

BROOK

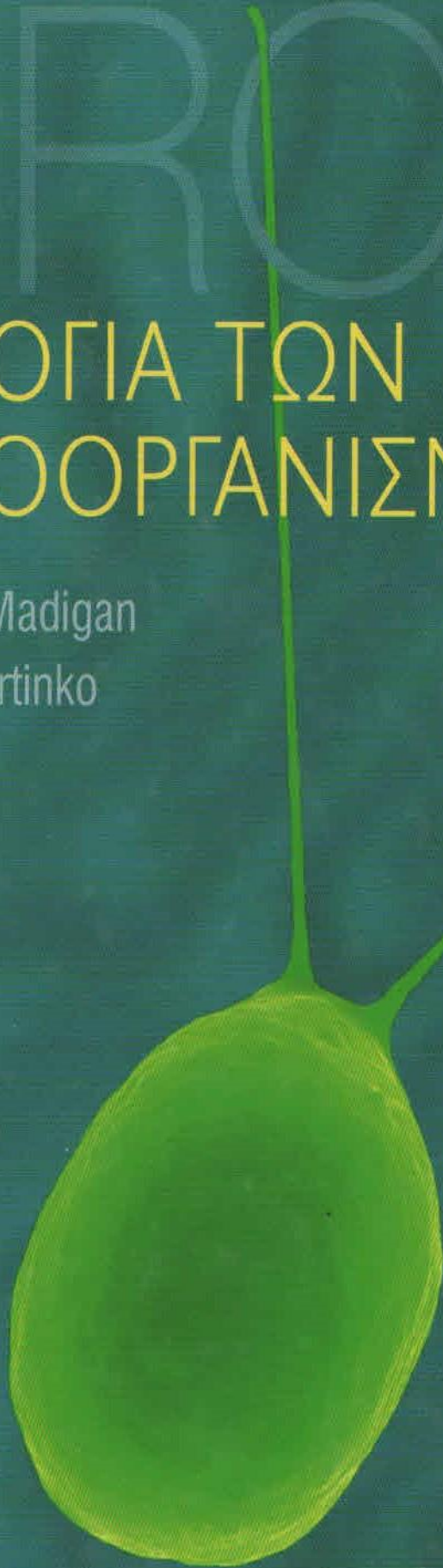
ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΤΟΜΟΣ Ι

Michael T. Madigan
John M. Martinko
Jack Parker

Απόδοση στα ελληνικά
Δημήτρης Γεωργακόπουλος
Γιώργος Διαλλινάς
Γιώργος Ζαχαριουδάκης
Αμαλία Καραγκούνη-Κύρτσου
Θόδωρος Κοκκορόγιαννης
Στάθης Φριλίγγος
Στάθης Χατζηλουκάς
Χρήστος Χριστιάς

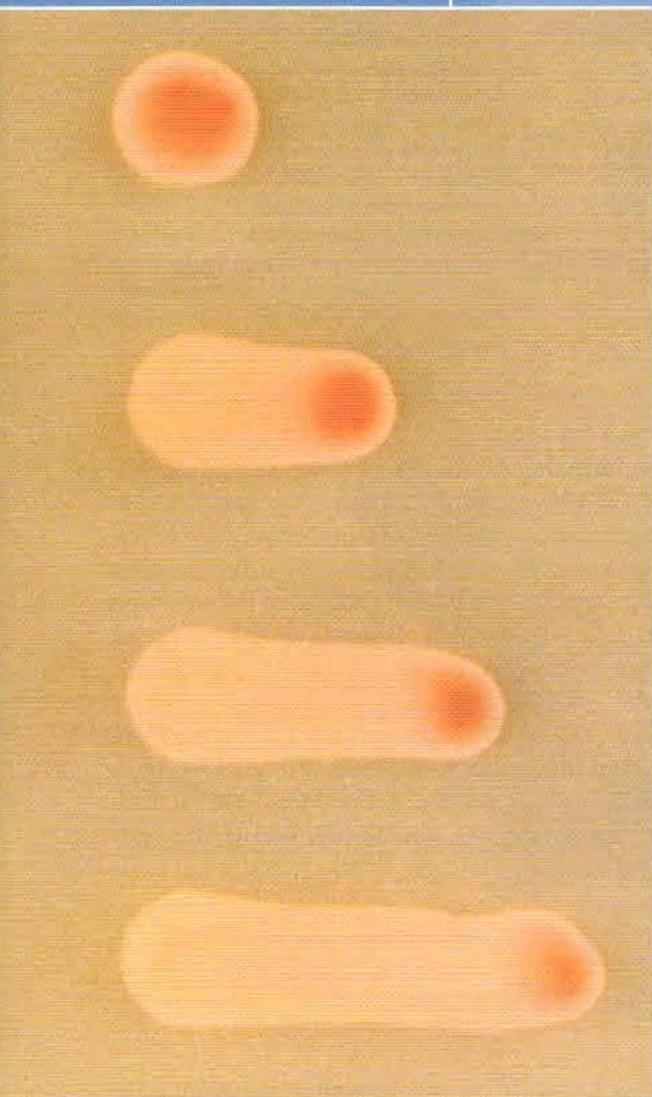
Επιστημονική επιμέλεια
Τάσος Οικονόμου



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΚΡΗΤΗΣ

Οι μικροοργανισμοί περιέχουν έναν αριθμό δομών που επιτρέπουν τη συνύπαρξή τους με άλλους μικροοργανισμούς και με ανώτερους οργανισμούς. Μία από αυτές τις δομές είναι το μαστίγιο, μια συσκευή όμοια με προπέλα που δίνει στο κύτταρο την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Στην εικόνα φαίνεται μια αποικία του αυτοκινητούμενου φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum rubrum*. Το βακτήριο αυτό μπορεί να αντιλαμβάνεται το φως (εδώ, έρχεται από τη δεξιά πλευρά της εικόνας), με αποτέλεσμα μια ολόκληρη αποικία ενεργών κολυμβητικών κυττάρων να κινείται προς το φως. Αυτή η απόκριση καλείται φωτοτακτισμός. Ο φωτοτακτισμός και άλλοι παρόμοιοι τακτισμοί αποτελούν παραδείγματα περιβαλλοντικών αποκρίσεων που δείχνουν σαφέστατα ότι ακόμη και «απλοί» οργανισμοί, όπως τα βακτήρια, μπορούν να ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα του περιβάλλοντός τους.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ



I	ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	66
4.1	Οπτική μικροσκοπία	66
4.2	Τριδιάστατη απεικόνιση: μικροσκοπία αντίθεσης συμβολής, μικροσκοπία ατομικής δύναμης, και μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ	71
4.3	Ηλεκτρονική μικροσκοπία	73
4.4	Κυτταρική μορφολογία και η σημασία του μικρού μεγέθους	74
II	ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΤΟΙΧΩΜΑΤΑ	77
4.5	Κυτταροπλασματική μεμβράνη: Δομή	77
4.6	Κυτταροπλασματική μεμβράνη: Λειτουργία	81
4.7	Μεμβρανικά συστήματα μεταφοράς	82
4.8	Το κυτταρικό τοίχωμα των προκαρυωτών: Πεπτιδογλυκάνη και συγγενή μόρια	86
4.9	Η εξωτερική μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων	92
III	ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	94
4.10	Μαστίγια και αυτοκινησία	94
4.11	Κινήσεις ολίσθησης	99
4.12	Περιβαλλοντικές αποκρίσεις: χημειοτακτισμός, φωτοτακτισμός, και άλλοι τακτισμοί	100
IV	ΔΟΜΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΓΚΛΕΙΣΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΩΝ	104
4.13	Δομές επιφάνειας των βακτηριακών κυττάρων και κυτταρικά εγκλειστά	104
4.14	Αεροκυστίδια	108
4.15	Ενδοσπόρια	110

Γλωσσάριο εργασίας

αεροκυστίδια (gas vesicles) κυτταροπλασματικές δομές πλήρεις αερίων, που περιβάλλονται από πρωτεϊνική μεμβράνη και επιτρέπουν στα κύτταρα να επιπλέουν

αρνητικό κατά Gram (Gram-negative) προκαρυωτικό κύτταρο με τοίχωμα που περιέχει μικρή ποσότητα πεπτιδογλυκάνης, αλλά έχει επίσης εξωτερική μεμβράνη από λιποπολυσακχαρίτες, λιποπρωτεΐνες, και άλλα σύνθετα μακρομόρια

ενδοσπόριο (endospore) ιδιαίτερα θερμoανθεκτικό, παχύτοιχο, διαφοροποιημένο κύτταρο που παράγεται από ορισμένα θετικά κατά Gram βακτήρια

θετικό κατά Gram (Gram-positive) προκαρυωτικό κύτταρο χωρίς εξωτερική μεμβράνη, του οποίου το τοίχωμα αποτελείται κυρίως από πεπτιδογλυκάνη

κυτταροπλασματική μεμβράνη (cytoplasmic membrane) ο φραγμός διαπερατότητας του κυττάρου, που διαχωρίζει το κυτταρόπλασμα από το περιβάλλον· συνίσταται από λιπίδια και πρωτεΐνες

λιποπολυσακχαρίτες (LPS) [lipopolysaccharides (LPS)] λιπίδια μαζί με πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες, που σχηματίζουν το κύριο μέρος του κυτταρικού τοιχώματος στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια

μαγνητοσώματα (magnetosomes) σωματίδια

μαγνητίτη (Fe_3O_4) οργανωμένα σε δομές που περικλείονται από μη στοιχειακή μεμβράνη, στο κυτταρόπλασμα των μαγνητοτακτικών βακτηρίων

μαστιγίο (flagellum) επιμήκης, λεπτή κυτταρική προεκβολή πολλών προκαρυωτικών κυττάρων, ικανή να περιστρέφεται, στην οποία οφείλεται η ικανότητα κολυμβητικής κίνησής τους

μετατόπιση ομάδας (group translocation) ενδόεργη διαδικασία μεταφοράς, κατά την οποία η μεταφερόμενη ουσία υφίσταται χημική τροποποίηση

μεταφορέας ABC [ABC (ATP-Binding Cassette) transporter] μεμβρανικό σύστημα μεταφοράς συγκροτούμενο από τρεις πρωτεΐνες, εκ των οποίων η πρώτη υδρoλύει ATP ως πηγή ενέργειας, η δεύτερη δεσμεύει το υπόστρωμα στην εξωτερική πλευρά του κυττάρου, και η τρίτη λειτουργεί ως διαμεμβρανικό κανάλι μεταφοράς

πεπτιδογλυκάνη (peptidoglycan) πολυσακχαρίτης αποτελούμενος από εναλλασσόμενες μονάδες ακετυλογλυκοζαμίνης και ακετυλομουραμικού οξέος, οι διαδοχικές στιβάδες του οποίου συνδέονται μεταξύ τους με μικρές πεπτιδικές γέφυρες

περίπλασμα (periplasm) ηκτοειδής περιοχή μεταξύ εξωτερικής επιφάνειας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και εσωτερικής επι-

φάνειας της λιποπολυσακχαριτικής στιβάδας των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων

περίτριχος (peritrichous) (αναφορικά με το πρότυπο μαστιγοφορίας) χαρακτηρισμός κυττάρου του οποίου τα μαστίγια φύονται σε πολλές θέσεις περιμετρικά της επιφάνειάς του

πολικός (polar) (αναφορικά με το πρότυπο μαστιγοφορίας) χαρακτηρισμός κυττάρου του οποίου τα μαστίγια φύονται από τον έναν ή και τους δύο πόλους του κυττάρου

πολυ-β-υδροξυβουτυρικό (PHB) [poly-β-hydroxybutyrate (PHB)] σύνθετες αποθηκευτικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων, που είναι πολυμερές του πολυ-β-υδροξυβουτυρικού ή άλλου β-αλκανοϊκού οξέος

πρωτοπλάστης (protoplast) ωσμωτικά προστατευμένο κύτταρο του οποίου το κυτταρικό τοίχωμα έχει αφαιρεθεί

στερόλες (sterols) υδρόφοβες πολυκυκλικές χημικές ενώσεις που ενισχύουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη των ευκαρυωτικών κυττάρων, αλλά και ορισμένων προκαρυωτικών

φωτοτακτισμός (phototaxis) μετακίνηση ενός οργανισμού από ή προς το φως

χημειοτακτισμός (chemotaxis) η μετακίνηση ενός οργανισμού κατά τη φορά της βαθμίδας συγκέντρωσης μιας χημικής ουσίας (θετικός χημειοτακτισμός) ή κατά την αντίθετη φορά (αρνητικός χημειοτακτισμός)

I ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται η βασική δομή και λειτουργία των συστατικών που συγκροτούν τα μικροβιακά κύτταρα, ιδιαίτερα αυτών που συγκροτούν τα προκαρυωτικά κύτταρα (*Βακτήρια* και *Αρχαία*). Λεπτομερής αναφορά στη δομή και στις διαφοροποιήσεις των ευκαρυωτικών κυττάρων δίνεται στο Κεφάλαιο 14. Το παρόν κεφάλαιο αποτελείται από 4 ενότητες που αναφέρονται (α) στη μικροσκοπία, (β) στις κυτταρικές μεμβράνες και στα κυτταρικά τοιχώματα, (γ) στην κίνηση των μικροοργανισμών, και (δ) στις δομές επιφάνειας και στα κυτταρικά έγκλειστα, αντίστοιχα.

Τα κύτταρα, όπως και τα κτήρια, είναι αποτέλεσμα της σύνδεσης απλών δομικών υλικών με διάφορους τρόπους, ώστε να δημιουργούνται πολυπλοκότερες δομές. Μονομερή (π.χ. αμινοξέα και νουκλεοτίδια) χρησιμοποιούνται για τη δόμηση των μακρομορίων (π.χ. πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων) και τα μακρομόρια σχηματίζουν συμπλέγματα για να δημιουργήσουν δο-

μές με καθορισμένες λειτουργίες, όπως είναι τα ριβοσώματα, οι μεμβράνες, τα κυτταρικά τοιχώματα, κ.ο.κ. Ωστόσο, παρουσιάζει ενδιαφέρον ότι, παρά την ποικιλομορφία ως προς τη χημική φύση των μακρομορίων που απαρτίζουν τα διάφορα κύτταρα, όλα τα κύτταρα αντιμετωπίζουν παραπλήσια δομικά προβλήματα τα οποία επιλύουν, από αρχιτεκτονική άποψη, με όμοιους τρόπους.

Στο πρώτο τμήμα του Κεφαλαίου 4, θα ασχοληθούμε με το ζήτημα της μικροσκοπίας. Το μικροσκόπιο ήταν, ιστορικά, αυτό που άνοιξε τον δρόμο για να αποκαλυφθούν τα μυστικά της κυτταρικής δομής, ενώ και σήμερα παραμένει ισχυρότατο εργαλείο στην κυτταρική βιολογία.

4.1 Οπτική μικροσκοπία

Η μικροσκοπική εξέταση των μικροοργανισμών μπορεί να γίνει είτε με το οπτικό μικροσκόπιο είτε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Εν γένει, τα οπτικά μικροσκόπια χρησιμοποιούνται για την παρατήρηση ολόκληρων κυττάρων, ενώ τα ηλεκτρονικά για την παρα-

τήρηση εσωτερικών δομών ή λεπτομερειών στις κυτταρικές επιφάνειες.

Όλα τα μικροσκόπια αξιοποιούν την αρχή ότι ειδικοί φακοί μπορούν να μεγεθύνουν την εικόνα του κυτάρου, ώστε να κάνουν εμφανέστερες τις λεπτομέρειες της δομής του. Εκτός από τη μεγέθυνση, όμως, υπάρχει και η *ευκρίνεια*, η ικανότητα του μικροσκοπίου να διακρίνει δύο γειτνιάζοντα σημεία ως ανεξάρτητα. Αν και η μεγέθυνση μπορεί να αυξηθεί πρακτικά χωρίς όριο, η ευκρίνεια δεν μπορεί να αυξηθεί απεριόριστα, διότι εξαρτάται από τις φυσικές ιδιότητες του φωτός. Κατά συνέπεια, η παράμετρος που εν τέλει καθορίζει το όριο της διακριτικής ικανότητας ενός μικροσκοπίου είναι η ευκρίνεια και όχι η μεγέθυνση. Θα αναφερθούμε αρχικά στο οπτικό μικροσκόπιο, που έχει ένα όριο ευκρίνειας περί τα 0,2 μικρόμετρα (μm), ή 200 νανόμετρα (nm). Στη συνέχεια, θα περιγράψουμε το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, το οποίο επιτρέπει ευκρίνεια 1000 φορές μεγαλύτερη από αυτήν του οπτικού μικροσκοπίου.

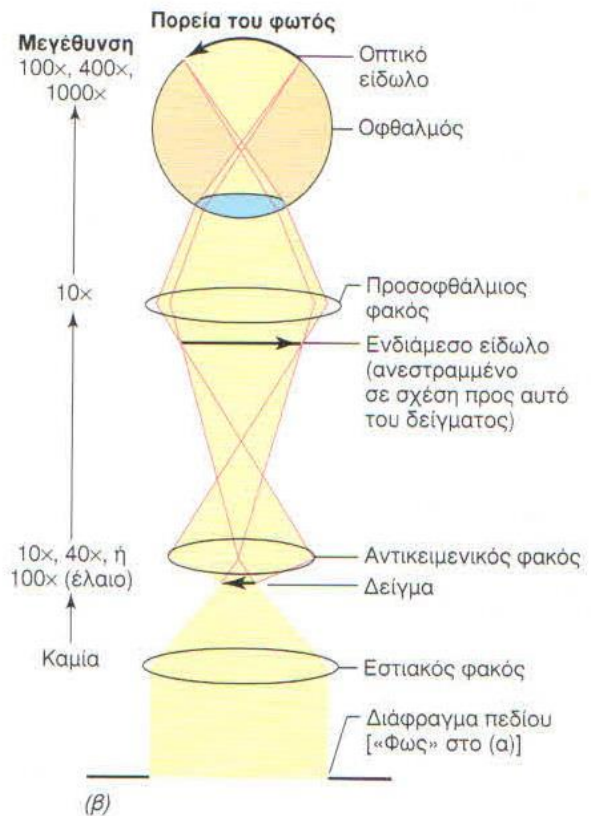
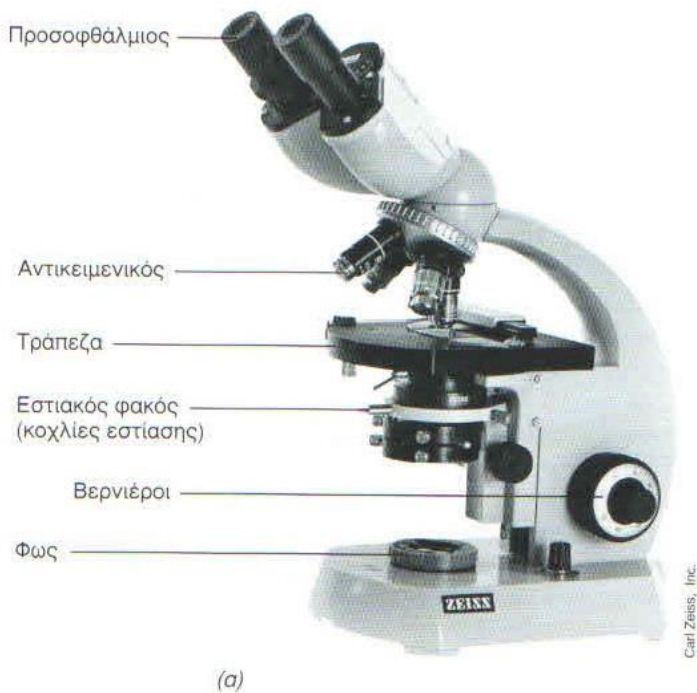
Το συνθετικό οπτικό μικροσκόπιο

Το οπτικό μικροσκόπιο έχει συμβάλει τα μέγιστα στην ανάπτυξη της επιστήμης της μικροβιολογίας και παραμένει και σήμερα βασικό εργαλείο της καθημερινής μικροβιολογικής έρευνας. Οι συνηθισμένοι τύποι οπτικών μικροσκοπίων που χρησιμοποιούνται στη μικροβιολογία

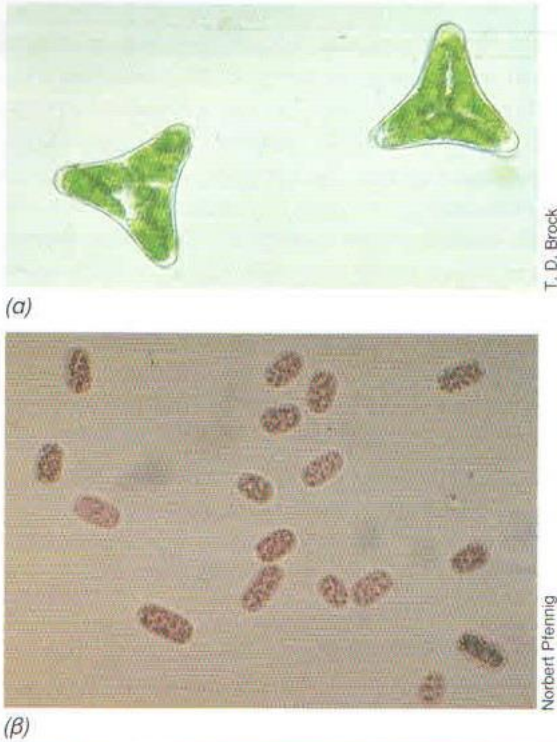
είναι οι εξής: φωτεινού πεδίου, αντίθεσης φάσεων, σκοτεινού πεδίου, και φθορισμού. Το μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου είναι αυτό που χρησιμοποιείται ιδιαίτερα στα φοιτητικά εργαστήρια βιολογίας και μικροβιολογίας: αποτελείται από δύο σειρές φακών (αντικειμενικούς και προσοφθάλμιους) που λειτουργούν συγχρόνως για να αναλυθεί το οπτικό είδωλο (Εικόνα 4.1). Αυτός ο τύπος μικροσκοπίου καθιστά ορατά τα δείγματα βάσει της διαφορετικής οπτικής τους αντίθεσης έναντι του περιβάλλοντος μέσου. Η οπτική αντίθεση οφείλεται στο ότι τα κύτταρα απορροφούν ή σκεδάζουν το φως σε διαφορετικό βαθμό. Ως προς τα βακτηριακά κύτταρα, πολλά είναι δυσδιάκριτα με το μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου, διότι δεν δημιουργούν σημαντική οπτική αντίθεση προς το περιβάλλον μέσο. Εξάιρεση, βέβαια, αποτελούν οι οργανισμοί που περιέχουν χρωστικές, διότι το χρώμα των κυττάρων ενισχύει την αντίθεση, βελτιώνοντας το τελικό οπτικό αποτέλεσμα (Εικόνα 4.2).

Μεγέθυνση και ευκρίνεια

Η τελική μεγέθυνση ενός σύνθετου μικροσκοπίου είναι το *γινόμενο* της μεγέθυνσης που επιτυγχάνει ο αντικειμενικός φακός επί τη μεγέθυνση του προσοφθάλμιου φακού (Εικόνα 4.1β). Το άνω όριο μεγέθυνσης που επιτρέπει ένα σύνθετο μικροσκόπιο είναι περίπου 1500 \times . Το όριο αυτό υπαγορεύεται από την *ευκρίνεια* του φακού. Η



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



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

αναλυτική ισχύς (ευκρίνεια) αποτελεί συνάρτηση του μήκους κύματος που χρησιμοποιείται, καθώς και του αριθμητικού διαφράγματος του αντικειμενικού φακού (μέτρου της φωτοσυλλεκτικής του ικανότητας). Υπάρχει, εν γένει, αντιστοιχία μεταξύ της μεγέθυνσης που μπορεί να επιτύχει ένας φακός και του αριθμητικού του διαφράγματος. Φακοί που επιτρέπουν μεγαλύτερες μεγεθύνσεις έχουν συνήθως και μεγαλύτερες τιμές αριθμητικού διαφράγματος (η τιμή αριθμητικού διαφράγματος ενός φακού είναι τυπωμένη δίπλα στην τιμή μεγέθυνσής του). Η ελάχιστη διάμετρος οπτικού ειδώλου το οποίο μπορεί να διακρίνει με ευκρίνεια ένας φακός ισούται με $0,5\lambda$ αριθμητικό διάφραγμα, όπου λ είναι το μήκος κύματος. Βάσει του τύπου αυτού, η ευκρίνεια είναι μέγιστη όταν χρησιμοποιείται φως στην περιοχή του κυανού χρώματος και όταν ο αντικειμενικός φακός έχει τη μεγαλύτερη δυνατή τιμή αριθμητικού διαφράγματος.

Όπως αναφέρθηκε, η μεγαλύτερη δυνατή ευκρίνεια που μπορεί να επιτύχει ένα σύνθετο οπτικό μικροσκόπιο είναι περί τα 0,2 μm . Αυτό σημαίνει ότι δύο αντικείμενα του οπτικού πεδίου που απέχουν μεταξύ τους λιγότερο από 0,2 μm δεν μπορούν να γίνουν διακριτά ως ανεξάρτητα αντικείμενα. Τα περισσότερα μικροσκόπια που χρησιμοποιούνται στη μικροβιολογία διαθέτουν προσοφθάλμιους φακούς που μεγεθύνουν 10-15×



Εικόνα 4.3 Χρώση κυττάρων για μικροσκοπική παρατήρηση.

και αντικειμενικούς φακούς που μεγεθύνουν 10-100× (Εικόνα 4.1β). Σε τελική μεγέθυνση 1000×, είδωλα διαμέτρου 0,2 μm είναι μόλις διακριτά. Με τον αντικειμενικό φακό των 100×, καθώς και με ορισμένους άλλους αντικειμενικούς φακούς υψηλού αριθμητικού διαφράγματος, χρησιμοποιείται μεταξύ δείγματος και φακού ένα ειδικό, υψηλής ποιότητας οπτικό έλαιο. Αυτοί οι φακοί ονομάζονται *ελαιοκαταδύτικοι φακοί*. Το έλαιο κατάδυσης αυξάνει τη φωτοσυλλεκτική ικανότητα του φακού, επειδή επιτρέπει να συλλέγονται και να γίνονται ορατές οπτικές ακτίνες που ανακλώνται από το δείγμα υπό μεγαλύτερη γωνία (και που χωρίς την προσθήκη ελαίου θα παρέμεναν αναξιοποίητες).

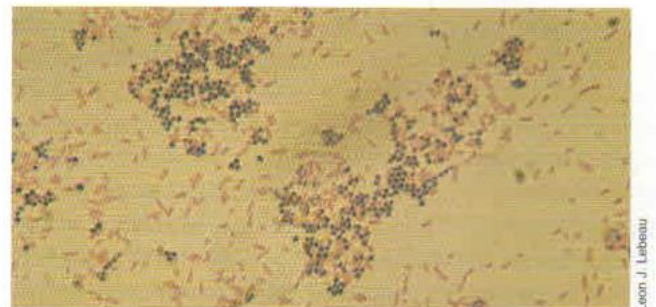
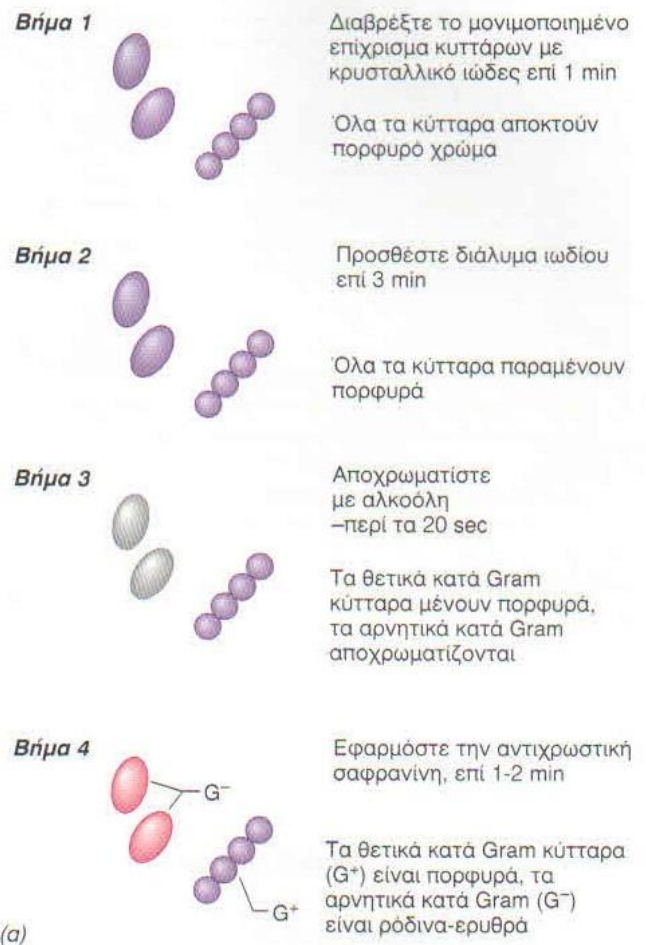
Χρώση: αύξηση της οπτικής αντίθεσης στη μικροσκοπία φωτεινού πεδίου

Όπως προαναφέραμε, ένας από τους περιορισμούς στη μικροσκοπία φωτεινού πεδίου είναι η ανεπαρκής οπτι-

κή αντίθεση. Για να αρθεί αυτός ο περιορισμός, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε χρωστικές που επιτρέπουν τη χρώση των κυττάρων, αυξάνουν την οπτική τους αντίθεση με το περιβάλλον μέσο και τα καθιστούν περισσότερο ευδιάκριτα. Οι χρωστικές είναι οργανικές ενώσεις που, ανάλογα με τη χημική τους ταξινόμηση, εμφανίζουν χημική συγγένεια για ειδικά συστατικά του κυττάρου. Πολλές από τις χρωστικές που χρησιμοποιούνται στη μικροβιολογία είναι θετικά φορτισμένες (κατιοντικές) και συνδέονται ισχυρά με αρνητικώς φορτισμένα κυτταρικά συστατικά, όπως με νουκλεϊκά οξέα ή όξινους πολυσακχαρίτες. Παραδείγματα κατιοντικών χρωστικών είναι το κυανό του μεθυλενίου, το κρυσταλλικό ιώδες, και η σαφρανίνη. Οι χρωστικές αυτές βρίσκουν γενική εφαρμογή σε όλα τα κύτταρα, διότι εκτός των άλλων συνδέονται με τις δομές επιφανείας των κυττάρων, οι οποίες είναι εν γένει αρνητικά φορτισμένες.

Οι απλούστερες δοκιμασίες χρώσης εφαρμόζονται σε ξηρά παρασκευάσματα (Εικόνα 4.3). Μια αντικειμενοφόρος πλάκα που περιέχει αποξηραθέν εναιώρημα μικροοργανισμών εκτίθεται επί 1-2 min σε αραιό διάλυμα χρωστικής υπό έντονη ροή, στη συνέχεια ξεπλένεται αρκετές φορές με νερό και στυπώνεται ώστε να ξηραθεί και πάλι. Τα χρωσμένα παρασκευάσματα βακτηρίων παρατηρούνται, συνήθως, με υψηλής ισχύος (ελαιοκαταδυτικό) φακό (Εικόνα 4.3).

Σε δοκιμασίες στις οποίες χρησιμοποιούνται διαφορετικές χρωστικές, δεν γίνεται ισοδύναμη χρώση όλων των κυττάρων, αλλά επιτυγχάνεται διαφορική χρώση ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου. Μια σημαντική τέτοια δοκιμασία χρώσης που εφαρμόζεται ευρύτατα στην βακτηριολογία είναι η χρώση κατά Gram (Εικόνα 4.4α). Με βάση αυτή την τεχνική χρώσης, τα βακτήρια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: **θετικά κατά Gram** και **αρνητικά κατά Gram**. Μετά την εφαρμογή της δοκιμασίας κατά Gram, τα θετικά κατά Gram βακτήρια αποκτούν ιώδες χρώμα, ενώ τα αρνητικά κατά Gram ροδινο-ερυθρό (Εικόνα 4.4β). Αυτή η διαφοροποίηση οφείλεται στη διαφορά δομής του κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (βλ. παρακάτω, στο κεφάλαιο αυτό), η οποία επιτρέπει στην αιθανόλη να αποχρωματίζει μόνο τα αρνητικά και όχι τα θετικά κατά Gram κύτταρα (Εικόνα 4.4). Η χρώση κατά Gram είναι από τις πιο χρήσιμες

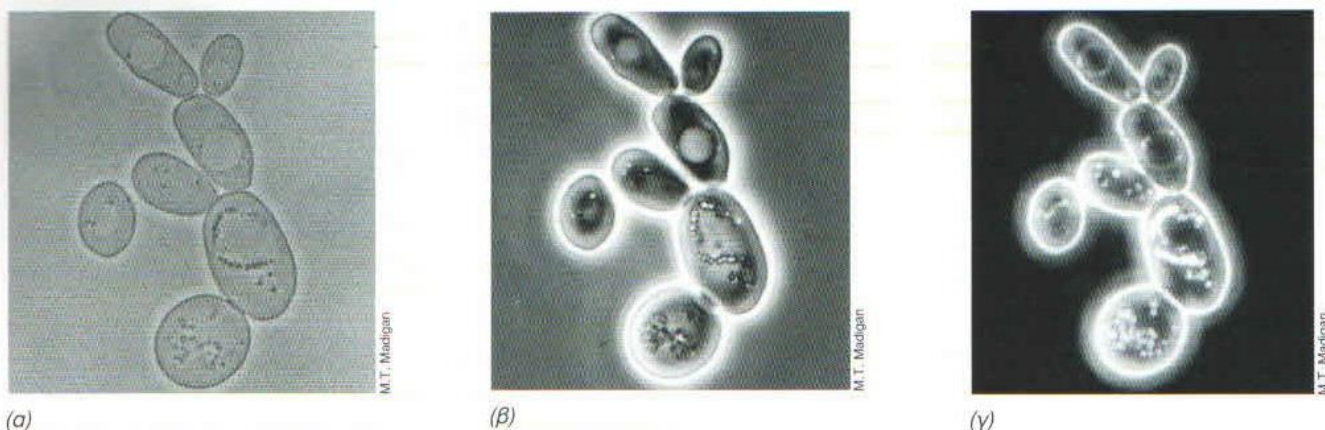


(β)



(γ)

Εικόνα 4.4 Χρώση κατά Gram. (α) Βήματα στη διαδικασία της χρώσης κατά Gram. (β) Μικροφωτογραφία θετικών κατά Gram (πορφύρο-κυανό) και αρνητικών κατά Gram (ερυθρό-ροδινο) βακτηρίων που έχουν υποστεί χρώση κατά Gram: πρόκειται, αντιστοίχως, για τα είδη *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*. (γ) Μικροφωτογραφία κυττάρων *Pseudomonas aeruginosa* (αρνητικό κατά Gram, πράσινο) και *Bacillus cereus* (θετικό κατά Gram, πορτοκαλί) μετά από χρώση με την μέθοδο **LIVE Bac Light**TM. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram κυττάρων σε ένα και μόνο βήμα χρώσης.



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.

δοκιμασίες χρώσης στο βακτηριολογικό εργαστήριο, ιδιαίτερα σημαντική για την αρχική ταξινόμηση οιοδήποτε άγνωστου βακτηρίου. Αν υπάρχει μικροσκοπιο φθορισμού (βλ. παρακάτω), η διαδικασία της χρώσης κατά Gram μπορεί να αντικατασταθεί από μια διαδικασία ενός μόνο σταδίου, με τη χρήση φθορίζουσών χρωστικών (Εικόνα 4.4γ).

Μικροσκοπία αντίθεσης φάσεων, σκοτεινού πεδίου, και φθορισμού

Το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων αναπτύχθηκε με στόχο να βελτιωθεί η οπτική αντίθεση μεταξύ κυττάρων και περιβάλλοντος μέσου, ώστε τα κύτταρα να γίνονται ορατά χωρίς τη διαδικασία της χρώσης (Εικόνα 4.5). Το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων στηρίζεται στην αρχή ότι τα κύτταρα έχουν διαφορετικό δείκτη διάθλασης από το περιβάλλον τους και, επομένως, αλλάζουν την πορεία ορισμένων από τις ακτίνες φωτός που τα διαπερνούν, οδηγώντας σε επιβράδυνση του διαθλώμενου φωτός. Η διαφορά αυτή ενισχύεται στο μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων από έναν ειδικό δακτύλιο του αντικειμενικού φακού, οδηγώντας στον σχηματισμό ενός σκοτεινού ειδώλου σε φωτεινό φόντο (Εικόνα 4.5β). Το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρατήρηση νωπών (ζώντων) παρασκευασμάτων και, για τον λόγο αυτό, αξιοποιείται ευρύτατα για ερευνητικούς σκοπούς. Η χρώση, από την άλλη πλευρά, αν και επίσης χρησιμοποιείται ευρύτατα στην οπτική μικροσκοπία, έχει το μειονέκτημα ότι καταστρέφει τα κύτταρα και μπορεί να αλλοιώσει τα χαρακτηριστικά τους.

Το μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου είναι ένα οπτικό μικροσκόπιο στο οποίο το σύστημα φωτισμού έχει τροποποιηθεί έτσι ώστε το δείγμα να δέχεται ακτίνες μόνο πλευρικά. Το μόνο φως που φθάνει στον φακό είναι εκείνο που σκεδάζεται από το δείγμα, με αποτέλεσμα το δείγμα να εμφανίζεται φωτεινό σε σκοτεινό φόντο

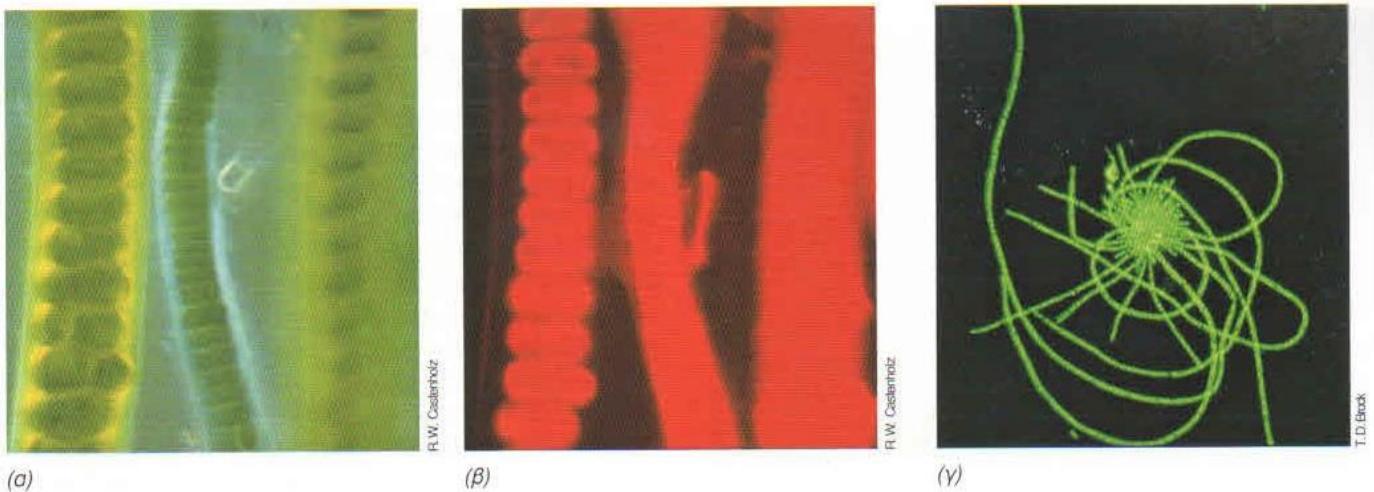
(Εικόνα 4.5γ). Η ευκρίνεια την οποία επιτυγχάνει η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου είναι πολύ μεγάλη: πολλά αντικείμενα που αναλύει ευκρινώς το μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου είναι αδύνατον να διακριθούν με τα μικροσκόπια φωτεινού πεδίου ή αντίθεσης φάσεων. Η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου αποτελεί επίσης εξαιρετική τεχνική για την παρατήρηση της κινητικής ικανότητας των μικροοργανισμών, καθώς επιτρέπει για παράδειγμα την ευκρινή διάκριση των μαστιγίων σε βακτήρια (βλ. Εικόνα 4.40α).

Η μικροσκοπία φθορισμού χρησιμοποιείται για να παρατηρηθούν δείγματα που φθορίζουν, δηλ. εκπέμπουν φως ενός χρώματος όταν ακτινοβολούνται με φως ενός άλλου χρώματος (Εικόνα 4.6). Ο φθορισμός μπορεί να οφείλεται είτε στην ύπαρξη φυσικών φθορίζουσών ουσιών μέσα στα κύτταρα, όπως είναι για παράδειγμα η χλωροφύλλη (αυτοφθορισμός) (βλ. Εικόνα 4.6α, β), είτε σε επώαση των κυττάρων με φθορίζουσες χρωστικές (Εικόνες 4.4γ και 4.6γ). Η μικροσκοπία φθορισμού χρησιμοποιείται ευρέως στην κλινική διαγνωστική μικροβιολογία, καθώς και στη μικροβιακή οικολογία (🦠 Κεφάλαια 19, 20, και 24).

✓ 4.1 Έλεγχος εννοιών

Τα μικροσκόπια έχουν ουσιαστική σημασία για τις μικροβιολογικές μελέτες. Υπάρχουν πολλοί τύποι οπτικών μικροσκοπίων, συμπεριλαμβανομένων των μικροσκοπίων φωτεινού πεδίου, σκοτεινού πεδίου, αντίθεσης φάσεων, και φθορισμού. Στη μικροσκοπία φωτεινού πεδίου είναι απαραίτητες οι χρωστικές, για να αυξηθεί η οπτική αντίθεση.

- ✓ Δώστε τον ορισμό της *ευκρίνειας*.
- ✓ Ποιο είναι το άνω όριο μεγέθυνσης ενός οπτικού μικροσκοπίου;
- ✓ Με ποιες μικροσκοπικές τεχνικές μπορεί να αυξηθεί η ευκρίνεια;
- ✓ Τι χρώμα αποκτά ένα αρνητικό κατά Gram βακτήριο στην κλασική δοκιμασία χρώσης κατά Gram;



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.

4.2

Τριδιάστατη απεικόνιση: μικροσκοπία αντίθεσης συμβολής, μικροσκοπία ατομικής δύναμης, και μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λείζερ

Ένα από τα μειονεκτήματα των μορφών οπτικής μικροσκοπίας με τις οποίες ασχοληθήκαμε ως τώρα είναι ότι η αποκτώμενη εικόνα είναι διδιάστατη. Πώς θα μπορούσε να αρθεί αυτός ο περιορισμός; Όπως θα δούμε στο επόμενο τμήμα του Κεφαλαίου 4, μια λύση στο πρόβλημα αυτό προσφέρει η ηλεκτρονιακή μικροσκοπία σάρωσης. Το ίδιο πρόβλημα, όμως, μπορεί να αντιμετωπισθεί και με ορισμένους τύπους οπτικής μικροσκοπίας, οι οποίοι θα εξετασθούν στη συνέχεια.

Μικροσκοπία διαφορικής αντίθεσης συμβολής

Η **διαφορική αντίθεση συμβολής (Differential Interference Contrast· DIC)** είναι μια μορφή οπτικής μικροσκοπίας στην οποία χρησιμοποιείται πολωτής για την παραγωγή πολωμένου φωτός. Στη συνέχεια, το πολωμένο φως διέρχεται μέσω πρίσματος, δημιουργώντας δύο χωριστές δέσμες, οι οποίες διαπερνούν το δείγμα και εισέρχονται στον αντικειμενικό φακό. Εκεί, οι δύο δέσμες συνδυάζονται σε μία: εξαιτίας των μικρών διαφορών στον δείκτη διάθλασης των ουσιών που έχουν συναντήσει κατά την πορεία τους, οι συνδυασμένες δέσμες φωτός δεν βρίσκονται στην ίδια φάση και δημιουργείται κατ' αυτόν τον τρόπο ένα φαινόμενο συμβολής. Αυτό το φαινόμενο ουσιαστικά ενισχύει τις υπάρχουσες μικροδιαφορές στην κυτταρική δομή, ώστε η μικροσκοπία DIC να προσφέρει μια τριδιάστατη απεικόνιση του πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων (Εικόνα 4.7α) και άλλων δομών, όπως σπορίων, κενοτοπίων,

κοκκίων, κ.ο.κ. Η μικροσκοπία DIC είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την παρατήρηση *μη χρωσμένων* κυττάρων, διότι επιτρέπει την αποκάλυψη ενδοκυτταρικών δομών που θα παρέμεναν ελάχιστα εμφανείς (ή δεν θα γίνονταν ορατές) με τις τεχνικές μικροσκοπίας φωτεινού πεδίου (πρβλ. τις Εικόνες 4.5α και β με την Εικόνα 4.7α).

Μικροσκοπία ατομικής δύναμης

Μια άλλη μορφή μικροσκοπίας που επιτρέπει την τριδιάστατη απεικόνιση βιολογικών δομών είναι η **μικροσκοπία ατομικής δύναμης (Atomic Force Microscopy· AFM)**. Στη μικροσκοπία ατομικής δύναμης, μια μικροσκοπική ακίδα τοποθετείται πολύ κοντά στο δείγμα, ώστε να αναπτύσσονται ασθενείς ατομικές δυνάμεις άπωσης μεταξύ ακίδας και δείγματος. Καθώς το δείγμα υφίσταται οπτική σάρωση σε οριζόντιες και κάθετες διευθύνσεις, η ακίδα συντονίζεται με τις αυξομειώσεις των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων, καταγράφοντας συνεχώς τις αλληλεπιδράσεις με την επιφάνεια. Αυτό το σύστημα σημάτων συλλαμβάνεται από μια σειρά ανιχνευτών που προωθούν την αντίστοιχη ψηφιακή πληροφορία σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος δημιουργεί την τελική απεικόνιση (Εικόνα 4.7β). Αν και η απεικόνιση που δίνει το μικροσκόπιο ατομικής δύναμης μοιάζει με αυτήν που δίνει το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (πρβλ. Εικόνα 4.7β και Εικόνα 4.10β), η AFM πλεονεκτεί ως προς το ότι η προπαρασκευή του δείγματος είναι απλή, όπως και σε όλη γενικά την οπτική μικροσκοπία (δεν χρειάζονται δηλ. στερεωτικά ή επίστρωση των δειγμάτων). Επίσης, η AFM επιτρέπει την παρατήρηση ζώντων και ενυδατωμένων δειγμάτων, πράγμα που είναι εν γένει αδύνατο στην ηλεκτρονιακή μικροσκοπία.



Linda Barnett and James Barnett

(α)



Suzanne Kelly

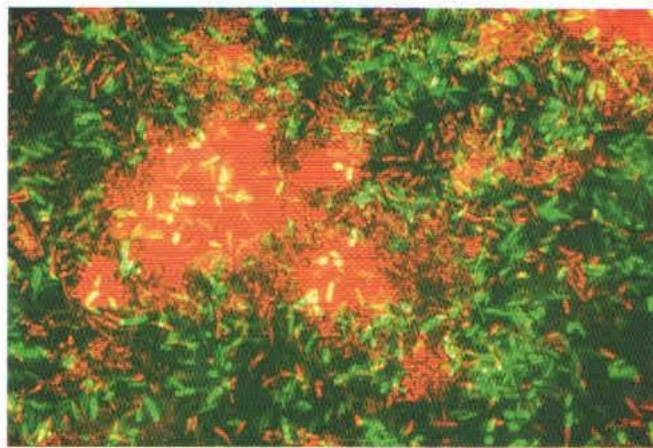
(β)

Εικόνα 4.7 Τριδιάστατη απεικόνιση κυττάρων (α) με μικροσκοπία αντίθεσης συμβολής, και (β) με μικροσκοπία ατομικής δύναμης. Τα κύτταρα ζυμομύκητα στο (α) έχουν διάμετρο περί τα 8 μm . Παρατηρήστε πόσο ευκρινής είναι ο πυρήνας των κυττάρων αυτών (πρβλ. Εικόνα 4.7α με Εικόνα 4.5α). Τα βακτηριακά κύτταρα στο (β) έχουν μήκος περί τα 2,2 μm . Το μικρογράφημα έχει ληφθεί από φυσικό βιοφίλμ που αναπτύχθηκε στην επιφάνεια αντικειμενοφόρου, η οποία εμβαπτίσθηκε επί 24 h σε ποτίστρα σκύλου, αφέθηκε να στεγνώσει, και παρατηρήθηκε με μικροσκόπιο ατομικής δύναμης.

Μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ

Η μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ (Confocal Scanning Laser Microscopy: CSLM) γίνεται μέσω οπτικού μικροσκοπίου προσαρμοσμένου σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, το οποίο χρησιμοποιεί μια πηγή φωτός λέιζερ. Η τεχνική αυτή επιτρέπει την τριδιάστατη ψηφιακή απεικόνιση μικροοργανισμών και άλλων βιολογικών δειγμάτων (Εικόνα 4.8). Στην CSLM, μια δέσμη φωτός λέιζερ ανακλάται σε ένα κάτοπτρο που την κα-

τευθύνει προς μια συσκευή σάρωσης. Κατόπιν, η δέσμη λέιζερ διέρχεται μέσω μιας μικροσκοπικής οπής, η οποία προσαρμόζει επακριβώς το επίπεδο εστίασης της δέσμης σε ένα συγκεκριμένο κατακόρυφο στρώμα μέσα στο δείγμα. Εφόσον φωτίζεται ακριβώς ένα μόνο επίπεδο του δείγματος, η ένταση του φωτισμού μειώνεται απότομα πάνω και κάτω από το επίπεδο εστίασης, και επομένως ελαχιστοποιείται το σκεδαζόμενο από άλλα επίπεδα εστίασης φως. Κατ' αυτόν τον τρόπο, σε ένα σχετικά παχύ δείγμα (π.χ. σε ένα μικροβιακό βιοφίλμ) (Εικόνα 4.8α), εκτός από τα κύτταρα μιας συγκεκριμένης επιφάνειας του βιοφίλμ, που θα ήταν εμφανή και σε κοινό οπτικό μικροσκόπιο, μπορούν να παρατηρηθούν τα κύτταρα πολλών διαφορετικών επιφανειών, ανάλογα με την ρύθμιση του επιπέδου εστίασης της δέσμης λέιζερ.



Subramanian Karthikeyan

(α)



Garnot Arp and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

(β)

Εικόνα 4.8 Μικροσκοπία συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ. (α) Συνεστιακή εικόνα μιας μικτής κοινωνίας μικροβιακού βιοφίλμ, καλλιιεργημένου 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.

Τα κύτταρα των παρασκευασμάτων CSLM χρωματίζονται συχνά με φθορίζουσες χρωστικές, ώστε να γίνουν πιο ευδιάκριτα (Εικόνα 4.8α). Εναλλακτικά μπορούν να δημιουργηθούν ψευδοχρωματικές εικόνες, αν το μικροσκόπιο ρυθμιστεί κατά τρόπο ώστε τα διαφορετικά επίπεδα εστίασης να εμφανίζονται με διαφορετικό χρώμα. Το μικροσκόπιο συνεστιακής σάρωσης με λέιζερ είναι εφοδιασμένο με υπολογιστικά προγράμματα συλλογής και ανάλυσης ψηφιακών εικόνων. Εικόνες που έχουν ληφθεί από διαφορετικά στρώματα δείγματος είναι δυνατόν να αποθηκευθούν και στη συνέχεια να ανασυντεθούν ψηφιακά, ώστε να δώσουν μια πλήρη τριδιάστατη απεικόνιση του δείγματος (Εικόνα 4.8α). Η CSLM έχει ευρύτατη εφαρμογή στη μικροβιακή οικολογία, ειδικά στην ταυτοποίηση φυλογενετικά διακριτών πληθυσμών κυττάρων σε ένα μικροβιακό ενδιαίτημα (βλ. για παράδειγμα, Εικόνα 18.11β). Είναι, ωστόσο, πολύ χρήσιμη και σε κάθε περίπτωση λεπτομερούς ανάλυσης του μικροβιακού περιεχομένου δειγμάτων μεγάλου πάχους.

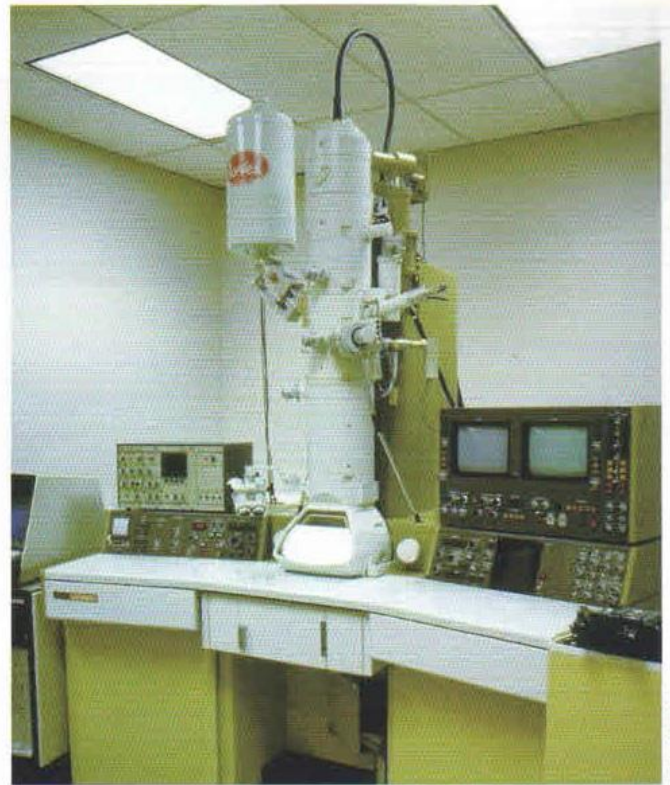
✓ 4.2 Έλεγχος εννοιών

Η αντίθεση συμβολής (DIC) και η συνεστιακή σάρωση (CSLM) επιτρέπουν ποιοτικά ανώτερη τριδιάστατη απεικόνιση από ό,τι άλλες μορφές οπτικής μικροσκοπίας, ενώ η CSLM επιτρέπει και την απεικόνιση δειγμάτων μεγάλου πάχους. Η μικροσκοπία ατομικής δύναμης (AFM) παρέχει λεπτομερείς τριδιάστατες εικόνες ζώντων παρασκευασμάτων.

- ✓ Ποια δομή των ευκαρυωτικών κυττάρων μπορεί να απεικονιστεί ευχερέστερα με τη μικροσκοπία DIC;
- ✓ Πώς επιτυγχάνεται η παρατήρηση διαφορετικών στρωμάτων ενός παρασκευάσματος μεγάλου πάχους, με τη συνεστιακή σάρωση;

4.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια χρησιμοποιούνται ευρέως για την αναλυτική μελέτη της δομής των κυττάρων. Για τη μελέτη των εσωτερικών κυτταρικών δομών είναι σημαντικό το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (Transmission Electron Microscope· TEM). Στη μικροσκοπία TEM χρησιμοποιούνται ηλεκτρόνια αντί φωτεινών ακτίνων και ηλεκτρομαγνήτες αντί φακών, ενώ το όλο σύστημα συνολικά λειτουργεί σε υψηλό κενό (Εικόνα 4.9). Η διακριτική ικανότητα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου είναι πολύ μεγαλύτερη αυτής του οπτικού, γεγονός που επιτρέπει την παρατήρηση εξαιρετικά μικρών δομών, όπως πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων (☞ Εικόνα 2.4β). Οι δέσμες ηλεκτρονίων, όμως, έχουν χαμηλή διεισδυτικότητα: ακόμη και το πάχος ενός κυττάρου είναι πολύ μεγάλο για να μπορεί αυτό να παρατηρηθεί. Κατά συνέπεια, για να προετοιμα-



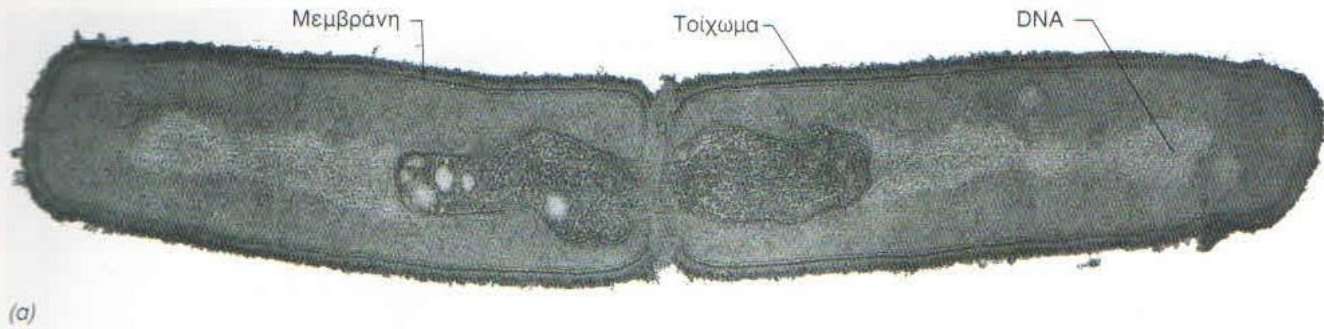
JEOL USA INC.

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

σθούν τα δείγματα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, απαιτούνται ειδικές τεχνικές *λεπτής κατάτμησης* (thin sectioning). Ένα βακτηριακό κύτταρο, λόγω χάρη, θα τμηθεί με ειδικό όργανο κοπής σε πολλές, εξαιρετικά λεπτές «φέτες» (των 20-60 nm), οι οποίες θα εξετασθούν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο χωριστά (Εικόνα 4.10α). Για να επιτευχθεί ικανοποιητική οπτική αντίθεση, τα παρασκευάσματα υφίστανται κατεργασία με ειδικές χρωστικές, όπως π.χ. οσμικό οξύ, υπερμαγγανικό, άλατα ουρανίου και λανθανίου, ή μόλυβδο. Οι ουσίες αυτές συνίστανται από άτομα μεγάλου ατομικού βάρους, οι οποίες σκεδάζουν πολύ καλά τα ηλεκτρόνια, με αποτέλεσμα να βελτιώνουν την οπτική αντίθεση (Εικόνα 4.10α).

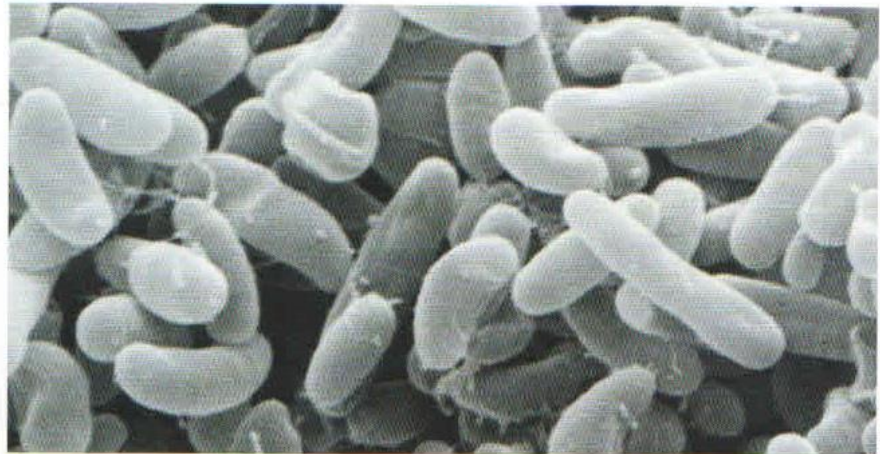
Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης

Στην περίπτωση που χρειάζεται να παρατηρηθούν μόνον *εξωτερικά* χαρακτηριστικά ενός οργανισμού, δεν είναι απαραίτητες οι λεπτές τομές: άθικτα κύτταρα ή κυτταρικά συστατικά μπορούν να παρατηρηθούν κατευθείαν με TEM με μια τεχνική που ονομάζεται τεχνική *αρνητικής χρώσης* (βλ. για παράδειγμα, Εικόνα 4.39). Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Scanning Electron Microscope· SEM) (Εικόνες 4.9 και 4.10β). Στην περίπτωση αυτή, το



Stanley C. Holt

Εικόνα 4.10 Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα βακτηριακών κυττάρων που έχουν ληφθεί (α) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης και (β) με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης. (α) 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 πυρηνοειδές). Διάμετρος κυττάρου: περί τα 0,8 μμ. (β) Κύτταρα του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum rubrum*. Πλάτος ενός κυττάρου: περί τα 0,75 μμ. Παρατηρήστε ότι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης επιτρέπει μεγάλο βάθος πεδίου, που παρέχει εξαιρετική ποιότητα τριδιάστατης απεικόνισης.



F. R. Turner

δείγμα καλύπτεται με λεπτό στρώμα βαρέος μετάλλου, π.χ. χρυσού. Στη συνέχεια, μια δέσμη ηλεκτρονίων από το SEM σαρώνει το δείγμα σε όλη του την έκταση: τα ηλεκτρόνια που σκεδάζονται από το στρώμα του μετάλλου συλλέγονται και ενεργοποιούν μια οθόνη για την παραγωγή του οπτικού ειδώλου (Εικόνα 4.10β). Στη μικροσκοπία SEM μπορούν να παρατηρηθούν ακόμη και σχετικά μεγάλα δείγματα, και το βάθος πεδίου είναι εξαιρετικά ικανοποιητικό. Μπορούν, εξάλλου, να επιτευχθούν μεγεθύνσεις από 15× ως 100.000×, αλλά ορατή γίνεται μόνον η επιφάνεια του αντικειμένου. Τέλος, όλα τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια διαθέτουν προσαρτημένες φωτογραφικές μηχανές, που επιτρέπουν τη λήψη των λεγόμενων ηλεκτρονικών μικρογραφημάτων.

✓ 4.3 Έλεγχος εννοιών

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια έχουν πολύ μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα από τα οπτικά, με όριο περί τα 0,2 nm. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι ηλεκτρονιακής μικροσκοπίας: ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM), για την παρατήρηση εσωτερικών κυτταρικών δομών σε μοριακό επίπεδο, και η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM), για την τριδιάστατη απεικόνιση και μελέτη επιφανειών.

- ✓ Τι είναι ένα ηλεκτρονικό μικρογράφημα;
- ✓ Έχοντας κατά νου ότι τα χημικά στερεωτικά είναι απαραίτητα και ότι τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια θα πρέπει

να λειτουργούν σε κενό, ποιο είναι το μεγαλύτερο μειονέκτημα των ηλεκτρονικών μικροσκοπίων σε σχέση με τα οπτικά μικροσκόπια;

- ✓ Ποιον τύπο ηλεκτρονικού μικροσκοπίου θα χρησιμοποιούσατε για να παρατηρήσετε το πυρηνοειδές ενός βακτηρίου;

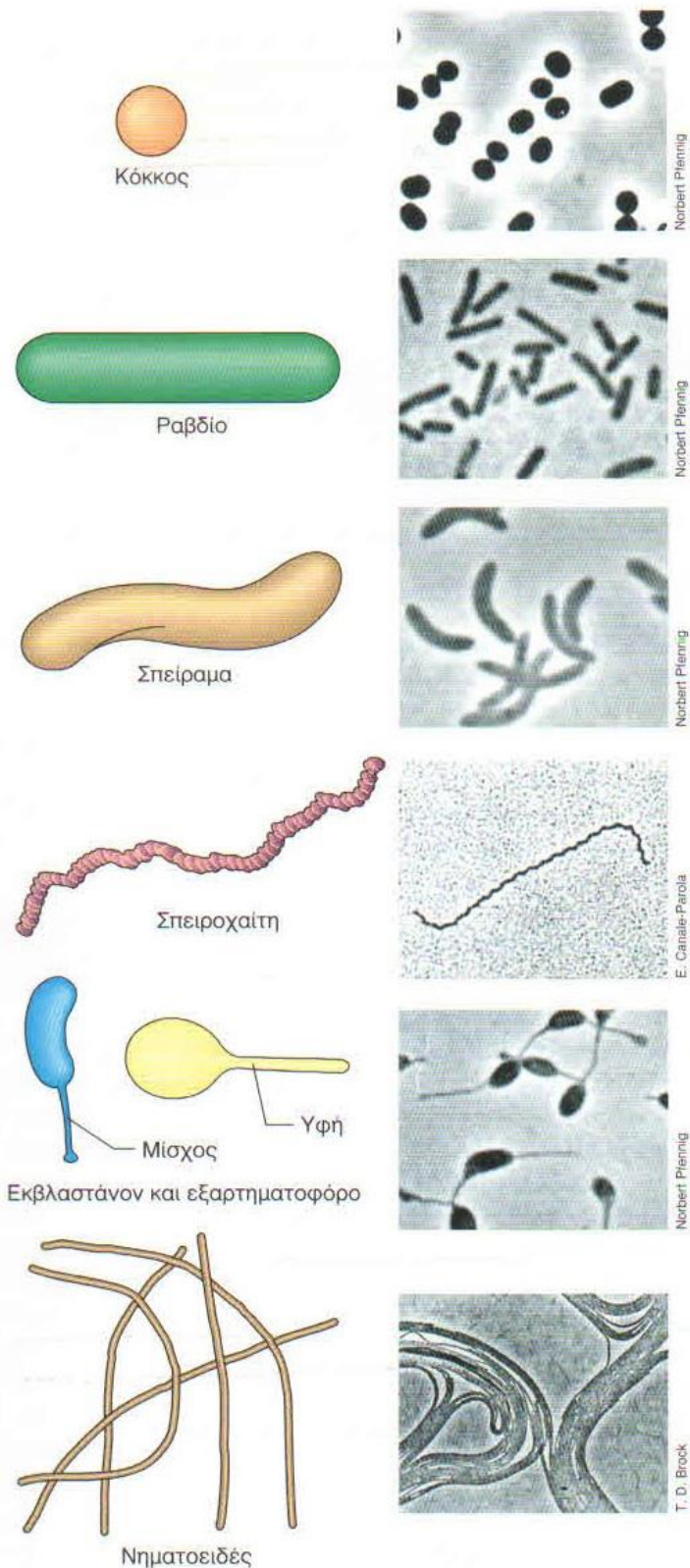
4.4

Κυτταρική μορφολογία και η σημασία του μικρού μεγέθους

Στη βιολογία, ο όρος μορφολογία αναφέρεται στο σχήμα ενός οργανισμού. Για τους προκαρυωτικούς οργανισμούς είναι γνωστές πολλές διαφορετικές μορφολογίες, που οι περισσότερες περιγράφονται με καθιερωμένους δόκιμους όρους. Εδώ θα εξετάσουμε τους όρους και τις μορφολογίες αυτές, με ιδιαίτερη αναφορά στα βιολογικά πλεονεκτήματα που παρέχει το μικρό μέγεθος των κυττάρων.

Οι σημαντικότερες κυτταρικές μορφολογίες

Σχηματικά παραδείγματα τυπικών βακτηρίων δίνονται, μαζί με μικροφωτογραφίες από πραγματικούς οργανισμούς, στην Εικόνα 4.11. Ένα σφαιρικό ή ωοειδές βακτήριο, από άποψη μορφολογίας, καλείται κόκκος. Ένα κυλινδρικό βακτήριο καλείται ραβδίο. Ορισμένα ρα-



Εικόνα 4.11 Αντιπροσωπευτικά κυτταρικά σχήματα (μορφολογίες) προκαρυωτικών οργανισμών. Παράτιθενται διαγράμματα (αριστερά) και χαρακτηριστικές μικροφωτογραφίες (δεξιά). Οι οργανισμοί είναι: κόκκος, *Thiocardia roseopersicina* (διάμετρος κυττάρου: $1,5 \mu\text{m}$)· ραβδίο, *Desulfuromonas acetoxidans* (διάμετρος: $1 \mu\text{m}$)· σπείραμα, *Rhodospirillum rubrum* (διάμετρος: $1 \mu\text{m}$)· σπειροχαιτή, *Spirochaeta stenostrepta* (διάμετρος: $0,25 \mu\text{m}$)· εκβλαστών και εξαρτηματοφόρο, *Rhodomicrobium vannielii* (διάμετρος: $1,2 \mu\text{m}$)· νηματοιδές, *Chloroflexus aurantiacus* (διάμετρος: $0,8 \mu\text{m}$).

βδία εμφανίζουν καμπυλότητες και, συχνά, ελικοειδή μοτίβα, οπότε ονομάζονται **σπειράματα**. Σε πολλούς προκαρυωτικούς οργανισμούς, τα κύτταρα συναθροίζονται μετά την κυτταρική διαίρεση σε ομάδες και οι ομάδες αυτές έχουν χαρακτηριστική διεύθυνση που διαφέρει ανάλογα με τον οργανισμό. Κόκκοι ή ραβδία, για παράδειγμα, μπορεί να σχηματίζουν επιμήκεις αλυσίδες. Ορισμένα είδη κόκκων σχηματίζουν λεπτές στρώσεις κυττάρων, ενώ άλλα συγκροτούν τριδιάστατους κύβους ή ακανόνιστα κυβοειδή.

Αρκετές ομάδες βακτηρίων μπορούν να αναγνωρισθούν ευχερώς από την ιδιαίτερη μορφολογία τους και μόνο. Τέτοιες ομάδες είναι οι **σπειροχαιτές**, βακτήρια με έντονη υπερσπείρωση, τα **εξαρτηματοφόρα βακτήρια**, με επιμήκεις κυτταρικές προεξοχές όμοιες με σωλήνες ή μίσχους, και τα **νηματοειδή βακτήρια**, που σχηματίζουν λεπτά, επιμήκη κύτταρα ή αλυσίδες κυττάρων (Εικόνα 4.11). Η Εικόνα 4.11 παραθέτει αντιπροσωπευτικές μορφολογίες: στα βακτήρια απαντούν πολλοί εναλλακτικοί τύποι αυτών των βασικών μορφολογιών.

Το μέγεθος των μικροβιακών κυττάρων και η σημασία του μικρού μεγέθους

Το μέγεθος των προκαρυωτικών κυττάρων ποικίλλει από κύτταρα διαμέτρου $0,1-0,2 \mu\text{m}$ έως κύτταρα διαμέτρου άνω των $50 \mu\text{m}$. Ελάχιστοι προκαρυωτικοί οργανισμοί πολύ μεγάλου μεγέθους, όπως είναι το *Eupulviscium fishelsoni*, συμβιωτικό ενός είδους ιχθύος (Εικόνα 4.12), έχουν διάμετρο έως $50 \mu\text{m}$ και υπερβαίνουν σε



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

μήκος τα 0,5 mm [βλ. Παράρτημα 3, Σ.τ.Ε.Ε. 3]. Οι διαστάσεις, ωστόσο, ενός τυπικού ραβδόσχημου βακτηρίου μεσαίου μεγέθους, συγκεκριμένα της *Escherichia coli*, είναι περί τα $1 \times 3 \mu\text{m}$ (Εικόνα 4.13). Συγκριτικά, τα τυπικά ευκαρυωτικά κύτταρα έχουν διάμετρο από $2 \mu\text{m}$ έως άνω των $200 \mu\text{m}$. Επομένως, τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι πολύ μικρά σε σχέση με τα ευκαρυωτικά και το μικρό μέγεθος των προκαρυωτών επηρεάζει πολλές από τις βιολογικές τους ιδιότητες. Για παράδειγμα, ο ρυθμός εισόδου-εξόδου των θρεπτικών μεταβολιτών ή των μεταβολικών αποβλήτων, παράγοντας που επιδρά σημαντικά στον ρυθμό αύξησης των κυττάρων και στην ταχύτητα μεταβολισμού, είναι εν γένει αντιστρόφως ανάλογος προς το κυτταρικό μέγεθος. Αυτό συμβαίνει διότι η ταχύτητα μεταφοράς ουσιών εξαρτάται ως έναν βαθμό από τη διαθέσιμη μεμβρανική επιφάνεια και, σε σχέση με τον κυτταρικό όγκο, τα μικρά κύτταρα έχουν περισσότερη επιφάνεια στη διάθεση τους απ' ό,τι τα μεγάλα. Στερεομετρικό ανάλογό τους είναι η σφαίρα, της οποίας ο όγκος εξαρτάται από τον κύβο της ακτίνας ($V = \frac{4}{3} \pi r^3$), ενώ η επιφάνεια από το τετράγωνο της ακτίνας ($S = 4 \pi r^2$): ο λόγος εμβαδού επιφανείας προς όγκο (S/V) της σφαίρας μπορεί να εκφραστεί ως $3/r$ (Εικόνα 4.14). Στα κύτταρα, τώρα, όσο μικρότερη είναι η

Oscillatoria (ένα κυανοβακτήριο)
 $8 \times 50 \mu\text{m}$



Bacillus megaterium
 $1,5 \times 4 \mu\text{m}$



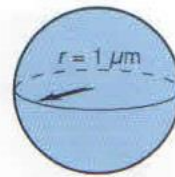
Escherichia coli
 $1 \times 3 \mu\text{m}$



Streptococcus pneumoniae
διάμετρος $0,8 \mu\text{m}$



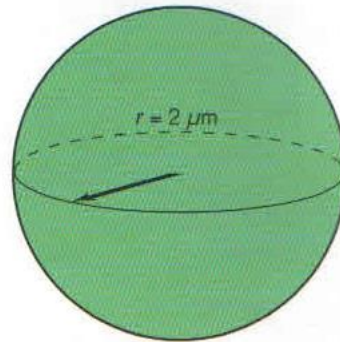
Haemophilus influenzae
 $0,25 \times 1,2 \mu\text{m}$



Εμβαδόν επιφανείας ($4\pi r^2$) = $12,6 \mu\text{m}^2$

Όγκος ($\frac{4}{3}\pi r^3$) = $4,2 \mu\text{m}^3$

$$\frac{\text{Εμβαδόν}}{\text{Όγκος}} = 3$$



Εμβαδόν επιφανείας = $50,3 \mu\text{m}^2$

Όγκος = $33,5 \mu\text{m}^3$

$$\frac{\text{Εμβαδόν}}{\text{Όγκος}} = 1,5$$

Εικόνα 4.14 Συσχέτιση κυτταρικής επιφάνειας και κυτταρικού όγκου. Όσο αυξάνεται το μέγεθος του κυττάρου τόσο μειώνεται ο λόγος της επιφάνειας προς τον όγκο.

τιμή r τόσο μεγαλύτερος ο λόγος S/V , επομένως κύτταρα μικρού μεγέθους μπορούν να διενεργούν αποδοτικότερη ανταλλαγή μεταβολιτών με το περιβάλλον τους απ' ό,τι κύτταρα μεγαλύτερου μεγέθους.

Η διαφορά του λόγου S/V φαίνεται χαρακτηριστικά από την ταχύτερη αύξηση και τον σχηματισμό πολυαριθμότερων πληθυσμών που δίνουν (ανά μονάδα θρεπτικής πηγής) τα μικρότερα κύτταρα. Οι παράμετροι αυτές – ρυθμός αύξησης και αριθμός κυττάρων – επηρεάζουν έντονα τη μικροβιακή οικολογία. Ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων με υψηλό ρυθμό μεταβολισμού μπορεί να προκαλεί σε σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλες φυσιοχημικές αλλαγές σε ένα οικοσύστημα. Στο θέμα των φυσικών ενδιαιτημάτων των μικροοργανισμών θα επανέλθουμε στα Κεφάλαια 18, 19, 21, και 26-29.

Ορισμένοι μικροβιολόγοι έχουν προτείνει ότι στη φύση απαντούν και εξαιρετικά μικρά βακτήρια, τα λεγόμενα *νανοβακτήρια*. Οι περισσότερες αναφορές για *νανοβακτήρια* συνδέονται με υποθέσεις ότι σχηματίζουν ιζήματα ή βιοφίλμ (∞ Τμήμα 19.3) σε διάφορα περιβάλλοντα, από ανθρώπινους ιστούς έως μεταλλικές επιφάνειες. Η διάμετρος αυτών των υποτιθέμενων *νανοβακτηρίων* είναι της τάξης του $0,1 \mu\text{m}$, προκειμένου περί κόκκων, διάμετρος εξαιρετικά μικρή ακόμη και για προκαρυώτες. Οι πολέμιοι της θεωρίας των *νανοβακτηρίων* ισχυρίζονται ότι πρόκειται απλώς για ψευδοπροϊόντα χημικών ή γεωχημικών αντιδράσεων ανόργανων υλικών και ότι ακόμη και το μικρότερο γνωστό βακτήριο είναι σημαντικά μεγαλύτερο από τα αναφερόμενα ως *νανοβακτήρια*. Ισχυρίζονται, επίσης, ότι δομές μικρότερες του $0,1 \mu\text{m}$ είναι εντελώς απίθανο να εμπεριέχουν όλα τα ουσιώδη βιομόρια που απαιτούνται για την ύπαρξη ζωής. Το πρόβλημα της ύπαρξης *νανοβα-*

Εικόνα 4.13 Σύγκριση μεγέθους διαφόρων προκαρυωτών. Οι περισσότεροι από τους γνωστούς προκαρυώτες έχουν διάμετρο μεταξύ $0,5-2 \mu\text{m}$.

κτηρίων δεν έχει επιλυθεί ως σήμερα. Αν πράγματι υπάρχουν στη φύση τόσο μικρά κύτταρα, θα πρόκειται ασφαλώς για τις μικρότερες γνωστές μορφές ζωής.

✓ 4.4 Έλεγχος εννοιών

Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία και είναι εν γένει μικρότεροι σε μέγεθος από τους ευκαρυωτικούς. Το μικρό μέγεθος των προκαρυωτικών κυττάρων επηρεάζει τη φυσιολογία, τους ρυθμούς αύξησης, και την οικολογία τους.

- ✓ Αναφέρετε τρεις μορφολογικούς τύπους προκαρυωτών.
- ✓ Ποια φυσική ιδιότητα των κυττάρων αυξάνεται όσο το κυτταρικό μέγεθος μειώνεται;

II ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΤΟΙΧΩΜΑΤΑ

Ας εξετάσουμε τώρα δύο κυτταρικές δομές εξαιρετικής σημασίας: την κυτταρική μεμβράνη και το κυτταρικό τοίχωμα. Και οι δύο αυτές δομές έχουν σαφείς και θεμελιώδεις λειτουργίες για το κύτταρο, μεταξύ των οποίων τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών (μεμβράνη) και την προστασία από οσμωτική λύση (τοίχωμα).

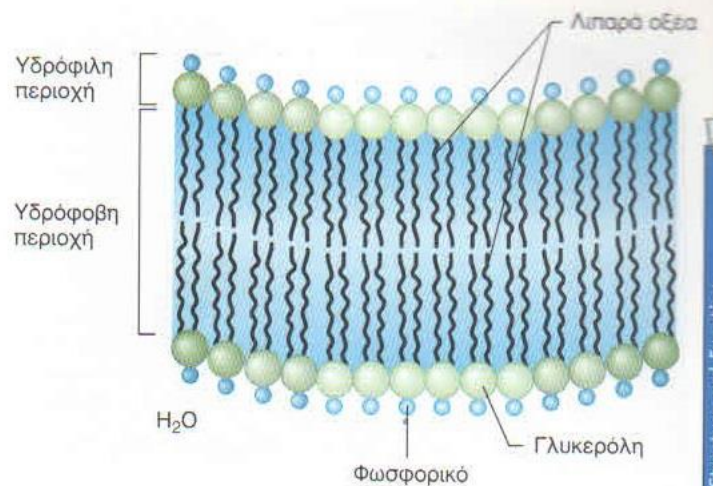
4.5

Κυτταροπλασματική μεμβράνη: Δομή

Η **κυτταροπλασματική μεμβράνη** είναι μια λεπτή δομή που περιβάλλει πλήρως το κύτταρο. Αυτή η ζωτικής σημασίας δομή, πάχους περί τα 8 nm μόνο, αποτελεί τον φραγμό ανάμεσα στο εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα) και στο περιβάλλον του. Αν διαρραγεί η μεμβράνη, η συνοχή του κυττάρου καταστρέφεται, τα εσωτερικά συστατικά του διαρρέουν στο περιβάλλον, και το κύτταρο πεθαίνει. Η μεμβράνη δεν είναι ένας απλός φραγμός, αλλά ένας *ιδιαίτερα επιλεκτικός φραγμός*, που καθιστά το κύτταρο ικανό να συγκεντρώνει ειδικούς μεταβολίτες και να αποβάλλει άχρηστα υλικά.

Χημική σύσταση των μεμβρανών

Η γενική δομή των βιολογικών μεμβρανών είναι μια **διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων** (Εικόνα 4.15). Όπως αναλύθηκε στο Τμήμα 3.4, τα φωσφολιπίδια περιέχουν τόσο υδρόφοβα (λιπαρό οξύ) όσο και σχετικά υδρόφιλα μέρη (γλυκερόλη) και είναι δυνατόν να απαντούν σε πολλές διαφορετικές χημικές μορφές, λόγω της ποικιλομορφίας των λιπαρών οξέων ή των φωσφορικών ομάδων που μπορούν να συνδέονται στον δομικό σκελετό της γλυκερόλης. Κατά τη συσσώρευσή τους σε ένα υδατικό διάλυμα, τα φωσφολιπίδια τείνουν να σχηματίζουν αυθορμήτως δομές διπλοστιβάδας – τα λιπαρά οξέα στρέ-



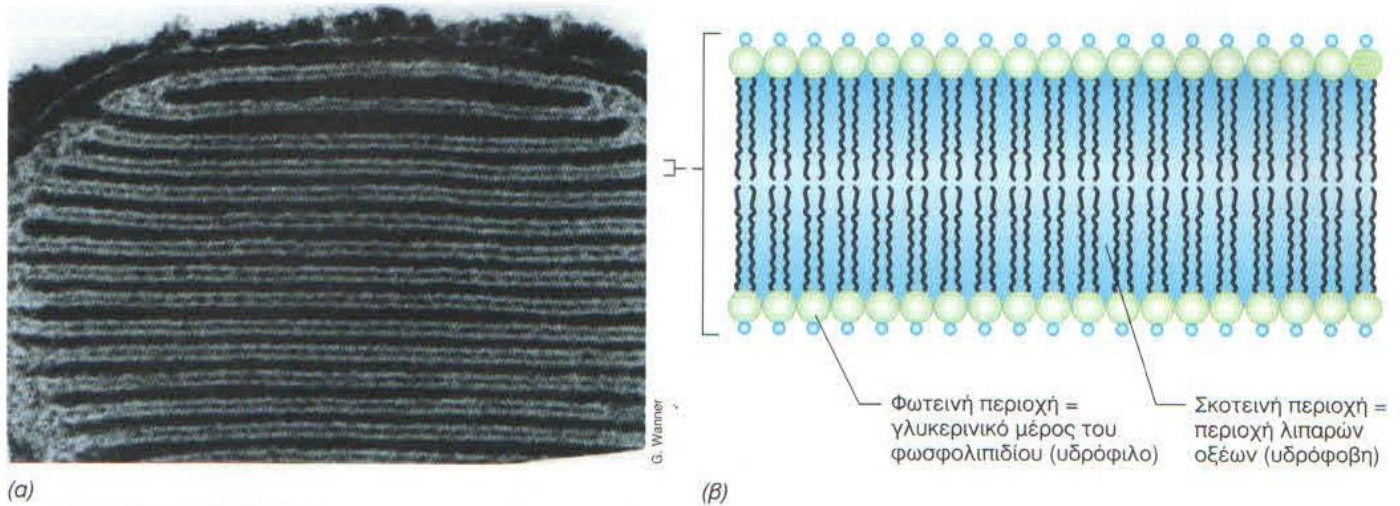
Εικόνα 4.15 Δομή μιας διπλοστιβάδας φωσφολιπιδίων. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη έχει πλάτος περί τα 8 nm (80 Å).

φονται το ένα προς το άλλο σε ένα υδρόφοβο περιβάλλον, ενώ τα υδρόφιλα μέρη παραμένουν εκτεθειμένα στο εξωτερικό υδρόφιλο περιβάλλον (Εικόνα 4.15). Η διπλοστιβάδα είναι, πιθανότατα, η σταθερότερη διευσθέτηση που μπορούν να υιοθετήσουν τα λιπιδικά μόρια σε ένα υδατικό περιβάλλον.

Με ηλεκτρονική μικροσκοπία είναι δυνατόν να γίνουν ορατές λεπτές τομές της κυτταροπλασματικής μεμβράνης: ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα δίνεται στην Εικόνα 4.16α. Με προσεκτική παρατήρηση, η μεμβράνη εμφανίζεται υπό τη μορφή δύο φωτεινών γραμμών που διαχωρίζονται από μια σκοτεινότερη ζώνη (Εικόνα 4.16α). Αυτή η **μοναδιαία μεμβράνη**, όπως αποκαλείται, συνίσταται από τη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων (Εικόνα 3.7) και από πρωτεΐνες ενσωματωμένες σε αυτήν (Εικόνα 4.17). Οι σημαντικότερες πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης έχουν εν γένει πολύ υδρόφοβες επιφάνειες σε περιοχές που διαπερνούν τη μεμβράνη και υδρόφιλες επιφάνειες σε περιοχές που εκτίθενται είτε στο εσωτερικό είτε στο εξωτερικό του κυττάρου (Εικόνα 4.17). Η συνολική δομή της μεμβράνης σταθεροποιείται με δεσμούς υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Επιπροσθέτως, κατιόντα όπως το Mg^{2+} και το Ca^{2+} βοηθούν στη σταθεροποίηση της μεμβράνης, σχηματίζοντας ιοντικούς δεσμούς με τα αρνητικά φορτία των φωσφολιπιδίων.

Άλλα γνωρίσματα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης

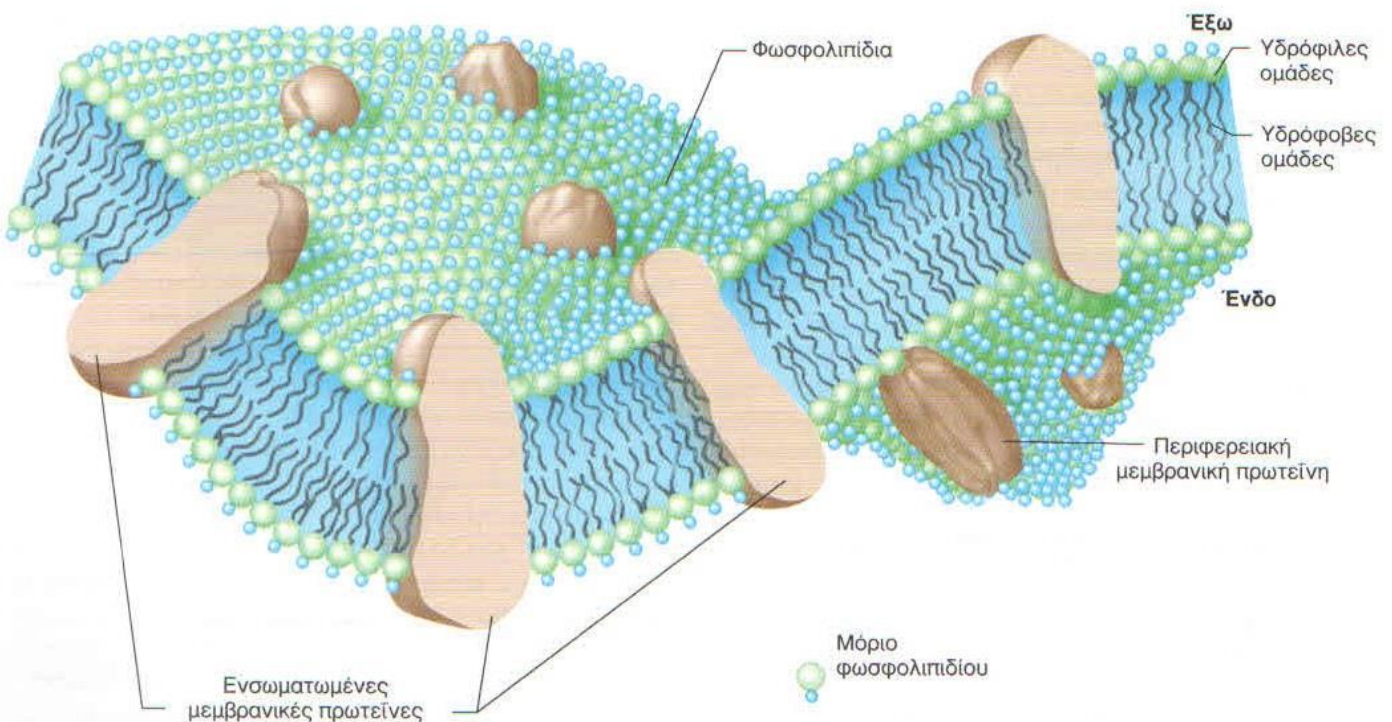
Η εξωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης είναι στραμμένη προς το περιβάλλον και, σε ορισμένα βακτήρια, αλληλεπιδρά άμεσα με άλλες πρωτεΐνες, όπως αυτές του περιπλάσματος (περιοχής ανάμεσα στην εσωτερική και την εξωτερική μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων· βλ. Τμήμα 4.9), οι οποίες δεσμεύουν υποστρώματα ή διασπούν μεγαλύτε-



Εικόνα 4.16 Η κυτταροπλασματική μεμβράνη. (α) 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 (α), υπό μεγέθυνση.

ρα μόρια σε μορφές προσλήψιμες από τα κύτταρα (βλ. Τμήματα 4.7 και 4.9). Η εσωτερική πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης είναι στραμμένη προς το κυτταρόπλασμα και αλληλεπιδρά με πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε εξώεργες αντιδράσεις ή άλλες σημα-

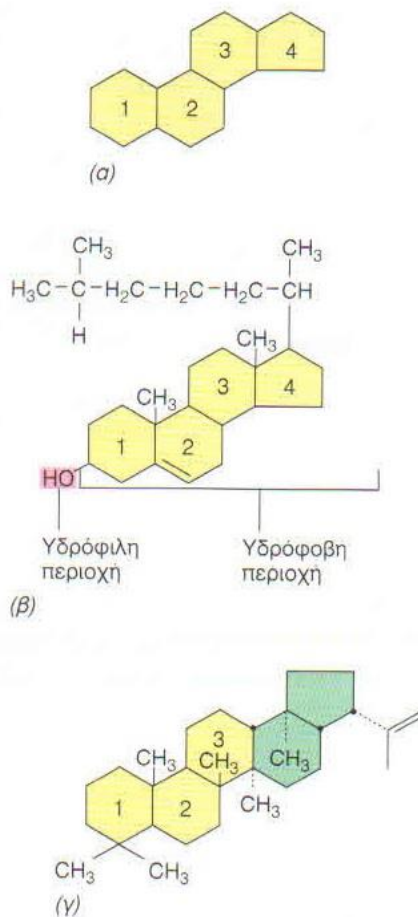
ντικές ενδοκυτταρικές λειτουργίες. Μερικές πρωτεΐνες, όπως οι περιπλασματικές και ορισμένες κυτταροπλασματικές, είναι δυνατόν να συνδέονται πολύ σταθερά με την επιφάνεια της μεμβράνης και ουσιαστικά να λειτουργούν ως μεμβρανοσύνδετες πρωτεΐνες. Αν



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 υδρόφιλη 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).

και δεν είναι οι ίδιες ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες, αλληλεπιδρούν άμεσα με τέτοιες σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Μερικές από αυτές τις αποκαλούμενες περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες είναι λιποπρωτεΐνες που περιέχουν στο αμινοτελικό άκρο τους λιπίδια, μέσω των οποίων προσδένονται σταθερά στη μεμβράνη.

Αν και σε διαγραμματική απεικόνιση φαίνεται κάπως άκαμπτη (Εικόνες 4.16 και 4.17), η κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι στην πραγματικότητα ρευστή: φωσφολιπίδια και πρωτεϊνικά μόρια έχουν σημαντική ελευθερία κινήσεων ως προς τη μεμβρανική επιφάνεια. Μετρήσεις ιξώδους δείχνουν ότι το ιξώδες των μεμβρανών προσεγγίζει αυτό ενός ελαφρού ελαίου. Οι μεμβράνες, επομένως, μπορούν να θεωρηθούν ως ρευστά μωσαϊκά όπου σφαιρικές πρωτεΐνες, προσανατολισμένες με ειδικό τρόπο, διαπερνούν μια ευκίνητη, αν και εύτακτη, διπλοστιβάδα λιπιδίων. Η διευθέτηση αυ-



Εικόνα 4.18 Στερόλες και οπανοειδή. (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 οπανοειδούς διπλοπτενίου. Προσέξτε τη δομική ομοιότητα μεταξύ χοληστερόλης και διπλοπτενίου στους δακτυλίους 1 έως 3. Στερόλες απαντούν στις μεμβράνες των ευκαρυωτών και οπανοειδή στις μεμβράνες ορισμένων προκαρυωτών.

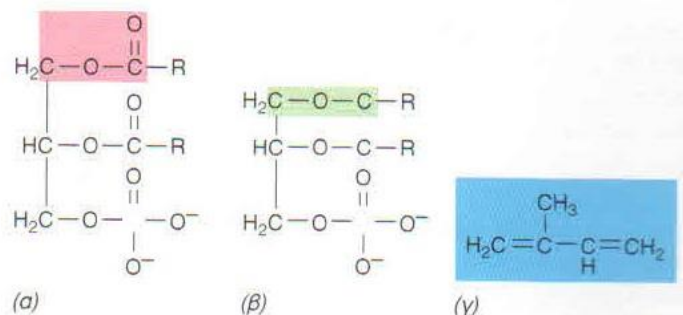
τή προσδίδει στις μεμβράνες έναν αριθμό σημαντικών λειτουργικών ιδιοτήτων, τις οποίες θα εξετάσουμε στην αμέσως επόμενη ενότητα.

Ενισχυτικοί παράγοντες της δομής των μεμβρανών: Στερόλες και οπανοειδή

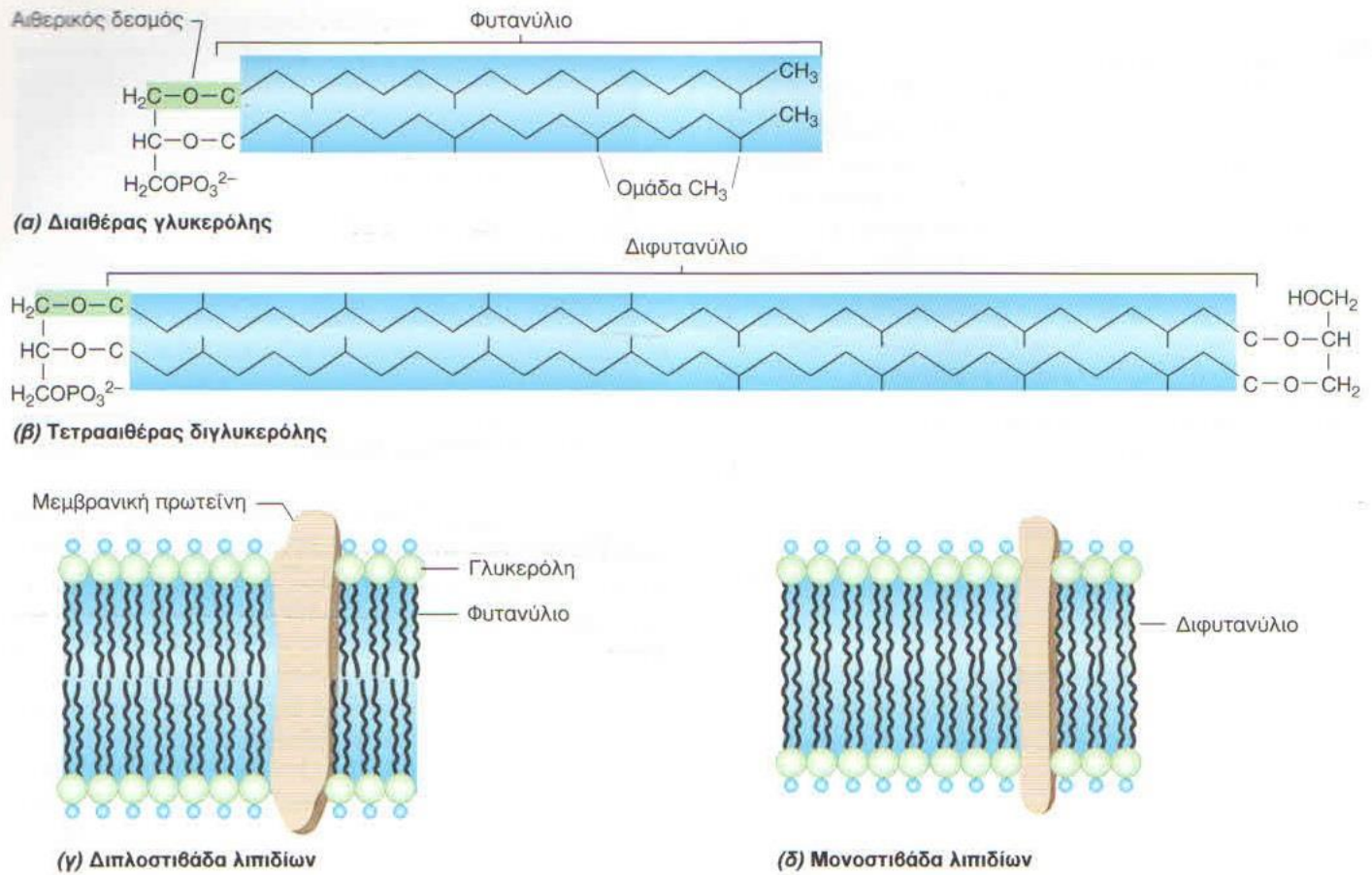
Μια βασική διαφορά μεταξύ ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών κυττάρων ως προς τη χημική σύνθεση των μεμβρανών είναι ότι τα ευκαρυωτικά κύτταρα έχουν στις μεμβράνες τους στερόλες (Εικόνα 4.18α, β), ενώ όλα σχεδόν τα προκαρυωτικά κύτταρα στερούνται στερολών (με εξαίρεση τα μεθανιότροφα βακτήρια και τα μυκοπλάσματα: ∞ Τμήματα 12.6 και 12.21). Ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο, οι στερόλες συνιστούν 5% ως 25% του συνόλου των λιπιδίων των ευκαρυωτικών μεμβρανών. Οι στερόλες είναι άκαμπτα, επίπεδα μόρια, σε αντίθεση με τα λιπαρά οξέα που είναι εύκαμπτα. Επομένως, η αλληλεπίδραση των στερολών με τη μεμβράνη σταθεροποιεί τη δομή της και μειώνει την ευκαμψία της. Τα οπανοειδή, μόρια παρόμοια με τις στερόλες, απαντούν στις μεμβράνες πολλών Βακτηρίων και παίζουν ρόλο ανάλογο με αυτόν που παίζουν στα ευκαρυωτικά κύτταρα οι στερόλες. Ένα από τα πιο κοινά οπανοειδή είναι το διπλοπτένιο, ένα οπανοειδές C₃₀ (4.18γ). Οπανοειδή, σύμφωνα με όσα είναι γνωστά έως σήμερα, δεν απαντούν στα Αρχαία.

Μεμβράνες των Αρχαίων

Τα λιπίδια των Αρχαίων χαρακτηρίζονται από χημική ιδιαιτερότητα. Σε αντίθεση με τα λιπίδια Βακτηρίων και Ευκαρυών, όπου τα λιπαρά οξέα συνδέονται στο μόριο της γλυκερόλης με εστερικούς δεσμούς (Εικόνα 4.19α: ∞ Τμήμα 3.4), τα λιπίδια των Αρχαίων έχουν αιθερικούς δεσμούς μεταξύ της γλυκερόλης και των υδρόφοβων πλευρικών αλυσίδων τους. Επιπροσθέτως, τα λιπίδια των Αρχαίων στερούνται λιπαρών οξέων: αντί αυ-



Εικόνα 4.19 Χημικοί δεσμοί σε λιπίδια. (α) Ο εστερικός δεσμός που απαντά στα λιπίδια των Βακτηρίων και των Ευκαρυών. (β) Ο αιθερικός δεσμός των λιπιδίων των Αρχαίων. (γ) Ισοπρένιο, η δομή από την οποία συνίστανται οι υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες (R) των λιπιδίων των Αρχαίων. Στα λιπίδια των Βακτηρίων και των Ευκαρυών, αντίθετα, οι ομάδες R είναι λιπαρά οξέα.



Εικόνα 4.20 Κύρια λιπίδια των Αρχαίων και δομή των μεμβρανών των Αρχαίων. (α) Διαιθέρες γλυκερόλης. (β) Τετρααιθέρες διγλυκερόλης. Παρατηρήστε ότι, και στις δύο περιπτώσεις, ο υδρογονάνθρακας προσδένεται στη γλυκερόλη μέσω αιθερικών δεσμών. Ο υδρογονάνθρακας είναι φυτανύλιο (C_{20}) στο (α) και διφυτανύλιο (C_{40}) στο (β). (γ, δ) Δομή των μεμβρανών των Αρχαίων. (γ) Διπλοστιβάδα λιπιδίων. (δ) Μονοστιβάδα λιπιδίων.

τών, έχουν πλευρικές αλυσίδες από επαναλαμβανόμενες μονάδες ισοπρενίου, ενός υδρογονάνθρακα C_5 (Εικόνα 4.19γ). Ωστόσο, η γενική δομή των μεμβρανών, με το υδρόφοβο εσωτερικό και τις εσωτερικές και εξωτερικές υδρόφιλες επιφάνειες, διατηρείται και στα Αρχαία.

Κύριες κατηγορίες λιπιδίων στα Αρχαία είναι οι διαιθέρες της γλυκερόλης και οι τετρααιθέρες της διγλυκερόλης (Εικόνα 4.20α, β). Στο μόριο του τετρααιθέρα, προσέξτε ότι οι πλευρικές αλυσίδες φυτανυλίου (δηλ. ομοιοπολικές αλυσίδες 4 ισοπρενίων) από το κάθε μόριο γλυκερόλης συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικό δεσμό (Εικόνα 4.20β). Μέσα στη μεμβρανική δομή, αυτή η μοριακή διάταξη οδηγεί σε μονοστιβάδα, όχι σε διπλοστιβάδα λιπιδίων (Εικόνα 4.20δ). Οι μονοστιβάδες λιπιδίων είναι εξαιρετικά ανθεκτικές σε απολέπιση, γεγονός που δικαιολογεί το ότι η συγκεκριμένη μεμβρανική δομή απαντά πολύ συχνά στα υπερθερμόφιλα Αρχαία, προκαρυώτες που αναπτύσσονται σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (Τμήματα 6.10 και 13.5-13.10). Η χημεία των μεμβρανικών λιπιδίων αποτελεί το κυριότερο μεταξύ πολλών γνωρισμάτων που διακρίνουν τα Αρχαία από τα Βακτήρια: το γνώρισμα αυτό, μά-

λιστα, χρησιμοποιείται για τη διάκριση των δύο φυλογενετικών ομάδων.

✓ 4.5 Έλεγχος εννοιών

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι ένας εξαιρετικά επιλεκτικός φραγμός διαπερατότητας, δομημένος από λιπίδια και πρωτεΐνες, ο οποίος σχηματίζει διπλοστιβάδα με υδρόφιλα εξωτερικά τμήματα και υδρόφοβο εσωτερικό. Άλλα μόρια, όπως οι στερόλες και τα οπανοειδή, μπορεί να ενισχύουν τη δομή της μεμβράνης, ενώ τη διαπερνούν ενσωματωμένες πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη διαμεμβρανική μεταφορά ουσιών ή σε άλλες λειτουργίες. Σε αντιδιαστολή προς τα Βακτήρια και τα Ευκάρυα, τα Αρχαία περιέχουν λιπίδια με αιθερικούς δεσμούς. Ορισμένα είδη Αρχαίων, μάλιστα, έχουν μεμβράνες με δομή μονοστιβάδας και όχι διπλοστιβάδας.

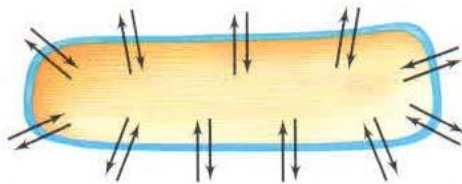
- ✓ Σχεδιάστε τη βασική δομή μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας.
- ✓ Γιατί συστατικά όπως οι στερόλες ή τα οπανοειδή σταθεροποιούν την κυτταροπλασματική μεμβράνη;
- ✓ Συγκρίνετε τη χημική σύνδεση της γλυκερόλης προς το υδρόφοβο μέρος των λιπιδίων των μεμβρανών μεταξύ Βακτηρίων και Αρχαίων.

4.6

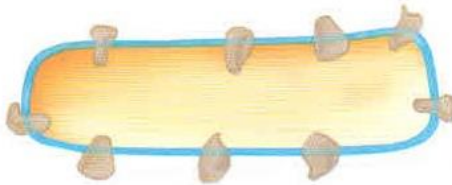
Κυτταροπλασματική μεμβράνη:
Λειτουργία

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη δεν είναι απλά ένας φραγμός που διαχωρίζει το εσωτερικό του κυττάρου από το εξωτερικό, αλλά παίζει κρίσιμο ρόλο σε πάρα πολλές κυτταρικές λειτουργίες. Κατ' αρχάς, λειτουργεί ως φραγμός διαπερατότητας, εμποδίζοντας την παθητική ροή κυτταροπλασματικών συστατικών από ή προς το εσωτερικό του κυττάρου (Εικόνα 4.21). Επιπροσθέτως, η μεμβράνη αποτελεί τη θέση λειτουργίας πολλών πρωτεϊνών, ορισμένες από τις οποίες είναι ένζυμα, ενώ πολλές από αυτές συμμετέχουν με κάποιον τρόπο στη μεταφορά ουσιών προς το εσωτερικό ή το εξωτερικό του κυττάρου.

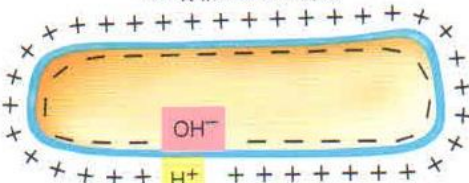
Όπως θα αναλυθεί στο Κεφάλαιο 5, η κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι επίσης μια θέση διατήρησης ενέργειας μέσα στο κύτταρο. Μπορεί δηλ. να βρίσκεται σε ενεργειακά «φορτισμένη» μορφή, στην οποία πρωτόνια (H^+) διαχωρίζονται από υδροξυλιόντα (OH^-) εκατέρωθεν της μεμβράνης (Εικόνα 4.21). Αυτός ο διαχωρισμός φορτίων αποτελεί μια μορφή ενέργειας, ανάλογη με τη δυναμική ενέργεια που διαθέτει μια φορτισμένη ηλεκτρική συστοιχία (μπαταρία). Αυτή η ενεργ-



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

γοποιημένη κατάσταση της μεμβράνης, γνωστή με την ονομασία *πρωτονιογενετική δύναμη* (Proton Motive Force: PMF), είναι υπεύθυνη για την προώθηση πολλών ενδό-εργων λειτουργιών του κυττάρου, όπως είναι ορισμένοι τύποι διαμεμβρανικής μεταφοράς, η κίνηση μέσω μαστιγίου, και η βιοσύνθεση του ATP, δηλαδή της ουσίας που λειτουργεί ως ενεργειακό νόμισμα στο εσωτερικό του κυττάρου (Εικόνα 4.21).

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη ως φραγμός διαπερατότητας

Το εσωτερικό του κυττάρου (κυτταρόπλασμα) αποτελείται από ένα υδατικό διάλυμα αλάτων, σακχάρων, αμινοξέων, βιταμινών, συνενζύμων, και πολλών άλλων διαλυτών συστατικών. Λόγω της υδρόφοβης φύσης του εσωτερικού της, η κυτταροπλασματική μεμβράνη συνιστά ισχυρό φραγμό διαπερατότητας: αν και ορισμένα μικρά υδρόφοβα μόρια μπορεί να διαπερνούν τη μεμβράνη με διάχυση, τα υδρόφιλα και τα φορτισμένα μόρια δεν μπορούν να περνούν ελεύθερα, αλλά πρέπει να μεταφέρονται μέσω ειδικών διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Ακόμη και το εξαιρετικά μικρό σε μέγεθος ιόν υδρογόνου (H^+) είναι αδύνατον να διαχέεται ελεύθερα μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Ωστόσο, ένα από τα μόρια που μπορεί να διαπερνά τη μεμβράνη είναι το ίδιο το νερό, καθώς έχει αρκετά μικρό μέγεθος ώστε να περνά ανάμεσα από τα μόρια των φωσφολιπιδίων. Η μεταφορά νερού, πάντως, μπορεί να επιταχυνθεί σημαντικά από ειδικούς διαμεμβρανικούς μεταφορείς νερού, τις *υδατοπορίνες*. Οι πρωτεΐνες αυτές, που απαντούν σε όλους τους έμβιους οργανισμούς, συνίστανται από διαμεμβρανικά κανάλια, ειδικά για τη μεταφορά νερού από και προς το κυτταρόπλασμα. Η υδατοπορίνη AqpZ της *Escherichia coli*, για παράδειγμα, είναι μια (όχι απαραίτητη) πρωτεΐνη, της οποίας η σύνθεση επάγεται υπό συνθήκες υποσμωτικές. Είναι, επομένως, πιθανόν ότι η AqpZ λειτουργεί κυρίως ως *εξαγωγός* και όχι ως *εισαγωγός* νερού, ώστε να προφυλάσσει το κύτταρο από το υποσμωτικό σοκ.

Η σχετική διαπερατότητα ορισμένων βιολογικά σημαντικών ουσιών παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.1. Όπως είναι εμφανές, οι περισσότερες από τις ουσίες αυτές δεν μπορούν να εισέρχονται ελεύθερα στο κύτταρο: επομένως, οι διεργασίες της *διαμεμβρανικής μεταφοράς* τους είναι εξαιρετικά κρίσιμες για τη λειτουργία του κυττάρου.

Η αναγκαιότητα των διαμεμβρανικών μεταφορέων

Οι πρωτεΐνες μεταφοράς δεν μεταφέρουν απλώς ουσίες από τη μια πλευρά της μεμβράνης στην άλλη: έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν τις ουσίες στο εσωτερικό του κυττάρου, ακόμη και *αντίθετα* προς τη διαβάθμιση συγκέντρωσής τους. Η αναγκαιότητα της ύπαρξης πρωτεϊνών μεταφοράς στους μικροοργανισμούς εί-

Εικόνα 4.21 Οι κύριες λειτουργίες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1 Σχετική διαπερατότητα μεμβρανών έναντι διαφόρων μορίων

Χημική ουσία	Ταχύτητα διαπερατότητας ^a
Νερό	100
Γλυκερόλη	0,1
Τρυπτοφάνη	0,001
Γλυκόζη	0,001
Ιόν κλωρίου (Cl ⁻)	0,000001
Ιόν καλίου (K ⁺)	0,0000001
Ιόν νατρίου (Na ⁺)	0,00000001

^a Σχετική κλίμακα - ποσοστιαία διαπερατότητα σε σχέση με την τιμή διαπερατότητας του νερού που ορίζεται ως 100. Η διαπερατότητα της μεμβράνης έναντι του νερού μπορεί να επηρεάζεται από τις υδατοπορίνες (βλ. κείμενο).

ναι ευνόητη. Πράγματι, αν τα κύτταρα δεν είχαν άλλο τρόπο για να προσλαμβάνουν θρεπτικές ουσίες πλην της διάχυσης, δεν θα μπορούσαν ποτέ να επιτύχουν τα υψηλά επίπεδα ενδοκυτταρικών συγκεντρώσεων που είναι αναγκαία για τις βιοχημικές αντιδράσεις του μεταβολισμού. Ο ρυθμός πρόσληψης και τα ενδοκυτταρικά επίπεδα των διαχεόμενων ουσιών εξαρτώνται ευθέως από την εξωτερική τους συγκέντρωση (Εικόνα 4.22). Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις θρεπτικών ουσιών στη φύση είναι συχνά πολύ χαμηλές. Τα κύτταρα θα πρέπει να έχουν μηχανισμούς για να συσσωρεύουν τα θρεπτικά υλικά σε επίπεδα υψηλότερα από εκείνα που υπάρχουν στη φύση: αυτοί οι μηχανισμοί συσσώρευσης είναι έργο των πρωτεϊνών μεταφοράς. Σε αντιδιαστολή προς την απλή διάχυση, η διαμεσολαβούμενη μεταφορά ουσιών παρουσιάζει ένα *φαινόμενο κορεσμού*:



Εικόνα 4.22 Σχέση ταχύτητας πρόσληψης και εξωτερικής συγκέντρωσης στις διεργασίες της απλής διάχυσης και της διαμεσολαβούμενης μεταφοράς. Σημειώστε ότι στην περίπτωση της διαμεσολαβούμενης μεταφοράς η ταχύτητα πρόσληψης εμφανίζει κορεσμό σε σχετικά χαμηλές τιμές εξωτερικής συγκέντρωσης.

όταν η συγκέντρωση υποστρώματος υπερβεί κάποιο όριο κορεσμού του μεταφορέα (πράγμα που συμβαίνει συχνά, ακόμη και σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις), η ταχύτητα πρόσληψης γίνεται μέγιστη και δεν μπορεί να αυξηθεί, όσο επιπλέον υπόστρωμα και αν προστεθεί (Εικόνα 4.22).

Ένα χαρακτηριστικό της διαμεσολαβούμενης μεταφοράς είναι η *υψηλή εξειδίκευση* των πρωτεϊνικών μεταφορέων. Πολλοί μεταφορείς αναγνωρίζουν ένα μόνο είδος μορίου, ενώ άλλοι αναγνωρίζουν μια σειρά μορίων της ίδιας χημικής οικογένειας. Υπάρχουν, παραδείγματος χάριν, μεταφορείς που μεταφέρουν όχι ένα, αλλά σημαντικό αριθμό δομικά συγγενών σακχάρων ή αμινοξέων. Αυτή η «εξοικονόμηση» στα συστήματα πρόσληψης σημαίνει ότι δεν απαιτούνται διαφορετικές πρωτεΐνες μεταφοράς για κάθε διαφορετικό αμινοξύ ή σάκχαρο που χρειάζεται να προσλάβει το κύτταρο. Επιπροσθέτως, το κύτταρο *ρυθμίζει* τη σύνθεση των πρωτεϊνών μεταφοράς ανάλογα με το είδος των διαθέσιμων θρεπτικών ουσιών και τη συγκέντρωσή τους. Ο παράγοντας της συγκέντρωσης είναι σημαντικός, διότι συχνά υφίστανται δύο τύποι μεταφορέων για την ίδια ουσία, ένας μεταφορέας όταν η ουσία βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση και ένας άλλος, υψηλότερης συγγένειας, όταν η ουσία απαντά σε χαμηλή συγκέντρωση.

✓ 4.6 Έλεγχος εννοιών

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη λειτουργεί κυρίως ως φραγμός διαπερατότητας, εμποδίζοντας τη διαροή κυτταροπλασματικών μεταβολιτών προς το περιβάλλον. Η εκλεκτική διαπερατότητα της μεμβράνης εμποδίζει τη διάχυση των περισσότερων διαλυτών ουσιών. Για να επιτευχθεί η συσσώρευση θρεπτικών συστατικών αντίθετα προς τη διαβάθμιση συγκέντρωσης, λειτουργούν ειδικοί μηχανισμοί μεταφοράς.

- ✓ Ποιες άλλες λειτουργίες έχει η κυτταροπλασματική μεμβράνη πλην της διαπερατότητας;
- ✓ Αναφέρετε δύο λόγους για τους οποίους το κύτταρο δεν μπορεί να στηρίζεται στην απλή διάχυση για την πρόσληψη των απαραίτητων θρεπτικών ουσιών.
- ✓ Γιατί αποτελεί η ενδεχόμενη φθορά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης σοβαρότερο πρόβλημα για το κύτταρο απ' ό,τι η φθορά ενός άλλου κυτταρικού συστατικού;

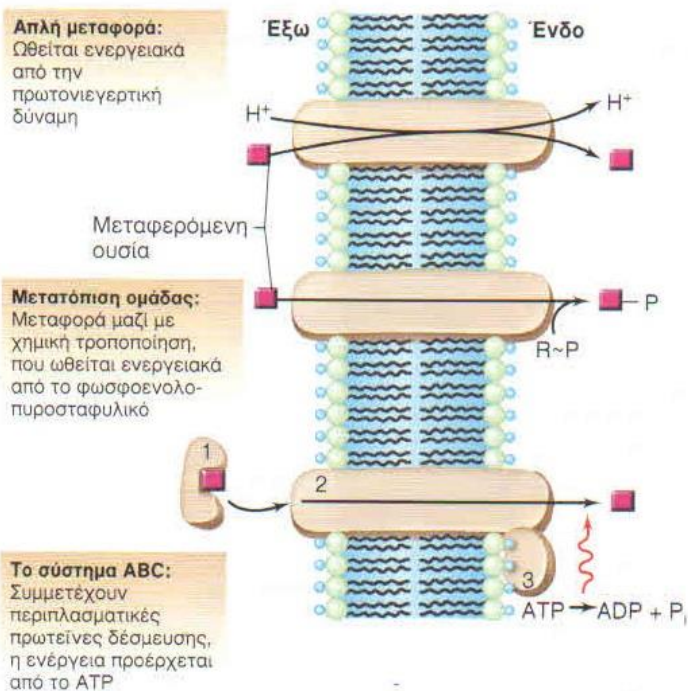
4.7 Μεμβρανικά συστήματα μεταφοράς

Όπως προαναφέρθηκε, η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και η αποβολή περιττών ουσιών είναι σημαντικότερες λειτουργίες στη ζωή κάθε κυττάρου. Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, έχουν αναπτυχθεί πολλά διαφορετικά συστήματα διαμεμβρανικής μεταφοράς, τις κυριότερες κατηγορίες των οποίων θα εξετάσουμε ευθύς αμέσως.

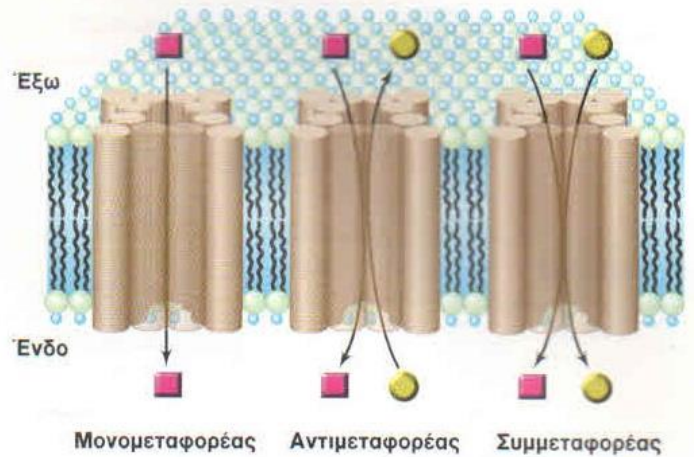
Δομή και λειτουργία των μεμβρανικών πρωτεϊνών μεταφοράς

Υπάρχουν τρεις τουλάχιστον τύποι διαμεμβρανικών συστημάτων μεταφοράς: αυτά που χρησιμοποιούν ένα διαμεμβρανικό πρωτεϊνικό στοιχείο και μόνο, αυτά που χρησιμοποιούν ένα διαμεμβρανικό και ένα περιπλασματικό στοιχείο, και εκείνα τα οποία χρησιμοποιούν μια ολόκληρη σειρά πρωτεϊνών που δρουν συνεργιστικά για τη διεκπεραίωση του έργου της μεταφοράς, όπως συμβαίνει στα συστήματα φωσφοτρανσφεράσης (Εικόνα 4.23). Όλα αυτά τα συστήματα μεταφοράς απαιτούν ενέργεια, που μπορεί να παρασχεθεί υπό τη μορφή είτε πρωτονιοεγερτικής δύναμης, είτε άλλης χημικής ένωσης υψηλής ενέργειας.

Οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες όλων σχεδόν των βακτηριακών συστημάτων μεταφοράς εμφανίζουν σημαντικές ομοιότητες στην πρωτοταγή και δευτεροταγή δομή τους, γεγονός που μαρτυρεί την κοινή εξελικτική τους προέλευση. Ως προς τη δομή, οι μεταφορείς αυτοί έχουν συνήθως 12 α-έλικες (☞ Τμήμα 3.7) που διατρέχουν εναλλάξ τη μεμβράνη από την εσωτερική και την εξωτερική της πλευρά, σχηματίζοντας ένα διαμεμβρανικό κανάλι μεταφοράς για τη μεταφερόμενη ουσία (Εικόνα 4.24). Η μεταφορά στην πράξη επιτυγχάνεται με μια ειδική αλλαγή της πρωτεϊνικής στερεοδιάταξης, η οποία επάγεται από τη δέσμευση του υποστρώματος και, στη συνέχεια, ωθεί την ουσία διά μέσου της μεμβράνης.



Εικόνα 4.23 Οι τρεις τύποι διαμεμβρανικών συστημάτων μεταφοράς. Προσέξτε ότι οι απλοί μεταφορείς και το σύστημα μεταφοράς ABC μεταφέρουν χωρίς να τροποποιούν χημικώς τα υποστρώματά τους, ενώ η μετατόπιση ομάδας οδηγεί σε μεταφορά και, συγχρόνως, σε χημική τροποποίηση (φωσφορυλίωση) της μεταφερόμενης ουσίας.

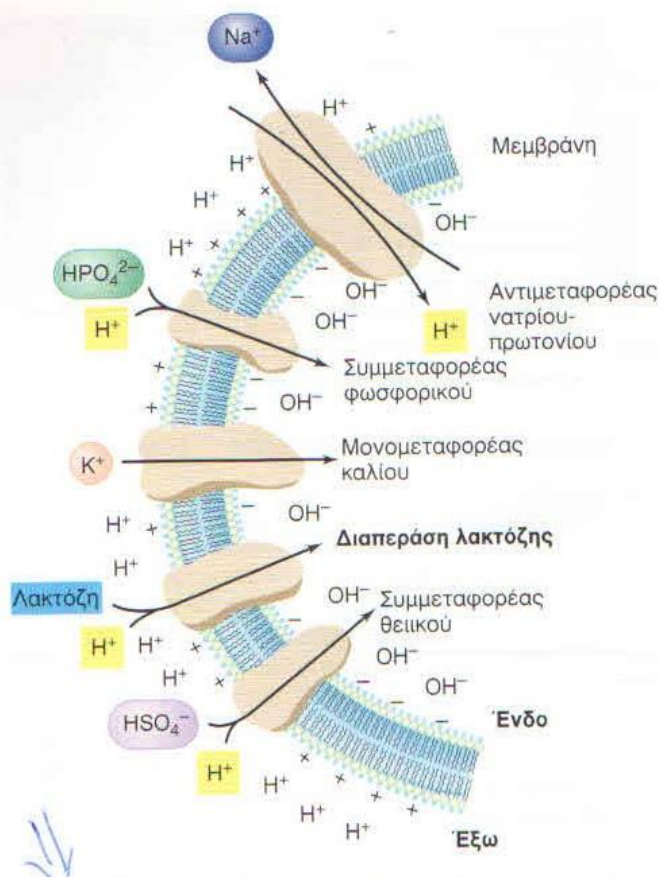


Εικόνα 4.24 Δομή διαμεμβρανικών μεταφορέων και τύποι μεταφοράς. Στους προκαρυώτες, οι διαμεμβρανικοί μεταφορείς τυπικά περιέχουν 12 α-έλικες που διαμορφώνουν μια δίοδο (κανάλι) διά μέσου της μεμβράνης. Απεικονίζονται οι τρεις διαφορετικοί τύποι μεταφορέων. Για τους αντιμεταφορείς και τους συμμεταφορείς,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

Οι απαντώμενοι τύποι μεταφοράς συνοψίζονται στην Εικόνα 4.24. *Μονομεταφορείς* είναι πρωτεΐνες που απλώς μεταφέρουν ένα μόριο διά μέσου της μεμβράνης προς μία κατεύθυνση. *Συμμεταφορείς* είναι πρωτεΐνες που μεταφέρουν μια ουσία μαζί με κάποια άλλη ουσία, συνήθως ένα πρωτόνιο (H^+). *Αντιμεταφορείς* είναι πρωτεΐνες που μεταφέρουν μια ουσία προς μία κατεύθυνση και ταυτόχρονα μεταφέρουν μια δεύτερη ουσία προς την αντίθετη κατεύθυνση (Εικόνα 4.24).

Διαπεράση λακτόζης: ένας απλός μεταφορέας

Το βακτήριο *Escherichia coli* μπορεί να αναπτύσσεται με πηγή θρέψης τον δισακχαρίτη λακτόζη. Η λακτόζη προσλαμβάνεται από τα κύτταρα της *E. coli* μέσω ενός ειδικού συμμεταφορέα, της διαπεράσης λακτόζης. Η διαπεράση λακτόζης είναι τυπικός συμμεταφορέας: μεταφέρει ένα μόριο λακτόζης μαζί με ένα πρωτόνιο, ανά κύκλο λειτουργίας του. Στην Εικόνα 4.25, η δράση της διαπεράσης αντιπαραβάλλεται προς τη δράση άλλων απλών μεταφορέων, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται μονομεταφορείς και αντιμεταφορείς. Προσέξτε ότι καθώς τα μόρια λακτόζης μεταφέρονται από τη διαπεράση λακτόζης, η ενέργεια της πρωτονιοεγερτικής δύναμης μειώνεται σταδιακά λόγω της εισροής πρωτονίων στο κύτταρο. Η πρωτονιοεγερτική δύναμη, όμως, αναγεννάται διαρκώς μέσω εξώεργων αντιδράσεων, τις οποίες θα εξετάσουμε σε επόμενα κεφάλαια (☞ Κεφάλαια 5 και 17). Ως τελικό αποτέλεσμα, ένας απλός μεταφορέας όπως η διαπεράση λακτόζης οδηγεί σε συσσώρευση μιας διαλυμένης ουσίας (εν προκειμένω, λακτόζης) σε υψηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις που επιτρέπουν στο κύτταρο να ωφεληθεί ενεργειακά από τον μεταβολισμό της ουσίας αυτής.



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 σφαιρίνης, αλλά στην πραγματικότητα είναι όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 4.24.

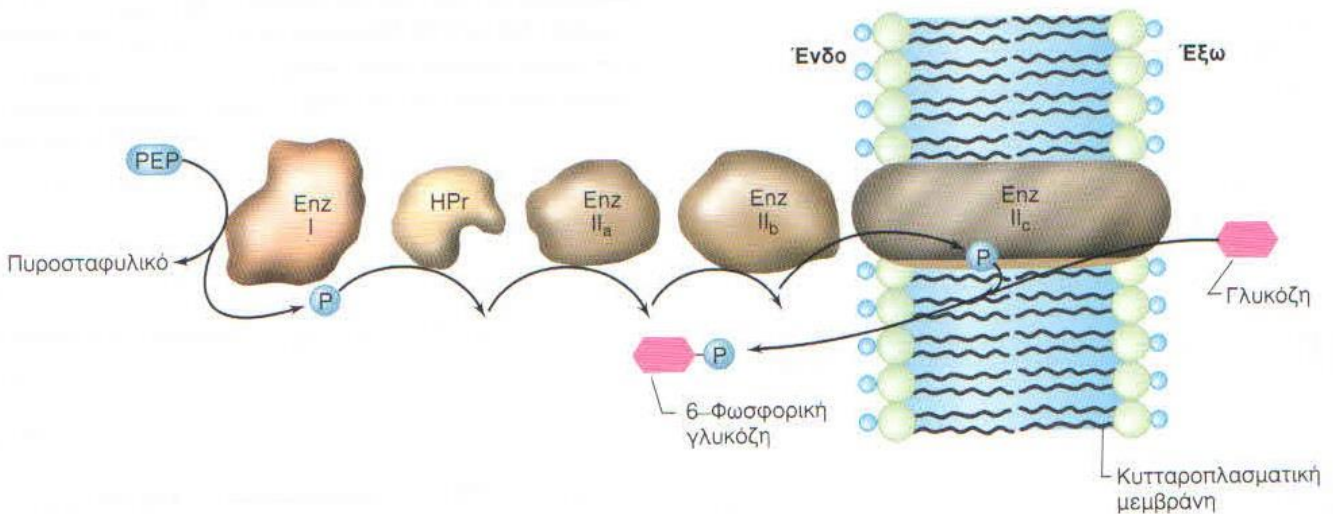
Μετατόπιση ομάδας

Η μετατόπιση ομάδας είναι μια διεργασία μεταφοράς, στην οποία η μεταφερόμενη ουσία τροποποιείται χημικά

κατά τη διέλευσή της μέσω της μεμβράνης. Οι καλύτερα μελετημένες περιπτώσεις μετατόπισης ομάδας είναι αυτές του **συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης**, με το οποίο μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου και συγχρόνως φωσφορυλιώνονται τα σάκχαρα γλυκόζη, μααννόζη, και φρουκτόζη.

Στο βακτήριο *Escherichia coli*, το σύστημα της φωσφοτρανσφεράσης συνίσταται από μια σειρά πρωτεϊνών, εκ των οποίων απαιτούνται τουλάχιστον 4 για τη μεταφορά ενός συγκεκριμένου σακχάρου. Πριν από τη μεταφορά, οι ίδιες οι πρωτεΐνες του συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης φωσφορυλιώνονται και αποφωσφορυλιώνονται εναλλάξ, μεταφέροντας τελικά τη φωσφορική ομάδα σε μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, γνωστή με την ονομασία Ένζυμο Π_c. Αυτή με τη σειρά της φωσφορυλιώνει το μεταφερόμενο σάκχαρο κατά τη διάρκεια της μεταφοράς (Εικόνα 4.26). Από τα συνιστώσα στοιχεία του συστήματος, η μικρή πρωτεΐνη HPr, το ένζυμο φωσφορυλίωσης της HPr (Ένζυμο I) και το Ένζυμο Π_a είναι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, ενώ το Ένζυμο Π_b βρίσκεται στην εσωτερική πλευρά της μεμβράνης, και το Ένζυμο Π_c είναι μια ενσωματωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη (Εικόνα 4.26). Ειδικότητα ως προς το μεταφερόμενο σάκχαρο εμφανίζουν μόνο τα Ένζυμα Π_a, ενώ η HPr και το Ένζυμο I είναι μη ειδικές υπομονάδες του συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης, που συμμετέχουν στην πρόσληψη πολλών διαφορετικών σακχάρων.

Ο υψηλής ενέργειας φωσφορικός δεσμός που παρέχει την ενέργεια για το σύστημα της φωσφοτρανσφεράσης προέρχεται από ένα κομβικό μεταβολικό ενδιάμεσο, το *φωσφοενολοπυροσταφυλικό*. Θα πρέπει να τονισθεί ότι, αν και κατά τη λειτουργία του συστήματος καταναλώνεται ένας δεσμός υψηλής ενέργειας ανά μόριο μεταφερόμενης γλυκόζης (Εικόνα 4.26), η προκύ-



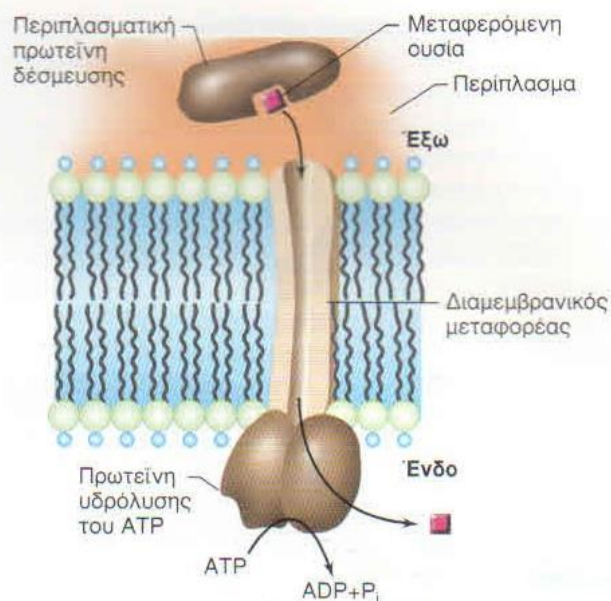
Εικόνα 4.26 Μηχανισμός του συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης της *Escherichia coli*. Όσον αφορά την πρόσληψη γλυκόζης, το σύστημα συνίσταται από 5 πρωτεΐνες: Ένζυμο (Enz) I· ένζυμο Π_a, Π_b, και Π_c· και πρωτεΐνη HPr. Μια φωσφορική ομάδα μεταφέρεται διαδοχικά από το φωσφοενολοπυροσταφυλικό (PEP) προς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

πλουσα φωσφορυλίωση της γλυκόζης προς 6-φωσφορική γλυκόζη αποτελεί ούτως ή άλλως το πρώτο βήμα για τον ενδοκυτταρικό μεταβολισμό της γλυκόζης (Τμήμα 5.10). Επομένως, το σύστημα της φωσφοτρανσφεράσης προετοιμάζει τα μόρια της γλυκόζης για την άμεση είσοδό τους στην κεντρική μεταβολικό οδό της γλυκόλυσης.

Διαμεμβρανική μεταφορά εξαρτώμενη από περιπλασματικές πρωτεΐνες δέσμησης: Το σύστημα ABC

Όπως θα αναλυθεί στο Τμήμα 4.9 του παρόντος κεφαλαίου, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια διαθέτουν –εκτός από την κυτταροπλασματική μεμβράνη– και μια εξωτερική, πλούσια σε λιπίδια μεμβρανική στιβάδα: ο χώρος μεταξύ των δύο αυτών μεμβρανών καλείται *περίπλασμα* (βλ. Εικόνα 4.36). Το περίπλασμα περιέχει διάφορες πρωτεΐνες, πολλές εκ των οποίων συμμετέχουν σε μηχανισμούς μεταφοράς· αυτές είναι γνωστές ως *περιπλασματικές πρωτεΐνες δέσμησης*. Τα συστήματα μεταφοράς που χρησιμοποιούν περιπλασματικές πρωτεΐνες δέσμησης διαθέτουν επίσης διαμεμβρανικές υπομονάδες, οι οποίες φέρουν εις πέρας το έργο της μεταφοράς, καθώς και μια τρίτη υπομονάδα που παρέχει την απαιτούμενη ενέργεια, μέσω υδρόλυσης του ATP. Αυτοί οι τύποι μεταφορέων έχουν ονομασθεί **συστήματα μεταφοράς ABC**, (**A**TP-**B**inding **C**assette, κασέτα δέσμησης ATP). Ο μηχανισμός λειτουργίας των μεταφορέων ABC παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.27.

Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 200 διαφορετικά συστήματα ABC: η δομική ανάλυση των επιμέρους λειτουργικών στοιχείων των συστημάτων αυτών δείχνει πως όλα προέρχονται από μια κοινή *οικογένεια* πρωτεϊνών. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον γνώρισμα των συστημάτων ABC είναι ότι οι περιπλασματικές πρωτεΐνες δέσμησης τις οποίες διαθέτουν έχουν εξαιρετικά υψηλή συγγένεια υποστρώματος. Οι πρωτεΐνες αυτές μπορούν να μετακινούνται στον χώρο του περιπλάσματος και μπορούν να δεσμεύουν τα υποστρώματά τους ακόμη και όταν οι συγκεντρώσεις υποστρώματος είναι εξαιρετικά χαμηλές, π.χ. ακόμη και χαμηλότερες από 1 μM (10^{-6} M). Μετά την παγίδευση του υποστρώματος από την περιπλασματική πρωτεΐνη δέσμησης, το σύμπλεγμα πρωτεΐνης-υποστρώματος αλληλεπιδρά με τον αντίστοιχο διαμεμβρανικό μεταφορέα και, με την ενέργεια που παρέχει η υδρόλυση του ATP, διενεργείται η μεταφορά μέσω της μεμβράνης (Εικόνα 4.27). Παρόμοια συστήματα μεταφοράς υπάρχουν και σε πολλά θετικά κατά Gram βακτήρια. Στα βακτήρια αυτά, που δεν έχουν περίπλασμα, οι ειδικές πρωτεΐνες δέσμησης δεν είναι κινητές, αλλά βρίσκονται αγκυροβολημένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Κατά τα άλλα, όμως, λειτουργούν όπως οι αντίστοιχες πρωτεΐνες δέσμησης των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

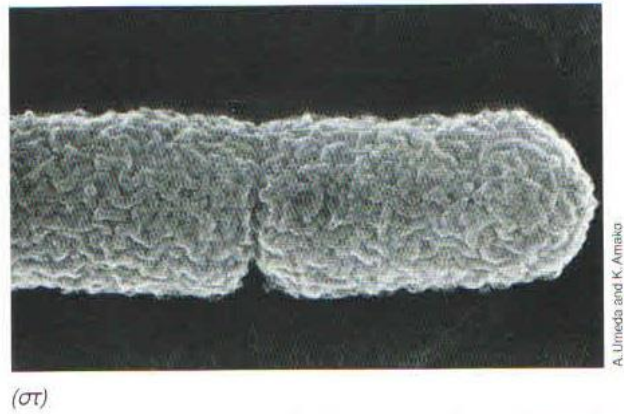
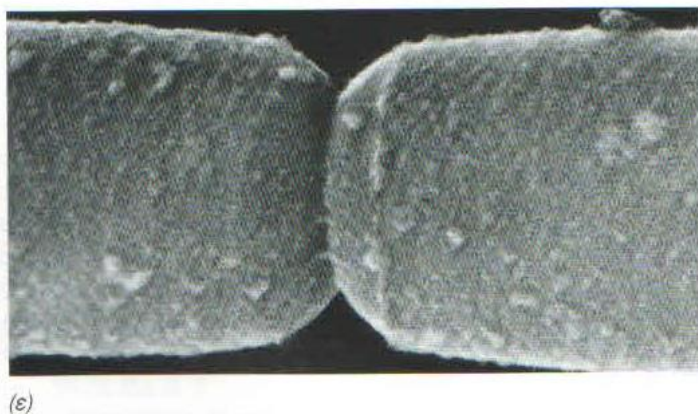
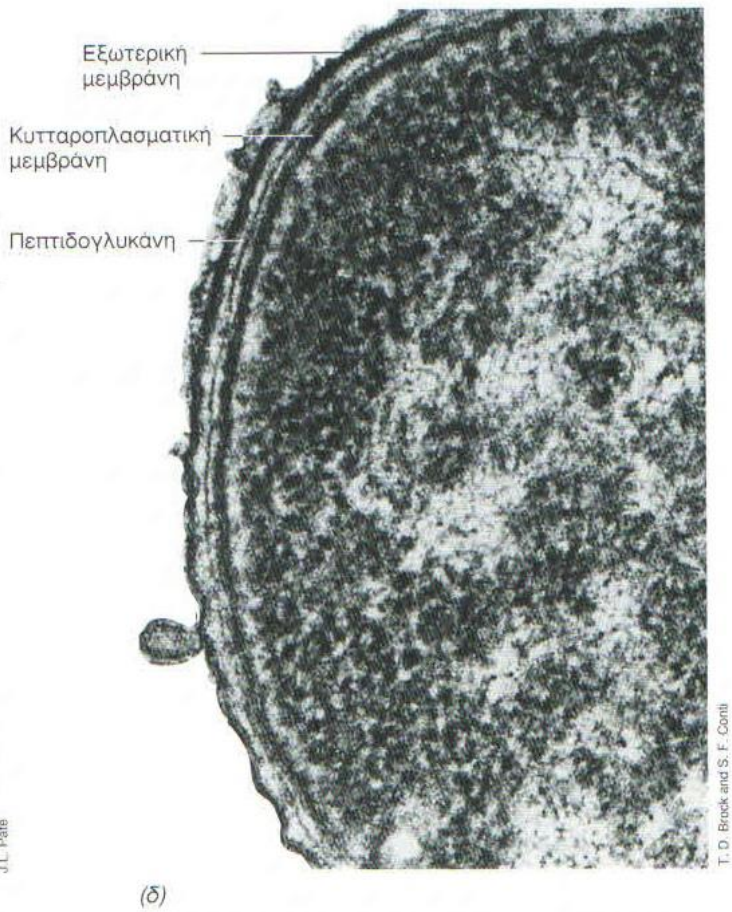
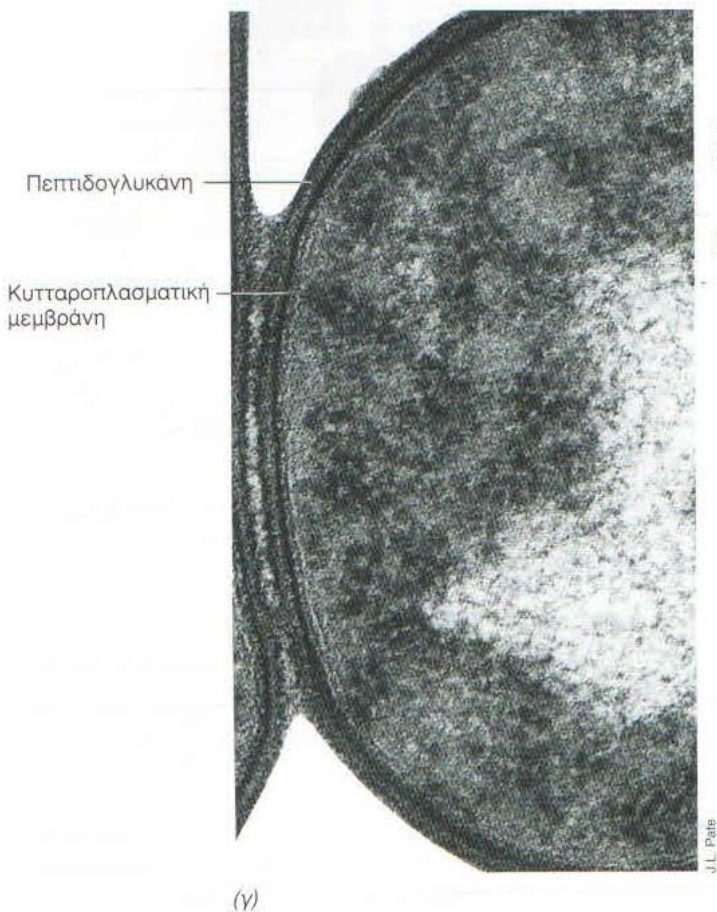
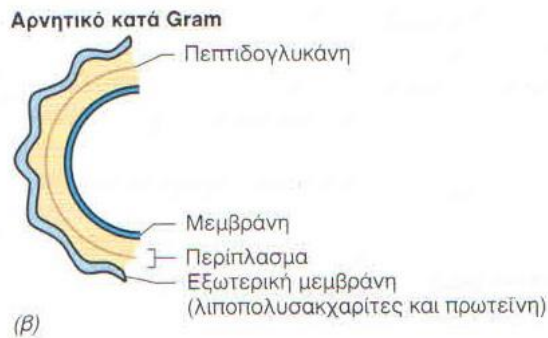


Εικόνα 4.27 Μηχανισμός ενός μεταφορέα ABC (κασέτας δέσμησης ATP). Η περιπλασματική πρωτεΐνη δέσμησης έχει υψηλή συγγένεια προς το υπόστρωμα, κανάλι μεταφοράς είναι η διαμεμβρανική πρωτεΐνη, ενώ την ενέργεια που απαιτεί το έργο της μεταφοράς παρέχει η πρωτεΐνη υδρόλυσης του ATP. Παρόδειγμα συστήματος μεταφοράς ABC είναι ο μεταφορέας μαλτόζης της *Escherichia coli*.

Έκκριση πρωτεϊνών

Έως τώρα έχουμε αναφερθεί στη μεταφορά των μικρών μορίων. Πώς διενεργείται, όμως, η μεταφορά των μεγάλων μορίων, π.χ. των πρωτεϊνών; Πολλές πρωτεΐνες, για να επιτελέσουν τη λειτουργία τους, χρειάζεται είτε να μεταφερθούν *έξω* από τα όρια της μεμβράνης είτε να ενσωματωθούν με ειδικό τρόπο σε αυτήν. Στα βακτήρια, η μετατόπιση πρωτεϊνών διενεργείται από άλλες πρωτεΐνες, τις αποκαλούμενες *μετατοπάσες* (translocases): ένα από τα κύρια συστήματα μετατοπασών είναι το σύστημα Sec [από την αγγλική λέξη secretion (έκκριση)]. Η μετατοπάση SecY/E/G/A, μια μεμβρανική πρωτεΐνη, εκκρίνει ορισμένες πρωτεΐνες, ενώ συγχρόνως ενθέτει άλλες εντός της μεμβράνης με έναν συγκεκριμένο προσανατολισμό, συμβατό προς τη λειτουργία τους. Αν και ορισμένες μετατοπάσες εμφανίζουν μεγάλη εξειδίκευση δράσης, η SecY/E/G/A, που απαντά ευρέως στους προκαρυώτες, είναι ικανή να μετατοπίζει πολλές διαφορετικές πρωτεΐνες. Το πώς διακρίνονται μεταξύ των άλλων πρωτεϊνών εκείνες που προορίζονται να λειτουργήσουν ως πρωτεΐνες μεταφοράς είναι ένα θέμα που θα μας απασχολήσει σε επόμενο κεφάλαιο (Τμήμα 7.16) [βλ. επίσης Παράρτημα 3, Σ.τ.Ε.Ε. 4].

Η έκκριση πρωτεϊνών έχει μεγάλη σημασία για τα βακτήρια, διότι πολλά βακτηριακά ένζυμα λειτουργούν εκτός του κυττάρου. Υδρολυτικά ένζυμα, όπως αμυλάσες ή κυτταρινάσες, απεκκρίνονται απευθείας στο εξω-



Εικόνα 4.28 Κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων. (α, β) Σχεδιαγράμματα θετικών και αρνητικών κατά Gram κυτταρικών τοιχωμάτων. (γ) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα που δείχνει το κυτταρικό τοίχωμα ενός θετικού κατά Gram βακτηρίου, του *Arthrobacter crystallopoietes*. (δ) Ένα αρνητικό κατά Gram βακτήριο, το *Leucothrix mucor*. (ε, στ) Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα σάρωσης ενός βακτηρίου θετικού κατά Gram (*Bacillus subtilis*) και ενός αρνητικού κατά Gram (*Escherichia coli*). Παρατηρήστε την υφή επιφανείας στα κύτταρα των (ε) και (στ). Διάμετρος ενός κυττάρου *B. subtilis* ή *E. coli*: περί το 1 μm.

τερικό περιβάλλον του κυττάρου, όπου διασπών το άμυλο ή την κυτταρίνη –αντίστοιχα (Εικόνα 3.6β)– προς γλυκόζη, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατόπιν από το κύτταρο ως πηγή άνθρακα και ενέργειας. Πολλά παθογόνα βακτήρια, εξάλλου, εκκρίνουν κατά τη λοίμωξη τοξικές ή άλλες δηλητηριώδεις για τον ξενιστή πρωτεΐνες. Όλοι αυτοί οι τύποι πρωτεϊνών χρειάζεται να διέλθουν μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, διαδικασία την οποία φέρουν εις πέρας μετατοπάσες όπως η SecY/E/G/A.

✓ 4.7 Έλεγχος εννοιών

Είναι γνωστοί τρεις τουλάχιστον τύποι μεταφορέων: οι απλοί μεταφορείς, οι μεταφορείς του τύπου της φωσφοτρανσφεράσης, και τα συστήματα ABC, με τρεις υπομονάδες που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Η μεταφορά απαιτεί την παροχή ενέργειας, είτε από την πρωτονιογενετική δύναμη είτε από το ATP.

- ✓ Συγκρίνετε έναν απλό μεταφορέα, το σύστημα φωσφοτρανσφεράσης, και το σύστημα ABC, ως προς τις ενεργειακές απαιτήσεις τους.
- ✓ Συγκρίνετε τους τρεις παραπάνω μηχανισμούς, ως προς την πιθανή χημική τροποποίηση του μεταφερόμενου μορίου.
- ✓ Ποιο από τα τρία συστήματα είναι καταλληλότερο για την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών από το περιβάλλον, όταν οι ουσίες απαντούν σε ελάχιστες ποσότητες;
- ✓ Πώς εκκρίνονται από το κύτταρο οι πρωτεΐνες;

4.8

Το κυτταρικό τοίχωμα των προκαρυωτών: Πεπτιδογλυκάνη και συγγενή μόρια

Εξαιτίας της συσσώρευσης μεγάλων συγκεντρώσεων διαλυμένων ουσιών στο εσωτερικό του βακτηριακού κυττάρου, αναπτύσσεται σημαντική πίεση σπαργής, που μπορεί να είναι περί τις 2 ατμόσφαιρες (atm) σε ένα βακτήριο όπως η *Escherichia coli*: η τιμή αυτή αναλογεί με την πίεση που υπάρχει σε ένα ελαστικό αυτοκινήτου. Για να αντέξουν στις πιέσεις αυτές, τα βακτήρια έχουν **κυτταρικά τοιχώματα**, τα οποία εκτός των άλλων προσδίδουν στα κύτταρα σχήμα και σχετική ακαμψία. Το προκαρυωτικό κυτταρικό τοίχωμα είναι δυσδιάκριτο στο οπτικό μικροσκόπιο, αλλά μπορεί να παρατηρηθεί ευχερώς με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε λεπτές τομές κυττάρων.

Τα Βακτήρια υποδιαιρούνται σε δύο μεγάλες ομάδες: **θετικά κατά Gram και αρνητικά κατά Gram**. Η διάκριση αυτή βασίσθηκε αρχικά στην τεχνική της **χρώσης κατά Gram** (βλ. Τμήμα 4.1), η οποία ουσιαστικά διακρίνει τα κύτταρα βάσει διαφορών στη δομή του κυτταρικού τοιχώματος. Όπως δείχνει η Εικόνα 4.28, η διαφορά στην εμφάνιση του κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων είναι

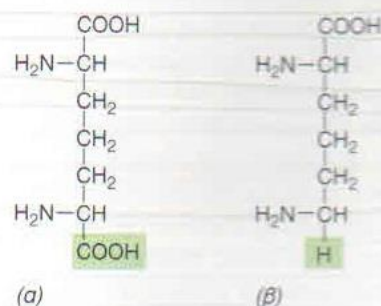
χαρακτηριστική. Το τοίχωμα του αρνητικού κατά Gram κυττάρου είναι μια δομή πολύστιβη και πολυσύνθετη, ενώ το τοίχωμα του θετικού κατά Gram κυττάρου είναι παχύτερο και συγκροτείται κυρίως από έναν τύπο μορίου. Επίσης, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Εικόνα 4.28) αποκαλύπτει ότι υπάρχει σημαντική διαφορά υψής μεταξύ των επιφανειών των θετικών κατά Gram και των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

Στο τμήμα αυτό δίνεται έμφαση στους πολυσακχαρίτες των κυτταρικών τοιχωμάτων των προκαρυωτών, τόσο Βακτηρίων όσο και Αρχαίων. Στους πολυσακχαρίτες αυτούς περιλαμβάνονται κυρίως η πεπτιδογλυκάνη και, κατά δεύτερο λόγο, ποικίλοι πολυσακχαρίτες που απαντούν στα Αρχαία. Άλλα, ειδικότερα συστατικά του τοιχώματος των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων περιγράφονται στο Τμήμα 4.9.

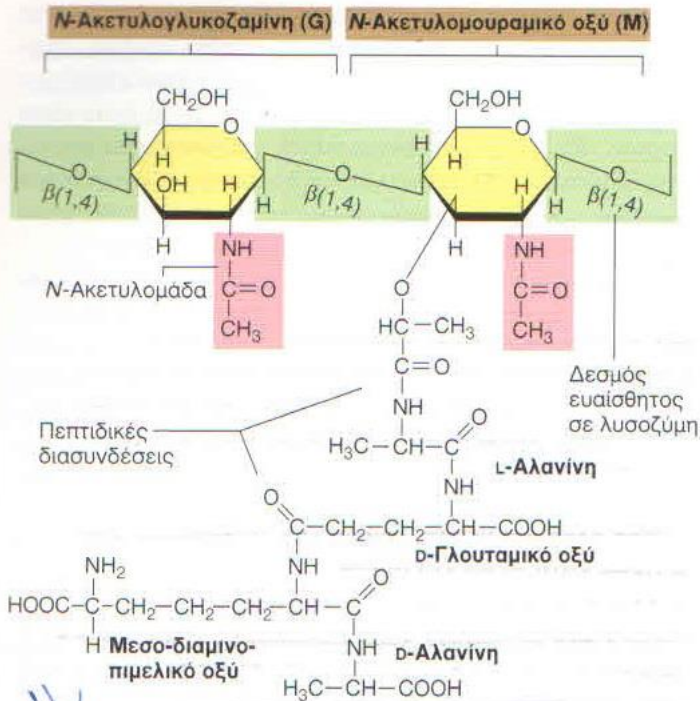
Πεπτιδογλυκάνη

Τα κυτταρικά τοιχώματα των Βακτηρίων έχουν μια στιβάδα άκαμπτη, που είναι και η κυρίως υπεύθυνη για τη στερεότητα του τοιχώματος. Εξωτερικά της στιβάδας αυτής υπάρχει, στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, και μια σειρά επιρόσθητων στιβάδων. Η άκαμπτη στιβάδα τόσο των αρνητικών κατά Gram όσο και των θετικών κατά Gram βακτηρίων έχει παραπλήσια χημική σύσταση. Πρόκειται για μια στιβάδα από πεπτιδογλυκάνη (ή **μουρείνη**), δηλ. για ένα λεπτό στρώμα που συντίθεται από δύο παράγωγα σακχάρων, την *N*-ακετυλογλυκοζαμίνη και το *N*-ακετυλομουραμικό οξύ, και από μια μικρή ομάδα αμινοξέων, αποτελούμενη από *L*-αλανίνη, *D*-αλανίνη, *D*-γλουταμικό οξύ, και λυσίνη ή διαμινοπιμελικό οξύ (Εικόνα 4.29). Τα συστατικά αυτά συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μια επαναλαμβανόμενη δομή, το **τετραπεπίδιο γλυκάνης** (Εικόνα 4.30).

Η βασική δομή της πεπτιδογλυκάνης είναι μια πτυχωτή επιφάνεια, όπου οι αλυσίδες γλυκάνης τις οποίες σχηματίζουν τα σάκχαρα συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικές διασυνδέσεις που σχηματίζουν τα αμινοξέα. Παρά τη μεγάλη ισχύ των γλυκοζιτικών δεσμών των αλυσίδων γλυκάνης, αυτές οι αλυσίδες δεν μπορούν από μόνες τους να παράσχουν σχετική ακαμψία προς όλες τις



Εικόνα 4.29 (α) Διαμινοπιμελικό οξύ. (β) Λυσίνη. Η μόνη διαφορά μεταξύ των δύο μορίων υποδεικνύεται με πράσινο χρώμα.



Εικόνα 4.30 Δομή του τετραπεπτιδίου γλυκάνης, μιας από τις επαναλαμβανόμενες μονάδες πεπτιδογλυκάνης στο βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα. Η ανωτέρω δομή απαντά στην *Escherichia coli* και, γενικότερα, στα περισσότερα αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Υπάρχουν επίσης ορισμένα βακτήρια στα οποία απαντούν διαφορετικά αμινοξέα.

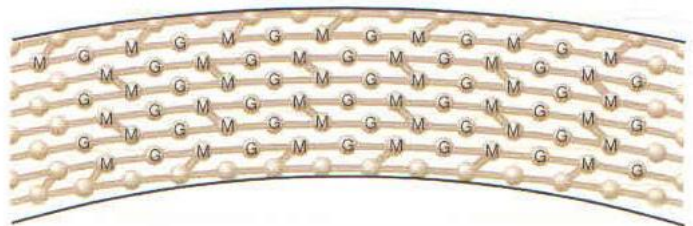
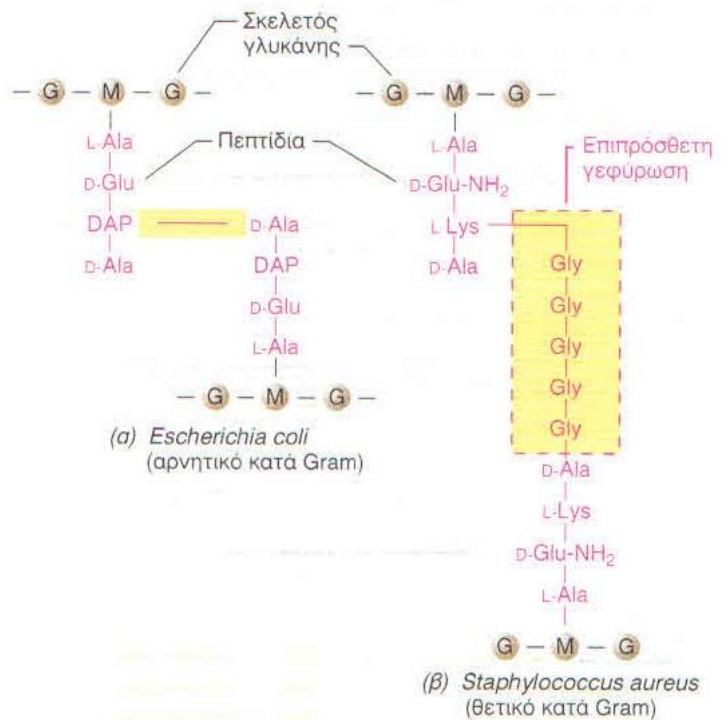
κατευθύνσεις: η δομή αποκτά την πλήρη ισχύ της μόνο μετά τον σχηματισμό των πεπτιδικών διασυνδέσεων. Η έκταση των διασυνδέσεων διαφέρει χαρακτηριστικά μεταξύ διαφορετικών ομάδων βακτηρίων: όσο πληρέστερη είναι η έκταση των διασυνδέσεων αυτών τόσο μεγαλύτερη είναι και η στερεότητα του τοιχώματος. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, οι διασυνδέσεις γίνονται συνήθως με τον απευθείας σχηματισμό πεπτιδικού δεσμού μεταξύ αμινομάδας του διαμινοπιμελικού και καρβοξυλομάδας της τελικής D-αλανίνης του τετραπεπτιδίου γλυκάνης (Εικόνα 4.31α). Στα θετικά κατά Gram βακτήρια, οι διασυνδέσεις γίνονται συνήθως με πεπτιδικές γεφυρώσεις από πρόσθετα αμινοξέα, οι τύποι και αριθμοί των οποίων ποικίλλουν με το είδος του οργανισμού. Σε έναν εκτενώς μελετημένο θετικό κατά Gram οργανισμό, τον *Staphylococcus aureus*, οι πεπτιδικές γεφυρώσεις γίνονται με πενταπεπτιδία γλυκίνης (Εικόνα 4.31β). Η Εικόνα 4.31γ παρουσιάζει διαγραμματικά τη συνολική δομή ενός μορίου πεπτιδογλυκάνης.

Στα θετικά κατά Gram βακτήρια έως και 90% του κυτταρικού τοιχώματος αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη, αν και ένα άλλο είδος συστατικού, το τειχικό οξύ (βλ. παρακάτω), απαντά επίσης σε μικρές ποσότητες. Αν και ορισμένα βακτήρια έχουν μία μόνο στιβάδα πεπτιδογλυκάνης, τα περισσότερα βακτήρια, ιδιαίτερα τα θετικά κατά Gram, έχουν πολλές (έως 25) στιβάδες πε-

πτιδογλυκάνης. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, μόνο το 10% του κυτταρικού τοιχώματος αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη: κατά το μεγαλύτερο μέρος του, το τριχωμα των βακτηρίων αυτών αποτελείται από την εξωτερική μεμβράνη (Τμήμα 4.9). Παρά τις διαφορές, αυτό που θεωρείται ότι καθορίζει το σχήμα, τόσο στα θετικά όσο και στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, είναι το μήκος των αλυσίδων πεπτιδογλυκάνης, καθώς και ο τρόπος και η έκταση της διασύνδεσης των αλυσίδων αυτών.

Διαφοροποιήσεις της πεπτιδογλυκάνης

Η πεπτιδογλυκάνη απαντά μόνο στα βακτήρια, δεδομένου ότι δύο χαρακτηριστικά συστατικά της, το σάκχα-



Εικόνα 4.31 Τρόποι συνδυασμού των μονάδων πεπτιδίων και γλυκάνης κατά τον σχηματισμό του στρώματος της πεπτιδογλυκάνης. (α) Χωρίς πρόσθετες γεφυρώσεις (στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια). (β) Με πρόσθετες γεφυρώσεις γλυκίνης (στο θετικό κατά Gram βακτήριο *Staphylococcus aureus*). (γ) Συνολική εικόνα της δομής της πεπτιδογλυκάνης. Το διάγραμμα απεικονίζει διαδοχικές στρώσεις πεπτιδογλυκάνης διασυνδεδεμένες μεταξύ τους. Η πλήρης στιβάδα της πεπτιδογλυκάνης αποτελεί μια συνεχή περιοχή τέτοιων στρώσεων που περικλείει, στον τρισδιάστατο χώρο, το (κυλινδρικό ή σφαιρικό) κύτταρο. G, N-ακετυλογλυκοζαμίνη· M, N-ακετυλομουραμικό οξύ.

ρο *N*-ακετυλομουραμικό οξύ και το αμινοξύ διαμινοπιμελικό οξύ απουσιάζουν εντελώς από τα κυτταρικά τοιχώματα των *Αρχαίων* ή των *Ευκαρύων*. Από την άλλη πλευρά, δεν έχουν οι πεπτιδογλυκάνες όλων των *Βακτηρίων* διαμινοπιμελικό οξύ (DAP). Συγκεκριμένα, DAP υπάρχει σε όλα τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια και σε ορισμένα είδη θετικών κατά Gram βακτηρίων· στους περισσότερους θετικούς κατά Gram κόκκους, το DAP αντικαθίσταται από λυσίνη, ενώ σε μερικά άλλα θετικά κατά Gram βακτήρια απαντούν διαφορετικά αμινοξέα αντί του DAP. Άλλο ιδιαίτερο γνώρισμα του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος είναι ότι περιέχει δύο αμινοξέα σε στερεοδιάταξη D, *D*-αλανίνη και *D*-γλουταμικό οξύ. Θυμηθείτε από το Κεφάλαιο 3 ότι τα αμινοξέα των πρωτεϊνών απαντούν πάντα στη στερεοδιάταξη L (☞ Τμήμα 3.6).

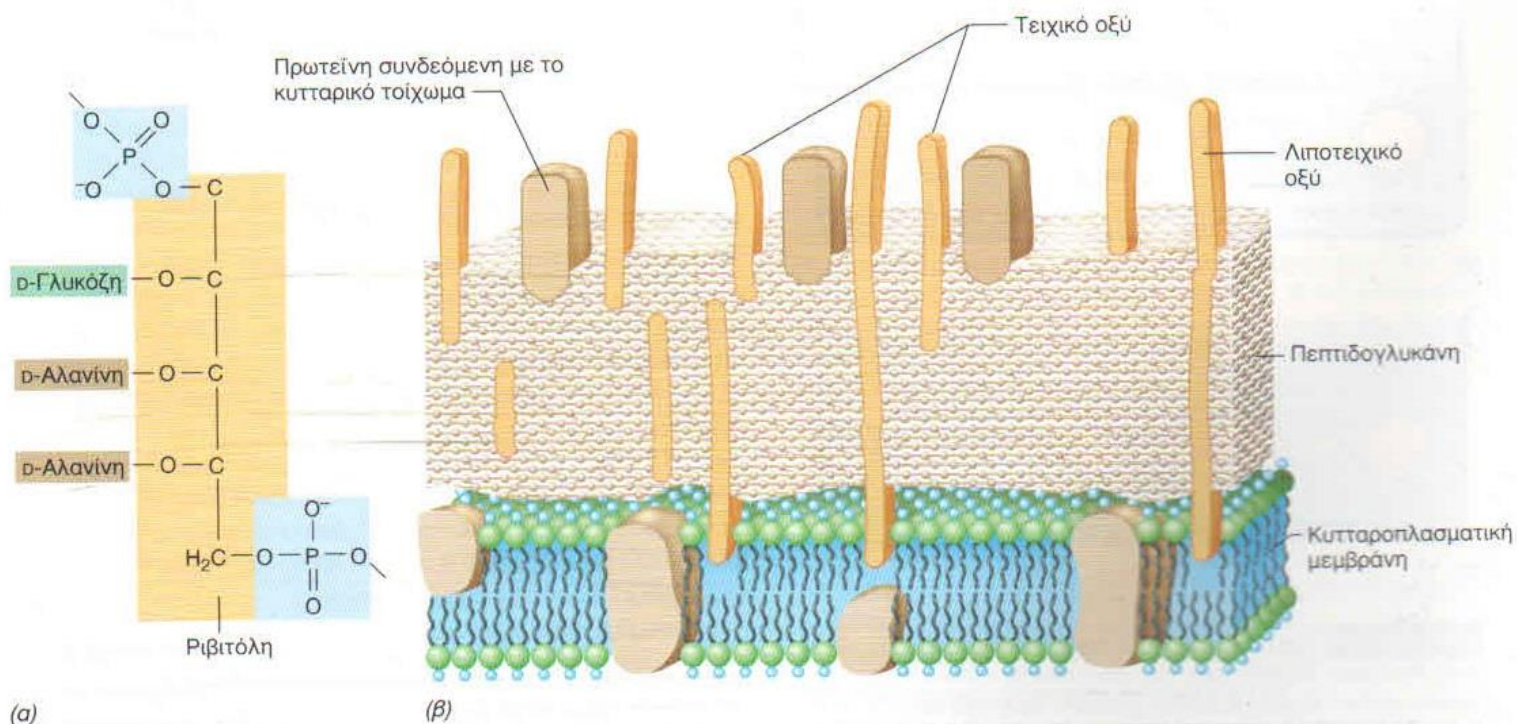
Ως προς τη δομή της πεπτιδογλυκάνης, ισχύουν τα εξής γενικά χαρακτηριστικά. Το τμήμα της γλυκάνης είναι όμοιο σε όλες τις περιπτώσεις, αποτελούμενο πάντοτε από δύο σάκχαρα, *N*-ακετυλογλυκοζαμίνη και *N*-ακετυλομουραμικό οξύ, συνδεόμενα με δεσμούς β-1,4. Το τετραπεπτιδίο της επαναλαμβανόμενης μονάδας εμφανίζει παραλλαγές κυρίως ως προς την εναλλαγή διαμινοπιμελικού-λυσίνης στη θέση 3. Το *D*-γλουταμικό οξύ της θέσης 2 εμφανίζεται υδροξυλιωμένο σε ορισμένα είδη, ενώ άλλες υποκαταστάσεις εμφανίζονται σπανιότερα στα αμινοξέα των θέσεων 1 ή 3 του τετραπεπτιδίου.

Γνωρίζουμε πάνω από 100 διαφορετικούς τύπους

πεπτιδογλυκάνης, οι οποίοι διαφέρουν κυρίως ως προς τον τύπο γεφύρωσης μεταξύ των τετραπεπτιδίων γλυκάνης. Εκτός από αμινοξέα, τα οποία απαντούν και στο τετραπεπτιδίο, η γεφύρωση μπορεί να περιέχει επίσης γλυκίνη, θρεονίνη, σερίνη, ή ασπαρτικό οξύ. Ορισμένα αμινοξέα, ωστόσο, εξαιρούνται: αποκλείεται μια γεφύρωση να συμπεριλαμβάνει αμινοξέα με διακλαδισόμενη πλευρική ομάδα, αμινοξέα με αρωματικό δακτύλιο, θειούχα αμινοξέα, ή τα αμινοξέα ιστιδίνη, αργινίνη, και προλίνη. Παρά τη χημική ποικιλομορφία της, η βασική δομική οργάνωση της πεπτιδογλυκάνης είναι πάντοτε η ίδια: γλυκοζαμίνη και μουραμικό οξύ σχηματίζουν τον βασικό σκελετό, και τα μόρια του μουραμικού διασυνδέονται μεταξύ τους με ολιγομερή αμινοξέων.

Τειχικά οξέα και γενική εικόνα του τοιχώματος των θετικών κατά Gram κυττάρων

Πολλά θετικά κατά Gram βακτήρια έχουν ενσωματωμένους στο κυτταρικό τους τοίχωμα οξίνους πολυσακχαρίτες που ονομάζονται **τειχικά οξέα**. Με τον όρο *τειχικά οξέα* εννοούμε όλα τα πολυμερή (τοιχώματος, μεμβράνης, ή κάψας) τα οποία περιέχουν κατάλοιπα φωσφορικής γλυκερόλης ή φωσφορικής ριβιτόλης. Οι πολυαλκοόλες αυτές συνδέονται μεταξύ τους με φωσφοστερικούς δεσμούς και συνήθως είναι συνδεδεμένα μαζί τους άλλα σάκχαρα ή *D*-αλανίνη (Εικόνα 4.32a). Λόγω του αρνητικού τους φορτίου, τα τειχικά οξέα συνεισφέρουν σημαντικά στο αρνητικό φορτίο που εμφανί-



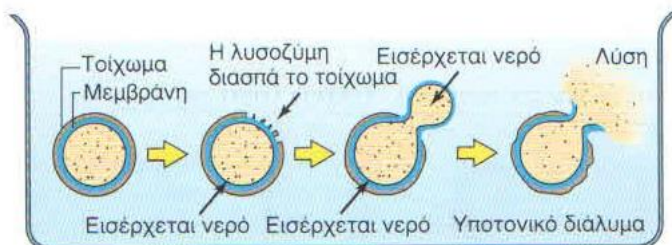
Εικόνα 4.32 Τειχικά οξέα και συνολική δομή του θετικού κατά Gram κυτταρικού τοιχώματος. (α) Δομή του τειχικού οξέος ριβιτόλη του *Bacillus subtilis*. Το τειχικό οξύ είναι ένα πολυμερές αποτελούμενο από τις επαναλαμβανόμενες μονάδες ριβιτόλης, που απεικονίζονται εδώ. (β) Συνοπτικό διάγραμμα της δομής του τοιχώματος.

ζει συνολικά η κυτταρική επιφάνεια και μπορεί να λειτουργούν κατά τρόπο που να επιτρέπει ή να μην επιτρέπει τη διέλευση ιόντων μέσω του κυτταρικού τοιχώματος. Ορισμένα γλυκερινούχα τειχικά οξέα είναι συνδεδεμένα με λιπίδια των μεμβρανών θετικών κατά Gram βακτηρίων: αυτά τα τειχικά οξέα ονομάζονται *λιποτειχικά οξέα*.

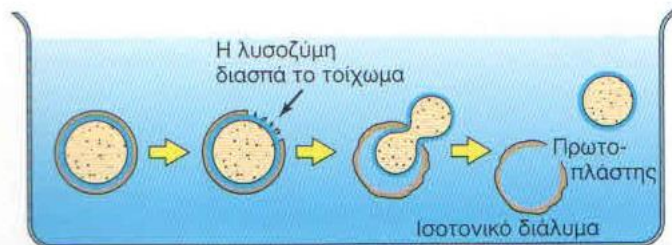
Στην Εικόνα 4.32β παρουσιάζεται διαγραμματικά η συνολική δομή του κυτταρικού τοιχώματος των θετικών κατά Gram βακτηρίων και φαίνεται ο τρόπος διευθέτησης των τειχικών και λιποτειχικών οξέων στη δομή αυτή.

Κύτταρα χωρίς τοιχώματα

Υπάρχουν παράγοντες που μπορούν να καταστρέψουν το μόριο της πεπτιδογλυκάνης, το μόριο-υπογραφή των Βακτηρίων. Ένας τέτοιος παράγοντας είναι το ένζυμο *λυσοζύμη*, που διασπά τον β -1,4-γλυκοζιτικό δεσμό μεταξύ *N*-ακετυλογλυκοζαμίνης και *N*-ακετυλομουραμικού οξέος (Εικόνα 4.30), εξασθενίζοντας με αυτόν τον τρόπο το τοίχωμα. Στη συνέχεια μπορεί να εισέλθει νερό ανεξέλεγκτα στο κύτταρο, το οποίο διογκώνεται και τελικά θραύεται, διαδικασία γνωστή ως *κυτταρική λύση* (Εικόνα 4.33α). Η λυσοζύμη περιέχεται σε ζωικές εκκρίσεις, π.χ. δάκρυα, σίελο, και άλλα σωματικά υγρά, και λειτουργεί πιθανότατα ως μια πρώτη γραμμή άμυνας έναντι λοιμώξεων από βακτήρια.



(α)



(β)

Εικόνα 4.33 Πρωτοπλάστες. (α) Σε αραιό διάλυμα, η λύση του κυτταρικού τοιχώματος απελευθερώνει τον πρωτοπλάστη, ο οποίος όμως λύεται αμέσως επειδή η κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι πολύ ευπαθής. (β) Σε διάλυμα που περιέχει ισοτονική συγκέντρωση μιας διαλυμένης ουσίας όπως η σακχαρόζη, το νερό δεν μπορεί να εισέλθει και ο πρωτοπλάστης παραμένει αδιάρρηκτος. Η λυσοζύμη διασπά τους β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς της πεπτιδογλυκάνης (βλ. Εικόνα 4.30).

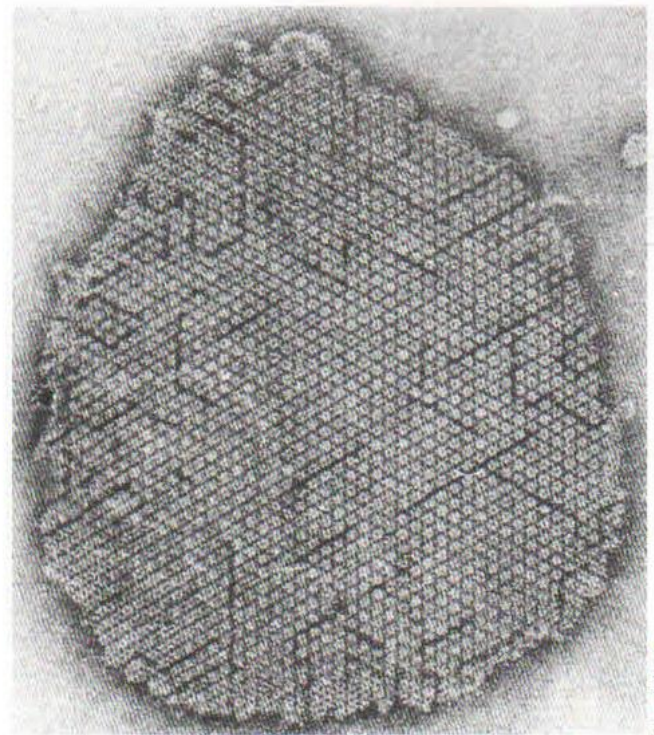
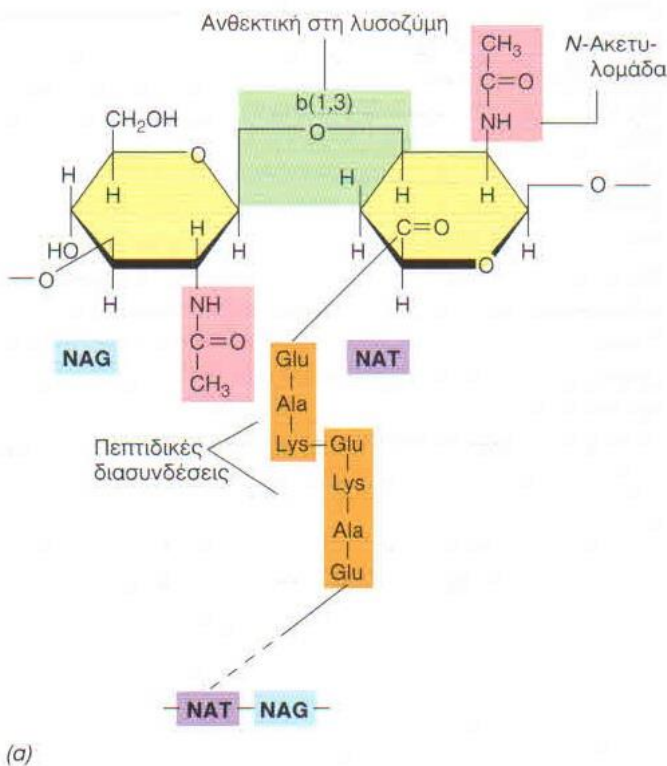
Εάν στο θρεπτικό μέσο προστεθεί κατάλληλη συγκέντρωση κάποιας ουσίας η οποία δεν διαπερνά το κύτταρο, όπως της σακχαρόζης, η εξωτερική συγκέντρωση της ουσίας αυτής μπορεί να εξισορροπήσει την εσωτερική συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών (επικράτηση ισοτονικών συνθηκών). Υπό τις συνθήκες αυτές, η λυσοζύμη εξακολουθεί να διασπά την πεπτιδογλυκάνη, αλλά δεν εισέρχεται νερό στο κύτταρο και δεν λαμβάνει χώρα λύση του κυττάρου· αντίθετα, σχηματίζεται *πρωτοπλάστης* (βακτήριο χωρίς το κυτταρικό του τοίχωμα) (Εικόνα 4.33β). Αν οι σταθεροποιημένοι σε σακχαρόζη πρωτοπλάστες τοποθετηθούν σε νερό, επέρχεται αμέσως λύση. Συχνά, αντί του όρου πρωτοπλάστης χρησιμοποιείται ο εναλλακτικός όρος *σφαιροπλάστης*, αν και με ελαφρά διαφορετική έννοια: οι πρωτοπλάστες είναι εν γένει απαλλαγμένοι από υπολείμματα κυτταρικού τοιχώματος, αντίθετα οι σφαιροπλάστες περιέχουν συνήθως και υπολείμματα τοιχώματος προσκολλημένα στη μεμβράνη.

Η μεγάλη πλειονότητα των προκαρυωτών είναι αδύνατον να επιβιώσουν απουσία κυτταρικού τοιχώματος. Υπάρχουν, ωστόσο, και μερικοί προκαρυώτες που δεν έχουν τοίχωμα, όπως είναι τα μυκοπλάσματα, μια ομάδα θετικών κατά Gram βακτηρίων υπεύθυνη για ορισμένες λοιμώδεις ασθένειες (☞ Τμήμα 12.21), ή το γένος *Thermoplasma* που ανήκει στα *Αρχαία* (☞ Τμήμα 13.5). Οι συγκεκριμένοι προκαρυωτικοί οργανισμοί είναι ουσιαστικά ελευθεροβιωτικοί πρωτοπλάστες: μπορούν να επιβιώσουν χωρίς κυτταρικά τοιχώματα είτε διότι διαθέτουν ιδιαίτερα ισχυρές μεμβράνες είτε διότι ζουν σε ωσμωτικώς προστατευμένα ενδιαιτήματα, όπως είναι το σώμα των ζώων. Ορισμένα μυκοπλάσματα περιέχουν στις κυτταρικές μεμβράνες τους στερόλες (βλ. Τμήμα 4.5), οι οποίες προσδίδουν στη δομή τους ισχύ και ακαμψία.

Κυτταρικά τοιχώματα των Αρχαίων

Μερικά είδη *Αρχαίων* έχουν κυτταρικά τοιχώματα δομημένα όχι από πεπτιδογλυκάνη αλλά από έναν παρόμοιο πολυσακχαρίτη που ονομάζεται *ψευδοπεπτιδογλυκάνη* (Εικόνα 4.34α). Ο χημικός σκελετός της ψευδοπεπτιδογλυκάνης αποτελείται από επαναλήψεις εναλλασσόμενων ομάδων *N*-ακετυλογλυκοζαμίνης και (αντί *N*-ακετυλομουραμικού οξέος) *N*-ακετυλοταλοζαμινογλυκοζαμίνης (πρβλ. τις Εικόνες 4.30 και 4.34α). Επίσης, οι γλυκοζιτικοί δεσμοί της ψευδοπεπτιδογλυκάνης είναι β -1,3 και όχι β -1,4, όπως στην πεπτιδογλυκάνη (πρβλ. τις Εικόνες 4.30 και 4.34α).

Σε άλλα είδη *Αρχαίων*, τα κυτταρικά τοιχώματα δεν έχουν ούτε πεπτιδογλυκάνη ούτε ψευδοπεπτιδογλυκάνη, αλλά συνίστανται από πολυσακχαρίτες, γλυκοπρωτεΐνες, ή πρωτεΐνες. Τα είδη του γένους *Methanosarcina*, για παράδειγμα, έχουν παχιά πολυσακχαριτικά τοιχώματα με γλυκόζη, γλυκουρονικό οξύ, γαλακτοζαμίνη, και οξικό. Παρόμοια τοιχώματα, αλλά με την επιπρό-



Εικόνα 4.34 Ψευδοπεπτιδογλυκάνη και στιβάδες S. (α) Δομή της ψευδοπεπτιδογλυκάνης, πολυμερούς του κυτταρικού τοιχώματος διαφόρων ειδών του *Methanobacterium*. Παρατηρήστε την ομοιότητα με τη δομή πεπτιδογλυκάνης της Εικόνας 4.30, ιδιαίτερα ως προς τις πεπτιδικές διασυνδέσεις, οι οποίες εδώ διασυνδέουν ομάδες N-ακετυλοταλοζαμινοουρικού (NAT) και όχι μουραμικού οξέος. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα διέλευσης ενός τμήματος στιβάδας S, που δείχνει την παρακρυσταλλική φύση αυτής της στιβάδας κυτταρικού τοιχώματος. Η εικονιζόμενη στιβάδα S ανήκει στον προκαρυωτικό οργανισμό *Aquaspirillum serpens* (είδος *Βακτηρίου*) και εμφανίζει, όπως και πολλές στιβάδες S των *Αρχαίων*, εξαγωνική συμμετρία.

σθετη παρουσία πολλών θεικών ομάδων, έχουν υπεραλόφιλα *Αρχαία* όπως εκείνα του γένους *Halococcus*. Ωστόσο, συνηθέστερος τύπος κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ των *Αρχαίων* είναι η παρακρυσταλλική επιφανειακή στιβάδα (στιβάδα S) (βλ. Τμήμα 4.13), που αποτελείται από μόρια πρωτεΐνης ή γλυκοπρωτεΐνης σε εξαγωνική, εν γένει, συμμετρία. Στιβάδες S έχουν βρεθεί σε είδη όλων των ομάδων των *Αρχαίων*, ακραίων αλόφιλων, μεθανιογόνων, και υπερθερμόφιλων. Στιβάδες S, εξάλλου, απαντούν και σε αρκετά είδη *Βακτηρίων* (Εικόνα 4.34β).

Υπάρχει, συνεπώς, μεγάλη ποικιλία τύπων κυτταρικού τοιχώματος στα είδη των *Αρχαίων*, από τοιχώματα παρόμοια με εκείνο της πεπτιδογλυκάνης έως τοιχώματα χωρίς πολυσακχαρικά συστατικά. Πλην σπανίων εξαιρέσεων, όμως, όλα τα *Αρχαία* περιέχουν κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο —όπως και στα *Βακτήρια*— λειτουργεί ως παράγοντας που αφ' ενός εμποδίζει την οσμωτική λύση και αφ' ετέρου προσδιορίζει το κυτταρικό σχήμα. Μάλιστα, επειδή δεν περιέχουν πεπτιδογλυκάνη, τα *Αρχαία* εμφανίζουν ανθεκτικότητα έναντι της λυσοζύμης (βλ. παραπάνω) και της πενικιλλίνης, παραγόντων που είτε καταστρέφουν (λυσοζύμη) είτε

εμποδίζουν τη σύνθεση (πενικιλλίνη) της πεπτιδογλυκάνης (☞ Τμήμα 6.2).

✓ 4.8 Έλεγχος εννοιών

Τα κυτταρικά τοιχώματα των *Βακτηρίων* περιέχουν έναν πολυσακχαρίτη που λέγεται πεπτιδογλυκάνη. Η πεπτιδογλυκάνη συνίσταται από αλυσίδες εναλλασσόμενων ομάδων N-ακετυλογλυκοζαμίνης και N-ακετυλομουραμικού οξέος. Μόρια N-ακετυλομουραμικού οξέος από διαφορετικές αλυσίδες διασυνδέονται μεταξύ τους με μικρά πεπτίδια. Τα *Αρχαία* δεν διαθέτουν πεπτιδογλυκάνη, αλλά έχουν τοιχώματα αποτελούμενα από άλλους πολυσακχαρίτες ή από πρωτεΐνες. Το ένζυμο λυσοζύμη καταστρέφει την πεπτιδογλυκάνη, οδηγώντας σε κυτταρική λύση.

- ✓ Αναφέρετε τα μονομερή συστατικά της πεπτιδογλυκάνης.
- ✓ Πού οφείλεται η ισχύς του μορίου της πεπτιδογλυκάνης;
- ✓ Πώς δημιουργείται ένας πρωτοπλάστης;
- ✓ Πώς μπορούν ορισμένα κύτταρα να ζουν χωρίς κυτταρικά τοιχώματα;
- ✓ Ποια η ομοιότητα και ποια η διαφορά μεταξύ ψευδοπεπτιδογλυκάνης και πεπτιδογλυκάνης;

4.9

Η εξωτερική μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων

Εκτός της πεπτιδογλυκάνης, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια περιέχουν και μια πρόσθετη επίστρωση τοιχώματος, αποτελούμενη από **λιποπολυσακχαρίτες (LPS)**. Λόγω ακριβώς της παρουσίας λιποπολυσακχαριτών, η συγκεκριμένη επίστρωση αποκαλείται συχνά **στιβάδα λιποπολυσακχαριτών** ή, συντομογραφικά, **στιβάδα LPS**. Η στιβάδα αυτή είναι ουσιαστικά μια δεύτερη λιπιδική διπλοστιβάδα, γνωστή και ως **εξωτερική μεμβράνη**. Αυτή η μεμβράνη, ωστόσο, δεν έχει την τυπική φωσφολιπιδική σύσταση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, αλλά περιέχει **πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες**. Λιπίδια και πολυσακχαρίτες μέσα στην εξωτερική στιβάδα αυτής της μεμβράνης σχηματίζουν ειδικές λιποπολυσακχαριτικές δομές.

Η χημεία του LPS

Αν και σύνθετη, η χημεία του LPS έχει σήμερα αποσαφηνιστεί για πολλά βακτήρια. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.35, το πολυσακχαριτικό μόριο του LPS αποτελείται από δύο μέρη: τον **κεντρικό πολυσακχαρίτη** και τον **O-πολυσακχαρίτη**. Στο γένος *Salmonella*, στο οποίο έχει μελετηθεί διεξοδικά, ο **κεντρικός πολυσακχαρίτης** περιέχει κετοδεοξυοκτονικό οξύ (KDO), σάκχαρα C₇ (επτόζες), γλυκόζη, γαλακτόζη, και N-ακετυλογλυκοζαμίνη. Με τον **κεντρικό πολυσακχαρίτη** συνδέεται ο **O-πολυσακχαρίτης**, που περιέχει συνήθως γαλακτόζη, γλυκόζη, ραμνόζη, και μαννόζη, δηλ. σάκχαρα C₆ (εξόζες), καθώς και ένα ή περισσότερα ασυνήθη διδεοξυ-σάκχαρα, όπως αμπεκουόζη, κολιτόζη, παρατόζη, ή τυβελόζη. Αυτά τα σάκχαρα σχηματίζουν τετραμελείς ή πενταμελείς αλληλουχίες, συχνά διακλαδιζόμενες. Η επανάληψη των αλληλουχιών αυτών δημιουργεί έναν επιμήκη O-πολυσακχαρίτη.

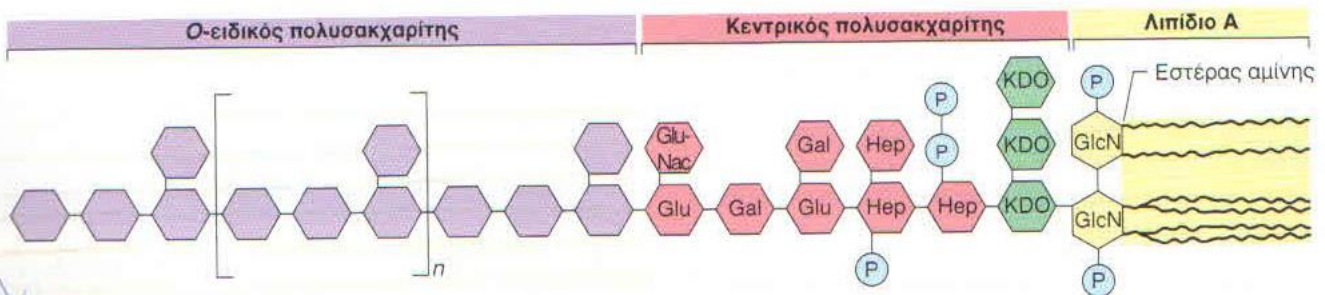
Η σχέση του O-πολυσακχαρίτη με το υπόλοιπο μό-

ριο του LPS παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.36. Το λιπιδικό μέρος του λιποπολυσακχαρίτη, που αναφέρεται με την ονομασία **λιπίδιο A** (Εικόνα 4.35), δεν είναι λιπίδιο γλυκερόλης, αλλά ένωση λιπαρών οξέων με έναν **δισακχαρίτη φωσφορικής N-ακετυλογλυκοζαμίνης** μέσω **αμινο-εστερικών δεσμών** (Εικόνα 4.35). Αυτός ο δισακχαρίτης συνδέεται στους κεντρικούς πολυσακχαρίτες μέσω του κετοδεοξυοκτονικού (Εικόνα 4.35). Λιπαρά οξέα που απαντούν συνήθως στο λιπίδιο A είναι το καπροϊκό, το δαφνικό, το μυριστικό, το παλμιτικό, και το στεαρικό οξύ. Στην εξωτερική μεμβράνη, ο LPS συνδέεται με διάφορες πρωτεΐνες, σχηματίζοντας το **εξωτερικό ήμισυ της ενιαίας δομής της μεμβράνης**. Στην **εσωτερική πλευρά**, τώρα, της **εξωτερικής μεμβράνης** πολλών αρνητικών κατά Gram βακτηρίων απαντά ένα **σύμπλεγμα λιποπρωτεΐνης** (Εικόνα 4.36a). Αυτή η λιποπρωτεΐνη είναι μια μικρή πρωτεΐνη που λειτουργεί ως **άγκυρα** μεταξύ εξωτερικής μεμβράνης και πεπτιδογλυκάνης. Φωσφολιπίδια υπάρχουν κυρίως στο εσωτερικό φύλλο της εξωτερικής μεμβράνης, ενώ το **εξωτερικό φύλλο** περιέχει, εκτός από λίγα φωσφολιπίδια, κυρίως λιποπολυσακχαρίτες (LPS) (Εικόνα 4.36a).

Ενδοτοξίνη

Αν και ο κύριος ρόλος της εξωτερικής μεμβράνης είναι δομικός, μια σημαντική βιολογική ιδιότητα της μεμβράνης αυτής είναι ότι **συχνά παρουσιάζει τοξικότητα** έναντι των ζωικών κυττάρων. Πολλά μέλη των γενών *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, και άλλων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων είναι **παθογόνα για τους ανθρώπους και για άλλα θηλαστικά**.

Μερικά από τα συμπτώματα που προκαλούν αυτά τα παθογόνα βακτήρια στους ξενιστές τους οφείλονται στην **τοξικότητα των εξωτερικών βακτηριακών μεμβρανών**. Οι **τοξικές ιδιότητες**, συγκεκριμένα, συνδέονται με το **λιπιδικό τμήμα της λιποπολυσακχαριτικής στιβάδας**, το **λιπίδιο A**. Το **τοξικό αυτό συστατικό του LPS αναφέρεται ως ενδοτοξίνη** (Τμήμα 21.11). Έχει



Εικόνα 4.35 Δομή του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων. Η ακριβής χημεία του λιπιδίου A και των πολυσακχαριτικών συστατικών διαφέρει στα διάφορα είδη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, αλλά η σειρά σύνδεσης των κύριων ομάδων (λιπίδιο A-KDO-κεντρικός πολυσακχαρίτης-O-ειδικός πολυσακχαρίτης) παραμένει η ίδια. KDO, κετοδεοξυοκτονικό· Hep, επτόζη· Glu, γλυκόζη· Gal, γαλακτόζη· GluNac, N-ακετυλογλυκοζαμίνη· GlcN, γλυκοζαμίνη· P, φωσφορικό. Η γλυκοζαμίνη και τα λιπαρά οξέα του λιπιδίου A συνδέονται μεταξύ τους με αμινο-εστερικό δεσμό. Το τμήμα λιπιδίου A του LPS αποτελεί το λεγόμενο **σύμπλεγμα ενδοτοξίνης** το οποίο μπορεί να είναι τοξικό για τα ζώα (Τμήμα 21.12). Συγκρίνετε, επίσης, την Εικόνα 4.35 με τις Εικόνες 4.36 και 4.37, και προσέξτε ότι ο χρωματικός κώδικας που αποδίδει τη σειρά των τμημάτων του LPS είναι ίδιος στις Εικόνες 4.35 και 4.36.

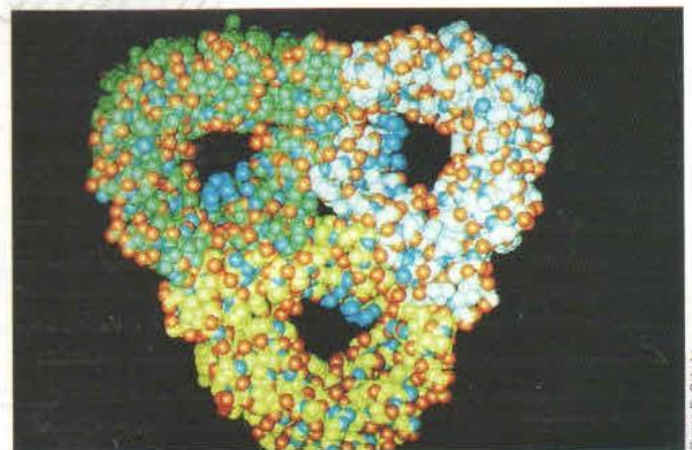
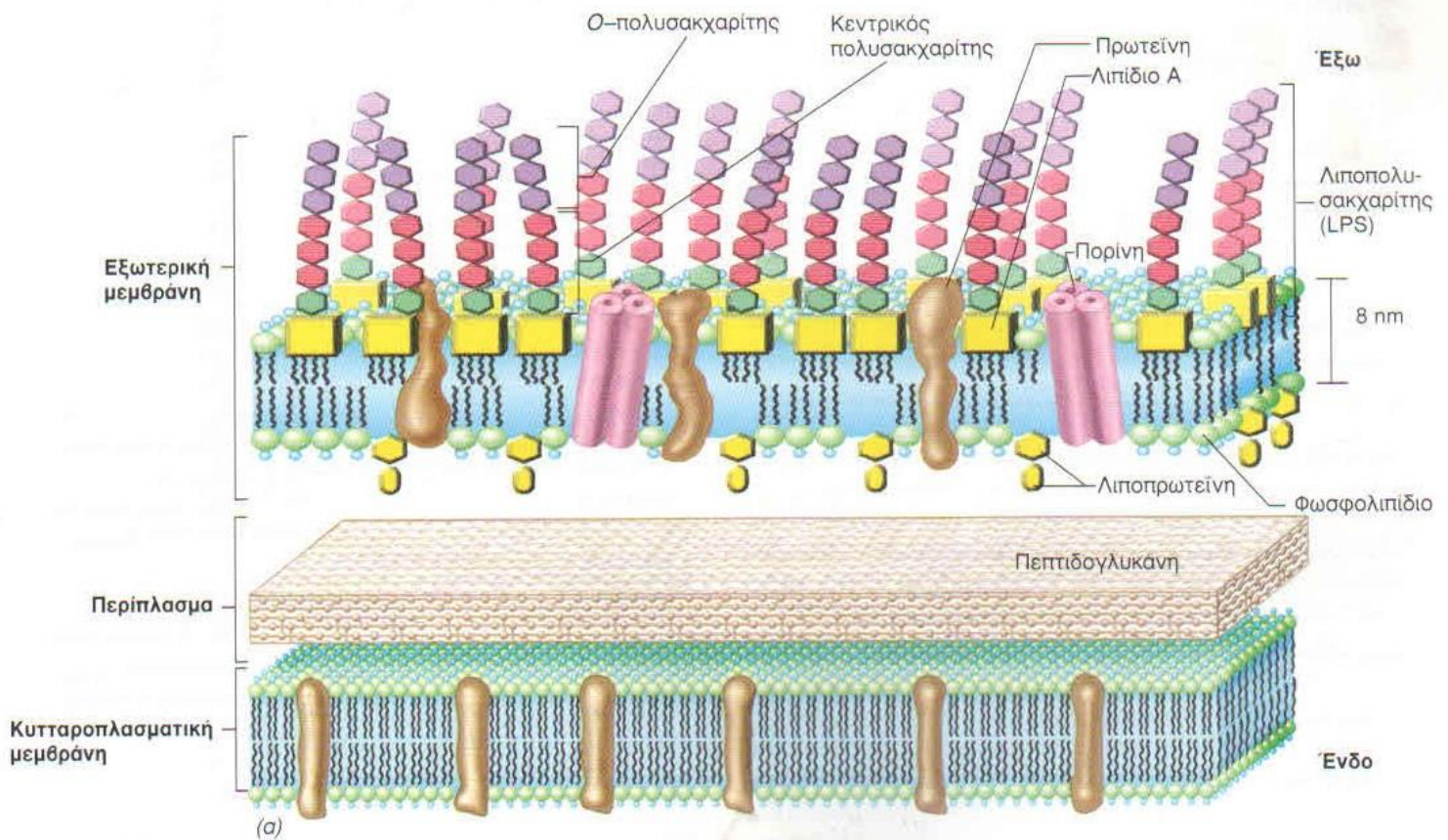
αποδειχθεί ότι αρκετά μη παθογόνα βακτήρια διαθέτουν επίσης ενεργότητα ενδοτοξίνης: επομένως, τα τοξικά στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος δεν συνδέονται πάντοτε με παθογόνους οργανισμούς.

Οι πορίνες και το περίπλασμα

Σε αντίθεση με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, η εξωτερική μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων δεν συμπεριφέρεται ως τυπική λιπιδική διπλοστιβάδα, αλλά είναι σχετικά διαπερατή στα μικρομόρια. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην παρουσία των **πορι-**

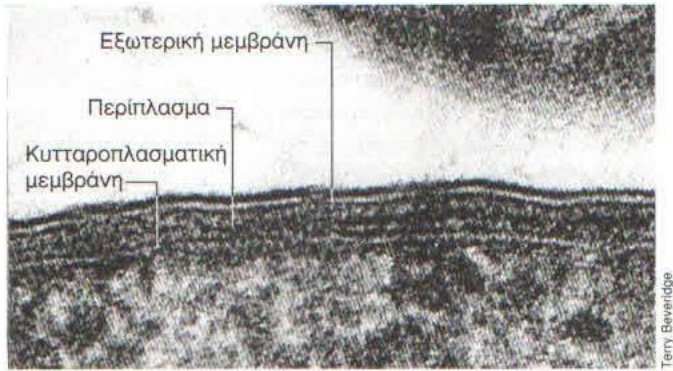
νών, πρωτεϊνών που λειτουργούν ως κανάλια για την είσοδο και έξοδο υδρόφιλων ουσιών μικρού μοριακού βάρους διά μέσου της εξωτερικής μεμβράνης (Εικόνα 4.36). Υπάρχουν πολλές πορίνες οι οποίες ταξινομούνται σε ειδικές και μη ειδικές ομάδες. Οι **μη ειδικές πορίνες** σχηματίζουν κανάλια πλήρη ύδατος, από τα οποία μπορούν να διέλθουν μικρομόρια οιοσδήποτε τύπου. Οι ειδικές πορίνες σχηματίζουν ειδικά κέντρα δέσμευσης για μία ουσία ή μια ομάδα παραπλήσιων ουσιών.

Έχει δείχθει ότι οι περισσότερες πορίνες αποτελούνται από **τρεις** όμοιες πρωτεϊνικές υπομονάδες.



Εικόνα 4.36 Το αρνητικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα. Αν και συχνά αποκαλείται η «δεύτερη λιπιδική διπλοστιβάδα», η χημεία και η αρχιτεκτονική της εξωτερικής μεμβράνης διαφέρουν σημαντικά από τις αντίστοιχες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. (α) Διάταξη λιποπολυσακχαρίτη, λιπιδίου Α, φωσφολιπιδίων, πορινών, και λιποπρωτεϊνών στην εξωτερική μεμβράνη. (Για λεπτομέρειες της δομής του LPS, βλ. Εικόνα 4.35). Το λιπίδιο Α μπορεί να είναι τοξικό για τον άνθρωπο, οπότε αναφέρεται ως ενδοτοξίνη (βλ. Τμήμα 21.12). (β) Μοριακό μοντέλο πορίνης. Παρατηρήστε την ύπαρξη τριών πόρων που κάθε ένας σχηματίζεται από ένα μόριο πορίνης. Η όψη που βλέπουμε είναι κάθετη προς το επίπεδο της μεμβράνης, ενώ το μοντέλο βασίζεται στην ανάλυση περιθλασιγράμματος ακτίνων Χ της πορίνης του *Rhodobacter blasticus*.

© Georg E. Schulz



Εικόνα 4.37 Λεπτή τομή του κυτταρικού φακέλου της *Escherichia coli*, υπό μεγάλη μεγέθυνση, όπου φαίνεται το πύκνωμα του περιπλάσματος, μεταξύ κυτταροπλασματικής και εξωτερικής μεμβράνης. Τα μεγάλα, σκοτεινά σωματίδια στο κυτταρόπλασμα είναι ριβωσώματα.

Πρόκειται για διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (Εικόνα 4.36a) που συνδυάζονται για να σχηματίσουν μικρές διαμεμβρανικές οπές διαμέτρου περί το 1 nm (Εικόνα 4.36β). Λόγω των πορινών, η εξωτερική μεμβράνη μπορεί να είναι σχετικά διαπερατή από μικρά μόρια, δεν είναι όμως διαπερατή από ένζυμα ή άλλα μεγάλα μόρια. Εξάλλου, μία από τις κύριες λειτουργίες της εξωτερικής μεμβράνης είναι να συγκρατεί ορισμένα ένζυμα εντός των ορίων των δύο μεμβρανών και να μην τα αφήνει να διαχέονται εκτός του κυττάρου. Αυτά τα ένζυμα βρίσκονται εξωτερικά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, σε έναν χώρο που καλείται **περίπλασμα** (βλ. Εικόνες 4.36 και 4.37). Το περίπλασμα της *Escherichia coli* έχει πάχος 12-15 nm και υφή πηκτοειδή λόγω της αφθονίας των περιπλασματικών πρωτεϊνών (Εικόνα 4.37). Οι πρωτεΐνες του περιπλάσματος περιλαμβάνουν **υδρολυτικά ένζυμα**, που συμμετέχουν στην αρχική αποικοδόμηση των μορίων της τροφής, **πρωτεΐνες δέσμευσης** (δεσμευτικές), που συμμετέχουν στα αρχικά στάδια των διεργασιών διαμεμβρανικής μεταφοράς (βλ. Τμήμα 4.7), και **χημειοϋποδοχείς**, που συμμετέχουν στις χημειοτακτικές αποκρίσεις (βλ. Τμήματα 4.12 και 8.11). Όπως προαναφέρθηκε, οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες αυτές φθάνουν στο περίπλασμα μέσω μεταφοράς από το σύστημα Sec (βλ. Τμήμα 4.7).

Συσχέτιση της δομής του κυτταρικού τοιχώματος με τη χρώση κατά Gram

Πώς συνδέονται οι δομικές διαφορές του κυτταρικού τοιχώματος μεταξύ αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων με την αντίδραση της χρώσης κατά Gram; Στη χρώση κατά Gram (βλ. Τμήμα 4.1), σχηματίζεται εντός του κυττάρου ένα αδιάλυτο σύμπλεγμα ιωδίου-κρυσταλλικού ιώδους, το οποίο στα μεν αρνητικά κατά Gram βακτήρια απομακρύνεται με έκπλυση αλκοόλης, στα δε θετικά κατά Gram όχι. Τα θετικά κατά Gram βακτήρια, που έχουν παχύτερα κυτταρικά τοιχώματα από

πολλές στιβάδες πεπτιδογλυκάνης, αφυδατώνονται με τη δράση της αλκοόλης. Αυτό κάνει τους πόρους των τοιχωμάτων να κλείνουν, εμποδίζοντας το αδιάλυτο σύμπλεγμα ιωδίου-κρυσταλλικού ιώδους να διαφύγει από το κύτταρο. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, η αλκοόλη μπορεί να διαπερνά την εξωτερική λιπιδούχο στιβάδα και τη λεπτή στιβάδα πεπτιδογλυκάνης, με αποτέλεσμα το σύμπλεγμα ιωδίου-κρυσταλλικού ιώδους να απομακρύνεται ευχερώς από το κύτταρο.

✓ 4.9 Έλεγχος εννοιών

Εκτός από την πεπτιδογλυκάνη, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια περιέχουν και μια εξωτερική μεμβράνη αποτελούμενη από λιποπολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, και λιποπρωτεΐνες. Τη διαπερατότητα μέσω της εξωτερικής μεμβράνης διασφαλίζουν πρωτεΐνες που λέγονται πορίνες. Ο χώρος μεταξύ εσωτερικής και εξωτερικής μεμβράνης λέγεται περίπλασμα. Το περίπλασμα περιέχει διάφορες πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες.

- ✓ Ποια συστατικά συγκροτούν τη στιβάδα LPS των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων;
- ✓ Ποιος ο ρόλος των πορινών στο τοίχωμα του αρνητικού κατά Gram κυττάρου και σε ποιες θέσεις εντοπίζονται αυτές;
- ✓ Ποιο συστατικό του κυττάρου διαθέτει ιδιότητες ενδοτοξίνης;
- ✓ Γιατί μπορεί η αλκοόλη να αποχρωματίζει πολύ εύκολα τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια;

III ΜΕΤΑΚΙΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Πολλά κύτταρα έχουν την ικανότητα να μετακινούνται. Αν και η μετακίνηση προϋποθέτει την κατανάλωση ενέργειας, η ικανότητα μετακίνησης στο εσωτερικό του ενδιαίτηματος μπορεί να έχει καταλυτικές οικολογικές συνέπειες για ένα κύτταρο και μπορεί να κρίνει την επιβίωσή του. Στα επόμενα τμήματα του κεφαλαίου εξετάζονται οι διάφοροι τύποι κυτταρικής κίνησης, συμπεριλαμβανομένων της κολύμβησης και της ολίσθησης, και κατόπιν εξετάζονται τα οφέλη που μπορεί να προσφέρει σε ένα κύτταρο η ικανότητά του να ανταποκρίνεται, με την απομάκρυνση ή την προσέγγιση, σε συγκεκριμένα περιβαλλοντικά ερεθίσματα.

4.10 Μαστίγια και αυτοκινησία

Πολλοί προκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν την ικανότητα να μετακινούνται και αυτή η λειτουργία τους συνήθως οφείλεται σε μια ειδική δομή, το **μαστίγιο** (Εικόνα 4.38). Ορισμένα βακτηριακά κύτταρα μπορούν να κι-

νούνται σε στερεές επιφάνειες με *ολίσθηση* (βλ. Τμήμα 4.11) και ορισμένοι υδρόβιοι μικροοργανισμοί μπορούν να ρυθμίζουν τη βυθομετρική θέση τους σε μια στήλη νερού με αεριούχες δομές που ονομάζονται αεροκυστίδια (βλ. Τμήματα 4.14 και 12.25). Η πλειονότητα, ωστόσο, των αυτοκινούμενων προκαρυωτών μετακινούνται χρησιμοποιώντας μαστίγια. Η κινητική ικανότητα επιτρέπει στο κύτταρο να προσεγγίζει διαφορετικές περιοχές του περιβάλλοντός του. Όπως συμβαίνει και σε όλες τις φυσικές διεργασίες, η κίνηση των κυττάρων απαιτεί την κατανάλωση ενέργειας. Το ίδιο ισχύει, βεβαίως, και για την κίνηση των προκαρυωτικών κυττάρων με μαστίγια, την οποία θα εξετάσουμε λεπτομερώς στη συνέχεια.

Βακτηριακά μαστίγια

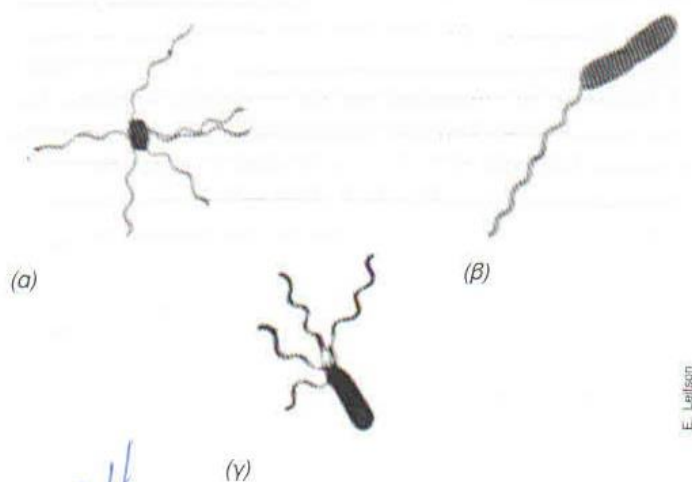
Τα μαστίγια των βακτηρίων είναι επιμήκεις, λεπτές προεκβολές ελεύθερες στο ένα άκρο και ενωμένες με το κύτταρο στο άλλο άκρο. Είναι τόσο λεπτά (περί τα 20 nm), ώστε ένα μαστίγιο μόνο του δεν θα μπορούσε να παρατηρηθεί άμεσα στο οπτικό μικροσκόπιο, παρά μόνον μετά από χρώση με ειδικές χρωστικές που αυξάνουν τη διάμετρό του (Εικόνα 4.38). Ευχερής παρατήρηση των μαστιγίων μπορεί να γίνει στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 4.39).

Η διεύθετηση των μαστιγίων διαφέρει ανάλογα με το είδος του βακτηρίου. Στην περίπτωση της *πολικής μαστιγιοφορίας*, το κύτταρο φέρει μαστίγια σε έναν ή και στους δύο πόλους του (Εικόνες 4.38β και 4.39α). Αντί ενός μαστιγίου, στον έναν πόλο του κυττάρου είναι δυνατόν να αναπτύσσεται μια ομάδα (λοφίο) μαστιγίων: αυτή η διεύθετηση καλείται *λοφιότριχη* (Εικόνα 4.38γ). Λοφιοτριχίες μπορούν να παρατηρηθούν σε ζώοντα κύτταρα με μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου (βλ. Τμήμα 4.1 και Εικόνα 4.40α), όπου τα μαστίγια και τα

κύτταρα εμφανίζονται φωτεινά σε σκοτεινό φόντο. Οι λοφιοτριχίες ορισμένων μεγάλων προκαρυωτικών κυττάρων μπορούν επίσης να παρατηρηθούν με το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων (Εικόνα 4.40β). Στην περίπτωση της *περίτριχης μαστιγιοφορίας* (Εικόνες 4.38α και 4.39β), το κύτταρο φέρει μαστίγια σε πολλές θέσεις και όχι μόνο στα δύο άκρα. Πέραν του ότι καθορίζει τον τρόπο της μετακίνησης, ο τύπος μαστιγιοφορίας αποτελεί και ένα χαρακτηριστικό ταξινομικό γνώρισμα για τα είδη των βακτηρίων.

Δομή των μαστιγίων

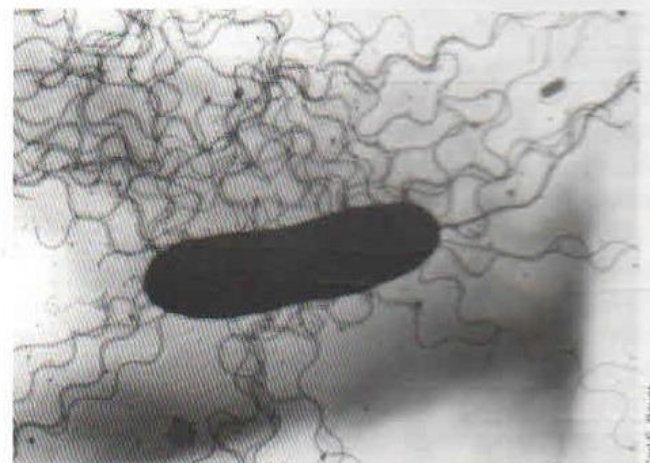
Τα μαστίγια δεν είναι ευθύγραμμα, αλλά ελικοειδή: σε πεπλατυσμένη μορφή, η απόσταση διαδοχής μεταξύ των ελίζων ενός μαστιγίου (*μήκος κύματος*) είναι σταθερή και χαρακτηριστική για δεδομένο είδος οργανισμού (Εικόνες 4.38-4.40). Το *νημάτιο των βακτηριακών*



Εικόνα 4.38 Μικροφωτογραφίες βακτηρίων με διάφορες διατάξεις μαστιγίων. Τα κύτταρα είναι χρωσμένα με ειδική χρωστική (Leifson flagella stain). (α) Περιτριχός τύπος. (β) Πολικός τύπος. (γ) Λοφιότριχος τύπος.

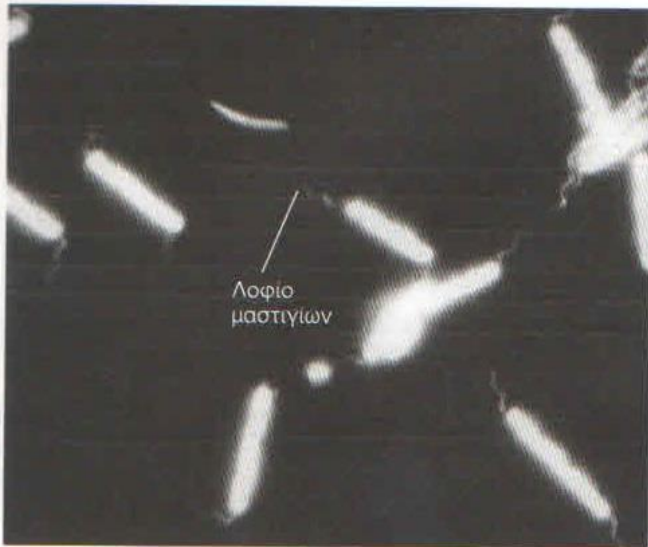


(α)

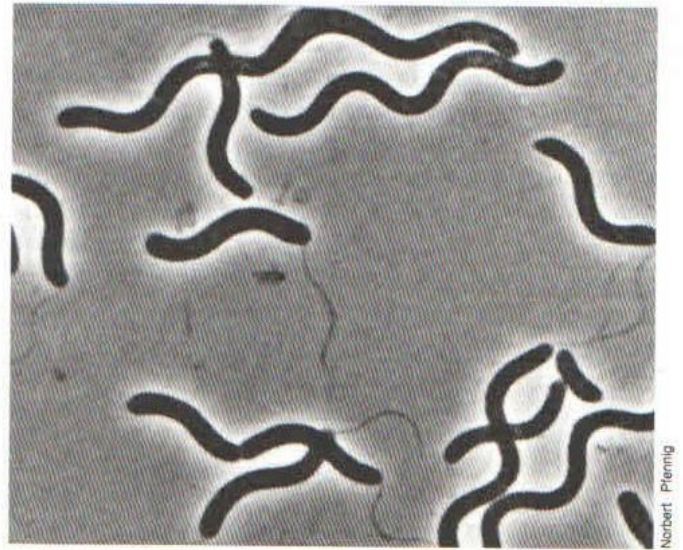


(β)

Εικόνα 4.39 Βακτηριακά μαστίγια παρατηρούμενα με αρνητική χρώση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. (α) Πολικά μαστίγια. (β) Περιτριχά μαστίγια. Και τα δύο είναι μικρογραφήματα από κύτταρα του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum centenum*. Κανονικά, τα κύτταρα του *R. centenum* έχουν πολική μαστιγιοφορία (α), αλλά υπό ορισμένες συνθήκες αύξησης μπορεί να σχηματίζουν περίτριχο τύπο μαστιγιοφορίας (β). Βλ. επίσης Εικόνα 4.48β.



(α)



(β)

Εικόνα 4.40 Βακτηριακά μαστίγια, παρατηρούμενα σε ζώντα κύτταρα. (α) Μικροφωτογραφία σκοτεινού πεδίου μιας ομάδας μεγάλων, ραβδόσχημων βακτηρίων με λοφία μαστιγίων σε κάθε πόλο. Πλάτος κάθε κυττάρου: περί τα 2 μm . Η μικροσκοπία σκοτεινού πεδίου χρησιμοποιεί οριζόντιο φωτισμό για να παράγει ανακλώμενο φως (βλ. Τμήμα 4.1 και Εικόνα 4.5γ). (β) Μικροφωτογραφία αντίθεσης φάσεων του μεγάλου πορφυρού φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum photometricum*. Διαστάσεις κάθε κυττάρου: 3 \times 30 μm . Παρατηρήστε τα λοφιότριχα μαστίγια που προεξέχουν από τον έναν πόλο.

μαστιγίων αποτελείται από υπομονάδες μιας πρωτεΐνης που λέγεται **μαστιγίνη** (flagellin). Το σχήμα και το μήκος κύματος του μαστιγίου καθορίζονται εν μέρει από τη δομή της μαστιγίνης και εν μέρει από την κατεύθυνση περιστροφής του νηματίου. Η βασική δομή της μαστιγίνης που θα περιγραφεί εδώ δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών ειδών βακτηρίων. Στα Αρχαία, ωστόσο, υπάρχουν πολλές παραλλαγές του μορίου της μαστιγίνης, με δομή πολύ διαφορετική από αυτήν της μαστιγίνης των βακτηρίων. Από την άλλη πλευρά, ο υψηλός βαθμός συντήρησης της μαστιγίνης μεταξύ των διαφόρων ειδών βακτηρίων υποδεικνύει ότι ο μηχανισμός της μετακίνησης με μαστίγια είναι ομοιογενής και εξελικτικά πρώιμος στην ομάδα αυτή.

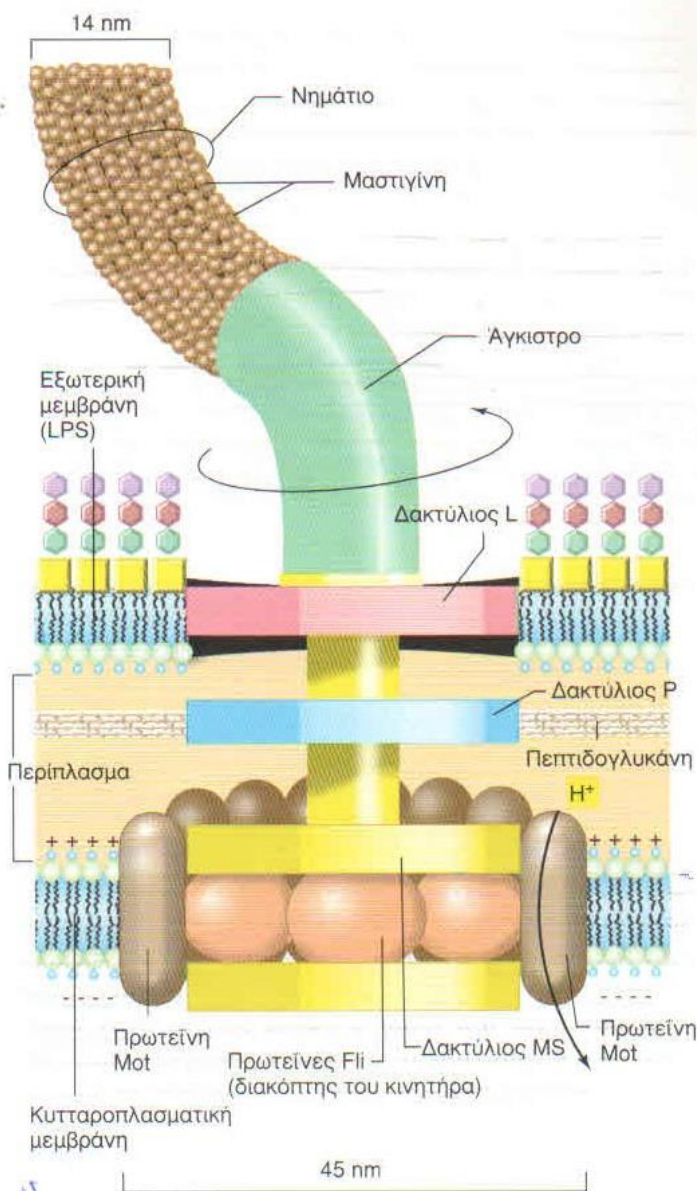
Η δομή της βάσης του μαστιγίου είναι διαφορετική από αυτήν του νηματίου (Εικόνα 4.41). Στη βάση του μαστιγίου υπάρχει μια ευρύτερη περιοχή, γνωστή ως **άγκιστρο**. Το άγκιστρο αποτελείται από έναν μόνο τύπο πρωτεΐνης και ρόλος του είναι να συνδέει το νηματίο με τον κινητήρα του μαστιγίου. Ο **κινητήρας** είναι προσδεδεμένος στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και στο κυτταρικό τοίχωμα. Αποτελείται από μια μικρή κεντρική ράβδο («πύρρο») που διαπερνά ένα σύστημα δακτυλίων. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια υπάρχουν δύο εξωτερικοί δακτύλιοι, ένας προσδεδεμένος στη στιβάδα λιποπολυσακχαριτών και ένας στη στιβάδα της πεπτιδογλυκάνης, και ένας εσωτερικός, μέσα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Εικόνα 4.41). Στα θετικά κατά Gram βακτήρια, που δεν έχουν εξωτερική στιβάδα λιποπολυσακχαριτών, υπάρχει μό-

νον ο δεύτερος εξωτερικός και ο εσωτερικός δακτύλιος. Προσδεδεμένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι επίσης ένα ζεύγος πρωτεϊνών που καλούνται **Mot** (Εικόνα 4.41). Αυτές είναι οι πρωτεΐνες που στην πραγματικότητα θέτουν σε κίνηση τον κινητήρα δημιουργώντας μια ροπή η οποία οδηγεί στην περιστροφή του νηματίου. Μια τελευταία σειρά πρωτεϊνών που καλούνται **Fli** (Εικόνα 4.41) λειτουργούν ως διακόπτης του κινητήρα, αντιστρέφοντας την περιστροφή των μαστιγίων ως απόκριση σε συγκεκριμένα ενδοκυτταρικά σήματα.

Σύνθεση των μαστιγίων

Για τη σύνθεση των μαστιγίων και την εκδήλωση της κινητικής λειτουργίας τους απαιτείται ένας αριθμός γονιδίων. Στα δύο πλέον μελετημένα είδη, *Escherichia coli* και *Salmonella typhimurium*, έχει αποδειχθεί ότι απαιτούνται τουλάχιστον 40 γονίδια. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών έχουν διάφορους ρόλους, όπως συμμετοχή στη δομική οργάνωση του μαστιγίου, διαμεμβρανική ώθηση συστατικών του μαστιγίου προς το εξωτερικό του κυττάρου, και ρύθμιση πολλών βιοχημικών αντιδράσεων που συνδέονται με τη σύνθεση νέων μαστιγίων.

Το μαστίγιο δεν αναπτύσσεται από τη βάση του (όπως, για παράδειγμα, μια ζωική τρίχα), αλλά από την κορυφή του. Κατ' αρχάς συντίθεται και ενσωματώνεται στη μεμβράνη ο δακτύλιος MS. Στη συνέχεια, πριν από τον σχηματισμό του νηματίου, συντίθενται άλλες προσδεδεμένες πρωτεΐνες, καθώς και το άγκιστρο (Εικόνα



Εικόνα 4.41 Δομή του προκαρυωτικού μαστιγίου και σύνδεσή του με το κυτταρικό τοίχωμα και τη μεμβράνη των αρνητικών κατά Gram Βακτηρίων. Ο δακτύλιος L είναι ενσωματωμένος στη στιβάδα του LPS και ο δακτύλιος P στην πεπτιδογλυκάνη. Ο δακτύλιος MS είναι ενσωματωμένος στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Στο νημάτιο υπάρχει μια στενή δίοδος (κανάλι) μέσω της οποίας διαχέονται τα μόρια μαστιγίνης για να φθάσουν στη θέση όπου γίνεται η σύνθεση του μαστιγίου. Οι πρωτεΐνες Mot λειτουργούν ως κινητήρας του μαστιγίου, ενώ οι πρωτεΐνες Fli λειτουργούν ως διακόπτης του κινητήρα. Περιστρέφοντας το νημάτιο του μαστιγίου, ο κινητήρας ωθεί το κύτταρο στο εσωτερικό του θρεπτικού του μέσου.

4.42). Μετά τη σύνθεσή τους στο κυτταρόπλασμα, τα μόρια μαστιγίνης περνούν μέσω ενός καναλιού διαμέτρου 3 nm στο εσωτερικό του νηματίου και προστίθενται συνεχώς στο τερματικό τμήμα του, για να σχηματισθεί το τελικό μαστίγιο. Στο άκρο του αναπτυσσόμενου μαστιγίου υπάρχει μια πρωτεϊνική «καλύπτρα»: οι πρωτεΐνες της καλύπτρας αυτής βοηθούν τα μόρια μα-

στιγίνης που έχουν διέλθει μέσω του καναλιού να οργανωθούν στα τερματικά τμήματα του μαστιγίου, ώστε να σχηματίσουν ένα νέο τμήμα του (Εικόνα 4.42). Το μαστίγιο αυξάνεται σχεδόν αδιάλειπτα έως ότου φθάσει στο τελικό μήκος του. Μαστίγια που έχουν σπάσει εξακολουθούν να περιστρέφονται και μπορούν, μάλιστα, να επιδιορθωθούν με νέα μόρια μαστιγίνης που θα περάσουν μέσω του καναλιού του νηματίου για να αντικαταστήσουν τα απολεσθέντα μόρια.

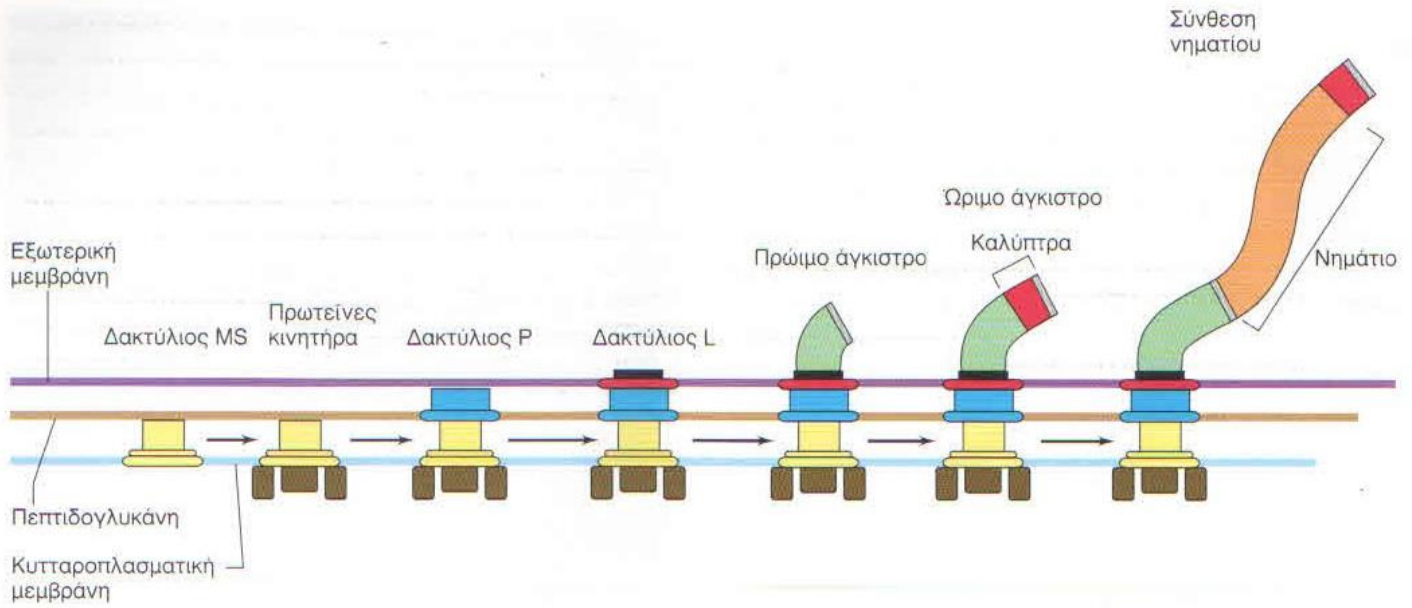
Κίνηση των μαστιγίων

Πώς μεταδίδεται η κίνηση στο μαστίγιο; Το κάθε μαστίγιο είναι μια σχετικά άκαμπτη δομή που δεν ελίσσεται, αλλά –όπως προαναφέραμε– κινείται περιστροφικά όπως μια προπέλα. Η χαρακτηριστική αυτή κίνηση είναι ορατή αν παρατηρηθεί η συμπεριφορά κινητών κυττάρων που έχουν προσδεθεί με τα μαστίγια τους σε αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου: τα κύτταρα περιστρέφονται γύρω από το σημείο προσκόλλησής τους με ταχύτητες ανάλογες με εκείνες που έχουν υπολογιστεί για τα ελεύθερα μαστιγιοφόρα κύτταρα.

Η περιστροφική κίνηση μεταδίδεται στο μαστίγιο από τον κινητήρα. Η απαιτούμενη ενέργεια προέρχεται από την πρωτονιεγερτική δύναμη (βλ. Τμήματα 4.6 και 5.12). Η κίνηση πρωτονίων διά μέσου της μεμβράνης, μέσω του συμπλέγματος Mot (Εικόνα 4.41), οδηγεί σε περιστροφή του μαστιγίου: έχει υπολογισθεί ότι κάθε περιστροφή του μαστιγίου απαιτεί τη μετακίνηση 1000 περίπου πρωτονίων.

Τα μαστίγια δεν περιστρέφονται με σταθερή ταχύτητα, αλλά την αυξομειώνουν ανάλογα με την ισχύ της πρωτονιεγερτικής δύναμης. Η περιστροφή των μαστιγίων προωθεί τα βακτήρια σε υγρό μέσο με ταχύτητα έως και 60 μήκη κυττάρου ανά sec, ή περίπου 0,17 m/h. Παρά τη φαινομενικά μικρή τιμή της, η συγκεκριμένη ταχύτητα είναι εξαιρετικά μεγάλη αν συγκριθεί με τις ταχύτητες μετακίνησης των ανώτερων οργανισμών, σε μήκη οργανισμού ανά sec. Ταχύτερο ζώο, για παράδειγμα, είναι το τσιτάχ, που μπορεί να τρέξει έως 110 km/h· ωστόσο, αυτή η τιμή για το τσιτάχ αντιστοιχεί μόνο σε 25 μήκη σώματος ανά sec. Ως προς την πραγματική, επομένως, διάσταση του μεγέθους, προκαρυωτικά κύτταρα που κολυμπούν με ταχύτητα 50-60 μήκη/sec ουσιαστικά κινούνται ταχύτερα από τους μεγαλύτερους οργανισμούς.

Οι κινήσεις οργανισμών με πολικά και λοφιότριχα μαστίγια διαφέρουν από τις κινήσεις οργανισμών με περίτριχα μαστίγια. Οι περίτριχοι οργανισμοί κινούνται εν γένει ευθύγραμμα, με αργό, μεγαλοπρεπή τρόπο. Οι οργανισμοί που έχουν πολικά μαστίγια κινούνται ταχύτερα, με σποραδικές συστροφές, εφορμώντας από θέση σε θέση. Μια απεικόνιση των διαφορών στην κινητική συμπεριφορά μεταξύ των οργανισμών με πολικά μαστίγια και των οργανισμών με περίτριχα μαστίγια δίνεται στην Εικόνα 4.43.



Εικόνα 4.42 Σύνοψη των σταδίων βιοσύνθεσης των μαστιγίων. Η σύνθεση εκκινεί με τη συγκρότηση του δακτυλίου MS στη μεμβράνη και συνεχίζεται με τον σχηματισμό των άλλων δακτυλίων, του άγκιστρου και της καλύπτρας. Στο σημείο αυτό, μόρια μαστιγίνης αρχίζουν να διαχέονται μέσω του άγκιστρου, για να σχηματίσουν το νημάτιο (απαιτούνται περί τα 20.000 μόρια μαστιγίνης ανά νημάτιο). Για να διασφαλισθεί η ομοιομορφή ανάπτυξη του νηματίου, τα μόρια μαστιγίνης καθοδηγούνται στην ορθή τελική θέση τους από πρωτεΐνες της καλύπτρας.

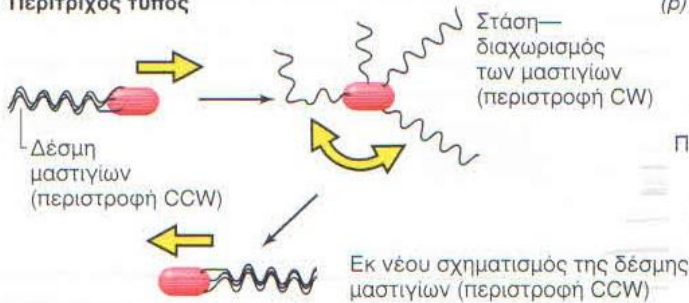
✓ **4.10 Έλεγχος εννοιών**

Η κινητικότητα των μικροοργανισμών συνδέεται συνήθως με τη χρήση μαστιγίων. Το μαστίγιο των προκαρυωτών είναι μια σύνθετη δομή που συντίθεται από πολλές πρωτεΐνες, οι περισσότερες εκ των οποίων προσδένονται στο κυτταρικό τοίχωμα και στη μεμβράνη. Το νημάτιο του μαστιγίου, αποτελούμενο από ένα μόνο είδος πρωτεΐνης, τίθεται σε περιστρο-

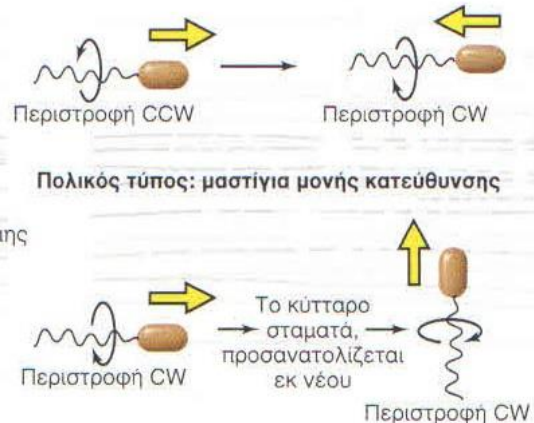
φή από τον κινητήρα του μαστιγίου, ο οποίος τροφοδοτείται ενεργειακά από την πρωτονιεγερτική δύναμη.

- ✓ Τι είναι η μαστιγίνη και πού απαντά;
- ✓ Πώς ωθεί προς τα εμπρός ένα βακτηριακό μαστίγιο το κύτταρο;
- ✓ Ποιες οι διαφορές μεταξύ πολικής μαστιγιοφορίας και περιτρίχης μαστιγιοφορίας;

(α) **Περιτρίχος τύπος**



(β) **Πολικός τύπος: αντιστρέψιμα μαστίγια**



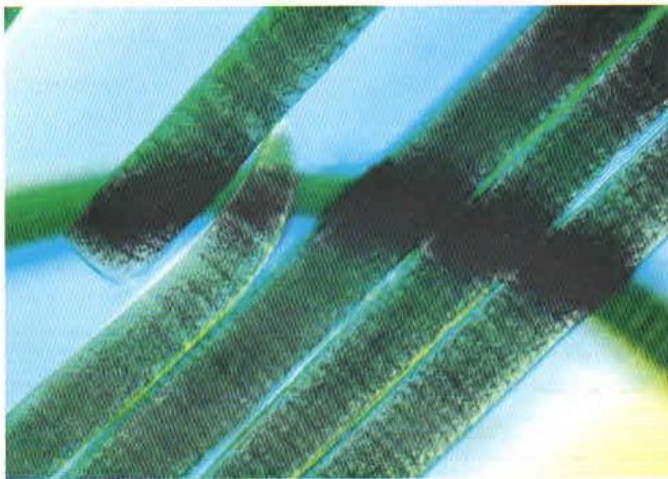
Εικόνα 4.43 Τρόπος μετακίνησης σε προκαρυώτες με περιτρίχια (α) και πολική (β) μαστιγιοφορία. (α) Περιτρίχος τύπος: Κίνηση προς τα εμπρός προσδίδεται με την ταυτόχρονη περιστροφή όλων των μαστιγίων, εν είδει δέσμης, αριστερόστροφα (counterclockwise, CCW). Η δεξιόστροφη περιστροφή (clockwise, CW) προκαλεί στάση του κυττάρου, ενώ επιστροφή κατά την αντίθετη φορά (CCW) οδηγεί το κύτταρο προς μια νέα κατεύθυνση. (β) Πολικός τύπος: Τα κύτταρα αλλάζουν κατεύθυνση αντιστρέφοντας την περιστροφή των μαστιγίων τους (ώστε να σύρουν, αντί να ωθούν το κύτταρο) ή, προκειμένου περί μαστιγίων μονής κατεύθυνσης, σταματώντας κατά περιόδους για να προσανατολισθούν εκ νέου και εν συνεχεία προχωρώντας προς τα εμπρός με δεξιόστροφη περιστροφή των μαστιγίων τους (CW). Η κατεύθυνση κίνησης υποδηλώνεται με κίτρινα βέλη.

4.11 Κινήσεις ολίσθησης

Ικανότητα κίνησης έχουν και πολλοί προκαρυωτικοί οργανισμοί που δεν φέρουν μαστίγια. Αυτά τα μη κολυμβητικά βακτήρια μπορούν να μετακινούνται πάνω σε στερεές επιφάνειες με **ολίσθηση**. Αν και ευρύτατα διαδεδομένος μεταξύ των Βακτηρίων, ο μηχανισμός αυτός δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά παρά μόνον σε λίγες ομάδες. Η κίνηση ολίσθησης, αν και βραδύτερη της προωθητικής κίνησης των μαστιγίων (φθάνει το πολύ έως 10 $\mu\text{m}/\text{sec}$ σε ορισμένα ολισθητικά βακτήρια), δεν παύει να προσφέρει στο κύτταρο ένα σημαντικό μέσο μετακίνησης στο εσωτερικό του ενδιαιτήματός του.

Οι ολισθητικοί προκαρυώτες είναι κύτταρα νηματοειδή ή ραβδόσχημα (Εικόνα 4.44) και η διαδικασία

της ολίσθησης προϋποθέτει επαφή των κυττάρων με μια στερεή επιφάνεια. Οι αποικίες ενός τυπικού ολισθητικού βακτηρίου εμφανίζουν χαρακτηριστική μορφολογία, δεδομένου ότι τα ολισθητικά κύτταρα διολισθαίνουν και απομακρύνονται από το κέντρο της αποικίας (Εικόνα 4.44γ) (αποικία είναι μια μάζα βακτηριακών κυττάρων που σχηματίζεται από τις διαδοχικές κυτταρικές διαιρέσεις ενός αρχικού κυττάρου (Τμήμα 5.3). Γνωστότερα ολισθητικά βακτήρια είναι τα νηματοειδή κυανοβακτήρια (Εικόνα 4.44α, β και Τμήμα 12.25), ορισμένα άλλα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, όπως ο *Myxococcus xanthus* και άλλα μυξοβακτήρια (Τμήμα 12.17), καθώς και διάφορα είδη των γενών *Cytophaga* και *Flavobacterium* (Εικόνα 4.44δ, και Τμήμα 12.31).



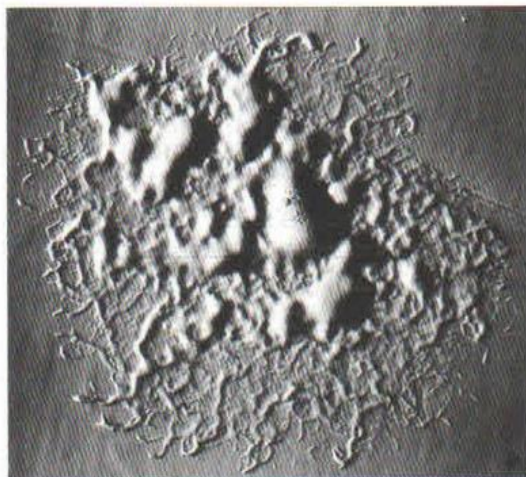
Richard W. Castenholz

(α)



Richard W. Castenholz

(β)



Mark J. McBride

(γ)



Mark J. McBride

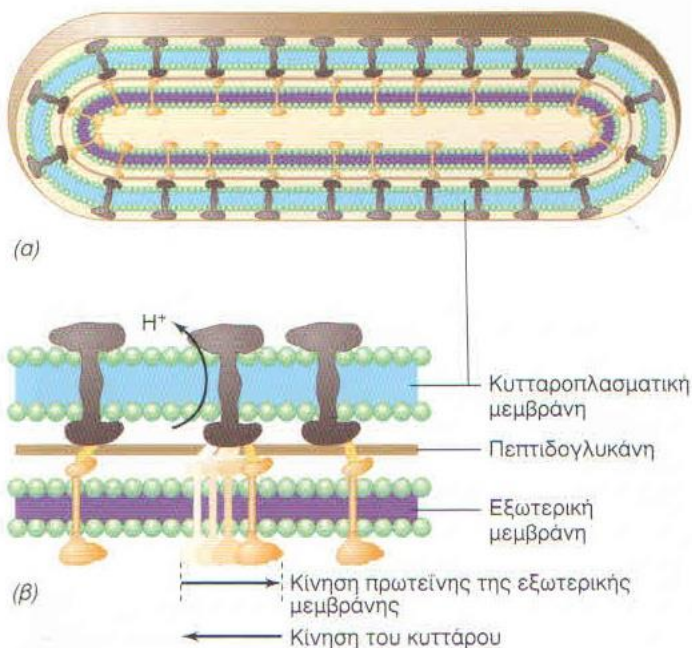
(δ)

Εικόνα 4.44 Ολισθητικά βακτήρια. (α, β) Το μεγάλο νηματοειδές κυανοβακτήριο *Oscillatoria princeps*. (α) Μικροφωτογραφία. Πλάτος κυττάρου: περί τα 35 μm . (β) Φωτογραφία νηματίων που ολισθαίνουν πάνω σε επιφάνεια από άγαρ. Τα κύτταρα μπορούν να κινούνται ολισθαίνοντας πάνω στη στερεή επιφάνεια, αλλά και ένα νημάτιο μπορεί να ολισθαίνει χρησιμοποιώντας ένα άλλο νημάτιο ως στερεή επιφάνεια. (γ, δ) Το αρνητικό κατά Gram ολισθητικό βακτήριο *Flavobacterium johnsoniae*. (γ) Μάζες κυττάρων που ολισθαίνουν απομακρυνόμενες από το κέντρο της αποικίας (πλάτος αποικίας: περί τα 2,7 mm). (δ) Μεταλλαγμένο στέλεχος που στερείται της ολισθητικής ικανότητας και εμφανίζει τυπική μορφολογία αποικιών μη ολισθητικών βακτηρίων (διάμετρος αποικιών: 0,7-1 mm). Σχετικά με τον προτεινόμενο μηχανισμό ολίσθησης του *F. johnsoniae*, βλ. Εικόνα 4.45.

Μηχανισμοί ολισθητικής κίνησης

Αν και κανένας μηχανισμός δεν έχει επιβεβαιωθεί έως σήμερα με επαρκή δεδομένα, υπάρχουν στοιχεία για πάνω από έναν μηχανισμό βακτηριακής ολίσθησης και έχουν προταθεί αντίστοιχες υποθέσεις εργασίας. Για τα κυανοβακτήρια (Εικόνα 4.44α, β) είναι γνωστό ότι στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου εκκρίνεται, κατά την ολίσθηση, μια πολυσακχαριτική βλέννα. Η βλέννα αυτή φαίνεται ότι εφάπτεται τόσο στην κυτταρική επιφάνεια όσο και στη στερεά επιφάνεια όπου κινείται το ολισθαίνον κύτταρο: καθώς η απεκκρινόμενη βλέννα προσκολλάται στην επιφάνεια, συμπαρασύρει μαζί της και το κύτταρο. Την παραπάνω υπόθεση στηρίζει η παρατήρηση ότι η κυτταρική επιφάνεια πολλών νηματοειδών κυανοβακτηρίων διαθέτει εκκριτικούς πόρους.

Ωστόσο, στα μη φωτοτροφικά ολισθητικά βακτήρια αποκλείεται να ισχύει ο μηχανισμός της βλέννας. Στο *Flavobacterium johnsoniae* (Εικόνα 4.45), π.χ., πιθανός μηχανισμός της ολίσθησης είναι η μετατόπιση πρωτεϊνών στην κυτταρική επιφάνεια. Συγκεκριμένα, ειδικές κινητήριες πρωτεΐνες προσδεδεμένες στην κυταροπλασματική και στην εξωτερική μεμβράνη θεω-



Εικόνα 4.45 Προτεινόμενο μοντέλο ολισθητικής κίνησης του *Flavobacterium johnsoniae* και ορισμένων άλλων ολισθητικών βακτηρίων (ευγενική προσφορά του Dr. Mark J. McBride). (α) Τομή αρνητικού κατά Gram κυττάρου που δείχνει ειδικές πρωτεΐνες ολίσθησης στην κυταροπλασματική και στην εξωτερική μεμβράνη. (β) Λεπτομερής απεικόνιση μέρους της εικόνας (α). Θεωρείται ότι η πεπτιδογλυκάνη σχηματίζει διαδρόμους (κίτρινο χρώμα) που συνδέουν πρωτεΐνες του κυταροπλάσματος (καφέ χρώμα) με πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης (πορτοκαλί χρώμα), ώστε να επιτευχθεί η προώθηση των εξωτερικών πρωτεϊνών κατά μήκος του στερεού υποστρώματος. Παρατηρήστε ότι η κατεύθυνση κίνησης του κυττάρου είναι αντίθετη από εκείνη των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης.

ρείται ότι προωθούν το κύτταρο με έναν τύπο συνεχούς οδοντωτής τροχοδρόμησης (Εικόνα 4.45). Η ενέργεια κίνησης των πρωτεϊνών της κυταροπλασματικής μεμβράνης προέρχεται πιθανόν από την πρωτονιογενετική δύναμη (∞ Τμήματα 4.6 και 5.12). Η ενέργεια αυτή μεταδίδεται τρόπον τινά στις πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης που βρίσκονται τοποθετημένες σε έναν συνεχή «διάδρομο» πάνω στην κυτταρική επιφάνεια (Εικόνα 4.45). Η κίνηση ακριβώς των εξωτερικών αυτών πρωτεϊνών έναντι του στερεού υποστρώματος θεωρείται ότι ωθεί το κύτταρο προς τα εμπρός.

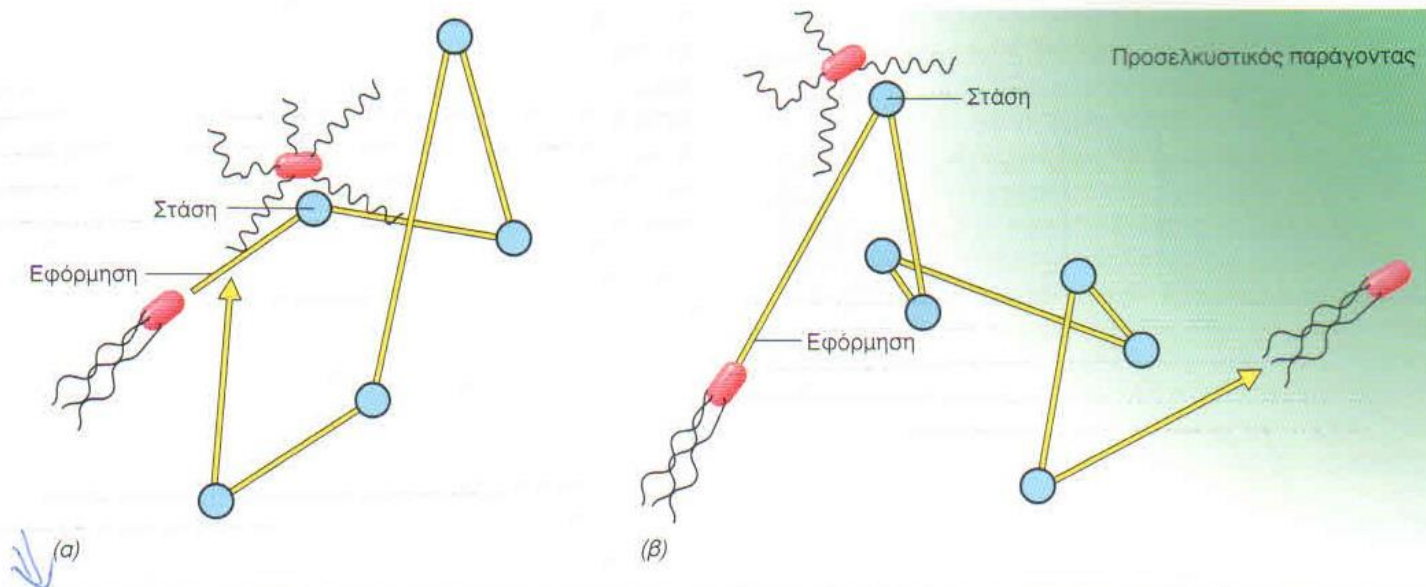
Όπως και άλλες μορφές κίνησης, η ολισθητική κίνηση έχει μεγάλη οικολογική σημασία. Επιτρέπει στο κύτταρο να διερευνά το περιβάλλον του για νέες πηγές θρέψης ή να αλληλεπιδρά επωφελώς με άλλα κύτταρα. Για παράδειγμα, ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι ο τρόπος ζωής των μυξοβακτηρίων –τυπικού δείγματος ολισθητικών βακτηρίων– χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη κοινωνικότητα και συνεργατικότητα: η ολισθητική κίνηση παίζει ενδεχομένως σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων αυτών (∞ Τμήμα 12.17).

4.12

Περιβαλλοντικές αποκρίσεις: χημειοτακτισμός, φωτοτακτισμός, και άλλοι τακτισμοί

Εφόσον εκτός από τους αυτοκινητούμενους υπάρχουν και μη αυτοκινητούμενοι προκαρυώτες, θα πρέπει να θεωρηθεί λογικό ότι η αυτοκινησία προσφέρει στα κύτταρα κάποιο επιλεκτικό πλεονέκτημα υπό δεδομένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Συχνά, στη φύση, οι προκαρυώτες συναντούν διαβαθμίσεις συγκέντρωσης των φυσικών και χημικών παραγόντων: οι μηχανισμοί της κίνησης έχουν εξελιχθεί έτσι ώστε να αποκρίνονται στις διαβαθμίσεις αυτές με θετικό ή αρνητικό τρόπο, προσεγγίζοντας ή απομακρύνοντας –αντιστοίχως– το κύτταρο από το μόριο σηματοδότησης. Αυτές οι κατευθυνόμενες κινήσεις των μικροοργανισμών λέγονται τακτισμοί, και είναι διαφόρων τύπων. Δύο από τους γνωστότερους τακτισμούς, οι οποίοι και θα εξετασθούν εν προκειμένω, είναι ο χημειοτακτισμός, η απόκριση σε χημικές ουσίες, και ο φωτοτακτισμός, η απόκριση στο φως.

Το φαινόμενο του χημειοτακτισμού έχει μελετηθεί διεξοδικά σε κολυμβητικά βακτήρια, όπου έχει κατανοηθεί, στο γενετικό επίπεδο, ο τρόπος με τον οποίο η συσκευή του μαστιγίου επικοινωνεί με τη χημική κατάσταση του εξωτερικού περιβάλλοντος. Στο παρόν κεφάλαιο θα αναφερθούμε αποκλειστικά σε τακτισμούς κολυμβητικών βακτηρίων. Ορισμένα ολισθητικά βακτήρια, ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι επίσης εμφανίζουν χημειοτακτισμό, ενώ είναι προ πολλού γνωστές οι φωτοτακτικές κινήσεις των νηματοειδών κυανοβακτηρίων. Επομένως, τακτισμός απαντά και στα ολισθητικά



Εικόνα 4.46 Χημειοτακτισμός σε ένα περίτριχο βακτήριο του τύπου της *Escherichia coli*. (α) Απουσία χημειοτακτικού παράγοντα, το κύτταρο κολυμπά χωρίς προσανατολισμό, αλλάζοντας κατεύθυνση μετά από κάθε στάση. (β) Παρουσία προσελκυστικής χημικής ουσίας, οι εφορμήσεις του κυττάρου αποκτούν προσανατολισμό και το κύτταρο κινείται προς την περιοχή αυξανόμενης διαβάθμισης συγκέντρωσης του προσελκυστικού παράγοντα.

βακτήρια, αν και δεν έχουμε καλή γνώση των μηχανισμών στην περίπτωση των βακτηρίων αυτών.

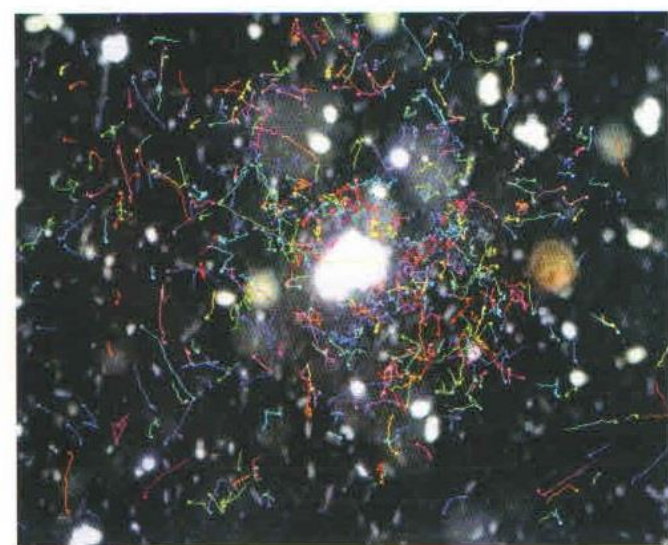
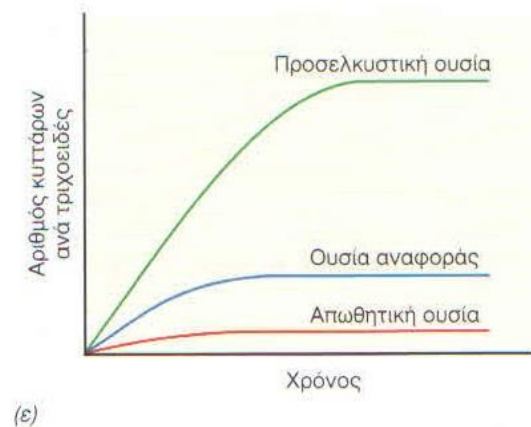
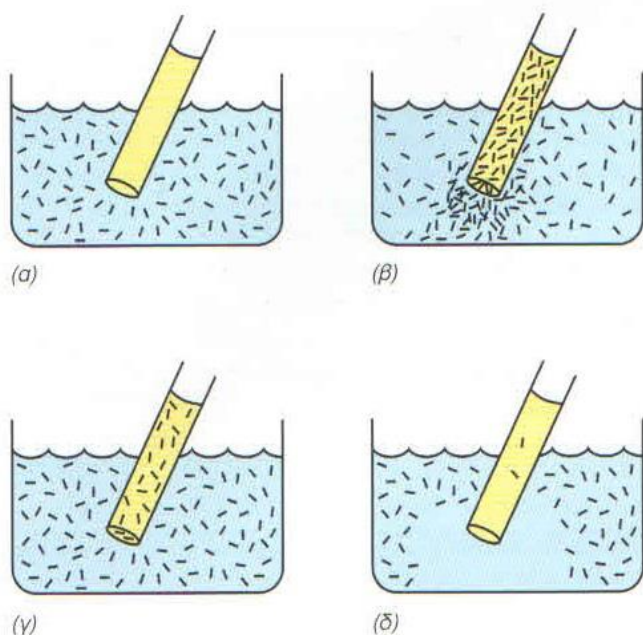
Χημειοτακτισμός

Για να κατανοήσουμε τον χημειοτακτισμό, ας επικεντρωθούμε στη συμπεριφορά ενός βακτηριακού κυττάρου που αντιμετωπίζει τη χημική διαβάθμιση συγκέντρωσης ενός προσελκυστικού μορίου (Εικόνα 4.46). Σε αντιδιαστολή προς τους μεγαλύτερους οργανισμούς, οι προκαρυώτες είναι πολύ μικροί σε μέγεθος για να μπορούν να αισθανθούν μια διαβάθμιση συγκέντρωσης καθ' όλο το μήκος του σώματός τους. Αντ' αυτού, θα πρέπει καθώς κινούνται να συγκρίνουν διαρκώς τη χημική ή φυσική κατάσταση του περιβάλλοντος με αυτήν που είχαν αντιληφθεί λίγα δευτερόλεπτα νωρίτερα. Με άλλα λόγια, τα βακτήρια ανταποκρίνονται όχι σε τοπικές αλλά σε χρονικές διαβαθμίσεις συγκέντρωσης των σηματοδοτικών μορίων, τις οποίες αντιλαμβάνονται με την κίνηση τους.

Μεγάλο μέρος της έρευνας του χημειοτακτισμού αφορά το περίτριχο βακτήριο *Escherichia coli*. Απουσία διαβάθμισης συγκέντρωσης, τα κύτταρα της *E. coli* κινούνται με τυχαίο τρόπο: η κίνησή τους περιλαμβάνει **εφορμήσεις**, κατά τις οποίες το κύτταρο κολυμπά απρόσκοπτα προς τα εμπρός, και **στάσεις**, κατά τις οποίες το κύτταρο σταματά και κινείται άτακτα γύρω από τη θέση του (Εικόνα 4.46α). Μετά από κάθε στάση, ακολουθεί μια εφορμή που όμως γίνεται προς τυχαία κατεύθυνση (Εικόνα 4.46α). Το αποτέλεσμα είναι ότι, με τις εφορμήσεις και τις στάσεις, το κύτταρο περιφέρεται στο περιβάλλον του χωρίς να προσανατολίζει την κίνησή του προς συγκεκριμένη κατεύθυνση. Αν, όμως,

εμφανισθεί μια διαβάθμιση συγκέντρωσης ενός χημικού παράγοντα προσέλκυσης, οι κινήσεις μετατρέπονται από τυχαίες σε προσανατολισμένες. Καθώς ο οργανισμός αισθάνεται τις υψηλότερες συγκεντρώσεις του προσελκυστικού μορίου (με τις περιοδικές «δειγματοληψίες» συγκεντρώσεων της χημικής ουσίας τις οποίες πραγματοποιεί καθώς κινείται στο περιβάλλον του), οι εφορμήσεις καθίστανται μεγαλύτερης διάρκειας και οι στάσεις σπανιότερες. Ως τελικό αποτέλεσμα, ο οργανισμός κινείται προς την κατεύθυνση της υψηλότερης διαβάθμισης συγκέντρωσης του προσελκυστικού παράγοντα (Εικόνα 4.46β). Αν, αντίθετα, ο οργανισμός αισθανθεί έναν απωθητικό παράγοντα, εφαρμόζεται ο ίδιος γενικός μηχανισμός, με τη διαφορά ότι τώρα οι εφορμήσεις γίνονται προς την κατεύθυνση προς την οποία **μειώνεται** η συγκέντρωση της απωθητικής ουσίας (αντί της κατεύθυνσης προς την οποία **αυξάνεται** η συγκέντρωση της προσελκυστικής ουσίας). Πρόσθια κίνηση, δηλ. εφορμή, έχουμε όταν ο κινητήρας του μαστιγίου περιστρέφεται αριστερόστροφα (αντίθετα προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού). Όταν περιστραφεί δεξιόστροφα (σύμφωνα με τη φορά των δεικτών του ρολογιού), παύει η πρόσθια κίνηση, και το κύτταρο αρχίζει να αιωρείται γύρω από μία θέση, υφίσταται δηλ. **στάση** (Εικόνα 4.43).

Στην περίπτωση της πολικής μαστιγιοφορίας, το φαινόμενο είναι κάπως διαφορετικό. Πολλά βακτήρια με πολική μαστιγιοφορία, π.χ. τα είδη της *Pseudomonas*, μπορούν, όπως και τα περίτριχα κύτταρα, να αντιστρέφουν τη φορά περιστροφής των μαστιγίων τους, ώστε να αντιστρέφουν με τον τρόπο αυτό και την κίνησή τους (Εικόνα 4.43β). Ωστόσο, ορισμένα από τα βακτήρια με πολική μαστιγιοφορία, όπως το φωτοτροφικό



(στ)

Rhodospirillum rubrum, μπορούν να περιστρέφουν τα μαστίγια τους μόνο δεξιόστροφα. Πώς μπορούν τα κύτταρα αυτά να αλλάζουν κατεύθυνση κίνησης και πώς δικαιολογείται ο χημειοτακτισμός τους; Στο κύτταρο του *R. sphaeroides*, που διαθέτει ένα μόνο μαστίγιο, η περιστροφή του μαστιγίου κατά περιόδους σταματά. Στα διαστήματα παύσης της κίνησης του μαστιγίου, το κύτταρο επαναπροσανατολίζεται με τυχαίο τρόπο λόγω της κίνησης Brown. Μετά την παύση, καθώς το μαστίγιο αρχίζει να περιστρέφεται πάλι, το κύτταρο αρχίζει να κινείται προς μια νέα κατεύθυνση (Εικόνα 4.43β). Τα κύτταρα του *R. sphaeroides* είναι ισχυρώς χημειοτακτικά έναντι πολλών ενώσεων του άνθρακα και επιδεικνύουν επίσης τακτισμό έναντι του φωτός και του οξυγόνου (βλ. παρακάτω). Παρ' ότι αδυνατεί να αντιστρέψει τη φορά περιστροφής του μαστιγίου του, το *R. sphaeroides* εμφανίζει παρόμοιο χημειοτακτικό μηχανισμό με αυτόν της *E. coli*: η αυξημένη διαβάθμιση συγκέντρωσης του προσελκυστικού παράγοντα τείνει να διατηρεί το μαστίγιο του *R. sphaeroides* σε περιστροφή, ενώ η μειωμένη διαβάθμιση συγκέντρωσης ενός προσελκυστικού παράγοντα ή η αυξημένη ενός αποθητικού τείνει να οδηγεί σε παύση της κίνησης και επαναπροσανατολισμό των κυττάρων.

Μετρήσεις του χημειοτακτισμού

Πώς χρησιμοποιούν τα βακτήρια τις χρονικές μεταβολές των χημικών συγκεντρώσεων για να ρυθμίζουν την περιστροφή των μαστιγίων τους; Πρόκειται για σύνθετο μηχανισμό που περιλαμβάνει αρκετά ρυθμιστικά συμβάντα σε γενετικό και βιοχημικό επίπεδο. Για να γίνει καλύτερα κατανοητή η γενετική-βιοχημική βάση του μηχανισμού αυτού, δίνεται λεπτομερής ανάλυσή του στο Κεφάλαιο 8 (🔗 Τμήμα 8.11). Επί του παρόντος, αρκεί να αναφερθεί ότι στον μοριακό μηχανισμό του χημειοτακτισμού συμμετέχουν αισθητήριες μεμβρανικές πρωτεΐνες, δηλ. *χημειοϋποδοχείς*, που αντιλαμβάνονται τη διαβάθμιση των χημικών συγκεντρώσεων

Εικόνα 4.47 Χημειοτακτισμός. (α-ε) Τεχνικές μέτρησης του χημειοτακτισμού στα βακτήρια. (α) Εισαγωγή ενός τριχοειδούς σε εναιώρημα κυττάρων. Καθώς εισάγεται το τριχοειδές, αρχίζει ο σχηματισμός διαβάθμισης συγκέντρωσης. (β) Συνάθροιση βακτηρίων στο εσωτερικό τριχοειδούς που περιέχει προσελκυστική ουσία. (γ) Τριχοειδές αναφοράς με διάλυμα άλατος που δεν αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα. Οι συγκεντρώσεις κυττάρων εσωτερικά και εξωτερικά του τριχοειδούς εξισορροποούνται. (δ) Απώθηση βακτηρίων από απωθητικό παράγοντα. (ε) Καμπύλη χρονικής προόδου που δείχνει τη συνάρτηση μεταξύ αριθμού κυττάρων στο τριχοειδές και χρόνου. (στ) Διαδρομές θαλάσσιων, αυτοκινούμενων βακτηρίων που συναθροίζονται γύρω από κύτταρο φύκος (μεγάλη, λευκή κηλίδα στο κέντρο): η εικόνα έχει ληφθεί με συσκευή μαγνητοσκόπησης προσαρμοσμένη σε μικροσκόπιο. Τα βακτηριακά κύτταρα εμφανίζουν, εν προκειμένω, *αεροτακτισμό*, αποκρίνονται δηλ. θετικά προς το οξυγόνο, το οποίο παράγεται από το φωτοσυνθέτον φύκος. Μέση ταχύτητα βακτηριακών κυττάρων: περί τα 35 $\mu\text{m}/\text{sec}$. Διάμετρος φύκος: περί τα 60 μm .

συναρτήσει του χρόνου και αλληλεπιδρούν με κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, επηρεάζοντας τη φορά κίνησης του μαστιγίου. Άρα, εφόσον η διεύθυνση περιστροφής του μαστιγίου καθορίζει εν τέλει κατά πόσον το κύτταρο προελαύνει ή σταματά, ο χημειοτακτισμός μπορεί να θεωρηθεί συνολικά ως ένα *αισθητήριο σύστημα απόκρισης* που ενεργοποιείται από χημικά ερεθίσματα και επιδρά στη λειτουργία του μαστιγίου.

Ο χημειοτακτισμός των βακτηρίων είναι δυνατόν να διαπιστωθεί πειραματικά, αν εμβαπτίσουμε μικρά γυάλινα τριχοειδή που περιέχουν την υπό εξέταση ουσία σε εναιώρημα αυτοκινούμενων βακτηρίων, το οποίο δεν περιέχει την ουσία αυτή. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται μια διαβάθμιση συγκέντρωσης από το άκρο του τριχοειδούς στο περιβάλλον μέσο, όπου η συγκέντρωση της χημικής ουσίας μειώνεται όσο αυξάνεται η απόσταση από το τριχοειδές (Εικόνα 4.47α). Αν η χημική ουσία είναι προσελκυστική, τα βακτήρια θα κινηθούν προς αυτήν σχηματίζοντας ένα σμήνος γύρω από το ανοικτό άκρο του τριχοειδούς (Εικόνα 4.47β). Πολλά, μάλιστα, από τα βακτήρια θα συνεχίσουν την κίνησή τους και θα εισέλθουν στο τριχοειδές. Μερικά βακτήρια, βέβαια, θα μπορούσαν να εισέλθουν στο τριχοειδές ακόμη και αν η σύσταση του διαλύματος του τριχοειδούς ήταν ίδια με αυτήν του περιβάλλοντος μέσου, λόγω τυχαίων κινήσεων (Εικόνα 4.47γ). Όταν, όμως, είναι παρούσα η προσελκυστική ουσία, η συγκέντρωση βακτηρίων που αναπτύσσεται μέσα στο τριχοειδές είναι πολλαπλάσια της εξωτερικής. Αν, αντί της προσελκυστικής, υπάρχει απωθητική ουσία, η συγκέντρωση βακτηρίων εντός του τριχοειδούς θα είναι πολύ μικρότερη της εξωτερικής συγκέντρωσής τους (Εικόνα 4.47δ). Με αυτή την απλή μέθοδο μπορεί να εξετασθεί ευχερώς κατά πόσον μια σειρά χημικών ουσιών δρουν

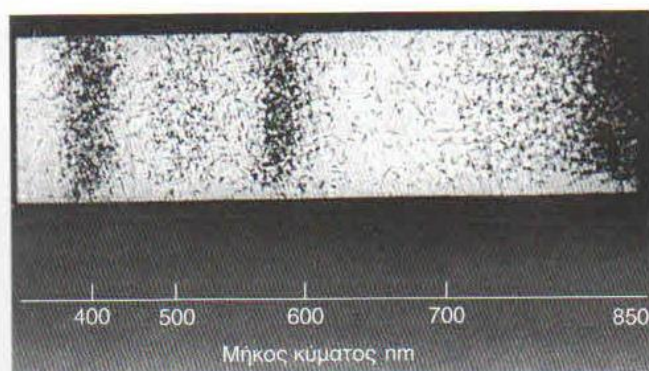
ως παράγοντες προσέλκυσης ή απώθησης για δεδομένο είδος βακτηρίου.

Ο χημειοτακτισμός μπορεί επίσης να παρατηρηθεί με μικροσκοπία. Χρησιμοποιώντας μια συσκευή μαγνητοσκόπησης που συλλαμβάνει τη θέση των βακτηριακών κυττάρων και δείχνει τη διαδρομή κάθε κυττάρου συναρτήσει του χρόνου, είναι δυνατόν να παρατηρήσουμε τις χημειοτακτικές κινήσεις (Εικόνα 4.47ε). Αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται σε μελέτες χημειοτακτισμού των βακτηρίων στα φυσικά τους περιβάλλοντα. Κύριοι χημειοτακτικοί παράγοντες στη φύση θεωρείται ότι είναι θρεπτικά συστατικά που εκκρίνονται από μεγαλύτερα μικροβιακά κύτταρα, όπως πρωτόζωα ή φύκη (Εικόνα 4.47ε), ή από ζώντες και νεκρούς μακροοργανισμούς.

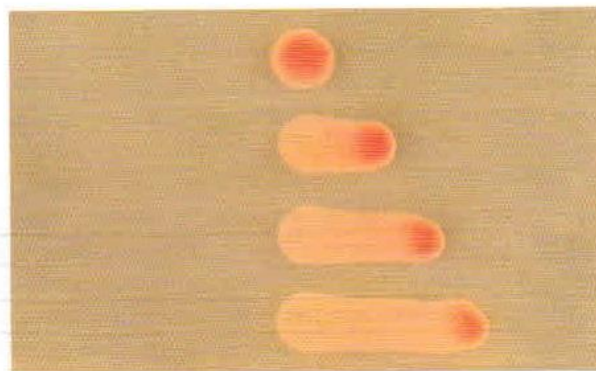
Φωτοτακτισμός

Πολλοί φωτοτροφικοί μικροοργανισμοί μπορούν να κινούνται προς το φως, διεργασία που ονομάζεται φωτοτακτισμός. Ο φωτοτακτισμός δίνει στον φωτοτροφικό οργανισμό το πλεονέκτημα ότι μπορεί να προσανατολιστεί με τον πλέον αποδοτικό τρόπο για τις φωτοσυνθετικές του ανάγκες. Το φαινόμενο μπορεί να διαπιστωθεί αν εφαρμόσουμε ένα φάσμα φωτός κατά μήκος μιας αντικειμενοφόρου μικροσκοπίου όπου υπάρχουν αυτοκινούμενα φωτοτροφικά βακτήρια: τα βακτήρια συγκεντρώνονται στα μήκη κύματος στα οποία απορροφούν οι φωτοσυνθετικές χρωστικές τους (Εικόνα 4.48α· το θέμα των φωτοσυνθετικών χρωστικών εξετάζεται στα Τμήματα 17.2 και 17.3).

Οι φωτοτακτικοί φωτοσυνθετικοί προκαρυώτες διακρίνονται σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα είναι αυτοί που εμφανίζουν τον λεγόμενο σκοτοφοβοτακτισμό. Ο σκοτοφοβοτακτισμός μπορεί να παρατηρηθεί μόνον



(α)



(β)

Εικόνα 4.48 Φωτοτακτισμός. (α) Σκοτοφοβική συνάθροιση του φωτοτροφικού βακτηρίου *Thiospirillum jenense* σε μήκη κύματος στα οποία απορροφούν οι κυτταρικές χρωστικές του. Φάσμα φωτός αναπτύχθηκε σε αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου που περιείχε πυκνή καλλιέργεια βακτηρίων. Μετά την πάροδο ικανού χρόνου, ελήφθη μικροφωτογραφία που αποκαλύπτει την επιλεκτική συνάθροιση των βακτηρίων σε περιοχές όπου απορροφά η βακτηριοχλωροφύλλη *a* (πρβλ. Εικόνα 17.3β). (β) Φωτοτακτισμός ολόκληρης αποικίας του πορφυρού φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodospirillum centenum* για χρονική περίοδο 2 h (πάνω, το χρονικό σημείο 0). Αυτά τα ισχυρώς φωτοτακτικά κύτταρα κινούνται ενωμένα προς την πηγή φωτός (δεξιά). Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα κυττάρων *R. centenum* υπάρχουν στην Εικόνα 4.39.

μικροσκοπικά και συμβαίνει όταν το φωτοτροφικό βακτήριο κινηθεί, κατά τύχη, εκτός του φωτεινού πεδίου της μικροσκοπικής παρατήρησης, προς το σκότος. Η είσοδος στην περιοχή του σκότους επιδρά αρνητικά στην ενεργειακή κατάσταση του κυττάρου και δίνει στο κύτταρο σήμα να σταματήσει, να αντιστρέψει τη διεύθυνση κίνησής του, και να εφορμήσει προς την αντίθετη κατεύθυνση, επανερχόμενο στο φως.

Πλην του σκοτοφοβοτακτισμού, οι φωτοτροφικοί μικροοργανισμοί μπορεί να εμφανίζουν πραγματικό φωτοτακτισμό, δηλ. μετακίνηση προσανατολισμένη προς την αυξανόμενη ένταση του φωτός σε μια διαβάθμιση συγκέντρωσης φωτεινής ενέργειας. Το φαινόμενο είναι ανάλογο προς τον θετικό χημειοτακτισμό, με τη διαφορά ότι προσελκυστικός παράγοντας δεν είναι μια χημική ουσία αλλά το φως. Σε ορισμένα είδη, όπως στον έντονα κινητικό, φωτοτροφικό οργανισμό *Rhodospirillum centenum* (βλ. Εικόνα 4.39), φωτοτακτισμό εμφανίζουν ολόκληρες αποικίες κυττάρων, κινούμενες ολόκληρες προς το φως (Εικόνα 4.48β). Αν και δεν γνωρίζουμε με ακρίβεια τις λεπτομέρειες του φαινομένου, υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι πολλοί παράγοντες του ρυθμιστικού μηχανισμού είναι κοινί στον χημειοτακτισμό και στον φωτοτακτισμό. Στους κοινούς παράγοντες ανήκουν, ιδιαίτερα, κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες (πρωτεΐνες Che), οι οποίες ελέγχουν τη φορά περιστροφής των μαστιγίων (∞ Τμήμα 8.11). Το παραπάνω συμπέρασμα έχει προέλθει από πειράματα με μεταλλαγμένα φωτοτροφικά βακτήρια που παρουσιάζουν δυσλειτουργία στον φωτοτακτισμό: τα μεταλλάγματα παρουσιάζουν συχνά προβλήματα και στον χημειοτακτισμό. Υπεύθυνα για τον συντονισμό της φωτοτακτικής απόκρισης είναι μόρια φωτοϋποδοχέων, ανάλογα με αυτά των χημειοϋποδοχέων, τα οποία αντί διαβαθμίσεων συγκέντρωσης χημικών ουσιών μπορούν να αντιλαμβάνονται διαβαθμίσεις συγκέντρωσης φωτός. Θεωρείται ότι οι φωτοϋποδοχείς αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες που επηρεάζουν την περιστροφή των μαστιγίων, ώστε το κύτταρο να παραμένει σε εφόρμηση, εφόσον κινείται προς αυξανόμενη ένταση φωτεινής ενέργειας.

Άλλοι τακτισμοί

Διαφορετικού τύπου τακτισμοί, όπως η κίνηση προς ή από το οξυγόνο (αεροτακτισμός; βλ. Εικόνα 4.47ε) και προς ή από συνθήκες υψηλής ιοντικής ισχύος (ωσμωτακτισμός), έχουν επίσης αρχίσει να γίνονται κατανοητοί σε μοριακό επίπεδο, βάσει γενικών αρχών των αισθητήριων συστημάτων απόκρισης, που έχουν προκύψει από τη μελέτη του χημειοτακτισμού. Ισχύει, εν γένει, ο εξής κοινός μηχανισμός: Τα κύτταρα λαμβάνουν περιοδικώς δείγματα από το περιβάλλον τους και προωθούν την πληροφορία αυτή μέσω μιας οδού μεταγωγής σήματος (∞ Τμήμα 8.11) που οδηγεί στον έλεγχο της φοράς περιστροφής του μαστιγίου. Τα παραπάνω μπορεί να θεωρηθούν ως απλές περιβαλλοντικές αποκρί-

σεις, μια λογική προσέγγιση στην κατανόηση των οποίων είναι και η μελέτη παρόμοιων μηχανισμών απόκρισης, π.χ. του μηχανισμού της νευροδιαβίβασης, σε ανώτερους οργανισμούς. Από τη σκοπιά της οικολογικής συμπεριφοράς, οι αυτοκινούμενοι προκαρυώτες είναι πολύ καλά συντονισμένοι στη φυσικοχημική κατάσταση του περιβάλλοντός τους και μπορούν να κινηθούν προς ή από διάφορα σήματα διέγερσης, παραμένοντας ανταγωνιστικοί και επιτυχείς στην οικολογική τους προσαρμογή.

✓ 4.11-4.12 Έλεγχος εννοιών

Μερικά βακτήρια κινούνται με ολίσθηση, ενώ άλλα κινούνται με κολύμβηση. Τα αυτοκινούμενα βακτήρια μπορούν να αποκρίνονται σε χημικές και φυσικές διαβαθμίσεις συγκέντρωσης στο περιβάλλον τους. Στις διεργασίες του χημειοτακτισμού και του φωτοτακτισμού, η τυχαία μετακίνηση ενός προκαρυωτικού κυττάρου μπορεί να προσανατολισθεί ως προς κάποιο χημικό ερέθισμα (ή ως προς το φως, σε έναν φωτοτροφικό μικροοργανισμό) με ρύθμιση της συχνότητας των εφορμήσεων και των στάσεων. Αυτή ρυθμίζεται από τη διεύθυνση περιστροφής του μαστιγίου, η οποία με τη σειρά της ελέγχεται από ένα δίκτυο πρωτεϊνών αίσθησης και απόκρισης.

- ✓ Σε τι διαφέρει, ως προς τον μηχανισμό και τις ενεργειακές απαιτήσεις, η ολίσθηση από την κολύμβηση;
- ✓ Δώστε τον ορισμό του χημειοτακτισμού.
- ✓ Πώς προκαλείται μια εφόρμηση και πώς μια στάση;
- ✓ Σε τι διαφέρει ο σκοτοφοβοτακτισμός από τον φωτοτακτισμό;

IV ΔΟΜΕΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΓΚΛΕΙΣΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΩΝ

Εκτός από το κυτταρικό τοίχωμα και τις σχετικές με αυτό επιφανειακές στιβάδες που εξετάστηκαν παραπάνω, μερικά προκαρυωτικά κύτταρα έχουν επιπρόσθετες εξωτερικές στιβάδες που βρίσκονται σε άμεση επαφή με το περιβάλλον. Επιπλέον, τα περισσότερα κύτταρα μπορούν να σχηματίζουν κυτταρικά έγκλειστα του ενός ή του άλλου τύπου. Τα έγκλειστα αυτά εμπεριέχουν, συνήθως, κάποιο θρεπτικό υλικό που αφθονεί στο κυτταρικό περιβάλλον και αποταμιεύεται ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ως επείγουσα πηγή θρέψης, σε περιόδους ένδειας. Ορισμένες από τις δομές αυτές εξετάζονται παρακάτω.

4.13 Δομές επιφανείας των Βακτηριακών κυττάρων και κυτταρικά έγκλειστα

Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί μπορούν να παράγουν διάφορες δομές που προσκολλώνται ή προεξέχουν από

την κυτταρική επιφάνεια. Τέτοιες δομές σχηματίζουν ορισμένα μόνον είδη βακτηρίων, πρόκειται δηλ. για δομές επιλεκτικές.

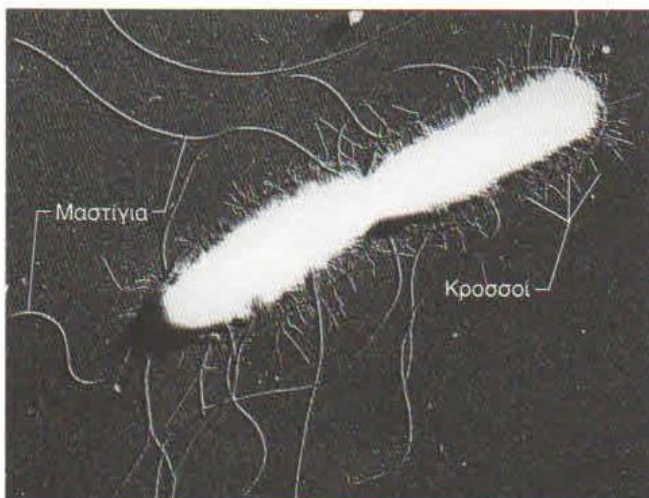
Κροσσοί και τριχίδια

Οι **κροσσοί** και τα **τριχίδια** είναι δομικώς παρόμοια με τα μαστίγια, αλλά δεν συνδέονται με μηχανισμούς κίνησης. Οι **κροσσοί** είναι πολύ μικρότεροι απ' ό,τι τα μαστίγια και πολύ περισσότεροι (Εικόνα 4.49), αλλά όπως και τα μαστίγια αποτελούνται από πρωτεΐνες. Οι λειτουργίες των κροσσών δεν είναι γνωστές με ακρίβεια, υπάρχουν όμως δεδομένα που υποδεικνύουν τη συμμετοχή τους στις λειτουργίες της προσκόλλησης των μικροοργανισμών σε επιφάνειες (που μπορεί να είναι ακόμη και ζωικοί ιστοί, στην περίπτωση ορισμένων παθογόνων βακτηρίων), ή του σχηματισμού επιφανειακών υμενίων ή βιοφίλμ (∞ Τμήμα 19.3).

Τα **τριχίδια** έχουν παραπλήσια δομή με τους κροσσούς, αλλά είναι εν γένει μακρότερα και υπάρχουν σε ελάχιστους αριθμούς (συνήα, μόνο ένα) ανά κύτταρο. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα τριχίδια μπορούν να γίνουν ορατά διότι λειτουργούν ως υποδοχείς για ορισμένους τύπους ιών και γίνονται ιδιαίτερα ευδιάκριτα όταν είναι καλυμμένα με τα σωματίδια των ιών αυτών (Εικόνα 4.50). Όπως θα αναπτυχθεί στο Τμήμα 10.9, υπάρχουν ισχυρές πειραματικές ενδείξεις ότι τα τριχίδια συμμετέχουν στον μηχανισμό της προκαρυωτικής σύζευξης. Τα τριχίδια ορισμένων παθογόνων βακτηρίων, εξάλλου, συμμετέχουν στη διαδικασία προσκόλλησης σε ανθρώπινους ιστούς.

Παρακρυσταλλικές επιφανειακές στιβάδες (στιβάδες S)

Πολλοί προκαρυώτες περιέχουν μια στιβάδα κυτταρικής επιφάνειας συντιθέμενη από ένα διδιάστατο πλέγ-



J. P. Duguid and J. F. Wilkinson

Εικόνα 4.49 Ηλεκτρονικό μικρογράφημα ενός διαιρούμενου κυττάρου *Salmonella typhi*, που εμφανίζει μαστίγια και κροσσοί. Διάμετρος κάθε κυττάρου: περί τα 0,9 μm.



Charles C. Brinton, Jr.

Εικόνα 4.50 Η ύπαρξη τριχιδίων στο κύτταρο της *Escherichia coli* αποκαλύπτεται με τη χρήση ιών που προσκολλώνται ειδικά στα τριχίδια αυτά. Διάμετρος κυττάρου: περί τα 0,8 μm.

μα πρωτεϊνών. Αυτές οι στιβάδες λέγονται **στιβάδες S**. Στιβάδες S έχουν εντοπισθεί σε αντιπροσωπευτικά είδη όλων σχεδόν των φυλογενετικών κατηγοριών των Βακτηρίων και σε πολλά είδη Αρχαίων. Σε μερικά είδη Αρχαίων η στιβάδα S αποτελεί ουσιαστικά το κυτταρικό τοίχωμα (βλ. Τμήμα 4.8). Οι στιβάδες S έχουν εμφάνιση κρυσταλλική με ποικιλία συμμετριών, εξαγωνική, τετραγωνική, ή τριμερή συμμετρία, ανάλογα με τον αριθμό και τη δομή των πρωτεϊνικών ή γλυκοπρωτεϊνικών υπομονάδων τους (βλ. Εικόνα 4.34β, όπου δίνεται ηλεκτρονικό μικρογράφημα μιας στιβάδας S).

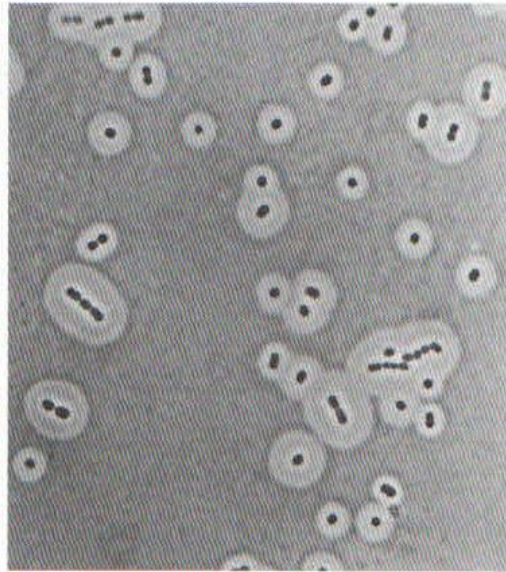
Η κύρια λειτουργία των στιβάδων S παραμένει άγνωστη. Είναι πιθανόν ότι, ως μεσεπιφάνεια μεταξύ κυττάρου και περιβάλλοντος, η στιβάδα S λειτουργεί ως εξωτερικός φραγμός διαπερατότητας, που επιτρέπει τη διόδο σε μικρομοριακές ουσίες, αλλά όχι σε μεγάλα μόρια. Σε παθογόνα βακτήρια με στιβάδες S, υπάρχουν ενδείξεις ότι η στιβάδα αυτή παρέχει προστασία έναντι ορισμένων μηχανισμών ανοσοαπόκρισης.

Κάψες και Βλεννοστιβάδες: Ο γλυκοκάλυκας

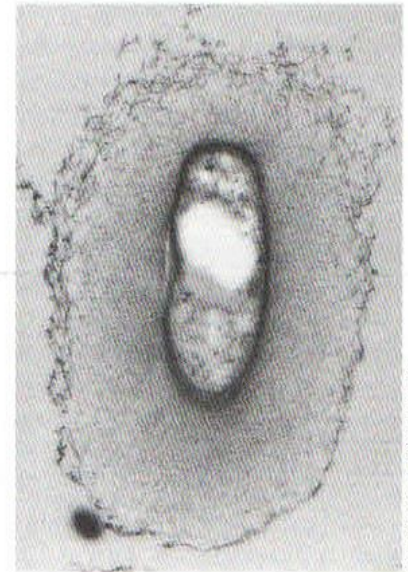
Πολλοί προκαρυωτικοί οργανισμοί εκκρίνουν στις επιφάνειές τους βλενώδη ή κολλώδη υλικά (Εικόνα 4.51). Πολλές από αυτές τις δομές αποτελούνται από πολυσακχαρίτες και λίγες από πρωτεΐνες. Οι όροι **κάψα** και **βλεννοστιβάδα** χρησιμοποιούνται συχνά για να περιγράψουν στιβάδες πολυσακχαριτών, ενώ για τον προσδιορισμό, γενικότερα, των βλενώδων στιβάδων χρησιμοποιείται επίσης ο όρος **γλυκοκάλυκας**. Ο γλυκοκάλυκας ορίζεται ως το πολυσακχαριτικό υλικό που σχηματίζει επίστρωση στην εξωτερική πλευρά του κυττάρου. Η σύνθεση των στιβάδων γλυκοκάλυκα ποικίλλει από είδος σε είδος, αλλά ακόμη και σε ένα συγκεκριμένο είδος οργανισμού μπορεί να απαντούν γλυκοκάλυκες λεπτοί ή παχείς, εύκαμπτοι ή δύσκαμπτοι, ανάλογα με τη χημική φύση των υλικών. Δύσκαμπτοι γλυκοκάλυκες είναι οργανωμένοι ως ένα στεγανό σώμα που αποτρέπει τη διόδο σωματιδίων, όπως π.χ. της ινδικής μελάνης: η μορφή αυτή αναφέρεται ως **κάψα** (Εικόνα

Εικόνα 4.51

Βακτηριακές κάψες. (α) Η μικροσκοπία αντίθεσης φάσεων δείχνει την ύπαρξη κάψας σε ένα είδος *Acinetobacter*, με αρνητική χρώση ινδικής μελάνης. Η ινδική μελάνη δεν διαπερνά την κάψα, η οποία αποκαλύπτεται με μορφή περιγράμματος φωτεινής δομής σε σκοτεινό φόντο. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα λεπτής τομής ενός κυττάρου *Rhizobium trifolii* χρωσμένου με ερυθρό του ρουθηνίου για να αποκαλυφθεί η δομή της κάψας. Διάμετρος κυττάρου (χωρίς την κάψα): περί τα 0,7 μm. Αν και οι περισσότερες κάψες είναι πολυσακχαριτικές, μερικά βακτήρια έχουν πρωτεϊνικές κάψες. Τα κύτταρα του *Bacillus anthracis*, π.χ., μικροοργανισμού που συνδέεται τόσο με ζωικές ασθένειες όσο και με κρούσματα βιοτρομοκρατίας (Τμήμα 25.11), έχουν μια κάψα πολυ-D-γλουταμικού οξέος που τα προστατεύει από τους καταστρεπτικούς μηχανισμούς άμυνας των ξενιστών.



(α)



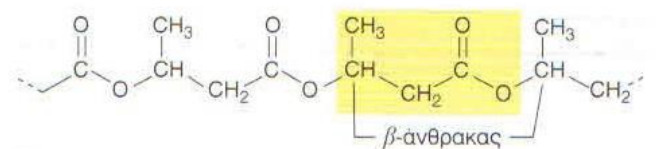
(β)

4.51α). Στην περίπτωση που ο γλυκοκάλυκας είναι χαλαρότερος, είναι αφ' ενός περισσότερο δυσδιάκριτος και αφ' ετέρου αδυνατεί να αποκλείσει τη διόδο των σωματιδίων: αυτή η μορφή γλυκοκάλυκα αναφέρεται ως βλεννοστιβάδα (ή γλοιώδης στιβάδα).

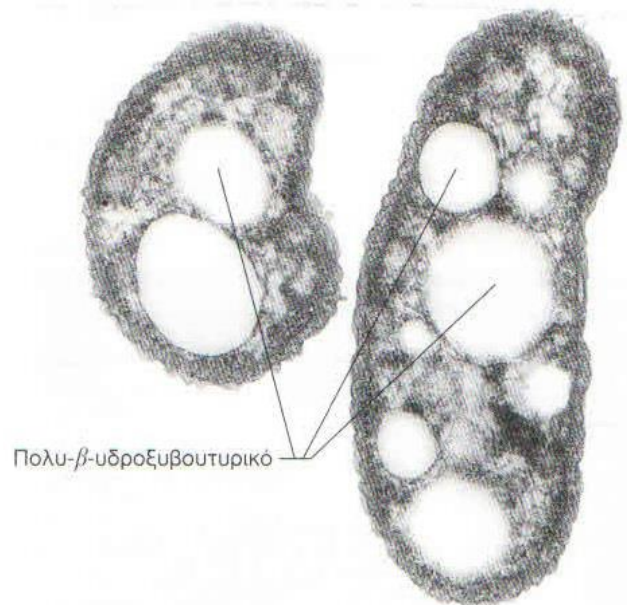
Οι στιβάδες γλυκοκάλυκα εξυπηρετούν διάφορες λειτουργίες για τα βακτήρια. Εξωτερικές στιβάδες πολυσακχαριτών παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών στους ξενιστές τους. Όπως θα δούμε στο Τμήμα 21.6, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που εισέρχονται στο σώμα των ζώων από ειδικές οδούς αξιοποιούν τις αντιδράσεις δέσμευσης μεταξύ συστατικών της εξωτερικής επιφάνειας (όπως ο γλυκοκάλυκας) και των ειδικών ξενιστικών ιστών που υφίστανται την εισβολή. Υπάρχουν, βέβαια, και άλλοι ρόλοι. Βακτήρια με κάψες, επί παραδείγματι, φαίνεται ότι αποτελούν δυσχερέστερους στόχους αναγνώρισης για τα φαγοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Τμήμα 22.2). Εξάλλου, επειδή οι εξωτερικές στιβάδες πολυσακχαριτών δεσμεύουν πιθανώς σημαντική ποσότητα νερού, θεωρείται λογικό ότι η στιβάδα του γλυκοκάλυκα λειτουργεί και ως μέσο προστασίας έναντι της αποξήρανσης.

Αποθηκευτικά πολυμερή άνθρακα

Συχνά, στο εσωτερικό των κυττάρων παρατηρούνται κοκκία και άλλα έγκλειστα. Αν και η χημική τους φύση διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό, λειτουργούν σχεδόν πάντοτε ως αποθήκες ενέργειας ή ταμιευτήρες δομικών μονάδων. Τα έγκλειστα μπορούν να παρατηρηθούν απευθείας με το μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων, αλλά και με τη βοήθεια χρωστικών που αυξά-



(α)



(β)

Εικόνα 4.52 Πολυ-β-υδροξυβουτυρικό (PHB). (α) Χημική δομή του PHB, ενός κοινού πολυ-β-υδροξυαλκανοϊκού οξέος. Η μονομερής μονάδα παρουσιάζεται με κίτρινη σκίαση. Άλλα πολυμερή αλκανοϊκού σχηματίζονται όταν η μεθυλομάδα του β-άνθρακα αντικατασταθεί από υδρογονάνθρακες μακρύτερων αλυσίδων. (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα λεπτής τομής κυττάρων του φωτοτροφικού βακτηρίου *Rhodovibrio sodomensis*, που περιέχει κοκκία PHB.

νουν την οπτική αντίθεση. Σαφέστερη εικόνα των εγκλειστών μπορεί να δώσει το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 4.52). Τα περισσότερα κυτταρικά εγκλειστα περιβάλλονται από μονή, μη στοιχειακή μεμβράνη λιπιδίων, που διαχωρίζει το εγκλειστο από το κυτταρόπλασμα.

Ένας από τους συνηθέστερους τύπους εγκλειστών των προκαρυωτικών οργανισμών είναι αυτός που περιέχει **πολυ-β-υδροξυβουτυρικό οξύ (PHB)**, ένα λιπιδιοειδές μόριο σχηματιζόμενο από μονάδες β-υδροξυβουτυρικού (Εικόνα 4.52a). Τα μονομερή του οξέος αυτού συνδέονται με εστερικούς δεσμούς για τον σχηματισμό του επιμήκους πολυμερούς PHB, η δε συσσώρευση των πολυμερών PHB δημιουργεί τα κοκκία (Εικόνα 4.52β). Τα πολυμερή μπορεί να διαφέρουν σημαντικά σε μέγεθος, από C₄ έως C₁₈ σε ορισμένους οργανισμούς. Για τη συνολική περιγραφή αυτής της ομάδας αποθηκευτικών πολυμερών χρησιμοποιείται ο όρος **πολυ-β-υδροξυαλκανοϊκά (PHA)**. Πολυ-β-υδροξυαλκανοϊκά παράγονται από μεγάλη ποικιλία προκαρυωτών, τόσο *Βακτηρίων* όσο και *Αρχαίων*. Άλλο αποθηκευτικό προϊόν των προκαρυωτών είναι το **γλυκογόνο**, ένα πολυμερές γλυκόζης (☞ Τμήμα 3.3 και Εικόνα 3.6). Όπως και τα PHA, το γλυκογόνο αποτελεί αποθήκη ενέργειας και άνθρακα και παράγεται όταν υπάρχει πλεόνασμα πηγών άνθρακα στο περιβάλλον.

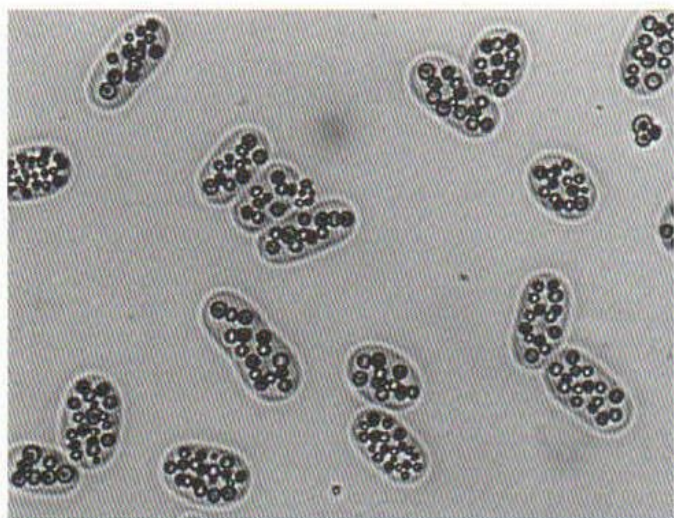
Άλλα αποθηκευτικά υλικά και εγκλειστα

Πολλοί μικροοργανισμοί συσσωρεύουν μεγάλες προμήθειες ανόργανων φωσφορικών υπό μορφή κοκκίων **πολυφωσφορικού**. Αυτά τα κοκκία μπορούν να αποικοδομηθούν και να χρησιμοποιηθούν ως πηγές φωσφορικού για τη βιοσύνθεση νουκλεϊκών οξέων και φωσφο-

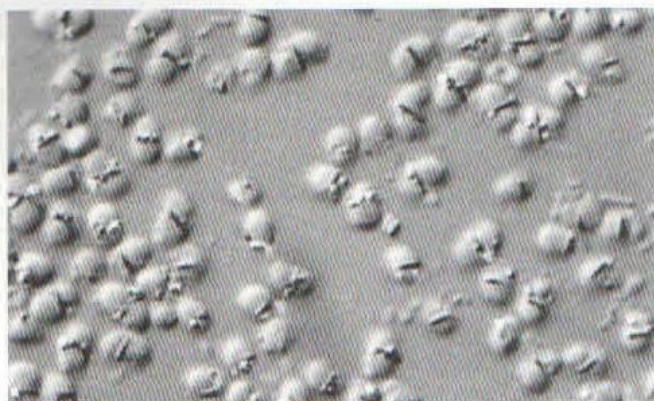
λιπιδίων. Επιπροσθέτως, πολλοί προκαρυώτες είναι ικανοί να οξειδώνουν αναγωγικές ενώσεις του θείου, όπως το υδρόθειο και θειώδη άλατα. Οι οξειδώσεις αυτές συνδέονται είτε με τις αντιδράσεις του μεταβολισμού ενέργειας (☞ Τμήματα 17.8 και 17.10) είτε με τις βιοσυνθετικές αντιδράσεις (☞ Τμήμα 17.6). Και στις δύο περιπτώσεις, μπορεί να συσσωρευτούν ως αποτέλεσμα των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων **μόρια θείου** που σχηματίζουν μεγάλα, ευδιάκριτα κοκκία εντός του κυττάρου (Εικόνα 4.53). Τα κοκκία θείου παραμένουν όσο είναι παρούσα η αναγωγική πηγή θείου. Καθώς, όμως, περιορίζεται η συγκέντρωση του αναγωγικού θείου, το θείο των κοκκίων οξειδώνεται, συνήθως προς θειικό, με αποτέλεσμα τη βαθμιαία εξαφάνιση των κοκκίων αυτών.

Τα **μαγνητοσώματα** είναι ενδοκυτταρικά κρυσταλλικά σωματίδια που περιέχουν το σιδηρούχο ορυκτό μαγνητίτη, Fe₃O₄ (Εικόνα 4.54). Τα μαγνητοσώματα δημιουργούν στο κύτταρο ένα μόνιμο μαγνητικό δίπολο, που του επιτρέπει να ανταποκρίνεται σε μαγνητικό πεδίο. Τα βακτήρια που παράγουν μαγνητοσώματα (Εικόνα 4.54a) εμφανίζουν **μαγνητοτακτισμό**, δηλαδή προσανατολίζουν την κίνηση τους προς την κατεύθυνση των γραμμών του γεωμαγνητικού πεδίου (☞ Τμήμα 12.14). Παρά την ονομασία του, δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι το φαινόμενο του μαγνητοτακτισμού μοιάζει από άποψη μηχανισμού με τα αισθητήρια συστήματα των χημειοτακτικών ή φωτοτακτικών βακτηρίων (βλ. Τμήματα 4.12 και 8.11). Απλώς, η ευθυγράμμιση των μαγνητοσωμάτων προσδίδει στο κύτταρο μαγνητικές ιδιότητες που στη συνέχεια προσανατολίζουν το κύτταρο προς μία συγκεκριμένη κατεύθυνση στο περιβάλλον του. Μαγνητοσώματα έχουν παρατηρηθεί σε πολλά, υδρόβια κυρίως, βακτήρια (Εικόνα 4.54a). Τα μαγνητοτακτικά βακτήρια είναι, συχνά, μικροαερόφιλα (αυξάνονται βέλτιστα σε περιβάλλον πολύ μικρής συγκέντρωσης O₂) και φαίνεται πιθανόν ότι τα μαγνητοσώματα έχουν ως ρόλο να κατευθύνουν τα υδρόβια κύτταρα προς ιζήματα με χαμηλότερα επίπεδα O₂.

Τα μαγνητοσώματα περιβάλλει μια μεμβράνη από φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες, και γλυκοπρωτεΐνες (Εικόνα 4.54β, γ). Αυτή δεν είναι μια μοναδιαία μεμβράνη του τύπου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Εικόνα 4.17), αλλά μια μονοστιβάδα, όπως η μεμβράνη που περιβάλλει τα κοκκία πολυ-β-υδροξυβουτυρικού (PHB· Εικόνα 4.52). Στο αναπτυσσόμενο μαγνητοσώμα, ρόλος των μεμβρανικών πρωτεϊνών είναι πιθανόν να καταβυθίζουν τον Fe³⁺ (που εισάγεται στο κύτταρο σε διαλυτή μορφή από χηλικούς παράγοντες) υπό μορφή Fe₃O₄. Η μορφολογία των μαγνητοσωμάτων φαίνεται ότι είναι ειδική ως προς το είδος: ποικίλλει σε σχήμα από τετραγωνικό έως ορθογώνιο ή και ακιδοειδές, σε ορισμένα βακτήρια, ενώ τα περισσότερα μαγνητοσώματα σχηματίζουν συνήθως αλυσίδες στο εσωτερικό του κυττάρου (Εικόνα 4.54).

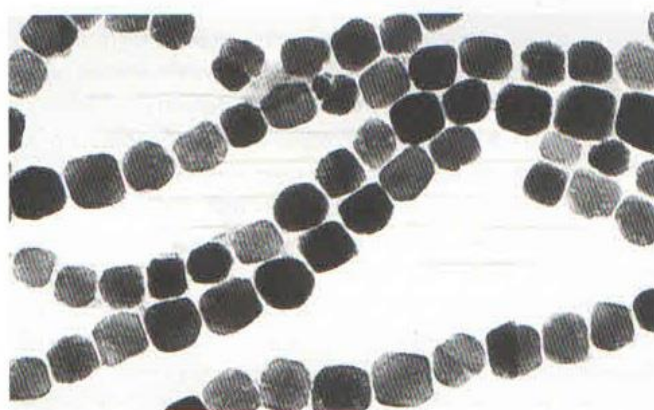


Εικόνα 4.53 Μικροφωτογραφία φωτεινού πεδίου κυττάρων του πορφύρου θειοβακτηρίου *Isochromatium buderi*. Παρατηρήστε, μέσα στα κύτταρα, τα κοκκία θείου. Διαστάσεις κάθε κυττάρου: περίπου 4 × 7 μm.



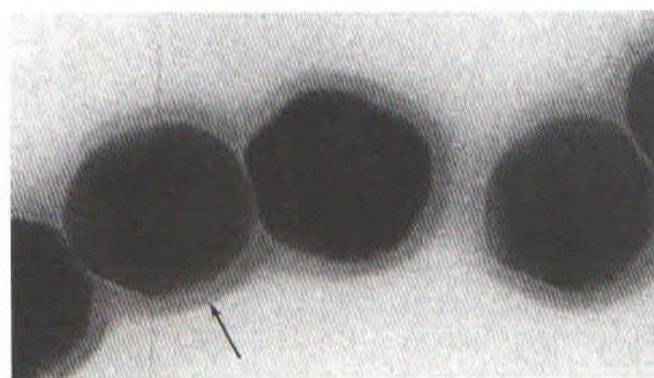
Sletian Spring

(α)



R. Blakemore and W. O'Brien

(β)



Dennis Bazyljinsk

(γ)

Εικόνα 4.54 Μαγνητοτακτικά βακτήρια και μαγνητοσώματα. (α) Μικρογράφημα αντίθεσης συμβολής κοκκιωδών μαγνητοτακτικών βακτηρίων, όπου μπορούν να παρατηρηθούν μαγνητοσώματα. Διάμετρος κάθε κυττάρου: περί τα 2,2 μm. (β) Μαγνητοσώματα που έχουν απομονωθεί από το μαγνητοτακτικό βακτήριο *Magnetospirillum magnetotacticum*. Μήκος κάθε σωματιδίου: περί τα 50 nm (☞ Εικόνα 12.32). (γ) Ηλεκτρονικό μικροφωτογράφημα μαγνητοσωμάτων ενός μαγνητικού κοκκιώδους βακτηρίου, υπό μεγάλη μεγέθυνση. Το βέλος υποδεικνύει τη μεμβράνη που περιβάλλει κάθε μαγνητοσώμα. Η μεμβράνη αυτή, όπως και η μεμβράνη του PHB (βλ. Εικόνα 4.52), δεν είναι στην πραγματικότητα μια μοναδιαία μεμβράνη, αλλά μια μονοστιβάδα, παρ' όλο που περιέχει λιπίδια και πρωτεΐνες. Πλάτος μαγνητοσώματος: περί τα 90 nm.

✓ 4.13 Έλεγχος εννοιών

Τα προκαρυωτικά κύτταρα περιέχουν συχνά διάφορες δομές που είτε προεξέχουν είτε σχηματίζονται εντός του κυττάρου. Σε αυτές τις δομές συμπεριλαμβάνονται κροσσοί και τριχίδια, στιβάδες S, κάψες ή βλεννοστιβάδες, πολυμερή άνθρακα και άλλα αποθηκευτικά πολυμερή, καθώς και τα μαγνητοσώματα. Σε αντιδιαστολή προς τα οργανίδια των ευκαρυωτικών κυττάρων, οι ανωτέρω προκαρυωτικές δομές δεν περιβάλλονται από στοιχειακή μεμβράνη.

- ✓ Ποιες είναι οι δομικές και λειτουργικές διαφορές μεταξύ κροσσών και τριχιδίων;
- ✓ Τι είναι το πολυ-β-υδροξυβουτυρικό και ποια η λειτουργία του για το κύτταρο; Πώς σχηματίζεται το υλικό αυτό;
- ✓ Τι είναι, από τι αποτελούνται, και ποια ιδιότητα προσδίδουν στα κύτταρα τα μαγνητοσώματα;

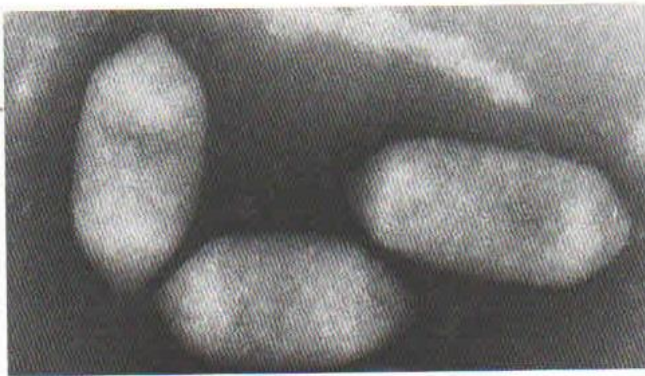
4.14 Αεροκυστίδια

Αρκετοί προκαρυώτες που ζουν ως επιπλέοντες οργανισμοί στις λίμνες και στη θάλασσα παράγουν **αεροκυστίδια**, τα οποία προσφέρουν στα κύτταρα άνοση. Πρόκειται για ένα μέσο κίνησης που επιτρέπει στα κύτταρα να κινούνται ανοδικά και καθοδικά σε μια στήλη νερού, ανταποκρινόμενα σε παράγοντες του περιβάλλοντος. Οι κινήσεις επίπλευσης που οφείλονται στα αεροκυστίδια είναι εμφανείς με ιδιαίτερα παραστατικό τρόπο σε κυανοβακτήρια που σχηματίζουν μαζικές συναθροίσεις (ανθούς) σε λίμνες (Εικόνα 4.55). Αεροκυστιδιοφόρα κύτταρα ανέρχονται στην επιφάνεια της λίμνης και παρασύρονται κατά πυκνές μάζες από τους ανέμους. Αεροκυστίδια έχουν και ορισμένα πορφυρά και πράσινα φωτοτροφικά βακτήρια (☞ Τμήματα 12.2 και 12.32), καθώς και ορισμένα μη φωτοτροφικά λι-



T. D. Brock

Εικόνα 4.55 Επιπλέοντες «ανθοί» αεροκυστιδιοφόρων κυανοβακτηρίων σε λίμνη πλούσια σε θρεπτικά συστατικά (Λίμνη Mendota, Madison, Wisconsin, ΗΠΑ).



A. E. Koozika and J. T. Staley

Εικόνα 4.56 Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα διέλευσης αεροκυστιδίων που είχαν απομονωθεί από το βακτήριο *Anacyclobacter aquaticus* και εξετάστηκαν σε αρνητικώς χρωσμένα παρασκευάσματα. Διάμετρος αεροκυστιδίου: περί τα 100 nm. (Αναδημοσιεύεται κατόπιν αδειας από το Allan E. Koozika, J. C. Lara, & James T. Staley, 1977. *Archives of Microbiology* 112:133-140. ©1977 Springer-Verlag GmbH & Co. KG.)

μναία βακτήρια. Αεροκυστίδια περιέχουν επίσης μερικά είδη *Αρχαίων*.

Δομή των αεροκυστιδίων

Τα αεροκυστίδια είναι ατρακτοειδείς πρωτεϊνικές δομές, κοίλες αλλά δύσκαμπτες, που ποικίλλουν σε μήκος και διάμετρο (Εικόνα 4.56). Αεροκυστίδια διαφορετικών οργανισμών μπορεί να έχουν μήκος από 300 ως πάνω από 1000 nm και πλάτος από 45 ως 120 nm, αλλά τα αεροκυστίδια ενός συγκεκριμένου οργανισμού έχουν σταθερό, κατά το μάλλον ή ήττον, μέγεθος. Απαντούν στο κυτταρόπλασμα και μπορεί να είναι από ελάχιστα έως εκατοντάδες ανά κύτταρο. Η μεμβράνη των αεροκυστιδίων συγκροτείται εξ ολοκλήρου από πρωτεΐνη, έχει πάχος περί τα 2 nm, και είναι στεγανή στο νερό και σε διαλυμένες ουσίες, αλλά διαπερατή σε αέρια: τα αεροκυστίδια, επομένως, είναι δομές αεροφόρες, οι οποίες περιβάλλονται από τα συστατικά του κυτταροπλάσματος (Εικόνα 4.56). Η παρουσία αεροκυστιδίων μπορεί να πιστοποιηθεί είτε με οπτική μικροσκοπία (ομάδες αεροκυστιδίων εμφανίζονται ως ακανόνιστα λαμπερά έγκλειστα) είτε με ηλεκτρονική μικροσκοπία (Εικόνα 4.57).

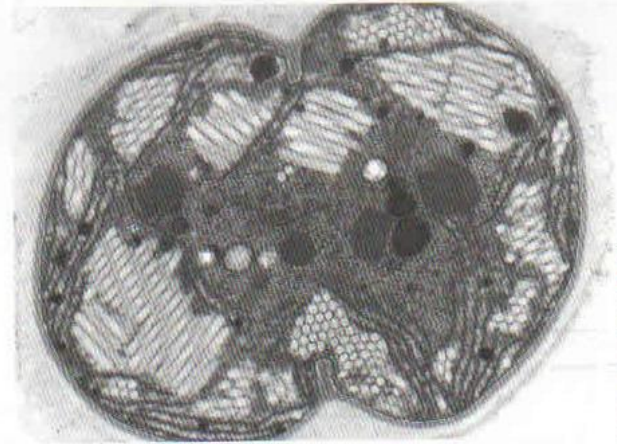
Μοριακή δομή των αεροκυστιδίων

Τα αεροκυστίδια περιέχουν δύο μόνο τύπους πρωτεϊνών (Εικόνα 4.58). Η κύρια πρωτεΐνη των αεροκυστιδίων, αποκαλούμενη GvpA, είναι μια μικρή, εξαιρετικά υδρόφοβη και πολύ δύσκαμπτη πρωτεΐνη. Η δυσκαμψία της μεμβράνης του αεροκυστιδίου είναι απαραίτητη για να μπορεί η δομή αυτή να ανθίσταται στις πιέσεις που δέχεται από το εξωτερικό της. Η GvpA είναι η κύρια πρωτεΐνη του μεμβρανικού κελύφους και αποτελεί το 97% της ολικής ποσότητας πρωτεΐνης του αεροκυστιδίου. Η δεύτερη πρωτεΐνη, αποκαλούμενη



A. E. Walsby

(a)



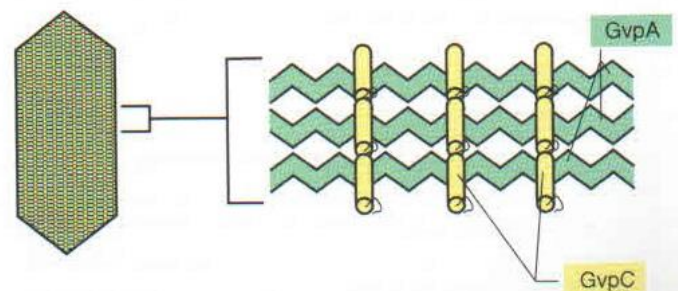
S. Pellegrini and M. Grilli Calola

(β)

Εικόνα 4.57 Αεροκυστίδια των κυανοβακτηρίων *Anabaena* και *Microcystis*. (a) *Anabaena flos-aquae*. Το σκουρόχρωμο κύτταρο στο κέντρο (μια ετεροκύστη) στερείται αεροκυστιδίων. Στα άλλα κύτταρα, τα κυστίδια συνενώνονται ως φωτεινά αντικείμενα που σκεδάζουν το φως (βέλη). (β) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα διέλευσης του κυανοβακτηρίου *Microcystis*. Τα αεροκυστίδια είναι διατεταγμένα σε δέσμες, που εμφανίζονται στην εικόνα τόσο σε διαμήκεις όσο και σε εγκάρσιες τομές.

GvpC, απαντά σε πολύ μικρότερες ποσότητες και λειτουργία της είναι να ενισχύει τη μεμβρανική δομή του αεροκυστιδίου (Εικόνα 4.58).

Τα αεροκυστίδια είναι δομημένα από πολλαπλά αντίτυπα της πρωτεΐνης GvpA ευθυγραμμισμένα υπό τη



Εικόνα 4.58 Υποθετικό μοντέλο της αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο πρωτεϊνών, GvpA και GvpC, που σχηματίζουν το αεροκυστίδιο, δομή στεγανή στο νερό αλλά διαπερατή από τα αέρια. Η GvpA, που έχει δομή άκαμπτης β-πτυχωτής επιφάνειας, σχηματίζει τις «πλευρές». Η GvpC, που έχει δομή α-έλικας, είναι ο διασυνδέτης (Τμήμα 3.7 και Εικόνα 3.16).

μορφή παράλληλων «πλευρών» οι οποίες σχηματίζουν μια στεγανή επιφάνεια. Οι «πλευρές» της GvpA ενισχύονται με την GvpC, που ενεργεί ως διασυνδέτης, συνδέοντας πολλές πλευρές της GvpA μαζί, όπως θα έκανε ένας συνδετήρας (Εικόνα 4.58). Το τελικό σχήμα του αεροκυστιδίου, που μπορεί να ποικίλλει από μακρύ και λεπτό έως κοντό και παχύ, ανάλογα με τον οργανισμό (πρβλ. Εικόνες 4.56 και 4.57β), εξαρτάται από την τελική διευθέτηση μεταξύ των πρωτεϊνών GvpA και GvpC.

Εφόσον η μεμβράνη του αεροκυστιδίου είναι πλήρως διαπερατή στα αέρια, η σύνθεση και πίεση των αερίων στο εσωτερικό του αεροκυστιδίου θα είναι ίδια με τη σύνθεση και πίεση των αερίων του περιβάλλοντος όπου βρίσκεται ο οργανισμός. Κατά συνέπεια, το αεροκυστίδιο έχει πυκνότητα η οποία ισοδυναμεί μόνο με το 5-20% της κανονικής πυκνότητας του κυττάρου, οπότε η παρουσία αεροκυστιδίων μειώνει την κυτταρική πυκνότητα και αυξάνει την άνωση. Ιδιαίτερο όφελος από τον μηχανισμό αυτό έχουν οι υδρόβιοι φωτοτροφικοί οργανισμοί, οι οποίοι μπορούν με τα αεροκυστίδια να ελέγχουν τη θέση τους ως προς την κατακόρυφο μιας στήλης νερού και να βρίσκονται σε περιοχές όπου η ένταση του φωτός είναι βέλτιστη για τη φωτοσύνθεση.

✓ 4.14 Έλεγχος εννοιών

Τα αεροκυστίδια είναι μικρές αεριοφόρες δομές συγκροτούμενες από πρωτεΐνη, των οποίων ο ρόλος είναι να προσδίδουν στα κύτταρα άνωση. Τα αεροκυστίδια περιέχουν δύο διαφορετικές πρωτεΐνες διευθετημένες σε μια δομή διαπερατή στα αέρια, αλλά στεγανή στο νερό.

- ✓ Ποιο το όφελος που προσφέρουν τα αεροκυστίδια στα φωτοτροφικά κύτταρα;
- ✓ Πώς διευθετούνται οι δύο πρωτεΐνες, GvpA και GvpC, ώστε να σχηματίσουν τη στεγανή δομή των αεροκυστιδίων;

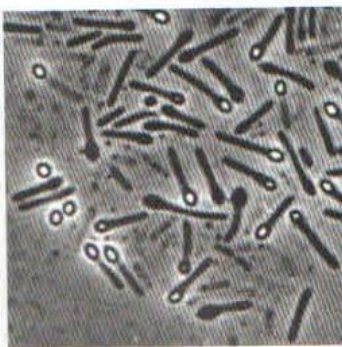
4.15 Ενδοσπόρια

Ορισμένα είδη θετικών κατά Gram βακτηρίων παράγουν, κατά τη διεργασία της λεγόμενης *σπορίωσης* (βλ. Εικόνα 4.63), ειδικές ενδοκυτταρικές δομές που καλούνται **ενδοσπόρια** (Εικόνα 4.59). Τα ενδοσπόρια είναι διαφοροποιημένα κύτταρα, με ιδιαίτερη αντοχή στις υψηλές θερμοκρασίες και ανθεκτικότητα έναντι πολλών ισχυρών χημικών αντιδραστηρίων που καταστρέφουν τα συνήθη κύτταρα. Βακτήρια που σχηματίζουν ενδοσπόρια απαντούν πολύ συχνά μεταξύ των εδαφοβακτηρίων και, ουσιαστικά, κάθε δείγμα χώματος που παίρνει κανείς περιέχει κάποια ποσότητα ενδοσπορίων. Διεξοδικότερα μελετημένα από τα βακτήρια αυτά είναι τα γένη *Bacillus* και *Clostridium*.

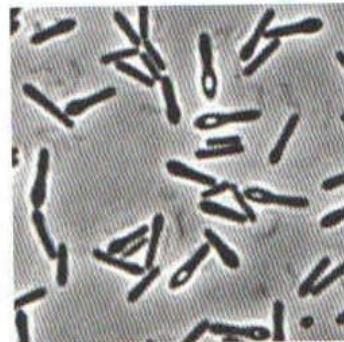
Η ανακάλυψη των βακτηριακών ενδοσπορίων είχε τεράστια σημασία για τη μικροβιολογία, διότι η γνώση της ύπαρξης αυτών των εξαιρετικά θερμοανθεκτικών δομών συνέβαλε στην τελειοποίηση των μεθόδων αποστείρωσης τόσο των υλικών καλλιέργειας όσο και των τροφών και άλλων προϊόντων. Σπόρια σχηματίζουν και άλλοι οργανισμοί, όμως το βακτηριακό ενδοσπόριο έχει μοναδική θερμοαντοχή. Τα ενδοσπόρια είναι επίσης ανθεκτικά σε μια σειρά επιβλαβείς παράγοντες όπως είναι η ξήρανση, η ακτινοβολήση, τα οξέα, και χημικά απολυμαντικά, ενώ μπορούν να επιβιώουν, σε λανθάνουσα φάση, για εξαιρετικά μεγάλες χρονικές περιόδους (βλ. ένθετο *Πόσο χρόνο μπορεί να επιβιώσει ένα ενδοσπόριο*);).

Δομή των ενδοσπορίων

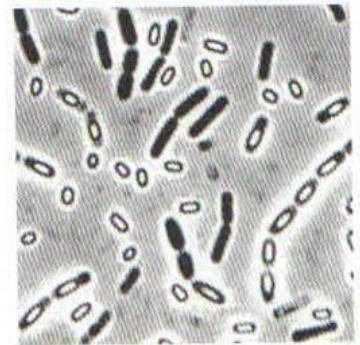
Τα ενδοσπόρια (ονομάζονται έτσι διότι το σπόριο σχηματίζεται μέσα στο κύτταρο) διακρίνονται ευχερώς στο οπτικό μικροσκόπιο ως σωματίδια που διαθλούν έντονα το φως (Εικόνα 4.59). Τα σπόρια, εξάλλου, δεν επιτρέπουν την ευχερή διέλευση των χρωστικών, επομένως εμφανίζονται συχνά ως άχρωμες περιοχές μέσα σε κύτ-



(α)



(β)



(γ)

Εικόνα 4.59 Το βακτηριακό ενδοσπόριο. Μικροφωτογραφίες αντίθεσης φάσεων που απεικονίζουν διάφορους μορφολογικούς τύπους ενδοσπορίων και την ενδοκυτταρική θέση τους. (α) Τερματική. (β) Υποτερματική. (γ) Κεντρική.

Ας εστιάσουμε το ενδιαφέρον μας στο ερώτημα

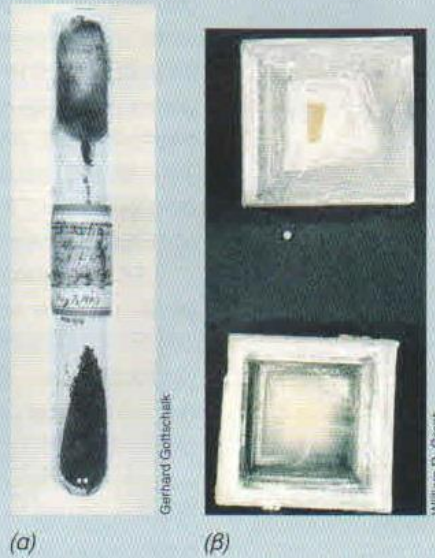
Πόσο χρόνο μπορεί να επιβιώσει ένα ενδοσπόριο;

Στο κεφάλαιο αυτό ασχοληθήκαμε με την ανθεκτικότητα και τη «νάρκη» των βακτηριακών ενδοσπορίων και τονίσαμε ότι τα ενδοσπόρια μπορούν να επιβιώνουν σε λανθάνουσα φάση για μεγάλες χρονικές περιόδους. Πόσο, όμως, μπορεί να κρατήσει μια τέτοια λανθάνουσα περίοδος;

Βιβλιογραφικές αναφορές υποδεικνύουν ότι τα ενδοσπόρια μπορούν να επιβιώσουν (δηλ. να μη κάνουν την ικανότητα να μετατρέπονται, εφόσον παρουσιασθεί το κατάλληλο ερέθισμα, σε βλαστικά κύτταρα) τουλάχιστον για αρκετές δεκαετίες, και πιθανότατα πολύ περισσότερο. Ενωϊώρημα σπορίων του βακτηρίου *Clostridium acetivum* (Εικόνα 1α) που είχε παρασκευασθεί το 1947, τοποθετήθηκε σε θρεπτικό υλικό το 1981, ύστερα από 34 ολόκληρα χρόνια, και σε λιγότερο από 12 h άρχισε να εμφανίζει ορατή αύξηση, οδηγώντας τελικά σε σταθερή καλλιέργεια. Η αρχική απομόνωση του *Clostridium acetivum* είχε γίνει το 1940 (Κ.Τ. Wieringa), αλλά τα «ίχνη» του μικροοργανισμού αυτού κάθηκαν, έως ότου το προαναφερθέν δείγμα σπορίων ανακαλύφθηκε σε κάποια αποθήκη του Πανεπιστημίου της California, στο Berkeley, και υποβλήθηκε στην επιτυχή διαδικασία «αναβίωσης»¹.

Έχουν καταγραφεί και άλλα, ακόμη πιο ακραία, παραδείγματα μακροβιότητας ενδοσπορίων. Τα βακτήρια του γένους *Thermoactinomyces* είναι θερμοφιλά ενδοσποριογονικά βακτήρια, ευρέως διαδεδομένα στο χώμα, στα φυτικά απορρίμματα, και σε φυτικό υλικό ζυμώσεων. Η μικροβιολογική ανάλυση ενός ρωμαϊκού αρχαιολογικού χώρου στην Αγγλία, ηλικίας άνω των 2000 ετών, έδειξε ότι σε πολλά σημεία υπήρχαν δείγματα βιώσιμων σπορίων *Thermoactinomyces*, και μάλιστα σε μεγάλους αριθμούς. Επίσης, σπόρια *Thermoactinomyces* ανακτήθηκαν από κλάσματα ιζημάτων μιας λίμνης της Minnesota (ΗΠΑ), ηλικίας άνω των 7000 ετών. Αν και δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα ετερογενών προσμίξεων, η κατεργασία των δειγμάτων έγινε, και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις, κατά τρόπο ώστε να είναι πρακτικά αδύνατη η πρόσμειξη με «νεότερα» σπόρια².

Ποιοι παράγοντες θα μπορούσαν να περιορίσουν τη χρονική διάρκεια της ζωής ενός ενδοσπορίου; Ένας σημαντικός παράγοντας θεωρείται ότι είναι η κοσμική ακτινοβολία, διότι μπορεί να επιφέρει μεταλλάξεις στο DNA³. Η σωρευτική επίδραση της κοσμικής ακτινοβολίας, για χρονικό διάστημα χιλιάδων ετών, θα μπορούσε να προκαλέσει στο γονιδίωμα ενός οργανισμού τόσο πολλές μεταλλάξεις, ώστε ακόμη και ισχυρά ανθεκτικές δομές όπως τα ενδοσπόρια θα μπορούσαν να καμφθούν από



Εικόνα 1. Μακροβιότητα των ενδοσπορίων.

(α) Φωτογραφία δοκιμαστικού σωλήνα που περιέχει σπόρια του βακτηρίου *Clostridium acetivum* από παρασκευάσμα της 7ης Μαΐου του έτους 1947. Μετά από λανθάνουσα φάση διάρκειας άνω των 30 ετών, τα σπόρια τοποθετήθηκαν σε υλικό καλλιέργειας όπου άρχισαν να αναπτύσσονται εντός 12 ωρών¹. (β) Αλόφιλα βακτήρια εγκλωβισμένα σε κρυστάλλους αλατιού. Οι κρύσταλλοι αυτοί (διαμέτρου περί το 1 cm) αναπτύχθηκαν στο εργαστήριο παρουσία κυττάρων του γένους *Halobacterium* (κιτρινωπό χρώμα), τα οποία διατηρούν τη βιωσιμότητά τους εντός των κρυστάλλων. Παρόμοιοι κρύσταλλοι, οι οποίοι όμως χρονολογούνται από την Πέρση Περίοδο (πριν από 250 εκατομμύρια έτη περίπου), έχει αναφερθεί ότι περιείχαν βιώσιμα αλόφιλα ενδοσποριογονικά βακτήρια⁴.

γενετικές βλάβες. Παρά ταύτα, πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι αν ένα ενωϊώρημα ενδοσπορίων παραμείνει εν μέρει προστατευμένο από την κοσμική ακτινοβολία, π.χ. ενσωματωμένο σε στρώματα οργανικής ύλης, θα μπορούσε να επιβιώσει για περίοδο αρκετών εκατοντάδων χιλιάδων ετών, τουλάχιστον. Ομολογουμένως εκπληκτικό, πρόκειται όμως, πράγματι, για το ανώτατο όριο μακροβιότητας;

Το 1995, μια ομάδα επιστημόνων ανακοίνωσε την ανώνηση βακτηριακών σπορίων που θεωρήθηκε ότι είχαν ηλικία 25-40 εκατομμυρίων ετών³. Σύμφωνα με τους συγκεκριμένους επιστήμονες, τα σπόρια αυτά είχαν διατηρηθεί στο έντερο μιας πεθαιμένης μέλισσας, παγιωμένης μέσα σε ήλεκτρο (κεχριμπάρι) γνωστής γεωλογικής ηλικίας. Η παρουσία ενδοσποριογονικών βακτηρίων στις μέλισσες αυτές είχε ήδη

υποδειχθεί από μελέτες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας που έδειχναν δομές όμοιες με ενδοσπόρια στο έντερο του εντόμου, καθώς και από το γεγονός ότι, από δείγμα του εντόμου, είχε συναπομονωθεί DNA παρόμοιο με αυτό του γένους *Bacillus*. Δείγματα ιστών της μέλισσας επωαζόμενα σε στείρο θρεπτικό μέσο καλλιέργειας έδιναν, κατ' άπιστευτο τρόπο, ενδοσποριογονικά βακτήρια, και μάλιστα με ταχείς ρυθμούς αύξησης. Κατό τη διεξαγωγή του πειράματος, ελήφθησαν αυστηρότατες προφυλάξεις, ώστε να αποκλεισθεί η περίπτωση οιασδήποτε πρόσμειξης πρόσφατων ενδοσπορίων. Ακόμη πιο εντυπωσιακή περίπτωση ήταν αυτή που αναφέρθηκε το 2000 για αλόφιλα ενδοσποριογονικά βακτήρια, τα οποία είχαν απομονωθεί από υγρά έγκλειστα κρυστάλλων αλατιού του Περμίου, ηλικίας άνω των 250 εκατομμυρίων ετών⁴. Προφανώς, τα κύτταρα αυτά παγιεύτηκαν σε αλατούχα διαλύματα κατά τον σχηματισμό του κρυστάλλου (Εικόνα 1β) και παρέμειναν σε βιώσιμη κατάσταση καθ' όλο το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε, δηλ. για τουλάχιστον 250 εκατομμύρια χρόνια.

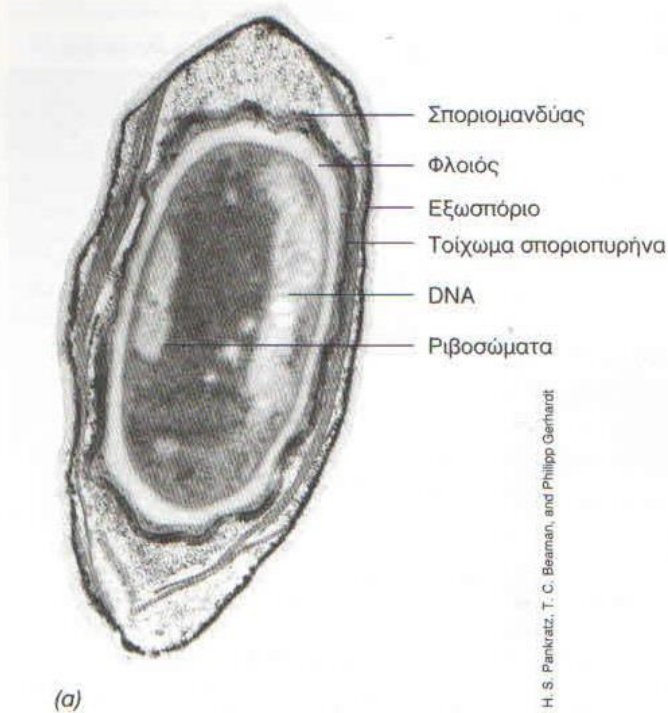
Εφόσον τα παραπάνω ευρήματα επαληθευτούν και επιβεβαιωθούν από άλλες, ανεξάρτητες εργαστηριακές ομάδες (επιβεβαίωση κρίσιμης σημασίας, εφόσον πρόκειται για τόσο ρηξικέλευθα ευρήματα), θα πρέπει να θεωρηθεί δεδομένο ότι ενδοσπόρια που αποθηκεύονται υπό κατάλληλες συνθήκες μπορούν να επιβιώνουν επ' αόριστον. Πρόκειται για σημαντική μαρτυρία, η οποία δείχνει ότι το ενδοσπόριο, δομή που αναμφίβολα αναπτύχθηκε για να εξασφαλίζει τη βραχυπρόθεσμη επιβίωση των κυττάρων υπό αντίξοες συνθήκες, αποδείχθηκε τόσο καλοσχεδιασμένη δομή που του επιτρέπει να επιβιώνει για εκατοντάδες χιλιάδες, αν όχι εκατομμύρια, έτη. ■

¹ Braun, M., F. Mayer, & G. Gottschalk. 1981. *Clostridium acetivum* (Wieringa), a microorganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide. *Arch. Microbiol.* 128: 288-293.

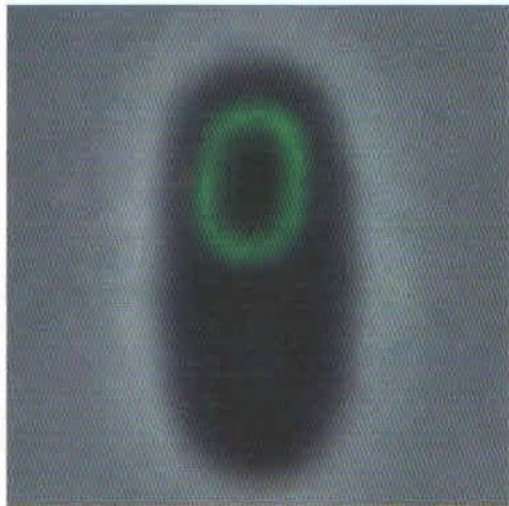
² Gest, H., & J. Mandelstam. 1987. Longevity of microorganisms in natural environments. *Microbiol. Sci.* 4: 69-71.

³ Cano, R.J., & M.K. Borucki. 1995. Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber. *Science* 268: 1060-1064.

⁴ Vreeland, R.H., W.D. Rosenzweig, & D.W. Powers. 2000. Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. *Nature* 407: 897-900.



H. S. Pankratz, T. C. Beaman, and Philipp Gerhardt



Kirsten Price

Εικόνα 4.60 Το βακτηριακό ενδοσπόριο. (α) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα διέλευσης ενός ώριμου ενδοσπορίου από *Bacillus megaterium*. (β) Μικροφωτογραφία φθορισμού ενός κυττάρου *Bacillus subtilis* που υφίσταται εκβλάστηση. Το πράσινο χρώμα οφείλεται στην ειδική χρώση μιας πρωτεΐνης εκβλάστησης στον σποριομανδύα.

ταρα που έχουν υποστεί χρώση με βασικές χρωστικές, όπως είναι το κυανούν του μεθυλενίου. Για την ειδική χρώση των σπορίων θα πρέπει να εφαρμοσθούν ειδικές μέθοδοι χρώσης. Η δομή του σπορίου, όπως φαίνεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, είναι εντελώς διαφορετική από αυτήν του βλαστικού κυττάρου (Εικόνα 4.60): το σπόριο είναι δομικά πολυπλοκότερο, καθώς διαθέτει πολλές στιβάδες που απουσιάζουν από το βλαστικό κύτταρο. Η εξώτατη στιβάδα είναι το **εξωσπόριο**,

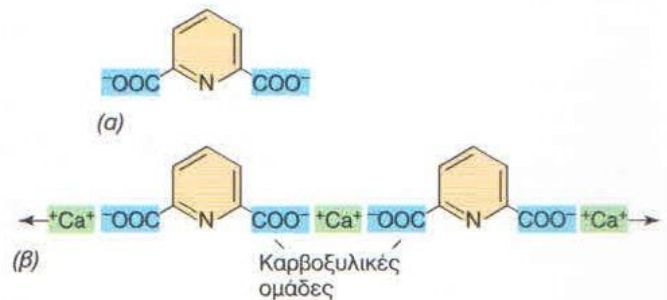
ένα λεπτό, εύθραυστο πρωτεϊνικό κάλυμμα. Το εξωσπόριο περικλείει τους **σποριομανδύες**, που συνίστανται από στιβάδες ειδικών πρωτεϊνών (Εικόνα 4.60β). Κάτω από τον σποριομανδύα είναι ο **φλοιός**, από χαλαρά διασυνδεδεμένη πεπτιδογλυκάνη, και –εσωτερικότερα– ο **σποριοπυρήνας** ή **πρωτοπλάστης σπορίου**, που περιέχει το σύννηθες κυτταρικό τοίχωμα (πυρηνικό τοίχωμα), κυτταροπλασματική μεμβράνη, κυτταρόπλασμα, πυρηνοειδές, κ.ο.κ. (Τμήμα 2.1 και Εικόνα 2.1α). Το σπόριο, επομένως, διαφέρει από το βλαστικό κύτταρο κυρίως ως προς τα είδη των δομών που βρίσκονται **εξωτερικά** του τοιχώματος του σποριοπυρήνα.

Μια χημική ουσία χαρακτηριστική των ενδοσπορίων η οποία απουσιάζει από τα βλαστικά κύτταρα, είναι το **διπικολινικό οξύ** (Εικόνα 4.61). Η ουσία αυτή βρίσκεται σε όλα τα ενδοσπόρια και εντοπίζεται στον σποριοπυρήνα. Τα σπόρια περιέχουν επίσης υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου, το οποίο είναι συνδεδεμένο –κατά το μεγαλύτερο μέρος του– με διπικολινικό οξύ. Περί το 10% του ξηρού βάρους του ενδοσπορίου αντιστοιχεί στο σύμπλοκο ασβεστίου-διπικολινικού οξέος.

Ιδιότητες του σποριοπυρήνα

Ο σποριοπυρήνας του ώριμου ενδοσπορίου διαφέρει σημαντικά από το βλαστικό κύτταρο από το οποίο προέρχεται. Εκτός από το άφθονο διπικολινικό ασβέστιο που περιέχει (Εικόνα 4.61), ο σποριοπυρήνας βρίσκεται σε μερικώς αφυδατωμένη κατάσταση. Ο σποριοπυρήνας του ώριμου ενδοσπορίου περιέχει μόλις 10-30% της ποσότητας νερού που περιέχει το βλαστικό κύτταρο· επομένως, το κυτταρόπλασμα του σποριοπυρήνα έχει περίπου την πυκνότητα ενός παχύρρευστου πηκτώματος. Η αφυδάτωση του σποριοπυρήνα αυξάνει σημαντικά τη θερμοανθεκτικότητα του ενδοσπορίου και επίσης προσδίδει αντοχή έναντι χημικών παραγόντων όπως είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), ενώ απενεργοποιεί τα εναπομένοντα ένζυμα.

Πέραν της χαμηλής περιεκτικότητας σε νερό, το pH του κυτταροπλάσματος του σποριοπυρήνα είναι 1 μονάδα περίπου χαμηλότερο από το pH του βλαστικού κυττάρου και περιέχει υψηλά επίπεδα ειδικών πρωτεϊ-



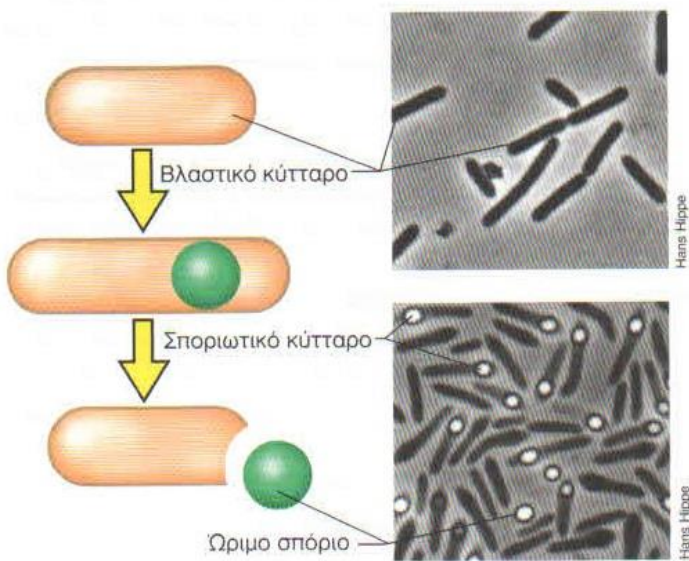
Εικόνα 4.61 Διπικολινικό οξύ (DPA). (α) Δομή. (β) Τρόπος διασύνδεσης Ca^{2+} και μορίων DPA για τον σχηματισμό συμπλόκου.

νών, γνωστών με τη συλλογική ονομασία μικρές οξειδιαλυτές σποριοπροτεΐνες (SASP). Αυτές οι πρωτεΐνες συντίθενται κατά τη διαδικασία της σπορίωσης και έχουν δύο τουλάχιστον λειτουργίες. Αφ' ενός, προσδένονται ισχυρά στο DNA του σποριοκυττάρου και το προφυλάσσουν από πιθανές βλάβες οφειλόμενες σε υπερϊώδη ακτινοβολία, αφυδάτωση, και ξηρή θέρμανση. Αφ' ετέρου, λειτουργούν ως πηγή άνθρακα και ενέργειας που απαιτούνται για την εκβλάστηση, δηλ. για την ανάπτυξη ενός νέου βλαστικού κυττάρου από το υπάρχον ενδοσπόριο (βλ. παρακάτω).

Σχηματισμός του ενδοσπορίου

Κατά τον σχηματισμό του ενδοσπορίου, το βλαστικό κύτταρο μετατρέπεται σε μη αυξανόμενη, θερμοανθεκτική δομή (Εικόνα 4.62). Όπως περιγράφηκε παραπάνω (και δίνεται περιληπτικά στον Πίνακα 4.2), οι διαφορές μεταξύ ενδοσπορίου και βλαστικού κυττάρου είναι ριζικές. Η σπορίωση περιλαμβάνει μια πολύπλοκη σειρά συμβάντων κυτταρικής διαφοροποίησης. Βακτηριακή σπορίωση δεν μπορεί να συμβεί κατά την εκθετική φάση των κυτταρικών διαιρέσεων, αλλά μόνον όταν η αύξηση ανασταλεί λόγω της εξάντλησης μιας σημαντικής θρεπτικής ουσίας. Κύτταρα του γένους *Bacillus*, παραδείγματος χάριν, ενός τυπικού ενδοσποριογόνου βακτηρίου, σταματούν τη βλαστική φάση αύξησης και αρχίζουν τη διαδικασία σπορίωσης, όταν καταστεί περιοριστική η παροχή μιας σημαντικής θρεπτικής ουσίας, όπως του άνθρακα ή του αζώτου.

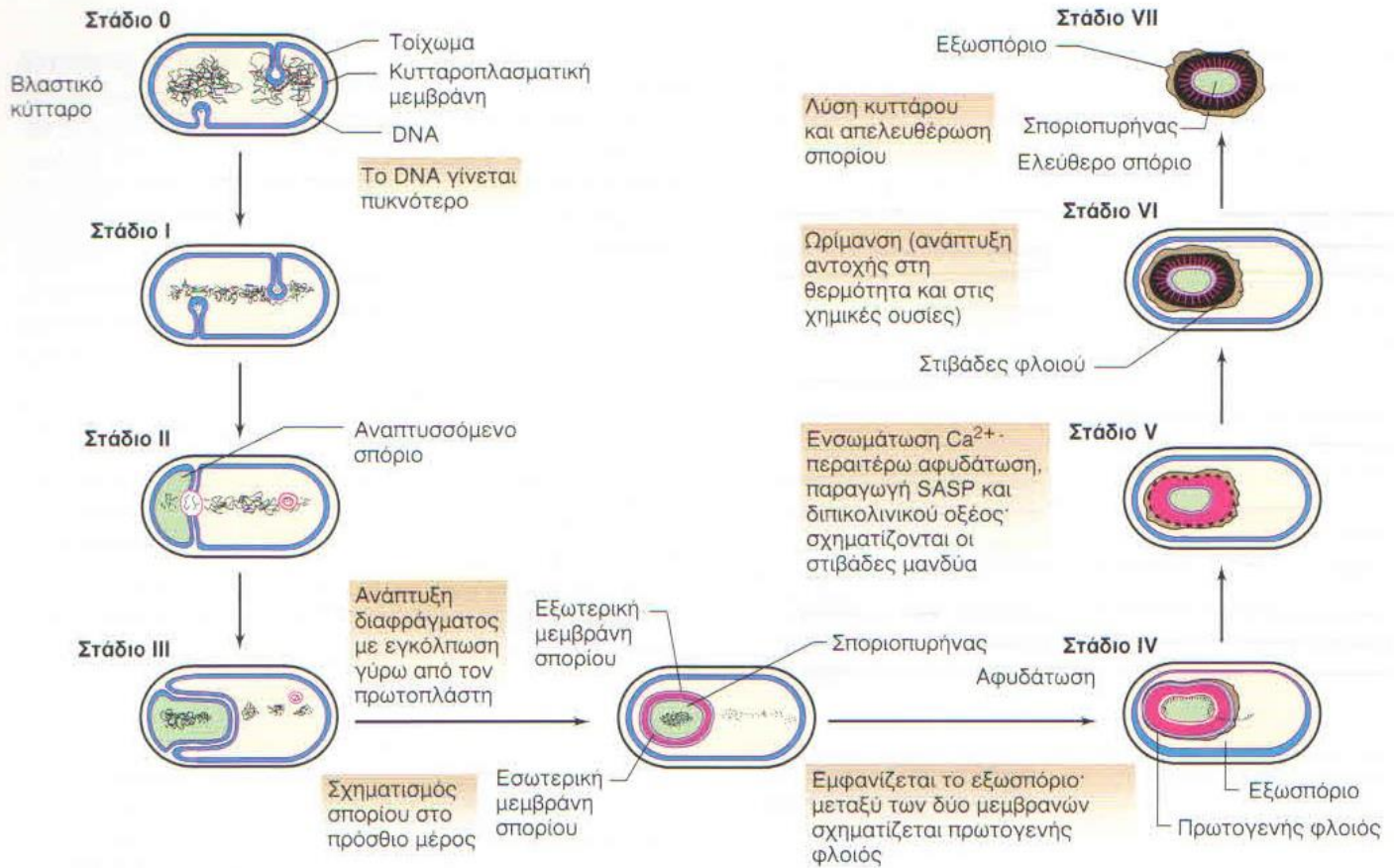
Η μετάβαση από τη βλαστική φάση αύξησης στη σπορίωση διέπεται από μια σειρά γενετικά καθοριζόμενων αλλαγών του κυττάρου. Η Εικόνα 4.63 παρουσιάζει τις δομικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά τη σπορίωση στα κύτταρα *Bacillus*, διαδικασία που μπορεί να διαιρεθεί σε μια σειρά σταδίων. Στον *Bacillus subtilis*, στον οποίο έχουν γίνει διεξοδικές μελέτες, η όλη διαδικασία της σπορίωσης διαρκεί 8 ώρες. Γενετικές μελέτες μεταλλαγμένων στελεχών του *Bacillus*, στα οποία η σπορίωση έχει ανασταλεί σε συγκεκριμένα στάδια (βλ. Εικόνα 4.63), έχουν δείξει ότι στη διαδικασία σπορίωσης συμμετέχουν περί τα 200 γονίδια. Η διαδικασία απαιτεί τη διακοπή της σύνθεσης ορισμένων από τις πρωτεΐνες που λειτουργούν στο βλαστικό κύτταρο και τη σύνθεση κάποιων ειδικών πρωτεϊνών του ενδοσπορίου (βλ. Εικόνα 4.60β). Αυτό επιτυγχάνε-



Εικόνα 4.62 Σχηματισμός του ενδοσπορίου. Μικροφωτογραφίες αντίθεσης φάσεων από κύτταρα *Clostridium pascui*.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2 Διαφορές μεταξύ ενδοσπορίων και βλαστικών κυττάρων

Χαρακτηριστικό	Βλαστικό κύτταρο	Ενδοσπόριο
Δομή	Τυπικά, θετικό κατά Gram· ελάχιστα αρνητικά κατά Gram	Παχύς φλοιός Σπορομανδία Εξωσπόριο
Μικροσκοπική εμφάνιση	Μη διαθλώμενο	Διαθλώμενο
Περιεκτικότητα ασβεστίου	Χαμηλή	Υψηλή
Διπικολινικό οξύ	Απόν	Παρόν
Ενζυμική ενεργότητα	Υψηλή	Χαμηλή
Μεταβολισμός (πρόσληψη O ₂)	Υψηλός	Χαμηλός ή απών
Σύνθεση μακρομορίων	Παρούσα	Απούσα
mRNA	Παρόν	Λίγο ή απόν
Θερμοανθεκτικότητα	Χαμηλή	Υψηλή
Αντοχή στην ακτινοβολία	Χαμηλή	Υψηλή
Αντοχή σε χημικές ουσίες (π.χ. H ₂ O ₂) και οξέα	Χαμηλή	Υψηλή
Ικανότητα χρώσης	Χρώσιμο	Χρώσιμο μόνο με ειδικές μεθόδους
Επενέργεια της λυσοζύμης	Ευαίσθητο	Ανθεκτικό
Περιεκτικότητα σε νερό	Υψηλή, 80-90%	Χαμηλή, 10-25% στον σποριοκυττάρου
Μικρές οξειδιαλυτές πρωτεΐνες (προϊόντα γονιδίων <i>ssp</i>)	Απούσες	Παρούσες
pH κυτταροπλάσματος	~7	~5,5-6,0 (στον σποριοκυττάρου)



Εικόνα 4.63 Στάδια στον σχηματισμό του ενδοσπορίου. Τα στάδια αυτά (0 έως VII) καθορίζονται από τον συνδυασμό γενετικών μελετών και μικροσκοπικών αναλύσεων.

ται με την ενεργοποίηση μιας σειράς ειδικών γονιδίων, όπως είναι τα *spo*, *ssp* (το οποίο κωδικοεύει SASP), και πολλά άλλα, ως απόκριση σε ένα περιβαλλοντικό έναυσμα σπορίωσης. Τα αντίστοιχα γονιδιακά προϊόντα καταλύουν τη σειρά των συμβάντων που οδηγούν από το υγρό, μεταβολικά ενεργό βλαστικό κύτταρο στο ξηρό, μεταβολικά αδρανές αλλά εξαιρετικά ανθεκτικό ενδοσπόριο (Πίνακας 4.2 και Εικόνα 4.63).

Εκβλάστωση

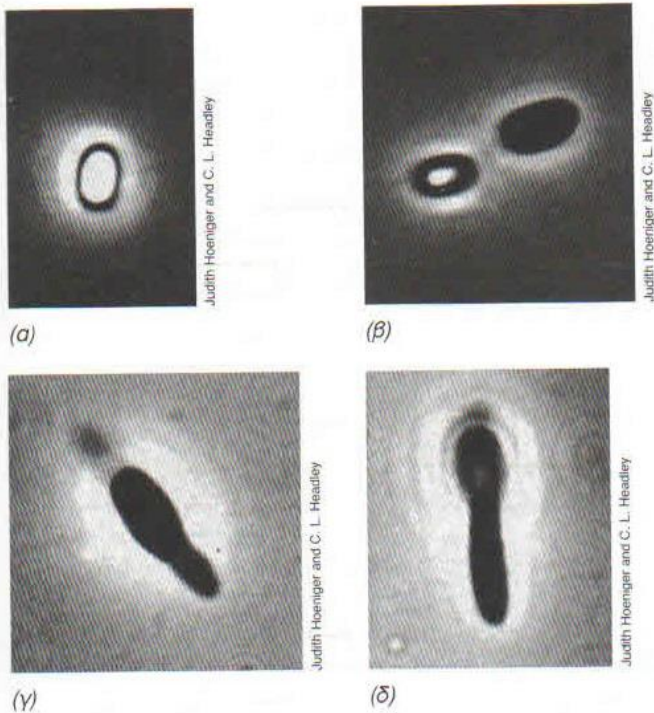
Ένα ενδοσπόριο μπορεί να παραμείνει σε λανθάνουσα φάση για πολλά χρόνια (βλ. πλαίσιο), αλλά μπορεί και να μετατρέπεται, με σχετικά μεγάλη ταχύτητα, σε βλαστικό κύτταρο. Η διαδικασία μετατροπής του ενδοσπορίου σε βλαστικό κύτταρο περιλαμβάνει 3 διακριτά στάδια: ενεργοποίηση, εκβλάστωση, και αυξητική έκρηξη (Εικόνα 4.64).

Ενεργοποίηση μπορεί να επιτευχθεί με τη θέρμανση νεοσχηματισμένων ενδοσπορίων για μερικά λεπτά της ώρας σε μη θανατογόνο αλλά υψηλή θερμοκρασία. Τα ενεργοποιημένα σπόρια τοποθετούνται σε κατάλληλες συνθήκες για εκβλάστωση, παρουσία ειδικών θρεπτικών ουσιών. Η εκβλάστωση, ταχεία συνήθως διαδικασία (της τάξης των μερικών λεπτών της ώρας), περιλαμβάνει

νη την απώλεια της έντονης διαθλαστικής ικανότητας του σπορίου, την αύξηση της δυνατότητας χρώσης από χρωστικές, και την απώλεια αντοχής έναντι της θέρμανσης και της επίδρασης χημικών αντιδραστηρίων. Κατά το στάδιο της εκβλάστωσης, εξαντλούνται το διπικολινικό ασβέστιο και τα συστατικά του φλοιού και αποικοδομούνται οι SASP. Το επόμενο στάδιο, η αυξητική έκρηξη, περιλαμβάνει την ορατή διόγκωση λόγω της πρόσληψης νερού και νέα σύνθεση RNA, πρωτεϊνών, και DNA. Το κύτταρο αναδύεται από τον διαρρηγμένο σποριομανδύα και οδηγείται στο στάδιο των κυτταρικών διαιρέσεων (Εικόνα 4.64). Το κύτταρο παραμένει σε βλαστική αύξηση έως ότου περιβαλλοντικές αλλαγές επαγάγουν πάλι τον σχηματισμό ενδοσπορίου.

Ποικιλομορφία και φυλογενετικές πλευρές της διαδικασίας σχηματισμού ενδοσπορίου

Πόσο διαδεδομένη είναι η διαδικασία του σχηματισμού ενδοσπορίου; Αν και η όλη διεργασία έχει αναλυθεί σε λίγα μόνον είδη *Bacillus* και *Clostridium*, έχει διαπιστωθεί ότι 20 περίπου γένη θετικών κατά Gram βακτηρίων έχουν την ικανότητα σχηματισμού ενδοσπορίων (Πίνακας 12.25). Πολλά από τα μυστικά της επιβίωσης των ενδοσπορίων, όπως είναι ο σχηματι-



Εικόνα 4.64 Εκβλάστηση του ενδοσπορίου στον *Bacillus*. Σταδιακή μετατροπή του ώριμου ενδοσπορίου (α) σε βλαστικό κύτταρο (δ). Οι μικροφωτογραφίες δείχνουν την πλήρη σειρά συμβάντων, με αφετηρία ένα έντονα διαθλαστικό, ώριμο σπόριο. Στο (β) (ενεργοποίηση) η διαθλαστικότητα χάνεται, ενώ στα (γ) και (δ), αναπτύσσεται το νέο βλαστικό κύτταρο (αυξητική έκρηξη).

σμός των συμπλόκων διπικολινικού ασβεστίου (Εικόνα 4.61) και η λειτουργία ειδικών γονιδίων, φαίνεται ότι είναι κοινά σε όλα τα παραπάνω γένη. Συνεπώς, οι γενικές αρχές που διέπουν τη δημιουργία του ενδοσπορίου είναι πιθανότατα οι ίδιες για όλους τους οργανισμούς με ικανότητα ενδοσπορίωσης.

Ερωτήσεις επανάληψης

1. Ποιος ο ρόλος των χρώσεων στην οπτική μικροσκοπία; Γιατί, προκειμένου περί γενικών χρωστικών διαδικασιών, χρησιμοποιούνται κατιοντικές χρωστικές;
2. Ποιο πλεονέκτημα έχει ένα μικροσκόπιο διαφορετικής αντίθεσης συμβολής σε σχέση με ένα μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου; Ομοίως, ποιο πλεονέκτημα έχει ένα μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων σε σχέση με ένα μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου;
3. Ποιο είναι το μεγαλύτερο πλεονέκτημα που έχουν τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια έναντι των οπτικών μικροσκοπίων; Ποιος τύπος ηλεκτρονικού μικρο-

σκόπιου θα έπρεπε να χρησιμοποιηθεί για να παρατηρηθούν τα τριδιάστατα χαρακτηριστικά ενός κυττάρου;

4. Ποιες είναι οι κύριες μορφολογίες των προκαρυωτών; Σχεδιάστε ένα παράδειγμα από κάθε μορφολογία.
5. Περιγράψτε εν συντομία τον τρόπο με τον οποίο σχηματίζεται μια μοναδιαία μεμβράνη από μόρια φωσφολιπιδίων.
6. Εξηγήστε εν συντομία γιατί τα ιοντιζόμενα μόρια δεν μπορούν να διαπεράσουν εύκολα τον φραγμό της κυτταρικής μεμβράνης. Πώς μπορούν να διέλ-

Από φυλογενετική σκοπιά, η ικανότητα αυτή συνδέεται ειδικά με μια συγκεκριμένη εξελικτική ομάδα θετικών κατά Gram βακτηρίων (∞ Τμήματα 2.5 και 12.21). Παρ' όλα αυτά, η φυσιολογία των βακτηρίων που μπορούν να σχηματίζουν ενδοσπόρια ποικίλλει: υπάρχουν τέτοιου είδους βακτήρια που είναι αναερόβια, αερόβια, φωτοτροφικά, και χημειολιθοτροφικά. Δεδομένης της ποικιλότητας αυτής, ενδέχεται τα πραγματικά περιβαλλοντικά εναύσματα ενδοσπορίωσης να διαφέρουν σημαντικά από είδος σε είδος, και να συμπεριλαμβάνουν σήματα διαφορετικά από την απλή έλλειψη θρεπτικών ουσιών, η οποία αποτελεί το κύριο σήμα ενδοσπορίωσης για τα είδη των γενών *Bacillus* και *Clostridium*. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ενδοσπορίωση δεν εμφανίζεται καθόλου μεταξύ των *Αρχαίων*, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ικανότητα σχηματισμού ενδοσπορίων αναπτύχθηκε μετά τον διαχωρισμό των δύο κύριων εξελικτικών γραμμών των προκαρυωτών, πριν από δισεκατομμύρια χρόνια (∞ Τμήμα 2.3 και Εικόνα 2.7).

✓ 4.15 Έλεγχος εννοιών

Το ενδοσπόριο είναι ένα διαφοροποιημένο, ιδιαίτερα ανθεκτικό, βακτηριακό κύτταρο, που παράγεται από ορισμένους τύπους θετικών κατά Gram *Βακτηρίων*. Ο σχηματισμός σπορίου οδηγεί σε έναν σχεδόν αφυδατωμένο σποριομανδύα που περιέχει σημαντικά μακρομόρια και άλλες ουσίες, όπως διπικολινικό ασβέστιο και μικρές οξειδιαλυτές πρωτεΐνες, οι οποίες απουσιάζουν από τα βλαστικά κύτταρα. Τα σπόρια μπορούν να παραμείνουν σε λανθάνουσα φάση επ' αόριστον, αλλά μεταπίπτουν ταχέως σε φάση εκβλάστησης όταν παρουσιασθεί το κατάλληλο περιβαλλοντικό έναυσμα.

- ✓ Τι είναι το διπικολινικό οξύ και πού απαντά;
- ✓ Τι είναι οι SASP και ποια η λειτουργία τους;
- ✓ Τι συμβαίνει κατά τη διαδικασία εκβλάστησης ενός ενδοσπορίου;

- θουν από την κυτταροπλασματική μεμβράνη τέτοια μόρια;
7. Περιγράψτε μια βασική χημική διαφορά μεταξύ των μεμβρανών των *Βακτηρίων* και των μεμβρανών των *Αρχαίων*.
 8. Τα κύτταρα της *Escherichia coli* προσλαμβάνουν λακτόζη μέσω του συστήματος της διαπεράσης λακτόζης, γλυκόζη μέσω του συστήματος της φωσφοτρανσφεράσης, και μαλτόζη μέσω ενός συστήματος μεταφορέα ABC. Περιγράψτε, για κάθε περίπτωση: (1) τα συστατικά στοιχεία του συστήματος μεταφοράς, και (2) την πηγή ενέργειας που χρησιμοποιείται.
 9. Γιατί ονομάζεται πεπτιδογλυκάνη η συμπαγής στιβάδα του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος; Ποια τα χημικά αίτια της δυσκαμψίας που προσδίδει στο κυτταρικό τοίχωμα η δομή της πεπτιδογλυκάνης;
 10. Δεδομένου ότι ένα μόριο πεπτιδογλυκάνης είναι πολύ λεπτό, ερμηνεύστε χημικά τον τρόπο με τον οποίο σχηματίζεται το εξαιρετικά παχύ κυτταρικό τοίχωμα πεπτιδογλυκάνης στα θετικά κατά Gram βακτήρια.
 11. Αναφέρετε λειτουργίες της εξωτερικής μεμβράνης στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Ποια η χημική σύσταση της εξωτερικής μεμβράνης;
 12. Ερμηνεύστε με σαφήνεια γιατί η σακχαρόζη μπορεί να προφυλάσσει τα βακτηριακά κύτταρα από τη λύση που προκαλεί η δράση της λυσοζύμης.
 13. Περιγράψτε τη δομή και λειτουργία ενός βακτηριακού μαστίγιου. Ποια πηγή ενέργειας χρησιμοποιεί το μαστίγιο για την κίνησή του;
 14. Πώς διαφέρει ο μηχανισμός ολισθητικής κίνησης του *Flavobacterium* από τον μηχανισμό κίνησης της *Escherichia*;
 15. Περιγράψτε και ερμηνεύστε τον τρόπο με τον οποίο ένα αυτοκινούμενο βακτήριο αντιλαμβάνεται τη διαβάθμιση συγκέντρωσης μιας προσελευστικής ουσίας και κινείται προς αυτήν.
 16. Ποιους τύπους κυτταροπλασματικών εγκλείστων σχηματίζουν οι προκαρυώτες; Τι διαφορά υπάρχει μεταξύ ενός εγκλείστου πολυ-β-υδροξυβουτυρικού (PHB) και ενός μαγνητοσώματος, ως προς τη σύσταση και τον μεταβολικό τους ρόλο;
 17. Ποιος ο ρόλος των αεροκυστιδίων; Πώς δικαιολογείται η ικανότητα αυτών των δομών να διατηρούν υψηλή εσωτερική πίεση αερίων;
 18. Προσδιορίστε τις διαφορές μεταξύ ενδοσπορίου και βλαστικού βακτηριακού κytτάρου, ως προς τη δομή, τη χημική σύσταση, και την ικανότητα αντοχής σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες.
 19. Η ανακάλυψη του βακτηριακού ενδοσπορίου είχε μεγάλη πρακτική σημασία. Αιτιολογήστε την παραπάνω διαπίστωση.
 20. Δώστε τον ορισμό των ακόλουθων όρων: ώριμο ενδοσπόριο, βλαστικό κύτταρο, εκβλάστηση.
 21. Επί πόσο χρόνο μπορούν τα ενδοσπόρια να παραμένουν σε φάση «λανθάνουσας επιβίωσης», και ποιες μαρτυρίες υπάρχουν για τον χρόνο αυτό;

Ερωτήσεις εφαρμογής

1. Υπολογίστε το μέγεθος του μικρότερου διακριτού αντικειμένου όταν χρησιμοποιείται φως 600 nm για παρατήρηση ενός δείγματος με ελαιοκαταδυτικό φακό 100x, αριθμητικού ανοίγματος 1,32. Πώς θα μπορούσε, με τον ίδιο φακό, να βελτιωθεί η διακριτική ευκρίνεια;
2. Υπολογίστε τον λόγο της επιφάνειας προς τον όγκο ενός σφαιρικού κytτάρου διαμέτρου 15 μm και ενός κytτάρου διαμέτρου 2 μm. Ποιες οι συνέπειες των διαφορών των τιμών αυτών στην κυτταρική λειτουργία;
3. Φαντασθείτε έναν πλανήτη όπου έχει εξελιχθεί ζωή σε εντελώς άνυδρο περιβάλλον. Τα κύτταρα στον πλανήτη αυτό έχουν εξαιρετικά υδρόφοβο κυτταροπλασμα και διαβιών υπό πλήρη έλλειψη νερού. Προβλέψτε και αποδώστε διαγραμματικά έναν τύπο δομής για τις κυτταροπλασματικές μεμβράνες των υποθετικών αυτών οργανισμών, τεκμηριώνοντας επαρκώς την απάντησή σας.
4. Βάσει των όσων γνωρίζετε για τη φύση του κυτταρικού τοιχώματος και της μεμβράνης των βακτηρίων, αιτιολογήστε γιατί, όταν απομακρυνθεί το τοίχωμα υπό συνθήκες που δεν επιτρέπουν κυτταρική λύση, ένα κυλινδρικό βακτήριο (ραβδίο) μετατρέπεται σε δομή σφαιρική (σφαιροπλάστη).
5. Θεωρήστε ότι σας δίνονται δύο χωριστές καλλιέργειες, μία ενός είδους αρνητικών κατά Gram βακτηρίων και μία ενός είδους *Αρχαίων*. Αναπτύξτε 4 τουλάχιστον τρόπους, πλην του προσδιορισμού της αλληλουχίας ριβοσωματικού RNA (☞ Τμήμα 2.3), με τους οποίους μπορείτε να διακρίνετε κάθε καλλιέργεια.