

细菌肽聚糖、磷壁酸的教学探讨

查永喜

(中国药科大学 南京)

摘要 由于构成肽聚糖四肽链的氨基酸组成不同, 交联方式又变化多端, 从而不同种类细菌的肽聚糖结构多种多样。在描绘肽聚糖结构时要注意: 1. 四肽链第二位的 D-谷氨酸与下一个氨基酸的氨基连接成肽键的是 γ -羧基, 而不是 α -羧基。2. 交联主要是两条邻近的不同聚糖链骨架上与 N-乙酰胞壁酸相连的两条相邻四肽链间的交联。3. G⁻细菌是两条四肽链直接交联, 没有桥肽的参与。溶菌酶仅水解 N-乙酰胞壁酸 C-1 和 N-乙酰葡糖胺 C-4 之间的 β -1,4 糖苷键; 而青霉素是抑制肽聚糖合成的最后阶段——转肽反应。由于两者的作用机理完全不同, 最好用不同的图解, 不同的方式来表示。磷壁酸仅为大多数 G⁺ 细菌所有。核糖醇型磷壁酸的结构, 以采用 D-丙氨酸仅与核糖醇 C-3 或 C-4 一个羟基连接形成酯的模式为好。壁磷壁酸通过一个连接单位, 以磷酸二酯键与肽聚糖共价相连。对磷壁酸的功能应较适当地全面介绍。

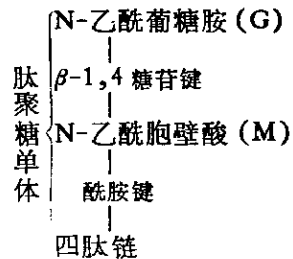
关键词 肽聚糖; 磷壁酸

在微生物学教学中, 细菌这一章占有重要的地位。随着细菌细胞壁化学组成和结构研究的进展, 有关细菌细胞壁的教学内容也就越来越增多, 越来越深入。为了讲好这部分内容, 我们参阅了一些兄弟院校编写的微生物学、国外微生物学参考书以及有关的论文和专著, 从中吸取了许多有益的知识, 这是搞好我们教学的基础。然而, 从我们的教学实践中也还觉得有一些问题值得探讨, 现提出来供同行们讨论和参考, 不妥乃至错误之处, 恳请大家批评指正, 以便进一步改进教材编写, 提高教学质量。

(一) 肽聚糖的化学组成与结构

讲解细菌细胞壁, 首先要讲解它的主要成分——肽聚糖。除支原体以及近来被称之为古细菌的产甲烷菌、嗜盐菌等外, 几乎所有的细菌都有肽聚糖^[1-4]。对于肽聚糖的讲解, 我们参照了《细菌细胞壁的教学方案》一文^[5]。首先说明肽聚糖是由若干肽聚糖单体所组成的网目状大分子, 而肽聚糖单体又是由 N-乙酰葡糖胺(G), N-乙酰胞壁酸(M)和四肽链所组成。G 和 M 交替排列, 通过 β -1,4 糖苷键连接成聚糖链骨架, 四肽链则是通过一个酰胺键与 M 相连。四肽链与 M 之间的连接不是一个真正的“肽键”, 而是

一个酰胺键^[3,6]; 因为连接的双方, 一是氨基糖, 一是氨基酸。如若采用“假肽键”的提法^[7] 倒也可以。



不同种类的细菌的肽聚糖聚糖链骨架基本是相同的, 不同的主要是四肽链氨基酸的组成以及两条四肽链间的交联方式^[8,9]。四肽链一般可以用 R₁-D-谷氨酸—R₂-D-丙氨酸的通式所示^[4,10]。R₁ 大多是 L-丙氨酸, 少数是甘氨酸或 L-丝氨酸。而 R₂ 的变化较大, 可以是内消旋的二氨基庚二酸 (meso-DAP), L-赖氨酸, L, L-DAP, L-鸟氨酸, L-二氨基丁酸, 有时也可以是同型丝氨酸或 L-丙氨酸。四肽链第二位的 D-谷氨酸也可羟基化, 游离的 α -羧基可酰胺化或被甘氨酸等所取代^[9]。肽聚糖结构的多样性除了上述四肽链氨基酸组成不同

致谢: 陈知本教授审阅。

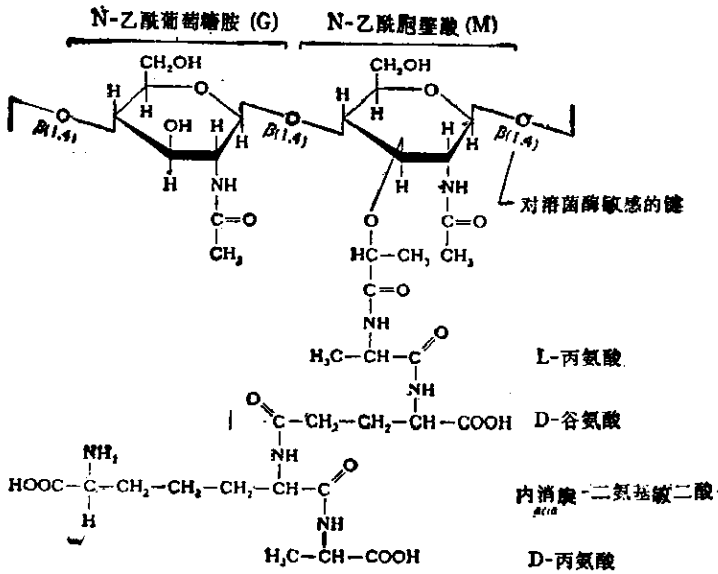


图1 *E. coli* 肽聚糖单体结构

外, 还在于两条四肽链之间的交联方式变化多端。Ghuysen 首先将肽聚糖划分成四种类型^[8]。Schleifer 和 Kandler 在这基础上, 根据四肽链氨基酸组成, 四肽链间交联时涉及第几位的氨基, 直接交联还是有桥肽参与以及桥肽的氨基酸组成等提出了两大类、六个亚类、十六个型的肽聚糖分类系统^[9]。从而可以看出不同种类的细菌肽聚糖结构变化甚大。然而对所有的 G⁻ 细菌, 其肽聚糖的结构又是相同的^[8,9]。通常以 *Escherichia coli* 肽聚糖单体结构(图1)作为一般模式^[7]。*Staphylococcus aureus* 的肽聚糖结构和大多数 G⁺ 球菌相同, 加之研究较为详尽, 当然以它的结构作为模式也是很好的。如上所述, 不同种类细菌的肽聚糖结构变化甚大, 我们认为在教材中, 不论是以 *E. coli* 或是 *Staph. aureus* 的肽聚糖(单体)结构为模式时, 最好在图例上明确注明细菌的名称。

这里值得注意的是, 如果要象图1那样把二个氨基糖, 四个氨基酸的结构以及它们的连接方式都表示出来的话, 就得要表示正确。其中的关键是四肽链中第二位的 D-谷氨酸和下一个氨基酸的连接方式。大家知道, D-谷氨酸有两个羧基, 一个是 α -羧基, 另一个是 γ -羧基。在四肽链中与下一个氨基酸的氨基 (*E. coli* 是

meso-DAP 的 L-中心氨基, *Staph. aureus* 是 L-赖氨酸的 α -氨基) 连接成肽键的是 D-谷氨酸的 γ -羧基, 而不是 α -羧基^[11-13]。这样就可以使我们避免出现用 D-谷氨酸的 α -羧基去与下一个氨基酸连接成四肽链的错误^[14]。

另一个问题是, 在描绘四肽链间交联模式时, 在一些文献中出现了在同一条聚糖链上与 M 相连的两条相邻四肽链间相互交联起来的图例。四肽链间的交联, 主要是两条不同聚糖链上与 M 相连的两条相邻四肽链间的相互交联。如若同一条聚糖链上的四肽链彼此都交联起来, 就无法与另一条聚糖链的四肽链交联了。那就不能形成一个网目状的结构, 当然也就丧失了肽聚糖保护细菌并赋予细菌一定外形的功能了。

此外, 如若把 G⁻ 细菌肽聚糖结构也画成是通过(五聚)交联桥肽而交联, 并作为 G⁻ 细菌肽聚糖结构模式图, 这显然是不适当的。

在我们的教学中, 通常采用下列图例(图2)来说明大肠杆菌和金黄色葡萄球菌肽聚糖单层的模式结构^[4]。如图2所示, G和M交替排列, 通过 β -1,4 糖苷键连接成聚糖链骨架, 与 M 相连的粗线代表四肽链。*E. coli* 的四肽链是 L-丙氨酸—D-谷氨酸—meso-DAP—D-丙氨酸

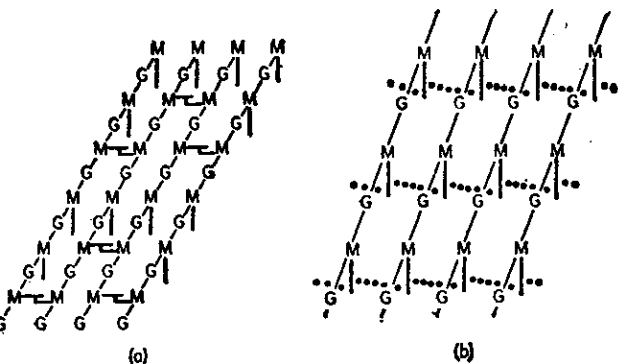


图2 肽聚糖单层结构模式图

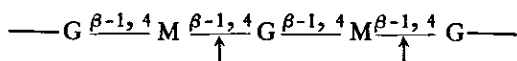
(a) 大肠杆菌 (b) 金黄色葡萄球菌

酸。一条四肽链的 meso-DAP 的 D-中心氨基与另一条四肽链的 D-丙氨酸的羧基形成肽键而直接交联 (M—M), 交联度低。Staph. aureus 的四肽链是 L-丙氨酸—D-谷氨酸—L-赖氨酸—D-丙氨酸, 二条四肽链间通过五聚甘氨酸桥肽链(黑圆点)而间接交联; 桥肽的一头连接 L-赖氨酸的 ϵ -氨基, 另一头连接着另一条四肽链的 D-丙氨酸的羧基, 交联度高。

(二) 溶菌酶和青霉素对肽聚糖的作用

由于溶菌酶和青霉素对肽聚糖的作用机理完全不同^[6], 从而我们认为分别在不同的图例中, 用不同的方式加以表示为好。

首先看一下溶菌酶的作用。大家知道, 在聚糖链骨架中有两种不同的 β -1, 4 糖苷键; 一个是 N-乙酰葡萄糖胺 C-1 和 N-乙酰胞壁酸 C-4 之间的 β -1, 4 糖苷键, 另一个是 N-乙酰胞壁酸 C-1 和 N-乙酰葡萄糖胺 C-4 之间的 β -1, 4 糖苷键, 而溶菌酶只水解后者, 对前者并没有作用。我们采用文献[8]中的图例并简化成下列形式, 用箭头表示溶菌酶的作用点。



国内外文献中早就有用箭头来表示肽聚糖水解酶的作用^[6,15]。而且有关溶菌酶的作用都明确指出, 溶菌酶仅水解 N-乙酰胞壁酸 C-1 和 N-乙酰葡萄糖胺 C-4 之间的 β -1, 4 糖苷键^[5,8,13,15]。如若说成: 溶菌酶水解 N-乙酰葡萄糖胺与 N-乙酰胞壁酸之间的连接或能切断 N-乙酰葡萄糖胺

与 N-乙酰胞壁酸之间的 β -1, 4 糖苷键的话就不甚确切。从而我们建议, 在今后编写教材时, 应把溶菌酶的作用明确地写成仅“水解 N-乙酰胞壁酸 C-1 和 N-乙酰葡萄糖胺 C-4 之间的 β -1, 4 糖苷键”。

有关青霉素对肽聚糖的作用机理比较复杂。早在 1956 年 Tipper 和 Strominger 就指出, 青霉素分子的一条边与新生肽聚糖肽侧链末端的酰基—D-丙氨酰—D-丙氨酸有着相同的构象。更为重要的是青霉素分子 β -内酰胺

环中的 —CO—N— 键与 D-丙氨酰—D-丙氨酸之

间的 —CO—N— 键有着相同的位置, 而后者正是

转肽反应中转肽酶所催化裂解的部位。从而青霉素作为转肽酶作用底物的结构类似物而发生竞争性的抑制作用, 转肽酶和青霉素结合形成青霉噻唑酰基酶而失活。青霉素抑制了转肽反应, 肽侧链不能发生交联, 肽聚糖不能正常合成而失去完整性, 最后菌细胞裂解自溶而死亡^[6,16]。

国外文献中常用 “#” 符号来表示抗生素或其他药物对某一酶促化学反应的抑制作用^[4,6,13], 从而我们认为采用文献[13]中的图例来说明青霉素对肽聚糖的作用点为好。如上所述, 青霉素的作用是抑制肽聚糖合成的最后阶段的交联作用——转肽反应, 不论是对 G⁺细菌还是对 G⁻细菌都是一样的, 只不过对 Staph. aureus 和 E. coli 肽聚糖合成的具体作用点不同而已。青霉素对 Staph. aureus 肽聚糖合成的作用点是抑制五聚甘氨酸桥肽链的最后一个甘氨酸的氨基与另一肽侧链的第四位的 D-丙氨酸的羧基之间形成肽键的转肽反应; 而青霉素对 E. coli 肽聚糖合成的作用点则是抑制一条肽侧链 meso-DAP 的 D-中心氨基和另一肽侧链第四位的 D-丙氨酸的羧基形成肽键的转肽反应(图 3)。

我们认为分别用不同的图例, 不同的方式表示溶菌酶和青霉素对肽聚糖的作用, 可以使明确两者完全不同的作用机理, 避免学

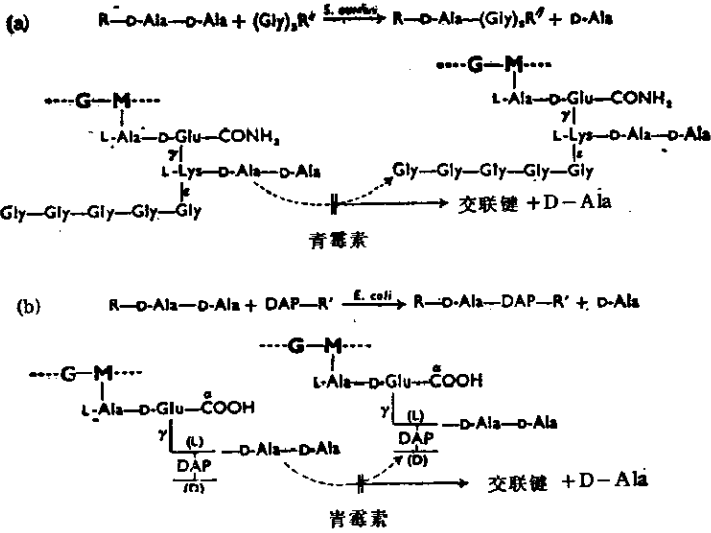


图3 肽聚糖合成的交联反应和青霉素的作用
(a) 金黄色葡萄球菌 (b) 大肠杆菌

生误解以为青霉素与溶菌酶一样是裂解箭头所示处的这一化学键呢(不少书上把青霉素对 *Staph. aureus* 的作用点错指在两个甘氨酸之间了)。第二,向学生明确指出,青霉素抑制转肽反应,这不论是对 G^+ 细菌还是 G^- 细菌都是一样的,只不过具体的作用点不尽相同。加之采用图3,这就弥补了一般教材中只在 *Staph. aureus* 图例上有青霉素作用点,而在 *E. coli* 图例上没有的不足之处。同时,我们还向学生补充讲解了两点:第一,至于 G^- 细菌对青霉素不如 G^+ 细菌那么敏感,这主要是 G^- 细菌外膜层的通透屏障作用,青霉素不易进入细胞而达到它的作用靶部位的原因^[17,18]。第二,由于青霉素是抑制肽聚糖的合成,从而仅对正在生长繁殖的细菌繁殖体(营养细胞)有作用,而对休止细胞(resting cell)没有作用;而溶菌酶对两者都有作用^[8]。

青霉素作用机制的研究仍在深入,现在认为青霉素作用的“生化靶”是细胞膜上一类蛋白质,叫做青霉素结合蛋白。而且青霉素的作用还与磷壁酸和自溶酶有关^[19-21]。

(三) 磷壁酸

磷壁酸一般分为核糖醇型磷壁酸和甘油型磷壁酸,分别由若干核糖醇和甘油通过磷酸二

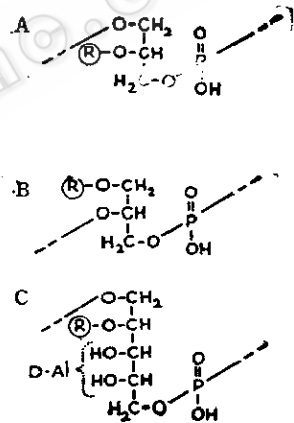


图4 磷酸重复单位

A、B: 甘油型磷壁酸 (R = D-丙氨酸或葡糖基)
C: 核糖醇型磷壁酸 (R = 葡糖基等)

酯键连接起来的线形长链分子(图4)。磷壁酸存在于 G^+ 细菌的荚膜、细胞壁之中,也与细胞膜相连接。若按磷壁酸结合的部位来分,可分成壁磷壁酸和膜磷壁酸。前者与细胞壁肽聚糖共价连接,可以是核糖醇型磷壁酸也可以是甘油型磷壁酸。而膜磷壁酸只是甘油型磷壁酸,连接在细胞膜的糖脂上。因其含有糖脂成分,又称为脂磷壁酸^[22-25] 从而可以看出脂磷壁酸仅是膜磷壁酸的同义词,它属甘油型磷壁酸,但不是甘油型磷壁酸的同义词。如果说成由于细

菌的甘油醇磷壁酸多聚体末端以共价键连接着糖脂成分,故又称脂磷壁酸。这就有将细菌甘油型磷壁酸整个与脂磷壁酸等同起来的误解。

磷壁酸,在一般条件下为大多数 G^+ 细菌所有。这里我们没有特别加以强调是 G^+ 细菌所特有的组分。因为 *Micrococcus luteus*, *M. flavus*, 和 *M. sodonensis* 完全缺乏磷壁酸,而是磷壁醛酸 (teichuronic acid)。再则,细菌磷壁酸的合成受环境条件的影响很大,可以完全由磷壁醛酸所取代^[26,27]。从而采用 G^+ 细菌含有磷壁酸和(或)磷壁醛酸是否更好些^[4,13]。

关于核糖醇型磷壁酸的结构,目前有两种模式,除了我们所用的图4模式为大多中外文献所见外,另一模式就是在核糖醇的碳2、3、4三个羟基上都画有R取代基^[3,28]。这个问题可以讨论,然而我们的图例采用了前者。其理由是,我们认为:这只能从发现磷壁酸并对它的研究作出重要贡献的科学家的论著中寻找答案^[5,12-25,29]。而且在其它许多文献中,核糖醇型磷壁酸结构的画法都一样,即D-丙氨酸只是和核糖醇的C-3或C-4位上的一个羟基,而不是同时有两个D-丙氨酸和两个羟基都形成酯^[30-32]。如若把核糖醇型磷壁酸结构说成“一般在核醇分子的C-2和C-3之间连有D-丙氨

酸,”并把图也作了相应的改变(图5);这种说法和图例是否欠妥?

壁磷壁酸与肽聚糖的连接 壁磷壁酸不是通过磷脂,而是通过磷酸二酯键与肽聚糖的N-乙酰胞壁酸呈共价连接^[4,33]。现在已经知道,壁磷壁酸是通过一个由三个甘油磷酸和一个N-乙酰葡萄糖胺所组成的连接单位,通过磷酸二酯键而与肽聚糖的N-乙酰胞壁酸的C-6位羟基共价连接^[3,27]。如图6所示,连接单位的N-乙酰葡萄糖胺C-1通过磷酸二酯键与肽聚糖的N-乙酰胞壁酸C-6共价相连,而C-4与甘油磷酸三聚体相连,而后者又与壁磷壁酸共价连接。

最后谈一下磷壁酸的功能。我们认为要提磷壁酸的功能的话,最好是适当地较全面地介绍一下。除了提出A族链球菌脂磷壁酸粘附作用可能与致病性有关外,重要的功能还有:1. 结合阳离子,特别是 Mg^{++} , 使细胞膜周围有一个合适的阳离子环境,一则有利于膜的稳定,二则以供与膜结合酶活性的需要。2. 调节细菌酶的活性,如自溶酶等。3. 是 G^+ 细菌重要的表面抗原成分。4. 也是某些噬菌体吸附的受体等^[10,13,34]。这样,学生就会对磷壁酸的多种功能有一个较为全面的认识。

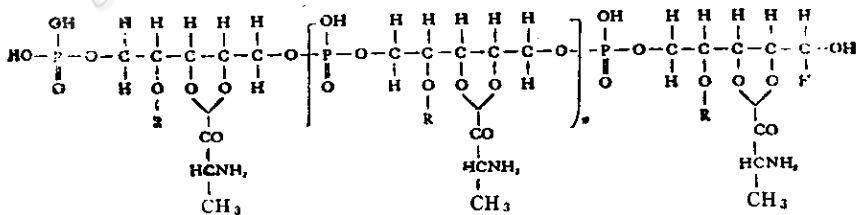


图5 核糖醇型磷壁酸

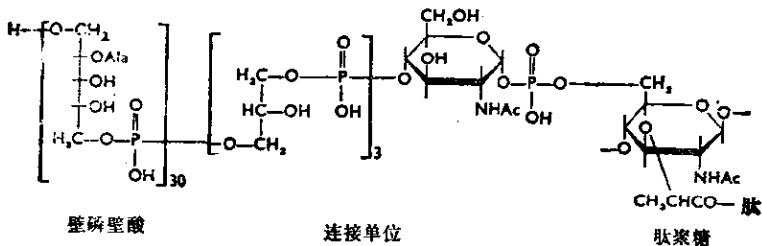


图6 壁磷壁酸与肽聚糖通过连接单位共价连接

参 考 文 献

- [1] 复旦大学生物系“基础微生物学专题选”编写组: 基础微生物学专题选, 高等教育出版社, p7. 1983.
- [2] T. D. Brock et al.: *Biology of Microbiology* 4th Ed Prentice-Hall, Inc., P765—766, 1984.
- [3] A. I. Braude et al.: *Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2nd Ed W. B. Saunders Company p4—6, p22—24, 1986.
- [4] E. F. Gale et al.: *The Molecular Basis of Antibiotic Action* 2nd Ed, John Wiley & Sons Ltd. P 49—63, P79—83, P 66, 1981.
- [5] 徐文玉: 微生物学通报, 12(5):234—238, 1985.
- [6] A. R. Archibald: *The Staphylococci* (Ed. by Cohen. T. O), John Wiley & Sons Inc., p75—109, 1972.
- [7] S. G. Wilson et al.: *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity Vol. I*, Edward Arnold Ltd, p 23—25, 1983.
- [8] J-M. Ghuyen: *Bact Rev.* 32: 425, 1968.
- [9] K. H. Schleifer & O. Kandler: *Bact. Rev.*, 36: 407, 1972.
- [10] A. H. Rose: *Chemical Microbiology* 3rd Ed, Butterworths & CO (Publishers) Ltd. p33—43, 1976.
- [11] 河西信彦等: 最新微生物学, 二訂, 講談サイエンティフイク P21—28, 1985.
- [12] S. M. Hammond et al.: *The Bacterial Cell Surface* Croom Helm Ltd. p1—6, 1984.
- [13] J. Mandelstam et al.: *Biochemistry of Bacterial Growth* 3rd Ed. Scientific publications, p47—66, 1982.
- [14] R. Y. Stanier et al.: *General Microbiology (or the Microbial world)*, 4th Ed, Prentice-Hall, Inc., p 318—330, 1976.
- [15] 徐浩等: 生物科学参考资料, 第十集, 科学出版社, P 172, 1978.
- [16] P. M. Blumberg et al.: *Bact. Rev.*, 38: 291, 1974.
- [17] N. A. C. Curtis et al.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 15: 332, 1979.
- [18] W. Zimmermann: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 18: 94, 1980.
- [19] A. Tomasz: *Annals of Internal Medicine*, 96: 502, 1982.
- [20] 查永春: 国外药学抗生素分册, 3(3):153, 1982.
- [21] S. Zigelbolm: *Drugs Exptl. Clin. Res.* 7(3): 169 1981.
- [22] J. Baddiley: *Proc. Roy. Soc. B.* 170: 331, 1968.
- [23] K. W. Knox & A. J. Wicken: *Bact. Rev.*, 37: 215, 1973.
- [24] A. R. Archibald: *Adv. Microb. Physiol.*, 11: 53, 1974.
- [25] A. J. Wicken & K. W. Knox: *Science*, 187: 1161, 1975.
- [26] D. C. Ellwood: *Biochem. J.*, 118: 367, 1970.
- [27] J. B. Ward: *Microbiol. Rev.* 45: 211, 1981.
- [28] W. A. Uolk & M. F. Wheeler: *Basic Microbiology* 4th Ed, J. B. Lippincott Company, p43—47, 1980.
- [29] J. Baddiley et al.: *Biochem. J.*, 85: 49, 1962.
- [30] E. Jewets et al.: *Review of Medical Microbiology*, 15th Ed. Lange Medical publications, p13—20, 1982.
- [31] 户田忠雄, 武谷健二编: 户田新细菌学, 南山堂, P17—23, 1978.
- [32] W. K. Joklik et al.: *Zinsser Microbiology* 17th Ed. Appleton-Century-Crofts, p 113—114, 1980.
- [33] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物学教研室编: 微生物学[第二版]高等教育出版社, P 16—25, 1987.
- [34] 牟希亚, 郭雁群: 国外医学微生物学分册, 5(1): 1—