

## Prokaryotická buňka Buněčné struktury

Buněčné struktury se dělí na dvě základní skupiny: nepostradatelné pro metabolismus a dělení buňky (NK, CPL, ribosomy, membránové struktury) a postradatelné: organely pohybu, kapsuly, inkluze; buněčnou stěnu nemají např. rickettsie a mykoplazmata.

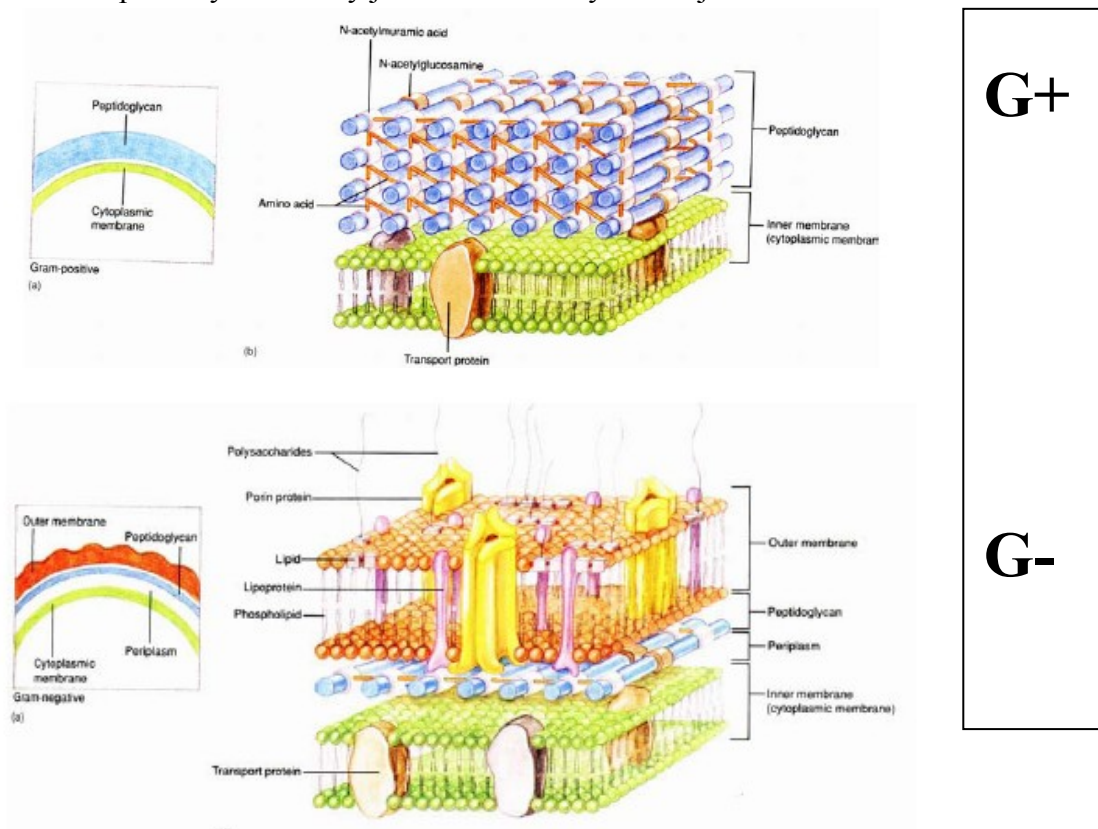
„Architektura“ buňky se liší v závislosti na prostředí a na životním cyklu. Strukturu podmiňuje genetická informace. Kódovaná genetická informace není přepisována vždy, buňka syntetizuje kódované struktury dle momentální potřeby. Základní charakteristiky prokaryotické buňky, které podmiňují syntézu a podobu vnitřních struktur:

- bakteriální buňka šetří energii (striktní regulační systémy pro maximum energie)
- množství syntetizovaných enzymů je charakteristické pro daný typ metabolismu (dle prostředí výskytu buněk, dle životního cyklu). Metabolické dráhy na plasmidech; dle dostupnosti a typu substrátu v prostředí: replikace plasmidu, zvýšení účinnosti transkripce, zvýšení počtu enzymů dané dráhy. Syntéza plasmidů energeticky náročná: po rozložení substrátu dochází i k rozložení plasmidů
- ekologická výhoda rychlosti buněčného dělení

### Cytoplasmatická membrána:

Funkce cytoplasmatické membrány nahrazují funkce organel četnými membránovými procesy. Vzhledem k neustálému kontaktu s prostředím je místem neustálé výměny hmoty, energie a informace. Invaginace membrány splňují úlohu organel - pseudoorganely (mezozomy, tylakoidy sinic, chromatofory).

V případě gram pozitivních bakterií je cytoplasmatická membrána pod buněčnou stěnou. Gramnegativní bakterie mají kromě cytoplasmatické membrány ještě vnější membránu. Mezi nimi je 2 nm tenká vrstva peptidoglykanu buněčné stěny a tím i dva periplazmatické prostory. G- buňky jsou tak chemicky odolnější.



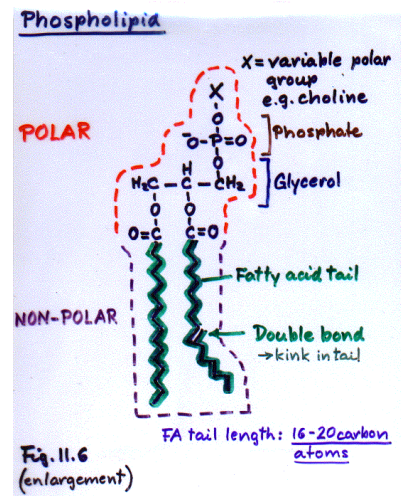
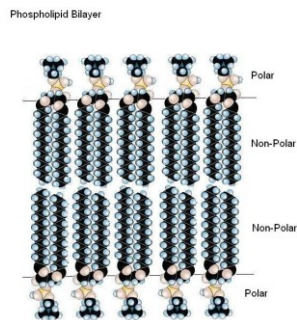
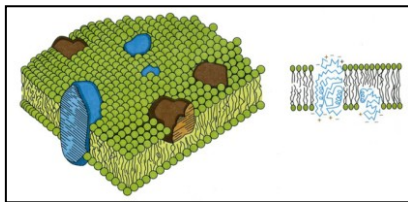
## Chemicky:

- Fluidní vrstva fosfolipidů, které automaticky tvoří dvojvrstvu (jednoduchý řetězec, esterová vazba, glyceroldiester). *Archea* – etherová vazba.

## Fosfolipid:

- 1) Fosfátová skupina vázaná na glycerol
- 2) 2 mastné kys.vázané na glycerol – 16-18C
  - nevětvené, nasycené
  - nenasyčené

### Fosfolipidová dvojvrstva



Fluidní mozaikový model, rotační a laterální pohyb PL a bílkovin, dielektrikum.

Hydrofobní lipidická složka – nepolární. Složení MK závisí na teplotě. Při nižší teplotě zajistí tekutost vyšší počet nenasycených nebo větvených (*Bacillus*) MK nebo cyklopropan.

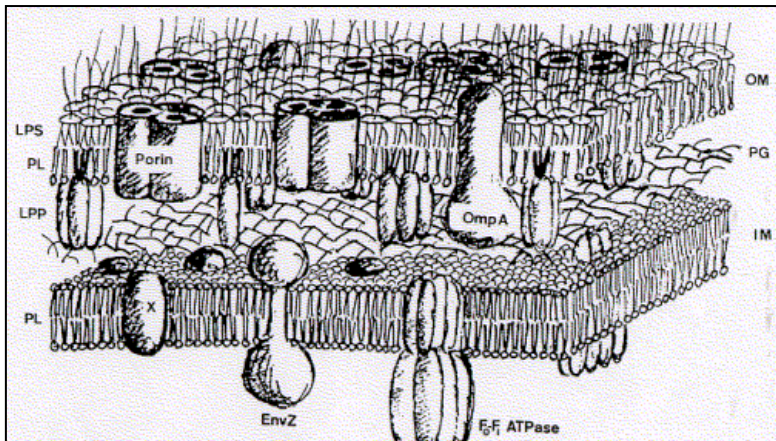
Negativní náboj fosfátové skupiny (vnějšího povrchu membrány)

**Vnořené bílkoviny** – mnoho proti Eucarya. Asymetrické uložení. Typy: poriny, receptory, enzymy, transportní proteiny. **1) Integrální, transmembránové (70%)** proteiny jsou těsně vázány hydrofobními vazbami a jsou tak uvolnitelné pouze organickými rozpouštědly, tenzidy. **2) Periferní (30%)** proteiny obvykle vázány na integrální elektrostatickými silami a vodíkovými můstky. Snadno oddělitelné. Glykoproteiny a glykolipidy orientovány sacharidovými řetězci vně membrány. Lipopolysacharidy membrán gramnegativních bakterií tak většinou vyčnívají sacharidovým řetězcem z vnější strany vnější membrány (antigenní složka) a lipoproteiny lipidickou částí do periplazmatického prostoru mezi vnější membránou a úzkou vrstvou peptidoglykanu. N- konec lipoproteinu kotven hydrofobními silami (Cystein + MK) do vnější membrány, kovalentně vázán v buněčné stěně.

**Bílkoviny** inkorporovány do membrány signální sekvencí, 3D struktura zaujmuta v membráně. Podle sekvencí aminokyselin v peptidu je určena jeho funkce. Podle afinity k lipidům jsou umístěny centrálně (70%) nebo periferně. Bílkoviny pevně vázané – enzymy (ATPáza, nukleáza, fosfatázy), transportéry, strukturální. Volné bílkoviny - fosfatázy

**Inducibilní složky membrány** existují, dokud existuje spouštěcí faktor syntézy. Bílkovinné spektrum proměnlivé.

Membránou obdány i některé typy inkluzí (glykogen, PHB, S, plyn. vakuoly, karboxyzomy).



G-

- fosfatidylglycerol – všechny bakterie
- fosfatidyletanolamin – G-
- fosfatidylcholin (lecitin) – u některých G-, ne u G+
- plasmalogeny – u některých anaerobů – glycerofosfolipidy s 1-alkenyl éterickou vazbou
- fosfolipidy - role chaperonů (*E. coli* – fosfatidyletanolamin – lacY)
- proteiny – větší procento než u eukaryotické b. – PBPs (syntéza peptidoglykanu, tvar buňky), ATP-áza, elektron-transportní řetězec

#### Model lipidické dvojvrstvy

- A space-filling representation of a lipid bilayer. This model was developed by H. Heller, M. Schaefer and K. Schulten. (H Heller, M Schaefer, & K Schulten, *Molecular dynamics simulation of a bilayer of 200 lipids in the gel and in the liquid-crystal phases*, J. Phys. Chem. 97:8343-60, 1993.)

#### Hopanoidy

- lipidy, které obsahuje asi 50% známých bakterií
- obdoba eukar. sterolů
- diploptene [hop-22(29)-ene] from a *Desulfovibrio* strain

- Bariéra propustná pouze pro vodu a napolární látky do 100 Da. Odděluje vnitřní a vnější prostředí buňky, jako polopropustná membrána obsahuje četné transportní proteiny a kanály (specifický a nespecifický transport – poriny OmpF, OmpC). 80% molekul přenášeno aktivním transportem. Protichemická obrana.

- Je místem reakcí, které neprobíhají v roztoku, tedy tvorby a transformace energie (ze světla, z energie redukovaných molekul, transformace v energii ATP nebo energii pro pohyb či transport), sídlem elektrontransportního systému. Místem fotosyntézy, dýchacího řetězce. Nahrazuje funkce mitochondrií: membránově vázané enzymy, sídlo ATPázy. Vektorový metabolismus: orientace multienzymového komplexu, díky něj poté koncentrační gradient.

- Je sídlem místa, od kterého začíná replikace chromozomu a plazmidů – replikátor = místo vazby NK (funkce jaderné membrány). Sídlo DNA – polymerázy.

- Periplazmatický prostor – enzymy. Transformace substrátu pro přijetí do buňky, dotváření buněčné stěny - glykosidázy, postranlační pochody. Esterázy, transferázy, transpeptidázy.

- Místem syntézy a hydrolýzy fosfolipidů

- Místem syntézy složek buněčné stěny, pouzdra.

#### Invaginace:

- Mezozomy – deriváty CM, viditelné po lehkém obarvení CM. Počet závisí na metabolické aktivitě. Sídla enzymů membrány – DNA polymeráza na 1-4 místech VM, lokalizace respiračního řetězce. Sídlo ATPázy, replikátoru. Mohou být vyplněny periplazmatickými bílkoviny. Zodpovědné za architekturu přepážky, ta vzniká mezi mezozomem a místem připojení chromozomu. Chemiosmotické jevy nitrifikačních bakterií

- chromatofory fototrofů - purpurových siřných bakterií, cylindrické vezikuly zelených bakterií a vícevrstevné tylakoidy *Cyanobacteria* (sinic)– bakteriochlorofyl a karotenoidy.

Fotosyntetizující: mezozomy i chromatofory.

Nefotosyntetizující: jen mezozomy

Náboj CM a b.s. je odlišný, ale proměnlivý v čase

Rychlost průniku látek membránou závisí na jejich velikosti a polaritě.

Adhezivní místa v b.s. - proti pohybu CM a b.s., *E.coli* cca 400, pro vazbu lipopolysacharidů a bílkovin, fágů. Díky adhezivním místům rychlý průchod látek z periplazmy do buňky.

V peptidoglykanu je vytvářen selektivní prostor díky tetrapeptidu a do vzniklých otvorů se vtlačí CM díky tlaku v buňce. Pro integritu jsou důležité ionty  $Mg^{2+}$  (vyvazuje je EDTA).

- Póry – průchod nepolárních látek. Bílkovinný supramolekulární komplex.
- porin – malá bílkovina, 3 a více řetězců. Na základě primární struktury naskládány do útvarů nebo spojeny. Není energeticky náročné.
  - Polyfunkční – vazba látek určitého typu, vazba virů, metabolismus
  - OmpF – pozitivně nabitě molekuly, OmpA (specif. interakce s LPS), OmpC (kanál pro malé molekuly a fágy), protein E – PhoE (selektivní transport aniontů, fosfátu)
  - LamB - s vyšší specifitou, rozeznává maltooligosaccharid

### Syntéza CM:

Nikoliv de novo, ale inzercí.

### Permeabilita membrány

- poměrně volně prostupují malé, nenabitě nebo hydrofobní molekuly ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$  – ne  $NH_4$ ) a voda
- ostatní – specifické mechanismy
- Msc channels – mechanosensitivní – reagují na zvýšení turgoru buňky zvětšením velikosti póru – adaptace na osmotický stres - MscL – *E. coli*
- MIP channel (major intrinsic protein)
  - ◆ **Aqp – aquaporiny – voda a nenabitě látky, 1 protein, u někt. bakterií, *E. coli* - AqpZ**
  - ◆ **Glp – transport glycerolu**
  - ◆ **nalezeny pouze u některých archeí**

### Vyjímky ve stavbě CM archeí:

Vzhledem k extrémním podmínkám výskytu se v jejich případě vyskytují některé výjimečnosti stavby membrány. Etherická vazba – glyceroldiether, tetraether

• Často monolayer – diglycerol tetraether

glycerolové jednotky na obou koncích MK = tvoří 1 vrstvu

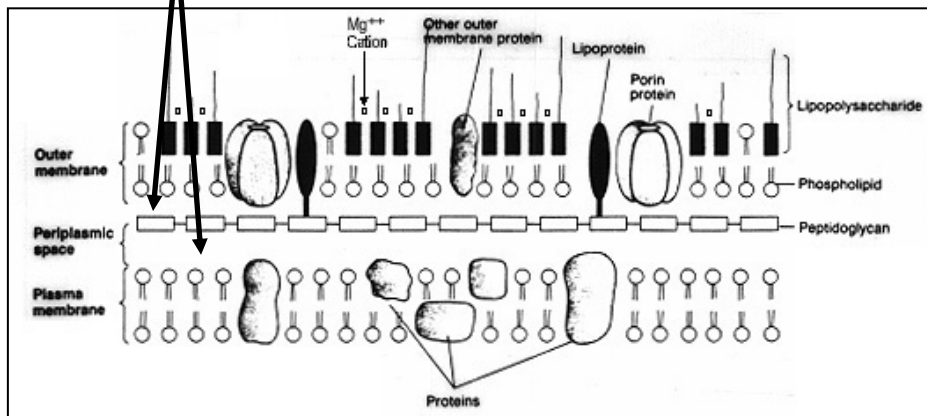
• Lepší přizpůsobení extrémům - monolayer rezistentnější k narušení teplem

### Vnější membrána gramnegativních bakterií:

Fosfolipidová dvojvrstva, vně ční LPS, dovnitř LP.

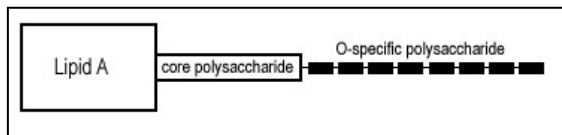
Bílkoviny konstitutivní: poriny OmpC, OmpF - F pily; OmpA (zakotvuje VM a PG, dále je receptorem F- pilusů); receptory fágů, proteázy.

Periplazmatické prostory pro enzymy (pro syntézu b.s., proteázy, peptidázy), u G- v obou prostorech enzymy (volné, ne ve váčcích oproti G+)



Vnější a vnitřní CM membrána se liší kvantitativními poměry fosfolipidů. Ve vnější membráně jich je méně a hlavně na vnitřní straně. Vně do prostředí ční lipopolysacharidy.

Lipopolysacharid (somat. antigen): **lipid A** (endotoxin) – **jádro** – specifický **cukerný zbytek**



- lipid A: P – Gln – Gln – P v hydrofobní vazbě na MK (fosfolipidy vnější membrány)
- jádro: společné pro příbuzné druhy, cca 10 monosacharidů
- specifický PS: až 100 monosacharidů, O-antigen
- strukturou (stericky) brání útoku protilátek
- dále zodpovědný za adhezi – lépe na inertních površích, nespécifické vazby na jiné bakterie (*E. coli* – pomocí 2mocných iontů nespécifická vazba mezi LPS a živočiš. tkání). Specifická vazba na lektin
- množství se může měnit

Lipoprotein – množství konstantní. S vnější membránou spojen hydrofobním N – koncem (lipofilní Cys), s PG spojen kovalentně, kotví tedy VM (stejně jako OmpA protein). 57 AMK  
LP : bílkoviny : LPS = 1 : 2 : 2

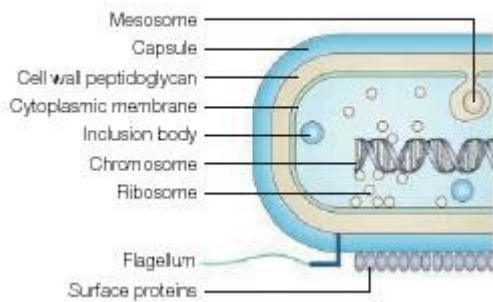
V jedné vrstvě fosfolipidů je ethanolamin.

Antigenní vlastnosti CM: LPS + bílkoviny

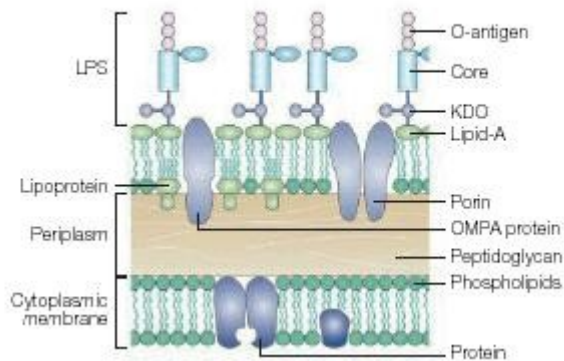
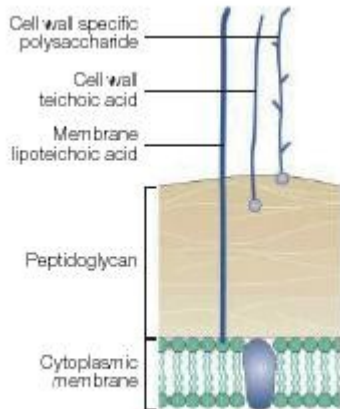
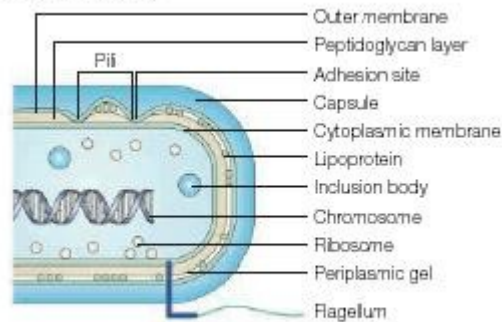
### Grampozitivní buňky:

Pouze jeden periplazmatický prostor, enzymy zde ve váčcích proti odplavení.

**a Gram positive**



**b Gram negative**



## Cytoplazma

Komplex látek cytosolu, s ultrastrukturou (objevena polarizovaným světlem), prostředí protoplastu. Gel. Má funkce organel – vakuoly, peroxisomů. Je pojítkem pro intermediáty metabolismu.

Cirkulace cytoplazmy – aktivní pohyb – až 1/3 vyprodukovaného ATP přijde na proudění CPL, které je větší než u eukaryotní buňky. Tento energetický výdaj je vyvážen vysokou rychlostí reakcí právě díky pohybu CPL.

Obsahuje více než 50% proteinů – hlavně enzymy glykolýzy, pentózového cyklu, glyoxalátového a Krebsova cyklu, dehydrogenázy, proteázy, nukleázy, esterázy. Dále obsahuje regulační molekuly cAMP, GTP.

Struktury mohou vymizet v době nepotřeby.

V nebarveném preparátu je buňka průhledná.

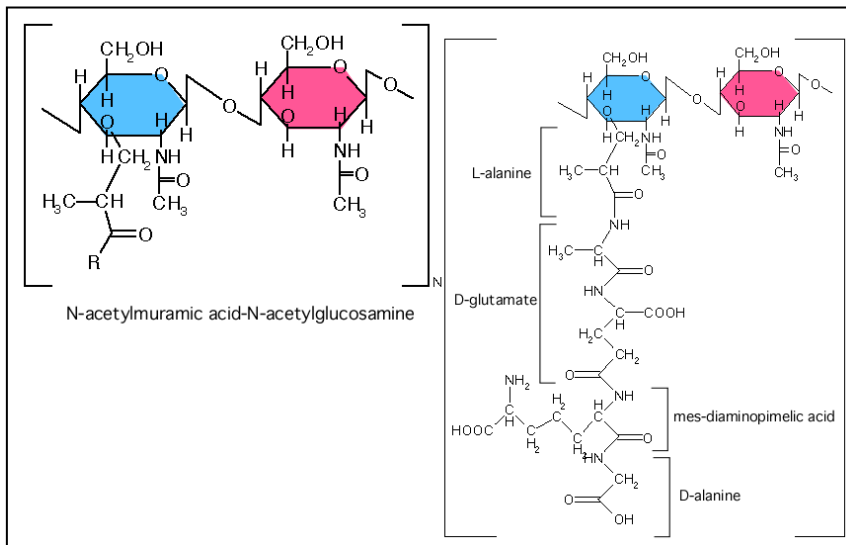
## Buněčná stěna

Není esenciální strukturou, ale nese ekologickou výhodu. Není u mykoplazmat, intracel.parazitů a některých archeí.

Funkce: skelet buňky, odolnost chemická, osmotická, proti vysychání a světlu, tlaku. Kompenzuje tlak 5 atm u G- a 25 atm u G+. Je polopropustná.

Je mohutným antigenním stimulans.

Chemická stavba:



### Peptidoglykan

**Glykan** – cukerná složka, glykany NAG + NAM

N-acetylglukózin+N-acetylmuramová k. spojeny  $\beta$ -1,4-glykosidickou vazbou. Kostra PG = opakování glykanů.

**Peptid** – na kys. N-acetylmuramové je tetrapeptid – L-ala – D-glu – R – D-ala

R = DAP – (pouze v b.s., taxonomický znak u aktinobakterií), LL DAP, meso DAP, L-lys, L-orn

**G+** :R = lysin větš., tetrapeptidy spojeny pentapeptidem

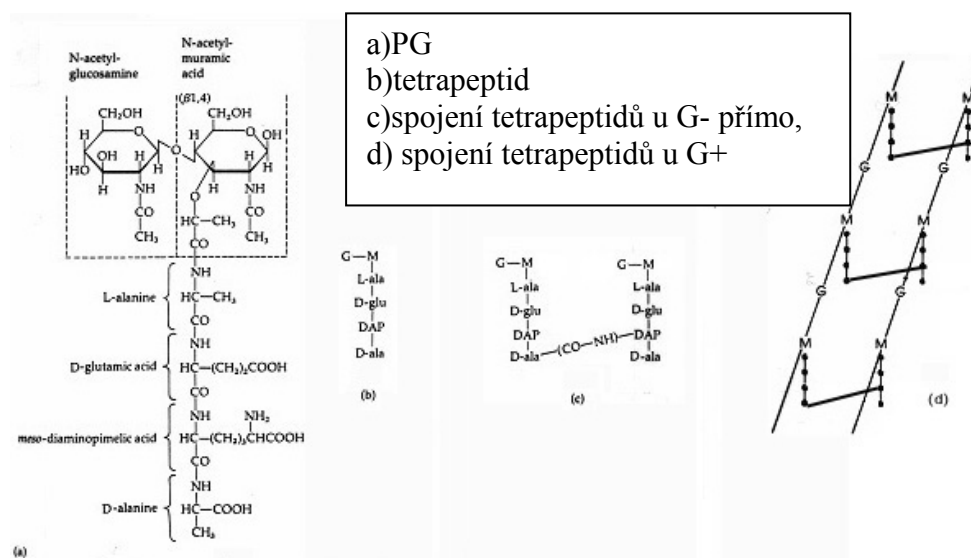
**G-** :vždy DAP a meso-DAP, tetrapeptidy spojeny přímo D-ala na DAP

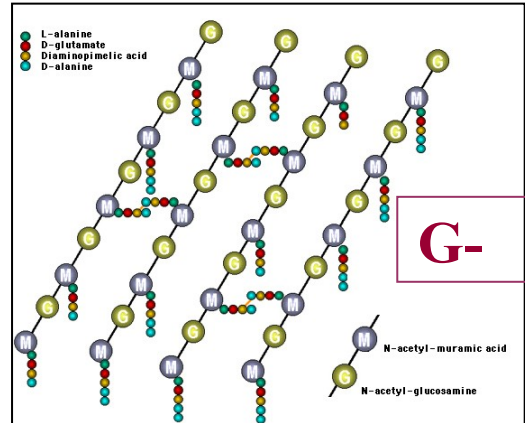
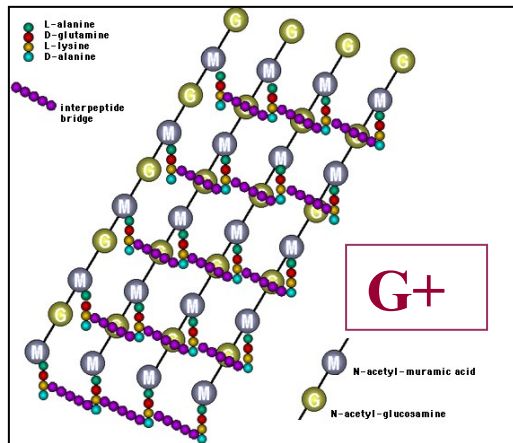
Struktura tetrapeptidu druhově specifická.

**Teichoové kyseliny** – polymery glycerol- a ribitolfosfátu s glykosidicky vázanými cukry.

**Lipidy** – jen u mykobakterií, nokardií, korynebakterií. Lipidy estericky vázány na PG, udělují jiné vlastnosti b.s.

**Bílkoviny** – kovalentně na povrchu, mikropouzdro nad sacharidovou vrstvou, antigenní vl.





- 40 nm PG

- 90% peptidoglykanu

- Mezi polymerem je voda

- Teikoové a teikuronové kyseliny – 10%  
- schopnost vazby protonů a iontů  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$

- Lugolův roztok fixuje barvivo,  
org.rozpouštědlo dehydratuje a barvivo  
vázáno, nedobarvují se

- 2 nm

- 10% PG

- 2  
periplazmatické  
prostory

### Význam struktury peptidoglykanu v taxonomii bakterií

- diaminopimelové kyseliny

- přítomny pouze v buněčné stěně – průkaz z celé buňky

- G- buněčná stěna jednotného charakteru, bez DAP nebo stopy meso-DAP

#### G+

- přítomnost či nepřítomnost DAP charakteristická

- např. nokardioformní aktinomycety, mykobakteria – meso-DAP

- streptomycety – LL-DAP

- *Micrococcaceae* – bez DAP, L-lysin

### Interpeptidový můstek peptidoglykanu

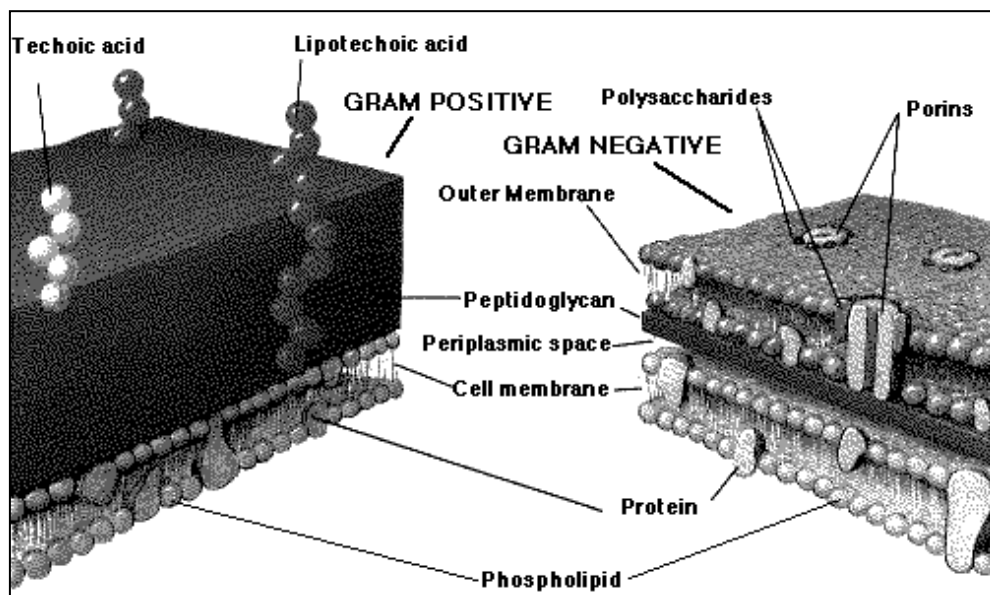
- *Micrococcaceae* – rodově, skupinově až druhově charakteristická struktura interpeptidového můstku

- *Micrococcus* – D-asparagová kyselina – A4a



- *Arthrobacter* – „globiformis“ group – A3a - L-amino kyseliny (L-alanin, L-treonin nebo L-serin)
- „nicotianae“ group - dikarboxylové aminokyseliny (glutamová nebo asparagová)
- I. Ser-Thr-Ala, *A. oxydans*, *A. polychromogenes*
- II. Ala-Thr-Ala, *A. aurescens*, *A. ilicis*, *A. ureafaciens*, *A. histidinovorans*, *A. nicotinovorans*
- III. Ala1-4, *A. globiformis*, *A. pascens*, *A. ramosus*, *A. crystallopoietes*
- IV. Ser-Ala2-3, *A. atrocyaneus*
- V. Thr-Ala2, *A. citreus*
- VI. Ala-Glu, *A. nicotianae*, *A. creatinolyticus*, *A. uratoxydans*, *A. protophormiae*
- VII. Glu, *A. sulfureus*

Enzym lysozym hydrolyzuje  $\beta$  - 1,4- glykosidickou vazbu; penicilin blokuje syntézu buněčné stěny – transpeptidázovou reakci (spojení D-ala a DAP v tetrapeptidu). Vznikají sféroplasty. Pokud se tyto i množí = stabilní L-formy.



Glykosidická vazba je velice pevná a mechanicky odolná. Rozbití – ultrazvukem, chemicky, tepelně.

Teichoové kyseliny vycházejí z CM přes buněčnou stěnu, mají Ag vlastnosti. Řetězců je několik 1000. Spolu s tetrapeptidem působí proti skluzu vrstev. Jsou provlečeny oky PG. Mají 45 typů - podle jejich určení se bakterie chemotaxonomicky řadí do druhů. Typy – glycerolteichoové, ribitolteichoové kys. Při snížení obsahu fosfátů v prostředí nahrazeny teikuronovými kyselinami.

Barvení buněčné stěny

FAME profil – char.pro jednotlivé rody, druhy až kmeny, závislý na kultivaci

peptidoglykan neobsahují chlamydie

### Peptidoglykan a pseudopeptidoglykan

#### peptidoglykan

N-acetylmuramová kys.

N-acetylglukózamin

$\beta$  - 1,4 glykos. vazba

#### pseudopeptidoglykan

N-acetylalosamino- uronová kys.

L-aminokyseliny

místo D  
b - 1,3 vazba

Ztráta buněčné stěny: blokem syntézy základních stavebních kamenů vně membránu nebo blokem stavby buněčné stěny vzniká protoplast - kulatý útvar v hypertonickém prostředí Př. 3M sacharóza (CM je polotuhá). V izotonickém prostředí není dostatečný tlak na membránu, buňka však vydrží díky transportu cukrů, AMK, iontů vně.

První protoplasty byly získány u druhu *Bacillus licheniformis*. Protoplast se nikdy nemnoží, ale roste. Protoplast nemá b.s. Pro start buněčného cyklu musí být signál z buněčné stěny. Protoplast může mít vyšší nebo stejnou metabolickou aktivitu

Sféroplast popsán poprvé u rodu *Bacillus*. Má necelou 1/3 b.s., kdy může být přítomen signál pro stavbu b.s. I sféroplast má rychlejší metabolismus. Reverze je jednoduchá, odstraněním bloku syntézy b.s. U řady bacilů je sféroplast geneticky kódovaný = stabilní L-formy = fixovaný sféroplast. Po vysetí na Petriho misku tvoří specifický útvar – jakoby vakuolizované části kolonie, s voštinatou strukturou (buňka vypadá jako včelí plástve, geneticky kódovaná mutace). Od nich dále reverze, okolí těchto buněk již klasický vzhled. Pro udržení L-formy nutno přeočkovat jehlou z místa pravých sféroplastů.

Systém u pneumokoků Pplo – pleuropneumonia-like organisms. Mají méně než 1/3 buněčné stěny, ale jsou schopny růstu. Zásah ATB složitý – jen těch, co nepůsobí právě na b.s.

Působení ATB na b.s.: 1) blok syntézy prekurzorů, 2) blok přenosu prekurzorů b.s. přes CM lipofilním přenašečem, 3) blok transferu prekurzorů do PG (vankomycin) 4) inhibice regenerace přenašeče C55 lipidu – defosforylací (bacitracin) 5) blok spojení tetrapeptidů, které původně pentapeptidem (odštěpení Ala z koncového dipeptidu D-ala – D-ala)

Vyjimky ve stavbě buněčné stěny: acidorezistentní bakterie, mykoplasmata, archea

### Acidorezistence:

#### Buněčná stěna:

•Obsah lipidických látek – hl.mykolové kyseliny (3-OH mastné kyseliny s dlouhým C řetězcem na pozici 2). Délka řetězce specifická.

•Př: mykobakterie, nokardioformní aktinomycety, korynebakterie

•Mykolyl-arabinogalaktan tvoří lipidickou bariéru – brání penetraci kyseliny

•Odbarvování 1)kyselým alkoholem (striktní)

2)slabou kyselinou (2.stupeň)

#### Ziehl – Neelsenovo barvení

- tepelně fixovaný preparát
- převrstvit Ziehl – Neelsenovým karbolfuchsinem (koncentrovaným)
- zahřívát do výstupu par 3-5 min
- oplachovat kyselým alkoholem max. 15 sec
- dobarvit metylenovou modří
- opláchnout vodou

Modifikace acidorezistentního barvení (částečně a slabě acidorezistentní bakterie)

- kyselý alkohol je nahrazen 1% kyselinou chlorovodíkovou

### Mycobacterium:

acidorezistence 1. stupně – po 1. obarvení bazickým barvivem (fuchsin) se již neodbarví kyselinou ani alkoholem

- Mykolové kyseliny s 60-90C
  - rezistence vůči pronikání barviv, ATB, vysychání, fagocytóze
- Barvení za horka – lipidy nepropouští barvivo, a nepravidelně (nerovnoměrně)
- Gramovo barvení – vůbec nebo špatně
- Peptidoglykan:
  - amidické skupiny na glutamátu i na meso-DAP, opakování peptidických podjednotek
  - přítomnost 2 typů mezopeptidového spojení (D-ala + meso-DAP, meso-DAP + DAP – 70%, pouze zde)
  - N-glykolylmuramová kyselina místo N-acetylmuramové
- Hydrofobní buněčná stěna
  - problém s transportem Fe (siderofory – chelatizují Fe)
  - exocheliny – extracelulární
  - mykobaktiny – uvnitř buňky
- Pomalý růst – 3-9 týdnů
  - zpomalení transportu přes hydrofobní povrch
  - RNA-pol – nižší reakční rychlost, (pomalejší syntéza RNA)
  - nízký poměr RNA/DNA – pomalejší syntéza proteinů
- Metabolismus
  - Využívání různých typů uhlovodíků (halogenované, degradace polutantů)
  - Růst na CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O
  - Produkce karotenoidních pigmentů
    - bez nich – TBC
    - fotochromogenní – jen na světle (M. kansasii)
      - skotochromogenní – M. gordonae (pigment i ve tmě)

## Ribosomy

Supramolekulární komplexy nukleových kyselin (rRNA, mRNA, tRNA) ne-histonových bílkovin spojených pomocí iontů. Spojení nevyžaduje energii. Počet: závisí na růstové rychlosti, rozmezí 100 – 30 000, i 70 000. Závislost na koncentraci Mg<sup>2+</sup> iontů. Pro bazální metabolismus je nutný minimální počet ribozomů. Tvoří 40% hmotnosti sušiny buňky a 80% celkové RNA, jejich proteiny jsou většinou proteiny při analýze bakt. proteomu.

Umístění v buňce: vždy volné a to ze 60% u jádra a ze 30% u CM (translace proteinů pro transport a strukturních proteinů pro CM - )

Podjednotky: malá (16S + 21 mlk bílkovin, 1540 nukleotidů) a velká (5S + 23S a 34 mlk bílkovin, 2900 nukleotidů).

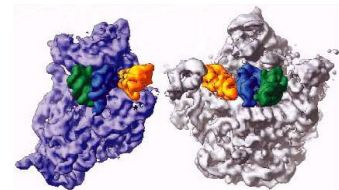
S... Svedbergovy jednotky sedimentace.

Součet 50+30S = 70S souvisí s konformací.

Obě podjednotky mají charakteristický tvar – zjištěný podle řezů. Podjednotky spojeny pouze při translaci; v buňce je tedy v každém okamžiku směs ribosomů s podjednotkami spojenými (15%) a oddělenými (15%) s ribosomy tvořícími spojený komplex s mRNA (70%).

Aktivní ribozom je tvořen oběma podjednotkami, mRNA, iniciačním faktorem IF a limitujícím faktorem Mg<sup>2+</sup> iontů. Spojení jednotek závisí na metabolismu a koncentraci Mg<sup>2+</sup> iontů.

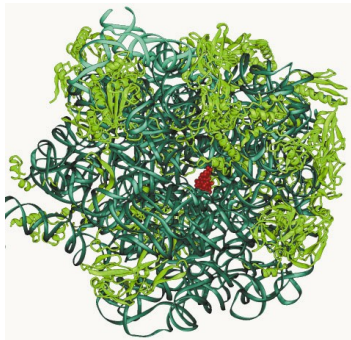
Iniciační komplex: 30S+50S+mRNA+GTP+IF+tRNA<sup>fMet</sup> + kodon



Rozpad: stopkodon a terminační faktor nebo snížení koncentrace  $Mg^{2+}$  iontů (možnost rozložit komplex mimo zásah z vnějšku, oproti jiným supramolekulárním komplexům).

Setkání mRNA a aktivované aminokyseliny, nasednutí polyribozomu (na jedné mRNA více ribozomů cca po 10 – 20 kodonech, jejich vzdálenost klesá se vzrůstající rychlostí proteosyntézy). Vysoká rychlost proteosyntézy např. při využívání substrátu – syntéza množství enzymů zrychluje využití substrátu. Afinity ribozomu ovlivňuje frekvenci nasednutí na mRNA. Zvyšuje rychlost proteosyntézy. Přenos peptidů přes CM v primární struktuře, konec řetězce umožní průchod. Postranlační úpavy nascentní bílkoviny mimo protoplast - v periplazmě nebo za buněčnou stěnou.

Látky ovlivňující činnost ribozomu: antibiotika (streptomycin, tetracyklin, chloramfenikol, erytromycin) působící selektivně na ribozomy prokaryotické buňky vzhledem k odlišné stavbě ribozomu od buňky eukaryotické. Jiné působení na ribozomy archeí a bakterií. U archeí je – větší rezistence na Kan a Ery. Antibiotikum působící na velkou podjednotku: chloramfenikol – váže se na místo pro enzym peptidyltransferázu blízko skupiny akceptoru tRNA; clindamycin – interferuje se substrátem a fyzicky brání narůstání peptidického řetězce. Makrolidy erythromycin, clarithromycin and roxithromycin se váží do místa výstupu nascentních proteinů a blokují tak jejich přenos. Je zajímavé, že ani jedno z těchto antibiotik neovlivňuje velkou podjednotku ribozomů bakterie *Haloarcula marismortui*.



Umístění erytromycinu (červený) ve velké podjednotce ribozomu.  
RNA – tmavě zelená.  
Proteiny – světle zelená.

## Genetická informace

- Chromozom
- Plazmidy – (integrované = epizomy)
- Transpozony, IS
- Bakteriofágy

••Přenos – transformace, konjugace, transdukce

### Bakteriální chromozom:

Nukleoid:  $M_r = 2,5 \cdot 10^9$ , průměrně  $4 \cdot 10^6$  nukleotidů (*E. coli*)  
Nukleoid = protaminy + nukleové kyseliny + dvojmocné kationty

Ultrastruktura bakt. jádra – smyčky – u *E. coli* asi 50 – stericky usnadňují práci enzymům, urychlení enzymatických reakcí.. Velikost smyček je různá a počet závisí na druhu. Smyčky – transkripce. Replikace – rozpletení.

Start replikace může předbíhat oddělení buněk – ekologická výhoda – v jedné buňce může být start např. čtyř buněk..

Prokaryota vždy haploidní – 1 alela.

- Zpravidla cirkulární DNA  
(lineární – *Borrelia*, *Streptomyces*, *Coxiella*;  
2 oddělené chromozomy – *Rhodobacter sphaeroides*)
  - Průměr:  $5 \cdot 10^{-15}$  g DNA
  - 0.58 Mbp *Mycoplasma genitalium*
  - 4.4 Mbp *Mycobacterium tuberculosis* *E. coli*
  - Vazba na CM – mezozomy, dělení
  - Replikace předchází dělení buňky – dělení buňky je delší proces
  - Histon-like proteins – 4 druhy protaminů – zřejmě přibližují úseky NK; působí při iniciaci replikace. Př: HU dimer, gyrázy, methylázy, reparační enzymy, enzymy replikace, transkripce; regulátory
  - G+C obsah (melting point):  
28% (*Clostridium*) - 72% (*Sarcina*).
  - Frekvence mutace
  - NCBI – databáze sekvenovaných genomů
- Pojmy: superhelicita, číslo vinutí, iontová síla, topoizomerázy

Funkční úseky: 4 400 genů – asi 100 genů pro RNA, zbytek pro proteiny. Nejvíce genů pro intermed.metabolismus (hl. degradace). Dále pro syntézu a modifikaci makromolekul, transport.

Plasticita bakteriální buňky spočívá ve změně enzymatické výbavy na úrovni jednoho kroku – regulací frekvence iniciace transkripce (probíhá v intervalech). Rychlost zahájení transkripce již regulována není.

**Plazmidy: doplňková genet. informace:**

Autonomní replikon.

Získán konjugací, transdukcí a transformací (chemickou, elektrotransformací) kompatibilních buněk

F-plazmidy (fertilní)

Rezistence, - ATB, těžké kovy ( $Hg^{2+}$  redukována na  $Hg^0$  – nerozpustné ve vodě, eflux Cd, Ag, Sd, As, Bi, Pb...), UV

Metabolické dráhy (bioremediace), degradace a oxidace inertních a tox.látek

Přenos konjugací, transformací

Bakteriociny (ne- i konjugativní) – bílkoviny působící na příbuzné druhy (s receptory)

Kódování faktorů virulence: adheziny, toxiny

hemolyziny, enterotoxiny

Ti –tumorindukující plazmidy

Restriktivně modifikační systémy

Kryptické, fazmidy, kosmidy

•5-10% informace genomu

•Genetické inženýrství - vektory

## Inkluze

**Svým charakteristickým vzhledem uvnitř buněk napomáhají identifikaci – zde si všímáme barvitelnosti těchto struktur či jejich pozorování bez barvení**

- V cytoplazmě v podobě **granul** nebo **kapének** [hl. starších buněk!](#)
- Obsahují: **zásobní látky** nebo **produkty metabolismu** nebo uložení **nepotřebné látky** z vnějšku a prozatím bez funkce. [kvasinky a stafylokoky hromadí vitamíny!](#)
- Tvorba závisí na povaze prostředí a metabolismu buňky
- **Bez membrány** nebo **s membránou** – není to dvojvrstva fosfolipidů [není biologická!](#)  
Je jednovrstevná, tvořená bílkovinou + lipidem nebo bílkovinou + polysacharidem.
- Při produkci rekombinantních proteinů poskytují inkluze možnost „zabalení“ a stabilizace těchto proteinů (ochrana před proteázami), dále možnost jejich nahromadění (jsou v jednom klubičku - usnadnění následné purifikace a navíc jsou izolovány od rozpustných proteinů cytoplazmy)

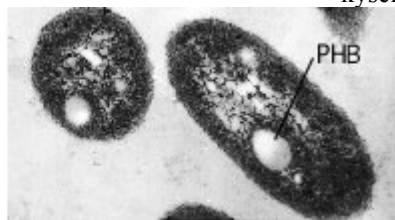
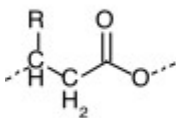
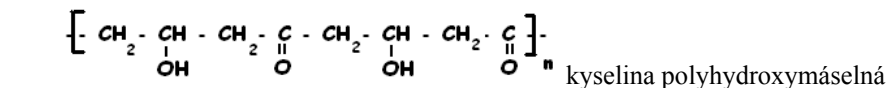
### **a) obdané membránou – 1 vrstva fosfolipidů (až na plyn.vakuoly)**

**Glykogen** - 160 – 300 nm, rozpustný polymer glukózy s  $\alpha$ -1,4-vazbami a  $\alpha$ -1,6 větvením na každém 8-10tém monomeru. Může tvořit až 50% sušiny. Ve světelném mikroskopu není viditelný. Může a nemusí mít membránu. Barvení lugolovým roztokem. Počet: 1-10. Bakteriální glykogen je silně větvený. Slouží jako pohotová rezerva.

[Nachází se především v buňkách bacilů a enterobakterií!](#)

**PHB** – kyselina polyhydroxymásečná – viditelná ve světelném mikroskopu, může tvořit až 60% sušiny. Je to odpadní produkt metabolismu uhlíkatých látek a vhodný rezervní materiál. Vyskytuje se u aerobů: *Bacillus*, *Pseudomonas* a u anaerobních fototrofů.

[Je neutrální – COOH skupiny jsou vzájemně estericky vázané!](#)



*Rhodobacter sphaeroides*  
Samuel Kaplan, University of California-San Diego

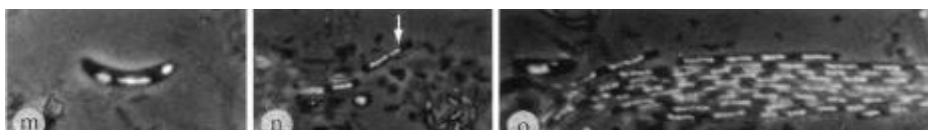
Uvedené dvě skupiny látek jsou osmoticky a iontově neaktivní, vyskytují se v buňce při nadbytku zdrojů uhlíku a nedostatku zdrojů dusíku

**Síra** – viditelné kapénky amorfni síry se vyskytují ve skupině chemolitotrofních sírných bakterií schopných oxidace redukováných sírných sloučenin (sirovodíku, thiosulfátu), je tedy pro ně zdrojem energie. Dále se vyskytuje u fototrofních sírných bakterií – zelených a purpurových. Pro ně již není zdrojem energie (tyto přijímají energii transformací slunečního záření), ale zdrojem elektronů v procesu fotosyntézy. Oxidace sirovodíku primárně poskytuje elementární síru. Když je sirovodík vyčerpán, síra je následně oxidována na sulfát.



*Thiomargarita namibiensis* – globule síry  
Max Planck Institute for Marine Microbiology,  
Bremen, Germany

**Plynové vakuoly** – cylindrické aerosomy (45 – 200 nm) nadlehčují sinice a planktonní bakterie (cca u 50ti rodů bakterií; purpurové a zelené sirmé a halofilní Archea) plyny vznikajícími při metabolismu - podle jeho intenzity buňka množství plynu reguluje, čímž reguluje i svůj vertikální pohyb. U Archeí například napomáhají pohybu ve vodě s extrémní salinitou. Množství plynu také závisí na teplotě a viskozitě. Membrána je z jedné vrstvy bílkovin, nepropustná pro vodu. Tato rigidní struktura však může při kritickém tlaku prasknout. Šířka vakuolky je geneticky determinovaná (v r.1994 známo 14 genů)



Plynové vakuoly  
Clark, Walsby 1979

**Karboxizómy** – protáhlé polyhedrické cisterny usnadňující fixaci CO<sub>2</sub>, uvnitř enzymy Calvinova cyklu (včetně prvního: RuBisCo), syntéza hexóz v cytoplazmě všech sinic a některých chemolitotrofů. Za vhodných podmínek je vyšší počet (1-10), nedělí se.

**Chlorobiové váčky** – zásobárny pigmentů – bakteriochlorofyl a karotenoidy. Jen zásobárna, nikoli reakce a vazba světla. Přenášeny do chromatoforů, kde vlastní fotosyntéza. Počet: 2-10

**Magnetosomy** – krystaly oxidu železnato – železitého (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) vytvářející permanentní magnetický dipól a dovolující orientaci v magnetickém poli = **magnetotaxe**. Většina bakterií s magnetosomy jsou vodní organismy citlivé ke kyslíku; tyto částice jim napomáhají klesání v gradientu kyslíku ve vodním sloupci. Obaleny speciální membránou umožňující precipitaci Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

## b) bez membrány

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

**Polyfosfátová granula** – volutin. Akumulace se děje z toho důvodu, že v prostředí je častý nedostatek fosfátu (limitující živina). Je dobře viditelný pod mikroskopem.

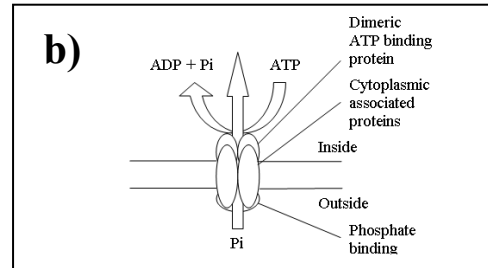
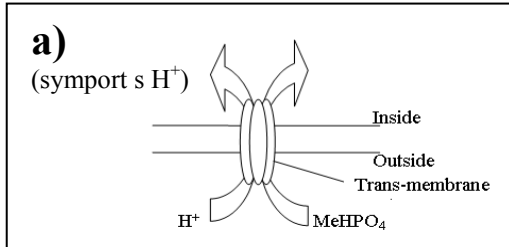
Vysoký počet polyP je v době před přechodem do klid. stadia (známka sporulace).

Slouží jako: rezervoár fosforu, alternativní zdroj P (namísto ATP) při fosforylaci cukrů při jejich katabolismu, chelatační činidlo divalentních iontů, jako pufr při alkalickém stresu a jako regulátor při odpovědích na stres

Transport fosfátu do buňky se děje hlavně těmito dvěma mechanismy:

a) nespecifický transport s nízkou afinitou (konstitutivně exprimovaný transportér)

b) specifický přenašeč s vysokou afinitou pro fosfát: prim. transport  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  a  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Komplex polyP vzniká za silné energetické dotace při nadbytku ATP (možnost uložení přebytku energie ve formě P). Až 500 molekul, nerozpustný ve vodě, vazba vyžaduje ATP. PolyP není nikdy zdrojem energie, jen fosforu. Počet: 1 – mnoho, podle metabolismu.



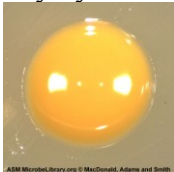
### Krystaly – produkty metabolismu (oxalacetát)

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

Rozvoj využití inkluzí (s obsahem enzymů) v suspenzi jako katalyzátorů v průmyslu a biotechnologiích – použití „surových inkluzí“ bez refoldingu proteinů, tedy v jejich nerozpustné formě. Aktivita enzymů je v nich vysoká! Inkluze jsou snadno odstranitelné po skončení reakce – centrifugací. Výhoda: vysoký obsah proteinů; možnost agregace i rekombinantních proteinů (enzymů) bez jejich inaktivace.

### Pigmenty – endo- a exopigmenty

Různobarevné produkty primárního i sekundárního metabolismu (podle funkce) produkované v závislosti na stanovišti. Funkce může být metabolická (při fotosyntéze) nebo protektivní (absorbce UV záření, pufrý při ničení kyslíkatých radikálů – to je důležité např. u patogenů: fagocyty na ně nemohou toliko působit např. peroxidem vodíku! Př: karotenoidy *Streptococcus B* – závažný původce pneumonií a meningitid u novorozenců; zlatý karotenoid *Staphylococcus aureus* opět brání proti oxidačním reakcím imunitního systému) či má jiný ekologický význam (inhibiční antibiotické účinky exopigmentů).



pigment *Staphylococcus aureus*

Pokud jsou pigmenty produktem primárního metabolismu – jsou bezpodmínečné potřeby (bakteriochlorofyl, karotenoidy). Pokud slouží protektivně, jsou syntetizovány až v rámci sekundárního metabolismu. Lokalizace pigmentů je tedy podle jejich úlohy: v cytoplazmě, v membráně u fototrofů, v periplazmatickém prostoru, v buněčné stěně u kvasinek, jako exopigmenty – ekologický význam (inhibiční agens, ATB).

Řada pigmentů vzniká nadprodukcí látek. Například kolonie *Azotobacteria* na manitolové půdě po týdnu zprostředka zčernají – na základě nadprodukcce tryptofanu

Nejčastější jsou endopigmenty karotenoidy.

Bakteriochlorofyly a,b,c,d se vyskytují v buňkách sídlících v anaerobním prostředí (fotosyntéza u bakterií je anoxická!)



Prodigiozin – extracelulární, mikrobicidní účinek – bakterie a plísně  
Fenaziny – extracelulární, sek. metab., mikrobicidní účinek – bakterie a plísně (*Erwinia*)  
Melaniny – hnědé, černé, tmavě červené. Produkty sekundárního metabolismu, nadprodukci aromatických kyselin – tyrosin (*Azotobacter*). V závislosti na době kultivace.  
Anthokyaniny – sek. metab., barva závisí na pH, u 5 druhů bakterií  
Př: *Micrococcus flavocianus* – žlutý endopigment a fialový exopigment. Na MPA jen žlutý endop. Na glukozóvé kvasničném agaru – oba pigmenty.

### **Struktury vně buněčné stěny**

Fce: ochrana před fagocytózou, protilátkami, před vysycháním, detergenty. Vazba na povrch předmětů, tvorba biofilmu

Pouzdro = kapsula  
= S vrstva z bílkovin  
= sliz (slouží i k pohybu, silně hydratovaná vrstva, antigenní vlastnosti, adheze)  
= polysacharidové povrchy

#### **Pouzdro = kapsula**

Přítomna u téměř všech zástupců *Enterobacteriaceae*.

zřetelně odděluje buňku, má antigenní vlastnosti, znemožňuje detekovat somatický antigen. Jsou jimi charakteristické virulentní kmeny. Jeden druh může mít až 60 druhů kapsulových antigenů. Působí proti fágům, protilátkám a fagocytóze, dále jako ochranná vrstva. Opouzdřené kmeny jsou odolnější proti vlivům prostředí a proti první vlně imunitní odpovědi. Míra virulence: formy S, M a R (pneumokoky).

Je to vrstva dobře organizovaného materiálu, který nelze snadno odmyt z buněčného povrchu. Mikrokapsula – do 0,2 nm, syntetizována stále, není geneticky kódována, překrývá antigen buněčné stěny a má své vlastní antigenní vlastnosti. Složena z bílkovin, lipidů a polysacharidů. Průkaz – ne mikroskopicky, pouze serologicky. Není to bariéra proti průniku živin. Důkaz u vitální buňky: barvením tuku . terčíky v mikrokapsule + tukové kapénky v buňce.

Makrokapsula – je geneticky kódovaná, složena z polysacharidů, bílkovin nebo celulózy. Je 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-formy, které přešly v drsné kolonie R-formy = ireverzibilní (avirulentní pneumokok).

S-formy, které přešly v mukózní M-formy: reverzibilní; směsi virulentních buněk.

Tvorba pouzdra ovlivněna složením media, prostředím.

**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. Je to síťovina z vláken polysacharidů a glykoproteinů, umožňuje adhezenci, 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.

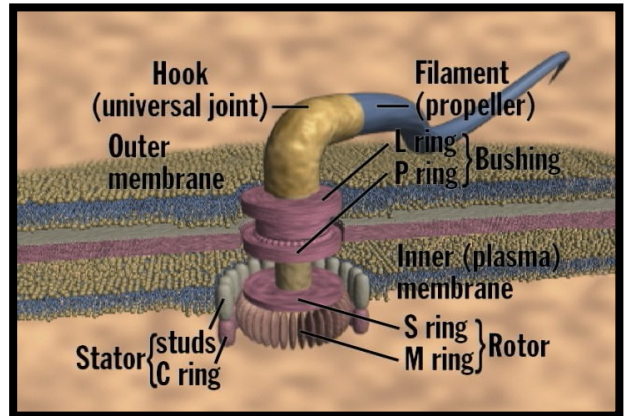
**Pochvy** – geneticky kódované, výhradně z polysacharidů. Chemické složení je druhově specifické, stejně tak zbarvení. Glukóza + kyselina glukuronová u rodu *Sphaerotilus*, u jiných rodů například fukóza. Někdy obsaženy hydroxidy kovů – v malém množství (dávají zbarvení. Často Fe, Mn, Cu; závisí na druhu). Přisedlé mikroorganismy. Trubkovitý tvar. Až několik mikrometrů. Bakterie se v trubce mohou pohybovat. Pochvy mohou být zbarvené. Pouze mechanická funkce.

Příklad: *Sphaerotilus*, *Leptothrix*

## Vláknité útvary na povrchu buňky

### Bičík

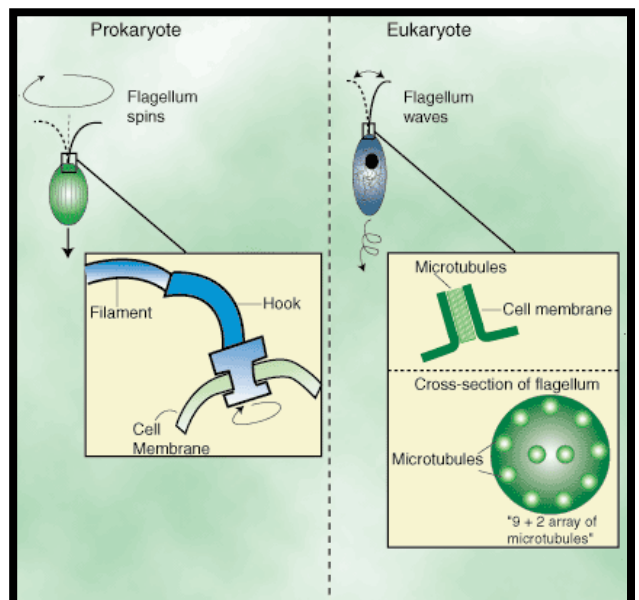
- flagelární antigen, tvořen specif. bílkovinami, nemůže být zakryt kapsulárním ani somatickým antigenem
- začíná v CM (oproti fimbriím, kt. jsou strukturou B.S.)
- supramolekulární komplex, několik řetězců bílkovin
- globulární bílkovina flagelin( tvoří jej více jak 4 vlákna oproti fimbriím), molekul.hmotnost flagelinu větší než pilinu
- komponenty bičíku: bičíkové vlákno (jen to je antigenem) a bazální tělísko - háček, osa, rotory (bazální těl. zůstává po odstranění bičík. vlákn, to je do 20 až 30 min dosyntetizováno)
- **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 ( vzdálenost dána příbuzností)



Průměr 13-20 nm.

Rychlost pohybu 1-100 $\mu$ m/s za atraktantem.

- délka bičíku několikanásobně větší než délka buňky
- buňky lze snadno odstranit sklem (pipeta, tyčinka)



Pohyb buňky – odpověď na prostředí. Taxe – chemo-, geo-, foto-. Aerotaxe – ve směru gradientu kyslíku. Intenzita odpovědi závisí na počtu bičíků, na teplotě a viskozitě prostředí.  
pohyb:

- primární pohyb je rotační, u eukaryot ATP donor E, u prokaryot gradient H<sup>+</sup> iontů
- H<sup>+</sup> ionty letí ven, otočí bičík, ten se nemůže vrátit (rotace tedy vždy jedním směrem), ve směru hodinových ručiček, buňka se taky točí a pohyb směřuje dopředu
- více bičíků se díky stejnému náboji nezamotá, díky toku H<sup>+</sup> se točí stejným směrem
- nepravidelný pohyb, nikdy přímočarý

vnější faktory ovlivňující pohyb:

- magnetické pole Země (zvl. struktury – magnetosomy, popsané u *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)

vnitřní faktory ovlivňující pohyb

- počet bičků
- lokalizace bičků na buněčném povrchu (nejpomaleji reagují peritrichia, efekt rychlý u vibrií,  $v =$  několik mikrometrů za sekundu)
- dostatek redukčních ekvivalentů

### Uspořádání: taxonomický znak

1) polárně


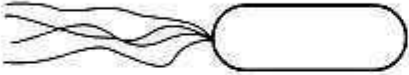

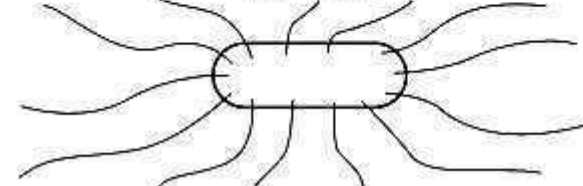
– monotricha (*Pseudomonas*): pohyb dopředu: proti směru hodinových ručiček.

Otáčení buňky: po směru hodinových ručiček.

- amfitricha (*Spirillum*)

- lofotricha (*Spirillum*)

2) po celém povrchu – peritricha (*Proteus vulgaris*, *Agrobacterium*). Pokud pohyb dopředu: shloučení bičků a pohyb proti směru hodinových ručiček. Díky náboji se nezamotají. Rozpletení – kroucení buňky na místě. „Chce-li“ se buňka pohybovat jedním směrem, namotá bičky, které jsou ve směru pohybu, na sebe a je tlačena bičky druhé strany

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

### Pozorování pohybu bičku - důležitý dostatek kyslíku

– v temném poli a intenzivním světle

- Fixace – speciální batvicí metody pro světelný mikroskop, mořidlo tanin se obalí kolem bičku, průměr se znásobí a zviditelní.

Fázový kontrast

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

### **Pohyb bičíku:**

Rotace kolem vlastní osy – pouze u prokaryot

Motor – celý bičík

Poháněn protonmotivní silou – protonmotive force (pmf) – protony přes membránu.

Výjimka: Alkalifilní bacily – pohyb iontů Na<sup>+</sup>

### **Stavba:**

Vždy bazální tělísko – u G- 4kruhy (2 v PG a dva ve vnější membráně)

G+ - 2 kruhy v CM

Háček (hook)

Vlastní vlákno

### **Tvorba:**

Samouspořádávání – 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...

### **Regulace:**

po koncentračním gradientu živin – regulována délka přímého a otáčivého pohybu. Mechanismus regulace pomocí MCP systému.

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

Protein je řízen methylačním procesem. Systém je vázán na CM, vnitřní část proteinu v cytoplazmě, vnější ční ven. Na vnitřní část proteinu se váží enzymy cytosolu (proteiny ChE, ChA), na vnější se váže atraktant. Protein ChA je schopen autofosforylace v případě, že na MCP není navázán atraktant. Po vazbě atraktantu předává protein ChA fosfátovou skupinu proteinu CheB a tento protein=enzym způsobuje demethylaci MCP systému. Protein CheB předává fosfátovou skupinu proteinu CheY a ten způsobí pohyb bičíku (otáčení). MCP+atraktant je dobrým substrátem pro protein CheP, což je methyltransferáza, methyluje tento komplex, navázaných 4 až 5 methylových skupin poté nestimuluje CheA k autofosforylaci = pohyb bičíku. Žádný pohyb nesmí trvat dlouho, pro správnou reakci na aktuální podnět.

Swarming – plazivý pohyb

Gliding – klouzavý – myxobakterie – vznik plodnic

Pomocné látky pohybu – slizy, surfaktanty

<http://focosi.altervista.org/physiobacteria.html>:

- **flagella** (completely different from the structure of *Eukarya* flagella !) = 100÷200 μm length, a motile organelle made up of

- **flagellar motor** embedded in the cell membrane
  - **M protein** (in the basal body or motor)
  - **S protein** (in stator)
- **flagellar hook** is a short, highly curved tubular structure that connects the flagellar motor to the long filament acting as a helical propeller. The hook is made of about 120 copies of a single protein, **FlgE**, and its function as a nano-sized universal joint is

essential for dynamic and efficient bacterial motility and taxis. It transmits the motor torque to the helical propeller over a wide range of its orientation for swimming and tumbling. FlgE31 is a major proteolytic fragment of FlgE lacking unfolded terminal regions<sup>ref</sup>.

- flagellar filament : flagellin (a fibrous helicoidal dextrorotatory protein which also acts as a type II T-independent Ag and binds to TLR5). Flagellin subunits held together by hydrophobic interactions assemble into so-called protofilaments in 2 different conformations : L-type and R-type. Supercoiled bundles of 11 protofilaments can form left-handed or right-handed helices. In the L-type protofilament the central channel of the flagellum is lined with polar residues : this could be relevant to export of unfolded proteins through the flagellum - like flagellin, which is exported then added to the growing filament tip - and for type III virulence protein secretion through a needle complex that is similar to the flagellum.

“Run and tumble” movement controlled by the direction of the flagellar spin (counterclockwise spin => left-handed helix => straight run; clockwise spin => some of the protofilaments switch to form a right-handed helix => the cell stops and reorientates in a random manner (tumble)). *Escherichia coli* and *Salmonella* swim fine in water at a neutral pH of 7.0. And without the weak acids present to lower their internal pH, they also swim fine in acidic water at pH 5.0. But, with the weak acids and a lower internal pH - as the outside water becomes more acidic - they slow and ultimately stop. The flagellar apparatus may secrete virulence factors. It may be stained with tannic acid. The flagellum may be absent (atrachous), single (monotrichous), double (if at opposite poles : amphitrichous) or multiple (if grouped at both poles : lophotrichous, if diffused on all surface : peritrichous).

#### PILI - fimbriae

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

Hemagglutinace

- 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, adherentnce fimbrie + enterotoxin *E. coli* – obojí kódováno plazmidem)

## II.

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

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

SPINY
-------

100-200nm , u vodních organismů zvětšují povrchu, umožňují nadnášení ve vodě

Zdroje: Kaprálek (Základy bakteriologie; Fyziologie bakterií)

Některé elektronické zdroje:

[www.focosi.immunesig.org/physibacteria.html](http://www.focosi.immunesig.org/physibacteria.html)

[www.sedin.org/mol\\_museum.html](http://www.sedin.org/mol_museum.html)

<http://www.microbialcellfactories.com/>

[www.arn.org/mm/mm\\_movies.htm](http://www.arn.org/mm/mm_movies.htm) - animace, pohyb bičíku

[web.indstate.edu/theme/micro/flagella.html](http://web.indstate.edu/theme/micro/flagella.html)

<http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n4/abs/nrmicro1644.html>

[http://images.google.com/imgres?imgurl=http://www.biology.usu.edu/courses/biol3300-stark/Biol3300/images/flagella.jpg&imgrefurl=http://www.biology.usu.edu/courses/biol3300-stark/Biol3300/practicesets.htm&h=219&w=214&sz=6&hl=en&start=50&sig2=0f1y2zN4CBW7MZFdmQVOeg&um=1&tbnid=rtltWN92uRim7M:&tbnh=107&tbnw=105&ei=EAAUR8fXM4WQwAHuqqBb&prev=/images%3Fq%3Dflagella%2B%26start%3D36%26ndsp%3D18%26svnum%3D10%26um%3D1%26hl%3Den%26rlz%3D1B2GGFB\\_enCZ221CZ221%26sa%3DN](http://images.google.com/imgres?imgurl=http://www.biology.usu.edu/courses/biol3300-stark/Biol3300/images/flagella.jpg&imgrefurl=http://www.biology.usu.edu/courses/biol3300-stark/Biol3300/practicesets.htm&h=219&w=214&sz=6&hl=en&start=50&sig2=0f1y2zN4CBW7MZFdmQVOeg&um=1&tbnid=rtltWN92uRim7M:&tbnh=107&tbnw=105&ei=EAAUR8fXM4WQwAHuqqBb&prev=/images%3Fq%3Dflagella%2B%26start%3D36%26ndsp%3D18%26svnum%3D10%26um%3D1%26hl%3Den%26rlz%3D1B2GGFB_enCZ221CZ221%26sa%3DN)

<http://www.esrf.eu/UsersAndScience/Publications/Highlights/2001/life-sciences/LS6.html>

Zkratky:

CM- cytoplasmatická membrány

PL – fosfolipid

PG – peptidoglykan

LPS - lipopolysacharid

MK – mastné kyseliny

NK – nukleová kyselina

b.s. – buněčná stěna

PHB – polyhydroxymáselná kyselina