บทที่ 2
โครงสร้างละเอียดและส่วนประกอบทางเคมี
(Ultrastructure and Chemical Composition)

การนำกล้องจุลทรรศน์ซึ่งใช้แสงทำให้เกิดการขยายภาพ เช่น กล้องจุลทรรศน์ไบรท์ฟิลด์ (bright-field microscope) กล้องจุลทรรศน์ดาคฟิลด์ (dark field microscope) กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง (fluorescence microscope) กล้องจุลทรรศน์เฟซ-คอนทราสท์ (phase-contrast microscope) และกล้องจุลทรรศน์อุลตราไวโอเล็ต (ultraviolet microscope) มาศึกษาโครงสร้างของแบคทีเรียจะไม่เห็นรายละเอียดมากนัก เนื่องจากกล้องจุลทรรศน์เหล่านี้มีกำลังขยายไม่สูงมาก คือ มีกำลังขยายประมาณ 1,000 - 2,000 เท่า ด้วยเหตุนี้ ในการศึกษาโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรียจึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ลำอิเล็กตรอนทำให้เกิดการขยายภาพ ซึ่งเรียกว่า กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron microscope) กล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้สามารถขยายภาพได้สูงกว่ากล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงทำให้เกิดการขยายภาพประมาณ 200 เท่า หลังจากนำกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมาทำการศึกษา ทำให้มีผู้กำหนดแผนผังของเซลล์แบคทีเรียไว้ดังรูปที่ 2-1 โครงสร้างภายนอกผนังเซลล์ ได้แก่ แคปซูล แฟลกเจลล่าและฟิมเบรีย ส่วนโครงสร้างภายในผนังเซลล์ ได้แก่ เยื่อเซลล์ มีโซโซม (mesosome) ไรโบโซม (ribosome) เอ็นโดสปอร์ โครแมทโตฟอร์หรือไธลาคอยด์ (thylakoid) แกรนูล่าอินคลูชั่น (granular inclusion) และนิวเคลียส โครงสร้างต่าง ๆ เหล่านี้บางอย่างมีเฉพาะในแบคทีเรียบางชนิด เช่น แคปซูล แฟลกเจลล่า ฟิมเบรีย เอ็นโดสปอร์ โครแมท-โตฟอร์และมีโซโซม ส่วนโครงสร้างอื่น ๆ จะพบในแบคทีเรียทุกชนิดยกเว้นมายโคพลาสม่าส์ไม่มีผนังเซลล์

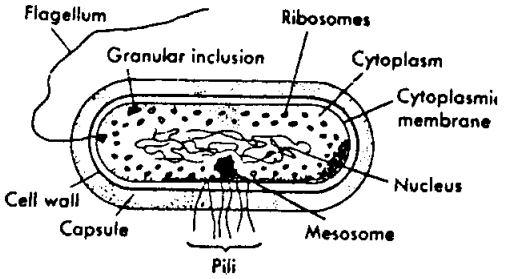
สำหรับการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรียโดยการใช้เทคนิคและเครื่องมือพิเศษทำให้ทราบว่าปริมาณสารซึ่งเป็นส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของอาหารที่นำมาทำการเพาะเลี้ยง อัตราการเจริญเติบโต อายุและชนิดของแบคทีเรีย โดยทั่วไปแบคทีเรียที่ทำการเพาะเลี้ยงจะมีอยู่ประมาณ 0.02-2.9 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร เซลล์ประกอบด้วย

น้ำประมาณ 80% โปรตีนประมาณ 40-70% ของน้ำหนักแห้งซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกเอ็นไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น *Escherichia coli* มีเอ็นไซม์ประมาณ 2,000 ชนิดเป็นต้น นอกจากนี้ยังมีกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) และลิปิด (lipid) ประมาณ 13-34% และ 10-15% ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ สำหรับลิปิดแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Mycobacterium* sp. จะมีอยู่สูงถึงประมาณ 30% ของน้ำหนักแห้ง

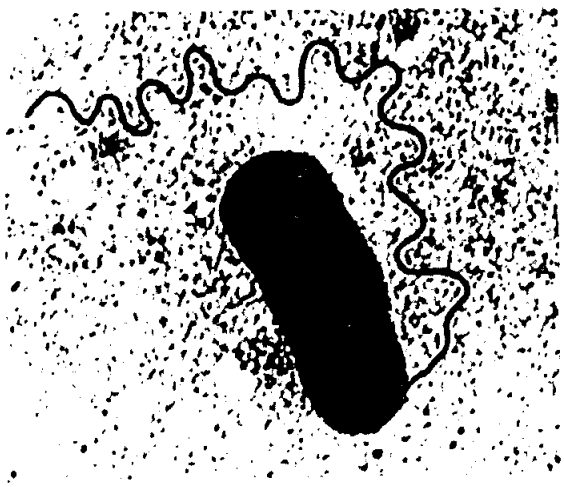
วิธีการศึกษาโครงสร้างละเอียดและส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรีย

วิธีการศึกษาโครงสร้างละเอียด ในการศึกษาโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรียต้องเตรียมตัวอย่างแบคทีเรียที่จะทำการศึกษา โดยนำเซลล์แบคทีเรียที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวประมาณ 24 ชั่วโมงมาปั่นตกตะกอน ต่อมานำเฉพาะเซลล์แบคทีเรียที่ตกตะกอนไปใส่ในหลอดแก้ว แล้วเติม 0.2% อะก้า (agar) ที่ปราศจากเชื้อและกำลังหลอมเหลวอยู่ลงไป เขย่าเทใส่บนสไลด์แล้ววางทิ้งไว้จนกระทั่งอะก้าเย็นแข็งตัว หลังจากนั้นใช้มีดตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมเล็ก ๆ ตักใส่หลอดแก้ว ทำการตรึง (fixation) เซลล์แบคทีเรียด้วยพาราฟอร์มาลดีไฮด์(paraformaldehyde) และกลูทาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) แล้วนำไปแช่ในคาโคดีเลตบัฟเฟอร์ (cacodylate buffer) ตรึงเซลล์แบคทีเรียด้วยออสเมียมเตตรอคไซด์ (osmium tetroxide) และนำไปแช่ในคาโคดีเลตบัฟเฟอร์อีกครั้งหนึ่ง ต่อมาทำให้แห้งโดยใช้คาโคดีเลตบัฟเฟอร์และแอลกอฮอล์ หลังจากนั้นนำไปแช่ในโพรไพลีนออกไซด์ (propylene oxide) และรีซิน (resin) แล้วทำการฝังเซลล์แบคทีเรียในสารประกอบอินทรีย์ เช่น รีซินและเมธะไครเลต (methacrylate) ภายใต้สูญญากาศ นำเซลล์แบคทีเรียที่ฝังเรียบร้อยแล้วมาตัดหรือเฉือนให้เซลล์มีขนาดบางมาก คือ บางกว่า 1,000 อังสตรอม (angstrom ซึ่งใช้สัญญลักษณ์ Å และมีค่าเท่ากับ 10^{-10} เมตร) ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า อุลตราไมโครโตม (ultramicrotome) การตัดหรือเฉือนเซลล์แบคทีเรียนี้จะทำให้เห็นโครงสร้างต่าง ๆ ทั้งภายในและภายนอกผนังเซลล์ได้ ต่อมานำมาทำการย้อมด้วยวิธีการอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้ คือ

1. แชดโดแคชติง (shadow casting) ปล่อยไอของโลหะหนัก เช่น พลาตินั่ม (platinum) ออกมาจากท่อเล็ก ๆ ลงบนเซลล์แบคทีเรียที่เตรียมไว้แล้ว โดยให้ไอของโลหะหนักนั้นโดนเซลล์แบคทีเรียเพียงด้านเดียว แล้วเกิดการสะสมตัวของโลหะหนักเป็นชั้นบาง ๆ ด้วยเหตุนี้เมื่อนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เซลล์แบคทีเรียที่ตรวจสอบจะมีลักษณะมืดทึบ ดังรูปที่ 2-2



รูปที่ 2-1 แผนผังของเซลล์แบคทีเรีย



รูปที่ 2-2 ลักษณะเซลล์แบคทีเรียเมื่อย้อมด้วยวิธีแชดโดแคชติง

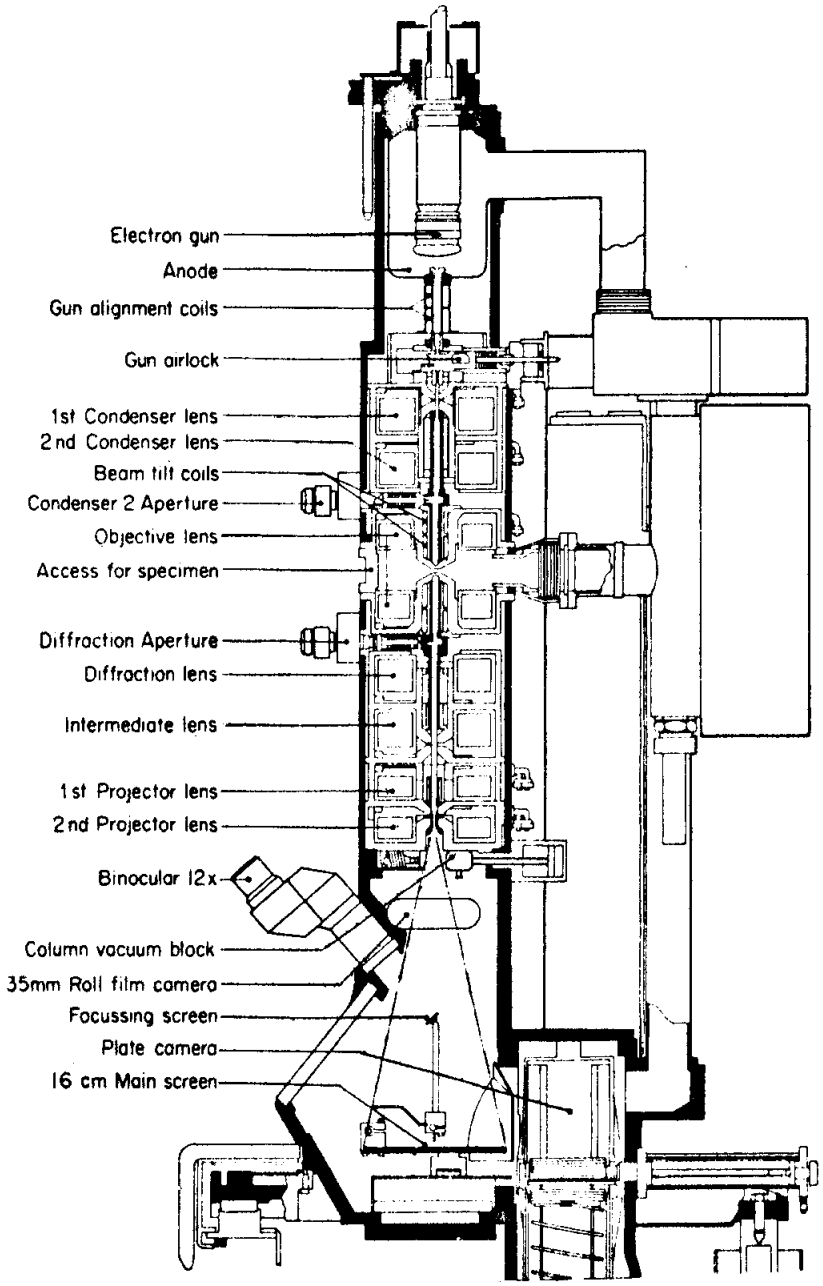
2. เนกกะตีบสเตนนิ่ง (negative staining) ย้อมเซลล์แบคทีเรียด้วยสารที่ทึบต่อลำอีเล็กตรอน เช่น ยูรานิลอะซิเตต (uranyl acetate) แอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate) โพแทสเซียมฟอสโฟซิลิเคต (potassium phosphosilicate) หรือโพแทสเซียมฟอสโฟตังสเตต (potassium phosphotungstate) เป็นต้น สารที่ใช้ย้อมนี้จะย้อมบริเวณรอบ ๆ เซลล์แบคทีเรีย และขณะเดียวกันก็จะแทรกเข้าไปในช่องว่างของโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ แต่ไม่เข้าไปภายในอนุภาคของโครงสร้าง ด้วยเหตุนี้เมื่อนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนอนุภาคของโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์แบคทีเรียที่ตรวจสอบจะมีลักษณะใส ส่วนบริเวณรอบ ๆ เซลล์และช่องว่างระหว่างอนุภาคภายในโครงสร้างต่าง ๆ จะมีสีมืดทึบดังรูปที่ 2-3 การย้อมด้วยวิธีนี้จะทำให้เห็นรายละเอียดของโครงสร้างต่าง ๆ ได้มากกว่าวิธีการย้อมแบบแซดโดแคชติง

รูปที่ 2-3 ลักษณะแฟลกเจลล่าของแบคทีเรียเมื่อย้อมด้วยวิธีเนกกะตีบสเตนนิ่ง

สำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (รูปที่ 2-4) ซึ่งนำมาใช้ตรวจสอบโครงสร้างละเอียดของตัวอย่างแบคทีเรียที่ทำการย้อมเรียบร้อยแล้วมี 2 แบบ แบบแรกเรียกว่า กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบผ่านทะลุ (transmission electron microscope) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบนี้มีกำลังขยายสูง คือ สามารถเห็นวัตถุที่มีขนาดเล็กประมาณ 10 อังสตรอมได้ดี และให้ภาพที่มีรายละเอียดมากกว่ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) บนจอรับภาพหรือบนฟิล์มถ่ายรูป แบบที่สองเรียกว่า กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบนี้สามารถเห็นวัตถุที่มีขนาดเล็กประมาณ 100-200 อังสตรอมได้ดี ลำอิเล็กตรอนที่ไปกระทบกับวัตถุหรือเซลล์แบคทีเรียซึ่งทำการตรวจสอบจะเกิดการสะท้อนกลับ แล้วถูกรวบรวมและโฟกัสทำให้เกิดภาพลักษณะสามมิติขึ้นบนจอรับภาพ ภาพที่ได้แม้ว่าจะมีรายละเอียดของภาพน้อยกว่ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบแรก แต่จะแสดงรายละเอียดตรงส่วนบริเวณผิวของเซลล์แบคทีเรียหรือวัตถุชัดเจน

วิธีการศึกษาส่วนประกอบทางเคมี ในการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรียนิยมศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ โดยทำการแยกโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ออกมาด้วยวิธีการดังต่อไปนี้ คือ

1. อินอคคูเลต (inoculate) แบคทีเรียลงในสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) แล้วทำให้เซลล์แตกโดยทางเมคคานิก (mechanic) เช่น ใส่ของแข็งพวกลูกแก้วกลม ๆ ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.13-0.2 มิลลิเมตร หรือเม็ดทรายลงไปในสารละลายที่มีเซลล์แบคทีเรียแล้วเขย่า หรือผ่านคลื่นเสียงที่มีความถี่สูง (ultrasonic) ประมาณ 10-15 กิโลเฮิสซ์ (KHz) เข้าไปในสารละลายที่มีเซลล์แบคทีเรีย หรือใช้ความดันประมาณ 80,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อัดสารละลายที่มีเซลล์แบคทีเรียให้ผ่านรูเล็ก ๆ หลังจากเซลล์แบคทีเรียแตกแล้วแยกโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์โดยนำมาปั่นตกตะกอนด้วยความเร็วต่าง ๆ กัน (differential centrifugation) วิธีการแยกโครงสร้างแบบนี้อาศัยหลักว่าของเมื่อมีน้ำหนักผิดกันก็จะตกลงมาในระยะเวลาต่างกัน เช่น ปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 1,000 g (g = แรงดึงดูดของโลก



รูปที่ 2-4 ลักษณะผ่าตามขวางของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ประมาณ 10 นาที จะได้เซลล์ที่ยังไม่แตก (intact cell) ปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 10,000 g ประมาณ 10 นาที ได้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเป็นต้น เมื่อแยกโครงสร้างแต่ละส่วนของเซลล์ออกมาได้แล้ว ทำการกำจัดสิ่งอื่น ๆ ที่อาจปะปนอยู่ออกโดยการล้างด้วยน้ำกลั่น ต่อมานำโครงสร้างแต่ละส่วนของเซลล์ที่ปราศจากสิ่งอื่นปะปนมาทำการวิเคราะห์ทางเคมี

2. ทำให้เซลล์แบคทีเรียเกิดออโตไลสิส (autolysis) แล้วกำจัดส่วนที่มาจากโปรโตพลาสซึม (protoplasm) ด้วยเอ็นไซม์ ซึ่งจะได้ผนังเซลล์ที่ปราศจากสิ่งอื่นปะปน นำผนังเซลล์ที่แยกได้มาทำการวิเคราะห์ทางเคมี วิธีนี้จะศึกษาส่วนประกอบทางเคมีได้เฉพาะผนังเซลล์เท่านั้น

3. เพาะเลี้ยงแบคทีเรียในสภาวะที่ไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้หรือใส่เอ็นไซม์ที่เหมาะสมลงไปในสารละลายที่มีเซลล์แบคทีเรีย เช่น ทริพซิน (trypsin) โปรเนส (pronase) หรือไลโซไซม์ (lysozyme) เป็นต้น เอ็นไซม์ที่ใช้นี้จะทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียสูญเสียองค์ประกอบส่วนใดส่วนหนึ่งหรือสูญเสียอย่างสมบูรณ์ คือ ทำให้เกิดการแตกหักเป็นท่อน ๆ (fragmentation) หรือเกิดการแตกหักเป็นท่อน ๆ และสูญเสียความแข็ง วิธีการนี้จะใช้ได้ผลดีกับแบคทีเรียพวกแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียพวกแกรมลบ เอ็นไซม์ที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ ไลโซไซม์ ซึ่งจากการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี ทำให้ทราบว่า ไลโซไซม์จะไปทำให้มิวโคเปปไทด์ (mucopeptide) หรือเปปติโดไกลแคนซึ่งเป็นแกนของผนังเซลล์แตกหักออกแล้วผนังเซลล์สูญเสียความแข็งไป ต่อมาเขย่าสารละลายที่มีเซลล์แบคทีเรียเพื่อทำให้โครงสร้างต่าง ๆ ภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมา แยกโครงสร้างต่าง ๆ โดยนำมาปั่นตกตะกอนด้วยความเร็วต่าง ๆ กัน ล้างสิ่งปะปนออกด้วยน้ำกลั่นแล้วนำโครงสร้างแต่ละส่วนที่ปราศจากสิ่งอื่นปะปนมาทำการวิเคราะห์ทางเคมี

วิธีการแยกโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์แบคทีเรียดังกล่าวข้างต้น วิธีแรกเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุด สำหรับวิธีการแยกโครงสร้างต่าง ๆ ของแบคทีเรียโดยทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกทางเคมีนั้น ไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากสารเคมีที่ใช้จะทำให้โครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ที่แยกออกมาได้มีส่วนประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงไป

ส่วนประกอบทางเคมีของแบคทีเรีย

แบคทีเรียประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์มากมายหลายประเภท แต่ที่นับว่าเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ของเซลล์ ได้แก่ โปรตีน (protein) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ไขมันและกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) สารประกอบอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรียเหล่านี้ จะมีอยู่ในปริมาณมากน้อยแตกต่างกัน เช่น *Escherichia coli* โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดนิวคลีอิก เป็นส่วนประกอบประมาณ 15% 3% 2% และ 7% ของน้ำหนักเซลล์ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณของสารประกอบอินทรีย์แต่ละประเภทที่มีอยู่ยังขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียด้วย

ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงเฉพาะส่วนประกอบทางเคมีโดยทั่ว ๆ ไปของแบคทีเรีย สำหรับส่วนประกอบทางเคมีของโครงสร้างแต่ละชนิดของแบคทีเรียจะกล่าวถึงในหัวข้อโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรีย

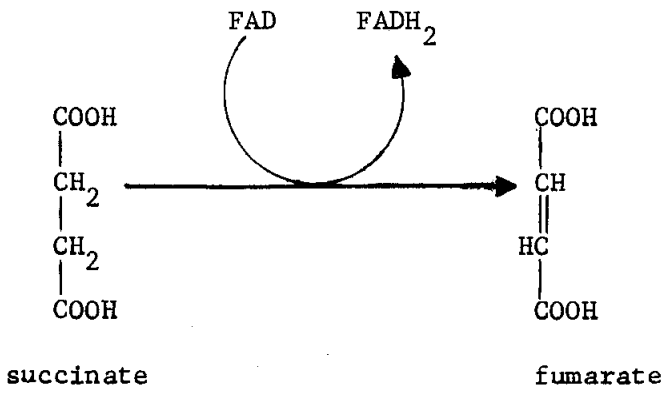
โปรตีน โปรตีนคือโพลิเมอร์ (polymer) ของกรดอะมิโน (amino acid) ชนิดต่าง ๆ รวมกัน นับเป็นสารอินทรีย์ซึ่งมีอยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียมากที่สุดทั้งชนิดและปริมาณ สามารถแยกโปรตีนออกจากเซลล์แบคทีเรียและทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการตกผลึกหรือตกตะกอน โปรตีนของแบคทีเรียที่บริสุทธิ์จะมีค่า pH ซึ่งโปรตีนโมเลกุลมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ (isoelectric point) เท่ากับ 5 ที่ pH นี้โปรตีนจะมีการละลายน้อยที่สุดและมีประจุเหมือนกับสภาวะแวดล้อมที่โปรตีนอยู่ นอกจากนี้โปรตีนของแบคทีเรียยังมีคุณสมบัติอื่น ๆ เหมือนโปรตีนโดยทั่ว ๆ ไป เช่น เสียสภาพธรรมชาติ (denature) เมื่อได้รับความร้อนหรือสารเคมี และประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด (ดังตารางที่ 2-1) มาเรียงตัวกันโดยมีเปปไทด์บอนด์ซ้ำกันอยู่ตลอดโมเลกุล กรดอะมิโนที่มาเรียงตัวนี้อาจจะเป็นไอโซเมอร์ (isomer) ชนิด D หรือ L ก็ได้ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรีย

ตารางที่ 2-1 กรดอะมิโนซึ่งเป็นส่วนประกอบของโปรตีนที่แยกได้จากแบคทีเรีย

	Trypto-phane synthe-tase	Botulinum toxin Type A	Flagellin *S.typhi-murium*	Amylase *B.subti-lis*	Amylase *B.stearo thermophi lus*	Ferre-doxin *C.pas teurianum*
น้ำหนักโมเลกุล	29000	15000	-	48700	15600	6000
กรดอะมิโน	โมล/ โมลโปรตีน	โมล/ โมลโปรตีน	กรัม/10^5 กรัมโปรตีน	โมล/ โมลโปรตีน	โมล/ โมลโปรตีน	โมล/ โมลโปรตีน
โปรลีน (proline)	19.7	20.3	13	14	22	3
อะลานีน (alanine)	40.9	394	147	29	8	8
ซีรีน (serine)	11.6	374	59	24	6	5
อาร์จินีน (arginine)	11.7	239	24	17	3	0
ธรีโอนีน (threonine)	9.7	642	101	23	8	1
กรดแอสปาร์ติก (aspartic acid)	23.6	1370(กรัม)	155	53	11	8
ทริปโตเฟน (tryptophan)	0	82	0	15	0	0
ซิสเตอีน (cysteine)	-	20	-	8.0	0	-
วาลีน (valine)	18.3	406	60	25	11	6
ไกลซีน (glycine)	20.2	166	79	39	9	4
ไทโรซีน (tyrosine)	7.2	672	20	24	3	1
กรดกลูตามิก (glutamic acid)	31.4	953	96	43	22	4
ไลซีน (lysine)	14.2	477	33	25	6	1
ฮิสติดีน (histidine)	4.3	60	4	12	4	0
ไอโซลูซีน (isoleucine)	20.2	820	49	17	7	5
ลูซีน (leucine)	27.9	708	74	23	9	0
เมไธโอนีน (methionine)	4.8	64	3	5	3	0
เฟนิลอะลานีน (phenylalanine)	12.0	64	13	18	6	1

โปรตีนของแบคทีเรียมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีส่วนประกอบทางเคมีและหน้าที่แตกต่างกัน แบ่งโปรตีนของแบคทีเรียตามหน้าที่ได้ดังต่อไปนี้ คือ

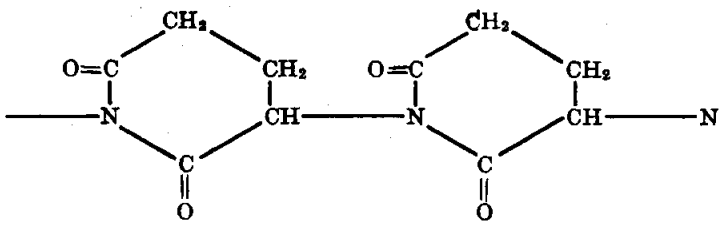
1. เอ็นไซม์ ทำหน้าที่เป็นตัวเร่ง (catalyse) ปฏิกริยาต่าง ๆ มีอยู่หลายชนิด และชนิดของเอ็นไซม์ที่มีอยู่นี้จะแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรีย เอ็นไซม์ของแบคทีเรียอาจจะเป็นโปรตีนเพียงอย่างเดียวหรือเป็นโปรตีนที่มีสารไม่ใช่โพลิเปปไทด์ (polypeptide) ร่วมอยู่ในโมเลกุลซึ่งเรียกว่า คอนจูเกเต็ดโปรตีน (conjugated protein) คอนจูเกเต็ดโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งนี้จะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (electron) ภายในเซลล์แบคทีเรีย เช่น บลูโปรตีน (blue protein) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนกับทองแดงอิออน (Cu^{++}) จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจใน *Pseudomonas aeruginosa* ไซโตโครมซี (cytochrome c) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนกับฮีม (heme) จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจใน *Desulfovibrio desulfuricans* และซัคซิเนตดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนกับ FAD (flavin adenine dinucleotide) จะทำหน้าที่เร่งให้ซัคซิเนต (succinate) เปลี่ยนไปเป็นฟูมาเรต (fumarate) ดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 ปฏิกริยาของซัคซิเนตดีไฮโดรจีเนส

2. โปรตีนที่หดตัวได้ (contractile protein) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย หรือช่วยทำให้เซลล์แบคทีเรียเกาะติดกับสับสเตรต (substrate) ได้ดียิ่งขึ้น โปรตีนซึ่งทำหน้าที่แบบนี้ ได้แก่ แฟลกเจลลิน (flagellin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแฟลกเจลล่า และโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของฟิมเบรียหรือพิไล

3. โปรตีนโครงสร้าง (structural protein) ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายและสร้างความแข็งแรงให้แก่เซลล์ โปรตีนโครงสร้างที่พบในแบคทีเรีย ได้แก่ ไลโพโปรตีน (lipoprotein) ในเยื่อเซลล์ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนกับไขมัน ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ในผนังเซลล์ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนกับคาร์โบไฮเดรต และกลูตามิลโพลิเปปไทด์ (glutamyl polypeptide) ในแคปซูล (capsule) ซึ่งประกอบด้วยกรดกลูตามิกเพียงอย่างเดียวมาเรียงตัวกัน ดังรูปที่ 2-6 กรดกลูตามิกในโมเลกุลกลูตามิลโพลิเปปไทด์นี้อาจจะเป็นไอโซเมอร์ชนิด D



รูปที่ 2-6 การเรียงตัวของกรดกลูตามิกในโมเลกุล-กลูตามิลโพลิเปปไทด์

เพียงอย่างเดียว หรือเป็นไอโซเมอร์ชนิด D และ L ในปริมาณใกล้เคียงกันก็ได้ ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรีย

4. โปรตีนควบคุม (regulatory protein) ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของยีน (gene) ภายในนิวเคลียสของแบคทีเรีย ได้แก่ โปรตีนกดดัน (repressor protein) ตามทฤษฎีโอเพอรอน (operon theory) กล่าวว่า DNA (deoxyribonucleic acid) ประกอบด้วยยีนโครงสร้าง (structural gene) และยีนควบคุม (regulatory gene) ยีนควบคุมทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของยีนโครงสร้าง โดยสร้างโปรตีนกดดันควบคุมการทำงานของยีนโครงสร้างซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนหรือเอ็นไซม์ของเซลล์

5. ท้อกซิน (toxin) มีบทบาททำให้แบคทีเรียเป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ แบคทีเรียที่สามารถสร้างท้อกซินได้มีหลายชนิด เช่น *Corynebacterium diphteriae* ซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดโรคคอตีบหรือดิฟทีเรีย (diphtheria) สร้างเอ็กโซท้อกซิน (exotoxin) ที่ก่อให้เกิดการระคายเคืองบริเวณลำคอด้านใน และเกิดการตายของเซลล์ตรงบริเวณนั้นจนเกิดฝ้า ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นเหนียว ๆ ลอกยากอุดตันในลำคอ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือก่อให้เกิดหนอง ฝี และสิว สร้างเอ็กโซท้อกซินออกมาทำลายเซลล์โดยรอบทำให้เม็ดเลือดขาวมาออกันในบริเวณนั้นเป็นจำนวนมาก จนมีการสะสมเม็ดเลือดขาวที่ถูกทำลายไปทำให้เกิดเป็นหนอง ฝี หรือสิวขึ้น แต่ถ้าแบคทีเรียนี้ลงไปอยู่ในอาหารและเจริญเติบโตในช่วงเวลานานพอควร ก็จะสร้างเอ็กโซท้อกซินซึ่งมีผลต่อกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียร และท้องเดินหลังจากบริโภคอาหารที่มีเอ็กโซท้อกซินของเชื้อนี้เข้าไปประมาณ 2-6 ชั่วโมง *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ สร้างเอ็กโซท้อกซินที่ทนต่อเอ็นไซม์ในการย่อยอาหารของคน ด้วยเหตุนี้เอ็กโซท้อกซินจึงสามารถซึมซาบเข้าสู่ผนังกระเพาะหรือลำไส้ ทำให้ระบบเส้นประสาทหรือกล้ามเนื้อผิดปกติ จนเกิดอาการตาพร่ามัว มองเห็นภาพซ้อน เป็นอำมะพาต ลิ้นแข็ง พูดและกลืนอาหารไม่ได้ การทำงานของหัวใจอ่อนลงและอาจจะถึงแก่ความตายในที่สุด สำหรับระยะเวลาที่เกิดอาการภายหลังจากได้รับเอ็กโซท้อกซินนั้นจะแตกต่างกันตามความแข็งแรงทางร่างกายของแต่ละบุคคล อายุและปริมาณของเอ็กโซท้อกซินที่ได้รับ แต่โดยปกติจะเกิด

อาการภายในเวลา 12-36 ชั่วโมง

คาร์โบไฮเดรต คาร์โบไฮเดรทเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีคาร์บอน ออกซิเจนและไฮโดรเจน ในอัตราส่วน 1 : 1 : 2 แบ่งออกได้เป็นสี่ชนิด คือ โมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) ไดแซคคาไรด์ (disaccharide) ไทรแซคคาไรด์ (trisaccharide) และโพลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) คาร์โบไฮเดรทซึ่งพบว่าเป็นส่วนประกอบของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งเกิดจากกระบวนการทางชีวเคมี แล้วทำหน้าที่ต่าง ๆ กัน เช่น ทำหน้าที่สะสมอาหาร ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายและสร้างความแข็งแรงให้แก่เซลล์เป็นต้น สามารถจัดโพลิแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ดังต่อไปนี้ คือ

1. โฮโมโพลิแซคคาไรด์ (homopolysaccharide) ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียวมาต่อกันอยู่ด้วยไกลโคซิดิคบอนด์ (glycosidic bond) โฮโมโพลิแซคคาไรด์มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีชื่อเรียกแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโมโนแซคคาไรด์และลักษณะของไกลโคซิดิคบอนด์ที่มีอยู่ในโมเลกุลของโฮโมโพลิแซคคาไรด์

1.1 กลูแคน (glucan) เป็นโฮโมโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคส (glucose) ได้แก่ แป้ง (starch) ไกลโคเจน (glycogen) เซลลูโลส (cellulose) และเดกซ์แตรน (dextran) กลูโคสที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลกลูแคนส์ชนิดต่าง ๆ นี้ จะต่อกันอยู่ด้วยลักษณะที่แตกต่างกัน คือ

1.1.1 แป้งประกอบด้วยอะมิโลส (amylose) และอะมิโลเพคติน (amylopectin) อะมิโลสประกอบด้วยกลูโคสซึ่งต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(1-4) ไกลโคซิดิคบอนด์ ส่วนอะมิโลเพคตินประกอบด้วยกลูโคสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(1-4) ไกลโคซิดิคบอนด์ และแตกแขนงด้วยบอนด์แบบ α(1-6) ไกลโคซิดิคบอนด์

1.1.2 ไกลโคเจนประกอบด้วยกลูโคสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(1-4) ไกลโคซิดิคบอนด์ และแตกแขนงด้วยบอนด์แบบ α(1-6) ไกลโคซิดิคบอนด์ ซึ่งเหมือนกับอะมิโลเพคติน แต่ไกลโคเจนจะมีการแตกแขนงมากกว่าอะมิโลเพคติน

1.1.3 เซลลูโลสประกอบด้วยกลูโคสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ β(1-4) ไกลโคซิดิคบอนด์

1.1.4 เด็กซ์แตรนประกอบด้วยกลูโคสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(1-6) ไกลโคซิดิคบอนด์และแตกแขนงด้วยบอนด์แบบ (1-2), (1-3) หรือ (1-4) ไกลโคซิดิคบอนด์ ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรีย

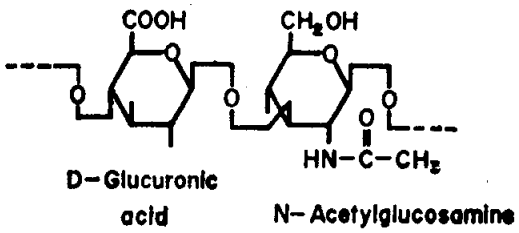
1.2 ลีแวน (levan) เป็นโฮโมโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยฟรุคโตส (fructose) ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้ *Aerobactor levanicum* พบว่า ฟรุคโตสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ β(2-6) ไกลโคซิดิคบอนด์และแตกแขนงด้วยบอนด์แบบ (2-1) ไกลโคซิดิคบอนด์

1.3 แมนแนน (mannan) เป็นโฮโมโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยแมนโนส (mannose) ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้ *Bacillus polymyxa* พบว่า แมนโนสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(1-2) และ α(1-3) ไกลโคซิดิคบอนด์ แต่ตรงจุดที่มีการแตกแขนงจะต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ (1-2-6) ไกลโคซิดิคบอนด์

1.4 กาแล็คแตน (galactan) เป็นโฮโมโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกาแล็คโตส (galactose) ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้ *Micrococcus mycoides* พบว่ากาแล็คโตสต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ β(1-6) ไกลโคซิดิคบอนด์

2. เฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์มากกว่าหนึ่งชนิดมาต่อกันอยู่ด้วยไกลโคซิดิคบอนด์ มีหลายชนิดดังต่อไปนี้ คือ

2.1 กรดไฮอาลูโรนิก (hyaluronic acid) เป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยเอ็นอะเซ็ททิลกลูโคซามีน (N-acetyl glucosamine) และกรดดีกลูคิวโรนิก (D-glucuronic acid) ในจำนวนโมเลกุลที่เท่ากัน โดยสารทั้งสองชนิดนี้จะต่อสลับกันดังรูปที่ 2-7 กรดไฮอาลูโรนิกที่พบในแบคทีเรียจะเป็นส่วนประกอบของแคปซูลของแบคทีเรียบางชนิด เช่น streptococci group A.



รูปที่ 2-7 แสดงหน่วยไดแซคคาไรด์ที่มีอยู่ซ้ำ ๆ กันในโมเลกุลของกรดไฮอาลูโรนิก

2.2 ซีสับสแต้นซ์ (C-substance) เป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยแรมโนส (rhamnose) และเอ็นอะเซ็ททิลกลูโคซามีน โดยแรมโนสจะต่อกันด้วยบอนด์แบบ α(1-3) ไกลโคซิดิคบอนด์ตรงส่วนสันหลังของโมเลกุล ตรงจุดที่มีการแตกแขนงแรมโนสจะต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ α(2-1) ไกลโคซิดิคบอนด์ และตรงส่วนปลายของโครงสร้างหรือของโมเลกุลเอ็นอะเซ็ททิลกลูโคซามีนจะมาต่อกับแรมโนสด้วยบอนด์แบบ β(3-1) ไกลโคซิดิคบอนด์ ซีสับสแต้นซ์จะพบในแบคทีเรียบางชนิด เช่น streptococci group A

2.3 สารประกอบต่าง ๆ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแคปซูลของ *Diplococcus pneumoniae* สารประกอบเหล่านี้เป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ในปัจจุบันยังไม่มีชื่อเรียกโดยเฉพาะ แต่ทราบว่าในแคปซูลของ *Diplococcus pneumoniae* แต่ละสายพันธุ์ก็จะมีเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่มีองค์ประกอบต่างกันดังรูปที่ 2-8 เฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์เหล่านี้จะทำให้ *Diplococcus pneumoniae* แต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติทางซีโรโลยี (serology) แตกต่างกัน

```
-┼3)-L-Rhap-(1-3)-L-Rhap-(1-3)-L-Rhap-(1-4)-D-Gpu-(1-4)-D-Gp-(1-┤ --
                                                        6)      n
                                                         |
                                                     D-Gpu-(1
```

สายพันธุ์ที่ II

```
-┼3)-β-D-Gpu-(1-4)-β-D-Gp-(1-┤ --
                              n
```

สายพันธุ์ที่ III

```
-┼2)-α-D-Galp-(1-3)-α-D-Gp-(1-3)-α-L-Rhap-(1-3)-D or L-Rl-1 or 2-PO3┤ --
                                                                    n
```

สายพันธุ์ที่ VI

```
-┼4)-β-D-Gpu-(1-4)-β-D-Gp-(1-4)-α-D-Gp-(1-4)-α-D-Galp-(1-┤ --
                                                         n
```

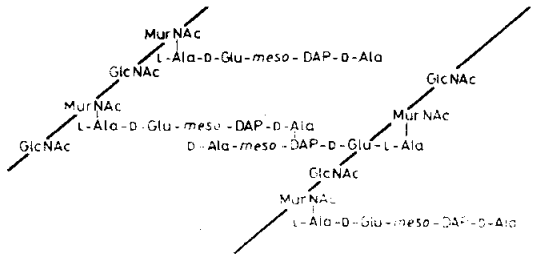
สายพันธุ์ที่ VIII

รูปที่ 2-8 แสดงหน่วยที่มีอยู่ซ้ำ ๆ กันในโมเลกุลเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ของแคปซูล *Diplococcus pneumoniae* สายพันธุ์ต่าง ๆ (Gp=glucopyranose , Galp=galactopyranose, Rhap=rhamnopyranose, Gpu= glucopyranosyl uronic acid และ Rl=ribitol)

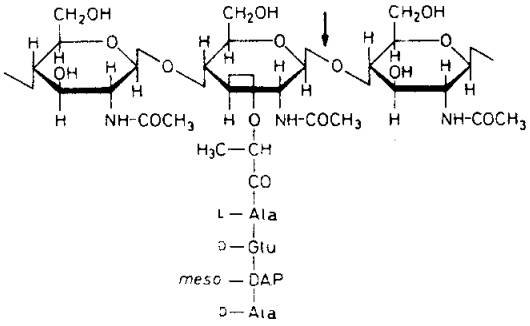
3. คอมเพล็กโพลิแซคคาไรด์ (complex polysaccharide) ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์และสารประกอบชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต เช่น กรดอะมิโนหรือไขมันในปริมาณที่มากพอควร

3.1 มิวโคเปปไทด์หรือเปปติโดไกลแคน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ประกอบด้วยเอ็นอะเซ็ททิลกลูโคซามีน กรดเอ็นอะเซ็ททิลมิวรามิก (N-acetylmuramic acid) และเปปไทด์โดยเอ็นอะเซ็ททิลกลูโคซามีนต่อสลับกับกรดเอ็นอะเซ็ท-ทิลมิวรามิกเป็นเส้นตรงด้วย $\beta(1 \rightarrow 4)$ ไกลโคซิดิคบอนด์เกิดเป็นโพลิแซคคาไรด์ โพลิแซคคาไรด์

ที่เกิดขึ้นจะอยู่เป็นเส้นขนานกันและมีเปปไทด์มาเชื่อมโพลิแซคคาไรด์เหล่านั้นเข้าด้วยกันตรงส่วนกรดเอ็นอะเซ็ททิลมิวรามิก ดังรูปที่ 2-9 โครงสร้างอย่างละเอียดของมิวโคเปปไทด์ในแบคทีเรีย



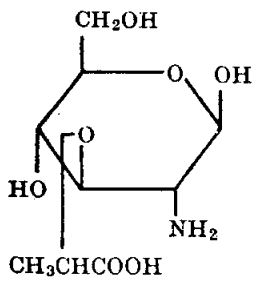
(ก)



(ข)

รูปที่ 2-9 โครงสร้างของมิวโคเปปไทด์ (ก) และโครงสร้างส่วนหนึ่งของมิวโคเปปไทด์ (ข) (Mur NAc = Nacetylmuramic acid, Glc NAc = N-acetylglucosamine, Ala = alanine, Glu = glutamic acid, DAP = diaminopimelic acid)

แต่ละชนิดยังมีข้อปลีกย่อยแตกต่างกัน ซึ่งจะได้กล่าวอย่างละเอียดในหัวข้อโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรีย สำหรับกรดมิวรามิก (รูปที่ 2-10) ที่พบในผนังเซลล์แบคทีเรียและสปอร์พบว่าเป็น 3-ออร์โต-คาร์บ๊อกซี่เอ็ธทิลดีกลูโคซามีน (3-o-carboxyethyl-D-glucosamine)



รูปที่ 2-10 โครงสร้างของกรดมิวรามิก

3.2 ไลโพโพลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์และลิปิดหรือไขมันในอัตราส่วนแตกต่างกัน ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรียไลโพโพลิแซคคาไรด์ที่มีอยู่นี้มักเป็นตัวการแสดงการเป็นพิษและการเป็นแอนติเจน เช่น เอ็นโดท๊อกซิน (endotoxin) ในผนังเซลล์

ไขมัน ไขมันหรือลิปิด (lipid) เป็นสารประกอบอินทรีย์จำพวกเอสเตอร์ (ester) เกิดจากปฏิกริยาของแอลกอฮอล์ (alcohol) ชนิดต่าง ๆ กับกรดไขมัน (fatty acid) แอลกอฮอล์ที่พบในไขมันของแบคทีเรียพวกแกรมบวกและแกรมลบเป็นกลีเซอรอล (glycerol) ดังนั้นจึงเรียกไขมันนี้ว่ากลีเซอไรด์ (glyceride) ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายคลึงกับกลีเซอไรด์ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ส่วนกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของโมเลกุลไขมันจะประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเป็นจำนวนคู่ แต่อาจจะมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนต่าง ๆ กัน และอาจจะเป็นกรดไขมัน

ชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) หรือกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ก็ได้ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของไขมัน

ไขมันที่มีในแบคทีเรียจะเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ เยื่อเซลล์และแกรนูล (granule) ต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น โพลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทายเรตแกรนูล (poly-β-hydroxybutyrate) จะมีไขมันหรือลิปิดร่วมอยู่ด้วย เนื่องจากเมื่อใช้สีไลโพฟิลิก (lypophilic) เช่น ซูดานแบล็ค (sudan black) ย้อมจะติดสีได้ดี ทั้ง ๆ ที่เมื่อใช้สีนี้ย้อมโพลิเบต้าไฮดรอกซี-บิวทายเรตที่บริสุทธิ์จะไม่ติดสี ในโมเลกุลไขมันที่เป็นส่วนประกอบของแบคทีเรียมีกรดไขมันหลายชนิด ปริมาณของกรดไขมันและชนิดของกรดไขมันที่มีอยู่นี้จะแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรีย ดังตารางที่ 2-2 กรดไขมันที่มีอยู่เป็นส่วนใหญ่ในแบคทีเรียพวกแกรมลบ ได้แก่ กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมีจำนวนอะตอมของคาร์บอน 16 อะตอม กรดปาล์มมิโตลีอิก (palmitoleic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมีจำนวนอะตอมของคาร์บอน 16 อะตอม และกรดโอลีอิก (oleic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมีจำนวนอะตอมของคาร์บอน 18 อะตอม ส่วนกรดไขมันที่มีอยู่เป็นส่วนใหญ่ในแบคทีเรียพวกแกรมบวก ได้แก่ กรดปาล์มมิติกและกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอน 16 และ 18 อะตอมรวมกัน สำหรับกรดไขมันบางอย่างจะพบเฉพาะในแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น เช่น *Serratia marcescens* และ streptococci group C มีกรดสเตียริก *Lactobacillus arabinosus*, *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus delbruekii* มีกรดแลคโตบาซิลลิก *Bacillus subtilis* มีกรดไขมันซึ่งโมเลกุลมีการแตกแขนงเป็นต้น

สำหรับมายโคพลาสม่าส์ที่เรียกว่า PPLO (pleuropneumonia like organism) เช่น *Mycoplasma galiseptcum* ไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ส่วนใหญ่จะมีกรดไขมันที่มีอะตอมของคาร์บอน 12-18 อะตอม และอาจจะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัว ส่วนกรดคาโปรอิก (caproic acid) กรดคาปรีลิก (caprylic acid) และกรดคาปริก (capric acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมีอะตอมของคาร์บอน 6, 8 และ 10 อะตอมตามลำดับนั้นจะมีอยู่เพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 2-2 กรดไขมันที่พบในแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ

กรดไขมัน	*Escherichia coli* %	*Lactobacillus arabinosus* %	streptococci group C %
ลอริก (lauric)	น้อยมาก	2.3	5.2
มายริสติก (myristic)	5.6	1.2	4.4
เบต้าไฮดรอกซี่มายริสติก (β-hydroxymyristic)	10.9	-	-
ปาล์มมิติก (palmitic)	33.1	18.7	26.6
ปาล์มมิโตลีอิก (palmitoleic)	28.4	-	-
ซีส-9, 10-เมทิลีน เฮ็กสะดีคาโนอิค (cis-9,10-methylene-hexadecanoic)	1.8	-	-
สเตียริก (stearic)	-	-	18.0
โอลีอิก (oleic)	20.2	-	-
แลคโตบาซิลลิก (lactobacillic)	-	30.1	-
ดีคาโนอิก (decanoic)	-	1.1	0.5
กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอน 16 และ 18 รวมกัน	-	35.6	38.0

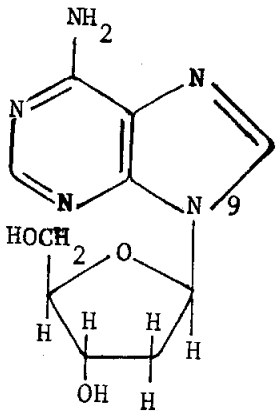
แบคทีเรียนอกจากจะมีกลีเซอไรด์ซึ่งจัดเป็นประเภทไขมันธรรมดาเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้ว ยังมีไขมันพิเศษซึ่งจัดเป็นประเภทไขมันประกอบด้วย เช่น ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) หรือฟอสโฟกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) ซึ่งประกอบด้วยไขมันธรรมดา ฟอสเฟตและแอลกอฮอล์ ส่วนสารอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติคล้ายไขมัน เช่น โคเลสเตอรอล (cholesterol) ซึ่งเป็นสารจำพวกสเตรอล (sterol) ไม่พบในแบคทีเรียทั่วไป แต่พบเฉพาะใน *Azotobacter chroococcum* และบางสปีชี่ของ PPLO

กรดนิวคลีอิค กรดนิวคลีอิคของแบคทีเรียมีสองชนิดคือ DNA และ RNA (ribonucleic acid) จัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ประกอบด้วยออแกนิคเบส (organic base) ได้แก่ เพียวรีน (purine) หรือพิริมิดีน (pyrimidine) รวมตัวกับเพ็นโตส (pentose) และฟอสเฟต

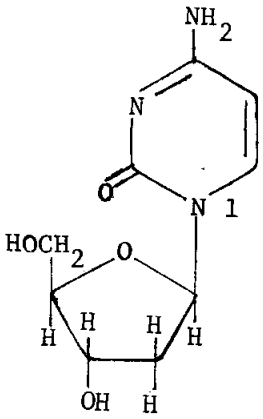
DNA เป็นโพลิเมอร์ของดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ (deoxyribonucleotide) ซึ่งออแกนิคเบสส่วนใหญ่ ได้แก่ อะดีนีนิค (adenine) ไธมีน (thymine) กัวนีนและไซโตซีน ส่วนออแกนิคเบสที่พบอยู่เล็กน้อยใน DNA ของ *Escherichia coli* และแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้แก่ 6-เม็ธทิลอะมิโนเพียวรีน (6-methylaminopurine) สำหรับเพ็นโตสที่เป็นองค์ประกอบของ DNA ได้แก่ ดีออกซีไรโบส (deoxyribose) DNA ของแบคทีเรียจัดเป็นสารพันธุกรรม (genetic material) ของเซลล์ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลและส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างจาก DNA ของคน สัตว์ พืช ฟังไจ (fungi) และไวรัส เช่น 5-เม็ธทิลไซโตซีน (5-methylcytosine) เป็นออแกนิคเบสที่มีอยู่เล็กน้อยใน DNA ของสัตว์และพืชแต่จะไม่พบใน DNA ของแบคทีเรีย DNA ของไวรัสบางชนิดมีกลูโคสและดีออกซีไรโบสเป็นส่วนประกอบแต่ DNA ของแบคทีเรียมีเฉพาะดีออกซีไรโบสเป็นส่วนประกอบ DNA ของคนและสัตว์มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ประมาณ 1,000 ล้านดาลตัน (dalton) แต่ DNA ของแบคทีเรียมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณหนึ่งล้านดาลตันเป็นต้น

เส้น DNA เกิดขึ้นโดย ออแกนิคเบสมาจับกับคาร์บอนด์ตัวที่หนึ่งของดีออกซีไรโบสด้วยไกลโคซิดิคบอนด์ (glycosidic bond) บอนด์นี้จะจับกับเพียวรีน (อะดีนีนและกัวนีน) ที่ไนโตรเจนตำแหน่งที่เก้า และจับกับพิริมิดีน (ไซโตซีน ยูราซิลและไธมีน) ที่ไนโตรเจนตำแหน่งที่หนึ่ง เกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ (deoxyribonucleoside) ดังรูปที่ 2-10 ส่วนฟอสเฟตจะมาจับกับดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ตรงตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ของดีออกซีไรโบสด้วยเอสเตอร์บอนด์ (ester bond) เกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ ซึ่งแต่ละดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์จะมาจับกันด้วย

ฟอสโฟไดเอสเตอร์บอนด์ (phosphodiester bond) เกิดเป็นเส้น DNA



deoxyadenosine

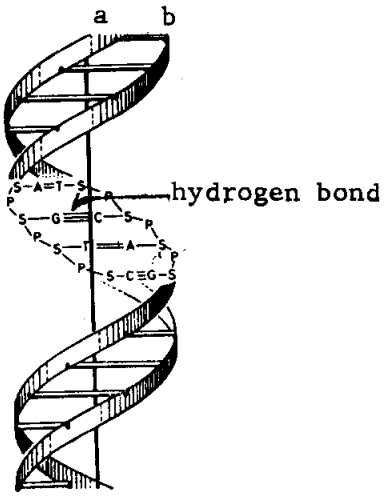


deoxycytidine

รูปที่ 2-10 สูตรโครงสร้างของดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์บางชนิด

จากการศึกษาของ Watson และ Crick ในปี ค.ศ. 1953 ได้ตั้งสมมุติฐานว่า DNA มีโครงสร้างเป็นเส้นสองเส้นพันกันเป็นเกลียวคู่ (double helix) โดย DNA สองเส้นที่มาประกบกันจะอยู่แบบทิศทางตรงกันข้าม คือ ถ้า DNA เส้นหนึ่งมีทิศทางของฟอสโฟไดเอสเตอร์บอนด์ไปทางทิศใด DNA อีกเส้นจะมีทิศทางไปในทางตรงกันข้าม ลักษณะที่ประกอบกันนี้จะมีฟอสเฟตและน้ำตาลเป็นกรอบนอก มีออแกนิคเบสหันเข้าด้านในแล้วจับคู่กับออแกนิคเบสของ

DNA อีกเส้นหนึ่งด้วยไฮโดรเจนบอนด์ (hydrogen bond) โดยอะดีนีนจะเกาะเฉพาะกับไธมีน (A-T pair) และกัวนีนจะเกาะเฉพาะกับไซโตซีน (G-C pair) ดังรูปที่ 2-11



รูปที่ 2-11 ลักษณะของ DNA สองเส้นที่พันกันเป็นเกลียวคู่ P = ฟอสเฟต S = น้ำตาล(เพ็นโตส) A = อะดีนีน T = ไธมีน G = กัวนีนและ C = ไซโตซีน a และ b เป็นเส้น DNA สองเส้นที่ประกบกันอยู่ โดยมีไฮโดรเจนบอนด์ทำหน้าที่ยึด DNA สองเส้นให้อยู่ด้วยกัน

จากการศึกษาในแบคทีเรียจีนัส (genus) ต่าง ๆ พบว่า แบคทีเรียแต่ละจีนัสจะมีเปอร์เซ็นต์ออแกนิคเบสชนิดต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของ DNA แตกต่างกัน คุณสมบัตินี้เป็นลักษณะคงที่ประจำจีนัส ดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 เปอร์เซ็นต์ออแกนิคเบสของ DNA

แบคทีเรีย	ออแกนิคเบส%			
	อะดีนีน	ไธมีน	กัวนีน	ไซโตซีน
Escherichia coli	23	27	25	26
Pseudomonas aeruginosa	18	18	34	31
Serratia marcescens	21	21	29	29
Bacillus subtilis	29	29	21	21
Clostridium perfringens	37	36	14	13
Vibrio cholerae	29	28	20	23

นอกจากนี้พบว่าแม้จะเป็นแบคทีเรียในจีนัสเดียวกันแต่คนละสปิชี่ก็จะมีเปอร์เซนต์ออแกนิคเบสชนิดต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของ DNA แตกต่างกันด้วย และเมื่อทำการศึกษาถึงลักษณะการเรียงตัวของออแกนิคเบสก็พบว่า การเรียงตัวของออแกนิคเบสในโมเลกุล DNA เป็นลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละสปิชี่ ดังนั้นการสร้างโปรตีนจึงเป็นลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละสปิชี่เช่นกัน

การกลายพันธุ์ (mutation) อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากการสับเปลี่ยนออแกนิคเบสคู่ใดคู่หนึ่งใน DNA เช่น AT เข้าแทนที่ GC หรือออแกนิคเบสคู่ใดคู่หนึ่งถูกตัดออกไปหรือเพิ่มเข้ามา ในบางกรณีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจจะเกิดเพียงเล็กน้อย แต่ในบางครั้งอาจจะเกิดกับออแกนิคเบสหลายคู่หรือมีจำนวนโครโมโซม (chromosome) ผิดไปจากปกติ เช่น กรดไนตรัส (nitrous acid) สามารถทำให้เกิดปฏิกริยาดีอะมิเนชั่น (deamination) ของเพียวรีนและพิริมิดีน ทำให้อะดีนีนกลายเป็นไฮโปแซนธีน (hypoxanthine) แล้วจับกับไซโตซีนแทนที่จะเป็นไธมีน เมื่อมีการสร้าง DNA ใหม่ ไซโตซีนจะจับกับกัวนีนแทนที่จะเป็นอะดีนีนจับกับไธมีน

จึงเกิดการกลายพันธุ์ขึ้น

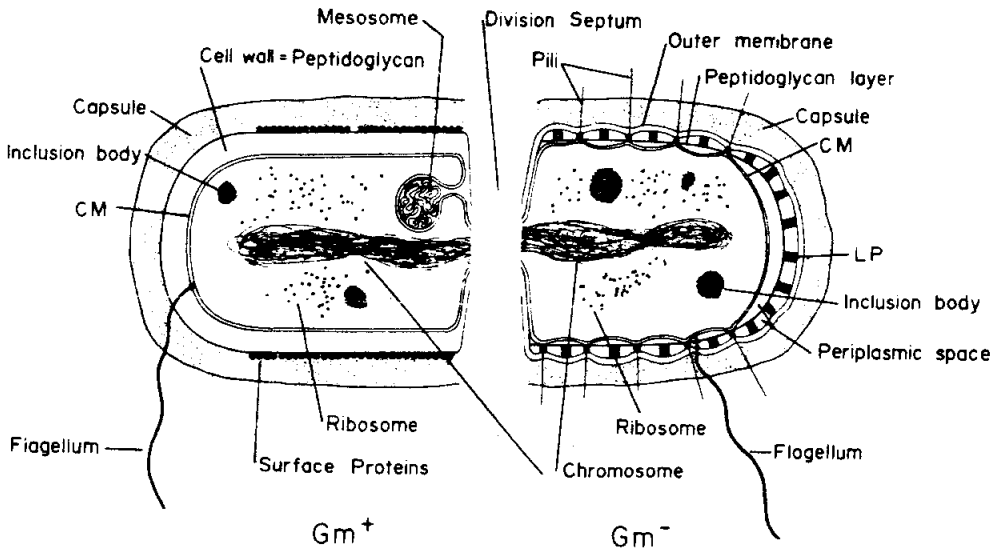
RNA เป็นโพลิเมอร์ของไรโบนิวคลีโอไทด์ (ribonucleotide) มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ DNA คือ ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์หลาย ๆ อันมาจับกันด้วยฟอสโฟไดเอสเตอร์-บอนด์ และการจับระหว่างออแกนิคเบส เพ็นโตสและฟอสเฟตในนิวคลีโอไทด์จะเหมือนกับ DNA ส่วนโครงสร้างสำคัญที่แตกต่างจาก DNA คือ RNA มีโครงสร้างเป็นเส้นเดียว (single strand) ออแกนิคเบสซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ อะดีนีน กัวนีน ยูราซิล (uracil) และไซโตซีน ส่วนออแกนิคเบสที่มีอยู่เล็กน้อย ได้แก่ ไธมีน 5-เม็ธทิลไซโตซีน 6-เม็ธทิล-อะมิโนเพียวรีน 6-ไดเม็ธทิลอะมิโนเพียวรีน (6-dimethylaminopurine) และ 2-เม็ธทิล-อะดีนีน (2-methyladenine) สำหรับเพนโตสซึ่งเป็นส่วนประกอบของ RNA คือ ไรโบส (ribose) แบ่ง RNA ออกได้เป็นสามประเภท คือ เม็สเซ็นเจอร์ RNA (messenger RNA, mRNA) ทรานซเฟอร์ RNA (transfer RNA, tRNA) และไรโบโซมอล RNA (ribosomal RNA, rRNA)

โครงสร้างละเอียดของแบคทีเรีย

จากการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนศึกษาโครงสร้างละเอียดของแบคทีเรีย สามารถแบ่งแบคทีเรียออกได้เป็นสองพวก คือ แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวกผนังเซลล์มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันตลอดและมีความหนามากกว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อสามชั้นดังรูปที่ 2-12

แม้ว่าแบคทีเรียแต่ละพวกจะมีโครงสร้างละเอียดและส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปเซลล์ของแบคทีเรียจะต้องประกอบด้วยนิวเคลียสซึ่งเป็นส่วนที่มียีน (gene) อยู่ ไซโตพลาสซึมซึ่งเป็นส่วนที่มีโครงสร้างสำคัญต่าง ๆ และเอ็นไซม์มากมายหลายชนิด เยื่อเซลล์และผนังเซลล์ สำหรับโครงสร้างอื่น ๆ เช่น แคปซูล (capsule) ชั้นเมือก (slime layer) แฟลกเจลล่าและฟิมเบรียจะพบในแบคทีเรียบางชนิด และเพื่อความสะดวกต่อการศึกษาในที่นี้จึงได้แยกกล่าวถึงโครงสร้างแต่ละส่วนของแบคทีเรีย โดยเริ่มจากโครงสร้างซึ่งอยู่นอกผนังเซลล์

เข้าไปภายในผนังเซลล์



รูปที่ 2-12 แผนผังของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ

(CM = cytoplasmic membrane, LP = lipoprotein)

แฟลกเจลล่า

แฟลกเจลล่าของแบคทีเรียเป็นโครงสร้างที่ถือกันว่าช่วยในการเคลื่อนที่ มีลักษณะเล็กและยาว คือ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.01 - 0.05 ไมครอน ยาวประมาณ 3-12 ไมครอน ซึ่งยาวมากกว่าเซลล์ของแบคทีเรียหลายเท่าตัว และมีอยู่ประมาณ 2% ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ จากการที่แฟลกเจลล่ามีขนาดเล็กทำให้ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดา แต่ถ้าใช้เทคนิคในการย้อมสีเพื่อทำให้แฟลกเจลล่ามีขนาดใหญ่ขึ้น เช่น ใช้กรดแทนนิก (tannic acid) เป็นมอร์แด้นท์ ก็จะทำให้เห็นแฟลกเจลล่าได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดา แต่จำนวนแฟลกเจลล่าที่นับได้โดยวิธีนี้มักจะต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากการย้อมสีนอกจากทำให้แฟลกเจลล่ามีขนาดใหญ่ขึ้นแล้ว ยังทำให้

แฟลกเจลล่าที่อยู่ใกล้กันรวมกันด้วย นอกจากนี้ในขณะทำการย้อมสีแฟลกเจลล่าสามารถหลุดออกจากเซลล์ได้ง่ายมาก ดังนั้นจึงต้องทำด้วยความระมัดระวังเป็นพิเศษ

การมีแฟลกเจลล่าของแบคทีเรีย แฟลกเจลล่าเป็นโครงสร้างที่พบในแบคทีเรียบางชนิด และแบคทีเรียแต่ละชนิดที่มีแฟลกเจลล่าอาจจะมีจำนวน ลักษณะการเรียงตัว ความยาวและจำนวนคลื่นของแฟลกเจลล่าแตกต่างกัน สำหรับช่วงยาวคลื่นเป็นลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด เช่น *Bacillus subtilis, Bacillus vulgaris* และ *Pseudomonas diminuta* มีช่วงยาวคลื่นของแฟลกเจลล่าโดยเฉลี่ยประมาณ 2.5 ไมครอน 1.99 ไมครอน และ 0.62 ไมครอนตามลำดับ แบ่งแบคทีเรียที่มีแฟลกเจลล่าออกได้เป็นสองพวกใหญ่ ๆ พวกที่หนึ่งมีแฟลกเจลล่าออกมาจากทุกด้านของเซลล์ (peritrichous flagella) ได้แก่ แบคทีเรียซึ่งอยู่ในออร์เดอร์ ยูแบคทีเรียเลส (order Eubacteriales) พวกที่สองมีแฟลกเจลล่าเฉพาะที่ปลายเซลล์ ได้แก่ แบคทีเรียซึ่งอยู่ในออร์เดอร์ ซูโดโมนาดาเลส (order Pseudomonadales)

ในปี ค.ศ. 1951 Leifson ได้จัดลักษณะการมีแฟลกเจลล่าของแบคทีเรียออกเป็น 4 แบบ คือ

1. โมโนตริคัส (monotrichous) มีแฟลกเจลล่าเส้นเดียวอยู่ที่ปลายข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างของเซลล์ แฟลกเจลล่าต้องมีความโค้งมากกว่าสองโค้ง

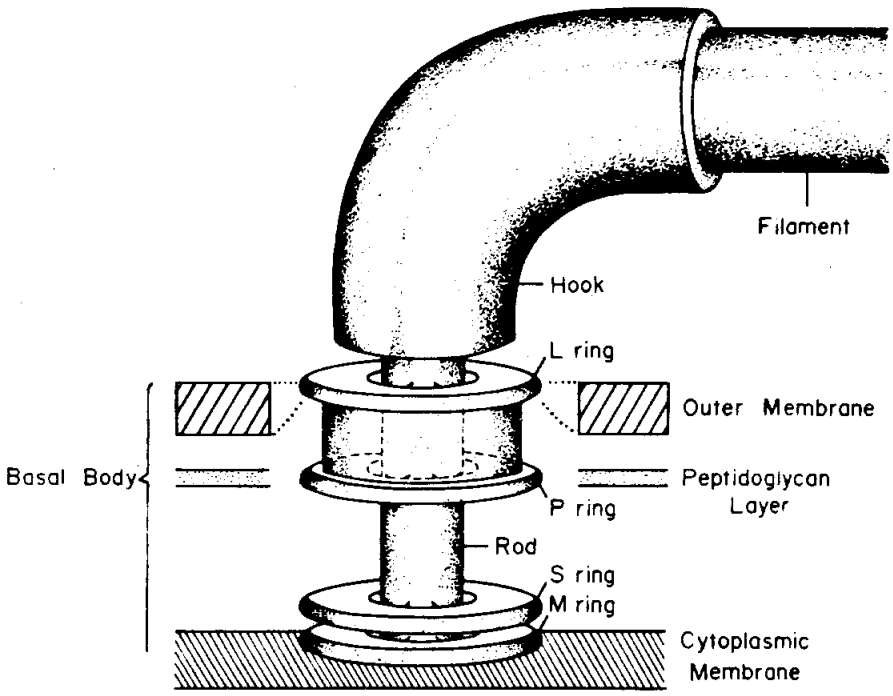
2. โลโฟตริคัส (lophotrichous) มีแฟลกเจลล่ามากกว่าหนึ่งเส้น อยู่ที่ปลายข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างเซลล์ แฟลกเจลล่ามีความโค้งเพียงโค้งเดียวหรือสองโค้งเท่านั้น

3. มัลติตริคัส (multitrichous) มีแฟลกเจลล่ามากกว่าหนึ่งเส้น อยู่ที่ปลายข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างของเซลล์ แฟลกเจลล่ามีความโค้งไม่น้อยกว่าสองโค้ง

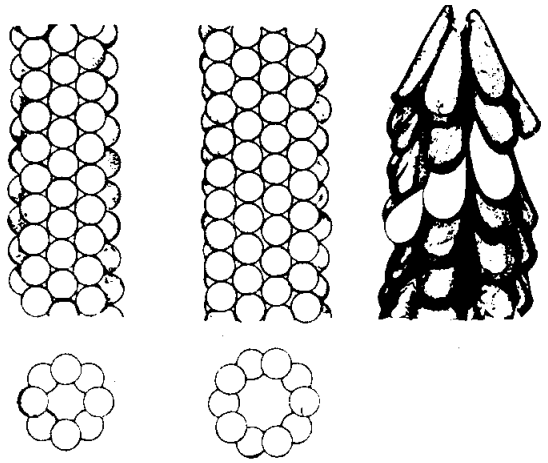
4. เพริตริคัส (peritrichous) มีแฟลกเจลล่ารอบเซลล์

ต้นกำเนิดและโครงสร้าง แฟลกเจลล่าประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน ดังรูปที่ 2-13 ส่วนแรกเป็นต้นกำเนิดที่แฟลกเจลล่าออกมา เรียกว่า เบซอลซทรัคเชอะ (basal structure) เบซอลบอดี้ (basal body) หรือ เบล็พฟาโรพลาสต์ (blepharoplast) ซึ่งยึดติดอยู่กับเยื่อเซลล์ มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมหรือเกือบทรงกลม ประกอบด้วยแกรนูลที่มีลักษณะคล้ายจานสองคู่ แต่ละคู่มีความกว้างประมาณ 200 อังสตรอม ยาวประมาณ 100 อังสตรอม แกรนูลทั้งสองคู่นี้จะติดกันอยู่ด้วยคอลล่าร์ (collar) ที่สั้นและแคบ คือ มีความกว้างประมาณ 80 อังสตรอมและยาวประมาณ 100 อังสตรอม ส่วนที่สองมีลักษณะคล้ายตะขอ (hook) ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเบซอลซทรัคเชอะกับเส้น (filament) ของแฟลกเจลล่า โดยจะติดอยู่กับเบซอล-ซทรัคเชอะด้วยคอลล่าร์ที่สั้นและแคบซึ่งสามารถหลุดออกจากเบซอลซทรัคเชอะได้ง่าย ส่วนที่มีลักษณะคล้ายตะขอนี้จะมีอยู่ประมาณ 1% ของน้ำหนักของแฟลกเจลล่าและมีลักษณะแตกต่างจากเส้นของแฟลกเจลล่า คือ ทนต่อกรด แอลกอฮอล์ ความร้อนมากกว่าเส้นของแฟลกเจลล่า และประกอบด้วยโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการเป็นแอนติเจนแตกต่างจากเส้นของแฟลกเจลล่า ส่วนที่สามเป็นเส้นของแฟลกเจลล่า มีขนาดใหญ่ไม่เท่ากันตลอด ส่วนซึ่งติดกับส่วนที่มีลักษณะคล้ายตะขอจะมีขนาดใหญ่มากกว่าส่วนปลาย

เส้นของแฟลกเจลล่าประกอบด้วยหน่วยย่อย ๆ ซึ่งมีลักษณะกลมหรือรูปไข่มาเรียงตัวต่อกันในแบบต่าง ๆ ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรีย (รูปที่ 2-14) แต่เนื่องจากวิธีการศึกษาและกล้องจุลทรรศน์ที่นำมาใช้มีข้อจำกัด ทำให้ยังไม่ทราบถึงรายละเอียดที่หน่วยย่อยแต่ละหน่วยมาต่อกัน ทราบแต่เพียงว่าเส้นของแฟลกเจลล่ามีลักษณะเป็นท่อกลวง ประกอบด้วยหน่วยย่อย ๆ มาต่อกันเป็นไฟบริล (fibril) หลายเส้นซึ่งส่วนมากจะมีสามเส้น ไฟบริลที่เกิดขึ้นนี้มีลักษณะเป็นเกลียวขนานกันแล้วหุ้มรอบด้วยสารที่ไม่ใช่โปรตีน จากลักษณะดังกล่าวจะเห็นได้ว่าแฟลกเจลล่าของแบคทีเรียแตกต่างจากแฟลกเจลล่าของสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรยูคาริโอตา ซึ่งประกอบด้วยไฟบริลเก้าเส้นล้อมรอบแกนกลางที่มีไฟบริลอยู่สองเส้น และมีเยื่อบาง ๆ ล้อมรอบไฟบริลสองเส้นที่อยู่แกนกลางด้วย



รูปที่ 2-13 แผนผังของแฟลกเจลล่า



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 2-14 ภาพจำลองเส้นของแฟลกเจลล่าแบบต่าง ๆ

(ก) *Salmonella typhimurium*

(ข) *Pseudomonas fluorescens*

(ค) *Proteus mirabilis*

ส่วนประกอบทางเคมี เมื่อปรับ pH ของของเหลวที่มีเส้นของแฟลกเจลล่าแขวนลอยอยู่ให้มี pH ประมาณ 3-4 หรือเติมสารพวกดีเทอเจ้นท์ (detergent) ลงไป หน่วยย่อย ๆ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแฟลกเจลล่าจะแตกแยกออกจากกัน จากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า หน่วยย่อยแต่ละหน่วยเป็นโปรตีนลักษณะเส้น (fibrous protein) ที่เรียกว่า แฟลกเจลลิน (flagellin) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลและกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละสปีชี่ โดยทั่วไปแฟลกเจลลินจะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000 - 50,000 ดาลตัน ทนต่อทริพซิน (trypsin) ได้ดีมากกว่าโปรตีนในไซโตพลาสซึม ไม่มีซีสเตอีน ซีสติดีน โปรลีน ทริปโตเฟนและไทโรซีน เป็นองค์ประกอบหรือมีอยู่น้อยมาก

แบคทีเรียที่มีแฟลกเจลล่าบางชนิด เช่น *Proteus* sp. เมื่อเจริญเติบโตบนผิวของอาหารแข็งกลุ่มเซลล์จะแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้เรียกแฟลกเจลล่าแอนติเจน (flagella antigen) ว่า H antigen(H มาจากภาษาเยอรมันว่า Hauch = แผ่เป็นแผ่นบาง ๆ) H antigen มีส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างจากโซมาติกแอนติเจน (somatic antigen) ที่เรียกว่า O antigen (O มาจากภาษาเยอรมันว่า ohne Hauch = ไม่มีการแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ) ดังนั้น H antigen จึงเกิดปฏิกริยาแบบจับกลุ่ม (agglutination reaction) กับ H antiserum เท่านั้น

การเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย การเคลื่อนที่ของแบคทีเรียสามารถตรวจสอบได้ โดยการเตรียมสไลด์แบบหยดของเหลวห้อยแขวน (hanging drop) แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือโดยการสแตป (stab) เชื้อแบคทีเรียลงไปในหลอดอาหารครึ่งแข็งครึ่งเหลว (semisolid agar) แบคทีเรียซึ่งเคลื่อนที่ได้จะเจริญเติบโตออกจากแนวที่สแตปเชื้อลงไป ส่วนแบคทีเรียซึ่งเคลื่อนที่ไม่ได้จะเจริญเติบโตเฉพาะตามแนวที่สแตปเชื้อลงไป การเคลื่อนที่ของแบคทีเรียนี้มิได้เกิดขึ้นเนื่องจากการมีแฟลกเจลล่าเสมอไป แบคทีเรียบางชนิดเคลื่อนที่ได้โดยไม่มีแฟลกเจลล่า เช่น ไกลดิ่งแบคทีเรียเคลื่อนที่ได้โดยการไกลดิ่งบนผิวของอาหาร สไปโรชีตส์เคลื่อนที่ได้โดยการหมุนตัวและยืดหดตัวของเซลล์

จากการศึกษาการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียซึ่งมีแฟลกเจลล่าพบว่า ถ้ากำจัดแฟลกเจลล่าออกจากเซลล์แบคทีเรีย แบคทีเรียจะยังคงดำรงชีวิตได้อย่างปกติ แต่ไม่สามารถเคลื่อนที่ และเมื่อแฟลกเจลล่าถูกสร้างขึ้นมาใหม่แบคทีเรียก็จะสามารถเคลื่อนที่ได้อีก ขณะที่แบคทีเรียมีการเคลื่อนที่แฟลกเจลล่าจะหมุน พร้อมกับมีการคลายตัวและหดตัวสลับกันไปเพื่อก่อให้เกิดแรงทำให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ได้ประมาณ 100 ไมครอนต่อวินาที ทิศทางการเคลื่อนที่นี้ถูกควบคุมโดยสารเคมีและมุมที่แฟลกเจลล่าทำกับตัวเซลล์ การเคลื่อนที่ตอบสนองต่อสารเคมี เรียกว่า เค็มโมเท็กซิส (chemotaxis) เมื่อมีอาหารหรือสารเคมีที่แบคทีเรียต้องการ แฟลกเจลล่าจะรวมกันเป็นมัดหมุนทวนเข็มนาฬิกาเพื่อทำให้เซลล์เข้าหาอาหาร ในทางตรงกันข้ามเมื่อต้องการออกห่างจาก

สารเคมีหรือของที่เซลล์แบคทีเรียขับออกมา แฟลกเจลล่าจะไม่รวมตัวกันเป็นมัดและหมุนตามเข็มนาฬิกา นอกจากนี้ยังพบว่า ผนังเซลล์และสารเคมีบางชนิดมีผลทำให้แบคทีเรียซึ่งมีแฟลก-เจลล่าไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เช่น กำจัดผนังเซลล์ออกจากเซลล์แบคทีเรีย แล้วนำโปรโตพลาส (protoplast) ที่มีแฟลกเจลล่าไปใส่ในอาหารหรือสารละลายซึ่งเคยเคลื่อนที่ได้ พบว่าโปรโตพลาสนั้นไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สำหรับสารเคมี Metzner ได้ทำการศึกษาทดลองโดยเพาะเลี้ยง *Spirillum volutans* ในเปปโตนซัคซิเนตซอลต์มีเดียม (peptone succinate-salts medium) ซึ่งไม่มีการเติมสารเคมีและมีการเติมสารเคมีบางชนิดลงไป พบว่า เมื่อไม่มีการเติมสารเคมี *Spirillum volutans* เคลื่อนที่เร็วมาก และเปลี่ยนทิศทางการเคลื่อนที่บ่อย ๆ ขณะเคลื่อนที่แฟลกเจลล่าที่ปลายทั้งสองข้างของเซลล์จะหมุนไปในทิศทางเดียวกันด้วยความเร็วประมาณ 40 รอบต่อวินาทีพร้อมกับมีการคลายตัวและหดตัวสลับกันไป ส่วนตัวเซลล์จะหมุนไปในทิศทางตรงกันข้ามกับแฟลกเจลล่าและหมุนช้ากว่าแฟลกเจลล่าประมาณ 3 เท่า เมื่อเติมสารเคมี เช่น ฟีนอล (phenol) หรือโคลีนไฮเดรต (choline hydrate) ซึ่งมีความเข้มข้น 0.048 โมล่า (molar) ลงไป แฟลกเจลล่าที่ปลายทั้งสองข้างของ *Spirillum volutans* จะโค้งเข้าหาตัวเซลล์ และหมุนไปในทิศทางตรงกันข้ามด้วยความเร็วสูง ทำให้เซลล์ไม่เคลื่อนที่ แต่เมื่อเติมสารเคมี เช่น แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ซึ่งมีความเข้มข้น 0.2 โมล่าลงไป แฟลกเจลล่าที่ปลายทั้งสองข้างของ *Spirillum volutans* จะยืดออกจากตัวเซลล์และหมุนไปในทิศทางตรงกันข้ามด้วยความเร็วสูง ทำให้เซลล์ไม่เคลื่อนที่ ผลของสารเคมีซึ่งมีต่อการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียนอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารเคมีด้วย

ฟิมเบรียหรือพิไล (pili, เอกพจน์เป็น pilus)

ฟิมเบรียหรือพิไลของแบคทีเรียมีลักษณะเป็นเส้นคล้ายขนมีขนาดเล็กและสั้นกว่าแฟลกเจลล่าของแบคทีเรียดังรูปที่ 2-15 โดยทั่วไปฟิมเบรียจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ

5-10 นาโนมิเตอร์ ดังนั้นจึงไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดา

รูปที่ 2-15 ลักษณะพิมเบรียของ *Escherichia coli* K_{12}Hfr ชนิดธรรมดาและชนิด F พิมเบรียชนิด F นอกจากจะมีขนาดเล็กและสั้นกว่าแฟลกเจลล่าแล้วยังมีแบคเทอริโอฟาจซึ่งมีลักษณะกลมเกาะติดอยู่

การตรวจสอบหรือศึกษารูปร่างลักษณะต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งจากการตรวจสอบหรือศึกษาพบว่า แบคทีเรียที่มีฟิมเบรียหรือพิไลเป็นแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด เช่น แบคทีเรียซึ่งอยู่ในแฟมมิลี่ ซูโดโมนาดาซีอี (Pseudomonadaceae) และเอ็นเตอโรแบคทีเรียซีอี (Enterobacteriaceae) เป็นต้น ฟิมเบรียหรือพิไลมีต้นกำเนิดออกมาจากเยื่อเซลล์ แล้วผ่านผนังเซลล์ออกมาทุกทิศทุกทางอย่างไม่เป็นระเบียบ มีจำนวนไม่แน่นอน บางเซลล์อาจจะมีจำนวนมากมายจนกลุมผิวของเซลล์หมด บางเซลล์อาจจะมีจำนวนน้อยแต่ก็ยังมากพอที่จะอยู่รอบ ๆ ผิวของเซลล์ได้ ฟิมเบรียสามารถหลุดออกจากเซลล์แบคทีเรียได้ง่าย และหลังจากหลุดออกจากเซลล์แล้วแบคทีเรียยังคงมีกระบวนการเมตาบอลิซึมอย่างปกติ

ส่วนประกอบทางเคมี ฟิมเบรียประกอบด้วยโปรตีนที่เรียกว่า พิลิน (pilin) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 11,800 - 16,600 ดาลตัน และมีคุณสมบัติในการเป็นแอนติเจนแตกต่างจากแฟลกเจลลิน พิลินที่มีการศึกษาถึงรายละเอียดของส่วนประกอบทางเคมีกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ F พิลิน (F pilin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบ F พิลัส (F pilus) F พิลินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 11,800 ดาลตัน ไม่มีอาจินีน ซิสเตอีน ซิสติดีน โปรลีนเป็นองค์ประกอบ และมีทริปโตเฟน ไทโรซีนเป็นองค์ประกอบน้อยมาก ส่วนปุ่มซึ่งอยู่ตรงปลาย F พิลัสจะมีส่วนประกอบทางเคมีเหมือนแฟลกเจลล่า

หน้าที่ ฟิมเบรียมีหน้าที่หลายอย่างทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของฟิมเบรีย เช่น เป็นที่สำหรับให้ไวรัสของแบคทีเรียเกาะติด ช่วยให้แบคทีเรียเกาะติดกับผิวหน้าของสิ่งต่าง ๆ ได้ดีขึ้น และทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของแบคทีเรียเป็นต้น ฟิมเบรียซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ เรียกว่า F พิลัส (พหูพจน์เป็น F pili) F พิลัสนี้ได้มีการศึกษาถึงรายละเอียดมากกว่าพิลัสชนิดอื่น ๆ จากการศึกษาทราบว่า F พิลัสแตกต่างจากพิลัสชนิดอื่น ๆ คือมีปุ่มตรงปลายซึ่ง มีขนาดใหญ่กว่า ยาวกว่าและประกอบด้วยโปรตีนสองเส้นขนานกัน ร่องระหว่างโปรตีนสองเส้นนี้จะเป็นที่ซึ่ง DNA ถูกส่งผ่านจากแบคทีเรียซึ่งเป็นตัวถ่ายสารพันธุกรรม (donor) ไปยังตัวรับสารพันธุกรรม (recipient) ในระหว่างการสืบพันธุ์แบบคอนจูเกชั่น (conjugation) เซลล์ที่มี F พิลัสเรียกว่า F^+ หรือ Hfr สำหรับการเกาะติดกับผิวหน้าของสิ่งต่าง ๆ ถ้าสิ่งที่

ถูกยึดเกาะเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงก็จะทำให้เกิดการจับกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งเรียกว่า ฮีเม็กกลูติเนชั่น (hemagglutination) และเมื่อแบคทีเรียสูญเสียพิบเบรียความสามารถในการเกาะติดกับเซลล์เม็ดเลือดแดงจะลดลง แต่แบคทีเรียยังคงดำรงชีวิตได้อย่างปกติ

แคปซูลและชั้นเมือก

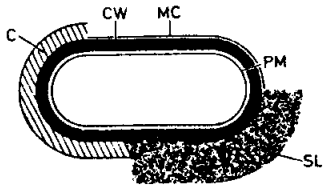
แบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Diplococcus pneumoniae*, *Acetobacter xylinum* และ *Aerobacter transcapsulatus* เป็นต้น มีสารซึ่งมีลักษณะใสและหนียวคล้ายเยลลี่หุ้มอยู่รอบผนังเซลล์ สารนี้มิได้มีส่วนจำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของเซลล์ สามารถจัดออกไปได้โดยมิได้เป็นอันตรายต่อเซลล์และหลังจากขจัดออกไปแล้วเซลล์สามารถสร้างขึ้นมาได้ใหม่ แบ่งสารที่หุ้มอยู่ภายนอกผนังเซลล์แบคทีเรียออกได้เป็นโครงสร้าง 3 ชนิด (รูปที่ 2-16) คือ

1. แมคโครแคปซูล (macrocapsule) เป็นโครงสร้างที่หนาประมาณ 0.2 ไมครอนหรือมากกว่า มีรูปร่างแน่นอน ติดสีได้ยาก ดังนั้นในการดูแมคโครแคปซูลจึงต้องใช้วิธีการย้อมสีแบบเน็กกะตีบสเตนนิ่งทำให้พื้นสไลด์รอบ ๆ เซลล์เป็นสีดำแล้วย้อมตัวเซลล์ให้ติดสี ก็จะเห็นแมคโครแคปซูลซึ่งยังคงเป็นส่วนที่ไม่ติดสี หรือใช้วิธีการย้อมสีพิเศษ หรือใช้ปฏิกริยาที่เรียกว่าปฏิกริยาควลลัง (quellung reaction) โดยนำแอนติบอดี้ของแมคโครแคปซูลมาทำปฏิกริยากับแมคโครแคปซูลที่เป็นตัวกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดี้นั้นขึ้น ผลของปฏิกริยาทำให้แมคโครแคปซูลบวมมีขนาดใหญ่และมีลักษณะมืดทึบขึ้น ดังนั้นจึงสามารถมองเห็นได้ชัดด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดา

2. ไมโครแคปซูล เป็นโครงสร้างที่หนาน้อยกว่า 0.2 ไมครอน ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดาการตรวจหาไมโครแคปซูลทำได้โดยใช้ปฏิกริยาซีโรโลยี

3. ชั้นเมือก เป็นโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายแคปซูล แต่มีรูปร่างไม่แน่นอนและเกาะติดกับผนังเซลล์แบคทีเรียอย่างหลวม ๆ ดังนั้นจึงหลุดออกจากตัวเซลล์ได้ง่ายกว่าแคปซูล โดยปกติทั่วไปสามารถแยกชั้นเมือกออกจากตัวเซลล์ได้โดยการเขย่าหรือการปั่น ส่วนการแยก

แคปซูลออกจากตัวเซลล์ต้องใช้กรดหรือด่างที่เจือจางช่วย เช่น กรดไทรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) หรือไดเอ็อทิลีนไกลคอล (diethylene glycol) เป็นต้น



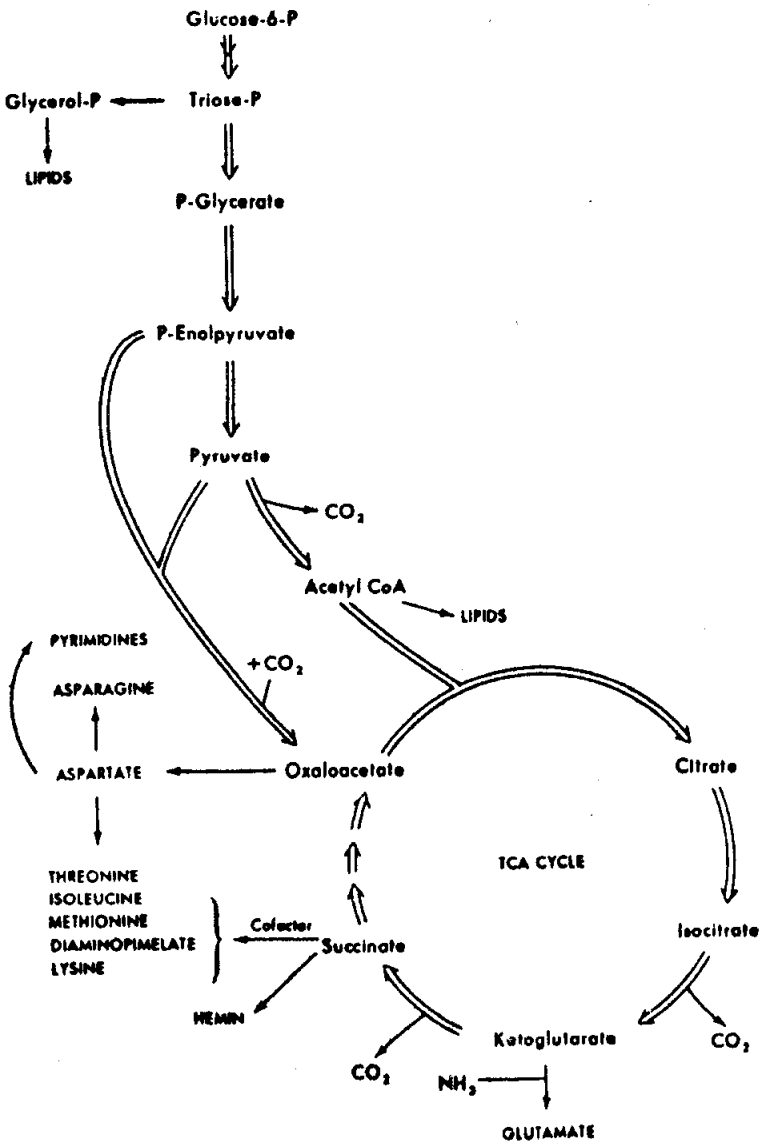
รูปที่ 2-16 แผนผังแสดงเยื่อเซลล์ (PM) ผนังเซลล์ (CW) ชั้นเมือก (SL) แมคโครแคปซูล (C) และไมโครแคปซูล (MC) ของแบคทีเรีย

การมีและมีมากหรือน้อยของแคปซูลและชั้นเมือก ขึ้นอยู่กับยีน (gene) และสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย เมื่อยีนหรือสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเกิดการเปลี่ยนแปลงก็จะมีผลต่อการสร้างแคปซูลและชั้นเมือก คือ อาจจะยับยั้งการสร้างหรือทำให้มีการสร้างในปริมาณมากหรือน้อยกว่าปกติ การเปลี่ยนแปลงของยีนอาจจะเกิดจากการมิวเตต (mutate) หรือโดยวิธีทรานสฟอร์เมชั่น (transformation) สำหรับสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียซึ่งมีผลต่อการสร้างแคปซูลและชั้นเมือก ได้แก่ ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ในบรรยากาศ ชนิดและปริมาณน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน เช่น *Bacillus antracis* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค (virulence strain) จะสร้างแคปซูลเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในที่ซึ่งมีปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงโดยคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่จะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดปฏิกริยาคาร์บอกซิเลชั่น (carboxylation) ของไพรูเวต (pyruvate) หรือฟอสโฟอีนนอล-

ไพรูเวต (phospho-enolpyruvate) แล้วได้ออกซะโลอะซิเตต (oxaloacetate) ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไปจนในที่สุดได้กลูตาเมตซึ่งเป็นส่วนประกอบของแคปซูล ดังรูปที่ 2-17 *Streptococcus salivarius* สร้างแคปซูลซึ่งเป็นลีแวน เมื่ออาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีซูโครส (sucrose) และราฟฟีโนส (raffinose) มากเกินต้องการ *Aerobacter aerogenes* จะสร้างแคปซูลซึ่งเป็นเด็กซ์แตรน เมื่ออาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีซูโครสมากเกินต้องการเป็นต้น

โคโลนีของแบคทีเรียที่มีแคปซูลหรือชั้นเมือกจะมีลักษณะเรียบ (smooth colony) หรือมีลักษณะเป็นเมือกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนโคโลนีของแบคทีเรียที่ไม่มีแคปซูลและชั้นเมือกจะมีลักษณะหยาบ (rough colony)

ต้นกำเนิดและโครงสร้าง ในปัจจุบันยังไม่มีผู้ทราบแน่ชัดถึงต้นกำเนิดของแคปซูลและชั้นเมือก แต่มีสมมุติฐานหลายอย่างที่นักวิทยาศาสตร์ตั้งขึ้นเพื่ออธิบายถึงต้นกำเนิดของสารเหล่านี้ สมมุติฐานที่สำคัญซึ่งมีข้อโต้แย้งน้อยที่สุดได้กล่าวถึงต้นกำเนิดของแคปซูลและชั้นเมือกว่า เกิดจากแบคทีเรียสร้างสารที่มีลักษณะเหนียว ๆ เละ ๆ และมีน้ำหนักโมเลกุลสูงแล้วปล่อยออกมาจากเซลล์ ดังนั้นเมื่อออกมาแล้วสารดังกล่าวยังคงติดอยู่กับผนังเซลล์ด้านนอก สมมุติฐานนี้มีผู้โต้แย้งว่า สารนั้นถูกปล่อยออกมาจากส่วนใดของเซลล์ ทำไมเมื่อปล่อยออกมาแล้วในแบคทีเรียบางชนิดจึงมีความหนาเท่ากันตลอดขณะที่แบคทีเรียบางชนิดมีความหนาไม่เท่ากันตลอด และสารที่ถูกปล่อยออกมานี้มีน้ำหนักโมเลกุลสูงดังนั้นถ้าเซลล์สามารถปล่อยผ่านเยื่อเซลล์และผนังเซลล์ได้สารอื่น ๆ ภายในเซลล์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าก็น่าจะผ่านเยื่อเซลล์และผนังเซลล์ได้ ข้อโต้แย้งสุดท้ายนี้ได้มีนักวิทยาศาสตร์อธิบายว่า เนื่องจากสารที่ถูกปล่อยออกมามีน้ำหนักโมเลกุลสูง ดังนั้นหลังจากออกมาและติดอยู่กับผนังเซลล์ด้านนอกแล้วก็จะเป็นตัวป้องกันมิให้สารชนิดอื่น ๆ ออกมา สมมุติฐานที่กล่าวมานี้นักวิทยาศาสตร์พบว่าเป็นไปได้สำหรับ DNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแคปซูล แต่สำหรับสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นที่เป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกนั้นยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ว่าเป็นไปตามสมมุติฐานดังกล่าวหรือไม่ ดังนั้นจึงต้องรอคอยผลการทดลองใหม่ ๆ เพื่อพิสูจน์ว่าสมมุติฐานนี้ใกล้หรือไกลความจริงเพียงใด



รูปที่ 2-17 การสังเคราะห์กลูตาเมตจากกลูโคส

การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนศึกษาโครงสร้างละเอียดของแคปซูลและชั้นเมือกไม่ทำให้ทราบถึงโครงสร้างละเอียดมากนัก ทราบแต่เพียงว่าแคปซูลของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Diplococcus pneumoniae* มีลักษณะเป็นเส้นสานไปมา

คุณสมบัติทั่วไปและหน้าที่ แคปซูลและชั้นเมือกของแบคทีเรียมีคุณสมบัติทั่วไปและหน้าที่โดยย่อดังต่อไปนี้ คือ

1. มีคุณสมบัติเก็บน้ำได้ดี จึงทำให้เซลล์แบคทีเรียทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดียิ่งขึ้น

2. ป้องกันแบคทีเรียจากขบวนการที่เรียกว่า ฟาโกไซโตสิส (phagocytosis) ดังนั้นแบคทีเรียที่ไม่มีแคปซูลหรือล้างเอาแคปซูลออกแล้วจะถูกกินโดยฟาโกไซติกเซลล์ (phygocytic cell) เช่น เม็ดโลหิตขาวหรือเซลล์อย่างอื่นบางชนิดได้ง่าย การที่แคปซูลและชั้นเมือกมีคุณสมบัติป้องกันแบคทีเรียจากขบวนการฟาโกไซโตสิสนี้อาจจะเนื่องจากว่าแคปซูลและชั้นเมือกสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยโพลิแซคคาไรด์ตรงส่วนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

3. โพลิเมอร์ ที่เป็นองค์ประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกมีหมู่คาร์บอกซิลิกที่มีประจุลบจำนวนมาก ดังนั้นจึงสามารถจับกับแคทอิออน (cation) ซึ่งเป็นอะตอมที่มีประจุบวกได้ดี จากคุณสมบัติดังกล่าวนักวิทยาศาสตร์หลายท่านจึงเชื่อว่า ได้เกิดบอนด์ขึ้นระหว่างอะตอมที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์กับแคปซูลและชั้นเมือกแล้วทำให้แคปซูลและชั้นเมือกหุ้มอยู่รอบผนังเซลล์

4. มีความหนืดสูง จึงมีบทบาทสำคัญในการผลิตอาหารและถนอมอาหารบางชนิด เช่น การผลิตน้ำส้มสายชู (vinegar) เมื่ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียบางชนิด *(Acetobacter xylinum)* สร้างเมือกมากเกินไป ก็จะทำให้การออกซิไดส์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) เกิดขึ้นไม่ดี น้ำส้มสายชูที่ได้จึงมีคุณภาพต่ำ การถนอมอาหารโดยใช้ความร้อนแบคทีเรียที่มีแคปซูลและชั้นเมือกจะถูกฆ่าด้วยความร้อนได้ยากกว่าเวเจ็ทเตตีบเซลล์ (vegetative cell) ที่ไม่มีแคปซูลเป็นต้น

5. ไม่ทึบต่อลำอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงไม่สามารถเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แต่เมื่อใช้วิธีการย้อมสีพิเศษ เช่น ย้อมด้วยรูธีเนียมเร็ด (ruthenium red) หรือออสเมียมเตตรอคไซด์ (osmium tetoxide) จะสามารถเห็นโครงสร้างของแคปซูลและชั้นเมือกได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

6. บางชนิดทำหน้าที่เก็บสะสมสารไว้ใช้เป็นแหล่งพลังงานและบางชนิดทำหน้าที่เก็บสะสมสารที่เซลล์แบคทีเรียขับออกมา

7. มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนหรือแฮบเท็น (hepten) ซึ่งการเป็นแอนติเจนหรือแฮบเท็นของแคปซูลและชั้นเมือกนี้จะเป็นลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด ดังนั้นจึงมีประโยชน์ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย

ส่วนประกอบทางเคมี แคปซูลและชั้นเมือกของแบคทีเรียประกอบด้วยน้ำและสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งโดยปกติทั่วไปสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบนี้จะเป็นโพลิแซคคาไรด์หรือโพลิเปปไทด์หรือโพลิแซคคาไรด์และโพลิเปปไทด์รวมกัน มีแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่มี DNA หรือโปรตีนเป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกด้วย เช่น *Micrococcus halodenitrificans* และ *Vibrio costicolus* มีแคปซูลประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์กับ DNA *Pasteurella peptis* มีแคปซูลประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์กับโปรตีนเป็นต้น

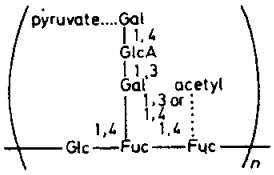
1. โพลิแซคคาร์ไรด์ โพลิแซคคาร์ไรด์ที่เป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1.1 โฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์ แบคทีเรียส่วนใหญ่จะมีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์เป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือก โดยอาจจะมีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์เป็นส่วนประกอบเพียงชนิดเดียวหรือมีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์กับสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่น โฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์ที่พบว่าเป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกของแบคทีเรีย ได้แก่ กลูแคน ลีแวน แมนแนน และกาแล็คแตน เช่น *Streptococcus bovis, Acetobacter capsulatum* และ

Leuconostoc mesenteroides มีแคปซูล ประกอบด้วยกลูแคนที่เรียกว่า เดกซ์แตรน ซึ่งมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตเดกซ์แตรนเพื่อนำมาใช้รักษาการช็อคซึ่งเกิดจากการเสียเลือดมาก *Acetobacter* sp. บางสปีชี่มีแคปซูลประกอบด้วยกลูแคนที่เรียกว่าเซลลูโลส แบคทีเรียที่เป็นตัวการก่อให้เกิดโรคพืชหลายชนิด เช่น *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Streptococcus salivarius* และ *Bacillus* sp. บางสปีชี่มีแคปซูลประกอบด้วยลีแวน *Bacillus polymyxa* มีแคปซูลประกอบด้วยแมนแนนและ *Micrococcus mycoides* มีแคปซูลประกอบด้วยกาแล็คแตนเป็นต้น สำหรับจุลินทรีย์ชนิดอื่นจะมีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์ที่อยู่นอกผนังเซลล์แตกต่างออกไปและบางชนิดมีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์มากกว่าหนึ่งชนิด เช่น *Pullularia pullulans* มีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์ที่เรียกว่า พูลลูแลน (pullulan) ซึ่งประกอบด้วยดีกลูโคไพราโนส (D-glucopyranose) มาต่อกันอยู่ด้วยบอนด์แบบ 1-4 และ 1-6 ไกลโคซิดิคบอนด์ *Penicillium charlesii* มีโฮโมโพลิแซคคาร์ไรด์ที่เรียกว่าแมนแนนและกาแล็คแตน

1.2 เฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ แบคทีเรียหลายชนิดมีเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือก เช่น streptococci group A มีแคปซูลประกอบด้วยกรดไฮอาลูโรนิก *Pseudomonas aeruginosa*, *Aerobacter aerugenes*, *Bacillus circulans* และ *Diplococcus pneumoniae* มีแคปซูลซึ่งเป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ในปัจจุบันยังไม่มีชื่อเรียกโดยเฉพาะ แต่ทราบว่ามีโมโนแซคคาร์ไรด์หลายชนิดเป็นส่วนประกอบของเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์นั้น เช่น *Pseudomonas aeruginosa* มีแคปซูลประกอบด้วยดีกลูโคส ดีกาแล็คโตส ดีแมนโนส แอลแรมโนส (L-rhamnose) และกรดดีกลูคิวโรนิก *Aerobacter aerugenes* มีแคปซูลประกอบด้วยดีกลูโคส ดีฟรุคโตสและกรดดีกลูคิวโรนิก *Bacillus circulans* มีแคปซูลประกอบด้วยดีกลูโคส ดีแมนโนสและกรดดีกลูคิวโรนิก *Diplococcus pneumoniae* แต่ละชนิดจะมีเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของแคปซูลต่างกันดังรูปที่ 2-8 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* และ *Aerobacter cloacae* เมื่อเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเหมาะสมจะสร้างชั้นเมือกซึ่งเป็นเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วย

กรดโคลานิก (colanic acid) ดังรูปที่ 2-18 มาเรียงตัวซ้ำ ๆ กันตลอดโมเลกุล



รูปที่ 2-18 แสดงโครงสร้างของกรดโคลานิกที่มีอยู่ซ้ำ ๆ กัน ในโมเลกุลเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่สร้างโดย *Salmonella typhimurium*

นักวิทยาศาสตร์ ได้ให้ความสนใจและทำการศึกษากันอย่างกว้างขวางถึงส่วนประกอบทางเคมีและคุณสมบัติในการเป็นแอนติเจนของเฮเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบของแคปซูลและชั้นเมือกของแบคทีเรีย ทั้งนี้เนื่องจากมีประโยชน์ในการช่วยจำแนกชนิดของแบคทีเรียและทำให้ทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้รวดเร็วยิ่งขึ้น จากคุณสมบัติทางซีโรโลยีสามารถแบ่ง *Diplococcus pneumoniae* ออกได้เป็น 75 ชนิดและแบ่ง *Escherichia coli* ออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ A, B และ L *Escherichia coli* กลุ่ม *B* และ L สร้างไมโครแคปซูล ส่วน *Escherichia coli* กลุ่ม A สร้างแมคโครแคปซูล

2. โพลิเปปไทด์ แคปซูลของแบคทีเรียบางชนิดประกอบด้วยโพลิเปปไทด์เพียงอย่างเดียว ซึ่งโพลิเปปไทด์ที่เป็นส่วนประกอบของแคปซูลนี้จะมีรายละเอียดแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรีย เช่น *Bacillus antracis* สายพันธุ์ที่สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคมีแคปซูลเป็นโพลิเปปไทด์ซึ่งประกอบด้วยกรดดีกลูตามิก (D-glutamic acid) เพียงชนิดเดียว *Bacillus subtilis* มีแคปซูลเป็นโพลิเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดดีกลูตามิกและกรดแอลกลูตามิก (L-glutamic acid) ซึ่งเกาะกันเป็นดีกลูตามิลโพลิเปปไทด์ (D-glutamyl polypeptide) และแอลกลูตามิลโพลิเปปไทด์ (L-glutamyl polypeptide) แล้วโพลิเปปไทด์ทั้งสองชนิดจึงมาเกาะกันด้วยแกมม่าเปปไทด์บอนด์ (γ-peptide bond) ปริมาณของกรดดีกลูตามิกและแอลกลูตามิกที่เป็นองค์ประกอบของแคปซูลจะแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรีย คือ แบคทีเรียบางชนิดอาจจะมีกรดทั้งสองชนิดในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่แบคทีเรียบางชนิดอาจมีกรดแอลกลูตามิกเป็นส่วนใหญ่

แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus megaterium* สร้างแคปซูลที่ประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์และโพลิเปปไทด์ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ได้ทำการทดลองเพื่อแสดงให้เห็นว่าแคปซูลของ *Bacillus megaterium* ประกอบด้วยสารสองชนิดดังกล่าวและโพลิเปปไทด์ที่มีอยู่ประกอบด้วยกรดดีกลูตามิกเช่นเดียวกับ *Bacillus antracis* โดยทำการแยกแคปซูลของ *Bacillus megaterium* แล้วนำแคปซูลที่แยกได้ฉีดเข้าไปในร่างกายสัตว์ทดลอง เพื่อกระตุ้นให้สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดี้ขึ้นในซีรั่ม (serum) แต่เนื่องจากโพลิเปปไทด์เป็นแฮบเท็น สัตว์ทดลองจึงสร้างแอนติบอดี้ของโพลิแซคคาไรด์แต่เพียงอย่างเดียว ในขณะเดียวกันทำการเตรียมแอนติบอดี้ของ *Bacillus antracis* ด้วยการใช้เซลล์ทั้งเซลล์ของ *Bacillus antracis* ฉีดเข้าไปในร่างกายสัตว์ทดลอง เพื่อกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดี้ขึ้นในซีรั่ม หลังจากนั้นนำซีรั่มจากสัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีดแคปซูลของ *Baeillus megaterium* มาเติมลงบนสไลด์ซึ่งมีสารละลายที่มีเซลล์ *Bacillus megaterium* อยู่ ตรวจผลที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่ใช้แสงธรรมดาพบว่า เกิดตะกอนซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นสายขุ่น ๆ ขวางส่วนยาวของเซลล์ตรงส่วนแคปซูลซึ่งเป็นผล

ของปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี้ ส่วนบริเวณระหว่างเส้นสายขุ่น ๆ จะมีลักษณะใส ต่อมานำซีรั่มจากสัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีดเซลล์ของ *Bacillus antracis* เติมลงไป พบว่า บริเวณที่มีลักษณะใส ๆ ซึ่งอยู่ระหว่างเส้นสายขุ่น ๆ จะเกิดตะกอนแล้วมีลักษณะขุ่นหมด

๓. โปรตีน โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีจำนวนกรดอะมิโนหรือน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าโพลิเปปไทด์ และในกรณีที่โปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 40,000 ดาลตัน มักจะประกอบด้วยโพลิเปปไทด์มากกว่าหนึ่งเส้น นอกจากนี้โปรตีนบางชนิดยังมีส่วนอื่นที่ไม่ใช่โพลิเปป-ไทด์ติดอยู่ในโมเลกุล เช่น ไลโพโปรตีนและมิวโคโปรตีน (mucoprotein) เป็นต้น

จากการศึกษาพบว่า แคปซูลของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Pasteurella peptis* และ streptococci บางชนิดมีโปรตีนและโพลิแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบ โดยโปรตีนจะเกาะกับโพลิแซคคาไรด์เกิดเป็นโปรตีนโพลิแซคคาไรด์คอมเพล็ก (protein - polysaccharide complex)

๔. DNA (deoxyribonucleic acid) แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Micrococcus halodenitrificans, Vibrio costicolus, Micrococcus pyogenes* และ *Alcaligenes faecalis* สามารถสร้างแคปซูลที่มี DNA เป็นส่วนประกอบ และเมื่อกำจัด DNA ตรงส่วนแคปซูลด้วยเอ็นไซม์ดีออกซีไรโบนิวคลีเอส (deoxyribonuclease) แล้ว แบคทีเรียก็ยังคงสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างปกติ

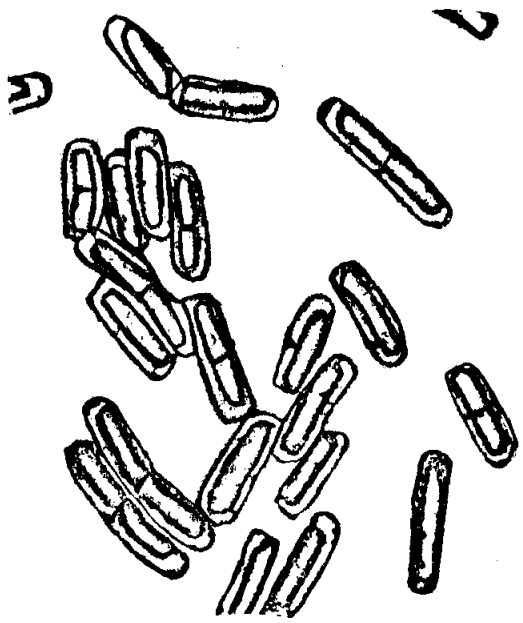
ผนังเซลล์

ผนังเซลล์เป็นโครงสร้างที่สำคัญของเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งอยู่ถัดจากแคปซูลหรือชั้นเมือกลงมาและห่อหุ้มเยื่อเซลล์ ในแบคทีเรียที่ไม่มีแคปซูลหรือชั้นเมือกผนังเซลล์จะเป็นชั้นนอกสุดของเซลล์ ผนังเซลล์แบคทีเรียมีลักษณะแข็ง (rigid) เป็นรู ๆ และมีปริมาณทั้งหมดประมาณ 10 - 50% ของน้ำหนักแห้งของเซลล์แบคทีเรียส่วนความหนาของผนังเซลล์จะประมาณ 10 - 25 มิลลิไมครอน ทั้งนี้ตามแต่ชนิดของแบคทีเรีย อายุ ระยะในการเจริญเติบโตและส่วนประกอบทางเคมีของสับสเตรต

โดยทั่วไปผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกจะหนากว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ผนังเซลล์แบคทีเรียที่มีอายุมากจะมีความหนามากกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียชนิดเดียวกันที่มีอายุน้อย สับสเตรตหรืออาหารซึ่งทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย เมื่อขาดธาตุอาหารบางชนิดผนังเซลล์จะมีลักษณะบางลงหรือไม่มีการสร้างผนังเซลล์ เช่น ขาดแมกนีเซียมจะทำให้แบคทีเรียไม่สร้างผนังเซลล์ สำหรับระยะในการเจริญเติบโตนั้น พบว่า เซลล์แบคทีเรียที่เจริญเติบโตในระยะสเตชั่นนารีเฟซ (stationry phase) จะมีปริมาณผนังเซลล์ทั้งหมดมากกว่าเซลล์ซึ่งเจริญเติบโตอยู่ในระยะเอ็กโพเน็นเทียลเฟซ (exponential phase)

คุณสมบัติทั่วไปและหน้าที่ จากการที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียมีลักษณะแข็ง จึงทำให้เซลล์แบคทีเรียสามารถทนต่อแรงกดดันภายนอกได้สูง เช่น ทนต่อแรงกดดันของอากาศได้ถึง 20 เท่าของบรรยากาศ และยังทำให้เซลล์แบคทีเรียคงรูปร่างและขนาดของเซลล์อยู่ได้ ดังจะเห็นว่าแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์ซึ่งเรียกว่าโปรโตพลาสจะไม่สามารถคงรูปร่างอยู่ได้ เช่น พวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนก็จะมีรูปร่างกลม สามารถแสดงให้เห็นว่าผนังเซลล์แบคทีเรียมีลักษณะแข็งและมีหน้าที่ดังกล่าว โดยนำแบคทีเรียที่มีผนังเซลล์สมบูรณ์ไปใส่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือสารอื่น ๆ ต่ำกว่าภายในเซลล์ (hypotonic solution) หรือนำเซลล์แบคทีเรียที่มีผนังเซลล์สมบูรณ์ไปใส่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือสารอื่น ๆ สูงกว่าภายในเซลล์ (hypertonic solution) เซลล์แบคทีเรียก็ยังคงรูปร่างเดิมอยู่ได้ เช่น มีรูปร่างเป็นท่อนหรือรูปร่างกลม แต่เยื่อเซลล์จะยืดหยุ่นตามความเข้มข้นของสารละลายที่เซลล์อยู่ คือ เมื่อเซลล์แบคทีเรียอยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือสารอื่น ๆ ต่ำกว่าภายในเซลล์ น้ำจากสารละลายภายนอกเซลล์แบคทีเรียก็จะไหลเข้าสู่ภายในเซลล์ และถ้าไม่มีผนังเซลล์เยื่อเซลล์ก็จะขยายโตขึ้นจนในที่สุดก็อาจจะแตกได้ แต่เมื่อเซลล์แบคทีเรียอยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือสารอื่น ๆ สูงกว่าภายในเซลล์ ก็จะเกิดพลาสโมไลสิส (plasmolysis) ซึ่งน้ำภายในเซลล์จะไหลออกมายังสารละลายภายนอกเซลล์ แล้วทำให้เยื่อเซลล์เกิดการหดตัวแยกออกจากผนังเซลล์ ดังรูปที่ 2-19 เซลล์แบคทีเรียในลักษณะนี้เมื่อทำการย้อมสีเซลล์ทั้งเซลล์แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นว่ายังคง

มีรูปร่างเหมือนเซลล์เดิม นอกจากนี้เมื่อทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกโดยทางเมคคานิกและไซโต-พลาสซึมไหลออกมาภายนอกเซลล์หมดแล้ว ผนังเซลล์ที่เหลือซึ่งเรียกว่าโกซท์ (ghost) ก็จะยังคงมีรูปร่างเหมือนเซลล์เดิม



รูปที่ 2-19 ลักษณะเซลล์ของ *Bacillus megaterium* เมื่อเกิดพลาสโมไลสิส

ผนังเซลล์แบคทีเรียนอกจากจะมีหน้าที่ดังกล่าวมาแล้วยังมีหน้าที่อื่น ๆ อีก เช่น ทำหน้าที่เป็นแอนติเจนทำให้คนและสัตว์สามารถสร้างแอนติบอดี้ขึ้นในซีรั่ม ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ดังจะเห็นว่าแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์จะไม่สามารถเจริญเติบโตหรือแบ่งเซลล์ได้อย่างปกติ และทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของแบคทีเรียที่เรียกว่า ทรานสฟอร์-

เมชั่น ทรานสดักชั่น (transduction) และคอนจูเกชั่น ทรานสฟอร์เมชั่นผนังเซลล์จะมีรูหรือที่ว่างจำเพาะสำหรับรับ DNA ทรานสดักชั่นผนังเซลล์จะทำหน้าที่ให้ฟาจที่เหมาะสมมาเกาะแล้วเจาะเข้าไปในเซลล์แบคทีเรียได้ ส่วนคอนจูเกชั่นผนังเซลล์ของแบคทีเรียสองชนิดที่เหมาะสมจะมาแตะกันแล้วรวมกันเกิดเป็นสะพานคอนจูเกชั่น (conjugation bridge) เพื่อให้ DNA จากเซลล์ F^+ เคลื่อนที่ผ่านไปยังเซลล์ F^- หรือเซลล์รับสารพันธุกรรม นอกจากนั้นผนังเซลล์แบคทีเรียยังทำหน้าที่ควบคุมคุณสมบัติเลือกหรือยอมให้สารบางอย่างผ่านเข้าออกได้ (semipermeable membrane หรือ selective membrane) ของเยื่อเซลล์ หน้าที่อันนี้เราสังเกตได้จากการที่แบคทีเรียซึ่งมีผนังเซลล์สมบูรณ์จะนำไลซีน (lysine) เข้าสู่ภายในเซลล์เสมอไม่ว่าเซลล์จะอยู่ในสารละลายของไลซีนกับโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) หรืออยู่ในสารละลายของไลซีนกับซูโครส ส่วนแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์จะนำไลซีนเข้าสู่ภายในเซลล์เมื่อเซลล์อยู่ในสารละลายของไลซีนกับซูโครสแต่ไลซีนภายในเซลล์จะออกมายังสารละลายภายนอกเซลล์เมื่อเซลล์อยู่ในสารละลายของไลซีนกับโซเดียมคลอไรด์ นอกจากนี้ยังพบว่าไลโพโพลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบเป็นสารซึ่งทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบทำหน้าที่ดังกล่าวได้ โดยจะเห็นว่าแอคติโนมัยซิน (actinomycin) ซึ่งปกติไม่สามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียแกรมลบนั้นจะสามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียแกรมลบได้เมื่อกำจัดไลโพโพลิแซคคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบออกด้วยการใช้ฟีนอลหรือ EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid)

ส่วนประกอบทางเคมี การแยกผนังเซลล์ออกจากเซลล์แบคทีเรียได้เริ่มในปี ค.ศ.1897 หลังจากนั้นได้มีการปรับปรุงเรื่อยมาจนกระทั่งในปัจจุบันมีวิธีการแยกผนังเซลล์ออกมาให้บริสุทธิ์หลายวิธีด้วยกัน หลังจากได้แยกผนังเซลล์บริสุทธิ์แล้ว สิ่งแรกที่ศึกษากันมากที่สุดคือ พยายามหาส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ ซึ่งจากผลของการศึกษาพบว่า ผนังเซลล์แบคทีเรียมีส่วนประกอบทางเคมีซับซ้อนมากและในแบคทีเรียแต่ละชนิดก็ยังมีรายละเอียดของส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจากการแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 พวกใหญ่ ๆ ตามปฏิกิริยาต่อน้ำยาย้อมสีแบบแกรม

คือ แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบนั้น ทำให้มีผู้พยายามหาข้อแตกต่างของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งพบว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีส่วนประกอบทางเคมียุ่งยากน้อยกว่าและมีกรดอะมิโนซึ่งเป็นไอโซเมอร์ชนิด ดี (D)และแอล (L) เป็นส่วนประกอบน้อยชนิดกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ สำหรับมิวโคเปปไทด์ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกจะมีอยู่ในปริมาณสูงกว่าผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ คือ ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีมิวโคเปปไทด์ประมาณ 95% ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ ส่วนผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีมิวโคเปปไทด์ประมาณ 5-10% ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดมีโปรตีนและลิปิดเป็นส่วนประกอบด้วยในปริมาณเล็กน้อย เช่น มีลิปิดอยู่ประมาณ 0-3% ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ในขณะที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีโปรตีนและลิปิดเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง เช่น มีลิปิดอยู่ประมาณ 10-22% ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์เป็นต้น

ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อชั้นเดียว หนาประมาณ 150-800 อังสตรอม ประกอบด้วยส่วนสำคัญสองส่วน ส่วนแรกมีลักษณะเป็นเส้นสานไปมาคล้ายตาข่าย เส้นที่สานไปมานี้คือ มิวโคเปปไทด์ซึ่งมีชื่อเรียกหลายแบบ เช่น เปปติโดไกลแคน ไกลโคโปรตีน (glyco-protein) หรือมูเรน (murein) มิวโคเปปไทด์จัดเป็นโครงสร้างที่สำคัญของผนังเซลล์เพราะทำให้ผนังเซลล์มีลักษณะแข็งในแบคทีเรียแกรมบวกที่มีโปรตีนและลิปิดเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ โปรตีนและลิปิดก็จะมาเกาะติดกับมิวโคเปปไทด์โดยมิได้มีการแยกชั้นอย่างในแบคทีเรียแกรมลบ แม้ว่าโครงสร้างของมิวโคเปปไทด์ของแบคทีเรียทุกชนิดจะเหมือนกัน คือ ประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์อยู่เป็นเส้นขนานกันและมีเปปไทด์มาเชื่อมโพลิแซคคาไรด์เหล่านั้นเข้าด้วยกัน แต่ในแบคทีเรียต่างชนิดจะมีส่วนประกอบทางเคมีของเปปไทด์แตกต่างกันดังรูปที่ 2-19 ส่วนที่สอง เป็นกรดเทโคอิก (teichoic acid) พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกแต่ไม่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ โดยจะมีอยู่ประมาณ 5.0% ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ มีลักษณะเป็นเมทริกซ์ (matrix) ซึ่งจะผสมผสานเป็นเนื้อเดียวกับส่วนแรก โดยมิได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการคงรูปร่างของเซลล์ ผนังเซลล์ที่แยกกรดเทโคอิกออกไปด้วยการใช้กรดหรือด่างที่เจือจางแล้วจะยังคงมีรูปร่างคงเดิม