

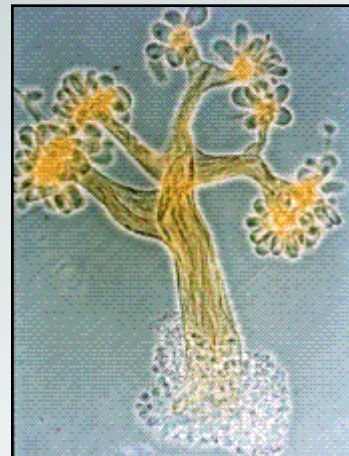
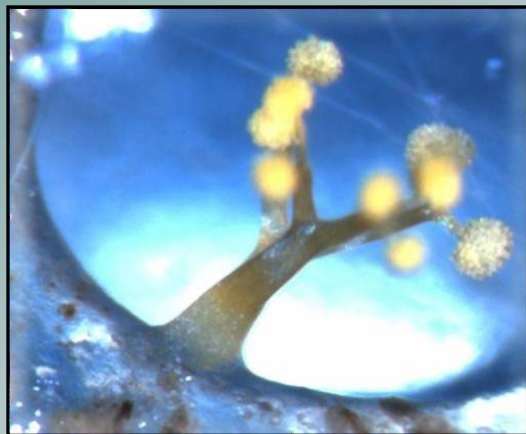
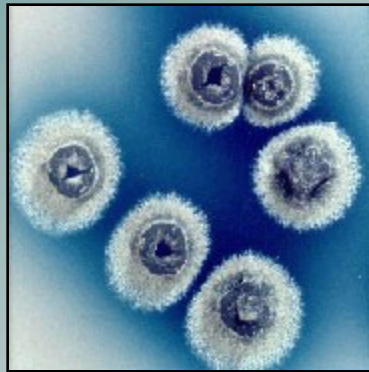
Růstové cykly prokaryot

- 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, streptomycety, *Rhodomicrobium*
- růstové cykly vedoucí ke vzniku diferencovaných populací (pravá diferenciacce)
 - sinice – *Anabaena*, *Dermocarpa*

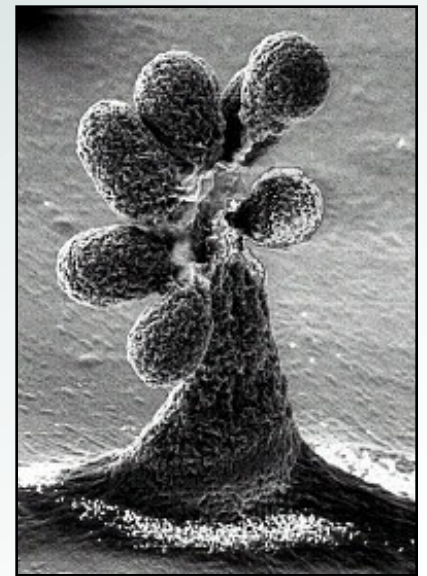
Komplexní růstové cykly

Myxobakterie, streptomycety

Rhodomicrobium vanniellii

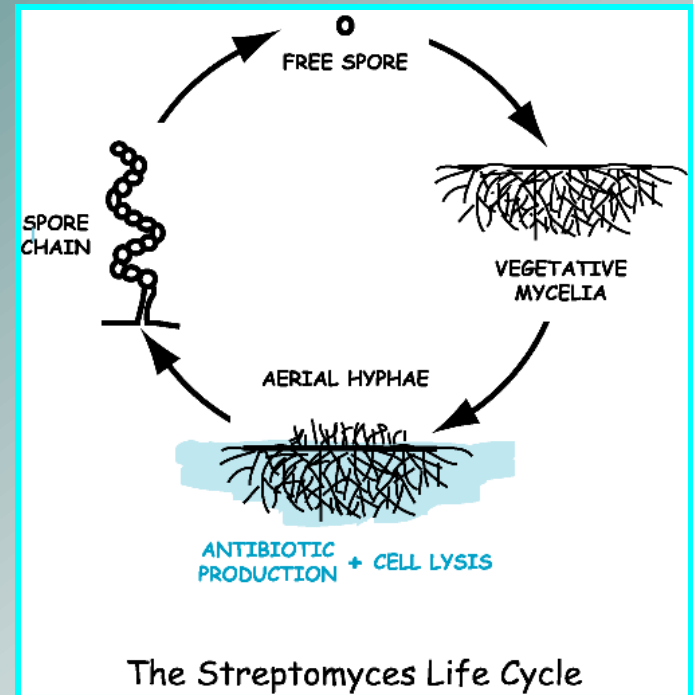


Chondromyces crocatus

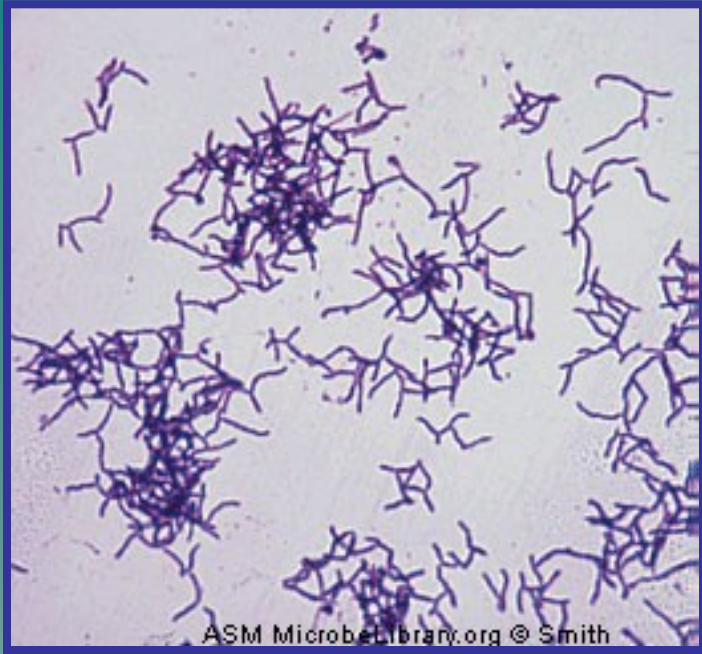


Streptomycety

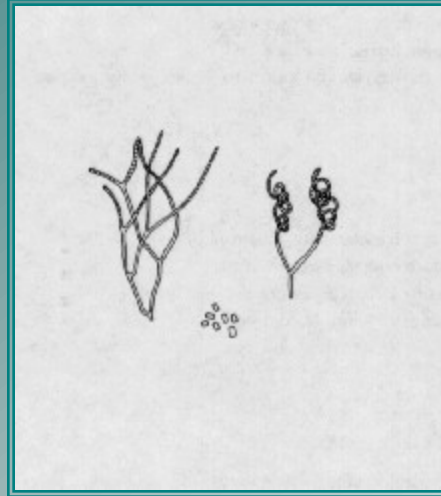
- Saprofyti, zřídka patogeni člověka nebo fytopatogeni
- Produkce biol. aktivních látek
- 70 % produkce ATB



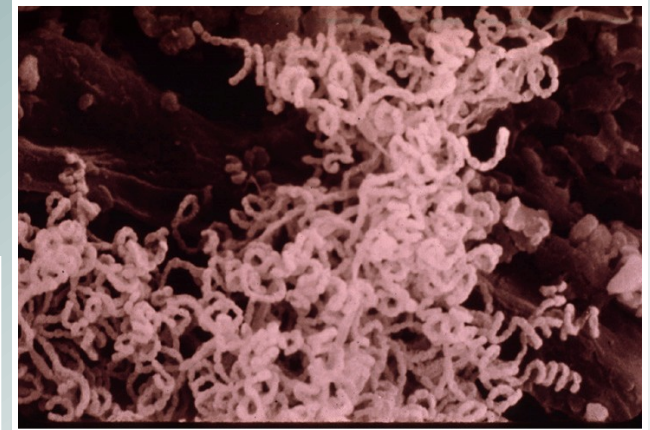
- Základem rodové identifikace je chemotaxonomie
- Všichni v b.s. **kyselinu L-DAP a glycin**



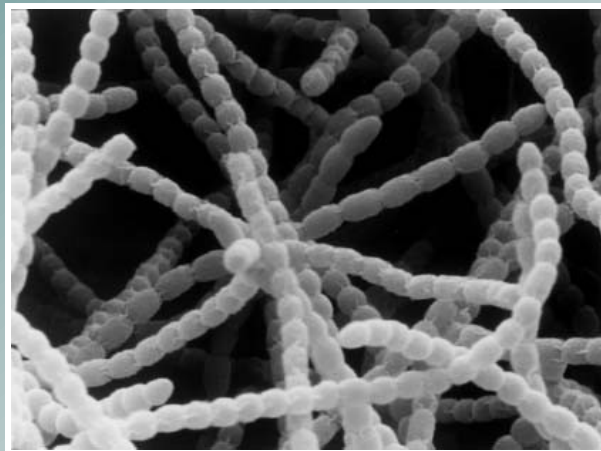
***Streptomyces* –
Gramovo barvení**



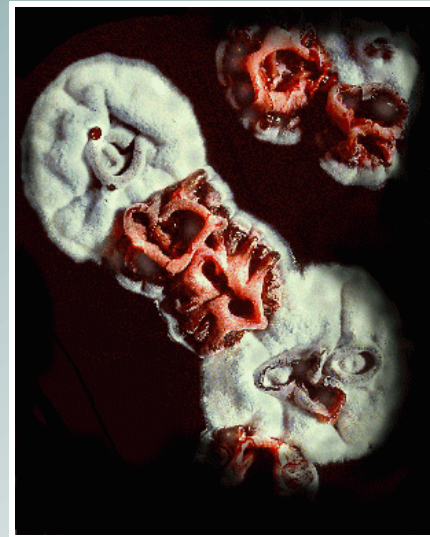
**Trvalá vlákna
zřídka fragmentace**



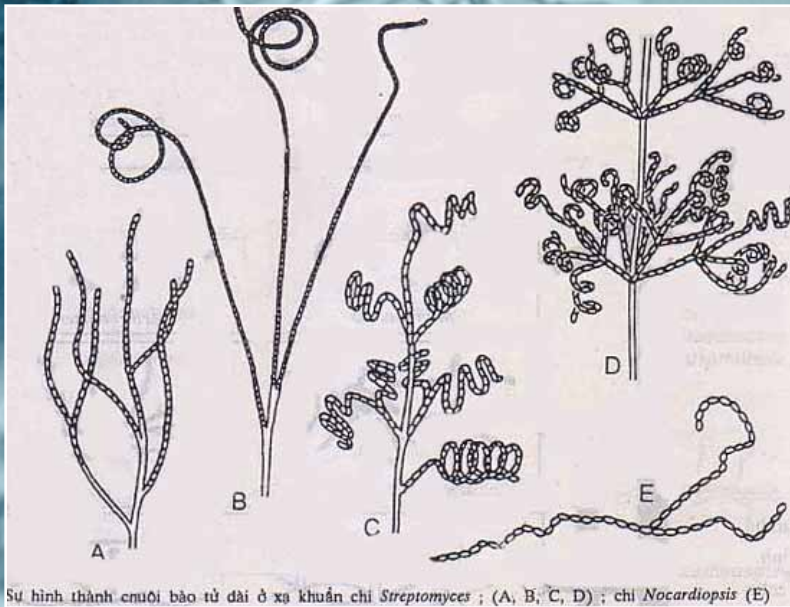
**Pigmentovaná
mycelia**



Spory



- Růst na **pevném i v tekutém mediu**
- **Světelná mikroskopie** – sklíčkové kultury, gramovo, DAPI a fluorescenční barvení

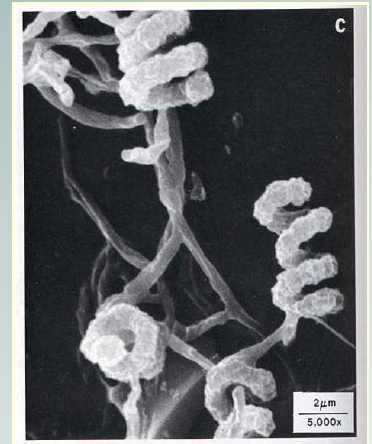


- S.M.** – nefragmentované,
 - nese přepážky – necenocyt.
 - z úlomků mohou vyrůstat nové buňky
- V.M.** – stárnutím S.M., vertikálně
 - pestrá morfologie
 - taxonom.význam

délka hyf – **krátké** („zaprášené“ kolonie - dusty), **dlouhé** („chmýřité“ kolonie – cottony)
větvení – **sympodiální** (keříčky, stromečky), **monopodiální** (vedlejší větve)

Jednoduchá klasifikace podle vzdušného mycelia

- přímá vlákna
- háčkovitá spirálovitá – max. 2 otočky
- spirálovitá



- **Spirály:**
 - četnost
 - délka stopky
 - počet otoček
 - interval otoček
 - průměr otoček
 - směr otoček

Spory = arthrospory

4 základní morfologické typy (SEM)

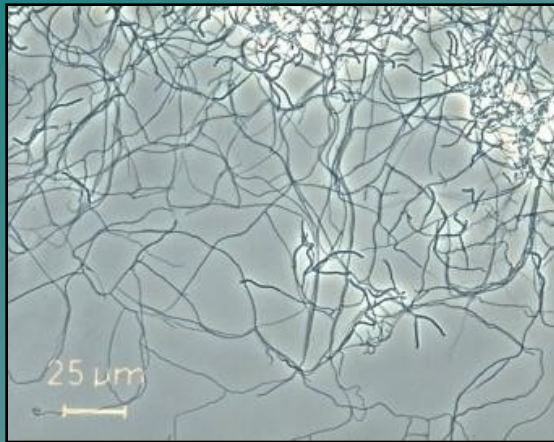
hladké (smooth)

bradavčité (warty)

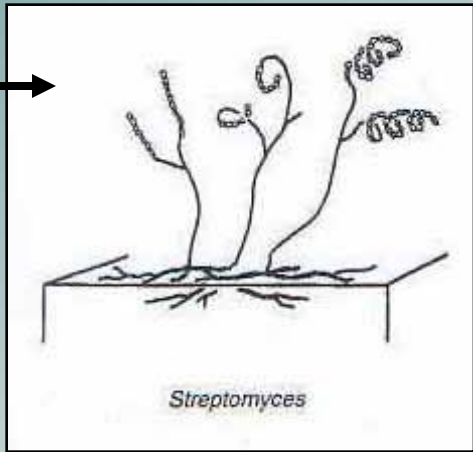
chlupaté (hairy)

ostnaté (spiny)

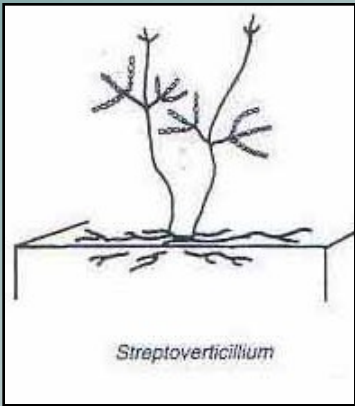
vně obaleny pochvou z tenkých vláken
a trubiček – obal hladký nebo s výběžky
silně hydrofobní



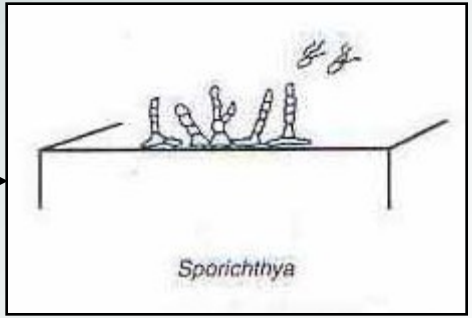
Streptomyces



Streptovercillium



Sporichthya
Velmi krátké řídké V.M.
S.M. netvoří



Intrasporangium

Větvené rozpadavé S.M.

V.M. netvoří

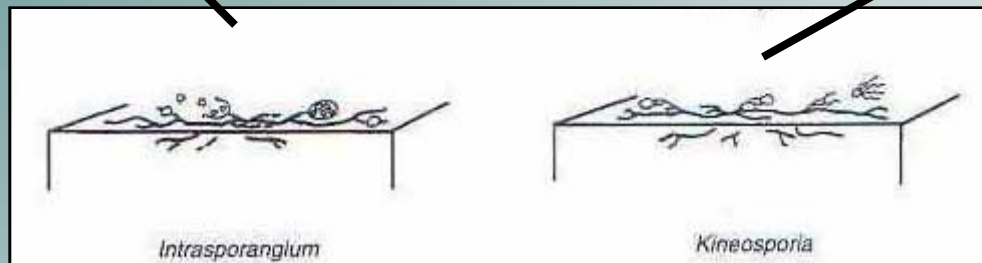
Oválná sporangia

Kineosporia

Malé kolonie, **lesklý** povrch

V.M. netvoří

Prodloužená **kyjovitá** sporangia
s **1** pleomorfní sporou



- autolýza



- *S. coelicolor* A3(2) – modelový mikroorganismus genetických, fyziologických a biochemických studií
- 8 667 507 bp
- Nejvyšší počet genů v 1 bakterii (7 825) –2x

sekvenován
v červnu 2001

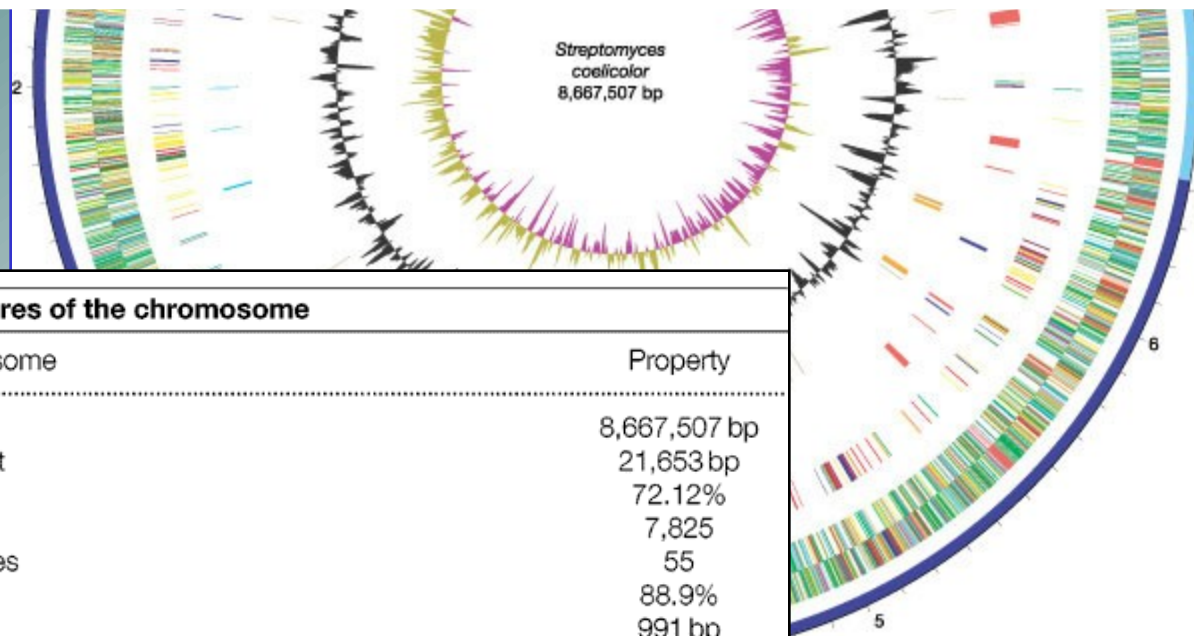


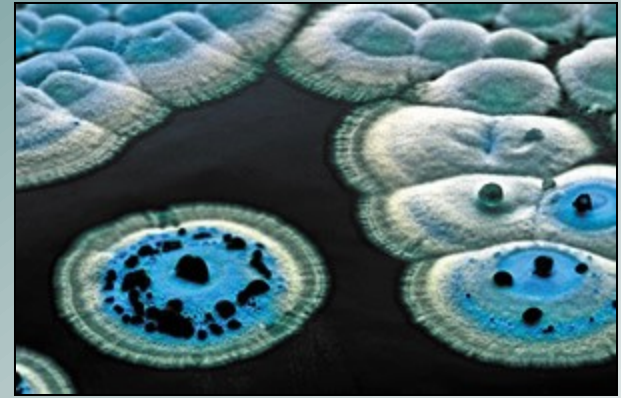
Table 1 General features of the chromosome

Component of chromosome	Property
Total size	8,667,507 bp
Terminal inverted repeat	21,653 bp
G + C content	72.12%
Coding sequences	7,825
...of which pseudogenes	55
Coding density	88.9%
Average gene length	991 bp
Ribosomal RNAs	6 x (16S–23S–5S)
Transfer RNAs	63
Other stable RNAs	3

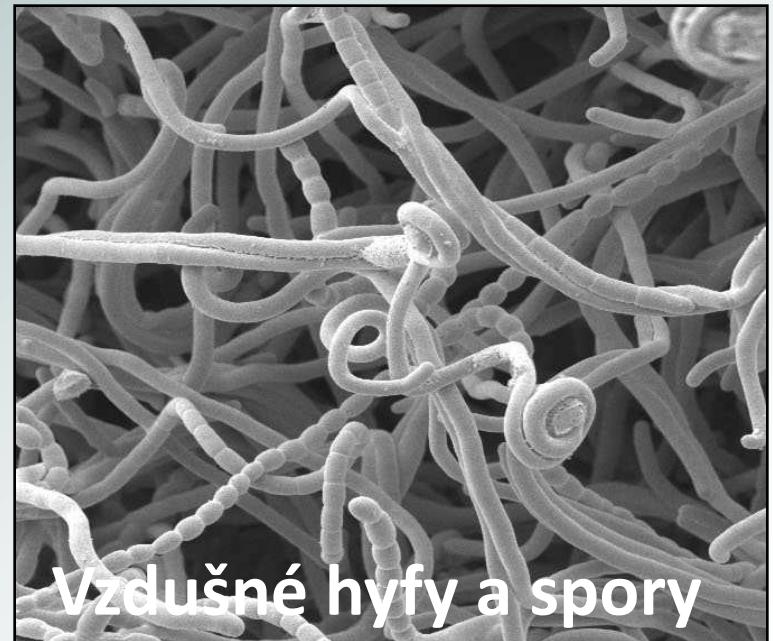
Bentley a kol. (2002),
Nature 417,¹⁰ 141-147

S. coelicolor A3(2)

- Mnoho regulačních genů
- Unikum – v genomu duplikovány sady genů
- Unikátní telomera
- Vlásoky z repetice chrání chromozom (Goshi *et al.*)
- Nejblíže *M. tuberculosis* a *C. diphtheriae*

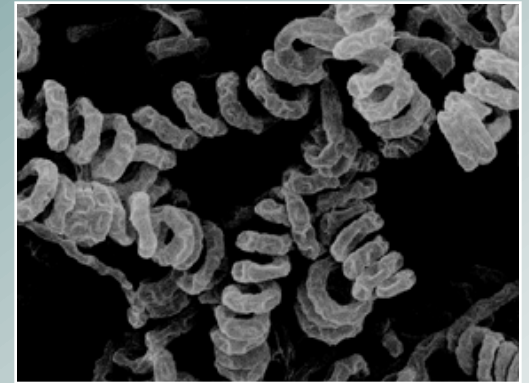


Streptomyces coelicolor
pigment – ATB aktinorhodin

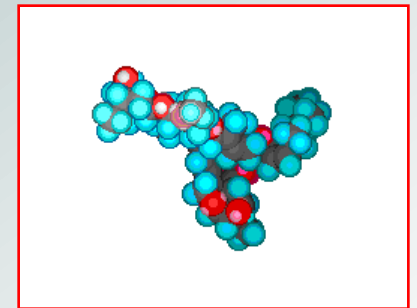


Vzdušné hyfy a spory

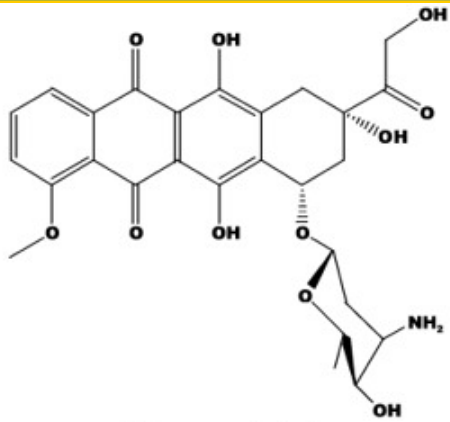
- *Streptomyces avermitilis*
genom sekvenován v říjnu 2001
9,025,608 bp, 7,575 ORFs



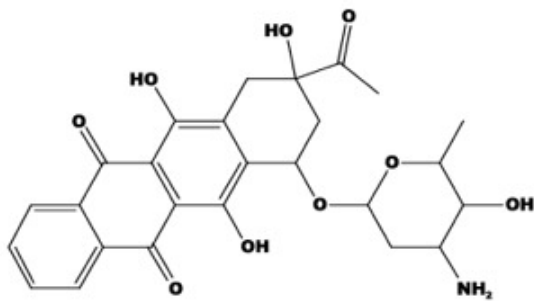
produkuje protiparazitární látky (avermectin)
(hlísti a hmyz subsaharské Afriky)



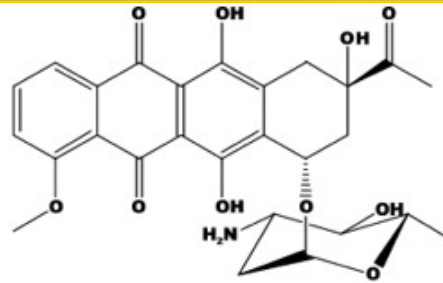
- Další projekty sekvenování genomu:
Streptomyces scabiei a *Streptomyces*
ambofaciens.



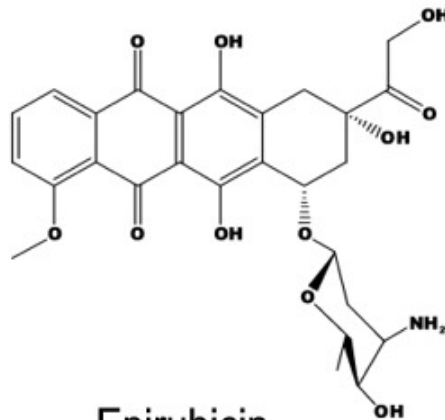
Doxorubicin



Idarubicin



Daunorubicin



Epirubicin

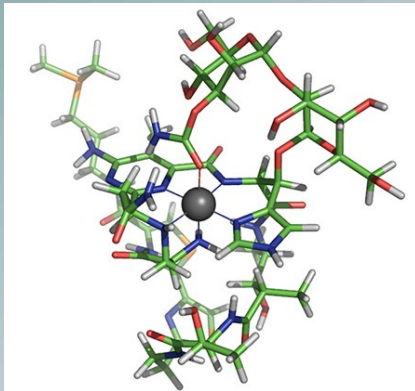
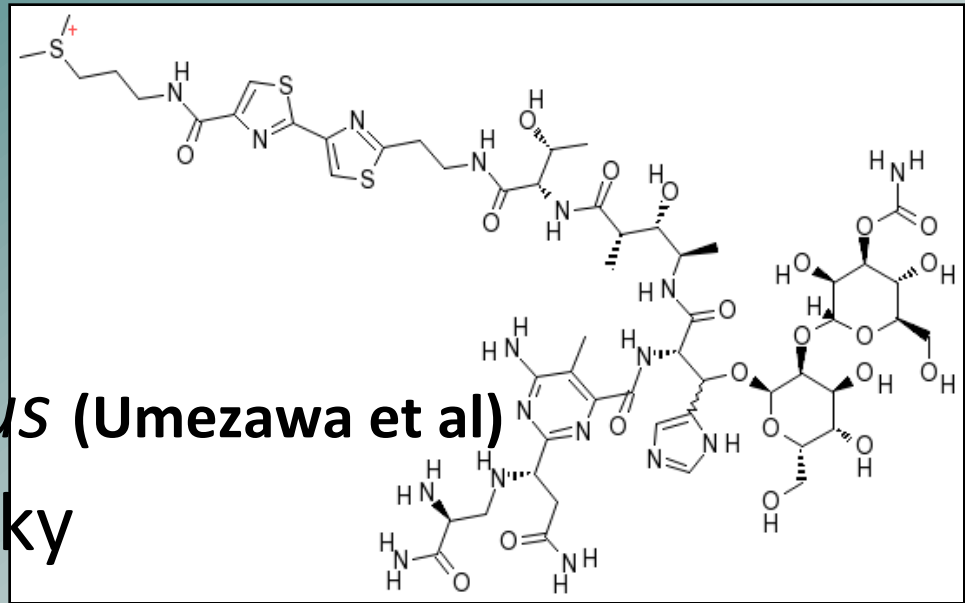
Protinádorová antibiotika

Bleomycin

- izolován 1966

Streptomyces verticillus (Umezawa et al)

- protirakovinové účinky



Antifungicidní látky *Streptomyces* spp.

- Nystatin (from *S. noursei*)
- Amfotericin B (from *S. nodosus*)
- Natamycin (from *S. natalensis*)

Antibiotika *Streptomyces* spp.

- Erythromycin (from *S. erythreus*)
- Neomycin (from *S. fradiae*)
- Streptomycin (from *S. griseus*)
- Tetracyklin (from *S. rimosus*)
- Vankomycin (from *S. orientalis*)
- Rifampicin (from *S. mediterranei*)
- Chloramfenikol (from *S. venezuelae*)



Komplexní životní cyklus streptomycet

- substrátové mycelium – vegetativní
 - vzdušné mycelium – „sporotvorné“
 - spory – arthrospory
-
- autolýza – postihuje významnou část populace v průběhu vývojového cyklu

Komplexní životní cyklus

- Odpovědi na prostředí
- Multinukleoid, segmentace
- Přesná regulace diferenciaci V.M.
- Micro arrays – identifikace hydrofobních proteinů
– **chapliny** = kostra pro vzdušné hyfy. Sekretovány z cytoplazmy a ukládány do buněčné stěny. 8 druhů

Chapliny – kovalentní vazba na PG, hydrofobní a odolná vrstva – studium cytoskeletu *S. coelicolor*

Studium – exprese a funkční specializace jednotlivých druhů chaplinů, jejich polymerizace, interakce se složkami buněčné stěny a morfogeneze

1. Germinace spory

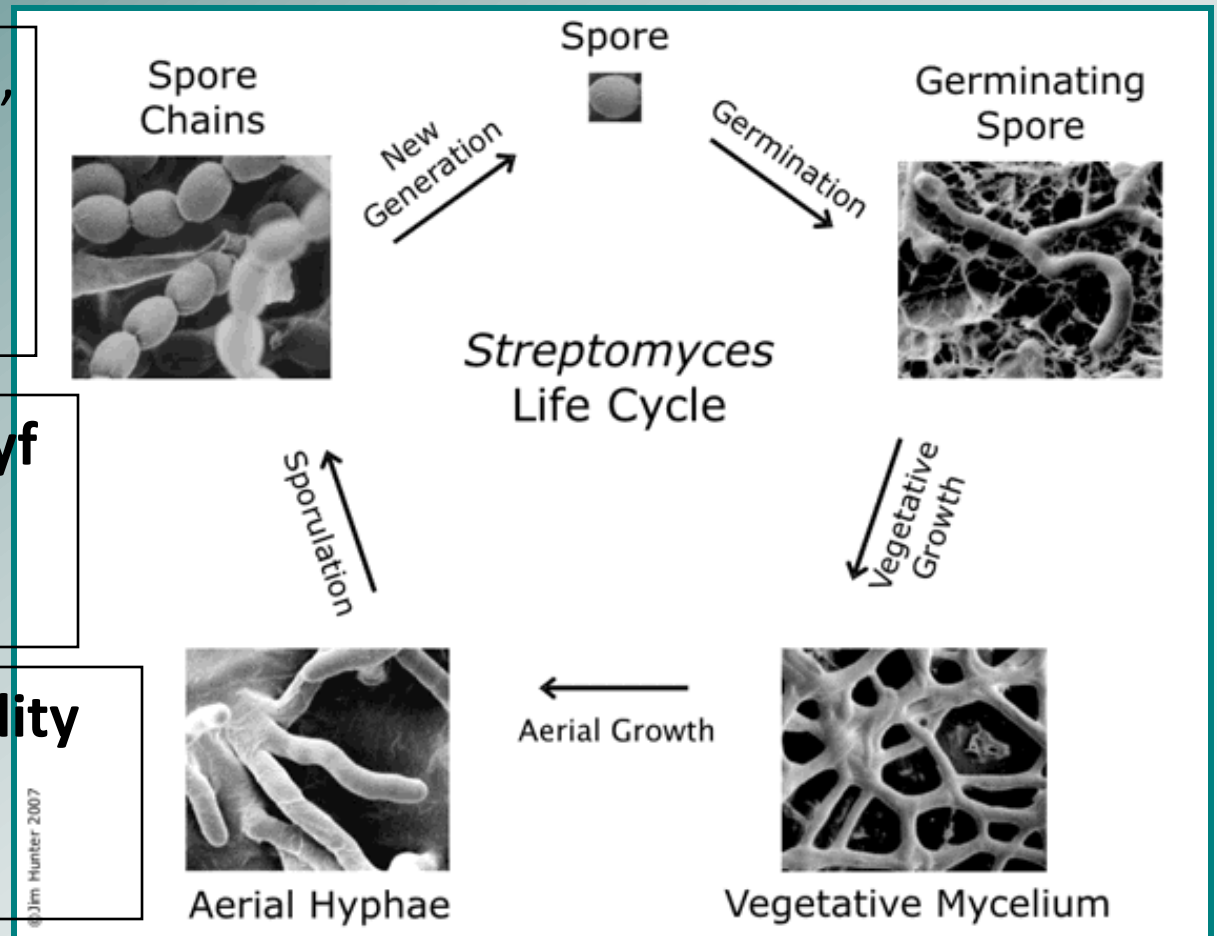
2. Spora produkuje jedno nebo více „mnohojaderných“ vláken

3. Prodlužování a větvení vláken vegetativního mycelia v a na mediu

4. Penetrace do media, „pohyb“, kolonizace. Extracelulární hydrolytické enzymy

5. Tvorba vzdušných hyf odpovědí na signály - vyčerpání živin

6. Sekundární metabolity
Multigenom septován
Řetízky spor, pigment



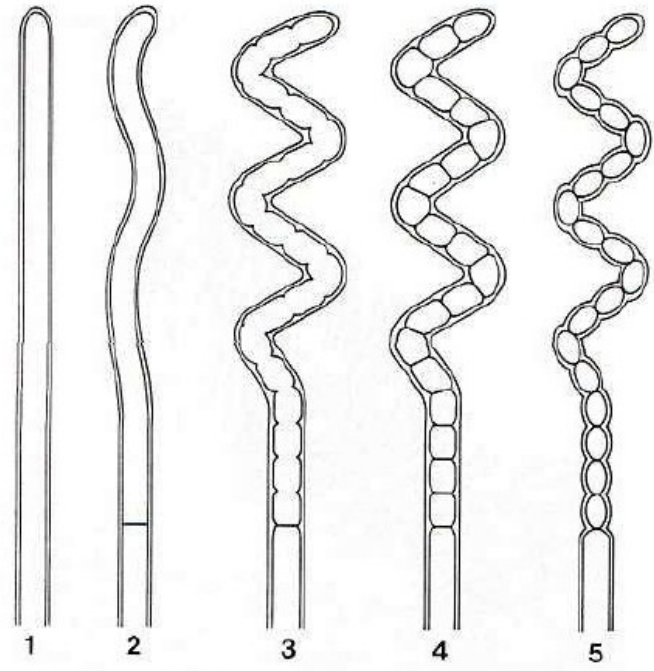
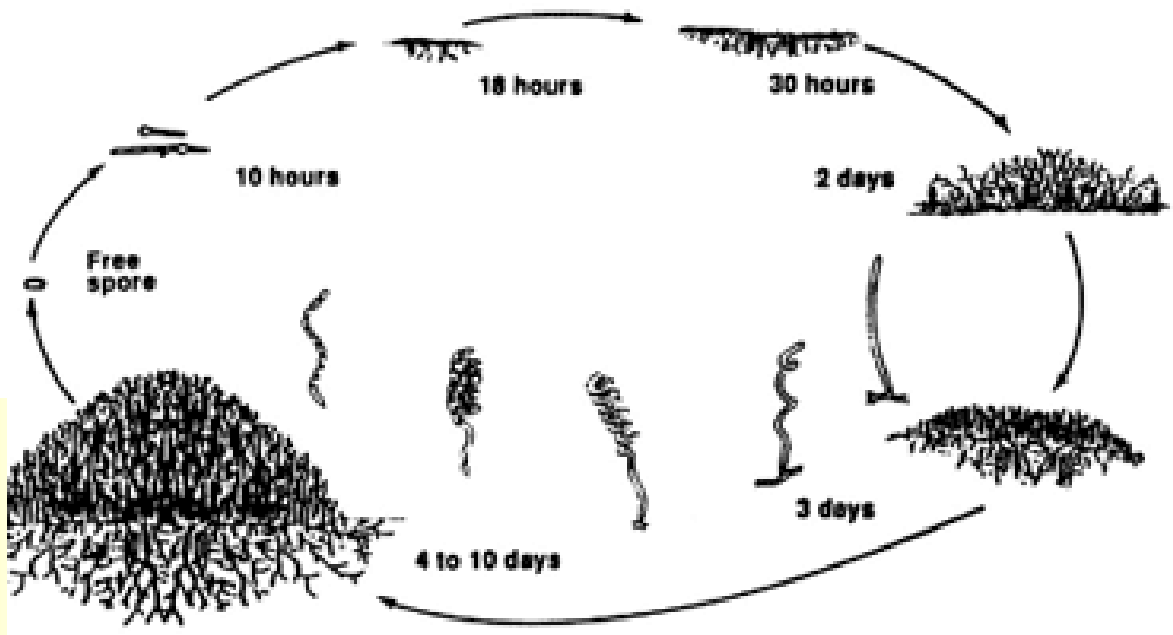


Fig. 32. Diagram of the four stages of sporulation in *Streptomyces coelicolor*. After a phase of vegetative growth, as shown in (0), the sporulating hyphae are divided into long cells by ordinary cross-walls, and the tips begin to coil (1). The apex is then partitioned into spore-sized compartments by sporulation septa (2). The cell walls thicken and constrictions appear between the young spores (3). As spores mature, they round off and separate (4). Some spores begin to germinate immediately after maturation. (From Dworkin, 1985.)



Životní cyklus

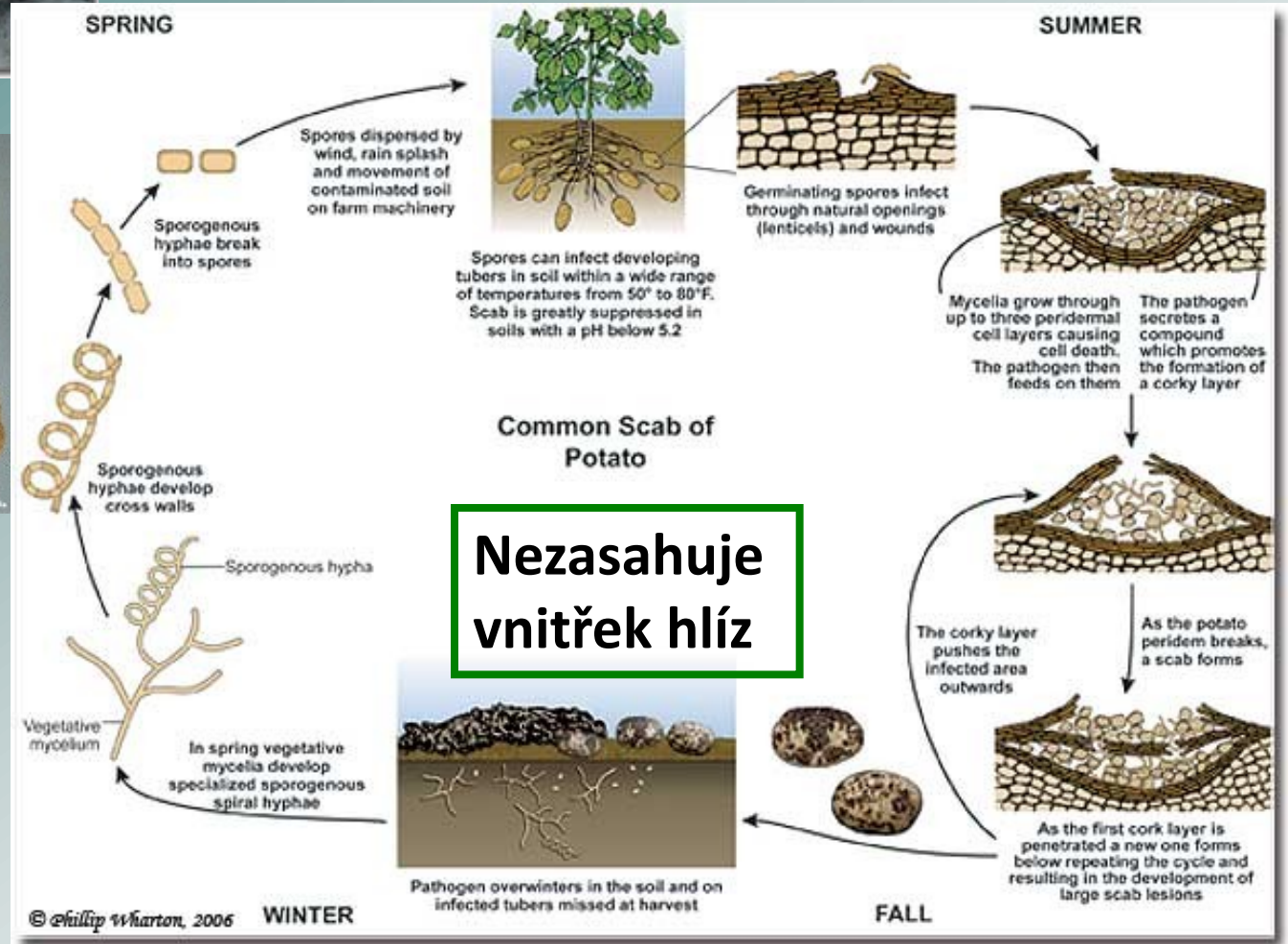
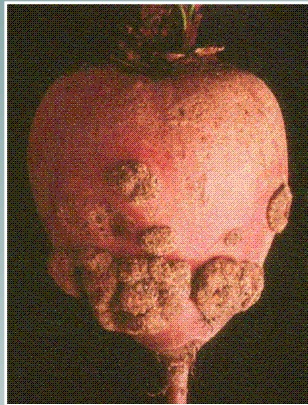
- spora – klíčí, vyrůstá vláknitá buňka
- substrátové mycelium – větvená vlákna vyrůstající radiálně kolem původní buňky
- vzdušné mycelium – vyrůstá vertikálně na substrátovém myceliu
- sporulace
- přehrádky vytváří dlouhé buňky
- vlákno se svinuje na koncích
- na apikální části hyfy se začínají vytvářet sporulační přepážky dělící vlákno na krátké úseky – budoucí spory
- kompletně vytvořená septa, nezralé spory, ztlušťování BS
- maturace arthrospor – zakulacování, oddělování
-
- zralá spora – klidové stadium – rezistentní k vysychání a ke zvýšené teplotě (55 °C)
- slouží k šíření organismu v prostoru
- k překonání nepříznivých životních podmínek

- **Substrátové mycelium**
- **zpravidla nefragmentované, ale v některých případech nese řetízky spor**
- **stárnutí kolonie – hyfy nesou vzdušné mycelium**
- **vlákna obsahují přepážky (nejsou cenocytická)**
- **z úlomků vláken mohou vyrůstat nové buňky**
- **Vzdušné mycelium**
- **pestrá morfologie, řada znaků má taxonomický význam**
- **délka hyf – krátké („zaprášené“ kolonie - dusty), dlouhé („chmýřité“ kolonie – cottony)**
- **větvení – sympodiální (keříčky, stromečky), monopodiální (vedlejší větve)**



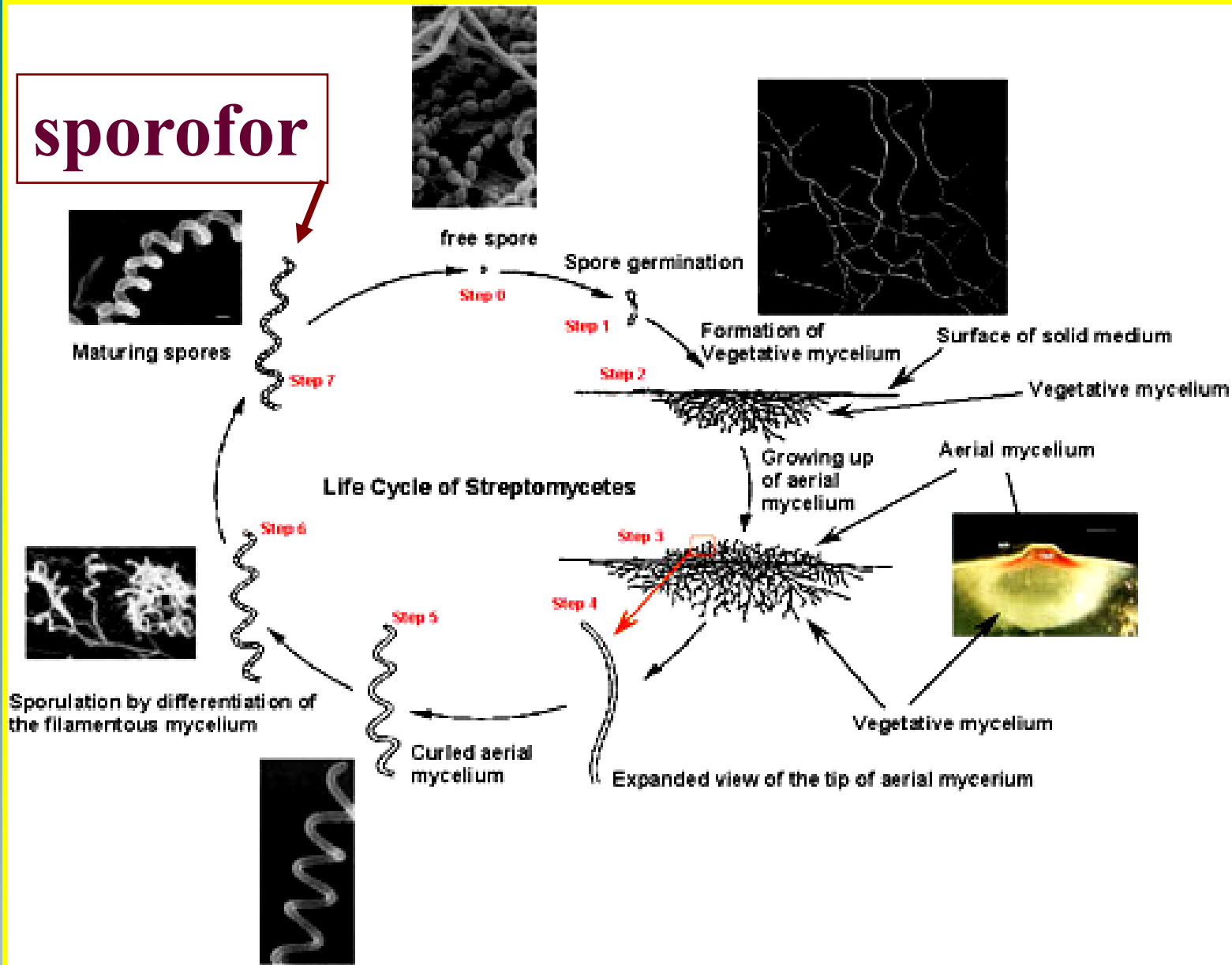
Streptomyces scabies

-křen, pastinák, řepa, mrkev, brambory



Nezasahuje vnitřek hlíz

sporofor



Spory streptomycet

- Řetízky
- Pigmentované
- Oproti G+ bakteriím méně rezistentní
- Velmi odolné vůči vysychání
- Slouží k šíření organismu v prostoru a k překonání nepříznivých životních podmínek

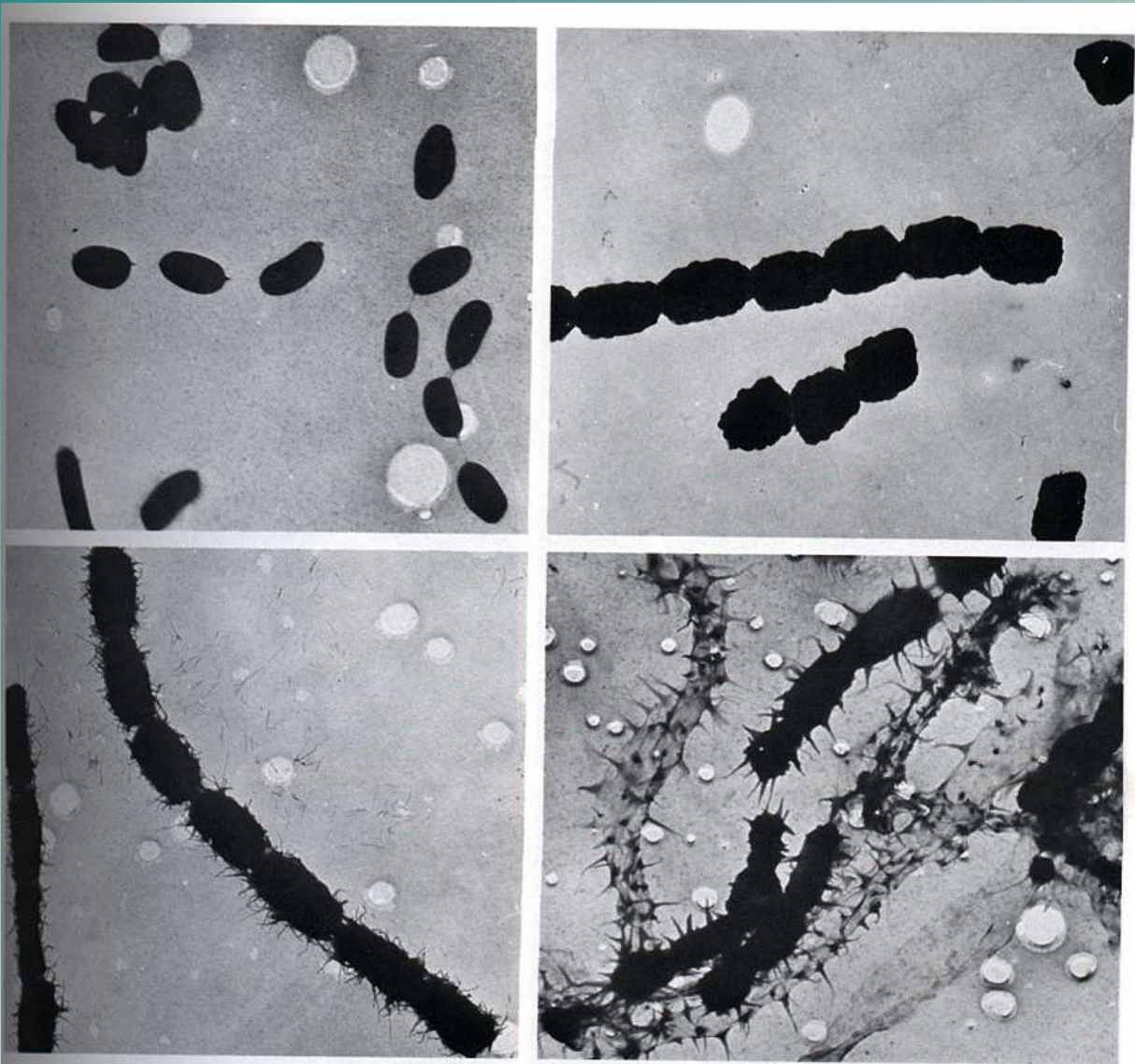
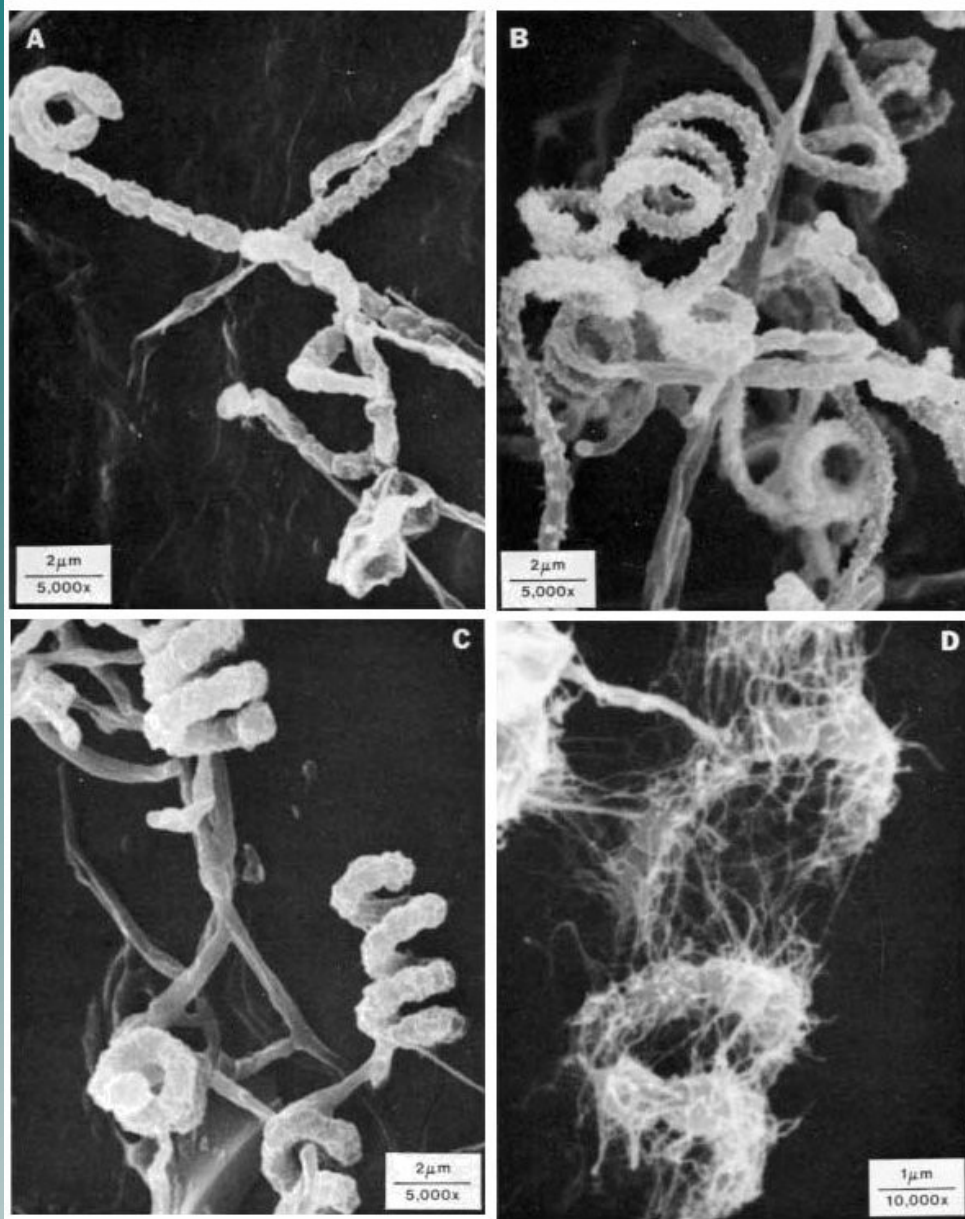


Fig. 15. Electron micrographs of four types of arthrospores of streptomycetes: smooth; warty; hairy; and spiny. The spores are about $1\ \mu\text{m}$ long. (From Kutzner, 1956; with permission.)



Scanning electron microscopy
of arthrospore chains.

- (A) *Streptomyces torulosus*
(knoflíkovité)
- (B) *S. bluensis* (ostnaté)
- (C) *S. antimycoticus* (drsnné)
- (D) "*S. karnatakensis*"
(vláknité).

(Courtesy of A. Dietz.)

Rhodomicrobium vannielii

Modelový MO studia diferenciacie a morfogeneze

- pučící bakterie
- anaerobní fototrofi, aerobní chemotrofi
- Střídání:

rostoucí a klidové formy

přisedlé a pohyblivé formy

Obrázky

násled. snímků

převzaty z článku:

Morphogenesis and Differentiation in *Rhodomicrobium vannielii* and Other Budding and Prosthecate Bacteria

R. WHITTENBURY* AND C. S. DOW

BACTERIOLOGICAL REVIEWS, Sept. 1977, p. 754-808
Copyright © 1977 American Society for Microbiology

Vol. 41, No. 2

Pojmy

Morfogeneze

- změny vnější morfologie a vnitřní architektury buňky

Diferenciace

- děje startující po „přepnutí“ buněčného cyklu vedoucí k formování nového typu buňky. Diferencované buňky mohou revertovat (germinace spor) nebo mohou být trvalou součástí společenství (heterocysty sinic, buňky methanoxidujících bakterií).

Vývoj mnohobuněčného komplexu

- sloučení morfogeneze a diferenciace myxobakterií, sinic kdy jsou jednotlivé buňky specifickou funkční součástí

Cell Cycle Types

Monomorphic vegetative cell cycle type – this phrase describes species of prokaryote existing always as vegetative cells and in which there is only one distinct morphological type of cell formed under what are considered to be normal nutrient and physiological regimes (e.g., *E. coli*).

Dimorphic cell cycle types – this phrase describes those prokaryotes which, at division, form two cells that differ from each other in shape (e.g., *Caulobacter*), or in size (e.g., certain filamentous blue-green bacteria), or in the possession by one of the cells of an appendage (e.g., the swarm cell of *Rhodospseudomonas acidophila* possesses a flagellum not possessed by the mother cell), or in a combination of these features.

Polymorphic vegetative cell cycle types – this phrase describes species that may produce under different nutrient and physiological regimes (but not so bizarre as to cause malfunction in the cell cycle) two or more morphologically distinct types of cell, each of which undergoes a distinctive and constant cell cycle (e.g., *Arthrobacter* species [24, 42], *Sphaerotilus* species [54, 66] certain cyanobacteria [9, 51], *Geodermatophilus* [36], *Hyphomicrobium* species [88], and *Rhodomicrobium* species; all these have two or more vegetative cell cycles). Cell cycle changes in response to nutrient conditions in *Geodermatophilus* are shown in Fig. 1. Two other species with such cell cycles have been studied by us, a *Hyphomicrobium* species (3) (Fig. 2 and 3) and a prosthecate bacterium (Fig. 4 and 5).

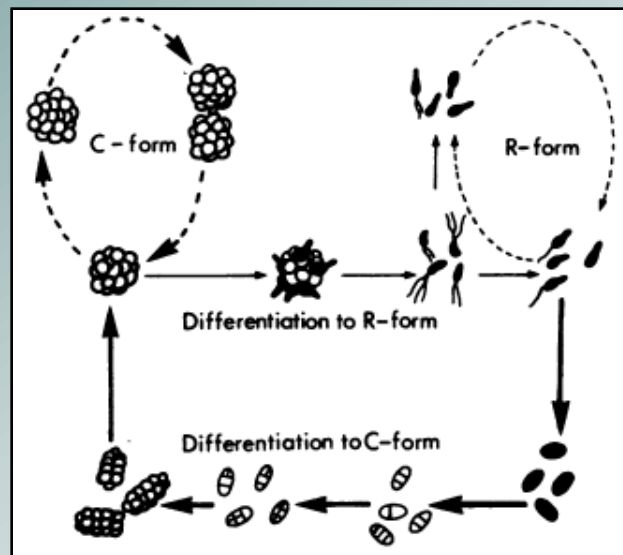


FIG. 1. The polymorphic growth cycle of *Geodermatophilus* strain 22-68 (after Ishiguro and Wolfe [36]). Growth and division in the C-form requires the presence of a factor found in tryptose. Absence of this factor induces differentiation to the R-form. Readdition of the tryptose will induce differentiation from the R-form to the C-form.

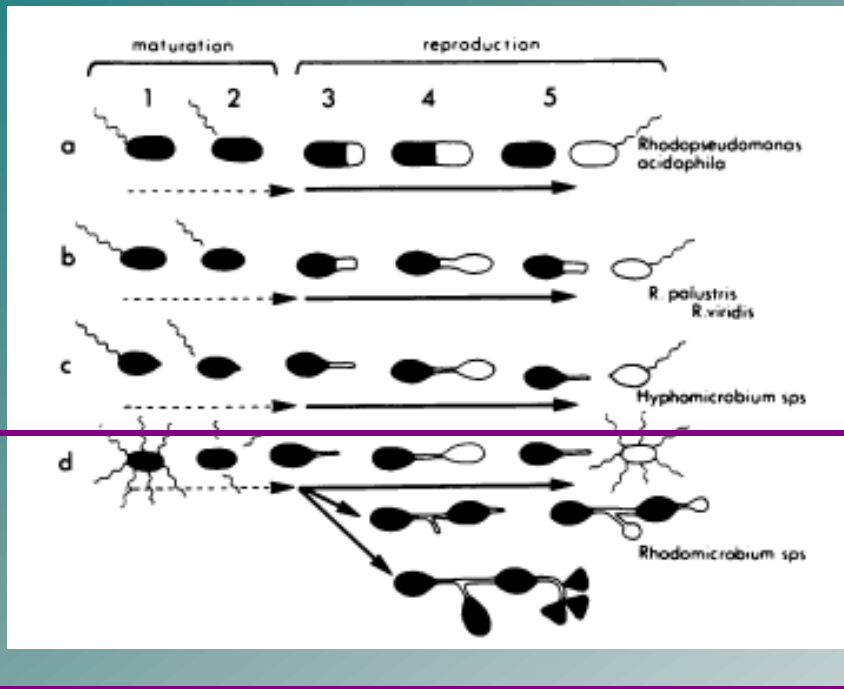


FIG. 9. Budding bacteria ordered in degrees of morphological/cell cycle complexity. In all cases motility (1), flagella shedding (2), maturation of the cell (3), daughter cell synthesis by obligate polar growth (4), and asymmetric cell division (5) give rise to an immature daughter cell and a mature mother cell. (a) *Rhodopseudomonas acidophila* (60). Simple dimorphic life cycle not involving tube/filament synthesis. (b) *Rhodopseudomonas palustris* and *R. viridis* (96). Involvement of tube/filament synthesis prior to daughter cell formation. (c) *Hyphomicrobium* species (33, 45). Reduction in width coupled with an increase in length of the tube/filament compared with *R. palustris*. (d) *Rhodomicrobium* species (see Part B). Environmentally induced life cycle variations ranging from a simple dimorphic cell cycle through complex matrix formation to exospore production.

Rhodomicrobium vannellii – typy buněk:

- **Ovoidní buňky** 2-3 μm – 1 μm , spojené **vlákny** 2-30 μm , která se mohou **větvit** (myceliální stadium) – dostatek světla, nižší tlak CO_2
- V časně exponenciální fázi – **nestélkaté** peritrichálně obrvené buňky, méně světla, vyšší tlak CO_2
- **Nepohyblivé hranaté exospory** – vyčerpání živin

Lag a časná exponenciální fáze růstu:

Buňky spojené vlákny

Syntéza vl.na obou pólech

40 – 50 min

Při 10mM fosfátu:

Délka vláken 2-3 μm

20-30 min
pohyblivá
peritricha
1,5x0,8 μm



Na počátku stac. fáze:
Produkce 4 hranatých
exospor

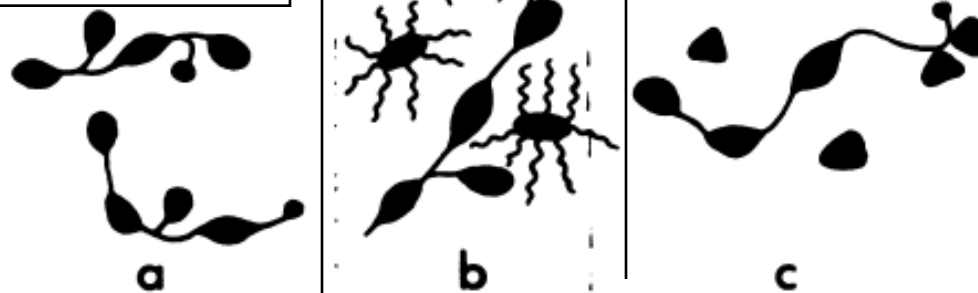


FIG. 14. (A) Growth curve of strain Rm 5 grown on malate medium at 30°C with an incident light intensity of 1,000 lx in a 15-liter batch fermentor. (B) Phase-contrast photomicrographs of cellular expression during batch culture growth of strain Rm 5. (a) Lag and early exponential phases are characterized by the presence of complexes of cells linked by filaments. No motile cells are apparent. (b) As growth proceeds, nonstalked motile cells are produced. (c) With the onset of the stationary phase, angular exospores are produced in considerable numbers.

Délka vláken závislá na nutričních vlastnostech media:

nedostatek fosfátu – délka vláken nad 30 μm a generační doba 18₇20h

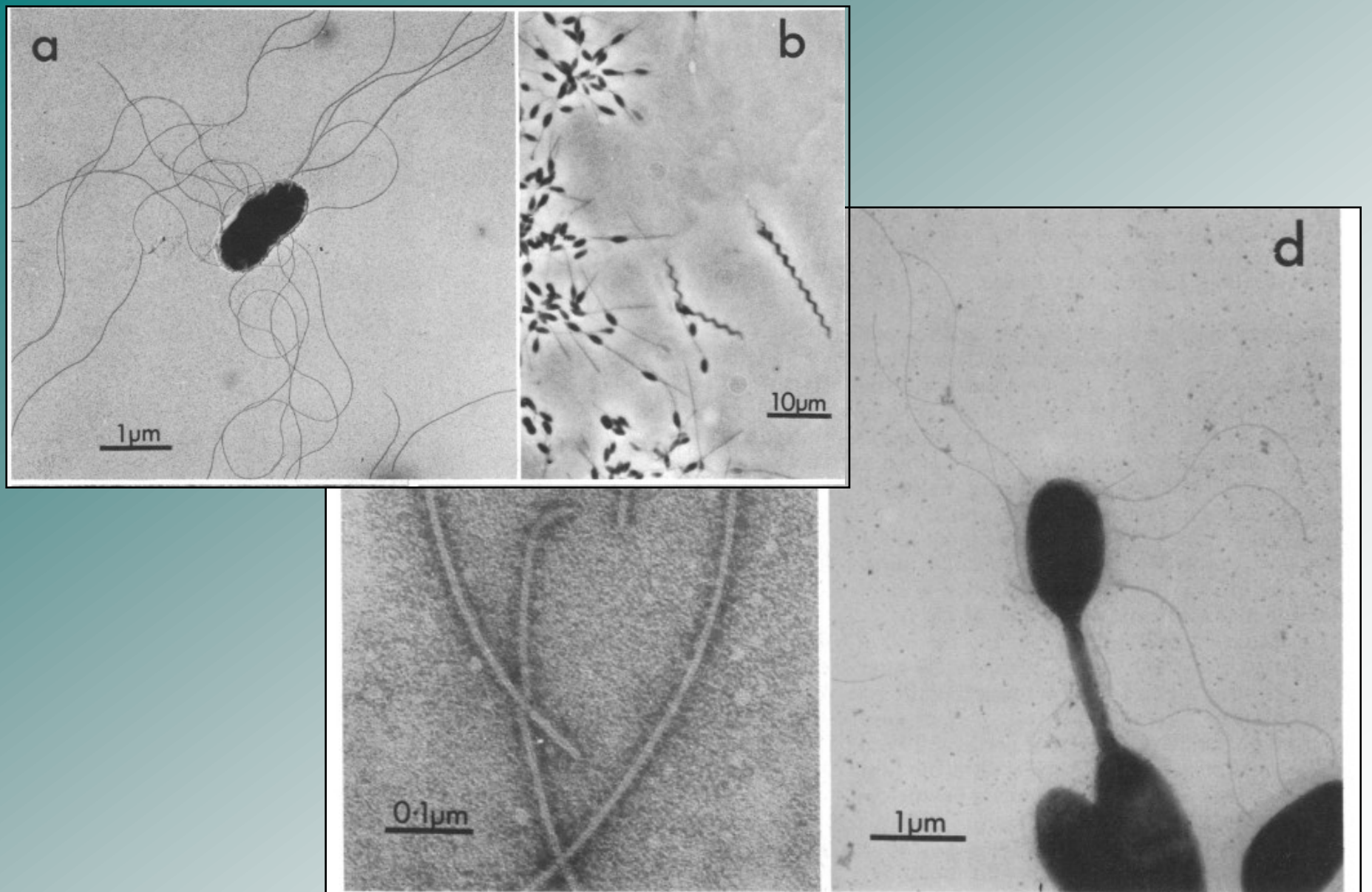
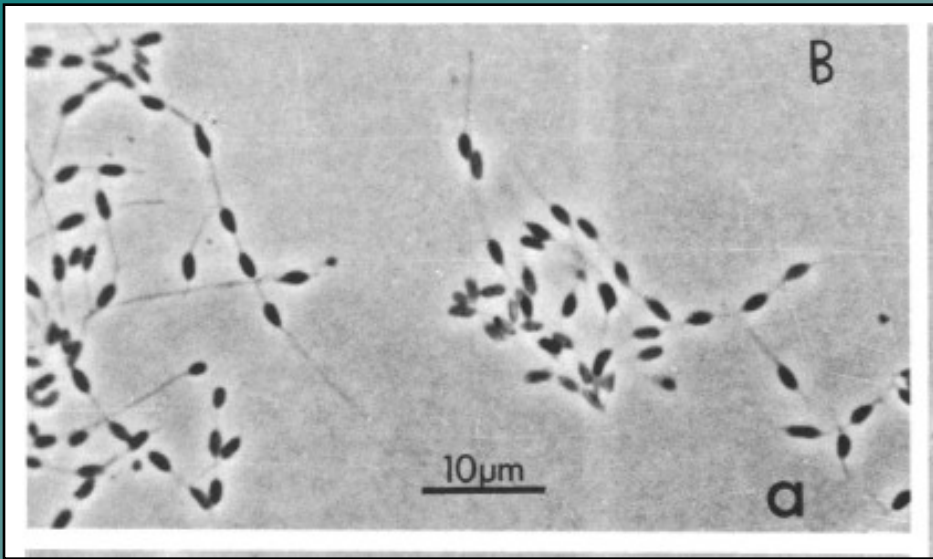


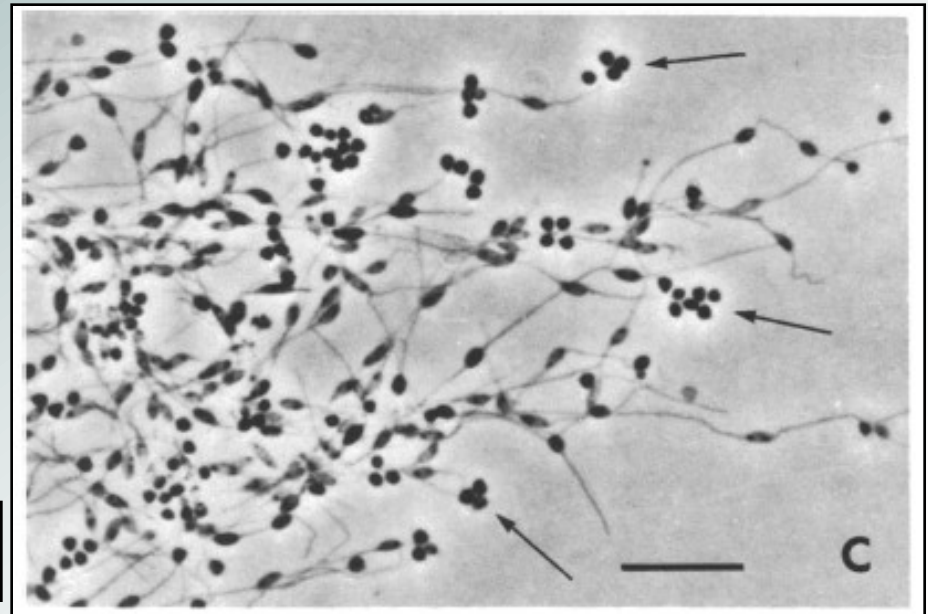
FIG. 19. (a) Strain Rm 5 swarm cell. Gold-palladium shadow. (b) Phase-contrast photomicrograph of a strain Rm 5 slide culture showing spirillar flagella bundles. (c) Electron micrograph of shed flagella showing an intact flagella hook (1% [wt/vol] phosphotungstic acid, negative stain). (d) Swarm cell formation (1% [wt/vol] uranyl acetate, negative stain).



- Pupen se objevuje po 220-250min od iniciace b.cyklu
- Vyspělá dceřinná buňka, fyziologicky separovaná, se odděluje binárním dělením od vlákna – pohyblivá buňka
- nebo nebo syntetizuje zátku (řetězení vlákna buněk)

- Unipolární větvení vláken – vždy z naposledy syntetizovaného vlákna.
- Vždy zátka ve vláknu před jeho větvením.
- Nikdy nejsou produkovány více než 4 dceř.b.

LIMIT POČTU DCEŘ.BUNĚK



- <http://www.jic.ac.uk/SCIENCE/molmicro/Strepmanual/Manual.htm>
- http://openwetware.org/wiki/Streptomyces:Other_Bits/An_Introduction_to_Streptomyces
- <http://microbiologybytes.wordpress.com/category/parasitology/>
- <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/5/51>
- http://biology.kenyon.edu/courses/biol114/Chap11/Chapter_11A.html

- http://www.science.mcmaster.ca/biology/faculty/elliottm/elliottm_research.htm
- <http://www.natur.cuni.cz/~zdenap/linksMS.html>
- <http://www.microbelibrary.org/ASMOOnly/details.asp?id=1988&Lang>
- <http://www.nature.com/nature/journal/v417/n6885/full/417141a.html>
- <http://the-half-decent-pharmaceutical-chemistry-blog.chemblogs.org/archives/2007/01/21/sunday-s-family-reunion-the-antitumor-antibiotics>
- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=414022&blobtype=pdf>