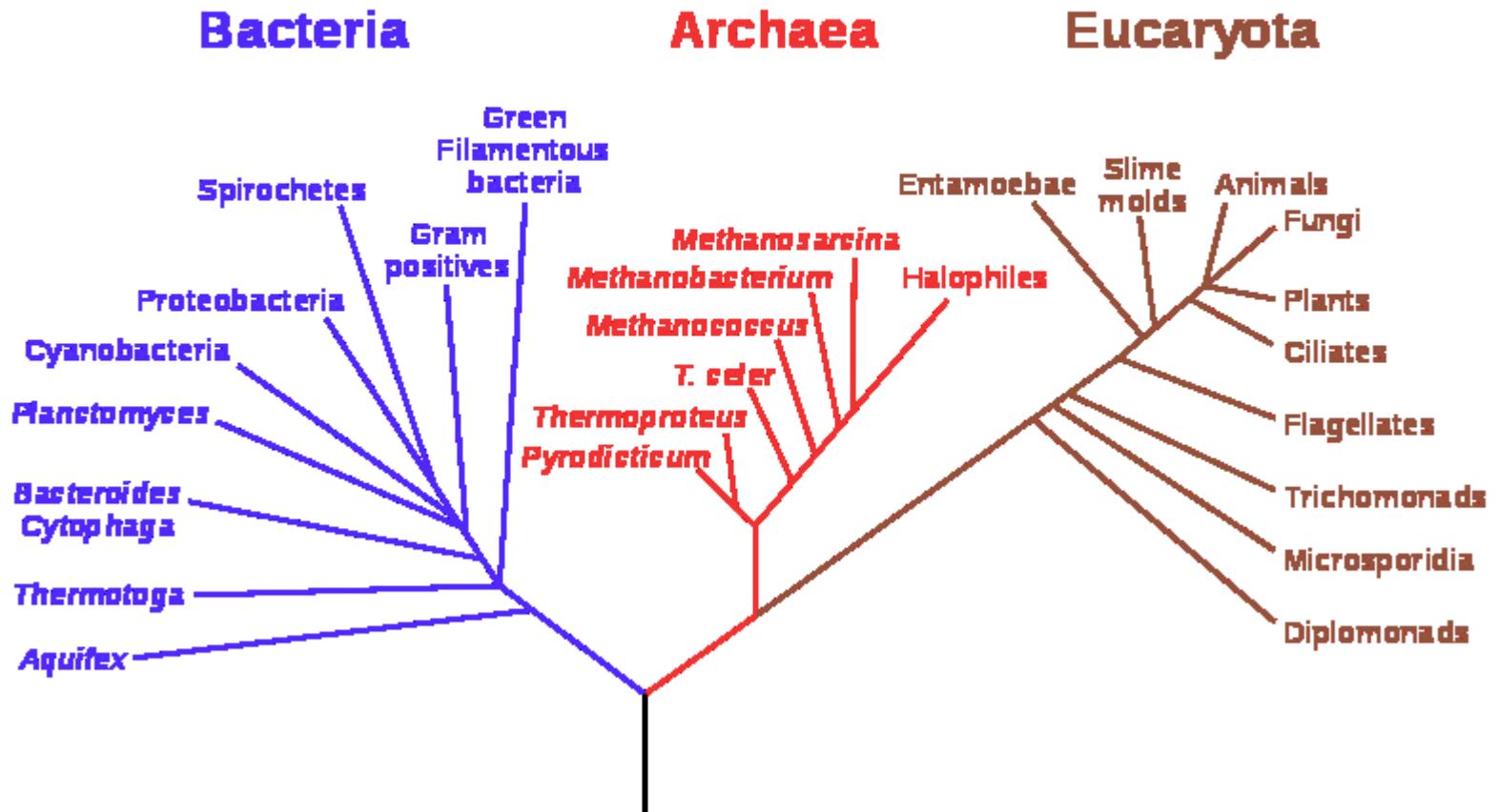
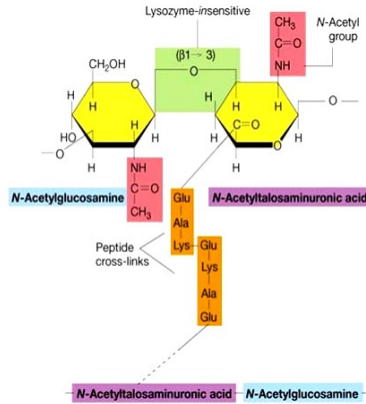


# Archea

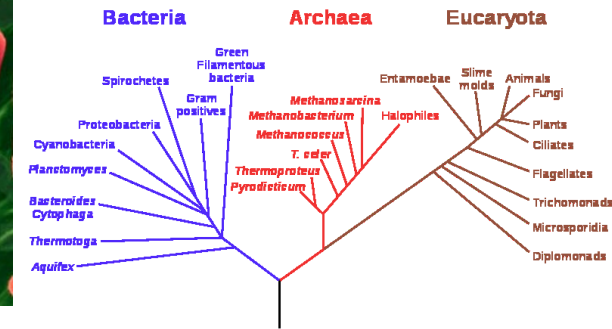
## Phylogenetic Tree of Life



# Biologie *Archea*

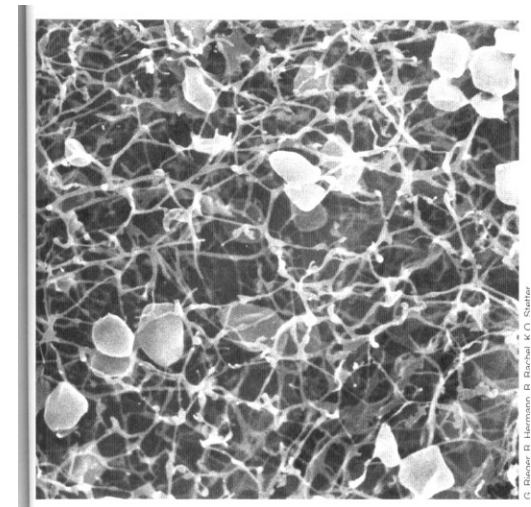
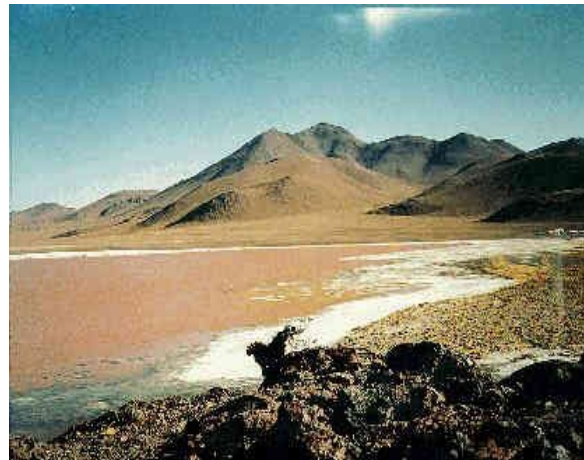
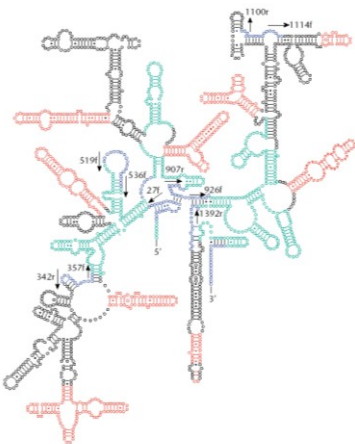


## Phylogenetic Tree of Life



Dr. Carl Woese


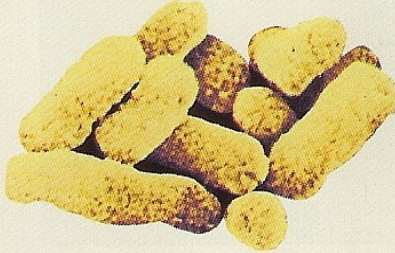
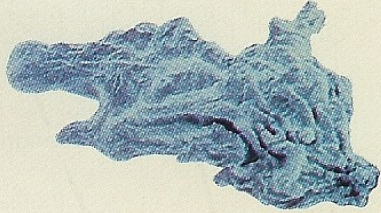
[Archaea](#) - 1977 ([16S rRNA](#))



C. Bower, B. Ebermann, B. Barchau, & C. Schuster

Figure 1 Secondary structure of a 16S rRNA molecule based on the *E. coli* structure (Maldak, et al., 1994; available in the public domain Ribosomal Database Project). Highly variable regions are red; highly conservative stretches are green. Binding sites of primers used in PCR amplification of the rRNA gene are blue, with the direction of amplification indicated by arrows. The other nucleotides are black.

# Srovnání některých znaků Archaea, bakterií a eukaryot

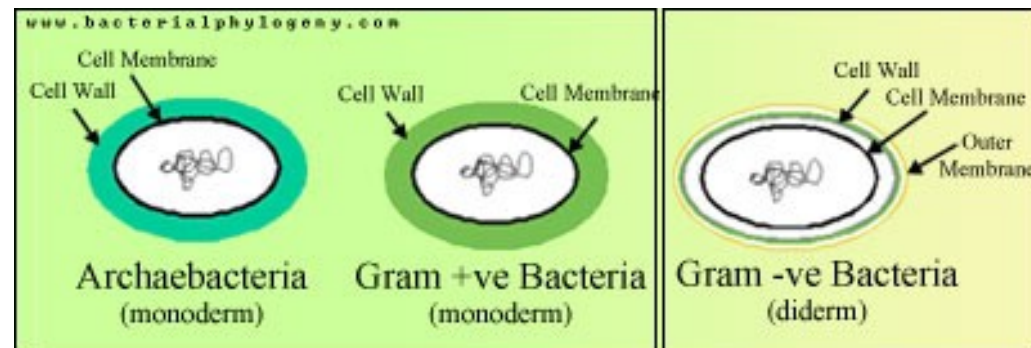
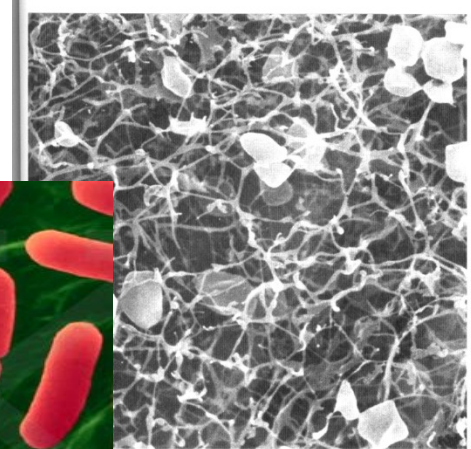
	Archaea	Bacteria	Eukaryotes
	 <p><i>Methanosarcina</i></p> <p>SEM   10 μm</p>	 <p><i>E. coli</i></p> <p>SEM   1 μm</p>	 <p><i>Amoeba</i></p> <p>SEM   1 μm</p>
Cell Type	Prokaryotic	Prokaryotic	Eukaryotic
Cell Wall	Varies in composition; contains no peptidoglycan	Contains peptidoglycan	Varies in composition; contains carbohydrates
Membrane Lipids	Composed of branched carbon chains attached to glycerol by <u>ether</u> linkage	Composed of straight carbon chains attached to glycerol by <u>ester</u> linkage	Composed of straight carbon chains attached to glycerol by <u>ester</u> 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

\*Binds to ribosomal protein; found in all bacteria.

\*\*A sequence of bases on tRNA found in all eukaryotes and bacteria: guanine-thymine-pseudouridine-cytosine-guanine.

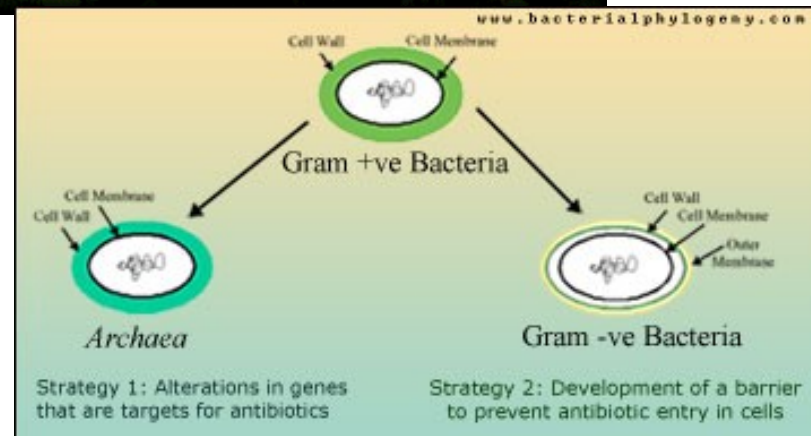
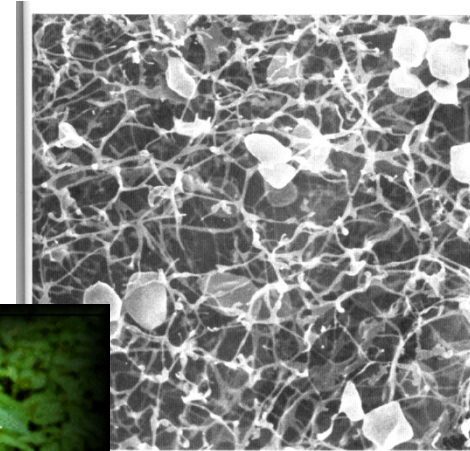
# Společné vlastnosti *Archaea* a *Bacteria*

- Prokaryotní stavba
- Malá velikost buněk (mikrometry)
- Jeden kruhový chromozom
- Dělení buněk
- Ribozomy 70S
- Zásobní látky podobné jako u bakterií
- Fixace molekulárního dusíku
- Bičík – podobná funkce, ale složení a původ se liší
- 63% genů jako u bakterií (tentýž poměr mezi bakteriemi)
- Nejvíce rozdílů v replikaci DNA transkripci a translaci

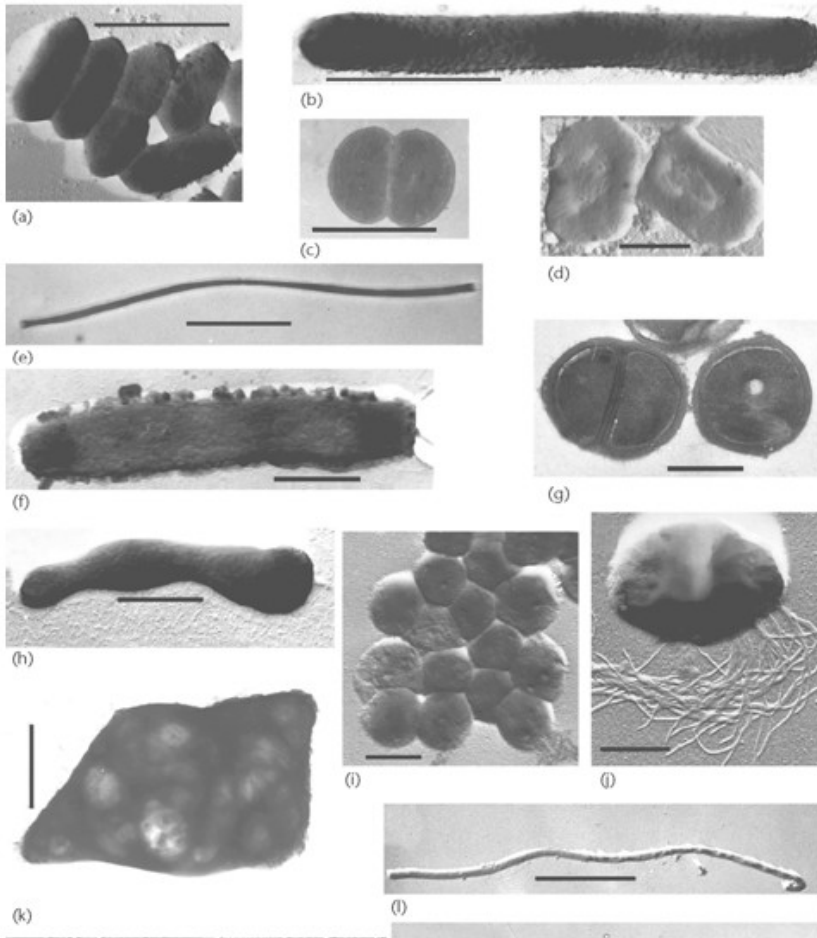


# Společné vlastnosti *Archaea* a *Eukarya*

- Stavba RNA polymerázy
- Homologie ribozomálních proteinů
- Účinek antibiotik na proteosyntézu
- Met místo fMet na počátku proteinu (*N*-Formylmethionine)
- DNA vazebné proteiny homologické s histony



# Morfologie buněk *Archaea*



a/ *Methanobacterium*

b/ *Methanosphaera*

c/ *Methanoplanus*

d/ *Methanospirillum*

e/ *Halobacterium*

f/ *Halococcus*

g/ *Thermoplasma*

h/ *Methanolobus*

i/ *Pyrococcus*

j/ *Haloferax*

# Základní struktura buňky *Archaea*

- Buněčná stěna
- Cytoplazmatická membrána
- Základní cytoplazma

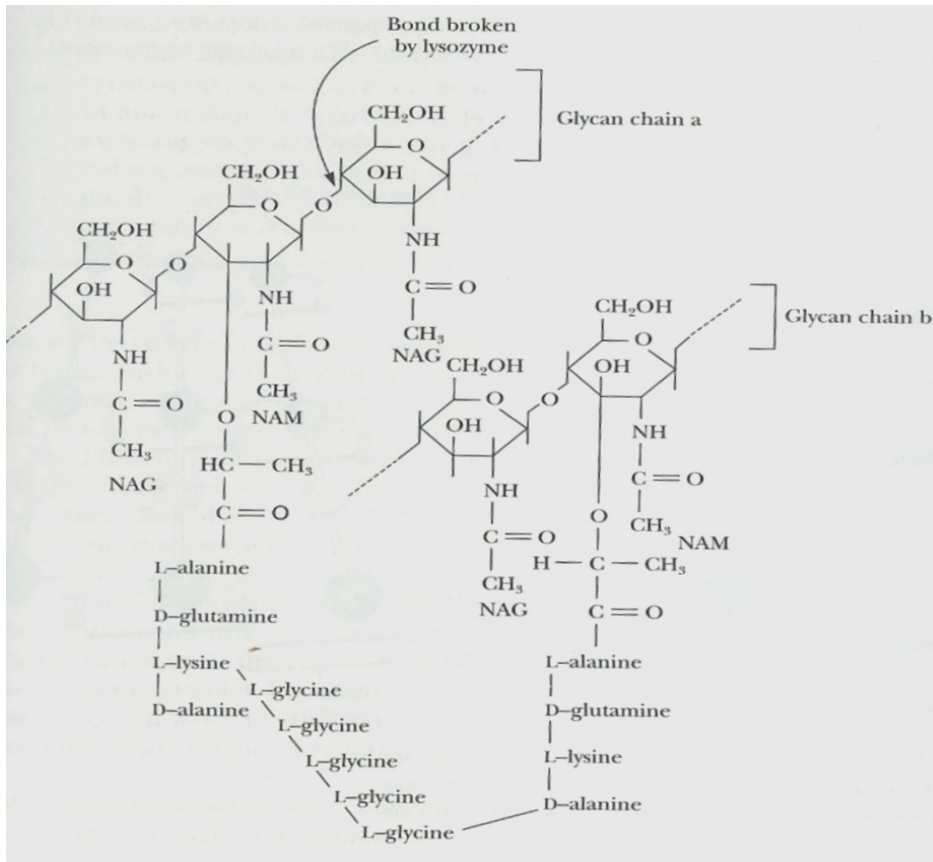
<http://www.ucmp.berkeley.edu/archaea/archaeamm.html>

# Buněčná stěna *Archaea*

- Buněčná stěna má rozmanité chemické složení
- Není nikdy přítomný peptidoglykan jako u eubakterií
- *Methanobacterium* sp. obsahuje v buněčné stěně glykany a peptidy :
  - Glykany:
    - N-acetyltalosaminuronová kyselinu (NAM) a N-acetyl glukózamin (NAG)
    - NAM a NAG jsou spojeny **beta 1, 3 glykozidickou vazbou**
    - **Nejsou citlivé** na působení lysozymu
  - Peptidy:
    - Krátké peptidické řetězce jsou připojeny k NAM
    - Aminokyseliny jsou **pouze typu L**
    - **Penicilin nepůsobí** na syntézu buněčné stěny *Methanosarcina* sp. , obsahují sulfátované polysacharidy
- *Halococcus* sp. obsahují sulfátované polysacharidy
- *Halobacterium* sp. obsahuje v buněčné stěně negativně nabitě kyselé aminokyseliny, umožňující růst až do koncentrace 15% NaCl
- *Methanomicrobium* sp. & *Methanococcus* sp. mají buněčnou stěnu tvořenu **pouze bílkovinnými podjednotkami**
- **Některé archea buněčnou stěnu nemají** (např. *Thermoplasma*)

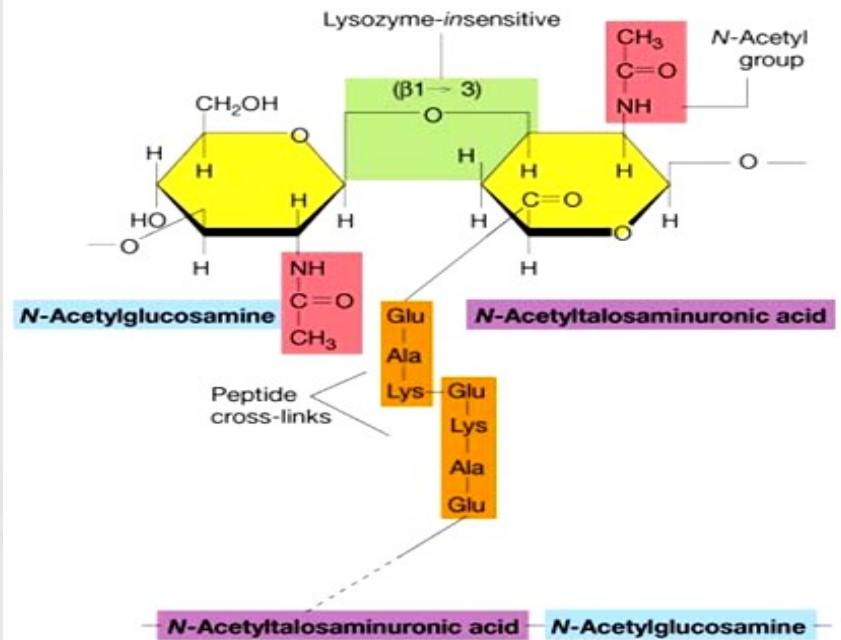


# Bakterie



beta-1,4 glykosidická vazba

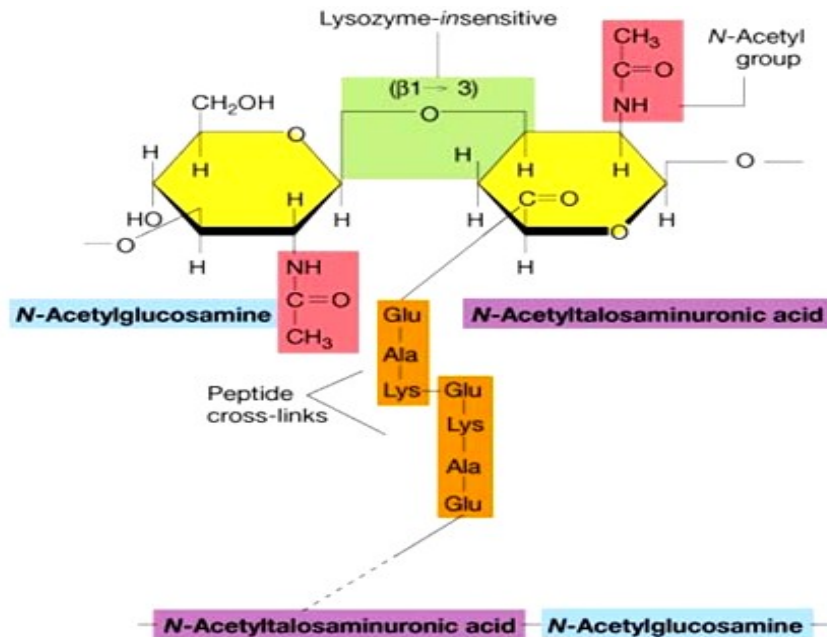
# Archaea



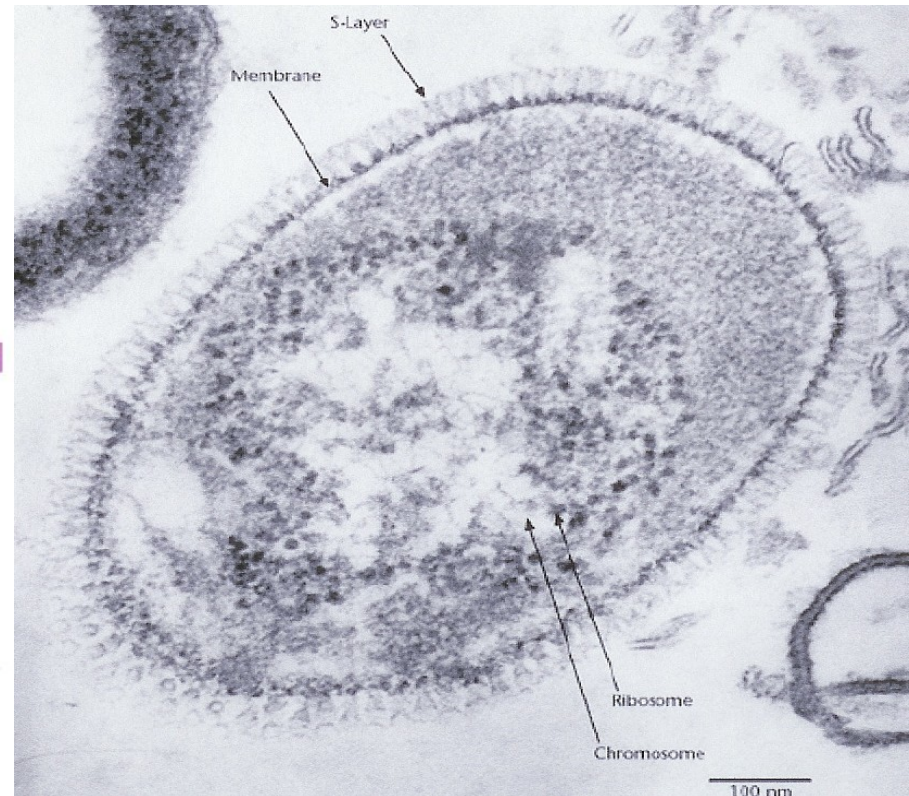
beta-1,3 glykosidická vazba

# Buněčná stěna

“Pseudopeptidoglykan“  
(Methanobacteriales)



Někdy S-vrstva (proteiny) jako  
jediná komponenta buněčné stěny

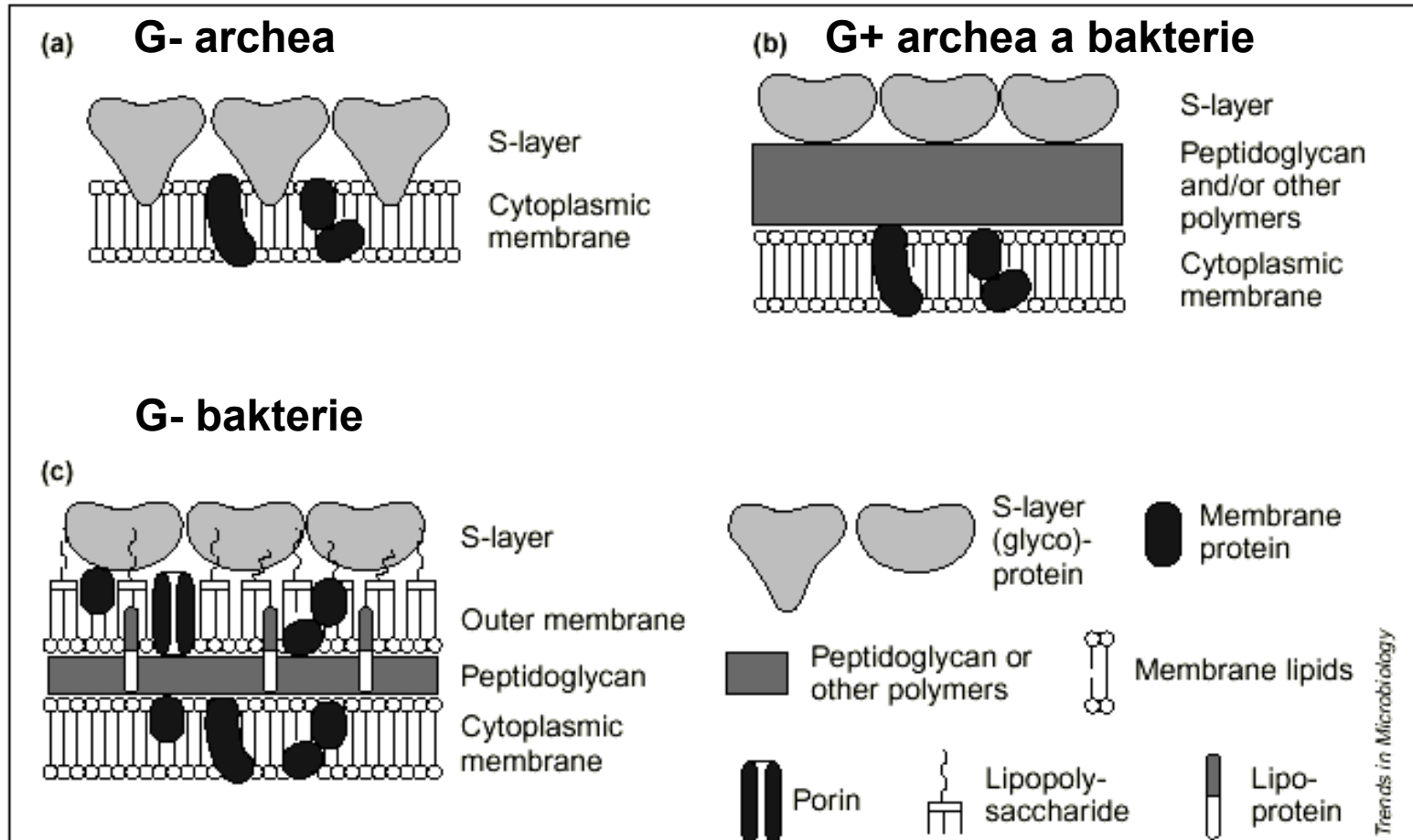


postrádá D-amino acids a N-acetylmuramic acid

# S-vrstva

**Funkce** : není jasně určena - různá

**Složení** : krystalické proteiny



**Fig. 3.** Schematic illustration of the supramolecular architecture of the three major classes of prokaryotic cell envelopes containing crystalline bacterial cell surface layers (S-layers). **(a)** Cell-envelope structure of Gram-negative Archaea with S-layers as the only cell-wall component external to the plasma (cytoplasmic) membrane. **(b)** The cell envelope as observed in Gram-positive Archaea and Eubacteria. In Eubacteria, the rigid wall component is primarily composed of peptidoglycan. In Archaea, other wall polymers (e.g. pseudomurein or methanochondroitin) are found. **(c)** Cell-envelope profile of Gram-negative Eubacteria, composed of a thin peptidoglycan layer and an outer membrane. If present, the S-layer is closely associated with the lipopolysaccharide of the outer membrane.

# Základní struktura buňky *Archaea*

- Buněčná stěna
- Cytoplazmatická membrána
- Základní cytoplazma

# Stavba cytoplazmatické membrány u *Archaea*

- **Struktura se zásadně liší od CM bakterií a eukaryot**

## **Glycerol**

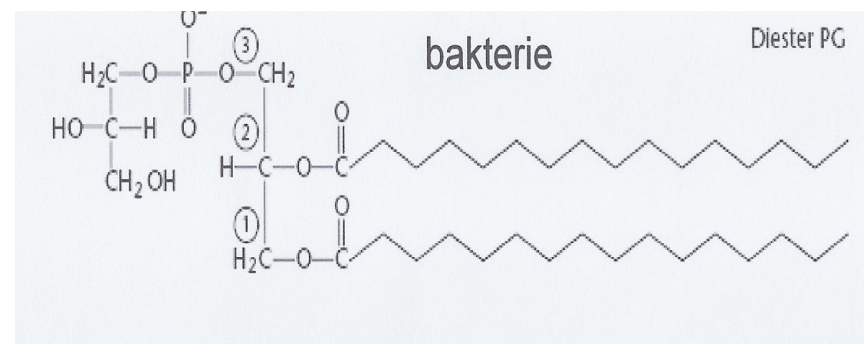
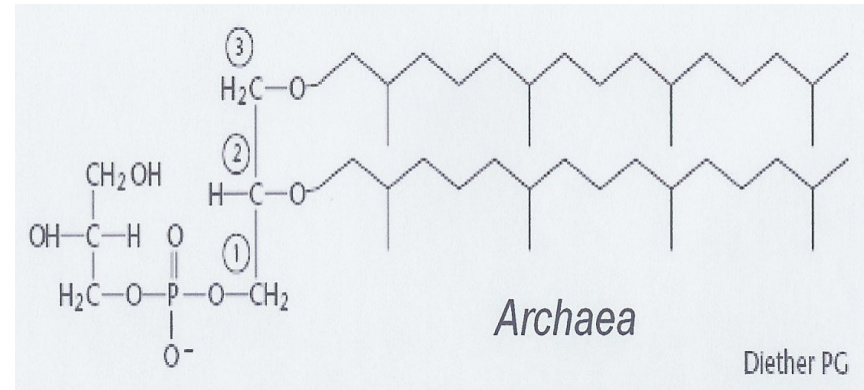
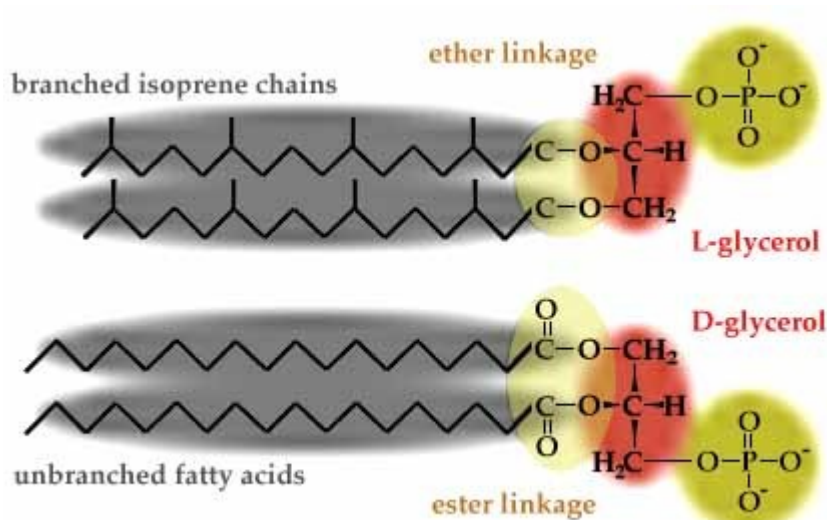
- bakterie a eukaryota - D glycerol
- archebakterie - L glycerol

## **Lipidy**

- glycerol dieter (Glycerol + C20)  
dvouvrstevná membrána
- glycerol tetraeter (Glycerol + C40)-  
jednovrstevná membrána
- směs di- & tetra- Mono /Bi vrstevná  
membrána

# Lipidy CM u bakterií a *Archaea*

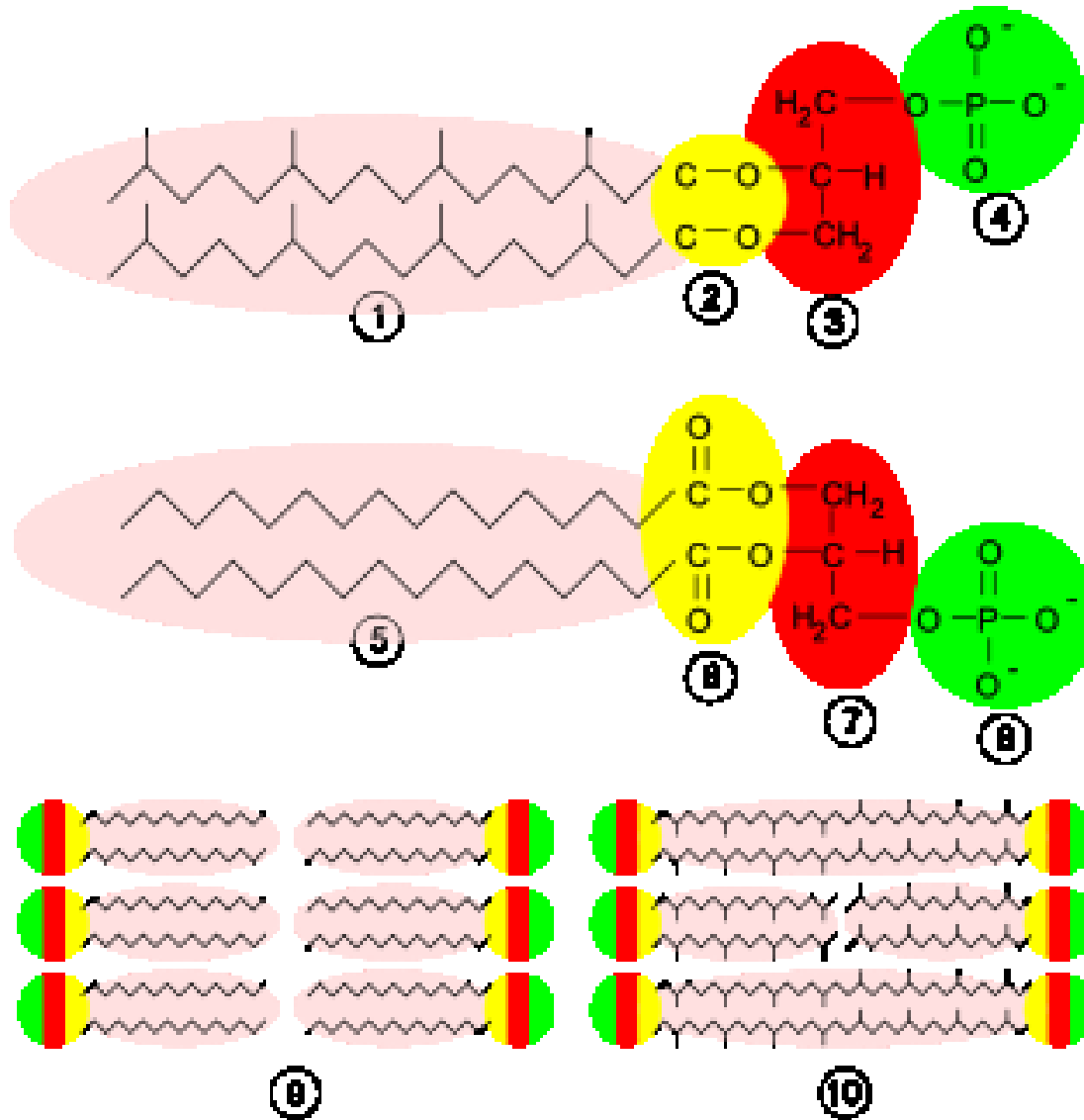
## *Archaea*



Většina organismů

→ Odlišné vlastnosti CM

# Stavba cytoplazmatické membrány u *Archaea*



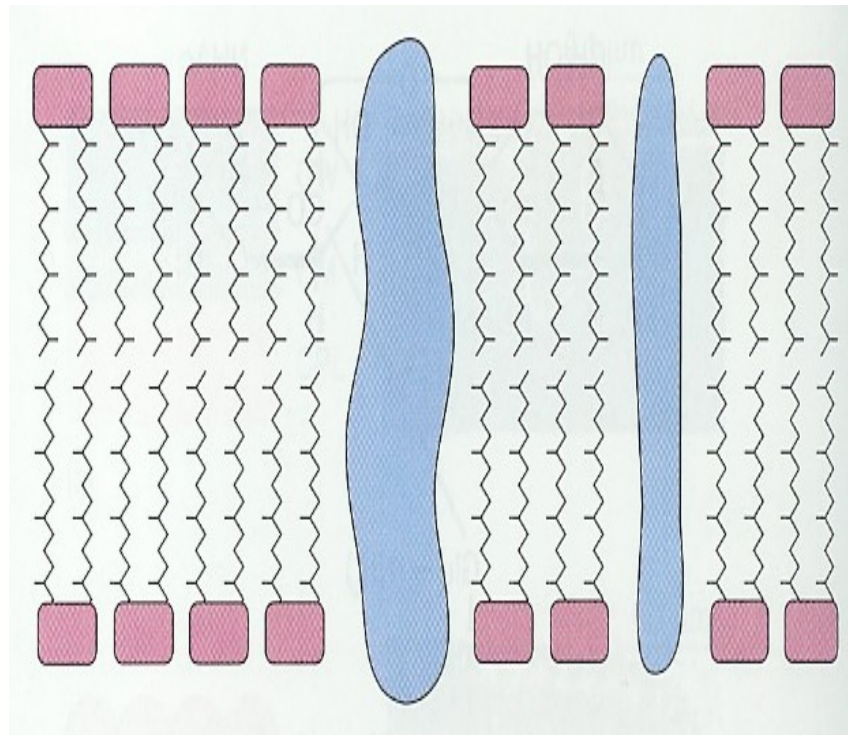
Membrane structures.

**Top:** an archaeal phospholipid,  
1 isoprene sidechain,  
2 ether linkage,  
3 L-glycerol,  
4 phosphate moieties.

**Middle:** a bacterial and eukaryotic phospholipid:  
5 fatty acid,  
6 ester linkage,  
7 D-glycerol,  
8 phosphate moieties.

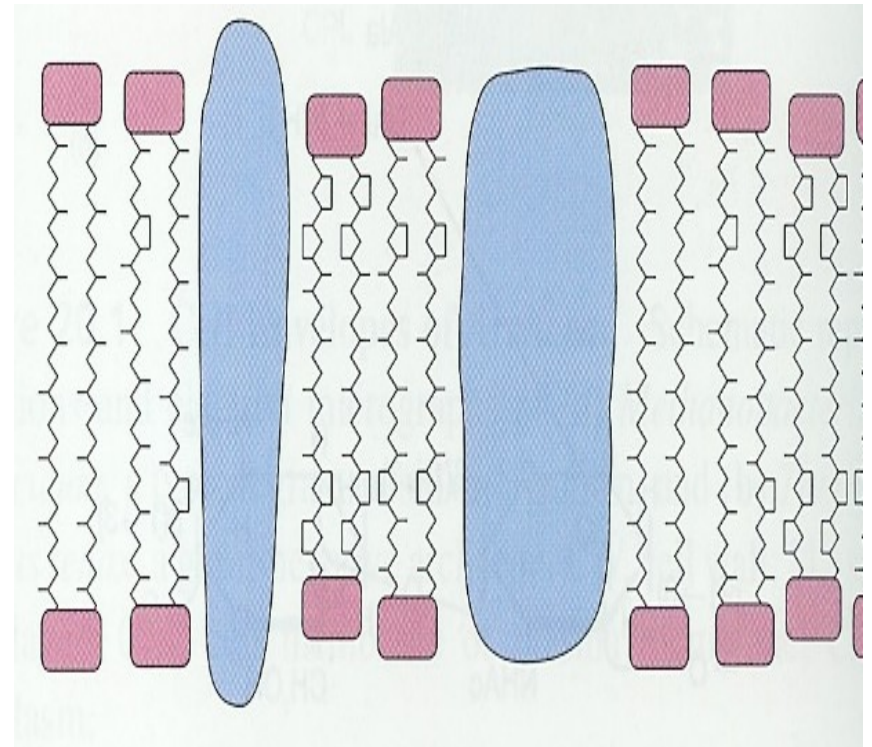
**Bottom:**  
9 lipid bilayer of bacteria and eukaryotes,  
10 lipid monolayer of some archaea.

# Model membrány *Archea*



Membrána složená z integrovaných proteinů a dvojvrstvy **C<sub>20</sub> diacylglycerolů**

Membrána složená z integrovaných proteinů a vrstvy **C<sub>40</sub> tetraeterů**





# Cytoplazmatická membrána

- Diverzita ve struktuře membrány odpovídá podmínkám, ve kterých archebakterie žijí
  - *Sulfolobus* (90°C, pH 2)- rozvětvený řetězec C40. Rozvětvené řetězce zvyšují fluiditu membrány (nevětvené a nasycené mastné kyseliny mají opačný efekt) - zvýšená fluidita je nutná pro růst při vysokých teplotách (až do 110°C, **hypertermofilové**)
  - *Halobacterium* - růst v nasycených roztocích solí
  - *Thermoplasma* – růst při vysokých teplotách – bez buněčné stěny

# Základní struktura buňky *Archaea*

Buněčná stěna

Cytoplazmatická membrána

Základní cytoplazma

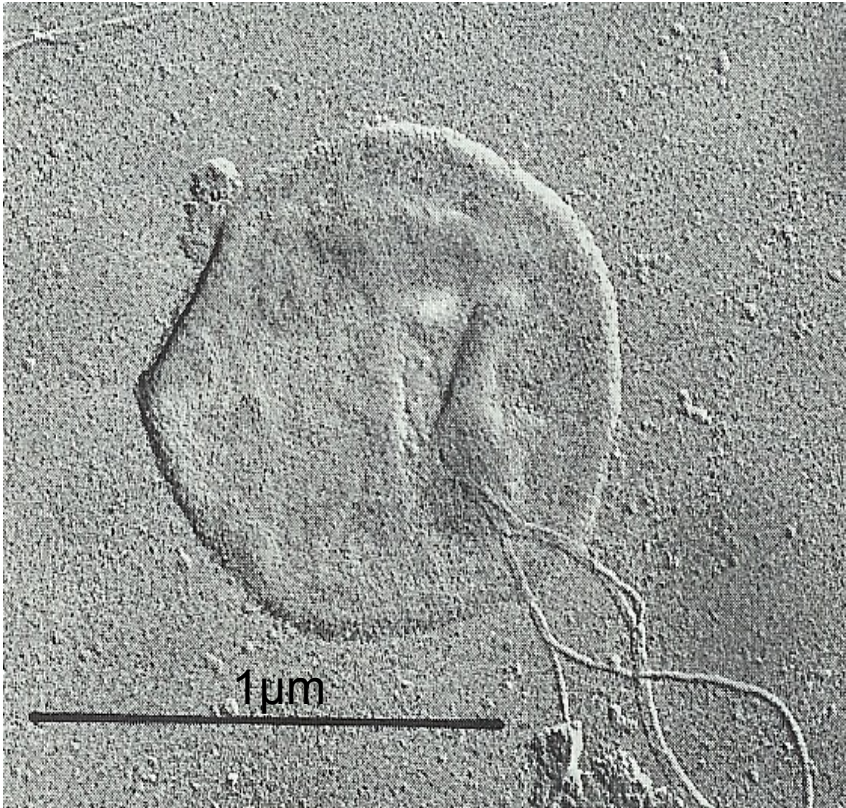
# Organizace genomu

- Je podobná bakteriím
  - Jeden cirkulární chromozóm
  - Extrachromozomální elementy - plazmidy
  - Odolnost genomu vůči denaturaci teplem
  - Za zachování integrity genomu u extremofilů je zodpovědná :
    - Vysoká intracelulární koncentrace solí (cyklický 2,3-difosfoglycerát K – brání depurinaci a depyrimidizaci)
    - DNA vázající proteiny – zvýší teplotu tání DNA o 40°C
- (aka **Histone** - proteiny podobné Eucarya):
- MC1 : Methanosarcinaceae
  - HMf : Methanobacteriales
    - Aminokyselinové složení je podobné histonovým proteinům u Eucarya
    - organizace DNA do chromatinu podobných struktur
      - » histone + Eucarya DNA
      - » HMf + Archaea DNA
  - HTa : *Thermoplasma*
  - HTa-like: *Sulfolobus*
- topoizomeráza reverzní DNA gyráza – stabilizace DNA šroubovice

# Ribozomy

- Ribozomy jsou stejné jako u bakterií – 70S
- Jejich počet závisí na metabolické aktivitě
- Obvykle se netvoří polyribozomy
- Ribozomy nejsou citlivé na působení chemických látek (stejně jako u eukaryot)

# Bičíky



- Počet bičíků 1 - ....
- Počet bičíků se může měnit
- Bičíky buňka může snadno ztrácet
- Obvykle jsou lokalizovány na jedné části buňky nebo peritrichálně
- Ultrastruktura bičíku je stejná jako bakterií – základní stavební jednotka **flagelin**
- Geny **zcela** odlišné od bakterií
- Rotační pohyb bičíku – tokem protonů

*Archeoglobus fulgidus*

# Energetický metabolismus u *Archaea*

- **Aerobní respirace (*Halobacterium*)**
- Anaerobní respirace: **unikátní respirace CO<sub>2</sub>** (metanogeneze - rozklad org.l. na CO<sub>2</sub> a z něj metan), sulfátu, síry
- Chemolitotrofie sloučenin síry a železa
- **Fotofosforylace pomocí bakteriorhodopsinu**
- Metabolismus uhlíku – heterotrofie a autotrofie:
  - *Oxidace cukrů (Entner-Doudoroff)*
  - ***Zvláštní mechanismy asimilace CO<sub>2</sub>***

# Energetický metabolismus

## halofilní *Archea*

- Šest rodů extrémně halofilních Archaea žije v **hypersalinním** prostředí a neroste při **nižší než 1,5 M (9%)** koncentraci NaCl
- většina druhů vyžaduje 2-4 M NaCl (12-23%)
- Všichni extrémní halofilové mohou růst v prostředí téměř nasycených roztoků solí (5,5 M NaCl – 32%-nasycení)
- Dva rody jsou nejen halofilní, ale také **alkalifilní**  
Dobře rostou v prostředí nad pH 9
- Tyto organizmy vyžadují Na<sup>+</sup> ionty ke stabilizaci glykoproteinu buněčné stěny
- Vysoká externí koncentrace solí je balancována akumulací K<sup>+</sup> uvnitř buňky

# Energetický metabolismus

## halofilní *Archea*

- Jsou to aerobní chemoorganotrofové s respiratorním metabolismem
- Vyžadují komplexní výživu, především bílkoviny a aminokyseliny
- Mohou růst na potravinách (především rybách) a vyvolávají jejich znehodnocení
- Některé kmeny syntetizují "modifikovanou" cytoplazmatickou membránu – purpurovou membránu, obsahující **bakteriorhodopsin** – (chromoforem je derivát retinalu - Ret) tvorba ATP ze světelného kvanta

## bez bakteriochlorofylu

Bakteriorhodopsin je [integrální membránový protein](#) obsažený ve slanomilných [archeích](#) *Halobacteria*. Při nízkém obsahu [kyslíku](#) tyto organismy v membráně vytváří okolo 0,5  $\mu\text{m}$ <sup>[1]</sup> široké purpurové nebo nachové oblasti, jejichž jedinou [bílkovinnou](#) složkou je právě bakteriorhodopsin.





Salt ponds SF Bay



Lanzarote salt pans (Španělsko – Kanárské ostrovy)

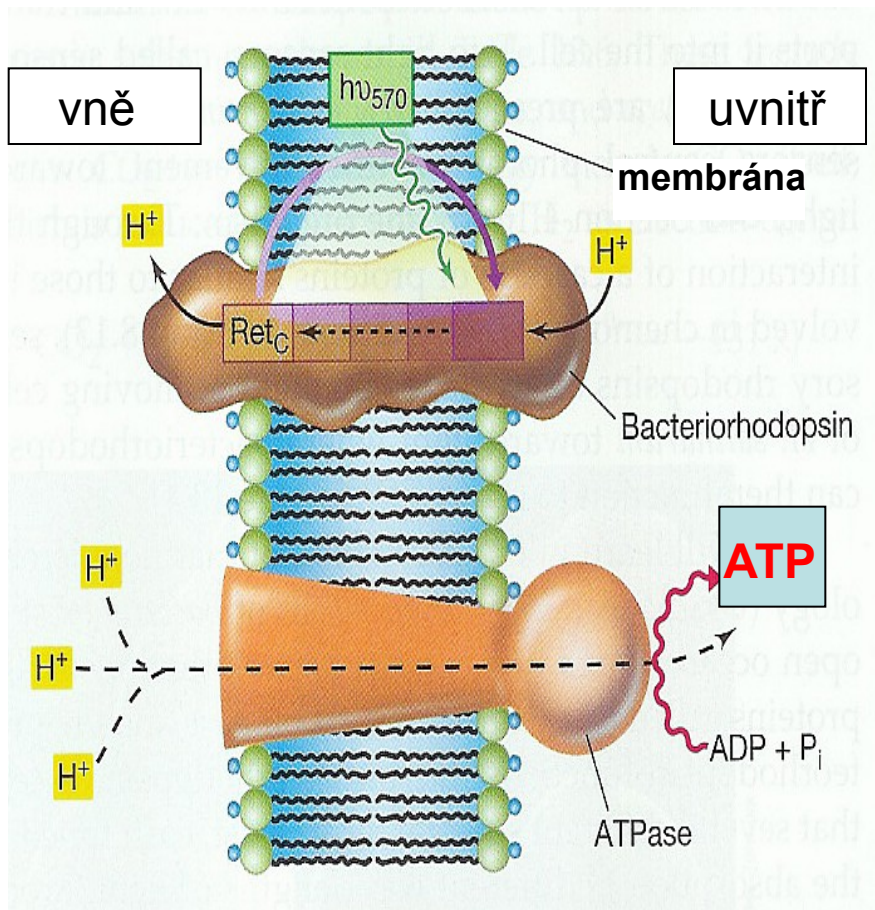
# Energetický metabolismus

## halofilní *Archea*

- **bakteriorhodopsiny** (podobne rhodopsinu v oku)
  - jeden zabezpečuje vytvoření protonového gradientu pro tvorbu ATP (v membráně)  
protonová pumpa -, i.e. it captures light energy and uses it to move protons across the membrane out of the cell. The resulting proton gradient is subsequently converted into chemical energy.  
Jednodušší než u chlorofylu (zde elektronový transportní řetězec)
  - halorhodopsin – využití světla pro transport chloridových iontů do buňky (iontová pumpa) (vysoký obsah  $K^+$  v buňce)
  - další dva rhodopsiny vystupují jako fotoreceptory – light sensor (jeden je červený a druhý modrý) mimo jiné řídí pohyb bičíků tak, aby buňka byla v co nejlepší poloze ke světlu (ve vodném prostředí)

# Energetický metabolismus **halofilní *Archea***

## Model aktivity bakteriorhodopsinu



Světelným kvantem protonovaný **retinal** bakteriorhodopsinu přechází z **trans** formy ( $\text{Ret}_T$ ) na **cis** formu ( $\text{Ret}_C$ ) za současné translokace protonu na vnější stranu. Přechodem “přes” **ATPázu** vytvoření **ATP**

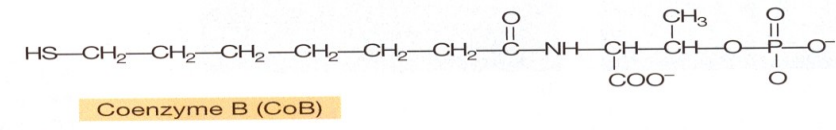
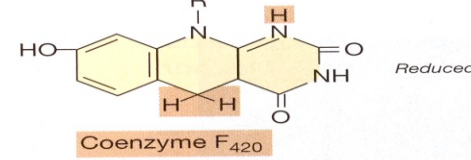
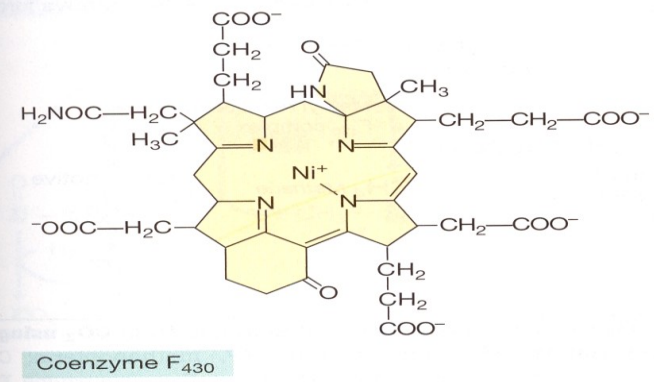
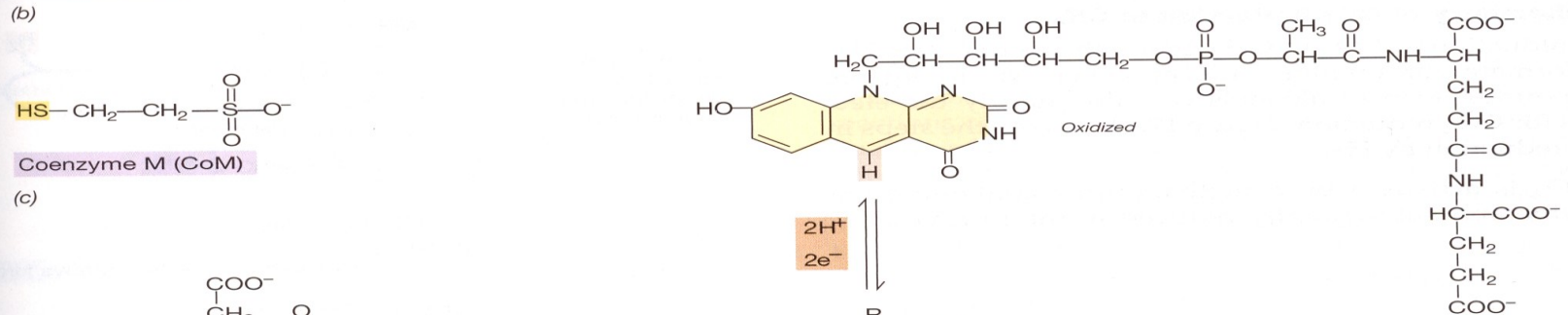
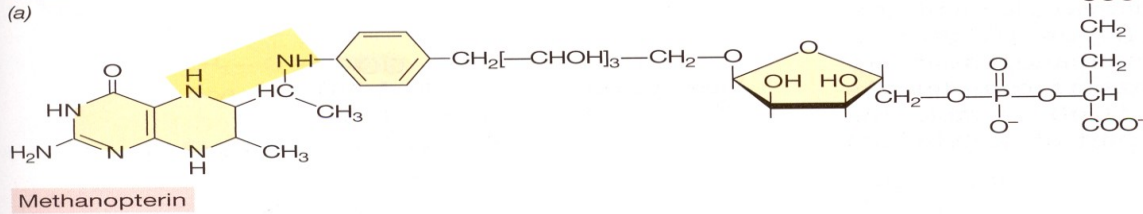
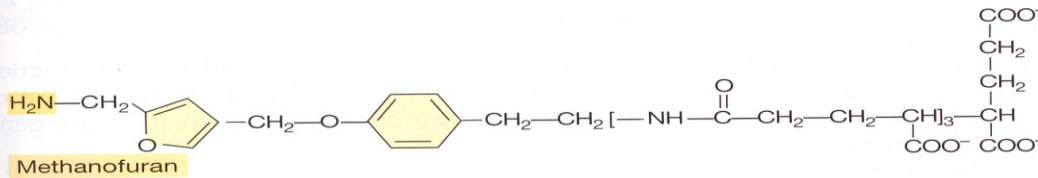
# Energetický metabolismus **methanogeneze**

- liší se od metabolismu jiných zástupců *Archaea* i *Bacteria*
- 2 klíčové skupiny koenzymů:
  - 1) přenos C1 jednotky z  $\text{CO}_2$  na finální produkt
  - 2) redox reakce zásobující elektrony pro redukci  $\text{CO}_2$  na  $\text{CH}_4$

Ad1) methanofuran – první krok – vazba  $\text{CO}_2$   
methanopterin – přenos C1 v meziproduktech ( $\text{CO}_2 - \text{CH}_4$ )  
coenzym M (CoM) – finální krok ( $\text{CH}_3$ ) –  $\text{CH}_4$   
coenzym  $\text{F}_{430}$  – terminální krok metanogeneze (nepřenáší C1)

Ad2) koenzym  $\text{F}_{420}$  – donor elektronů  
- absorpce světla – fluorescence (detekce metanogenů)  
coenzym B (CoB) – donor elektronů v terminálním kroku metanogeneze

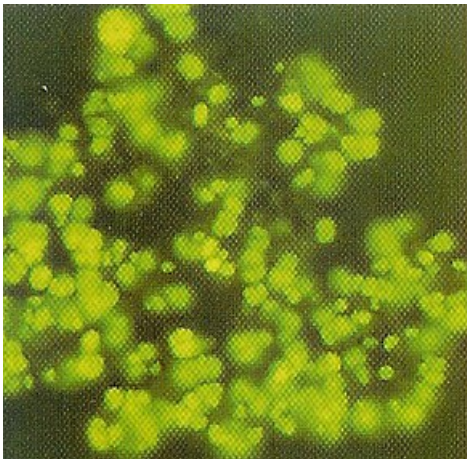
# Energetický metabolismus **methanogeneze**



• **Figure 17.42 Coenzymes of methanogenic Archaea.** The atoms shaded in brown or yellow are the sites of oxidation-reduction reactions (F<sub>420</sub>-brown) or the position to which the C<sub>1</sub> moiety is attached during the reduction of CO<sub>2</sub> to CH<sub>4</sub> (methanofuran, methanopterin, and coenzyme M—yellow). The colors used to highlight a particular coenzyme itself (CoB is orange, for example) are used throughout in Figures 17.44–17.46 and can be

# Fluorescence metanogenních bakterií

Za autofluorescenci metanogenních bakterií je zodpovědná přítomnost specifického přenašeče elektronů – koenzym  $F_{420}$



*Methanosarcina barkeri*



*Methanobacterium formicum*

# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Redukce CO<sub>2</sub> a CO

- Konečným produktem redukce je **metan**
- Organizmy jsou **striktní anaerobové** (jsou podstatně citlivější ke kyslíku než denitrifikační nebo desulfurikační bakterie)
- Jsou dvě skupiny metanogenních organizmů využívajících jako akceptor elektronů CO<sub>2</sub>
  - metanogenní**
  - homoacetogenní**
- Jako zdroj vodíku a elektronů **nikdy** nevyužívají cukry a aminokyseliny
- Jako substrát slouží H<sub>2</sub>, nižší mastné kyseliny, primární alkoholy, izoalkoholy, ....

# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Typické substráty přeměňované na metan

### I. Typ $\text{CO}_2$ substrátů

$\text{CO}_2$  (s elektrony z  $\text{H}_2$ ), některé alkoholy nebo pyruvát

### II. Metyl substráty

metanol

metylamin  $\text{CH}_3\text{NH}_3^+$

dimetylamin  $(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2^+$

trimetylamin  $(\text{CH}_3)_3\text{NH}^+$

metylmerkaptan  $\text{CH}_3\text{SH}$

dimetylsulfoxid  $(\text{CH}_3)_2\text{S}$

### III. Acetotrofní substráty

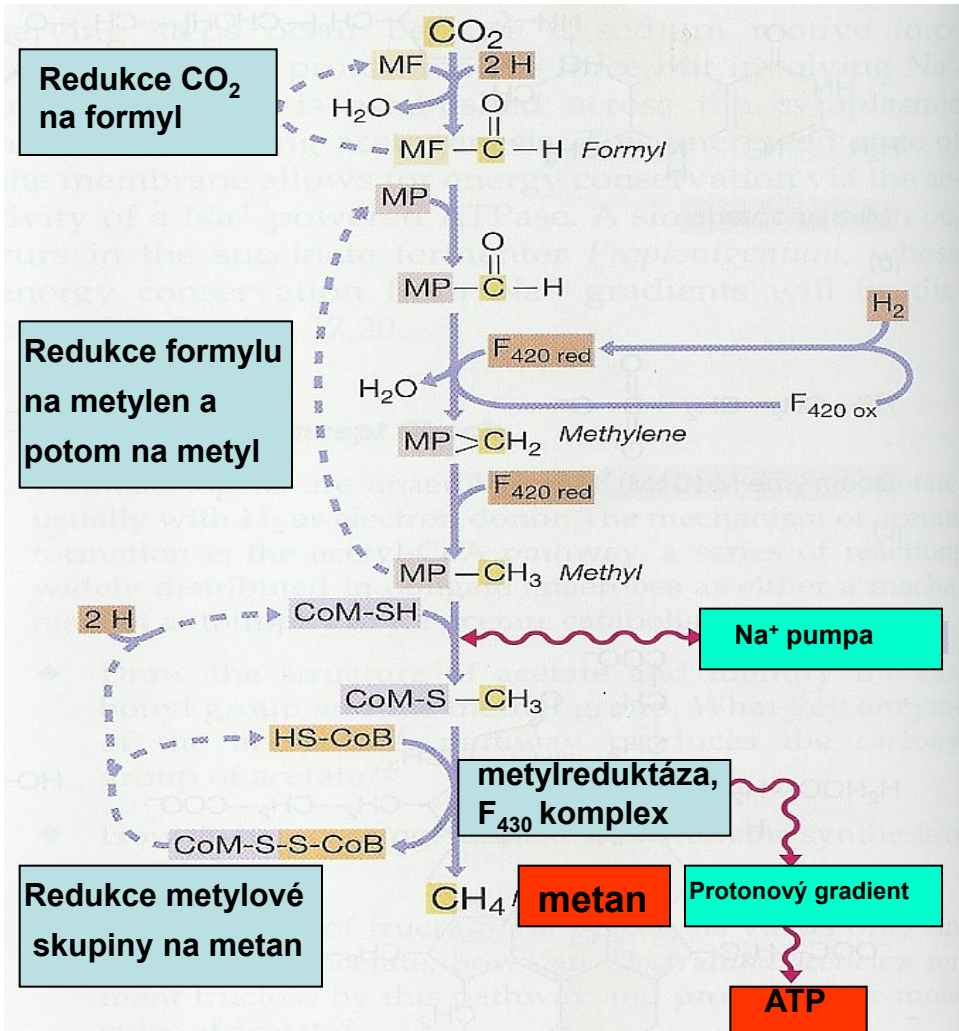
acetát

pyruvát



# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Redukce $\text{CO}_2$ **plynným vodíkem**



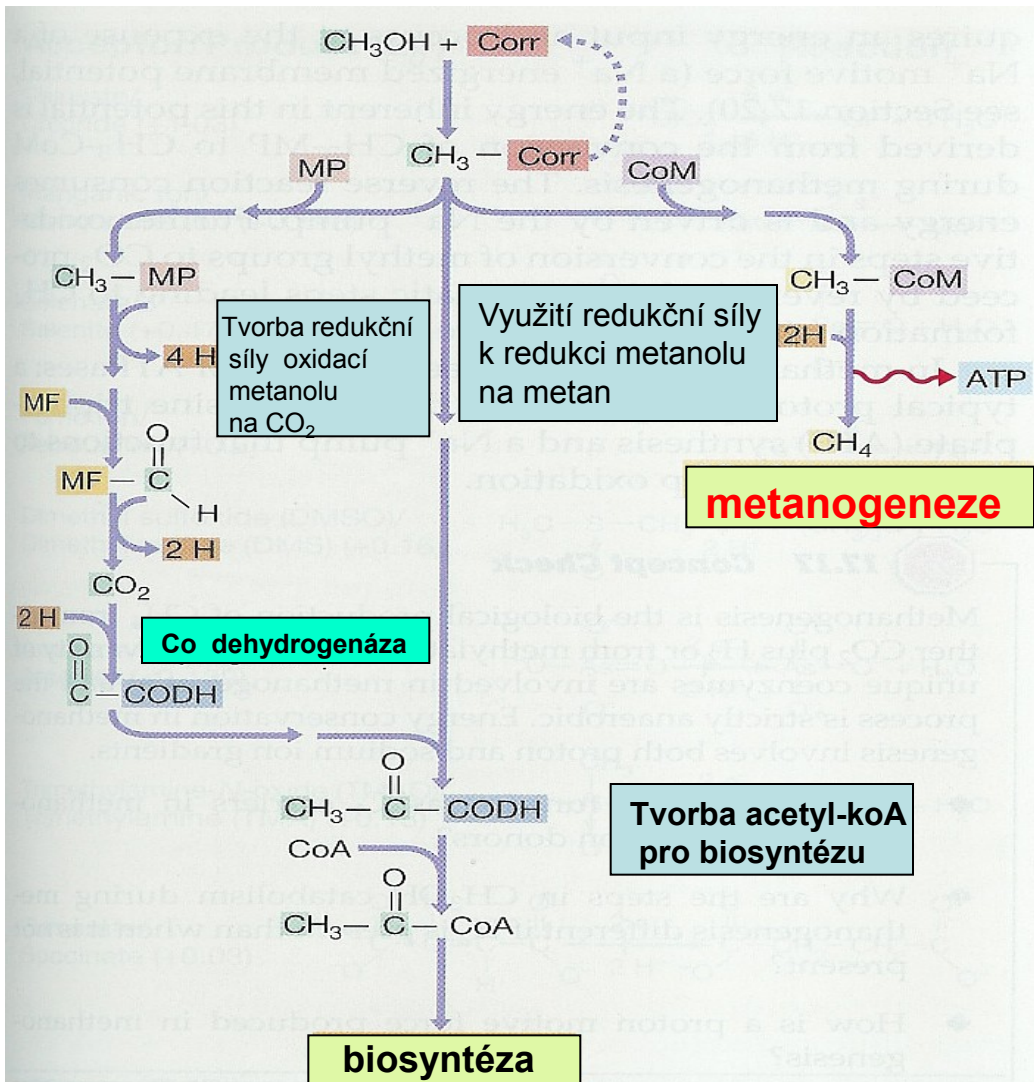
Elektrony pro redukci  $\text{CO}_2$  jsou brány z  $\text{H}_2$ , ale v některých případech i z jednoduchých organických látek

MF – metanofuran  
MP – metanopterin  
CoM – koenzym M  
CoB – koenzym B

Organismus: *Methanosarcina barkeri*

# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Redukce $\text{CO}_2$ - donor **metanol**



Corr – protein obsahující korrinoid (strukturou je podobný B12, s korrinoidním kruhem – podobný porfirinovému), centrální atom Co

CODH – karbonmonoxid dehydrogenáza

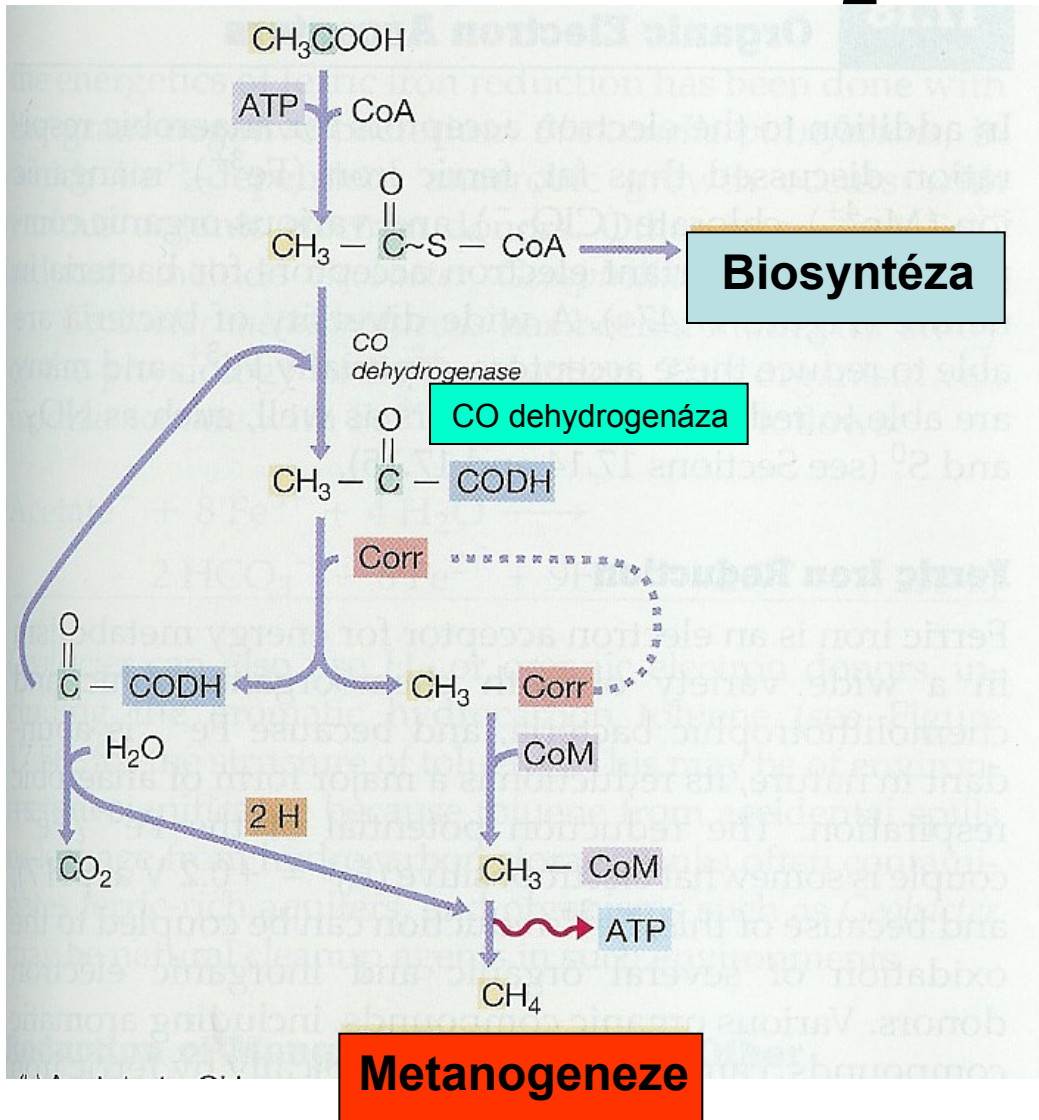
CoM – koenzym M

MP – metanopterin

MF – metanofuran

# Energetický metabolismus **methanogeneze**

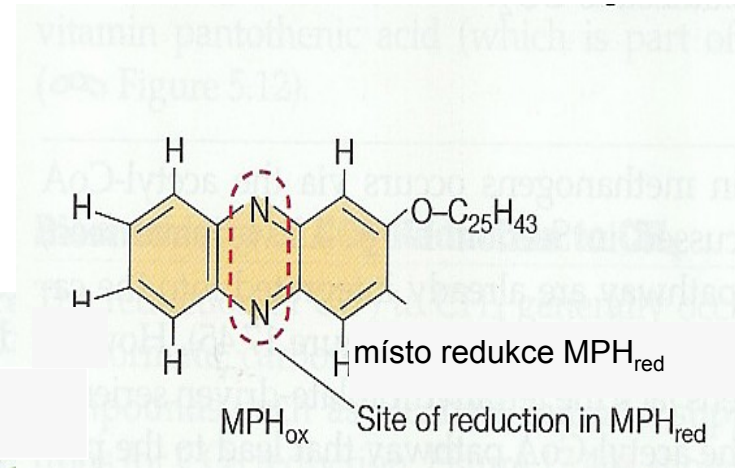
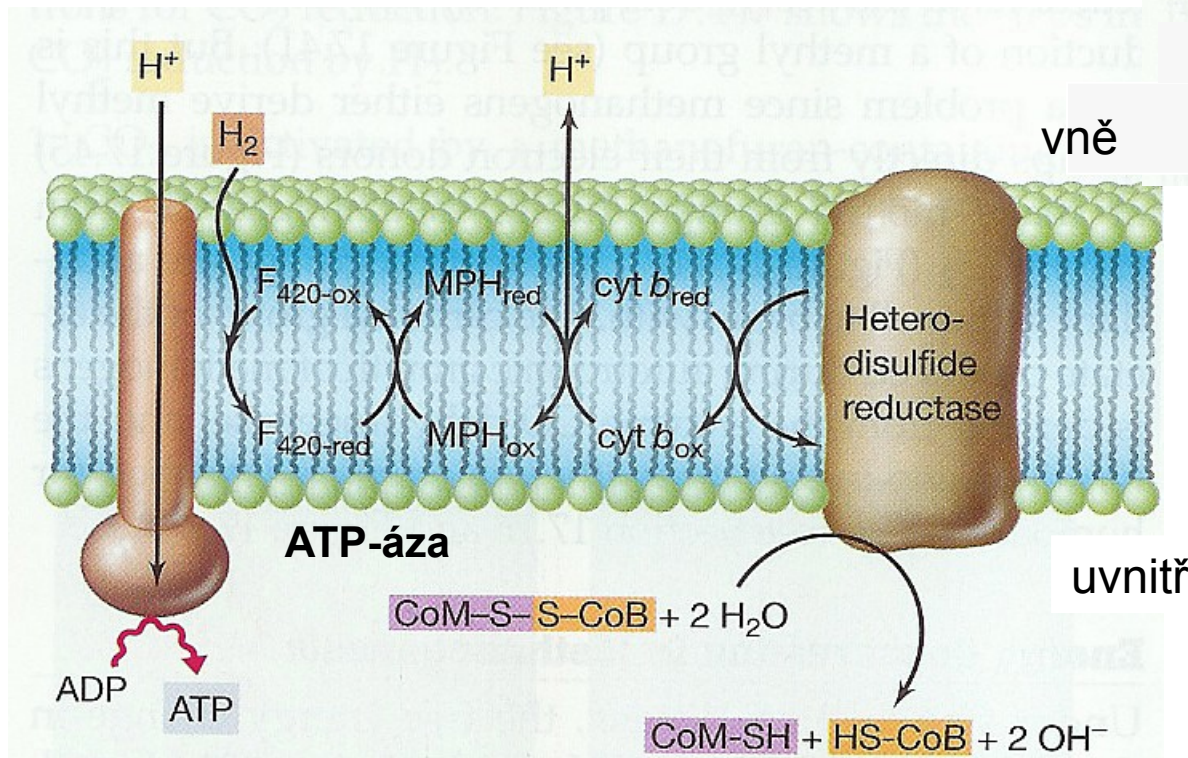
## Redukce $\text{CO}_2$ - donor **acetát**



Corr – protein obsahující korrinoid  
CODH – karbonmonooxid  
dehydrogenáza  
CoM – koenzym M

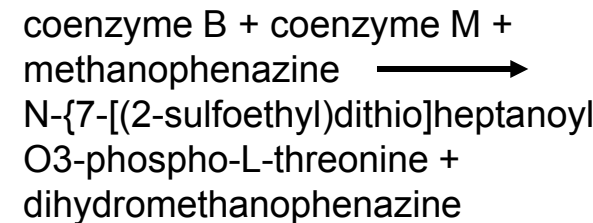
# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Tvorba energie u metanogenů



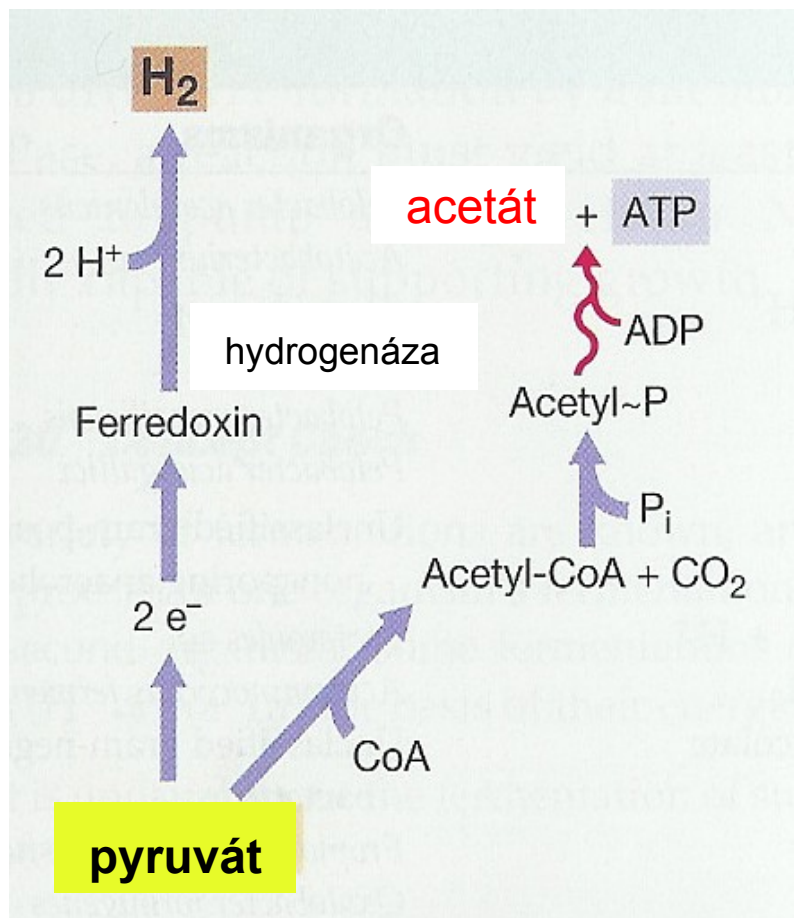
### metanofenazin

**CoB---CoM heterodisulfide reductase** is an [enzyme](#) that [catalyzes](#) the [chemical reaction](#)



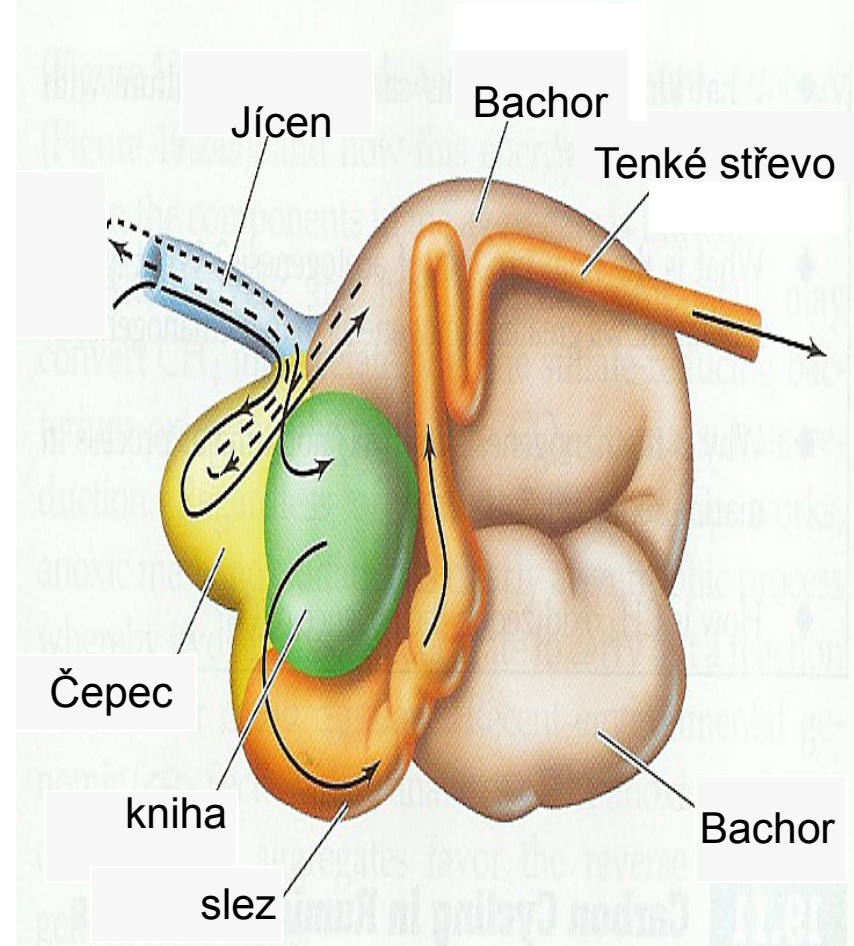
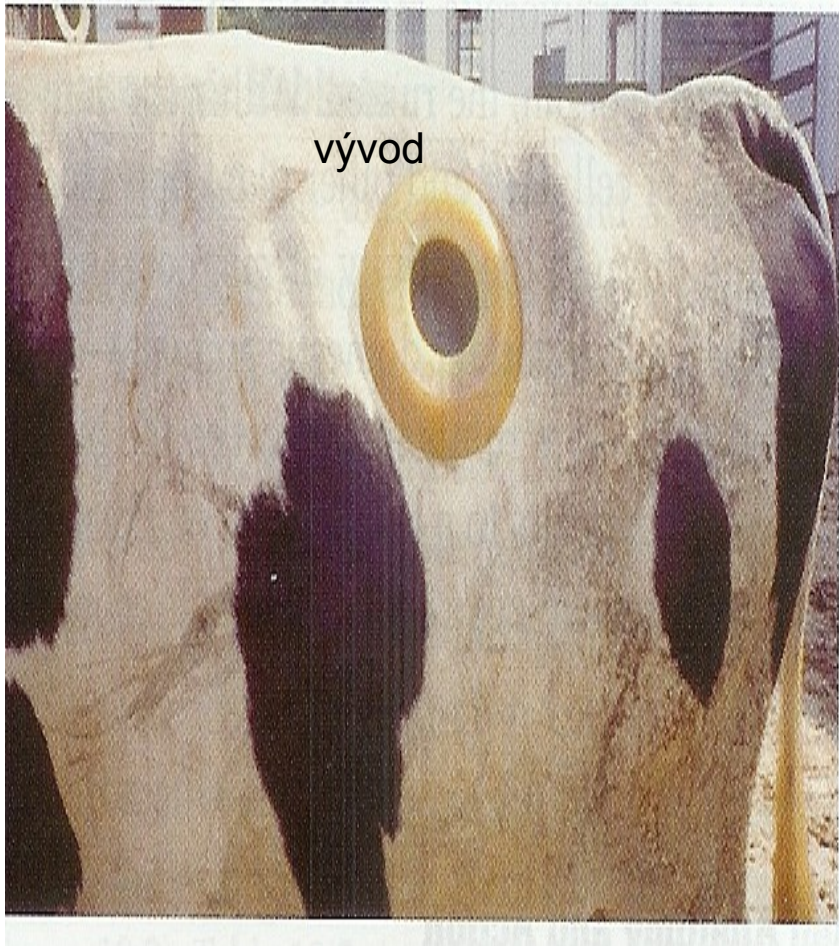
# Energetický metabolismus **methanogeneze**

## Přeměna pyruvátu na “vhodnější” substrát pro metanogenezi



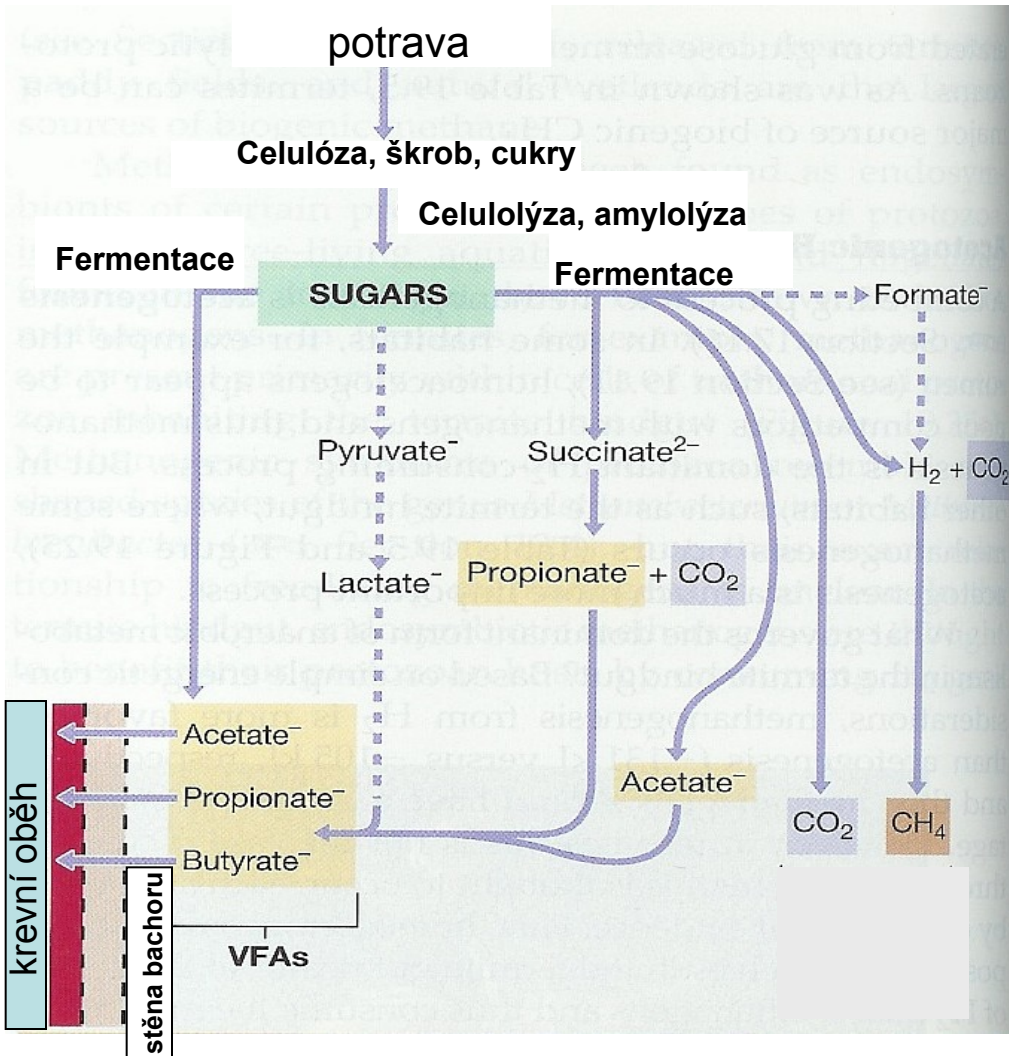
- Pro metanogény je výhodnější přeměnit pyruvát na acetyl-koA nebo acetát (navíc tímto krokem získají 1 mol ATP)
- Další produkty této konverze,  $H_2$  a  $CO_2$ , jsou dále zařazovány do jejich metabolismu

# Tvorba metanu u přežvýkavců



Bachorová mikroflóra vyprodukuje za 24 hodin 200 – 600 l metanu

# Tvorba metanu u přežvýkavců



VFA – těkavé mastné kyseliny

Stechiometrie při fermentaci v rumenu

57,5 **glukóza** →

65 acetát +

20 propionát +

15 butyrát +

60 CO<sub>2</sub> +

35 CH<sub>4</sub> +

25 H<sub>2</sub>O

Obvyklý obsah VFA v bachoru:

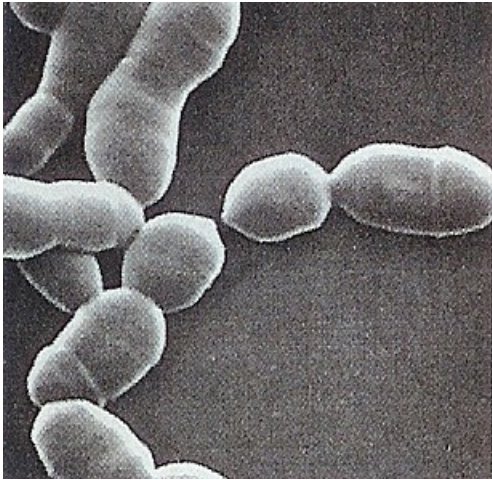
60mM acetát, 20mM propionát, 10mM butyrát

# Některé bakterie v bachoru

Organismus	Produkt metabolismu
<b>Celulolytické</b>	
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	acetát, formiát, laktát
<i>Rumicoccus albus</i>	acetát, formiát, H <sub>2</sub>
<i>Clostridium lochheadii</i>	acetát, formiát, H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>
<b>Amylolytické</b>	
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	formiát, acetát, sukcinát
<i>Selenomonas ruminantium</i>	acetát, propionát, laktát
<i>Succinomonas amylolytica</i>	acetát, propionát, sukcinát
<i>Streptococcus bovis</i>	laktát
<b>Pektolytické</b>	
<i>Lachnospira multiparus</i>	acetát, formiát, laktát, H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>
<b>Transformace laktátu</b>	
<i>Selenomonas lactilytica</i>	acetát, sukcinát
<b>Transformace sukcinátu</b>	
<i>Schwartzia succinovorans</i>	propionát, CO <sub>2</sub>
<b>Metanogény</b>	
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	CH <sub>4</sub> z H <sub>2</sub> +CO <sub>2</sub> nebo formiátu
<i>Methanobacterium mobile</i>	CH <sub>4</sub> z H <sub>2</sub> +CO <sub>2</sub> nebo formiátu



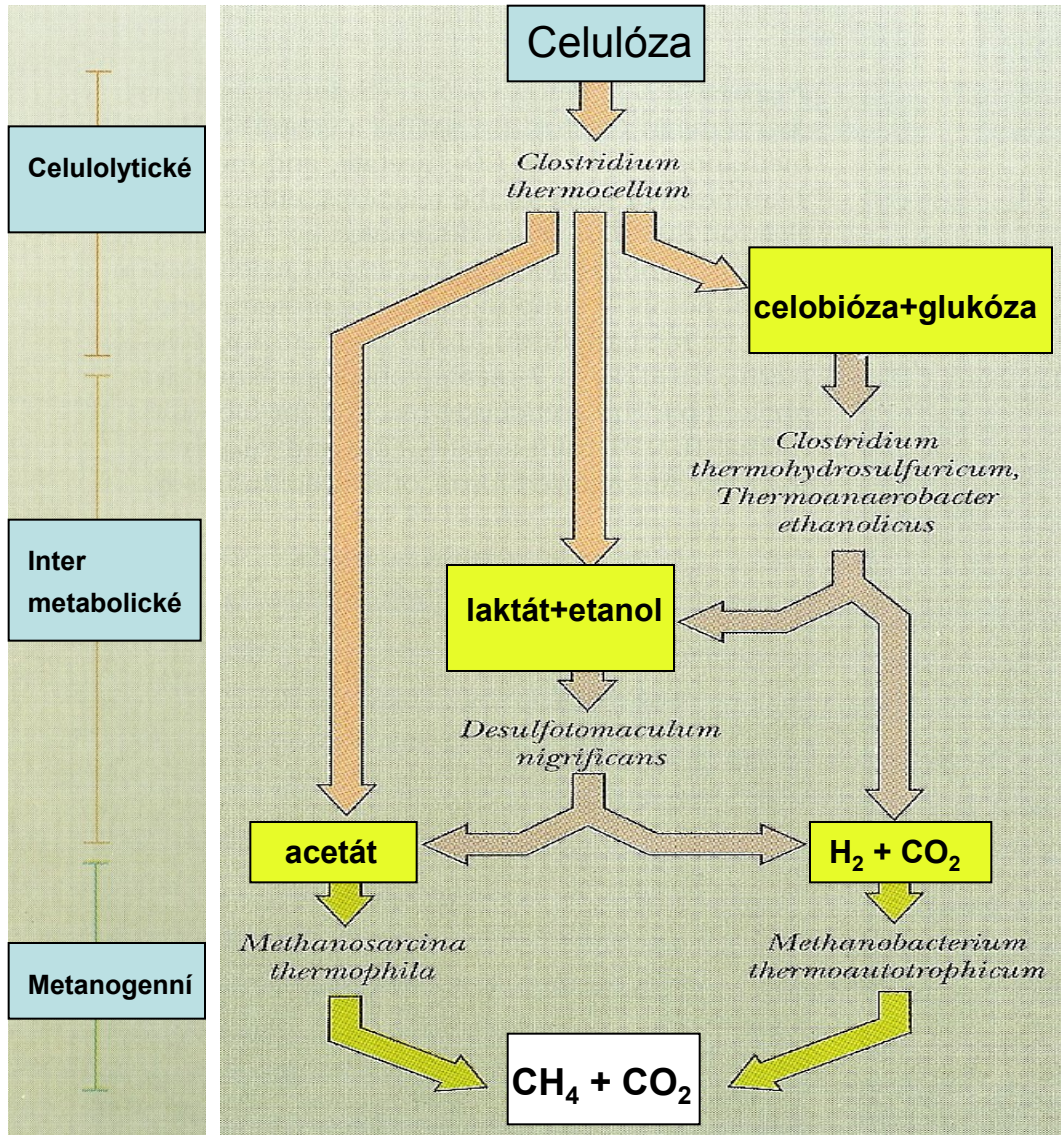
# Tvorba metanu u člověka



*Methanobrevibacter smithii*

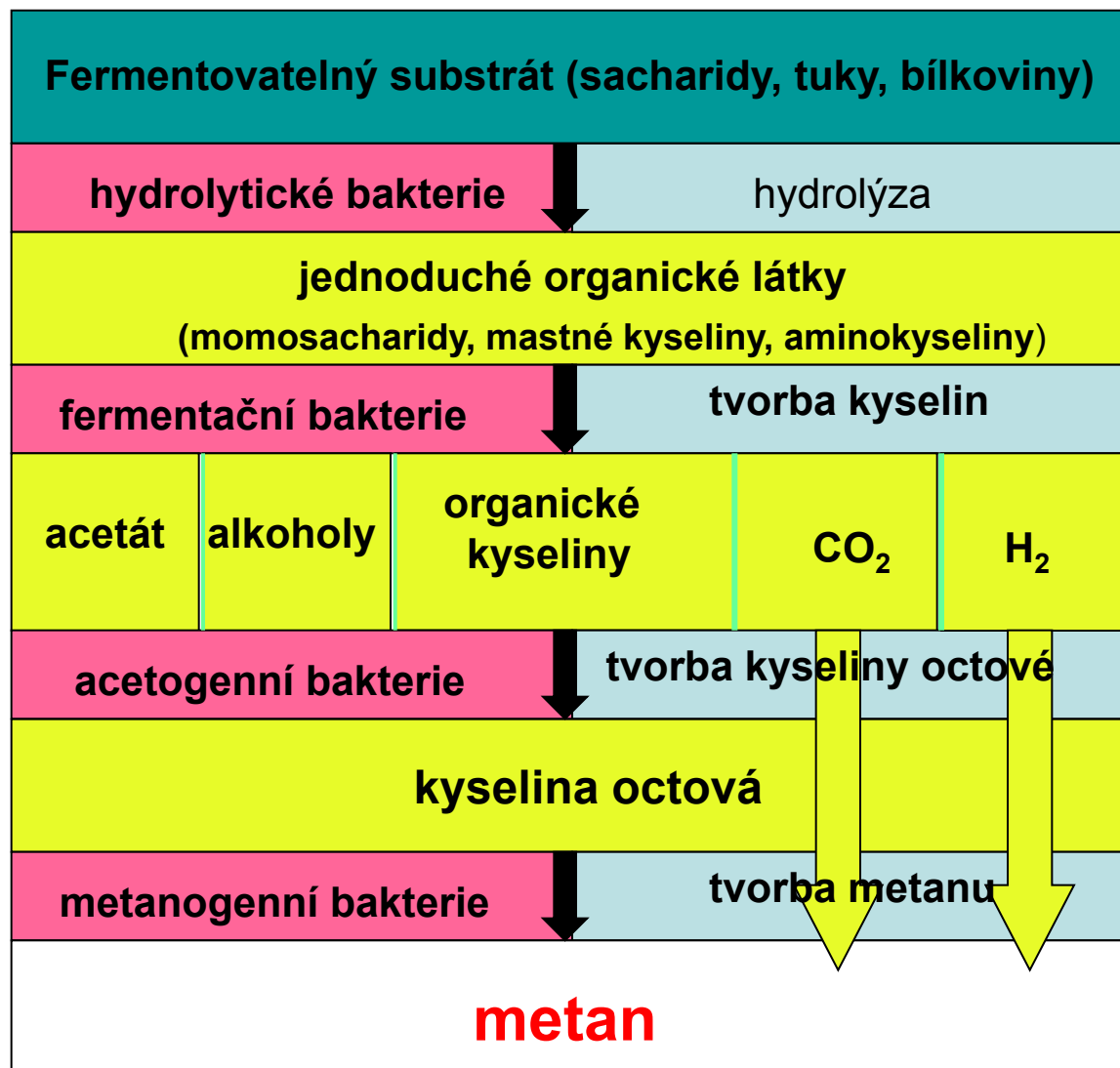
- Metanogenní bakterie jsou u většiny lidí součástí normální mikroflóry tlustého střeva
- Dominantním metanogenem u člověka je *Methanobrevibacter smithii*, který je G<sup>+</sup> kokobacilus a pro redukci CO<sub>2</sub> využívá H<sub>2</sub> nebo formiát
- Počet *M.smithii* u jedinců, kteří produkují metan se pohybuje v rozmezí 10<sup>7</sup>-10<sup>10</sup> CFU/g suché váhy feces. To představuje asi 0,001-12% celkového počtu živých buněk anaerobů. Počet buněk však velmi kolísá.
- Mimo *M.smithii* je ve střevě přítomna i *Methanosphaera stadtmaniae*, ale v podstatně menším množství
- Část vyprodukovaného metanu přechází do krve a je exkretován plícemi

# Typický trofický řetězec v reaktoru



Celulóza je přeměňována na metan a CO<sub>2</sub> společným působením celulolytických, intermetabolických (hydrolytické, fermentační, acetogenní) a metanogenních bakterií. Při této fermentaci je asi 95% uložené energie uvolněno jako **CH<sub>4</sub>**.

# Biochemické reakce při výrobě bioplynu

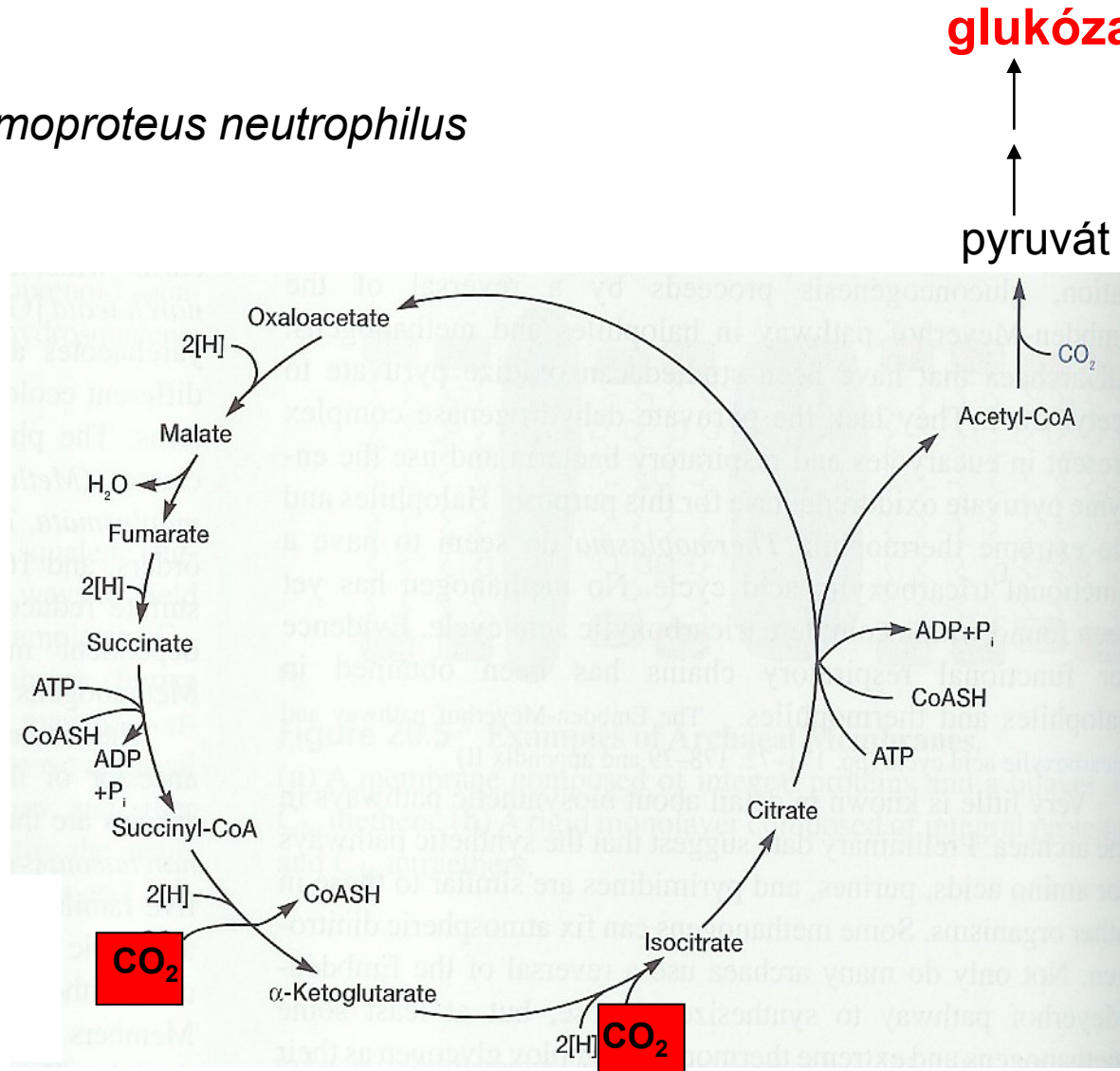


# Největší zdroje produkce metanu v přírodě

Zdroj	Vyprodukované množství (10 <sup>9</sup> kg/rok)	Podíl na atmosférickém metanu (%)
Rýžová pole	280	25
Bažiny	130-260	45
Přežvýkavci	101	20
Řeky, jezera	1,25-25	3-10
Oceány	5-8	4
Ostatní	15-26	-

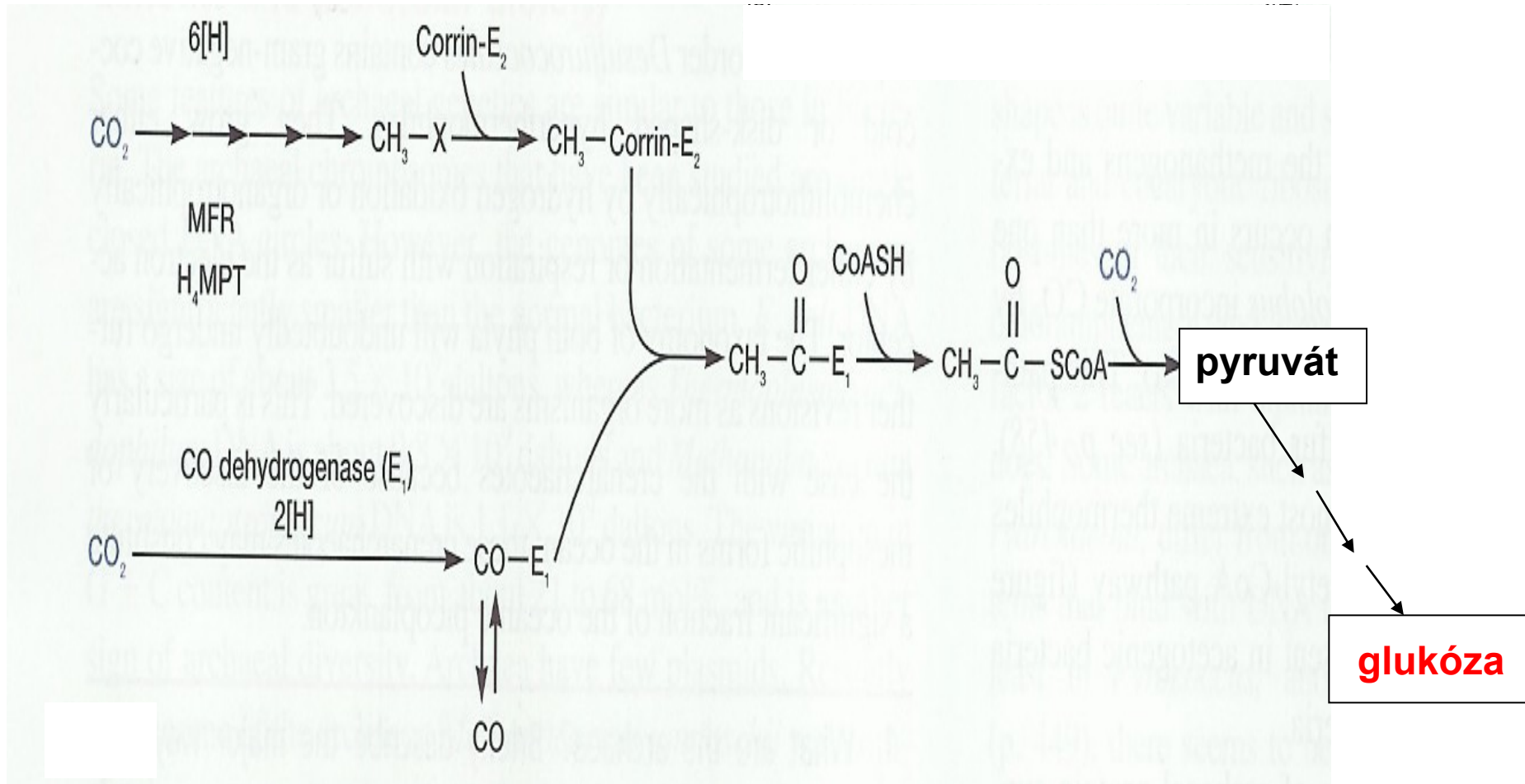
# Mechanismus autotrofní fixace CO<sub>2</sub>

Organismus: *Thermoproteus neutrophilus*



Reduktivní cyklus  
trikarbonových  
kyselin

# Mechanismus autotrofní fixace CO<sub>2</sub>

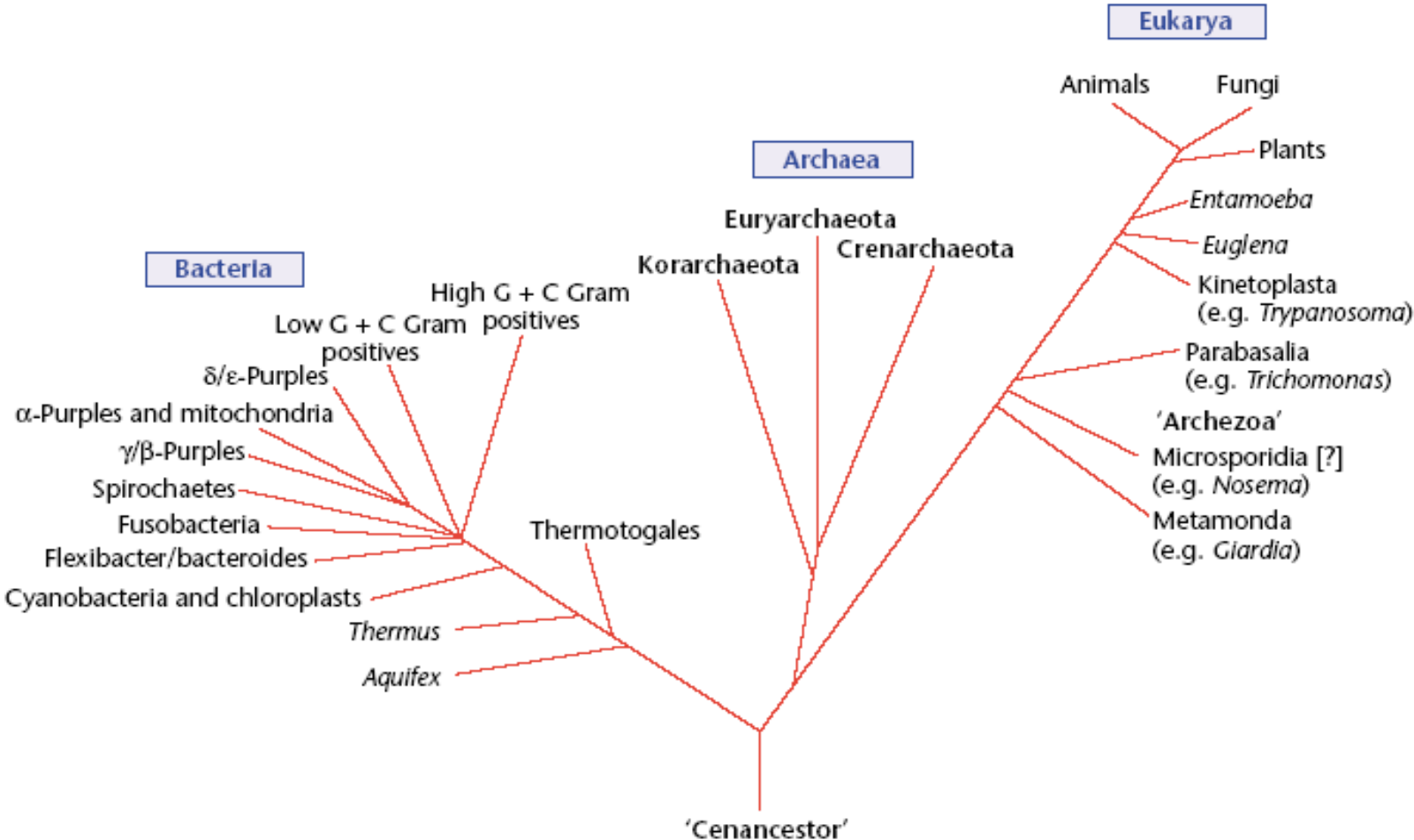


Corrin-E2 – Co obsahující enzym – podílí se na transportu metylu

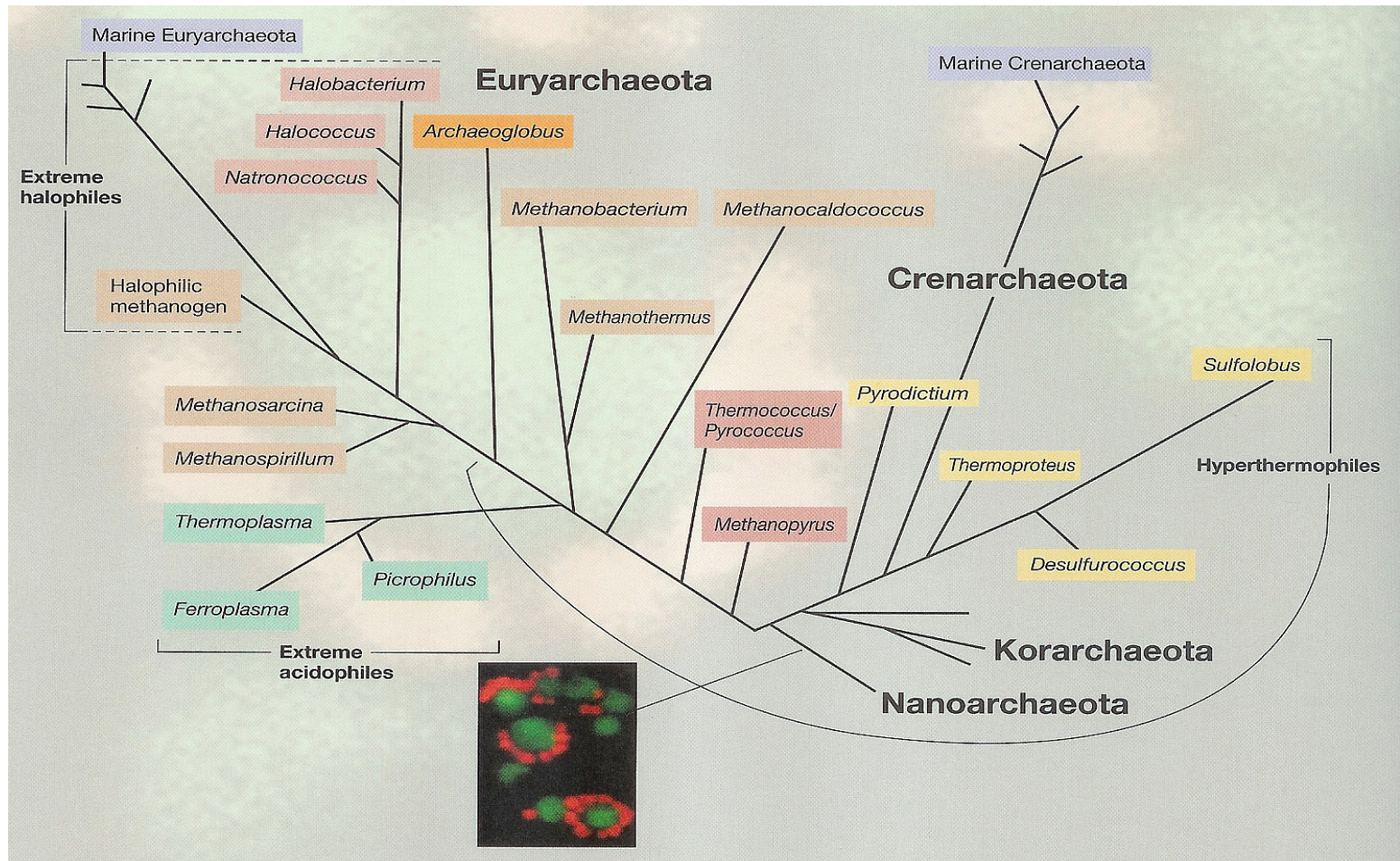
MFR - metanofuran

MPT - metanopterin

# Základní tři domény



# Fylogenetický strom - *Archaea*



Strom je odvozen na základě sekvenční 16S ribozomální RNA (<http://rdp.cme.msu.edu>)



# Přehled systému Archaea

## Doména Archaea

Kmen	<i>Crenarchaeota</i>	
	Třída	<i>Thermoprotei</i>
		Řád <i>Thermoproteales</i>
		Řád <i>Desulfurococcales</i>
		Řád <i>Sulfolobales</i>
Kmen	<i>Euryarchaeota</i>	
	Třída	<i>Methanobacteria</i>
		Řád <i>Methanobacteriales</i>
	Třída	<i>Methanococci</i>
		Řád <i>Methanococcales</i>
	Třída	<i>Methanomicrobia</i>
		Řád <i>Methanomicrobiales</i>
		Řád <i>Methanosarcinales</i>
	Třída	<i>Halobacteria</i>
		Řád <i>Halobacteriales</i>
	Třída	<i>Thermoplasmata</i>
		Řád <i>Thermoplasmatales</i>
	Třída	<i>Thermococci</i>
		Řád <i>Thermococcales</i>
	Třída	<i>Archaeoglobi</i>
		Řád <i>Archaeoglobales</i>
	Třída	<i>Methanopyri</i>
		Řád <i>Methanopyrales</i>
Kmen	<i>Korarchaeota</i>	

# Základní charakteristika tří základních kmenů *Archaea*

- **Crenarcheota**
  - extrémně termofilní *Crenarcheota* (chemolitotrofie, respirace siřných sloučenin)
- **Euryarcheota**
  - metanogenní *Euryarcheota*
  - extrémně halofilní *Euryarcheota*
  - termofilní *Euryarcheota* (respirace síry a síranů)
- **Korarcheota**

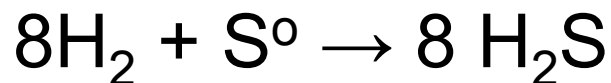
# *Crenarcheota*

- Zástupci *Crenarchaeota* jsou aerobní, fakultativně anaerobní nebo anaerobní
- Metabolismus je od chemoautotrofie po chemorganotrofii
- Řada z nich využívá síru nebo železo pro tvorbu energie za striktně aerobních podmínek
- Některé druhy patří mezi primární producenty organickou hmotu vytvářejí z CO<sub>2</sub>, jako jediného zdroje uhlíku
- Pro většinu je zdrojem energie organická látka – aerobní nebo anaerobní respirace nebo kvašení
- Všechny kultivované – přes 80°C
- Detekovány ale i v chladných mořích i ledu (2-4oC, 0oC)

Initially, the Crenarchaeota were thought to be [extremophiles](#) (e.g., [thermophilic](#) (113 °C) and [psychophilic](#) organisms) but recent studies have identified them as the most abundant archaea in the marine environment.

# *Crenarcheota*

- Za anaerobních podmínek je možná i tzv. “S<sup>0</sup>/H<sub>2</sub> autotrofie“



kdy se vytváří nadměrné množství H<sub>2</sub>S

- Některé obsahují “solfapterin“, který je podobný koenzymu F<sub>420</sub>. Tento koenzym je typický u metanogenů
- Zástupci řádu Sulfolobales obsahují specifický chinon “sulfolobus quinone – SQ“, který se vyskytuje u některých druhů v největším množství za aerobních podmínek a u jiných naopak za podmínek anaerobních

# Doména *Archaea*

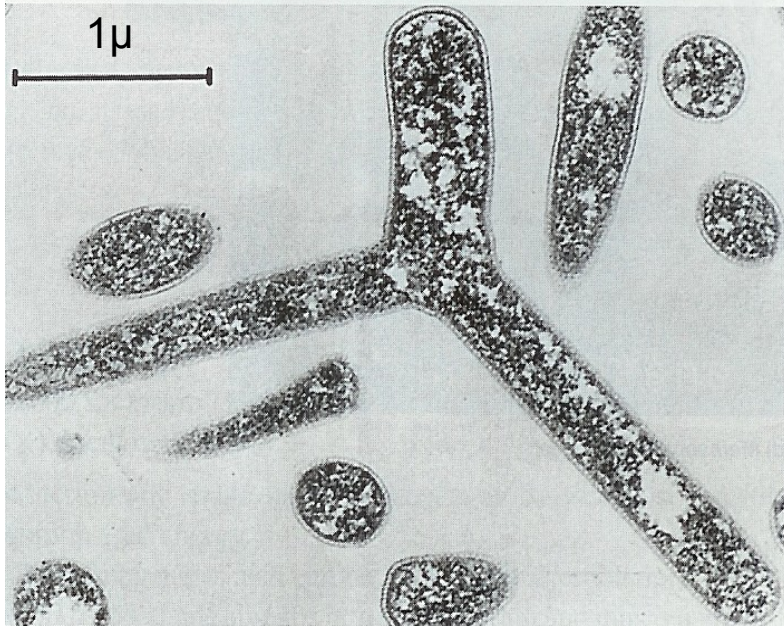
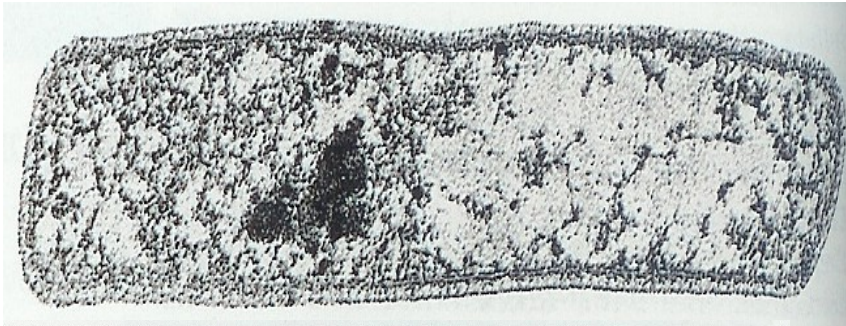
Kmen ***Crenarchaeota***

Třída ***Thermoprotei***

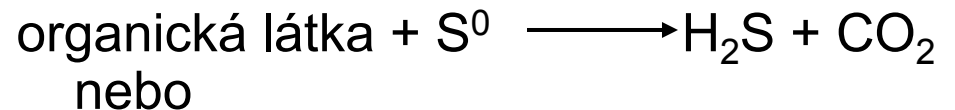
Řád ***Thermoproteales***

Čeď ***Thermoproteaceae***

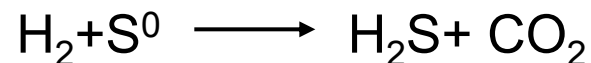
Rod ***Thermoproteus***



*Thermoproteus* je G- anaerobní hypertermofilní tyčka. Optimální růst je při teplotě 70- 97°C a pH mezi 2,5-6,5. Dobře roste ve vodním prostředí s vysokým obsahem síry. Energii získává anearobní respirací (substrát – glukóza, aminokyseliny, alkoholy, organické kyseliny)



chemolitotrofně



Autotrofní organismus

# Doména *Archaea*

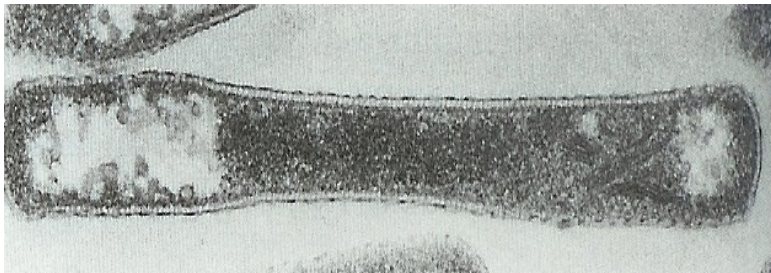
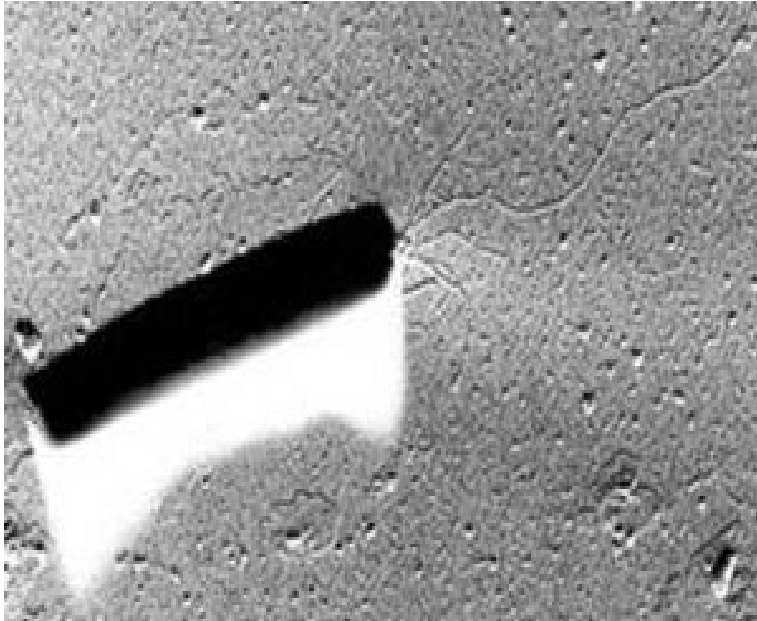
Kmen ***Crenarchaeota***

Třída ***Thermoprotei***

Řád ***Thermoproteales***

Čeď ***Thermoproteaceae***

Rod ***Pyrobaculum***



Buňky jsou ve tvaru tyček (téměř obdélníkové s pravoúhlými konci), někdy uspořádány do „V“.

Gramnegativní, neobsahují murein.

Pohyblivé pomocí bičků (peritricha nebo amfitricha), fakultativně anaerobní nebo striktně anaerobní.

Hypertermofilní, optimální růstová teplota je kolem 100°C v mírně alkalickém nebo neutrálním prostředí.

Energii získávají anaerobní respirací – akceptorem  $H^+$  a e je  $NO_3^-$ ,  $S^0$  nebo  $Fe^{3+}$ , nebo chemolitotrofií v přítomnosti  $H_2$ .

**Některé kmeny jsou schopny aerobní respirace**

# Doména *Archaea*

Kmen ***Crenarchaeota***  
Třída ***Thermoprotei***  
Řád ***Desulfurococcales***  
Čeď ***Desulfurococcales***  
Rod ***Thermosphaera***

Kokovité buňky se vyskytují jednotlivě, po dvou, v krátkých řetězcích nebo ve shlucích (podobné hroznům z několika až 100 jedinců).

Jednotlivé buňky mají více než 8 bičíků.

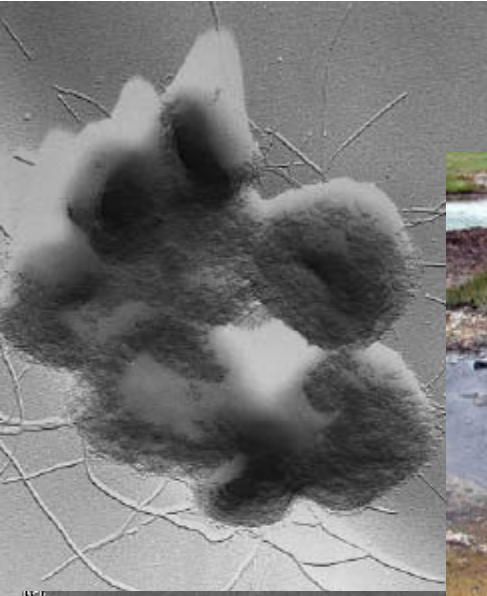
Povrch buněk je obdán amorfni vrstvou.

Ve stacionární fázi se vytvářejí agregáty buněk, viditelné pouhým okem, které mají bičíky.

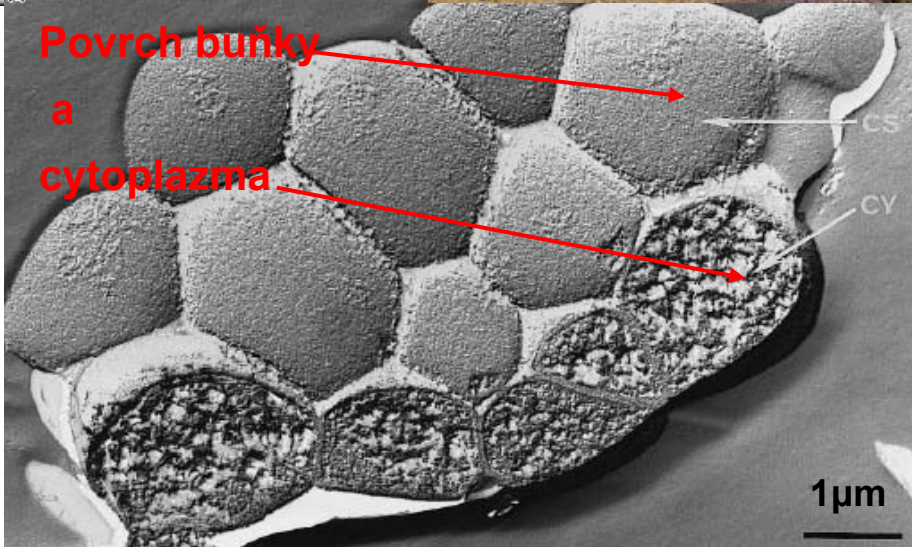
Jsou obligátně anaerobní, heterotrofní, hypertermofilní optimum 85°C; optimální pH v rozmezí 6,5 až 7,2.

Molekulární vodík nebo síra inhibují růst.

Izolovány v roce 1998 z pevninského horkého pramene (Yellowstone, USA).



Povrch buňky  
a  
cytoplazma



# Doména Archaea

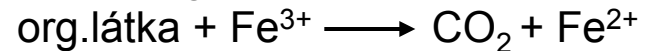
Kmen **Crenarchaeota**  
Třída **Thermoprotei**  
Řád **Desulfurococcales**  
Čeleď **Pyrodictiaceae**  
Rod **Pyrodictium**

buňky nepravidelného diskovitého tvaru a vyskytující se jednotlivě, jejich průměr je vysoce variabilní. Vytváří struktury tvaru tubul, které tvoří síť spojující buňky s vysokým obsahem elementární síry. Buněčná stěna je tvořena glykoproteinem. Je striktní anaerob, roste při více než 100°C

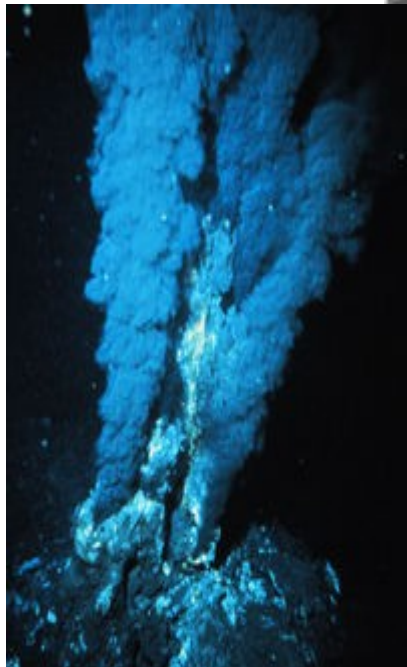
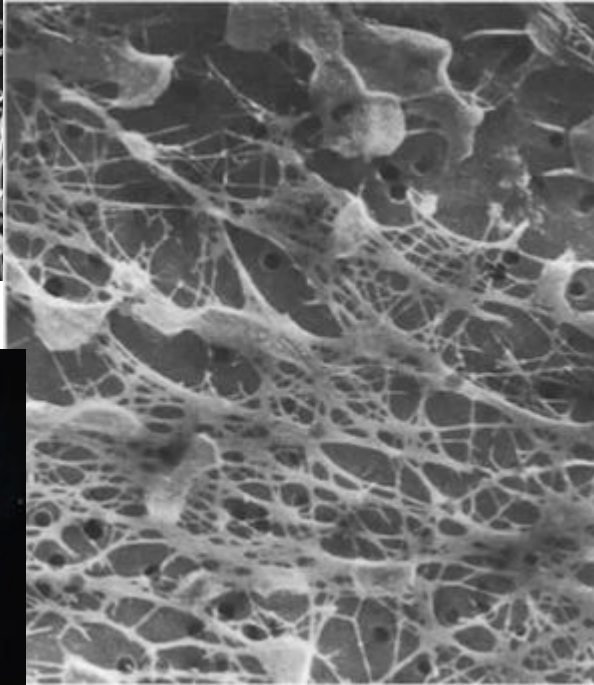
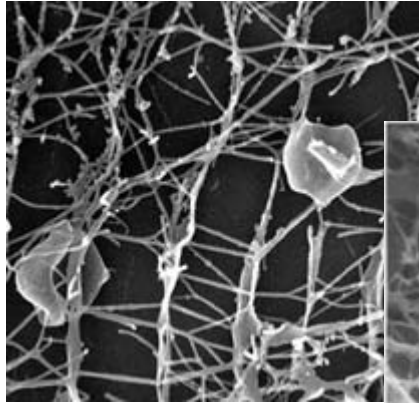
chemolitotrofně



chemoorganotrofně



They have a unique cell structure involving a network of cannulae and flat, disk-shaped cells. *Pyrodictium* are found in the porous walls of deep-sea vents where the temperatures inside get as high as 300o-400oC, while the outside marine environment is typically 3oC. *Pyrodictium* is apparently able to adapt morphologically to this type of hot-cold habitat.



hlubinný černě kouřících průduch



# Doména *Archaea*

Kmen ***Crenarchaeota***

Třída ***Thermoprotei***

Řád ***Desulfurococcales***

Čeď ***Pyrodictiaceae***

Rod ***Pyrolobus***

Buňky jsou gramnegativní, nepohyblivé, pravidelné až nepravidelně laločnaté koky uspořádané jednotlivě nebo v krátkých řetězcích.

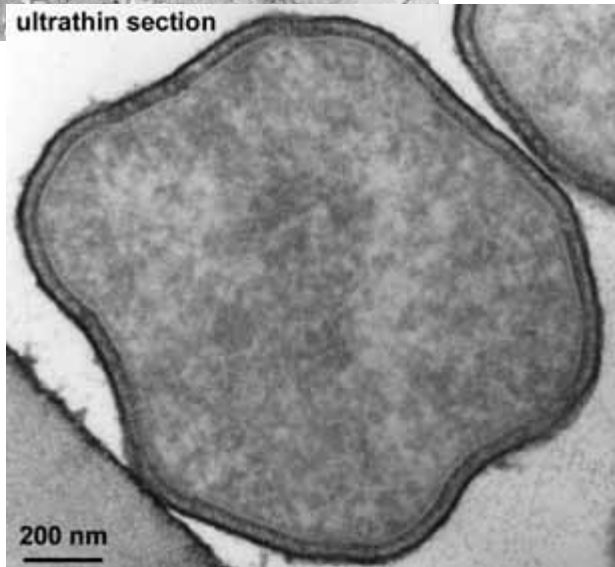
Buněčná stěna je složena z proteinů.

Rostou v rozmezí 90 až 113°C při pH 4 – 6,5 a koncentraci 1 – 4% NaCl.

Fakultativně anaerobní, obligátně chemolitotrofní – oxidace  $H_2$  je spojena s redukcí  $NO_3^-$  (na  $NH_4^+$ ),  $S_2O_3^{2-}$  (na  $H_2S$ ) nebo při velmi nízkých koncentracích  $O_2$  (na  $H_2O$ ).

Izolovány jsou z hydrotermálních systémů v podmořských propastech.

Jsou extrémně termorezistentní – *P. fumarii* vydrží autoklávování při 121°C po dobu 10 hod. (množil se), zabit až 130°C



# Doména *Archaea*

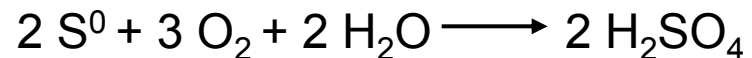
Buňka *Sulfolobus*  
infikovaná  
temperovaným  
bakteriofágem

Kmen ***Crenarchaeota***  
Třída ***Thermoprotei***  
Řád ***Sulfolobales***  
Čeď ***Sulfolobaceae***  
Rod ***Sulfolobus***

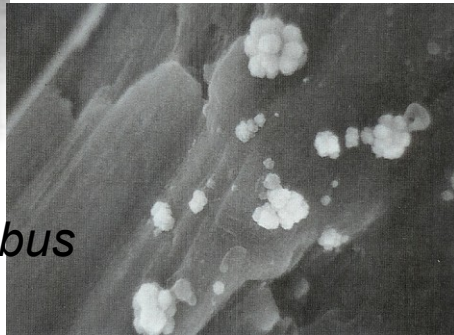
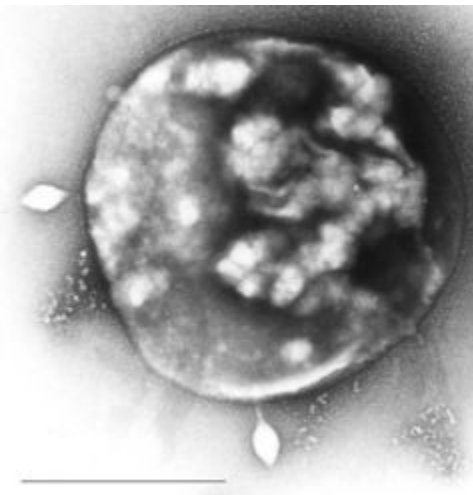
Jsou gramnegativní, kokovité, nepravidelné (často laločnaté, příležitostně kulaté), obvykle se vyskytují jednotlivě, nepohyblivé nebo pohyblivé jedním či více bičíky. Optimální růstová teplota v rozmezí 65 až 85°C, při pH 1 až 5. Metabolizmus:

Chemoorganotrofní (aerobní respirace)  
 $\text{org.látka} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$   
(glykolýza, pentóza fosfátová dráha a TCA)

Chemolitotrofní



Izolovány z kyselých kontinentálních solfatarových polí (Yellowstone - USA, Nové Mexiko, Itálie, Nový Zéland, Japonsko, Azorské ostrovy, Sumatra)



Kolonie *Sulfolobus*



Yellowstone

Island



# Základní charakteristika tří základních kmenů *Archaea*

- **Crenarcheota**

- extrémně termofilní *Crenarcheota* (chemolitotrofie, respirace siřných sloučenin)

- **Euryarcheota**

- metanogenní *Euryarcheota*

- extrémně halofilní *Euryarcheota*

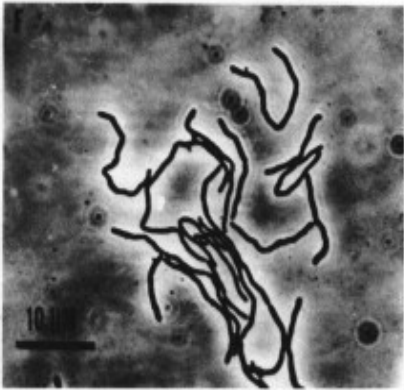
- termofilní *Euryarcheota* (respirace síry a síranů)

- **Korarcheota**

# *Euryarcheota*

- *Euryarcheota* jsou velmi morfologicky i fyziologicky odlišné
- barví se grampozitivně nebo gramnegativně na základě přítomnosti či absenci pseudomureinu v buněčné stěně
- u některých tříd se buněčná stěna skládá výhradně z proteinů nebo není přítomna vůbec (*Thermoplasma*)
- v rámci kmene *Euryarchaeota* se nachází pět hlavních fyziologických skupin:
  - metanogenní archaea,
  - extrémě halofilní archaea,
  - archaea postrádající buněčnou stěnu,
  - sírany redukující archaea a
  - extrémě termofilní archaea metabolizující elementární síru

# Doména *Archaea*



Kmen ***Euryarcheota***

Třída ***Methanobacteria***

Řád ***Methanobacteriale***

Čeď ***Methanobacteriaceae***

Rod ***Methanobacterium***

Buňky jsou grampozitivní zkroucené, zakřivené nebo rovné tyčky, nepohyblivé. Buněčná stěna je jednoduchá a složená z pseudomureinu.

Metabolismus je striktně anaerobní -  $H_2$  a nebo formiát je využíván pro redukci  $CO_2$  při metanogenezi.

Buňky jsou mezofilní nebo termofilní (35-70°C). Optimální pH 6.0 - 8.5, ale jsou značně acidotolerantní (mohou růst i při pH menším než 5).

Izolovány mohou být z anaerobního prostředí - rýžových polí, sladkovodních sedimentů, zamokřených půd, bacheru přežvýkavců.

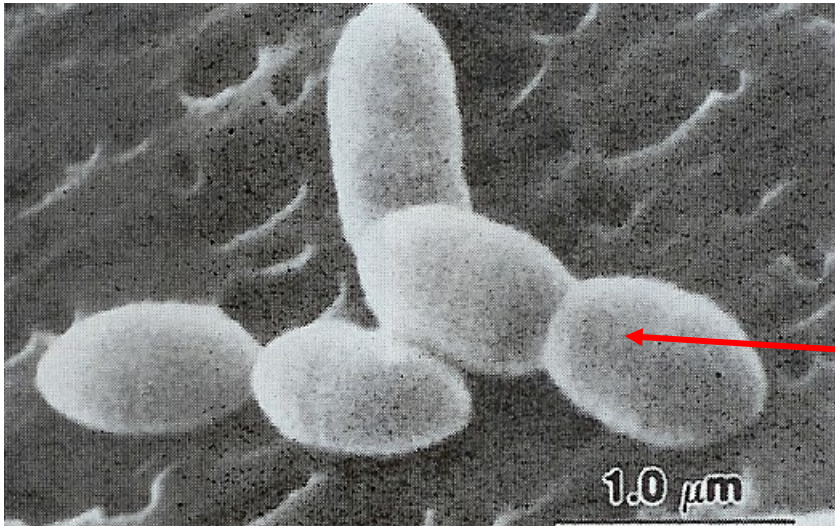
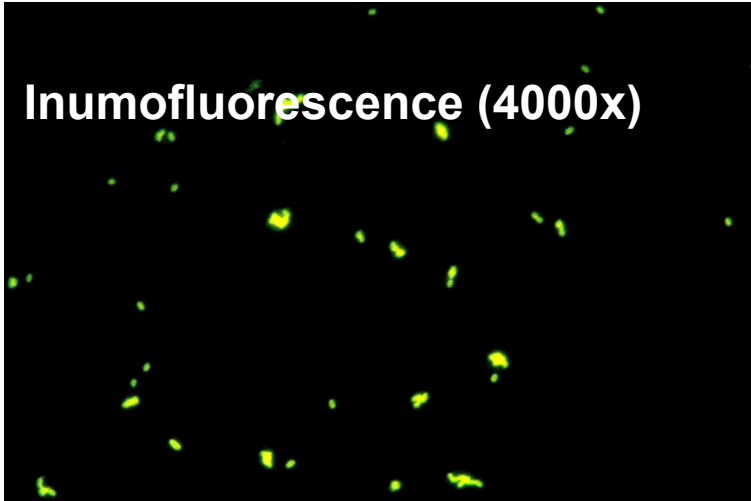
Využívají se i při výrobě bioplynu.

Inumofluorescence (4000x)



# Doména *Archaea*

Inumofluorescence (4000x)



Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanobacteria*

Řád *Methanobacteriale*

Čeleď *Methanobacteriaceae*

Rod *Methanobrevibacter*

Buňky jsou grampozitivní oválné tyčky nebo koky. Vyskytují se obvykle po dvou.

Buněčná stěna je složena z pseudomureinu. Nepohyblivé, striktně anaerobní, teplotní rozmezí 30 až 45°C.

K redukci CO<sub>2</sub> za tvorby metanu využívají H<sub>2</sub> nebo formiát.

Vyskytují se v bachoru přežvýkavců (*M. ruminantium*), ve střevech termitů, v půdě rýžových polí.

*M. smithi* je u většiny lidí součástí normální mikroflóry tlustého střeva a představuje asi 0,001-12% celkového počtu živých buněk anaerobů; existují indicie, že se podílí na trávení polysachridů – zablokování těchto genů vedlo u myší k obezitě.

# Doména *Archaea*

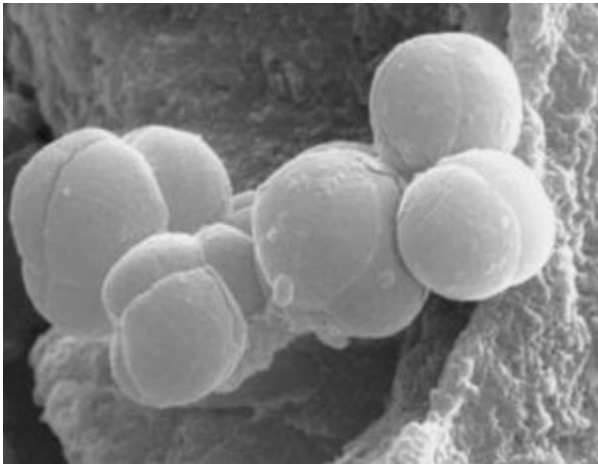
Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanobacteria*

Řád *Methanobacteriale*

Čeď *Methanobacteriaceae*

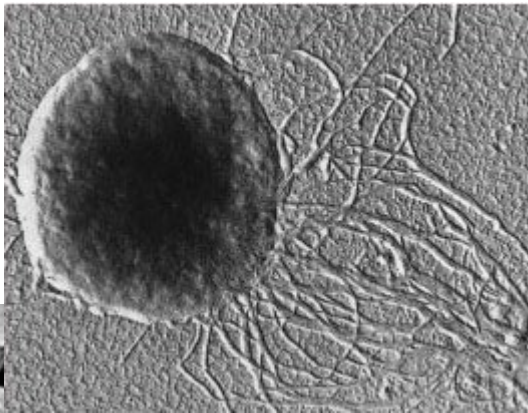
Rod *Methanosphaera*



Buňky jsou grampozitivní, sférické, po dvou, v tetradách nebo shlucích, nepohyblivé. Buněčná stěna je složena z pseudomureinu. Jsou striktně anaerobní. energii získávají anaerobní respirací redukcí  $\text{CO}_2$   $\text{H}_2$  nebo využívají metanol (ale pouze v přítomnosti  $\text{H}_2$ ). Některé kmeny vyžadují aminokyseliny a vitaminy pro svůj růst.

*Methanosphaera stadtmanae* je běžnou součástí mikroflóry tlustého střeva jak člověka, tak i zvířat – produkce metanu.

# Doména Archaea



Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanococci*

Řád *Methanococcales*

Čeď *Methanocaldococcaceae*

Rod *Methanocaldococcus*

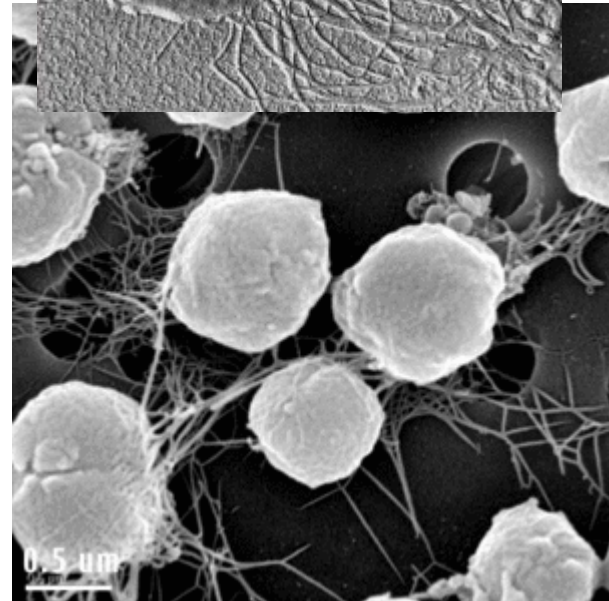
Buňky jsou gramnegativní, pravidelné až nepravidelné koky, většinou po dvou, pohyblivé pomocí dvou až tří svazků polárních bičíků. Buněčná stěna tvořena proteiny.

Hypertermofilní s teplotním optimem 80 až 85°C, obligátně anaerobní, pH optimum 5,2 až 7,6.

Obligátně metanogenní, k redukci CO<sub>2</sub> slouží výhradně H<sub>2</sub>.

Vyskytují se v hlubinných mořských hydrotermálních průduších nebo sedimentech moří či oceánů

*M.jannaschii* může růst v prostředí o tlaku více než 200 atm. a při teplotě mezi 45-95 °C  
první sekvenovaná archea



*Methanocaldococcus jannaschii*



White  
smokers  
2600m



# Doména *Archaea*



Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanomicrobia*

Řád *Methanomicrobiales*

Čeď *Methanospirillaceae*

Rod *Methanospirillum*

Buňky jsou gramnegativní stejnoměrně zakřivené tyčky často tvoří zvlněná vlákna a pohybují se pomocí polárního svazku bičíků.

Jsou mezofilní a striktně anaerobní.

Jsou fakultativně metanogenní – k redukci  $\text{CO}_2$  využívají  $\text{H}_2$  nebo formiát; v přítomnosti jiných organických látek vystupují jako chemoorganotrofové.

Vyskytují se v odpadních vodách nebo sedimentech

# Doména *Archaea*

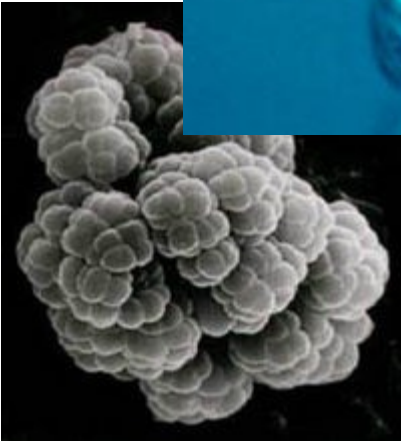
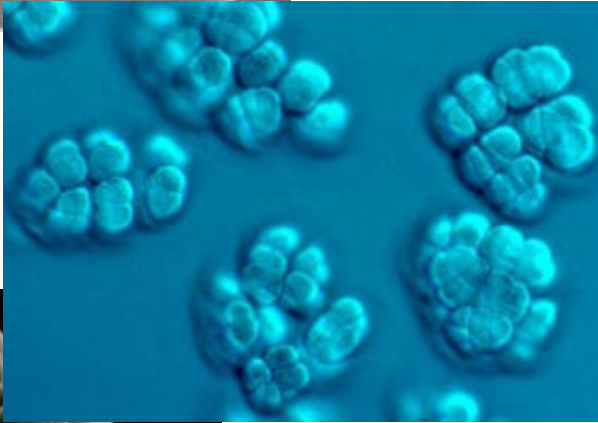
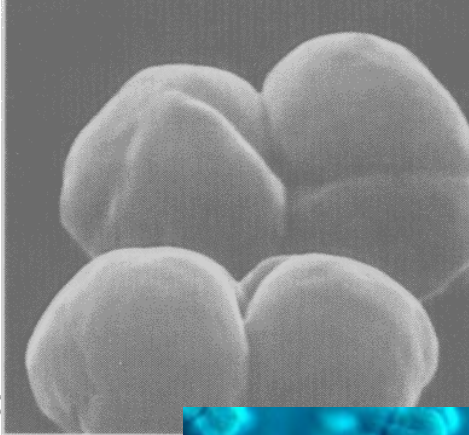
Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanomicrobia*

Řád *Methanosarcinales*

Čeď *Methanosarcinaceae*

Rod *Methanosarcina*



Buňky jsou gram variabilní, tvořící nepravidelná sférická tělesa vyskytující se jednotlivě nebo v typických seskupeních buněk (pseudosarciny).

Jsou mezofilní (30-40°C) nebo termofilní (50-55°C). Některé druhy však mohou růst i při teplotě 1-35 °C.

Buněčná stěna je složena z proteinů a nad ní může být vrstva tvořená heteropolysacharidy.

Při metanogenezi je jako substrát využíván acetát, metanol, trimethylamin, dimethylamin nebo monomethylamin.

*Methanosarcina* se vyskytuje jak v sedimentech sladkovodních, tak i mořských. Časté jsou i v zahradních půdách, odpadních jímkách, fekáliích, feces herbivorních živočichů, rumenu přežvýkavců nebo v bioreaktorech.

# Doména Archaea



*Halobacterium salinum*



*Halobacterium* ve slané laguně u San Quentin, Baja California Norte, Mexico.

Kmen *Euryarcheota*  
Třída *Halobacteria*  
Řád *Halobacteriales*  
Čeď *Halobacteriaceae*  
Rod *Halobacterium*

Buňky jsou gramnegativní tyčkovitého tvaru, často pleomorfní. Jsou pohyblivé pomocí svazků polárních bičíků.

Některé kmeny mají plynné vakuoly. Halobacterie využívají aminokyseliny za aerobních podmínek.

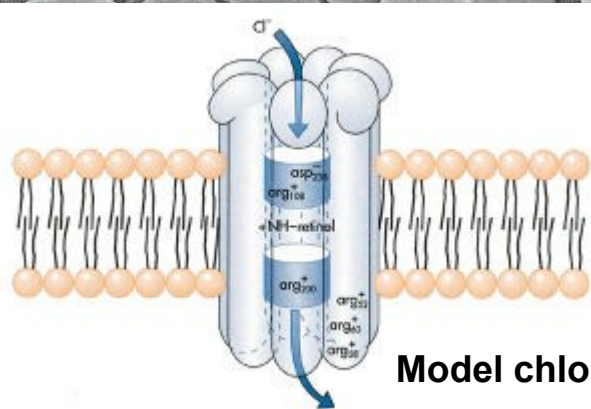
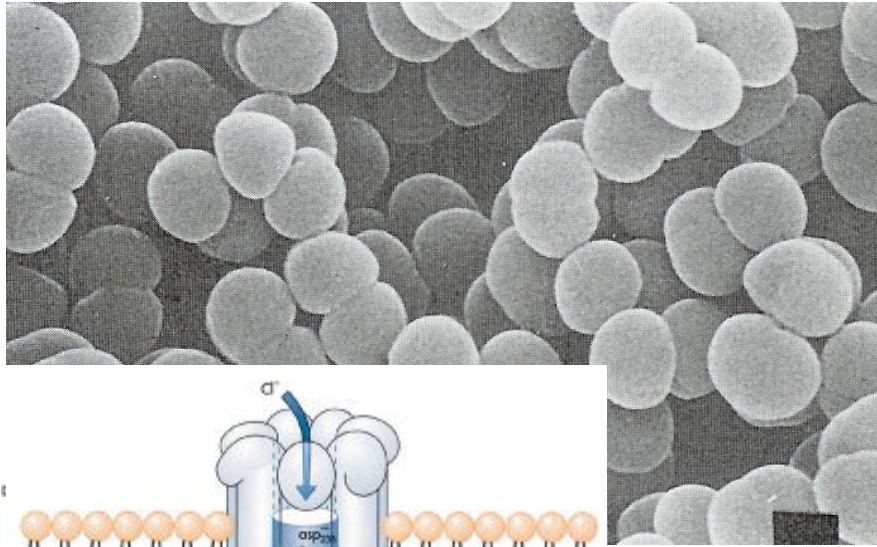
Extrémně halofilní (3,0 až 5,2 M NaCl), v teplotním rozmezí 20 až 55°C a při pH 5,5 až 8,5.

Obsahují pigment **bakteriorhodopsin**. Mají silné proteolytické vlastnosti.

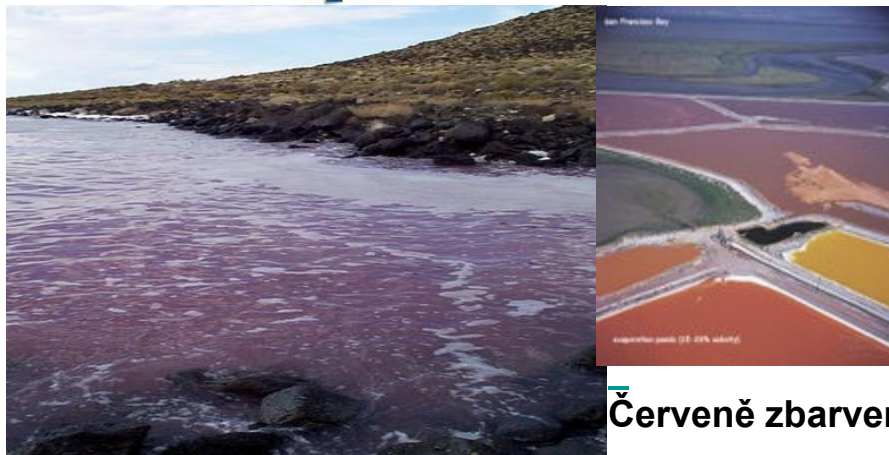
Nacházejí se v solných jezerech, podzemních solných ložiscích, případně i v solených potravinách.

Předpokládá se, že halobakterie mohou být jednou z forem života na Marsu.

# Doména Archaea



Model chloridové pumpy



Červeně zbarvené sedimenty

Kmen *Euryarcheota*  
Třída *Halobacteria*  
Řád *Halobacteriales*  
Čeleď *Halobacteriaceae*  
Rod *Halococcus*

Koky se barví se převážně gramnegativně, vyskytující se po dvou, v tetradách, balíčcích nebo ve shlucích. Jsou nepohyblivé, striktně aerobní, chemoorganotrofní.

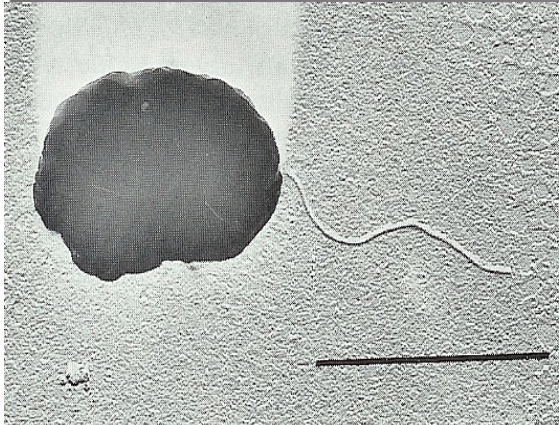
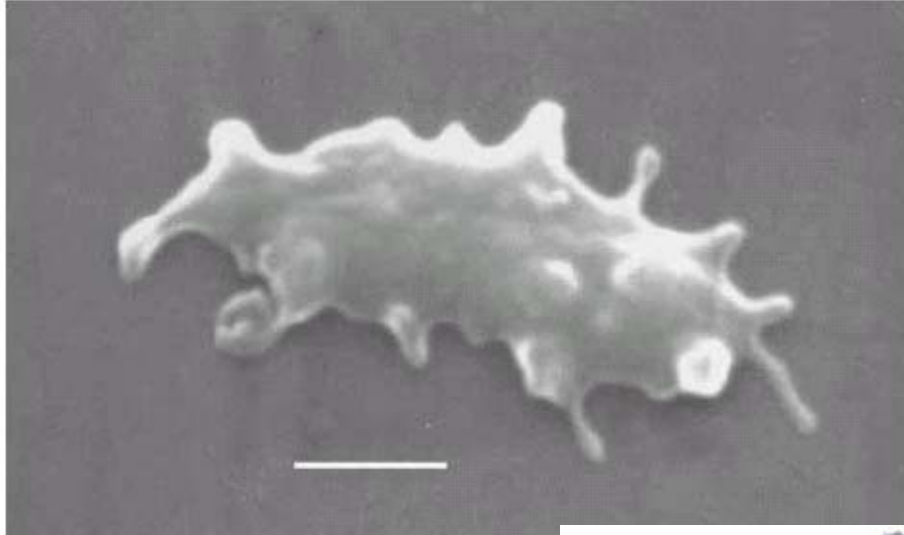
Některé jsou schopné fotosyntézy.

Extrémně halofilní, rostou v rozmezí 3,5 až 4,5 M NaCl (až 32% soli). Při teplotě 28 až 50°C a pH 6 až 9,5.

Mají specifickou chloridovou pumpu na vyrovnávání osmotického tlaku. Jejich výskyt je stejný jako u jiných halobakterií. Mohou také způsobit zkažení nasolených potravin.

V některých případech proteiny obsahují pigmenty, které způsobují načervenalé zbarvení lokality (Mrtvé moře na podzim).

# Doména *Archaea*



Kmen *Euryarcheota*  
Třída *Thermoplasmata*  
Řád *Thermoplasmatales*  
Čeleď *Thermoplasmataceae*  
Rod *Thermoplasma*

Gram negativní buňky jsou pleomorfní ( od sférických struktur po vláknité). Při nižších teplotách je sférické, při vysokých nepravidelná vlákna). **Buňky nemají buněčnou stěnu** a jsou obklopeny jednoduchou trojvrstevnou membranou (lipopolysacharidy, glykoproteiny, větvené diglycerol tetraetery) a mohou být pohyblivé jedním bičíkem. **DNA je stabilizována specifickým histonu podobným proteinem.** Fakultativně aerobní, obligátně termoacidofilní; optimální teplota pro růst je 55 až 60°C a pH 1,0 až 2,0. energii získávají anaerobní respirací (redukci síranů).

*T. acidophilum* obsahuje 1,564,905 párů bazí; kóduje ale 68 proteinů, které se nenachází u jiných archeí. Vyskytují se na uhelných haldách, v horkých pramenech a v kyselých solfatarových polích

# Doména Archaea

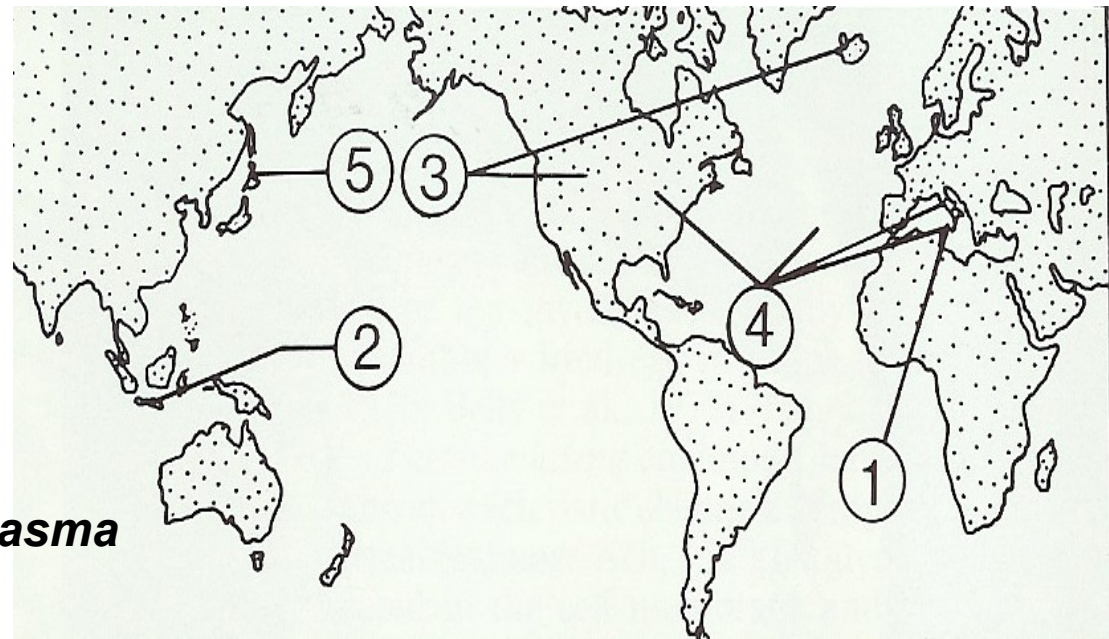
Kmen *Euryarcheota*

Třída *Thermoplasmata*

Řád *Thermoplasmatales*

Čeď *Thermoplasmataceae*

Rod *Thermoplasma*



Rozšíření rodu *Thermoplasma*

# Doména *Archaea*

Kmen *Euryarcheota*

Třída *Thermococci*

Řád *Thermococcales*

Čeleď *Thermococcaceae*

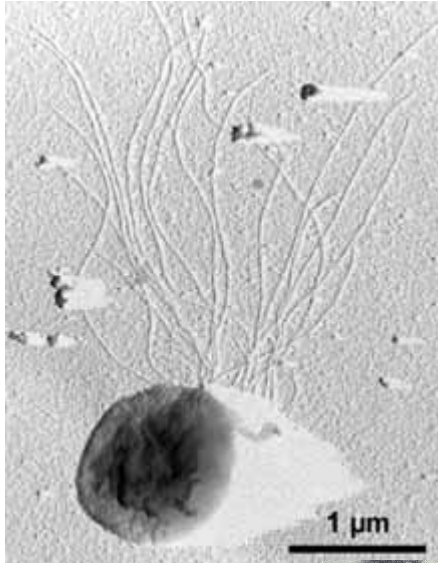
Rod *Thermococcus*

Koky se vyskytují jednotlivě nebo shlucích. Dělení buněk konstrikcí. Nepohyblivé nebo pohyblivé polárními svazky bičíků. Růst při 60-100°C (min. 50°C), a při pH 5-9.

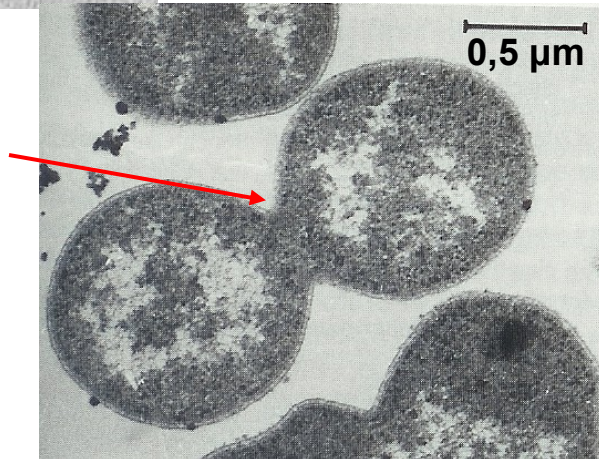
Jsou heterotrofní a využívají jako akceptor elementární síru (redukce na H<sub>2</sub>S).  
striktně anaerobní

Výskyt - pobřežní a podmořské solfatary, hlubokomořské hydrotermální průduchy, terestrické termální prameny.

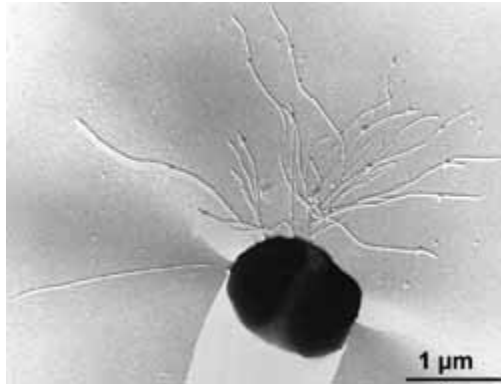
*T. kodakaraensis* byl izolován ze solfataru (102°C, pH 5.8) na Kodakara Island, Kagoshima, Japan.



konstrikce



# Doména *Archaea*



Kmen *Euryarcheota*

Třída *Thermococci*

Řád *Thermococcales*

Čeď *Thermococcaceae*

Rod *Pyrococcus*

Gramnegativní buňky jsou mírně nepravidelné koky, vyskytující se jednotlivě nebo ve dvojicích, s polárními bičíky.

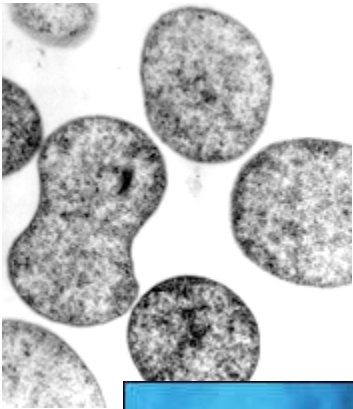
Buňky jsou obklopeny silným obalem .

Striktně anaerobní, heterotrofní.

Optimální růstové podmínky: pH kolem 7, koncentrace solí - 2.5%, a teplota - 98°C.

Výskyt: mořské hydrotermální průduchy, sedimenty mořských solfatár s teplotou 102 až 103°C, horké vývěry (plyn i tekutina) v aktivních sopečných komínech.

*P. abyssi* byl izolován v podmořském průduchu, kde byl tlak 200 atm a extrémně vysoká teplota.





# Doména *Archaea*

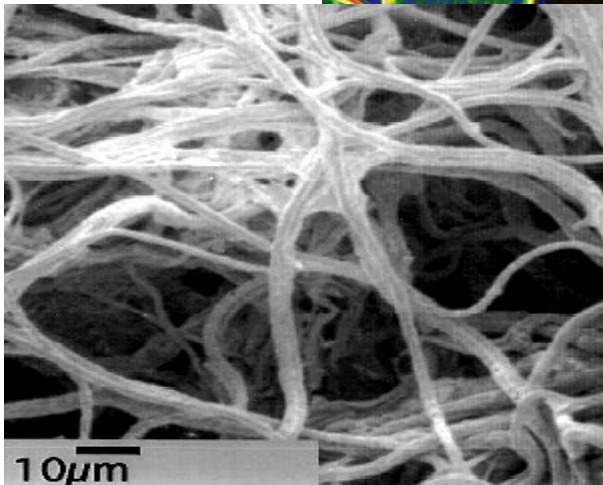
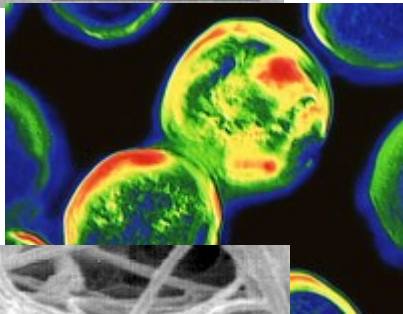
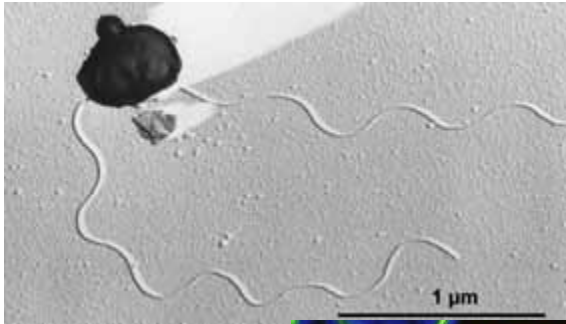
Kmen *Euryarcheota*

Třída *Archeoglobi*

Řád *Archeoglobales*

Čeď *Archeoglobaceae*

Rod *Archeoglobus*



biofilm

Buňky jsou gramnegativní, kokovité, jednotlivě nebo po dvou, monopolární bičíky.

Anaerobní a energii získávají anaerobní respirací – sulfát redukují až na  $H_2S$  (je přítomen APS).

Optimální teplota kolem  $100^\circ C$ .

Vytvářejí biofilm, který je složen z polysacharidů, bílkovin a kovů. Biofilm chrání populaci proti kompetici, predaci, nebo působení těžkých kovů.

Vyskyt: anaerobní geotermální mořské sedimenty, hydrotermální systémy hlubokých moří, krátery podmořských vulkánů.

Předpokládá se využití biofilmu při detoxikaci prostředí s obsahem těžkých kovů, případně jejich kumulaci.

Způsobují korozi kovů (těžební věže –  $Fe_2SO_4$ )

# Doména Archaea

Kmen *Euryarcheota*

Třída *Methanopyri*

Řád *Methanopyrales*

Čeď *Methanopyraceae*

Rod *Methanopyrus*

*M. kandleri* se barví gram pozitivně a buňky jsou dlouhé 2-14  $\mu\text{m}$  a široké 0,5  $\mu\text{m}$ .

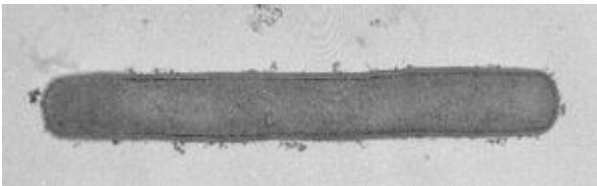
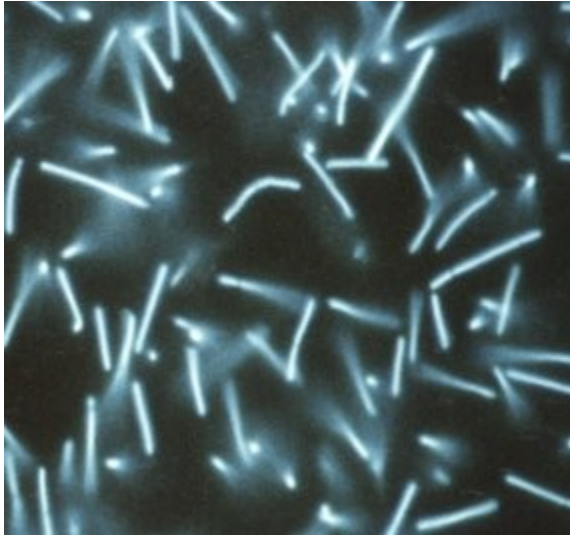
Bičíky jsou umístěny polárně.

Cytoplazmatická membrána je jednoduchá (temperoidní lipidy).

Buňka obsahuje velké množství **cyklického 2,3-difosfoglycerátu** (v buňce 1 molární koncentrace), který udržuje stabilitu intracelulárních enzymů a DNA.

Metan je produkován z  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2$  a při této autotrofii je generační doba kratší než 1 hodina při teplotě vyšší než  $100^\circ\text{C}$ .

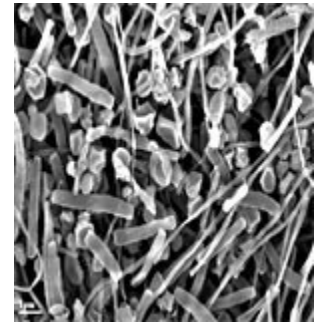
*Methanopyrus* je hlavním producentem metanu v horkých oceánských sedimentech. Byl zjištěn ve 2000m kráteru a teplota byla více než  $350^\circ\text{C}$ . Běžně roste při teplotách vyšších než  $110^\circ\text{C}$ . Některé kmeny se množí i při  $122^\circ\text{C}$ !



# Základní charakteristika tří základních kmenů *Archaea*

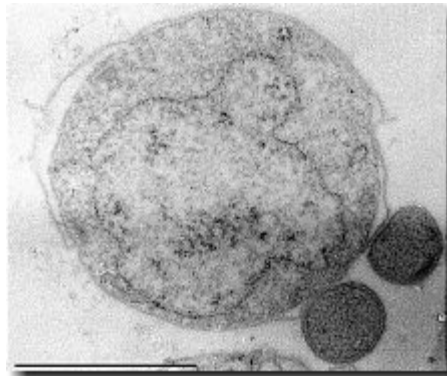
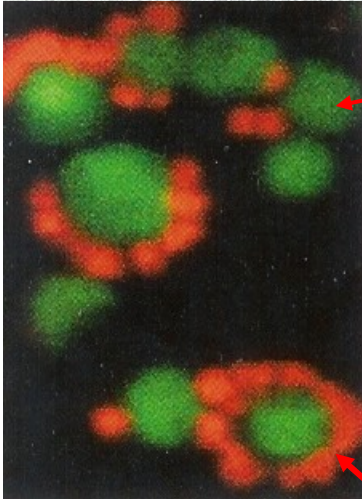
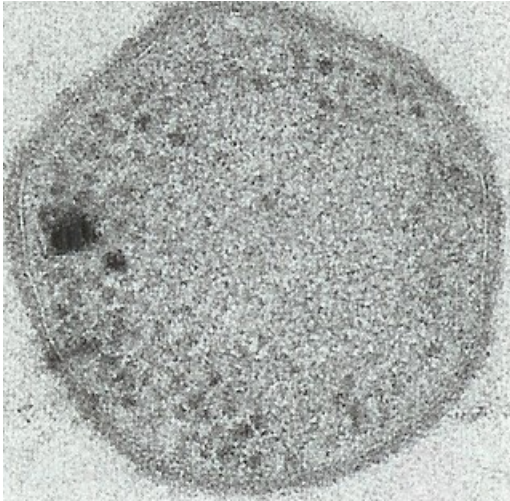
- *Euryarcheota*
  - metanogenní E.
  - extrémně halofilní E.
  - termofilní E. (respirace síry a síranů)
- *Crenarcheota*
  - extrémně termofilní (chemolithotrofie, respirace sirných sloučenin)
- *Korarcheota*

# Doména *Archaea*



- Kmen *Korarchaeota* byl popsán teprve nedávno (1996 Yellowstone). Známa je pouze sekvence DNA. Podrobnější informace o nich dosud nejsou
- Hydrotermální prostředí – vysoké teploty
- Organizmy jsou nekultivovatelné
- Zařazení bylo provedeno jen na základě analýzy sekvencí genů pro rRNA . Organizmy byly izolovány z terestrických horkých pramenů

# Doména *Archaea*



*Ignicoccus*

*Nanoarchaeum*

- **Nový kmen *Nanoarcheota***
  - *Nanoarchaeum* je rod velmi malých kokoidních buněk, které žijí jako parazité nebo jako symbionti. Jejich velikost je 0,4 $\mu$ m (1% *E.coli*).
  - Buččná stěna – S vrstva
  - Buňky *Nanoarchaeum* se replikují pouze pokud jsou připojeny na povrch hostitele *Ignicoccus* (čeleď *Desulfurococcaceae*) – obligatní symbiont. Buňky jsou jednotlivě, ve dvojicích nebo připojené na *Ignicoccus* (více než 10). Vyskytují se v hydrotermálních systémech hlubokých moří nebo terestrických horkých pramenech (90oC)
- 16S rRNA – zcela odlišné od ostatních *Archaea*

**Genom je velký pouze 0,49Mbp a je to nejmenší dosud známý genom**

- **Žádné geny pro metabolické funkce ani katabolismus**
- **Některé geny pro ATPazu**
- **Geny pro replikaci DNA – transkripci i translaci**

# Biotechnologický potenciál *Archaea*

- Odpadové hospodářství (společenstva s *Eubacteria*)
- Proteiny S-vrstev (ultrafiltrace, nanotechnologie)
- Enzymy termofilů (hydrolýza sacharidů, proteinů, restriční endonukleázy )
- Modely pro testování kancerogenity
- Biosensory, mikroelektronika (bakteriorodopsin, membrány halobakterií)
- Produkce plastů na základě zásobních polymerů
- Biologické loužení rud