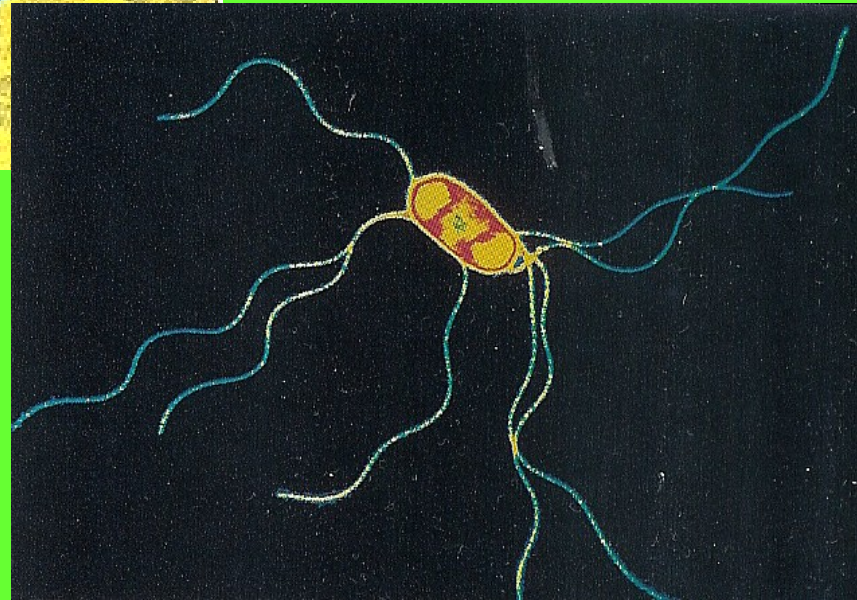
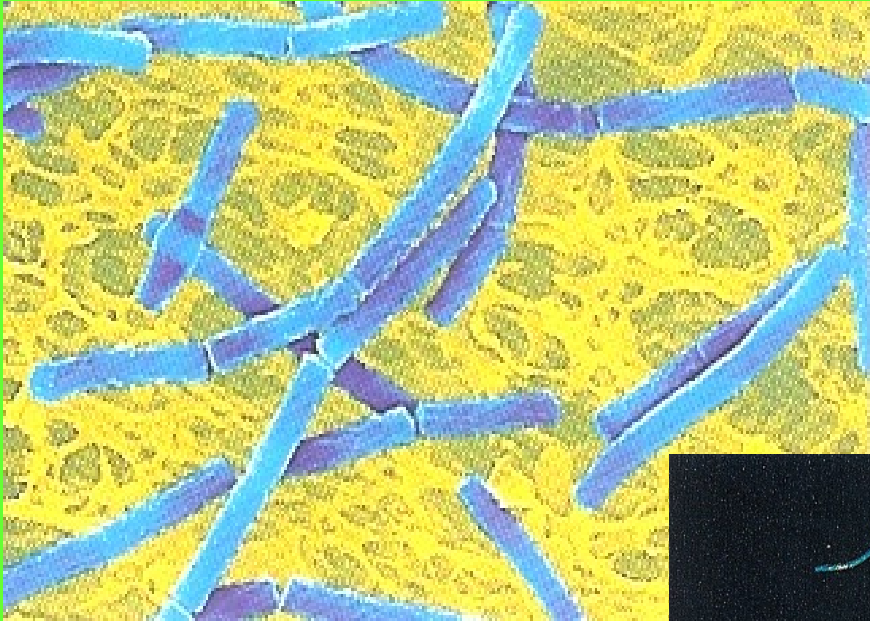
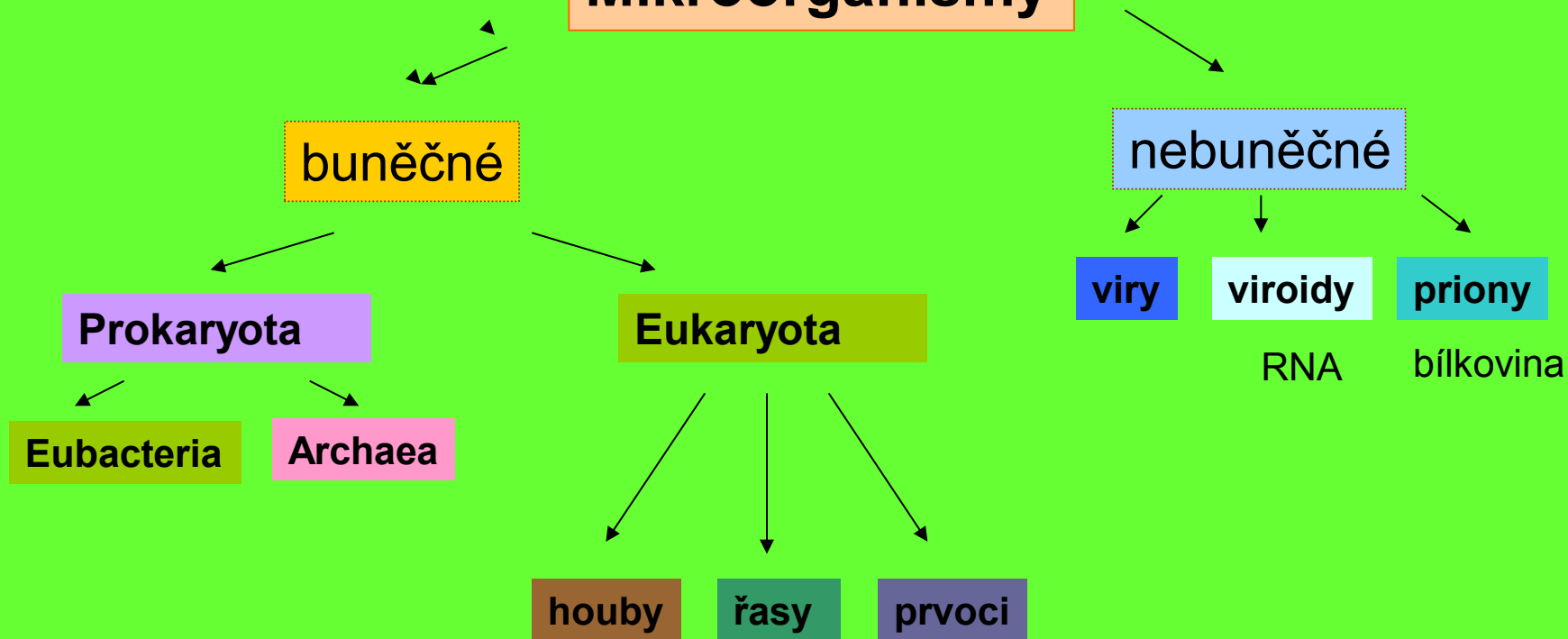


# Bakterie


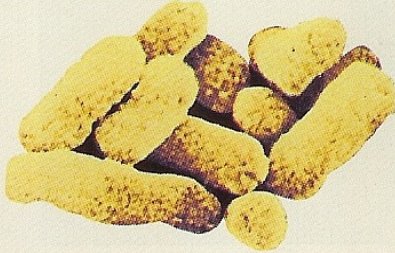
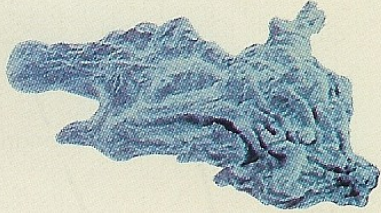


# Mikroorganismy



Nester, 1998

# Srovnání některých znaků Archaea, bakterií a eukaryot

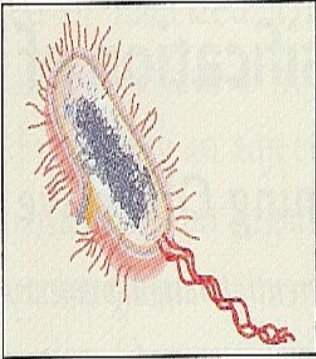
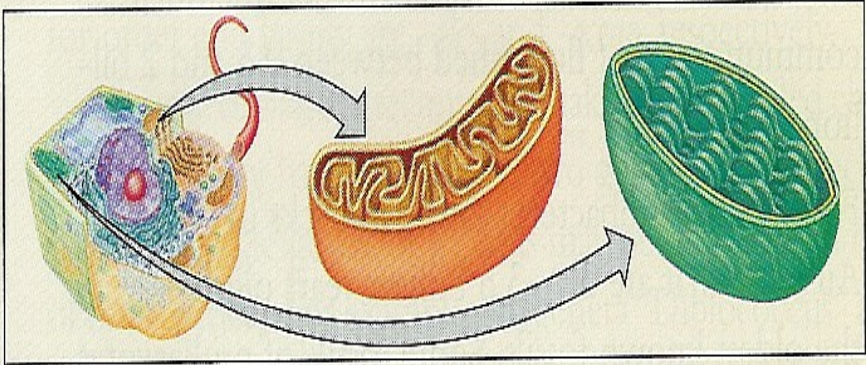
	Archaea	Bacteria	Eukaryotes
	 <p><i>Methanosarcina</i></p> <p>SEM   10 μm</p>	 <p><i>E. coli</i></p> <p>SEM   1 μm</p>	 <p><i>Amoeba</i></p> <p>SEM   1 μm</p>
Cell Type	Prokaryotic	Prokaryotic	Eukaryotic
Cell Wall	Varies in composition; contains no peptidoglycan	Contains peptidoglycan	Varies in composition; contains carbohydrates
Membrane Lipids	Composed of branched carbon chains attached to glycerol by ether linkage	Composed of straight carbon chains attached to glycerol by ester linkage	Composed of straight carbon chains attached to glycerol by ester linkage
Start Signal for Protein Synthesis	Methionine	Formylmethionine	Methionine
Antibiotic Sensitivity	No	Yes	No
rRNA Loop*	Lacking	Present	Lacking
Common Arm of tRNA**	Lacking	Present	Present
<p>*Binds to ribosomal protein; found in all bacteria.</p> <p>**A sequence of bases on tRNA found in all eukaryotes and bacteria: guanine-thymine-pseudouridine-cytosine-guanine.</p>			



# Srovnání prokaryotické buňky, eukaryotických buněk a jejich organel

	Prokaryotic Cell	Eukaryotic Cell	Eukaryotic Organelles (Mitochondria and Chloroplasts)
DNA	Circular	Linear	Circular
Histones	No	Yes	No
Ribosomes	70S	80S	70S
Growth	Binary fission	Mitosis	Binary fission

	
--	---



	<i>Archaea</i>	Bakterie	Eucarya	Organely eukaryot (mitochondrie)
Typ buňky	prokaryotický	prokaryotický	eukaryotický	
Buněčná stěna	různé složení; neobsahuje peptidoglykan	obsahuje peptidoglykan	různé složení; obsahuje cukry	
Lipidy membrány	obsahuje rozvětvené uhlíkaté  řetězce připojené ke glycerolu  éterickou vazbou	obsahuje lineární uhlíkaté řetězce připojené ke glycerolu esterickou vazbou	obsahuje lineární uhlíkaté řetězce připojené ke glycerolu esterickou vazbou	
Startovací signál pro syntézu proteinů	metionin	formylmetionin	met <del>h</del> ionin	
Citlivost k antibiotikům	ne	ano	ne	
rRNA smyčka	nedostatečná	přítomná	nedostatečná	
DNA	cirkulární	cirkulární	lineární	cirkulární
Histony	ne (u některých histonům podobné proteiny)	ne	ano	ne
Ribozom	70S	70S	80S	70S
Růst	binární dělení	binární dělení	mitóza	binární dělení

# Velikost, tvar a uspořádání bakteriálních buněk

- velikost, tvar a uspořádání bakteriálních buněk jsou dány jejich druhovou příslušností
- ani v čisté kultuře se jednotlivé buňky populace nevyskytují v daném okamžiku ve stejné fázi buněčného cyklu
- proto se tedy velikostí (a někdy i tvarem) budou lišit
- pro bakteriální buňky je typická značná variabilita ve velikosti, která je dána jednak druhovou příslušností, jednak fyziologickým stavem buňky a vnějším prostředím



# Velikost vybraných druhů bakterií

organismus	velikost v $\mu\text{m}$	organismus	velikost v $\mu\text{m}$	organismus	velikost v $\mu\text{m}$
Chlamyidium	asi 0,3	Streptococcus	1,0-1,5	Clostridium	0,5-0,8x 3,0-8,0
Bdellovibrio	0.3-0.5x0.5-1.4	Sarcina	4,0-4,5	Shigella	0,4-0,6x1,0-3,0
Rickettsia	0,1-0,3x1-4	Azotobacter	2-3x3-6	Spirochaeta	0,2-7x5-500
Staphylococcus	0,8-1,0	Proteus	0,5-1x1-3	Spirillum	0,5x3
Escherichia coli	0,5-1x1-3	Micrococcus	cca 1,0	Corynebacterium	0,32-0,8x1,0-8
Bacillus subtilis	0,9-1,1x1,8-4,8	Pseudomonas	0,3-0,5x1,0-1,8	Treponema	0,2x4-14
Mycobacterium	03-05x1-4	Acetobacter	0,4-0,8x1,0-2,0	Corynebacterium	0,3-0,8x1,0-8,0
Chromatium	3-4x5-6	Lactobacillus	0,7-1,0x3,0-8,0	Brucela	0,3-0,5x0,5-2

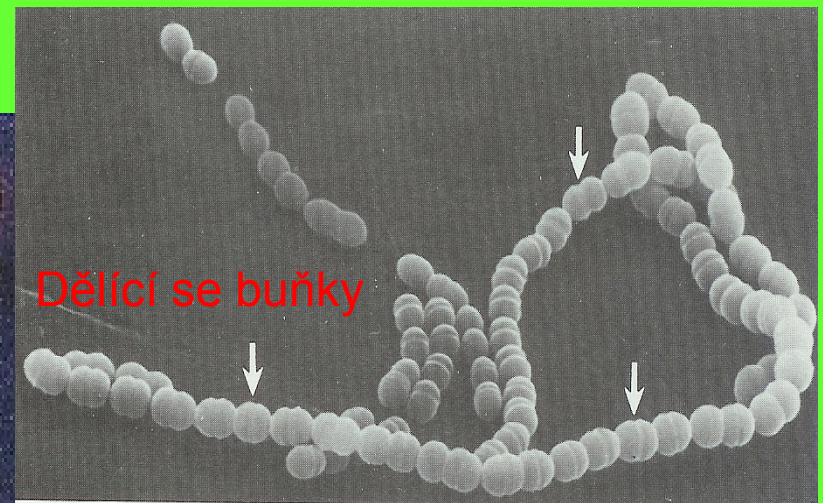
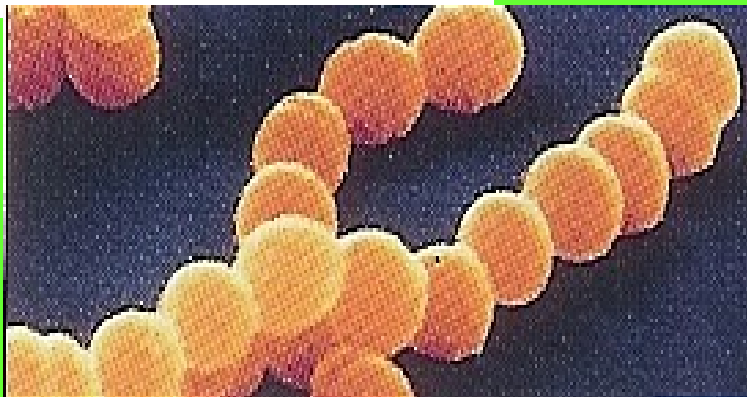
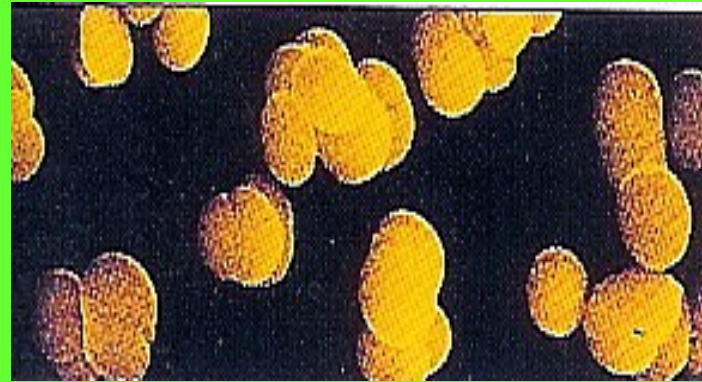
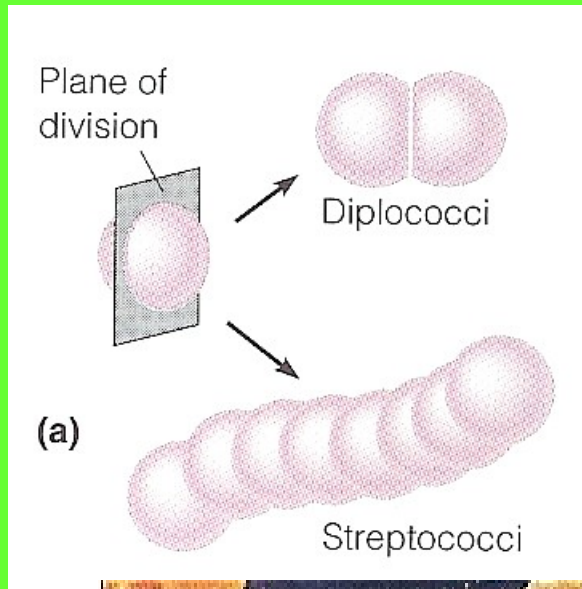
# Základní tvary bakteriální buňky

- kulovitý (kok, coccus, cocci)
- tyčinka (bakterie, bacillus)
- spirálovitý



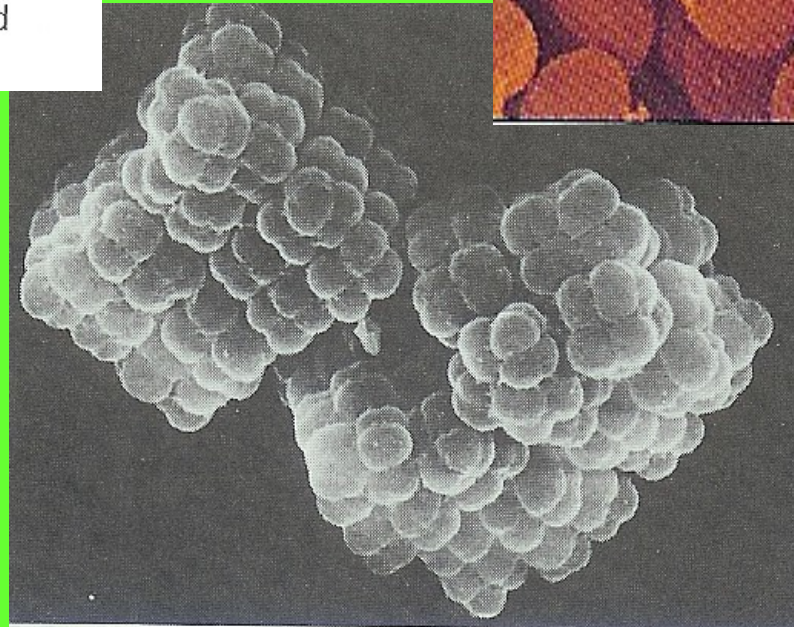
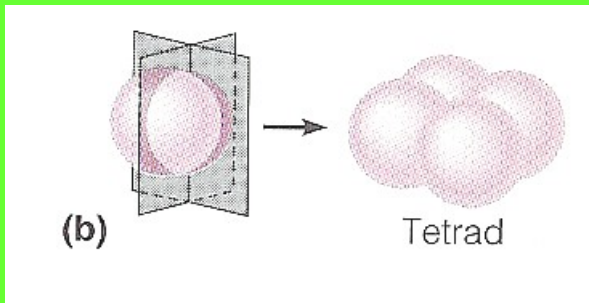
# Kulovitý tvar bakteriální buňky

- Dělení buňky v jedné rovině



# Kulovitý tvar bakteriální buňky

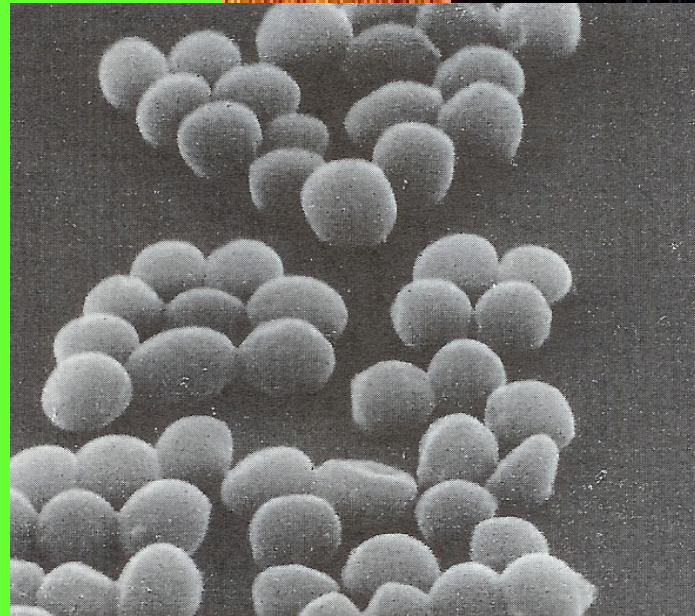
- Dělení buňky ve dvou rovinách





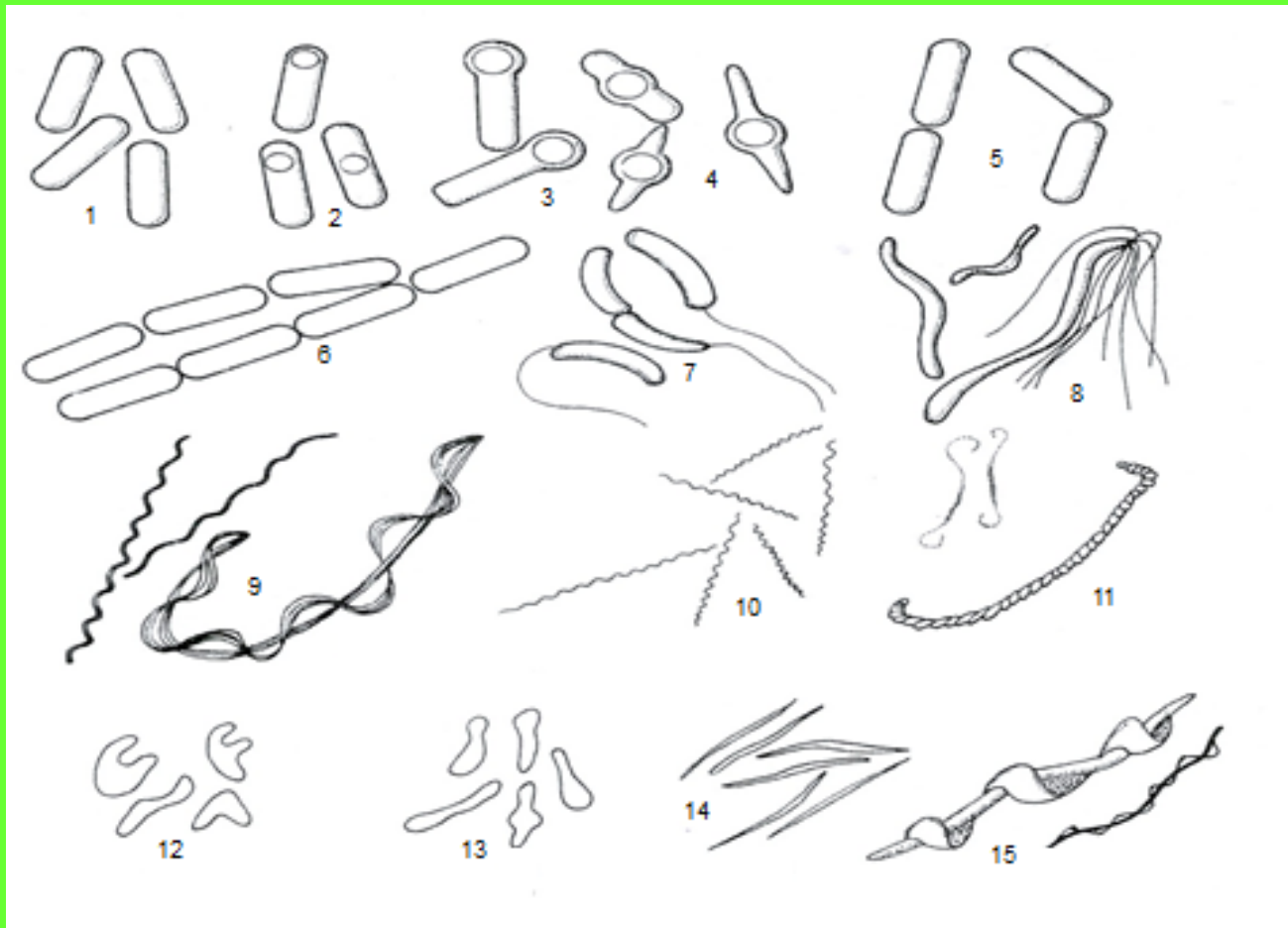
# Kulovitý tvar bakteriální buňky

- Dělení v různých rovinách



# Základní tvary bakteriální buňky

- kulovitý (kok, coccus, cocci)
- tyčinka (bakterie, bacillus)
- spirálovitý
- pleomorfní

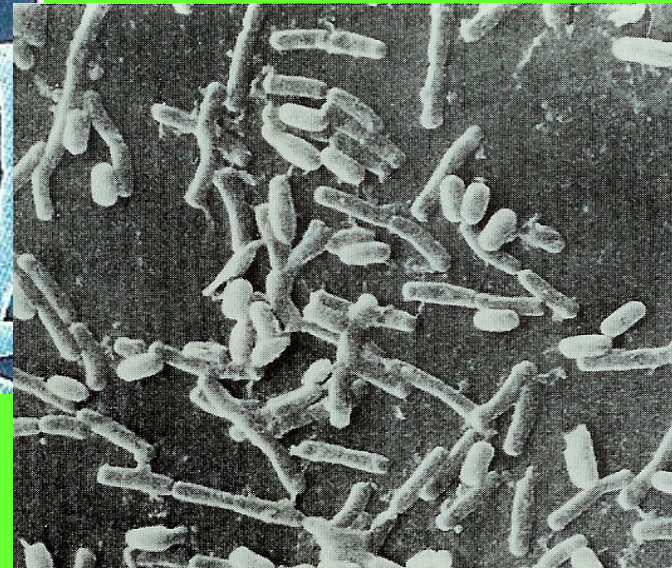
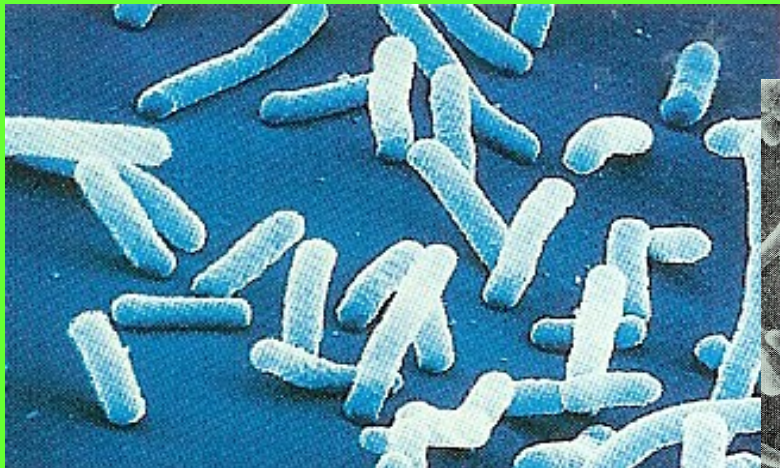


# Tyčinkovitý tvar bakteriální buňky- bacilus

- jednotlivé buňky



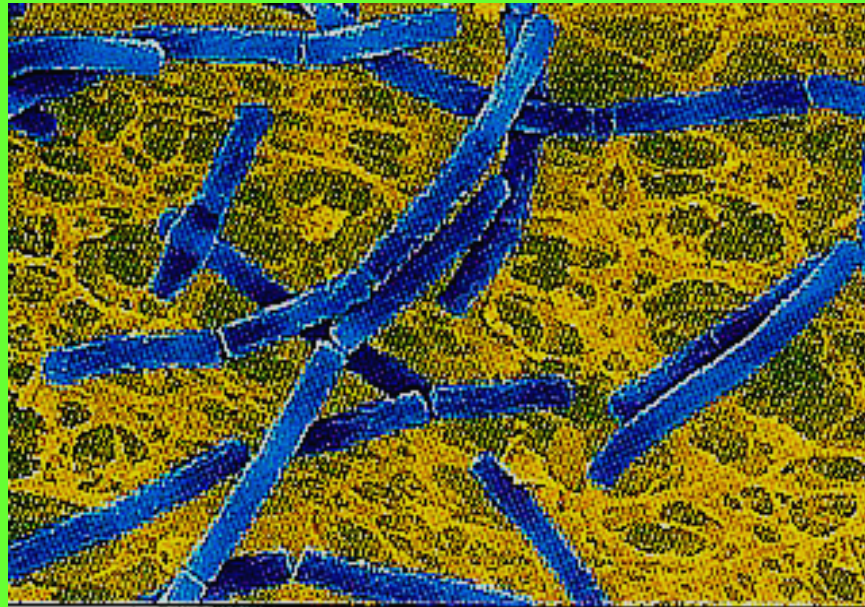
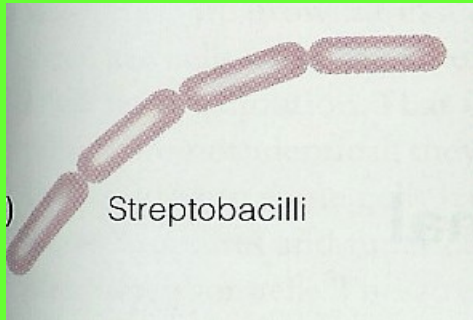
- diplobacilus





# Tyčinkovitý tvar bakteriální buňky- bacilus

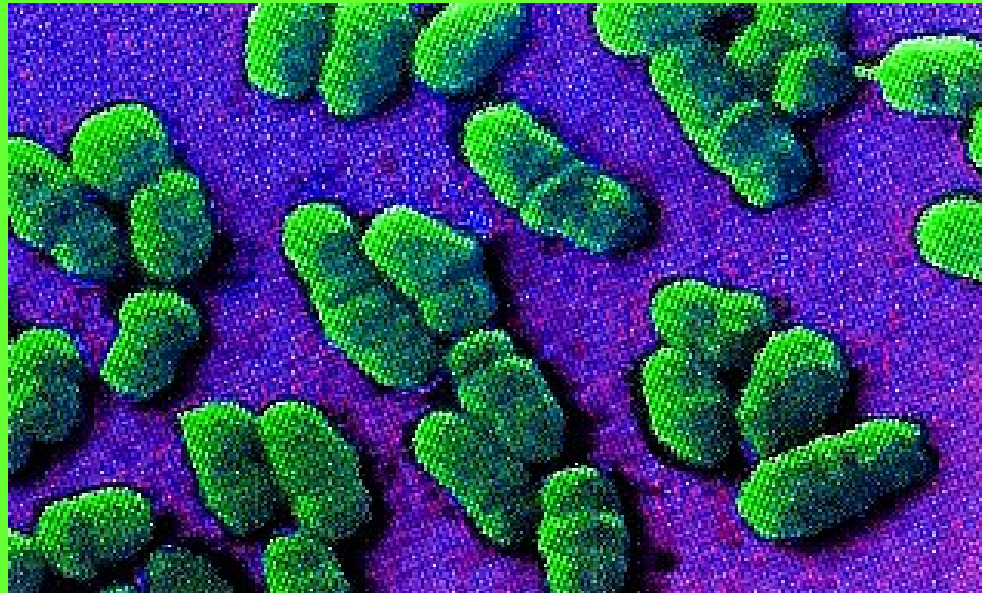
- streptobacilus





# Tyčinkovitý tvar bakteriální buňky- bacilus

- kokobacilus

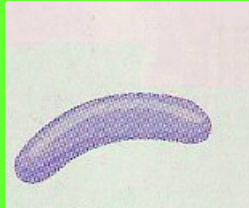


# Základní tvary bakteriální buňky

- kulovitý (kok, coccus, cocci)
- tyčinka (bakterie, bacillus)
- spirálovitý

# Spirálovitý tvar bakteriální buňky

- vibrio

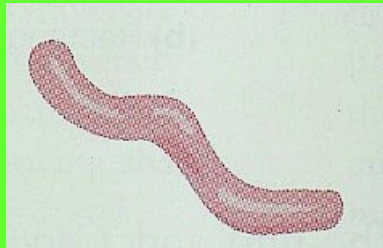


*Vibrio cholerae*



# Spirálovitý tvar bakteriální buňky

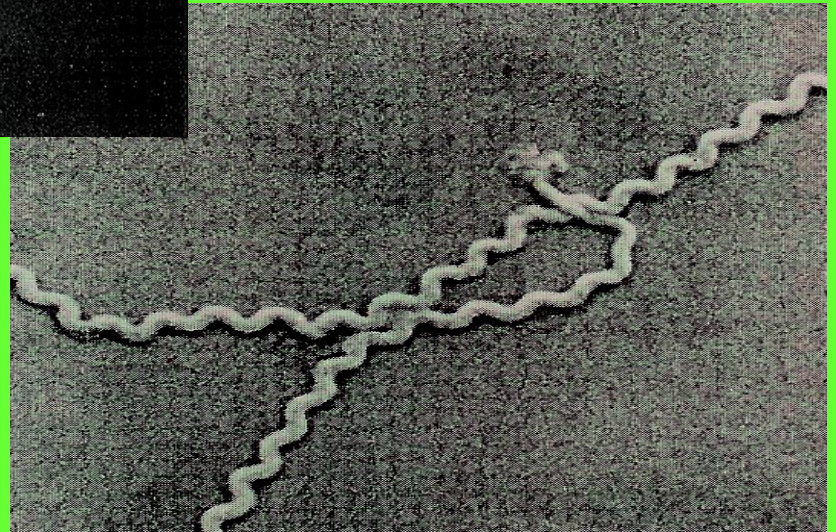
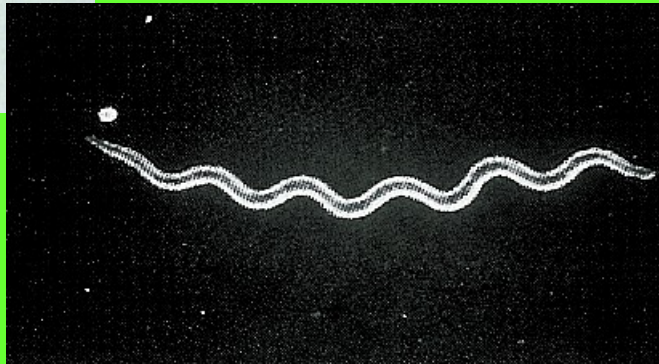
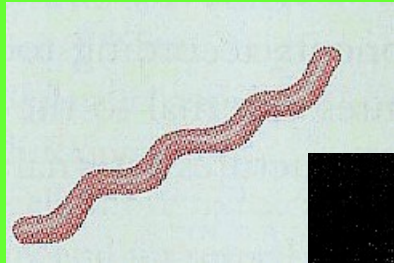
- spirillum



*Spirillum volutans*

# Spirálovitý tvar bakteriální buňky

- spirocheta



# Chemické složení bakteriální buňky

Složení popela u některých mikroorganismů

Organismus	K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	CaO	MgO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Cl	SO <sub>4</sub>	SiO <sub>2</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Popel
<i>Serratia marcescens</i>	11,5	29,0	4,1	7,8	37,9	4,9	-	0,5	-	13,5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	8,2	11,5	8,6	9,8	47,0	1,3	10,8	-	-	9,6
<i>Acetobacter aceti</i>	18,0	2,9	10,7	8,0	47,5	-	-	0,6	10,7	5,9
<i>Azotobacter chroococcum</i>	26,9	-	-	-	55,4	-	-	-	-	8,9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	57,8	0,9	6,0	2,4	26,1	3,6	8,4	-	1,2	8,8



# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce

- Malé molekuly (rel. m. h. 18-50) ~  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{3-}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  aj. jsou obvykle přijímány z prostředí jako živiny a mohou se stát součástí molekul organických látek následujících kategorií
- Meziprodukty metabolismu (rel. m. h. 50-200) ~ glycerol, glukóza, pyrohroznan, ribóza, glyceraldehyd-3-fosfát, kyselina citrónová aj.
- Stavební bloky makromolekul (rel. m. h. 100-350) ~ aminokyseliny, nukleotidy, monosacharidy, mastné kyseliny
- Makromolekuly (rel. m. h.  $10^3$ - $10^9$ ) ~ bílkoviny, nukleové kyseliny, polysacharidy, lipidy. Spojením různých makromolekul vznikají funkční celky, jichž se mohou účastnit také malé molekuly, příp. ionty
- Supramolekulární útvary (rel. m. h.  $10^6$ - $10^9$ ) ~ enzymové komplexy, ribozomy, membrány, respirační řetězec atd.

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **NK**

- **Nukleové kyseliny** tvoří asi 19 % sušiny bakteriální buňky (3 % DNA a 16 % RNA). Nukleové kyseliny přítomné v bakteriální buňce jsou tvořeny polynukleotidovými řetězci různé délky od 80 nukleotidů do asi  $4,2 \times 10^6$  nukleotidů
- nedělicích se buňky mají jen jednu molekulu chromozomální DNA, zatímco počet kopií plazmidové DNA může být i několik desítek a to i různých typů
- princip párování bází má pro buňku ještě jeden význam. Zastoupení adeninu a tyminu, stejně jako cytozinu a guaninu se musí rovnat ( $A=T$ ,  $G=C$ ). Přičemž poměr molárního obsahu purinové báze/ pyrimidové báze = 1 (vždy)
- ale **poměr molárního obsahu bází  $A+T/G+C$  v DNA u různých druhů organismů je různý** a závisí na četnosti výskytu jednotlivých bází. Vyjadřuje se obvykle v molárních procentech  $G+C = \% GC$

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **bílkoviny**

- **Bílkoviny** bakterií představují makromolekuly o značně rozdílné hmotnosti. Relativní m. h. se pohybuje v širokém rozmezí  $5-2\ 000 \times 10^3$ . Představují asi 50 % sušiny bakteriální buňky a mají zcela nezastupitelnou roli v její stavbě a činnosti. V bakteriální buňce se předpokládá existence více než 3 000 různých typů bílkovin
- funkce bílkovinné molekuly je dána specifickým uspořádáním v prostoru, tvarem molekuly, členěním povrchu, velikostí a její konformací
- na jednotlivých úrovních struktury má bílkovina určitý význam
  - ▣ primární struktura určuje charakter biologické aktivity
  - ▣ sekundární a terciální struktura zaručují specifitu, protože aktivní centrum je dostupné pouze molekulám s vhodnou strukturou
  - ▣ kvarterní struktura umožňuje vnitromolekulovou regulaci biologické aktivity



# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **bílkoviny**

- Proteiny v buňce mají řadu funkcí a mezi nejvýznamnější patří
  - **funkce stavební** (strukturální) – jsou součástí cytoplazmatické membrány, buněčné stěny, bičíků, fimbrií, S-vrstvy atd.
  - **funkce transportní** – ve své podstatě vychází ze zpětné vazby látek na molekulu bílkoviny. Transportní bílkoviny uskutečňují buď specifický transport (danou bílkovinou jsou přenášeny pouze určité látky – stereospecifita) nebo transportní bílkoviny jsou „univerzální“ – přenášejí menší či větší skupiny látek
  - **funkce signální** – plní především funkci receptorů v signalizačním systému. Receptory mohou být povrchové nebo intracelulární – proteinkinázy, proteinfosfatázy, G proteiny atd. Cílová buňka reaguje na signální molekulou **pouze** prostřednictvím receptorů
  - **funkce katalytická** – základním principem je snížení aktivační energie reakce. nemění rovnovážný stav reakce (nemění složení vznikající rovnovážné směsi), ale urychluje dosažení rovnovážného vztahu. Při katalytickém působení nevznikají vedlejší produkty

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **sacharidy**

- představují významnou konstrukční složku buněčných struktur
- obsah sacharidů v buňce je velmi variabilní a závisí nejen na druhu bakterie, ale také metabolické aktivitě, stáří populace, složení živného prostředí
- v sušině bakterií je 12-28% sacharidů

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - sacharidy

- monosacharidy jsou po chemické stránce oxidační produkty vícemocných alkoholů a představují jednoduché sacharidy, tvořené pouze jedním polyhydroxyaldehydem nebo ketonem daným podle empirického vzorce  $(\text{CH}_2\text{O})_n$

- oligosacharidy se syntetizují z 2 až 12 molekul monosacharidů spojených glykozidickou vazbou. Vznikají kondenzací dvou (disacharidy) nebo tří (trisacharidy) molekul monosacharidů

- polysacharidy jsou repetitivní polymery monosacharidů (makromolekula je tvořena pouze jedním typem monosacharidu)

- povrchové polysacharidy** obsahují především glukózamin (streptokoky, stafylokoky aj.) a kyselinu glukuronovou



# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- lipidy v bakteriální buňce mají především funkci strukturní (součást membrán) a jsou významnou zásobní látkou
- pro bakteriální buňku je charakteristické, že převládají nasycené mastné kyseliny, hydroxylované, metylované nebo obsahující cyklopropanový kruh
- **struktura přítomné mastné kyseliny** (počet uhlíků a počet a poloha dvojných vazeb) v buňce je dán druhem bakterie a vnějším prostředím
- charakter lipidu se může u dané bakterie významně měnit i v závislosti na kultivačních podmínkách

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- **tuky jednoduché**

- ▣ **Glyceridy** (acylglyceridy, acylglyceroly) jsou estery mastných kyselin a glycerolu. Podle počtu esterifikovaných hydroxylových skupin glycerolu jde o monoglyceridy (monoacylglyceroly), diglyceridy (diacylglyceroly) a triglyceridy (triacylglyceroly)

- ▣ mastné kyseliny mají dlouhé lineární řetězce lišící se počtem uhlíků a počtem a polohou nenasycených vazeb

- ▣ mono-, di- a triglyceridy se vyskytují především u rostlin a živočichů, zatímco u bakterií jsou přítomné v relativně nízkých koncentracích

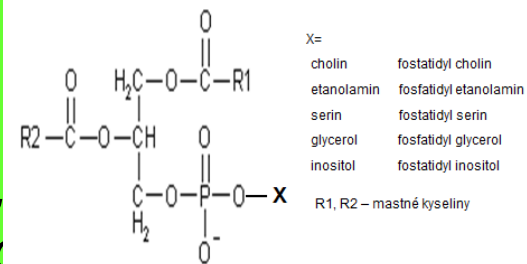
- ▣ lineární nasycené nebo nenasycené mastné kyseliny převládají u *E. coli*, zatímco nasycené větvené jsou častější u *Bacillus subtilis*

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- **tuky složené**

▣ **Fosfoglyceridy** (fosfolipidy, fosfatidy) mají jednu -OH skupinu glycerolu esterifikovanou kyselinou fosforečnou, na níž je esterově vázán polární alkohol. Dvě další hydroxylové skupiny jsou esterifikovány mastnými kyselinami

- molekula fosfolipidu je **amfipatická**
- fosfolipidy mohou být uspořádané jednak do klasické membrány a nebo (v případě menšího množství fosfolipidů) je membrána stočena do kruhu
- největší množství fosfolipidů se vyskytuje u G<sup>-</sup> bakterií a zejména pak u enterobakterií
- **kardiolipin** (difosfatidyl glycerol) u *Haemophilus influenzae*
- **plasmalogeny** – uhlovodíkový řetězec je v poloze 1 připojen ke glycerolu éterickou vazbou (vazba je hydrolyzována fosfolipázou). pouze u striktně anaerobních bakterií rodů *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Ruminococcus*, *Treponema* a *Veilonella*



# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

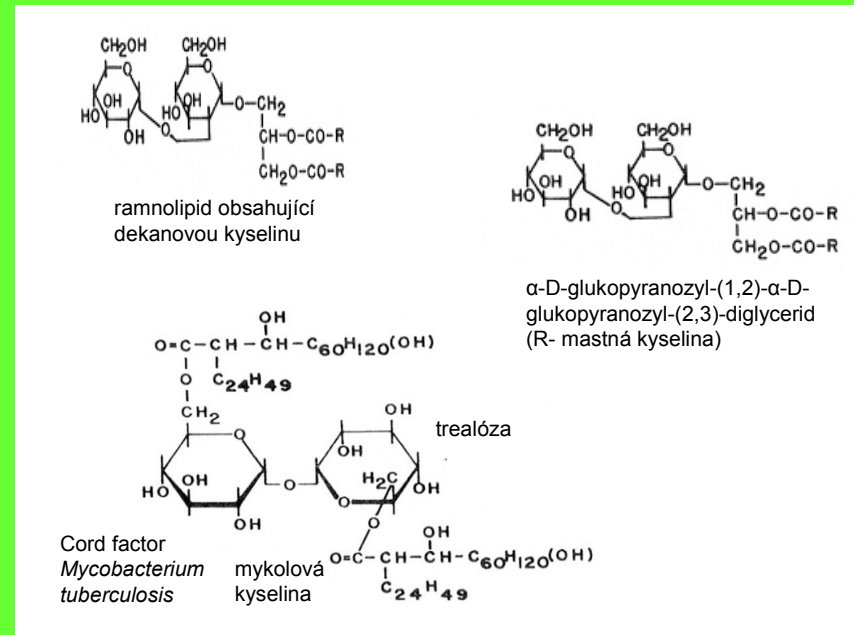
- **tuky složené**

- ▣ **Glykolipidy** (glykosyldiglyceridy) se vyskytují především u G<sup>+</sup> bakterií

- cukernou složkou může být glukóza, galaktóza nebo manóza
- předpokládá se, že glykolipidy nahrazují sterol ve struktuře nebo v některých funkcích membrány

- **ramnolipid** *Pseudomonas aeruginosa*

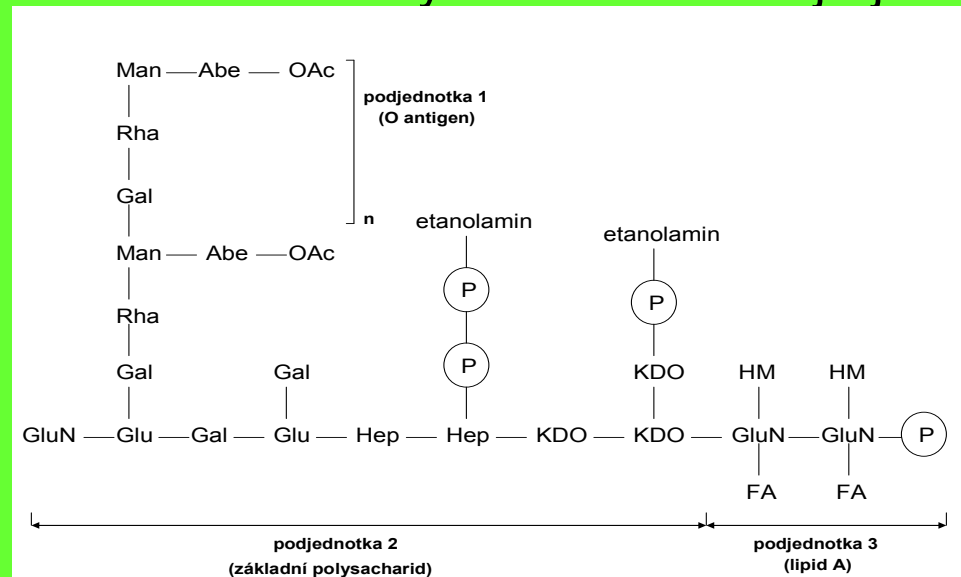
- **cord factor** - v buněčné stěně *Mycobacterium tuberculosis* je spojován s virulencí kmenů





# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- **tuky složené**
- **lipopolysacharidy** komplexní molekuly, které se podílejí na struktuře vnější membrány G<sup>-</sup> bakterií, jejichž složení je druhově závislé
- molekula je složena ze tří komponent – **lipid A**, **základní polysacharid**, **specifický polysacharid**
- **lipid A** je „obecný“ tzn., že je stejný pro všechny druhy. V molekule lipopolysacharidu představuje hydrofobní část. Někdy se také označuje jako **endotoxin**
- do prostředí se dostává endotoxin pouze lyzí buňky

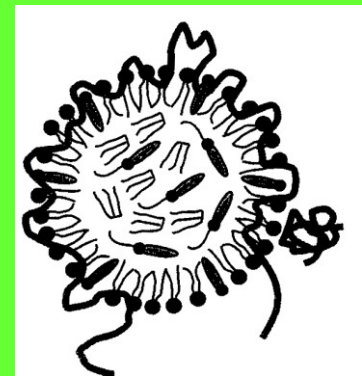


# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- **tuky složené**

- ▣ **Lipoproteiny** mají specifickou strukturu, která je více méně dána mírou rozpustnosti tuků ve vodě

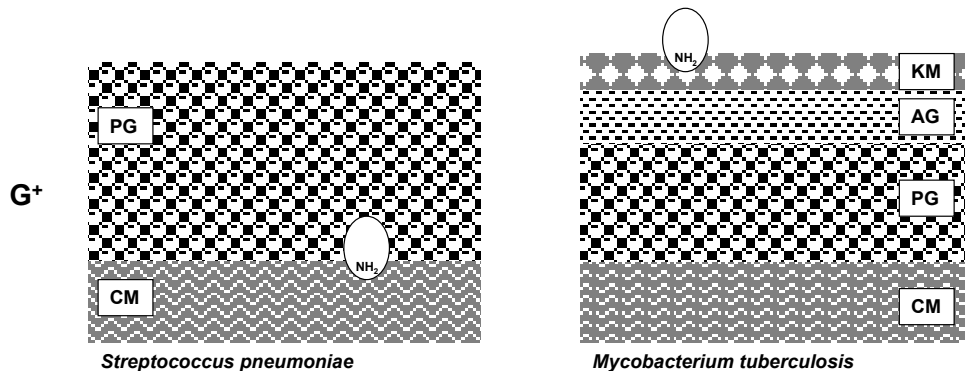
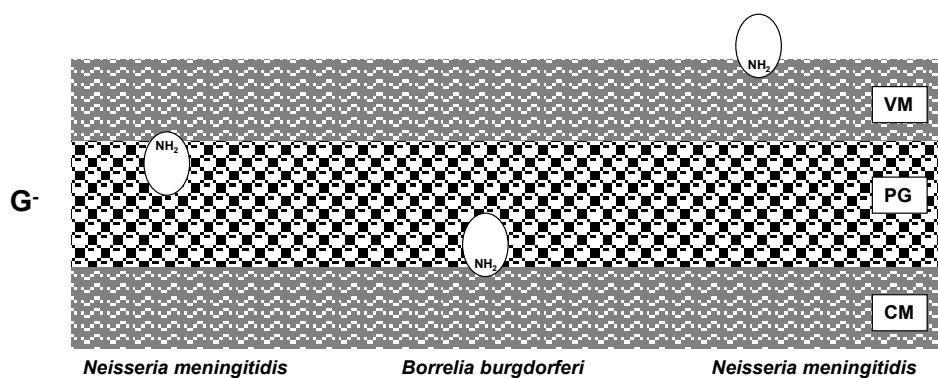
- Obvykle vytváří sférickou strukturu. Střed struktury (jádro částice) obsahuje nepolární triacylglyceroly a esterifikovaný cholesterol. Obal částice je tvořený monomolekulární vrstvou fosfolipidů (amfipatických) se zanořenými bílkovinami
- Složení lipoproteinů není konstantní, ale v průběhu času se může měnit
- U bakteriálních buněk jsou lipoproteiny součástí membrány s mnoha různými funkcemi –  
fyziologie buňky až po její virulenci



# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **lipidy**

- tuky složené

- ◉ Lipoproteiny a jejich lokalizace v bakteriální buňce



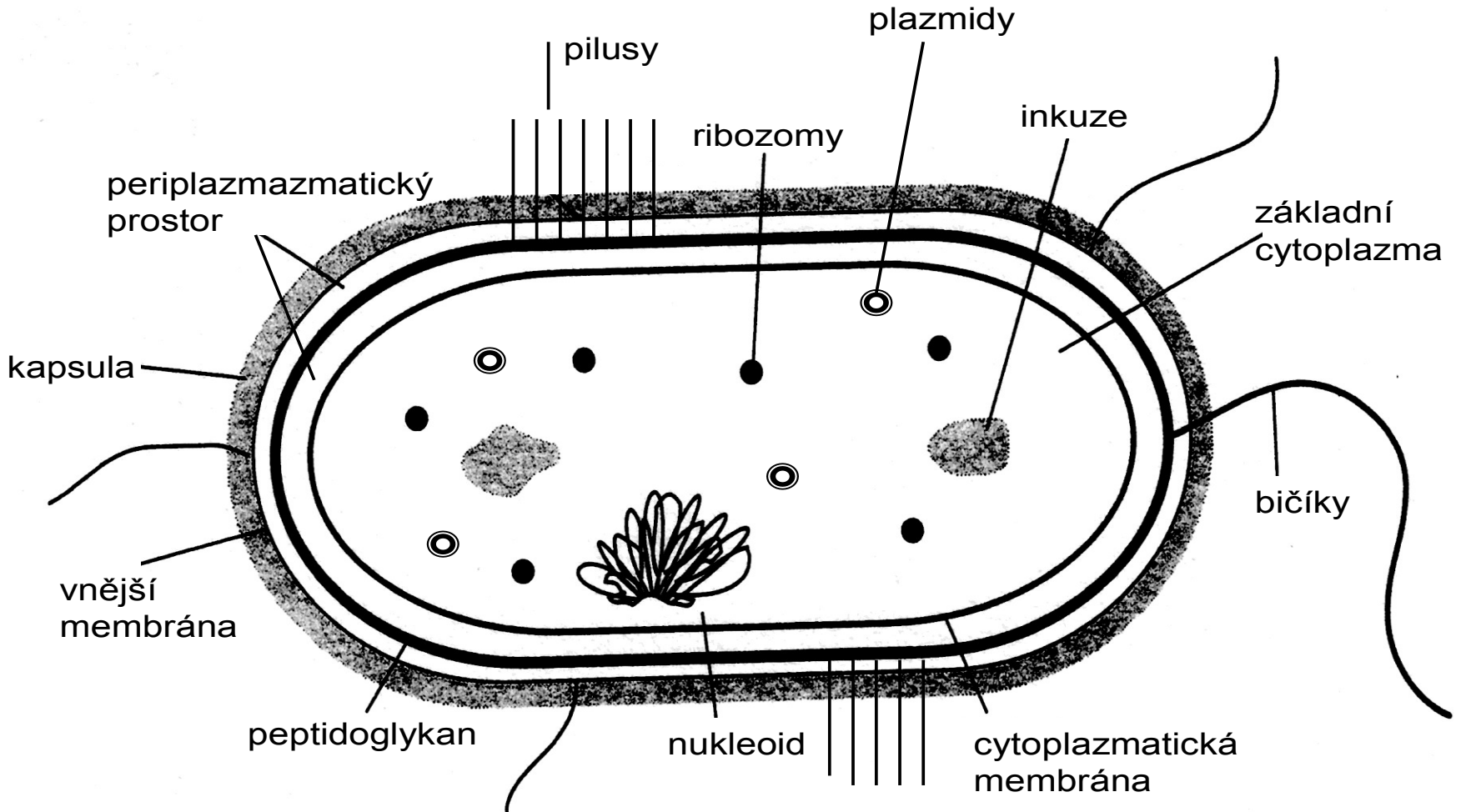
CM – cytoplazmatická membrána  
PG – peptidoglykan  
VM – vnější membrána  
AG – arabinogalaktan  
KM – vrstva kyseliny mykolové

# Základní molekuly nacházející se v bakteriální buňce - **pigmenty**

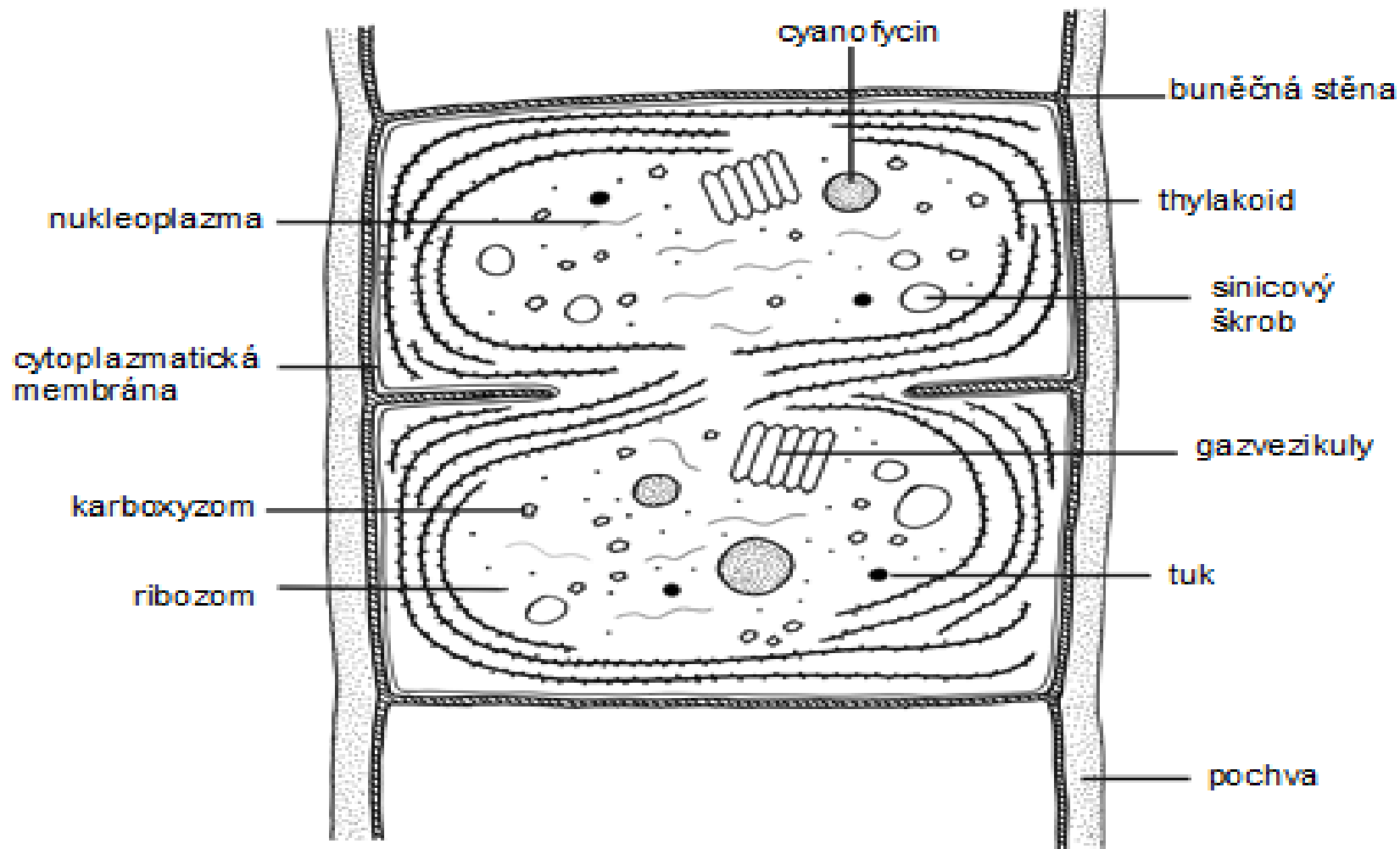
- Pigmenty jsou chromogenní látky, které jsou syntetizovány některými bakteriemi a aktinomycetami obvykle jako produkty sekundárního metabolismu. Výjimku představují pigmenty, které jsou nutné pro metabolismus
- po syntéze se mohou buď hromadit v buňce - **endopigmenty** nebo jsou sekretovány do vnějšího prostředí – **exopigmenty**
- syntéza je však významně ovlivňována zejména vnějším prostředím – složením média, teplotou, pH, světlem, teplotou atd.
- **role pigmentů** v bakteriální buňce - jasná je pouze funkce jako místo pro vazbu světelného kvanta – při fototrofii (chlorofyly, karotenoidy), jako přenašeče vodíku (pyocyanin, ftiochol), antimikrobiální efekt (fenaziny, naftochinony) nebo mají protektivní účinek proti některým faktorům vnějšího prostředí
- chemická struktura nejčastěji se vyskytují látky odvozené od pyrolu, indolu karotenu, fenazinu,, naftochinonu, méně často antokyany nebo melaniny
- syntéza většiny pigmentů je řízena systémem **quorum sensing**



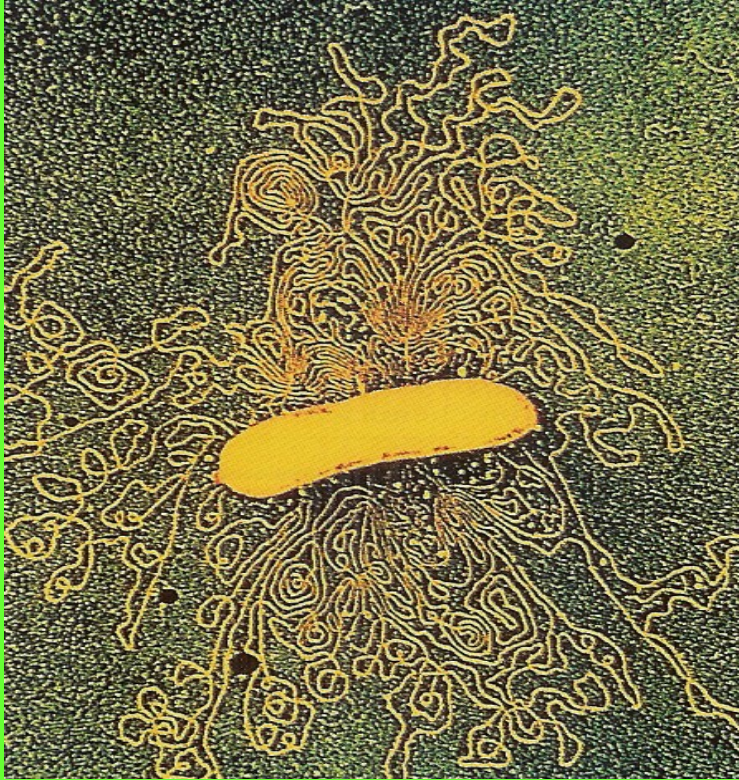
# Základní struktury bakteriální buňky



# Základní struktury bakteriální buňky cyanobakterie



# Nukleoid



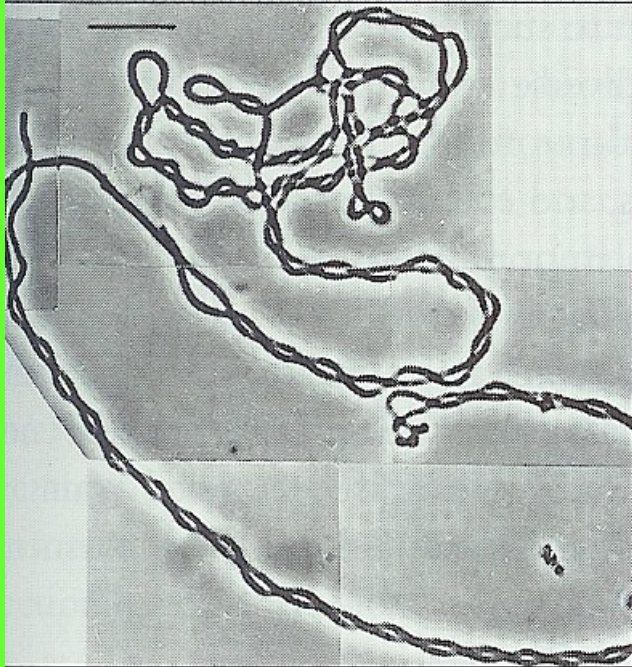
- Cirkulární dvouřetězcová helikální DNA
- Není od základní cytoplazmy oddělena membránou
- Neobsahuje histony (na molekulu DNA jsou vázány asi 4 druhy proteinů)
- Vytváří kompaktní komplex tvořený obvykle více než 50 smyčkami (*E. coli*)
- Tvoří s molekulami RNA a proteiny komplex vyššího řádu

# Nukleoid

- nukleoid bakterií představuje kompaktní útvar, protože vedle DNA obsahuje řadu kopií malých multifunkčních proteinů (**HU** protein - významný při replikaci chromozomu a podílí se také na regulaci exprese genu; **H-NS** protein hraje hlavní roli při „zahušťování“ DNA při vytváření kompaktního nukleoidu
- tvar nukleoidu u většiny bakterií je sférický až protáhlý. Výjimku představuje *Deinococcus radiodurans*, jehož nukleoid je **toroidní**.
- prokaryotická buňka obsahuje jednu kopii chromozomu. Více kopií je při překryvné replikaci
- *Azotobacter vinelandii* nebo *Deinococcus radiodurans* mající v buňce pravidelně více než jednu kopii (od „několika po mnoho“)
- *Vibrio cholerae* má v buňce „dva typy“ chromozomů – chromozom I, který je větší než druhý



# Nukleoid



DNA z *Bacillus subtilis*

- molekulová hmotnost DNA je  $10^9$ - $10^{10}$
  - typická bakterie obsahuje  $4 \times 10^6$  párů bází
  - velikost chromozomu, počet bází v řetězci, se se liší u jednotlivých druhů
  - nejmenší chromozom *Buchnera* (endosymbiont mšice) – cca  $640 \times 10^3$  nukleotidů a dosud největší známý u *Mycobacterium tuberculosis* cca  $4,4 \times 10^6$  nukleotidů
  - rychle rostoucí bakterie mohou obsahovat 2 – 8 kopií chromozomové DNA
  - chromozom *E.coli* je tvořen 4639221 párů bází a kóduje 4397 genů. Z toho je 108 genů pro RNA a 4289 pro proteiny. Z nich je 952 enzymů (703 zmapovaných)
- nejmenší dosud zjištěný genom prokaryot je u *Nanoarchaeum equitans* (kmen *Nanoarchaeota*, doména *Archaeae*) obsahující pouze 490 885 nukleotidů.

# Základní cytoplazma (cytosol)

- vyplňuje celý vnitřní prostor
- cytoplasma je kapalina, založenou na vodní bázi, obsahující nukleoid, ribozomy, inkluze, molekuly živin, metabolity, intermediální produkty metabolismu, aminokyseliny, vitaminy, nukleové kyseliny (DNA – chromozomální i extrachromozomální, RNA – všechny typy), bílkoviny, zásobní látky, soli organických i anorganických kyselin **Je hodně viskózní** a podobá se spíše gelu, kde probíhají všechny reakce nutné pro život buňky (od vyhledávání odpovídajících molekul až po uskutečnění vlastní reakce)
- obsahuje více než **50% všech bílkovin buňky**, z nichž většina má enzymatickou funkci
- mimo těchto „běžných“ látek mohou být u některých druhů bakterií přítomné specifické látky (inkluze). Příkladem mohou být parasporální inkluze u *Bacillus thuringiensis* („zbytky“ po tvorbě spóry, první bioinsekticid) nebo magnetozomy u *Magnetospirillum* či R tělíska (bílkoviny) přítomná u některých druhů *Pseudomonas* a *Caedibacter* s negativním vlivem na určité druhy prvoků

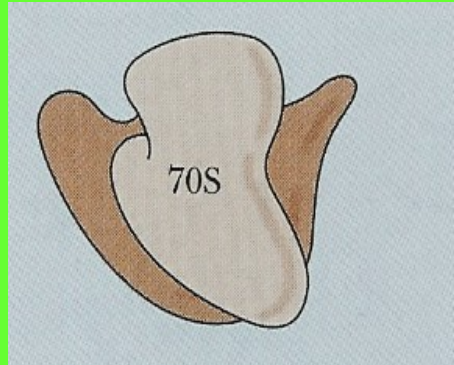
# Základní cytoplazma (cytosol)

- protože bakteriální buňka nemá specifické orgány, přebírá cytoplazma řadu jejich funkcí
- třebaže nemá viditelnou strukturu, je velice nepravděpodobné, že by byla bez jakékoliv organizace i vzhledem k tomu, že se v ní odehrává většina reakcí metabolismu
- především jde o uskutečnění efektivní kolize mezi molekulou substrátu a enzymem
- v nejjednodušším případě musí cytoplazma proudit, aby ke kolizi vůbec došlo. A proudění musí být „nějakým“ způsobem regulováno
- organizaci těchto funkcí by ve zjednodušené podobě mohl zastávat cytoskelet, třeba i v nějaké primitivní podobě

# Ribozom

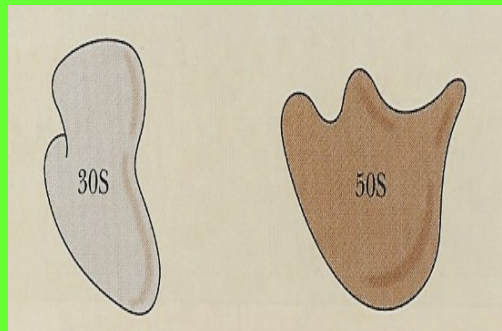
## Ribozóm

( $2,52 \times 10^6$  D)



## Podjednotky

( $0,93 \times 10^6$  D)



( $1,59 \times 10^6$  D)

## RNA

16S RNA  
(1542 nukleotidů)  
(rotační elipsoid)

23S RNA  
(2904 nukleotidů)

## Bílkoviny

21 bílkovin  
(S1 – S21)

34 bílkovin  
(L1 – L34)

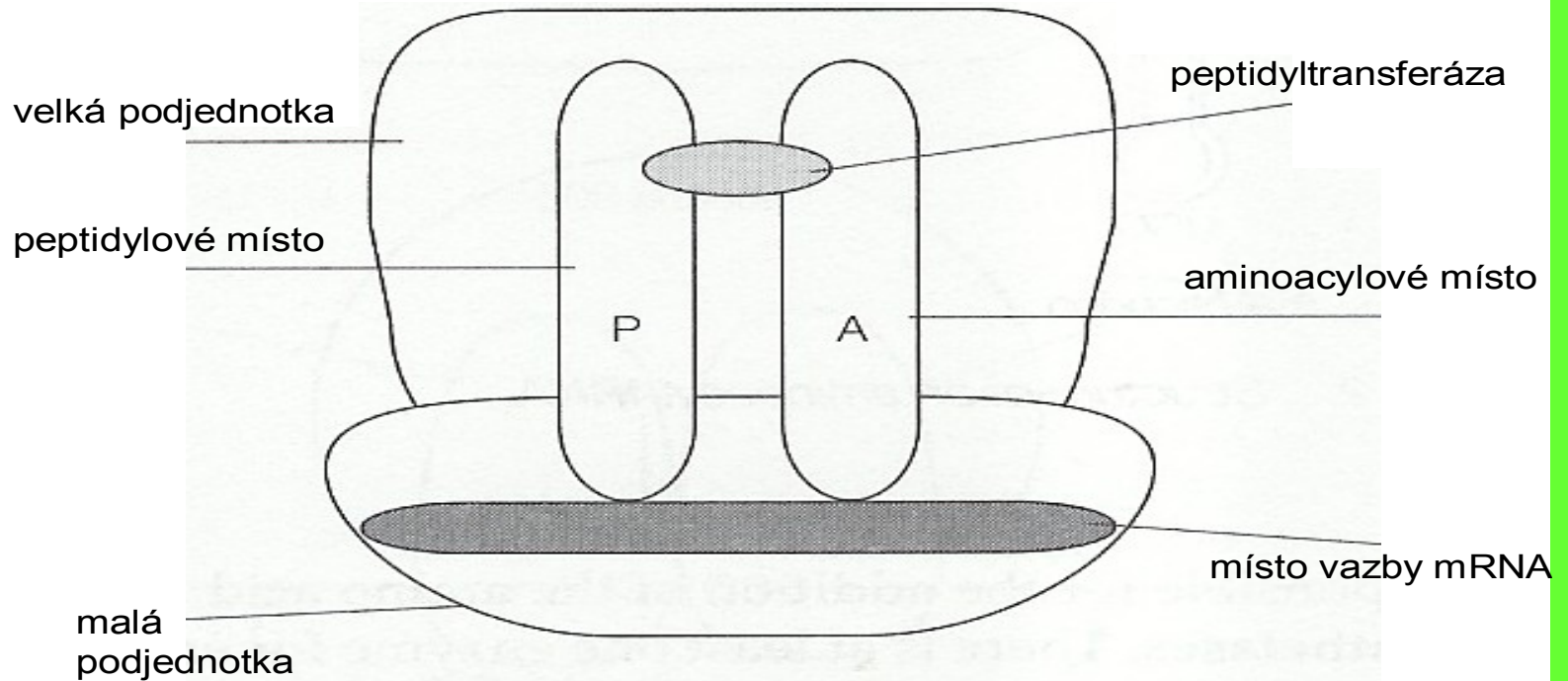


# Ribozom

- molekuly ribozomální RNA jsou jednořetězcové a mají odlišný obsah GC
- většina bílkovin ribozomu je strukturně odlišná
- každá bílkovina se vyskytuje jen v jedné kopii, s výjimkou L7/L12, které se vyskytují ve dvou kopiích
- vazba mezi RNA a bílkovinami je uskutečněna prostřednictvím iontových a vodíkových vazeb

# Ribozom

## funkční místa bakteriálního chromozomu



# Ribozom

- proteiny ribozomu mají specifické funkce, specifická vazebná místa např.

A místo – proteiny L1, L5, L7, L12, L30, L33

P místo – proteiny L7, L12, L14, L18, L24, L33

vazba mRNA – S1

vazba fMet-tRNA – S2, S3, S10, S14, S19, S21

rozpoznávání kodonu – S3, S4, S5, S11, S12

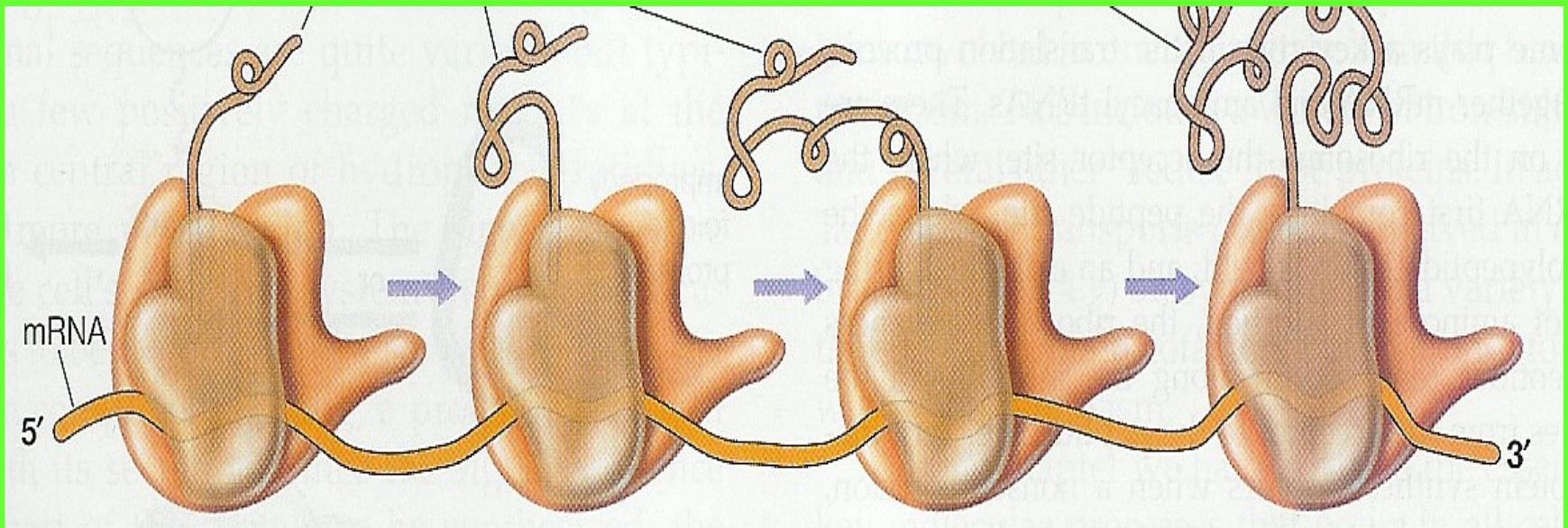
vazba aminoacyl-tRNA – S9, S11, S18

# Ribozom

- Je supramolekulový komplex, který se rychle vytváří (bez dodání energie) a rychle disociují (bez tvorby energie)
- Pro vytvoření ribozomu z podjednotek a mRNA je nutná přítomnost **Mg<sup>2+</sup>**
- Počet ribozomů je závislý na fyziologické aktivitě. V průměrně rychle rostoucí buňce je jich asi 15 000 (někdy až 30 000)
- Ribozom je “tělísko“ o objemu asi 6 000nm<sup>3</sup> a hmotnosti asi 4,4x10<sup>-18</sup>g
- Distribuce ribozomů v buňce je závislá na její potřebě. Ribozomy jsou umístěné buď volně v základní cytoplazmě (asi 20%), blízkosti nukleoidu (cca 60% ; protein se syntetizuje podle mRNA bezprostředně po opuštění nukleoidu) nebo volně vázané na cytoplazmatickou membránu (syntetizování bílkovin cytoplazmatické membrány, vnější membrány, buněčné stěny nebo extracelulární bílkoviny)
- Rychlost činnosti ribozomu není regulována, je téměř konstantní a činí asi 15 aminokyselin za sekundu
- U *E.coli* s  $\tau = 28$  minut je při translaci rychlost asi 170 000 aminokyselin za sekundu na genom, tj. 500 000 aminokyselin za sekundu na buňku. Větší rychlosti proteosyntézy se dosahuje větším počtem ribozomů.

# Polyribozom

syntetizovaný peptidický řetězec

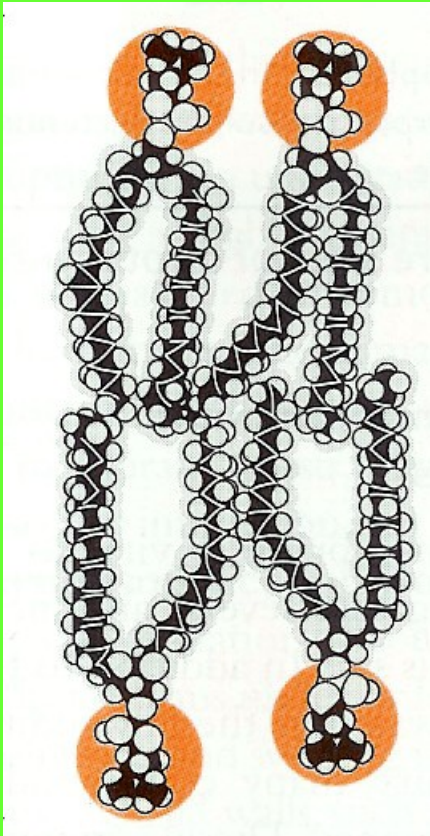


System pracuje tak, že jakmile se posune ribozom tak, že uvolní vazebné místo, na které se naváže další ribozom. Vzdálenost mezi ribozomy je asi 80 bází. Vazba dalších ribozomů a syntéza proteinů pokračuje tak dlouho, pokud nedojde k hydrolýze mRNA. K tomu může dojít po několika minutách nebo ve výjimečných případech hodinách.





# Cytoplazmatická membrána



- Odděluje základní cytoplazmu od vnějšího prostředí
- Její stavba odpovídá struktuře biologické membrány (u prokaryot je **jediná**)
- CM tvoří 10 až 26% suché hmotnosti bakterie a je tlustá asi 8 nm.
- Jejím základem je tekuté kontinuum dvojvrstvy fosfolipidů se zanořenými bílkoviny
- Bílkoviny jsou zanořené z vnitřní nebo vnější strany nebo jí procházejí a představují 10-20% všech bílkovin buňky
- Zanořené bílkoviny mají funkci strukturální nebo enzymatickou
- Bílkoviny a lipidy CM nejsou lokalizovány staticky, ale "pohybují se"
- Cytoplazmatická membrána je asymetrická
- Charakteristickým rysem je **nepřítomnost cholesterolu**
- Poměr mezi nasycenými a nenasycenými mastnými kyselinami se liší v závislosti na teplotě kultivace

# Cytoplazmatická membrána

- Vazba proteinů na fosfolipidovou dvojvrstvu
  - bílkoviny procházejí vrstvou a na každé straně „vyčnívá“ – transmembránové proteiny. Ty mají hydrofilní oblast směřující do vodného prostředí na obou stranách membrány a hydrofobní se nacházejí v nepolární části membrány a interagují s nepolárními řetězci fosfolipidů
  - bílkoviny vázané na vnějším povrchu jsou připojené C-koncovou aminokyselinou jednou nebo několika kovalentními vazbami k lipidovým skupinám (glykolipidová kotva)
  - periferní proteiny se váží zprostředkovaně na obou stranách membrány interakcí s jinými membránovými proteiny

# Cytoplazmatická membrána

- Funkce cytoplazmatické membrány
  - \* je místem transformace energie (je na ní lokalizován respirační řetězec, aparát fotosyntézy, ATPáza,...)
  - \* je místem replikace bakteriální DNA chromozomální i extrachromozomální
  - \* je místem syntézy i hydrolýzy lipidů
  - \* odehrávají se na ní poslední fáze syntézy buněčné stěny, nebo se na ní syntetizují její některé složky
  - \* je semipermeabilní a zodpovědná za pasivní i aktivní transport látek do buňky a z buňky. Pro polární složky je nepropustná
  - \* je v ní zakotven bičík
  - \* **CM nemůže být “vyrobena“ de novo**
  - \* pro zvětšení aktivní plochy jsou velice časté invaginace

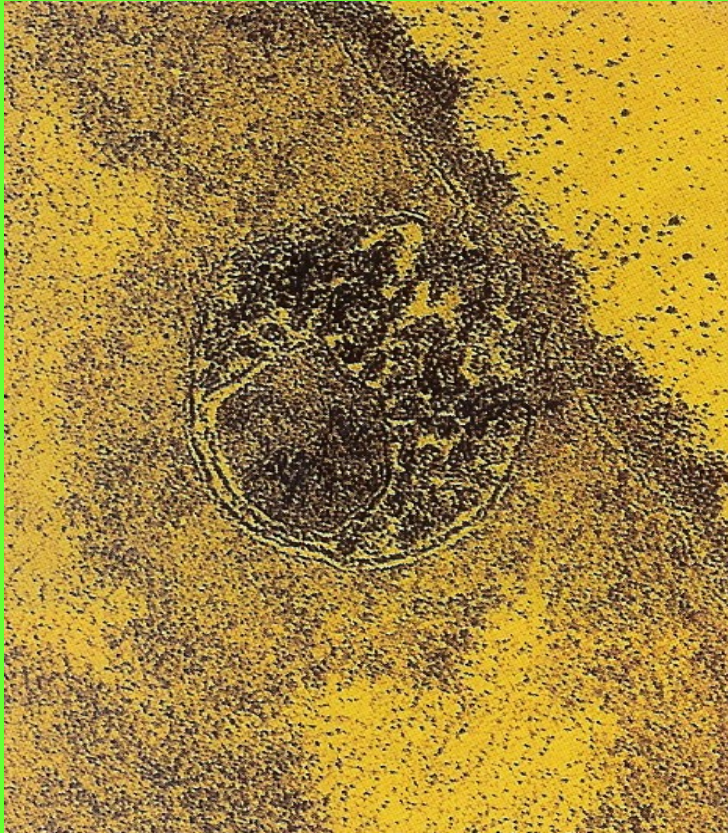


# Cytoplazmatická membrána

- invaginace CM

  - \* **Mesozom**

  - \*\* Má tvar měchýřku, je rozdělený do trubičkových útvarů nebo váčků
  - \*\* Je jich 2 a více, v závislosti na metabolické aktivitě
  - \*\* Je zodpovědný za replikaci bakteriálního chromozomu a dělení buňky
  - \*\* Je obvykle v kontaktu s nukleotidem
  - \*\* Chemolitotrofní bakterie mají vedle mesozomů další invaginace, umožňující oxidaci anorganických látek



**Mesozom *B.subtilis***



# Cytoplazmatická membrána

- invaginace CM

- \* **Chromatofory**

- \*\* Mají tvar měchýřku  
rozděleného na segmenty
    - \*\* Obsahují pigmenty  
zodpovědné za vazbu  
světelného kvanta  
(bakteriochlorofyl, karotenoidy)
    - \*\* Jsou místem syntézy ATP u  
fototrofních bakterií



**Chromatofory *Rhodospirillum rubrum***

# Cytoplazmatická membrána

- invaginace CM

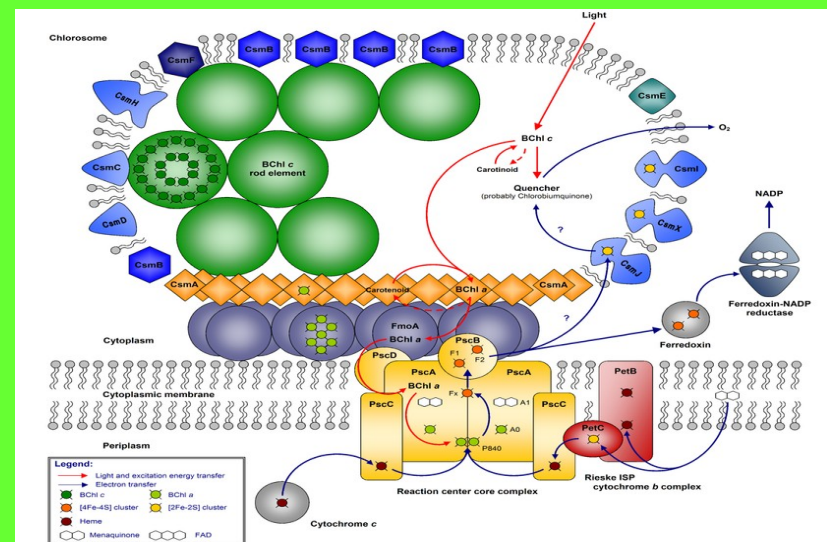
  - \* Chlorozom

  - \*\* se vyskytuje u zelených sírných bakterií a zástupců čeledě *Chloroflexaceae*

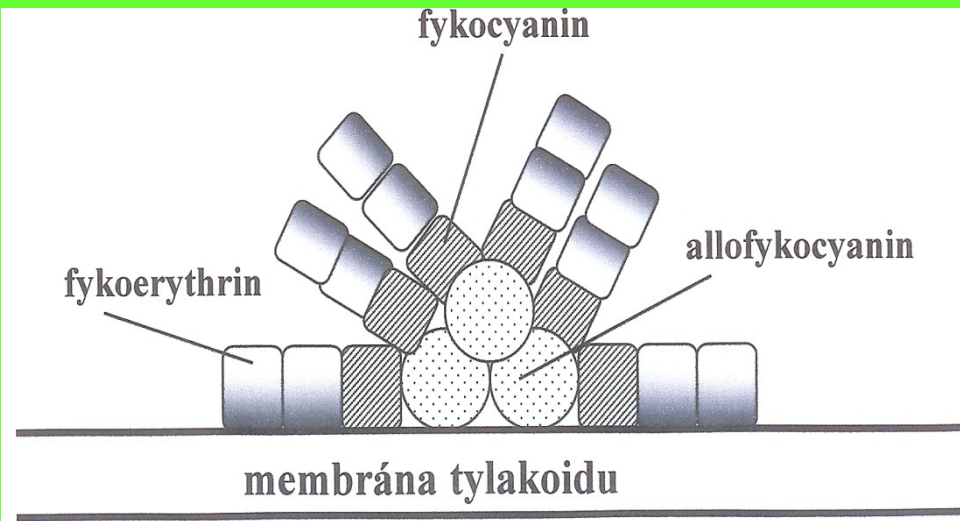
  - \*\* jde o fotosyntetický anténní komplex obsahující bakteriochlorofyly, karotenoidy, chinony a lipidy

  - \*\* unikátní anténní systém vytvářený bez proteinů a představující nejefektivnější systém získávání energie v přírodě

  - \*\* Struktura každého chlorozomu je jedinečná



# Cytoplazmatická membrána



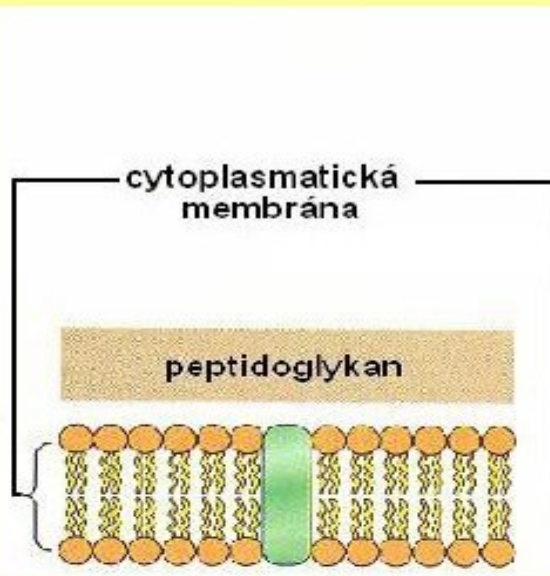
- invaginace CM
- **tylakoidy**
- pravděpodobně vznikly odškrcením z cytoplazmatické membrány
- mají lamelovitou strukturu
- obsahují pigmenty pro fototrofii - **chlorofyl a**,  $\alpha$ -,  $\beta$ - karoten a xantofyly (echinenon, myxoxantofyl, zeaxantin)
- na povrchu tylakoidálního váčku se nachází tzv. **fykobilizony**

\* Fykobilizony obsahují specifická barviva – fykobiliny (obvykle jsou tři : dva modré (c-fykocyanin a allofykocyanin) a jeden červený (c-fykoerytrin)

\* Jsou zodpovědně za chromatickou adaptaci

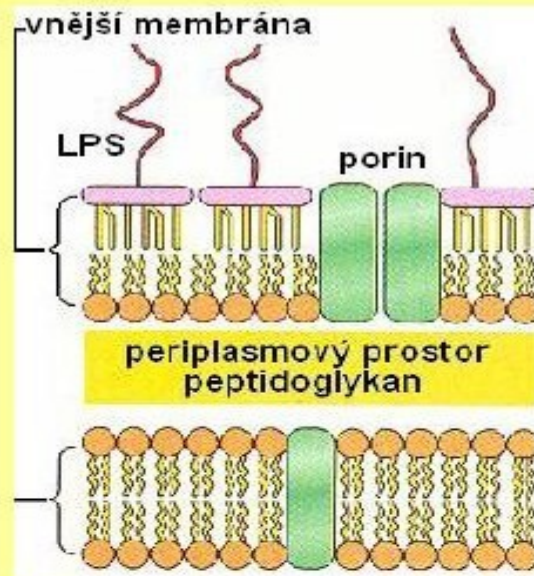


# Buněčná stěna



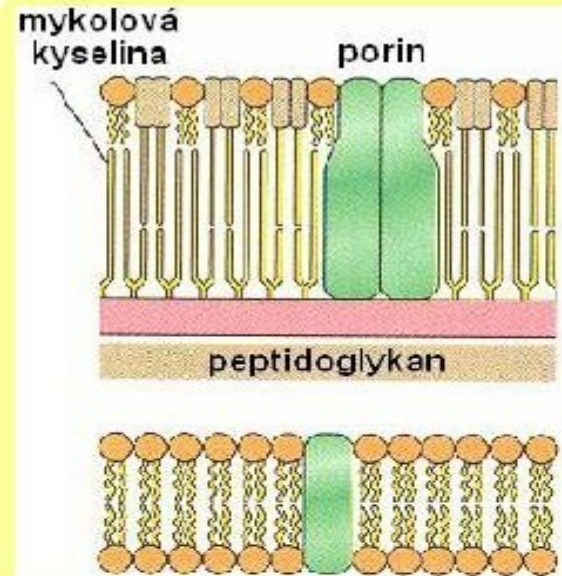
Buněčná stěna je poměrně silná, obsahuje kromě **peptidoglykanu** **proteiny**, **polysacharidy** a **kyselinu teichoovou**.

**G+ bakterie**



Vrstva peptidoglykanu (PG) je tenčí. Nad ní je **vnější membrána** (VM) – fosfolipidová dvojrivrsta - spojená s PG molekulami lipoproteinu. Mezi PG a VM je periplasmový prostor. Zevní strana VM obsahuje **lipopolysacharid** (LPS). LPS se skládá z toxického lipidu A (endotoxin), základního polysacharidu a specifického polysacharidu, který vyčnívá z buňky (**O antigen**).

**G- bakterie**

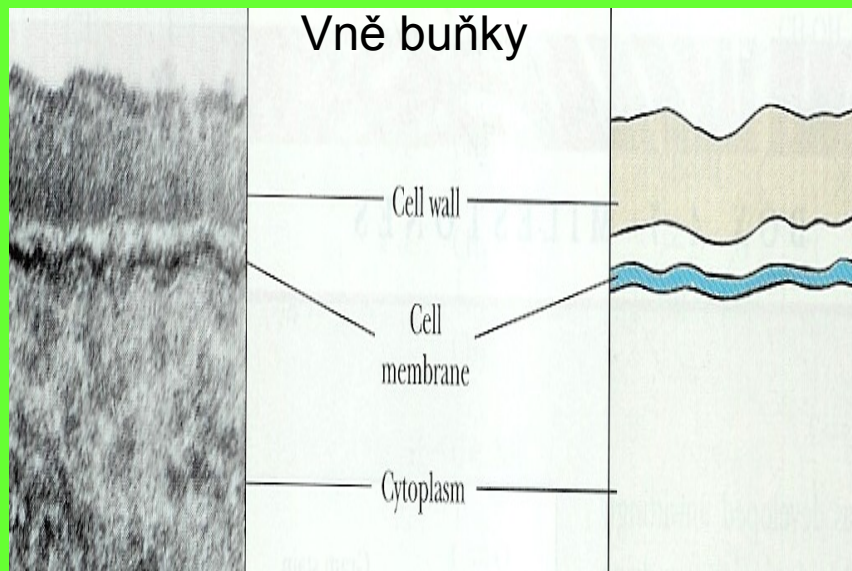


Odlíšné složení buněčné stěny  
U kyseliny muramové v PG je místo N-acetylu **N-glykol**  
Ve stěně je velké množství volných i vázaných lipidových komponent obsahujících **mykolové kyseliny**.  
Povrch je **hydrofobní**, chrání proti vyschnutí, detergentům, kyselinám a alkoholu - **acidorezistence**.  
Nebarví se Gramovým barvením.

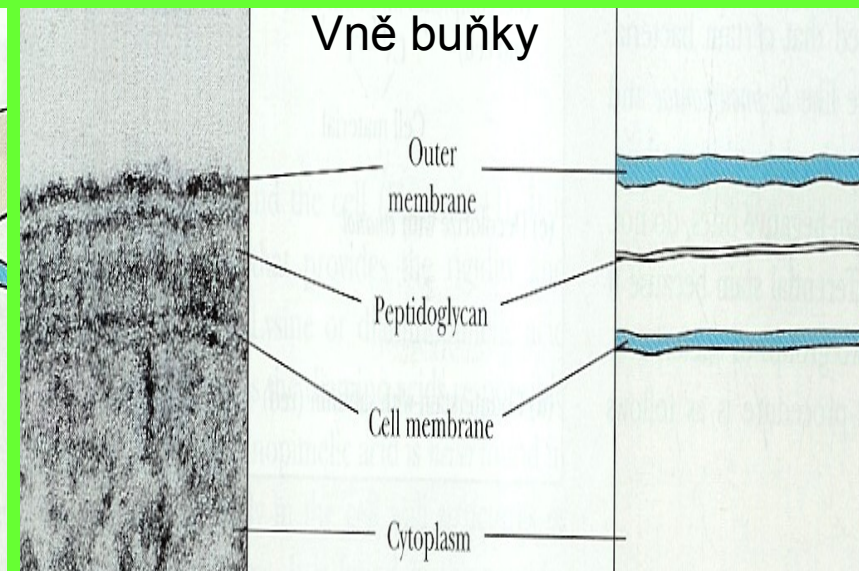
**mykobakterie**

# Buněčná stěna

Gram pozitivní bakterie

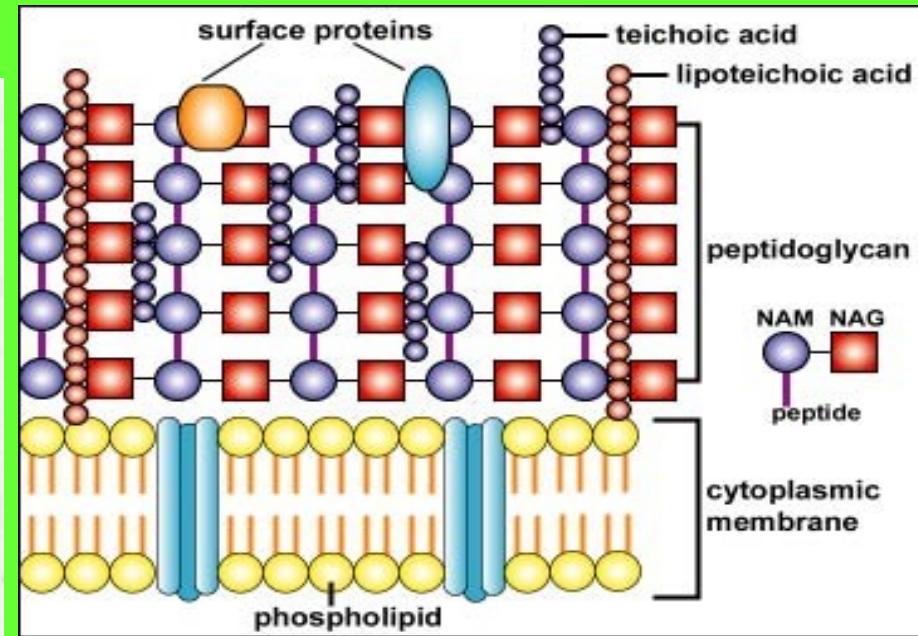
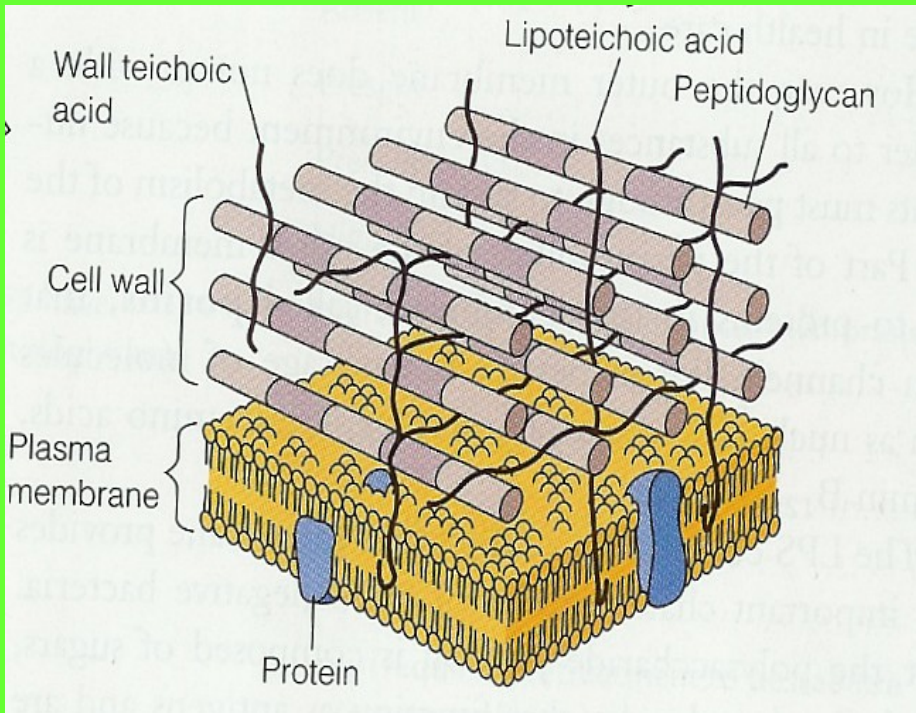


Gram negativní bakterie





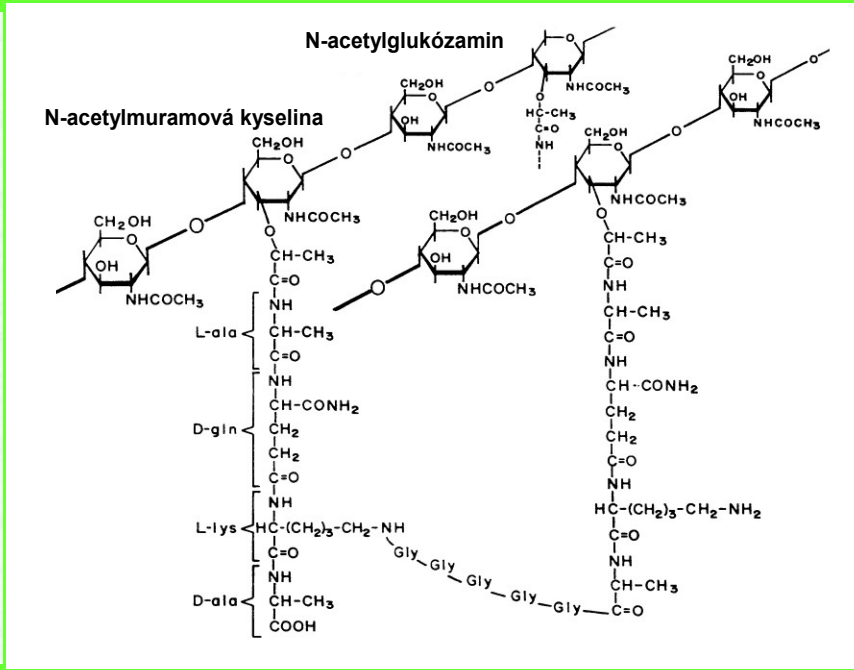
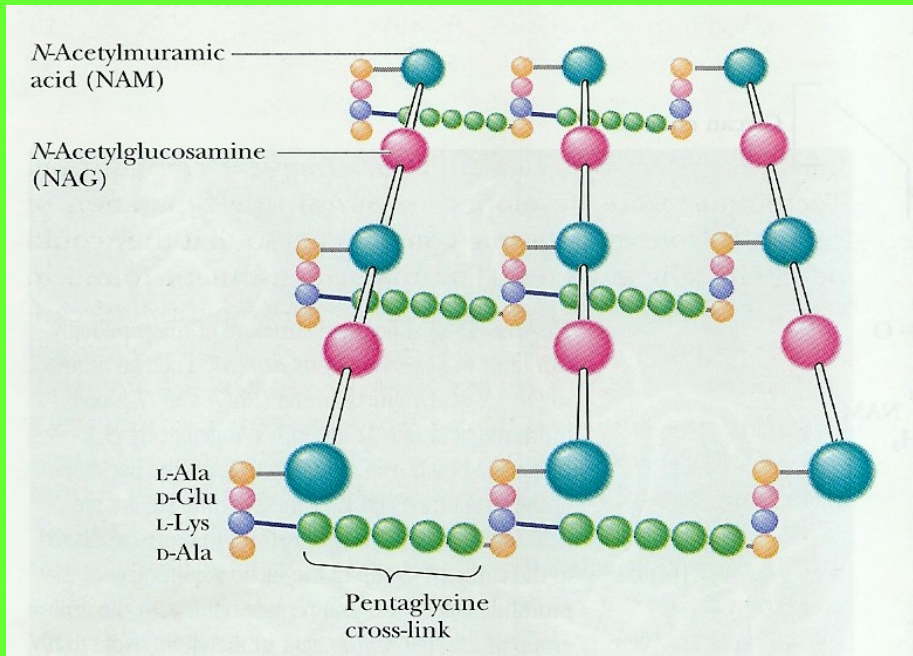
# Buněčná stěna G+ bakterií



- Složení buněčné stěny
  - \* peptidoglykan
  - \* teichoové kyseliny

# Buněčná stěna G+ bakterií

## Struktura peptidoglykanu (*Staphylococcus aureus*)



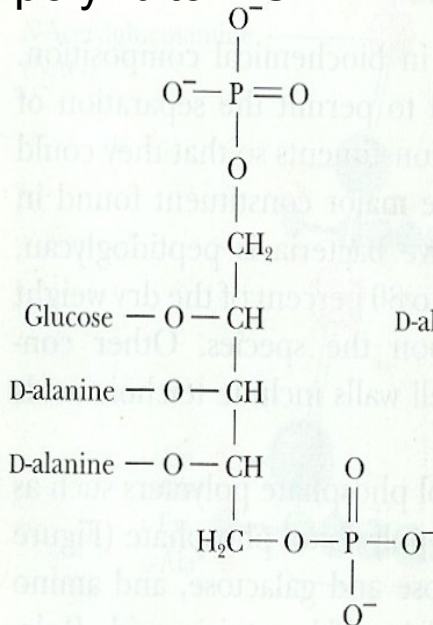
D-glutamin v poloze 2 (tetrapeptidu) může být nahrazen D-glutamovou kyselinou nebo mohou v poloze 3 lyzin nahradit kyselinou diaminopimelovou, ornitinem či kyselinou glutamovou. Chemické složení tetrapeptidu není významně ovlivňováno složením prostředí, takže je možné analýzu chemické struktury zařadit jako jednu metodu chemotaxonomie. Tato variabilita dává možnost vzniku více než 100 variant peptidoglykanu v buněčné stěně

# Buněčná stěna G+ bakterií

## Teichoové kyseliny (TC)

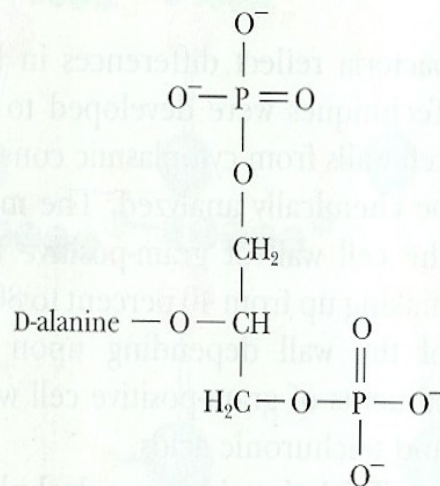
- \* lineární polymery ribitolfosfátu nebo glycerofosfátu
- \* představují 15-40% hmotnosti stěny
- \* je jejich chemická struktura rodově nebo druhově specifická

polyribitol TC



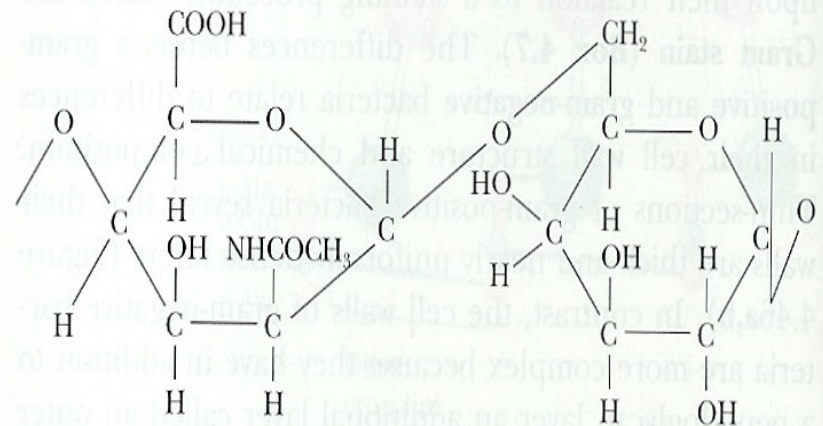
*Bacillus subtilis*

polyglycerol TC



*Lactobacillus sp*

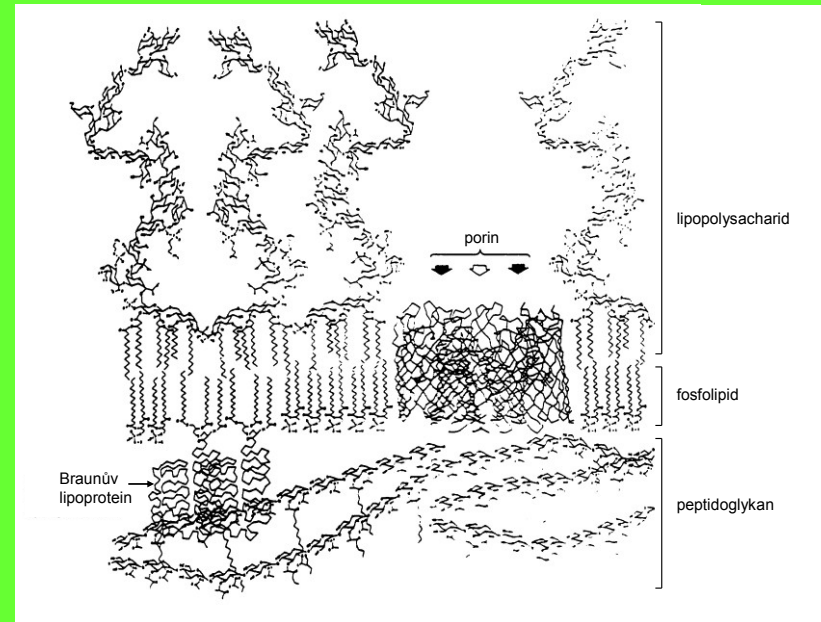
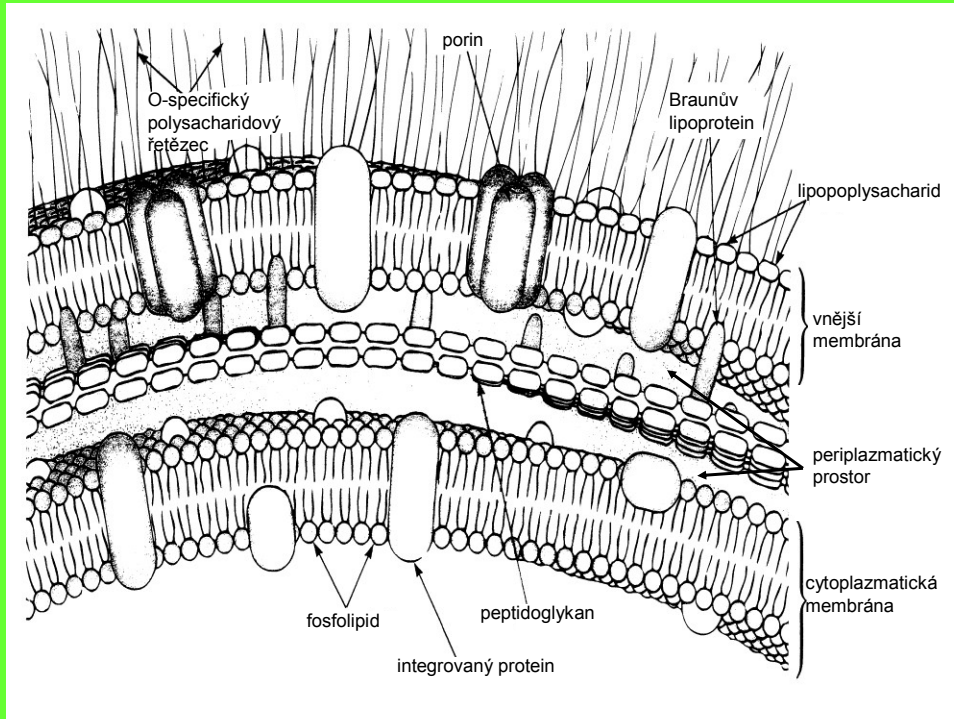
4-N-acetyl-D-manosaminouronosyl-β-(1,6)-glukóza



*Micrococcus luteus*



# Buněčná stěna G- bakterií

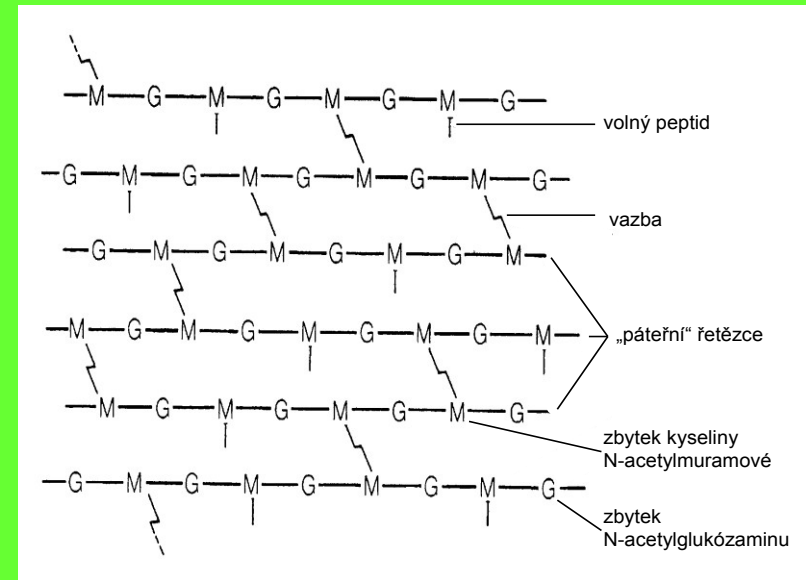
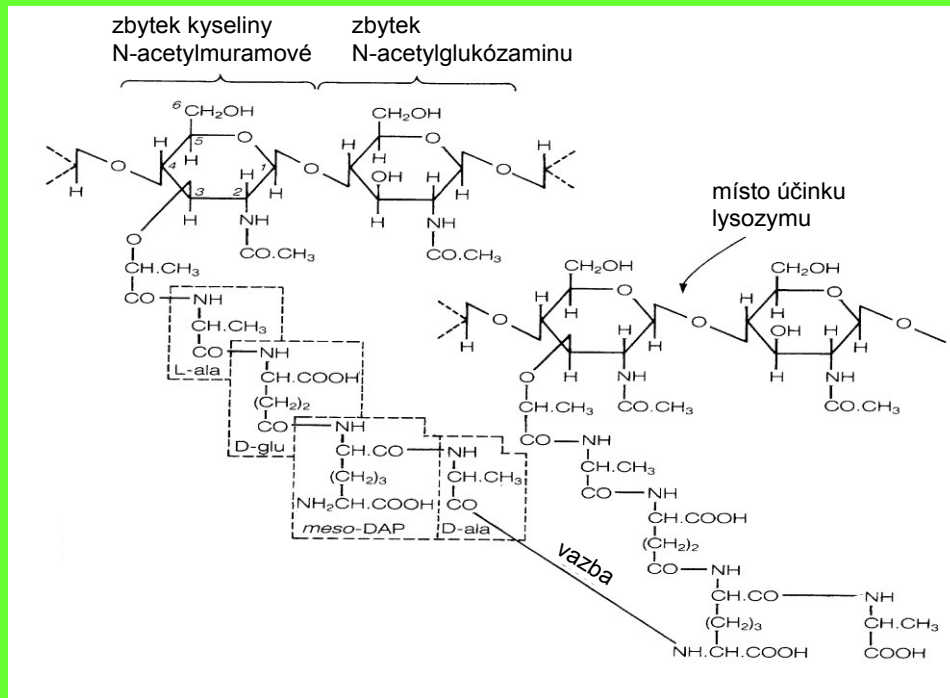


## Složení buněčné stěny

- \* peptidoglykan
- \* vnější membrána
- fosfolipid
- polysacharid
- lipid A
- lipoprotein
- porinové proteiny

# Buněčná stěna G- bakterií

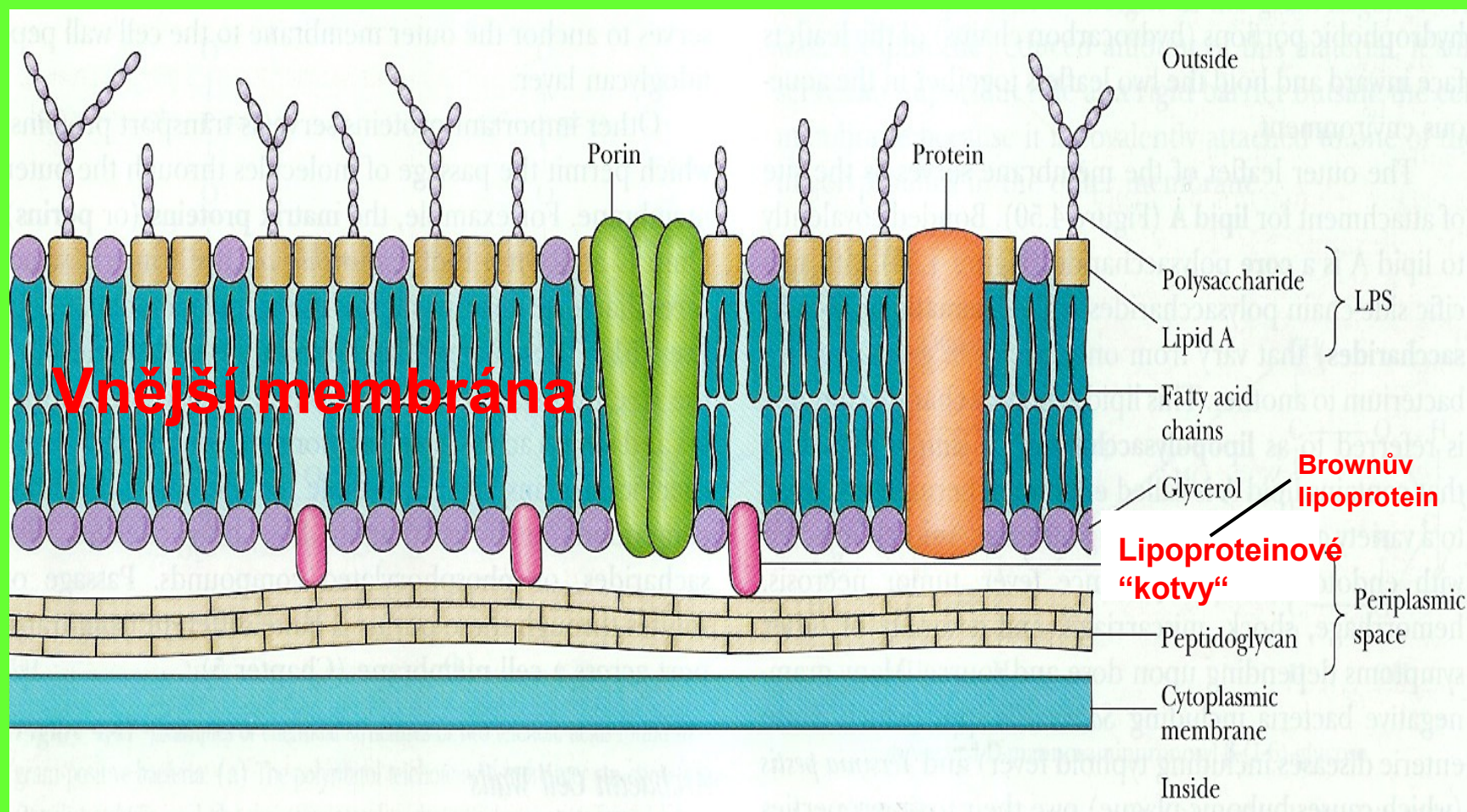
- **Struktura peptidoglykanové vrstvy u G- bakterií**





# Buněčná stěna G<sup>-</sup> bakterií

## Struktura vnější membrány



# Buněčná stěna G<sup>-</sup> bakterií

## Vnější membrána

- spektrum bílkovin ve vnější membráně je silně proměnlivé a jejich diverzita je závislá jak na vnějších, tak i vnitřních podmínkách
- řada proteinů je inducibilních – vytvářejí se pouze tehdy, je-li pro buňku jejich přítomnost nutná a po „splnění úkolu“ jsou hydrolyzovány

# Buněčná stěna G<sup>-</sup> bakterií

- **Poriny**

- integrální proteiny – oligoméry (obvykle trimery) vytvářející pór, umožňující „volný“ pohyb malým polárním molekulám přes vnější membránu a periplazmatický prostor
- všechny molekuly póru jsou k peptidoglykanu nekovalentně, ale pevně vázány

- **další funkce**

**OmpC** – vytváří nespecifické póry (pro hydrofilní molekuly), receptor pro fága Tu I b, T4

**OmpA** – vazba recipientní buňky na F pilus (při konjugaci), receptor pro fága Tu II, specifické interakce s LPS

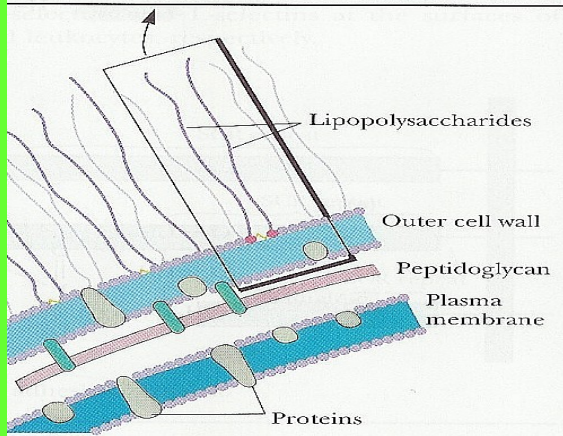
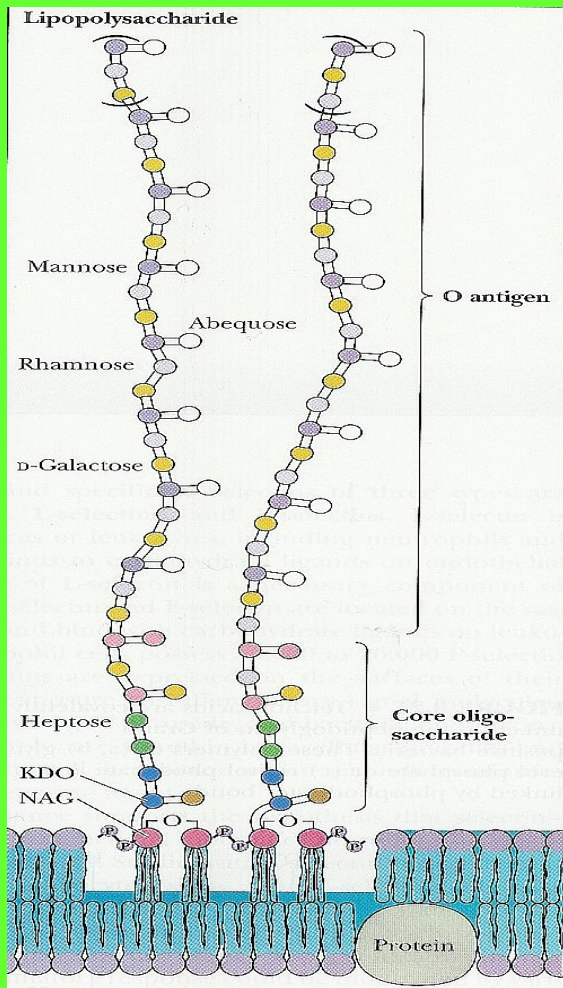
**OmpF** – difuzní kanál pro malé molekuly, receptor pro fága Tu Ia, T2

**OmpB** – difúzní kanál pro maltózu a jiné metabolity

**LamB** – specifický porin pro maltózu a maltodextrin, receptor pro fága  $\lambda$

**PhoE** – anion selektivní kanál, indukovaný nedostatkem fosforu





# buněčná stěna G<sup>-</sup> bakterií

## Lipopolysacharidová vrstva vnější membrány G<sup>-</sup> bakterií

\*lipidická část je „součástí“ fosfolipidové dvojvrstvy a polysacharid směřuje do vnějšího prostředí

\*za určitých podmínek mohou vytvářet jakousi „pseudovrstvu“, zahrnující až 45% plochy membrány

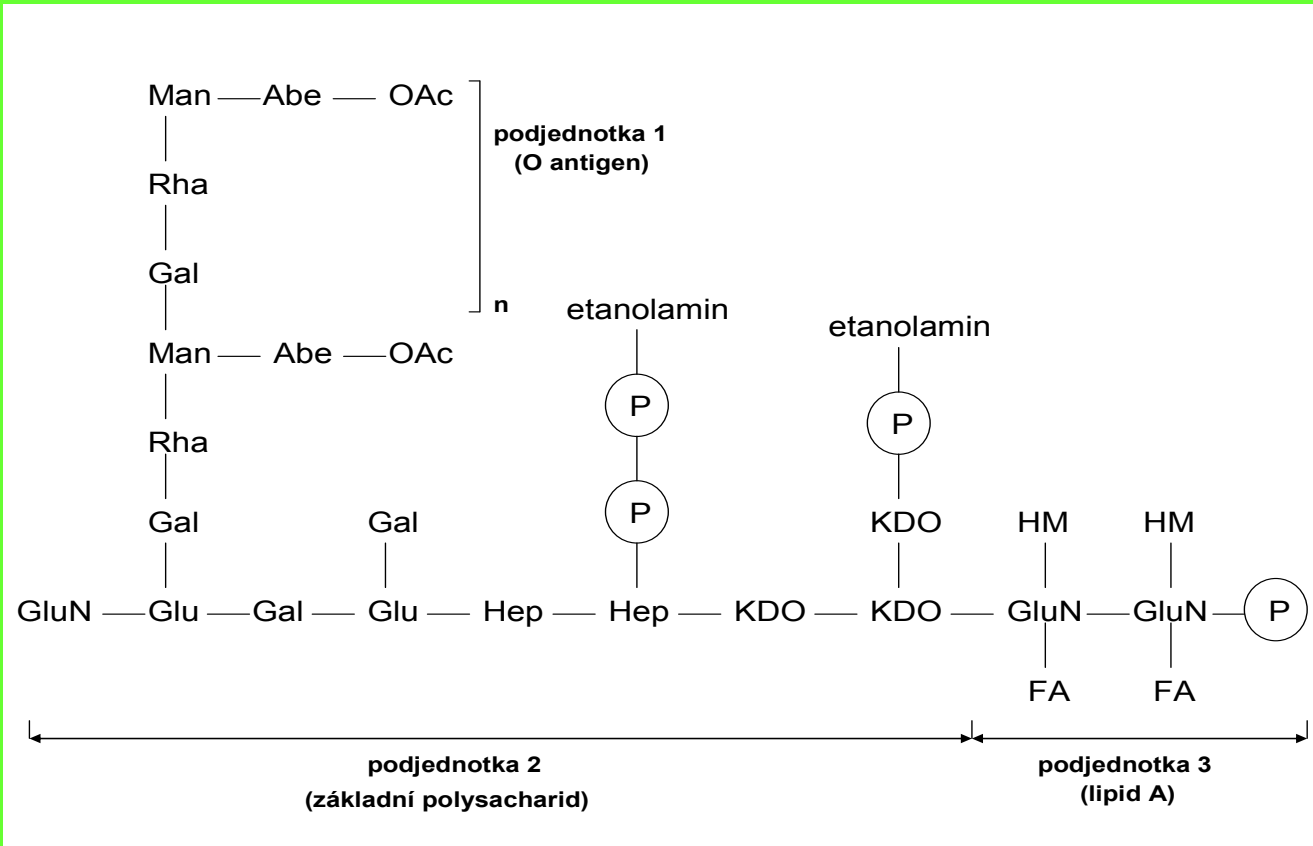
\*významná je jejich role v ochraně buňky před faktory vnějšího prostředí, především před vazbou protilátek na buňku

\*pro charakteristiku buňky je důležité složení specifického polysacharidu, protože je zodpovědný za antigenní vlastnosti



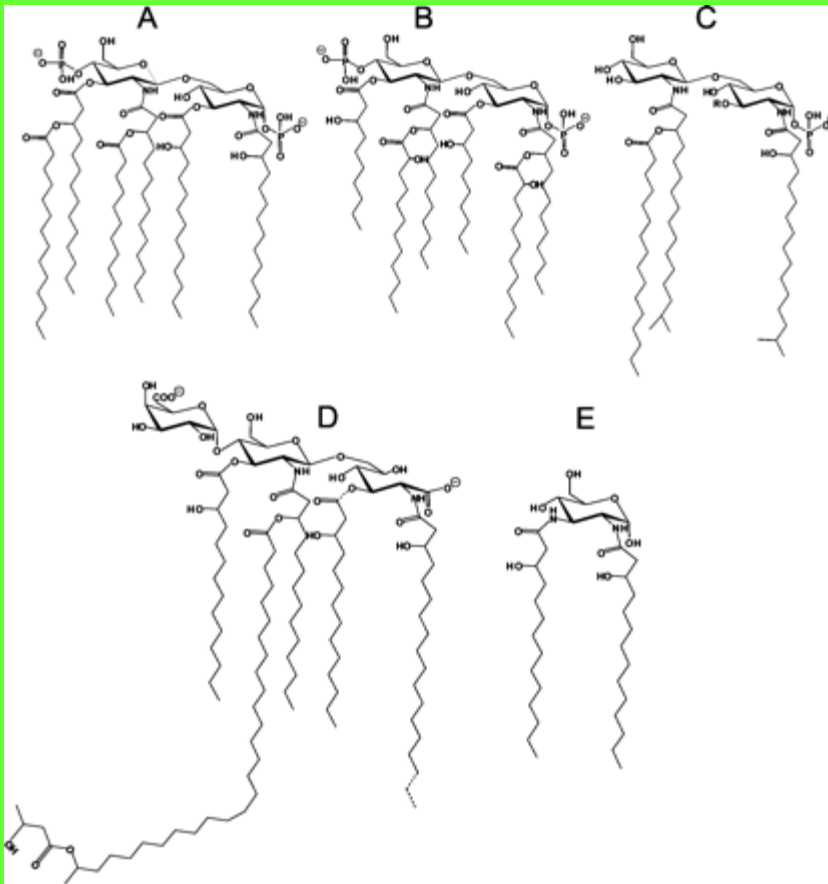
# Buněčná stěna G<sup>-</sup> bakterií

## Struktura lipopolysacharidu



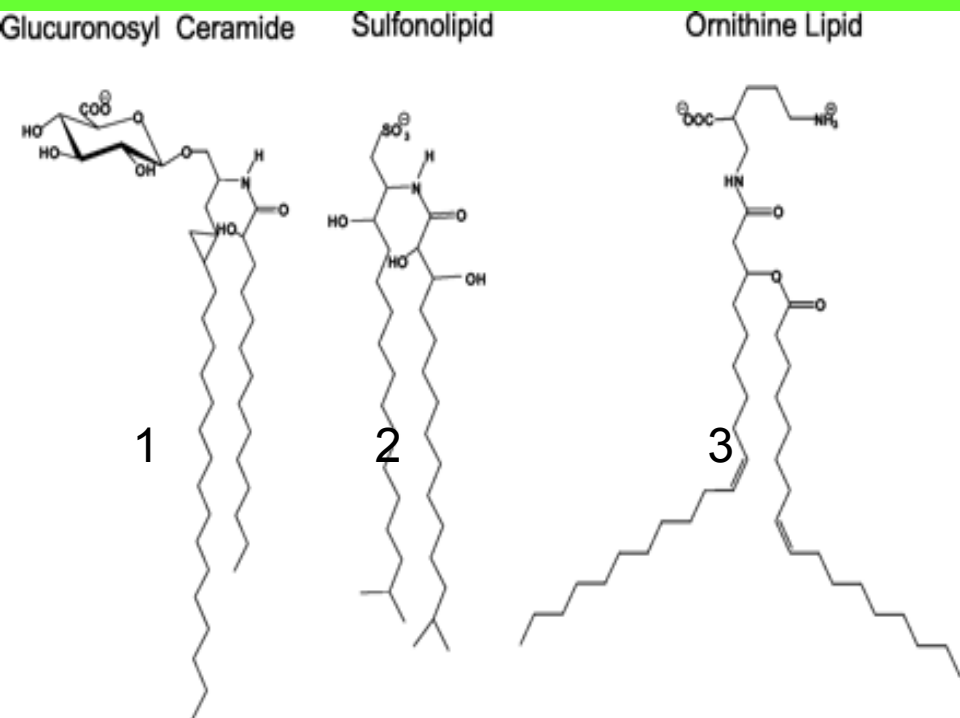
*Salmonella* sp.

# Lipid A s neklasickou strukturou



- A/ lipid A *E. coli*
- B/ Lipid A z *P. aeruginosa* (mastné kyseliny jsou kratší než u *E. coli* a jsou distribuovány symetricky nad dvěma glukózaminovými zbytky)
- C/ Lipid A z *P. gingivalis* (R je H u jednoho kmene a acylová skupina u jiného)
- D/ Lipid A from *R. leguminosarum* (“redukující“ glukózaminový zbytek je nahrazen 2-amino-2-deoxyglukonovou kyselinou; obvyklá fosfátová skupina ve 4'-pozici je nahrazena zbytkem galakturonové kyseliny)
- E/ Lipid A z *Rhodopseudomonas viridis*, je založen an 2,3-diaminoglucose monomeru a úplně ztratil fosfátové substituenty

# Extrahovatelné lipidy, které nahrazují nebo doplňují LPS u různých bakterií



1/ sfingolipid,  
D-glucuronosylceramid z  
*Sphingomonas yanoikuyae*

2/ sulfonolipid ze  
submerzně rostoucí  
*Flavobacterium johnsoniae*

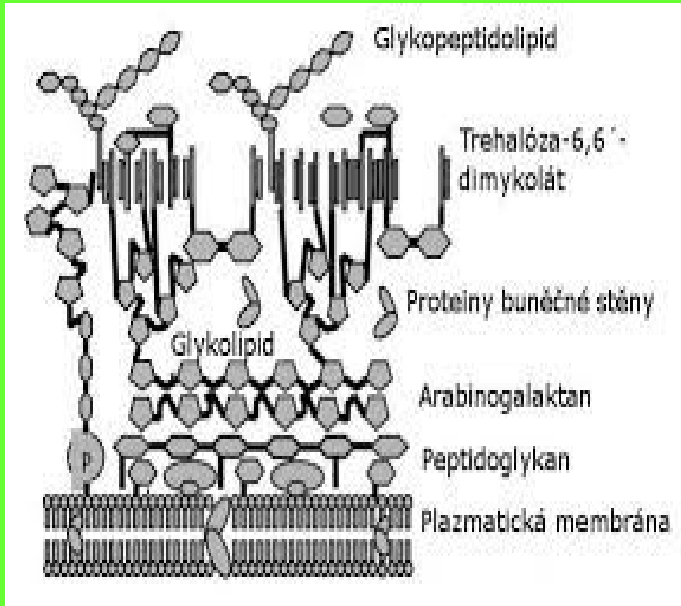
3/ ornithin lipid z  
*Paracoccus denitrificans*

# Buněčná stěna mykobakterií

- je extrémně odolná vůči působení faktorů vnějšího prostředí
- je hlavní determinantou virulence
- může obsahovat více než 60% lipidů
- strukturu buněčné stěny tvoří tři hlavní komponenty
  - charakteristické dlouhé řetězce mykolových kyselin
  - větvený arabidogalaktan
  - peptidoglykanová síť
- membránové segmenty obsahující extrahovatelné lipidy, vosky a glykolipidy
- nad touto vrstvou je obvykle přítomná kapsula, složená z polysacharidů a proteinů

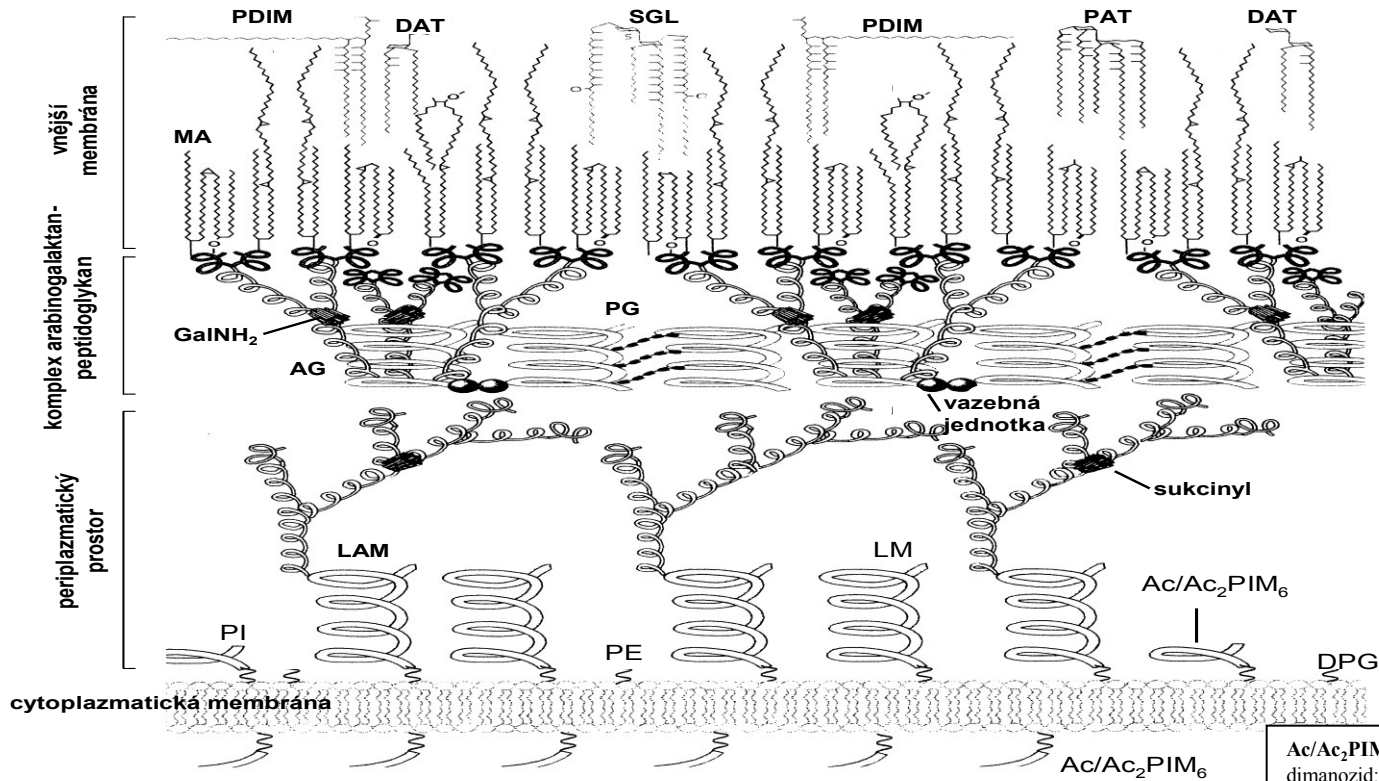


# Buněčná stěna mykobakterií



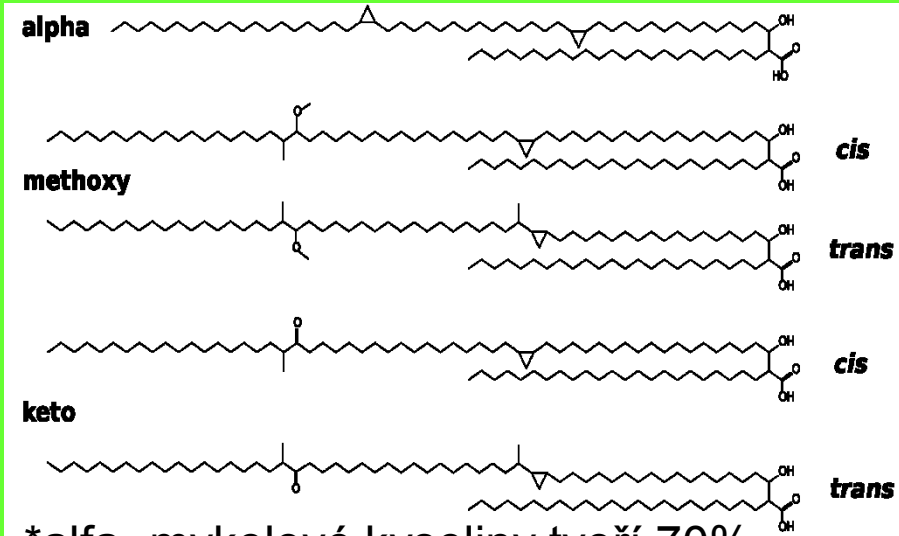
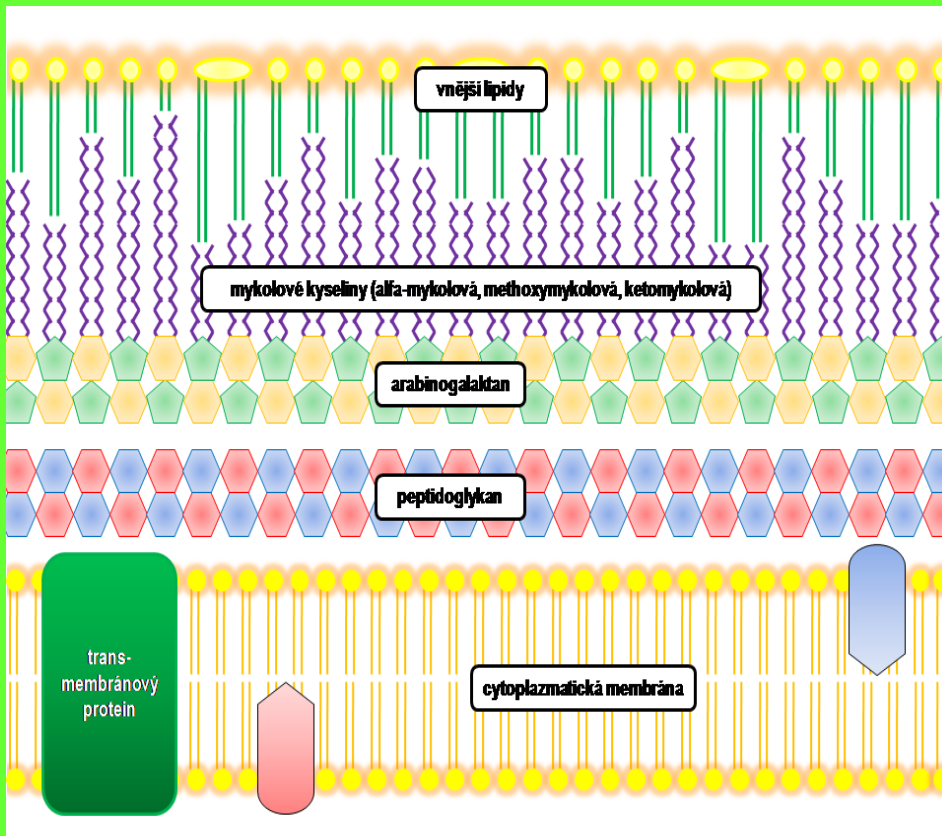
- hlavním znakem je přítomnost **mykolových kyselin**, (větvené mastné kyseliny s 26-60 až 90 atomy uhlíku)
- mykolové kyseliny jsou **kovalentně** připojeny k arabinogalaktanu
- vně mykolových kyselin se nachází vrstva tvořená glykolipidy
- pod těmito vrstvami se nad plazmatickou membránou nachází vrstva peptidoglykanu
- u kyseliny muramové PG je místo N-acetylu N-glykol
- stavba buněčné stěny se strukturně podobá buněčné stěně gramnegativních bakterií (třebaže jsou G+, včetně struktury peptidoglykanu)
- povrch je **silně** hydrofobní, má nízkou permeabilitu
- tyto vlastnosti jsou považovány za příčinu odolnosti mykobakterií vůči velkému množství antibiotik, desinfekčních prostředků i vysychání
- jsou acidorezistentní

# Buněčná stěna mykobakterií



Ac/Ac<sub>2</sub>PIM<sub>2</sub> – tri-/tetra-acylovaný fosfatidyl-myoinositol-dimanozid; Ac/Ac<sub>2</sub>PIM<sub>6</sub> – tri-/tetra-acylovaný fosfatidyl-myoinositol-hexamanozid; AG – arabinogalaktan; AGP – komplex arabinogalaktan-peptid; DAT – diacyltrealóza; DPG – difosfatidylglycerol; GalNH<sub>2</sub> – zbytek galaktózaminu; LAM – lipoarabinomannan; LM – lipomannan; MA – mykolové kyseliny; PAT – polyacyltrealóza; PDIM – ftiocerol dimykocerosát; PE – fosfatidyletanolamin; PG – peptidoglykan; PI – fosfatidyl-myoinositol; SGL – sulfoglykolipid

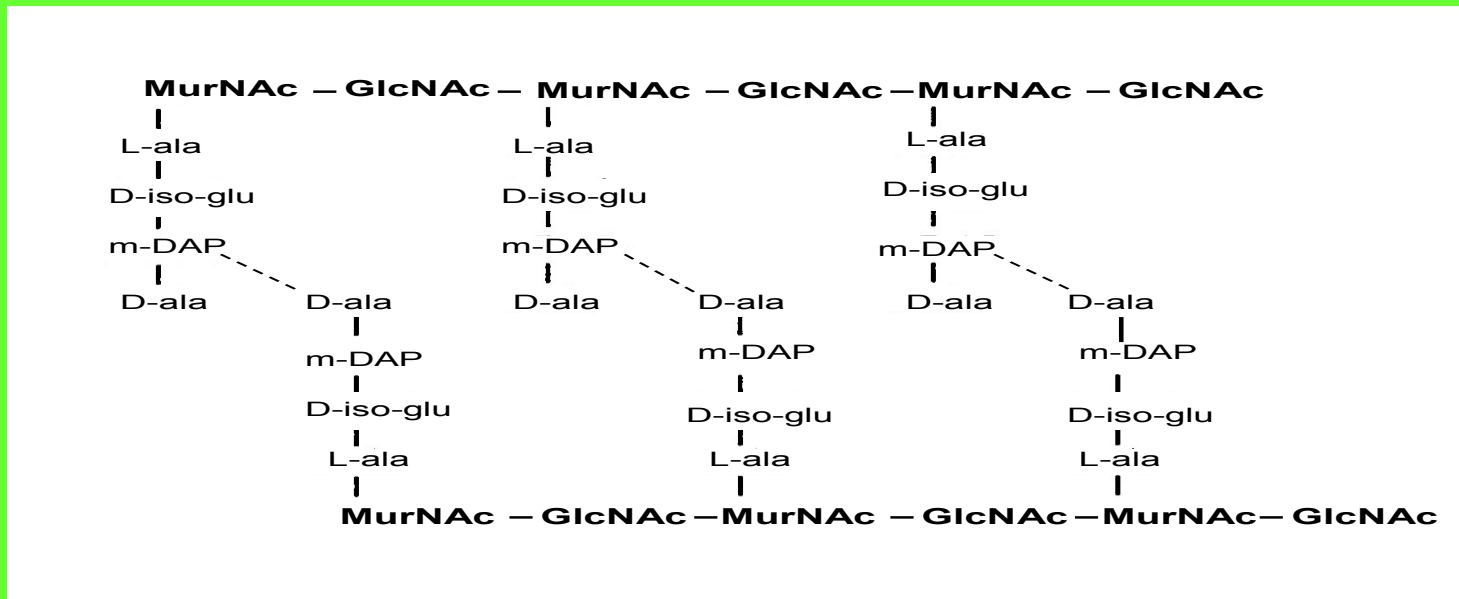
# Buněčná stěna mykobakterií



- \* alfa- mykolové kyseliny tvoří 70% přítomných mykolových kyselin (obsahují několik cyklopropanových kruhů)
- \* metoxymykolové kyseliny tvoří 10-15% přítomných mykolových kyselin (obsahují několik metoxy skupin)
- \* zbytek tvoří keto-mykolové kyseliny (obsahují několik ketoskupin)

# Buněčná stěna mykobakterií

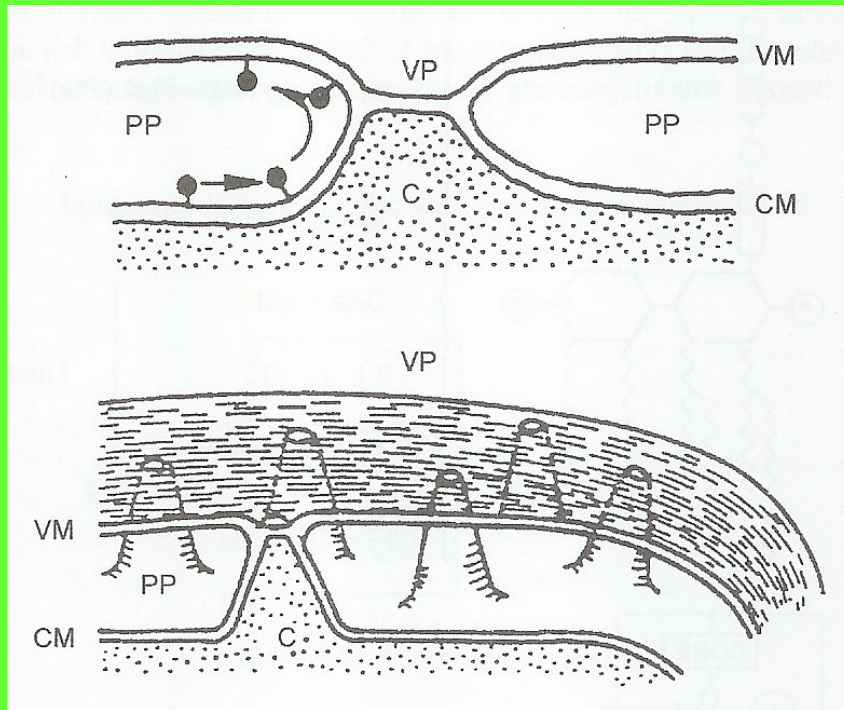
- Struktura peptidoglykanové vrstvy



U mykobakterií je významná **strukturální modifikace** peptidoglykanu – N-acetylmuramová kyselina je oxidována na N-glykolylmuramovou kyselinu. Tato modifikace vede ke zvýšení pevnosti peptidoglykanu díky vodíkové vazbě a potenciálně se snižuje citlivost k působení lysozymu



# Adhezivní místa



VM – vnější membrána

CM – cytoplazmatická membrána

PP – periplazmatický prostor

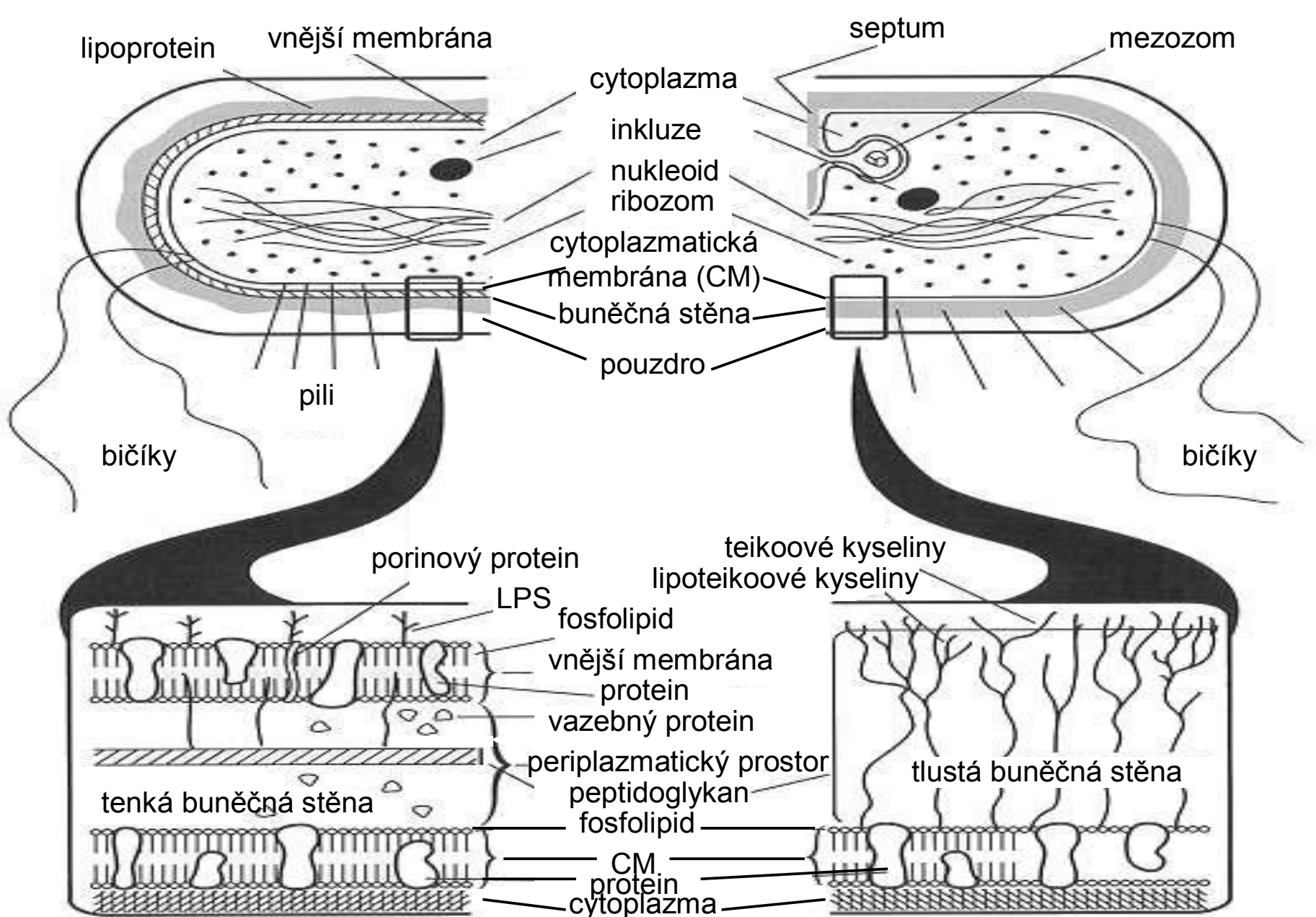
C – cytoplazma

VP – vnější prostor

**Adhezivní místa se nachází mezi vnější a cytoplazmatickou membránou (*Escherichia coli*). Zajišťují „stabilní“ polohu cytoplazmatické membrány a buněčné stěny**

## Gram negativní bakterie

## Gram pozitivní bakterie



# Některé charakteristiky buněčné stěny G<sup>+</sup> a G<sup>-</sup> bakterií



• Peptidoglykan	tlustý (mnohovrstvý)	tenký (jednovrstevný)
• Teichoové kyseliny	mnoho	nepřítomné
• Vnější membrána	nepřítomná	přítomná
• Obsah lipopolysacharidů	prakticky žádný	velký (vnější membrána)
• Lipidy a lipoproteiny	málo	hodně
• Produkce toxinů	převážně exotoxiny	převážně endotoxiny
• Mechanické poškození	malé	velké
• Působení lysozymu	silné	slabé
• Citlivost k penicilinu	velká	malá
• Citlivost ke streptomycinu	malá	velká
• Citlivost k tetracyklinům	malá	velká
• Inhibice bazickými barvivy	velká	malá
• Odolnost k vysoušení	vysoká	slabá

# Buněčná stěna cyanobakterií

- sinice obvykle strukturu jako gramnegativní bakterie
- některé specifické vlastnosti buněčné stěny sinic sinice odlišují od ostatních gramnegativních bakterií, a sinice se tak zdají být směsí vlastností gramnegativní a grampozitivní buňky
- zatímco běžné gramnegativní bakterie mají buněčnou stěnu o tloušťce jen asi 2–6 nanometrů, u jednobuněčných sinic je to asi 10 nanometrů, u vláknitých sinic 15–35 nanometrů a vzácně až 700 nanometrů (u *Oscilalatoria princeps*)
- po chemické stránce jsou peptidy vytvářející příčná spojení spíše charakteristické pro gramnegativní bakterie

# Buněčná stěna – její funkce

- stěna bakterie má roli „vnějšího buněčného skeletu“
- uděluje buňce tvar a chrání ji před působením vnějšího prostředí
- za pevnost a odolnost je zodpovědný peptidoglykan – je specifický pro prokaryota
- syntézu peptidoglykanu katalyzují enzymy periplasmatického prostoru a vnější strany CM
- je dvojího konstrukčního typu – grampozitivního a gramnegativního



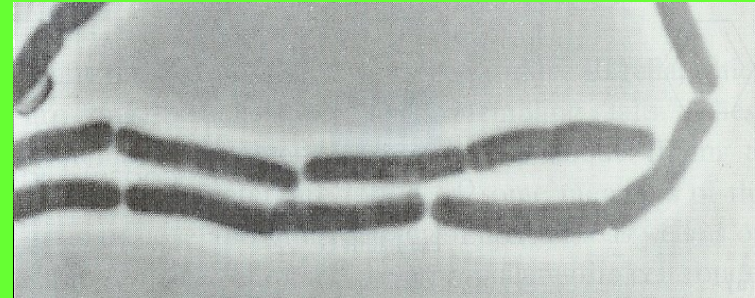
## Bakterie bez buněčné stěny

- Geneticky zakotvená neschopnost syntézy buněčné stěny. Především u intracelulárních parazitů (*Mycoplasma*, *Acholeplasma*,...). Buňka je ohraničena obvykle trojvrstevnou cytoplazmatickou membránou.
- Protoplasty
- Sferoplasty

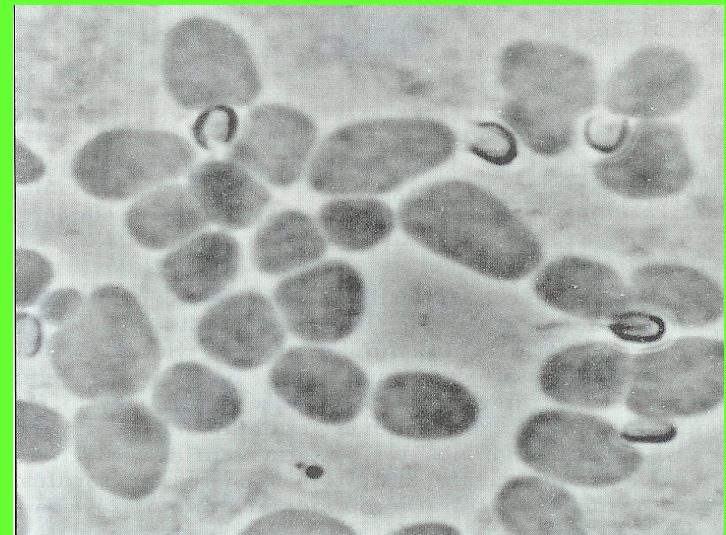
# Bakterie bez buněčné stěny

## protoplasty

- vznikají u G<sup>+</sup> bakterií po působení **lysozymu** (štěpením glykozidické vazby peptidoglykanu), nebo po působení antibiotik blokujících syntézu buněčné stěny (**peniciliny**, **cefalosporiny**)
- protoplasty metabolizují, rostou, ale **nemnoží se**
- se musí **stabilizovat v hypertonickém prostředí**
- za určitých podmínek je možná reverze na normální buňku



Normální buňka *Bacillus megaterium*



Protoplasty vzniklé po působení lysozymu (stabilizované v sacharóze)

# Bakterie bez buněčné stěny

## sferoplasty

- u G<sup>-</sup> bakterií není běžná tvorba protoplastů, protože se lysozymem odstraní pouze peptidoglykanová vrstva a zůstává vnější membrána
- sféroplast, metabolizuje, roste a množí se
- podstranění faktoru, který vyvolal tvorbu sféroplastu, je možná reverze na normální buňku
- **Fixované L-formy** → buňky ztratily schopnost reverze

# Kapsula

- u mnohých bakterií se vytváří vně buněčné stěny silně hydratovaná vrstva – pouzdro, kapsula
- **Mikrokapsula** – tloušťka 0,2 nm – za určitých podmínek může být mylně považována za součást buněčné stěny. U enterobakterií je to komplex obsahující bílkovinu, polysacharid a někdy stopy lipidu
- **Makrokapsula** je podstatně silnější a je tvořena především polysacharidy a bílkovinami. Složení je odlišné v závislosti na druhu bakterie
- kmeny produkující kapsulu jsou označovány jako S-formy (smooth, hladké), neprodukující jako R-formy (rough, drsné)
- R-formy mohou vznikat z S-formy mutací
- přítomnost kapsuly je indikací pro virulenci, nepřítomnost pro avirulenci
- má antigenní vlastnosti – kapsulární antigen

# Kapsula

- je tvořena především vodou a organickými látkami, obvykle **homopolysacharidy** (celulóza, dextran) nebo **heteropolysacharidy** (alginát, hyaluronová kyselina) či **bílkoviny** nebo **kombinací** bílkovina- polysacharid
- pokud je materiál maximálně hydratován, nese označení **sliz**
- produkce kapsuly je silně závislá na spektru živin a fyzikálních podmínkách kultivace



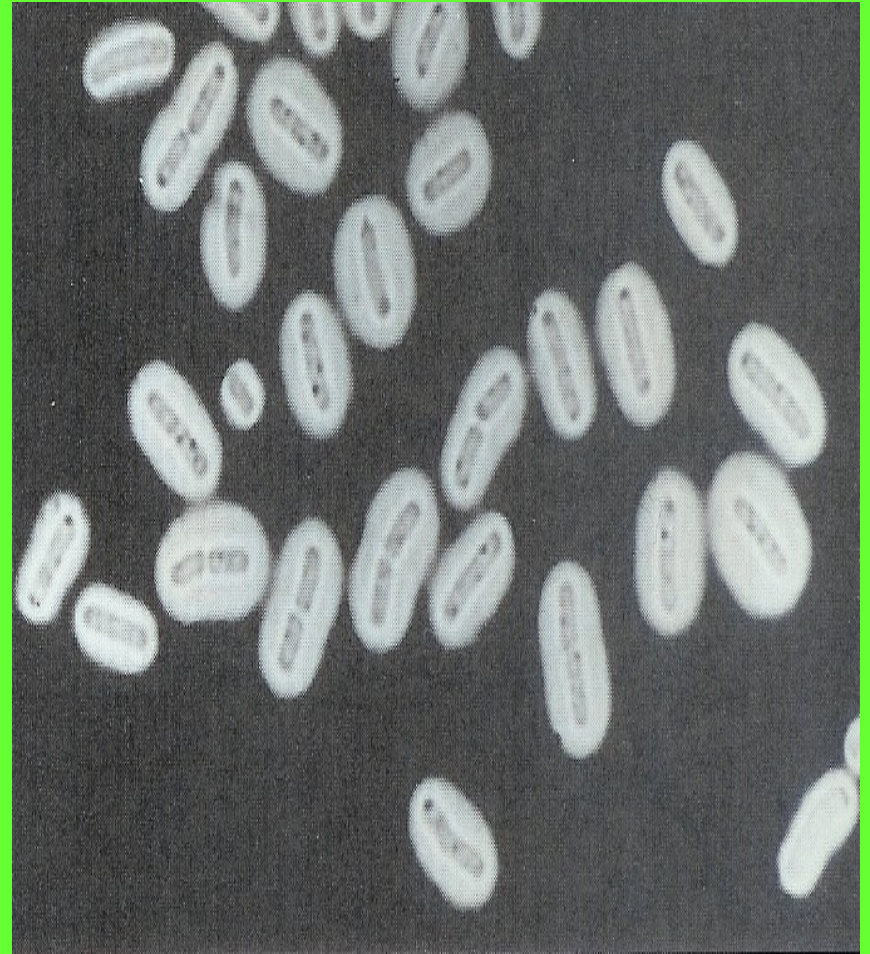
# Kapsula

- Některé bakterie mohou produkovat jak kapsulu, tak i slizovitou vrstvu
- *S. mutans* vytváří rozpustnou i nerozpustnou formu dextranů. Nerozpustná forma se označuje jako **mutan** - větvený polymer glukózy, přičemž lineární řetězec má vazbu  $\alpha$  -1,6 a větvení  $\alpha$  -1,3
- mutan je zodpovědný za vazbu buňky na sklovinu zubu a vytváření zubního plaku

# Kapsula



*Streptococcus pneumoniae*

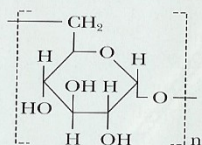
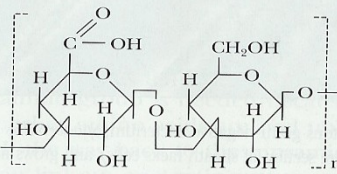
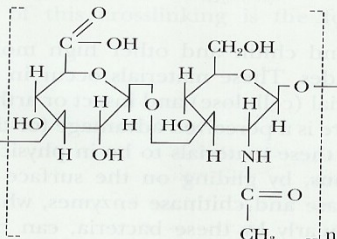
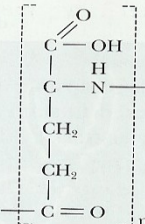


*Bacillus* sp

# Obvyklé struktury bakteriální buňky

## pouzdro

### Chemické složení pouzdra některých bakterií

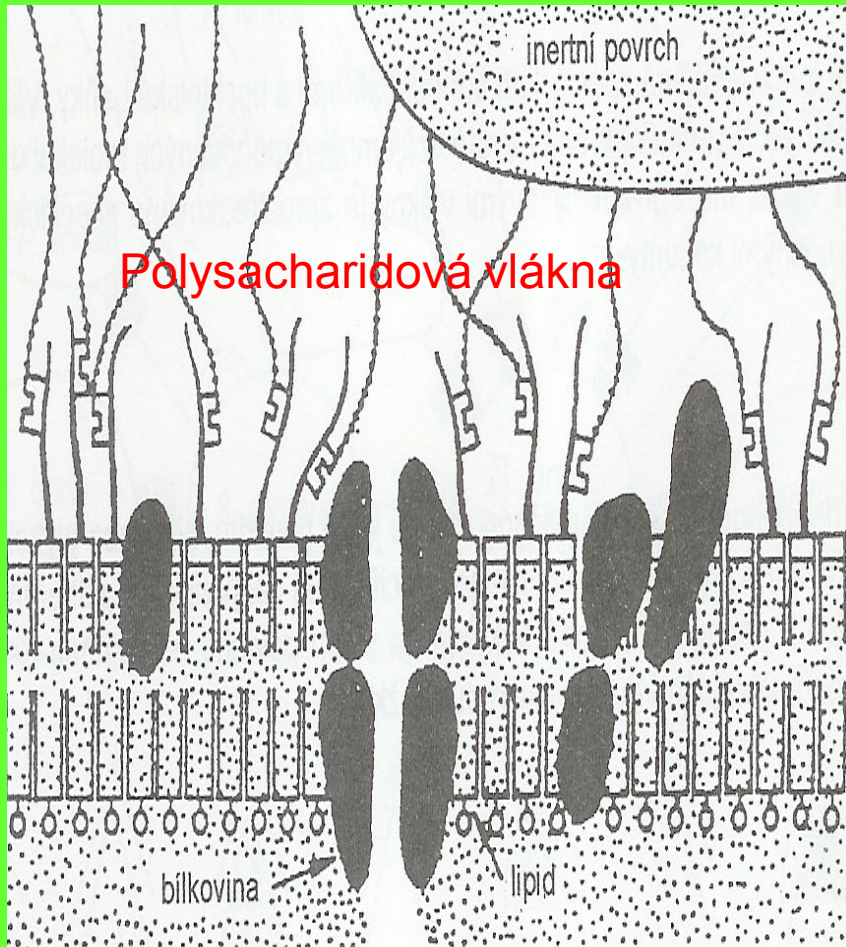
Bacterium	Name of Capsular Material	Structure of Repeating Unit
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	dextran	 <p><math>\alpha</math>-1,6-poly D-glucose</p>
<i>Streptococcus pneumoniae III</i>	polyglucose glucuronate	 <p>Glucuronic acid      Glucose</p>
<i>Streptococcus</i> spp.	hyaluronic acid	 <p>Glucuronic acid      N-acetyl glucosamine</p>
<i>Bacillus anthracis</i>	gamma poly D-glutamic acid	 <p><math>\gamma</math> D-glutamic acid</p>



# Kapsula - význam

- chrání buňku před vysycháním
- představuje účinnou bariéru proti pronikání toxických látek
- brání adsorpci fágových částic
- může sloužit jako rezervoár živin
- podporuje adhezi buněk na podložku (např. při vytváření zubního plaku)
- pomáhá buňce „vyhnout“ se fagocytóze
- v alkalickém prostředí se v kapsule mohou hromadit kovy
- tvorba kapsuly do značné míry souvisí s patogenitou (opouzdřené kmeny jsou obvykle patogenní – **S formy**. Pokud buňky ztratí schopnost vytvářet pouzdro (mutací) – **R formy**, ztrácí i schopnost vyvolat onemocnění)
- kapsula může maskovat adheziny
- má antigenní vlastnosti (kapsulární antigen)
- některé exopolysacharidy jsou produkovány v průmyslovém měřítku (**xantan** *Xanthomonas campestris* ; **dextran** *Leuconostoc mesenteroides*)

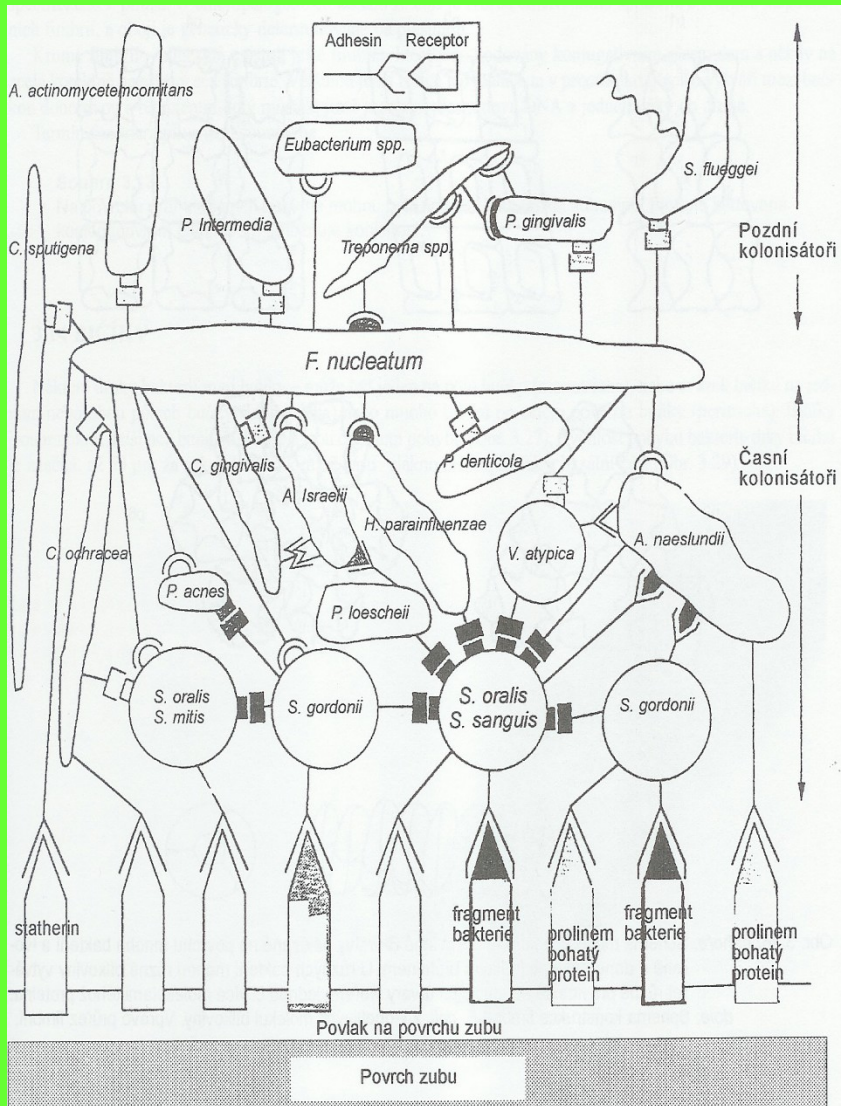
# Glykokalyx



- Je tvořen dlouhými polysacharidovými vlákny
- Je zodpovědný za adherenci bakterií na povrchy (kameny v potoce, zubní sklovina, rostlinná buňka, buňka epitelu, ...)
- Vlákna mají funkci adhesinů
- Vazba na povrchy je málo (zubní sklovina) nebo hodně specifická (uretra)



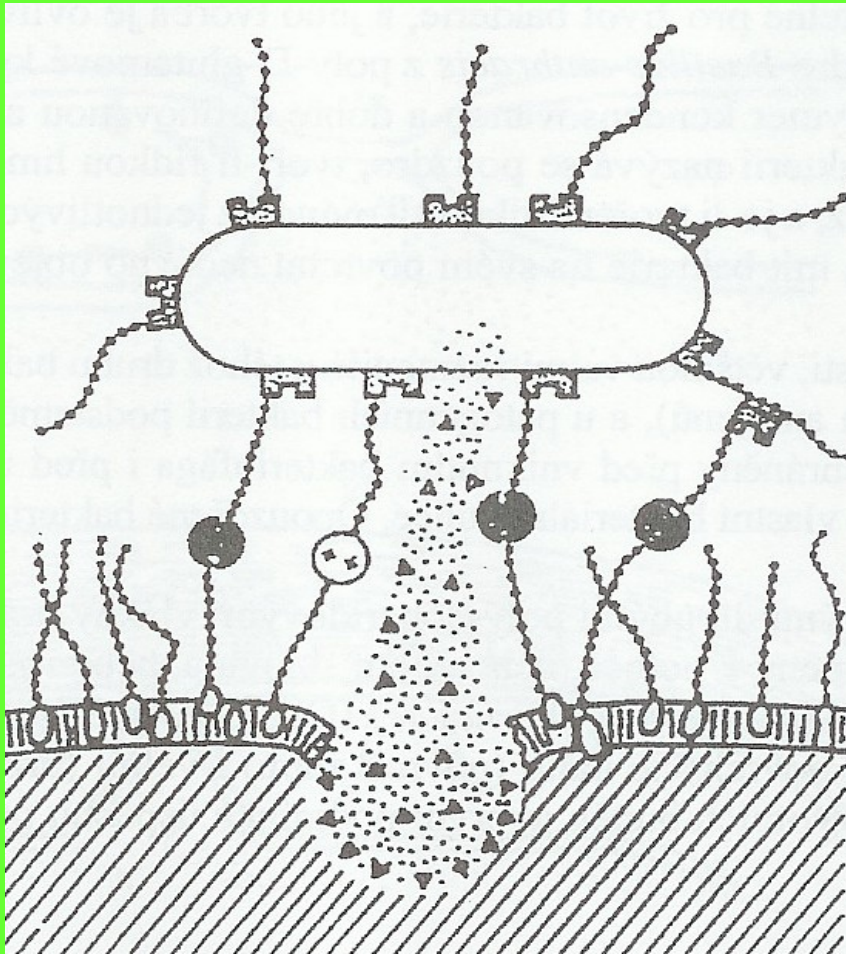
# Glykokalyx



## \* Schema zubního plaku

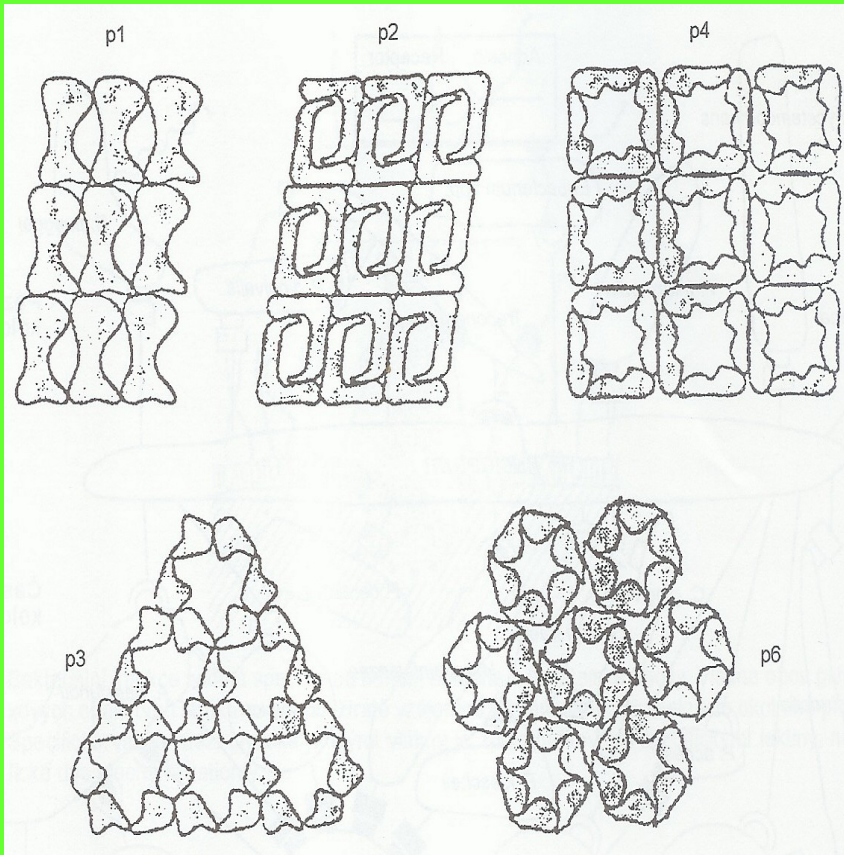
- Zubní plak obsahuje více než 37 rodů a 300 druhů bakterií (cca 20 druhů streptokoků)
- Na buňky vázané na zubní sklovině se adheziny pevnějšími nebo slabšími vazbami váží další buňky
- Různé bakterie přednostně adherují a kolonizují různá místa dutiny ústní

# Glykokalyx



- \* **Schema bakteriální infekce**
- Adheze bakteriální buňky a hostitelské buňky (specifická adheze - lektiny, nespecifická – dvojmocnými ionty)
- Spojení vláken obou glykokalyxových obalů.
- Vytvoření struktury bránící ztrátě vzájemně vyměňovaných molekul do okolního prostředí

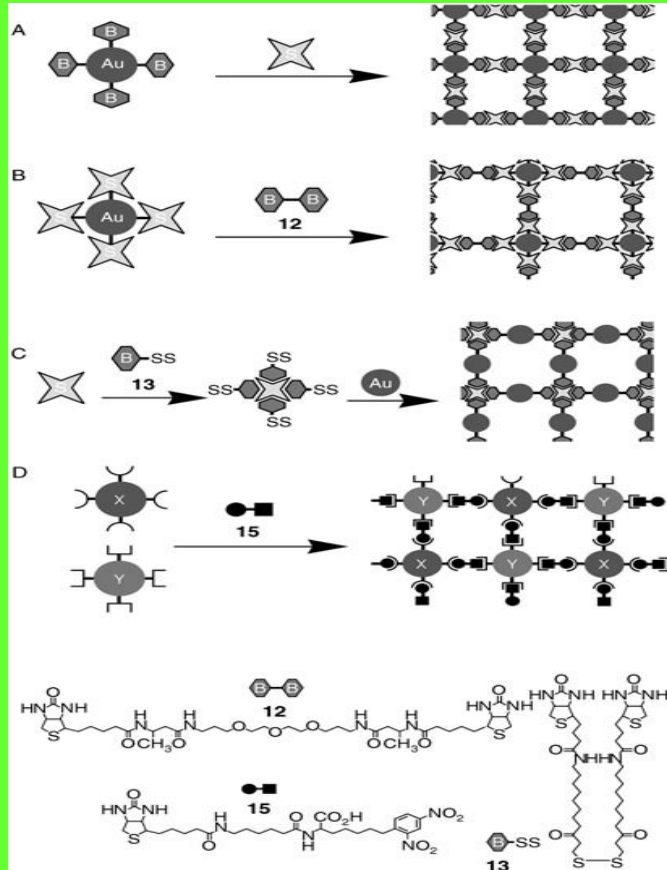
# S - vrstva



- Plochá dvourozměrná vrstva poměrně kompaktní a je tvořena proteiny nebo glykoproteiny
- Jsou tvořené asi 3-30 nm velkými, souměrnými podjednotkami, které mívají tvar čtverce nebo šestiúhelníku (často vypadají jako dlažnice)
- bílkovinné podjednotky vytvářejí “síťovinu“ na povrchu  $G^+$  i  $G^-$  bakterií
- Je tvořena zpravidla jedním proteinem – druhově specifickým



# S - vrstva



- Počet bílkovinných jednotek v této “krystalické mřížce” je 1-6
- Na pevných podkladech vytváří monomolekulární vrstvy pravidelného tvaru
- Vyskytují se v ní póry o průměru asi 2-8 nanometrů
- S-vrstva slouží zejména k ochraně před aktivitou extracelulárních enzymů, změnou pH, “predátory např. *Bdellovibrio*, případně pře navázáním bakteriofága
- Možné je i jejich využití v biotechnologiích - “molekulární nanotechnologie“

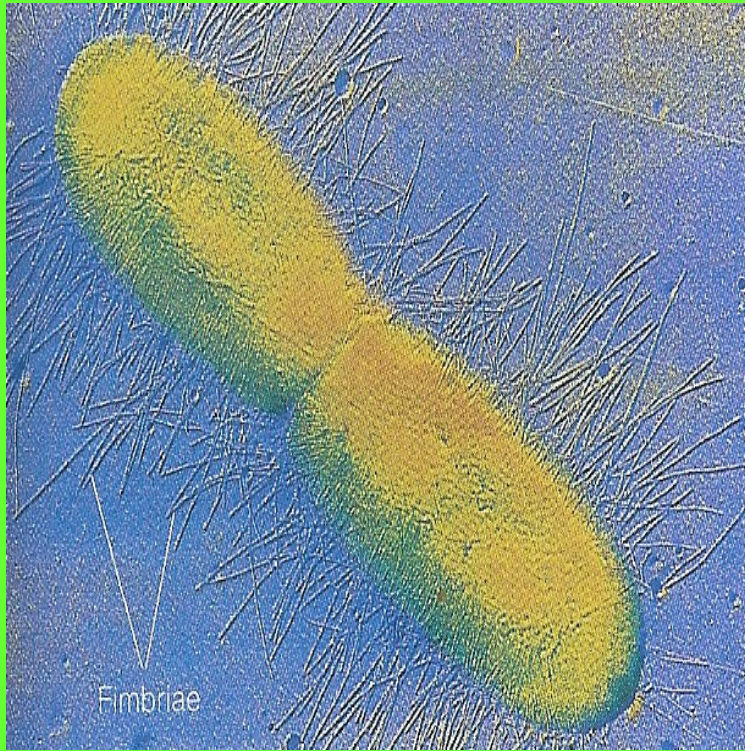
S- vrstvy obsahují pravidelně uspořádané funkční skupiny na svém povrchu (-OH, -COOH nebo -NH<sub>2</sub>), které tvoří specifické motivy pro určité ionty nebo malé molekuly

# Bičíky, fimbrie a pili

- Řada bakterií má vně buňky (nad buněčnou stěnou) jemná proteinová vlákna, **obvykle** označovaná jako **bičíky** a **fimbrie** (pili)
- Vhodnější je však rozdělení do tří skupin – **bičíky, fimbrie a pili**, na základě jejich odlišného složení bílkovinných podjednotek
- Při jejich charakteristice je nutné brát úvahu nejen chemickou strukturu, architekturu, ale také **odlišnou funkci jednotlivých struktur**



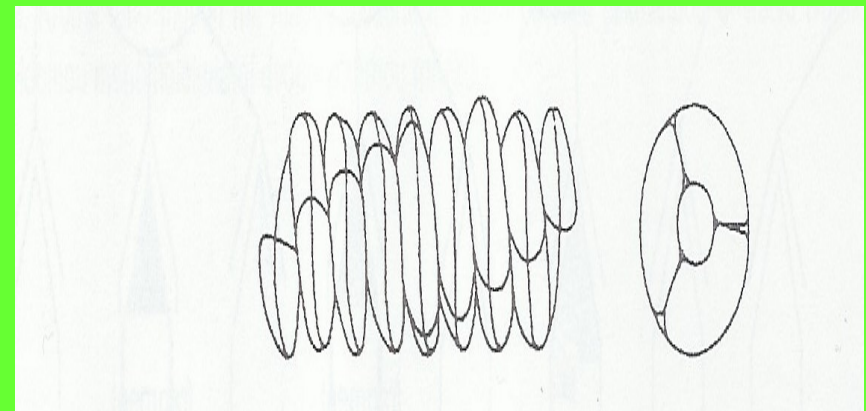
# Fimbrie



- fimbrie jsou četná, poměrně krátká rigidní rovná proteinová vlákna
- Jsou velmi křehká a snadno se ulamují
- Vyskytují se jen u G- bakterií
- Na jedné buňce jich může být několik set různých typů

# Fimbrie

- fimbrie má povahu trubičky o šířce 2-8 nm a délce od 0,1  $\mu\text{m}$  do několika mikronů
- může být tvořena více komponentami
- hlavní strukturní jednotkou je proteinová podjednotka označovaná jako **pilin** nebo **fibrilin**
- pilin má lineární sekvenci identických proteinových podjednotek, které mohou být doplněny odlišnými specifickými podjednotkami



# Fimbrie

- Typ, počet a složení fimbrií závisí na celé řadě fyzikálních a chemických faktorů
- struktura je kódována na chromozomu nebo na plasmidech
- přepisu se uplatňuje **switching mechanism**, který rozhoduje, zda bude či nebude přítomná daná proteinová podjednotka daného typu fimbrie

# Fimbrie

- **Klasifikace fimbrií G- bakterií podle**
  - \* homologie sekvence aminokyselin
- hlavní podjednotky
  - \* fyzikálních, adhezivních a antigenních vlastností
  - \* mechanismu sekrece a sestavování

# Fimbrie (některé typy )

Fimbrie	Druh	Poznámka
<b>Typ I</b> a/ základní	<i>E.coli</i> – kmeny vyvolávající zánět močového měchýře, ledvin	Kódovány na chromozomu, <i>pap</i> operon; exprese je regulována teplem
b/ P fimbrie	<i>E.coli</i> – kmeny vyvolávající zánět močového měchýře, ledvin	Kódovány na chromozomu, <i>pap</i> operon; exprese je regulována teplem
c/ K88	<i>E.coli</i> – kmeny patogenní pro selata	Kódovány na plasmidech; hlavní podjednotka je adhezin
d/ K99	<i>E.coli</i> – kmeny patogenní pro telata, jehňata	Kódovány na plasmidech; hlavní podjednotka má adhezivní vlastnosti
<b>Typ II</b>	Enterobakterie, především salmonely	Podobné jako typ I, ale ztratily adhezivní vlastnosti
<b>Typ III</b>	Enterobakterie	Manóza insenzitivní adheze
<b>Typ IV</b>	Různé G <sup>-</sup> patogenní kmeny včetně <i>N.gonorrhoeae</i> , <i>N.meningitidis</i> , <i>V.cholerae</i>	Většinou kódovány na chromozomu, některé na plasmidech



# Pili

- bílkovinné struktury na povrchu buňky vyskytující se specificky u G<sup>-</sup> bakterií
- jde většinou o organizmy, které jsou schopné přenosu DNA konjugací
- na buňce je jeden až několik pilusů (obvykle jeden a maximálně 5 - 6)
- na rozdíl od fimbrií jsou delší a jejich průměr se pohybuje kolem 10μm
- determinovány jsou na **konjugativních plasmidech** (sex faktor)

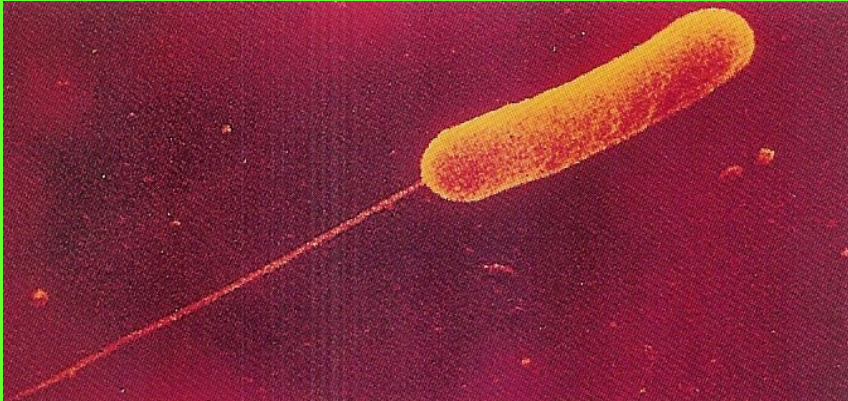
# Pili

- existuje několik typů pilusů, které se liší velikostí i tvarem
- některé jsou tenké dlouhé a flexibilní, zatímco jiné mohou být krátké a rigidní
- u daného organismu typ pilusu koreluje s fyzikálními podmínkami průběhu konjugace (např. v tekutém prostředí nebo na povrchu agarové vrstvy)

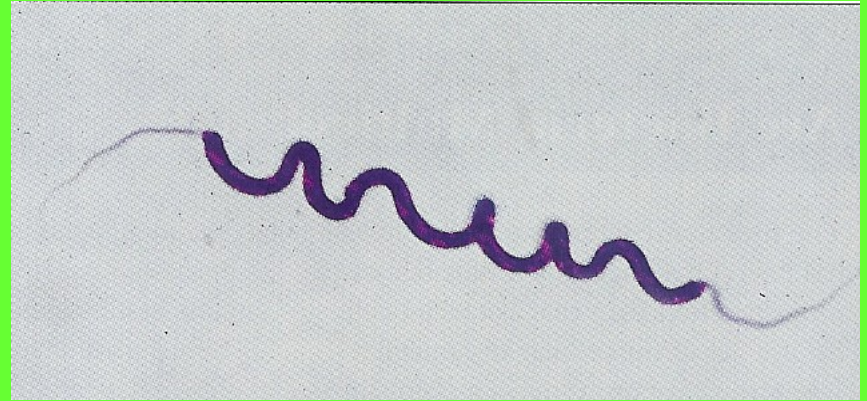
# Pili (F pilus u *E. coli*)

- kódovaný na plazmidu F
- je dlouhý, flexibilní jeden až několik mikrometrů dlouhý a v průměru má 8-9 nm
- struktura je tubulární s axiálním kanálkem o průměru asi 2.5 nm
- je tvořen bílkovinnými podjednotkami jednoho typu – **pilin**
- pilin obsahuje 70 aminokyselinových zbytků, jednu D-glukózu a dva fosfátové zbytky
- modely pro sestavování
  - \* pět pilinových podjednotek je spojeno do kruhu a následující kruh je pootočen o 29° oproti předchozímu
  - \* podjednotky jsou uspořádány helikálně.

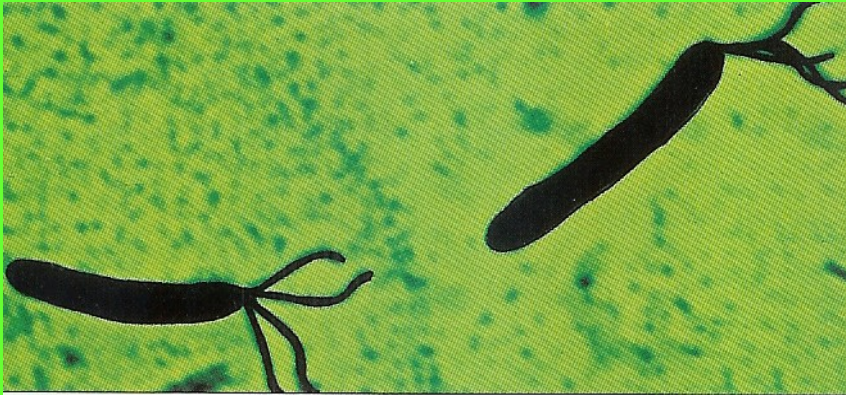
# Bičík (flagela)



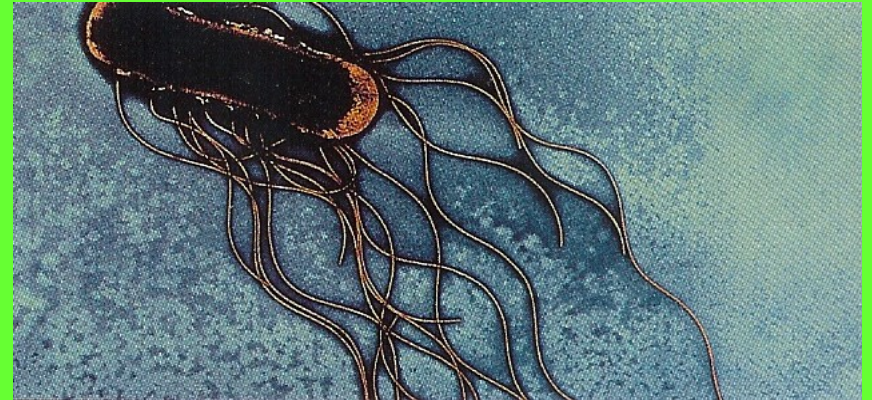
Monotrich



Amfitrich



Lofotrich



Peritrich



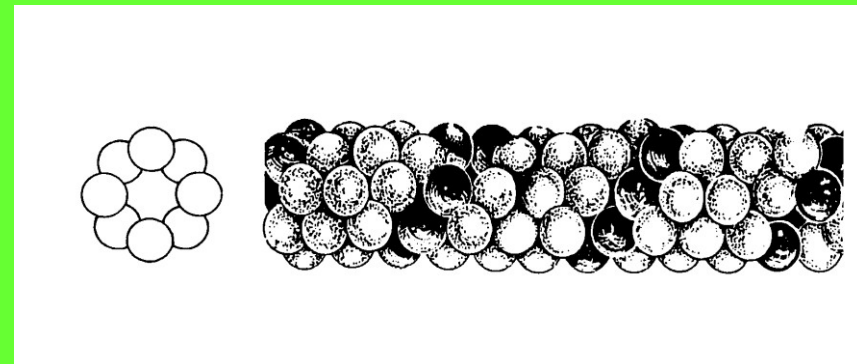
# Bičík struktura

- **Hlavní části bičíku**

- \***Vlákno bičíku** tvořené z globulární bílkoviny – flagelinu, (mol.hm. 30 000-60 000) spojených do několika vláken (5-10) spirálovitě stočených

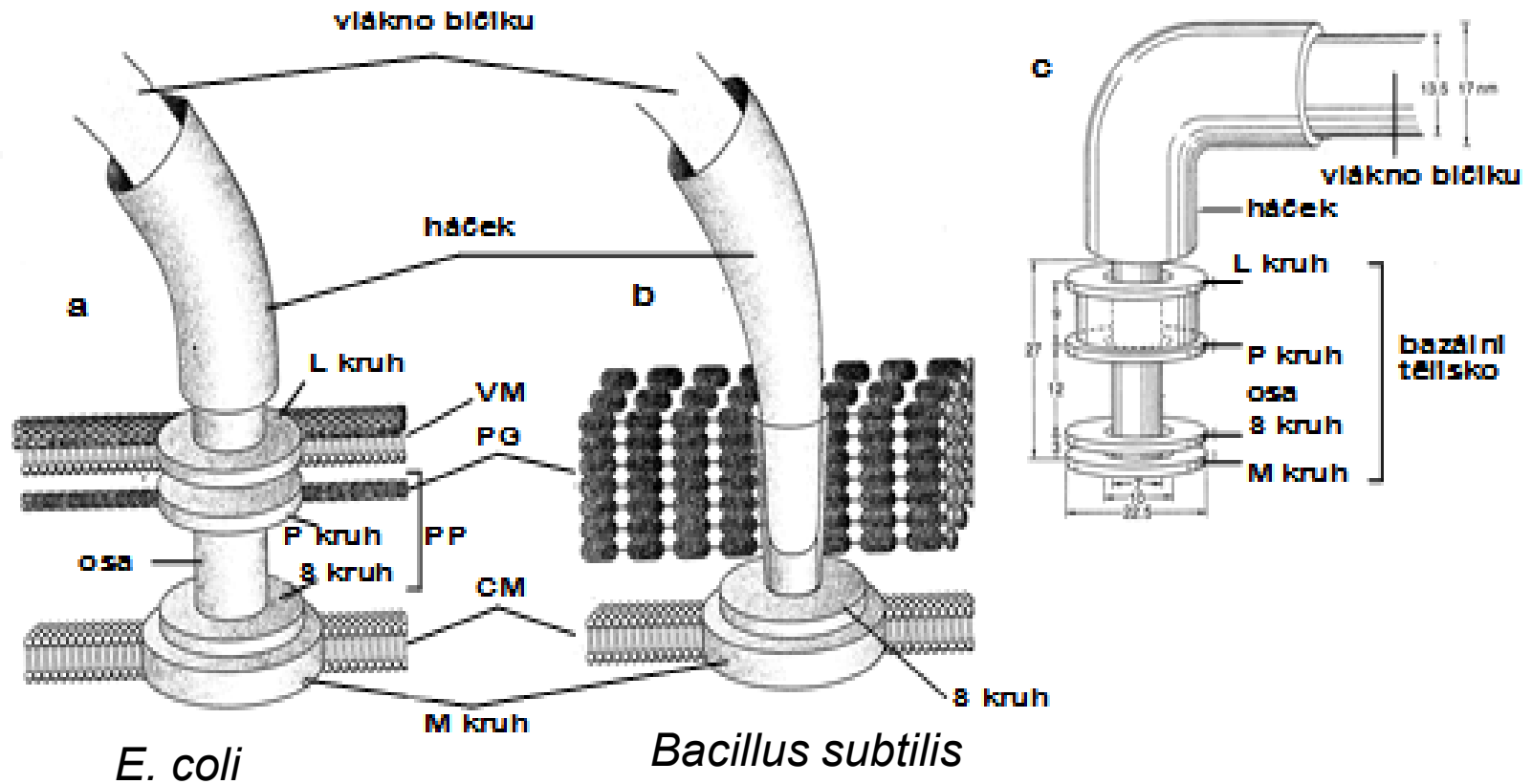
- vlákno je dlouhé až 20  $\mu\text{m}$  o průměru 10-30nm
- flagelin neobsahuje cystein a tryptofan
- vlákno je zakončeno „uzavíracím“ proteinem
- některé bakterie mají ještě strukturu obalující bičík (*V.cholerae* – lipopolysacharidová vrstva)
- V živném mediu doroste asi za 10-20 minut

- **Háček** – je složen z identických globulárních bílkovin (jsou jiné než flagelin). Představuje asi spojení mezi vláknem a bazální částí bičíku
- **Bazální část** – kotví bičík do buněčné stěny a cytoplazmatické membrány. Je zodpovědná za pohyb bičíku. Jde o disky, tvořené 9 různými bílkoviny. Jejich počet a umístění je závislé na  $G^+$  nebo  $G^-$

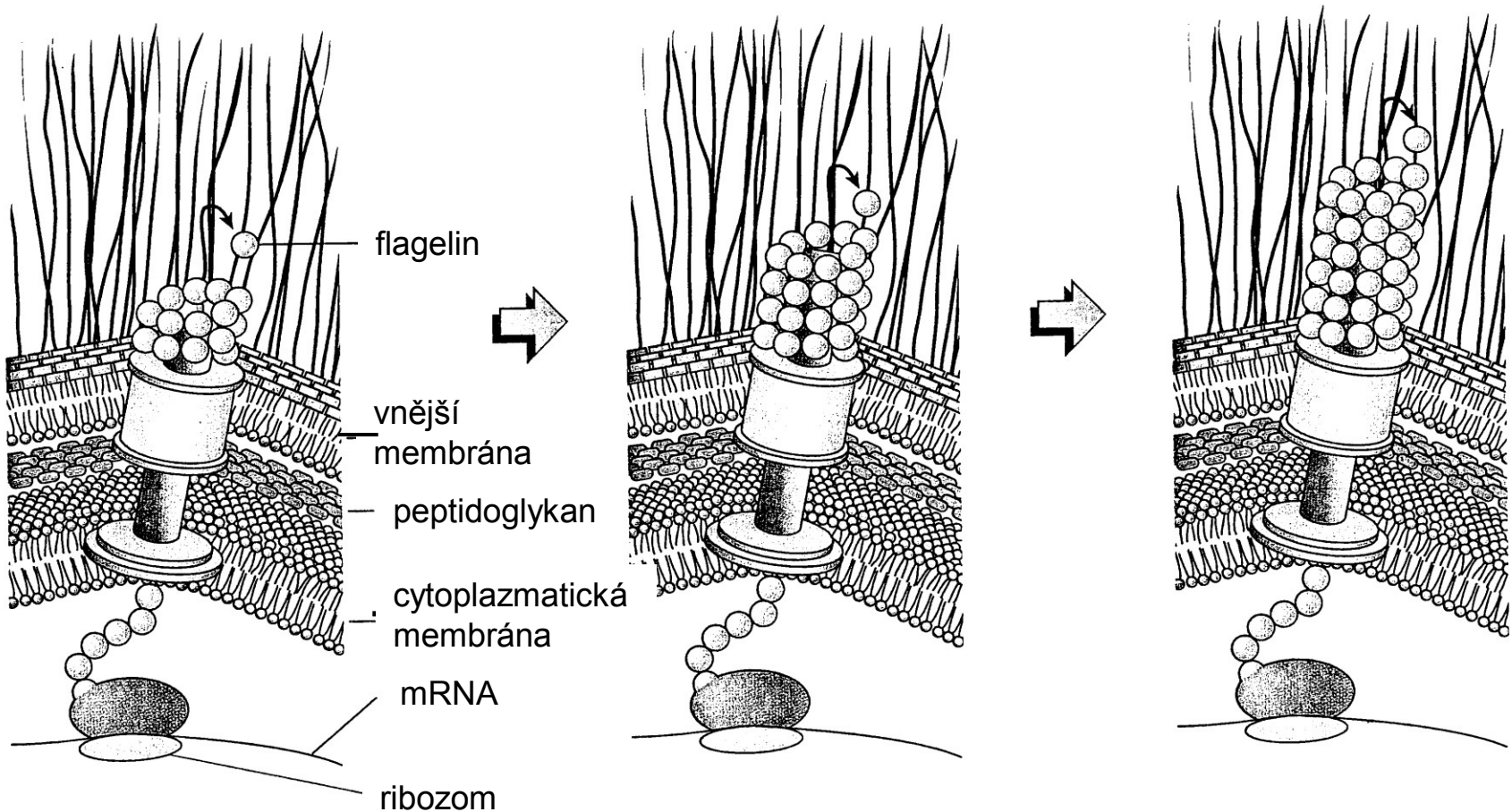




# Bičík ultrastruktura



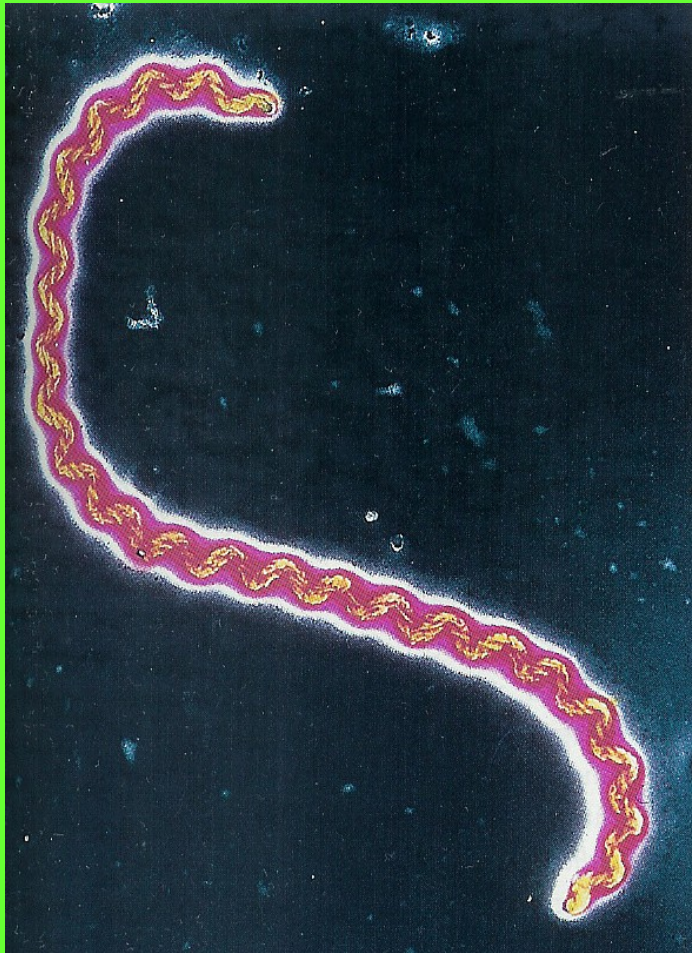
# Bičík růst bičíkového vlákna



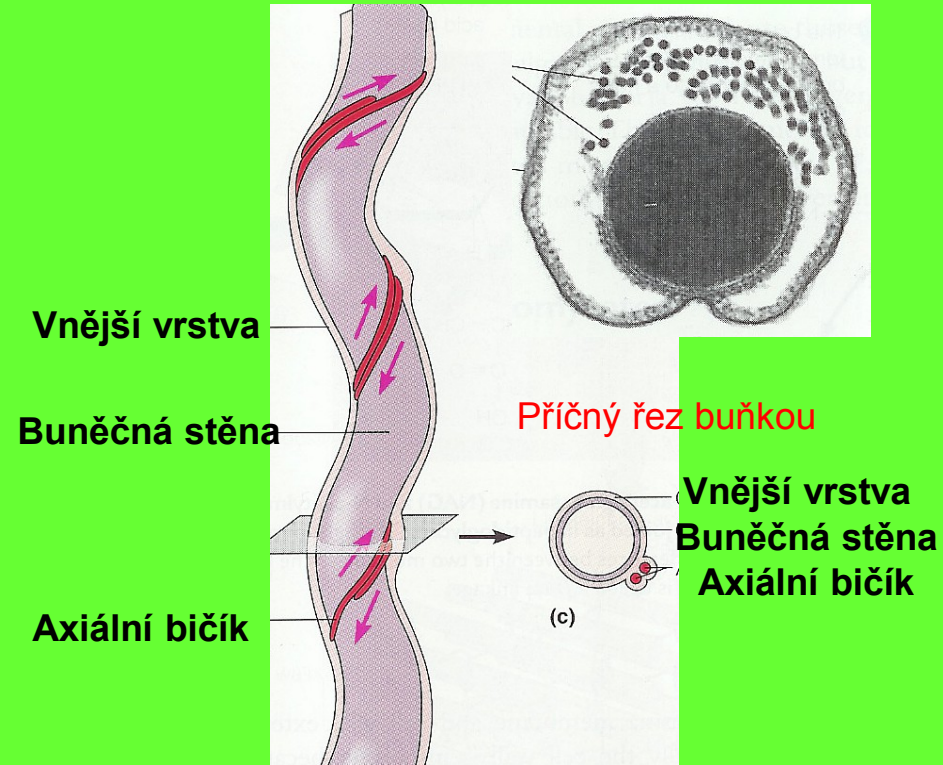
# Bičík

- syntéza bakteriálního bičíku je komplexní proces, do něhož je zahrnuta exprese nejméně **30 genů**
- více než 10 genů kontroluje syntézu proteinů háčku a bazálního tělíska
- ostatní geny kontrolují syntézu flagelinu, jeho konstrukce nebo funkce
- flagenin se syntetizuje uvnitř buňky a sekrečním systémem typu III je přenesen přes vnější membránu.

# Obvyklé struktury bakteriální buňky axiálně uložený bičík

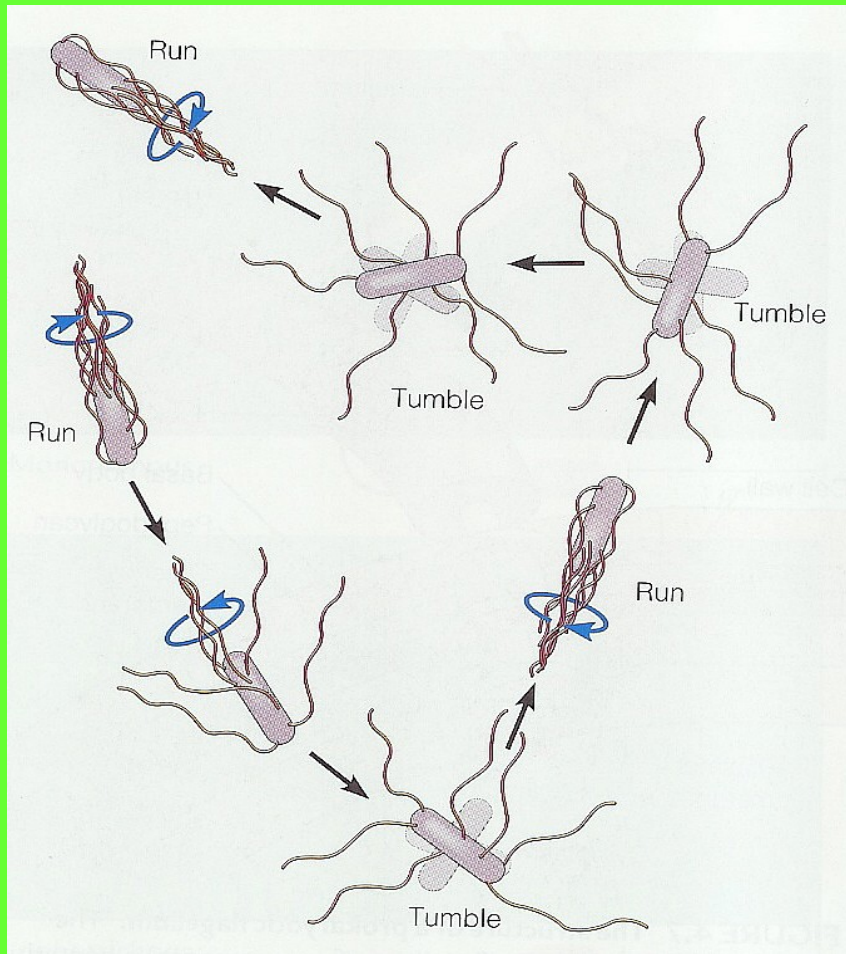


*Leptospira* sp.





# Pohyb bakteriální buňky



- bičík je rigidní a rotuje
- rotační pohyb umožňují M-kruh (rotor) a S-kruh (stator)
- zdrojem energie je protonový gradient. Na jednu otáčku se spotřebuje asi 250 protonů
- pohyb bakterie je rotační, lokomoční, **Brownův**. Dopředu se pohybuje po zakřivené dráze, zastaví se, vrtí a točí. Nový směr pohybu je zcela náhodný.
- otáčení buňky je proti směru hodinových ručiček
- rychlost pohybu je asi 50  $\mu\text{m}$  za sekundu
- pohyb bičíku usnadňuje také taxi – **chemotaxi, fototaxi**



# Inkluze

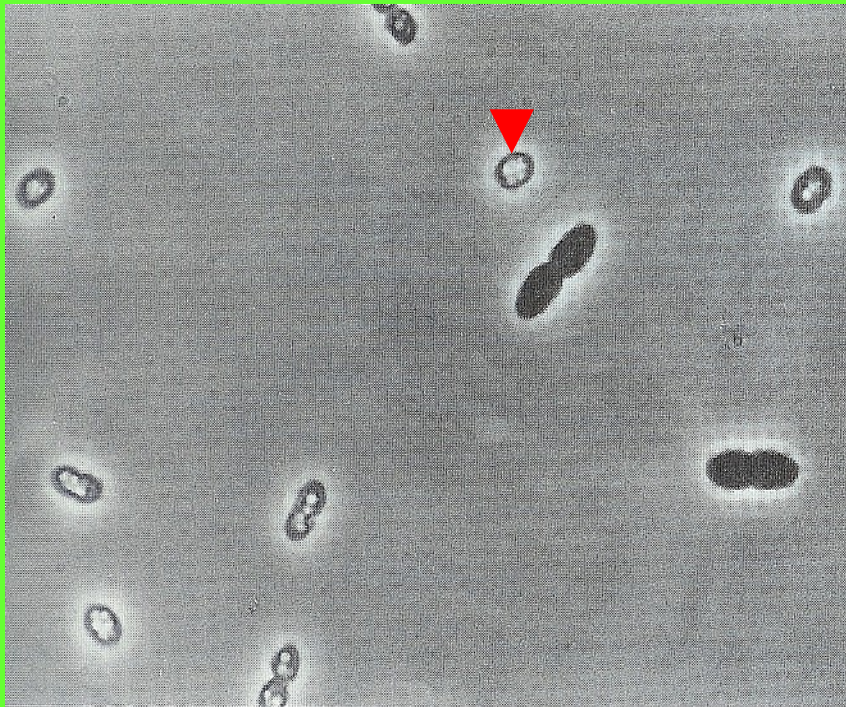
- **Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou**
  - \* Glykogenová granula
  - \* Granula kyseliny poly- $\beta$ -hydroxymáselné
  - \* Granula síry
  - \* Plynové váčky
  - \* Karboxyzómy
  - \* Chlorobiové váčky
- **Inkluze bez membrány**
  - \* Glykogenová granula
  - \* Polyfosfátová granula
  - \* Krystaly
  - \* Parasporální inkluze

# Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou - glykogen

- glykogen je nerozpustný polymer glukózy,  $\alpha$ -1,4-glukan s četným větvením  $\alpha$ -1,6-vazbami (i více než 100 000 molekul)
- větvení nastává na každé 8. až 10. molekule glukózy
- buňka může obsahovat glykogenu až do 50% suché hmotnosti
- je náhodně distribuován v cytoplazmě ve formě tělísek viditelných ve světelném mikroskopu po obarvení
- glykogen je rezervní látka a hromadí se v buňkách po kultivaci v prostředí s nadbytkem uhlíku nebo nedostatku dusíku



# Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou – granula kyseliny poly- $\beta$ -hydroxymáselné

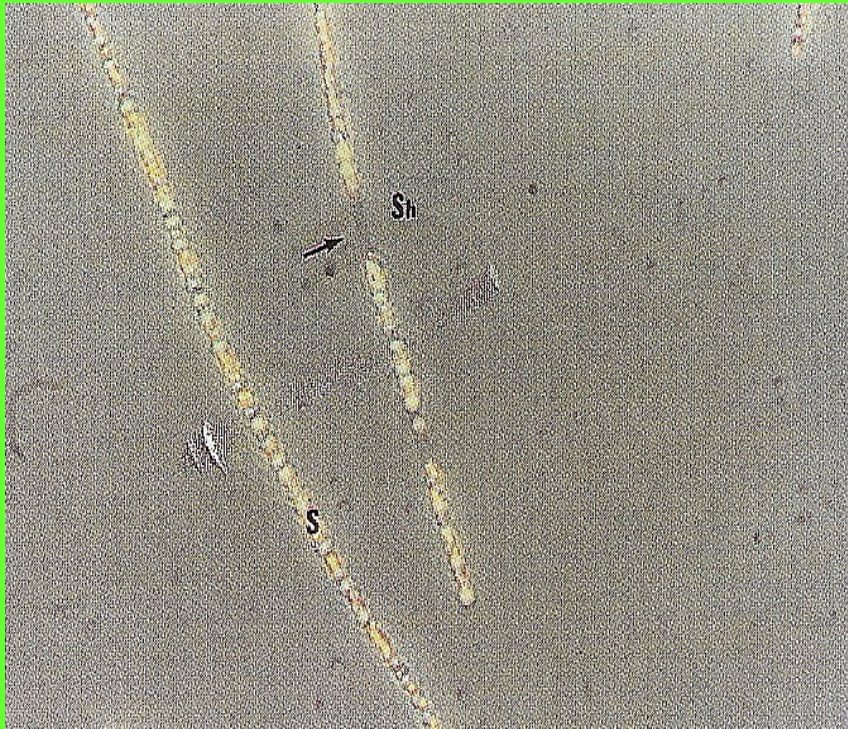


*Azotobacter* sp.

- tvoří v cytoplazmě kapénky, viditelné ve světelném mikroskopu jako světlolomná tělíska
- může tvořit až 60% sušiny bakterie
- granula obsahují až 98% kyseliny poly- $\beta$ -hydroxymáselné a 2 % bílkovin (někdy i štěpy tuků)
- granula jsou tvořena především u aerobních druhů bakterií (rod *Bacillus*, *Pseudomonas*, ale i u fototrofních bakterií)



# Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou – granula síry

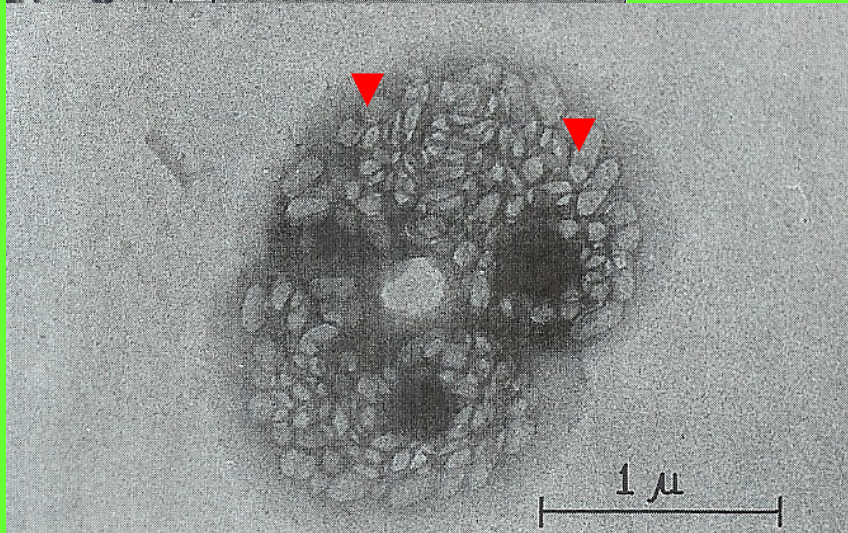
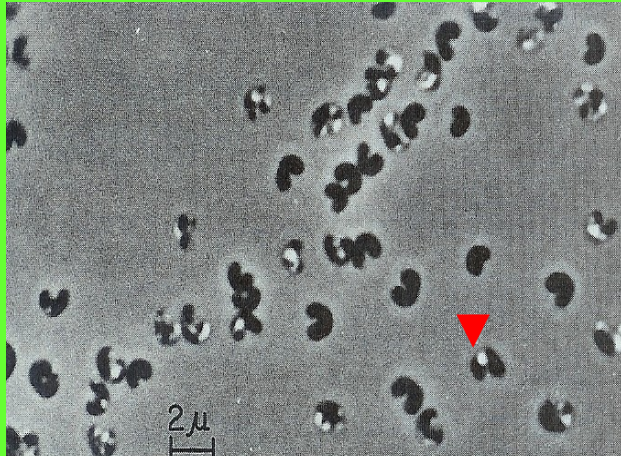


- se vytváří jako rezervní materiál u těch bakterií, které ji využívají jako zdroj energie (chemolitotrofní sírné bakterie)
- nebo je ukládána v cytoplasmě jako  $S_0$  po využití sloučenin síry jako donorů protonů a elektronů u fototrofních bakterií (purpurové sírné nebo zelené sírné)
- některé bakterie mohou také síru ukládat do váčků vzniklých inavaginací cytoplazmatické membrány. V tomto případě však **nejde** o inkluze

*Thiiothrix nivea*

# Inkluze obdané jednovrstevnou membránou –

plynové váčky (gazvezikuly, aerotopy)

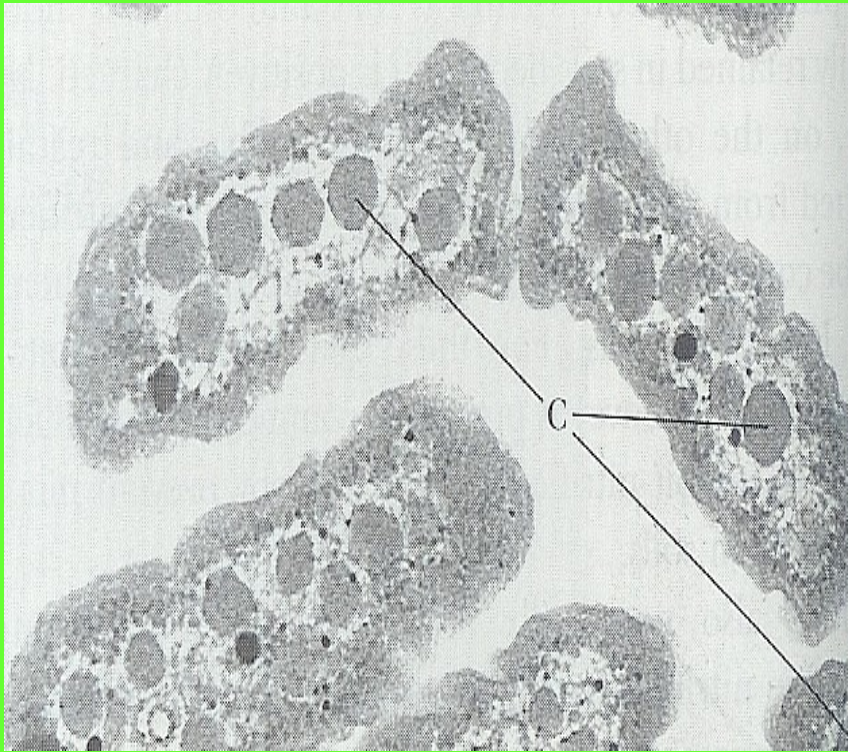


- mají substrukturu cylindrického tvaru s kónickými konci (jako mnohostěn)
- membrána je tvořena výhradně bílkoviny (je **jednovrstevná**)
- je plně propustná pro všechny plyny rozpuštěné ve vodě a vodu
- plynové váčky se nacházejí především u fototrofních bakterií (hlavně u cyamobakterií)
- jedná se o válcovité struktury

*Ancylobacter aquaticus*



# Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou – **karboxyzómy**



*Thiobacillus neapolitanus*

- vyskytují se u bakterií využívajících  $\text{CO}_2$  jako zdroje uhlíku
- karboxyzómy obsahují enzym ribulóza -1,5-bisfosfátkarboxylázu
- obvykle se nacházejí v blízkosti nukleoidu
- nejčastější je přítomnost karboxyzómů u nitrifikačních bakterií, cyanobakterií a thiobacilů

(C – karboxyzómy)

# Inkluze obdané jednovrstevnou fosfolipidovou membránou – chlorobiové váčky

- obsahují bakteriochlorofyl **a**, **c**, **d** a karotenoidní pigmenty
- vyskytují se u fototrofních bakterií
- Jejich šířka je 30-40 nm
- jsou ohraničeny jednoduchou fosfolipidovou membránou
- umístěny jsou v těsné blízkosti cytoplazmatické membrány, ale **nejsou** s ni spojeny
- počet váčků je závislý na metabolické aktivitě

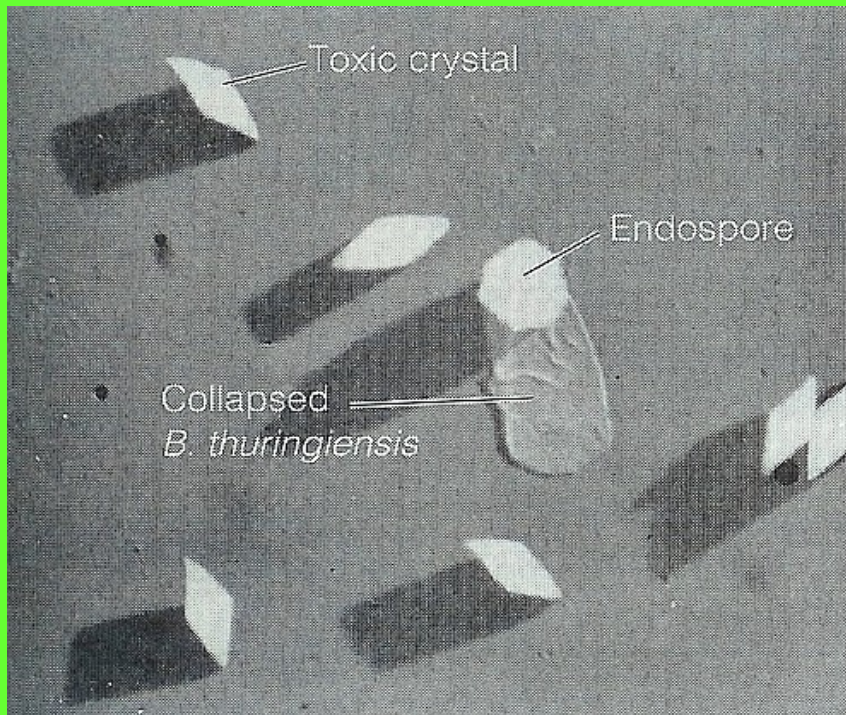
# Inkluze bez membrány – polyfosfátová granula



- metachromatická granula, volutin
- volutin je polyfosfát, který se v buňce hromadí ve formě kulovitých tělísek o velikosti 45nm až 1 $\mu$ m
- je zásobárnou molekul fosfátu
- je tvořen řetízky až 500 molekul ortofosfátu a je proto ve vodě nerozpustný
- vazba mezi molekulami je energeticky bohatá a vyžaduje dodání energie ve formě ATP
$$\text{ATP} + (\text{HPO}_3)_n \rightarrow \text{ADP} + (\text{HPO}_3)_{n+1}$$
- reakce je katalyzována polyfosfát kinázou



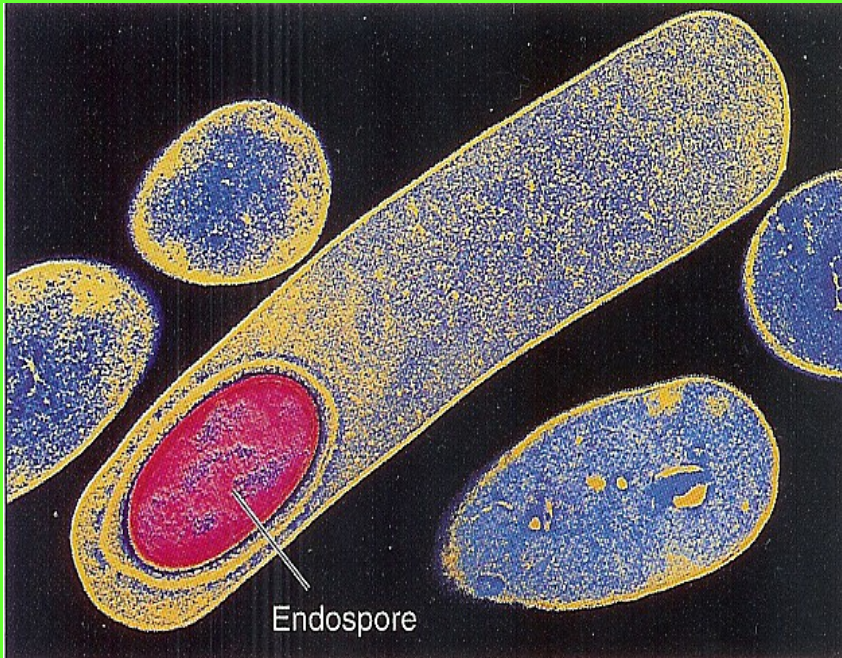
# Inkluze bez membrány – parasporální inkluze



- parasporální inkluze jsou vytvářeny u některých zástupců rodu *Bacillus*
- jsou bipiramidálně oktaedricky symetrické a jsou složeny polypeptidových podjednotek tyčinkovitého tvaru o rozměrech 4 x 12 nm
- molekulová hmotnost těchto podjednotek je asi 230 000
- vznikají jako důsledek nadprodukce bílkovin tvořících obaly endospory
- parasporální inkluze *Bacillus thuringiensis* byly použity jako první bioinsekticid proti moučnému červu

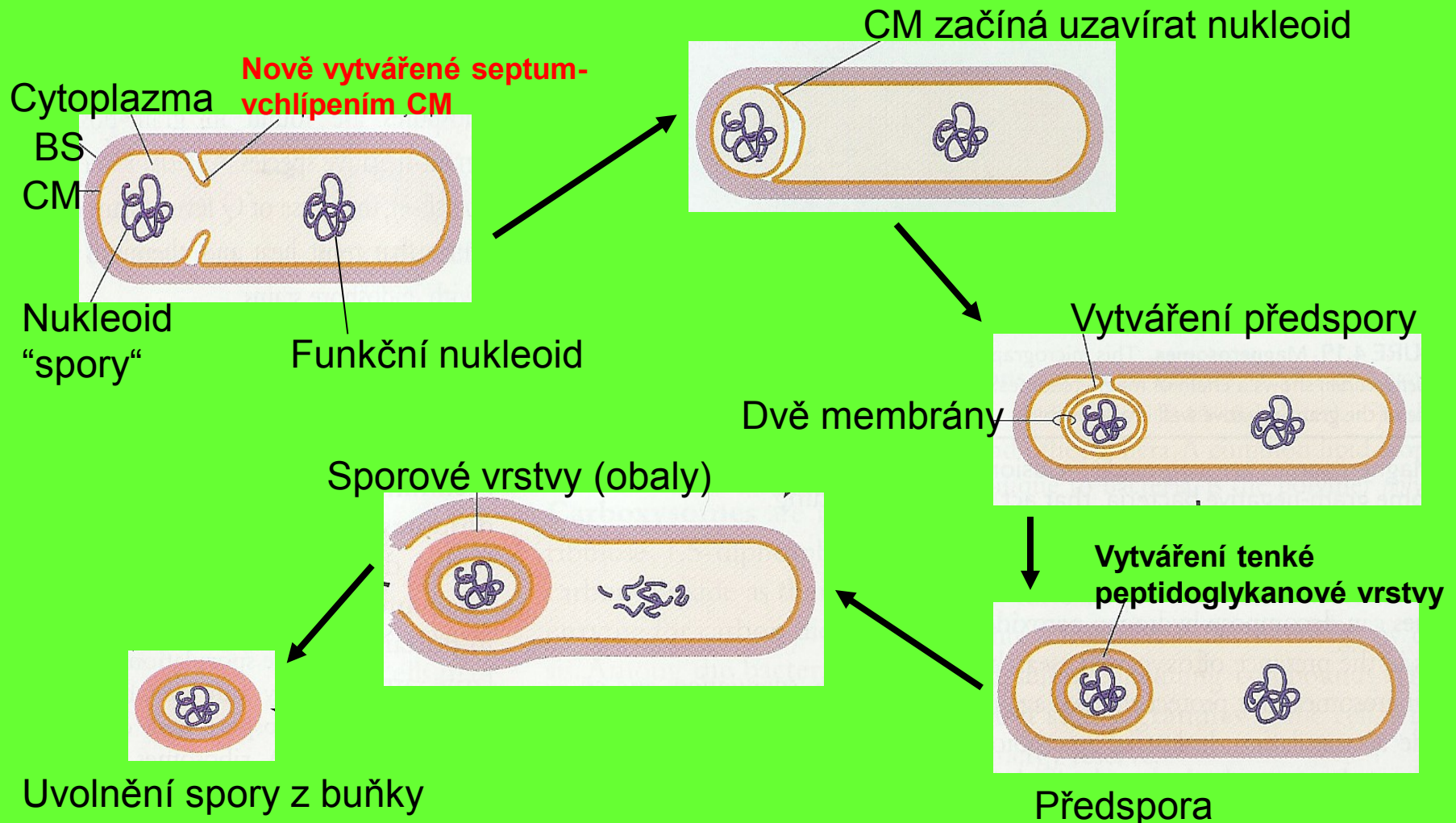


# Vytváření endospor u bakterií

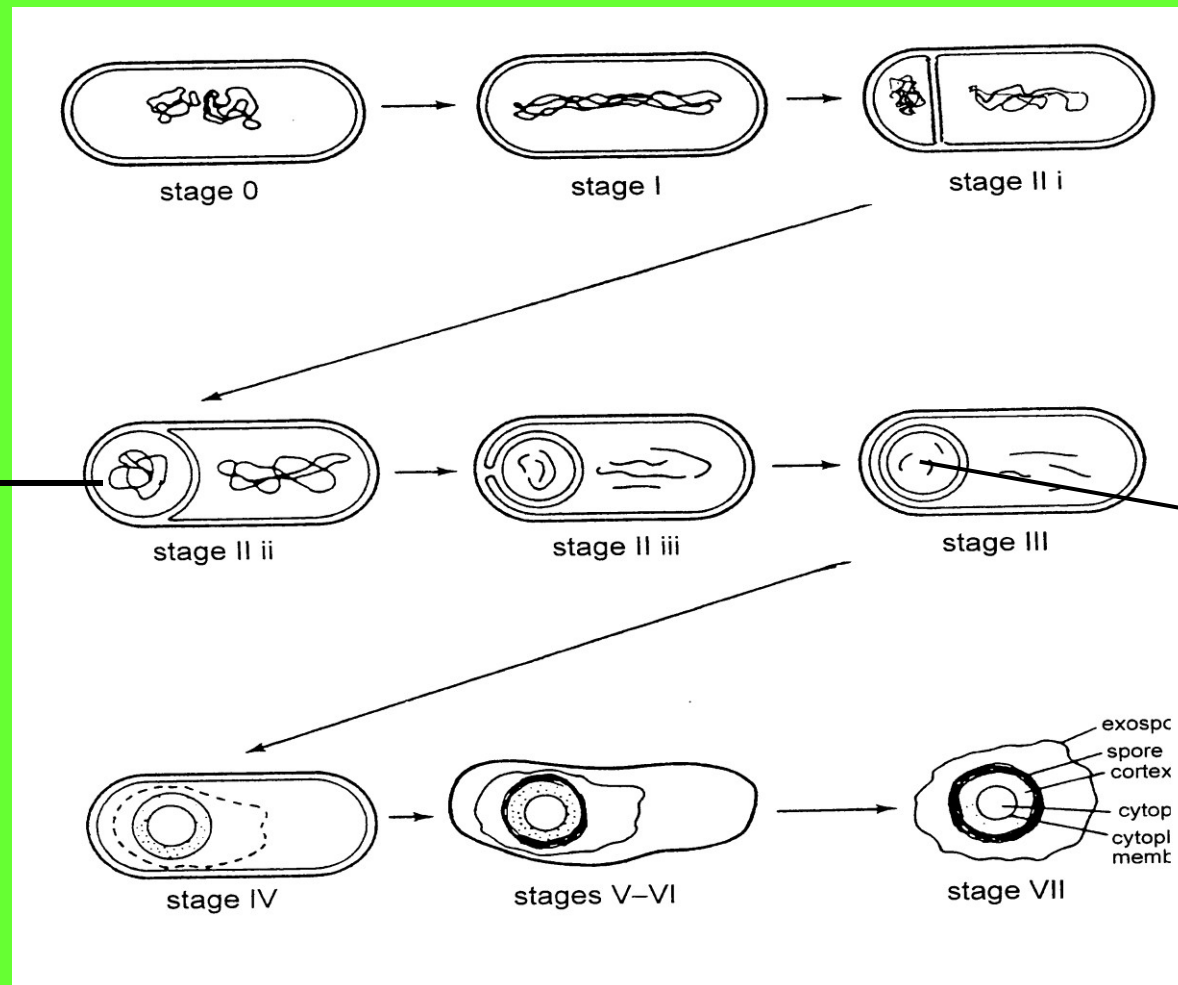


- endospory u bakterií vznikají procesem sporulace
- **endospora není reprodukční, ale klidové stadium** umožňující přečkat nepříznivé vnější podmínky
- na procesu sporulace se podílí asi 30 operonů zahrnujících více než 200 genů
- o tom, zda buňka bude sporulovat se rozhoduje ve fázi G1 buněčného cyklu a jde o proces nahodilý
- v podstatě jde o programovanou smrt buňky
- spory se vytvářejí v prostředí s dostatkem živin (obvykle však ke konci exponenciální fáze růstu), ale nedostatek některé z živin je významným signálem ke sporulaci

# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace



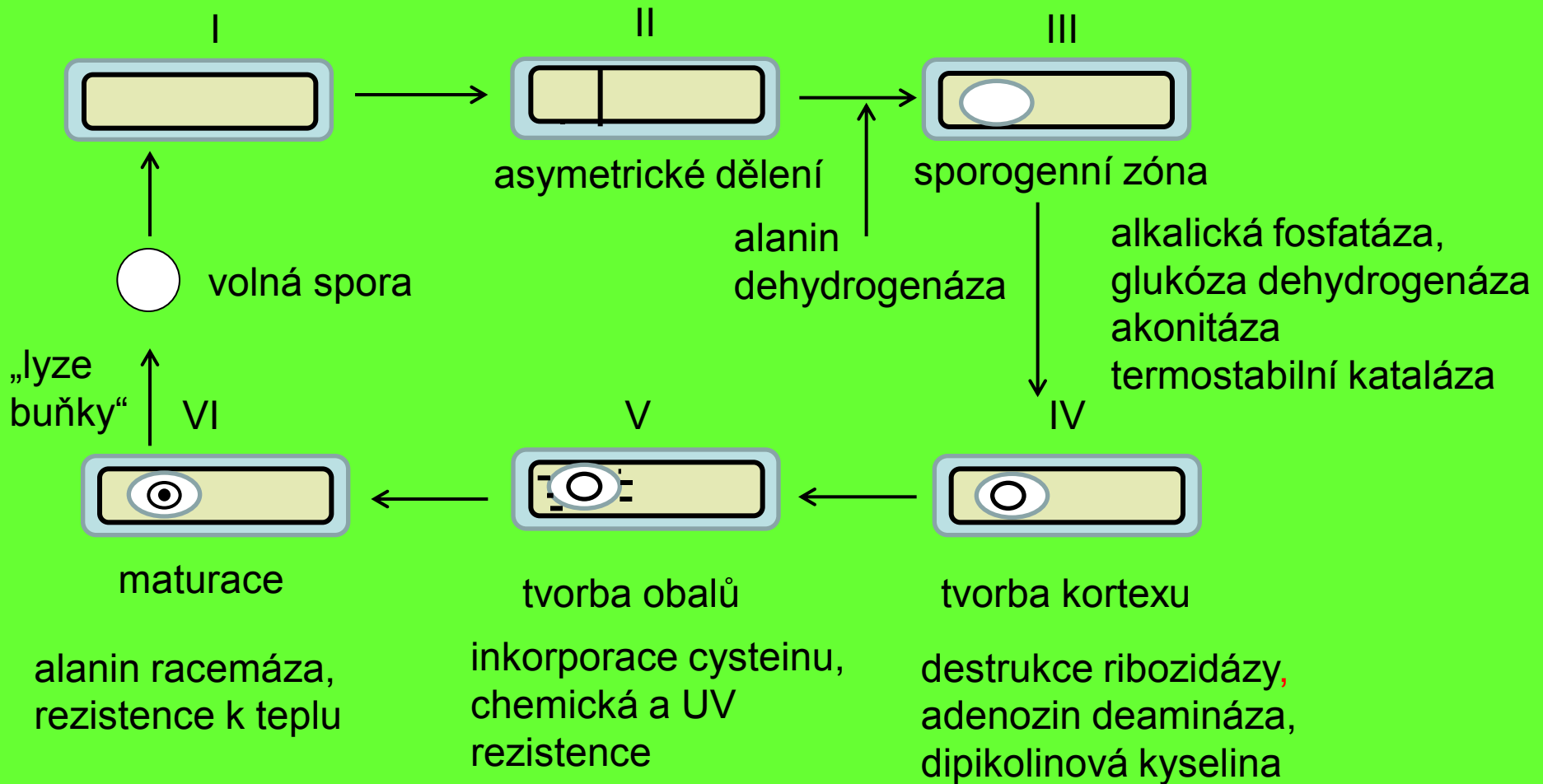
# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace



sporogenní zóna

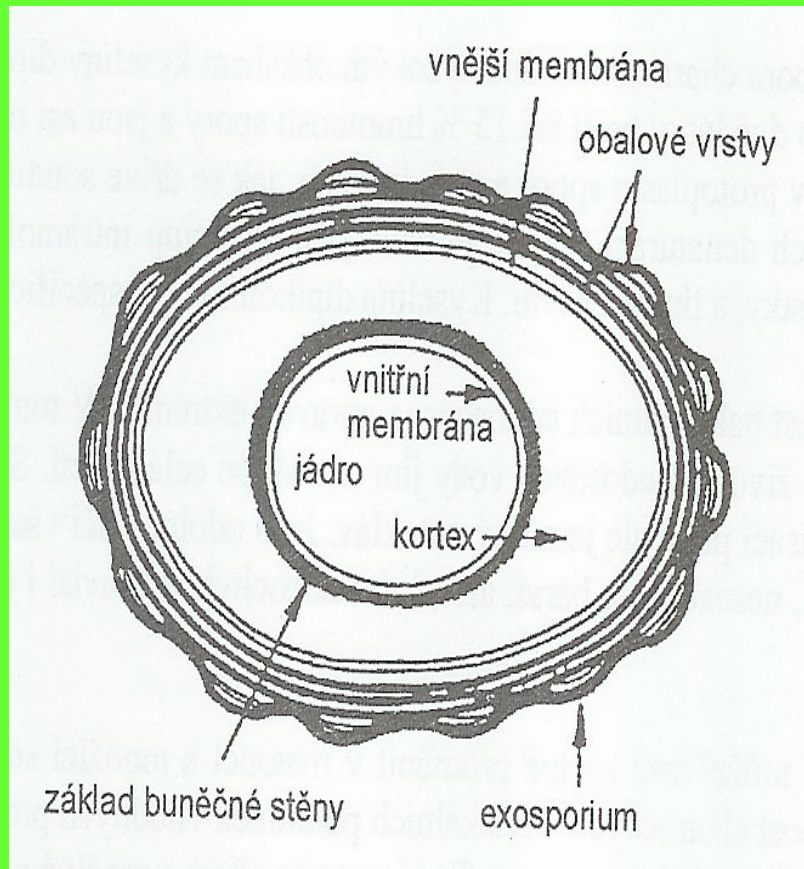
prospora  
(prespora)

# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace





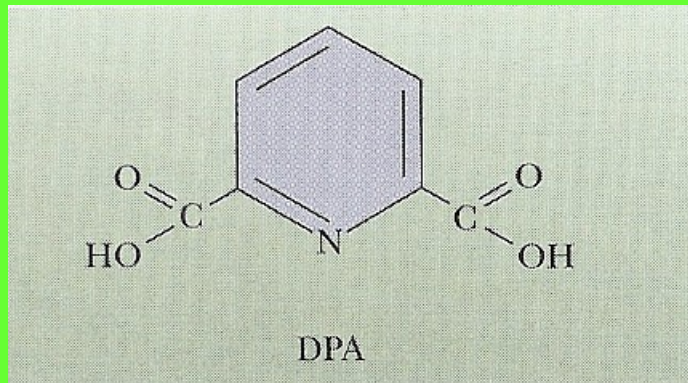
# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace - struktura spory



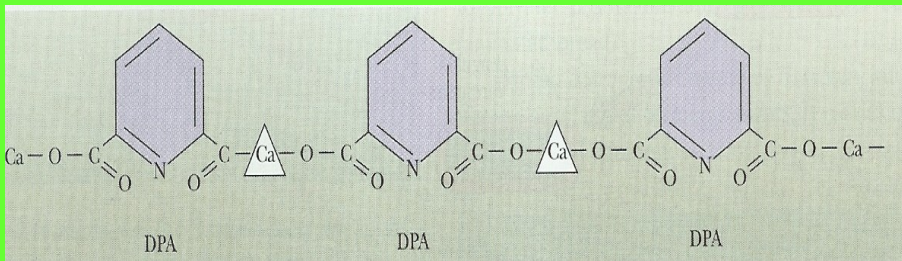
- vnitřní membrána (**intina** – vzniká z CM původní buňky)
- tenká peptidoglykanová vrstva (základ “budoucí“ buněčné stěny – peptidoglykanu)
- **kortex** (peptidoglykan) – přítomný pouze v bakteriální spoře, je tvořený koncentrickými vrstvami specifického peptidoglykanu. Je zodpovědný za mechanickou ochranu spory
- vnější membrána (**extina** - vzniká z CM)
- **obalové vrstvy** tvořené bílkovinou – plášť spory (představuje asi 30-60% sušiny spory). Bílkoviny jsou bohaté na cystein
- **exosporium** – jemná vrstvička, která se vytváří u některých sporulujících bakterií a je zodpovědná za vnější strukturu spory (bílkovina, polysacharid, lipid, fosfát)
- Přítomnost kyseliny dipikolinové udává termorezistenci spory

# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace (vlastnosti spory)

Kyselina dipikolinová



Chelát - kalciumdipikolinát

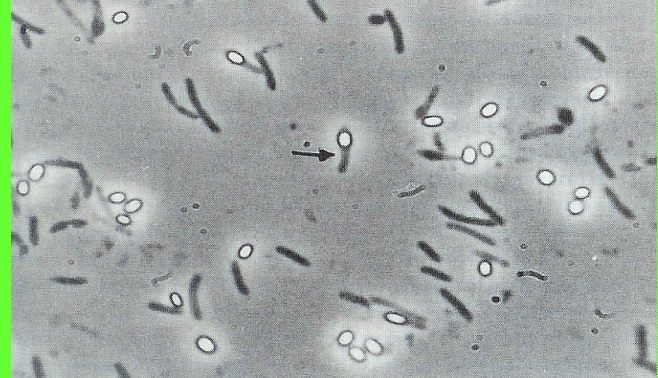


- Spora obsahuje minimální množství vody
- Je silně světlolomná
- Obsahuje kalciumdipikolinát (10 až 20% hmotnosti spory) – molární poměr 1:1
- Vysoká termorezistence
- Vysoká odolnost vůči extrémním faktorům vnějšího prostředí (záření, kyseliny, rozpouštědla, vysoký hydrostatický a osmotický tlak, ...)
- Neměřitelný metabolismus
- Dlouhá doba přežívání (několik desítek let)

# Vytváření endospor u bakterií – proces sporulace (umístění spory)



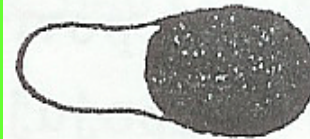
*Bacillus subtilis*



*Klostridium tetani*



centrální



subterminální



terminální



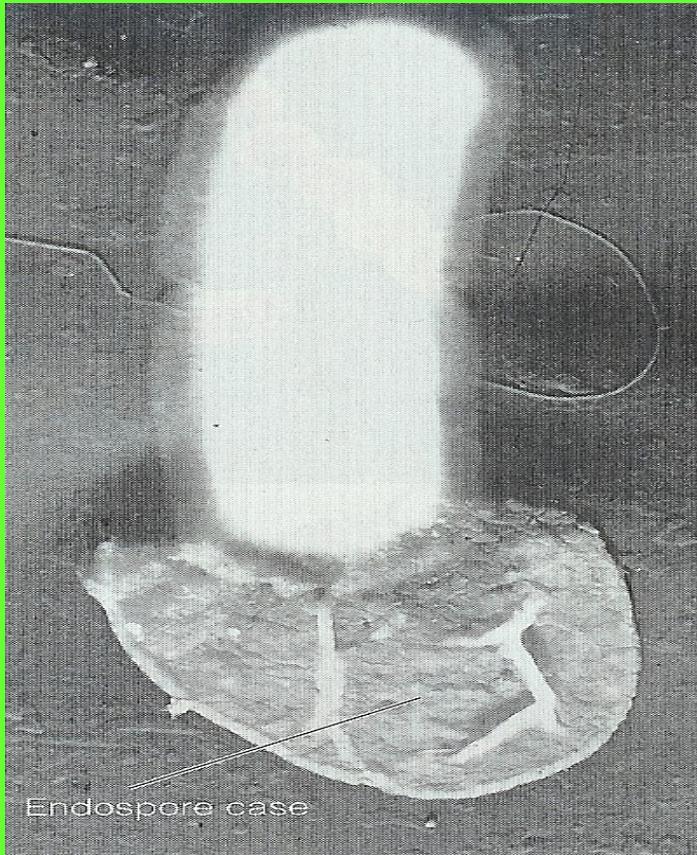
Plektridium



# Klíčení bakteriální endospory (germinace)

Proces germinace má **tři** fáze

- **1. Aktivace spory** –  
spočívá v narušení  
sporového pláště  
(mechanický oděr,  
zvýšená teplota,  
nízké pH, přítomnost  
malých molekul –  
zejména aminokyselin  
a vitaminů atd.)





# Klíčení bakteriální endospory (germinace)

- **2. Vlastní klíčení spory** – vyžaduje přítomnost vody, spouští se chemické impulzy z prostředí, je hydrolyzován kortex, uvolňuje se sporový protoplast, do prostředí se uvolňuje Ca-dipikolinát, do buňky vstupuje voda,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  a jiné ionty a větší molekuly. Do media se uvolní více než 30% hmotnosti spory. V průběhu klíčení mizí termorezistence a světlolomnost. Procesy, které probíhají mají degradativní charakter a jsou výsledkem aktivity enzymů přítomných ve spoře. **Nové bílkoviny nevznikají. Celý proces klíčení u jednotlivé spory trvá asi 1 minutu.**
- **3. Diferenciační fáze** – při ní je sporový protoplast kvalitativně přeměněn ve vegetativní buňku. V určitém pořádku jsou přepisovány jednotlivé specifické geny, v určitém pořádku se objevují jednotlivé typy mRNA, probíhá tvorba příslušných bílkovin, probíhá replikace DNA atd. Germinace končí prvním dělením buňky – dceřinné buňky mají stejnou velikost, jako buňka, z níž vznikla spora.

# Průběh sporulace *Bacillus thuringiensis*

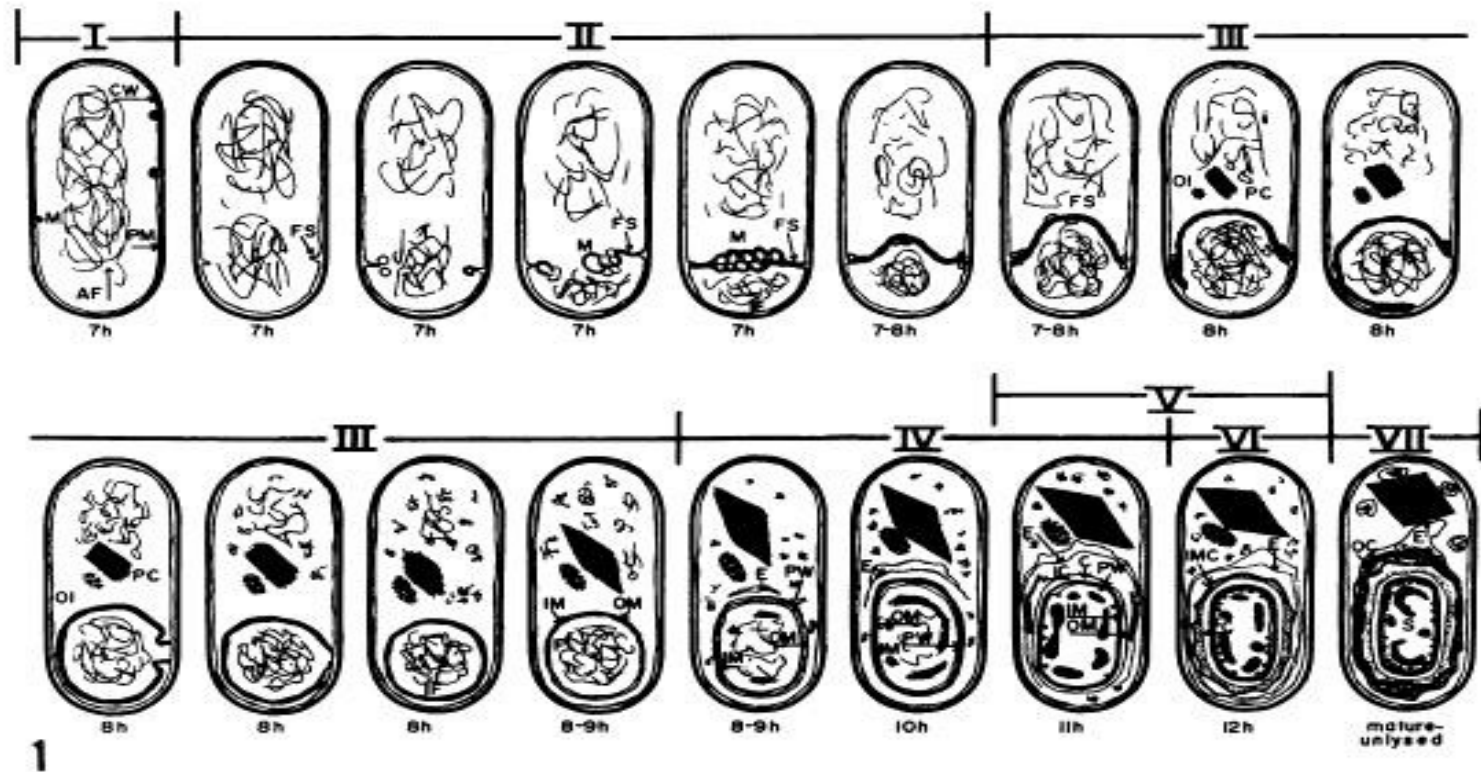
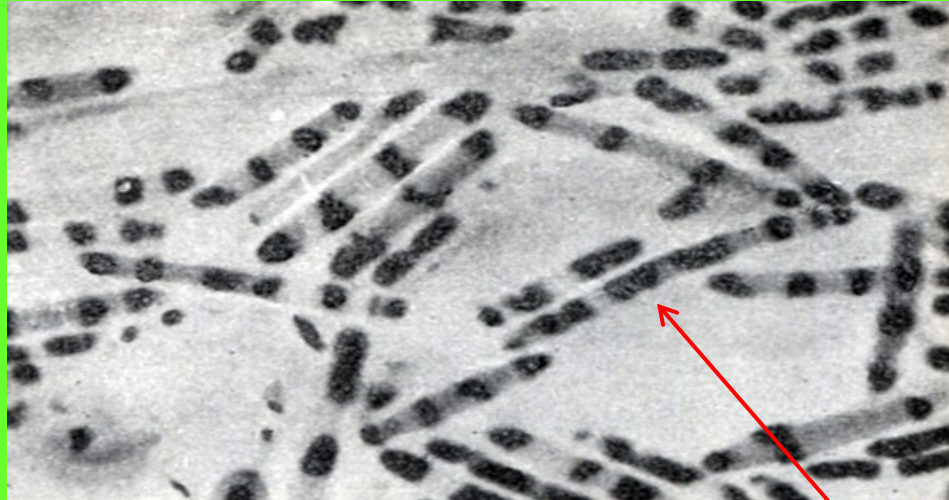
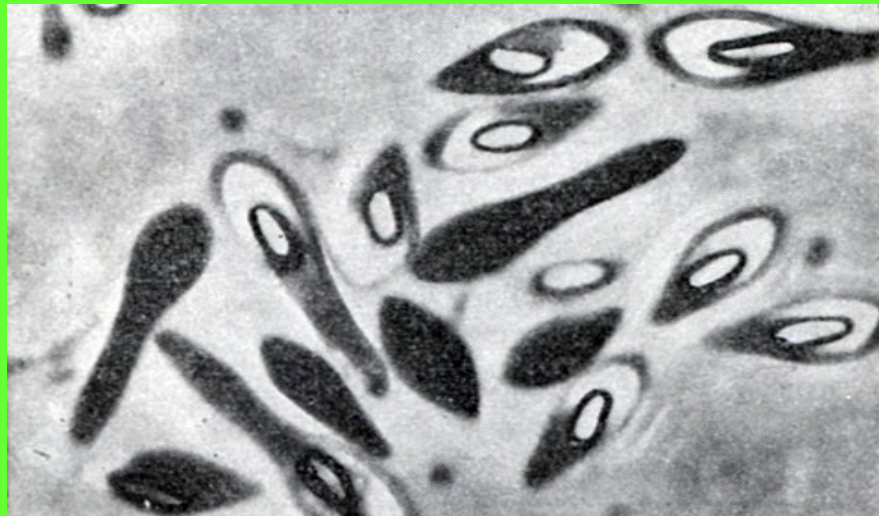


FIG. 1. Diagrammatic scheme of sporulation in *B. thuringiensis*. Abbreviations: M, mesosome; CW, cell wall; PM, plasma membrane; AF, axial filament; FS, forespore septum; IF, incipient forespore; OI, ovoid inclusion; PC, parasporal crystal; F, forespore; IM, inner membrane; OM, outer membrane; PW, primordial cell wall; E, exosporium; LC, lamellar spore coat; OC, outer spore coat; C, cortex; IMC, incorporated mother cell cytoplasm; S, mature spore in an unlysed sporangium.

# Endospory u klostridií



Mladé intenzivně se dělí se buňky – dělí se nukleoidy



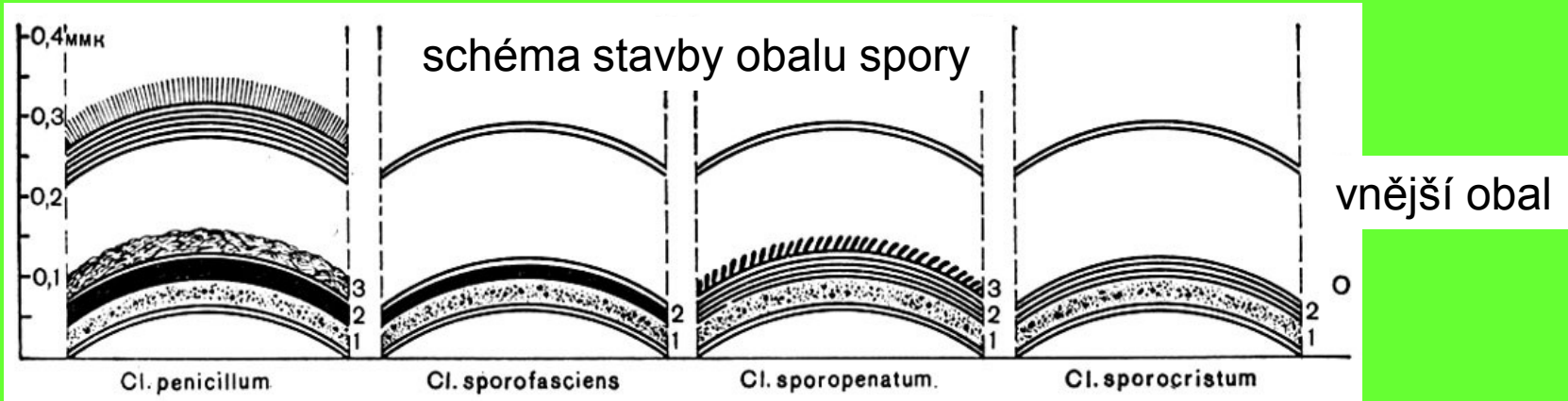
klostridiální typ spory



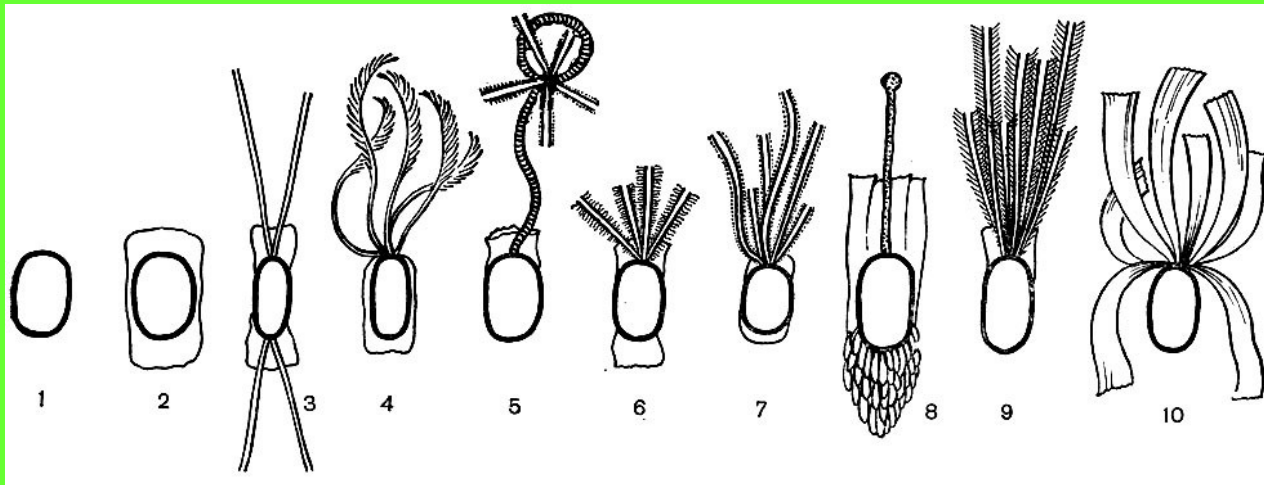
plektridiální typ spory



# Endospory u klostridií



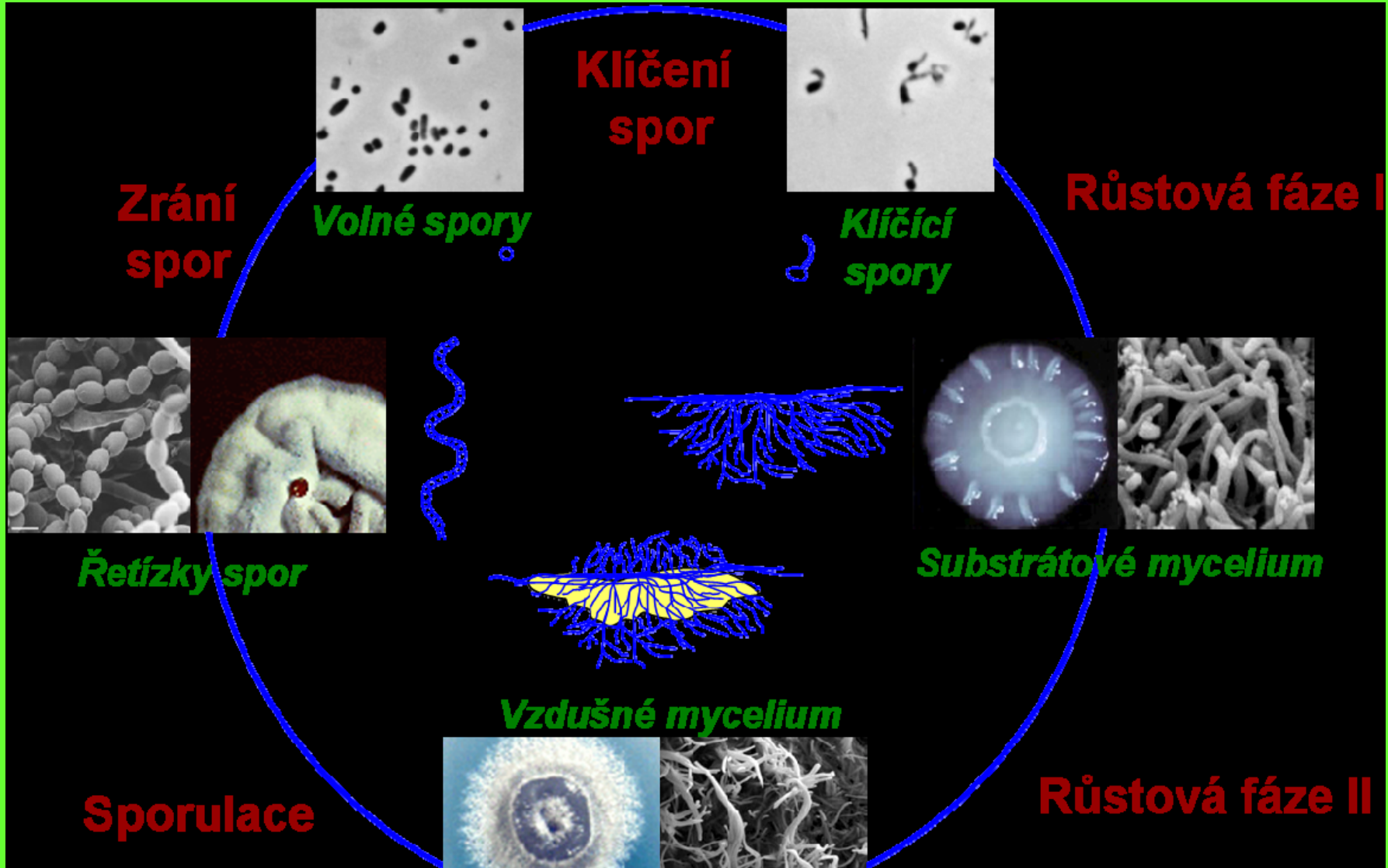
## povrchové struktury spory



- 1- *C.felsineum*
- 2- *C.pasteurianum*
- 3- *C.sporopetatum*
- 4- *C.sporosetosum*
- 5- *C.saprogenes*
- 6- *C.sporofaciens*
- 7- *C.sartgoformum*
- 8- *C.corinoformum*
- 9- *C.penicillum*
- 10- *C.taeniosporum*



# Sporulace streptomycet



# Sporulace streptomycet

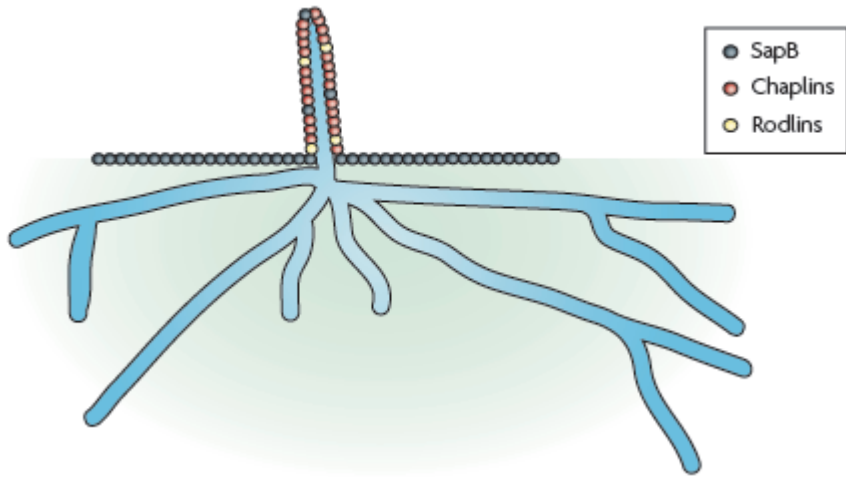


Schéma umístění hydrofobních povrchových proteinů při tvorbě vzdušného mycelia



Vzdušné hyfy rostou ve špičce a v prodloužení nesou apikální sestavy proteinů **DivIVA**. Tvoření apikální sporogenní buňky vede k zastavení růstu. Protein **FtsZ** se sestavuje do šroubovicových vláken, která se přeměňují do pravidelně rozmístěných **Z** prstenců, řídících tvorbu sporových sept. Po dokončení septa, prespory vytvoří silné stěny spor, které vyžadují přítomnost "bakteriálního aktinu" **MreB**. Ten je lokalizovaný nejdříve v místě uzavření septa a potom se objevuje v okolí vznikajících spor. **MreB7** zajišťuje správné sestavení stěny spory

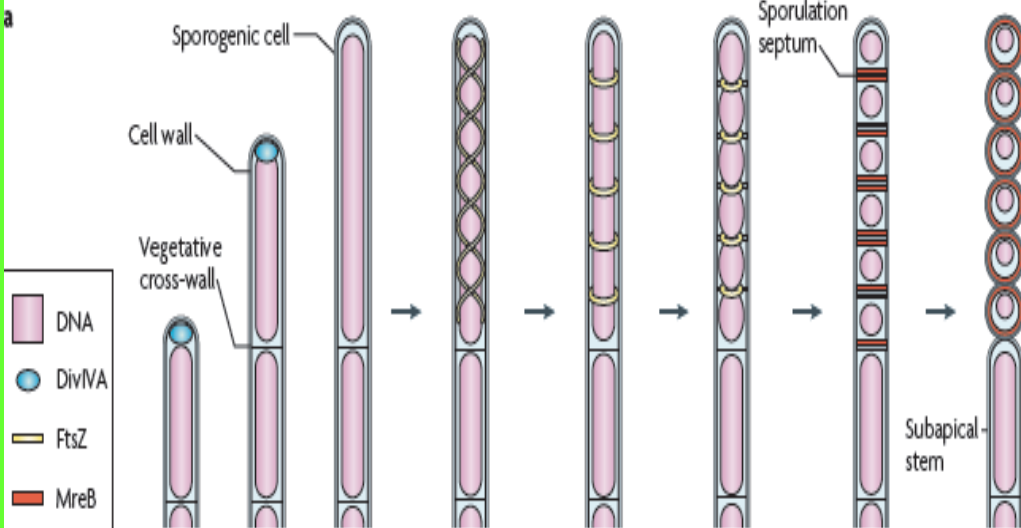


Schéma realizace procesů vedoucích k diferenciaci vzdušných hyf do spor