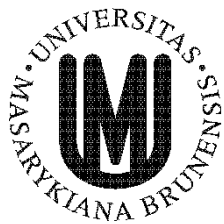


MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Bakalářská práce

Brno 2017

Jiří Procházka



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE
ODDĚLENÍ GENETIKY A MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE



**FYZIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA
SIROVODÍK OXIDUJÍCÍCH**

FOTOAUTOTROFNÍCH BAKTERIÍ

Bakalářská práce

Jiří Procházka

Vedoucí práce: doc. Mgr. Ivan Kushkevych, Ph.D.

Brno 2017

Bibliografický záznam

Autor:	Jiří Procházka Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav experimentální biologie
Název práce:	Fyziologická charakteristika sirovodík oxidujících fotoautotrofních bakterií
Studijní program:	Experimentální biologie
Studijní obor:	Molekulární biologie a genetika
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Ivan Kushkevych, Ph.D.
Akademický rok:	2016/2017
Počet stran:	49
Klíčová slova:	purpurové sirné bakterie; zelené sirné bakterie; <i>Chromatiaceae</i> ; <i>Chlorobiaceae</i> ; fotoautotrofní bakterie; Oxidace sirovodíku; metabolismus síry; fotosyntetické reakční centrum; anoxygenní fototrofní bakterie

Bibliographic Entry

Author Jiří Procházka
Faculty of Science, Masaryk University
Department of Experimental Biology

Title of Thesis: Physiological characteristics of sulfide-oxidizing photoautotrophic bacteria

Degree programme: Experimental Biology

Field of Study: Molecular Biology and Genetics

Supervisor: doc. Mgr. Ivan Kushkevych, Ph.D.

Academic Year: 2016/2017

Number of Pages: 49

Keywords: purple sulfur bacteria; green sulfur bacteria; *Chromatiaceae*; *Chlorobiaceae*; photoautotrophic bacteria; oxidation of hydrogen sulfide; sulfur metabolism; photosynthetic reaction center; anoxygenic phototrophic bacteria

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá bakteriemi schopnými oxidovat sulfan, konkrétně čeleděmi *Chromatiaceae* a *Chlorobiaceae*, též známými jako purpurové a zelené sírné bakterie. Práce se postupně věnuje jejich obecné charakteristice, taxonomii a fylogenezi. Dále jsou pak rozebrány některé jejich důležité fyziologické pochody, zvláště ty, které jsou pro tyto bakterie charakteristické. Jedná se především o metabolismus síry, který oxiduje sulfan na elementární síru, a také fotosyntetické děje probíhající uvnitř buňky.

Abstract

This bachelor thesis describes bacteria capable of oxidizing hydrogen sulfide, specifically families *Chromatiaceae* and *Chlorobiaceae*, also known as purple and green sulfur bacteria. This thesis separately covers general characterization, taxonomy and phylogeny of these bacteria. Further, it analyzes certain important physiological processes, especially those which are characteristic for these bacteria. Firstly, the metabolism of sulfur, which oxidizes hydrogen sulfide to elementary sulfur and also photosynthetic processes taking place inside of cells.



MASARYKOVA UNIVERZITA
Přírodovědecká fakulta

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2016/2017

Ústav: Ústav experimentální biologie
Student: Jiří Procházka
Program: Experimentální biologie
Obor: Molekulární biologie a genetik

Ředitel Ústavu experimentální biologie PřF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s názvem:

Název práce: Fyziologická charakteristika sirovodík oxidujících fotoautotrofních bakterií
Název práce anglicky: Physiological characteristics of sulfide-oxidizing photoautotrophic bacteria

Oficiální zadání:

Cílem této práce je popis anaerobního procesu oxidace sirovodíku na elementární síru, morfologická a ekologická charakteristika fotoautotrofních bakterií čeledi Chromatiaceae a Chlorobiaceae, jejich fylogenetické zařazení, porovnání fotosyntetických systémů, mechanismu anoxigenní fotosyntézy a genů kódujících bakteriochlorofyly a karotenoidy.

Jazyk závěrečné práce: čeština

Vedoucí práce: Mgr. Ivan Kushkevych, Ph.D.

Datum zadání práce: 17. 10. 2016

V Brně dne: 14. 11. 2016

Souhlasím se zadáním (podpis, datum):

Jiří Procházka
student

Mgr. Ivan Kushkevych, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Jan Šmarda, CSc.
ředitel Ústavu experimentální
biologie

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu doc. Mgr. Ivanu Kushkevychi, Ph.D. za trpělivost, pevné nervy a rady, které mi poskytl pro napsání této práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracoval samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Brno 10. května 2017



.....
Jméno Příjmení

OBSAH

1. Úvod:	9
1. Obecná charakteristika čeledí <i>Chromatiaceae</i> a <i>Chlorobiaceae</i>	10
2.1. Čeleď <i>Chromatiaceae</i>	10
2.2. Čeleď <i>Chlorobiaceae</i>	11
2. Fylogeneze a taxonomie	13
3.1. Čeleď <i>Chromatiaceae</i>	13
3.2. Čeleď <i>Chlorobiaceae</i>	15
3. Metabolismus síry u fototrofních bakterií	18
4.1. Oxidace sulfanu na elementární síru	18
4.1.1. Flavocytochrom c	18
4.1.2. Sulfid:chinon oxidoreduktáza	19
4.1.3. Enzymatický system Sox a reverzně operující siřičitan reduktáza	20
4.2. Oxidace polysulfidů	20
4.3. Příjem a oxidace elementární síry z prostředí	20
4.4. Oxidace akumulované síry na siřičitany	21
4.5. Oxidace siřičitanů na sírany	23
4.5.1. Nepřímá AMP-dependentní oxidace	24
4.5.2. Přímá oxidace pomocí siřičitan dehydrogenázy	24
4.6. Oxidace thiosíranů	25
4.6.1. Oxidace thiosíranů na tetrathionan	25
4.6.2. Oxidace thiosíranů na sírany	25
5. Fotosyntetický aparát	26
5.1. Světlosběrné komplexy čeledi <i>Chromatiaceae</i>	26
5.2. Reakční centra čeledi <i>Chromatiaceae</i>	27
5.3. Struktura chlorosomů	28
5.4. Reakční centrum čeledi <i>Chlorobiaceae</i>	28
6. Závěr:	30
Literatura:	31
Přílohy:	41

1. ÚVOD:

Fototrofní purpurové a zelené sírné bakterie jsou známé již dlouhou dobu. Tyto mikroorganismy využívají redukované sloučeniny síry jako donor elektronů v procesu anoxygenní fotosyntézy a jsou klasifikovány do různých čeledí. Zástupci největší čeledi *Chromatiaceae*, které je možno ve volné přírodě pozorovat jako světle červené zbarvení anaerobní vrstvy vody, byli poprvé popsáni v 2. polovině 19. století. Oproti tomu méně početná čeleď *Chlorobiaceae*, též nazývána zelené sírné bakterie, byly izolovány později v 2. polovině století 20.

I přes uplynulý čas nejsou všechny mechanismy metabolismu, anoxygenní fotosyntézy a struktury těchto bakterií plně popsány. Hlavním problémem v této oblasti je, že i když byla napsána spousta článků na toto téma, existuje jen velice málo vědeckých rešerší zabývajících se touto problematikou a jen zlomek z nich srovnává tyto dvě čeledi, a právě to je cílem bakalářské práce. Ve většině mikrobiologických knih a publikací jsou výše uvedené čeledi zmíněny pouze okrajově, často vůbec, a nejspíše proto je zájem o tyto fototrofy ze strany vědecké komunity tak malý. To nejlépe dokazuje fakt, že na velké části vědeckých publikací, zabývajících se touto tematikou, se podílí především úzký okruh vědců, v jehož čele stojí Norbert Pfennig, Johannes Imhoff a Jörg Overmann.

Genom těchto bakterií je, stejně jako fyziologická a strukturní stránka, z větší části nepoznán. Až v roce 2011 byl osekvenován první a dosud jediný kompletní genom zástupce taxonu *Chromatiaceae*, jedná se o kmen *Allochromatium vinosum* DSM 180^T. Oproti tomu je skupina bakterií *Chlorobiaceae* prozkoumána lépe. Ke konci roku 2016 bylo plně osekvenováno 13 genomů zástupců této čeledi. Ani to však nepokrývá diverzitu této čeledi a je třeba v tomto trendu vytrvat.

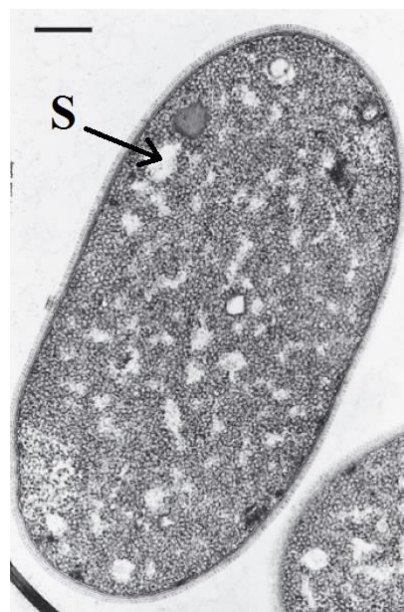
Tato práce má za účel vytvořit obecný přehled této tematiky, charakterizovat tyto čeledi, jejich fylogenezi a s ní spojenou taxonomii a některé vybrané fyziologické a biochemické vlastnosti. Jedná se především o metabolické procesy umožňující těmto bakteriím využívat sloučeniny redukované síry jako donor elektronů pro anoxygenní fotosyntézu a strukturu jejich fotosyntetických jednotek složených ze světlosběrných komplexů a reakčních center.

I. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA ČELEDÍ *CHROMATIACEAE* A *CHLOROBIACEAE*

2.1. Čeleď *Chromatiaceae*

Čeleď *Chromatiaceae*, dříve nazývaná *Thiorhodaceae* (Molisch, 1907), je čeleď definovaná jako skupina proteobakterií schopných, za vhodných podmínek, ukládat granule elementární síry uvnitř svých buněk (Obr. 1; Imhoff, 1984). Obecně se jedná o bakterie, které využívají redukované sloučeniny síry (sirovodík) jako donor elektronu pro anoxigenní fotosyntézu v anaerobních podmínkách. Převážná většina zástupců jsou tedy anaerobní autofotolithotrofové, existují však i výjimky schopné fotolithoheterotrofie, chemolithoautotrofie nebo chemoorganoheterotrofie při nízkých koncentracích kyslíku (Imhoff, 2014).

Zástupci čeledi *Chromatiaceae* jsou mezofilní, převážně pohyblivé bakterie tyčinkovitého nebo kokovitého tvaru. Všichni zástupci mají bakteriochlorofyl *a* nebo *b*, obsahují specifické karotenoidy, vykazují nízkou až žádnou toleranci vůči kyslíku a k růstu vyžadují přítomnost světla a sloučenin redukované síry v prostředí, případně další specifické podmínky (Příloha 1). Tyto specifické podmínky značně omezují počet stanovišť, kde se zástupci této čeledi vyskytují. Jedná se především o sladkovodní zdroje jako jezera, tůně, či kaluže, kde se tyto bakterie vyskytují ve větší míře hlavně v létě a na podzim, kdy sulfát-redukující bakterie rozkládají biomasu a zvyšují tím obsah sirovodíku ve vodě.



Obrázek 1. Ultratenký řez buňkou *Thiocapsa gelatinosa* DSM 215. Šipka vyznačuje granule elementární síry uložené v buňce.

Převzato z Imhoff, 2015 (upraveno)

První zmínky o přítomnosti purpurových sirmých bakterií na těchto stanovištích pocházejí již z konce 19. století (Ehrenberg, 1838; Cohn, 1875). Mezi další častá stanoviště patří sirmé prameny, především díky relativně konstantnímu přísunu potřebných sloučenin síry (Winogradsky, 1888; Miyoshi, 1897), zdroje odpadních vod (Holm a Vennes, 1970) nebo moře a jejich pobřeží (Caumette, 1984; Nicholson *et al.*, 1987). Mezi extrémní stanoviště patří horké sirmé prameny ($t > 40^{\circ}\text{C}$), kde byl objeven druh *Thermochromatium tepidum* (Madigan, 1986), jediný termofilní rod této čeledi. Někteří vědci spekulují, že zástupci čeledi *Chromatiaceae* by mohli existovat dokonce i v mořském ledu (Petri a Imhoff, 2001), tato

spekulace byla podpořena objevem bakterií příbuzných s rody *Rhabdochromatium* a *Thiorhodovibrio*.

2.2. Čeleď *Chlorobiaceae*

Zástupci čeledi *Chlorobiaceae*, někdy též zvaní zelené sírné bakterie, jsou fylogeneticky kompaktní a izolovanou skupinou eubakterií vyznačujících se schopností využívat sloučeniny redukované síry nebo molekulární vodík jako donor elektronů pro anoxigenní fotosyntézu. Dalším významným cytologickým znakem je přítomnost granul elementární síry, kterou zástupci *Chlorobiaceae*, na rozdíl od *Chromatiaceae*, ukládají mimo buňky. Zástupci této čeledi jsou nepohyblivé, gram negativní bakterie kulovitého, oválného nebo tyčinkovitého tvaru. Někteří zástupci mají plynové vakuoly umožňující pohyb ve vodním sloupci. Všechny druhy obsahují na vnitřní straně cytoplazmatické membrány speciální světloběrné komplexy zvané chlorosomy. Tyto komplexy obsahují bakteriochlorofyly specifické pro čeleď *Chlorobiaceae*, přesněji bakteriochlorofyl *c* nebo *d* u zelených druhů a bakteriochlorofyl *e* u hnědých druhů (Imhoff, 2004). Velikost těchto světloběrných komplexů je o řád vyšší než u čeledi *Chromatiaceae*, což dovoluje zástupcům čeledi *Chlorobiaceae* růst při mnohem nižších světelných intenzitách (25-80 lux) (Overmann, 2006).

Všechny dosud objevené druhy čeledi *Chlorobiaceae* žijí ve vodním prostředí a převážná část zástupců je mezofilní. Jedinou dokumentovanou výjimkou je *Chlorobium tepidum*, termofilní druh izolovaný ze sirných pramenů, schopný růst při teplotách mezi 45-55°C (Wahlund *et al.*, 1991). Mezi nejčastější stanoviště patří sladkovodní jezera, laguny, fjordy, moře a mořské sedimenty. Jelikož bakterie čeledi *Chlorobiaceae* vyžadují k růstu anaerobní podmínky, zdroj sloučenin redukované síry a světlo, mohou růst pouze v malé oblasti překryvu mezi protichůdnými gradienty sloučenin síry a světla, obvykle poblíž dna či v horních několika milimetrech sedimentu. V těchto oblastech často vrstva bakterií čeledi *Chlorobiaceae* roste pod jednou nebo více vrstvami bakterií čeledi *Chromatiaceae*. Tato koexistence je především možná, jelikož zástupci *Chlorobiaceae* vyžadují menší intenzitu světla než *Chromatiaceae*, mají větší afinitu k sirovodíku, jakožto nejčastějšímu zdroji redukované síry, a energie potřebná k zachování funkce buněk je nižší (Veldhuis a Van Gemerden, 1986). Vrstvy bakterií čeledi *Chromatiaceae* navíc chrání *Chlorobiaceae* před molekulárním kyslíkem, ke kterému mají zástupci téměř nulovou toleranci. Na oplátku však mohou poskytovat extracelulární elementární síru, která abioticky reaguje se sulfidy za tvorby polysulfidů, které mohou být okamžitě využity zástupci čeledi *Chromatiaceae*. Tato syntrofie

byla pozorována například mezi zástupci *Chlorobium limicola* a *Chromatium vinosum* (Van Gemerden a Mas, 1995).

Různí zástupci *Chlorobiaceae* se mohou formovat do kolonií různých tvarů (Příloha 2), často také tvoří tzv. fototrofní konsorcia, společenství zelených sírných bakterií s chemotrofními bakteriemi. Tato konsorcia jsou považována za nejdokonalejší dosud objevené symbiotické uskupení prokaryot (Overmann, 2006).

2. FYLOGENEZE A TAXONOMIE

3.1. Čeleď *Chromatiaceae*

První taxonomický systém zahrnující čeleď dnes známou jako *Chromatiaceae* byl vytvořen na základě pigmentu a granul síry Molischem v roce 1907. Jeho čeleď *Thiorhodaceae* odpovídala svojí definicí dnešní čeledi *Chromatiaceae*. Název *Chromatiaceae* byl poprvé použit Bavendammem v roce 1924 a zahrnoval všechny bakterie využívající sulfidy jako donor elektronů při fotosyntéze a akumulující globule síry buď uvnitř, nebo vně buňky, což odpovídá nejen dnešnímu pojetí této čeledi, ale zahrnuje i čeleď *Ectothiorhodospiraceae*. Ta byla poprvé vyčleněna Imhoffem v roce 1984 na základě ekologických podmínek, analýzy 16S rRNA, složení lipidů, rozdílné struktury chinonů a aminokyselinové sekvence cytochromu c_{551} a vytvořil tak dvě separované a dobře definované čeledi *Chromatiaceae* a *Ectothiorhodospiraceae*. Název čeledi byl odvozen z rodu *Ectothiorhodospira*, který je považován za typického zástupce tohoto rodu (Imhoff, 1984).

Avšak ani po návratu k původní definici čeledi a vyčlenění *Ectothiorhodospiraceae* se čeleď *Chromatiaceae* nevyhnula změnám. To bylo především způsobeno tím, že původní systémy byly založeny na morfologických a fenotypových znacích (Molisch, 1907; Bavendamm, 1924), které, jak bylo později zjištěno, mají, až na výjimky, malou nebo žádnou spojitost s fylogenetickými vztahy (Guyoneaud *et al.*, 1998). S pozdějším rozvojem chemotaxonomických a sekvenačních metod, které poskytly nové důkazy ohledně fylogenetických vztahů, prošlo systematické zařazení čeledi *Chromatiaceae*, jejích rodů i druhů, rozsáhlými změnami. Mezi významné indikátory fylogenetické příbuznosti patří složení lipidů a mastných kyselin, přičemž složení polárních lipidů má nejvyšší přesnost (Imhoff *et al.*, 1982; Imhoff, 1991; Imhoff a Bias-Imhoff, 2004). Mezi další významné metody patří obsah cytosinových a guaninových bází v DNA vyjádřený jako molární zlomek. Tento poměr má však výpovědní hodnotu pouze na úrovni řádů, nikoliv druhů a to z důvodů variace mezi jednotlivými druhy a někdy i kmeny (Přloha 1). Další a v dnešní době nejrozšířenější metodou fylogenetické analýzy, je nukleotidová sekvence 16S rDNA ribozomální podjednotky. Tato metoda analyzuje více než 1200 nukleotidů 16S rDNA, složky malé ribozomální podjednotky, která obsahuje nejen oblasti vysoce konzervované pro všechny mikroorganismy, ale i oblasti variabilní a charakteristické pro jednotlivé druhy a kmeny (Gibson *et al.*, 1979; Fowler *et al.*, 1984; Guyoneaud *et al.*, 1998; Imhoff a Caumette, 2004). Poslední významnou metodou fylogenetické analýzy je sekvenace genů. Jedná se především o geny *pufLM*, které se nacházejí na *puf* operonu. *Puf* operon kóduje geny pro strukturální proteiny fotosyntetického reakčního centra typu II a u všech pěti známých typů *puf*

operonu známe pořadí a uspořádání genů, které se mezi typy *puf* operonu nemění. Geny *pufL* a *pufM* kódují lehký a střední polypeptidový řetězec fotosyntetického reakčního centra, jsou vysoce konzervované a z tohoto důvodu jsou považovány za významné fylogenetické markery (Tank *et al.*, 2009).

Dle posledního vydání Bergeyho Manuálu Systematiky Archaeí a Bakterií se řadí čeleď *Chromatiaceae* následovně:

Doména: *Eubacteria*
Kmen: *Proteobacteria*
Třída: *Gammaproteobacteria*
Řád: *Chromatiales*
Čeleď: *Chromatiaceae*

Čeleď *Chromatiaceae* obsahuje více než dvaceti řádů rozdělených do tří větví. První skupinu tvoří halofilní a mořské rody *Marichromatium*, *Thiorhodococcus*, *Thiophageococcus*, *Halochromatium*, *Thiohalocapsa*, *Thiorhodovibrio*, *Rhabdochromatium*, *Isochromatium*, *Thiococcus*, *Thioflavicoccus* a *Thioalcalicoccus*. Tato větev je v některé literatuře rozdělována na dvě, kdy první větev tvoří mořské rody pohyblivé pomocí bičíku, tedy *Marichromatium*, *Thiorhodococcus* a *Thiophageococcus* (Imhoff, 2014). Druhá větev je pak tvořena zbylými rody. Další skupinu tvoří sladkovodní rody pohyblivé pomocí bičíku, které nemají plynové vakuoly. Do této skupiny řadíme rody *Allochromatium*, *Thermochromatium*, *Thiocystis* a *Chromatium*. Poslední skupinu tvoří rody *Thiocapsa*, *Thiolamproyum*, *Thiobaca*, *Lamprocystis* a *Thiodictyon*, primárně sladkovodní rody, které však vykazují určitý stupeň tolerance vůči soli (Příloha 3) (Imhoff, 2015).

Dalším často uváděným rozdělením je podle schopnosti získávat energii jinak než autofototrofně. Toto členění má dvě skupiny. První skupina jsou specializované druhy závislé na striktně anaerobním prostředí a jedná se o obligátní fototrofy schopné fotoasimilovat pouze pyruvát nebo propionát v přítomnosti sulfidu a CO₂. Mezi zástupce této skupiny patří *Chromatium okenii*, *Chromatium wissei*, *Allochromatium warmingii*, *Isochromatium buderi*, *Thiospirillum jenense* a *Thiococcus pfenigii*. Druhou skupinou jsou druhy schopné fotoasimilovat mnoho různorodých organických substrátů. Většina z těchto druhů je schopna růst bez přítomnosti redukovaných sloučenin síry a využívat organické substráty jako donor elektronů pro fotosyntézu. Některé druhy této skupiny jsou dokonce schopné růst chemoautotrofně nebo chemoheterotrofně. Do této skupiny patří *Allochromatium vinosum*,

Thiocystis violacea, *Thiocapsa roseopersicina*, *Thiocapsa rosea*, *Thiocapsa pendens* a *Lamprobacter modestohalophilus* (Imhoff, 1992, 2014).

Pokud se blíže podíváme na zástupce obou skupin, je jasné, že toto rozdělení nemá žádný význam z hlediska fylogeneze, a tedy i schopnost využívat jiný zdroj elektronů či získávat energii jinak než autofototrofně, je fylogeneticky a taxonomicky bezvýznamná. Naproti tomu, pokud se podíváme na předchozí rozdělení do tří větví, můžeme dojít k závěru, že schopnost růst při určitých koncentracích soli v prostředí je fylogeneticky relevantní.

3.2. Čeleď *Chlorobiaceae*

Od objevení a prvního popsání Larsenem v roce 1953 si tato čeleď získala pozornost mnoha vědců, zvláště díky svým unikátním znakům, například strukturou fotosyntetického aparátu a přítomností chlorosomů, malých organel sloužících jako světlosběrné antény. Mezi nejvýznamnější vědce patří Norbert Pfennig, který izoloval a charakterizoval mnoho kmenů a vytvořil taxonomický systém založený na morfologických a fenotypových znacích. Znaky použité pro taxonomické zařazení zahrnovaly morfologii buňky, složení pigmentu, absorpční spektra a určité metabolické vlastnosti. Tyto vlastnosti byly zejména složení karotenoidů a bakteriochlorofylu, pro rozčlenění druhů na zelené a hnědé, schopnost tvořit plynové vakuoly, pro rozlišení mezi rody a schopnost využít thiosíranu jako donor elektronů pro fotosyntézu, pro rozlišení poddruhů (Pfennig, 1989; Pfennig a Overmann, 2001). I když se jedná o snadno rozlišitelné znaky dovolující jasné taxonomické rozřazení, bylo dokázáno, že tyto znaky nejsou fylogeneticky relevantní, zvláště pak při členění na úrovni druhů a kmenů (Figueras *et al.*, 1997; Overmann a Tuschak, 1997).

První fylogenetické analýzy byly provedeny v polovině 80. let. První práce popisující fylogenetické vztahy zástupců čeledi *Chlorobiaceae* na základě oligonukleotidové sekvence 16S RNA publikoval Gibson *et al.* v roce 1985. Tato práce se zabývala fylogenetickými vztahy mezi zástupci čeledi *Chlorobiaceae* a zástupci rodu *Chloroflexus*. Studie potvrdila, že čeleď *Chlorobiaceae* tvoří poměrně fylogeneticky izolovanou skupinu a taktéž poskytla důkaz o fylogenetické separaci od rodu *Chloroflexus*, která taktéž nese chlorosomy (Gibson *et al.*, 1985).

Další stěžejní práce z téhož roku zabývající se analýzou zhruba 400 bakteriálních 16S rRNA měla za účel vytyčit hlavní větve fylogenetického stromu a pokusit se určit specifické pozice v oligonukleotidové sekvenci pro každou z těchto větví. Výsledkem této studie bylo popsání 10 oddělených větví, z nichž jednou byla i větev zelených sírných bakterií, tedy

čeledi *Chlorobiaceae*. Důležitější však bylo určení konkrétních sekvencí specifických pro tuto skupinu. Jednalo se o pozice 170, 535, 1225, 1240 a další (Woese *et al.*, 1985).

V roce 1997 zkoumal Overmann a Tuschak možnost rozlišit jednotlivé druhy čeledi *Chlorobiaceae* na základě jejich 16S rDNA sekvence. Tato práce identifikovala změny bází hlavně ve variabilních regionech V2 až V8, přičemž oblast V5 vykazovala pouze velmi malé rozdíly napříč zkoumanými druhy (Příloha 4). Na základě těchto výsledků byl sestaven první fylogenetický strom, který ukázal některé nesrovnalosti v klasické taxonomii (Overmann a Tuschak, 1997).

V roce 2002 se kromě sekvenace molekuly 16S rRNA začal sekvenovat gen pro Fenna-Matthews-Olson protein (dále jen FMO). Jedná se o protein rozpustný ve vodě, který na sebe váže 8 molekul bakteriochlorofylu *a* a je zodpovědný za přenos energie mezi chlorosomy a reakčním centrem. FMO protein se vyskytuje ve formě trimeru, avšak sekvenován byl pouze gen *fmoA*, který kóduje jeden z monomerů. Tento protein byl použit především proto, že je specifický pro zelené sírné bakterie a nenachází se ani u rodu *Chloroflexus*. Na základě výsledků byly sestaveny dva fylogenetické stromy, jeden podle sekvence 16S rRNA a druhý dle aminokyselinové sekvence FMO proteinu (Příloha 5). Topologie fylogenetických stromů je v zásadě stejná, což potvrzuje správnost fylogenetických analýz 16S rRNA oproti dosavadnímu systému založenému na fyziologických a morfologických znacích. Na základě těchto analýz lze rozdělit druhy čeledi *Chlorobiaceae* do 5 skupin.

První skupinu tvoří kmeny *Prosthecochloris aestuarii* DSM 271^T a 2K, *Chlorobium vibrioforme* DSM 260^T a *Chlorobium phaeovibrioides* DSM 1678. Jedná se o nejrozmanitější skupinu tvořenou čistě mořskými druhy.

Druhá skupina je tvořena bakteriemi tvaru vibrio, které pro růst potřebují malé množství soli (1% NaCl). Do této skupiny patří kmeny *Chlorobium vibrioforme* DSM 261 a DSM 262, *Chlorobium vibrioforme f. thiosulfatophilum* DSM 265^T, *Chlorobium phaeovibrioides* DSM 269^T a DSM 270 a *Pelodictyon luteolum* DSM 273^T.

Třetí skupinou jsou tyčinkovité druhy vyskytující se ve sladkých vodách. Mezi ně řadíme *Chlorobium ferrooxidans* DSM 13031^T, *Pelodictyon clathratiforme* PG, *Chlorobium phaeobacteroides* DSM 266^T, DSM 1855 a UdG 6051, *Chlorobium limicola* DSM 245^T a DSM 246, *Pelodictyon phaeoclathratiforme* DSM 5477^T a *Chlorobium limicola f. thiosulfatophilum* 1630 a 9330.

Čtvrtou skupinu tvoří převážně sladkovodní kmeny *Chlorobium tepidum* ATCC 49652^T, *Chlorobium limicola* UdG 6041, *Chlorobium limicola f. thiosulfatophilum* 1430 a

DSM 249^T a *Chlorobium phaeobacteroides* 1549 a DSM 1677, ovšem najdou se zde i kmeny s požadavky na nízké koncentrace soli, jako například *Chlorobium chlorovibrioides* UdG 6026 a *Chlorobium vibrioforme f. thiosulfatophilum* DSM 263 a NCIB 8346 (Alexander *et al.*, 2002; Imhoff, 2003; Keppen *et al.*, 2008).

Pátá skupina je tvořena jediným druhem *Chloroherpeton thalassium* a jedná se o nejizolovanější skupinu v čeledi.

Po srovnání fylogenetických analýz a fenotypových znaků použitých pro vytvoření taxonomického systému můžeme dojít k závěru, že pouze velmi málo těchto fenotypových znaků je fylogeneticky relevantních. Tyto znaky jsou, stejně jako u čeledi *Chromatiaceae*, poměr bazí cytosinu a guaninu v DNA, složení mastných kyselin a požadavky na obsah soli v prostředí. Dalším znakem, který je fylogeneticky relevantní je schopnost trojitého dělení (z anglického „ternary fission“), tedy schopnost se během dělení rozdělit na 3 buňky namísto klasických 2 (Overmann, 2015).

Jak již bylo zmíněno na začátku této kapitoly, taxonomický systém byl primárně založen na jednoduše rozpoznatelných fenotypových znacích, které nereprezentují fylogenetické vztahy této čeledi, a i když bylo provedeno několik analýz 16S rRNA a FMO proteinu, které poskytují možnost sestavit fylogeneticky reprezentativní taxonomický systém, v posledním vydání Bergeyho Manuálu Systematiky Archaeí a Bakterií se stále zachovává taxonomický systém založený na fenotypových znacích. Tento systém řadí čeleď *Chlorobiaceae* následovně:

Doména: *Eubacteria*
Kmen: *Chlorobi*
Třída: *Chlorobia*
Řád: *Chlorobiales*
Čeleď: *Chlorobiaceae*

Čeleď je tvořena 5 rody a 14 druhy. Rody jsou rozděleny na základě morfologie buněk, pohyblivosti a schopnosti tvořit plynové vakuoly, zatímco druhy jsou děleny dle své morfologie a složení pigmentu (Overmann, 2015).

3. METABOLISMUS SÍRY U FOTOTROFNÍCH BAKTERIÍ

Sloučeniny redukované síry, například sulfidy (nejčastěji ve formě sulfanu) a thiosírany, jsou oxidovány velkou a rozmanitou skupinou prokaryot včetně fototrofních sírných bakterií, thiobacillů, a dalších chemotrofních sírných bakterií či dokonce termofilními archaeami. Obvykle jsou tyto sloučeniny oxidovány na sírany, ale v mnoha případech se tvoří granule polymerní ve vodě nerozpustné síry jakožto přechodný produkt metabolismu. Tyto granule se mohou nacházet, jak bylo již několikrát dříve zmíněno, uvnitř (v případě purpurových sírných bakterií čeledi *Chromatiaceae*) nebo vně buňky (v případě zelených sírných bakterií čeledi *Chlorobiaceae*). Začátkem je třeba zmínit, že většina následujících příkladů oxidace síry u anaerobních sírných bakterií je popsána pro druh *Allochromatium vinosum*, jehož metabolismus síry je nejlépe probádán.

4.1. Oxidace sulfanu na elementární síru

Pro oxidaci H_2S na S^0 , která je následně uskladněna v nebo mimo buňku, existují dvě hlavní metabolické dráhy. První z nich je přes flavocytochrom *c*, druhou je přes sulfid:chinon oxidoreduktázu (zkráceně SQR). Další možností oxidace je Sox enzymatický systém nebo reverzně operující siřičitan reduktáza (Frigaard a Dahl, 2009).

4.1.1. Flavocytochrom *c*

Jedná se o periplazmatický protein skládající se ze dvou monomerů. Jedním monomerem je větší, FAD vázající, podjednotka FccB a menší, hem vázající, podjednotka FccA. *In vitro* dokáží flavocytochromy efektivně katalyzovat elektronový přenos mezi sulfidy a řadou menších cytochromů typu *c*, například cytochromem c_{550} , které pak dále mohou přenášet elektrony do fotosyntetického reakčního centra (Davidson *et al.*, 1985). Ovšem *in vivo* role flavocytochromu *c* není zcela jasná z několika důvodů. Prvním důvodem je, že i když mnoho organismů, využívajících sulfidy jako donor elektronů, produkuje flavocytochrom *c*, jsou i takoví, kteří jej neprodukují, a přesto využívají sulfidy, což dokazuje, že existují i další způsoby oxidace sulfidů (Brune, 2004). Dalším důvodem je, že mutanti *Allochromatium vinosum* a *Chlorobium tepidum* neprodukující flavocytochrom *c* vykazují velmi podobnou míru oxidace sulfidu jako nemutované kontroly (Frigaard a Dahl, 2009). Posledním důkazem je oxidace sulfidů, jejímž následkem vznikají granule elementární síry, která jsou při nedostatku sulfidů dále oxidovány na siřičitany. Tento děj se vyskytuje nejen u kmene *Chlorobium limicola* DSMZ 245^T, který produkuje flavocytochrom *c*, ale i u kmene *Chlorobium luteolum* DSM 273^T, který flavocytochrom *c* nemá. Z těchto příkladů jasně

vyplývá, že i když někteří zástupci čeledí *Chlorobiaceae* a *Chromatiaceae* využívají flavocytochrom *c* k oxidaci sulfidů, nejedná se o primární způsob, kterým tak činí (Steinmetz a Fischer, 1982).

4.1.2. Sulfid:chinon oxidoreduktáza

Alternativou k oxidaci flavocytochromem *c* je přenos elektronů ze sulfidu do zásob chinonu v buňce (angl. „quinone pool“). K tomu je zapotřebí enzymu SQR, který katalyzuje oxidaci sulfidu a využívá isoprenoidního chinonu jakožto akceptoru elektronů. Tento mechanismus byl objeven nejen u chemotrofních a fototrofních prokaryot, ale dokonce i u některých mitochondrií (Griesbeck *et al.*, 2000; Theissen *et al.*, 2003).

Membránově vázaná aktivita enzymu SQR byla biochemicky dokázána jak u purpurových, tak u zelených sírných bakterií. Předpokládá se, že tento enzym přenáší elektrony do fotosyntetického elektronového transportního řetězce přes komplex chinol-oxidujícího Reiskeho FeS proteinu a cytochromu *b* (Shahak *et al.*, 1992; Reinartz *et al.*, 1998). Homology enzymu SQR se nachází ve všech kmenech zelených sírných bakterií včetně *Chlorobium ferrooxidans*, jediného zástupce čeledi *Chlorobiaceae*, který nevyužívá sloučeniny síry jako donoru elektronů. Důležitost těchto enzymů však není zcela známá, a to hlavně z důvodu, že mutantní bakterie *Chlorobium tepidum* s inaktivovaným *sqr* genem vykazují snížené hodnoty oxidace sulfidu, což vede k závěru, že tyto organismy mají alternativní cestu metabolizace sulfidů (Frigaard a Dahl, 2009). Někteří zástupci mají dokonce homology SQR, které nemají žádnou zjevnou funkci, jedná se o homology SQRLP1 a SQRLP2.

Další zajímavostí je, že i když membrány *Allochromatium vinosum* vykazují SQR aktivitu, dosud nebyl objeven jeho homolog genu *sqr* (tento gen by původně objeven a popsán u *Rhodobacter capsulatus*). Z toho lze vyvodit, že sekvence *sqr* genů není příliš zachovalá a lze se domnívat, že se jedná o vysoce variabilní úseky genomu, což značně ztěžuje jejich detekci.

Primárním produktem *in vitro* enzymatické reakce SQR je ve vodě rozpustný polysulfid, zatímco elementární síra není produkována. S největší pravděpodobností jsou tedy disulfidy či delší řetězce polysulfidů počátečním produktem enzymatické reakce, které se následně uvolňují z enzymu (Griesbeck *et al.*, 2002). Polysulfidové anionty s řetězci různé délky pak mohou tvořit delší řetězce pomocí disproportionální reakce. V zásadě je tedy elementární síra tvořena spontánně (Steudel, 1996).

4.1.3. Enzymatický systém Sox a reverzně operující siřičitan reduktáza

Sox enzymatický systém je dosud nejlépe popsán pro *Rhodobacter capsulatus*, *sox* geny pro tyto proteiny však byly objeveny i v bakterii *Allochromatium vinosum*. Je však třeba dodat, že mutantní zástupci *Allochromatium vinosum* deficientní pro flavocytochrom *c*, *sox* geny nebo oboje, stále vykazovaly srovnatelné hodnoty oxidace sulfidu jako kontroly. Z toho lze vyvodit, že SQR dráha je primární cestou oxidace sulfidu na elementární síru u *Allochromatium vinosum*.

Jako poslední je třeba zmínit katabolický enzym siřičitan reduktázu (DsrAB) operující reverzně. To znamená, že namísto rozkladu siřičitanů na sulfidy, asimiluje sulfidy za tvorby siřičitanů. Takto fungující protein byl nalezen u *Allochromatium vinosum*, bylo však zjištěno, že tento protein není zásadní pro rozklad sulfidů, ale je nepostradatelný pro oxidaci intracelulárně uložené síry (Schedel *et al.*, 1979; Pott a Dahl, 1998).

4.2. Oxidace polysulfidů

Jak již bylo zmíněno dříve, polysulfidy jsou primárním produktem oxidace sulfidů u většiny purpurových a zelených siřných bakterií, ale někteří zástupci je mohou přijímat i z prostředí. Využití takto externě dodaných polysulfidů bylo zkoumáno především u *Allochromatium vinosum* a *Thiocapsa roseopersicina*. Oba tyto organismy dokáží využít externě dodané polysulfidy jako donor elektronů pro syntézu NAD (Van Gemerden, 1987; Steudel *et al.*, 1990; Visscher *et al.*, 1990). Dosud není znám mechanismus, kterým jsou polysulfidy přeměněny na granule elementární síry. Teoreticky se tak může dít spontánní chemickou přeměnou delších polysulfidů na polysulfáty (Steudel *et al.*, 1990). Ovšem při studiích *Allochromatium vinosum* nebyly v granulích elementární síry objeveny velké koncentrace cyklické síry a předpokládá se, že jsou tvořeny dlouhými řetězci síry s organickými zbytky na obou koncích (Prange *et al.*, 1999, 2002). Předpokládá se tedy, že tyto organické sloučeniny síry vznikají dosud neznámým enzymatickým procesem.

4.3. Příjem a oxidace elementární síry z prostředí

Mnoho zástupců purpurových i zelených siřných bakterií, včetně našeho modelového organismu *Allochromatium vinosum*, jsou schopné přijímat a oxidovat externě dodanou elementární síru, tento proces však není plně pochopen. Elementární síra má tendenci se v prostředí řetězit, a proto se vyskytuje v několika různých alotropech, nejčastěji se však jedná o řetězy různé délky (polymerní síra) nebo její cyklickou formu (nejstabilnější je α -S₈)

(Steudel a Eckert, 2003). Všechny tyto alotropy mají však jedno společné, jsou hydrofobní a málo rozpustné ve vodě, což značně ztěžuje metabolizaci těchto sloučenin (Steudel, 1989).

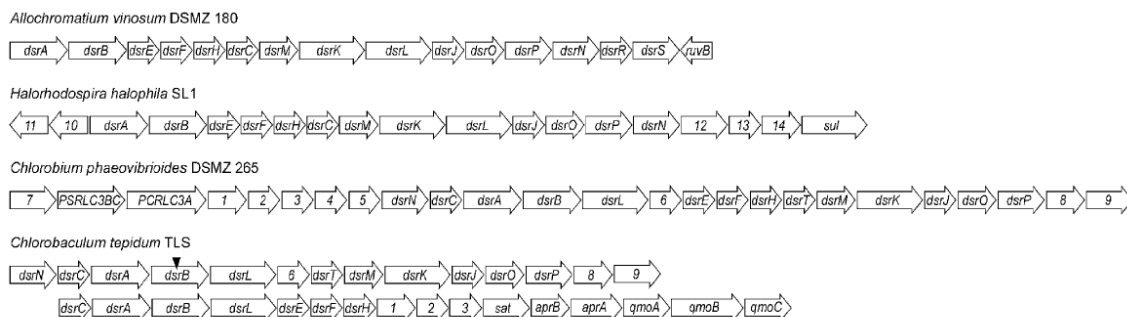
Enzymy katalyzující příjem a oxidaci nebyly dosud objeveny u čeledi *Chlorobiaceae*, ovšem předpokládá se, že zástupci této čeledi využívají jednu ze dvou hlavních strategií. První možností je díky fyzickému kontaktu buňky s nerozpustným substrátem a přímý přenos elektronů z povrchu buňky na substrát přes vnější membránové proteiny (Myers a Myers, 2001). Druhý způsob je exkrece reduktantů, například nízkomolekulární thioly, které mohou působit na substráty vzdálené od buňky (Dahl, 2008). První způsob oxidace byl již popsán například u bakterie *Acidithiobacillus ferrooxidans*, která tímto způsobem katalyzuje připojení síry k extracelulárním lipopolysacharidům (Gehrke *et al.*, 1998). Tento způsob oxidace síry využívá i modelový organismus *Allochromatium vinosum*, u nějž bylo experimentálně dokázáno, že vyžaduje těsný kontakt buňky s extracelulární sírou (Franz *et al.*, 2007). Prvním krokem během oxidace extracelulární elementární síry je její akumulace v podobě intracelulárních granul, která jsou dále oxidována na sírany. Pomocí metody XANES („X-ray absorption near edge structure“) bylo dokázáno, že *Allochromatium vinosum* využívá pouze polymerní síru v podobě řetězců a nejspíše nedokáže využít její cyklickou formu (Franz *et al.*, 2007; Dahl, 2008).

U zelených sírných bakterií, konkrétně u *Chlorobaculum limnaeum*, byly objeveny struktury na povrchu buněčné stěny (tzv. „spinae“). Předpokládá se, že tyto struktury zprostředkovávají adhezi buněčné stěny k extracelulárně uložené síře. Přítomnost velkých kapsul, pozorovaných u *Chlorobaculum limnaeum*, doprovázená velkým počtem „spinae“ vede vědce k domněnce, že tyto struktury stabilizují kapsuly a společně hrají důležitou roli při metabolizaci extracelulární elementární síry (Pibernat a Abella, 1996). U 10 druhů zelených sírných bakterií, jejichž genom byl plně osekvenován, a které jsou schopny metabolizovat externě dodanou elementární síru, byly objeveny geny příbuzné se sírou-indukovanými OMP („outer membrane protein“, periferní membránové proteiny). Jedná se o proteiny objevené u *Acidithiobacillus ferrooxidans* zodpovědné za mobilizaci extracelulární elementární síry a její přenos do periplazmatického prostoru (Rohwerder a Sand, 2003).

4.4. Oxidace akumulované síry na siřičitany

Oxidativní degradace síry uložené v granulích je momentálně hlavním předmětem výzkumu zabývajícím se fototrofními sírnými bakteriemi a metabolismem síry, přesto však není dosud plně pochopena. Navíc, v případě extracelulárně uložené síry u čeledi *Chlorobiaceae*, musí tento proces zahrnovat i navázání, aktivaci a transport do buňky.

Jedinou dosud známou oblastí genů, která je nepostradatelná pro oxidaci granul síry, je oblast 15 čtecích rámců označená jako *dsrABEFHCMKLOPNRS* objevená u *Allochrochromatium vinosum*.



Obrázek 2. Schematický přehled uspořádání genové oblasti *dsr* objevené u *Allochrochromatium vinosum* DSMZ 180^T, *Halorhodospira halophila* SL1, *Chlorobium phaeovibrioides* DSMZ 265 a *Chlorobaculum tepidum* TSL. Geny označené stejným číslem jsou homologní.

Převzato z Frigaard a Dahl, 2009

První dva geny (*dsrAB*) kódují reverzně operující katabolický enzym siřičitan reduktázu, která byla zmíněna již dříve. U *Allochrochromatium vinosum* tvoří produkty genů *dsrAB* cytoplazmatickou $\alpha_2\beta_2$ strukturu sulfid reduktázy. Prostetickou skupinou DsrAB je siroamid-[Fe₄S₄], což je amidovaný sirohlem (Hipp *et al.*, 1997; Pott a Dahl, 1998).

Velice podobné uskupení genů můžeme nalézt i u *Halorhodospira halophila* a většiny zástupců čeledi *Chlorobiaceae*. Ti mají shluk genů *dsrNCABLEFHTMKJOP*, jehož jedinými rozdíly oproti oblasti nalezené v *Allochrochromatium vinosum*, jsou absence genů *dsrRS* a přítomnost genu *dsrT* (Obr. 2). Tyto uskupení byly nalezeny u všech zástupců s výjimkou *Chlorobium ferrooxidans* a *Chloroherpeton thalassium*. Absence této oblasti je obzvláště zajímavá u *Chloroherpeton thalassium*, protože tato bakterie oxiduje sulfidy za tvorby elementární síry, kterou ukládá mimo buňku. Tato síra je však pouze velmi pomalu oxidována, což je nejspíše způsobeno absencí Dsr systému. Zatím není jasné, co je alternativní cestou oxidace granul síry, nejpravděpodobnější je však účast RuBisCO podobajícího se proteinu (RuBisCO-like protein, RLP), který se nachází u všech zástupců zelených sírných bakterií (Hanson a Tabita, 2001).

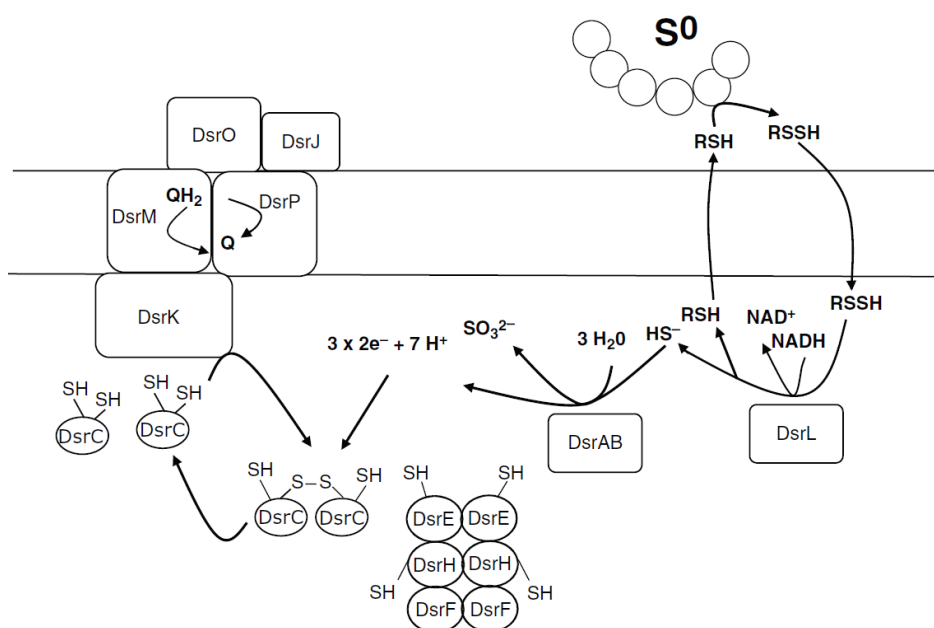
Další skupinou genů je *dsrEFH* nacházející se hned vedle genů *dsrAB*. Produkty těchto genů jsou si velice podobné a jedná se o rozpustné cytoplazmatické holoproteiny.

Protein DsrC je malý rozpustný protein se dvěma vysoce konzervovanými cysteinovými zbytky na C terminálním konci. Bylo zjištěno, že proteiny podobné DsrEFH a DsrC působí v systému přenosu síry u *E. coli* a předpokládá se tedy, že je tato funkce zachována i v dalších organismech (Ikeuchi *et al.*, 2006; Numata *et al.*, 2006).

Protein kódovaný genem *dsrM* je nejspíše membránový cytochrom typu *b* podobající se podjednotce heterodisulfid reduktázy nacházející se v metanogenních archaeích (Hedderich *et al.*, 2005).

Železo-sirný protein DsrK se nejspíše vyskytuje v cytoplasmě a taktéž vykazuje podobnost s katalytickou podjednotkou heterodisulfid reduktázy (Pott a Dahl, 1998; Dahl *et al.*, 1999).

DsrP je integrální membránový protein a proteiny DsrJ a DsrO jsou trihem cytochrom typu *c* a železo-sirný protein nacházející se v periplasmě. Všechny tři tyto proteiny byly kopurifikovány z *Allochromatium vinosum*, což naznačuje jejich účast na transmembránovém přenosu elektronů (Obr. 3; Dahl *et al.*, 2005).



Obrázek 3. Schematické rozložení proteinů Dsr v buňce *Allochromatium vinosum*. Toto schéma je založené na sekvenční analýze kódujících genů *dsr* a na dostupných biochemických informacích.

Převzato z Dahl, 2008

4.5. Oxidace siřičitanů na sírany

Oxidace siřičitanů na sírany je posledním krokem při oxidaci sloučenin síry u fototrofních siřičitých bakterií. Zatímco zelené siřičité bakterie obecně nejsou schopné oxidovat

externě dodané siřičitany, některé purpurové sírné bakterie tuto schopnost mají. Navíc se siřičitany vyskytují v cytoplazmě všech fototrofních sírných bakterií, jakožto meziprodukt metabolisme síry pomocí Dsr systému.

Dosud jsou známy pouze dva způsoby oxidace siřičitanů (Kappler a Dahl, 2001). Prvním způsobem je přímá oxidace pomocí siřičitan dehydrogenázy, druhý způsob je nepřímá AMP-dependentní oxidace přes adenosin-5'-fosfosulfát (APS). Bylo enzymaticky dokázáno, že v jednom organismu se mohou nacházet obě tyto dráhy (Truper a Fischer, 1982).

4.5.1. Nepřímá AMP - dependentní oxidace

Během nepřímé oxidace siřičitanů se APS tvoří ze siřičitanu a AMP pomocí APS reduktázy. V druhém kroku je AMP část APS přenesena buď na pyrofosfát pomocí ATP sulfurylázy, nebo na fosfát pomocí adenylsulfát: fosfát adenyltransferázy (APAT), což vede k vytvoření ATP nebo ADP. Jelikož 2 molekuly ADP mohou být přeměněny na ATP a AMP pomocí adenylát kinázy, oba enzymy (ATP sulfuryláza a APAT) katalyzují fosforylaci substrátu, která uvolňuje síranový aniont (Dahl, 2008).

Celý tento proces se odehrává v bakteriální cytoplazmě s tím, že APS je buď membránově vázaný (například u většiny *Chromatiaceae*) nebo rozpuštěný v cytoplazmě, zatímco ATP sulfuryláza a APAT jsou výlučně rozpustné (Brüser *et al.*, 2000).

U *Allochromatium vinosum* jsou geny pro ATP sulfurylázu (*sat*) a APS reduktázu (*aprMBA*) ve formě operonu, zatímco v genomech 4 zelených sírných bakterií jsou tyto geny přímo sousedící a vždy seskupené s geny Qmo komplexu (*qmoABC*), což je membránově vázaný komplex přenášející elektrony (Frigaard a Bryant, 2008a).

4.5.2. Přímá oxidace pomocí siřičitan dehydrogenázy

Siřičitan dehydrogenáza, která katalyzuje přímou oxidaci siřičitanů na sírany, je charakteristická schopností přenášet elektrony na kyanoželezitany nebo flavocytochrom *c* (Kappler a Dahl, 2001).

Nejlépe popsaná bakteriální siřičitan dehydrogenáza je protein SorAB, který pochází z alfaproteobakterie *Starkeya novella*. Jedná se o periplazmatický heterodimer složený z velkého molybden-kofaktoru a malého cytochromu *c*. Během katalýzy jsou elektrony postupně přenášeny na podjednotku hem *c*₅₅₂ nacházející se v malé podjednotce, odkud jsou dále přeneseny na cytochrom *c*₅₅₀, který je považován za přirozený akceptor elektronů tohoto enzymu (Myers a Kelly, 2005).

Geny příbuzné *sorAB* se však v dosud popsaných genomech purpurových a zelených sírných bakterií nenacházejí, předpokládá se však, že mají jiné geny plnící podobnou funkci (Frigaard a Dahl, 2009).

4.6. Oxidace thiosíranů

Thiosírany jsou poměrně stabilní a hojně se vyskytující látky. Dosud jsou známy dvě cesty, kterými bakterie oxidují thiosírany. První cestou je oxidace na tetrathionan pomocí thiosulfát dehydrogenázy. Druhou možností je jeho oxidace na sírany pomocí multienzymového systému Sox.

4.6.1. Oxidace thiosíranů na tetrathionan

Tato metabolická cesta je známá pouze u několika málo purpurových sírných bakterií včetně *Allochromatium vinosum* (Smith a Lascelles, 1966). U *Allochromatium vinosum* je poměr přeměny na tetrathionan a sírany závislý na hodnotě pH s tím, že tetrathionan je více produkován ve slabě kyselém prostředí. Přeměna je způsobována enzymem thiosulfát dehydrogenázou ($\text{pH}_{\text{opt}} 4,25$). Jedná se o periplazmatický monomer obsahující hem *c* podjednotku. Tento enzym využívá molekuly HiPIP („high potential iron-sulfur protein“, železo-sírný protein s vysokým potenciálem), které se taktéž nacházejí v periplazmě, jako akceptor elektronů uvolněných při oxidaci thiosíranů (Fukumori a Yamanaka, 1979).

4.6.2. Oxidace thiosíranů na sírany

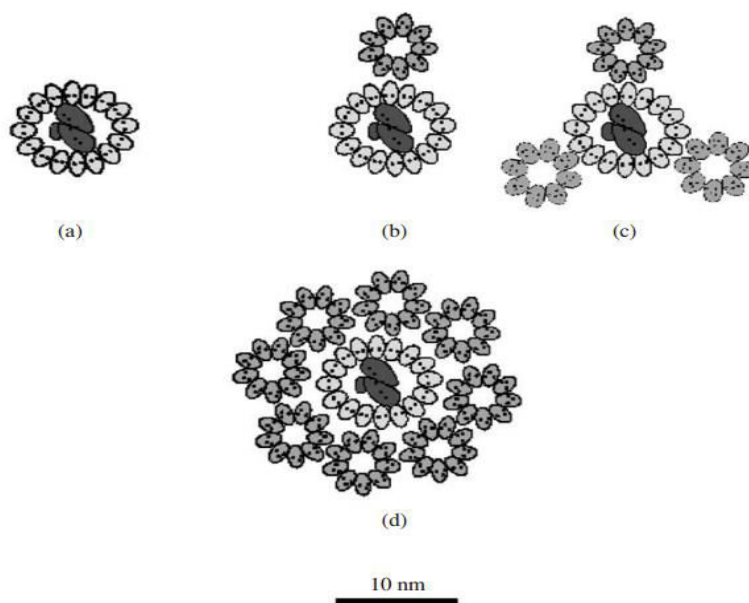
Mnoho purpurových a zelených sírných bakterií může oxidovat thiosírany na sírany, k čemuž využívají *sox* geny pro periplazmatický thiosulfát oxidující multienzymový komplex Sox. Všechny zelené sírné bakterie, u kterých byl Sox komplex objeven mají konzervovanou skupinu *sox* genů *soxJXYZAKBW* (Frigaard a Bryant, 2008).

Také *Allochromatium vinosum* obsahuje *sox* geny. Pomocí genové inaktivace a komplementačních testů bylo zjištěno, že geny *soxBXA* a *soxYZ*, nacházející se ve dvou různých oblastech DNA, jsou nepostradatelné pro oxidaci thiosíranů (Hensen *et al.*, 2006).

5. FOTOSYNTETICKÝ APARÁT

5.1. Světlosběrné komplexy čeledi *Chromatiaceae*

Světlosběrné komplexy purpurových sírných bakterií jsou tvořeny 2 komplexy. Menší periferní komplex LH2 (angl. „light-harvesting“, světlosběrný) přenáší absorbovanou energii do většího vnitřního komplexu LH1, který předává energii dále do reakčního centra (RC). Periferní světlosběrný komplex u modelového organismu *Allochromatium vinosum* je tvořen 12 kopiemi dvou krátkých polypeptidů zvaných α a β , z nichž každý má 1 α -helix procházející membránou. Polypeptid α a β tvoří v membráně dva koncentrické proteinové válce, mezi kterými se nachází světlosběrné bakteriochlorofyly a karotenoidy. K těmto kruhům je pevně připojeno 24 molekul bakteriochlorofylu *a*, jedna molekula na každý α a β polypeptid, 12 dalších molekul bakteriochlorofylu *a* je připojeno pouze slabě. Komplex dále obsahuje světlosběrné karotenoidy, například spirilloxanthin. Vnitřní komplex LH1 bakterie *Allochromatium vinosum* je tvořen 2 α a 2 β polypeptidovými komplexy uspořávanými do kruhu kolem reakčního centra. (Obr. 4; Solov'ev a Erokhin, 2008; Magdaong et al., 2016).



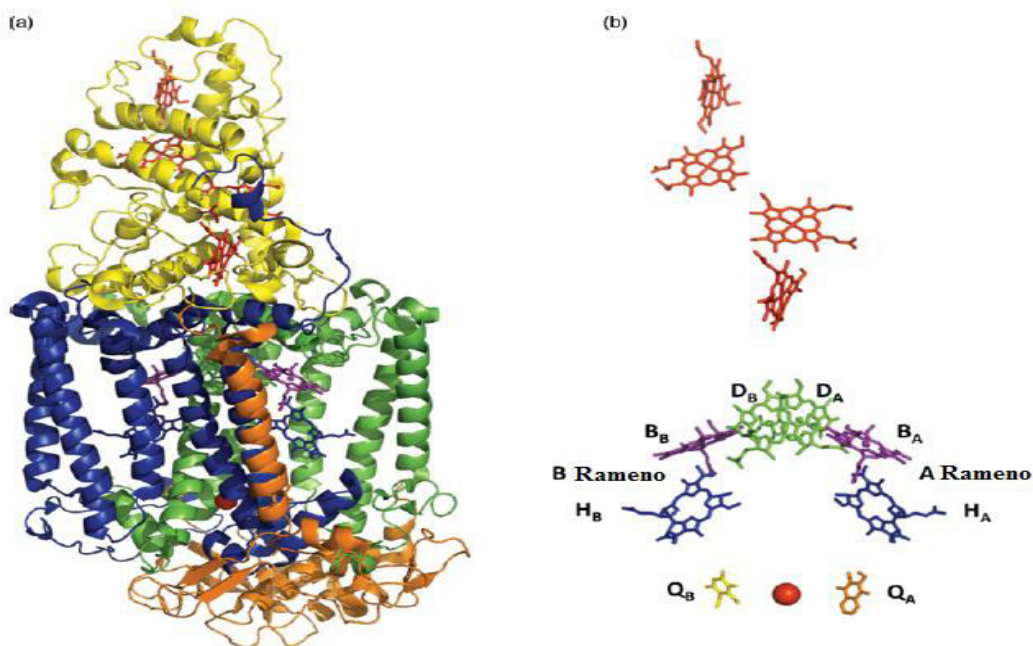
Obrázek 4. Model možného uspořádání fotosyntetické jednotky. (a) LH1 + RC *Rhodospirillum rubrum* rostoucí při vysokých intenzitách osvětlení, (b) LH1 + RC + LH2 *Rhodopseudomonas palustris* rostoucí při nízkých intenzitách osvětlení, (c) LH1 + RC + LH2 *Rhodopseudomonas palustris* rostoucí při vysokých intenzitách osvětlení, (d) LH1 + RC + LH2 *Allochromatium minutissimum* rostoucí při nízkých intenzitách osvětlení

Převzato ze Solov'ev a Erokhin, 2008

5.2. Reakční centra čeledi *Chromatiaceae*

U purpurových sírných bakterií se reakční centra nachází ve speciálně modifikovaných částech vnitřní vrstvy plazmatické membrány zvaných intracytoplazmatické membrány. Tyto oblasti vznikají invaginací plazmatické membrány a nabývají tubulárního nebo vezikulárního tvaru (Drews a Golecki, 2004). Reakční centra purpurových sírných bakterií se skládají z jedné kopie každé, ze 3 nebo 4 podjednotek, v závislosti na studovaném druhu. Podjednotky vyskytující se ve všech druzích jsou označovány jako lehká (L), střední (M) a těžká (H). Pokud má daný druh 4 podjednotky, jedná se o cytochromovou (C) podjednotku. Zajímavostí je, že jména prvních 3 podjednotek neodpovídají jejich molární hmotnosti, byly totiž rozděleny na základě mobility metodou SDS-PAGE (Feher, 1998).

Reakční centra navíc obsahují další nekovalentně vázané kofaktory, jako například pigmenty, chinony nebo kovové ionty. U modelového organismu *Allochromatium vinosum* to jsou 4 molekuly bakteriochlorofylu *a*, 2 molekuly bakteriofeofitinu, ubichinon (též koenzym Q10), menachinon (vitamín K2), kovový iont Fe^{2+} a karotenoid, v tomto případě spirilloxanthin (Obr. 5; Blankenship, 2014).



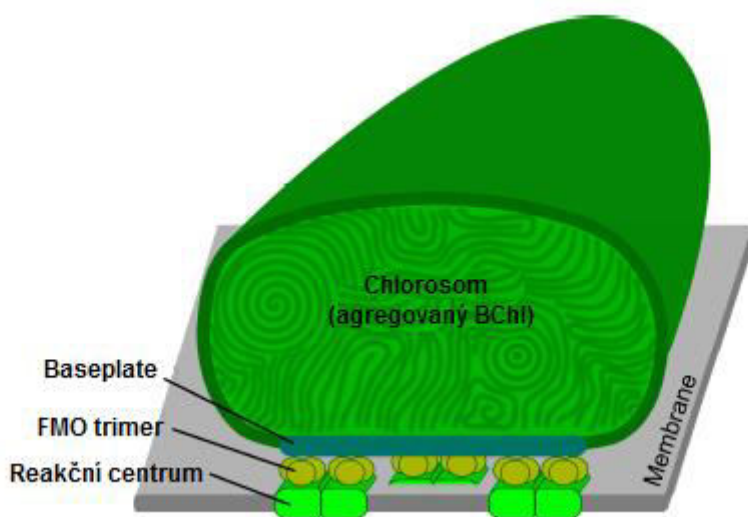
Obrázek 5. Struktura LMHC reakčního centra. (a) Celý komplex podjednotek L (zelená), M (modřá), H (oranžová), C (žlutá) a kofaktorů. (b) Pouze kofaktory. Hem (červená), speciální pár Bchl (zelená), doplňkový Bchl (fialová), menachinon (oranžová), ubichinon (žlutá).

Převzato ze Blankenship, 2014 (upraveno)

5.3. Struktura chlorosomů

Chlorosomy jsou ovoidní struktury o délce mezi 70-180 nm a šířce 30-60 nm připojené k vnitřní straně plazmatické membrány. Uvnitř se nachází zhruba 10^5 molekul bakteriochlorofylu *c*, *d* nebo *e* agregovaných společně s malým množstvím karotenoidů a chinonů. Kolem chlorosomů se nejspíše nachází protein-lipidová vrstva tvořící na straně připojené k plazmatické membráně tzv. baseplate komplex, který váže bakteriochlorofyl *a* a další karotenoidy. Chlorosomy jsou unikátní především tím, že jejich funkce je určena interakcí pigment-pigment na rozdíl od pigment-protein interakcí typických například pro purpurové bakterie (Overmann, 2006; Dostál, 2014).

Energie získaná chlorosomy se přenáší do reakčního centra pomocí Fenna-Matthews-Olson proteinu. Jedná se o ve vodě rozpustný trimer, který váže 8 molekul bakteriochlorofylu *a* a zprostředkovává přenos náboje mezi baseplate komplexem a reakčním centrem (Obr. 6).



Obrázek 6. Schematická struktura fotosyntetického aparátu zelených sírných bakterií.

Převzato z Dostál, 2014 (upraveno)

5.4. Reakční centrum čeledi *Chlorobiaceae*

Reakční centrum čeledi *Chlorobiaceae* je velice podobné reakčnímu centru fotosystému 1, který můžeme najít u oxygenických fototrofů, avšak jeho přesná molekulární struktura není dosud známá a je z větší části vyvozena na základě podobností.

Reakční centrum obsahuje několik membránových proteinů, 2 kopie pigment vázajícího proteinu PscA a jednu kopii PscB, 16 molekul bakteriochlorofylu *a*, 4 chlorofyly *a* a dva karotenoidy rovnoměrně rozdělené mezi kopie proteinu PscA, čímž nejspíše tvoří symetrické homodimery. Většina navázaného bakteriochlorofylu *a* slouží jako světlosběrná

anténa. Veškerá excitační energie končí na speciálním páru spojených bakteriochlorofylů *a*, kde je převedena na energii chemickou pomocí procesu separace nábojů (Hauska *et al.*, 2001; Overmann, 2006; Dostál, 2014).

6. ZÁVĚR:

Na základě obecné charakteristiky byli popsáni zástupci čeledi *Chlorobiaceae* a *Chromatiaceae*, kteří se odlišují počtem zástupců, mechanismem anoxygenní fotosyntézy a fotosyntetickým aparátem. Univerzálním donorem elektronů pro obě čeledi jsou sloučeniny redukované síry, které se oxidují v procesu fotosyntézy na granule elementární síry ukládané uvnitř (*Chromatiaceae*) nebo vně (*Chlorobiaceae*) buňky. Dalším znakem, podle kterého jsou čeledi rozlišovány, je tvar, velikost buněk, tvorba buněčných agregátů, a také barva buněčné suspenze, která je dána pigmentem.

Fylogeneze a taxonomie fototrofních mikroorganismů se zakládá na jejich morfologických, fyziologických a biochemických vlastnostech, a také na analýze sekvence genu 16S rRNA a konkrétních genů specifických pro jejich fotosyntetický aparát. U čeledi *Chromatiaceae* odpovídá taxonomický systém fylogenetickým poznatkům, zatímco systém taxonu *Chlorobiaceae* je stále založen na snadno pozorovatelných znacích klasické taxonomie.

Metabolismus síry slouží k oxidaci redukovaných sloučenin síry za účelem zisku elektronů pro anoxygenní fotosyntézu a energie pro bakteriální růst. Různí zástupci mohou za tímto účelem využívat rozličné sloučeniny redukované síry a mechanismy pro její oxidaci. Mechanismy oxidace síry jsou popsány pouze pro několik málo zástupců. Některé z těchto mechanismů nejsou experimentálně prokázány a zakládají se jen na podobnostech s ostatními sirnými bakteriemi.

Fotosyntetický aparát výše popsaných čeledí a jejich zástupců se odlišuje, konkrétně fotosyntetické pigmenty skupiny *Chromatiaceae* jsou lokalizovány v intracytoplazmatických membránách. Oproti tomu u taxonu *Chlorobiaceae* jsou tyto pigmenty ve specifických strukturách nazývané chlorosomy, které se nacházejí pod plazmatickou membránou. Dalším rozdílem mezi těmito čeleděmi jsou pigmenty. U *Chromatiaceae* se jedná o Bchl *a* nebo *b* a karotenoidy spirilloxanthin, rhodopin, lykopen atd., které barví buňky od tmavě po světle červenou. Skupina *Chlorobiaceae* obsahuje Bchl *c*, *d* nebo *e* a karotenoidy chlorobaktein, isorenieratin a γ -karoten. Struktura chlorosomu a světlosběrného komplexu 2 je poměrně dobře popsána, zatímco struktury reakčních center a světlosběrného komplexu 1 nikoliv. To obzvláště platí pro čeleď *Chromatiaceae*, která není v tomto ohledu prozkoumána téměř vůbec a většina poznatků je vyvozována na základě podobnosti s ostatními purpurovými bakteriemi.

I když víme již mnoho o těchto čeledích, pro plné pochopení všech procesů je třeba další výzkum, zvláště ze strany strukturní biologie a biochemie. Další oblastí, na kterou se

může výzkum zaměřit, je aplikace již známých mechanismů a produktů těchto bakterií. V dnešní době se tyto bakterie využívají pouze při úpravě odpadní vody a výrobě biopolymerů nebo molekulárního vodíku, i když jsou již teoreticky známé další způsoby využití. Jako příklad můžeme uvést produkci karotenoidů pro průmyslové účely nebo možnost použít tyto bakterie k odstranění nežádoucích sloučenin síry z tekutin či plynů.

LITERATURA:

- Alexander B., Andersen J., Cox R., Imhoff, J.**, 2002. Phylogeny of green sulfur bacteria on the basis of gene sequences of 16S rRNA and of the Fenna-Matthews-Olson protein. Arch. Microbiol. 178, 131–140. doi:10.1007/s00203-002-0432-4
- Bavendamm W.**, 1924. Die farblosen und roten Schwefelbakterien des Süß- und Salzwassers, in: Kolkwitz, Pflanzenforschung. 2, 1-156
- Blankenship R. E.**, 2014. Molecular mechanisms of photosynthesis, Second edition. ed. Wiley/Blackwell, Chichester, West Sussex.
- Brune D. C.**, 2004. Sulfur Compounds as Photosynthetic Electron Donors, in: Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. (Eds.), Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 847–870. doi:10.1007/0-306-47954-0_39
- Brüser T., Selmer T., Dahl C.**, 2000. “ADP sulfurylase” from *Thiobacillus denitrificans* is an adenylylsulfate:phosphate adenylyltransferase and belongs to a new family of nucleotidyltransferases. J. Biol. Chem. 275, 1691–1698.
- Caumette P.**, 1984. Distribution and characterization of phototrophic bacteria isolated from the water of Bietri Bay (Ebrie Lagoon, Ivory Coast). Can. J. Microbiol. 30, 273–284. doi:10.1139/m84-042
- Cohn F.**, 1875. Untersuchungen über Bakterien. Beitr Biol Pflanz 1 1, 147–207.
- Dahl C.**, 2008. Inorganic Sulfur Compounds as Electron Donors in Purple Sulfur Bacteria, in: Hell R., Dahl C., Knaff D., Leustek T. (Eds.), Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 289–317. doi:10.1007/978-1-4020-6863-8_15
- Dahl C., Engels S., Pott-Sperling A.S., Schulte A., Sander J., Lübbe Y., Deuster O., Brune D. C.**, 2005. Novel genes of the *dsr* gene cluster and evidence for close interaction of Dsr proteins during sulfur oxidation in the phototrophic sulfur bacterium *Allochromatium vinosum*. J. Bacteriol. 187, 1392–1404. doi:10.1128/JB.187.4.1392-1404.2005

- Dahl C., Rákhely G., Pott-Sperling A.S., Fodor B., Takács M., Tóth A., Kraeling M., Gy"orfi K., Kovács A., Tusz J., Kovács K. L.,** 1999. Genes involved in hydrogen and sulfur metabolism in phototrophic sulfur bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 180, 317–324.
- Davidson M. W., Gray G. O., Knaff D. B.,** 1985. Interaction of *Chromatium vinosum* flavocytochrome *c* -552 with cytochromes *c* studied by affinity chromatography. *FEBS Lett.* 187, 155–159. doi:10.1016/0014-5793(85)81233-3
- Dostál J.,** 2014. Photosynthetic apparatus of green sulfur bacteria studied by coherent two-dimensional electronic spectroscopy. Lund University; Charles University, Lund; Prague.
- Drews G., Golecki J. R.,** 2004. Structure, Molecular Organization, and Biosynthesis of Membranes of Purple Bacteria, in: Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. (Eds.), *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 231–257. doi:10.1007/0-306-47954-0_12
- Ehrenberg C. G.,** 1838. Die infusionsthierchen als vollkommene organismen. Ein blick in das tiefere organische leben der natur. L. Voss, Leipzig. doi:10.5962/bhl.title.58475
- Fehér G.,** 1998. Three decades of research in bacterial photosynthesis and the road leading to it: A personal account. *Photosynth. Res.* 55, 1–40. doi:10.1023/A:1005985019447
- Figueras J. B., Garcia-Gil L. J., Abella C. A.,** 1997. Phylogeny of the genus *Chlorobium* based on 16S rDNA sequence. *FEMS Microbiol. Lett.* 152, 31–36.
- Fowler V. J., Pfennig N., Schubert W., Stackebrandt E.,** 1984. Towards a phylogeny of phototrophic purple sulfur bacteria 16S rRNA oligonucleotide cataloguing of 11 species of *Chromatiaceae*. *Arch. Microbiol.* 139, 382–387. doi:10.1007/BF00408384
- Franz B., Lichtenberg H., Hormes J., Modrow H., Dahl C., Prange A.,** 2007. Utilization of solid “elemental” sulfur by the phototrophic purple sulfur bacterium *Allochromatium vinosum*: a sulfur K-edge X-ray absorption spectroscopy study. *Microbiology* 153, 1268–1274. doi:10.1099/mic.0.2006/003954-0
- Frigaard N. U., Bryant D. A.,** 2008a. Genomic Insights into the Sulfur Metabolism of Phototrophic Green Sulfur Bacteria, in: Hell R., Dahl C., Knaff D., Leustek T. (Eds.),

Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 337–355. doi:10.1007/978-1-4020-6863-8_17

Frigaard N. U., Bryant D. A., 2008b. Genomic and Evolutionary Perspectives on Sulfur Metabolism in Green Sulfur Bacteria, in: Dahl C., Friedrich C. G. (Eds.), Microbial Sulfur Metabolism. Springer Berlin Heidelberg, pp. 60–76. doi:10.1007/978-3-540-72682-1_6

Frigaard N. U., Dahl C., 2009. Sulfur metabolism in phototrophic sulfur bacteria. Adv. Microb. Physiol. 54, 103–200. doi:10.1016/S0065-2911(08)00002-7

Fukumori Y., Yamanaka T., 1979. A high-potential nonheme iron protein (HiPIP)-linked, thiosulfate-oxidizing enzyme derived from *Chromatium vinosum*. Curr. Microbiol. 3, 117–120. doi:10.1007/BF02602443

Gehrke T., Telegdi J., Thierry D., Sand W., 1998. Importance of Extracellular Polymeric Substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for Bioleaching. Appl. Environ. Microbiol. 64, 2743–2747.

Gibson J., Ludwig W., Stackebrandt E., Woese C. R., 1985. The Phylogeny of the Green Photosynthetic Bacteria: Absence of a Close Relationship Between *Chlorobium* and *Chloroflexus*. Syst. Appl. Microbiol. 6, 152–156. doi:10.1016/S0723-2020(85)80048-5

Gibson J., Stackebrandt E., Zablén L. B., Gupta R., Woese C. R., 1979. A phylogenetic analysis of the purple photosynthetic bacteria. Curr. Microbiol. 3, 59–64. doi:10.1007/BF02603136

Griesbeck C., Hauska G., Schütz M., 2000. Biological Sulfide-Oxidation: Sulfide-Quinone Reductase (SQR), the Primary Reaction. Recent Res. Dev. Microbiol. 4, 179–203.

Griesbeck, C., Schütz, M., Schödl, T., Bathe, S., Nausch, L., Mederer, N., Vielreicher, M., Hauska, G., 2002. Mechanism of sulfide-quinone reductase investigated using site-directed mutagenesis and sulfur analysis. Biochemistry (Mosc.) 41, 11552–11565.

Guyoneaud R., Süling J., Petri R., Matheron R., Caumette P., Pfennig N., Imhoff J. F., 1998. Taxonomic rearrangements of the genera *Thiocapsa* and *Amoebobacter* on the basis of 16S rDNA sequence analyses, and description of *Thiolamproyum* gen. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 48 Pt 3, 957–964. doi:10.1099/00207713-48-3-957

- Hanson T. E., Tabita F. R.,** 2001. A ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)-like protein from *Chlorobium tepidum* that is involved with sulfur metabolism and the response to oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 4397–4402. doi:10.1073/pnas.081610398
- Hauska G., Schoedl T., Remigy H., Tsiotis G.,** 2001. The reaction center of green sulfur bacteria(1). *Biochim. Biophys. Acta* 1507, 260–277.
- Hedderich R., Hamann N., Bennati M.,** 2005. Heterodisulfide reductase from methanogenic archaea: a new catalytic role for an iron-sulfur cluster. *Biol. Chem.* 386. doi:10.1515/BC.2005.112
- Hensen D., Sperling D., Trüper H. G., Brune D. C., Dahl C.,** 2006. Thiosulphate oxidation in the phototrophic sulphur bacterium *Allochromatium vinosum*. *Mol. Microbiol.* 62, 794–810. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05408.x
- Hipp W. M., Pott A.S., Thum-Schmitz N., Faath I., Dahl C., Trüper H. G.,** 1997. Towards the phylogeny of APS reductases and sirohaem sulfite reductases in sulfate-reducing and sulfur-oxidizing prokaryotes. *Microbiol. Read. Engl.* 143, 2891–2902. doi:10.1099/00221287-143-9-2891
- Holm H. W., Vennes J. W.,** 1970. Occurrence of purple sulfur bacteria in a sewage treatment lagoon. *Appl. Microbiol.* 19, 988–996.
- Ikeuchi Y., Shigi N., Kato J., Nishimura A., Suzuki T.,** 2006. Mechanistic Insights into Sulfur Relay by Multiple Sulfur Mediators Involved in Thiouridine Biosynthesis at tRNA Wobble Positions. *Mol. Cell* 21, 97–108. doi:10.1016/j.molcel.2005.11.001
- Imhoff J. F.,** 2015. *Chromatiaceae*, in: Whitman W. B., Rainey F., Kämpfer P., Trujillo M., Chun J., DeVos P., Hedlund B., Dedysch S. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 1–12. doi:10.1002/9781118960608.fbm00219
- Imhoff, J. F.,** 2014. The Family *Chromatiaceae*, in: Rosenberg E., DeLong E. F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (Eds.), *The Prokaryotes*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 151–178. doi:10.1007/978-3-642-38922-1_295

- Imhoff J. F.**, 2004. Taxonomy and Physiology of Phototrophic Purple Bacteria and Green Sulfur Bacteria, in: Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. (Eds.), Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 1–15. doi:10.1007/0-306-47954-0_1
- Imhoff J. F.**, 2003. Phylogenetic taxonomy of the family *Chlorobiaceae* on the basis of 16S rRNA and *fmo* (Fenna-Matthews-Olson protein) gene sequences. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53, 941–951. doi:10.1099/ijs.0.02403-0
- Imhoff J. F.**, 1992. Taxonomy, Phylogeny, and General Ecology of Anoxygenic Phototrophic Bacteria, in: Mann N. H., Carr N. G. (Eds.), Photosynthetic Prokaryotes. Springer US, Boston, MA, pp. 53–92. doi:10.1007/978-1-4757-1332-9_2
- Imhoff J. F.**, 1991. Polar Lipids and Fatty Acids in the Genus *Rhodobacter*. Syst. Appl. Microbiol. 14, 228–234. doi:10.1016/S0723-2020(11)80373-5
- Imhoff J. F.**, 1984. Reassignment of the Genus *Ectothiorhodospira* Pelsh 1936 to a New Family, *Ectothiorhodospiraceae* fam. nov., and Emended Description of the *Chromatiaceae* Bavendamm 1924. Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 338–339. doi:10.1099/00207713-34-3-338
- Imhoff J. F., Bias-Imhoff U.**, 2004. Lipids, Quinones and Fatty Acids of Anoxygenic Phototrophic Bacteria, in: Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. (Eds.), Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 179–205. doi:10.1007/0-306-47954-0_10
- Imhoff J. F., Caumette P.**, 2004. Recommended standards for the description of new species of anoxygenic phototrophic bacteria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54, 1415–1421. doi:10.1099/ijs.0.03002-0
- Imhoff J. F., Kushner D. J., Kushwaha S. C., Kates M.**, 1982. Polar lipids in phototrophic bacteria of the *Rhodospirillaceae* and *Chromatiaceae* families. J. Bacteriol. 150, 1192–1201.
- Kappler U., Dahl C.**, 2001. Enzymology and molecular biology of prokaryotic sulfite oxidation. FEMS Microbiol. Lett. 203, 1–9.

- Keppen O. I., Tourova T. P., Ivanovsky R. N., Lebedeva N. V., Baslerov R. V., Berg I. A.**, 2008. Phylogenetic position of three strains of green sulfur bacteria. *Microbiology* 77, 243–246. doi:10.1134/S0026261708020203
- Madigan M. T.**, 1986. *Chromatium tepidum* sp. nov., a Thermophilic Photosynthetic Bacterium of the Family *Chromatiaceae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36, 222–227. doi:10.1099/00207713-36-2-222
- Magdaong N. M., LaFountain A. M., Hacking K., Niedzwiedzki D. M., Gibson G. N., Cogdell R. J., Frank H. A.**, 2016. Spectral heterogeneity and carotenoid-to-bacteriochlorophyll energy transfer in LH2 light-harvesting complexes from *Allochromatium vinosum*. *Photosynth. Res.* 127, 171–187. doi:10.1007/s11120-015-0165-2
- Miyoshi M.**, 1897. Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. *Zent. Bakteriol Parasitenkd. Infekt* 3, 526–527.
- Molisch H.**, 1907. Die purpurbakterien: nach neuen untersuchungen; eine mikrobiologische studie /. Fischer, Jena: doi:10.5962/bhl.title.115708
- Myers J. D., Kelly D. J.**, 2005. A sulphite respiration system in the chemoheterotrophic human pathogen *Campylobacter jejuni*. *Microbiol. Read. Engl.* 151, 233–242. doi:10.1099/mic.0.27573-0
- Myers J. M., Myers C. R.**, 2001. Role for outer membrane cytochromes OmcA and OmcB of *Shewanella putrefaciens* MR-1 in reduction of manganese dioxide. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 260–269. doi:10.1128/AEM.67.1.260-269.2001
- Nicholson J. A. M., Stolz J. F., Pierson B. K.**, 1987. Structure of a microbial mat at Great Sippewissett Marsh, Cape Cod, Massachusetts. *FEMS Microbiol. Lett.* 45, 343–364. doi:10.1111/j.1574-6968.1987.tb02411.x
- Numata T., Fukai S., Ikeuchi Y., Suzuki T., Nureki O.**, 2006. Structural Basis for Sulfur Relay to RNA Mediated by Heterohexameric TusBCD Complex. *Structure* 14, 357–366. doi:10.1016/j.str.2005.11.009
- Overmann J.**, 2015. Green Sulfur Bacteria, in: Whitman W. B., Rainey F., Kämpfer P., Trujillo M., Chun J., DeVos P., Hedlund B., Dedysh S. (Eds.), *Bergey's Manual of*

Systematics of Archaea and Bacteria. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 1–8.
doi:10.1002/9781118960608.gbm00378

Overmann J., 2006. The Family *Chlorobiaceae*, in: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K- H., Stackebrandt E. (Eds.), The Prokaryotes. Springer New York, New York, NY, pp. 359–378. doi:10.1007/0-387-30747-8_13

Overmann J., Tuschak C., 1997. Phylogeny and molecular fingerprinting of green sulfur bacteria. Arch. Microbiol. 167, 302–309.

Petri R., Imhoff J. F., 2001. Genetic analysis of sea-ice bacterial communities of the Western Baltic Sea using an improved double gradient method. Polar Biol. 24, 252–257.
doi:10.1007/s0030000000205

Pfennig N., 1989. Green sulfur bacteria, in: Archaeobacteria, Cyanobacteria, and Remaining Gram-Negative Bacteria, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1682–1697.

Pfennig N., Overmann J., 2001. Genus I. *Chlorobium*, in: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, New York, pp. 605–610.

Pibernat I. V., Abella A., 1996. Sulfide pulsing as the controlling factor of spinae production in *Chlorobium limicola* strain UdG 6038. Arch. Microbiol. 165, 272–278.

Pott A.S., Dahl C., 1998. Sirohaem sulfite reductase and other proteins encoded by genes at the *dsr* locus of *Chromatium vinosum* are involved in the oxidation of intracellular sulfur. Microbiol. Read. Engl. 144 (Pt 7), 1881–1894. doi:10.1099/00221287-144-7-1881

Prange A., Arzberger I., Engemann C., Modrow H., Schumann O., Trüper H. G., Steudel R., Dahl C., Hormes J., 1999. In situ analysis of sulfur in the sulfur globules of phototrophic sulfur bacteria by X-ray absorption near edge spectroscopy. Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj. 1428, 446–454. doi:10.1016/S0304-4165(99)00095-1

Prange A., Trüper H. G., Dahl C., Modrow H., Hormes J., Chauvistré R., 2002. Quantitative speciation of sulfur in bacterial sulfur globules: X-ray absorption spectroscopy reveals at least three different species of sulfur. Microbiology 148, 267–276. doi:10.1099/00221287-148-1-267

- Reinartz M., Tschäpe J., Brüser T., Trüper H. G., Dahl C.**, 1998. Sulfide oxidation in the phototrophic sulfur bacterium *Chromatium vinosum*. Arch. Microbiol. 170, 59–68. doi:10.1007/s002030050615
- Rohwerder T., Sand W.**, 2003. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium* spp. Microbiol. Read. Engl. 149, 1699–1710. doi:10.1099/mic.0.26212-0
- Schedel M., Vanselow M., Trüper H. G.**, 1979. Siroheme sulfite reductase isolated from *Chromatium vinosum*. Purification and investigation of some of its molecular and catalytic properties. Arch. Microbiol. 121, 29–36. doi:10.1007/BF00409202
- Shahak Y., Arieli B., Padan E., Hauska G.**, 1992. Sulfide quinone reductase (SQR) activity in *Chlorobium*. FEBS Lett. 299, 127–130. doi:10.1016/0014-5793(92)80230-E
- Smith A. J., Lascelles J.**, 1966. Thiosulphate metabolism and rhodanese in *Chromatium* sp. strain D. J. Gen. Microbiol. 42, 357–370. doi:10.1099/00221287-42-3-357
- Solov'ev A. A., Erokhin Y. E.**, 2008. Distribution of bacteriochlorophyll between the pigment-protein complexes of the sulfur photosynthetic bacterium *Allochromatium minutissimum* depending on light intensity at different temperatures. Microbiology 77, 534–540. doi:10.1134/S0026261708050044
- Steinmetz M. A., Fischer U.**, 1982. Cytochromes of the green sulfur bacterium *Chlorobium vibrioforme* f. *thiosulfatophilum*. Purification, characterization and sulfur metabolism. Arch. Microbiol. 131, 19–26. doi:10.1007/BF00451493
- Stuedel R.**, 1996. Mechanism for the Formation of Elemental Sulfur from Aqueous Sulfide in Chemical and Microbiological Desulfurization Processes. Ind. Eng. Chem. Res. 35, 1417–1423. doi:10.1021/ie950558t
- Stuedel R.**, 1989. On the nature of the ““elemental sulfur”” (S^0) produced by sulfuroxidizing bacteria- a model for S^0 globules. I, in: Schlegel H. G., Bowein B. (Eds.), Autotrophic Bacteria. Scienc Tech Publishers, Madison, WI, pp. 289–303.
- Stuedel R., Eckert B.**, 2003. Solid Sulfur Allotropes, in: Stuedel R. (Ed.), Elemental Sulfur and Sulfur-Rich Compounds I. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–80. doi:10.1007/b12110

- Studel R., Holdt G., Visscher P. T., van Gernerden H.**, 1990. Search for polythionates in cultures of *Chromatium vinosum* after sulfide incubation. Arch. Microbiol. 153, 432–437. doi:10.1007/BF00248423
- Tank M., Thiel V., Al E.**, 2009. Phylogenetic relationship of phototrophic purple sulfur bacteria according to *pufL* and *pufM* genes. Int. Microbiol. 175–185. doi:10.2436/20.1501.01.96
- Theissen U., Hoffmeister M., Grieshaber M., Martin W.**, 2003. Single eubacterial origin of eukaryotic sulfide:quinone oxidoreductase, a mitochondrial enzyme conserved from the early evolution of eukaryotes during anoxic and sulfidic times. Mol. Biol. Evol. 20, 1564–1574. doi:10.1093/molbev/msg174
- Truper H. G., Fischer U.**, 1982. Anaerobic Oxidation of Sulphur Compounds as Electron Donors for Bacterial Photosynthesis. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 298, 529–542. doi:10.1098/rstb.1982.0095
- Trüper H. G., Pfennig N.**, 1992. The Family *Chlorobiaceae*, in: Balows A., Trüper H. G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K. H. (Eds.), The Prokaryotes. Springer New York, pp. 3583–3592. doi:10.1007/978-1-4757-2191-1_33
- Van Gernerden H.**, 1987. Competition between purple sulfur bacteria and green sulfur bacteria: role of sulfide, sulfur and polysulfides, in: Lindholm T. (Ed.), Ecology of Photosynthetic Prokaryotes with Special Reference to Meromictic Lakes and Coastal Lagoons: Proceedings of an International Seminar, Tvärminne Zoological Station, Finland, 17-20 October 1985, Acta Academiae Aboensis. Åbo Academy Press, Åbo, Finland, pp. 13–27.
- Van Gernerden H., Mas J.**, 1995. Ecology of Phototrophic Sulfur Bacteria, in: Blankenship R. E., Madigan M. T., Bauer C. E. (Eds.), Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 49–85. doi:10.1007/0-306-47954-0_4
- Veldhuis M., Van Gernerden H.**, 1986. Competition between purple and brown phototrophic bacteria in stratified lakes: sulfide, acetate, and light as limiting factors. FEMS Microbiol. Lett. 38, 31–38. doi:10.1016/0378-1097(86)90039-X

- Visscher P. T., Nijburg J. W., van Gernerden H.**, 1990. Polysulfide utilization by *Thiocapsa roseopersicina*. Arch. Microbiol. 155, 75–81. doi:10.1007/BF00291278
- Wahlund T. M., Woese C. R., Castenholz R. W., Madigan M. T.**, 1991. A thermophilic green sulfur bacterium from New Zealand hot springs, *Chlorobium tepidum* sp. nov. Arch. Microbiol. 156, 81–90. doi:10.1007/BF00290978
- Winogradsky S.**, 1888. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, in: Zur Morphol. U. Physiol, Der Schwefelbakterien. Arthur Felix, Leipzig, pp. 1–120.
- Woese C. R., Stackebrandt E., Macke T. J., Fox G. E.**, 1985. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. Syst. Appl. Microbiol. 6, 143–151.