

高等院校教学

细菌细胞壁构造的教学

辛明秀 黄秀梨

(北京师范大学生物系 北京 100875)

细菌的细胞壁位于细菌细胞的表面,是一层较为坚韧、略带弹性的结构,它除具有保护细胞、维持细胞外形和对大分子的运输具有选择性等作用外,还为细菌鞭毛提供可靠的支点,并和细菌的抗原性、致病性、对噬菌体的敏感性以及与几种重要抗生素的抑菌机制密切相关。因此细菌细胞壁的教学在微生物学教学中占有重要的地位。

1 应用比较的方法讲解肽聚糖的结构

肽聚糖(peptidoglycan)肽聚糖是细菌等原核生物所特有的成分,占细胞壁物质总量的40~90%。它由聚糖链、短肽和肽桥三部分组成^[1]。通过比较金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)肽聚糖的结构可了解和掌握革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌肽聚糖的结构特征。一边讲解一边板书。首先分别写出两株菌的聚糖链,即由N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸残基通过 β -1,4-糖苷键交联形成,一般每条聚糖链含有10~65个二糖单位,聚糖链形成了肽聚糖的主干。然后写出与之相联的短肽,即由D型氨基酸和L型氨基酸残基交替连接形成的短肽,一般结构为:L-丙-D-谷-L-赖-D-丙(D-丙)。不同的细菌其短肽的第三个氨基酸变化较大,金黄色葡萄球菌为L-赖氨酸,大肠杆菌为内消旋二氨基庚二酸(还有的细菌为高丝氨酸)。用彩色粉笔板书短肽与聚糖链中的N-乙酰胞壁酸之间的连接,以突出短肽与聚糖链的连接部位;用彩色粉笔板书两者短肽中的第三个氨基酸,突出两者短肽的第三个氨基酸的不同,这是金黄色葡萄球菌和大肠杆菌肽聚糖结构的第一点不同。不同聚糖链的短肽之间彼此交连才能形成多层的网状结构——肽聚糖。怎样才能实现这一交连?通过肽桥。许多革兰氏阳性菌的肽桥为一个短肽或一个氨基酸,如金黄色葡萄球

菌是通过五个甘氨酸,其一端与一条聚糖链短肽的第四个氨基酸(D-丙氨酸)连接,另一端与另一条聚糖链短肽的第三个氨基酸(L-赖氨酸)连接。大多数革兰氏阴性细菌则通过短肽链之间的直接交连,如大肠杆菌,其一条短肽链中的内消旋二氨基庚二酸的氨基与另一条短肽链上的第四个氨基酸的羧基之间形成肽键,从而将两条短肽链连接在一起。用彩色粉笔板书两者的肽桥及连接部位,突出两者的肽桥及连接部位的不同,这是金黄色葡萄球菌和大肠杆菌肽聚糖结构的第二点不同。同时指出在其他细菌还有另两种连接方式。如藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)的肽桥与其本身的肽尾结构相同且有1~2条。猩猩木棒杆菌(*Corynebacterium poinsettiae*)的肽桥由一个氨基酸(D-赖氨酸)组成,且连接方式是通过与前一肽尾的第四个氨基酸(D-丙氨酸)与后一肽尾的第二个氨基酸(D-谷氨酸)相连接^[2]。为了进一步理解肽聚糖的结构,放投影1,显示金黄色葡萄球菌和大肠杆菌肽聚糖的交联度及肽聚糖的层数。前者肽聚糖的层数多(20~40层),交联度高(75%以上亚单位交联),形成的网状结构紧密坚固。而后的肽聚糖层数少(1~2层),交联度低(约30%亚单位交联),因而形成的肽聚糖疏松。肽聚糖的层数和交联度的不同是两者肽聚糖结构的第三点不同。通过上述讲解和板书使学生理解了金黄色葡萄球菌和大肠杆菌肽聚糖的基本结构。是否所有细菌都含有肽聚糖?回答是,所有真细菌(Eubacteria)都含有,而古细菌(Archae)则不同^[3],它们大多生活在极端的环境中,其细胞壁中有的含有假肽聚糖,有的含有酸性杂多糖,有的则含有蛋白质和糖蛋白。此外,还有不含肽聚糖的无细胞壁的原核生物如支原体。

1996-12-12收稿

2 应用启发式教学讲解磷壁酸和脂多糖的结构

2.1 磷壁酸 (teichoic acid, 即垣酸) 首先简介: 磷壁酸是革兰氏阳性细菌细胞壁的特有成分, 其含量有时可达壁干重的 50%。磷壁酸是多元醇和磷酸的聚合物, 能溶于水, 主链有两种结构, 即由数十个磷酸和核糖醇或磷酸和甘油组成, 前者称核糖醇磷壁酸, 后者称甘油磷壁酸, 有的还含有氨基酸构成的侧链。放投影 2, 显示磷壁酸的结构。提问: 磷壁酸在细胞壁中怎样分布? 磷壁酸与肽聚糖的关系怎样? 放投影 3, 显示磷壁酸以末端的磷酸二酯键连接于 N-乙酰胞壁酸的第六位碳原子上。肽聚糖与磷壁酸的空间结构还不十分清楚。一般认为它们组成了薄的单层结构, 一层一层的重叠起来, 使壁具有坚韧性^[4]。少量甘油磷壁酸也分布在细胞膜中, 称为膜磷壁酸或脂磷壁酸, 它们同膜中的糖脂共价结合。放投影 4, 显示磷壁酸与肽聚糖及磷壁酸与细胞膜之间的关系。提问: 磷壁酸有哪些功能? 引导同学通过分析磷壁酸的结构理解其功能: 首先, 磷壁酸含有磷酸基团, 属阴离子聚合物, 可使膜保持高浓度的两价阳离子, 特别是 Mg^{2+} , 可维持膜的完整性; 其次, 磷壁酸是构成革兰氏阳性细菌表面抗原的主要成分; 另外磷壁酸还可作为噬菌体的受体。

2.2 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 脂多糖是革兰氏阴性细菌细胞壁外壁层的主要成分, 位于细胞壁的最外侧, 是革兰氏阴性细菌的内毒素和特有成分。放投影 5, 显示脂多糖的结构。脂多糖是由特异侧链、类脂 A、核心寡糖三部分组成的大分子复合物^[5]。

2.2.1 特异侧链: 由重复的寡糖单位组成, 每个寡糖由 2~6 个单糖组成。寡糖单位内的碳水化合物残基, 构成了每种内毒素和革兰氏阴性细菌所特有的特异抗原决定簇, 表达各自独特的抗原性, 称为菌体抗原或 O-抗原。不同种或型的细菌其特异侧链的组成和结构均不同。提问: 根据这一结构特点分析特异侧链在哪些方面可能具有重要意义? 引导同学分析脂多糖在细菌的分类鉴定、免疫学和临床诊断等许多方面的重要意义。

2.2.2 类脂 A: 由磷酸、葡萄糖胺双糖为主链和与之结合的长链脂肪酸组成, 通过糖苷键和核心区的 KDO (2-酮-3-脱氧辛糖酸) 相连。强调指出, 类脂 A 是脂多糖的主

要毒性成分, 革兰氏阴性细菌内毒素的中心, 也是脂多糖最保守的部分。提问: 由于脂多糖的毒性成分位于革兰氏阴性细菌细胞壁的外壁层中, 革兰氏阴性细菌在什么情况下其毒素才能发挥作用? 引导同学分析只有当革兰氏阴性细菌的细胞壁破裂时其毒性成分才能释放出来。

2.2.3 核心寡糖: 是由 5~10 种糖类、乙醇胺和磷酸盐组成的核心链。多个核心链通过磷酸酯键彼此连接。核心寡糖的变异性很小, 普通肠杆菌只有 6~7 种变异, 这部分具有较高的保守性。

在讲解了上述主要成分之后, 简要指出细菌细胞壁中还含有少量脂蛋白、脂类及蛋白质等成分。同时强调 N-乙酰胞壁酸、磷壁酸及二氨基庚二酸等是细菌等原核生物所特有的成分。

3 从局部到整体, 重点突出细菌细胞壁的结构

在讲解肽聚糖的结构时, 首先讲解聚糖链、短肽及肽桥。突出强调通过肽桥的连接使肽聚糖形成具有一定弹性的网状结构, 讲解磷壁酸时讲清它的结构及与肽聚糖之间的关系。讲解脂多糖时简要阐明特异侧链、类脂 A 和核心寡糖的结构及其相互之间的关系。提问: 肽聚糖、磷壁酸和脂多糖及其他成分在细菌细胞壁中是怎样分布的? 放投影 6: 革兰氏阳性细菌细胞壁结构示意图, 显示革兰氏阳性细菌的膜磷壁酸、壁磷壁酸、肽聚糖、周质空间及细胞膜之间的相互关系。并指出: 革兰氏阳性细菌的细胞壁特别厚, 约为 10~80 纳米, 肽聚糖的含量约占细胞壁干重的 30~95%。大多数磷壁酸与胞壁酸共价结合, 也有少量甘油磷壁酸与细胞膜的糖脂共价结合。由于磷壁酸是革兰氏阳性细菌表面抗原的决定因子, 因此它可能位于肽聚糖层的外侧。又由于表面抗原活性常因为肽聚糖的部分水解而增加, 故大多数磷壁酸可能位于细胞膜和肽聚糖之间, 或通过肽聚糖的小孔向上延伸。大多数革兰氏阳性细菌的细胞壁中没有蛋白质, 但也有例外。如多粘芽孢杆菌 (*Bacillus polymyxa*) 和蜡状芽孢杆菌 (*B. cereus*) 等的细胞壁中含有蛋白质。放投影 7: 革兰氏阴性细菌细胞壁结构示意图, 显示革兰氏阴性细菌的外壁层, 硬膜 (肽聚糖层) 和细胞膜之间的相互关系。革兰氏阴性细菌的细胞壁一般较薄, 如大肠杆菌只有 12

纳米。但革兰氏阴性细菌细胞壁的结构却比较复杂。电镜下观察可分为明显的三层,即外壁层、硬膜和脂膜。外壁层为双层,厚约6纳米,形同脂膜的磷脂层,但成分不同。由蛋白质、磷脂和脂多糖组成,其外侧由脂多糖、磷脂和镶嵌的蛋白质组成,内侧主要由磷脂组成。硬膜为2~5纳米厚的电子致密层,由肽聚糖组成。但肽聚糖含量低,仅有几层。如大肠杆菌只有1~2层,但对革兰氏阴性细菌起着很重要的作用。正是由于革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌细胞壁的结构存在差异,导致这两类细菌对革兰氏染色,对溶菌酶和抗生素的敏感性等多方面反应的差异。在上述讲解的基础上放投影8:革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌超薄电镜照片。前者显示革兰氏阳性细菌的肽聚糖层、细胞膜等结构,后者显示革兰氏阴性细菌的外壁层,硬膜(肽聚糖层)及细胞膜等结构。同学们很容易区分革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌细胞壁的结构。最后列表比较革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌细胞壁的结构。从而使学生掌握了两类细菌细胞壁的结构特点。

4 与实际相结合,恰当运用比喻

讲解肽聚糖的结构时结合青霉素和溶菌酶的作用位点及杀菌机理。这样,既加深了对肽聚糖结构的理解,又容易弄清青霉素和溶菌酶的杀菌机理,同时又增加了兴趣。溶菌酶可分解肽聚糖的 β -1,4糖苷键,将肽聚糖分解成许多N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸的双糖单位,从而破坏了细胞壁的骨架。青霉素的结构核心为 β -内酰胺环,它是肽聚糖单体五肽尾末端的D-丙氨酰-D-丙氨酸的结构类似物,它们两者可相互竞争与转肽酶的结合。转肽酶能催化一个肽聚糖单体的D-丙氨酰-D-丙氨酸与另一个肽聚糖单体中短肽的第三个氨基酸之间的交联,从而使肽聚糖形成网状聚合物。当转肽酶与青霉素结合后便不能再与D-丙氨酰-D-丙氨酸结合,从而使肽聚糖单体之间短肽与短肽的交联不能形成,即抑制了细菌细胞壁的合成。青霉素的这一杀菌作用可比作“以假乱真”。有些细菌如葡萄球菌的某些菌株能产生青霉素酶(β -内酰胺酶),可裂解青霉素的 β -内酰胺环而使青霉素丧失杀菌作用。即细菌菌株产生了对青霉素的抗药性。把细菌的这种抗药性比作“打假活动”。正是:“你有政策,它有对

策”。通过运用比喻,即提高了兴趣又加深了印象。

5 合理运用板书

板书这种古老的教学方法在现代教学中仍然发挥着不可取代的作用。运用合理,可使复杂的知识内容看起来一目了然。在讲解肽聚糖的结构时,用金黄色葡萄球菌和大肠杆菌作为革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌的代表,把两者对比起来讲解。首先在黑板上并列写出金黄色葡萄球菌和大肠杆菌,然后在两者下面分别写出肽聚糖的结构,并用彩色粉笔突出两者的肽聚糖中短肽的第三个氨基酸和肽桥及短肽之间交连的不同。从而对肽聚糖的结构及革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌肽聚糖结构的区别形成深刻的印象。

6 合理运用现代化教学手段

投影、幻灯及录象等现代化教学手段在现代教学中越来越显示出重要的作用。运用这些手段可节省时间,使抽象问题形象化,使复杂问题简单化并具有调动学生积极性的作用。在本节教学中将肽聚糖的交联度、磷壁酸及脂多糖的结构,革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌细胞壁的示意图及电镜照片等制成投影片,一边讲解一边放投影,从而使教学内容紧凑,一环紧扣一环,形象具体便于理解。

细菌细胞壁在微生物学教学中属于重点和难点内容。通过以上教学方法,可获得较好的效果。从而为以下内容的学习奠定了基础。这些内容是:细菌的革兰氏染色机理,原生质体和球形体的概念,革兰氏阴性细菌产生的内毒素,细菌的表面抗原,细菌表面的特异受体及某些抗生素的作用机理等。

参 考 文 献

- [1] Gerard J. Tortora, Berdell R. Funre and Christine L. Case. Microbiology. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc, 1986, 86~88.
- [2] 周德庆著. 微生物学教程. 北京: 高等教育出版社, 1993, 22~23.
- [3] Howard J. Rogers. Bacterial Cell Structure. Van Nostrand Reinhold (UK) Co. Ltd. 1983, 25~26.
- [4] 程皆能主编. 微生物生理学. 上海: 复旦大学出版社, 1989, 17.
- [5] 武汉大学、复旦大学合编. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 1987, 22~23.