

MIKROBIOLOGIE

Mgr. Šárka Bidmanová, Ph.D.

Loschmidtovy laboratoře, Ústav experimentální biologie

Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

77580@mail.muni.cz

MIKROBIOLOGIE

1. Úvod do studia mikrobiologie
2. Archea
3. Bakterie
4. Fyziologie růstu bakteriální populace
5. Výživa a metabolismus bakterií
6. Metabolismus bakterií I
7. *Metabolismus bakterií II*
8. Genetika bakterií
9. Nejvýznamnější zástupci bakterií a jejich význam
10. Sinice
11. Kvasinky
12. Vlákňité houby
13. Viry a priony

Opakování – metabolismus bakterií II

- Při anabolických reakcích dochází k rozkladu složitějších látek na jednodušší.
 - Správně
 - Špatně
- Fixace CO_2 u heterotrofních bakterií probíhá v Calvinově cyklu.
 - Správně
 - Špatně
- Při fixaci molekulového dusíku je dusík zabudován bakteriemi přímo do aminokyselin a heterocyklických sloučenin.
 - Správně
 - Špatně
- Lipidy jsou syntetizovány z glycerolu a karboxylových kyselin, které vznikají přeměnami v pentosovém cyklu.
 - Správně
 - Špatně

Opakování – metabolismus bakterií II

- Aminokyseliny mohou vznikat transaminací jednoduchých karboxylových kyselin.
 - Správně
 - Špatně
- Replikace bakteriální DNA probíhá na ribosomech.
 - Správně
 - Špatně
- mRNA u bakterií vzniká z pre-mRNA posttranskripční úpravou sestřihem.
 - Správně
 - Špatně
- Indukovatelné enzymy jsou syntetizovány neustále nezávisle na podmínkách prostředí.
 - Správně
 - Špatně
- Regulace metabolismu na úrovni aktivity enzymu probíhá pouze u klíčových enzymů metabolismu.
 - Správně
 - Špatně

MIKROBIOLOGIE

1. Úvod do studia mikrobiologie
2. Archea
3. Bakterie
4. Fyziologie růstu bakteriální populace
5. Výživa a metabolismus bakterií
6. Metabolismus bakterií I
7. Metabolismus bakterií II
8. Genetika bakterií
9. Nejvýznamnější zástupci bakterií a jejich význam
10. Sinice
11. Kvasinky
12. Vlákňité houby
13. Viry a priony

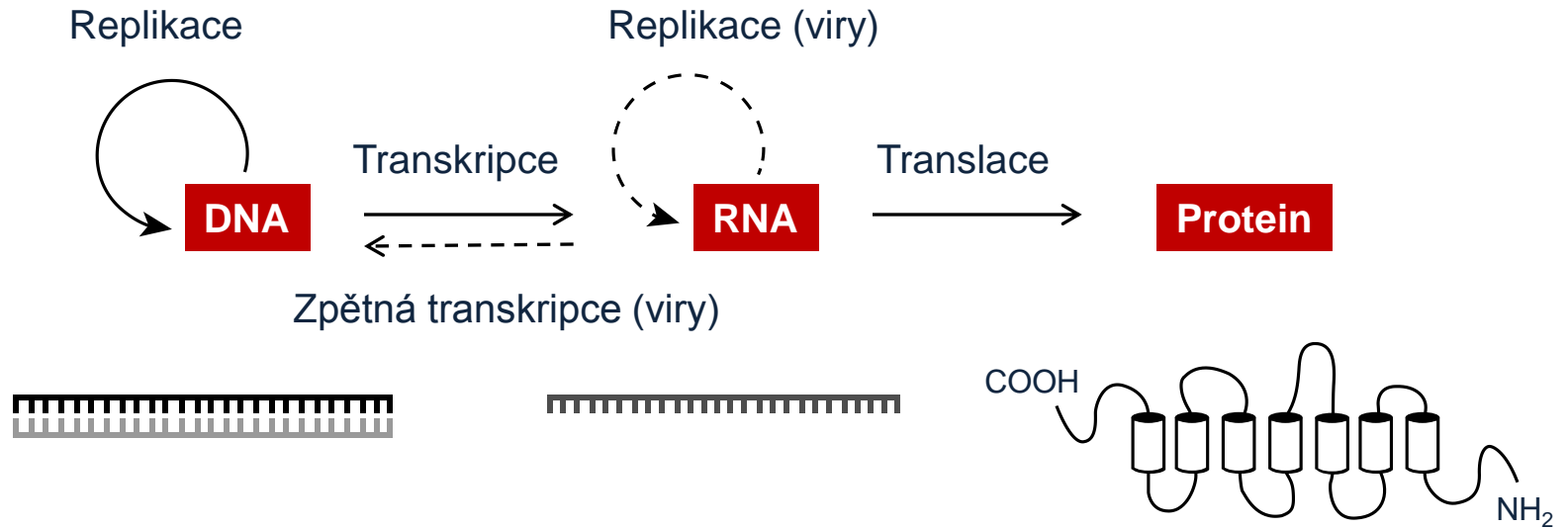
Genetika bakterií

- Genetická informace
 - Obsažena v pořadí nukleotidů nukleových kyselin
 - DNA nebo RNA – informace o primární struktuře proteinu
 - DNA – informace o primární struktuře biologicky funkční RNA
 - RNA – informace o primární struktuře DNA
 - DNA nebo RNA – informace o vazbě ke specifickým proteinům

MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií

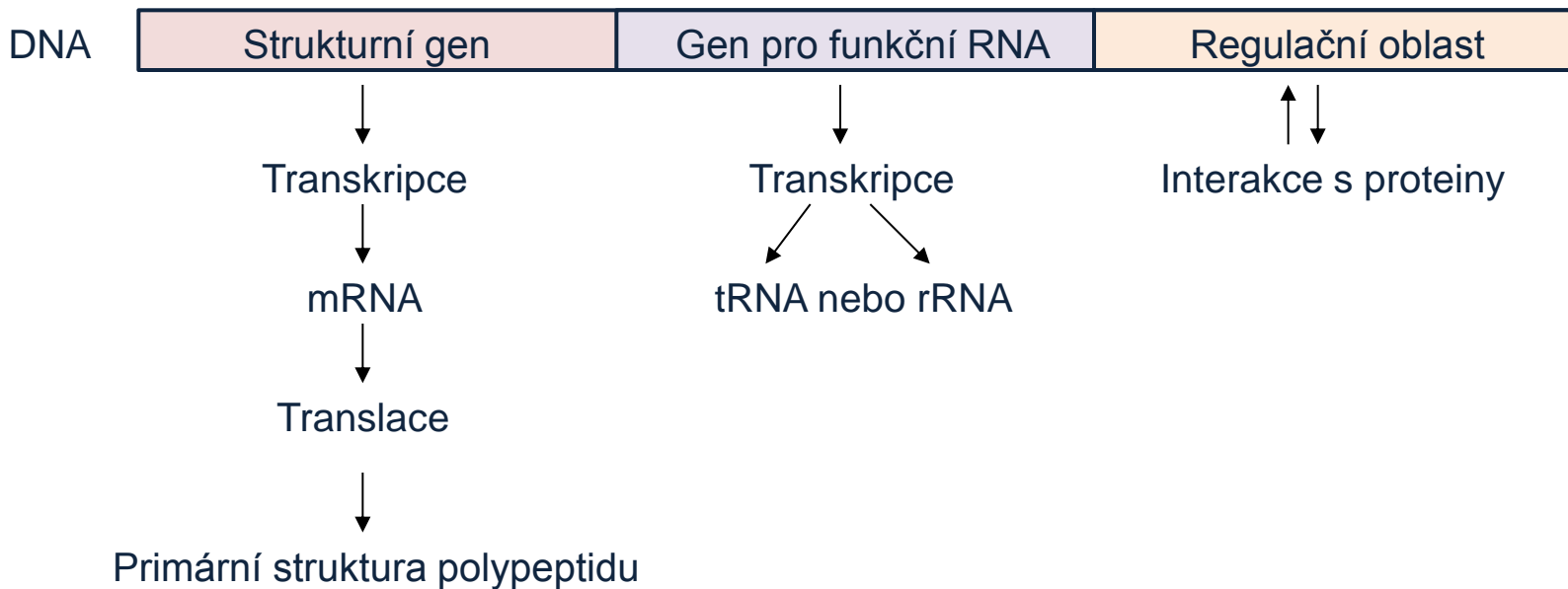
- Přenos genetické informace



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií

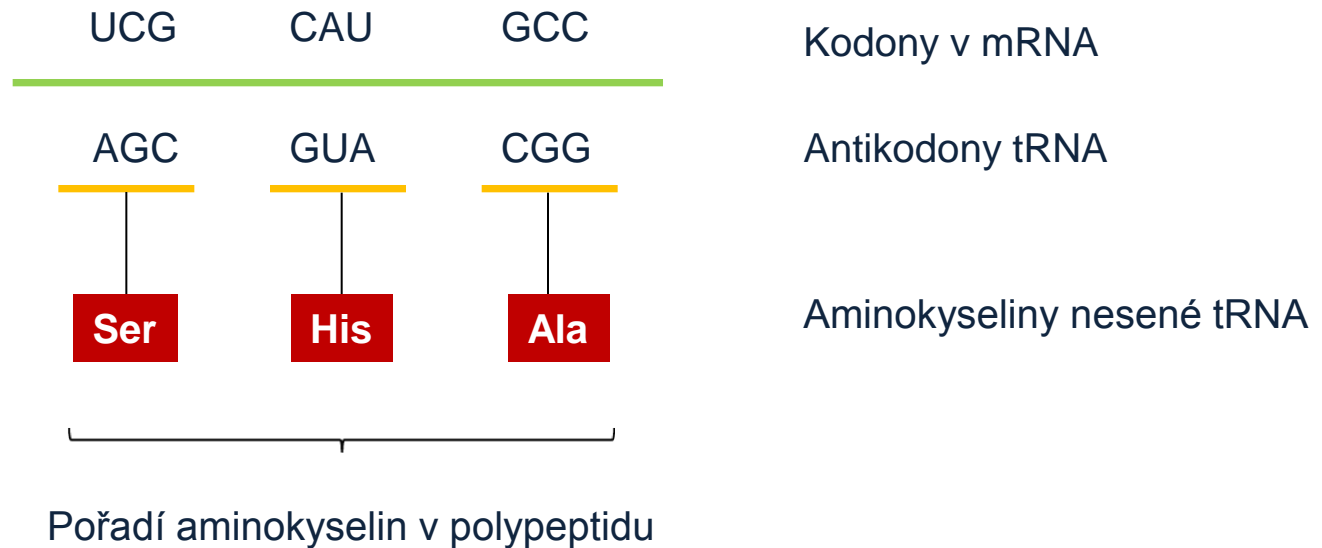
- Gen
 - Jednotka genetické informace
 - Strukturní gen –
 - Gen pro funkční typy RNA –
 - Regulační oblast –



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií

- Genetický kód
 - Systém pravidel – pořadí nukleotidů určuje pořadí aminokyselin v polypeptidickém řetězci
 - **Kodon** =



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií

- Genetický kód
 - Tripletový
 - Degenerovaný
 - Sestaven ze 64 kodonů, aminokyseliny kóduje 61 kodonů
 - Smysl kodonu =
 - Nesmyslné kodony – UAA, UAG – zakončení syntézy polypeptidu
 - Bifunkční kodony – UGA – zakončení syntézy polypeptidu nebo kodon pro selenocystein, AUG – iniciace syntézy polypeptidu nebo kodon pro methionin

MIKROBIOLOGIE

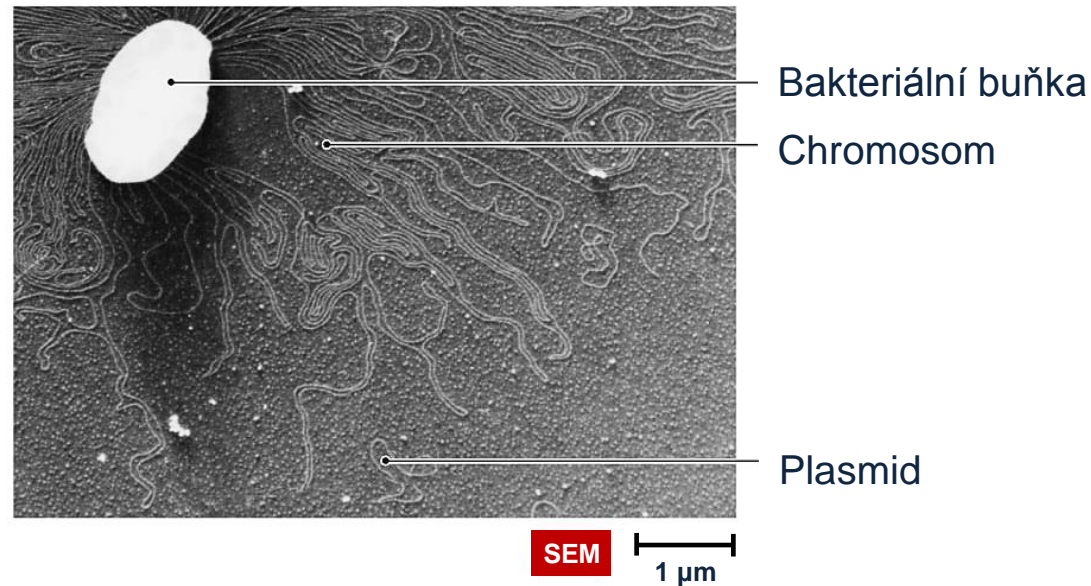
Genetika bakterií

- Standardní genetický kód

	U		C		A		G	
U	UUU	fenylalanin	UCU	serin	UAU	tyrosin	UGU	cystein
	UUC	fenylalanin	UCC	serin	UAC	tyrosin	UGC	cystein
	UUA	leucin	UCA	serin	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leucin	UCG	serin	UAG	stop	UGG	tryptofan
C	CUU	leucin	CCU	prolin	CAU	histidin	UGU	arginin
	CUC	leucin	CCC	prolin	CAC	histidin	CGC	arginin
	CUA	leucin	CCA	prolin	CAA	glutamin	CGA	arginin
	CUG	leucin	CCG	prolin	CAG	glutamin	CGG	arginin
A	AUU	izoleucin	ACU	treonin	AAU	asparagin	AGU	serin
	AUC	izoleucin	ACC	treonin	AAC	asparagin	AGC	serin
	AUA	izoleucin	ACA	treonin	AAA	lysin	AGA	arginin
	AUG	metionin	ACG	treonin	AAG	lysin	AGG	arginin
G	GUU	valin	GCU	alanin	GAU	kys. asparagová	GGU	glycin
	GUC	valin	GCC	alanin	GAC	kys. asparagová	GGC	glycin
	GUG	valin	GCA	alanin	GAA	kys. glutamová	GGA	glycin
	GUG	valin	GCG	alanin	GAG	kys. glutamová	GGG	glycin

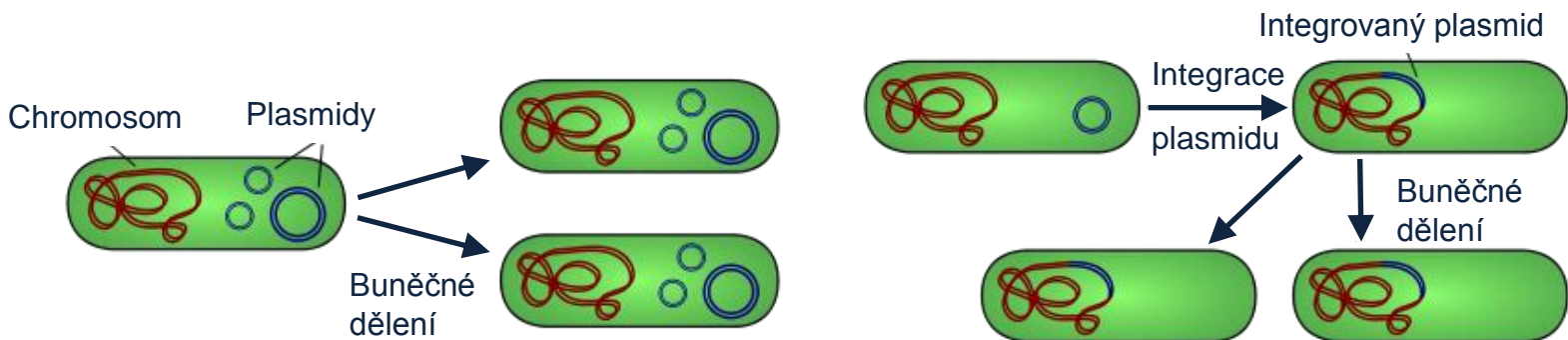
Genetika bakterií

- Genom
 -
 - U bakterií – lokalizace genů na chromozomové a plasmidové DNA
 - Chromozomová a plasmidová DNA – dvouřetězcové, většinou kružnicové



Genetika bakterií

- Plasmidy
 - Neesenciální struktury, selekční výhoda buňky
 - Jednokopiové nebo vícekopiové
 - Každý plasmid – ori – počátek replikace, inc – připojení k cytoplasmatické membráně
 - V autonomním stavu – samostatný replikon lokalizovaný v cytoplasmě
 - V integrovaném stavu – navázán mezi geny v chromozomální DNA



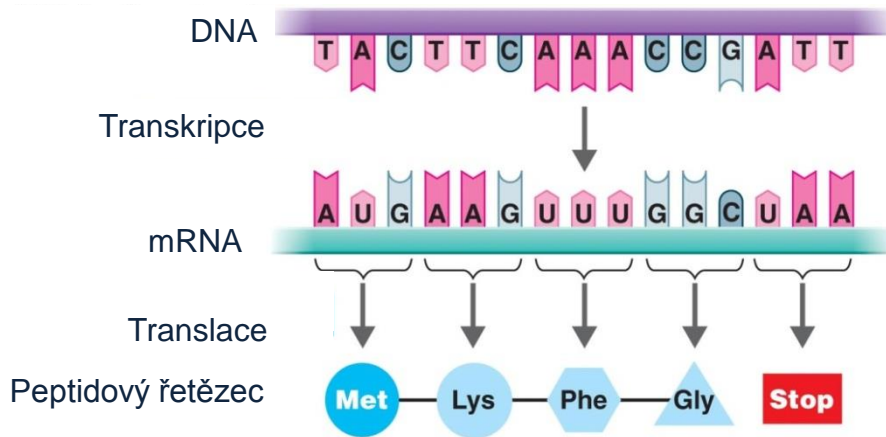
Genetika bakterií – změna genetické informace

- Mutace
 - Změna genu vzniklá záměnou, delecí nebo inzercí nukleotidů
 - Nejčastěji škodlivé mutace
 - Spontánní mutace – vznik samovolně s malou frekvencí, např. důsledkem náhodných chyb při replikaci
 - Reverze – zpětná mutace, obnovení původního pořadí nukleotidů
- **Mutace nukleotidovou substitucí** – nejčastější, záměna nukleotidů
 - Transice =
 - Transverze =
- **Posunová mutace** – změna čtené sekvence nukleotidů v genu
 - Delece – , inzerce –

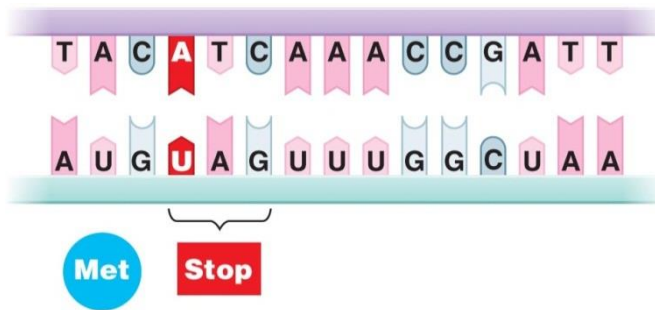


MIKROBIOLOGIE

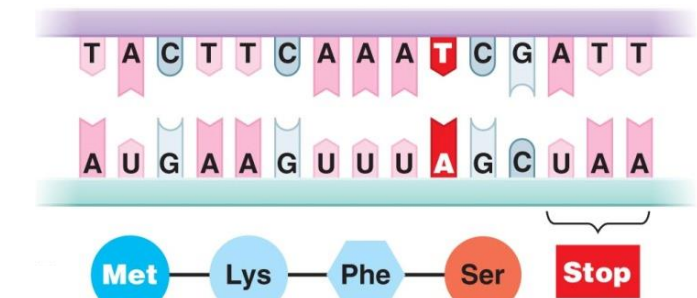
Genetika bakterií – mutace



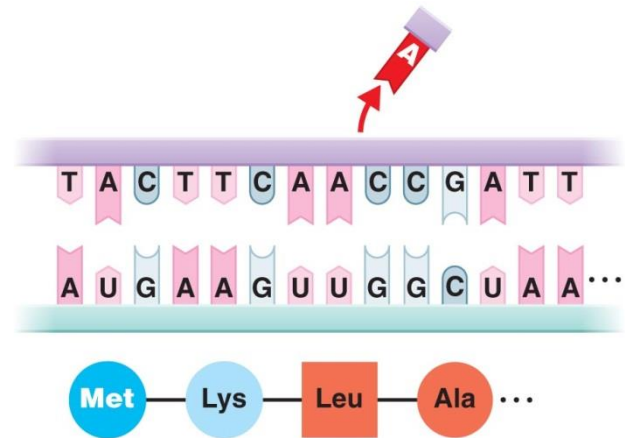
Nezměněná molekula DNA



Nesmyslná mutace



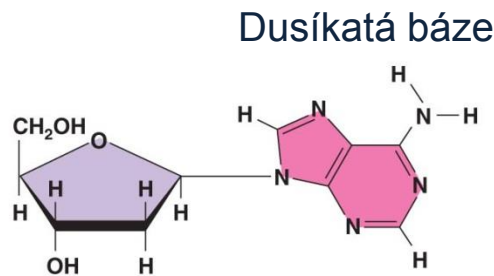
Mutace měnící smysl kodonu



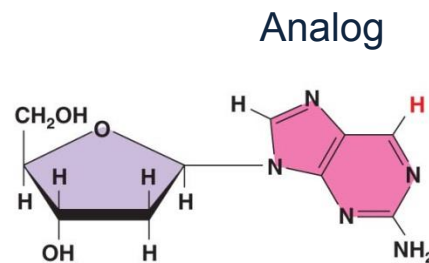
Změna čtecího rámce

Genetika bakterií – mutace

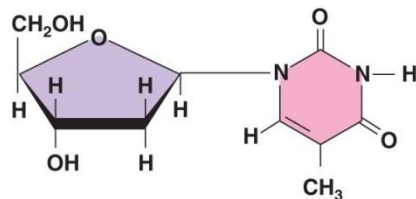
- Mutageny = fyzikální nebo chemické faktory, které vyvolávají mutace
- Chemické mutageny
 - Alkylační činidla, kyselina dusitá - změna chemické struktury bází
 - Analogy bází – narušení replikace DNA
 - Akridiny – posunové mutace



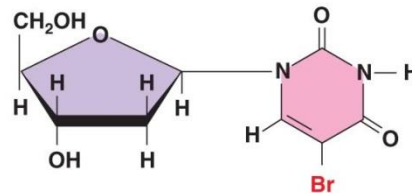
Adenin



2-Aminopurin



Thymin

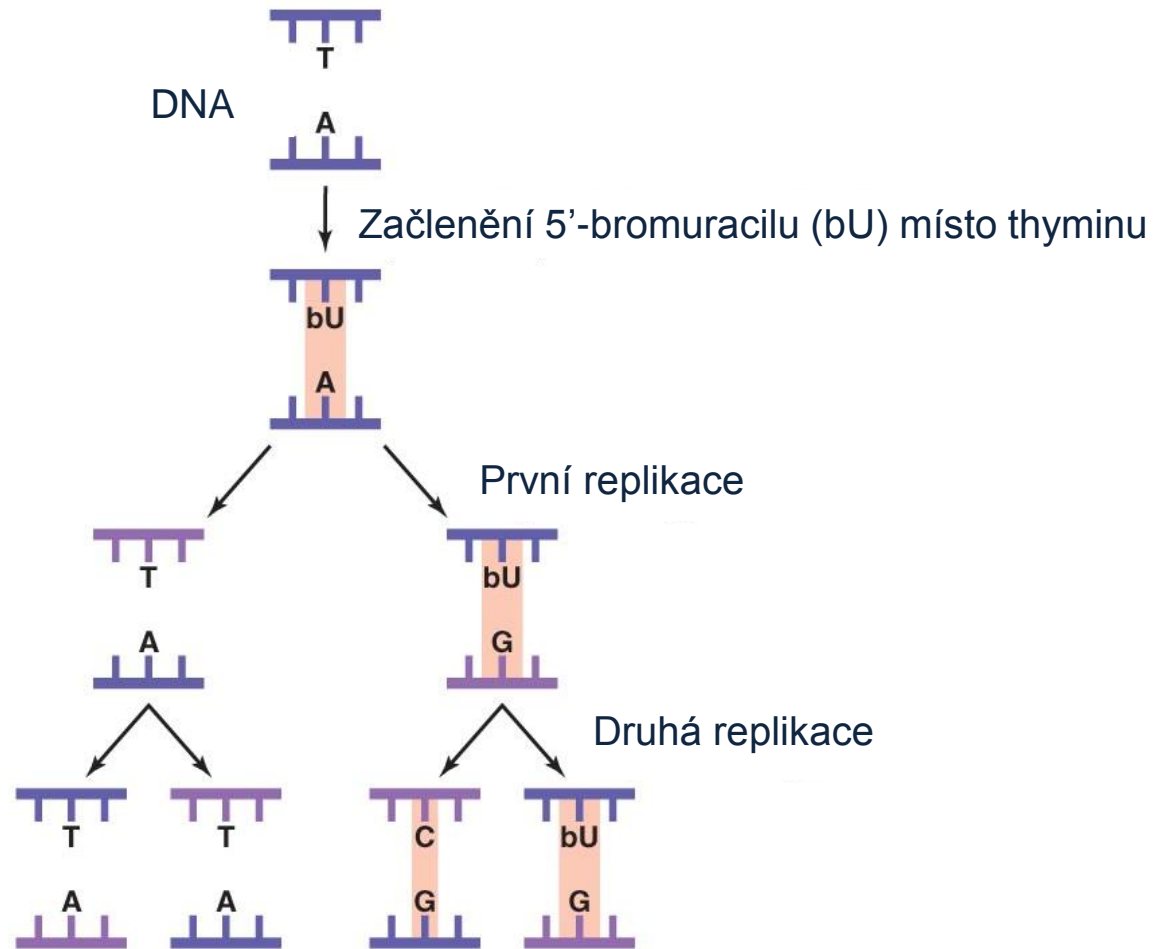


5' -Bromuracil

MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií – mutace

- Chemické mutageny – analogy bází

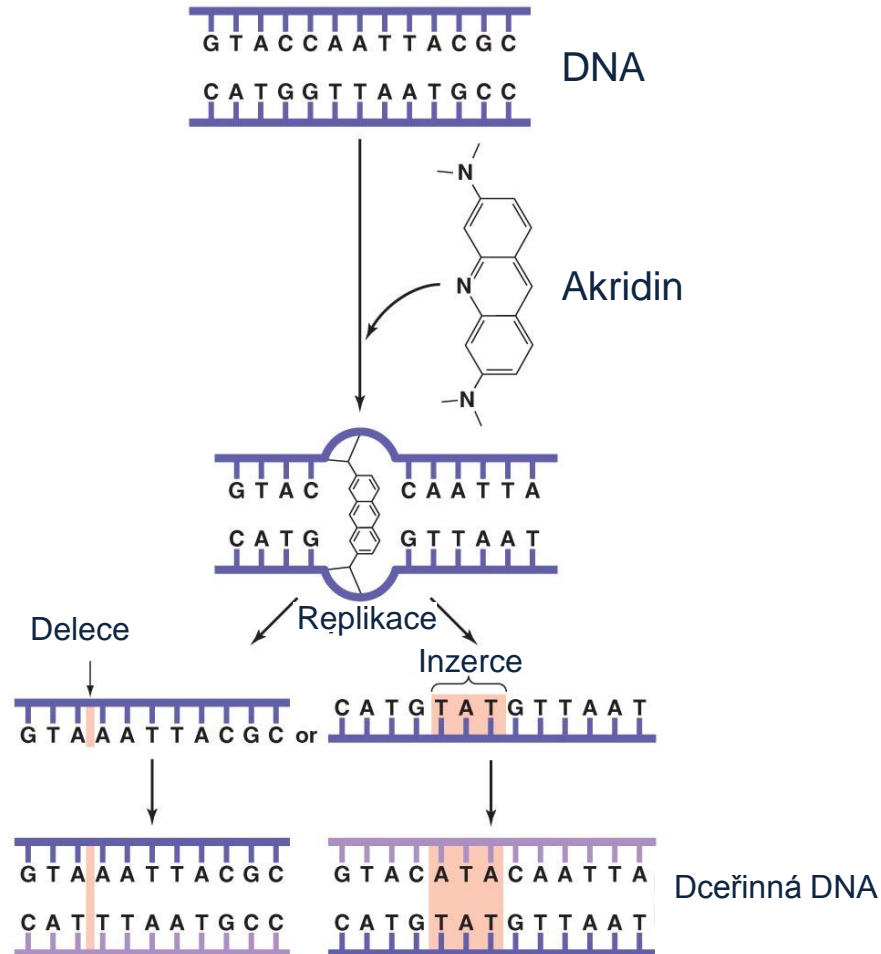


Normální molekula DNA Molekula DNA se substitucí

MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií – mutace

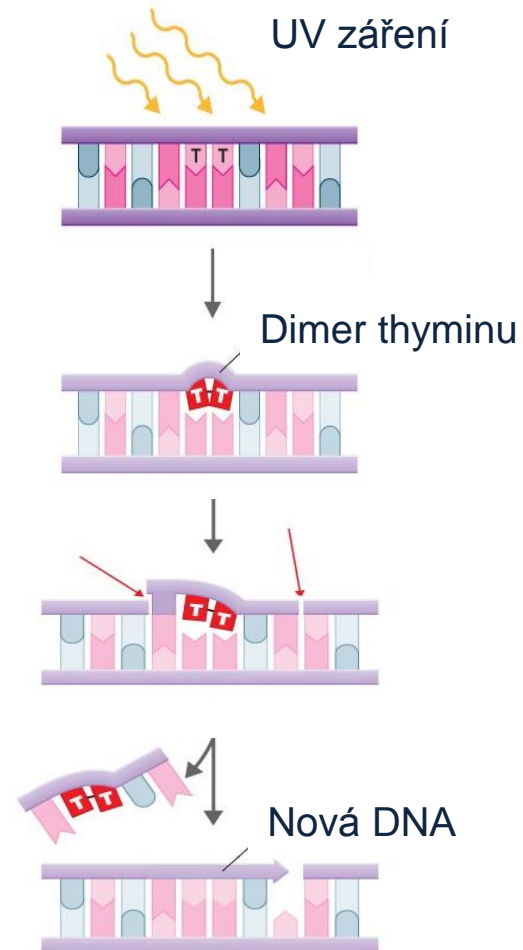
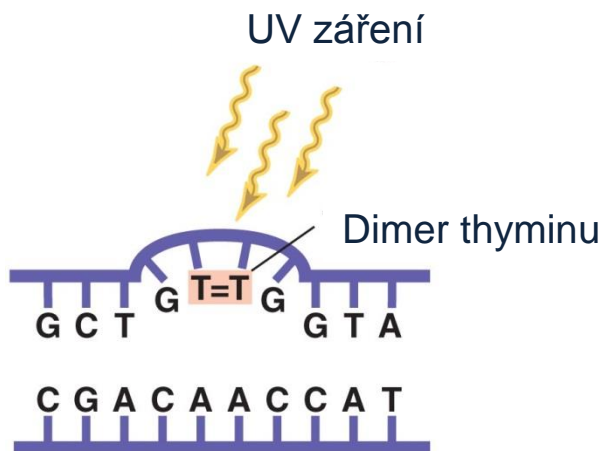
- Chemické mutageny – akridiny



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií – mutace

- Fyzikální mutageny
 - Ionizující záření – γ -záření a rentgenové záření
 - Neionizující záření – UV záření
- Opravy mutací
 - Fotoreaktivace
 - Excizní oprava
 - Rekombinační oprava



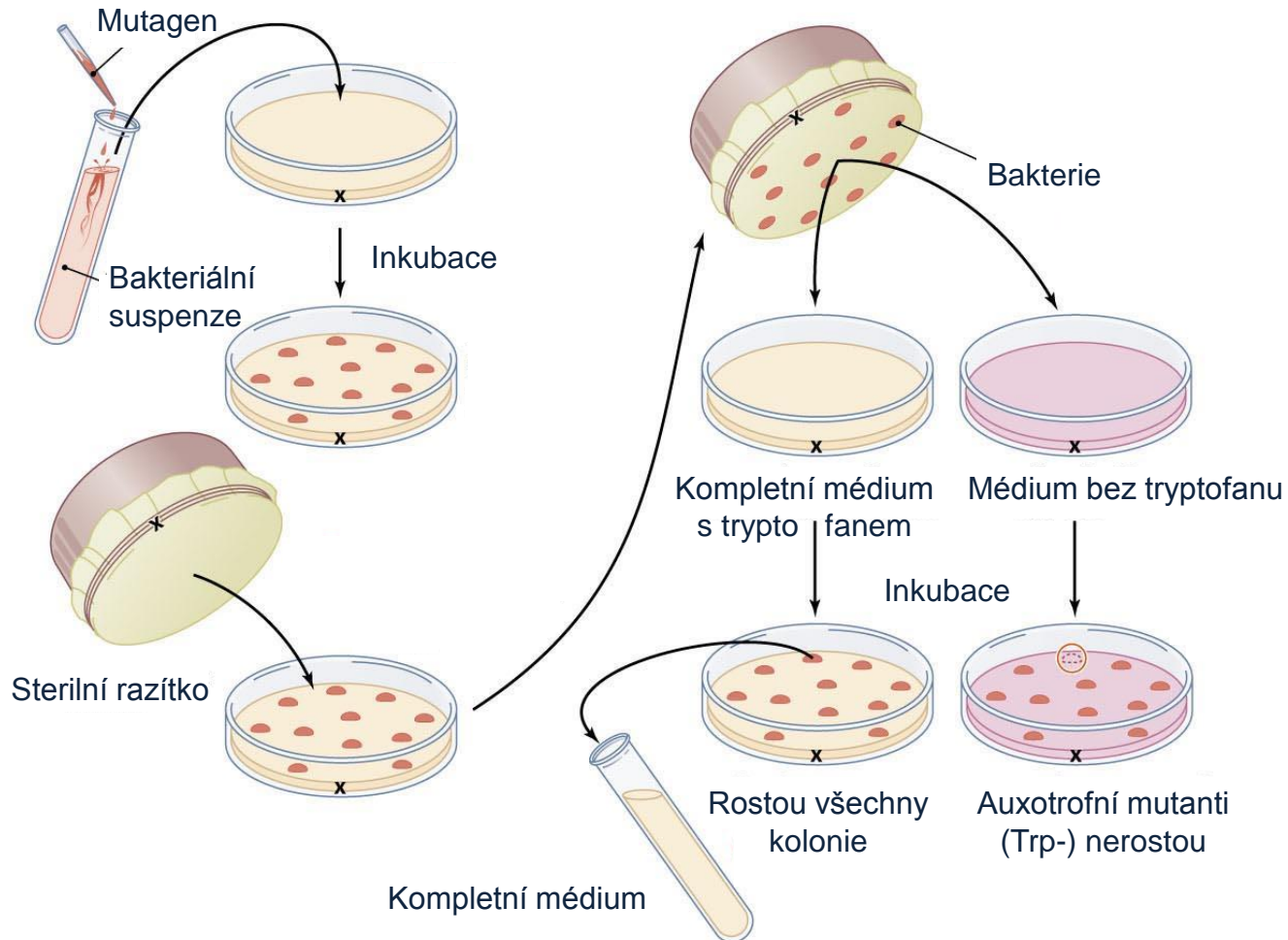
MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií – mutace

- Auxotrofní mutanti
 - Ztráta schopnosti syntézy určitého růstového faktoru mutací
 - Růst jen na kompletní půdě
 - Izolace z prototrofních kmenů mutací na chromosomu
- Mutanti rezistentní k antibiotikům
 - Vznik mutací chromosomálních genů
 - Izolace z kmenů, které byly původně k antibiotikům citlivé

Genetika bakterií – mutace

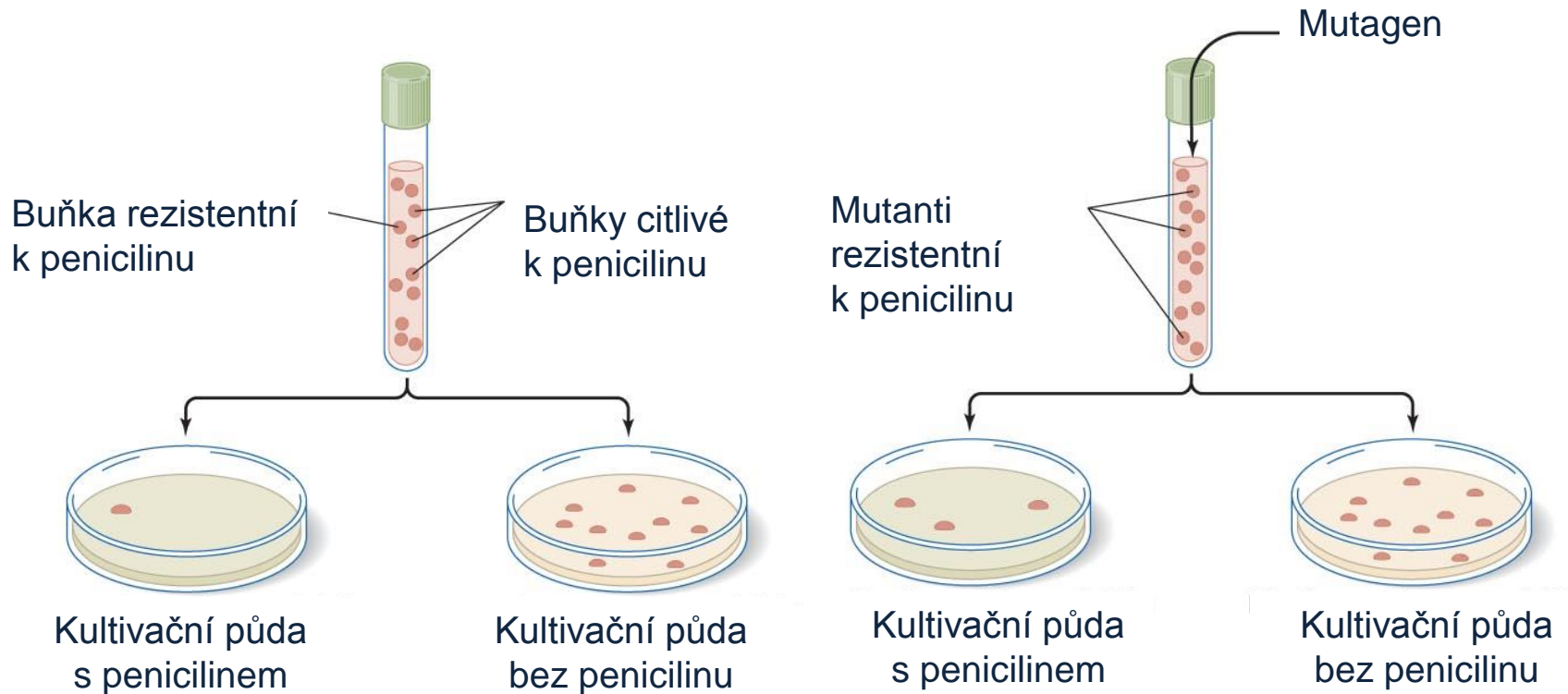
- Izolace auxotrofních mutantů – negativní selekce



MIKROBIOLOGIE

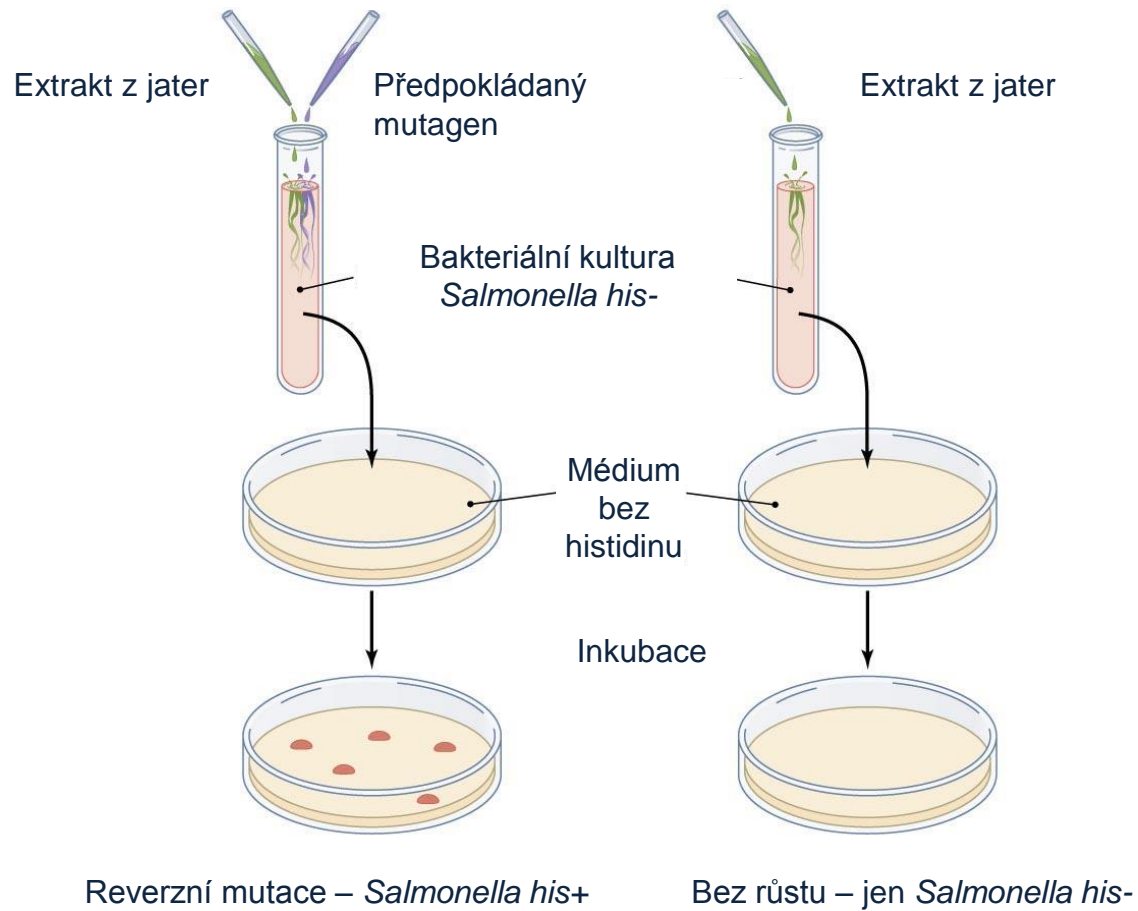
Genetika bakterií – mutace

- Izolace mutantů rezistentních k antibiotikům – pozitivní selekce



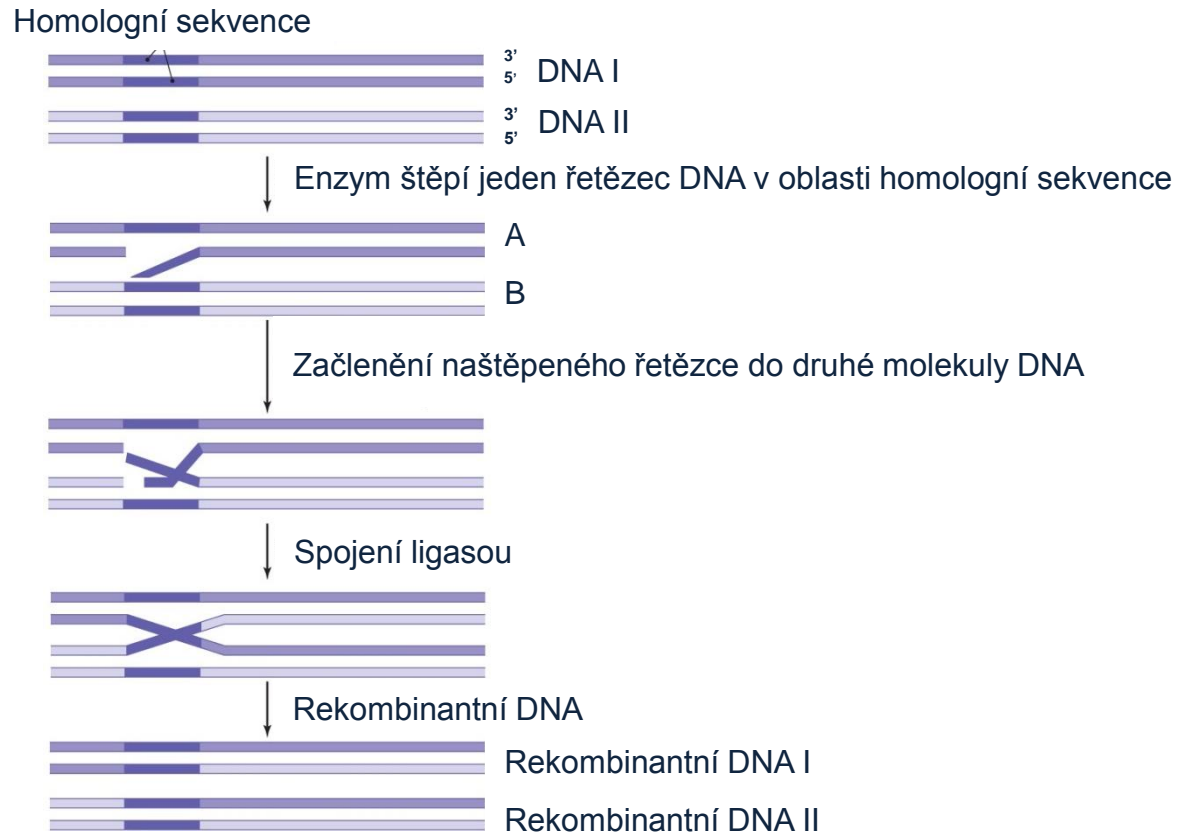
Genetika bakterií – mutace

- Identifikace mutagenů – Amesův test



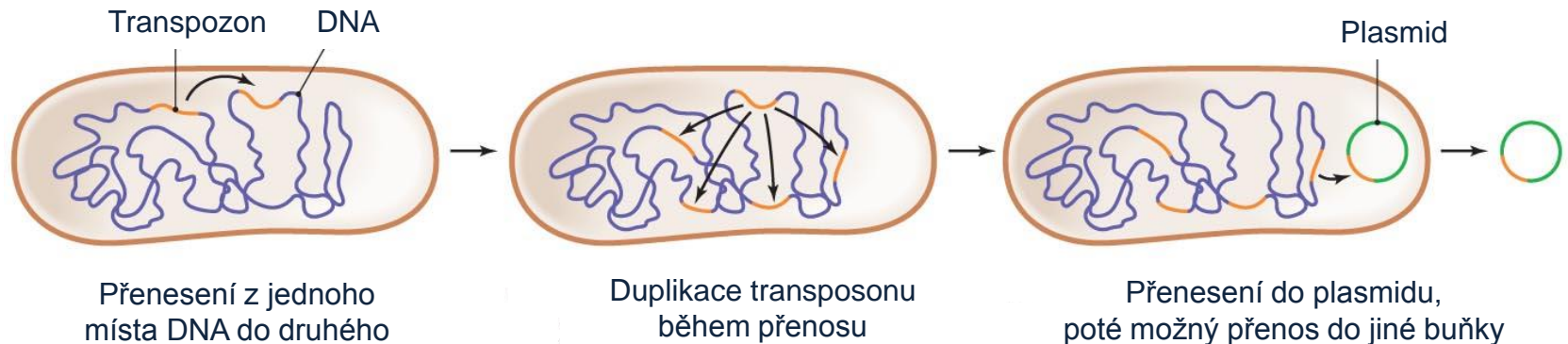
Genetika bakterií – změna genetické informace

- Rekombinace
 - Genetická výměna mezi jakýmkoli párem homologních sekvencí DNA
 - Výměna nukleotidů prostřednictvím crossing-overu



Genetika bakterií – změna genetické informace

- Transpozice
 - Proces přenosu DNA z donorového místa do cílového
- Transpozony
 - DNA sekvence schopná transpozice
 - Např. geny pro rezistenci k antibiotikům, faktory virulence

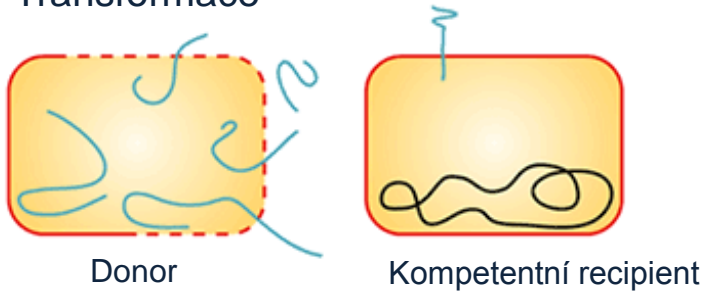


MIKROBIOLOGIE

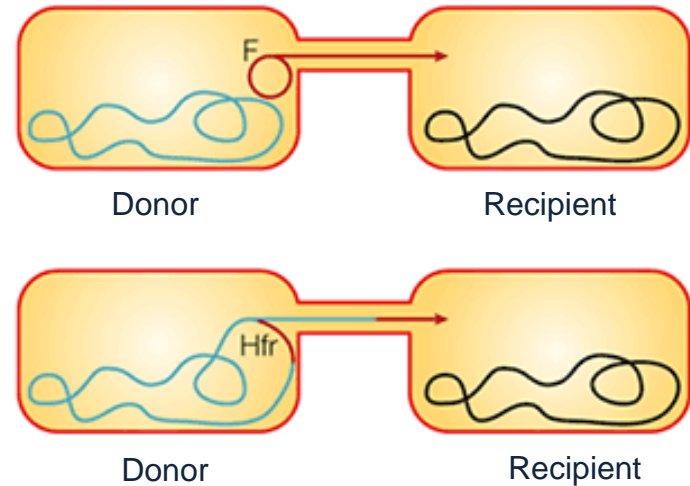
Genetika bakterií – změna genetické informace

- Horizontální přenos genů

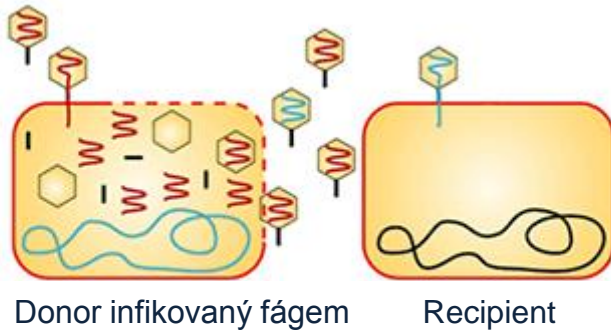
Transformace



Konjugace

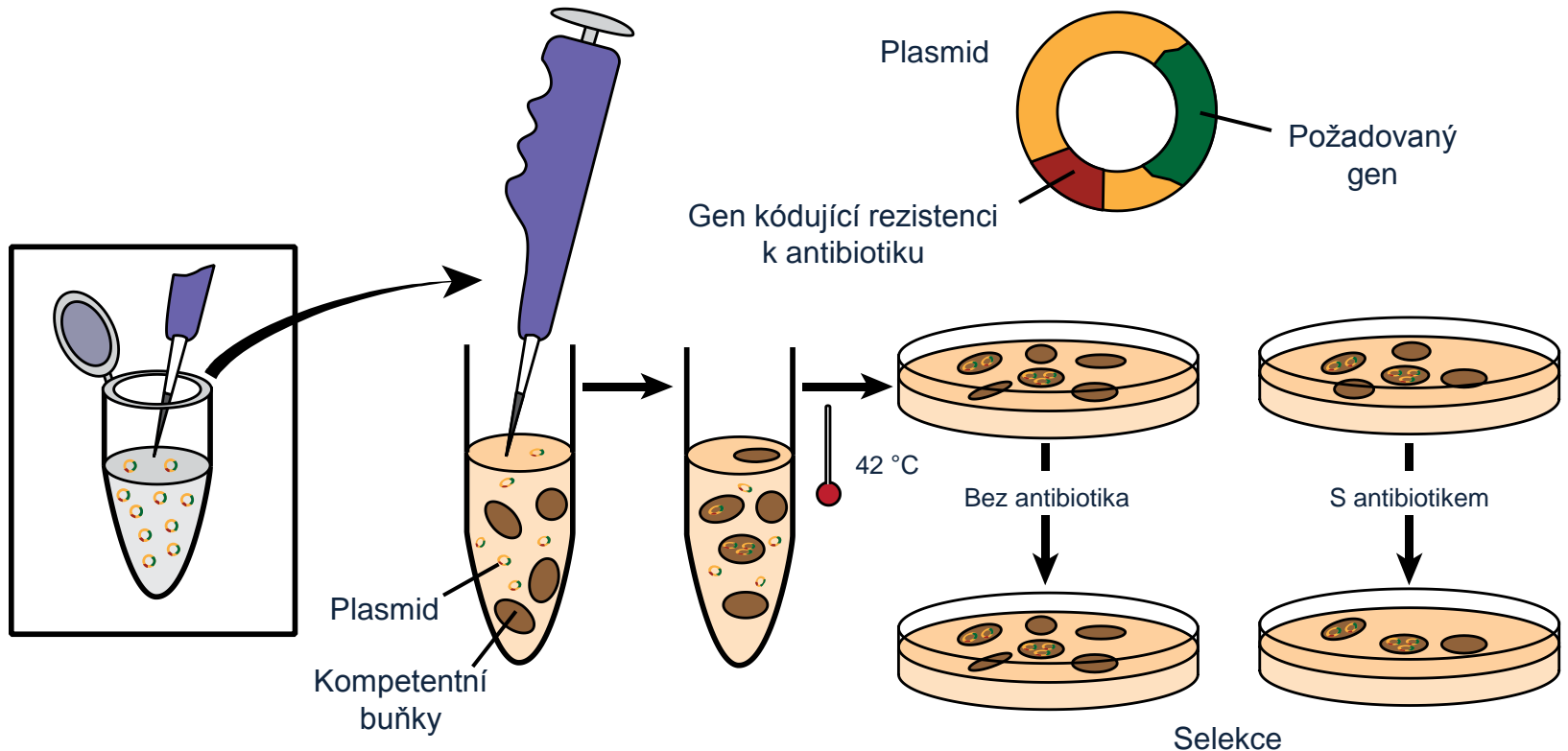


Transdukce



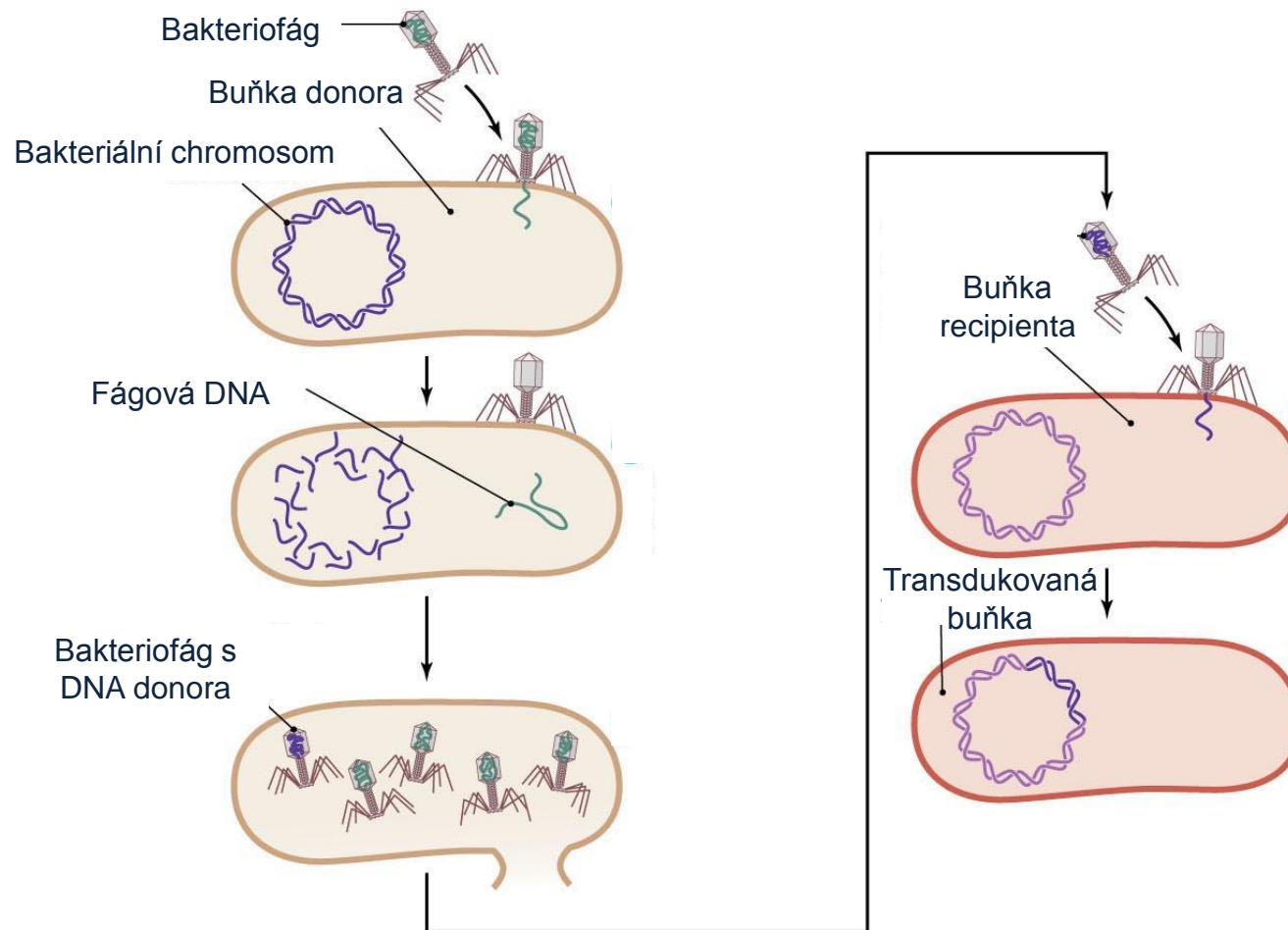
Genetika bakterií – transformace

- Příjem volné, izolované DNA do bakteriální buňky
- Po transformaci může následovat homologní rekombinace
- Buňky přijímající DNA – kompetentní
- Využití – genové inženýrství, mapování bakteriálních genů



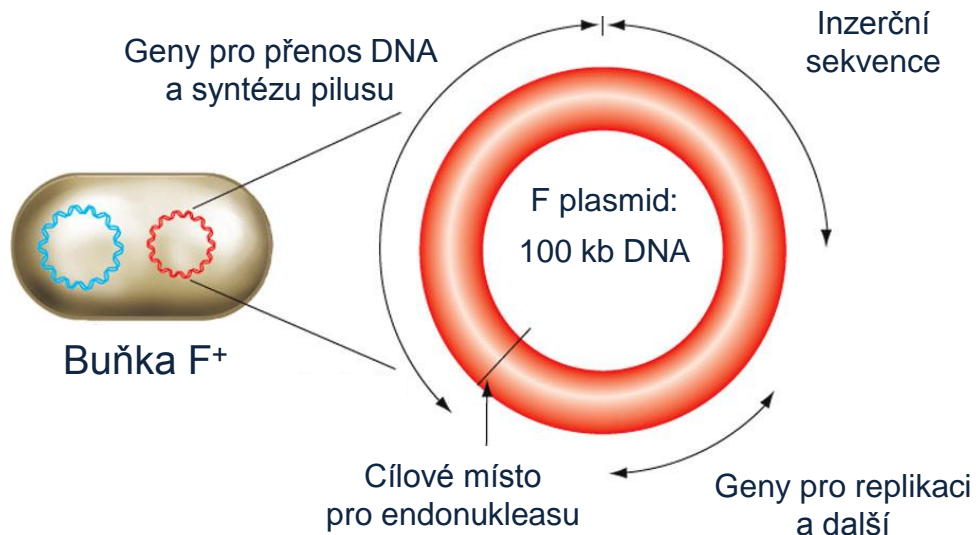
Genetika bakterií – transdukce

- Přenos DNA do bakteriální buňky zprostředkován bakteriofágem
- Využití – mapování bakteriálního genomu



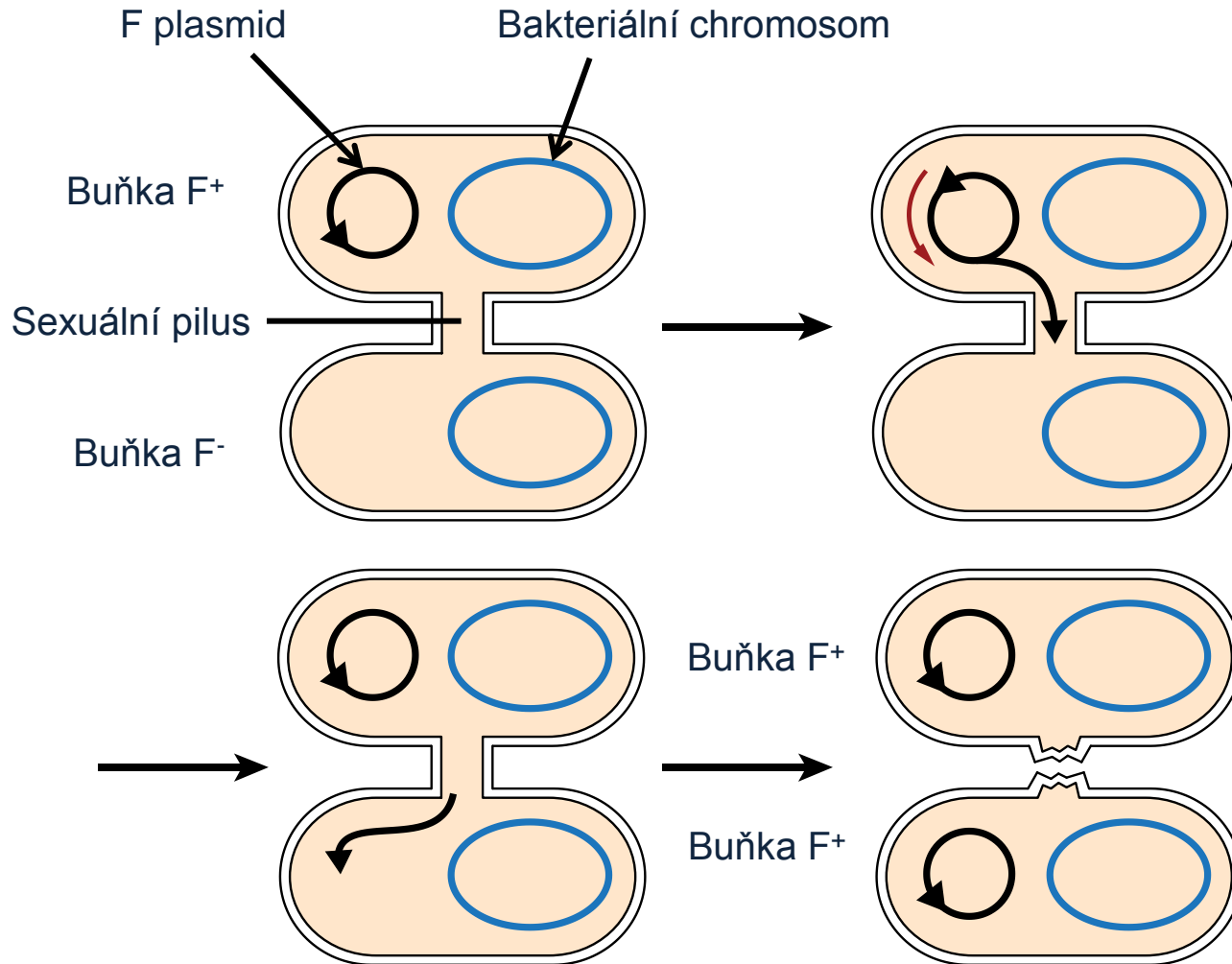
Genetika bakterií – konjugace

- **Konjugativní plasmidy**
 - Přenos plasmidové DNA do recipientní buňky konjugací
 - Obsahují transferové geny
- F plasmid - konjugativní plasmid u *Escherichia coli* K12
 - Buňky F⁺
 - Buňky F⁻



Genetika bakterií – konjugace

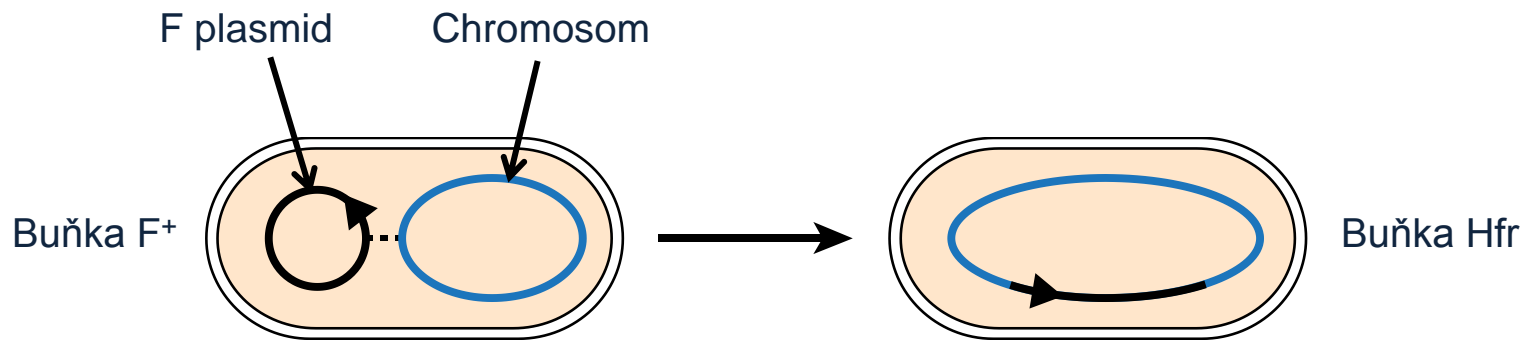
- Konjugace mezi buňkou F⁺ a F⁻



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií - konjugace

- Buňky Hfr
 - F plasmid začleněn do chromosomu

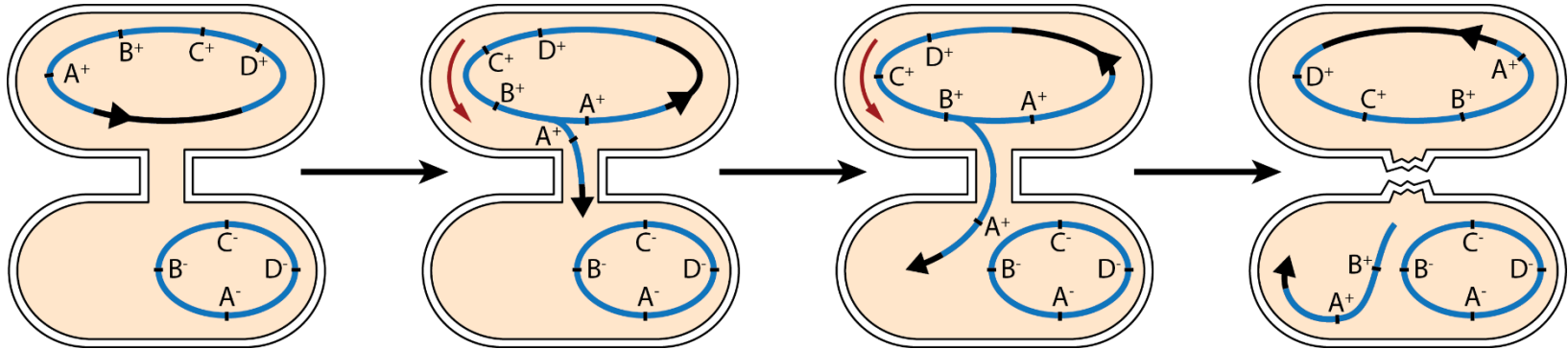


MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií - konjugace

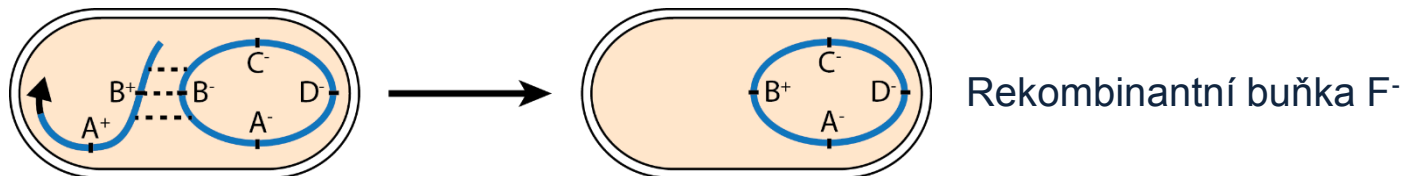
- Buňky Hfr
 - Konjugace mezi buňkou Hfr a F⁻

Buňka Hfr



Buňka F⁻

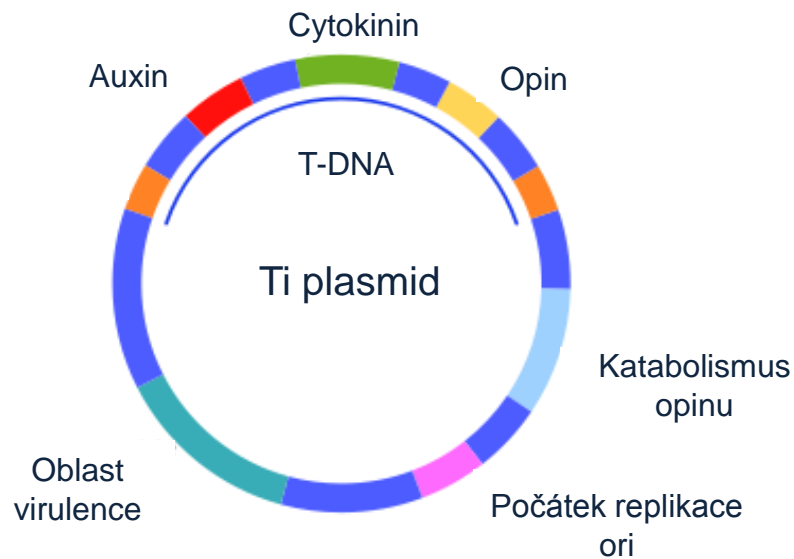
- Rekombinace mezi fragmentem chromosomu buňky Hfr a chromosomem buňky F⁻



Rekombinantní buňka F⁻

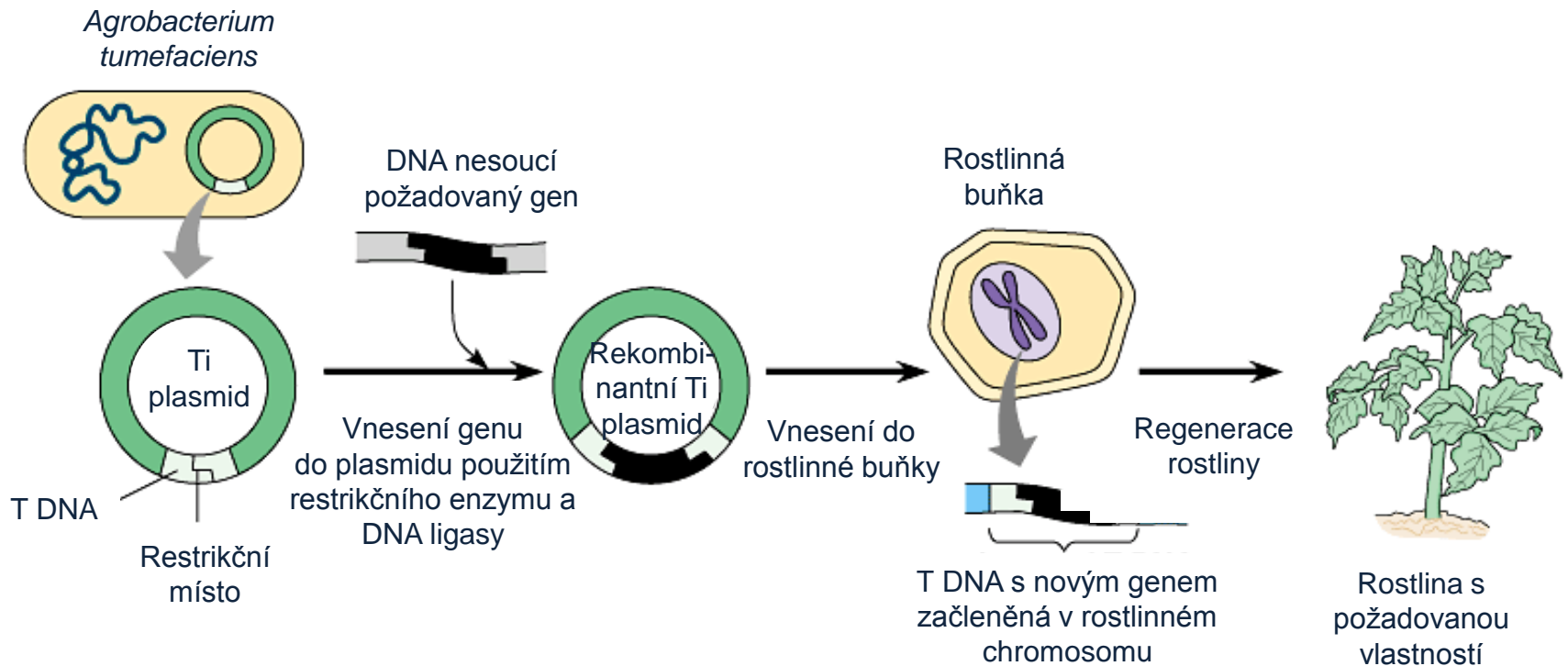
Genetika bakterií – konjugace

- Ti plasmid (tumor indukující plasmid)
 - *Agrobacterium*
 - Tvorba nádorů u dvouděložných rostlin



Genetika bakterií – konjugace

- Ti plasmid – genové inženýrství



MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií – konjugace

- R plasmidy
 - *Enterobacteriaceae*
 - Geny pro rezistenci k antibiotikům nebo chemoterapeutikům
- Col plasmidy
 - *Enterobacteriaceae*
 - Geny pro syntézu kolicinu – antibiotikum, působí baktericidně jen na druhy této čeledi
- Degradativní plasmidy
 - *Pseudomonas*
 - Geny pro odbourávání organických sloučenin
- Plasmidy podílející se na fixaci vzdušného dusíku
 - *Rhizobium*

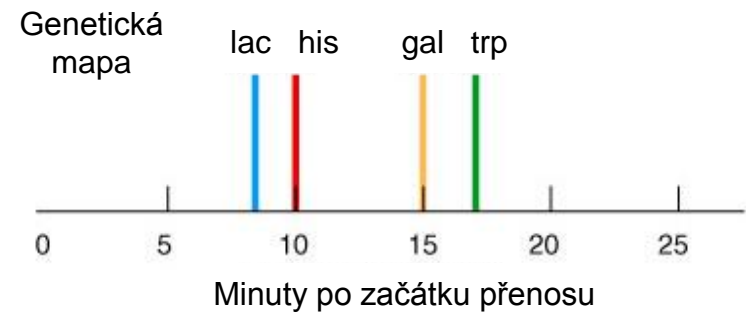
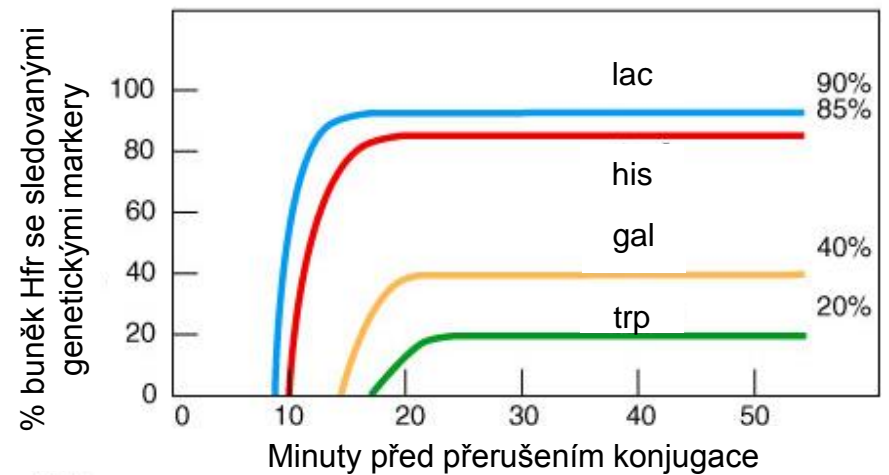
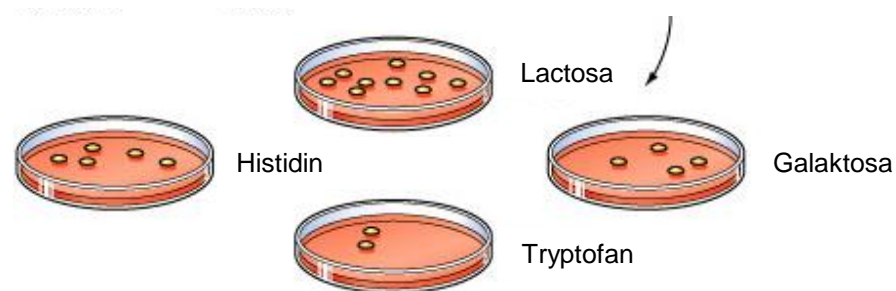
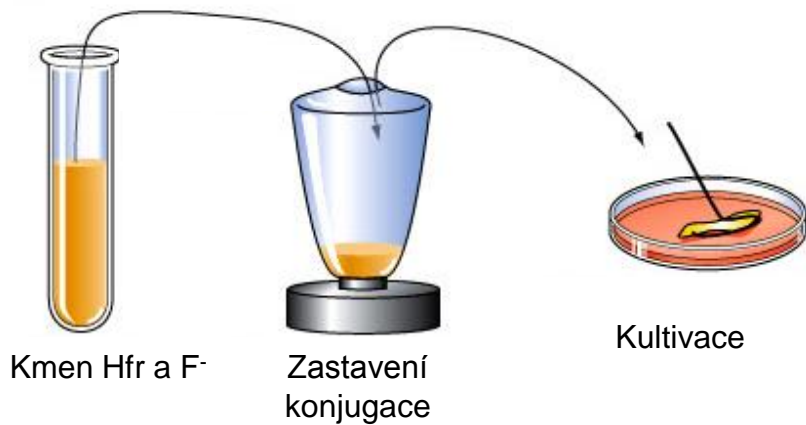
MIKROBIOLOGIE

Genetika bakterií

- Mikrobiální genomika
 - Studium genomu mikroorganismů
 - Získávání sekvencí DNA organismů, genetické mapování a anotace genomů – hledání genů
 - Strukturní genomika
 - Funkční genomika
 - Komparativní genomika
 - Výpočetní genomika

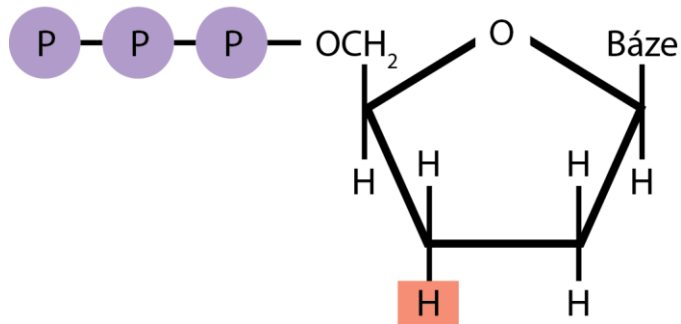
Genetika bakterií – genomika

- Mapování bakteriálního chromosomu pomocí konjugace

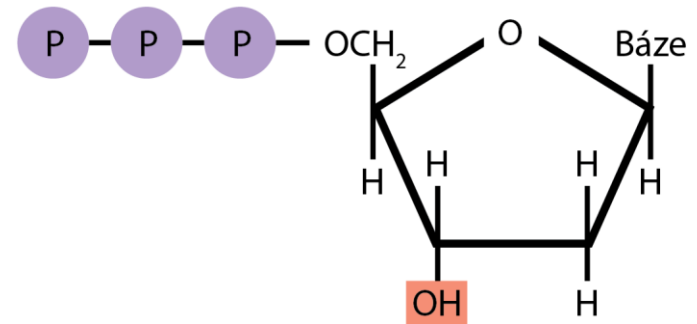


Genetika bakterií – genomika

- Stanovení sekvence DNA
 - Sangerovo sekvencování –
 - Dideoxynukleotid – koncový inhibitor syntézy DNA
 - 4 oddělené vzorky: sekvenovaná DNA, primer, DNA polymerasa, směs nukleotidů + jeden radioaktivně značený + jeden ze čtyř dideoxynukleotidů



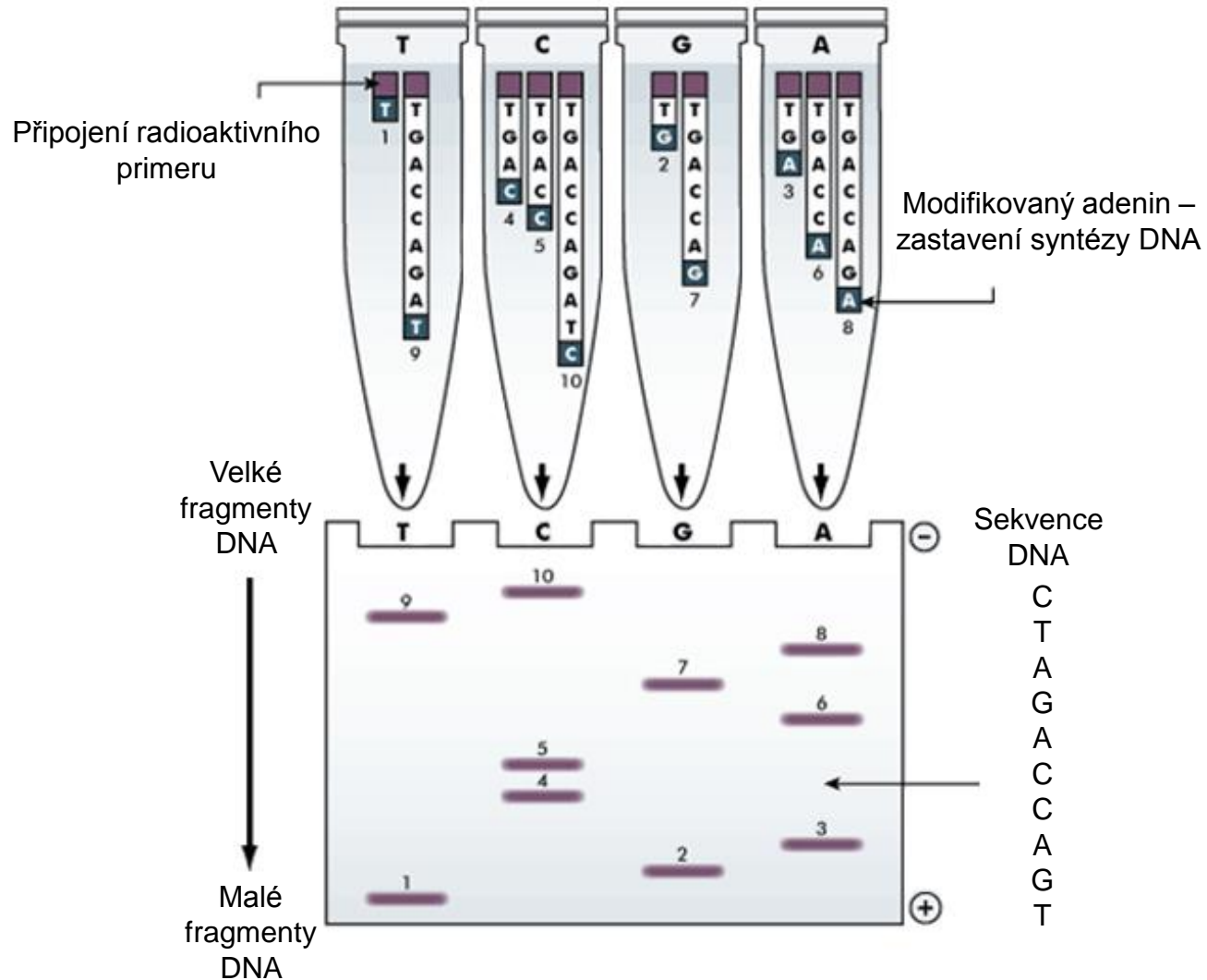
Dideoxynukleotid



Deoxynukleotid

Genetika bakterií – genomika

- Stanovení sekvence DNA

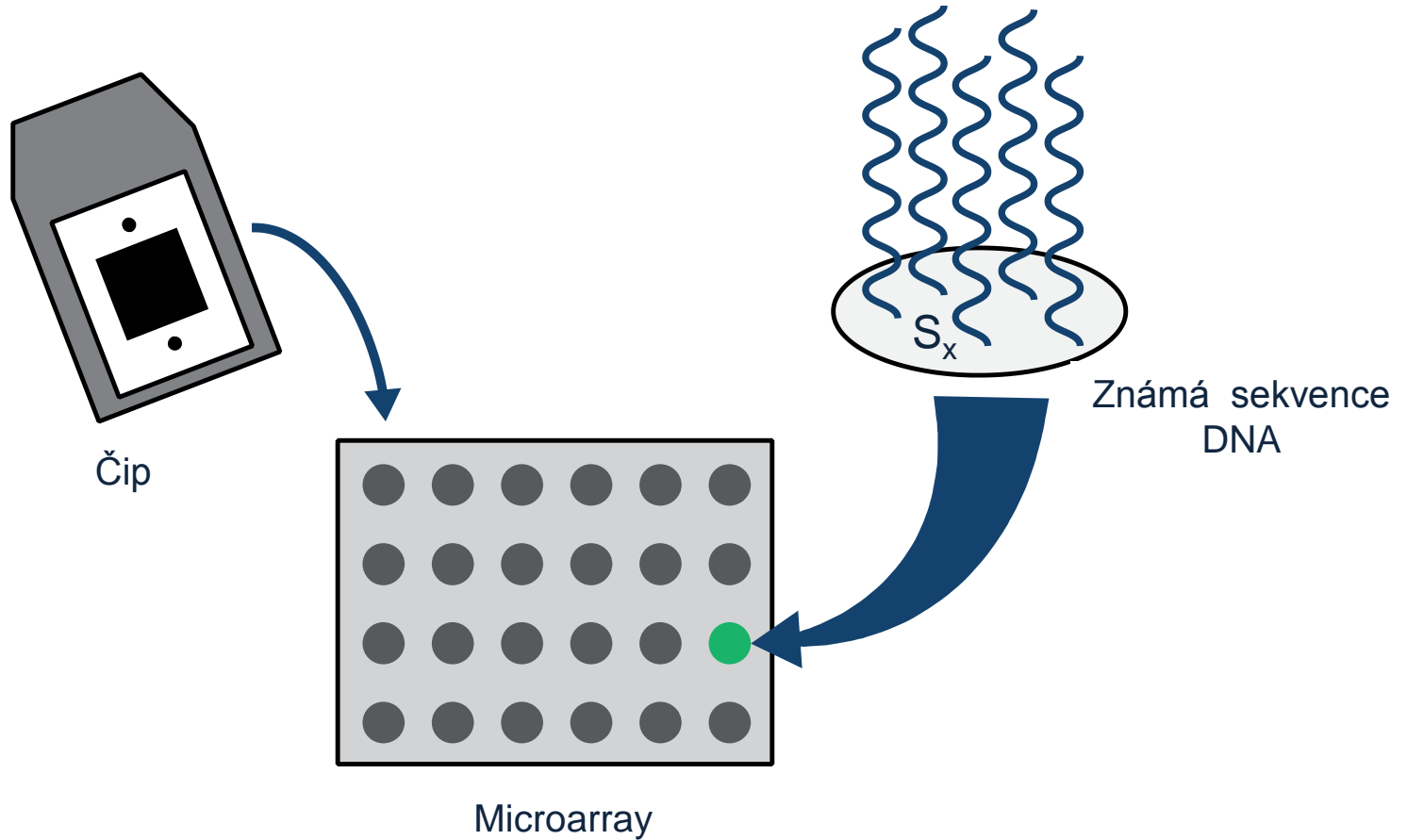


Genetika bakterií – genomika

- Bioinformatika
 - Interdisciplinární obor – biologie, matematika, informatika, statistika
 - Analýza biologických dat – hledání podobnosti mezi 2 sekvencemi, analýza proteinové funkce, strukturní analýza, sekvenční analýza
 - Biologické databáze
 - PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) – 3D struktury biomolekul
 - UniProt (<http://www.uniprot.org/>) – proteinová sekvence
 - EMBL database (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>) – nukleotidové sekvence

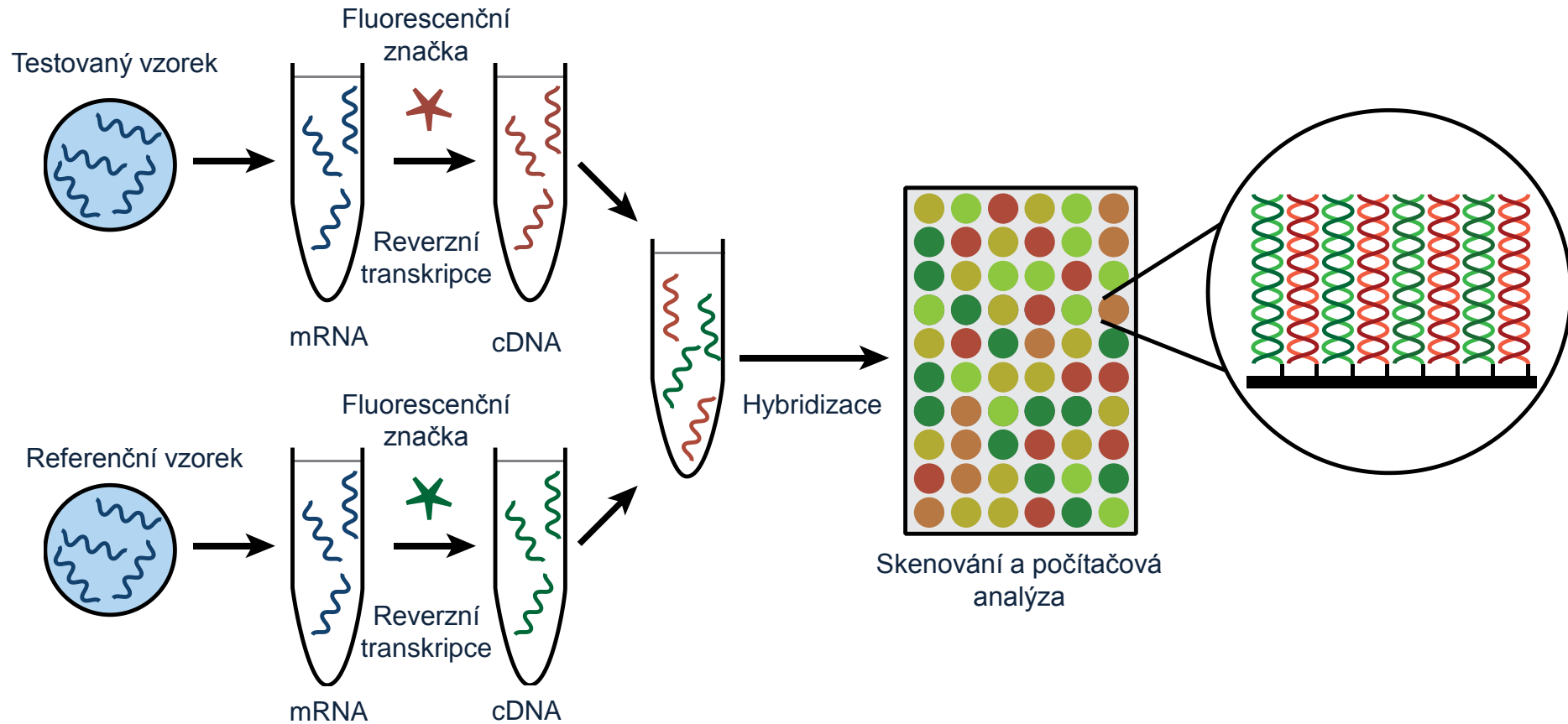
Genetika bakterií – funkční genomika

- Úroveň genové exprese - microarray

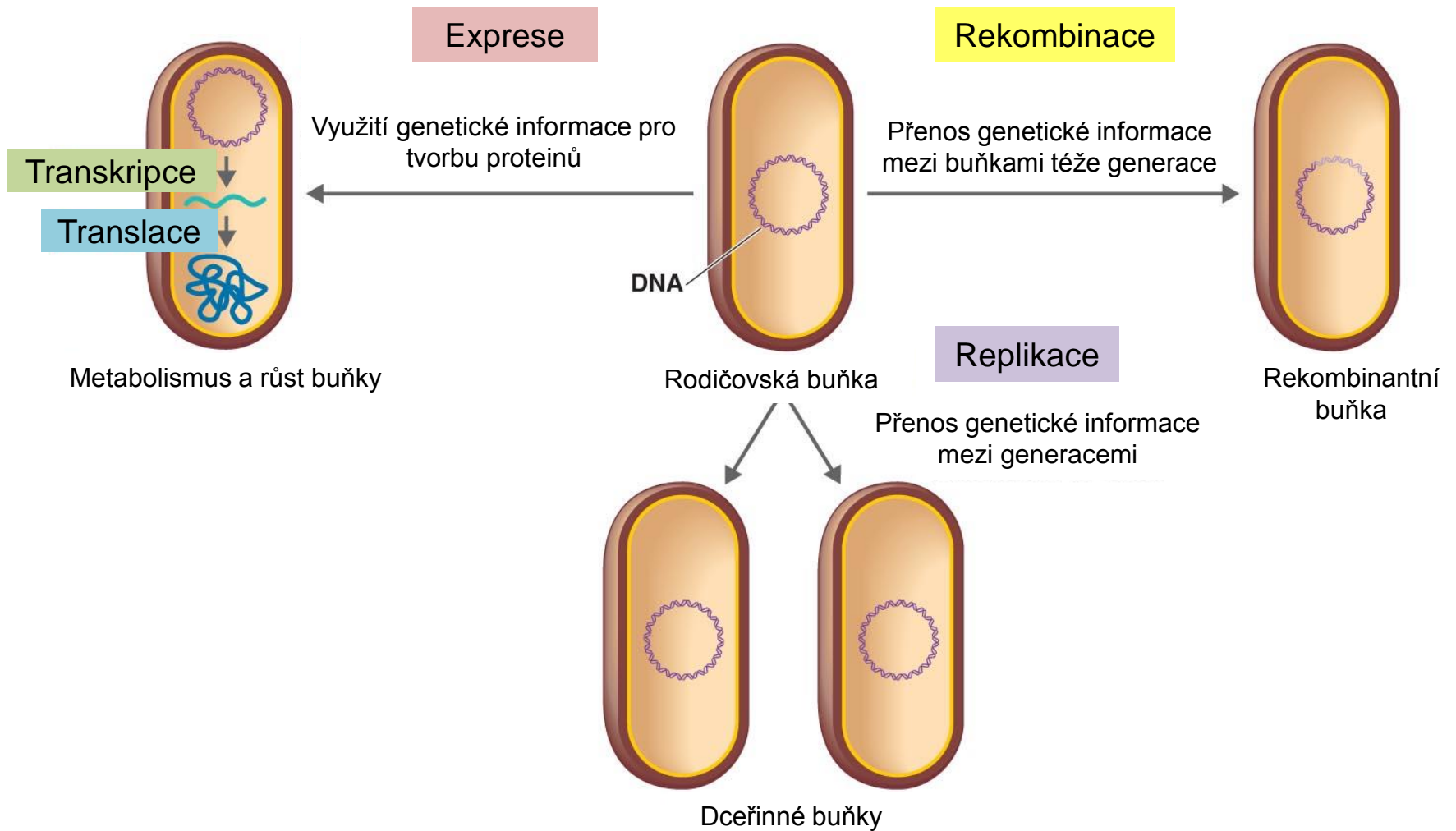


Genetika bakterií – funkční genomika

- Úroveň genové exprese - microarray



Shrnutí – genetika bakterií



Reference

- Metzker M. L. (2010): Sequencing technologies – the next generation. *Nature Reviews Genetics* 11: 31-46.
- Rosypal S., *Nový přehled biologie*, Scientia, Praha, 2003.
- Rosypal S. a kol., *Obecná bakteriologie*, SPN, Praha, 1981.
- Rosypal S. a kol., *Terminologie molekulární biologie*, Rosypal, Brno, 2001.
- Rosypal S. a kol., *Úvod do molekulární biologie*, díl čtvrtý, Rosypal, Brno, 2002.
- Talaro K.P., *Foundations in microbiology (6th edition)*, McGraw-Hill, New York, 2008.
- Willey J., Sherwood L., Woolverton C., *Prescott's principles of microbiology*, McGraw-Hill, New York, 2009.
- Redfield R. J. (2001): Do bacteria have sex? *Nature Reviews Genetics* 2: 634-639.
- Thomas C. M., Nielsen K. M. (2005): Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 3: 711-721.

MIKROBIOLOGIE

Animace

- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter11/animation_quiz_3.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter11/animation_quiz_4.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter11/animation_quiz_5.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter13/animation_quiz_5.html
- http://www.professorcrista.com/files/animations/posted_animations/horizontal_gene_transfer.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/007337525x/student_view0/exercise24/bacterial_transformation.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/007337525x/student_view0/exercise24/transduction_generalized.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/007337525x/student_view0/exercise24/bacterial_conjugation.html

MIKROBIOLOGIE

Animace

- <http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::535::535::/sites/dl/free/0072437316/120078/bio40.swf::The%20Ti%20Plasmid>
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter15/animation_quiz_1.html
- http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter15/animation_quiz_2.html