

# Bakteriologie

Základní vlastnosti bakterií: popis bakteriální buňky, metabolismus bakterií, základy bakteriologické genetiky

# Prokaryota (bakterie)

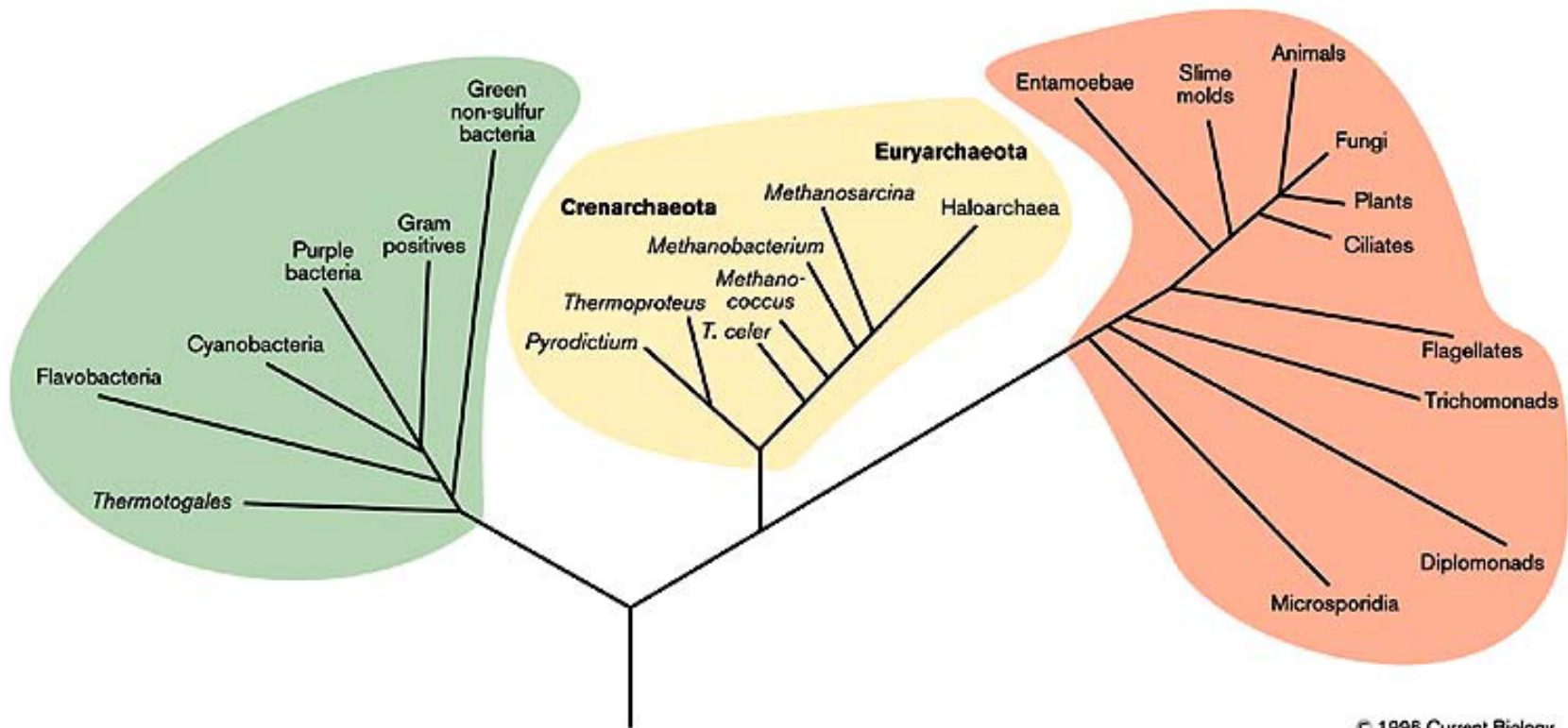
*Eubacteria*

**Bacteria**

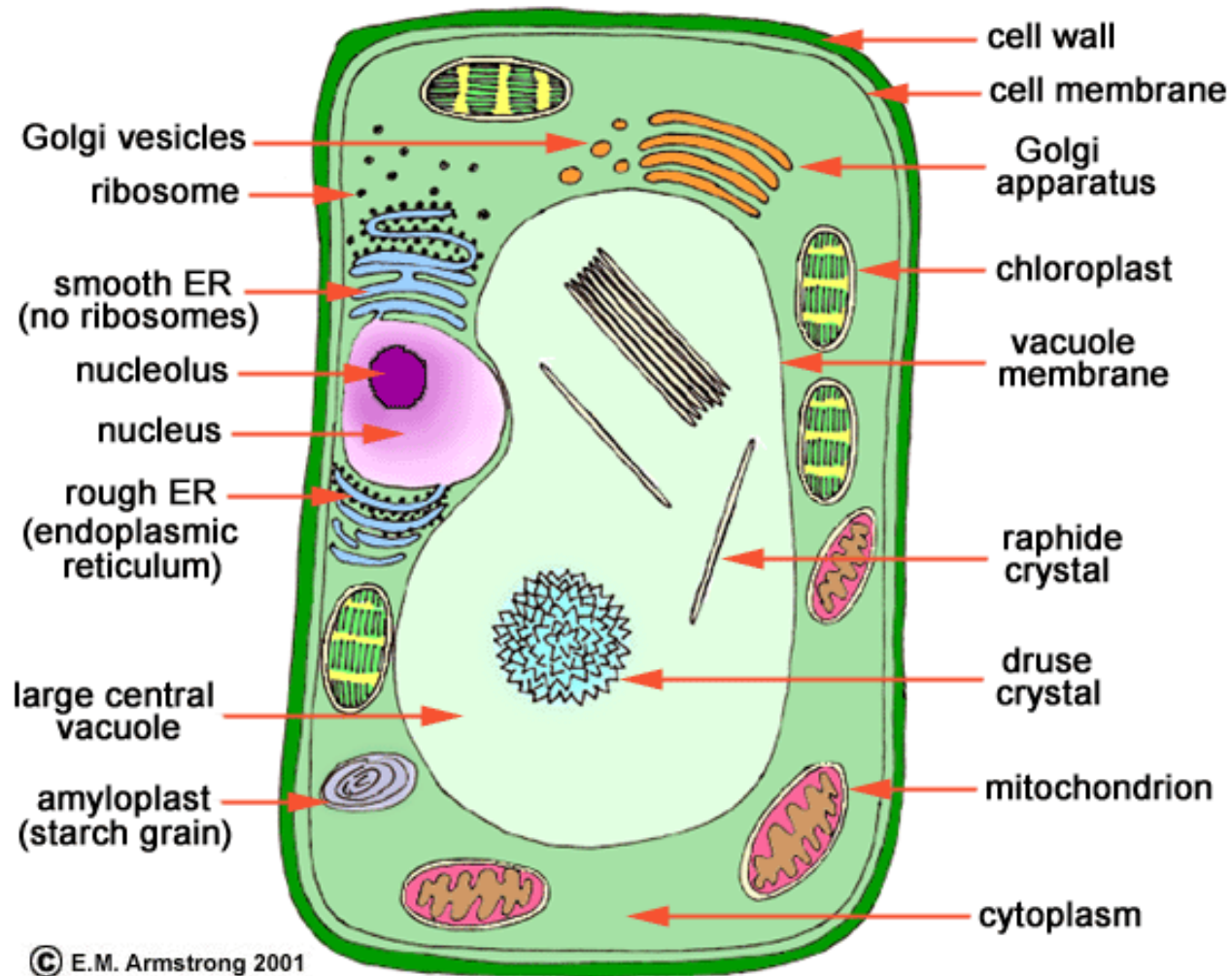
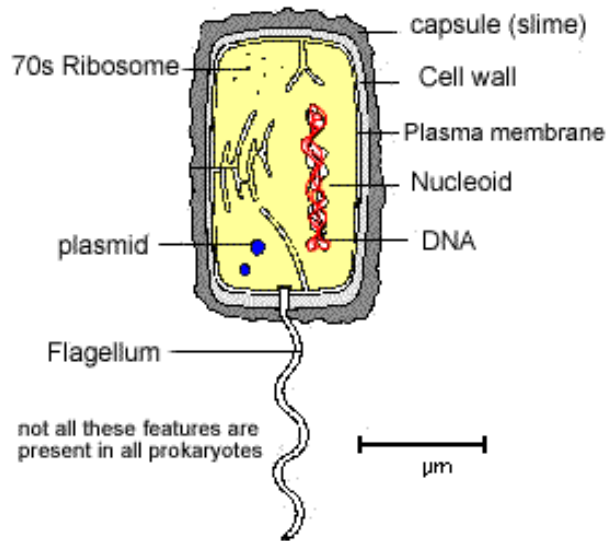
*Archaea*

**Archaea**

**Eucarya**



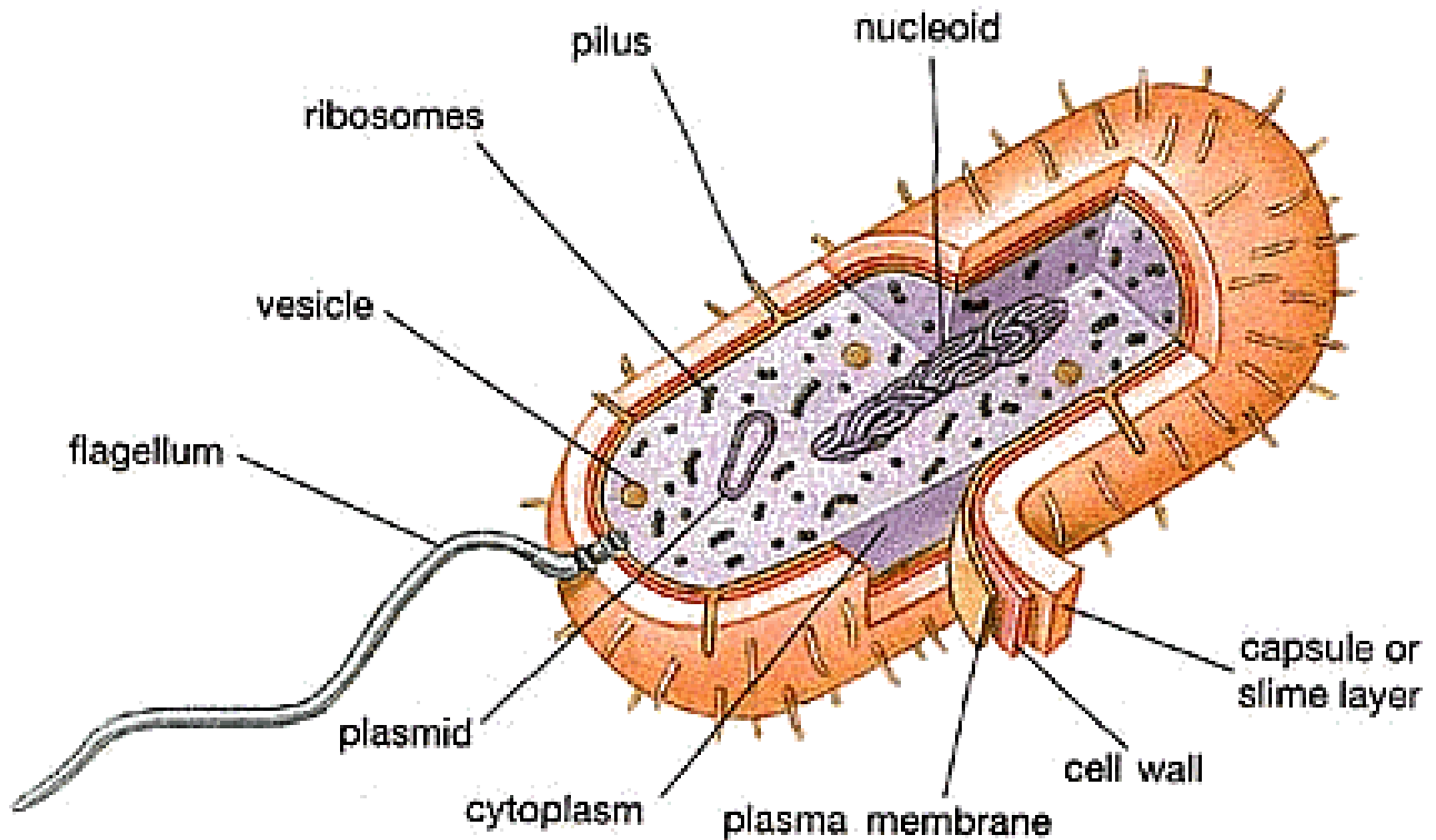
# Prokaryotická vs. eukaryotická buňka



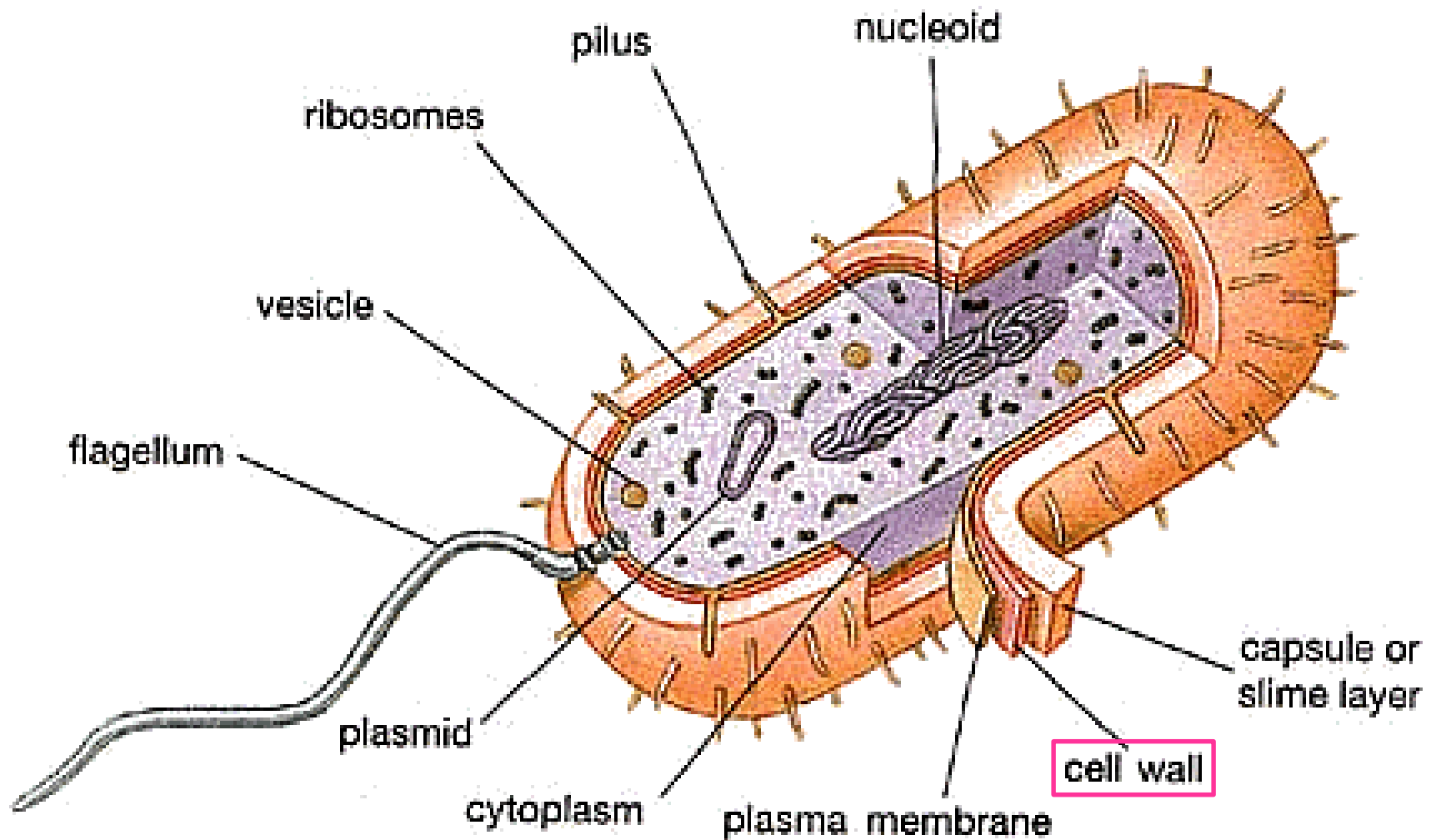
© E.M. Armstrong 2001

| Vlastnost         | Prokaryota (Bacteria, Archea)                                                                                            | Eukaryota                                                         |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Velikost          | < 2 um                                                                                                                   | 2 - 100 um                                                        |
| Jaderná struktura | Chromosom - většinou jediná molekula DNA, většinou cirkulární (vyjma <i>Streptomyces</i> , <i>Borrelia</i> )<br>Plasmidy | Jaderná membrána<br>Nucleolus<br>DNA lineární, několik chromosomů |
| Mitosa, meiosa    | -                                                                                                                        | +                                                                 |
| Membrány          | Jediná cytoplasmatická mem., jednodušší, bez sterolů                                                                     | Obsahují steroly<br>Endoplasmatické retikulum, Golgiho komplex    |
| Ribosomy          | 70S<br>Malá podjednotka 30S (16S rRNA)<br>Velká podjednotka 50S (5S a 23S rRNA)                                          | 80S<br>(u mitochondrií a chloroplastů 70S)                        |
| Buněčné organely  | -                                                                                                                        | + (kompartmenty)                                                  |
| Respirační systém | Součást membrány                                                                                                         | V mitochondriích                                                  |
| Buněčná stěna     | Téměř u všech (vyjma <i>Mycoplasma</i> )<br>Peptidoglykan (bakterie), pseudomurein (archea)                              | Není u zvířat a prvoků                                            |
| Endospory         | +                                                                                                                        | -                                                                 |
| Pohyb bičíku      | Rotující                                                                                                                 | Nerotuje                                                          |
| Cytoskelet        | +                                                                                                                        | +                                                                 |

# Stavba bakteriální buňky

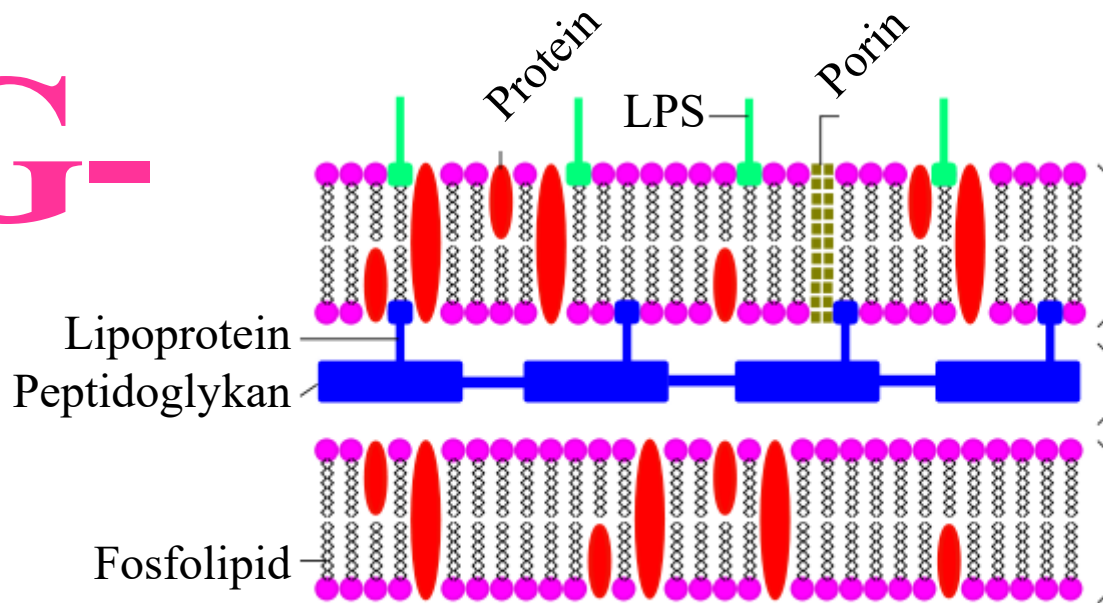


# Stavba bakteriální buňky



# B U N Ě Č N Á S T Ě N A

G-



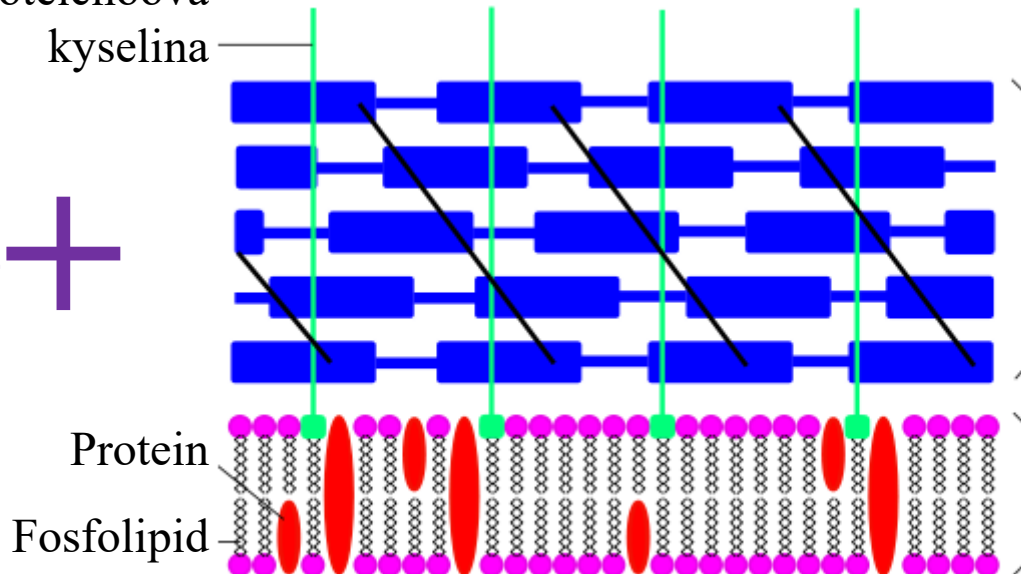
Vnější membrána

Periplasmatický prostor

Vnitřní membrána

Lipoteichoová  
kyselina

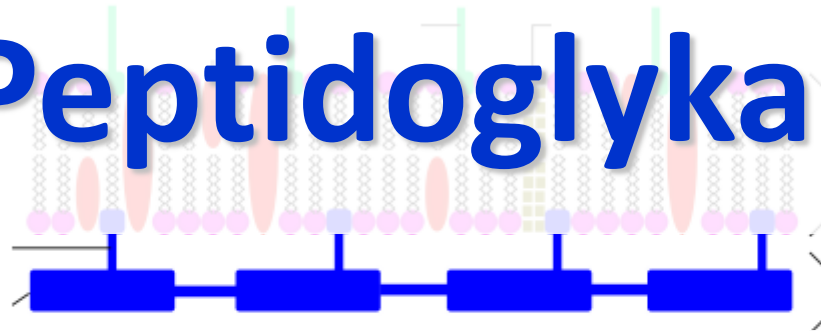
G+



Peptidoglykan

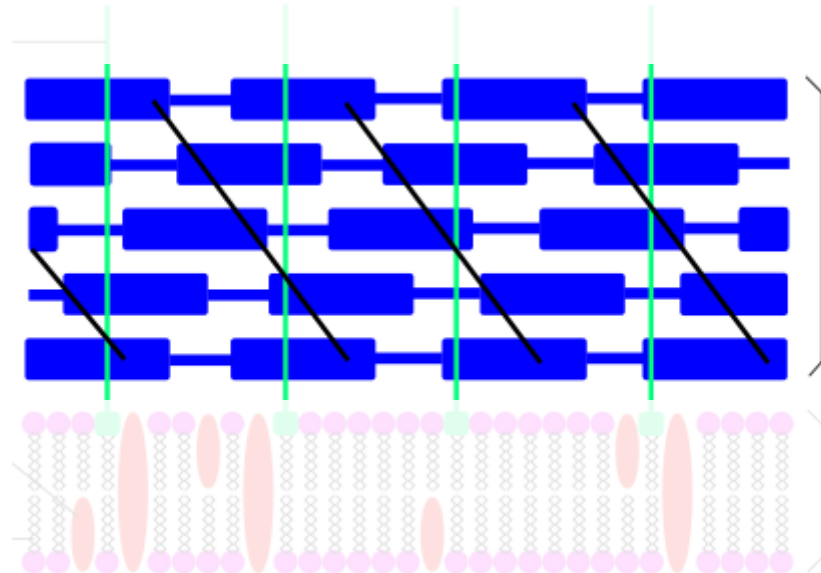
Cytoplasmatická  
membrána

# G- Peptidoglykan



- vysoce síťovaná makromolekula – glukanový řetězec z glukosaminu a muramové kyseliny
- rigidita

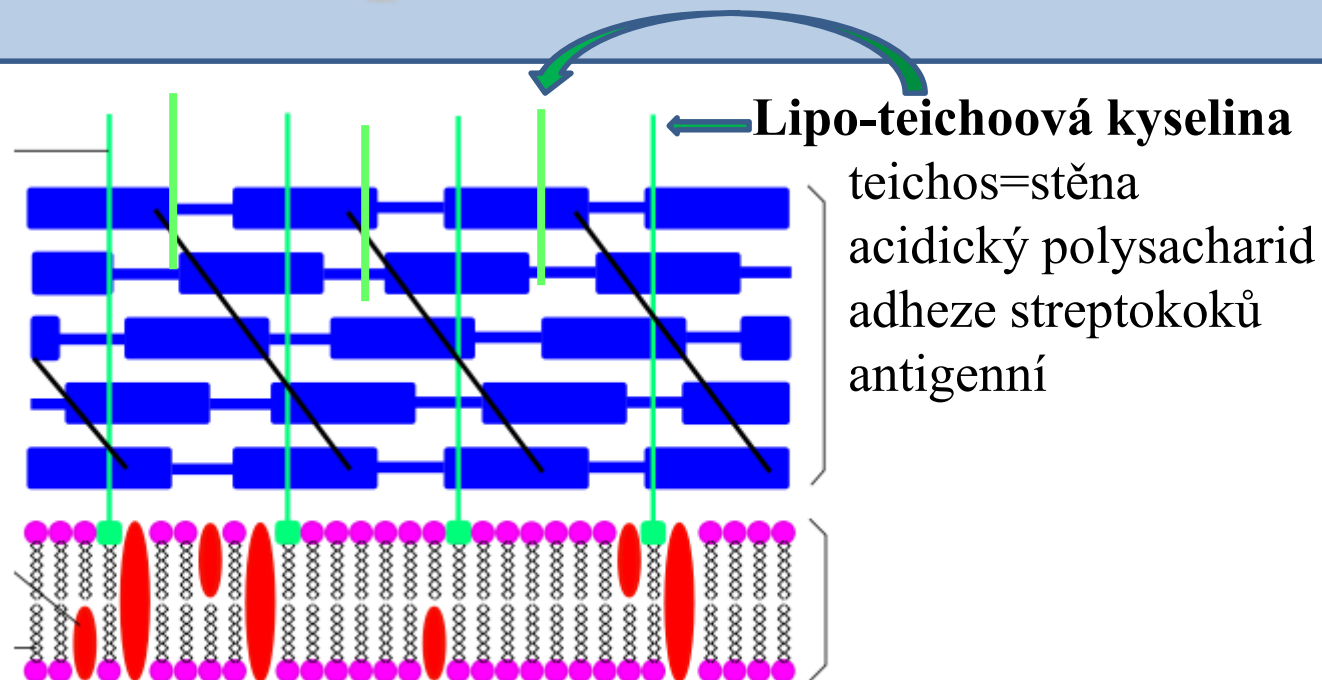
G+





# Gram pozitivní

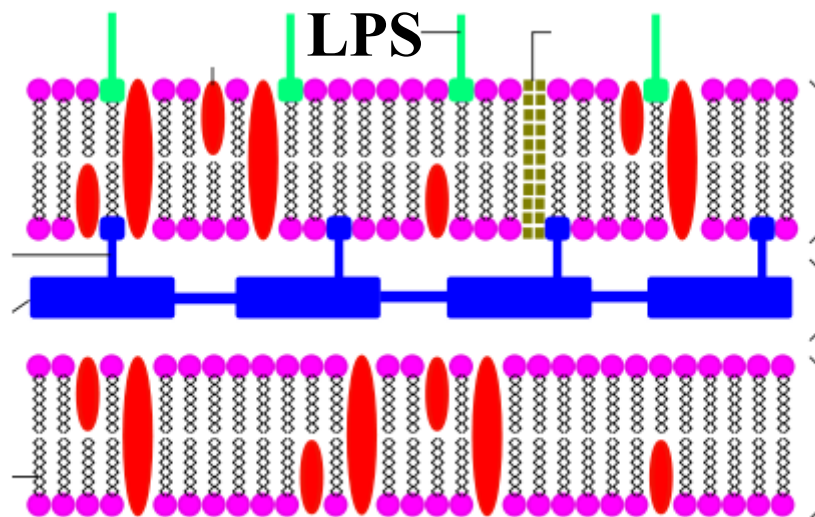
G+



# G-

## Lipoprotein

váže stěnu a vnější  
membránu



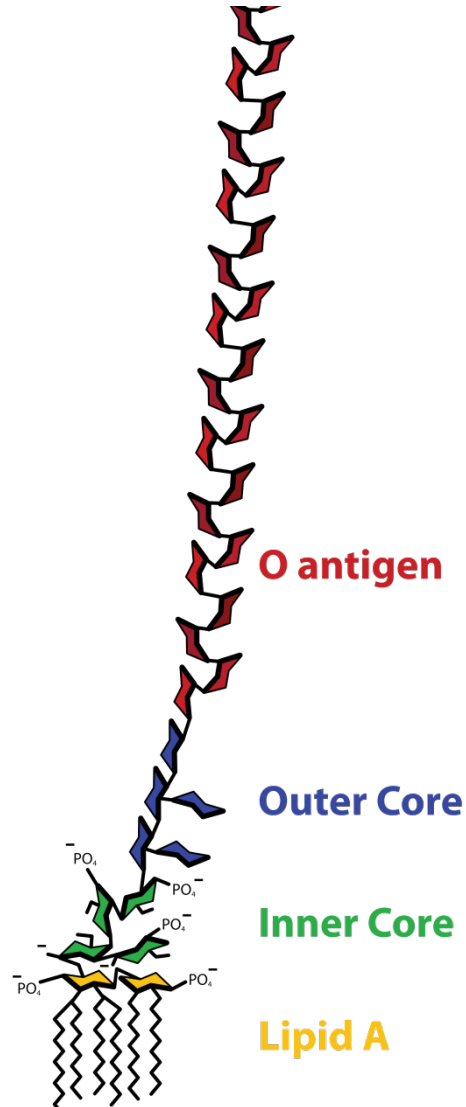
Vnější membrána  
hlavní bariéra

Periplasmový prostor  
degradativní enzymy

Vnitřní membrána

# Gram negativní

# G- LPS = Lipopolysacharid= endotoxin



## O-antigen

vysoká variabilita → antigenní  
a pyrogenní vlastnosti

## Jádro Core

- Heptosy
- Ketodeoxyoktonová kys.

## Lipid A

- fosf. glukosamin-disacharid
- $\beta$ -hydroxy mastné kyseliny
- **toxická** = po lyzi buňky uvolněn  
do oběhu → horečky, průjem, až  
septický šok

# Bakteriální toxiny

## 1. Lipopolysacharidy, LPS = endotoxin

- asociovány s vně membránou bun. stěny G-

## 2. Proteiny = exotoxiny

- uvolňovány do extracelulárního prostředí patogenů, kde napadají hostitelské buňky



**G-**

**G+**

## **Gramovo barvení**



1. barvení krystalovou violetí



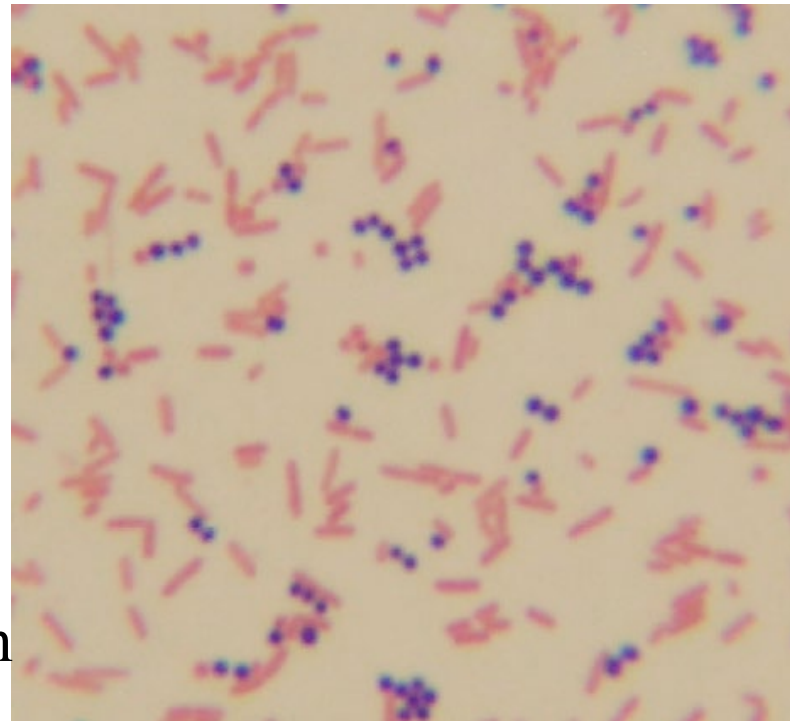
2. roztok jodu



3. odbarvení alkoholem

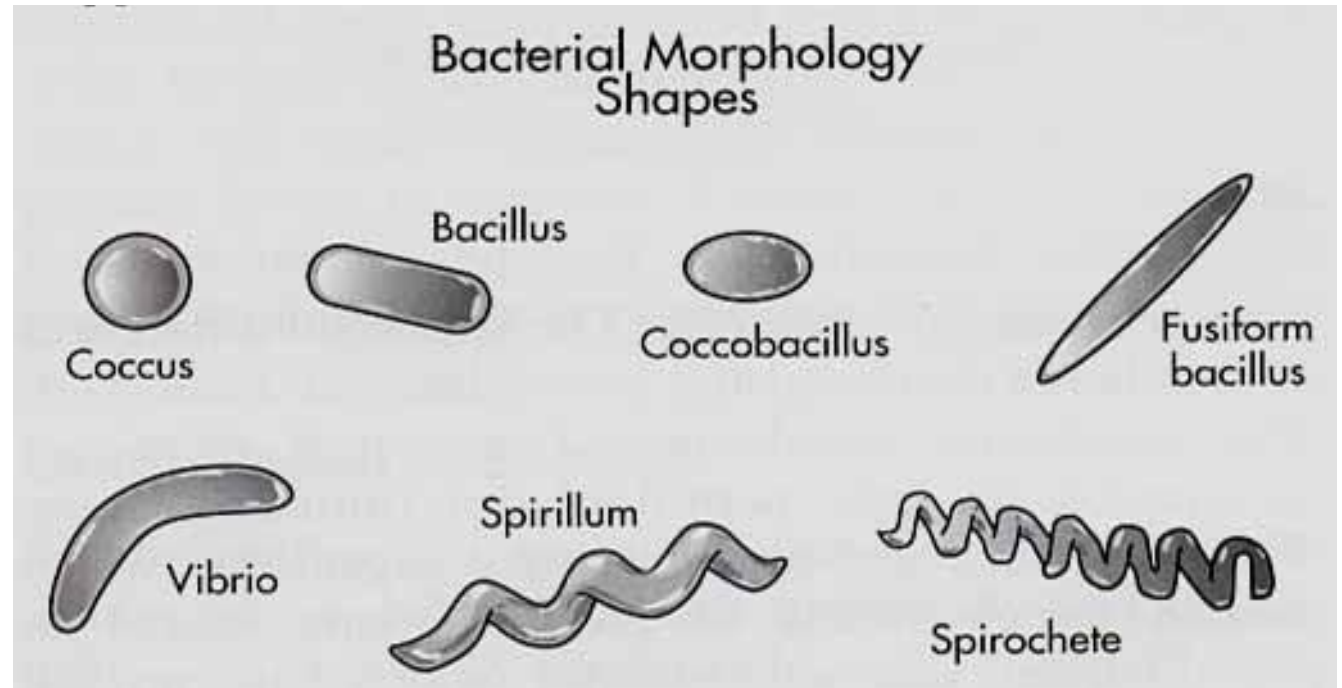


4. dobarvení safraninem



# Morfologie bakterií

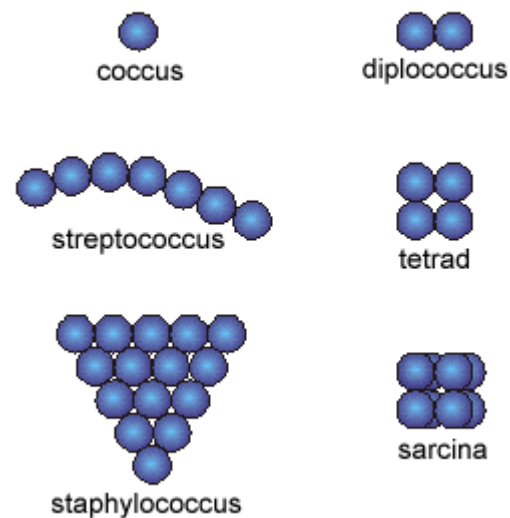
Cocci  
Bacilli (tyčky)  
Spirálovité  
Pleomorfní



# G+ klinicky významné skupiny:

koky:

*Streptococcus*  
*Enterococcus*  
*Staphylococcus*  
*Micrococcus*



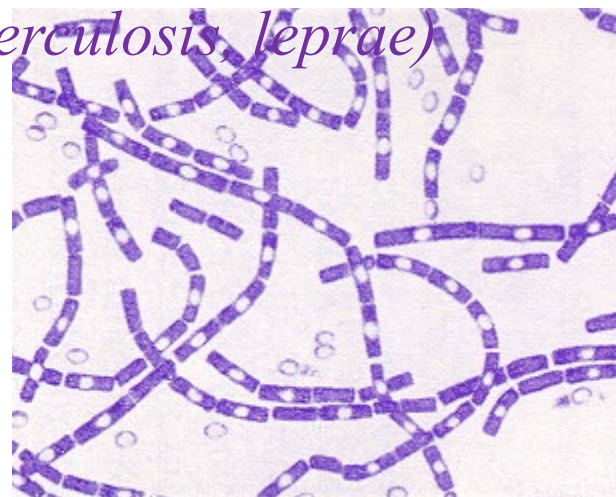
tyčky:

*Corynebacterium*  
*Listeria*

*Mycobacterium (tuberculosis, leprae)*

formující spory:

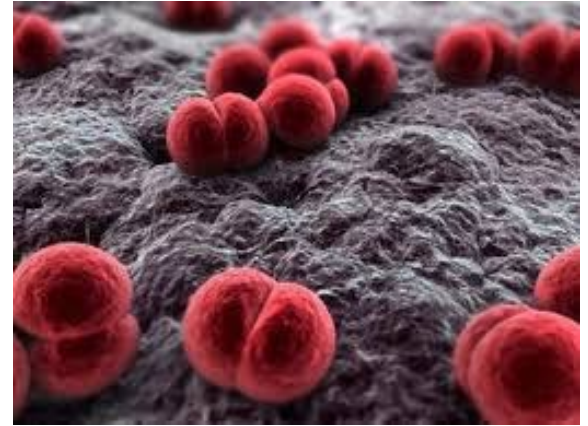
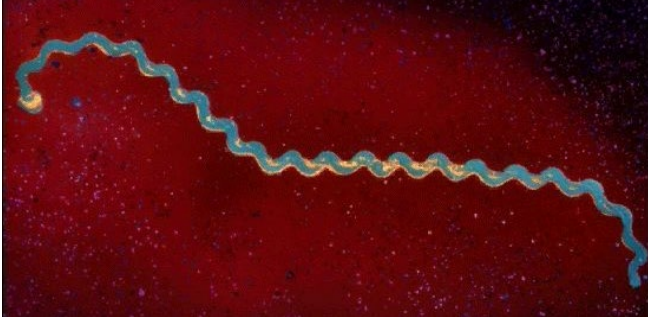
*Bacillus*  
*Clostridium*



*Bacillus anthracis*



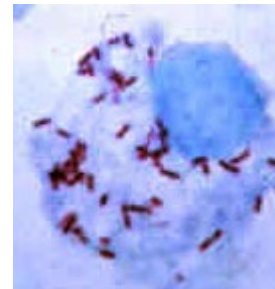
G- koky: Neisseria – diplokok (2 kissing coffee beans)



G- spirálovité: Spirochetes – např. *Treponema pallidum* (syphilis)

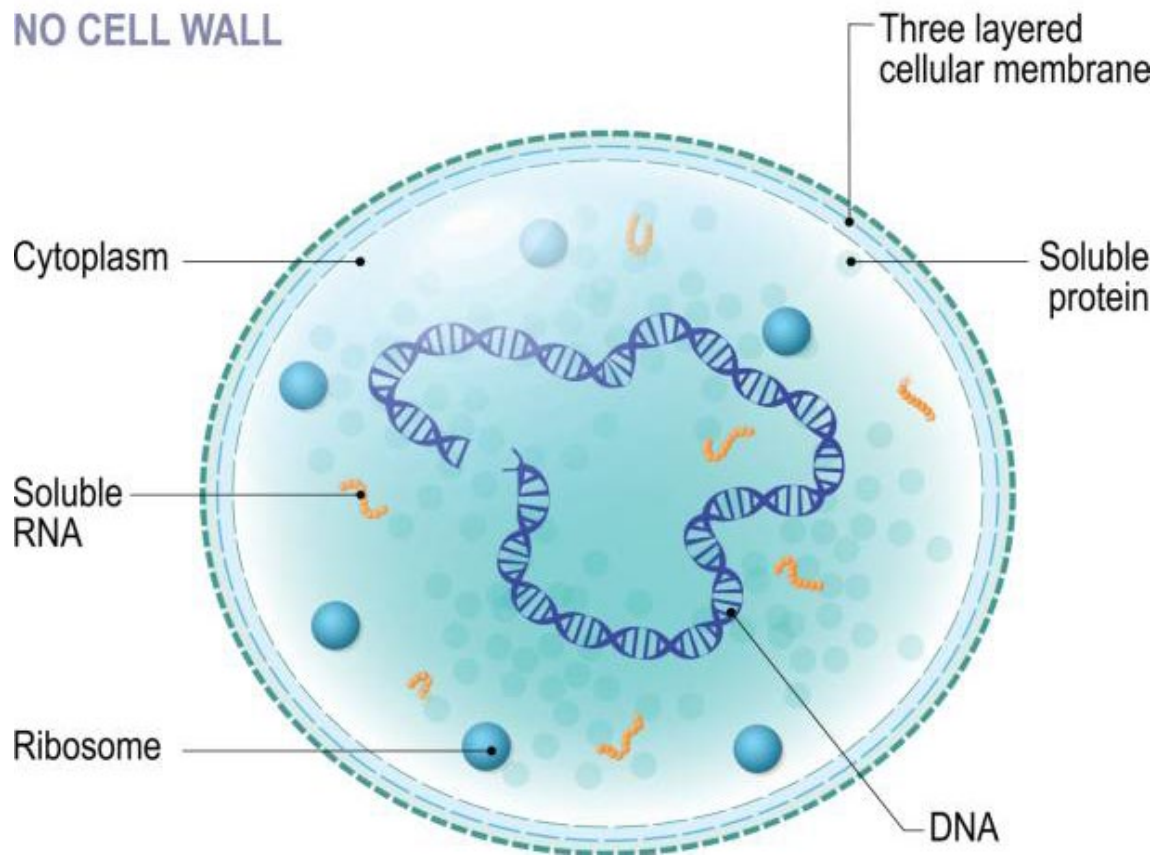
G- tyčinkovité – např. *Enterobacteria*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*

G- pleomorfní – *Rickettsiae*, *Chlamydia*

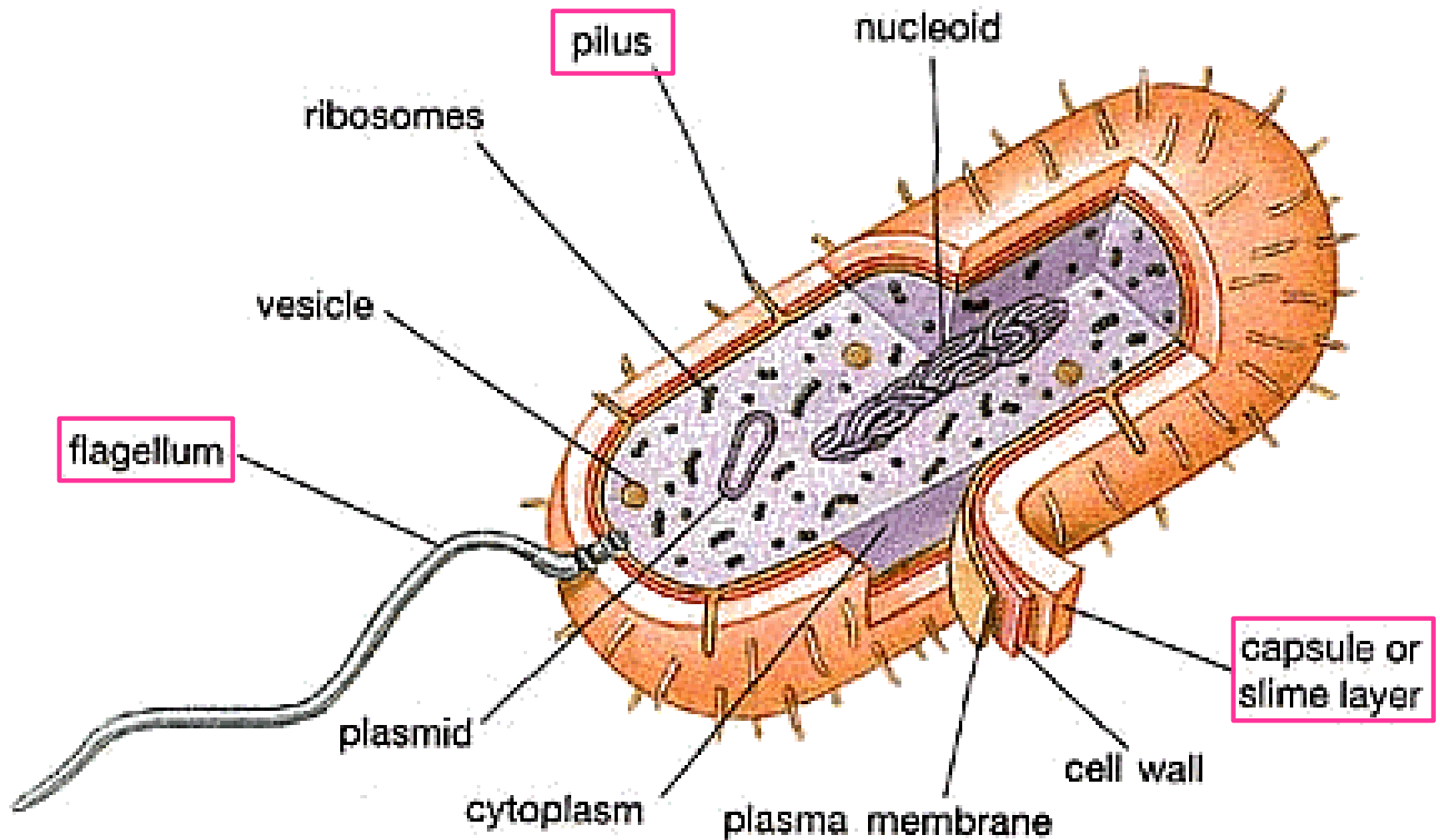




## *Mycoplasma* - nemá klasickou buněčnou stěnu

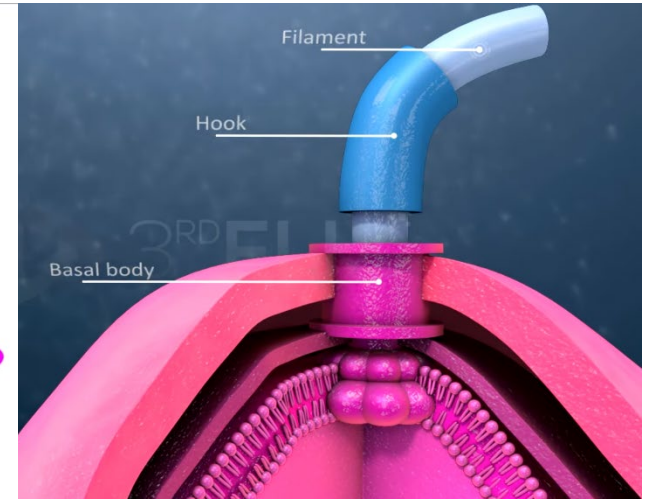
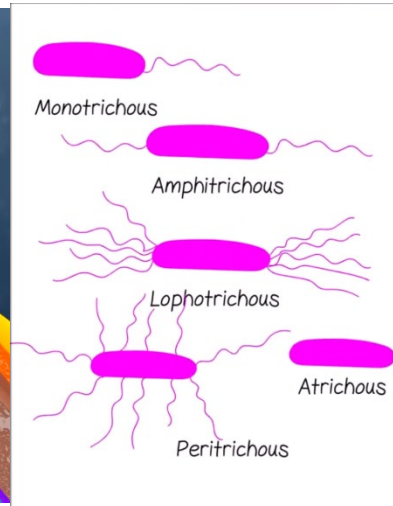
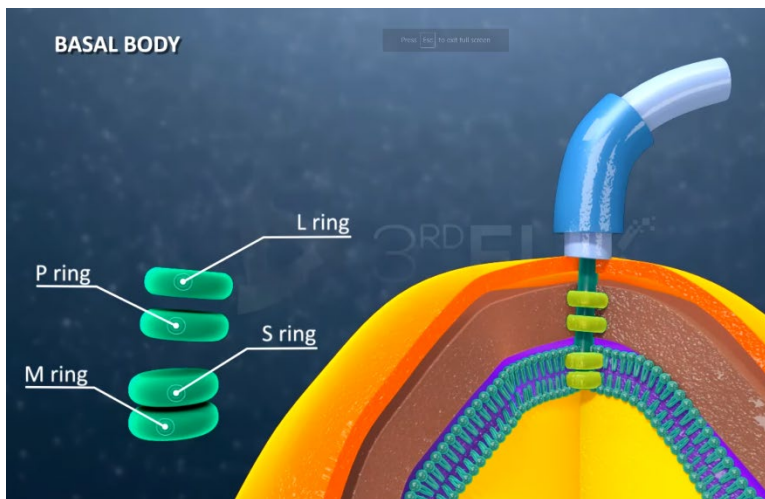


# Nástroje virulence bakterií



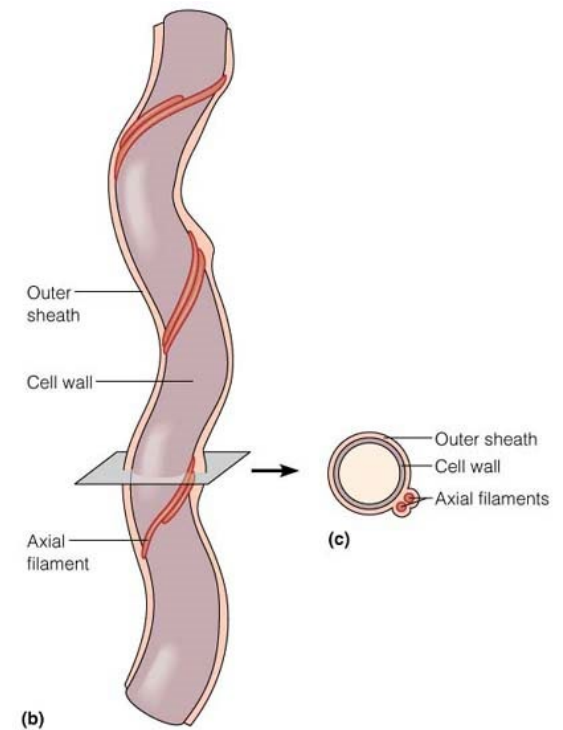
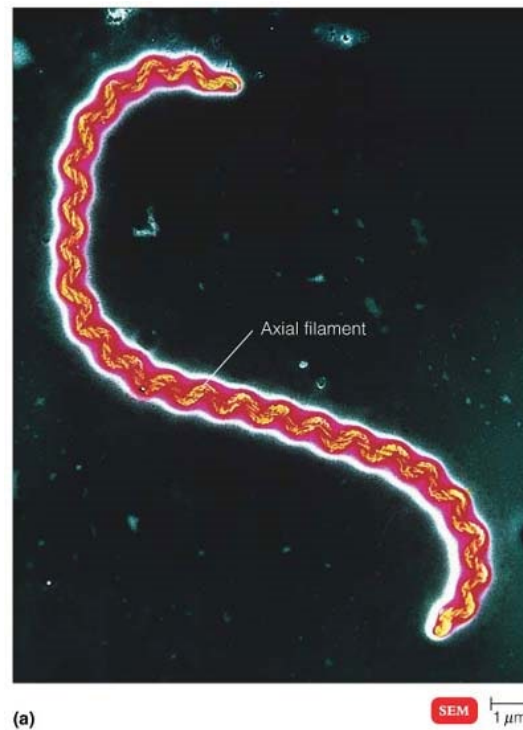
# Bičík (Flagellum)

- proteinová filamenta z flagelinu
- zakotvení a pohyb pomocí tzv. basal body s vazbou na vně (G-) i vni (G-,G+) membránu
- rotuje jako lodní šroub



# Axiální filamenta

- spirochety
- podélný pohyb kolem buňky
- jako šnek



# Pili (fimbriae)

- vláskové struktury vně buňky
- rovné, krátké, křehké, nepohyblivé
- jako dikobraz
- bakterální konjugace = Sex pillus
- faktor adheze na hostitelský epitel (adheziny) – např.:



*Neisseria gonorrhea* s adhezí na cervikální buňky nebo na ústní epitel

*Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* – vazba na střevní epitel - průjemová onemocnění

*Bordetella pertusis* – řasinkový respirační epitel – dávivý kašel



# Pouzdro a glykokalyx

## Pouzdro (capsula)

- ochranný obal kolem vně buněčné stěny
- z cukerných nebo aminokyselinových (*Bacillus anthracis*) zbytků.
- není u všech a je postradatelné

## Glykokalyx

- síťovina z polysacharidových vláken trčících z buňky
- „betonový bunkr“ - ochrana před antibiotiky a imunitou
- adherence na povrchy - zubní sklovina, protézy, katetry
- (*Staphylococcus epidermidis* → bakteriémie)

## Biofilm

- extracelulární matrix tvořená DNA, proteiny a polysacharidy

## Koadherence

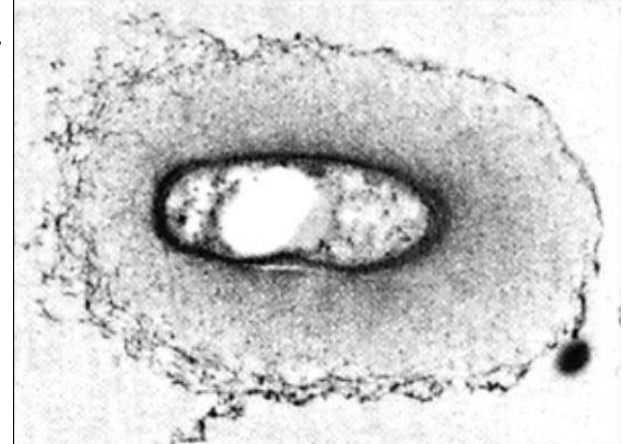
- sekundární kolonizace na již adherované bakterie
- bakteriální komunita = **plak**





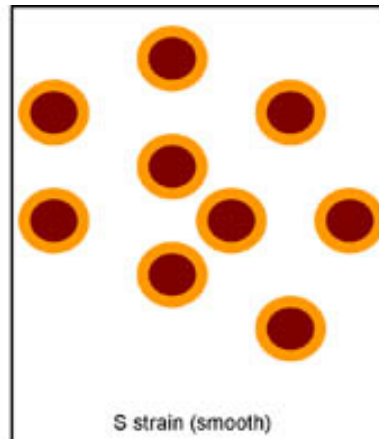
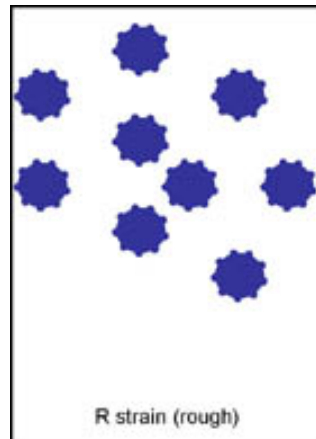
# Pouzdro (capsula)

- ochranné pouzdro kolem jednotlivých bakterií,
  - z cukerných nebo aminokyselinových (*Bacillus anthracis*) zbytků.
- Makrofágy a neutrofily je pak **nemohou** fagocytovat.
- přispívá k virulenci  
(protilátky proti pouzdru a ne proti samotné buňce)

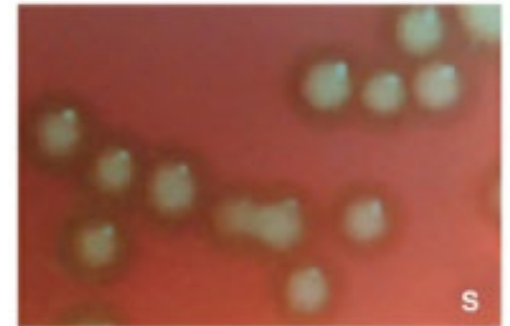


## *Streptococcus pneumoniae*

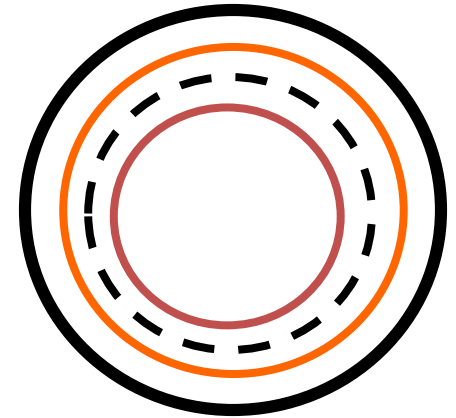
**R rough**  
(bez pouzdra)  
avirulentní forma



**S smooth**  
(S pouzdrum)  
virulentní forma



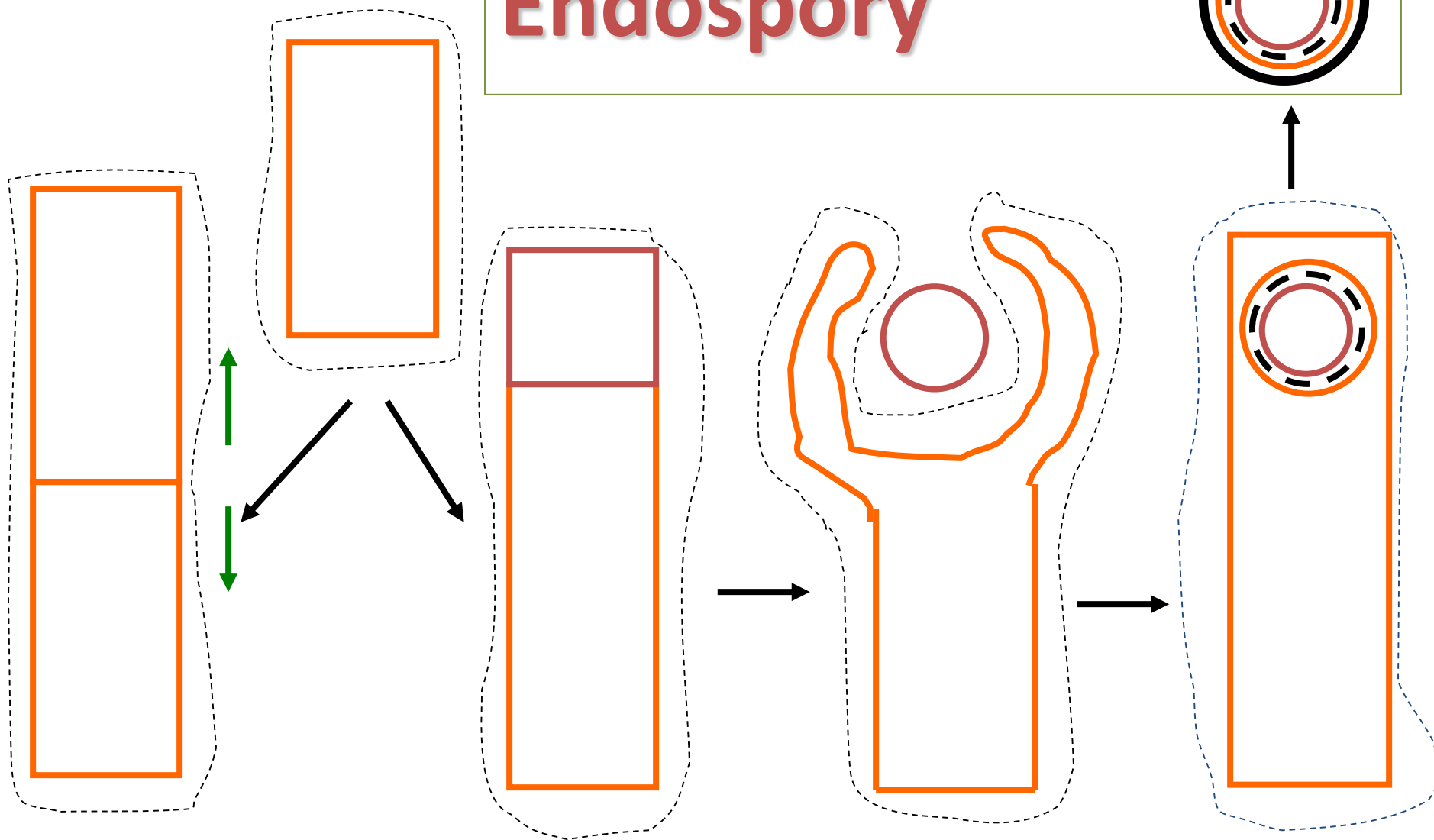
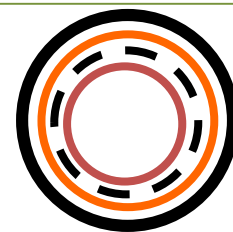
# Endospory



- Dormantní buňka – klidové nemetabolizující stadium
- Přežití nepříznivých podmínek
- Odolají
  - vysoké teploty – var; UV, rad., vyschnutí
  - organická rozpouštědla, lysozym
- obsahují DNA, germinační enzymy stabilizovány calcium dipicolinátem
- kortex – dehydratovaný peptidoglykan
- *Bacillus* and *Clostridium*



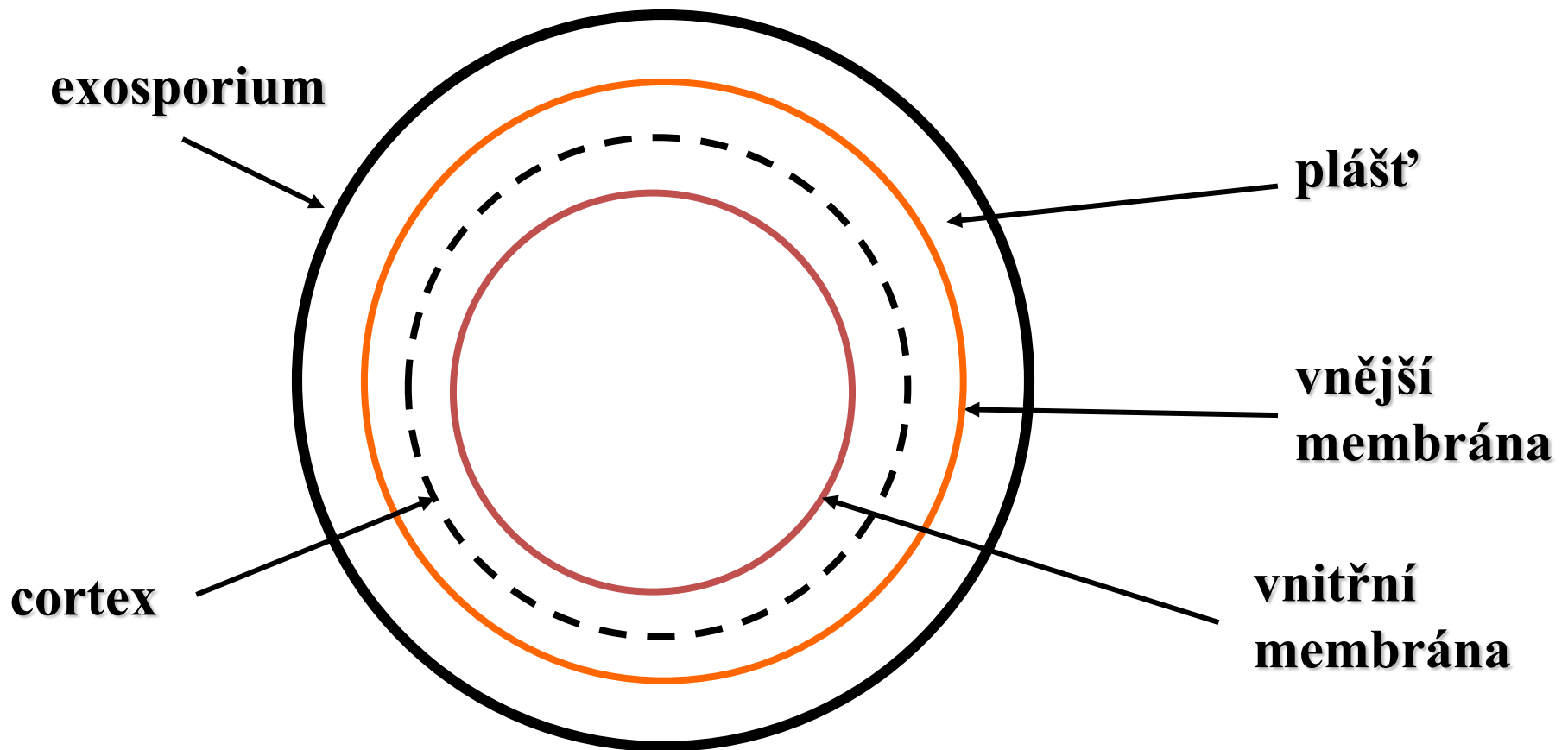
# Endospory



**Vegetatiní dělení**

**Sporulace**

# Endospory



# Metabolismus

- souhrn chemických reakcí v organismu
- 1. Katabolismus
  - Rozklad komplexních molekul na jednodušší složky
  - Uvolňuje se energie
- 2. Anabolismus
  - Výstavba složitých organických molekul z jednodušších
  - Spotřeba energie

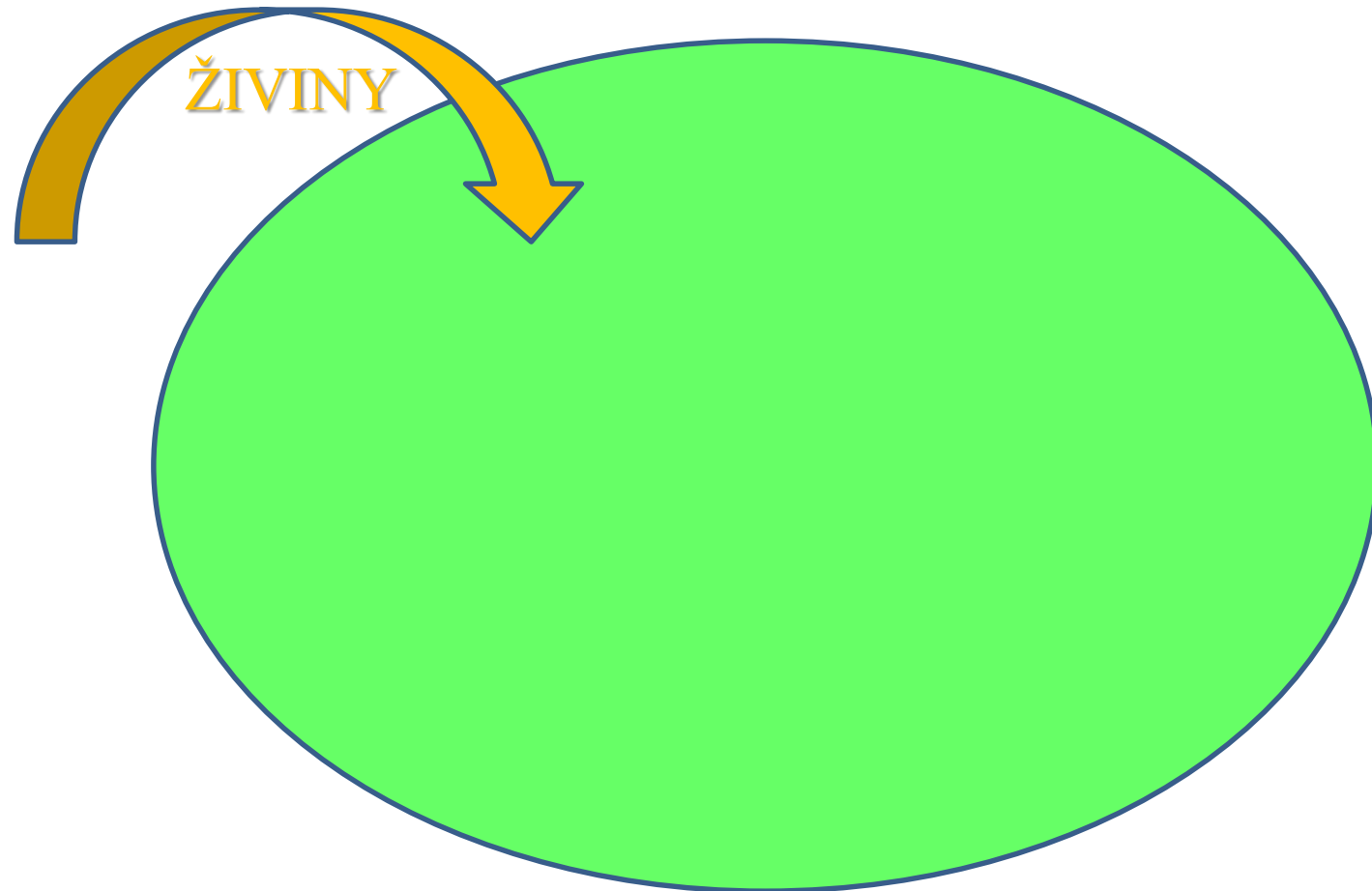
# Produkce energie

- 1. Oxidace
  - Odevzdání vodíku nebo elektronů
- 2. Redukce
  - Přijetí vodíku nebo elektronů

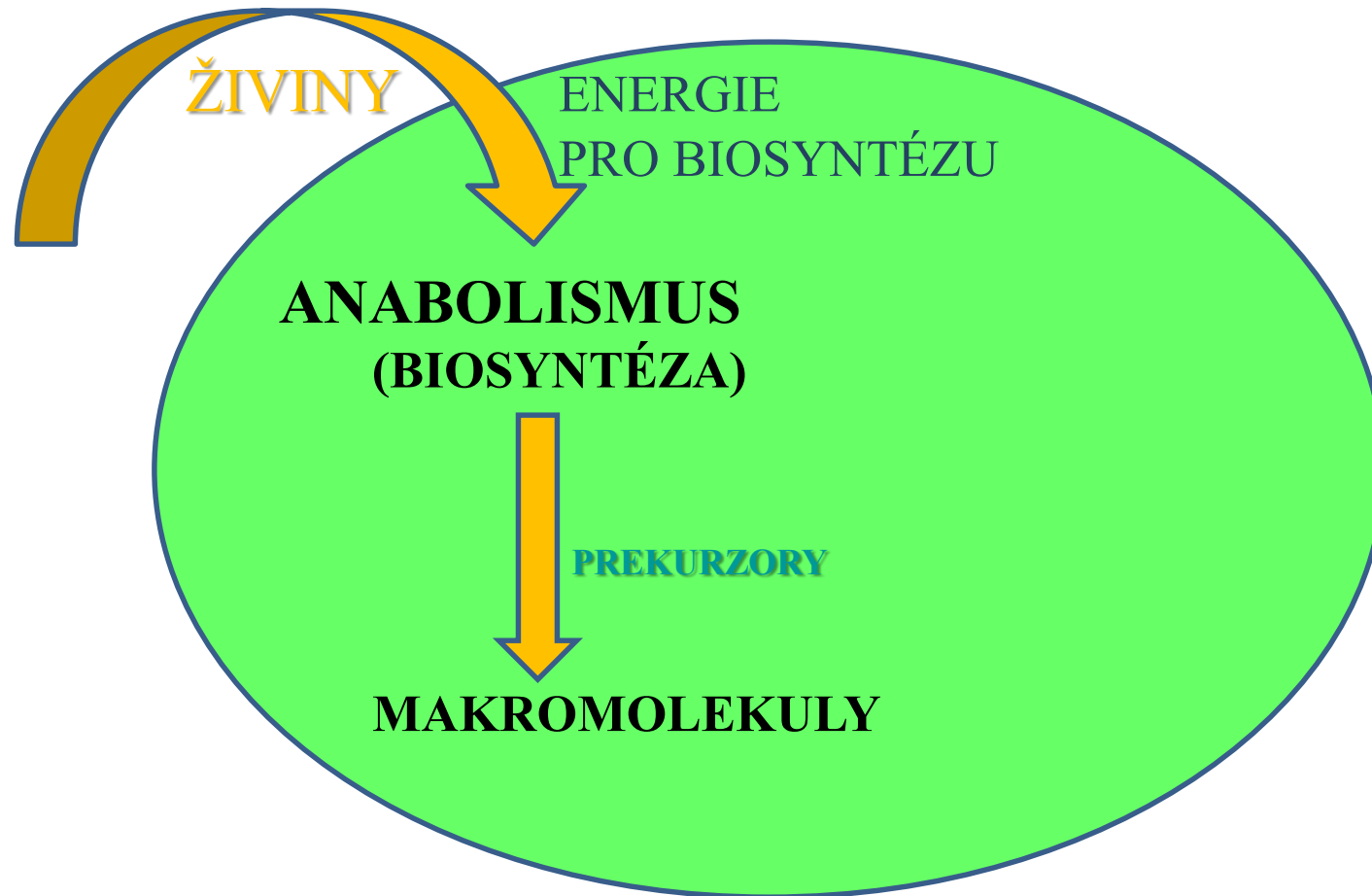
# ŽIVINY

biogenní prvky:

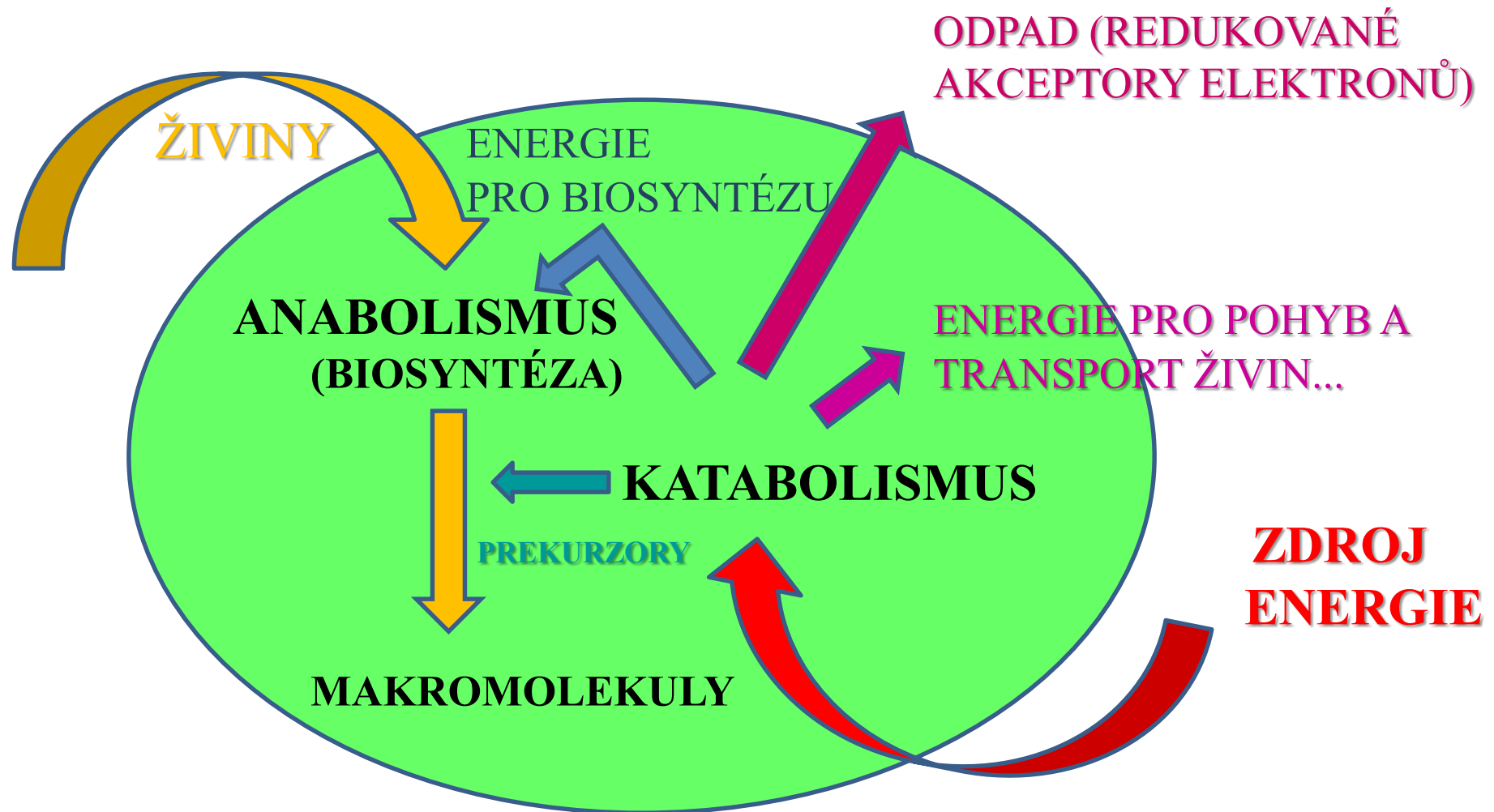
**Uhlík, Dusík, Fosfor, Síra, Ionty kovů (železo)**



# Anabolismus



# Anabolismus, Katabolismus





# ZDROJ ENERGIE

## SVĚTLO

- zdrojem uhlíku je CO<sub>2</sub>
- zdrojem uhlíku je org. látka

## - fototrofie

= FOTO**AUTO**TROFIE

= FOTO**HETERO**TROFIE

## OXIDACE CHEMIKÁLIE

## - chemotrofie

### ORGANICKÉ

- CHEMOORGANOTROFIE

= zdroj uhlíku a energie

### ANORGANICKÉ

- CHEMOLITOTROFIE

- zdroj uhlíku je CO<sub>2</sub>

# ZDROJ ENERGIE

## SVĚTLO

- **fototrofie**

- zdrojem uhlíku je CO<sub>2</sub>

= FOTOAUTOTROFIE

- zdrojem uhlíku je org. látka

= FOTOHETEROOTROFIE

## OXIDACE CHEMIKÁLIE

- **chemotrofie**

### ORGANICKÉ

- CHEMOORGANOTROFIE

= zdrojem uhlíku a energie

### ANORGANICKÉ

- CHEMOLITOTROFIE

- zdrojem uhlíku je CO<sub>2</sub>

CHEMOORGANO  
TROFIE

# CHEMOORGANOTROFIE

- Zdrojem energie je oxidace redukované organické látky, která je zároveň zdrojem uhlíku



# **Aerobní / Anaerobní** respirace

4 sub-dráhy

1. Glykolyza

→ Substrátová fosforylace - ATP na substrátové úrovni

2. Oxidativní dekarboxylace pyruvátu

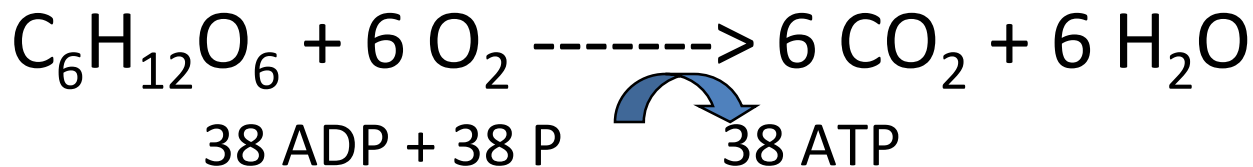
3. Krebsův cyklus

4. Elektron-transportní řetězec

→ Oxidativní fosforylace - ATP na membránové úrovni

# Aerobní respirace

- **Elektrony** uvolněné oxidací přenášeny elektron-transportním systémem, na jehož konci je **kyslík** jakožto **finální akceptor elektronů**



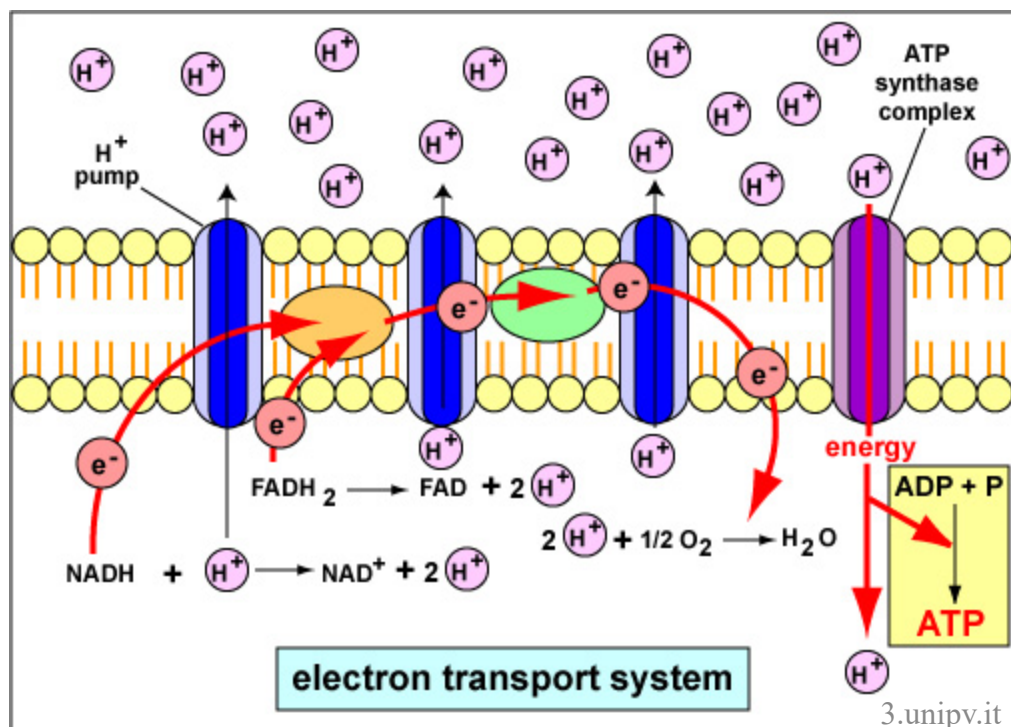
# Aerobní respirace

## 4. Elektron-transportní systém (oxidativní fosforylace)

Kyslík finálním akceptorem elektronů

---> **voda (oxidativní)**

---> **ATP (fosforylace)**



# Anaerobní respirace

## 4. Elektron-transportní systém

Elektrony uvolněné oxidací jsou přenášeny na jiný finální akceptor než ~~ky~~lík

# Anaerobní respirace

## 4. Elektron-transportní systém

Elektrony uvolněné oxidací jsou přenášeny na jiný finální akceptor než kyslík

|                               |       |                                 |                                                   |
|-------------------------------|-------|---------------------------------|---------------------------------------------------|
| Nitrát ( $\text{NO}_3^-$ )    | ----> | Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ )      | <i>Paracoccus denitrificans, Escherichia coli</i> |
| Sulfát ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) | ----> | Sulfan ( $\text{H}_2\text{S}$ ) | <i>Desulfovibrio, Desulfomaculum</i>              |
| $\text{CO}_2$                 | ----> | Methan ( $\text{CH}_4$ )        | <i>Archaeobacteria</i>                            |
| Fumarát                       | ----> | Sukcinát                        | <i>Enterobacteria</i>                             |



# Fermentace (kvašení)

- Též anaerobní proces, který však nemá elektron-transportní systém
  - Nekompletní oxidace molekuly uhlovodíku, která je zároveň donorem a finálním akceptorem elektronu
1. **Glykolysa (---> 2 molekuly pyruvátu)**
  2. **Další kroky kvašení**

# Fermentace (kvašení)

## Produkty v závislosti na:

1. Typ organismu
2. Prvotní substrát
3. Přítomné aktivní enzymy (máme-li všechny potřebné, není třeba organismus, Eduard Buchner)



# 1. Kvašení mléčné

- 2 ATP
- Produkt - kyselina mléčná
- Zkažení potravin
- Potravinová produkce
  - Jogurt, tvarohy, sýry
  - Nakládané okurky
  - Kysané zelí
- 2 rody bakterií:
  - *Streptococcus*
  - *Lactobacillus*

## 2. Kvašení alkoholové

- 2 ATP
- Produkty
  - alkohol
  - CO<sub>2</sub>
- Alkoholické nápoje
- Kynutí těsta
  
- *Saccharomyces cerevisiae* (eukaryotní kvasinka)
- *Zymomonas* (bakterie)
- ***Klebsiella pneumoniae*** - fatty liver disease (Nan-Nan Li et al. (2021) High alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae* causes fatty liver disease through 2,3-butanediol fermentation pathway *in vivo*, Gut Microbes, 13:1, DOI: [10.1080/19490976.2021.1979883](https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1979883) )

### 3. Máselné kvašení

- Produkt
  - kyselina máselná
  - CO<sub>2</sub>
  - H<sub>2</sub>
- *Clostridium butyricum*, *Granulobacter butyricum* (butylalkohol)
- Máčení lnu, výroba pšeničného škrobu, zrání některých sýrů

## 4. Octové kvašení

Aerobní kvašení alkoholu

--> kyselina octová

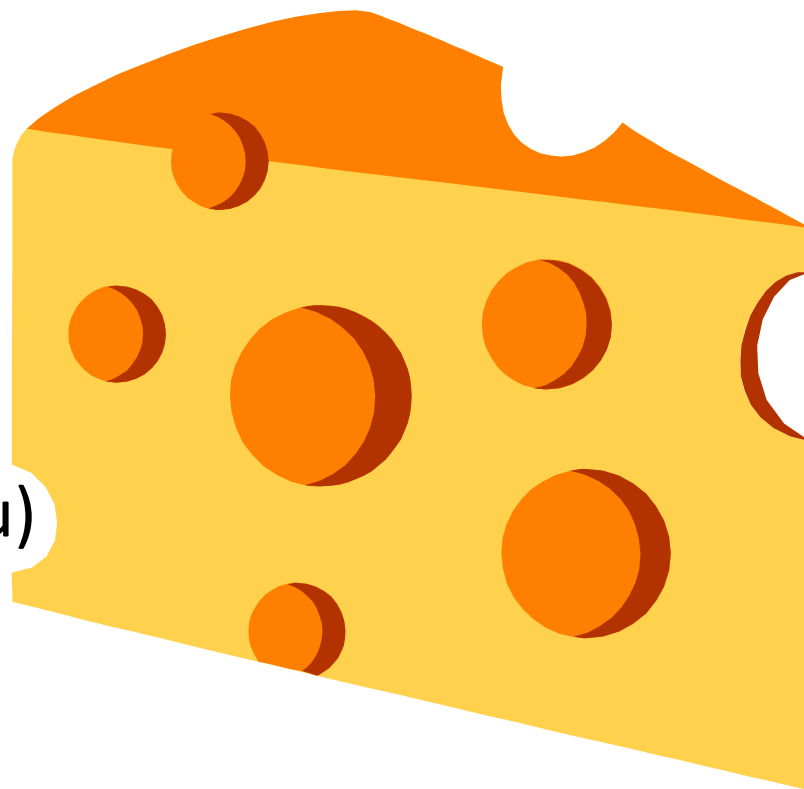
Produkt - ocet

Rod *Acetobacter*



## 5. Propionové kvašení

- 2 ATP
- Produkty:
  - Kyselina propionová
  - $\text{CO}_2$
- Plynné dutiny v sýrech  
(díry v ementálu)
- *Propionibacterium*



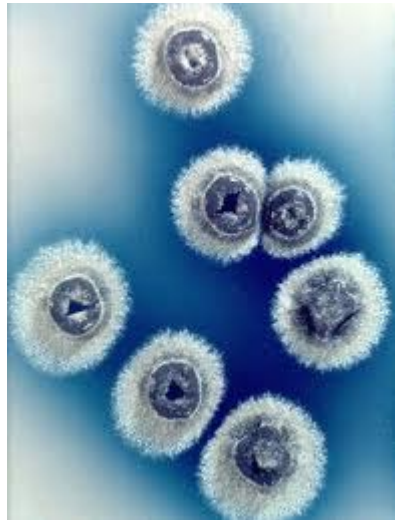
# Sekundární metabolismus

- produkce nízkomolekulárních látek
- antibiotika, faktory pro quorum sensing, mikrobiální hormony, pigmenty, toxiny, feromony, imunomodulátory, ligandy receptorů

**význam:** antibiotika, antivirotika, antiparasitika, imunosupresanty, protinádorové a farmakologické látky, růstové faktory rostlin a živočichů, antihelmintika, pesticidy, herbicidy, ...



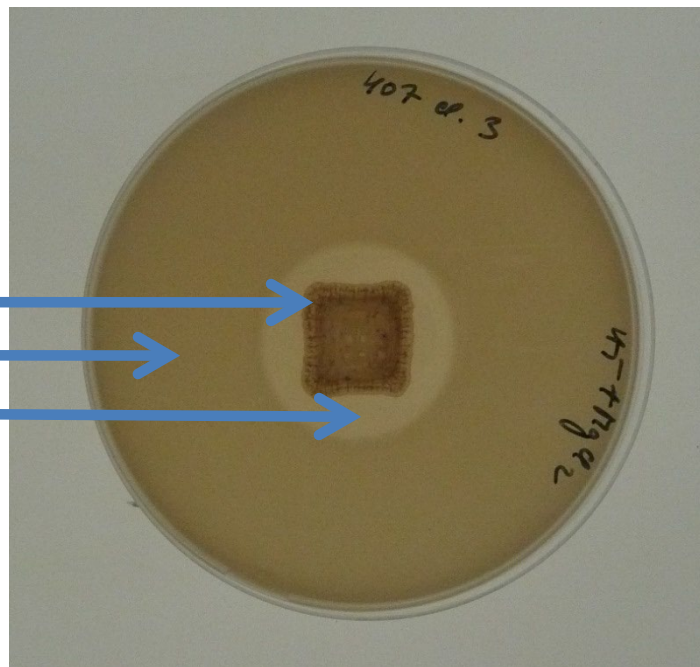
# Produkce sekundárních metabolitů



*Streptomyces* (testovaný kmen)

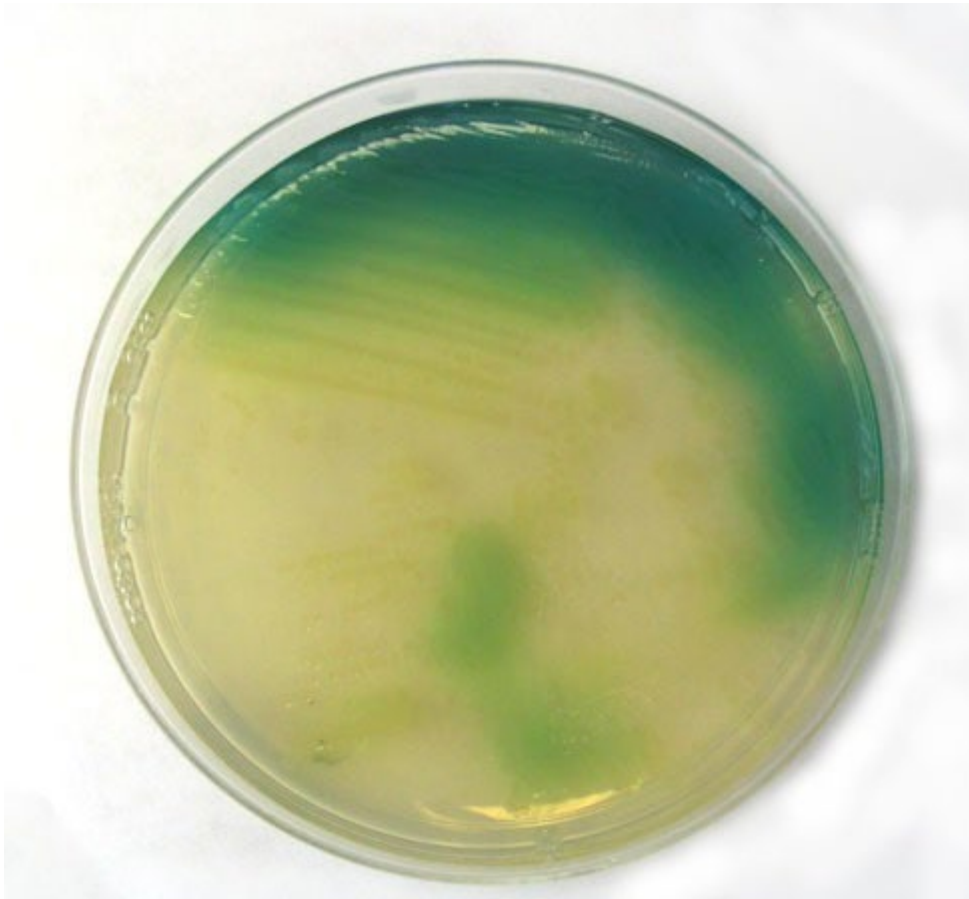
*E. coli* (indikátorový kmen)

zóna bez růstu



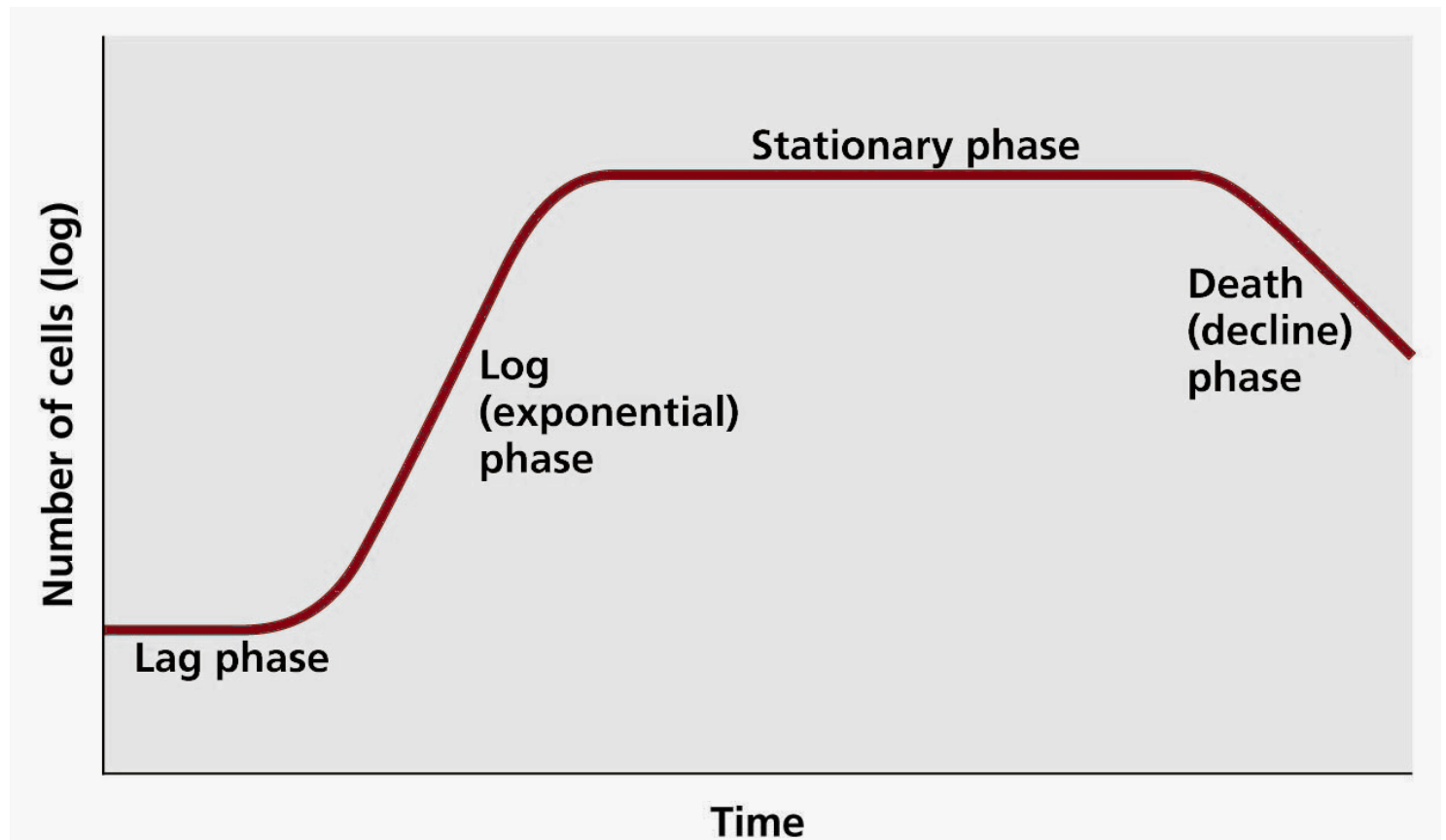
# Produkce sekundárních metabolitů

*Pseudomonas aeruginosa* – pyocyanin, pyoverdinin



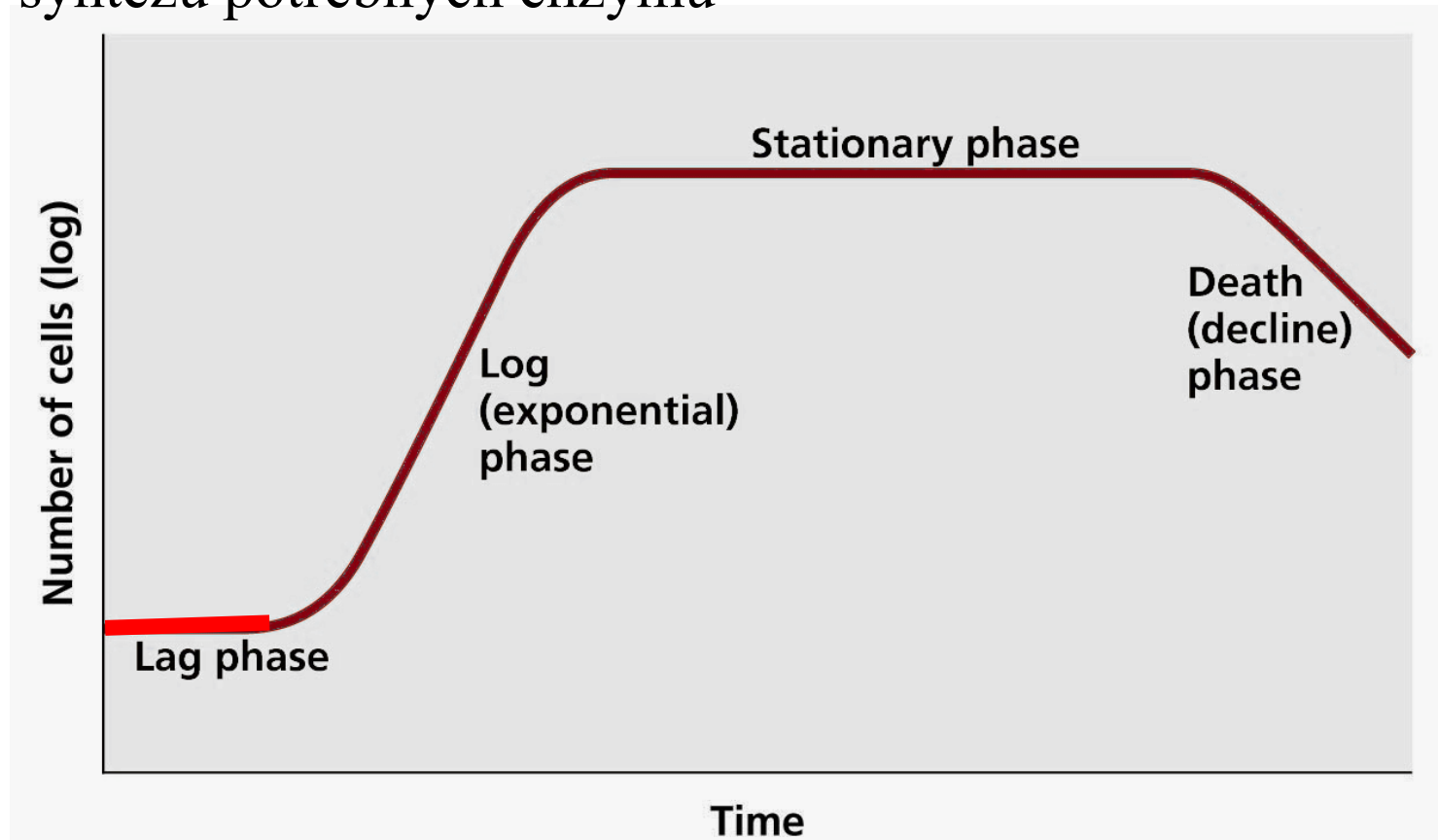
# Růst a množení populace bakterií

## Růstová křivka



# Lag fáze

Příprava na růst a množení v novém prostředí  
Čas pro syntézu potřebných enzymů



# Exponenciální fáze

Dělení buněk –  $1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \dots \rightarrow X$   $\Rightarrow$

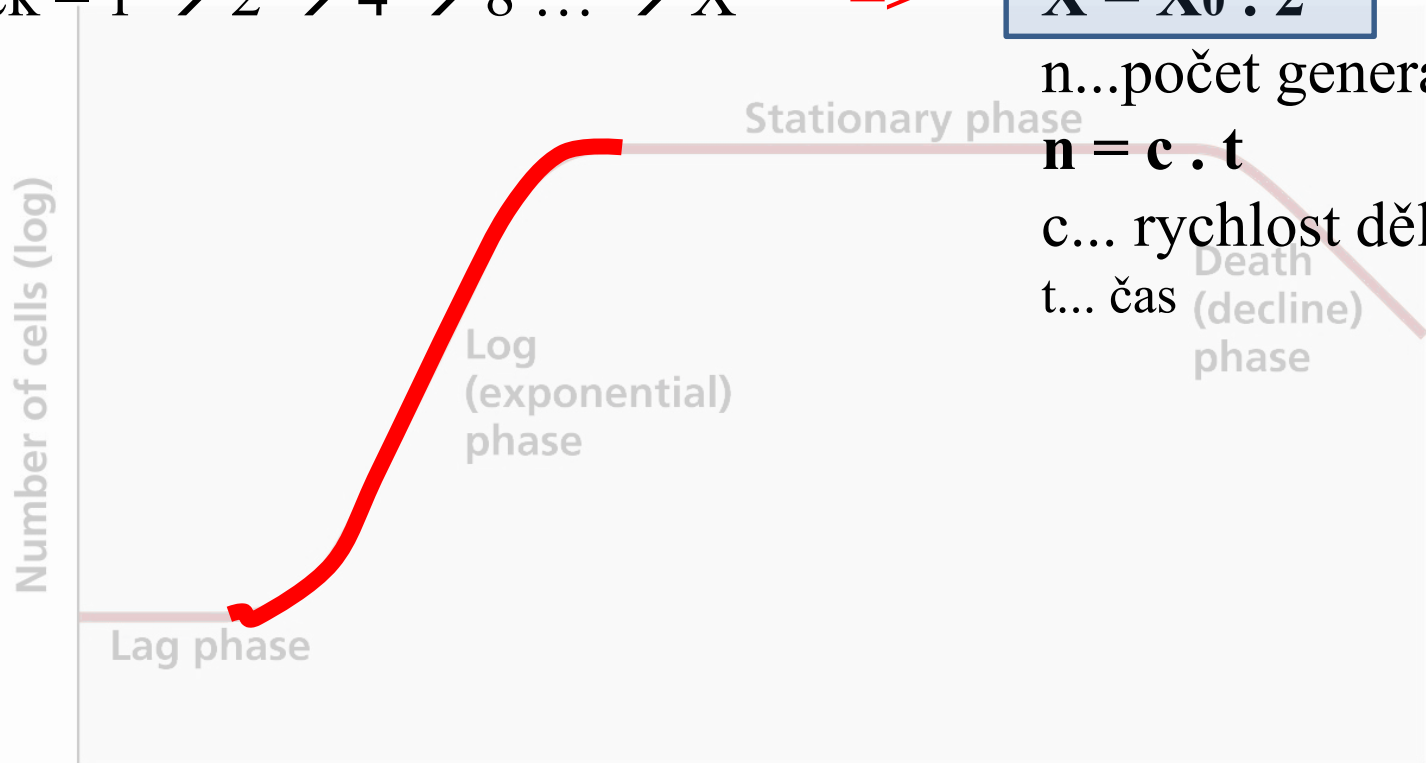
$$X = X_0 \cdot 2^n$$

n...počet generací

$$n = c \cdot t$$

c... rychlost dělení

t... čas  
(decline)  
phase



**Růstová rychlost** - změna biomasy / čas

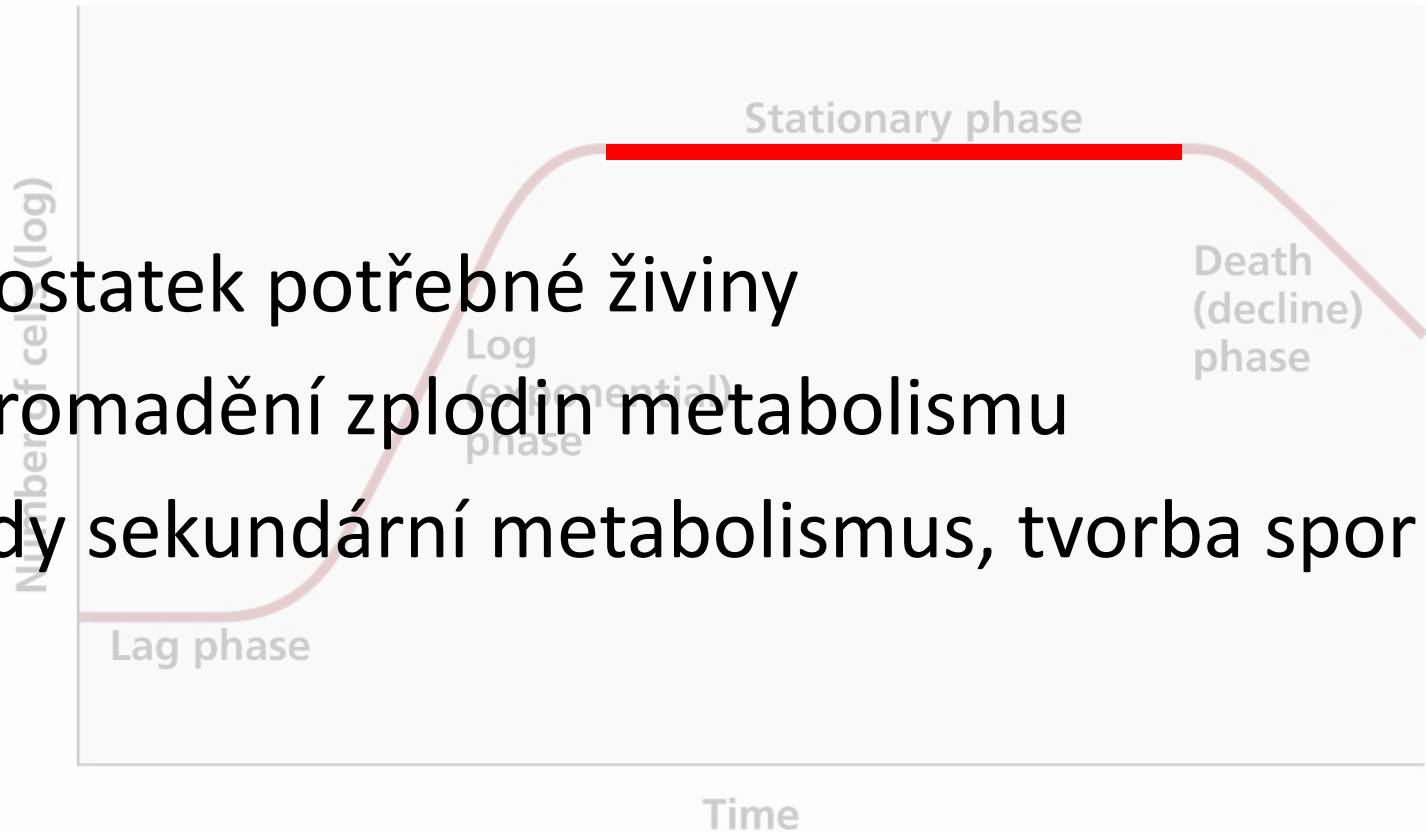
Time

**Generační doba** – časový interval vzniku dvou buněk z jedné

**Doba zdvojení** – doba zdvojnásobení populace (průměr generační doby).

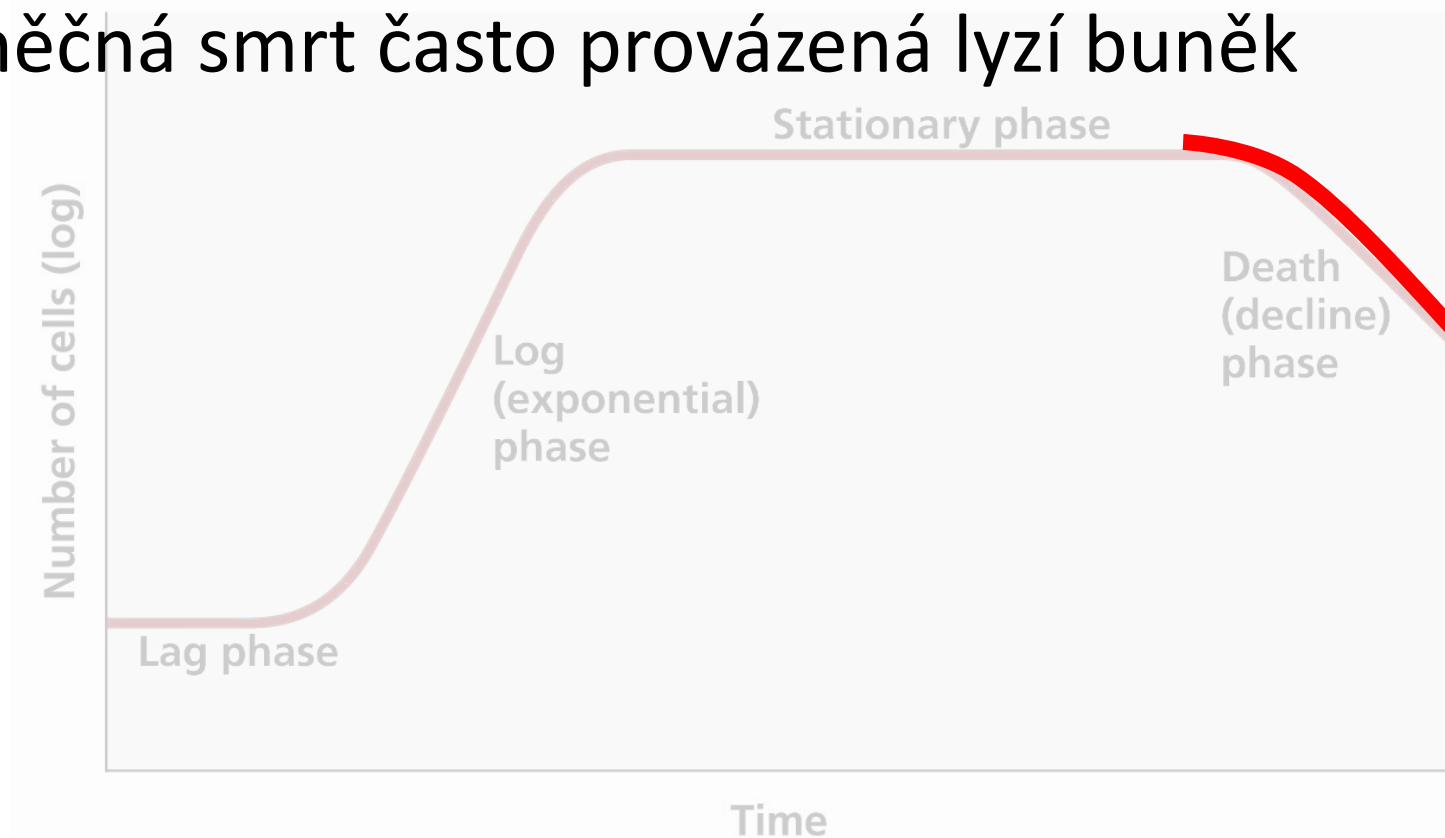
# Stacionární fáze

- Nedostatek potřebné živiny
- Nahromadění zplodin metabolismu
- Někdy sekundární metabolismus, tvorba spor



# Fáze odumírání

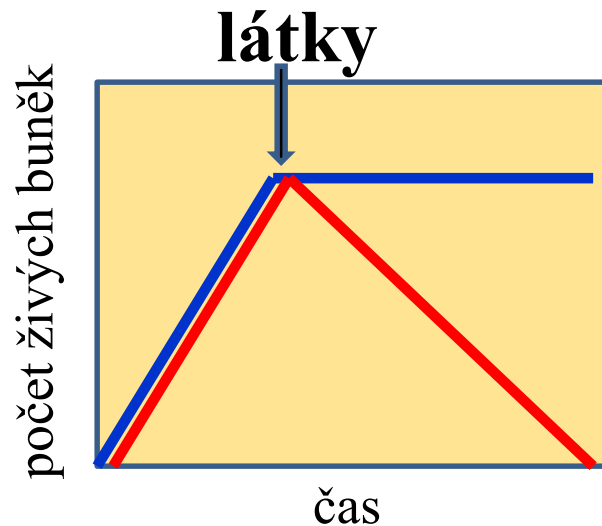
- Buněčná smrt často provázená lyzí buněk



# Faktory prostředí ovlivňující růst

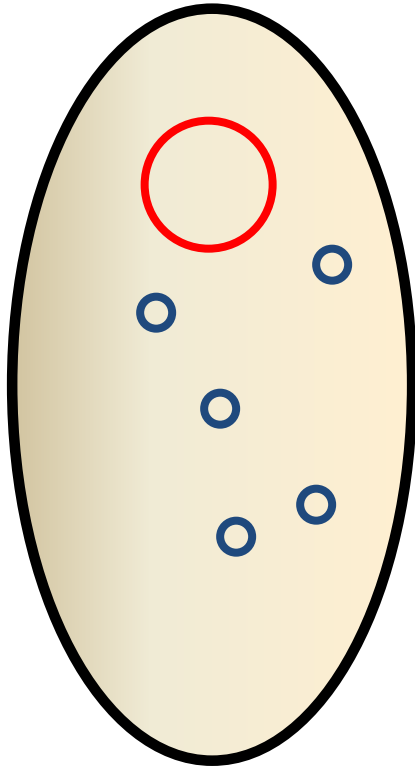
- **TEPLOTA:** psychofilní x termofilní
- **pH:** acidofilní x alkalofilní
- **Osmóza:** halofilní (mořská voda)  
osmofilní (cukry)  
xerofilní (sucho)

## baktericidní a bakteriostatické





# Bakteriální genom



**chromosom**

**extrachromosomální genom**

**profág**

**plasmidy**

# Bakteriální genom

## Chromosom nukleoid

dsDNA (1-8Mbp)  
esenciální geny  
většinou kruhovitý  
většinou haploidní (1 kopie v buňce)



dsDNA helix – uzavřený kruh



supercoil

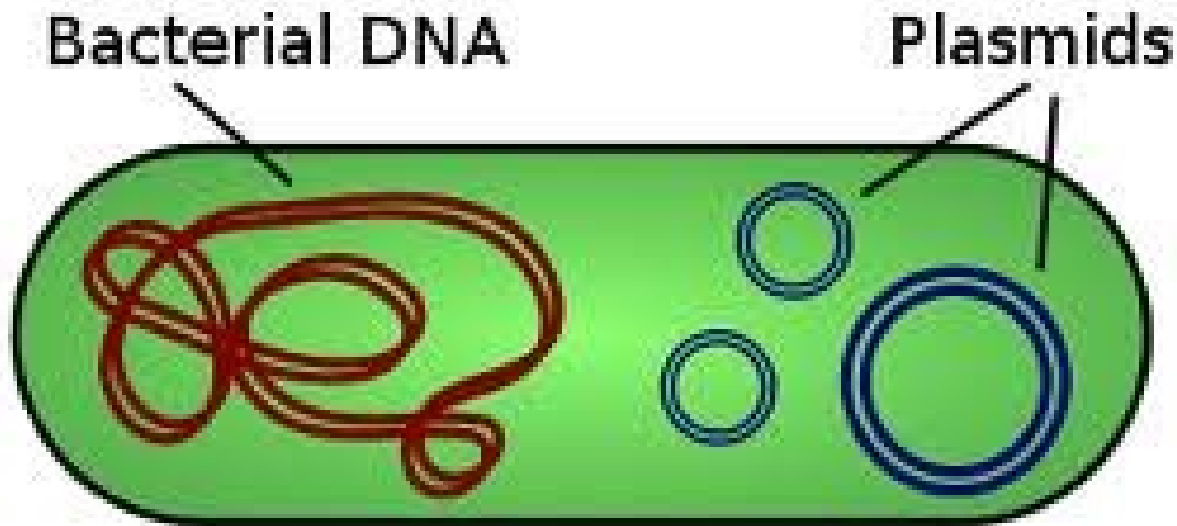
*E.coli* 1mmDNA v 10um buňce ← kondenzace (supercoiling)

Bakteriální genom –

extrachromosomální:

# Plasmidy

- cirkulární dsDNA
- více v jedné buňce, mimo buňku nepřežijí
- schopné nezávislé replikace



## Bakteriální genom –

### extrachromosomální:

# Plasmidy

- kodují (5-100 genů)
  - vlastní replikaci
  - distribuci do dceřinných buněk **F** fertility factor → konjugační sex pilus
  - antibiotická rezistence **R**
  - baktericidní prot.-bacteriocin **Col** colicin
  - faktory virulence **Ent** produkce enterotoxinu  
**Hly** produkce hemolysinu  
**CFA-I, CFA-II** adhesiny



**kryptické** – nemění fenotyp hostitele

# Přenos genetické informace

vertikální (na potomstvo)

**X**

horizontální (intercelulární)  
nemendelistické dědění znaků

- konjugace
- transdukce
- transformace

# Přenos genetické informace

## **konjugace**

autonomně přenosné plasmidy

recipient = **transkonjugant**

## **transdukce**

prostřednictvím bakteriofágů přenesen fragment chromosomu donora

recipient = **transduktant**

## **transformace**

přenos čisté DNA z prostředí do buňky a vnesení do genomu

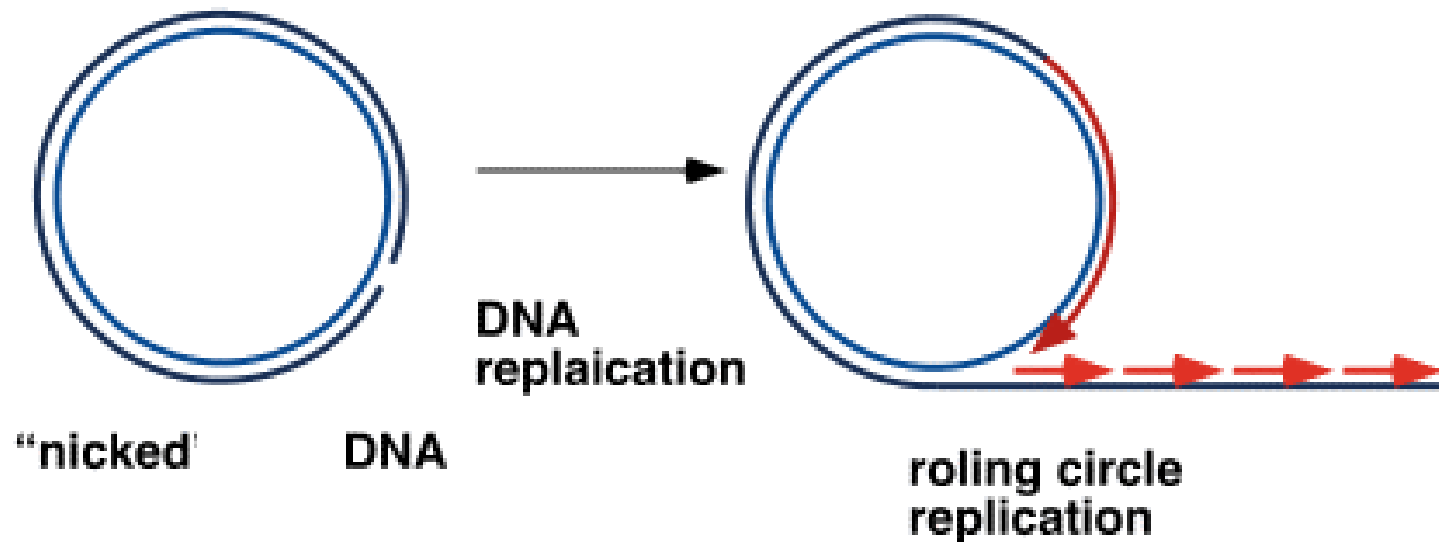
recipient = **transformant**

# Konjugace

- potřeba kontakt dvou buněk
  - **G-** - konjugační pili (**F fimbrie**)
  - **G+** - **sex feromon** (chemotaxe) → přilnutí buňky
- transfer většího množství DNA
- někdy integrace do chromosomu - využíváno pro vnášení genů
- přispívá ke genetické diverzitě

# KONJUGATIVNÍ REPLIKACE

## *Rolling Circle Replication*



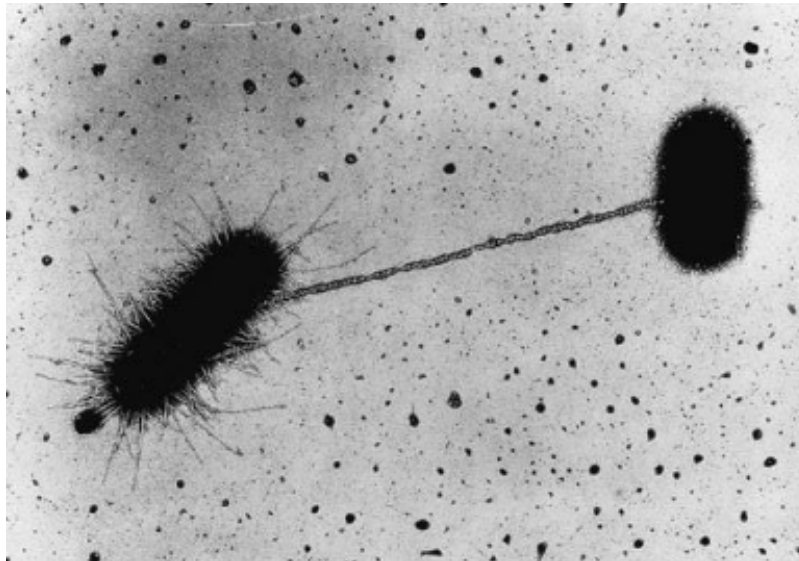


# Konjugace

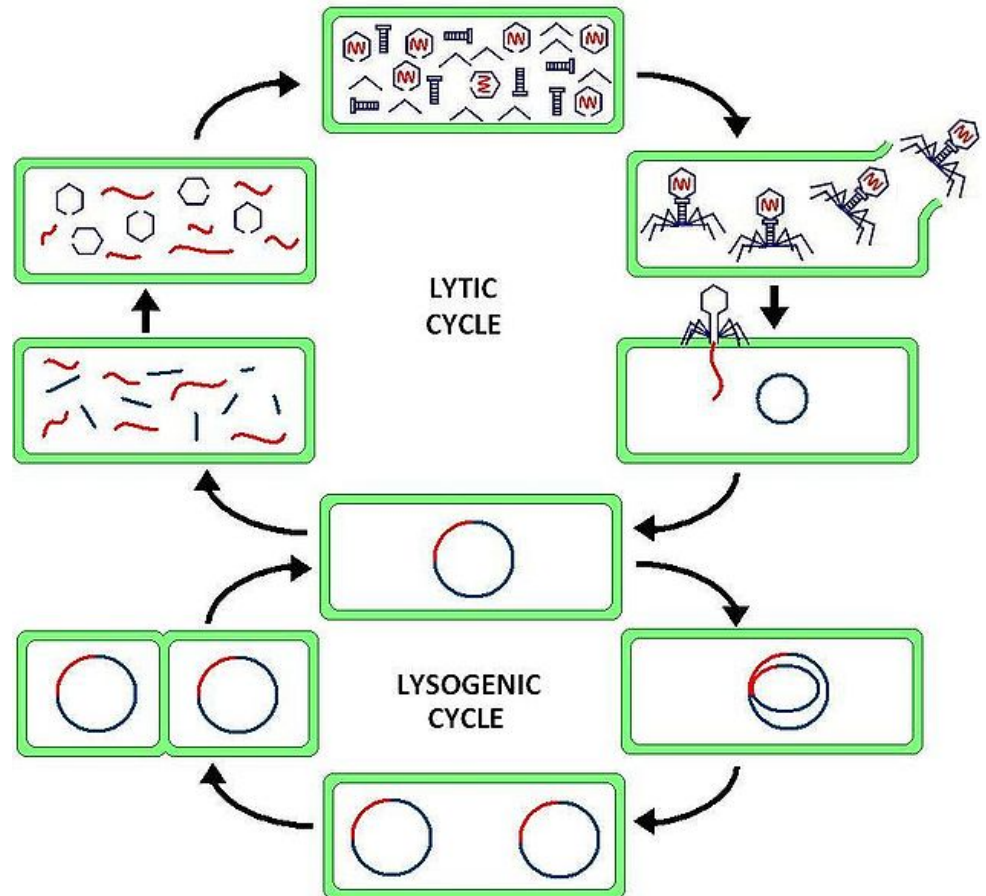
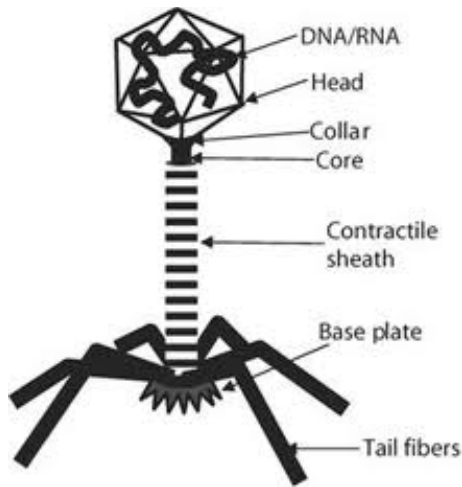
Joshua Lederberg a Tatum, 1946

**Fertility factor - F plasmid** ~ 100 genů (*tra* operon):

- vlastní replikace
- tvorba pili – proteinový tubus pro kontakt s jinou buňkou
- transfer kopie F genomu z donora **F+** do recipienta **F-** → **F+**
- inhibice kontaktu **F+** **F+**



# Transdukce



## Lysogenní konverze

- nové vlastnosti bakteriální buňky kodované profágem
- např. toxigenní (tox+) kmen *Corynebacterium diphtheriae*
- erythrogenní toxin *Streptococcus pyogenes*
- botulotoxin *Clostridium botulinum*

# Transformace

přenos čisté DNA z prostředí do buňky a vnesení do genomu  
recipient = **transformant**

**Kompetence** - stav recipientní buňky

**Faktor kompetence** – regulační protein, který stimuluje produkce dalších proteinů pro transformaci (DNA vazebné, endonukleasy, autolysiny)

**transfekce** – vnesení purifikované DNA celého fága → infekce

**elektroporace** – el. proud → depolarizace buněčné membrány

**vnesení do genomu**

inserční sekvence

transpozony