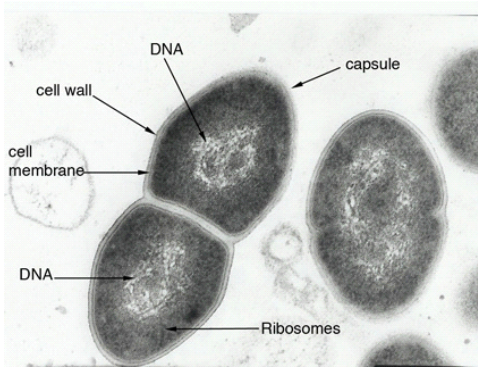
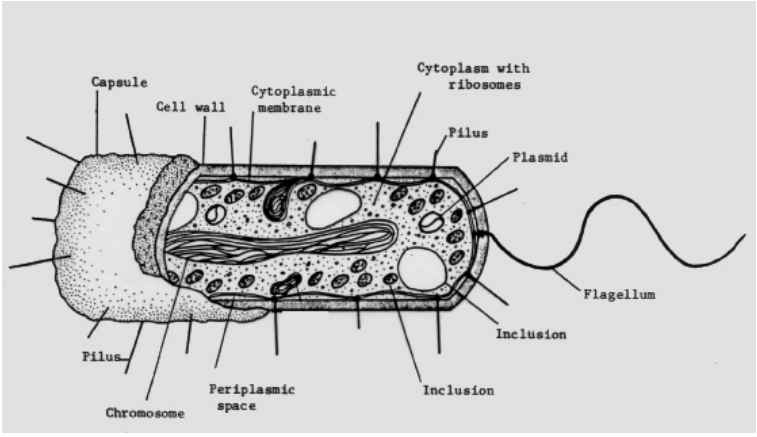
ساختار سلولی

ساختار سلولی باکتری را از بیرون به سمت داخل بررسی می‌کنیم. بعضی از این ساختارها فقط در گروه خاصی از باکتریها مشاهده یا تحت شرایط خاصی تولید می شود مثل کپسول، فلاژل و ... به بعبارتی ساختارهای غیردائمی هستند.



Electron micrograph of an ultra-thin section of a dividing pair of *enterococci*



A typical bacterial cell

۱- گلیکوکالیکس (Glycocalyx)، منطقه مخاطی یا ژلاتینی

یک اصطلاح عمومی برای پلیمرهای خارج سلولی که توسط باکتری ترشح می‌شود. جنس این ساختار پلی‌ساکاریدی است، خارجی‌ترین لایه‌ای است که در باکتری وجود دارد و حد و مرز مشخصی ندارد. تراکم آنها پائین است و با شستشوی باکتری از بین میرود. وظیفه آن اتصال میکروب به سطوح مختلف می‌شود. باکتری‌هایی که آن را تولید می‌کنند، محیط تخمیری آنها دانسیته بالایی دارد و مشکلاتی را در صنعت ایجاد می‌کنند نظیر مسدودشدن صافیها و لوله‌ها و مشکل انتقال O_2.

۲- کپسول Capsule

عموماً جنس پلی‌ساکاریدی دارد. بصورت لایه‌ای اطراف دیواره سلول باکتری قرار گرفته است. کپسول بطور مستحکم به دیواره سلولی باکتری چسبیده و براحتی از آن جدا نمی‌شود. بر خلاف گلیکوکالیکس، کپسول مرز مشخصی دارد و ضخامت آن متغیر است. در برخی باکتریها ضخامت کپسول خیلی کم است که با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده است. در بعضی باکتریها ضخامت کپسول می تواند به ۲ تا ۳ برابر ضخامت باکتری برسد.

کپسول می‌تواند بعنوان یک ذخیره غذایی برای باکتری عمل کند و بخاطر وجود آب در آن و ساختمان قطبی که دارد باکتری را از خشک شدن محافظت می کند. نیز می‌تواند بعنوان یک ذخیره غذایی برای باکتری عمل کند. باکتری که کپسول دارد، تحت هر شرایطی کپسول تولید نمی‌کند، بلکه در شرایطی خاص تولید می‌کنند. مثلاً بعضی باکتری ها فقط در بدن میزبان خود کپسول تولید می کنند.

۳- غلاف (sheath)

دربعضی باکتریها مشاهده میشود، در باکتریهای گرم منفی وجود دارد. غلاف معمولاً چندین باکتری را احاطه می‌کند. جنس غلاف از کربوهیدرات و لیپید است. باکتری قادر است غلاف را ترک کند در حالیکه باکتری نمی‌تواند از کپسول خارج شود. غلاف در برابر لیزوزیم، اسید و الکل مقاوم است و باکتری را در برابر آنها محافظت می‌کند. بعضی باکتریها وقتی در محیط اسیدی قرار می‌گیرند، غلاف تولید می‌کند. بصورت باکتری‌های زنجیره‌ای که در غلاف قرار گرفته‌اند مشخص می‌شوند

٤- فلاژل (flagella)

عامل حرکتی باکتریهاست که از غشاء سیتوپلاسمی منشاء می‌گیرد. نیروی محرکه فلاژل حلقه‌ای است که در غشاء سیتوپلاسمی قرار دارد. فلاژل به باکتری حرکت شناوری می‌دهد و در محیط آبی می تواند حرکت کند. سرعتی معادل ۱۰۰ μm/s ، سرعتی معادل ۳۰۰۰ برابر طول باکتری در دقیقه، می تواند به باکتری دهد.

جنس فلاژل پروتئین است، از پروتئینی به نام فلاژلین (flagellin) تشکیل شده است. طول فلاژل معمولاً بلند است، معمولاً ۲۰-۱۵ μm طول و قطری بین ۲۰-۱۲ nm دارند، به همین دلیل در شرایط عادی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نیست. با رنگ آمیزی و نیز میکروسکوپ الکترونی می‌توان بررسی کرد.

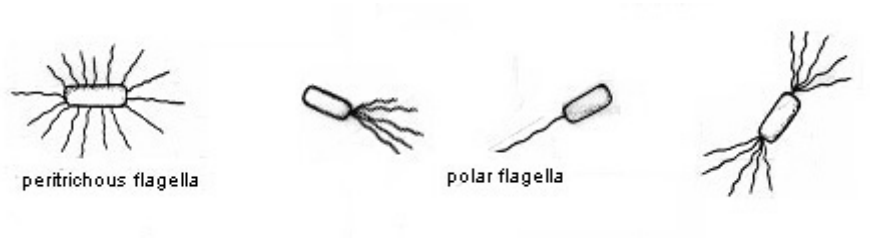
تعداد فلاژل ها و طرز قرارگرفتن آنها خصوصیتی است که در شناسایی باکتریها استفاده می شود:

۱- Monotrichous : یک فلاژل در انتهای یک قطب باکتری

۲- Lophotrichous : چندعدد فلاژل در انتهای یک قطب باکتری

۳- Amphitrichous : چندعدد فلاژل در انتهای دوقطب

۴- Peritrichous : بصورت نامنظم در تمام قسمت های باکتری



دو فرضیه برای حرکت دادن باکتری بوسیله فلاژل وجود دارد. حرکت مارپیچی یا حرکت شلاقی. حرکت باکتری در محیط آب تصادفی است ولی بعضی عوامل می توانند به آن جهت دهند.

شیمیوتاکسیس: پاسخ باکتری به عوامل شیمیایی در یک محیط آبی می‌تواند اثر مثبت یا منفی داشته باشد.

فتوتاکسیس: در مورد باکتریهای فتوسنتزکننده، باکتری به سمت منبع نور حرکت می‌کند.

آئروتاکسیس: اکسیژن عامل جذب باکتری است.

گفتوتاکسیس: بعضی باکتریها تمایل به قطب شمال دارند (آکراسپریلیوم)

۵- پیلی یا تار (Pili or fimbriae)

پلی برخلاف فلاژل حالت سخت دارد. مستقیم است، هیچ نقشی در حرکت باکتری ندارد و باریکتر از فلاژل است (قطر حدود nm ۱۰-۳). جنس پیلی از پروتئینی است به نام پیلین و خاصیت آنتی ژنی دارد. از نظر کار و ساختمان دو نوع پیلی داریم:

۱- پیلی جنسی یا پیلی F که معمولاً تعداد آنها در باکتریها کم است (۴-۱ عدد) نقش این پیلی در انتقال ژن از یک باکتری به باکتری دیگر است که بر این اساس به آن پیلی نر نیز گویند. نقش دیگر آن ایجاد جایگاه اختصاصی برای برخی باکتریوفاژها می‌باشد.

۲- پیلی معمولی، تعداد این پیلی در اطراف باکتری زیاد است و کوتاهتراز پیلی جنسی است. نقش این پیلی معمولی برای اتصال باکتری به سطوح مختلف می‌باشد. مثلاً باکتری بیماریزایی که مجاری تنفسی، گوارشی و تناسلی را مورد حمله قرار میدهد، دارای پیلی هستند و اگر پیلی نداشته باشند، بوسیله جریانهای موجود دفع می‌شوند.

٦- دیواره سلولی (cell wall)

سلولهای حیوانی فاقد دیواره سلولی می باشند ولی سلولهای گیاهی دارای دیواره سلولزی می باشند. دیواره سلولی از اجزاء مهم باکتری ها می‌باشد. ساختمان غیرقابل انعطاف و محکمی دارد و خصوصیات شکلی باکتری مربوط به آن می شود. آزمایشات نشان می‌دهد که دیواره سلولی برای رشد و تقسیم سلولی الزامی است. بسته به نوع باکتری و محیط کشت دیواره سلولی می‌تواند ۱۰ تا ۴۰٪ وزن باکتری را تشکیل دهد. دیواره سلولی باکتری‌ها را در فشارهای مختلف و سایر شرایط محیطی محافظت می‌کند. از انبساط و متلاشی شدن باکتری در محیط های آبی جلوگیری می‌کند. وقتی که باکتری داخل یک محیط آبی قرار می‌گیرد غلظت بیرون کمتر از غلظت داخل باکتری است. مواد داخل باکتری نمی‌توانند از دیواره سلول عبور کنند ولی آب می‌تواند به داخل نفوذکند، لذا دیواره سلول از متلاشی‌شدن باکتری جلوگیری می‌کند.

اگر غلظت محیط نسبت به غلظت درون باکتری کمتر باشد، محلول هیپوتونیک (hypotonic) گویند.
اگر غلظت محیط نسبت به غلظت درون باکتری مساوی باشد، محلول ایزوترونیک (isotonic) گویند.
اگر غلظت محیط نسبت به غلظت درون باکتری بیشتر باشد، محلول هیپرتونیک (hypertonic) گویند.

این دیواره لایه‌ای است میان کپسول و غشاء سیتوپلاسمی که به علت دارابودن خواص ویژه‌ای، سبب محافظت سلول می‌شود. این دیواره به سلول شکل می‌دهد، چنانچه دیواره برداشته شود، سلول شکل خود را از دست می‌دهد. در تقسیم سلولی نقش مهمی دارد، ساختمان اصلی دیواره سلولی از جنس پپتیدوگلیکان است. دیواره سلولی غشایی با تراوایی غیرانتخابی است.

ساختمان شیمیایی دیواره سلولی

دیواره سلولی یک لایه هموژن نیست و از ترکیبات مختلفی تشکیل شده است که بسته به نوع باکتری متفاوتند. بسته به نوع دیواره سلولی باکتری ها به دو گروه عمده گرم - منفی و گرم - مثبت تقسیم می‌شوند. اساس این تقسیم بندی یک رنگ آمیزی افتراقی (مرکب) است که اولین بار توسط هانس کریسمی گرم در سال ۱۸۸۴ ارائه شد. پس از رنگ آمیزی باکتریها با کریستال‌ویوله و لوگل (ید)، اگر این باکتری را در مجاورت یک ماده رنگبر (مثل الکل یا استون) قرار دهند، بعضی باکتریها این رنگ را از دست می دهند و بعضی حفظ می کنند. آن دسته از باکتریها که رنگ را حفظ می کنند گرم - مثبت و آنهایی که رنگ را از دست می دهند گرم - منفی گویند. تفاوت اصلی این دو گروه در دیواره سلولی و ترکیبات آن است:

جدول. ترکیب شیمیایی دیواره سلولی باکتری‌های G^+ و G^-

ترکیب		G^+	G^-
پپتیدوگلیکان	peptidoglycan	۷۰-۸۰٪ وزن خشک	۱۰-۸٪ وزن خشک
اسیدتیکوئیک	Teichoic acid	+	-
اسیدآمینه قندی		+	+
لیپید	lipid	بصورت آزاد و بمقدار کم	حدود ۲۰-۱۰٪ وزن خشک
لیپوپلی‌ساکارید	lipopolysacchaaride	-	+

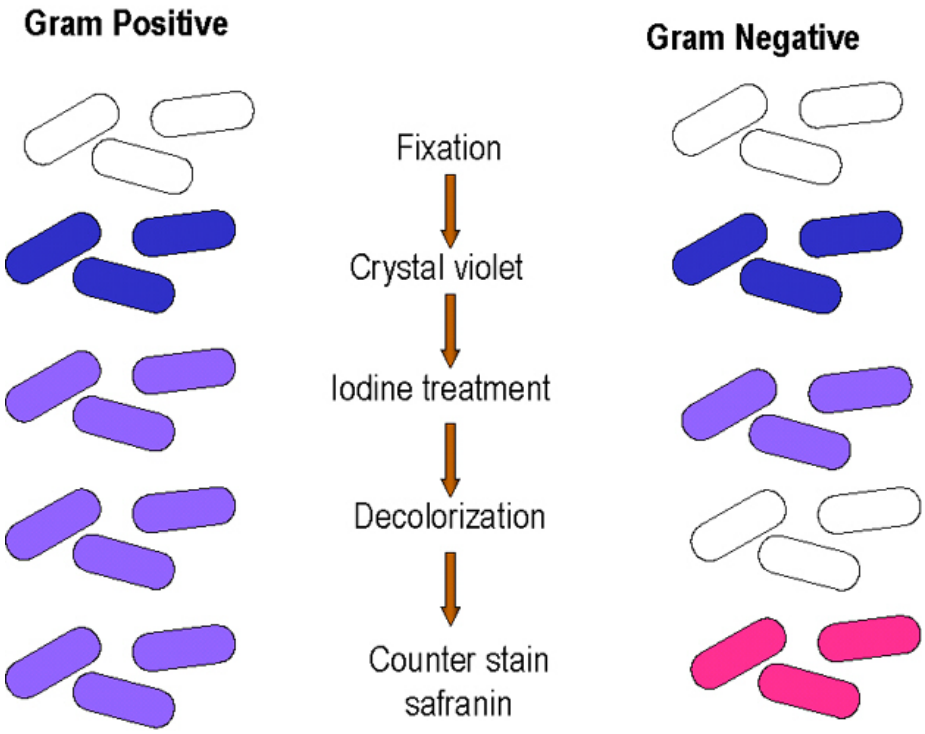
حال می‌توان گفت که جزء مشترک باکتری‌های G^+ و G^- پپتیدوگلیکان و اجزاء اختصاصی آنها اسیدتیکوئیک (G^+) و لیپوپلی‌ساکارید و فسفولیپید (G^-) می‌باشد. تفاوت اصلی این دو گروه در دیواره سلولی و ترکیبات آن است.

دیواره سلولی باکتری‌های G^+ ضخیم‌تر از G^- است. ضخامت دیواره G^+ حدود ۸۰-۲۰ nm و G^- حدود ۱۵-۱۰nm هستند.

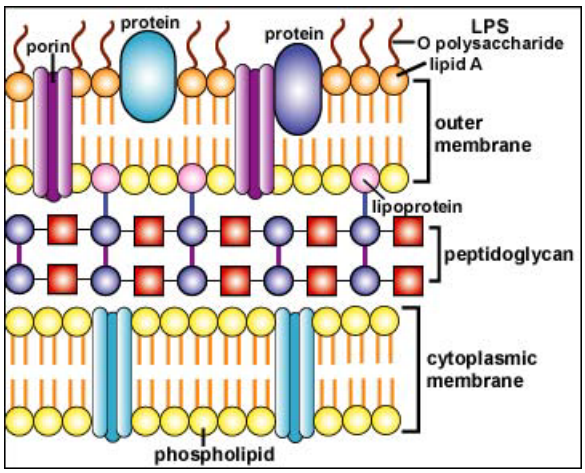
دیواره سلولهای باکتری‌های G^+ دیواره ضخیمی (۸۰-۲۰nm) شامل لایه‌های متعدد از پپتیدوگلیکان، اسیدتیکوئیک شامل پلیمرهای گلیسیرول، فسفات و قندهای الکلی می باشد. ولی دیواره سلولی باکتریهای G^- فقط ۲-۳ لایه پپتیدوگلیکان دارند که پوشیده شده بوسیله یک غشاء خارجی شامل فسفو لیپید، لیپوپلی‌ساکارید، لیپوپروتئین و پروتئین است.

باکتری‌های G^+ به پنی سیلین حساس هستند ولی G^- حساسیت کم یا اصلاً حساسیت ندارند. پنی‌سیلین مانع سنتز پپتیدوگلیکان می‌شود.

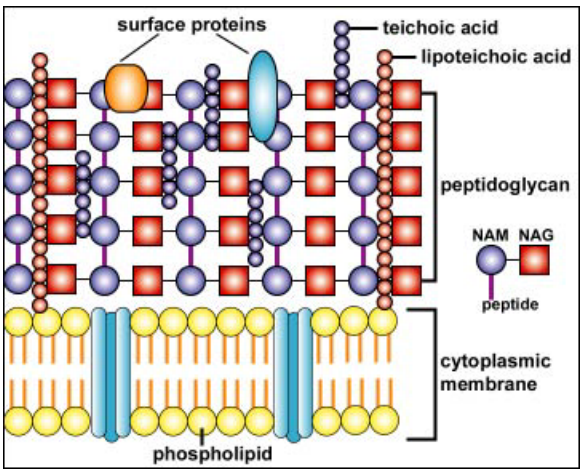
باکترهای G^+ نسبت به شرایط فیزیکی مقاومت ترند. استحکام دیواره سلولی به پپتیدوگلیکان برمی‌گردد. پپتیدوگلیکان بصورت پلیمر بزرگ و مشبک اطراف باکتری را احاطه می‌کند و ترکیبی است که فقط در باکتری ها مشاهده می شود.



شکل. مراحل متوالی روش رنگ آمیزی گرم



Gram negative cell wall



Gram positive cell wall

آنزیم‌های مؤثر بر دیواره سلولی

- لیزوزیم (lysozyme) بر پیوند (۴ – ۱ β) پپتیدوگلیکان تأثیر می‌کند و اسکلت آنرا متلاشی می‌کند. اگر در شرایط آزمایشگاهی G^+ را تحت تأثیر لیزوزیم در یک محیط مناسب از نظر غلظت قرار دهیم، می‌توانیم پروتوپلاسم بدست آوریم. اگر باکتری G^- را تحت تأثیر لیزوزیم قرار دهیم، اثری روی آن ندارد. اگر باکتری G^- را تحت تأثیر EDTA (اتیلن دی آمین ترا استیک اسید) قراردهیم، غشاء خارجی از بین میرود و سپس بوسیله تماس با لیزوزیم می‌توان اسفروپلاست بدست آورد.

۷- غشاء سیتوپلاسمی

لایه‌ای است که بعد از دیواره سلولی (زیر آن) قرار دارد و از اجزاء ثابت باکتریها می‌باشد. در تمام سلولهای میکروارگانیسم ها قرار دارد و وظایف مهمی انجام می دهد. این بخش حاصل تراکم مواد سیتوپلاسمی است و هرچه سلول پیرتر باشد ضخامت این لایه بیشتر می‌باشد.

۷-۱- ساختار غشاء سیتوپلاسمی

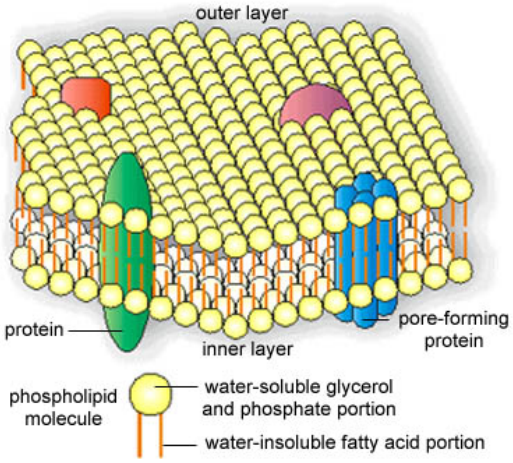
درمورد ساختار غشاء مطالعات گوناگونی انجام شده و نظرات گوناگونی ارائه شده است. نظریه سینگر بیان می‌کند که غشاء اساساً از دو لایه لیپیدی تشکیل شده است و مولکولهای پروتئین در میان این دولایه به صورت پراکنده جای گرفته‌اند و در این مدل قابلیت تحرک و سیالیت مولکول سازنده غشاء معرفی شده است. ضخامت آن حدود ۷/۵ nm بوده و عمدتاً از فسفولیپید و پروتئین تشکیل شده است.

الف) لیپیدهای غشاء: حدود ۳۰-۲۰٪ وزن غشاء را تشکیل می‌دهند. بیش از نیمی از جرم لیپیدهای غشاء را ۴ نوع مختلف فسفولیپید تشکیل می‌دهند. علاوه بر فسفولیپیدها، گلیکولیپیدها نیز جزو اصلی لیپیدهای غشائی می‌باشند.

مولکول فسفولیپید یک سرقطبی و دو شاخه غیرقطبی دارد و به دلیل ساختمان خاص خود بصورت دولایه‌ای قرار می‌گیرد.

پروتئین‌ها می‌توانند داخل بدنه حرکت داشته باشند که به این ساختار مدل موزائیک سیال گویند.

اختلافی که بین غشاء سیتوپلاسمی پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها وجود دارد، در استرول آنهاست. غشاء سیتوپلاسمی پروکاریوت‌ها فاقد استرول هست.



شکل. ساختار غشاء سیتوپلاسمی

ب) پروتئین‌های غشاء: حدود ۷۰-۵۰٪ جرم غشاء سیتوپلاسمی را تشکیل می‌دهند. از لحاظ اندازه از لیپیدها بزرگتر و از لحاظ تعداد از لیپیدها کمتر هستند. تقریباً به ازاء هر مولکول پروتئین، ۵۰ مولکول لیپید وجود دارد.

پروتئین ها دو دسته‌اند:

پروتئین‌های سراسری که دوگانه‌دوست هستند و در پهنای غشاء قرار می‌گیرند. بخش آبدوست آن با سطوح داخلی و خارجی غشاء در تماس بوده و بخشهای آب گریز آن با اسیدهای چرب غشاء پیوند تشکیل می‌دهند.

پروتئین‌های سطحی در سطح دولایه فسفولیپیدی قرار می‌گیرند و با مولکول های فسفولیپید و پروتئین‌های سراسری اتصال برقرار می‌کنند.

نامتقارن بودن غشاء ناشی است از: ۱) یکسان نبودن پروتئین‌های غشاء در سطوح داخلی و خارجی، ۲) تفاوت پروتئین‌ها در دو طرف غشاء، ۳) وجود گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها در سطح خارجی غشاء، ۴) وجود انواع مختلف فسفولیپیدها در دو طرف سطح غشاء.

۷-۲- ویژگی‌های غشاء سیتوپلاسمی

غشاء به علت داشتن موقعیتی خاص بایستی دارای ویژگیهائی باشد تا بواسطه آن توانایی انجام وظایف و اعمال زیستی را داشته باشد. از ویژگی‌های غشاء: الف) سیالیت غشاء، ب) قابلیت عبوردهی مولکول‌ها.

الف) سیالیت غشاء از مهمترین ویژگیهای غشاء می‌باشد به این معنی که مولکولهای تشکیل‌دهنده غشاء قابلیت تحرک دارند. حرکت لیپیدها به چند شکل می‌باشد:

۱- درجا و به صورت دورانی
۲- از نقطه‌ای به نقطه دیگر (بصورت افقی)
۳- حرکت به صورت عمودی از یک لایه غشاء به لایه دیگر (وارونه شدن)

ب) قابلیت عبوردهی مولکول‌ها

همانطورکه گفته شد دیواره سلولی پروکاریوت‌ها دارای خلل و فرج نسبتاً بزرگی هستند و توانایی عبوردهی اکثر مواد را به درون سلول دارند. ولی غشاء سیتوپلاسمی توانایی عبوردهی موادخاصی را به درون سلول دارد. به عبارت دیگر غشاء دارای خاصیت جذب انتخابی است.

قابلیت نفوذ یک مولکول به درون غشاء به اندازه مولکول و درجه حلالیت آن در لیپید بستگی دارد. هرچه مولکولی کوچکتر و میزان حلالیت آن در لیپید بیشتر باشد، با سرعت بیشتری به درون سلول نفوذ می‌کند. تمام سلولها باید مواد شیمیایی موردنیاز متابولیسم سلولی را تأمین کنند. آب و گازهای محلول مانند مولکولهای محلول در چربی به سادگی از لایه فسفرلیپید عبور می‌کنند. یونهای محلول در آب از حفره‌های کوچک (۰/۸nm>) روی غشاء عبور می‌کنند. بقیه مواد نیاز به حامل دارند.

در اکثر موارد انتقال مواد توسط پروتئین‌های انتقال‌دهنده انجام می‌گیرد. این پروتئین‌ها وظیفه انتقال مواد کوچک از غشاء سلول را برعهده دارند. نام این پروتئین‌ها پرومئاز بوده و جزء پروتئین‌های سراسری می‌باشند. این پروتئین‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند:

الف) پروتئین‌های حامل هنگام انتقال مولکول به صورت گذرا تغییرشکل می‌یابند. بعد از حمل مولکول به سمت دیگر غشاء آن را رها کرده و به شکل اولیه خود باز می‌گردند.

ب) پروتئین‌های کانالی با ایجاد کانال یا منافذ پرآبی که در مواقع لزوم بازشده و اجازه عبورمولکولها را می‌دهند باعث انتقال آزاد مواد از غشاء می‌شوند.

۷-۳- وظایف غشاء سیتوپلاسمی

۷-۳-۱- تراوائی انتخابی و انتقال مواد محلول

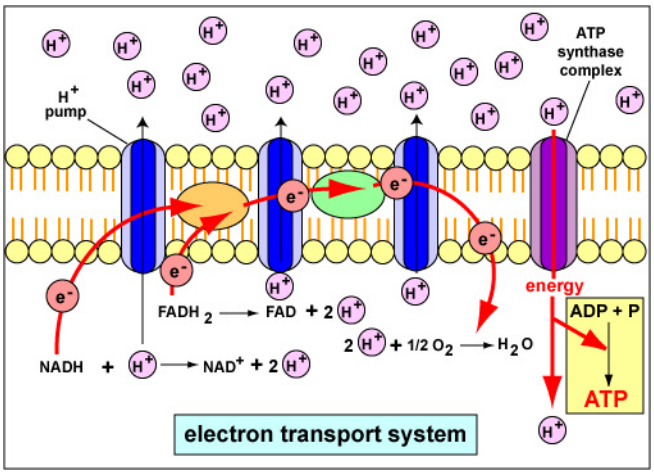
بواسطه خاصیت جذب انتخابی غشاء مواد خاصی توانایی عبور از آن را دارا هستند. مولکولهای کوچک غیرقطبی مانند O_2 و N_2 به سرعت در غشاء حل شده و از آن عبور می‌کنند. مولکولهای کوچک قطبی که بار الکتریکی ندارند مانند آب، بنزن، CO_2، اتانل و اوره هم به سرعت از غشاء عبور می‌کنند. مولکولهای بزرگ با جرم مولکولی بیشتر مانند گلیسیرول با سرعت کمتری از غشاء عبور می کنند. اما مولکولهای بزرگ مانند گلوکز، اسیدهای آمینه و نوکلئوزیدها نمی‌توانند بدون صرف انرژی وارد سلول شوند. یون‌ها و مولکولهای دارای بار الکتریکی خاص به هیچ وجه از دو لایه لیپیدی فاقد پروتئین نمی‌توانند عبور کنند. اما از غشاء سیتوپلاسمی که دارای پروتئین باشد، عبور می‌کند. ماکرومولکوهایی مانند نوکلئوتیدها، چند قندی‌ها و پروتئین‌ها به هیچ عنوان نمی‌توانند از غشاء عبور کنند. باید توسط آنزیم‌های خارج‌سلولی که توسط سلول به محیط خارج ترشح شده، شکسته شده و به اجزاء کوچکتر تبدیل شوند. آنزیم‌های خارج سلولی مانند پروتئازها، پپتیدازها، لیپازها، نوکلئازها، گلیکوزیدازها. آنزیم‌های سطحی مانند آلکالین‌فسفاتاز. بنابراین برای عبور مواد به غیر از مولکول‌های کوچکی که ذکر شد و نیز ترکیبات باردار نیاز به مکانیسم‌های خاصی می‌باشد که در بخش بعدی بررسی می‌شوند.

۷-۳-۲- ترشح آنزیم‌های هیدرولیتیک برون سلولی

میکروارگانیسم‌ها مواد محلول را جذب می‌کنند، اسموتروف هستند و ماکرومولکولها را نمی‌تواند جذب کنند. به منظور استفاده از ماکرومولکولهای آلی بعنوان منبع غذایی نیاز به تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌باشد تا به مواد کوچکتر تبدیل شوند. محل اصلی سنتز این آنزیم‌ها ریبوزوم می‌باشد. باکتری‌های G^+ این آنزیم‌ها را به محیط کشت خود ترشح می‌کنند ولی باکتری‌های G^- آنزیم‌ها را به فضای پری‌پلاسمی (فضای بین غشاء سیتوپلاسمی و دیواره سلولی) ترشح می‌کنند.

۷-۳-۳- جایگاه زنجیره انتقال الکترونی

در حین عبور الکترونهای حاصل از اکسیداسیون موادآلی حاصل متابولیسم از زنجیره انتقال الکترونی موجود در دیواره غشاء، ناقل‌هایی به نام سیتوکروم‌ها روی دیواره وجود دارند که پروتون‌های آنها به سمت بیرون سلول پمپ می‌شوند. درنتیجه اختلاف پتانسیل بین داخل و خارج غشاء ایجاد می‌گردد که بمنظور رفع آن یونهای H^+ به سمت درون سلول نفوذ می‌کنند. ولی این نفوذ فقط از مسیرخاصی امکانپذیر است که نتیجه آن سنتز ATP می‌باشد. یعنی این اختلاف پتانسیل بعنوان نیروی محرکه سنتز ATP عمل می‌کند. در سلولهای هوازی پروکاریوت‌ها به علت عدم وجود میتوکندری، فرآیندهای متابولیسمی فوق در غشاء انجام می‌شود.



جایگاه زنجیره انتقال الکترونی بر روی غشاء و سنتز ATP در نتیجه تبادل الکترون‌های حاصل از اکسیداسیون مواد غذایی

۷-۳-٤- نگهداری فشار اسمزی سلول

غشاء سلول به علت جذب انتخابی سبب جلوگیری از ورود و خروج بیش از حد آب و مواد به سلول شده و این عمل باعث نگهداری فشار اسمزی سلول درحد معینی می گردد.

۷-۳-٥- شرکت در اعمال تنفسی

محل تنفس سلول‌های پروکاریوت غشاء سیتوپلاسمی است. در سلولهای عالی تنفس در میتوکندری انجام میشود ولی در سلولهای پست میتوکندری وجود ندارد و از طرفی آنزیم‌های ضروری در غشاء قرار دارند.

۷-۳-٦- سیستم‌های گرایش شیمیایی (تاکسیس)

میکروارگانیسم‌هایی که به سمت مواد خاصی جذب یا دفع می‌شوند، به سبب حضور گیرنده‌های خاصی که روی غشاء سیتوپلاسمی وجود دارند قادر به انجام این کار هستند. مثلاً روی غشاء سیتوپلاسمی *E.coli* حدود ۲۰ نوع گیرنده اختصاصی مشاهده می‌شود.

۷-۳-۷- نقش بیوسنتزی

غشاء در باکتریها دارای فرورفتگی‌هایی است که به آنها مزوزوم گویند. در باکتریها دو نوع مزوزوم مشاهده می‌شود.

مزوزوم مرکزی یا میانی (septal, central) در مرکز باکتری قرار دارند. وظیفه همانندسازی DNA را این مزوزوم‌ها بر عهده دارند. در بیوسنتز دیواره سلول و همچنین سنتز سلولی نقش دارند.

مزوزوم جانبی یا پیرامونی (Lateral , Peripheral)، برخلاف قبلی، فرورفتگی کمتری دارند و در بیشتر قسمت‌های غشاء دیده میشوند و اتصالی به DNA باکتری ندارند. نقش آنها در سنتز مواد خاص یا آنزیم های خاص است. مانند، آنزیم پنی‌سیلیناز که روی این مزوزوم ها قرار دارند.

۷-٤- ترابری مولکول‌ها از غشاء

مواد از لحاظ اندازه به مولکولهای کوچک و بزرگ تقسیم می‌گردند. بسته به اندازه مولکول مکانیسم انتقال آن متفاوت خواهد بود. نحوه انتقال مولکولهای کوچک: انتقال غیرفعال، انتقال فعال

۷-٤-۱- انتقال غیرفعال (passive transport)

عبارت است از انتقال مواد بدون صرف انرژی، این عمل به علت وجود گرادیان غلظت که بعنوان نیروی محرکه عمل می‌کند، انجام می گیرد.

انتشار ساده: در مورد مولکولهای کوچک آب‌گریز مانند O_2 یا آب‌دوست مانند اتانل مطرح است. این مولکولها پس از حل‌شدن در دو لایه فسفو لیپیدی غشاء مستقیماً ازآن عبور می‌کنند. بعنوان مثال حمل O_2 و CO_2 در شش‌ها توسط این مکانیسم انجام می‌شود. پروتئین‌های انتقال‌دهنده در انتشار ساده هیچ نقشی ندارند. این روش انتقال مواد اختصاصی نیست. به غلظت مولکول در دو طرف غشاء بستگی دارد و انتقال در جهت شیب غلظت انجام می‌شود.

انتشار تسهیل‌شده (facilitated diffusion): براساس شیب الکتروشیمیایی انجام می‌شود. اگر مولکولی بدون بار الکتریکی باشد شیب غلظت آن در دو طرف غشاء تعیین‌کننده جهت انتقال است. ولی اگر مولکول دارای بار باشد، علاوه بر شیب غلظت، پتانسیل غشاء نیز مؤثر است. پتانسیل غشاء عبارت از اختلاف بار الکتریکی در دو طرف غشاء است. اختلاف غلظت یون‌ها در دو طرف غشاء شیب یونی تولید می‌کند که بر پتانسیل غشاء سلول مؤثر است. در این روش انتقال مولکولها اختصاصی می‌گردد. ترکیب شیب غلظت و پتانسیل الکتریکی، شیب الکتروشیمیایی هر مولکول را ایجاد می‌کند.

۷-٤-۲- انتقال فعال (active transport)

انتقال با صرف انرژی صورت می گیرد و مواد برخلاف شیب غلظت منتقل می‌گردند. مواد از غلظت پایین به غلظت بالا حرکت یا اصطلاحا پمپ می‌شوند. این عمل توسط پروتئین‌های غشاء صورت می گیرد و به این پروتئین‌های ناقل موجود در غشاء پرومئاز (promease) گویند.

عملکرد پرومئازها در انتقال مولکولهای کوچک بر اساس یکی از مکانیسم‌های زیر می‌باشد. دسته اول یک مولکول را به تنهایی از یک طرف غشاء به طرف دیگر آن منتقل می‌کنند (مانند انتقال گلوکز در اکثر سلولهای حیوانی). دسته دوم (symporter) توانایی حمل دو مولکول متفاوت را همزمان با هم و در یک جهت دارند (مانند گلوکز و سدیم در سلولهای روده و کلیه). دسته سوم (antiporter) قادر به انتقال دو مولکول متفاوت در دو جهت مخالف در یک زمان واحد می باشند (مانند سدیم و پتاسیم در پمپ Na – K - ATPase).

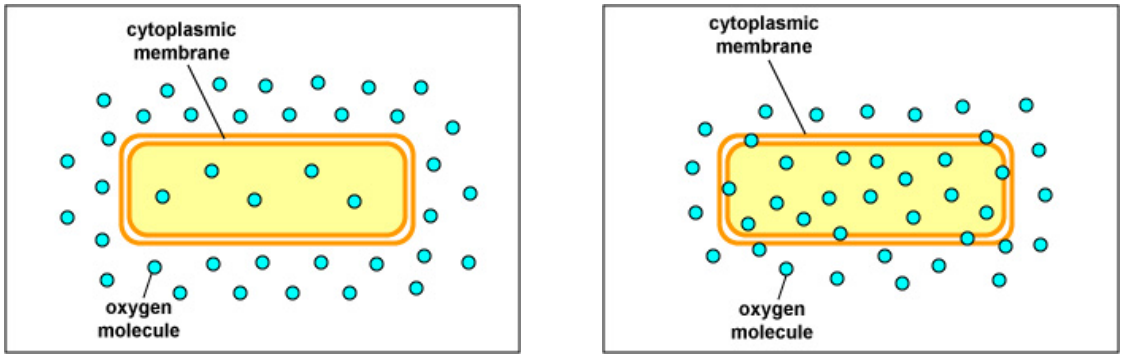
پمپ سدیم - پتاسیم - ATP از:

پروتئین‌های حامل با استفاده از انرژی موجود در ATP یون های Na^+ و K^+ را از غشاء عبور می‌دهند. این پمپ در تنظیم فشار اسمزی سلول و نیز در ثابت نگه‌داشتن حجم سلول مؤثر است. اگر اختلالی در کار این پمپ ایجاد شود، سلول در اثر جذب بیش از حد آب متورم و متلاشی می‌گردد. مثال دیگر در این مورد می توان پمپ پروتونی بمنظور حفظ pH درون سلولی را نام برد.

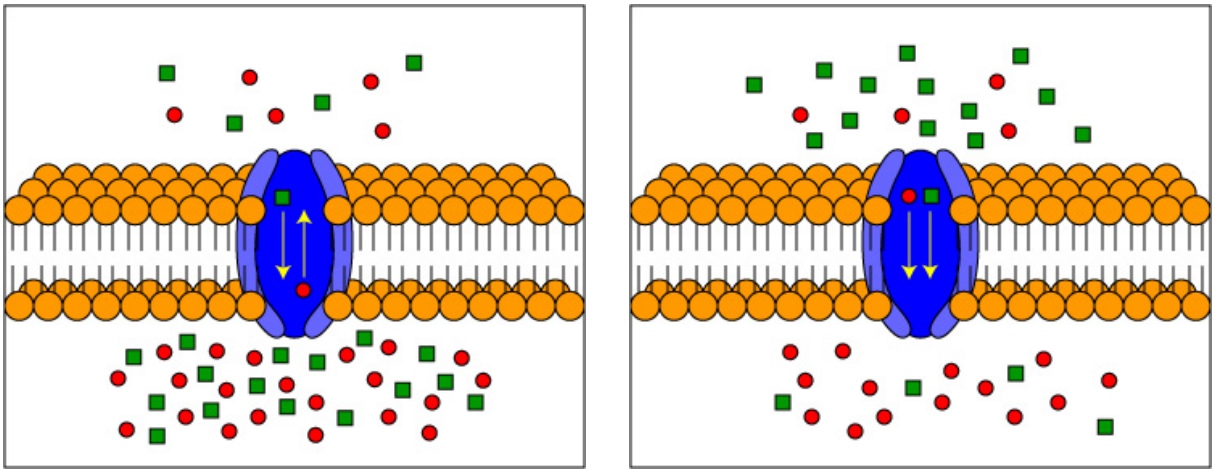
انتقال فعال بر اساس نحوه تامین انرژی به دو دسته تقسیم می‌شوند:

الف- انتقال فعال اولیه: که همراه با صرف انرژی و هیدرولیز ATP می باشد. در این سیستم انرژی متابولیسمی برای راندن محلول از غشاء برخلاف شیب غلظت به مصرف می رسد.

ب- انتقال فعال ثانویه: با مصرف نمودن انرژی ذخیره شده در شیب کاتیونی و پتانسیل غشاء که توسط پمپ ایجاد می گردد، مواد محلول مانند اسیدآمینه و قندها به درون سلول منتقل می‌شوند.



Passive diffusion



Active transport antiporter

Active transport simporter

۷-۵- عوامل ضد باکتریایی مؤثر بر غشاء

- دترجنت ها: مولکولهایی که یک قسمت قطبی (محلول درآب) و یک قسمت غیرقطبی (محلول در چربی) دارند.

- گروهی از آنتی بیوتیک‌ها که ساختمان شبیه دترجنت‌ها دارند، مثل پلی میکسین که بر روی ساختمان غشاء اثر می‌کنند. بعضی آنتی بیوتیک‌ها فعالیت بیوسنتزی غشاء را مختل می‌کنند مثلاً سنتز DNA را مختل می‌کنند.

- یونوفرها: که خصوصیت انتخابی غشاء نسبت به کاتیون‌ها را از بین برده و درنتیجه پتانسیل الکتریکی را از بین می‌برد. بعضی از آنها سبب ایجاد کانال در غشاء سیتوپلاسمی شده و از طریق این کانال کاتیون‌ها وارد سلول شده و آن پتانسیل را از بین برده و فعالیت زیستی آنها را مختل می‌کند. این عامل بر روی غشاءهای یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها تأثیر می‌گذارند.

۸- سیتوپلاسم

حدود ۸۰٪ ازآب تشکیل شده و حاوی مولکولهای اسیدنوکلئیک، پروتئین، کربوهیدراتها، لیپیدها و موادمعدنی مختلف و همچنین ذرات داخل سلولی است که این مواد روی هم تشکیل یک هیدروژل را می‌دهند. بسیاری از آنزیم‌های سلول داخل سیتوپلاسم قرار دارند مانند آنزیم‌های گلیکولیز، آنزیم‌های پنتوزفسفات، چرخه کربس، دهیدروژناز، پروتئازها و .... حدود ۵۰٪ از پروتئین‌های سلول در سیتوپلاسم قرار دارند.

۹- ذرات داخل سیتوپلاسم

۹-۱- ریبوزوم

ریبوزوم‌ها ماشین سنتز پروتئین در سلولهای زنده هستند. برحسب فعالیت سلول، تعداد ریبوزوم‌ها متغیر هستند. معمولاً حدود ۱۵۰۰۰ ریبوزوم می‌تواند وجود داشته باشد. اهمیت سنتز پروتئین و نقش ریبوزوم را می‌توان به اینصورت نشان داد که انرژی در موجود زنده به دو منظور صرف می شود: بقاء موجود زنده و سنتز مواد مختلف (۹۰٪ صرف سنتز پروتئین). بیش از ۵۰٪ وزن خشک سلول را پروتئین‌ها تشکیل می‌دهند. برخی پروتئین‌ها ترشحی هستند و به بیرون سلول ترشح می‌شوند. ریبوزوم‌هایی که نزدیک غشاء یا متصل به غشاء هستند وظیفه سنتز پروتئین‌های ترشحی را دارند ولی سایر ریبوزوم‌ها در سنتز پروتئین‌های داخلی نقش دارند.

۹-۲- واکوئل گازی Vacule

تراکم سلول نسبت به آب بیشتر است، در نتیجه وقتی که در یک محیط آبی قرار گیرند، سلول ته‌نشین می‌شود. واکوئل گازی سبب شناورماندن سلول می شود بخصوص در مورد میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده و هالوفیل ها.

۹-۳- مواد اندوخته ای

در باکتریهای مختلف، مواد اندوخته‌ای مختلف تحت شرایط متفاوت وجود دارد. مواد اندوخته ای برحسب نوع باکتری، شرایط محیط کشت و همینطور فاز رشدی باکتری متغیر هستند. معمولاً مواد اندوخته ای در فاز سکون تولید می‌شوند و این در شرایطی است که در محیط مواد انرژی‌زا موجود باشد. مواد اندوخته ای که در داخل باکتری تولید می‌شوند، در فشار اسمزی آن نقشی ندارند. از مواد اندوخته ای می‌توان موارد زیر را نام برد.

الف) پلیمری از گلوکز که برحسب نوع پیوند می تواند گلیکوژن یا نشاسته باشد. گلیگوژن در *آنتروباکتریاسه* (باکتریهای روده‌ای) دیده می شود به ویژه در جنس *آنتروباکتر*، *اشرشیا*، *سالمونلا* و نشاسته در *کلستریدیوم‌ها*، *استوباکتر*، *نایسریا* دیده می‌شود.

ب) لیپیدها که بیشتر پلی هیدروکسی بوتیرات (PHB) و مختص پروکاریوت‌ها هستند. در انواع *باسیلوس‌ها* ایجاد می‌شود و همچنین در *سودوموناس*‌ها که گاهی می تواند ۶۰٪ از وزن باکتری را تشکیل دهد. به منظور مشاهده این مواد اندوخته‌ای می‌توان از رنگ‌آمیزی استفاده کرد (ید برای نشاسته و گلیکوژن و سودان سیاه برای مواد لیپیدی).

ج) دانه های ولوتین (متاکروماتیک)،جنس این دانه‌ها پلی‌فسفات است وقتیکه میزان فسفر در سلول بیش از مقدار نیاز باشد، بعضی باکتری‌ها اقدام به سنتز این دانه‌ها می‌کنند. در مواقع نیاز از این مواد بعنوان ذخیره فسفر استفاده می‌شود و نیز به عنوان منبع فسفات برای سلول باکتری می‌باشند. این مواد با رنگ‌های بازی مثل متیلن‌بلو یا تولوئیدن‌بلو قابل رنگ آمیزی و مشاهده هستند.

۹-٤- پیگمان های مختلف

در تمام باکتری‌ها وجود ندارد و سنتز آنها تابع شرایط محیط کشت است. علاوه بر آن به فاز رشد باکتری نیز بستگی دارد. شرایط مساعد برای رشد باکتری ممکن است برای تولید پیگمان مناسب نباشد. پیگمان‌ها می‌توانند داخل سلول باقی بمانند یا به محیط بیرون ترشح شوند. پیگمان‌ها از نظر ترکیب شیمیایی به ۶ دسته تقسیم می‌شوند:

آ) کاروتنوئیدها: داشتن تعداد زیاد پیوند دوگانه (حدود ۱۲)

ب) اوتین ها: در میکوباکتریها مشاهده می‌شود.

پ) پیرول‌ها

ت) آنتوسیانوزیدها: در گیاهان و قارچ‌ها آنتوسیانید گفته می شود.

ث) ملانین

ج) فنازین‌ها

۱۰- حالت مقاوم باکتریها

باکتری ممکن است بصورت یکی از دو حالت زیر موجود باشد: حالت رویشی Vegetative یا حالت استراحت non-reproductive, dormant . حالت مقاوم باکتریها در شرایط نامساعد محیطی ایجاد می شود و مقاومت این اشکال به نوع باکتری بستگی دارد. علاوه بر نوع باکتری، شرایط تولید در مقاومت اشکال مؤثر است.

اشکال مقاوم باکتریها:

الف) اجسام میوه ای

این حالت در میکسوباکتریها مشاهده می شود. به این صورت که وقتی در شرایط نامساعد قرار می گیرند، شروع به تجمع می کنند و تشکیل یک ساقه داده که روی ساقه تشکیل برآمدگی می دهد. این اشکال در مقابل سرما و پروتئاز از خود مقاومت نشان می دهند ولی در برابر حرارت مقاومتی ندارند.

ب) کیست (cyst)

این حالت بیشتر در ازتوباکتر و بعضی باکتریهای فتوسنتیک مانند سیانوباکتریها دیده می شود. کیست از تمایز یک سلول رویشی حاصل می شود و تا حدودی در برابر خشکی مقاومت نشان می دهد ولی در برابر حرارت مقاومتی ندارد.

ج) اگزوسپور (اسپور بیرونی)

در بعضی باکتریهای مصرف کننده متان دیده می شود (مانند متیلوسپیریلوم). در خارج سلول بر اثر جوانه زدن تشکیل می شود و در برابر خشکی و تاحدودی هم در برابر گرما مقاوم است.

د) اندوسپور

مقاوم ترین شکل باکتری است و برخی از جنس ها که عموماً G^+ هستند می توانند اندوسپور تولید کنند. مانند باسیلوس ها (G^+ هوازی یا بی هوازی اختیاری)، کلستریدیوم ها (G^+ بی هوازی)، اسپوروسارسینا (G^+ هوازی و کروی شکل) و اسپورولاکتوباسیلوس (G^+).

اندسپور در مقابل حرارت، عوامل شیمیایی و فیزیکی مقاوم است. مثلاً سلولهای رویشی در ۷۰°C معمولاً کشته می‌شوند ولی اندوسپورها می‌توانند دمای ۸۰°C را حدود بیش از ۱۰ دقیقه تحمل کنند. اندوسپور باکتری کلستریدیوم بوتولینوم (*Clostridium butolinum*) می تواند دمای جوش ۱۰۰°C را به مدت چند ساعت تحمل کند. این مقاومت ها در برابر عوامل مختلف در مراحل مختلف تولید اندوسپور بدست می آید. مقاومت در برابر حرارت در مراحل انتهایی تولید اندوسپور حاصل می شود که به ساختمان اندوسپور برمی‌گردد.

۱۰-۱- دلایل مقاومت اندوسپور

- وجود لایه های مختلف در اطراف اندوسپور
- وجو یکسری مواد ویژه در اندوسپور (دی پیکولینیک اسید که فقط در اندوسپور وجود دارد)
- حالت دهیدراته بودن اندوسپور (حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد اندوسپور را آب تشکیل می دهد)
- کاهش فعالیت‌های متابولیکی

اندازه اندوسپور ممکن است از خود باکتری بزرگتر باشد و سبب بادکردن باکتری شود. شکل اندوسپور کروی یا بیضی است. خصوصیات شکلی اندوسپور، قطر آن، محل قرارگرفتن آن و ... می تواند در شناسایی باکتری به ما کمک کند. برحسب شکل و قرارگرفتن اندوسپور در باکتری حالات مختلفی وجود دارد.

a) اندوسپور مرکزی (central)

b) نیمه انتهایی (sabterminal)

c) کاملاً انتهایی (terminal)

۱۰-۲- قسمت های مختلف اندوسپور (از درون به خارج)

a) بخش مرکزی (core): داخلی‌ترین بخش و شامل پروتوپلاسم، مواد هسته‌ای و اجزاء لازم برای سنتز پروتئین‌ها و همچنین سیستم تولید انرژی بر پایه گلیکولیز وجود دارد.

b) دیواره اندوسپور: از جنس پپتدوگلیکان بوده و در هنگام جوانه زدن تشکیل دیواره سلولی سلول جدید توسط این دیواره صورت می‌گیرد.

c) کورتکس (cortex): ضخیم‌ترین دیواره حول اندوسپور است و از جنس پپتیدوگلیکان است ولی با پپتیدوگلیکان دیواره سلولی متفاوت است. پل تقاطعی کمتری دارد، به لیزوزیم حساس‌تر است که در جوانه‌زدن بروز می‌کند. در موقع جوانه زدن کورتکس باید از بین برود و این حساس بودن سبب می شود راحت‌تر از بین برود.

d) پوشش کراتینی: پوشش پروتئینی که دارای تعداد زیادی پیوندهای دی‌سولفیدی است. این لایه ناتراوا و غیرقابل نفوذ است. وجود این دیواره اندوسپور را در برابر موادشیمیایی مختلف مقاوم می‌کند.

e) اگزوسپوریوم: از جنس لیپوپروتئین است که در بعضی اندوسپورها وجود دارد. مقاومت در برابر حرارت با تشکیل و تکمیل این لایه ها بوجود می‌آید.

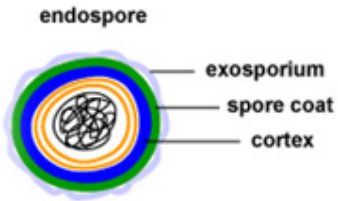
تولید اندوسپور در انتهای فاز لگاریتمی شروع می‌شود. دلیل تولید اندوسپور، فقدان یکی از مواد غذایی مانند منبع C، منبع N یا هر دو، فقدان مواد معدنی یا برخی فاکتورهای رشد می‌باشد. انتقال باکتری از یک محیط غنی

به محیط فقیر غذایی، تولید اندوسپور را تشدید می‌کند. افزودن یکی از ممانعت‌کننده‌ها به محیط تشکیل آنرا تحریک می‌کند.

ترکیب محیط کشت از عوامل مؤثر بر اندوسپور هست مثلاً اگر کلسیم نداشته باشیم و یا با ماده دیگری جایگزین شود، مقاومت اندوسپور تا حدود زیادی کاهش می‌یابد.

ویژگی تولید اندوسپور:

- باعث بقاء نسل باکتری در شرایط نامساعد می‌شود.
- تولید تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها در مراحل تشکیل اندوسپور
- از اسپور بعضی باکتریها در کنترل بیولوژیکی حشرات استفاده می‌شود.
- موجب افزایش هزینه های استریل‌کردن در کارخانجات صنایع غذایی می‌شود.



Endospore structure

۱۰-۳- جوانه‌زدن اندوسپور(germination)

اگر اندوسپور در شرایط مساعد قرار بگیرد، رویشی می‌شود. این تغییر در سه مرحله متوالی صورت می‌گیرد: فعال‌شدن، جوانه‌زدن، و رشد.

تا وقتی که لایه‌های اسپور سالم باشند، با انتقال به شرایط مساعد جوانه‌زدن صورت نمی‌گیرد. حتماً باید آسیبی به لایه‌ها برسد، که به این مرحله فعال‌شدن گویند. فعال‌شدن پدیده قابل برگشت است. یعنی عواملی مثل حرارت کمتر از ۱۰۰°C، pH های اسیدی یا بازی، آسیب مکانیکی سبب فعال شدن اندوسپور می‌شود.

مرحله جوانه‌زدن غیرقابل برگشت است. وقتیکه اندوسپور فعال شده در شرایط مساعد قرار می‌گیرد شروع به جوانه‌زدن می‌کند. دراین مرحله اندوسپور از نظر متابولیکی فعال شده و با شروع جوانه‌زنی حتی اگر شرایط نامساعد شود این مسیر ادامه پیدا می‌کند تا یک سلول رویشی ایجاد شود. در این مرحله اندوسپور مقاومت خود را در برابر حرارت، مواد شیمیایی و شرایط فیزیکی از دست می‌دهد. در انتهای مرحله جوانه‌زنی اندوسپور حدود ۳۰٪ از وزن خشک خود را از دست می‌دهد که این به دلیل از دست‌دادن لایه‌های خود در اثر اتولیزین‌ها، که یک سری آنزیم‌های هیدرولیتیک هستند، می‌باشد.

مرحله رشد که سبب می‌شود از یک اندوسپور یک سلول رویشی کامل بدست آید. وقتی که اندوسپور جوانه‌زده در شرایط مساعد محیطی قرار گیرد، شروع به جذب آب کرده، درنتیجه اندوسپور طویل و متورم شده، لایه‌های باقیمانده بر روی آن متلاشی شده و سلول کاملاً فعال بدست می‌آید.