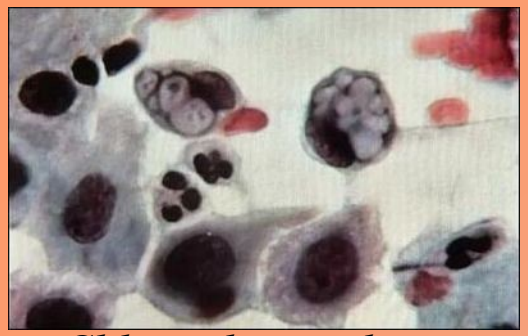
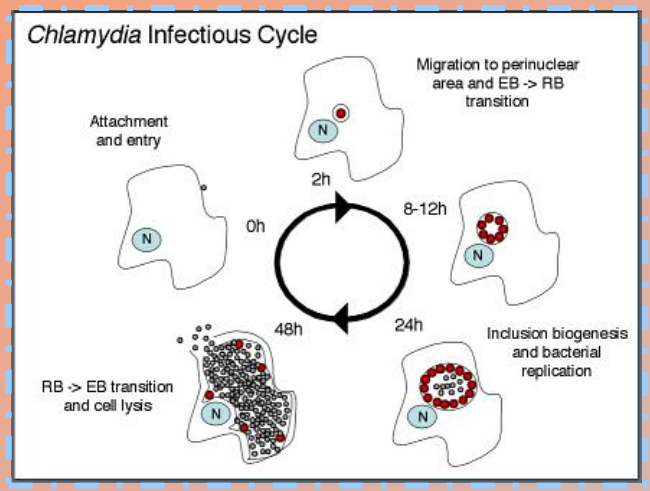
Růstové cykly bakterií III.

- jednoduché – střídají se 2 stádia
  - rostoucí a klidové - sporulace
  - přisedlé a volné – *Sphaerotillus, Caulobacter*
  - infekční a reprodukční
- komplexní s více než 2 vývojovými stádii
  - Myxobakterie, aktinomycety
- růstové cykly vedoucí ke vzniku diferencovaných populací
  - sinice - *Anabaena*



Chlamydia trachomatis

Střídání extracelulárního, infekčního stádia, a intracelulárního, reprodukčního stádia



Bdellovibrio

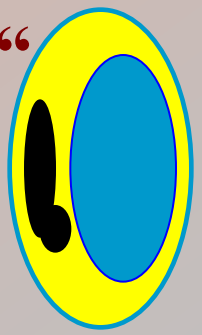
Chlamydia

Bdellovibrio bacteriovorus (žluté buňky).

Bdellovibrio

„prohnutá pijavka“

- drobné aerobní G- bakterie 0,3-0,5 x 0,5-2,4 μm
- všudypřítomné v moř., sladkovodní, odpad.vodě, půdě
- obligátní (primárně) intracelulární parazité **G- bakterií**
- nemnožící se stádium – **pohybliví predátoři**, polární bičík, **extracelulární.** Až 100 μm/s. **= „Útočná fáze“**
- reprodukční stádium – nepohyblivé, žije v **periplazmatickém prostoru** hostitelské buňky. **=„Růstová fáze“**



Poprvé popsáno ***Bdellovibrio bacteriovorus*** (Stolp and Starr in 1963).
Bdellovibrio starrii a *Bdellovibrio stolpii* ⟶ rod *Bacteriovorax*

- Popsány 3 druhy
- Analyzován jeho neobvykle velký genom – 3,7 mil.bazí
- Schopno syntetizovat jen 11 AMK
- Popsány dva jejich viry:

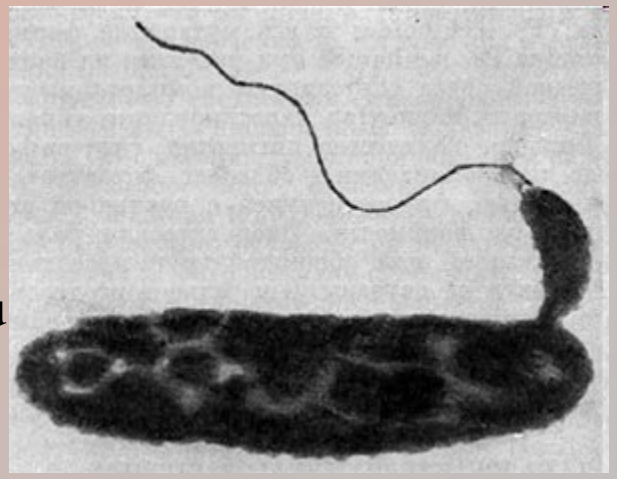
  - Kentucky: sférický, 70nm, 1sDNA

  - Praha: 2sDNA, hlavička 40nm, bičík 200nm

Pohyblivá extracelulární forma

- protáhlý konec buňky slouží jako **„příchytka“,** holdfast
- na protilehlém konci je umístěn **polární bičík** – obalený pochvou, která je tvořena vnější membránou, odlišnou od CM
- kontakt s hostitelem – pravděpodobně **není založen na chemotaxi** – reverzibilní a irreverzibilní stádium
- biosynteticky neaktivní –

  - bez proteosyntézy



bdellovibrio začíná leptat stěnu kořisti, po kontaktu se aktivují *pil* geny pro syntézu fimbrií

Vhodný hostitel

Infekce hostitelské buňky

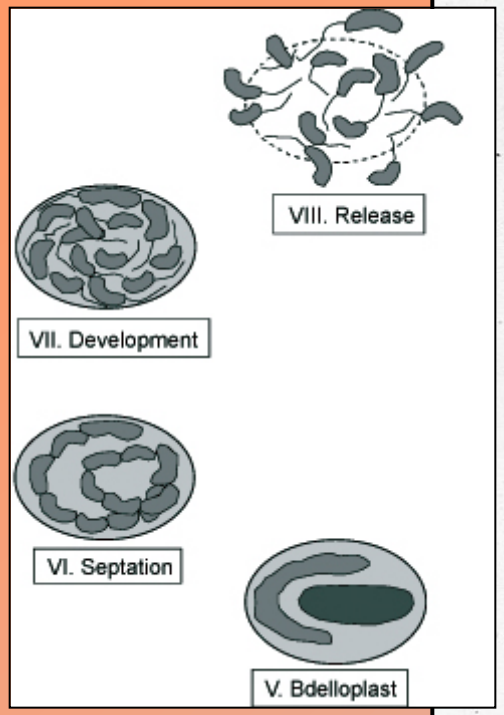
Kolize s hostitelem: 160 μm/s

- **Penetrace** vnější membránou – rotace 100ot/s
- Ztráta bičíku
- Usídlení v periplazmatickém prostoru, mezi peptidoglykanovou vrstvou a vnější membránou, **přeměna** ve vegetativní buňku, replikace DNA

bdelloplast

- Přeměna hostitele ve **sféroblast**. Hydrolytické enzymy.
- Elongace, vyrůstá **septované vlákno**
- Po vyčerpání živin **fragmentace vlákna** (ještě před lyzí) fragmentací vznikají pohyblivé, infekční buňky
- Lyze hostitelské buňky

Životní cyklus: 1-3h
Produkce až 15ti nových predátorů



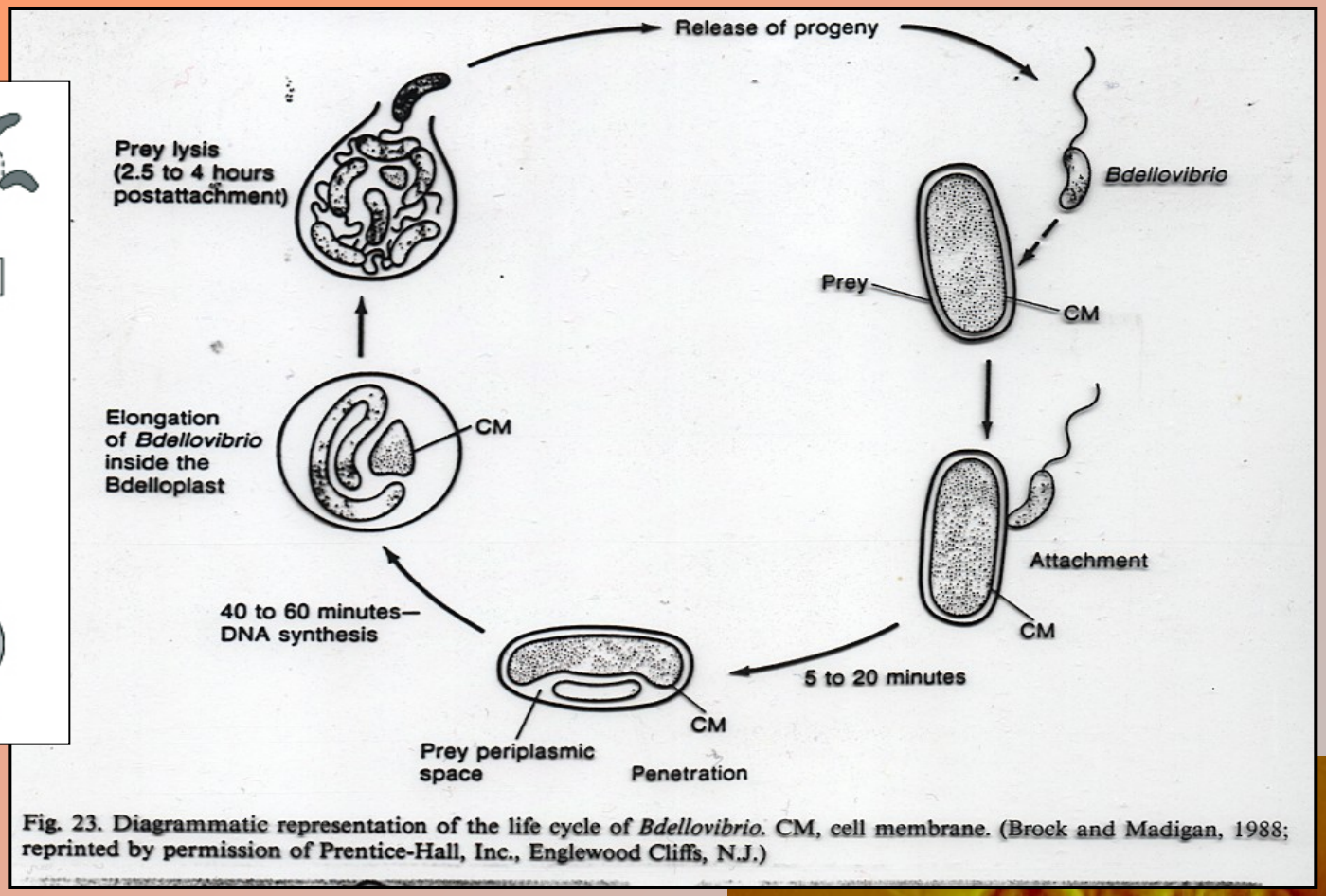
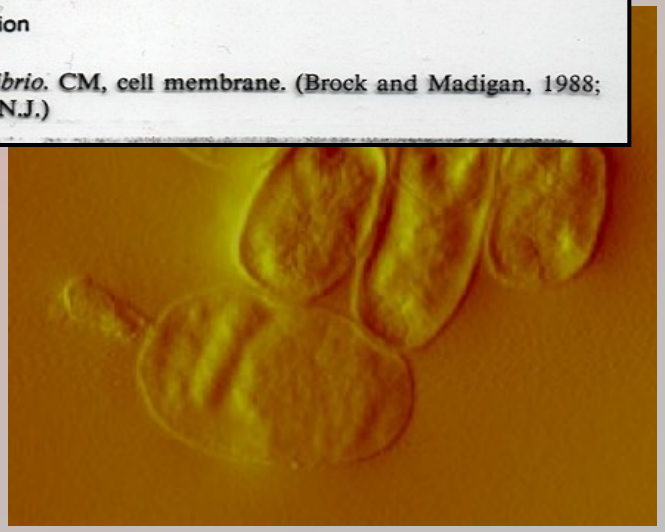


Fig. 23. Diagrammatic representation of the life cycle of *Bdellovibrio*. CM, cell membrane. (Brock and Madigan, 1988; reprinted by permission of Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.)

Přesné řízení buněčného cyklu, aby se v potřebném sledu aktivovaly četné geny pro degrad. enzmy

Mohou se buňky replikovat bez parazitické fáze?

- Za určitých podmínek – s extraktem z host.buněk jsou bdelovibria schopna replikace



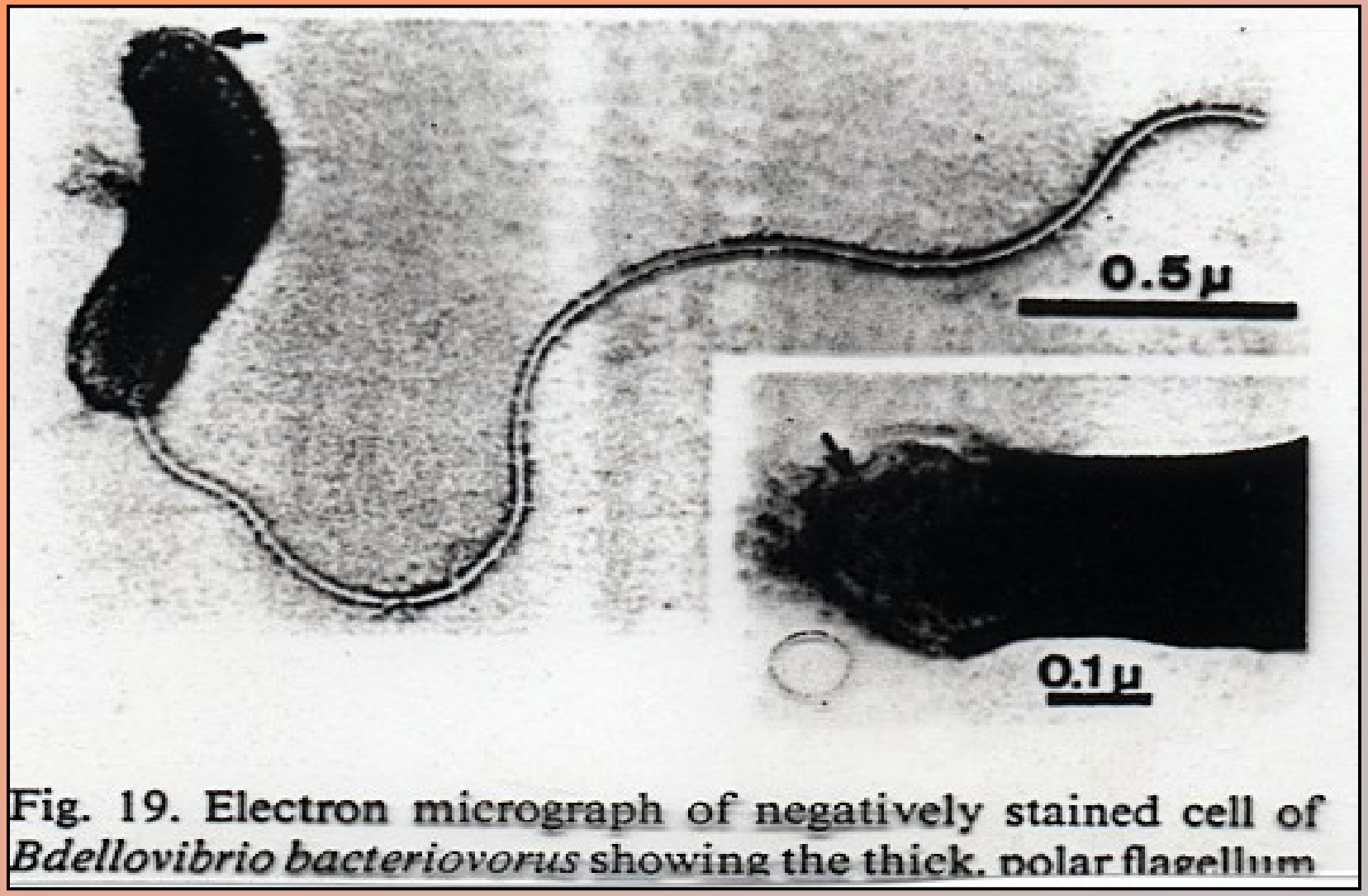


Fig. 19. Electron micrograph of negatively stained cell of *Bdellovibrio bacteriovorus* showing the thick, polar flagellum

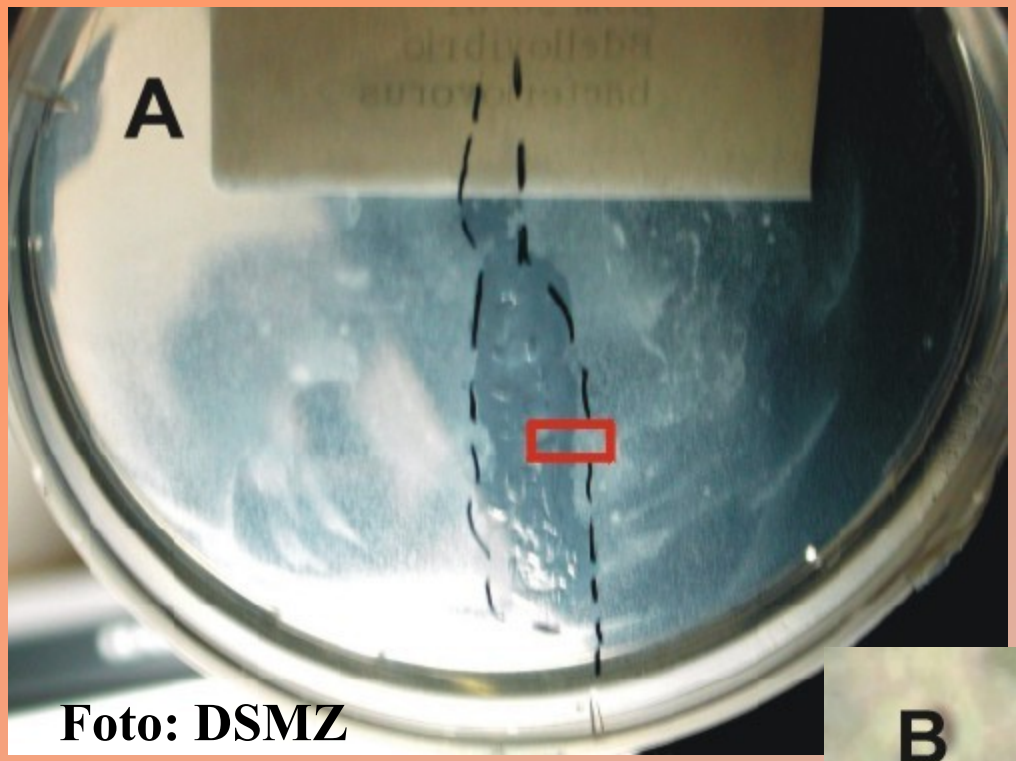
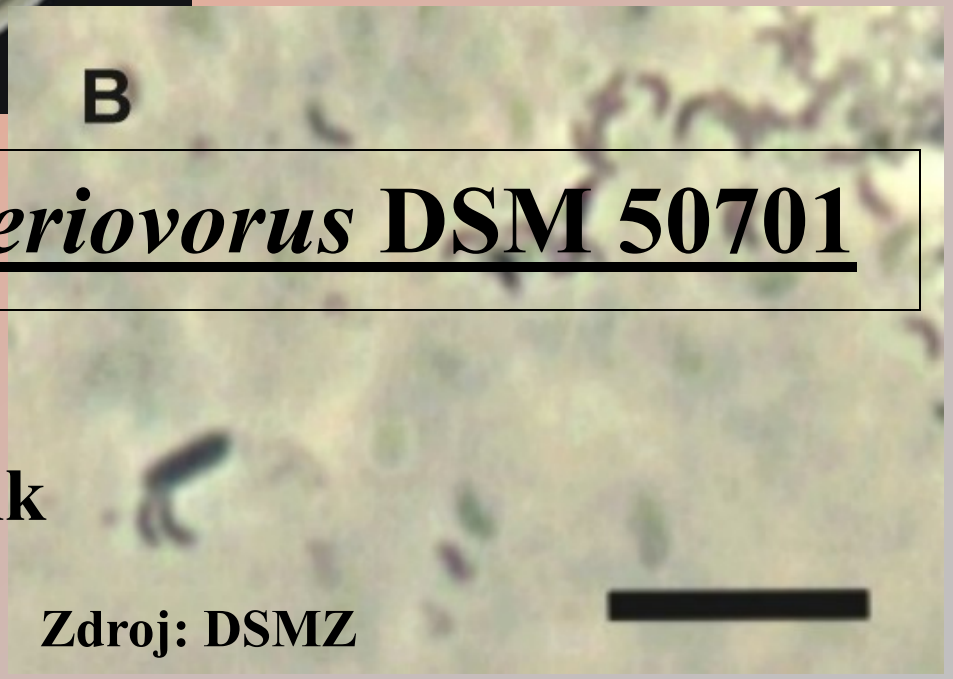


Foto: DSMZ

Plaka na mediu 257 DSMZ



***Bdellovibrio bacteriovorus* DSM 50701**

Hostitelská buňka několik bdelovibrií

Zdroj: DSMZ

Ekofyziologie

- **výskyt** – půda, odpad, voda
- specifická metabolická přizpůsobení parazitickému životu – reprodukční stadium **metabolizuje vysokomolekulární látky obsažené v hostitelské buňce**
- efektivita metabolismu až **65%** materiálu hostitelské buňky **přemění na vlastní buněčný materiál**
- uvnitř hostitele je buňka **rezistentní** k záření, fágům a environmentálním polutantům
- některé kmeny tvoří tzv. **bdelocysty = 3. klidové stadium**, které se za vhodných podmínek mění na infekční stadium

Další predátoři

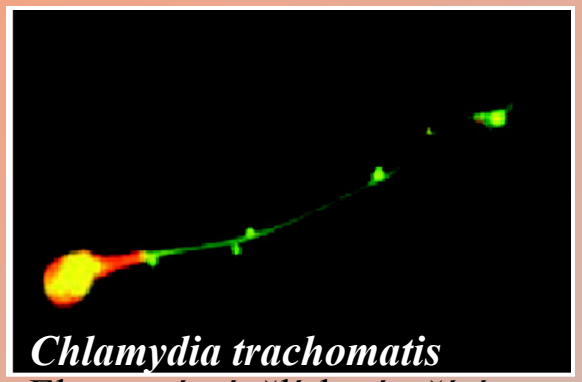
- Více ne 12 podobných mikroorganismů
- Obligátní nebo příležitostní parazité
- Nitrobuněčné nebo na povrchu buňky
- **Myxokoky** a **lysobactery** se kořisti zmocňují kolektivně, když dosáhnou potřebného quora, „strategie vlčí smečky“
- **Mycovibria** a **vampirokoky** zůstávají na povrchu
- **Daptobactery** pronikají přímo do cytoplazmy

Chlamydie

obligátní parazité buněk vyšších organismů

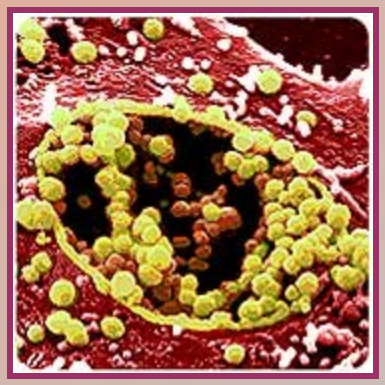
- *Chlamydia trachomatis*
- *Chlamydophila pneumoniae*
- *Chlamydophila psittaci*
- *Parachlamydia acanthamoebae*

Chlamydia pneumoniae

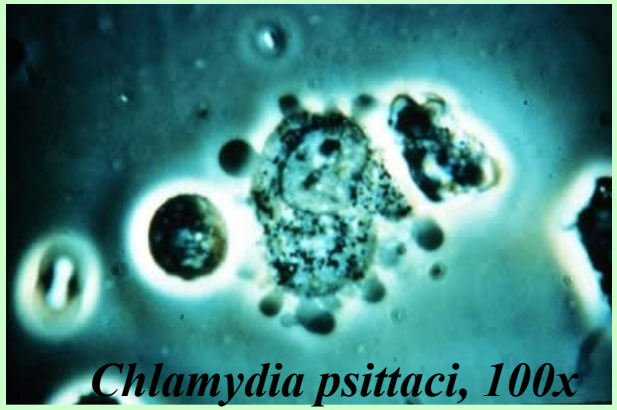


Chlamydia trachomatis

Elementární tělíska útočící na spermii
Courtney S. Hossenzadeh



Chlamydia psittaci



Chlamydia psittaci, 100x

Dr. Jean Sander

Von der unter Leitung des Geheimen Medizinalrates Professors Dr. A. Neißer nach Java veranstalteten Expedition zur Erforschung der Syphilis.

Über Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom.

Von

Ludwig Halberstaedter,
früher Assistenzarzt der Univ.-Klinik für Hautkrankheiten in Breslau,

und

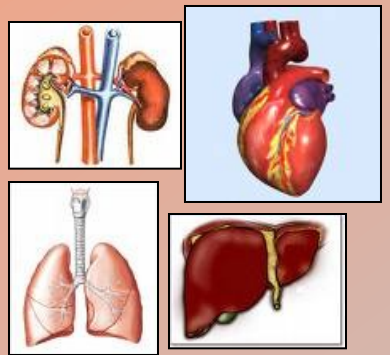
S. von Prowazek,
Hilfsarbeiter im Kaiserlichen Gesundheitsamte.

(Mit drei Textabbildungen.) [www.chlamydiae.com]

- Chlamydiová infekce zarudnutí oka – hnisavý zánět spojivkového vaku - byla popsána již ve starověké Číně a Egyptě
- v r. 1907, **Halberstaedter and von Prowazek**, pracující na Jávě, popsal přenos trachomu z člověka na orangutana.

Trachom = trachta (řec) = drsný

Chlamydiové infekce



- Ornitóza, psitakóza – zoonóza; pneumonie
  Chlamydophila psittaci

- ***Chlamydia trachomatis***
  - okulogenitální onemocnění dospělých
  - trachom

  - lymphogranuloma venerum
  - perinatální infekce
  - reaktivní artiritida

Promořeno 8% populace

- ***Chlamydophila pneumoniae*** – 10% komunitních pneumonií. **Druh popsán 1983; u dospělých protilátky v 60 – 70%**

Makrolidy, tetracykliny

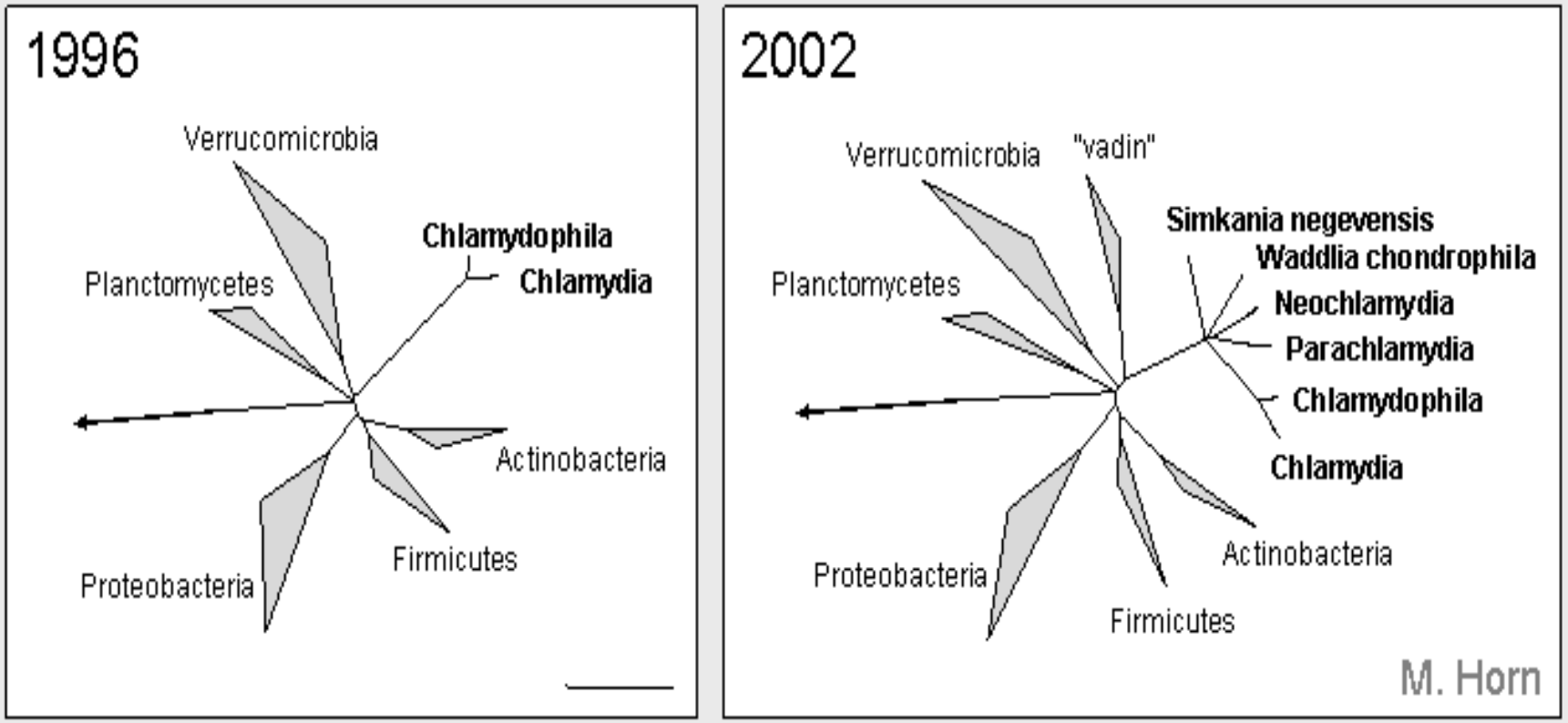
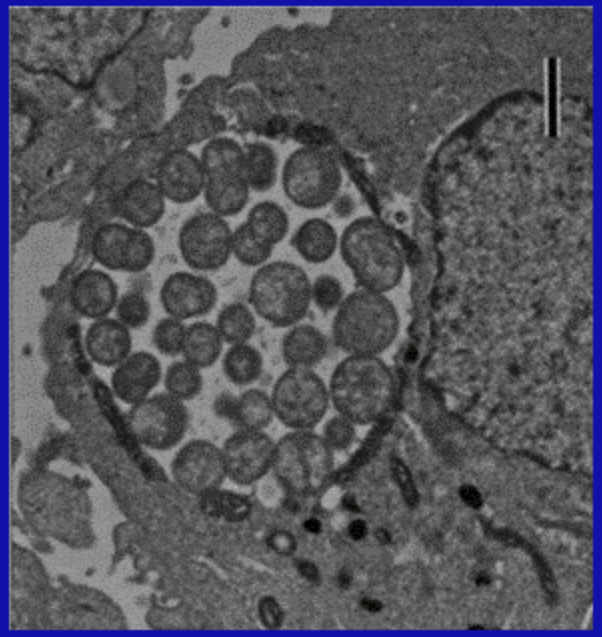


Figure 1

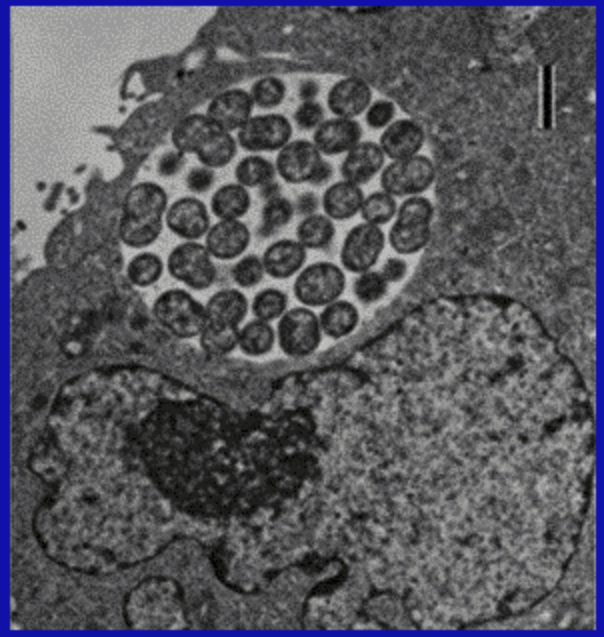
www.chlamydiae.com

Inclusion development in different chlamydiae: Both shared and unique properties

Images by A. Matsumoto, Reference 1

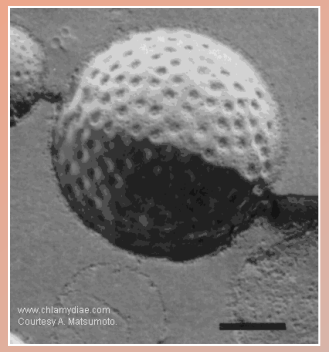


C. psittaci Cal 10

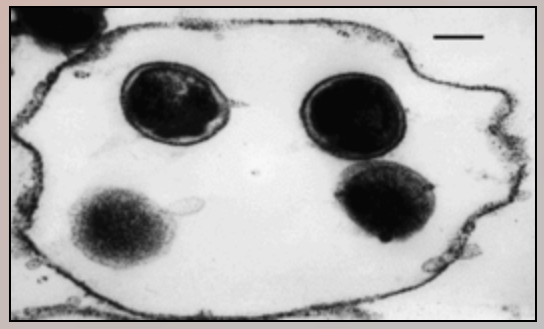


C. pneumoniae

Dvě fáze reprodukčního cyklu chlamydií



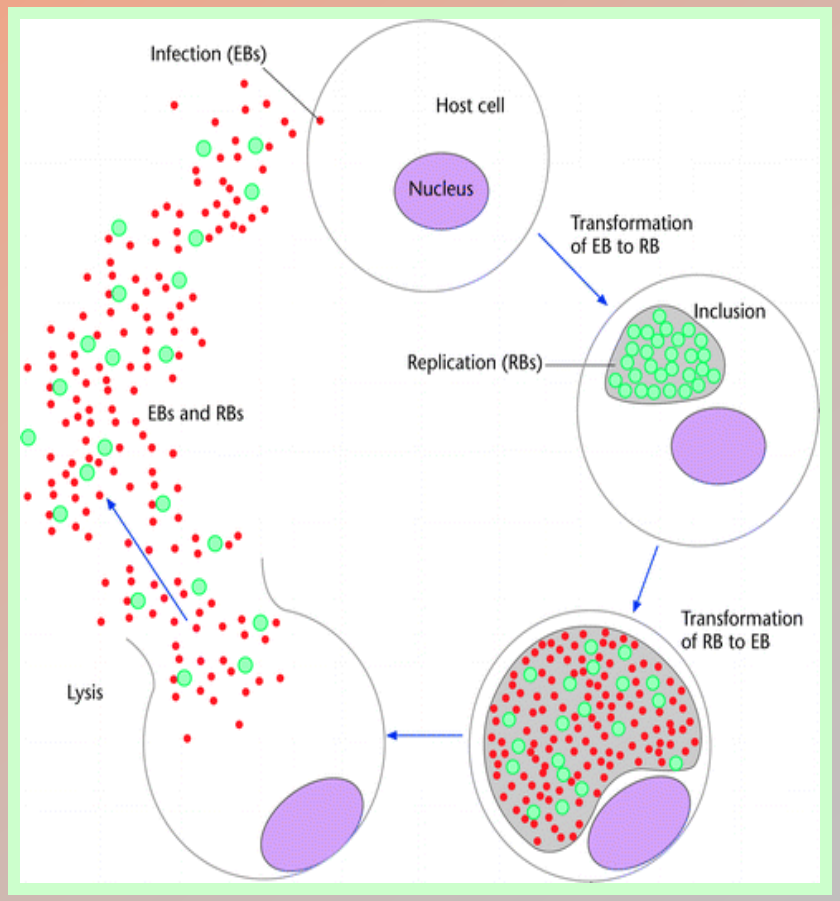
- **elementární tělíska (EB)** – klidová stádia, rezistentní a vysoce infekční. Přizpůsobeny pro přežití ve vnějším prostředí.
- **retikulátní tělíska (RB) –** větší, ve fagozomu, reprodukční stádium, obsahuje ribozomy a využívá biosyntetický aparát hostitelské buňky



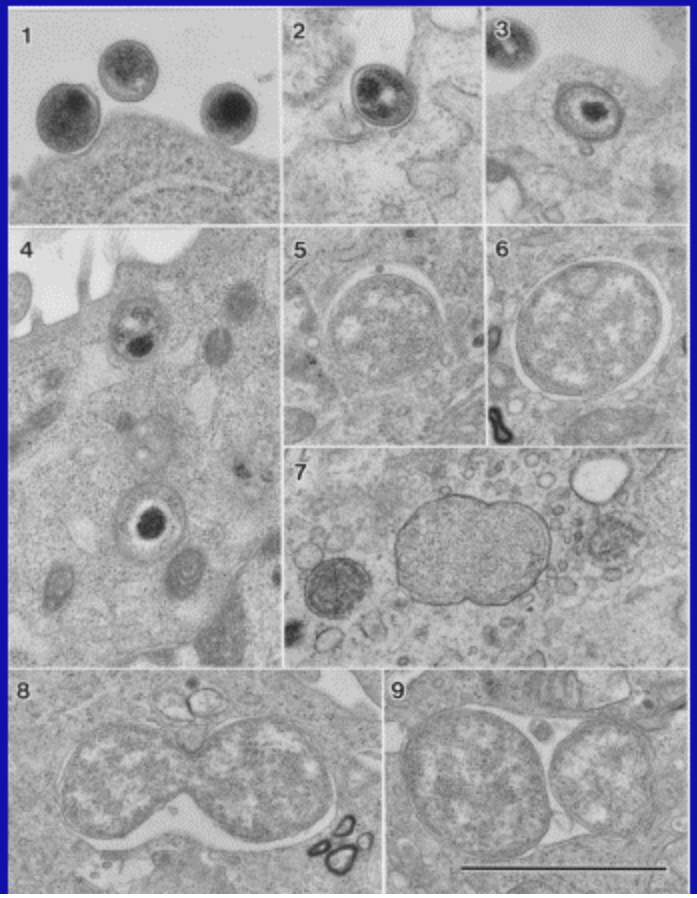
4 elementární tělíska obklopené retikulárním, které je produkuje.

Životní cyklus

- 1. elementární tělísko **infikuje** hostitelskou buňku
  - specifická interakce, fagocytóza, fagozóm, narušení obrany
- 2. elementární tělísko **se mění v retikulátní tělísko**, inkluze
  - 10 – 15h – syntéza ribozómů, reorganizace DNA, vytvoření nové buněčné stěny, dělení
- 3. retikulátní tělíska **se dělí až do úplného naplnění fagozómu**
- 4. retikulátní tělíska **se mění v elementární tělíska, lyze buňky, uvolnění**

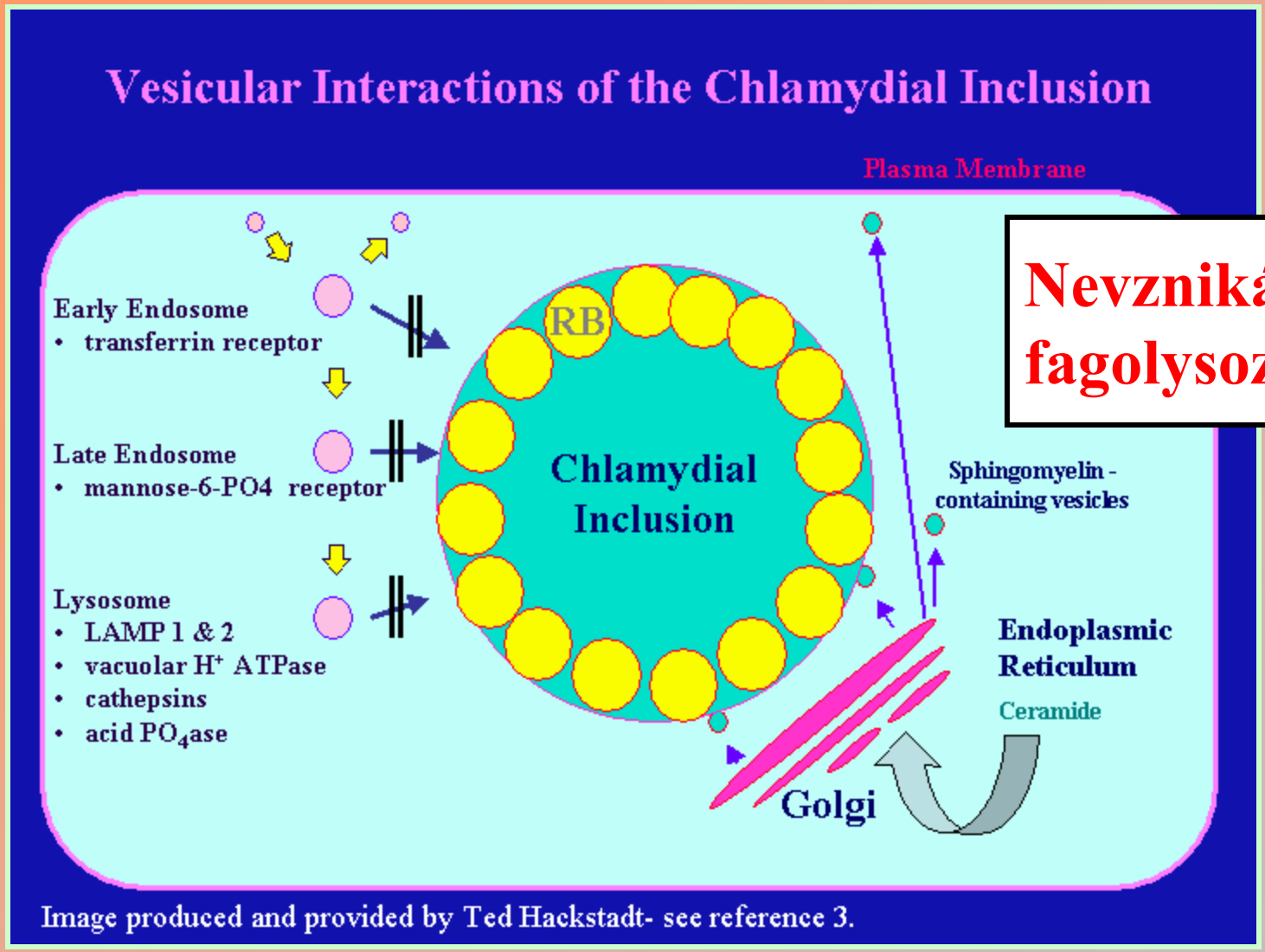


Attachment and early development



Images by
A. Matsumoto,
Reference 1

- **Vazba na povrch buňky, tvorba endocytických vakuol, diferenciace v RB, binární dělení RB.**



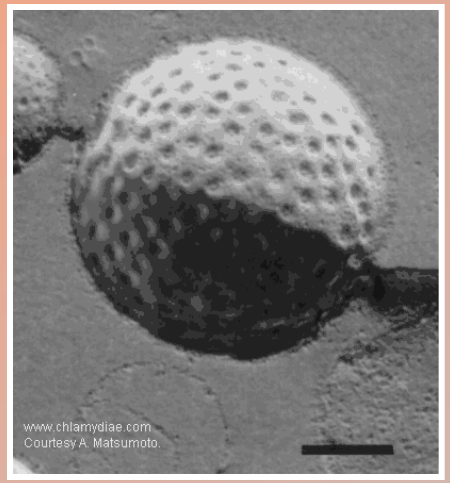
Nevzniká fagolysozom!!

- Expanze inkluzí, fúze s vezikuly odvozenými od GK obsahujícími sfingomyelin

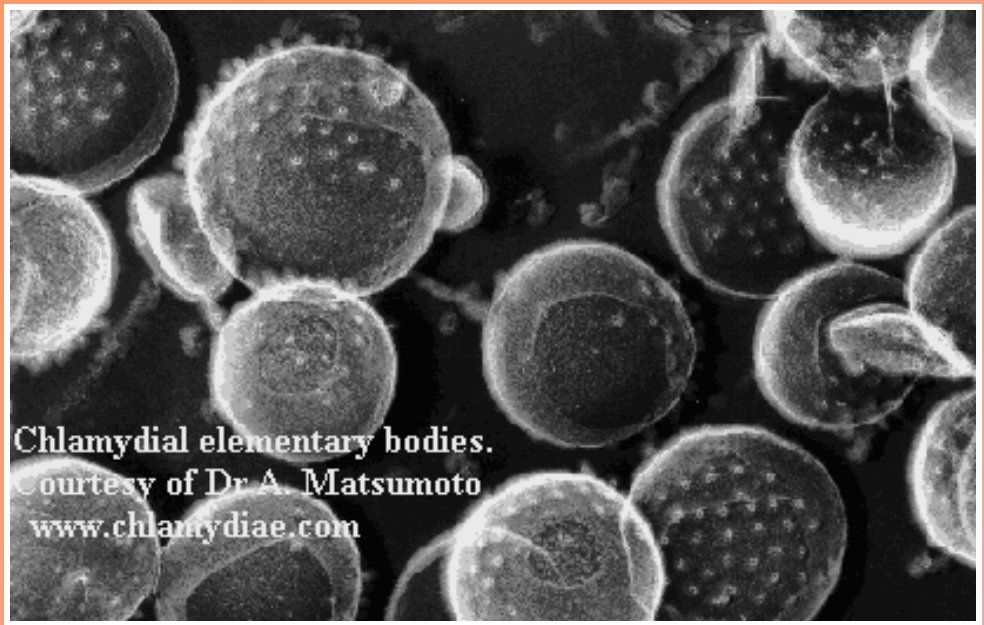
chronické infekce – blokována diferenciace RB v EB – např. interferon gama

- uvolnění EB exocytózou

EB
elementární tělíska



- malá, 0,3μm
- pevná BS – disulfidické můstky – proteiny bohaté na cystein
  - neprokázán peptidoglykan, nicméně geny pro jeho syntézu jsou přítomny
  - vliv β-laktamových atb
- kompaktní genom – histon-like proteiny
- infekční - adheziny



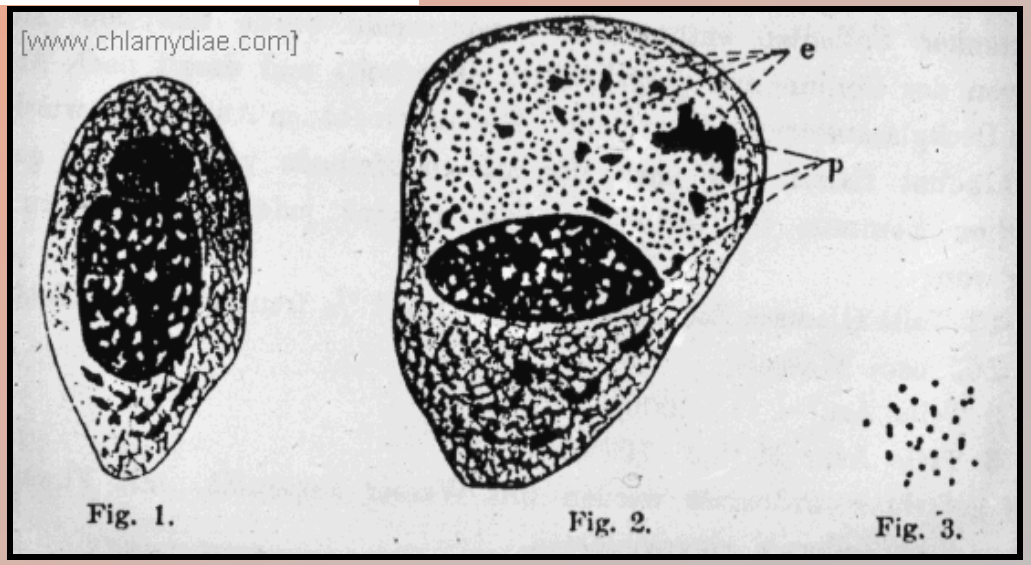


Fig.2 infikovaná buňka spojivky,
Fig.3 chlamydiové částice

RB

retikulární tělíska 1 μm

- VM – pouze málo propojení, osmotická nestabilita
- Metabolicky aktivní, mnoho ribozomů
- relaxovaná DNA – difúzní a vláknitá, mizí histon-like proteiny, objevuje se mRNA a velké množství ribozómů
- Zodpovědny za replikaci, růst, dělení – tehdy kondenzace NK
- **!!!** nepřítomnost libovolného genu pro dělení prokaryotické buňky (*ftsZ*)

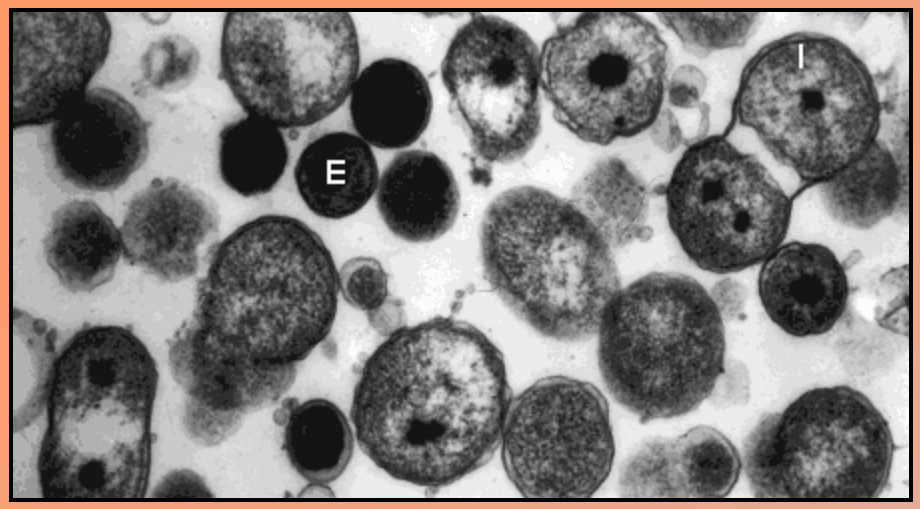
❖**Inkluze** chlamydií 15h po infekci.

❖Mnoho retikulárních tělísek (R).

❖Membrána endozomu (EM).

❖Bublinky membrán (mb)

❖**Lipopolysacharid** chlamydií exportovaný z R je důležitý pro některé imunologické testy – **detekce antigenu**

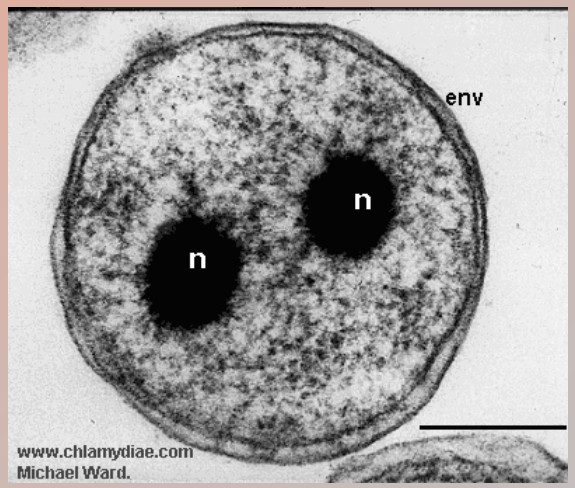


Po 18-22 h po infekci, retikulární tělíska se začínají diferencovat v elementární.

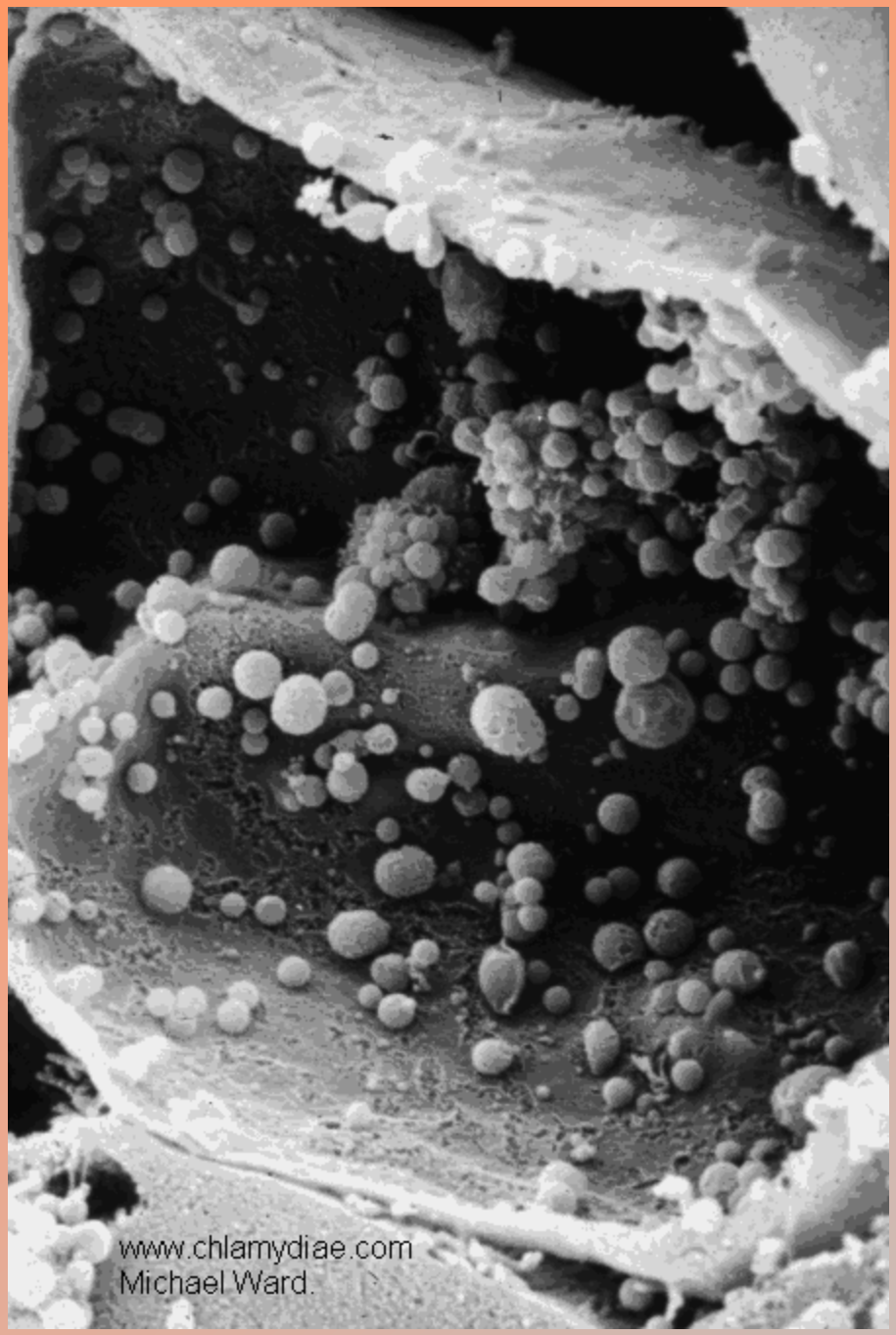
University of Southampton

School of Medicine.

30 h po infekci



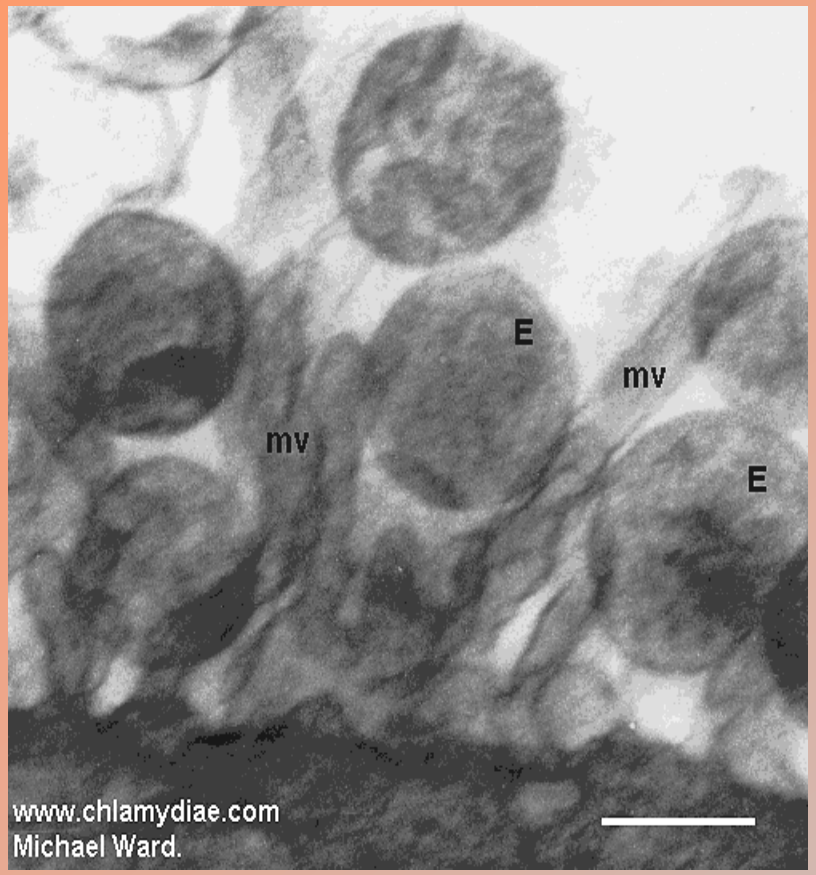
- Směs EB a RB
- Homogenní granulární
- povaha CPL od RB



HeLa 229 buňky po 40 hod infekci *C. trachomatis*,
Po zamražení.
Led odstranil většinu chlamydiových partikulí.
Chlamydie modifikují membránu např.proteinem Inc. Membrána inkluzí se zvětšuje (GK hostitelské buňky)
ESM

M. E. Ward a **C. Inman**,
Southampton
Biomedical Imaging Unit.

Adheze



- vazba negativně nabitého povrchu EB k negativně nabitému povrchu host. buňky
- není spolehlivě vysvětlena
- **DLVO theory** of colloid physics (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek theory)
- musí být překonána odpudivá elektrostatická bariéra – přívěskovité části host. buněk, pozitivně nabité makromolekuly - DEAE dextran nebo poly-L-lysin – u některých biovarů – zvyšují infektivitu
- MOMP

http://www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_attach.asp

Vstup do hostitelské buňky

- endocytóza – receptor mediated
- endosóm postrádá normální markery, proto není fusogenní
- blokována maturace
- blokován vznik fagolysozómu
- přesun do perinukleárního prostoru

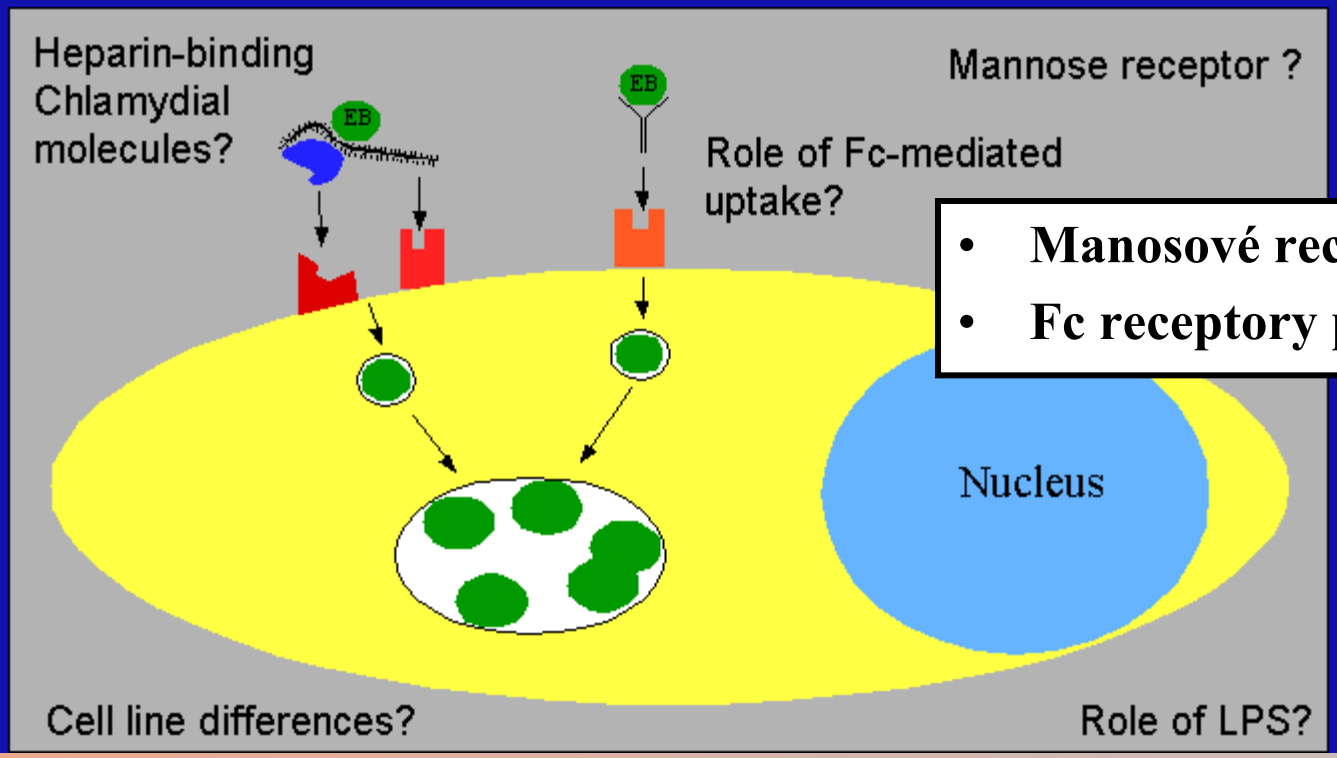
Chlamydia enter cells in multiple ways,

or,

Different chlamydiae enter cells in different ways

or,

Chlamydiae enter different cells in different ways



- **Manosové receptory pro GP**
- **Fc receptory pro Ab**

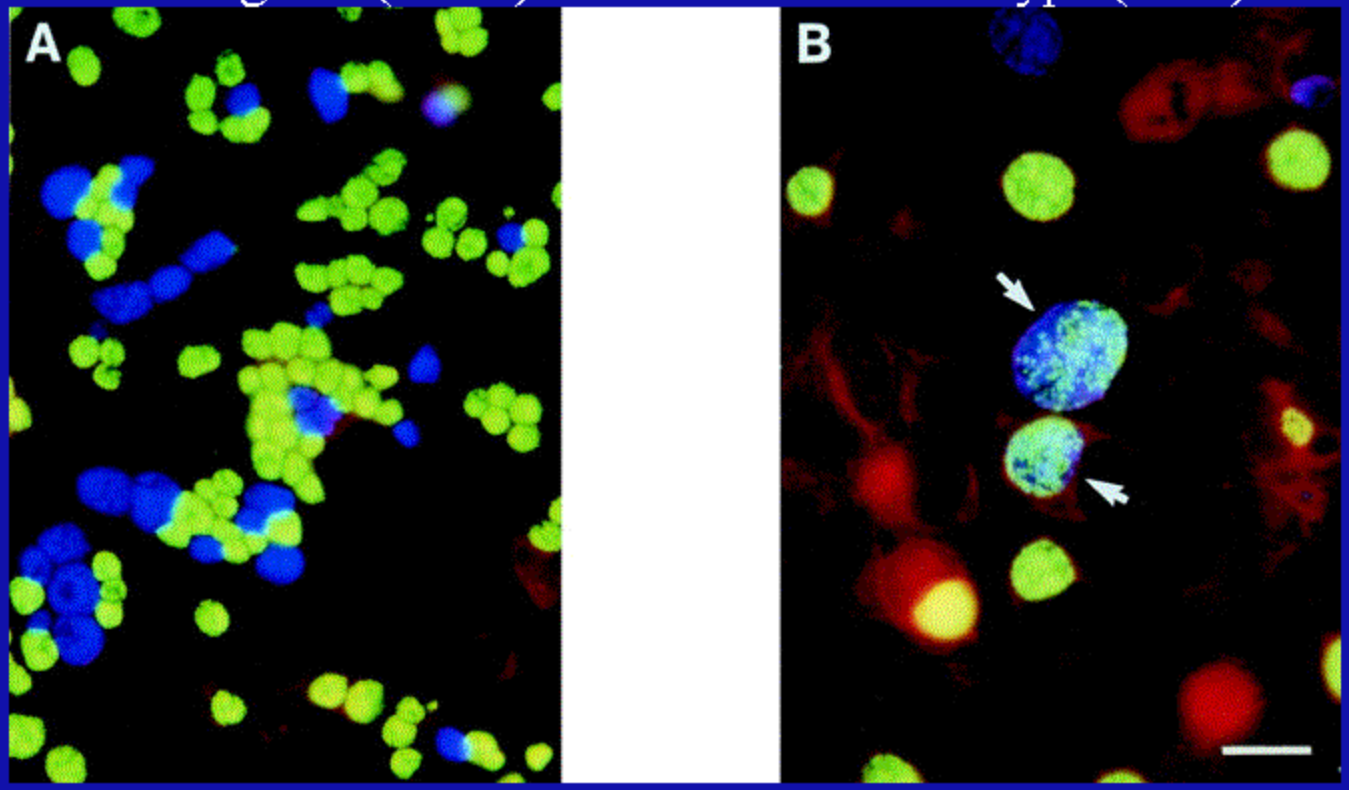
Fúzní
Inc proteiny

Endozom s chlamydiemi se vyhýbá fúzi s lysozomy hostitele. Endozomy rodu *Chlamydia* fúzují navzájem a tvoří větší inkluze **(nikoli tak *Chlamydophila*).**

C. trachomatis:
Fusogenic and nonfusogenic inclusions

Nonfusogenic (1-2%)

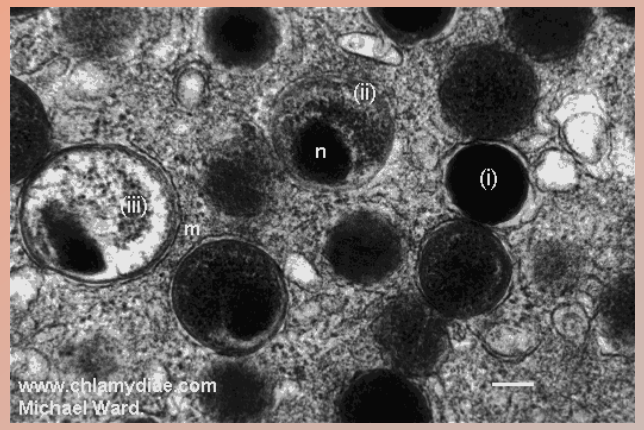
Wild type (98%)



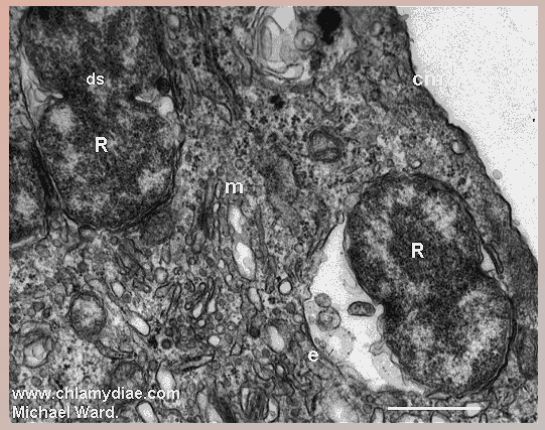
Images by Bob Suchland, Reference 8

Změny provázející diferenciaci EB v RB

- **změny BS**
- **relaxace DNA**
- **ztráta denzity cytoplazmy**



3h



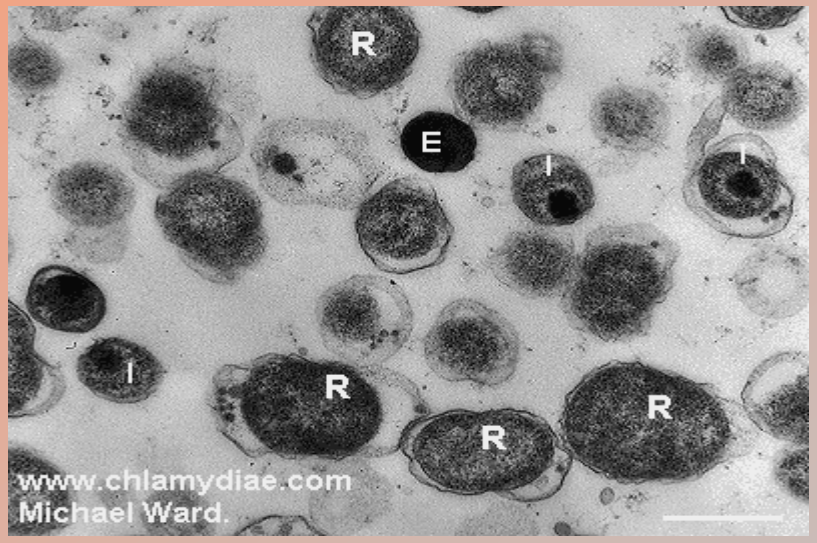
9h – retikul. tělísko

Chlamydia trachomatis

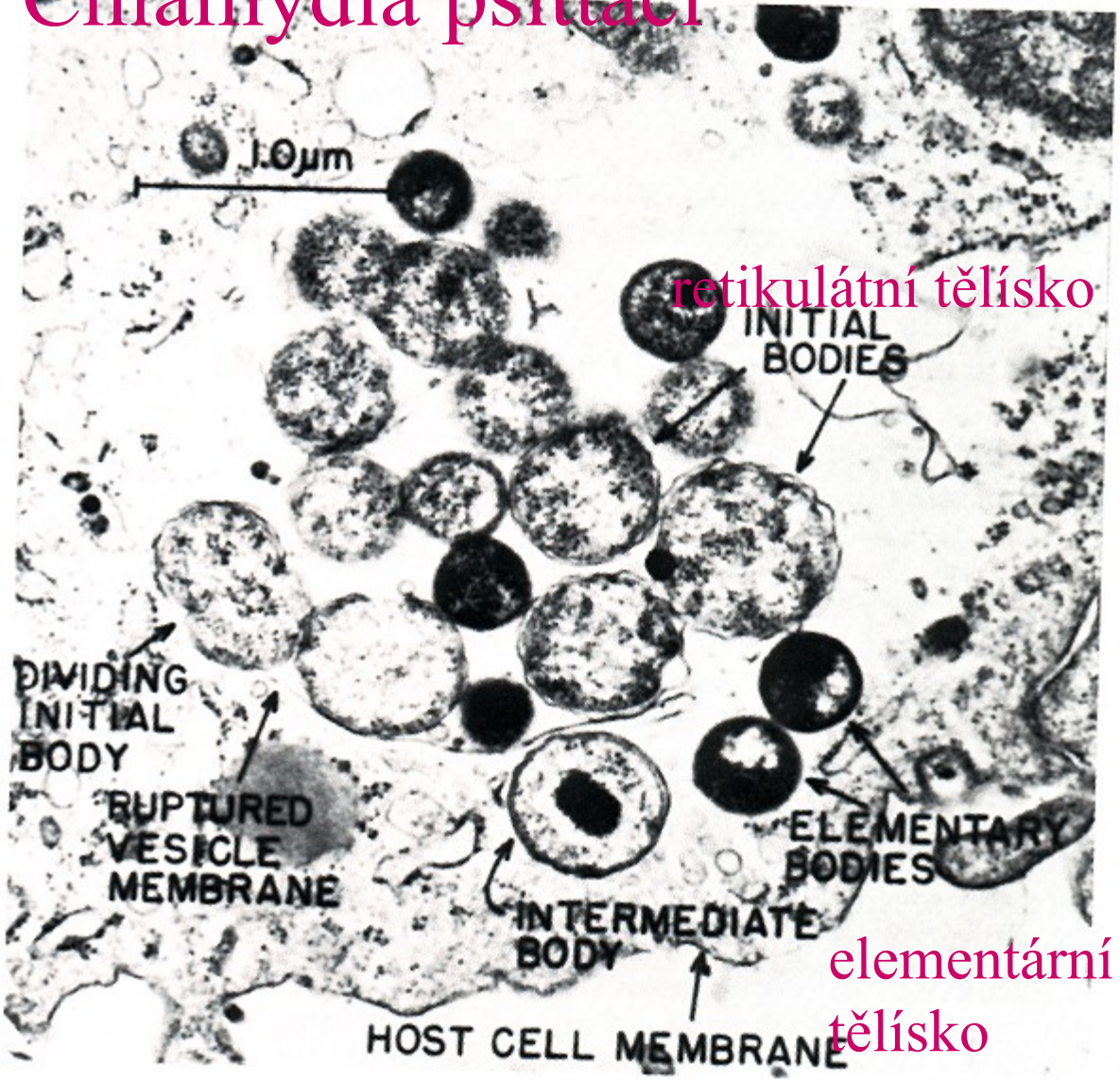
18 - 22

15

40



Chlamydia psittaci



retikulátní tělísko

elementární tělísko

Table 1. Properties of the elementary body and the reticulate particle of the genus *Chlamydia*.

Property	Elementary body	Reticulate particle
Size	200–400 nm	600–1,000 nm
Rigid cell wall	+	−
Extracellular stability	+	−
Serotype-specific antigens	+	−
Species-specific antigens exposed	−	+
Organization of DNA	Nucleoid	Dispersed
RNA/DNA ratio	<1	3–4
Infective	+[a]	−
Induce phagocytosis	+[a]	−
Inhibit phagosome fusion	+[a]	−
Toxicity	+[a]	−
Metabolic activity	−	+
Replication	−	+

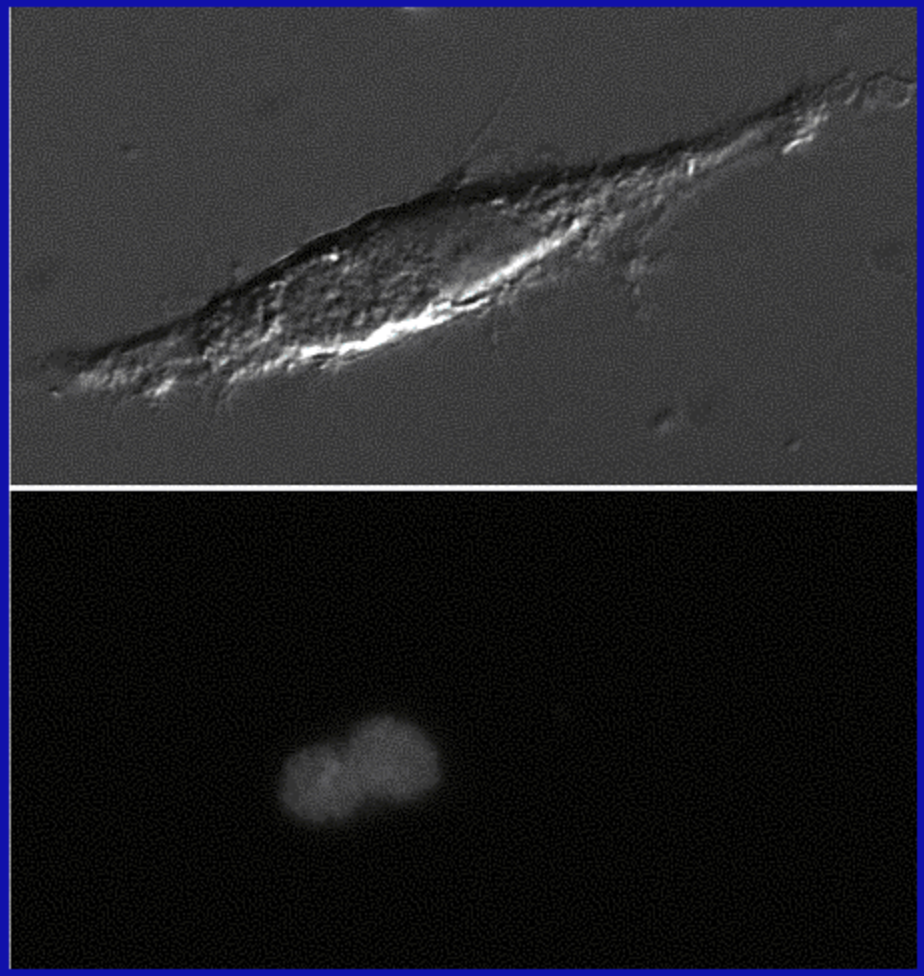
+, property present; −, property absent.

[a]Properties apparently blocked by specific antibody.

Reproduced with permission from the Annual Review of Microbiology. From Schachter and Caldwell (1980).

Vliv na hostitelskou buňku

- změny membrány endozómu
- degradace proteinů v cytoplazmě – povrchová exprese MHC I a II
- zneviditelnění buňky pro imunitní systém hostitele



Trafficking of NBD-ceramide: refs 3, 6, 17-19

- http://www.chlamydiae.com
- **www.chlamydiae.com/docs/biology/biol_review.asp**
- T Shinohara *et al*, *Mol. Phys.*, 2003

Obligátně intracelulární parazité:

nestřídá se infekční a reprodukční stadium

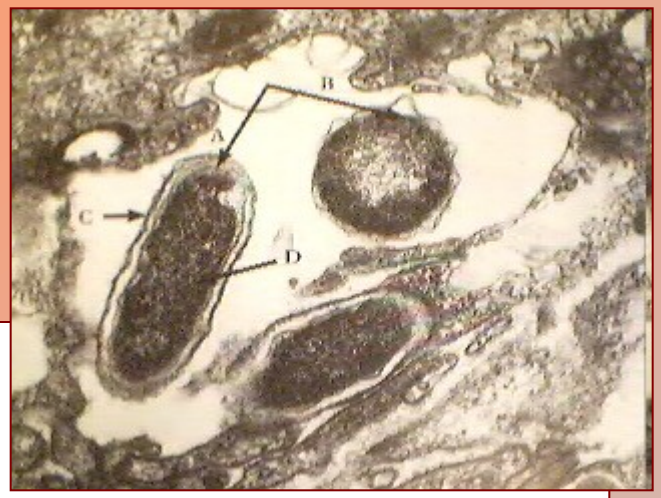
Řád *Rickettsiales* α –proteob. Řád *Legionellales* γ –proteob.

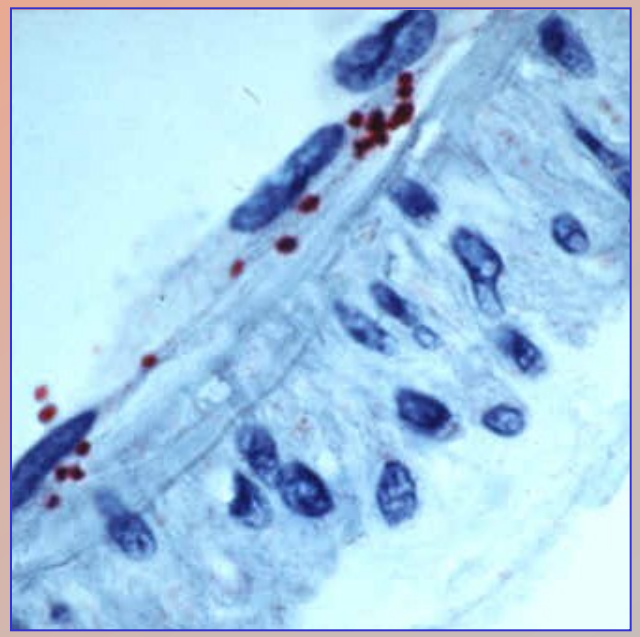
Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma* a *Coxiella

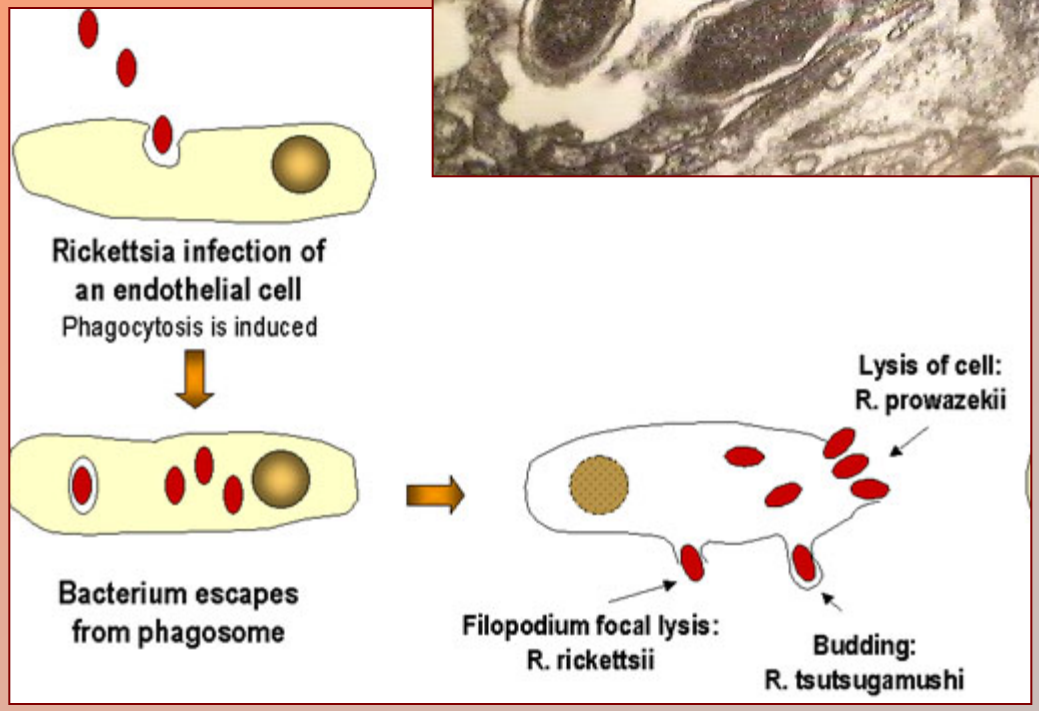
- **Př:**

Rickettsia

0,3 – 0,5 µm







Přenášeny členovci, inhalací, digescí

Patogeni:

R. prowazekii, R. rickettsii, R. typhi a R. tsutsugamushi

Děkuji za pozornost