

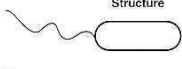



## Pohyb buňky

### Úvod:

Pohyb je odpovědí na: gradient chemické látky, teplotu, světlo, gravitaci, kyslíkový gradient. Schopnost pohybu a jeho rychlost závisí na přítomnosti bičků, počtu bičků, lokalizaci bičků (peritricha reagují nejpomaleji), viskozitě prostředí, gradientu koncentrace atraktantů a inhibičních látek, na paměti buňky (žádný pohyb nesmí trvat dlouho, pro správnou reakci musí buňka reagovat na aktuální podnět – krátkodobá paměť receptorů). Rozmezí rychlosti: 1-100  $\mu\text{m/s}$

### Bičík

- semirigidní vláknitá struktura, globulární bílkovina flagelin, tloušťka 13-20nm
- vlákno je flagelárním antigenem, specifické bílkoviny; tvorba samouspořádáním
- začíná v cytoplazmatické membráně; proti eukaryotním bičíkům: jiná stavba, jiné bílkoviny, pohyb není vlnění, primární pohyb je rotační, donorem energie není ATP ale proud  $\text{H}^+$ , hnací síla: protonmotivní síla (proud  $\text{H}^+$ ) (*Vibrio*  $\text{Na}^+$ )
- stavba: bazální tělíčko (G- 4 kruhy, G+ 2kruhy), háček, vlákno
- bičíky snadno odstranitelné skleněnou tyčinkou
- při pohybu se bičíky nezamotají díky náboji; pohyb dopředu: proti směru hodinových ručiček, buňku tlačí před sebou, rozmotání bičků: točení na místě
- chemotaxe: regulace MCP systémem – po vazbě atraktantu chemické modifikace proteinů membrány: de- a fosforylace a demethylace

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

#### **Rotor:**

6-17 tis.otáček/min

#### **Vlákno:**

200-1 000 ot/min

Nerotuje konst.rychle

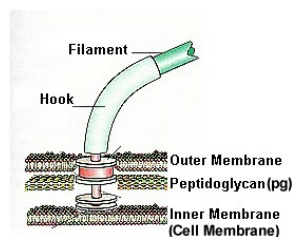
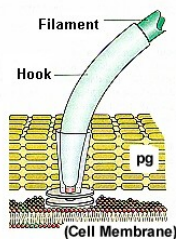
#### **Průměrná rychlost:**

**20-90 $\mu\text{m/s}$**

60x délka buňky/s

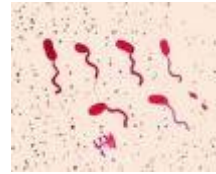
#### **Gepard:**

25x délka těla/s

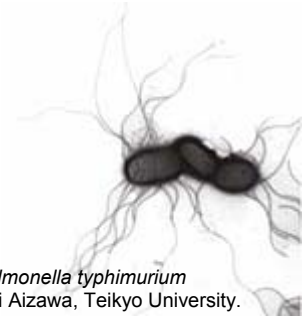


G+

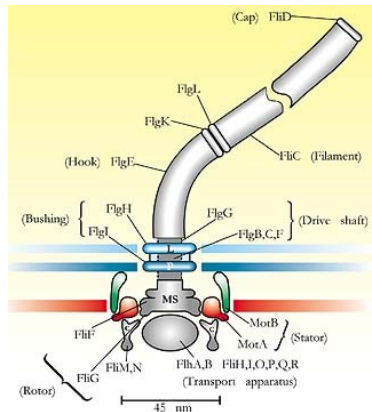
G-



*Vibrio cholerae*



*Salmonella typhimurium*  
Chi Aizawa, Teikyo University.



Točivá síla je generována mezi **staturem** spojeným s rigidní konstrukcí buněčné stěny (k peptidoglykanu) a **rotorem** spojeným s flagelárním vláknem. Proteiny **MotA a MotB** tvoří složky statoru; **FliF, G, M, a N (MS a C kruhy)** jsou složkami rotoru.

**FlgB, C, F, a G** jsou hnací hřídelí (drive shaft). FlgH a I (**L a P kruhy**) jsou objímkami, které vedou hřídel vnější vrstvou buněčné stěny.

### Typy pohybu:

taxe – pozitivní a negativní; chemotaxe, fototaxe, aerotaxe, magnetotaxe

- swimming motility – pohyb bičíky, plavání
- swarming motility – plazivý pohyb kolonií, bičíky, *Proteus*
- twitching motility – trhavý, skákavý pohyb
- gliding motility – klouzavý pohyb

### Důvody pohybu bakterií

- ❖ nejčastější – pohyb ke zdroji živin – po koncentračním gradientu
- ❖ reakce na repelent
- ❖ shlukování buněk za účelem vytvoření plodnice - *Myxobacteria*

### Závislost na prostředí:

MCP systém čeledi *Enterobacteriaceae* je urč. způsobem vyvinut u druhů žijících v prostředí bohatém na živiny, liší se tedy od systémů recepce např. u oceánských bakterií:

*Vibrio furnissii* – živí se chitinem, vykazuje, silná odpověď na nízké koncentrace oligosacharidů chitinu, nikoli na silné atraktans např. pro enterobakterie (aspartát).

Fotosyntetické *Chromatium* – přitahováno  $H_2S$  (donor elektronů), což je repelent pro většinu bakterií.

*H. halobium* přitahováno leucinem, což je repelent pro enterobakterie.

*Rhodospseudomonas putida* – chemoatraktantem jsou repelenty enterobakterií (benzoát)

MCP systém není ovlivněn růstovým cyklem buňky, není zahrnut v údržbě buňky, ale při zvýšené intenzitě růstu. – pohyb hraje roli při kompetici limitujících zdrojů.

Chemotaxe hraje roli u adheovaných buněk

*Caulobacter* – volně plovoucí buňky – není syntéza DNA, ani dělení, ale exprese MCP – podobných receptorů – silná chemotaxe. Pohyb za signály, dokud nenarazí na povrch bohatý na substrát – osídlení a iniciace buněčného dělení.

#### Aerotaxe:

Jedna z nejdříve popsaných taxí. (1883, Engelmann).

#### Fototaxe:

Fotokineze je snížení či zvýšení rychlosti odpovědi na změny intenzity světla.

Pozitivní fototaxe ve směru nižší intenzity světla. Sinice – velikost buňky umožňuje vnímat směr světla. Bakterie – fotofobní. Akumulace ve stinném prostředí.

#### Chemotaxe:

Pohyb bez atraktantu – střídání přímého a otáčivého, vrtivého. Náhodný.

Pohyb s atraktantem – nižší frekvence otáčení na místě

Bakterie disponuje pamětí na okamžitou koncentraci atraktantu: porovnává prostředí s předchozí koncentrací – ve směru zvyšující se koncentrace se **snižuje frekvence otáčení na místě**.

- Pozitivní (pohyb k atraktantu) a negativní – pozorování na Petriho misce
- Koncentrační gradient
- Chemoreceptory – v periplazmě nebo na cytoplazmatické membráně
- Atraktanty:
  - cukry (odpověď už na  $10^{-8}$  M koncentraci), aminokyseliny;
  - 20 chemoreceptorů
- Repelenty
  - bakt.odpadní produkty, inhibiční agens, barviva, chemické látky
  - 10 chemoreceptorů

### **Pozorování pohybu bičíku -**

1) nativní preparát

- nesmí se pracovat se skleněnými předměty (krom sklíček), při: skleněná tyčinka bičíky ulamuje (na sklíčko opatrně nanášet umělohmotnou pasteurkou, opatrně překrývat krycím sklíčkem), práce s mladými kulturami 4-16hodin!! pozorování vždy z tekutého media

### **2) Barvení bičíků:**

Závisí na způsobu kultivace. Kultivace buněk vhodná v tekutém mediu.

Staré buňky odhazují bičíky.

(Pozn: **Elektronová mikroskopie** - negativní barvení, otiskové preparáty po rychlém zmrazení na  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

### 3) Agar na testování pohybu:

Obsahuje nízké množství agaru – je to polotekuté medium (nižší viskozita prostředí).



**motility test medium**, polotekuté  
Pohyblivý kmen roste i mimo inokulaci – v celém mediu

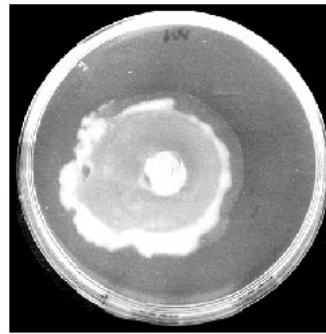


Figure 1. A swarming colony of *S. liquefaciens* approx. 600 min after inoculation. The agar concentration is 0.6% (w/v) and the casamino acid concentration is 0.2% (w/v). The shading is due to the light source reflecting off of the surface of the mostly transparent culture.

#### *Proteus mirabilis*

- Solidní střed
- Povlak
- Konsolidovaná zóna
- Terasv



#### **Dynamika růstu kolonie:**

- Periodicita migrace
- Diferenciace plazivých buněk
- Lag perioda předcházející migraci
- Migrace plazivých buněk
- Dediferenciace
- Konsolidace

#### **Regulace diferenciace**

##### Impuls

pevná půda, viskozita prostředí  
mechanická zábrana rotace bičíků  
chemotaxe – glutamin

##### Následek předání signálu

inhibice dělení  
vlákna až 80  $\mu\text{m}$   
hyperprodukce flagelinu: 5000 až 10000 bičíků

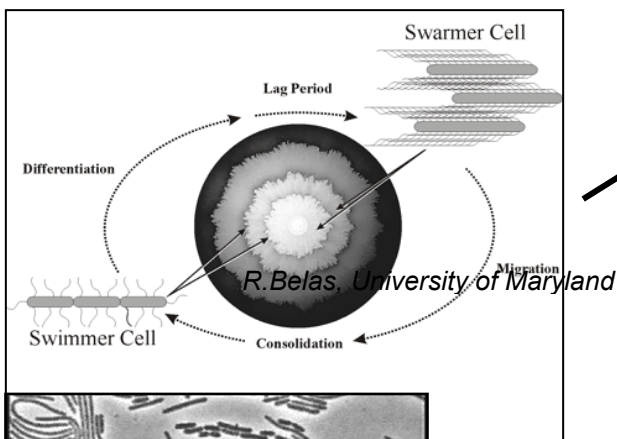
#### **Způsob šíření**

##### 1. Posuvem

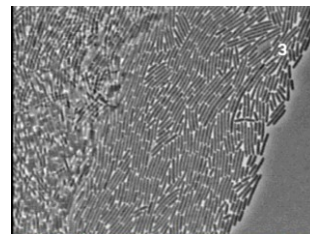
z konsolidovaného okraje kolonie, kde jsou buňky již diferencovány a lem je organizován

##### 2. Volným putováním

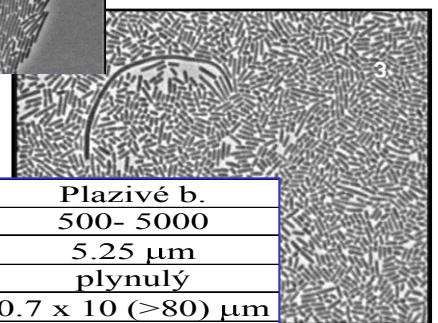
z populace vegetativních buněk, kde začíná diferenciace



#### **Cyklus diferenciace**



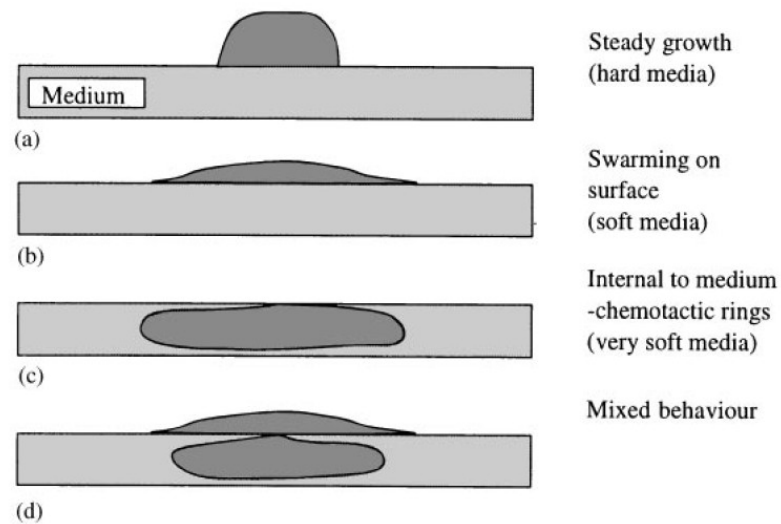
Uspořádané diferencované buňky na okraji kolonie



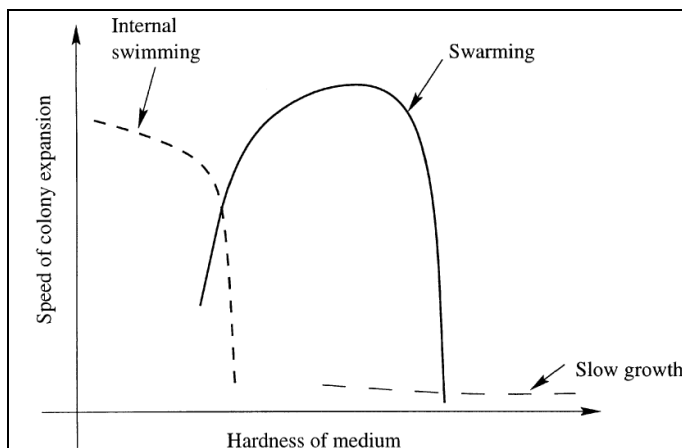
	Plovoucí b.	Plazivé b.
Počet bičíků	1 - 10	500- 5000
Délka bičíku	0.75 $\mu\text{m}$	5.25 $\mu\text{m}$
Pohyb	víření	plynulý
Buňka	0,7 x 2 $\mu\text{m}$	0.7 x 10 (>80) $\mu\text{m}$
Počet chromosomů	1-2	mnoho

**Swarmers;**  
**plazivé buňky**

### Bacterial swarming and cell differentiation



**Fig. 1.** Cross-sections illustrating different methods of colony expansion for *S. liquefaciens*: (a) displays steady growth on hard media in which fluid is unavailable to the bacteria. (b) occurs when the bacteria are able to extract fluid from the media in order to swarm, and (c) is observed with very soft media for which the bacteria can swim in fluid channels within the media itself. (d) can occur for media of intermediate hardness between (b) and (c)



**Fig. 2.** A bifurcation diagram depicting the varying strategies for bacterial colony expansion from experimental observations. Here, we show the effect of varying the hardness of the medium (achieved by varying the agar concentration) and keeping the available nutrients fixed. Note that the curves overlap, and the bacterial colony can “select” either mechanism, or sometimes both

**Bees a kol. (2000):** The interaction of thin-film, bacterial swarming and cell differentiation in colonies of *Serratia liquefaciens*. *J. Math. Biol.*, 40: 27-63

- [www.maths.gla.ac.uk/~mab/papersub.html](http://www.maths.gla.ac.uk/~mab/papersub.html)
- [www.nysaes.cornell.edu/pp/faculty/hoch/movies/](http://www.nysaes.cornell.edu/pp/faculty/hoch/movies/)
- [www.rowland.harvard.edu/labs/bacteria/index.html](http://www.rowland.harvard.edu/labs/bacteria/index.html)
- [http://www.rowland.harvard.edu/labs/bacteria/projects\\_filament.html](http://www.rowland.harvard.edu/labs/bacteria/projects_filament.html)
- <http://www.aip.org/pt/jan00/berg.htm>
- [www.medmicro.wisc.edu/.../research/index.html](http://www.medmicro.wisc.edu/.../research/index.html)
- [www.buddycom.com/bacteria/gnr/gnrgluox.html](http://www.buddycom.com/bacteria/gnr/gnrgluox.html)