

# Biotechnológie mikroorganizmov

---

## Baktérie v biotechnológiách

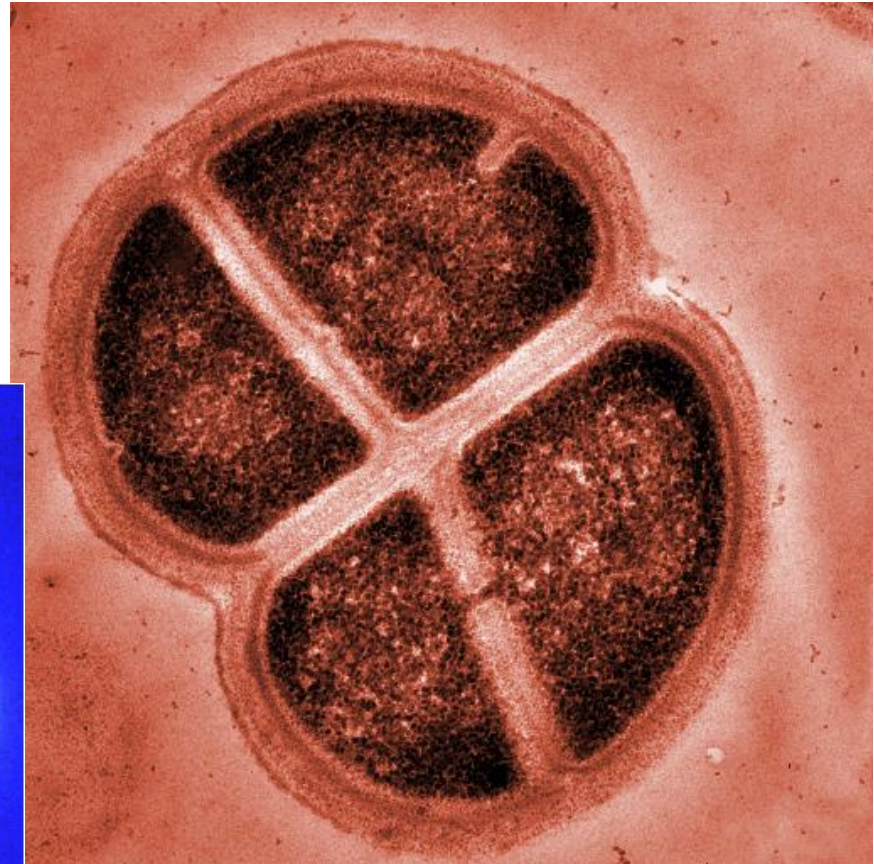
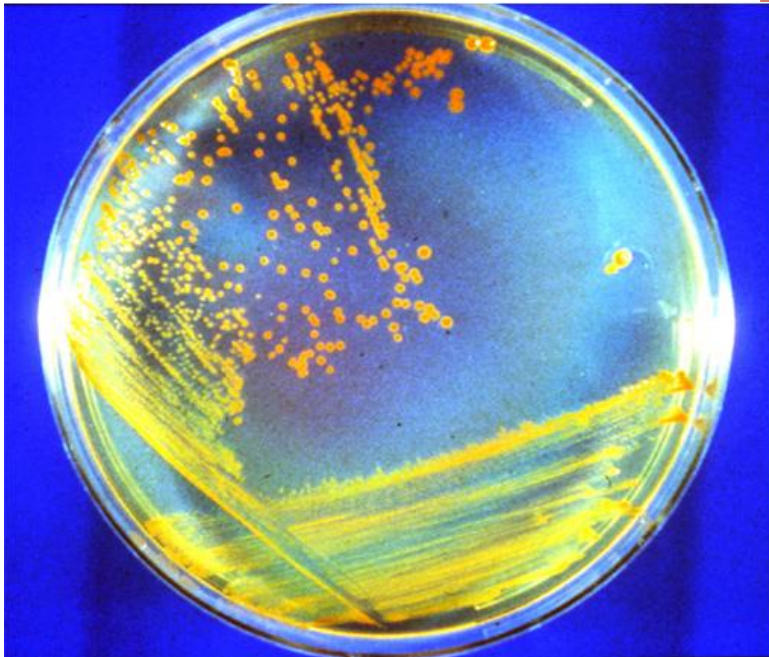
Ing. Lukáš Hleba, PhD.

# *Deinococcus*

- Reprezentuje čeľad' s extrémnou odolnosťou voči ionizačnej radiácii
- G+, chemoheterotrof, izolovaný z pôdy, mletého mäsa, prachu
- Jasne červený až ružový – obsahuje karotenoidy v okolí membrány, v iných G+ sa nevyskytuje
- Membrána neobsahuje lipopolysacharidy
- *Deinococcus radiodurans* – v odstraňovaní radioaktívnych odpadov po haváriach

# *Deinococcus*

- tetracoccus

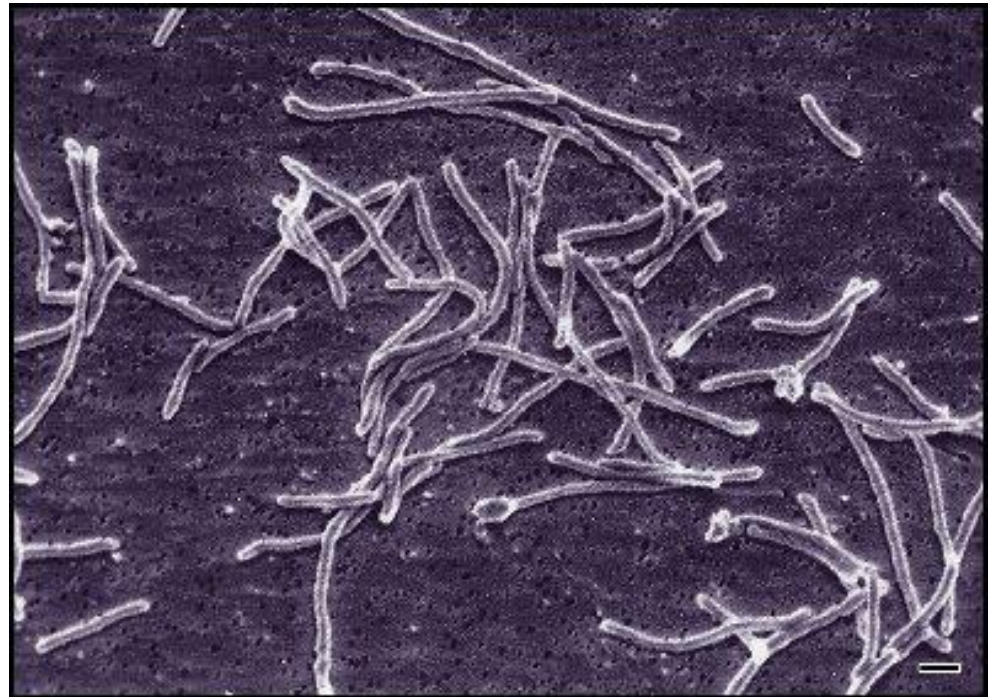


# *Thermus*

- G-, termofilný, aeróbný heterotrof alebo chemoheterotrof, striktne respiračný metabolizmus, nepohyblivý
- Optimálne teplota rastu 70 – 72 °C
- Habitat nie je limitovaný iba na horúce pramene
- Nachádza sa aj v tankoch s horúcou vodou v domácnostiach
- *Thermus aquaticus* – výroba termostabilnej DNA polymerázy pre PCR
- Gén bol klonovaný v *E. coli* pre vyššiu produkciu

# *Thermus*

- Krátke a dlhé paličky

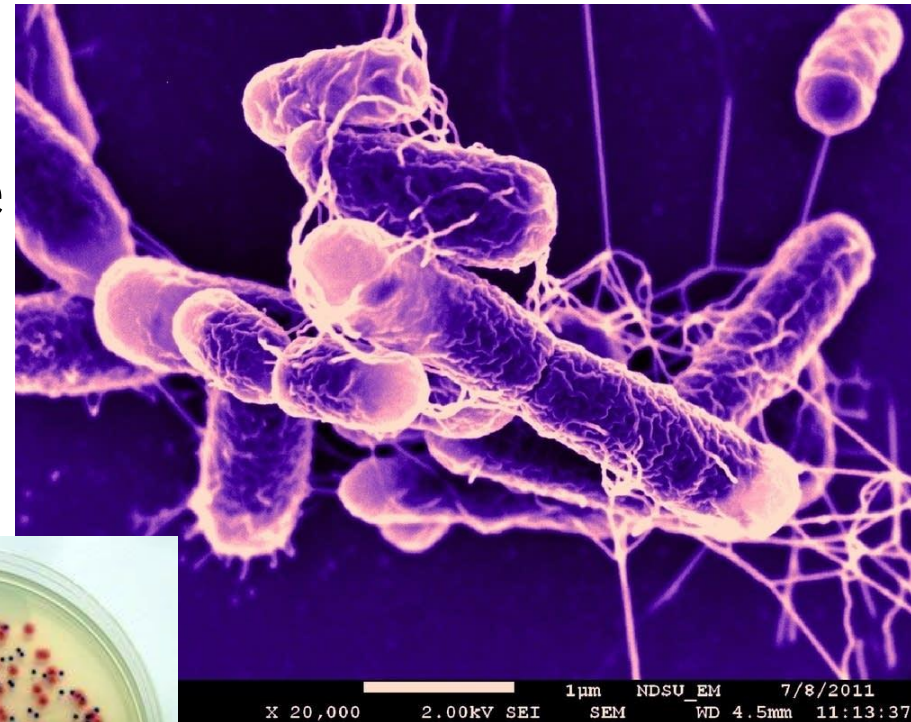
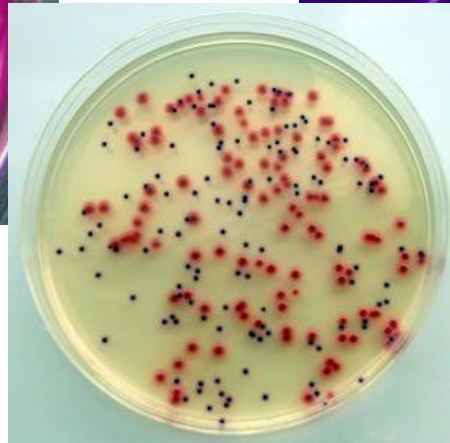


# Proteobacteria - gamma ( $\gamma$ ) oddelenie

- *E. coli* – najpreštudovanejšia baktéria – bakteria črevného traktu, patri do čal'ade *Enterobacteriaceae*
- G-, paličkovitá, peritrichá, v aeróbných podmienkach oxidačný degradácia org. látok, fermentácia v anaeróbných
- Modelový organizmus pre iné druhy
- Rýchly rast, nenáročná na pôdy
- Favorit v produkcii proteínov pomocou rekombinantnej DNA – ľudský inzulín, rastové hormóny

# Proteobacteria - gamma ( $\gamma$ ) oddelenie

- Krátke paličky
- Pohyblivé aj nepohyblivé

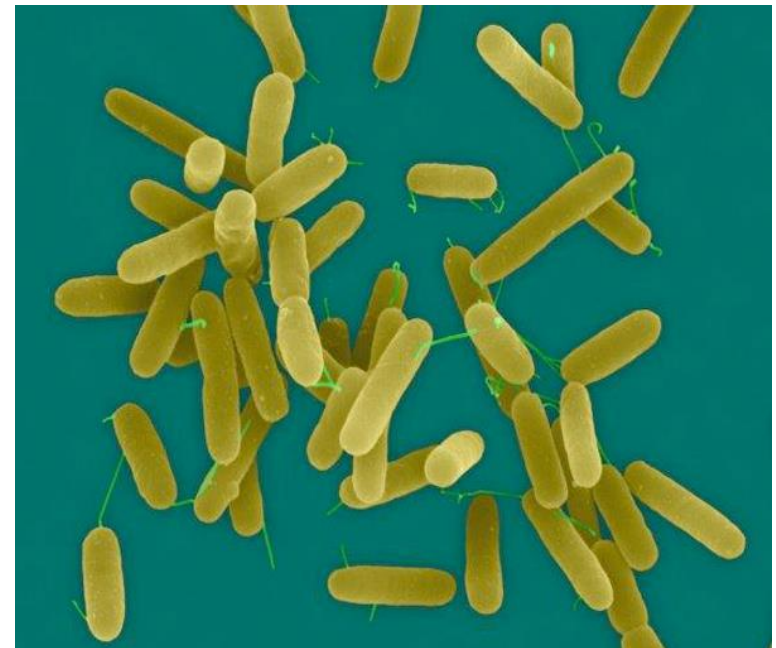
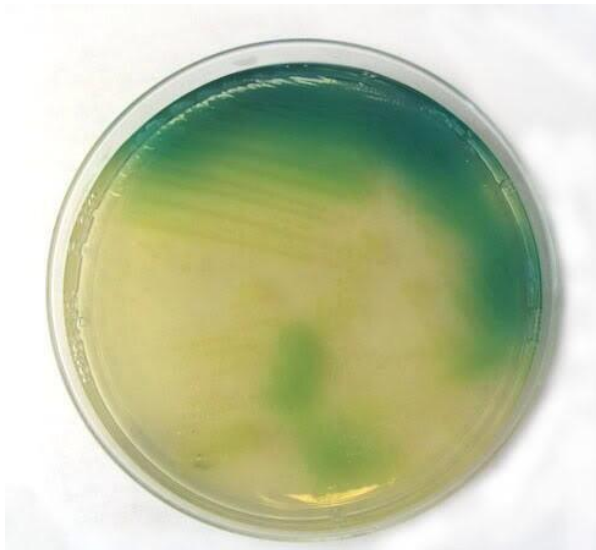


# Fluorescentné pseudomonády ( $\gamma$ )

- *Pseudomonas* – G-, paličkovitá, bičík je lokalizovaný polárne,
- Producenti žlto-zeleného fluorescentného farbiva do média
- Obligátny aerób – respiračný metabolizmus
- Rozkladajú gáfor, toluén, oktán
- Štúdie prebiehajú pre rozklad ťažkých toxických organických látok
- Enzýmy pre rozklad – pôvod v plazmidoch

# Fluorescentné pseudomonády ( $\gamma$ )

- Non-Enterobacteriaceae
- Krátke paličky
- Pohyblivé aj nepohyblivé



# Fluorescentné pseudomonády ( $\gamma$ )

- *P. syringae* – rastlinný patogén, vonkajšia membrán obsahuje proteínový komplex, ktorý porušuje listy rastlín tak, že tvorí kryštály ľadu tesne pod bodom mrazu, poškodzuje pletivá a preniká do nich
- Využitie: gén bol inaktivovaný a rekombinant rozprášený po rastlinách
- V lyžiarskych strediskách pre udržanie snehu a zníženie nákladov na jeho výrobu
- Zisťuje sa ako tvoriť kryštály ľadu ešte pri vyšších teplotách na posilnenie mikróba a zároveň aj jeho odzbrojenie

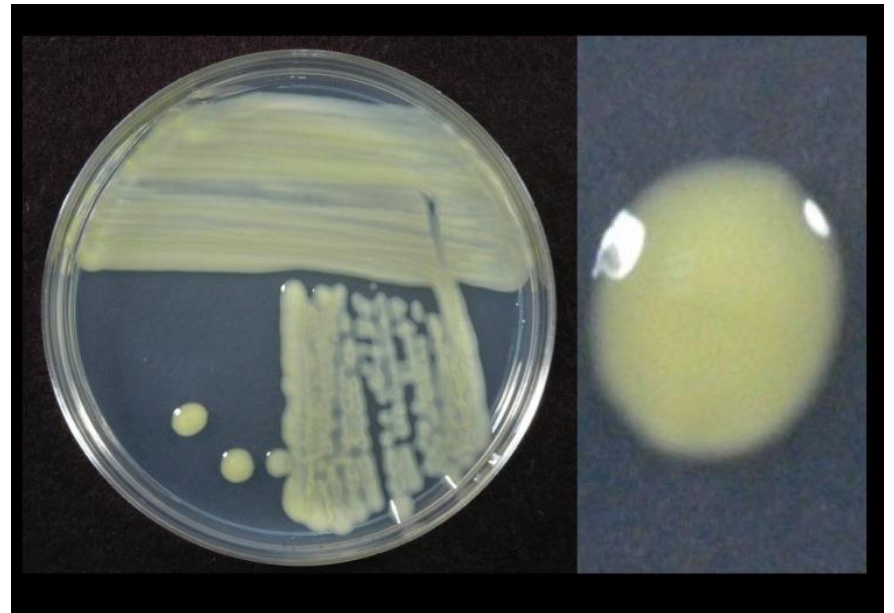
# Fluorescentné pseudomonády ( $\gamma$ )



# *Xanthomonas* ( $\gamma$ )

- Rastlinný patogén, podobný pseudomonádam, producent farbiva
- Produkuje polysacharid – xantán
- Využitelný v potravinárstve – xantánová guma
- A pre zvýšenie výťažnosti ropy
- G-, paličky, pohyblivá, žije výlučne na rastlinách

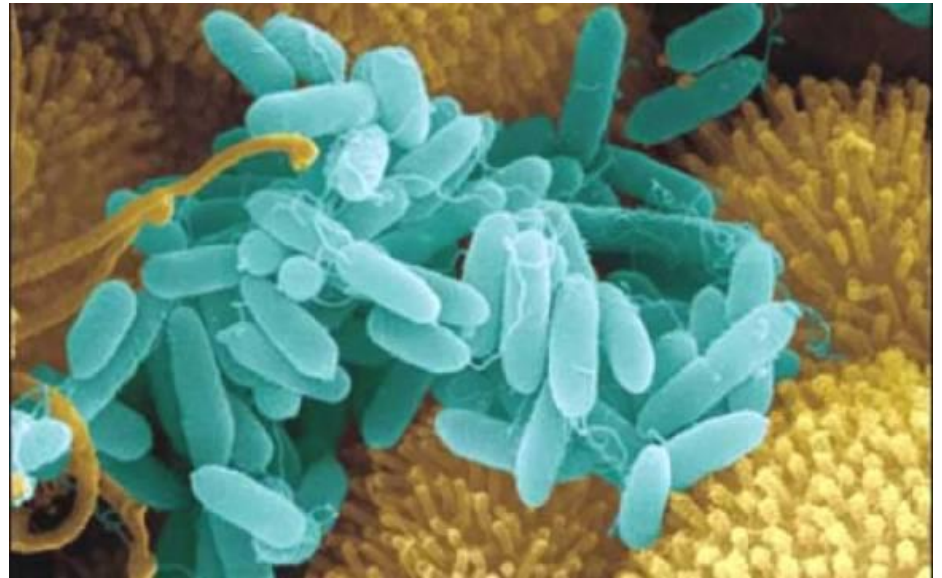
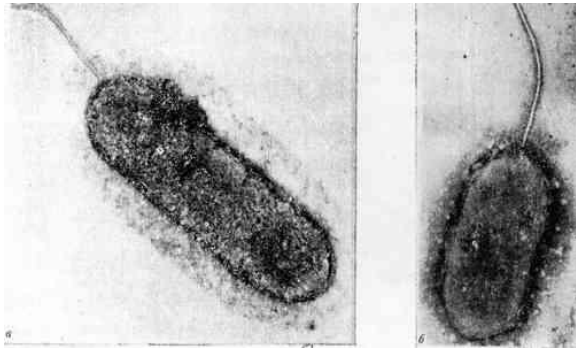
# *Xanthomonas* ( $\gamma$ )



# *Acidithiobacillus* ( $\gamma$ )

- G-, plaličkovitá, aeróbná, obligátne acidofilná (pH – optimum < 4) baktéria
- Oxiduje redukované formy síry alebo železa
- *Acidithiobacillus thiooxidans* – ináč nazývaný aj *Thiobacillus thiooxidans* – utilizuje redukovanú síru
- *Acidithiobacillus ferrooxidans* – *Thiobacillus ferrooxidans* – utilizuje  $\text{Fe}^{2+}$  ako jediný zdroj energie
- Nachádzajú uplatnenie pri ťažbe rúd a regeneráciu hald po ťažbe

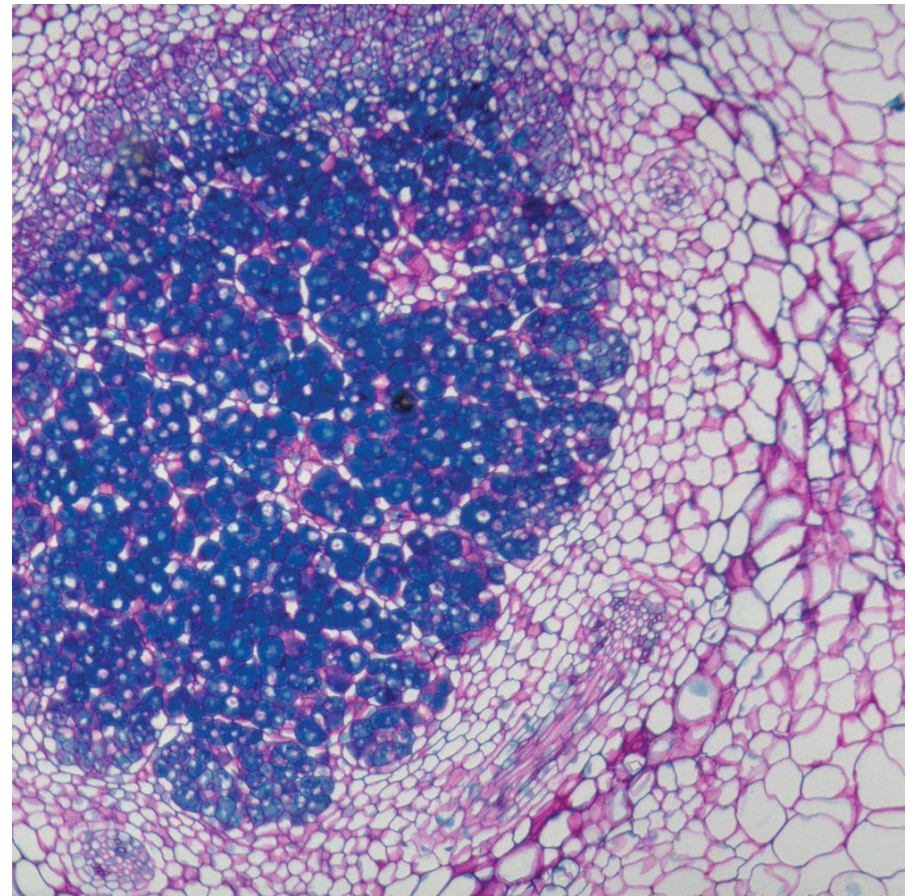
# *Acidithiobacillus* ( $\gamma$ )



# Proteobacteria - Alfa ( $\alpha$ ) oddelenie

- *Rhizobium* – G-, s bičikmi, aeróbnny chemoheterotrof, žijúci v pôde, vytvára hrčky na rastlinách z čeľade *Fabaceae*, fixátor vzdušného dusíka
- Ich devíza – fixovanie dusíka a zavedenie ho do pôdy, ročne až 200 mil ton dusíka na amoniak
- Použitie – namiesto syntetických hnojív

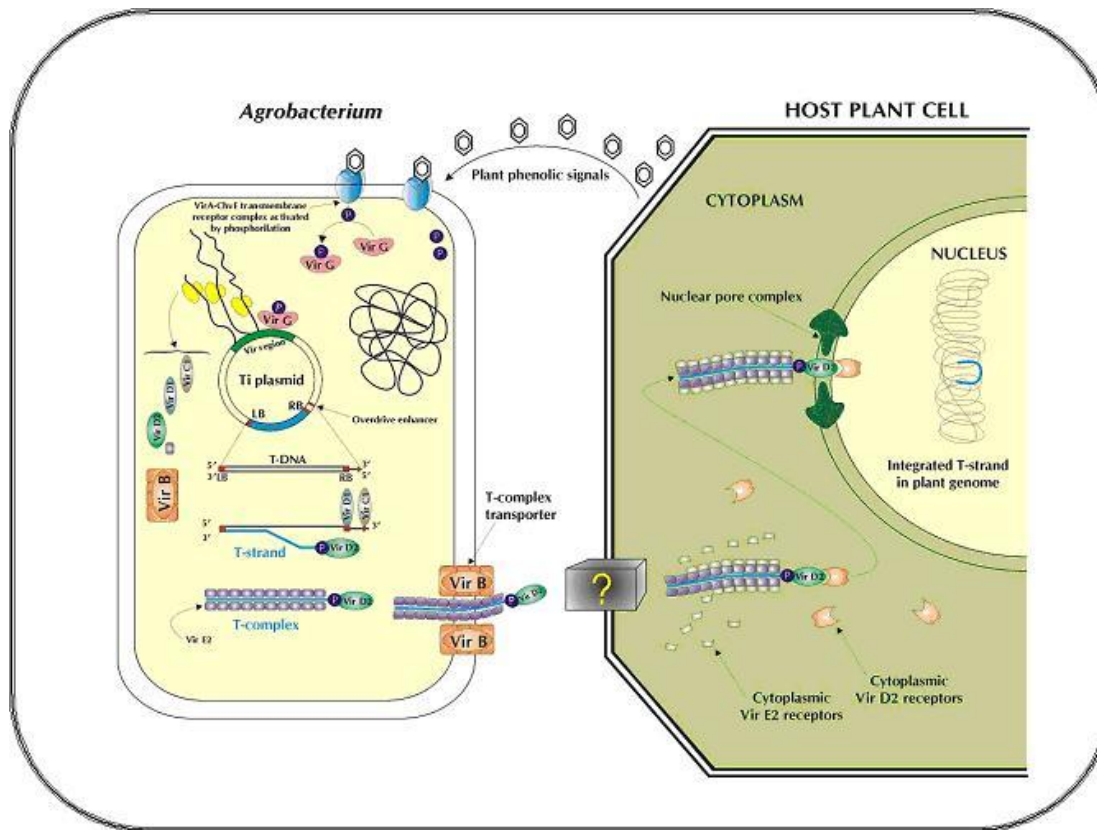
# Proteobacteria - Alfa ( $\alpha$ ) oddelenie



# *Agrobacterium* (α)

- G-, s bičíkmi, palička, chemoheterotrof, aerób, žijúci v pôde
- Nesie Ti-plazmid – dokáže vnášať plazmidy do buniek hostiteľskej rastlinnej bunky, integruje sa do chromozómu rastliny, stimuluje rastlinné hormóny, indukuje tvorbu tumorov
- Prenos génov z prokaryotov do eukaryotov
- V biotechnológiách nedoceneniteľný objav – otvorenie nových smerov v rekombinantných rastlinách – obohatenie o esenciálne aminokyseliny, fixovanie dusíka, rezistencia voči chorobám a herbicídom a škodcom

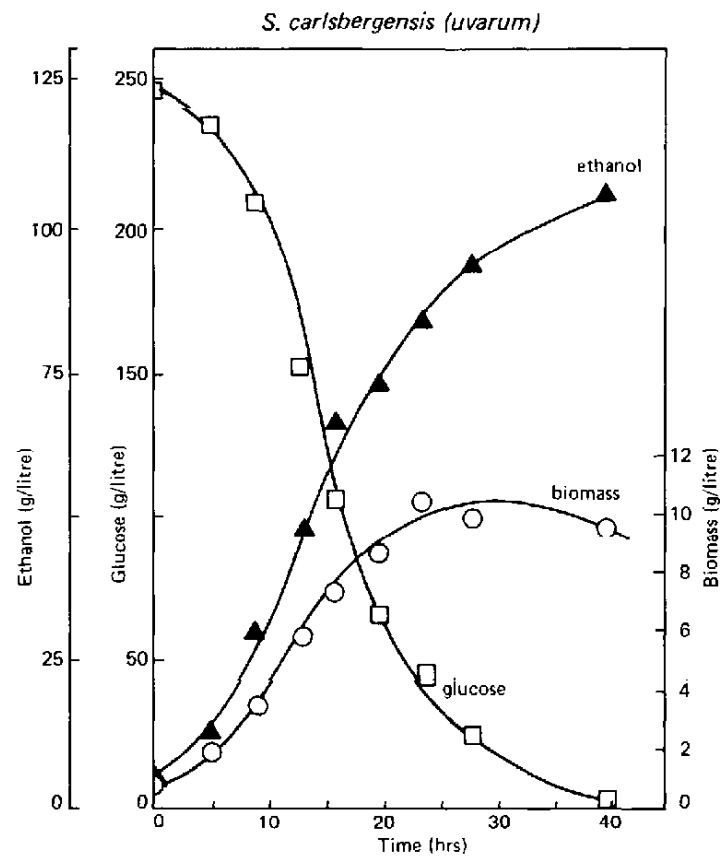
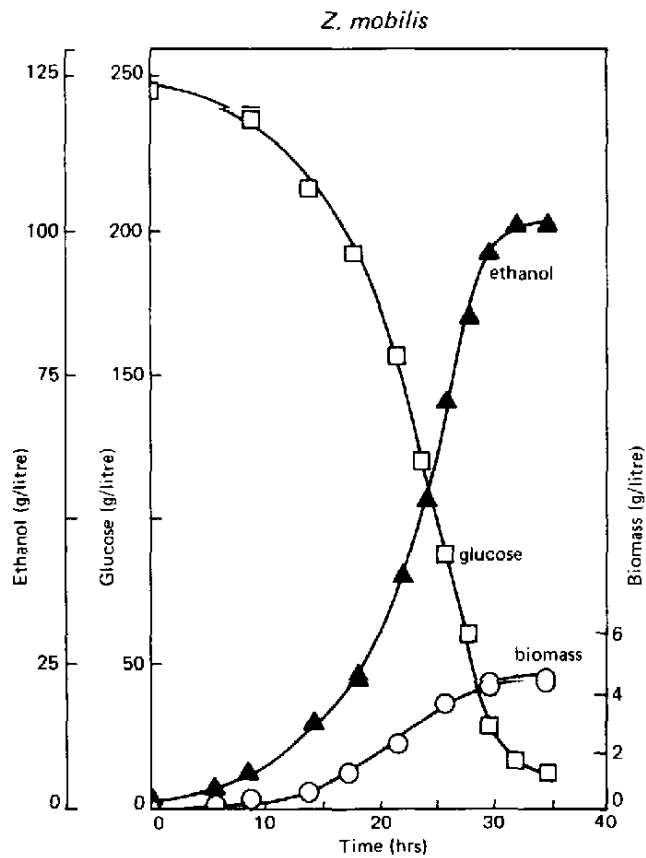
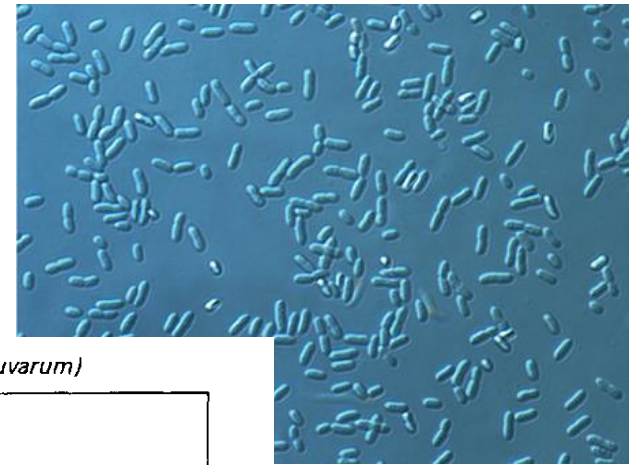
# Agrobacterium ( $\alpha$ )



# *Zymomonas* ( $\alpha$ )

- G-, polárny bičiek, palička, izolovaný z rastlín bohatých na cukor, resp. z produktov – palmové víno, extrakt cukrovej trstiny, jablkový cider.
- Využíva fermentačný a respiračný typ metabolizmu
- Cukry fermentuje Entner-Doudoroffovou dráhou s koncovými produktami – etanol, laktát, acetát a iné
- Použitie – produkcia etanolu, oproti kvasinkám je to omnoho vyššia produkcia

# Zymomonas ( $\alpha$ )



# *Gluconobacter* (α)

- Bunky elipsoidného tvaru, pohyblivé, polárny bičík, obligátny aerób, chemoheterotrof,
- Oxiduje etanol na kyselinu octovú, ktorú už ďalej neoxiduje, čo je zaujímavé pretože u iných druhov pri aeróbnej respirácii končia substráty až pri CO<sub>2</sub>
- Využitie – výroba octu, taktiež producent kyseliny glukónovej z glukózy

# Firmicutes

- *Clostridium* – palička, zväčša s bičíkmi, G+, anaerób, sporotvorný
- V čase I. Svetovej vojny – produkcia acetónu z dreva pyrolýzou – proces náročný
- Objav *Clostridium acetobutylicum* – fermentáciou vzniká acetón zo 100 ton melasy, vzniká 12 ton acetónu, posledná fabrika v Afrike v r.1982
- Vznik genetické inžinierstva sa opäť vracia k fermentačnej výrobe acetónu – lacnejšie ako chemickou cestou

# Kyslo-mliečne baktérie

- *Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc*
- Fermentácia jednoduchých cukrov – glukóza – produkcia kyseliny mliečnej – *Lactobacillus* a *Pediococcus*
- *Leuconostoc* a heterofermentatívne *Lactobacillus* – tvorba kyseliny mliečnej, etanolu a CO<sub>2</sub>
- Bez bičíkov, paličky – *Lactobacillus*, koky – *Pediococcus* a *Leuconostoc*
- Podľa 16S RNA – blízko príbuzné druhy
- Dobrý rast – nízka hladina kyslíka, bohaté pôdy na rozpustné cukry, peptidy, puríny, pyrimidíny a vitamíny

# Kyslo-mliečne baktérie

- Tolerancia na aciditu
- Využitie: štartérové kultúry, spolu so *Streptococcus* na produkciu syrov, fermentovaných mliečnych produktov, ako jogurty a pod.

# *Streptococcus*

- Niektoré sú symbionti vyšších živočíchov, vrátane človeka, niektoré patogény, iné s rastlinami
- *Streptococcus cremoris* – pri výrobe tvrdých syrov Gouda a Čedar, tiež pri zrejúcich mäkkých syroch ako Camembert
- Spolu s lactobacilom sa používajú ako štartérové kultúry

# Bacillus

- G+, paličkovité, pohyblivé, sporujúce
- *Bacillus anthracis* – antrax – spóry
- Chemoheterotrófne, aeróbne
- Metabolizmus – fermentačný a respiračný
- Niektoré z nich – termofily – dobre rastú aj pri 65 – 75 °C
- Producenti – extracelulárnych hydrolytických enzýmov
- Využitie – produkcia enzýmov – proteolytické (pracie prášky), polysacharid-hydrolytické (rozklad škrobu)
- *B. thuringiensis* – insekticídny účinok
- Antibiotiká – bacitacín (*B. subtilis*), polymyxín (*B. polymyxa*)

# *Staphylococcus*

- G+, nepohyblivé, príbuzné *Bacillus* ale nesporujúce
- Fermentatívny a respiračný typ metabolizmu
- Zdroj energie – cukry
- Habitat – pokožka ľudí a zvierat
- Sú halotolerantné, čiastočne rezistentné k suchu
- *Staphylococcus aureus* – patogénny druh
- Producent proteínu A – antigén – telo produkuje protilátky – rekombinantné vakcíny

# Actinobacteria

- G+, aeróbné, pôdne baktérie s respiračným metabolizmom, väčšina nepohyblivá, paličkovité, s pretiahnutým tvarom, často rozvetvené
- Zahŕňa: *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Micrococcus* – *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*
- Spolu s *Pseudomonas* – rozkladajú org. zložky pôdy
- Zatiaľ málo preštudované, okrem patogénnych
- *Streptomyces* – jeden z najdôležitejších

# *Cellulomonas*

- Nepravidelné paličky, respiračný metabolizmus
- Použitie – enzýmy – celulózy
- Rozklad celulózy z odpadu rastlín v produkcii, krmív, etanolu a proteínov

# *Corynebacterium*

- *Corynebacterium glutamicum* – dôležitý v produkcii glutamátu z poľnohospodárkeho odpadu
- Ďalšie využitie – je uňho predpoklad produkcie aminokyselín menej náročným a ekonomickejším procesom ako tomu je pri iných producentoch

# *Streptomyces*

- Rast – pseudomycélium, vlákna = sporofóry = vzdušné mycélium
- Sporotvorné – odlišnosť od endospór – tvoria sa v individuálnych bunkách – konídiách
- Podobné hubám – sú však prokaryoty
- Habitat – pôda, degradujú polymérne substráty (polysacharidy – škrob, pektíny a chitín), tiež proteíny
- Rok 1943 – Selman Waksman – objav antibakteriálnej substancie – streptomycín z *Streptomyces griseus*
- Ďalšie: tetracyklín, erytromycín, neomycín, gentamicín