

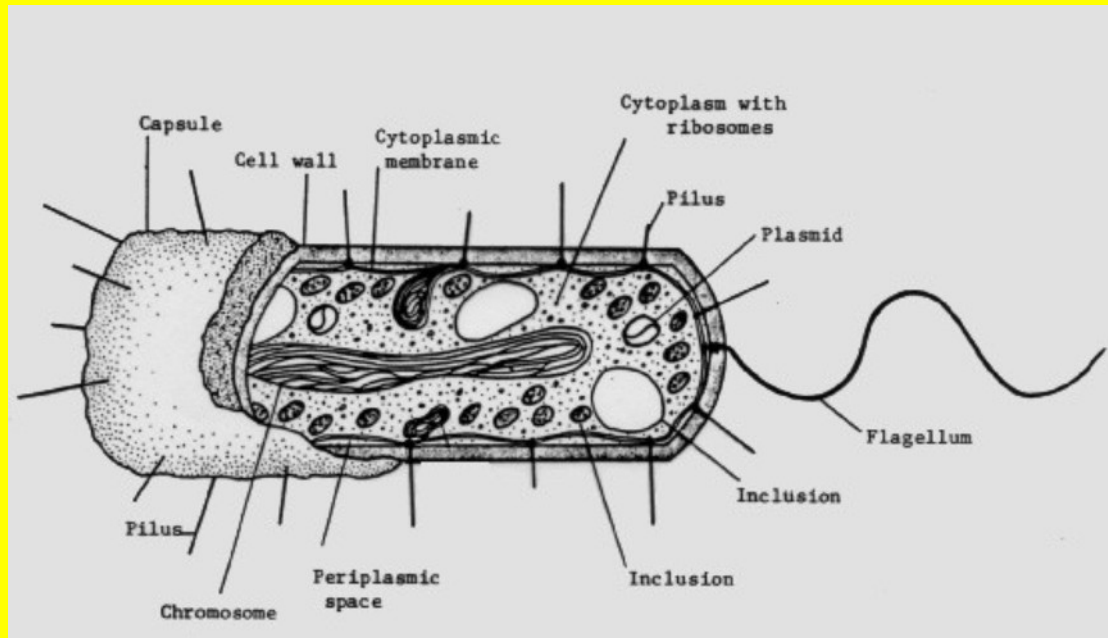
# Cytologie a morfologie bakterií

## 2

Iva Buriánková  
MIK, UEB MUNI

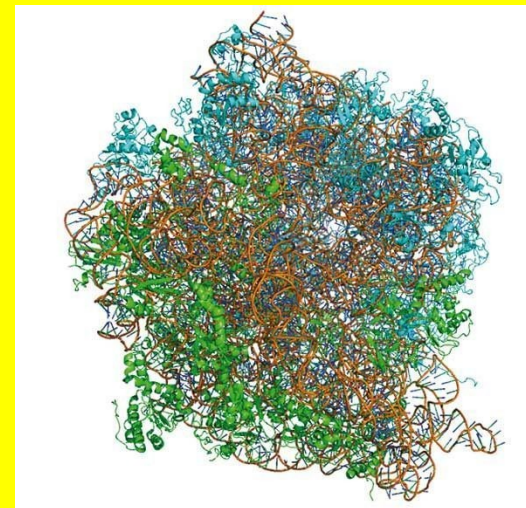
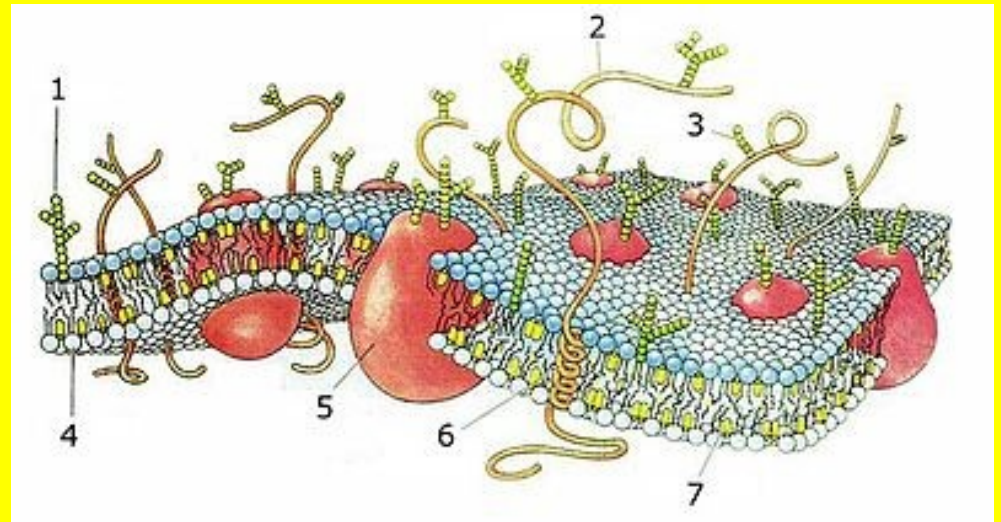
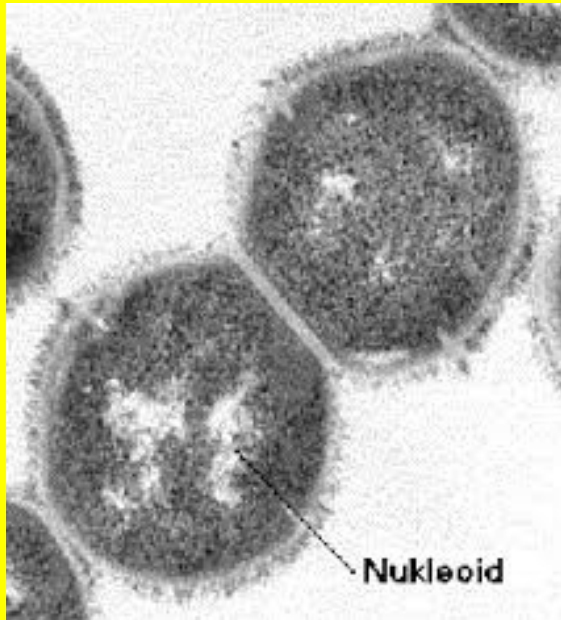
## Struktury prokaryotické buňky

- Základní (esenciální) - cytoplasmatická, ribozomy, nukleoid
- Obvyklé - tvoří se pouze v závislosti na podmínkách (kromě BS - není u mykoplazmat)
  - nejsou nutné k přežití buňky, poskytují výhodu



## Základní struktury

- Cytoplazmatická membrána
- Nukleoid
- Ribozómy



## Obvyklé struktury - nejsou nezbytné

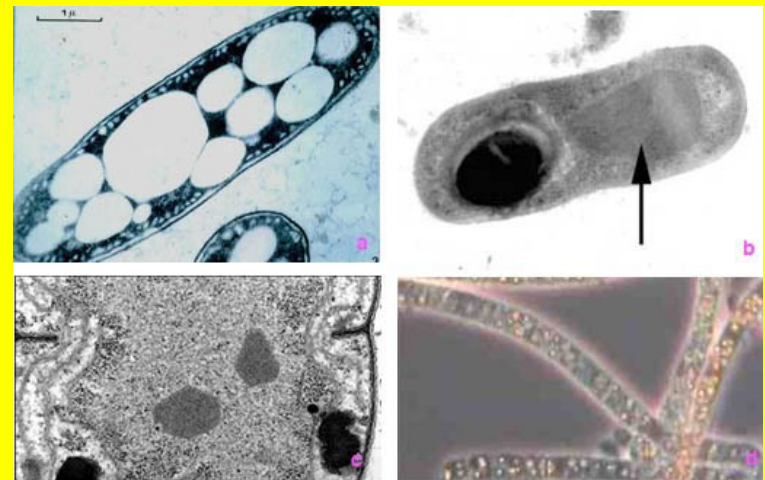
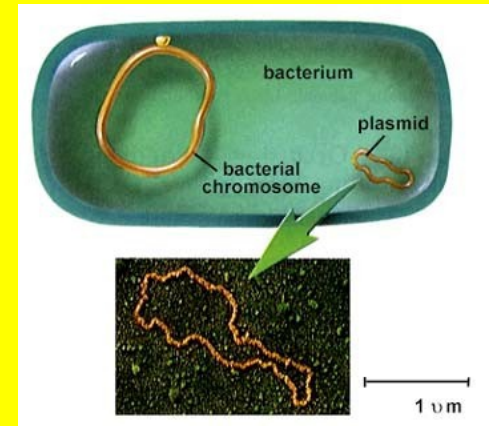
- Buněčná stěna
- Organely pohybu
- Fimbrie
- Plazmidy
- Kapsuly, slizy
- Inkluze



chrání proti vyschnutí,  
maskuje antigeny,  
proti fagocytoze...

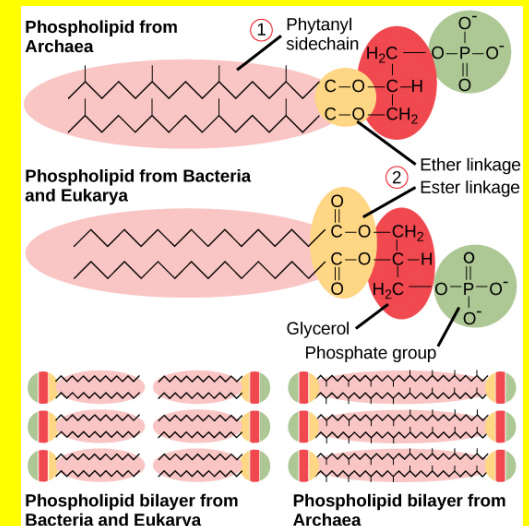
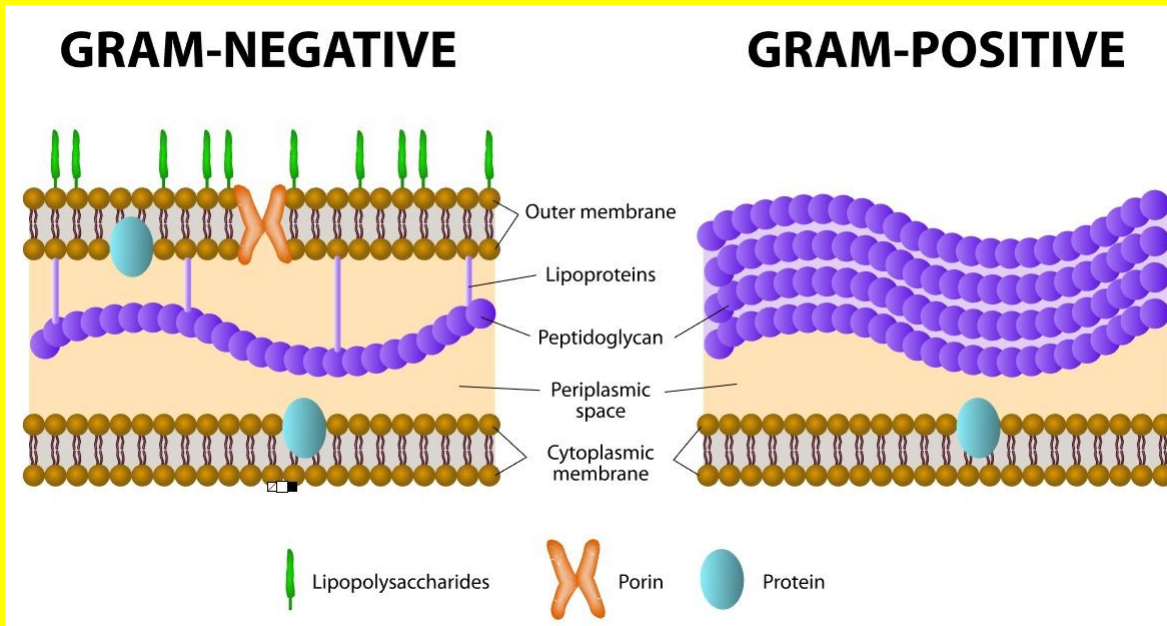


- v nich odpadní nebo zásobní látky
- polyhydroxyburát - vznik za nepříznivých podmínkách - nedostatek živin
- karboxyzomy - fixace uhlíku
- parasporální krystal - obsahuje endotoxiny > působí proti hmyzu... má ho třeba bacillus - musí se dostat do střev, aktivují se endotoxiny --> hmyz zemře



# Cytoplazmatická membrána

- fluidní vrstva **fosfolipidů**, v ní vnořené bílkoviny – mnoho proti Eucarya
- jednoduchý řetězec, esterová vazba Bacteria, *Archaea* – etherová v. !!
- semipermeabilní – transport, respirační funkce (zastupuje mitochondrie), zakotvuje rotor bakteriálních bičíků
- G- mají plazmatickou membránu a vnější membránu oddělené periplazmatickým prostorem
- ost. prokaryota pouze vnější CM
- někt. mořské sinice plazmatické membrány bez fosfolipidů – náhradní membránový lipid - SQDG
- (v oceánech s nedostatkem fosforečných a dusíkatých živin)





## Buněčná membrána obsahuje různé biologické molekuly, především lipidy a proteiny

**Lipidy** – složení do urč. míry podle výživy a typu prostředí

Hopanoidy – lipidy u 50% bakt., obdoba euk. sterolů

Cytoplazmatická membrána obsahuje tři třídy amfipatických lipidů:

- fosfolipidy (obs. zbytky kys. fosforečné) a ost.
- glykolipidy (p. obsahu cukru) a ost.
- p. alkoholu - deriváty glycerolu (především fosfatidáty) a deriváty sfingosinu (sfingolipidy)

## Proteiny

Proteiny pevně vázané – enzymy (ATPáza, nukleáza, fosfatázy), transportéry, strukturální proteiny

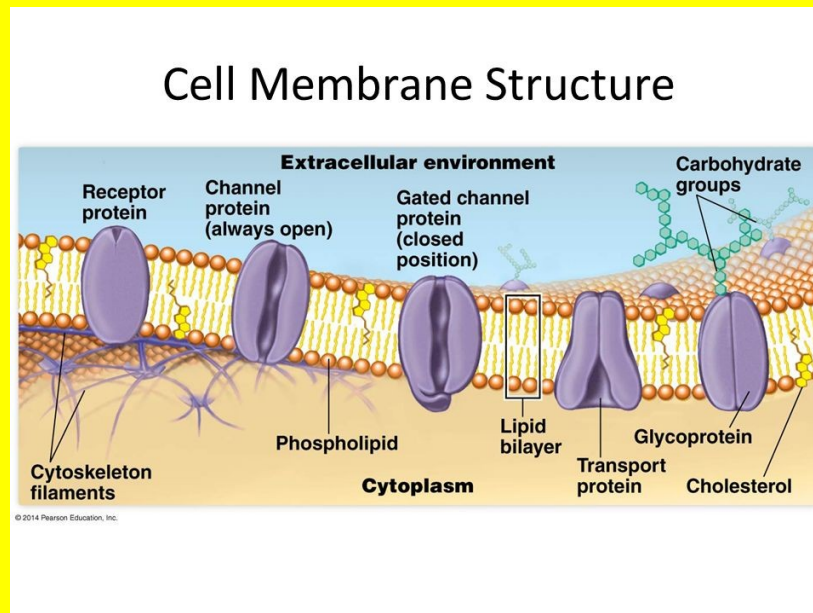
- volné proteiny – fosfatázy
- inducibilní složky membrány – přítomnost - nutný spouštěcí faktor syntézy = spektrum proteinů proměnlivé

**Lipoproteiny** – lipid do periplazmy

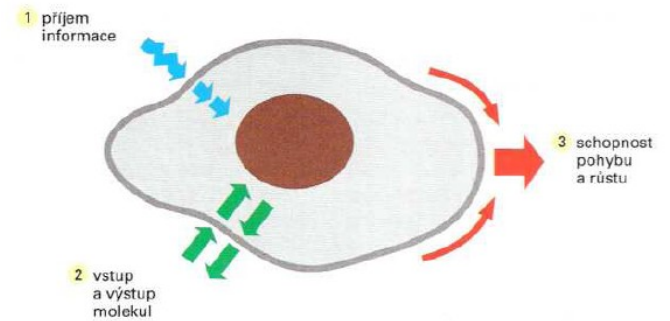
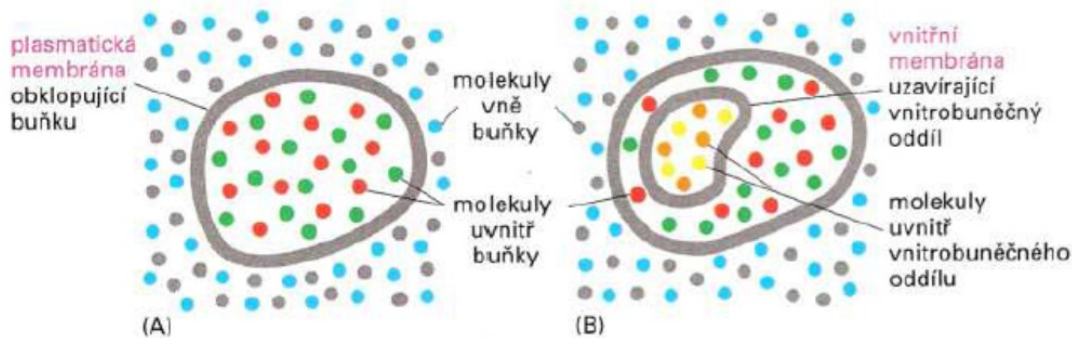
## Glykoproteiny a glykolipidy

– orientovány cukernou složkou  
vně membrány

**Lipopolysacharidy G-**



- vrstva lipidů – 5 nm, cca 50 atomů
  - bariéra, brání úniku obsahu buňky
  - semipermeabilní, selekt. permeabilní
  - živiny dovnitř, odpady ven – selektivní kanály, pumpy – proteiny (import, export spec. látek)
  - buněčná adheze, výměna iontů a buněčná signalizace – reakce na prostředí
  - cílová struktura pro extrabuněčné struktury - buněčná stěna, glykokalyx
- 
- cytoplazmatická membrána může být uměle vytvořena - micely
  - růst, tvar buněk – mění se i membrána přidáním složek
  - tendence držet tvar, zacelovat trhliny
- 
- prokaryota – jen CM (eukaryota – i vnitrobuněčné membrány), princip stejný
  - invaginace - membránou obdařeny i některé typy **inkluzí**
  - (glykogen, PHB, S, plyn. vakuoly, karboxyzomy) – 1 vrstevná!

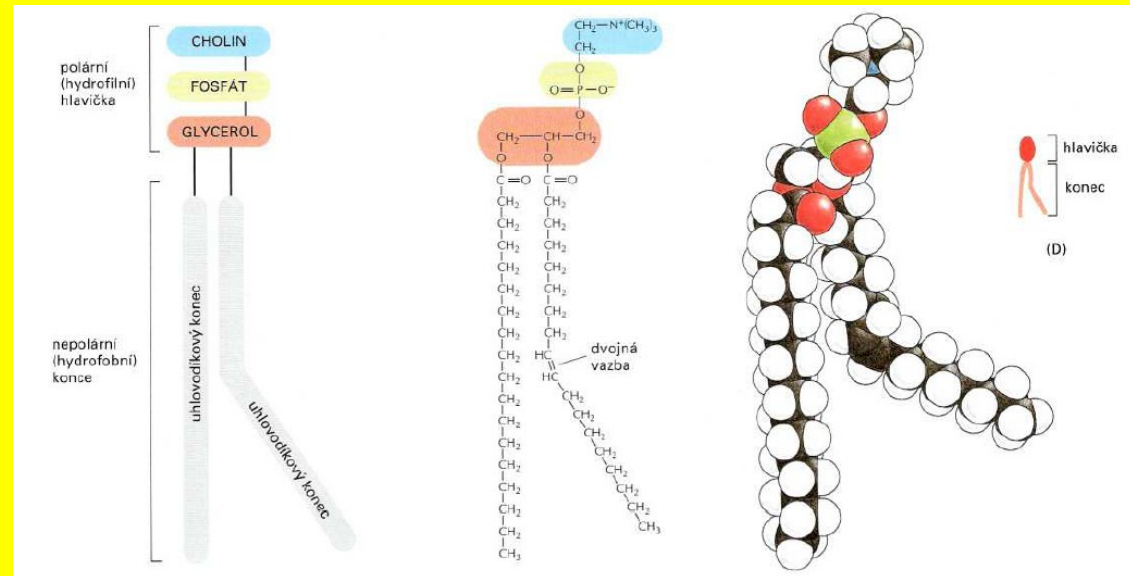


## Fosfolipidy

- dvojrstva, nepropustná, samouspořádání
- hlavní silou formující lipidovou dvojrstvu hydrofobní interakce, dále van der Waalovy síly, elektrostatické, vodíkové a nekovalentní interakce
- fosfatidylcholin - nejvýznamnějšími strukturními fosfatidát, tvoří základ lipidové dvojrstvy biologických membrán (též lecithin)
- hydrofilní hlavička se orientuje k vodě a je spoj. se zbytkem molekuly přes fosfátovou skupinu
- hydrofobní uhlovod. konce jsou nenabitě, nepolární, orientace k jiným nepolárním l.
- amfipatické l.
- lipidové dvojrstvy jsou v zásadě nepropustné pro polární molekuly, připouští pasivní difúzi hydrofobních molekul
- voda se uspořádává kolem nich – spotřeba E

Fosfátová skupina vázaná na glycerol

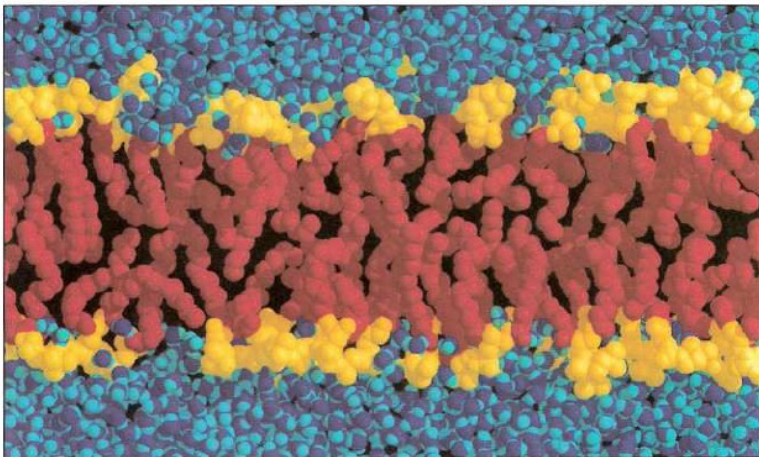
2 mastné kys.vázané na glycerol





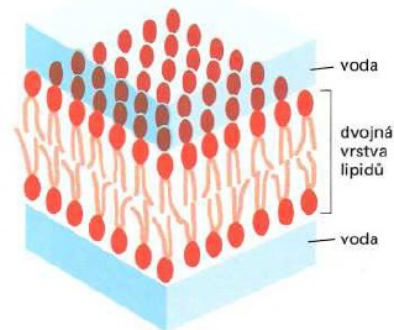
## CM - 2D kapalina – fluidní mozaika

- samozacelovací schopnost – trhliny vytv. rozhraní s vodou – nevýhodné, snaha zacelit
- lipidy neopouští vrstvu kvůli vod. prostředí kolem, ale mohou měnit místa
- teplo - pohyby molekuly – otáčení kolem osy, výměna pozic mezi sousedy – podporuje difuzi
- sniž. teplota – nižší  $E$ , nižší rychlost výměny pohybu lipidů v membráně
- stupeň fluidity – závisí na  $T$  a fosfolipidech – čím těsněji se řetězec může sbalit, tím viskóznější bude
- délka a stupeň nenasycenosti řetězců mastných kyselin
- nenasycené lipidy vytvářejí ohyby - vzrůst fluidity membrány
- mastné řetězce fosfolipidů a glykolipidů – cca 14 – 24 atomů uhlíku
- kratší řetězce zvyšují fluiditu - méně interagují navzájem

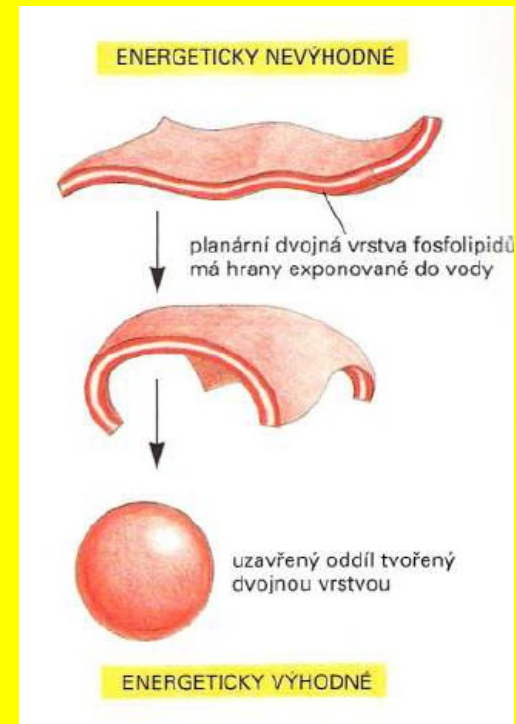


(A)

1 nm



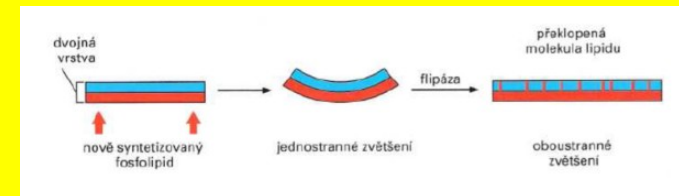
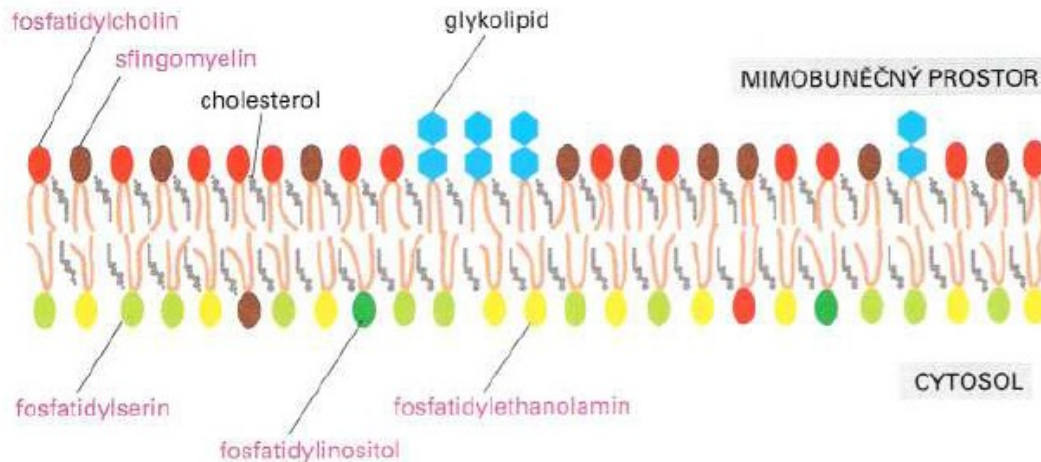
(B)



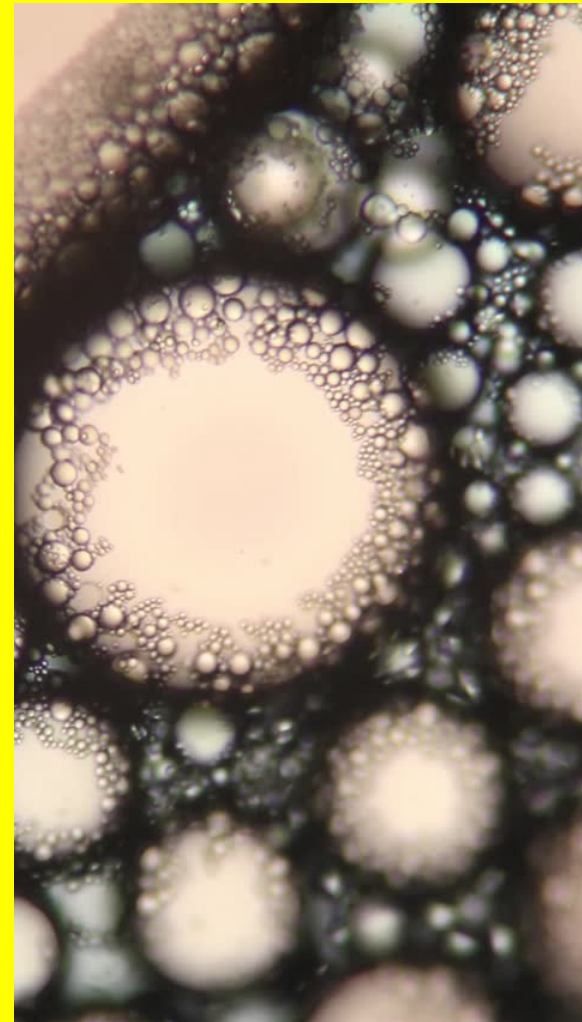
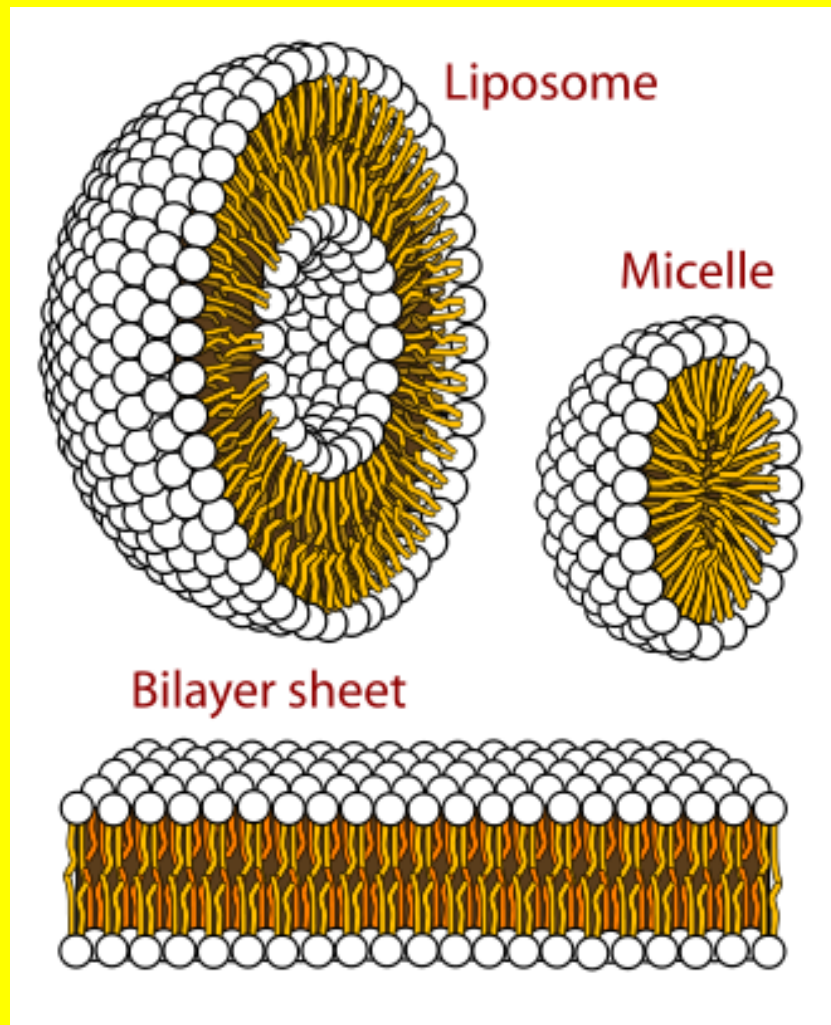
- bakterie a kvasinky – snaha udržet konst. fluiditu CM
- homeovisciozní adaptace - schopnost organismu regulovat fluiditu buněčné membrány změnou složení lipidů
- délka a složení řetězce se mění v záv. na T prostředí
- vys. T – produkuje delší řetězce a méně dvoj. vazeb

### Asymetrické složení membrány

- obě vrstvy se liší počtem a slož. fosfolipidů, dūl. i orientace kanálů
- nové fosfolipidy jsou synt. enzymy z mast. kyselin
- uvolňují se do té samé monovrstvy, pak dochází přeskupení
- flipázy – přenos selektivní – r. koncentrace fosfolipidů v k. monovrstvě

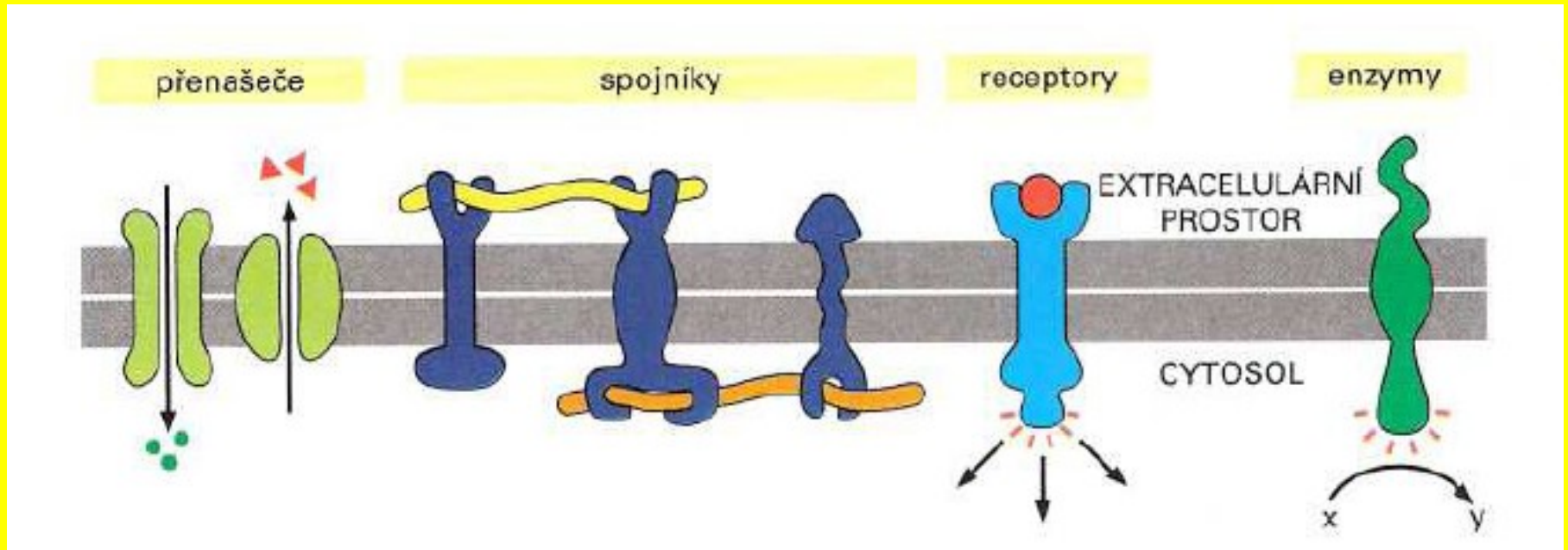


- Flexibita – sch. se ohýbat – spodní hranice 25 nm – min. pro tvorbu váčků



## Proteiny

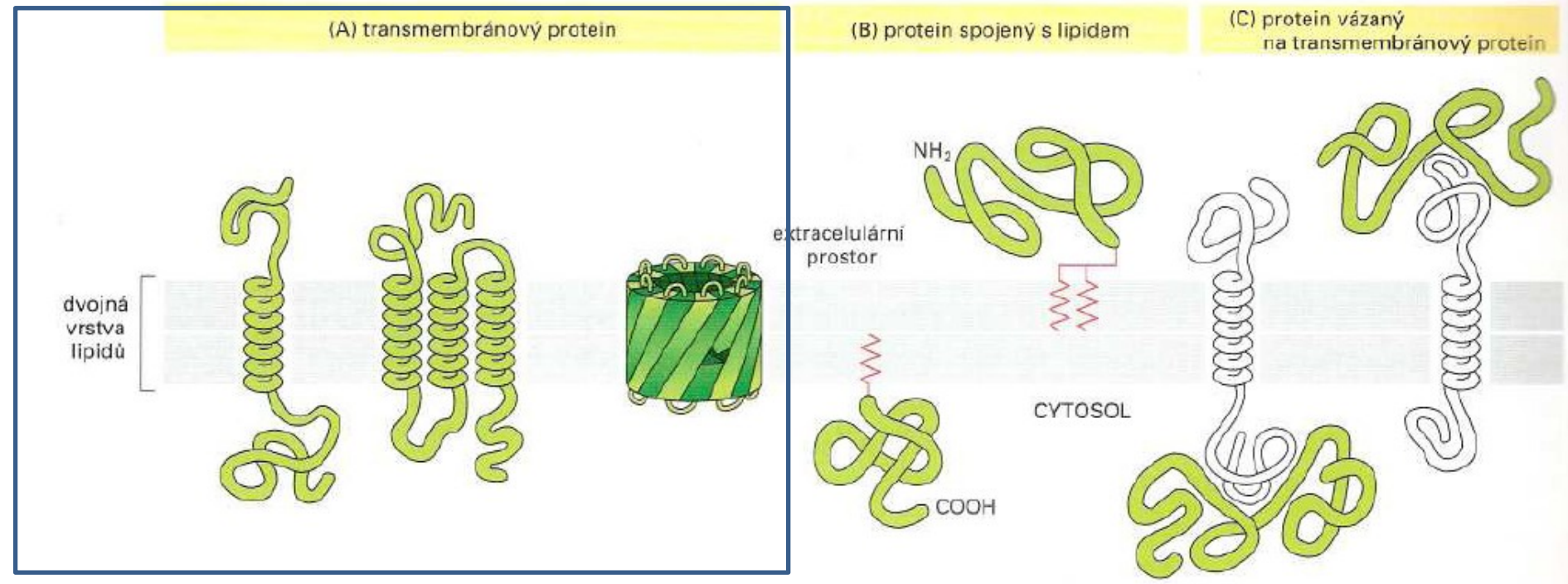
- membrána obsahuje velké množství proteinů, typicky kolem 50 % membránového objemu
- různé biologické aktivity, mezibuněčná komunikace, enzymatické aktivity nebo transport látek přes membránu
- velké množství proteinových receptorů a identifikačních proteinů, např. antigeny





## Integrální proteiny nebo transmembránové proteiny

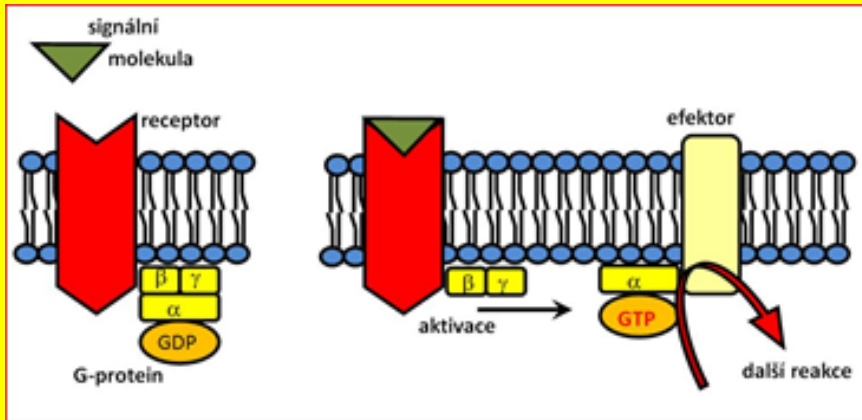
- prochází skrz CM
- hydrofilní cytosolická doména (interaguje s vnitřními molekulami)
- hydrofilní extracelulární doména - interaguje s vnějšími molekulami
- hydrofobní doména - ukotvuje uvnitř buněčné membrány
- hydrofobní domény se skládají z  $\alpha$ -helix a  $\beta$  listů proteinových motivů
- hydrofobní vazby cca 70%
- daná orientace v membráně
- Iontové kanály, protonové pumpy





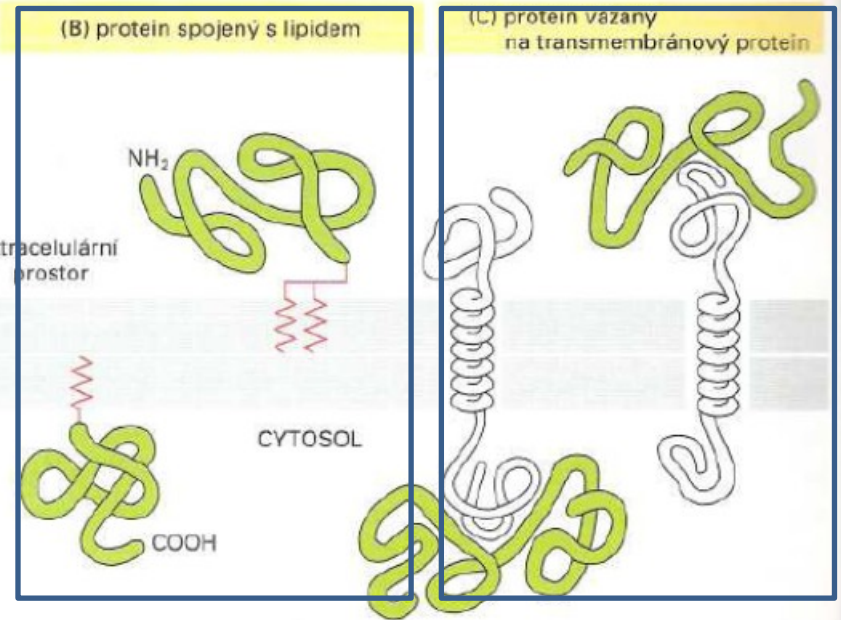
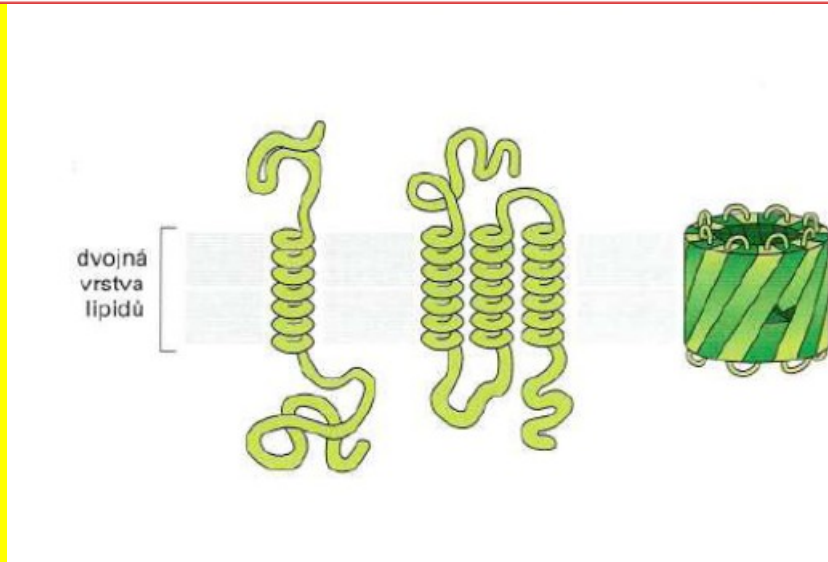
## Proteiny ukotvené s lipidy

- kovalentně vázané na lipidové molekuly hydrofobně vložené do buněčné membrány
- proteiny nejsou v kontaktu s membránou
- elstat.síly, H-můstky
- G proteiny – přenos signálu



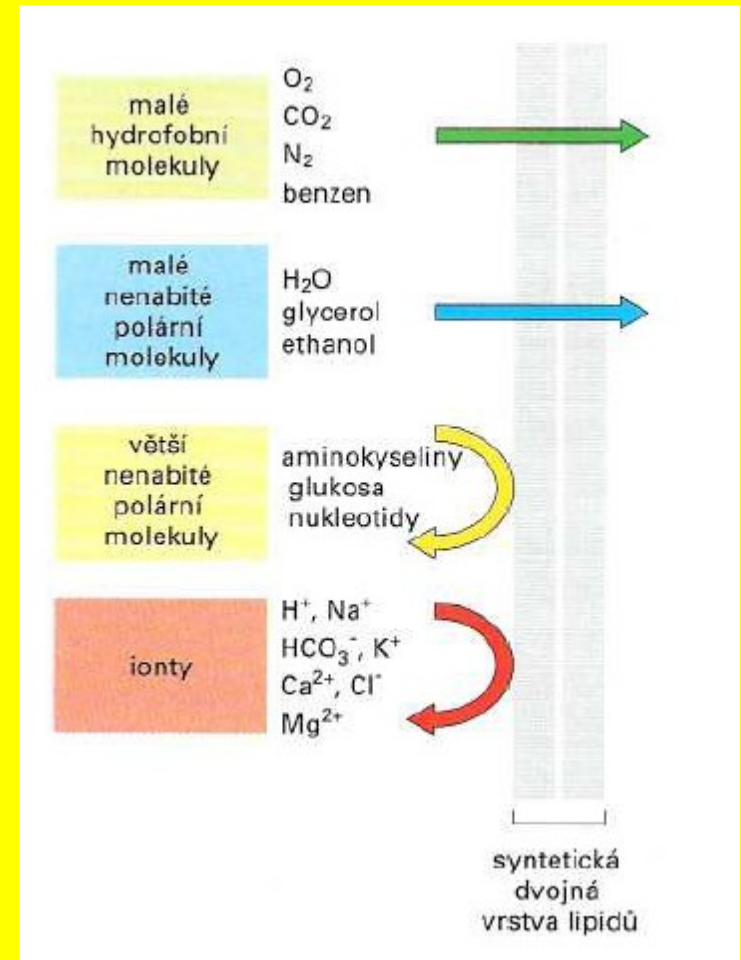
## Periferní proteiny

- spojené s integrálními membránovými proteiny
- dočasné interakce s biologickými membránami a jednou reagující molekula se odloučí a pokračuje ve své práci v cytoplazmě
- spojeny s integrálními za pomoci H-mustku a elektrostat.sil



## Funkce cytoplazmatické membrány

- bariéra, receptory, antigeny
- transport – prostá difúze, zprostředkovaná difúze, aktivní transport
- membrána je hydrofilní - malé neutrální molekuly projdou skrz membránu snáze než nabitě, velké molekuly
- připouští pasivní difúzi hydrofobních molekul
- CM v podstatě nepropustné pro větší polární molekuly
- brání v difúzi polárním rozpuštěným látkám (AM, NK, cukry, proteiny, ionty)
- tj. schopnost kontrolovat pohyb těchto látek skrz transmembránové proteinové komplexy - póry, kanály a brány
- propustnost membrány je míra pasivní difuze molekul membránou
- závisí hlavně na el. náboji, polaritě molekul a na mol. hm. molekuly
- transport přes membránu dělíme na pasivní a aktivní



## Transmembránový transport – pasivní

- přenos látek přes buněčnou membránu
- samovolně prostřednictvím kanálů a přenašečových proteinů
- nespotřebovává energii ATP
- řízen gradientem koncentrace a membránovým potenciálem
- gradient elektrochemického potenciálu = rozdíl elektrochemických potenciálů na vnější a vnitřní straně membrány
- hnací silou pro pohyb iontů přes membránu
- závisí na propustnosti buněčné membrány
- prostá difuze, zprostředkovaná difuze, osmóza

### 1) Prostá difúze

- **transport látek po koncentračním spádu**
- plyny (N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>), malé polární molekuly bez náboje (etanol, voda)
- umožňuje pohyb látek uvnitř buněk a tím **látkovou výměnu**

## 2) Zprostředkovaná difúze

- přenos látky po elektrochem. gradientu přenašečů v membráně
- tyto procesy fungují i při aktivním transportu

**kanály** - hydrofilní pór, který pro přenos specifických anorganických iontů nepotřebuje změnit svou konformaci

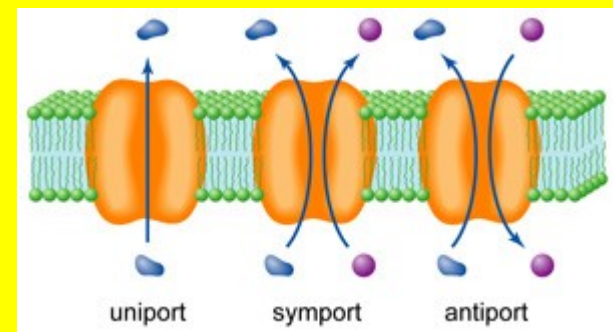
- způsob přenosu rychlejší než typ předchozí
- protein může být svou konformací otevřen či uzavřen

### proteinové přenašeče

využívá pro přenos solutu svých konformačních změn - umožňují přenos malých ve vodě rozpustných molekul

- kapacita přenašeče je limitována
- koncentrace difundované látky nejprve stoupá, rychlost difuze se už rychlost difuze nemění
- využíván pro transport látek spojených s metabolismem buňky a dalších látek potřebných pro fungování buněk
- např. aminokyseliny, proteiny, ionty větších rozměrů

- **Uniport** - transportované molekuly procházejí samostatně
- **Kotransport** – symport a antiport
- **Symport** - prostupují molekuly stejným směrem
- **Antiport** - prostupují směrem opačným



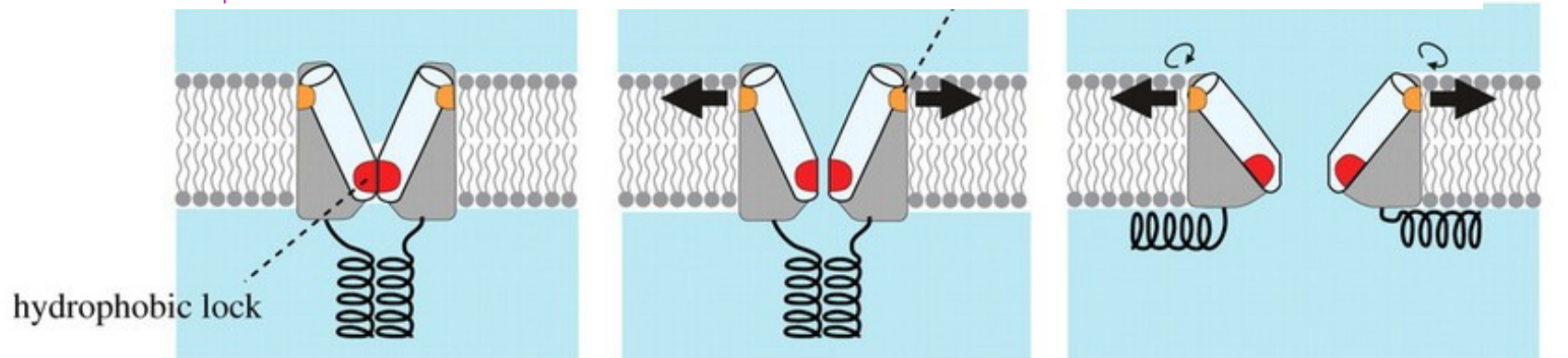
## Msc channels

- mechanosensitivní kanály – reagují na zvýšení turgoru buňky zvětšením velikosti póru
- adaptace na osmotický stres - MscL – *E. coli*

### Mechanosensitivity of ion channels based on protein–lipid interactions

Kenjiro Yoshimura, Masahiro Sokabe

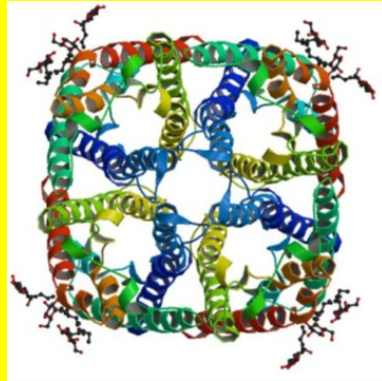
Published 26 April 2010. DOI: [10.1098/rsif.2010.0095.focus](https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0095.focus)





## KANÁLY prosté

- stále otevřené válcové struktury s centrálním vodním kanálem
- neregulovány
- př: poriny  $\beta$  vnější membrány - maltoporin umožňující difúzi maltodextrinů, aquaporin



Maltoporin  
v komplexu  
s maltodextrinem  
(6 Glu jednotek

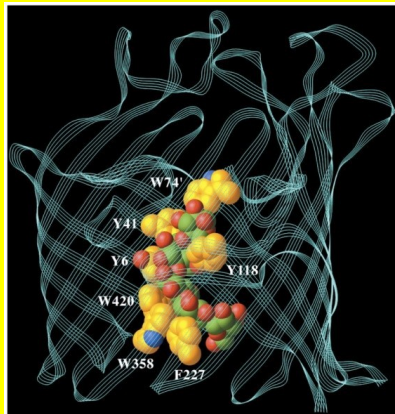


Figure 10-6 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

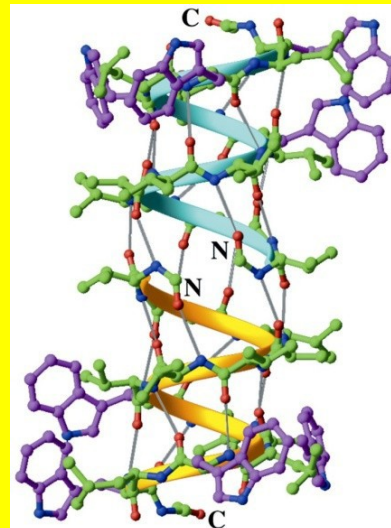


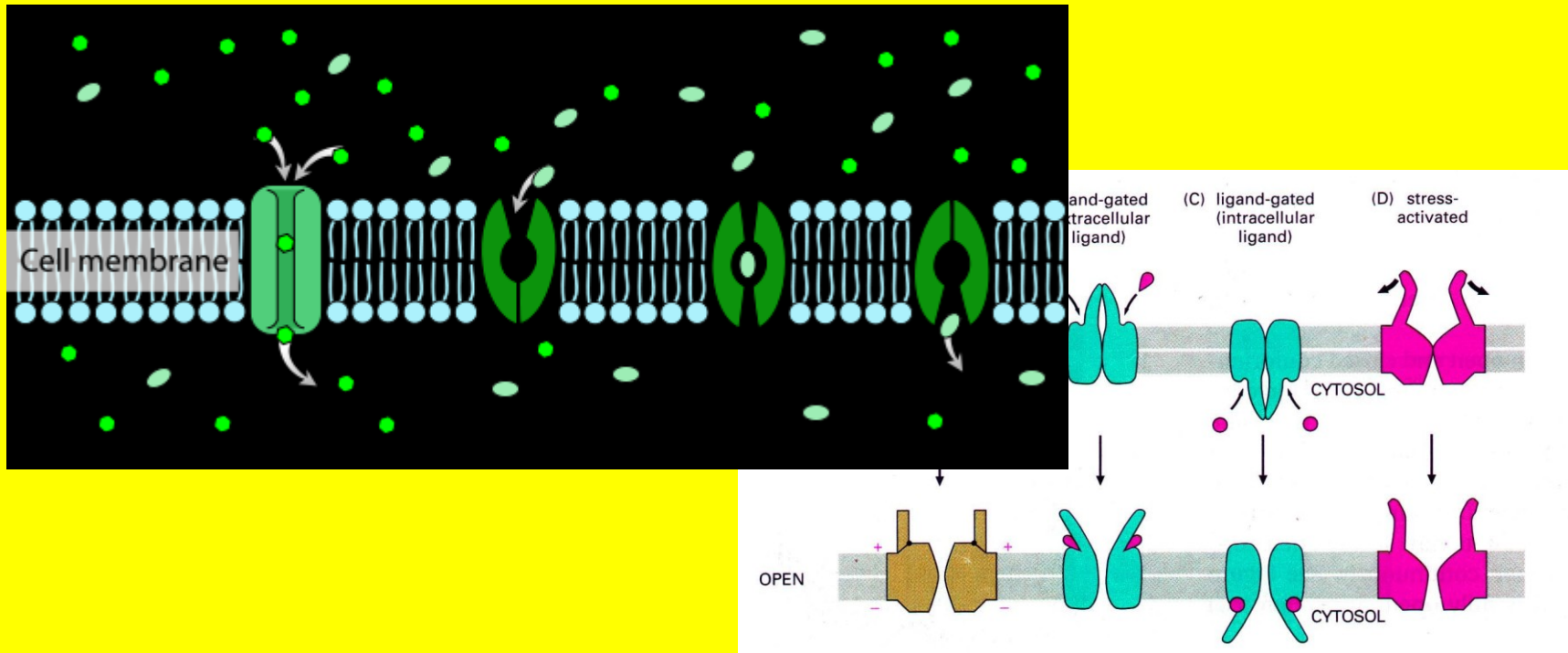
Figure 10-5a Fundamentals of Biochemistry, 2/e  
© 2006 John Wiley & Sons

Dimer  
GramicidinuA  
tvoří kanálek  
Pro transport  
lontu  $K^+$

## KANÁLY hradlové

- mají schopnost se otevírat a uzavírat
- polypeptid. žetězec tvoří hrdlo, které je specificky otevíráno
- pomocí vazebných míst rozpoznávají ionty
- mají specifitu - hrdlo regulováno: napětím, chemicky, mechanicky
- specifické iontové kanály slouží pro rychlý průchod iontů jako  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  a  $\text{Cl}^-$

Př:  $\text{K}^+$  pasivně difundují z cytoplasmy do extracelulárního prostoru přes transmembránové proteiny - tetramery řízené el. polem

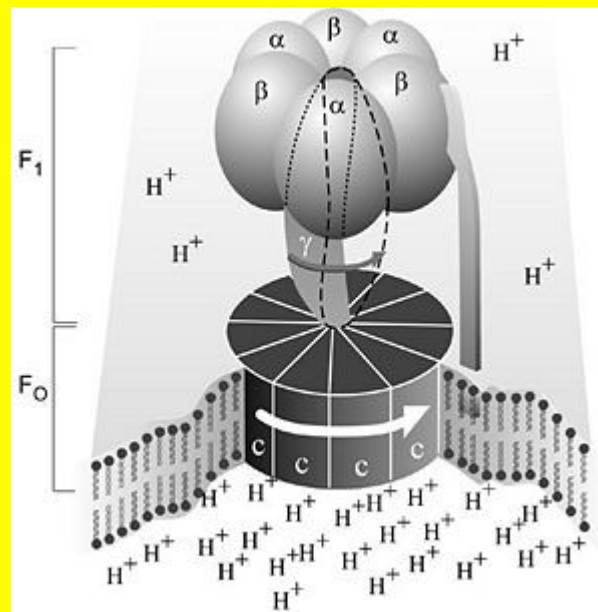


## Aktivní transport

- aktivní transport vede ke kumulaci látky, transport
- i proti koncentračnímu spádu za spotřeby ATP

## ATPáza (adenosin trifosfatáza)

- enzym, katalyzuje hydrolýzu ATP na ADP a fosfát
- energie vzniklá zmíněnými defosforylacemi se užívá k pohánění jiných chemických reakcí
- např transport iontů přes membránu



## Vznik energie v buňce

V membráně je komplex proteinů  $F_0$ , který funguje jako protonový kanál, a ten je propojen s komplexem  $F_1$ , vyčnívajícím do cytoplazmy. Jsou-li jednotkou  $F_0$  vpuštěny protony (po spádu svého  $\Delta\mu_{H^+}$ ), lze jejich energii zachytit a využít ji v komplexu  $F_1$  k syntéze ATP. A malá molekula ATP už není vázána na membránu a může v buňce snadno difundovat tam, kde je jí třeba.

## l) primární akt. transport

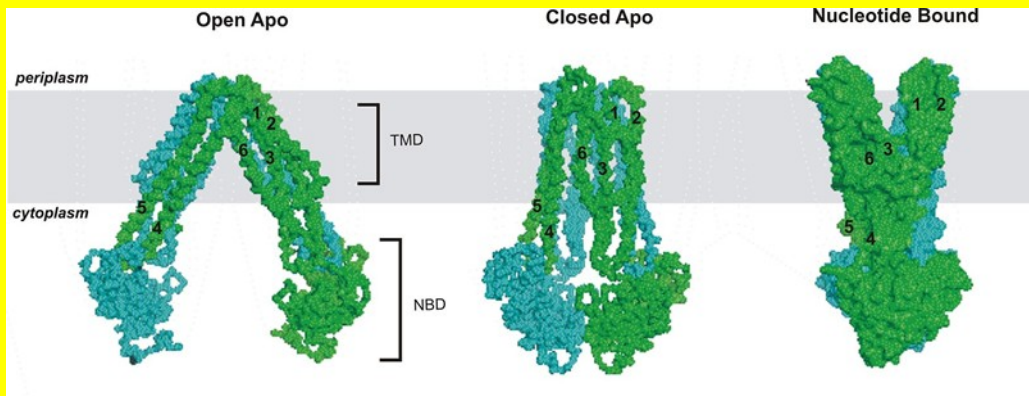
- zdroj energie nesouvisí s dalším průběhem přenosu
- je zapotřebí přítomnost volné energie
- pouze jedna částice (např. na  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  a ATPáza, která současně čerpá sodík z buňky a draslík do buňky)

## ABC transportéry – motivy vážící ATP a štěpící jej při příjmu látky

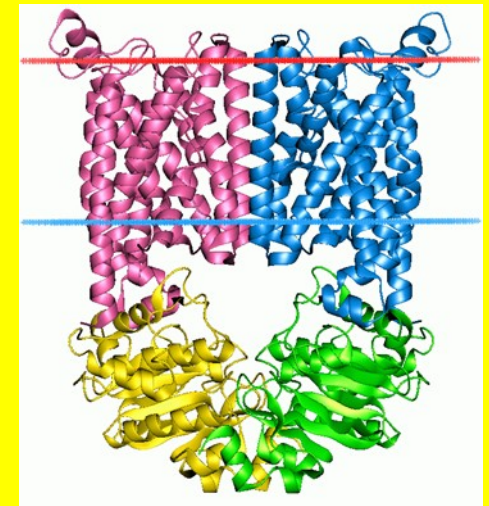
- bakterie stovky typů pro transport
- ABC transportéry jsou schopné přenášet přes membránu sacharidy, aminokyseliny, lipidy, ionty, peptidy i proteiny, toxiny a léky včetně antibiotik
- Příklad: E. coli tak přijímá vit. B12 z prostředí, export toxinů

Primární aktivní transportéry se dají klasifikovat na základě způsobu získávání potřebné energie:

- hydrolýzou ATP – vyskytují se ve všech doménách
- dekarboxylací – v prokaryontních organismech
- přenosem methylové skupiny – vyskytují se u archeí
- oxidoreduktázou- zdroj energie je oxidace redukovaného substrátu
- světelnou energií- vyskytují se u archeí



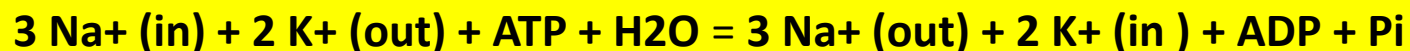
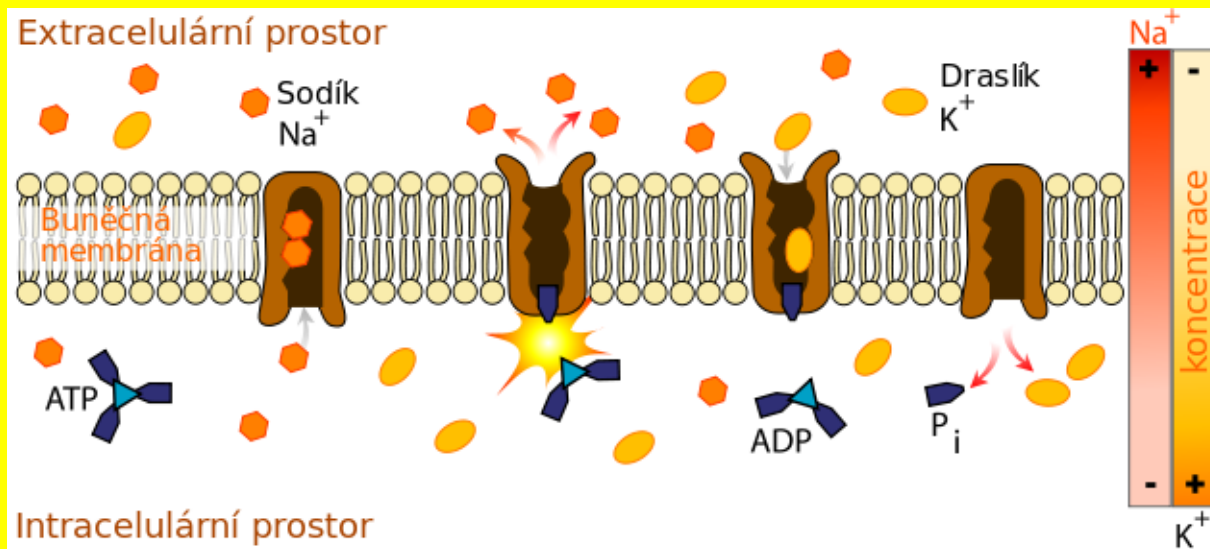
Během činnosti ABC transportéru MsbA se periodicky mění jeho prostorové uspořádání



Bakteriální ABC transportér pro vitamín B12

## II) sekundární akt. transport

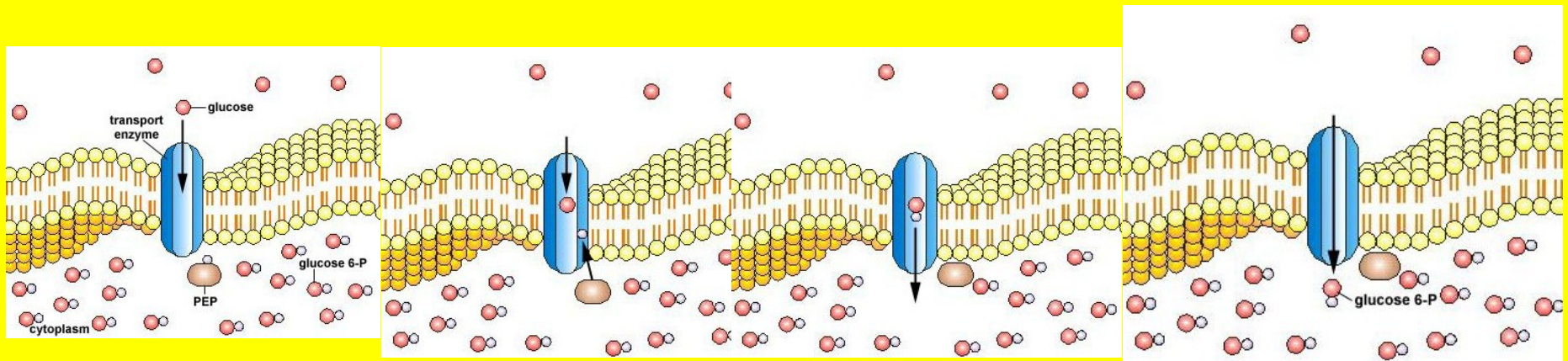
- zdroj energie - spřažení s přenosem jiné látky ve směru koncentračního gradientu
- energie uložená v gradientu je využita k přenosu druhé částice proti směru koncentračního spádu (symport, antiport)
- proces spojen se změnou koncentrace na membráně
- sodno-draselná pumpa
- která udržuje koncentrací rozdíl sodíku a draslíku mezi intracelulárním a extracelulárním prostředím tím, že vyčerpává sodík z buňky a naopak vychytává draslík
- antiport sodíku a draslíku proti koncentračnímu gradientu – u sodno-draselné pumpy je zdrojem energie ATP





## Skupinová translokace

- méně častá
- při transportu substrát chemicky modifikován (dostane se do buňky a zůstává v ní)
- př: fosfotransferázový systém
- fosforylace substrátu; akumulace PEP (fosfofenolpyruvát) přináší do buňky cukry proti koncentračnímu spádu)



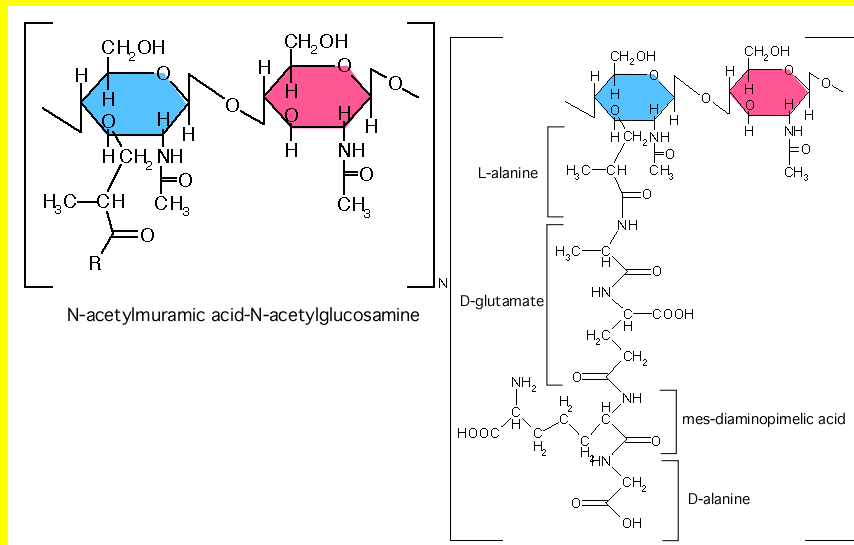
Vysokoenergetická fosfátová skupina je z fosfoenolpyruvátu přenesena na glukózu za tvorby glukóza-6-fosfátu

## Buněčná stěna

- součást buněčného skeletu
- dává buňce tvar
- mechanickou ochranu
- ochraňuje před zářením, vyschnutím, chemickým poškozením
- stěna kompenzuje osmotický přetlak uvnitř buňky

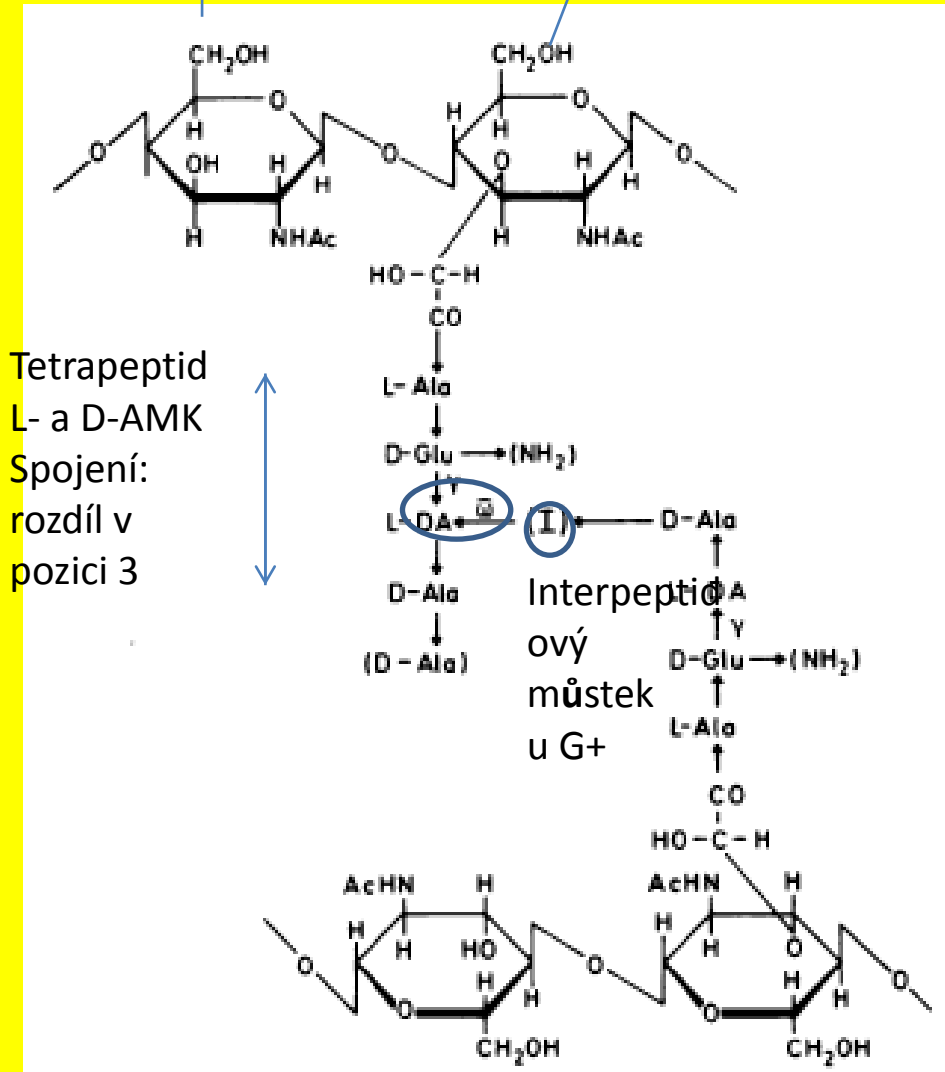
### Peptidoglykan (murein)

- peptidová složka - tetrapeptid - alanin, kys muramová, nějaký zbytek (G+ = lyzin; G- =diaminopimelová kys.) a zase alanin
- glykan – cukerná složka, NAG, NAM (N-acetylglukózin+N-acetylmuramová k.)



- **Peptidoglykan** = uniformní disacharid
- N-acetylglukózamin + N-acetylmuramová

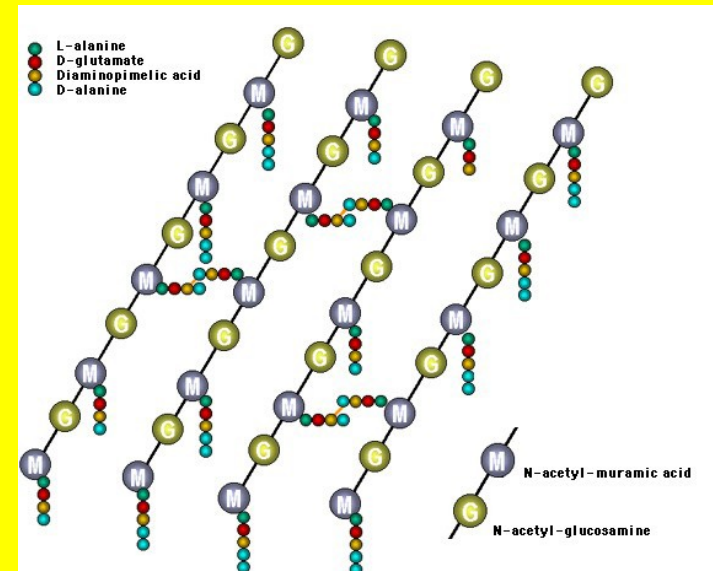
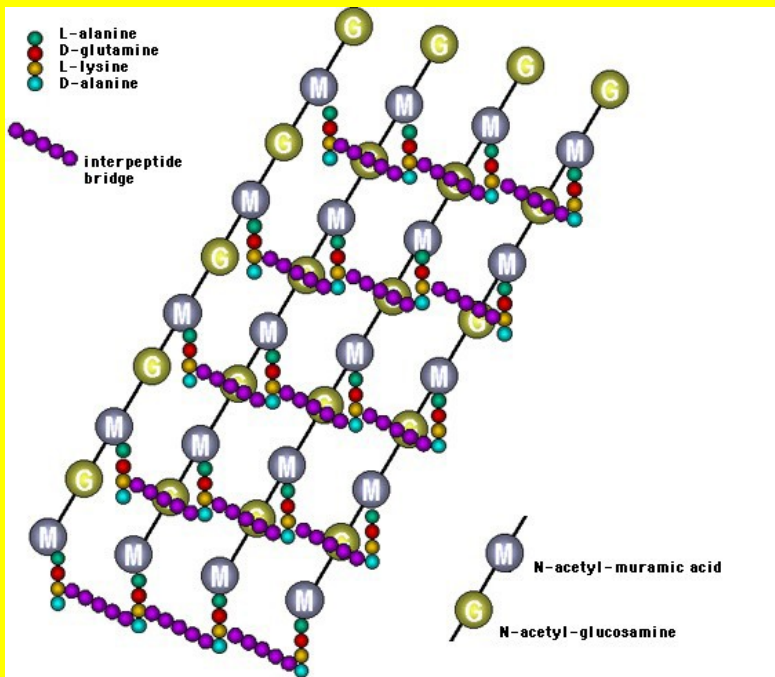
Acidorezistentní  
mykobakteria, nokardie..  
nebarvitelné Gramem:  
N-glykolylmuramová



!

# Peptidoglykan

- vrstvami polysacharidových řetězců, v němž se střídá N-acetylglukosamin a N-acetylmuramová kyselina
- spojeny O-glykosidovou vazbou - lze narušit například působením lysozymu
- zbytky kyseliny N-acetylmuramové vytváří vzájemné propojení řetězců pomocí krátkých peptidů (tetrapeptidy) - tj. transpeptidace
- na proces transpeptidaze působí antibiotika jako peniciliny a cefalosporiny



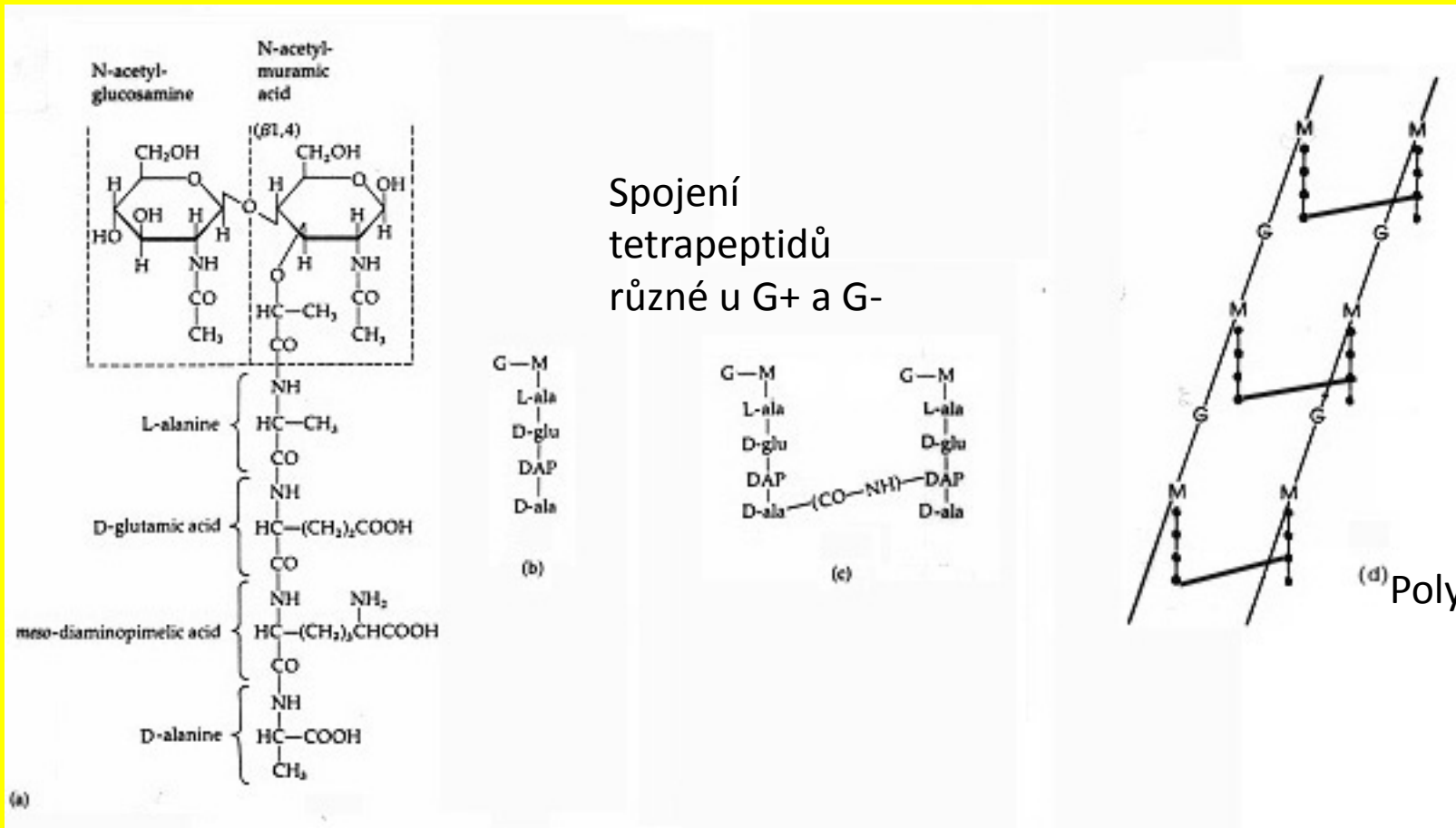
G+

G+ : tetrapeptidy spojeny pentapeptidem

G- : tetrapeptidy spojeny přímo D-ala na DAP (diamidinipimelová kys.)

G-

- Lysozym – štěpí vazbu mezi aminocukry = působí na hotovou stěnu
- Penicilin – brání spojení tetrapeptidů = působí při syntéze stěny
- Bacitracin - cyklický polypeptid blokující defosforylaci fosfolipidu, potřebného pro transportní funkci během výstavby buněčné stěny



Spojení tetrapeptidů různé u G<sup>+</sup> a G<sup>-</sup>

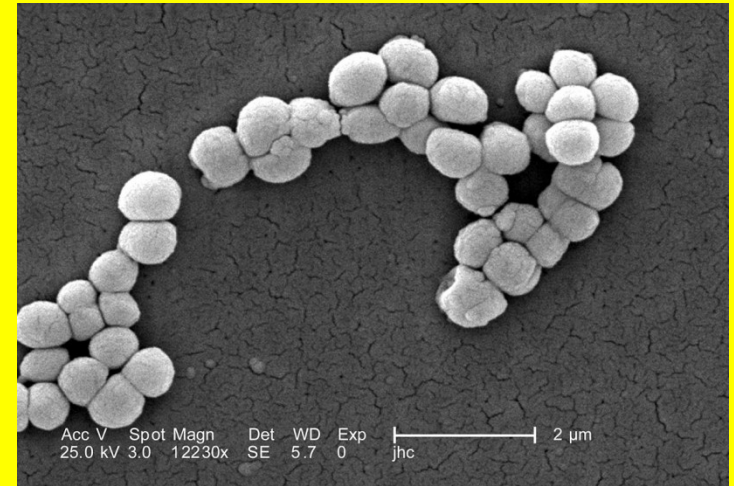


## Taxonomický význam BS

- Barvení buněčné stěny
- Chemotaxonomie složek stěny a membrány
- Aminokyselinové složení tetrapeptidu a můstku!!

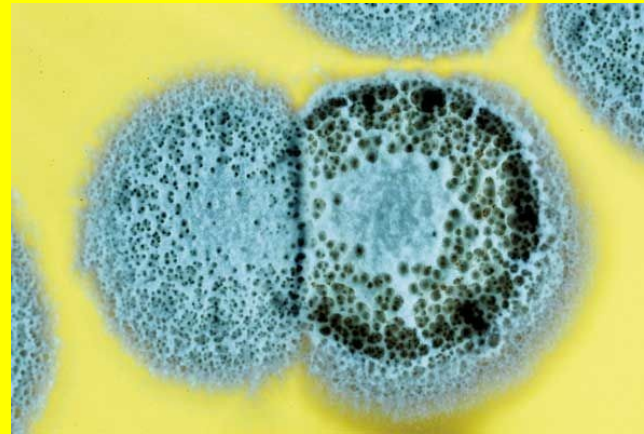
## Micrococcaceae

- až druhově charakteristická struktura můstku

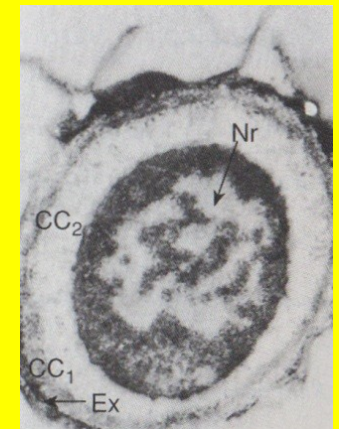


## Streptomycety

- 3 pozice unikátní L-amino DAP kyselina

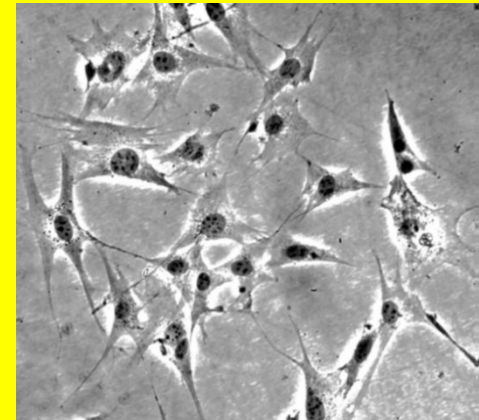
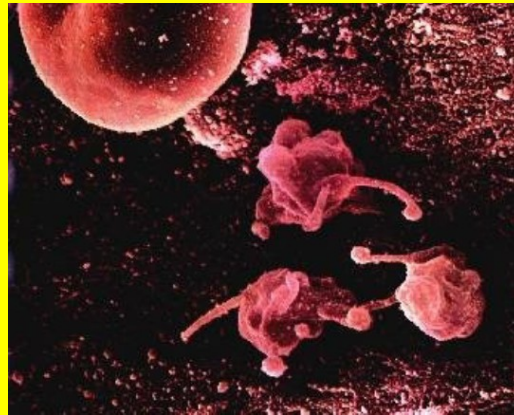
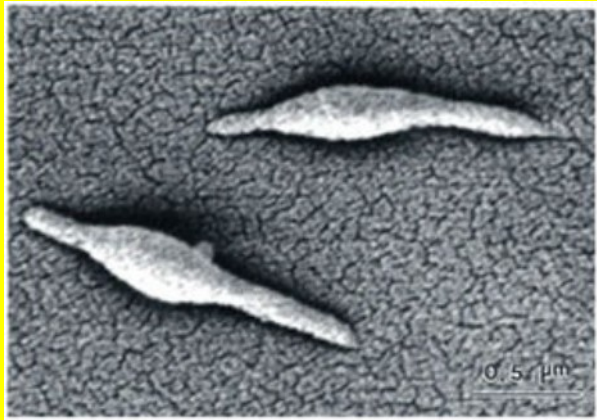


Stěna spory: jiné a unikátní složení peptidoglykanu



## Mykoplazmata

- jedny z nejmenších prokaryotických organismů
- jsou pleiomorfní (koky, kokotyčky, tyčky)
- některá mykoplazmata tvoří pouzdra
- některá tvoří výběžky (zejména patogenní druhy) --> adheze na hostitelskou buňku
- jsou rezistentní na ATB které působí na BS
- (logicky - nemají BS - neumí syntetizovat peptidoglykan)



**Mykoplazmata** jsou tvořena pouze plazmatickou membránou, chromozómem prokaryotického typu, ribozómy a základní cytoplazmou; postrádají pevnou buněčnou stěnu ostatních prokaryot. Jsou to nejmenší živé buňky (cca 0,12 μm v průměru) a obsahují jen asi 20 % DNA ve srovnání s bakteriální buňkou *Escherichia coli*. Tato genetická informace se blíží minimálnímu množství nezbytnému k zajištění základního metabolického vybavení pro život buňky.

mykoplazmata -nejmenší známý mikroorganismus schopný samostatného života

- během evoluce se objevily mnohonásobné redukce velikosti genomu
- pozměněn i genetický kód
- tempo evoluce je vysoké
- redukce velikosti genomu - evoluce *Mollicutes* na striktní parazity
- velká část metabolické mašinérie zakrněla



u člověka izolováno asi 11 druhu

## ***M. pneumoniae***

- je nejvýznamnějším patogenem lidského respiračního systému (faryngitis, tracheobronchitis, bronchitis, bronchiolitis, pneumoniae, pneumonitis, myringitis)
- detekuje se serologicky - přítomnost protilátek

## ***M. hominis*** vyvolává např. lidskou primární atypickou pneumonii

- urogenitální trakt u žen - závažně poporodní a popotratové horečky, poškození plodu, zevní genitální ložiska
- začíná být rezistentní vůči erytromycinu (ATB)!!!!!!!!!!
- *M. genitalium*, *M. urealyticum*

**Tab. 1 – Klasifikace mykoplazmat**

Říše	<i>Bacteria</i>
Kmen:	<i>Firmicutes</i>
Třída:	<i>Mollicutes</i>
Řád:	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď:	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod:	<b><i>Mycoplasma</i></b>
Druh:	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Mycoplasma penetrans</i> <i>Mycoplasma fermentans</i> a další
Rod:	<b><i>Ureaplasma</i></b>
Druh:	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (dříve <i>Ureaplasma urealyticum</i> biovar 2) <i>Ureaplasma parvum</i> (dříve <i>Ureaplasma urealyticum</i> biovar 1)



## **Mycobacterium**

### **acidoresistentní bakterie,**

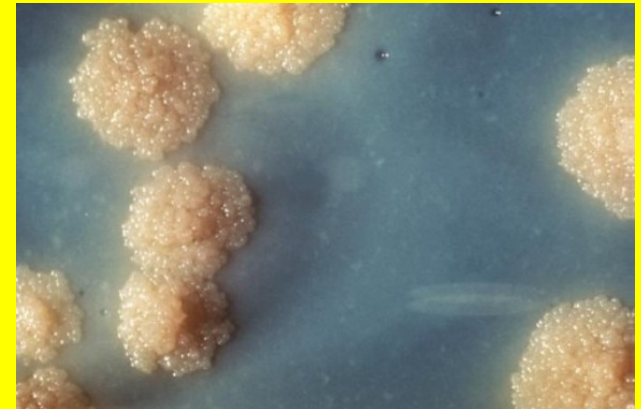
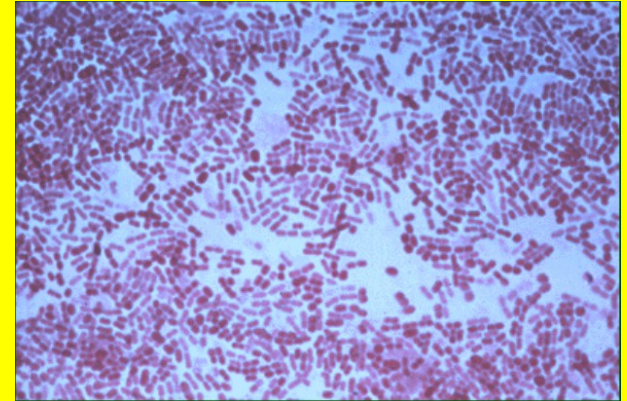
- **má BS, ale nebarvitelné Gramem!!!**
- proto unikalo *Mycobacterium tuberculosis*
- barví se speciálním acidorezistentním barvením

### **hydrofobní buněčná stěna**

- problém s transportem Fe
- siderofory – sloučeniny chelatizují Fe
- exocheliny – extracelulární
- mykobaktiny – uvnitř buňky

### **Pomalý růst – 3-9 týdnů**

- zpomalení transportu přes hydrofobní povrch
- RNA-pol – nižší reakční rychlost (pomalejší syntéza RNA)
- nízký poměr RNA/DNA – pomalejší syntéza proteinů



**Mycobacterium tuberculosis – patogen člověka**

**Mycobacterium africanum – patogen člověka**

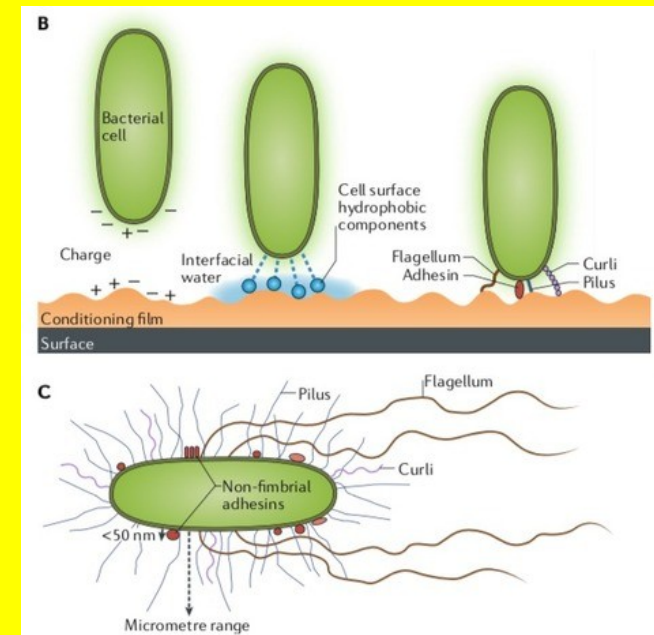
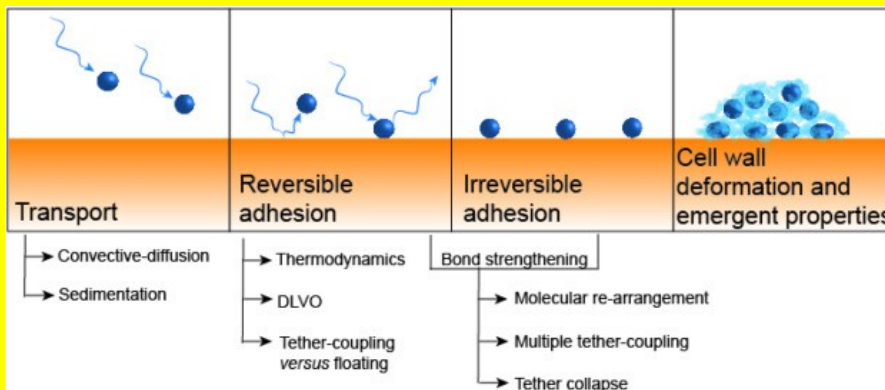
**Mycobacterium bovis - patogen skotu i člověka**

# Adheze bakterií

- **Interakce s povrchy** – biotickými i abiotickými
- Bakterie evolučně úspěšné – kolonizují všechny niky...
- jeden z **faktorů virulence**

## Adheze

- poskytuje mikroorganismům výhodu v přežití
- lepší dostupnost a využitelnost substrátu
- adsorpce makromolekul a malých hydrofobních molekul na povrch
- lepší využitelnost koncentrovaných živin
- ochrana před inhibičními účinky antibakteriálních látek (antibiotika, chlor, těžké kovy)
- ochrana před bakteriofágy a parazitickými bakteriemi
- nevýhody – př. potlačení pohyblivosti



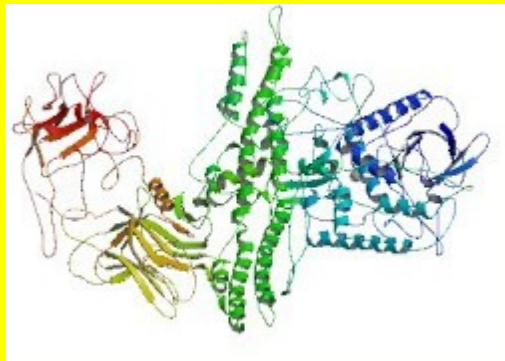


## Vsuvka: Cytologie buňky a virulence

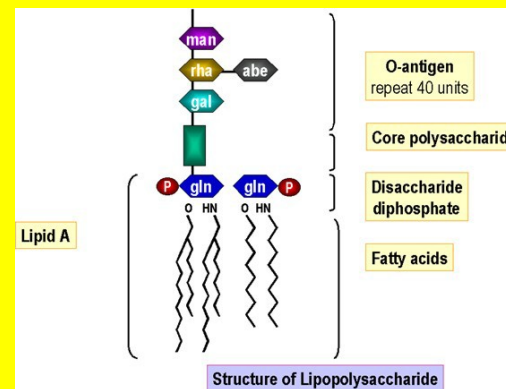
- Patogenita – schopnost organismu způsobovat onemocnění
- Virulence – stupeň patogenity – míra schopnosti organismu infikovat a způsobovat onemocnění

Faktory virulence = struktury/složky buňky

- faktory adheze
- extracelulární enzymy – invazivní faktory (hyaluronidáza, kolagenáza, koaguláza, kinázy, keratináza, mucináza)
- faktory zabraňující fagocytóze (kapsuly, produkty metabolismu)
  
- endotoxin - uvolněn až po zániku buněčné stěny bakterie  
= **lipopolysacharid (LPS)**, vnější membrány gramnegativních bakterií
- **Lipid A** – tvoří lipidovou složku endotoxinu zodpovědnou za toxicitu
- exotoxin - toxin uvolňovaný bakteriemi do okolí



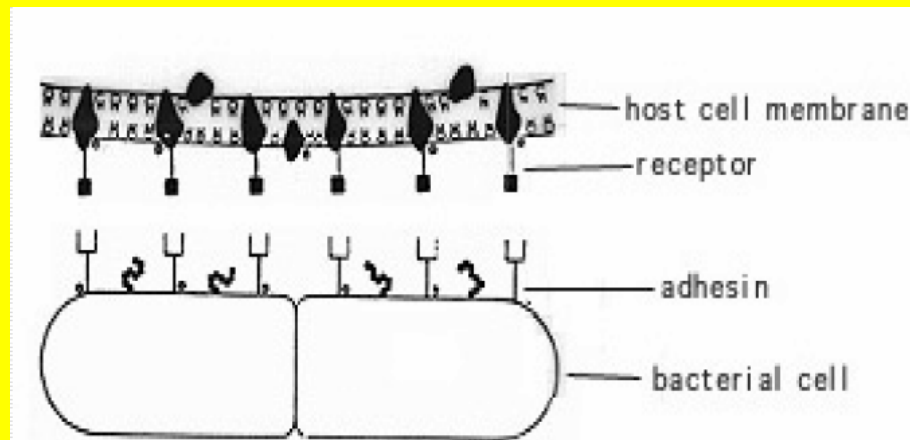
Exotoxin - botulotoxin



Endotoxin = LPS A

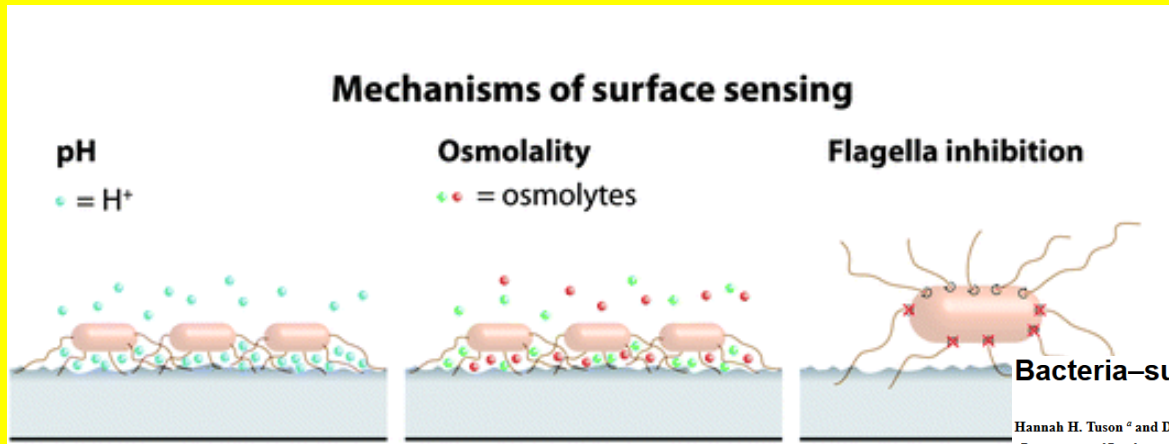
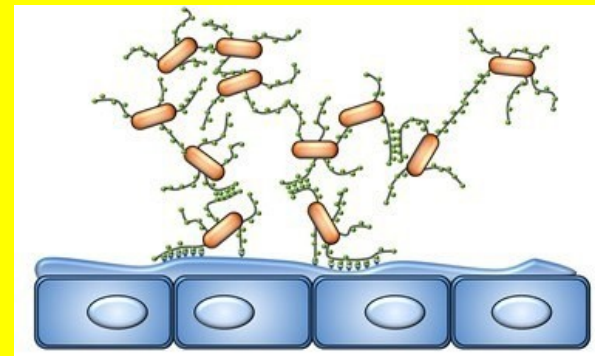
## Adheze bakterií a indukce cytologických změn

- k adhezi je potřeba kompatibilita mezi bakterií a cílovou molekulou (klíč a zámek)
- stáří, prostředí, adheze - toto určuje tvar buňky
- k adhezi potřebuje receptory
- „**surface sensing**“ ne všechny buňky schopné adheze na všechny povrchy
- vhodné receptory a kompatibilita s cílovou molekulou
- (*Corynebacterium diphtheriae* epitel hrdla; *Streptococcus salivarius*– zub, chlopně...)
- hydrofobicita buněčného povrchu



## Interakce buňky s povrchem indukuje změnu exprese genů

- buněčné morfologie
- motility a adheze - souvislost mezi cytologickými znaky a proměnlivými formami existence buněk
- blízkost bakterií k povrchu vyvolává změny v pH, osmolalitě a rotaci bičků



### Bacteria–surface interactions

Hannah H. Tuson<sup>a</sup> and Douglas B. Weibel<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Department of Biochemistry, University of Wisconsin–Madison, 471 Biochemistry Addition, 433 Babcock Drive, Madison, WI 53706, USA.

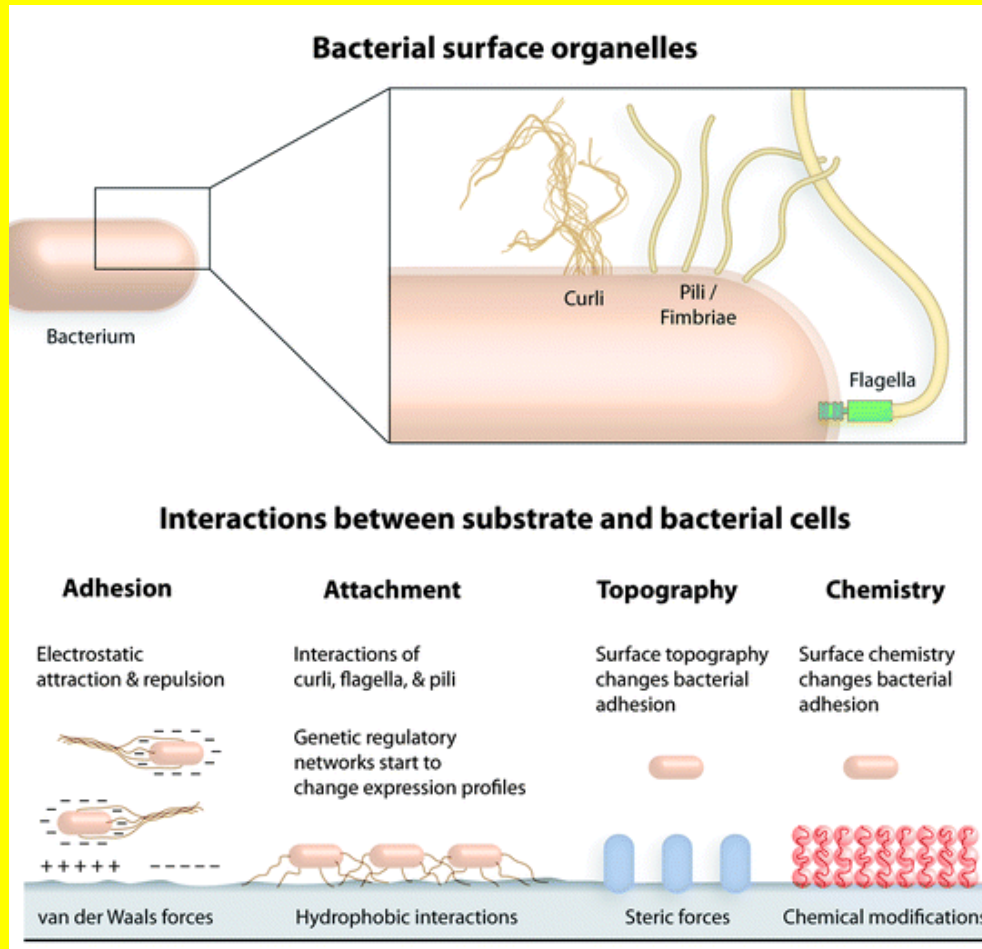
<sup>b</sup>Department of Biomedical Engineering, University of Wisconsin–Madison, Madison, WI 53706, USA

Received 23rd November 2012, Accepted 19th February 2013

First published on the web 4th March 2013

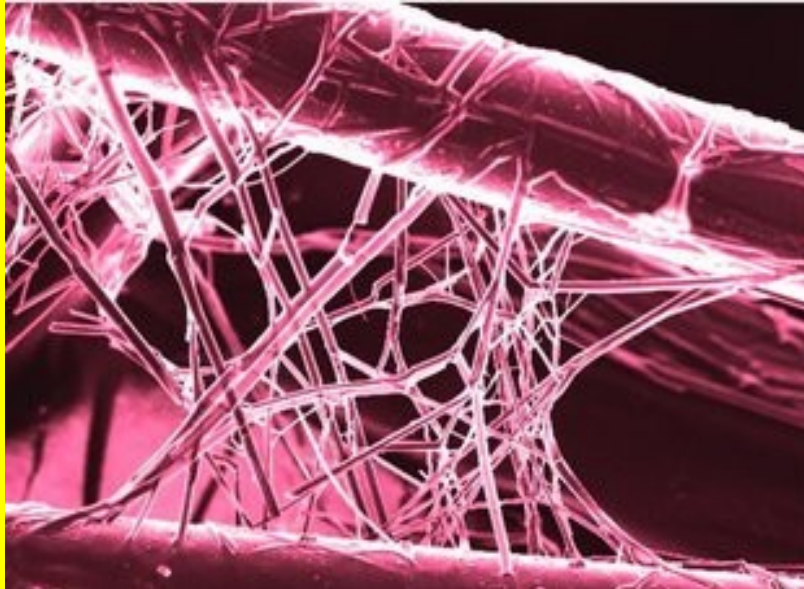
## Buňka

- pilli, povrchové proteiny, kapsuly a sliz
- prostředí – náboj, hydrofobicita, topografie povrchu
- vystavené různé chemické skupiny reagují s fyzikálně chemickými vlastnostmi buňky



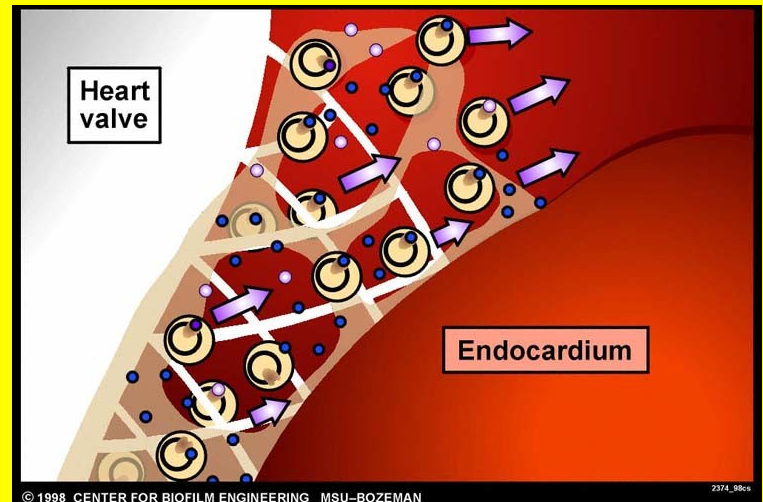
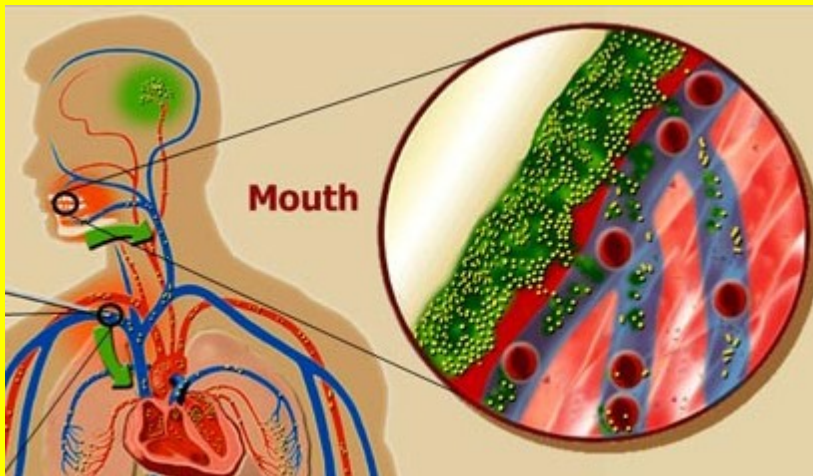
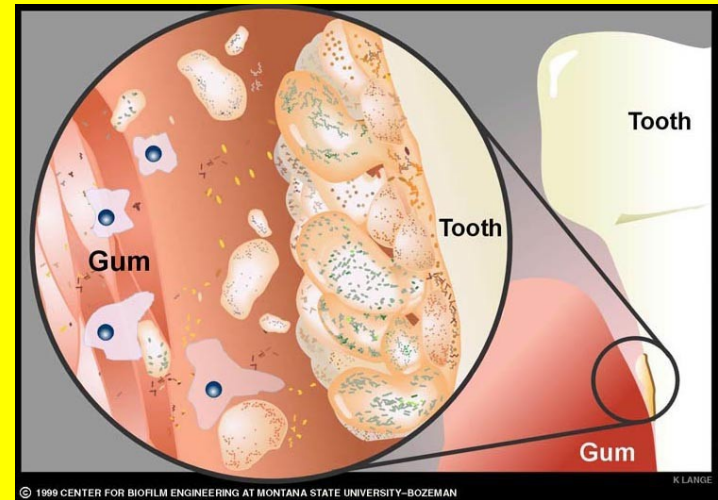
## Adheze bakterií - význam

- bioenergetika, technologie (fermentory), znečištění,
- bioremediace, biofilm, infekce
- budoucí výzkum: ovlivněním buněčné adheze modulací
- hydrofobicity buněk; vývoj nepřilnavých materiálů
- biofilm - zubní povlak (často oportunní patogeny)



# Bakterie a hostitelský makroorganismus adheze bakterií biofilm

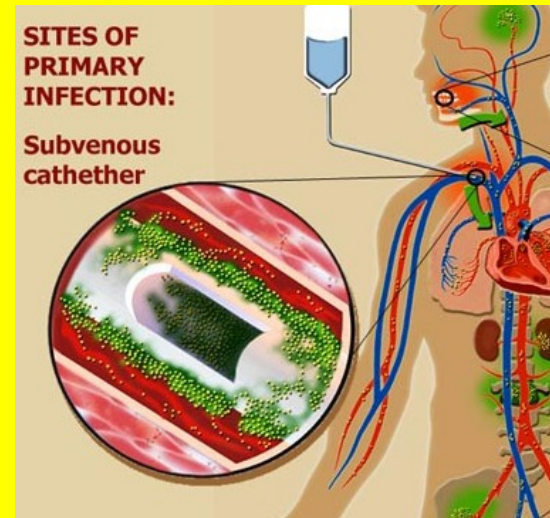
- Zubní povlak
- – A. van Leewenhoek (kys. - mléčná, máselná, propionová, octová, mravenčí)
- Střevní sliznice
- Infekce
- – sliznice nebo uvnitř tkáně;
- - endokarditida
- - trvalý biofilm na chlopních
- (hl. strepto- a stafylokoky;
- nebezpečí krvácivých dásní..)
- - rány; bércové vředy; spáleniny





## Biofilm a medicína

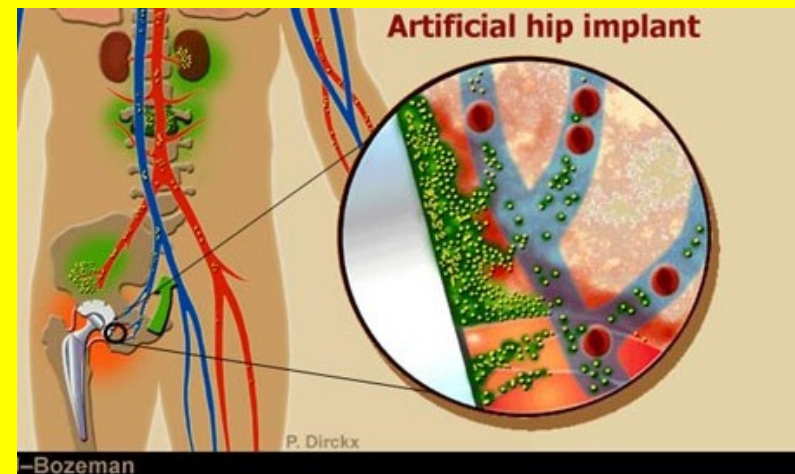
- Cévky – arteriální, žilní
- Močové katetry
- Dýchací a dializační přístroje
- Umělé chlopně
- Kontaktní čočky
- Děložní tělísko



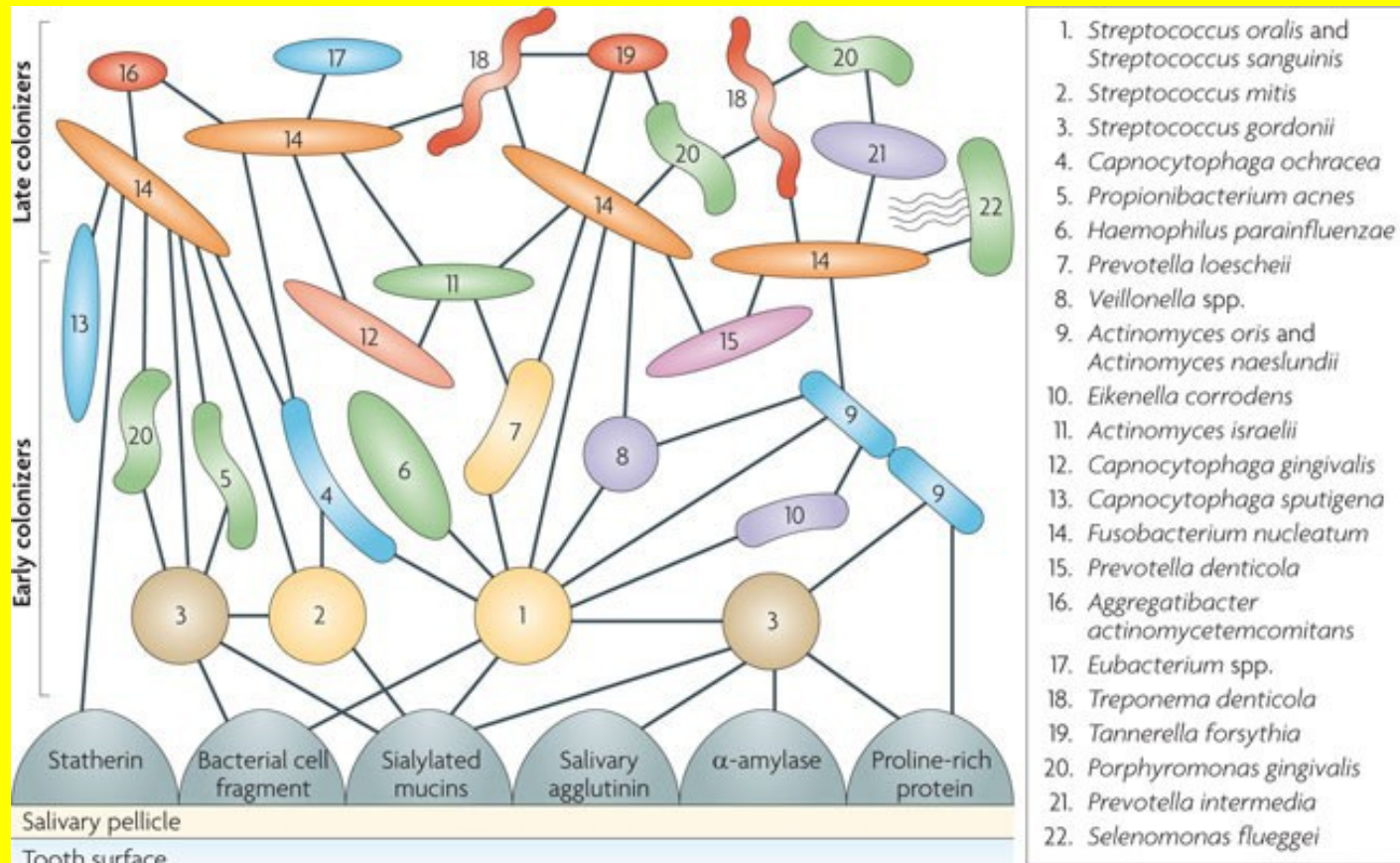
- Bakterie jsou unášeny proudem krve a mohou začít infekční proces na odlehlem místě...
- Vytrvalá syntéza a uvolňování toxinů...

Nemusí být kontakt s vnějškem! - kovové náhrady kloubů

- Stafylokoky – fibronectin-binding protein..
- pseudomonády, E. coli, streptokoky, aktinomycety...



## Biofilm skloviný 700 kmenů z 18ti rodů



Nature Reviews | Microbiology

Mezibuněčný kontakt – role **adhezínů (lektiny)** a **receptorů (sacharidy)**

Kontakt s povrchem zubu – pelikula proteinů, lektiny... (Rickert et al. 2003)

## Adheze: Střevní mikroflóra

- Střevní mikroflora:  $10^{14}$  CFU/ml
  - napomáhá trávení
  - tvorba vitaminů
  - brání patogenům k přilnutí
- 
- bifidobakterie, kvasinky... tenké střevo
  - clostridie, enterobakterie (E.coli), matanogenní archaea...tlusté střevo
- 
- Proměna s věkem, dietou (polysacharidy; prebiotika..)
  - imunitou, hygienou a ATB léčbou
  - když se narodí dítě – je „sterilní“ - až s tím jak přechází na stravu, prořezávají se zuby --> ztráta sterility, do těla mnoho bakterií
- 
- Poměr populací – „přínosná mikroflora“ vs. anaerobní
  - mikroflora jako clostridia...
  - Alterovaná střevní mikroflora – obezita, cukrovka, záněty,
  - metabolické poruchy

## Střevní mikroflora a probiotika

- především bakterie mléčného kvašení!!!
- kompetice s patogeny o prostředí--zlepšení laktozové tolerance, snížení hladiny cholesterolu, posílení vrozené imunity, zmírnění symptomu na alergeny (snížení alergie)

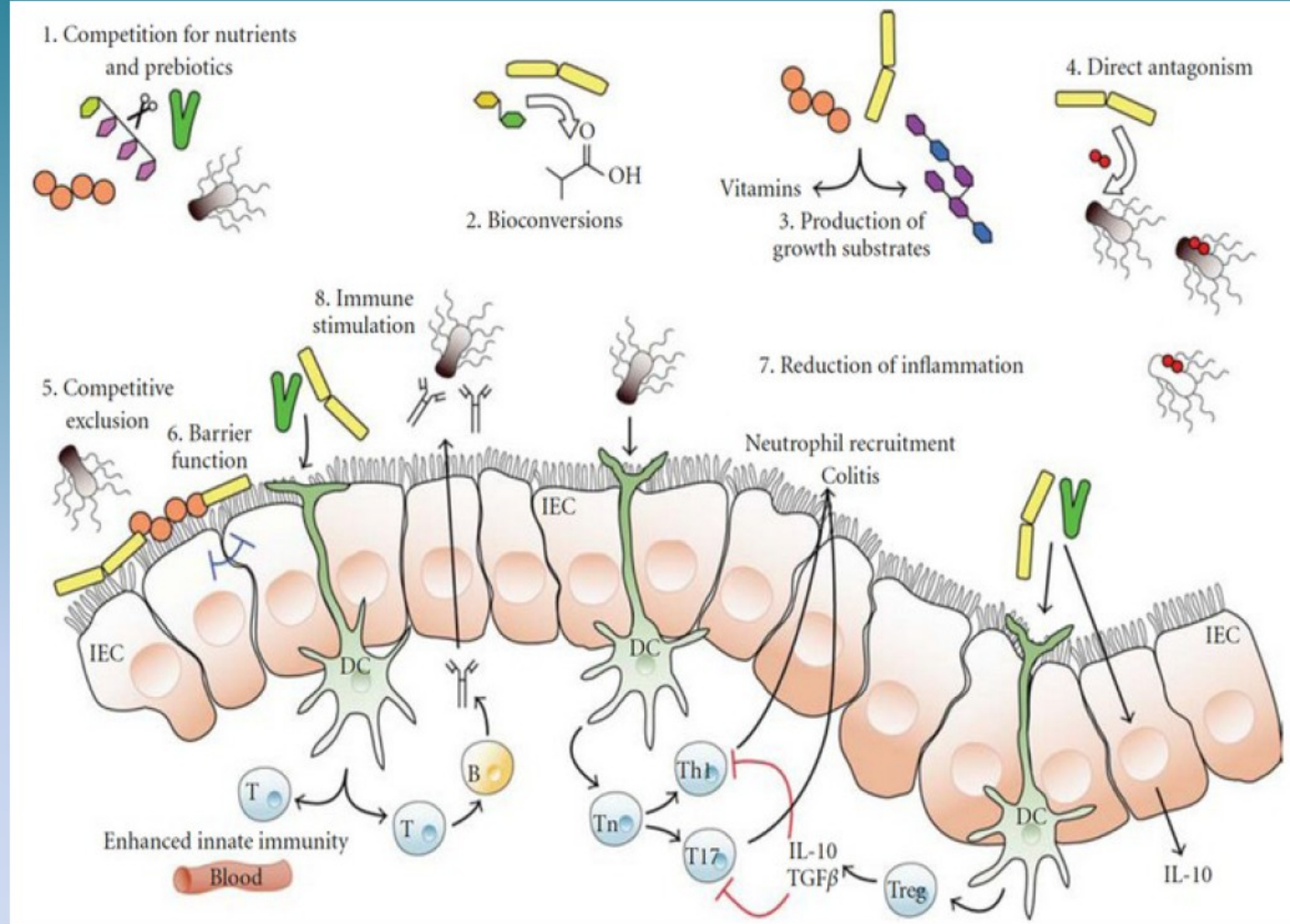
Funkční potraviny: bakterie mléčného kvašení, fermentace zeleniny

- metabolismus, produkce vitamínů, zábrana adheze patogenů, modulace imunity – alergie, bakteriociny
- probiotický efekt – kmenově specifický (genetické inženýrství – konstrukce vhodných kmenů...)
- živé vektory a nosiče vakcín – protektivních antigenů

Lactobacillus	Bifidobacterium	jiné mléčné bakterie	ostatní
L. acidophilus	B. adolescentis	Enterococcus faecium	E. coli
L. delbrueckii subsp. bulgaricus	B. animalis subsp. animalis	Streptococcus thermophilus	Saccharomyces cerevisiae
L. delbrueckii subsp. lactis	B. animalis subsp. lactis	Leuconostoc mesenteroides	Saccharomyces boulardii
L. amylovorus	B. longum subsp. infantis	Pediococcus acidilactici	
L. casei	B. breve	Lactococcus lactis	
L. crispatus	B. longum subsp. longum		
L. fermentum	B. bifidum		
L. gasseri			
L. plantarum			
L. reuteri			
L. rhamnosus			

Mikroorganismy používané jako probiotika

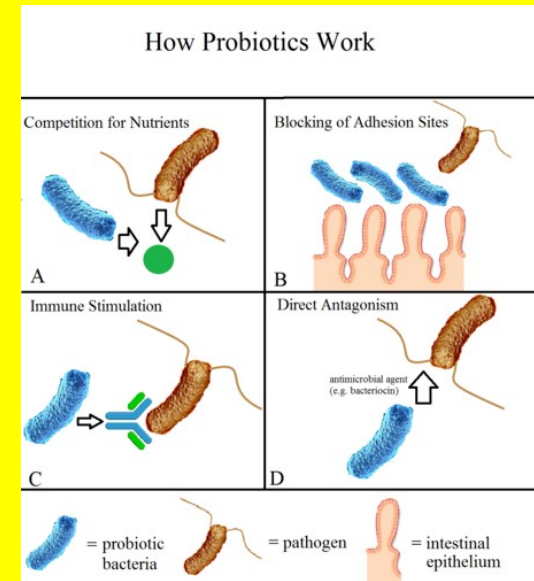




(1) competition for dietary ingredients as growth substrates, (2) bioconversion of, for example, sugars into fermentation products with inhibitory properties, (3) production of growth substrates, for example, EPS or vitamins, for other bacteria, (4) direct antagonism by bacteriocins, (5) competitive exclusion for binding sites, (6) improved barrier function, (7) reduction of inflammation, thus altering intestinal properties for colonization and persistence within, and (8) stimulation of innate immune response (by unknown mechanisms). IEC: epithelial cells, DC: dendritic cells, T:T-cells.

## Další funkce probiotik

- Produkce bakteriocinů x patogenům
- Produkce EPS – biofilm – quorum sensing
- Produkce biosurfaktantů – antimikrobní aktivita proti PG, snížení adheze PG
- Produkce antioxidantů – vylučují volné radikály (superoxidové anionty, hydroxylové radikály)



## Prebiotika

- jsou nestravitelné oligosacharidy
- stimulují růst anebo aktivitu bakterií, které mají pozitivní účinek na lidské zdraví
- Inulin, oligofruktóza, galaktooligosacharidy a laktulóza**
- Cílovými mikroorganismy pro prebiotika jsou hlavně **bifidobakterie**