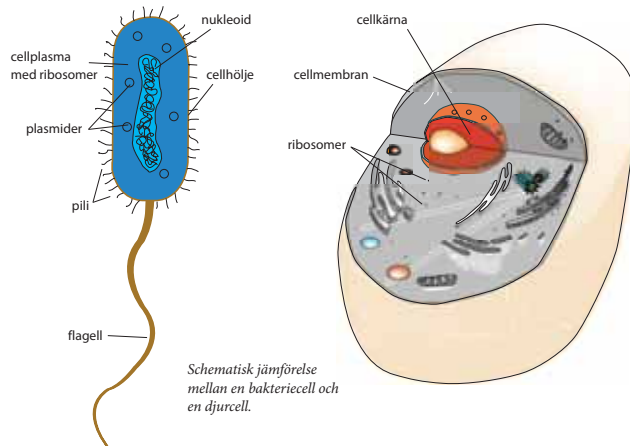


# 3 Bakteriecellers morfologi och släktskap

När elektronmikroskopet och tillhörande teknik för biologiskt material utvecklades omkring 1950 blev det möjligt att mycket ingående studera cellstrukturer.

Resultatet blev att man fann två helt olika sorters celler, en mer avancerad eukaryot cell och en mer primitiv prokaryot cell.

Med tiden kunde man även indela prokaryota celler i ytterligare två grupper, *bakterier (Bacteria)* och *arkéer (Archaea)*.



De flesta bakterier hör till gruppen bakterier, medan arkéerna indelas i tre sinsemellan mycket olika grupper. Arkéerna har visserligen prokaryot struktur, men med cellkemi och cellmetabolism som väsentligt skiljer sig från bakteriernas och eukaryoternas.

Förmodligen har denna skillnad sitt ursprung i en mycket tidig evolutionär separation då både bakterier och eukaryota celler bröt upp från en gemensam linje med arkéer.

I dag kan man använda genteknologiska metoder för att skilja bakteriearter åt. Med hjälp av nukleinsyrjämförelser är det relativt lätt att bestämma släktskap mellan olika grupper eller arter av bakterier. Läs vidare i kapitel 8, *Klassificering av bakterier*.

## Bakterier/Bacteria

### Utseende och förökning

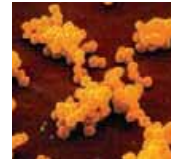
Trots att det finns tusentals olika arter av bakterier, låter sig alla med några få undantag inordnas i tre distinkta morfologiska grupper: kocker, stavar och spiriller.

De flesta bakterier bildar de två vanliga basformerna, *kocker* (grek. coccus = bär) och *stavar*, de senare även kallade baciller (lat. baculus = sticka).

Kockerna är oftast klart sfäriska eller ellipsoida celler och stavarna ser vanligen ut som avlånga cylindrar. Mellanformer kan förekomma, s.k. coccibaciller.

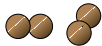
Några få bakterier är spiralformade och kallas då för spiriller eller spiroketer beroende på rörelsemekanismen de använder. En spirill rör sig med en flagell medan en spiroketer förflyttar sig med hjälp av roterande cellrörelser. Rotationen uppkommer via axiella filament i periplasman – en slags inre flageller.

Vissa bakterier ändrar form under olika faser i sin livscykel. Ett exempel på detta är klamydia. Den alternerar mellan att vara en liten motståndskraftig cell inkapabel att föröka sig men starkt inriktad på överlevnad i miljöer utanför den eukaryotiska cellen och till att öka sin cellstorlek och förändra sig snabbt då den hittar celler i vilka den kan bedriva både *replikation* och *cellproliferation*.



*Staphylococcus aureus, det vi allmänt kallar stafylokokker, klumpar ofta ihop sig i typisk druvklaseform.*

Till vänster syns en spiralformig bakterie av släktet Spirillum, som lever på dött växtmaterial. Den utnyttjas för fermentation i siloanläggningar. Här syns den tillsammans med den stavformiga höbakterien Bacillus subtilis.



Diplokokker



Streptokokker



Stafylokokker



Sarcina

*Rhizobium*, som är en kvävefixerande bakterie, ändrar också form allteftersom den byter miljö. Utanför växtrötterna är den en frilevande stav med vanligt utseende, som efter infektion av en rothårscell blir en svullen bakteriecell kallad bakteroid. Den här cellformen kan inte dela sig, utan bedriver enbart kvävefixering inuti sin värdcell.

Förutom olikartad cellform arrangerar sig även vissa bakterieceller på lite olika sätt, beroende på att cellerna inte skiljer sig efter celledelning.

Exempel på detta är kokker. *Streptokokker* ser ut som ett pärlband av uppradade celler medan *stafylokokker*, ser ut som en vindruvsklase (grek. staphyle = druvklase). Stafylokokkerna delar sig lite hur som helst i olika plan medan streptokokkerna endast delar sig i ett plan.

Ett annat cellarrangemang förekommer hos bakteriesläktet *Sarcina*, i vilket bakterierna packas samman till en kubisk form.

## Hur kan man se bakterier?

Eftersom bakterier i allmänhet uppvisar en dålig kontrast gentemot omgivningen kan det vara mycket svårt att studera dem i mikroskop. För att kringgå dessa svårigheter färgar man in bakterierna med olika organiska färgämnen.

Man kan använda positivt laddade, katjoniska eller basiska färgämnen, som fäster på negativt laddade strukturer i cellen, t.ex. DNA, RNA eller proteiner. Med denna färgningsmetod får man en ganska homogen infärgning av cellen. Exempel på färgämnen från denna grupp är metylenblått, kristallviolett, gentianaviolett och malakitgrönt.

De färgämnen som är negativt laddade kallas anjoniska eller sura färgämnen och fäster på motsvarande sätt in på positiva cellstrukturer, ofta proteiner. Exempel på sådana färgämnen är eosin, fuchsin och kongorött.

Förutom färgning av hela celler, finns en mängd selektiva metoder där endast specifika cellstrukturer infärgas. Hit hör den grupp av färgämnen som är fettlösliga och därför har en stark affinitet till lipidinnehållande strukturer.

I de laborationer du ska göra finns två olika färgningstekniker representerade.

### • Negativ färgning

I denna metod färgar man inte cellerna utan bakgrunden. För att förhindra att färgämnet penetrerar cellmembranet utförs ingen fixering.

Cellerna slammas direkt i en färgdroppe, vanligen nigrosin, en slags tuschlösning. Efter lufttorkning studerar man preparatet i mikroskop, varvid man kan se ofärgade celler mot en mörk bakgrund.



Den stavformiga bakterien *Escherichia coli* är på bilden infärgad och förstorad 2 000 gånger.



## EXPERIMENT

Prova att göra Laboration 2 – Vätpreparat, i laborationshäftet.

## EXPERIMENT

Prova att göra Laboration 3 – Negativ färgning, i laborationshäftet.

### • Direkt färgning

Direkt färgning innebär att cellerna färgas in med något basiskt färgämne. Genom att färgämnet får komma i kontakt med cellerna under någon minut, sker infärgning och man kan studera preparatet i mikroskop.

### • Gramfärgning

Detta är en viktig färgningsmetod som ofta används vid systematisering av bakterier eftersom alla bakterier inte reagerar lika på färgbehandlingen. Metoden kan också ge viktig information till den läkare som ska behandla en svår bakterieinfektion med antibiotika. Läs vidare i kapitel 7, *Bakteriologisk kemoterapi*.

Själva färgningsmetoden upptäcktes 1884 av den danske bakteriologen *Hans Christian Gram* (1853–1938) och döptes efter honom. Han utvecklade metoden för att kunna påvisa förekomst av bakterier i animala vävnader.

### Principerna för gramfärgning

Ett utstryk av bakterier på ett objektglas som försiktigt fixerats över öppen låga färgas först med ett lämpligt basiskt färgämne under någon minut. Därefter tillsätts jod–jodkalium under lika lång tid.

Då bildas ett blåviolett komplex i cellen bestående av färg och jod. Efter detta behandlar man preparatet med etanol under en minut och färgar det återigen, nu med någon lämplig kontrastfärg.

Vid behandlingen med etanol blir vissa bakterier helt avfärgade. Det behövs då en efterföljande kontrastfärgning med något färgämne som ger dem en röd färg, t.ex. karbolfuksin eller saffranin. De bakterier som reagerar på detta sätt kallas *gramnegativa* eftersom de inte kan behålla det först bildade färgkomplexet.

Hos den andra typen av bakterier medför alkoholbehandlingen ingen förlust av jod-färgkomplexet, utan dessa celler blir blåvioletter. Denna typ av bakterier kallas för *grampositiva*. Det är mycket viktigt att gramfärgningen utförs med unga bakteriekulturer. Äldre grampositiva bakterier har nämligen en

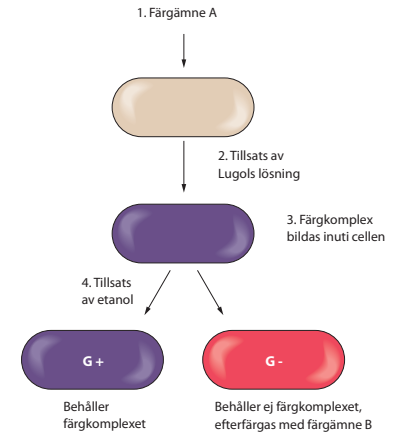
tendens att förlora förmågan att behålla den blåviolettera färgen och framstår istället som gramnegativa eller gramvariabla.

Många teorier har lagts fram rörande mekanismen för gramreaktionen. Den troligaste är nog att man i färgningen återspeglar en fundamental skillnad i cellulär organisation mellan grampositiva och gramnegativa bakterier, förmodligen lokaliserad i deras ytstrukturer och olika kemisk uppbyggnad av cellväggen.

Cellväggen hos gramnegativa bakterier har en hög halt av *lipider*, hos vissa upp till 20 procent. Genom att lipiderna löses upp vid etanolbehandlingen ökar väggens porositet och färgjodkomplexet kan extraheras.

Hos de grampositiva bakterierna är däremot väggarnas lipidinnehåll obetydligt. I alkohol sker istället en dehydrering av cellväggen och till följd av detta en minskning av porstorleken hos cellhöljet. På så sätt förhindras urläkningen av färgkomplexet.

Det finns även andra fundamentala skillnader mellan grampositiva och gramnegativa bakterier. Som exempel kan nämnas att detaljmekanismerna för genernas avläsning skiljer sig något. I klartext innebär det att en gen från t.ex. *Escherichia coli*,



Schematisk framställning av gramfärgning.



*Bacillus subtilis*,  
vanlig höbakterie.

som är gramnegativ, normalt inte kan uttryckas i exempelvis *Bacillus subtilis* som är grampositiv. En gen från *B. subtilis* kan däremot läsas i *E. coli*.

Evolutionärt anses grampositiva bakterier vara äldre än gramnegativa.

Exempel på grampositiva bakteriesläkten:

- *Bacillus*
- *Lactobacillus*
- *Streptococcus*

Exempel på gramnegativa släkten:

- *Enterobacter*
- *Escherichia*
- *Pseudomonas*
- *Salmonella*

## EXPERIMENT

Prova att göra Laboration 4 – Gramfärgning, i laborationshäftet.

## Arkéer/Archaea

De alltmer förbättrade metoderna för att analysera cellstrukturer, DNA, RNA och proteiner, har lett till en omvälvande förändring av de prokaryota organismernas indelning. Arkéerna betraktas därför numera som så klart skilda från bakterier att de *inte* bör kallas arkebakterier, som den tidigare benämningen var.

Arkéer har till det yttre karakteristiska prokaryota egenskaper liksom bakterier, men anses efter närmare analyser vara mer besläktade med den eukaryota cellen. Arkéerna förknippas oftast med extrema miljöer och kallas därför extremofiler. Man kan hitta arkéer vid temperaturer som klart överstiger 100 °C, t.ex. vid undervattensvulkaner, så kallade "black smokers", men även i miljöer som saltöknar och alkaliska sjöar.

Andra extrema miljöer där man också kan finna arkéer är i havsnära sumpmar-



Heta källor och gejsrar är områden där många olika typer av arkéer trivs.

ker, ute i öppna havet och i mag-tarmkanalen hos vissa djurarter, där de lever i ett *mutualistiskt* förhållande med en djurart eller som *kommensaler*.

För sin energiförsörjning är de autotrofa eller kemoorganotrofa, och några kan även utföra fotosyntes. Flera arkéer är beroende av svavel och därför anpassade till alla typer av vulkaniska områden, såväl på land som i vatten.

Storleken på arkéernas celler är 0,5–5 µm. Cellväggen har ett hölje av glykoprotein liknande den eukaryota cellens glykokalyx. Till skillnad från bakteriecellen har arkéernas cellvägg inte vanligt peptidoglykan utan ett likartat ämne, kallat pseudopeptidoglykan, som ger en större rörlighet i cellväggen.

Proteinsyntesen hos arkéerna har en större likhet med eukaryoterna än med bakterierna. Arkéernas genom består av 2–3 miljoner baspar och inom vissa gener har man funnit *introner* på samma sätt som hos eukaryoter.

Även om likheterna med eukaryoterna är större än med bakterierna, har arkéerna helt egna egenskaper som inte återfinns hos någon av de andra grupperna. Detta gäller speciellt cellmembranets sammansättning.

Arkéerna brukar av vissa forskare indelas i två huvudgrupper beroende på deras ekologiska anpassning. De **egentliga arkéerna** (Euryarchaeota) omfattar de metanogena och halofila arkéerna samt vissa termofila arter, medan de flesta termofila arkéer finns hos eocyter eller **krenarkeoter** (Crenarchaeota).

Systematiskt sett omfattar de egentliga arkéerna (Euryarchaeota) i huvudsak ordningarna Thermococcales, Thermoplasmatales, Archaeoglobales, Halobacteriales och ett par grupper metanogener. Släkten inom Euryarchaeota är t.ex. *Haloferax*, *Halococcus*, *Methanosarcina*, *Thermoplasma*, *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Archaeoglobus* och *Thermococcus*.

## Egentliga arkéer/Euryarchaeota

Till denna grupp räknas de metanogena arkéerna som kan vara både mesofila, termofila eller hypertermofila, och de svavelreducerande termofila arkéer samt extrema halofiler.

Eftersom de flesta av arkéerna har väldigt specifika och extrema krav på sin miljö, är de ytterst svårödlade i laboratoriemiljö och med konventionella odlingsmetoder.



En arké vid namn *Methanospirillum hungatii* håller precis på att dela sig. De två andra cellerna till höger syns i tvärsnitt. Denna bakterie lever anaerobt och framställer metan ur koldioxid och vätsga.

Uttorkad saltsjö i Anderna, Sydamerika. I denna för oss ogästvänliga miljö frodas extrema halofiler.



*Metanogenerna* är obligat anaeroba och autotrofa som för sin energiproduktion bl.a. reducerar koldioxid i närvaro av väte till metangas via flera reaktionssteg. Reaktionen kan i princip skrivas



Man hittar de metanogena arkéerna i syrefria sumpmarker och träsk men även i mag-tarmkanalen hos vissa djur. I tarmkanalen hos termiter och i vommen hos idisslare finns cellulosedbrytande protozoer och inuti dessa kan i sin tur metanogena arkéer t.ex. *Methanobacterium*, leva som *endosymbionter*.

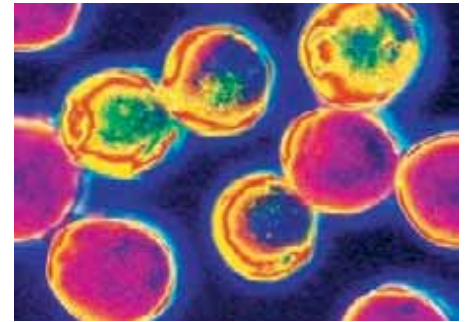
Metanogenerna producerar metan som är en gas som bidrar till växthuseffekten. Termiter och våra idisslande nötkreatur ingår därmed som brickor i spelet om växthuseffekten och den globala uppvärmningen.

Metanogener har även blivit ekonomiskt viktiga i bioteknisk nedbrytning av hushålls- och slakteriavfall samt av gödsel och rötslam. Vid nedbrytningen produceras biogas som kan användas som alternativt drivmedel till framförallt bussar, men även till personbilar.

De metanogena arkéerna är unika eftersom de innehåller ett fluorescerande cytokrom (F420) som inte finns hos någon annan organismgrupp.

*Extrema halofiler* som grupp, kräver en så hög koncentration av natriumklorid som 10–20 % för att kunna föröka sig. En del arter kan även överleva i mättad saltlösning! Det märkliga är att dessa organismer är isosmotiska i förhållande till sin miljö dvs. de har samma saltkoncentration intracellulärt som den omgivande miljön.

*Halofila* arkéer av släktet *Halococcus*. Dessa bakterier lever på ställen med mycket höga salthalter. Man kan hitta halokocker på ytan av saltade livsmedel, t.ex. fisk, eller i saltsjöar och liknande miljöer.



Släktet *Halobacterium* är välkänt och finns vid saltsjöar som Döda Havet, i saliner och saltgruvor, men även på saltade matvaror.

Inom samma grupp finns de enda fotosyntetiska arkéerna. *Halobacterium salinarium* kan under vissa förhållanden utföra fotosyntes med en annorlunda mekanism än hos t.ex. cyanobakterier. Fotosyntesen utförs med hjälp av det ljusabsorberande pigmentet bakterierhodopsin, med vilket dessa arkéer kan producera ATP för vidare användning i anabola processer. Bakterierhodopsin är också det ämne som åstadkommer den röda färgen hos den saltade sillen som kallas ”red herring”.

#### TAG REDA PÅ!

Vilken funktion har rhodopsin hos vissa eukaryoter?

*Thermoacidofila* arkéer, t.ex. *Thermoplasma*, är märkliga på flera sätt. De är de enda arkéer som saknar cellvägg och är de enda organismer som kan överleva pH-värden under 0! Deras pH-optimum ligger annars vid 1,0–2,0 och deras temperaturoptimum vid 55–60 °C. Det är inte så många ställen på jorden som har så extrem miljö, men vid djuphavsfumaroler, även kallade ”black smokers” och i kolgruvor, där det är gott om giftiga kemiska föreningar av svavel, koppar, arsenik, kadmium och zink – där kan dessa arkéer hitta sina livsmiljöer.