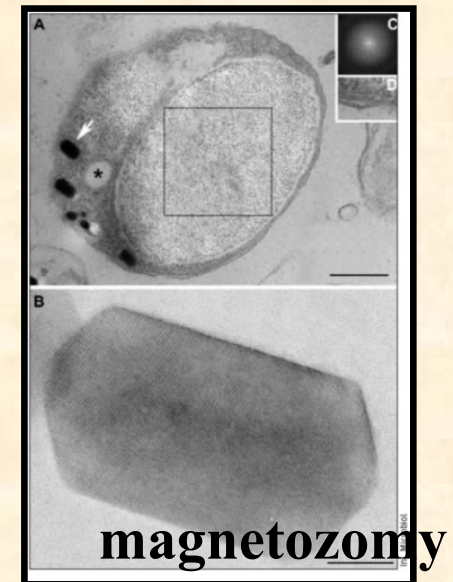
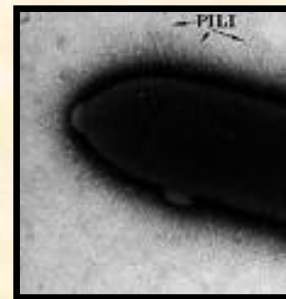


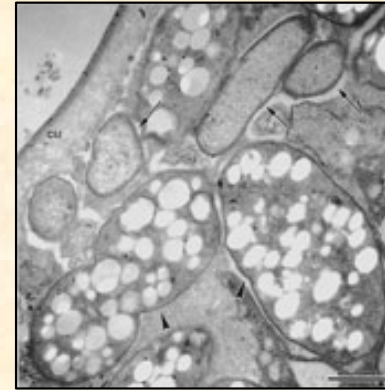
„Neesenciální struktury“

- Inkluze
- Vrstvy vně buněčné stěny
- Struktury pohybu
- Fimbrie



**Za určitých podmínek může chybět i
buněčná stěna (některá Archea, mykoplazmata,
chlamydie)**

Inkluze



- Zásobní látky
- produkty metabolismu
- uložené nepotřebné látky z vnějšku a prozatím bez funkce (kvasinky a stafylokoky hromadí vitamíny)

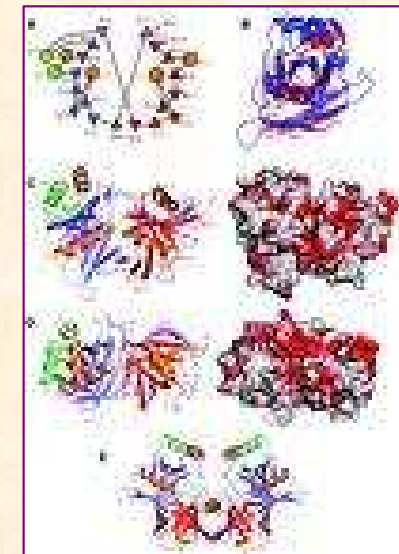
- Bez membrány nebo s membránou

----- **není biologická**

----- **není dvojvrstvou fosfolipidů.**

Je jednovrstevná: bílkovina+lipid

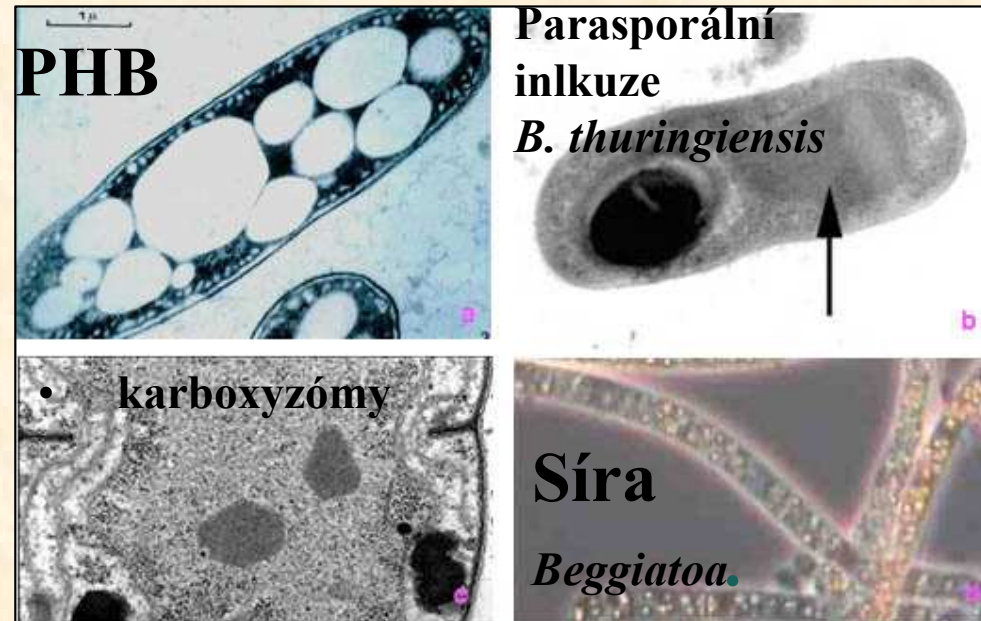
bílkovina+polysacharid

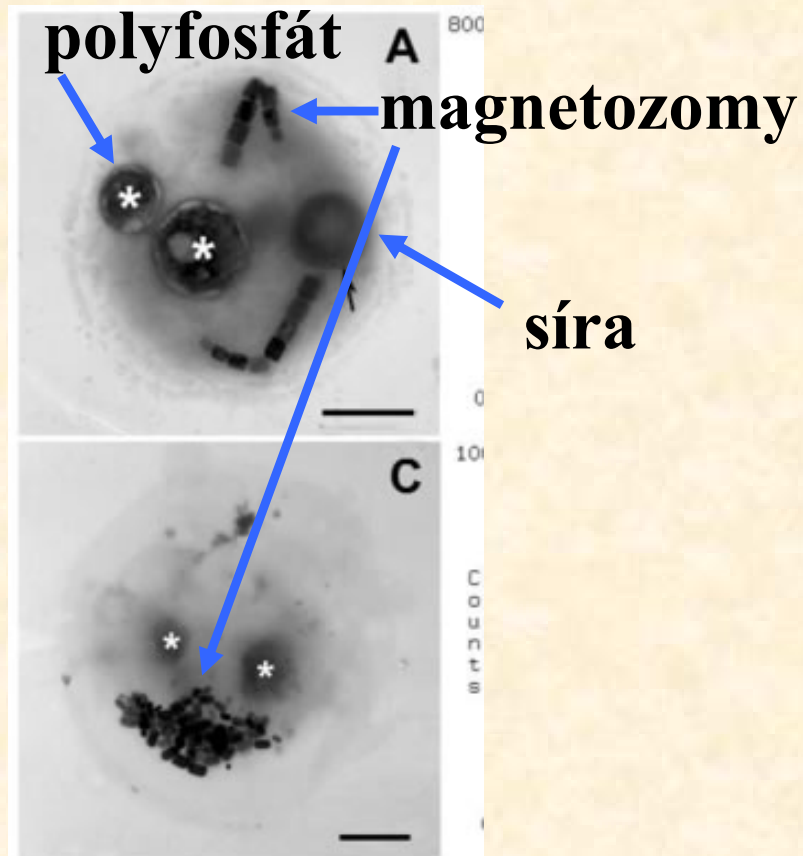


fenaziny

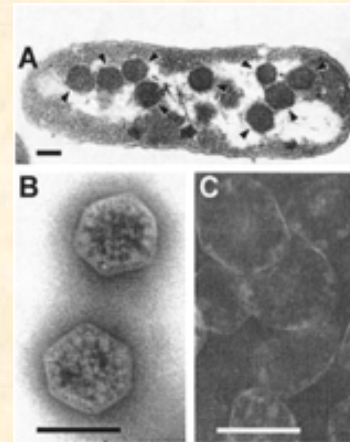
a) obdané membránou – 1 vrstva fosfolipidů (až na plyn.vakuoly)

- Glykogen
- PHB
- Síra
- Plynové vakuoly
- Karboxizómy
- Chlorobiové váčky

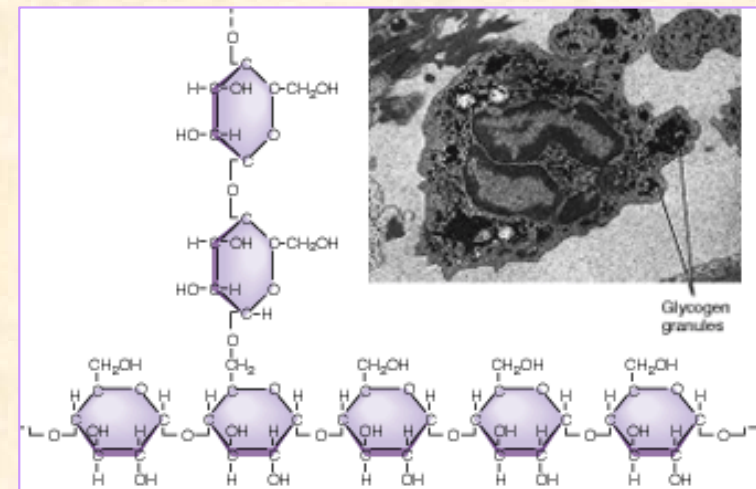




Kok z Itaipu Lagoon, Brazílie

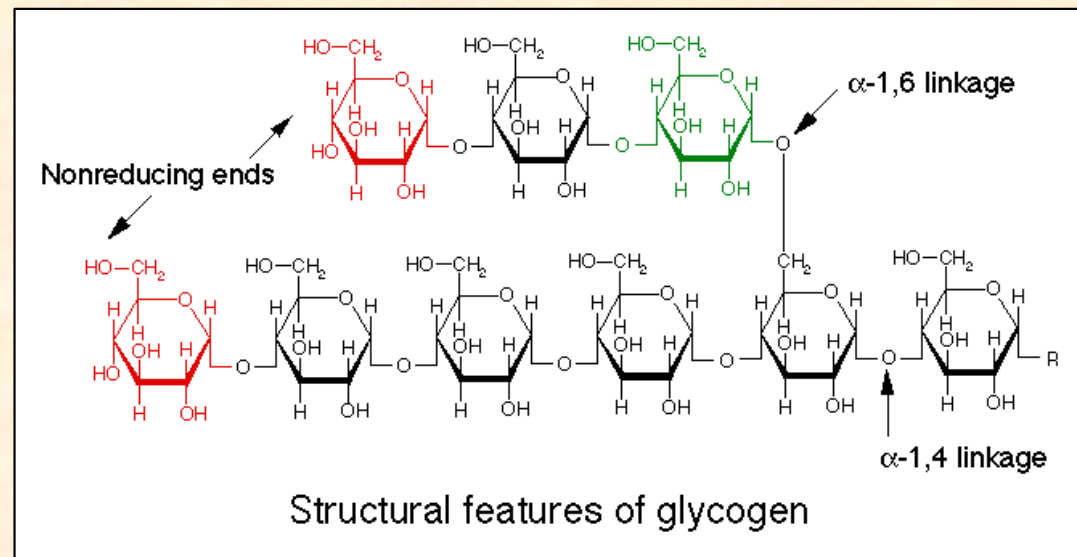


polyhedral carboxysomes
from *H. neapolitanus*,
Měřitko: 100nm



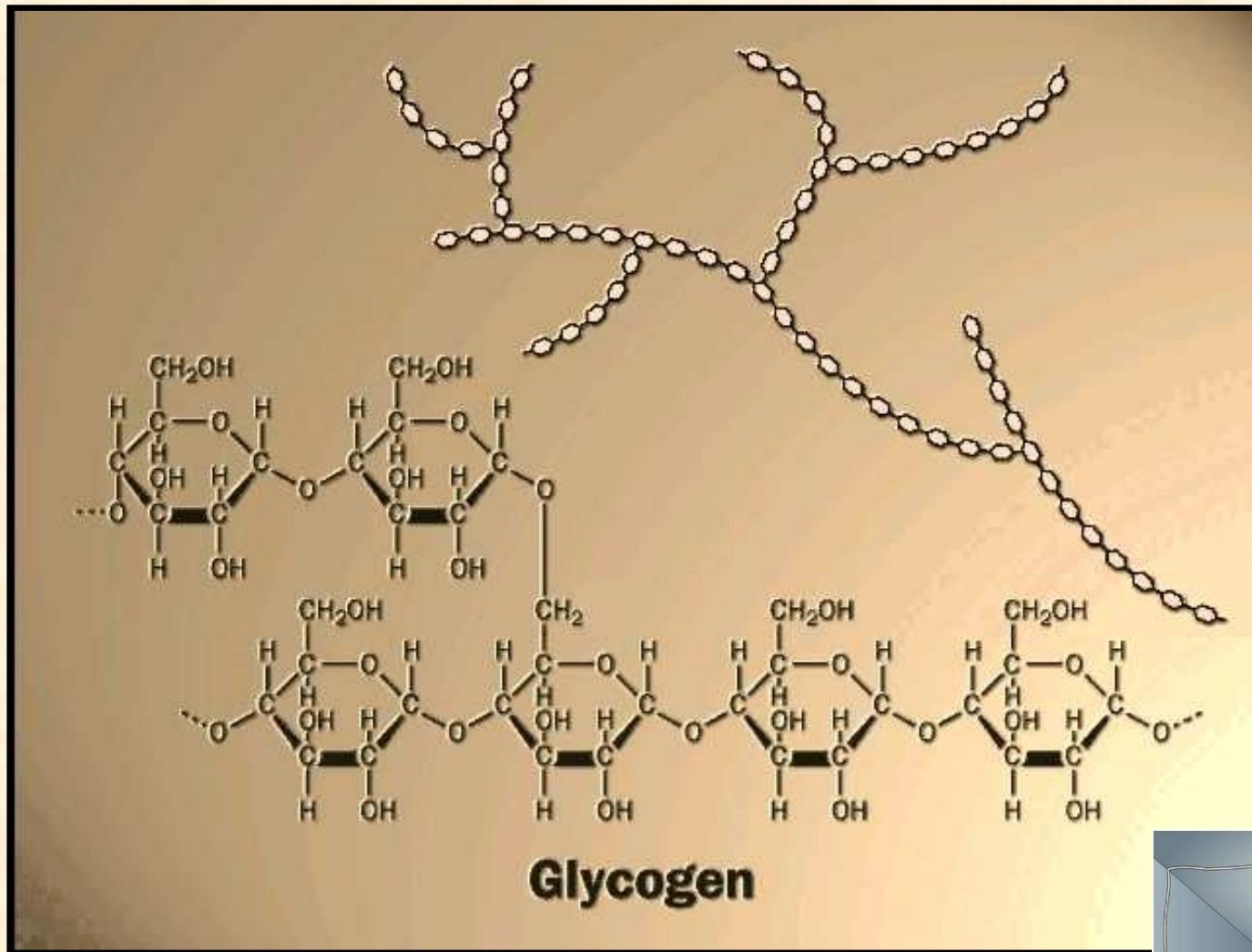
glykogen

Glykogen

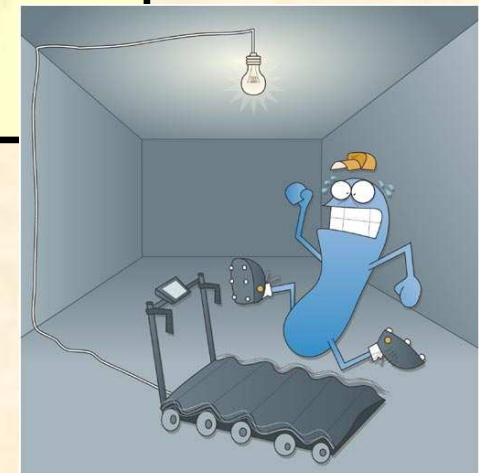


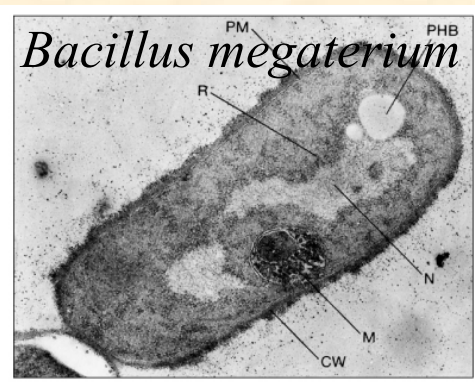
- membránový 160 – 300 nm, až 50% sušiny
- počet 1-10
- rozpustný polymer glukózy
- α -1,4-vazby a α -1,6 větvení na každém 8-10tém monomeru
- Může a nemusí mít membránu
- Ve světelném mikroskopu není viditelný:

Barvení lugolovým roztokem



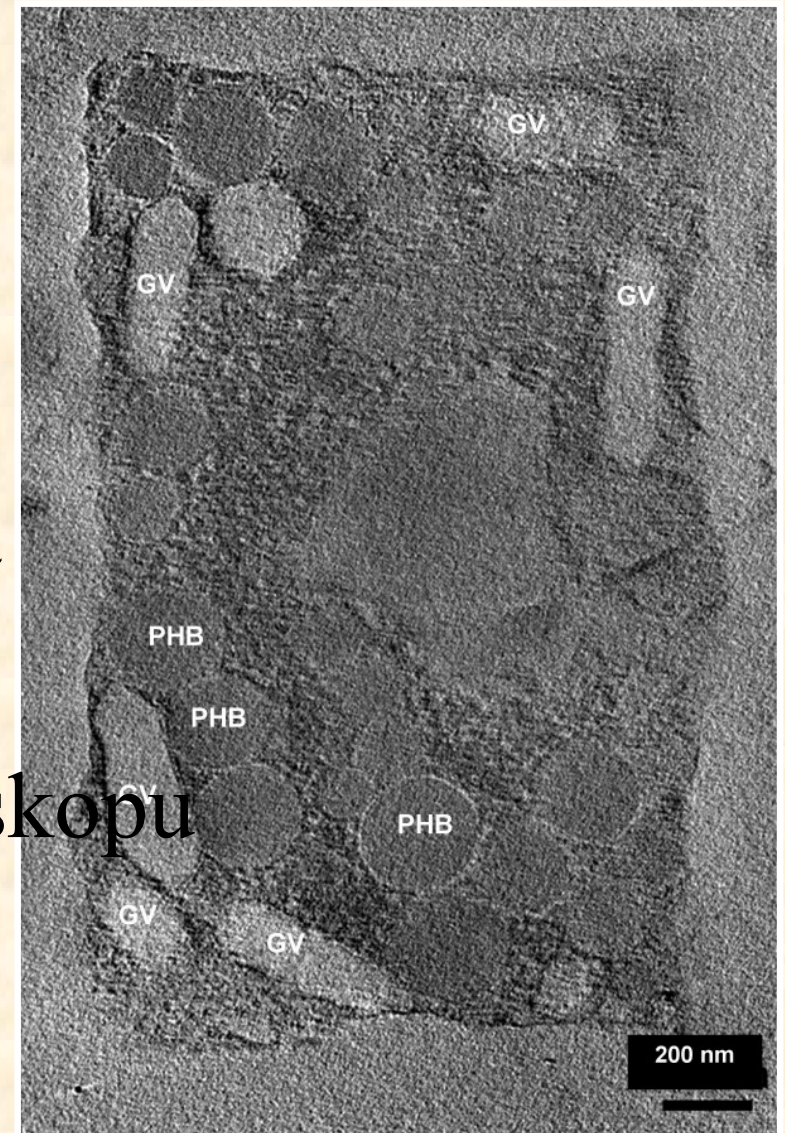
Bakteriální glykogen je silně větvený.
Slouží jako pohotová rezerva.

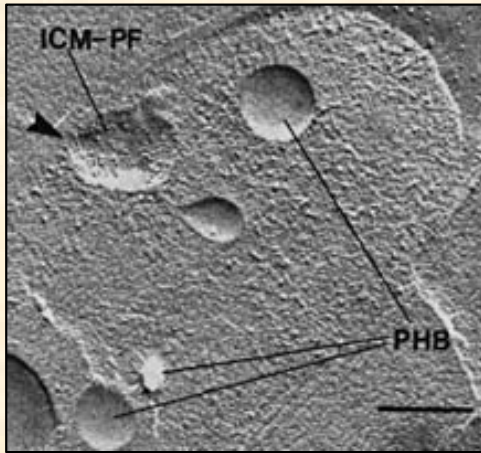




PHB

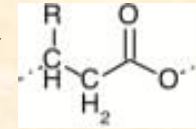
- kyselina polyhydroxymáselná
- až 60% sušiny
- viditelná ve světelném mikroskopu
- Je to odpadní produkt metabolismu uhlíkatých látek
- Vyskytuje se u aerobů: *Bacillus*, *Pseudomonas*





Poly-beta-hydroxybutyrate (PHB)
in a *Rhodospirillum* species.

PHB is one type of PHA. →



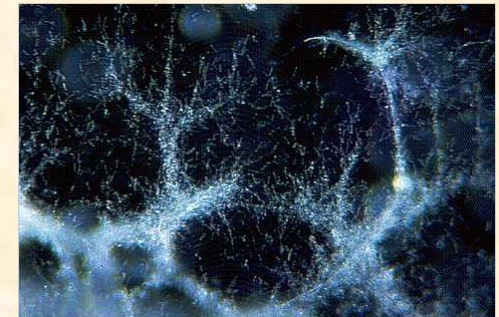
- PHB a glykogen jsou osmoticky a iontově neaktivní, vyskytují se v buňce při nadbytku zdrojů uhlíku a nedostatku zdrojů dusíku.

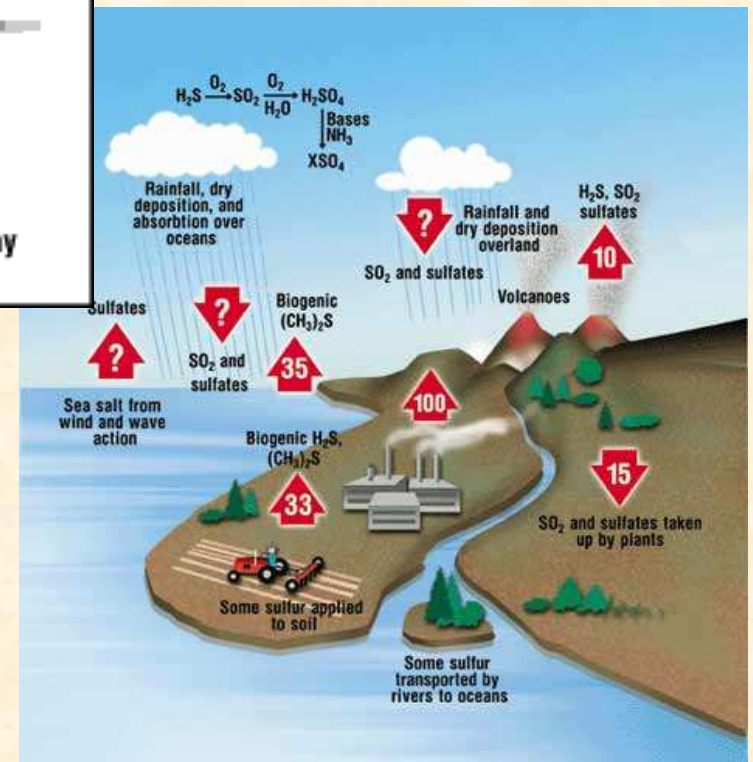
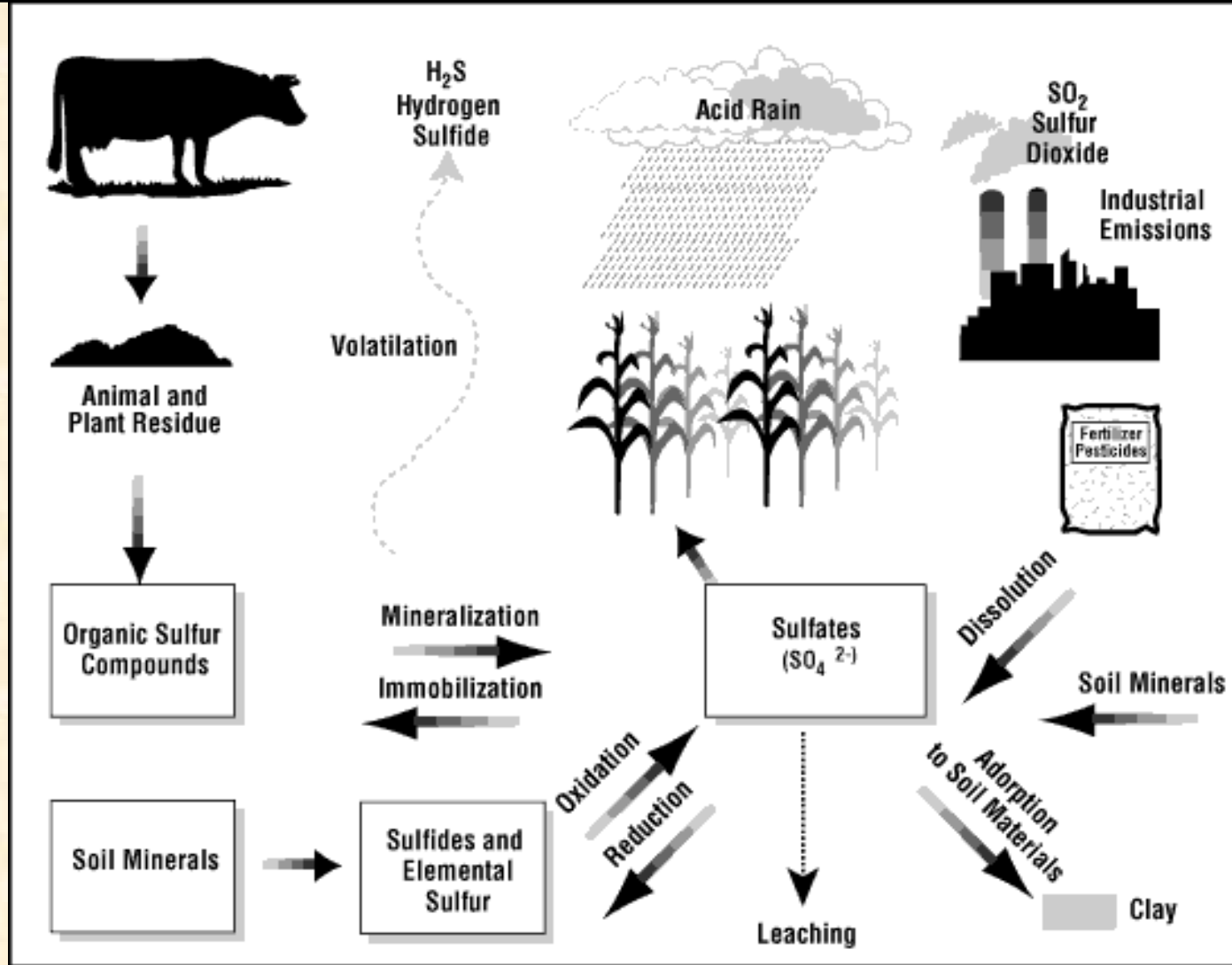
Síra

- zdroj energie pro chemolitotrofní sírné bakterie



- zdroj elektronů v procesu fotosyntézy u fototrofních sírných bakterií – zelených a purpurových (tyto přijímají energii transformací slunečního záření)
- amorfní

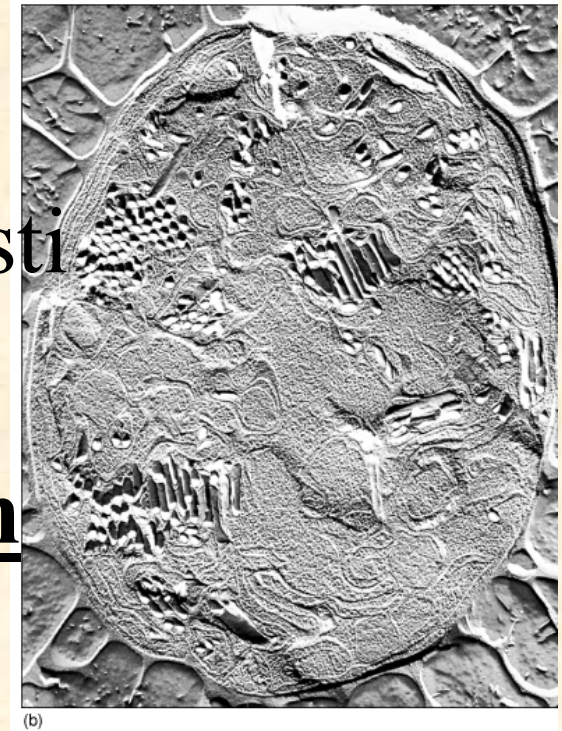
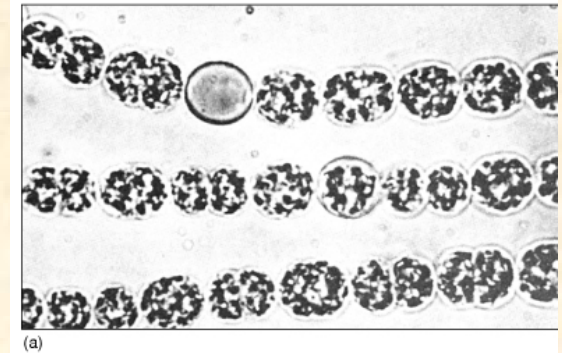






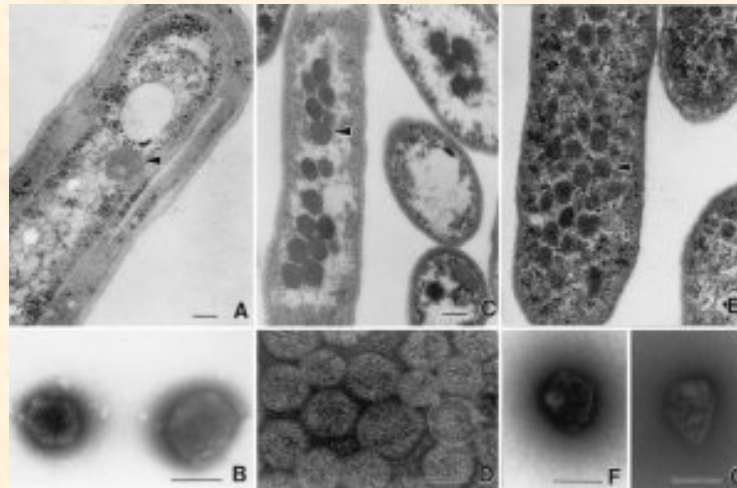
Plynové vakuoly *Cyanobacteria*

- plyny vznikají při metabolismu
- množství plynu závisí na teplotě a viskozitě
- nadlehčení buňky
- buňka reguluje množství v závislosti na intenzitě metabolismu
- membrána z jedné vrstvy bílkovin



Karboxizómy

- protáhlé cisterny
- enzymy Calvinova cyklu
- syntéza hexóz u autotrofů, chemolitotrofů a fotolitotrofů.
- Za vhodných podmínek je vyšší počet
- (1-10)
- nedělí se



A) *Synechococcus* carboxysome
B) The same but negatively stained
C) *H. neapolitanus* carboxysome
D) Negative stain of *H. neapolitanus* carboxysome, you can even see RuBisCO assemblies inside

Chlorobiové váčky

- Jen zásobárny pigmentů – bakteriochlorofyl a karotenoidy
- Nikoli reakce a vazba světla
- Přenášeny do chromatoforů, kde vlastní fotosyntéza
- Počet: 2-10

b) bez membrány

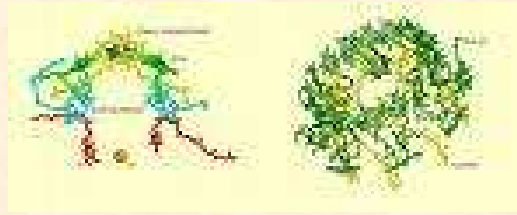
Glykogenová granula – 20 – 100 nm, jedna buňka je může mít pouze s nebo bez membrány, v rámci rodu lze obojí zároveň.

Polyfosfátová granula – volutin - při nadbytku ATP (možnost uložení velkého množství energie). Až 500 molekul, nerozpustný ve vodě. Nikdy není zdrojem energie, jen fosforu. Počet: 1 – mnoho, podle metabolismu. Vysoký počet je v době před přechodem do klidového stadia (známka sporulace).

Krystaly – produkty metabolismu (oxalacetát)

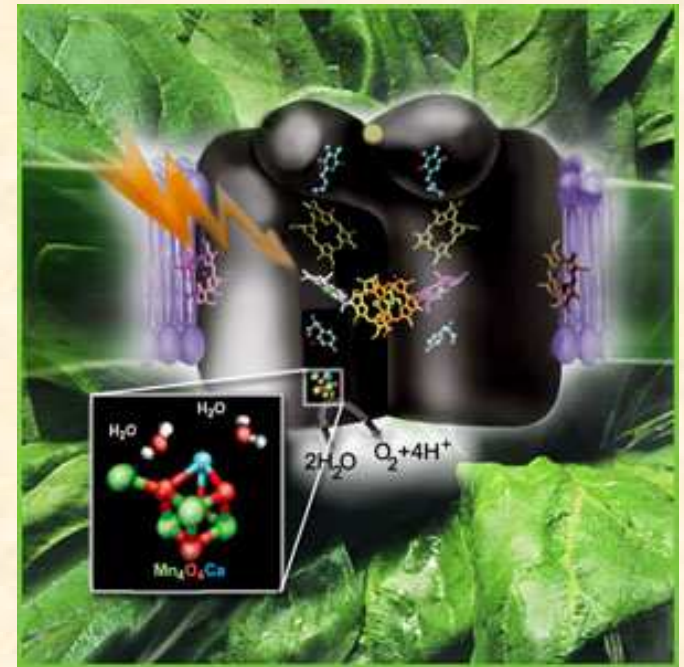
Parasporální inkluze = bílkovina vznikající při sporulaci. Je to zbytkový materiál nespotřebovaný při vzniku spor. Bioinsekticidy – *Bacillus thuringiensis* – na na moučné červy, i selektivní působení (až na druhy)





Pigmenty

- Produkty primárního i sekundárního metabolismu. Produkovány v závislosti na stanovišti.
- Využívají se při metabolismu nebo mají protektivní účinek či jiný ekologický význam (inhibiční účinky). Pokud jsou produktem primárního metabolismu – jsou bezpodmínečné potřeby (bakteriochlorofyl, karotenoidy).
- Protektivní účinek – absorbuje světlo o určité vlnové délce, jsou syntetizovány až v rámci sekundárního metabolismu.



- Buňka může produkovat endo- (protektivní) i exopigmenty různých barev.
- Řada pigmentů vzniká nadprodukcí látek.
Př: kolonie Azotobacteria na manitolové půdě po týdnu zčernají (zprostředka) – na základě nadprodukce tryptofanu
- Lokalizace (podle své úlohy): v cytoplazmě, v CM u fototrofů, v periplazmatickém prostoru, (v buněčné stěně u kvasinek), jako exopigmenty – ekologický význam (inhibiční agens, ATB).



Nejčastěji: karotenoidy – endopigmenty u většiny buněk

- Bakteriochlorofyly a,b,c,d – anaerobní prostředí
- Prodigiozin – extracelulární, mikrobicidní účinek – bakterie a plísně
- Fenaziny – extracelulární, sek. metab., mikrobicidní účinek – bakterie a plísně (*Erwinia*)
- Melaniny – hnědé, černé, tmavě červené.

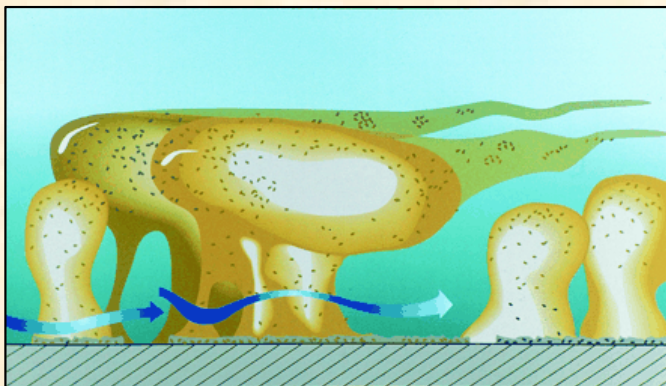
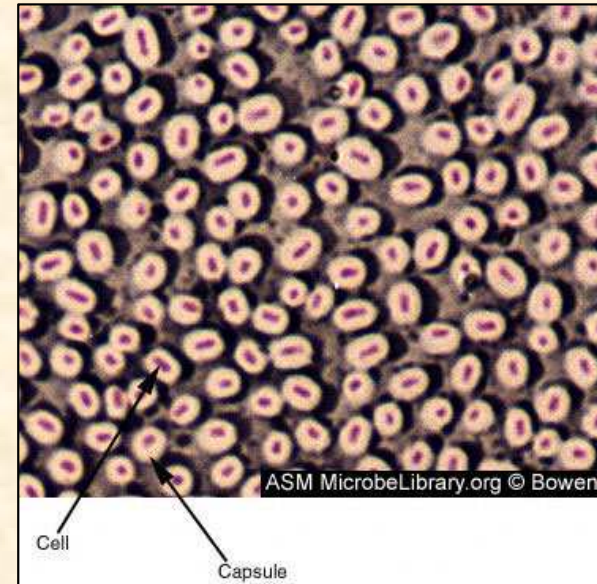
V závislosti na době kultivace.

- Anthokyany – sek.metab., barva závisí na pH, u 5 druhů bakterií
- Př: *Micrococcus flavocianus* – žlutý endopigment a fialový exopigment. Na MPA jen žlutý endop. Na glukozótkvasničním agaru – oba pigmenty.

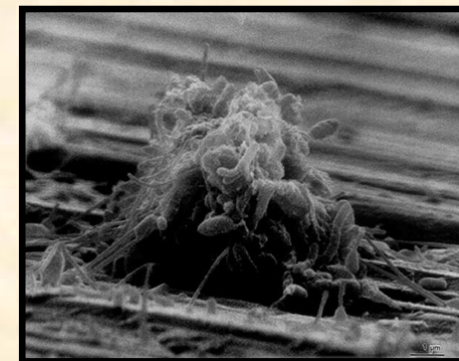


Struktury vně buněčné stěny

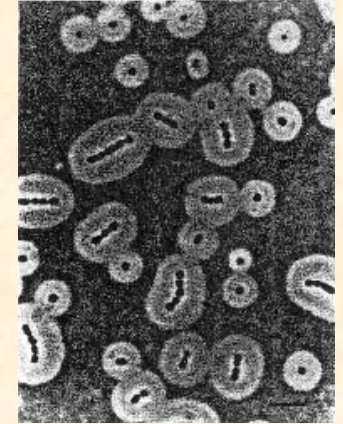
- ochrana před fagocytózou
- před protilátkami
- před vysycháním
- před detergenty
- vazba na povrch předmětů, tvorba biofilmu



Biofilm structure
cartoon



Pouzdro = kapsula



- u téměř všech zástupců *Enterobacteriaceae*
- zřetelně odděluje buňku
- má antigenní vlastnosti, znemožňuje detekovat somatický antigen. Charakteristické pro virulentní kmeny. Míra virulence: formy S, M a R
- působí proti fágům, protilátkám a fagocytóze, jako **ochranná vrstva** proti vlivům prostředí a proti první vlně imunitní odpovědi
- je to vrstva dobře organizovaného materiálu, který nelze snadno odmyt z buněčného povrchu

Tvorba pouzdra ovlivněna složením media, prostředím

Jeden druh až 60 druhů kapsulových antigenů



this is my
wish for you:

smiles to follow the clouds,	comfort on difficult days, when sadness intrudes,	laughter to kiss your lips,
hugs when spirits sag,	sunsets to warm your heart,	beauty for your eyes to see,
friendships to brighten your being,	confidence for when you doubt,	
faith so that you can believe,	courage to know yourself,	
patience to accept the truth,	love to complete your life.	

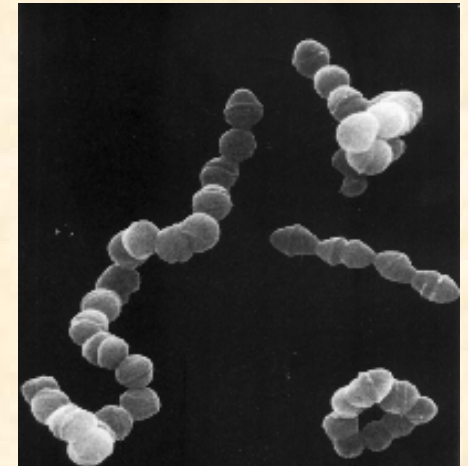
(anonymous)

Mikrokapsula – do 0,2 nm

- syntetizována **stále**
- **velikost není** geneticky kódována
- překrývá antigen buněčné stěny a má své vlastní antigenní vlastnosti
- Složena z bílkovin, lipidů a polysacharidů
- **Není to bariéra** proti průniku živin
- Průkaz – ne mikroskopicky, pouze **serologicky**
- **Důkaz u vitální buňky:**

barvením tuku, terčíky v mikrokapsule + tukové kapénky v buňce.

Makrokapsula



*Streptococcus
Pneumoniae* -

- složena z polysacharidů, bílkovin nebo celulózy
- minimálně dvakrát tlustší než buňka
- Průkaz prostý: téměř jednotné složení – převažuje buď pouze bílkovina nebo pouze polysacharid. Lipidy jen do 1%.
- *Streptococcus* – polysacharid
- *Bacillus anthracis* – bílkovinná složka kyseliny poly-D-glutamové
- *Bacillus* – k. glutamová

- **S-vrstva** – jeden druh bílkoviny, druhově specifické, monovrstva. pravidelně organizovaná vrstva proteinů a glykoproteinů na povrchu bakt. buňky
- **Sliz** – řídký, spojuje více buněk, snadno odstranitelný, difúzní neorganizovaný materiál, nejčastěji polysacharid. Může sloužit k pohybu. Ve vlhkém prostředí.

Glykokalyx

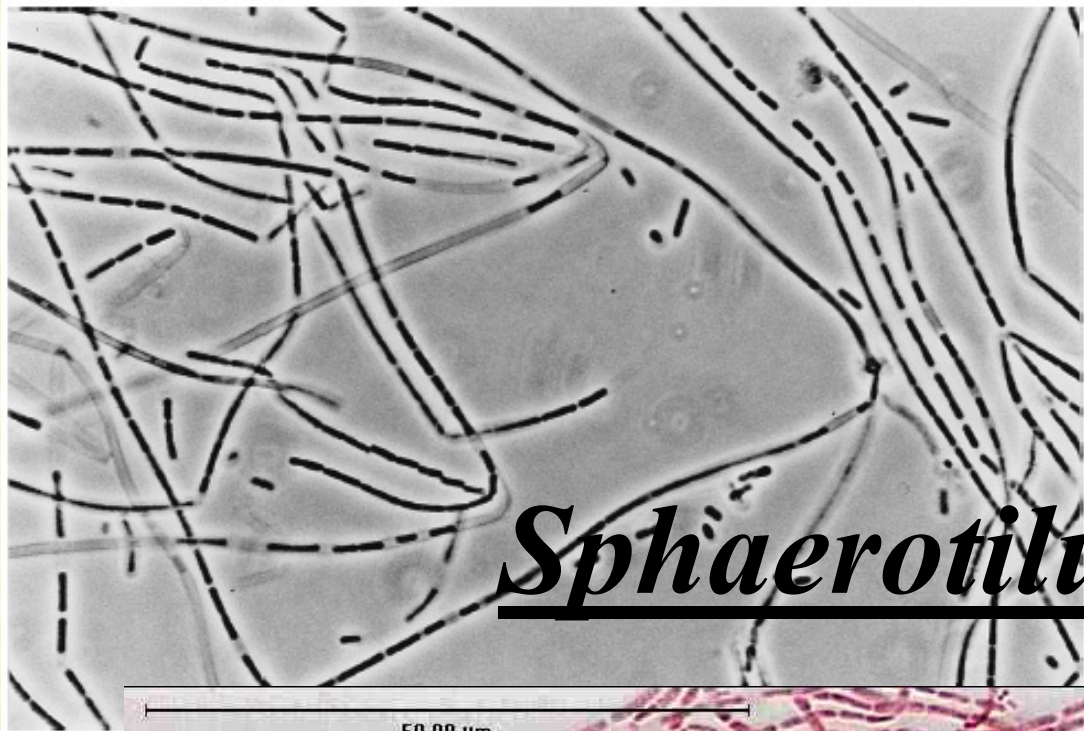
- netvoří se v laboratorních podmínkách za dostatku živin
 - = **sít'ovina z vláken polysacharidů a glykoproteinů**
- umožňuje adherenci, která je málo (za pomoci kationtů, Příklad: zub) až vysoce (za pomoci lektinů, Příklad: uretra) specifická
- Kationty umožňují spojení stejně nabitých buněk a povrchů, elektrostatické síly

Pochvy

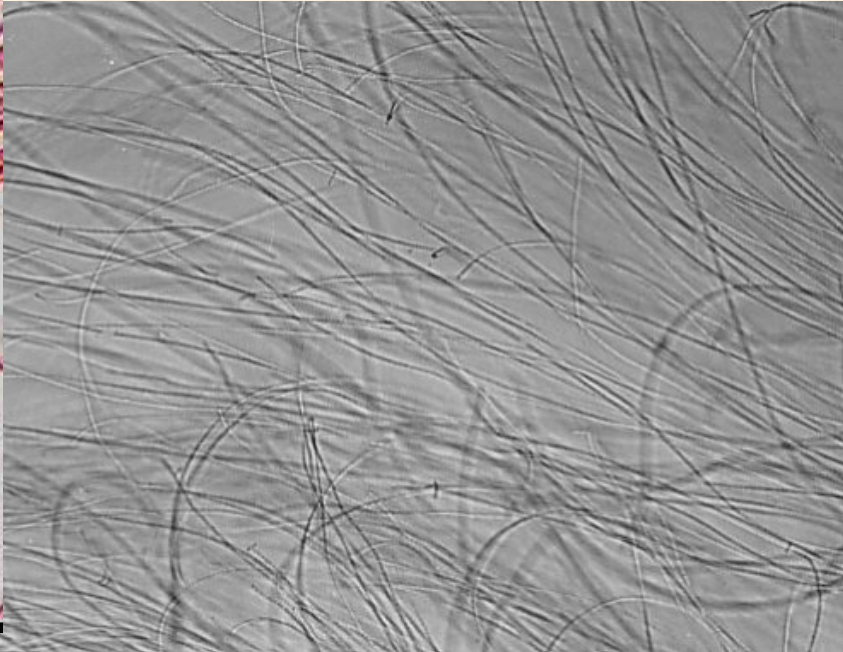
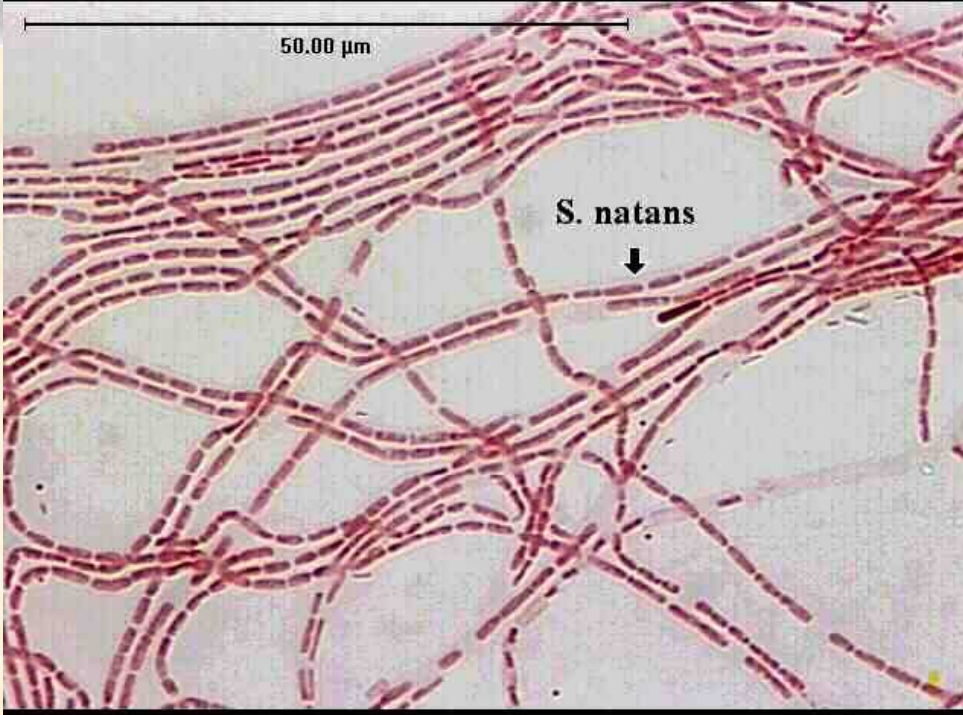
Pouze mechanická funkce.

- geneticky kódované
- výhradně z polysacharidů
- chemické složení a zbarvení druhově specifické
- **glukóza + kyselina glukuronová** (*Sphaerotilus*) u jiných rodů např. fukóza
- Někdy obsaženy **hydroxidy kovů** – v malém množství (zbarvení; Fe, Mn, Cu; závisí na druhu)
- Př: *Sphaerotilus*, *Leptothrix*

- Přisedlé mikroorganismy
- Trubkovitý tvar
- Až několik mikrometrů
- Bakterie se v trubce mohou pohybovat

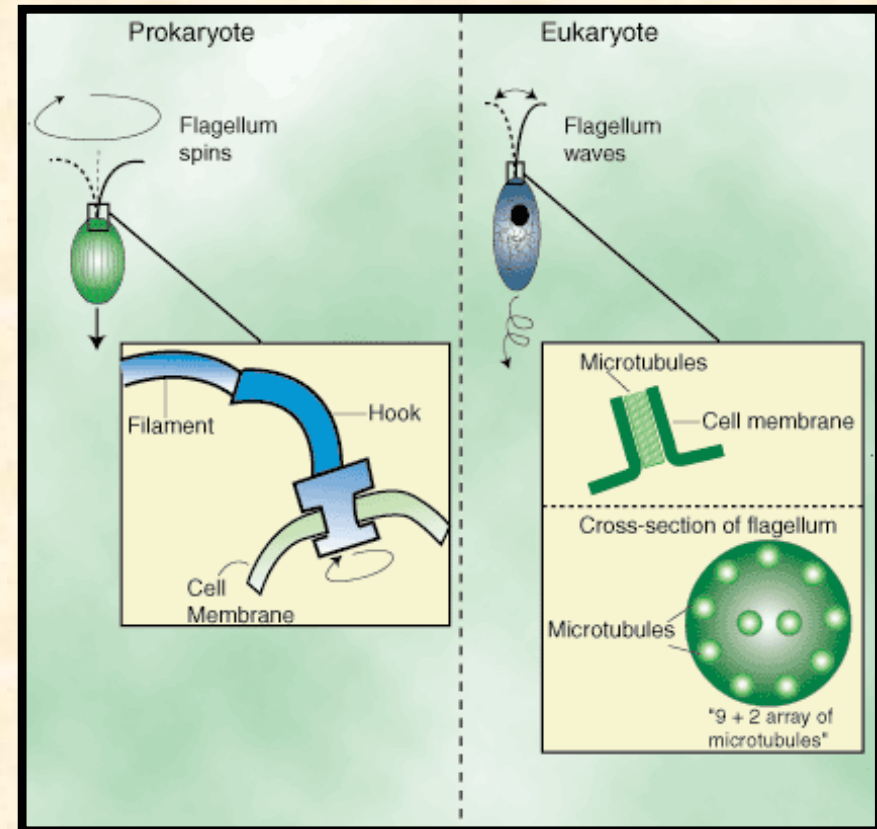
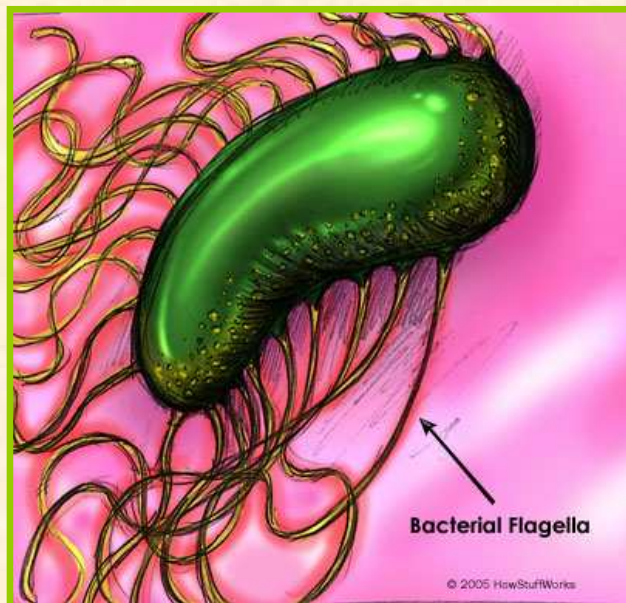


Sphaerotilus natans

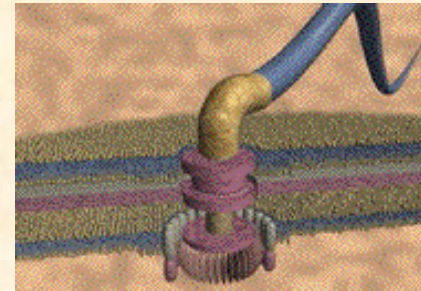


Vláknité útvary na povrchu buňky

- bičík
- pili
- fimbrie
- curli



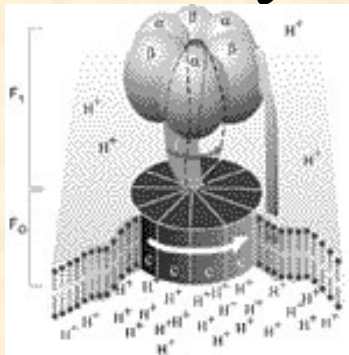
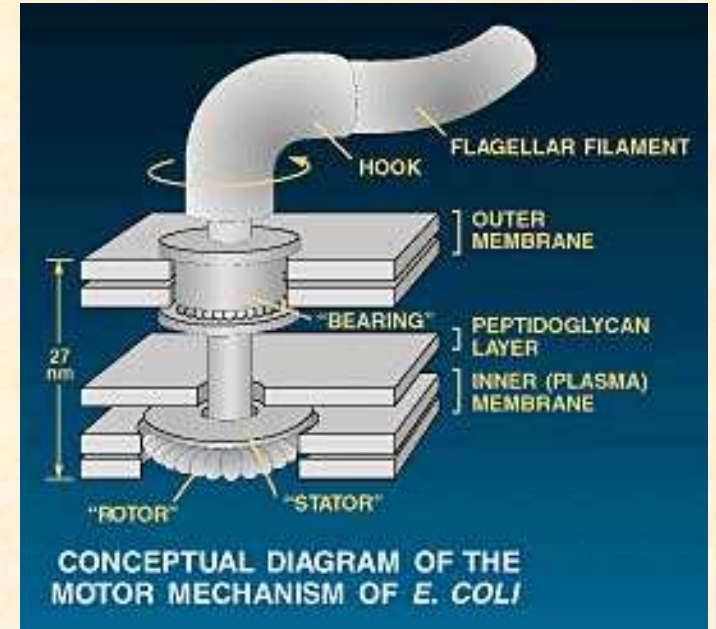
Bičík



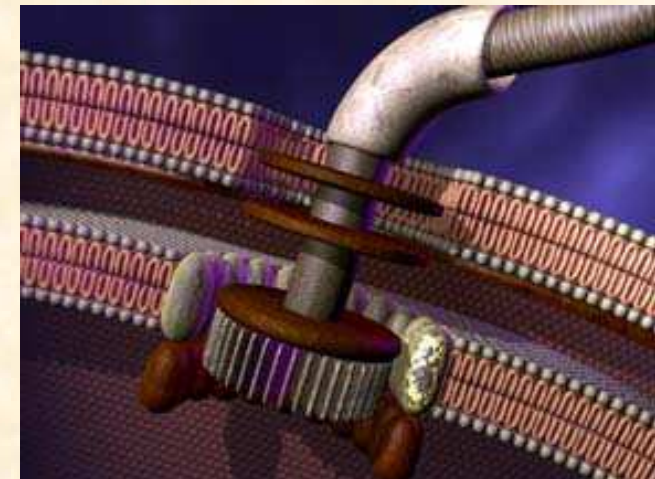
- **supramolekulární** komplex, několik řetězců bílkovin
- globulární bílkovina **flagelin** (tvoří jej více jak 4 vlákna oproti fimbriím)
- molekul.hmotnost flagelinu větší než pilinu
- flagelární antigen, tvořen specif. bílkovinami, **nemůže být zakryt** kapsulárním ani somatickým antigenem
- začíná v **CM** (oproti fimbriím, kt. jsou strukturou B.S.)

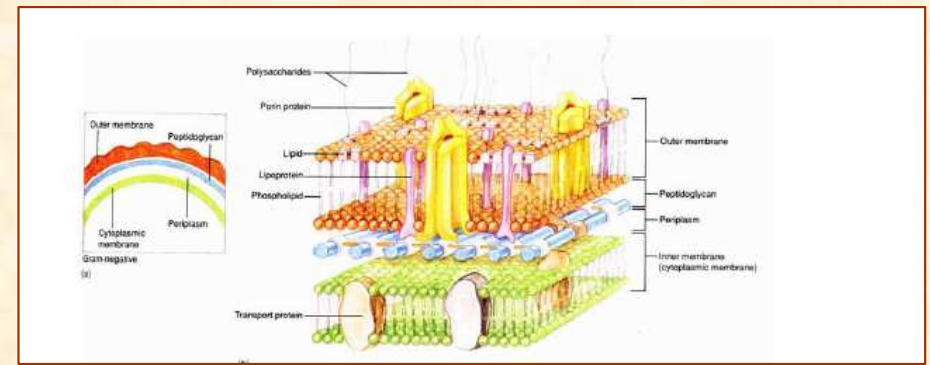
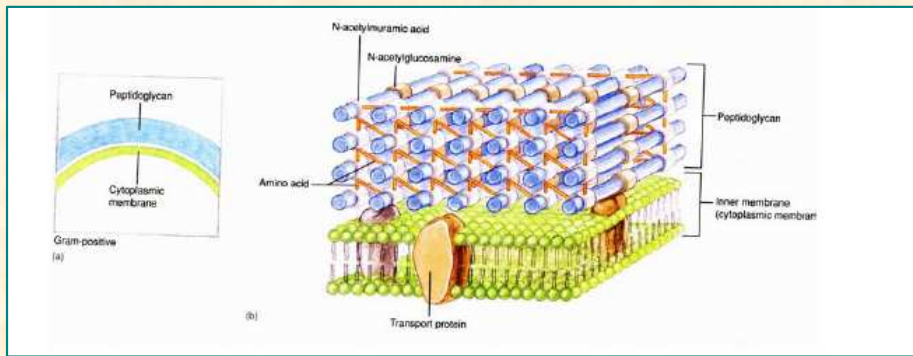
Komponenty bičíku:

- vždy **bazální tělísko** –
u G- 4kruhy (2 v PG a 2 ve VM)
G+ - 2 kruhy v CM
- **háček** (hook)
- vlastní **vlákno** (jen to antigenem)
- Bazální tělísko zůstává po odstranění bičík. vlákna, to je do 20 až 30 min dosyntetizováno



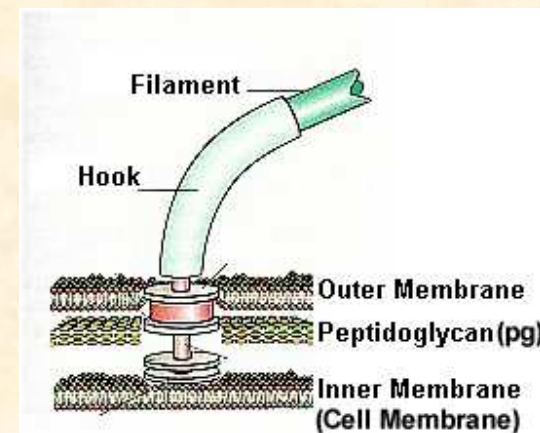
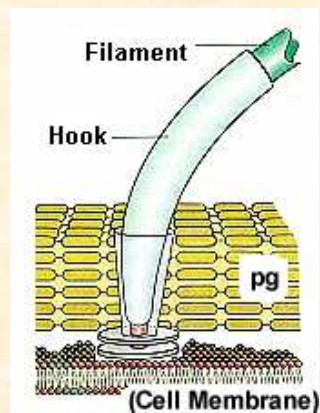
ATP synthase motor

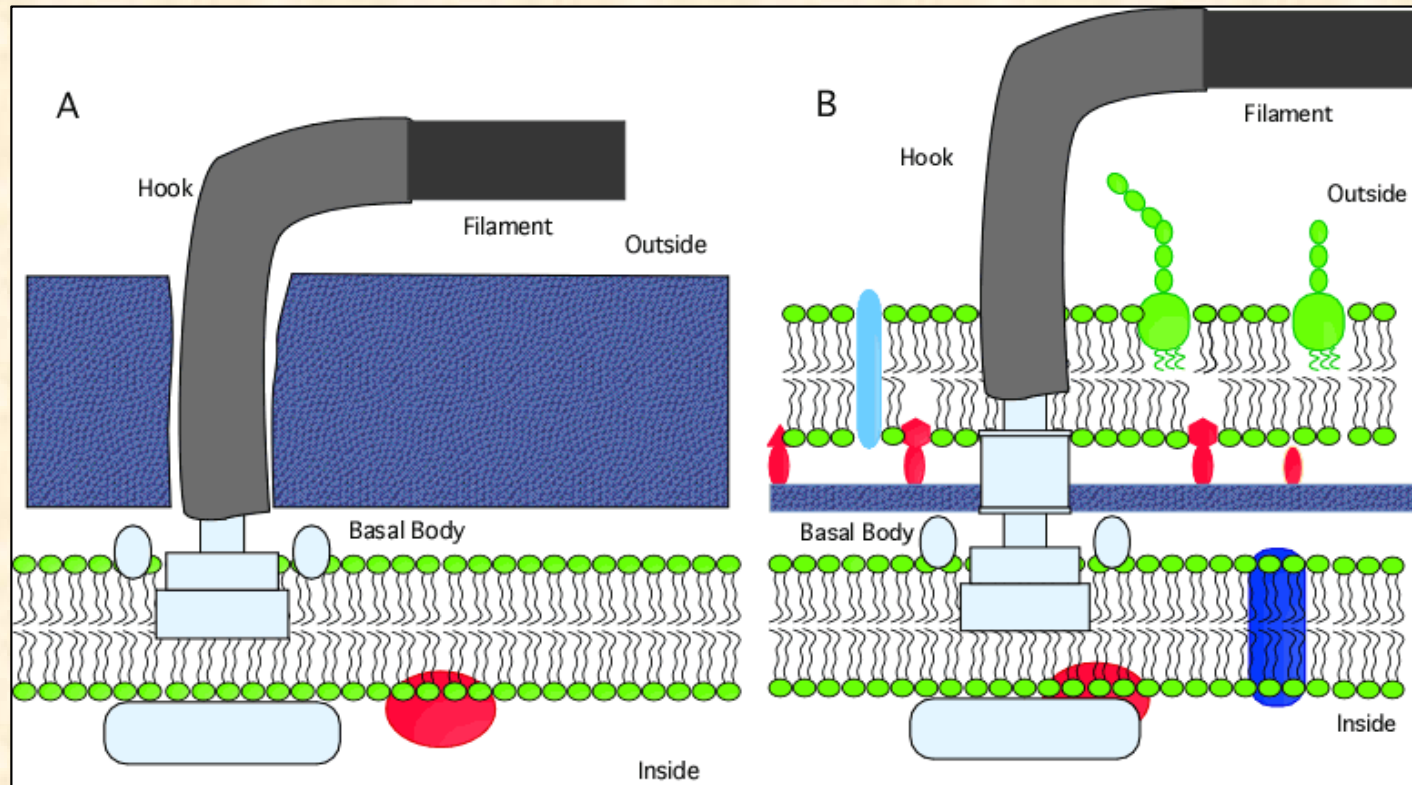
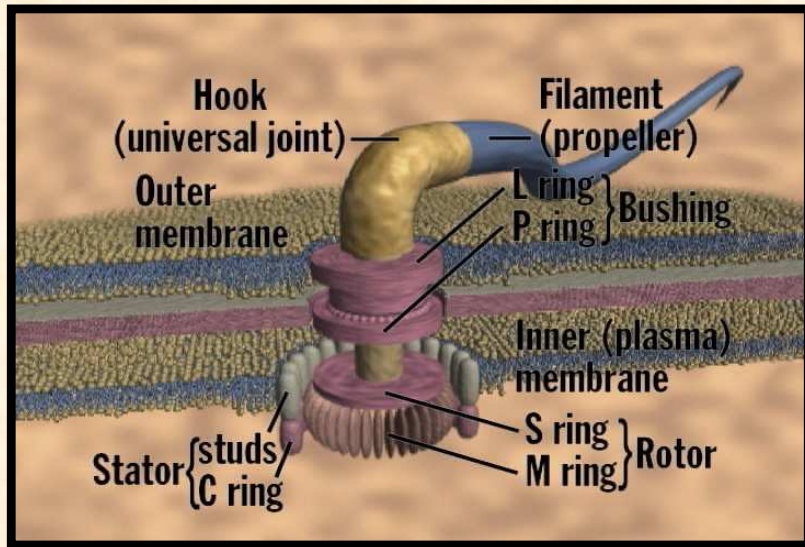




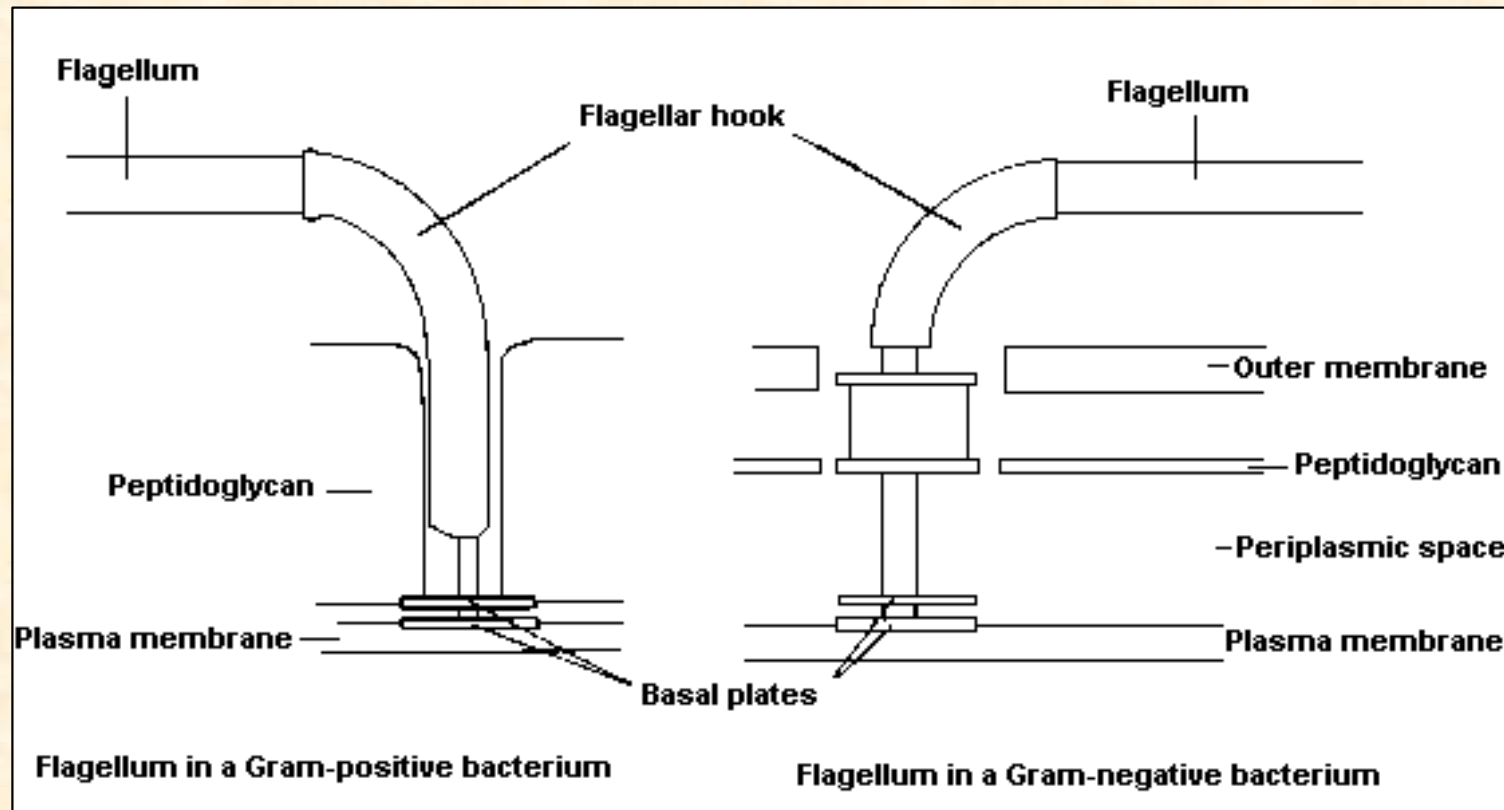
- **G+** : zakotvení do CM a B.S.: bazální tělísko, 2 disky – jeden v CM, druhý v periplazmat. prostoru, B.S. kluzné ložisko-tam se otáčí osa, háček pro ohyb

- **G-** : B.S. ne tak pevná, navíc vnější membrána, L pruh v peptidoglykanu buněčné stěny a P pruh ve vnější membráně






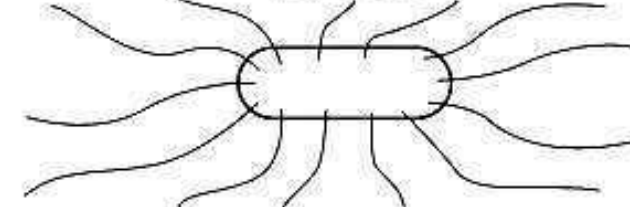


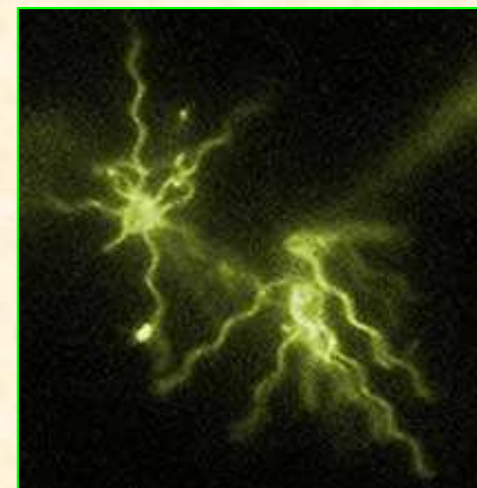
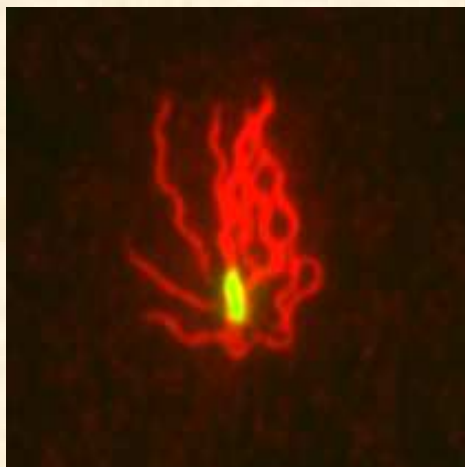
- Průměr 13-20 nm.
- Rychlost pohybu 1-100 $\mu\text{m/s}$ za atraktantem.
- délka bičíku několikanásobně větší než délka buňky
- buňky lze snadno odstranit sklem (pipeta, tyčinka)



Usp

nak

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



1) polárně

– monotricha (*Pseudomonas*): pohyb dopředu: proti směru hodinových ručiček. Otáčení buňky: po směru hodinových ručiček.

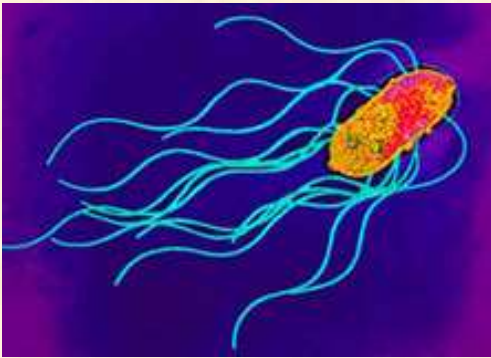
- amfitricha (*Spirillum*)

- lofotricha (*Spirillum*)

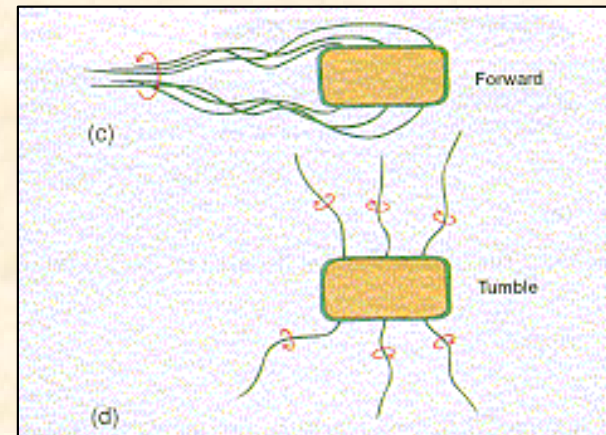
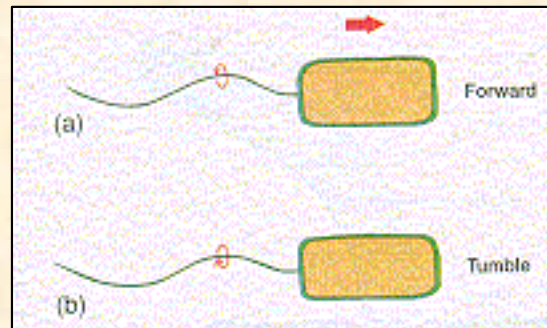
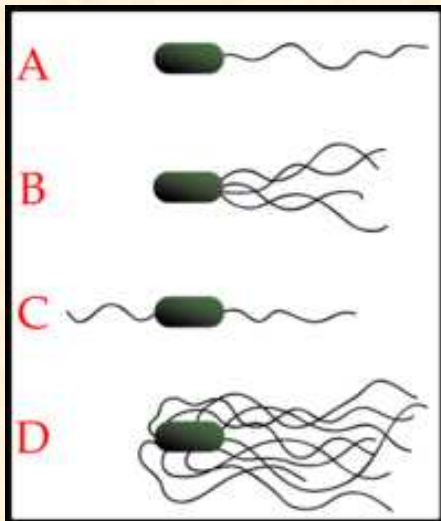
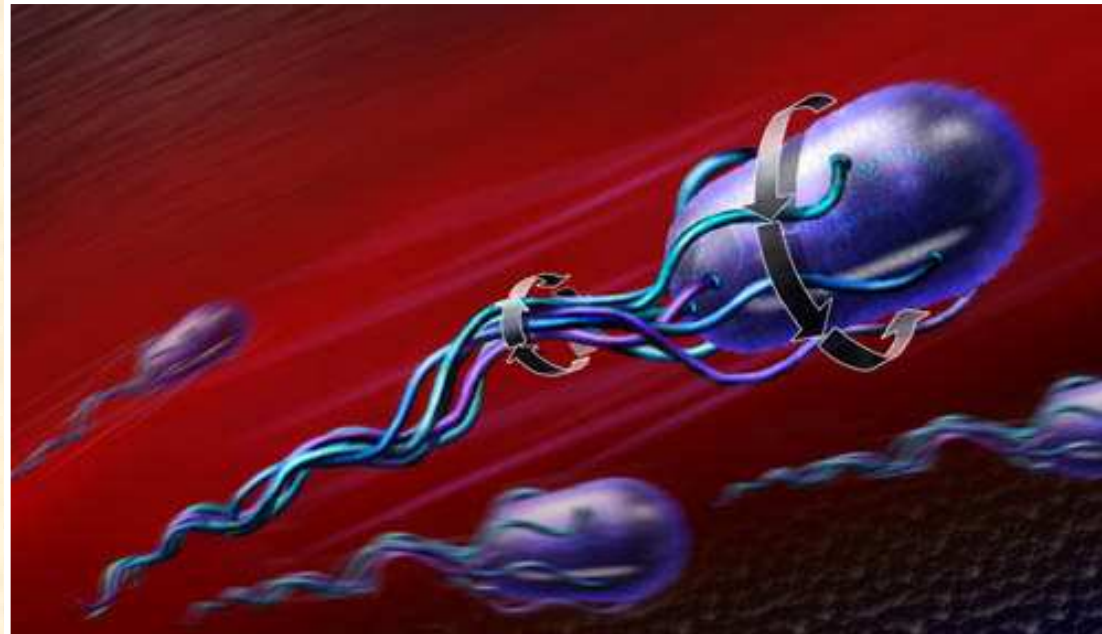
2) po celém povrchu – peritricha (*Proteus vulgaris*, *Agrobacterium*).

- Pohyb dopředu: shloučení bičíků a pohyb proti směru hodinových ručiček. Díky **náboji** se nezamotají. Rozpletení – kroucení buňky na místě. „Chce-li“ se buňka pohybovat jedním směrem, namotá bičíky, které jsou ve směru pohybu, na sebe a je tlačena bičíky druhé strany

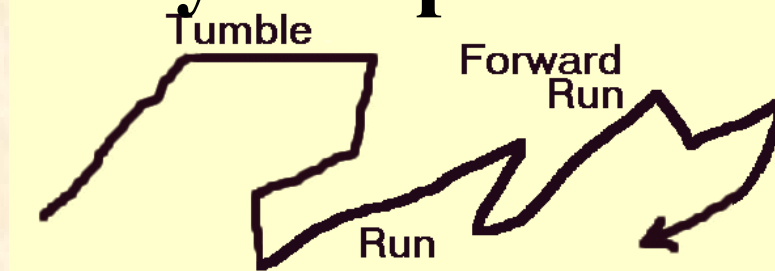




Salmonella enterica



Pohyb buňky – odpověď na prostředí.



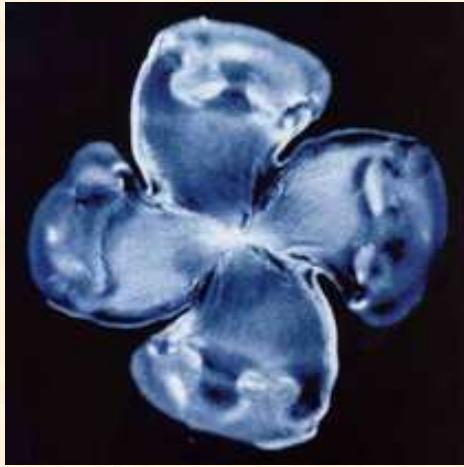
- Intenzita odpovědi závisí na počtu bičíků, na teplotě a viskozitě prostředí.
- primární pohyb je rotační, u eukaryot ATP donor E, u prokaryot gradient H^+ iontů
- rotace tedy vždy jedním směrem
- více bičíku se díky stejnému náboji nezamotá, díky toku H^+ se točí stejným směrem

- vnější faktory ovlivňující pohyb:

magnetické pole Země (zvl. struktury – magnetosomy (*Aquaspirillum*) od dvou do několika desítek, uvnitř či ve středu buňky, málo v blízkosti jádra)

chemotaxe (odpověď na změny ve vnějším prostředí, funguje i při \uparrow c živin, negativní chemotaxe od barviva, rychlost pohybu uměrná koncentraci barviva)

fototaxe (odpovědí na světlo je pohyb \uparrow rychlosti než při chemotaxi)



Swarming colony of E. coli

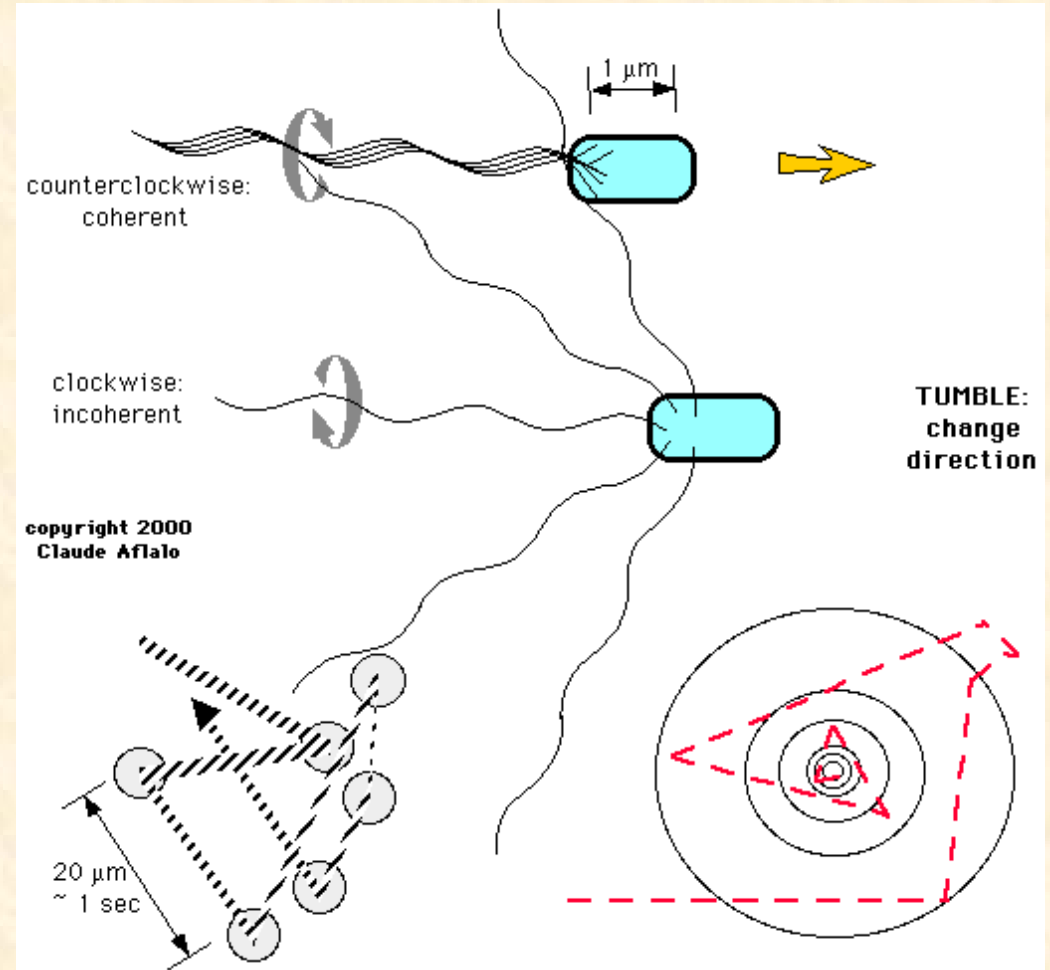


Plazení - myxobakterie



motility test medium, polotekuté

Pohyblivý kmen roste i mimo inokulaci – v celém mediu



- vnitřní faktory ovlivňující pohyb

počet bičíků

lokalizace bičíků na buněčném povrchu

(nejpomaleji reagují peritrichia, efekt rychlý u vibrií, $v =$ několik mikrometrů za sekundu)

dostatek redukčních ekvivalentů

Pozorování pohybu bičíku

- důležitý dostatek kyslíku
- v temném poli a intenzivním světle
- Fixace – speciální batvicí metody pro světelný mikroskop, mořidlo tanin se obalí kolem bičíku, průměr se znásobí a zviditelní.

Fázový kontrast

- - v elektronové mikroskopii negativní barvení ootiskové preparáty po rychlém zmražení na -150 C

Tvorba:

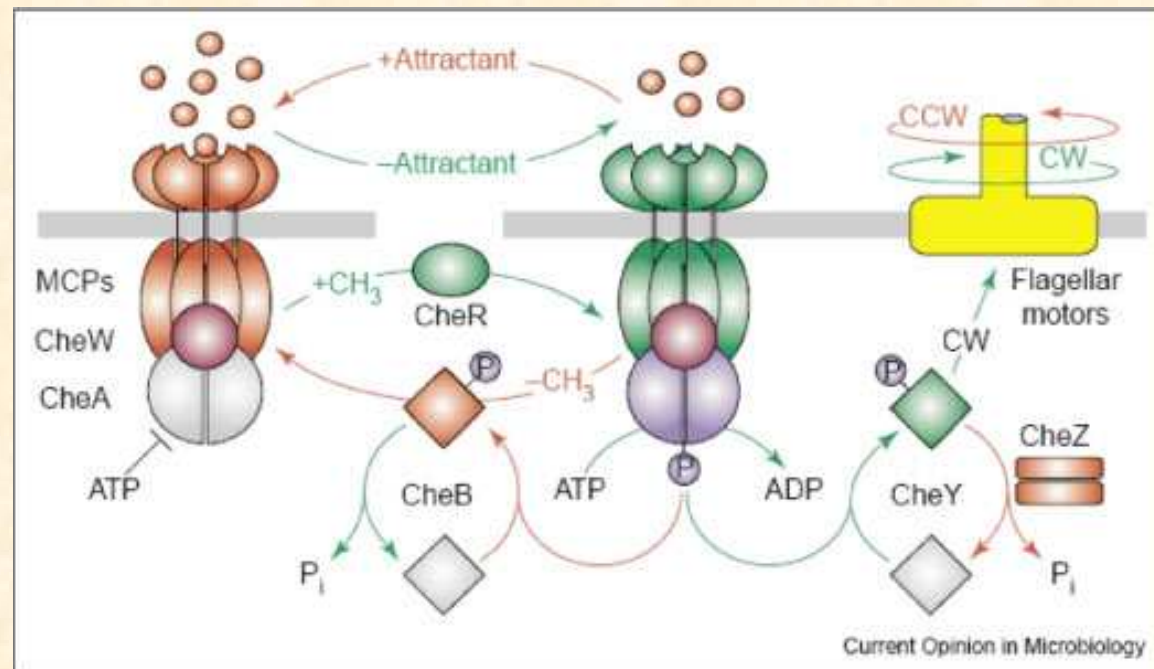
- Samouspořádání – molekuly flagelinu jsou středem vlákna transportovány na konec, vazba na konci bez enzymů, dosyntetizuje se vždy do stejné délky. Geny na stavbě: je jich asi 40, popsáno však jen 20. Př: HAP 1, 2, 3...

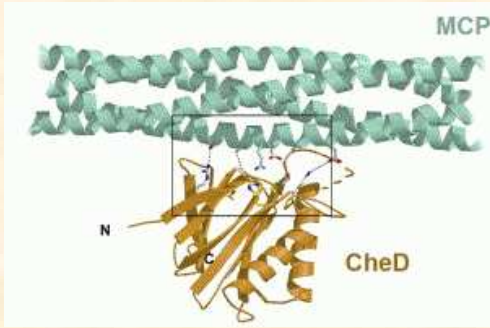
Mechanismus chemotaxe E. coli

- Regulace pomocí MCP systému

MCP systém –

methyl-accepting chemotaxis proteins



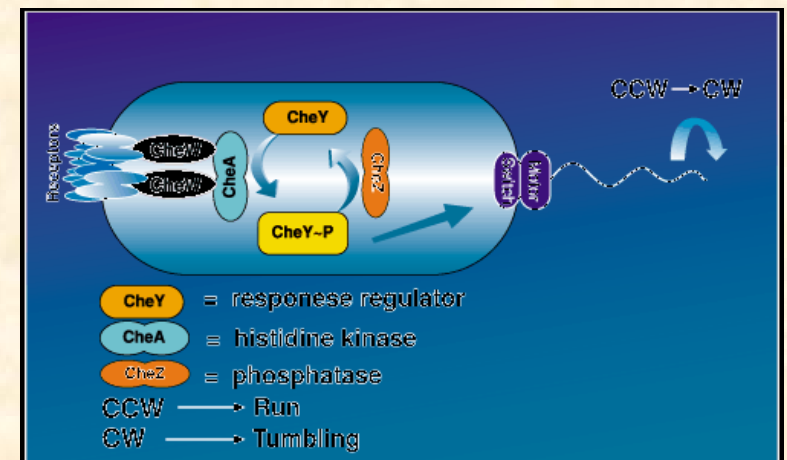


Regulace:

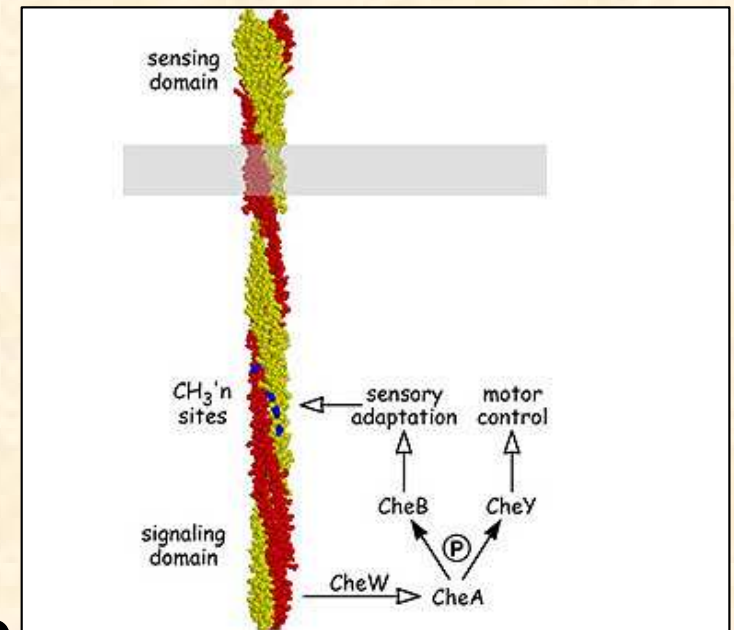
- po koncentračním gradientu živin – regulována délka přímého a otáčivého pohybu za atraktantem
- rozeznává serin, aspartát, maltózu, ribózu, galaktózu a dipeptidy, 200ms
- proteiny lokalizovány v sériích, nejčastěji na tyčkovitých koncích

E.coli: MCP systém – methyl – accepting chemotaxis protein.

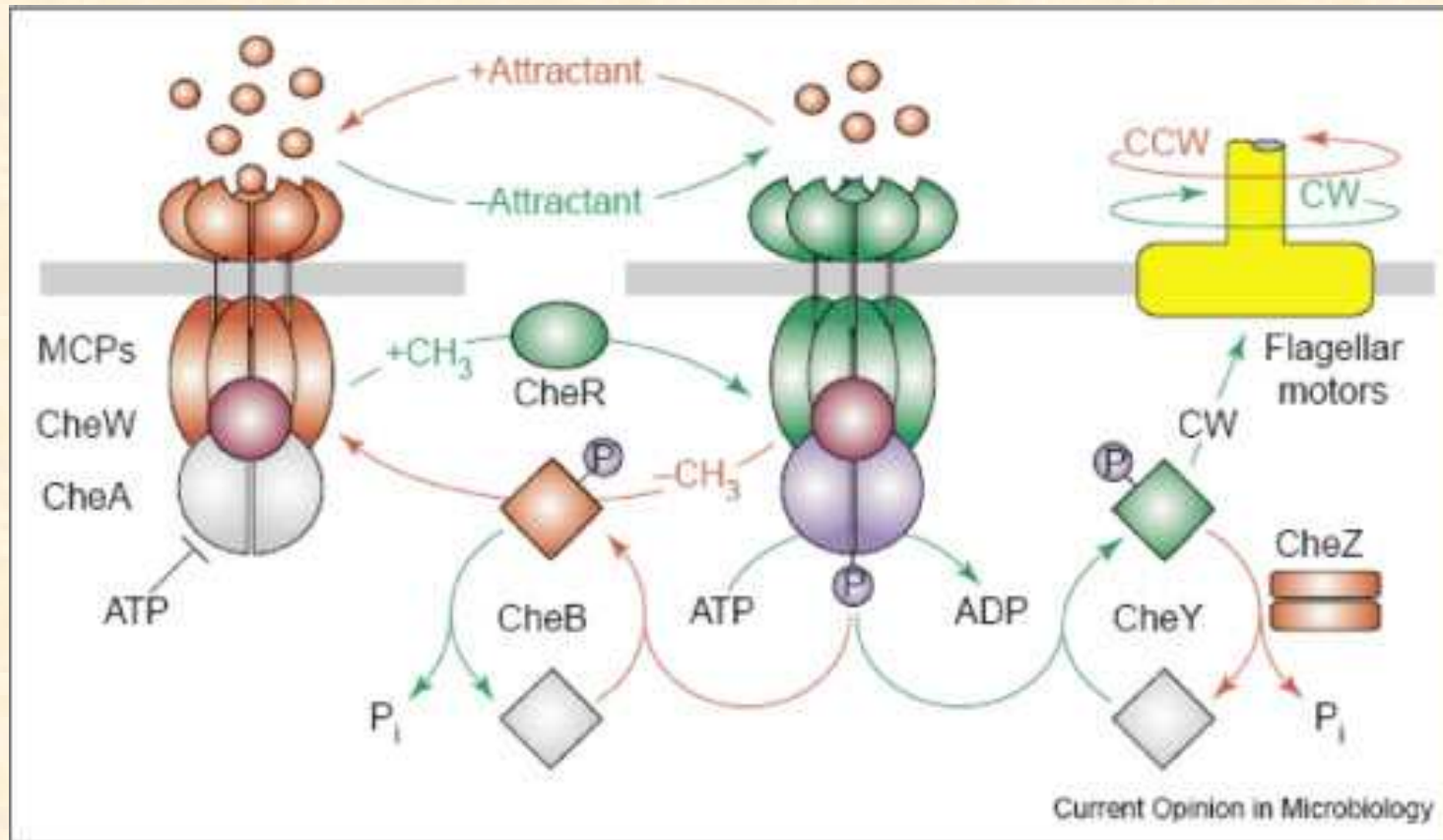
- Protein je řízen methylačním procesem
- Systém je vázán na CM
- vnitřní část proteinu v cytoplazmě, vnější částí ven
- Na vnitřní část proteinu (CheW) se váží enzymy cytosolu (proteiny CheE, CheA)
- na vnější se váže atraktant



- Protein **ChA** - schopen **autofosforylace** v případě, že na MCP není navázán atraktant
- Po vazbě atraktantu předává protein ChA fosfátovou skupinu proteinu CheB (methylesteráza)
- CheB enzym: demethylace MCP systému
- Protein CheB předává fosfátovou skupinu proteinu **CheY** – pohybuje se k bičíku, reakce jeho základn, následuje vrtivý pohyb bičíku (otáčení). Během 10s fosfát odstraněn pomocí CheZ



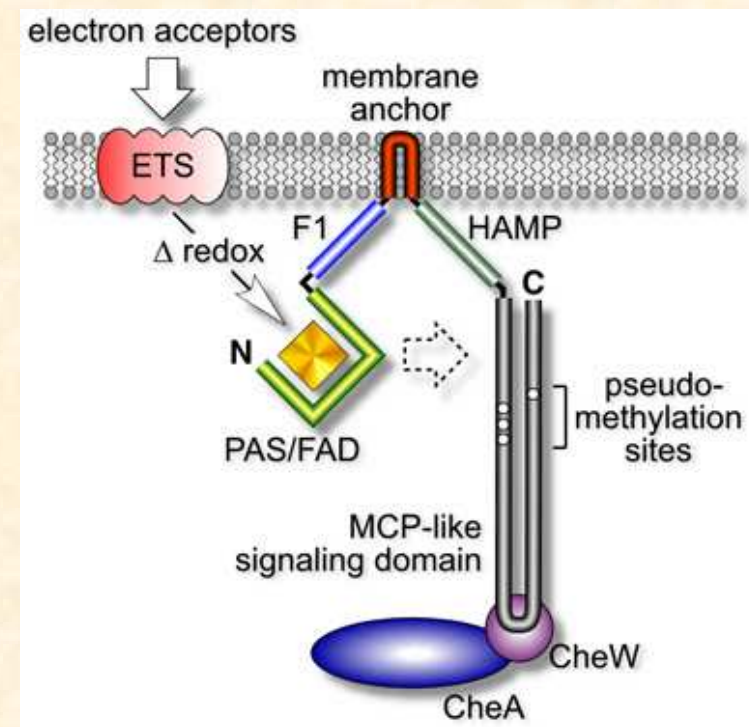
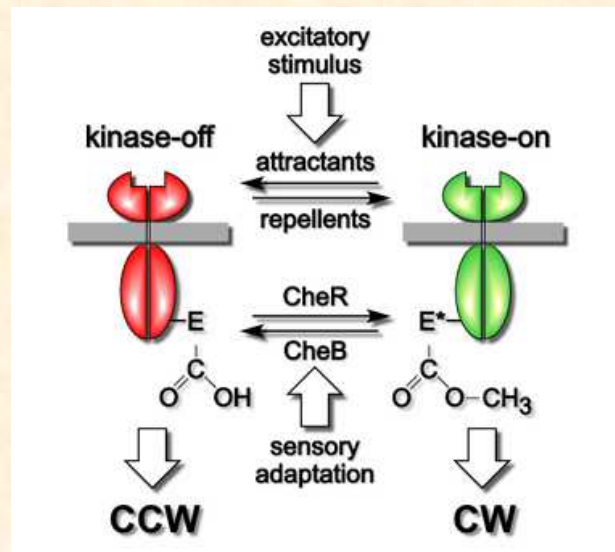
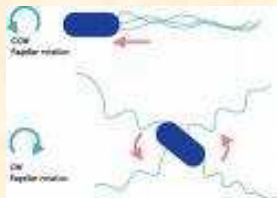
- Autofosforylace CheA bez atraktantu
- Jinak předání fosfátové skupiny a demethylace

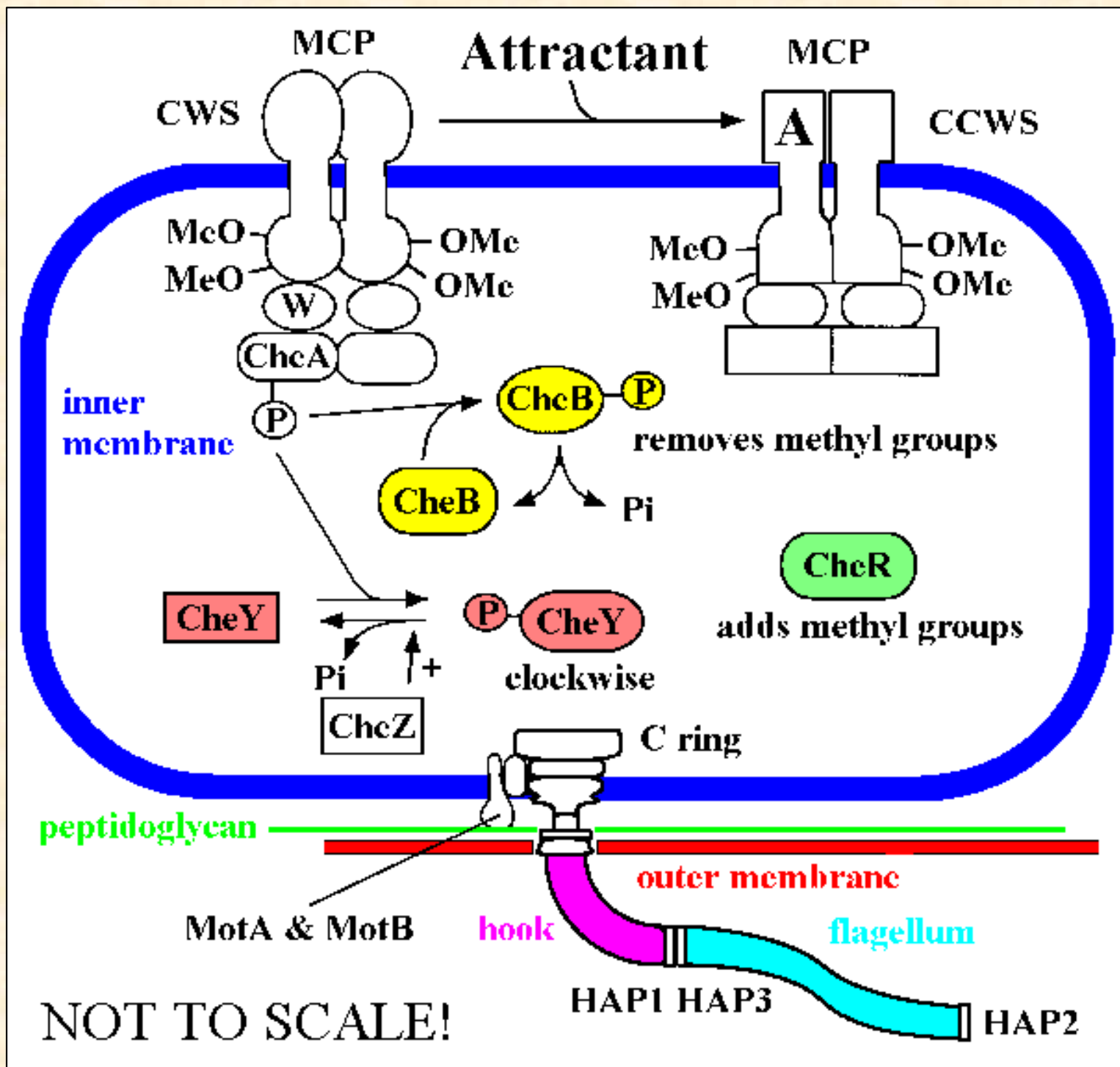


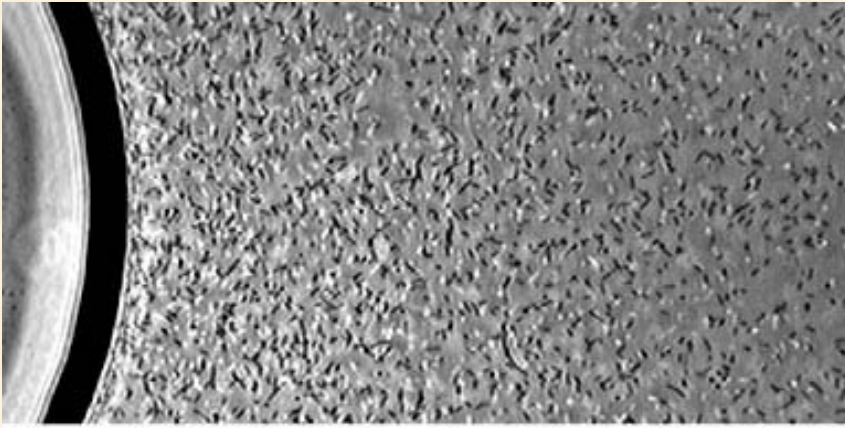
- MCP+atraktant je dobrým substrátem pro protein CheR, což je methyltransferáza
- Cytoplazmatická část má 4-5 methylačních míst – se zbytky kyseliny glutamové – ty jsou methylovány S-adenosylmethioninem
- methyluje tento komplex, navázaných 4 až 5 methylových skupin poté nestimuluje CheA k autofosforylaci = pohyb bičíku

- Odstraňování methylo - CheB
- Žádný pohyb nesmí trvat dlouho, pro správnou reakci musí buňka reagovat na aktuální podnět – krátkodobá paměť receptorů
- Pomocné látky pohybu – slizy, surfaktanty

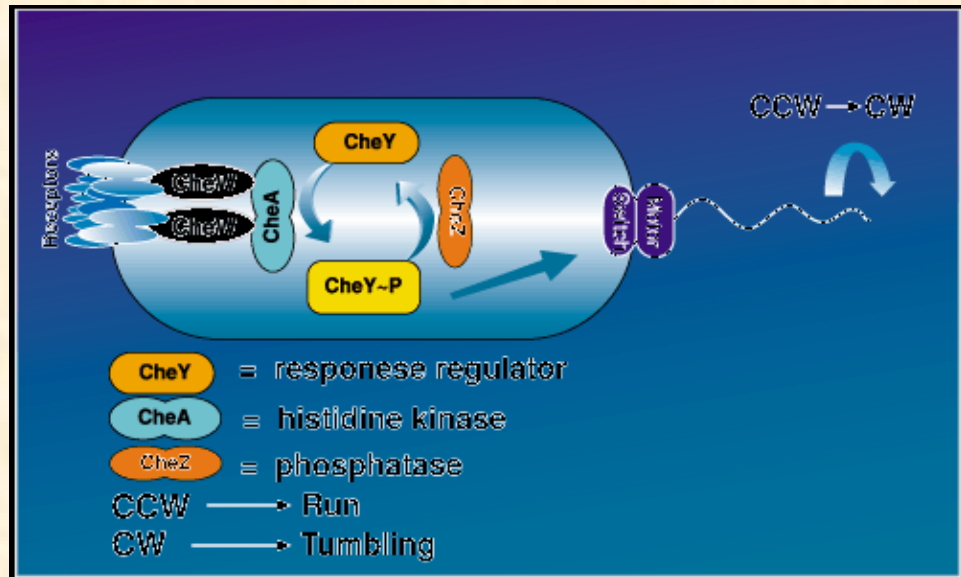
- Bez atraktantu – rovnovážný stav mezi CheA a CheY – střídání vrtivého a přímočarého pohybu

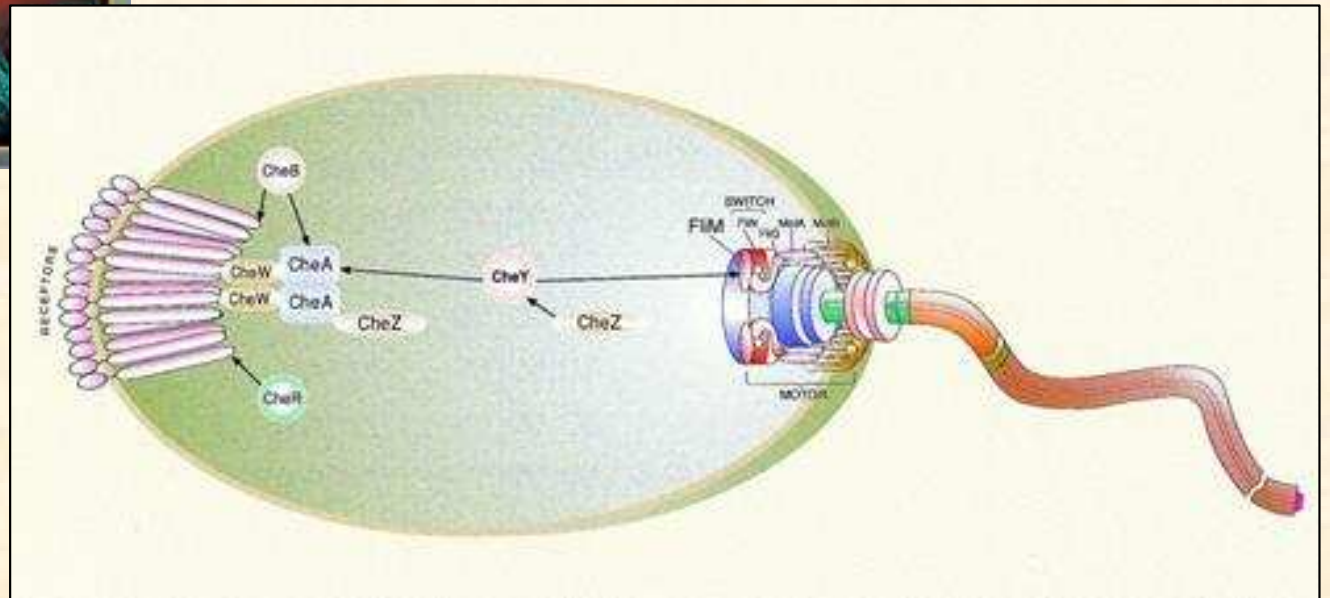
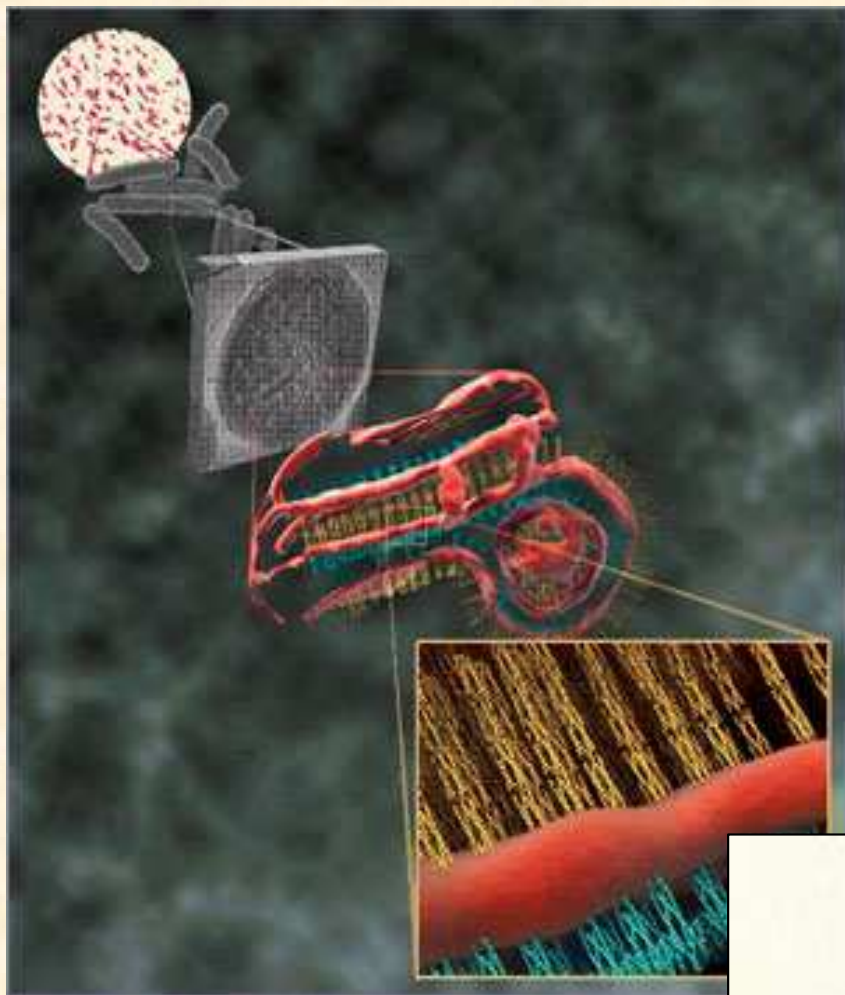


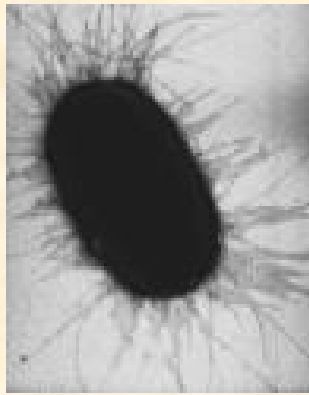




aerotaxe



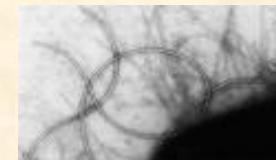




PILI - fimbrie



- slouží k přenosu DNA konjugací, k přichycení fágů, různě velké, typicky u G-
- struktura B.S
- křehké, lámavé, různé morfologické typy – mnoho druhů
- duté, vždy nepohyblivá trubička
- jen G-, několik set



- stavba:
- 3, 4 nebo 5 vláken stočených do spirály
- pilin - rodově i druhově specifický, lineární sekvence proteinových podjednotek
- rozměry:
- kratší než bičík, nejdelší je maximum podélné osy buňky, Ø2-8 nm, délka 0,1 – několik nm, 3-5 molekul
- na celém povrchu či jen na určité části buňky

- Hemaglutinace
 - a. inhibována manosou (MSHA)
 - b. neovlivněna (MRHA)

- **fce :**
- uchycení k povrchům (adheze k nenabitým povrchům: G- drží lépe na podložním sklíčku lehkou jemnou vazbou)
- kontakt bakteriofága
- twitching motility

I.

- kódované chromozomálně-specifická adherence
- specifická kolonizace u symbiontů, parazitů a patogenů (koregulace s tvorbou toxinu u *Vibrio cholerae* O1, *E.coli* – uropatogenní P pilus, adherentní fimbrie + enterotoxin *E. coli* – obojí kódováno plazmidem)

II.

- sex fimbrie - kódované konjugativním plazmidem u donora DNA – 1 ks, můstek pro plazmid (F pilus u *E.coli*, konjugativní plazmidy salmonel)

barvení : kys.fosfowolframová zachová podobu f.,
kys. osmičelová – f. ztlustí a zkrátí

- http://parts2.mit.edu/wiki/index.php/PROJECT_PROPOSAL
- <http://www.webcom.com/alexey/moviepage.html>
- www.bact.wisc.edu/.../structure.html
- www.arn.org/mm/mm_movies.htm -
animace, pohyb bičíku
- www.focosi.immunesisig.org/physibacteria.html
- www.sedin.org/mol_museum.html