

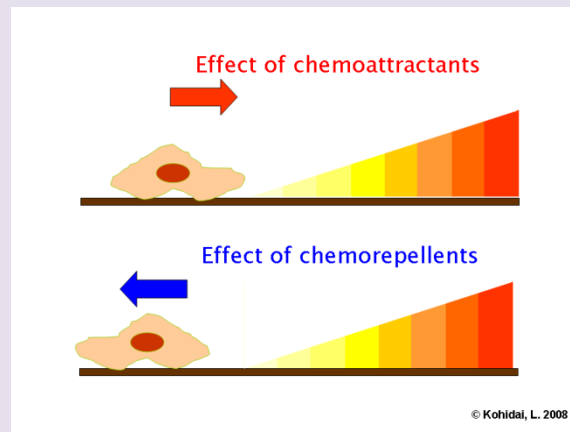
# CYTOLOGIE A MORFOLOGIE PROKARYOT

## 4

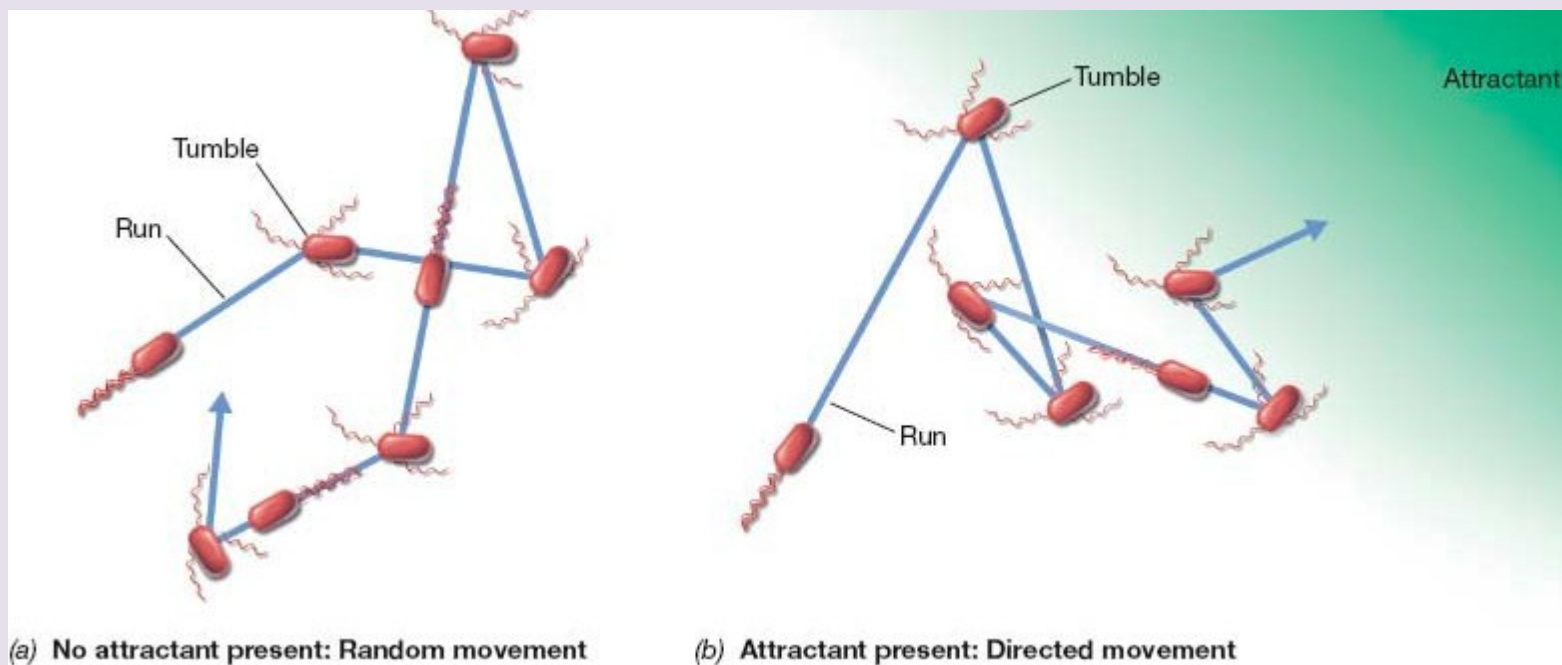
Taxe bakteriálních buněk

# Taxe

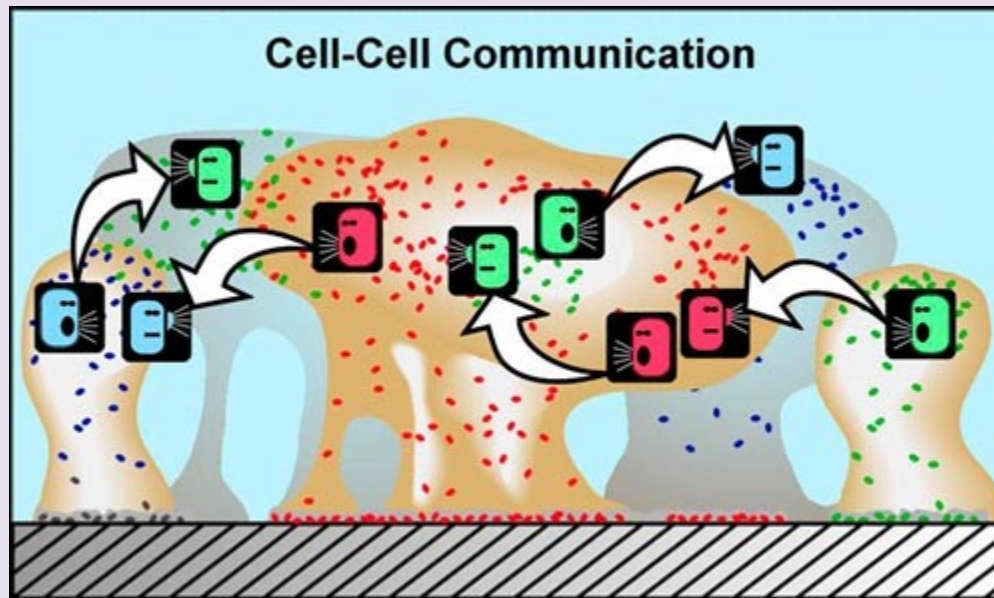
- aktivní reakce bakterií na vnější podmět z prostředí
  - slouží k vyhledávání zdroje potravy
  - schopnost přemístit se k místu s optimálním pH
  - vyhledání míst s optimální teplotou apod...
- 
- zpravidla jde o pohyb směrem k/nebo od zdroje signálu
  - chem. látky mohou být atraktanty – vyvolávají pohyb bakterie k příhodnějším prostředí (vyšší koncentrace vhodných živin)
  - repelenty - pohyb z nepříznivého prostředí (vyšší koncentrace negativních látek -toxinů)
  - taxe je vykonávána prokaryotickými i eukaryotickými organizmy
  - pomocí struktur na povrchu – bičík, fimbrie, pili
  - shlukování buněk za účelem vytvoření plodnice – *Myxobacteria*
  - intenzita odpovědi závisí i na teplotě



## Přítomnost/nepřítomnost atraktantu

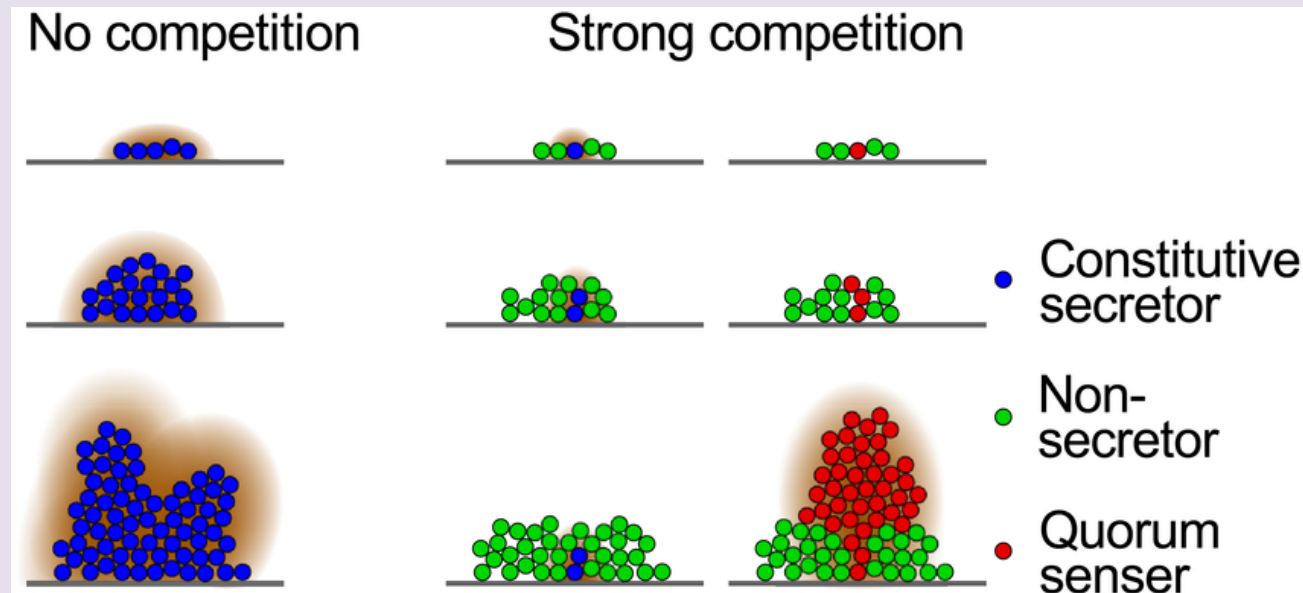


- bakterie se nachází v dynamicky se měnícím prostředí
- mění se dostupnost živin, dochází k vyčerpání esenciálních živin
- dochází ke konkurenčnímu boji o živiny
- mezi buňkami téhož druhu i mezi druhy navzájem
- produkce metabolitů (i toxinů)
- soutěžení o životní prostor
- taxe také závisí na signální komunikaci mezi buňkami – tzv. quorum sensing



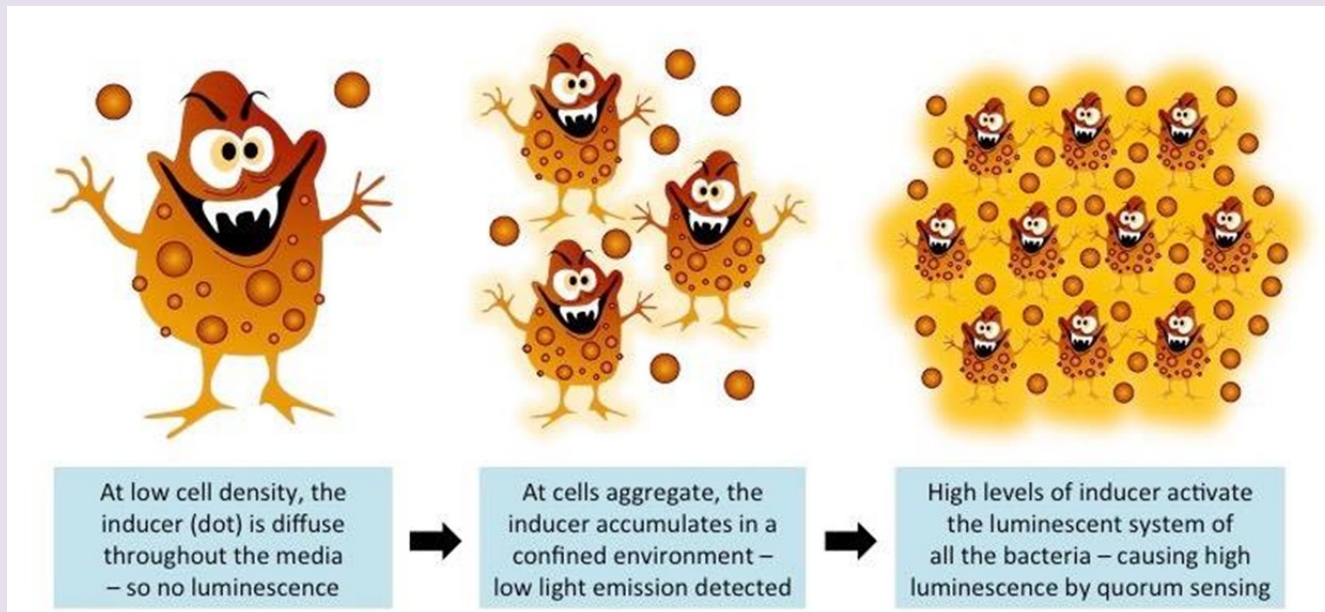
## Quorum sensing

- chemická komunikace ve společenstvu
- umožňuje bakterii vnímat a reagovat na změny v hustotě bakterií v daném prostředí
- spočívá v produkci chemických signálních molekul autoinduktorů – účelová komunikace mezi buňkami
- dosažení prahové koncentrace autoinduktoru, produkované dostatečným počtem jedinců, vede k ovlivnění exprese genů
- to vede ke změně fyziologického chování buňky
- klíčem procesu je celkový počet bakterií ve vztahu ke kapacitě jejich okolí
- pokud se v oblasti nachází pouze několik buněk, nic se nestane
- autoinduktor se vyskytuje v příliš nízké koncentraci a nevyvolá u buněk specifické chování

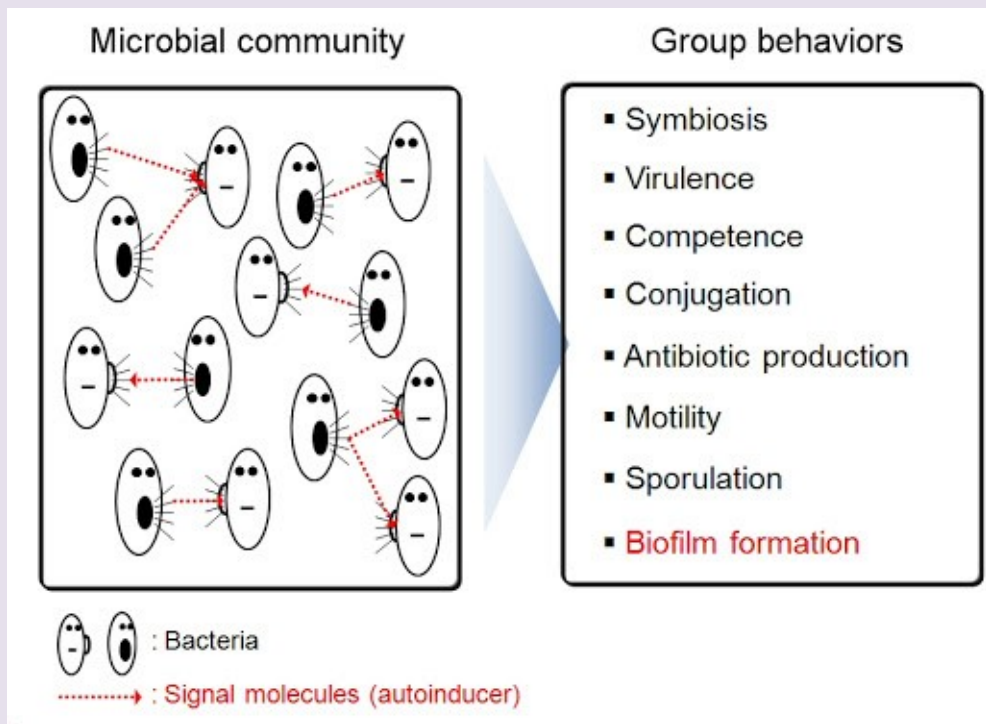


## Quorum sensing

- produkce extracelulárních signálů až nad určitou hustotou populace !!!
- důležité v patogenezi - načasování rozmístění faktorů virulence v hostiteli je kritický bod – patogen se může hromadit bez vykazování virulence
- více než 4 % z téměř 6 000 genů *P. aeruginosa* je regulováno pomocí quorum sensing
- přítomnost určitého množství buněk daného druhu (druhů) navozuje symbiózu mezi organizmy, virulenci, produkci antibiotik
- umožňuje populaci koordinovat odpověď na konkrétní situaci



- komunikace probíhá formou signálu generování signálu přijetí signálu
  - signálem je chemická látka, autoinduktor - malá bílkovina, oligosacharid, mastná kyselina nebo jejich kombinace
  - u G+ - signální molekuly - oligopeptidy
  - u G- - N-acyl-homoserinlaktón
- 
- každý druh má svoje signály, které nejsou rušeny signály jiných druhů
  - signály se uplatňují jak v rámci druhu, tak i mezidruhově („quorum sensing cross talk“)



## Typy taxe

### Chemotaxe

- pohyb vyvolaný přítomností chemické látky

### Aerotaxe

- reakce na koncentraci plynného kyslíku

### Fototaxe

- pohyb jako reakce na světlo (pozitivní, negativní)
- rozpoznávání různých vlnových délek a intenzity světla

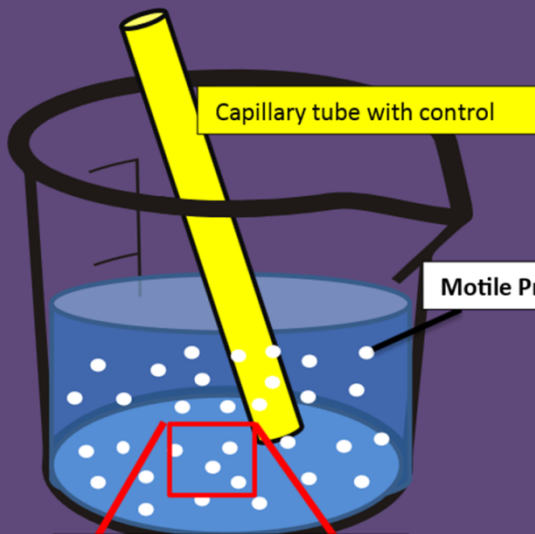
### Magnetotaxe

- pohyb podél magnetického pole Země

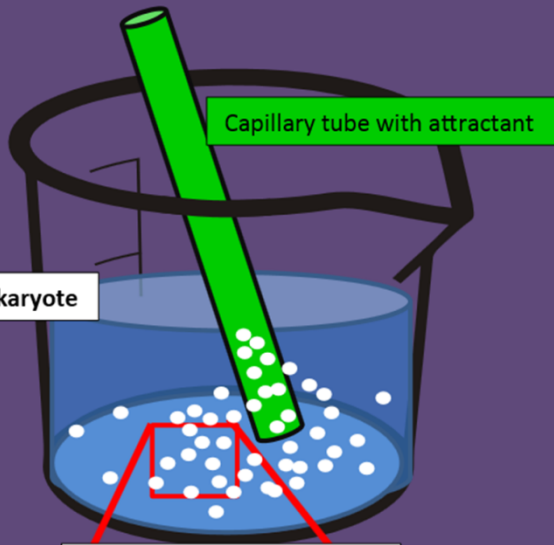
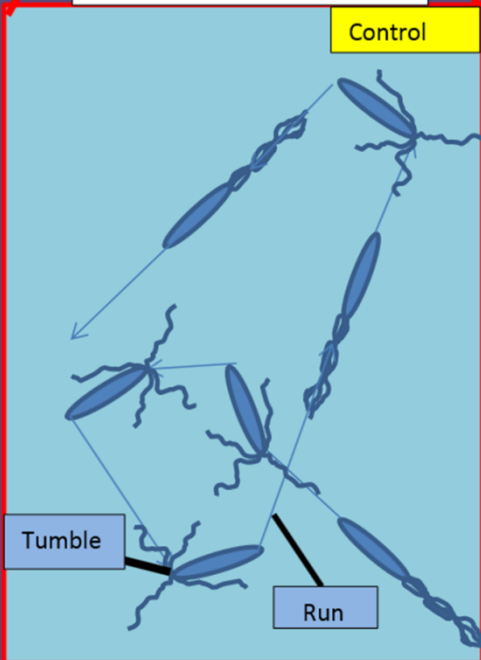


## Chemotaxe

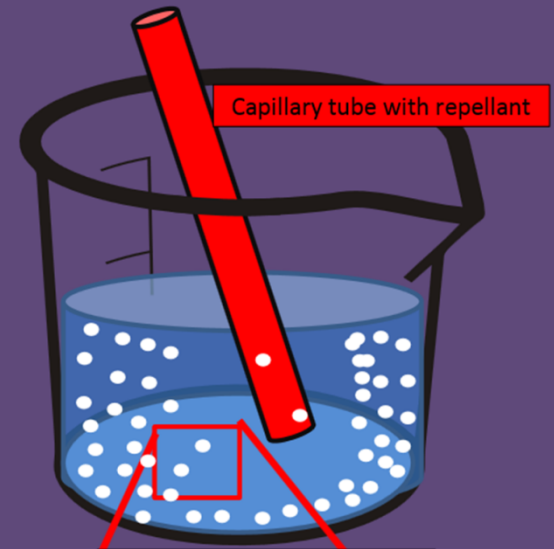
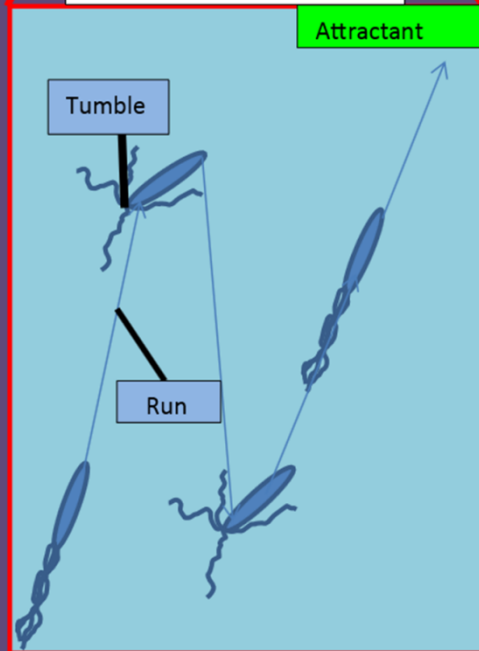
- cílený pohyb buňky v koncentračním gradientu chemické látky (obvykle pomocí bičíku)
- během pohybu je měněna doba „pobytu“
- ve vyšších koncentracích živin je delší
- v nízkých je kratší
- postupným zjišťováním koncentrace se buňka dostane až k optimální koncentraci
- proces trvá relativně dlouho, ale buňka se neomylně dostane vždy k optimální koncentraci.
- buňka se tedy musí neustále adaptovat na stávající koncentraci
- na základě této adaptace může buňka rozpoznat vyšší koncentrace
- chemotaxe je jednou z nejprozkoumanějších signálních drah
- bakterie vyhodnocují změnu gradientu koncentrace v prostoru i v čase
- detekují 2% změnu koncentrace



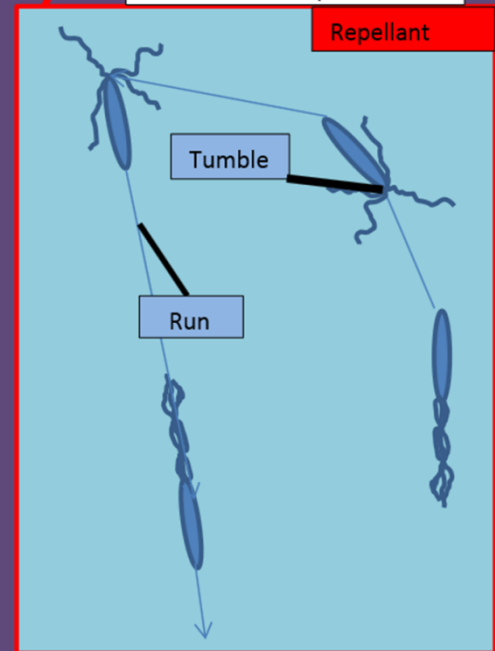
Control: Random Movement. Runs and Tumbles occur sporadically, and with no purpose.



Attractant: Directed net movement towards attractant chemical. Runs become longer, tumbles become less frequent.

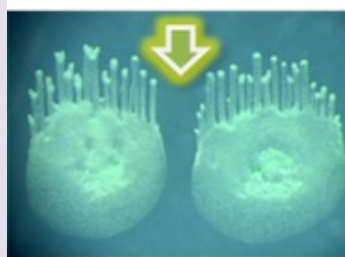


Repellent: Directed net movement away from repellent chemical. Runs become longer and tumbles become less frequent.



## Fototaxe

- pohyb bakterií při fototaxi je jiný než u chemotaxe
- při fototaxi je pohyb označován jako šokový
- pokud se buňka dostane do zastíněného místa, velmi rychle se zastaví a změní směr k osvětlenému místu –odpověď na změnu světelných podmínek
- buňka nedokáže změřit absolutní množství světla, ale velmi přesně reaguje na změnu intenzity světla(s přesností až 5%)
- fototaxe je rychlejší než chemotaxe
- většina bakterií je fotofobní (kromě sinic, samozřejmě 😊)
- orientovaný pohyb bakterií (obvykle s bičíkem) řízený světlem
- pohyb není závislý na fototrofii (např. *Isosphaera pallida*, klouzavý pohyb, aerob, heterotrof)
- pozitivní a negativní fototaxe
- reakce buňky na světlo je závislá na druhu pigmentu (absorpční maximum při různých vlnových délkách)
- výsledkem může být potom „nahromadění“ buněk v místě s optimální vlnovou délkou a intenzit



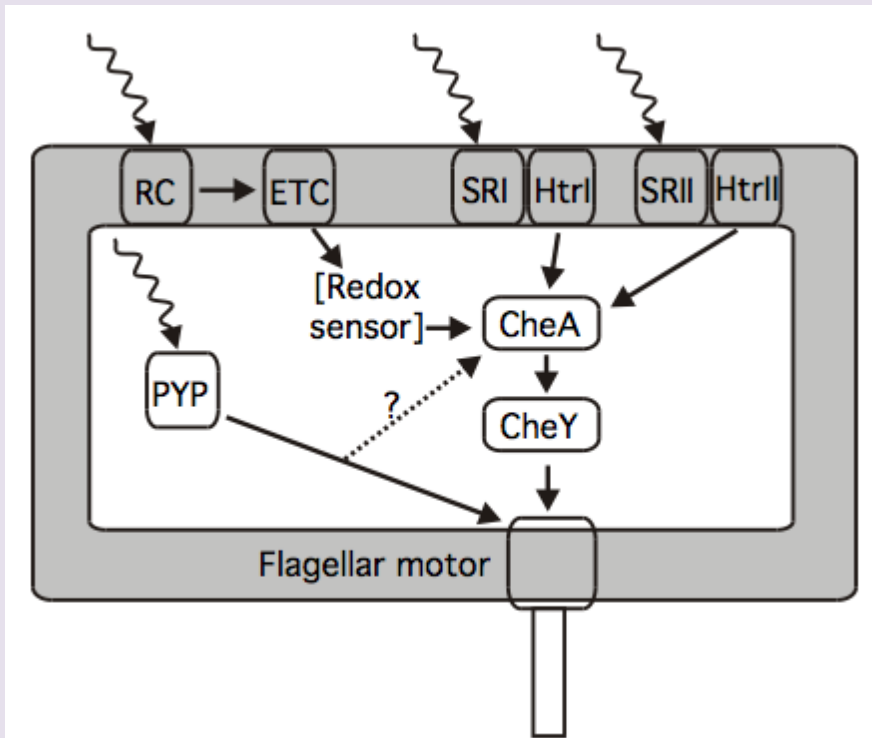
Synechocystis cells spotted on motility plates exhibit phototaxis as shown by the regular finger-like projections one day after growth in directional light (arrow).

## fototaxe má 2 mechanismy spuštění:

- odpověď spuštěna bioenergetickými následky fotosyntézy
- nebo odpověď spuštěna fotoreceptory - fotosyntetické reakční centrum=RC

## PHOTOMOVEMENT of BACTERIA and ARCHAEA

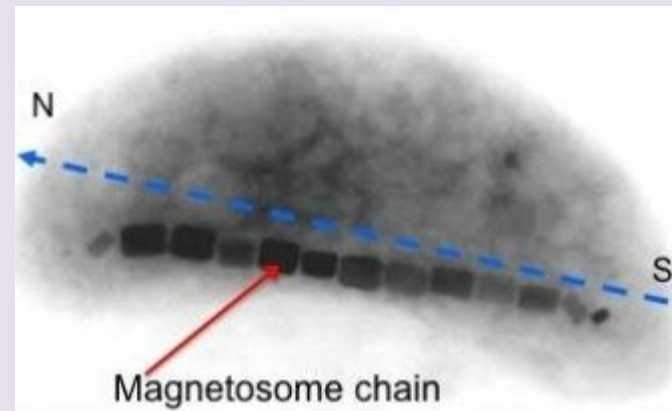
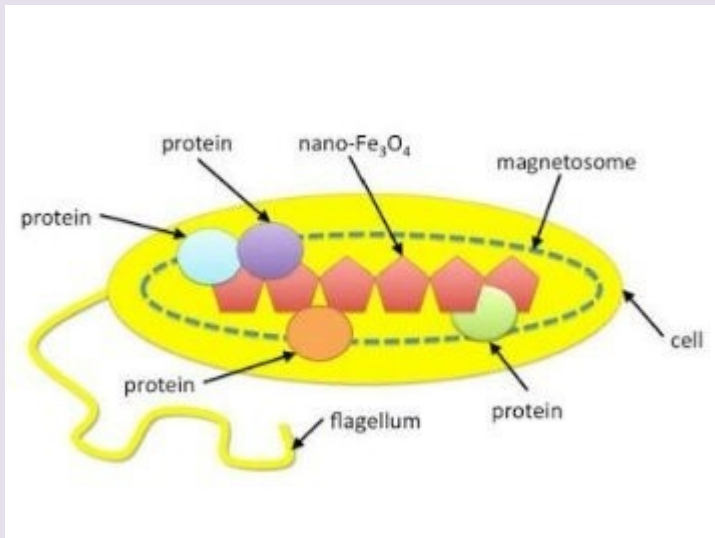
Wouter D. Hoff



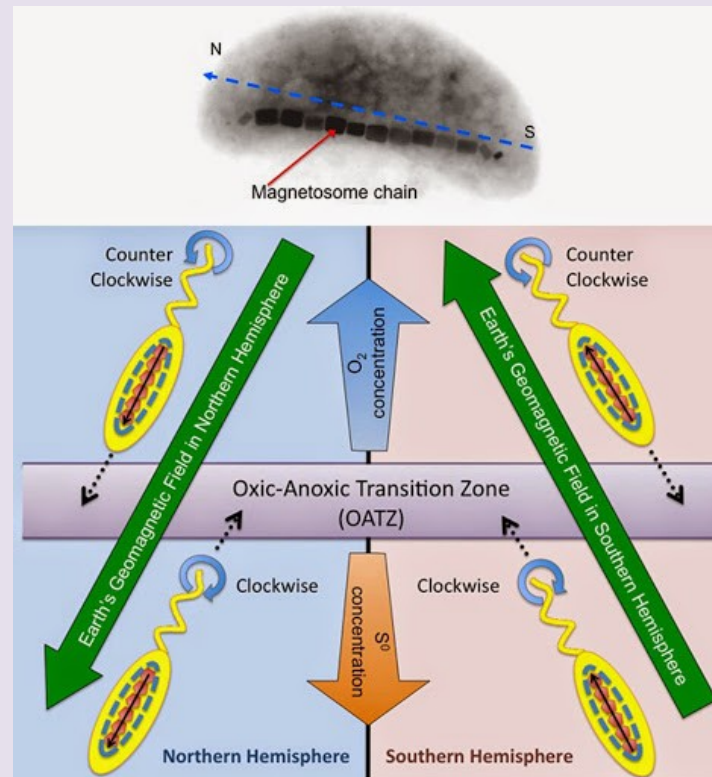
RC – photosynthetic reaction center  
ETC - electron transfer chain  
SRI, SRII - photoreceptors  
HtrI, HtrII – signal transducers  
PYP - photoactive yellow protein  
(negativní fototaxe - *Halorhodospirum halophila*)

## Magnetotaxe

- schopnost bakterií, jednobuněčných řas a některých prvoků orientovat se v magnetickém poli Země
- magnetozomy–mají vlastnosti permanentního dipólového magnetu
- obsahují feromagnetický minerál magnetit( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) v čisté formě
- bakterie v sulfidických sedimentech mohou obsahovat greigit ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) nebo pyrit ( $\text{FeS}_2$ )
- velikost magnetozómů: 30-120 nm, počet: 5 -40 v buňce
- morfologicky různé
- pohyb buňky je pasivní podél siločar magnetického pole Země
- přímým pohybem (buňky jsou „pasivně taženy) pomocí magnetické síly vznikající mezi magnetickým dipólem buňky a magnetickým polem Země
- průměrná rychlost magnetotaktických bakterií je  $150 \mu\text{m/s}$

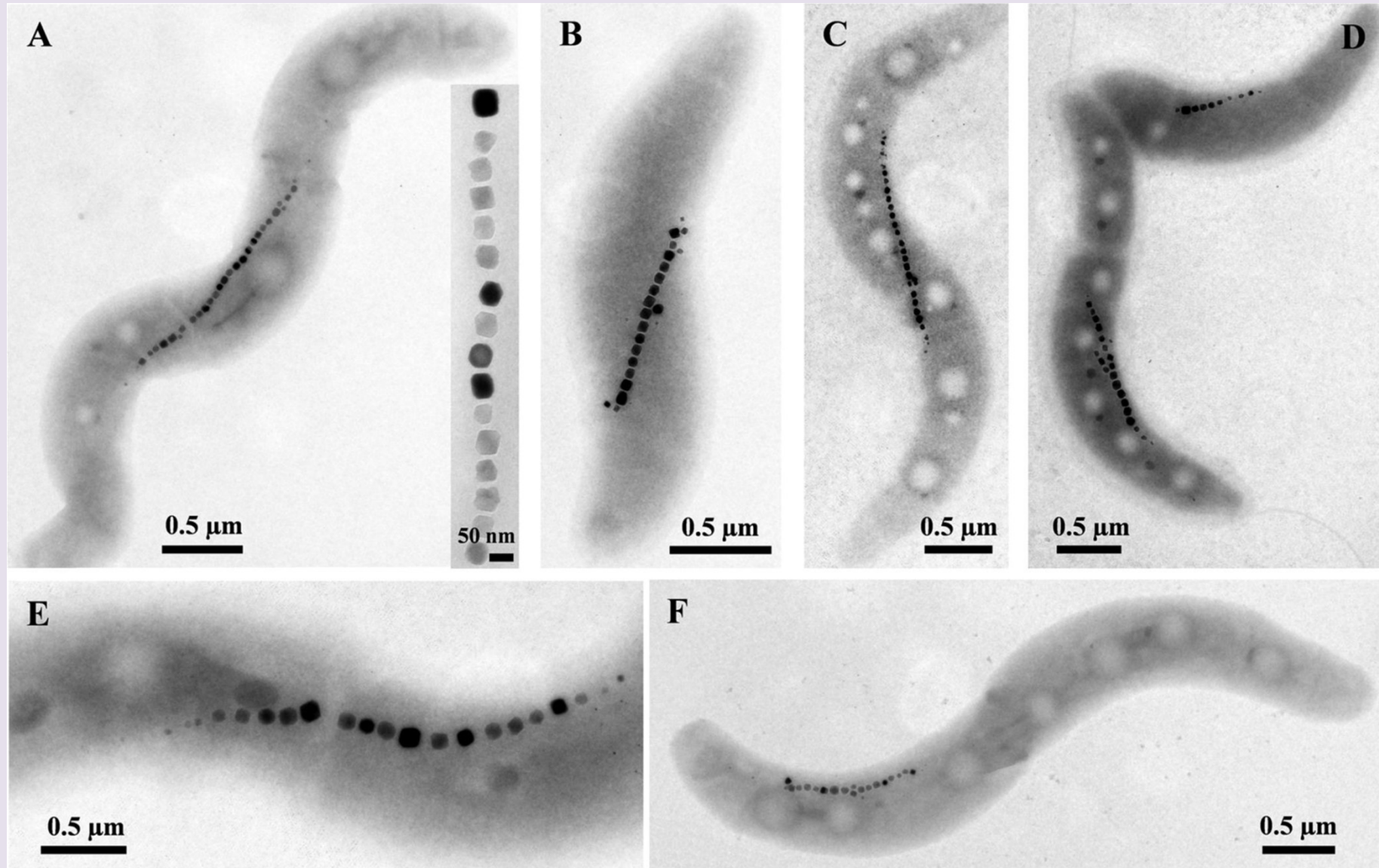


- někdy dojde k seskupení koků sdružených po 10 -30 buňkách do multiceulárního útvaru obdaného společnou vrstvou
  - podle typu magnetického materiálu a vztahu ke kyslíku existují 3 základní fyziologické skupiny magnetotaktických bakterií
1. mikroaerofilní (svrchní vrstva vodního sloupce) v magnetozómech magnetit
  2. fakultativně anaerobní (větší hloubky s nižší koncentrací O<sub>2</sub>) v magnetozómech pyrit
  3. obligátní anaerobové (nejspodnější vrstvy) v magnetozómech greig





magnetosomy

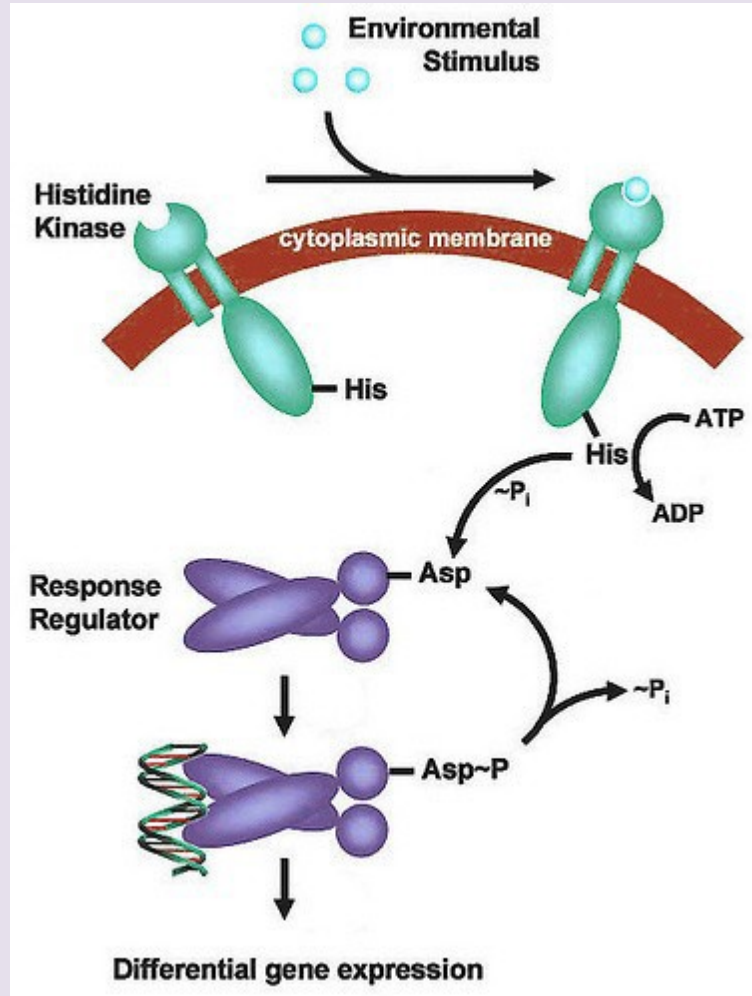


## Signální dráhy

- založena na rozpoznání významných a nevýznamných signálů
- vytvoření sítě pro regulaci přepisu genů nebo pro přenos signálů
- monitoring environmentálních a vnitrobuněčných dějů a následná odpověď
- tj. vypínání či zapínání exprese genů
- neustálá evoluce senzorů, receptorů a přenašečů signálu – pro zvýšení citlivosti a zároveň pro inhibici neustálé stimulace
- adaptace na atraktant/repelent probíhá kovalentními modifikacemi struktur receptorů
- kovalentní modifikace – navázání fosfátu (fosforylace) či ztráta fosfátové skupiny (defosforylace), čímž dojde ke změně konformace enzymu
- zjednodušeně - enzymy katabolických drah jsou fosforylací aktivovány a enzymy anabolických drah deaktivovány
- design chemoreceptorů je konzervovaný
- sestává z membr.receptorů

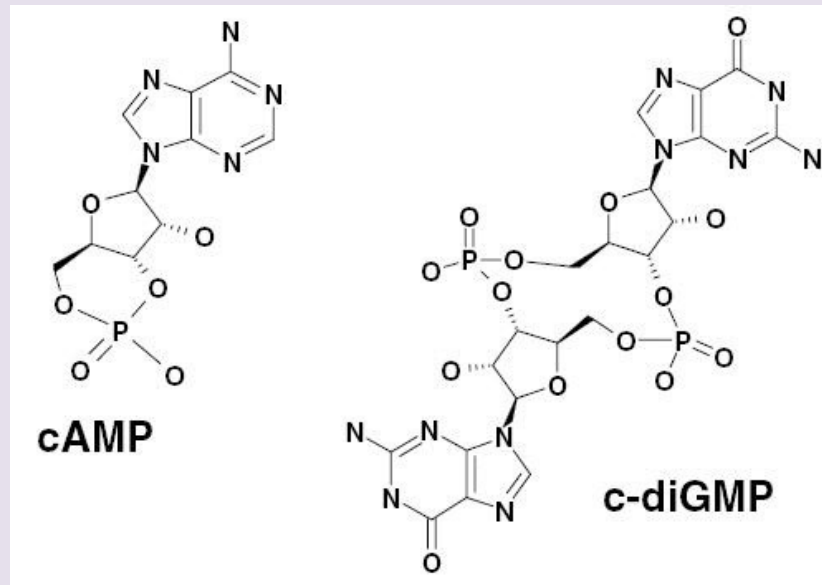


- u bakterií je to dvoukomponentní systém (TCS)
- receptor = histidin fosforyláza spustí nebo zastaví transkripci příslušného genu



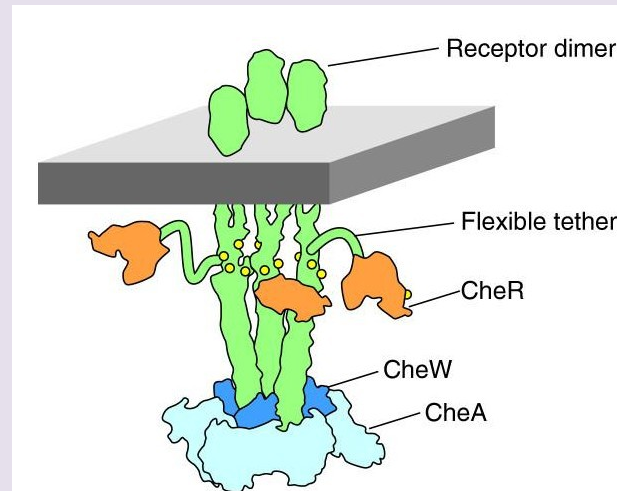
## Organizace signálních drah

- pestrá struktura signálních proteinů
- tok informace od N-konce senzoru k C-doméně přenašeče (N-to-C flow)
- různé receptory se shodují v sensorických sektorech
- jeden signál může spouštět více úrovní/drah odpovědi
- posel signální dráhy bývá cAMP (aktivátor proteinkináz) a cyklický diguanylát
- souhra signálních drah



## Signalizace a chemotaxe

- výzkum v oblasti chemotaxe od r. 1880
- síť chemotaktických drah je komplexní, adaptabilní a má „paměť“ ...
- probíhá analýza rušivých elementů spolu s analýzou podstatných signálů
- spočívá v samotné struktuře a interakcích proteinů sítě drah
- chemoreceptory s proměnlivými senzory (5 typů)
- dochází k regulaci chemotaxe
- Sensory rozeznávají serin, aspartát, ribózu, galaktózu, dipeptidy a redoxní reakce

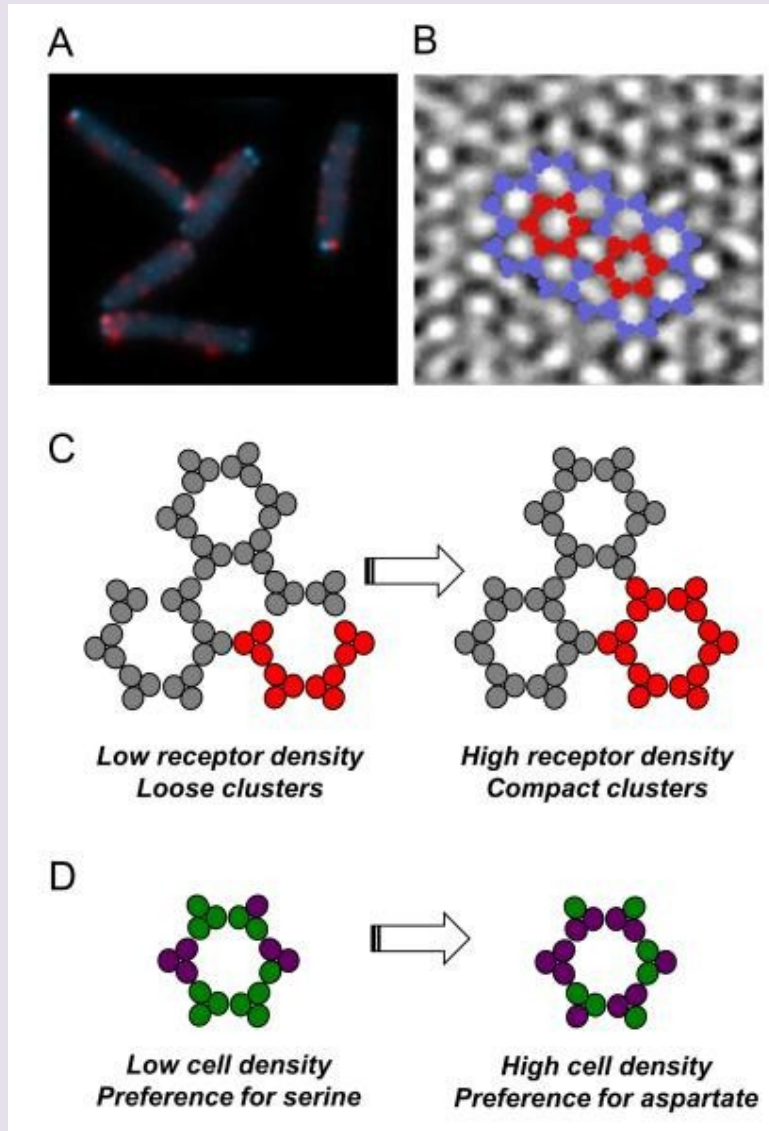


# Prostorová organizace senzorů

- proteiny chemotaxe a pohybu jsou rozmístěné do klastrů
- receptory fungují jako signalizující di- nebo trimery
- amplifikují (zesilují) a integrují chemotaktické signály

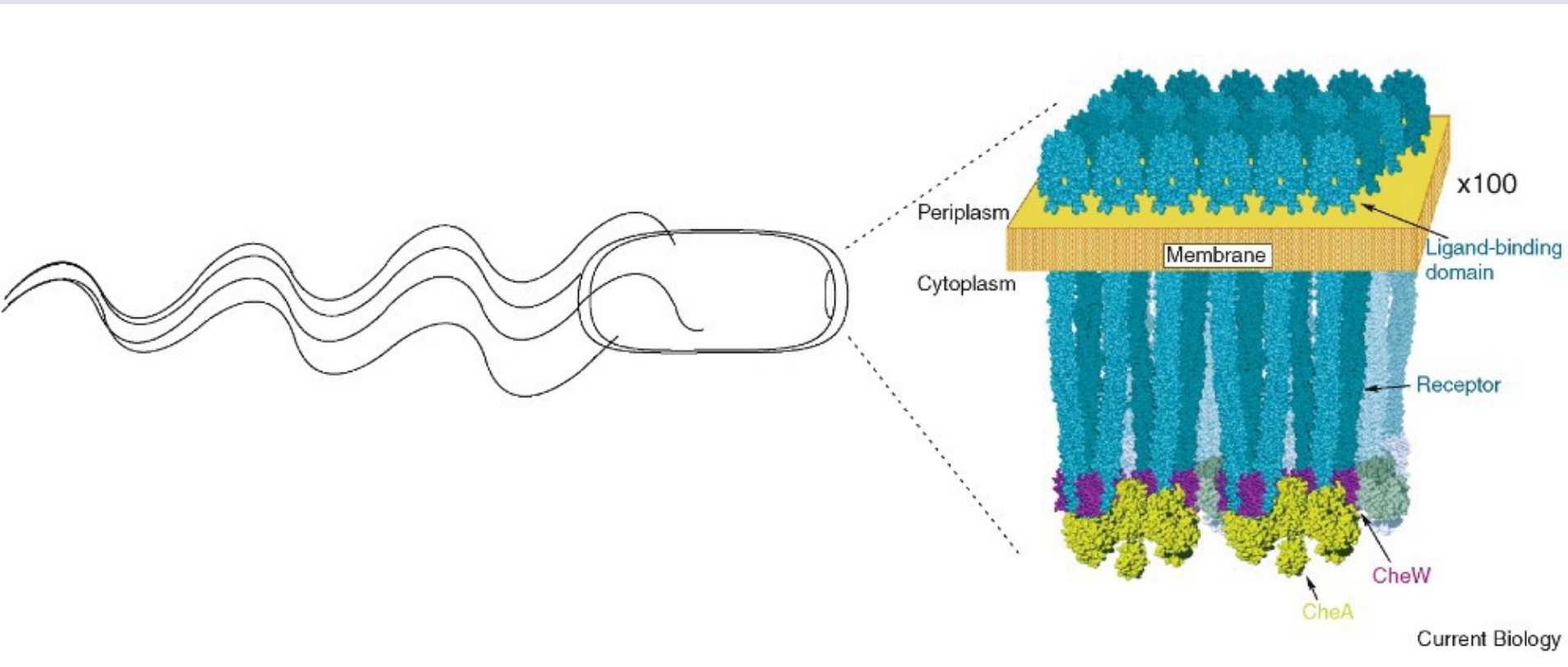
na živiny chudé medium:

- vysoká hladina exprese receptorů
- a jiných chemotaktických proteinů
- zvyšuje hustotu a kooperaci receptorů
- regulace preference ligandu



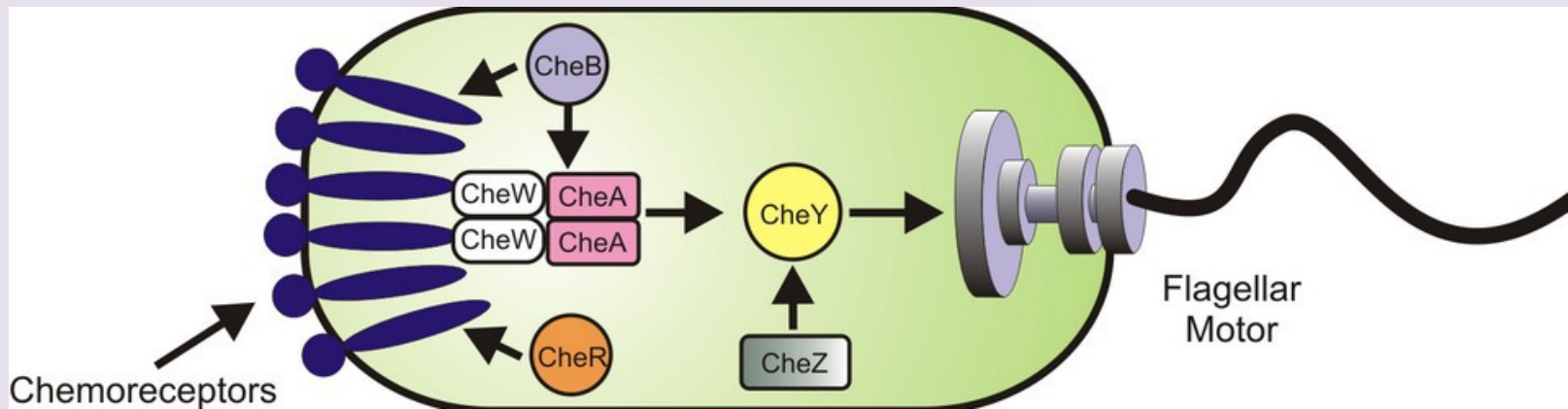
## Struktury pohybu

- většina struktur důležitých pro přežití bakterií je umístěna na pólech



## Chemotaxe – strukturně-funkční vztahy

- Vysoce konzervované chemoreceptory – Bacteria, Archaea
  - *E. coli* a salmonela - multimer na jednom nebo obou pólech buňky
  - tisíce regulačních proteinů a proteinů pro přenos signálu
  - objevena diverzita od modelových mikroorganismů
- velikost a topologie chemoreceptorů
- modus signálu
- přítomnost přídatných proteinů přenášejících signál



## Mechanismus chemotaxe *E. coli*

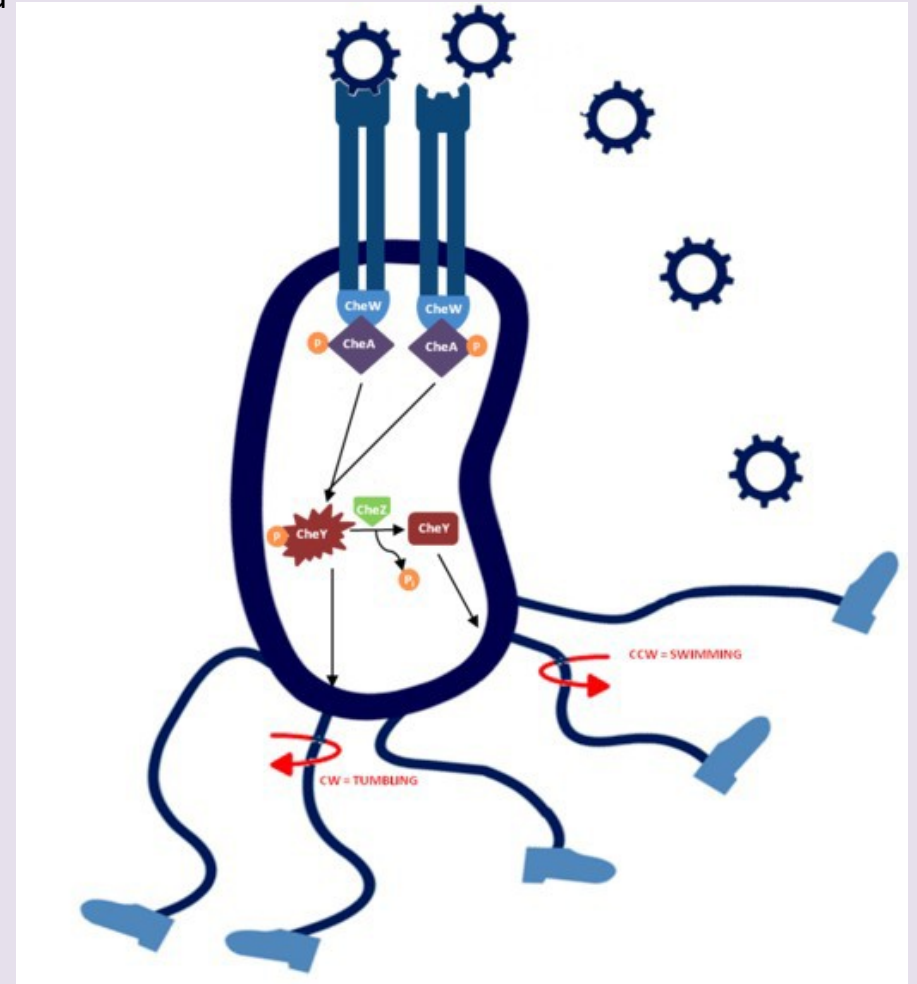
- regulace pomocí MCP systému
- **MCP** = „*methyl accepting chemotactic protein*“
- váží se na něj proteiny CheA a CheW – enzymy cytosolu
- složen z Che proteinů

### CheW

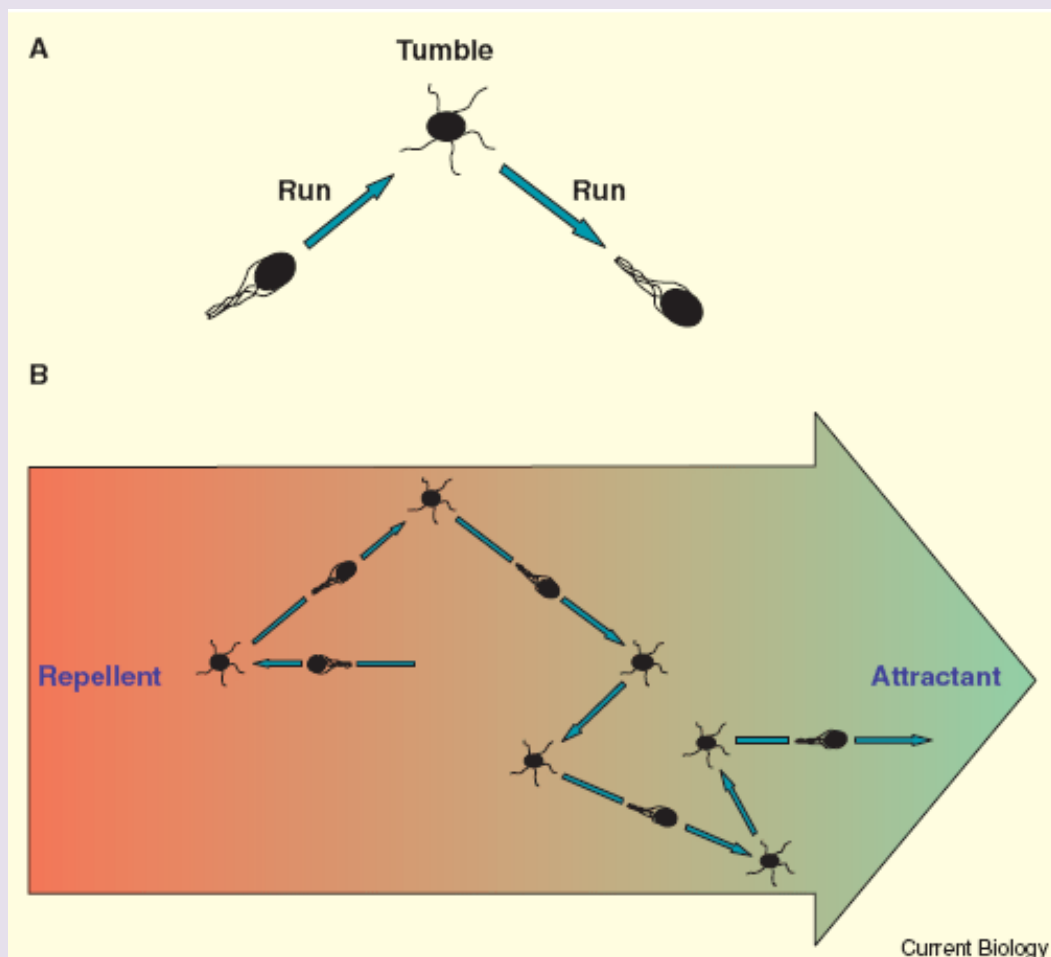
- receptor, spolupracuje s CheA (to je kináza)
- ta reaguje tím, že se autofosforyluje
- P předá dále na protein s označením Y
- Y pokud je fosforylován naváže se na DNA
- a rotace bičíku je PO směru hodin.ručiček

### CheZ

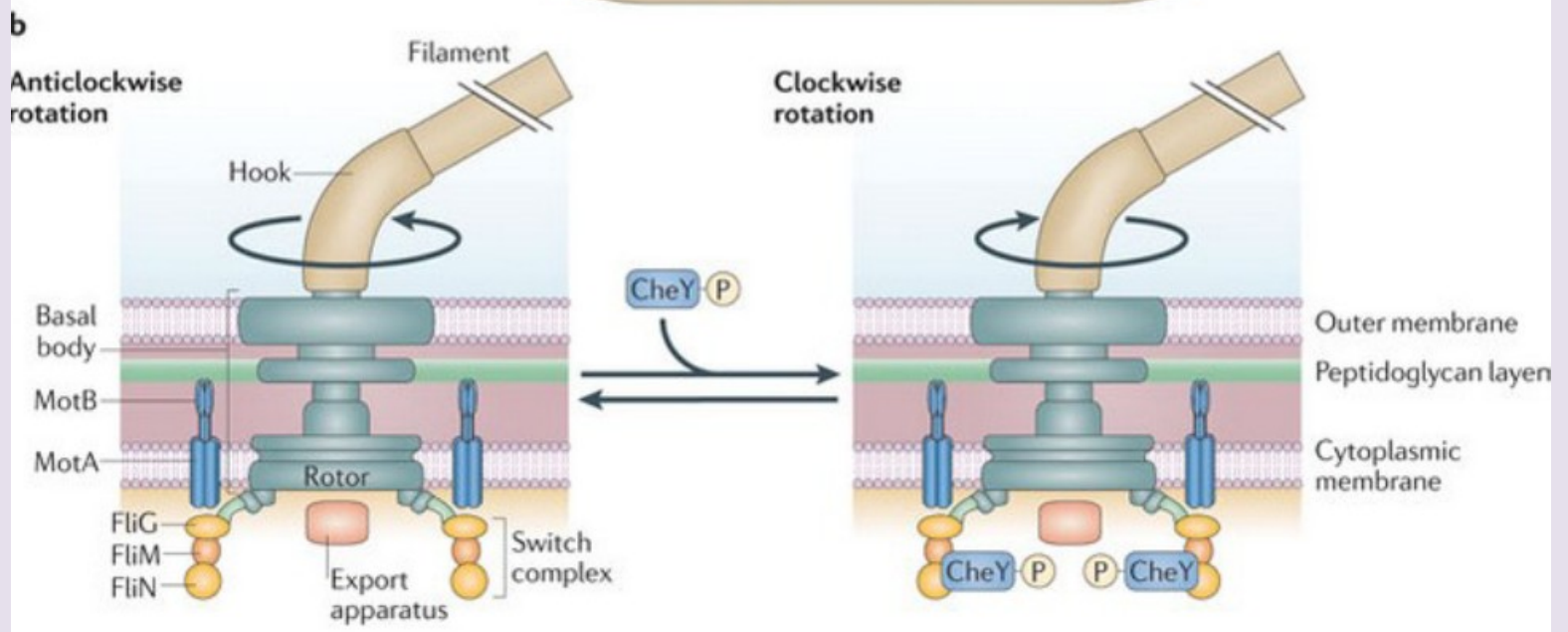
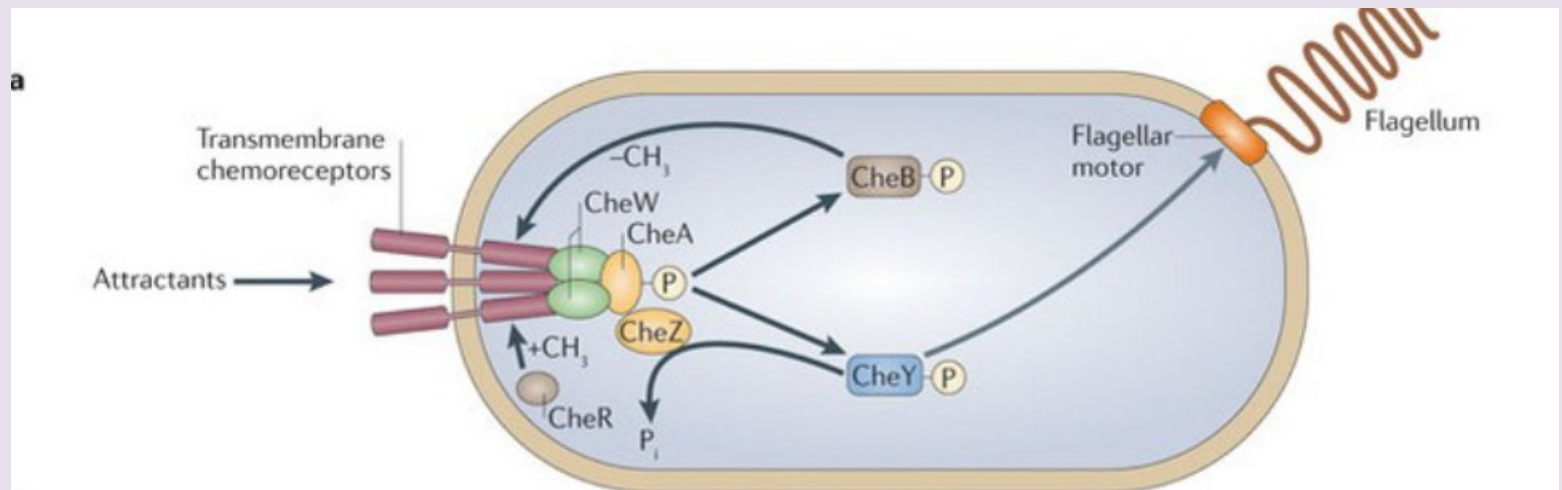
- odebírá fosfát z Y
- Y je nefosforylované
- bičík se otáčí PROTI směru hod.ručiček



Pohyb buňky k živině není nikdy přímočarý a nikdy není souvislý – střídá se fáze plavání a vznášení se







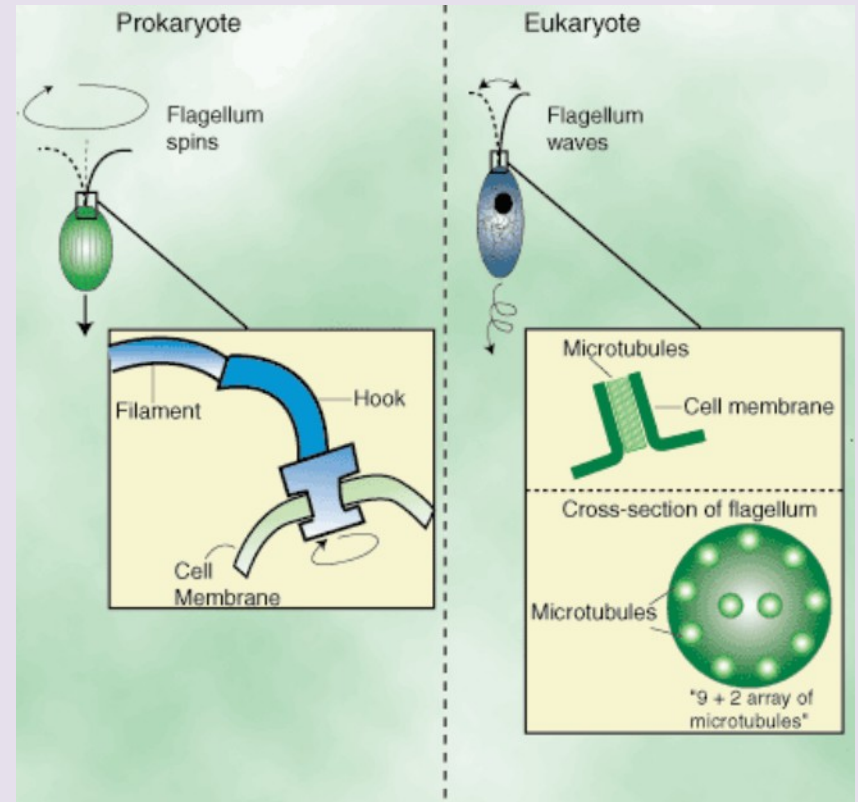
# Bičik - prokaryota vs eukaryota

## prokaryota

- bičik z flagelinu, hnací síla=pmf
- rotace bičíku kolem vlastní osy
- poháněn proton motive force (pmf) – pohyb protonů přes cytoplazmatickou membránu


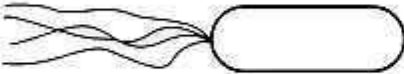

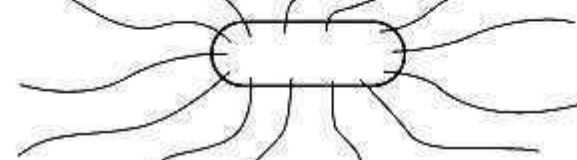
## eukaryota

- hnací motor=ATP, bičik je z tubulinu
- pohyb=ohýbání



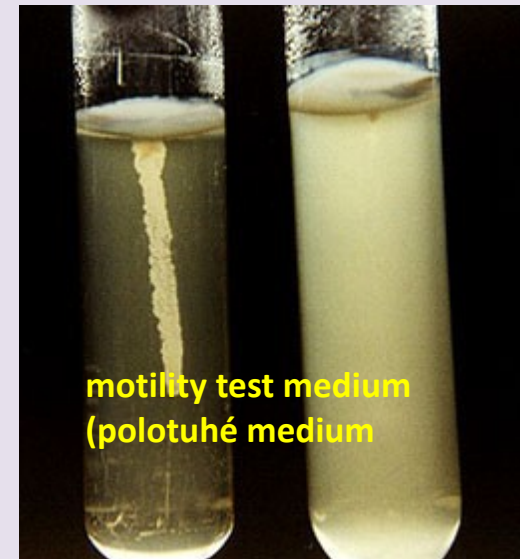
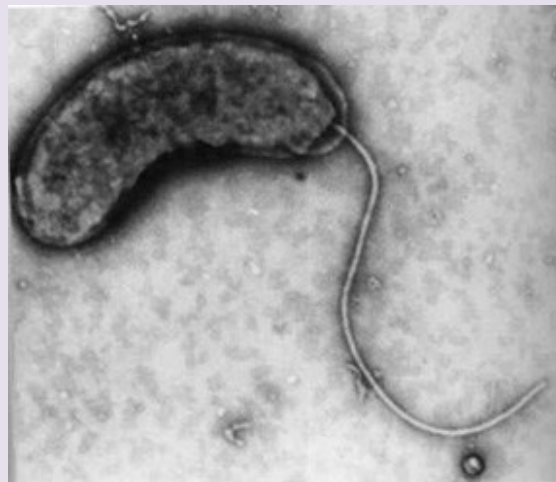
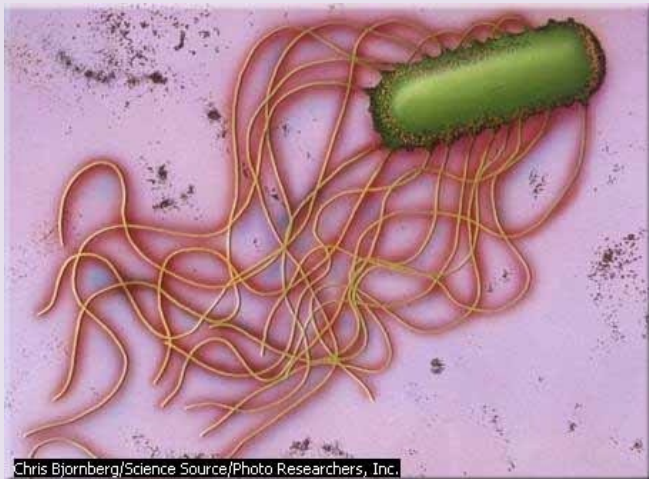
## Vnitřní faktory ovlivňující pohyb

- počet bičků
- lokalizace bičků
- dostatek redukčních ekvivalentů

Structure	Flagella Type	Example
	Monotrichous	<i>Vibrio cholerae</i>
	Lophotrichous	<i>Bartonella bacilliformis</i>
	Amphitrichous	<i>Spirillum serpens</i>
	Peritrichous	<i>Escherichia coli</i>

## Bakteriální bičík - Flagellum

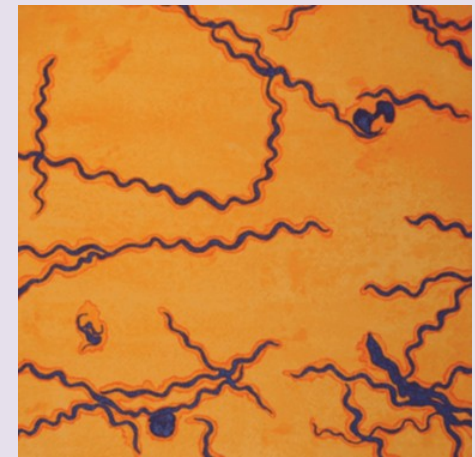
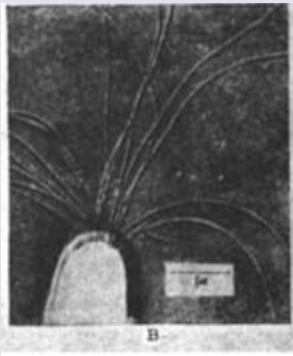
- dutá trubice tvořena globulárním proteinem flagelinem
- **flagelin** je tvořen 1 – 4 proteiny
- podobná stavba bičíku u všech dosud zkoumaných druhů bakterií
- tloušťka 13 – 20 nm, délka bičíku několikanásobně větší než délka buňky
- rychlost pohybu 1 – 100  $\mu\text{m/s}$
- počet bičíků se v průběhu života bakterie může měnit
- pokud je bičíků víc - mohou se spolu splétat
- zpravidla se při přestupu do viskóznějšího prostředí vytvoří další bičíky
- molekul.hmotnost flagelinu větší než pilinu
- flagelární antigen
- začíná v CM (oproti fimbriím)
- bičíky lze snadno odstranit sklem – lámou se



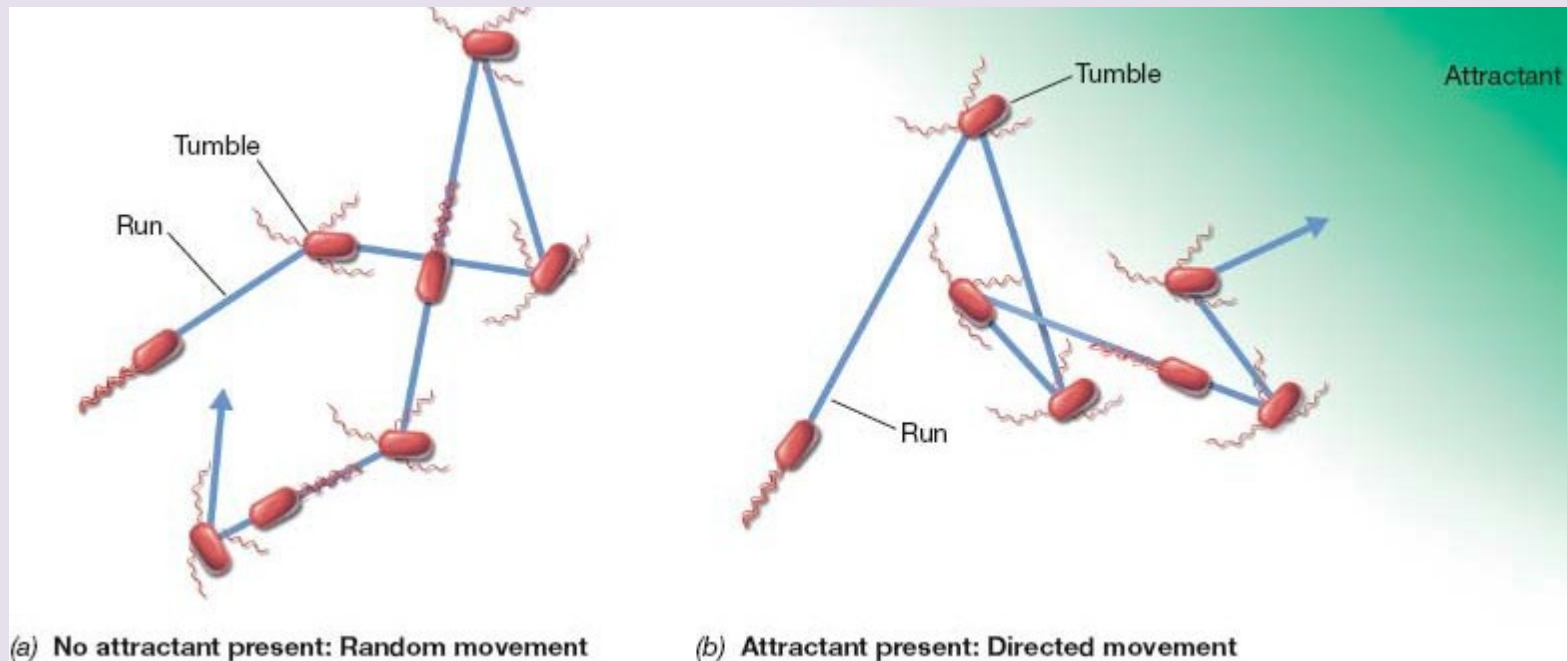


## Bičik

- semirigidní vláknitá struktura
  - těsně nad plasmatickou membránou upevněn pružným háčkem („hook“)
  - ten ho spojuje s komplexem proteinů tvořícím motor
  - motor je fixován v membráně a pracuje na principu protonové pumpy
  - je to skupina proteinů pracujících jako rotor a stator motoru
  - pod háčkem se nacházejí 3 páry kruhových destiček
  - 2 páry jsou statické, 1 pár se točí
  - všemi třemi páry prochází točící se bičik
  - kolem páru točících se destiček se nachází statický protein MOT (odv. od „motility“)
  - MOT je zodpovědný za transport proton - pro funkci bičíku nezbytný!
  - pod 3. párem destiček se nachází protein FLI (flip) - dokáže přepínat směr otáčení bičíku
- [https://www.youtube.com/watch?v=dYt5135\\_0bs](https://www.youtube.com/watch?v=dYt5135_0bs)

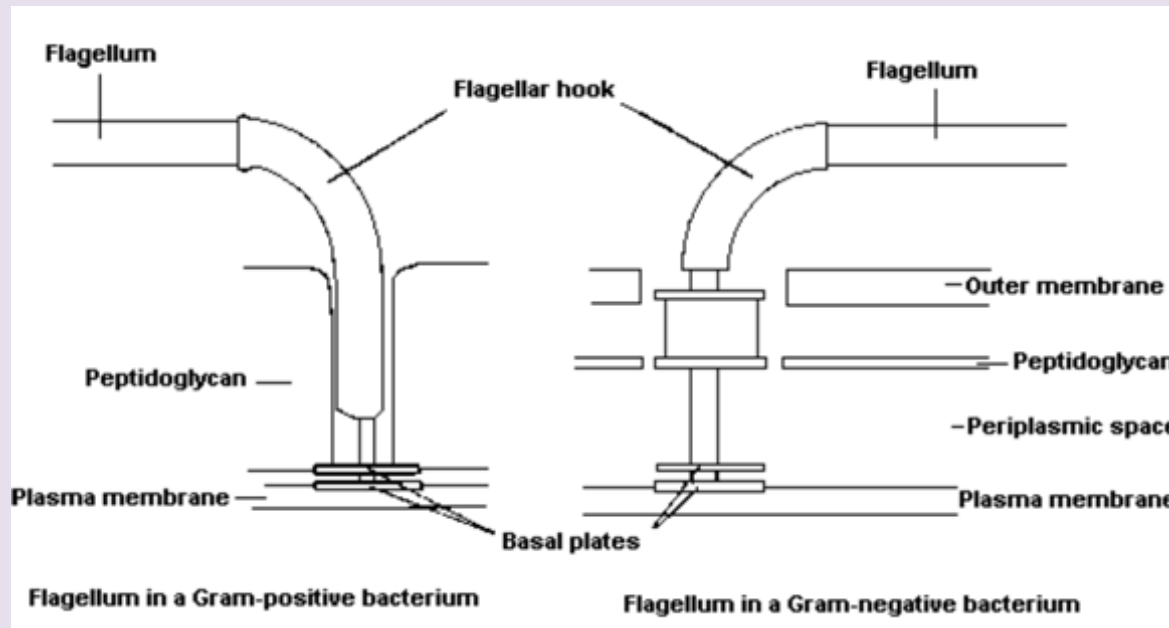


- Při otáčení **CCW** (counter-clockwise, proti směru hodinových ručiček) bakterie plave vpřed
- při otáčení **CW** (clockwise, po směru hodinových ručiček) bičík pořádně nezabírá, protáčí se, a bakterie zůstává na místě
- Přepínání mezi CW a CCW zajišťuje protein FLI
- během chemotaxe plave bakterie cca 1 sec CCW a 1/10 sekundy stojí díky CW na místě
- při CV vyhodnocuje, zda se pohybuje správným směrem vzhledem k atraktantu
- pokud se přiblížila ke zdroji pokračuje při pohybu stejným směrem
- pokud se vzdálila, náhodně zvolí směr jiný

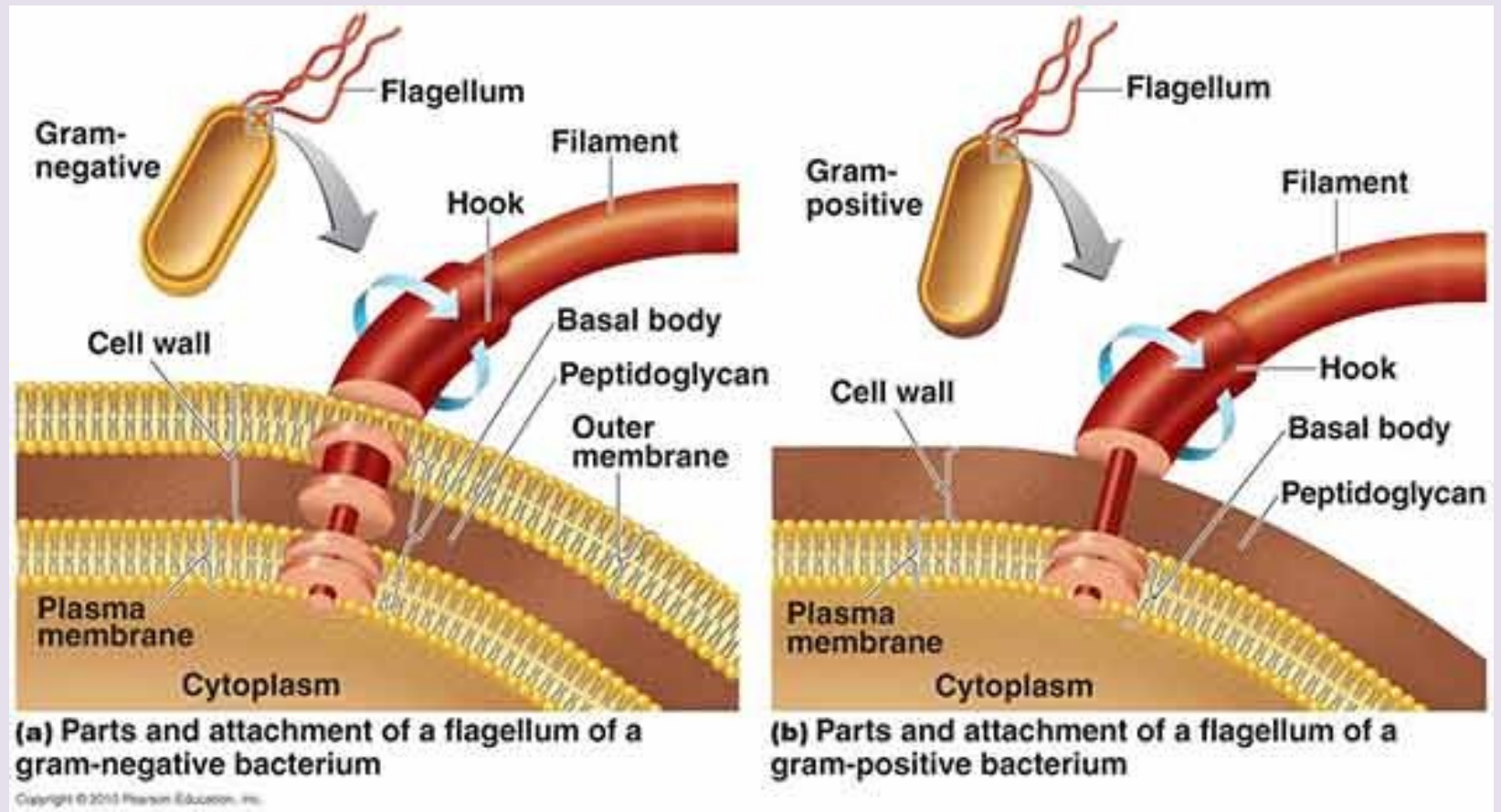


## Komponenty bičíku

- **bazální tělísko**, kterým je ukotven v membráně
- G- bakt. - 3 kruhy (CM, PG a VM) v cyt.membrane, peptidoglykanu, vnější membráně
- G+ bakt. - 2 kruhy
  
- **háček** (hook)
- vlastní **vlákno**
- bazální tělísko zůstává ukotveno i po odstranění bičíkového vlákna
- to je do 20 až 30 min dosyntetizováno



## Rozdíl v ukotvení bičíku u G- a G+ bakterií



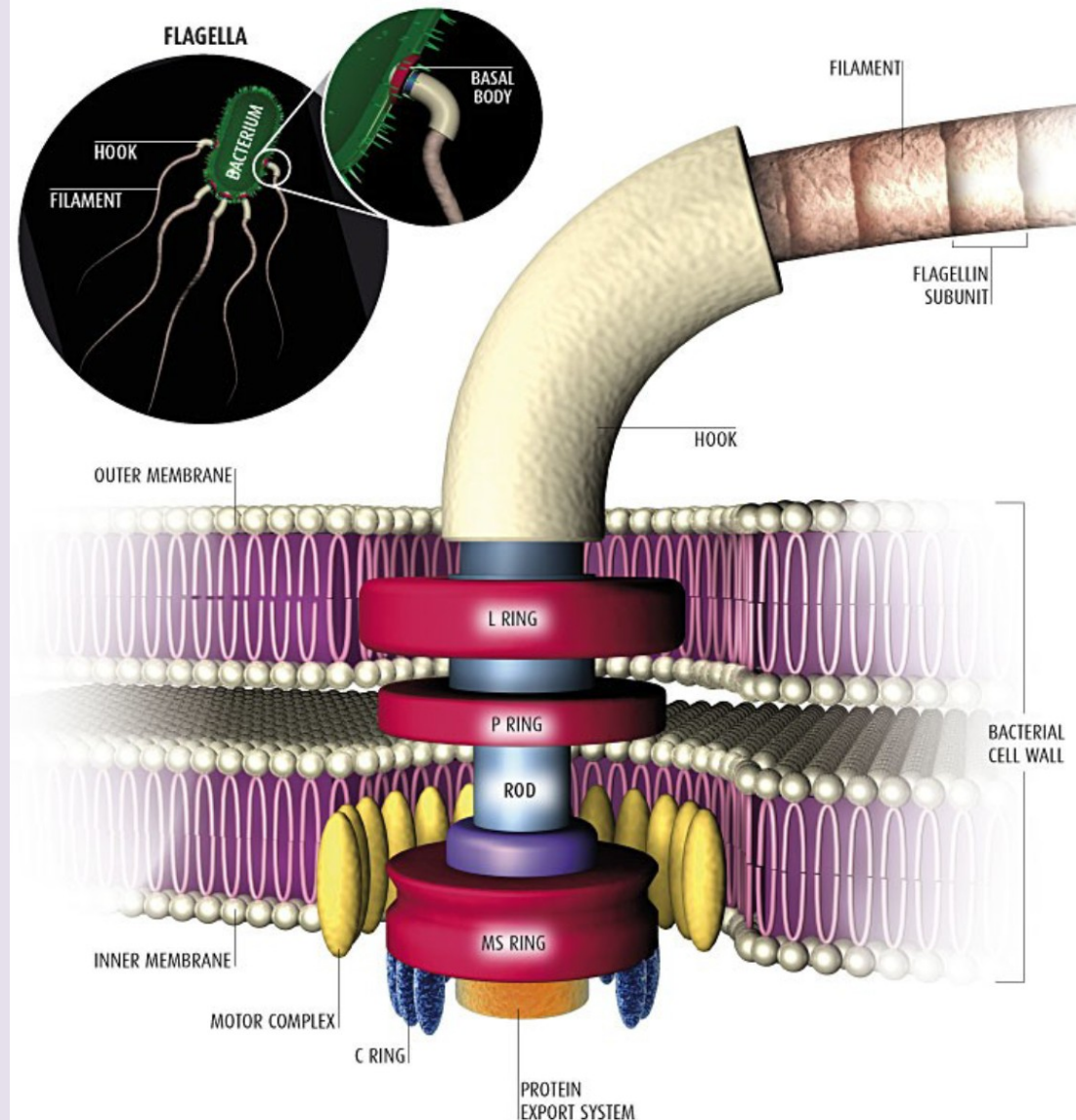


## G- bakterie

- buň.stěna není tak pevná
- navíc mají vnější membrána
- = více kotvících disků
- L ring - vnější membrána
- P ring – PG buněčné stěny

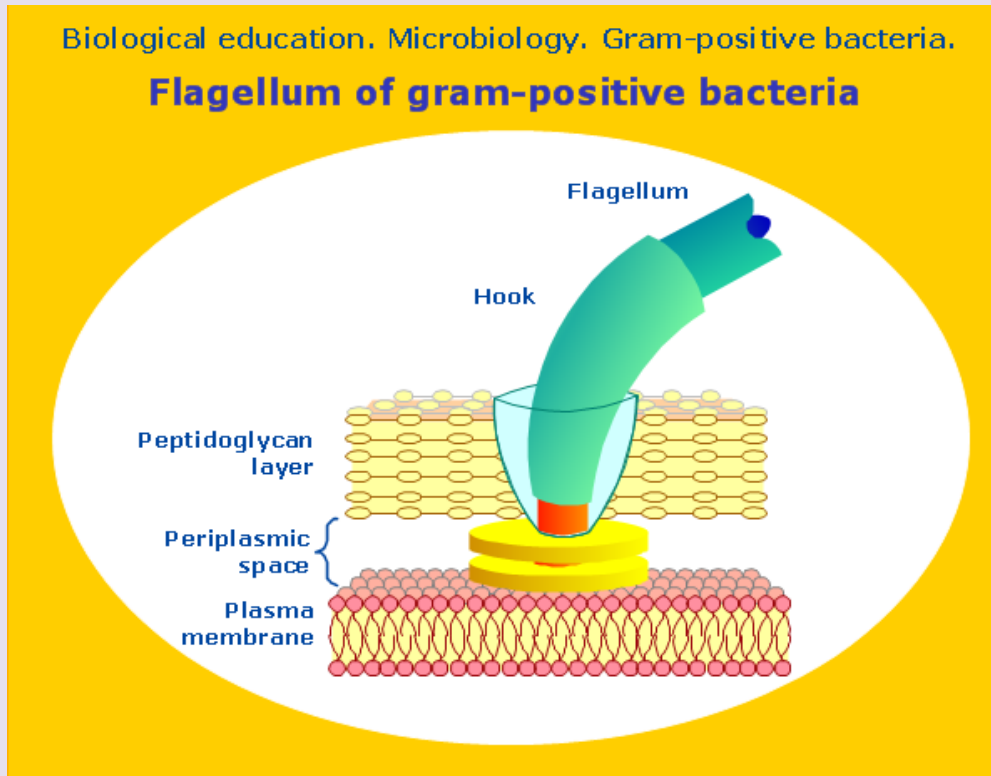
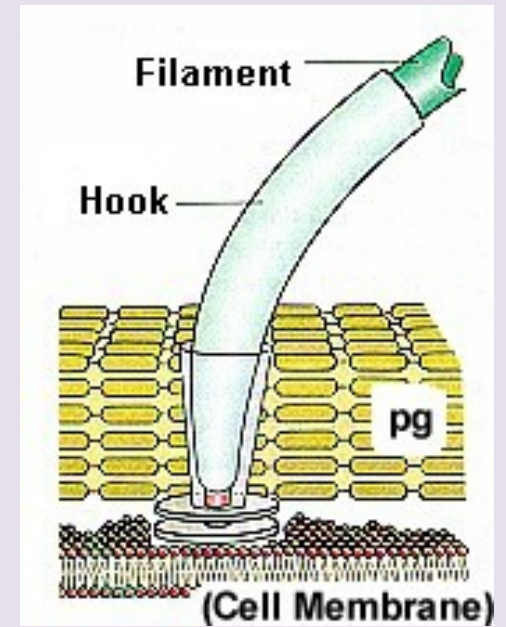
### NATURE'S OUTBOARD MOTOR

Despite the intricacies of the bacterial flagellum, biologists are unravelling its workings and making great headway in understanding how the nanoscale appendage evolved



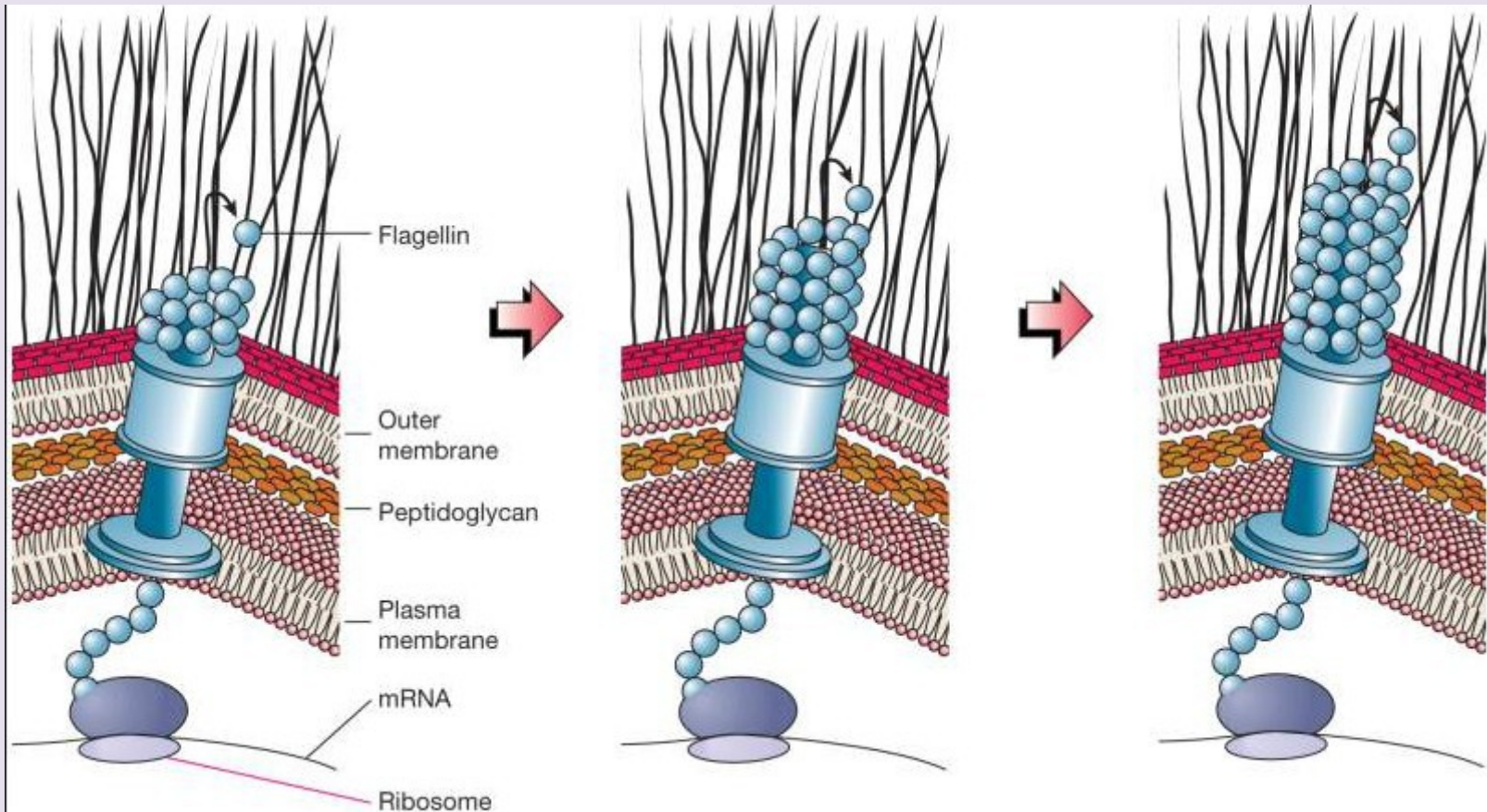
**G+ :**

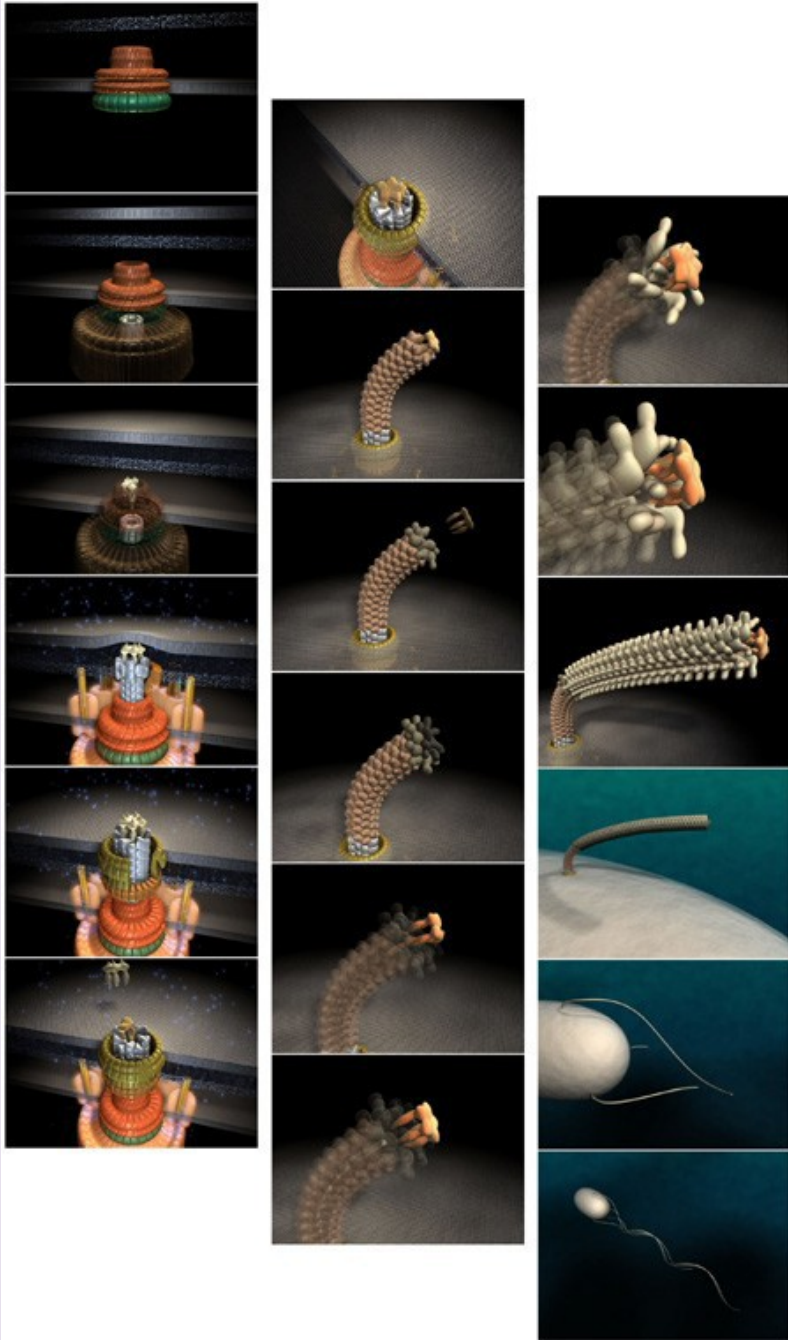
- bazální tělísko - 2 disky
- spodní disk v cytoplasmatické membráně
- **horní disk v buněčné stěně** – složí jako kluzné ložisko
- tam se otáčí osa a je ukotven háček pro ohyb



## Tvorba bičíku

- schopnost samouspořádání – „self-assembly“
- molekuly flagelinu jsou středem vlákna transportovány na konec bičíku
- flageliny jsou skládány ve formě levotočivé šroubovici
- na konci se připevňují a bičík tím prodlužují
- bičík se dosyntetizuje vždy do stejné délky
- tvorba bičíku velmi rychlá



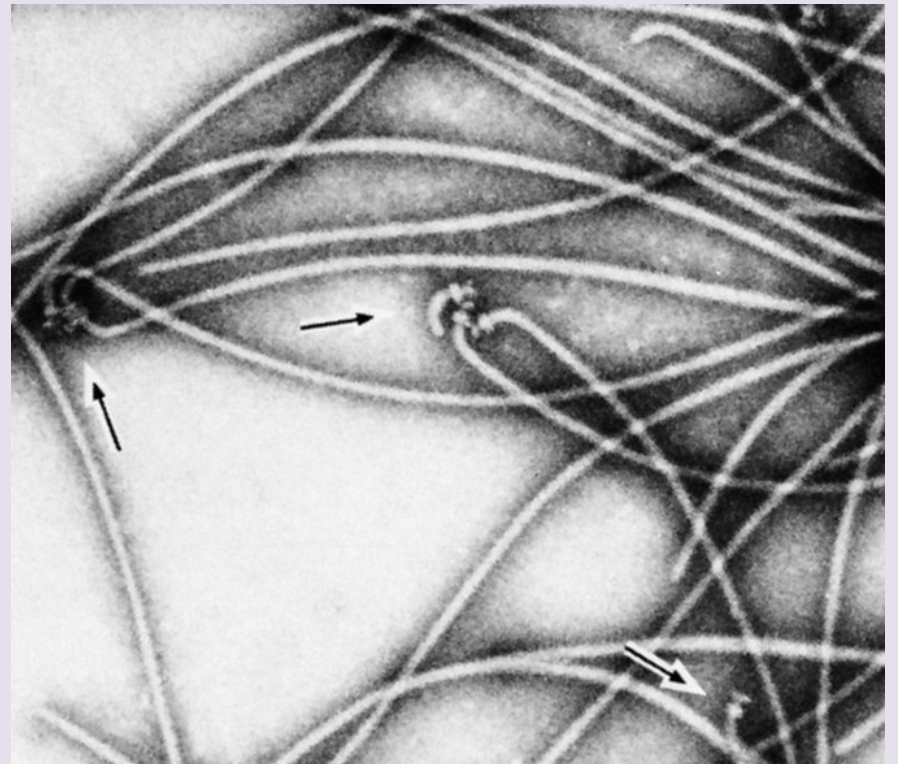
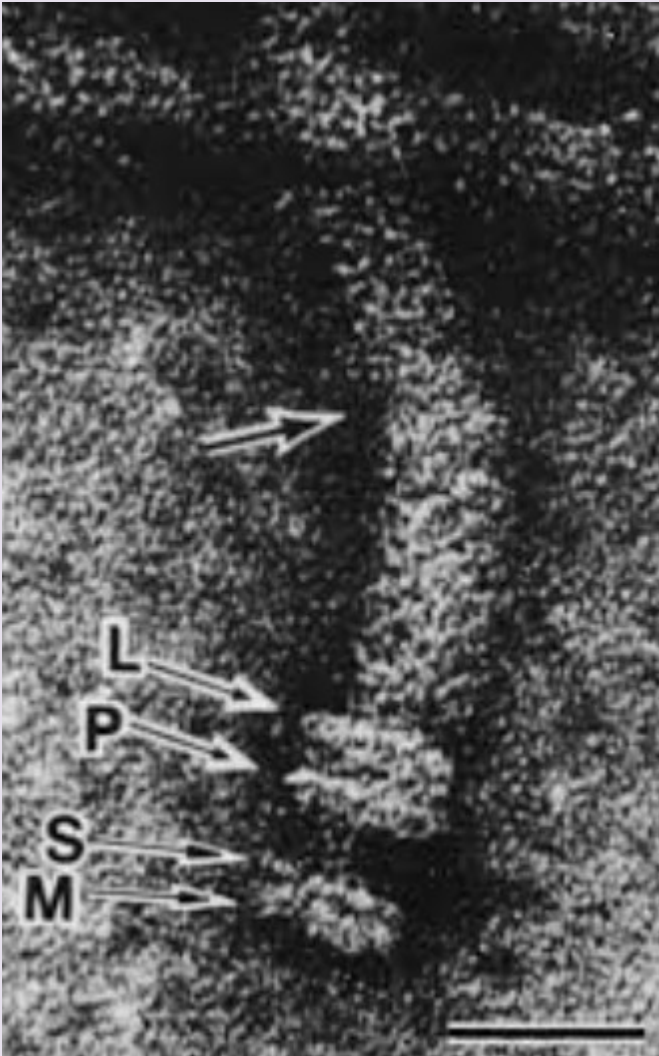


Selfassembly....


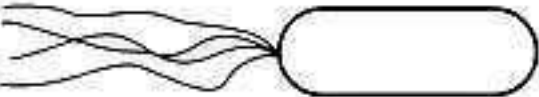

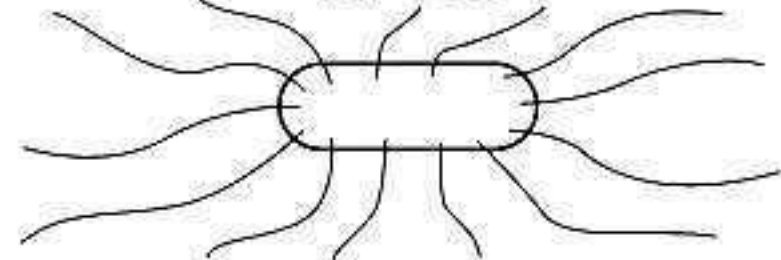
[https://www.youtube.com/watch?v=N5Dv\\_u81Rw4](https://www.youtube.com/watch?v=N5Dv_u81Rw4)



EM - ultrastruktura bičíku



## uspořádání bičků: taxonomický znak

Structure	Flagella Type	Example
	Monotrichous	<i>Vibrio cholerae</i>
	Lophotrichous	<i>Bartonella bacilliformis</i>
	Amphitrichous	<i>Spirillum serpens</i>
	Peritrichous	<i>Escherichia coli</i>

## Metody pozorování bičíků

### Pozorování pohybu bičíku – visutá kapka

- důležitý dostatek kyslíku
- v temném poli a intenzivním světle

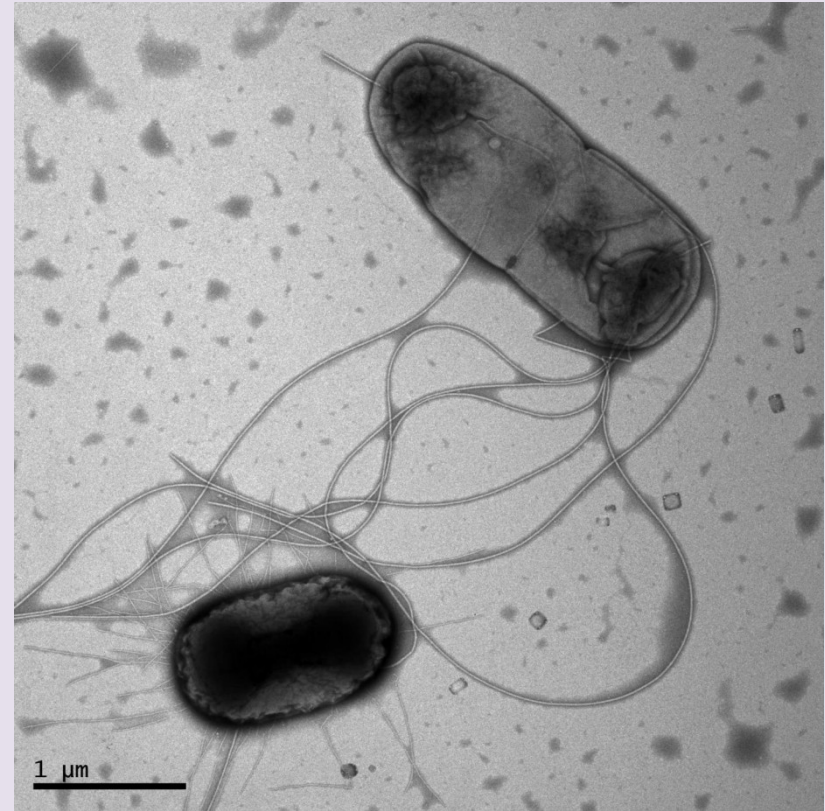
### Pozorování bičíků samotných:

#### světelný mikroskop

- spec. barvení (obalení bičíku vrstvou mořidla, znásobení a zviditelnění jeho průměru)

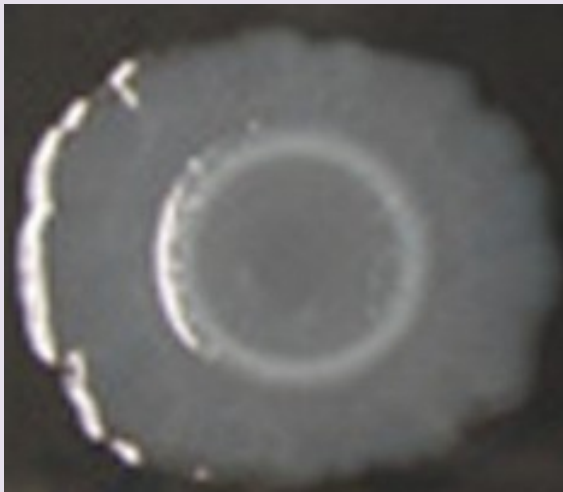
#### elektronový mikroskop

- negativní barvení – barvení pozadí
- otiskové preparáty po rychlém zmražení na -150 C



## Pohyb bakteriální buňky

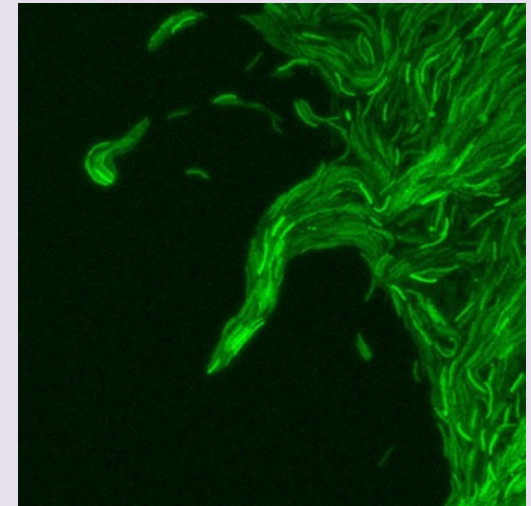
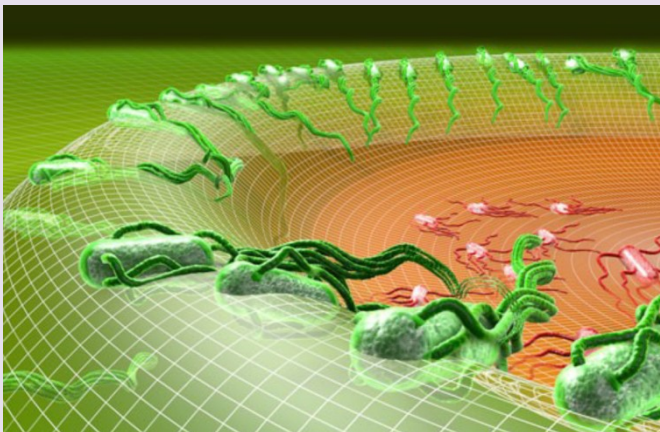
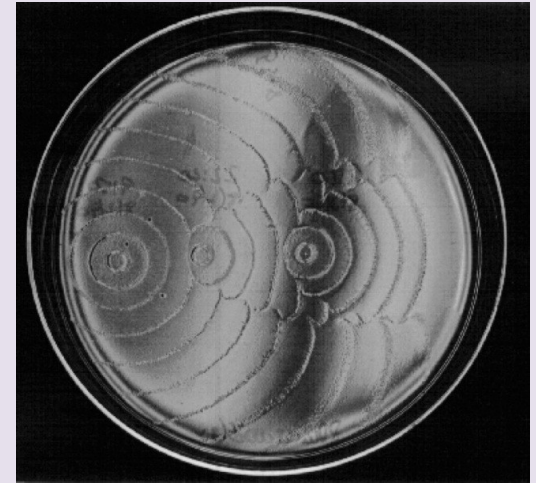
- spojeno s pohybem po tkáních/sliznicích
- swimming motility – pohyb bičíky, plavání - schopny všechny buňky s bičíkem
- swarming motility – plazivý pohyb kolonií, bičíky, *Proteus*
- twitching motility – trhavý, skákavý pohyb – př. *Neisseria gonorrhoeae*, *Legionella pneumophila*
- gliding motility – klouzavý pohyb
- motility medium - terasovitý růst – střídání fází u rodu *Proteus*
- twitching motility -*Legionella pneumophila*





## Plazivý pohyb kolonií (swarming)

- ***Proteus, Vibrio***
- pohyb indukovaný kontaktem s tuhým médiem
- delší buňky, více bičíků
- oblak, roj buněk, který se pohybuje koordinovaným pohybem
- má schopnost přerůstat i vyvýšené útvary na médiu
- plazení je char. jen pro některé rody
- např. Gama a Alfaproteobakterie (proteus, salmonella)
- umožňuje jim to lepší adherenci k hostiteli
- plazivý pohyb je dáván do souvislosti s infekcemi v urogenital.traktu
- pro plazení je potřeba tuhe medium a další bakterie
- samostatná buňka plazení není schopna



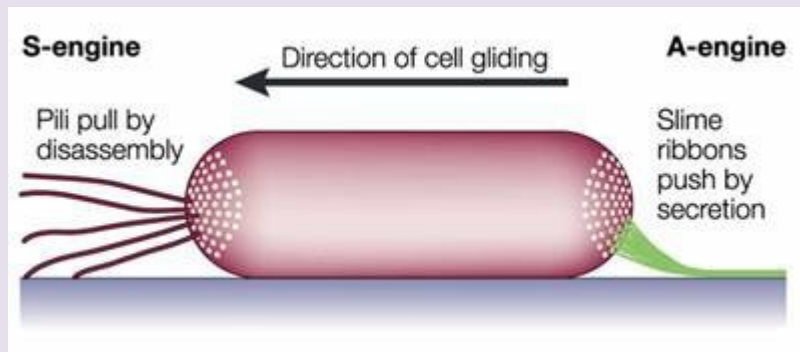
## Klouzavý pohyb (Gliding motility)

- uplatňuje se na pevných površích
- mechanismus nejasný
- proton multi force (PMF) je asi taky hnací silou
  
- přizpůsobení – tvorba slizu, surfaktanty, specif. membránové komponenty
- které tvoří reverzibilní vazbu se substrátem – „actine-like“ systém

Makoto Miyata - zkoumal klouzavý pohyb *Mycoplasma mobile*

- pomoci **cytoskeletárních filament udržují nesférický tvar**
- není zatím znám mechanismus, jak k němu dochází

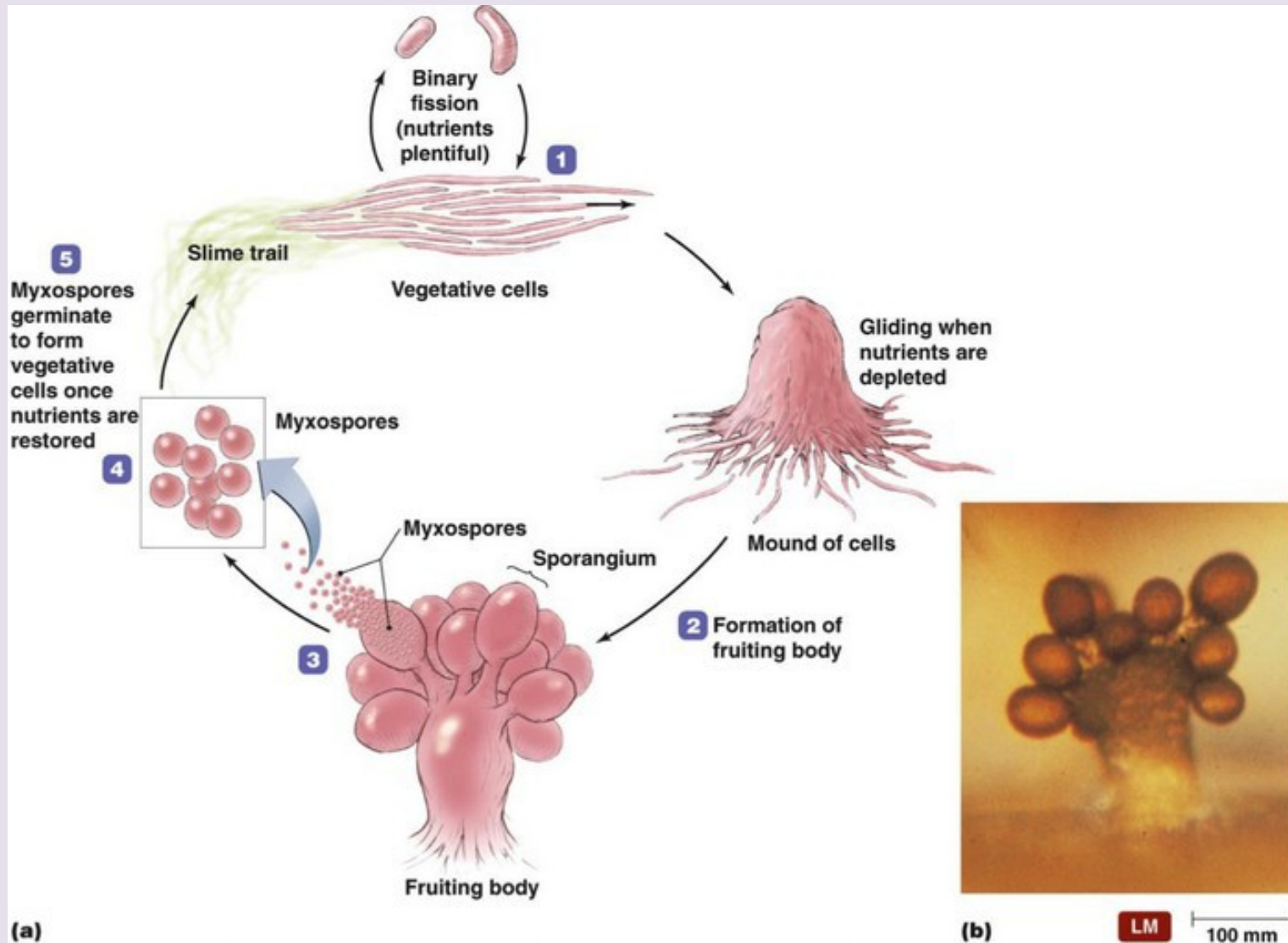
(„They look like schmoos that are pulled along by their heads. How they are able to glide is a mystery“.)



Miyata, M., Ryu, W.S., and Berg, H.C.  
"Force and velocity of  
*Mycoplasma* 22.10.2015 *mobile* gliding." *J.  
Bacteriol.* 184, 1827-1831 (2002).

## Klouzavý pohyb – tvorba plodnice myxobakterií

- při nedostatku živi u myxobakterií --> vytvoří plodnici --> přežije díky ní nutriční stres



## Bičíky Archaea

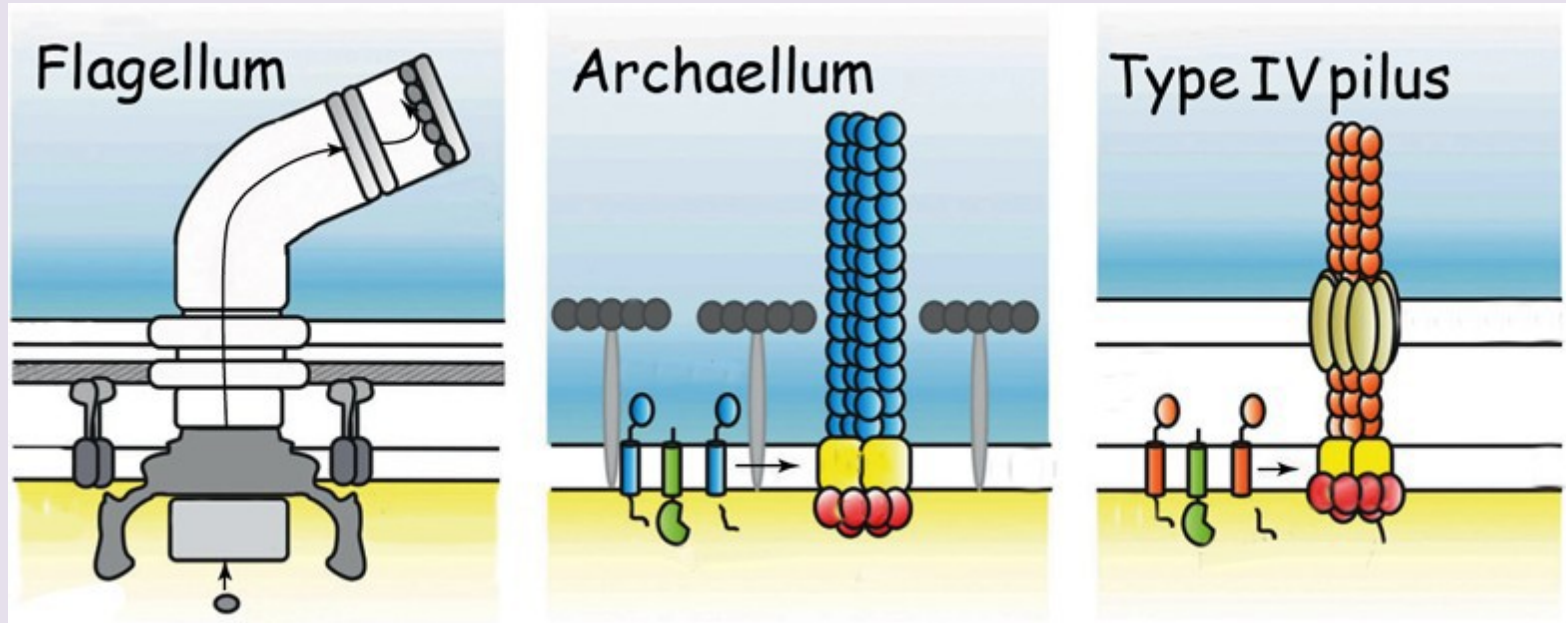
- strukturní a funkční podobnost bakteriálním bičíkům

### Rozdíly:

- pohon ATP (mechanismus neznámý)
- bičík nemá centrální dutiny – nemožnost dorůstání od konce
- k jeho skládání nedochází od konce ale od základu
- koordinovaný pohyb více filament

## Revealing the Secrets of Motility in Archaea

News Release Paul Preuss 520-486-6249 • FEBRUARY 14, 2013

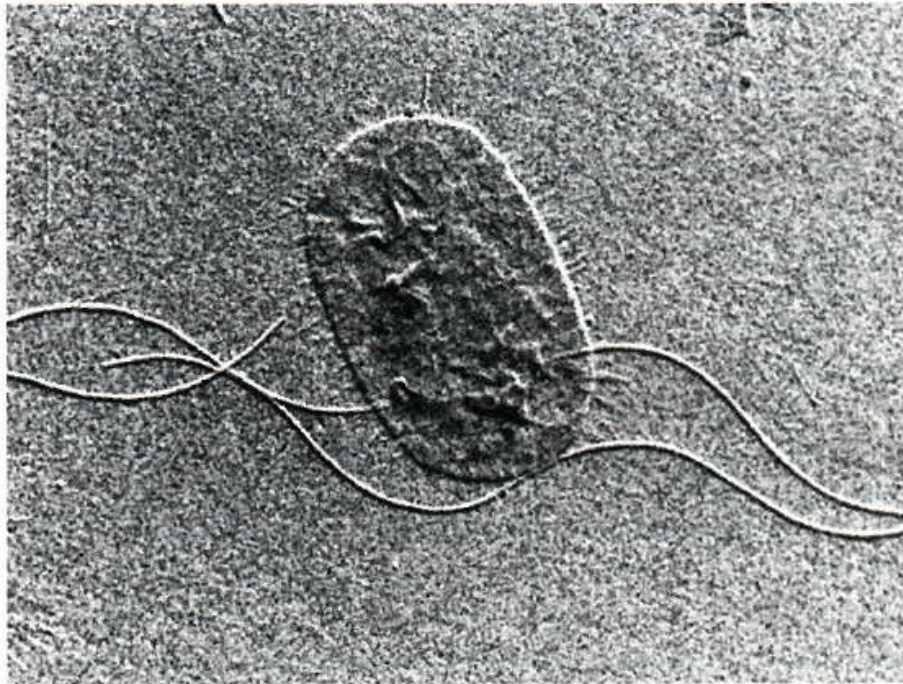


## Fimbrie - pili

- termín fimbrie je obecnější, pilus označuje struktury sloužící ke konjugaci)
- struktura BS, stovky
- kratší než bičík
- $\varnothing$ 2-8 nm, délka 0,1 – několik nm, 3-5 molekul
- fce: přenos DNA konjugací, přichycení fágů
  
- primárně skládají z oligomerních pilinových proteinů – dutá vlákna stočená do spirály
- různě velké, typicky u G- bakterií
  
- některé pilusy (tzv. pilusy čtvrtého typu) slouží k pohybu
- dojde k adhezi pilusu na substrát, pak se pilus stáhne a přitáhne k sobě celou buňku
- výsledný pohyb charakteristicky trhaný



- mnohé fimbrie umožňují adhezi buněk k nenabitému povrchu
- např. při vzniku infekce, biofilmu
- zpravidla rozmístěné rovnoměrně po celém povrchu buňky a nebo rostou z opačných pólů
- mutantní bakterie postrádající tyto fimbrie- nemohou přilnout k jejich cílovému povrchu
- proto nemohou způsobit chorobu



**Figure 3.32 Flagella and Fimbriae.** The long flagella and the numerous shorter fimbriae are very evident in this electron micrograph of *Proteus vulgaris* ( $\times 39,000$ ).

## PILI – fimbrie – 2 typy

### I.

- kódované chromozomálně
- slouží ke specifické kolonizaci u symbiontů, parazitů a patogenů
- *Př: Vibrio cholerae O1, E.coli – uropatogenní P pilus, adherence fimbrie + enterotoxin E. coli)*

### II.

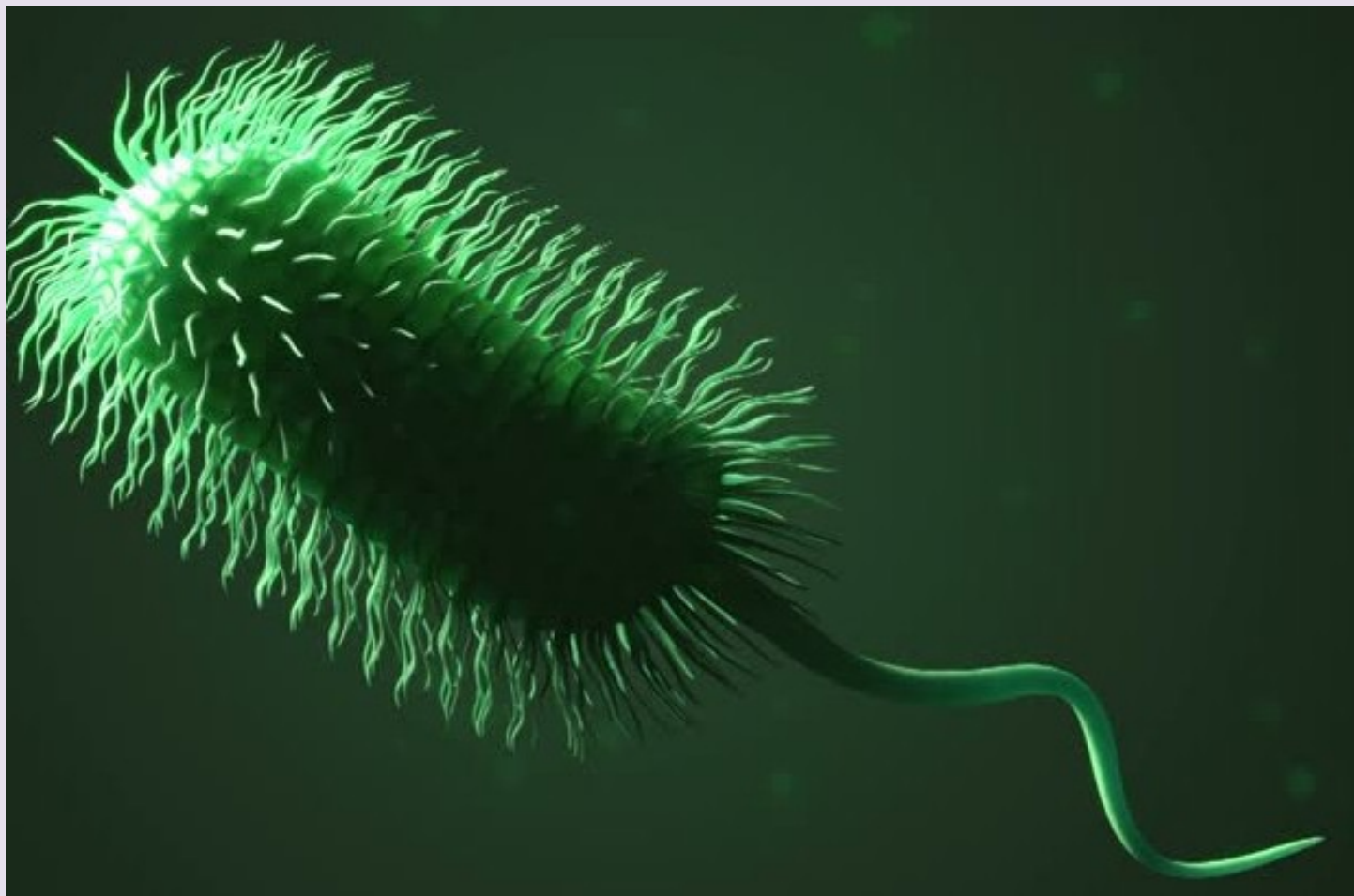
- sex fimbrie - **F-pilusy** či **konjugativní pilusy**  
(F pilus u *E.coli*, konjugativní plazmidy salmonel)
- kódované konjugativním plazmidem u donora
- spojují jednu bakterii k druhé, propojují jejich cytoplazmy
- umožňují tím výměnu genetické informace – plazmidů
- plazmidy mohou následně umožnit určitou novou funkci, například rezistenci k ATB
- bakterie mohou mít až 10 sexuálních pilusů
- někdy jich využívají bakteriofágy při vstupu do bakteriálních buněk

barvení fimbrií:

- - kys.fosfowolframová
- - kys. osmičelová

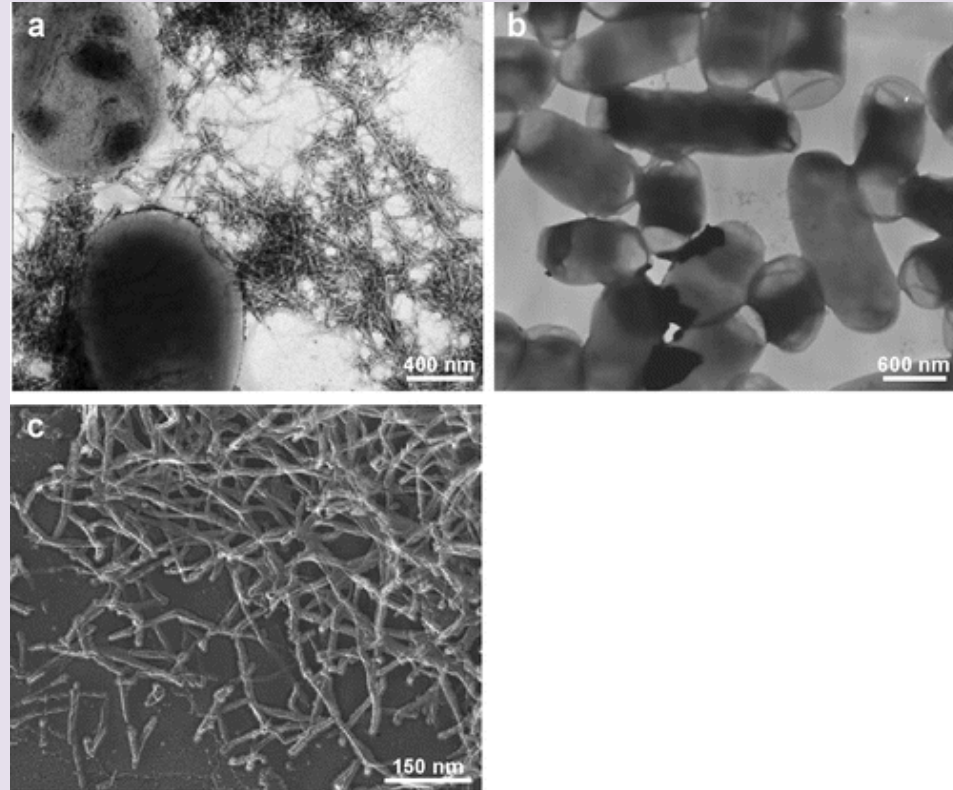



základní stavební jednotka...oligomerní pilinové proteiny



## Curli

- u Enterobakterií
- slouží k agregaci, adhezi, formování
- proteinové komponenty *Enterobacteriaceae*
- forma amyloidních vláken
- objeveny 1980
- slouží k adhezi na povrchy, agregace buněk
- formování biofilmu
- napomáhají invazi do hostitele
- indukují zánět



 Barnhart MM, Chapman MR. 2006.  
Annu. Rev. Microbiol. 60:131–47

## Eukaryotický cytoskelet a jeho modifikace vlivem patogenů

Cytoskelet hostitele slouží k:

- k adheze na povrch
- následuje invaze - vstup patogena do buňky
- umožňuje pohyb uvnitř a mezi buňkami
- pak dojde k remodelaci hostitelských buněk – např. formování vakuol
- je ovlivněn viry i bakteriálními patogeny

Virulenční faktory :

- struktury umožňující patogenům dostat se do hostitele
- překonat jeho imunitní systém
- kolonizovat a využívat buňky hostitele
- většina je kódována plazmidy

## **Patogenita bakterií a eukaryotický aktinový cytoskelet hraje roli při změnách (pohybu buňky a pohlcení bakterie) euk. CM při fagocytóze**

### **Intracelulární patogeni**

- interakce bakteriálních produktů s receptory CM za regulace cytoskeletu
- nebo přímým vstupem produktů do buňky
- mají ligandy reagující s receptory a translokují tak molekuly efektorů do cytoplasmy
- bakterie tak svými produkty manipulují aktinový cytoskelet pro vlastní proliferaci
- dojde ke stimulaci polymerace aktinu a zvýšené fagocytóze bakterií
- a tedy rychlému násobení počtu bakteriálních buněk ve tkáních

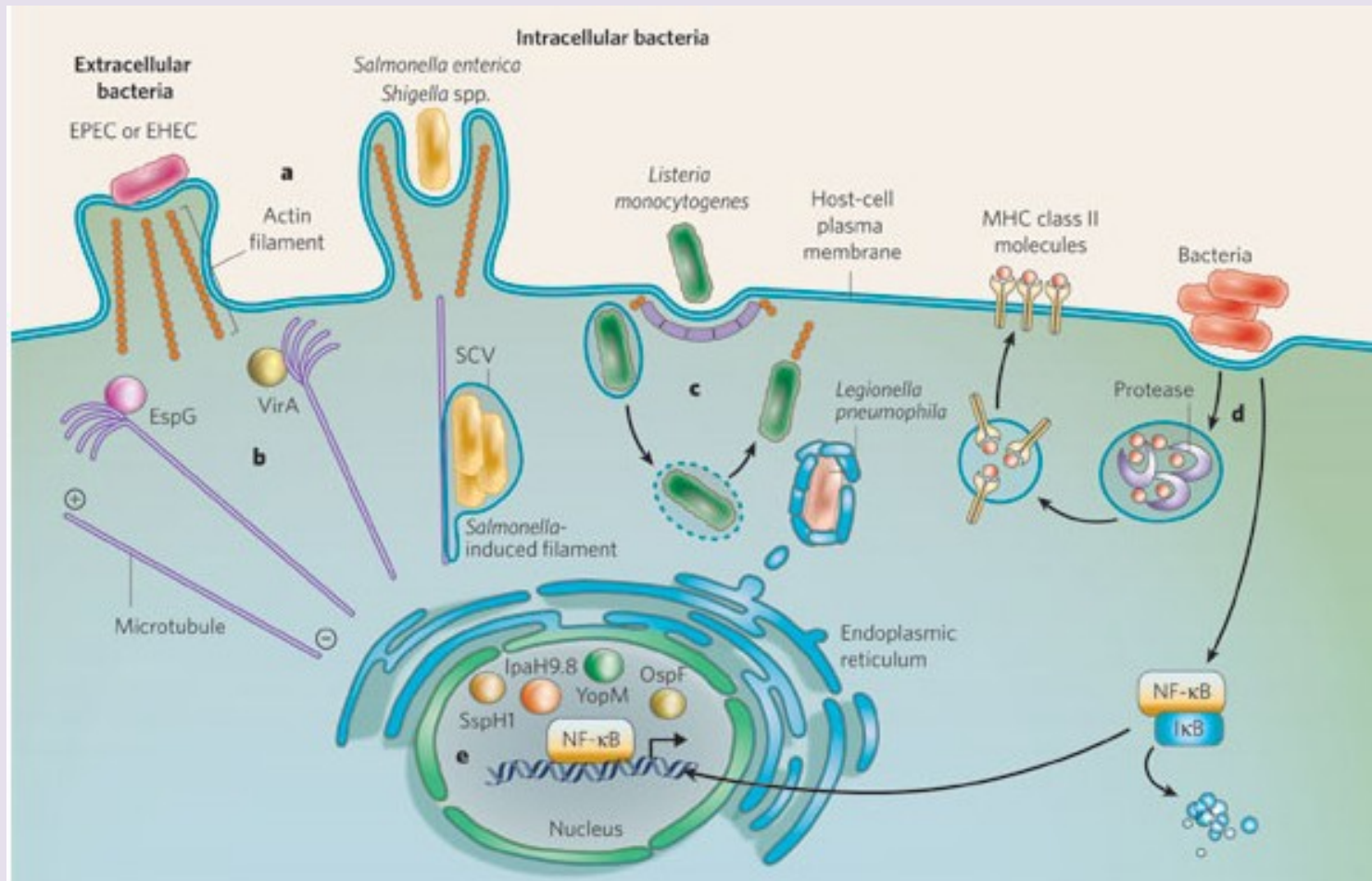
### **Extracelulární patogeni**

- naopak produkují substance vstupující do eukaryotické buňky
- ty pak ničí síť aktinových vláken
- to zabrání pohlcení a natrávení eukaryotickou buňkou

- extracel. patogeni se přichytí pomocí podstavců, intra. pak se do buňky dostanou endocytózou

## Review Article Manipulation of host-cell pathways by bacterial pathogens

Amit P. Bhavsar<sup>1</sup>, Julian A. Guttman<sup>1,2</sup> & B. Brett Finlay<sup>1</sup>

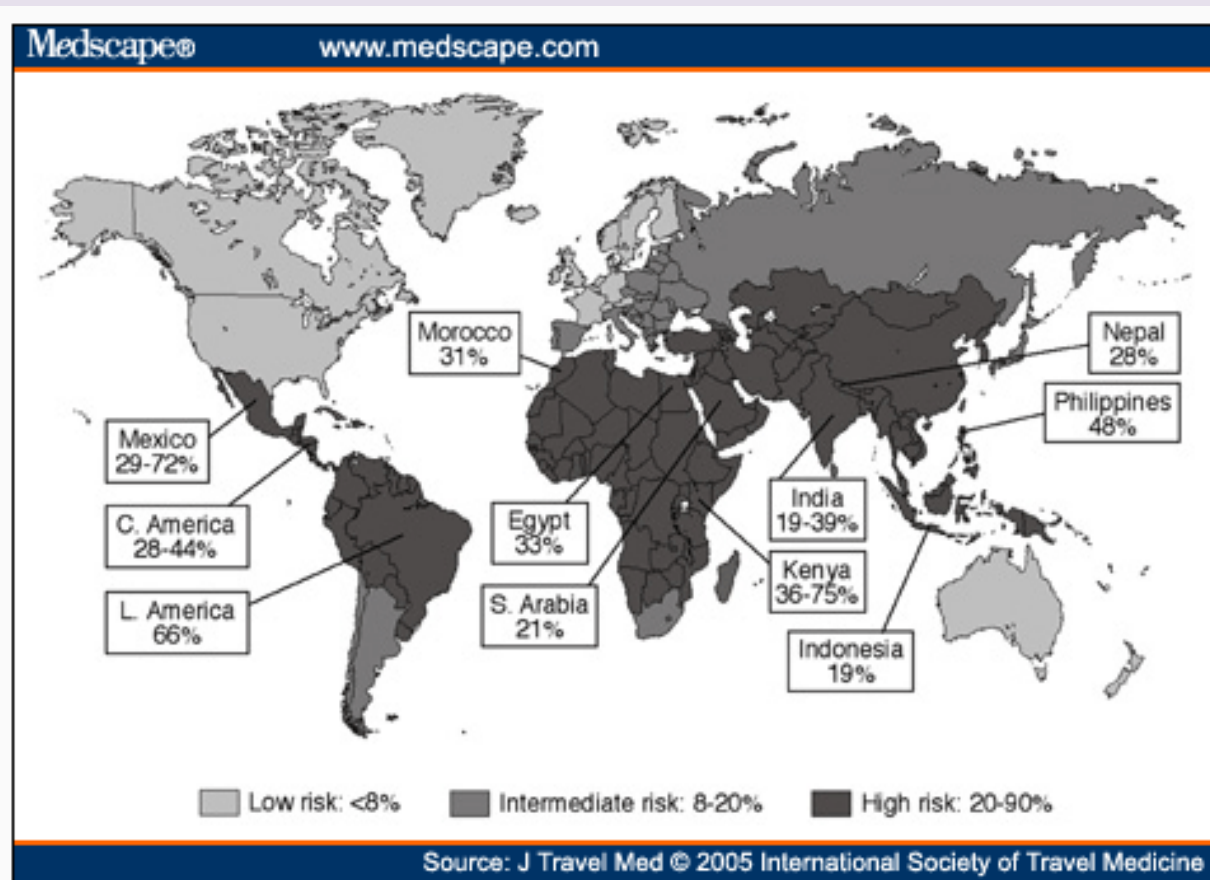
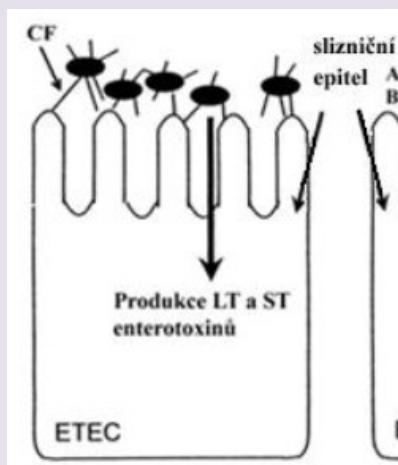


## Enterotoxigenní *E. coli* (ETEC)

- tzv. cestovatelský průjem

4 typy fimbriálních struktur:

- Fimbrie *sensu stricto*
- Fibrily
- Fimbrie typu 4
- curli

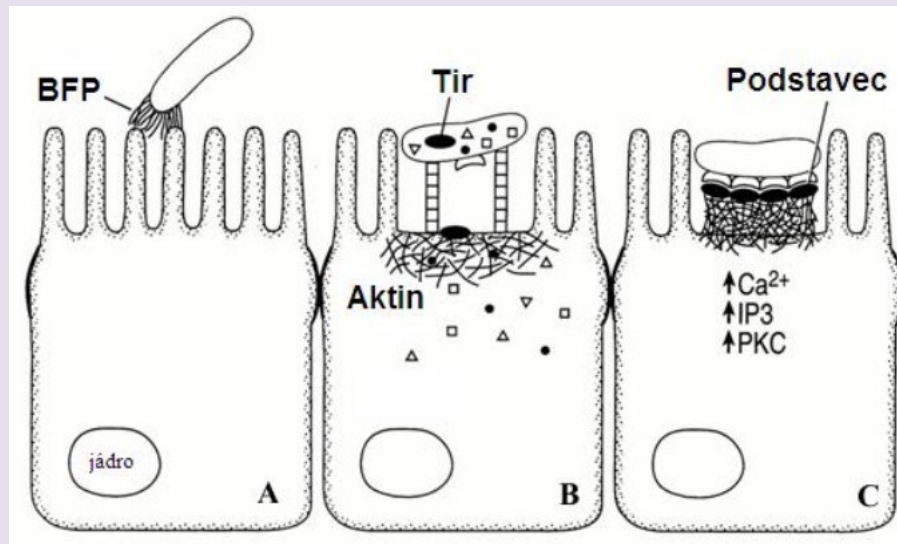


Percentage incidence of travelers' diarrhea caused by enterotoxigenic Escherichia coli.



## Enteropatogenní *E. coli* (EPEC)

- prujmovité onemocnění u dětí
- ve vyšších dávkách i u dospělých
- jejím vlivem dochází k lézím a k polymerizaci aktinu a myosinu --> přestavba cytoskeletu
- vytváří tzv. intimní adherenci = přilne velice blízko k povrchu pílů
- dojde k přemístění receptoru Tir ke stěně střeva --> přestavba aktinu a myosinu --> tvorba podstavce --> pohyb bakterie, kolonizace
- bakterie vylučuje EspC protein --> produkce toxinu

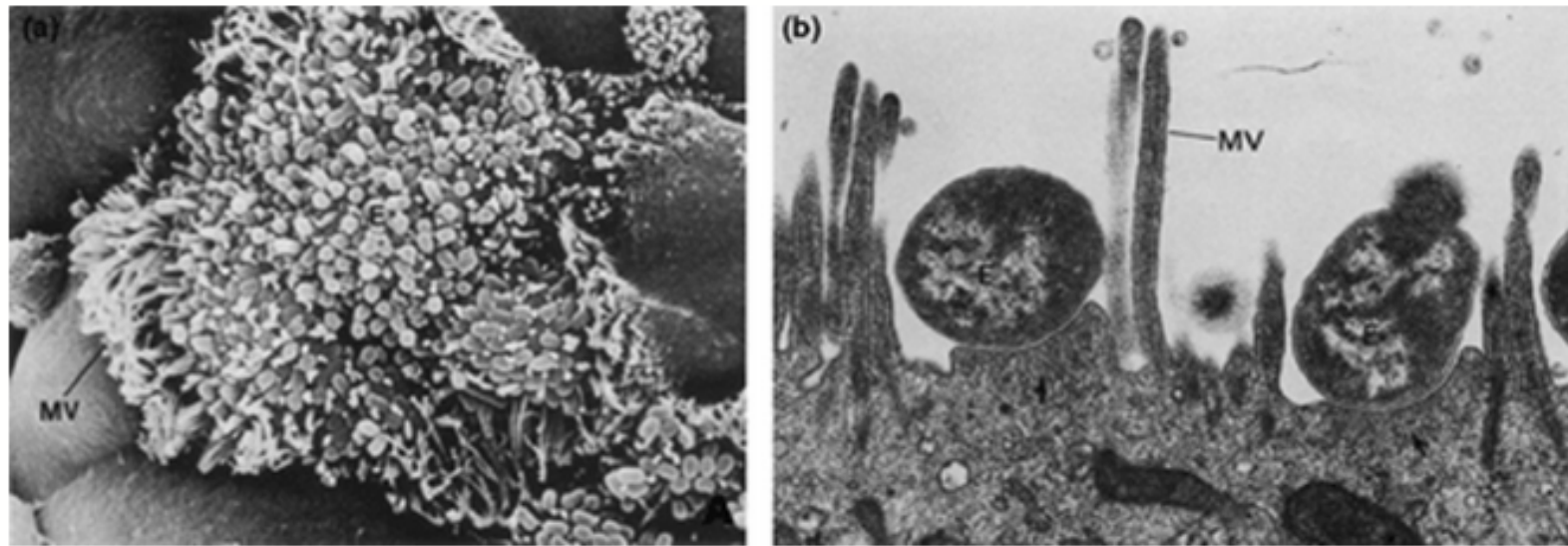


BFP = pilusy tvořící svazky („bundle forming pilus“); Tir = receptor intiminu („translocated intimin receptor“); IP3 = inozitoltrifosfát; PKC = proteinkináza C.



# Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis

Huiwen Deborah Chen, Gad Frankel \*

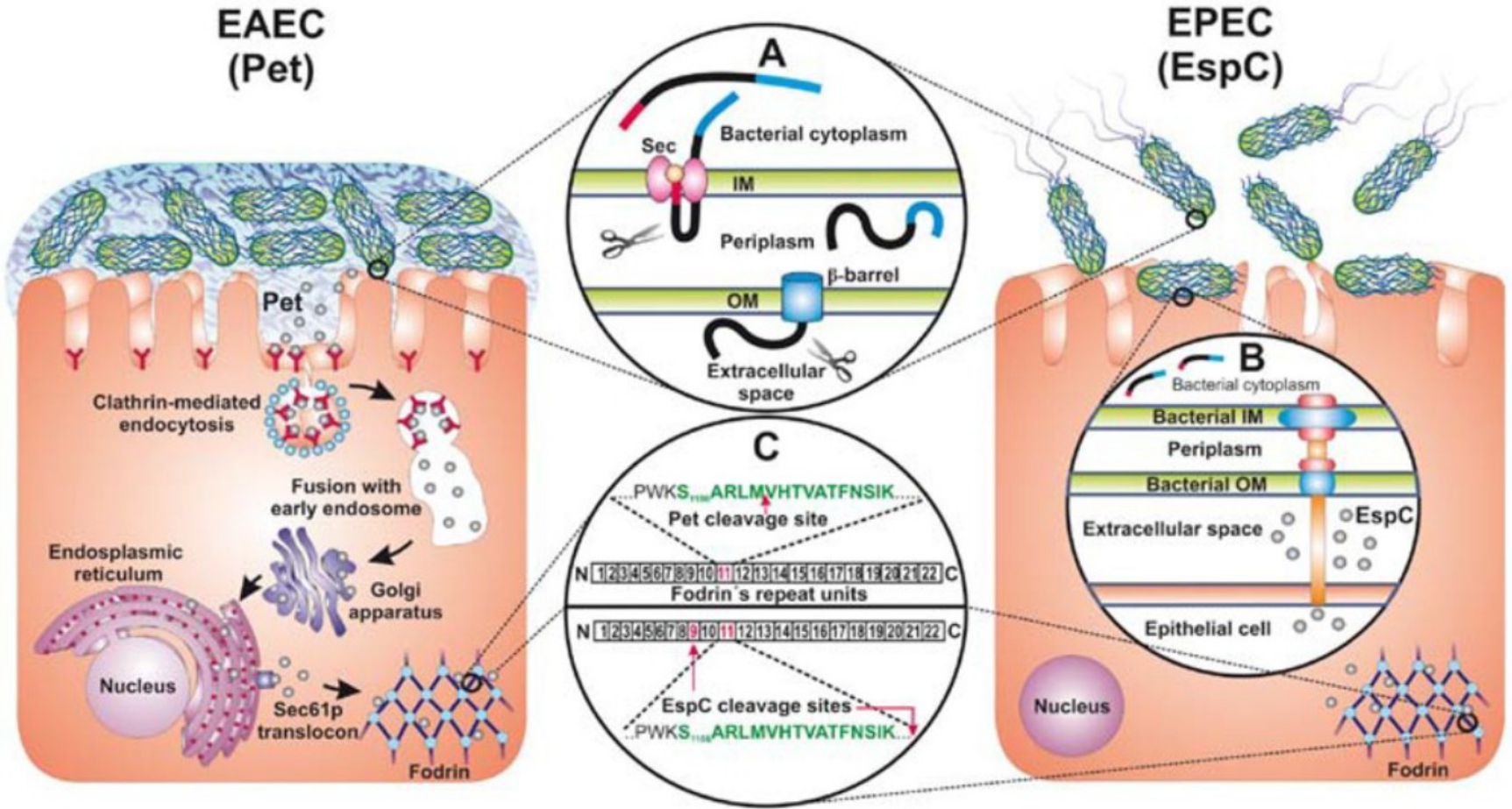
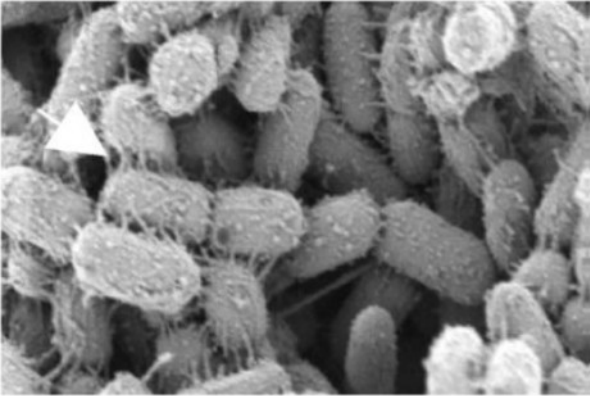


**Figure 1**

(a) Gross localised perturbation of brush border architecture. Original magnification: 5000 $\times$ . (b) Electron micrograph of cultured human intestinal mucosa infected with EPEC, illustrating the key features of A/E histopathology. Bacteria are intimately attached to cup-like projections of the apical enterocyte membrane. At regions of attachment, localised destruction of microvilli (MV) and disruption of cytoskeleton were observed. Magnification: 45,000 $\times$ . Reproduced from Knutton et al. (1987), with permission from ASM press.

# Enteroagregativní *E. coli* (EAEC)

- průjem a zvýšená teplota, děti i dospělí
- ke kolonizaci dochází díky agregativní adhezenci
- tato *E. coli* donutí enterocyty k tvorbě slizu
- plazmid pAA kóduje fimbrie agregativní adherence

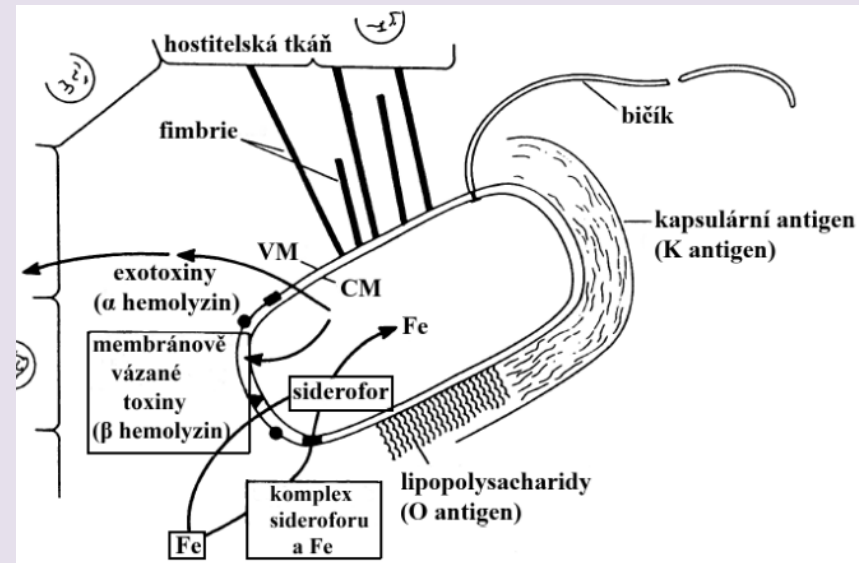


## Extraintestinální *E. coli*

- tato *E. coli* není primárně ve střevech
- často jsou v močových cestách, v krvi
- způsobují novorozenecké meningitidy
- hrají roli v nozokomiálních nemocích

mají hodně virulenčních faktorů :

- bičíky, fimbrie
- produkce exotoxinů, membr. vázaných toxinů
- siderofor
- (váže železo z host.buněk – Fe pak stimuluje růst bakterii)



# DĚKUJI ZA POZORNOST

