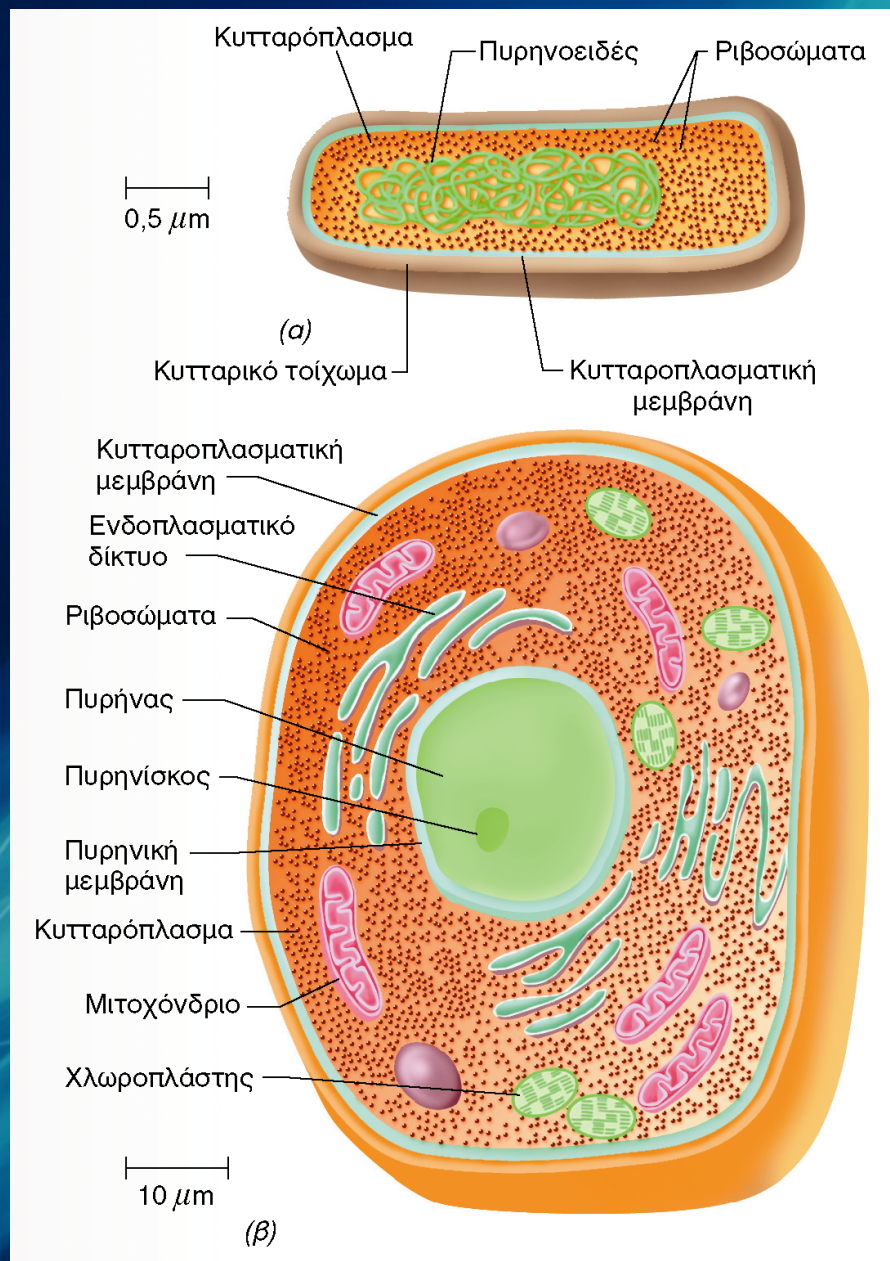


ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Γιώργος Τσιάμης

Επίκουρος Καθηγητής

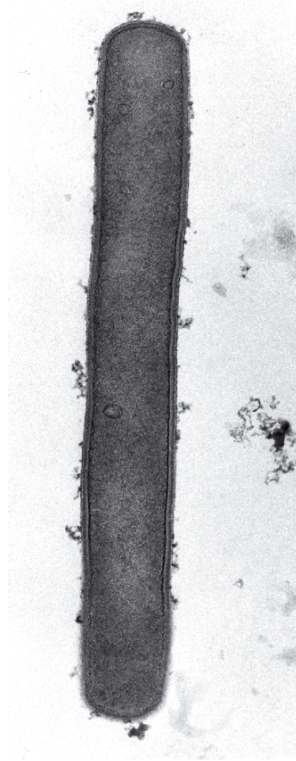
Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας





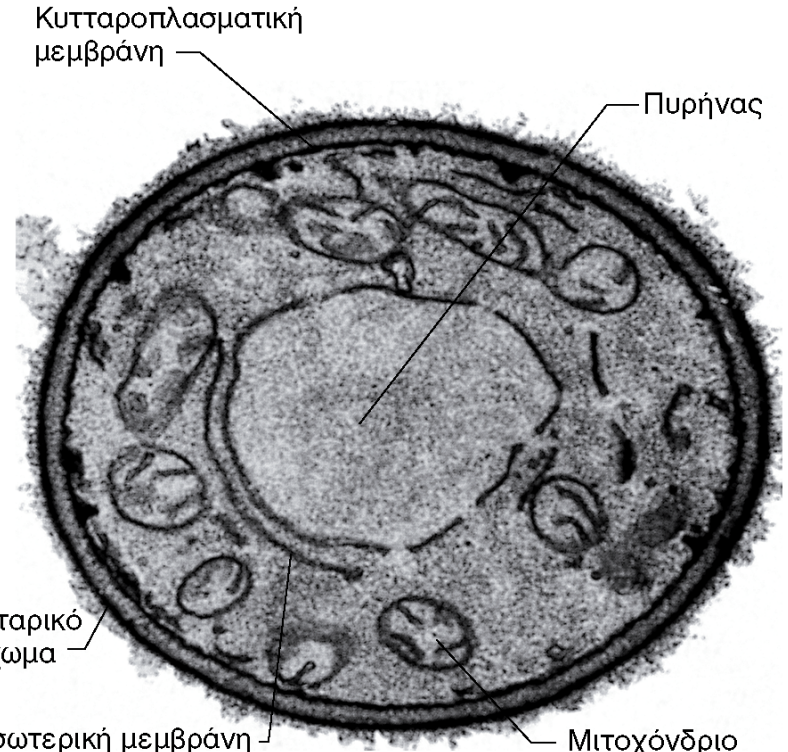
John Bozzola and M. T. Madigan

(a)



R. Rachel and K. O. Stetter

(β)



S. F. Conti and T. D. Brock

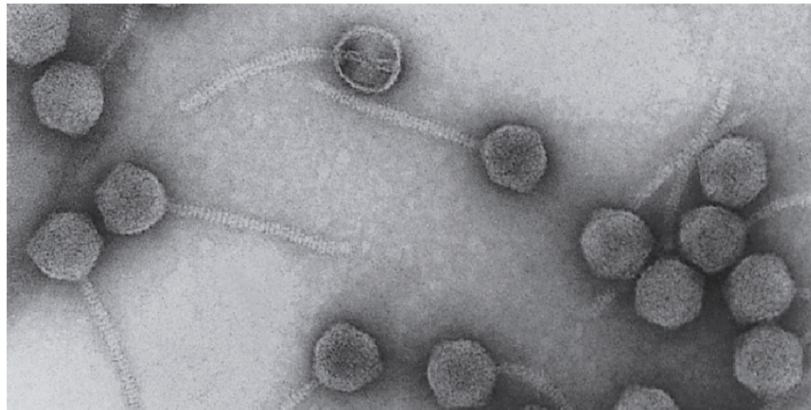
(γ)

Εικόνα 2.2 Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα κυτταρικών τομών από τους τρεις «χώρους» των ζωντανών οργανισμών. (a) *Heliobacterium modesticaldum* (Βακτήρια): οι διαστάσεις του κυττάρου είναι $1 \times 3 \mu\text{m}$. (β) *Methanopyrus kandleri* (Αρχαία): οι διαστάσεις του κυττάρου είναι $0,5 \times 4 \mu\text{m}$. [Reinhold Rachel & Karl O. Stetter, 1981. *Archives of Microbiology* 128:288-293. © 1981 Springer-Verlag GmbH & Co. KG.] (γ) *Saccharomyces cerevisiae* (Ευκάρια): η διάμετρος του κυττάρου είναι $8 \mu\text{m}$.



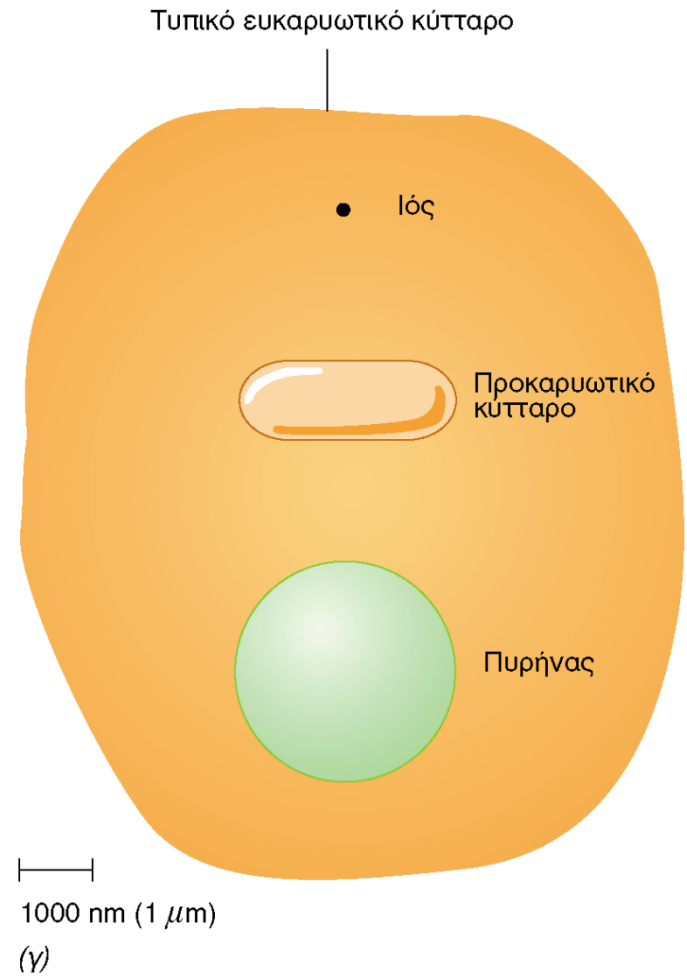
Erskine Caldwell

(a)

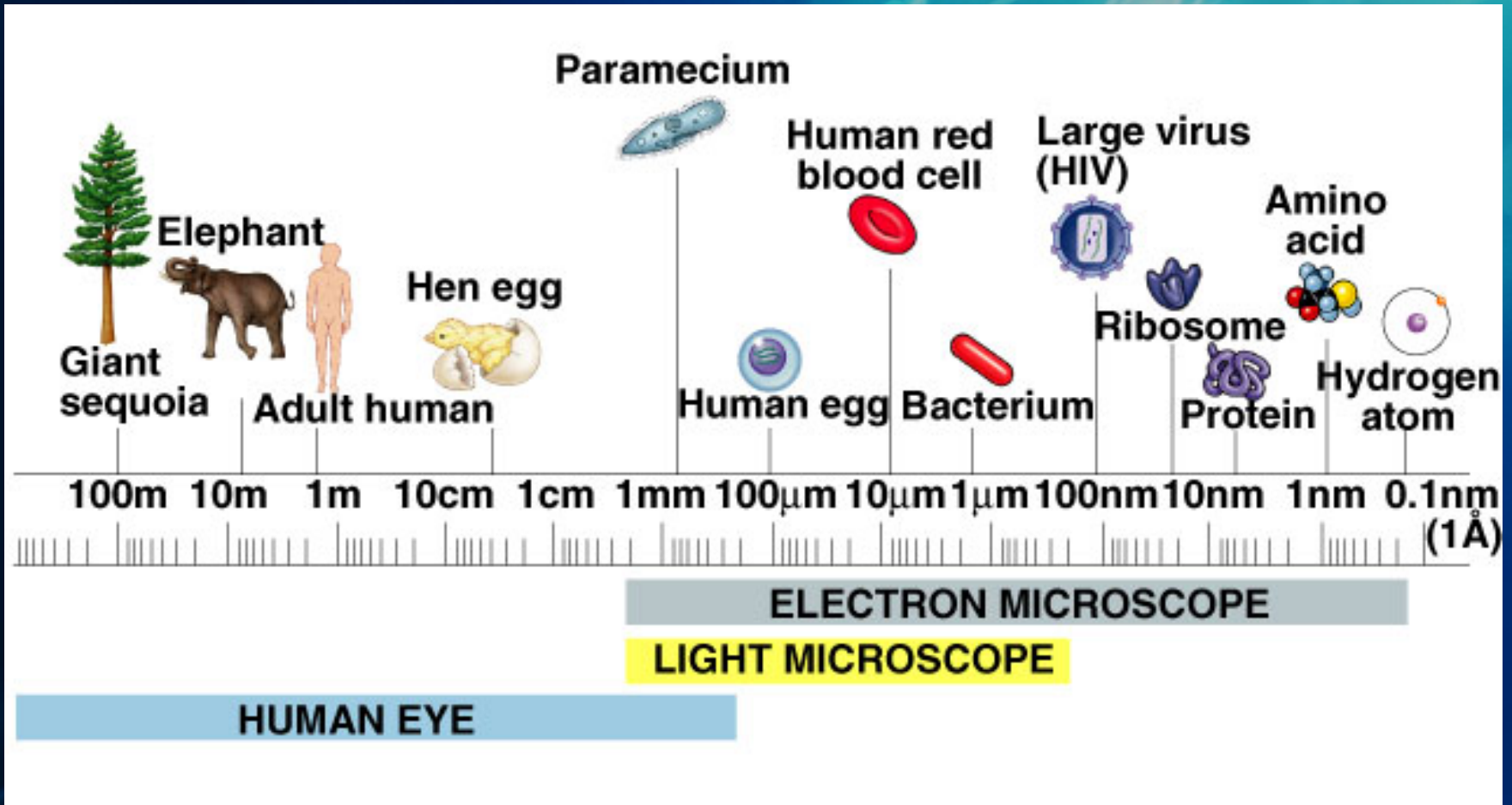


D. Kaiser

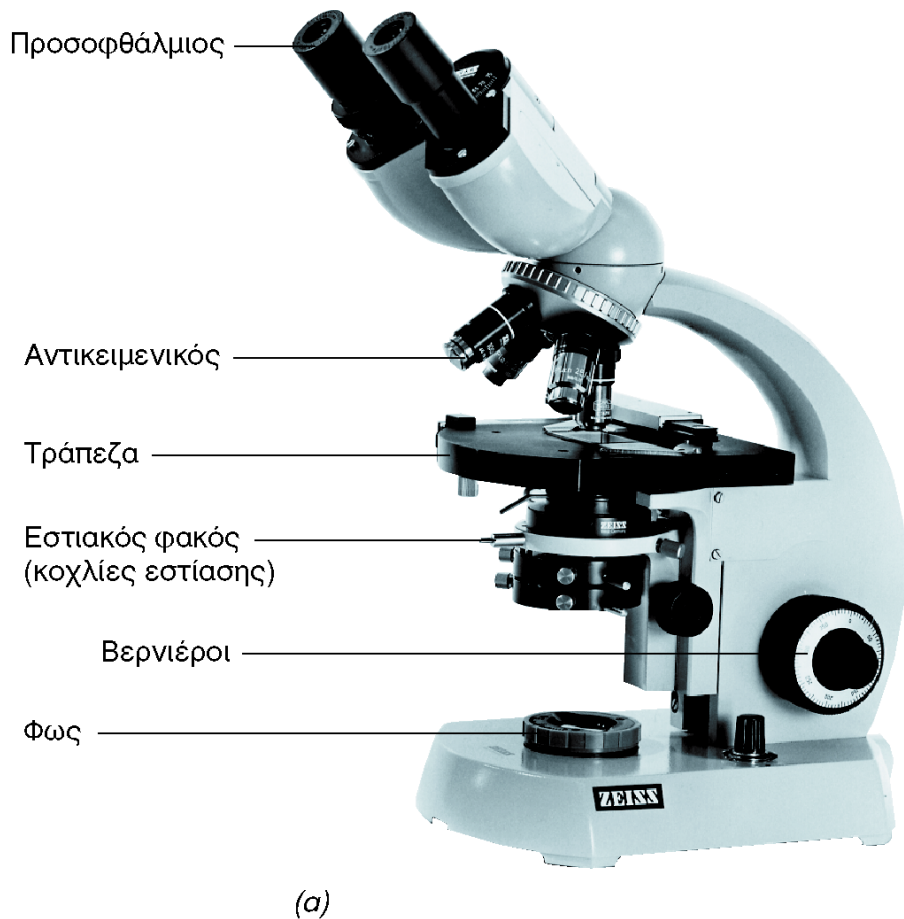
(β)



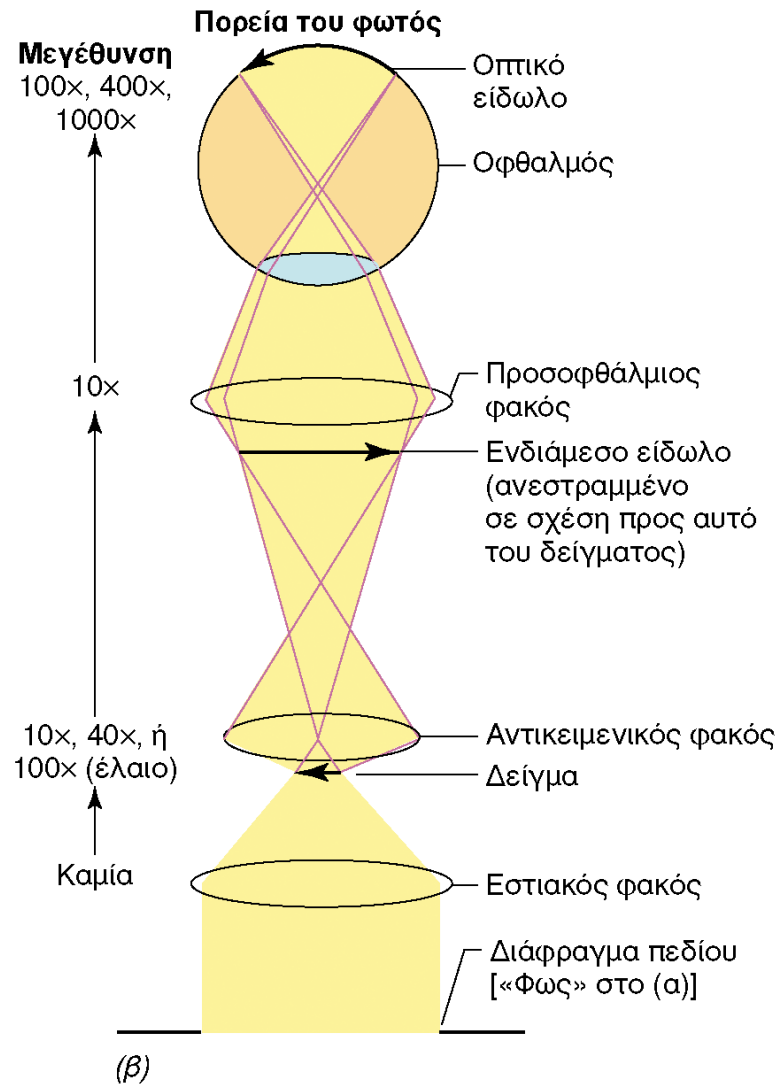
ΠΑΡΑΤΗΡΩΝΤΑΣ ΚΥΤΤΑΡΑ



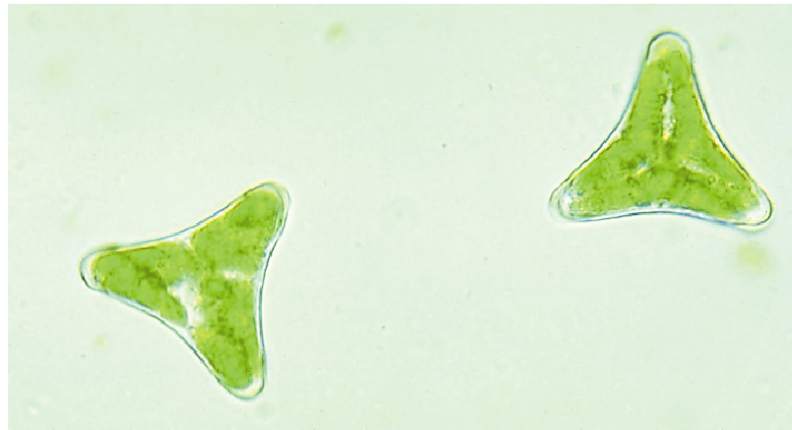
Μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου, αντίθεσης φάσεων, σκοτεινού πεδίου και φθορισμού.



Carl Zeiss, Inc.

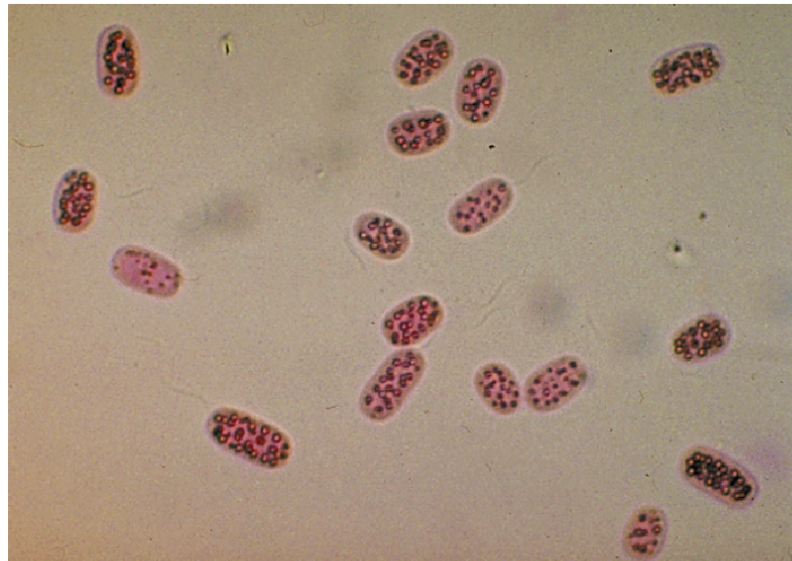


Εικόνα 4.1 (α) Σύνθετο οπτικό μικροσκόπιο. Υποδεικνύονται ορισμένα βασικά μέρη του. (β) Πορεία του φωτός διά μέσου του σύνθετου οπτικού μικροσκοπίου. Εκτός των 10X, υπάρχουν και προσοφθάλμιοι φακοί των 15-30X.



T. D. Brock

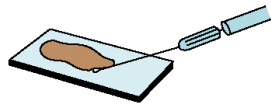
(a)



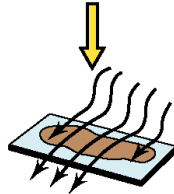
Norbert Pfennig

(β)

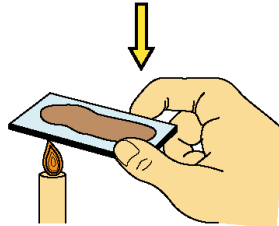
Εικόνα 4.2 Μικροφωτογραφίες χρωσμένων μικροοργανισμών που έχουν ληφθεί με μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου. (α) Ένα χλωροφύκος (ευκαρυώτης). (β) Ένα πορφυρό φωτοτροφικό βακτήριο (προκαρυώτης). Τα κύτταρα του χλωροφύκου έχουν διάμετρο περί τα 15 μm , ενώ τα βακτηριακά κύτταρα έχουν διάμετρο περί τα 5 μm .



Απλώστε μια λεπτή στρώση καλλιέργειας
σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα



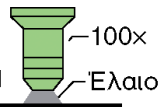
Στεγνώστε σε αέρα



Περάστε την αντικειμενοφόρο από φλόγα
(για μονιμοποίηση)



Διαβρέξτε με χρωστική, πλύνετε
με νερό και στεγνώστε



Αντικειμενοφόρος

100x

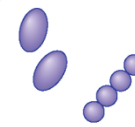
Ελαιο

Τοποθετήστε πάνω στην αντικειμενοφόρο μια σταγόνα
ελαίου· εξετάστε με αντικειμενικό φακό 100x

Εικόνα 4.3

Χρώση κυττάρων για μικροσκοπική παρατήρηση.

Βήμα 1



Διαβρέξτε το μονιμοποιημένο επίχρισμα κυττάρων με κρυσταλλικό ιώδες επί 1 min

Όλα τα κύτταρα αποκτούν πορφυρό χρώμα

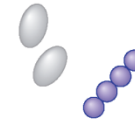
Βήμα 2



Προσθέστε διάλυμα ιωδίου επί 3 min

Όλα τα κύτταρα παραμένουν πορφυρά

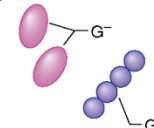
Βήμα 3



Αποχρωματίστε με αλκοόλη -περί τα 20 sec

Τα θετικά κατά Gram κύτταρα μένουν πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram αποχρωματίζονται

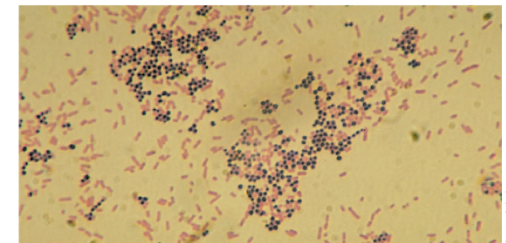
Βήμα 4



Εφαρμόστε την αντιχρωστική σαφρανίνη, επί 1-2 min

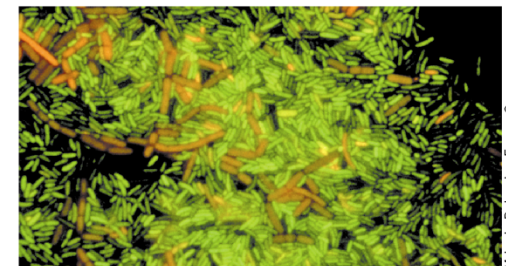
Τα θετικά κατά Gram κύτταρα (G⁺) είναι πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram (G⁻) είναι ρόδινα-ερυθρά

(α)



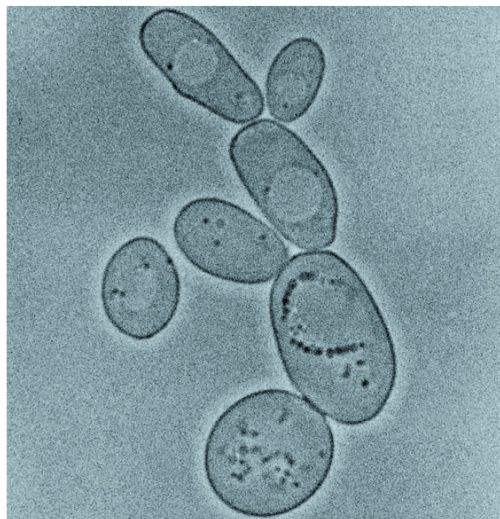
Leon J. Lebeau

(β)



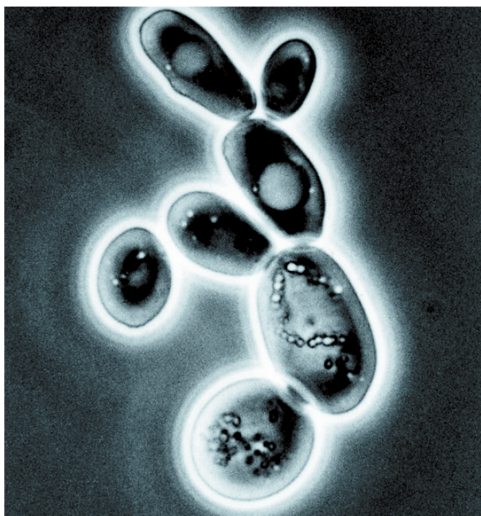
Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon

(γ)



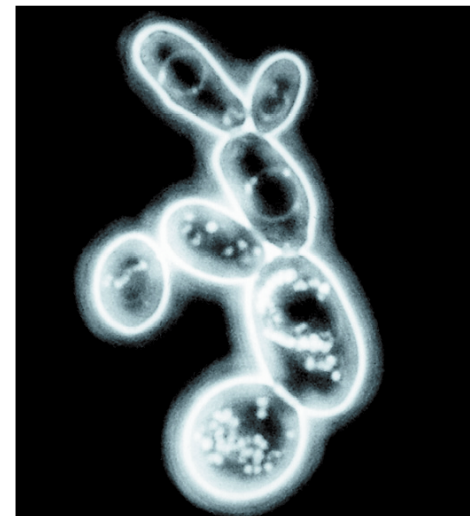
M.T. Madigan

(α)



M.T. Madigan

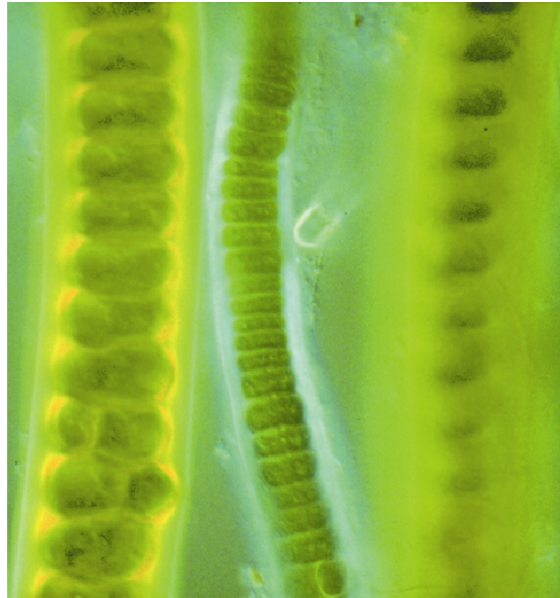
(β)



M.T. Madigan

(γ)

Εικόνα 4.5 Μικροφωτογραφίες του ίδιου πεδίου κυττάρων του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*, που έχουν ληφθεί με τρεις διαφορετικούς τύπους οπτικού μικροσκοπίου· (α) φωτεινού πεδίου, (β) αντίθεσης φάσεων, (γ) σκοτεινού πεδίου. Μέση διάμετρος κυττάρων: 8-10 μm .



R. W. Castenholz

(a)



R. W. Castenholz

(β)



T. D. Brock

(γ)

Εικόνα 4.6

Μικροφωτογραφίες διαφόρων μικροοργανισμών, από μικροσκοπία φθορισμού. (α, β) Κυανοβακτήρια. (α) Κύτταρα παρατηρούμενα με μικροσκοπία φωτεινού πεδίου. (β) Τα ίδια κύτταρα παρατηρούμενα μέσω φθορισμού, μετά από έκθεση σε φως μήκους κύματος 546 nm: το ερυθρό χρώμα οφείλεται σε αυτοφθορισμό της χλωροφύλλης και άλλων χρωστικών. (γ) Κύτταρα του νηματοειδούς βακτηρίου *Leucothrix mucor*, χρωσμένα με τη φθορίζουσα χρωστική «πορτοκαλί της ακριδίνης», η οποία φθορίζει στο πράσινο. Τα κύτταρα αυτά έχουν διάμετρο 3 μm και μπορεί να φθάσουν σε μήκος μεγαλύτερο των 100 μm.



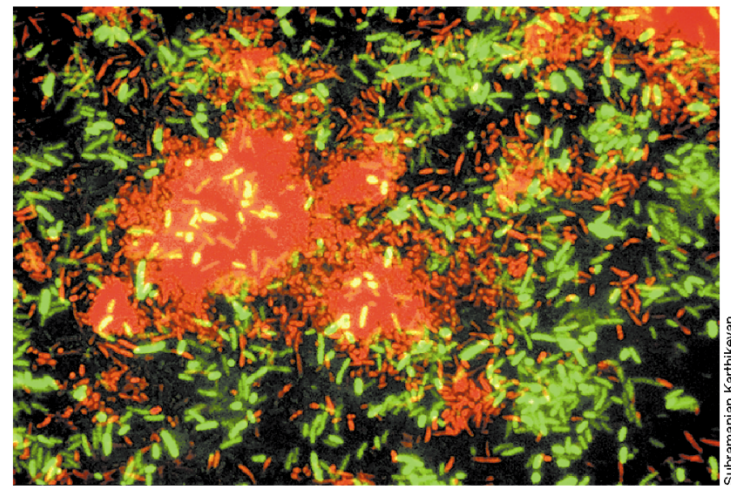
Linda Barnett and James Barnett

(a)



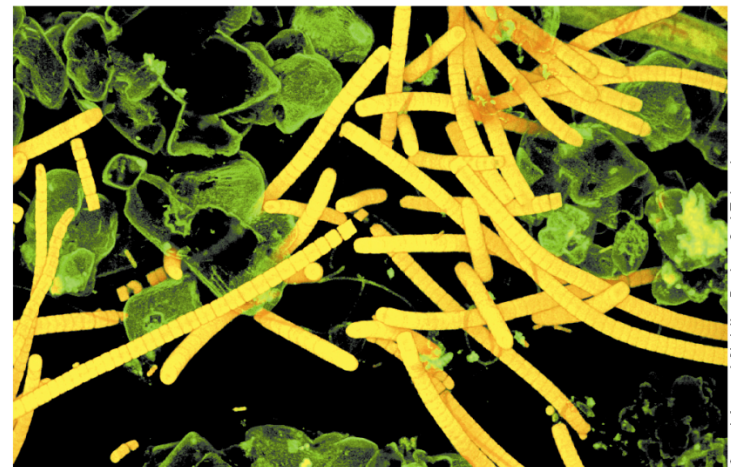
Suzanne Kelly

(b)



Subramanian Karthikeyan

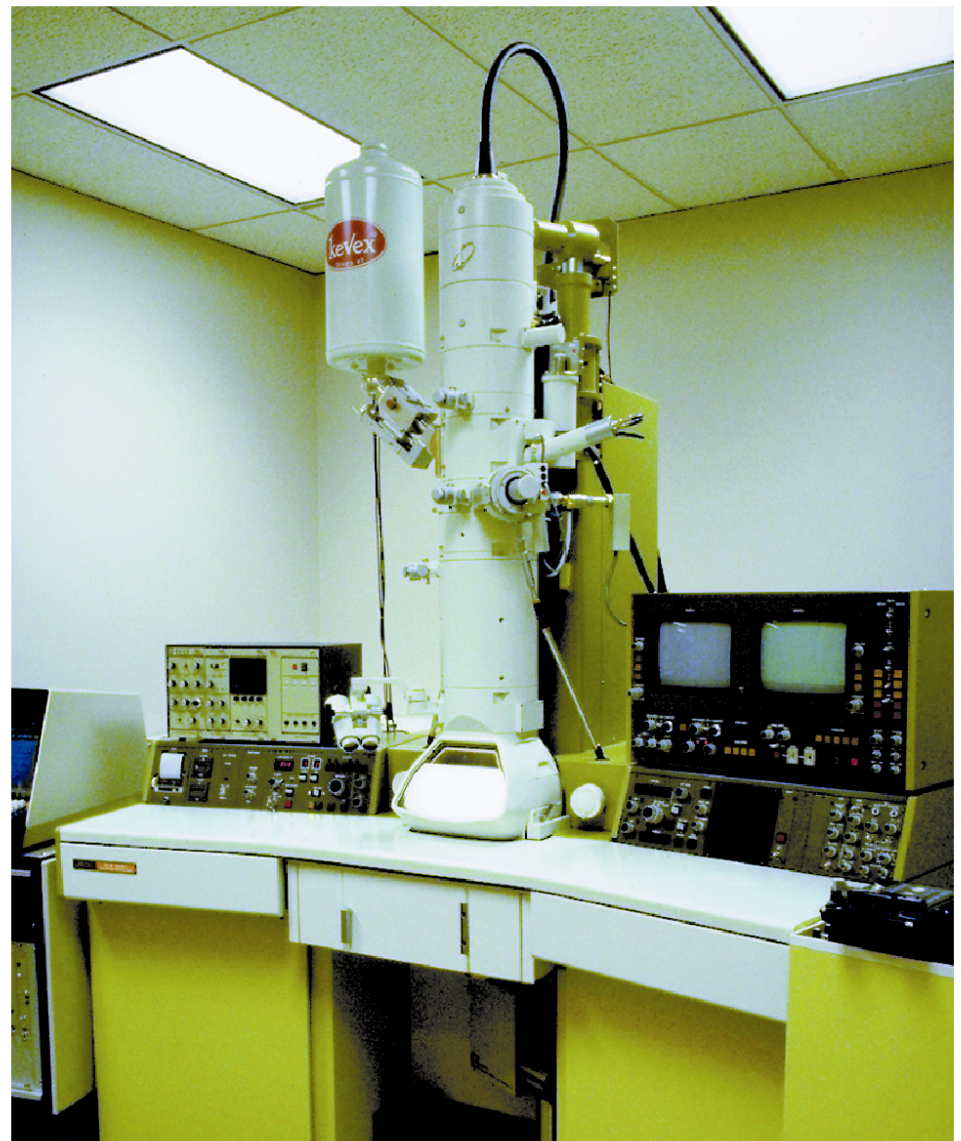
(a)



Gernot Aip and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

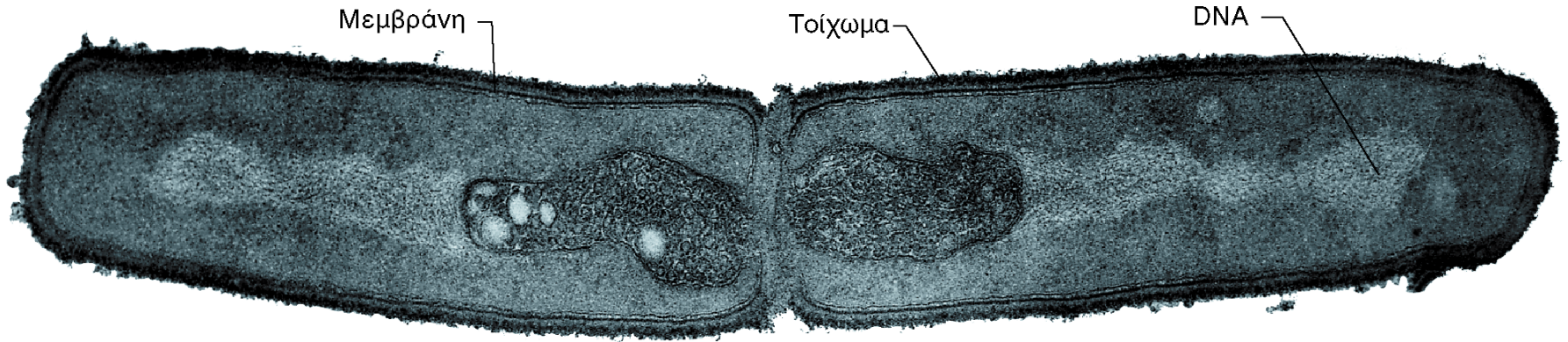
(β)

Εικόνα 4.8 Μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ. (α) Συνεστιακή εικόνα μιας μικτής κοινότητας μικροβιακού βιοφίλμ, καλλιεργημένου υπό εργαστηριακές συνθήκες. Τα πράσινα, ραβδόσχημα κύτταρα είναι *Pseudomonas aeruginosa*, που είχαν εισαχθεί στο βιοφίλμ πειραματικά. Σε διαφορετικά επίπεδα βάθους στο βιοφίλμ, υπάρχουν και άλλα είδη κυττάρων, που φαίνονται με διαφορετικό χρώμα. (β) Συνεστιακό μικρογράφημα νηματοειδούς κυανοβακτηρίου που αναπτύσσεται σε λίμνη πλούσια σε ανθρακικό νάτριο.



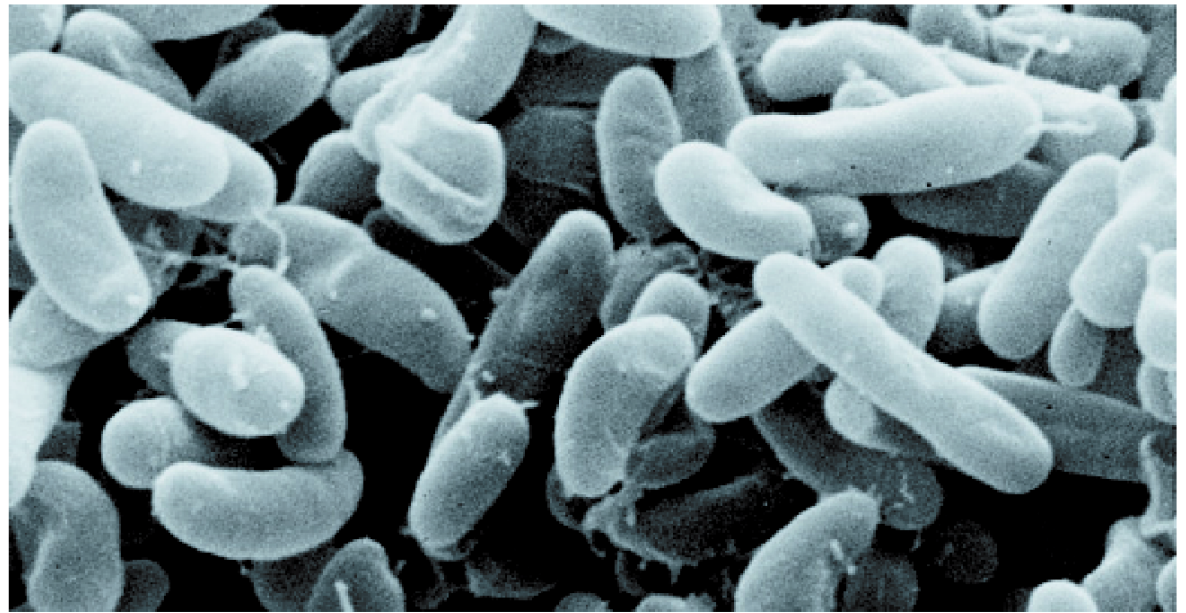
JEOL, USA Inc.

Εικόνα 4.9 Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Το συγκεκριμένο όργανο λειτουργεί τόσο ως ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης όσο και ως ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης.



(a)

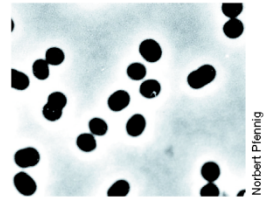
Εικόνα 4.10 Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα βακτηριακών κυττάρων που έχουν ληφθεί (a) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης και (b) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. (a) Λεπτή τομή ενός τυπικού θετικού κατά Gram βακτηρίου, του *Bacillus subtilis*. Το κύτταρο έχει μόλις διαιρεθεί, και δύο δομές που περικλείονται από μεμβράνη είναι προσκολλημένες στο διαφραγματικό τοίχωμα. Παρατηρήστε τη φωτεινότερη περιοχή στο μέσον (DNA ή πυρηννοειδές). Διάμετρος κυττάρου: περί τα 0,8 μm. (b) Κύτταρα του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodovibrio sodomensis*. Πλάτος ενός κυττάρου: περί τα 0,75 μm. Παρατηρήστε ότι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης επιτρέπει μεγάλο βάθος πεδίου, που παρέχει εξαιρετική ποιότητα τριδιάστατης απεικόνισης.



(b)



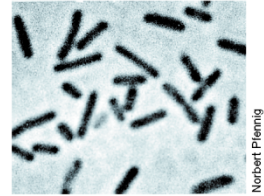
Κόκκος



Norbert Piennig



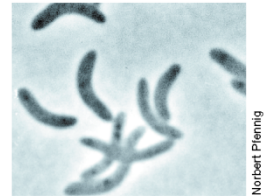
Ραβδίο



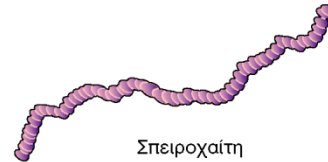
Norbert Piennig



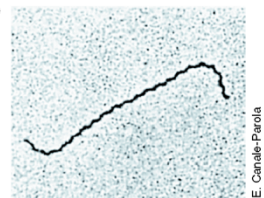
Σπείραμα



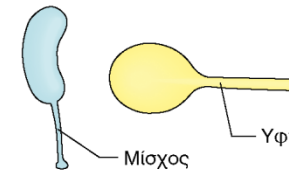
Norbert Piennig



Σπειροχάιτη



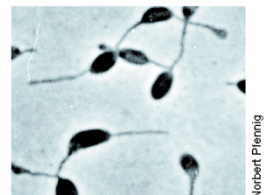
E. Canale-Parola



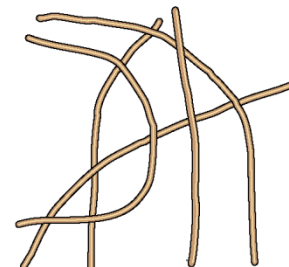
Μίσχος

Υφή

Εκβλαστών και εξαρτηματοφόρο



Norbert Piennig



Νηματοειδές



T. D. Brock



Esther R. Angert, Harvard University

Εικόνα 4.12 Μικροφωτογραφία σκοτεινού πεδίου ενός γιγαντιαίου προκαρυώτη, του ιχθυοσυμβιώτη *Epulopiscium fishelsoni*. Το ραβδόσχημο κύτταρο *E. fishelsoni* έχει μήκος περί τα 600 μm (0,6 mm) και εμφανίζεται στη μικροφωτογραφία αυτή μαζί με 4 κύτταρα του πρωτοζώου (ευκαρυώτη) *Paramecium* (τα κύτταρα του *Paramecium* έχουν μήκος περί τα 150 μm). Το *E. fishelsoni* ανήκει στα Βακτήρια και είναι είδος φυλογενετικά συγγενές προς τα είδη του γένους *Clostridium*.

Oscillatoria (ένα κυανοβακτήριο)
8 × 50 μm



Bacillus megaterium
1,5 × 4 μm



Escherichia coli
1 × 3 μm



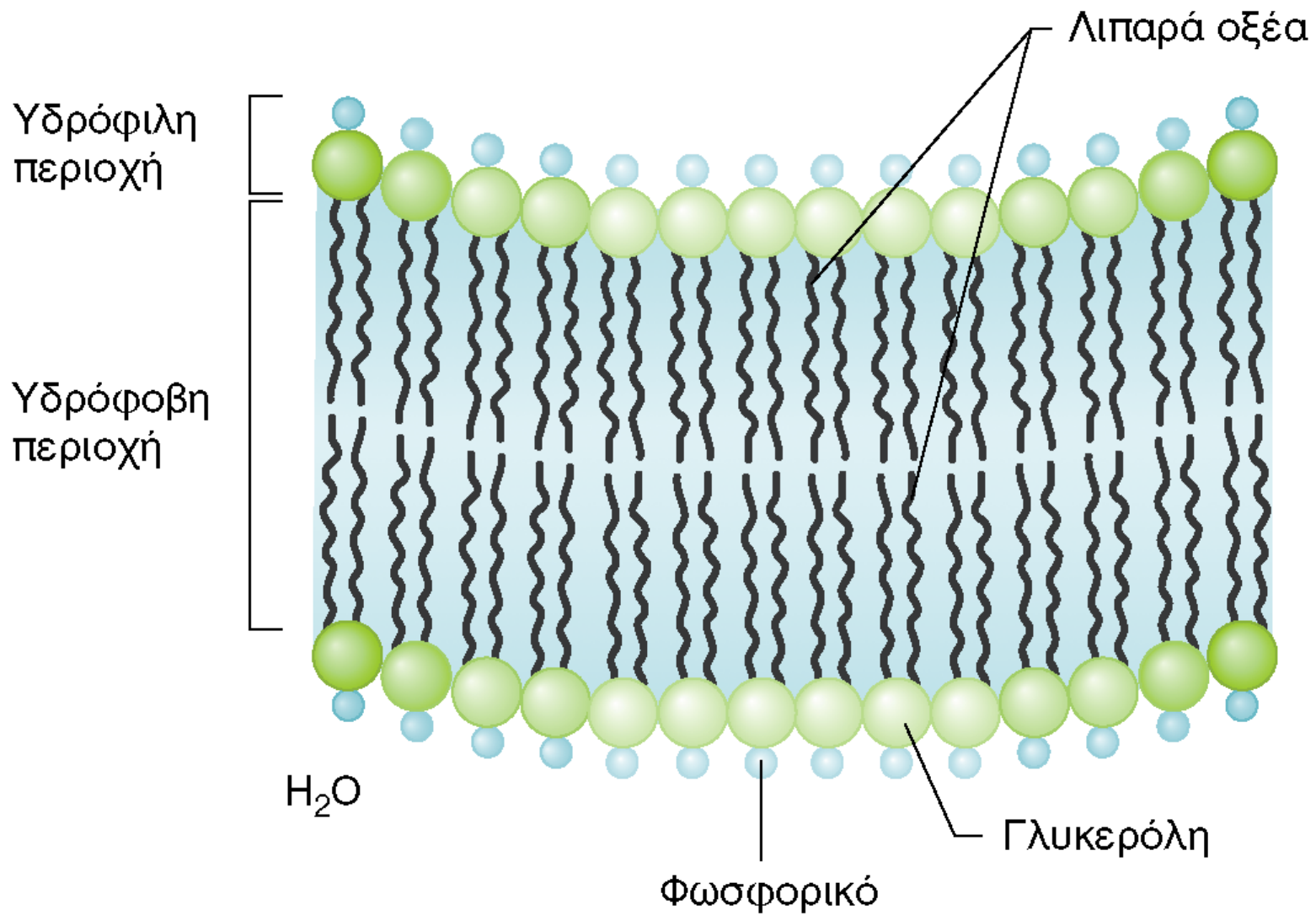
Streptococcus pneumoniae
διάμετρος 0,8 μm

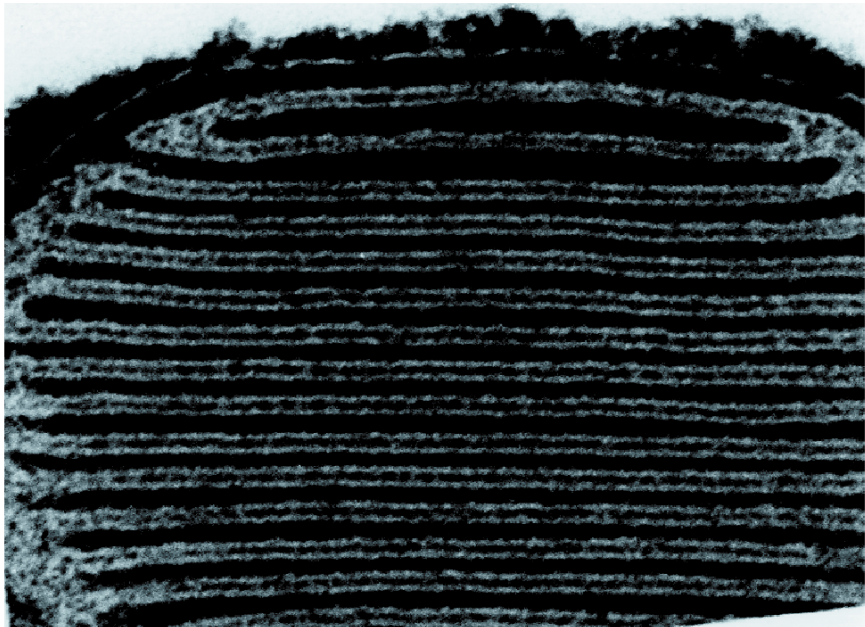


Haemophilus influenzae
0,25 × 1,2 μm



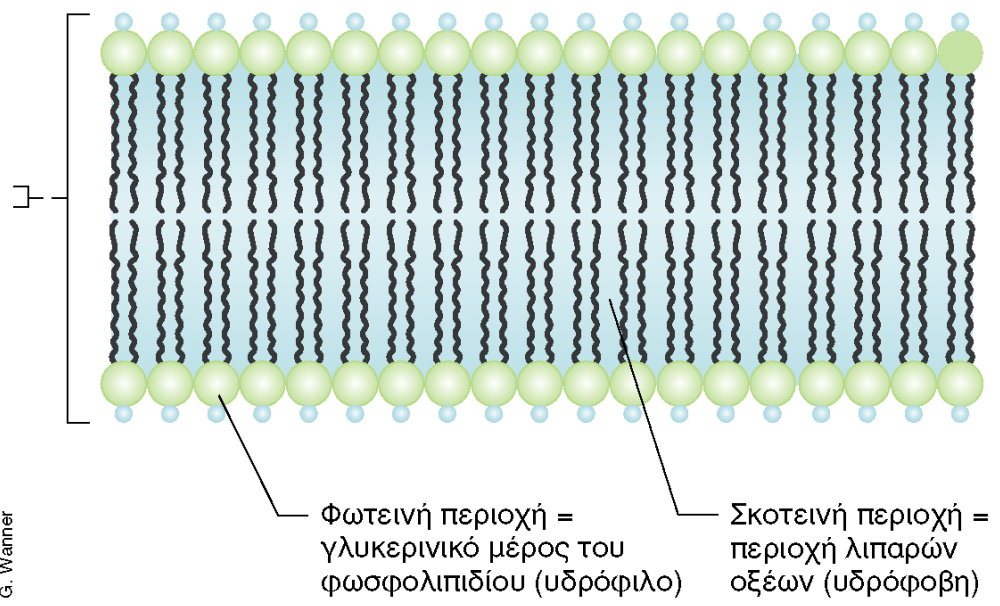
Εικόνα 4.13 Σύγκριση μεγέθους διαφόρων προκαρυωτών. Οι περισσότεροι από τους γνωστούς προκαρυώτες έχουν διάμετρο μεταξύ 0,5-2 μm.





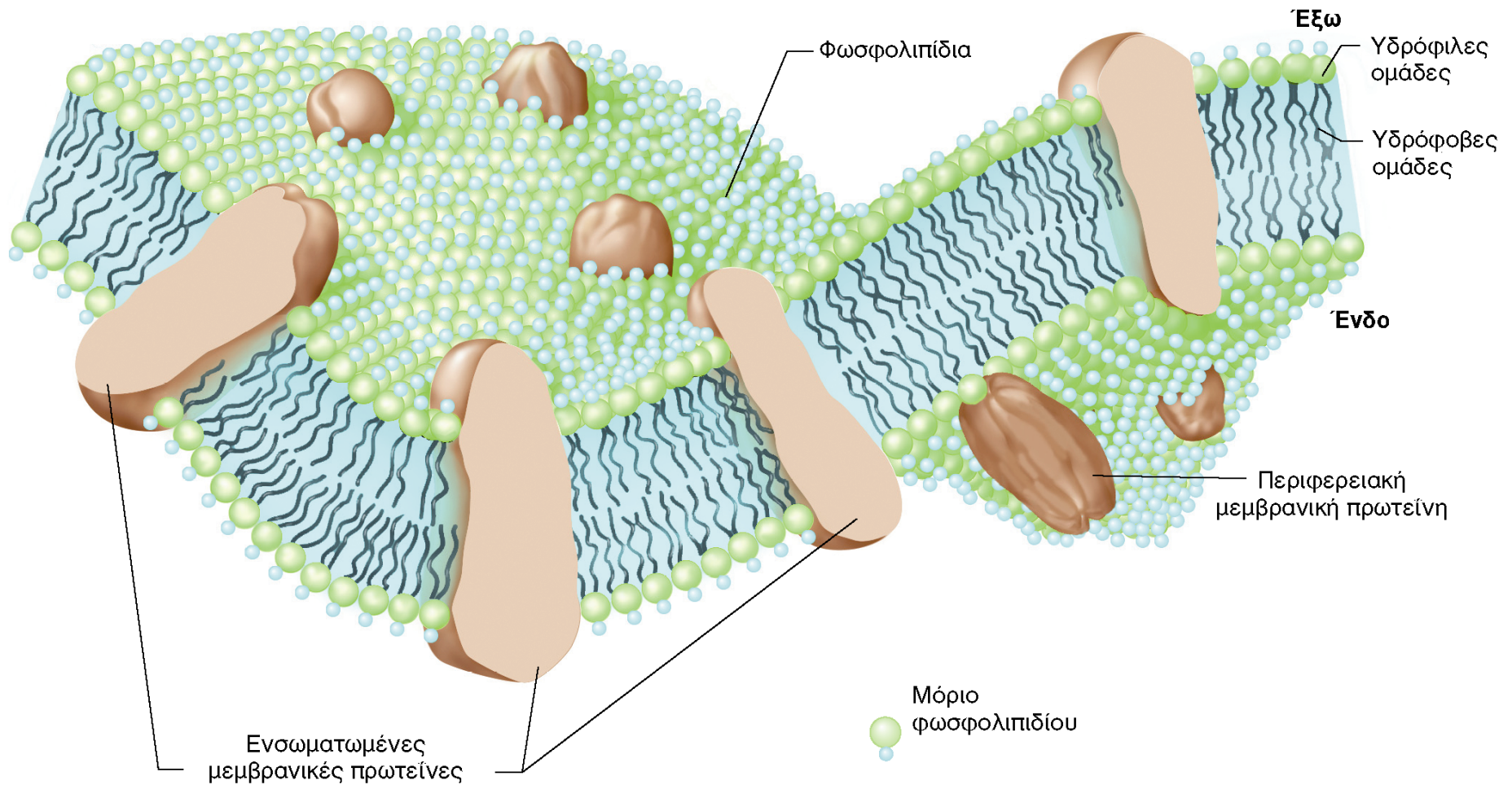
G. Wanner

(a)

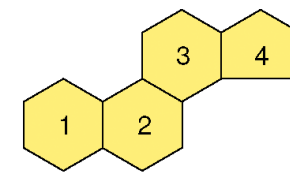


(β)

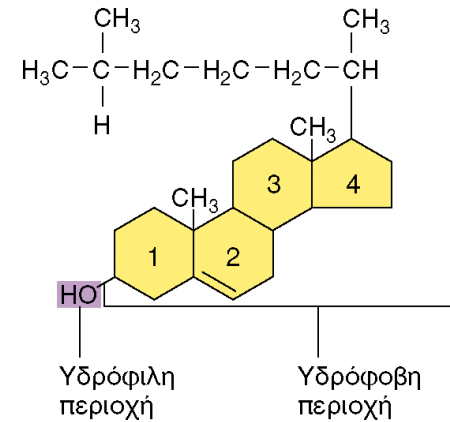
Εικόνα 4.16 Η κυτταροπλασματική μεμβράνη. (a) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα μεμβρανικών θυλακίων που προέρχονται από την κυτταροπλασματική μεμβράνη του φωτοτροφικού βακτηρίου *Halorhodospira halochloris*. Παρατηρήστε τις διακριτές διπλοστιβάδες λιπιδίων (στοιχειακές μεμβράνες). Πάχος διπλοστιβάδας: ~ 8 nm. (β) Σχηματική εικόνα μιας στοιχειακής μεμβράνης του (a), υπό μεγέθυνση.



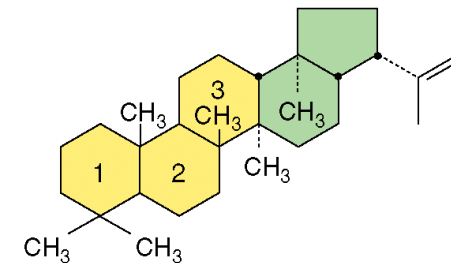
Εικόνα 4.17 Διάγραμμα δομής της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Η εσωτερική επιφάνεια (Ένδο) στρέφεται προς το κυτταρόπλασμα και η εξωτερική επιφάνεια (Εξω) προς το περιβάλλον. Ο θαλλός της στοιχειακής μεμβράνης αποτελείται από φωσφολιπίδια, με τις υδρόφοβες ομάδες να κατευθύνονται προς το εσωτερικό και τις υδρόφιλες προς το εξωτερικό, όπου επικοινωνούν με μόρια νερού. Ενσωματωμένες στον θαλλό της μεμβράνης είναι πρωτεΐνες με σημαντικά υδρόφοβη διαμεμβρανική περιοχή. Στις υδρόφιλες επιφάνειες της μεμβράνης μπορούν να προσαρτώνται υδρόφιλες πρωτεΐνες και άλλες πολικές ή και φορτισμένες ουσίες, όπως ιόντα μετάλλων. Πέρα από κάποιες χημικές διαφοροποιήσεις, η γενική δομή της κυτταροπλασματικής μεμβράνης είναι όμοια τόσο στους προκαρυωτικούς όσο και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (σημειώστε, ωστόσο, την εξαίρεση που αναφέρεται στην Εικόνα 4.20δ).



(a)

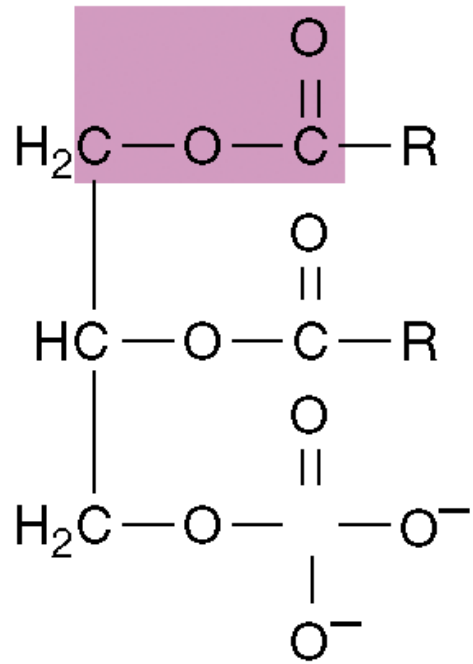


(β)

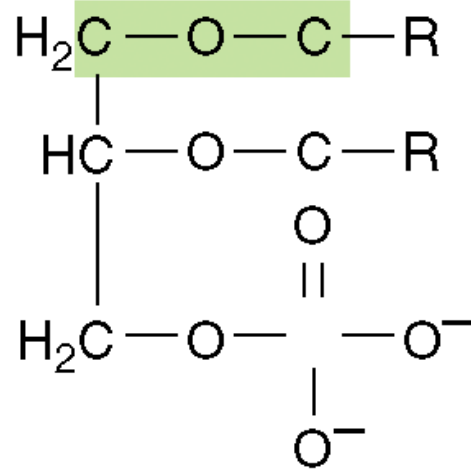


(γ)

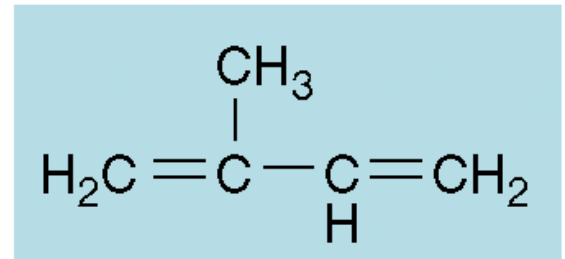
Εικόνα 4.18 Στερόλες και σπανοειδή. (α) Η γενική δομή μιας στερόλης. Όλες οι στερόλες περιέχουν τους ίδιους τέσσερις δακτυλίους: 1, 2, 3, και 4. (β) Η δομή της χοληστερόλης. (γ) Η δομή του σπανοειδούς διπλοπτενίου. Προσέξτε τη δομική ομοιότητα μεταξύ χοληστερόλης και διπλοπτενίου στους δακτυλίους 1 έως 3. Στερόλες απαντούν στις μεμβράνες των ευκαρυωτών και σπανοειδή στις μεμβράνες ορισμένων προκαρυωτών.



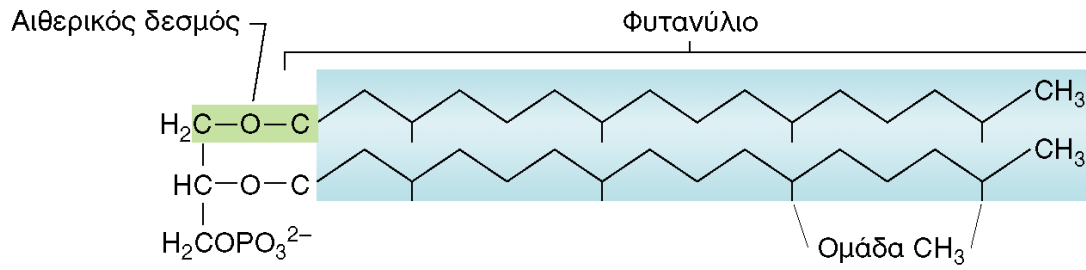
(α)



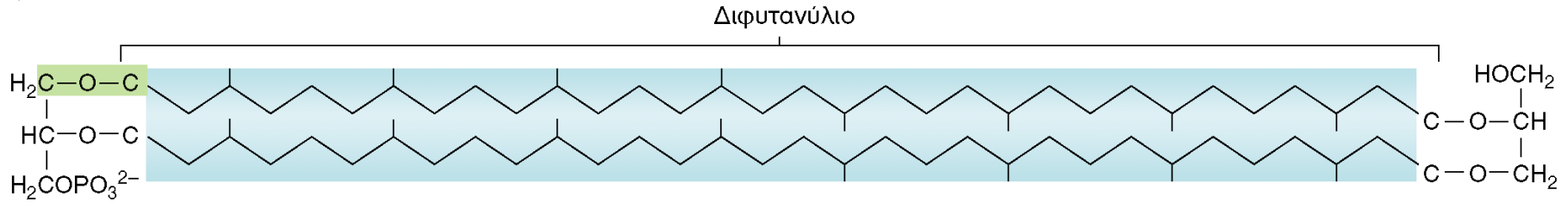
(β)



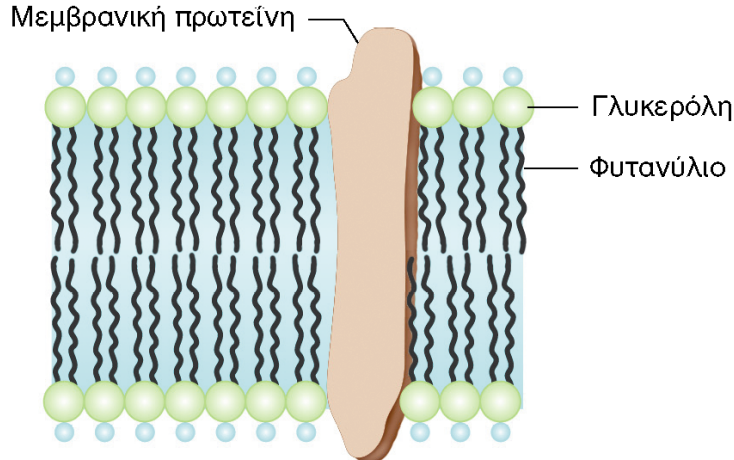
(γ)



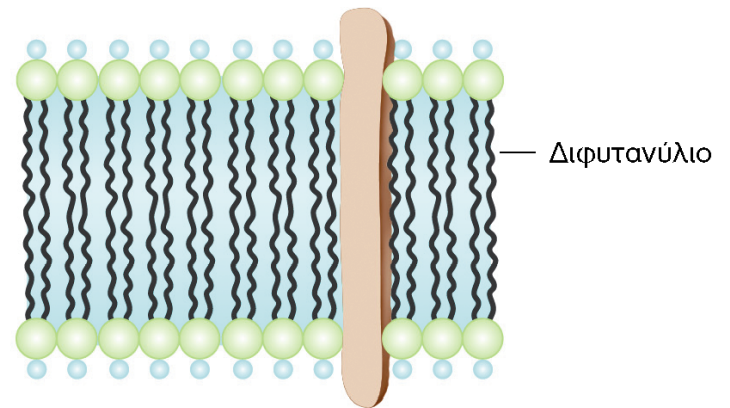
(α) Διαιθέρας γλυκερόλης



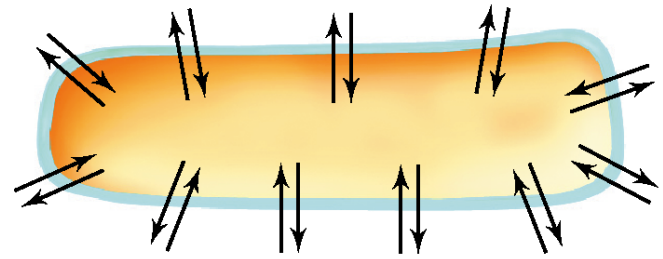
(β) Τετρααιθέρας διγλυκερόλης



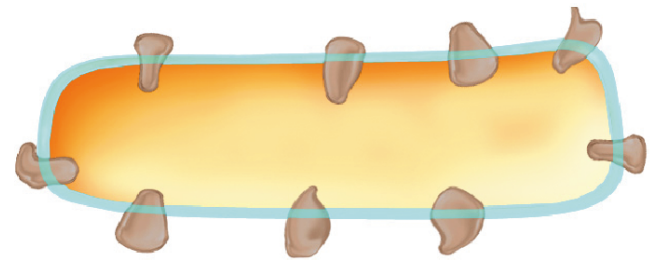
(γ) Διπλοστιβάδα λιπιδίων



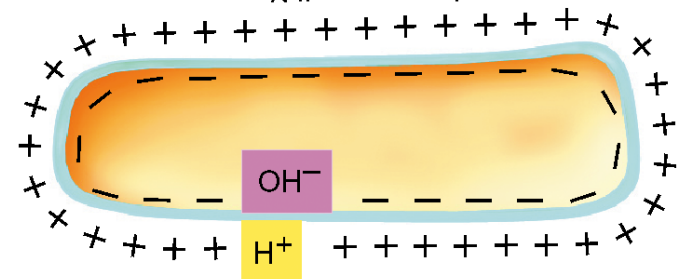
(δ) Μονοστιβάδα λιπιδίων



Φραγμός διαπερατότητας — Εμποδίζει τη διαρροή και λειτουργεί ως δίοδος μεταφοράς θρεπτικών ουσιών από και προς το εσωτερικό του κυττάρου

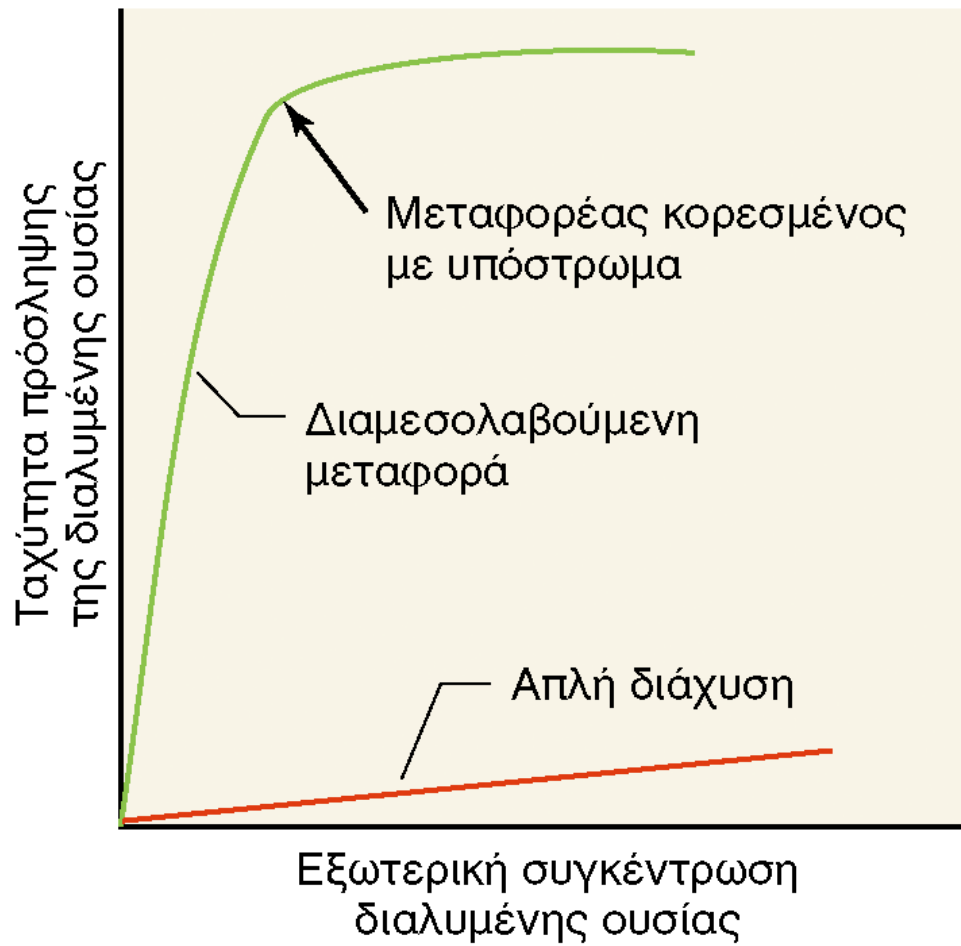


Δέσμευση πρωτεϊνών — Θέση εντοπισμού πολλών πρωτεϊνών που συμμετέχουν σε λειτουργίες μεταφοράς, βιοενεργειακές δράσεις, και χημειοτακτισμό



Διατήρηση ενέργειας — Θέση όπου αναπτύσσεται και δρα η πρωτονιογενετική δύναμη

Εικόνα 4.21 Οι κύριες λειτουργίες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.

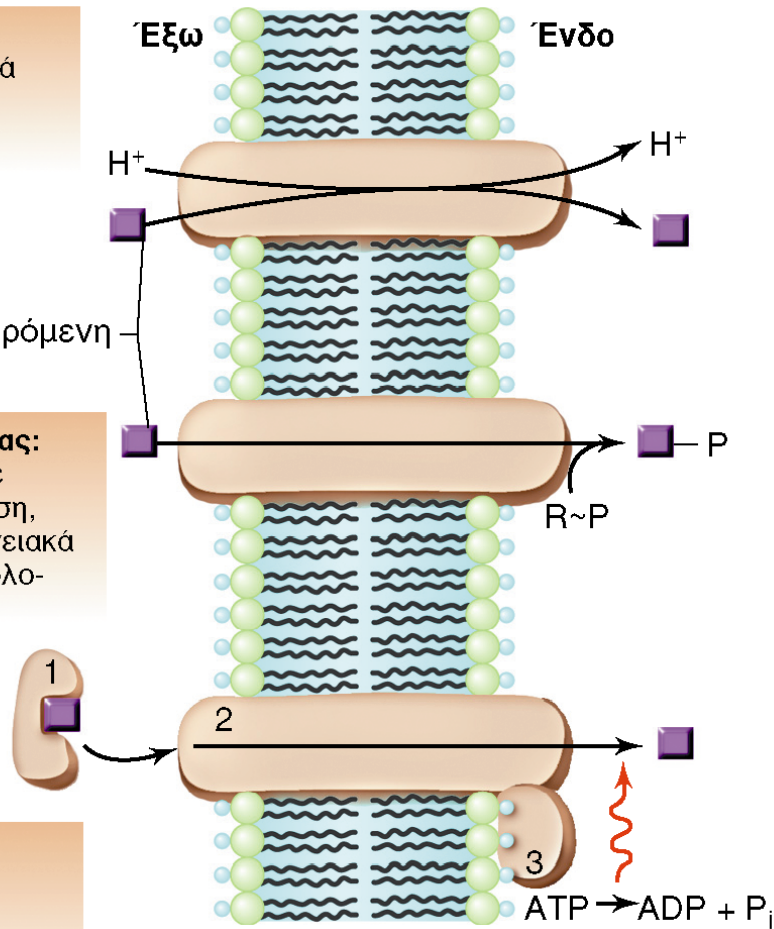


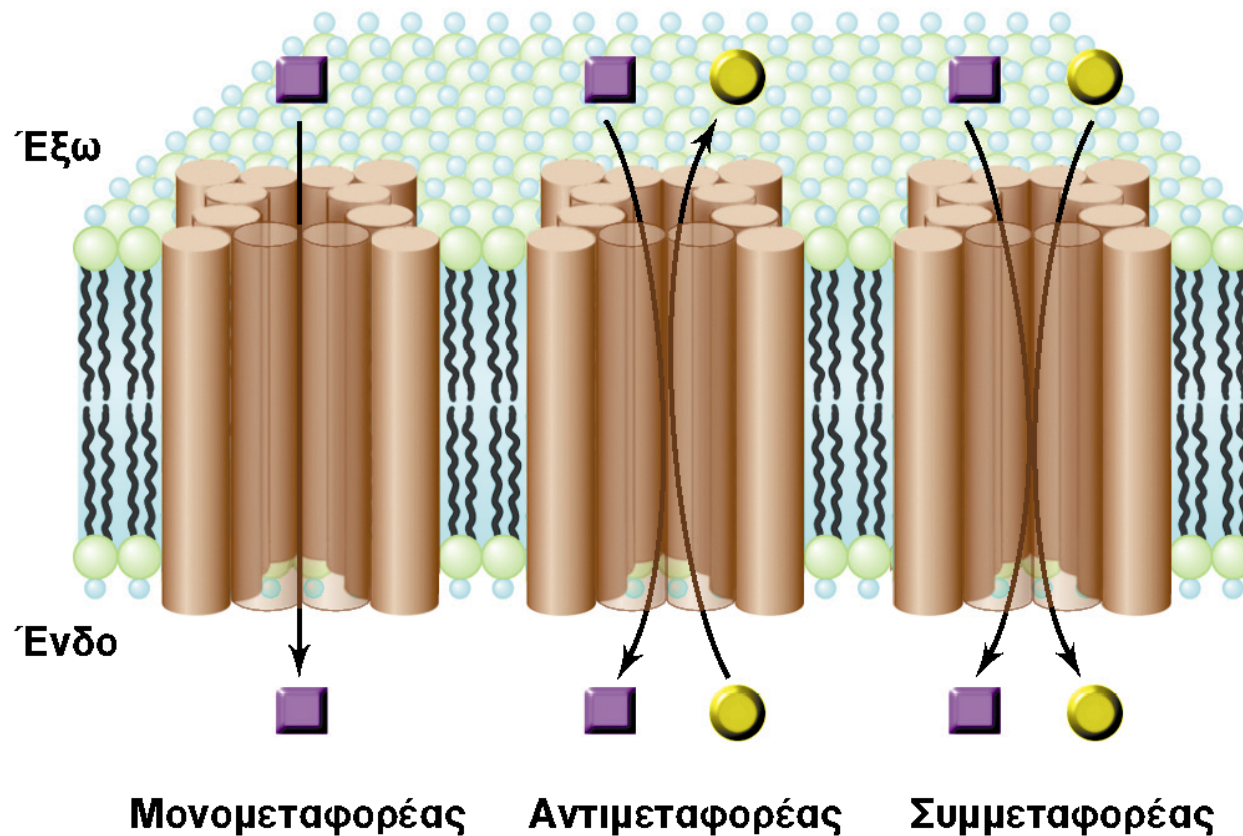
Απλή μεταφορά:
Ωθείται ενεργειακά
από την
πρωτονιογενετική
δύναμη

Μεταφερόμενη
ουσία

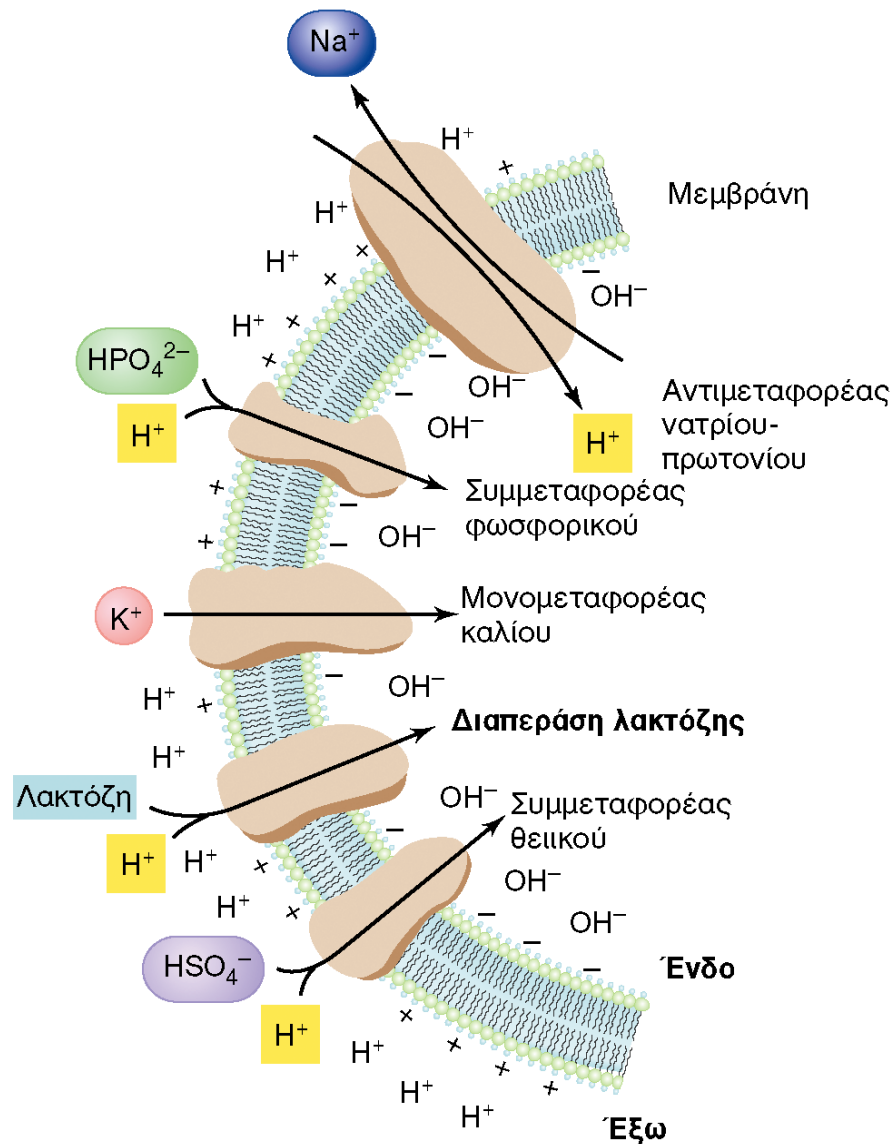
Μετατόπιση ομάδας:
Μεταφορά μαζί με
χημική τροποποίηση,
που ωθείται ενεργειακά
από το φωσφοενολο-
πυροσταφυλικό

Το σύστημα ABC:
Συμμετέχουν
περιπλασματικές
πρωτεΐνες δέσμησης,
η ενέργεια προέρχεται
από το ATP

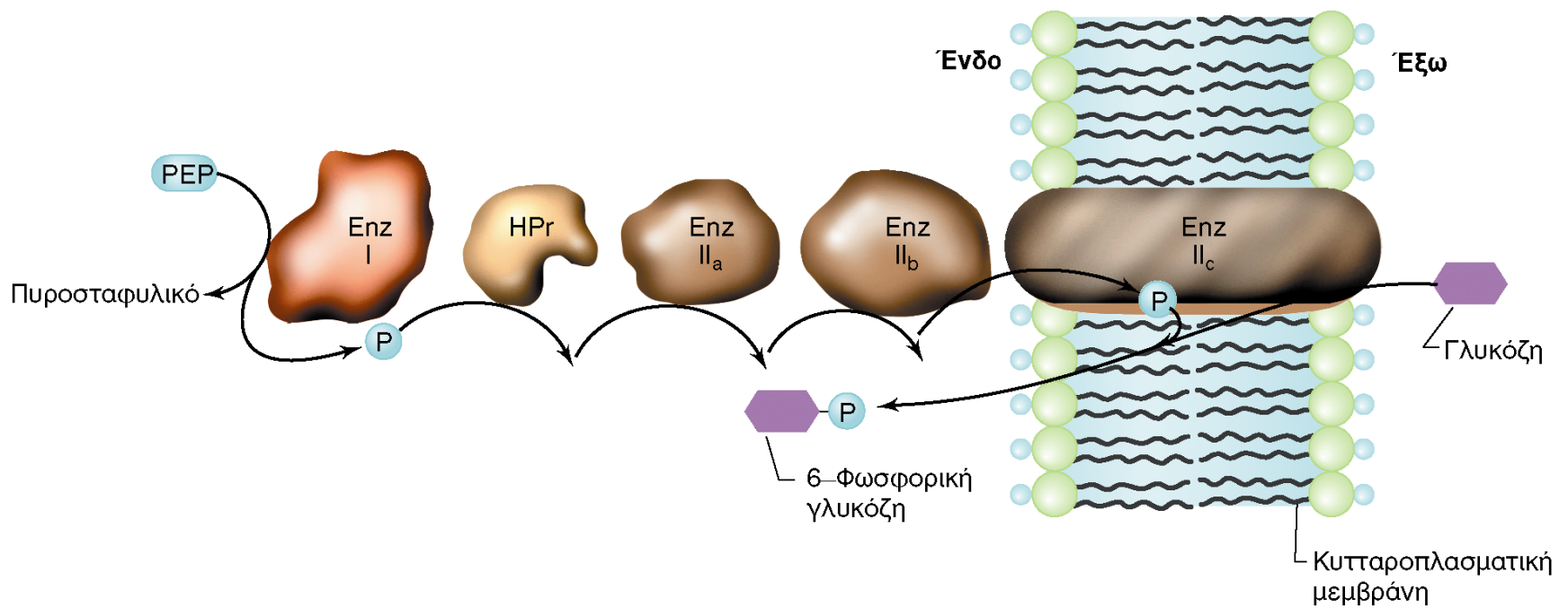




Εικόνα 4.24 Δομή διαμεμβρανικών μεταφορέων και τύποι μεταφοράς. Στους προκαρυώτες, οι διαμεμβρανικοί μεταφορείς τυπικά περιέχουν 12 α -έλικες που διαμορφώνουν μια δίοδο (κανάλι) διά μέσου της μεμβράνης. Απεικονίζονται οι τρεις διαφορετικοί τύποι μεταφορέων. Για τους αντιμεταφορείς και τους συμμεταφορείς, το αντιμεταφερόμενο ή συμμεταφερόμενο –αντίστοιχα– μόριο παρουσιάζεται με κίτρινο χρώμα.



Εικόνα 4.25 Λειτουργία της διαπεράσης λακτόζης (ενός συµμεταφορέα) της *Escherichia coli*, και άλλων γνωστών απλών μεταφορέων. Η δομή αυτών των διαµεμβρανικών πρωτεϊνών αποδίδεται απλουστευτικά µε µορφή σφαιρικής, αλλά στην πραγµατικότητα είναι όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 4.24.



Εικόνα 4.26 Μηχανισμός του συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης της *Escherichia coli*. Όσον αφορά την πρόσληψη γλυκόζης, το σύστημα συνίσταται από 5 πρωτεΐνες: Ένζυμο (Enz) I· ένζυμα II_a, II_b, και II_c· και πρωτεΐνη HPr. Μια φωσφορική ομάδα μεταφέρεται διαδοχικά από το φωσφοενολοπυροσταφυλικό (PEP) προς τη σειρά των πρωτεϊνών I, HPr, II_a, II_b, για να καταλήξει στην II_c, που είναι αυτή η οποία μεταφέρει (και φωσφορυλιώνει) το σάκχαρο.