928), С. П. Костычев (1877 – 1931), Е. И. Мишустин (1901 – 1983) и их многочисленные ученики. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология во многом обязаны исследованиям таких широко

известных отечественных ученых, как Н. Ф. Гамалея (1859 – 1949), П. Ф. Здродовский (1890 – 1976), Л. А. Зильбер (1894 – 1966), В. Д. Тимаков, Е. И. Марциновский (1874 – 1934), В. М. Жданов (1914 – 1987), З. В. Ермольева (1898 – 1979), А. А. Смородинцев (1901 – 1989), М. П. Чумаков (1909 – 1990), П. Н. Кашкин (1902 – 1991), Б. П. Первушин (1895 – 1961) и многих других. Трудями отечественных микробиологов, иммунологов и вирусологов внесен крупный вклад в развитие мировой науки, в теорию и практику здравоохранения.

Преподавание в России микробиологии было начато И. И. Мечниковым и Я. Ю. Бардахом в 1885 г. в Новороссийском университете (Одесса). В 1892 г. Г. Н. Габричевский (1860 – 1907) организовал в Московском университете самостоятельный курс бактериологии, на основе которого затем была создана кафедра.

## Глава 2

# Микроскопические методы исследования микроорганизмов

Размеры всех объектов, являющихся предметом изучения микробиологии и вирусологии, лежат далеко за пределами разрешающей способности человеческого глаза. Морфология микроорганизма (его форма, размеры, взаиморасположение клеток, поверхностные структуры, внутренняя организация) является чрезвычайно важной его характеристикой и лежит в основе таксономии. Поэтому одним из главных методов исследования в области микробиологии является микроскопия. Основу микроскопических методов исследования составляют световая микроскопия со всеми ее разновидностями (темнопольная, фазово-контрастная, аноптральная, люминесцентная и др.) и электронная микроскопия. Выбор метода определяется целями, стоящими перед исследователем.

В основе световой микроскопии лежат различные свойства света. Современные световые микроскопы представляют собой довольно сложные приборы, совершенствуемые в течение 400 лет с момента создания первого прототипа микроскопа. Современный биологический световой микроскоп состоит из следующих основных элементов: штатива, состо-

ящего из массивного основания (башмака), и тубусодержателя, на котором смонтирована механическая система грубой и тонкой настройки, револьвер с 3 – 4 сменными объективами, предметный столик с конденсором и диафрагмой и под ним светонаправляющее зеркало, концентрирующее естественный или искусственный свет на объект исследования, находящийся на предметном столике. Тубусодержатель микроскопа заканчивается головкой, на которой крепится монокулярный или бинокулярный тубус с окуляром или окулярами. Предметный столик имеет приспособление для крепления предметного стекла с препаратом и механизма для его перемещения.

## **Иммерсионная световая микроскопия**

Важнейшей характеристикой каждого объектива, как и любой оптической системы, является его разрешающая способность. Под разрешающей способностью понимают минимальное расстояние между двумя точками, при котором они еще видны раздельно, т. е. не сливаются в одну. Разрешающая способность объектива ограничивается такими недостатками оптической системы, как сферическая и хроматическая абберация, дифракция и т. д. Если первые два явления устранимы, то явление дифракции наблюдается в любой оптической системе. Она ограничивает разрешающую способность оптических систем. Разрешающая способность

объектива с учетом явлений дифракции описывается следующей формулой:

$$A = 0,61 \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha},$$

где  $A$  – разрешающая способность;  $n$  – показатель преломления среды между препаратом и фронтальной линзой объектива (в случае масляной иммерсии  $n = 1,51$ );

$\alpha$  – угол между оптической осью объектива и самым крайним лучом, попадающим в объектив из центра препарата;  $\lambda$  – длина световой волны; 0,61 – коэффициент учета геометрических факторов при вычислении освещенности первого дифракционного максимума от круглого отверстия.

Величина  $n \cdot \sin \alpha$  постоянна для каждого объектива и называется числовой, или нумерической, апертурой. Она выгравирована на оправе объектива. В монобромнафталиновых иммерсионных объективах нумерическая апертура может варьировать в пределах от 1,25 до 1,60. При наличии воздуха между фронтальной линзой и покровным стеклом нумерическая апертура не превышает 0,95 (сухие объективы). Из приведенной выше формулы видно, что разрешающая способность объектива прямо пропорциональна его числовой апертуре и обратно пропорциональна длине волны

света, используемого для микроскопии. При микроскопии в видимом свете с длиной волны 0,55 мкм (550 нм) и иммерсионным объективом с нумерической максимальной апертурой 1,60 разрешающая способность равна:

$$A = 0,61 \frac{0,55}{1,60} = 0,2 \text{ мкм.}$$

Таким образом, даже в идеальном световом микроскопе нельзя увидеть объекты размером менее 0,2 мкм.

Величина угла, при котором глаз способен различать раздельно две точки, называется углом резкого зрения. Для получения на сетчатке четкого раздельного изображения двух точек световые лучи должны попасть в глаз под углом зрения, который стягивает дугу от 2 до 4 минут.

Изображение структур, разрешенных объективом, может быть увеличено окуляром лишь настолько, чтобы было различимо под углом, стягивающим дугу величиной от 2 до 4 минут. Это полезное увеличение микроскопа. Полезное увеличение микроскопа не может превышать числовую апертуру более чем в 1000 раз. Поэтому максимальное полезное увеличение для микроскопов, имеющих иммерсионные объективы с апертурой 1,4 – 1,6, составляет 1400 – 1600. Применение в таких микроскопах более сильных окуляров не выяв-

ляет никаких дополнительных деталей в разрешаемой объективом структуре препарата.

## **Фазово-контрастная микроскопия**

Обыкновенные окрашенные препараты поглощают часть проходящего через них света, в результате чего амплитуда световых волн снижается, и частицы препарата выглядят темнее фона. При прохождении света через неокрашенный препарат амплитуда световых волн не меняется, происходит лишь изменение фазы световых волн, прошедших через частицы препарата. Однако человеческий глаз улавливать это изменение фазы света не способен, поэтому неокрашенный препарат при правильной установке освещения в микроскопе будет невидим.

Фазово-контрастное устройство позволяет превратить изменение фазы лучей, прошедших через частицы неокрашенного препарата, в изменения амплитуды, воспринимаемые человеческим глазом, и, таким образом, позволяет сделать неокрашенные препараты отчетливо видимыми.

Приспособление для фазово-контрастной микроскопии включает в себя конденсор с набором кольцевых диафрагм, обеспечивающих освещение препарата полным конусом света, и фазово-контрастные объективы, которые отличаются от обычных тем, что в их главном фокусе располагается полупрозрачная фазовая пластинка в виде кольца, вызывающая

сдвиг фазы проходящего через нее света. Установку освещения проводят так, чтобы весь свет, прошедший через кольцевидную диафрагму конденсора, в дальнейшем прошел через расположенное в объективе фазовое кольцо.

При рассмотрении препарата весь свет, прошедший через участки препарата, в которых нет каких-либо объектов, пройдет через фазовое кольцо и даст светлое изображение фона. Свет, прошедший через имеющиеся в препарате частицы, например бактериальные клетки, получит некоторое изменение фазы и, кроме того, разделится на два луча – недифрагированный и дифрагированный. Недифрагированные лучи, пройдя в дальнейшем через кольцевидную фазовую пластинку в объективе, получают дополнительный сдвиг фазы. Дифрагированные лучи пройдут мимо фазовой пластинки, и их фаза не изменится. В плоскости полевой диафрагмы окуляра произойдет интерференция (наложение) дифрагированного и недифрагированного лучей, а так как эти лучи идут в разных фазах, произойдет их взаимное частичное гашение и уменьшение амплитуды. Благодаря этому микробные клетки будут выглядеть темными на светлом фоне.

Существенными недостатками фазово-контрастной микроскопии являются слабая контрастность получаемых изображений и наличие светящихся ореолов вокруг объектов. Фазово-контрастная микроскопия не увеличивает разрешающей способности микроскопа, но помогает выявить детали

структуры живых бактерий, стадии их развития, изменения в них под действием различных агентов (антибиотики, химические вещества и т. д.).

## **Аноптральная микроскопия (амплитудно-контрастная, фазово-темнопольная)**

Аноптральная микроскопия – разновидность фазово-контрастной микроскопии, при которой применяют объективы со специальными пластинками, нанесенными на одну из линз в виде затемненного кольца.

Принцип аноптральной микроскопии тот же, что и фазово-контрастной, но первая обладает большей разрешающей способностью при микроскопировании объектов, вызывающих незначительный фазовый сдвиг, и открывает новые возможности использования обычного светового микроскопа для прижизненного исследования бактерий, простейших и т. д.

Широкое центральное отверстие в слое копоти или меди, нанесенном на линзу объектива, является как бы люком, выпускающим из объектива большую часть дифрагированного света, в то время как широкий темный слой кольца, покрывающий остальную поверхность линзы, играет роль ловушки для нежелательного периферического дифрагированного света. За счет этого в значительной степени устраняется

ореол вокруг исследуемого объекта, фон поля зрения имеет коричневато-серый цвет, а сами объекты имеют различные оттенки от светло-коричневого до белого.

## **Интерференционная микроскопия**

Интерференционная микроскопия решает те же задачи, что и фазово-контрастная, но если последняя позволяет наблюдать лишь контуры объектов исследования, то с помощью интерференционной микроскопии можно изучать детали прозрачного объекта и проводить их количественный анализ. Это достигается благодаря раздвоению луча света в микроскопе: один из лучей проходит через частицу объекта, а другой мимо нее. В окуляре микроскопа оба луча соединяются и интерферируют между собой. Разность возникающих фаз можно измерить, определив таким образом массу различных клеточных структур. Последовательное измерение разности фаз света с известными показателями преломления дает возможность определять толщину живых объектов, концентрацию в них воды и сухого вещества и т. д. На основании данных интерференционной микроскопии можно косвенно судить о проницаемости мембран, активности ферментов, клеточном метаболизме объектов исследования.

# Поляризационная микроскопия

Поляризационная микроскопия позволяет изучать объекты исследования в свете, образованном двумя лучами, поляризованными во взаимно перпендикулярных плоскостях, т. е. в поляризованном свете. Для этого используют пленчатые поляроиды или призмы Николя, которые помещают в микроскопе между источником света и препаратом. Поляризация меняется при прохождении лучей света через различные структурные компоненты клеток и тканей, свойства которых неоднородны, или при отражении от них. В оптически изотропных структурах скорость распространения поляризованного света не зависит от плоскости поляризации, в анизотропных структурах она меняется в зависимости от направления света по продольной или поперечной оси объекта. Если показатель преломления света вдоль структуры больше, чем в поперечном направлении, возникает положительное двойное лучепреломление, при обратных взаимоотношениях – отрицательное двойное лучепреломление. Многие биологические объекты имеют строгую молекулярную ориентацию, являются анизотропными и вызывают положительное двойное преломление света.

## **Темнопольная микроскопия**

При микроскопии по методу темного поля препарат освещается сбоку косыми пучками лучей, не попадающими в объектив. В объектив попадают лишь лучи, которые отклоняются частицами препарата в результате отражения, преломления или дифракции. В силу этого микробные клетки и другие частицы представляются ярко светящимися на черном фоне (картина напоминает мерцающее звездное небо).

Для микроскопии в темном поле используют специальный конденсор (параболоид-конденсор или кардиоид-конденсор) и обычные объективы. Поскольку апертура иммерсионного объектива больше, чем апертура конденсора темного поля, внутрь иммерсионного объектива вставляется специальная трубчатая диафрагма, снижающая его апертуру.

Этот метод микроскопии удобен при изучении живых бактерий, спирохет и их подвижности.

## **Люминесцентная микроскопия**

Метод основан на способности некоторых веществ светиться под действием коротковолновых лучей света. При этом длина волны излучаемого при люминесценции света всегда будет больше, чем длина волны света, возбуждающего люминесценцию. Так, если освещать объект синим све-

том, он будет испускать лучи красного, оранжевого, желтого и зеленого цвета. Препараты для люминесцентной микроскопии окрашивают специальными светящимися красителями – флуорохромами (акридиновый оранжевый, изотиоцианат флуоресцеина и др.). Лучи света от сильного источника (обычно ртутной лампы сверхвысокого давления) пропускают через сине-фиолетовый светофильтр. Под действием этого коротковолнового излучения окрашенные флуорохромом клетки или бактерии начинают светиться красным или зеленым светом. Для того чтобы синий свет, вызвавший люминесценцию, не мешал наблюдению, над окуляром ставят запирающий желтый светофильтр, задерживающий синие, но пропускающий желтые, красные и зеленые лучи. В результате при наблюдении в люминесцентном микроскопе на темном фоне будут видны клетки или бактерии, светящиеся желтым, зеленым или красным светом. Например, при окраске акридиновым оранжевым ДНК клетки (ядерное вещество) будет светиться ярко-зеленым светом. Метод люминесцентной микроскопии позволяет изучать живые нефиксированные бактерии, окрашенные сильно разведенными флуорохромами, не причиняющими вреда микробным клеткам. По характеру свечения могут быть дифференцированы отдельные химические вещества, входящие в состав микробной клетки. Метод с успехом может быть использован для ускоренной диагностики ряда заболеваний (см. также раздел «Реакция иммунофлуоресценции» в гл. 42).

# Электронная микроскопия

Для изучения структуры клеток на субклеточном и молекулярном уровнях, а также для изучения вирусов используют электронную микроскопию. Ценность электронной микроскопии заключается в ее способности разрешать объекты, не разрешаемые оптическим микроскопом в видимом или ультрафиолетовом свете. Малая длина волны электронов, которая уменьшается в прямой зависимости от подаваемого ускоряющего напряжения, позволяет разрешать, т. е. различать как отдельные объекты, отстоящие друг от друга всего на  $2 \times 10^{-2}$  (0,2 нм, или 0,0002 мкм) или даже меньше, в то время как предел разрешения световой оптики лежит вблизи 0,2 мкм (он зависит от длины волны используемого света). Электронная микроскопия, при которой изображение получают благодаря прохождению (просвечиванию) электронов через образец, называется просвечивающей (трансмиссионной). При сканирующей (растровой), или туннельной, электронной микроскопии пучок электронов быстро сканирует (просматривает) поверхность образца, вызывая излучение (отражение), которое посредством катодно-лучевой трубки формирует изображение на светящемся экране микроскопа по аналогии с формированием телевизионного изображения.

Принципиальная оптическая схема электронного микро-

скопа аналогична схеме светового, в котором все оптические элементы заменены соответствующими электрическими: источник света – источником электронов, стеклянные линзы – линзами электромагнитными. В электронных микроскопах просвечивающего типа различают три системы: электронно-оптическую, вакуумную, электропитания. Фотографирование изображений при всех видах исследований проводится на фотопластинки или фотопленку. Источником электронов является электронная пушка, состоящая из V-образного вольфрамового термокатода, который при нагревании до  $2900\text{ }^{\circ}\text{C}$  при подаче постоянного напряжения до  $100\text{ кВ}$  в результате термоэмиссии испускает свободные электроны, ускоряемые затем электростатическим полем, создаваемым между фокусирующим электродом и анодом. Электронный пучок затем формируется с помощью конденсорных линз и направляется на исследуемый объект. Электроны, проходя сквозь объект, за счет его разной толщины и электроноплотности отклоняются под различными углами и попадают в объективную линзу, которая формирует первое полезное увеличение объекта.

После объективной линзы электроны попадают в промежуточную линзу, которая предназначена для плавного изменения увеличения микроскопа и получения дифракции с участков исследуемого образца. Проекционная линза создает конечное увеличенное изображение объекта, которое направляется на флуоресцирующий экран. Благодаря взаи-

модействию быстрых электронов с люминофором экрана на нем возникает видимое изображение объекта. После наведения резкости сразу проводят фотографирование. Увеличение конечного изображения на экране определяется как произведение увеличений, даваемых объективной, промежуточной и проекционной линзами.

Электронно-микроскопическому исследованию могут быть подвергнуты как ультратонкие срезы различных тканей, клеток, микроорганизмов, так и целые бактериальные клетки, вирусы, фаги, а также субклеточные структуры, выделяемые при разрушении клеток различными способами.

Современные модели электронных микроскопов устроены так, что сочетают в себе возможности как просвечивающего, так и сканирующего микроскопов, и их легко можно переоборудовать с одного типа на другой. При просвечивающей электронной микроскопии получают плоскостные изображения объекта, а при сканирующей – удается получить трехмерное объемное изображение (с помощью компьютера). В бактериологии сканирование наиболее эффективно для выявления отростков и других поверхностных структур, для определения формы и топографических отношений как в колониях, так и на поверхности инфицированных тканей.

Электронная микроскопия требует специальной подготовки объектов исследования, в частности: фиксации тканей или микроорганизмов, обезвоживания (так как вода сильно рассеивает электроны), заливки в твердые среды (эпок-

сидные смолы), приготовления ультратонких срезов. С целью повышения четкости наблюдаемой картины используют методы позитивного или негативного контрастирования, а также метод оттенения.

При сканирующей микроскопии образец фиксируют, высушивают на холоде и напыляют в вакууме золотом или другими тяжелыми металлами. Таким образом получают реплику (отпечаток), повторяющую контуры образца и впоследствии сканируемую.

## Глава 3

# Основные принципы классификации микроорганизмов. Происхождение и пути эволюции микроорганизмов

### Четыре царства жизни

Мир микроорганизмов чрезвычайно разнообразен. По мере их открытия и изучения они были разделены на следующие группы:

1. Бактерии – *Schizomycetes* (грибы-дробянки; лат. *schizo* – расщепляю и *mycetes* – грибы).
2. Лучистые грибы – *Actinomycetes* (лат. *actino* – луч).
3. Нитчатые грибы – *Trichomycetes* (греч. *trichos* – волос).
4. Дрожжевые грибы – *Blastomycetes* (греч. *blastos* – почка, размножаются почкованием).
5. Сине-зеленые водоросли – *Cyanophyta*, они же цианобактерии (*Cyanobacteria*).
6. Спирохеты – *Spirochaeta* (греч. *speira* – спираль и *chaite* – волос).
7. Простейшие – *Protozoa*.
8. Риккетсии – *Rickettsia*.
9. Микоплазмы – *Mycoplasma*.

10. Вирусы.

11. Плазмиды.

Единственное, что их всех объединяет, – микроскопические размеры. Однако эти организмы существенным образом различаются по многим признакам и прежде всего по уровню организации геномов, наличию и составу белоксинтезирующих систем и клеточной стенки.

Все известные живые организмы в природе можно разделить на 4 существенно отличающиеся друг от друга царства: вирусы и плазмиды, археобактерии, эубактерии и эукариоты. Археобактерии и эубактерии по признаку отсутствия оформленного клеточного ядра объединяют в группу прокариот. К ним относятся бактерии, синезеленые водоросли, спирохеты, актиномицеты, риккетсии и подобные им бактерии, а также микоплазмы. Простейшие, дрожжи, нитчатые грибы и все другие группы живых существ с более высоким уровнем организации, имеющие оформленное клеточное ядро, называются эукариотами. В связи с таким разнообразием дать краткое и исчерпывающее определение понятия «микроорганизм» достаточно сложно, тем более, что к ним относятся вирусы и плазмиды, о природе которых шла продолжительная дискуссия. Нужно было определить главный критерий, который бы отличал живое от неживого. Современное представление о жизни связано с понятием гена. *Ген является единственным носителем и хранителем жизни. Таким образом, главное отличие живого от неживого – наличие*

*собственной генетической системы, которая обеспечивает наследственную непрерывность и эволюцию данного организма, т. е. его существование – жизнь. Все, кто имеет свою генетическую систему, должны рассматриваться как организмы.* В свете всего сказанного и с учетом того, что уже известно о микроорганизмах, представляется возможным дать им такое определение.

*Микроорганизмы – это невидимые простым глазом представители всех царств жизни: эукариоты, прокариоты (эубактерии и архебактерии), вирусы и плазмиды. Они занимают низшие ступени эволюции, но играют важную и разнообразную роль в общей экономике природы, в круговороте веществ, в патологии человека, животных и растений.*

Отличительные особенности перечисленных царств жизни следующие.

**К царству вирусов и плазмид** относят организмы, у которых геном представлен либо ДНК, либо РНК; у них отсутствуют собственные системы биосинтеза белка и мобилизации энергии, поэтому они являются абсолютными внутриклеточными паразитами.

**Прокариоты (эубактерии и архебактерии)** – это организмы, у которых еще нет оформленного ядра, а есть лишь его предшественник – нуклеоид. Он представлен одной или несколькими хромосомами, которые состоят из ДНК и свободно располагаются в цитоплазме, не отграниченные от нее

никакой мембраной. Прокариоты не имеют дифференцированного аппарата митоза, у них нет ядрышка. Кроме того, они имеют рибосомы 70S, и большинство их имеет клеточную стенку, содержащую пептидогликан, который отсутствует у эукариот. Размеры прокариот варьируют в пределах 1 – 20 мкм. У прокариот нет митохондрий и хлоропластов. Среди них есть аэробные и анаэробные организмы.

**Архебактерии.** В 70 – 80 гг. XX в. были использованы новые признаки при создании дендрограмм (древа жизни); сравнивали гены (или их продукты), выполняющие одну и ту же функцию, у разных классов организмов, например нуклеотидные последовательности 16S рРНК (18S рРНК) из 6 или большего числа остатков. Построенные по этим признакам дендрограммы выявили три высшие таксономические группы (домена): эубактерий, архебактерий и эукариот. При этом оказалось, что архебактерии отличаются от эубактерий и эукариот в такой же степени, в какой последние отличаются друг от друга. Основные отличия архебактерий от эубактерий: химический состав жесткой клеточной стенки различный, у архебактерий она не содержит пептидогликана; у архебактерий особая химическая структура липидов, иной компонентный состав РНК-полимераз; есть повторяющиеся последовательности в составе хромосомной ДНК; наличие интронов в генах тРНК и рРНК; различие в химическом составе и строении рибосом.

Сходство архебактерий с эукариотами: наличие интронов

в генах тРНК и рРНК; наличие в хромосомных ДНК повторяющихся последовательностей; сходный компонентный состав РНК-полимераз; чувствительность белоксинтезирующих систем к дифтерийному токсину; сходство ферментных систем, участвующих в процессах репликации, транскрипции и трансляции. Рибосомы архебактерий имеют сходство с рибосомами 70S и 80S.

Таким образом, существуют четыре царства жизни: эукариоты; эубактерии; архебактерии; вирусы и плазмиды.

Среди архебактерий выделяют следующие группы:

1. Метаногены – организмы, являющиеся строгими анаэробами. Энергию для роста получают путем восстановления  $\text{CO}_2$  до метана по реакции:  $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 = \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\Delta G^\circ = -31,3$  ккал/моль (водород потребляется из атмосферы).

2. Экстремальные галофилы – аэробные бактерии, способные расти в насыщенном растворе NaCl (до 32 %), нижняя пороговая концентрация NaCl = 12 – 15 %. Обладают системой фотосинтеза, отличной от таковой у других фотосинтезирующих бактерий (в мембране галофильных бактерий присутствует не хлорофилл, а бактериородопсин).

3. Термоацидофилы – характеризуются высокими оптимальными температурами (от 75 до 90 °C) и низкими значениями pH (от 5 – 6 до 1 – 2), оптимальными для своего роста. Сумма Г + Ц у архебактерий варьирует от 28 до 68 мол%. Экстремальные условия существования архебактерий, вероятнее всего, указывают на то, что их предки возникли то-

гда, когда физические условия существенно отличались от современных. Патогенных для человека видов среди археобактерий не обнаружено.

**Эубактерии.** Длина хромосомы *Escherichia coli* составляет 1,6 мм; хромосома организована в форме нуклеоида длиной в 1 мкм, т. е. в структуру в 1600 раз более короткую. Упаковка ДНК в пределах нуклеоида существует в двух вариантах: в виде длинных суперспирализованных доменов (по 1000 000 п. н. в каждом), у *E. coli* таких доменов 43; и в виде коротких доменов из нескольких сот пар нуклеотидов. Стабилизирующую роль в такой упаковке играют специфические белки. У энтеробактерий известно не менее 5 таких белков: H, H1, HU, IFN, HLP1, которые имеют сходство с гистонами.

**Эукариоты** имеют рибосомы 80S, митохондрии или хлоропласты (в этих структурах содержатся рибосомы 70S), не содержат пептидогликана; все они – аэробные организмы. К эукариотам относятся все высшие растения и животные. Жгутики у эукариот состоят из белка тубулина и представляют собой систему микротрубочек, расположенных по типу 9 + 2 и связанных с базальным телом. Жгутики у прокариот не содержат систем микротрубочек и построены из белка флагеллина.

# Принципы систематики и классификации микроорганизмов

Систематика занимается всесторонним описанием видов организмов, выяснением степени родственных отношений между ними и объединением их в различные по уровню родства классификационные единицы (таксоны). Классификация – составная часть систематики. Она сводится к распределению организмов в соответствии с их общими признаками по различным таксонам. Таксономия – наука о принципах и методах распределения (классификации) организмов в иерархическом плане. Основной таксономической единицей в биологии является вид (*species*). Виды объединяют в таксоны более высоких рангов: род (*genus*), триба (*tribus*), семейство (*familia*), порядок (*ordo*), класс (*classis*), тип (*phylum*). Помимо этих основных категорий, используются также дополнительные – подрод, подтриба, подсемейство, подпорядок, подкласс, подтип. Иногда употребляются также неформальные категории «отдел» и более общая – «группа».

Общее для всех живых существ определение понятия «вид» дать чрезвычайно трудно в связи с многообразием форм жизни. В микробиологии были предложены различные понятия вида. Н. А. Красильников, автор фундаментального труда «Определитель бактерий и актиномицетов» (1949), дал следующее определение вида: «*Вид – группа или со-*

*вокупность близких между собой организмов, которые имеют общий корень происхождения, на данном этапе эволюции характеризуются определенными морфологическими, биохимическими и физиологическими признаками, обособлены отбором от других видов и приспособлены к определенной среде обитания».* Это определение подвергалось различными авторами модификациям. Сейчас, когда стало понятно, что степень родства бактерий, их свойства и признаки зависят от их собственных геномов, можно дать более краткое определение вида: **Вид – совокупность микроорганизмов, имеющих общий корень происхождения, сходный генотип (степень гомологии ДНК 60 % и более, близкое суммарное содержание пар Г + Ц) и максимально близкие фенотипические признаки.**

Специфические особенности микроорганизмов определили и набор тех признаков и свойств, которые используются для их систематики и классификации.

**1. Морфологические признаки** – величина, форма, характер взаиморасположения.

**2. Тинкториальные свойства** – способность окрашиваться различными красителями. Особенно важным признаком является отношение к окраске по Граму, которое зависит от структуры и химического состава клеточной стенки бактерий. По этому признаку все бактерии делятся на грамположительные и грамотрицательные. Морфологические свойства и отношение к окраске по Граму определяют

принадлежность к крупным таксонам – роду, семейству и т. д.

**3. Культуральные свойства** – особенности роста бактерий на жидких (образование пленки, осадок, помутнение) и плотных (форма, размеры, консистенция, края, поверхность, прозрачность колоний, образование пигмента и другие свойства) питательных средах. В микробиологии широко используют такие специфические термины, как «колония», «культура», «штамм», «типы» или «варианты». Под колонией принято понимать видимую простым глазом изолированную структуру, образующуюся в результате размножения и накопления бактерий за определенный срок инкубации. Колония образуется обычно из одной родительской клетки или из нескольких идентичных клеток. Поэтому пересевом из изолированной колонии может быть получена чистая культура возбудителя. Под культурой понимают всю совокупность бактерий, выросших на плотной или жидкой питательной среде. Как колония, так и культура каждого вида характеризуются определенными признаками. Основной и главный принцип бактериологии – во избежание ошибок изучать свойства только чистых, однородных культур. Каждая выделенная культура данного вида бактерий называется также штаммом, т. е. конкретным образцом данного вида (*нем.* stammen – происходить). Штаммы одного и того же вида бактерий, различающиеся по антигенному строению, называют серотипами (сероварами, серовариантами), по чув-

ствительности к фагу – фаготипами (фаговарами), по биохимическим или культуральным признакам – биотипами (биоварами) и т. п. Штамм можно считать низшей таксономической единицей бактерий.

**4. Подвижность бактерий.** Различают бактерии подвижные и неподвижные. Подвижные бактерии подразделяют на ползающие, или скользящие, они передвигаются за счет волнообразного сокращения клеток; и плавающие бактерии, у которых активная подвижность связана с наличием жгутиков.

**5. Спорообразование** – форма и характер расположения споры в клетке.

**6. Физиологические свойства** – способы углеродного (аутотрофы, гетеротрофы), азотного (аминоаутотрофы, аминокгетеротрофы) питания; тип дыхания: аэробы, факультативные анаэробы, строгие анаэробы, микроаэрофилы.

**7. Биохимические свойства** – способность ферментировать различные углеводы, протеолитическая активность, образование индола, сероводорода, наличие уреазы и других ферментов и т. д.

**8. Чувствительность к специфическим бактериофагам.**

**9. Антигенные свойства.** Они зависят от химического состава клеточной стенки и жгутиков бактерий.

**10. Химический состав клеточных стенок** (содержание и состав основных сахаров и аминокислот).

**11. Липидный и жирнокислотный состав.** Изучение состава жирных кислот проводят с помощью газовой хроматографии, которая обладает высокой разделительной способностью и чувствительностью.

**12. Белковые спектры.** С помощью различных методов фракционирования, а главным образом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле, разделяют сложные смеси рибосомных, мембранных или внутриклеточных белков и получают электрофореграммы, или белковые спектры, соответствующей фракции данного вида бактерий.

В связи с тем, что количество фенотипических признаков, используемых для классификации микроорганизмов, значительно возросло, в конце 50-х гг. XX в. возникла нумерическая (численная) таксономия. Ее возникновению способствовало появление более совершенных компьютерных систем, которые позволяют быстро и точно производить громоздкие математические расчеты. В основе нумерической таксономии лежит принцип сопоставления организмов по возможно большему количеству учитываемых признаков при допущении, что все они для систематики равноценны. Однако принцип равнозначности является основным недостатком этого метода.

В последние годы для классификации бактерий помимо изучения их фенотипических свойств все более широко используют методы геносистематики. В ее основе лежит изучение нуклеотидного состава ДНК и наиболее важных харак-

теристик генома, в частности его размера (величина, объем, молекулярная масса) и других параметров. Наиболее точным методом установления генетического (геномного) родства между бактериями является определение степени гомологии ДНК. Чем больше идентичных генов, тем выше степень гомологии ДНК и ближе генетическое родство.

Метод молекулярной гибридизации ДНК – ДНК считается сейчас наиболее важным для систематики бактерий. Однако четких и твердо установленных критериев степени гомологии ДНК для таких рангов, как вид и род бактерий, еще нет. Допускают, что диапазон гомологии ДНК от 60 до 100 % говорит о принадлежности к одному и тому же виду, степень гомологии от 40 до 60 % – к разным родам одного семейства. Таким образом, подобно тому, как фенотип и генотип отражают сущность организма, феносистематика и геносистематика отражают сходство и различие организмов, степень их генетического родства. Признаки, используемые для систематики бактерий, используют и для их идентификации, т. е. для установления их таксономического положения и прежде всего видовой принадлежности, что является решающим моментом бактериологической диагностики инфекционных заболеваний. Чаще всего для идентификации патогенных бактерий изучают их морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические и антигенные свойства, а при необходимости и некоторые другие, например отношение к специфическим фагам, антибиотикам

## Современные методы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний

Основные требования, предъявляемые к современным методам микробиологической диагностики инфекционных заболеваний, – высокая специфичность и чувствительность. Эти методы следующие.

**Микроскопический.** С помощью микроскопии нативного патологического материала, полученного от больного, определяют вид возбудителя по его форме, взаиморасположению клеток и способности окрашиваться определенными красителями.

**Бактериологический.** Метод основан на выделении чистой культуры возбудителя и его идентификации.

В настоящее время разработаны различные автоматические системы, позволяющие в течение нескольких часов определить вид возбудителя и изучить его антибиотикограмму (см. с. 184).

**Серологический.** Метод основан на определении в крови больных или переболевших специфических антител к соответствующим возбудителям с помощью различных реакций: агглютинации, преципитации, связывания комплемента, иммунной флуоресценции, иммуноферментного и ра-

диоиммунного методов и др. Серологические реакции, кроме того, могут быть использованы и для непосредственного обнаружения антигенов возбудителя в исследуемом материале (реакции пассивной гемагглютинации, коагглютинации, латекс-агглютинации, агрегат-гемагглютинации, иммунофлуоресценции и т. д.).

**Биологический.** В основе метода лежит заражение лабораторных животных исследуемым материалом с целью воспроизведения у них инфекционного заболевания и (или) последующего выделения возбудителя.

**Аллергические пробы.** С помощью этих проб обнаруживают повышенную чувствительность макроорганизма к определенным возбудителям или продуктам их жизнедеятельности. Аллергические реакции характеризуются антигенной специфичностью, для их выявления применяют препараты, называемые аллергенами.

За последние годы самое широкое применение для идентификации и дифференциации микроорганизмов получили *молекулярно-биологические методы* : методы молекулярных, или генных, зондов, особенно в сочетании с полимеразной цепной реакцией; метод геномной дактилоскопии (ДНК-фингерпринт, англ. *finger-print* – отпечаток пальца) и др.

**Метод генных зондов (ДНК- и РНК-зондов)** – основан на реакции гибридизации между фрагментом нуклеотидной последовательности (зондом), несущим наиболее специфический для определенного вида бактерий или виру-

сов ген (гены), и ДНК (РНК) микроорганизма, находящегося в исследуемом субстрате. Точность метода зависит от качества зонда (его чистоты). Наилучшими ДНК- и РНК-зондами служат полученные путем химического синтеза олигонуклеотидные последовательности (о. п.), расположение нуклеотидов в которых полностью соответствует таковому участка гена (или всего гена), ответственного за определенную функцию микроорганизма. ДНК-зонды метят различными способами: изотопами, специальным белком биотинном, флуорохромами и т. п.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР, или ЦПР).** Выдающуюся роль для создания новых типов ДНК-зондов (ДНК-маркеров) сыграло использование метода амплификации (англ. *amplification* – увеличение) *in vitro* определенного участка ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов полимеразной реакции. Кэри Мюллису, предложившему в 1983 г. метод ПЦР, в 1993 г. была присуждена Нобелевская премия. Метод ПЦР позволяет быстро получить более 10 млн копий определенной о. п. ДНК, первоначально представленной одной или несколькими молекулами. Модификации метода ПЦР легли в основу создания различных типов ДНК-маркеров – праймеров (англ. *primer* – запал, средство воспламенения). ПЦР используют для обнаружения любого агента, если для него имеется соответствующий праймер. ПЦР незаменима в тех случаях, когда трудно или даже невозможно выделить чистую культуру возбу-

дителя. Предложен метод генотипирования, который основан на количественном анализе многолокусных генотипов бактерий (MLVA – анализ многолокусных вариантов) бактерий. Один из его вариантов используют для генотипирования бактерий, содержащих варьирующее число тандемных повторов (*variable number of tandem repeats* – VNTR).

**Геномная дактилоскопия** (ДНК-фингерпринт) основана на рестрикционном анализе ДНК микроорганизмов с применением специфических зондов. Этот метод позволяет исследовать полиморфизм множества локусов повторяющихся о. п. (мультилокусный анализ) в ДНК различных организмов. С его помощью можно выявить в геноме млекопитающих более 30 высокополиморфных локусов, что достаточно для индивидуальной идентификации человека, животных и растений.

## **Современная классификация бактерий**

В «Определителе бактерий-9» (1984 – 1989) прокариоты в зависимости от строения клеточной стенки разделены на 17 частей:

Часть 1. Спирохеты (5 родов).

Часть 2. Аэробные (микроаэрофильные), подвижные, вибрионоподобные грамотрицательные бактерии (7 родов).

Часть 3. Неподвижные (иногда подвижные) грамотрицательные изогнутые бактерии (7 родов).

Часть 4. Грамотрицательные аэробные палочки и кокки (8 семейств, в том числе Pseudomonadaceae; 37 родов).

Часть 5. Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки (3 семейства: Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Pasteurellaceae; 34 рода).

Часть 6. Анаэробные грамотрицательные, прямые и изогнутые палочки (семейство Bacteroidaceae – 13 родов).

Часть 7. Сульфат или серувосстанавливающие бактерии (7 родов).

Часть 8. Анаэробные грамотрицательные кокки (семейство Veillonellaceae – 3 рода).

Часть 9. Риккетсии и хламидии (2 порядка, 4 семейства, 3 трибы, 15 родов).

Часть 10. Микоплазмы. Отдел Tenericutes. Класс Mollicutes (3 семейства, 6 родов).

Часть 11. Эндосимбионты простейших (реснитчатых, жгутиковых, амёб – 5 родов), грибов, насекомых и других беспозвоночных.

Часть 12. Грамположительные кокки (2 семейства, 15 родов, в том числе Staphylococcus и Streptococcus).

Часть 13. Грамположительные палочки и кокки, образующие споры (6 родов, в том числе Bacillus и Clostridium).

Часть 14. Не образующие спор грамположительные правильные палочки (7 родов).

Часть 15. Грамположительные неправильные палочки, не образующие спор (21 род, в том числе Corynebacterium).

Часть 16. Микобактерии (семейство *Mycobacteriaceae*, род *Mycobacterium*).

Часть 17. Нокардиоподобные бактерии (9 родов).

Однако уже в 1993 г. в определитель Берги были внесены новые изменения. Все 4 отдела («главные категории») были разделены на группы, перечисленные ниже.

### **ОТДЕЛ I. Грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточную стенку, или *Gracilicutes***

Группа 1. Спирохеты. Роды: *Borrelia*, *Brachyspira*, *Cristispira*, *Leptonema*, *Leptospira*, *Serpulina*, *Spirochaeta*, *Treponema*.

Группа 2. Аэробные (или микроаэрофильные), подвижные, вибриоидные грамотрицательные бактерии. Роды: *Alteromonas*, *Aquaspirillum* (кроме *A. fasciculus*), *Azospirillum*, *Bdellovibrio*, *Campylobacter*, *Cellvibrio*, *Halovibrio*, *Helicobacter*, *Herbaspirillum*, *Marinomonas*, *Micavibrio*, *Oceanospirillum*, *Spirillum*, *Sporospirillum*, *Vampirovibrio*, *Wolinella*.

Группа 3. Неподвижные (или редко подвижные) грамотрицательные изогнутые бактерии. Роды: *Ancylobacter*, «*Brachyarcus*», *Cyclobacterium*, *Flectobacillus*, *Meniscus*, «*Pelosigma*», *Runella*, *Spirosoma*.

Группа 4. Грамотрицательные аэробные (или микроаэрофильные) палочки и кокки.

Подгруппа 4а. (Аэробы, палочки и кокки, которые растут в атмосфере воздуха, содержащего 21 % кислорода).

Роды: *Acetobacter*, *Acidophilium*, *Acidomonas*, *Acidothermus*,  
*Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Afipia*, *Agrobacterium*,  
*Agromonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Aminobacter*,  
*Aquaspirillum fasciculus*, *Azomonas*, *Azorhizobium*,  
*Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Bordetella*, *Bradyrhizobium*, *Brucella*,  
*Chromohalobacter*, *Chryseomonas*, *Comamonas*, *Cupriavidus*,  
*Deleya*, *Derxia*, *Ensifer*, *Erythrobacter*, *Flavimonas*,  
*Flavobacterium*, *Francisella*, *Frateuria*, *Gluconobacter*,  
*Halomonas*, *Hydrogenophaga*, *Janthinobacterium*, *Kingella*,  
*Lampropedia*, *Legionella*, *Marinobacter*, *Marinomonas*,  
*Mesophilobacter*, *Methylobacillus*, *Methylobacterium*,  
*Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylophaga*, *Methylophilus*,  
*Methylovorus*, *Moraxella*, *Morococcus*, *Neisseria*,  
*Oceanospirillum*, *Ochrobacterium*, *Oligella*, *Paracoccus*,  
*Phenylobacterium*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*,  
*Psychrobacter*, *Rhizobacter*, *Rhizobium*, *Rhizomonas*,  
*Rochalimaea henselae*, *Roseobacter*, *Rugamonas*,  
*Serpens*, *Sinorhizobium*, *Sphingobacterium*, *Thermoleophilum*,  
*Thermomicrobium*, *Thermus*, *Variovorax*, *Volcaniella*,  
*Weeksella*, *Xanthobacter*, *Xanthomonas*, *Xylella*, *Xylophilus*,  
*Zoogloea*.

Подгруппа 4б. (Микроаэрофилы, не растут при концентрации кислорода в воздухе 21 %). Роды: *Taylorella*, *Wolinella*, *Bacteroides* (*B. urealyticus* и *B. gracilis*).

Группа 5. Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки.

Подгруппа 1. Семейство *Enterobacteriaceae*. Роды: *Arsenophonus*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluuvera*, *Leclerica*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Tatumella*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella*.

Подгруппа 2. Семейство *Vibrionaceae*. Роды: *Aeromonas*, *Enhydrobacter*, *Photobacterium*, *Plesiomonas*, *Vibrio* (14 видов).

Подгруппа 3. Семейство *Pasteurellaceae*. Роды: *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Pasteurella*.

Подгруппа 4. Другие роды: *Callymatobacterium*, *Cardiobacterium*, *Chromobacterium*, *Eikenella*, *Gardnerella*, *Streptobacillus*, *Zymomonas*.

Группа 6. Грамотрицательные, анаэробные прямые, изогнутые и спиральные палочки. Роды: *Acetivibrio*, *Acetoanaerobium*, *Acetofilamentum*, *Acetogenium*, *Acetomicrobium*, *Acetothermus*, *Acidaminobacter*, *Anaerobiospirillum*, *Anaerorhabdus*, *Anaerovibrio*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Centipeda*, *Fervidobacterium*, *Fibrobacter*, *Fusobacterium*, *Haloanaerobium*, *Halobacteroides*, *Llyobacter*, *Lachnospira* (см. также группу 20), *Leptotrichia*, *Malonomonas*, *Megamonas*, *Mitsuokella*, *Oxalobacter*, *Pectinatus*, *Pelobacter*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionigenium*, *Propionispira*, *Rikenella*, *Roseburia*, *Ruminobacter*, *Sebaldella*, *Selenomonas*, *Sporomusa*,

*Succinimonas*, *Succinivibrio*, *Syntrophobacter*, *Syntrophomonas*, *Thermobacteroides*, *Thermosipha*, *Thermotoga*, *Tissierella*, *Wolinella*, *Zymophilus*.

Группа 7. Диссимилирующие сульфат или серу редуцирующие бактерии. Роды: *Desulfuromonas*, *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfococcus*, *Desulfobacter*, *Desulfosarcina*, *Desulfobulbus*.

Группа 8. Анаэробные грамотрицательные кокки. Семейство *Veillonellaceae*. Роды: *Acidaminococcus*, *Megasphaera*, *Syntrophococcus*, *Veillonella*.

Группа 9. Риккетсии и хламидии.

Порядок I. *Rickettsiales*. Риккетсии. Семейство *Rickettsiaceae*. Роды: *Rickettsia*,

*Rochalimaea*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Cowdria*, *Neorickettsia*, *Wolbachia*, *Rickettsiella*. Семейство *Bartonellaceae*. Роды: *Bartonella*, *Grahamella*. Семейство *Anaplasmataceae*. Роды: *Anaplasma*, *Aegyptianella*, *Haemobartonella*, *Eperythrozoon*.

Порядок II. *Chlamydiales*. Хламидии. Семейство *Chlamydiaceae*, род *Chlamydia*.

Группа 10. Аноксигенные (не образующие кислорода) фототрофные бактерии. Содержат бактериохлорофилл и каротиноидные пигменты, но не содержат фикобилипротеинов. Могут использовать свет как источник энергии. Фотоаутотрофы или фотоорганотрофы в анаэробных или микроаэрофильных условиях, не образуют при фотосинтезе  $O_2$ . В отличие от оксигенного фотосинтеза аноксигенный фотосин-

тез зависит от внешних доноров электронов (восстановленные серные соединения, молекулярный водород или органические соединения).

Группа 11. Кислородные (образующие кислород) фототрофные бактерии.

Содержат хлорофилл *a*, могут использовать свет как источник энергии и образуют  $O_2$  по такому же способу, как и зеленые растения. Различают две подгруппы: **1.** Содержат хлорофилл *a* и имеют фикобилипротеины (аллофиокцианин, фикоцианин и иногда фикоэритрин). Эти организмы называют цианобактериями, или синезелеными водорослями. **2.** Содержат хлорофилл *a* и хлорофилл *b*, но не содержат фикобилипротеинов.

Группа 12. Аэробные хемолитотрофные бактерии и родственные организмы. Нефототрофные организмы. Различают следующие подгруппы: **1.** Нитрифицирующие. Могут использовать в качестве источника энергии для своего роста восстановленные неорганические соединения азота (соли аммония и нитриты). **2.** Серуоокисляющие. Могут окислять восстановленные неорганические соединения серы, и большинство организмов использует их в качестве единственного источника энергии. **3.** Облигатные окислители водорода. Используют газообразный водород ( $H_2$ ) как источник энергии для роста, но не используют органических соединений углерода. **4.** Бактерии, которые образуют или откладывают железо и/или оксиды марганца на клетках или внутри

них. **5.** Магнитоподвижные бактерии. Проявляют магнитотаксис в магнитных полях. Бактерии содержат богатые железом электронно-плотные внутриклеточные включения (магнитосомы).

Группа 13. Почкующиеся и/или образующие придатки бактерии. Нефототрофные бактерии, которые подразделяются на следующие подгруппы: **1.** Бактерии, имеющие простеки (лат. *prosteca*) – полужесткое удлинение клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и цитоплазмы, которое имеет диаметр меньший, чем сама клетка. *А.* Размножающиеся асимметрично путем почкования. Почки могут образовываться на кончике простека или на клеточной поверхности. *Б.* Размножающиеся путем бинарного поперечного деления. **2.** Бактерии, не образующие простека. *А.* Почкующиеся бактерии. *Б.* Непочкующиеся бактерии, имеющие стебельки. В отличие от простека, стебелек представляет собой лентовидную или трубчатую структуру, образуемую из материала, секретируемого бактериальной клеткой. С помощью стебелька бактерии прикрепляются к поверхностям. *В.* Другие бактерии: а) бактерии, несущие тонкие нити, покрытые оксидами марганца; б) бактерии, несущие тонкие волокнистые структуры, не покрытые оксидами металлов; в) бактерии, имеющие стебельки (полые конические выросты, видимые с помощью световой микроскопии и имеющие поперечные полосы, которые обнаруживаются при электронной микроскопии).

Группа 14. Бактерии, образующие футляры. Нефототрофы. Аэробы. Не обладают скользящей подвижностью. Бактерии растут в виде цепочек клеток в нитях. Нити растут в трубках-футлярах из экзоклеточного материала. В типичных случаях футляр прозрачный; когда рассматривается во влажной среде с помощью фазово-контрастной микроскопии, очень похож на микроскопическую пластиковую трубочку или дудку. Иногда футляр настолько тонкий и тесно связан с клеткой, что он с трудом выявляется при фазово-контрастной микроскопии. Добавление 95 %-ного этанола в «висячую» или «раздавленную» каплю облегчает выявление футляра. Другим способом футляр может быть обнаружен, если в нити имеются разрывы между клетками. Футляры могут иметь окраску от желтого до темно-коричневого цвета, созданную отложениями железа или оксидов марганца. Одиночные клетки могут быть неподвижными или подвижными, когда имеют жгутики с полярным или субполярным расположением. Роды: «*Clonothrix*», «*Crenothrix*», «*Haliscomenobacter*», «*Leptothrix*», «*Lieskella*», «*Phragmidiothrix*», «*Sphaerotilus*».

Группа 15. Нефотосинтезирующие, не образующие плодов скользящие бактерии. Нефототрофные палочки или нити, лишенные жгутиков, но обладающие скользящей подвижностью на твердых поверхностях.

Группа 16. Образующие плоды скользящие бактерии. Миксобактерии.

**ОТДЕЛ II. Грамположительные эубактерии, имею-**

## **щие клеточную стенку, или *Firmicutes***

Группа 17. Грамположительные кокки. Роды: *Aerococcus*, *Coprococcus*, *Deinobacter*, *Deinococcus*, *Enterococcus*, *Gemella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Marinococcus*, *Melissococcus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Planococcus*, *Ruminococcus*, *Saccharococcus*, *Salinicoccus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus*, *Streptococcus*, *Trichococcus*, *Vagococcus*.

Группа 18. Эндоспорообразующие грамположительные палочки и кокки. Роды: *Amphibacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Oscillospira*, *Sporohalobacter*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Sulfidobacillus*, *Syntrophospora*.

Группа 19. Правильные, неспорообразующие грамположительные палочки. Роды: *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Caryophanon*, *Erysipelothrix*, *Kurthia*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Renibacterium*.

Группа 20. Неправильные, неспорообразующие грамположительные палочки. Роды: *Acetobacterium*, *Acetogenium*, *Actinomyces*, *Aeromicrobium*, *Agromyces*, *Arachnia*, *Arcanobacterium*, *Arthrobacter*, *Aureobacterium*, *Bifidobacterium*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Butyrivibrio* (могут также окрашиваться по Граму отрицательно – см. группу 6, с. 29), *Caseobacter*, *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Coriobacterium*, *Corynebacterium*, *Curtobacterium*, *Dermabacter*, *Eubacterium*, *Exiguobacterium*, *Falcivibrio*,

*Gardnerella, Jonesia, Lachnospira, Microbacterium, Mobiluncus, Pimelobacter, Propionibacterium, Rarobacter, Rothia, Rubrobacter, Sphaerobacter, Terrabacter, Thermoanaerobacter, Thermoanaerobium.*

Группа 21. Микобактерии. Семейство *Mycobacteriaceae*. Род *Mycobacterium*.

Группы 22 – 29. Актиномицеты. В зависимости от морфологических свойств, по хемотипу клеточной стенки и другим химическим признакам подразделяются на 8 групп.

Группа 22. Нокардиоформные актиномицеты, включает 19 родов, в том числе *Nocardia, Oerscovia, Pseudonocardia*.

Группа 23. Актиномицеты с множественно расположенными спорангиями. Роды: *Dermatophilus, Frankia, Geodermatophilus*.

Группа 24. Актинопланы. Включает 6 родов.

Группа 25. Стрептомицеты и близкие к ним роды, всего 5 родов.

Группа 26. Мадуромицеты, всего 7 родов.

Группа 27. Актиномицеты, образующие термоустойчивые споры. Включает 5 родов.

Группа 28. Термоактиномицеты. Один род – *Thermoactinomyces*, все виды термофилы.

Группа 29. Роды, которые не могут быть отнесены к какой-либо группе (3 рода).

**ОТДЕЛ III. Эубактерии, лишенные клеточной стенки, или *Tenericutes***

Группа 30. Микоплазмы. Класс *Mollicutes*. Порядок *Mycoplasmatales*. Разделен на две подгруппы:

Подгруппа 1. Факультативные анаэробы, или микроаэрофилы. Роды: *Acholeplasma*, *Mycoplasma*, *Spiroplasma*, *Ureaplasma*.

Подгруппа 2. Облигатные анаэробы. Роды: *Anaeroplasma*, *Asteroleplasma*.

#### **ОТДЕЛ IV. Архебактерии, или *Mendosicutes***

Группа 31. Метаногены. Строгие анаэробы, образуют метан как основной конечный метаболический продукт. В качестве субстратов могут служить  $H_2$ – $CO_2$ , формиат, ацетат, метанол, метиламины или  $H_2$ -метанол. Серу восстанавливают до  $H_2S$ . Клетки флуоресцируют при длине волны 420 нм голубовато-зеленым цветом; имеют коэнзим М, фактор 420, фактор 430 и метанопротеин. Тип РНК-полимеразы – АВ'В".

Группа 32. Сульфатовосстанавливающие архебактерии. Строгие анаэробы, образуют  $H_2S$  из солей серной кислоты путем их восстановления. Образуют также очень немного метана. Проявляют голубовато-зеленую флуоресценцию при 420 нм. В клетках содержатся фактор 420 и метанопротеин, но отсутствуют коэнзим М и фактор 430. Тип РНК-полимеразы – (А+С)В'В". Экстремальные термофилы – растут при температуре 92 °С.

Группа 33. Экстремальные галофильные архебактерии (галоархебактерии). Аэробы или факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, клетки могут быть грамотрепательны-

ми или грамположительными, правильной или очень неправильной формы. Требуют для роста высокой концентрации NaCl (1,5 М или выше). Нейтрофилы или алкалофилы, мезофилы или слабые термофилы (растут при t выше 55 °С). Некоторые виды содержат пурпурно-красный фотоактивный пигмент бактериородопсин и способны использовать свет для синтеза АТФ. РНК-полимераза типа АВ'В''С.

Группа 34. Археобактерии, лишенные клеточной стенки. Термоацидофилы, аэробы, клетки кокковидной формы, клеточная стенка отсутствует. Цитоплазматическая мембрана содержит богатый маннозой гликопротеин и липогликан. РНК-полимераза типа ВАС.

Группа 35. Экстремально термофильные и гипертермофильные археобактерии, метаболизирующие серу. Облигатные термофилы, оптимальная температура для роста – между 70 и 105 °С. Аэробы, или факультативные анаэробы, или строгие анаэробы. Ацидофилы и нейтрофилы. Аутотрофы или гетеротрофы. Большинство видов метаболизирует серу. РНК-полимераза типа ВАС.

В 2001 г. классификация бактерий Берги вновь претерпела большие изменения. Первые 3 отдела (*Gracilicutes*, *Firmicutes* и *Tenericutes*) были объединены в новую неформальную группу – домен эубактерий (*Bacteria*), а 4-й отдел (*Mendosicutes*) выделен как самостоятельный домен археобактерий (*Archaea*) с двумя типами – АI *Crenarchaeota* (1 класс, 25 родов) и АII *Euryarchaeota* (8 классов, 55 родов). Основ-

ные группы архебактерий перечислены на с. 23, 31.

Домен эубактерий поделен на 24 типа, которые разделены на 33 класса. Бактерии, описанные в учебнике и чаще всего вызывающие инфекционные заболевания людей, включены в следующие типы, классы и роды. **Тип *Proteobacteria***. Класс *Alphaproteobacteria* [роды *Rickettsia*, *Orientia* (к которому теперь относят возбудителя лихорадки цуцугамуши *Rickettsia orientalis* (= *R. tsutsugamushi*), *Ehrlichia*, *Bartonella*, *Brucella*]. Класс *Betaproteobacteria* [роды *Alcaligenus*, *Bordetella*, *Burkholderia* (включающий возбудителей сапа и мелиоидоза, ранее называвшихся *Pseudomonas mallei* и *P. pseudomallei*), *Neisseria*, *Kingella*, *Spirillum*]. Класс *Gamma*proteobacteria (роды *Francisella*, *Legionella*, *Coxiella*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*, *Pasteurella*). Класс *Epsilon*proteobacteria (роды *Campylobacter* и *Helicobacter*). **Тип *Firmicutes***. Класс *Clostridia* (роды *Clostridium*, *Sarcina*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Veilonella*). Класс *Mollicutes* (роды *Mycoplasma* и *Ureaplasma*). Класс *Bacilli* (роды *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*). **Тип *Actinobacteria*** (роды *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Propionobacterium*, *Bifidobacterium*). **Тип *Chlamidiae*** (род

*Chlamidia*). **Тип Spirochaetes** (роды *Spirochaeta*, *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira*). **Тип Bacteroidetes**. Класс *Bacteroidetes* (роды *Bacteroides* и *Prevotella*). **Тип Fusobacteria** (род *Fusobacterium*).

Таким образом, в классификации Берги-2001 (George M. Garrity, Julia A. Bell, Timothy G. Lilburn. Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition. Release 5.0, May 2004) выделены и охарактеризованы 2 домена, 26 типов, 42 класса и большое количество семейств и родов бактерий.

В определителе Берги дано следующее определение бактерий (прокариот): «единичные клетки или простые скопления сходных клеток размером  $0,2 \times \times 10,0$  мкм, которые образуют своеобразные групповые структуры. Ядерный аппарат (нуклеоид, или генофор) никогда не отделен от цитоплазмы системой унитарных (элементарных) мембран. Клеточное деление не связано с циклическими изменениями строения клетки или изменением окрашиваемости ядерного аппарата или цитоплазмы; система микротрубочек (нитей веретена) не образуется. Цитоплазматическая мембрана обычно представляет собой топологический комплекс (элементарная мембрана) и образует ячеистые, ламеллярные (пластинчатые) или трубчатые впячивания в цитоплазму; вакуоли и репликативные цитоплазматические органеллы не связаны с системой плазматической мембраны, встречаются относительно редко (газовые вакуоли; хлоробиум-везикулы,

т. е. пузырьки, окруженные однослойной мембраной и содержащие аппарат фотосинтеза у некоторых фотобактерий) и окружены неунитарными мембранами. Дыхательные и фотосинтетические функции связаны с системой плазматической мембраны у тех организмов, которые обладают этими физиологическими функциями, хотя у цианобактерий они могут быть и не связаны с плазматической и тилакоидными (тилакоиды – двойные ламеллы) мембранами. Рибосомы типа 70S, кроме одной группы бактерий – архебактерий, у которых они имеют более высокое значение S и распределены по цитоплазме; эндоплазматического ретикулума с прикрепленными рибосомами нет. Цитоплазма неподвижна, ее переливания, образования псевдоподий, эндо- и экзоцитоза не происходит. Питательные вещества потребляются в молекулярной форме. Клетки окружены ригидной стенкой, хотя она имеется не у всех бактерий (ее нет у микоплазм и некоторых архебактерий). Клетки могут быть неподвижными или могут обладать плавательной подвижностью, обеспечиваемой жгутиками бактериального типа, или скользящей подвижностью на плотной поверхности. Прокариоты – преимущественно одноклеточные организмы, однако образование нитевидных мицелиальных и колониальных форм также происходит. Они обладают механизмами переноса генов и рекомбинации, но эти процессы происходят без образования гамет (половых клеток) и зигот».

Основные признаки, по которым дифференцируют про-

кариот и эукариот, приведены в табл. 1.

Для обозначения видов бактерий используют бинарную номенклатуру, состоящую из названия рода (пишется с заглавной буквы) и вида (пишется всегда со строчной буквы и состоит из одного слова), например, *Shigella flexneri* (возбудитель дизентерии – род *Shigella*, вид *flexneri*). Когда название вида неоднократно повторяется, то первый раз название рода пишется полностью, а затем пишется только начальная буква его. Например, *Shigella flexneri* – *S. flexneri*. В связи со сложностью классификации бактерий названия внутривидовых форм (подвидов, серотипов и подсеротипов) часто используются как видовые, т. е. в качестве второго слова биномена – *Salmonella enteritica* (видовое), *S. indica* (подвидовое), *S. typhimurium* (серотип).

### Таблица 1

**Некоторые дифференциальные признаки прокариот и эукариот<sup>1</sup> (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology–9)**

---

<sup>1</sup> Символы: + положительный признак; – отрицательный признак; D – различен у различных организмов.

Признак	Прокариоты	Эукариоты
<i>Цитологические особенности:</i>		
Нуклеоплазма (ядерный аппарат, или нуклеоид, или генофор) отделена от цитоплазмы ядерной мембраной	—	+
Размеры клеток (ширина или диаметр) обычно 0,2–2,0 мкм	2	—
обычно больше 2,0 мкм	—	+
Наличие митохондрий	—	+
Наличие хлоропластов у фототрофов	—	+
Вакуоли, если имеются, окружены унитарной (элементарной) мембраной	—	+
Наличие газовых вакуолей	D	—
Наличие аппарата Гольджи	—	D
Наличие лизосом	—	D
Наличие системы микротрубочек	4	D
Наличие эндоплазматического ретикулума	—	+
Расположение рибосом: распределены в цитоплазме	+	—
прикреплены к эндоплазматическому ретикулуму	—	+
Цитоплазматическое истечение, движение с помощью псевдоподий, эндо- и экзоцитоз	—	D
Клеточное деление сопровождается циклическими изменениями состояния ткани или изменением окрашиваемости нуклеоплазмы или цитоплазмы	—	+
Жгутики, если имеются, диаметр: 0,01–0,02 мкм	+	—
около 0,2 мкм	—	+
на поперечных срезах микротрубочки жгутика имеют характерную структуру «9+2»	—	+
Наличие эндоспор	D	—
<i>Чувствительность к антибиотикам:</i>		
к пенициллину, стрептомицину и другим антибиотикам, специфическим в отношении прокариот;	D	—
циклогексимиду и другим антибиотикам, специфическим в отношении эукариот	—	D
<i>Свойства, выявляемые химическими анализами:</i>		
Наличие в цитоплазме гранул поли-β-гидроксимасляной кислоты	D	—
Наличие в клеточной стенке тейхоевых кислот	D	—
Наличие в мембранах полиненасыщенных жирных кислот	Редко имеются	Обычно имеются
Наличие в мембранах разветвленных изо- или анти-изожирных кислот и циклопропановых жирных кислот	Обычно имеются	Редко имеются
Наличие в мембранах стеролов	6	Обычно имеются
Наличие в клеточной стенке диаминопимелиновой кислоты	D <sup>7</sup>	—
Наличие в клеточной стенке мурамовой кислоты	D <sup>8</sup>	—
Наличие в клеточной стенке пептидогликана, содержащего мурамовую кислоту	D <sup>8</sup>	—
<i>Питание:</i>		
Питательные вещества потребляются клетками как растворимые мелкие молекулы. Чтобы служить источником питания, крупные молекулы должны быть вначале гидролизованы до мелких молекул с помощью ферментов, локализованных снаружи от плазматической мембраны	+	D

Признак	Прокариоты	Эукариоты
<b>Метаболические особенности:</b>		
Дыхательные и фотосинтезирующие функции и связанные с ними пигменты и ферменты (хлорофиллы, цитохромы), если имеются, ассоциированы с плазматической мембраной или ее инвагинатами	+ <sup>9</sup>	—
Хемолитотрофный тип метаболизма (неорганические соединения могут использоваться в качестве доноров электронов организмами, которые получают энергию из химических соединений)	D	—
Способность фиксировать N <sub>2</sub>	D	—
Способность восстанавливать NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> в N <sub>2</sub> O или N <sub>2</sub>	D	—
Способность образовывать метан	D	—
Способность осуществлять анаэробный (без кислорода) фотосинтез	D	—
<b>Ферментативные особенности:</b>		
Тип супероксидной дисмутазы:		
тип Cu-Zn	— <sup>10</sup>	+ <sub>11</sub>
тип Mn и/или Fe	+	— <sub>11</sub>
<b>Репродуктивные особенности:</b>		
Клеточное деление происходит путем митоза, и имеется система микротрубочек (нитей веретена)	—	+
Имеет место мейоз	—	D
Механизмы переноса генов и рекомбинации, если имеются, включают образование гамет и зигот	—	+
<b>Молекулярно-биологические особенности:</b>		
Число хромосом на нуклеоид	Обычно 1	Обычно > 1
Хромосомы кольцевидные	+	—
Хромосомы линейные	—	+
Константы седиментации рибосом:		
70S	+	— <sup>12</sup>
80S	—	+
Константы седиментации рРНК:		
16S, 23S, 5S	+	—
18S, 28S, 5,85S, 5S	—	+
Первая аминокислота, инициирующая полипептидную цепь при биосинтезе белка:		
метионин	D	+
N-формилметионин	D	—
Сайт связывания мРНК AUCACCUCC расположен на 3'-конце 16S или 18S рРНК	+	—

<sup>2</sup> Некоторые бактерии (например, определенные трепонемы, микоплазмы, *Haemobartonella*) могут иметь ширину меньше 0,1 мкм, а другие бактерии (например, *Achromatium*, *Macromonas*) – больше 10 мкм.

<sup>3</sup> Газовые вакуоли не ограничиваются элементарной мембраной. Везикулы, составляющие вакуоль, могут подвергаться коллапсу при внезапном гидростатическом воздействии – свойство, существенное для их идентификации.

<sup>4</sup> Некоторые внутриклеточные фибриллы, которые могут быть микротрубочками, были описаны у *Spiroplasma*, цианобактерий *Anabaena*, некоторых спирохет и у L-форм бактерий.

<sup>5</sup> Эндоспоры бактерий обычно устойчивы при температуре 80 °C или выше в течение 10 мин. Однако некоторые эндоспоры могут погибать при такой температурной обработке и должны быть испытаны при более низкой температуре.

<sup>6</sup> Кроме мембран большинства микоплазм.

<sup>7</sup> Имеются у всех грамотрицательных эубактерий и у многих грамположительных.

<sup>8</sup> Имеются в клеточной стенке всех эубактерий, кроме хламидий; отсутствуют у архебактерий.

<sup>9</sup> У цианобактерий они не связаны с цитоплазматической и тилакоидными мембранами.

<sup>10</sup> За редкими исключениями, например у некоторых фотобактерий.

<sup>11</sup> Кроме митохондрий, в которых встречается тип Мп.

<sup>12</sup> Кроме митохондрий и хлоропластов, которые имеют 70S рибосомы.

## **Вопрос о самозарождении и развитии жизни на Земле**

Вопрос о самозарождении и развитии жизни на Земле был и остается одним из самых главных и самых трудных вопросов науки. Теперь уже ни у кого нет сомнения в том, что самозарождение жизни могло происходить лишь после того, как возникнут чисто химическим путем важнейшие органические соединения, необходимые для того, чтобы произошел синтез прежде всего первородных генов, т. е. генов, образующихся без участия белков, до их возникновения; первородных белков, т. е. белков, которые образуются без участия генов, и генетического кода, так как без него ген не может реализовать свою задачу. В самом деле, синтез генов у всех живых организмов происходит только при участии сложной системы биосинтеза ДНК, а синтез белков происходит только по программе, заключенной в структуре гена: порядок расположения кодонов в гене определяет порядок расположения аминокислот в белке. Вот почему и возник вопрос: что возникло раньше – ген или белок? Образно говоря, что возникло раньше – курица или яйцо?

Выдающийся русский ученый А. И. Опарин, который внес большой вклад в развитие так называемой коацерватной теории происхождения жизни, получившей в XX в. общее при-

знание, назвал этот вопрос чисто схоластическим. Однако он ошибся. Изучение структуры гена и генетического кода не оставляет никаких сомнений в том, что генетической системе принадлежит важнейшая роль в самозарождении и эволюции жизни на Земле. Нет более никакого сомнения в том, что именно ген служит основным носителем и хранителем жизни на Земле, а белок – ее творцом, поэтому вопрос о том, как возникли первородные гены, первородные белки и генетический код, приобрел основное значение для выяснения механизма зарождения жизни. Следует при этом иметь в виду, что структуры, состоящие только из первородных генов и первородных белков, сами по себе еще не способны к самостоятельному размножению, как это хорошо демонстрируют простейшие живые организмы – плазмиды и вирусы. Для того чтобы процесс самозарождения жизни состоялся, необходимо было возникновение специализированных систем жизнеобеспечения. К ним относятся следующие системы:

1. Система биологического самовоспроизводства генов, т. е. система биосинтеза ДНК.
2. Сложная биологическая система синтеза белков, которая включает в себя целый комплекс различных компонентов (мРНК, тРНК, рибосомы и комплекс особых рабочих белков).
3. Система мобилизации энергии, необходимой для синтеза всех компонентов формирующейся первородной клетки.

4. Система мембран, с помощью которых формирующаяся клетка отграничивается от внешней среды, сохраняя способность осуществлять активную и пассивную связь с ней.

5. Система, обеспечивающая саморегуляцию выражения генетической информации.

6. Система саморегуляции клеточного деления, т. е. размножения клетки.

Только после формирования всех этих систем жизнеобеспечения и возникновения уникальной структурной единицы живой материи – клетки – завершается этот первый и важнейший этап самозарождения и самоутверждения жизни на Земле. Эти вопросы более подробно рассматриваются в главе 74. Последующие этапы эволюции включали в себя появление многоклеточных организмов и их дальнейшую эволюцию в направлении растительного и животного царств. Изучением генетических механизмов эволюции занимается специальная наука – эволюционная генетика, или геномика. Однако нельзя не обратить особое внимание на предлагаемую представителями геномики гипотезу, получившую название пульсации генома. Суть ее состоит в том, что изменение генома может идти не только в сторону нарастания количества генов, но и в сторону его уменьшения. Предполагается, что это определяется не чем иным, как полинуклеотидным выбором (Пн-выбором) ДНК-реципиента. Из этого следует, что предметом естественного отбора служит не фенотипический признак, кодируемый донорной ДНК, а новые

последовательности ДНК, независимо от того, какие признаки они кодируют. С этих позиций геномики естественный отбор складывается из двух этапов: Пн-выбора и фенотипического дарвиновского отбора. Такой вывод полностью совпадает с утверждением о том, что ген служит главным носителем и хранителем жизни, ее главным архитектором, т. е. именно ген играет важнейшую роль в эволюции самой живой материи.

# Глава 4

## Морфология бактерий

### Формы бактерий

Всем бактериям присущи определенная форма и размеры, которые выражаются в микрометрах (мкм). Они варьируют в широких пределах – от 0,1 – 0,15 (*Mycoplasma*) до 10 – 15 мкм (*Clostridium*) в длине и от 0,1 мкм до 1,5 – 2,5 мкм в диаметре. Большая часть бактерий имеет размеры 0,5 – 0,8 мкм × 2 – 3 мкм.

Различают следующие основные формы бактерий: шаровидные (сферические), или кокковидные (греч. *kokkos* – зерно); палочковидные (цилиндрические); извитые (спиралевидные); нитевидные. Кроме того, существуют бактерии, имеющие треугольную, звездообразную, тарелкообразную форму (см. цв. вкл., рис. 1.1 – 1.8). Обнаружены так называемые квадратные бактерии, которые образуют скопления из 8 или 16 клеток в виде пласта (рис. 1.7).

**Кокковидные патогенные бактерии** обычно имеют форму правильного шара диаметром 1,0 – 1,5 мкм; некоторые – бобовидную, ланцетовидную, эллипсоидную форму. По характеру взаиморасположения образующихся после деления клеток кокки подразделяют на следующие группы:

1. **Микрококки** (греч. *mikros* – малый). Делятся в одной плоскости, располагаются одиночно и беспорядочно; сапрофиты; патогенных для человека нет (рис. 1.1).

2. **Диплококки** (греч. *diplos* – двойной). Деление происходит в одной плоскости с образованием пар клеток, имеющих либо бобовидную (*Neisseria gonorrhoeae*), либо ланцетовидную (*Streptococcus pneumoniae*) форму (рис. 1.2).

3. **Стрептококки** (греч. *streptos* – цепочка). Деление клеток происходит в одной плоскости, но размножающиеся клетки сохраняют между собой связь и образуют различной длины цепочки, напоминающие нити бус. Многие стрептококки являются патогенными для человека и вызывают различные заболевания: скарлатину, ангину, гнойные воспаления и др. (рис. 1.3).

4. **Стафилококки** (греч. *staphyle* – гроздь винограда). Деление происходит в нескольких плоскостях, а образующиеся клетки располагаются скоплениями, напоминающими гроздь винограда. Стафилококки вызывают более 100 различных заболеваний человека. Они наиболее частые возбудители гнойных воспалений (рис. 1.4).

5. **Тетракокки** (греч. *tetra* – четыре). Деление клеток происходит в двух взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием тетрад. Патогенные для человека виды встречаются очень редко (рис. 1.5).

6. **Сарцины** (лат. *sarcina* – связка, тюк). Деление клеток происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с

образованием пакетов (тюков) из 8, 16, 32 и большего числа особей. Особенно часто встречаются в воздухе. Имеются условнопатогенные представители (рис. 1.6).

**Палочковидные (цилиндрические) формы бактерий.** Термин «бактерия» (греч. *bakterion* – палочка) применяется как для названия всего царства прокариот (*Eubacteria*, *Archebacteria*), так и для названия палочек, не образующих спор. Палочки, образующие споры, подразделяют на бациллы (лат. *bacillus* – палочка) – аэробные спорообразующие бактерии, например *Bacillus anthracis* – возбудитель сибирской язвы, и клостридии (лат. *clostridium* – веретенообразный) – анаэробные спорообразующие бактерии, например *Clostridium tetani* – возбудитель столбняка. Палочки бывают длинными – более 3 мкм (*Clostridium novyi* – возбудитель газовой гангрены), короткими – 1,5 – 3,0 мкм (*Escherichia coli* и большинство возбудителей кишечных инфекций) и очень короткими – менее 1,0 мкм – в виде коккобактерий (*Francisella tularensis* – возбудитель туляремии, *Brucella melitensis* – бруцеллеза). Концы палочек могут быть закругленными (*Escherichia coli* и др.), заостренными (*Fusobacterium*), утолщенными (*Corynebacterium*), обрезанными (*Bacillus anthracis*);

палочка может иметь овоидную (яйцевидную) форму (*Yersinia pestis* – возбудитель чумы). По диаметру их делят на тонкие (*Mycobacterium tuberculosis* – возбудитель туберкулеза) и толстые (*Clostridium perfringens* – возбудитель га-

зовой гангрены). По взаиморасположению бактерий их подразделяют на три группы (см. цв. вкл., рис. 2.1 – 2.6): 1) монобактерии – палочки располагаются одиночно и беспорядочно, сюда относится большинство палочковидных форм (рис. 2.1); 2) диплобактерии, располагающиеся попарно (*Pseudomonas*) (рис. 2.2); 3) стрептобактерии (*Haemophilus ducreyi* – возбудитель мягкого шанкра) или стрептобациллы (*Bacillus anthracis*) – бактерии, располагающиеся цепочкой (рис. 2.3 и 2.4).

**Извитые (спиралевидные) бактерии** по количеству и характеру завитков, а также по диаметру клеток подразделяют на две группы: 1) вибрионы (греч. *vibrio* – извиваюсь, изгибаюсь) имеют один изгиб, не превышающий четверти оборота спирали, однако могут иметь и форму прямой палочки, без изгиба (*Vibrio cholerae* – возбудитель холеры) (рис. 2.5); 2) спириллы (греч. *speira* – спираль) – клетки, имеющие большой диаметр и малое (2 – 3) число завитков (*Spirillum minor* – возбудитель содоку) (рис. 2.6). Особую группу спиралевидных бактерий представляют спирохеты, выделенные в порядок *Spirochaetales*. Их морфология подробно описана в гл. 69.

**Нитевидные формы бактерий.** Различают два типа нитевидных бактерий: образующие временные нити и постоянные.

Временные нити, иногда с ветвлениями, образуют палочковидные бактерии при нарушении условий их роста или

регуляции клеточного деления (микобактерии, коринебактерии, а также риккетсии, микоплазмы, многие грамотрицательные и грамположительные бактерии). При восстановлении механизма регуляции деления и нормальных условий роста эти бактерии восстанавливают обычные для них размеры.



Рис. 2.7. Нитевидные бактерии.

*Sphaerotilus natans*, часть влагалища пустая

Постоянные нитевидные формы образуются из палочковидных клеток, соединяющихся в длинные цепочки либо с помощью слизи, либо чехлами (влагалищами, рис. 2.7), либо

мостиками. Влагалищами, или футлярами, называют трубковидные чехлы гетерополисахаридной природы. Слизь может связывать отдельные клетки в длинные нити (*Zoogloea*) или пленки (*Bacterioglea*). Нитевидные формы образуют серобактерии и железобактерии.

Следует особо отметить, что бактерии отличаются высоким полиморфизмом (индивидуальной изменчивостью формы, не передающейся по наследству), особенно при культивировании на искусственных питательных средах. Под действием различных факторов (антибиотиков, химических веществ) могут возникать необычные по форме и величине клетки, которые, однако, способны ревертировать в исходное состояние при снятии действия этих факторов.

## **Строение бактериальной клетки**

Клетка – универсальная структурная единица живой материи. Подтверждением этому является сходство в химическом составе бактерии и клетки млекопитающего, которая в 2000 раз больше первой (табл. 2).

*Таблица 2*

**Примерный химический состав типичной бактерии и типичной клетки**

Компонент	Доля от общей массы клетки, %	
	Бактерии	Клетка млекопитающего
H <sub>2</sub> O	70	70
Неорганические ионы (Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup> и др.)	1	1
Разнообразные низкомолекулярные метаболиты	3	3
Белки	15	18
РНК	6	1,1
ДНК	1,0	0,25
Фосфолипиды	2	3
Другие липиды	-	2
Полисахариды	2	2
Общий объем клетки	$2 \times 10^{-12} \text{ см}^3$	$4 \times 10^{-9} \text{ см}^3$
Относительный объем клетки	1	2000

Организация бактериальной клетки позволяет ей координировать все процессы жизнедеятельности, за определенный срок удваивать свою биомассу и размножаться путем бинарного деления. В составе бактериальной клетки можно выделить различные структуры (рис. 3):



3 – цитоплазма; 4 – нуклеоид; 5 – мезосома; 6 – периплазматическое пространство; 7 – включения; 8 – рибосома; 9 – капсула; 10 – микрокапсула; 11 – жгутик; 12 – плазида; 13 – донорная ворсинка; 14 – фимбрии (реснички); 15 – перемычки в периплазматическом пространстве

## **Клеточная стенка**

Клеточная стенка – структурный компонент, присущий только бактериям (кроме микоплазм). Клеточная стенка выполняет следующие функции:

1. Определяет и сохраняет постоянную форму клетки.
2. Защищает внутреннюю часть клетки от действия механических и осмотических сил внешней среды.
3. Участвует в регуляции роста и деления клеток.
4. Обеспечивает коммуникацию с внешней средой через каналы и поры.
5. Несет на себе специфические рецепторы для бактериофагов.
6. Определяет во многом антигенную характеристику бактерий (природу и специфичность O- и K-антигенов).
7. Содержащийся в ее составе пептидогликан наделяет клетку важными иммунобиологическими свойствами (см. ниже).
8. Нарушение синтеза клеточной стенки бактерий является

ся главной причиной их L-трансформации.

**Строение клеточной стенки.** В ее составе имеется два слоя: наружный – пластичный и внутренний – ригидный. Основу клеточной стенки составляет пептидогликан, который ранее называли муреином (лат. *mureus* – стенка). Он имеется только у эубактерий (кроме микоплазм). Пептидогликан (см. цв. вкл., рис. 4) включает в себя остов и два набора пептидных цепочек – боковых и поперечных. Остов пептидогликана одинаков у всех бактерий и состоит из чередующихся молекул аминсахаров – N-ацетилглюкозамина (N-АцГлю) и N-ацетилмураминовой кислоты (N-АцМур), связанных между собой  $\beta$ -гликозидными связями (рис. 5). Боковые цепочки в каждой молекуле пептидогликана представлены набором идентичных тетрапептидов. Поперечные цепочки также представлены набором из идентичных для данной молекулы пептидогликана пентапептидов, содержащих глицин, – пентаглицинов, однако у разных видов бактерий боковые и поперечные пептиды различны. В тетрапептидной боковой цепочке у большинства грамотрицательных бактерий имеется диаминопимелиновая (диаминопимеловая) кислота (ДАП) – уникальный компонент клеточной стенки, обнаруженный только у прокариот. Кроме того, в составе боковых цепочек пептидогликана обнаружены D-аминокислоты (D-аланин, D-глутамин). Боковые тетрапептиды связаны с N-ацетилмураминовой кислотой остова. Связывание боковых тетрапептидов между собой происходит путем образования

поперечных пентаглициновых мостиков между D-аланином одной цепи и диаминопимелиновой кислотой (или иной аминокислотой) другого бокового пептида. Наличие двух типов связей (гликозидные и пептидные), которые соединяют субъединицы пептидогликанов, придает этому гетерополимеру структуру молекулярной сети (см. цв. вкл., рис. 4). Благодаря этим связям пептидогликановый слой клеточной стенки образует огромного размера ригидную мешковидную макромолекулу, которая окружает протопласт, уравнивает его тургорное давление (у *E. coli* – до 15 атм.) и придает ему определенную постоянную форму. Пептидогликан может разрушаться под действием различных ферментов, а его синтез блокируют бета-лактамы антибиотики.

Связь между N-ацетилмураминовой кислотой и N-ацетилглюкозамином разрушается лизоцимом, связь между N-ацетилмураминовой кислотой и боковым пептидом (его L-аланином) расщепляют амидазы, а связи межпептидные – эндопептидазы. Пентаглициновый мостик стафилококкового пептидогликана разрушается лизостафином. Образование поперечных сшивок между боковыми цепочками тетрапептидов блокируется пенициллинами (бета-лактамы антибиотиками). Это приводит к разрыхлению пептидогликановой сети, следствием чего является осмотический лизис растущих клеток. Пептидогликан, помимо того что он определяет постоянную форму бактерий, обладает следующими важнейшими иммунобиологическими свойствами.

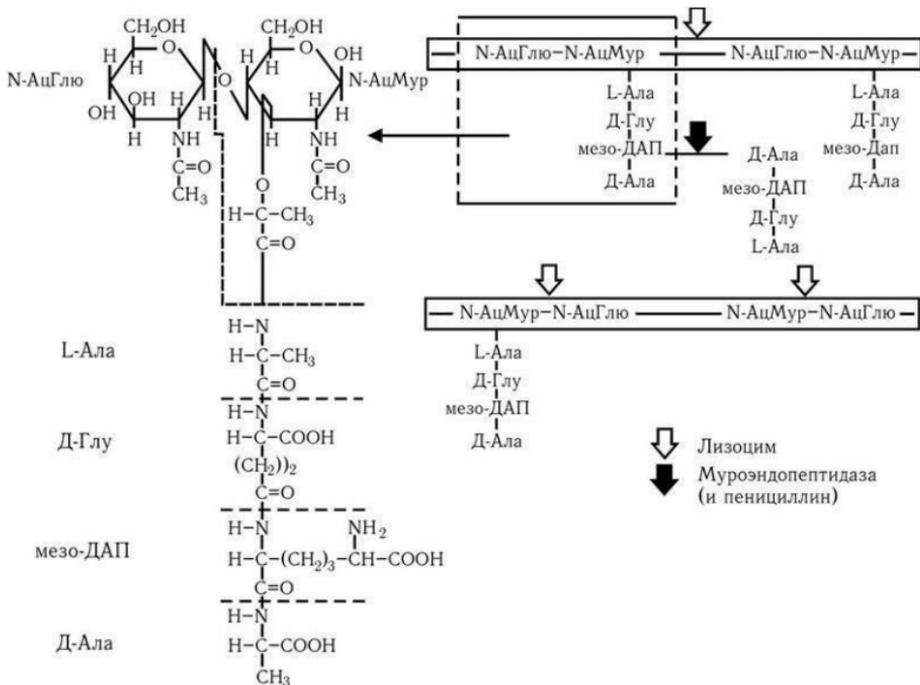


Рис. 5. Химическая структура пептидогликана.

Стрелками указаны участки молекулы, атакуемые лизоцимом, а также мурээндопептидазой и пенициллином. Объяснение в тексте

1. В его составе обнаружены родоспецифические антигенные детерминанты. Они содержатся в гликановом остове и в тетрапептидах. В межпептидных мостиках имеются видоспецифические антигенные детерминанты.

2. Пептидогликан запускает классический и альтернатив-

ный пути активации системы комплемента.

3. Он тормозит фагоцитарную активность макрофагов, т. е. защищает бактерии, особенно грамположительные, от фагоцитоза.

4. Угнетает миграцию макрофагов.

5. Способен индуцировать развитие гиперчувствительности замедленного действия.

6. Обладает противоопухолевым действием.

7. Оказывает пирогенное действие на организм человека и животных.

Таким образом, клеточная стенка является чрезвычайно важной биологической структурой бактерий, определяющей многие их специфические свойства. Как отмечалось выше, все бактерии, в зависимости от их отношения к окраске по Граму, делятся на грамположительные и грамотрицательные. Суть окраски по Граму заключается в том, что вначале бактерии окрашивают кристаллическим или генциановым фиолетовым, а затем – раствором Люголя, после чего мазок обрабатывают спиртом и докрасивают водным фуксином. Грамотрицательные бактерии обесцвечиваются спиртом и поэтому окрашиваются в красный цвет, а грамположительные не обесцвечиваются и сохраняют фиолетовую окраску. Это свойство грамположительных бактерий зависит исключительно от особенностей химического состава и структуры их клеточных стенок, так как при разрушении клеточных стенок или утрате их (в случае L-трансформации) они ста-

новятся граммотрицательными.

Причину различного отношения бактерий к окраске по Граму объясняют тем, что после обработки раствором Люголя образуется не растворимый в спирте комплекс йода с генциановым фиолетовым, который у грамположительных бактерий в связи со слабой проницаемостью их стенки не может диффундировать из клетки, в то время как у граммотрицательных легко удаляется при промывании их этанолом, а затем водой.

## **Особенности клеточной стенки грамположительных бактерий**

Клеточная стенка грамположительных бактерий имеет однородную структуру, пластичный слой тонкий и ковалентно связан с ригидным слоем. Она значительно толще, чем у граммотрицательных – ее толщина 20 – 60 нм. Основную массу стенки составляет пептидогликан. Он представлен не 1 – 2 слоями, как у граммотрицательных бактерий, а 5 – 6, на его долю приходится до 90 % сухой массы клеточной стенки. Клеточная стенка содержит много тейхоевых кислот (до 50 % сухого веса ее). Тейхоевые кислоты (греч. *teichos* – стенка) – растворимые в воде линейные полимеры, содержащие остатки глицерина или рибитола, связанные между собой фосфодиэфирными связями. Тейхоевые кислоты – главные поверхностные антигены многих грамположительных бакте-

рий. Они в значительном количестве располагаются между цитоплазматической мембраной и слоем пептидогликана и через поры в нем выступают наружу. Функция тейхоевых кислот полностью не выяснена. Клеточная стенка большинства грамположительных бактерий не содержит липидов, однако у микобактерий и коринебактерий в ней имеются токсические гликолипиды.

Особенность пептидогликанов грамположительных бактерий – частое отсутствие в них диаминопимелиновой кислоты. В клеточной стенке грамположительных бактерий отсутствуют липополисахариды; содержание белка в них сильно варьирует. Белки во многом определяют антигенную специфичность таких бактерий. Например, стрептококки серогруппы А по белкам М и Т подразделяют на несколько десятков серотипов.

## **Особенности клеточной стенки грамотрицательных бактерий**

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий значительно тоньше, и у большинства из них ее толщина составляет 14 – 18 нм. Четко выделяются два слоя – пластичный и ригидный, они связаны лабильно и отделяются друг от друга при обработке додецилсульфатом натрия. Основная особенность клеточной стенки грамотрицательных бактерий: ригидный слой тонкий, представлен одним или, редко, двумя

слоями пептидогликана, на долю которого приходится до 5 – 10 % сухого веса стенки. Для пептидогликана характерно низкое содержание поперечных сшивок между пептидными цепочками, однако в нем почти всегда имеется диаминопимелиновая кислота.

В составе клеточной стенки содержится много липопротеинов, фосфолипидов, липополисахарид, больше белка и, как правило, отсутствуют тейхоевые кислоты. Пластичный слой клеточной стенки у грамотрицательных бактерий представляет собой сложную мозаику, образованную из липопротеинов, липополисахаридов и наружной мембраны.

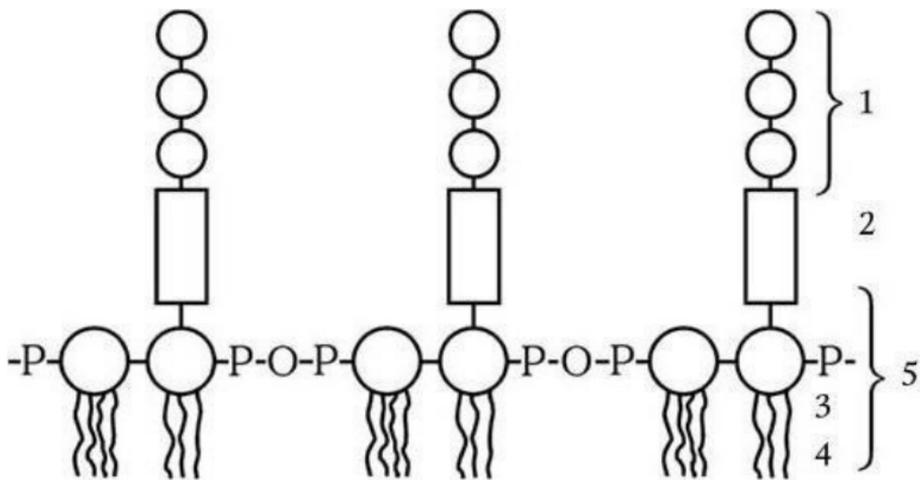
**Липопротеины** связывают наружную мембрану с пептидогликаном (белок связан с диаминопимелиновой кислотой бокового тетрапептида, а липид – нековалентно с наружной мембраной).

**Липополисахарид (ЛПС)** состоит из комплекса липида А и связанного с ним полисахарида, состоящего из ядра, которое одинаково у всех грамотрицательных бактерий, и терминальной цепочки из повторяющихся сахаров (рис. 6). Последние у разных видов бактерий различаются по химической природе. Они обычно представлены линейными трисахаридами или разветвляющимися тетра- или пентасахаридами. Терминальные повторяющиеся единицы полисахарида ЛПС располагаются на поверхности клетки в виде микроворсинок и определяют ее антигенную специфичность. ЛПС синтезируется на цитоплазматической мембране, а за-

тем транспортируется в наружную часть клетки, он прикреплен к наружной мембране с помощью гидрофобных связей. ЛПС выполняет две важнейшие функции у грамотрицательных бактерий: во-первых, он определяет их антигенную специфичность, а во-вторых, является одним из главных факторов их патогенности. ЛПС – это эндотоксин. Его токсичность определяется липидом А. Кроме того, ЛПС в организме запускает синтез около 20 различных биологически активных соединений, которые опосредуют патогенез эндотоксикоза, и обладает пирогенным действием.

**Наружная мембрана**, подобно любой биологической мембране, состоит из двух слоев липидов, но в ней значительная часть фосфолипидов наружного слоя замещена молекулами липополисахаридов и набором белков, локализованных мозаично (рис. 7). В состав этих белков, заключенных в фосфолипидную матрицу, входят 3 или 4 основных (major), которые составляют около 70 % суммарных белков наружной мембраны; липопротеины и второстепенные белки, числом более 10. Два из основных белков проходят через оба слоя мембраны и прочно связаны с пептидогликаном. Эти белки-порины располагаются в виде триплетов и образуют диффузионные поры, через которые в клетку проникают мелкие гидрофильные молекулы. Второстепенные белки выполняют разнообразные специфические функции: одни из них участвуют в облегченной диффузии, другие – в активном транспорте молекул через наружную мембрану и выступ-

пают в качестве специфических рецепторов для фагов и колицинов. Некоторые из этих белков участвуют в конъюгации (являются рецепторами для донорных ворсинок), в контроле репликации ДНК и регуляции клеточного деления. Наружная мембрана осуществляет также функцию барьера, через который в клетку не способны проникать крупные молекулы (один из механизмов неспецифической устойчивости грамотрицательных бактерий к антибиотикам). Если бактерии поместить в гипертонический раствор, наступает резкое обезвоживание клеток, цитоплазма съеживается, и протопласт отходит от клеточной стенки. Это явление называется плазмолизом. В результате плазмолиза клетки гибнут. Этим свойством широко пользуются для консервирования пищевых продуктов с помощью концентрированных растворов поваренной соли или сахара. Однако плазмолиз проявляется не в одинаковой степени у разных видов бактерий. К нему особенно устойчивы *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, которые являются частыми виновниками пищевых отравлений. В случае помещения бактерий в дистиллированную воду или гипотонические растворы солей происходит противоположное явление – плазмолиз: вода устремляется в клетки, происходит их набухание и разрушение.



*Рис. 6.* Структура липополисахарида грамотрицательных бактерий:

1 – повторяющиеся единицы; 2 – ядро; 3 – полимер дисахарид-фосфата; 4 – жирные кислоты; 5 – липид

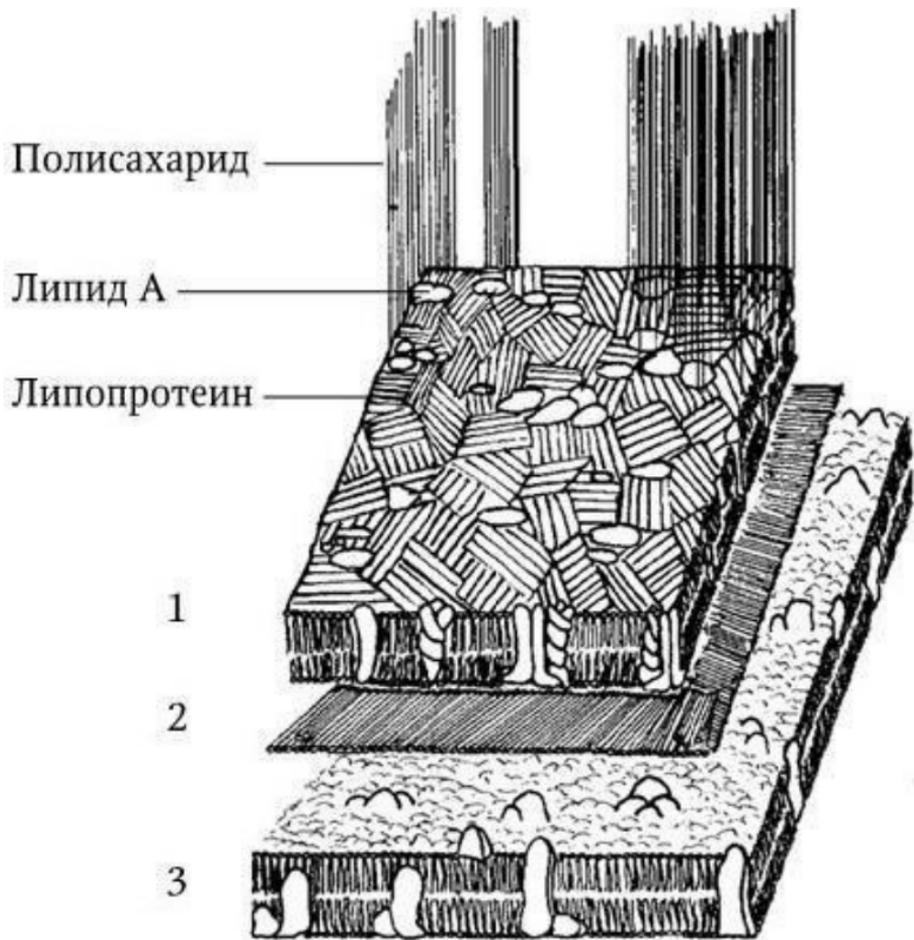


Рис. 7. Схематическое изображение структур наружной мембраны (1), пептидогликана (2) и плазматической мембраны (3) *E. coli*

При обработке грамположительных бактерий ферментами, разрушающими пептидогликан, возникают протопла-

сты, т. е. структуры, полностью лишённые клеточной стенки. Обработка грамтрицательных бактерий лизоцимом разрушает только слой пептидогликана клеточной стенки, но наружная мембрана (или, по крайней мере, часть ее) сохраняется. Такие структуры получили название сферопластов. Протопласты и сферопласты имеют сферическую форму и в соответствующих осмотических условиях сохраняют жизнеспособность. Особенно чувствительны к изменению осмотического давления протопласты. При определенных условиях они способны к размножению подобно L-формам бактерий. Нарушение синтеза клеточной стенки лежит в основе L-трансформации бактерий.

## **L-трансформация бактерий**

Впервые эта форма изменчивости бактерий была описана в 1935 г. Е. Клинебергер. Она обнаружила и выделила из культуры *Streptobacillus moniliformis* необычные варианты, которые росли в виде маленьких характерных колоний с возрастающей в агар центральной и фестончатой полупрозрачной периферической зонами. В этих колониях обнаруживались самые разнообразные по морфологии структуры: нитевидные, волокнистые, колбасовидные, шаровидные образования и мелкие гранулы размером 0,1 – 0,15 мкм (фильтрующиеся формы бактерий). Поскольку этот феномен был обнаружен в институте имени Листера, то таким необыч-

ным вариантам бактерий дали название L-форм, а такую изменчивость бактерий называли L-трансформацией. Она может быть обратимой и необратимой. В случае если генетический контроль синтеза клеточной стенки сохраняется, L-формы при благоприятных условиях могут возвращаться в исходную бактериальную форму с восстановлением всех основных биологических свойств, включая патогенность. Если же генетический контроль синтеза клеточной стенки нарушен необратимо, L-трансформация приобретает необратимый характер, а такие L-трансформанты по своим морфологическим, культуральным и иным свойствам становятся неотличимыми от микоплазм. L-трансформации могут подвергаться, по-видимому, все бактерии, имеющие клеточную стенку, а все образующиеся L-формы, независимо от вида бактерий, из которого они возникли, обладают следующими общими для них особенностями:

1. Сходство морфологических изменений: образование нитевидных, волокнистых, колбасовидных, шаровидных и гранулярных форм.

2. Сходные культуральные свойства: анаэробные или микроаэрофильные условия роста, потребность в холестерине и сывороточном белке, рост на плотных средах в виде характерных колоний двух типов – А и В (рис. 8). Колонии типа А растут на поверхности агара, имеют очень мелкие размеры. Они состоят главным образом из гранулярных структур, лишенных клеточной стенки, и очень похожи на микоплаз-

мы. Колонии типа В состоят из центральной зоны, растающей в агар, и прозрачной фестончатой периферической зоны. Они похожи по внешнему виду на колонии типа «глазуньи», образуемые микоплазмами, но более крупные и грубые. В этих колониях обнаруживаются крупные тела, содержащие компоненты клеточной стенки, сходные со стенкой родительских бактерий, но лишенные ригидности. Многие бактерии образуют колонии А и В типов, однако грамположительные бактерии (*Streptococcus*, *Staphylococcus*) чаще образуют колонии только типа А. L-формы бактерий из колоний типа В легко ревертируют в исходные формы. Колонии типа А более стабильны и ревертируют в исходные формы значительно реже.

3. Постепенное (по мере нарушения синтеза клеточной стенки) превращение из грамположительных в грамотрицательные структуры.

4. Образование стабильных и нестабильных L-форм (в зависимости от степени полноты утраты способности синтезировать клеточную стенку).

5. Изменение антигенных свойств (утрата К- и О-антигенов как следствие нарушения синтеза клеточной стенки).

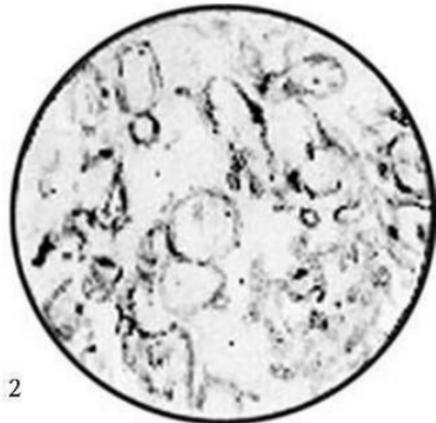
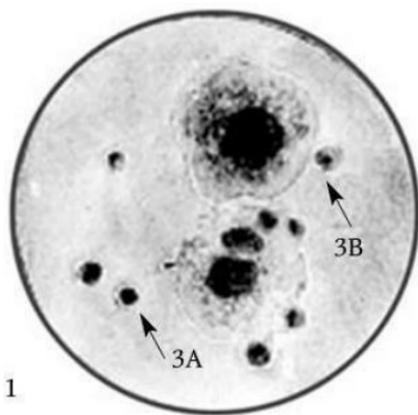


Рис. 8. L-формы бактерий:

1 – колонии L-форм типа 3А и 3В; 2 – пузырьвидные, грушевидные и субмикроскопические элементы L-форм дифтерийной палочки

6. Снижение вирулентности по сравнению с исходными родительскими формами в связи с утратой различных факторов патогенности (адгезии, инвазии, эндотоксина и т. п.).

7. Способность длительно персистировать (переживать) в организме. Утрата клеточной стенки делает L-формы нечувствительными к различным химиопрепаратам и антителам.

8. Способность при неполной утрате синтеза клеточной стенки возвращаться в исходную бактериальную форму.

L-трансформация происходит как *in vitro*, так и *in vivo* (в организме человека и животных). Факторами, индуцирующими ее, являются различные антибиотики, угнетающие биосинтез клеточной стенки (пенициллин, цефалоспо-

рины, циклосерин, ванкомицин и т. п.); ферменты (лизоцим, амидаза, эндопептидаза); антимикробные антитела; высокие концентрации некоторых аминокислот, особенно глицина и фенилаланина.

Исключительное значение L-трансформации патогенных бактерий заключается в том, что она является частой причиной перехода острых форм заболеваний в хронические и их обострений. L-трансформацию надо рассматривать не просто как одно из проявлений изменчивости бактерий, а как своеобразную, присущую всем бактериям форму приспособления к неблагоприятным условиям существования (подобно спорообразованию), которая способствует сохранению вида бактерий в природе. Клеточная стенка и ее синтез чувствительны к действию антител и различных химиопрепаратов. Освобождение от нее не лишает бактерии жизнеспособности, но позволяет переживать действие этих неблагоприятных для них факторов, а по их устранении – возвращаться в свое исходное состояние.

Принимая во внимание особую роль клеточной стенки в жизни бактерий, ей можно дать такое определение. *Клеточная стенка – сложный структурный элемент, встречающийся только у эубактерий (кроме микоплазм) и характеризующийся наличием в его составе уникального химического соединения – пептидогликана, наделяющего клетку важными иммунобиологическими свойствами и определяющего ее постоянную форму; нарушение его синтеза приводит к*

*превращению бактерий в L-формы, с помощью которых и обеспечивается, главным образом, длительное персистирование возбудителя в организме – одна из основных причин перехода заболевания из острой в хроническую форму. Соответственно L-трансформация, как и спорообразование, является важнейшей формой приспособления бактерий к неблагоприятным условиям существования.*

## **Цитоплазматическая мембрана бактерий**

Цитоплазматическая мембрана (ЦМ) является исключительно полифункциональной структурой.

1. ЦМ воспринимает всю химическую информацию, поступающую в клетку из внешней среды.
2. Она является основным осмотическим барьером, благодаря которому внутри клетки поддерживается определенное осмотическое давление.
3. ЦМ совместно с клеточной стенкой участвует в регуляции роста и клеточного деления бактерий.
4. ЦМ участвует в регуляции процессов репликации и сегрегации хромосом и плазмид (они связаны с ее рецепторами).
5. В ЦМ содержится значительное количество ферментов, в том числе системы переноса электронов (ЦМ – место генерации энергии у бактерий).

6. С ЦМ связаны жгутики и аппарат регуляции их движения.

7. ЦМ участвует в процессах транспорта (в том числе активного) питательных веществ в клетку и продуктов жизнедеятельности, включая ферменты и экзотоксины, из клетки в окружающую среду. В ней содержатся белки, участвующие в облегченной диффузии и активном транспорте.

8. ЦМ участвует в синтезе компонентов клеточной стенки и образовании мезосом (мезосомы возникают в результате инвагинации участка ЦМ в цитоплазму, они открыты в периплазматическое пространство).

9. ЦМ играет важную роль в компартментализации (англ. *compartment* – отсек, отделение), т. е. в разделении на «отсеки» рибосом и их стабилизации.

Каким образом мембрана осуществляет на молекулярном уровне свои многочисленные функции – один из актуальнейших вопросов современной биологии. На долю ЦМ приходится около 10 % сухого веса бактерий. Она содержит 25 – 40 % фосфолипидов, образующих два слоя, 20 – 75 % белков и до 6 % углеводов. Молекулы фосфолипидов асимметричны: головки, несущие электрический заряд, гидрофильны; хвосты – нейтральны и гидрофобны. Фосфолипиды упакованы в мембране следующим образом: их полярные гидрофильные головки обращены наружу и образуют два слоя ЦМ – внутренний и внешний, а неполярные гидрофобные хвосты скрыты в толще мембраны. На электронограммах ЦМ

имеет вид трехслойной структуры, состоящей из двух параллельных темных слоев и разделяющего их светлого слоя. Этот слой более проницаем для электронов, чем слои, состоящие из полярных концов фосфолипидов, ассоциированных с белками. Специфичность функций ЦМ во многом зависит от набора содержащихся в них белков. Расположение их в ЦМ своеобразно (рис. 9): некоторые белки пронизывают весь двойной липидный слой, определенная часть белков связана или только с внутренней, или только с наружной поверхностью мембраны. Это вытекает из того, что взаимодействие между мембраной и цитоплазмой, с одной стороны, мембраной и внешней средой – с другой, определяет различные, хотя и взаимосвязанные, процессы ее жизнеобеспечения: облегченная диффузия, активный транспорт, перенос электронов, мобилизация энергии и т. п. Молекулы белков и других соединений, входящих в состав ЦМ, обладают значительной свободой перемещения.

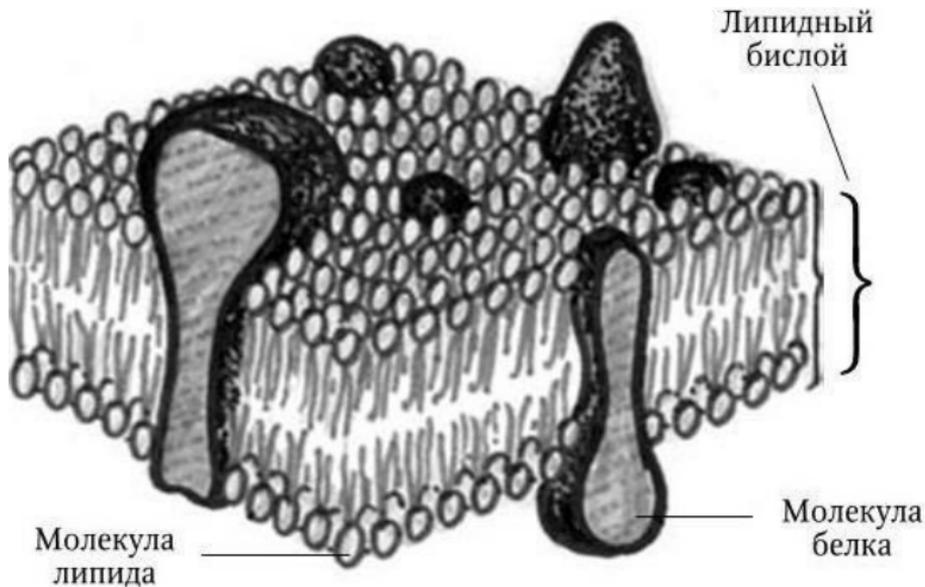


Рис. 9. Схематическая модель элементарной биологической мембраны

Структура, состоящая из клеточной стенки и ЦМ, получила название оболочки клетки.

## Цитоплазма

Цитоплазма бактерий представляет собой сложную коллоидную систему, в ней нет эндоплазматического ретикулума и других цитоплазматических органелл, свойственных эукариотам; она неподвижна. Правда, в цитоплазме *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Proteus* обнаруже-

ны микротрубочки – рапидосомы, сходные с микротрубочками простейших. У некоторых прокариот имеются три типа органелл, окруженных белковыми мембранами: газовые пузырьки (у водных прокариот, например, пурпурных и серных бактерий, галобактерий и др.), хлоробиум-везикулы (в них у фотосинтезирующих бактерий размещается аппарат фотосинтеза) и карбоксисомы (в них содержится большая часть основного фермента процесса фиксации  $\text{CO}_2$  – карбоксидисмутазы). В цитоплазме располагается ядерный аппарат – генофор (нуклеоплазма), который не отделен от нее никакими мембранами. Кроме хромосомы (хромосом), в цитоплазме многих бактерий, в том числе патогенных, имеются плазмиды, иногда целый их комплекс. Как хромосома, так и плазмиды связаны со специфическими рецепторами на ЦМ. В цитоплазме располагаются бактериальные рибосомы 70S и все остальные компоненты белоксинтезирующей системы. Помимо этих основных структурных элементов, являющихся главными атрибутами живой клетки, в цитоплазме содержатся различные макромолекулы (тРНК, аминокислоты, нуклеотиды и т. п.); могут быть мезосомы, которые участвуют в энергетическом обмене, формировании межклеточной перегородки при делении, спорообразовании и, возможно, обладают другими функциями. Нередко в цитоплазме бактерий обнаруживаются различные включения, которые образуются в процессе жизнедеятельности: капельки нейтральных липидов; воска, серы, гранулезы (специфическое

запасное углеводное вещество, накапливающееся у бактерий рода *Clostridium*); гранулы гликогена; волютина (метаполифосфата), особенно у *Spirillum volutans* и *Corynebacterium diphtheriae* – возбудителя дифтерии; поли- $\beta$ -гидроксимасляной кислоты – ПОМ (особенно у рода *Bacillus*). Гранулеза, гликоген, ПОМ, зерна волютина служат для бактерий запасным источником энергии. У некоторых бактерий (*Bacillus thuringiensis*) в цитоплазме находятся кристаллы белковой природы, обладающие ядовитым действием для насекомых. У разных биологических групп бактерий могут быть и другие внутрицитоплазматические включения метаболического происхождения.

## Периплазматическое пространство

Между ЦМ и внутренним слоем пептидогликана находится периплазматическое пространство, ширина его у грамположительных бактерий составляет около 10 нм. При электронной микроскопии обнаружено, что у грамположительных и, вероятно, у грамотрицательных бактерий между внутренней поверхностью пептидогликана и наружной поверхностью ЦМ имеются регулярно повторяющиеся перемычки. Поры, содержащиеся в клеточной стенке, открываются в периплазматическое пространство. В него всегда открыты и мезосомы. Периплазматическое пространство играет существенную роль во взаимодействии ЦМ и клеточной стенки,

в нем содержатся различные ферменты, по преимуществу фосфатазы, связывающие белки, олигосахариды и другие вещества.

## Капсулы

У бактерий различают микрокапсулу, капсулу и слизистый слой. Микрокапсула выявляется при электронной микроскопии в виде коротких мукополисахаридных фибрилл. Ее роль и значение не совсем ясны. Капсула представляет собой слизистый слой, который обычно сохраняет связь с клеточной стенкой. Капсула служит внешним покровом бактерий, толщина ее более 0,2 мкм, она четко обнаруживается под микроскопом после негативного окрашивания, например по способу Бурри – Гинса (см. цв. вкл., рис. 10). Капсулы, в связи с их гелеобразной консистенцией, плохо удерживают красители, поэтому для их обнаружения наиболее приемлем метод негативного контрастирования. Макромолекулы капсулы сильно гидратированы, расположены рыхло и не препятствуют поступлению веществ в клетку и выходу продуктов ее метаболизма наружу. В образовании капсулы принимает участие ЦМ. По химическому составу различают капсулы, состоящие из полисахаридов, не содержащих азота; полисахаридов, содержащих азот (аминосахара); капсулы полипептидной природы (табл. 3). Капсулу полипептидной природы образуют несколько видов *Bacillus*, она у них состо-

ит из D-глутаминовой кислоты, и *Y. pestis*.

Таблица 3

### Химический состав капсул некоторых бактерий

Вид бактерий	Химический состав	
	Полимер	Субъединицы
<i>Bacillus anthracis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Полиглутаминовая кислота Декстраны Сложные полисахариды: тип II  тип IX	D-глутаминовая кислота Глюкоза (фруктоза)  Глюкоза, рамноза, глюкуроновая кислота Глюкоза, рамноза, N-ацетил-D-маннозаминфосфат
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Гиалуроновая кислота	N-ацетилглюкозамин, глюкуроновая кислота
<i>Acetobacter xylinum</i>	Целлюлоза	Глюкоза

Некоторые виды патогенных бактерий (*S. pneumoniae*, *B. anthracis*, *C. perfringens* и др.) образуют капсулы лишь в организме человека или животного, другие – как в организме, так и на искусственных питательных (иногда специальных) средах (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. rhinoscleromatis* и др.). У патогенных бактерий капсула может окружать одну (*Y. pestis*), две (*S. pneumoniae*) или целую цепочку (*B. anthracis*, *K. pneumoniae*) клеток. Некоторые сапрофитные бактерии (*Leuconostoc mesenteroides*, *Zoogloea*) образуют зооглеи – скопления клеток, заключенные в одну общую капсулу. Хотя капсулы не являются для бактерий жизненно необходимыми, они наделяют их многими важными свойствами. Совместно с клеточной стенкой и ЦМ они образуют более мощную оболочку бактерий, предохраняют их

от высыхания, несут для них запасные питательные вещества. Капсульные антигены патогенных бактерий определяют их антигенную специфичность и иммуногенные свойства. Например, наиболее эффективные вакцины против менингококковых и пневмококковых заболеваний готовят из капсульных полисахаридов возбудителей. У многих бактерий капсулы являются важными факторами патогенности: они либо маскируют их от фагоцитов, либо подавляют фагоцитоз. Утрата способности синтезировать капсулу у пневмококков, например, сопровождается полной утратой патогенности.

**Слизистые слои.** Нередко слизистые экзополимеры выделяются бактериальной клеткой в значительно большем количестве, частично отделяются от нее и образуют рыхлый слизистый слой.

## Жгутики

По механизму движения бактерии подразделяют на плавающие и скользящие, или ползающие. Последние активно передвигаются по плотной поверхности благодаря волнообразным сокращениям тела (некоторые виды *Mycoplasma*, *Mucosoccus* и др.). У плавающих бактерий органом движения являются жгутики, которые представляют собой тонкие длинные нитевидные белковые образования диаметром 12 – 30 нм и длиной от 6 – 9 до 80 мкм. Белок, из которого по-

строены жгутики, получил название флагеллина. Он отличается от других белков, содержащихся в бактериальной клетке. Флагеллин обладает сократительной способностью, хотя механизм ее не совсем понятен.

Жгутик состоит из однотипных спиралевидно или продольно уложенных вокруг полой сердцевины белковых субъединиц, образующих цилиндрическую структуру, которая особым образом прикреплена к бактериальной клетке. По характеру расположения жгутиков и их количеству подвижные бактерии условно делят на четыре группы (рис. 11):

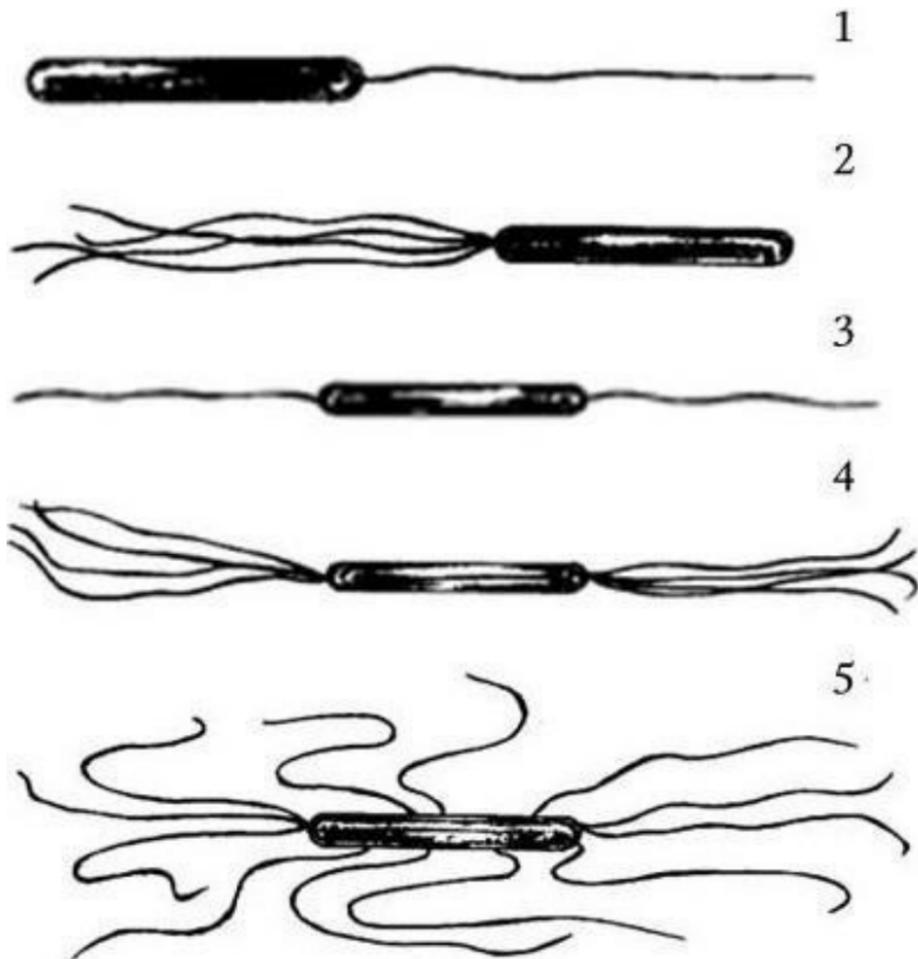
1) монотрихи – один полярно расположенный жгутик (*Vibrio cholerae*);

2) лофотрихи – пучок жгутиков на одном конце (*Pseudomonas methanica*);

3) амфитрихи – пучки жгутиков на обоих концах клетки (*Spirillum volutans*);

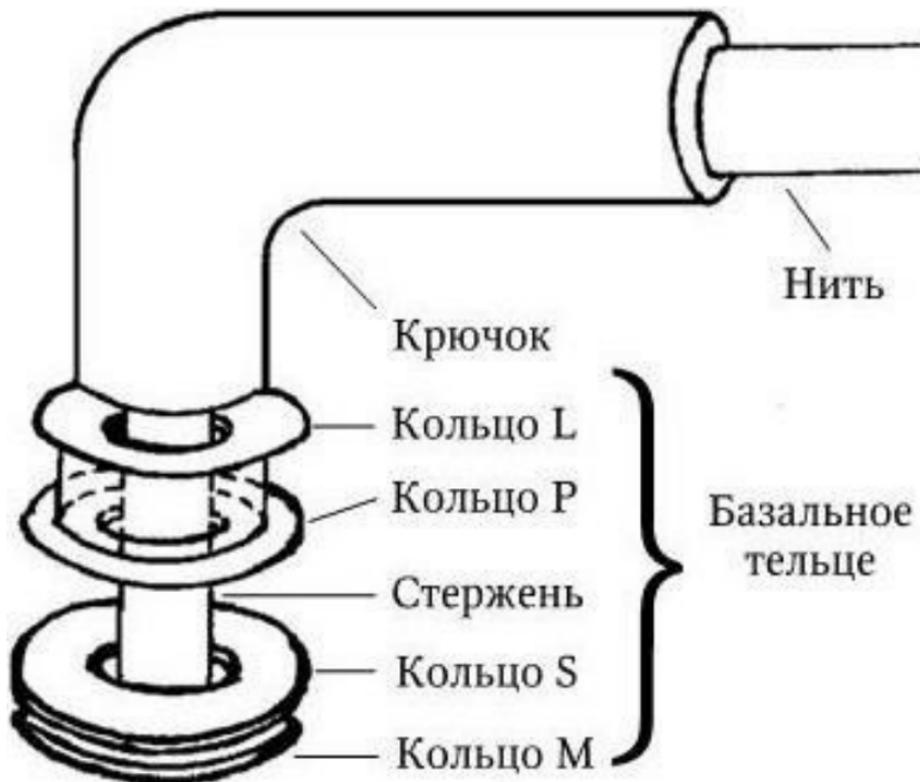
4) перитрихи – множество жгутиков, расположенных вокруг клетки (*E. coli*, *Salmonella typhi*).

Жгутик состоит из трех компонентов – спиральной жгутиковой нити постоянной толщины, крючка и базального тельца (рис. 12). Крючок, к которому присоединена жгутиковая нить, имеет длину 30 – 45 нм и состоит из отличающегося от флагеллина белка. Он соединен с базальным тельцем, которое располагается целиком в оболочке (в клеточной стенке и ЦМ).



*Рис. 11.* Расположение жгутиков у бактерий:

1 – монотрихи; 2 – лофотрихи; 3, 4 – амфитрихи; 5 – перитрихи



*Рис. 12.* Схематическая модель бактериального жгутика

Базальное тельце состоит из центрального стержня, заключенного в систему особых колец. У граммотрицательных бактерий их две пары: внешняя (кольца L и P) и внутренняя (кольца S и M). Кольца L и P расположены внутри клеточной стенки (кольцо L – в ЛПС, а кольцо P – в слое пептидогликана). Они выполняют, очевидно, роль втулки для стержня. Внутренняя пара (кольца S и M) фиксирована на ЦМ,

причем кольцо S располагается в периплазматическом пространстве, а кольцо M – на ЦМ или в ней.

Жгутики у грамположительных бактерий, имеющих более толстую и гомогенную клеточную стенку, содержат только одну пару колец – S и M. Вращение жгутиков в клеточной стенке происходит из-за вращательного движения колец S и M относительно друг друга и обеспечивается за счет энергии трансмембранного градиента ионов водорода или натрия. Благодаря такому вращению происходит движение бактерий в наиболее благоприятном для них направлении. Жгутиковый аппарат обладает особым бинарным переключателем, который позволяет менять направление вращения жгутиков против часовой стрелки на противоположное. Таким способом бактерии, получив химический сигнал из окружающей среды, изменяют направление движения и выбирают оптимальные условия обитания. По всей вероятности, базальное тельце (его внутреннее кольцо M) непосредственно связано с какими-то дополнительными жгутиковыми белками, которые необходимы для сборки жгутиков и управления переключением направления их вращения и которые расположены либо в ЦМ, либо сразу под ней. Со жгутиковым аппаратом связана также и хемотаксическая активность таких бактерий. Генетический контроль синтеза жгутиковых белков, их сборки и активности осуществляется особым опероном. Установлено, что мутации в области *mot*-генов (англ. *motility* – подвижность) приводят к потере только подвижности, од-

нако все структуры жгутиков сохраняются; мутации в *сегегах* (англ. *chemotaxis* – хемо + подвижность) – к потере хемотаксической активности при сохранении структуры жгутиков и их подвижности. Подвижность бактерий определяют либо микроскопически (с помощью фазово-контрастной или обычной световой микроскопии «раздавленной» или «висячей» капли соответственно), либо бактериологически (при посеве уколом в столбик полужидкого агара: подвижные бактерии дают диффузный рост, а неподвижные – растут только по ходу укола). Жгутики хорошо выявляются при электронной микроскопии (рис. 13). Жгутиковые бактерии могут двигаться с большой скоростью, например *Bacillus megaterium* движется со скоростью 27 мкм/с, а *Vibrio cholerae* – 200 мкм/с.

**Донорные ворсинки.** У бактерий, являющихся носителями конъюгативных плазмид (F-плазмид, R-плазмид и др.), имеются длинные (0,5 – 10 мкм) нитевидные структуры белковой природы, получившие название донорных ворсинок, или донорных пилей (англ. *pile* – волосок). Как и жгутики, они имеют внутреннюю полость и построены из особого белка. Их синтез находится под контролем плазмидных генов. Они служат аппаратом конъюгации – с их помощью устанавливается непосредственный контакт между донорной и реципиентной клетками. Донорные пили обнаруживают с помощью донорспецифических фагов, которые на них адсорбируются и далее вызывают лизис клетки-хозяина. Донор-

ные пили встречаются в количестве 1 – 2 на клетку.

**Фимбрии, или реснички.** Фимбрии (англ. *fimbria* – бахрома) – короткие нити, в большом количестве (до многих тысяч) окружающие бактериальную клетку (рис. 14). Подобно жгутикам и донорным ворсинкам, они прикреплены к клеточной стенке, но значительно короче и тоньше – их длина 0,1 – 12,0 мкм, диаметр 25 нм. Белок фимбрий отличается от белков жгутиков и донорных ворсинок. Биологическое значение фимбрий, по-видимому, состоит в том, что с их помощью бактерии прикрепляются к определенным поверхностям. Для многих патогенных бактерий фимбрии являются важными факторами патогенности, так как с их помощью бактерии прикрепляются к чувствительным клеткам и заселяют их, т. е. фимбрии служат для бактерий факторами адгезии и колонизации.

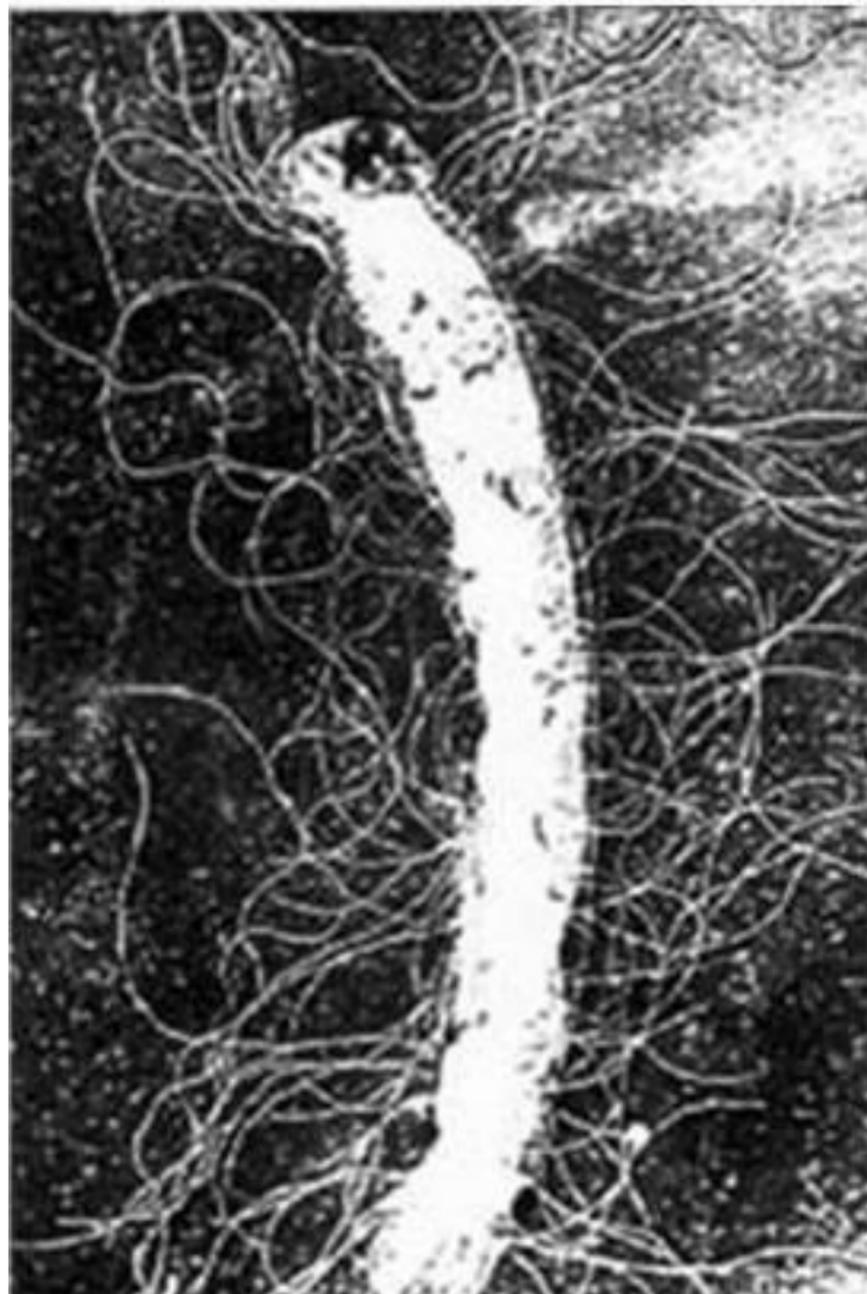


Рис. 13. Жгутики бактерий (электроннограмма *Proteus vulgaris*)



Рис. 14. Реснички (фимбрии) бактерий (электронограмма *Bordetella parapertussis*)

## Эндоспоры и спорообразование

Некоторые роды бактерий (*Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*) при неблагоприятных для их существования условиях образуют защитные формы – эндоспоры. Споры представляют собой своеобразные покоящиеся клетки; у них чрезвычайно низкая метаболическая активность, но они обладают высокой устойчивостью к высушиванию, действию повышенной температуры и различных химических веществ. Высокую резистентность спор к действию указанных факторов связывают с присутствием в оболочке большого количества кальциевой соли дипиколиновой кислоты. Споры сильно преломляют свет, поэтому они хорошо заметны в неокрашенных препаратах. Для обнаружения спор предложены различные интенсивные способы окрашивания, поскольку они слабо воспринимают красители. Диаметр споры может не превышать диаметра вегетативной клетки (*Bacillus*) или превышает его. В последнем случае бактериальная клетка со спорой принимает форму веретена (*Clostridium*). Споры в клетке (рис. 15) могут располагаться центрально (*B. megaterium*), субтерминально (*C. botulinum*), терминально (*C. tetani*).

В процессе спорообразования (споруляции) бактериальная клетка подвергается сложной перестройке (рис. 16). Вначале на одном из ее полюсов происходит конденсация нуклеоида и отделение его за счет образования септы. Затем ЦМ начинает обрастать образовавшийся протопласт споры и возникает складка, состоящая из двух слоев ЦМ, позднее они сливаются, в результате образовавшаяся предспора оказывается окруженной двойной оболочкой. На следующей стадии между двумя мембранами, покрывающими предспору, формируется толстый слой кортекса (коры). Самый внутренний слой его представляет собой зародышевую стенку (из него образуется клеточная стенка прорастающей вегетативной клетки). По мере созревания споры обе ее мембраны участвуют в образовании специальных слоев споры. Таким образом между обращенными друг к другу мембранами образуются зародышевая стенка, кортекс, а также расположенные снаружи от мембран наружная и внутренняя оболочки и экзоспорий. Сформировавшаяся эндоспора состоит из протопласта с нуклеоидом, стенки споры, кортекса, оболочки и экзоспория.

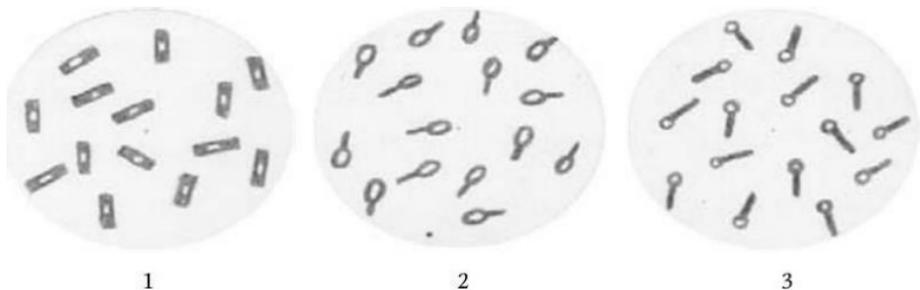


Рис. 15. Расположение спор у бактерий:

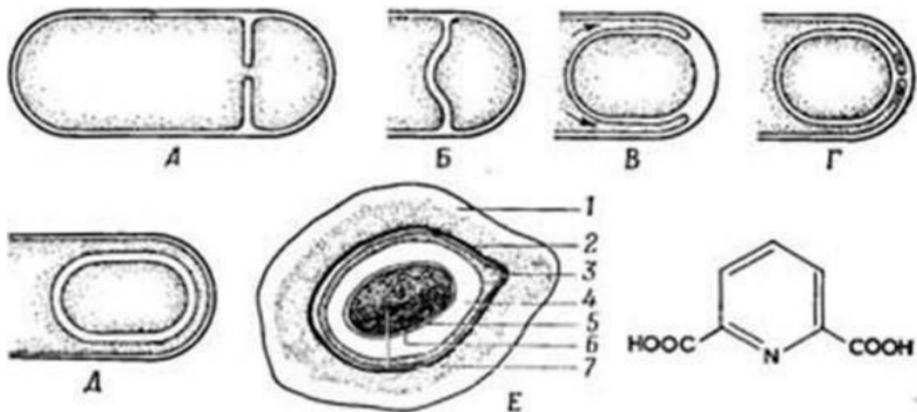
1 – центральное (*Bacillus megaterium*); 2 – субтерминальное (*Clostridium botulinum*); 3 – терминальное (*Clostridium tetani*)

**Протопласт споры (ядро)** содержит ЦМ, цитоплазму, хромосому, все компоненты белоксинтезирующей системы и анаэробной энергообразующей системы.

**Стенка споры** непосредственно окружает внутреннюю мембрану ее и представлена пептидогликаном, из которого формируется клеточная стенка прорастающей клетки.

**Кортекс** – самый толстый слой оболочки споры. Он состоит из пептидогликана, содержащего мало поперечных сшивок и поэтому очень чувствительного к лизоциму. Разрушение кортекса лизоцимом играет пусковую роль в процессе прорастания споры.

**Оболочка споры** построена из кератиноподобного белка. Плохая проницаемость ее определяет высокую устойчивость спор к действию различных химических веществ.



*Рис. 16.* Схема образования споры (по Г. Шлегелю):

А, Б – образование септы; В, Г – окружение протопласта споры мембраной материнской клетки; Д – формирование кортекса и оболочек споры; Е – схема строения зрелой споры: 1 – экзоспориум; 2 – наружная оболочка споры; 3 – внутренняя оболочка споры; 4 – кортекс; 5 – клеточная стенка споры; 6 – ЦМ споры; 7 – цитоплазма с нуклеоидом

**Экзоспорий** – липопротеиновая оболочка, содержащая немного углеводов.

После завершения спорообразования вегетативная часть клетки отмирает, спора высвобождается и длительное время сохраняется в окружающей среде, до тех пор, пока не возникнут условия, благоприятные для ее прорастания.

# Генетический контроль спорообразования

Процесс спорообразования контролируется более чем 40 оперонами, которые представляют собой как бы дополнительный геном у спорообразующих бактерий. В составе этого генома насчитывается более 60 генов. Инициация споруляции связана с геном *spoO*, мутации в котором делают невозможным образование споры с самых начальных стадий. Транскрипция гена *spoO* запускает последовательную транскрипцию всех оперонов спорового генома. При этом их транскрипция носит строго регулируемый характер: выражение более поздних генов зависит от транскрипции более ранних генов. Это обуславливает четкую временную последовательность биохимических и морфологических процессов, лежащих в основе споруляции. Спорообразующие бактерии обладают механизмами, с помощью которых они распознают определенные изменения в окружающей среде, например, уменьшение содержания источников энергии, некоторых аминокислот и оснований. В ответ на это в клетке происходят метаболические изменения, которые и запускают споруляцию. Эти изменения приводят прежде всего к изменению субъединичного состава РНК-полимераз. Индукция транскрипции спорового генома приводит к синтезу особых  $\delta$ -единиц РНК-полимераз, которые и обеспечивают распознавание промоторов генов, контролирующих споруляцию.

Вместе с тем наличие множественных промоторов у жизненно важных для клетки генов, распознаваемых разными  $\delta$ -факторами, обеспечивает их выражение на всех этапах роста этих клеток, споруляции и прорастания спор. Одна из особенностей споруляции состоит в том, что на определенном ее этапе (приблизительно на 3-м часу) происходит синтез небольших кислоторастворимых белков. На их долю приходится около 10 – 12 % всех белков споры. В спорах они связываются с ДНК, обеспечивая устойчивость их к УФ-облучению. В момент прорастания споры эти белки гидролизуются и тем самым обеспечивают прорастающую спору необходимыми аминокислотами. У некоторых представителей рода *Clostridium* выявлена функциональная зависимость токсинообразования от споруляции: наиболее интенсивно экзотоксин вырабатывается во время активной споруляции; причинная связь этих процессов не ясна.

Прорастание споры происходит после получения соответствующего химического сигнала. Различные виды спорообразующих бактерий располагают рецепторами, распознающими наличие в среде источников энергии, L-аланина, аденозина и других веществ. Связывание с такими эффекторами активирует содержащийся в споре автолизин (лизоцим), который быстро разрушает пептидогликан кортекса.

**Прорастание спор** включает три стадии: активацию, начальную стадию и стадию роста.

**Активация** является обязательным условием прораста-

ния спор. Она осуществляется различными воздействиями – кислой рН; веществами, содержащими свободные сульфгидрильные группы; повышением температуры; механическим повреждением спор.

**Начальная стадия.** Под влиянием внешних эффектов происходит активация автолизина, последний разрушает пептидогликан кортекса, в спору поступает вода, спора высвобождается от дипиколината кальция, под воздействием гидролитических ферментов разрушаются другие ее компоненты.

**Стадия роста.** После разрушения кортекса и наружных слоев споры из нее появляется («выклевывается») растущая новая вегетативная клетка. Она состоит из протопласта споры и ее клеточной стенки. В ней активизируются биосинтетические процессы; в результате новая вегетативная клетка, при наличии необходимых питательных веществ, удваивает свою биомассу и делится на две дочерние клетки, которые далее активно размножаются, пока этому способствуют условия среды. Процесс прорастания споры контролируется генами как спорового, так и вегетативного геномов.

## **Некультивируемые формы бактерий**

У многих видов грамотрицательных бактерий, в том числе у патогенных (шигеллы, сальмонеллы, холерный вибрион и др.) существует особое приспособительное, генетиче-

ски регулируемое состояние, физиологически эквивалентное цистам, в которое они могут переходить под влиянием неблагоприятных условий и сохранять жизнеспособность до нескольких лет. Главная особенность этого состояния заключается в том, что такие бактерии не размножаются и поэтому не образуют колоний на плотной питательной среде. Такие не размножающиеся, но жизнеспособные клетки получили название некультивируемых форм бактерий (НФБ). Клетки НФБ, находящиеся в некультивируемом состоянии (НС), обладают активными метаболическими системами, в том числе системами переноса электронов, биосинтеза белка и нуклеиновых кислот, и сохраняют вирулентность. Их клеточная мембрана более вязкая, клетки обычно приобретают форму кокков, имеют значительно уменьшенные размеры. НФБ обладают более высокой устойчивостью во внешней среде и поэтому могут переживать в ней длительное время (например, холерный вибрион в грязном водоеме), поддерживая эндемическое состояние данного региона (водоема). Для обнаружения НФБ используют молекулярно-генетические методы (ДНК – ДНК-гибридизация, ЦПР), а также более простой метод прямого подсчета жизнеспособных клеток. С этой целью к исследуемому материалу добавляют в небольшом количестве питательные вещества (дрожжевой экстракт) и налидиксовую кислоту (для подавления синтеза ДНК) на несколько часов. Клетки усваивают питательные вещества и увеличиваются в размерах, но не делятся,

поэтому такие увеличенные клетки четко видны в микроскоп и их легко подсчитать. Для этих целей можно использовать также методы цитохимические (образование формаза-на) или микроавторадиографии. Генетические механизмы, обуславливающие переход бактерий в НС и их реверсию из него, не ясны.

# Глава 5 Физиология бактерий.

## Механизмы питания

Жизнь любого организма сводится к тому, чтобы в соответствии с имеющимся у него объемом генома полностью воспроизвести самого себя и реализовать свои функции, т. е. обусловить индивидуальное развитие (жизнь) и произвести потомство. Это оказывается возможным потому, что в основе жизни каждого организма лежит непрерывное взаимодействие трех потоков информации: одного – из внешней среды и еще двух потоков генетической информации: по горизонтали, он обеспечивает индивидуальное развитие организма и реализацию его жизненных функций, и другого – по вертикали, который обеспечивает передачу потомству всех признаков родителей, т. е. наследственную непрерывность вида и самой жизни. Из этого вытекает следующее положение, которое, по-видимому, имеет общебиологическую закономерность – *поведение всех живых существ, как в интересах их индивидуального развития, так и ради сохранения вида, должно быть всегда адекватным имеющейся у них генетической информации и информации, воспринимаемой из внешней среды.* Отступление от этого закона может привести к гибели организма и вида. Единство организма с внешней средой заключается не только в том, что он получает из среды необходимые для себя источники энергии, пи-

тания, а также другую информацию, но и в том, что, в свою очередь, он также воздействует на среду, изменяет ее и этим постоянно меняет условия своего существования. Поэтому взаимосвязь организма с внешней средой должна быть постоянной и взаимовыгодной.

Чем больше объем генома, тем сложнее устроен организм, тем разнообразнее его собственная генетическая информация и та информация, которую он может воспринимать из окружающей среды и перерабатывать. Тем разнообразнее, сложнее и богаче проявляется его индивидуальная жизнь.

Бактерии воспринимают информацию из внешней среды в виде механических, физических и, главным образом, химических сигналов, поступающих через клеточную мембрану. Химическими сигналами для бактерий служат различные источники энергии, аминокислоты, основания, другие сложные химические вещества, ионы, вода, от которых зависит общая интенсивность всех биосинтетических процессов в клетке.

## **Механизмы питания бактерий**

Большинство бактерий живет в среде, мало подходящей для того, чтобы поддерживать строгое соотношение воды, солей и органических веществ, без которого невозможна жизнь. Это обуславливает необходимость постоянного и тщательного регулирования обмена различными вещества-

ми, который происходит между клеткой и внешней средой и контролируется клеточной мембраной. Она проницаема для многих веществ, поток их идет в обоих направлениях (из клетки и в клетку), но структура мембраны такова, что она обладает избирательной и неравномерной проницаемостью, определяющей механизмы питания бактерий.

Питательные вещества из внешней среды поступают в бактериальную клетку с помощью трех основных механизмов: пассивной диффузии, облегченной диффузии и активного транспорта (рис. 17).

**Пассивная диффузия** осуществляется за счет различного содержания питательных веществ в среде и в клетке и происходит в направлении от большей концентрации к меньшей, т. е. по градиенту концентрации. Когда концентрация вещества по ту и другую сторону мембраны уравнивается, пассивная диффузия прекращается. Ее скорость зависит от величины градиента, но она имеет определенный предел. Таким путем в клетку проникает (и покидает ее) вода вместе с растворенными в ней различными мелкими молекулами, способными проходить через мелкие поры мембраны. Для пассивной диффузии характерно отсутствие субстратной специфичности, и она не требует затраты энергии.

**Облегченная диффузия** характеризуется выраженной субстратной специфичностью и протекает при обязательном участии специфических белков, локализованных в мембране; синтез некоторых из них индуцируется соответствующи-

ми субстратами. Эти белки, получившие название пермеаз (англ. *permeate* – проникать, проходить сквозь), обладают субстратной специфичностью. Они распознают и связывают молекулу субстрата на внешней стороне мембраны и обеспечивают каким-то образом ее перенос через мембрану. На внутренней поверхности мембраны комплекс пермеаза – субстрат диссоциирует, освободившаяся молекула субстрата включается в общий метаболизм клетки, а пермеаза повторяет очередной цикл переноса своего субстрата, который не способен проникать через мембрану путем простой диффузии. Главное свойство пермеаз – способность проходить через мембрану как с присоединенной молекулой субстрата, так и без нее. Однако облегченная диффузия происходит только по градиенту концентрации, но не против него, поэтому она не требует затраты энергии. Пермеазы, присоединившись к субстрату, повышают его способность проникать через мембрану. Облегченная диффузия протекает со значительно более высокой скоростью, чем пассивная. Ее скорость подчиняется закону Михаэлиса – Ментен, и при достижении равновесия концентрация субстрата, доставляемого посредством облегченной диффузии, на внутренней и внешней поверхностях мембраны становится одинаковой.

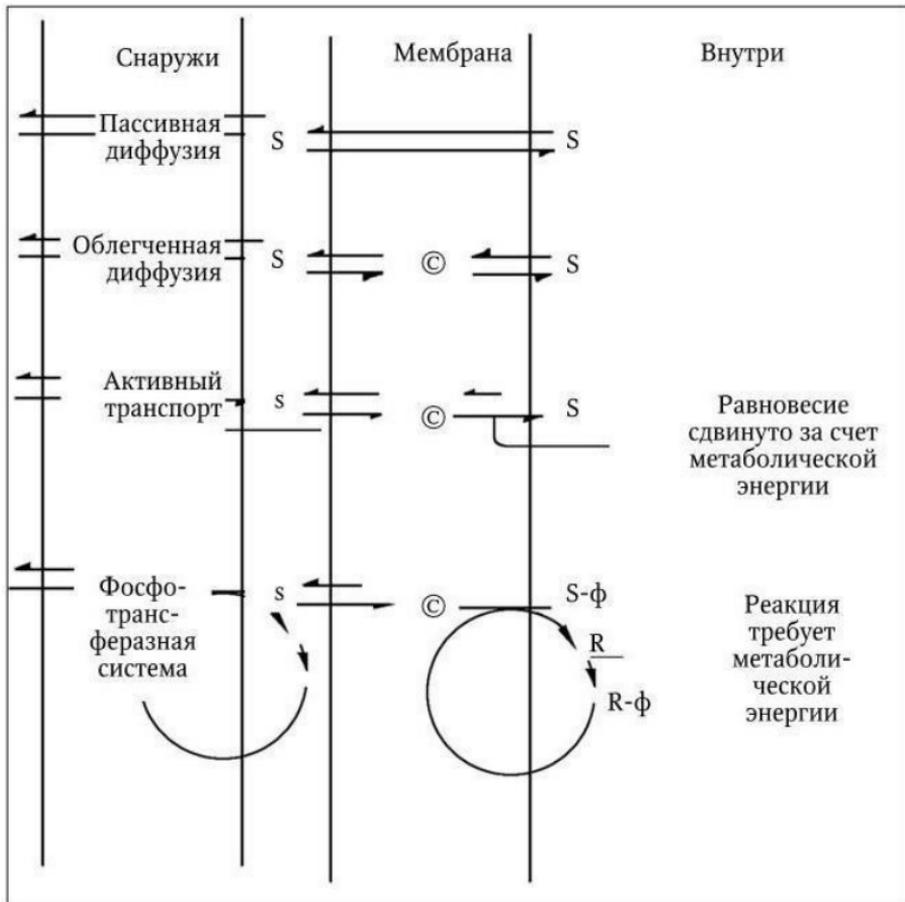


Рис. 17. Бактериальные транспортные системы (Р. Стейнер [и др.]. Мир микробов. 1979, т. 2):

Разная длина стрелок указывает на сдвиг равновесия реакции в сторону более длинной стрелки. S и s означают соответственно высокую и низкую концентрации растворенных веществ; © – белок-переносчик (пермеаза); R – белок НPr; R-φ – фосфо-НPr; φ – фосфатная группа

**Активный транспорт.** С помощью механизмов активного транспорта растворенные вещества могут поступать в клетку против градиента концентрации, поэтому активный транспорт требует от клетки затраты энергии. У бактерий этот механизм питания является преобладающим. С его помощью они обеспечивают такие концентрации растворенных питательных веществ внутри клетки, которые могут во много раз превышать их концентрации во внешней среде и обеспечивают им высокие скорости метаболизма даже при низкой концентрации химических веществ в окружающей среде. У многих бактерий, в особенности грамотрицательных, в активном транспорте принимают участие особые связывающие белки, не идентичные пермеазам и не входящие в структуру мембраны, а локализованные в периплазматическом пространстве. У связывающих белков отсутствует каталитическая активность, но они обладают очень высоким сродством к определенным питательным веществам – к различным аминокислотам, сахарам, неорганическим ионам. Выделено и изучено более 100 различных связывающих белков, которые образуют прочные комплексы со своими субстратами и необходимы для их активного переноса через мембрану. Связывающие белки функционируют только в комплексе со специфическими пермеазами, осуществляющими активный перенос субстрата через мембрану. Метаболическая энергия, необходимая для этого, используется для

снижения сродства пермеазы к своему субстрату на внутренней поверхности мембраны по сравнению с ее сродством к нему на внешней стороне мембраны. В результате этих превращений происходит изменение скорости выхода субстрата наружу, она становится во много раз меньше скорости его поступления в клетку. При этом механизме активного транспорта через мембрану в клетку поступают против градиента концентрации химически не измененные питательные вещества. У бактерий, вместе с тем, существуют и такие транспортные системы, которые переводят питательные вещества в химически измененную форму, не способную проникать через мембрану. К их числу относится фосфотрансферазная система, широко распространенная среди бактерий. С помощью этой системы транспортируются многие сахара и их производные, в процессе переноса они фосфорилируются и поступают в клетку в виде сахарофосфатов. Поскольку мембрана для последних непроницаема, сахарофосфаты остаются внутри клетки.

Фосфотрансферазная система состоит из двух неспецифических компонентов: ферментов I и  $\text{HPt}$  и набора субстрат-специфических белков, связанных с мембраной и обозначенных как ферменты II. Фермент I обеспечивает перенос богатой энергией фосфатной группы от фосфоенолпирувата на гистидиновый остаток фермента  $\text{HPt}$ , который превращается в фосфо- $\text{HPt}$ . Последний является общим донором фосфорильной группы для всех субстратов, перено-

симых фосфотрансферазной системой. Фосфорилирование же их осуществляется субстрат-специфическими белками из группы ферментов II, которые выполняют также и функции пермеаз. У мутантных бактерий, лишенных фермента I или белка НPr, ферменты II осуществляют облегченную диффузию своих субстратов.

Транспортные системы в жизни клетки выполняют две основные функции:

1) поддерживают на высоком уровне внутриклеточные концентрации всех субстратов, необходимых для осуществления важнейших биохимических реакций с максимальными скоростями даже при низких концентрациях этих химических веществ во внешней среде;

2) регулируют внутриклеточное осмотическое давление, поддерживают оптимальную для метаболической активности концентрацию растворенных веществ (небольших молекул и ионов).

## **Секреция продуктов жизнедеятельности бактериальной клеткой**

Бактерии синтезируют и секретируют во внешнюю среду различные продукты своей жизнедеятельности, в том числе белки, главным образом ферменты и токсины, с помощью которых они оптимизируют свое существование. Например, благодаря секреции ферментов они расщепляют сложные

органические соединения и делают их более доступными для питания. Для патогенных бактерий секреция ферментов и токсинов служит мощным средством, благодаря которому они только и могут обеспечивать свое существование и размножение в организме животного и подавлять его защитные механизмы. Секреция белков бактериями осуществляется с помощью различных систем и механизмов. При этом следует различать секрецию белков в периплазматическое пространство через ЦМ и секрецию белков непосредственно в культуральную среду (экскрецию, или экспорт белков). У грамотрицательных бактерий большинство белков секретруется в периплазматическое пространство в виде белков-предшественников, содержащих в своей структуре особый сигнальный (лидерный) пептид из 15 – 40 аминокислотных остатков. Именно он обеспечивает перенос белка-предшественника через ЦМ, после чего и отрывается от него с помощью сигнальной (лидерной) пептидазы.

Существует несколько моделей, объясняющих механизм, посредством которого лидерный пептид обеспечивает секрецию белка-предшественника через ЦМ в периплазматическое пространство.

**Модель прямого транспорта** предполагает прямое вхождение лидерного пептида в липидный бислой мембраны с использованием свободной энергии мембраноассоциированных рибосом.

**Сигнальная гипотеза** предполагает, что в результате

взаимодействия лидерного пептида непосредственно с особым рецептором мембраны образуется внутримембранный канал, через который и осуществляется секреция.

Существуют и другие, более сложные, модели механизма переноса секретлируемого белка через ЦМ. Возможно, что применительно к разным белкам и у разных групп бактерий действуют различные механизмы. Детальнее всего механизмы секреции изучены у *E. coli*. У нее обнаружены два пути секреции: sec-зависимый и относительно sec-независимый. Для обеспечения секреции белков в случае sec-зависимого механизма требуется участие продуктов ряда sec-генов: secA, secY, secB, secD, secE и secF. Источниками энергии для переноса белков служат гидролиз АТФ и градиент концентрации протонов. Для осуществления посттранслокационного процессинга (англ. *processing* – обработка) белка после его перемещения (транслокации) достаточно, вероятно, активности только сигнальных пептидаз. У *E. coli* их обнаружено две: сигнальная пептидаза I (м. м. 36 кД, кодируется геном *lepB*) и сигнальная пептидаза II (м. м. 18 кД, кодируется геном *lepA*).

Большой интерес представляет так называемая система секреции 3-го типа (ССТЗ). Она осуществляет секрецию эффекторных белков из цитоплазмы клетки через ЦМ и наружную мембрану непосредственно в клетки растения и животного, с которыми бактерия контактирует. ССТЗ обнаружена у бактерий родов *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* и других и иг-

рает у них роль одного из факторов патогенности. Непосредственно в культуральную среду грамотрицательные бактерии экскретируют только некоторые белки, при этом в каждом случае используются различные механизмы, которые также еще недостаточно изучены. Например, бактериоцины, кодируемые различными плазмидами, не содержат в своей структуре сигнальных пептидов. Для их секреции через ЦМ и наружную мембрану требуется специальный вспомогательный белок – рилизинг-белок. Система транспорта гемолизина HlyA, кодируемого генами Hly-плазмиды, состоит как минимум из двух вспомогательных белков HlyB и HlyD, которые образуют канал для непосредственного выхода гемолизина (важного фактора патогенности *E. coli*) из цитоплазмы во внешнюю среду.

## **Способы питания**

### **Углеродное питание**

К числу важнейших химических элементов-органогенов, необходимых для синтеза органических соединений, относят: углерод, азот, водород и кислород. Свою потребность в водороде и кислороде бактерии удовлетворяют за счет воды. Сложнее обстоит дело с углеродным и азотным питанием. По способу углеродного питания бактерии делят на ауотро-

фы и гетеротрофы.

**Аутоотрофы** (греч. *autos* – сам, *trophe* – питание) – организмы, которые полностью удовлетворяют свои потребности в углероде за счет  $\text{CO}_2$ .

**Гетеротрофы** (греч. *heteros* – другой, *trophe* – питание, т. е. «питаемые другими») – организмы, которые не могут удовлетворить свои потребности в углероде только за счет  $\text{CO}_2$ , а требуют для питания готовых органических соединений. В свою очередь, гетеротрофов подразделяют на сапрофитов (греч. *sapros* – гнилой, *phyton* – растение), т. е. гетеротрофов, источником питания которых служат мертвые органические субстраты; и паразитов (греч. *para* – при, *sitos* – пища), т. е. гетеротрофов, живущих за счет живых тканей животных и растений. Для превращения  $\text{CO}_2$  в органические соединения требуется энергия: чтобы восстановить  $\text{CO}_2$  в один моль гексозы требуется около 112 ккал. Существует два источника этой энергии – фотосинтез и хемосинтез.

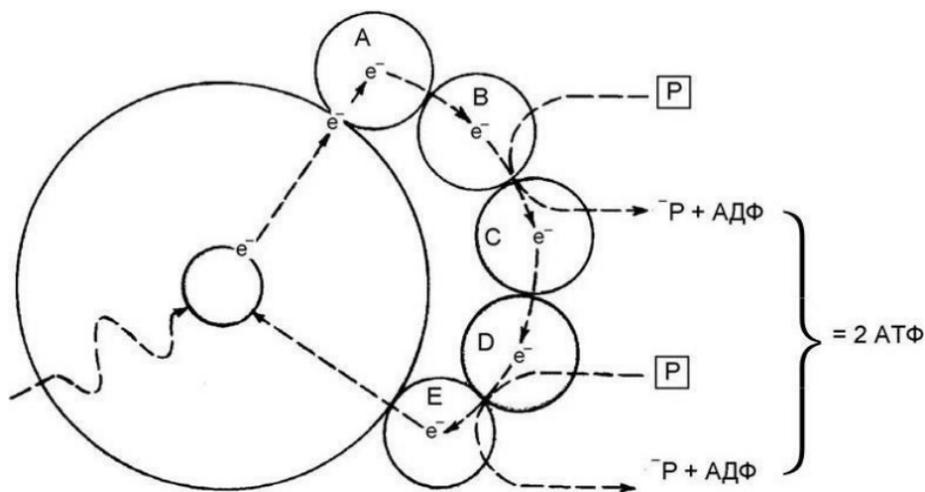
## ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез – это синтез за счет энергии солнечного света: свободная энергия фотона красного света (680 нм)  $\Delta G = 41$  ккал/моль, голубого (400 нм) –  $\Delta G = 65$  ккал/моль. В результате фотосинтеза растительность земного шара ежегодно синтезирует более 100 млрд тонн органических веществ. На это используется около 200 млрд тонн  $\text{CO}_2$ , и в атмосфере-

ру выделяется около 145 млрд тонн свободного  $O_2$ . Общее количество солнечной энергии, используемой ежегодно для фотосинтеза, составляет не менее  $3 \cdot 10^{21}$  Дж.

У растений мобилизация солнечной энергии и превращение ее в энергию химических связей, главным образом в виде АТФ, осуществляется с помощью хлоропластов, содержащих хлорофилл (греч. *chloros* – зеленый, *phyllon* – лист) – зеленый пигмент, связанный с белками и липидами их мембран. Основу молекулы хлорофилла составляет магниевый комплекс порфиринового цикла, близкий к другим комплексам порфирина (с железом) – цитохромам, гемму и т. п. Поглощая энергию фотона солнечного света, электрон в молекуле хлорофилла возбуждается и переходит с основного энергетического уровня на более высокий, а затем он стремится вновь возвратиться на свой основной, стабильный энергетический уровень, отдавая при этом поглощенную энергию. Если такое возвращение происходит в чистом препарате хлорофилла, поглощенная энергия испускается в виде света. Однако в клетке хлорофилл связан со специфическими молекулами, и поэтому возбужденный электрон отрывается от молекулы хлорофилла и транспортируется этими молекулами – переносчиками электронов. Они передают его по замкнутой цепи реакции вне молекулы хлорофилла. Возбужденный электрон постепенно отдает свою энергию, которая и используется для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфора, а далее электрон возвращается на свое прежнее

место в молекуле хлорофилла, способной после этого поглощать другой фотон. В ходе переноса возбужденного электрона по крайней мере два из его переносчиков способны мобилизовать часть переносимой им энергии для синтеза АТФ (рис. 18). В процессе фотосинтеза происходит не только связывание солнечной энергии, но и синтез углеводов, в частности глюкозы, путем восстановления  $\text{CO}_2$ , т. е. добавления к ней электронов и водорода. Источником электронов служит хлорофилл, а источником протонов – вода.



*Рис. 18.* Процесс циклического фосфорилирования, посредством которого в молекуле хлорофилла электрон, перенесенный на более высокий энергетический уровень благодаря поглощению фотона света, обеспечивает энергию, необходимую для образования АТФ (по А. Ленингеру)

Реакция фотосинтеза осуществляется в две фазы. В первой (световые реакции) – под действием фотонов электрон хлорофилла переходит в возбужденное состояние;

затем, возвращаясь в свое обычное энергетическое состояние, он освобождает энергию, которая используется для синтеза таких молекул, как АТФ и НАДФН<sub>2</sub>. Во второй фазе (темновые реакции) АТФ и НАДФН<sub>2</sub> используются для восстановления СО<sub>2</sub> в глюкозу.

Суммарная реакция фотосинтеза такова:



Таким образом, молекула глюкозы, которая представляет собой конечный продукт фотосинтеза (наряду с кислородом), содержит большое количество солнечной энергии (около 690 ккал на 1 моль), заключенной в ее молекулярной структуре. Гетеротрофные организмы извлекают эту энергию путем последовательного расщепления молекулы глюкозы для того, чтобы «законсервировать» содержащуюся энергию в форме вновь образующихся молекул АТФ – универсальных хранителей и носителей энергии, необходимой для жизни всех клеток.

К фотосинтезирующим бактериям – фототрофам – относятся цианобактерии (сине-зеленые водоросли), пурпурные

и зеленые бактерии, а также некоторые археобактерии.

**Цианобактерии** – различные многоклеточные нитчатые и одноклеточные организмы, среди них есть подвижные формы, которые передвигаются с помощью скольжения. У цианобактерий, как и у растений, фотосинтез осуществляется с помощью хлорофилла и сопровождается выделением свободного кислорода.

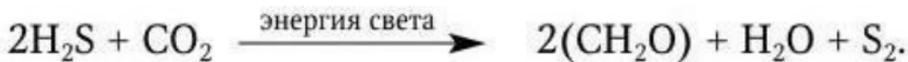
**Археобактерии** (экстремальные галофилы) осуществляют особую форму фотосинтеза. У них вместо хлорофилла в фотосинтезе участвует особый пигмент – бактериородопсин (комплекс каротиноида ретиналя с белком), который под влиянием света претерпевает фотохимические превращения, непосредственно сопряженные с синтезом АТФ.

**Пурпурные и зеленые бактерии** содержат различные по составу хлорофиллы (бактериохлорофиллы a, b, c, d и e) и каротиноиды. Большинство зеленых бактерий – мелкие, неподвижные грамотрицательные палочки. Пурпурные бактерии представлены грамотрицательными палочками, кокками или спириллами и часто имеют жгутики. У пурпурных бактерий хлорофилл замаскирован пурпурно-красным или коричневым пигментом, а фотосинтезирующий аппарат заключен в клеточную мембрану, у зеленых – в клеточную мембрану или в специальные органеллы – хлоробиум-везикулы, локализованные в цитоплазме или мембране. В отличие от растений, водорослей и цианобактерий при фотосинтезе пурпурные и зеленые бактерии не выделяют  $O_2$ , так как

для восстановления  $\text{CO}_2$  они используют в качестве доноров электронов не водород  $\text{H}_2\text{O}$ , а водород  $\text{H}_2\text{S}$ . При этом пурпурные бактерии окисляют  $\text{H}_2\text{S}$  до  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :



а зеленые серобактерии – до  $\text{S}_2$ :



Некоторые пурпурные и зеленые бактерии в качестве донора электронов используют серу и другие ее неорганические соединения (тиосульфат, сульфит). Все они являются обитателями водоемов, где имеются наиболее благоприятные для них сочетания анаэробных условий, света и источников питания.

## ХЕМОСИНТЕЗ

Русским ученым С. Н. Виноградским в 1880 – 1890 гг. было обнаружено, что некоторые граммотрицательные бактерии используют для своего роста энергию хемосинтеза, т. е. энергию, получаемую за счет окисления неорганических соединений. Такие организмы получили название хемоавто-

трофов. Им было установлено, что хемоавтотрофы характеризуются двумя важнейшими особенностями:

1. Обладают высокой специфичностью в отношении неорганического источника энергии.

2. Очень часто они не только не способны использовать в качестве источников углерода и энергии органические вещества, но последние даже могут угнетать их рост.

К хемоавтотрофам относятся открытые С. Н. Виноградским нитрифицирующие бактерии, представленные двумя группами. Представители одной из них (роды *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosoglobus*) окисляют  $\text{NH}_3$  до азотистой кислоты:



Представители другой (роды *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*) окисляют азотистую кислоту до азотной:



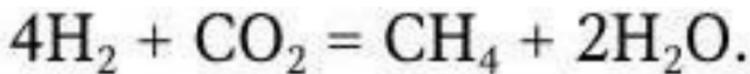
Выделяемая при хемосинтезе энергия используется нитрифицирующими бактериями для ассимиляции  $\text{CO}_2$  и восстановления ее до глюкозы или других углеводов. Наиболее многочисленную и разнообразную группу хемосинтезирующую

щих бактерий составляют водородные бактерии, осуществляющие реакцию:



где  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  – условное обозначение синтезируемого углевода.

Но эти бактерии являются факультативными хемоавтотрофами, так как способны расти на средах, содержащих органические вещества. Некоторые строго анаэробные метанообразующие бактерии осуществляют хемосинтез по реакции:

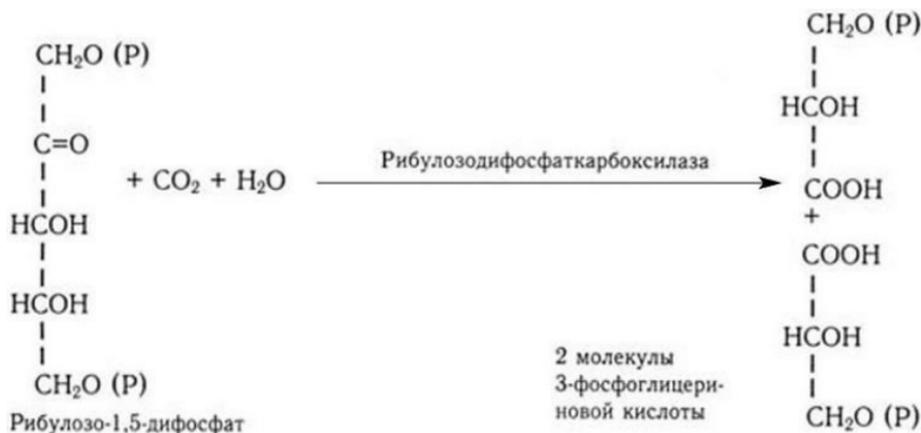


К хемоавтотрофам, как показал С. Н. Виноградский, относятся нитчатые скользкие бактерии *Beggiatoa*, *Thiothrix* и другие аэробы, способные окислять сероводород и тиосульфат до серы и сульфата. Внутри таких клеток часто обнаруживается сера.

К числу хемоавтотрофов относятся и некоторые виды железобактерий, в частности рода *Gallionella*, которые в качестве минерального источника восстановленного железа ис-

пользуют осадок сульфида железа.

У всех хемоавтотрофов ассимиляция  $\text{CO}_2$  происходит с помощью реакции, катализируемой рибулозодифосфат-карбоксилазой (реакция Кальвина):



Первичным продуктом фиксации  $\text{CO}_2$  является 3-фосфоглицериновая кислота, из которой синтезируются все остальные органические молекулы клетки.

Для осуществления ассимиляции  $\text{CO}_2$  хемоавтотрофы путем окислительной диссимиляции неорганического субстрата получают АТФ и восстановитель (восстановленный пиридиннуклеотид). Нитрифицирующие бактерии и многие тиобациллы имеют особые характерные для прокариот образования – карбоксисомы, содержащие рибулозодифосфат-карбоксилазу.

В зависимости от того, какими донорами электронов пользуются бактерии, их разделяют на литотрофы (используют неорганические доноры электронов  $H_2$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $Fe$  и др.) и органотрофы (в качестве доноров электронов используют органические соединения).

Таким образом, по способу углеродного питания все организмы можно подразделить на три основные группы:

1. **Фотолитотрофы** (источник энергии – солнечный свет, доноры электронов – неорганические соединения).

2. **Хемолитотрофы** (источник энергии – окислительно-восстановительные реакции, доноры электронов – неорганические соединения).

3. **Хемоорганотрофы** (источник энергии – окислительно-восстановительные реакции, доноры электронов – органические соединения). Большинство патогенных бактерий относится к хемоорганотрофам.

## Азотное питание

По способу азотного питания бактерии подразделяют на аминоавтотрофов и аминокетотрофов. Аминоавтотрофы способны полностью удовлетворять свои потребности в азоте, необходимом для синтеза главным образом белков и нуклеиновых кислот, с помощью атмосферного или минерального азота. Аминокетотрофы нуждаются для своего питания в готовых органических азотистых соединениях: неко-

торых аминокислотах, основаниях, витаминах и др.



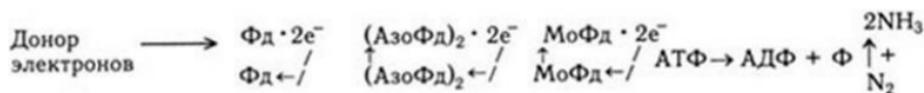
Рис. 19. Рисунок Мальпиги (XVII в.), изображающий корни бобового растения с корневыми клубеньками (1) и оболочкой семени (2), из которого развилось данное растение

К числу **аминоавтотрофов** относятся азотфиксирующие бактерии, свободно живущие в почве, и так называемые клубеньковые азотфиксирующие бактерии. Первый представитель азотфиксирующих бактерий – *Clostridium pasteurianum* (анаэроб) – был открыт в 1893 г. С. Н. Виноградским. В 1901 г. М. Бейеринк установил, что способностью усваивать атмосферный азот обладают также аэробные бактерии *Azotobacter*, занимающие по азотфиксирующей активности первое место (до 25 г азота на 1 кг использованного сахара), но менее распространенные в почве, чем *C. pasteurianum*. Азотфиксирующими свойствами обладают некоторые виды *Pseudomonas*, *Bacillus*, цианобактерий, а также пурпурные и зеленые серобактерии. Азотфиксирующие бактерии рода

*Rhizobium* получили название клубеньковых потому, что они, размножаясь на корнях ряда бобовых растений, образуют выросты-клубеньки (рис. 19). Размножаясь в них, они превращаются из мелких палочек в разветвленные формы – бактериоды, которые наиболее интенсивно связывают молекулярный азот. Симбиоз клубеньковых бактерий с растениями взаимовыгоден, так как *Rhizobium* продуцируют ряд физиологически активных соединений, которые благоприятно

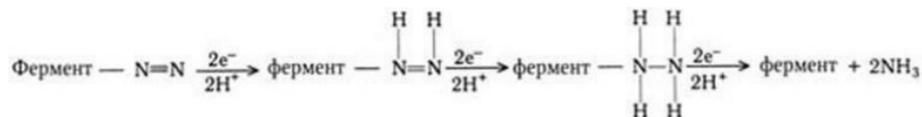
вливают на бобовые растения. После разрушения клубеньков клубеньковые бактерии живут в почве как сапрофиты.

Азотфиксирующие бактерии восстанавливают азот ( $N_2$ ) до  $NH_3$  с помощью сложной ферментной системы нитрогеназы, содержащей железо, молибден, магний. Эта система нуждается в источнике электронов, которые поступают через восстановитель с низким потенциалом, содержащий негемное железо – ферредоксин (переносчик электронов).



Цепь переноса электронов состоит из ферредоксина (Фд), азоферредоксина (АзоФд) и молибдоферредоксина (МоФд), и за один раз переносятся только два электрона. Для последнего переноса расходуется 1 молекула АТФ.

Поскольку для восстановления  $N_2$  до  $NH_3$  требуется шесть электронов, реакция, очевидно, протекает через три последовательные двухэлектронные стадии:



Подробное выяснение механизма генетического контро-

ля азотфиксирующих систем бактерий может создать необходимые предпосылки для искусственного переноса оперонов этих систем в геном растений и конструирования трансгенных растительных организмов, обладающих азотфиксирующей активностью, что имело бы огромное значение для сельского хозяйства.

Вторая большая группа аминоавтотрофов представлена нитрифицирующими бактериями, которые используют для синтеза белков в качестве основных источников азота соли аммиака, азотистой и азотной кислот. Подсчитано, что на образование вновь вырастающих растений ежегодно требуется около 1,5 млрд тонн азота в форме, доступной растениям. Поэтому нельзя не отметить, что азотфиксирующим и нитрифицирующим бактериям принадлежит исключительно важная роль в обеспечении плодородия почвы (см. раздел «Роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе», гл. 15).

**Аминогетеротрофы** для роста и размножения нуждаются в различных органических азотистых соединениях. Необходимо оговориться, что аминогетеротрофы представляют собой также неоднородную группу, так как многие из них нуждаются для роста лишь в определенных аминокислотах, как, например, *Francisella tularensis*. Для ее роста требуется добавление к среде по крайней мере 10 аминокислот. В то же время многие бактерии, синтезируя аминокислоты и основания из минеральных источников азота, нужда-

ются в тех витаминах (ростовых факторах), которые сами не способны синтезировать: биотин (Н), тиамин (В<sub>1</sub>), рибофлавин (В<sub>2</sub>), пантотеновая кислота (В<sub>3</sub>), холин (В<sub>4</sub>), никотинамид (В<sub>5</sub>), фолиевая кислота (В<sub>9</sub>) и ее производные (В<sub>11</sub>) и т. п. Наконец, есть патогенные бактерии, например группа гемоглобинофильных организмов (*Haemophilus*), которые для роста нуждаются в добавлении к питательной среде сложных веществ, содержащихся в крови: X-факторов (гемин) и др. Кроме того, в результате различных мутаций аминокетотрофные бактерии могут превращаться в мутанты, неспособные синтезировать тот или иной метаболит и поэтому нуждающиеся в нем. Такие мутанты получили название ауксотрофов (лат. *auxilium* – помощь и греч. *trophe* – питание). Они во многом способствовали изучению особенностей биохимии бактерий.

Для нормальной жизнедеятельности бактерии, как и другие организмы, обязательно нуждаются в ионах Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, а также в фосфоре и сере, которые поступают в клетку путем диффузии и активного транспорта.

Все процессы обмена веществ представляют собой цепь взаимосвязанных во времени и пространстве саморегулируемых реакций. Каждая из них и их совокупные пути катализируются соответствующими ферментами.

# Ферменты

**Ферменты** (греч. *fermentum* – закваска), или энзимы, – специфические белковые катализаторы, присутствующие во всех живых клетках. Их нет у плазмид, у некоторых вирусов. Ферменты снижают энергию активации, которая необходима для осуществления той или иной химической реакции. Они направляют ее обходным путем через промежуточные реакции, требующие значительно меньшей энергии активации. Под влиянием ферментов происходит перераспределение электронных плотностей и некоторая деформация молекул субстрата, наступающая при образовании промежуточного фермент-субстратного комплекса. Эта деформация приводит к ослаблению внутримолекулярных связей и, следовательно, к понижению необходимой энергии активации, в результате чего скорость реакции возрастает. Открытию различных ферментов и изучению путей биохимических реакций, катализируемых ими, во многом способствовали работы с использованием в качестве объектов исследования бактерий, особенно ауксотрофов. У бактерий обнаружены все шесть классов ферментов:

- 1) *оксидоредуктазы* (катализируют окислительно-восстановительные реакции);
- 2) *трансферазы* (катализируют реакции переноса групп атомов);

3) *гидролазы* (катализируют гидролитическое расщепление различных соединений);

4) *лиазы* (катализируют реакции отщепления от субстрата той или иной химической группы негидролитическими путями с образованием двойной связи или, наоборот, присоединение химической группы к двойным связям);

5) *изомеразы* (катализируют внутримолекулярные превращения);

6) *лигазы*, или *синтетазы* (катализируют соединение двух молекул, сопряженное с расщеплением пиродифосфатной связи в молекуле АТФ или аналогичного трифосфата).

Изучение ферментов, обнаруживаемых у бактерий, представляет большой интерес для микробиологической промышленности. Изучение особенностей обмена веществ патогенных бактерий необходимо прежде всего для понимания механизмов, с помощью которых они реализуют свою патогенность, т. е. для выяснения сущности патогенеза инфекционных заболеваний. Изучение биохимических свойств бактерий широко используется как для их систематики и классификации, так и для идентификации, т. е. для диагностики.

У бактерий обнаружены уникальные генетические механизмы контроля биосинтеза ферментов, они проявляются в виде феноменов индукции и репрессии. Индукция заключается в том, что синтез ферментов наступает только в присутствии специфических химических веществ, которые являются субстратом для данного фермента или аналогом это-

го субстрата. Например, синтез ферментов, участвующих в потреблении лактозы у *E. coli*, начинается (индуцируется) и происходит только при наличии в среде лактозы. Как только она исчезает, синтез этих ферментов прекращается.

Под эффектом репрессии понимают явление, при котором синтез фермента подавляется (репрессируется) под влиянием специфических химических соединений, почти всегда являющихся непосредственными продуктами (или аналогами продуктов) реакции, катализируемой этим ферментом. Например, синтез ферментов, участвующих в образовании метионина у *E. coli*, прекращается, как только в среде накапливается избыток этой аминокислоты. Нетрудно видеть, насколько совершенен такой механизм саморегуляции биохимических процессов.

В соответствии с этими особенностями генетического контроля, у бактерий различают три основные группы ферментов: **конститутивные**, синтез которых происходит в течение всего клеточного цикла; **индуцибельные**, синтез которых индуцируется соответствующим субстратом; и **репрессибельные**, синтез которых подавляется в результате избыточного накопления продукта реакции, катализируемой данным ферментом (ферментами).

## Метаболизм

Биохимические процессы, протекающие в клетке, объ-

единены одним словом – **метаболизм** (греч. *metabole* – превращение). Этот термин равнозначен понятию «обмен веществ и энергии». Различают две стороны метаболизма: анаболизм и катаболизм.

**Анаболизм** – совокупность биохимических реакций, осуществляющих синтез компонентов клетки, т. е. та сторона обмена веществ, которую называют конструктивным обменом.

**Катаболизм** – совокупность реакций, обеспечивающих клетку энергией, необходимой, в частности, и для реакций конструктивного обмена. Поэтому катаболизм определяют еще как энергетический обмен клетки.

В конструктивном обмене можно выделить две группы биосинтетических процессов: биосинтез мономеров (аминокислот, нуклеотидов, моносахаров, жирных кислот) и биосинтез полимеров (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и липидов). Для их синтеза необходимо около 70 различных мономеров-предшественников. Помимо них, клетка должна синтезировать ряд соединений, играющих каталитическую роль. Синтез любого мономера происходит (при наличии источников углерода и энергии) через цепь последовательных биохимических реакций, катализируемых специфическими белками-ферментами. В свою очередь синтез всех биополимеров также требует участия специфических белков. Поэтому основу основ конструктивного обмена составляет биосинтез белков, который находится под контро-

лем генетической системы организма.

# Глава 6

## Конструктивный обмен (анаболизм). Биосинтез белка

### Состав белоксинтезирующей системы

Синтез белка осуществляется с помощью сложной белоксинтезирующей системы. В ее состав входят следующие компоненты.

1. Рибосомные субъединицы 30S и 50S, которые у прокариот и в митохондриях и хлоропластах эукариот образуют рибосому 70S; или субъединицы 40S и 60S, образующие у эукариот рибосому 80S.

2. Матричная РНК (мРНК).

3. Полный комплект двадцати аминоацил-тРНК, для образования которых необходимы соответствующие аминокислоты, аминоацил-тРНК-синтетазы, тРНК и АТФ. Аминоацил-тРНК (aa-тРНК) – это заряженная энергией и связанная с тРНК аминокислота, готовая для подвоза к рибосоме и включения в синтезирующийся на ней полипептид.

4. Белковые факторы инициации (у прокариот – IF-1, IF-2, IF-3).

5. Белковые факторы элонгации (у прокариот – EF-Tu,

EF-Ts, EF-G).

6. Белковые факторы терминации (у прокариот – RF-1, RF-2, RF-3).

7. Некоторые другие белковые факторы (ассоциации, диссоциации субъединиц, высвобождения и пр.).

8. Гуанозинтрифосфат (ГТФ).

9. Неорганические катионы: двухвалентные –  $Mg^{2+}$  или  $Ca^{2+}$  – и одновалентные –  $K^+$  или  $HN_4^+$  – в определенной концентрации.

Основным компонентом белоксинтезирующей системы является рибосома. Она объединяет все компоненты в единый комплекс. Рибосомы – «святая святых» клетки, так как именно на них совершается самое удивительное таинство живой материи – биологический синтез белка. Информация, содержащаяся в геноме, расшифровывается и материализуется в виде белков на рибосомах. Без них проявление жизнедеятельности невозможно.

Вирусы и плазмиды потому и являются облигатными внутриклеточными паразитами, что у них отсутствуют собственные рибосомы, и для реализации генетической информации (т. е. для проявления своей жизнедеятельности) они используют рибосомный аппарат клетки-хозяина.

Универсальности генетического кода соответствует универсальность механизма его расшифровки и реализации.

В природе существует только два класса рибосом – 70S и 80S. Они имеют сходную молекулярную структуру и меха-

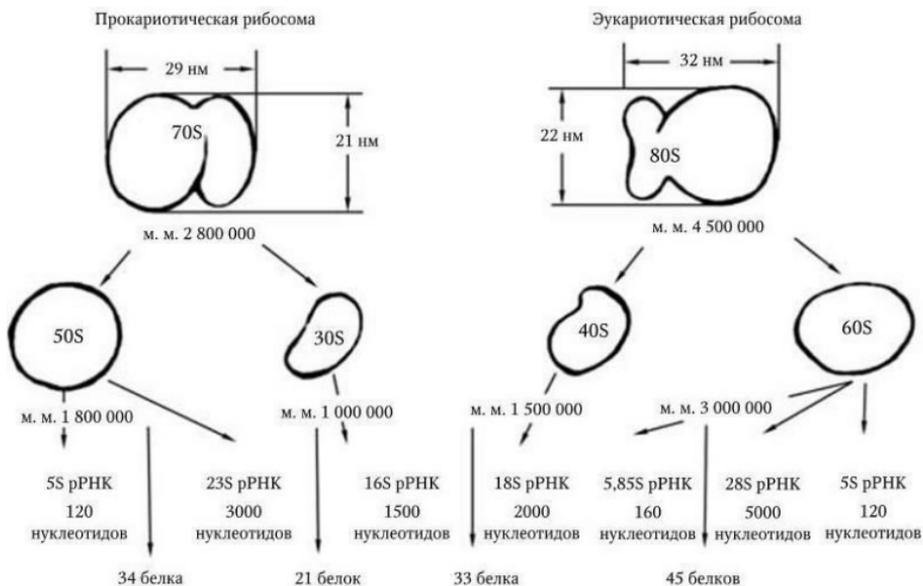
низм функционирования, хотя и различаются по размерам, составу и специфичности белков и белковых факторов. Схематический состав рибосом 70S и 80S показан на рис. 20.

Далее весь процесс биосинтеза белка будет рассматриваться на примере работы рибосом 70S.

Белковые факторы инициации (англ. *initiation factors* – IF) получили свое название потому, что они участвуют в организации активного комплекса (70S-комплекса) из субъединиц 30S и 50S, мРНК и инициаторной аминоксил-тРНК (у прокариот – формилметионил-тРНК), который «запускает» (инициирует) работу рибосом – трансляцию мРНК.

Белковые факторы элонгации (англ. *elongation factors* – EF) участвуют в удлинении (элонгации) синтезируемой полипептидной цепи (пептидила).

Белковые факторы терминации, или освобождения (англ. – *release factors* – RF) обеспечивают кодон-специфическое отделение полипептида от рибосомы и окончание синтеза белка.



*Рис. 20.* Схематическое изображение структур прокариотических и эукариотических рибосом

Для осуществления трансляции необходимо участие ГТФ. Потребность белоксинтезирующей системы в ГТФ очень специфична: он не может быть заменен ни одним из других трифосфатов.

На биосинтез белка клетка затрачивает энергии больше, чем на синтез любого другого биополимера. Образование каждой новой пептидной связи требует расщепления четырех высокоэнергетических связей (АТФ и ГТФ): двух для того, чтобы нагрузить аминокислотой молекулу тРНК, и еще двух в ходе элонгации – одну при связывании аа-тРНК и дру-

гую при транслокации.

Рибосома выполняет следующие функции, необходимые для биосинтеза белка.

1. Функция динамического связывания и удержания всех компонентов белоксинтезирующей системы, благодаря чему создаются условия для встречи и взаимопрочитывания двух основных потоков информации, один из которых запрограммирован в мРНК, а другой – в антикодонах аа-тРНК; одновременно формируется биологическая машина, синтезирующая белок в строгом соответствии с последовательностью поступления в рибосому этой информации.

2. Каталитические функции, в частности образование пептидных связей между аминокислотами в синтезируемом полипептиде и гидролиз ГТФ.

3. Функция механического перемещения (транслокации): транслокация растущего пептида, связанного с тРНК, с одного участка рибосомы на другой и продвижение рибосомы вдоль мРНК. Выполнение этих функций обеспечивается наличием на рибосоме особых активных участков. Таких участков три (см. рис. 25). С одним из них связывается мРНК. Два других разных участка предназначены для связывания молекулы тРНК. В одном из них, получившем название пептидил-тРНК-связывающего участка, или Р-участка, прикрепляется тРНК, присоединенная к растущему концу полипептидной цепи – донорная тРНК. В другом – аминоацил-тРНК-связывающем участке, или А-участке, – свя-

зывается только что поступившая молекула тРНК, нагруженная аминокислотой – акцепторная тРНК. В обоих участках молекулы тРНК прочно прикрепляются лишь в том случае, если их антикодоны комплементарны кодонам мРНК и с ними спариваются. А- и Р-участки располагаются очень близко друг от друга, и поэтому связанные с ними молекулы тРНК связываются с двумя соседними кодонами в молекуле мРНК. Благодаря такому близкому расположению донорной тРНК, несущей пептидил, и акцепторной тРНК, несущей активированную аминокислоту, облегчается образование пептидных связей в синтезируемой полипептидной цепи. В процессе элонгации карбоксильный конец растущего пептидила отделяется в Р-участке от молекулы донорной тРНК и образует пептидную связь с аминокислотой, присоединенной к молекуле акцепторной аа-тРНК. Эта реакция катализируется не белковым ферментом, а особым фрагментом РНК большой субъединицы рибосомы (50S), который назвали *рибозимом* (по аналогии с «энзимом»).



где  $(X)_n$  – аминокислотные звенья пептидил-тРНК, R – рибосомы.

## Основные этапы биосинтеза белка

Процесс синтеза белка складывается из двух основных этапов: транскрипции и трансляции.

Первичная структура каждого белка (т. е. последовательность расположения в нем аминокислот), от которой зависит его специфичность, запрограммирована в соответствующем гене в виде последовательности расположения в нем кодонов. Перенос этой информации о структуре белка к рибосомам происходит с помощью мРНК. Процесс синтеза мРНК на генах и получил название транскрипции, или переписывания информации с ДНК-гена на мРНК-ген. Транскрипция осуществляется с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Этот фермент представляет собой сложный белковый комплекс с м. м. около 480 кД. У бактерий он состоит по крайней мере из пяти белковых субъединиц: две  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  и  $\sigma$ . Комплекс субъединиц  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  (core-энзим), хотя и обладает каталитической активностью, однако не может правильно выбирать точку начала транскрипции. Присоединение к этому комплексу  $\sigma$ -субъединицы превращает его в полноценный фермент РНК-полимеразу (holoэнзим). Сигма-субъединица РНК-полимеразы выполняет две основные функции:

во-первых, она завершает формирование полноценной РНК-полимеразы, во-вторых, она наделяет ее способностью распознавать промотор на ДНК, с которого начинается транскрипция. Сигма-фактор освобождается от комплекса холоэнзим-ДНК немедленно после начала синтеза мРНК и может повторно использоваться для образования холоэнзима. Транскрипция является сложным многоступенчатым процессом, который включает в себя следующие основные стадии.

1. Инициация транскрипции, во время которой:

а) core-энзим взаимодействует с  $\sigma$ -фактором, образуя холоэнзим РНК-полимеразы;

б) РНК-полимераза связывается с промотором на ДНК и образует транскрипционный комплекс (ДНК-холоэнзим);

в) начинается синтез мРНК и высвобождается  $\sigma$ -фактор.

2. Собственно транскрипция (элонгация, или удлинение цепи мРНК).

3. Терминация транскрипции, сопровождающаяся диссоциацией транскрипционного комплекса и высвобождением core-энзима.

Процесс транскрипции у эукариот протекает сложнее. У них нет сигма-фактора. Работе РНК-полимеразы у эукариот помогают пять белковых комплексов.

Американский ученый Роджер Корнберг (Roger D. Kornberg) с помощью тонкого рентгеноструктурного анализа установил трехмерную организацию (конформацию) РНК-

полимераза II – сложнейшего комплекса, который состоит из многих белков, включающих в себя 30 000 атомов. Из кристаллографических снимков процесса транскрипции у эукариотной дрожжевой клетки он создал молекулярный портрет РНК-полимераза в виде цветного рисунка, на котором копируемая нить ДНК, РНКполимераза и синтезируемая мРНК окрашены в разные цвета. Этот и серию поясняющих рисунков Р. Корнберг с соавторами опубликовал в журнале «Science» в 2001 г. (Vol. 292, 8 June 2001, pp. 1876–1882; published online 19 April 2001; 10.1126/science.1059495), а в 2006 г. он был удостоен за свои исследования Нобелевской премии (см. цв. вкл., рис. 119). Рисунки показывают, как РНК-полимераза распознает свой промотор (участок ДНК, с которого начинается транскрипция), вступает с ним в химическую связь, затем расплетает в этом участке нити ДНК и одновременно обеспечивает правильное присоединение рибонуклеотидов к комплементарным нуклеотидам копируемой нити ДНК. По мере того, как рабочий блок РНК-полимераза сдвигает нить ДНК, открывая для копирования ее новые участки, растущая нить мРНК отходит в сторону от ДНК-матрицы, а ДНК восстанавливает двухцепочечную структуру. Конец синтеза мРНК наступает, когда РНК-полимераза достигает кодона копируемой цепи, определяющего завершение синтеза мРНК. В этом месте происходит отторжение РНК-полимераза от ДНК. Вновь синтезированная мРНК также отделяется от ДНК и соединяется с

особым белком, который и транспортирует ее из ядра клетки в цитоплазму для трансляции рибосомами в белок по той информации, которая заключена в данной мРНК. (У прокариот вновь синтезируемая мРНК подвергается трансляции уже с самого начала транскрипции.)

С помощью своих регуляторных систем бактериальная клетка «решает», какие белки ей необходимы в данных условиях, и запускает транскрипцию соответствующих оперонов. Поскольку многие из них состоят из нескольких структурных генов (цистронов), оперон прочитывается как одна транскрипционная единица. У бактерий существуют моноцистронные и полицистронные мРНК. В результате трансляции полицистронной мРНК синтезируется столько полипептидных цепей, сколько имеется цистронов в данном опероне. Область ДНК, с которой связывается РНК-полимераза, называется промотором. Он представляет собой начальную часть оперона длиной около 80 пар нуклеотидов. Промоторы содержат две характерные нуклеотидные последовательности, локализованные на расстоянии примерно 10 и 35 нуклеотидов перед первым транскрибируемым основанием. Они необходимы для распознавания РНК-полимеразой промотора и связывания с ним.

Расположение этих последовательностей в одной из цепей ДНК указывает РНКполимеразе, какую из нитей необходимо считывать. Матричная РНК представляет собой одностороннюю полирибонуклеотидную цепь, комплементарную той

нити ДНК, которая послужила матрицей для ее синтеза.

В составе бактериальной мРНК различают следующие участки (рис. 21):

1. 5'-нетранслируемая последовательность (5'-НТП). 5'-концевой нуклеотид содержит, как правило, одно из пуриновых оснований (А или Г), и, если после транскрипции мРНК не подвергалась никаким изменениям, этот нуклеотид несет трифосфатную группировку (5'фффГ...3').

На 5'-конце эукариотических мРНК располагается другая структура, образующаяся посттранскрипционно, – кэп (англ. *cap* – шапочка), которая необходима для узнавания мРНК эукариотическими рибосомами.

В составе 5'-НТП обнаружена особая последовательность из 3 – 5 нуклеотидов, комплементарная 3'-концу 16S рРНК. Эта последовательность облегчает инициацию трансляции мРНК рибосомами, так как она стабилизирует положение на рибосоме инициаторного кодона мРНК. Вместе с тем 5'-НТП придает этому участку мРНК определенную вторичную структуру, благодаря чему инициаторный кодон (АУГ) занимает положение, которое облегчает его узнавание и взаимодействие с рибосомой.

2. Инициаторный кодон, т. е. кодон, с которого начинается трансляция мРНК. Чаще всего у бактерий им является триплет АУГ, хотя в некоторых мРНК его функции выполняет кодон ГУГ. Однако триплеты АУГ и ГУГ узнаются рибосомами как инициаторные, только если они входят в состав

особой вторичной структуры в мРНК. Во всех иных случаях (внутри структурных генов) они прочитываются как метионин (АУГ) и валин (ГУГ).



*Рис. 21.* Схематическое изображение гипотетической бактериальной мРНК Жирная линия – область, кодирующая полипептид. Объяснение в тексте

3. Область, кодирующая полипептидную цепь (в нее входит и инициаторный кодон). На ее 3'-конце располагаются один или сразу два терминирующих кодона. Узнавая эти кодоны, рибосома прекращает трансляцию, а в случае полицистронной мРНК рибосома приступает к трансляции следующего цистрона.

4. 3'-нетранслируемая последовательность (3'-НТП), длина ее невелика, а функция не известна.

Для обеспечения биосинтеза белка необходимы следующие условия:

- 1) наличие всех компонентов белоксинтезирующей системы, из которых формируется машина для синтеза белка;
- 2) наличие соответствующих физико-химических условий (рН, температура, ионы  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  и др.);

- 3) наличие энергии, уникальным поставщиком которой для синтеза белка является ГТФ;
- 4) наличие матрицы (мРНК);
- 5) наличие строительных блоков – аминокислот для синтеза белка в форме активированных и связанных с тРНК аминоацил-тРНК.

Аминокислоты в клетке, как правило, не существуют в свободном виде. Они взаимодействуют с тРНК и сохраняются в виде аминоацилированных тРНК (аа-тРНК). Биологический смысл такой «мобилизации» тРНК заключается в том, что аминокислоты при этом предохраняются от действия окислительных ферментов и не «сгорают» в клетке в качестве источника энергии, а используются для синтеза белка. Лишь при избытке какой-нибудь аминокислоты часть ее вовлекается в энергетический обмен.

Важная регулирующая роль в биосинтезе белка помимо мРНК принадлежит транспортной РНК (тРНК). Она выполняет следующие три функции.

1. С помощью специального фермента (аминоацил-тРНК-синтетазы) тРНК присоединяет на одном из своих концов соответствующую аминокислоту, в результате чего возникает лабильное соединение – аминоацил-тРНК (аа-тРНК) – акцепторная функция тРНК.

2. Транспортная РНК при участии специальных белковых факторов и ГТФ доставляет аминокислоту в форме аа-тРНК в рибосому для включения ее в синтезируемую полипептид-

ную цепь – транспортная функция тРНК.

3. Транспортная РНК с помощью своего антикодона специфически взаимодействует с комплементарным ему кодоном мРНК и таким образом обеспечивает необходимую последовательность включения аминокислот в растущую полипептидную цепь в соответствии с программой, заданной в мРНК – адапторная функция тРНК.

С помощью своих антикодонов тРНК осуществляет дешифровку генетического кода в мРНК и перевод его в аминокислотный код белковой молекулы. Реализация этих функций осуществляется благодаря уникальной структуре молекулы тРНК.

В клетке содержится набор примерно из 60 различных типов тРНК, что соответствует количеству значащих кодонов.

Первичная структура (нуклеотидная последовательность) изучена почти у всех типов тРНК. Все они имеют константу седиментации около 48S, а длина их варьирует в зависимости от вида клеток и аминокислотной специфичности от 73 до 93 нуклеотидов.

Характерной особенностью всех типов тРНК является высокое содержание в них необычных оснований, например, инозина (И), дигидроуридина (дигидро-У), псевдоуридина (Ψ); всего в разных типах тРНК обнаружено более 50 вариантов модифицированных оснований. В зависимости от их специфичности к аминокислотам, которые они транспортируют к рибосомам, различают аланиновые тРНК (тРНК<sup>ала</sup>),

тирозиновые (тРНК<sup>тир</sup>), валиновые (тРНК<sup>вал</sup>) и т. д.

Изучение первичной структуры тРНК показало, что они представляют собой семейство сходных молекул (рис. 22). Все они без исключения имеют универсальный 3'-концевой тринуклеотид – ЦЦА-3'; фенилаланиновые и метиониновые тРНК у всех млекопитающих обладают идентичной структурой. Еще более консервативными являются инициаторные тРНК.

Все тРНК имеют сходную вторичную структуру, напоминающую лист клевера. При этом образуются характерные для молекул тРНК двунитевые (ветви) и однонитевые (петли) участки (см. рис. 22). У всех тРНК последовательности нуклеотидов, соответствующие антикодону, находятся в середине петли, расположенной напротив ЦЦА-ветви. Например, в тРНК<sup>ала</sup> роль антикодона выполняет триплет ИГЦ, тРНК<sup>сер</sup> – ИГА, тРНК<sup>лей</sup> – ЦАГ и т. д. В процессе взаимодействия тРНК с мРНК первые два основных кодона по принципу комплементарности образуют водородные связи с двумя последними основаниями антикодона. Третий элемент антикодона может образовывать пары с тремя различными основаниями: У, Ц и А. Поэтому антикодон может распознавать несколько кодонов для одной и той же аминокислоты, например, антикодон тРНК<sup>ала</sup> ИГЦ может распознавать все три триплета, которые кодируют аланин (ГЦУ, ГЦЦ и ГЦА). Обладая большим сходством структуры, различные тРНК вме-

сте с тем характеризуются строгой индивидуальностью, которая определяется специфичностью набора минорных оснований, последовательностью нуклеотидов в варьирующих участках молекулы, содержанием оснований в антикодоне и другими особенностями.

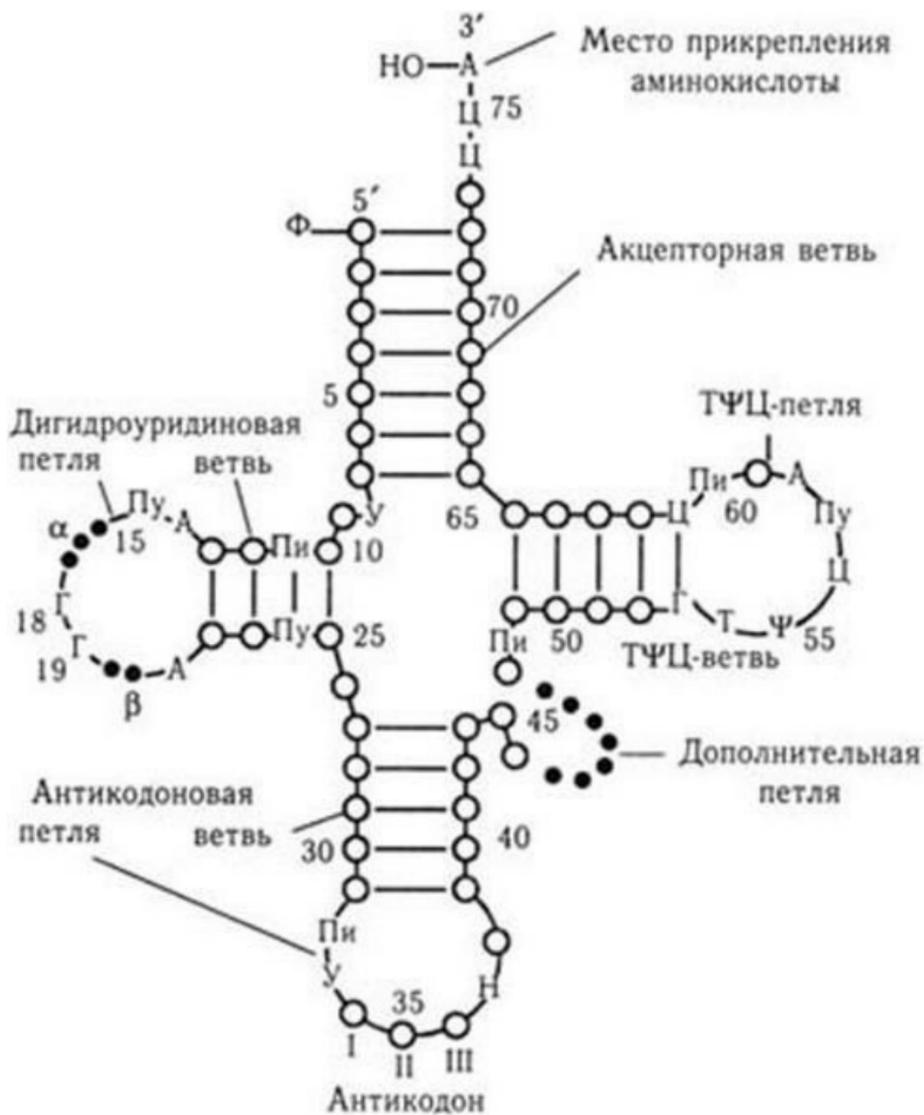


Рис. 22. Обобщенное изображение молекулы тРНК в виде клеверного листа, характерное для неинициаторных тРНК

Заглавными буквами обозначены нуклеотиды, постоянно или почти постоянно встречающиеся в данном месте цепи. Пу – пурин; Пи – пиримидин; Н – гипермодифицированный пурин.

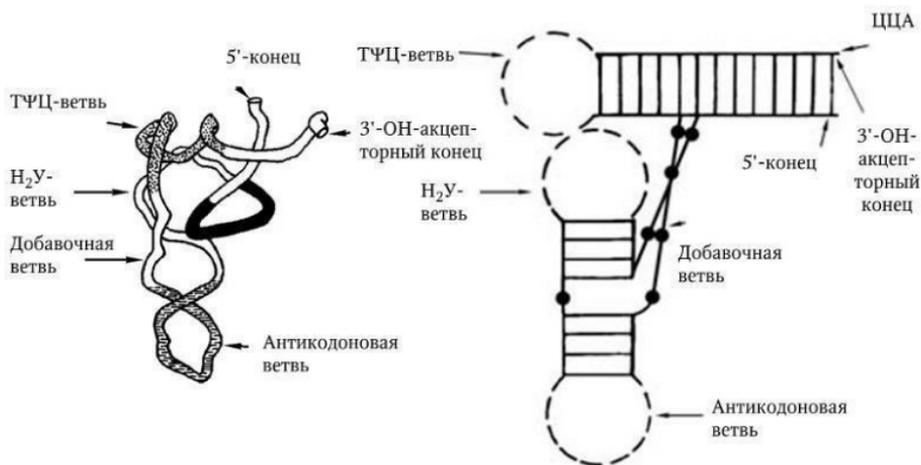
Кружками обозначены основания, различающиеся у разных тРНК; линии между ними – водородные связи. I, II, III – нуклеотиды антикодона

Обладая сходной первичной структурой, все тРНК имеют и сходную пространственную структуру (рис. 23). Молекула тРНК содержит два сегмента двойных спиралей, закрученных по длине. Они ориентированы друг к другу почти под прямым углом, образуя структуру, напоминающую букву Г. Псевдоуридиновая ветвь (ТΨЦ) располагается в углу молекулы, близко к ней примыкает дигидроуридиновая ветвь (Н<sub>2</sub>У). На коротком конце молекулы располагается акцепторный участок – ЦЦА (место присоединения аминокислоты). Длинный конец молекулы заканчивается триплетом оснований, образующих антикодон.

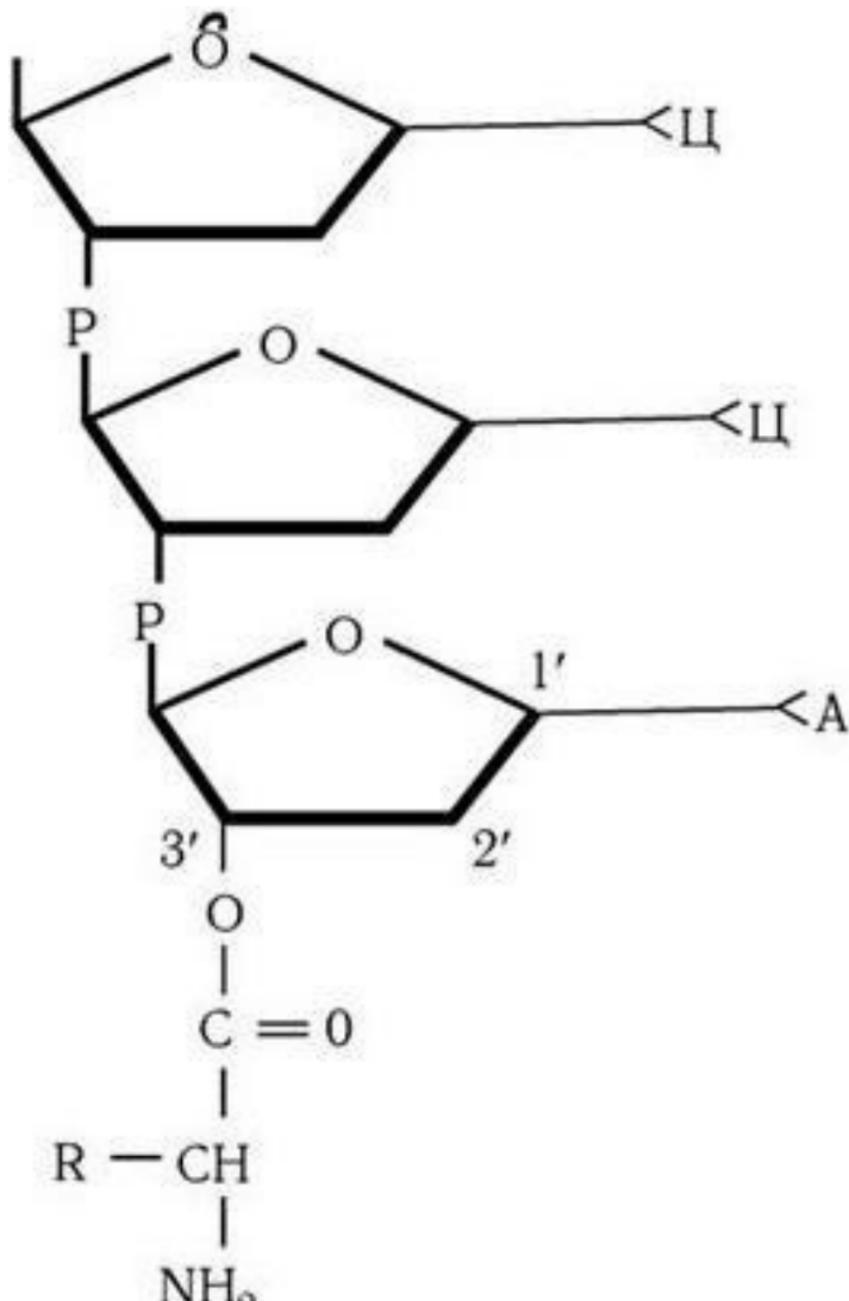
Добавочная ветвь молекулы у разных тРНК содержит различное количество нуклеотидов (4 – 21).

Ветвь, содержащая акцепторный конец, свободна от контактов с остальной частью молекулы. Благодаря этому она может изменять свою ориентацию, что, возможно, существенно для выполнения функций тРНК, связанных с присоединением аминокислот или с их передачей на рибосомы.

Аминокислоты всегда присоединяются к акцепторному триплету ЦЦА. Присоединение происходит путем образования ковалентной связи между карбоксильной группой аминокислоты и гидроксильной группой третьего углеродного атома рибозы – 3'-ОН. Связь между аминокислотой и тРНК получила название аминоацильной (рис. 24). Из факта образования аминоацильной связи вытекают два важных следствия. Во-первых, поскольку тРНК связывается с карбоксильной группой (–СООН) аминокислоты, то прежде, чем карбоксил сможет образовать пептидную связь со следующей аминокислотой во время синтеза полипептидной цепи, тРНК должна отделиться от аминокислоты. Следовательно, эти два процесса – отделение тРНК от аминокислоты и образование пептидной связи (см. формулу на с. 69) – должны происходить согласованно (рис. 25).



*Рис. 23.* Структура дрожжевой фенилаланиновой тРНК



*Рис. 24.* Присоединение аминокислоты эфирной связью к 3'-гидроксилу аденозина тРНК

Во-вторых, аминоацильная связь относится к типу связей, богатых энергией. Следовательно, образование аминоацил-тРНК можно рассматривать как активирование аминокислоты. Источником энергии, необходимой для образования этой связи, является АТФ.

Процесс образования аминоацил-тРНК складывается из двух реакций. Вначале происходит взаимодействие свободной аминокислоты с АТФ. В результате этой реакции образуется аминоациладенилат (аминокислота, соединенная богатой энергией связью с АМФ). Затем сразу же происходит вторая реакция – присоединение активированного аминокислотного остатка к акцепторному триплету тРНК, в результате чего образуется аминоацил-тРНК, а АМФ высвобождается.

Обе эти реакции катализируются аминоацилтРНК-синтетазой. Этот фермент обладает строгой специфичностью. Для каждой аминокислоты существует своя специфическая аминоацил-тРНК-синтетаза, которая узнает только данную аминокислоту, активирует ее и затем перебрасывает на акцепторный конец тРНК. В клетке содержится 20 специфических аминоацил-тРНК-синтетаз. Ферменты обладают специфичностью не только в отношении аминокислоты, но и тРНК. Правда, у бактерий этот фермент не различает изоакцептор-

ных тРНК, т. е. один фермент обслуживает все действующие для данной аминокислоты тРНК.

Благодаря высокой специфичности аминоацил-тРНК-синтетаз обеспечивается индивидуальный выбор соответствующей аминокислоты совершенно определенной тРНК.

Из факта специфичности аминоацил-тРНК-синтетаз по отношению к аминокислотам и тРНК следует, что фермент имеет два различных центра связывания: один – для взаимодействия с аминокислотой, а другой – со специфической тРНК. В свою очередь, каждая тРНК имеет также два специфических участка: один – для узнавания фермента, а другой – кодона мРНК. Таким образом, на уровне аминоацил-тРНКсинтетаз происходит переключение трехбуквенного генетического кода в двадцатибуквенный аминокислотный код белков и, наоборот, аминокислотного кода белков в триплетный генетический код.

# Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.