

FUNKCIONALNA ANATOMIJA PROKARIONTSKE CELICE

MORFOLOGIJA PROKARIONTSKIH CELIC

Različne oblike bakterijski celic:

- Koki (diplokokki, streptokoki, stafilokoki, sarricine)
- Bacili (diplobacil, streptobacil, kokobacil)
- Spirili
- Filamenti
- Spirohete
- Bakterije z izrastki

VELIKOST MIKROBNIH CELIC

Prokariotske celice: 0,1-50 μ m (izjeme: nanoarheje – 400nm, *Eppolopiscium fishelson* – 0,5mm)

Eukariotske celic: 3-200 μ m (izjema: *Nanochlorum eucaryotum* – 1-2 μ m)

Manjša kot je celica, večje je razmerje med površino in volumnom ($P/V=3r$).

PEPTIDOGLIKANSKA CELIČNA STENA PRI GRAM NEGATIVNIH IN GRAM POZITIVNIH BAKTERIJAH

Pri obeh je osnovna enota glikatetrapeptid, sestavljen iz NAM (N-acetilmuraminske kisline) in NAG (N-acetilglukozamina), povezanih z β 1,4-glikozidno vezjo, ter prečnih tetrapeptidnih vezi med NAM.

G- bakterije imajo skoraj vedno enako zaporedje aminokislin v tetrapeptidnih vezeh (L-Ala, D-Glu, DAP, D-Ala).

Pri G+ bakterijah najdemo še L-Lys (pogosto namesto DAP) in D-Glu-NH₄ (vlada večja variabilnost). Posebnost so tudi posebni aminokislinski mostički med glikantetrapeptidi iz 4 aminokislin, povezanih s peptidnimi vezmi. Mostički so iz glicina, treonina in aspartata.

Celica se pred delitvijo podaljšuje in vgrajuje nove dele celične stene. Ko podvoji kromosom, se začne zažemati in nastane septum. Sinteza nove celične stene poteka s pomočjo encimov avtolizinov. Nosilec sladkorjev UDP (uridin difosfat) se poveže z NAM, ki ima pripetih 5 aminokislin. Celotnemu kompleksu skozi membrano pomaga organski alkohol baktoprenol, ki molekulo začasno naredi hidrofobno. Na kompleks se veže še en NAM in pri G+ bakterijah še mostiček iz 5 aminokislin. Zadnja (5.) aminokislina se uporabi kot energetska molekula pri transpeptidaciji.

Transpeptidacija je povezava novih glikantetrapeptidov v steno in je zadnji korak pri sintezi peptidoglikana. Poteka ob porabi energije, ki se sprosti pri odcepitvi pete aminokisline iz NAM. Encimi za transpeptidacijo se nahajajo v periplazmatski špranji. Na omenjene encimi deluje penicilin, ki prepreči nastajanje nove celične stene.

RAZLIKE MED EVBAKTERIJSKO IN ARHEBAKTERIJSKO CELIČNO STENO

Evbakterijska stena je peptidoglikanska ali mureinska, arhebakterijska pa je lahko psevdomureinska, lahko pa je glikoproteinska ali izključno iz polisaharidov oz. proteinov.

Pri psevdomureinski steni so vezi med sladkorji β 1,3-glikozidne, NAM pa je zamenjan z N-acetil-taloza-minuronsko kislino. Poleg tega v aminokislinskih povezavah ni D oblik aminokislin.

PERIPLAZMATSKI PROSTOR

Periplazmatski prostor oz. špranja je širok med 1 in 70 nm (ožji pri G+ in širši pri G-) in se nahaja med steno in membrano. V špranji se nahajajo številni hidrolitični encimi, ki sodelujejo pri zunanji prebavi, vezni proteini, ki se vežejo na snovi in jih prenesejo so membrane, signalni proteini, ki v celici sprožijo niz reakcij. Pri G- je napolnjena z rahlim peptidoglikanskim omrežjem, pri G+ pa lahko v periplazmično špranjo segajo še teihonske ali lipoteihonske kisline.

KAKO LIZOCIM KOT PENICILIN POVZROČITA LIZO BAKTERIJSKE CELICE. OPIŠITE RAZLIKE V NAČINU DELOVANJA ENE IN DRUGE SNOVI.

Penicilin deluje samo na rastočo celično steno, saj inaktivira encimi, ki sodelujejo pri transpeptidaciji, medtem ko lizocim deluje na β 1,4-glikozidno vez in zato deluje tudi na že obstoječo celično steno (deluje samo na evbakterije).

NASTANEK IN LASTNOSTI PROTOPLASTOV

Bakterijske protoplaste dobimo tako, da celice izpostavimo encimu lizocimu, ki cepi vezi med sladkorji in povzroči razgradnjo peptidoglikana. Zagotoviti moramo tudi osmotsko uravnoteženo okolje, drugače poteče liza celice.

ZAKAJ LAHKO SAHAROZA STABILIZIRA BAKTERIJSKO CELICO OBDELANO Z LIZOCIMOM IN PREPREČI NJENO LIZO?

Saharoza kot topljenec lahko zagotovi izotonično okolje za protoplastirano celico in tako prepreči vdiranje vode in lizo celice.

OPIŠI NETIPIČNE CELIČNE STENE ARHEJ

Arheje lahko imajo steno, lahko pa so tudi brez nje. Njihova stena je lahko izključno iz polisaharidov ali proteinov, lahko je glikoproteinska ali psevdopeptidoglikanska (rezistentna na lizocim). Poleg tega lahko imajo še kompleksno celično ovojnico (S-plast).

OPIŠI S PLAST

S-plast je zelo urejena polisaharidna in proteinska struktura, ki jo najdemo pri arhejah in G+ bakterijah. Lahko obdaja eno ali več celic skupaj. Značilna je za halofilne, metanogene in hipertermofilne mikroorganizme.

KAJ SO TEIHOIČNE KISLINE IN KJE SE NAHAJAJO?

Teihonične oz. teihonske kisline so polisaharidi, ki jih najdemo samo pri G+ bakterijah. Vgrajene so v celično steno, lahko segajo skozi steno in periplazmatski prostor vse do citoplazemske membrane – takrat jih imenujemo lipoteihonske kisline. Če so zelo tesno zbite, lahko na zunanji strani tvorijo kapsulo.

So negativno nabite in sodelujejo pri regulaciji prehoda ionov in delovanju avtolizinov. Shranjujejo rezervni fosfat in bakterijam dajejo antigensko specifičnost.

SESTAVA LIPOPOLISAHARIDNE PLASTI (LPS) V CELIČNI STENI GRAM NEGATIVNIH BAKTERIJ

Lipopolisaharidna plast je značilna samo za G- bakterije in na zunanji membrani nadomesti zunanji fosfolipidni sloj. Sestavljena je iz lipida A (ki je tudi endotoksin), na katerem so maščobne kisline pripete na disaharid-N-acetilglukozamin fosfat preko esteraminske vezi. Na lipid A je vezan osrednji polisaharid (stržer), sestavljen iz ketodeoksioktonata, ki je vezan na lipid A, nadaljuje pa se v heksoze ali heptoze. Čisto na koncu je plast O-polisaharida, ki v osnovni enoti vsebuje heksoze (glukoza, manoza, ramnoza, galaktoza) – pogosto je tudi razvejan.

RAZLIČNE FUNKCIJE LIPOPOLISAHARIDNE PLASTI (LPS) V CELIČNI STENI GRAM NEGATIVNIH BAKTERIJ

Funkcije: negativna nabitost, antigenska specifičnost, preprečitev fagocitoze, toksičnost-endotoksini, zaščita pred toksičnimi substancami (antibiotiki, detergenti, prebavnimi encimi, lizocimi, težkimi kovinami...).

ENDOTOKSINI GRAM NEGATIVNIH BAKTERIJ

Ker so strukturni del membrane, se sprostijo šele pri poškodbi celice. Endotoksini so termostabilni, toksični v velikih dozah, so rahlo imunogeni in imajo splošno sistemski učinek.

KAKŠNA JE FUNKCIJA PORINOV IN KJE SE NAHAJAJO?

Porini omogočajo prehod hidrofilnih snovi, akvaporini pa vodo. Lahko so specifični ali nespecifični in imajo premer okoli 1nm. Sestavljajo jih 3 transmembranske podenote. Nahajajo se v zunanji in notranji membrani bakterijskih celic.

€GLIKOKALIKS PRI BAKTERIJAH - POMEN IN SESTAVA

Glikokaliks je eden izmed zunanjih ovojev celice (EPS) in ima vrstno specifično sestavo: najpogostejši iz polisaharidov, lahko pa iz polipeptidov ali kombinacije obojega. Lahko tvori trdnejšo kapsulo, sluzno plast ali S-plast. Funkcije: pripenjanje na podlago, tvorba biofilmov ali pelikul, virulenca, zaščita (pred izsuševanjem, virusi, toksičnimi agensi, encimi, imunskim sistemom ...).

RAZLIKE MED EVBAKTERIJSKO IN ARHEBAKTERIJSKO MEMBRANO

Pri arhejah je lahko na glicerol namesto maščobnih kislin vezan fosfat, sulfat ali ogljikovi hidrati. Vez je pri arhejah namesto estrska etrska, prav tako samo pri arhejah najdemo fitanil. Zlasti pri termofilnih arhejah najdemo lipidne monosloje.

KAKŠNO VLOGO IMAJO V MEMBRANAH MOLEKULE KOT SO STEROLI IN HOPANOIDI? PRI KATERIH ORGANIZMIH SE POJAVLJAJO?

Steroli (pri evkariontih) in hopanoidi (pri prokariontih) so velike planarne, toge molekule, ki stabilizirajo membrane in jo naredijo manj fluidno. Hopanoidi se v nasprotju s steroli lahko sintetizirajo tudi v anaerobnih pogojih.

€POSEBNOSTI CITOPLAZEMSKA MEMBRANA PRI MIKOPLAZMAH

Mikoplazme so intracelularni paraziti in zato niso izpostavljeni osmotskemu nihanju. Zaradi tega nimajo celične stene, njihove membrane pa za razliko od drugih bakterij vsebujejo sterole. Mikoplazme sterole dobijo od gostitelja in z njimi zmanjšajo fluidnost lastnih membran.

ZAKAJ IONIZIRANE MOLEKULE NE PREHAJAJO ZLAHKA SKOZI MEMBRANO? KAKO JO PREIDEJO?

Ionizirane molekule dobijo hidratacijski ovoj, zaradi česar težko prehajajo membrane. Prehajajo lahko torej le z aktivnim transportom, pri čemer sodelujejo posebni prenašalci in se porablja energija.

DELOVANJE MEMBRANSKIH TRANSPORTNIH PROTEINOV

Transportni proteini delujejo pri aktivnem transportu. Lahko so integralni proteini, lahko so povezani še s perifernimi proteini ali ATPazo, lahko pa gre za cele serije proteinov. Integralni proteini so lahko uniformni, simportni ali antiportni in delujejo s pomočje energije pridobljene iz ATP ali protonskega gradienta (H^+ ali Na^+).

ZAKAJ SO POTREBNI TRANSPORTNI PROTEINI?

Potrebni so za prenos snovi proti koncentracijskemu gradientu.

KATERE SNOVI LAHKO PREHAJAJAJO V CELICO PASIVNO?

Voda, plini, enostavni sladkorji in molekule topne v maščobah (alkoholi, maščobne kisline ...).

RAZLIKE MED AKTIVNIM IN PASIVNIM TRANSPORTOM

Pri aktivnem transportu gre za prenos snovi proti koncentracijskemu gradientu in je za to potrebna energija, pri pasivnem transportu pa topljenec prehaja iz visoke k nizki koncentraciji in dodatna energija ni potrebna.

OPIŠI SKUPINSKO TRANSLOKACIJO GLUKOZE

Skupinska translokacija je oblika aktivnega transporta predvsem sladkorjev pa tudi pirinov in pirimidinov. Glukoza, ki se prenaša, se med transportom kemijsko modificira – fosforilira (fosfotransferazni sistem).

OPIŠI ABC TRANSPORTNI SISTEM

ATP binding cassette (ABC) oz. ATP transporter je transmembranski protein, ki uporablja energijo hidrolize oz. cepitve ATP-ja za aktivni transport preko membrane. Značilen je predvsem za G- bakterije.

OPIŠI TRANSPORT SNOVI S PERMEAZAMI

Permeaze sodelujejo pri pospešeni difuziji, kjer pasivno odprejo kanale in omogočijo pasiven prehod snovi. Med permeaze spadajo tudi porini.

GLAVNE STRUKTURNE KOMPONENTE TREH GLAVNIH TIPOV AKTIVNEGA TRANSPORTA SNOVI

Skupinska translokacija – gre za celo kaskado med seboj povezanih proteinov, za energijo pa se porablja PEP.

Aktivni transport – sodelujejo prenašalci, ki imajo specifično vezavno mesto za substrat in proton (ta omogoča energetsko ugodnejši prenos). Energija prihaja iz ATP ali protonske gibalne sile.

ABC transport – sodelujejo transmembranski in periplazmatski proteini, ATP hidrolaza – porablja se ATP.

Do kemijskih sprememb snovi pride samo pri skupinski translokaciji, kjer se snov fosforilira.

KATERE TIPE VKLJUČKOV NAJDEMO V BAKTERIJSKIH CELICAH?

- Volutinske inkluzije – rezerva fosfata, ki je potreben za sintezo ATP (so identifikacijski znak)
- Lipidne inkluzije – zaloga C in energetska rezerva (v obliki PHB – poli β -hidroksibutirinska kislina, ki spada med PHA)
- Žveplene granule – žveplo se akumulira znotraj celice ali v periplazmatski špranji
- Karboksosome – metabolni vključki, saj v njih poteka Calvinov cikel (pri fototrofnih in kemolitotrofnih)
- Polisaharidne granule – energetska rezerva v obliki škroba ali glikogena
- Plinske vakuole – omogočajo gibanje v vodnem stolpcu, zato jih najdemo samo pri akvatičnih mikroorganizmih; zgrajene so zelo kompleksno-obdane z rigidno membrano (ta je iz dveh vrst proteinov, GvpA, ki je prečno povezan z GvpC in nekaj polisaharidov)
- Magnetosomi – vsebujejo kristale magnetita in omogočajo magnetotaksijo (orientacija v magnetnem polju); imajo kompleksno membrano, morfologija pa je vrstno specifična

RAZLIKE MED BAKTERIJSKIMI VKLJUČKI IN ORGANELI

Bakterijski vključki niso obdani s pravimi membranami, njihova vloga pa je predvsem shranjevanje založnih snovi in metabolnih produktov ter gibanje. Organeli pri evkariontih so obdani z membrano in v njih večinoma potekajo določeni metabolni procesi.

OPIS KROMOSOMA BAKTERIJ

V večini primerov je ta krožni, kovalentno zaprt in ni povezan s histoni (arheje lahko imajo proteine, vendar ne histonov). Jedra ni, obstaja le jedrna regija v kateri se nahaja kromosom. Prokarionti so zmeraj haploidni, zato se izrazi vsaka mutacija. Izjeme so nekatere bakterije, ki imajo linearni kromosom, nukleoid z dvema jedrnima membranama ali več kopij kromosomov.

Kromosom bakterij vsebuje superzavita območja, ki jih vzdržujejo posebni proteini. DNA je lahko zavita pozitivno (desnosučna) pri arhejah ali negativno (levosučna), ki je pogostejša. Encim za zasukanje pri bakterijah in arhejah je DNA giraza = DNA topoizomeraza II. Encim za odvijanje in zavijanje v desno je tako pri ev- kot pri prokariontih DNA helikaza = DNA topoizomeraza I. Odvijanje pozitivno zavitih DNA pri arhejah pa katalizira reverzna giraza.

Skoraj vsa DNA pri prokariontih je kodirajoča (eksoni), intronov skorajda ni.

KAJ JE NUKLEOID?

Nukleoid ali jedrna regija je območje v katerem se nahaja prokariontski kromosom in je nadomestek za evkariontsko jedro.

GENETSKE IZMENJAVE PRI PROKARIONTIH

Potekajo vedno enosmerno (od donorja do recipienta)-paraseksualni proces. Gre za fragmentaren proces (nikoli celotni kromosom).

Konjugacija je izmenjava dednine preko pilusa med dvema bakterijama. Recipientska celica dobi zmožnost rasti pilusa.

Transdukcija je prenos dednega materiala z bakteriofagi (lizogenimi virusi), ki se vključijo v genom celice.

Transformacija pa je privzem proste DNA iz okolja

BAKTERIJSKA ENDOSPORA - ZGRADBA IN POMEN ZA BAKTERIJE IN LJUDI.

Endospora je diferenciacija bakterijske celice in je dormantna ter izjemno rezistentna struktura. Sposobnost sporulacije (tvorbe spor) imajo le G+ bakterije (20 rodov). Endospore lahko mirujejo tisoče let, dokler pogoji niso primerni za kalitev. Spora je zgrajena iz sredice, ki je ostanek vegetativne celice, korteksa (podaljšana celična stena), spornega plašča (debel, nepropusten, iz več proteinskih plasti) in eksosporiuma (tanek, proteinski). Bakterija si s tvorbo endospore zagotovi preživetje v za vegetativno celico letalnih pogojih (izjemna odpornost na sevanje, kemijske agense, izsuševanje, visoke temperature ...). Človek se endospor lahko znebi z dvojno sterilizacijo na 120°C.

SPORULACIJA

Je proces, ki poteka v sporangiju in pri tem procesu sodeluje okoli 200 genov. Sporogeneza poteče v 8-10 urah, če je celica izpostavljena subletalnim pogojem. DNA se zgosti v aksialni filament, ki ga stabilizirajo SASP proteini. Citoplazmatska membrana se uviha in obda del celice, ki bo v spori – ta dobi dvojno membrano. Med membranama se oblikujejo dodatne ovojnice. Vmes se odvija dehidracija s Ca-dipikolinatom, ki zaščiti tudi DNA. Ko spora dozori, sporangij razpade v procesu avtolize. Pri tem se pH v celici zniža na okoli 5,5, spora pa vsebuje le še 10-20% vode vegetativne celice.

KAJ JE DIPIKOLINSKA KISLINA IN KJE JO NAJDEMO?

Dipikolinska kislina se pojavi, ko celica vstopi v proces sporulacije. Sestavljena je iz ciklične mrežne strukture, ki se s Ca poveže v Ca-dipikolinat. V spori nadomesti vodo in stabilizira DNA. Razgradi se, ko se prične kalitev.

KAJ SO SASP IN KAKŠNA JE NIHOVA FUNKCIJA?

SASP so majhni v kislinah topni proteini, ki v spori stabilizirajo DNA in jo zaščitijo pred tvorbo timinskih dimerov. Razgradnja SASP je vir prve energije pri kalitvi ensopor.

KAJ SE ZGODI, KO ENDOSPORA ZAČNE KALITI?

Za aktivacijo kalitve je potrebna voda in dovolj visoka temperatura (ugodni pogoji). Endospora sprejme veliko vodo in nabrekne, tako da zunanji ovoj počne in se sredica sprosti. Celica tako izgubi rezistenco, razgradi se SASP in Ca-dipikolinat. Poveča se metabolizem celice, celica raste in se začne deliti.

GIBANJE MIKROORGANIZMOV

NAČINI GIBANJA BAKTERIJ

Aktivno z bički in polzenjem ter s plinskimi vezikli. Spirohete tudi z aksialnimi fibrilami. Rojenje-začasna formacija bička.

RAZLIKA MED BAKTERIJSKIM IN EVKARIONTSKIM BIČKOM

Evkariontski biček je iz mikrotubulov (9x2 + 2) in bazalnega telesa, s katerim je pripet v membrano celice. Bakterijski pa je zgrajen iz filamenta (iz proteina flagelina), proteinskega kavlja in motorja, ki ga sestavljata en ali dva para obročev (Mot in Fli proteini). Poleg tega se evkariontski biček upogiba, bakterijski pa se samo vrti okoli svoje osi in spreminja nagib glede na celico.

RAZPOREDITEV BIČKOV PRI BAKTERIJAH

To je taksonomski znak.

- Monotriha – en biček na polu
- Amfitriha – en ali več bičkov na polih
- Lofotriha – šop bičkov
- Peritriha – bički po celotni celici