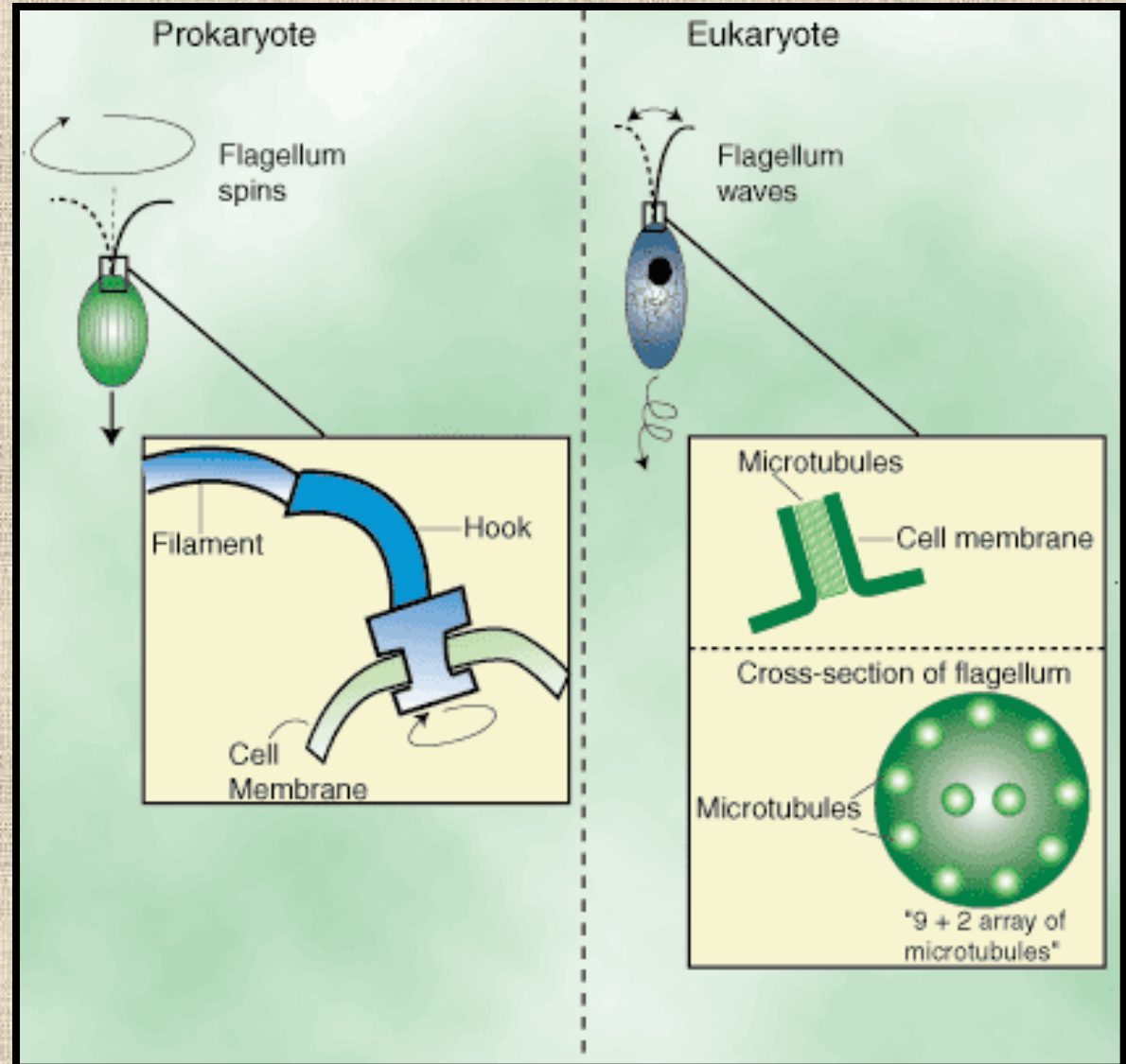
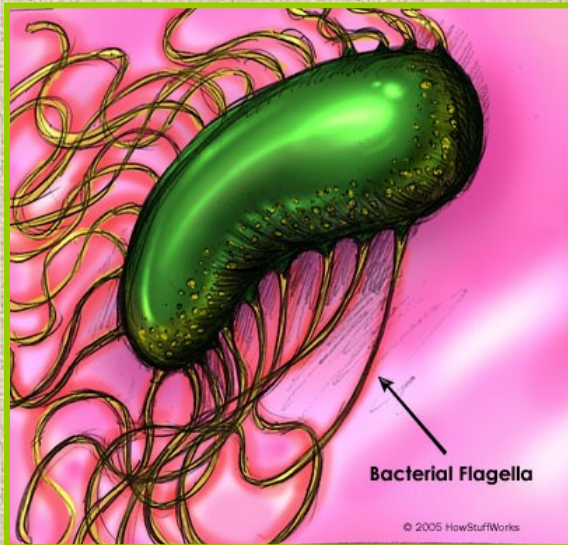


Vláknité útvary na povrchu buňky

- bičík
- fimbrie, pili
- curli



Pohyb bakteriální buňky

- **swimming motility** – pohyb bičíky, plavání
- **swarming motility** – plazivý pohyb kolonií, bičíky, *Proteus*
- **twitching motility** – trhavý, skákavý pohyb
 - objev u acinetobacteria, fimbrie IV, kolonizace povrchu nebo tvorba plodnic, konjugace, vazba fága
- **gliding motility** – klouzavý pohyb, sociální

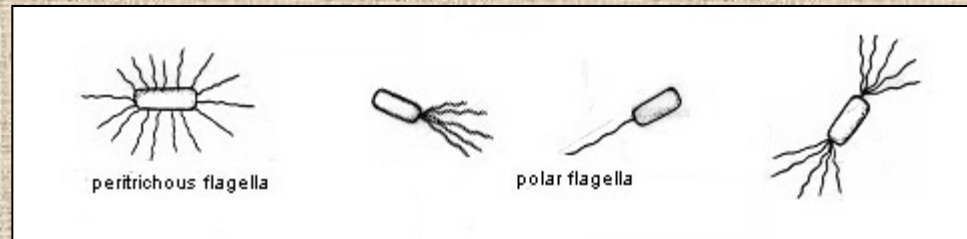
<http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/pos/motilidade6.pdf>

Důvody pohybu bakterií

- nejčastější – **pohyb ke zdroji živin** – po koncentračním gradientu
- reakce na **repelent**
- Intenzita odpovědi závisí na **počtu bičíků, na teplotě a viskozitě prostředí.**
- shlukování buněk za účelem vytvoření **plodnice**
- *Myxobacteria*

Vnitřní faktory ovlivňující pohyb

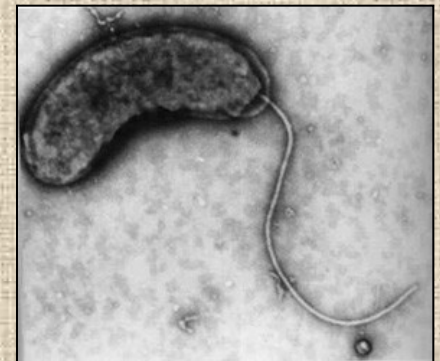
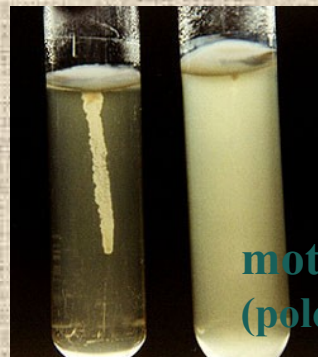
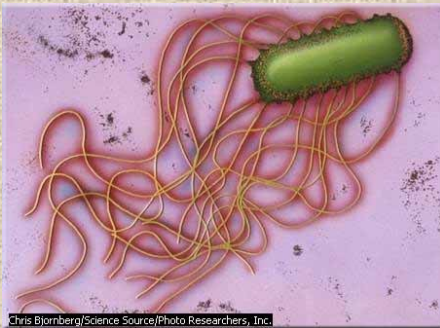
- počet bičíků
- lokalizace bičíků na buněčném povrchu (nejpomaleji reagují peritrichia, efekt rychlý u vibrií, $v =$ několik mikrometrů za sekundu)



- dostatek redukčních ekvivalentů

Bakteriální bičík

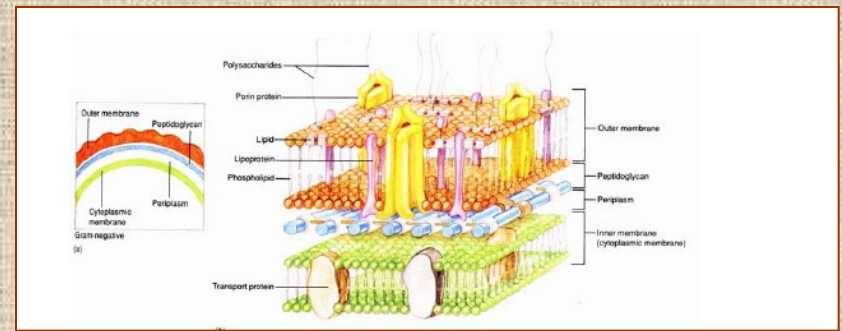
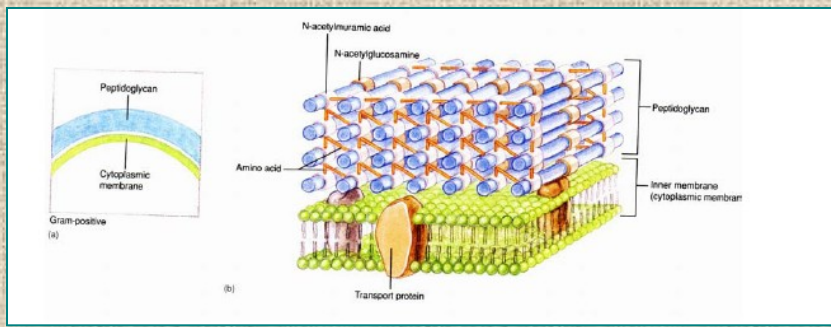
- semirigidní vláknitá struktura tvořená 1 – 4 proteiny – **globulární flagelin**
- **podobná stavba** u všech dosud zkoumaných druhů bakterií
- tloušťka **13 – 20 nm**
- rychlost pohybu – 1 – 100 $\mu\text{m/s}$
- atraktant – fyzikální nebo chemický faktor



- **supramolekulární** komplex, několik řetězců bílkovin
- tvoří jej více jak 4 vlákna oproti fimbriím
- molekul.hmotnost **flagelinu větší než pilinu**
- flagelární antigen, tvořen specif. bílkoviny, **nemůže být zakryt** kapsulárním ani somatickým antigenem

• začíná v **CM** (oproti fimbriím, kt. jsou strukturou B.S.)

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

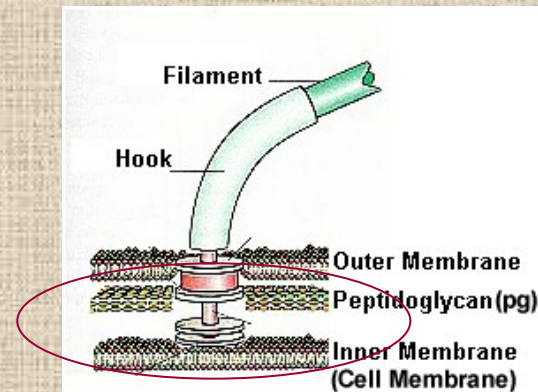
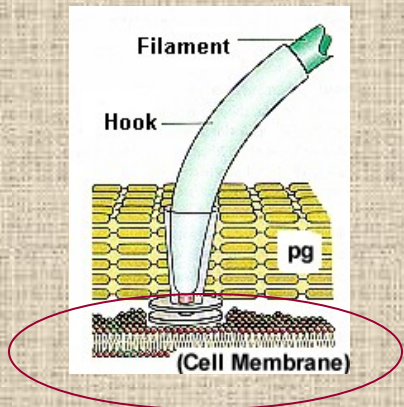


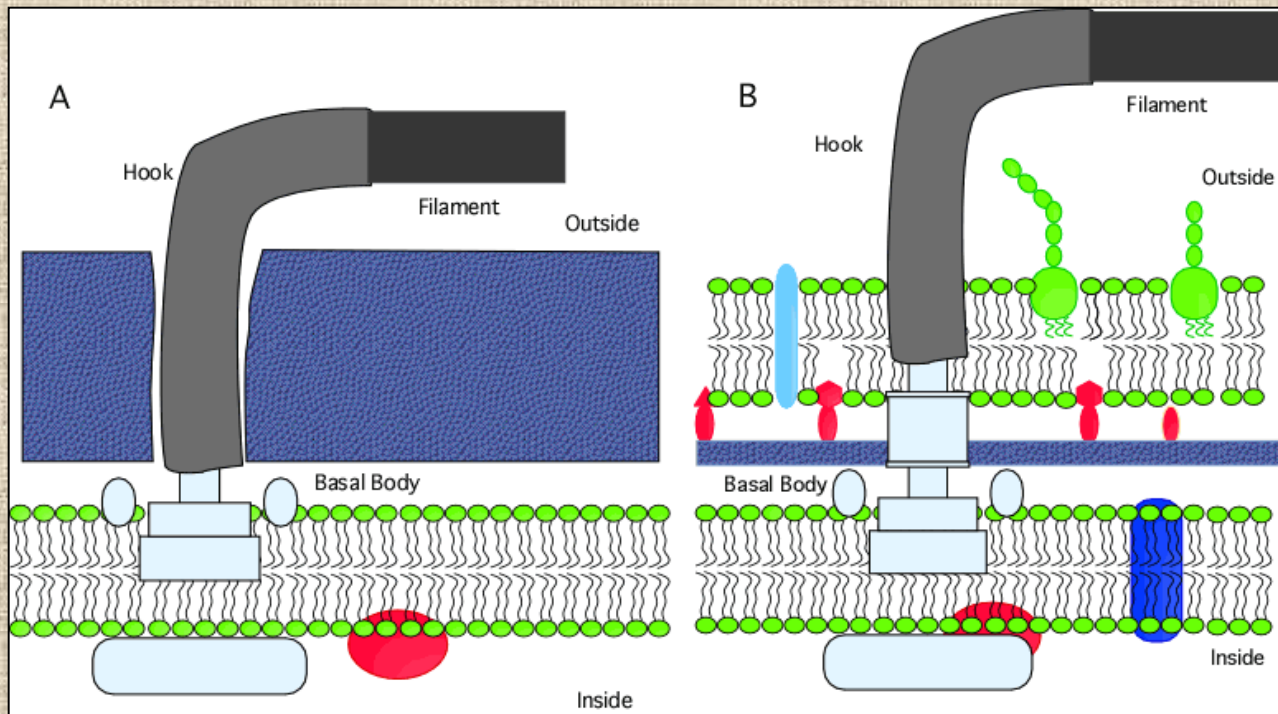
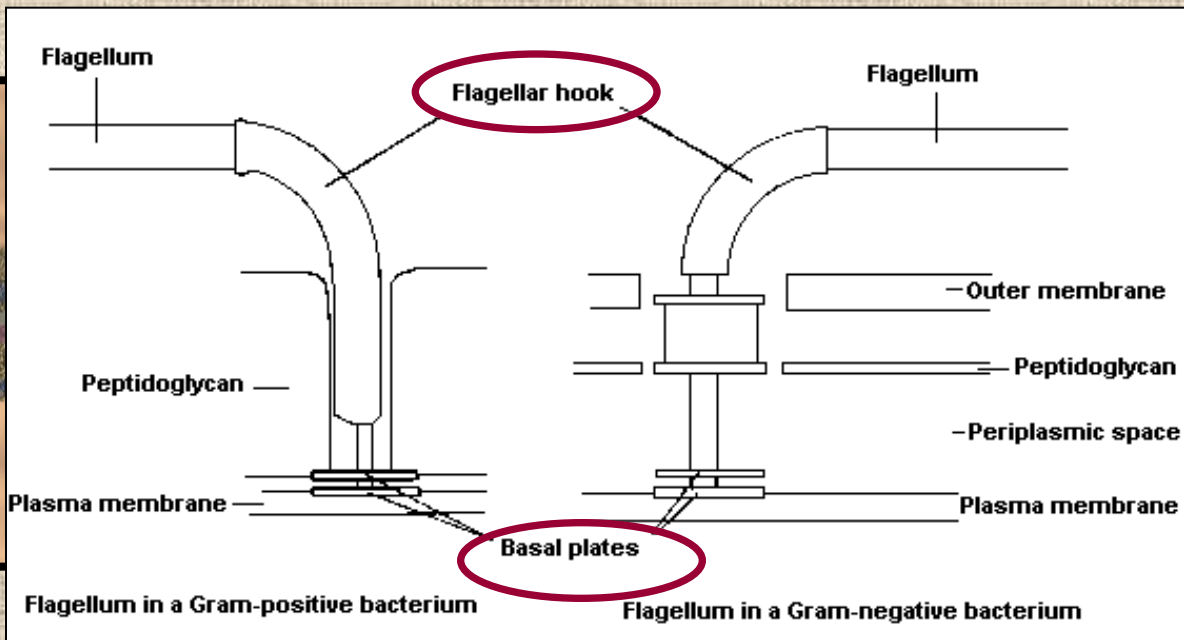
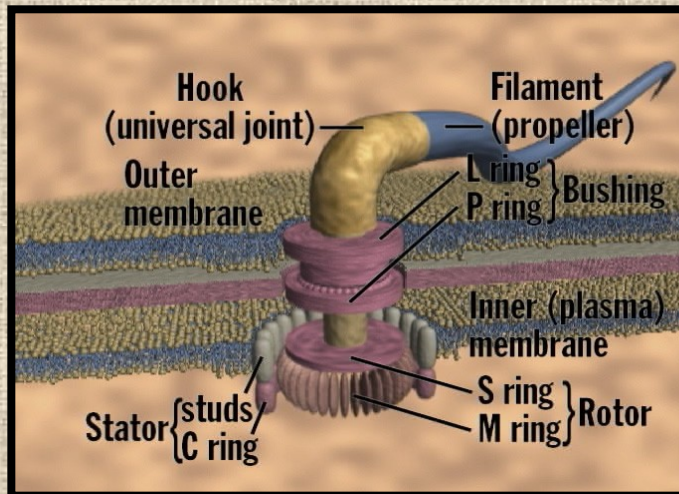
- **G⁺** : zakotvení do CM a B.S.

B.S. kluzné ložisko-tam se otáčí osa, háček pro ohyb

- **G⁻**

L a P pruh horního kruhu – **vnější membrána a PG** (buněčná stěna – P pruh)

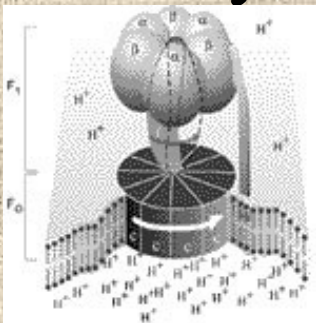
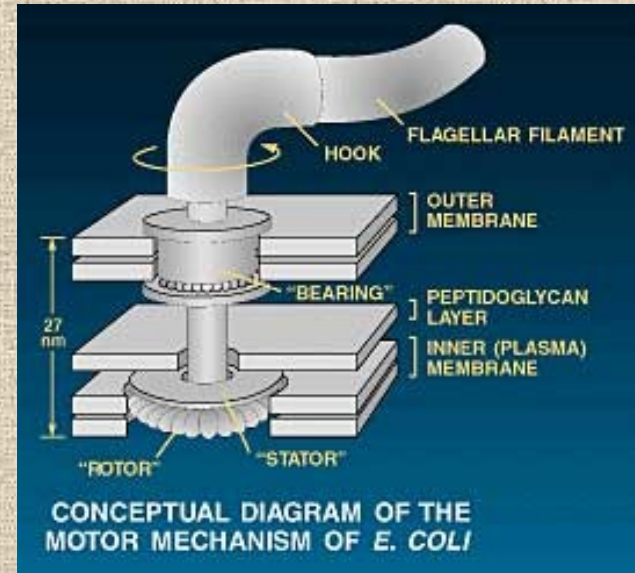




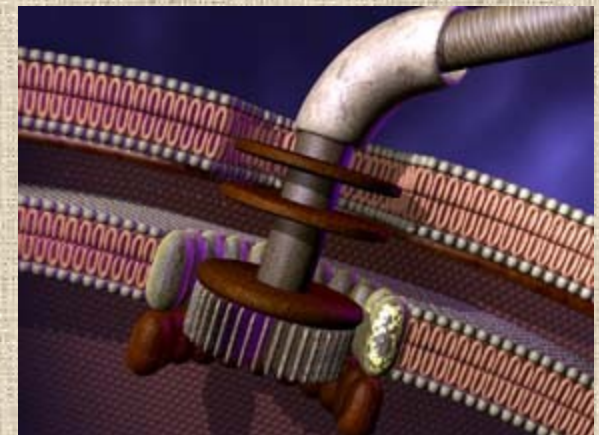
Komponenty bičíku:

- vždy **bazální tělísko** —
u G- 4 kruhy (CM, PG a VM)
G+ - 2 kruhy

- **háček** (hook)
- vlastní **vlákno** (jen to antigenem)
- Bazální tělísko zůstává po odstranění bičíkového vlákna, to je do 20 až 30 min dosyntetizováno

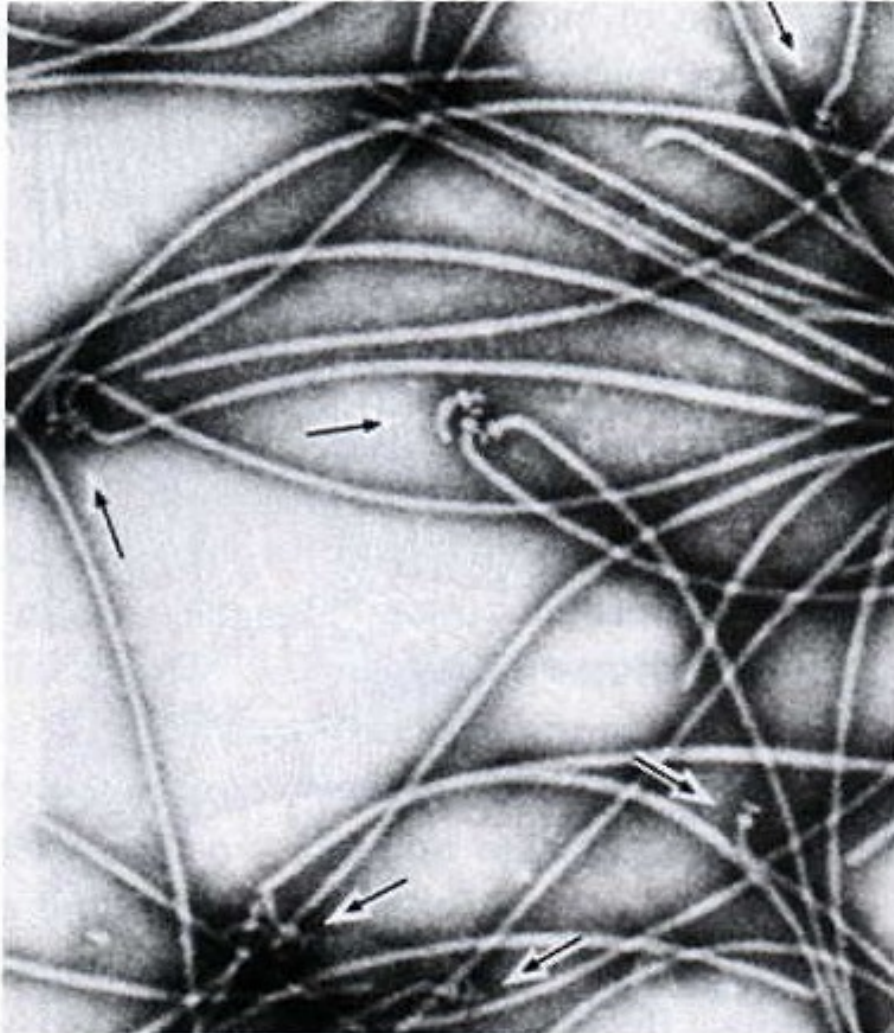


ATP synthase motor

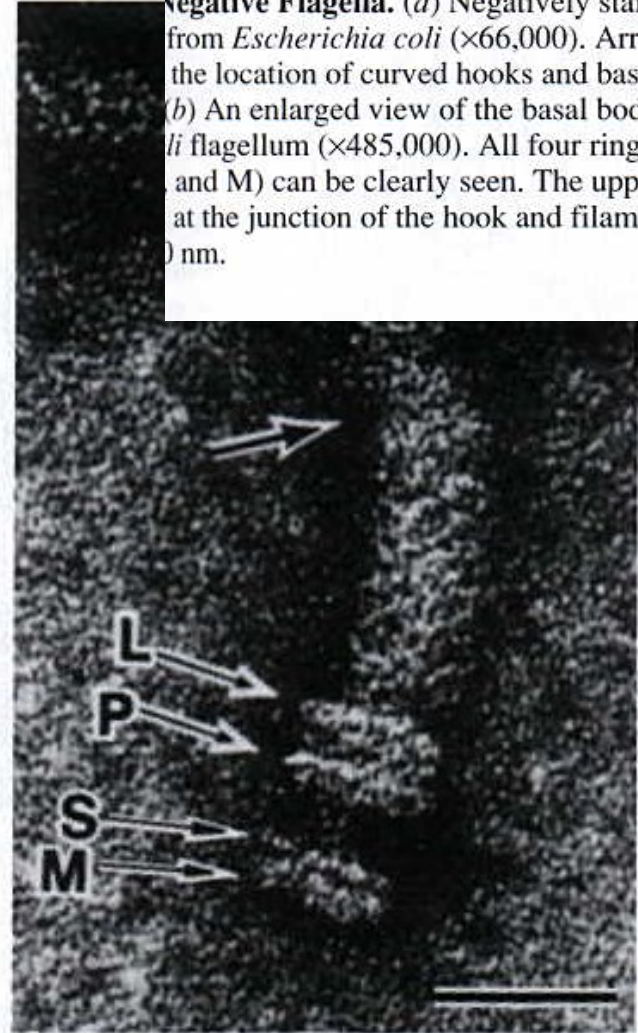


Ultrastruktura bičíku

3.34 The Ultrastructure of Negative Flagella. (a) Negatively stained from *Escherichia coli* ($\times 66,000$). Arrows the location of curved hooks and basal (b) An enlarged view of the basal body of *E. coli* flagellum ($\times 485,000$). All four rings (L, P, S, and M) can be clearly seen. The uppermost ring (L) is located at the junction of the hook and filament. Scale bar = 100 nm.




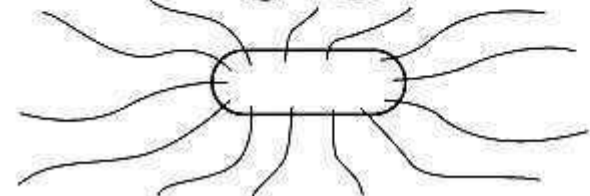


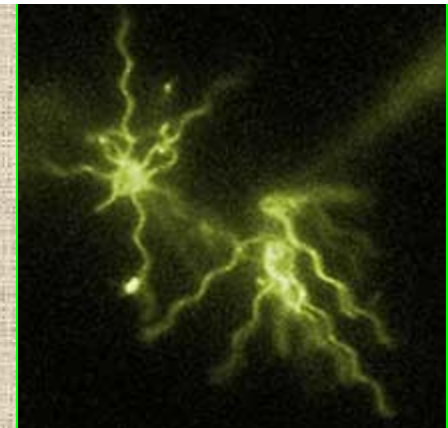
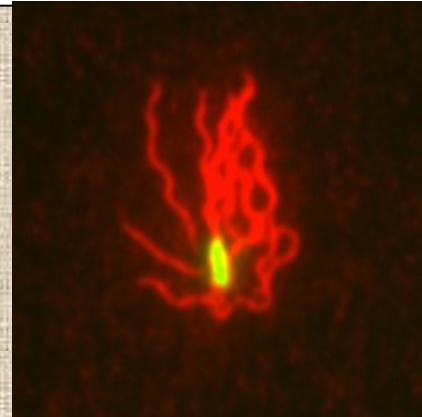
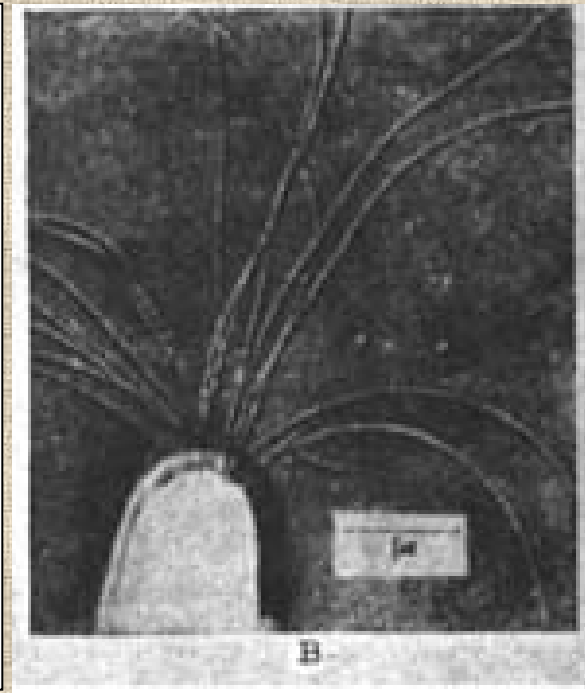
(a)

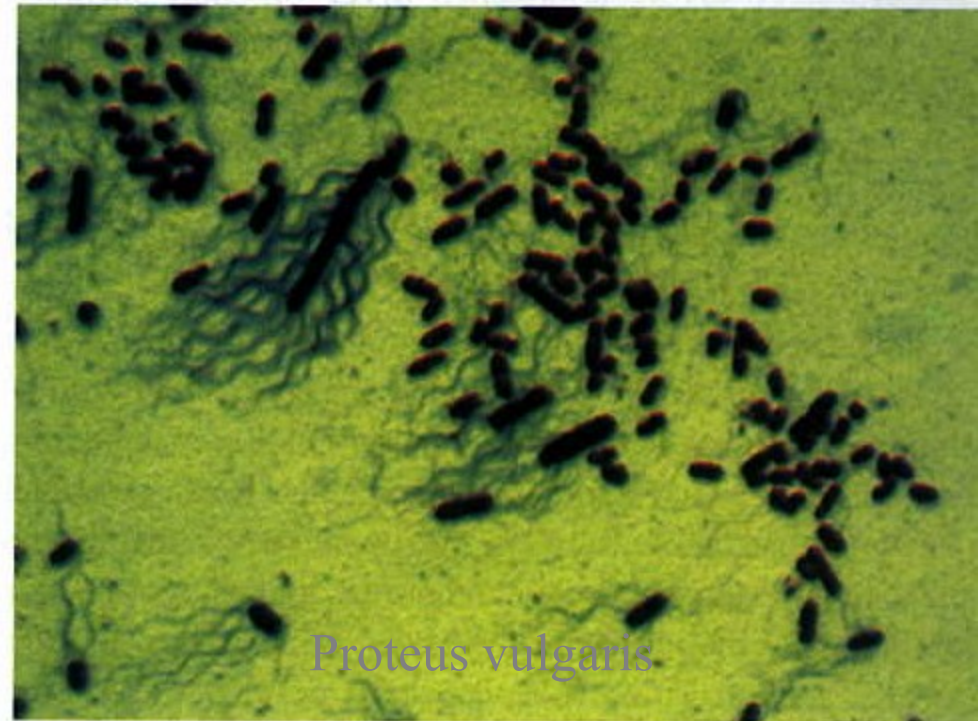
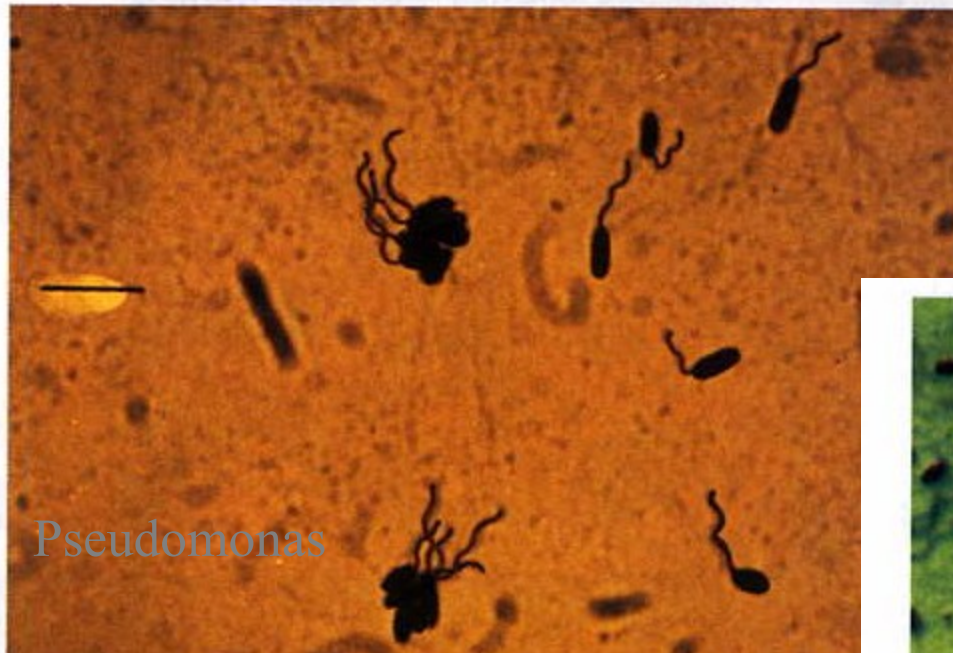


(b)

uspořádání: taxonomický znak

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

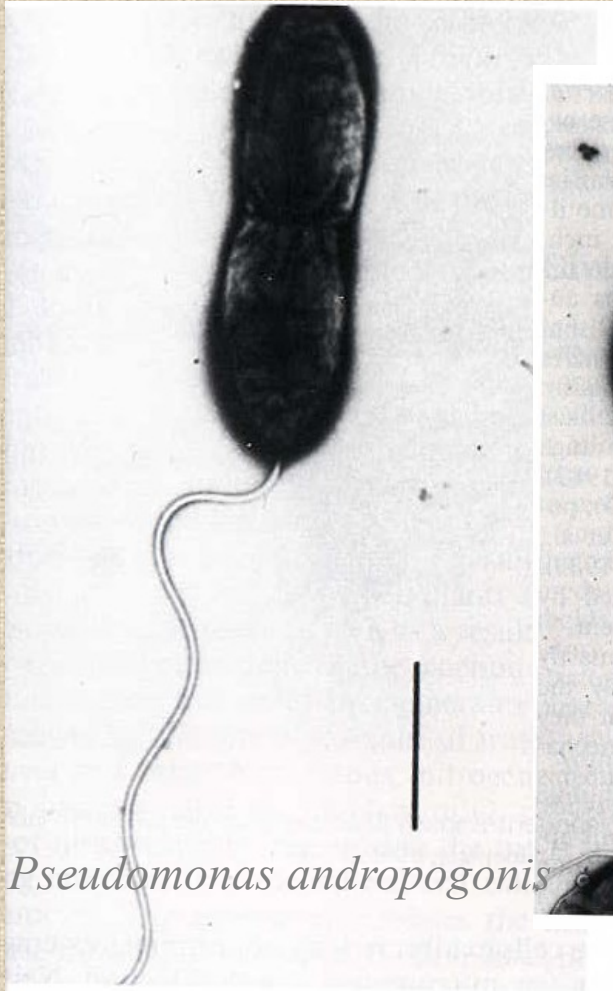




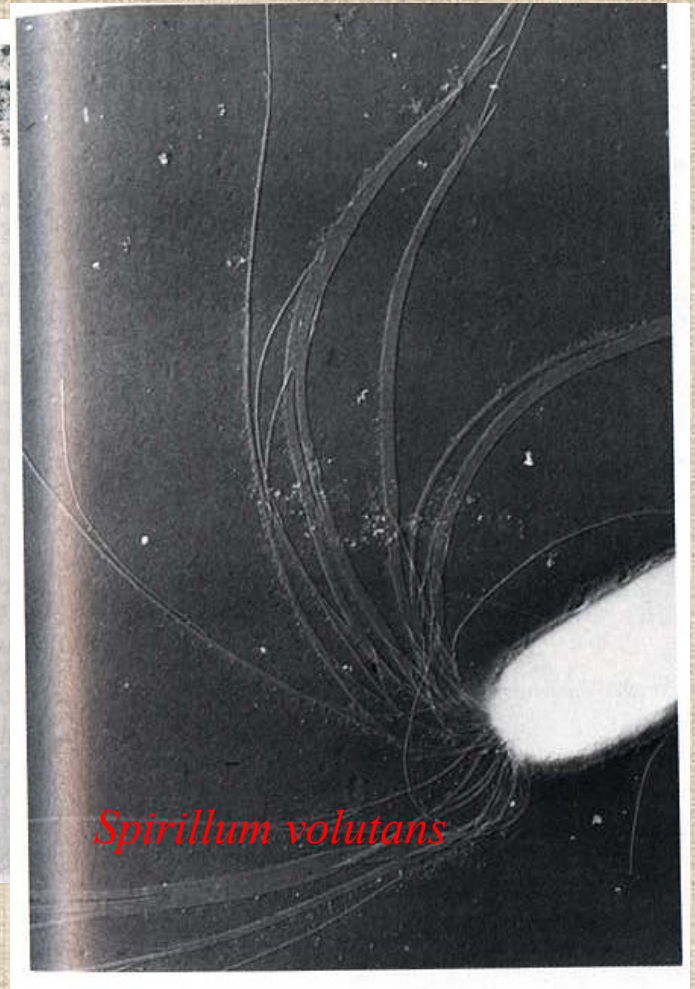
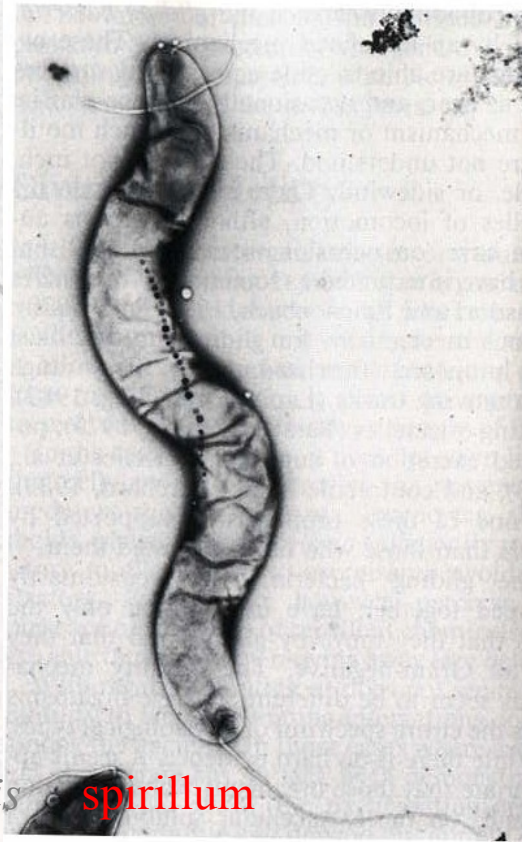
(c)

Figure 3.33 Flagellar Distribution. Examples of various patterns of flagellation as seen in the light microscope. (a) Monotrichous pole flagellation (*Pseudomonas*). (b) Lophotrichous flagellation (*Spirillum*). (c) Peritrichous flagellation (*Proteus vulgaris*, $\times 600$). Bars = 5 μm .

(b)



Pseudomonas andropogonis spirillum



Spirillum volutans

1) polárně – 1 nebo oba póly

- **monotricha** (*Pseudomonas*):

pohyb dopředu: proti směru hodinových ručiček

otáčení buňky: po směru hodinových ručiček.

- **amfitricha** (*Spirillum*)

- **lofotricha** (*Spirillum*)

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

- **pohyb dopředu:** shloučení bičíků a pohyb proti směru hodinových ručiček.

- Díky **náboji** se nezamotají.

- **Rozpletení = kroucení buňky na místě.**

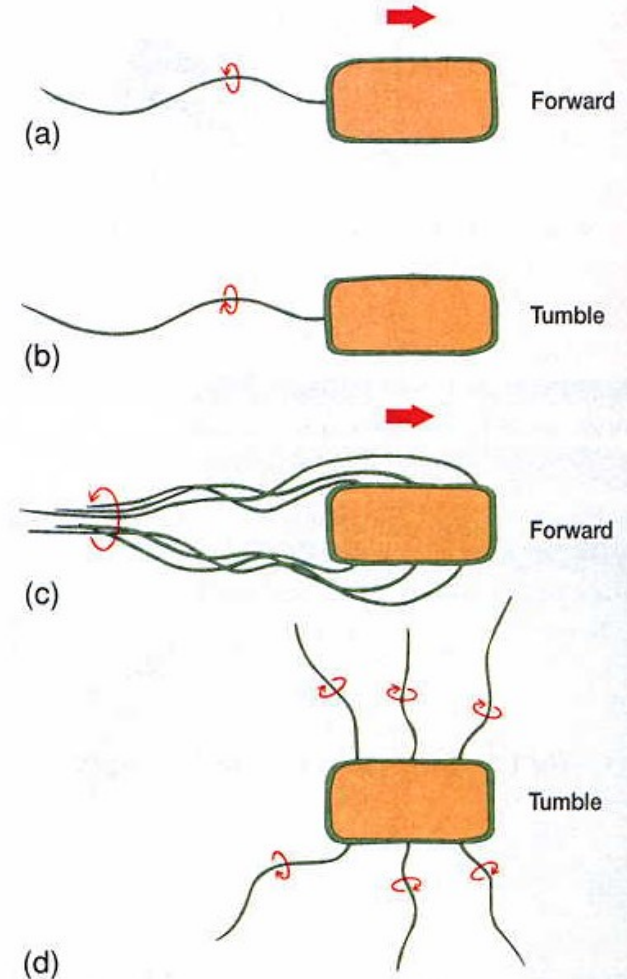
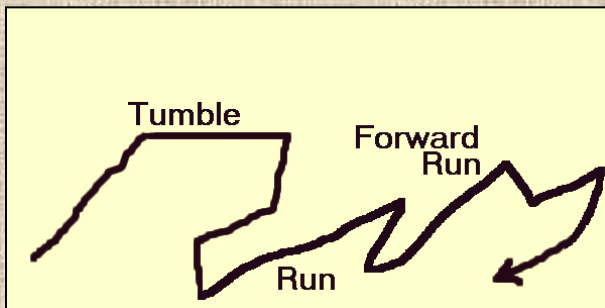
- „Chce-li“ se buňka pohybovat jedním směrem, namotá bičíky, které jsou ve směru pohybu, na sebe a je tlačena bičíky druhé strany


Pohyb
proti směru hodinových ručiček

po směru hodinových ručiček

shluk

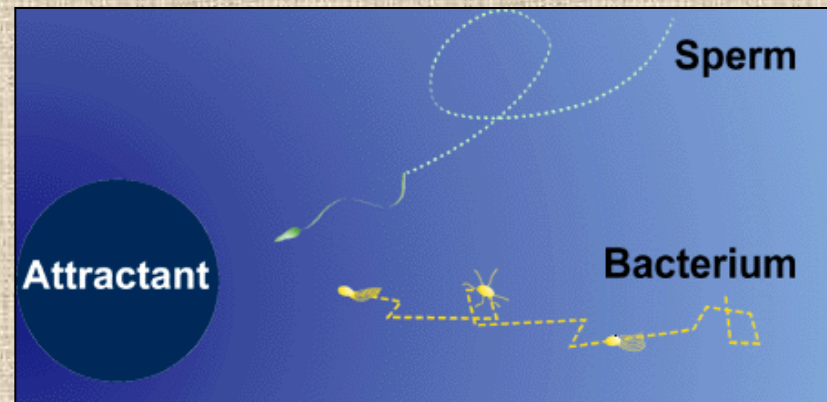
rozpletení bičíků

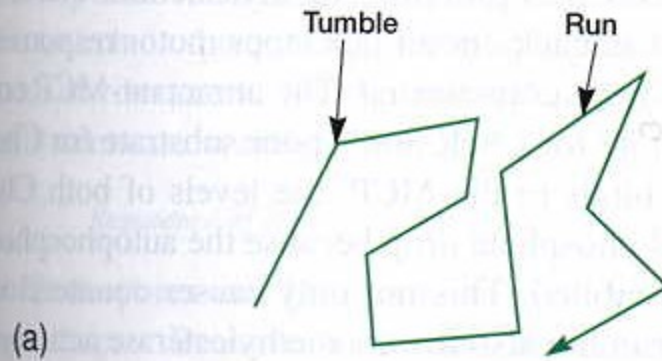


 **Figure 3.37 Flagellar Motility.** The relationship of flagellar rotation to bacterial movement. Parts (a) and (b) describe the movement of monotrichous, polar bacteria. Parts (c) and (d) illustrate the movement of peritrichous organisms.

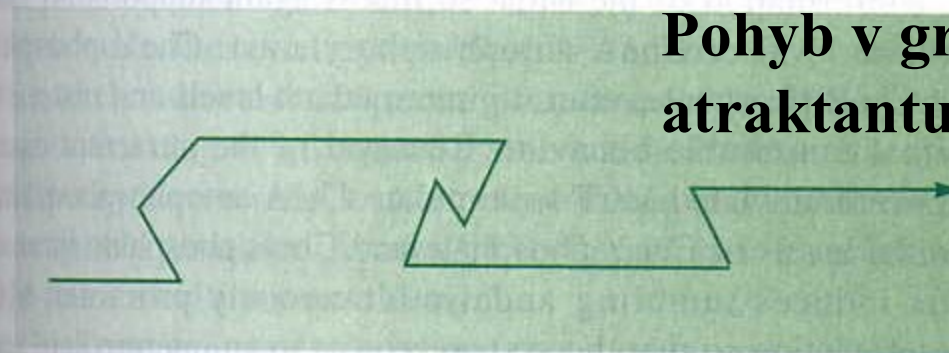
Prokaryota vs eukaryota

- **rotace bičíku** kolem vlastní osy – **pouze u prokaryot a vždy 1 směrem**
- motor – jeho rotační pohyb způsobuje pohyb celého bičíku
- poháněn **proton motive force** (pmf) – pohyb protonů přes cytoplazmatickou membránu
- výjimka – **alkalifilní bacily** – **pohyb iontů Na**
= „Na motive force“





**Pohyb bez gradientu
koncentrace atraktantu**



**Pohyb v gradientu
atraktantu**

Figure 3.40 Directed Movement in Bacteria. (a) Random movement of a bacterium in the absence of a concentration gradient. Tumbling frequency is fairly constant. (b) Movement in an attractant gradient. Tumbling frequency is reduced when the bacterium is moving up the gradient. Therefore runs in the direction of increasing attractant are longer.

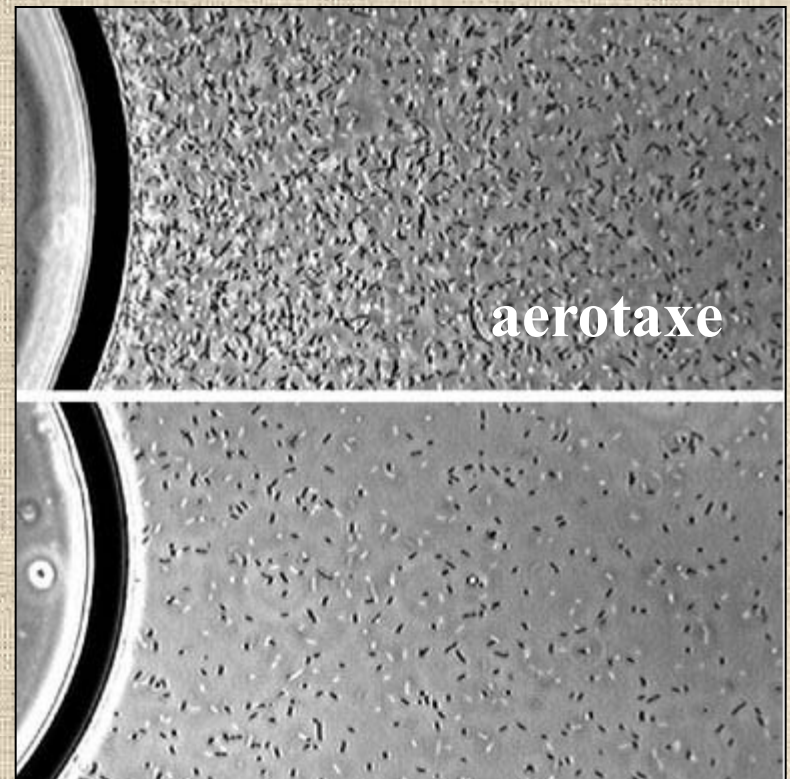
- vnější faktory ovlivňující pohyb:

magnetické pole Země (zvl. struktury – magnetosomy (*Aquaspirillum*) od dvou do několika desítek, 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 úměrná **koncentraci barviva**)

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

aerotaxe



Plazivý pohyb kolonií (swarming)

- *Proteus, Vibrio*
- pohyb indukovaný kontaktem s tuhým médiem
- delší buňky, více bičíků
- oblak, roj buněk, který se pohybuje koordinovaným pohybem
- má schopnost přerůstat i vyvýšené útvary na médiu

Klouzavý pohyb (Gliding motility)

- na pevných površích
- mechanismus nejasný
- pmf patrně zahrnutý
- přizpůsobení
 - slizy, surfaktanty
 - struktury podobné motoru v BS, specif. membránové komponenty, které tvoří reverzibilní vazbu se substrátem, actine-like systém

Makoto Miyata, profesor Osaka City University zkoumal klouzavý pohyb *Mycoplasma mobile*. Za pomoci **cytoskeletárních filament udržují nesférický tvar**.

(„They look like schmoos that are pulled along by their heads.

How they are able to glide is a mystery“.)

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

Pozorování pohybu bičíku – visutá kapka

- důležitý dostatek kyslíku

v temném poli a intenzivním světle

Pozorování bičíků samotných

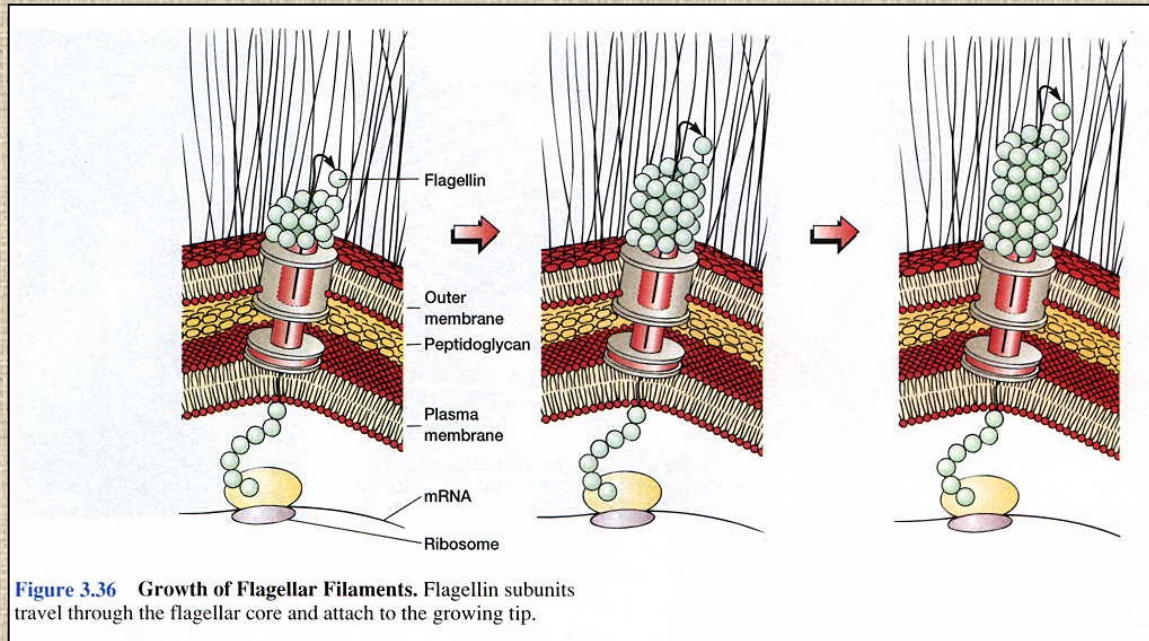
– **světelný mikroskop** po spec. barvení (obalení bičíku vrstvou mořidla, znásobení a zviditelnění jeho průměru)

– **elektronový mikroskop** – negativní barvení

otiskové preparáty po rychlém zmražení na $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$

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**



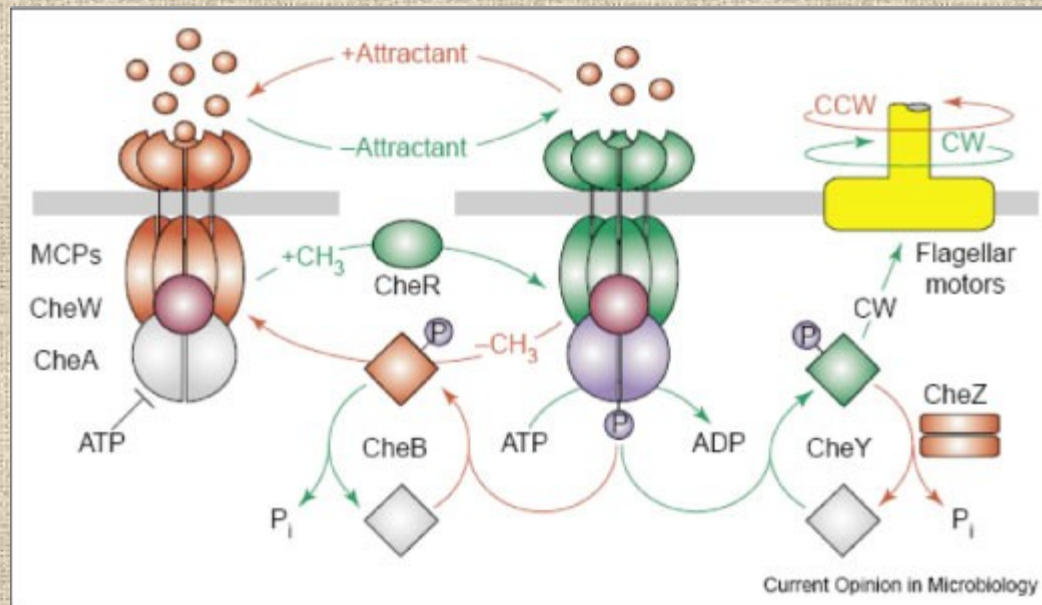
- Př. genů: HAP 1, 2, 3...

Mechanismus chemotaxe *E. coli*

- Regulace pomocí MCP systému

MCP systém –

methyl-accepting chemotaxis proteins



Mechanismus chemotaxe – *E.coli*

- Protein řízen methylačním procesem
- Systém je vázán na CM
- Na vnitřní část proteinu (CheW) se váží enzymy cytosolu (proteiny CheB, CheA)

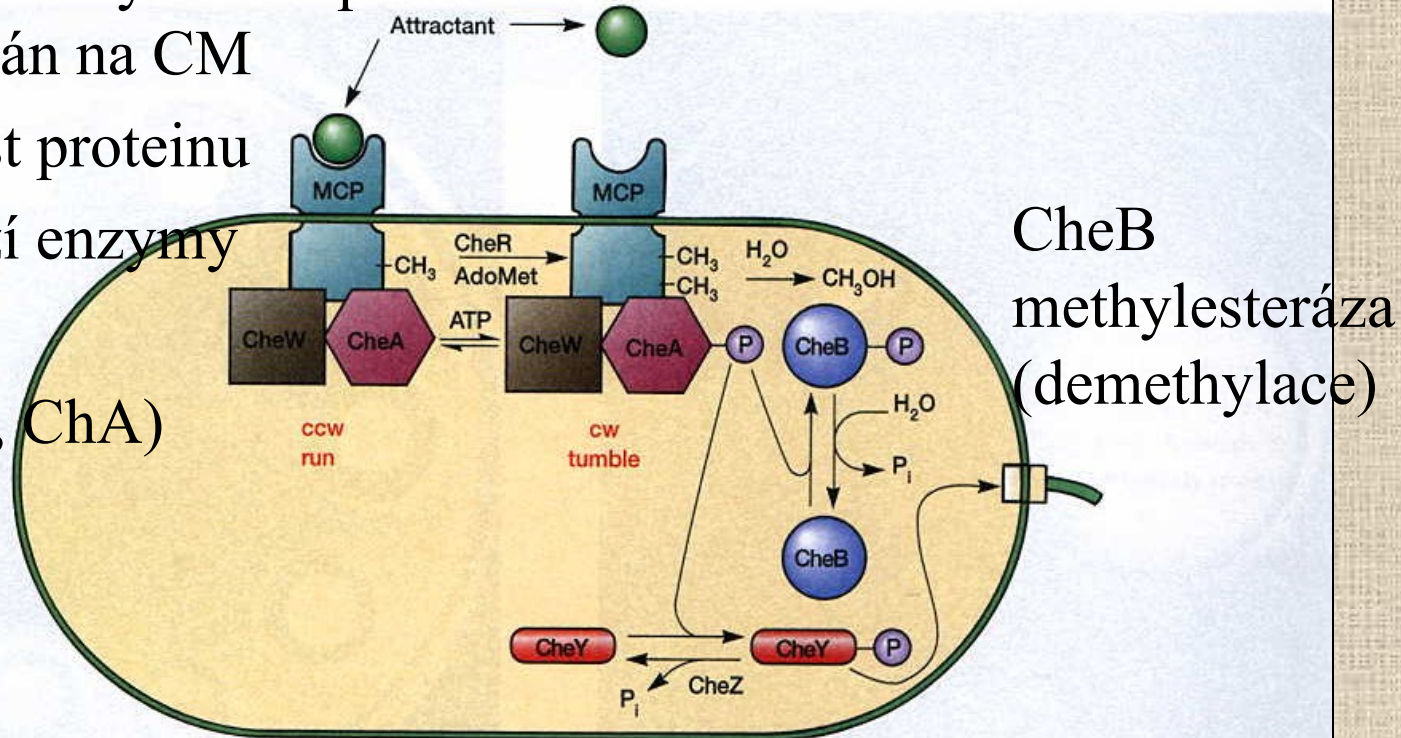
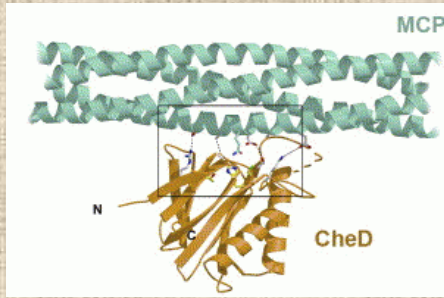


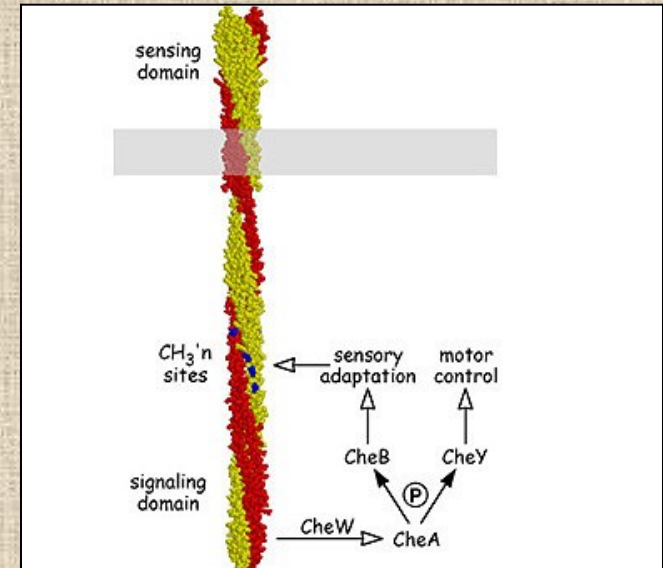
Figure 3.41 The Mechanism of Chemotaxis in *Escherichia coli*. The chemotaxis system is designed to control counterclockwise (ccw) and clockwise (cw) flagellar rotation so that *E. coli* moves up an attractant gradient by a sequence of runs and tumbles. See the text for a description of the process.



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

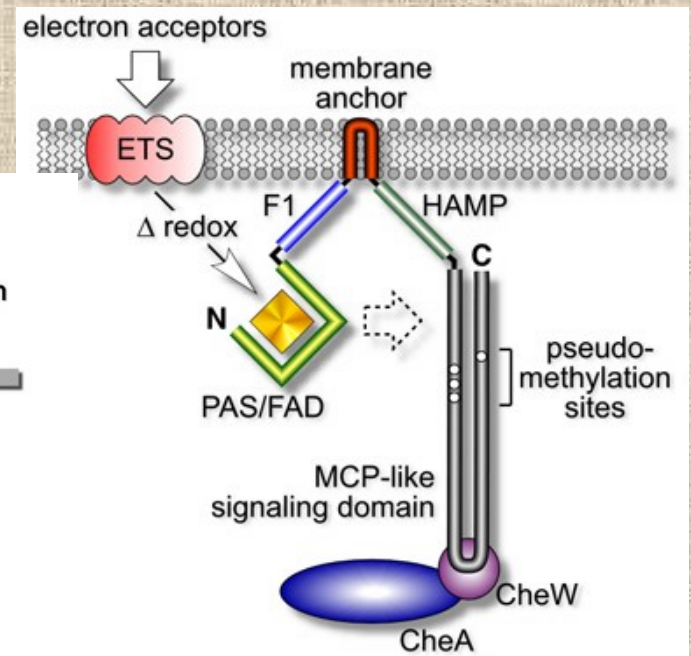
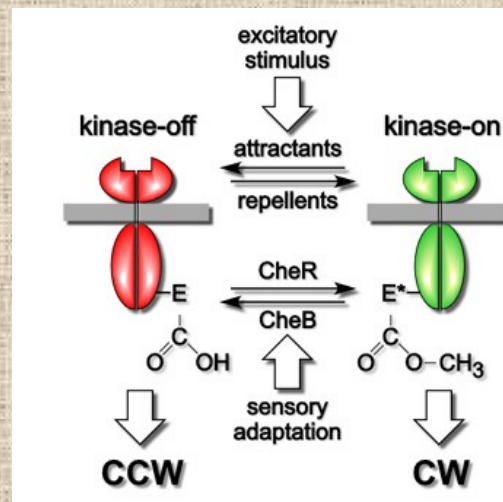
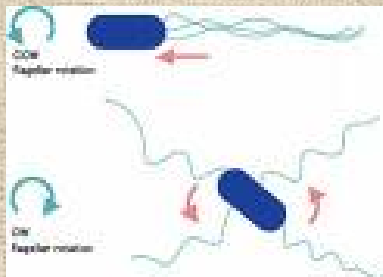
- Protein **CheA** - schopen **autofosforylace** v případě, že na MCP **není navázán atraktant**
- **Po vazbě atraktantu předává protein CheA fosfátovou skupinu proteinu CheB (methylesteráza)**
- CheB enzym: **demethylace MCP systému**
- Protein CheB předává fosfátovou skupinu proteinu **CheY** – pohybuje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

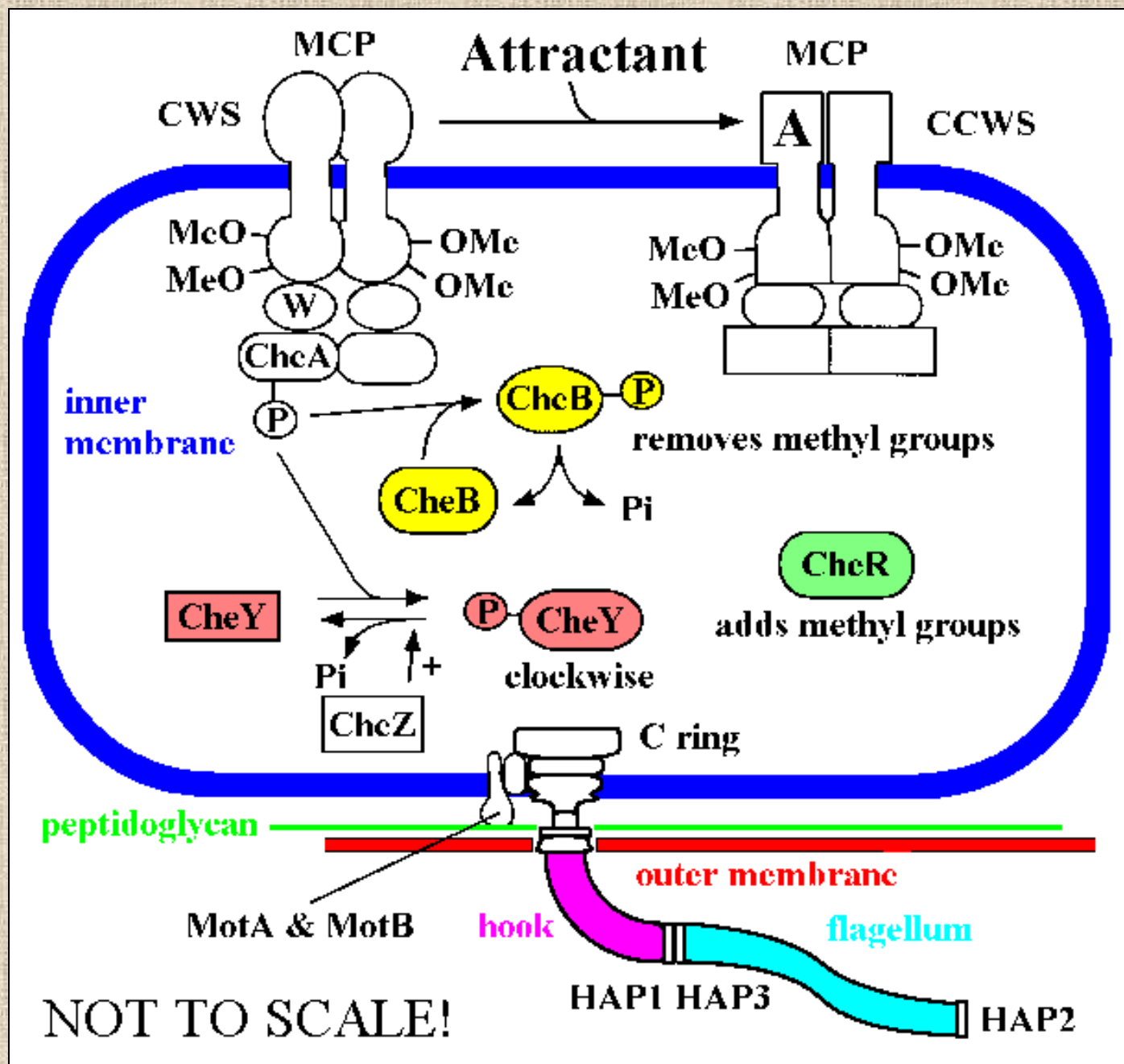


- Žádný pohyb nesmí trvat dlouho, pro správnou reakci musí buňka reagovat na aktuální podnět – krátkodobá paměť receptorů
- Pomocné látky pohybu – slizy, surfaktanty

- Bez atraktantu – rovnovážný stav mezi CheA a CheY – střídání

vrtivého a
 přímočarého
 pohybu





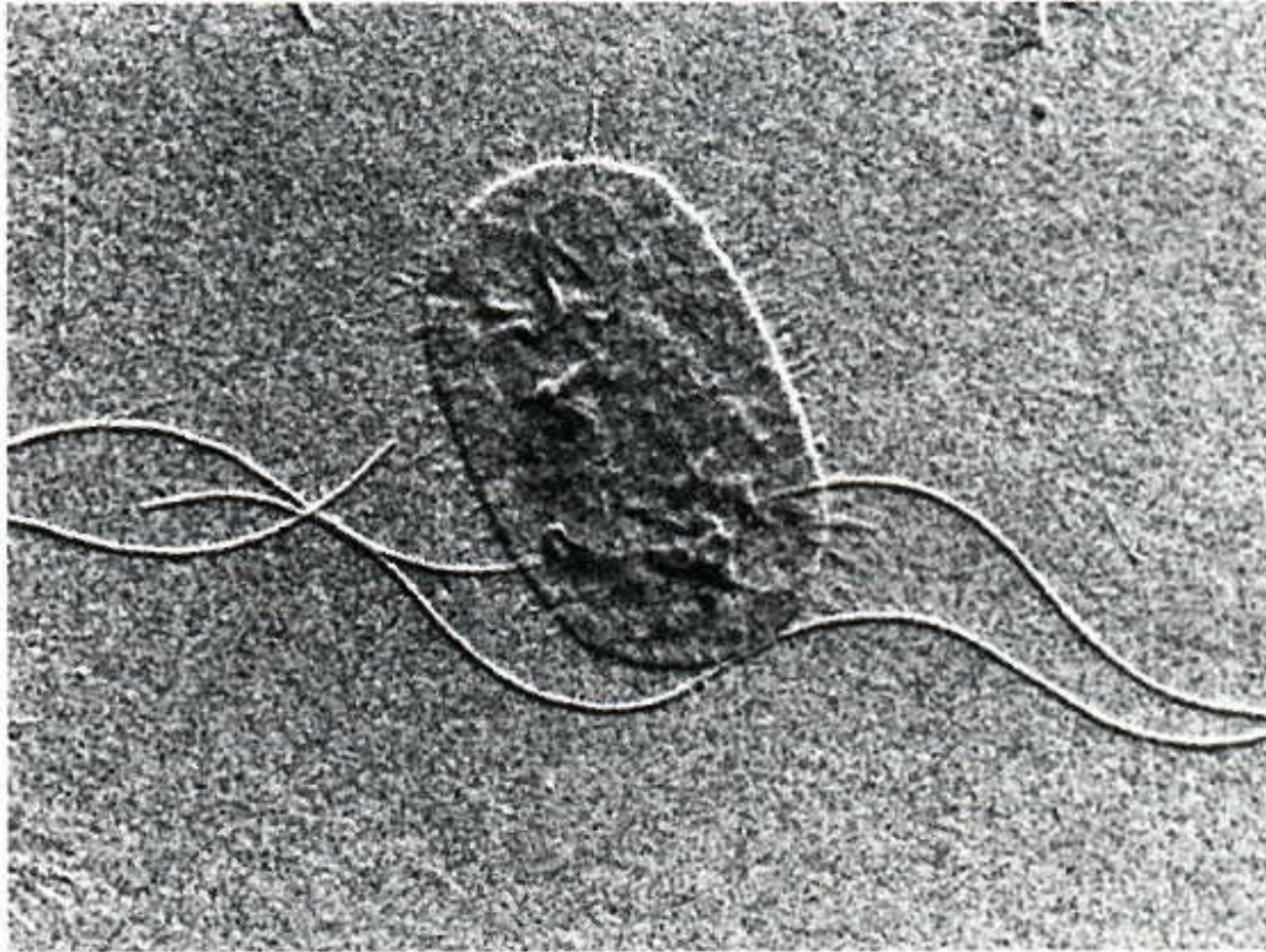
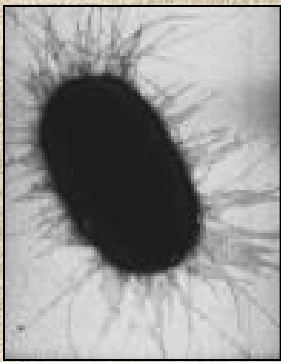
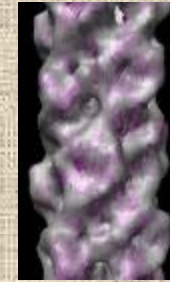


Figure 3.32 Flagella and Fimbriae. The long flagella and the numerous shorter fimbriae are very evident in this electron micrograph of *Proteus vulgaris* ($\times 39,000$).



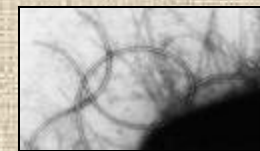
PILI - fimbrie



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

fce :

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



- 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, $\text{Ø}2\text{-}8$ nm, délka 0,1 – několik nm, 3-5 molekul

- na celém povrchu či jen na určité části buňky

Příklady typů fimbrií:

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. osmičelová – f. ztlustí a zkrátí

IV.

„odskočení“ buněk streptokoků způsobuje „vroubkování“ kolonií

- 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
- <http://focosi.altervista.org/physiobacteria.html>
- www.sedin.org/mol_museum.html

Děkuji za pozornost