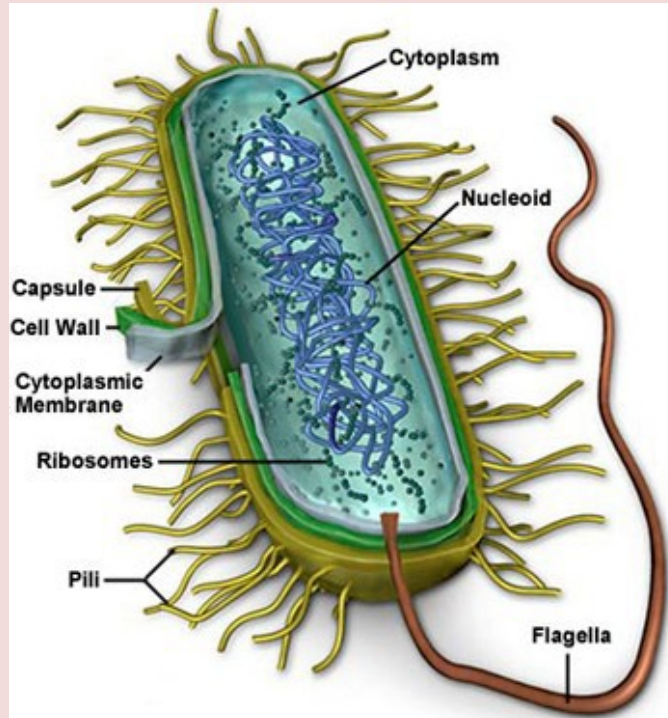
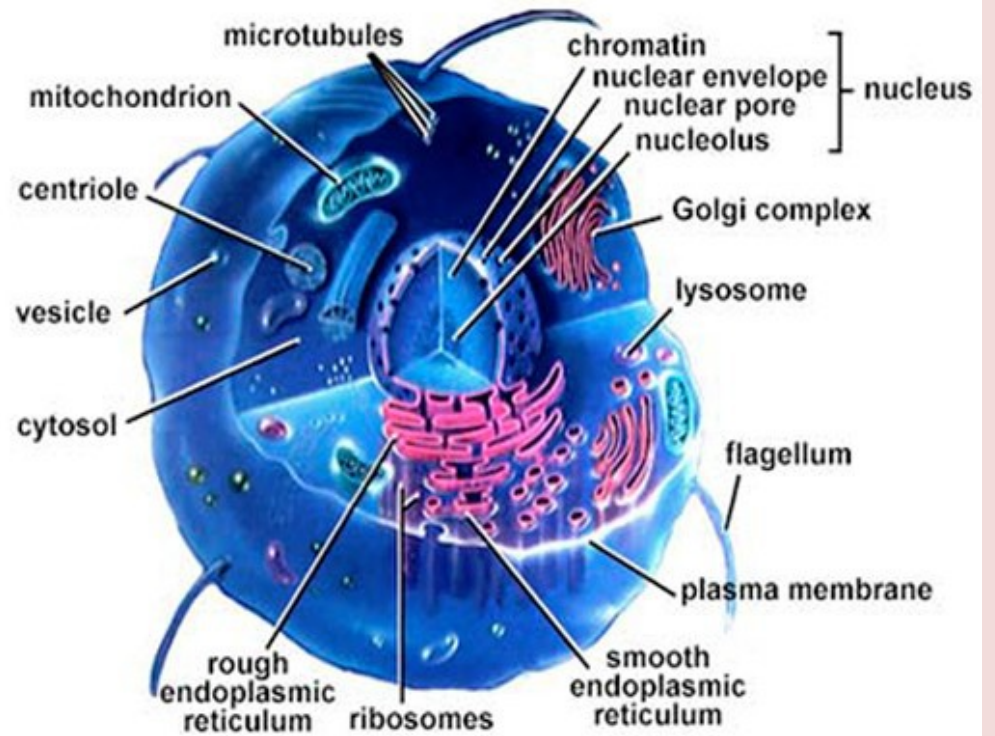


Cytologie a morfologie bakterií

I.



prokaryotic cell



eukaryotic cell

Morfologie

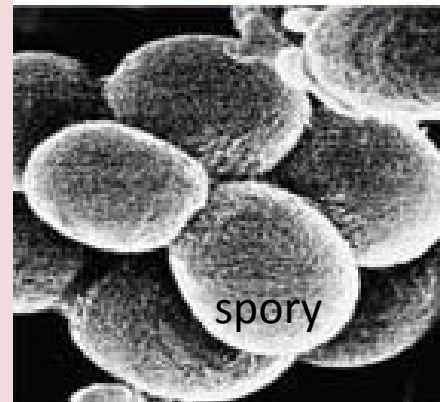
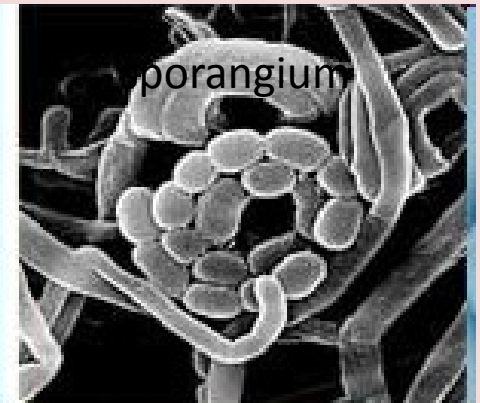
- Charakteristických shluků buněk
- Buněčných útvarů (spory, konidie, sporangia, pouzdra...)

Bakteriální kolonie

Pozor na:

- **stáří kultury a**
- **pleomorfní buňky**
- buňka char.shluk
- **sporangium**
- **spory**

Většinou druhově charakteristické
= identifikační znak



- různé velikosti a tvary bakteriální buňky
- velký poměr povrch/objem
- velká plocha kontaktu buňky s prostředím

Velikost bakt. v μm

Chlamydia 0,3 x 0,3

Bdellovibrio 0,8 x 0,3

Rickettsia 1 x 0,3

S. aureus 0,8-1 x 0,8-1

E. coli 2-3 x 0,4-0,6

B. subtilis 1,8-4,8 x 0,9-1,1

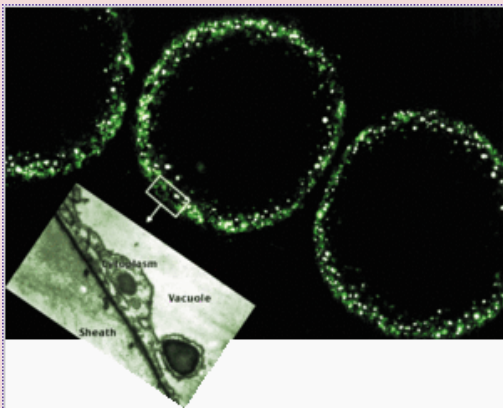
Streptomyces vlákno x 0,7-1,6

Chromatium 25 x 10

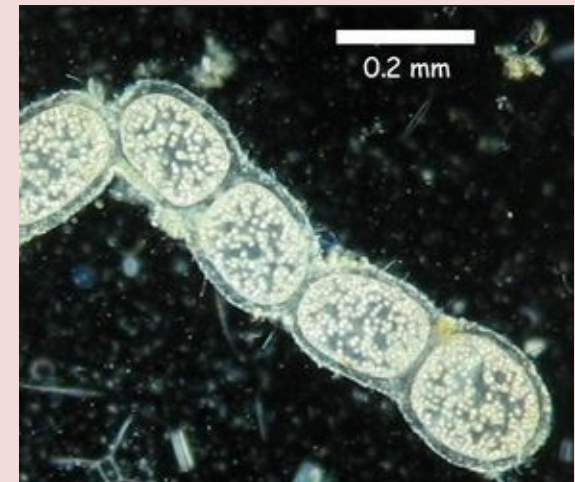
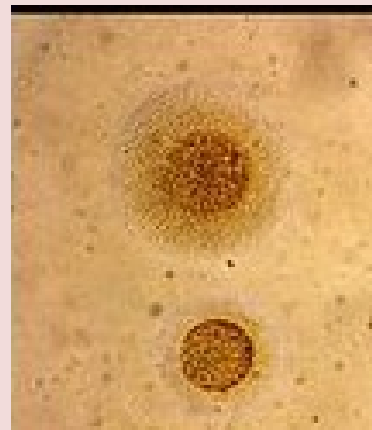
Spirochety 500

Mycoplasma 0,1–0,3 μm

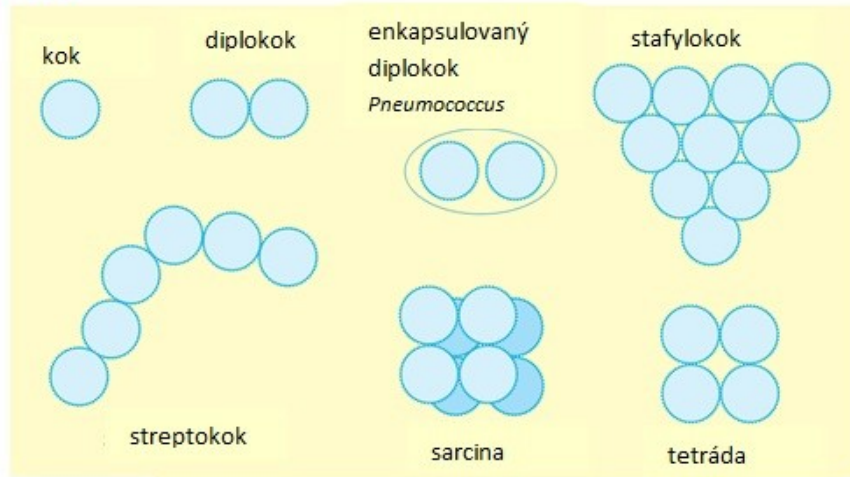
- **Tvary bakt. buňky**
- **Koky** - sférické, oploštělé, lancetovité
- - diplokoky, streptokoky, tetrády,
- sarciny, stafylokoky
- **Tyčinky** – rovné, zakřivené, větvcí se,
- palisády pleomorfní
- **Kokobacily**
- **Pupeny**
- **Prostéky**
- **Spirily**
- **Hvězdice, Mycelia**



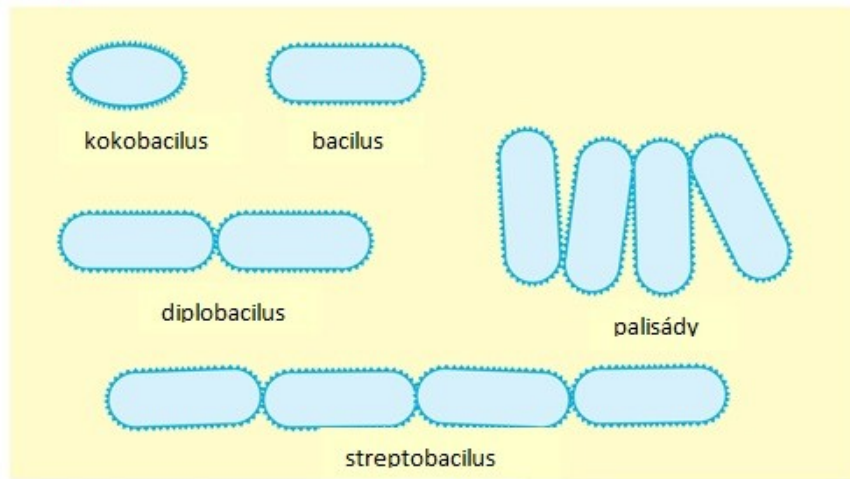
Cell from a string of *Thiomargarita namibiensis*. The inset demonstrates the outer cell wall, the thin layer of cytoplasm lining it, and the large liquid vacuole within the cell. Image from [Woods Hole Oceanographic Institution](#). [↗](#)



Koky



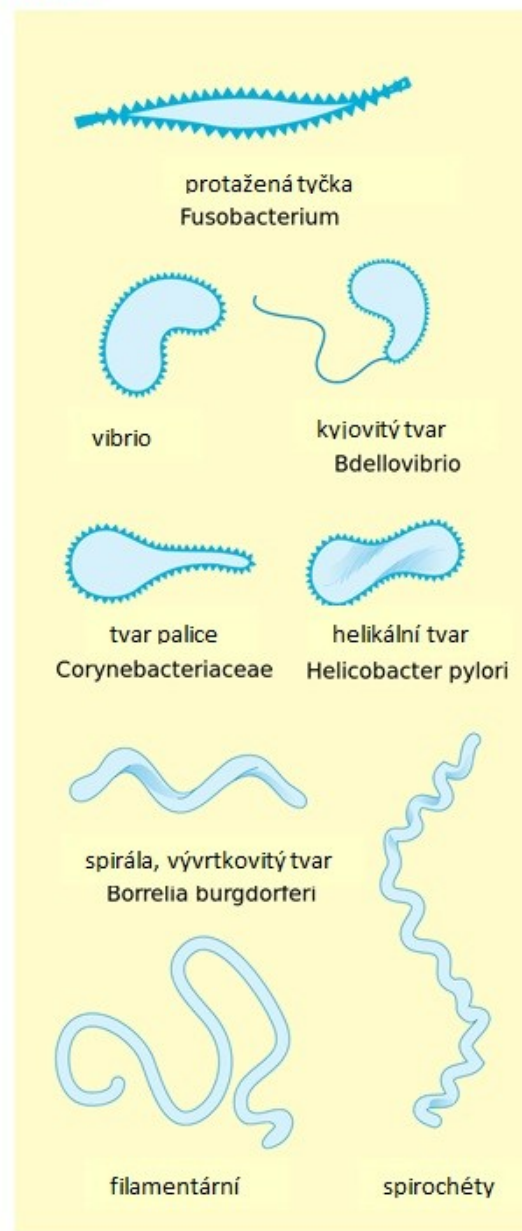
Bacili



Pučící a s přívěskv



Ostatní

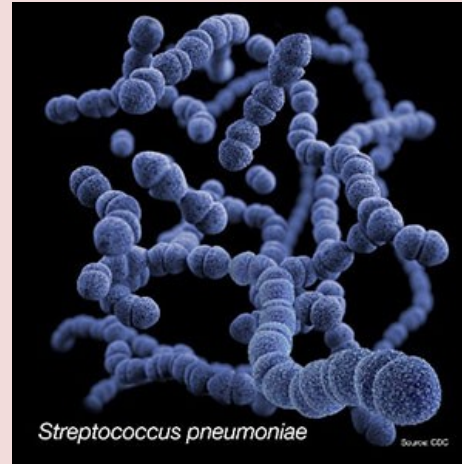


Morfologie charakteristických shluků buněk

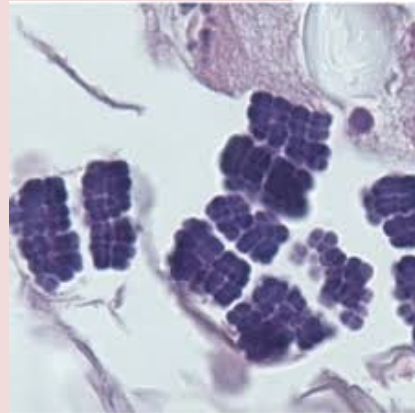
typické shluky napomáhají identifikaci

- řetízky koků: *Streptococcus*
- řetízky bacilů: *Bacillus*
- palisády: *Corynebacterium*
- tetrády koků: *Micrococcus*
- balíčky = sarciny: *Methanosarcina*

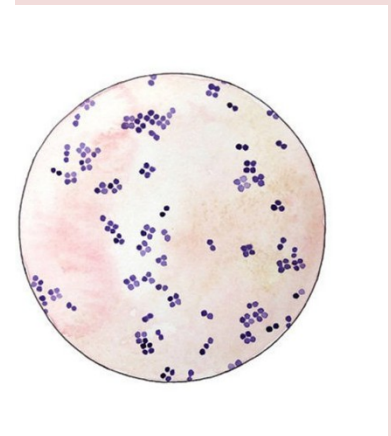
- hrozníčky
- *Staphylococcus*
- *Streptococcus*



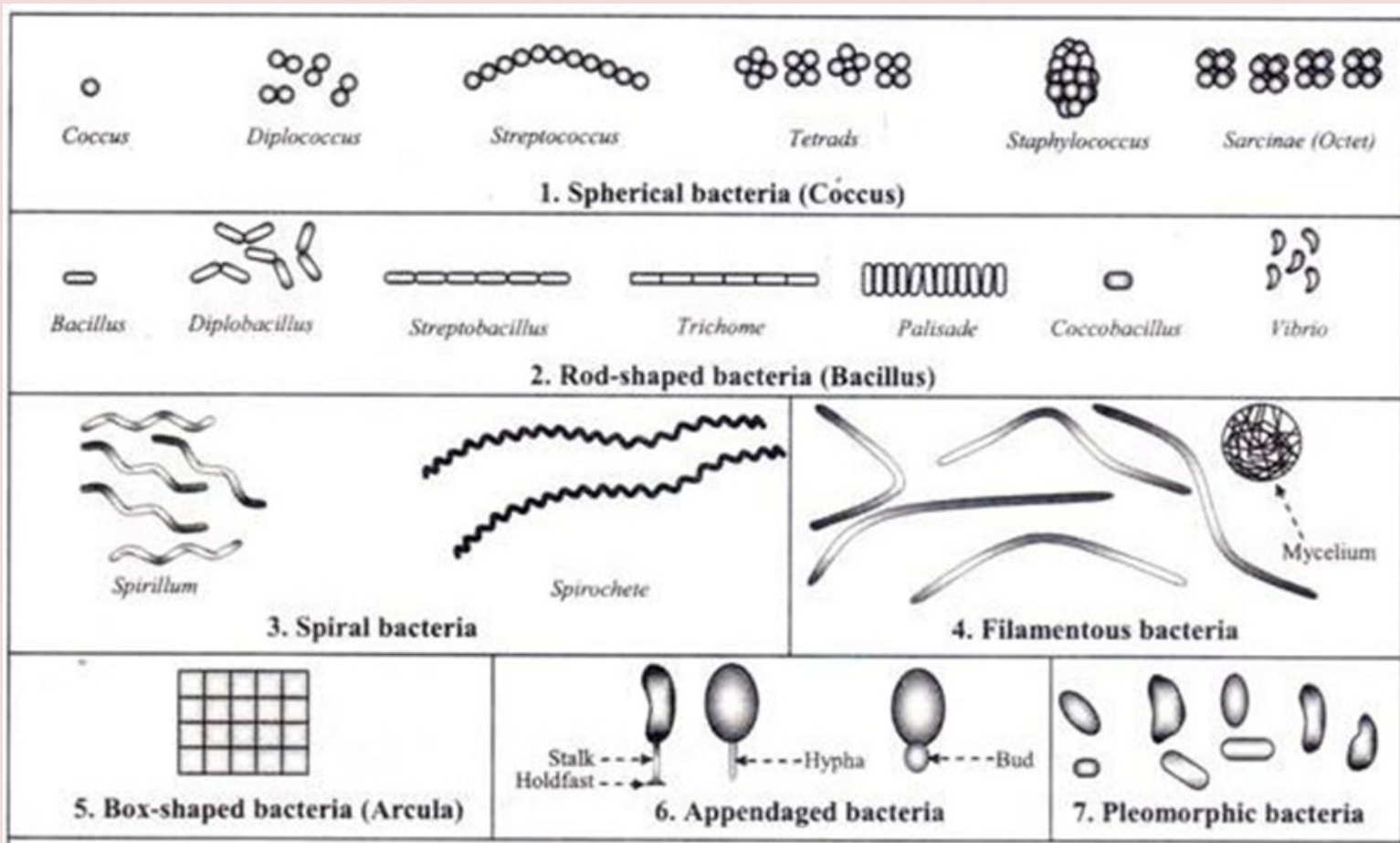
Staphylococcus

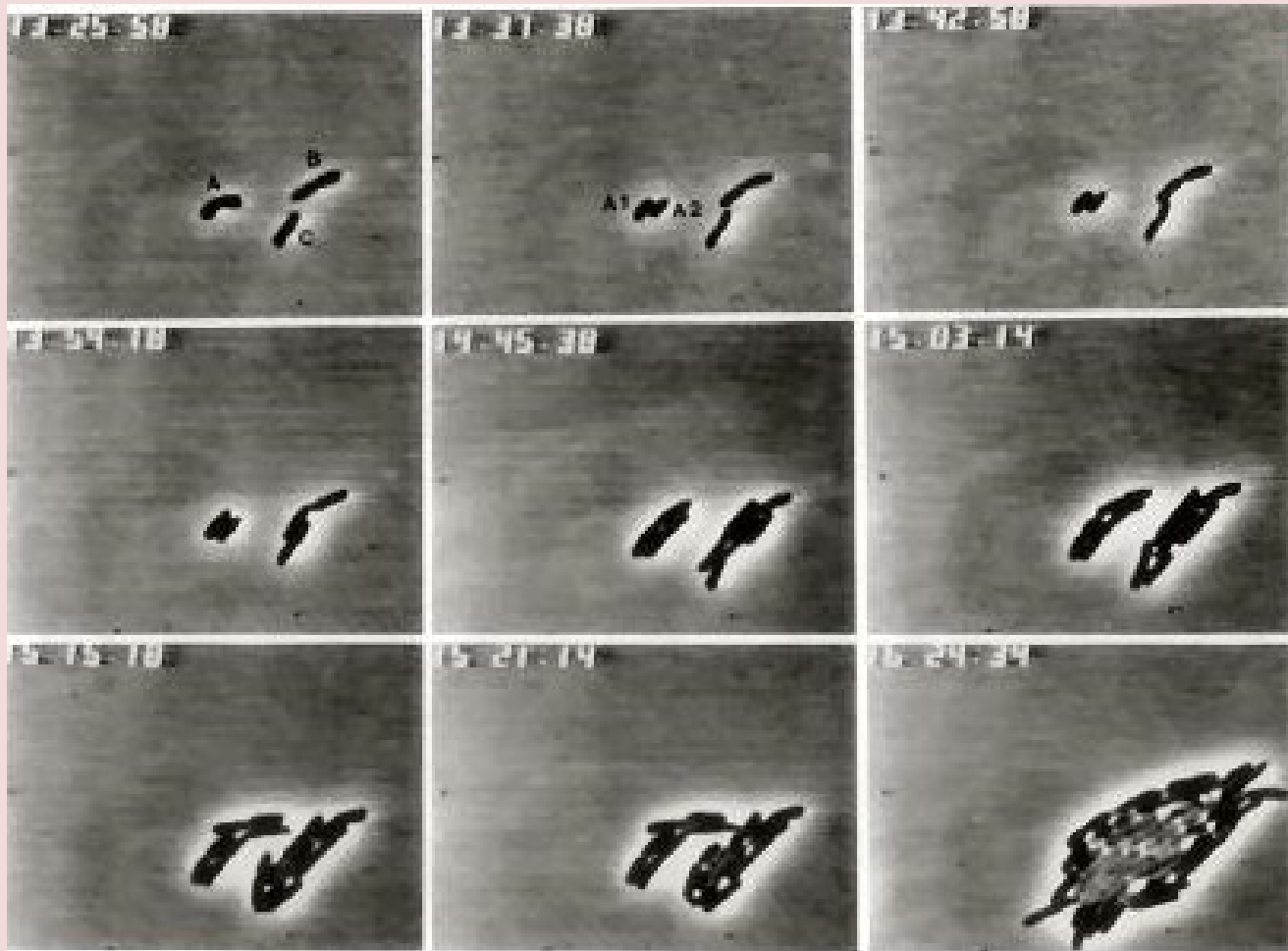


Methanosarcina



Micrococcus





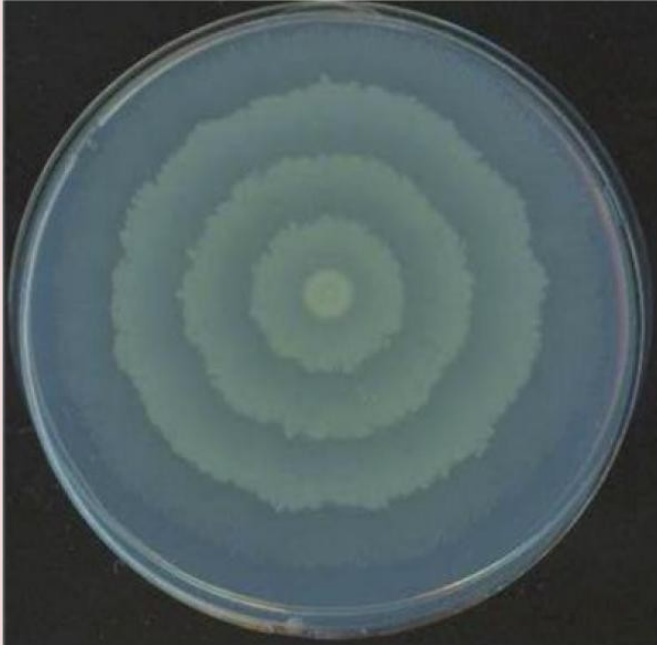
Mikrokolonie *E. coli* vznikající ze tří mateřských buněk (na agaru)
- charakteristický vzhled vznikajících útvarů dělicích se buněk u růz. rodů....

Morfologie bakt. kolonií

- potřeba zvážit typ media, na kterém kolonie hodnotíme!
- **kultivace** - zda vůbec kultivovatelné?? - sledování typu kolonií
- stáří kultury

Př: sledování morfologie kolonií

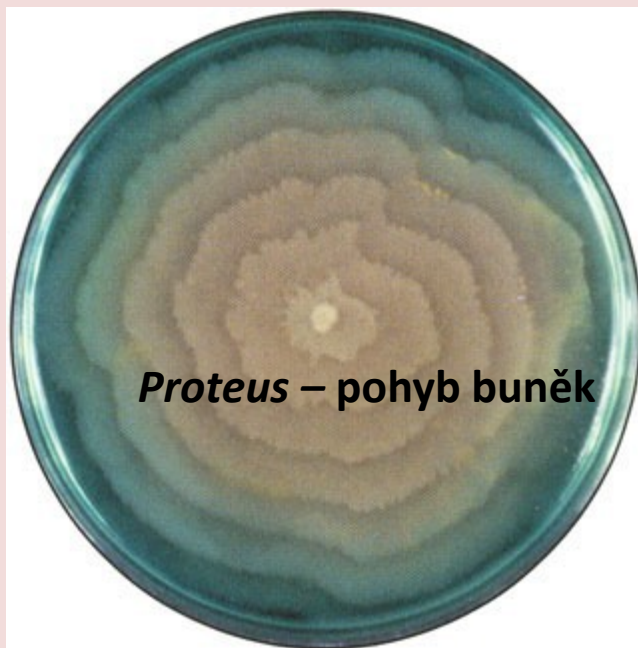
- univerzální media, jiný vzhled na selektivním – zda vůbec růst či ne? barevná reakce?
- S- (hladká) , R-(drsňá) a M-(mazlavá) formy
- sledování pohybu terasovité kolonie (Př: *Proteus*)



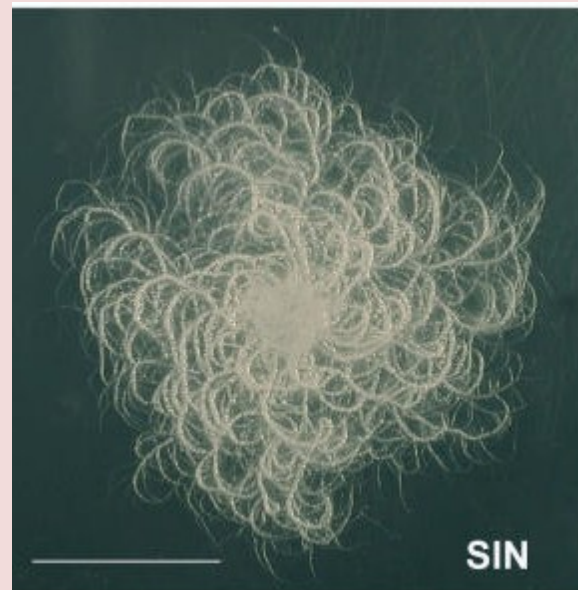
**Bakteriální
kolonie na
běžných mediích**



Nocardia



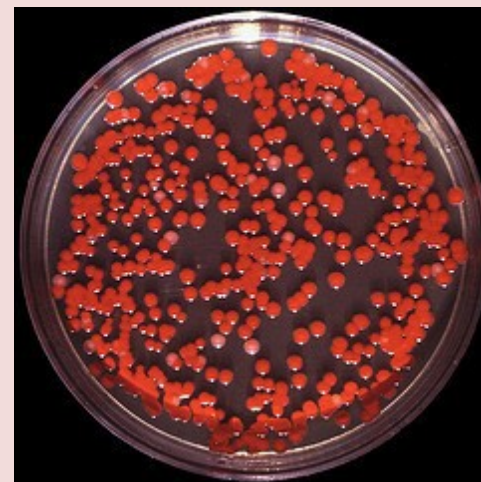
Proteus – pohyb buněk



Bacillus mycoides

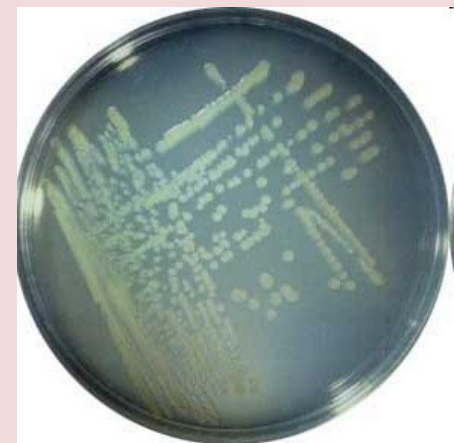


Streptomyces



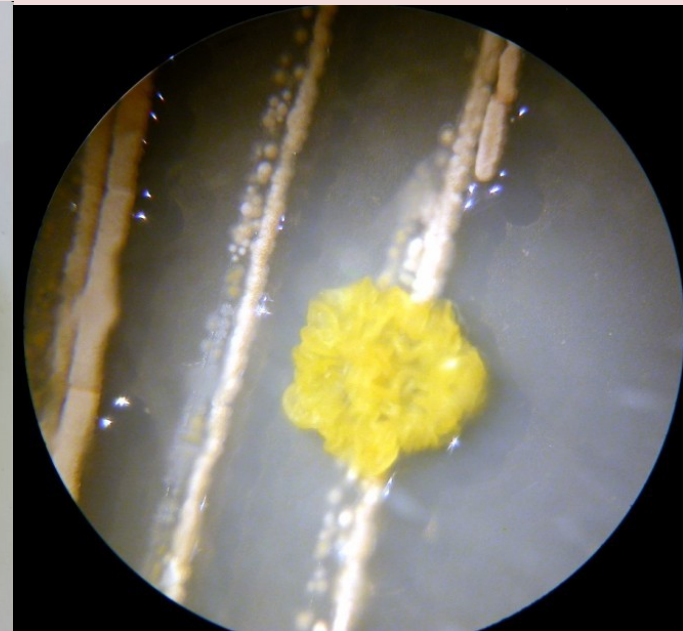
Serratia marcescens

Bakteriální kolonie na diagnost. půdách



Jeden druh bakterie a různá media...(E. coli)

Kontaminace na misce!



Morfologie pleomorfních buněk

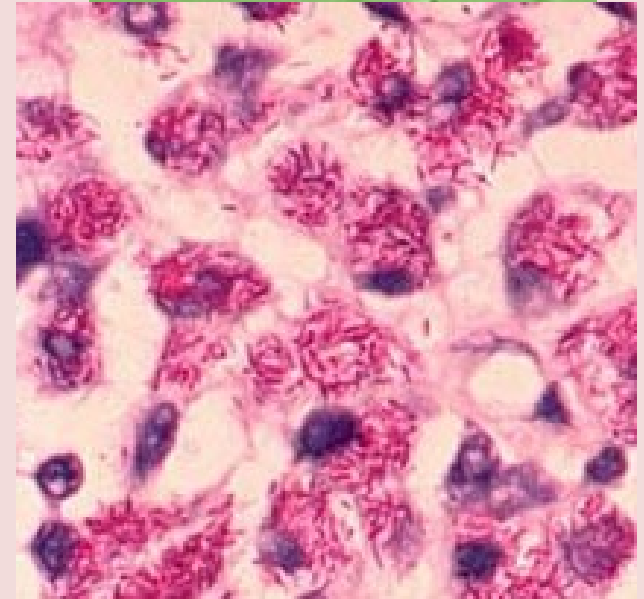
Další potíže:

- Jsou barvitelné Gramem?
- *Haemophilus* – ano
- NE mykobakteria (obs. mykolové kyseliny)
- NE mykoplazmata (bez bun.stěny)

Acidorezistentní buňky:

- odmítají Gramovo barvení
- odmítají se po nabarvení odbarvit ethanolem i kyselinou

Př: *Nocardia*...



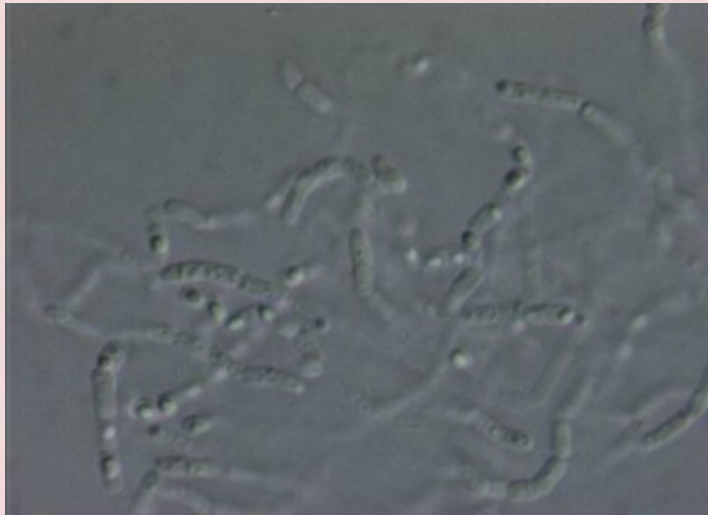
Mycobacterium avium-intracellulare
Acidorezistentní barvení buněk
histologického řezu lymfatické uzliny

Cíl mikroskopie?

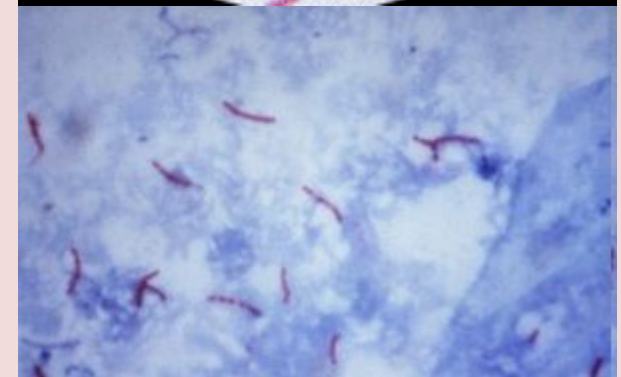
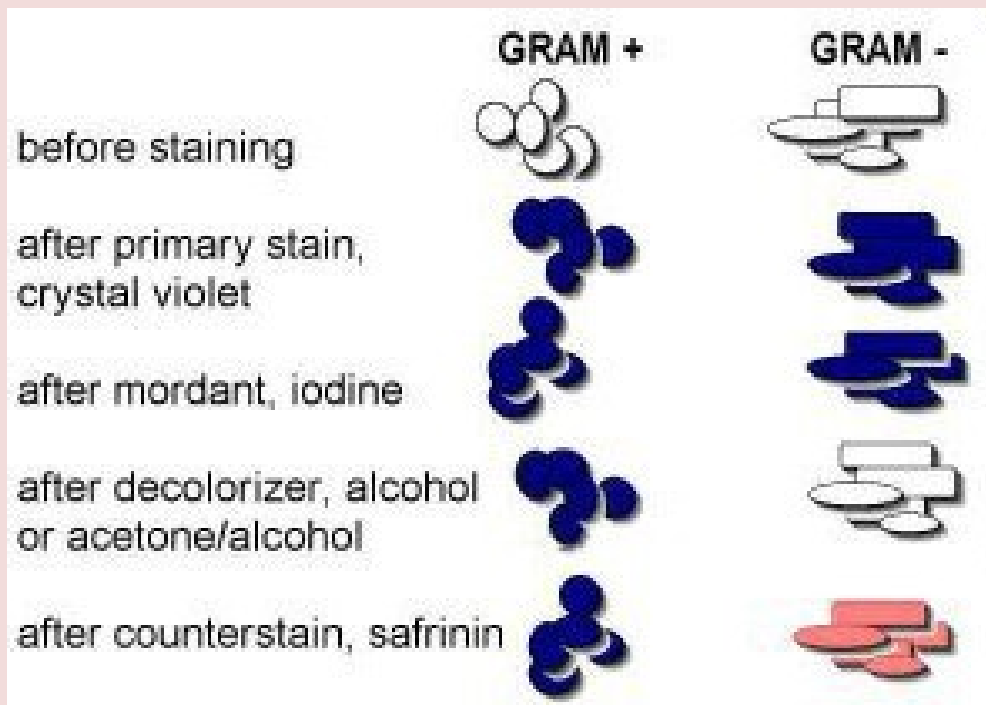
Typ preparátu

Typ mikroskopie (typ b. stěny, průkaz struktur, růstového cyklu)

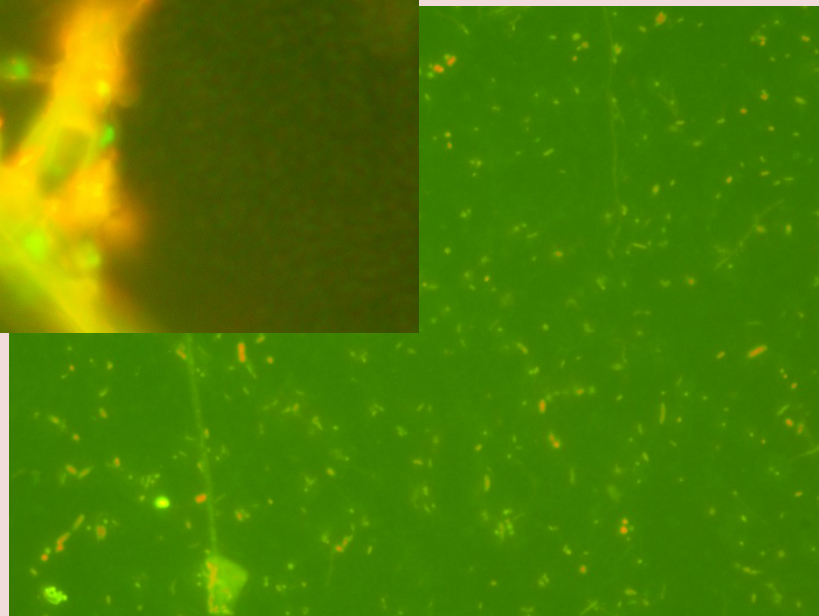
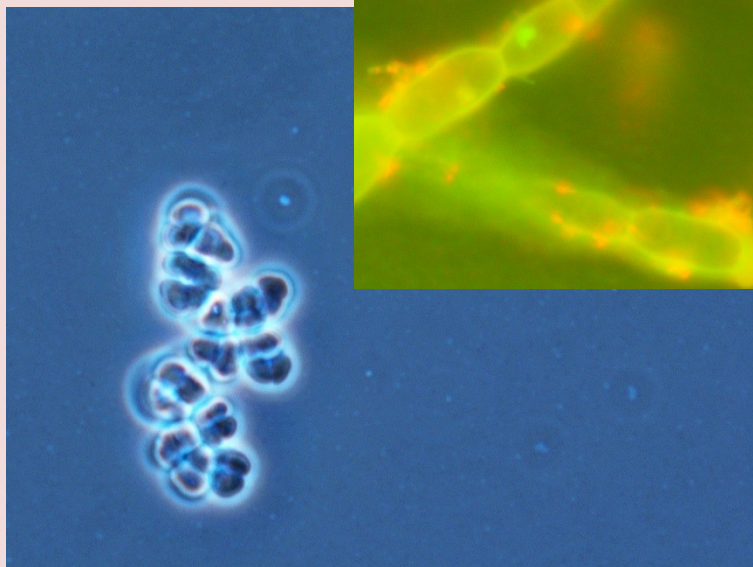
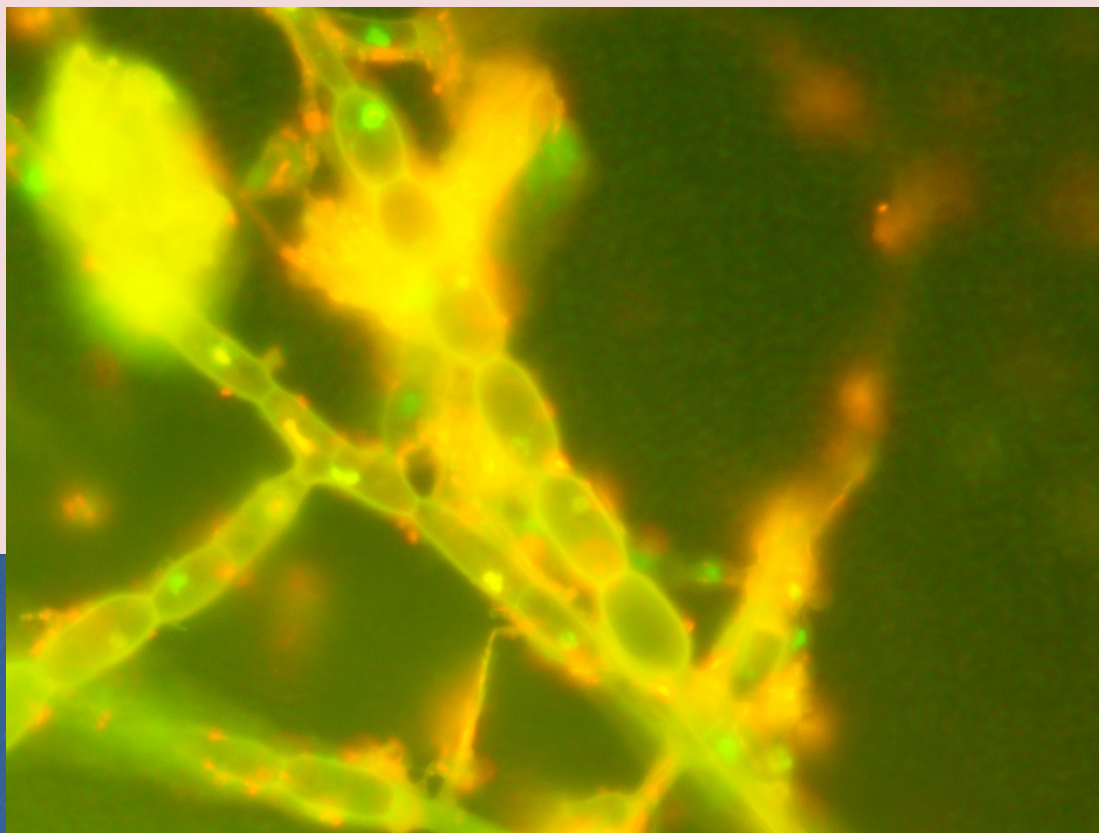
Živý (nativní) preparát bez fixace– vidíme nedeformovaný tvar buňky, spory, morfologii
seskupení buněk, pohyb buněk



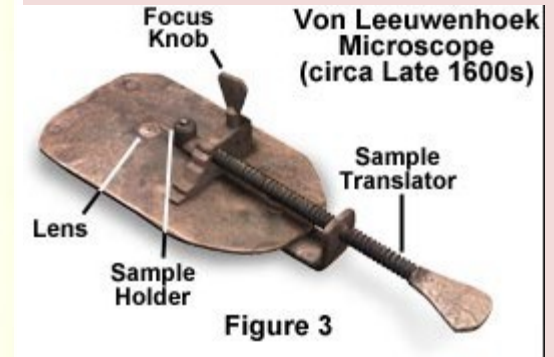
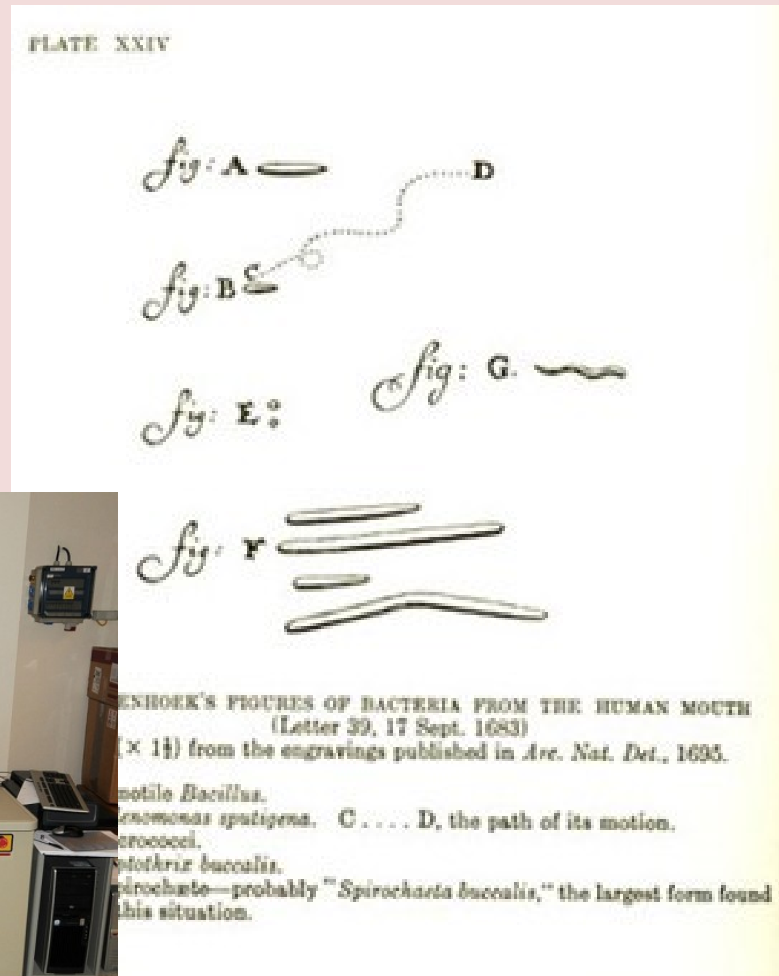
Je neznámý vzorek barvitelný Gramem?
Není gramlabilní?
Fáze tyčka – kok?



Fluorescenční mikroskopie

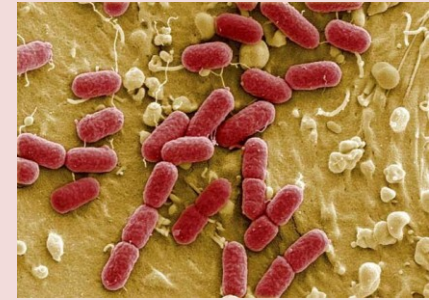
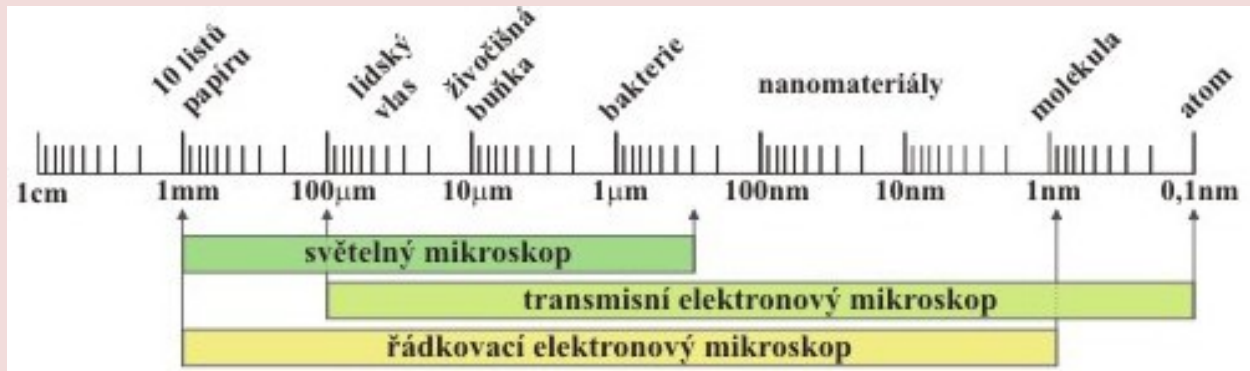


Volba správného typu mikroskopie pro pozorování cytologických a morfologických znaků



Anthony van Leeuwenhoek, 17. st
První nákresy bakterií (z ústní dutiny člověka)

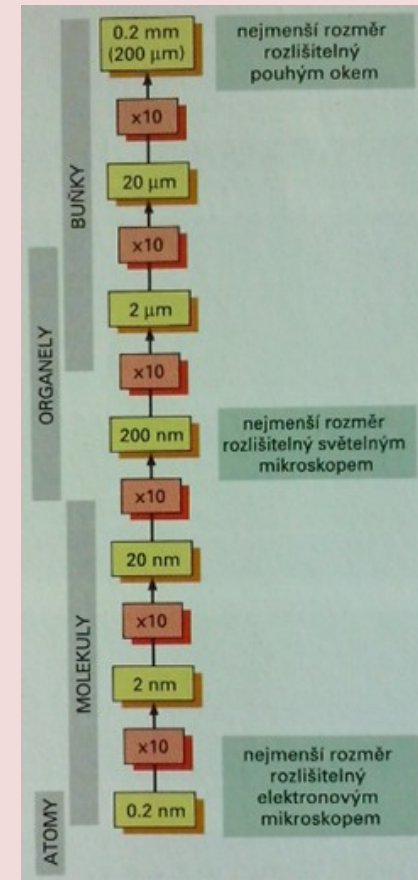
Světelný mikroskop (1000x) vs. Elektronový (100 000x)



Světelný mikroskop
- Jasně pole



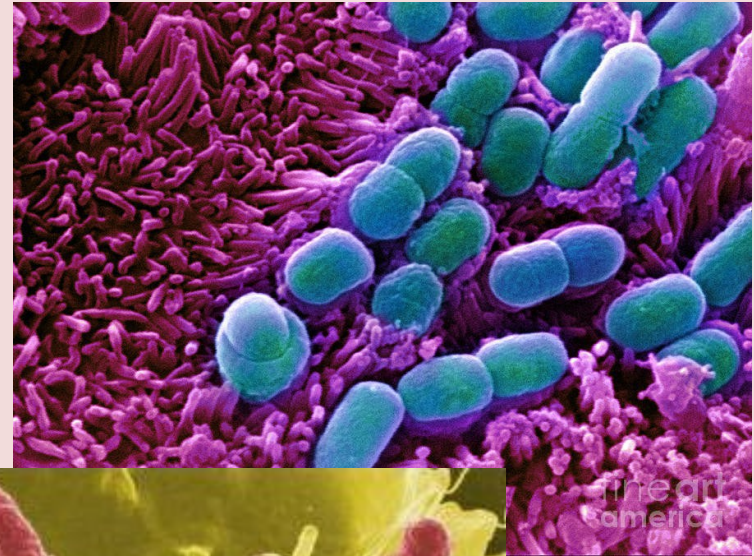
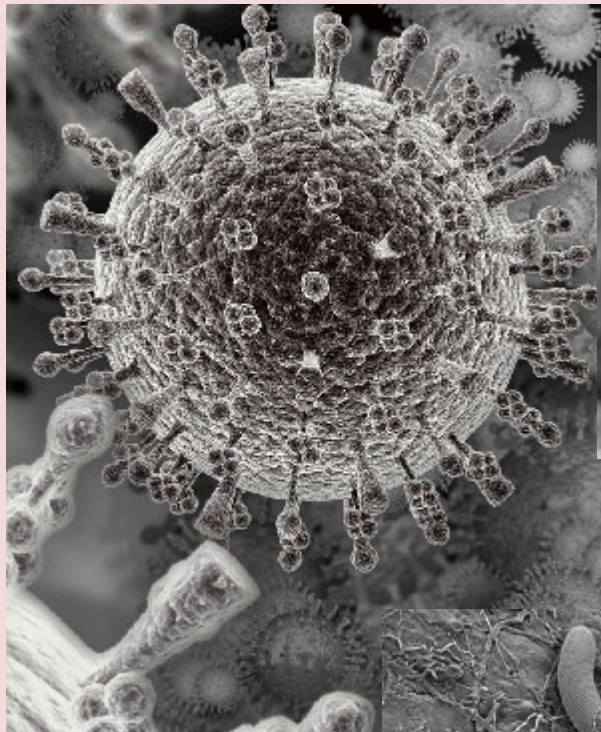
Světelný mikroskop
- Fázový kontrast



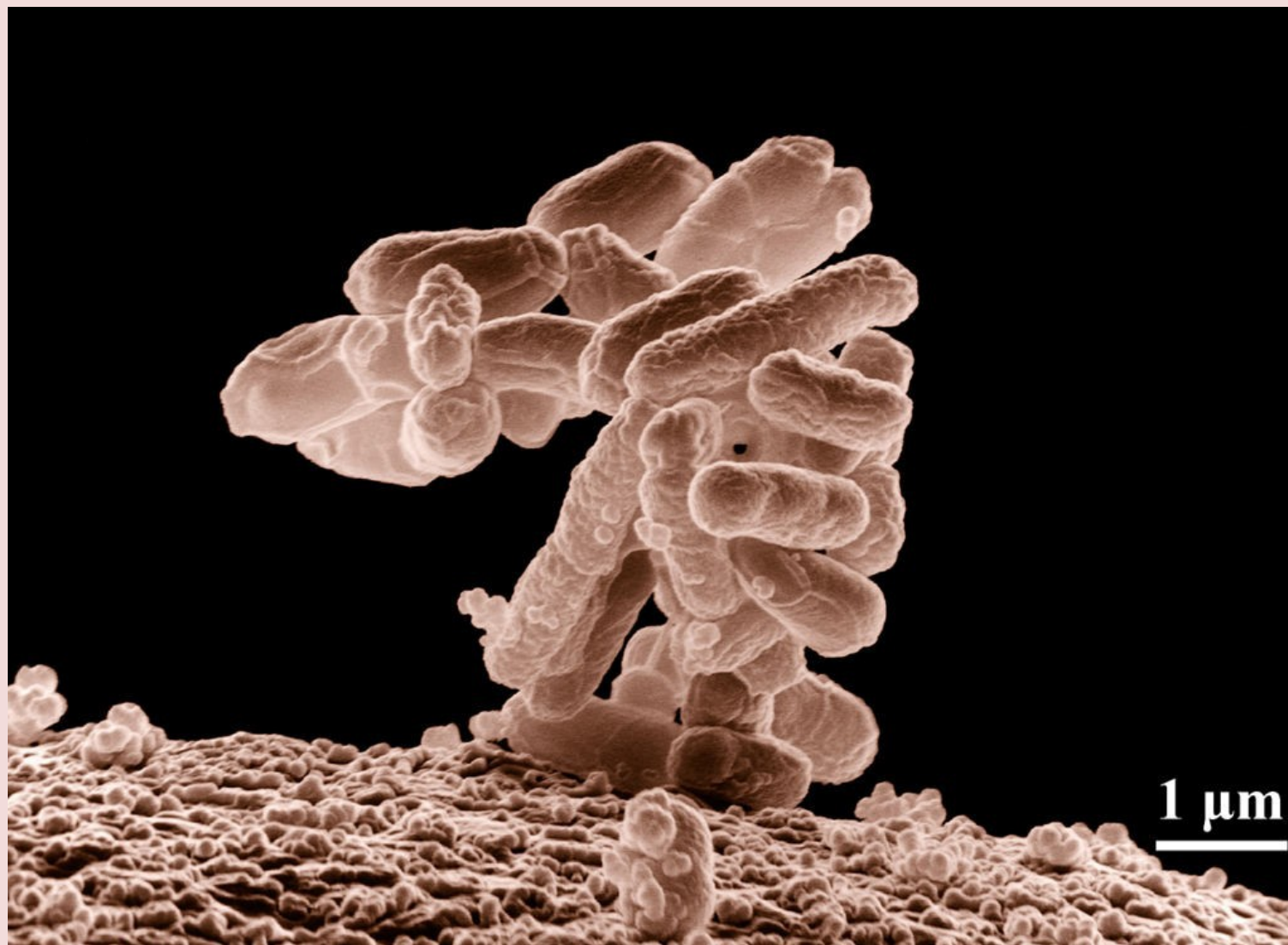
Rastrovací elektronová mikroskopie

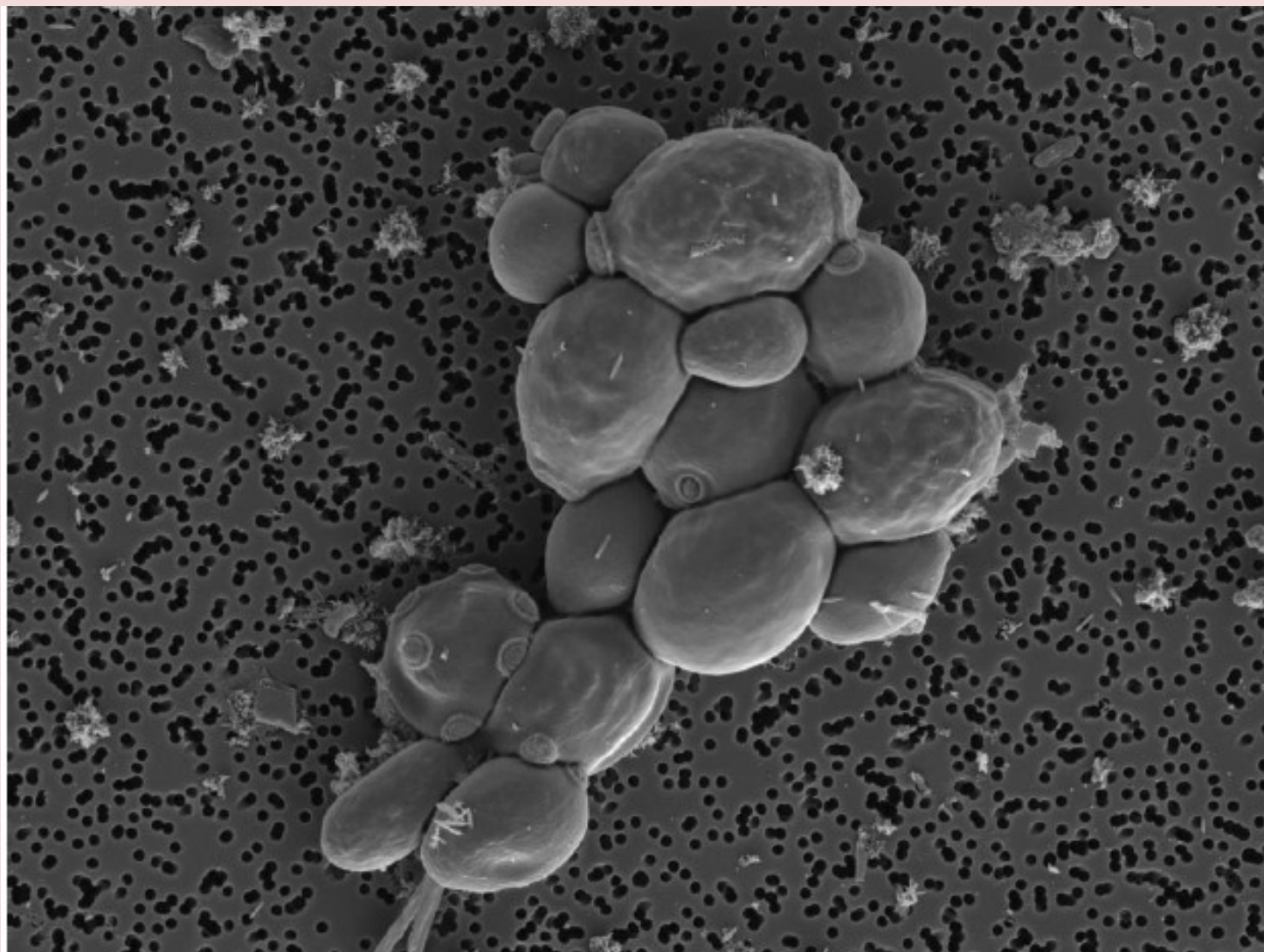
(skenovací, řádkovací, Scanning Electron Microscope - SEM)

- Popularita SEM pramení z možnosti získat obrázky povrchů širokého spektra objektů

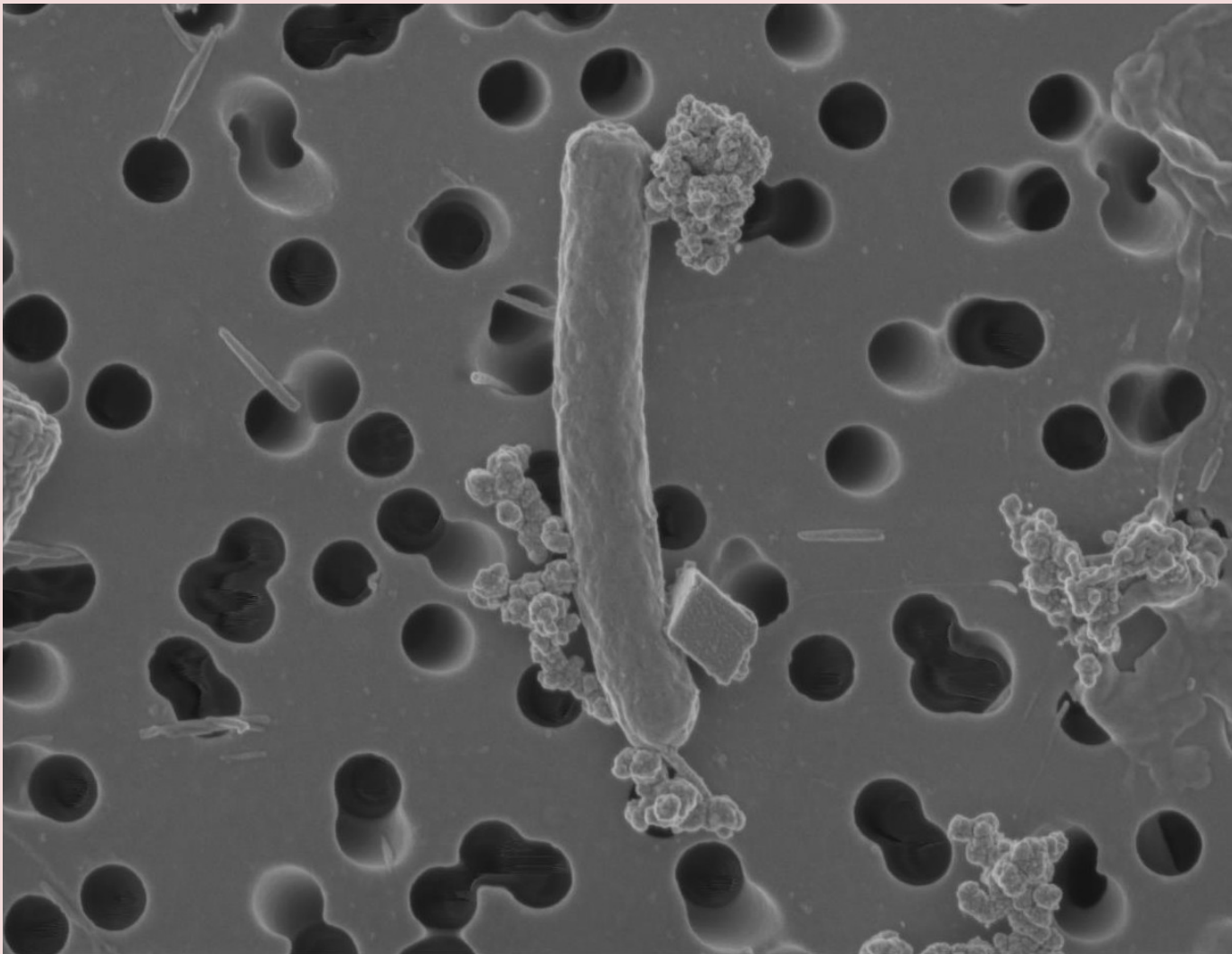



SEM

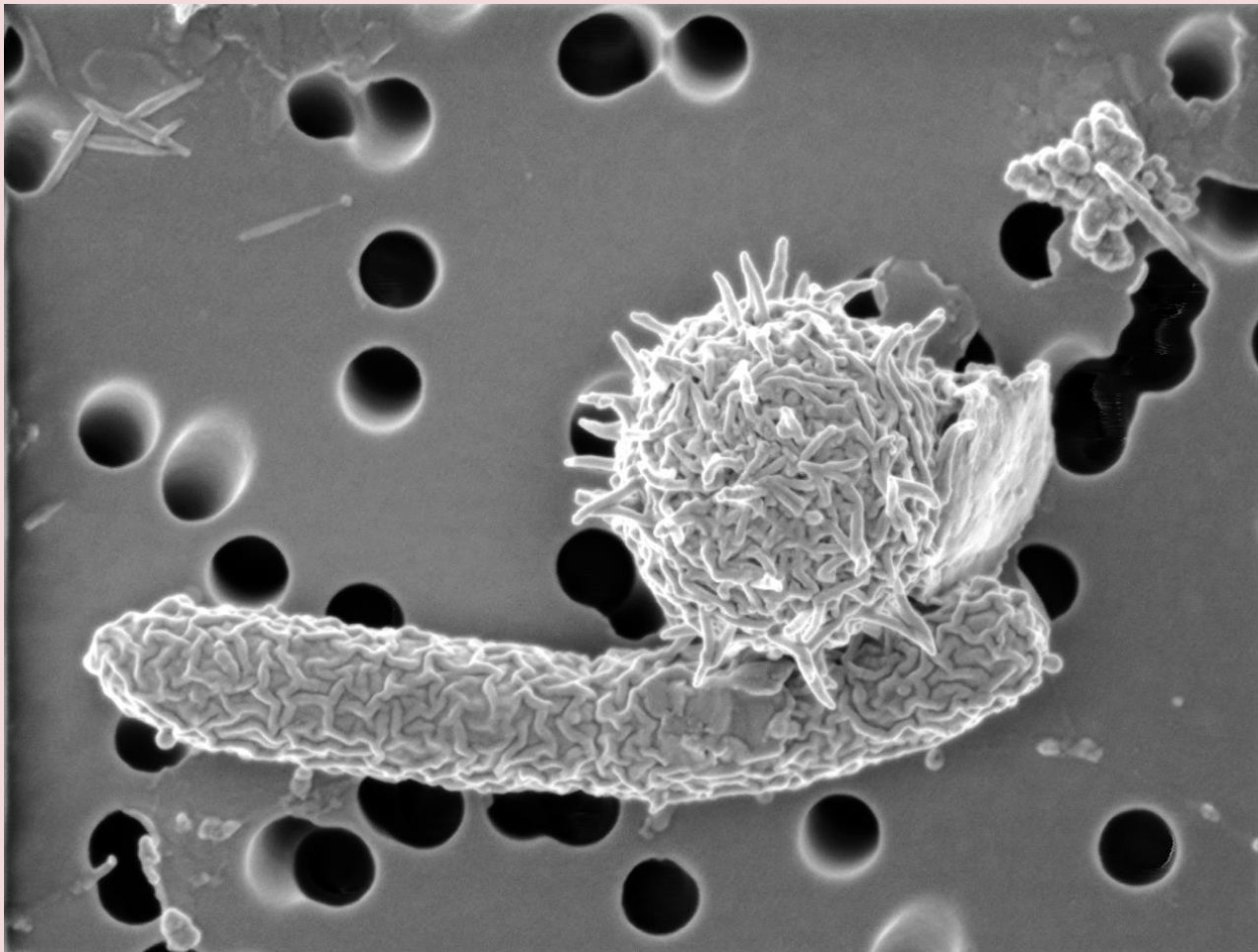





SEM HV: 3.0 kV	WD: 3.36 mm	MIRA3 TESCAN
View field: 28.0 μ m	Det: In-Beam SE	5 μ m
SEM MAG: 24.7 kx	BI: 7.13	Performance in nanospace



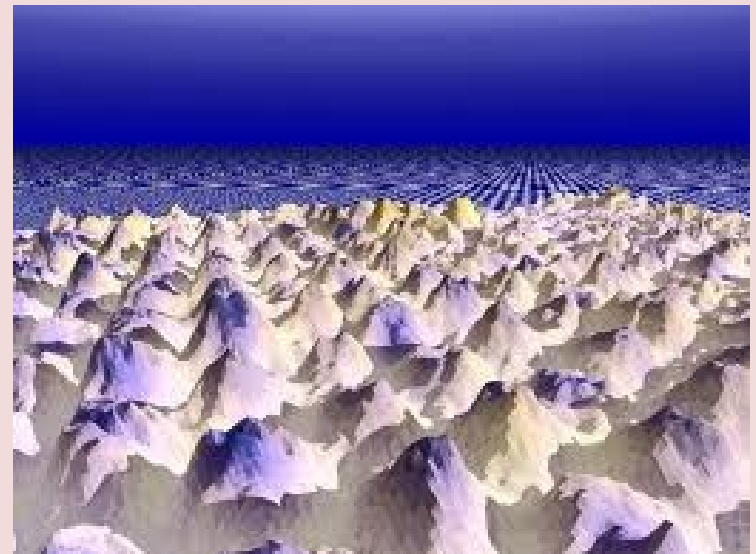
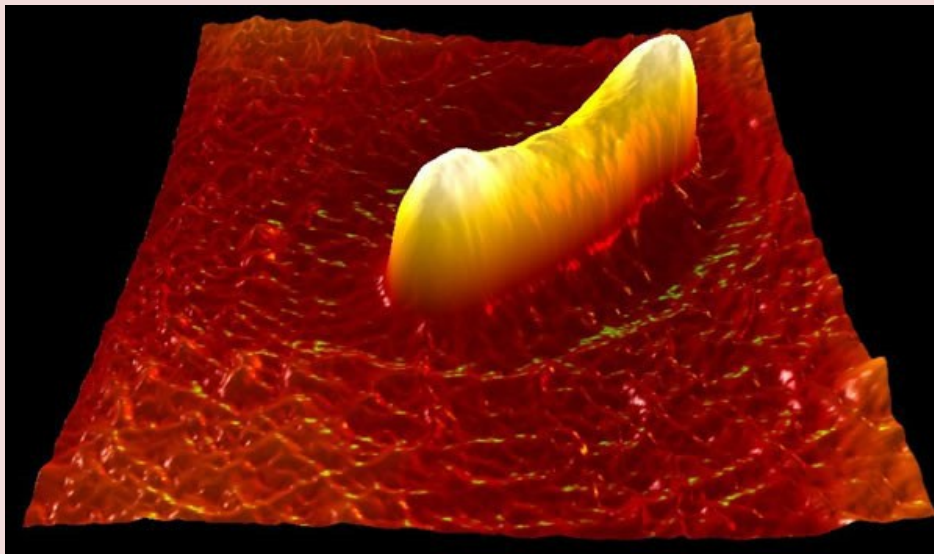
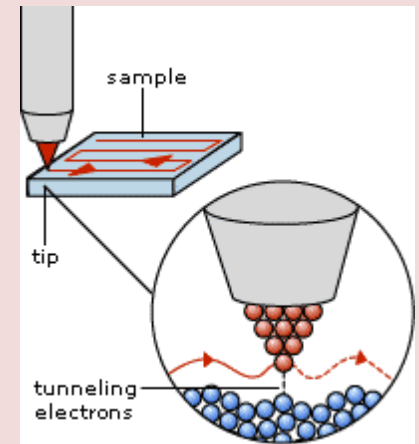
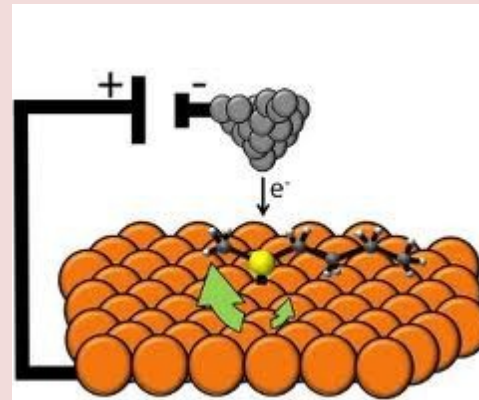
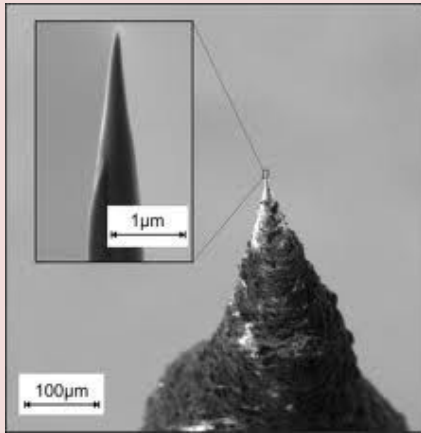
	Mag 165 kx	FoV 4.24 μm	WD 1.37 mm	1 μm	
BC 30 pA	Det Axial (SE)	Scan Mode UH-RESOLUTION		Energy 1 keV	
Pressure HighVac	Device TESCAN CLARA				



	Mag 198 kx	FoV 3.52 μm	WD 1.49 mm	1 μm
BC 19 pA	Det Axial (SE)	Scan Mode UH-RESOLUTION	Energy 1 keV	
Pressure HighVac	Device TESCAN CLARA			

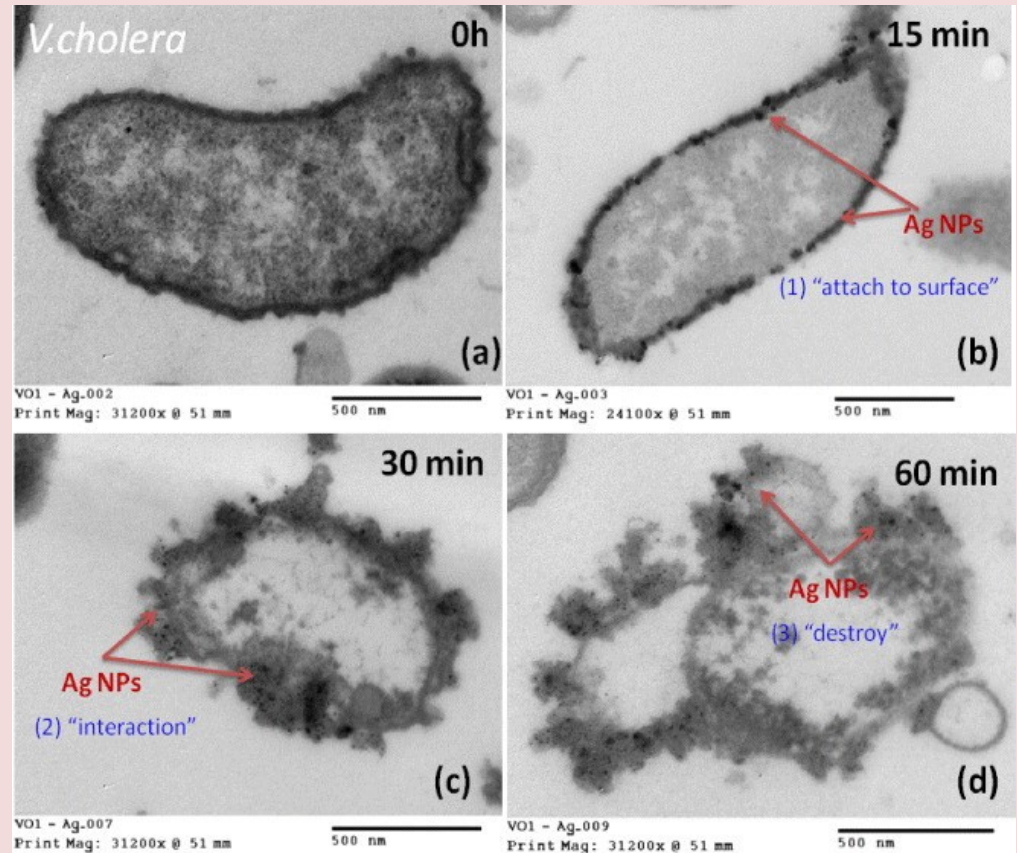
Skenovací tunelová elektronová mikroskopie (scanning tunneling electron microscopy, STM)

- využívá k zobrazování pohyblivého svazku elektronů
- převážně k topografické analýze různých materiálů – 3D



Transmisní elektronový mikroskop (TEM)

- umožňuje pozorovat **details buňky a virových částic**
- ke kontrastnímu znázornění zvýraznění struktur se používá **negativní barvení**
- soli těžkých kovů, které **nepropuštějí elektrony**
- např. **uranyl acetát, molybdenan amonný**



Cytologie a morfologie buňky

PREPARÁT pro světelnou mikroskopii

- co chceme vidět? podle toho příprava preparátu

tvar buňky a struktur – fázový kontrast, barvený fixovaný prep.

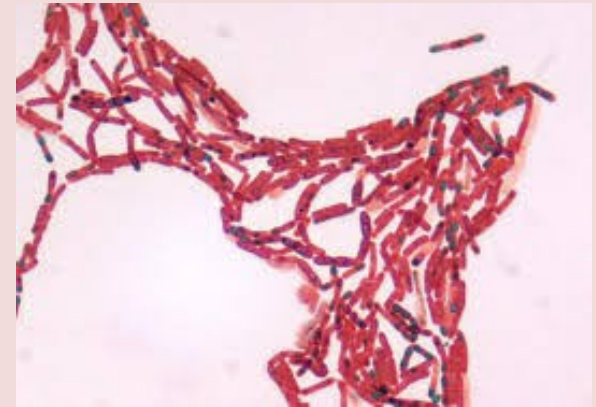
pohyb buňky – fázový kontrast, fluorescence

barvené struktury – pomáhají identifikaci (PHB, síra..)

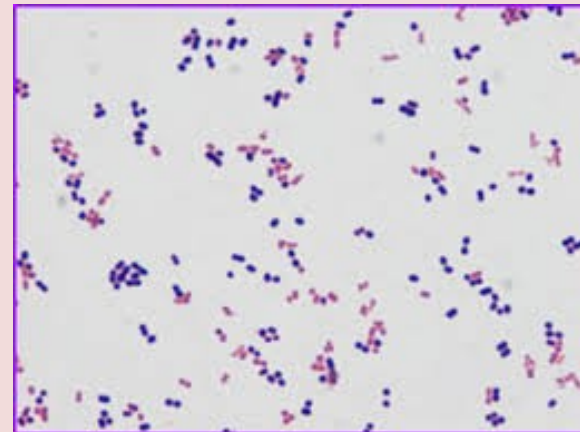
typ buněčné stěny – Gramovo a acidorezistentní b.



nativní
preparát



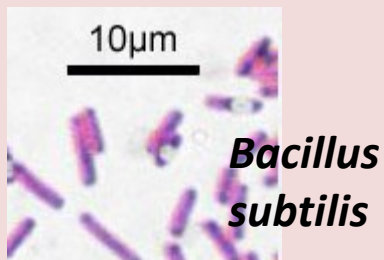
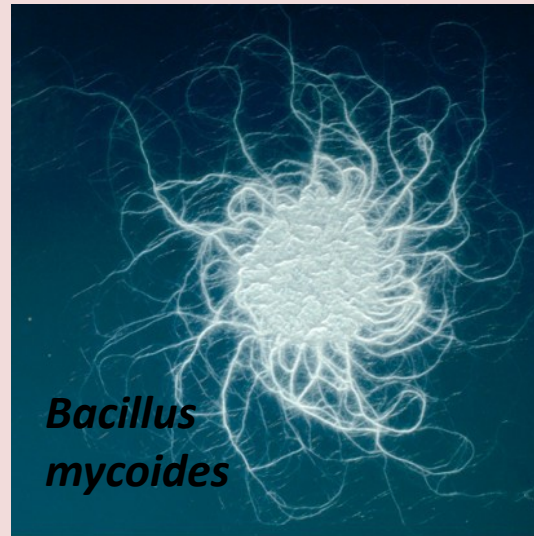
barvení buněk a spor za horka



Gramovo barvení

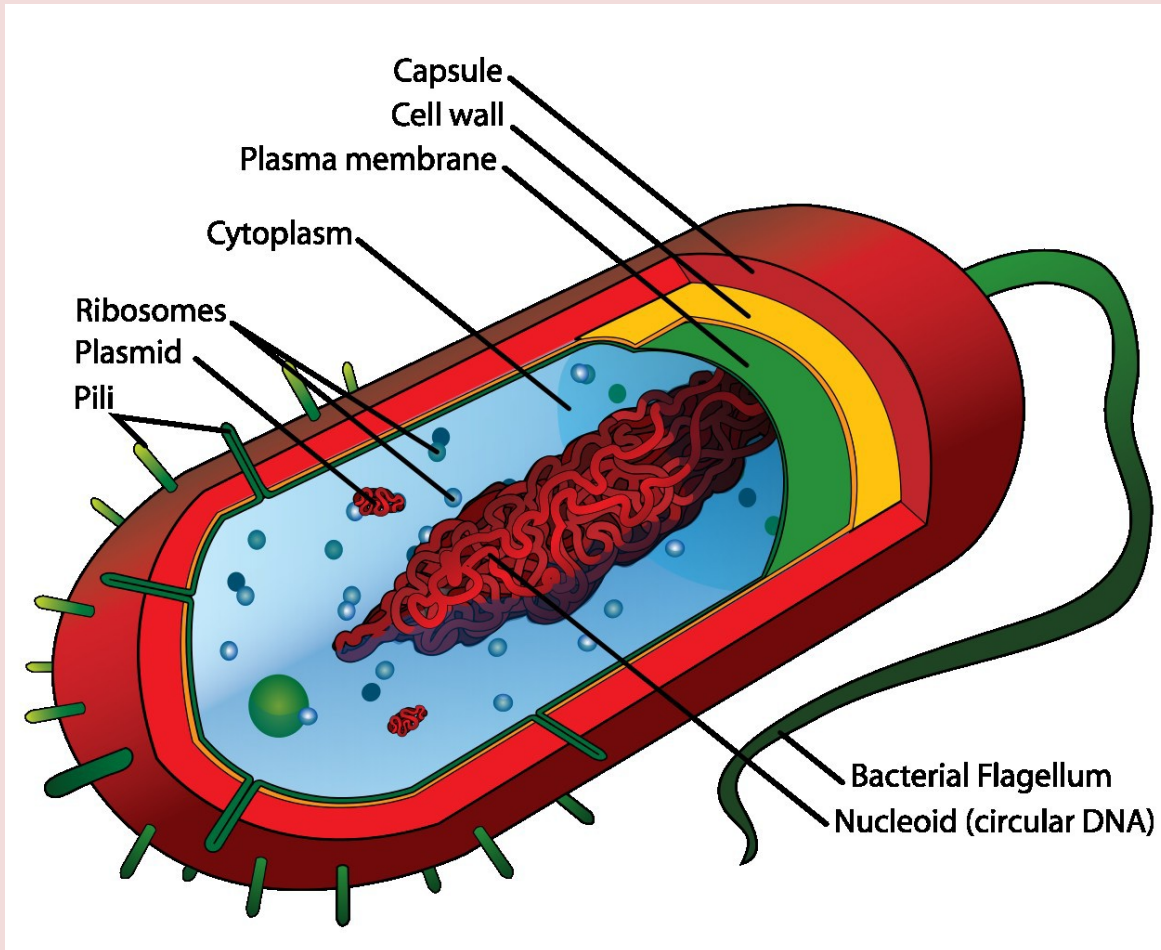
U jednoho bakteriálního rodu různý vzhled char. tvaru buňky!

Př: tyčky bacilů

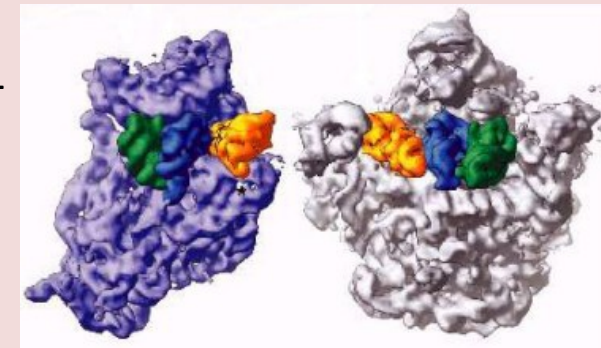
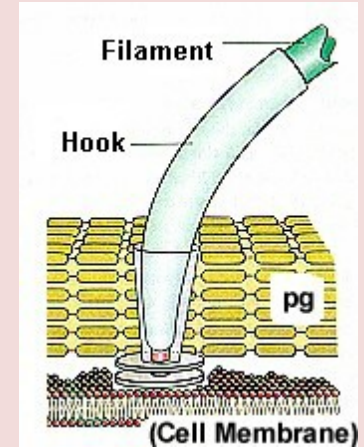


Bakteriální prokaryotická buňka - stuktura

- velmi málo vnitřních struktur
- většina dějů na CM membráně
- obvykle samostatné buňky



Zvláštnosti prokaryotické buňky



bakter. ribozom

- **živý, otevřený systém** schopný **regulace a autoreprodukce**

- **jádro** neodděleno od CPL membránou

- větš. kruhová (i lineární) DNA, bez intronů

- **haploidní buňky** (1 alela)

- bez buněčných organel, jediná membrána je **cytoplasmatická**

- **ribosomy** se liší od ribosomů eukaryotních buněk – menší, volně v CPL

- 16S rRNA (malá podjednotka), 5S rRNA a 23S rRNA (velká p.)

- translace začíná N-formylmethioninem

specifické struktury a vlastnosti bakt. buňky:

- **peptidoglykan** (až na mykoplasmata)

- steroly v membránách zcela výjimečně

- **bičík** – globul. bílk. flagelin, pohyb rotací



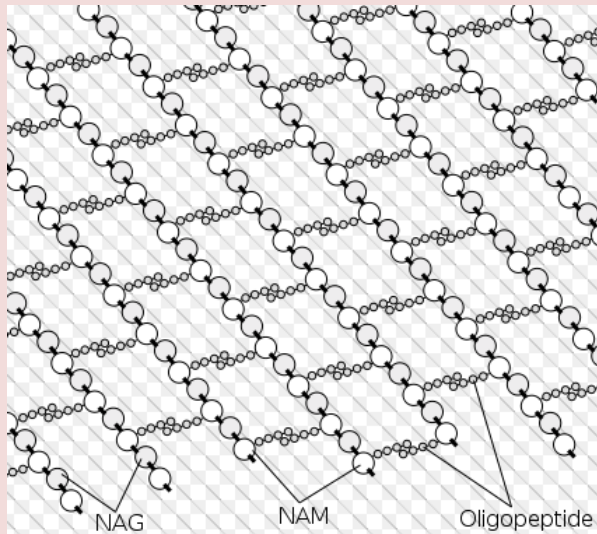
E.coli



S. aureus

Buněčná stěna

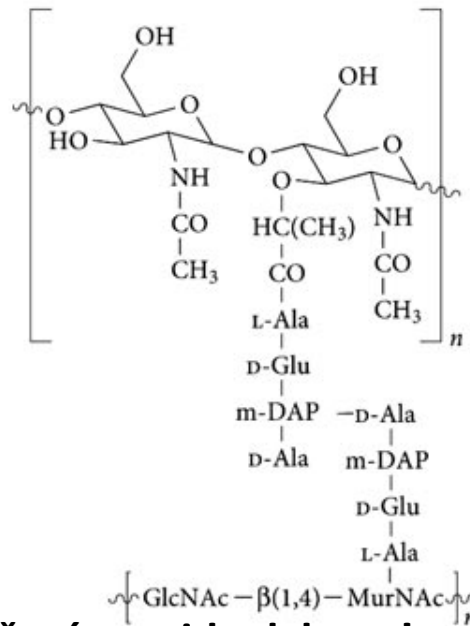
- tvořena peptidoglykanem (bakterie)



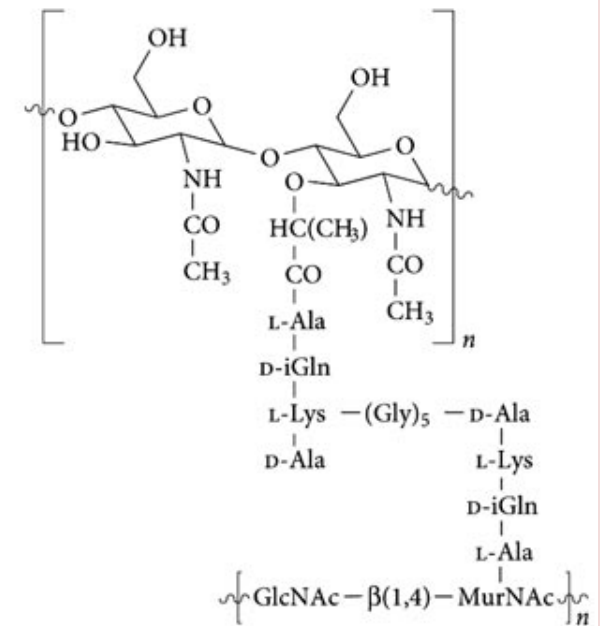
G-
meso-diaminopimelová kys.

G+
L-lysin

a DAP-type peptidoglycan



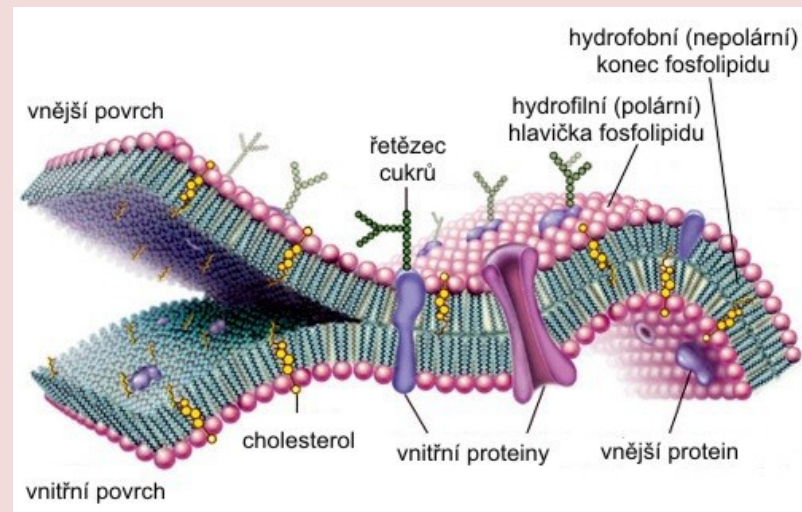
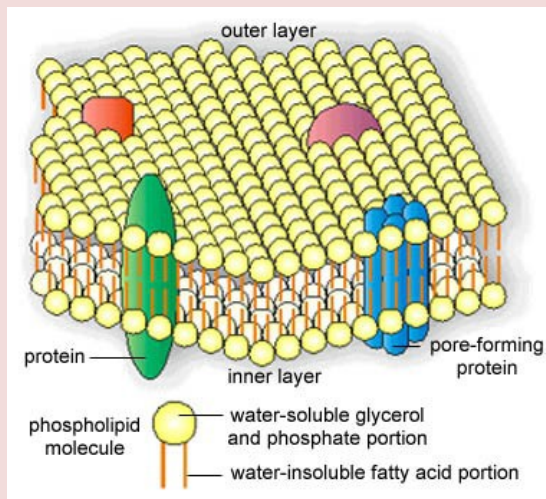
b Lys-type peptidoglycan



Stěna spory: jiné a unikátní složení peptidoglykanu!

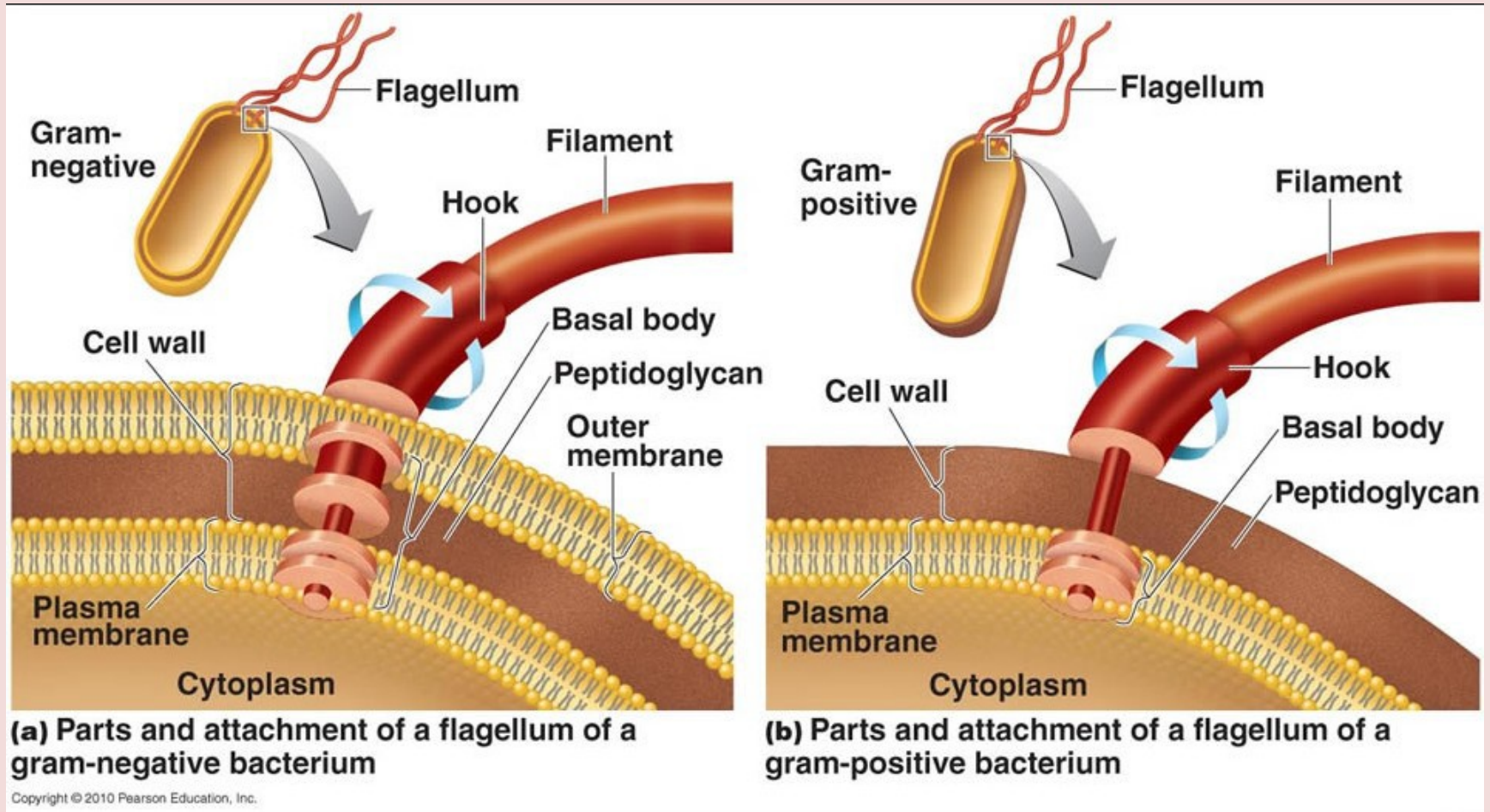
Cytoplazmatická membrána

- semipermeabilní obal ohraničující vnitřek buňky od vnějšího prostředí
- kontrolující pohyb látek do buňky a ven z buňky
- selektivně permeabilní pro ionty a organické molekuly
- chrání buňku před vnějšími vlivy
- z lipidové dvouvrstvy s vmezeřenými molekulami bílkovin
- buněčná adheze, výměna iontů a buněčná signalizace
- cílová struktura pro několik extrabuněčných struktur (buněčné stěny, glykokalyxu a vnitřního buněčného cytoskeletu)
- „model tekuté mozaiky“ tvořený tekutou fází lipidů je prostoupen globulárními proteiny, které jsou jednak periferní (umístěné na povrchu membrány)
- tak i tzv. integrální, prostupující celou membránu

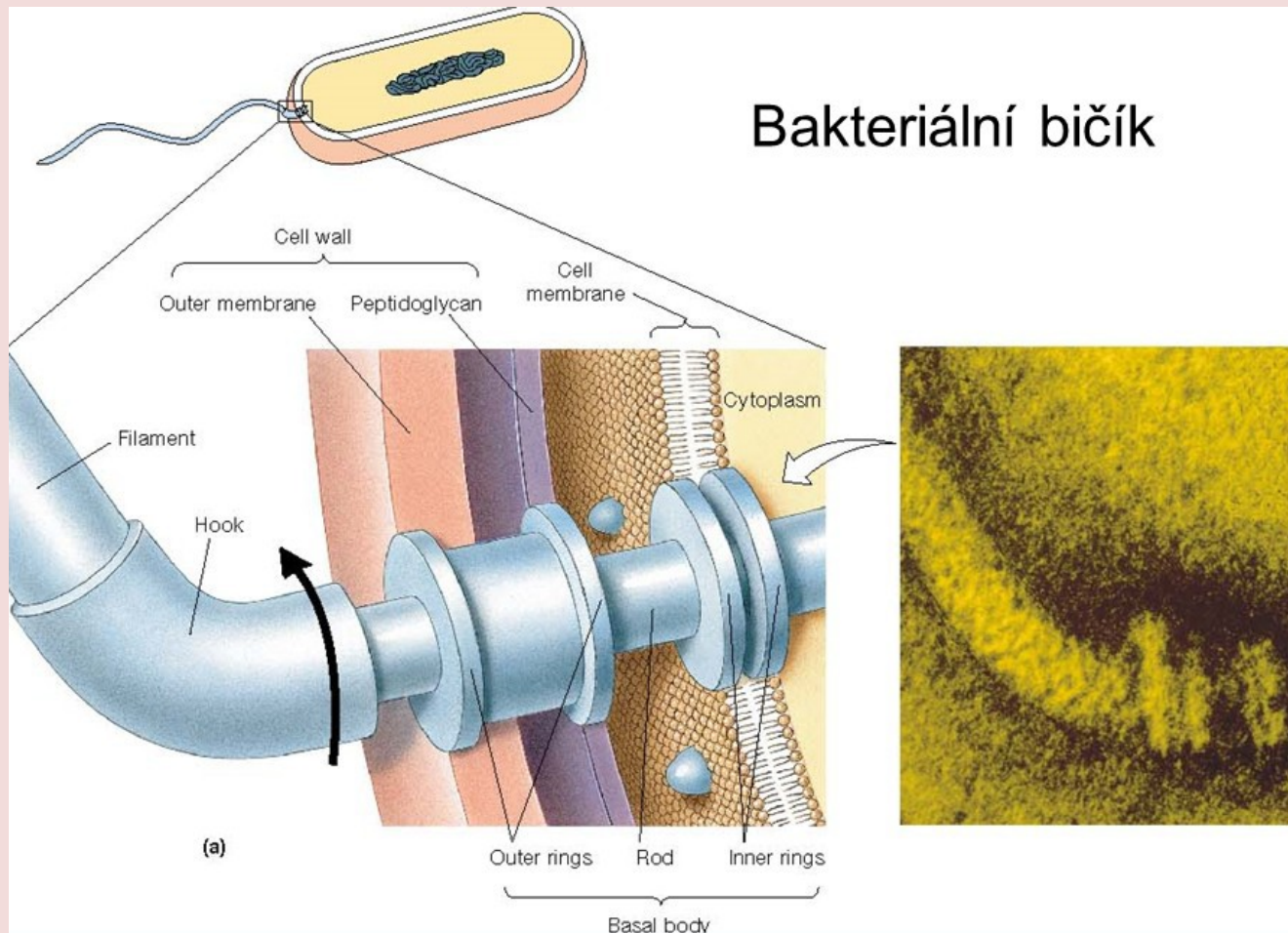


Bičik

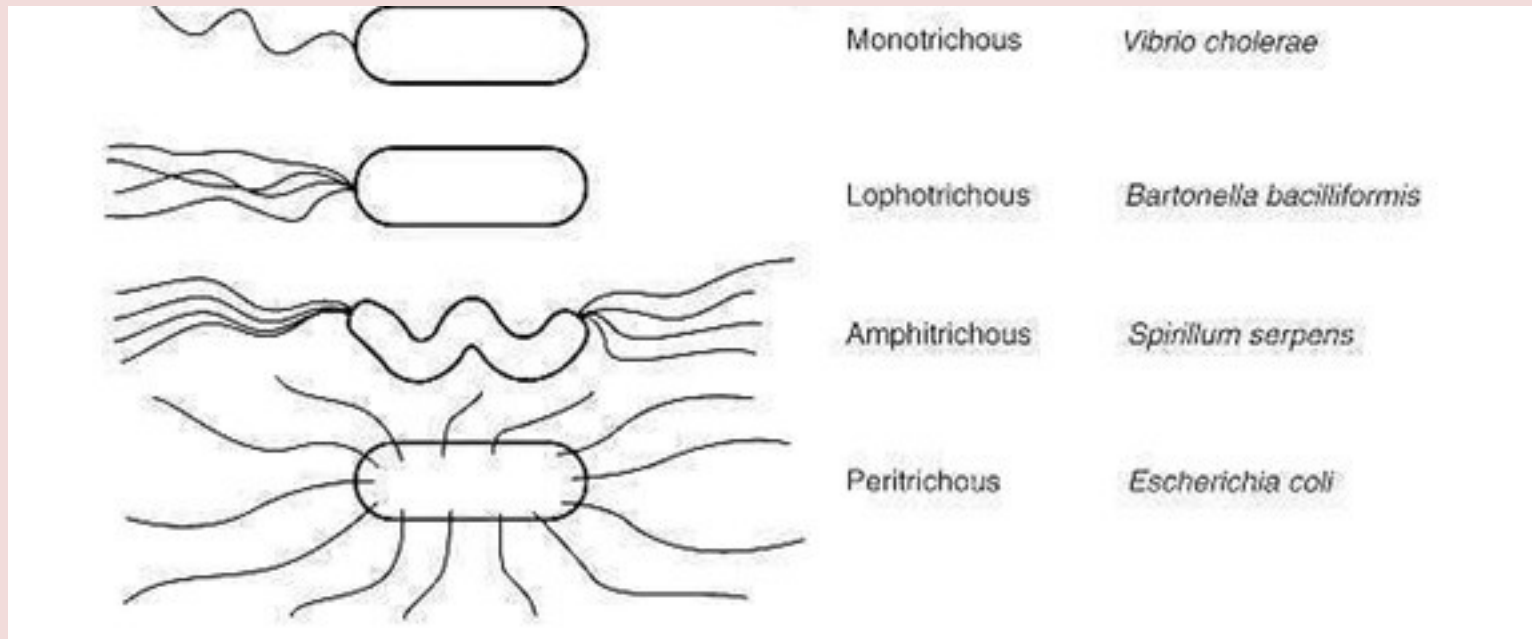
Rozdíl mezi G+ a G-



Bakteriální bičík

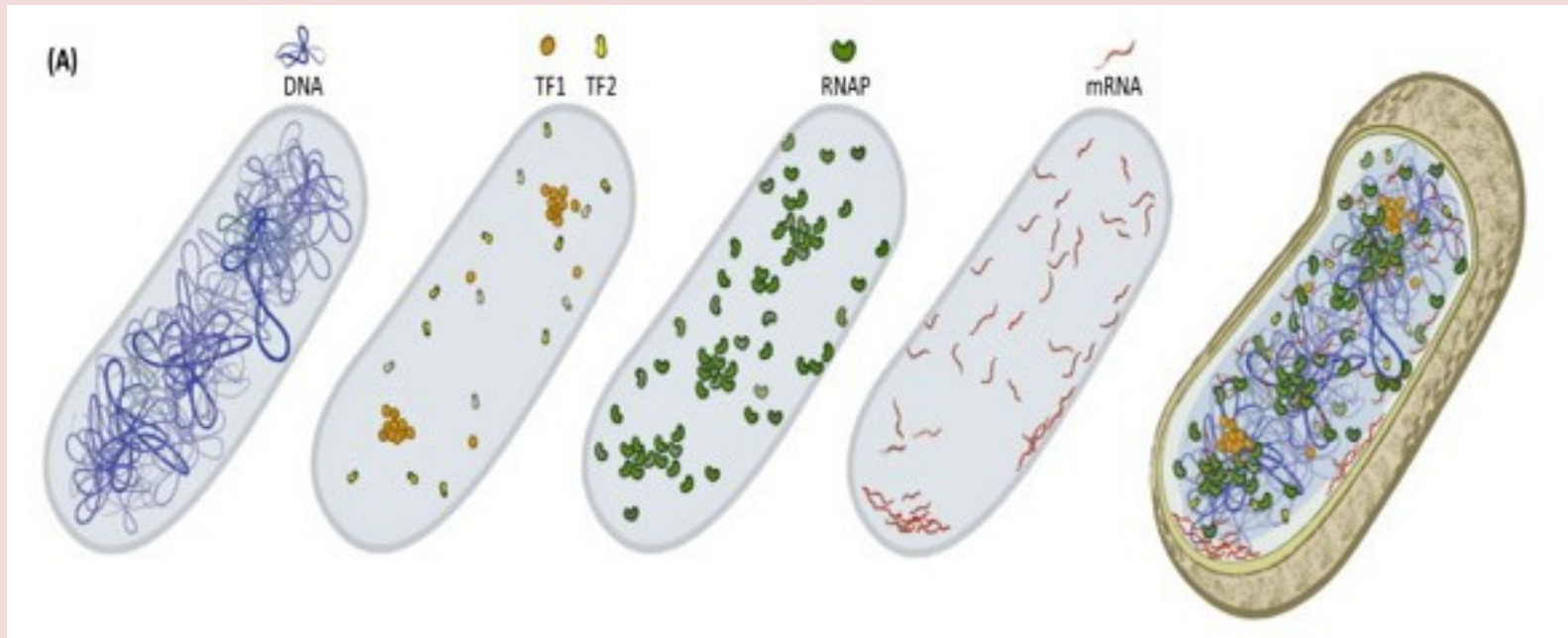


Uspořádání bičíku: taxonomický znak



Cytoplazma

- Organizovaná
- Difúze či řízené mechanismy



Weng and Xiao; 2014

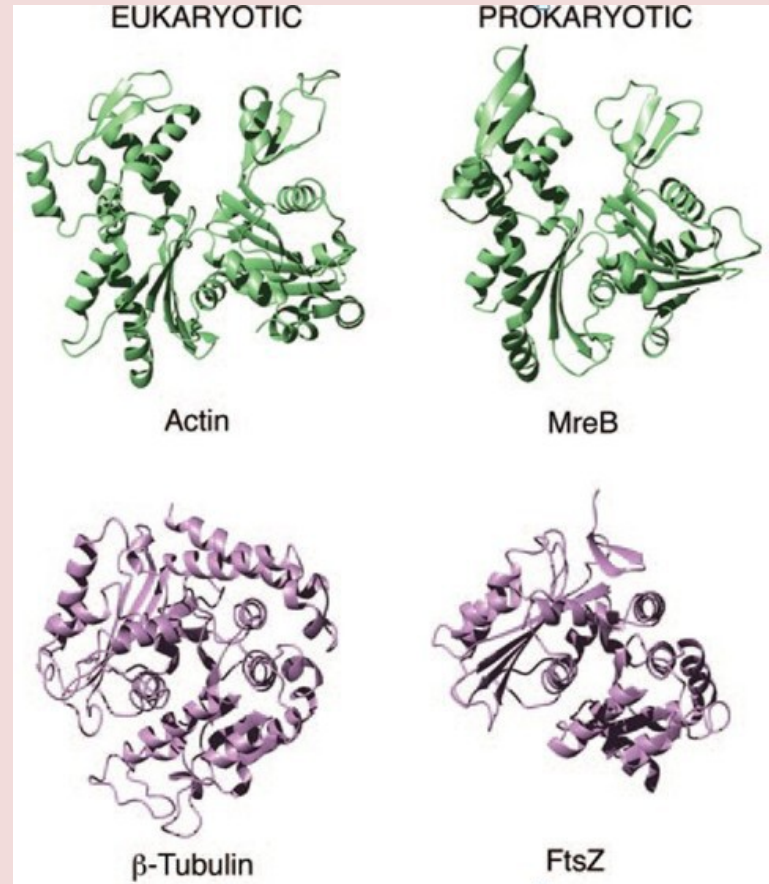
Bakteriální cytoskelet

Bakteriální buňka obsahuje řadu **vláknitých proteinů** nutných pro:

- regulaci tvaru buňky
- buněčné dělení
- segregaci chromozomů
- rozdělování plazmidů
- buněčné polaritě

- jsou analogické všem třem cytoskeletárním strukturám eukaryotní buňky

- 3D strukturou a biochemickými vlastnostmi



Bakteriální buňka je polarizovaná

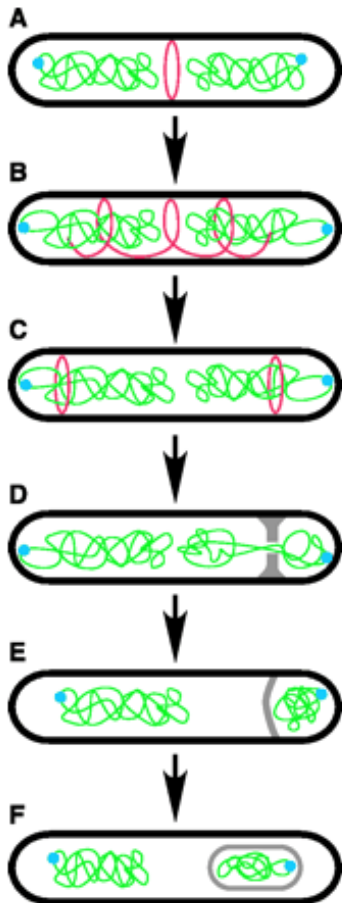
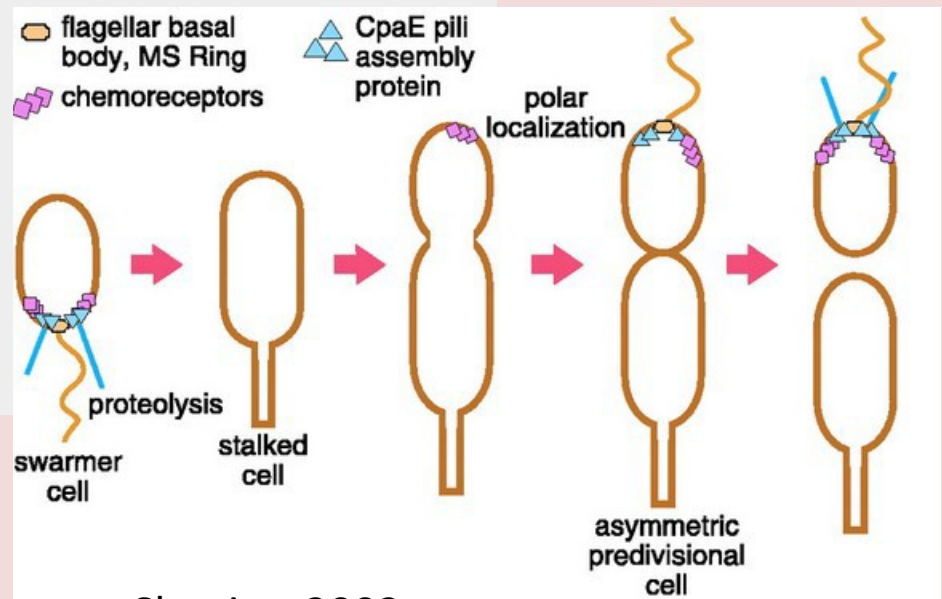


Figure 4.

Polarization during sporulation. (A to C) The origin regions (blue) of the two chromosomes (green) localize to extreme opposite poles while the medial Z ring (red) is redeployed into two polar rings via a helical intermediate. (D) One of the polar Z rings is converted into a polar septum (gray), creating forespore and mother cell compartments and trapping the origin-proximal region of a chromosome in the forespore. The remainder of the chromosome is pumped across the septum. (E and F). The septal membranes migrate around the forespore, engulfing it within the mother cell.



Shapiro; 2002

Bacteria vs. Archaea

Archea – jen extrémní podmínky?

Již neplatí.....

- pseudopeptidoglykan
- cytoplasm. membrána – 1 vrstevná

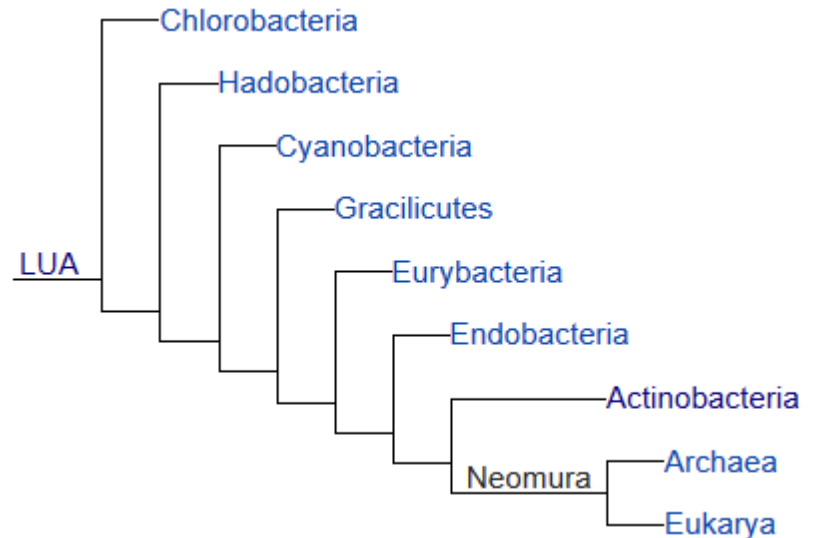
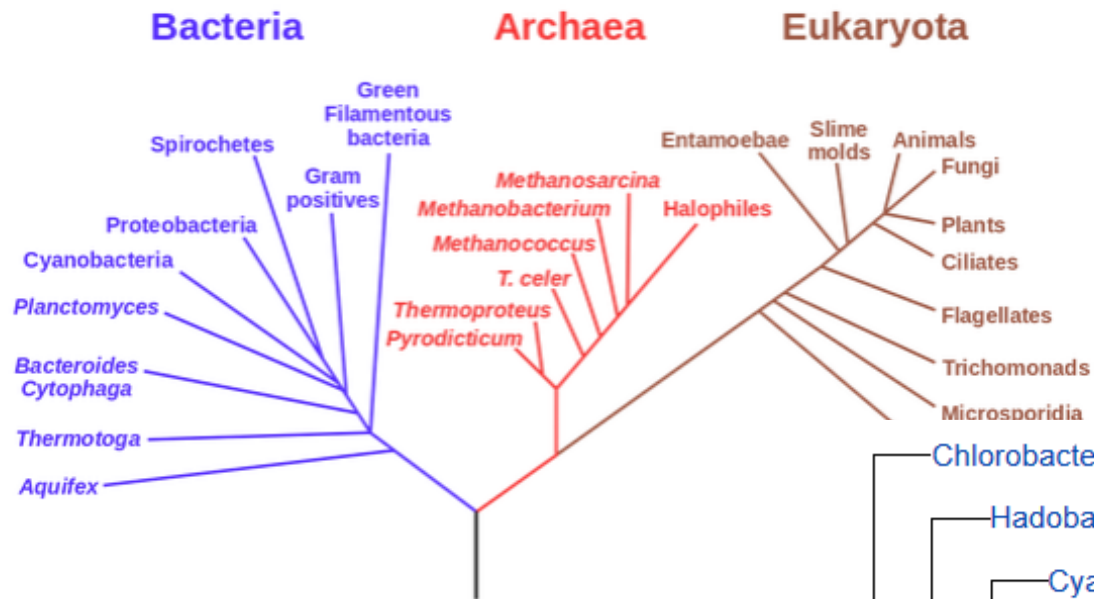
- **strukturní shody, ale rozdílné chemické složení**
- rozdílná citlivost na ATB
- tRNA archeí podobná eukaryotické



Morning Glory, Yellowstone

Phylogenetic tree based on Woese et al. rRNA analysis in 1990 [16]

Phylogenetic Tree of Life

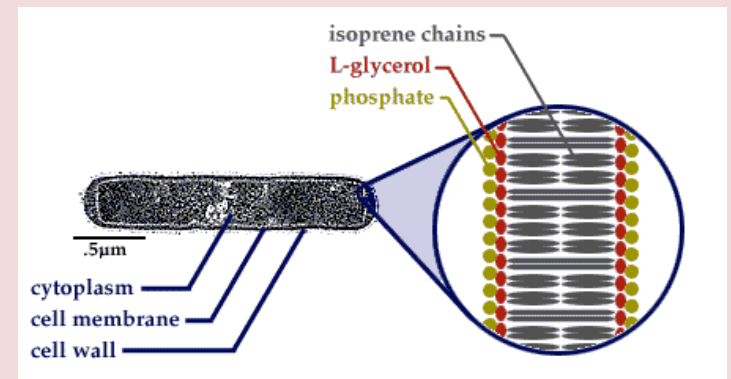
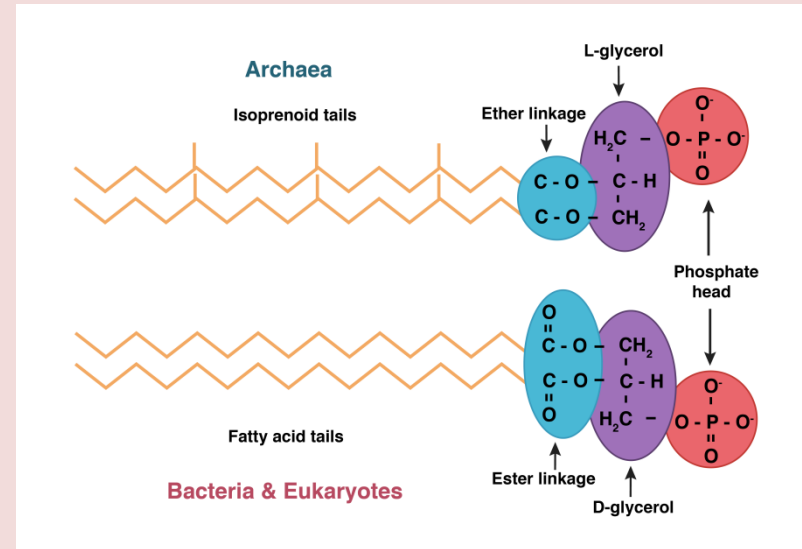
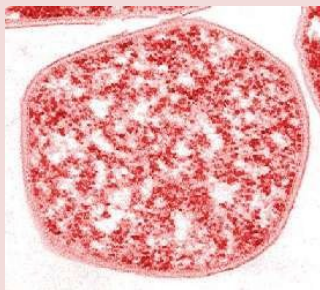


Cytoplazmatická membrána archeí

- Sulfolipidy, glykolipidy, nepolární isoprenoidní lipidy, fosfolipidy, větvené lipidy, mnoho proteinů v membráně

FOSFOLIPID:

- (1) chiralita glycerolu (L-glycerol; dáno enzymy)
 - (2) etherové vazby - glyceroldiether, tetraether = jiné chem.vlastnosti fosfolipidů
 - (3) řetízky isoprenoidů namísto MK
 - (4) větvení isoprenoidu
- **Nepřítomnost sterolů**
 - Často **jednovrstevná**
 - glycerolové jednotky na obou koncích MK
 - tvoří 1vrstvu
- **Lepší přizpůsobení extrémům**
 - monolayer rezistentnější k narušení teplem



Buněčná stadia

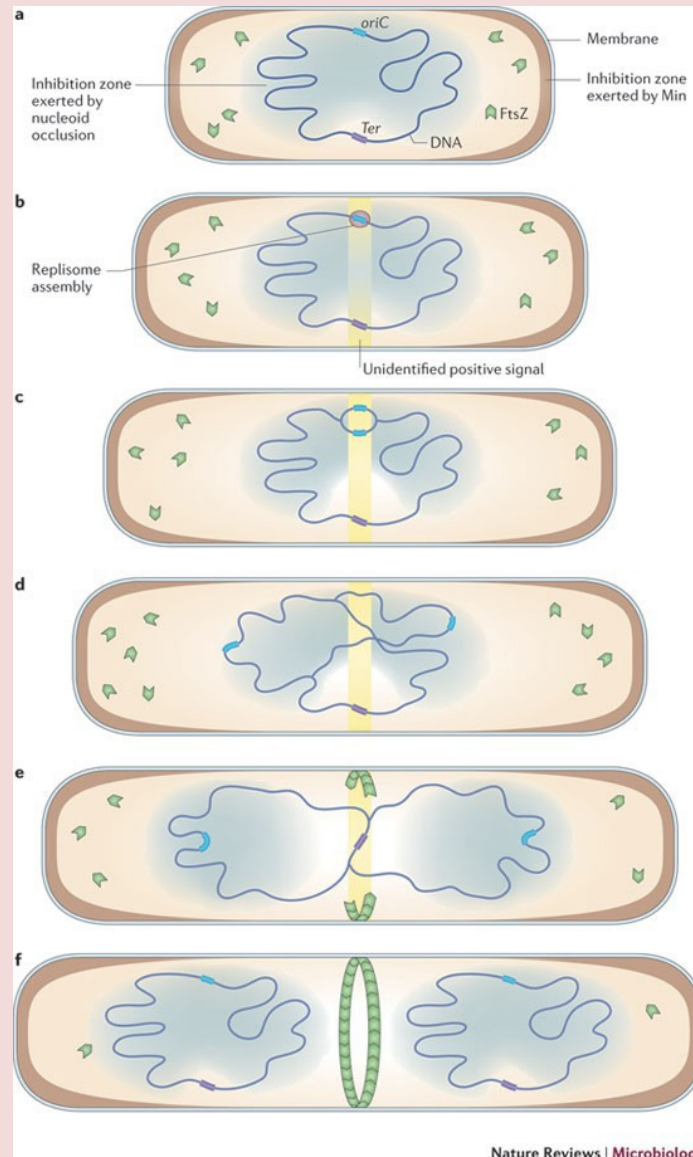
- Cytologické a morfologické proměny
- Struktury a jejich konformace závisí.....
- dělení buňky
- vstup parazitické, patogenní fáze do buňky
- (př: remodelace proteinů listerií)

- Od jakých procesů se odvíjí cytologie a morfologie bakteriálních buněk?

- Prosté binární dělení anebo přítomnost růstových cyklů?

Binární dělení bakteriálních buněk

- Funkce bakteriálního cytoskeletu
- (přepážka, pohyb struktur)
- Ori C
- Zdvojení genetické informace



Posuzujeme-li vzhled buňky kmene určitého bakteriálního druhu, je třeba si uvědomit:

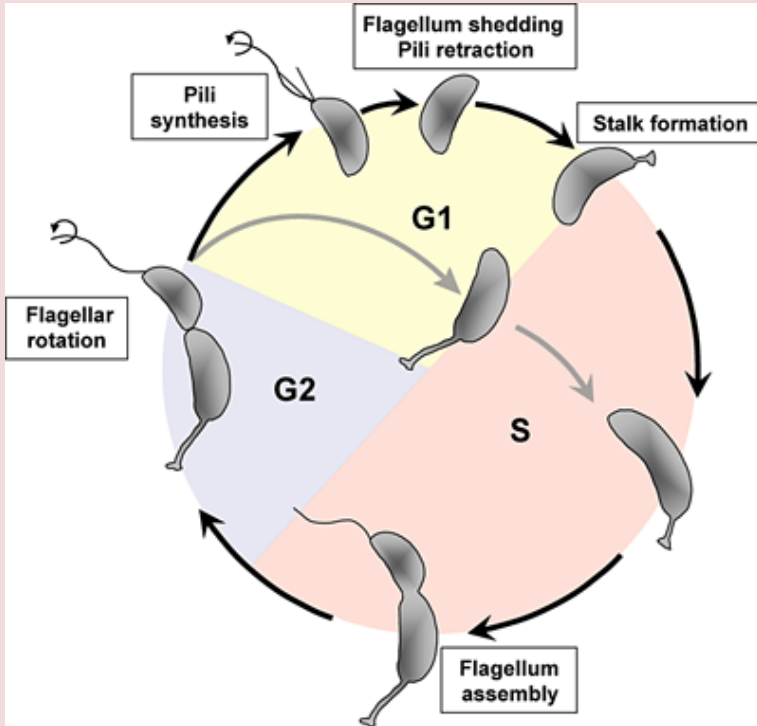
1) Prochází sledovaný druh růstovým cyklem?

- v každém z nich má pak buňka jinou cytologii a morfologii
- Příklad: *Chlamydia*, *Bdellovibrio*, *Streptomyces*, *Caulobacter*, myxobakterie....
- mění se nejen vzhled buňky
- ale buňka v cyklech prochází typickou změnou vnitřních struktur
- **tzv. buněčný cyklus**



Jiné životní cykly než binární dělení

Střídání přisedlého a volného stadia



Caulobacter



Sphaerotilus

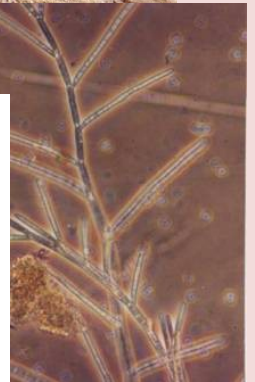
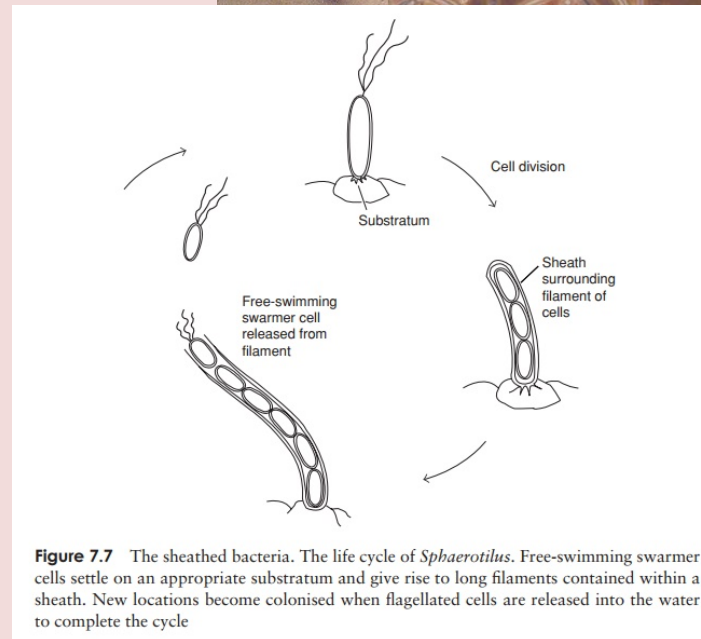
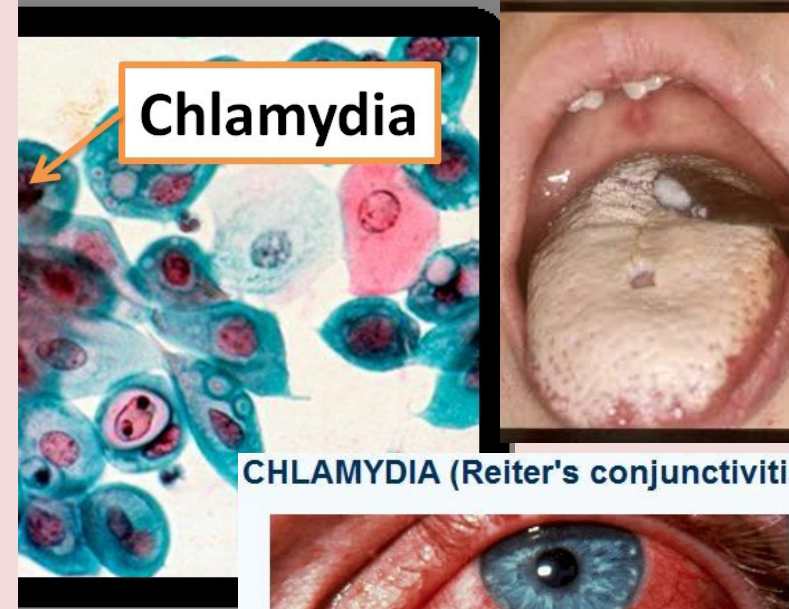
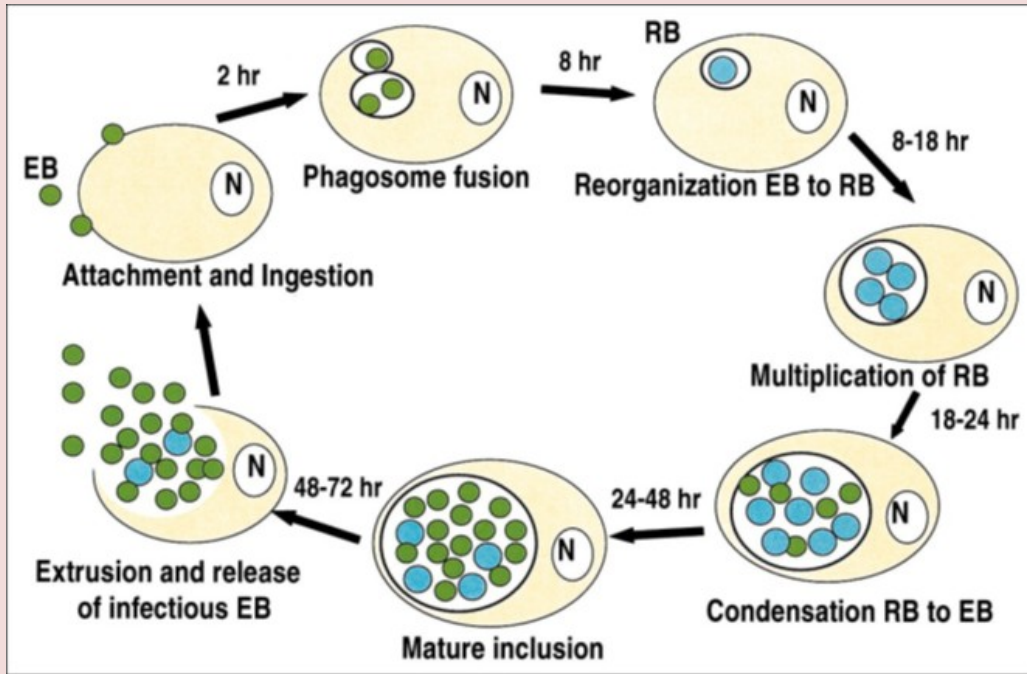


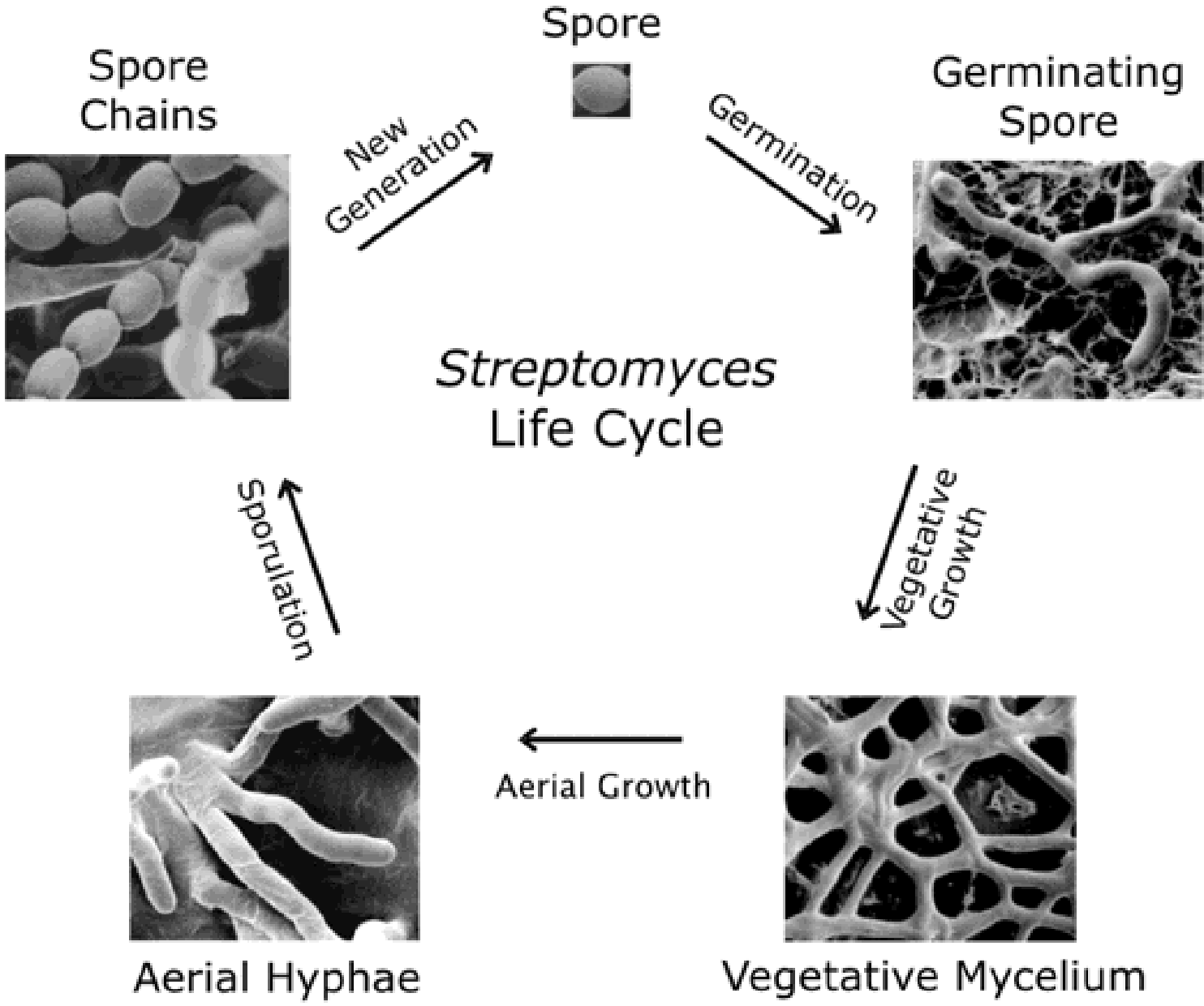
Figure 7.7 The sheathed bacteria. The life cycle of *Sphaerotilus*. Free-swimming swarmer cells settle on an appropriate substratum and give rise to long filaments contained within a sheath. New locations become colonised when flagellated cells are released into the water to complete the cycle

Jiné životní cykly než binární dělení

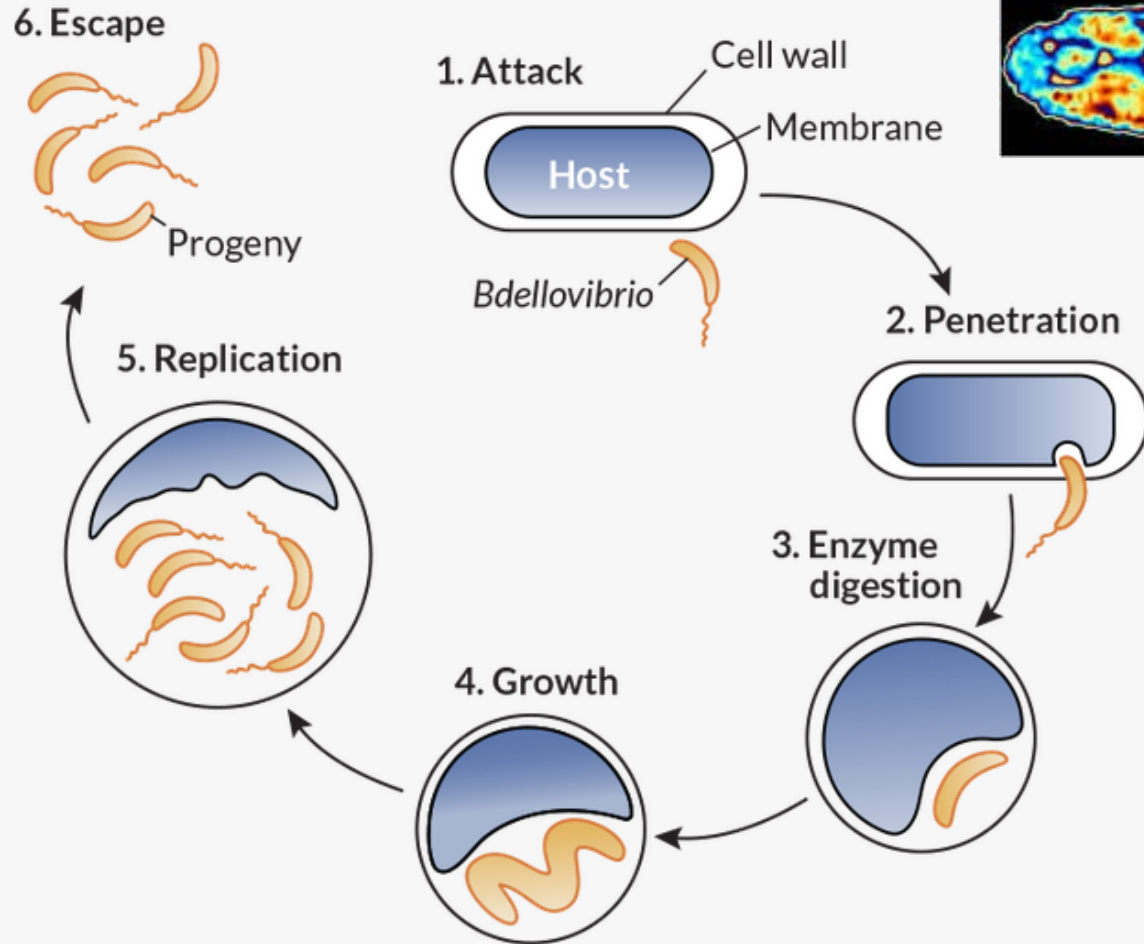
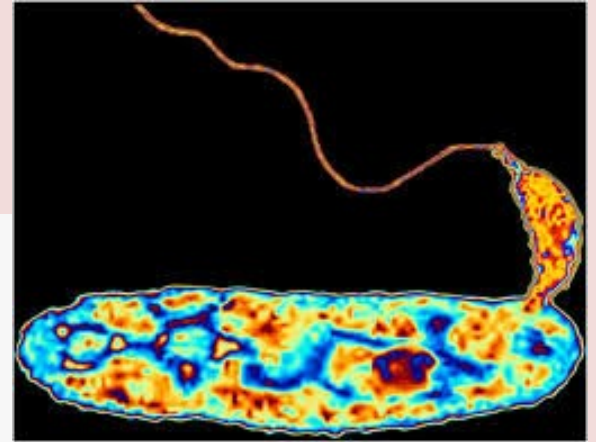
Střídání infekčního a reprodukčního stadia
Chlamydie



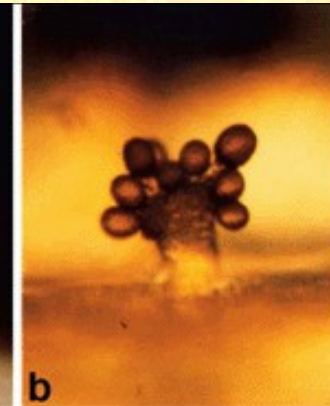
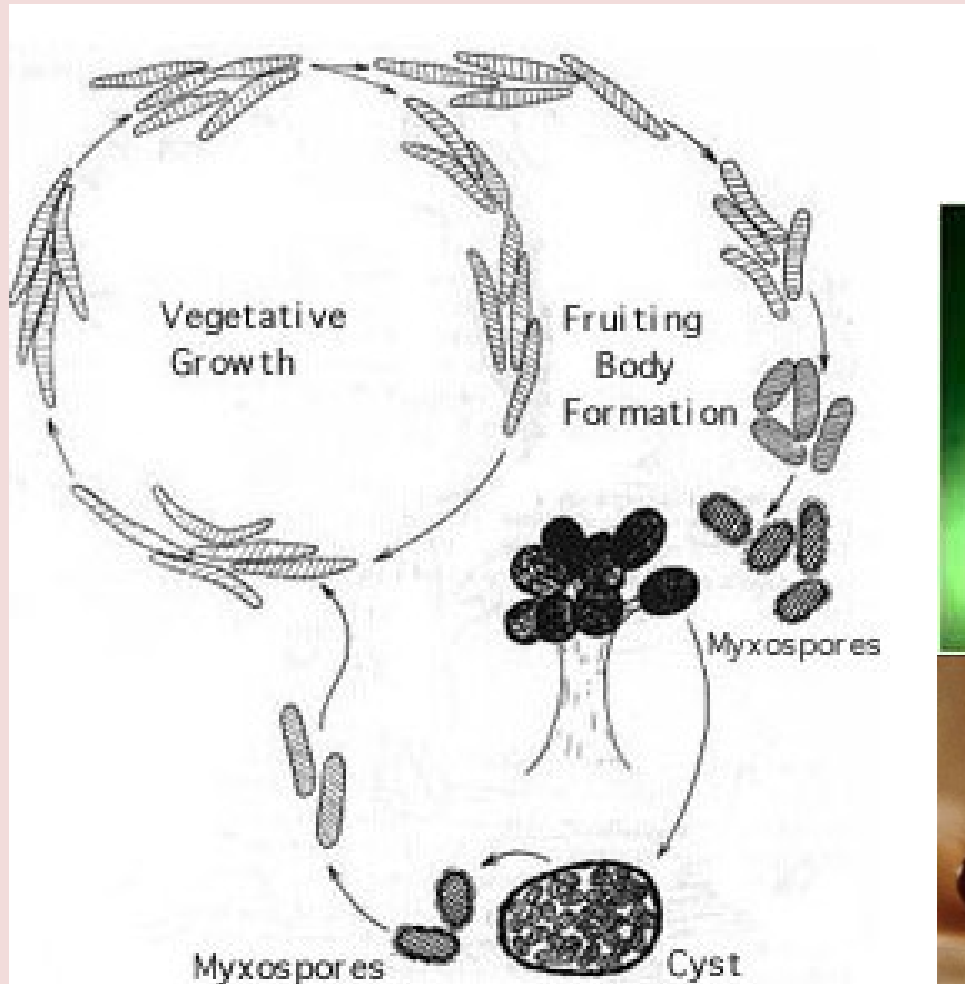
Elementární tělísko je metabolicky inaktivní, není schopno se dělit.
Retikulární tělísko je metabolicky aktivní se schopností se dělit. Do buňky hostitele vniká infekční elementární tělísko procesem, který se podobá endocytóze.



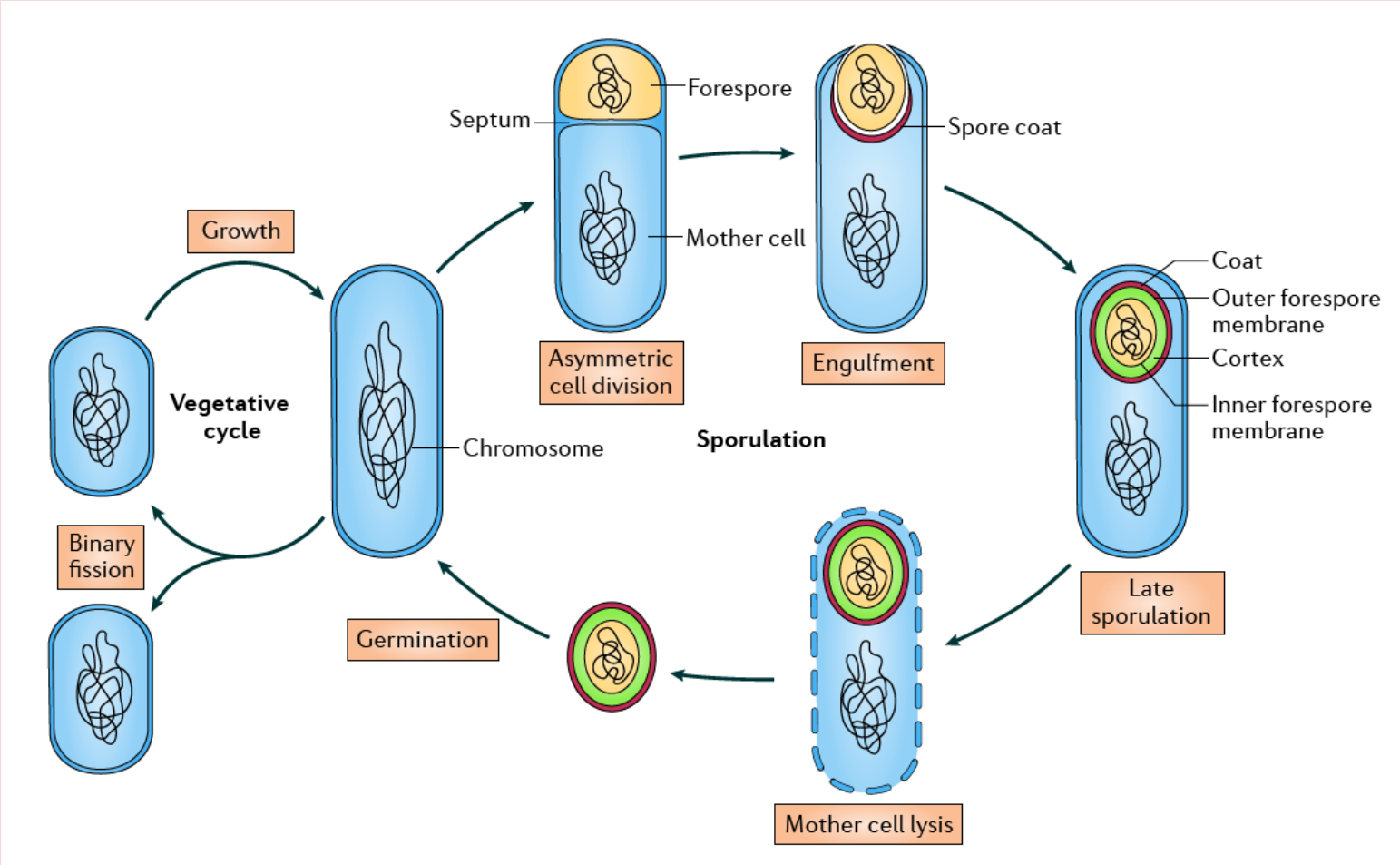
Bdellovibrio



Myxobakterie



Bacillus



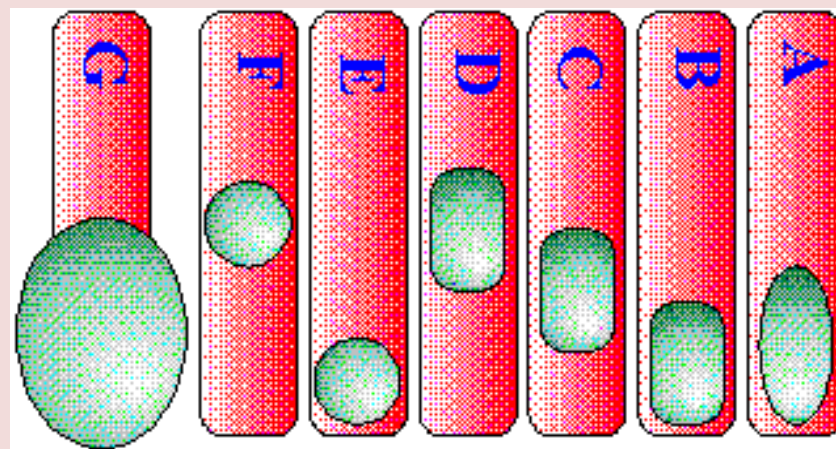
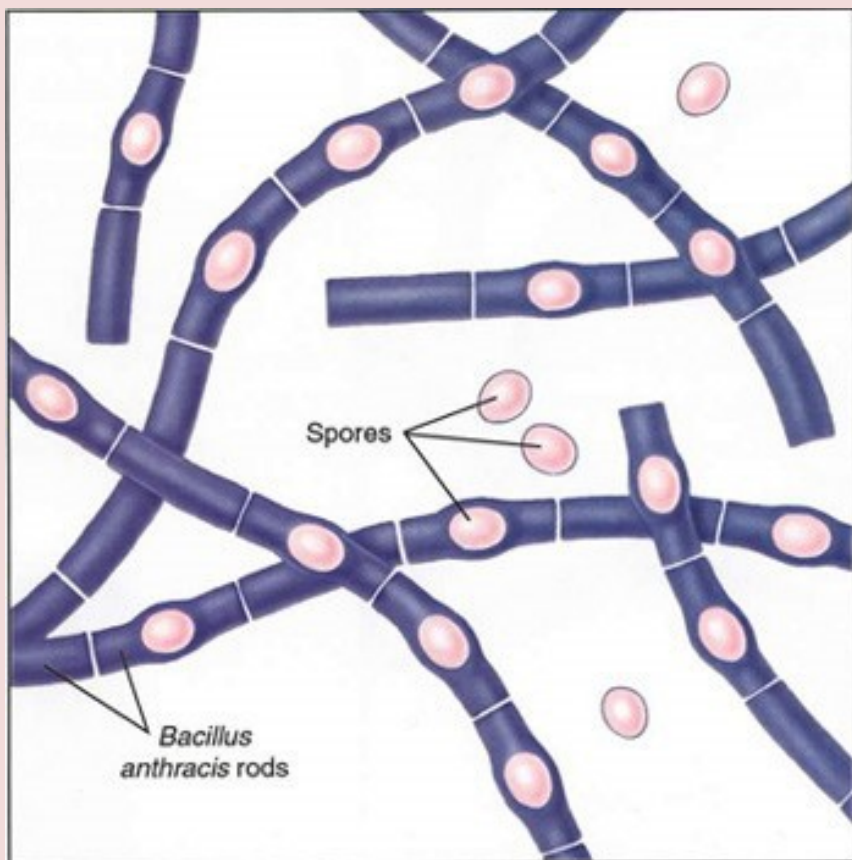


„Voják umírající na tetanus“ Sir Charles Bell, lukovité prohnutí zad (opisthotonus) křečovitý výraz

2) Vytváří posuzovaný druh endospory?

- v preparátu pak mohou měnit tvar buněk!

Bacillus anthracis



Clostridium difficile



3) Stárnutím mění buňky tvar

4) Závislost tvaru buňky na vnějším prostředí

- živiny, tlak, osmolarita

Curr Opin Microbiol. Author manuscript; available in PMC 2008 Dec 1.

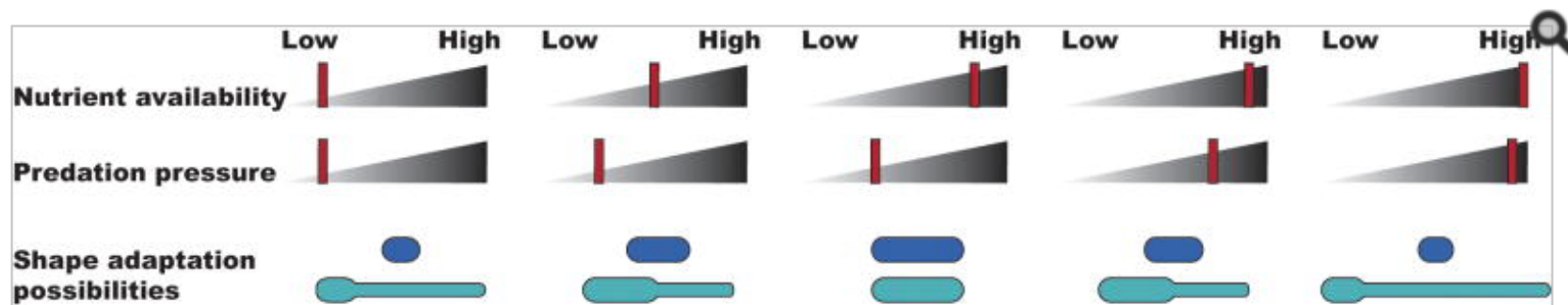
Published in final edited form as:

[Curr Opin Microbiol. 2007 Dec; 10\(6\): 596–600.](#)

Published online 2007 Nov 5. doi: [10.1016/j.mib.2007.09.009](#)

Bacterial morphology: Why have different shapes?

[Kevin D. Young](#)



Example of simple shape adaptations triggered by selective pressures. The upper two rows of “slider bars” represent: 1) the quantity of available nutrients (from Low to High), and 2) the numbers of nearby predators (from Low to High). As these two environmental conditions change, bacteria may respond with morphological adaptations, two of which are illustrated beneath the sliders. As described in the text, one cell (dark blue) elongates or becomes smaller, while the other (light blue) modifies the length of its prostheca. Intermediate conditions may evoke intermediate responses.

5) Pleomorfní buňky

- př. rody *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Haemophilus*, *Mycoplasma*

Sylabus cvičení jaro 2020

- **samostudium!**
- **testy - odpovědníky**

bloková výuka na konci semestru:

- *Gramovo barvení, negativní barvení, nativní*
- *preparát*
- *struktury buňky*
- *pohyb buněk*
- *acidorezistentní barvení*
- *zaočkování sklíčkových kultur; flourescence*
- *pozorování sklíčkových kultur*