

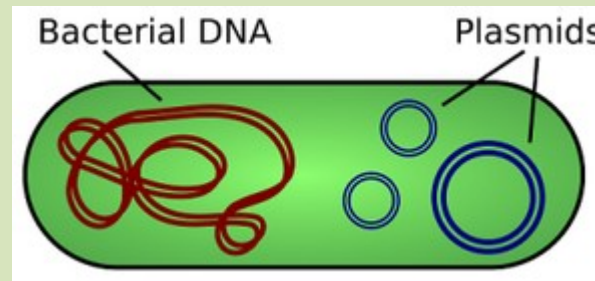
CYTOLOGIE A MORFOLOGIE PROKARYOT

3

Nukleoid, ribozomy, inkluze

Nukleoid

- oblast, kde se nachází dvoušroubovicová (ds) kruhová molekula DNA - chromozom
 - složen ze 60 % z DNA, dále z proteinů a RNA
 - z proteinů jsou nejčastější transkripční faktory – enzymy pro replikaci a expresi
 - z RNA především mRNA
 - transkripční faktory tvoří nukleozomy (jako u Eukaryot)
-
- obsahuje ještě tzv. plazmidy - menší cirkulární dsDNA, mají různé funkce
 - např. přenos DNA z donorové bakterie na recipientní při jejich konjugaci (F-plazmid)
 - nebo obsahují geny kódující enzymy schopné modifikovat antibiotika - exprese se pak projeví jako rezistence na příslušná antibiotika (R-plazmidy)



Strukturní organizace DNA

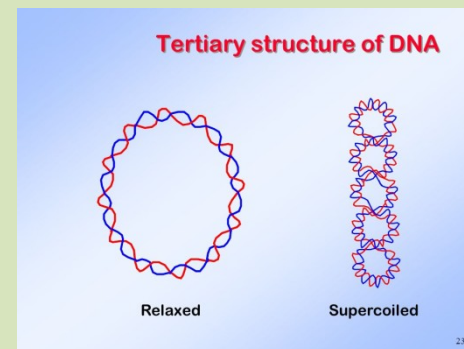
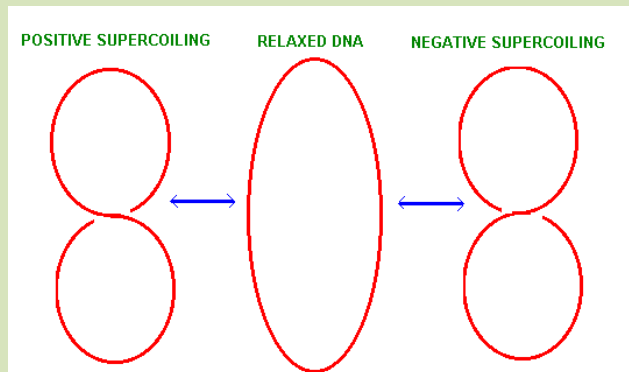
- DNA je zákonitě stočena do kliček a nadšroubovic
- nukleoid není od cytoplazmy oddělen jadernou membránou
- na několika místech je fixován k cytoplazmatické membráně
- kondenzace do kompaktní struktury
- HLP (histon-like) proteiny asociované s DNA napomáhají skládání NK
- vysoce konzervované u eubakterií

Superhelicitita = nadšroubovicové vinutí, terc. struktura

- závit přitažený: negativní superpoiling (fyziologický stav)
- závit rozvolněný: pozitivní s., relaxovaná podoba DNA – spotřeba ATP

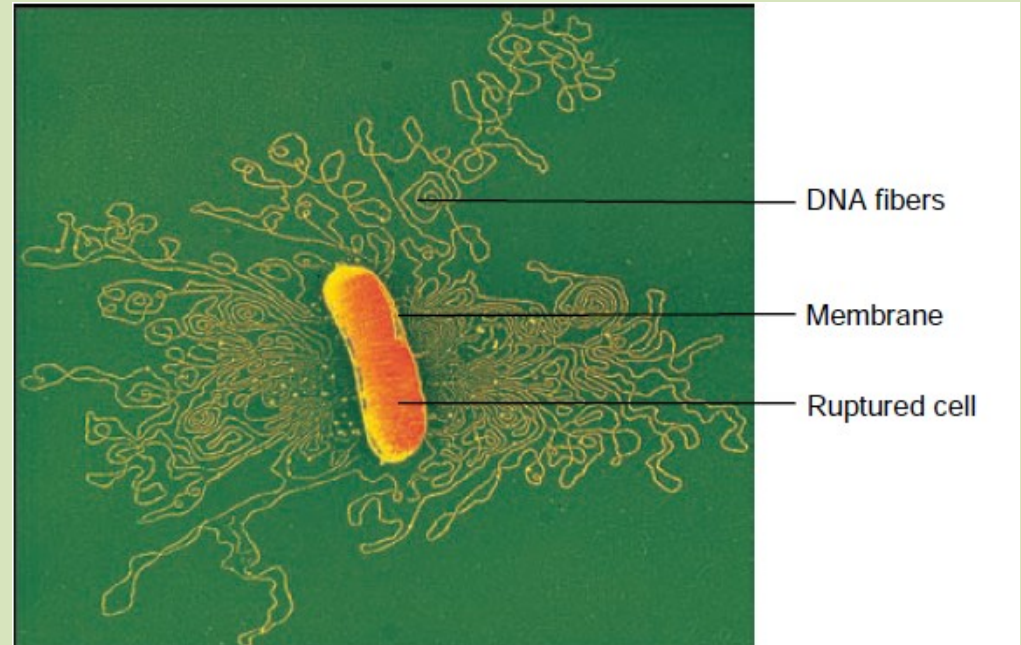
Enzymy topoizomerázy (štěpí 2 řetězce)

- např. gyráza - umožňuje měnit tzv. terciární strukturu (supercoiling) DNA (vytváří negativní supercoiling, aby se DNA udržovala co nejvolněji a bylo snazší ji rozplést během replikace)



Genom prokaryot

- zpravidla cirkulární ds DNA, ale někt. mikroorganismy mají i více než 1 chromozom
- lineární – *Borrelia*, *Streptomyces*, *Coxiella*, *Paracoccus denitrificans*
- více než 2 oddělené chromozomy – *Vibrio cholerae*, *Borrelia burgdorferi*
- velikost genomu cca 0,6 – 10 Mbp, *E. coli* – 4,1 Mbp, 0.58 Mbp *Mycoplasma genitalium*, 4.4 Mbp *Mycobacterium tuberculosis*
- průměrná hmotnost: 5 . 10⁻¹⁵ g DNA
- G+C obsah (melting point) je taxon. specifický: 28% (*Clostridium*) - 72% (*Sarcina*)
- geny nejsou členěny na exony a introny = proteosyntéza probíhá velmi rychle
- vysoká frekvence mutace
- NCBI – databáze sekvenovaných genomů
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>



Genom

- haploidní chromozom
- páry bazí A-T, C-G:
- neplatí paradox hodnoty C
- replikace předchází dělení buňky
- reprodukce – asexuální = tvorba klonů...
- změna sekvence – rekombinací nebo mutacemi

Genom do 5 Mbp, 2500 – 3500 genů, málo nekódujících sekvencí

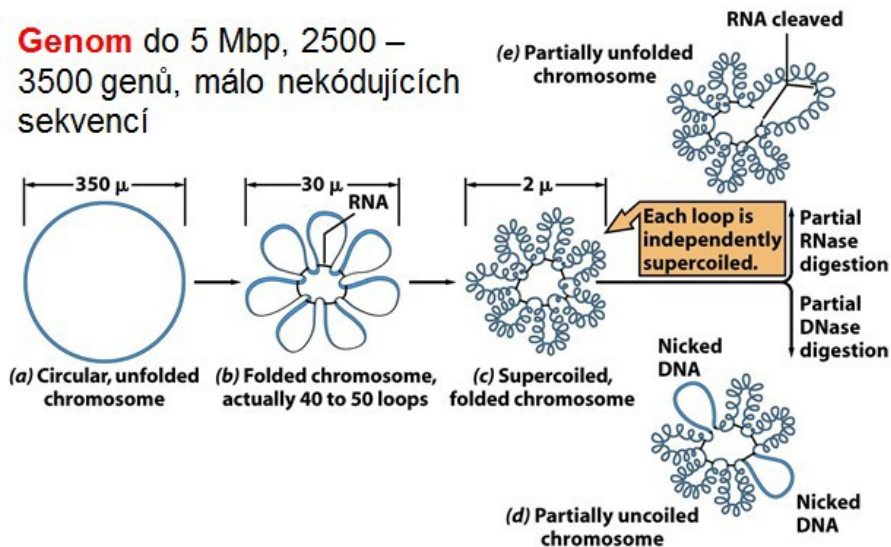


Figure 9-15 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

První sekvenovaný mikroorganismus:

Haemophilus influenzae

(1995 by The Institute for Genomic Research)

Počet genů: 575 – 5500..

High coding densities....většina genů kódujících
(Člověk 3 mld bp a 23 000 genů)



Paradox C hodnoty = velikost genomu nesouhlasí s komplexitou organismu (u eukaryot neplatí, že čím větší genom, tím je organismus vyspělejší...
<http://www.osel.cz/5327-paris-japonica-pokorila-bahnika.html>



Genetická informace

- velikost genomu závisí na živ. strategii
- „specialisté“: ~1,5 MBp
- „generalisté“ - ~4 – 8 MBp ze strukturních genů
- obsahuje jen málo NEkodujících oblastí (12%)

Složky genomu:

- chromozom
- plazmidy – F, R, Ti, Col - col plazmidy - tvoří látku s ATB účinkem
- mobilní elementy: transpozony, inzerční konjugativní plazmidy
- mobilizovatelné plazmidy - jsou schopné přenosu jen za účasti konjug. plasmidu - epizomální integrace plasmidu do chromozomu hostitele

Profágy

- r. způsoby přenosu
- transformace, konjugace, transdukce

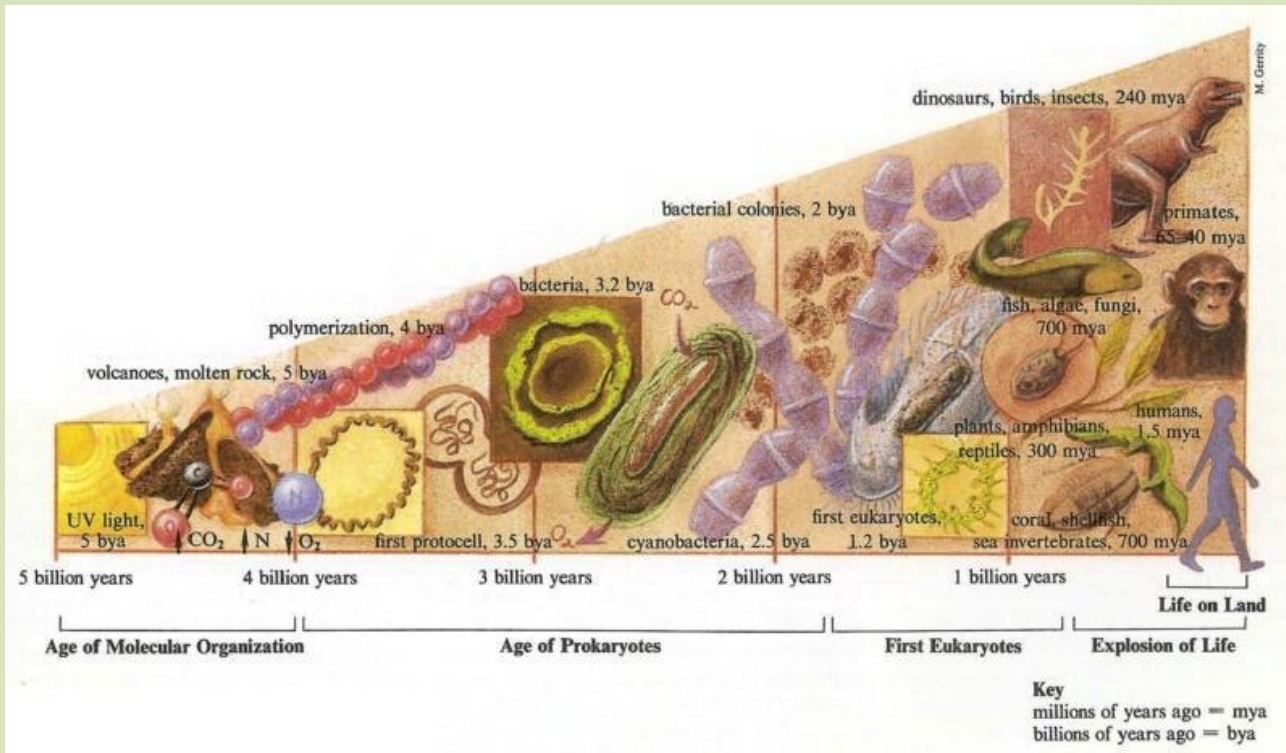
Replikony

- geny, které mají společný promotor, jsou přepisovány současně a regulovány stejným operátorem...



Adaptace

- genom kóduje, ale vyvíjí se, mění se...
- po několika miliardách let evoluce adaptace na různé typy živ. prostředí
 - a) evoluční adaptace
 - b) regulace metabolismu v daném momentě
- vývoj ochranných látek chránících proteiny a NK (unikátní chem.struktury)
- př: dipikolinová, "histon – like" proteiny, HS proteiny...)



Replikace gen. informace

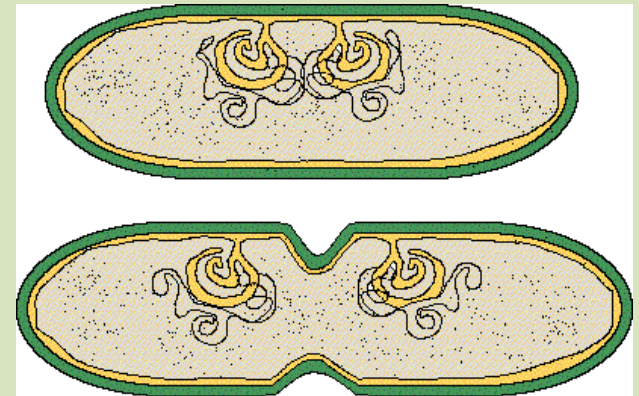
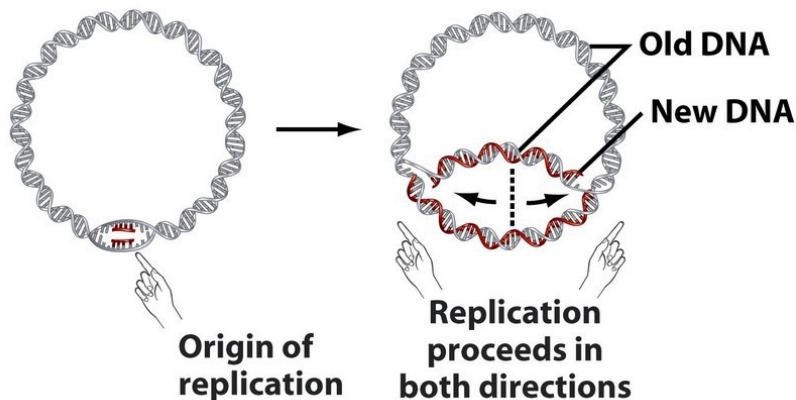
- místa ori (počátek) a ter (konec)
- charakter replikonu - začátek replikace v ORI, konec v TER
- polymeráza jede vždy od 5 k 3 konci
- semikonzervativní replikace – tzn. v nové molekule je jedno vlákno mateřské, druhé de novo
- semidiskontinuální repl. - jeden řetězec je vedoucí, druhý spožděný (okazakiho fragmenty - důležitá je syntéza primeru - pomocí enzymu primázy)

- prodlužování buňky

- nová replikace ještě před úplným rozdělením buňky..
- další enzymy: primáza, helikáza, dna polymeráza, topoizomerázy

- primáza + helikáza tvoří primozom
- vznik primeru není náhodné - v úsecích 1000-2000 párů bází

Bacterial chromosomes have a single point of origin.

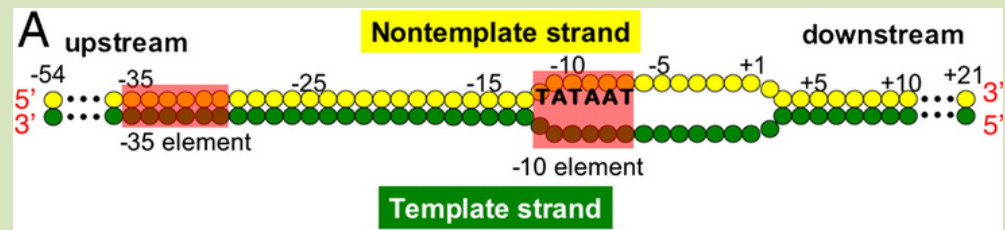
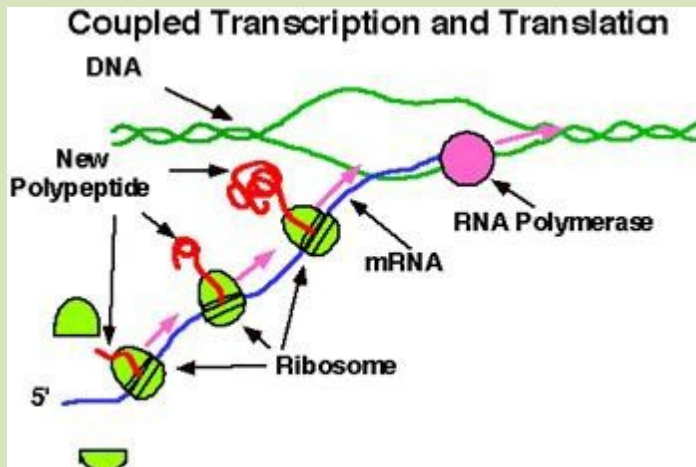


Transkripce

- přepis DNA do mRNA
- enzym RNA polymeráza
- na úrovni mRNA se ovlivňují proteiny, které vzniknou v buňce
- pokud b.nepotřebuje protein - vypne transkr.t oho genu->hladina mRNA je různá
- reverzni transkripce - naopak (z mRNA do DNA) - reverzni transkriptaza, např u retrovirů

- RNA-polymeráza – 5 podjednotek

- syntéza 1 mRNA trvá 1 min, nejsou postranskripční úpravy
- různá hladina mRNA = různá hladina proteinů
- evolučně konzervované, podobná eukaryotické (rozdíly ve složení genů, prokaryotická je spojena s translací)

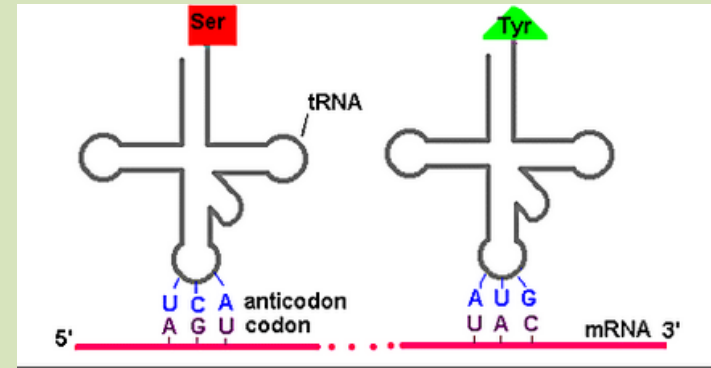
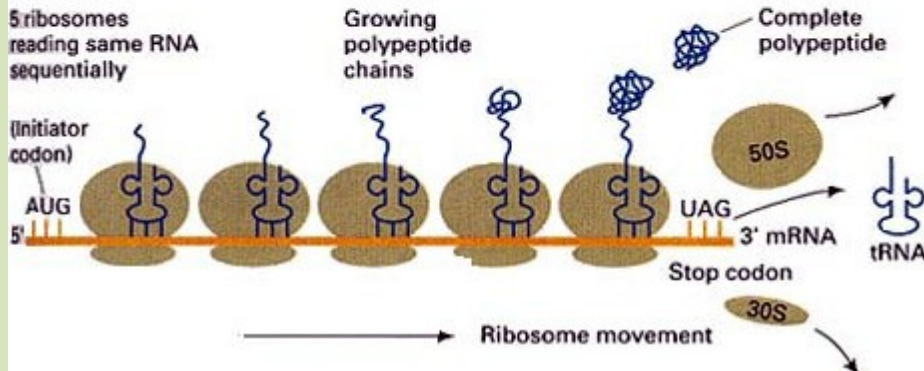


Translace

- z mRNA do polypeptidového řetězce za účasti AMK probíhá na ribozomech
- na jednom vlákně mRNA může být více ribozomů, translace probíhá současně

Průběh translace:

- Iniciale translace
- Elongace polypeptidového řetězce
- Terminace translace

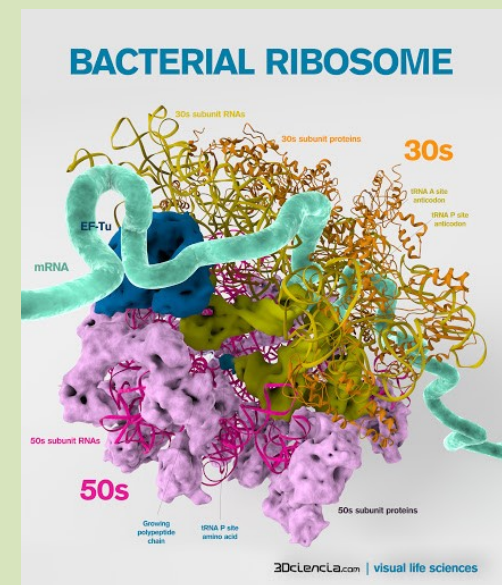


2nd base in codon

		U	C	A	G		
1st base in codon	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G	3rd base in codon
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G	
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G	
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G	

Ribozomy

- ve vysokých počtech v cytoplasmě všech známých buněk
- funkcí je tvorba proteinů - proteosyntéza
- z řetězce RNA je syntetizován polypeptid
- velké komplexní struktury, složeny zejména z rRNA a proteinů
- dvě podjednotky, menší a větší
- k ribozomu se napojuje mRNA, která obsahuje přepis genetické informace
- pořadí trojic bází určuje aminokyseliny (AMK) napojené na tRNA
- tyto AMK jsou dále spojeny v jeden polypeptid – protein, který po úpravách plní svou funkci v organismu



- selektivní působení někt. ATB pouze na bakteriální ribozomy
- Archea – odlišnosti, větší resistance na ATB (proteosyntéza je inhibována anisomycinem)

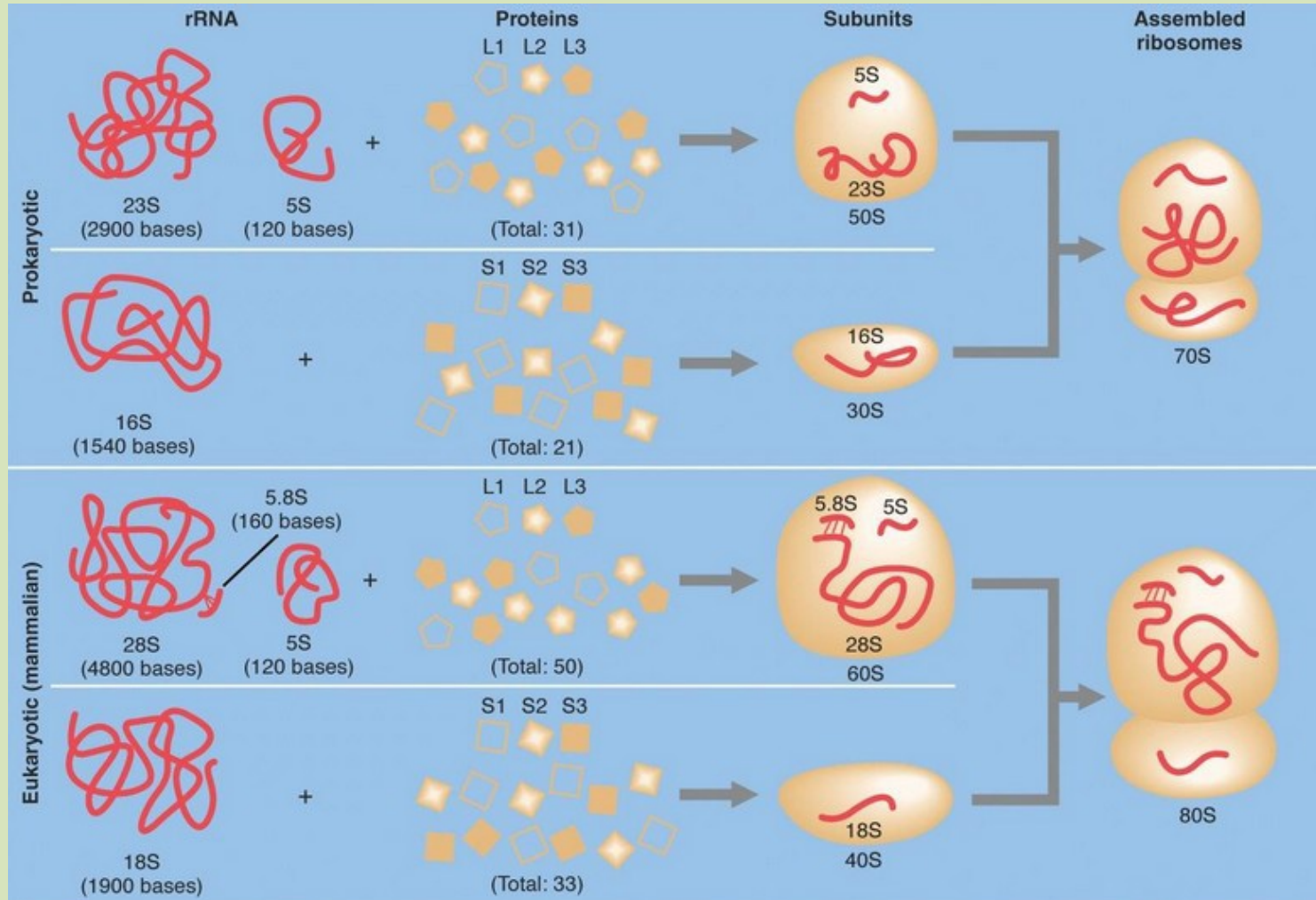
Struktura ribozomální podjednotky:

70S = 30S + 50S (Svedbergovy jednotky)

(sedimentaci vedle hmotnosti ovlivňuje i konformace)

30S.....1540 nukleotidů, 21 proteinů

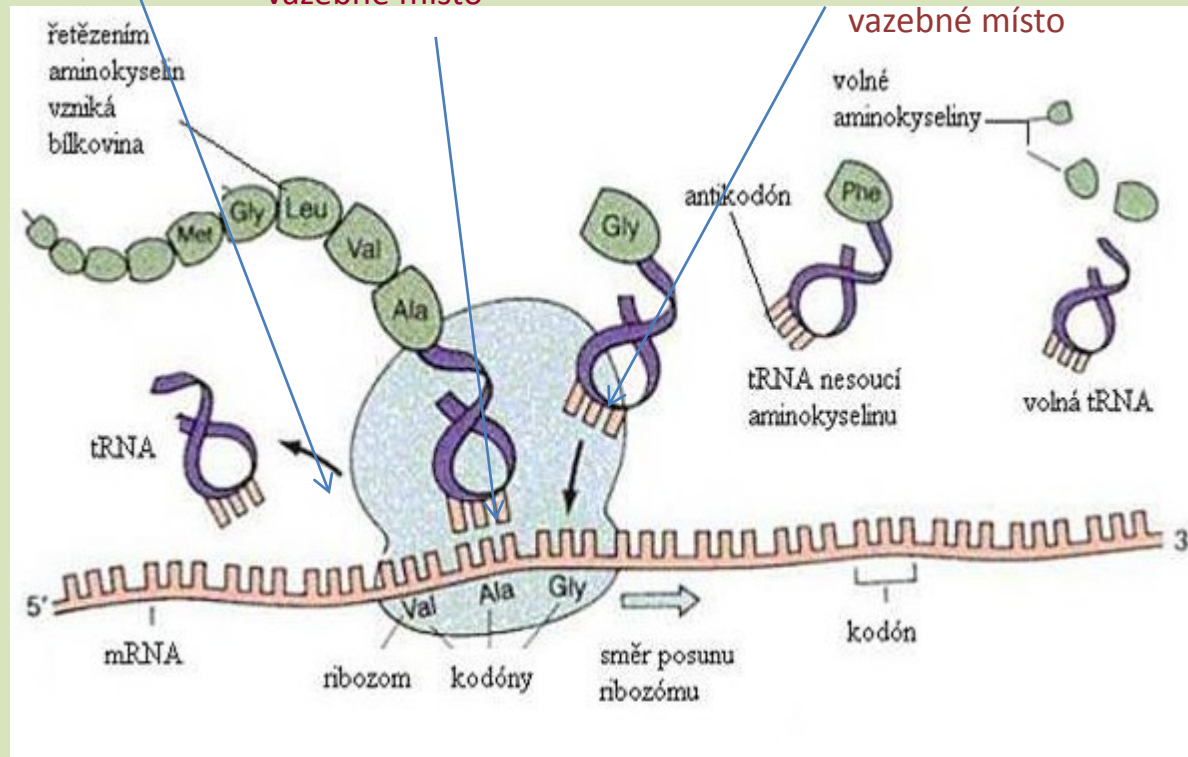
50S.....2900 nukleotidů, 34 proteinů



E – místo exitu
tRNA

P - peptidylové
vazebné místo

A - aminoacylové
vazebné místo



3 místa na ribozomu:

- Aminoacylové místo - do něj vstoupí tRNA s AMK
- Peptidilové místo - tRNA na kterém vzniká polypeptidový řetězec
- Místo EXITu - odchází tRNA která odevzdala AMKyselinu

Transport proteinů

Prostorově i časově regulováno – tato všestrannost zabezpečuje morfologickou potažmo fyziologickou diferenciaci v procesu buněčného cyklu!

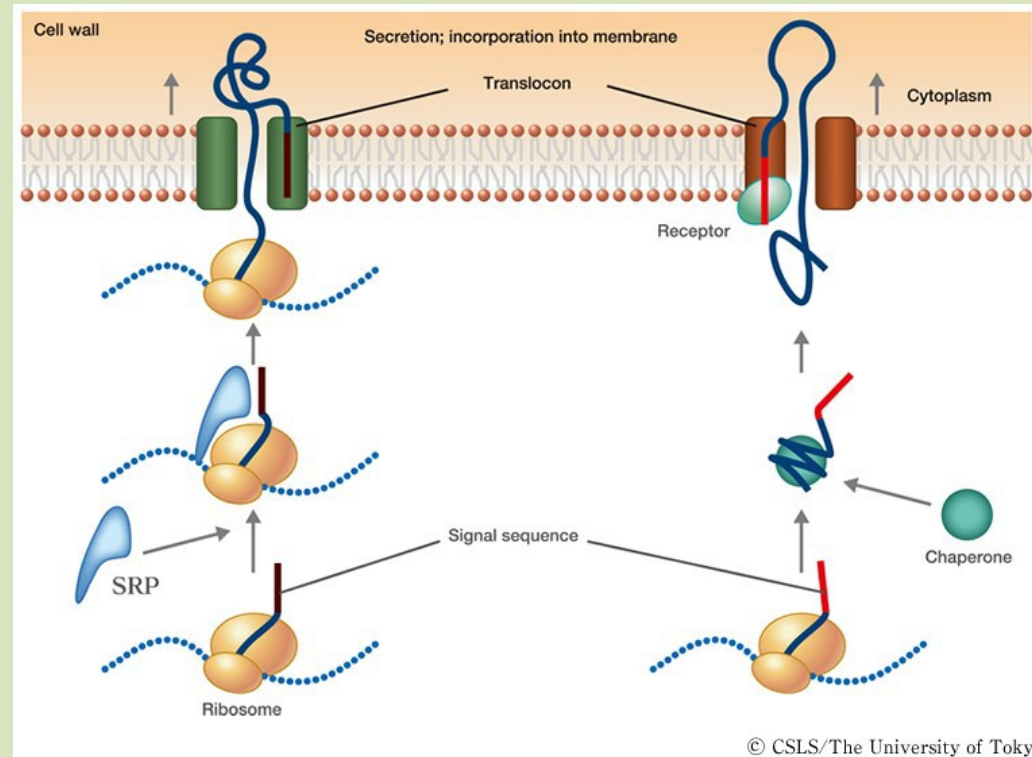
a) statická skupina proteinů - precizně lokalizovaná, proměny jen na bázi podjednotek (integrální membr. proteiny...)

b) proměnlivá – díky cytoskeletu a pohybu proteinů „diffusion-and-capture“ (Rudner, 2002), síť dynamických interakcí

Buněčná organizace proteinů v buňce:

translokony - proteiny v CM (cyt.membráně)

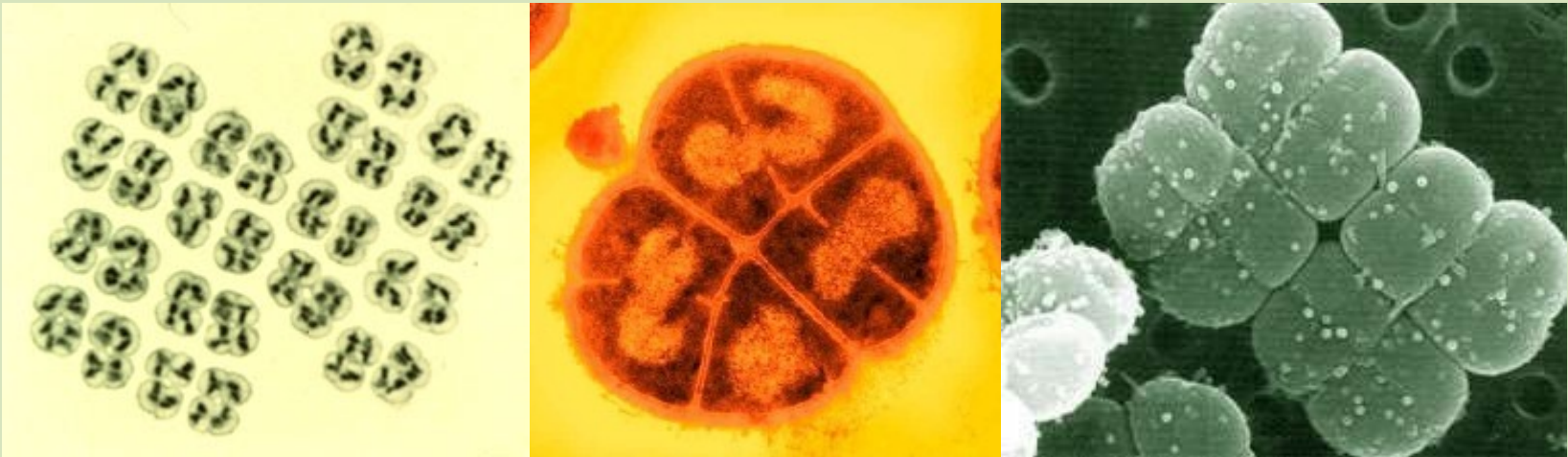
- tvoří kanál
- na něj přímo naváže ribozom (membránové proteiny jsou přímo zabudovány)
- nebo se na translokon naváže přímo na protein - translokon pak rozhodne, jestli se protein dostane ven nebo zůstane v buňce



Zvláštnosti genomu některých bakterií

Deinococcus radiodurans

- 1956 (Arthur W. Anderson) – maso po radiaci...
- přežil radiaci, která je 3000x silnější než hodnota, která by usmrtila člověka
- ionizující záření – zlomy obou řetězců NK -má reparační mechanismy a DNA si opraví!!!
- 2 lineární chromozomy, megaplazmid a malý plazmid



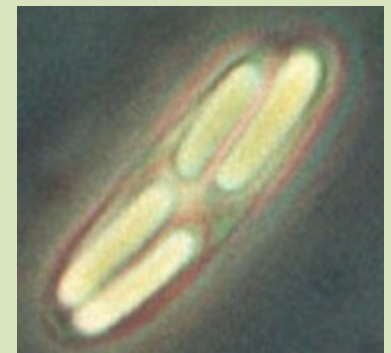
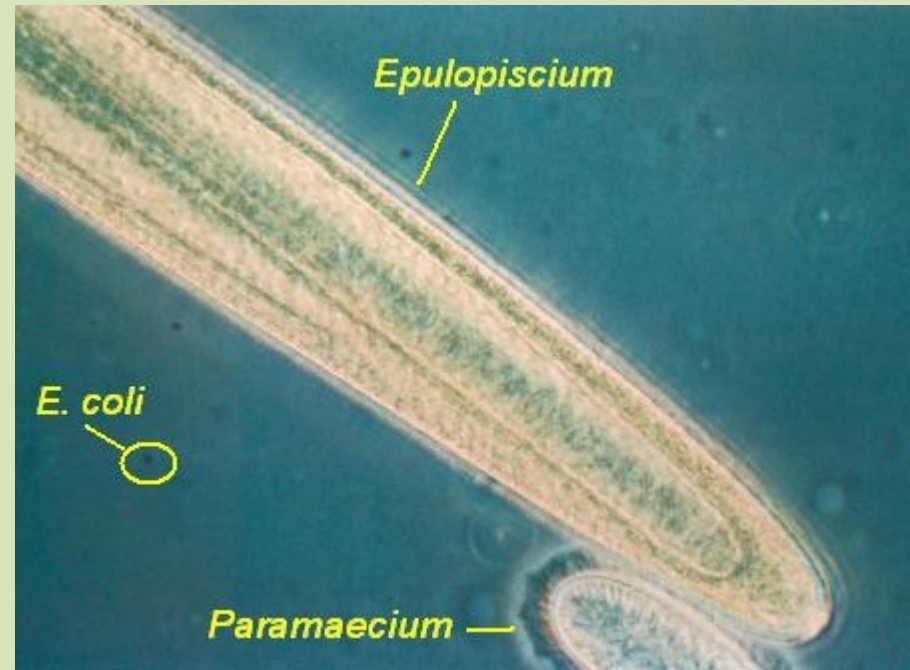
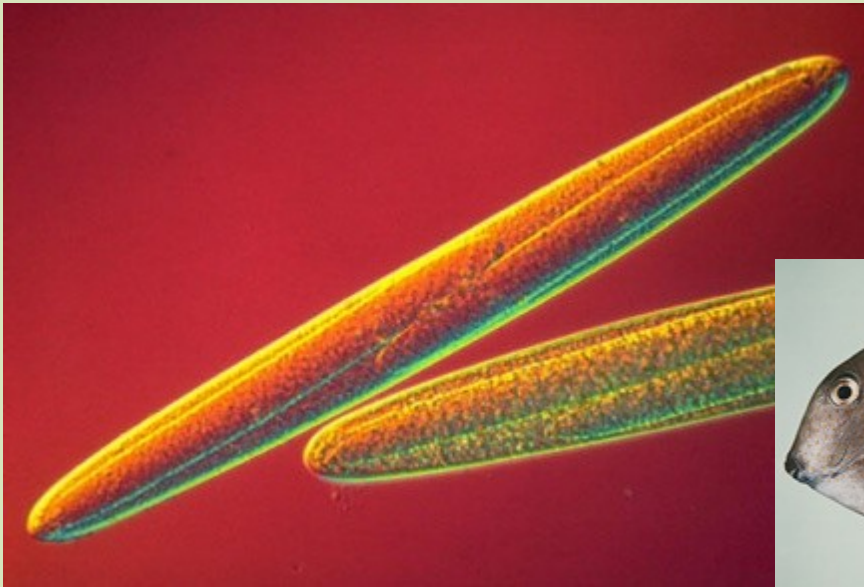
Rising from the Ashes: DNA Repair in *Deinococcus radiodurans*

Michael M. Cox , James L. Keck, John R. Battista

Published: January 15, 2010 • DOI: 10.1371/journal.pgen.1000815

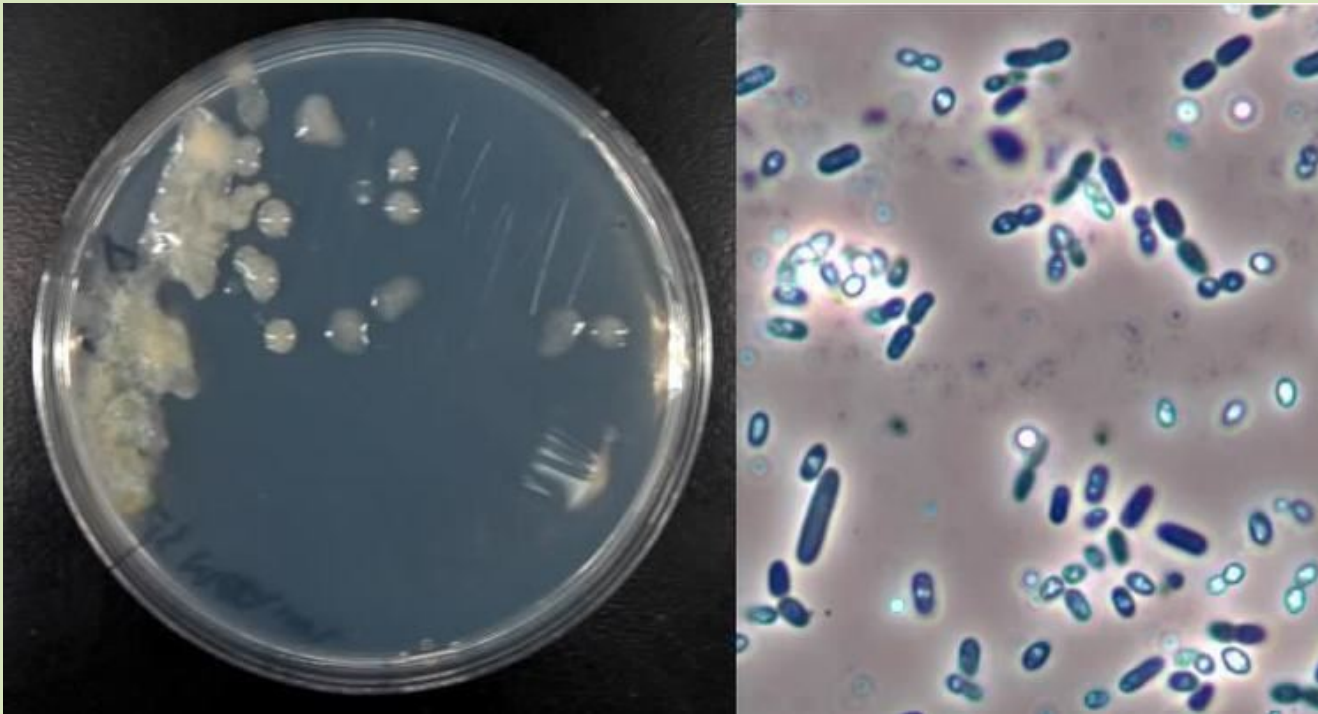
Epulopiscium - výjimka v asexuální reprodukci

- nejdelší známá bakterie, delší než 0,5 mm!
- střevní symbionti rybek *Acanthuridae* (bodlok)
- polyploidie
- uvnitř bakterie se vytvoří až 12 spor!!!
- dozrají-->lýze bunky-->spory jsou aktivní!!!
(ne dormantní)



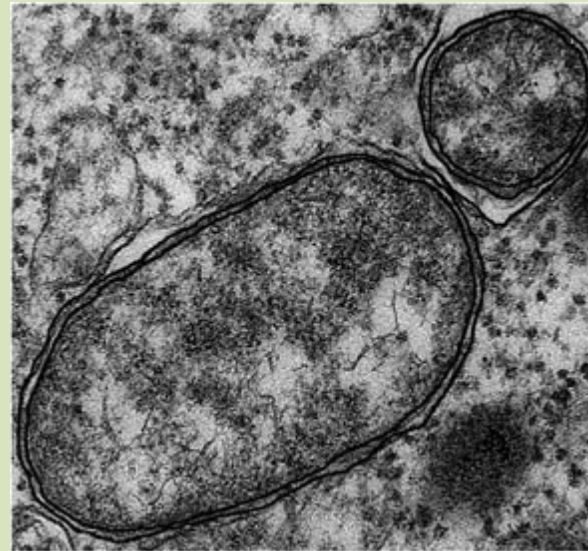
Azotobacter vinelandii

- Schopen fixace dusíku
- Metabolizuje mnoho uhlovodíků, org.kys a alkoholů
- Počet chromozomů závisí na fázi buněčného cyklu
- Exponenciální fáze: 2-4 kopie
- Stacionární fáze – 50-100



***Buchnera* spp.**

- Vnitrobuněční symbionti mši (mutualismus)
- velikost genomu – 7x menší než genom *E. coli* !!
- 640 kbp
- Chromozom + 2 plazmidy
- Počet chromozomů však závisí na vývojovém stadiu mšice



Agrobacterium tumefaciens

- Gramnegativní, pohyblivé
- Nádory rostlin
- Přírodní genetický inženýr transformující svou DNA do buněk rostlin
- 5,7 Mbp
- 1 cirkulární + 1 lineární chromozom a 2 plazmidy
- Tumor Inducing plasmid – zodpovědný za virulenci

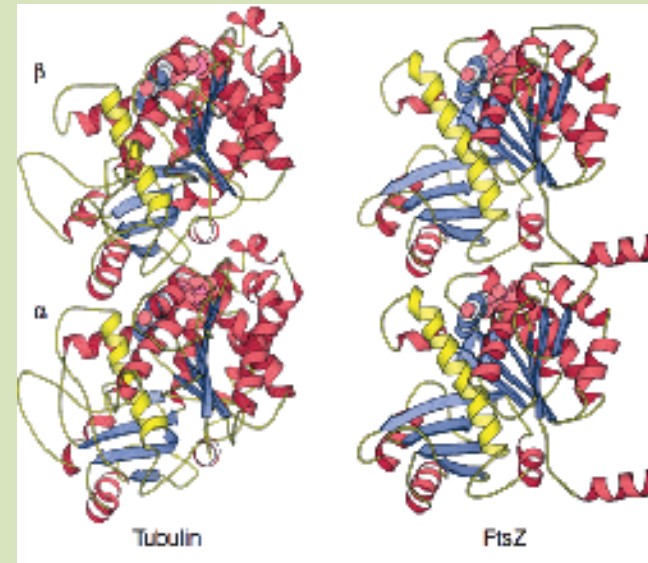


Bakteriální cytoskelet

Tvořen vláknitými proteiny, udržují:

- **tvár buňky**
 - **polarita**
 - **buněčné dělení a segregace chromozomů a plazmidů**
- jsou analogické cytoskeletárním strukturám eukaryotní buňky (3D strukturou, biochemickými vlastnostmi)

Yu-Ling Shih and Lawrence Rothfield (2006): The Bacterial Cytoskeleton. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, p. 729-754, Vol. 70, No. 321



FtsZ

analog tubulinu - protein buněčného dělení

(filamentous-temperature sensitive protein Z)

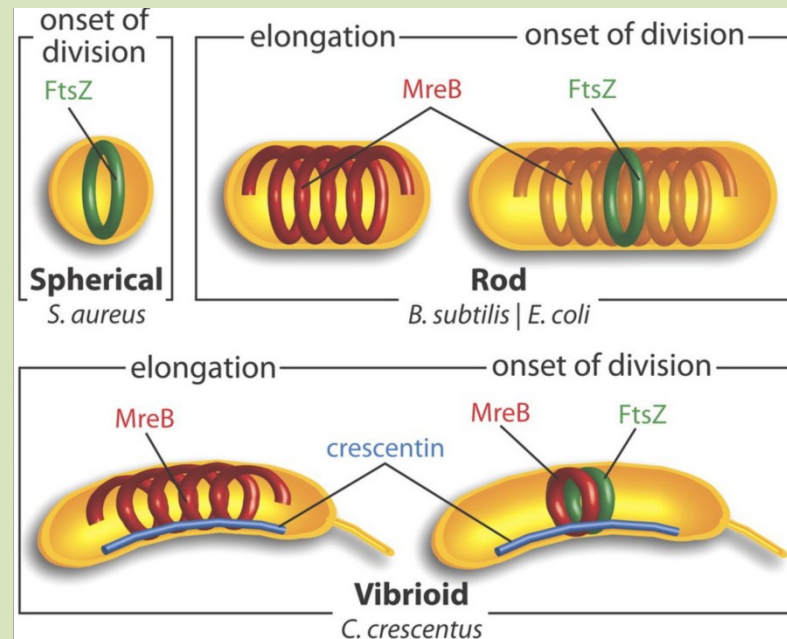
- strukt. podobnost – GTP vazebná doména (20% N-konec, nikoli C-konec)
- vyžadován pro start časně syntézy PG vedoucí k tvorbě mezivrstev

MreB

- **analog aktinu** - determinace tvaru buňky, prodl.stélky
- kokovité buňky - chybí homology MreB genů

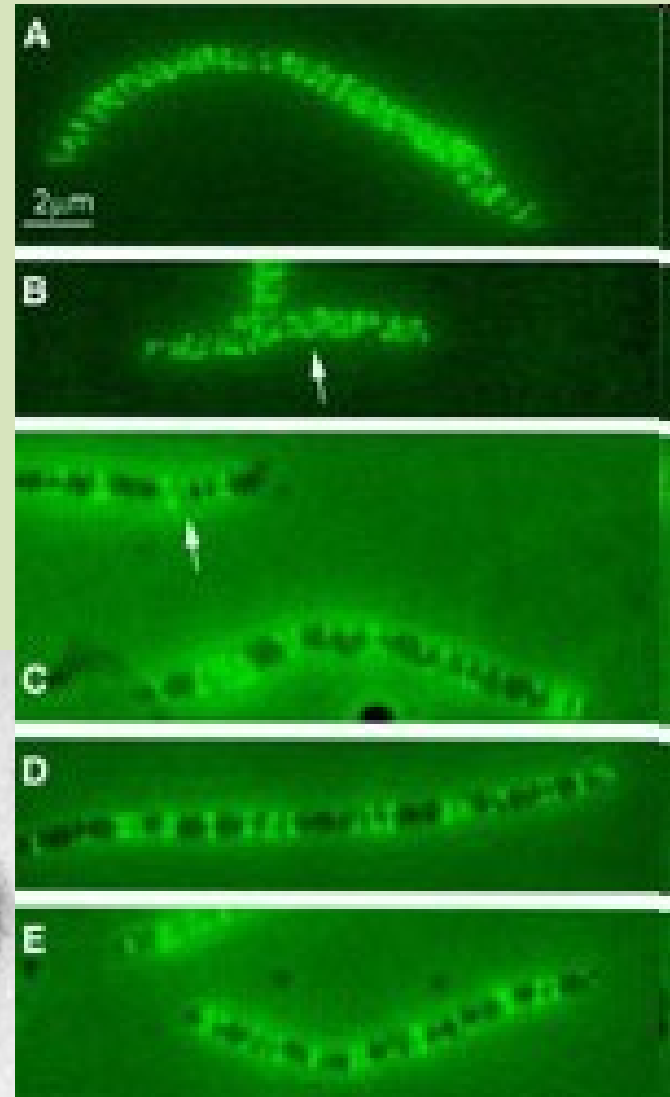
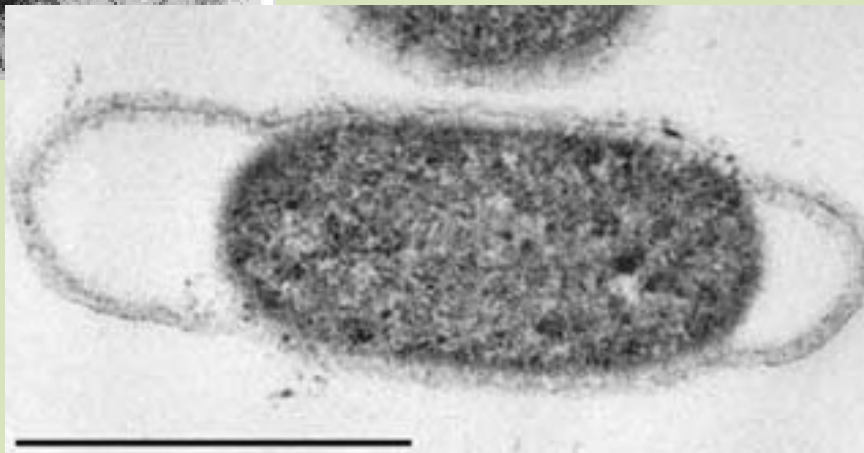
Crescentin

- **analog intermediálních filamentům**
- distribuce MreB genů v říši *Bacteria* ukazují, že nesférické buňky vlastní jeden nebo více těchto genů



- zkoumána podobnost - krystalická struktura proteinu **MreB** (*T. maritima*) vs. eukaryotický aktin
- pomocí MAD (Multi-wavelength anomalous diffraction), EM
- strukturálně jsou si podobné, i svou orientací
- 2 shod. podjednotky **jako u aktinu**

Ent, Amos, Löwe (2007): Bacterial Origin of the mreB *T. maritima*



další proteiny s vlastnostmi aktinu:

- **ParM** (*E. coli*)
- **MamK** (*Magnetospirillum magneticum*)

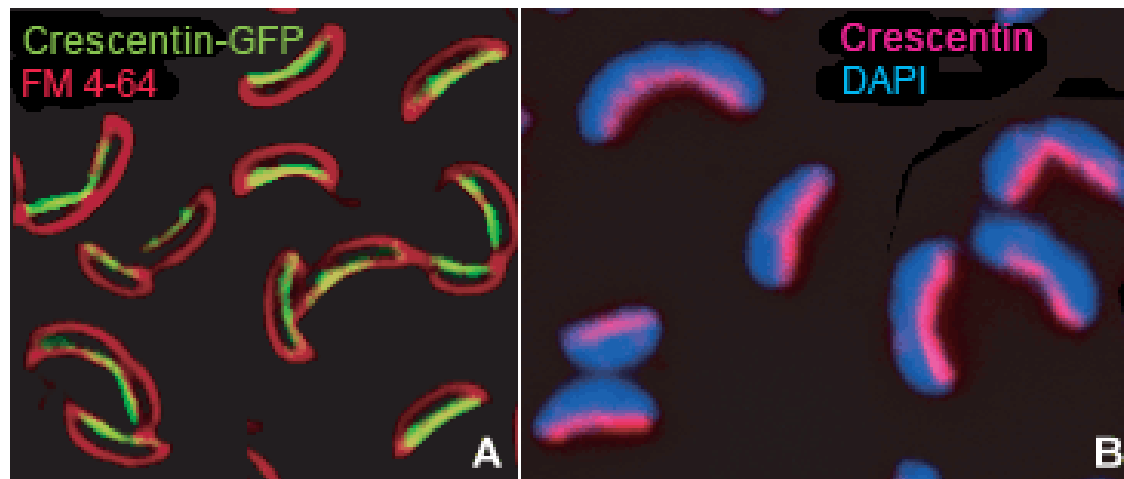
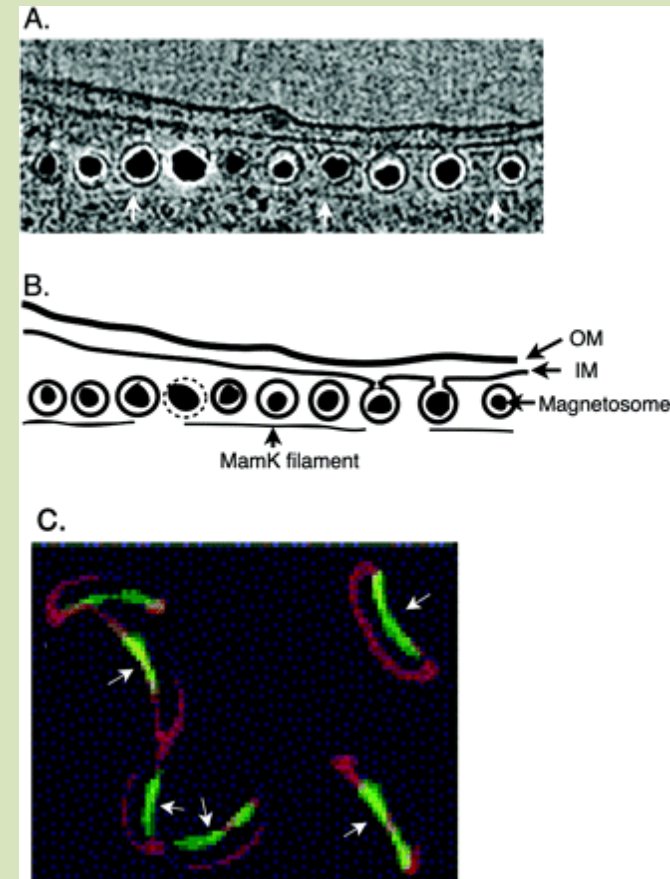


Fig. 3: Crescentin colocalizes with the inner cell curvature near the membrane. (A) Overlay between crescentin-GFP (green) and the membrane dye FM4-64 (red) in live merodiploid *creS-gfp creS* cells. (B) Immunofluorescence overlay between crescentin (red) and DAPI (blue) stainings.

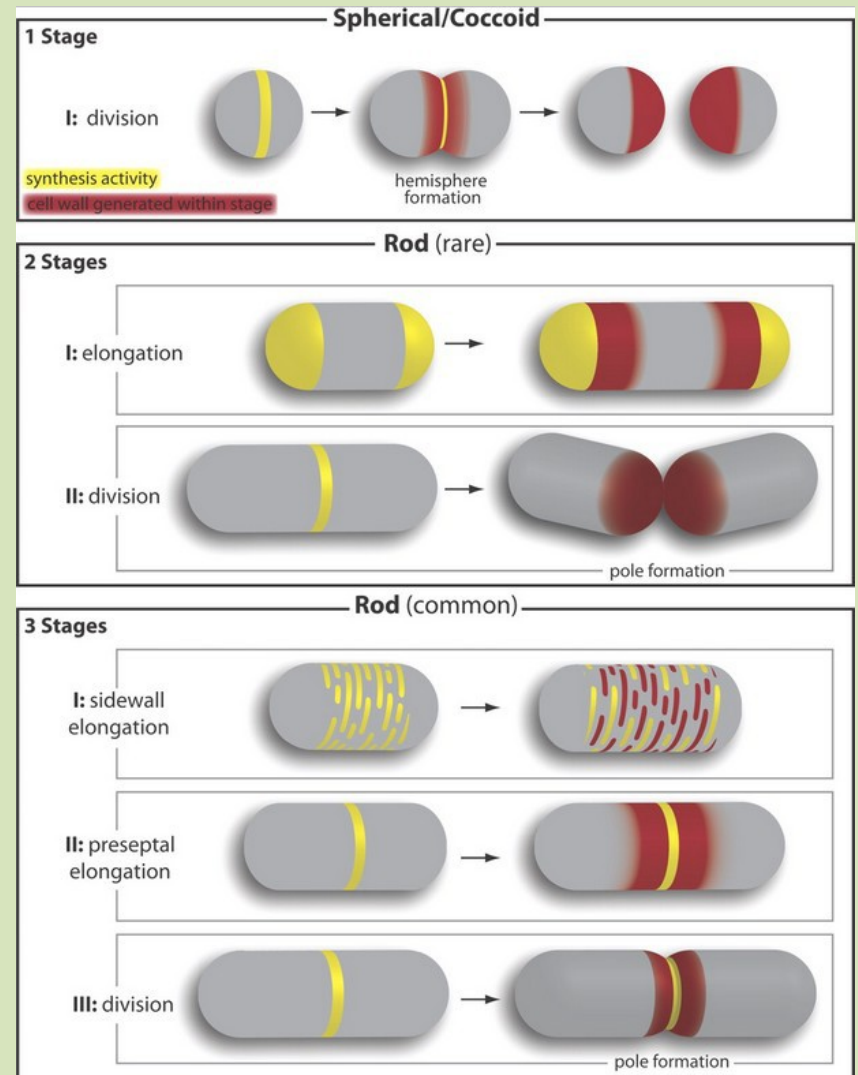
Photo reprinted courtesy of Cell Press.



Růst BS při dělení

- 1) Polymerace tisíců mol. FtsZ
- 2) Formování prstence
- 3) Přídavné proteiny – min. 1
 - ZipA (gamma-proteobact.)
 - FtsA (Firmicutes)
- 4) MinC a MinD proteiny
- 5) Determinace tvaru buňky
 - MreB, MreC, MreD, Mbl

- u tyček jsou dvě možnosti: k elongaci dochází na pólech (u buněk které nemají rntb protein) nebo uprostřed



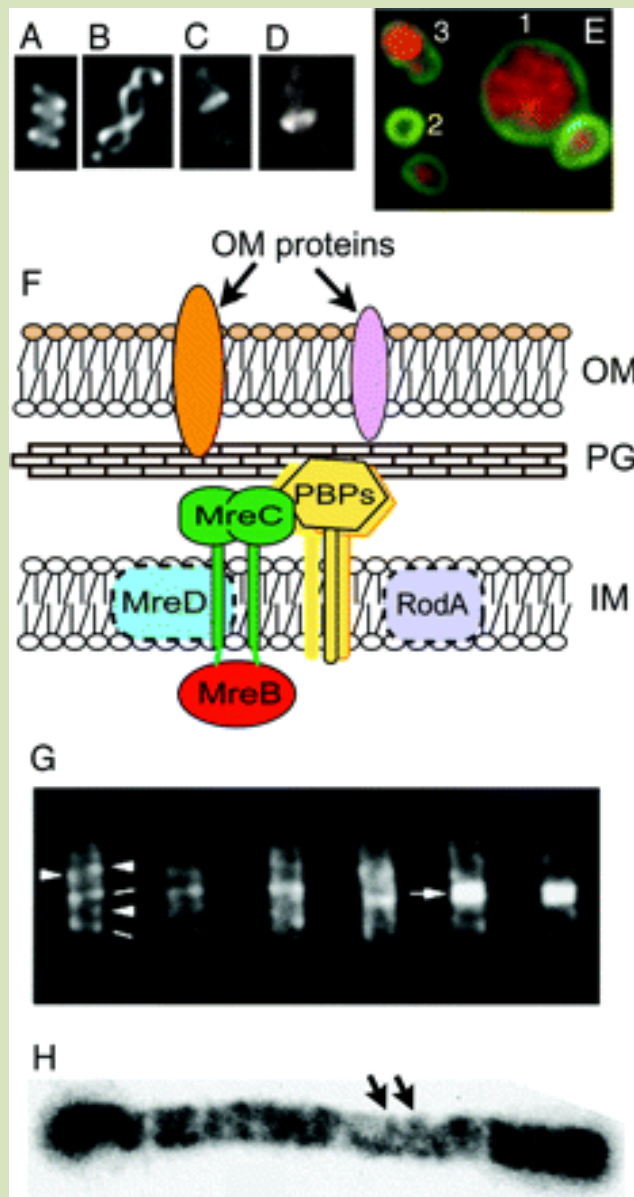
- bakteriální cytoskelet a proteiny určující tvar buněčné stěny
- jako MreC spolupracují při lokalizaci komplexů koordinovaně syntetizujících buněčnou stěnu

MreC

- je podstatný pro prostorovou organizaci složek holoenzymů periplazmy syntetizujících peptidoglykan

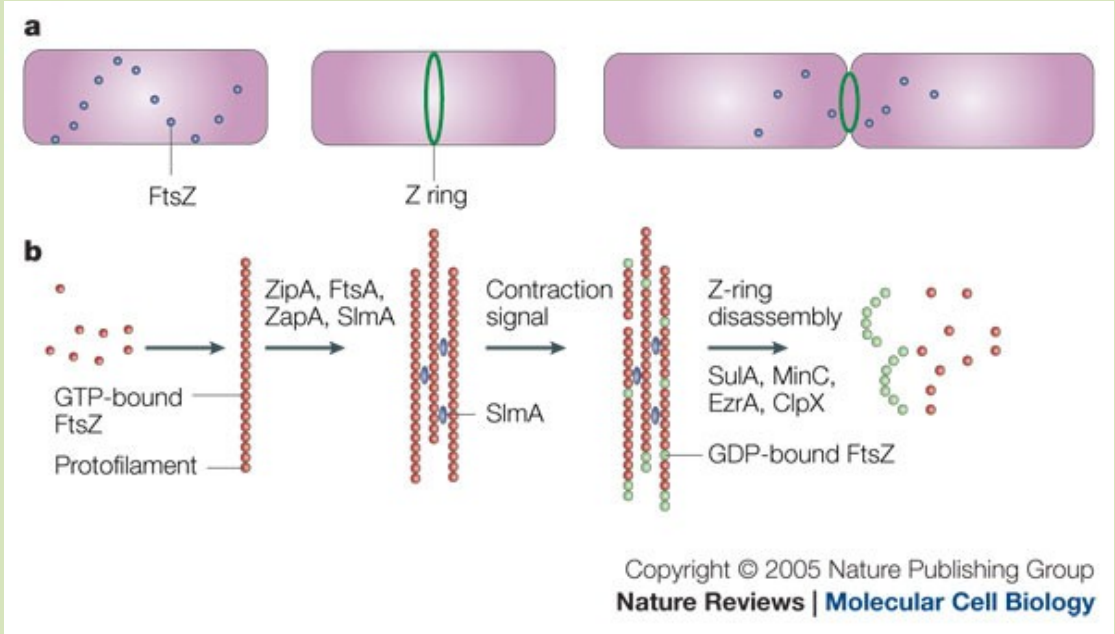
MreB

- řídí lokalizaci prekurzorů peptidoglykanu v cytosolu
- fluorescenční značení dokazuje, že MreB a FtsZ, MreC a RodA působí při syntéze peptidoglykanu
- MreB a FtsZ jsou vyžadovány pro morfogenezi polární stélky



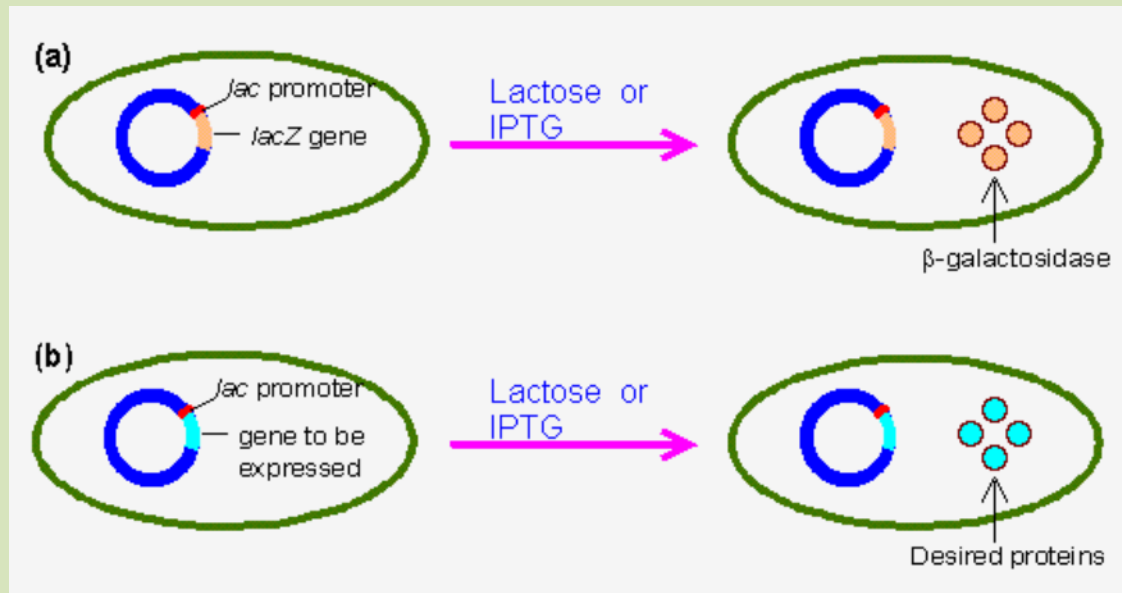
FtsZ

- reguluje prostorové umístění enzymu **MurG** produkujícího **lipid II** (prekurzor peptidoglykanu)
 - umístění **FtsZ** do kruhu během prodlužování buňky je následováno **MurG**
 - dojde k přesměrování syntézy prekurzorů peptidoglykanu do středu buňky
 - dochází k tomu před buněčnou konstrikcí
-
- za nepřítomnosti FtsZ se enzym MurG neakumuluje uprostřed buňky
 - buněčná elongace tedy pokračuje inzercí peptidoglykanu i po okrajích buněčné stěny
 - buňka tedy k elongaci využívá systém syntézy buněčné stěny **závislý i nezávislý na FtsZ**
 - závisí na načasování uspořádání FtsZ během elongace buňky



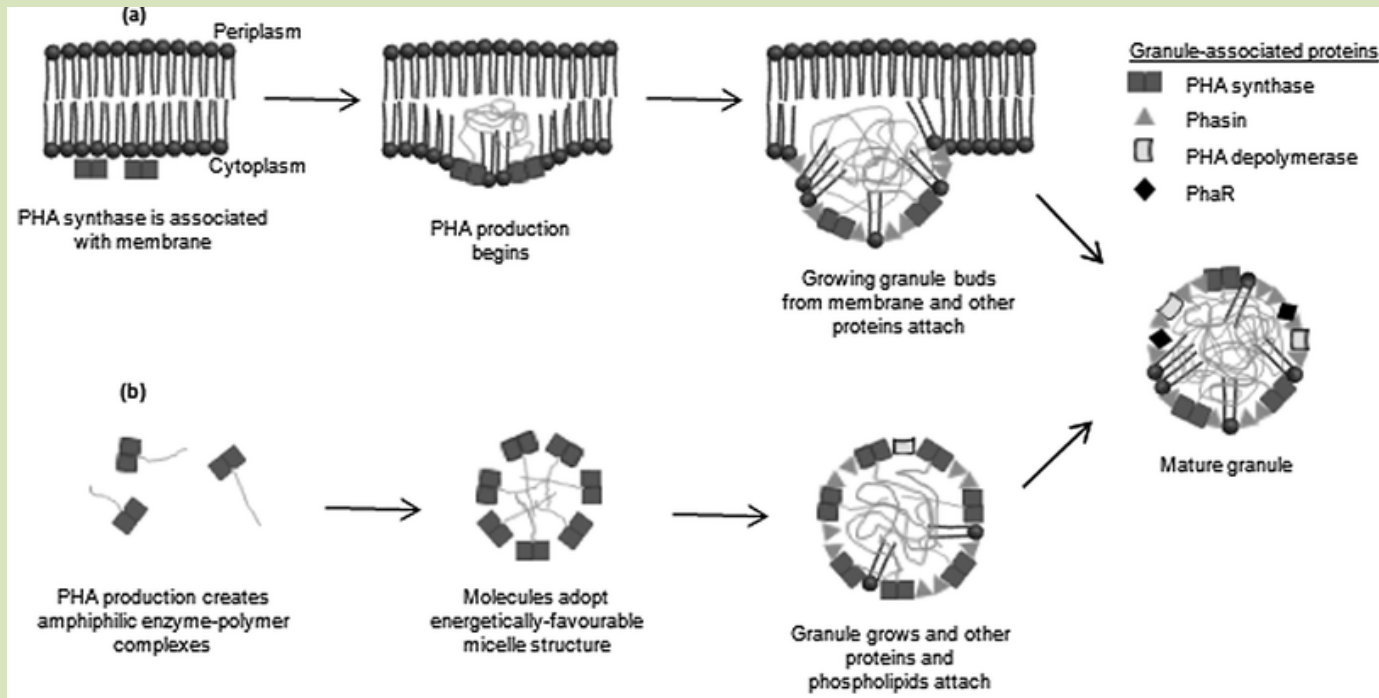
Inkluze

- zásobní látky
- produkty metabolismu
- uložené nepotřebné látky
- bez membrány nebo s membránou - **není dvojrstvou fosfolipidů**, jednovrstevná!
- v cytoplazmě v podobě granul nebo kapének
- svým charakteristickým vzhledem uvnitř buněk napomáhají identifikaci
- produkce rekombinantních proteinů „zabalení“ a stabilizace proteinů, nahromadění



Př: modely formování inkluzí PHA (polyhydroxyalkanoát)

- protein v inkluzích je chráněn proti proteázám a navíc je čistý!
- fúzní proteiny - nesou signální sekvenci pro to, aby se rovnou do inkluzí dostaly....
- inkluze se dají rozpustit a dostat tak protein zpátky



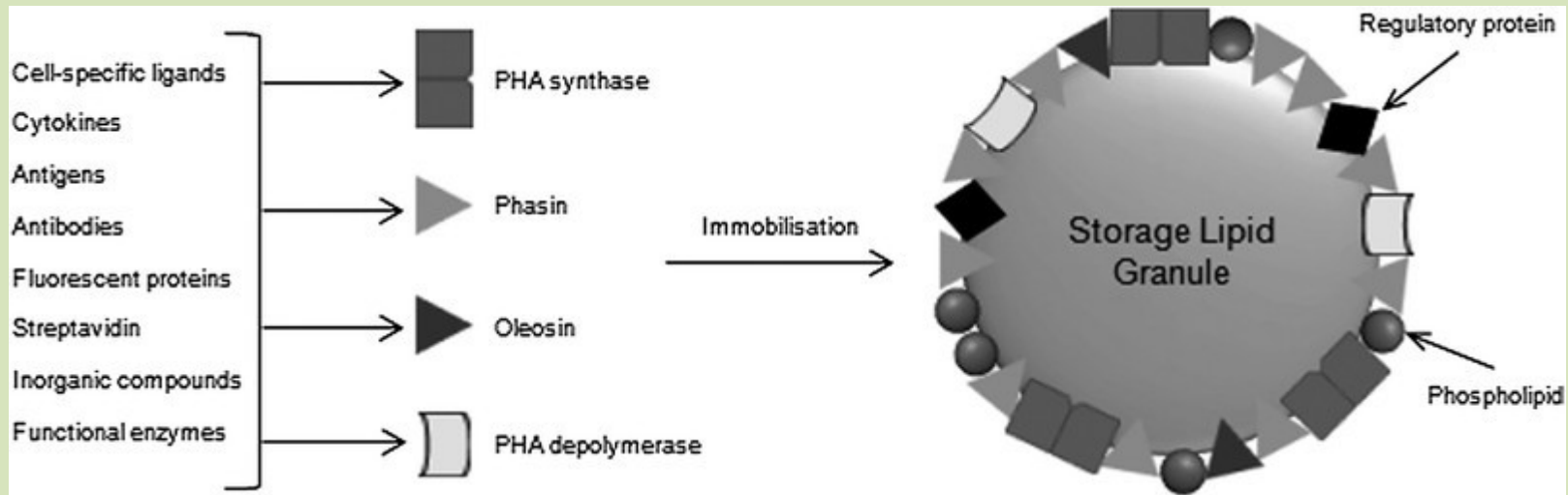
Synthesis, properties and uses of bacterial storage lipid granules as naturally occurring nanoparticles

Nicholas Thomson ^a, David Summers ^b and Easan Sivaniah ^{*a}

^aCavendish Laboratory, University of Cambridge, Cambridge, UK. E-mail: es10009@cam.ac.uk; Fax: +44 (0)1223 337000; Tel: +44 (0)1223 337267

^bGenetics Department, University of Cambridge, Cambridge, UK. E-mail: dks11@hermes.cam.ac.uk; Fax: +44 (0)1223 333992; Tel: +44 (0)1223 333991

Imobilizace molekul v inkluzích



**protein
of interest**

granule-associated
proteins

Following growth in conditions suitable for
PHA synthesis...

Synthesis, properties and uses of bacterial storage lipid granules as naturally occurring nanoparticles

Nicholas Thomson ^a, David Summers ^b and Easan Sivaniah ^{*a}

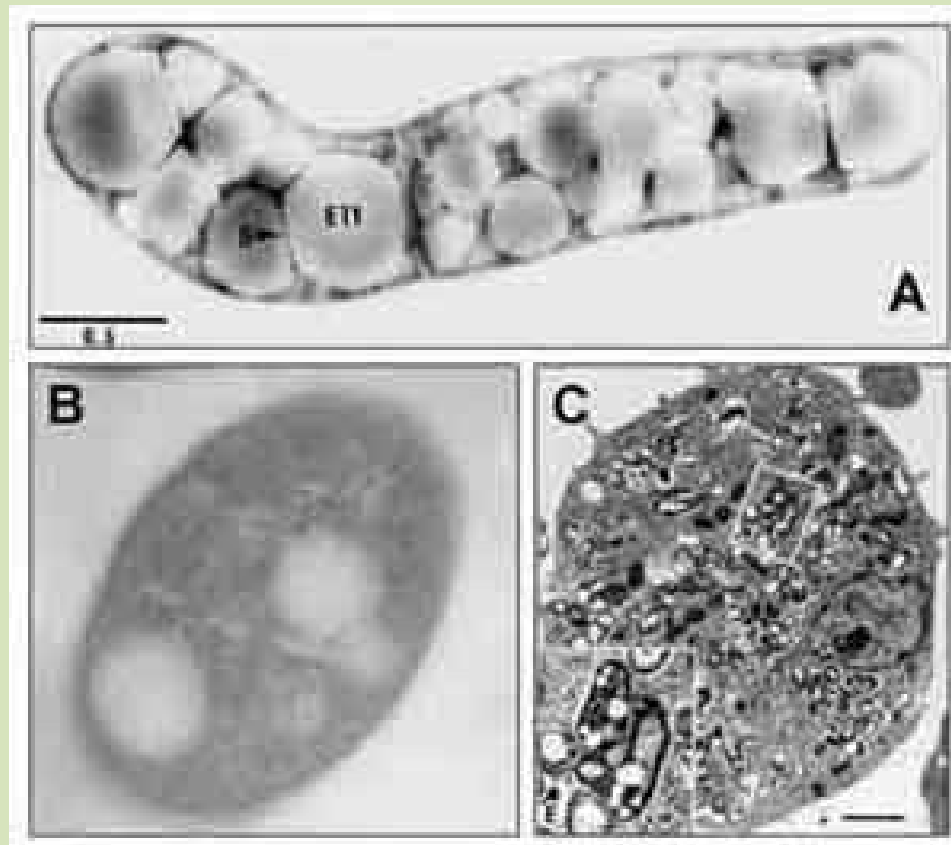
^a*Cavendish Laboratory, University of Cambridge, Cambridge, UK. E-mail: es10009@cam.ac.uk; Fax: +44 (0)1223 337000; Tel: +44 (0)1223 337267*

^b*Genetics Department, University of Cambridge, Cambridge, UK. E-mail: dks11@hermes.cam.ac.uk; Fax: +44 (0)1223 333992; Tel: +44 (0)1223 333991*

- rozvoj využití inkluzí jako katalyzátorů v průmyslu a biotechnologiích „surové inkluze“
- aktivita enzymů je v nich vysoká!
- inkluze jsou snadno odstranitelné

výhoda:

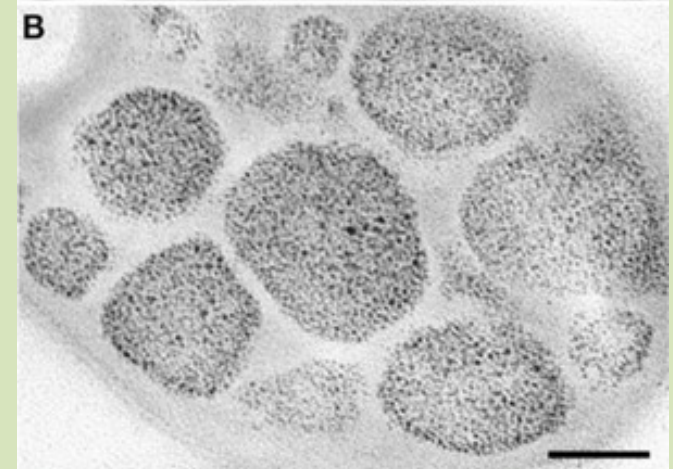
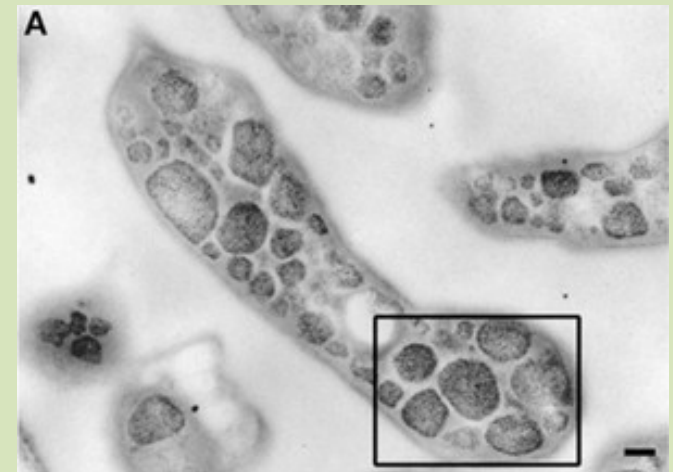
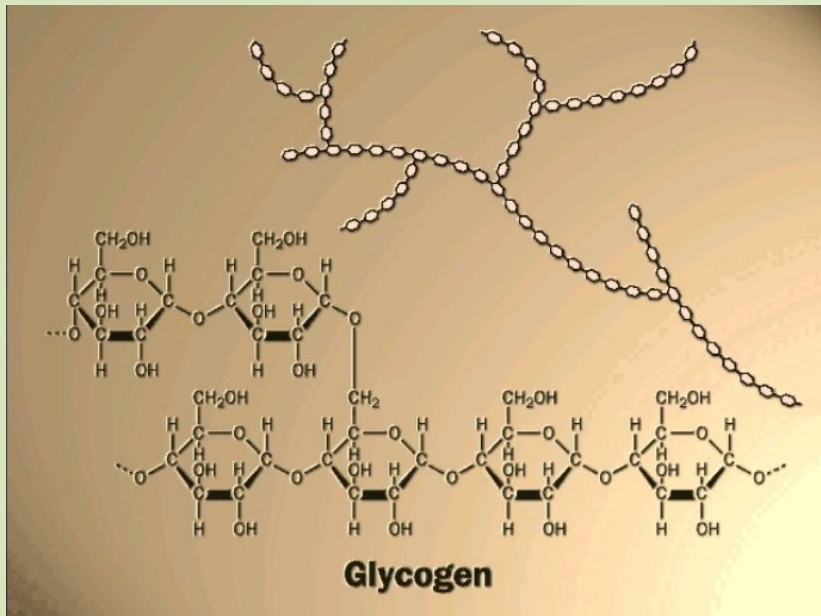
- vysoký obsah proteinů
- možnost agregace i rekombinantních proteinů (enzymů) bez jejich inaktivace
- viz např. výzkum doc. Stanislav Obruča , VUT Brno – bioplasty



Inkluze s membránou

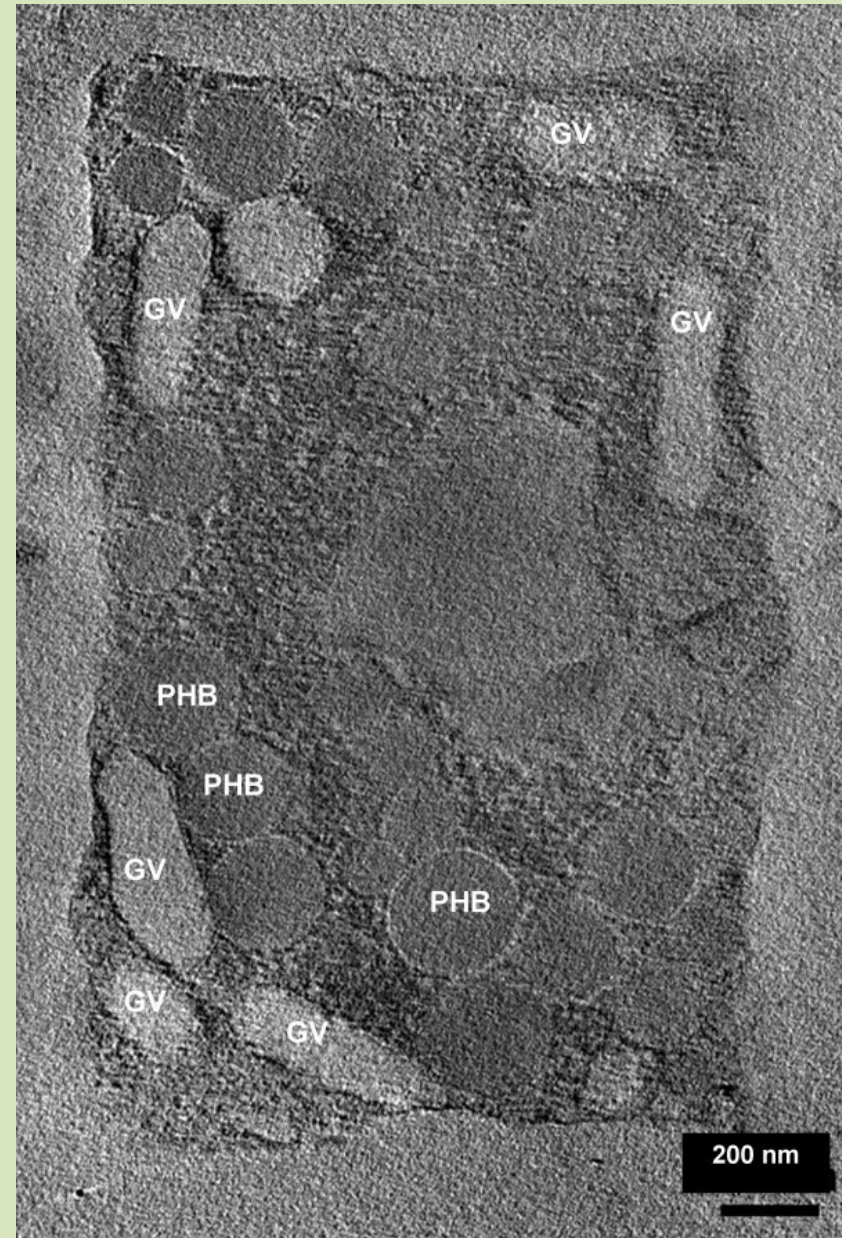
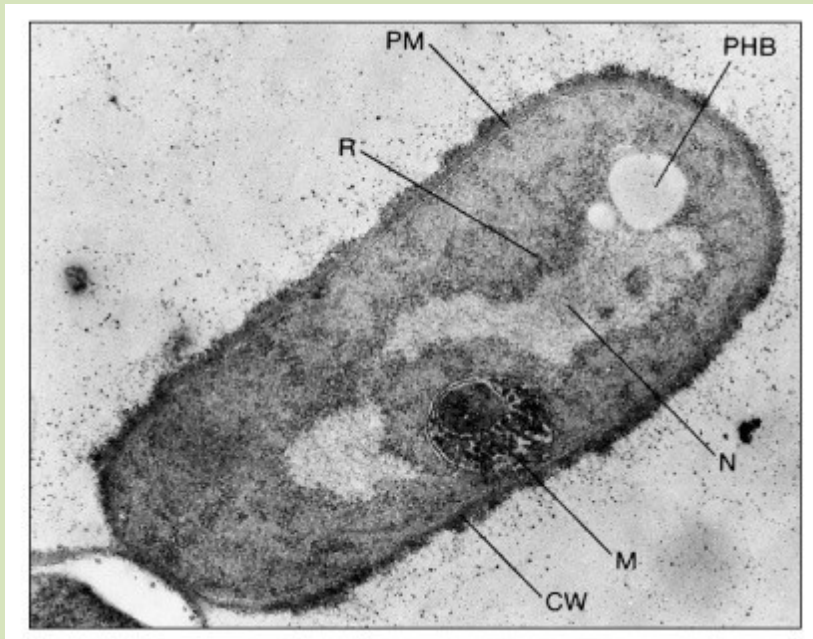
Glykogen

- počet 1-10
- zejména v Bacillu a Enterobakterií - pohotová rezerva energie
- rozpustný polymer glukózy, silně větvený
- až 50 % sušiny
- může a nemusí mít membránu, v rámci rodu lze obojí zároveň
- ve světelném mikroskopu není viditelný
- barvení Lugolovým roztokem



PHB

- kyselina polyhydroxymáselná
- až 60% sušiny
- viditelná ve světelném mikroskopu
- odpadní produkt
- vyskytuje se u **aerobů**: *Bacillus*, *Pseudomonas*

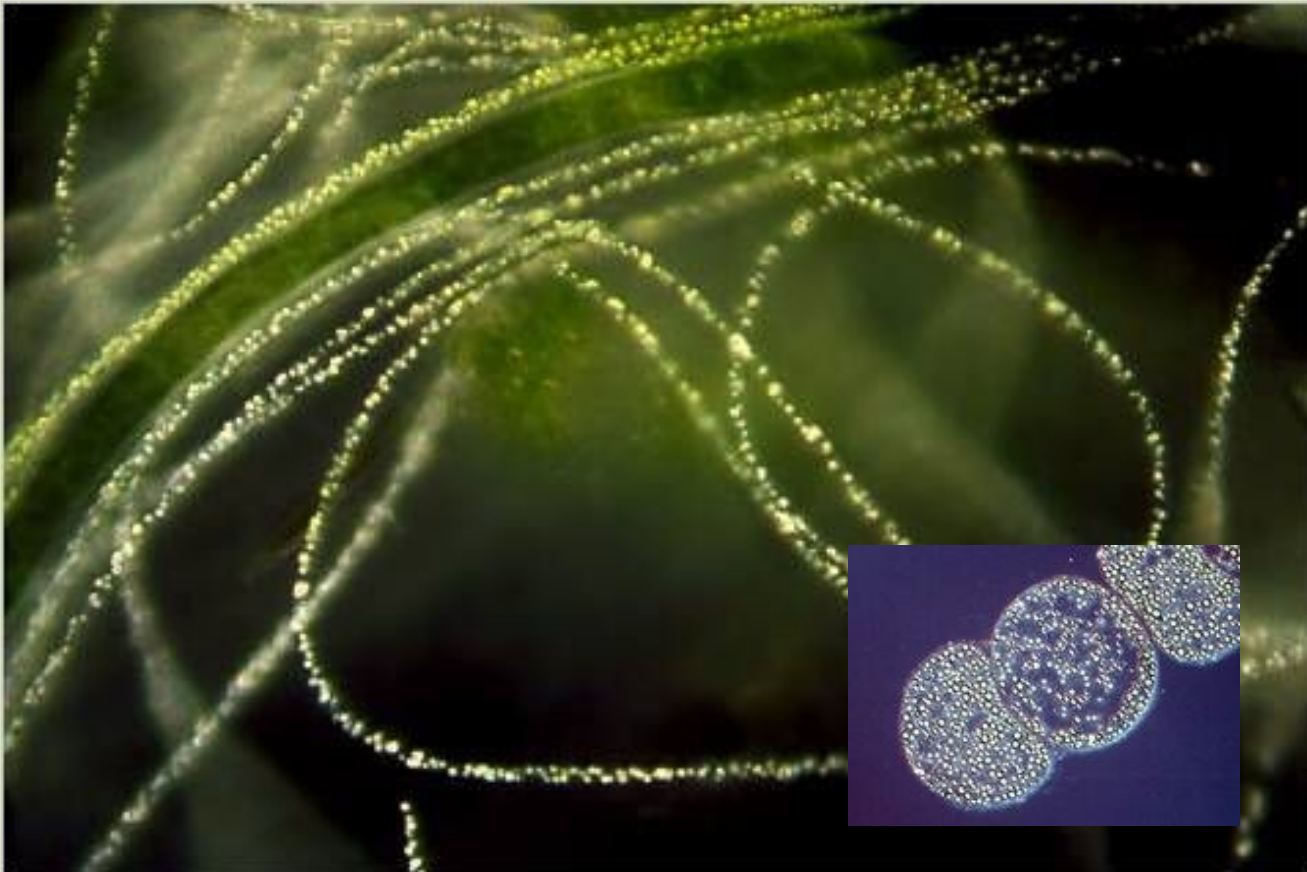


Síra

- viditelné kapénky amorfní síry
- chemolitotrofní sírné bakterie - oxidace redukovaných sírných sloučenin = **zdroj energie**

Př. granula elementární síry u *Beggiatoa*

- oxidace sirovodíku primárně poskytuje elementární síru
- síra je následně oxidována na sulfát

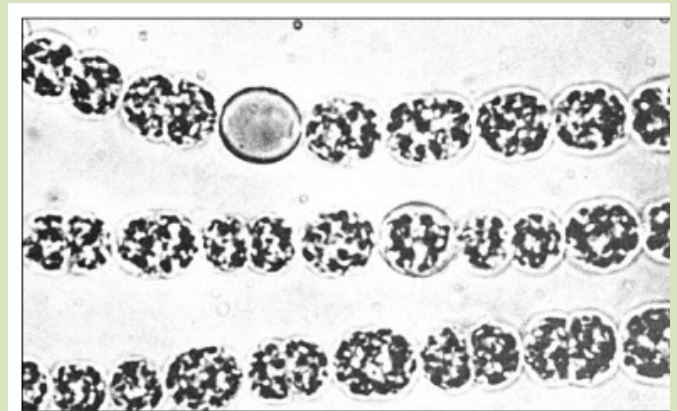


- Síru lze najít i u fototrofních sírných bakterií - zelených a purpurových
- není zdrojem energie, ale zdrojem elektronů v procesu fotosyntézy!!!

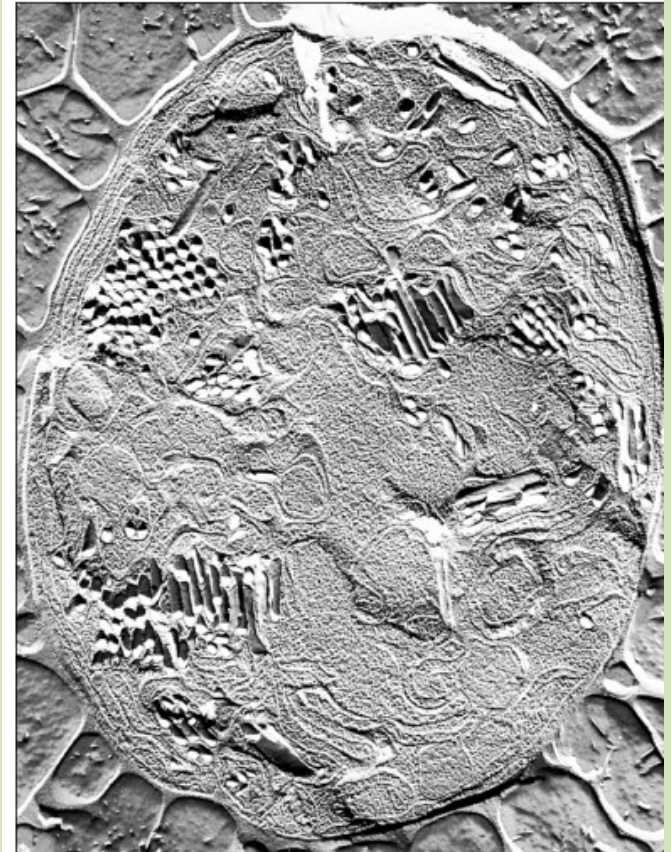


Plynové vakuoly

- cylindrické aerosomy (45 – 200 nm)
 - sinice a planktonní bakterie (cca u 50ti rodů bakterií)
 - často purpurové a zelené sirmé b. a halofilní *Archea*
 - plyny vznikající při metabolismu
 - u archeí napomáhají pohybu ve vodě
 - množství plynu závisí na teplotě a viskozitě
 - membrána z jedné vrstvy bílkovin
-
- především u vodních org - nadnáší je
 - buňka je schopna regulovat obsah plynu --> pohyb
 - vakuola může prasknout, když dojde k přeplnění
 - (je známo 14 genů, které tuto vakuolu kódují)



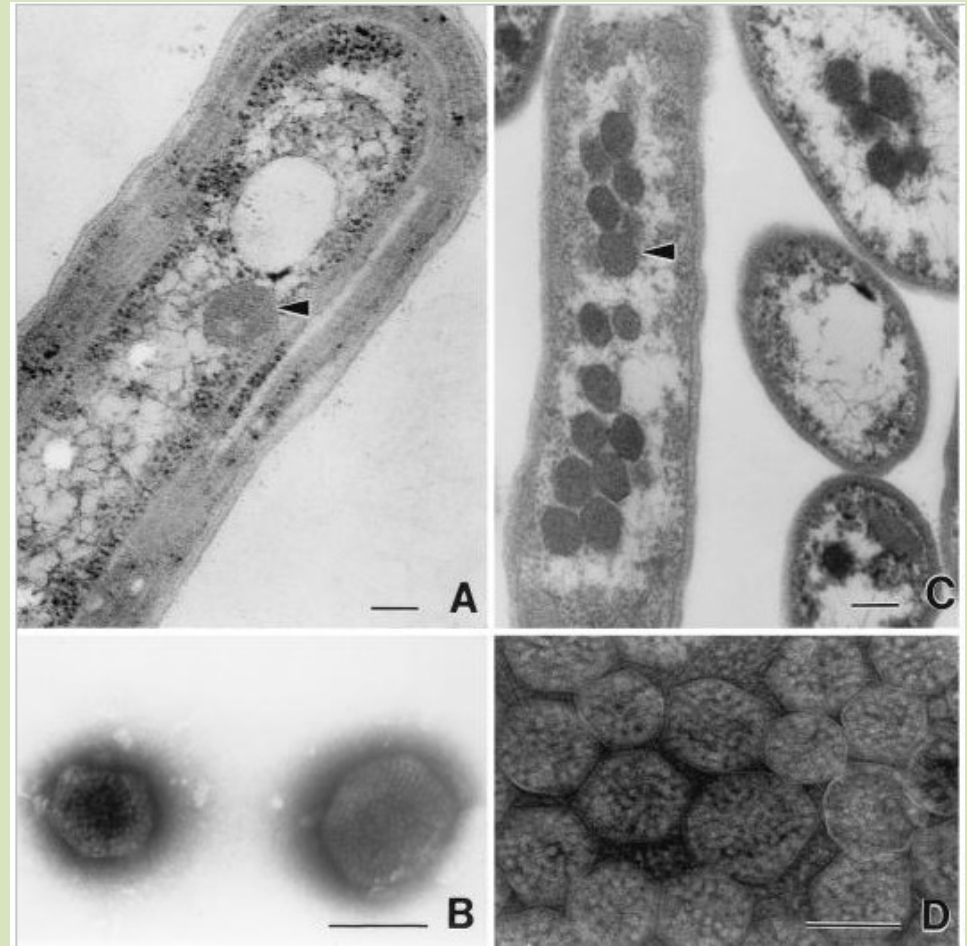
(a)



(b)

Karboxizomy

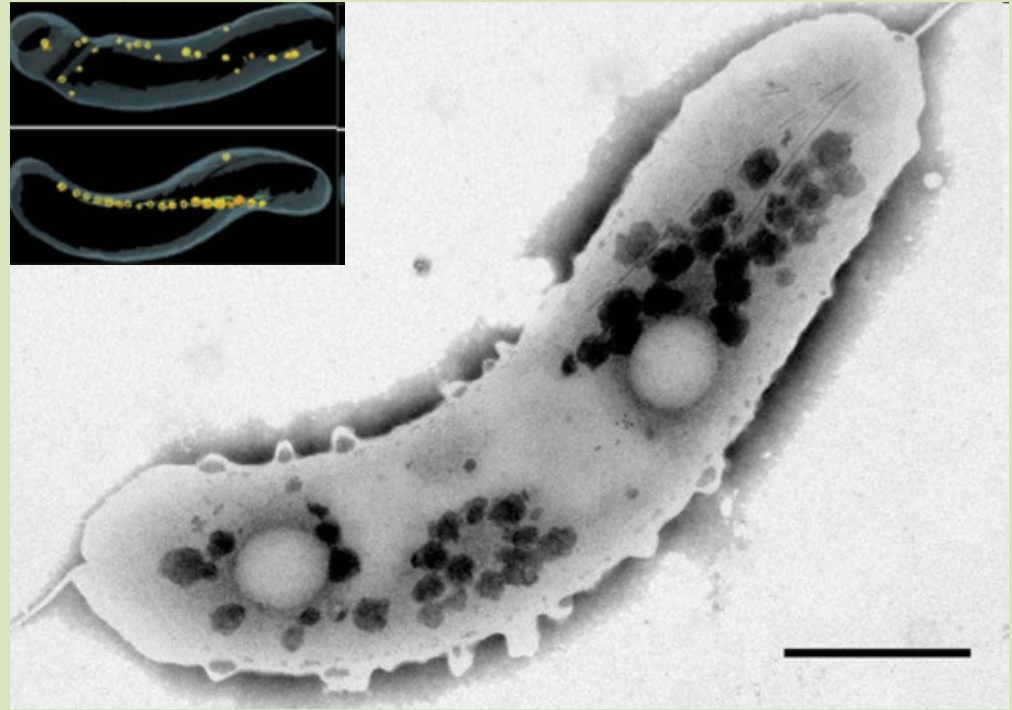
- mikrokompartment, tvar mnohostěnu
- fixace uhlíku
- koncentrují oxid uhličitý a enzym RuBisCo
- u všech sinic
- u některých chemotrofních bakterií schopných fixace uhlíku (nitrifikační bakterie a thiobacily)
- řas jejich funkci nahrazuje pyrenoid
- syntéza hexóz
- obvykle 1-10
- za vhodných podmínek se počet zvyšuje



A) *Synechococcus* karboxyzom B) -II- negativní barvení
C) *H. neapolitanus* karboxyzom D) *H. neapolitanus*
karboxyzom, negativní barvení

Chlorobiové váčky

- u fototrofních bakterií
- zásobárny pigmentů – bakteriochlorofyl A,C a D a karotenoidy
- nikoli reakce a vazba světla
- přenášeny do chromatoforů, kde probíhá fotosyntéza
- počet: 2-10, je závislý na aktivitě buňky
- v těsné blízkosti cytoplazmatické membrány, ale ne spojeny



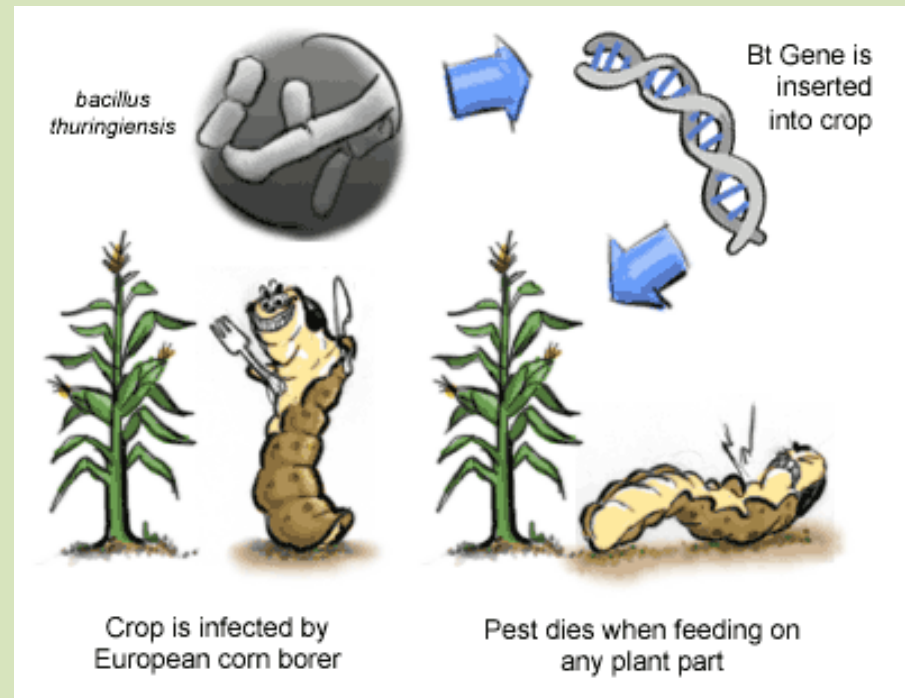
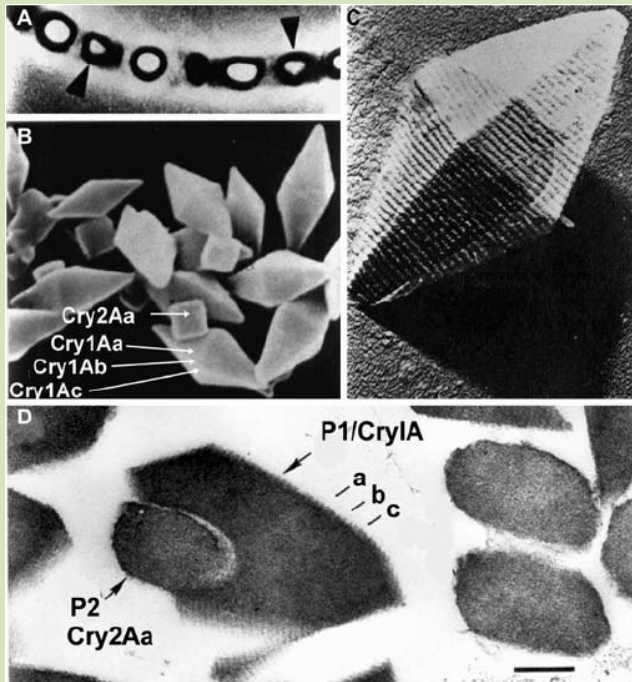
Magnetosomy

- krystaly oxidu železnato – železitého
- orientace v magnetickém poli = magnetotaxe
- vodní organizmy citlivé ke kyslíku - obaleny speciální membránou umožňující precipitaci Fe_3O_4

Inkluze bez membrány

Krystaly parasporální

- bioinsekticidy produkované bakteriemi *Bacillus thuringiensis* během sporulace
- důsledek nadprodukce bílkovin tvořících obaly endospory
- parasporální inkluze byly použity jako první bioinsekticid proti moučnému červu
- i selektivní působení (až na druhy)

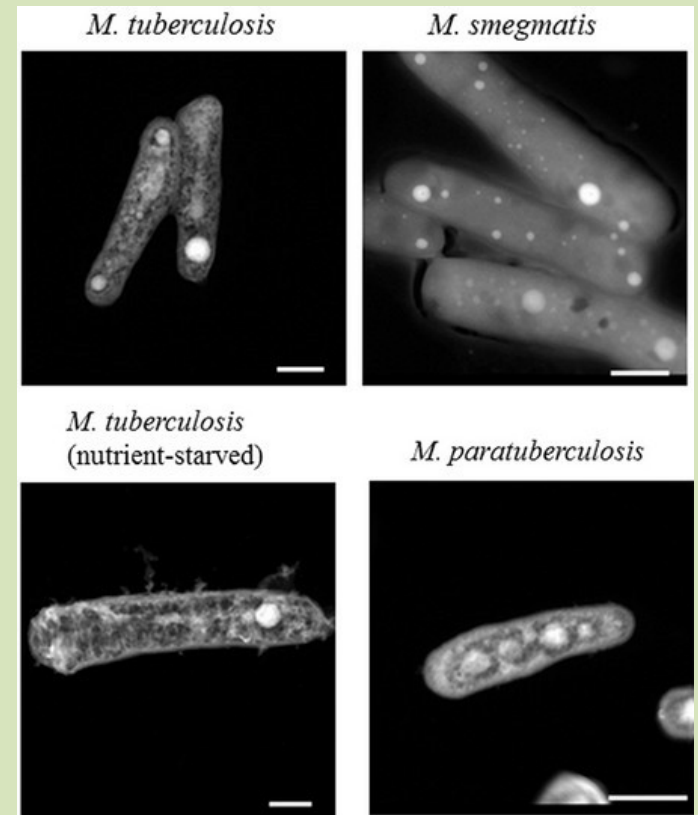


Polyfosfátová granula = volutin

- vznik při nadbytku ATP, zásobárna fosfátu
 - dobře viditelný pod mikroskopem
 - Kulovitá tělíška, až 500 molekul v řetízku – proto je nerozpustný ve vodě
 - nikdy není zdrojem energie
 - vazba mezi molekulami je energeticky bohatá a vyžaduje dodání energie
 - je katalyzována polyfosfát kinázou
-
- počet 1 – mnoho, podle metabolismu
 - vysoký počet je v době před přechodem do klidového stadia

Slouží jako:

- rezervoár fosforu
- alternativní zdroj P (namísto ATP) při fosforylaci cukrů při jejich katabolismu
- chelatační činidlo divalentních iontů
- jako pufr při alkalickém stresu
- jako regulátor při odpovědích na stres

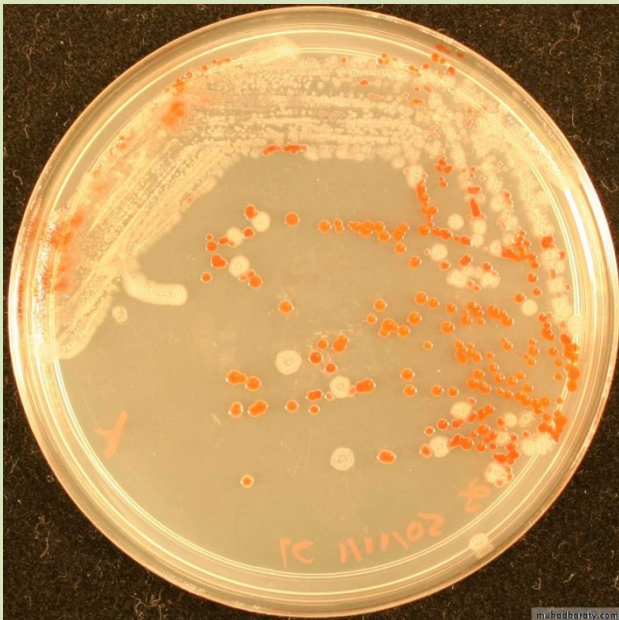


Pigmenty

- produkty primárního i sek. metabolismu
- produkovány v závislosti na stanovišti
- pokud jsou produktem primárního metabolismu – jsou bezpodmínečně potřeba (bakteriochlorofyl, karotenoidy)
- využívají se při **metabolismu** nebo mají **protektivní účinek** či jiný ekologický význam (**inhibiční účinky**)
- protektivní účinek – absorbuje světlo o určité vlnové délce, jsou syntetizovány až v rámci **sekundárního metabolismu**



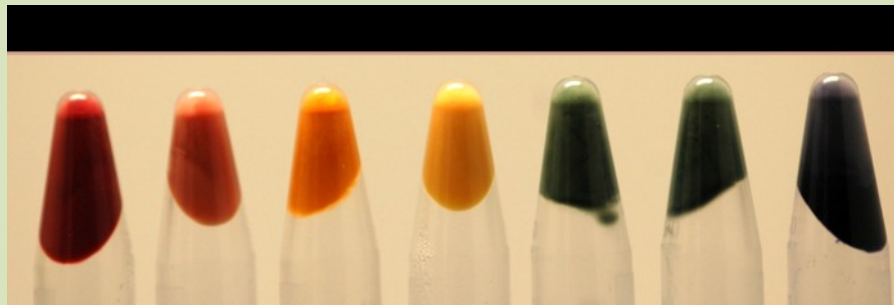
- absorbce UV záření, puffry při ničení kyslíkatých radikálů
- je důležité např. u patogenů: fagocyty na ně nemohou toliko působit např. peroxidem vodíku!
- Př: karotenoidy *Streptococcus B* – závažný původce pneumonií a meningitid u novorozenců
- zlatý karotenoid *Staphylococcus aureus* opět brání proti oxidačním reakcím imunitního systému
- buňka může produkovat endo- (protektivní) i exopigmenty různých barev
- řada pigmentů vzniká nadprodukcí látek.
- lokalizace podle své úlohy: v cytoplazmě, v CM u fototrofů, v periplazmatickém prostoru, (v buněčné stěně u kvasinek), jako exopigmenty – ekologický význam (inhibiční agens, ATB)



Nejčastěji vyskytující se pigmenty:

- karotenoidy – endopigmenty u většiny buněk
 - bakteriochlorofyly a,b,c,d – anaerobní prostředí
 - prodigiozin – extracelulární, mikrobicidní účinek – bakterie a plísň
 - melaniny – hnědé, černé, tmavě červené - v závislosti na době kultivace
 - antokyany – sek.metab., barva závisí na pH
-
- fenaziny
 - extracelulární, sek. metab., mikrobicidní účinek – bakterie a plísň (Erwinia)
 - např. u *Pseudomonas*
 - u patogenů jsou spojeny s virulencí - kolonizuje dýchací cesty u pacientů s cystickou fibrózou
 - u nepatogenních jim poskytují kompetiční výhodu např. v půdě
-
- Př: *Micrococcus flavocianus* – žlutý endopigment a fialový exopigment
 - na MPA agaru jen žlutý endopigment
 - na glukozó-kvasničném agaru – oba pigmenty

(faktory : pH prostředí? Kultivační medium? Stáří kultury? Endopigment? Exopigment? Mikrobicidní? Protektivní?)



Úprava a využití bakteriálních pigmentů

- potravinové doplňky – karoteny - retina, antioxidanty (melanin)
- barviva v potravinářství
- některé pigmenty fluoreskují
- přírodní barviva textilií – akrylová vlákna, hedvábí, bavlna (vydrží míň), PE (míň), ...
většina syntetických barviv obtížně degradovatelná a toxická! (obsah karcinogenních dioxinů)

Př: žlutooranžové, červené a růžové pigmenty

Chryseobacterium sp., *Serratia marcescens*, *Chromobacterium violaceum*



Struktury vně buněčné stěny

- ochrana před fagocytózou
- před protilátkami
- před vysycháním
- před detergenty
- vazba na povrch předmětů, tvorba biofilmu

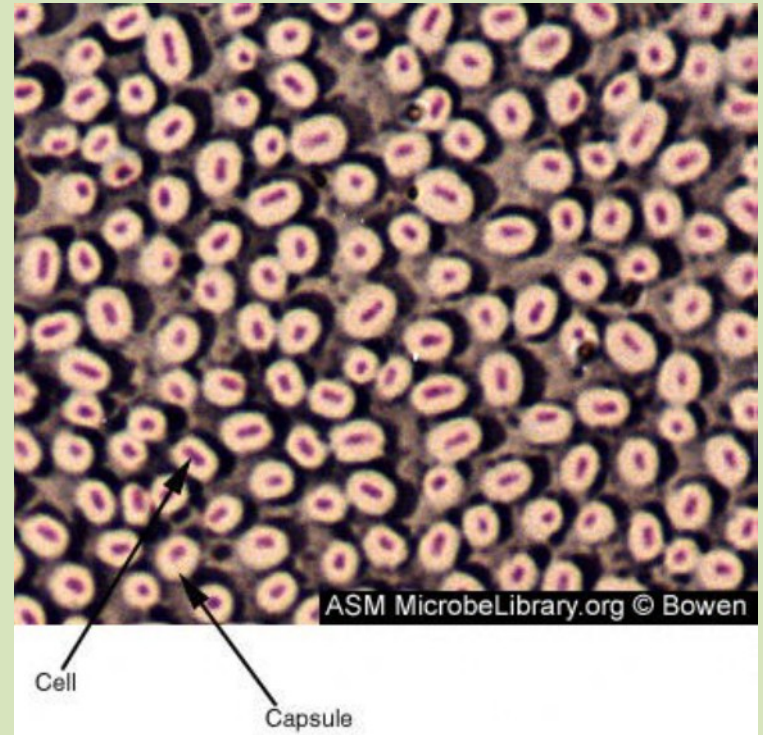
Slizy

- polysacharidy
- lépe odstranitelné, difúzní, neorganizované

Pouzdra

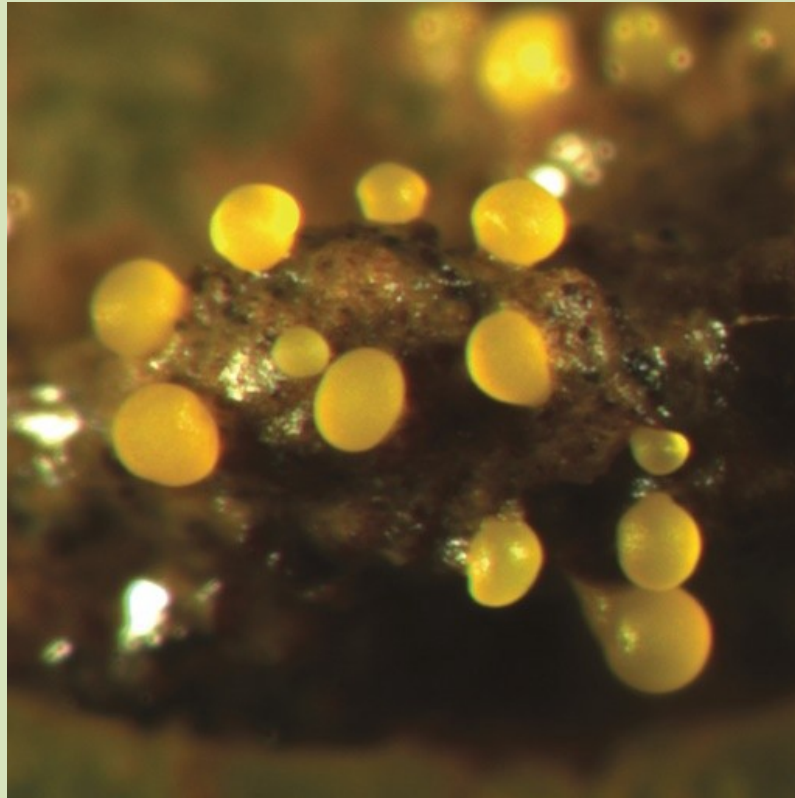
- kapsuly – mikro a makro
- dobře organizované, rigidní, AMK nebo cukry

Glykokalyx



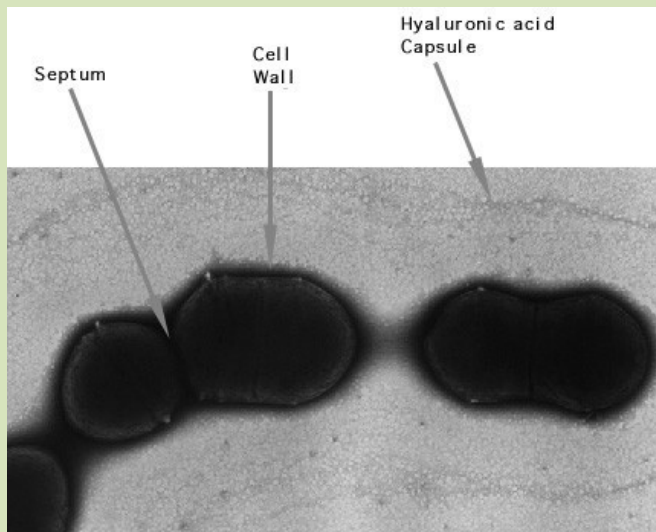
Sliz

- řídký **difúzní neorganizovaný** materiál
- spojuje více buněk, **snadno odstranitelný**, nejčastěji **polysacharid**
- může sloužit k pohybu ve vlhkém prostředí
- sliz je méně organizovaný a méně přimknutý k BS, než kapsula



Kapsula – virulence

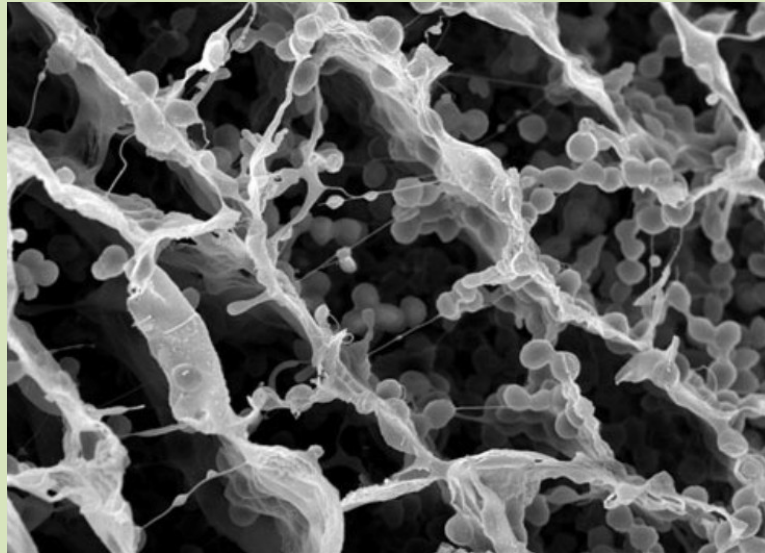
- pouzdra dělíme na makrokapsuly a mikrokapsuly
- MIKRO - jsou z bílkovin, polysacharidů a lipidů
- MAKRO- z polysacharidů (streptococcus), bílkovin (bacillus), celuloza.... makrokapsula bývá až 2x tlustší než samotná bunika
- vždy převládá buď bílkovina nebo polysacharid
- jeden druh až 60 druhů kapsulových antigenů
- tvorba pouzdra ovlivněna složením media, prostředím...
- kapsula způsobovat virulenci (patogeničnost) bakterií, např. *E.coli*, *Streptococcus pneumoniae*



Negativní barvení - *Streptococcus pyogenes*
TEM (28,000X)

Glykokalyx

- netvoří se v laboratorních podmínkách za dostatku živin
 - **sítovina z vláken polysacharidů a glykoproteinů**
 - umožňuje adherenci, která je málo až vysoce specifická
 - kationty umožňují spojení stejně nabitých buněk a povrchů
 - když mají bakterie dost živin, glykokalyx se nevytvorí
-
- adherence -> málo specifická (třeba přilnavost k zubům) i hodně specifická (např. v močové trubici)



Pochvy

- výhradně z polysacharidů (rozdíl od pouzdra)
- chemické složení a zbarvení druhově specifické
- funkce je pouze podpůrná (mechanicky)
- glukóza + kyselina glukuronová (*Sphaerotilus*) u jiných rodů např. fukóza
- někdy i hydroxidy kovů – v malém množství (zbarvení; Fe, Mn, Cu; závisí na druhu)
- Př: *Sphaerotilus*, *Leptothrix* - tvoří se u přisedlých mikroorganismů
- (vytvoří trubkovité útvary, ve kterých se mohou bakterie volně pohybovat)

