

Biotechnológie mikroorganizmov

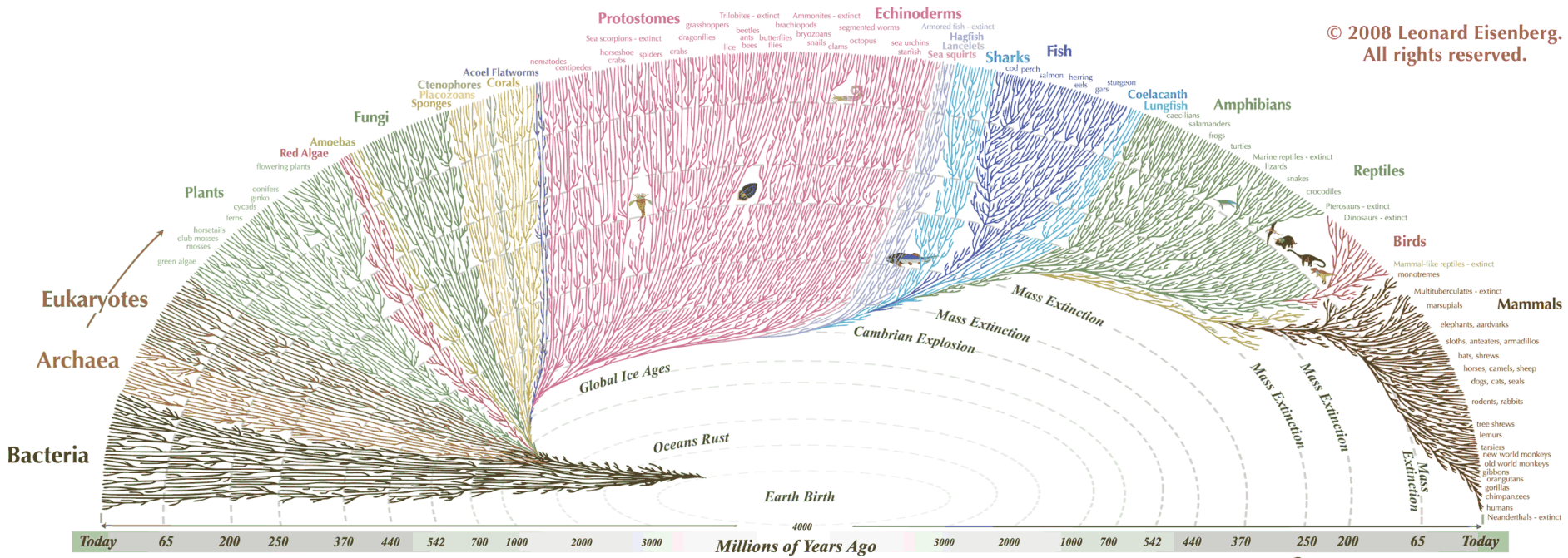
Mikrobiálna diverzita


Ing. Lukáš Hleba, PhD.

Diverzita

- Baktérie – najrozsiahlejšia skupina, veľká adaptibilita, najrozmanitejšie substráty, množstvo produktov metabolizmu
- Archae – rozsiahla skupina extrémnych habitatov
- Eukaryonty (prvoky, huby, rastliny a živočíchy) – producenti množstva enzýmov (huby), antibiotík, polysacharidov
- Veľká úloha pri rozkladaní organického materiálu - saprophyty

© 2008 Leonard Eisenberg.
All rights reserved.



All the major and many of the minor living branches of life are shown on this diagram, but only a few of those that have gone extinct are shown. Example: Dinosaurs - extinct 

© 2008 Leonard Eisenberg. All rights reserved.
evogenea.com

Prokaryotes

Eukaryotes

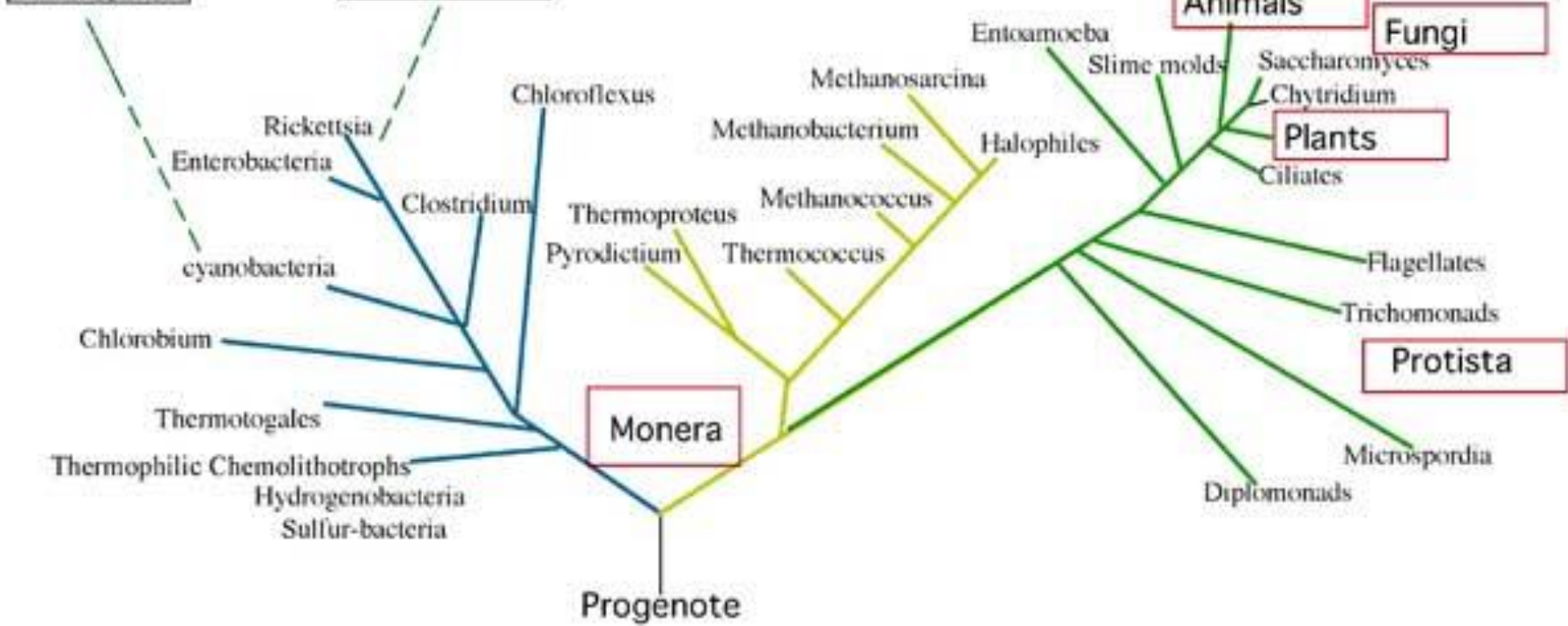
Bacteria

Archaea

Eukarya

chloroplast

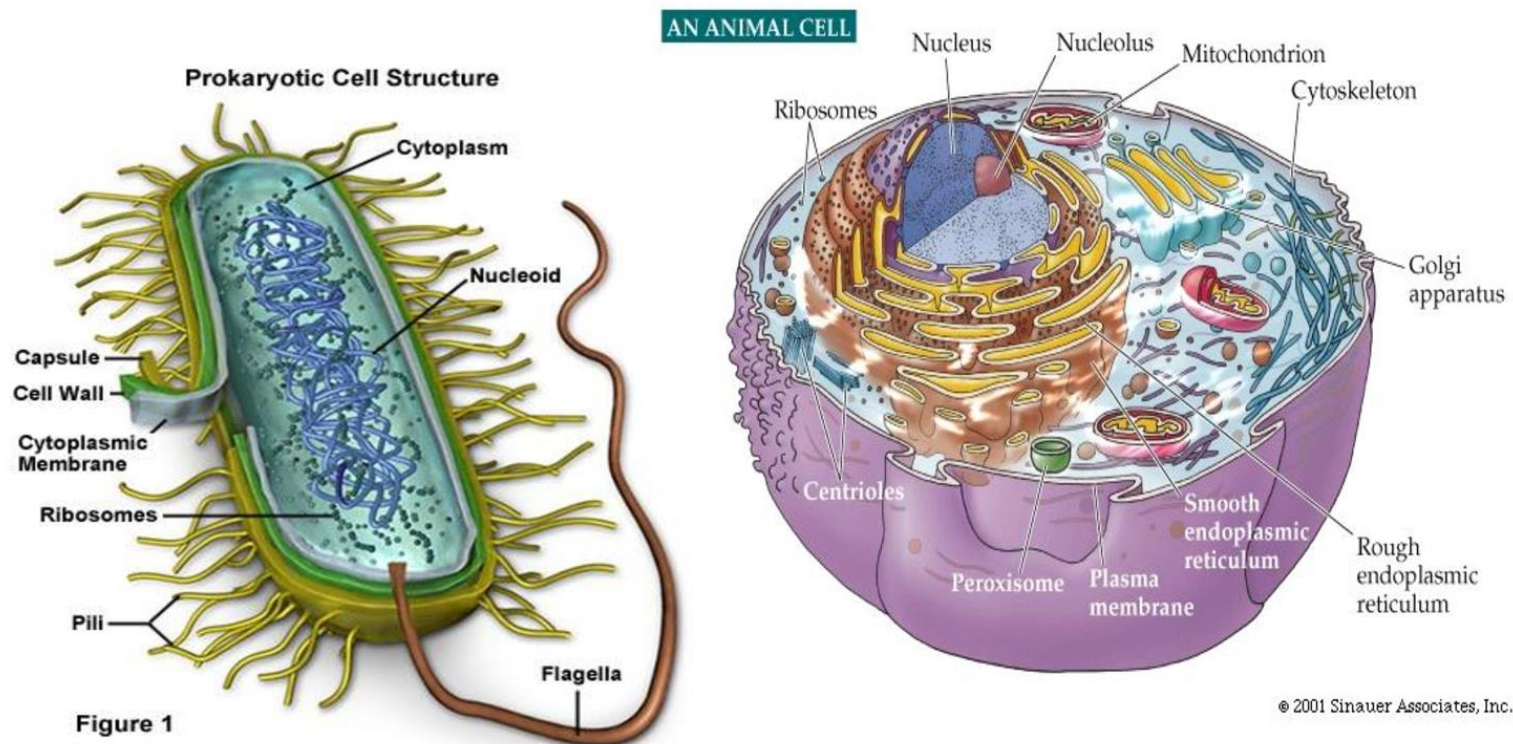
mitochondria



Prokaryoty a eukaryoty

- Rozdiely – bunková stavba

Prokaryotic vs Eukaryotic Cells



Rozdiely v	Baktérie	Archae	Eukáriá
Počet chromozóm.	1	1	Viac
Jadrová membr.	chýba	chýba	Je
Jadro	chýba	chýba	je
Mitóza	chýba	chýba	Je
Peptidoglykán	je	chýba	Chýba
Intróny v génoch	vzácne	vzácne	Často
Ribozómy veľkosť	30S, 50S	30S, 50S	40S, 60S
Fotosyntéza	Na membráne	Na membráne	V chloroplastoch
Fixácia dusíka	Môže byť	Môže byť	Nemôže byť
Anorg. l.– zdroj E	Môžu	Môžu	Nemôžu
Ox. fosforylácia	Na membráne	Na membráne	V mitochondriách

Membrány

- Prokaryoty – peptidoglykán (N-acetylglukozamín-N-acetylmurámová kyselina) tvoria peptidoglykán – podpis baktérií
- Archeae – neobsahujú kyselinu murámovú, najväčšie rozdiely sú v glycerových lipidoch, majú etérovú väzbu, kdežto baktérie a eukárya esterovú väzbu
- Archeae – sú organizmy extrémneho prostredia, delia sa na tri základné skupiny: metanogénne, extrémne halofilné a termoacidofilné.

3 typy Archeae

Metanogénne – žijú v bezkyslíkatom prostredí, tvoria metán redukciovou oxidu uhličitého

Halofilné – žijú vo veľmi slaných habitatoch, ako napr. Salt lake a Mŕtvom mori

Termoacidofilné – žijú v horúcich sírnych prameňoch s teplotou okolo 80 °C a aciditou okolo pH < 2

- Analýza 16S rDNA ukázala že sa Archeae vyskytujú aj v morskom sedimente, pobrežných a otvorených oceánoch, pôde a sedimente sladkých vôd

Metabolizmus

- Heterotrofné – hlavný zdroj C - org. látky
 - Autotrofné – hlavný zdroj C – CO₂
 - Chemotrofné – ak je hlavný zdroj energie premena chemickej energie na ATP
 - Fototrofné – ak je hlavný zdroj energie slnko
-
- Toto členenie vedie k rozdeleniu organizmov do 4 hlavných skupín:

Typ	Prokaryoty	Eukaryoty
Chemoautotrofia	+	-
Chemoheterotrofia	+	+ (zvieratá, huby)
Fotoautotrofia	+	+ (Rastliny)
Fotoheterotrofia	+	-

Metabolizmus - chemoheterotofia

- Katabolický metabolizmus – je proces pri ktorom sa vysoko-molekulárne látky degradujú na látky jednoduchšie
- Tieto reakcie katalizujú enzýmy väčšinou umiestnené v cytoplazme
- Existujú dve triedy katabolických dejov, v ktorých vzniká energia: fermentácia a respirácia

Fermentácia

- Katabolický dej v ktorom hraje hlavnú rolu endogénny akceptor elektrónov a štruktúry uhľíkatých zlúčenín sa rearanžujú za vzniku energie vo forme ATP
- Ak sa počas fermentácie vytvárajú zlúčeniny, ktoré v sebe uskladňujú chemickú energiu a neskôr sa využijú v pre tvorbu ATP – hovoríme o fosorylácii na substrátovej úrovni

Respirácia

- Je katabolický dej v ktorom sa organické zlúčeniny kompletne rozkladajú až na CO_2 , pretože exogénny akceptor elektrónov je dostupný
- Energia je udržiavaná vo forme protónového potenciálu alebo hybnej sily protónov,
- Elektrón transportný systém je darca elektrónov pre tvorbu ATP z ADP pomocou adenozyntrifosfatázy
- Proces sa nazýva oxidačná fosforylácia
- Aeróbna respirácia – O_2 je konečný akceptor elektr.
- Anaeróbna respirácia – oxidované látky sú konečným akceptorom elektrónov (NO_3^- , S, SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Fe^{3+} a pod)

TABLE 1.3 Summary of the principal modes of microbial metabolism

Source of energy utilized	Major source of carbon assimilated	Generation of ATP and NADH (NADPH)			Physiological group of microorganisms
		Process	Electron donor ↓ -e ⁻ oxidized donor	Electron acceptor ↓ +e ⁻ reduced acceptor	
Chemical bond energy (“chemotrophs”)	Organic compounds (“chemoorganotrophs”)	Fermentation	Organic compound ↓ Oxidized organic compound (and, in some cases, CO ₂)	Organic compound ↓ Reduced organic compound (and, in some cases, H ₂)	Many obligately anaerobic and many facultative chemoorganotrophic bacteria; some fungi, such as yeasts
		Respiration	Organic compound ↓ CO ₂	O ₂ ↓ H ₂ O	Many obligately aerobic and many facultative chemoorganotrophic bacteria; many fungi and protozoa
	Anaerobic respiration	NO ₃ ⁻ ↓ NO ₂ ⁻		Nitrate reducers*	
		NO ₂ ⁻ ↓ N ₂		Denitrifiers*	
		SO ₄ ²⁻ ↓ H ₂ S		Sulfate reducers	
	CO ₂ (“chemolithotrophs”)	Respiration	H ₂ ↓ H ₂ O	O ₂ ↓ H ₂ O	Hydrogen bacteria
			NH ₃ ↓ NO ₂ ⁻		Ammonia oxidizers (e.g., <i>Nitrosomonas</i>)
			NO ₂ ⁻ ↓ NO ₃ ⁻		Nitrite oxidizers (e.g., <i>Nitrobacter</i>)
			H ₂ S S ↓ or ↓ S SO ₄ ²⁻		Sulfur oxidizers (e.g., <i>Thiobacillus</i>)
		Anaerobic respiration	H ₂ ↓ H ₂ O	CO ₂ ↓ CH ₄	Methanogenic bacteria
Radiant light energy (“phototrophs”)	Organic compound (“photoorganotrophs”)	Phototransduction	Organic compound ↓ Oxidized organic compound	Bacteriorhodopsin	<i>Halobacterium</i> *
			H ₂ S S ↓ or ↓ S SO ₄ ²⁻	NADP ↓ NADPH	Purple nonsulfur* and gliding green* bacteria
	CO ₂ (“photolithotrophs”)	Photosynthesis	H ₂ O ↓ O ₂	NADP ↓ NADPH	Green sulfur and purple sulfur bacteria
					Cyanobacteria (blue-green algae, eukaryotic algae, some protozoa)

 * These bacteria utilize the alternative pathways of metabolism indicated in the table when they are in the absence of oxygen (O₂).

Metabolizmus - chemoautotrofia

- Niektoré prokaryoty využívajú redukované anorganické zlúčeniny (H_2 , Fe^{2+} , NH_3 , NO^{2-} , H_2S ako donor elektrónov
- O_2 je koncovým akceptorom elektrónov, niekedy CO_2 alebo sulfáty
- ATP sa generuje oxidačnou fosforyláciou

Metabolizmus - fototrofia

- Fotosyntéza – prebieha na membránach pomocou pigmentov (bakteriálny chlorofyl, chlorofyl, karotenoidy, bilíny), ktoré absorbujú svetelnú energiu
- U niektorých baktérií prebieha fotosyntéza iba v anaeróbných podmienkach – anoxygénna fotosyntéza
- U iných za prítomnosti kyslíka – oxygénna fotosyntéza

Fotosyntéza u halofilov

- Majú unikátny typ fotosyntézy – prebieha len za nízkeho parciálneho tlaku kyslíka
- U nich bol objavený proteín na vnútornej strane membrány tzv. bakteriorodopsín s kovalentnou väzbou na karotenoid (Retinal – vitamín A aldehyd) – nazývaný chromofor
- Bolo zistené že mnoho z planktónu využíva podobný systém fotosyntézy - evolučne

Metabolizmus

- Mnohé MO však vedia zmeniť metabolizmus – na základe prostredia, dostupných substrátou
- Príklad: purpurové bezsírne baktérie – v aeróbnom prostredí – energia respiráciou, uhlík z organických kyselín

V anaeróbnom prostredí – v prítomnosti svetla, syntetizujú vnútrobunkové membrány kde konvertujú svetlo na ATP

- Príklad: *E. coli* – v anaeróbných podmienkach má fermentatívny typ metabolizmu, v aeróbných podmienkach respiračný
- Existujú ďalšie stovky príkladov kde prokaryoty vedie zmeniť svoj metabolizmus
- Takáto flexibilita v prispôsobení metabolizmu ich predurčuje na obsadenie väčšiny ník

Klasifikácia MO

- Sú usporiadane hierarchicky
- Taxonomický systém: doména, ríša, kmeň/oddelenie, trieda, rad, čeľaď, rod, druh, poddruh
- Prídavné: patovar, serovar, biovar – pre špeciálne charakteristiky
- Patovar (patotyp) – patogenické vlastnosti
- Serovar – antigénne vlastnosti
- Biovar (Biotyp) – špeciálne biochemické alebo fyziologické vlastnosti
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

Klasifikácia MO

- Genotyp – genetická kompozícia (sekvencia DNA)
- Fenotyp – podriadený genotypu – morfológická charakteristika (veľkosť, pohyb, membrány, správanie, enzýmy a pod.)
- Kedysi – na základe biochémie
- Dnes – na základe DNA, resp. 16S rRNA
- 16S rRNA je komponent malej ribozomálnej podjednotky (30S)

Informácia obsiahnutá v 16S RNA

- 16S RNA – je súčasťou podjedenky 30S – nazývaná aj ako SSU rRNA
 - Má približne 7000 báz
 - Má svoje limity:
 1. Dokáže odlíšiť predkov, avšak nie v časovej následnosti
 2. 97% určuje podobnosť v rode, avšak existujú aj MO ako *Thermospor bispora* – ktorá má viacero kópií 16S RNA s rozdielnosťou 6,4 %
 3. Podobnosť 16S RNA niektorých druhov
- Prichádza do úvahy sekvenovať celé genómy