



Wykorzystanie mikroskopii sił atomowych (AFM) do badania bakteryjnej adhezji i tworzenia biofilmu

Dariusz Laskowski

Promotorzy:

prof. dr hab. Hanna Dahm
prof. dr hab. Aleksander Balter

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Zakład Biofizyki i Fizyki Medycznej, Instytut Fizyki

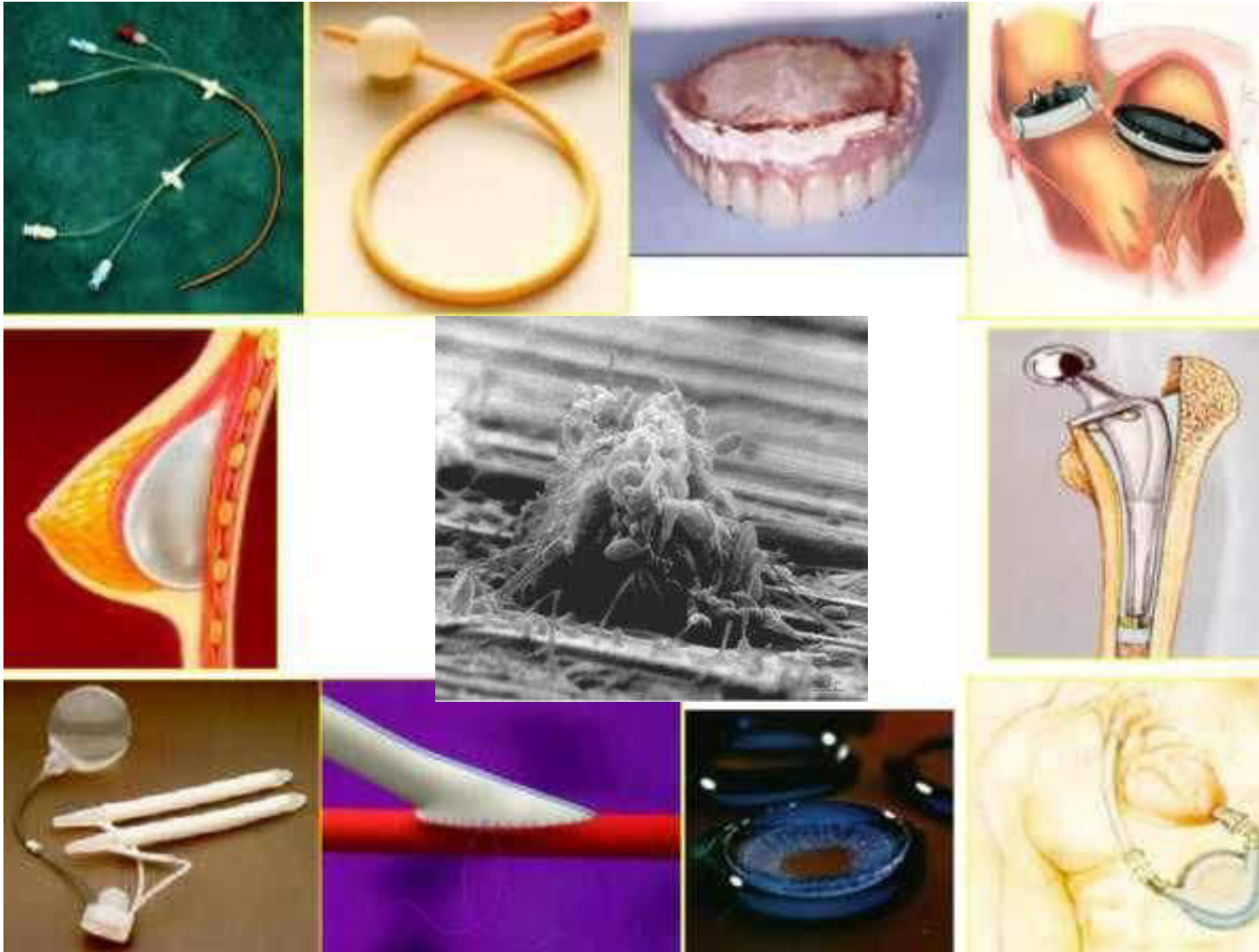


UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

BIOFILM



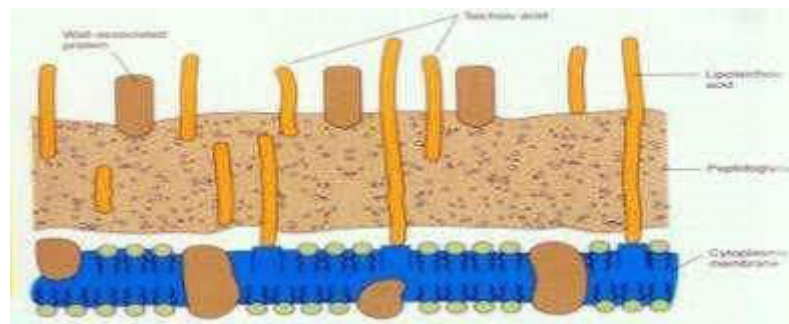
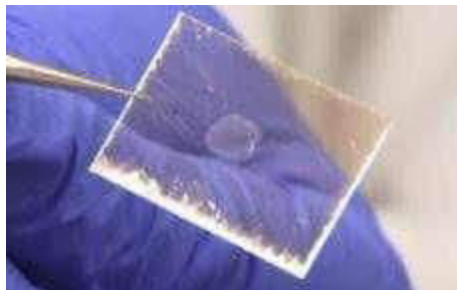
CELEM BADAŃ BYŁO:

- **zbadanie właściwości adhezyjnych bakterii tworzących biofilm, poprzez**
 - pomiar sił adhezji, z jakimi bakterie przylegają do powierzchni
 - oszacowanie wpływu struktur zewnątrzkomórkowych bakterii na ich zdolność do przylegania
 - ocenę wpływu zewnątrzkomórkowej macierzy polimerów na zdolność bakterii do adhezji

MATERIAŁ I METODY

Szczepy wzorcowe / referencyjne

Lp.	Gatunek bakterii	Numer kolekcji ATCC
1.	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922*
2.	<i>Bacillus subtilis</i>	PCM 2021**

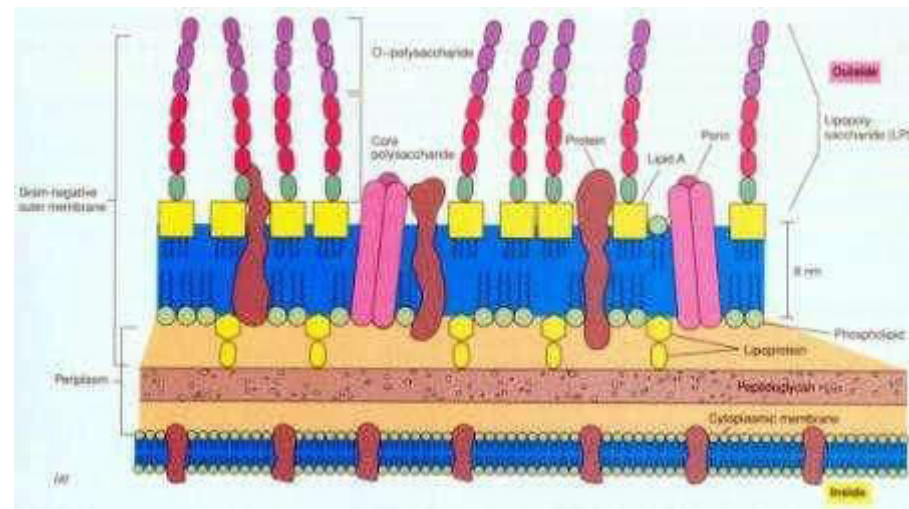


Gram dodatnie

Objaśnienia:

* American Type Culture Collection (Bethesda, MD, USA)

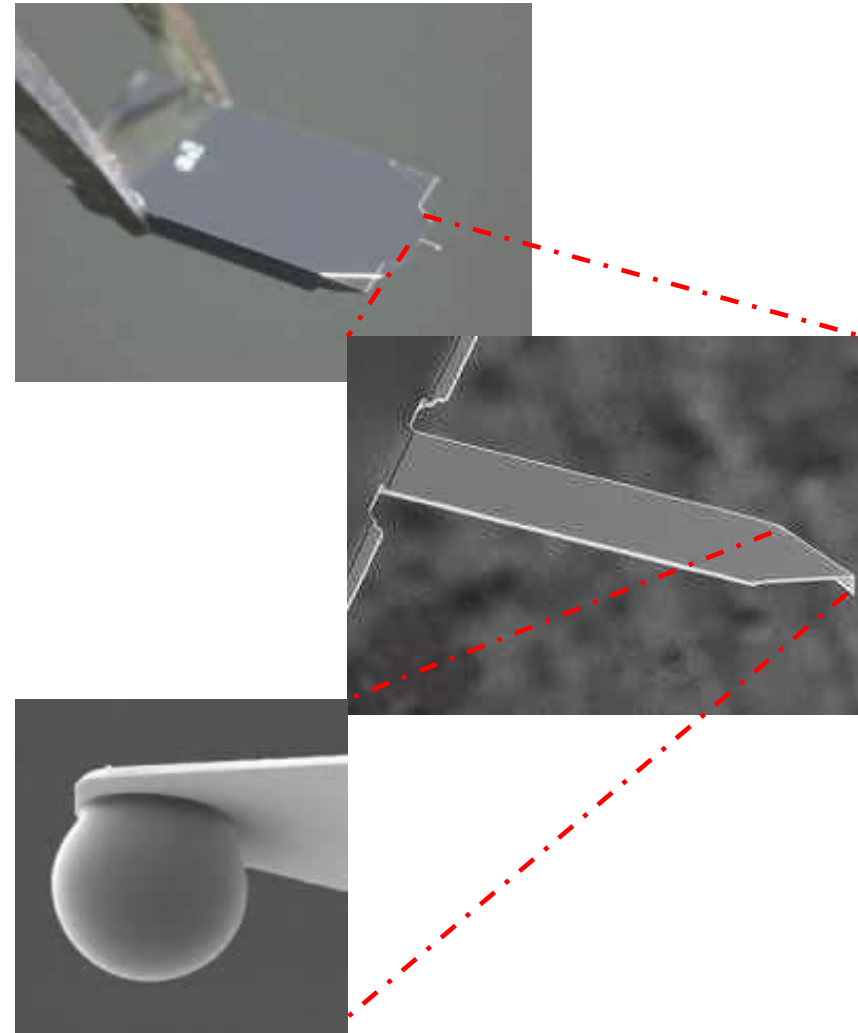
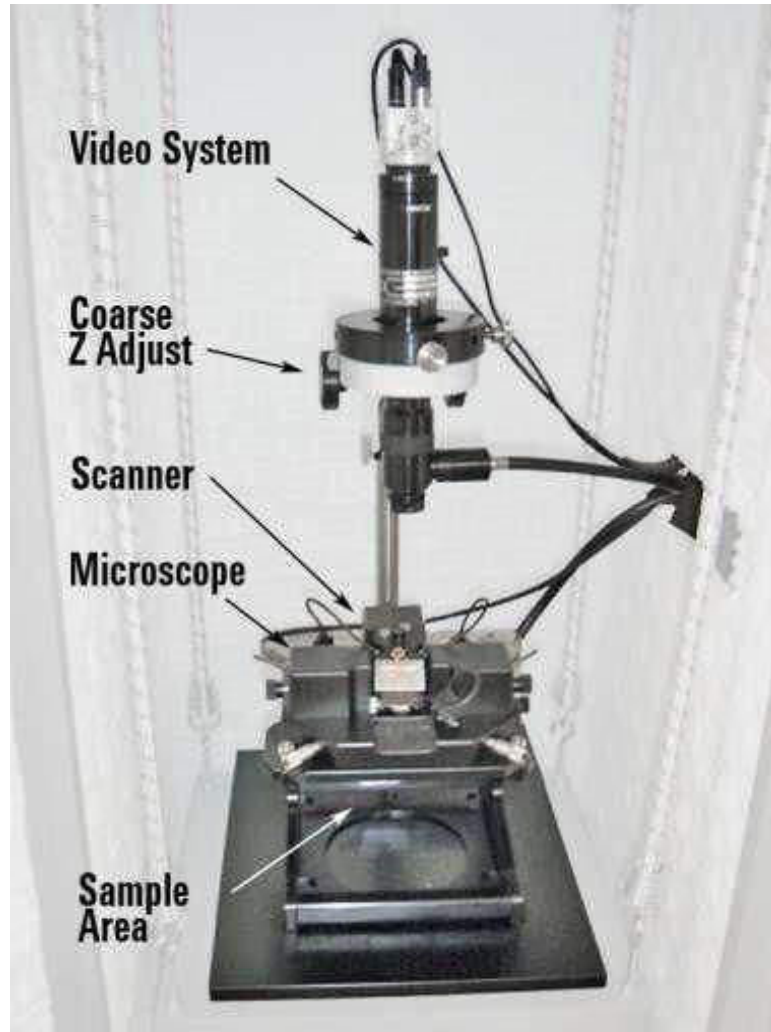
** Polska Kolekcja Mikroorganizmów (Wrocław, Polska)

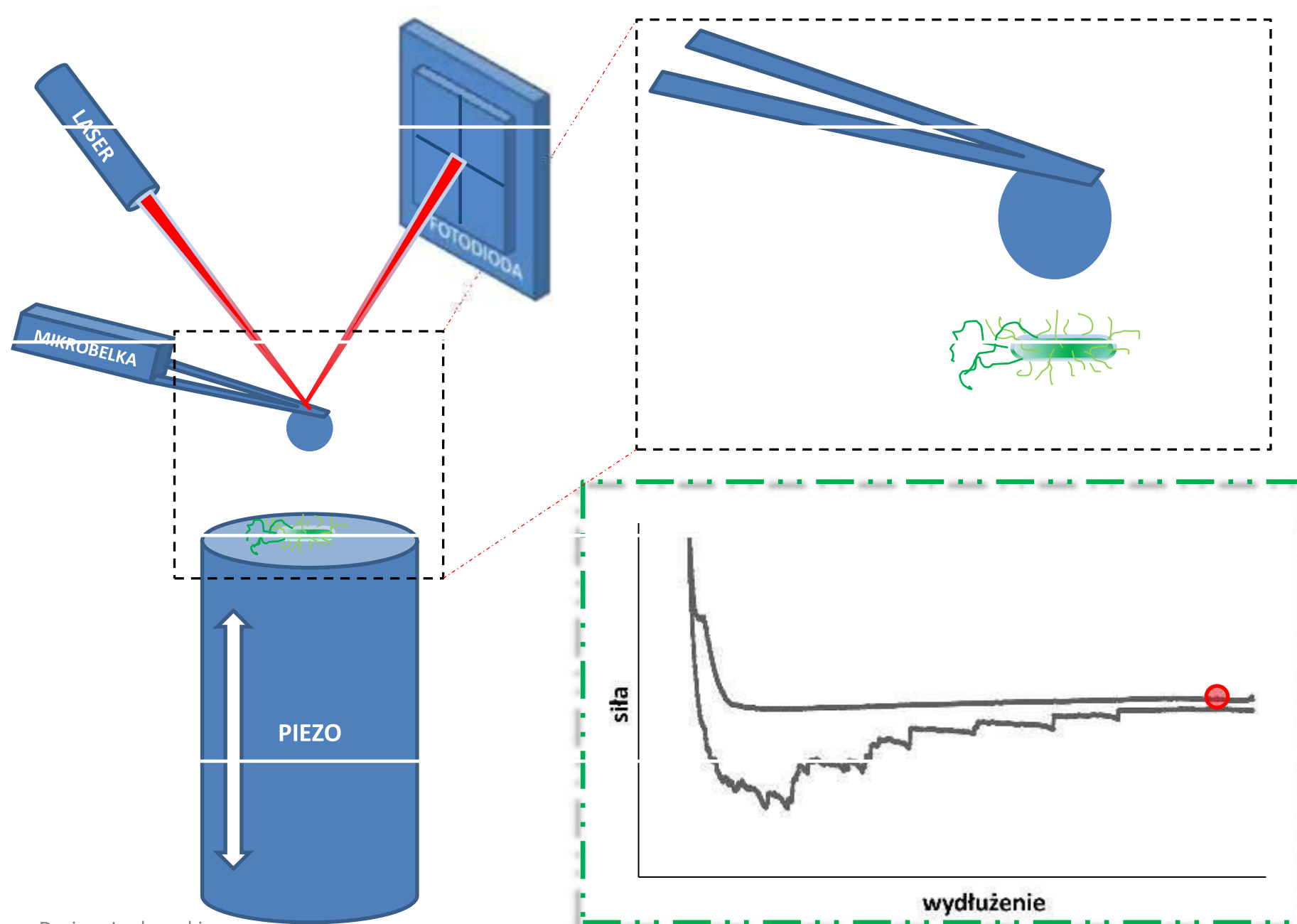


Gram ujemne

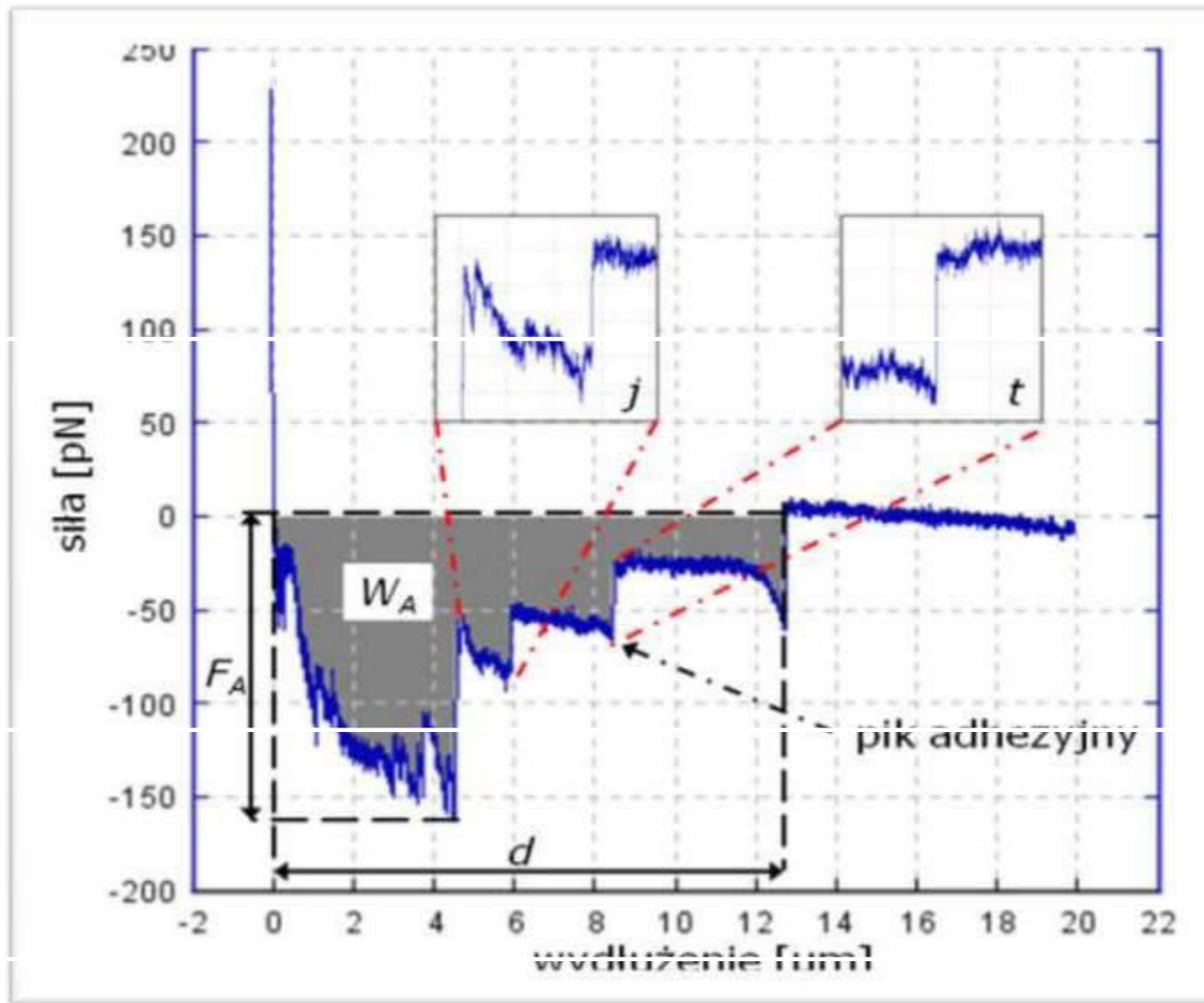
Benson, 2001

Mikroskop sił atomowych (AFM)

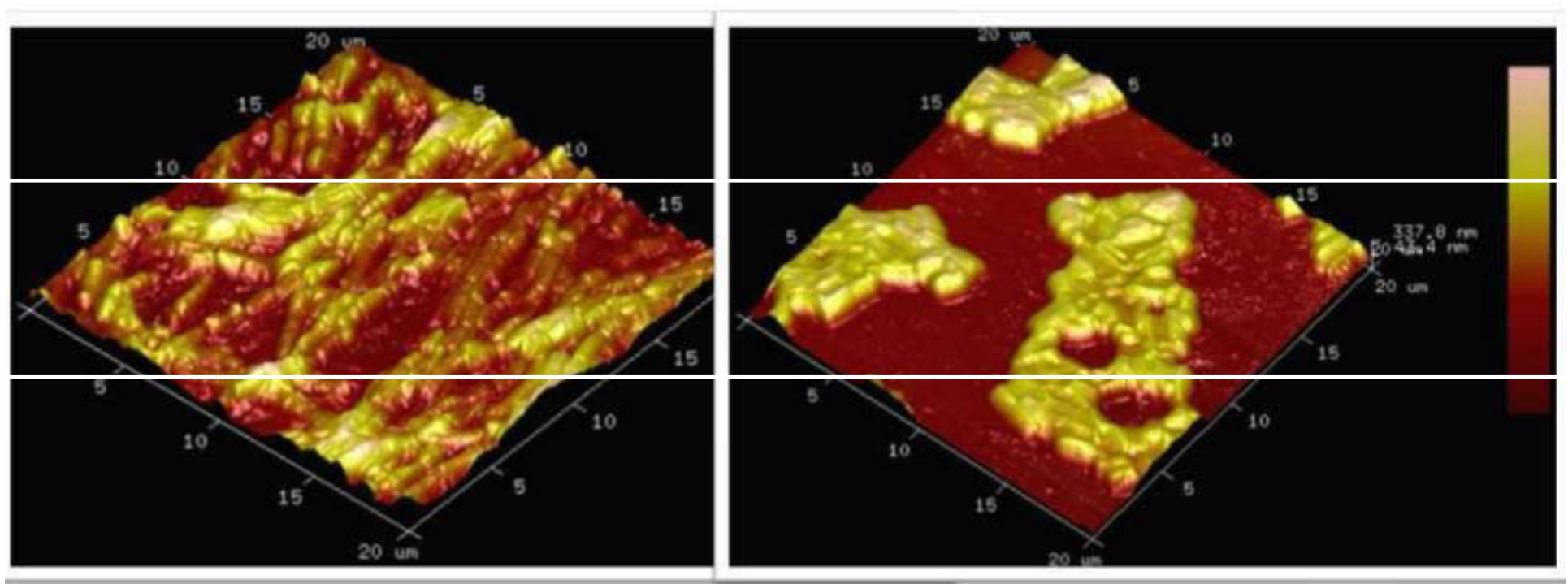




Analiza krzywych siłowych



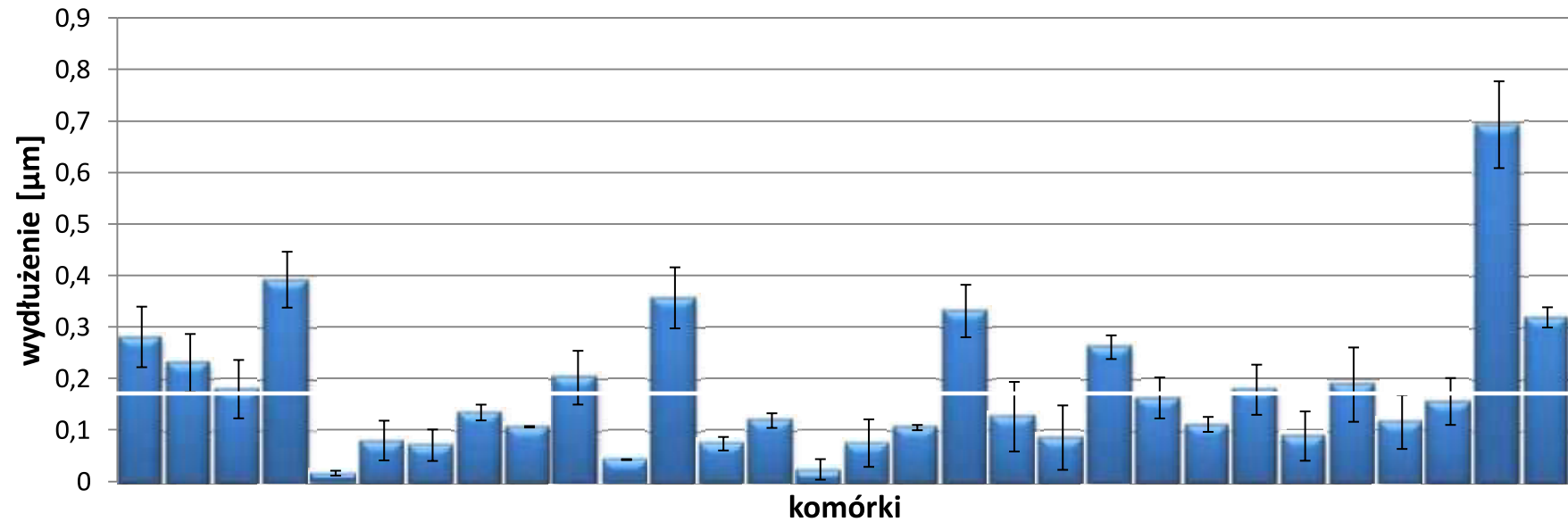
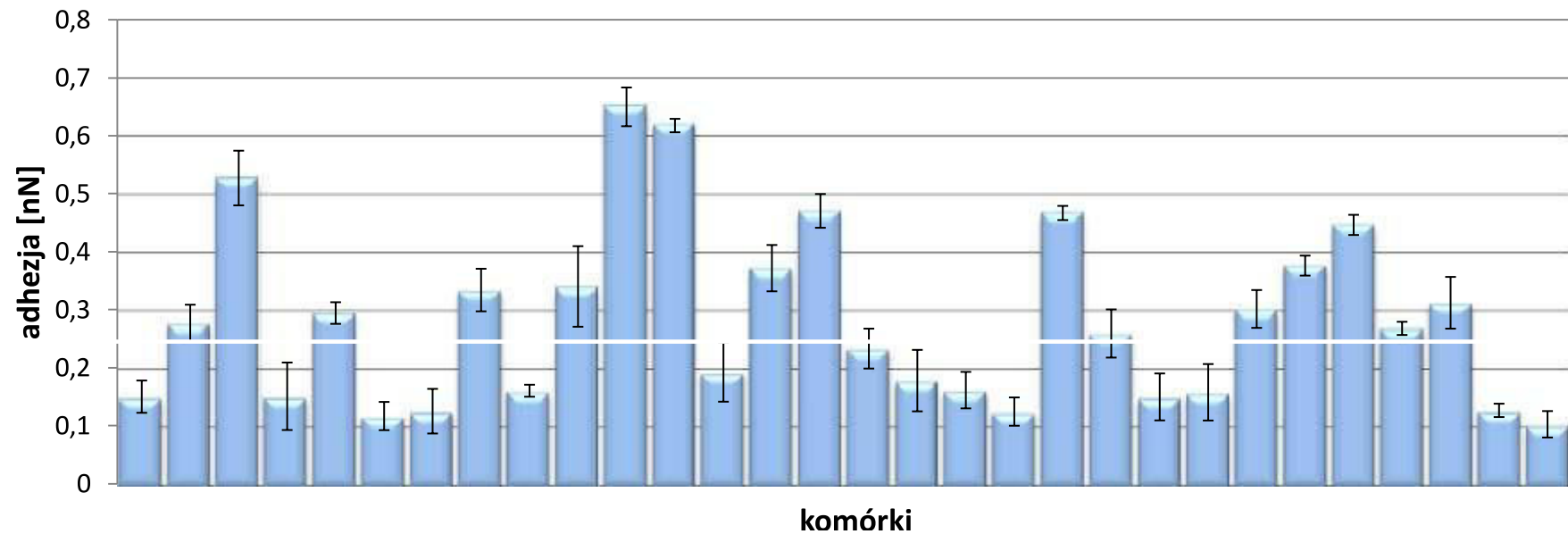
WYNIKI



Bacillus subtilis PCM 2021

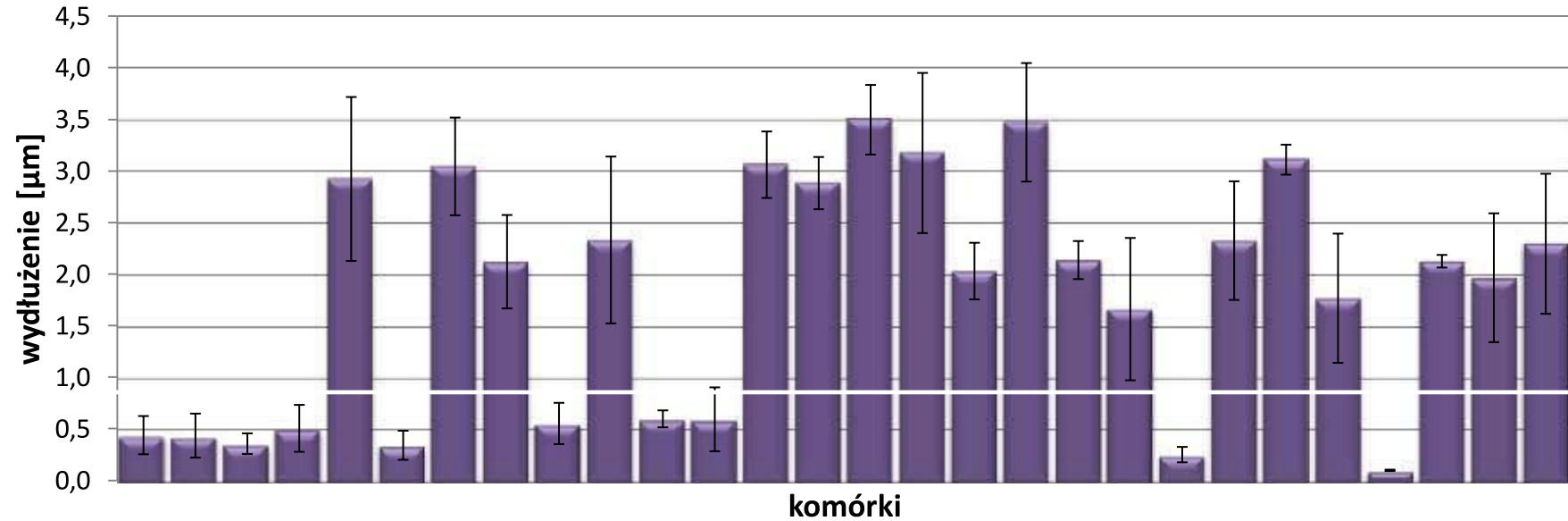
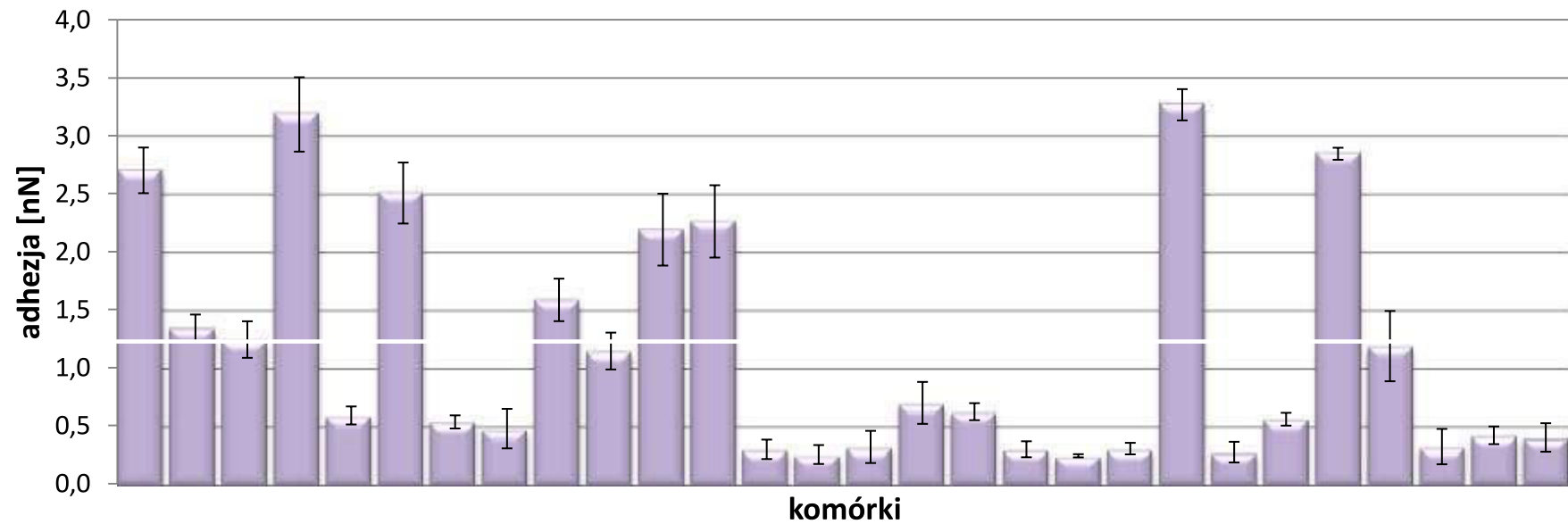
Escherichia coli ATCC 25922

Bacillus subtilis

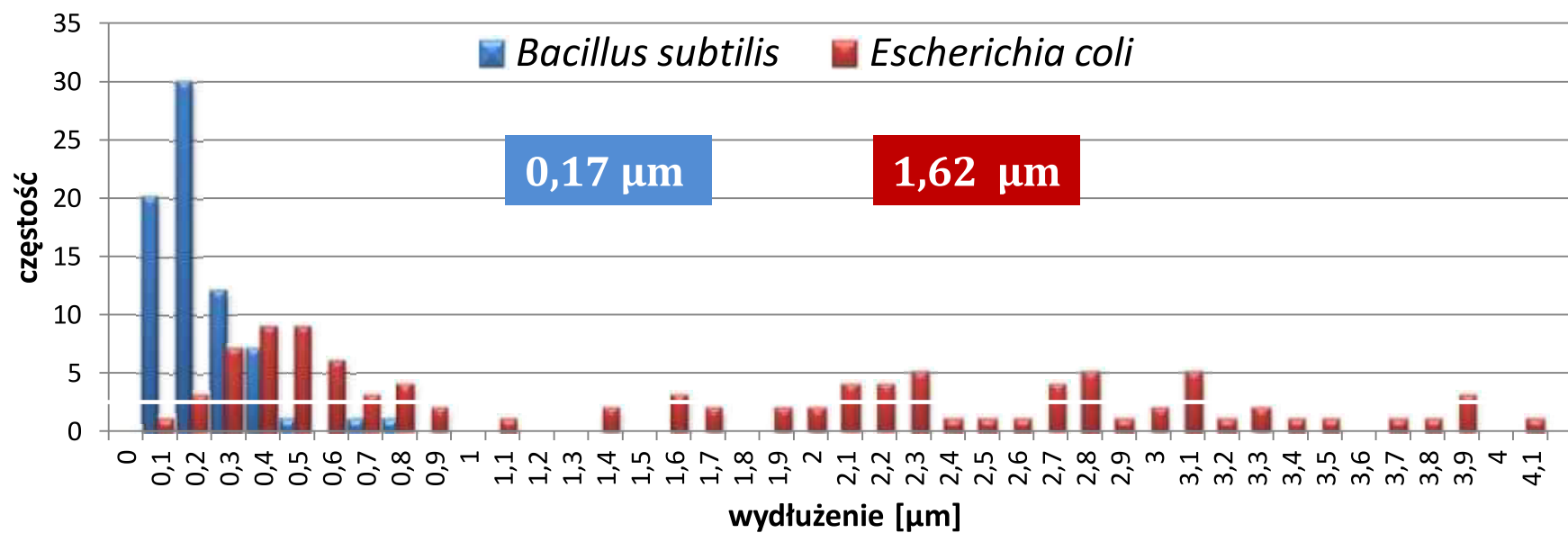
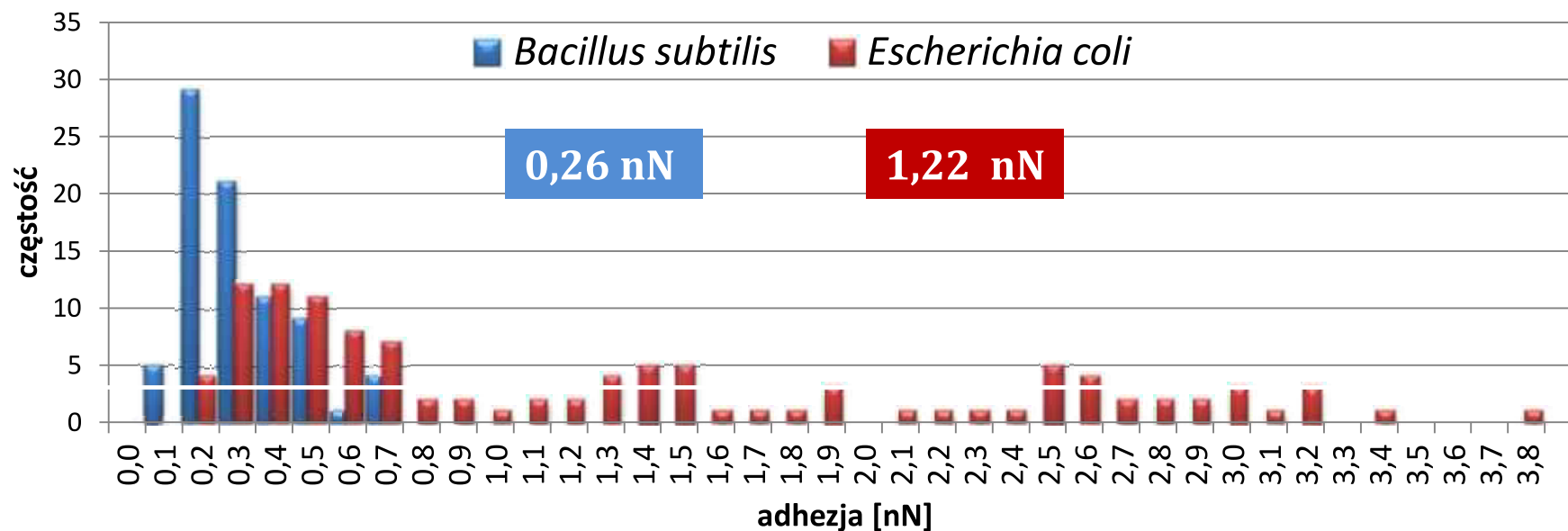


RÓŻNORODNOŚĆ WŁAŚCIWOŚCI ADHEZYJNYCH BAKTERII W BADANEJ POPULACJI

Escherichia coli



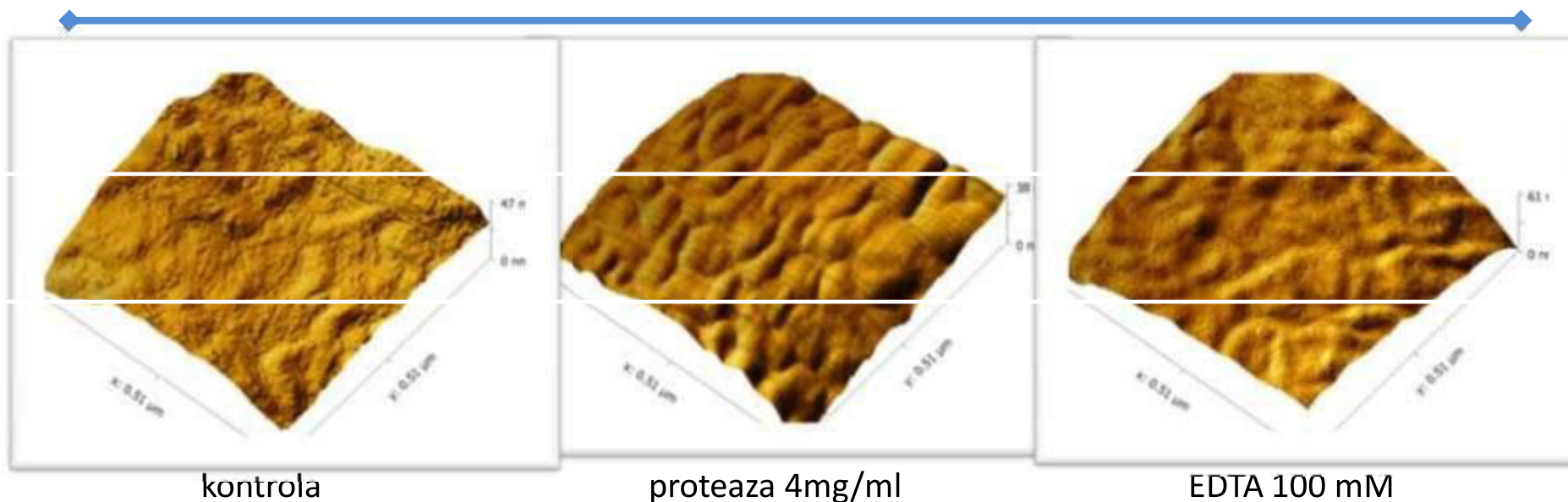
RÓŻNORODNOŚĆ WŁAŚCIWOŚCI ADHEZYJNYCH BAKTERII W BADANEJ POPULACJI



Średnia wartość siły adhezji była wyższa dla bakterii Gram ujemnej

ROZKŁAD CZĘSTOŚCI REJESTROWANYCH KRZYWYCH SIŁOWYCH

Struktury powierzchniowe *E. coli*

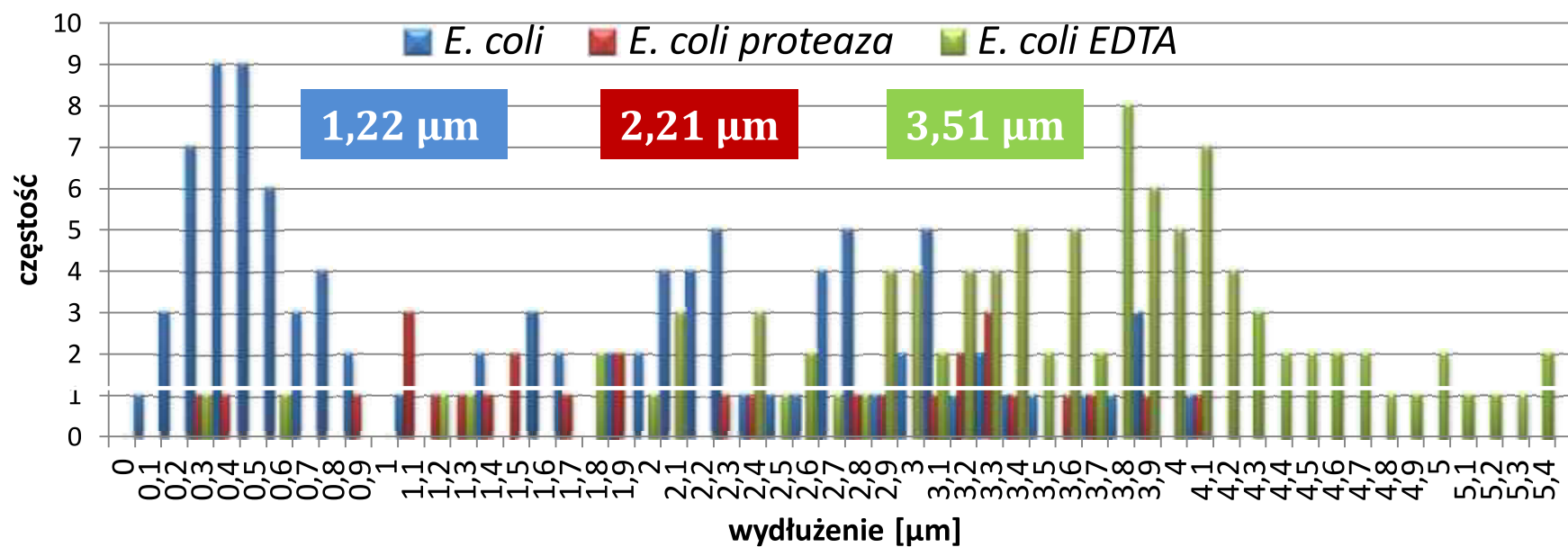
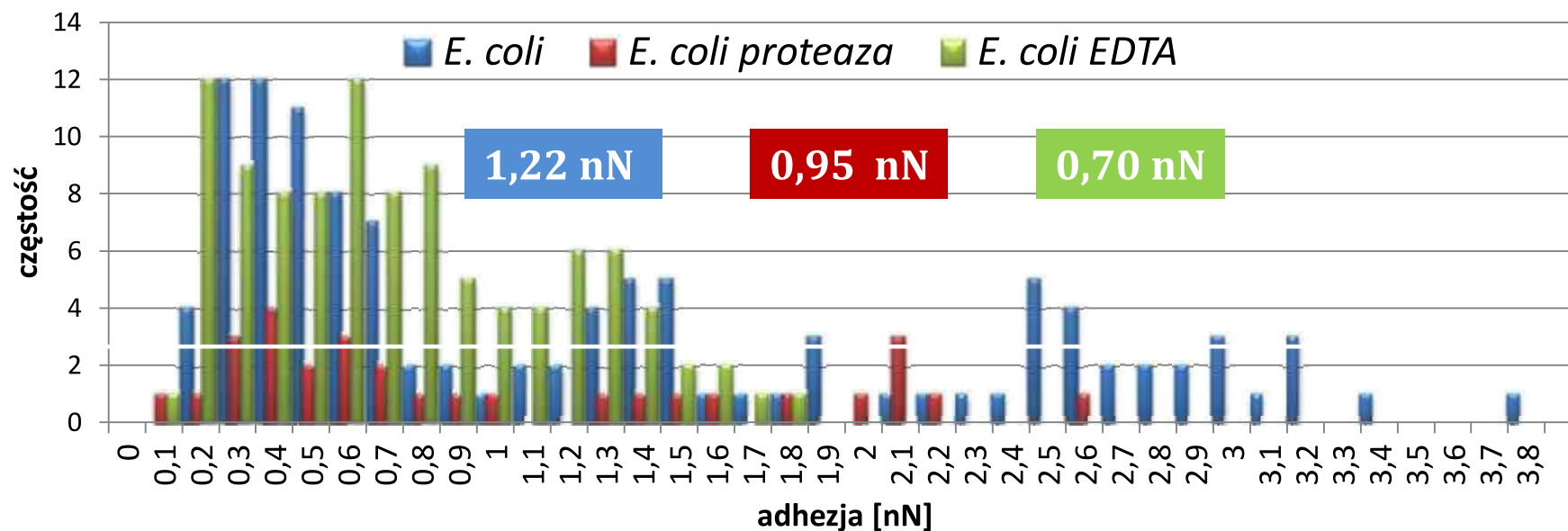


żywołność bakterii na poziomie 90 %
LIVE/DEAD BacLight Viability Kit

512 x 512 pikseli na linię,
500 x 500 nm,
3,66 nm/piksel

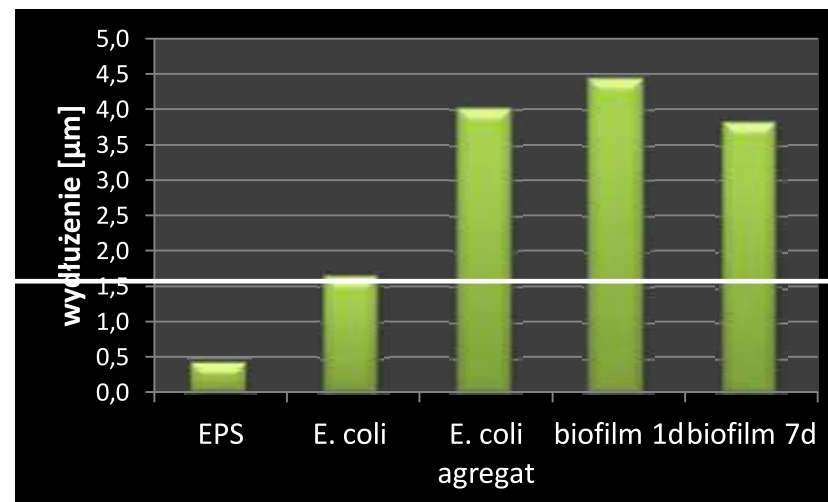
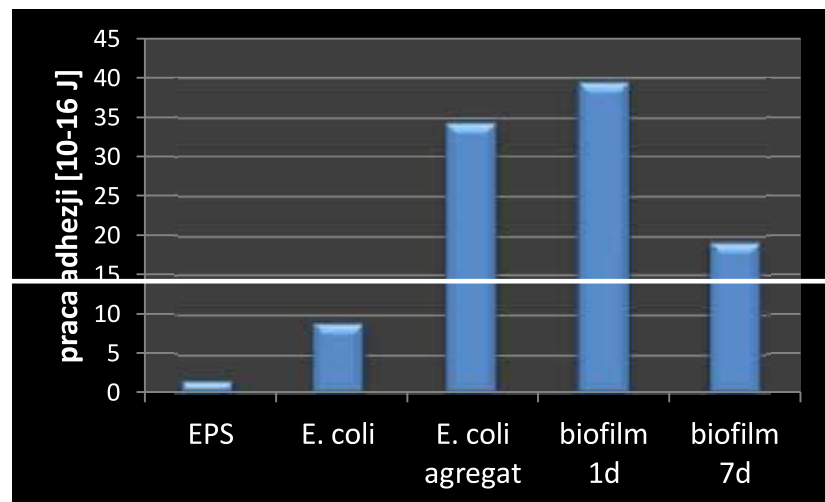
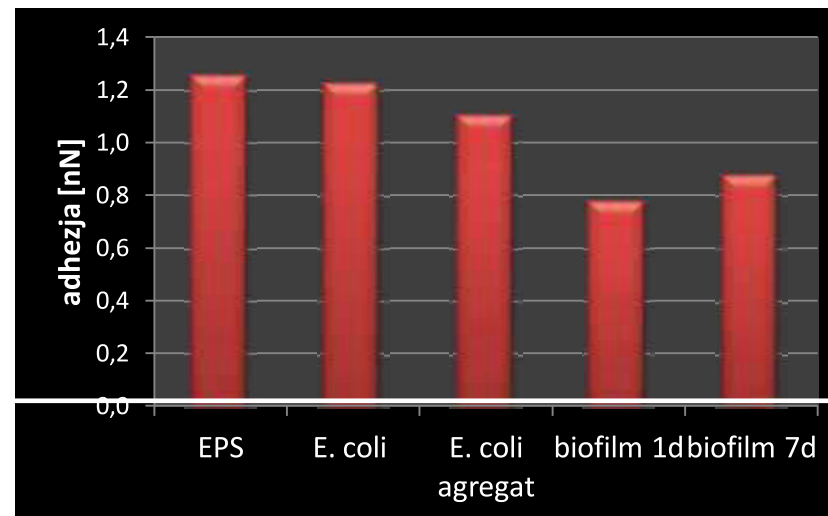
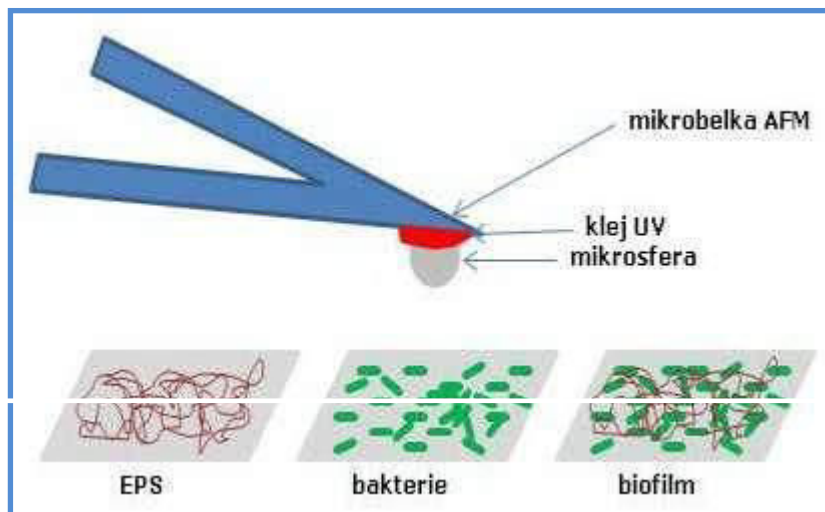
	K	proteaza	EDTA
Ra	10,1	19,3	14,7

WPŁYW BIAŁEK POWIERZCHNIOWYCH I LIPOPOLISACHARYDU NA ADHEZJĘ

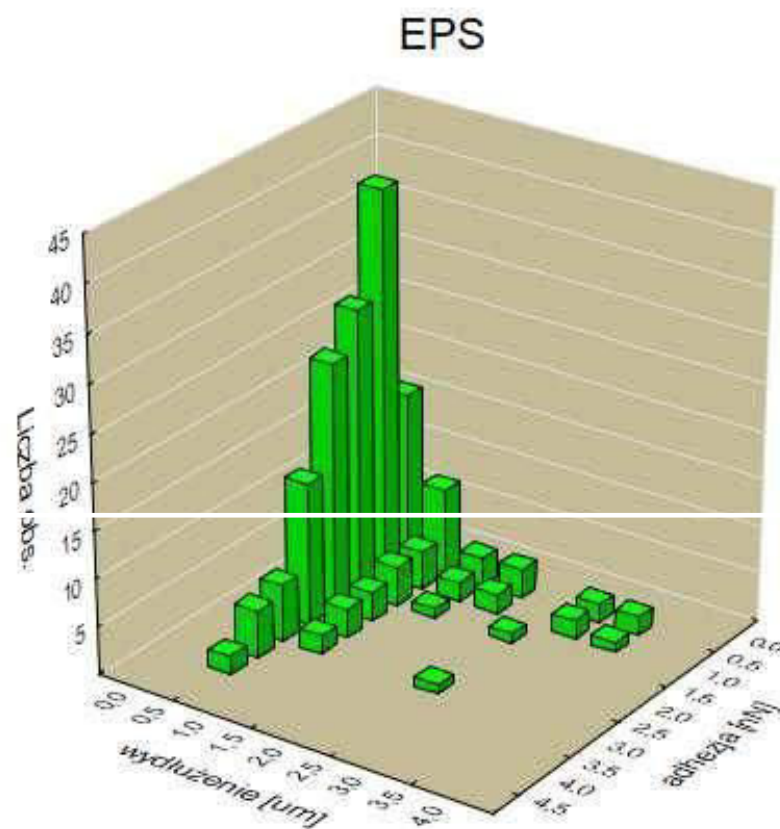
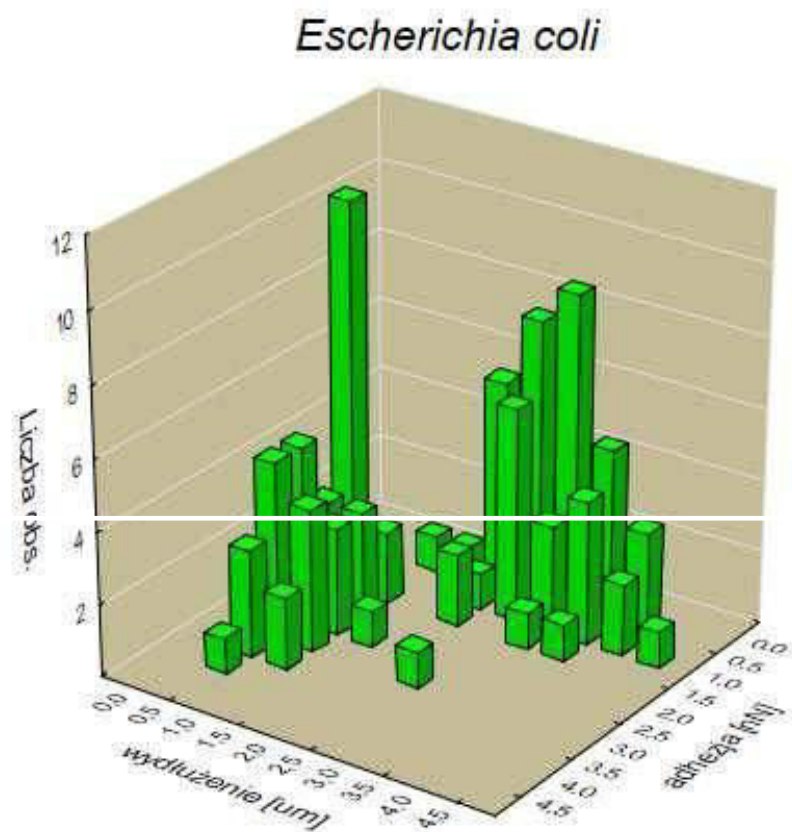


ROZKŁAD CZĘSTOŚCI REJESTROWANYCH KRZYWYCH SIŁOWYCH

Biofilm



Biofilm



PODSUMOWANIE

1. Siły adhezji jak również częstość zdarzeń adhezyjnych zależą od morfologii i stanu fizjologicznego bakterii.
2. Każdy z dwóch typów bakterii (G+ i G-) wykazuje inny i charakterystyczny wzór adhezji do sondy AFM.
3. Zbadane związki (proteaza, EDTA) spowodowały wzrost chropowatości powierzchni komórki (Ra), świadczący o uszkodzeniu struktur powierzchniowych.
4. Białka powierzchniowe jak i lipopolisacharyd (LPS) odgrywają ważną rolę w procesie adhezji.
5. Właściwości adhezyjne biofilmu zależą od wielu czynników i nie są wynikiem prostego sumowania jego poszczególnych komponentów.

Literatura i finansowanie

Donlan, R.M., Costerton, J.W., 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev. 15, 167–193.

Benson D.R., 2001. Microbiological Applications: A Laboratory Manual in General Microbiology, Short Version, 8 edition. ed, 2001. . McGraw-Hill Science/Engineering/Math, Boston.

OLYMPUSCatalogue, 2007 <http://probe.olympus-global.com/en/>

Keysight Agilent 5500 User's Guide, 2014

<http://www.keysight.com/main/home.jsp?cc=PL&lc=eng>

Badania współfinansowane z Grantu UMK na rozwój młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, nr **2250-B**



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego



interdyscyplinarne
studia doktoranckie
matematyczno-
przyrodnicze



Zespół Biofizyki
Doświadczalnej

Projekt „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno – przyrodniczych” realizowany w ramach poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Dziękuję za uwagę



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego