

KOMMENTARER TILL KAPITEL 4

Trots att det finns mängder av olika bakteriearter så kan huvuddelen av dem delas in i :

3 morfologiska huvudgrupper, jfr fig 4.11

1. **Kocker** - sfäriska - kan bilda aggregat. De flesta bakterier förökar sig genom enkel tudelning
2. **Stavar** - cylinderformiga
3. **Spiralformade bakterier**

Storleken av bakterier ligger i de flesta fall runt 1-2 μm , storleken på cellen har stor betydelse för hur stor aktiv yta cellen har mot omvärlden jfr fig. 4.13.

Den prokaryota (Bacteria och Archae) cellens inre struktur framgår av fig. 2.1. Cellens struktur kan delas in i fyra huvudbeståndsdelar:

I. CELLHÖLJE

1. Cellmembran

2. Cellvägg

3. Associerade strukturer

4. Kapsel, S-lager

II. CYTOPLASMA

III. KÄRNEKVIVALENT OCH PLASMIDER

IV. RIBOSOMER

I. CELLHÖLJE

Cellhöljet - envelope - reflekterar bakteriens möjlighet att anpassa sig till olika typer av miljöer. Komponenterna i cellhöljet är anpassade till att ta upp näringsämnen och utesluta giftiga ämnen. Ytkomponenter deltar bl. a. i adhesion (fastsättning) av bakterier till ytor. Ytkomponenter används ofta för att särskilja bakterier (vid klassificering).

1. **CELLMEMBRAN**- cytoplasmamembran - plasmamembran, jfr fig. 4.16

Likartad struktur hos alla typer av celler. Uppbyggnaden likartad hos prokaryota och eukaryota celler. Har en central roll i den prokaryota cellen som saknar membranbundna organeller.

Struktur

Cellmembranet består av ett dubbellager av fosfolipider med insprängda proteiner.

Enkelt uttryckt: **Strukturen ges av lipiderna - funktionen av proteinerna. Assymmetriskt membran.**

20-30% av membranets torrsvikt består av fosfolipider.

Hos bakterien *Escherichia coli* består ca 70 % av membranets massa av proteiner (10-20% av totala cellproteinet) - ~ 200 olika sorter. Mindre mängd proteiner i däggdjurens cellmembraner.

Hos **eukaryoter** hittar man också **steroler** i cellmembranet, vilket är mycket ovanligt hos prokaryoter. Bakterien *Mycoplasma*, en bakterie som bl. a. kan orsaka lunginflammation, har dock steroler i sitt cellmembran. Orsaken till detta är troligen att *Mycoplasma* saknar en cellvägg som stabiliserar cellhöljet. Sterolerna i cellmembranet har då en stabiliserande funktion.

Hos Archae har fosfolipiderna en annan struktur - eterbindningar till glycerolmolekylen istf esterbindningar, grenade fettsyror istf raka, **jfr fig. 4.19**. Detta gör att cellmembranen hos Archae har andra egenskaper än cellmembranen hos Bacteria. Archae lever ju ofta under extrema förhållanden, höga temperaturer, höga salthalter osv.

Distributionen av fosfolipider mellan in- och utsida varierar.

Tjockleken på membranet är konstant - däremot varierar ytan. Ofta finns det inbuktningar sk mesosomer - har troligen betydelse vid celledelningen. Hos bakterier med hög respiratorisk eller fotosyntetisk aktivitet förekommer också membraninbuktningar av olika omfattning.

Hos prokaryoterna är cellmembranet den enda membranstruktur innehållande ett dubbellager av fosfolipider med undantag av - **thylakoiderna** (sköter fotosyntesen) hos **Cyanobakterier** (Blågröna bakterier).

Funktion

Cellmembranets viktigaste funktion är att verka som en **barriär mellan in- och utsidan av cellen - cellens portvakt.**

Övriga funktioner:

- * **Transportfunktion**
- * **Säte för biosyntetiska enzymer** (här sker syntes av membranlipider, peptidoglukan, teikoinsyror, lipopolysackarider mm)
- * **Säte för proteiner inblandade i ATP-bildningen** (ATP-aser, komponenter i elektrontransportkedjan mm)
- * **Säte för fotosyntetiska apparaten**
- * **Fäste för kromosomen vid replikation**
- * **Säte för sekretionssystem**

* **Signaltransduktion**

Observera att prokaryoternas cellmembran har många fler funktioner än eukaryoternas därav det högre proteininnehållet.

I detta sammanhang är det lämpligt att titta på olika **Transportmekanismer hos bakterier**.

Bakterier lever ofta i miljöer med låga näringskoncentrationer. Att kunna leta upp näring och koncentrera denna inuti cellen är mycket viktigt inom den prokaryota världen. Bakterier har **effektiva transportmekanismer**.

Det finns **3 olika** mekanismer för AKTIV transport av molekyler och joner genom cellmembranet hos bakterier **jfr fig. 4.22**

Enkel transport jfr fig. 4.24

Energikälla: Den elektrokemiska protongradienten över cellmembranet

Grupptranslokering, jfr fig. 4.25

Energikälla: Fosfoenolpyruvat (PEP)

Grupptranslokering är unik för prokaryoter.

Ingen koncentrationsgradient bildas. Substratet modifieras under intransporten.

Kostar energi pga att PEP fosforylerar Enzym I istf ADP men sparar energi då glukos fosforyleras vid intransporten \Rightarrow första steget i glykolysen behövs inte – sparar ATP.
Används främst av strikta och fakultativt anaeroba bakterier

ABC-systemet, jfr fig. 4.26. Här binder ämnet som skall transporteras först till ett bindningsprotein som i sin tur lämnar över ämnet till ett transportprotein i cellmembranet. Denna typ av transport kräver ATP-hydrolys

Aktiv transport är den vanligaste typen av transportmekanism hos bakterier. Bakterier lever ju ofta i miljöer med låga näringskoncentrationer, därför är det nödvändigt med ett system där transport kan ske mot en koncentrationsgradient.

2. CELLVÄGG

Alla bakterier med **undantag** av **Mycoplasma** och några andra omges av en cellvägg som skyddar bakterien mot omgivningen. Elastisk struktur som lädret på en fotboll - ingen rigid, stel struktur. Cellväggens styrka beror på en **makromolekyl - peptidoglukan - muraminsyrakomplex**. Denna makromolekyl är **unik för Bacteria**.

Archae saknar peptidoglukan i sin cellvägg.

Cellväggens struktur varierar mellan olika bakterier och på basis av detta delar man in bakterierna (Bacteria) i:

A. Grampositiva bakterier (G+). Dessa har en kraftig vägg med tät struktur.

B. Gramnegativa bakterier (G-). Dessa har en flerskiktad vägg med gles struktur.

Peptidoglukanlagrets struktur, jfr fig. 4.29, 4.30.

Peptidoglukanen är en **heteropolymer** som består av **alternerande sockerderivat**. **N-acetylglukosamin (G)** och **N-acetylmuraminsyra (M)** som binds samman med **β -1,4-glykosidbindningar**. N-acetylmuraminsyra hittar man endast i peptidoglukan.

Till **karboxylgruppen på M** är en **tetrapeptid** kopplad via en peptidbindning. Här finns både **D- och L-aminosyror**. D-aminosyror är ovanliga i naturen - finns företrädesvis i peptidoglukanen.

DAP = meso-diaminopimelinsyra är unik för **prokaryoter** (två optiskt aktiva centra - ett D och ett L - därav namnet meso).

Vissa av dessa **tetrapeptider tvärbinds genom peptidbindningar, jfr fig 4.30**. Hos de flesta **G-bakterier** och **många Bacillus-arter** består tvärbindingen av en **direkt peptidbindning mellan karboxylgruppen i D-Ala och aminogruppen i DAP**. Antalet tvärbundna tetrapeptider varierar mycket mellan olika bakterier - från **20 % i G- bakterier (E. coli)** till mer än **90 % hos G+ bakterier (Staphylococcus)**.

Variationer kan även förekomma i sockerkedjan. Tvärbindingarna (ej bara i ett plan) medför att peptidoglukanen bildar en säck runt bakterien. Hos G+ bakterier kan denna struktur vara upp till 40 lager.

Peptidoglukanen ger cellväggen dess styrka (pga tvärbindingar och β -1,4-glykosidbindningar). Den utgör också ett **skydd mot bl a osmotiska förändringar** i omgivningen.

Ex. Många kroppsvätskor (serum, tårar) och leukocyter innehåller enzymet lysozym - viktigt för vårt försvar mot invaderande bakterier. Lysozym spjälkar β -1,4-glykosid-bindningarna mellan sockerderivaten i peptidoglukanen.

En rad olika **antibiotika inhiberar peptidoglukansyntesen**. Typiskt för dessa antibiotika är att de är **selektivt toxiska** - dödar bakterieceller men inte däggdjursceller. **Peptidoglukanen unik för bakterier**.

De viktigaste antibiotika är de sk **β -lactamantibiotika** såsom **penicilliner** och **cephalosporiner**. Dessa **inhiberar det sista steget i peptidoglukansyntesen - tvärbindingen av tetrapeptiden \Rightarrow vekare peptidoglukanlager \Rightarrow Lys av bakterien (Lys = bakterien spricker)**. Påverkar **endast växande celler**.

A. Cellvägg - Grampositiva bakterier, jfr fig. 4.31

a. Peptidoglukan. Kraftig vägg, ca **90 %** av cellväggen består av **peptidoglukan**, kan vara upp till 40 lager av peptidoglukanlager, **jfr fig. 4.30, 4.31**.

b. Teikoinsyror och Teikuronsyror

Funktionen hos dessa polymerer är oklar. **Vissa teikoinsyror har lipidsvansar som förankrar dem i cellmembranet - Lipoteikoinsyror**

Cellytan polär (hydrofil) pga teikoinsyror, teikuronsyror osv. \Rightarrow hydrofoba ämnen har svårt att passera. G+ bakterier kan ofta stå emot gallsalter i magen.

Det finns **några Grampositiva bakterier - Mycobacteria** - en art orsakar tuberkulos - en annan art spetälska - vars cellväggar innehåller stora mängder vaxer - långkedjade kolväten (ex **mycolsyror**) \Rightarrow mycket **robust cellvägg** - syraresistent - resistent mot giftiga kemikalier - resistent mot vita blodkroppar. Av dessa orsaker växer dessa bakterier mycket långsamt - generationstiden > 24 tim.

B. Cellvägg - Gramnegativa bakterier, jfr fig. 4.35

a. **Peptidoglukan.** Endast **10-20 %** av cellväggen består av **peptidoglukan** - monolager ev tvådimensionellt lager.

b. **Yttre membran - LPS-lager** - som utgör **ca 80 %** av cellväggen.
Innehåller: (i) **Lipopolysackarider (LPS) - 50 %**, (ii) **Fosfolipider - 35 %** och (iii) **Proteiner - 15 %**

Yttre membranet fullständigt **asymmetriskt**. **Inre lagret: Fosfolipider** (även andra lipider).
Yttre lagret: Lipopolysackarider, jfr fig. 4.35 samt en mindre mängd fosfolipider

Lipid A - som är en del av lipopolysackaridmolekylen är ett sk. **endotoxin (virulensfaktor)** \Rightarrow G- bakterier förorsakar en hel del infektionssjukdomar.

O-polysackariden är också en **virulensfaktor** pga att den uppvisar antigenvariation - sockersekvensen kan variera mellan generationerna.

Yttermembranet fungerar som en yttre barriär för många molekyler. För att lösa intranporten av nödvändiga ämnen finns olika typer av proteiner. Ger selektiva fördelar för G- bakterier.

Proteiner: Poriner. Membrankanaler (vattenfyllda) för lågmolekylära hydrofila ämnen t ex aminosyror och socker. **Lipoproteiner.** Förekommer i stort antal. Förankrar det yttre membranet i peptidoglukanlagret.

Det finns också proteiner som kan transportera in stora molekyler.

c. Periplasma

Området mellan cellmembranet och yttre membranet kallas **periplasma** kan liknas vid en gel. Periplasman arbetar med transport och processing av molekyler som kommer in eller lämnar cellen. Här finns specifika proteiner som underlättar näringsupptag och inaktiverar giftiga ämnen. Innehåller: (i) **Bindningsproteiner** - binder aminosyror, socker, vitaminer och joner, (ii) **Hydrolytiska enzymer** (fosfataser, nukleaser, och proteaser) - bryter ned stora impermeabla molekyler till mindre storlek, (iii) **Kemoreceptorer** - deltar i kemotaxin och (iv) **Detoxifierande enzymer** - inaktiverar vissa antibiotika t ex β -laktamaser.

Hos Grampositiva bakterier exporteras t. ex. hydrolytiska enzymer till utsidan av cellen och nedbrytningen sker där. Det finns också bindningsproteiner i direkt anslutning till cellmembranet.

3. ASSOCIERADE STRUKTURER

Flageller

Bakteriernas rörelseorgan - har inte alls samma uppbyggnad som eukaryoternas flageller - själva rörelsen skiljer sig också. Bakteriernas flageller roterar - eukaryoternas böjer sig fram och tillbaka.

Struktur, jfr fig. 4.56:

Flagellens rörelse

Flagellrörelsen är propellerliknande. Ringarna associerade till LPS-lagret hos G-bakterier antas inte vara inblandade i själva rotationen utan tjänar som en hållpunkt i det relativt mobila LPS-lagret.

Flagellrörelsen drivs av den elektrokemiska protongradienten över membranet. Flagellen kräver ca 1000 protoner/varv. Hastighet 10-20 $\mu\text{m}/\text{sek} = 10$ celllängder/sek \leftrightarrow 60 km/tim.

Kemotaxi, 4-58a och hur själva den kemotaktiska mekanismen fungerar se kap. 8 sid 225-227 och fig

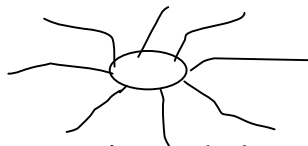
Flagellmotorn gör det möjligt för bakterier att röra sig **mot** en omgivning med gynnsamma förhållanden eller **bort från** en farlig omgivning.

Flagellrörelsen kan antingen ske **motsols** eller **medsols**. Rotation **motsols** driver bakterien framåt. Rotation **medsols** leder till **kullerbyttor**

Ex.



rotation motsols



rotation medsols

Kemotaxi betecknar en rörelse mot eller bort ifrån en kemikalie jfr fototaxi, aerotaxi. I naturen fungerar kemotaxi som ett svar på extrema omgivningsförhållanden och förekommer hos många bakterier.

Flagellmotorn svarar på **kemiska stimuli** - **attraktanter** eller **repellanter**.

Attraktanter \Rightarrow Positiv kemotaxi

Repellanter \Rightarrow Negativ kemotaxi

Vid frånvaro av en kemisk gradient så slår bakterierna kullerbyttor slumpartat varannan till var fjärde sekund. Om det finns en gradient av attraktanter så blir rörelsen (motsols rotation) längre mot en högre gradienten och när cellen rör sig mot en lägre koncentration blir rörelsen

kortare, cellen "tumblar" runt snabbare, se **fig. 4-61 a, b**. OBS att cellen alltså inte kan styra riktningen eller hastigheten utan bara hur lång en "run" är.

Figur **8-26** visar principen för signaltransduktion, kemotaxi-systemet är ett exempel på signaltransduktion.

Figur **8-27** visar hur de olika mekanismerna för kemotaxi fungerar:

Detta händer när cellen känner av en repellent:

1. **Repellent** binder till "transducer" som har kontakt med sensorproteinet CheA
2. CheA fosforyleras nu **fortare** till CheA-P mha CheW
3. CheA-P fosforylerar i sin tur **många** av responsregulatorproteinerna CheY till CheY-P
4. CheY-P binder till flagellmotorn och inducerar **ccw (medurs)** snurrande vilket ger **"tumbling" och stopp**.
5. CheZ de-fosforylerar CheY-P
6. (CheZ mutanter är låsta i tumbling)

När cellen känner av en attraktant:

1. **Attraktant** binder till "transducer" som har kontakt med sensorproteinet CheA
2. CheA fosforyleras nu **saktare** till CheA-P mha CheW
3. Det bildas alltså **få** CheA-P som kan fosforylera CheY till CheY-P
4. Det finns **få** CheY-P som kan binda till flagellmotorn och motorn kör **ccw (motdurs)** vilket ger **"run"**.
5. CheZ de-fosforylerar CheY-P

Hur kan cellen känna av en ändring i koncentration av en attraktant? Hur kan den anpassa sig till olika nivåer?

1. CheR metylerar "transducer" i en stadig takt.
2. Metylerad "Transducern" blir okänsligare
3. CheB kan fosforyleras av CheA-P till CheB-P
4. CheB-P de-metylerar "transducern" vilket gör den känsligare igen.
5. Om det finns ATTRAKTANT i höga koncentrationer bildas få CheA-P och alltså få CheB-P och "transducern" metyleras, blir okänsligare och tappar ATTRAKTANT molekyler
6. Det kan då igen bildas CheA-P som kan fosforylera CheY till CheY-P som kan binda till flagellmotorn och köra **ccw (medurs) vilket ger "tumble"**.
7. Dessutom bildas nu fler CheA-P som ger CheB-P, som minskar metyleringen och igen gör receptorn mer känslig.
8. Alltså kan cellen reagera på skillnader i koncentration även vid mycket höga koncentrationer av ATTRAKTANT

På detta sätt kan cellen adaptera sig och simma mot en attraktant även i olika attraktantnivåer. Cellen har ett kemiskt "minne".

II. CYTOPLASMA

Någon strukturerad organisation är svårt att se.

III. KÄRNEKVIVALENT OCH PLASMIDER

Bakteriernas genetiska material består av en ringsluten kromosom som består av dubbelsträngat DNA. Spiralformad. Den omges inte av något kärnmembran.

Eukaryoter har linjära kromosomer.

Längd - DNA-molekyl - ca 1 mm. Bakterien *E. coli* ca 2 µm lång, vilket innebär att DNA-molekylen är kraftigt veckad.

Förutom DNA-molekylen finns det ofta **plasmider** i cellen - små ofta **cirkulära DNA-bitar**. **Extrakromosomalt DNA med autonom replikation** (förmåga till egen replikation). Kan ge bakterien specifika egenskaper t ex resistens mot antibiotika och tungmetaller samt förmåga att bryta ned olika organiska ämnen. Är ej nödvändiga för bakteriens överlevnad under ”enkla” förhållanden t. ex. i ett odlingsmedium.

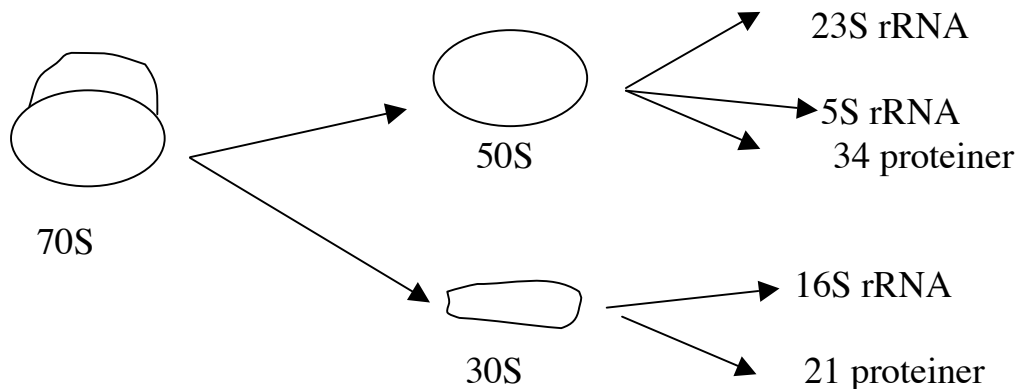
Replikation av DNA. Ingen mitos och meios som hos eukaryoterna. Bakteriekromosomen undergår sk semikonservativ replikation. Vardera strängen tjänar som mall för syntes av en ny sträng. Bakterier är haploida.

IV. RIBOSOMER

Förekommer i cytoplasman eller i anslutning till cellmembranet. Antalet varierar med tillväxtförhållandena. Bildar ibland polysomer.

Ribosomerna är **säte för proteinsyntesen**. Bakteriernas ribosomer har en sedimentationskonstant på **70S** till skillnad från eukaryoterna som har 80S ribosomer (undantag mitokondrier och kloroplaster).

Ribosomerna består av **ribosomalt RNA och protein**.



S: Svedberg unit = sedimentationskonstant (beroende av massa och konfiguration)

Archaea

Har också **70S** ribosomer

Antibiotika

Antibiotika som interfererar med proteinsyntesen (t ex streptomycin) används mycket. Bygger på skillnaderna mellan 70S- (prokaryoter) och 80S-ribosomerna (eukaryoter). Detta medför selektiv toxicitet.

De viktigaste angreppspunkterna för antibiotika är cellväggssyntesen (jfr penicillin) och proteinsyntesen (jfr kloramfenikol)

Se vidare kap 20.