

Universidade Federal da Bahia
Instituto de Ciências da Saúde
Depto. Ciências da Biointeração

METABOLISMO MICROBIANO

Prof. Dr. Paulo Fernando de Almeida
pfa@ufba.br

Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos
www.microbiologia.ufba.br

Importância do metabolismo

- ✎ Avaliar a diversidade e versatilidade bioquímica
- ✎ Relação microrganismos e doenças
- ✎ Papel dos microrganismos na natureza
- ✎ Explorar os microrganismos economicamente
- ✎ Cultivo, crescimento e controle dos mos.
- ✎ Desenvolvimento de métodos moleculares para diagnóstico e controle dos microrganismos
- ✎ Controle dos processos de deterioração de materiais
- ✎ Reciclagem da matéria

Por que estudar metabolismo?

Origem da vida? Presença de vida em outros planetas!

Reciclagem dos elementos químicos

Balço de Oxigênio no planeta

Fertilização dos solos, produção animal!

Efeito estufa – pum e arrotos do boi!!!

Combustíveis, Medicamentos, Fermentações

Deterioração dos materiais

bioinseticidas, biossolventes, biopolímeros e biotensioativos (reduzir a poluição)

Toxinas microbianas – usos

Bioterrorismo e biodefesa

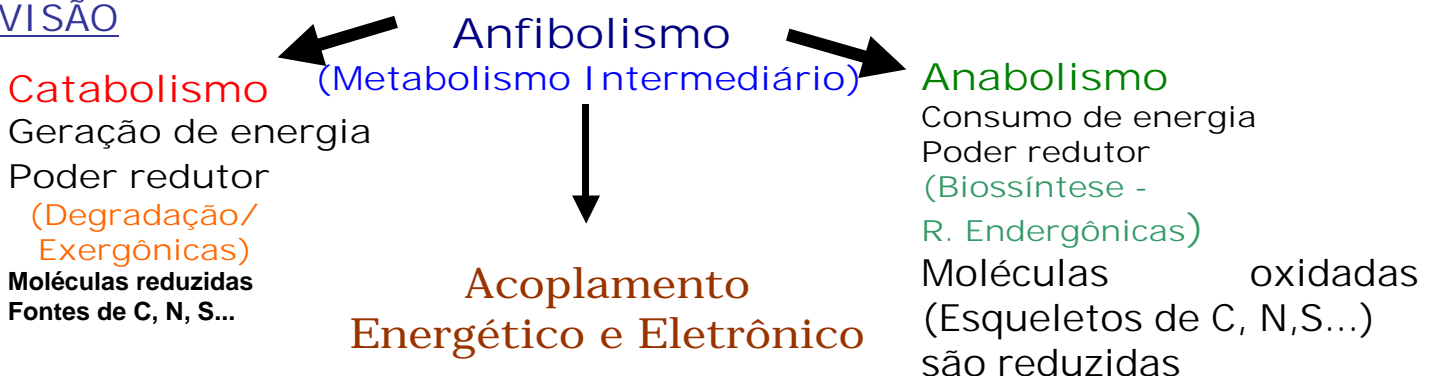
METABOLISMO MICROBIANO

A. NOÇÕES GERAIS

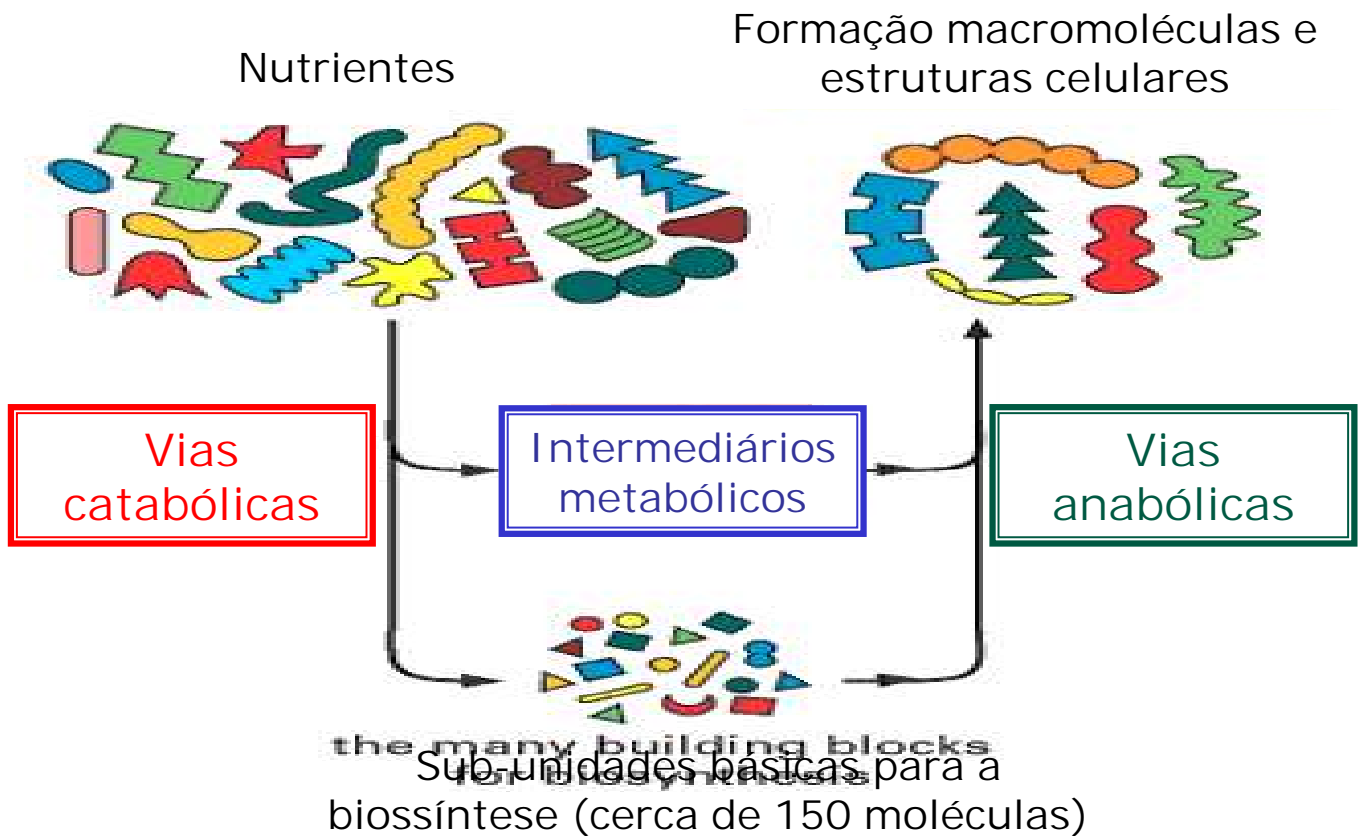
CONCEITO:

Transformações químicas celulares - produção e utilização de energia/poder redutor. Transporte, Produzir unidades básicas, polímeros (PS, Lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos), estruturas celulares, crescimento e reprodução, reparar danos e manutenção celulares, locomover-se; Armazenar nutrientes e excreção. Inter-relacionadas através do acoplamento energético e eletrônico (AEE)

DIVISÃO



Bases metabólicas



ENZIMAS

Biocatalizadores protéicos específicos.

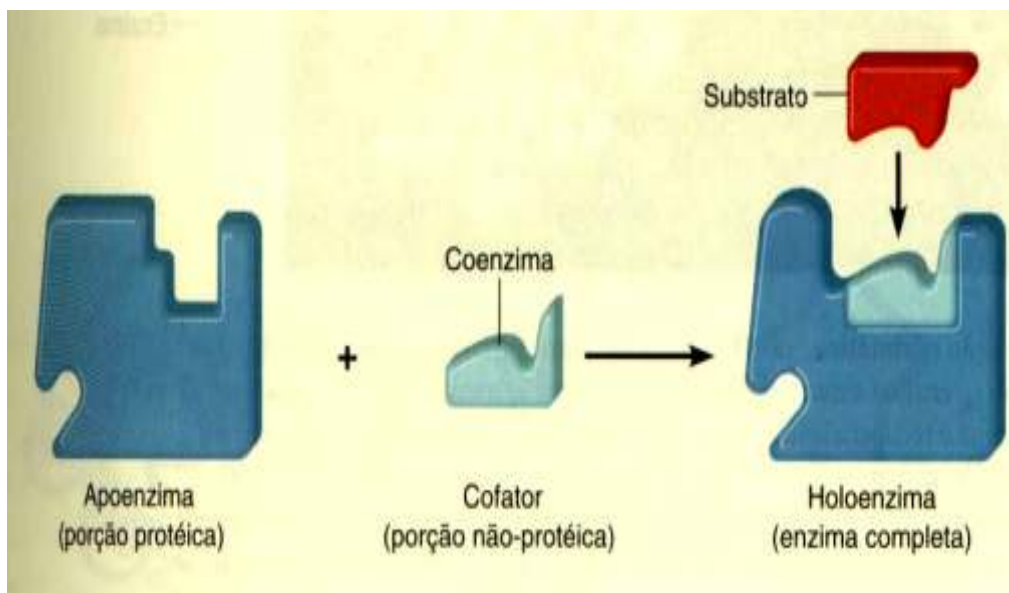
Constituição – Protéica - apoenzima + co
(HOLOENZIMA)

Local de ação: Extracelulares, periplasmáticas e intracelulares.

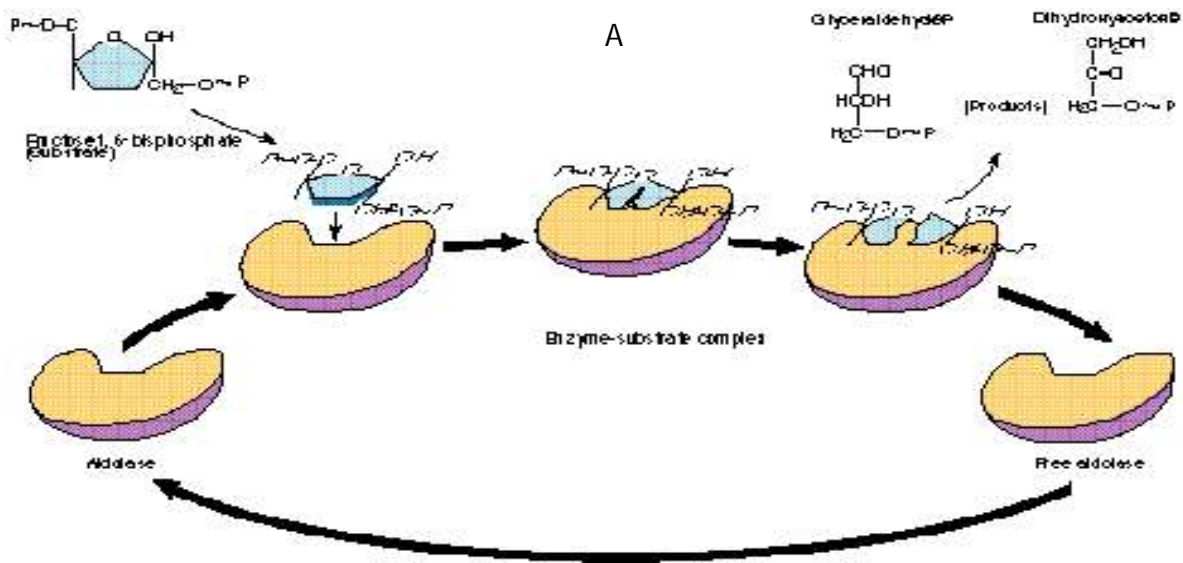
Propriedades físicas e químicas das enzimas

Principais classes de enzimas de acordo c/ reações químicas catalisadas.
(Tabela 1)

COMPONENTES DAS ENZIMAS



Mecanismos de ação enzimática



COENZIMAS (COFATOR ORGÂNICO)

NAD + (Nicotinamida adenina dinucleotídeo)

- reações catabólicas

NADP+ (Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato)

- reações anabólicas

FAD (Flavina adenina nucleotídeo)

FMN (Flavina mononucleotídeo)

Coenzima A (CoA) – papel na síntese e na degradação de lipídeos e em reações de oxidação do ciclo de Krebs

COFATOR INORGÂNICO (ÍONS METÁLICOS)

Auxiliam na catálise de uma reação pela formação de uma ponte entre a enzima e um substrato

Fe, Cu, Mg, Mn, Zn , Ca, Mo e Co

Mg²⁺: enzimas fosforilativas (transferem um grupo fosfato do ATP para outro substrato), ex: Enolase

íon fluoreto se liga ao Mg²⁺, que é o ativador da enolase – inibe o metabolismo de bactérias cariogênicas

Tabela 1. Classificação das enzimas em relação as reações químicas catalisadas

CLASSES	REAÇÕES CATALÍTICAS
1. OXIDORREDUTASES (deidrogenases, peroxidases, superóxido-dismutase)	Transferência de elétrons
2. TRANSFERASES (Transaminases, transcarboxilases....)	Transferência de grupos funcionais (metil, formil, carboxil, aldeídicos, OH, N, P...)
3. HIDROLASES (galdase, esterases, peptidases, fosfatases)	Reações de hidrólise (água)
4. LIASES (Descarboxilases, aldolases, desidratases)	Remoção de grupos a partir dos substratos, deixando duplas ligações ou substituindo-as
5. IOMERASES	Reações de isomerização (isômeros ópticos, geométricos)
6. LIGASES (DNA ligase..)	Reações união de duas moléculas com ATP.

Regulação metabólica

Atividade e síntese enzimáticas

(I. Pasteur, 1887 *A. Niger* (invertase), 1930 Adap/Constit., 42 Monod, 60 +Jacob)

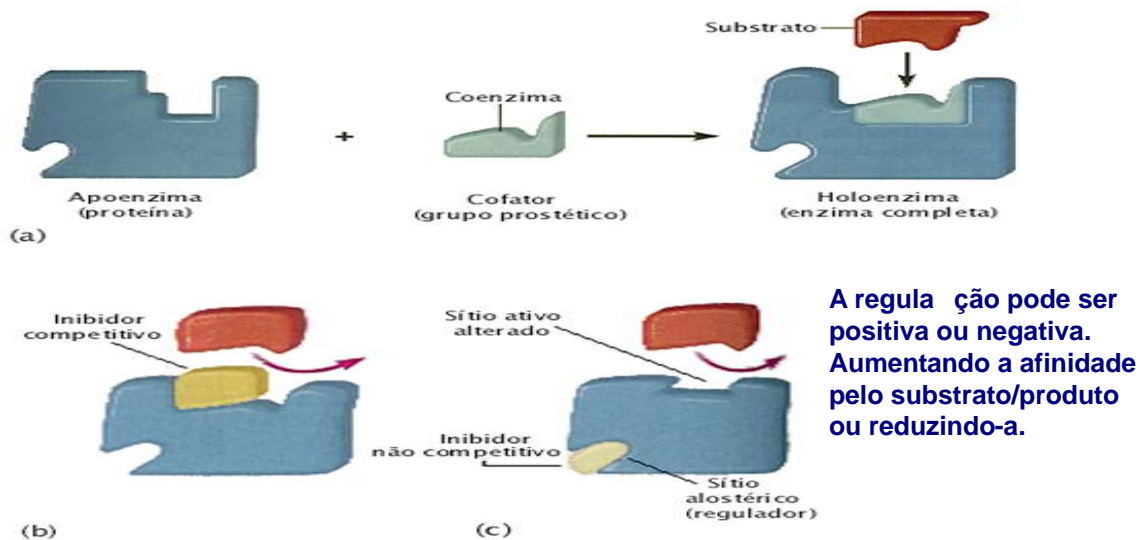


Figura 1. Constituição enzimática e ação de inibidores (b;c)

INIBIDORES ENZIMÁTICOS]



Inibição por retroalimentação

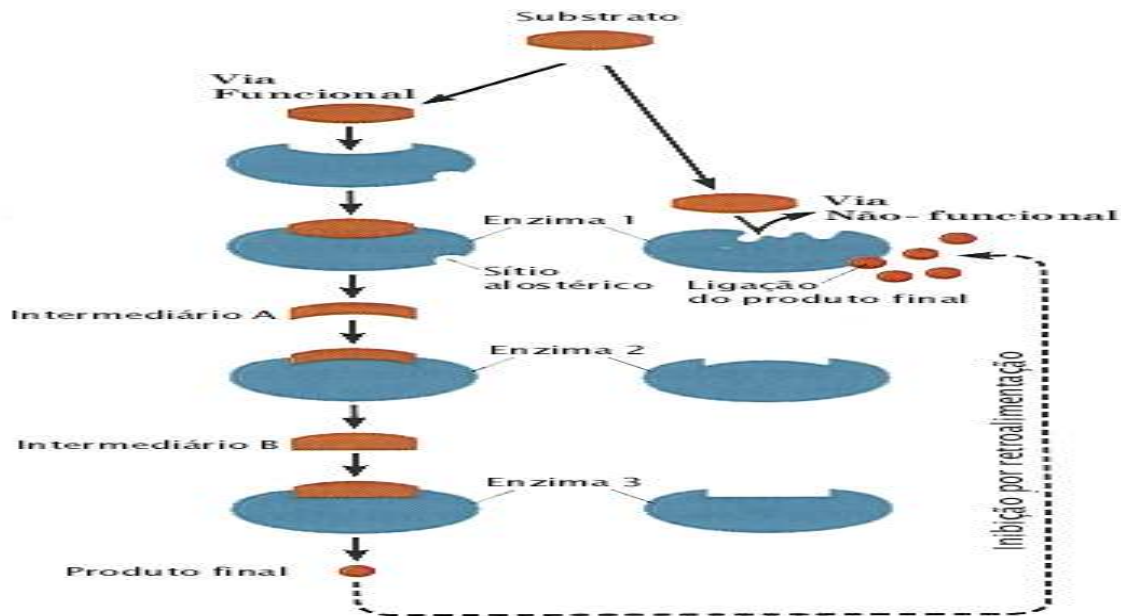


Figura 2. Inibição por retroalimentação.

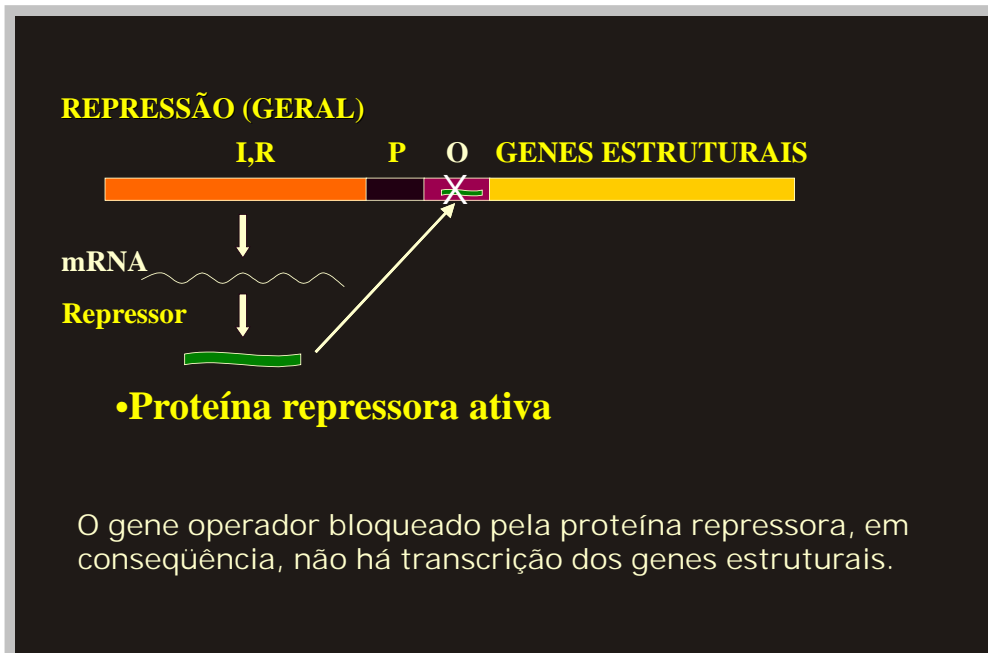
✎ Aplicações práticas e industriais!

Regulação da atividade enzimática

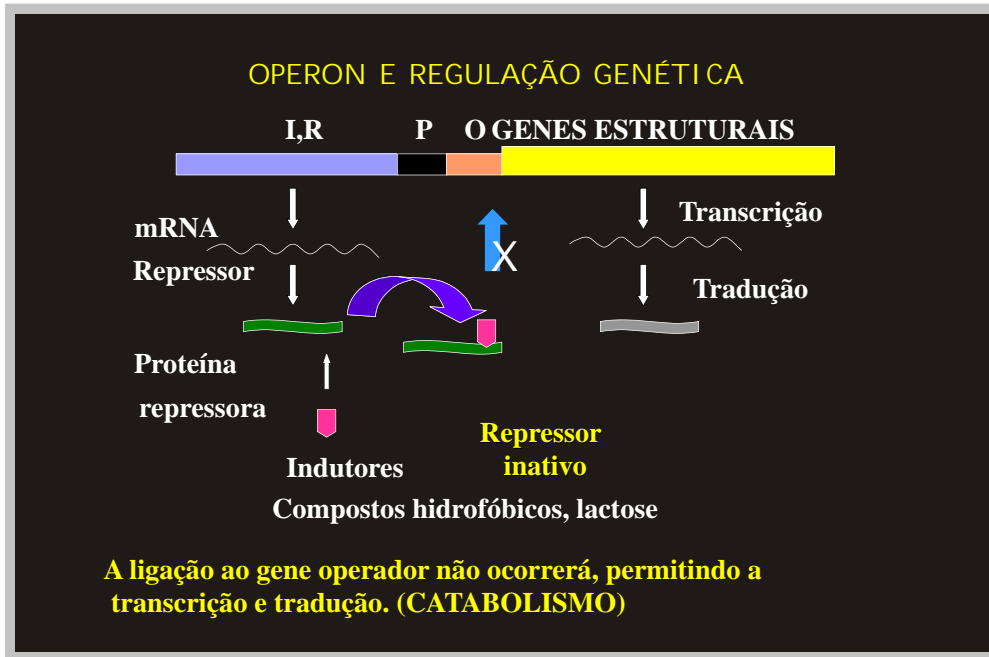
Enzimas constitutivas – metabolismo da glicose – produzidas qq que sejam as condições

Enzimas Indutíveis ou adaptativas– somente são produzidas quando o substrato se encontra presente no meio

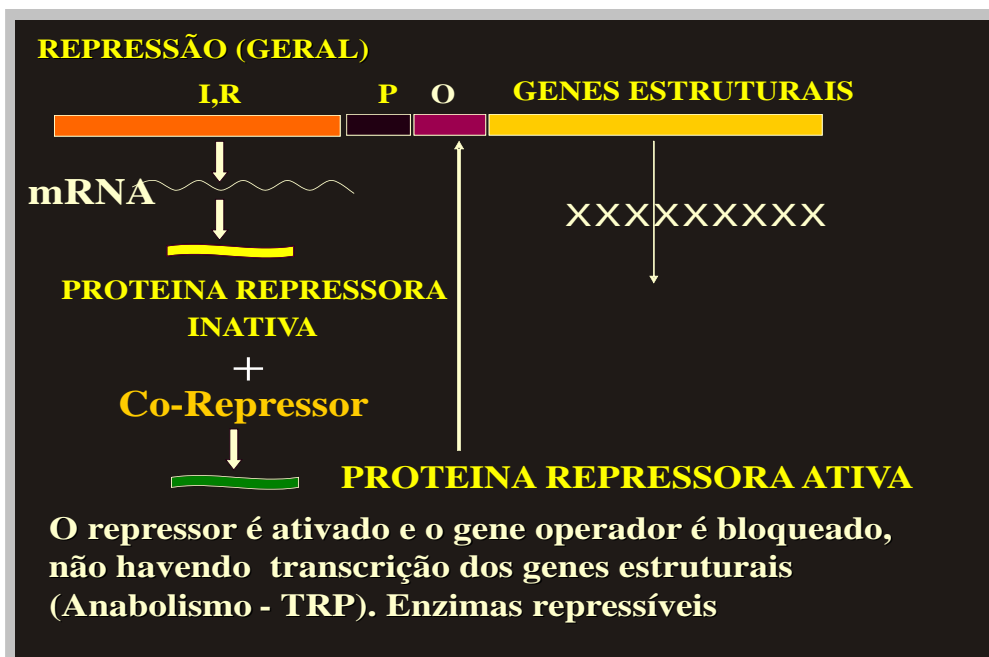
Regulação da síntese das enzimas - catabolismo



Regulação da síntese de Enzimas (Indução)



Regulação da síntese de enzimas (Repressão) Anabolismo ou biossíntese



B. PRODUÇÃO DE ENERGIA E PODER REDUTOR

Origem - Vias Catabólicas

- EMBDEM MEYROFF PARNAS (EMP)
- PENTOSE FOSFATO (HMP ou PP)
- ENTNER-DOUDOROFF (ED)
- B-OXIDAÇÃO – HC, LIPÍDEOS
- REAÇÃO DE STICKLAND – AMINOÁC.

ENERGIA QUÍMICA

EQ = Energia das ligações química das moléculas de nutrientes especiais (inorgânicos NH₂, H₂S, NO₂,..., Orgânicos. Glicose, AA, A. Grx...,) ao quebrarem-se libera-se energia.

Energia Radiante em EQ.

TRANSFERIDAS AO ADP FORMANDO ...

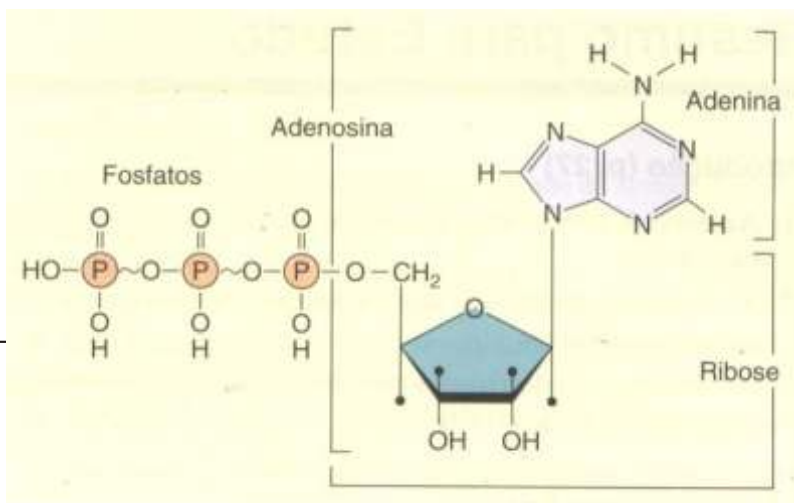
FORMAÇÃO, TRANSFERÊNCIA E ARMAZENAMENTO DE ENERGIA

✎ Tripofato de adenosina - ATP - ligações elevado teor energético - fosfodiéster - Moeda energética celular.

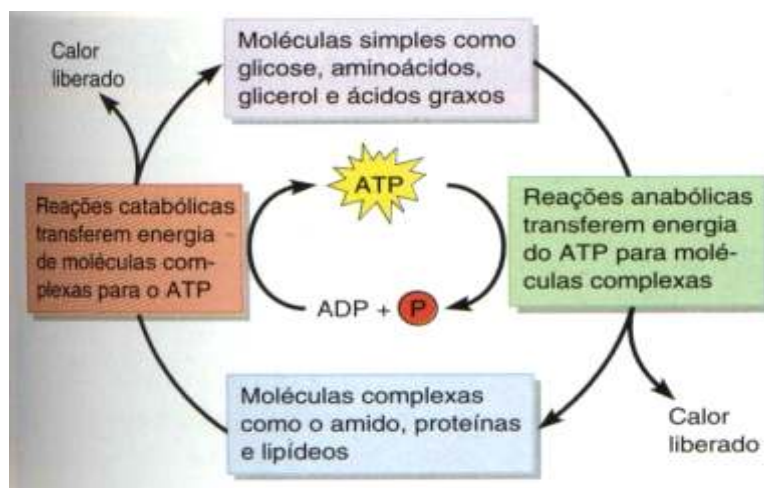
✎ Instável; Principal molécula transportadora de energia de todas as células

ESTRUTURA DO ATP

PAPEL



REAÇÕES



TEORIAS DA FORMAÇÃO DO ATP

ALTERAÇÃO CONFORMACIONAL DA ATPase

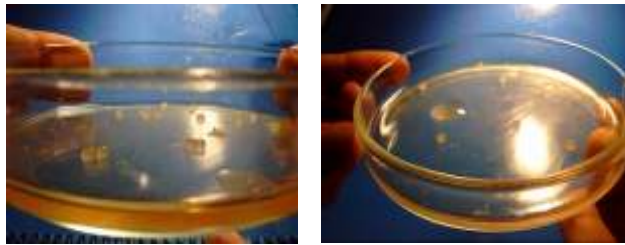
FORÇA PROTOMOTIVA

Energia do STE bombeia prótons (íon hidrogênio ou H^+) para fora da célula - MC não é permeável a prótons, acumulando-se meio externo (ácido e positivo) e déficit interno - energia potencial – PROTOMOTIVA

Canais específicos p/prótons ADENOSINA TRIFOSFATASE, ATP Sintase ou ATPase. Fluxo prótons para o lado interno da membrana forçando a enzima a fosforilar ADP formando ATP

Armazenamento de energia

Armazenamento de energia



Mutano e outros polímeros



C. MECANISMOS BIOQUÍMICOS PRODUTORES DE ENERGIA

FOSFORILAÇÃO EM NÍVEL DO SUBSTRATO

TRANSPORTE DE ELÉTRONS

FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

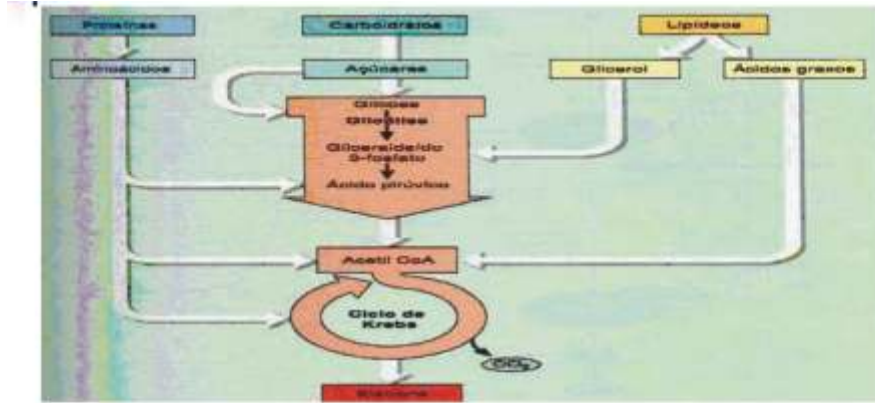
FOTOFOSFORILACAO

FOSFORILAÇÃO EM NÍVEL DO SUBSTRATO

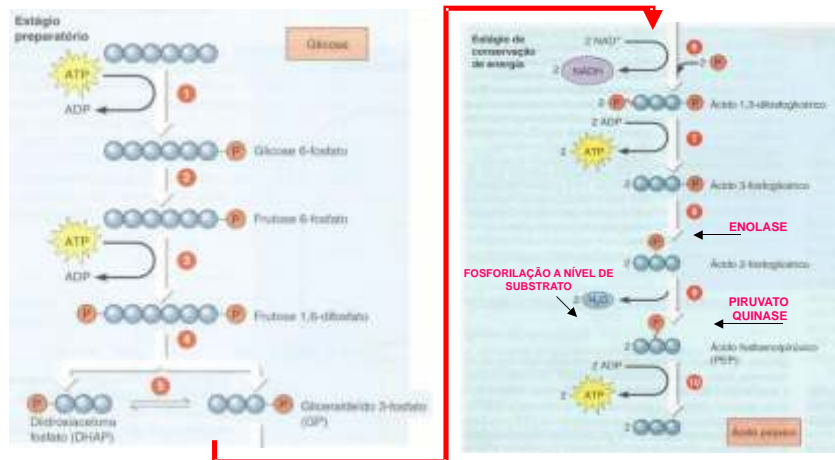
Rearranjo dos átomos na molécula do catabólito – composto (~P ou ~S) de alto nível energético, o qual através de enzima (s) apropriada rompe-se, libera energia, que é transferida ao ADP formando ATP

Ex.: Figura 8.

VIAS CATABÓLICAS



GLICÓLISE



Oxidação de 3P-Gliceraldeído

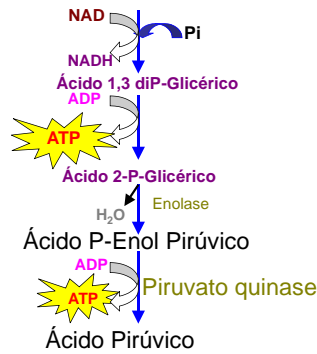
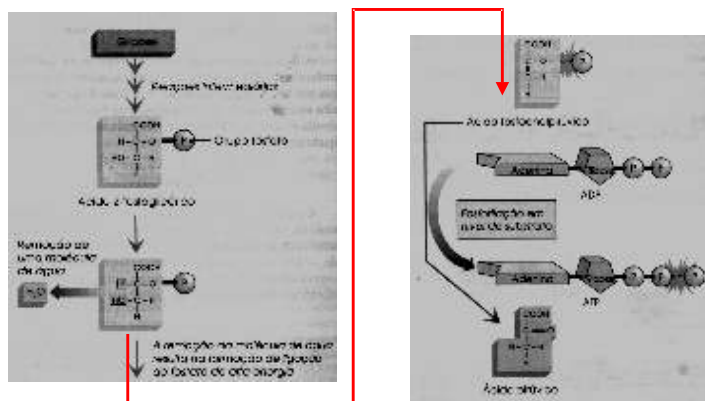
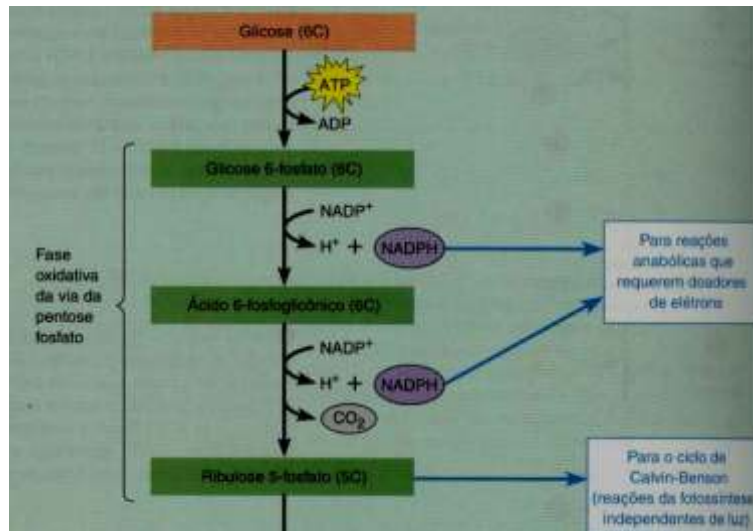


Figura 8. FOSFORILAÇÃO EM NÍVEL DO SUBSTRATO

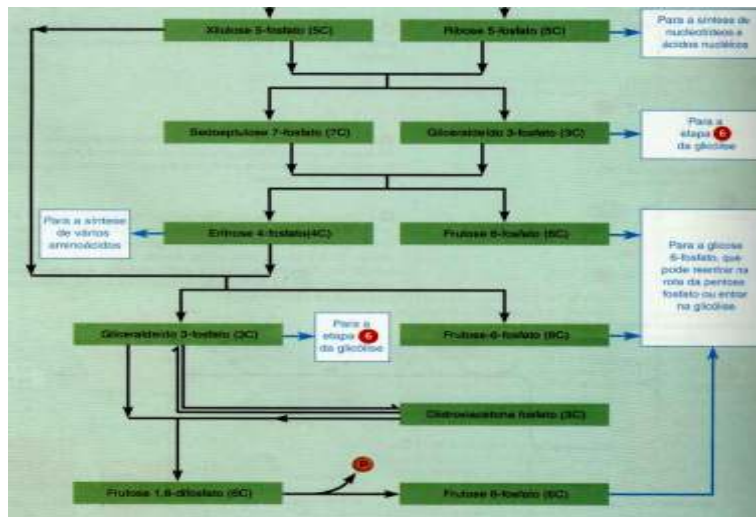
FOSFORILAÇÃO EM NÍVEL DE SUBSTRATO



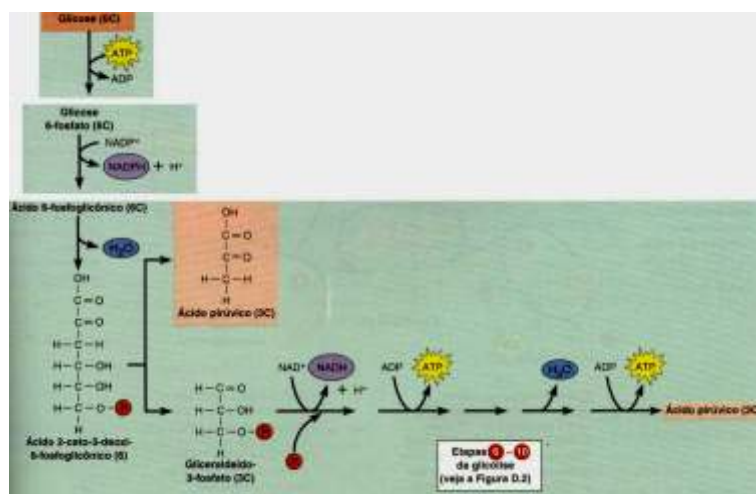
PENTOSE FOSFATO



Continuação PP



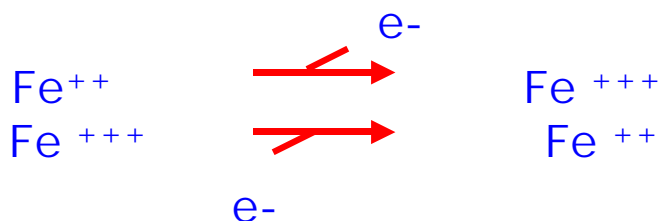
ENTNER-DOUDOROFF



TRANSPORTE DE ELÉTRONS

OXIDAÇÕES BIOLÓGICAS

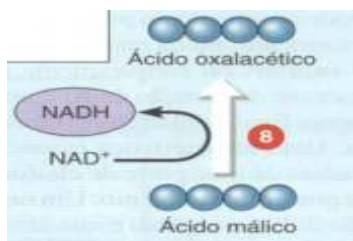
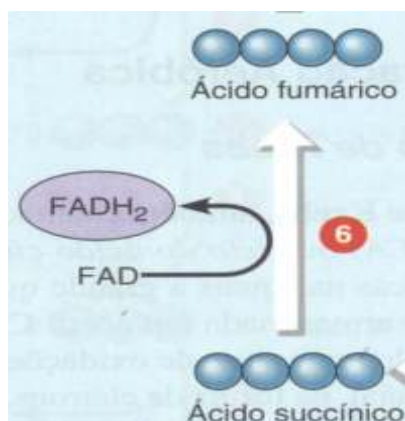
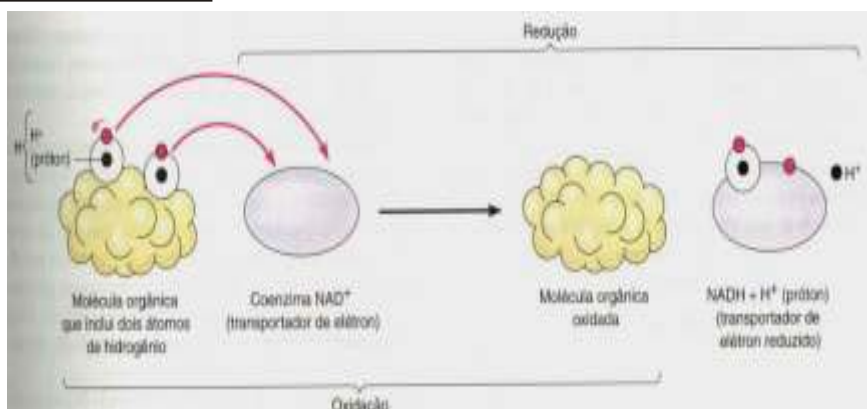
- Reações de oxidação e redução



Agentes redutores - Glicose, tioglicolato, cisteína, ac. ascórbico

Agentes oxidantes - Oxigênio, Nitrato, sulfato, carbonatos

OXIDAÇÃO BIOLÓGICA



GERAÇÃO PODER REDUTOR

Poder Redutor – Elétrons p/ reações redução (Biossíntese). Nucleotídeos piridínicos (NADH, FADH₂, NADPH).

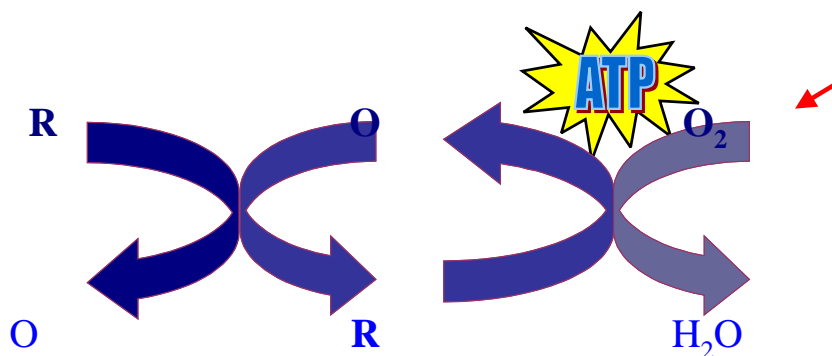
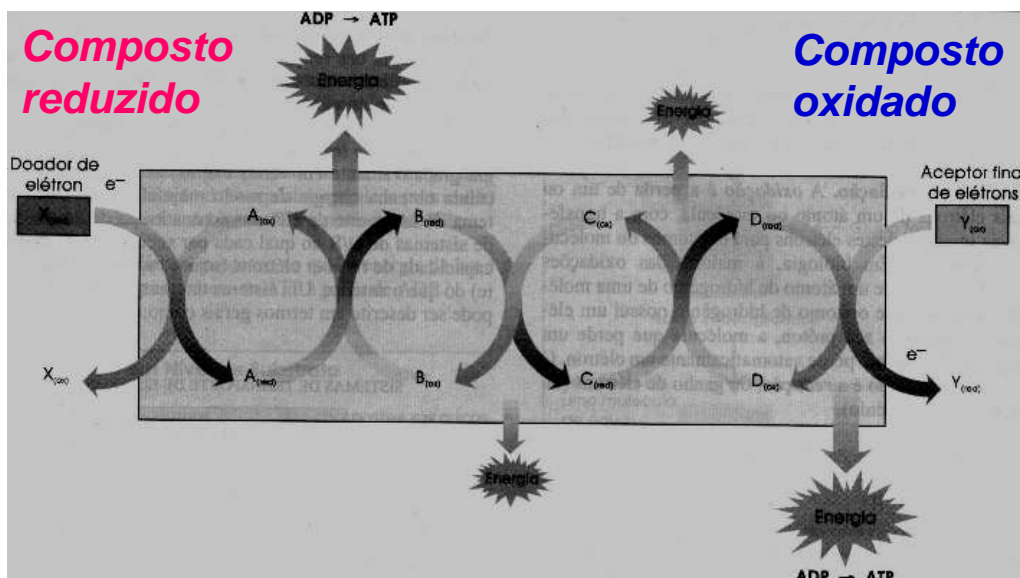
Importância nos anaeróbios.

Tabela 2. Potencial eletromotivo ou Redox (Eh) de pares de substâncias biologicamente ativas

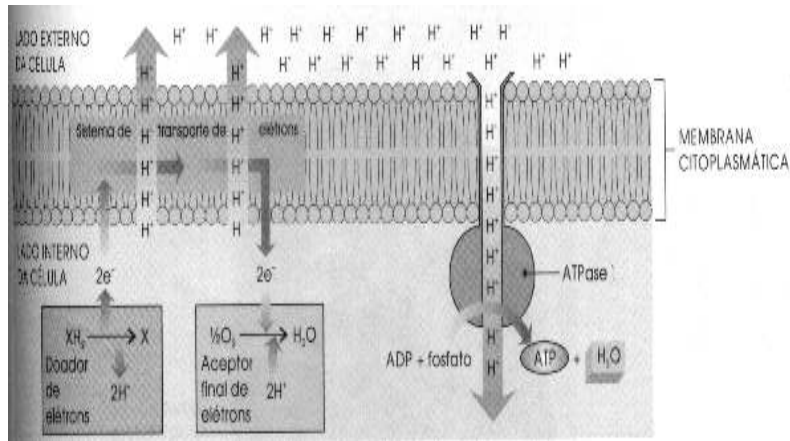
Par de substâncias redox: As flavoproteínas diferem amplamente quanto aos valores de E'_0			E'_0 (Volts)*
Centro Clorofila + e	→	Centro Clorofila	-0,60
$2H^+ + 2e^-$	→	H_2	-0,42
Ferridoxina (Fe^{+3}) + e	→	Ferridoxina (Fe^{+2})	-0,42
$NAD^+ + H^+ + 2e^-$	→	$NADH_2$	-0,32
$NAD(P)^+ + H^+ + 2e^-$	→	$NAD(P)H_2$	-0,32
$S + 2H^+ + 2e^-$	→	H_2S	-0,274
Acetaldeído + $2H^+ + 2e^-$	→	Etanol	-0,19
Piruvato + $2H^+ + 2e^-$	→	Lactato ⁻²	-0,18
$FAD + 2H^+ + 2e^-$	→	$FADH_2$	-0,18* [1]
Oxalacetato ⁻² + $2H^+ + 2e^-$	→	Malato ⁻²	-0,166
$FAD + 2H^+ + 2e^-$	→	$FADH_2$	-0,03*
Fumarato ⁻² + $2H^+ + 2e^-$	→	Succinato ⁻²	-0,031
Citocromo b (Fe^{+3}) + e	→	Citocromo b (Fe^{+2})	-0,075
Ubiquinona + $2H^+ + 2e^-$	→	Ubiquinona H_2	0,10
Citocromo c (Fe^{+3}) + e	→	Citocromo c (Fe^{+2})	0,21
Citocromo c_1 (Fe^{+3}) + e	→	Citocromo c_1 (Fe^{+2})	0,254
$NO_{-3} + 2H^+ + 2e^-$	→	$NO_{-2} + H_2O$	0,421
$NO_{-2} + 8H^+ + 6e^-$	→	$NH_{+4} + 2H_2O$	0,44
$O_2 + 4H^+ + 4e^-$	→	$2H_2O$	0,815

Sistemas de Óxido-redução (O/R) - Figura 4,
 Libera energia gradativa/série de sistemas de O/R, cada par sucessivo >capacidade receber elétrons (maior capacidade oxidante do que o anterior).
 Elétrons provenientes do doador são removidos pelo sistema O/R inicial; que é oxidado pelo próximo sistema O/R e ... Finalmente, os elétrons são transferidos ao receptor final de elétrons, usual/ composto oxidado do ambiente (DESASSIMILAÇÃO).

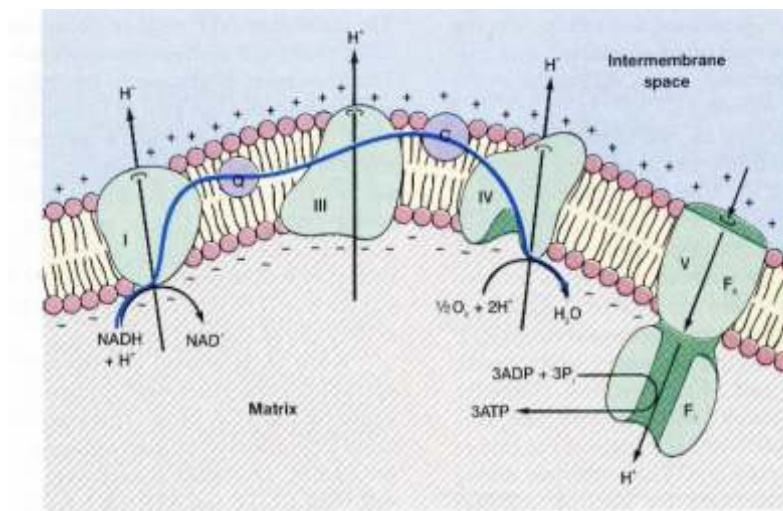
SISTEMA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS



Geração de força protomotiva



Transporte de elétrons, geração de força protomotiva e produção de ATP



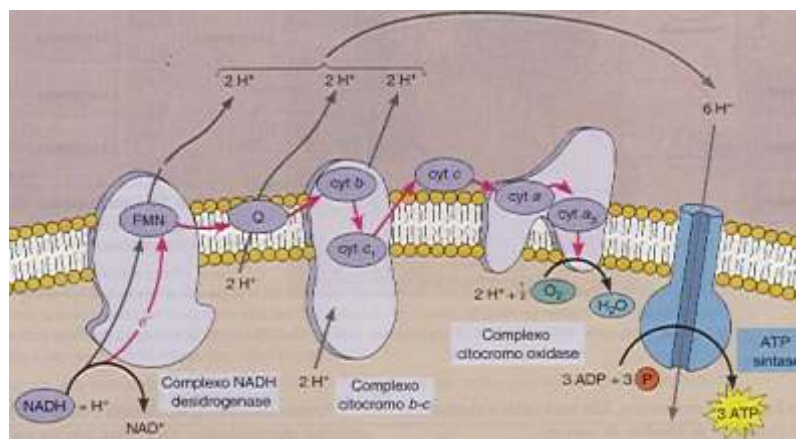
FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

Série integrada de reações de oxidação seqüenciais

STE - A ENERGIA É TEMPORARIAMENTE ARMAZENADA NA FORMA DE FORÇA PROTOMOTIVA;

A FP gera energia para síntese do ATP a partir do ADP / ATPase presente MC.

Transporte de elétrons, geração de força protomotiva e produção de ATP

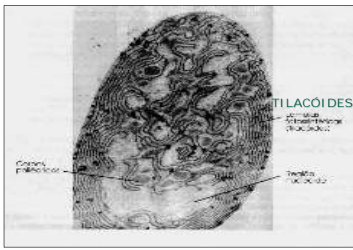


FOTOFOSFORILAÇÃO

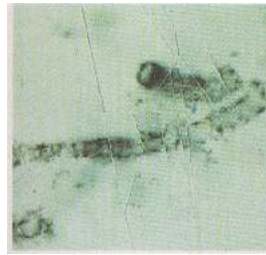
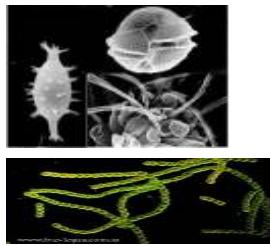
CÍCLICA –SOMENTE SÍNTESE DE ATP

ACÍCLICA – SÍNTESE DE ATP E PR (NADPH)

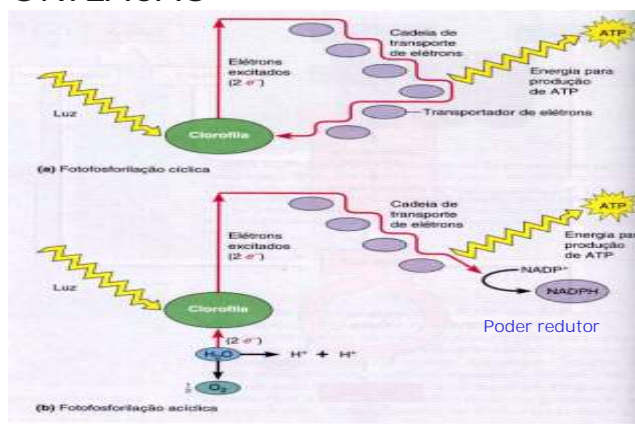
SÍTIOS DE FOTOFOSFORILAÇÃO



Anabaena azollae - cianobactéria



FOTOFOSFORILAÇÃO



D. PROCESSOS METABÓLICOS PRODUTORES DE ENERGIA

RESPIRAÇÃO

DOADORES DE ELETRONS SÃO COMPOSTOS ORGÂNICOS OU INORGÂNICOS, MAS OS RECEPTORES FINAIS DE ELÉTRONS SÃO SEMPRE INORGÂNICOS.

Procarióticos - MC – Mesossomos; Eucarióticos - mitocôndria

OXIGÊNIO ----- RESPIRAÇÃO AERÓBIA

NITRATOS, SULFATOS E CARBONATOS ----- RESPIRAÇÃO ANAERÓBIA

FOTOSSÍNTESE Bacterioclorofilas (# espectros de absorção de luz: Verde, Vermelha, marrom, ferridoxina)

OXIGÊNICA (H₂O)

ANOXIGÊNICA (H₂S, H₂...HA)

FERMENTAÇÃO PMPE EM QUE OS DOADORES E RECEPTORES

FINAIS e SÃO COMP.ORG.

Produto final: Láctica, Alcoólica, propiônica, butírica...

HOMO – um tipo produto final

HETERO - mista –E.coli - Enterobacter (Taxonômica)

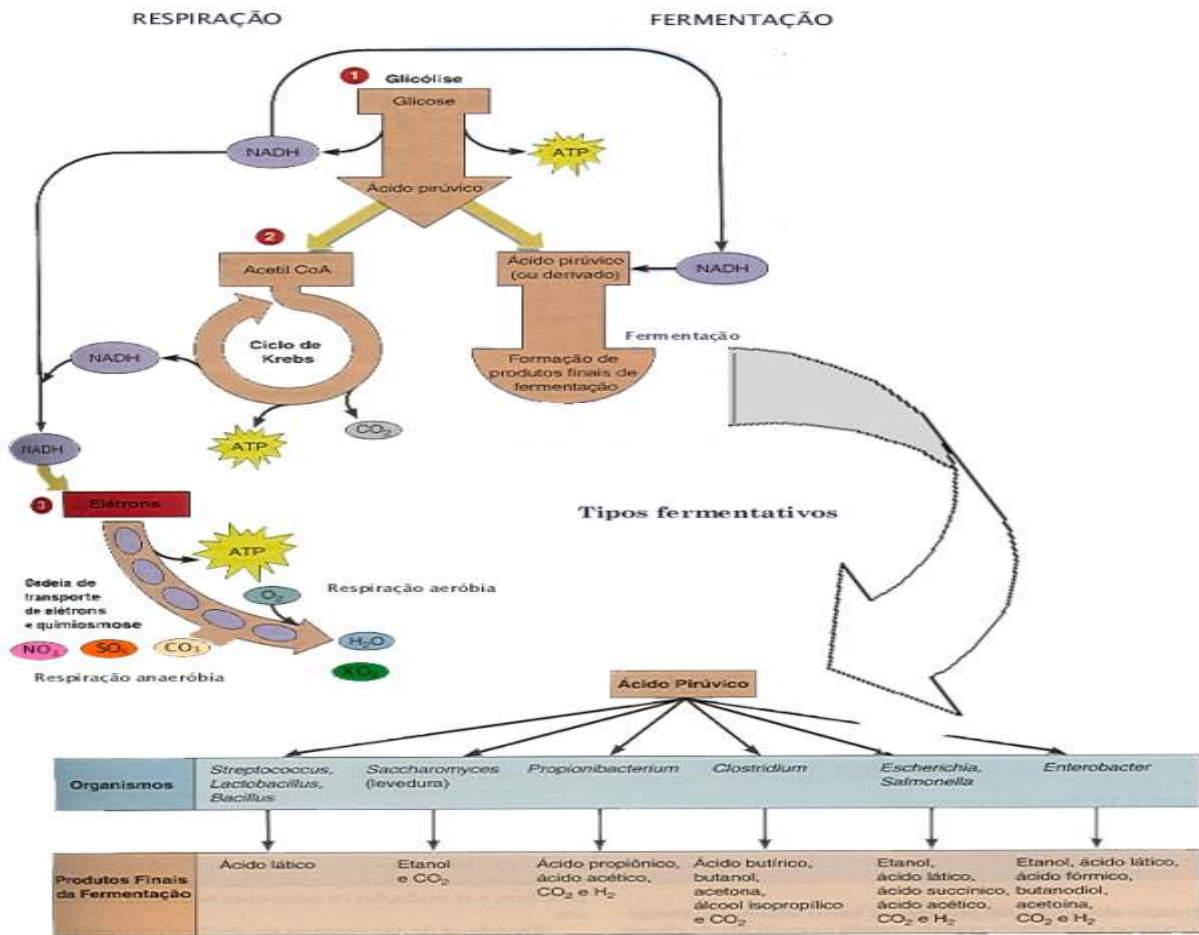
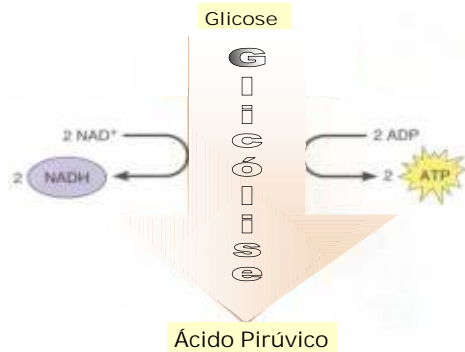
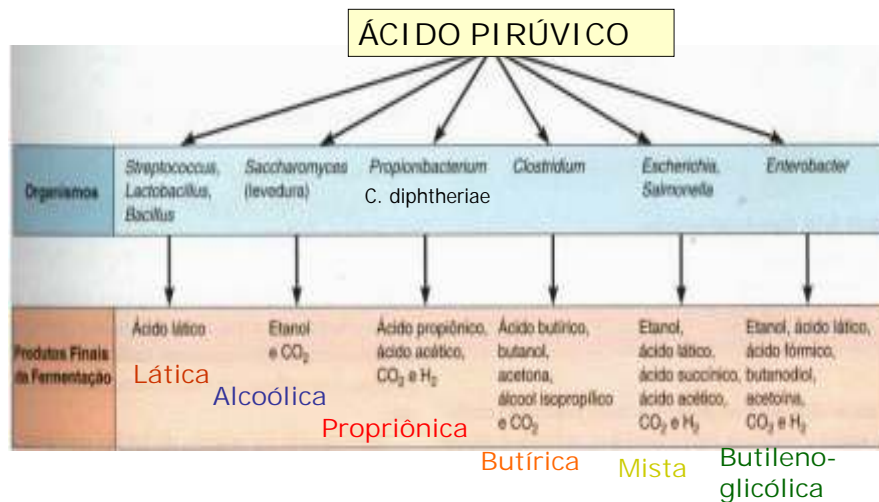


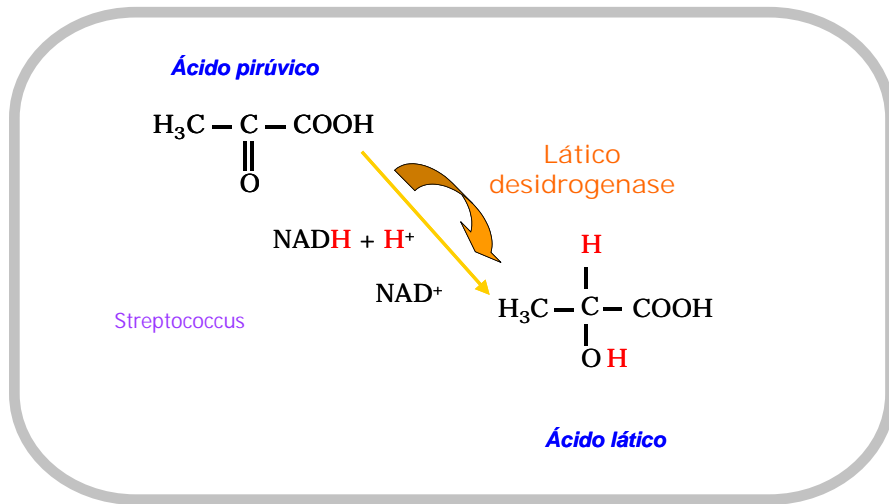
Figura 4. Processos respiratórios e fermentativos. Processos fermentativos



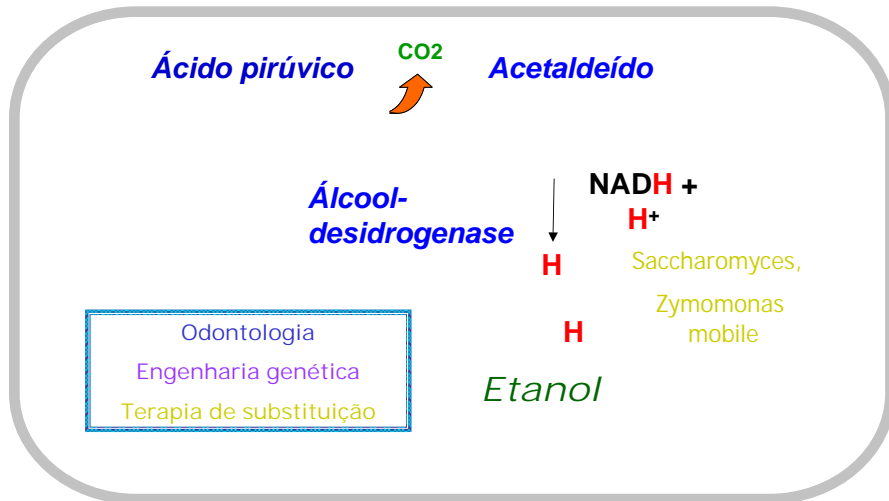
EIXO DOS PROCESSOS FERMENTATIVOS



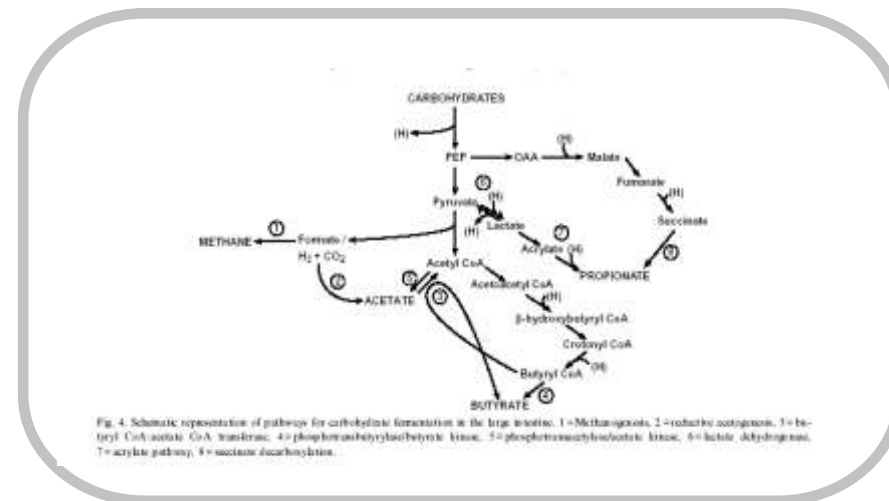
FERMENTAÇÃO LÁTICA



FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA



Processos fermentativos



IMPORTÂNCIA DA FERMENTAÇÃO

Econômica

- ✍️ Produção de alimentos, bebidas, combustíveis, Medicamentos ...\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$
- ✍️ Deterioração alimentos – \$\$\$\$ -
- ✍️ Reação STICKLAND – AA – Anaeróbios

Saúde

- ✍️ INFECÇÕES ANAERÓBIAS – PROGNÓSTICO RUIM – progressão rápida – bx rendimento energético do processo metabólico produtor de energia

Infeções anaeróbias

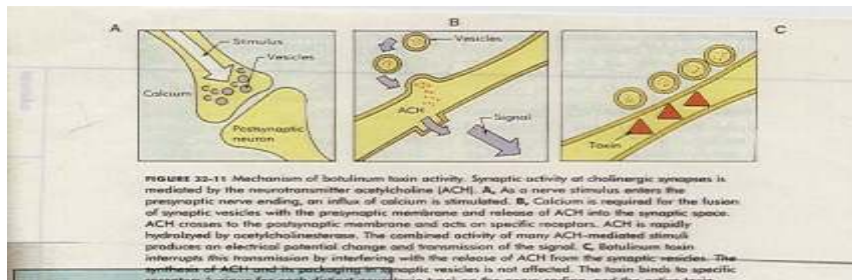
Gangrena



Atmosfera anaeróbia

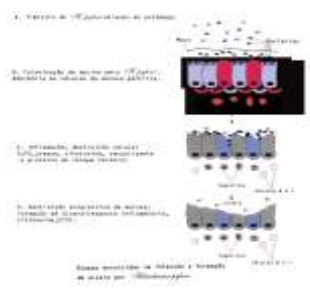


Mecanismos virulência

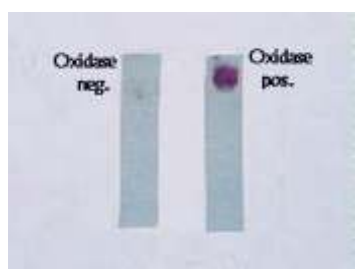


Infeção por Helicobacter

1



Aplicações práticas do Metabolismo: Provas bioquímicas

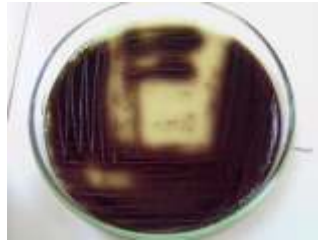


Oxidase

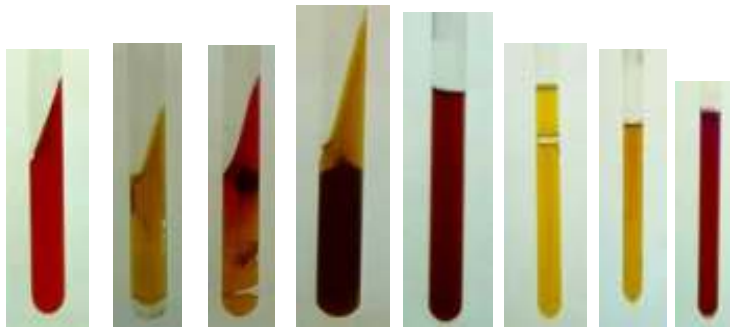


Catalase

Provas Bioquímicas

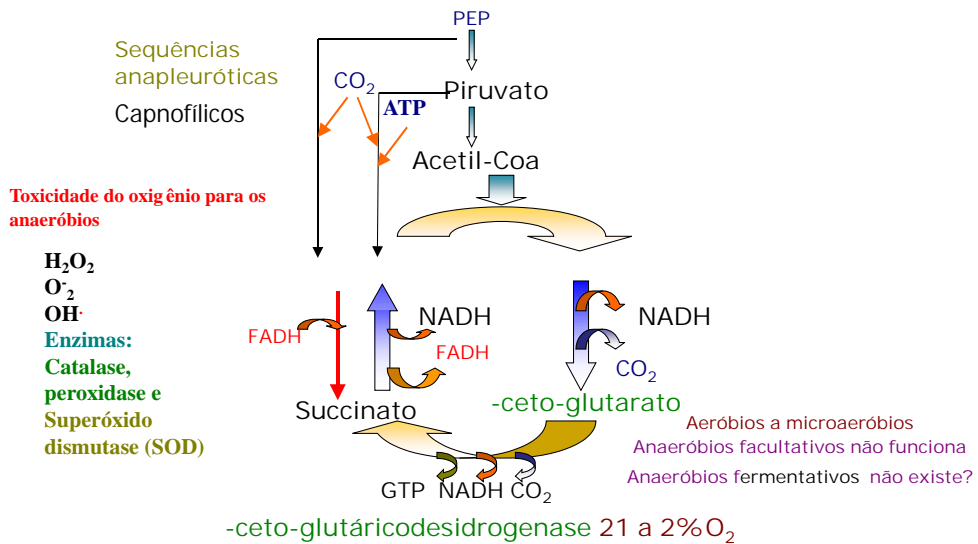


Meio de tríplice açúcar e ferro



METABOLISMO INTERMEDIÁRIO OU ANFIBOLISMO

CICLO DE KREBS



Funções do CK

- Produção de energia
- Geração de poder redutor
- Fornecer precursores para a biossíntese
- Catalítica

TOXIDADE DO OXIGÊNIO E ENZIMAS ENVOLVIDAS NA DETOXICAÇÃO

A redução completa de uma molécula de oxigênio até água requer quatro elétrons e, em processos seqüenciais, vários intermediários são formados : ânions superóxidos, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila

Os radicais reativos que são formados devem ser, de alguma forma, acomodados dentro da célula.

As defesas primárias são fornecidas por enzimas que capturam cataliticamente os intermediários da redução do oxigênio

Radicais superóxidos livres (O_2^-)



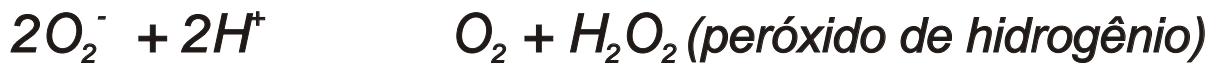
são formadas em pequenas quantidades durante a respiração dos organismos que utilizam o O_2 como aceptor final de elétrons

Apresentam alto grau de toxicidade para os componentes celulares devido a grande instabilidade fazendo com que sejam retirados elétrons de moléculas vizinhas

Todo organismo crescendo em meio contendo oxigênio produz uma enzima superóxido dismutase (SOD) que neutraliza estes radicais



Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)



É um produto das oxidações celulares e da superóxido dismutase

✍ O peróxido de hidrogênio contém o ânion peróxido (O_2^{2-}) que também é tóxico para as células

✍ Os microrganismos sintetizam enzimas capazes de neutralizar a ação tóxica – as mais conhecida é a catalase e peroxidase



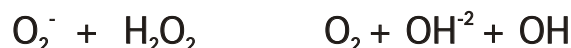
Radical hidroxila (OH)

É uma outra forma intermediária do oxigênio sendo muito reativa com a maioria das substâncias celulares

Pode danificar DNA, lipídeos das membranas e outros

Podem ser gerados devido às reações do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio ou devido a reações intracelulares

A remoção eficiente dos ânions superóxido e do peróxido de hidrogênio previne a formação dos radicais hidroxila



METABOLISMO BIOSINTÉTICO OU ANABOLISMO

METABOLISMO BIOSINTÉTICO OU ANABOLISMO

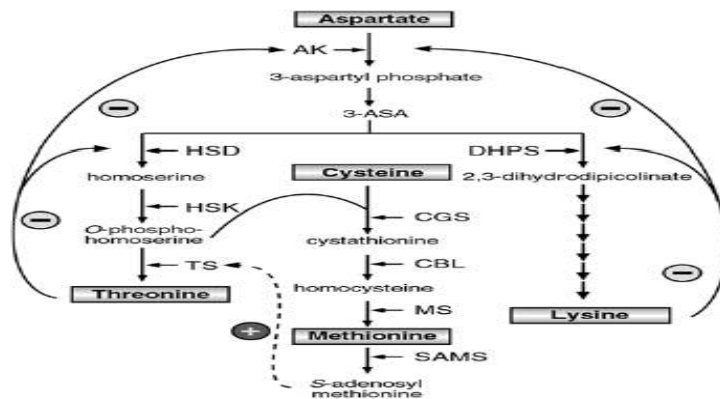
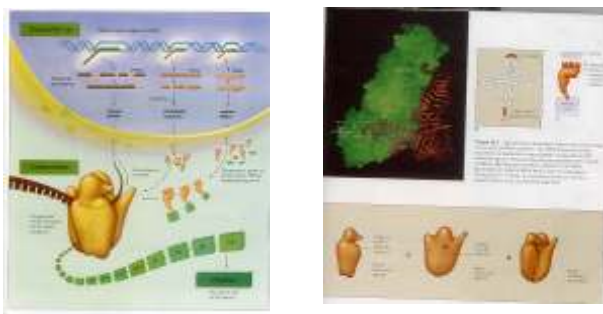
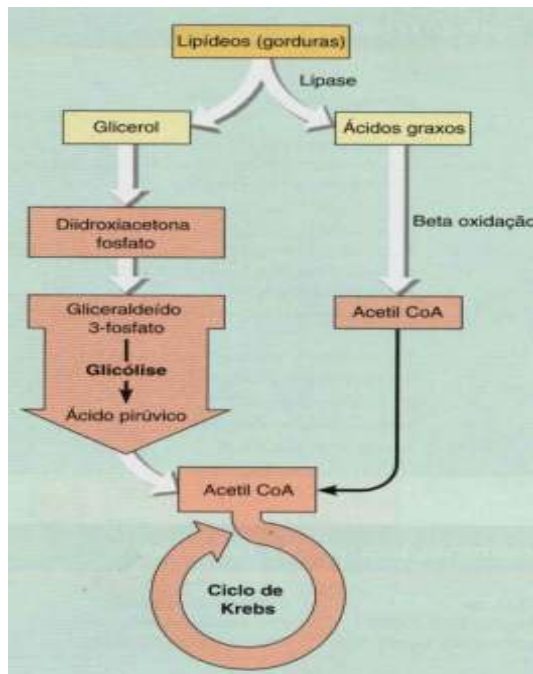


FIG. 1. The aspartate family biosynthetic pathway of the essential amino acids lysine, threonine, and methionine. Curved arrows with a (-) sign represent major feedback inhibition loops by the end-product amino acids. The dashed arrow with a (+) sign represents enzyme activation. Not all enzymes are shown. Abbreviations: AK, aspartate kinase; DHPS, dihydrodipicolinate synthase; HSD, homoserine dehydrogenase; HSK, homoserine kinase; TS, threonine synthase; CGS, cystathionine γ -synthase; CBL, cystathionine β -lyase; MS, methionine synthase; SAMS, S-adenosylmethionine synthetase.

Transcrição e tradução



CATABOLISMO DE LIPÍDEOS



CATABOLISMO DAS PROTEÍNAS

As proteínas são muito grandes para atravessarem as membranas plasmáticas

Os microrganismos produzem proteases e peptidases extracelulares para quebrar proteína em aminoácidos

Aminoácidos precisam ser convertidos para poder entrar no ciclo de Krebs: desaminação, descarboxilação e desidrogenação

VIAS METABÓLICAS DE USO DE ENERGIA (ANABOLISMO)

Estes processos bioquímicos são endergônicos – requerem energia

Fontes de energia : ATP(adenosina trifosfato),GTP

(guanosina trifosfato),UTP (uridina trifosfato) ou uma força protomotiva

Energia necessária para biossíntese de componentes químicos da células como DNA, RNA, proteínas ,peptideoglicano da parede celular e fosfolípídeos da membrana celular

Energia necessária para processos vitais como: mobilidade e transporte ativo de nutrientes através da membrana celular

Devido as habilidades biossintéticas variadas , os microrganismos apresentam grande diversidade em relação as exigências nutricionais

As vias biossintéticas começam com a síntese das unidades estruturais necessárias para a produção de substâncias mais complexas

As unidades estruturais são então ativadas – energia de moléculas de ATP

As unidades estruturais ativadas são unidas uma à outra para formar substâncias complexas que se tornam parte estrutural ou funcional da célula

BIOSSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS

Como um microrganismo sintetiza aminoácidos?

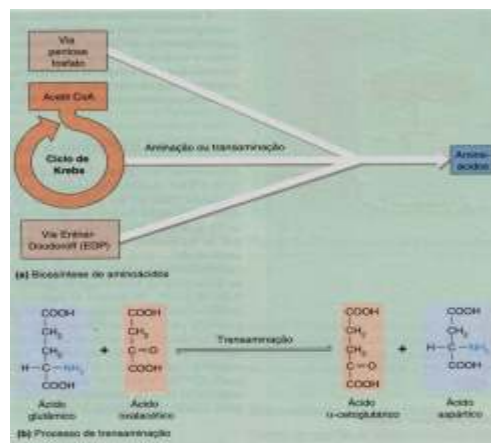
O nitrogênio gasoso (N₂) é utilizado apenas por algumas bactérias para síntese de compostos nitrogenados como exemplo amônia (NH₃) – fixação de Nitrogênio

Formas inorgânicas de nitrogênio (amônia, sulfato de amônia) – Amônia + composto contendo carbono para produzir aminoácidos

Aminação : adição de um grupo amino ao ácido pirúvico ou a um apropriado ácido orgânico do ciclo de Krebs converte o ácido a aminoácido

Transaminação : se o grupo amino advém de um aminoácido preexistente

BIOSSÍNTESE DE AMINOÁCIDOS



➤ Formas orgânicas de nitrogênio como aminoácidos – adicionados no meio de cultura

Síntese de aminoácidos

Ativação de aminoácidos

AA + ATP

AA- AMP + pirofosfato

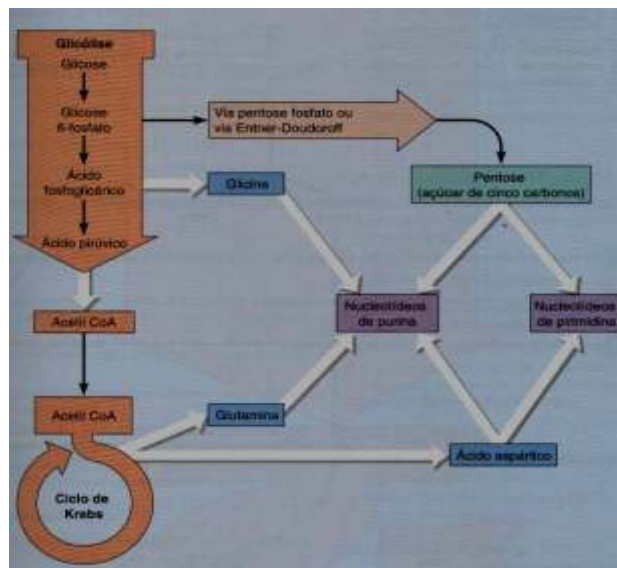
Síntese de proteína

DNA $\xrightarrow{\text{Transcrição}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{Tradução}}$ Proteína

BIOSSÍNTESE DE NUCLEOTÍDEOS E ÁCIDOS NUCLÉICOS



BIOSSÍNTESE DE NUCLEOTÍDEOS - PURINA E PIRIMIDINA



BIOSSÍNTESE DE CARBOIDRATOS

Microrganismos autotróficos são capazes de usar dióxido de carbono (CO₂) da atmosfera convertendo-o em um composto orgânico – Fixação de CO₂ - necessita ATP e NADPH₂

Fotoautotróficos (cianobactérias)

Produzem ATP utilizando energia luminosa – fotofosforilação

Obtêm NADH₂ – usando elétrons removidos da clorofila na presença de luz

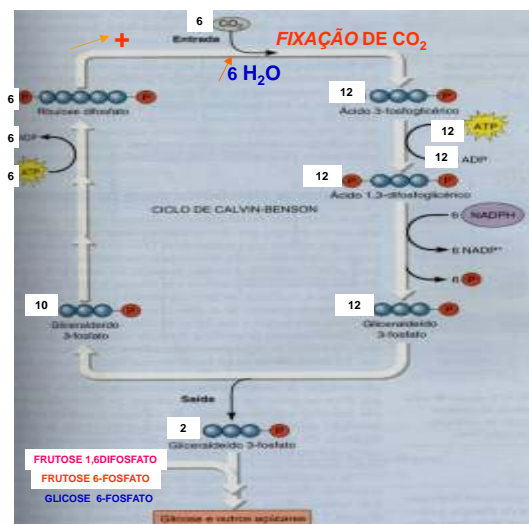
Quimioautotróficos (Nitrosomonas e thiobacillus)

Produzem ATP utilizando energia liberada durante a oxidação de compostos inorgânicos (H₂, amônia, nitrito, e compostos sulfurados reduzidos)

Obtêm NADH₂ - utilizando elétrons retirados durante a oxidação de compostos inorgânicos

PRINCIPAL MÉTODO DE FIXAÇÃO DO CO₂ CICLO DE CALVIN - BENSON

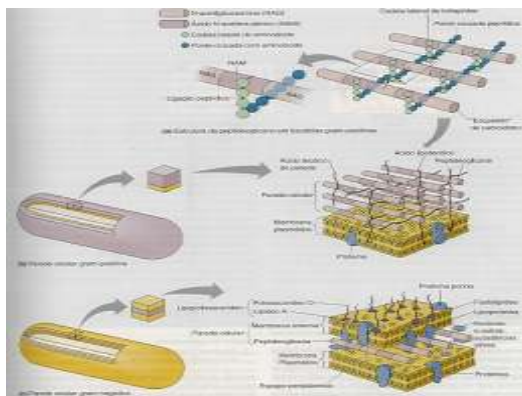
PRINCIPAL MÉTODO DE FIXAÇÃO DO CO₂ CICLO DE CALVIN - BENSON



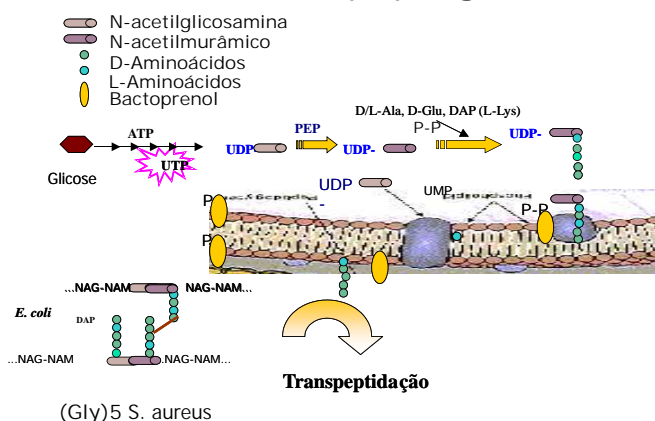
BIOSSÍNTESE DE PEPTIDOGLICANO DA PAREDE CELULAR

Etapas da Biossíntese

- 1º) Conversão de glicose em uma unidade estrutural ativada – N-acetilglicosamina-UDP (NAG-UDP)
- 2º) Produção de uma outra unidade estrutural ativada – ácido N-acilmurâmico-UDP (NAM-UDP)
- 3º) Formação da cadeia pentapeptídica – Adição de AA ao NAM-UDP
- 4º) Introdução do lipídeo carreador
- 5º) Adição de NAG-UDP ao NAM-pentapeptideo-lipídeo carreador – formação de uma unidade constitutiva completa do peptidoglicano
- 6º) Transporte da unidade ativada através da membrana citoplasmática para ser integrada à estrutura da parede celular
- 7º) Alongamento da cadeia de peptidoglicano
- 8º) Formação de ligações cruzadas rígidas para manter a forma da célula bacteriana - Transpeptidase

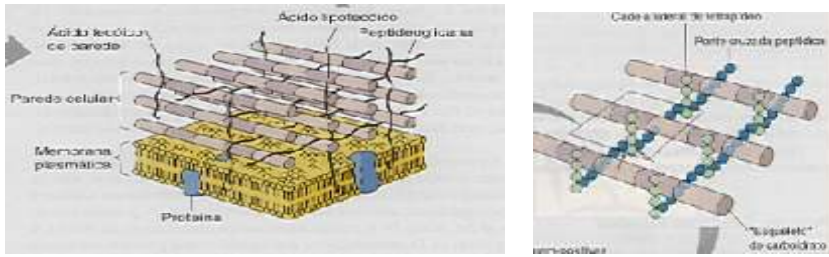


Biossíntese do peptoglicano



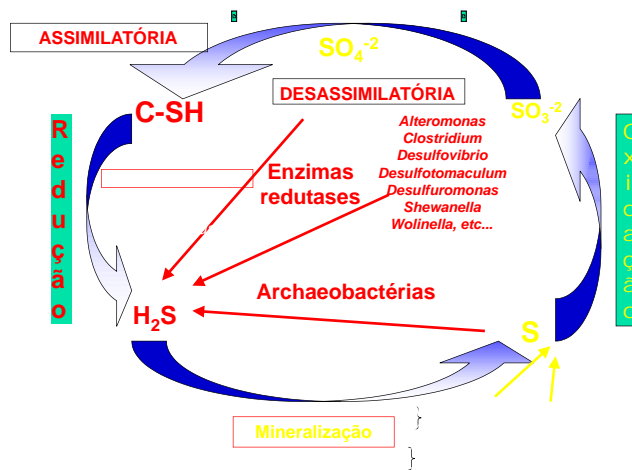
Mecanismos de transpeptidação

Enzimas (PBP)-
 Peptidil e glicosiltransferases;
 Endopeptidases, D-ala carboxipeptidases.
 Autolisinas
 (Sob controle -Repressão)



Ciclos dos Elementos Químicos

CICLO DO ENXOFRE



CARACTERÍSTICA GENÔMICA FUNDA.....

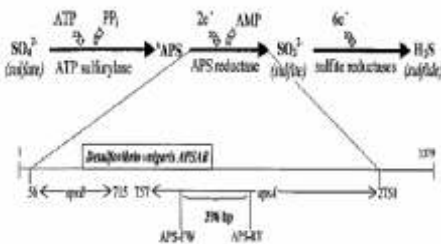
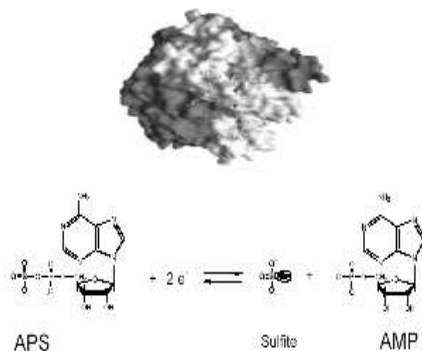


Figura 4. Bioquímica e genética da redução desassimilatória do Sulfato.

VERSATILIDADE METABÓLICAS



VIAS METABÓLICAS DA REDUÇÃO DE SULFATOS

