

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Ενότητα β΄

Οργάνωση και δομή του Μικροβιακού Κυττάρου

Το κύτταρο

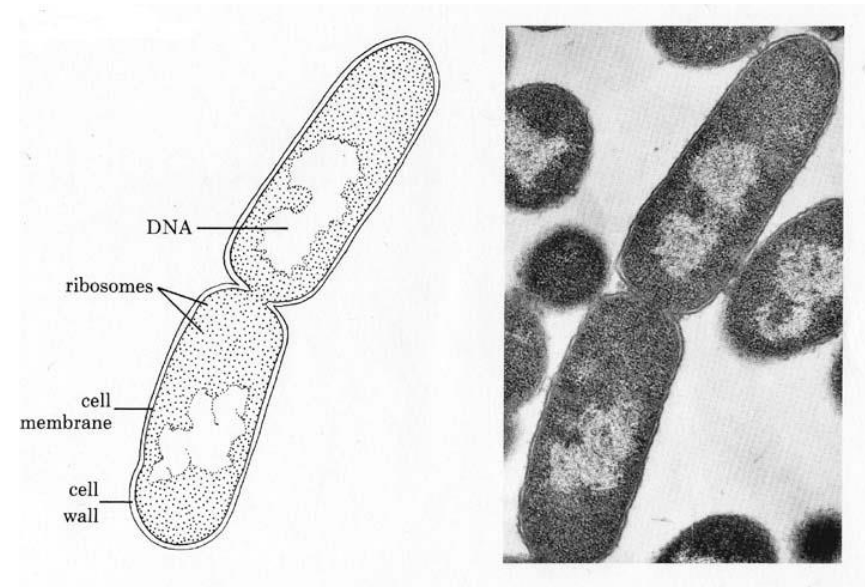
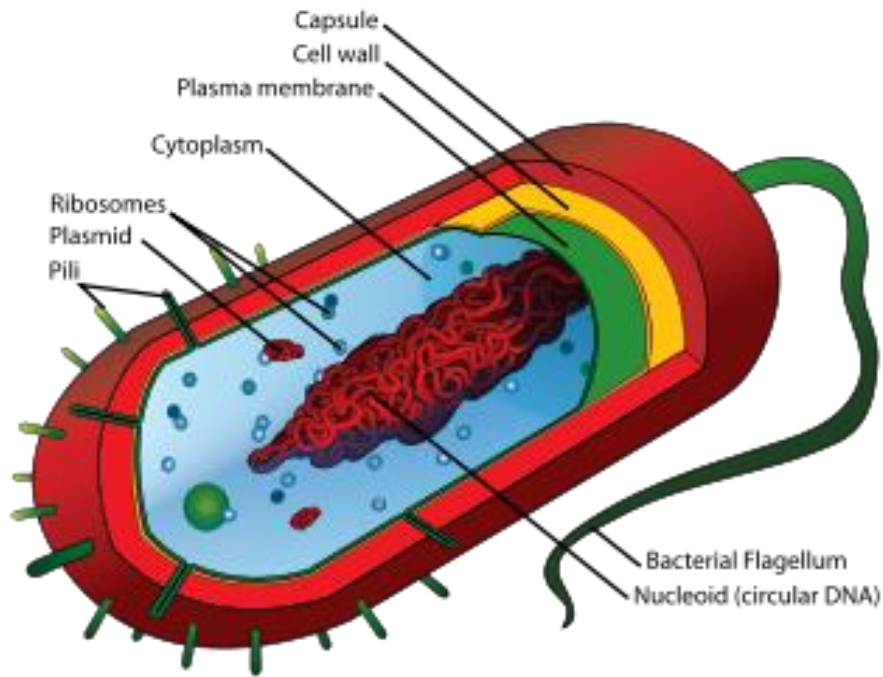
Βασικές λειτουργίες:

Διπλασιασμός του DNA

Σύνθεση κυτταρικών συστατικών

Παραγωγή ενέργειας μέσω κυτταρικών διεργασιών

A. Οργάνωση και δομή του **προ**καρυωτικού Κυττάρου



Γενικά χαρακτηριστικά του προκαρυωτικού κυττάρου

Απουσία ενδοκυτταρικών οργανιδίων.

Συνήθως κυκλικό DNA.

Παρουσία ριβοσωμάτων, πιθανώς αποθησαυριστικών υλών στο
κυτταρόπλασμα.

Πιθανή παρουσία εξωκυτταρικών μαστιγίων, σμηρίγγων, κυτταρικών
εκφύσεων.

Κυτταρικό περίβλημα

Η **κυτταρική μεμβράνη** περιβάλλεται από **κυτταρικό τοίχωμα** (πεπτιδογλυκάνες στα βακτήρια) το οποίο μπορεί να περιβάλλεται από ένα επιπλέον στρώμα (**εξωτάτη στιβάς**).

Τα κυτταρικά περιβλήματα των μικροοργανισμών αποτελούνται από τρία μέρη:

Το πιο εξωτερικό περίβλημα ονομάζεται **εξωτάτη στιβάς (όποτε απαντάται)** και είναι είτε έλυτρο, ή ιξώδες στρώμα. Διαφέρει πάρα πολύ στα διαφορετικά είδη των βακτηρίων.

Ακολουθεί η **κυτταρική μεμβράνη**, που σε ορισμένους οργανισμούς (αρνητικά κατά Gram) βρίσκεται κάτω από το εξωτερικό περίβλημα και περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα.

Κάτω από την εξωτάτη στιβάδα ή την κυτταρική μεμβράνη υπάρχει το **κυτταρικό τοίχωμα**.

A.1. Η κυτταρική μεμβράνη

A.1.1. Σύσταση-μορφολογία

Απομονώνει το εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα) από τον εξωτερικό χώρο. Είναι εύκαμπτη και λεπτή επιφάνεια
Ρυθμίζει τη μεταφορά διαφόρων ουσιών προς και από το κύτταρο.
Παραγωγή ενέργειας.

Αποτελείται από λιπίδια και πρωτεΐνες τα οποία συνθέτουν ένα ρευστό μωσαϊκό
Διπλή στρώση λιπιδίων, το πολικό μέρος προς τα έξω, το υδρόφοβο κομμάτι εσωτερικά.

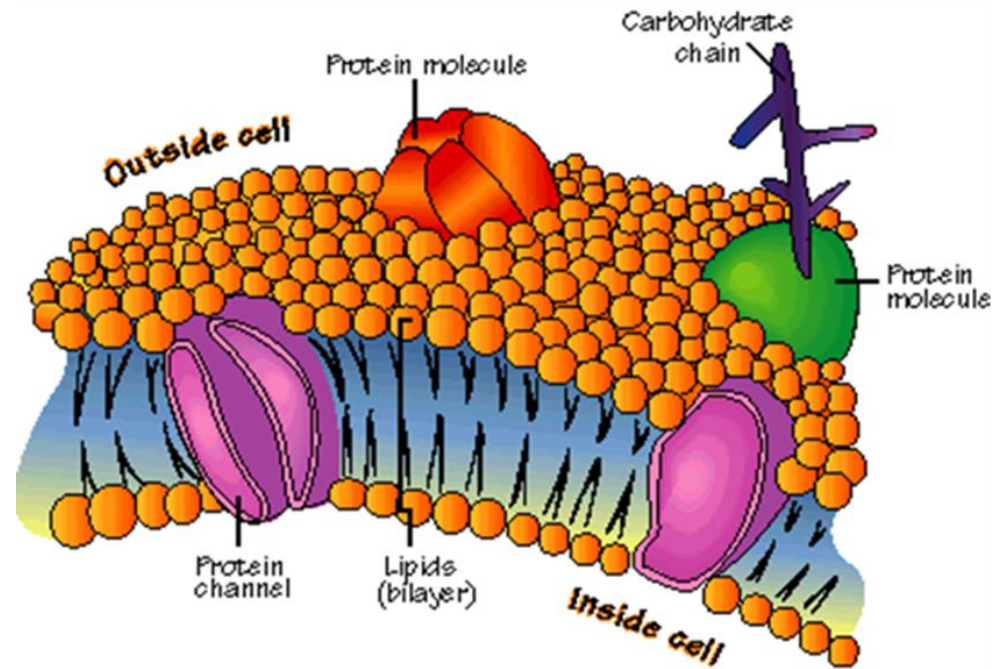
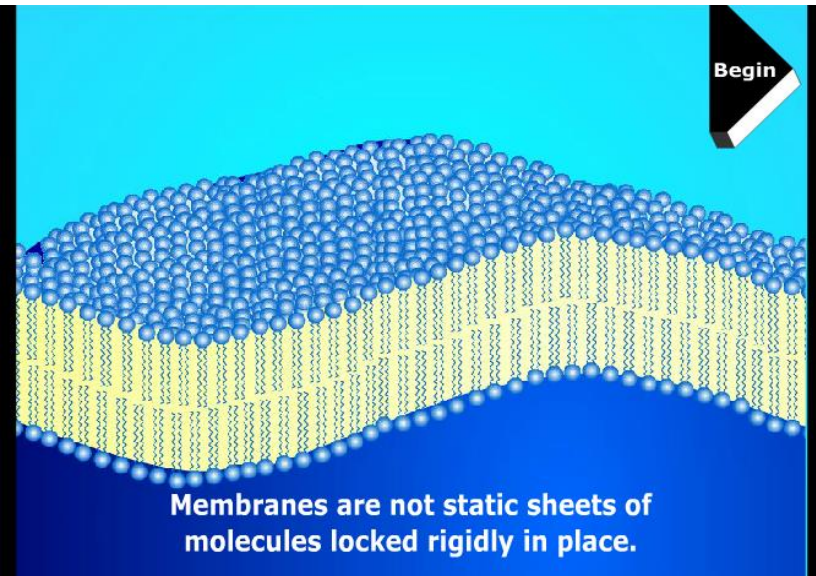
Βακτήρια: φωσφολιπίδια σε διπλή στιβάδα, εστερικοί δεσμοί, λιπαρά οξέα 16-18 C ευθείας αλυσίδας.

Αρχαία: σουλφολιπίδια, γλυκολιπίδια, μη πολικά ισοπρενοειδή, φωσφολιπίδια αιθερικοί δεσμοί, δυνατή και η μονοστιβάδα (τετραϊθέρες της διγλυκερόλης σε υπερθερμόφιλα αρχαία), διακλαδιζόμενες αλκοόλες.

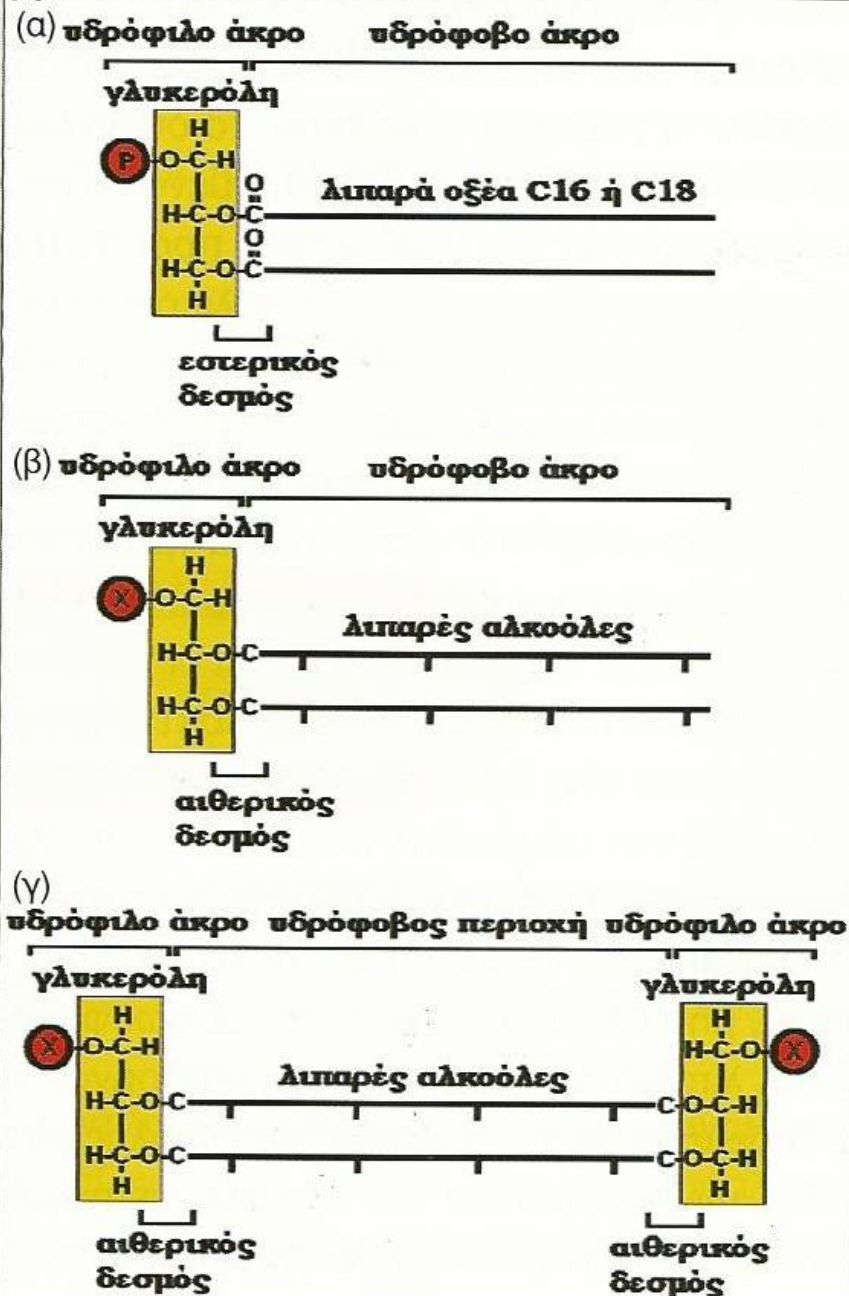
Ο βαθμός κορεσμού των λιπιδίων εξαρτάται από τη θερμοκρασία: ψηλές θερμοκρασίες trans και κορεσμένα.

Στερόλες σε μεμβράνες μερικών μυκοπλασμάτων.

Cytoplasmic Membrane

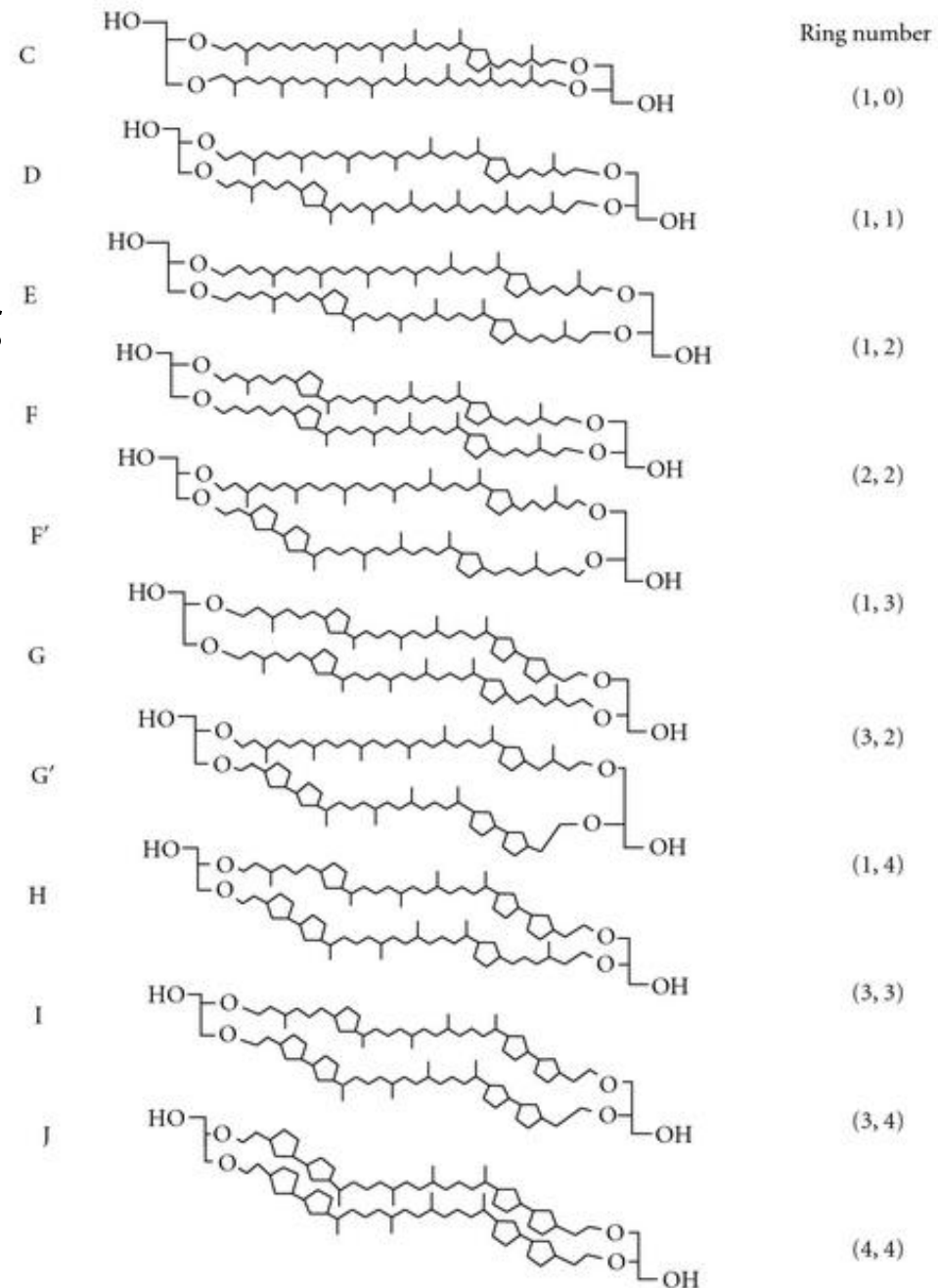


Εικόνα 2.3: Στα λιπίδια των μεμβρανών των βακτηρίων οι αλειφατικές ομάδες είναι συνδεδεμένες με το μόριο της γλυκερόλης με εστερικούς δεσμούς (α) ενώ στα λιπίδια των μεμβρανών των αρχαίων με αιθερικούς (β, γ). Οι μεμβράνες των υπερθερμόφιλων αρχαίων δύναται να είναι απλής στρώσης λιπιδίων, αποτελούμενες από τετρααιθέρες της διγλυκερόλης (γ). Οι αλειφατικές ομάδες των λιπιδίων των βακτηριακών μεμβρανών είναι λιπαρά οξέα ευθείας αλυσίδας (με 16 ή 18 άτομα άνθρακα) ενώ των λιπιδίων των μεμβρανών των αρχαίων λιπαρές αλκοόλες διακλαδιζόμενης αλυσίδας (π.χ. φυτανόλη).



Τετρααιθέρες της γλυκερόλης:

συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης
θερμόφιλων αρχαίων



A.1.2. Λειτουργικός ρόλος της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

Σημείωση:

Αναφέρεται η **μεταφορά** χημικών ουσιών, με παθητική και ενεργό μεταφορά. Ο ρόλος στην αναπνοή θα εξεταστεί στη θεματική ενότητα γ.

A.1.2.1. Παθητική μεταφορά

Πραγματοποιείται χωρίς δαπάνη ενέργειας

α. Παθητική διάχυση

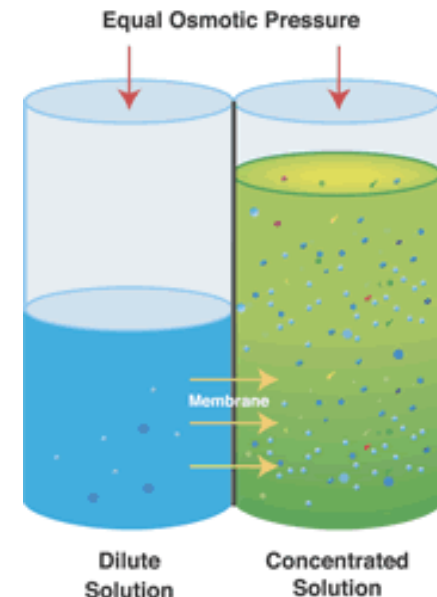
Απαιτεί κλίση στη συγκέντρωση ένθεν και ένθεν της μεμβράνης. Πχ O_2 και CO_2 . Σταματά όταν επέλθει ισορροποία στις συγκεντρώσεις

β. Διευκολυνόμενη διάχυση

Απαιτεί κλίση στη συγκέντρωση ένθεν και ένθεν της μεμβράνης καθώς και εξειδικευμένες πρωτεΐνες-μεταφορείς που εμφανίζουν κινητική κορεσμού. Σπάνιος μηχανισμός, πχ γλυκερόλη

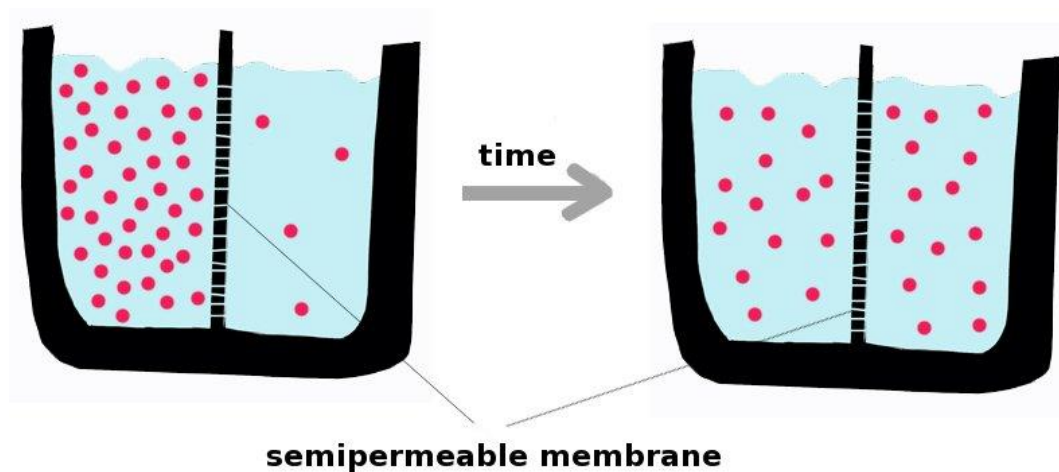
γ. Ώσμωση

Το νερό μεταφέρεται δια μέσου των μεμβρανών



α. Παθητική διάχυση

- Η κίνηση μορίων μεταξύ μεμβράνης από την υψηλότερη στην χαμηλότερη συγκέντρωση.
- Τα μόρια τείνουν να διαχέονται έως ότου επέλθει ισορροπία συγκεντρώσεων.

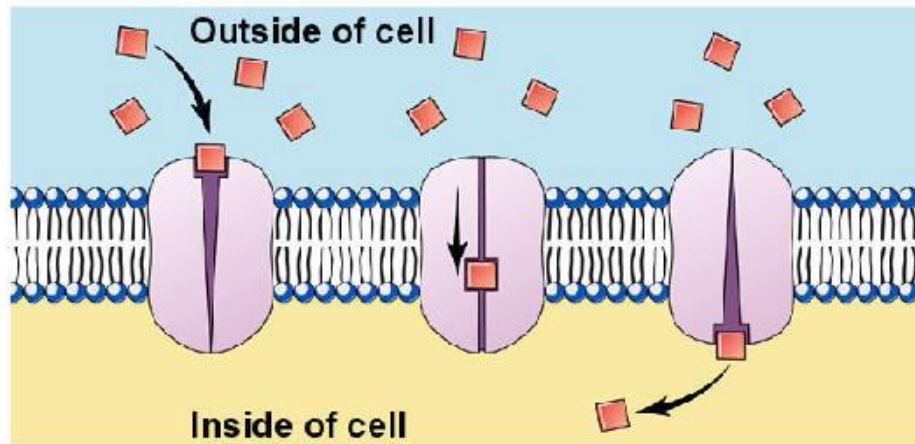


β. Διευκολυνόμενη διάχυση

- Πρωτεΐνες μεταφορείς βοηθούν μικρά μορια να κινηθούν μεταξύ μεμβρανών.
- Δεν απαιτείται ενέργεια.

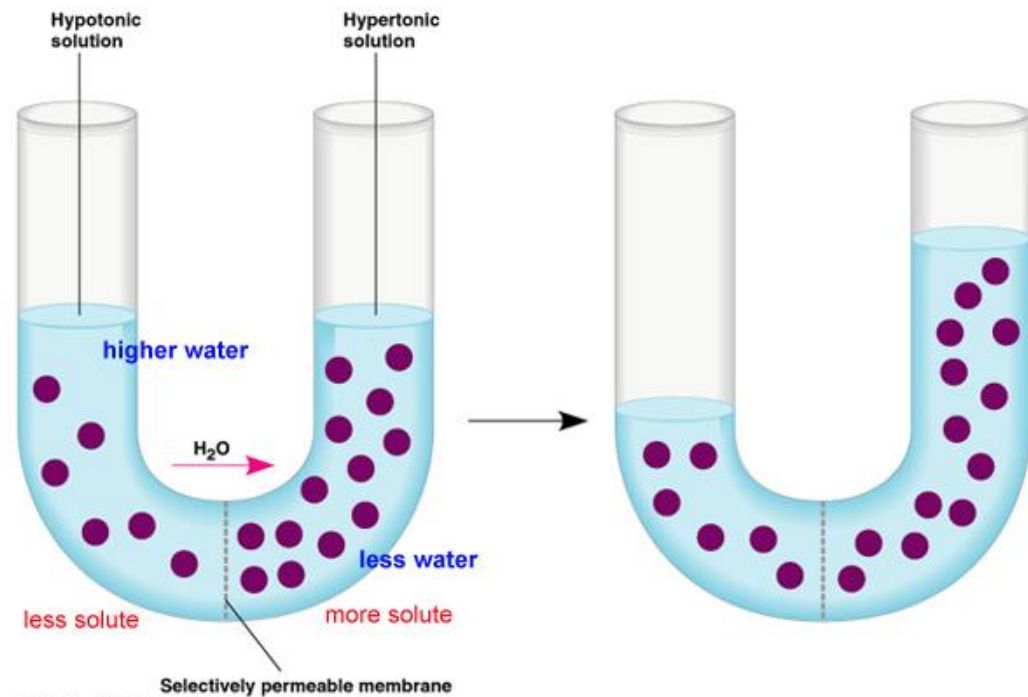
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Facilitated Diffusion



γ. Ώσμωση

- Διάχυση του νερού μεταξύ επιλεκτικά διαπερατών μεμβρανών.
- Δεν απαιτείται ενέργεια.



A.1.2.2. Ενεργός μεταφορά

Πραγματοποιείται με δαπάνη ενέργειας

α. Ενεργός μεταφορά με κατανάλωση ηλεκτροχημικής ενέργειας

Οι ουσίες μεταφέρονται αυτούσιες μέσω περμεασών.

Περμεάσες: μονομεταφορείς ή συμμεταφορείς.

Η μεταφορά γίνεται με κατανάλωση ηλεκτροχημικής ενέργειας (πχ πρωτονιοκινητική δύναμη ή PMF*) αντλούμενης από την ιοντική διαβάθμιση εγκάρσιως της μεμβράνης.

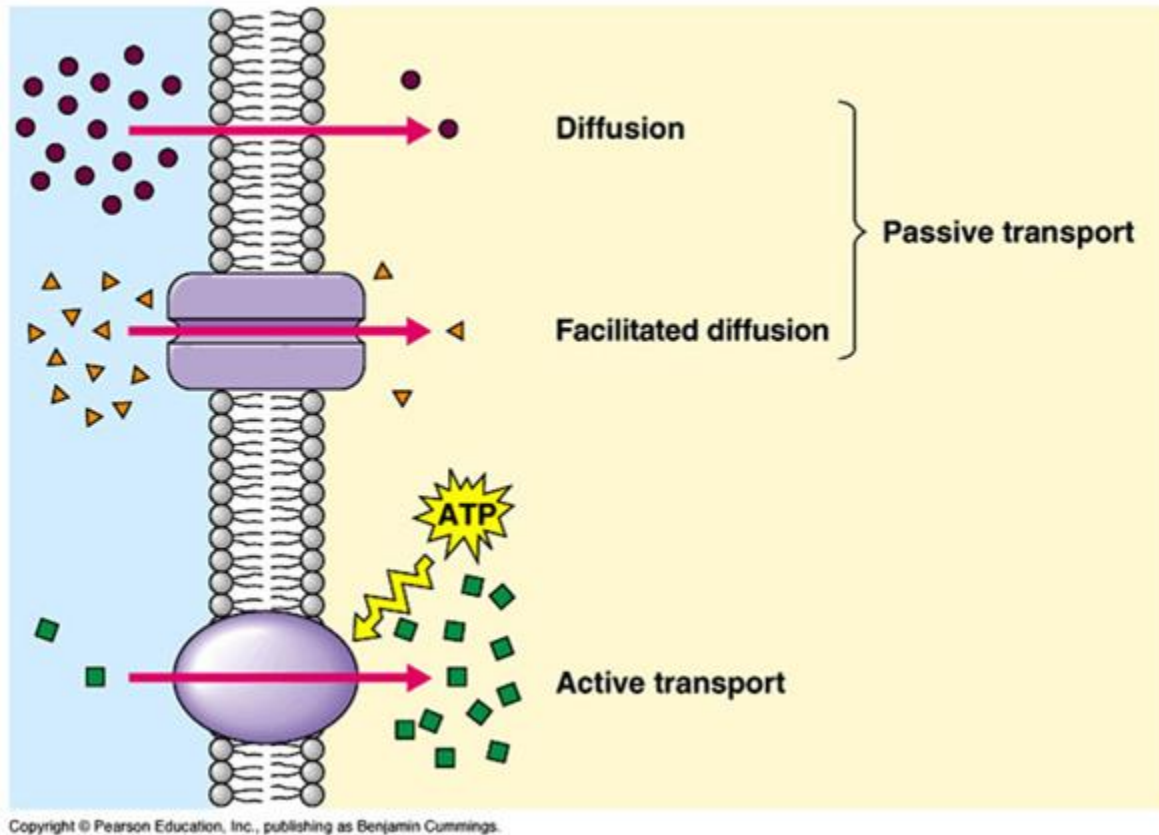
Χρήση της υψηλής ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης πρωτονίων για μεταφορά κατιόντων K^+ από το εξωκυττάριο περιβάλλον στο ενδοκυττάριο. Χρησιμοποιούνται περμεάσες συμμεταφορείς με PO_4^{3-} ή ουδέτερα μόρια (σάκχαρα, αμινοξέα)

Μηχανισμός μείζονος σημασίας για τους προκαρυωτικούς οργανισμούς.

Στους ευκαρυωτικούς συναντάται σε ορισμένες μεμβράνες υποκυτταρικών οργανιδίων (χλωροπλάστες και μιτοχόνδρια).

*PMF: Η αποθήκευση ενέργειας που προκύπτει από το συνδυασμό διαφοράς της συγκέντρωσης πρωτονίων και της διαφοράς δυναμικού εκατέρωθεν μιας μεμβράνης. Η ενέργεια χημικού δυναμικού οφείλεται στη διαφορά συγκέντρωσης των πρωτονίων. Η ενέργεια ηλεκτρικού δυναμικού είναι συνέπεια της μετακίνησης φορτίων (όταν τα πρωτόνια αλλάζουν πλευρά μεμβράνης χωρίς το αντιόν τους).

Βακτήρια



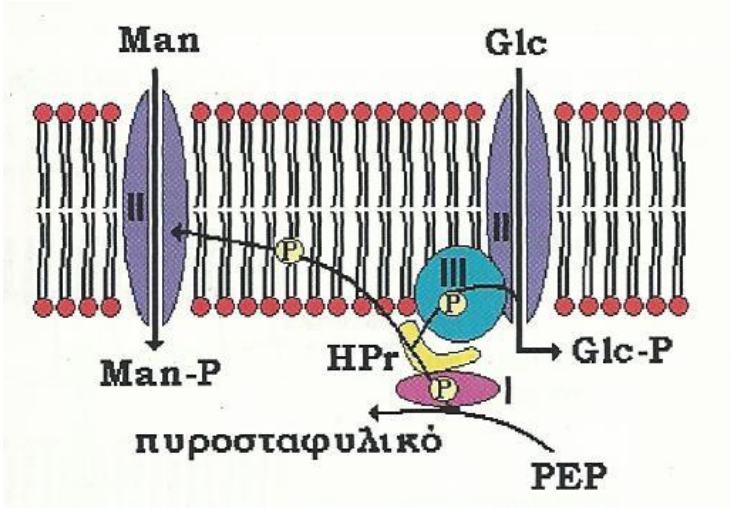
Source: <http://thebasisoflife.wikispaces.com/file/view/c8x16types-transport.jpg/30540339/c8x16types-transport.jpg>

β. Ενεργός μεταφορά μέσω του συστήματος φώσφορο-ενόλο-πυροσταφυλικού: φωσφοροτρανσφεράσης (PEP:PTS)

Απαντάται σε προκαρυωτικούς οργανισμούς που μπορούν να ζούν *αναερόβικα* (υποχρεωτικά ή δυνητικά αναερόβιοι).

Συμμετέχουν εξειδικευμένες περμεάσες (σε επαφή με το ένζυμο II) για κάθε μεταφερόμενο μόριο (απλά σάκχαρα) το οποίο και φωσφορυλιώνεται κατά τη διέλευση μέσω της μεμβράνης.

- 1. Αρχικά η φωσφορική ομάδα μεταφέρεται από το PEP στην πρωτεΐνη HPr μέσω του ενζύμου I.
- 2. Η HPr (πρωτεΐνη ιστιδινών) μεταφέρει το PO_4^{3-} στο ένζυμο III που με τη σειρά του φωσφορυλιώνει το ένζυμο II.
- 3. Το ένζυμο II φωσφορυλιώνει την περμεάση και αυτή το υπόστρωμα.



Σε μερικές περιπτώσεις (μαννιτόλη), η HPr μεταφέρει το PO_4^{3-} κατευθείαν στο ένζυμο II.

γ. Ενεργός μεταφορά μέσω δεσμευτικών πρωτεϊνών

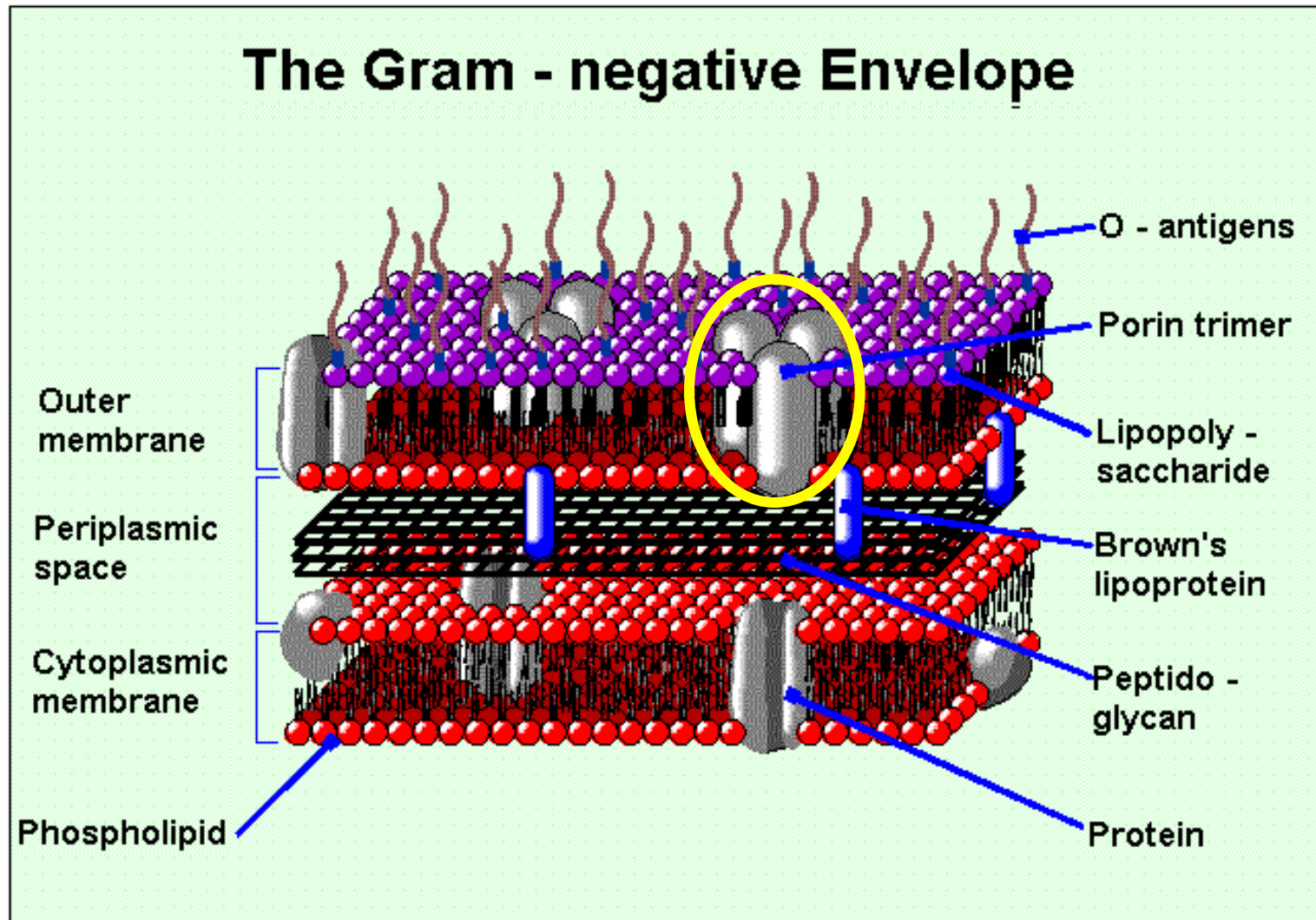
Απαντάται στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια (διαθέτουν και 2^η κυτταροπλασματική μεμβράνη, εξωτερική μεμβράνη).

Η ουσία (πχ μαλτόζη) περνά από την εξωτερική μεμβράνη με παθητική διευκολυνόμενη διάχυση (πορίνη LamB) και μεταφέρεται στον περιπλασματικό χώρο μεταξύ εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης. Εκεί δεσμεύεται σε ειδικές πρωτεΐνες και μεταφέρεται στο σύμπλεγμα περμεάσης της μαλτόζης που αποτελείται από τις MalF, MalG και MalK. Οι MalF και MalG είναι περμεάσες, η MalK υδολυει ATP και αποδίδει την ενέργειά του στις περμεάσες MalF και MalG για την πραγματοποίηση της μεταφοράς.

Σύστημα ευαίσθητο σε ωσμωτικές αλλαγές καθώς οι δεσμευτικές πρωτεΐνες αποβάλλονται από τον περιπλασματικό χώρο σε συνθήκες ωσμωτικής καταπόνησης.

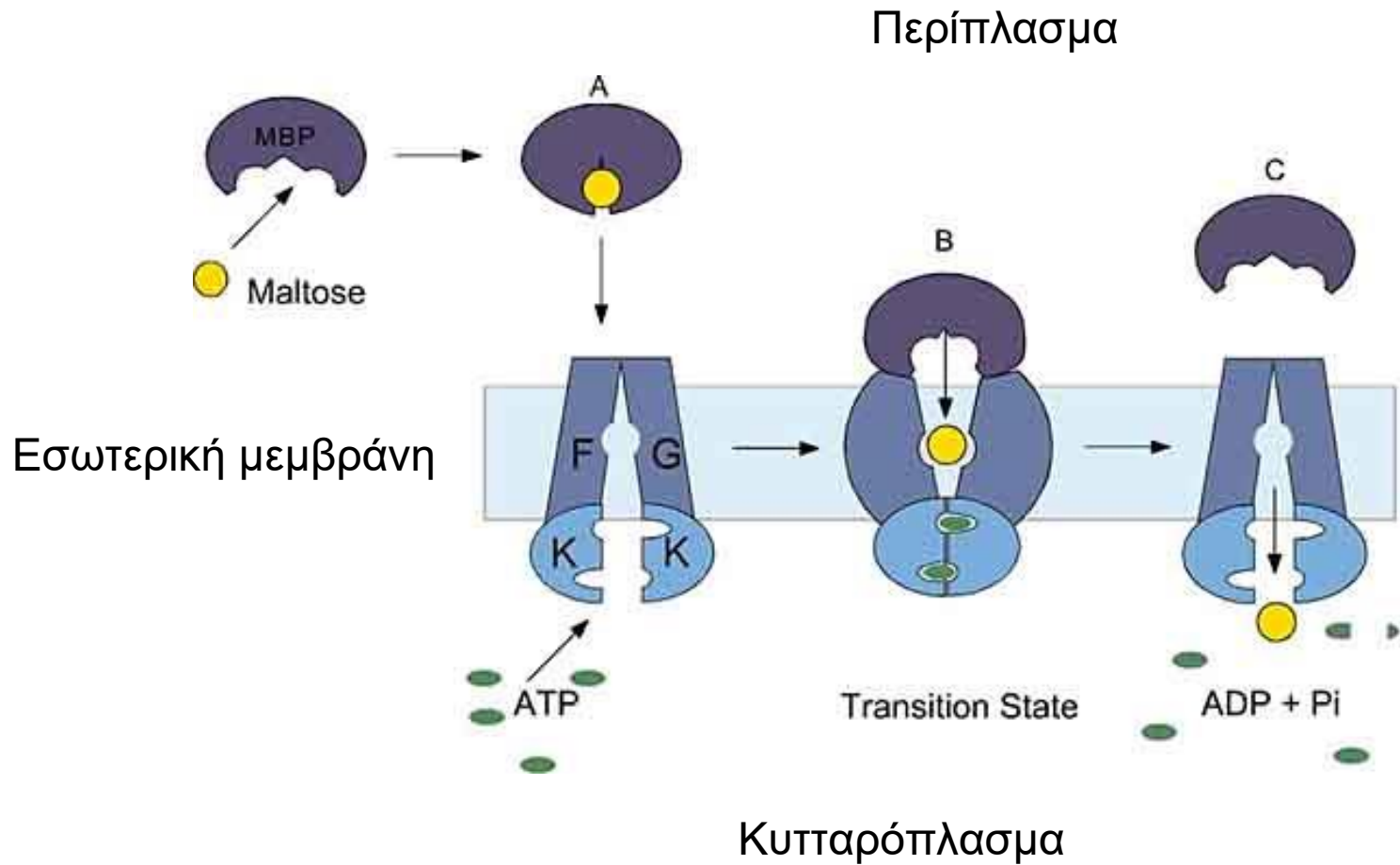
γ. Ενεργός μεταφορά μέσω δεσμευτικών πρωτεϊνών:

Στάδιο 1- παθητική διευκολυνόμενη διάχυση στο περίπλασμα μέσω **πορινών**



γ. Ενεργός μεταφορά μέσω δεσμευτικών πρωτεϊνών:

Στάδιο 2- ενεργή μεταφορά στο κυτταρόπλασμα



Τα κυτταρικά περιβλήματα των μικροοργανισμών αποτελούνται από τρία μέρη:

Το πιο εξωτερικό περίβλημα ονομάζεται **εξωτάτη στιβάς (όποτε απαντάται)** και είναι είτε έλυτρο, ή ιξώδες στρώμα. Διαφέρει πάρα πολύ στα διαφορετικά είδη των βακτηρίων.

Ακολουθεί η **κυτταρική μεμβράνη**, που σε ορισμένους οργανισμούς (αρνητικά κατά Gram) βρίσκεται κάτω από το εξωτερικό περίβλημα και περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα.

Κάτω από την εξωτάτη στιβάδα ή την κυτταρική μεμβράνη υπάρχει το **κυτταρικό τοίχωμα**.

A.2. Το κυτταρικό τοίχωμα

Η πεπτιδογλυκάνη είναι το κύριο συστατικό:
Μοναδικό μακρομόριο. Αποτελείται από ένα
επαναλαμβανόμενο σκελετό μακριών αλυσίδων
γλυκάνης που συνδέονται με μικρά πεπτίδια

A.2.1. Το κυτταρικό τοίχωμα-γενικά χαρακτηριστικά

Περιβάλλει την κυτταρική μεμβράνη

Εύκαμπτο και πορώδες, είναι διαπερατό σε πλήθος μικρών μορίων.

Δίνει τις χαρακτηριστικές μορφές των διαφορετικών ειδών των βακτηρίων
Παρέχει μια στερεή βάση για άλλα βακτηριακά εξαρτήματα: τα μαστίγια, οι σμήρακες, οι βλεφαρίδες έχουν ως βάση το τοίχωμα.

Βοηθά το κύτταρο να αντιμετωπίσει φαινόμενα ωσμώσεως, ιδιαίτερα του υποτονικού εξωτερικού περιβάλλοντος (οι μικροοργανισμοί ζούν κατά κανόνα σε υποτονικά διαλύματα).

Υγεία: σχετίζεται με την ικανότητα του οργανισμού να προκαλεί αρρώστια, ενώ είναι στόχος αντιβιοτικών.



Λύση κυττάρων λόγω
υποτονικού διαλύματος

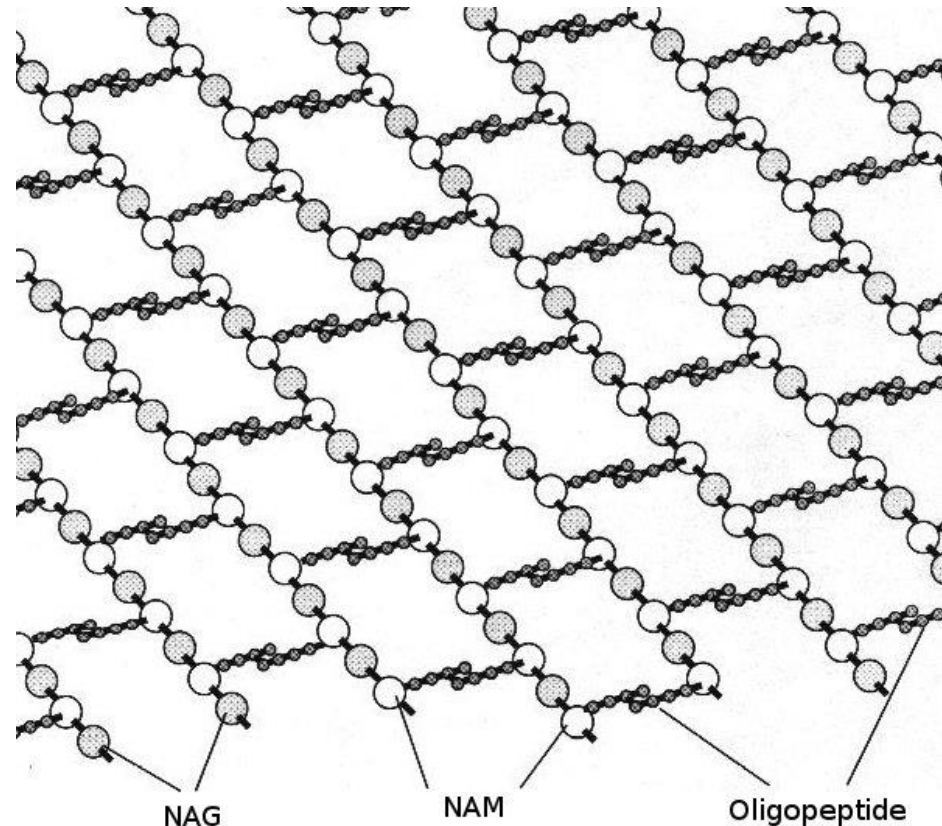


Πλασμόλυση κυττάρων λόγω
υπερτονικού διαλύματος

A.2.2. Το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων-σύνθεση

Περιέχει το γιγαντιαίο μόριο **πεπτιδογλυκάνη** (μυρεΐνη) που αποτελείται από μονάδες N-ακέτυλο-γλυκοζαμίνης (NAG, ○ γκρίζο) και N-ακέτυλο μουραμικού οξέως (NAM, ●) που συνδέονται μεταξύ τους με $\beta(1-4)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς (αλυσίδες NAM-NAG). Μερικές φορές το NAM είναι συνδεδεμένο με το τετραπεπτίδιο L-Ala-D-Glu-L-Lys-(ή διαμινοπιμελικό οξύ: DAP')-D-Ala.

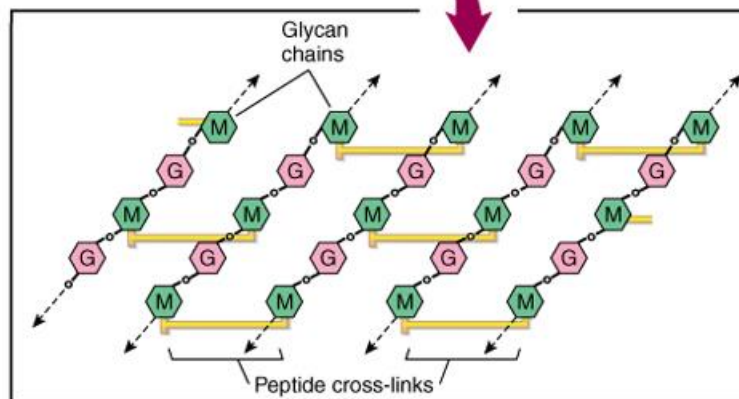
Το τετραπεπτίδιο μπορεί να ενωθεί μέσω πεπτιδικών δεσμών με άλλα πεπτίδια δίνοντας έτσι μεγαλύτερες αλυσίδες. Ένωση των πεπτιδικών αλυσίδων από διαφορετικές αλυσίδες NAM-NAG, δημιουργεί προστατευτικό στρώμα.



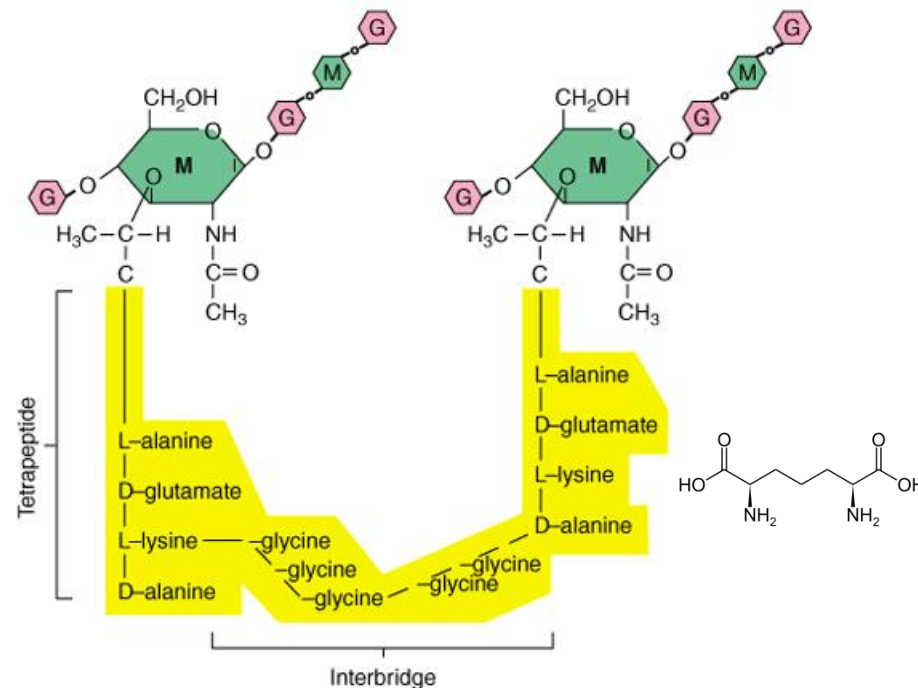
- (a) The peptidoglycan of a cell wall forms a pattern similar to a chain-link fence. It is actually one giant molecule that surrounds and supports the cell.



- (b) This shows the molecular pattern of peptidoglycan. It has alternating glycans (G and M) bound together in long strands. The G stands for *N*-acetyl glucosamine, and the M stands for *N*-acetyl muramic acid. Adjacent muramic acid molecules on parallel chains are bound by a cross-linkage of peptides (yellow).



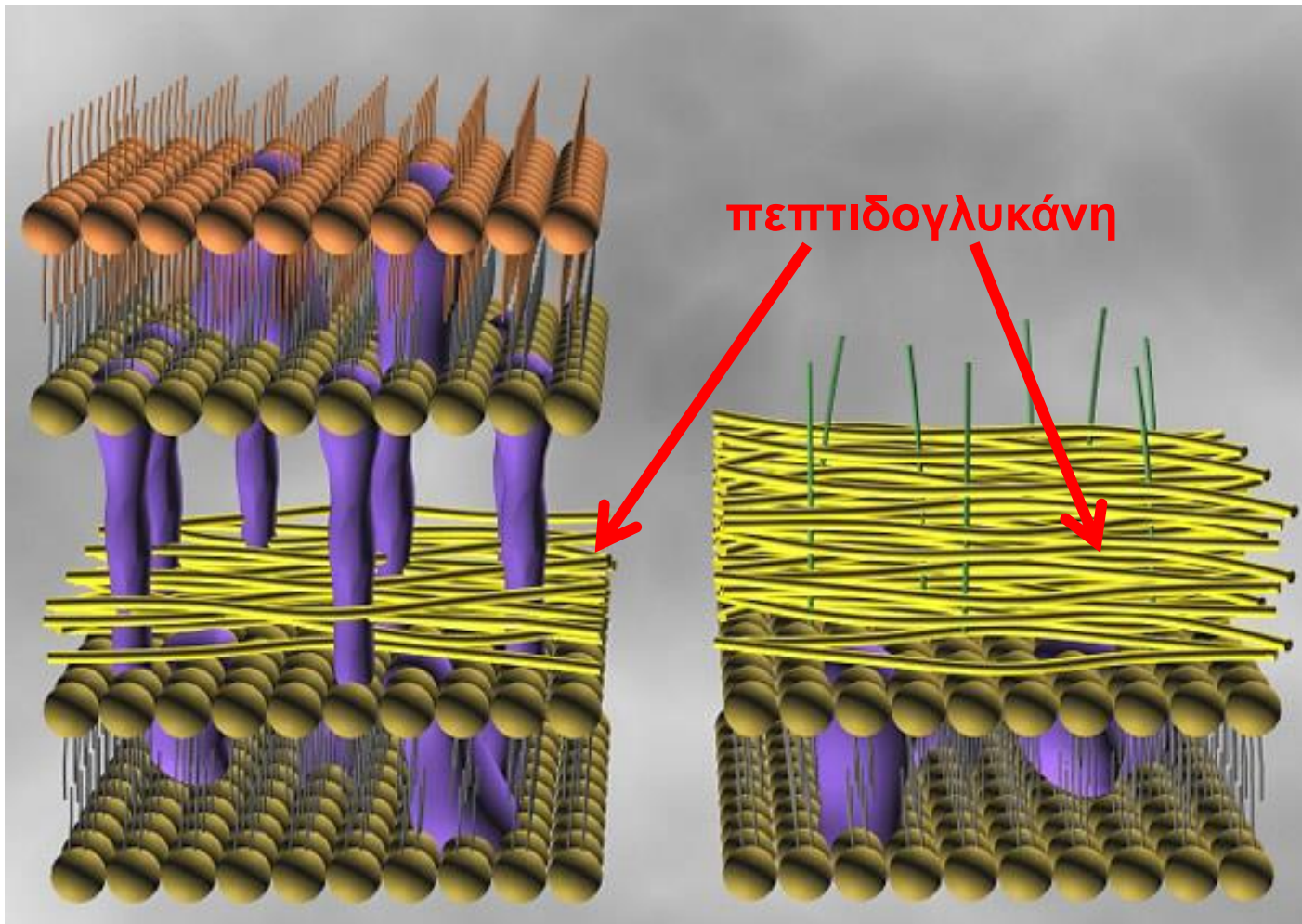
- (c) An enlarged view of the links between the muramic acids. Tetrapeptide chains branching off the muramic acids connect by amino acid interbridges. The amino acids in the interbridge can vary or may be lacking entirely. It is this linkage that provides rigid yet flexible support to the cell.



Α.2.3. Το κυτταρικό τοίχωμα των θετικών και αρνητικών κατά γκράμ βακτηρίων

2 κατηγορίες: Στην πρώτη κατηγορία, η πεπτιδογλυκάνη είναι εκτεθειμένη στον εξωκυττάριο χώρο.

Στη δεύτερη κατηγορία, η πεπτιδογλυκάνη περιβάλλεται από δεύτερη εξωκυτταρική μεμβράνη.



Η χρώση Gram

- Βάση για την αναγνώριση και ταξινόμηση των βακτηρίων
- Πρακτικός τρόπος για τη διάγνωση μολύνσεων και χρησιμοποιείται ως οδηγός στη θεραπεία

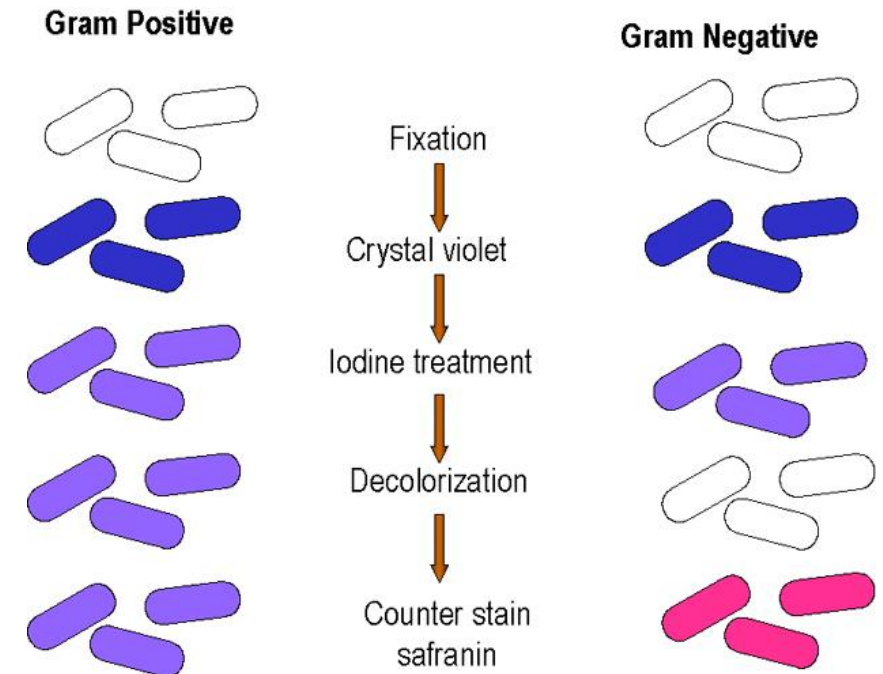
Η χρώση Gram

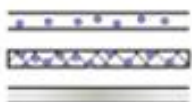
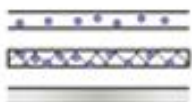
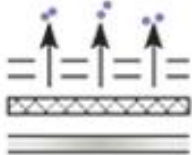
Ο Hans Christian Gram (1853-1938) βρήκε αυτή τη χρώση (1884) στην προσπάθειά του να παρατηρήσει βακτηριακά κύτταρα σε μολυσμένα βιολογικά δείγματα.

Η χρώση Gram χρωματίζει με τρόπο διαφορετικό τα διαφορετικά βακτήρια.



Τα βακτήρια στα οποία η πεπτιδογλυκάνη είναι εκτεθειμένη, δίνουν θετική χρώση κατά Gram. Αυτά στα οποία η πεπτιδογλυκάνη καλύπτεται από την εξωτερική μεμβράνη, δε δίνουν χρώση (αρνητικά κατά Gram).

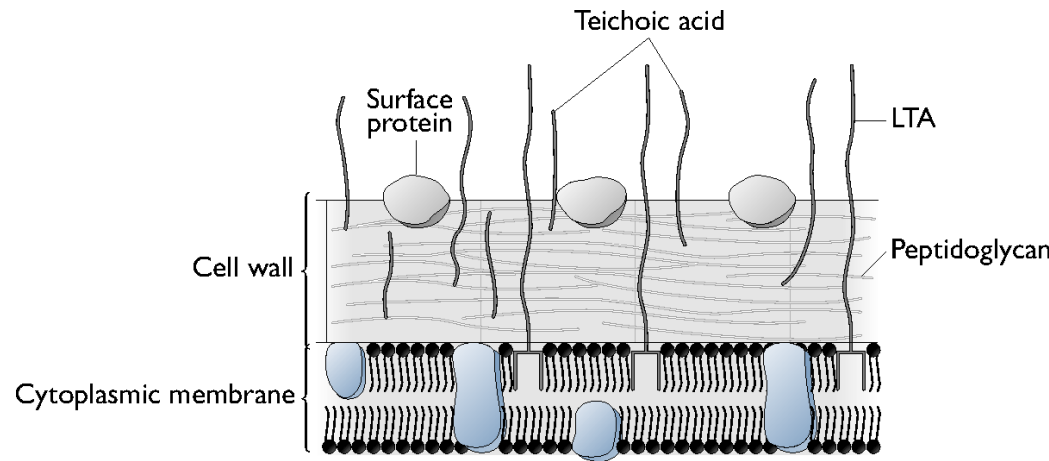
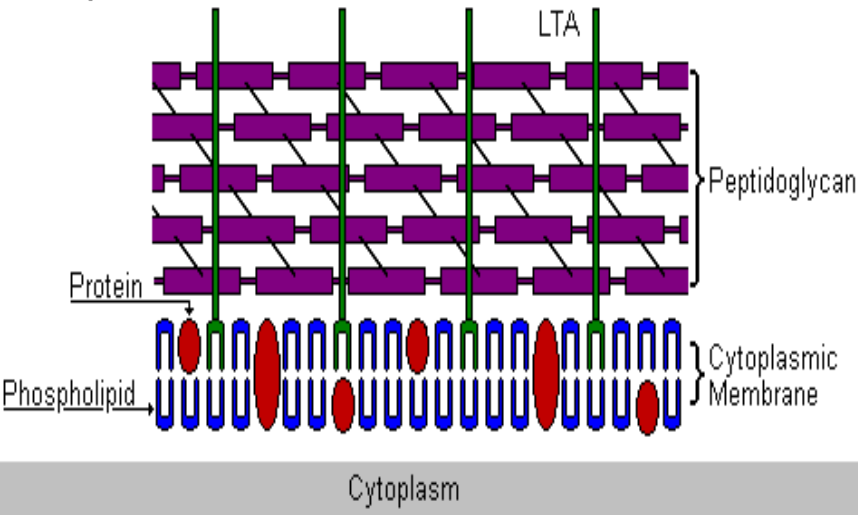


	Microscopic Appearance of Cell		Chemical Reaction in Cell Wall (very magnified view)	
Step	Gram (+)	Gram (-)	Gram (+)	Gram (-)
1. Crystal violet (primary dye)				
			Both cell walls stain with the dye	
2. Gram's iodine (mordant)				
			Dye crystals trapped in cell	No effect of iodine
3. Alcohol (decolorizer)				
			Crystals remain in cell	Outer membrane weakened; cell loses dye
4. Safranin (red dye counterstain)				
			Red dye has no effect	Red dye stains the colorless cell

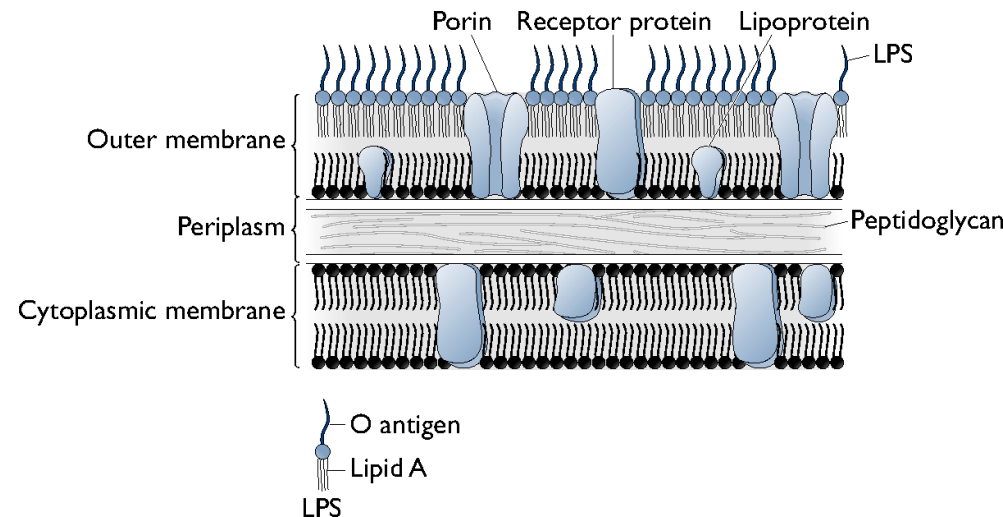
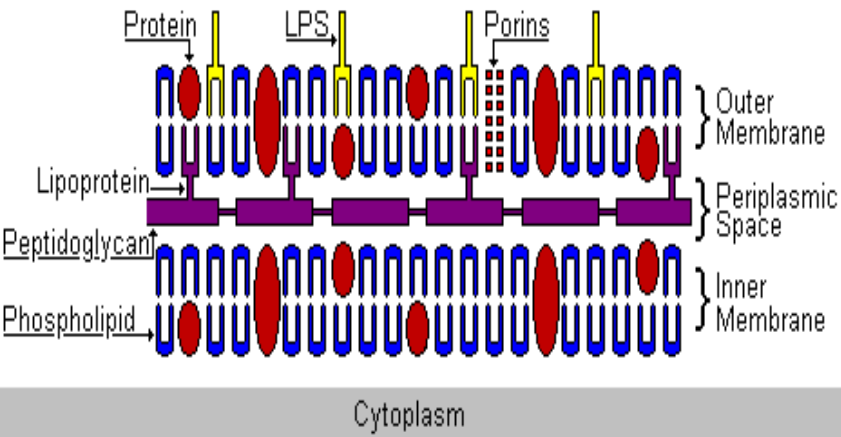
Το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων

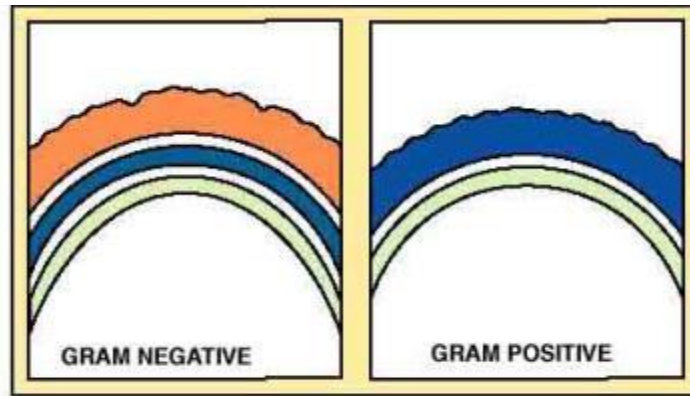
Gram-θετικά και Gram-αρνητικά

Gram-positive Cell Wall



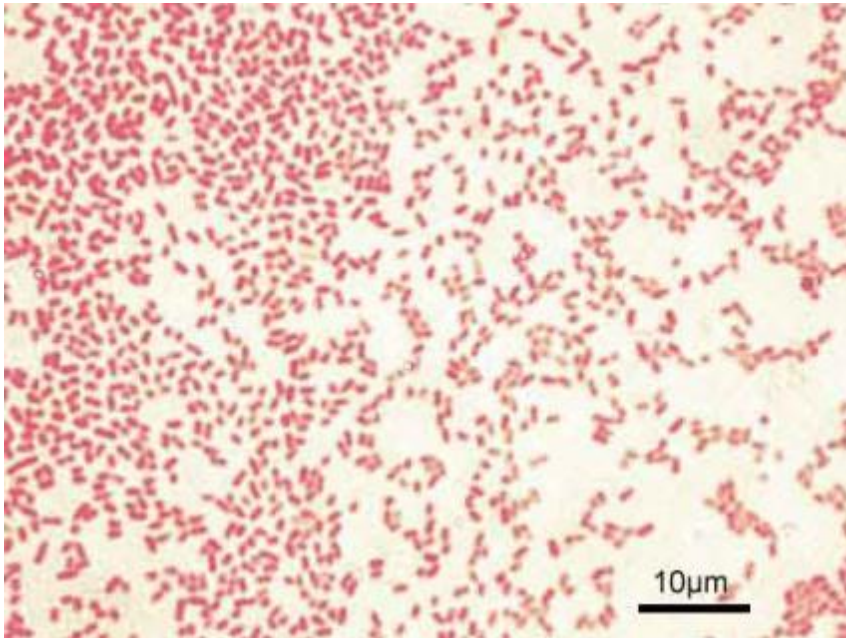
Gram-negative Cell Wall



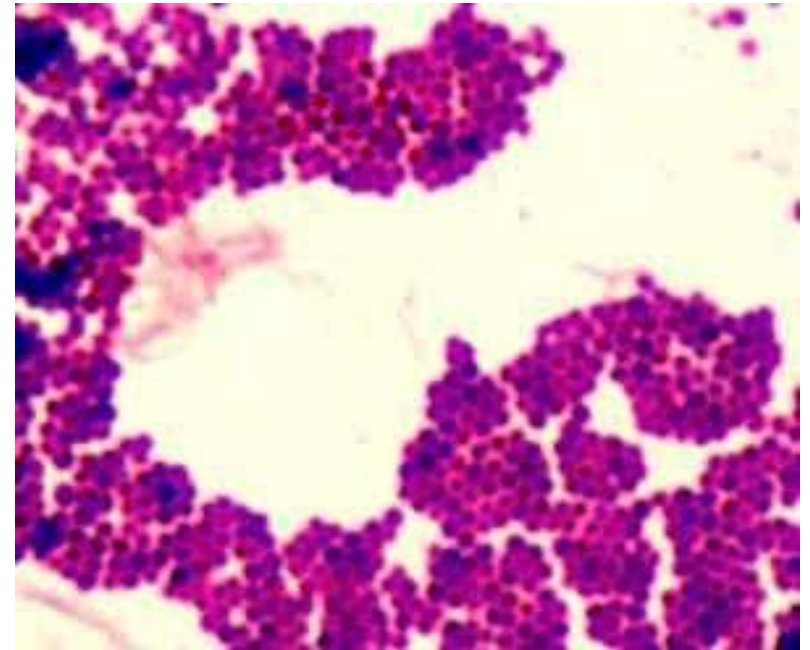


Gram αρνητικά

Gram Θετικά

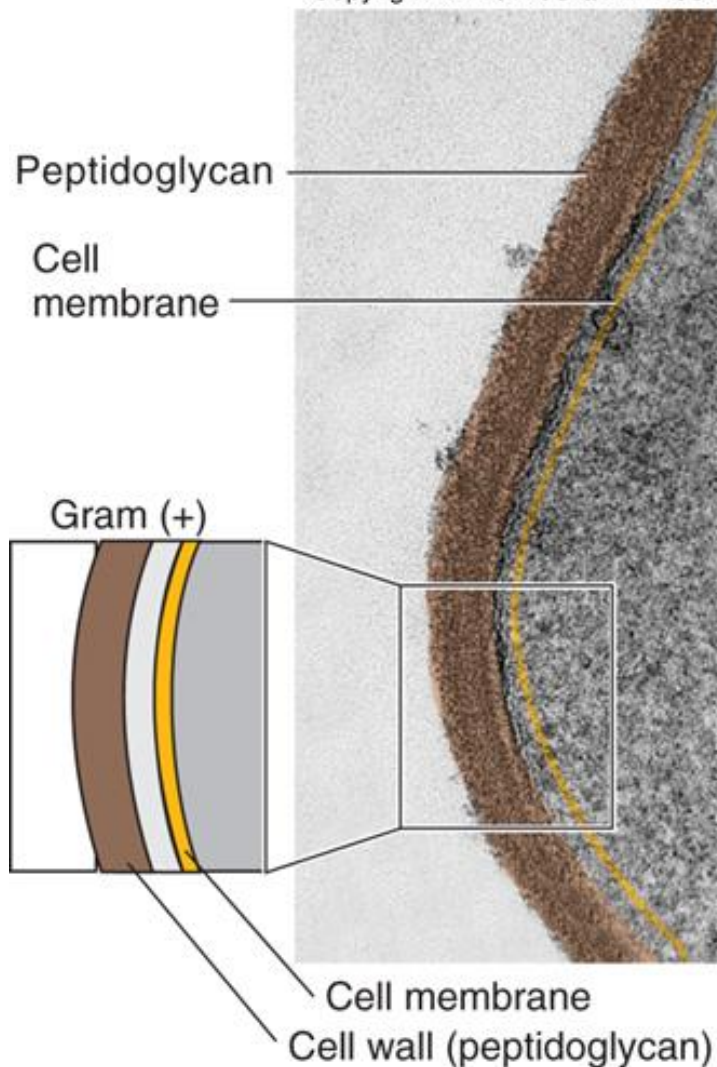


Εντεροβακτήριο

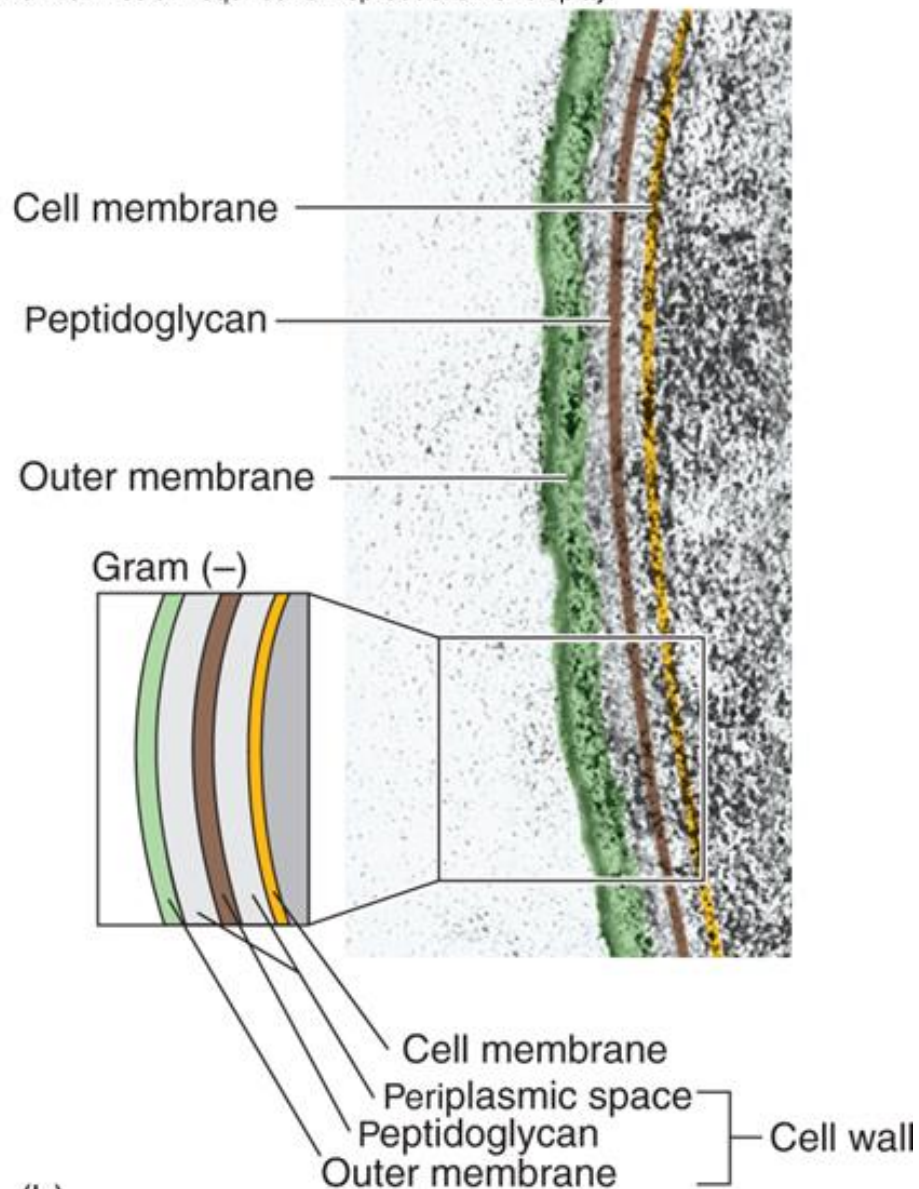


Σταφυλόκκοκος

Άλλα χαρακτηριστικές διαφορές
μεταξύ Gram θετικών και αρνητικών



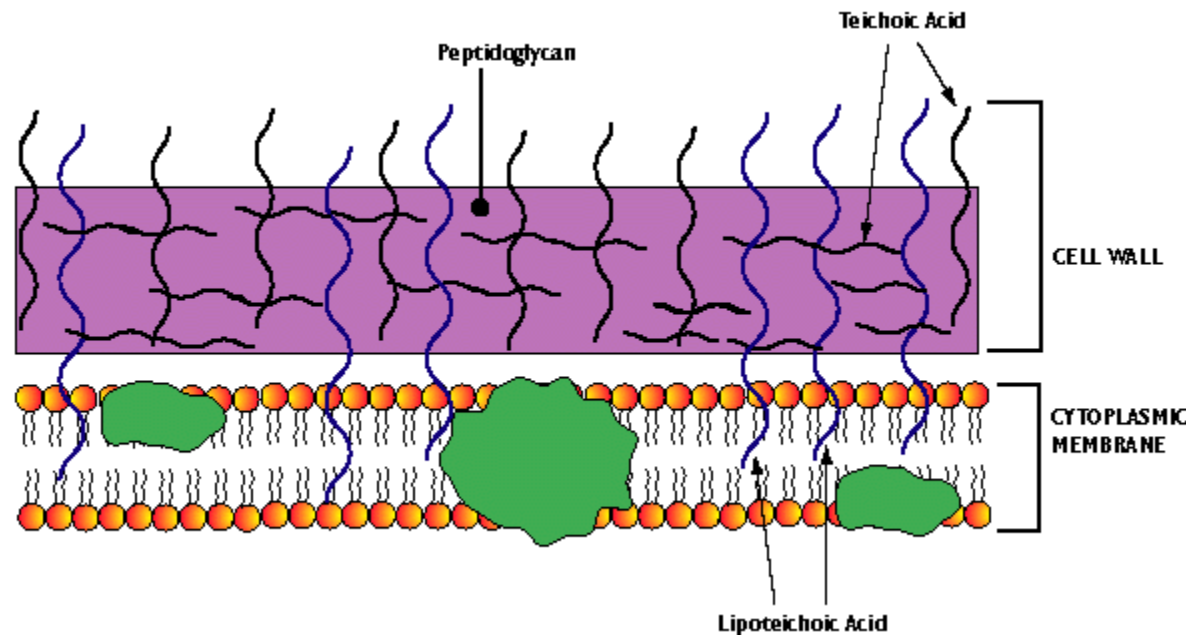
(a)



(b)

A.2.3.1. Gram θετικά, κυτταρικό τοίχωμα

- Ομογενές περίβλημα πεπτιδογλυκάνης, 20-80 nm πάχος
- Περιέχει τειχοϊκό οξύ και λιποτεϊχοϊκό οξύ
 - Διατηρεί την ακεραιότητα του τοιχώματος.
 - Δεσμεύει κατιόντα μαγνησίου και νατρίου.
 - Ενισχύει την ειδική ανοσοαπόκριση σε υποδοχείς TLR 2 και 4.
 - Κάνει το τοίχωμα των Gram πιο όξινο.



A.2.3.2. Gram αρνητικά

Πιο σύνθετο τοίχωμα

Δύο διακριτές δομές που συγκρατούνται μεταξύ τους με λιποπρωτεΐνες

Εξωτερική μεμβράνη

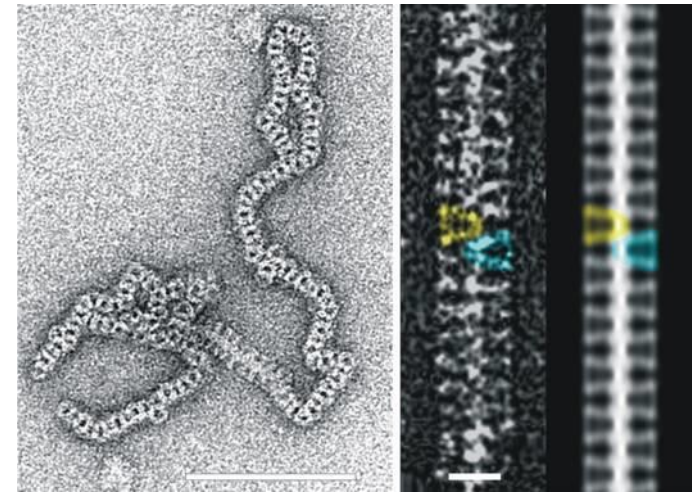
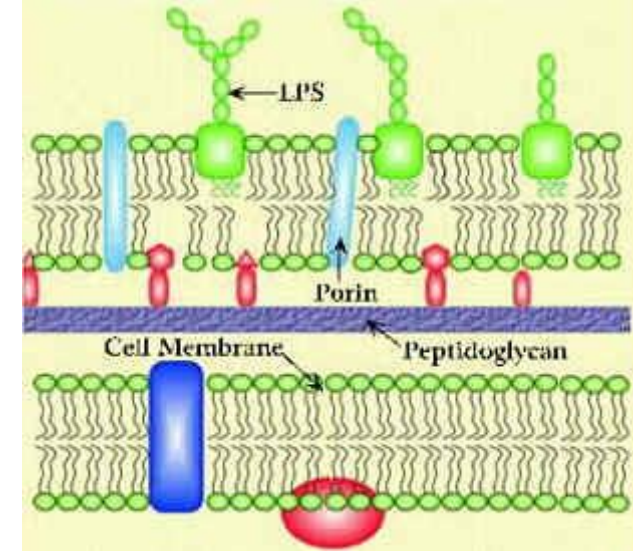
Ημιπερατή παρεμποδίζει τη δίοδο μεγάλων μορίων

–Πολλά αρνητικά φορτία που βοηθούν στην αποφυγή της φαγοκύττωσης

–Αποτελεί φράγμα για ορισμένα αντιβιοτικά (πχ πενικιλίνη), πεπτικά ένζυμα και απορρυπαντικά

–Περιέχει πορίνες που επιτρέπουν της επιλεκτική διέλευση αμινο οξέων, σακχάρων και πεπτιδίων

Περιέχει LPS (λιποπολυσακχαρίτες) που είναι ενδοτοξίνες και μπορούν να προκαλέσουν ισχυρό πυρετό και σοκ αν βρεθούν στο αίμα ή στην πεπτική οδό (1 $\mu\text{g/kg}$).



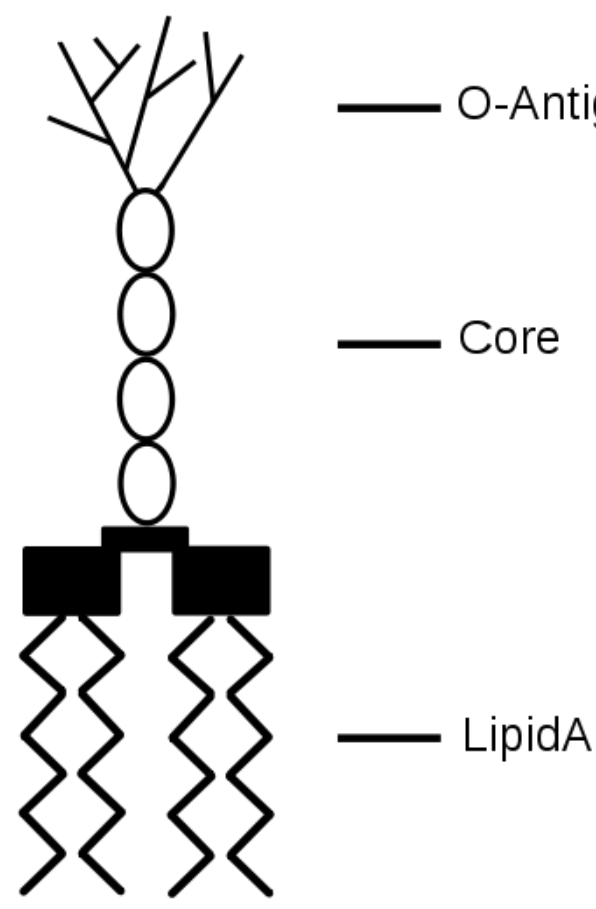
Πορίνες στο *Mycobacterium smegmatis*

- Είναι πιο ευαίσθητα σε μηχανική καταπόνηση

Gram αρνητικά-LPS (λιποπολυσακχαρίτες)

LPS (λιποπολυσακχαρίτες)

O-αντιγόνο: επαναλαμβανόμενη αλληλουχία 3-5 διαφορετικών σακχάρων. Ποικίλλει μεταξύ διαφορετικών ειδών.



— O-Antigen

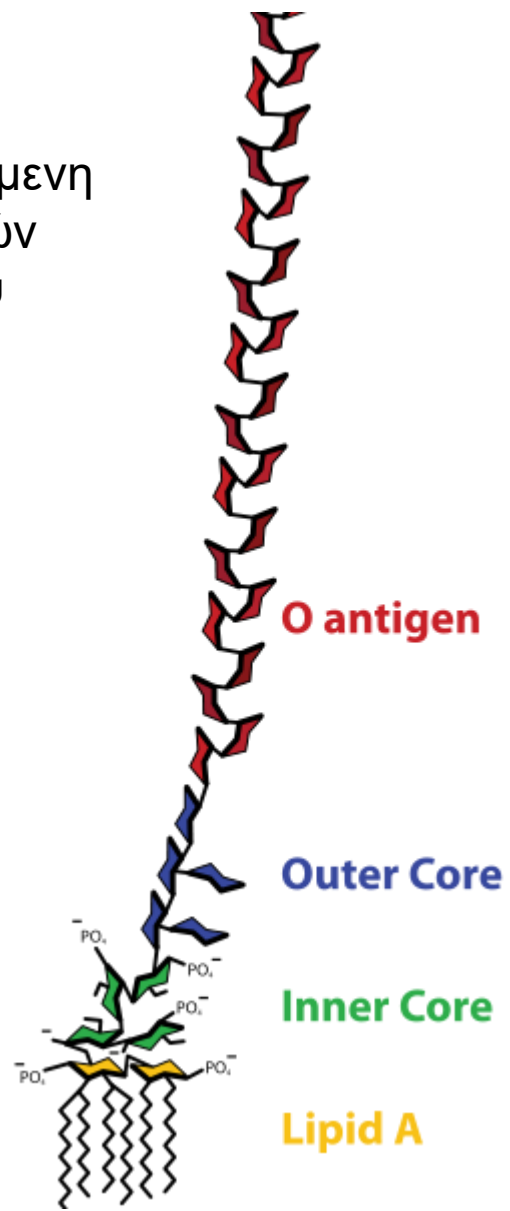
— Core

— LipidA

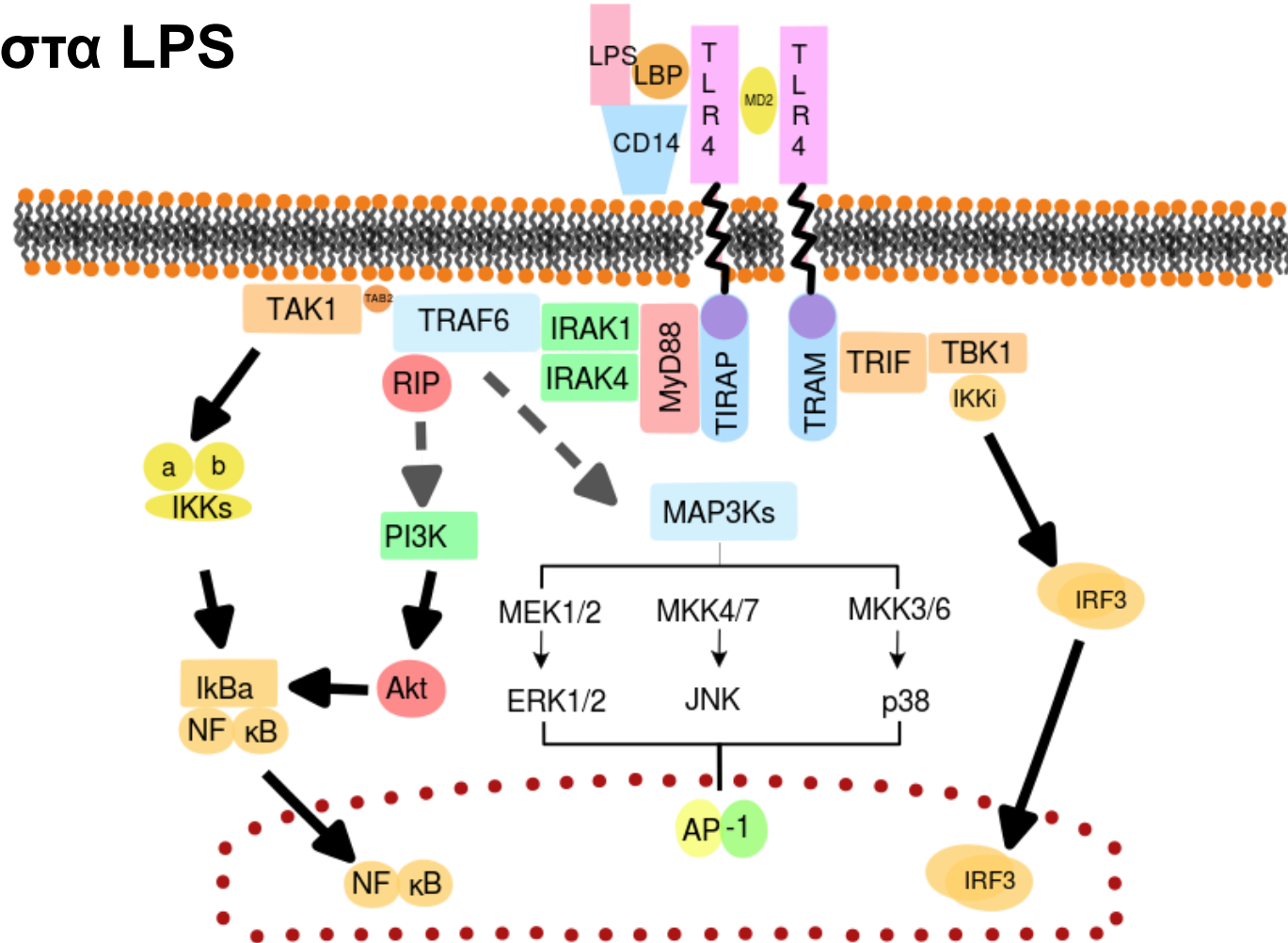
Βασικό τμήμα:
γλυκόζη, γαλακτόζη NAG.
Κοινό για διαφορετικά είδη

LIPOPOLYSACCHARIDE

A-λιπίδια:
Καπρωϊκό, δαφνικό,
β-υδροξυμυριστικό



Ανοσοαπόκριση στα LPS

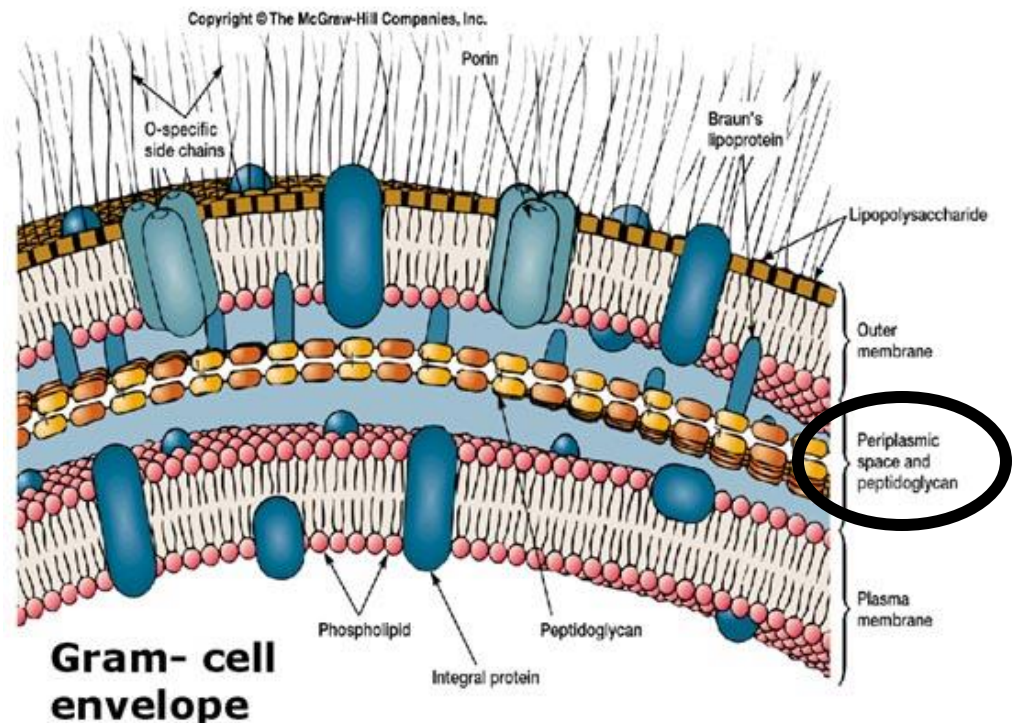


The mechanism is complex. In humans, LPS binds to a **lipid binding protein (LBP)** in the serum which transfers it to **CD14** on the cell membrane, which in turn transfers it to another non-anchored protein, **MD2**, which associates with **Toll-like receptor-4 (TLR4)**. This triggers the signaling cascade for macrophage/endothelial cells to secrete pro-inflammatory cytokines and nitric oxide

A.2.4. Gram αρνητικά-περίπλασμα

- Η περιοχή μεταξύ των δύο μεμβρανών που περιλαμβάνει το στρώμα πεπτιδογλυκάνης ονομάζεται **περίπλασμα** και είναι ανάλογο του ενδοπλασματικού δικτύου των ευκαρυωτικών.
 - Περιέχει αποδομητικά ένζυμα, οξειδοαναγωγάσες, φωσφατάσες.
 - Μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών-μεταφορέων.
 - Όξειδωτικές συνθήκες σε σχέση με το κυτοσόλιο.

Ελάχιστα Gram θετικά έχουν περίπλασμα.



Σύγκριση Gram-θετικών και Gram-αρνητικών κυτταρικών τοιχωμάτων

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

TABLE 4.1 **Comparison of Gram-Positive and Gram-Negative Cell Walls**

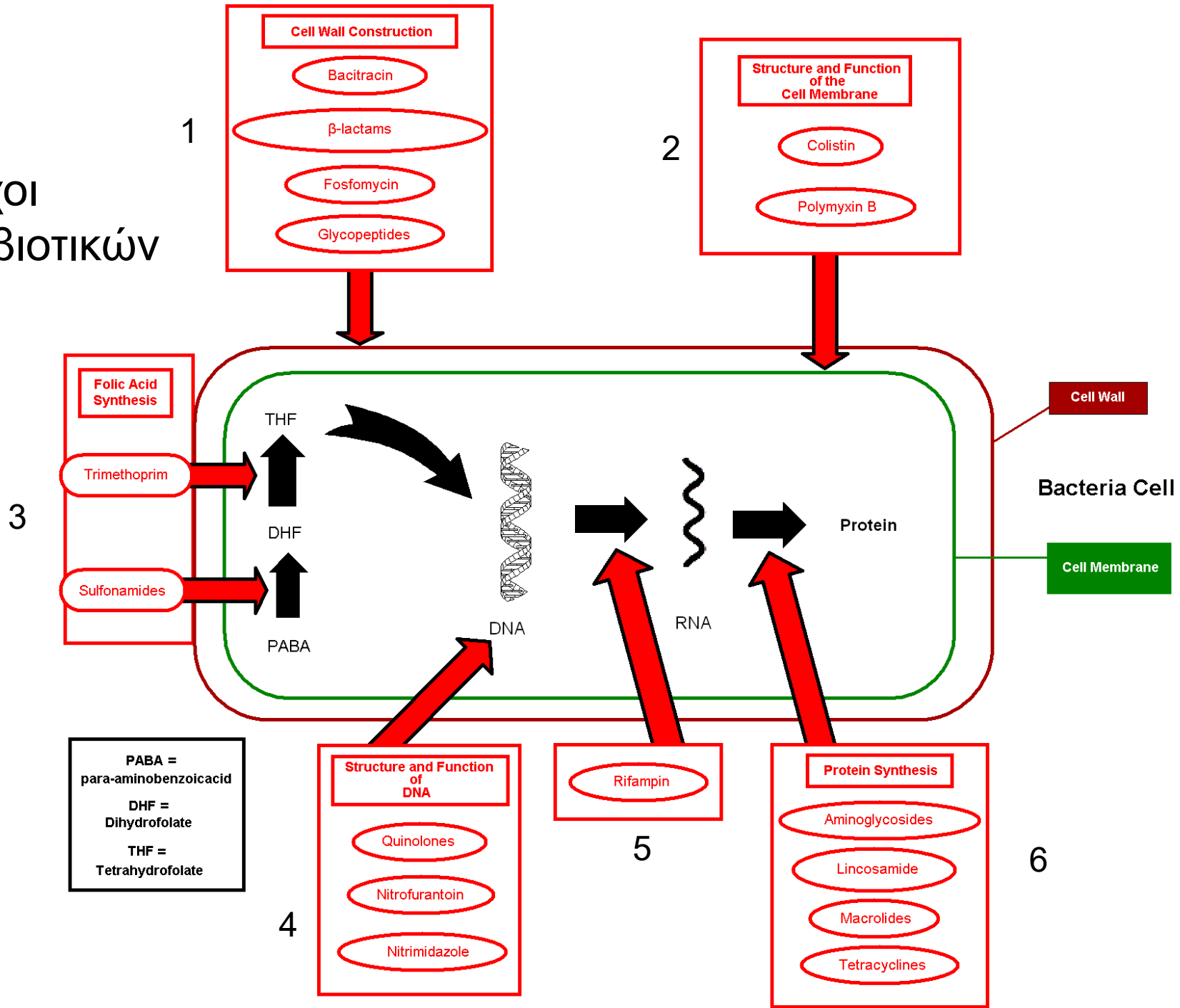
Characteristic	Gram-Positive	Gram-Negative
Number of major layers	One	Two
Chemical composition	Peptidoglycan Teichoic acid Lipoteichoic acid Mycolic acids and polysaccharides*	Lipopolysaccharide (LPS) Lipoprotein Peptidoglycan Porin proteins
Overall thickness	Thicker (20–80 nm)	Thinner (8–11 nm)
Outer membrane	No	Yes
Periplasmic space	Narrow	Extensive
Permeability to molecules	More penetrable	Less penetrable

*In some cells.

A.2.5.

Αντιμικροβιακά που δρουν στο κυτταρικό τοίχωμα

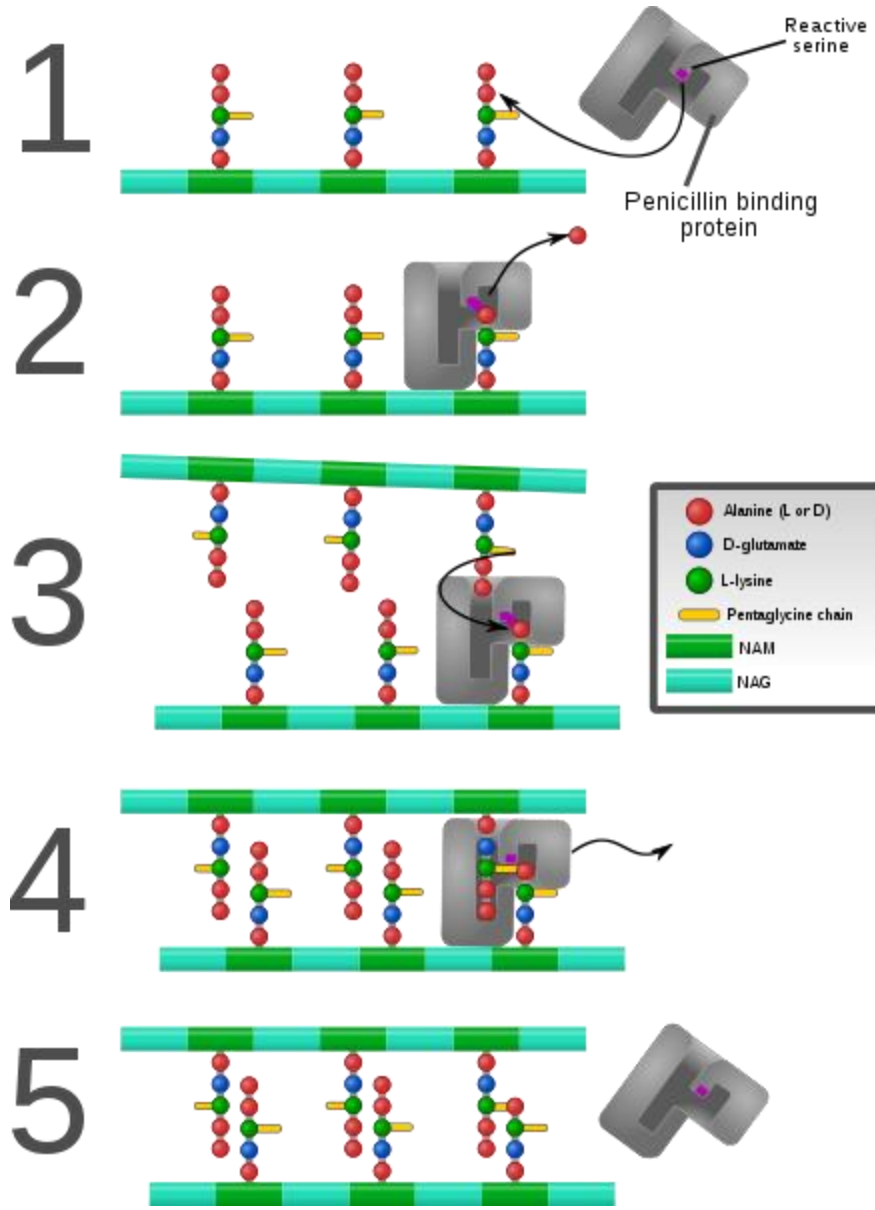
Στόχοι
αντιβιοτικών

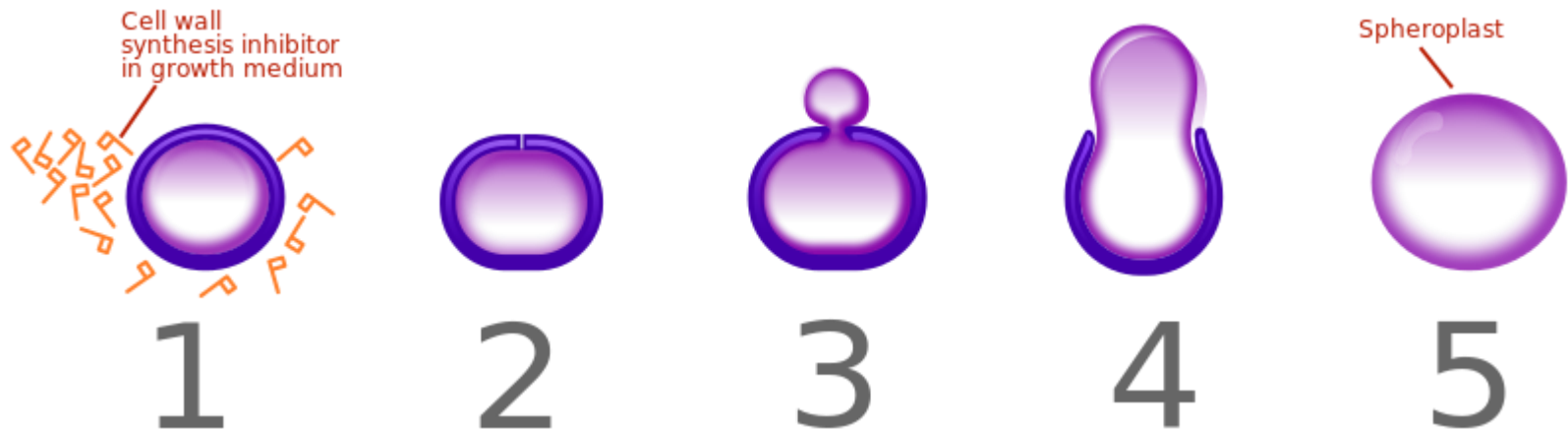


Η δράση της πενικιλίνης στο κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων

Τα αντιβιοτικά β-λακτάμης αναστέλλουν το ένζυμο DD-τρανσπεπτιδάση ή (PBP), που συνδέει μεταξύ τους τα πεπτίδια που κανονικά ενώνουν αλυσίδες NAM-NAG στο τοίχωμα της μуреΐνης.

Κι ενώ οι συνδέσεις δεν πραγματοποιούνται, τα ένζυμα που υδρολύουν τις συνδέσεις συνεχίζουν να λειτουργούν έτσι ώστε να αποδυναμώνεται το κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου. Ελαττούμενης της ωσμωτικής πίεσης, το κύτταρο μπορεί να σπάσει. Επιπλέον, η συσσώρευση των προδρόμων πεπτιδογλυκάνης προκαλεί την ενεργοποίηση των βακτηριακών υδρολασών και αυτολυσινών του κυτταρικού τοιχώματος οι οποίες το διαλύουν περαιτέρω.

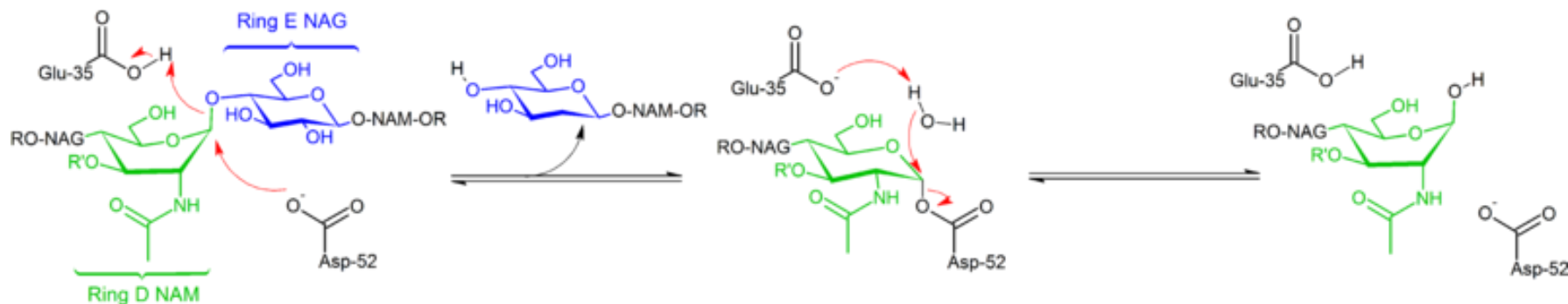
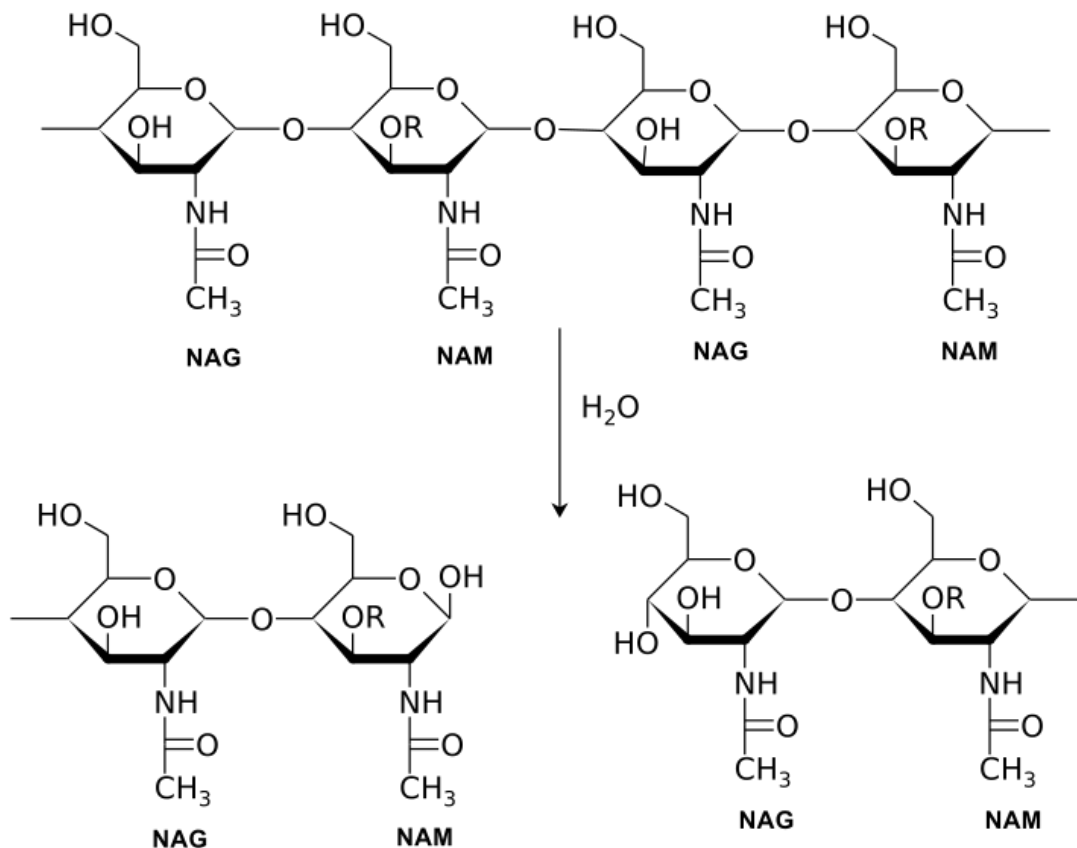




1-5: δημιουργία σφαιροπλάστη σε περιβάλλον που αναστέλλει το κυτταρικό τοίχωμα.
Σε υποτονικά περιβάλλοντα ο σφαιροπλάστης σπάει και το κύτταρο πεθαίνει.

Η δράση της λυσοζύμης
(υδρόλυση) στο
κυτταρικό τοίχωμα των
βακτηρίων:

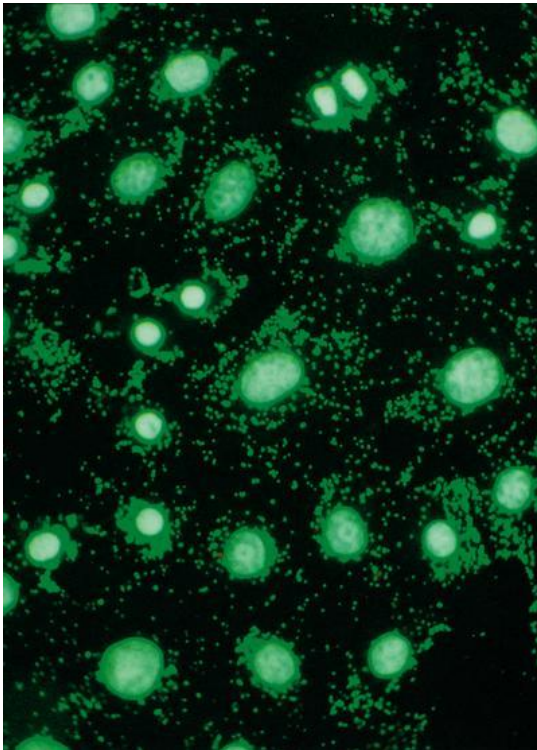
μηχανισμός



R = cell wall oligosaccharide chain
R' = cell wall peptide side chain

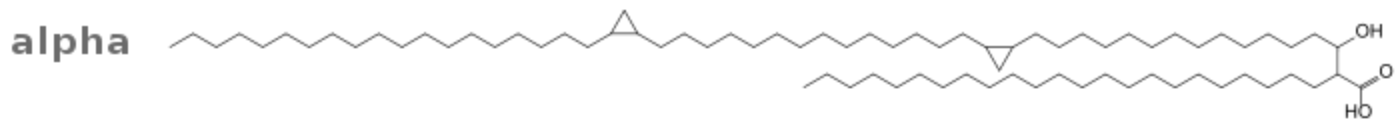
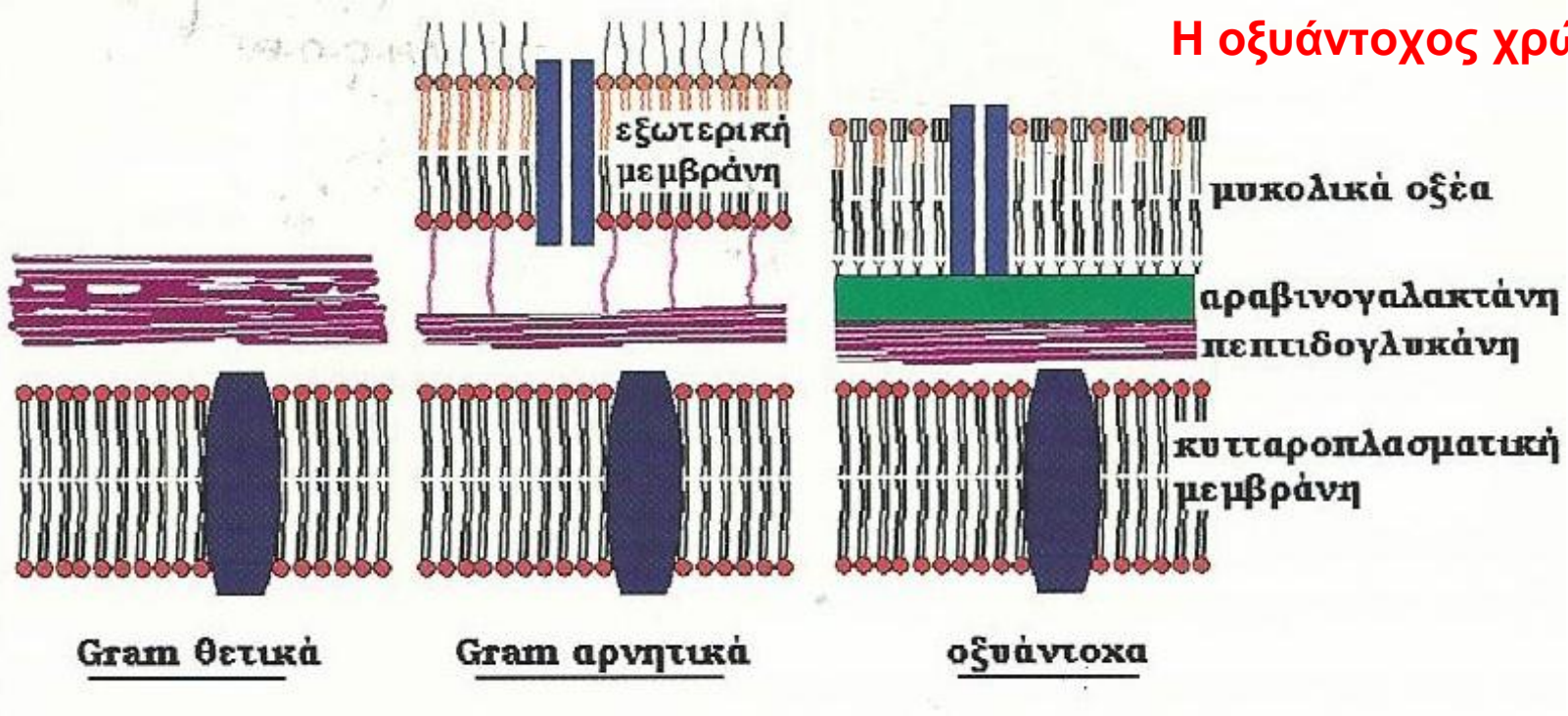
A.2.6. Ατυπικά κυτταρικά τοιχώματα

Mycoplasma



- *Mycoplasma, Nocardia*
 - Γένη βακτηρίων που δεν έχουν τυπικό κυτταρικό τοίχωμα. Χρωματίζονται με την **οξυάντοχο χρώση**.
 - Αρχαία: δεν έχουν πεπτιδογλυκάνη στα κυτταρικά τους τοιχώματα

Η οξυάντοχος χρώση



Εξειδικευμένη χρώση για *Mycobacteria*

Τα μυκοβακτήρια και μερικά θετικά κατά Gram περιέχουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα στρώμα αραβινολακτόνης ακολουθούμενο από κηρώδες στρώμα λιπιδίων (μυκολικά οξέα, C60, διακλάδωση στο 2° C με 60-90 C).

Προστατεύουν τα μυκοβακτήρια από αντίξοες συνθήκες.

Η **οξυάντοχος χρώση** (χρώση Ziehl-Neelsen) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση μυκοβακτηρίων σε βιολογικά δείγματα.

Ποικιλότητα στη μορφή του *Mycoplasma pneumoniae*

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



© David M. Phillips/Visuals Unlimited



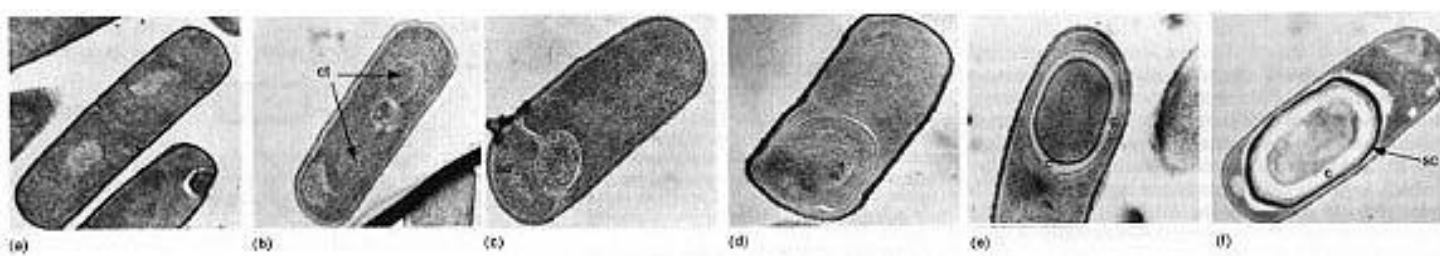
Mycoplasma που καλύπτει ένα ανθρώπινο κύτταρο.

A.2.7.

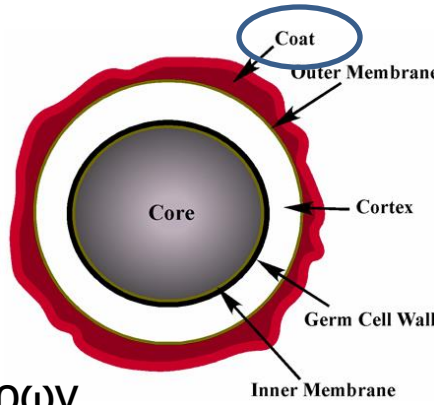
Τροποποιημένο κυτταρικό τοίχωμα-**ενδοσπόρια**

• **Ενδοσπόρια**

- Αδρανής, ανθεκτική, μη αναπαραγώμενη φάση που απαντάται σε μικρό αριθμό βακτηρίων (Gram θετικά, γένη *Bacillus* και *Clostridium*).
- Ο σχηματισμός τους συνήθως προκαλείται από έλλειψη θρεπτικών ουσιών. Αν ξεκινήσει είναι μη αναστρέψιμη διαδικασία.
- Ανθεκτικές μορφές για την επιβίωση κάτω από σκληρές περιβαλλοντικές συνθήκες (ακτινοβολίες, αποξήρανση, λυσοζύμη, άκρα θερμοκρασιών, λιμός, απολυμαντικά).
- Βρίσκονται συνήθως στο νερό ή έδαφος όπου μπορούν να επιβιώσουν για μακρά χρονικά διαστήματα. Όταν οι συνθήκες καλλιεργήσουν, το ενδοσπόριο μετατρέπεται σε κανονικώς πολλαπλασιαζόμενο κύτταρο.

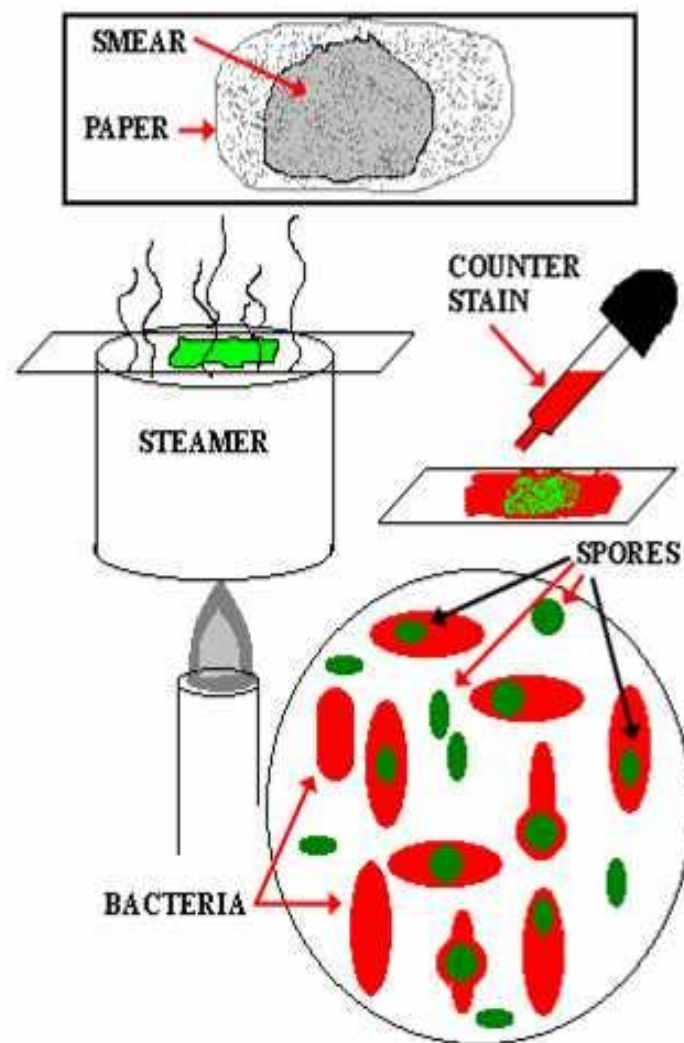
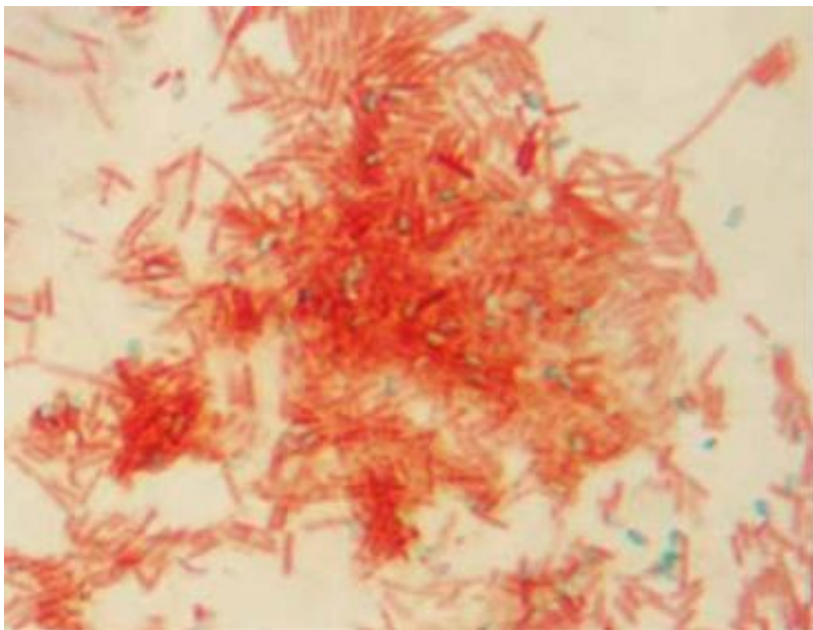


Δημιουργία ενδοσπορίων στο *Bacillus subtilis*



Πρόβλημα στην τεχνολογία τροφίμων, αποστείρωσεις βιοαντιδραστήρων, υποστρωμάτων.

Τα ενδοσπόρια ανάπτυξης του *Geobacillus stearothermophilus* χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί δείκτες σε διαδικασίες αποστείρωσης.



Βακτήρια *Bacillus subtilis* χρωματισμένα με χρώση για ενδοσπόρια (πράσινα-μαλαχίτης). Τα φυσιολογικά κύτταρα είναι χρωματισμένα κόκκινα.

Χρώση Schaeffer–Fulton (μαλαχίτης και σαφρανίνη)

Σύμπλοκα βετανίνης-ευρωπίου (III) μπορούν να χρωματίσουν το δικοπιλινικό ασβέστιο βακτηριακών ενδοσπορίων π.χ. (*Bacillus anthracis* και *B. cereus*).

- Τα γένη *Bacillus* και *Clostridium* είναι παθογόνα βακτήρια που δημιουργούν ενδοσπόρια όταν χρειαστεί.

- *Bacillus*

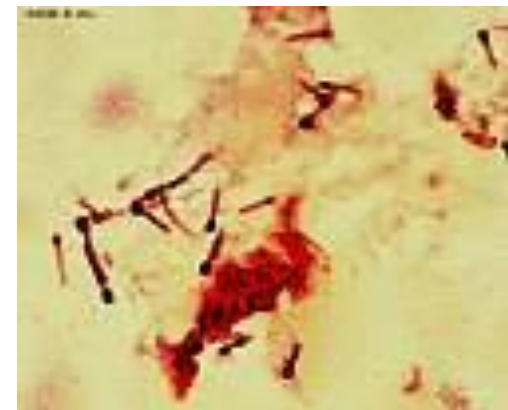
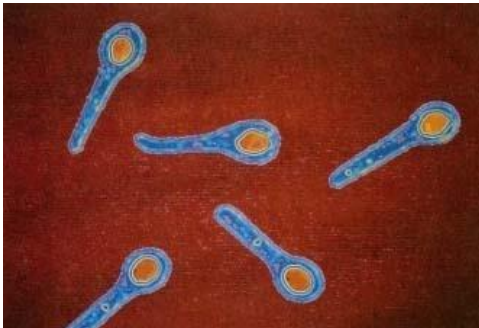
- *B. anthracis*, η αιτία του άνθρακα.



Bacillus anthracis

- *Clostridium*

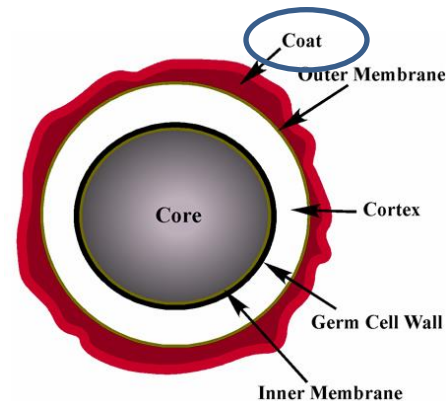
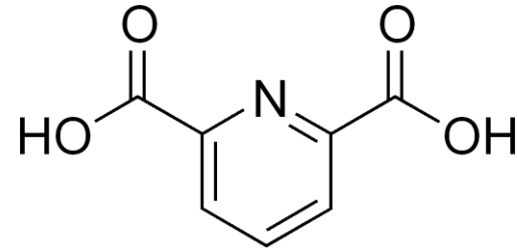
- *C. tetani*, η αιτία του τετάνου.



Clostridium tetani

Μηχανισμοί επιβίωσης των ενδοσπορίων

1. Διπικολινικό ασβέστιο (20 % κ.β., σταθεροποίηση DNA, θερμοαντοχή).
2. Θερμοανθεκτικά ένζυμα
3. Υψηλό περιεχόμενο G+C
4. Λιγότερο νερό
5. Περισσότερες Cys



Dr. Steinn Sigurdsson, "There are viable bacterial spores that have been found that are 40 million years old on Earth - and we know they're very hardened to radiation"

<http://www.bbc.co.uk/news/science-environment-14637109>

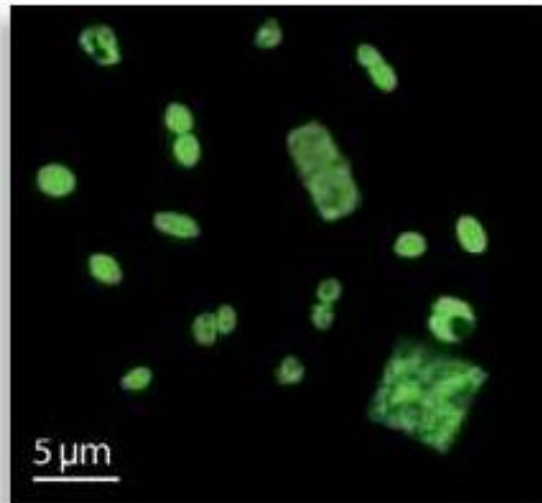
<https://micro.cornell.edu/research/epulopiscium/bacterial-endospores>

A.2.8. Το κυτταρικό τοίχωμα των Αρχαίων

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



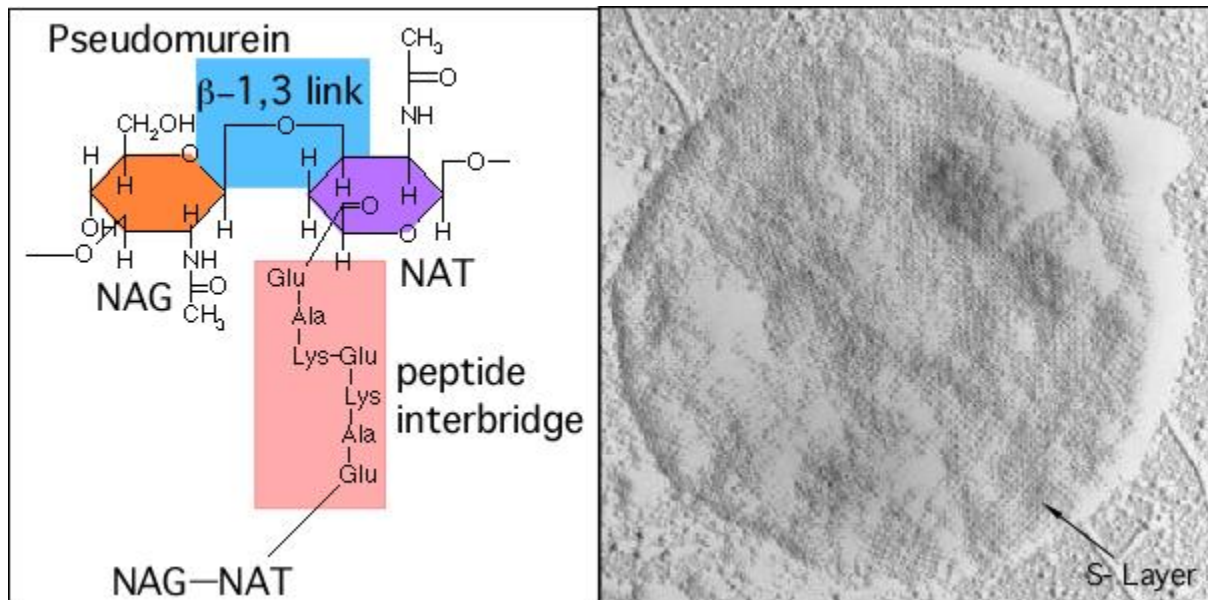
(a)



(b)

Το κυτταρικό τοίχωμα των αρχαίων

Ανομοιογενές τοίχωμα ανάμεσα στα διαφορετικά γένη, πχ κυτταρικά τοιχώματα από πρωτεΐνη ή πολυσακχαρίδια ή τα τοιχώματα λείπουν εντελώς. Δεν υπάρχει πεπτιδογλυκάνη, αλλά σε μερικά γένη ψευδοπεπτιδογλυκάνη (NAG και TAL: N-ακετύλ ταλοσαμινουρονικό οξύ).



Τα περισσότερα αρχαία είναι Gram αρνητικά.

Τα κυτταρικά περιβλήματα των μικροοργανισμών αποτελούνται από τρία μέρη:

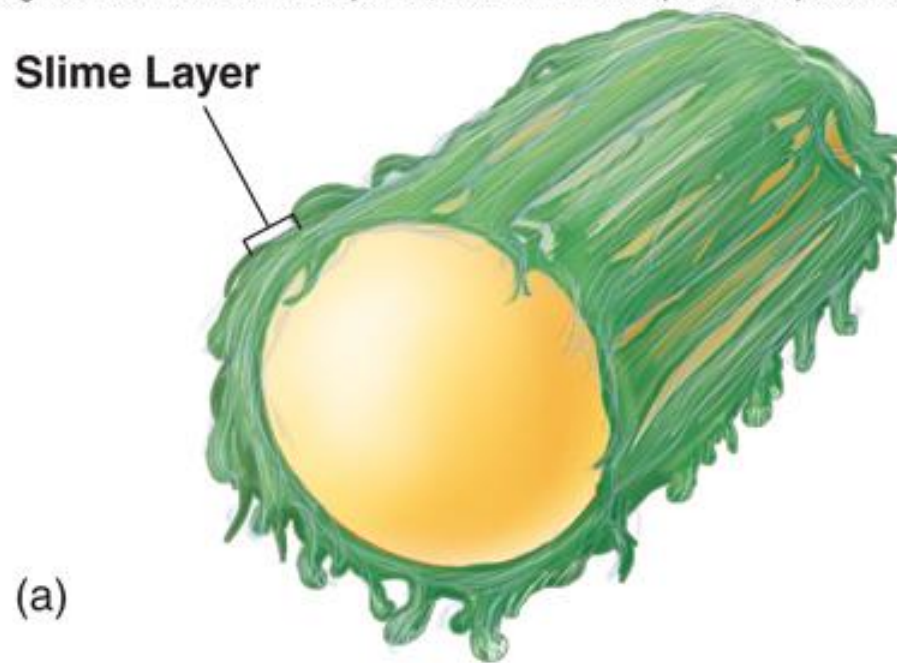
Το πιο εξωτερικό περίβλημα ονομάζεται **εξωτάτη στιβάς (όποτε απαντάται)** και είναι είτε έλυτρο, ή ιξώδες στρώμα. Διαφέρει πάρα πολύ στα διαφορετικά είδη των βακτηρίων.

Ακολουθεί η **κυτταρική μεμβράνη**, που σε ορισμένους οργανισμούς (αρνητικά κατά Gram) βρίσκεται κάτω από το εξωτερικό περίβλημα και περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα.

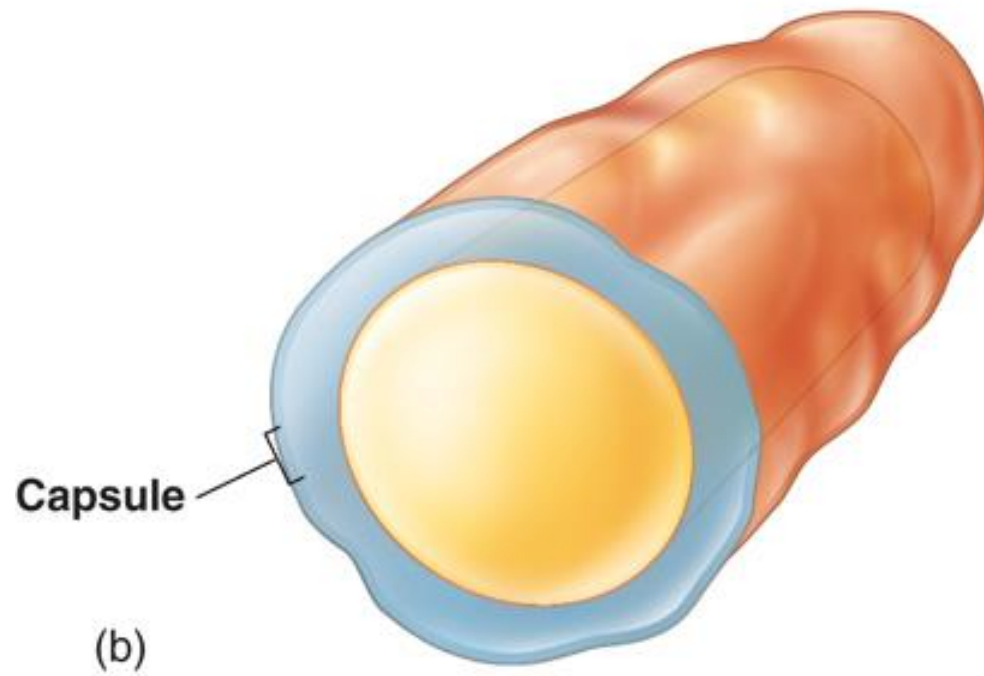
Κάτω από την εξωτάτη στιβάδα ή την κυτταρική μεμβράνη υπάρχει το **κυτταρικό τοίχωμα**.

A.3. Η εξωτάτη στιβάς

Ίξώδες στρώμα -
χαλαρή οργάνωση
και δέσμευση

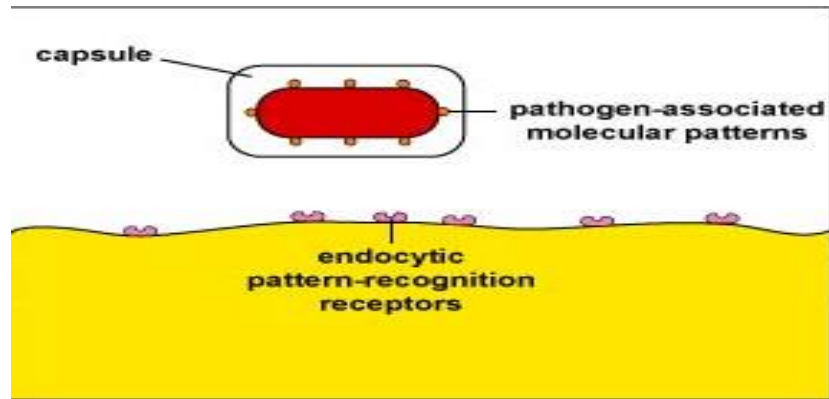


Έλυτρο – υψηλή
οργάνωση, ισχυρή
δέσμευση



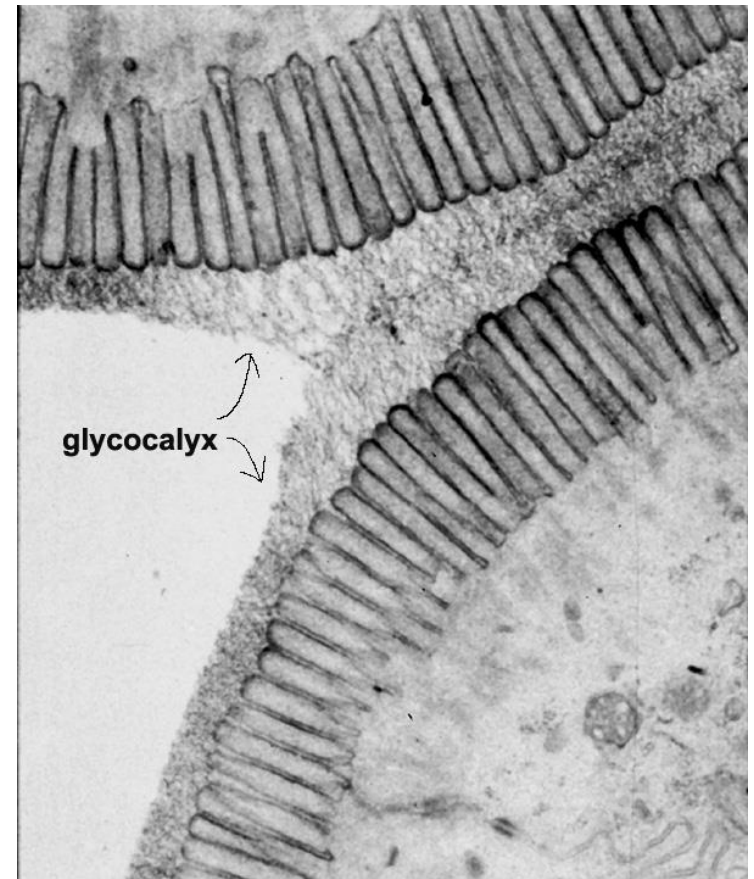
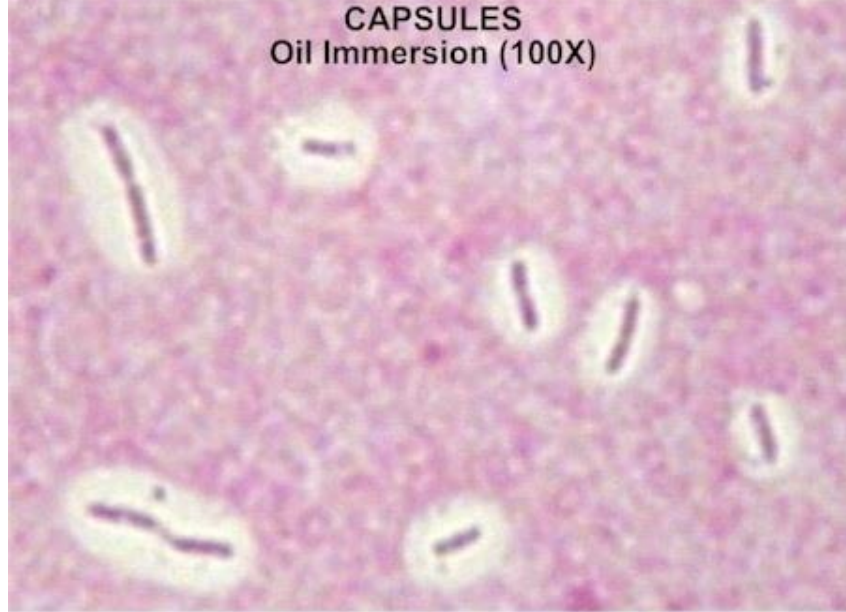
A.3. Η εξωτάτη στιβάς

- Το περίβλημα των μορίων γύρω από το κυτταρικό τοίχωμα στο οποίο είναι στερεωμένο.
- Αποτελείται από υδατάνθρακες, πρωτεΐνες ή και τα δύο.
- Δύο τύποι:
 - 1. Ιξώδες στρώμα (ΙΣ)**- χαλαρή οργάνωση και δέσμευση
 - 2. Έλυτρο (Ε)**– υψηλή οργάνωση, ισχυρή δέσμευση
- **Λειτουργίες:**
 - ΙΣ: Προσκόληση, προστασία από τα αντιβιοτικά, την απώλεια νερού και θρεπτικών συστατικών, προσκόληση σε θρεπτικές ουσίες, σταθερό υπόστρωμα. Παράγων παθογένειας.
 - Ε: Προστατεύει τα κύτταρα από τη φαγοκύττωση από τα λευκά αιμοσφαίρια και πρωτόζωα. Παράγων παθογένειας.
 - Προσκόλληση σε σταθερές επιφάνειες – σχηματισμός βιοϋμενίων.

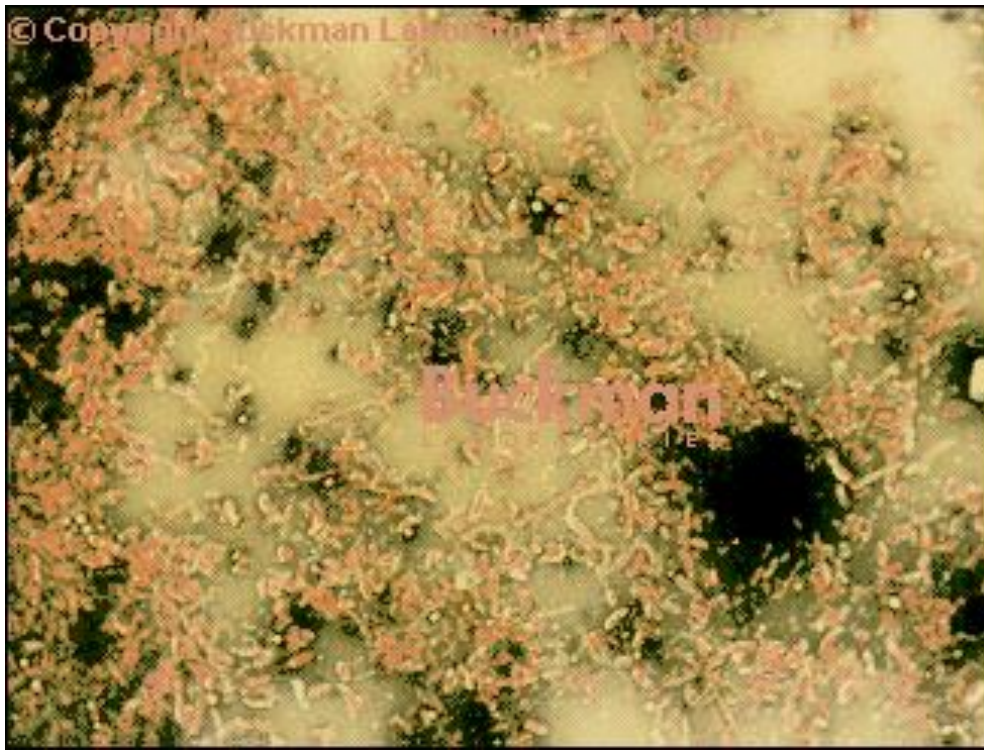


Έλυτρο: Προστατεύει τα κύτταρα από τη φαγοκύττωση από τα **λευκά αιμοσφαίρια, βακτηριοφάγους** και **πρωτόζωα**.

Παράγων παθογένειας.



Ευκαρυωτικό επιθήλιο

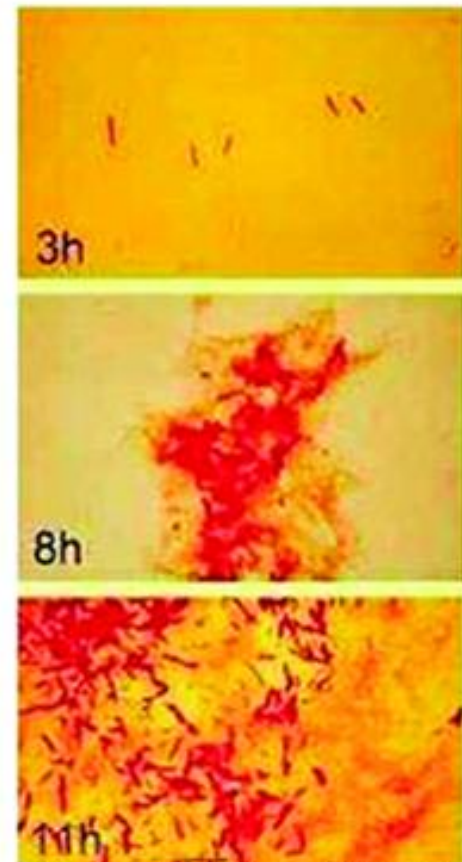
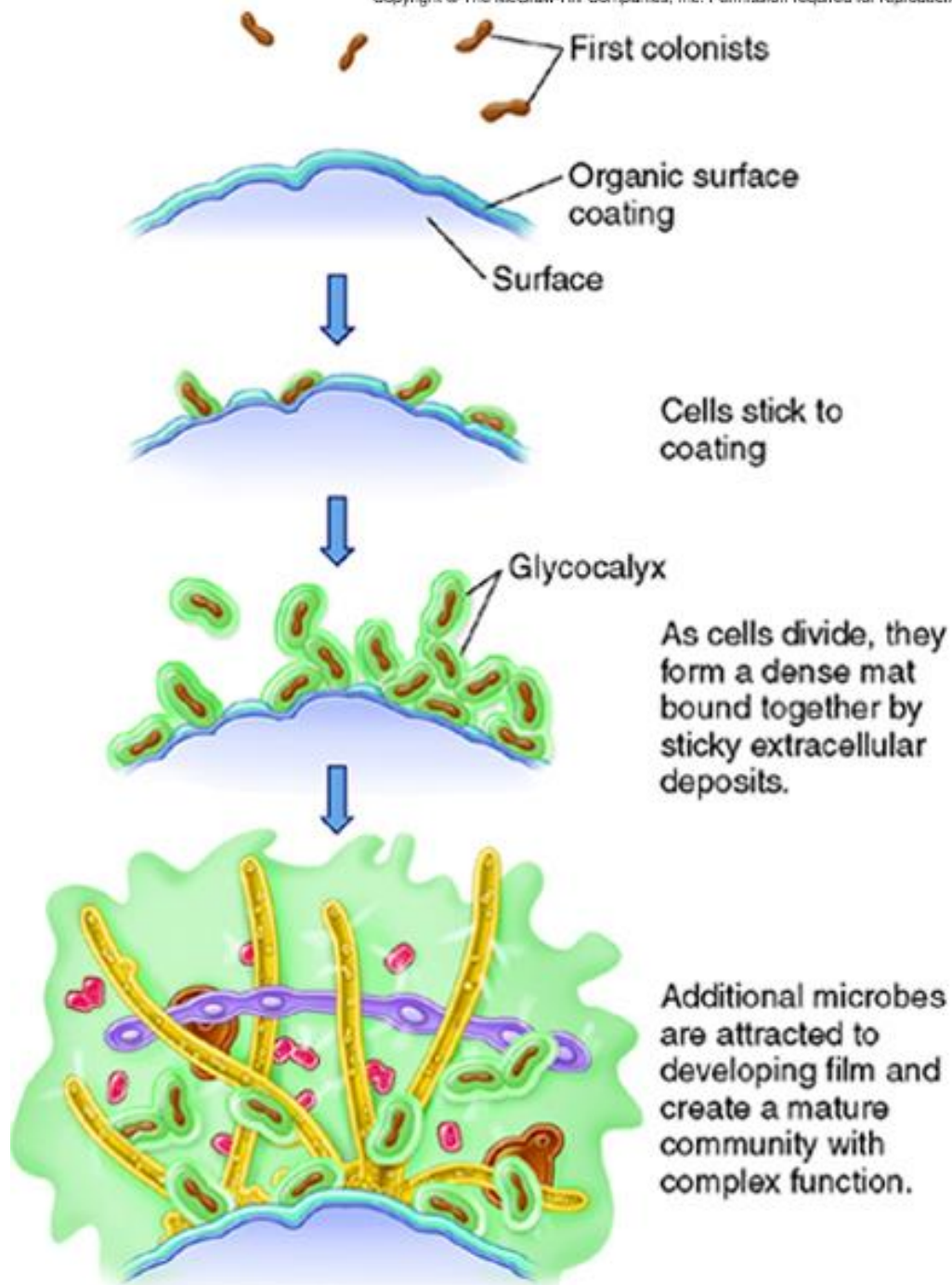


Ιξώδες στρώμα-
χαλαρή οργάνωση και
δέσμευση

Εξωτάτη στιβάς και οδοντική υγιεινή

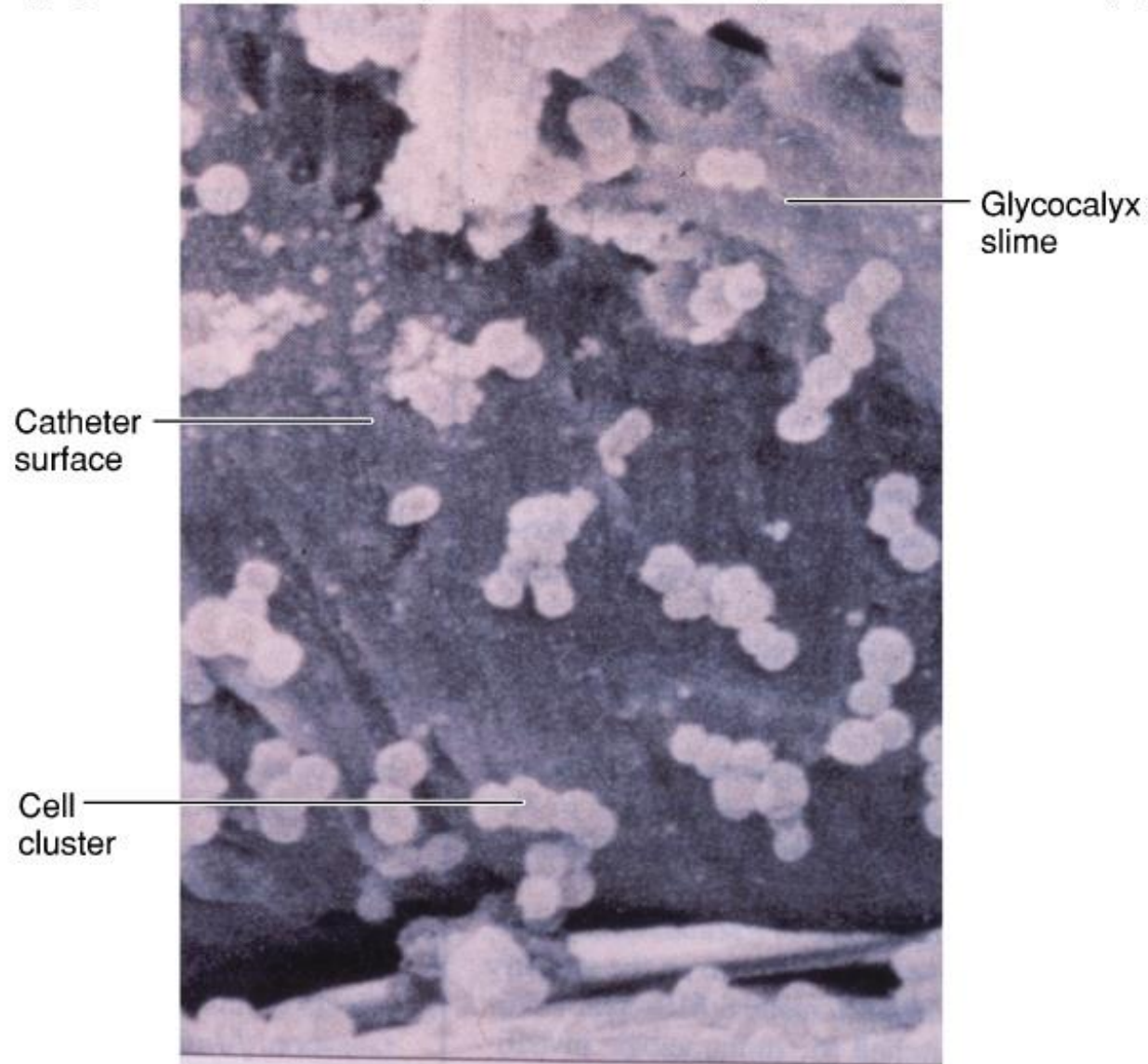
Το ιξώδες στρώμα στελεχών του Gram θετικού *Streptococcus mutans* επιτρέπει τη συσσώρευση του οργανισμού στο σμάλτο των δοντιών και τη δημιουργία κοιλοτήτων.

Άλλα βακτήρια του στόματος παγιδεύονται στο ιξώδες στρώμα και σχηματίζουν ένα βιοϋμένιο και τελικά το φαινόμενο γνωστό ως πλάκα.



Βιοϋμένιο σε καθετήρα

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



A.3.1. Ειδική ενότητα:

Ανθεκτικές μορφές βακτηρίων (Persisters)

Όχι ενδοσπόρια

Όχι πολυανθεκτικά στελέχη λόγω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων

Κυτταρικός μηχανισμός για την προέλευση των ανθεκτικών μορφών στο μοριακό επίπεδο:

συστήματα τοξινών-αντιτοξινών

Ανθεκτικές μορφές βακτηρίων (Persisters)

a sub-population that is highly resistant
to environmental stresses (e.g. antibiotics)

Survival mechanism to evade environmental stress

Aetiology of resistance their reduced metabolic and thus non-dividing
state

Science (2004) **305**, 1622

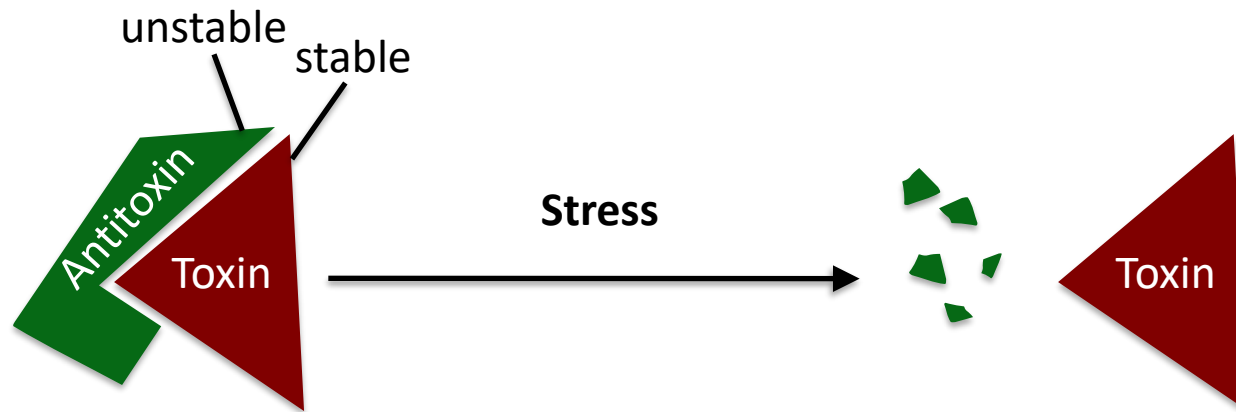
Nathalie Q. Balaban, et al.

Bacterial Persistence as a Phenotypic Switch

Stochastic formation

Συστήματα τοξινών-αντιτοξινών

Όλα τα βακτήρια περιέχουν γονίδια που κωδικοποιούν συστήματα τοξινών-αντιτοξινών (TA), τα οποία τους επιτρέπουν να επιβιώνουν σε συνθήκες στρες (οξειδωτικό, ωσμωτικό, θερμικό, ακραία pH, αντιβιοτικά κλπ). Η τοξίνη είναι ένας παράγοντας που σταματάει το μεταβολισμό, η αντιτοξίνη είναι μια πρωτεΐνη που εξουδετερώνει τη δράση της τοξίνης.



Υπάρχουν πολλά και διαφορετικών τύπων συστήματα TA ανά μικροβιακό είδος.

Το σύστημα MqsR-MqsA

Το πιο συχνά επαγόμενο σύστημα TA του βακτηρίου *Escherichia coli*, είναι το σύστημα MqsR-MqsA.

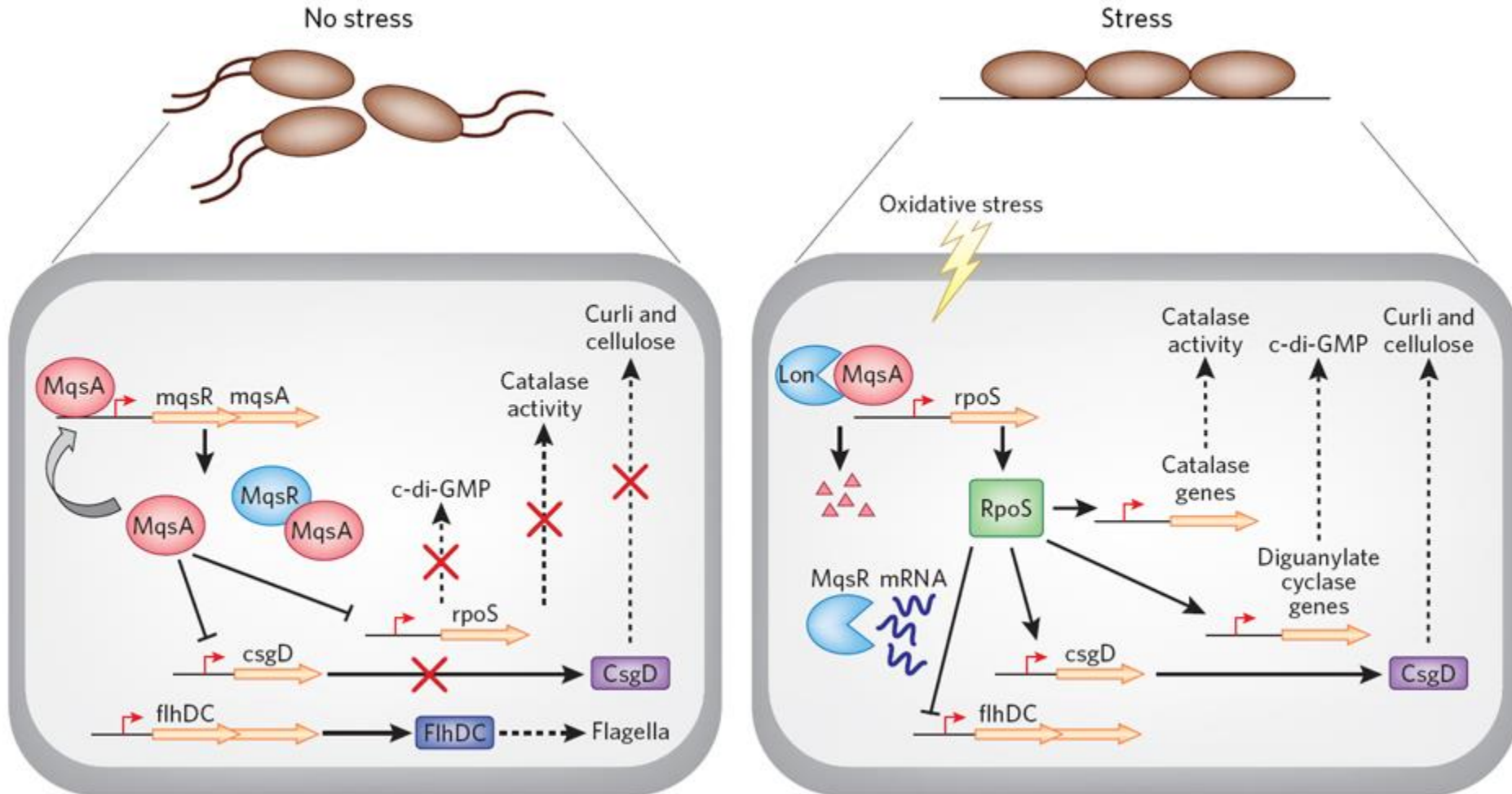
Το γονίδιο *mqsR* κωδικοποιεί τη τοξίνη MqsR (ενδοριβονουκλεάση), η οποία προκαλεί αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης και αναστέλλει τον μεταβολισμό των κυττάρων.

Το γονίδιο *mqsA*, κωδικοποιεί την αντιτοξίνη MqsA, η οποία κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, δεσμεύεται σταθερά στην MqsR και εξουδετερώνει τη δράση της.

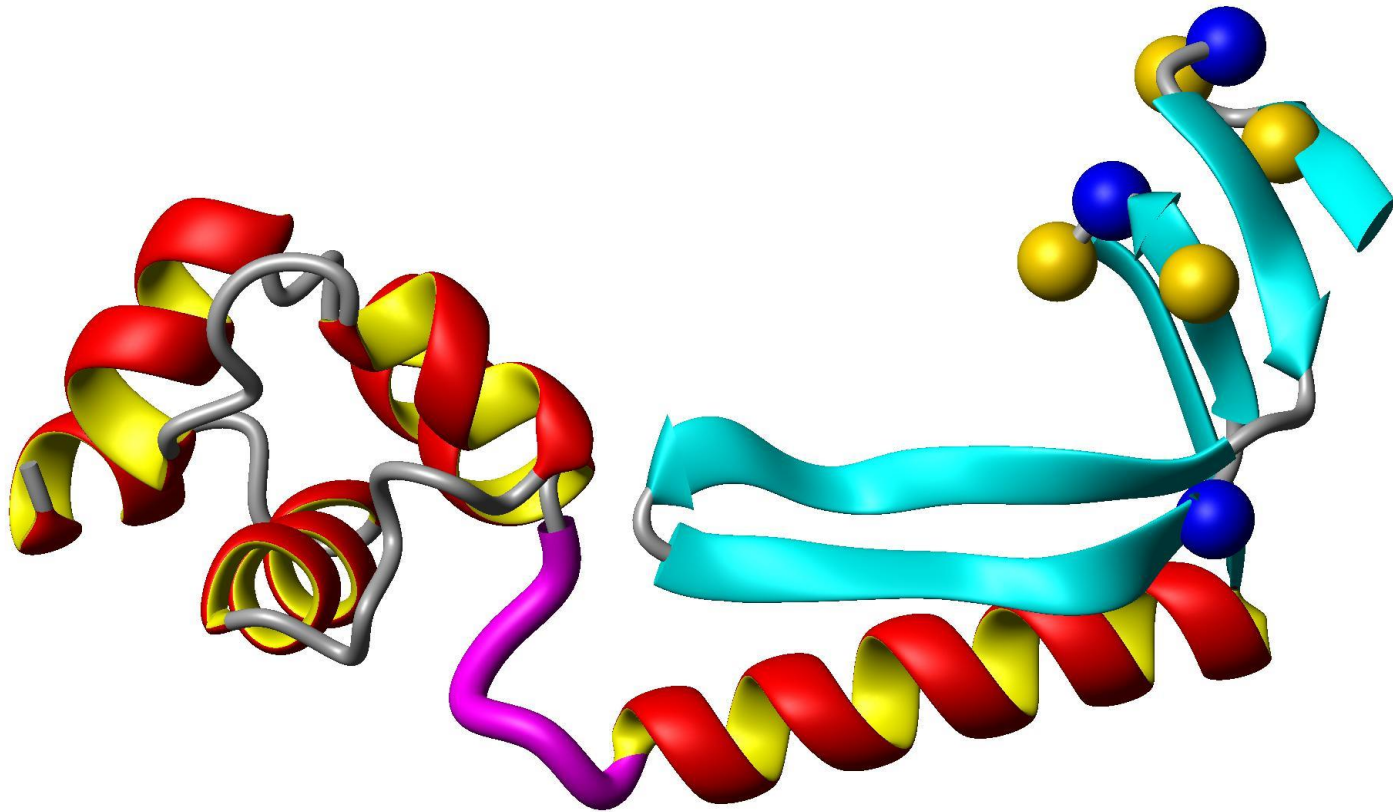
Τα δύο γονίδια αποτελούν ένα οπερόνιο του οποίου η μεταγραφή καταστέλλεται από το σύμπλοκο MqsR-MqsA.

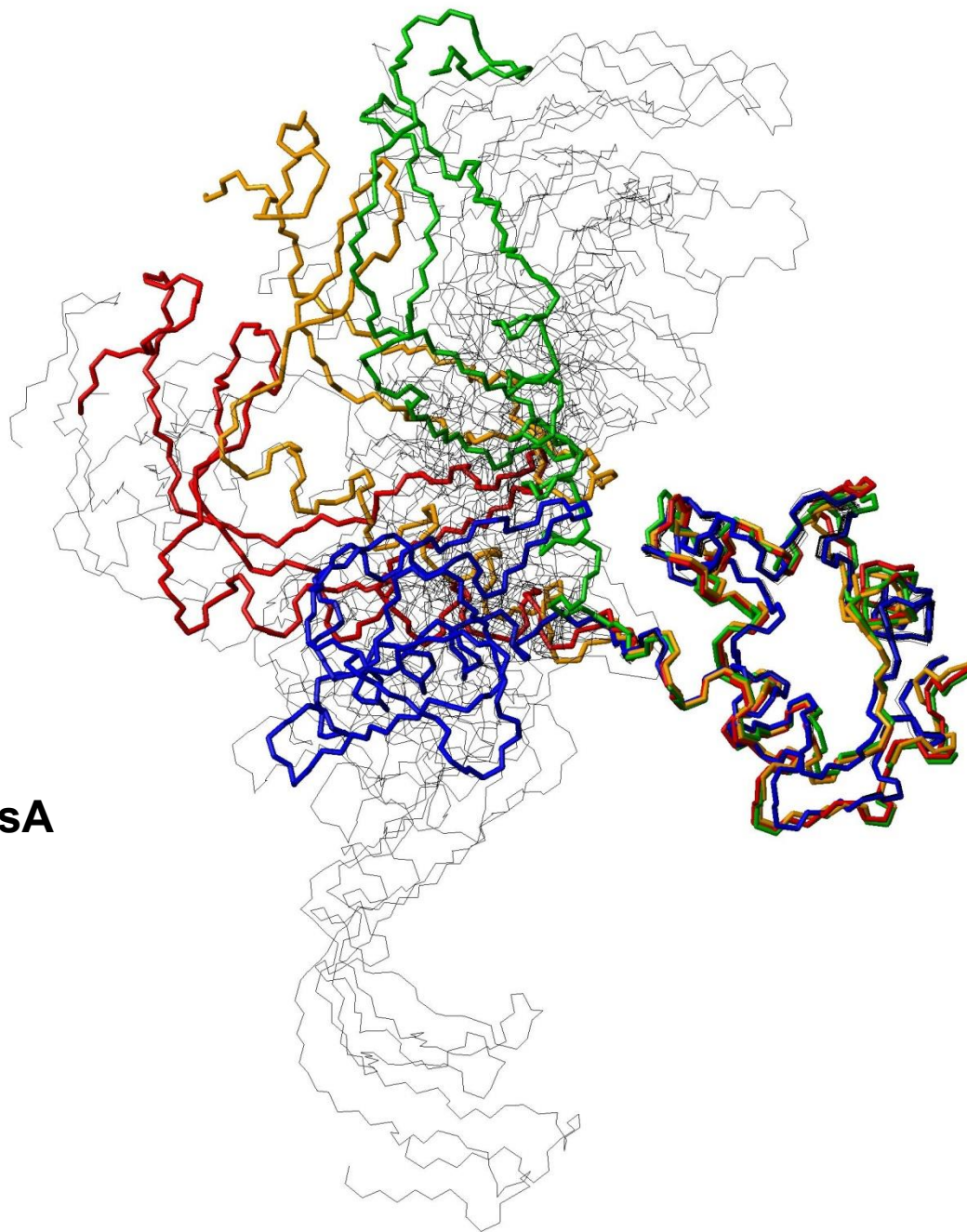
Σε συνθήκες στρες αποδομείται η MqsA, ελευθερώνεται η MqsR, ο μεταβολισμός αναστέλλεται και ενδέχεται να δημιουργηθούν βιοϋμένια με ανθεκτικές μορφές βακτηρίων (persisters).

The MqsR-MqsA toxin-antitoxin system



Δομή MqsA (NMR)





C

**Δομή MqsR-MqsA
(NMR)**



Δομή MqsR-MqsA στον κρύσταλλο

A.4. Επιφανειακές αποφύσεις

– Τρεις κύριες κατηγορίες:

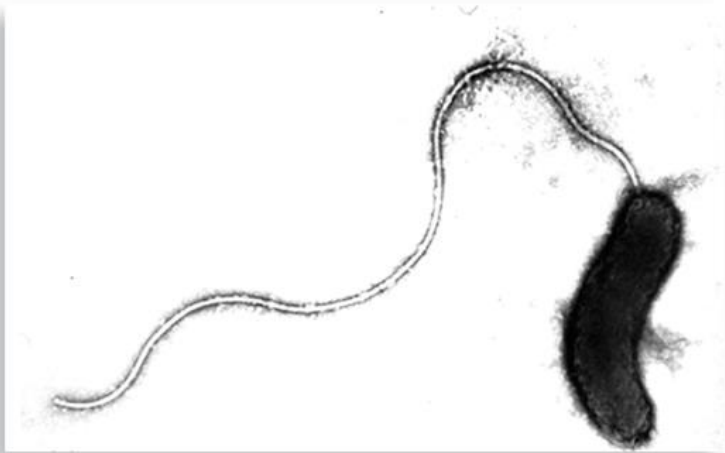
4.1. Μαστίγια: εξωτερικά ή περιπλαστικά. Κινητικότητα

4.2. Σμήριγγες και κροσσοί: προσκόληση ή δίοδοι

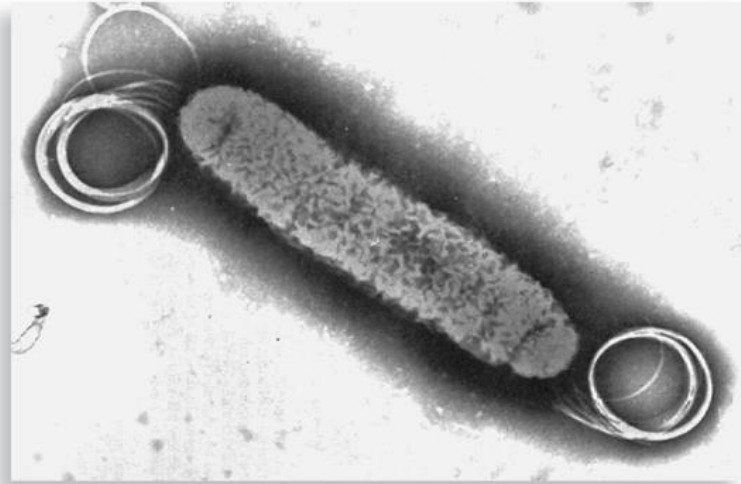
4. 3. Προσθήκες: επίπλευση

Α.4.1.1 Κινούμενες επιφανειακές αποφύσεις: εξωτερικά μαστίγια

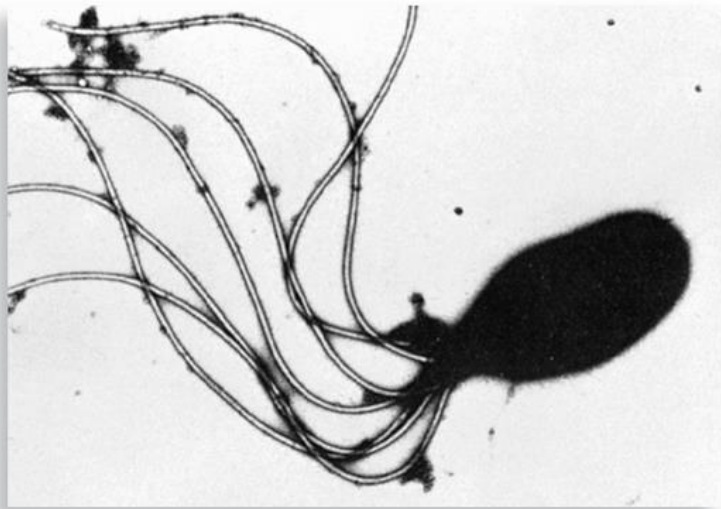
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(a)



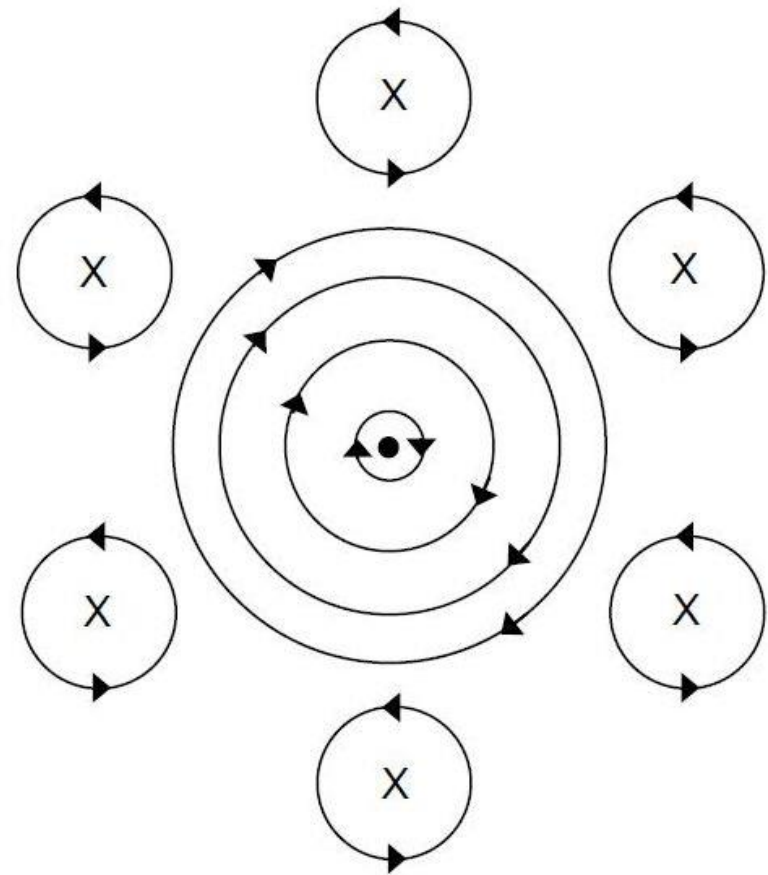
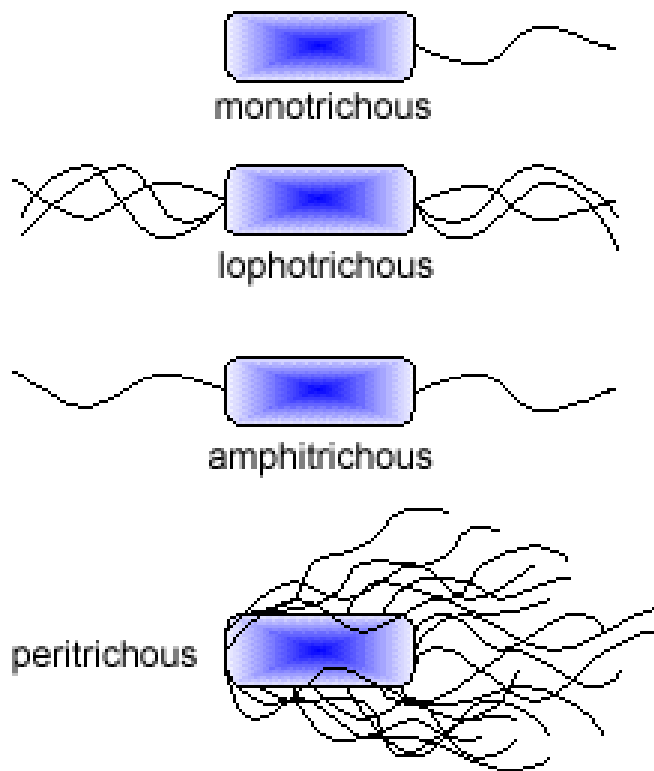
(c)



(b)

Λειτουργία: Βοηθούν τα βακτήρια στην κίνηση ή προσκόλληση. Περιστρέφονται 360°
Η θέση τους είναι σταθερή (πολικά-πλευρικά)
και συγκεκριμένη ανά είδος-ταξινομικός
χαρακτήρας.

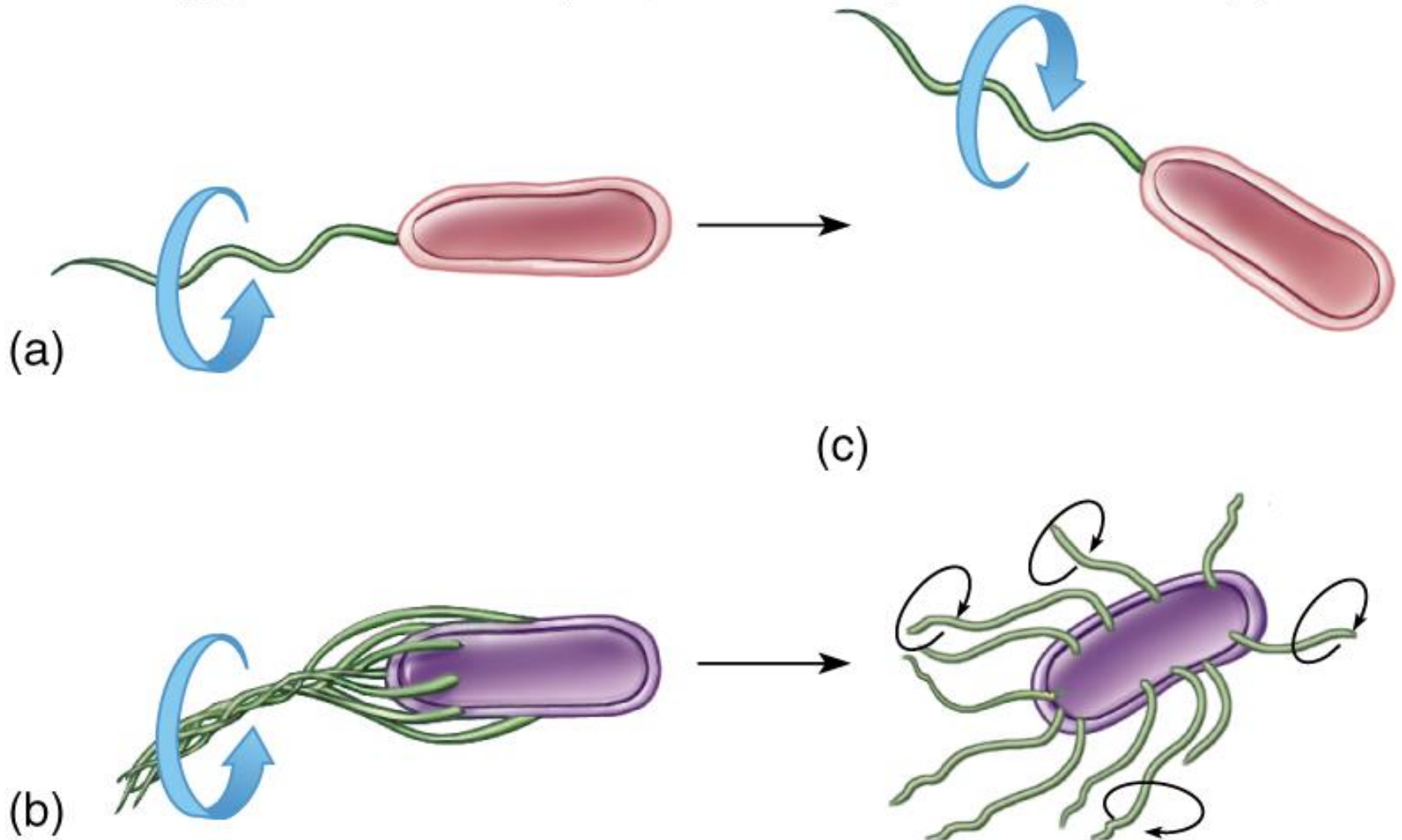
Μονότριχα, Λοφότριχα, Αμφίτριχα, Περίτριχα.



Δίνες δημιουργούμενες από τα 6 μαστίγια του *E. coli* ενώ απομακρύνεται από τον αναγνώστη

Μαστίγια σε κίνηση

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.





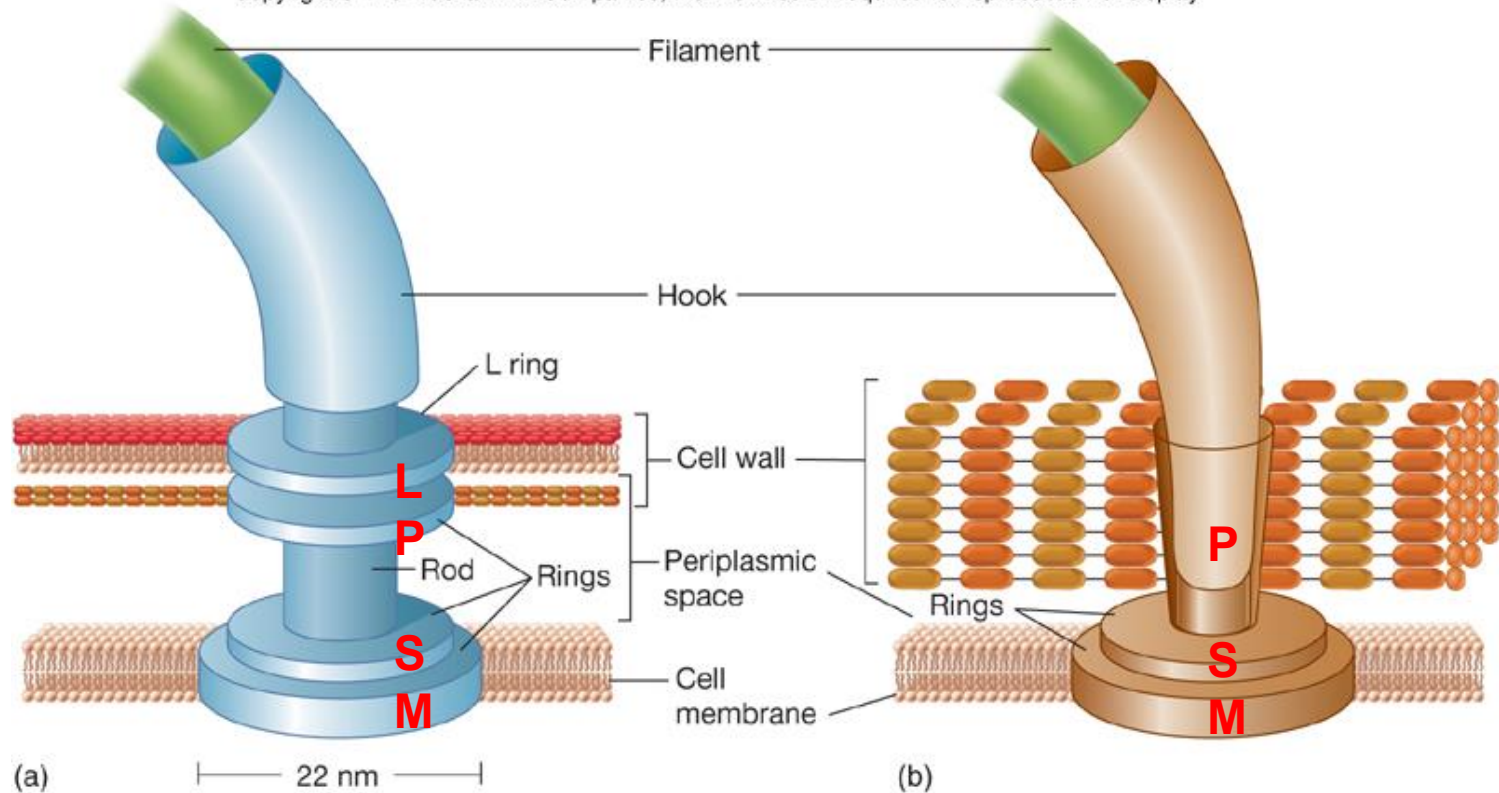
fluo_curly1.avi

http://www.rowland.harvard.edu/labs/bacteria/movies/showmovie.php?mov=fluo_curly1

http://web.biosci.utexas.edu/psaxena/MicrobiologyAnimations/Animations/BacterialMotility/PLAY_motility.html

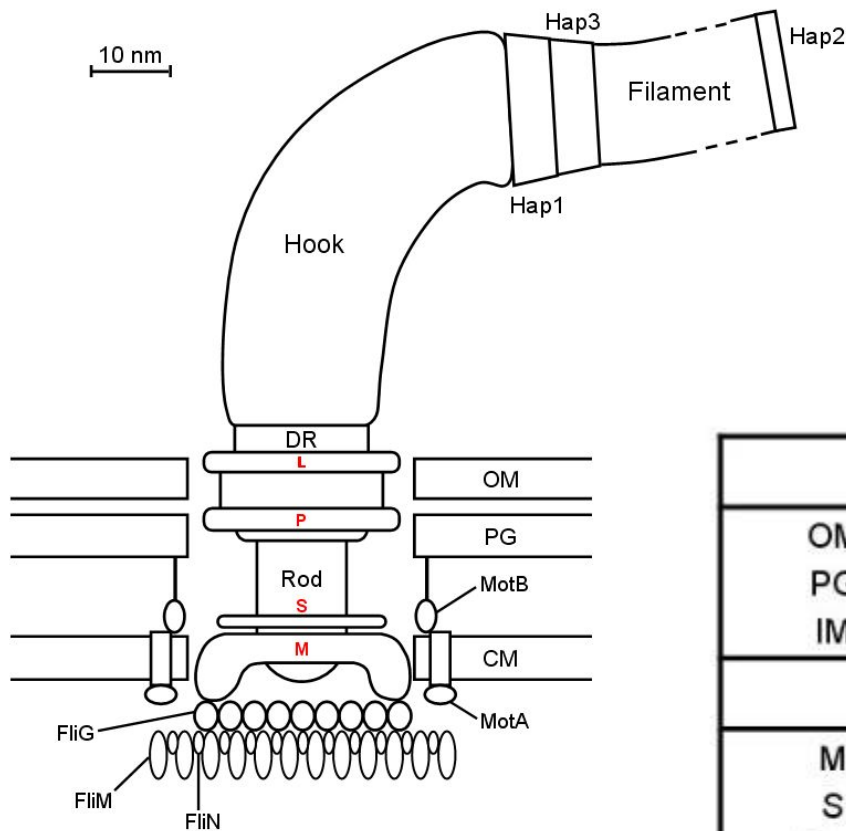
Το μαστίγιο αποτελείται από 3 μέρη: το ινίδιο (filament), το άγκιστρο (hook) και το βασικό σώμα (basal body). Το άγκιστρο συνδέει το ινίδιο με το βασικό σώμα το οποίο είναι στερεωμένο στο κυτταρικό τοίχωμα και την κυτταρική μεμβράνη.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Gram αρνητικά

Gram θετικά



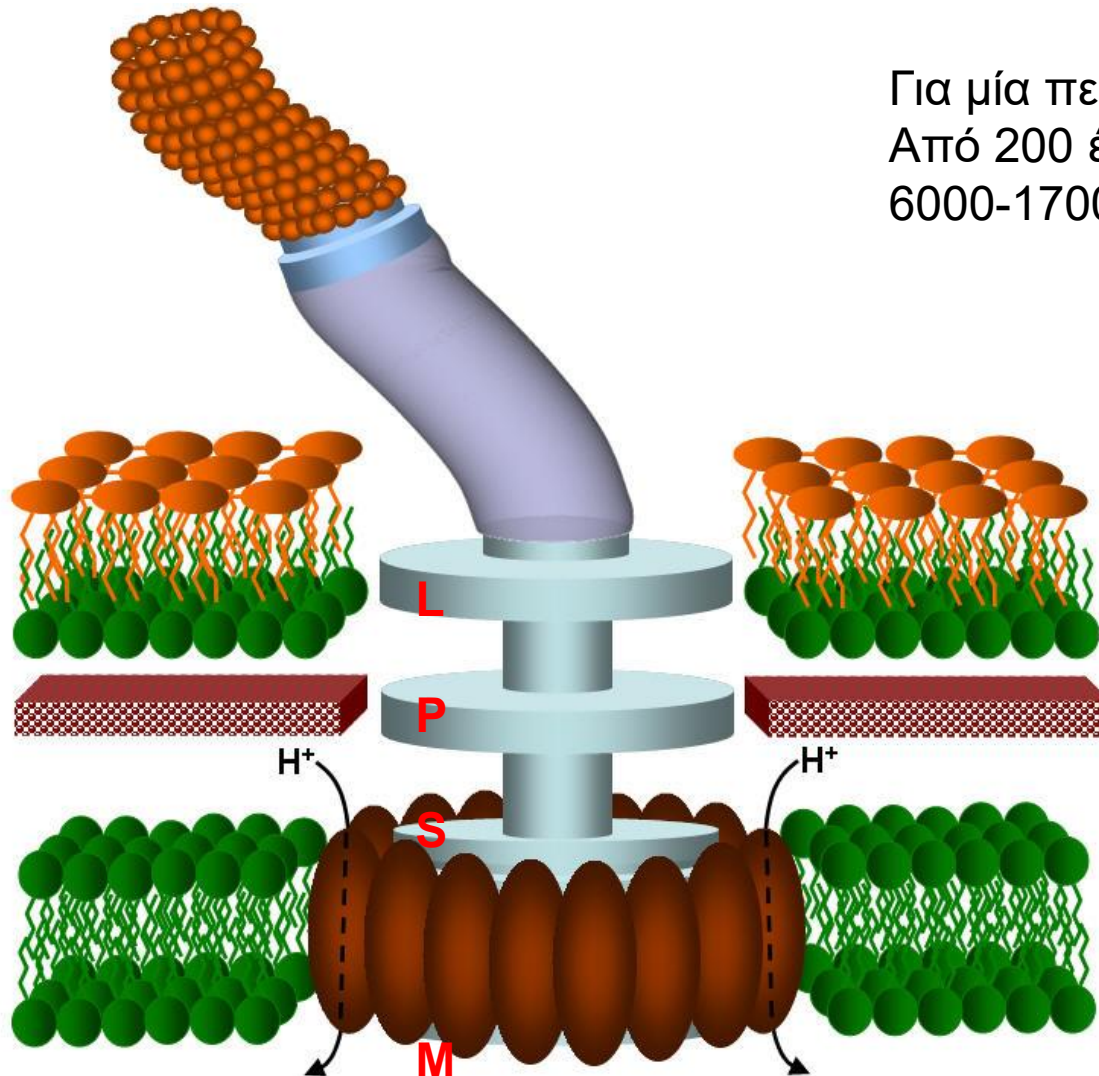
Περίληψη δομικών πρωτεϊνών μαστιγίου

Προσέξτε τους δακτυλίους **M**, **S**, **P** και **L**.
 Πρώτα συναρμολογείται το βασικό σώμα,
 ακολουθεί το άγκιστρο και τέλος το νημάτιο.

	ENVELOPE SUBSTRUCTURE	
OM	Outer membrane	
PG	Peptidoglycan layer	
IM	Inner membrane	
	PROTEIN SUBSTRUCTURE	ENCODING GENE(S)
M	M ring, rotor	<i>fliF</i>
S	S ring, rotor, socket for rod	<i>fliF</i>
Rod	Rod, drive shaft	<i>flgB, flgC, flgF</i>
P	P ring, bushing	<i>flgI</i>
L	L ring, bushing	<i>flgH</i>
DR	Distal rod	<i>flgG</i>
C	C ring, rotor	<i>fliM, fliN</i>
Hook	Hook, flexible adaptor	<i>flgE</i>
Mot	Stator motor proteins (studs x 10)	<i>motA, motB</i>
HAP1	Hook-associated protein 1	<i>flgK</i>
HAP2	Hook-associated protein 2, end cap	<i>fliD</i>
HAP3	Hook-associated protein 3	<i>flgL</i>
Flagellin	Flagella filament	<i>fliC</i>

Περί στροφών...

Για μία περιστροφή απαιτούνται 256 H^+ .
Από 200 έως 1000 rpm, 100 $\mu\text{m}/\text{sec}$.
6000-17000 rpm χωρίς το μαστίγιο.



Vibrio alginolyticus

1000 rpm,
116 $\mu\text{m}/\text{sec}$,
200 000 rpm χωρίς το μαστίγιο

Escherichia coli

270 rpm
36 $\mu\text{m}/\text{sec}$

Η *Escherichia coli* με μήκος 2 μm έχει 6 μαστίγια που της δίνουν ταχύτητα 20 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 10 φορές το μήκος του σώματός της.

Χημειοτακτισμός

Η ιδιότητα των βακτηρίων να κινούνται προς ή να απομακρύνονται από συγκεκριμένες ουσίες: Χημειοελκυστικές, χημιοαπωθητικές ουσίες.

Ειδικοί υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου.

Το βακτηριακό κύτταρο ακολουθεί μια πορεία κίνησης και επαναπροσανατολισμού ώστε να πλησιάζει ή απομακρύνεται από τις ουσίες που επηρεάζουν το σύστημα υποδοχέων-μαστιγίων.

Μεγαλύτερη κίνηση-λιγότερος επαναπροσανατολισμός: χημειοελκυστική ουσία
Λιγότερη κίνηση-περισσότερος επαναπροσανατολισμός: χημιοαπωθητική ουσία.

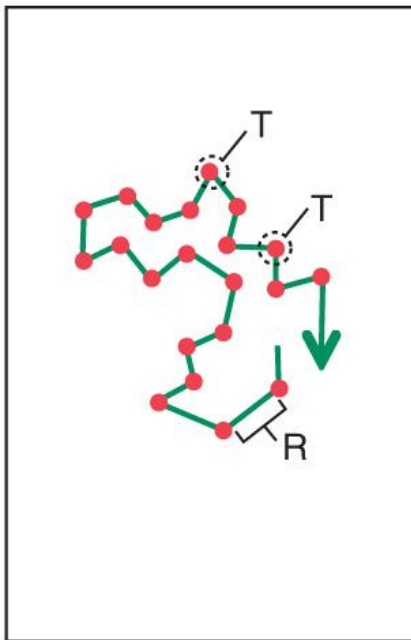
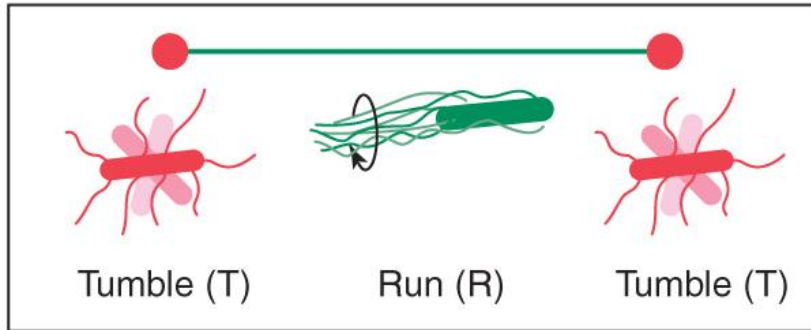
Ο χημειοτακτισμός επιτελείται μετά από την αλληλεπίδραση των **υποδοχέων** με πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην οδό μετάδοσης σήματος ώστε το αρχικό ερέθισμα να τροποποιήσει τη φορά στροφής του μαστιγίου.

Άλλοι τακτισμοί: φωτοτακτισμός, μαγνητοτακτισμός

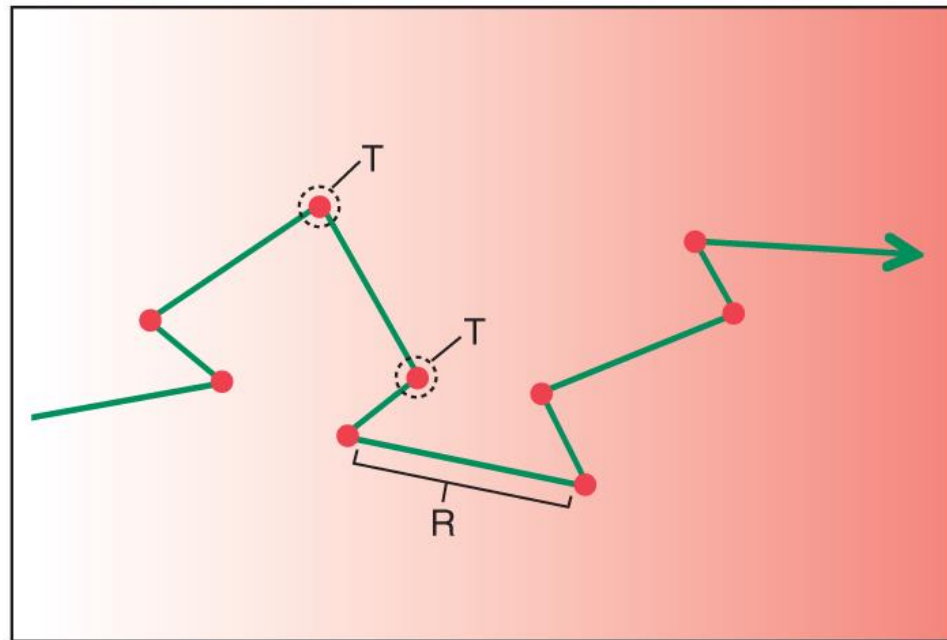
Χημειοτακτισμός μέσω μαστιγίων

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

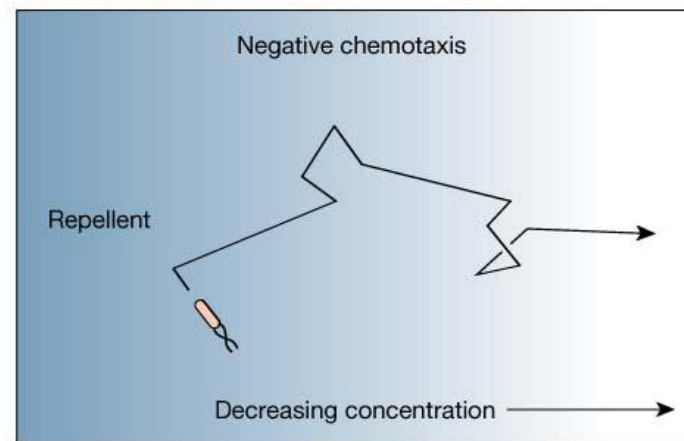
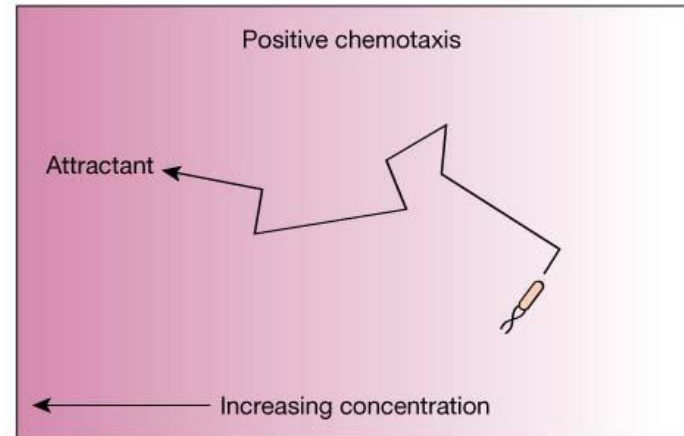
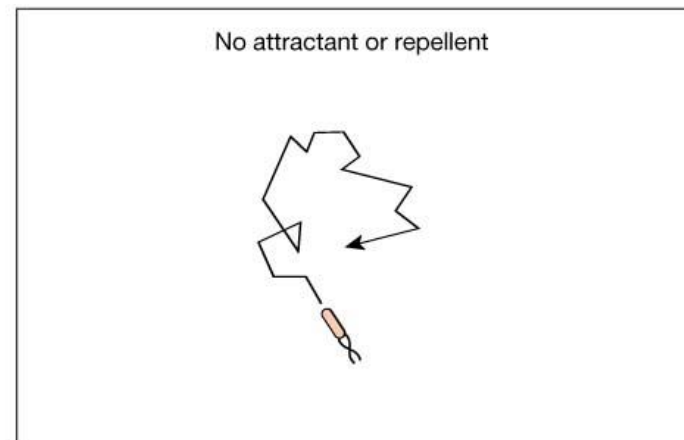
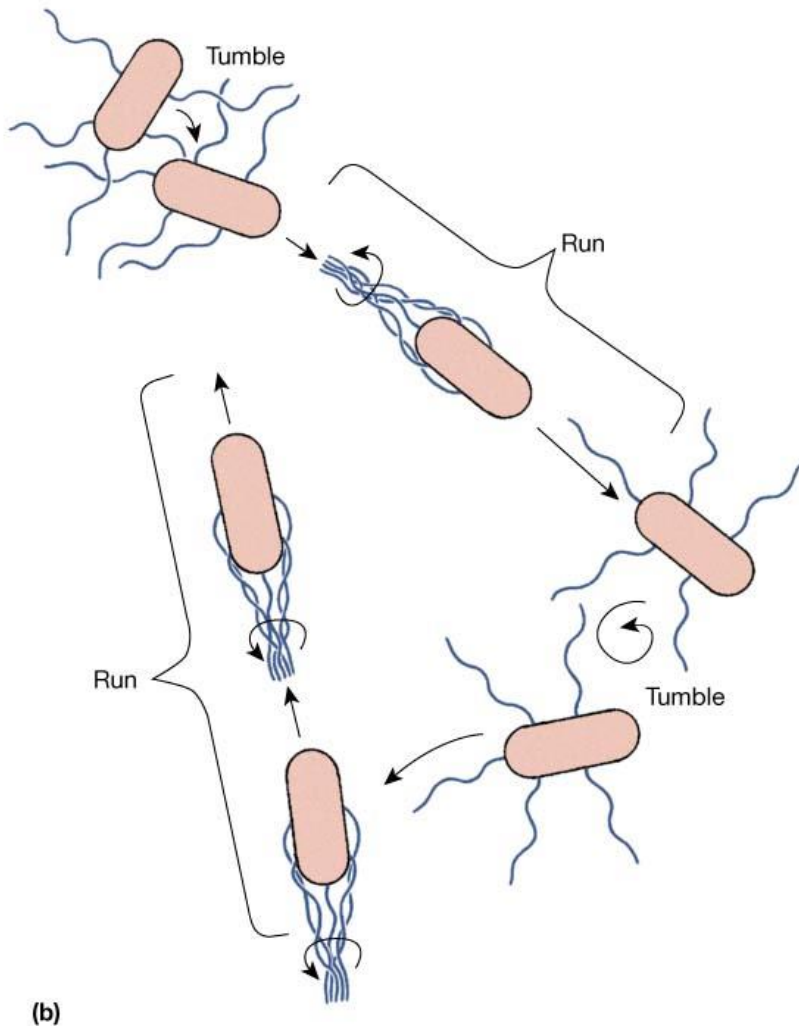
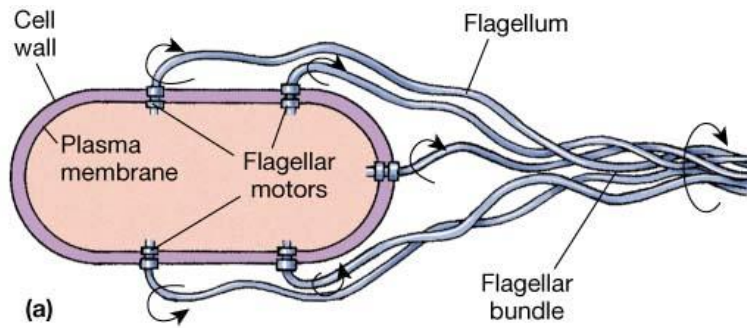
Key



(a) No attractant or repellent



(b) Gradient of attractant concentration



(c)

Βασικές αρχές χημειοτακτισμού στα βακτήρια

Υπάρχουν **5 διαμεμβρανικοί μεθυλοϋποδοχείς χημειοτακτισμού (MCPs)** στην επιφάνεια των βακτηρίων (Tsr, Tar, Trg, Tap, Aer), ο καθείς για διαφορετικά συστατικά.

Οι υποδοχείς υπάρχουν **στη μία άκρη** του βακτηριακού κυττάρου.

Ο **βαθμός μεθυλίωσης** των κυτοπλασματικών μερών των MCPs (πλην Aer), αντικατοπτρίζει ανά πάσα στιγμή το εξωτερικό χημικό περιβάλλον του κυττάρου.

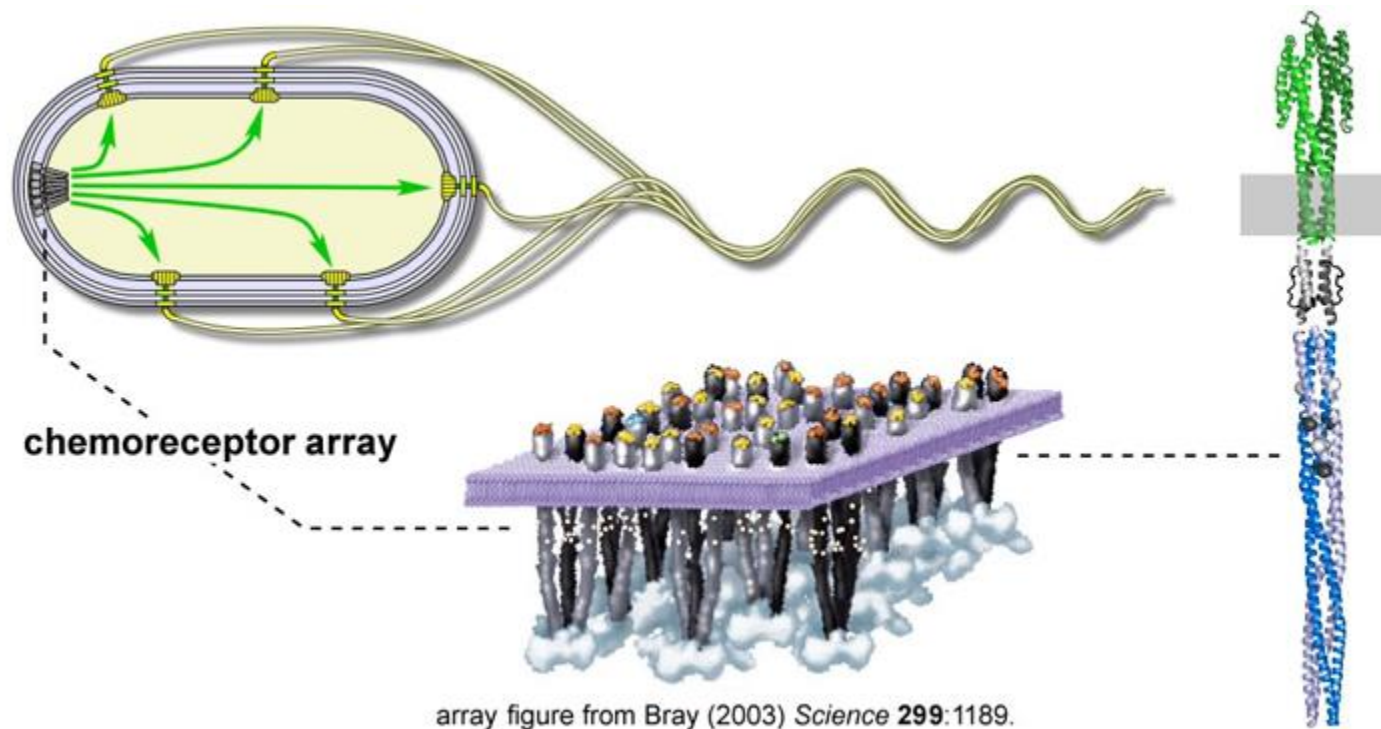
Υπάρχει συνεχές **σύστημα ανάδρασης** για το βαθμό μεθυλίωσης.

Αλλαγές στο **βαθμό μεθυλίωσης** επηρεάζουν την περιστροφή του μαστιγίου (CCW/CW).

Το μαστίγιο περιστρέφεται από προεπιλογή ως **CCW** σε σταθερή μεθυλίωση.

Μεθυλιωμένοι υποδοχείς (χημειοελκυστικές ουσίες) δίνουν περιστροφή CCW («τρέξιμο»).

Οι χημειοαπωθητικές ουσίες προκαλούν απομεθυλίωση και περιστροφή CW («πέσιμο»).



Μεθυλοϋποδοχείς χημειοτακτισμού (MCPs)

Η *E. coli* αντιλαμβάνεται τις αλλαγές στις συγκεντρώσεις των ουσιών συγκρίνοντας τις τρέχουσες συγκεντρώσεις με εκείνες που ανέκυψαν κατά τη διάρκεια των τελευταίων δευτερολέπτων. Η *E. coli* έχει πέντε **διαμεμβρανικούς χημειοϋποδοχείς** (μεθυλοϋποδοχείς χημειοτακτισμού, methyl accepting chemotaxis proteins ή MCPs).

Διαφοροποιούνται από την περιπλαστική δομική οντότητα που δεσμεύει τις ουσίες-ερεθίσματα. Έχουν σχετικά κοινές κυτταροπλασματικές περιοχές σήμανσης.

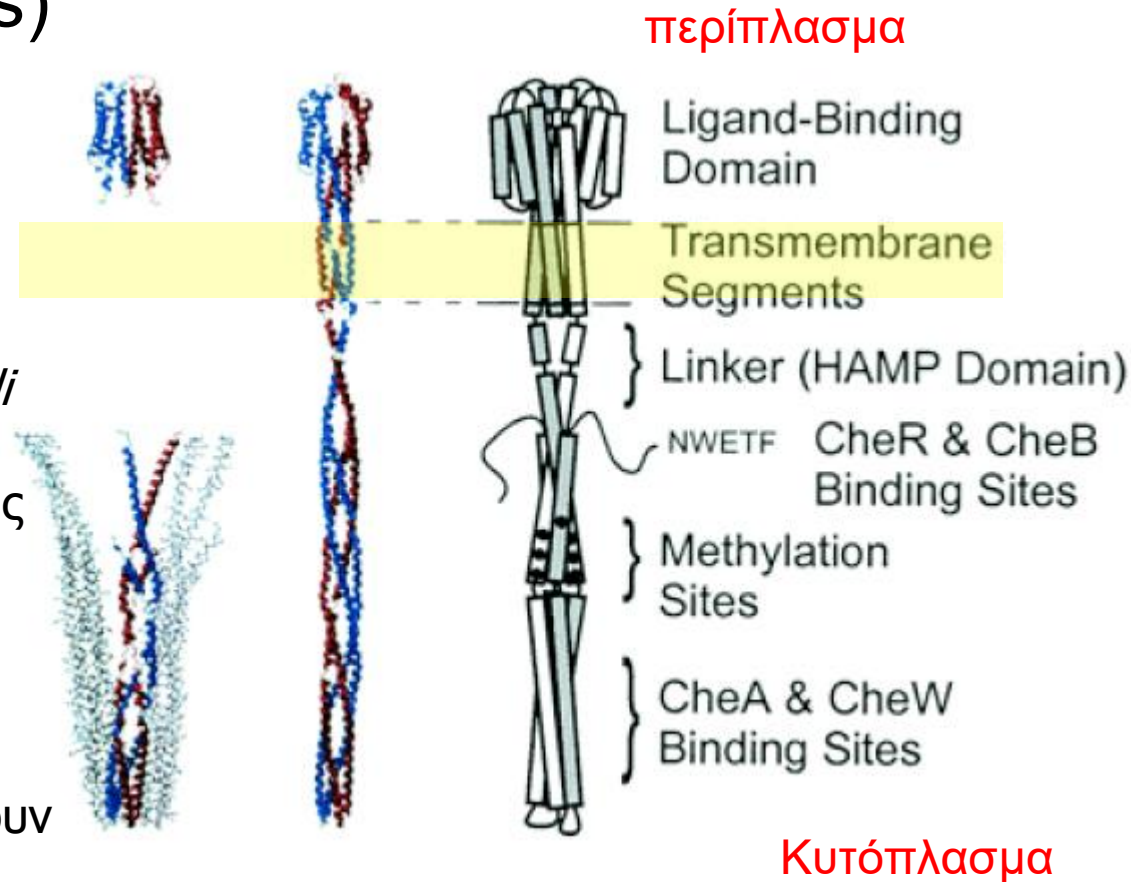
Οι υποδοχείς μπορούν να αναγνωρίσουν αλλαγές του 1% στη συγκέντρωση. Έχουν ευαισθησία από 10^{-10} έως 10^{-3} M.

Hazelbauer, G., Falke, J. & Parkinson, J. (2008). *Trends Biochem. Sci.*, 33, 9–19.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2007.09.014>

Kim, S.-H., Wang, W. & Kim, K. K. (2002). *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 99, 11611–11615.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.132376499>



Υποδοχείς (MCPs): 5 είδη

- Tsr

Taxis serine and some repellents (απωθητές)

- Leu = rep; acids = rep

- Tar

Taxis aspartate and some repellents (απωθητές)

- Maltose = attractant

- Trg

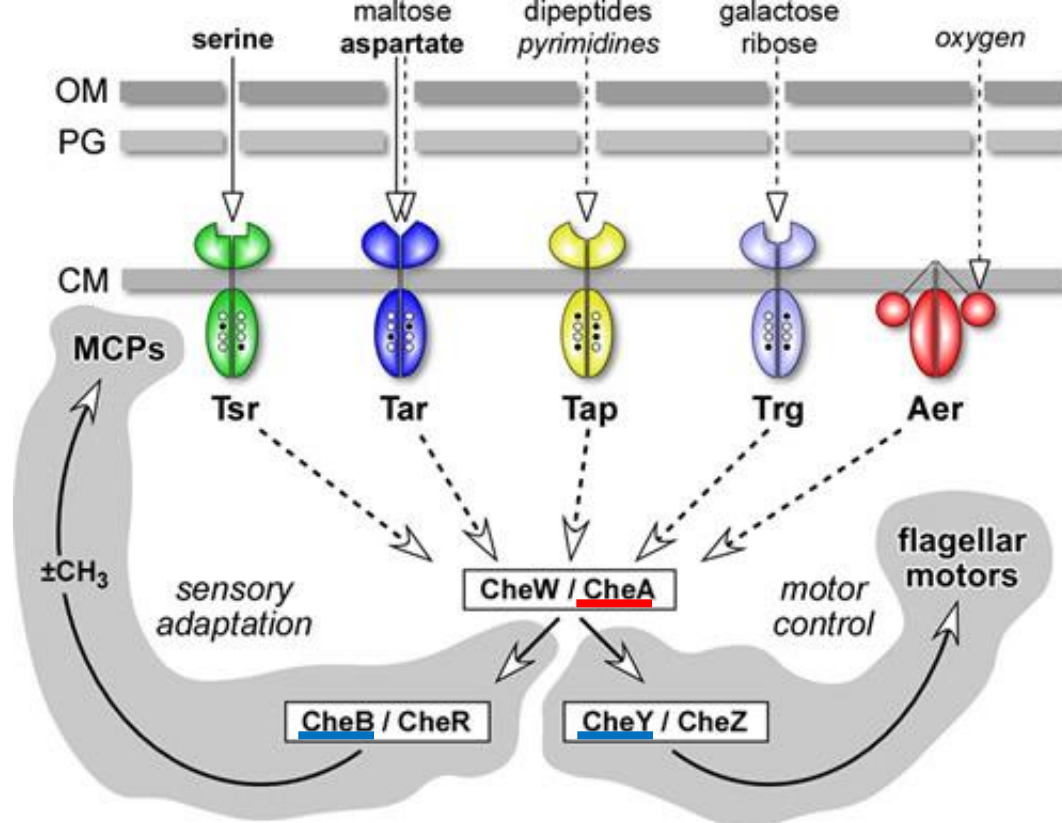
Taxis ribose and galactose

- Tap

Taxis to di-peptides

- Aer

Aerotactic responses



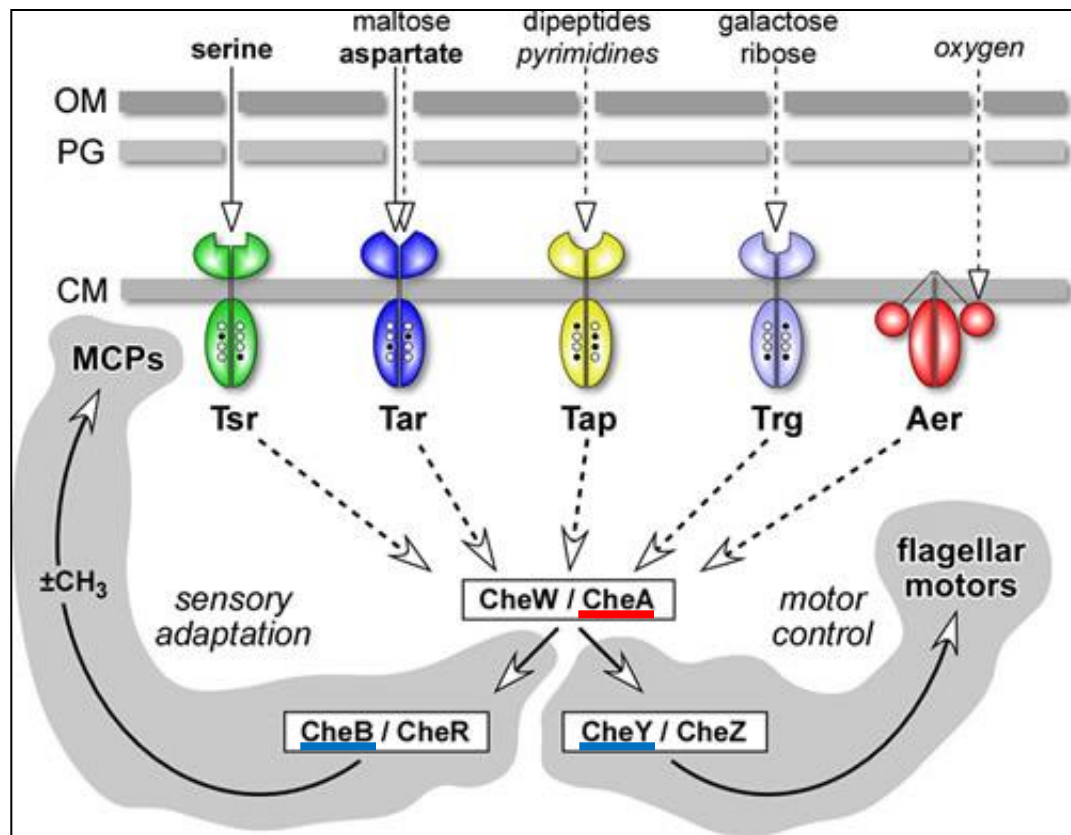
Πως μεταδίδεται το σήμα από το εξωκυτταρικό μέρος των υποδοχέων στα μαστίγια;

Όταν ένας δεσμευτής αναγνωρισθεί από το περιπλαστικό μέρος του υποδοχέα, το ερέθισμα μεταφέρεται στο κυτταροπλασματικό μέρος του υποδοχέα που έχει δεσμευμένες τις CheW/CheA. Οι υποδοχείς και οι CheW δημιουργούν σταθερά τριμερή σύμπλοκα. Το ερέθισμα μεταφέρεται από τους υποδοχείς στην CheW και κατόπιν στην CheA. Τότε η CheA αυτοφωσφορυλιώνεται (**P**-CheA) και φωσφορυλιώνει τις **CheB** και **CheY**.

Οι **CheB** και CheR ρυθμίζουν την **κατάσταση μεθυλίωσης** των MCP.

Οι **CheY** και CheZ ελέγχουν τη **φορά περιστροφής** του μαστιγίου.

http://chemotaxis.biology.utah.edu/Parkinson_Lab/projects/ecolichemotaxis/ecolichemotaxis.html

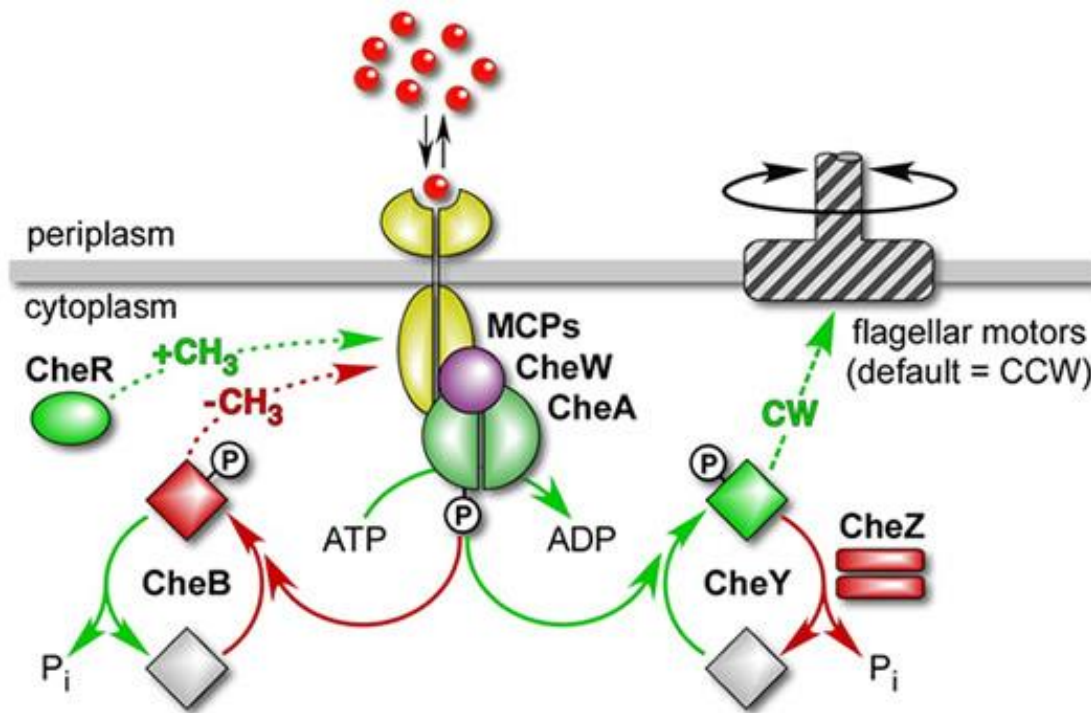


Η **P-CheB** έχει υψηλή ενεργότητα μεθυλεστεράσης (απομεθυλίωση).
 Η **P-CheY** ενισχύει την περιστροφή CW του μαστιγίου.

Ανάδραση από:

Η CheR μεθυλιώνει τους υποδοχείς.

Η CheZ αποφωσφορυλιώνει την **P-CheY**.



Οι **CheB** και **CheR** ρυθμίζουν την **κατάσταση μεθυλίωσης** των MCP.
 Οι **CheY** και **CheZ** ελέγχουν τη **φορά περιστροφής** του μαστιγίου.

Η **P-CheB** έχει υψηλή ενεργότητα μεθυλεστεράσης.
 Η **P-CheY** ενισχύει την περιστροφή CW του μαστιγίου αλληλεπιδρώντας με τις FliM, FliN και FliG που βρίσκονται σε επαφή με το δακτύλιο S και καθορίζουν τη φορά περιστροφής.

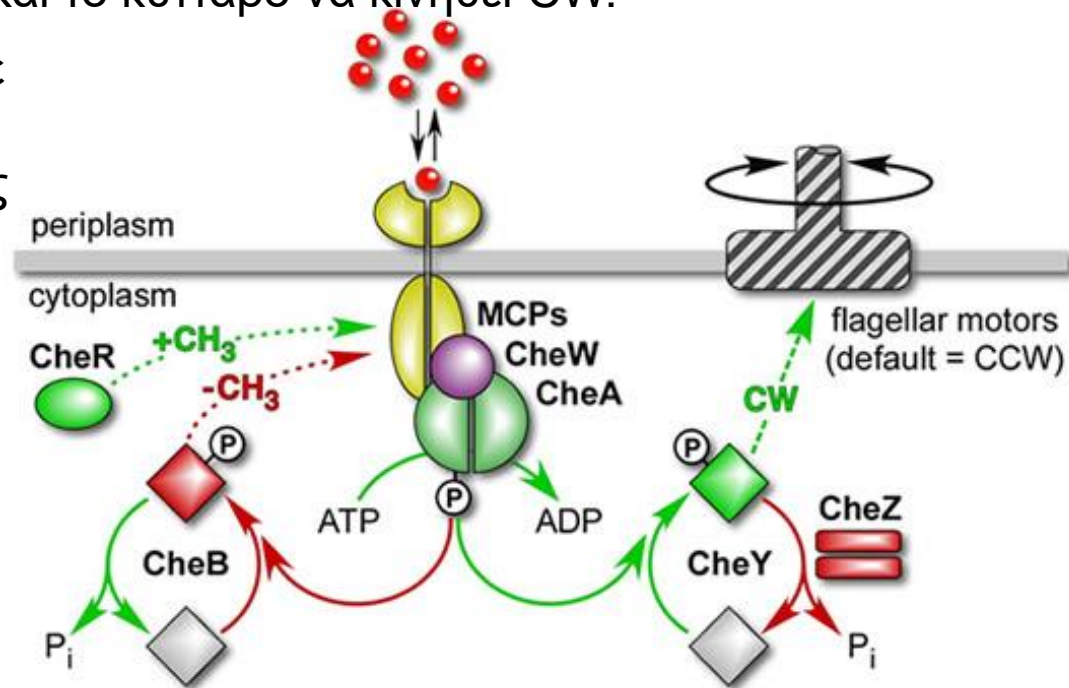
Ανάδραση από:
 Η **CheR** μεθυλιώνει τους υποδοχείς.
 Η **CheZ** αποφωσφορυλιώνει την **P-CheY**.

Δεδομένα: από προεπιλογή, το σύστημα λειτουργεί ως CCW. Οι χημειοελκυστικές ουσίες (●) προκαλούν αρχικά αποφωσφορυλίωση του συστήματος CheW/CheA (και μεθυλίωση του υποδοχέα) και οι απωθητικές φωσφορυλίωση (και απομεθυλίωση του υποδοχέα).

Εάν το επίπεδο της χημειοελκυστικής ουσίας παραμένει υψηλό, τότε οι CheA και κατ'επέκτασιν οι CheY και CheB, θα μένουν αποφωσφορυλιωμένες. Τα κύτταρα θα κολυμπούν κανονικά (CCW) και η μεθυλίωση των MCPs θα αυξηθεί (επειδή η P-CheB δεν είναι παρούσα για απομεθυλίωση). Οι πλήρως μεθυλιωμένες MCPs (δεν ανταποκρίνονται στις χημειοελκυστικές ουσίες) προκαλούν φωσφορυλίωση του CheA. Έτσι, ακόμα και σε υψηλά επίπεδα χημειοελκυστικών ουσιών, τα επίπεδα των P-CheA και P-CheB μπορούν να αυξηθούν και το κύτταρο να κινηθεί CW.

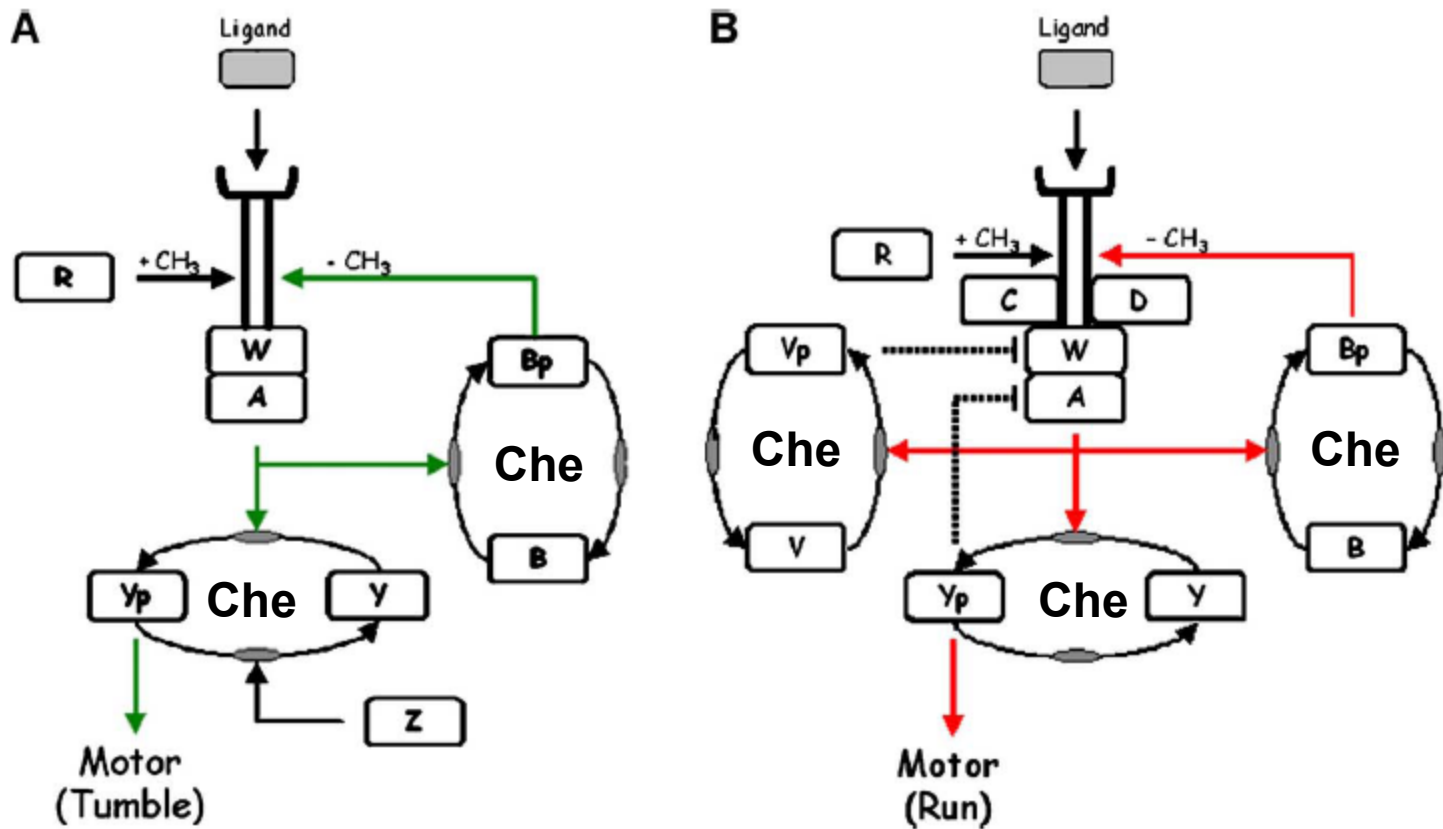
Η P-CheB προκαλεί απομεθυλίωση με αποτέλεσμα οι υποδοχείς να ανταποκρίνονται στις χημειοελκυστικές ουσίες και να επαναμεθυλιώνονται. Ο κύκλος επαναλαμβάνεται... Οι χημειοαπωθητικές ουσίες δουλεύουν ακριβώς αντίθετα.

Ο **βαθμός μεθυλίωσης** επιτρέπει στο βακτήριο να «θυμάται» χημικές συγκεντρώσεις από το πρόσφατο παρελθόν του, και να τροποποιεί την κινητική του συμπεριφορά ανάλογα με τις εξωτερικές ουσίες που ανιχνεύει.



http://chemotaxis.biology.utah.edu/Parkinson_Lab/projects/ecolichemotaxis/ecolichemotaxis.html

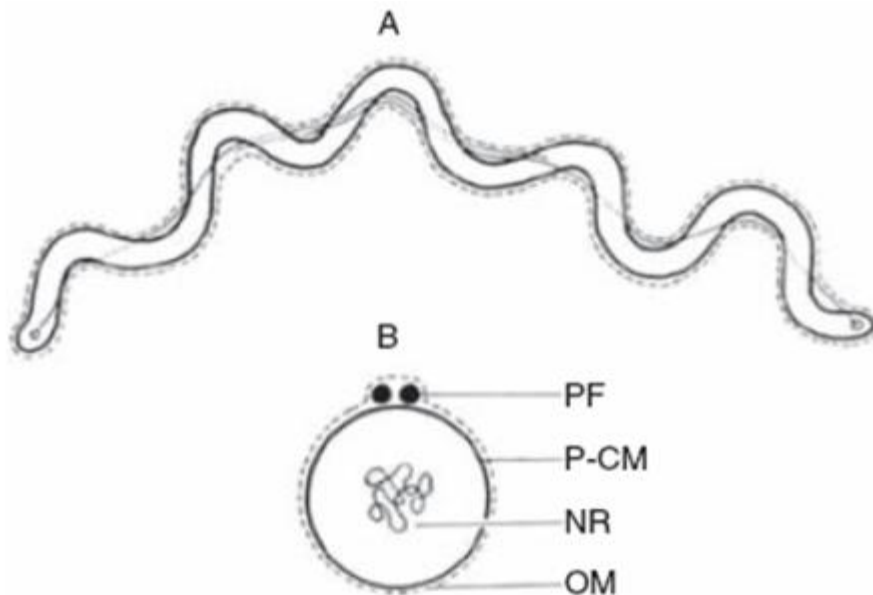
Επιπλέον συστήματα ελέγχου στον *Bacillus subtilis*...



Rao CV, Kirby JR, Arkin AP. Design and Diversity in Bacterial Chemotaxis: A Comparative Study in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. PLoS Biol. 2004 Feb;2(2):E49.

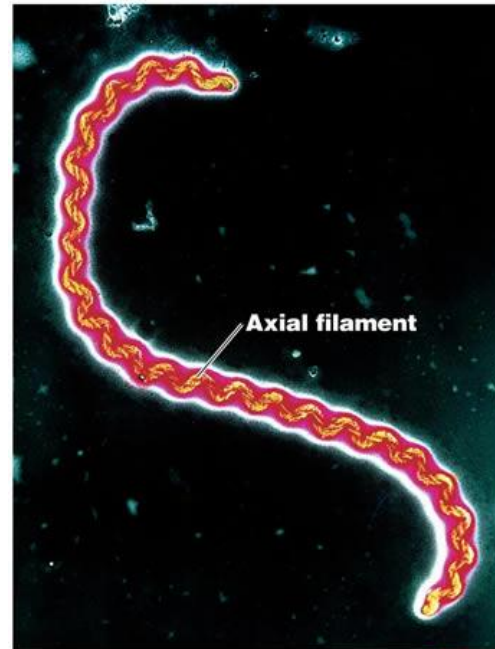
A.4.1.2. Κινούμενες επιφανειακές αποφύσεις: περιπλασματικά μαστίγια (αξονικά ινίδια)

- Εσωτερικά μαστίγια που βρίσκονται μεταξύ του κυτταρικού τοιχώματος και της εξωτερικής μεμβράνης σε Gram θετικά βακτήρια.



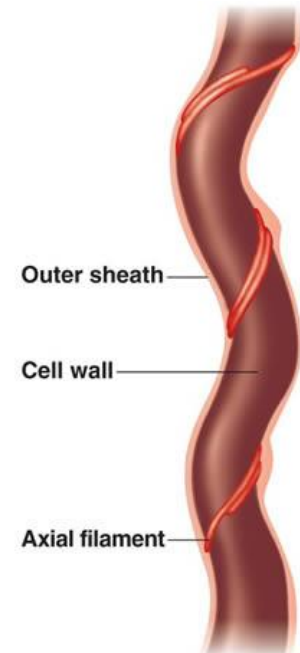
- Προκαλούν κινητικότητα με συστολές (κυματοειδείς) ή στροφές

Τροποποιημένα μαστίγια που απαντώνται στις σπειροχαίτες



(a) A photomicrograph of the spirochete *Leptospira*, showing an axial filament

Copyright © 2010 Pearson Education, Inc.



(b) A diagram of axial filaments wrapping around part of a spirochete. (See Figure 11.24a for a cross section of axial filaments)

A.4.2. Μη κινούμενες επιφανειακές αποφύσεις
σμήριγγες (pili), κροσσοί (fimbriae) και προσθήκες

A.4.2. Μη κινούμενες επιφανειακές αποφύσεις σμήριγγες (pili) και κροσσοί (fimbriae)

4.2.1. Σμήριγγες (pili)

Τριχοειδείς εκφύσεις στην επιφάνεια μερικών αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Κυλινδρικές δομές με εσωτερικό αυλό.

Δομή: πιλίνη, υδατάνθρακες και φωσφορικά άλατα.

Λειτουργίες

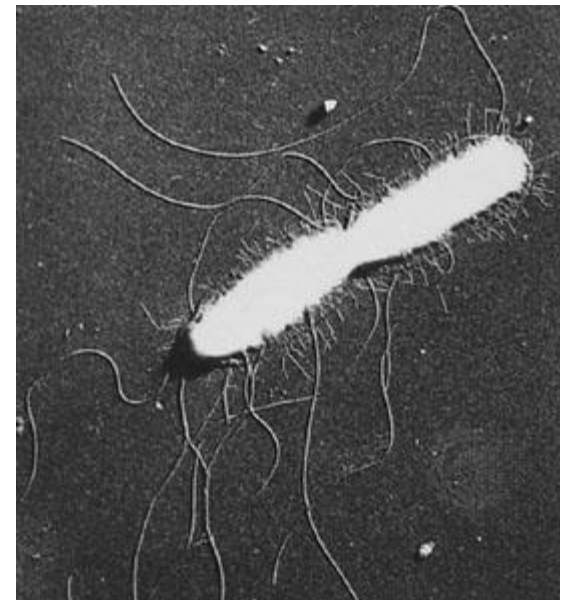
Πρόσφυση σε στερεά υποστρώματα (δημιουργία βιοϋμενίων), σύζευξη, δέκτες ιών.

Παθογένεια, προσβολή ζώων (*E. coli*, *Neisseria gonorrhoeae*) και φυτών.

Οι σμήριγγες είναι μακρύτερες και αραιότερες από τους κροσσούς.

4.2.2. Οι κροσσοί (fimbriae)

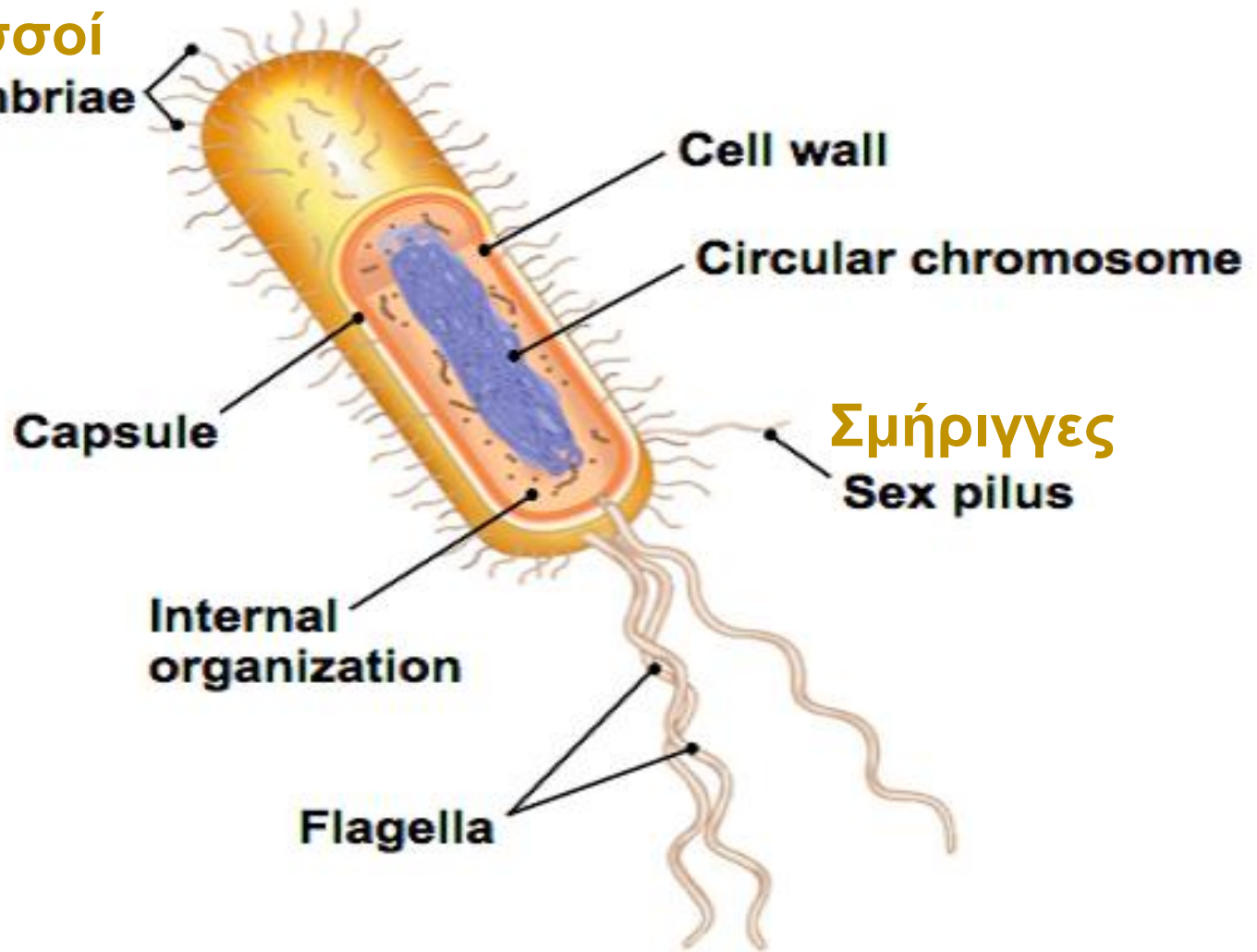
σχετίζονται με την προσκόληση και οι σμήριγγες (στα Gram αρνητικά) με τη σύζευξη.



Salmonella typhi

κροσσοί

Fimbriae



Cell wall

Circular chromosome

Capsule

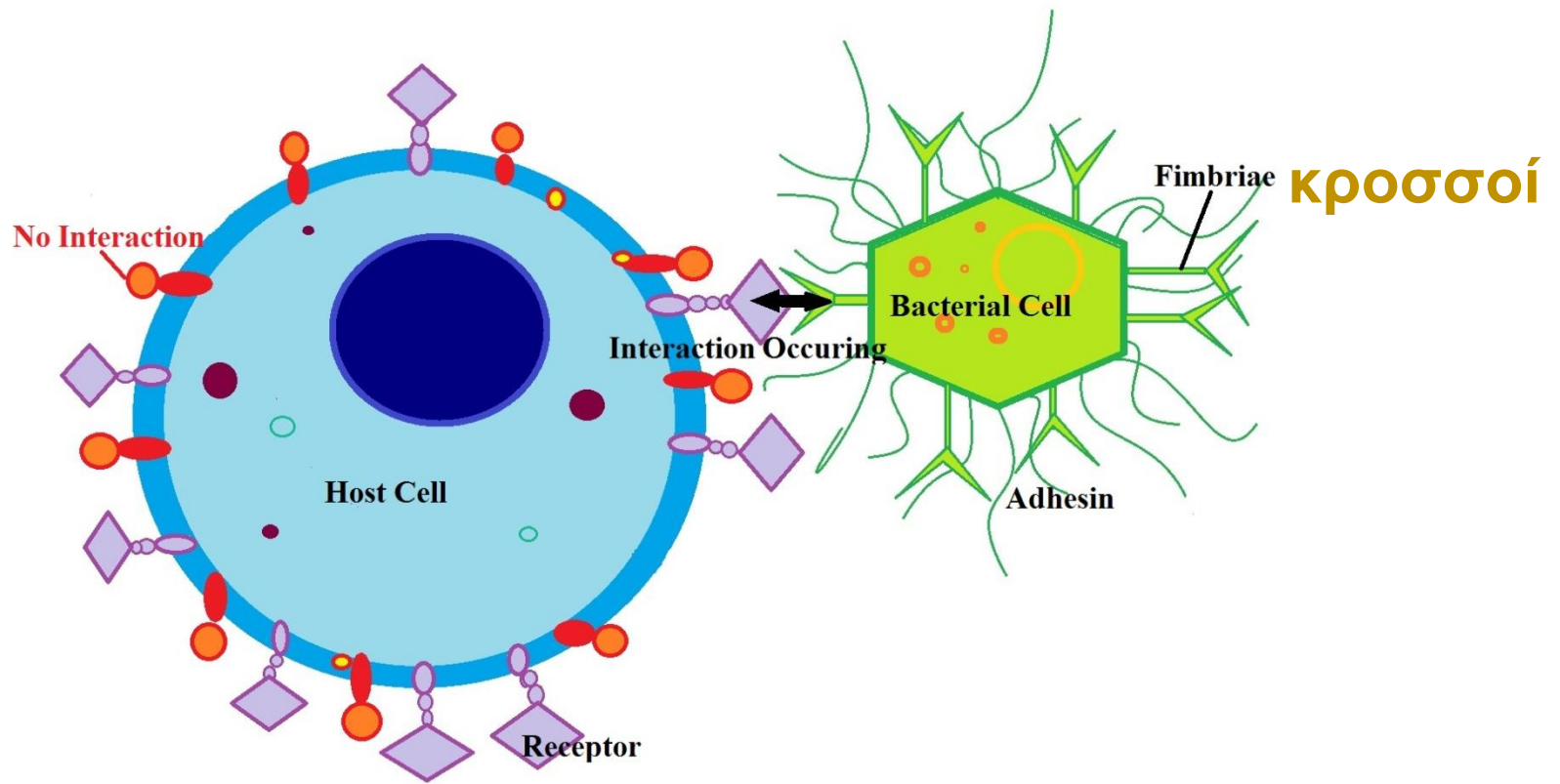
Σμήριγγες

Sex pilus

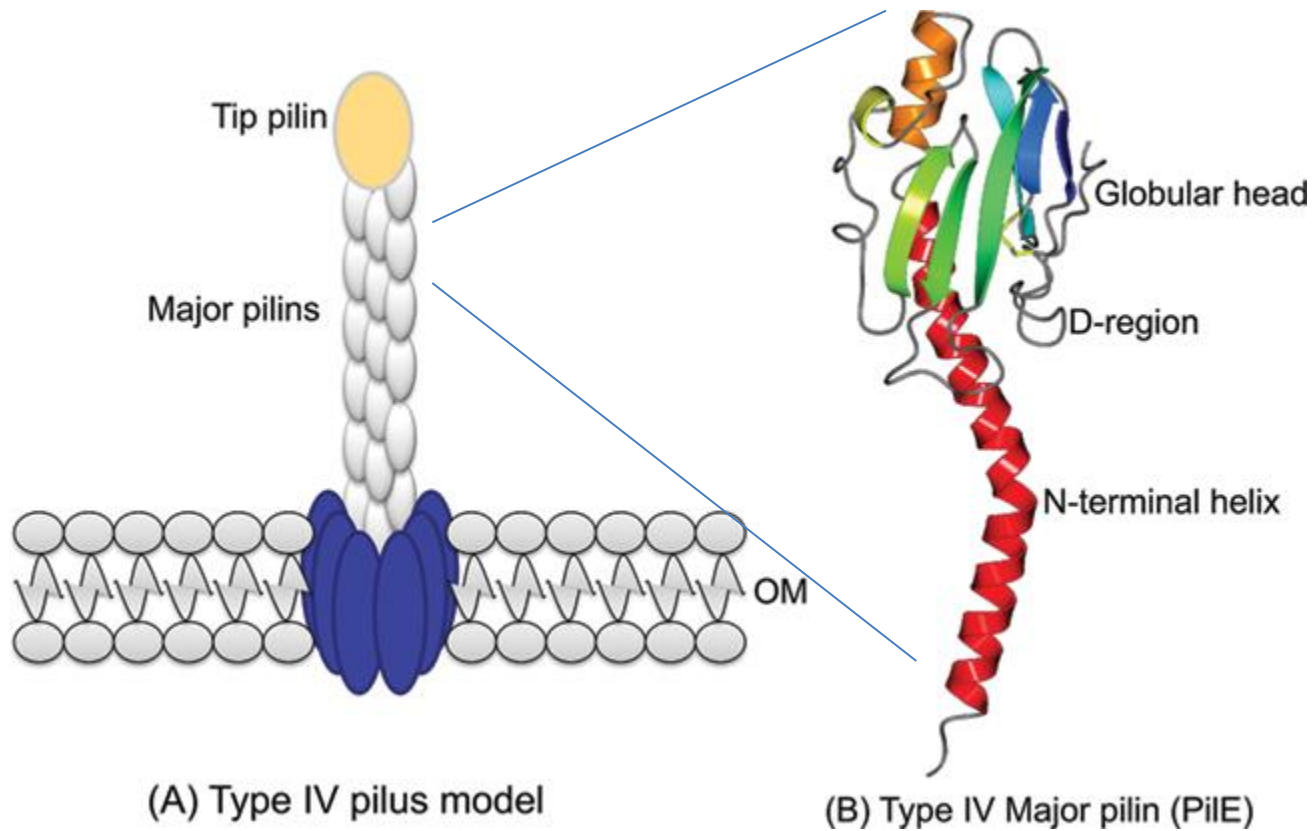
**Internal
organization**

Flagella

<http://www.microbiologynotes.com/wp-content/uploads/2016/03/Differences-between-fimbriae-and-pili.png>

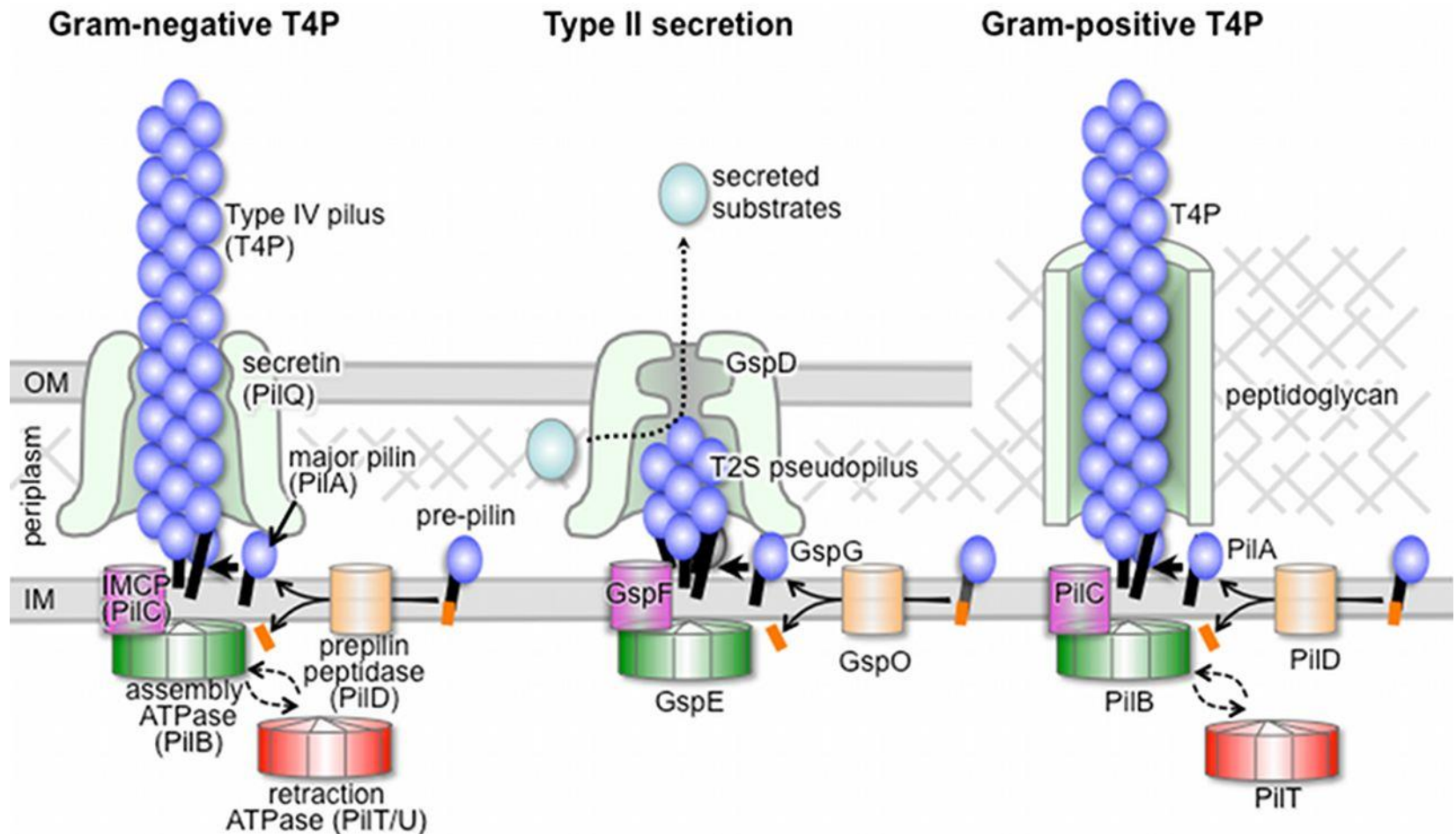


Σμήριγγες



<https://www.intechopen.com/source/html/50573/media/fig4.png>

Illustration of key components in the Gram-negative T4P and T2S systems and the Gram-positive T4P system and their localization in the bacterial envelope.



Stephen Melville, and Lisa Craig Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2013;77:323-341

<http://mmbbr.asm.org/content/77/3/323/F3.expansion.html>

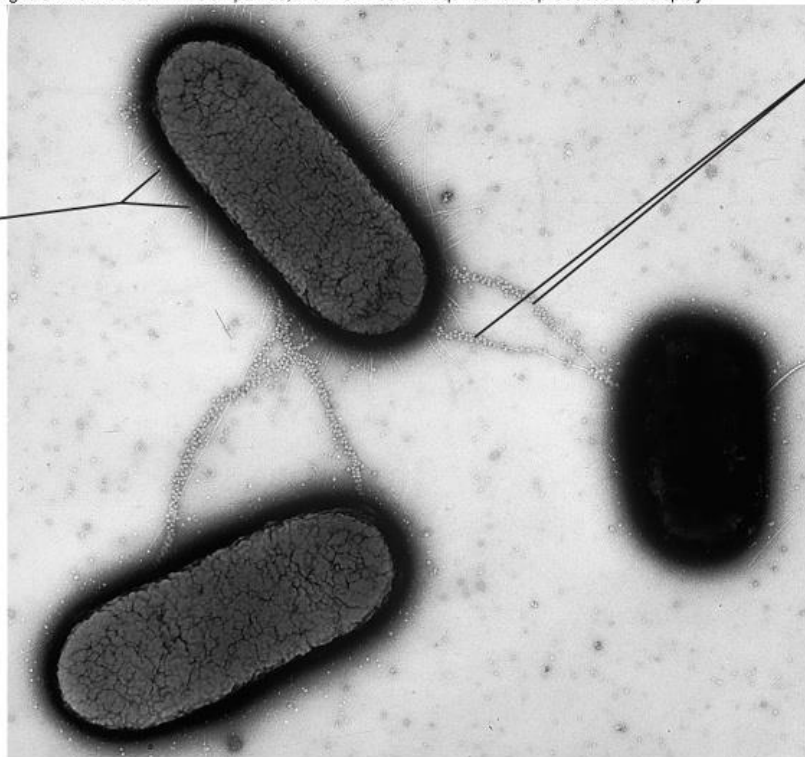
<http://mmbbr.asm.org/content/77/3/323.full.pdf+html>

Σμήριγγες

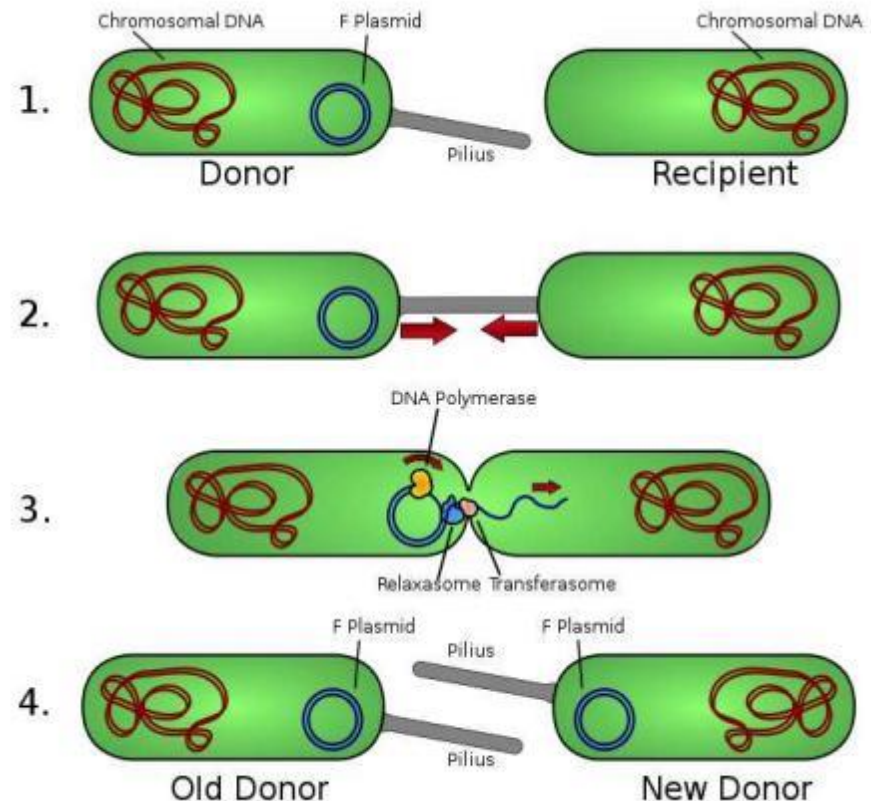
F-σμήριγγες και σύζευξη

- Σωληνοειδείς δομές αποτελούμενες από πιλίνη
- Μόνο στα Gram-αρνητικά.
- Ενώνουν τα βακτηριακά κύτταρα για μερική μεταφορά DNA από το κύτταρο δότη στο κύτταρο δέκτη (**σύζευξη**).

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



© L. Caro/SPL/Photo Researchers, Inc.

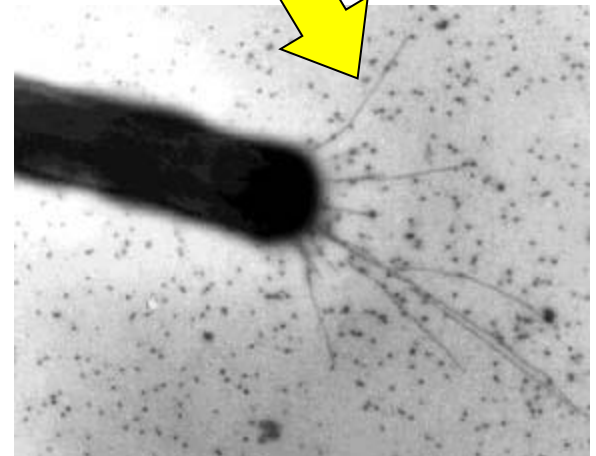


σύζευξη



Σμήριγγες

Pili

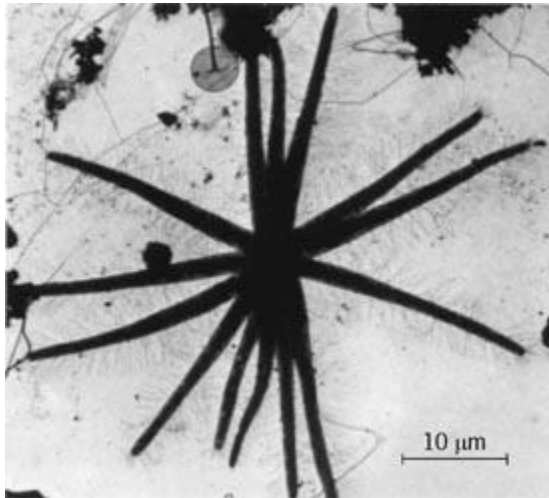


Some of the differences between fimbriae (κροσσοί) and pili (σμήριγγες)

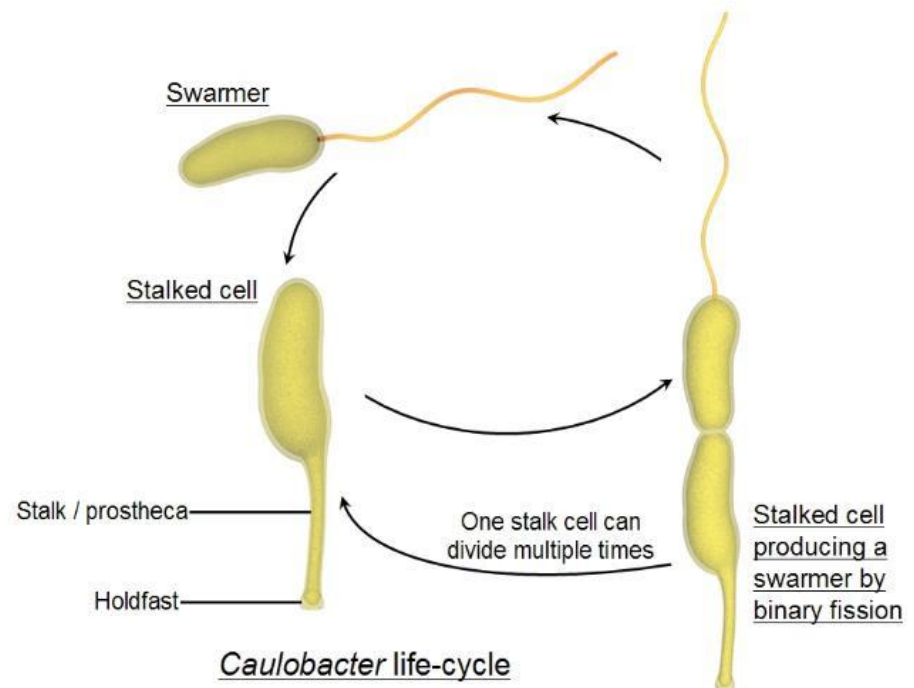
S.N.	Characteristics	Fimbriae (κροσσοί)	Pili (σμήριγγες)
1	Definition	Fimbriae are tiny bristle-like fibers arising from the surface of bacterial cells.	Pili are hair like microfibers that are thick tubular structure made up of pilin.
2	Length	Shorter than pili	Longer than fimbriae.
3	Diameter	Thin	Thicker than fimbriae.
4	Number	No. of fimbriae are 200-400 per cell.	No of pili are less 1-10 per cell.
5	Made up of	Fimbrillin protein.	Pilin protein.
6	Rigidity	Less rigid.	More rigid than fimbriae.
7	Found in	Both gram positive and gram-negative bacteria.	Only gram-negative bacteria.
8	Formation	Is governed by bacterial genes in the nucleoid region.	Is governed by plasmid genes.
9	Function	Responsible for cell to surface attachment. Specialized for attachment i.e. enable the cell to adhere the surfaces of other bacteria.	Responsible for bacterial conjugation. Two basic function of pili. They are gene transfer and attachment. Type IV pili shows twitching type

A.4.3. Μη κινούμενες επιφανειακές αποφύσεις: Προσθήκες

- Προεκβολές κυτταρικού τοιχώματος και μεμβράνης που παρατηρούνται στα κύτταρα φυλογενετικά ασύνδετων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.
- Οργανισμοί με προσθήκες μεγαλώνουν σε πολύ φτωχά περιβάλλοντα και είναι κυρίως υδρόβιοι (πχ *Caulobacter*).
- Εικάζεται ότι ο ρόλος των προσθηκών είναι η επίπλευση.



Prosthecomicrobium



Caulobacter life-cycle

A.5. Λειτουργικές/δομικές οντότητες του κυτταροπλάσματος

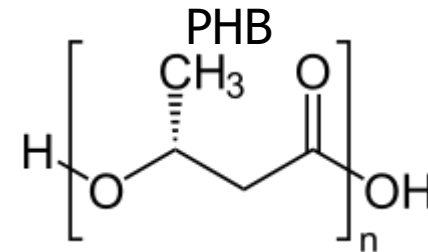
Α.5.1. Αποθησαυριστικά υλικά

Συσσώρευση τροφικών αποθεμάτων (συνήθως πολυμερών) σε κυτταρικά έγκλειστα.

Έγκλειστα και κοκκία

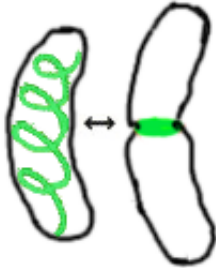
- Ποικίλουν σε μέγεθος αριθμό και περιεχόμενο.
- Ενδοκυτταρικά αποθηκευτικά σώματα.
- Παραδείγματα: πολυσακχαρίτες (άμυλο, γλυκογόνο), κυανοφυκίνη, κοκκία πολυφωσφορικών αλάτων και θείου, σωματίδια οξειδίου του σιδήρου, κηροί, πολυ-β-υδροξυβουτυρικό οξύ (PHB, πηγή ενέργειας), πολυ-υδροξυαλκανοϊκά οξέα.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



• A.5.2. Κυτταροσκελετός

- Πολλά βακτήρια έχουν δίκτυο πολυμερών που σχετίζεται με το κυτταρικό τοίχωμα.

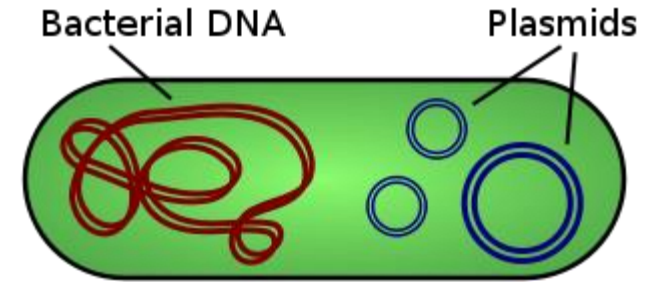
	Division	Polarity	Shape
Eukaryotes	Tubulin	Actin	Intermediate filaments
Prokaryotes	FtsZ	MreB	CreS
<i>Caulobacter</i> localization			

Δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού του *Caulobacter crescentus*. Αναφέρεται η αντιστοιχία με το ευκαρυωτικό ομόλογο και η υποτιθέμενη κυτταρική **λειτουργία**.

A.5.3. Χρωμόσωμα και πλασμίδια

Κυρίως

Ένα κυκλικό χρωμόσωμα .
κι ένα ή περισσότερα κυκλικά πλασμίδια.



Εξαιρέσεις

Rhodobacter sphaeroides: 2 χρωμοσώματα.

Streptomyces, *Borrelia*: γραμμικό χρωμόσωμα.

Agrobacterium tumefaciens: 1 γραμμικό, 1 κυκλικό χρωμόσωμα, πολλά πλασμίδια.

Αρχαία (μερικά): χρωμόσωμα και 2 γιγαντιαία πλασμίδια.

E. coli: $4,7 \cdot 10^6$ bp, 1 mm ξεδιπλωμένο, 1 μm στο κύτταρο (2 μm), υπερσυσπειρωμένο.
Δεν υπάρχει χρωματίνη.

Πλασμίδια

Κυκλικά μακρομόρια με DNA 1-5% των χρωμοσωμάτων.

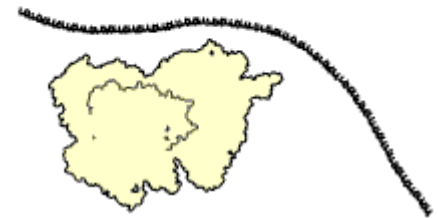
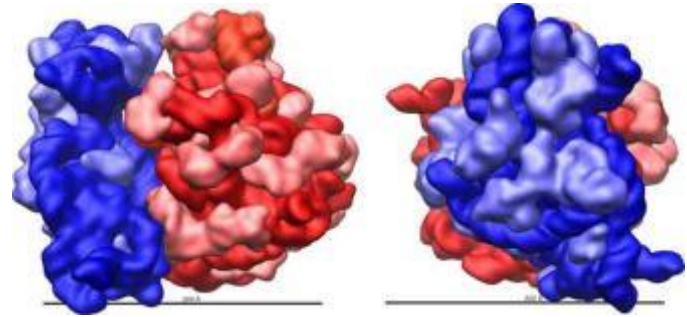
F-πλασμίδια: σύζευξη.

R-πλασμίδια: αντοχή σε αντιβιοτικά, βαρέα μέταλλα, τοξικούς παράγοντες.

Άλλα: βιοσύνθεση ενζύμων που συμμετέχουν σε εξειδικευμένες διεργασίες.

A.5.4. Ριβοσώματα

- Κυτταροπλασματικά.
- Δύο υπομονάδες: 30S και 50S.
Μαζί 70 S.
- 5-50 χιλιάδες.
- Αναστολείς των προκαρυωτικών ριβοσωμάτων δεν εμποδίζουν αυτά των αρχαίων.



B. Οργάνωση και δομή του *ευ*καρυωτικού κυττάρου

Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί είναι μεγαλύτεροι και συνθετότεροι

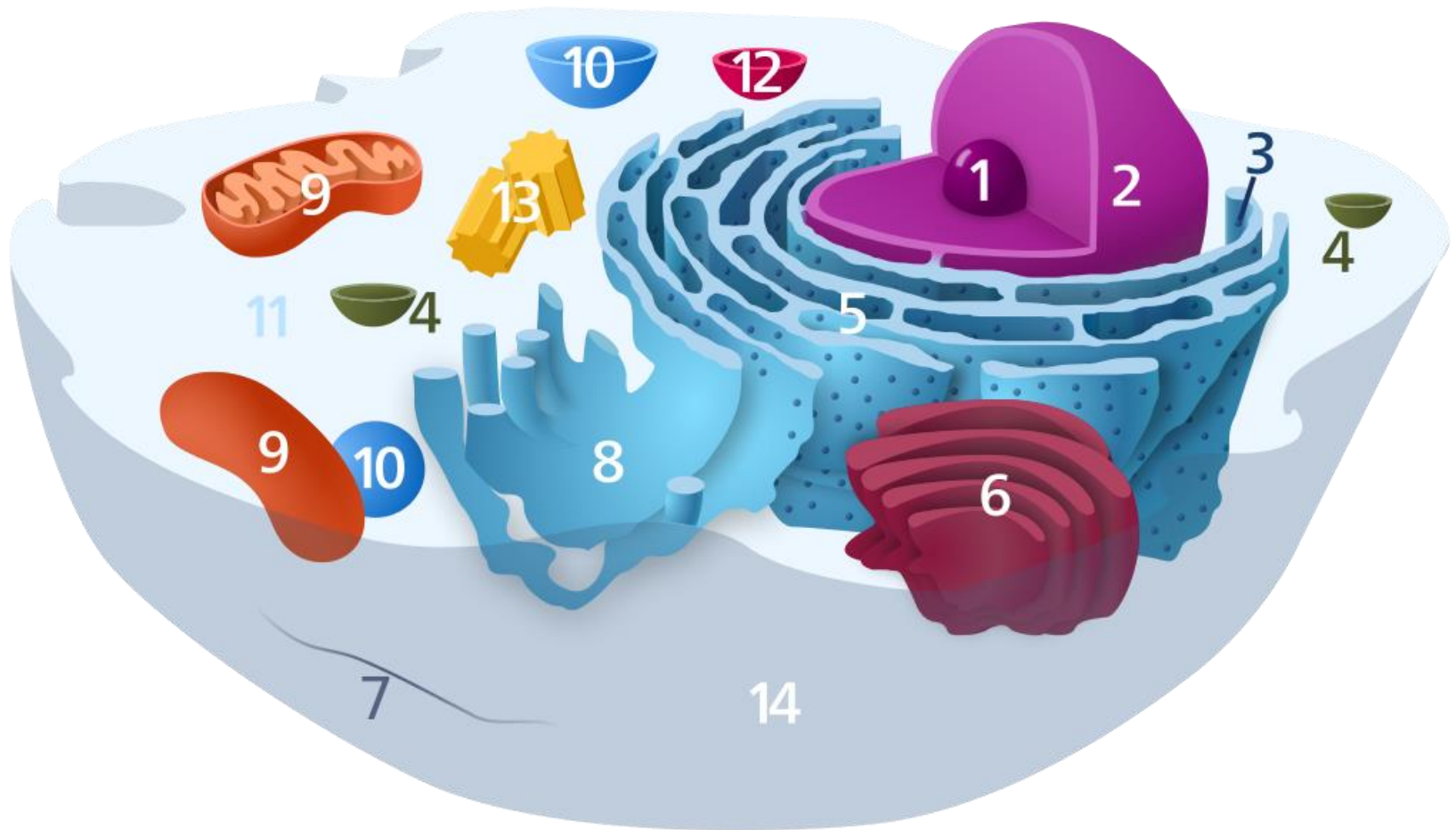
Τα ευκαρυωτικά κύτταρα μπορεί να είναι μέλη πολυκύτταρων λειτουργικών ομάδων.

Μεμονωμένα κύτταρα μπορεί να είναι εξειδικευμένα για συγκεκριμένη λειτουργία.

Μπορεί να είναι μέλη **ιστών**.

Οι **ιστοί** μπορεί να αποτελούν μέρη **οργάνων**.

- Έχουν διακριτά οργανίδια
- χρωμοσώματα
- Μπορεί να είναι πολυκυτταρικοί
- Είναι τα κύτταρα των ζώων και φυτών

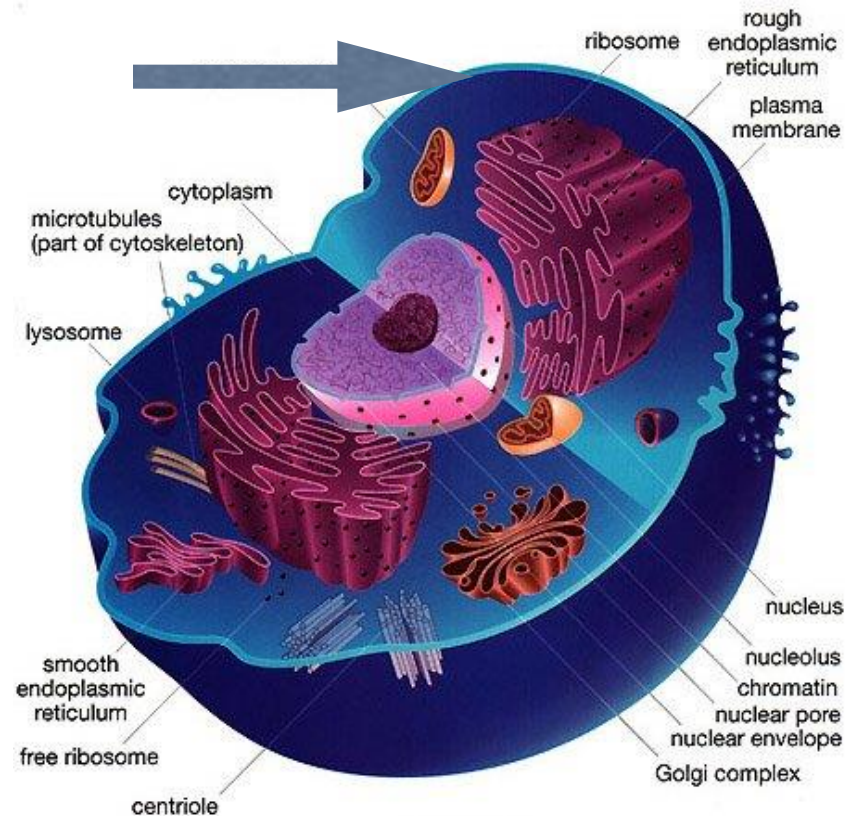


Παρατηρήστε και ταχτοποιήστε τα οργάνιδια στη σχετική ιστοσελίδα!

By Kelvinsong - Own work, CC0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=22952603>

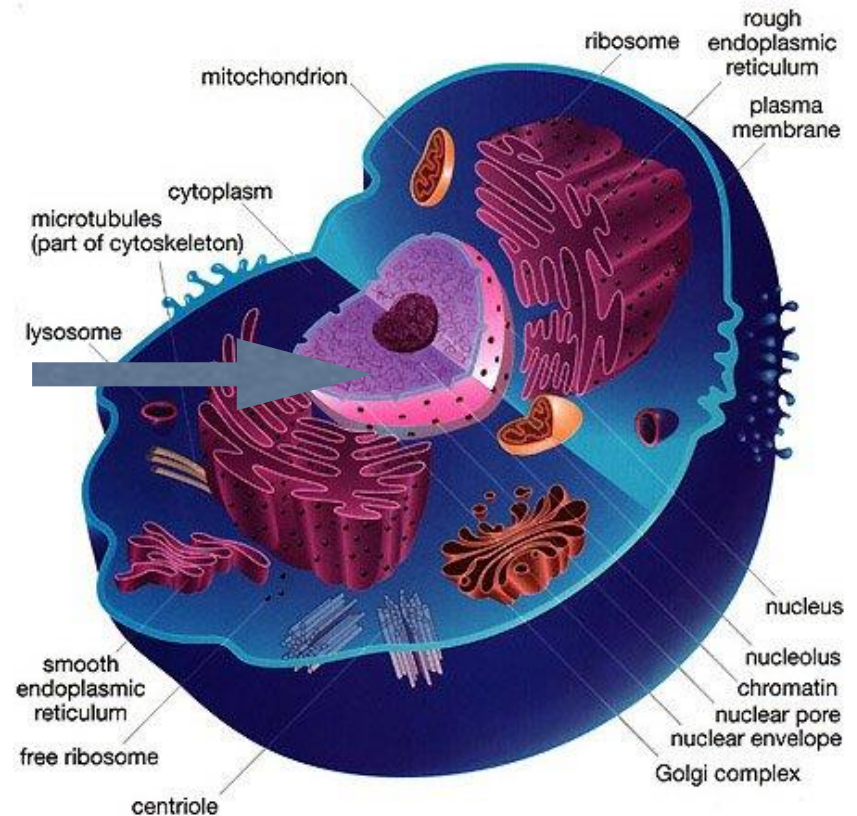
Β.1.Υποκυτταρικές δομές ευκαρυωτικών κυττάρων θηλαστικών

- Κυτταρική μεμβράνη
 - Ευαίσθητη μεμβράνη από **λιπίδια** και **πρωτεΐνες** που περιβάλλει το κυτταρόπλασμα
 - Υπάρχει σε όλα τα είδη ευκαρυωτικών κυττάρων

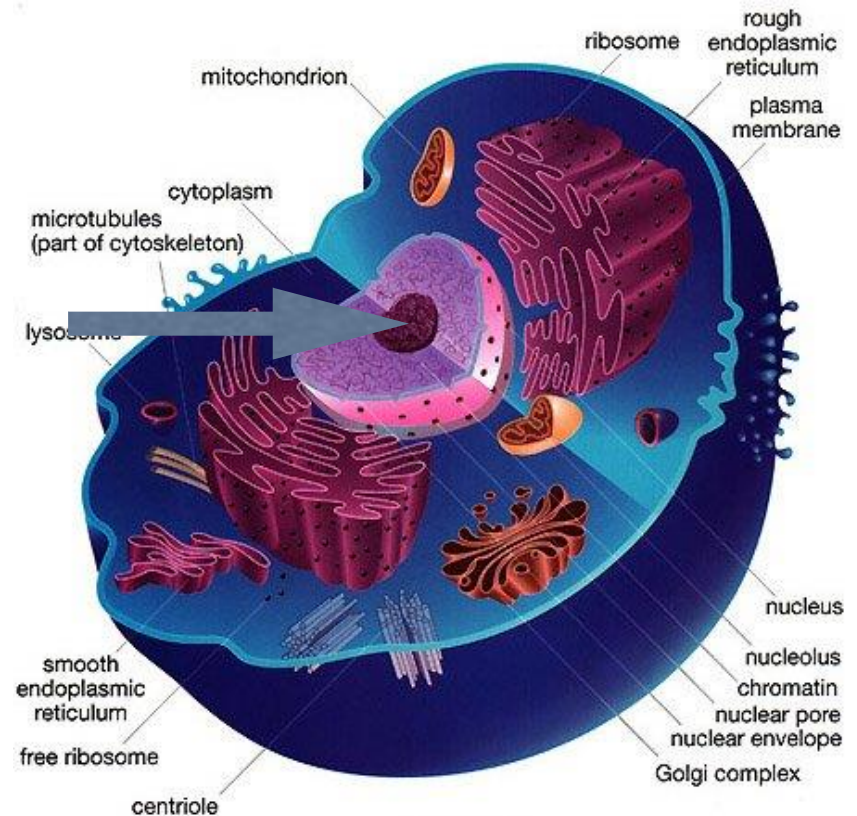


- Πυρήνας

- Ένας θάλαμος που εξελιχθηκε να περιέχει το DNA του κυττάρου
- Έχει πόρους

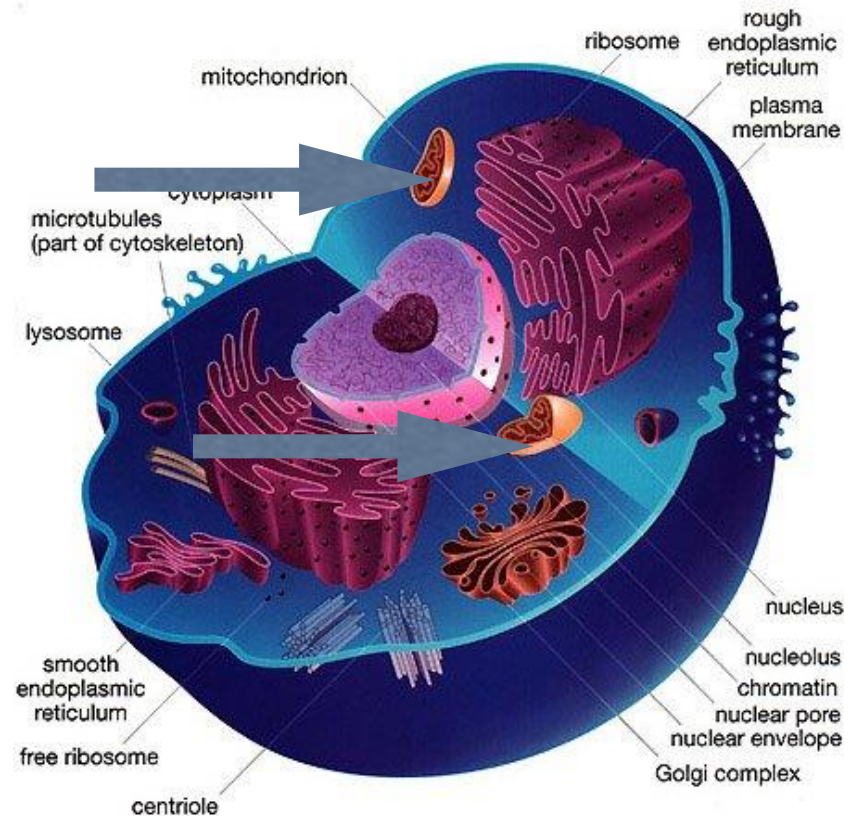


- Πυρηνίσκος
 - Εντός του πυρήνα
 - Παραγωγή ριβοσωμάτων
 - made of RNA



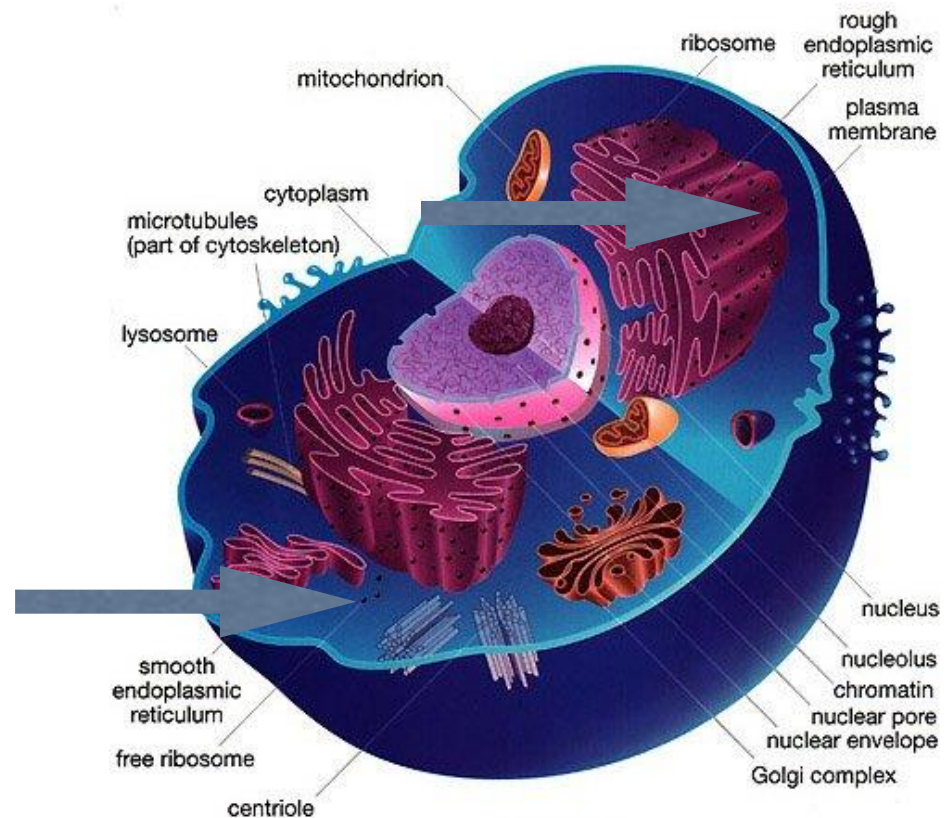
- μιτοχόνδριο

- παραγωγή ενέργειας
- Όση περισσότερη ενέργεια χρειάζεται το κύτταρο, τόσα περισσότερα μιτοχόνδρια έχει



- Ριβοσώματα

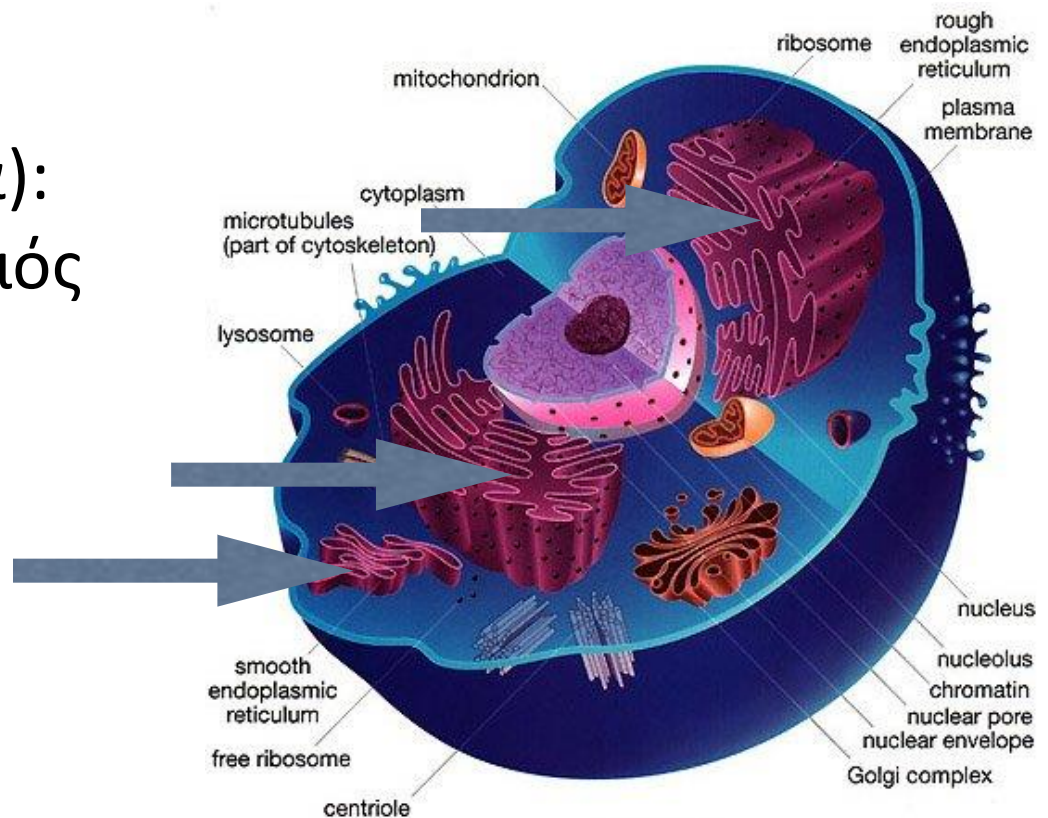
- κατασκευάζει πρωτεΐνες από αμινοξέα του κυτταροπλάσματος
- Ελεύθερα ή Προσκολλημένα στο Ενδ. Δίκτυο
- Από rRNA και πρωτεΐνες

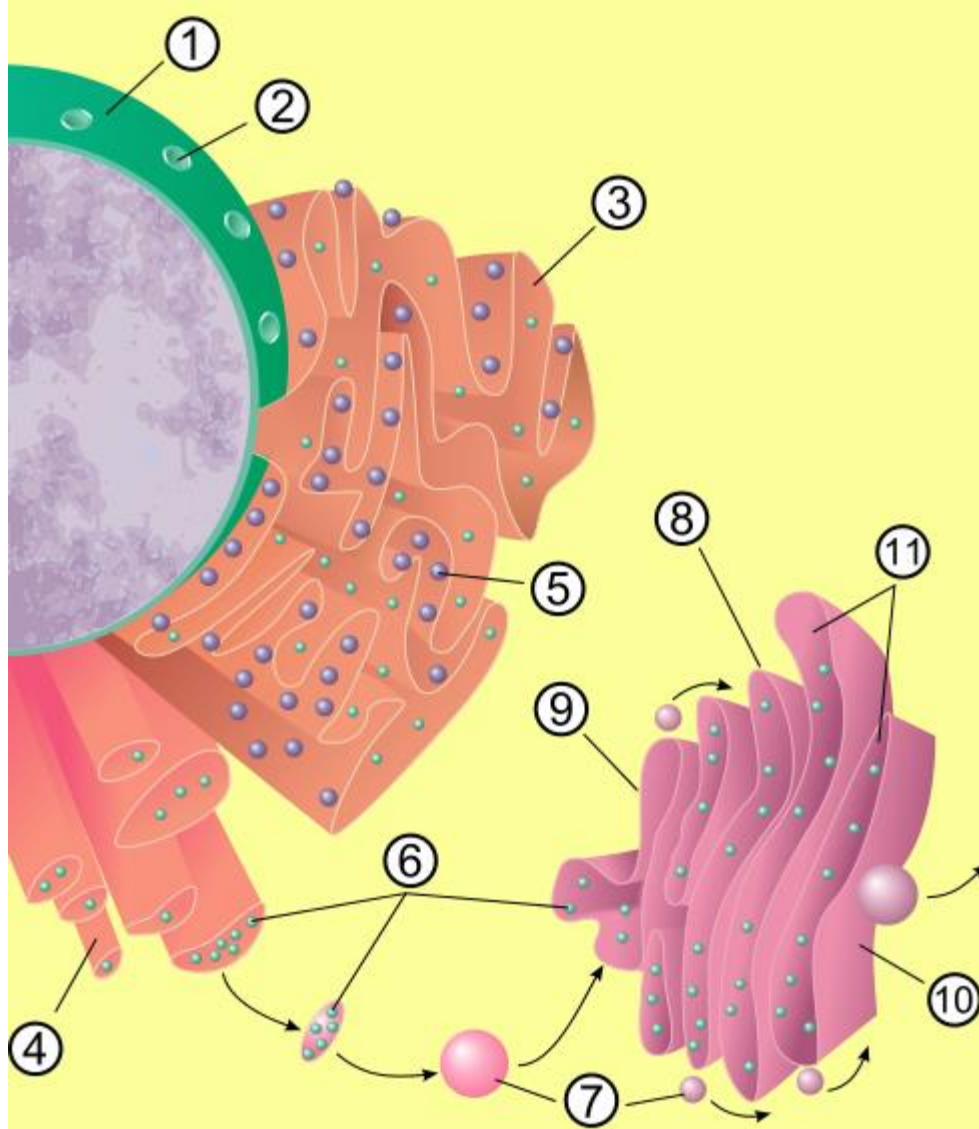


- Ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ)

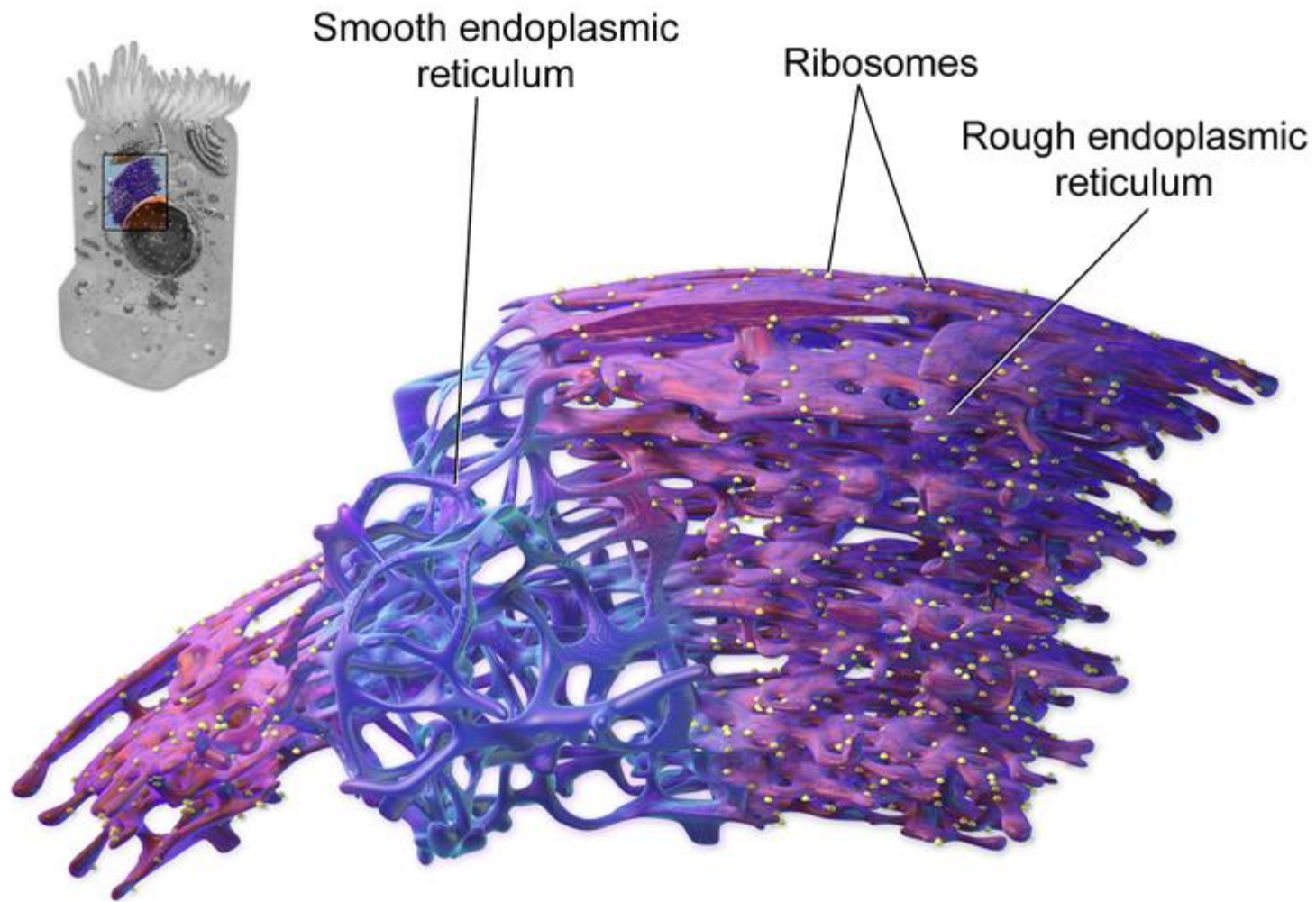
- **Λείο** (χωρίς ριβοσώματα): σύνθεση και μεταβολισμός λιπιδίων και υδατανθράκων, αποτοξίνωση

- **Αδρό** (με ριβοσώματα): πρωτεϊνοσύνθεση





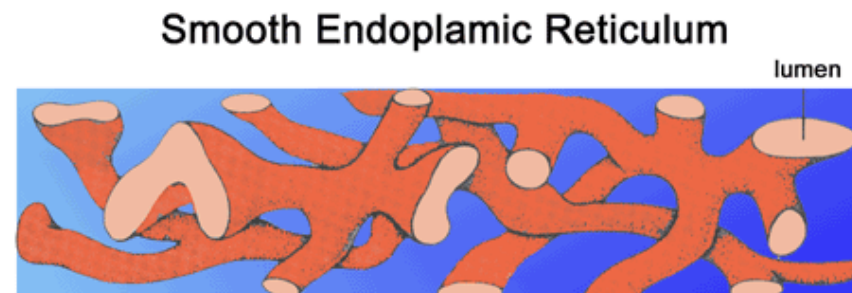
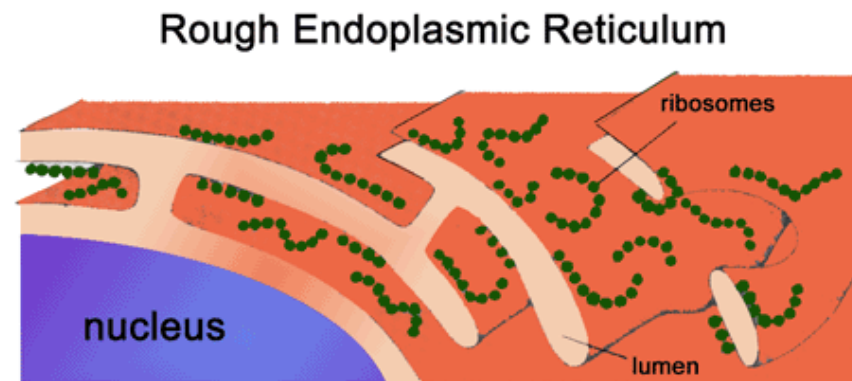
By Nucleus ER golgi.jpg: Magnus ManskeDerivative work: Pbroks13 (talk) - File:Nucleus ER golgi.jpg, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6208993>



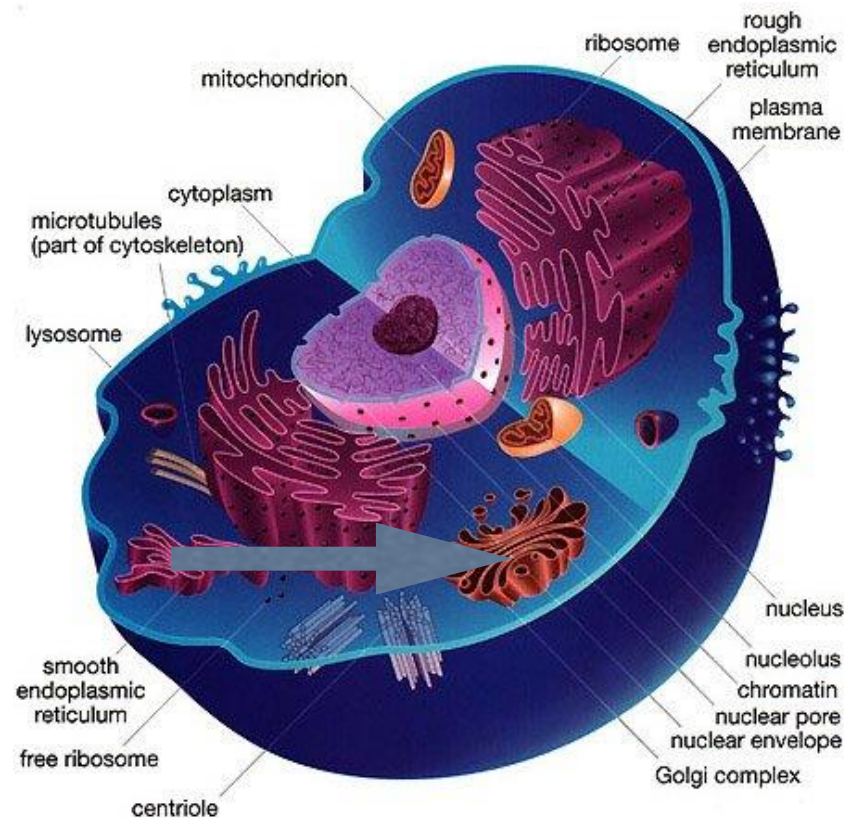
Endoplasmic Reticulum

Ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ)

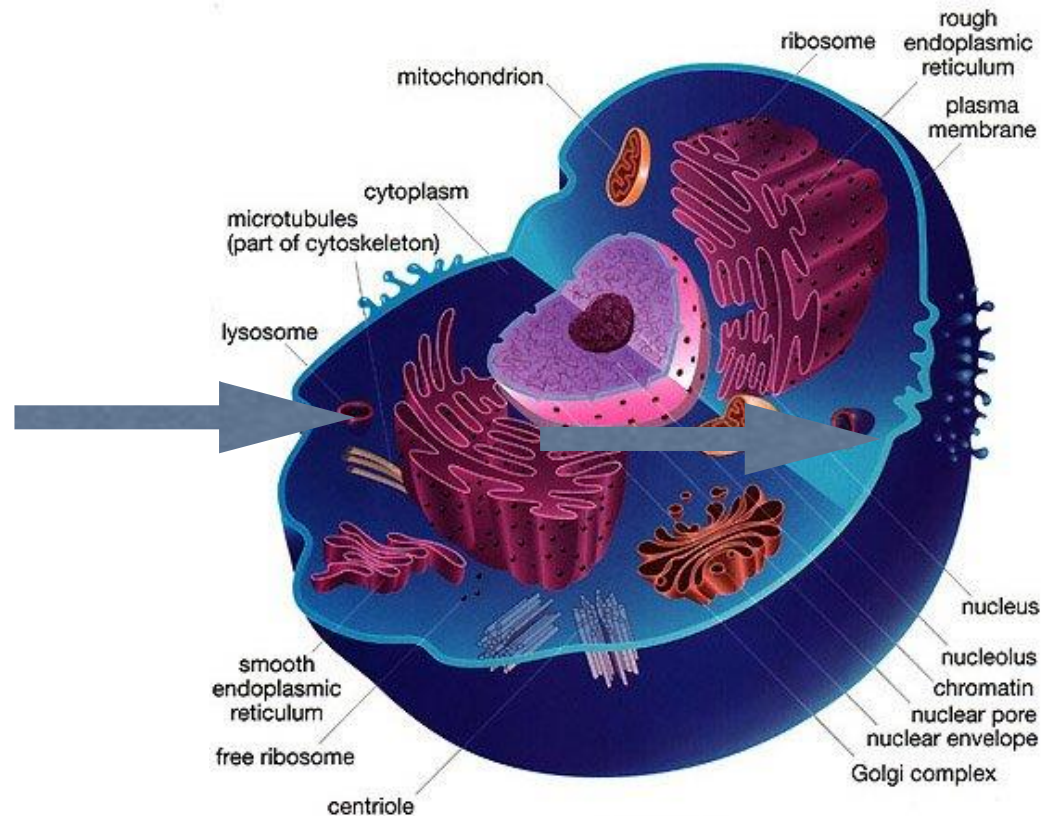
- Structure
membranous system
of tunnels and sacs
 - Rough – with
ribosomes on surface
 - Smooth- no ribosomes
on surface
- Function
 - Rough – protein
synthesis
 - Smooth- lipid synthesis



- Σύστημα Golgi
 - Παραλαμβάνει πρωτεΐνες από το ΕΔ και τις στέλνει προς έκκριση



- Λυσοσώματα
 - Κυστίδια πλήρη με πεπτικά ένζυμα
 - Πέψη κατεστραμμένων πρωτεϊνών
 - Πέψη εξωτερικής τροφής



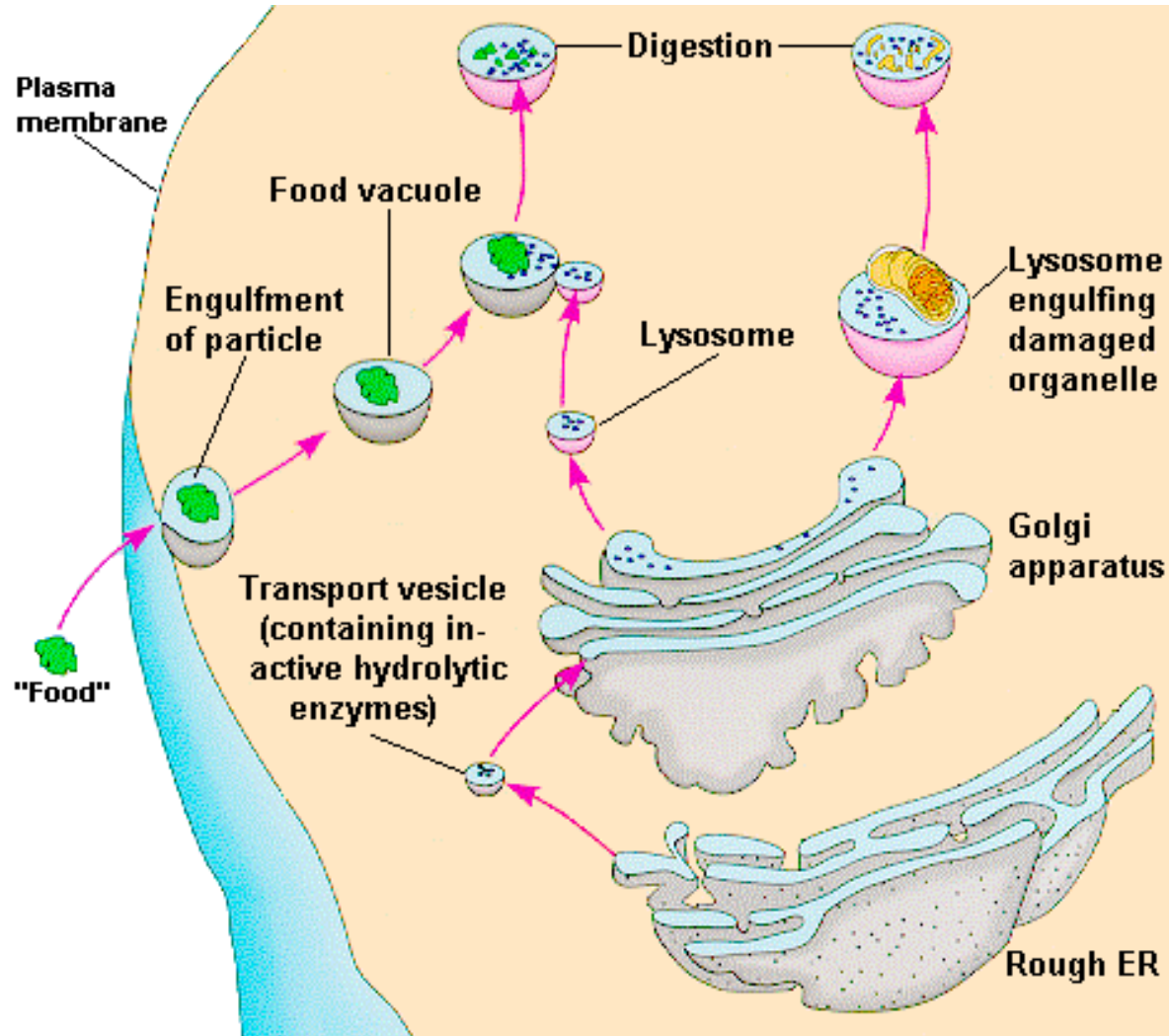


Ενδομεμβρανικό σύστημα οργανιδίων

Οχήματα ανακύκλωσης: Λυσοσώματα

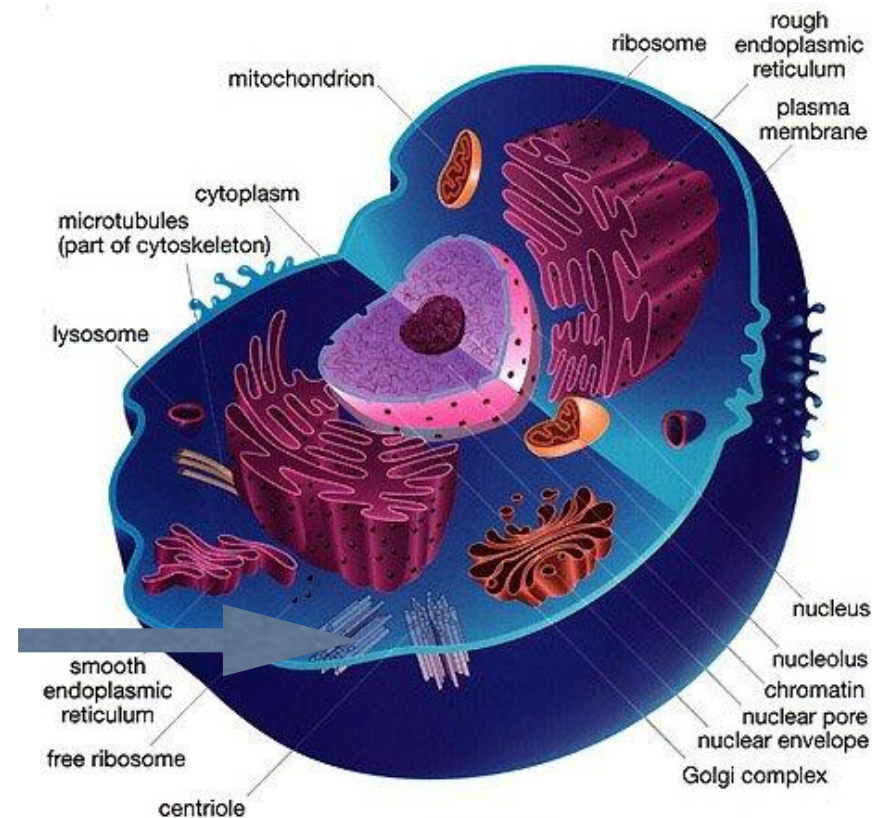
Λειτουργία: αφομείωση τροφής και ανακύκλωση ενδοκυτταρικών συστατικών. Περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα

Προέρχονται από το σύστημα Golgi



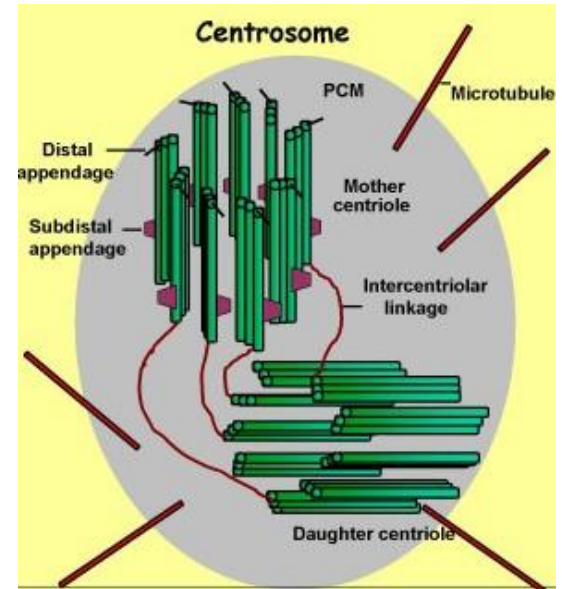
- Κεντρόσωμα

- Ζεύγος δεσμών σωληνίσκων
- Οργανώνουν την κυτταρική διαίρεση



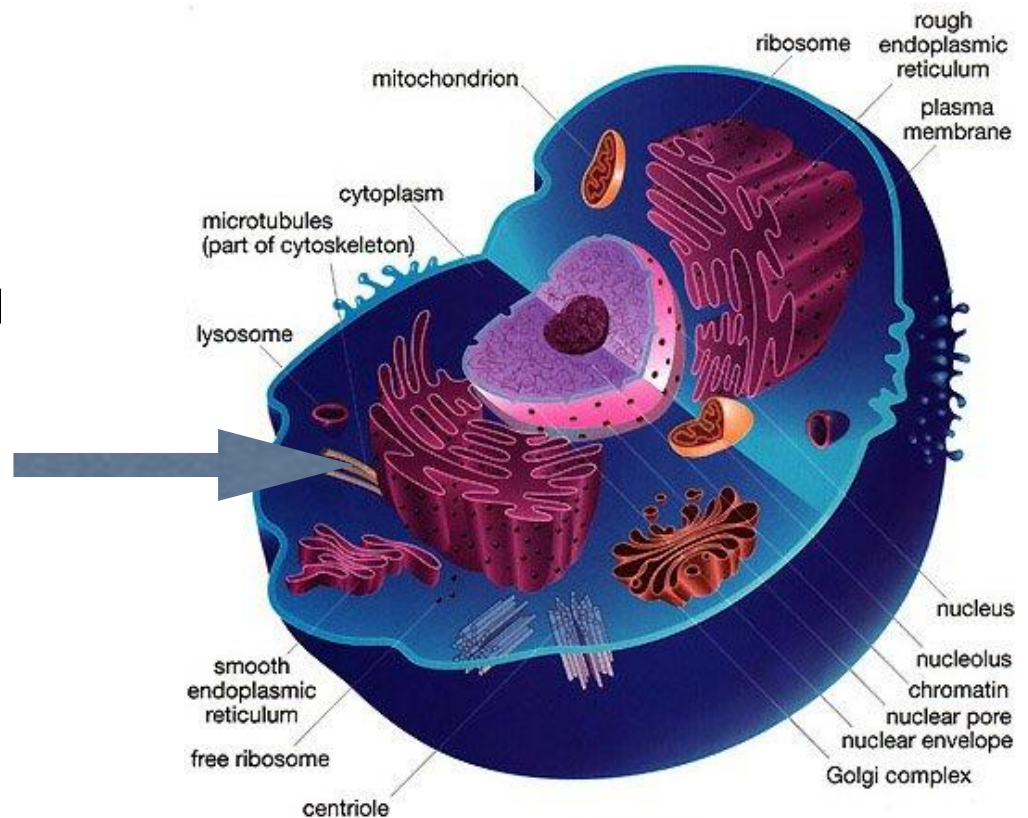
Κεντροσώματα και κεντρομερίδια

- Κεντρομερίδιο: 9 ομάδες από τριπλέτες μικροσωληνίσκων .
- 2 κεντρομερίδια είναι η βάση του κεντροσώματος.
- Οι μικροσωληνίσκοι αποτελούμενοι από τουμπουλίνη α, β αναπτύσσονται από το κεντρόσωμα στα ζωικά κύτταρα.
- Η θέση τους στο κύτταρο εξαρτάται από την κυτταρική μορφή, κινητικότητα, κατάσταση διαίρεσης.



Κυτταροσκελετός

- Από μικροσωληνίσκους
- Σε όλο το κυτταρόπλασμα
- Δίνει σχήμα στο κύτταρο και μετακινεί τα εσωτερικά οργανίδια.

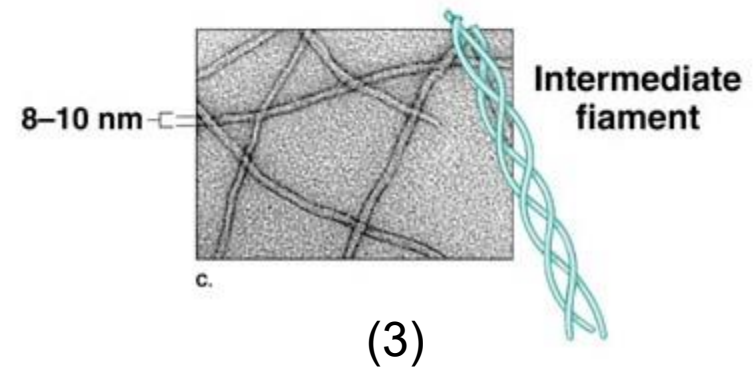
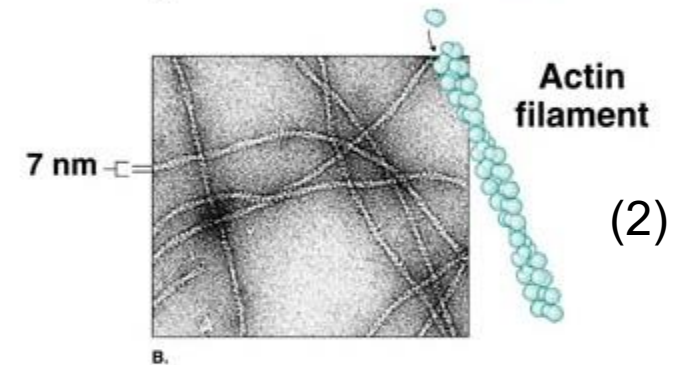
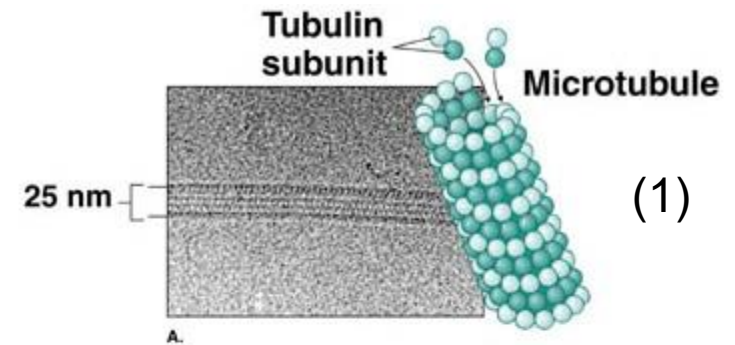


Ευκαρυωτικός κυτταροσκελετός

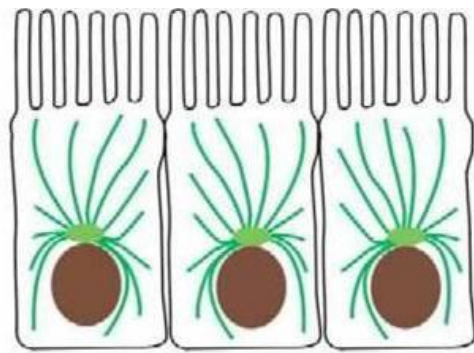
Το δυναμικό δίκτυο πρωτεϊνικών ινών που εκτείνονται διαμέσου του κυτταροπλάσματος

Δομική υποστήριξη, κινητικότητα, ρύθμιση

- Μικροσωληνίσκοι (1)
- Μικροϊνίδια (2)
- Ενδιάμεσα ινίδια (3)

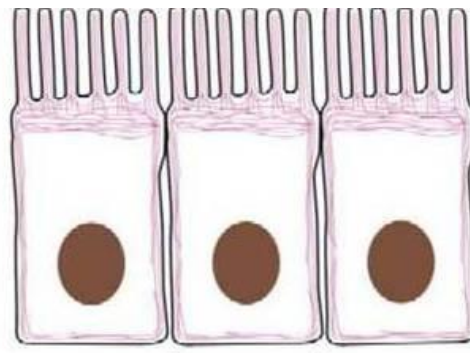


1. Μικροσωληνίσκοι: **Αντίσταση στη συμπίεση. Δυναμική συμπεριφορά**, συνδέονται με το GTP για πολυμερισμό, ενδοκυτταρική μεταφορά (σχετιζόμενη με δυνεΐνες και κινεσίνες μετακινούν οργανίδια όπως τα μιτοχόνδρια ή κυστίδια, **το αξόνημα των βλεφαρίδων και μαστιγίων**, τη μιτωτική άτρακτο).
2. Μικροϊνίδια: τα λεπτότερα ινίδια. Αποτελούνται από εμπλεκόμενες διπλές αλυσίδες υπομονάδων ακτίνης. Συμμετέχουν στην κυτταρική μορφή και οργάνωση. **Έλξη μερών του κυττάρου, συστολή του μυός, αμοιβαδοειδείς κινήσεις–ψευδοπόδια**
3. Ενδιάμεσα ινίδια: κυτταρική μορφή, **μηχανική υποστήριξη**, θέση στερέωσης για πολλά οργανίδια και κυτταροπλασματικά ένζυμα.



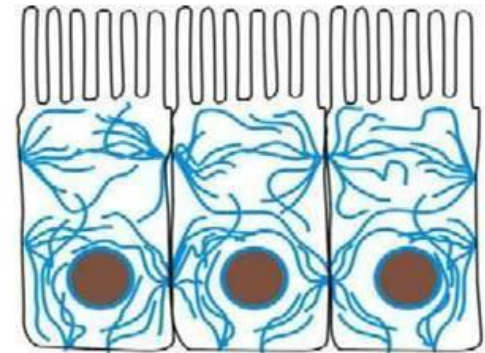
25 μm

Mikrotubuly



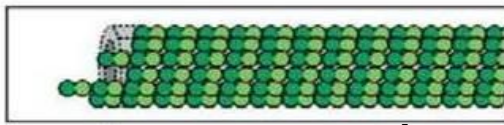
25 μm

Mikrofilamenta



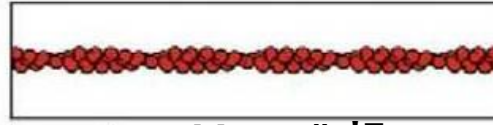
25 μm

Intermediární filamenta



25 nm

Μικροσωληνίσκοι



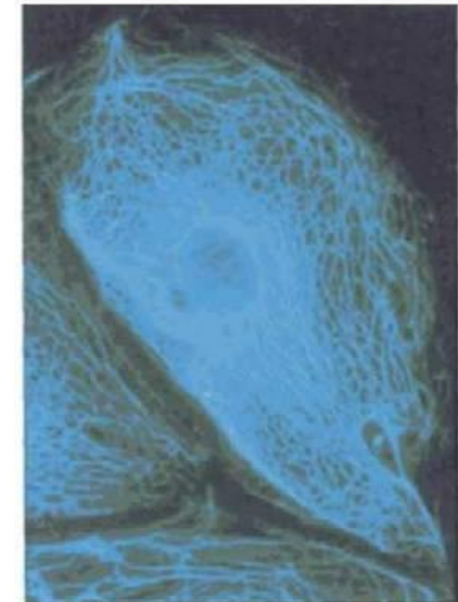
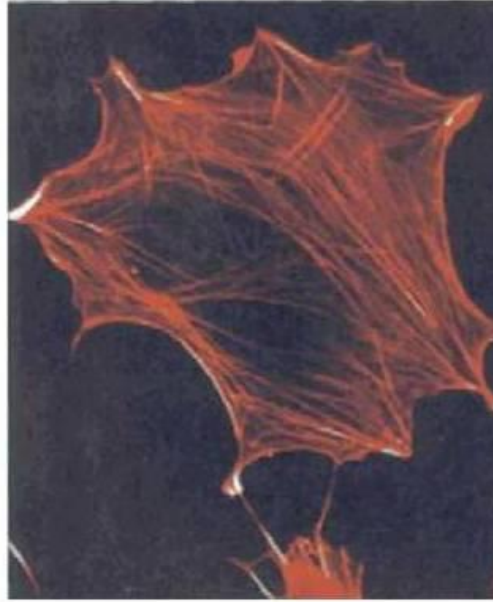
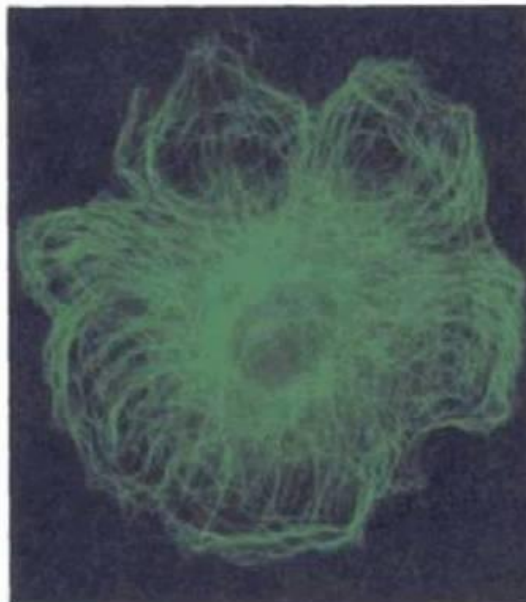
25 nm

Μικροϊνίδια



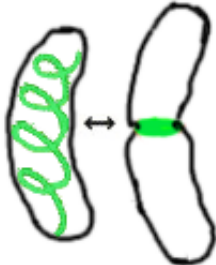
25 nm

Ενδιάμεσα ινίδια



- Προκαρυωτικός κυτταροσκελετός

- Πολλά βακτήρια έχουν δίκτυο πολυμερών που σχετίζεται με το κυτταρικό τοίχωμα.

	Division	Polarity	Shape
Eukaryotes	Tubulin	Actin	Intermediate filaments
Prokaryotes	FtsZ	MreB	CreS
<i>Caulobacter</i> localization			

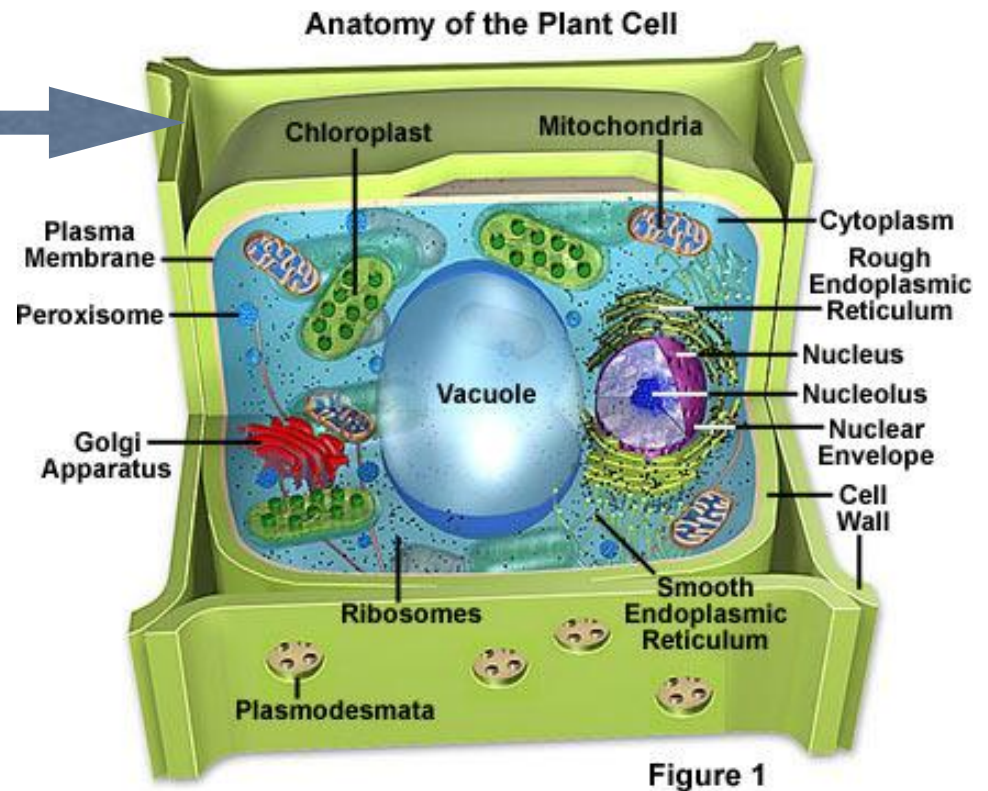
Δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού του *Caulobacter crescentus*. Αναφέρεται η αντιστοιχία με το ευκαρυωτικό ομόλογο και η υποτιθέμενη κυτταρική **λειτουργία**.

B.2.Υποκυτταρικές δομές κυττάρων φυτών

B.2. Υποκυτταρικές δομές φυτικού κυττάρου

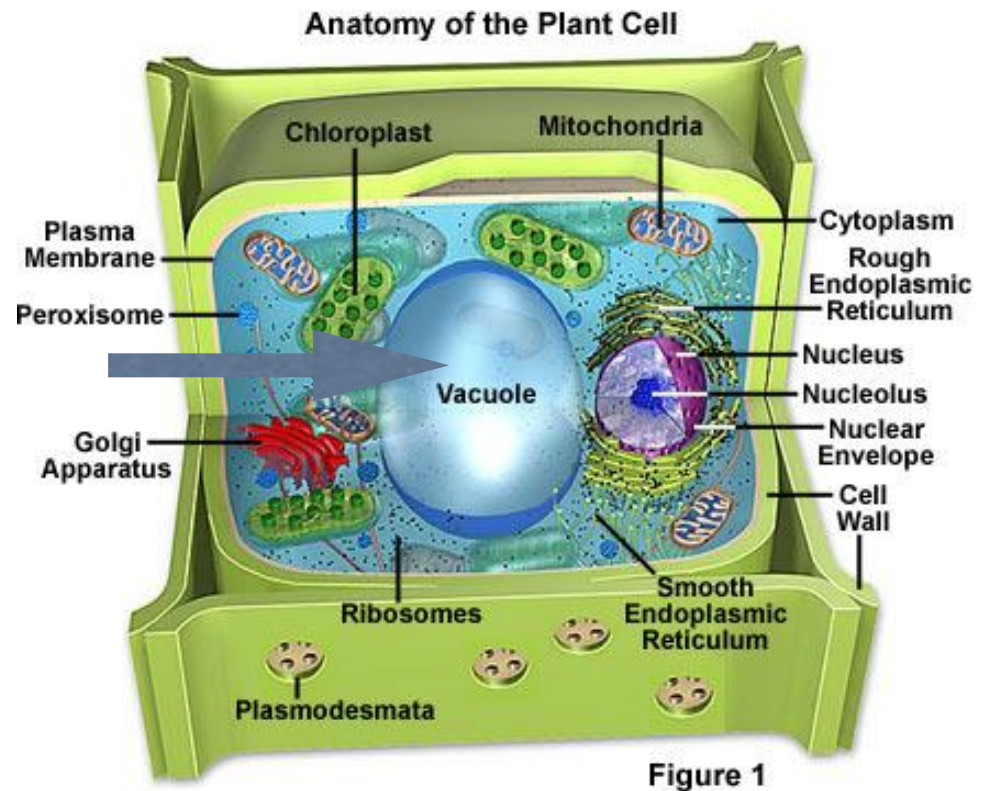
- Τοίχωμα

- ισχυρότατο
- Από κυτταρίνη
- Προστατεύει τα κύτταρα από ρήξη
- Ενώνει γειτονικά κύτταρα

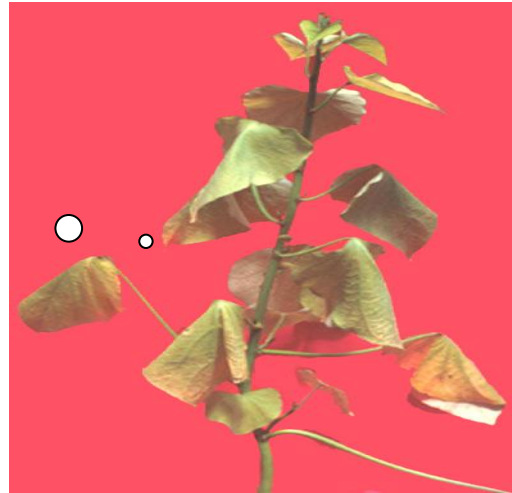


- Χυμοτόπιο

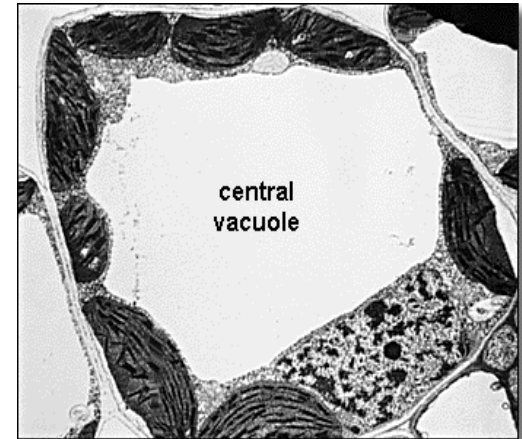
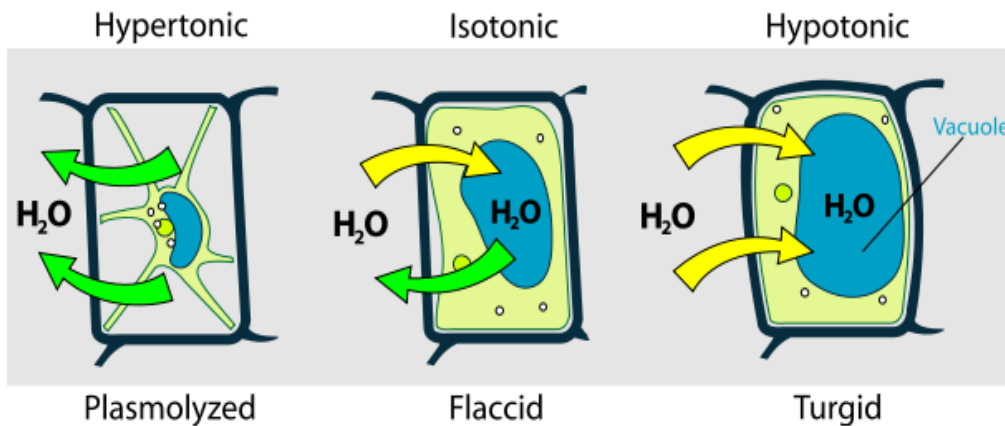
- Σάκκος με υδατικό διάλυμα
- Διατηρεί την πίεση στο κύτταρο
- Αποθήκη αμύλου



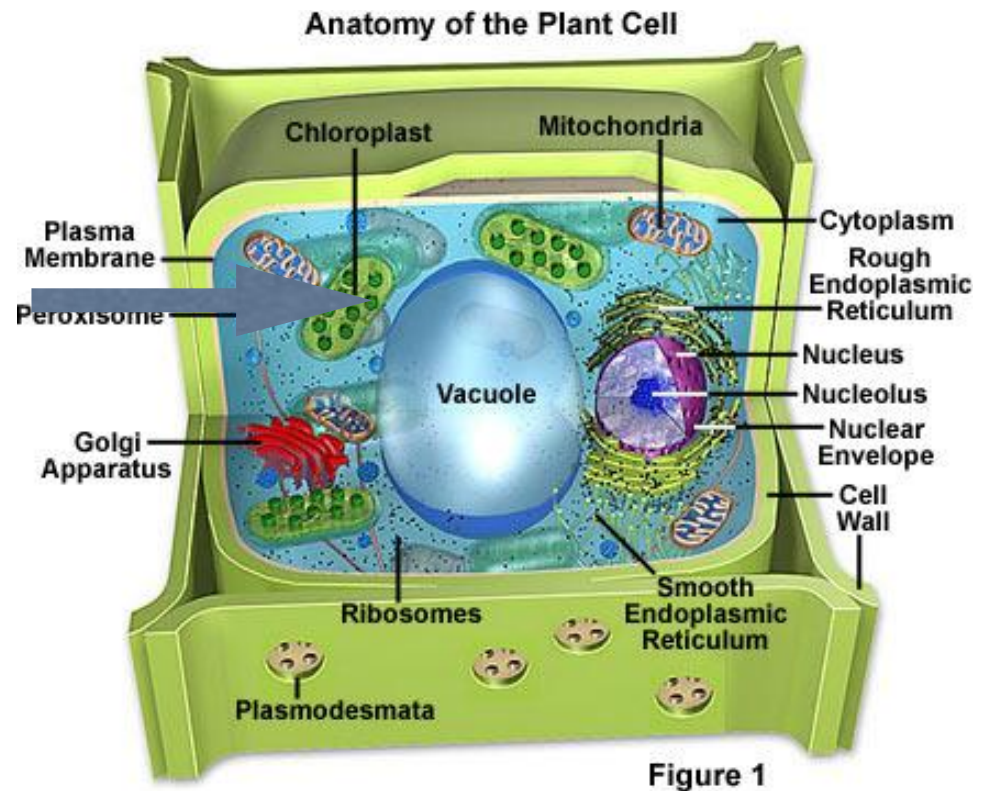
Χυμοτόπιο



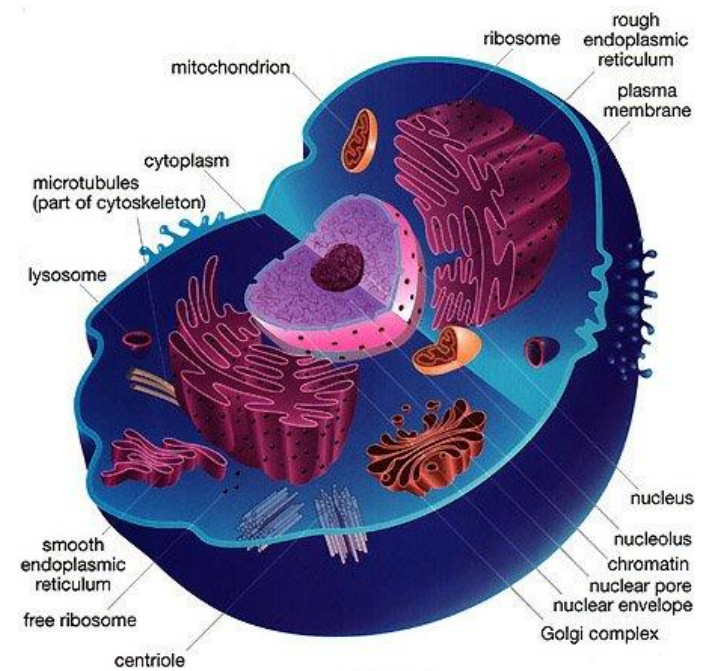
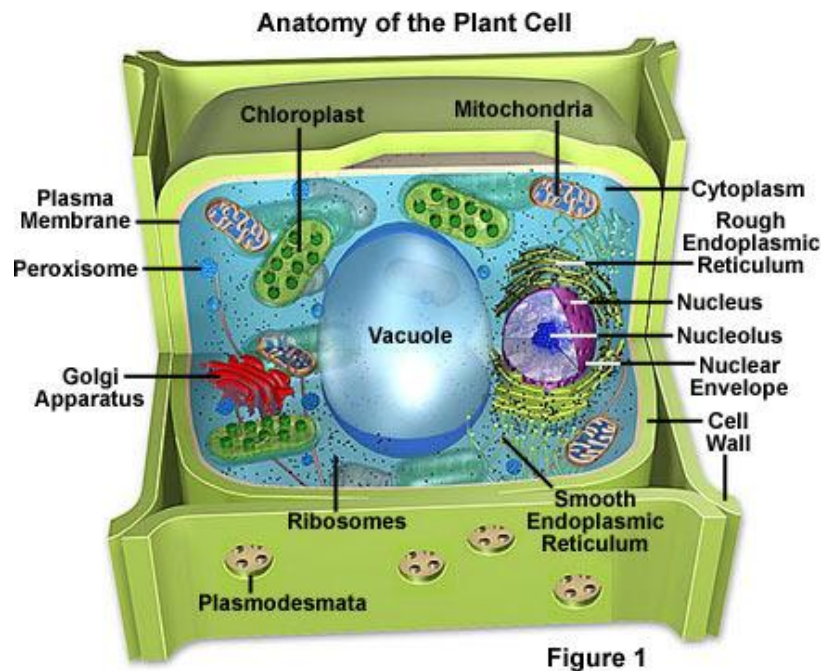
- Κάνει το μαρούλι τραγανό.
- Όταν δεν υπάρχει νερό το φυτό μαραίνεται.



- Χλωροπλάστες
 - Περιέχουν
χλωροφύλλη
 - Μετατρέπουν
την ενέργεια του
ήλιου σε τροφή



Ποιές είναι οι διαφορές ανάμεσα στα ζωικά και φυτικά κύτταρα;



Δομή	Ζωικά κύτταρα	Φυτικά κύτταρα
Κυτταρική μεμβράνη	Ναι	Ναι
Πυρήνας	Ναι	Ναι
Πυρηνίσκος	Ναι	Ναι
Ριβοσώματα	Ναι	Ναι
Ενδοπλ. Δίκτυο	Ναι	Ναι
Σύστημα Golgi	Ναι	Ναι
Κεντρομερίδια	Ναι	Όχι
Κυτταρικό τοίχωμα	Όχι	Ναι
Μιτοχόνδρια	Ναι	Ναι
Χλωροπλάστες	Όχι	Ναι
Χυμοτόπιο	Όχι	Ναι
Κυτταροσκελετός	Ναι	Ναι

B.3. Πως εξελίχθηκαν τα οργανίδια;

- Πολλοί επιστήμονες θεωρούν ότι οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί προέρχονται από τους προκαρυωτικούς.
- Το 1981 η Lynn Margulis διέδωσαν την “θεωρία της ενδοσυμβίωσης”.

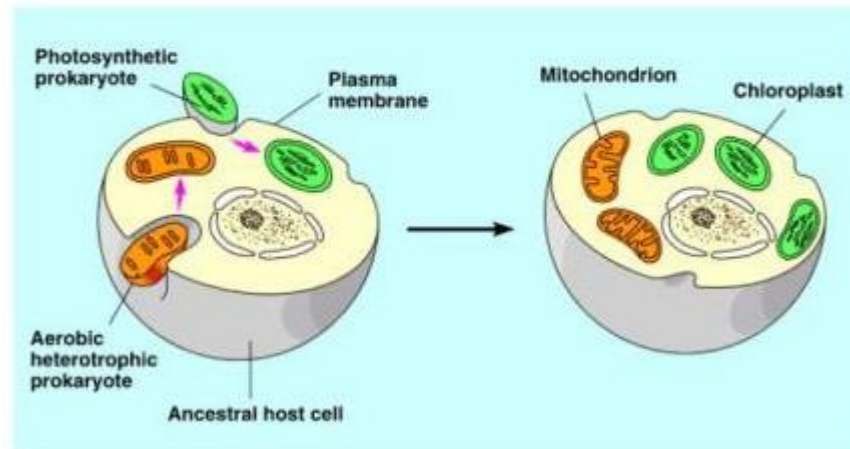


Θεωρία της ενδοσυμβίωσης:

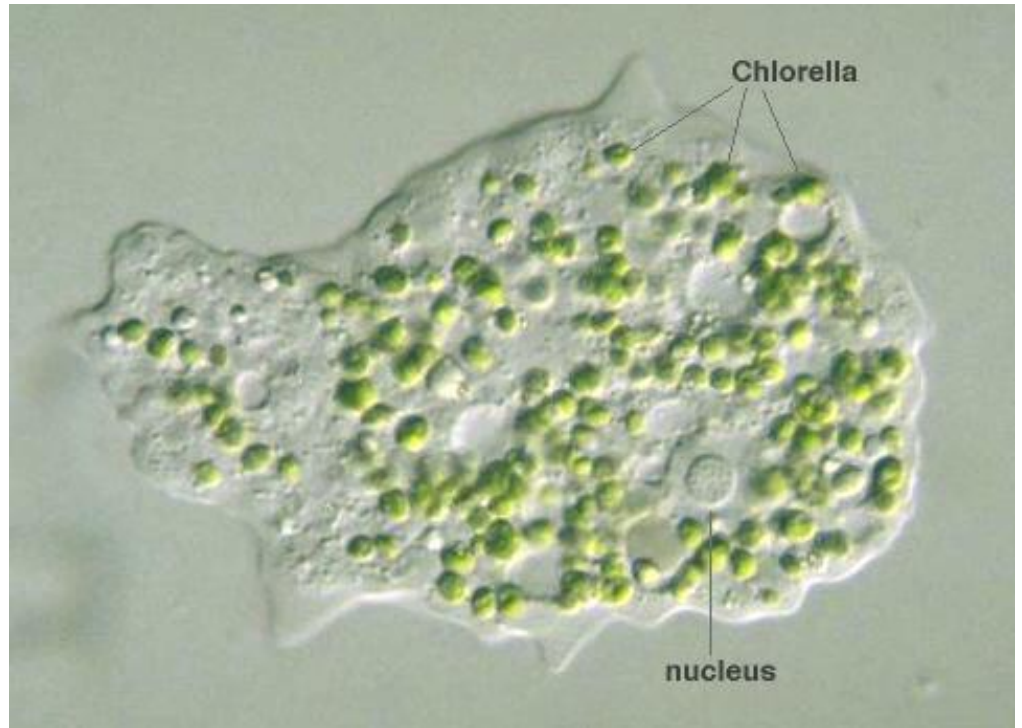
- Ένας ευκαρυωτικός πρόγονος ενσωματώνει έναν μικρότερο προκαρυωτικό
- Ο μικρότερος προκαρυωτικός επινοεί έναν τρόπο να μην αφομοιώνεται και συνεχίζει να ζει μέσα στο μεγαλύτερο κύτταρο.

- Οι μικροί προκαρυωτικοί οργανισμοί που μπορούν να φωτοσυνθέτουν εξελίχθηκαν σε χλωροπλάστες και παρέχουν γλυκόζη στο μεγαλύτερο κύτταρο.
- Αυτοί που μπορούσαν να χρησιμοποιούν το οξυγόνο εξελίχθηκαν σε μιτοχόνδρια και μετατρέπουν τη γλυκόζη σε ενέργεια την οποία μπορεί να χρησιμοποιήσει το μεγαλύτερο κύτταρο.
- Και τα δύο κύτταρα ευνοούνται από τη συμβίωση

Endosymbiotic Hypothesis for the Origin of Mitochondria and Chloroplasts



- *Chlorella*: μικρά πράσινα κύτταρα που ζουν μέσα σε μία αμοιβάδα...
- Παράδειγμα ενδοσυμβιώσεως



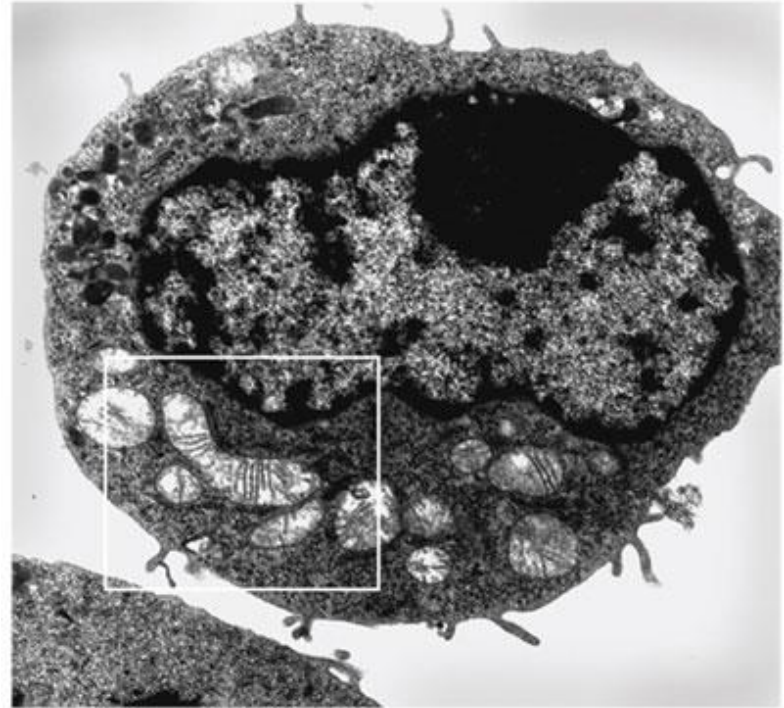
Μακροσκοπικά παραδείγματα συμβίωσης: λειχήνες, μυκόριζες

B.4. Λειτουργική εξειδίκευση για κάθε κυτταρικό τύπο

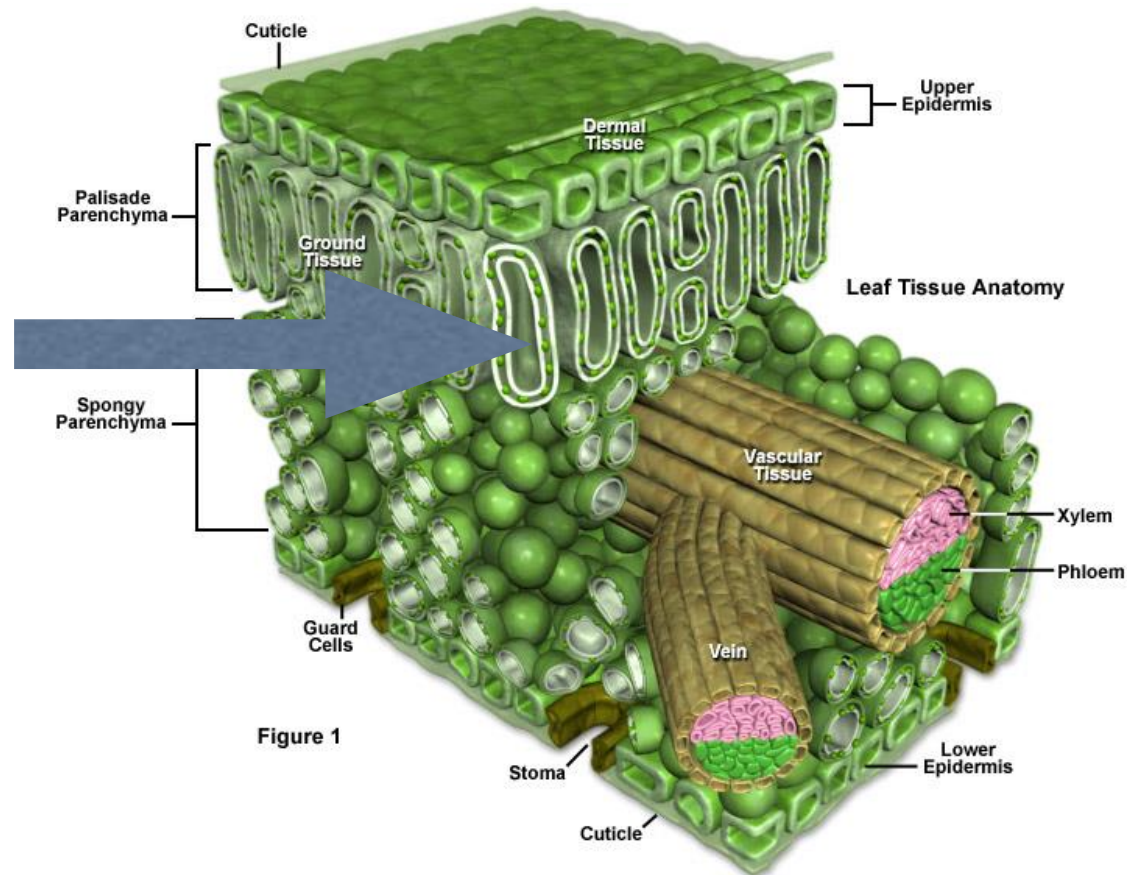
Προκαρυωτικά: μονοκύτταροι οργανισμοί	Ευκαρυωτικά: πολυκύτταροι
Μεγαλώνουν εύκολα	εξειδίκευση
Γρήγορη διαίρεση	πολυκύτταρα
Ελάχιστη διαφοροποίηση	Μπορούν να συμμετέχουν σε πολυκύτταρους οργανισμούς

Εξειδικευμένο ευκαρυωτικό κύτταρο

- ηπατοκύτταρο:
αποτοξινώνει το
αίμα και
αποθηκεύει
γλυκόζη ως
γλυκογόνο



- Μεσοφυλλικά κύτταρα
 - Ειδικευμένα για την έκθεση στο φως
 - Μέσα στο φύλλο



B.5. **Κίνηση** των ευκαρυωτικών κυττάρων

- Έρπισμα με **ψευδοπόδια**
- Κολύμβηση με **ευκαρυωτικά μαστίγια**
- Κολύμβηση με **βλεφαρίδες**

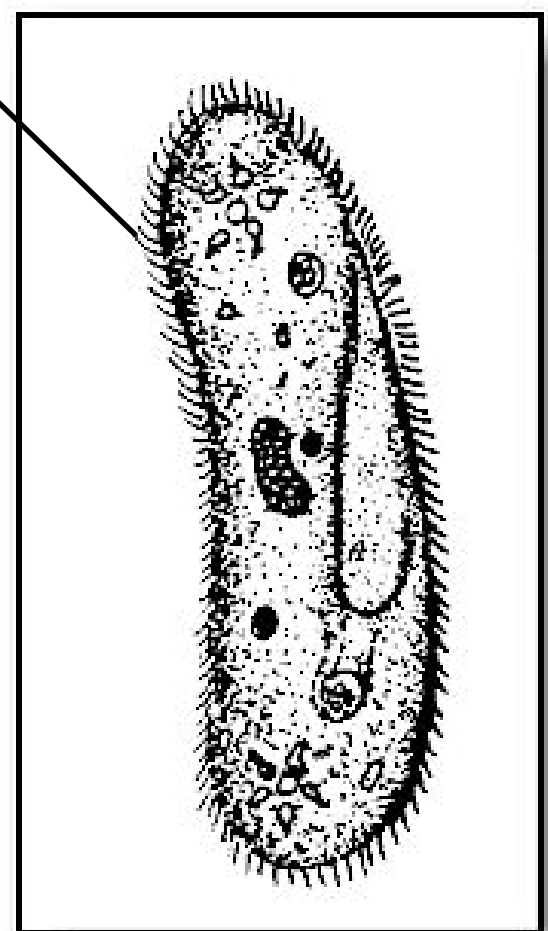
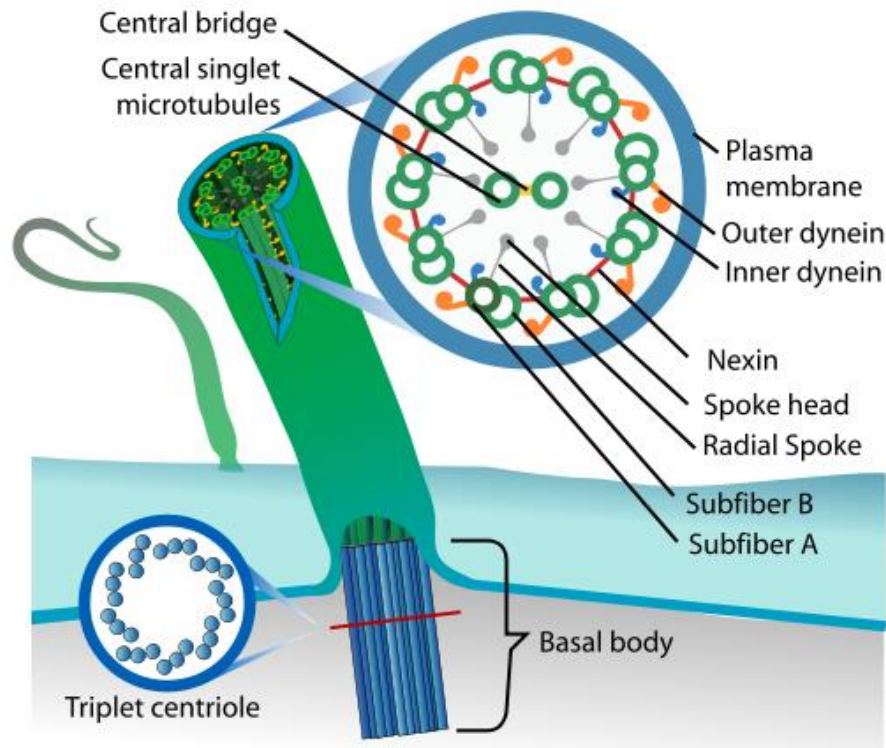
Ψευδοπόδια

- Προεκτάσεις περιβαλλόμενες από την κυτταρική μεμβράνη.
- παράδειγμα: αμοιβάς.



Βλεφαρίδες

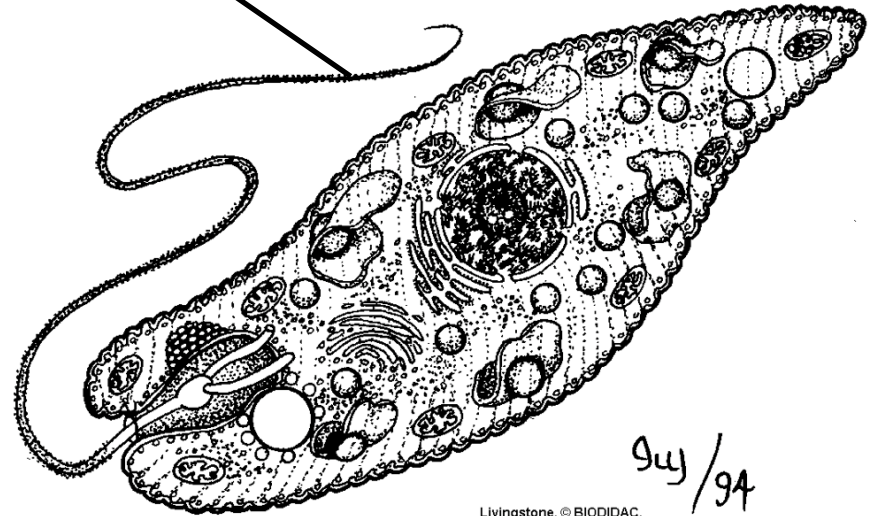
- Λεπτές σαν τρίχες.
- Προεξέχουν από τη μεμβράνη.
- Σε μεγάλους αριθμούς στην κυτταρική επιφάνεια.
- Κινούνται με συγχρονισμό.
- Λειτουργούν σαν κουπιά.



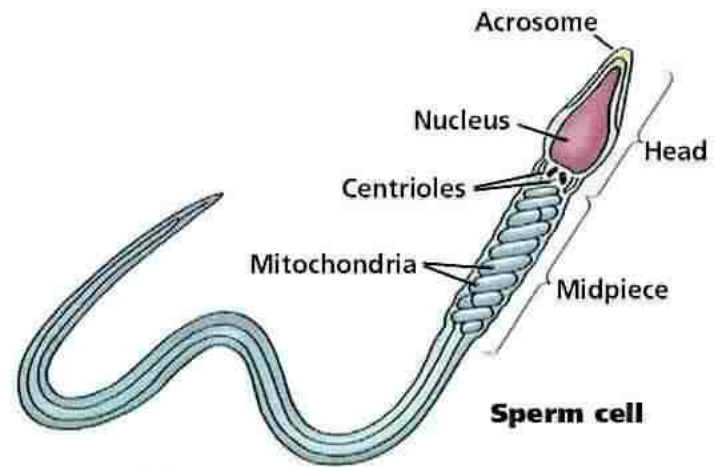
Paramecium

Μαστίγια

- Σε μονοκυτταρικούς οργανισμούς, σπέρμα ζώων, φύκη και μερικά φυτά.
- Βοηθούν τα κύτταρα στην κίνηση σε υδατικά διαλύματα.
- Μονά ή διπλά.

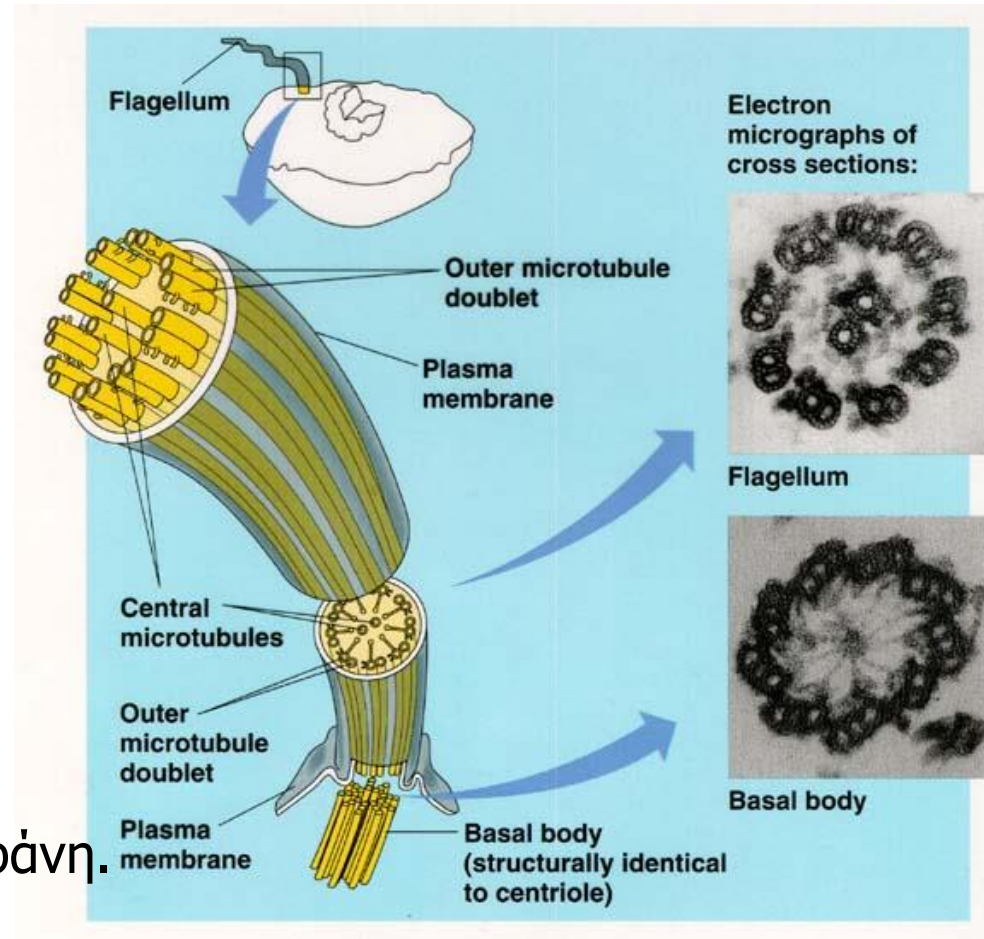


- σπερματοζωάριο:
ένα μεγάλο μαστίγιο

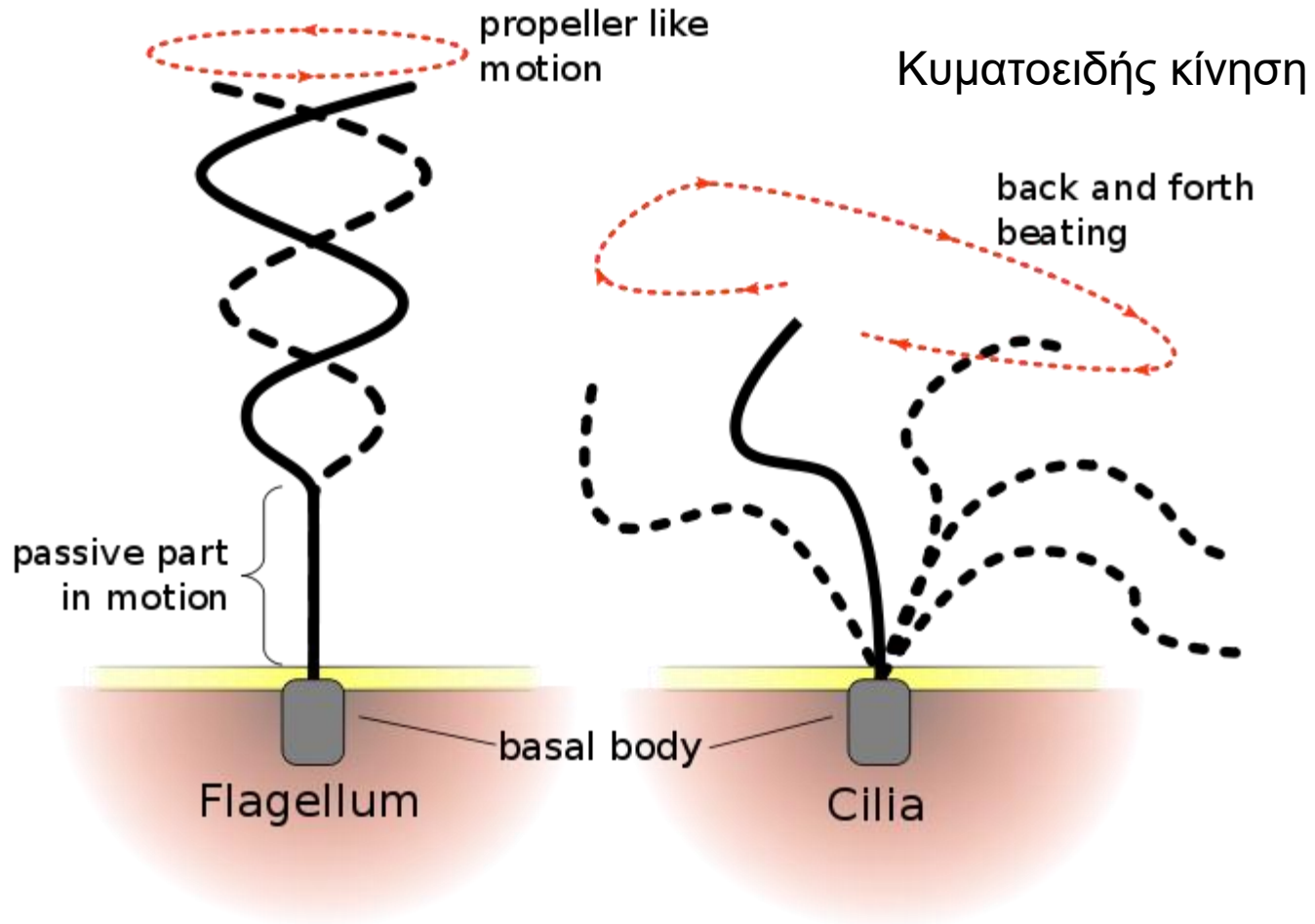


Το ευκαρυωτικό μαστίγιο

1. Είναι μακρύτερο από το προκαρυωτικό.
2. Είναι ένα ή λίγα.
3. Το κινητήριο μόριο είναι η δυνεΐνη.
4. Το βασικό σώματιο του μαστιγίου είναι ίδιο με το κεντρομερίδιο.
5. Υπάρχουν 9 διπλοί περιφερειακοί μικροσωληνίσκοι και ένα ζευγάρι εσωτερικών μικροσωληνίσκων.
6. Το μαστίγιο (και οι βλεφαρίδες) καλύπτονται από την κυτταρική μεμβράνη.
7. Η κίνηση των ευκαρυωτικών μαστιγίων και βλεφαρίδων είναι κυματοειδής.



Ελικοειδής κίνηση



Διαφορά κινήσεως σε μαστίγια και βλεφαρίδες

ΤΕΛΟΣ

<http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture3-Microbio.htm>