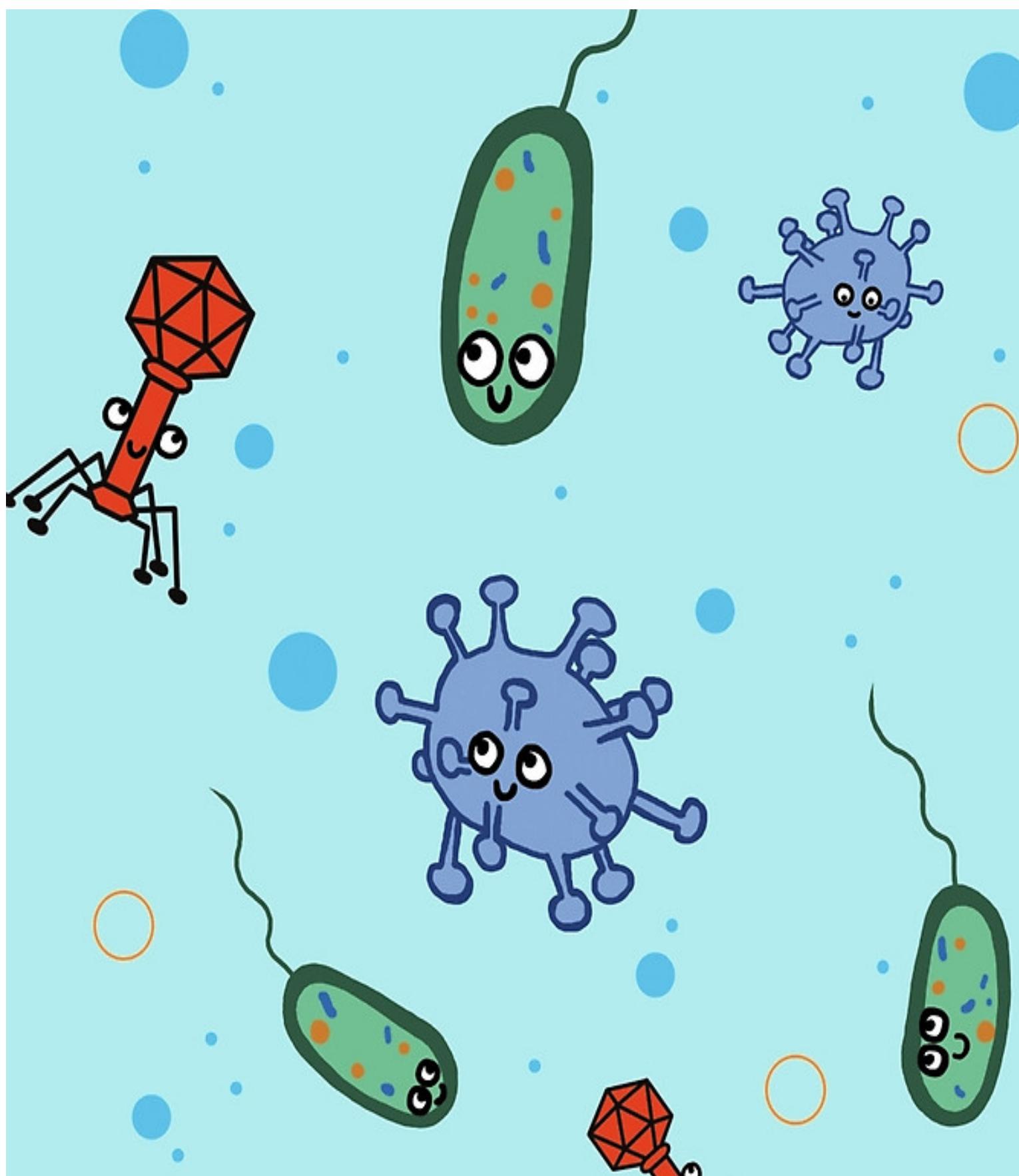


MIKROBIOLOGI

av: Madeleine Gundersen



<i>Mikrobielle samfunn</i>	6
<i>Mikrobiologiske interaksjoner</i>	6
<i>Ekstremofile</i>	6
<i>Historie</i>	7
Mikrobiell celle struktur og funksjon	9
<i>Mikroskopi</i>	9
<i>Celle morfologi</i>	10
<i>Celle størrelse</i>	11
<i>Cytoplasmiske membranen og transport</i>	12
<i>Cellevegg</i>	13
Gram positiv cellevegg	14
Gram negativ cellevegg	14
<i>Peptidoglycan Biosyntese</i>	15
Arkea cellevegger	16
Pseudomuerin og andre polysakkard vegger.....	16
S-lag	16
Prokaryot uten cellevegg.....	16
<i>Overflatestrukturer</i>	17
Kapsler og slimlag	17
Fimbriller.....	17
Pili	17
<i>Innvendige strukturer</i>	17
Lagringspolymere for karbon.....	17
Polyfosfat og svovelgranoler.....	17
Karbonatmineraler.....	17
Magnetrosomer	17
Gas vesikler	18
<i>Endosporer</i>	18
<i>Bevegelse</i>	19
Bakterieflagella	19
Arkeflagella	20
Glidende bevegelse.....	20
<i>Taxi</i>	20
Kjemotaxi	21
Fototaxi	21
Metabolisme	22
<i>Energiklasser</i>	22
<i>Elektron donor og akseptor</i>	22
<i>GLYKOLYSEN</i>	23
<i>Fermentering</i>	23
Mixed acid fermentering	24
Aerob Respirasjon.....	25
Anaerobisk respirasjon	26
Fototropi.....	27
Anoksygenisk fotosyntese – lilla bakterie	29
Kjemolitotrofi	29
Hydrogen oksidasjon	30
Reduserte svovelforbindelser oksidasjon	30
Jern oksidasjon	31
Nitrifisering og ammox	31

<i>Celledivisjon</i>	32
Divisomet i staver:	32
Sansing og signaloverføring	33
<i>To komponents regulatorisk system</i>	33
<i>Qurom sensing</i>	33
Vekst og kontroll	34
<i>LABORATORIA kultur</i>	34
<i>POPULASJONS VEKST</i>	34
<i>Vektsyklusen</i>	35
<i>Kontinuerlig kultur – kjemostaten</i>	35
<i>Måling av mikrobiell vekst</i>	36
Totaltall.....	36
Kjmtall analyse	36
<i>Spektofotometri OD</i>	37
<i>Kjemisk kontroll</i>	37
<i>Antimikrobielle LEGEMIDLER</i>	38
Miljøer	39
<i>temperatur</i>	39
Kalde miljø:	39
Varme miljø:	39
<i>Effekt av pH</i>	40
<i>Osmolaritet</i>	40
<i>Oksygen</i>	40
Evolusjon og systematikk	42
<i>Opprinnelsen av liv</i>	42
<i>Oksygenering</i>	42
<i>Endosymbiosen</i>	43
<i>Fylogeni</i>	43
<i>Mikrobiell evolusjon</i>	44
<i>Systematikk</i>	45
Funksjonell diversitet	46
<i>Fototropiske bakterier</i>	46
Cyanobacteria	46
Purpur svovel bakterier	47
Purpur ikke-svovel bakterier.....	48
Aeroobe anoksigene fototrofe.....	48
Grønne svovelbakterier	48
Grønne ikke-svovelbakterier.....	48
Heliobacteria.....	48
Fototrofisk Acidobacteria	48
<i>Dissimilativ svovel oksiderende bakterier</i>	49
<i>Nitrifiserende og denitrifiserende bakterier</i>	49
Thaumarchaeota.....	50
<i>Dissimilativ jern oksidasjon</i>	50
<i>Hydrogen metaboliserende BAKTERIER</i>	50
Nanoarchaeota	50
<i>Metantrofe og metyltrofe bakterier</i>	51
Aeroobe fakultative metyltrofe	51
Aeroobe metanotrofe	51

<i>Eddiksyre bakterier</i>	52
Bakterier	53
<i>Gammaproteobacteria</i>	53
Enterobacteriales – enteriske bakterier	53
Pseudomonadales	54
Vibrionales	54
<i>Firmicutes</i>	56
Lactobacillales	56
<i>Melkesyre fermentering</i>	56
Bacillales	57
Clostridiales	58
<i>Tenericutes</i>	58
<i>Actinobacteria</i>	59
Actinomycetes	59
Arker	62
<i>Ekstremt halofile arker</i>	62
Vannbalanse	62
Bacteriorhodopsin	63
<i>Metanogene</i>	63
<i>Thermoplasmatales</i>	63
<i>Termococcales og metanopyrus</i>	64
<i>Nanoarchaeota</i>	64
Eukaryote	65
<i>Diplomonader og parabasalids</i>	65
<i>Euglenozoans</i>	65
Kinetoplastidene	66
Euglenider	66
<i>Alveolater</i>	66
Ciliater	66
Dinoflagellater	66
Apicomplexaner	66
<i>Stramenofile</i>	66
Diatom	67
Oomycetene	67
Gyllen og brun alger	67
<i>Cercozoans</i>	67
<i>Radiolaranis</i>	67
<i>Amoebozoa</i>	67
Gymnamoebas og entamoebas	67
Slimsopp	67
<i>Sopp</i>	68
Fysiologi, struktur og symbiose	68
Reproduksjon	68
<i>Ascomyceter</i>	69
Saccharomyces cerevisiae	69
Antifungale legemidler	69
<i>Rød alg</i>	69
<i>Grønn alg</i>	69
Virus	71
<i>Generelt om virus</i>	71

<i>Livssyklusen</i>	72
<i>Kultivering, detektering og telling</i>	72
<i>Bakteriofag</i>	73
Livssyklusen for t4.....	73
Temerate bakteriofager.....	75
<i>Dyre virus</i>	75
<i>Retrovirus</i>	76
<i>Virossphæren</i>	76
<i>Antivirale medikamenter</i>	76
HIV antivirale medikamenter.....	76
Andre medisiner	76
<i>Virale genom</i>	77
<i>Viral evolusjon</i>	77
<i>Virus med DNA genom</i>	78
<i>Viroider</i>	78
<i>Prioner</i>	78
Nærings sykluser	80
<i>Karbon syklusen</i>	80
<i>Nitrogen syklusen</i>	81
Nitrogen fiksering	81
nif regulonet	82
Heterocyst formasjon	82
<i>Svovel syklusen</i>	83
Sulfat og svovel reduksjon	83
Dissimaltive sulfat reduserende bakterier	84
Dissimilativ svovel reduserende bakterier	84
Mikroorgansimer og dyr	85
<i>Pattedyr tarmsystem</i>	85
<i>Drøvtyggere</i>	85
<i>Humane mikrobiomet</i>	86
Mage og tarm	86
Munn	87
Hud	87
Respirasjons kanalen	88
Urinveier	88
Sykdom	88

MIKROORGANISMER OG MIKROBIOLOGI

Mikroorganismer – alle prokaryote og alger, protozoa, protister og fungi. Ulike definisjoner er laget for eksempel: trenger mikroskop for å se dem, at det er en encella organisme, flercellede udifferensierte celler, driver passiv diffusjon. Ingen av definisjonene dekker alle mikroorganismer.

MIKROBIELLE SAMFUNN

habitat = umiddelbare miljøet til en mikrobiell populasjon

populasjon = alle individer av en art i et system

nisse = hva mikroben krever og gir til miljøet. I nissen forekommer seleksjon og konkurranse.

samfunn = alle populasjonene i et habitat

laug = arter med samme næringskrav, med like mekanismer blir satt sammen i et laug.

økosystem = alle levende organismer og de fysiske og kjemiske komponentene i miljøet.

MIKROBIOLOGISKE INTERAKSJONER

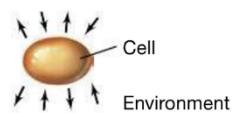
Neutralisme	0/0	Eksisterer ikke
Kommensalisme	0/+	En art nytter, den andre er upåvirket
Mutualisme	+/-	Nytter av hverandre
Konkurranse	-/-	
Amensalisme	0/-	En art skader en annen uten å påvirke seg selv
	+/-	En art drar nytte av å skade verten som blir infisert
Parasittisme		
Predasjon	+/-	En art blir spist

Properties of all cells:

Metabolism

Cells take up nutrients, transform them, and expel wastes.

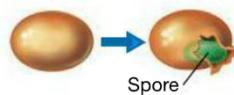
1. **Genetic** (replication, transcription, translation)
2. **Catalytic** (energy, biosyntheses)



Properties of some cells:

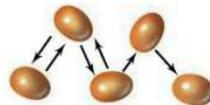
Differentiation

Some cells can form new cell structures such as a spore.



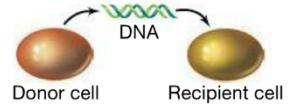
Communication

Cells interact with each other by chemical messengers.



Genetic exchange

Cells can exchange genes by several mechanisms.



Motility

Some cells are capable of self-propulsion.



EKSTREMOFILE

Table 1.1 Classes and examples of extremophiles^a

Extreme	Descriptive term	Genus/species	Domain	Habitat	Minimum	Optimum	Maximum
Temperature	High	Hyperthermophile	<i>Methanopyrus kandleri</i>	Archaea	90°C	106°C	122°C ^b
	Low	Psychrophile	<i>Psychromonas ingrahamii</i>	Bacteria	–12°C	5°C	10°C
pH	Low	Acidophile	<i>Picrophilus oshimae</i>	Archaea	–0.06	0.7 ^c	4
	High	Alkaliphile	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Archaea	8.5	10 ^d	12
Pressure	Barophile (piezophile)	<i>Moritella yayanosii</i>	Bacteria	Deep ocean sediments	500 atm	700 atm ^e	>1000 atm
Salt (NaCl)	Halophile	<i>Halobacterium salinarum</i>	Archaea	Salterns	15%	25%	32% (saturation)

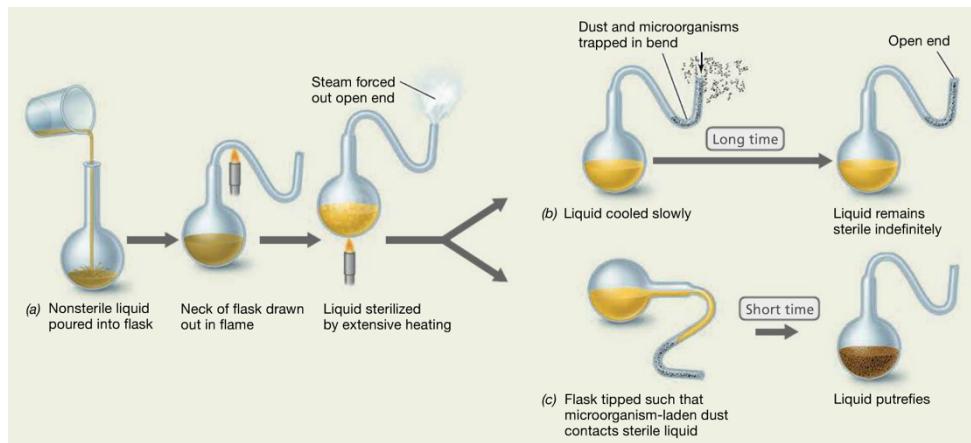
HISTORIE

Investigator	Nationality	Dates ^a	Contributions
Robert Hooke	English	1664	Discovery of microorganisms (fungi)
Antoni van Leeuwenhoek	Dutch	1684	Discovery of bacteria
Edward Jenner	English	1798	Vaccination (smallpox)
Louis Pasteur	French	Mid- to late 1800s	Mechanism of fermentation, defeat of spontaneous generation, rabies and other vaccines, principles of immunization
Joseph Lister	English	1867	Methods for preventing infections during surgeries
Ferdinand Cohn	German	1876	Discovery of endospores
Robert Koch	German	Late 1800s	Koch's postulates, pure culture microbiology, discovery of agents of tuberculosis and cholera
Sergei Winogradsky	Russian	Late 1800s to mid-1900s	Chemolithotrophy and chemoautotrophy, nitrogen fixation, sulfur bacteria
Martinus Beijerinck	Dutch	Late 1800s to 1920	Enrichment culture technique, discovery of many metabolic groups of bacteria, concept of a virus

^aThe year in which the key paper describing the contribution was published, or the date range in which the investigator was most scientifically active.

Louis Pasteur

Oppdaget først optiske isomerer. Spontan generasjon - mikroorganismer oppstår fra ikke levende materiale. Steril – helt uten mikroorganismer. Konstruerte Pasteur flasken

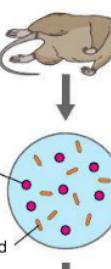
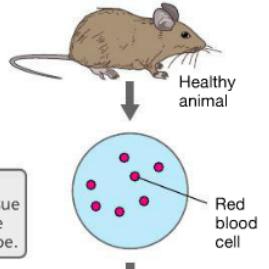


Robert Koch

Kochs postulater – studerte "cause and effect" av bakterier relatert til sykdom. Han utformet postulatene som måtte gjelde for å trekke slutning om cause. Med denne metoden klarte han å påvise at mikroorganismer var grunnen til mange sykdommer, blant annet at *Mycobacterium tuberculosis* førte til tuberkulose.

Beijerinck – klar formulering av hva en anrikningskultur er

Winogradsky – viste at nitrifiserende og svovel bakterier katalyserte kjemiske transformasjoner. Innførte konseptet om kjemolitotrofi.

Theoretical aspects		Experimental aspects	
Postulates:	Laboratory tools:		
1. The suspected pathogen must be present in <i>all</i> cases of the disease and absent from healthy animals.	Microscopy, staining	Diseased animal  Red blood cell Suspected pathogen	Healthy animal  Red blood cell
2. The suspected pathogen must be grown in pure culture.	Laboratory cultures	Observe blood/tissue under the microscope. Streak agar plate with sample from either a diseased or a healthy animal. Colonies of suspected pathogen	No organisms present
3. Cells from a pure culture of the suspected pathogen must cause disease in a healthy animal.	Experimental animals	Inoculate healthy animal with cells of suspected pathogen. Diseased animal	Remove blood or tissue sample and observe by microscopy.
4. The suspected pathogen must be reisolated and shown to be the same as the original.	Laboratory reisolation and culture	Suspected pathogen	Pure culture (must be same organism as before) Laboratory culture

MIKROBIELL CELLE STRUKTUR OG FUNKSJON

MIKROSKOPI

Oppløsning – evnen til å skille to objekter som distinkte og separate. Oppløsningen er en funksjon av bølgelengde, og en karakteristikk på linsen kalt "numerisk apperture" gitt ved $0,5\lambda/NA$

Lysmikrosopi – oppløsning max $0,2 \mu\text{m}$. To linser – okular og objektiv. Total forstørrelse = produktet av okular og objektiv. Max forstørrelse er 2000x. Oil immersion linser benyttes for å øke de lysfangende egenskapene til en linse.

Farging (staining) øker kontrasten, men dreper cellen. Vanlig med **basiske fargestoff** (methylene blått, safranin). Disse bindes til negativt ladde komponenter (nukleinsyre, syrlige polysakkarkerider). Man kan også utføre differensierings farging (to ulike typer celler får ulik farge). Eks **Gram farging** som skiller gram negative (rosa) og gram positive (lilla). *De kan også skilles med en et-trinns farging hvis man har fluoriserende mikroskop.*

Fase kontrast mikrosopi – celler har ulik refraksjonsindeks fra omgivelsene. Forskjellen forsterkes av en fase ring.

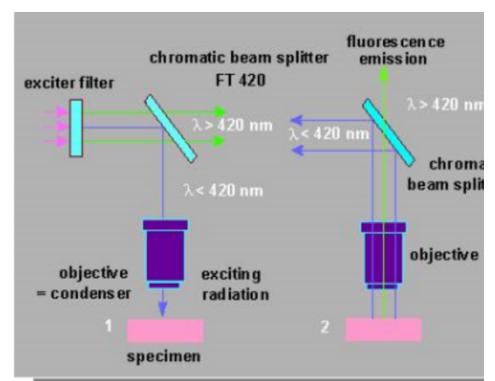
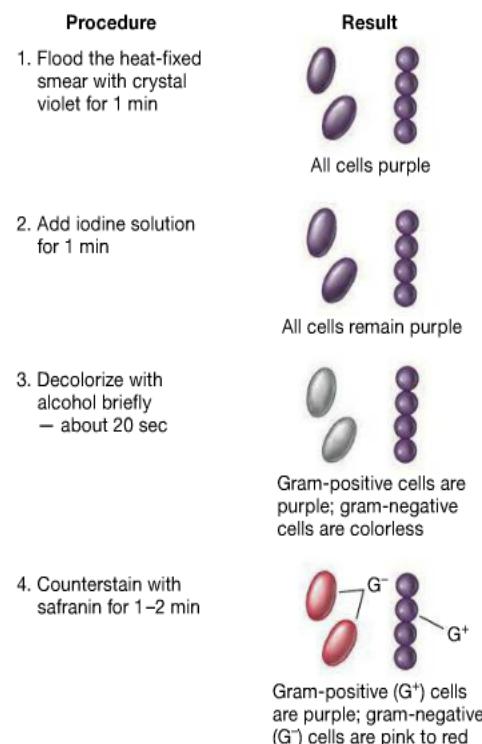
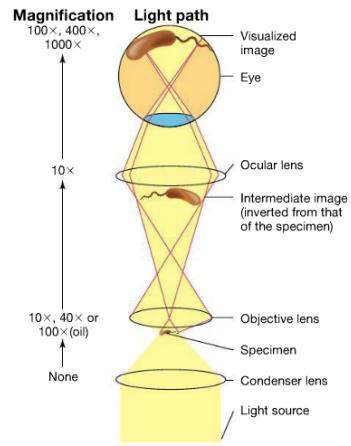
Mørk felt mikrosopi – lys treffer prøven kun fra sidene. Det eneste lyset som treffer linsa er den som er spredt av prøven

Fluoriserende mikrosopi – observerer prøver som fluoriserer grunnet pigment eller farging (eks DAPI (blått med DNA)). Lys filtreres i et eksitasjonsfilter og ønsket bølgelengde sendes ned på prøven av et **dikromatisk speil**. Emisjon av prøven fører til visualisering.

Differensiell interferens kontrast (DIC) – plassert en polariserer i kondenseren -> polarisert lys som går inn i et prisme som danner to distinkte stråler. Disse går gjennom prøven med ulik refraksjonsindeks som igjen fører til at de faller ut av fase. Denne forskjellen observeres i linsa.

Confocal scanning laser mikroskop (CSLM) – computer kontrollert mikroskop som kobler laser med fluoriserende mikroskop. Et og et lag i fokus om gangen -> 3D bilde.

Elektronmikroskop – bruker elektroner til å visualisere celler, alt må skje i vakuum. **Transmissjon elektron mikroskop (TEM)** – oppløsning $0,2 \text{ nm}$. Elektroner kan ikke penetrere cellen, og man må skjære ut tynne deler ($20-60\text{nm}$) og deretter farge. **Scanning elektron mikroskop (SEM)** – prøven blir belagt med tungt metall (gull). Elektronene reflekteres fra metallet og et bilde dannes. Kun overflaten av en prøve som kan visualiseres.

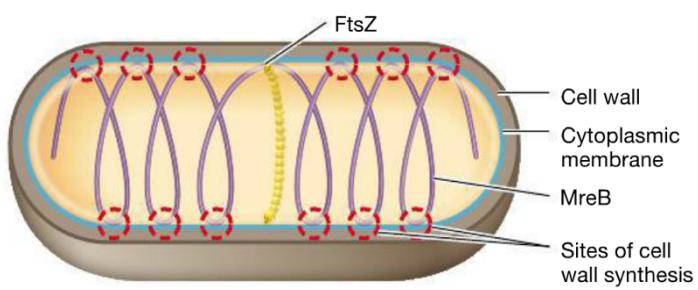
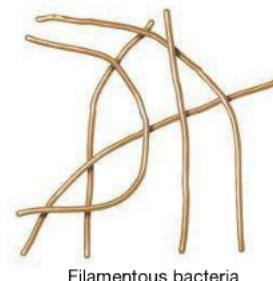
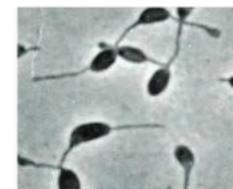
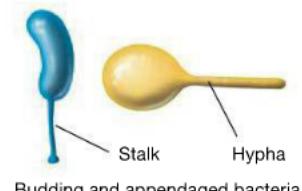
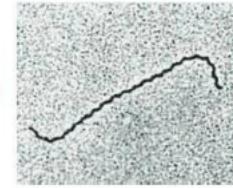
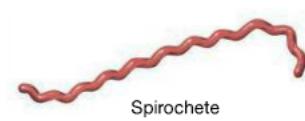
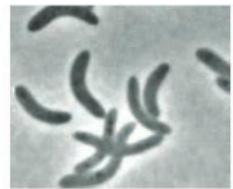
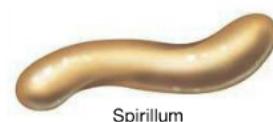
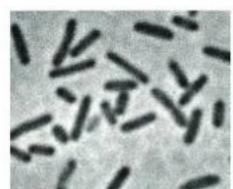
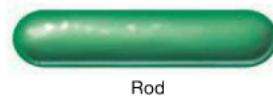
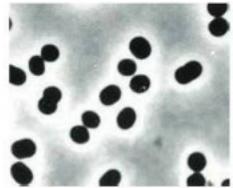


CELLE MORFOLOGI

Celle form har sjeldent en fylogenetisk relasjon.

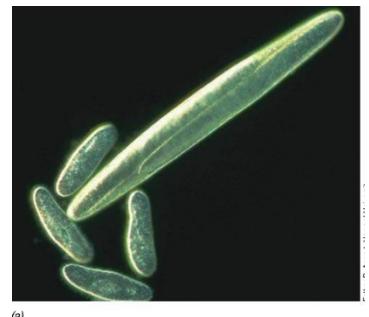
Dimensjoner beskriver sammensetninger av celler:

- OD En celle
- 1D Perler på snor
- 2D Flak av celler
- 3D Klump



CELLE STØRRELSE

De fleste prokaryote er små celler, ca $1 \times 2 \mu\text{m}$ (*E.coli*). Noen er mye større. a) er *Epulopiscium fishelsoni* og er lengre enn $600 \mu\text{m}$. Den må ha flere kopier av genomet inne i en celle. b) er *Thiomargarita* er $750 \mu\text{m}$ i diameter. Denne er stor for å lagre svovel i granuler.



Max størrelse settes av diffusjonsrater, mens min av DNA kopiering/avlesning og essensielle byggesteiner.

De største organismene er kjemolitotrofe.



Overflate volum ratio (O/V): et høyere ratio fører til bedre utveksling av næringsstoffer. Små celler kan ta opp næringsstoffer raskere og dermed vokse raskere enn større celler. Dette igjen bringer flere mutasjoner som bidrar til evolusjon.

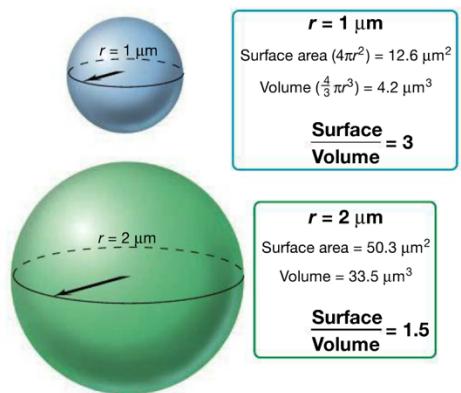


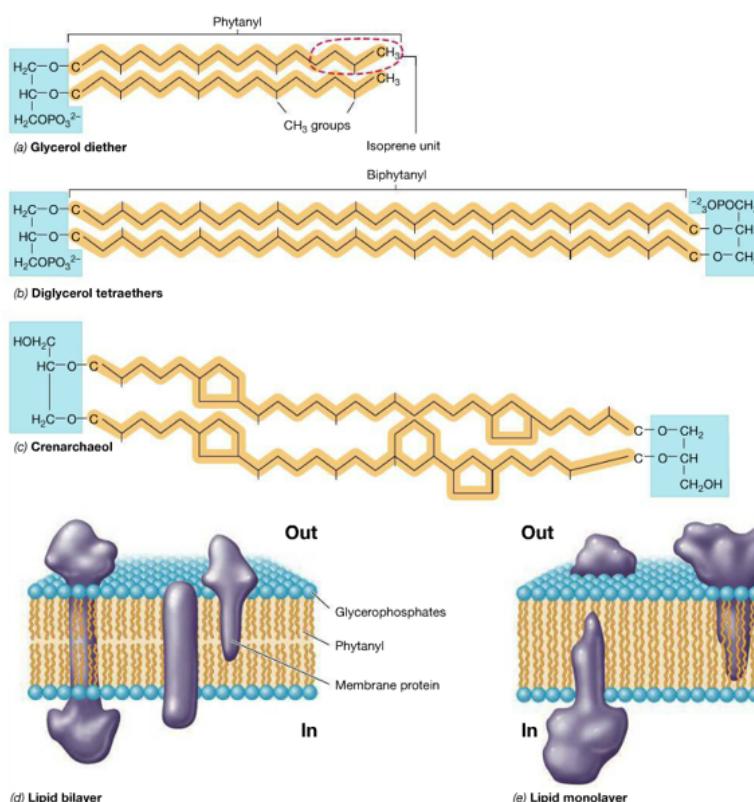
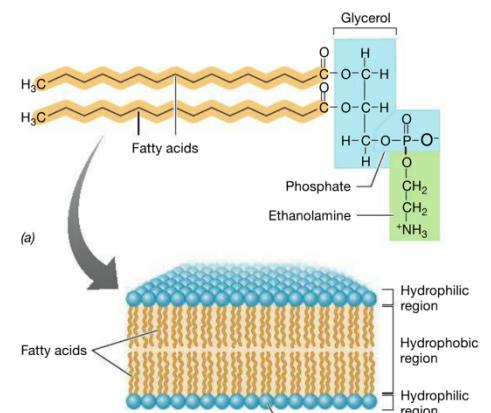
Figure 2.13 Surface area and volume relationships in cells. As a cell increases in size, its S/V ratio decreases.

CYTOPLASMISKE MEMBRANEN OG TRANSPORT

Den cytoplasmiske membranen omgir cytoplasma og separerer cellen fra omgivelsene. Membranen er selektiv permeabel, og er "flytende".

Bacteria/Eukarya – membran bygget opp av **fosfolipider** som danner dobbeltlag (8nm) tykt. Noen Bacteria har hopanioder (sterol liknende) i membranen -> styrker.

Archaea – eter bindinger mellom glyserol og hydrofob sidekjede. Dannes av isopren-enheter. Lipid monolag for arkea benyttes av termofile, da det øker stabiliteten.



Functions of the cytoplasmic membrane

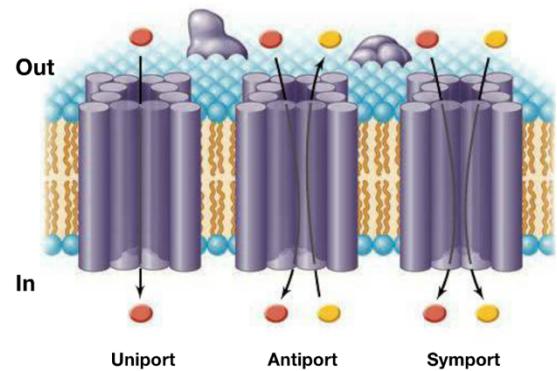
- (a) **Permeability barrier:** Prevents leakage and functions as a gateway for transport of nutrients into, and wastes out of, the cell
- (b) **Protein anchor:** Site of many proteins that participate in transport, bioenergetics, and chemotaxis
- (c) **Energy conservation:** Site of generation and dissipation of the proton motive force

Tre transportmekanismer

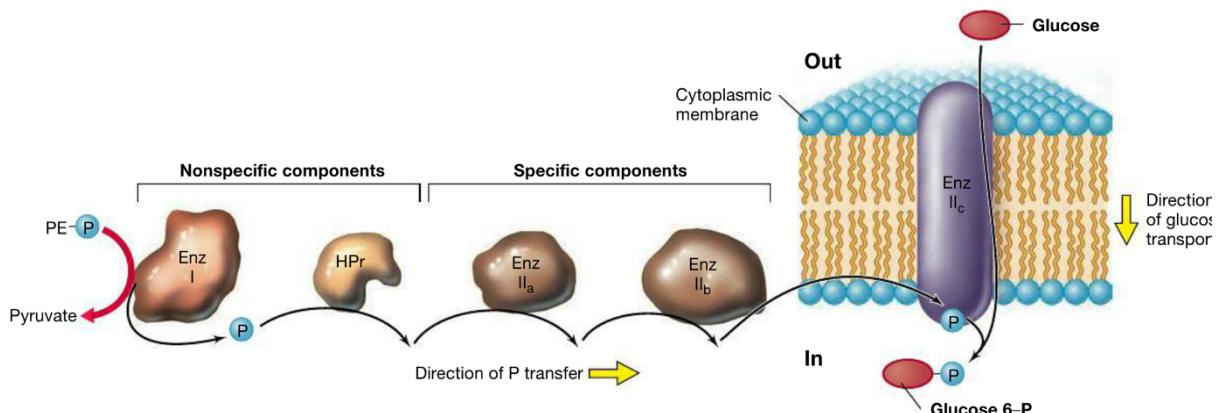
1. Enkel transport
2. Gruppe translokasjon
3. ABC transport system

Tre transporttyper

1. Uniport
2. Symport
3. Antiport



Enkel transport krever kun et H^+ , mens gruppe translokasjon krever at substratet blir fosforylert. Dette skjer gjennom fosfotransferase systemet, hvor fem proteiner overfører fosfatgruppen gjennom en kaskade. Opptaket øker frem til proteinene mettes, etter det stabiliseres opptaket.

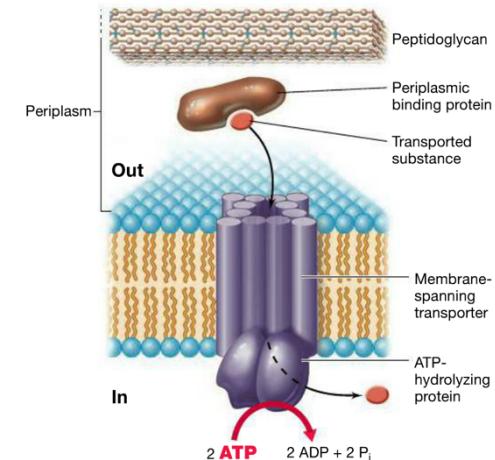


ABC (ATP-bindende cassett) transport består av tre komponenter:

1. Eksternt bindingsprotein lokalisert i periplasma (Gram negativ) og cytoplasmisk membran (Gram positiv)
2. Transporter lokalisert i membran
3. ATP hydrolyserende membranassosiert protein.

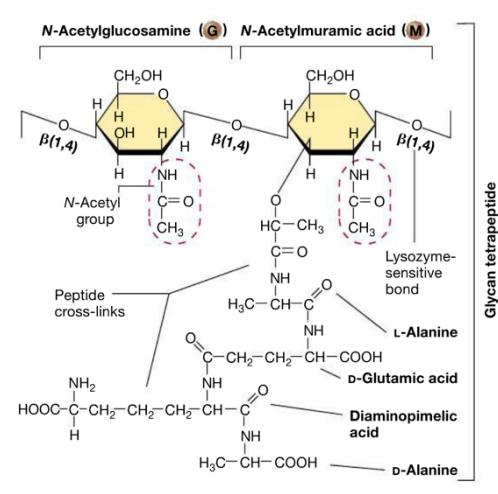
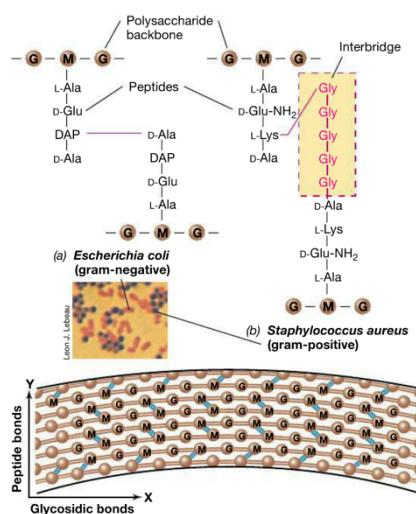
CELLEVEGG

Hvorfor? Cytoplasma har høyt osmotisk trykk og celleveggen forebygger lysering. I tillegg er den med på å gi cellen form og stivhet.



Bakterier:

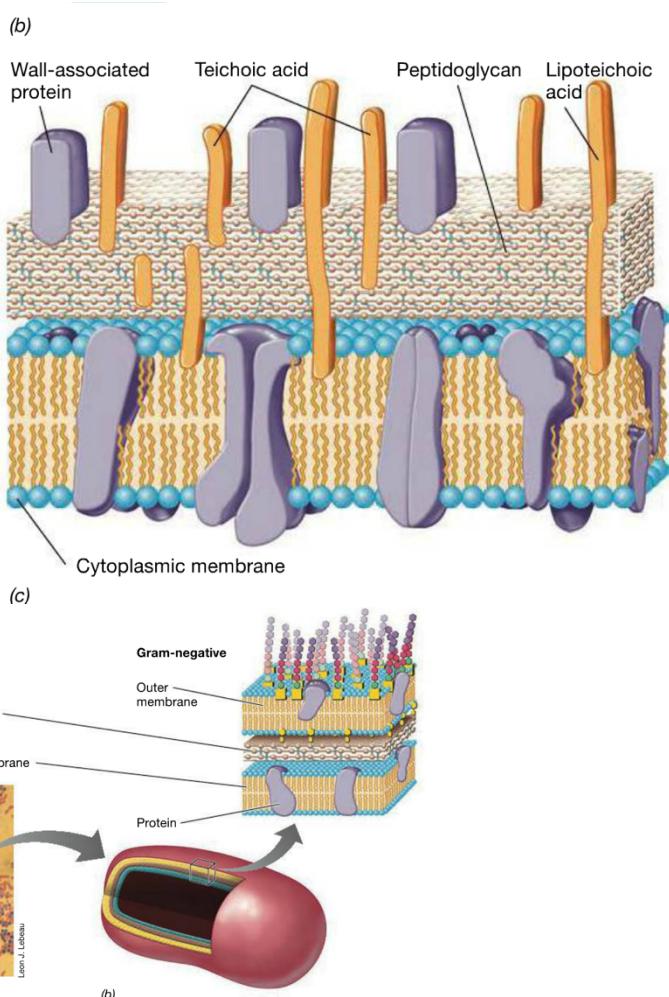
Peptidoglycan polysakkharid av monomerene N-acetylglukosamin og N-acetylmuraminsyre. Flere enheter kobles sammen av en peptidbro. Peptidbroen er ulik i gram positive og negative. Peptidoglycan kløyves av lysozym. Spesielt med peptidoglycan er D stereoisomerene av aminosyrene.



GRAM POSITIV CELLEVEGG

90% peptidoglycan hvor peptidlinken består av en mellombro med varierende innhold avhengig av art. Peptidoglycan syntetiseres i kabler 50 nm brede.

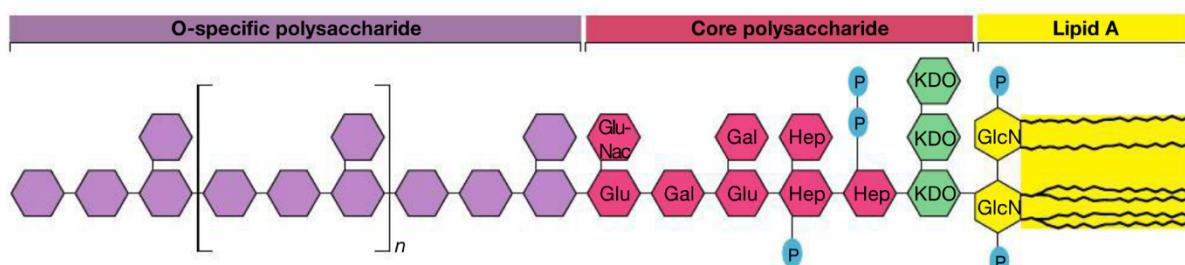
Teichoic syre er festet i celleveggen i mange G⁺ bakterier til NAM. Teichoic syre inkluderer all cellevegg, cytoplasmisk membran og kapselpolymerer bestående av glyserol fosfat eller ribitol fosfat. Bidrar til å gi celleveggen negativ ladning. Lipoteichoic syre er festet til et lipid.

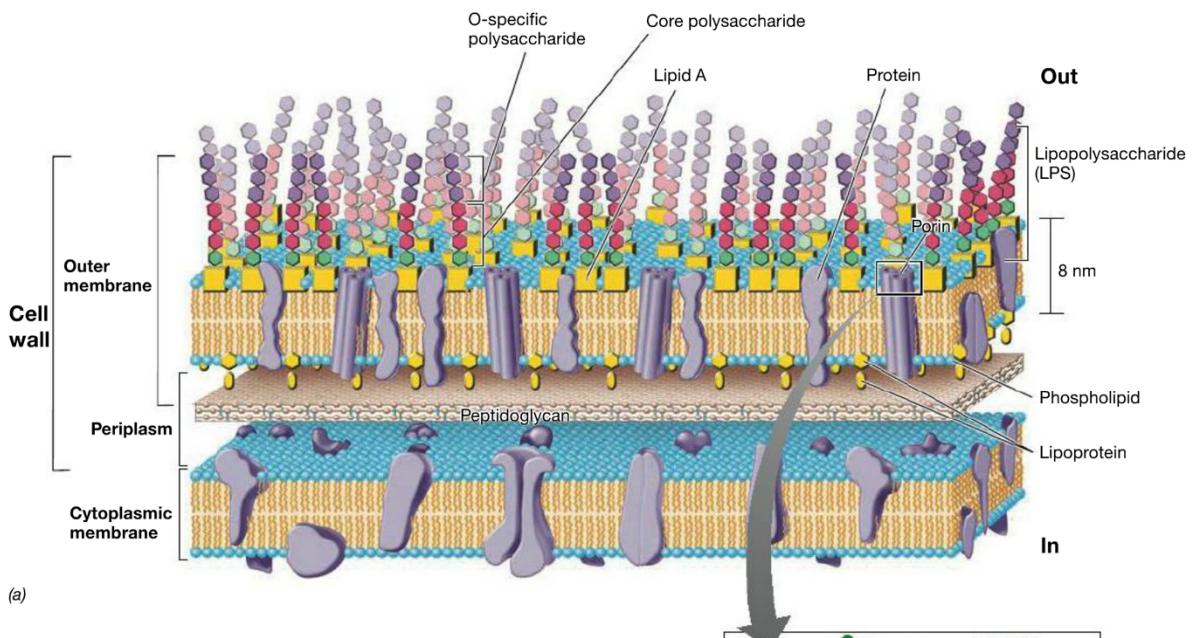


GRAM NEGATIV CELLEVEGG

Liten del som er peptidoglycan, meste parten er den ytre membranen kalt lipopolysakkrid lag (LPS). Polysakkardelen av LPS består av lipid A, kjerne polysakkrid og O-spesifikk polysakkrid. Lipid A kan være toksisk og bakterien blir patogen. LPS erstatter mange av fosfolipidene, og er et anker som knytter den ytre membranen til peptidoglycan.

Mellom de to membranen er periplasma som er 15 nm tykk. I periplasma finnes mange ulike proteiner. Den ytre membranen er relativt permeabel for små molekyler fordi den inneholder poriner.



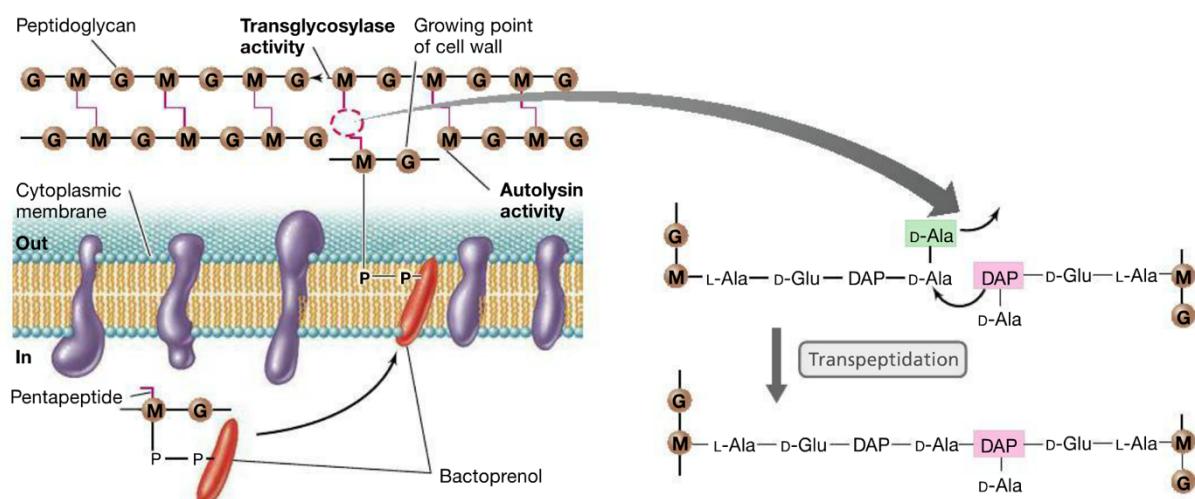
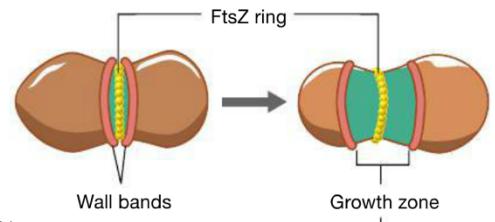


PEPTIDOGLYCAN BIOSYNTSE

I kokker vokser celleveggen i motsatt retning av FtsZ ringen.

Det er flere proteiner involvert i syntesen:

1. N-acetylglukosamin og N-acetylmuraminsyre samt pentapeptidet syntetiseres inne i cellen
2. Bactoprenol et svært hydrofobisk molekyl bindes til synteseforløperne og transporterer de over membranen. Bindingen av bactoprenol gjør hele molekyler ikke polart.
3. Autolysiner hydrolyserer bindingen mellom NAM og NAG.
4. Transglycosylaser setter inn celle vegg forløpere i vekstpunktene og katalyserer glykosidisk binding.
5. Transpeptidering er siste trinn og kobler sammen to peptidoglycan kjeder. FtsI fungerer som transpeptidase i *E.coli*



ARKEA CELLEVEGGER

PSEUDOMUERIN OG ANDRE POLYSAKKARID VEGGER

Finnes i metanogene arkea. Alternerende N-acetylglukosamin og N-acetyltalosaminuerisk (NAT) syre. I tillegg har den $\beta(1-3)$ og ikke $\beta(1-4)$, kun L-aminosyrer og er lysozym og penicillin resistant.

Ekstremt halofile – *Halococcus* – svært sulfonert, den negativt ladde celleveggen blir stabilisert av de positive ladningene.

S-LAG

Parakrystalliske overflate (surface) lag. Består av tverrbundne molekyler av proteiner eller glykoproteiner. Finnes i både arkea og bakteria. S-laget er alltid det ytterste laget.

PROKARYOT UTEN CELLEVEGG

Mycoplasma (Bakteria) – har steroler i membran.

Thermoplasma (Arkea) – lipoglycan . Overlever enten grunnet en sterk membran eller at de lever i osmotisk beskyttende miljøer (eks i dyrekroppen).

Bakterier	Arker
Peptidoglycan (+/- LPS)	Pseudomuerin
S-lag +/- andre komponenter	S-lag
Uten cellevegg	Tykk polysakkridvegg +/- sulfanert glykoproteiner

OVERFLATESTRUKTURER

KAPSLER OG SLIMLAG

Kapselen er en tett matrix av polysakkharid eller proteinlag rundt en celle. Den er festet tett til cellen. **Slimlaget** blir lettere deformert enn det kapselen blir og er festet løst til cellen. Mange bakterier som fester seg til overflater kan lage biofilm (tykt lag med celler). De ytre overflatelagene er alle med på å motvirke dehydrering.

FIMBRILLER

Gir cellen mulighet til å feste seg til overflater, danne pellicles (på flytende overflate) eller biofilm (på solid overflate). Ofte mange fimbriller på en celle.

PILI

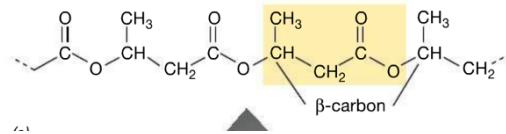
Lengre og færre enn fimbrillene. En/få per celle. Pilusen kan tjene som reseptør for virus, og kan dermed sees i lysmikroskop. Mange klasser pili. Generelt fasiliteter de horisontal genoverføring (konjugering) og muliggjør adhesjon av patogene til spesifikt verts-vev (eks *Neisseria*). Type IV pili fasiliteter adhesjon og muliggjør twitching motility. Disse piliene er lokalisert på polene.

INNVENDIGE STRUKTURER

Felles for alle er at de bidrar til å senke det osmotiske trykket.

LAGRINGSPOLYMERE FOR KARBON

1. PHA – poly- β -hydroxyalkanonate
 - Lipid med monomere varierende mellom C3 og C18, monomerene kobles sammen via esterbindinger. Vanligst med PHB - poly- β -hydroxybutyrisk syre. Lagres i granuler omsluttet av en membran.
2. Glykogen – repeterende enheter av glukose



POLYFOSFAT OG SVOVELGRANOLER

Uorganisk fosfat (PO_4^{3-}) lagres som polyfosfat i granuler.

Sulfur bakteriene – oksiderer H_2S (eller andre reduserte svovelforbindelser) til elementær svovel (S_0). Elementær svovel akkumulerer i granuler lokalisert i periplasma. Når svovelkilden blir begrenset oksideres S_0 videre til SO_4^{2-} .

KARBONATMINERALER

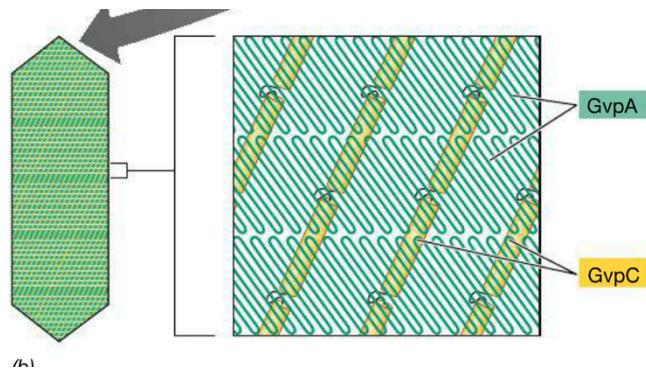
Filamentære cyanobakterier danner karbonatmineraler på utsiden av cellen, mens noen cyanobakterier (*Gleomargarita*) danner de i granuler inne i cellen. Prosessen kalles biomineralisering. *Gleomargarita* danner bensoitt som inneholder Ba, Sr,Ca, Mg – karbonat.

MAGNETOSOMER

Noen bakterier kan orientere seg med et magnetisk felt dannet av intracellulære partikler av Fe_2O_4 (eller Fe_2S_4). Bakteriene utsyrker da magnetotaxi – bevegelse langs jordas magnetiske felt. Partiklene er omsluttet av en tynn membran av fosfolipid, protein og glykoprotein.

GAS VESIKLER

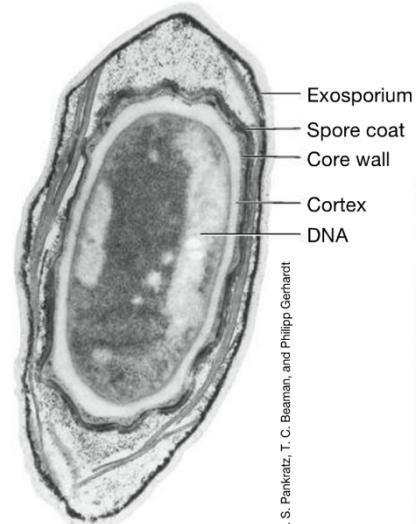
Strukturer som gir oppdrift, finnes i både Bacteria og arkea, og er vanlig i cyanobakterier. Gas vesiklene kan brukes til å få optimal fotosyntese. Strukturen er kjegleformet og er hul, men rigid. Størrelse og dimensjoner varierer avhengig av art. Den er u gjennomtrengelig for vann og oppløste stoffer, men permeabel for gass. Vesiklene er bygget opp av to proteiner, GvpA (vanntett) og GvpC (styrke)(Gvp=gass vesikel protein).



ENDOSPORER

Endospore formasjon er kun oppdaget i arter som er gram positive. *Bacillus* og *Clostridium* er godt studert. Prosessen med å danne endosporer kalles sporulering. Endosporer er ekstremt resistente mot varme, kjemikalier og radiosjon. Endosporen kan enten dannes i terminal, subterminal ende eller i sentrum av den vegetative cellen. Livssyklusen er vegetativ – endospore – vegetativ. Når cellen går fra endospore til vegetativ går den gjennom aktivering – spiring – vekst. De fleste endosporer dør ved 121 grader.

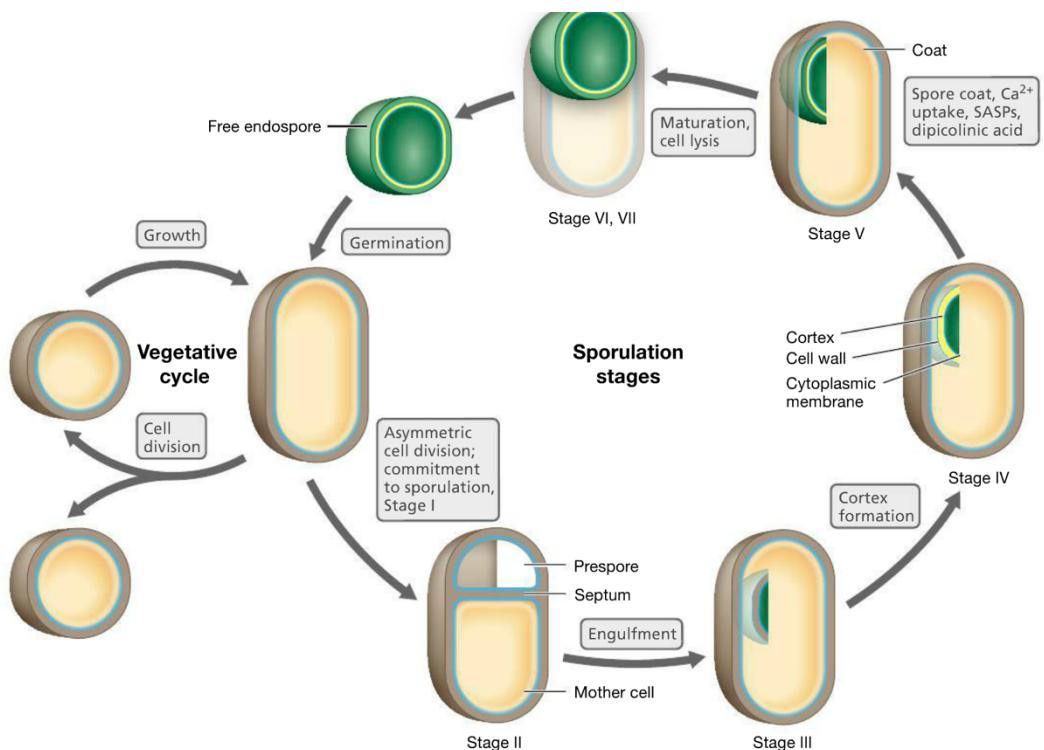
Strukturelt er endosporen svært ulik den vegetative cellen (se figur). F.eks finnes dipicolin syre (DPA) og små syre løselige proteiner (SASPs) i kjernen.



I. S. Parkratz, T. C. Beaman, and Philipp Gerhardt

Table 2.3 Differences between endospores and vegetative cells

Characteristic	Vegetative cell	Endospore
Microscopic appearance	Nonrefractile	Refractile
Calcium content	Low	High
Dipicolinic acid	Absent	Present
Enzymatic activity	High	Low
Respiration rate	High	Low or absent
Macromolecular synthesis	Present	Absent
Heat resistance	Low	High
Radiation resistance	Low	High
Resistance to chemicals	Low	High
Lysozyme	Sensitive	Resistant
Water content	High, 80–90%	Low, 10–25% in core
Small acid-soluble spore proteins	Absent	Present



BEVEGELSE

BAKTERIEFLAGELLA

Flageller har som funksjon å dytte eller dra en celle gjennom en væske. De er festet til bakterien i den ene enden, og kan ikke sees uten farging. Vanlig metode er **Leifson farging** som bygget opp et harpiks lag.

Polar flagellering – flagella er festet i en eller begge polene (b)

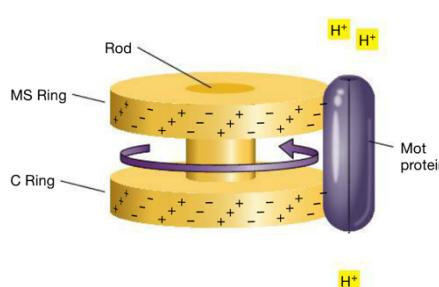
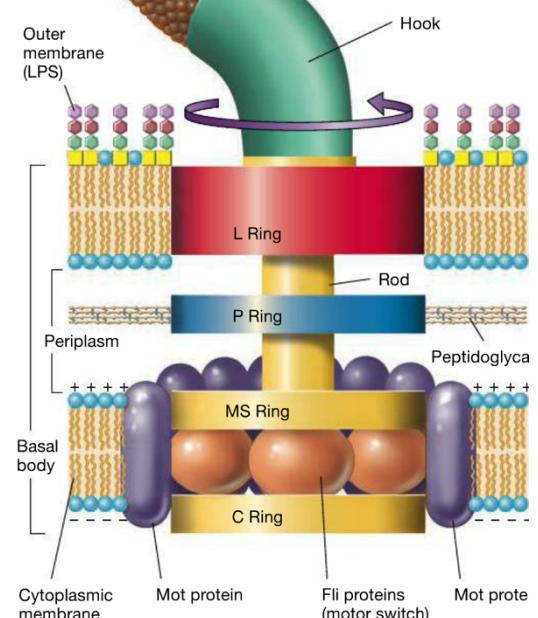
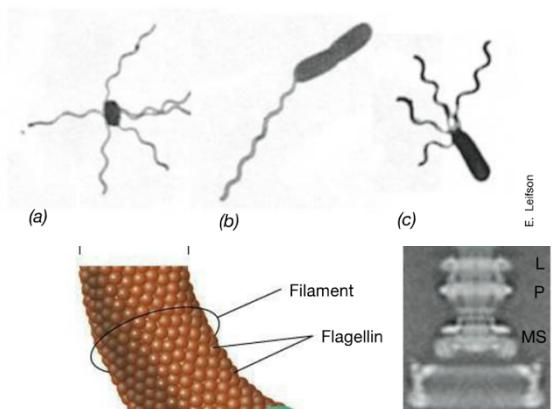
lophotrichous – tuft av flageller festet i en pol (c)

amphitrichous – tuft i begge poler

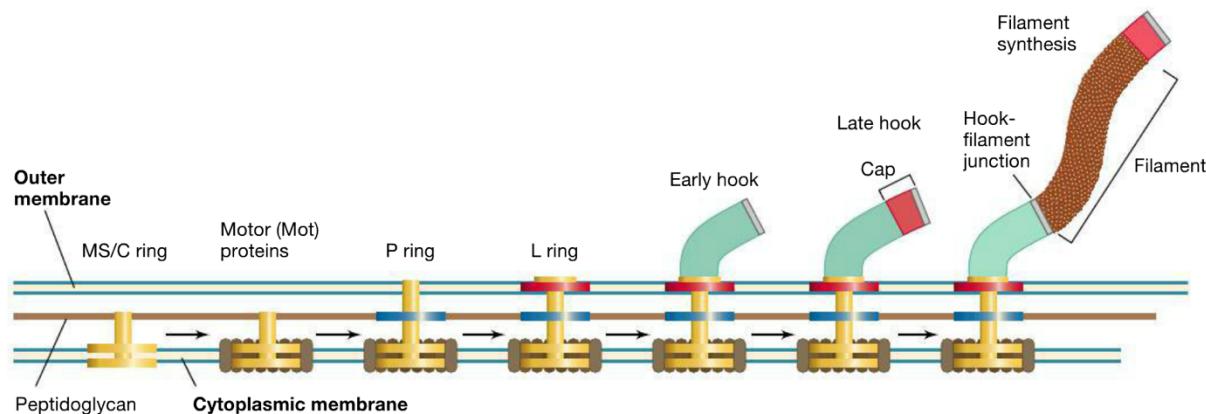
Peritrichous flaggelering – flagella på mange steder (a)

Flagellen er en helix som når man flater den ut har konstant bølgelengde karakteristisk for en art. Filamentet er bygget opp av **flagellin**, konservert DNA sekvens. Basen av flagellen er strukturelt ulik filamentet og kalles krok. Motoren er festet i den cytoplasmisk membran og cellevegg. G⁻: L ring festet til LPS laget, P ring festet i peptidoglycan, MS og C ring lokalisert i cytoplasmisk membran og cytoplasma. G⁺: mangler L-ringen. **Mot** proteinene er der H⁺ stømmer gjennom (1000 protoner per rotasjon). Fli proteinene fungerer som brytere.

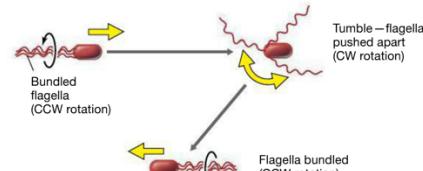
Flagellen deles inn i rotor og stator (festet i membranen).



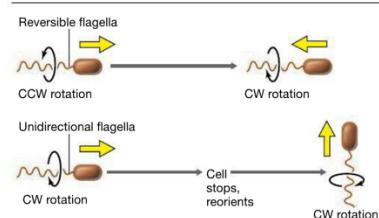
Syntese: flagellen vokser fra tuppen. MS/C ringen syntetiseres først, deretter ankrings proteinene og deretter P ring, L ring, kroken og filamentsyntese. Filamentet er hult og proteiner transporteres til tuppen der cap proteiner hjelper til å feste flagellin proteinene.



Flageller brukes til å karakterisere bakterier, men det er viktig å huske at selv om bakterier kan utvikle flagella betyr ikke at den nødvendigvis gjør det (!!).



(a) Peritrichous



(b) Polar

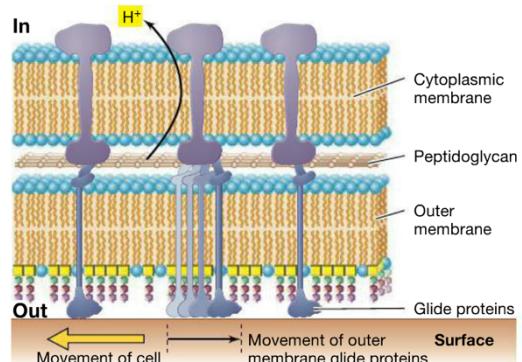
ARKEFLAGELLA

Halvparten av diametren til bakterier, og flere proteiner utgjør flagella proteinene. Genetisk svært ulikt bakteriene som tyder på uavhengig evolusjon. *Halobacterium*'s flagell får energi fra ATP ikke H⁺.

GLIDENDE BEVEGELSE

Cyanobakterier glir ved å utskille et polysakkharid som fører til at cellen dras fremover. Type IV pili drar også cellen fremover. En tredje mekanisme er et protein kalt glidende proteiner brukt av *Flavobacterium*.

Chlamydomonas har en spesiell form for bevegelse, padling drevet av ATP transport.



TAXI

Taxi = retningsbestemt bevegelse mot eller fra noe

Eksempler er kjemo-, foto-, aero-, osmo- og hydrotaxis. En gradient av noe er naturlig. Bakterier responserer på temporale forskjeller, ikke spatiale.

KJEMOTAXI

I peritrichously flaggelerte bakterier er bevegelsen delt inn i runs og tumbles. Mot et attraktant blir runs lengre og tumbles kortere, motsatt mot en repellent. For polar flagellerte er det litt annerledes. *Rhodobacter sphaeroides* løper og stopper hvor den reorienteres tilfeldig. *Pseudomonas* kan få flagellen til å gå motsatt vei.

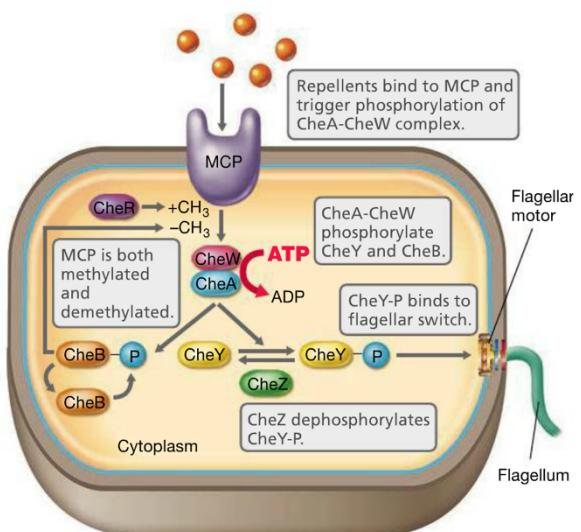
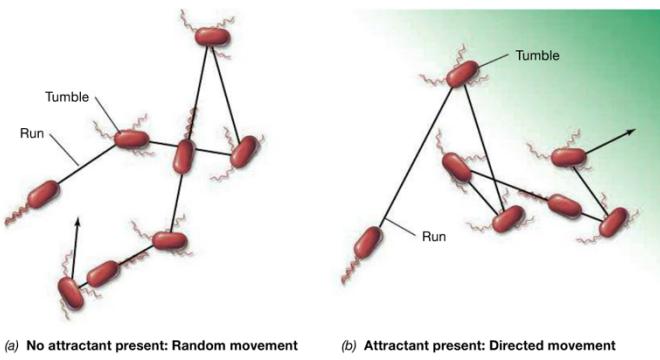
Kjemotaxi kan måles med kapillærmetoden eller med time lapse mikroskopi.

Regulering av kjemotaxi

Sensor proteinet er MCPs (metyl akseptorerende kjemotaxi protein) som binder både repellenter og attraktanter. Binding av repellent til MCPs fører til autofosforylisering av CheA-CheW komplekset. CheA vil videre overføre fosforgruppa til CheB eller CheY. CheY-P vil føre til rotasjon med klokka (tumble). CheB-P vil fjerne methylgrupper fra MCP. CheR metylerer MCP. Når MCP helt metylert vil den ikke respondere på attraktanter og er mer sensitiv for repellenter. Attraktanter senker raten av autoforsforylisering, mens repellenter øker raten. Attraktanter fører til mindre fosforylisering av CheA-CheW og kaskaden stopper opp.

FOTOTAXI

Mot lys. Scotophobotaxi – observeres når bakterier kommer i mørke, da vil den prøve å komme tilbake til lyset. Mekanisme for å ikke havne i mørke. Ekte fototaxi er når cellen orienterer seg etter intensitetsforskjeller.

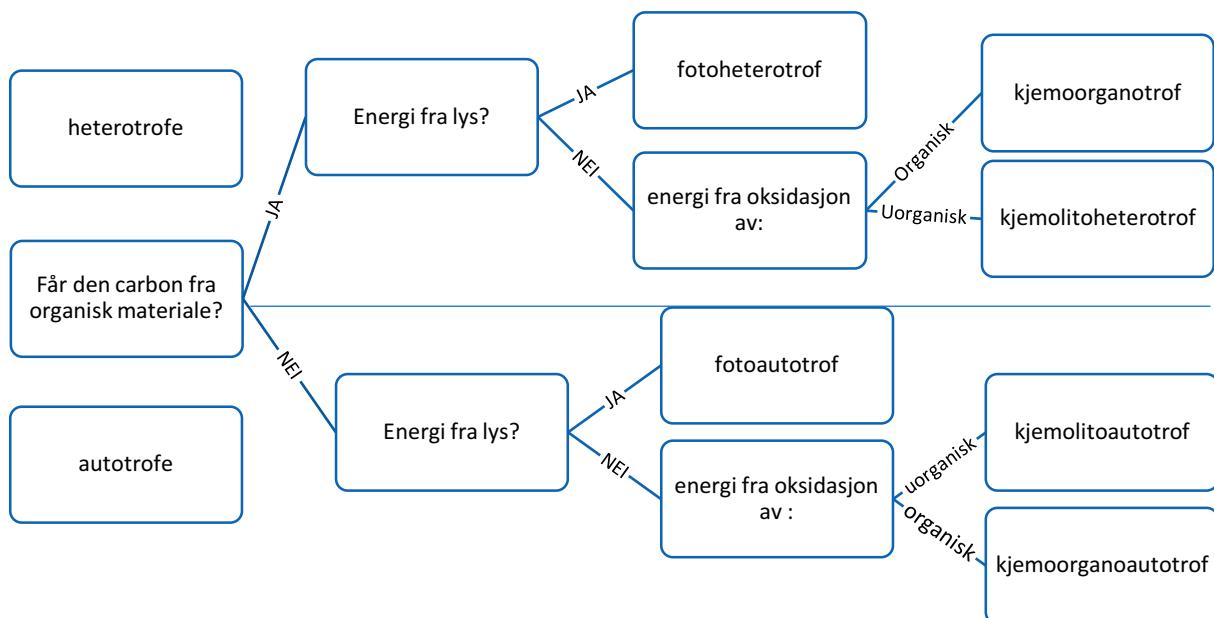
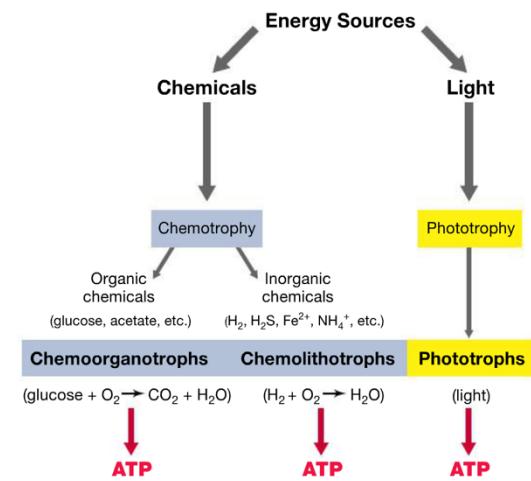


METABOLISME

ENERGIKLASSER

Metabolisme omfatter alle reaksjonene i en celle og katabolisme alle reaksjoner som gir energi. Mikroorganismer deles inni grupper basert på hvordan de får energi: kjemotrofe(kjemoorganotrofe og kjemolitotrofe) og fototrofe.

Deles også inn i grupper basert på hvordan de skaffer seg karbon: heterotrofe og autotrofe. Av de fotoautotrofe finnes det to hovedinndelinger, oksygenisk og anoksygenisk fotosyntese. Den oksygeniske produserer O_2 og er vanlig i cyanobakterier, anoksygenisk produserer ikke O_2 , vanlig i lilla og grønn bakterier.

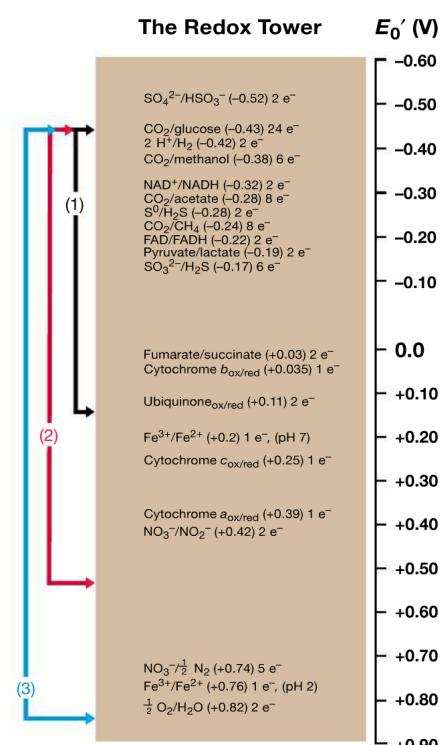


Dersom organismer kun kan oppta energi fra organisk materiale i tilstedevarsel av oksygen er organismen **aerob**, de som ikke kan være tilstede ved oksygen er **anaerobe**. **Fakultativ aerobe** kan bryte ned uavhengig av oksygen.

ELEKTRON DONOR OG AKSEPTOR

Energien fra redoks reaksjoner brukes til å lage energirike forbindelser (ATP). Elektrondonoren er den som blir oksidert, elektron akseptor blir redusert. Reduksjonspotensiale forteller om evnen til å bli oksidert eller redusert, den med mest negativ E_0' donerer elektroner. O_2 er den beste elektronakseptoren.

Elektronbærere er ofte involvert, for eksempel NADH som er en god elektron donor.

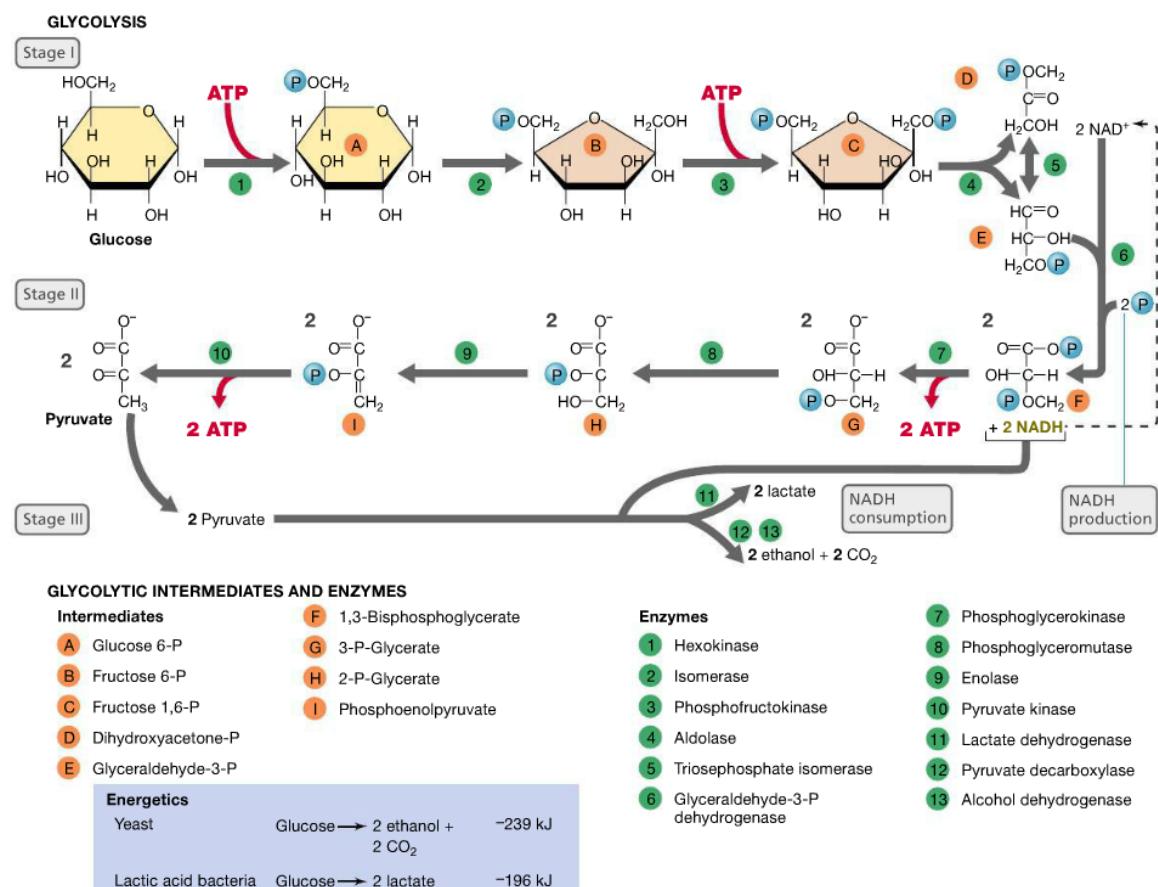


GLYKOLYSSEN

Glyklysen må gjennomføres både for fermentering og respirasjon. Under fermentering er det kun substrat nivå fosforylering, mens det i respirasjon også er oksidativ fosforylering.

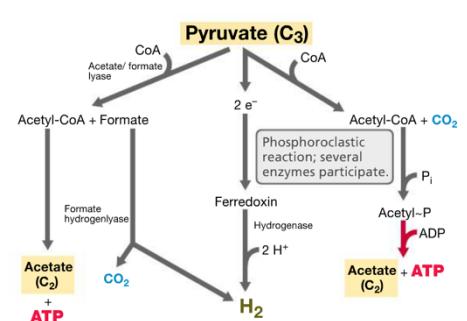
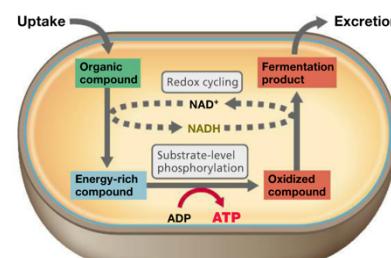
Under glyklysen blir glukose omdannet til pyruvat, det dannes to ATP. Prosessen er delt inn i tre trinn.

1. Forberedende del
2. Produksjon av NADH, ATP og pyruvat
3. Redox balanse og fermentering



FERMENTERING

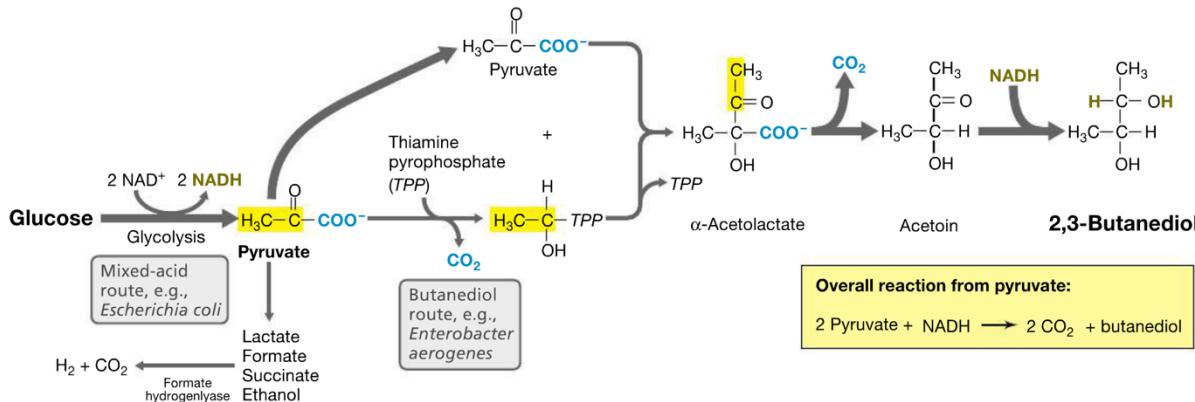
En organisk forbindelse er både elektron donor og akseptor. Det finnes utallige mange ulike fermenteringsspor. Fermentering gis navn fra produktet (alkohol, melkesyre, propionsyre osv.) eller start-substratet (aminosyre(*clostridium*), purine, pyrimidine, osv). *Saccharomyces cerevisiae* kan både fermentere og respirere, og utnytter den metabolismen som genererer mest ATP som er aerob respirasjon. Mange fermenteringer har H₂ som et av fermenteringsproduktene.



MIXED ACID FERMENTERING

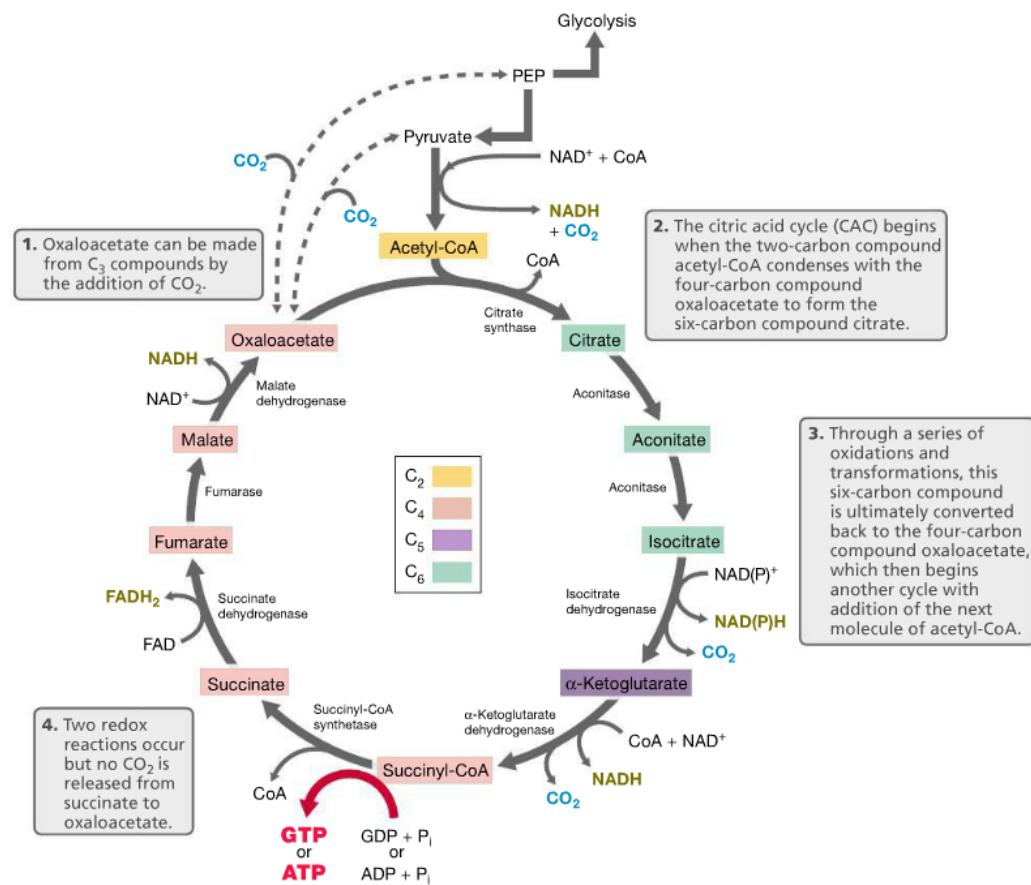
Karakteristikk for enteriske bakterier hvor det dannes tre syrer; eddik-, melke-, og ravsyre (etanol, CO_2 og H_2 er også typiske produkter). Videre er det delt inn i to hovedgrupper;

1. blandet syre hvor CO_2 og H_2 er i like mengder. ($\text{HCOOH} \rightarrow \text{H}_2 + \text{CO}_2$ via enzymet format hydrogenlyase).
2. 2,3-butanediol fermentering hvor hovedproduktet er butanediol, etanol, CO_2 og H_2 . Kjennetegnes ved mindre syre og mer enn gass enn nr (1).



AEROB RESPIRASJON

Aerob respirasjon: Elektron donor oksideres med O_2 eller liknende som terminal elektron akseptør. Glukose omdannes til pyruvat som videre oksideres til CO_2 . Totalt genereres det 38 ATP.



(a) The citric acid cycle

Energetics Balance Sheet for Aerobic Respiration

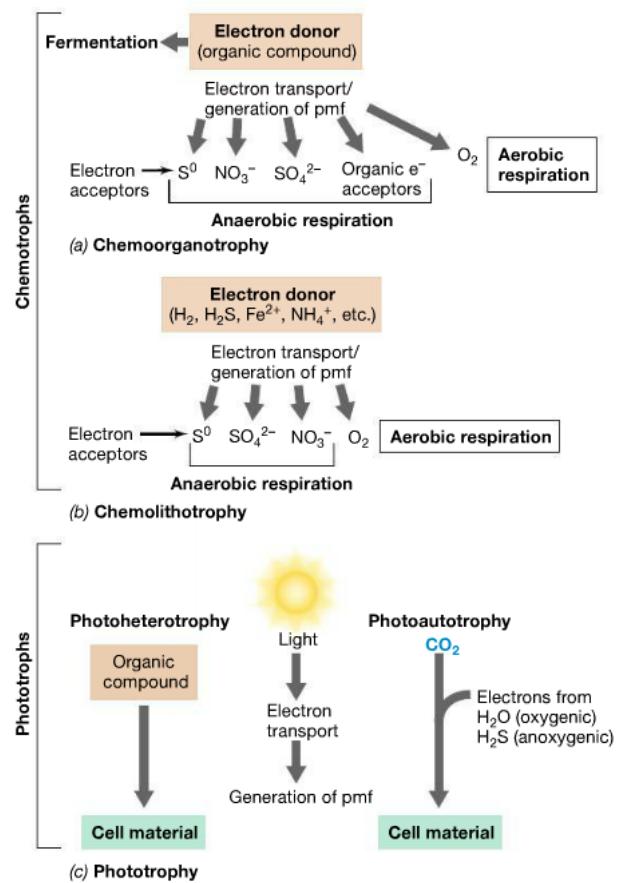
(1) Glycolysis: Glucose + 2 NAD^+ —————	2 Pyruvate + 2 ATP + 2 NADH
(a) Substrate-level phosphorylation 2 ADP + P _i → 2 ATP	
(b) Oxidative phosphorylation 2 NADH → 6 ATP	8 ATP
	to CAC to Complex I
(2) CAC: Pyruvate + 4 NAD^+ + GDP + FAD —————	3 CO_2 + 4 NADH + FADH ₂ + GTP (ATP)
(a) Substrate-level phosphorylation GDP + P _i → GTP (ADP) (ATP)	
(b) Oxidative phosphorylation 4 NADH → 12 ATP 1 FADH ₂ → 2 ATP	15 ATP (× 2)
	to Complex I to Complex II (See Figure 3.20)
(3) Sum: Glycolysis plus CAC —————	38 ATP per glucose

ANAEROBISK RESPIRASJON

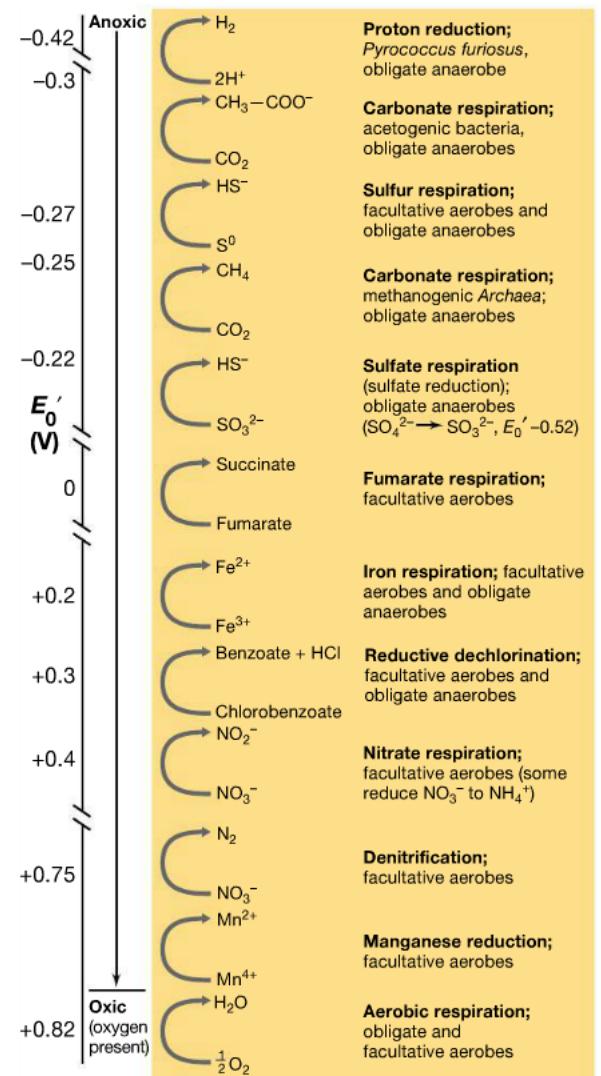
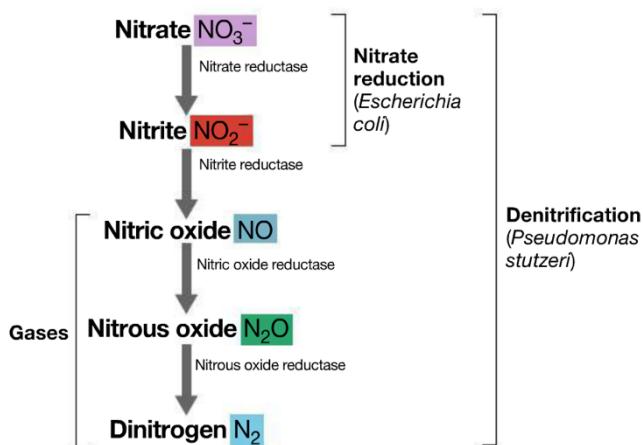
Noe annet enn O_2 er terminal elektron akseptor. Generelt blir mindre energi konservert når O_2 ikke er akseptor. Elektrontransportkjeden er lik, og PMF dannes som normalt.

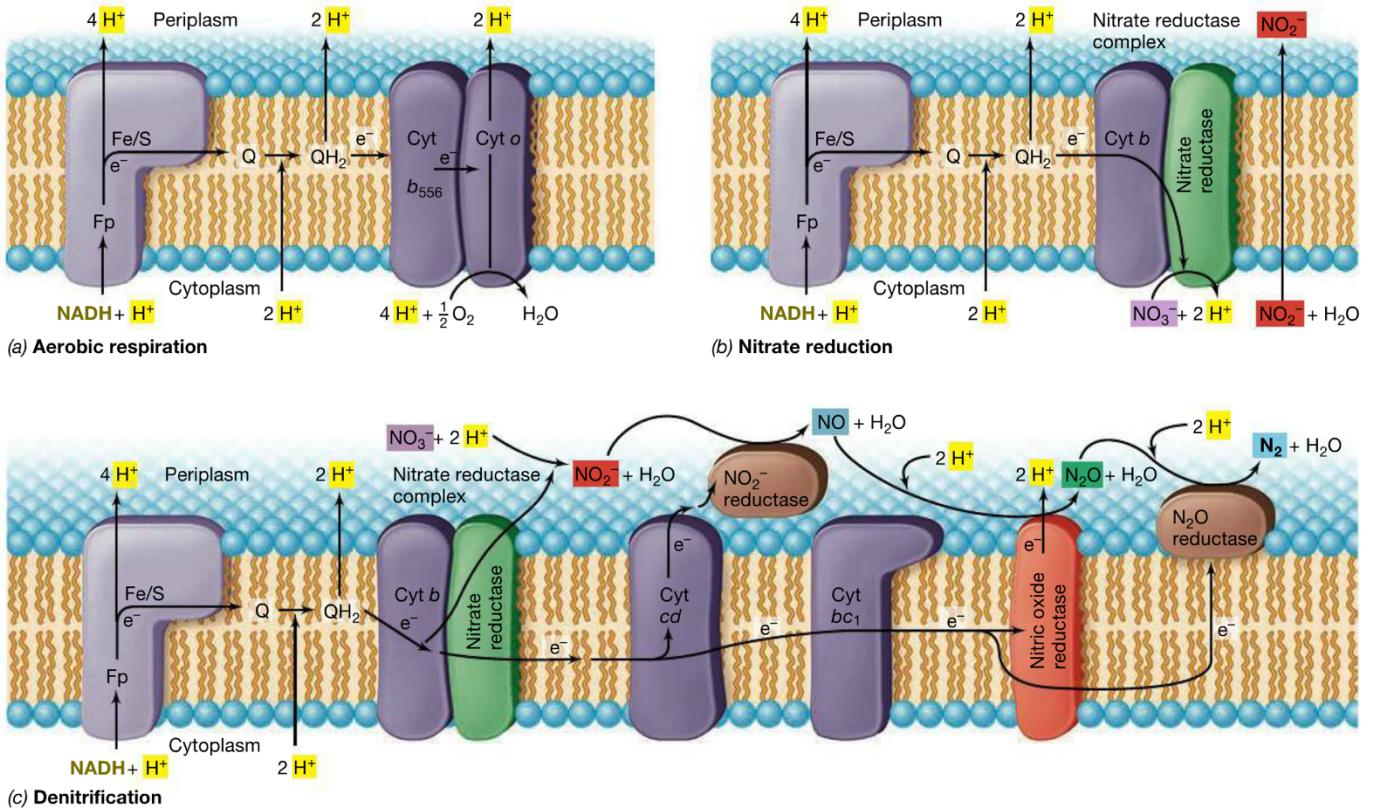
NO_3^-	NO_2^-	<i>E.Coli</i>
NO_3^-	N_2	<i>Pseudomonas</i>
Fe^{3+}	Fe^{2+}	<i>Geobacter</i>
SO_4^{2-}	H_2S	<i>Desulfovibrio</i>
CO_3^-	Metan	<i>Metanogene</i>
CO_3^-	Acetate	<i>Acetogene</i>

Assimilativ metabolisme er når et uorganisk stoff brukes som kilde til noe og reduseres for å brukes som byggestein. Dissimilativ reduksjon er når det uorganiske stoffer kun skal brukes til energi.



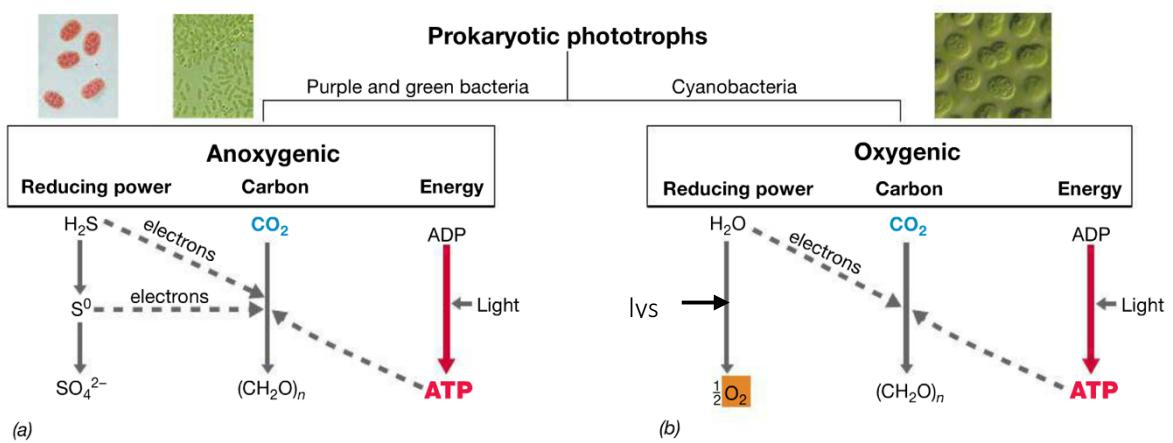
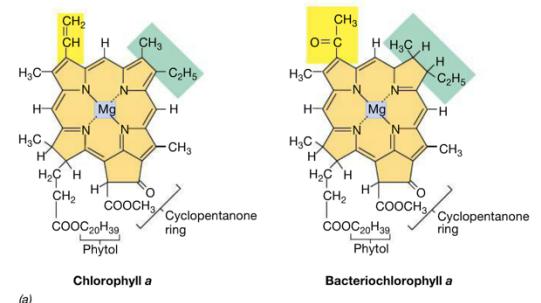
Denitrifisering – anaerobisk respirasjon der nitrat (NO_3^-) reduseres til nitrogengasser (primært N_2). *Proteobacteria* har mange denitrifiserende bakterier.





FOTOTROPI

Fototropi er bruken av lysenergi. En viktig biologisk prosess er **fotosyntesen** hvor lysenergi omdannes til kjemisk energi og utføres av fototrofe organismer. Fotosyntesen krever lys sensitive pigmentmolekyler, enten klorofyll eller bakterioklorofyll. Klorofyll er karakteristisk for planter, alger og cyanobakterier, mens bakerioklorofyll er vanlig i lilla og grønne bakterier. Avhengig av om det produseres oksygen er fotosyntesen enten oksygenisk eller anoksypogenisk. Det kreves lys for å spalte vann.



Klorofyll og bakterioklorofyll er ganske like, begge har Mg i senter av ringen sin. De består av en porfyr ring med fytolkjede. Klorofyll a er grønn, mens bakterioklorofyll absorberer i det gule og røde spekteret.

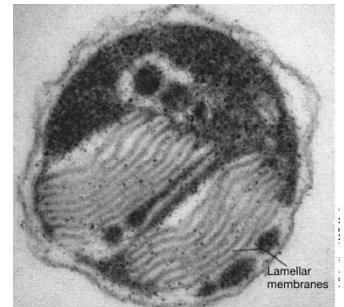
Reaksjonssentre: pigmentene er festet til proteiner som videre er festet i membranen. Sammen danner de fotokompleks, med mellom 50-300 pigmenter i et protein. Pigmentene i reaksjonssenteret er direkte med på ATP syntese. Rundt reaksjonssenteret ligger antenne pigmentene som absorberer lys og overfører energien til reaksjonssenteret.

Fotosyntetiske membranen: I eukaryote er de fotosyntetiske pigmentene og proteinene lokalisert i kloroplasten, og membranen kalt thylakoide stabelt i grana. Prokaryote derimot har ikke organeller, derimot blir den cytoplasmiske membranen invaginert. I lilla bakterier er det vanlig med kromatoforer eller lamellae. I cyanobakterier kalles invagineringen thylakoide.

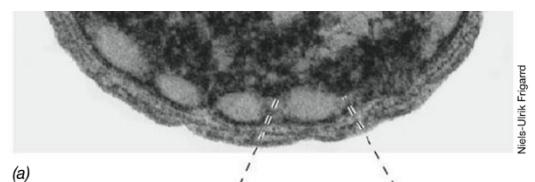
Klorosomen er den ultimate struktur for å fange lys med lav intensitet og finnes i anoksygeniske grønne svovel bakterier og grønne ikke-svovel bakterier. Klorosomene fungerer som høstningskompleks, men er ikke festet til proteiner. Inneholder bakterioklorofyll c, d eller e. Energien fanget av klorosomen sendes til reaksjonssenteret gjennom FMO proteiner.

Karotenoider: hydrofobiske pigmenter som er festet i den fotosyntetiske membranen. Karotenoidene absorberer i den blå regionen av spekteret og er gule, røde, brune eller grønne. De kan overføre energi til raksjonssenteret, men deres primære oppgave er å være fotoprotektive agenter.

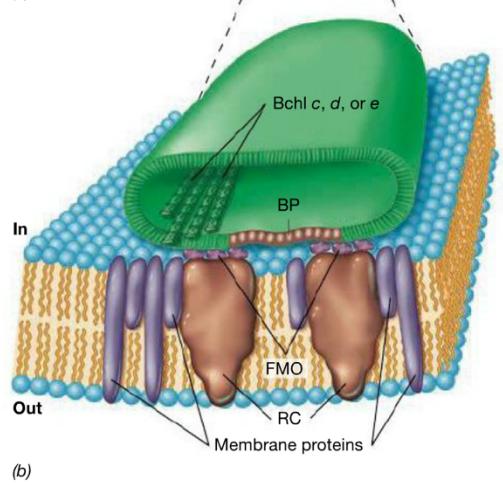
Phykobiliproteiner – pigmenter som finnes i cyanobakterier og rødalger. De fungerer som lysfangende system. Phylobiloproteinene består enten av røde eller blå tetrapyrroler, kalt henholdsvis phycoerythrin og phycocyanin. Proteinene aggrererer til phycobilisomer som fester seg i membranen.



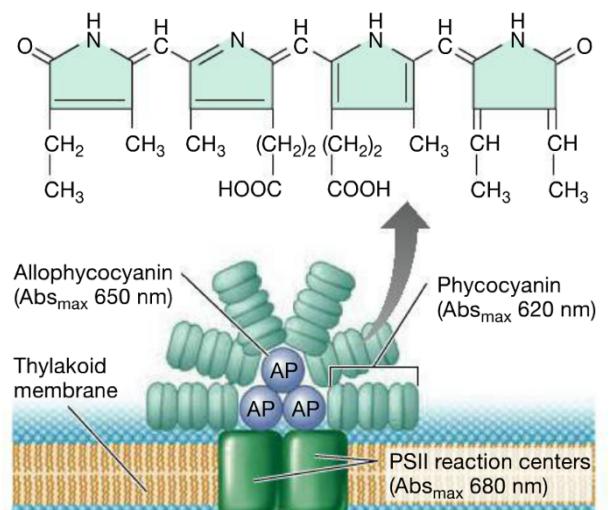
FIGUR 1: FOTOSYNTETISK MEMBRAN, LLAMMELAR



(a)

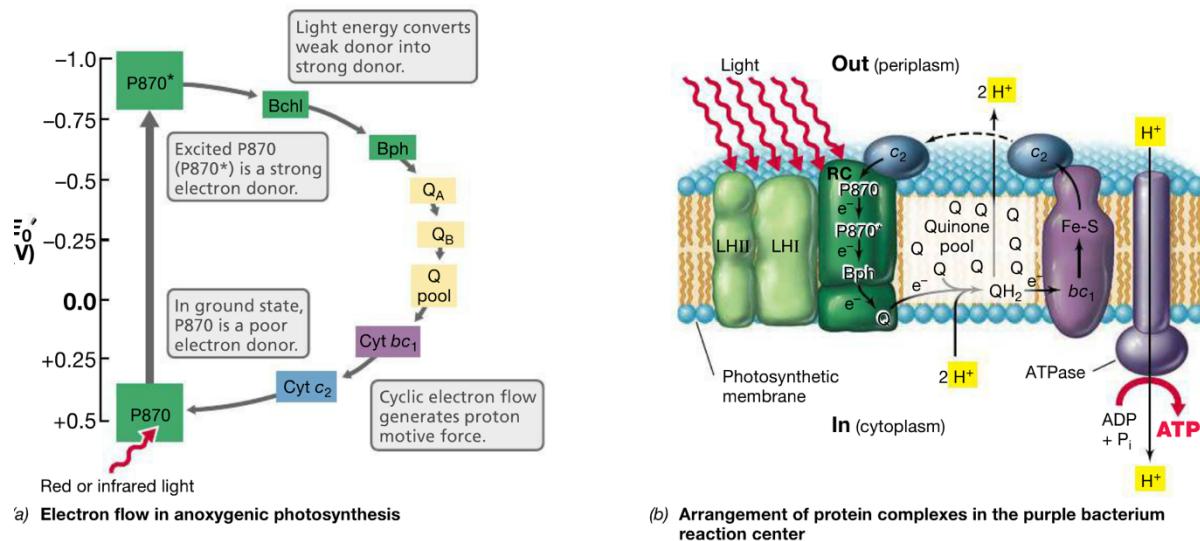


(b)



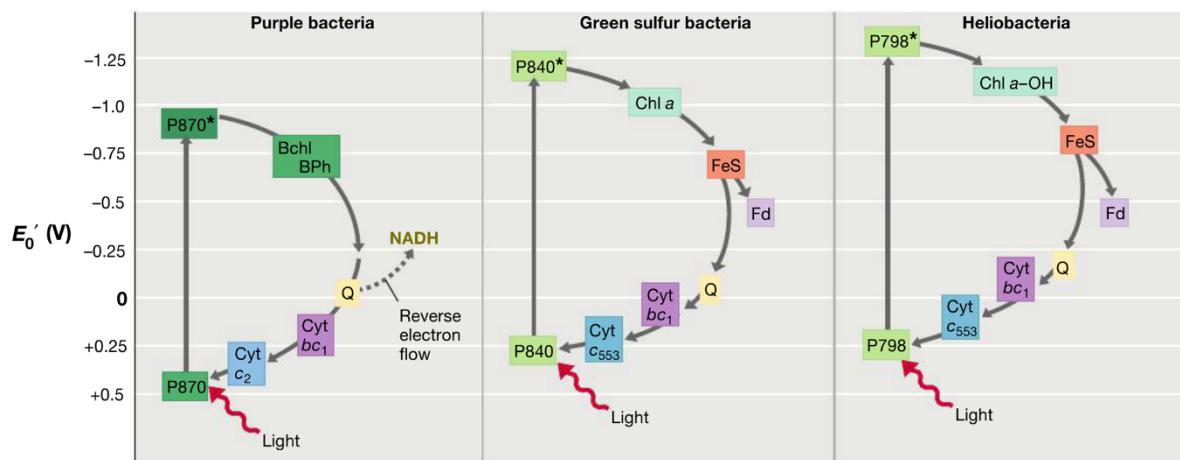
ANOKSYGENISK FOTOSYNTSE – LILLA BAKTERIE

Lilla bakterier har reaksjonssentre som inneholder tre polypeptider, L M og H. Disse binder 4 bakterioklorofyll a (2 spesial paret, 2 til elektron strøm, 2 bakteriopheophytin, 2 quinoner og en karotenoid). Elektronene flyter gjennom membranen fra bærere med lav E_0 til bærere med høyere E_0 . Dette generer PMF. ATP syntesen kalles syklisk fotofosforylering, fordi elektronene går i en syklus.



Ikke nok med bare ATP, NADH trengs også for å redusere CO₂. Da trengs en reduksjonskraft f.eks H₂S. Lilla svovel bakterier: H₂S er elektron donor og det dannes S₀ globuler. Elektronene samles i quinone bassenget, men quinone er ikke elektronegativ nok til å redusere NAD⁺. Elektroner må tvinges mot sin konsentrationsgradient. Denne prosessen kalles **revers elektron transport** og krever energi.

Syklisk elektron strøm i grønne svovelbakterier og heliobakterier også, men her er eksitert reaksjonssenter mye mer elektronegativt og energien kan utnyttes til å redusere NAD⁺, dermed er ikke revers elektrontransport nødvendig.



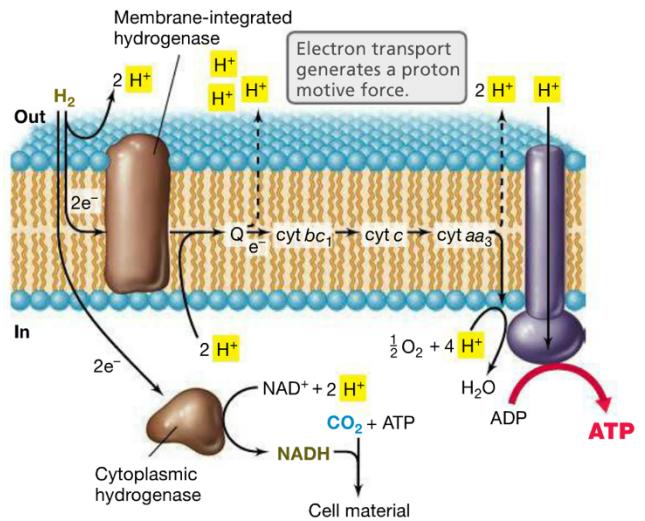
KJEMOLITOTROFI

Kjemolitotrofe organismer konserverer energi ved å oksidere uorganiske organismer. De fleste kjemolitotrofe er autotrofe. For autotrofe som bruker CO₂ som eneste karbon kilde trengs ATP og en reduserende kraft. Noen organismer er litomiksotrofe, de bruker organiske forbindelser som karbonkjede, og får energi via uorganiske forbindelser.

HYDROGEN OKSIDASJON

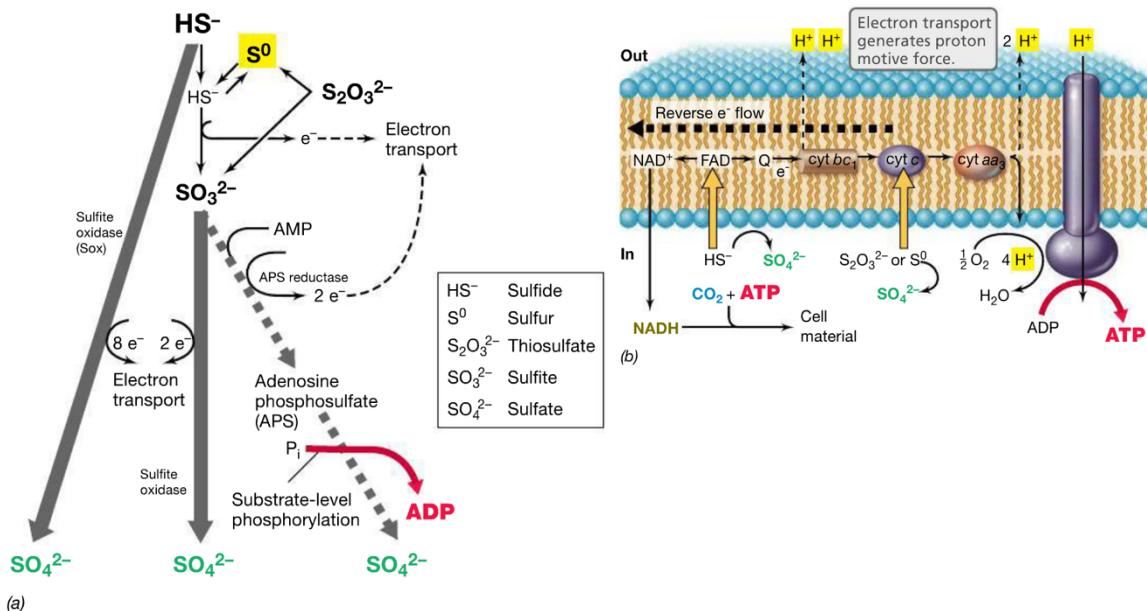
Hydrogen bakterier bruker H_2 som elektron donor. Fokus er på aerobe H_2 oksiderende bakterier som kobler H_2 oksidasjon og reduksjon av O_2 til H_2O . Denne reaksjonen krever hydrogenase. Noen bakterier kan produsere to typer hydrogenaser, en cytoplasmisk og en membranbundet. De som kun lager en hydrogenase syntetiserer den membranbundne, som da katalyserer både energikonservasjon og autotrofi.

De fleste kan vokse som kjemoorganotrofe også, og når de vokser kjemolitotroft fikserer de CO_2 via Calvin syklusen. Når sukkermolekyler som glukose er tilgjengelige bruker H_2 -bakterien dem. Dermed er de fakultativ kjemolitotrofe. Dette er en lur strategi ettersom de fleste oksiske miljøer inneholder lite H_2 ettersom (1) H_2 er et fermenteringsprodukt og (2) mange anaerobe prokaryote utnytter H_2 slik at det ikke når den oksiske sonen. De fleste observerte er mikroaerofile.



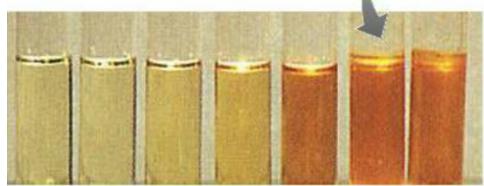
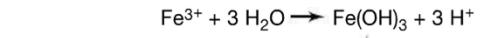
REDUSERTE SVOVELFORBINDELSE OKSIDASJON

De vanligste svovelforbindelsene som blir oksidert er hydrogen sulfid (H_2S), elementær svovel (S_0), tiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) og sulfitt (SO_3^{2-}). Som regel er sulfat (SO_4^{2-}) oksideringsprodukt, men første oksideringstrinn er som regel S_0 . Elementær svovel kan lagres i granuler inne i cellen. Når det ikke er mer av de reduserte svovelforbindelsene igjen kan cellen oksidere S_0 videre, enten fra granulen eller fra krystaller ekstracellulært. Da må S_0 atomene løses opp, dette gjøres over membranen der $S_0 \rightarrow SH^-$.

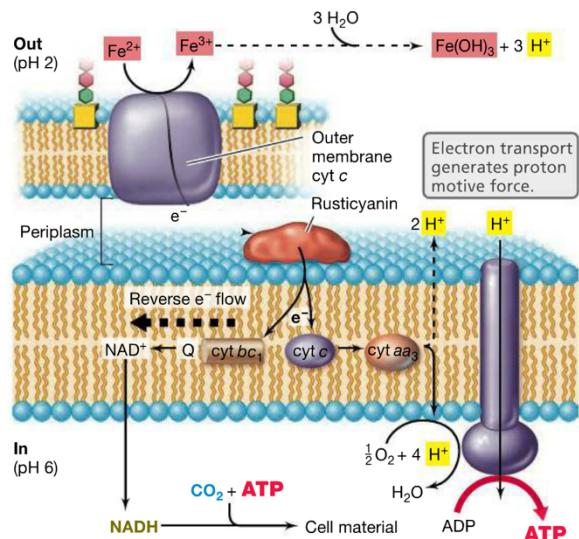


JERN OKSIDASJON

Aerobisk oksidasjon av toverdig jern til treverdig jern. Reduksjonspotensiale er litt positivt, og blir enda mer positivt ved lavere pH. Dette medfører at det må gjøres mange oksidasjoner for å øke cellemassen. Etter oksidasjonen reagerer treverdig jern spontant med vann og danner $\text{Fe(OH)}_3 + 3\text{H}^+$. Dette bidrar til å senke pH. Mange jernoksidende bakterier er dermed acidofile.

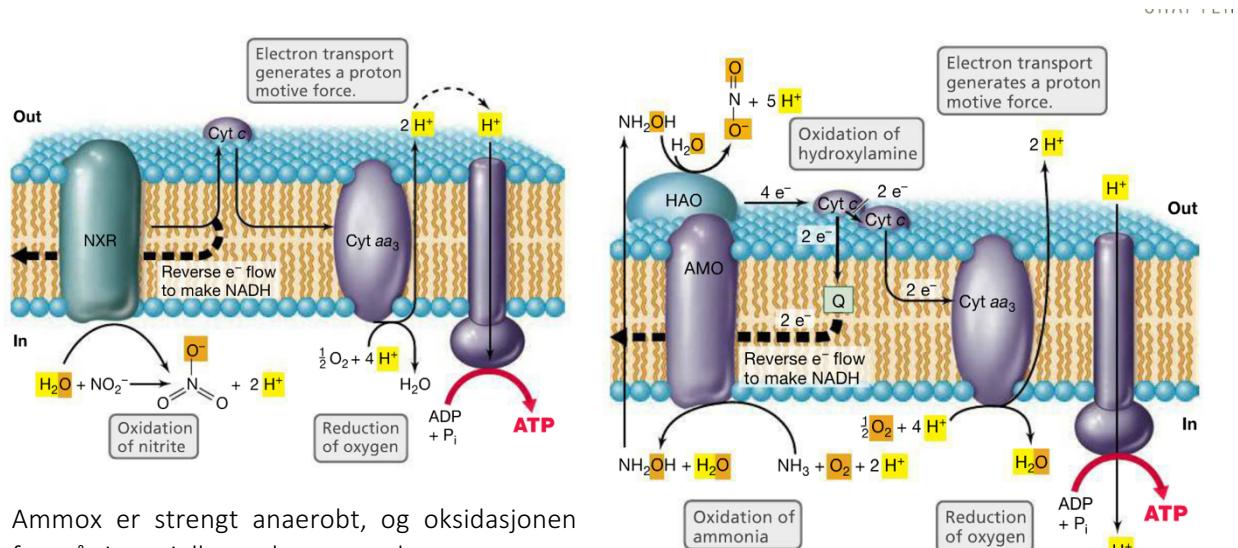


Acidithiobacillus ferrooxidans og *Leptospirillum ferrooxidans* gror på treverdig jern som elektron donor helt ned på pH 1. Et problem med jernoksidasjon er at oksidasjonen er helt spontan ved nøytral pH, jernoksidende bakterier blir dermed begrenset til å leve i spesifikke områder. Oksidasjonen i seg selv krever litt energi, reaksjonen dras fremover av den spontane dannelsen av Fe(OH)_3

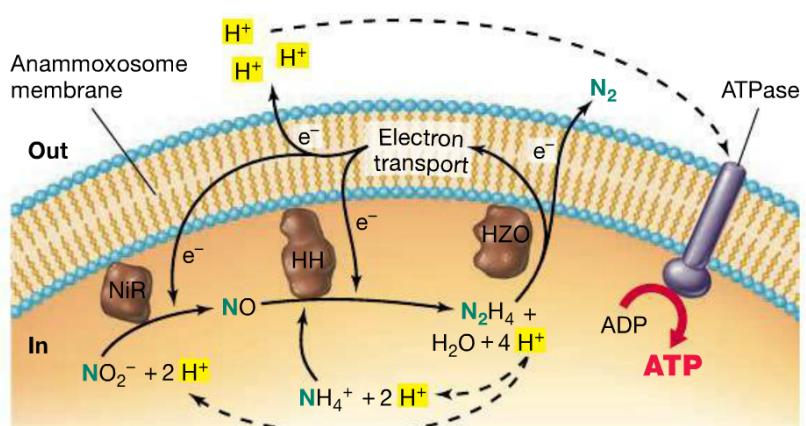


NITRIFISERING OG AMMOX

Nitrifisering er oksidasjon av NH_3 og NO_2^- og foregår aerobt. Amox er oksidering av NH_3 , men anaerobt. Ammonakk og nitritt oksidasjon utnyttes til å generere PMF.



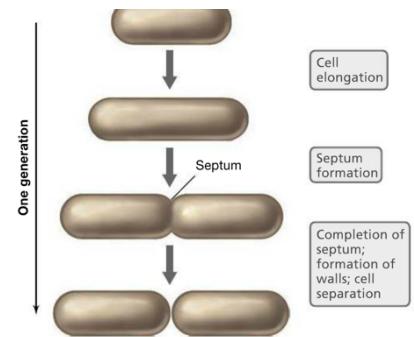
Amox er strengt anaerobt, og oksidasjonen foregår i spesielle strukturer med anammoxsom membran som er syklobutan bundet til glyserol gjennom ester og eter bindinger.



CELLEDIVISJON

Vekst er definert som økning i antall celler. Når en celle er separert til to datterceller har en generasjon funnet sted. Tiden det tar for en celle å bli to kalles generasjonstid. Gjennom en generasjon øker alle cellulære komponenter proporsjonalt og cellen er i balansert vekst.

Stavformede bakterier deles ved binær fision (cellen vokser til minimum dobbel størrelse og deles i to). Delingen danner et septum som er et resultat av cellemembran og vegg som vokser innover.

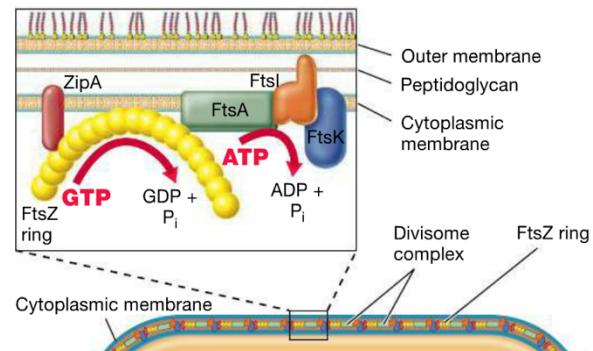


Alle bakterier inneholder Fts proteiner. Et viktig protein er FtsZ som også finnes i noen arkea. Fts proteinene spiller en viktig rolle innen binær fisionen. Proteinene interagerer og danner divisomet.

DIVISOMET I STAVER:

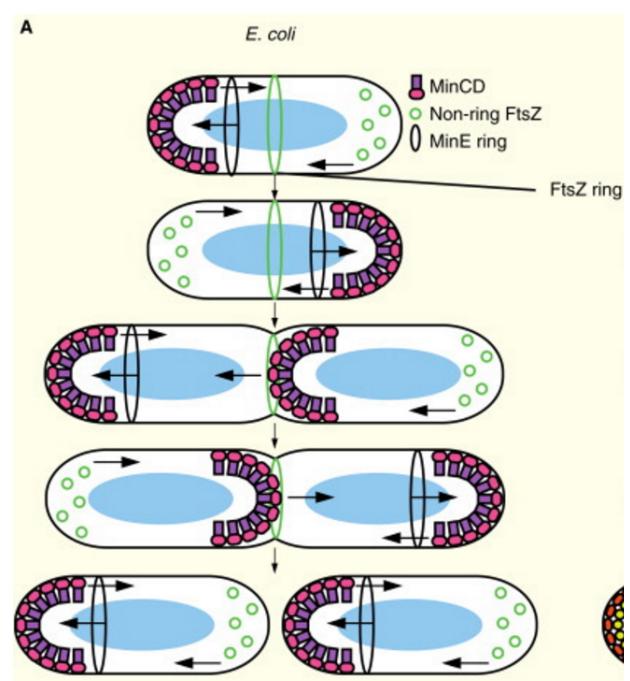
FtsZ danner en ring kalt Z-ringet nøyaktig i sentrum av cellen. Denne ringen vil bli divisjonsplanet. FtsZ holdes på plass av ZipA (anker) og FtsA (anker + rekryteringsprotein). Før FtsZ danner DNAet replisert.

FtsI og andre synteseproteiner (penicillin bindende protein) syntetiserer ny cellevegg og membran, som danner divisjons septumet. FtsK er med på å separere kromosomene riktig.

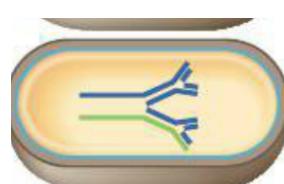


Z-ringet dannes ved at FtsZ proteiner polymeriserer. Når FtsZ interagerer med Min C proteiner vil ikke FtsZ polymerisere. I cellen vil Min D proteiner

Min C proteiner interagerer med FtsZ proteiner og medfører at disse ikke kan polymerisere. Et annet Min protein, Min D danner en kopp struktur i den ene polen av cellen. Min D binder Min C proteiner. MinCD komplekset eksisterer kun i en pol av cellen. Et tredje Min protein, Min E, danner en ring som bryter ned MinCD komplekset fra kanten av koppstrukturen. De frie MinD molekylene vil diffundere til den andre polen og danne en ny koppstruktur. Dette medfører at MinC som regel er bundet til MinD i den ene, eller andre polen. Totalt fører dette til at MinC er i lavest konsentrasjon midt i cellen, og dermed vil FtsZ proteinene polymerisere her.



Replikasjonen av DNAet skjer bidireksjonalt. Under optimale forhold vil *E.Coli* ha en generasjonstid på 20 min, men replikasjonstid på 40 min. Dette er mulig grunnet multiple DNA replikasjons gafler.



FIGUR 2:
<HTTP://WWW.SCIENCEDIRECT.COM/SCIENCE/ARTICLE/PID/S0960982213005873>

SANSING OG SIGNALOVERFØRING

TO KOMPONENTS REGULATORISK SYSTEM

Prokaryote regulerer metabolismen sin i respons til endringer i miljøet rundt cella. Vanlig at et eksternt signal detekteres av en sensor og signalet overføres og regulerer. To komponents regulatorisk system består av en sensor kinase og en respons regulator. Sensor kinasen er lokalisert i membranen og autofosforylerer seg selv, fosforgruppa overføres til respons regulatoren lokalisert i cytoplasma. Fosfataser sørger for at responsen skrus av.

QUROM SENSING

Prokaryote reagerer på nærværet av andre bakterier eller celler av samme art. Med Quorum sensing kan de måle sin egen tetthet, og endre genuttrykk. Utbredt blant G⁻, men finnes innen G⁺ også. Hver art lager et spesifikt autoindusermolkeyl (AI) som diffunderer fritt over membraner. AHL - acyl homoserine lakton

AI-2 – universal språk mellom flere arter gram negative gram positive bruker korte peptider.

Først oppdaget i *Aliivibrio fischeri* som lyser i mørket, grunnet enzymet luciferase kodet av Lux operonet. Kontrollert av LuxR som induserer en AHL autoinduser.

Virulens faktorer: Eks E.coli O57:H7 produserer shiga toxin, iverksetter av AHL og AI-3 og vert adrenalin. Disse tre sammen fører til aktivering av transkripsjonsfaktorer.

VEKST OG KONTROLL

LABORATORIA KULTUR

Makronæringsstoff omfatter næringsstoffer som kreves i store mengder, mens **mikronæringsstoff** kreves i mindre. Essensielle makronæringsstoff for alle mikroorganismer er H, C, O, N, P, S, Se. Karbon tas enten opp som organisk materiale (heterotrof) eller som CO₂(autotrof). Nitrogen forekommer i naturen som NH₃, NO₃⁻ og N₂. Kun nitrogen fikserende bakterier kan bruke N₂.

Spormetaller kreves i små mengder og er uorganiske forbindelser. Vekstfaktorer er organiske forbindelser som vitaminer, aminosyrer, puriner, pyrimidiner osv. Begge to brukes som koenzymer.

		Fra 12ed.
Element	%	Usual form found in the environment
Carbon (C)	50	CO ₂ , organic compounds
Hydrogen (H)		H ₂ O, organic compounds
Oxygen (O)	20	H ₂ O, O ₂ , organic compounds
Nitrogen (N)	10-12	NH ₃ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , organic nitrogen compounds
Phosphorus (P)	1-3	PO ₄ ³⁻
Sulfur (S)	1	H ₂ S, SO ₄ ²⁻ , organic S compounds, metal sulfides (FeS, CuS, ZnS, NiS, and so on)
Potassium (K)		K ⁺ in solution or as various K salts
Magnesium (Mg)	0.5	Mg ²⁺ in solution or as various Mg salts
Sodium (Na)		Na ⁺ in solution or as NaCl or other Na salts
Calcium (Ca)		Ca ²⁺ in solution or as CaSO ₄ or other Ca salts
Iron (Fe)		Fe ²⁺ or Fe ³⁺ in solution or as FeS, Fe(OH) ₃ , or many other Fe salts

Kultur medium	Næringsløsning å dyrke mikroorganismer på
Definert medium	Hvilke forbindelser og mengden av dem er kjent
Komplekst media	Næringsammensetning er ikke kjent. Lages fra nedbrutt biologisk materiale, eks dyr, planter, kjøtt, soya.
Anriket medium	Gis til næringskrevende organismer, spesielle løsninger. F.eks blodserum
Selektivt medium	Inhiberer vekst hos noen, men promoterer den hos andre
Differensiert medium	Inneholder en indikator som endrer farge når noe spesifikt har skjedd.

Når man plater ut en prøve får man opp **kolonier**. En koloni inneholder mer enn 10 millioner celler. Koloniene er karakteristiske for art. **Autoklavering** steriliserer et område for mikroorganismer. Man må kunne beherske **aseptiske teknikker** for å jobbe med mikroorganismer.

POPULASJONS VEKST

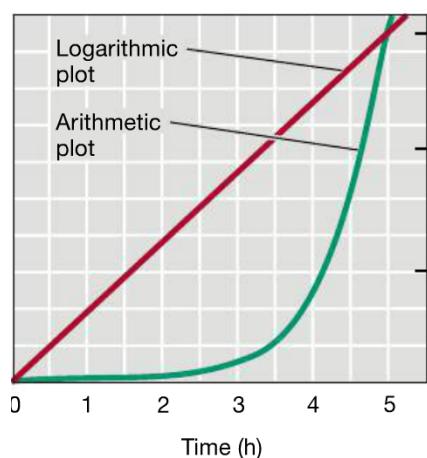
Under en generasjonstid dobler både antall celler og masse. Eksponentiell vekst er der antall celler dobles over en konstant tid, dvs generasjonstiden er konstant. Plotting av veksten semilogaritmisk gir en rett linje.

Det eksisterer et fast forhold mellom antall celler ved start (N₀) og antall celler ved slutt, gitt ved likningen under der n er antall generasjoner.

$$N = N_0 2^n$$

Generasjonstiden g under eksponentialveksten er gitt ved: tid/n Generasjonstiden er definert som tiden det tar å doble antall celler slik at g=N=2N₀. **Spesifikk veksthastighet** kan utrykkes enten som k=log2/g eller som μ=ln2/g, hvor den sistnevnte er mest vanlig. Og kan beregnes ved likningen nedenfor. Divisjonsraten v er gitt ved 1/g og beskriver tiden det tar for at en populasjon skal doble celleantallet sitt.

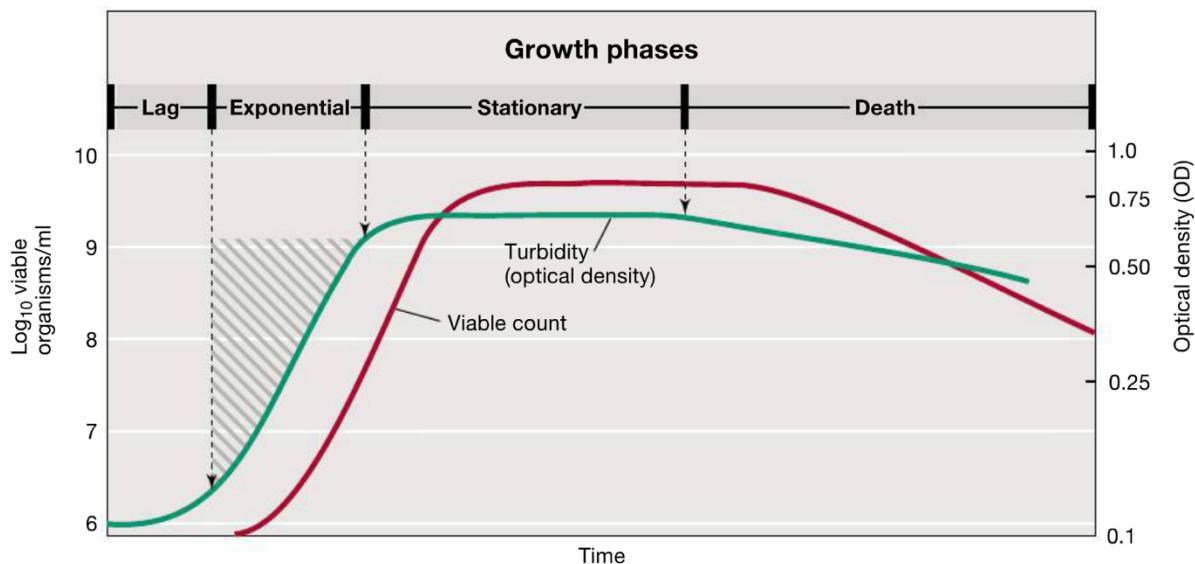
$$\frac{dN}{dt} = \mu N \Leftrightarrow \frac{dN}{N} = \mu dt \Leftrightarrow \mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$



VEKSTSYKLUSEN

Når en kultur vokser i batch kultur (dvs lukket system) vil vekstkurven få karakteristiske faser; lag, eksponentiell, stasjonær og død fase.

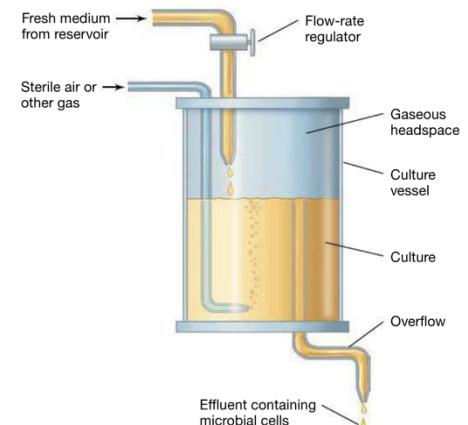
- **Lag fase:** tiden i lagfasen varierer avhengig av historien til kolonien, naturen til medium og vekst forholdene. Er kolonien gammel kan det ta tid for bakteriene å komme seg igjen. Hvis de går fra f.eks komplekst til definert medium trengs tid for å syntetisere essensielle enzymer.
- **Eksponentiell fase:** populasjonen dobles innen faste intervaller, og bakteriene er i sitt sunneste stadia. Det er her eventuelle studier burde gjennomføres.
- **Stasjonær fase:** karakterisert av kryptisk vekst (vekst = død). Forårsakes av f.eks at medium er tømt eller akkumulasjon av avfallsstoffer.
- **Død:** eksponentiell funksjon, men celledød raten er mye slakkere enn i eksponential fasen, og levedyktige celler kan overleve i måneder eller år.



KONTINUERLIG KULTUR – KJEMOSTATEN

Kontinuerlig kultur vil si et åpent system. Når dette systemet er i likevekt er volum, antall celler, næringsmidler og avfallsstoffer i beholderen kontante og kulturen er i **steady state**.

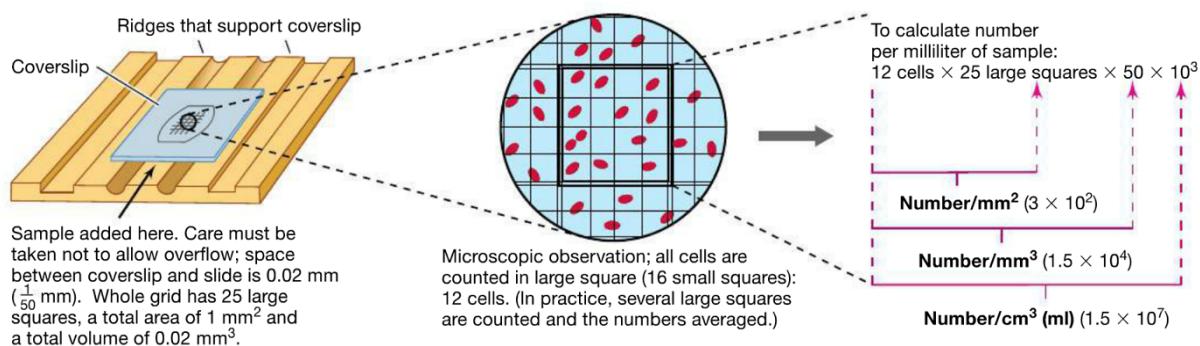
Kjemostaten: instrument der vekst rate og celle tetthet kontrolleres uavhengig. Fortynningsraten ($D=\mu$) kontrollerer vekstraten, mens koncentrasjonen av begrensende næringsstoff kontrollerer celletettheten. Kjemostaten kan holde en kultur i eksponentiell fase i lang tid (dager til uker) og er derfor hensiktsmessig å bruke i forskning.



MÅLING AV MIKROBIELL VEKST

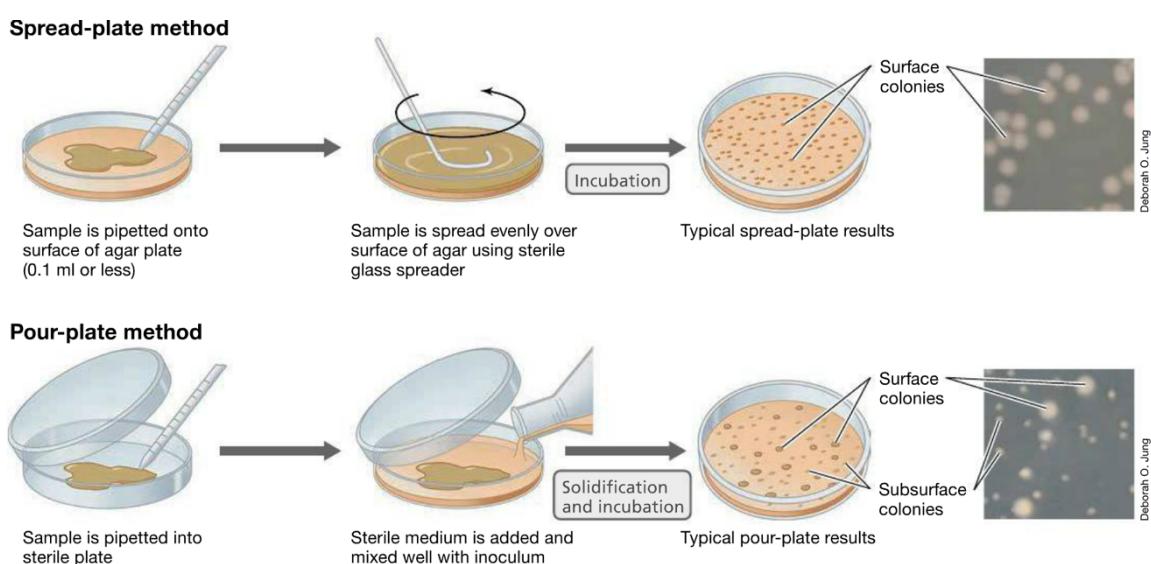
TOTALTALL

En prøve med celler plasseres mellom et dekkglass og et tellekammer. Tellekamrene har definerte volum, slik at antall celler per mL kan beregnes. Det burde være over 10^6 celler/mL for å få et godt resultat. Metoden er litt unøyaktig ettersom det er vanskelig å se forskjell på døde og levende, i tillegg må levende bevegelige celler drepes for at de skal ligge stille. Det er vanlig å fargekontraste/pigmentere f.eks DAPI slik at tellingen blir lettere.



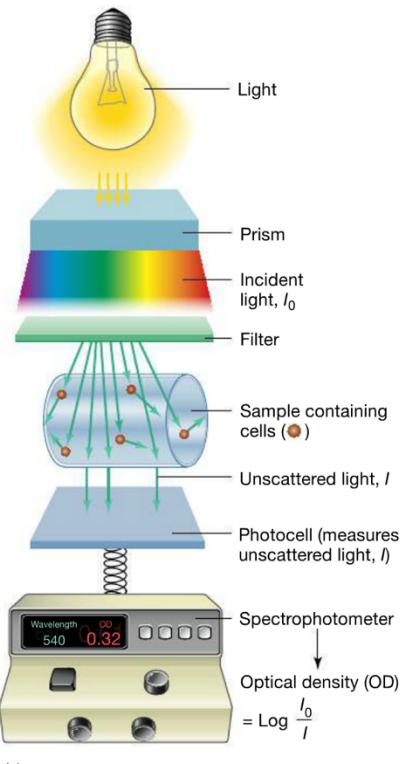
KIMTALL ANALYSE

Levedyktige celler som reflekteres. Man plater ut cellene ved å bruke aseptiske teknikker. Vanligst er "spread plate" og "pour plate". Volum av løsning er mellom 0,1-1 ml. For at det skal være statistisk gyldig må antall kolonier ligge mellom 30 og 300. For å oppnå dette utføres det fortynningsrekker. Feil knyttet til kimatallanalysen er mediets påvirkning av oppvekst, flere kolonier kan avleses som en, tiden ulike arter bruker på å vokse opp, celleklumper, heterogenprøve (ulike arter ulike krav) og menneskelige feil. I tillegg er det kun 0,01% av arter som kan vokse opp.



SPEKTOFOTOMETRI OD

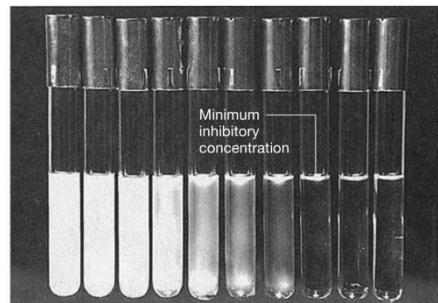
Turbiditet av en løsning kan måles med spektrofotometer. Da måles lyset som ikke har blitt reflektert av noe. Med bakgrunn i dette kan celleantall i en løsning måles. Enheten er OD (optical density) eller A(absorbans) og er proporsjonal med celle antall innenfor visse rammer. Når tettheten blir for stor vil lys reflekteres av flere bakterier, og sendes tilbake i fotocellen. Positivt med OD-måling er at det er raskt og at det ikke skader prøven. Man kan dermed gjøre en test for å analysere cellevekst over tid. Negativt er at ikke alle bakterier kan vokse i væske, andre klumper seg sammen, noen lager biofilm osv.



KJEMISK KONTROLL

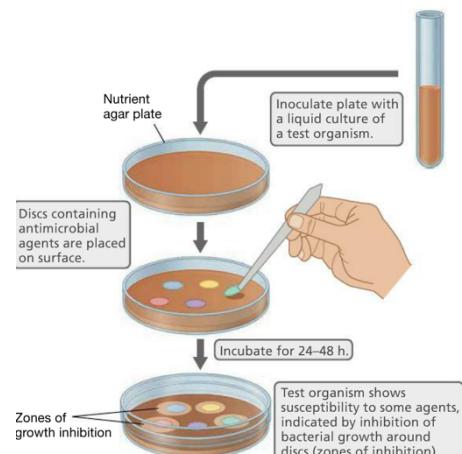
Antimikrobielle agenter er naturlige eller syntetiske forbindelser som enten dreper eller inhiberer veksten av en mikroorganisme. Agenter som dreper kalles –cidal, som inhiberer vekst –static og som lyserer –lytisk. Foran har man enten bacterio-, fungi-, eller viri-, for å understreke hvilke organismer forbindelsen fungerer på.

MIC (minimum inhibitory concentration) kartlegger den laveste konsentrasjonen nødvendig for å inhibitere vekst av en mikroorganisme, og bestemmes ved å sette opp en rekke med rør med likt volum av organismen, og deretter tilsette ulike mengder av inhibitoren. Diffusjonsmekanismen kan brukes for å finne ut hvilke stoffer en organisme er sensitive for.



Antimikrobielle agenter finnes i mat, kjøletårn, tekstil, bensintanker, osv. Produkter som skal hindre vekst av patogene bakterier på overflater av rom/ting eller hud er delt inn i:

Sterilanter	Dreper alt ink. endosporer
Desinfiserende stoff	Dreper alt m.u.a endosporer
Sanitizers/såpe	Reduserer antall, men steriliserer ikke
Antiseptiske	Dreper/inhiberer vekst, men er ikke toksisk for dyr og kan appliseres på vev



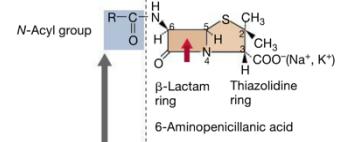
ANTIMIKROIELLE LEGEMIDLER

Antimikrobielle forbindelser klassifiseres etter molekylær struktur, virkningsmekanisme og aktivitetsspektrum, og er forbindelser som dreper eller kontrollerer vekst av mikroorganismer i en vert. Effektive legemidler uttrykker selektiv toksisitet (dreper patogen uten å skade vert). Legemidlene deles inn i bredspektret og smalspektret, etter hvilke klasser av mikrober de dreper. To hovedinndelinger er syntetiske og naturlige antimikrobielle legemidler.

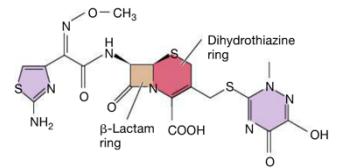
Syntetiske vekst faktorer: deles inn i vekst faktor analoge, quinoloner. Vekst faktor analoge er strukturelt like naturlige vekst faktorer, men så ulike at de ikke fungerer inne i cellen, og på den måten forstyrre metabolismen. Eks er sulfa drugs som inhiberer vekst, sulfanilamid blokkerer syntese av folic syre som videre inhiberer nukleotid syntese. Quinoloner virker ved å forstyrre DNA gyrase, slik at DNA ikke blir supercoila.

Naturlige antimikrobielle legemidler – antibiotika er legemidler som produseres av mikroorganismer. Noen er bredspektret og angriper både G^+ og G^- . Viktige mål er celleveggsyntese, plasmamembran syntese, DNA gyrase, RNA og DNA stabilitet osv. Et problem er at mange av de naturlige legemidlene er farlige også for verten.

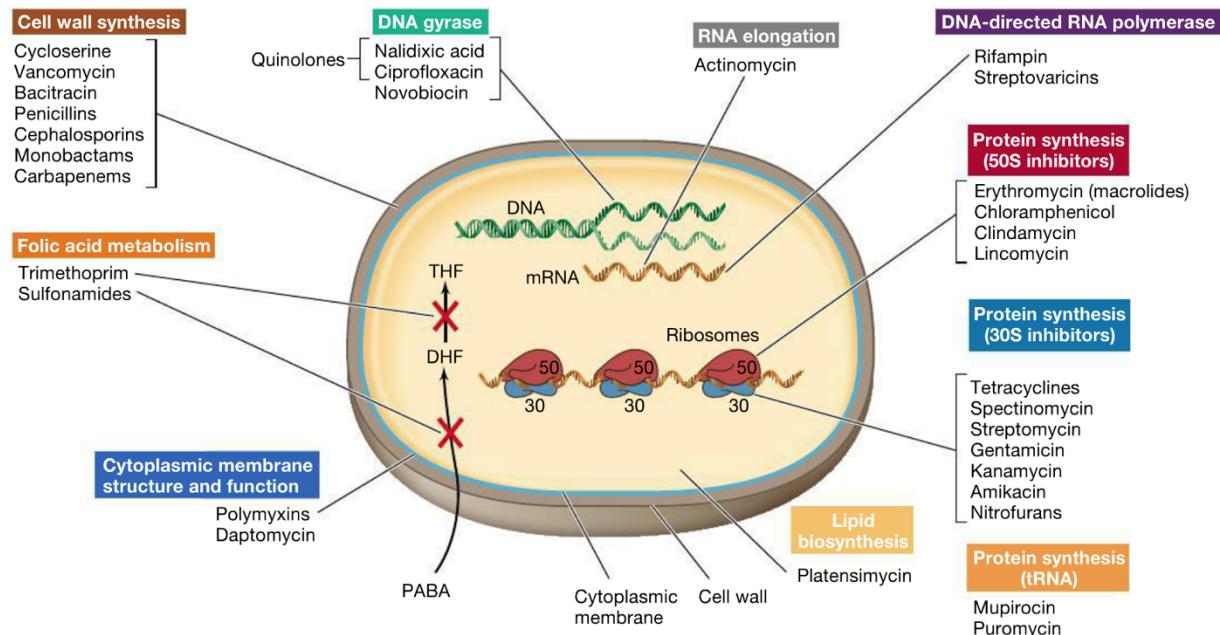
Eks er β -laktamer som inhiberer cellevegg syntese. De binder seg til transpeptidaser og inhiberer transpeptidering mellom peptidoglycan kjeder. Celleveggsyntesen fortsetter, og autolysin aktiviteten resulterer i svak cellevegg, og til slutt lyserer cellen. De er karakteristiske ved at alle β -laktamene inneholder en β -laktam ring. Penicillin og cephalosporiner er eksempler på β -laktamer. De virker hovedsakelig kun på G^+ , ettersom G^- ytre membran er impermeabel for legemiddelet.



FIGUR 3: PENICILLIN



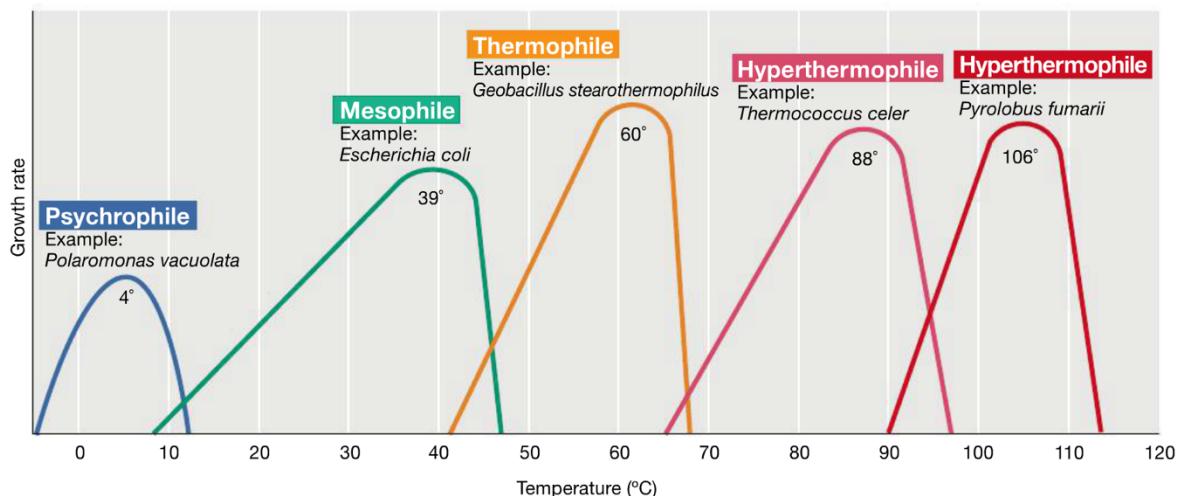
FIGUR 3: CEPHALOSPORIN



MILJØER

TEMPERATUR

Temperaturen en bakterie er i påvirker veksten. Minimum temperaturen er den laveste temperaturen der vekst er mulig. Optimum temperatur – vekst mest optimal og maksimum – vekst over er ikke mulig. Disse tre temperaturene kalles kardinal temperaturene. En prokaryots kardinaltemperaturer har som oftest et intervall på under 40 °C. Arten må være innenfor temperatursonen sin for å vokse, men den dør ikke nødvendigvis utenfor, den bare slutter å dele seg. Restriksjoner for temperatur er at den cytoplasmisk membran må være i semifluid tilstand for at transport skal være mulig.



KALDE MILJØ:

Det er viktig å skille mellom konstant kalde omgivelser og kalde periodevis. Psykrofile har optimal temperatur på <15 °C, maks på 20 °C, min <0 °C. Psykrotolerant vokser ved 0°C, men har optimum mellom 20-40 °C.

Molekylære tilpasninger: enzymene og proteinene er funksjonelle ved lave temperaturer fordi de inneholder mange α -helikser og få β -sheets. I tillegg er det mye flere polare grupper, og få upolare regioner. Sammen øker dette fleksibiliteten. Cytoplasmiske membranen inneholder stor andel av umettede og korte fettsyrer (noe polyumettede fettsyrer), som bidrar til at den holder seg flytende. De har også kuldesjokk proteiner og cryoprotektanter (glyserol, antifrys, sukker).

VARME MILJØ:

Termofile har optimum >45 °C, mens hypertermofile har >80 °C. Over 65 °C finner man kun prokaryote og over 95 er det ikke funnet noen bakterier. Geysirer er ofte svært varme med liten temperaturendring. Hypertermale skorsteiner kan bli svært varme.

Molekylære tilpasninger: For at proteinene skal holdes stabile er det kun et par aminosyrer som er byttet ut i forhold til tilsvarende enzym i mesofil. Det er et økt antall ioniske bindinger og mer hydrofobiske kjerner. I tillegg er di-inositol fosfat, diglyserol fosfat, mannosylglycerat med på å stabilisere. Taq polymerase fra *T.aquaticus* er brukt innen PCR. Membranen holdes stabil av lange og mettede fettsyrer. Arka har til og med utviklet lipid monolag som er enda mer rigide.

EFFEKT AV PH

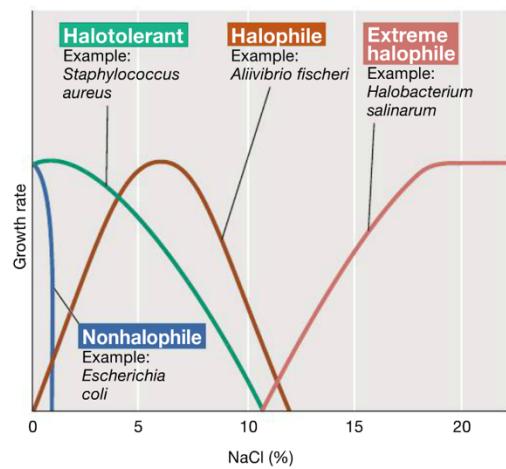
Som med temperatur lever bakterier i ulike pH områder, og intervallet de kan leve på er 2-3 pH enheter. De fleste naturlige miljø varierer mellom 5-9. Optimal pH er pH ekstracellulært, intracellulært må være 6-8 grunnet stabiliseringer av DNA og RNA. De som lever i pH området 5,5-7,9 er neutrofile. Acidofile er de som lever under 5,5. En kritisk faktor for acidofile er stabilisering av den cytoplasmiske membranen. F.eks *Picrophilus oshimae* er en obligat acidofil arkea med pH_{opt} 0,7, som lyserer ved pH 4. Alkalifile er de med pH >8. Noen alkalifile arkea er også halofile. De ekstracellulære proteinene utnyttes, f.eks hydrolytiske enzymer i vaskemiddel. Stor utfordring er PMF, ettersom $H^+ + OH^- \rightarrow H_2O$. To mekanismer er (1) å ha en Na^+ gradient og (2) holde H^+ nær membranen. *Bacillus firmus* (pH 7,5-11) utnytter Na^+ til et gradient, men hydrogen til ATP syntese.

OSMOLARITET

Vannaktivitet (a_w) er forholdet mellom damptrykkene i en løsning/forbindelse mot rent vann, og er avhengig av konsentrasjon av oppløste stoffer. a_w varierer mellom 0 og 1.

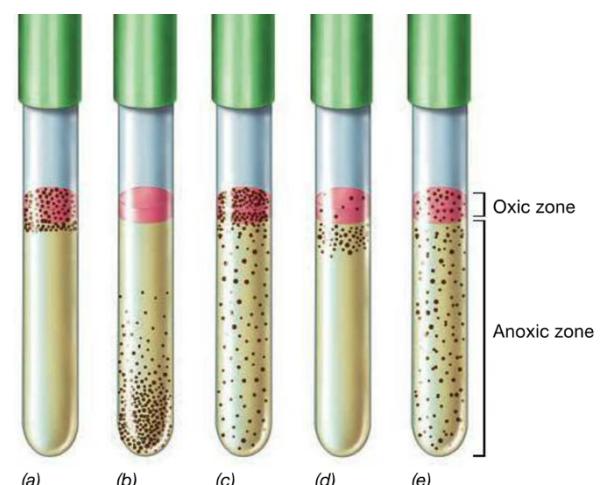
Osmose er diffusjon av vann fra høy vannaktivitet til lav vannaktivitet. Positiv vannbalanse er når vann trekker inn i cellen, og dette er den normale tilstanden. **Halofil** vil ha lav vannaktivitet. De trives i f.eks sjøvann 3% NaCl. Halofile krever NaCl, saltet kan ikke byttes ut med andre stoffer. **Ekstremt halofile** trives i miljø med 15-30% NaCl. **Halotolerente** vokser bedre uten saltstoffene. **Osmofile** liker miljø med høy konsentrasjon av sukker, mens **xerofil** liker tørre miljø.

For å unngå uttørring må vannaktiviteten inne i cellen holdes høyere enn utenfor. Dette oppnår ved å øke konsentrasjonen av kompatible forbindelser (forbindelser som ikke ikke inhiberer noen cellulære forbindelser). Enten pumpes ionaler inn, eller forbindelser produseres. Eks er sukker, sukkeralkoholer og aminosyrer.



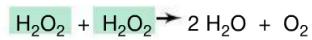
OKSYGEN

Obligat aerob	krever O_2 for respirasjon	a
Obligat anaerob	O_2 inhiberer/dreper cellen, gjelder mange prokaryote.	b
Fakultative aerobe	Eks. <i>Clostridium</i> , <i>metanogene arkea</i> kan vokse ved både oksiske og anokside betingelser	c
Mikroaerofile	krever redusert O_2 konsentrasjon, begrenset respirasjonskapasitet, kan ha O_2 labile enzymer.	d
Aerotolerant anaerob	kan vokse i nærvær av O_2 , men bruker ikke O_2 som elektronakseptør	e

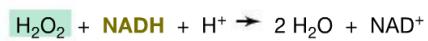


Toksisiteten til oksygen

O_2 er kraftig oksidasjonsmiddel, og kan bli redusert av vann og det er oksygenderivatene som er toksiske. Under kultivering kan thioglycerat (et reduksjonsmiddel) bli tilsatt. Det omdanner O_2 til H_2O . Prokaryote som lever med O_2 inneholder enzymer som ufarliggjør oksygenderivatene. Eks katalase og peroxidase.



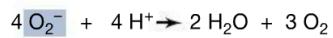
(a) **Catalase**



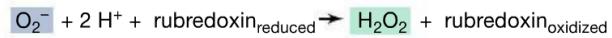
(b) **Peroxidase**



(c) **Superoxide dismutase**



(d) **Superoxide dismutase/catalase in combination**



(e) **Superoxide reductase**

EVOLUSJON OG SYSTEMATIKK

OPPRINNELSEN AV LIV

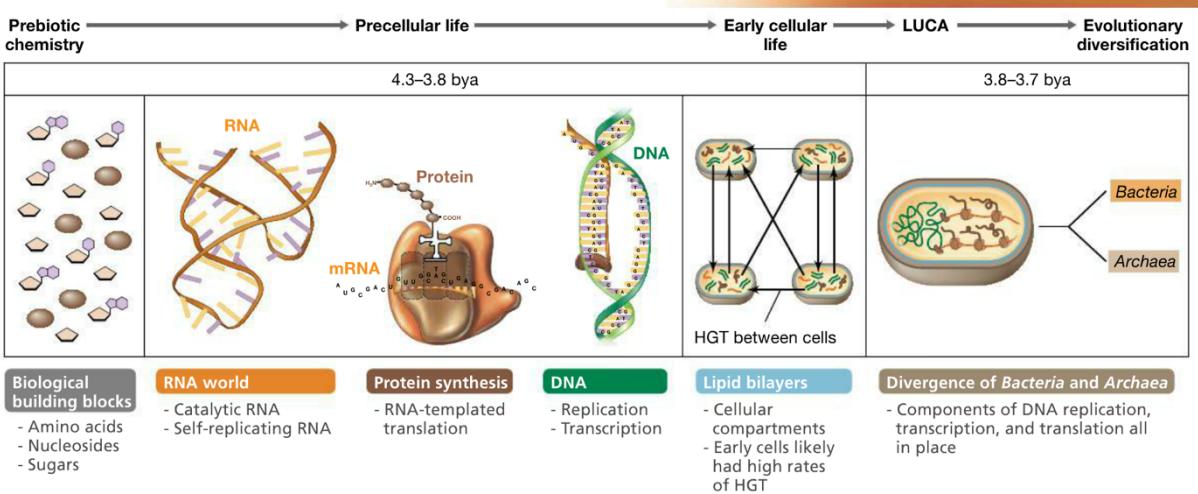
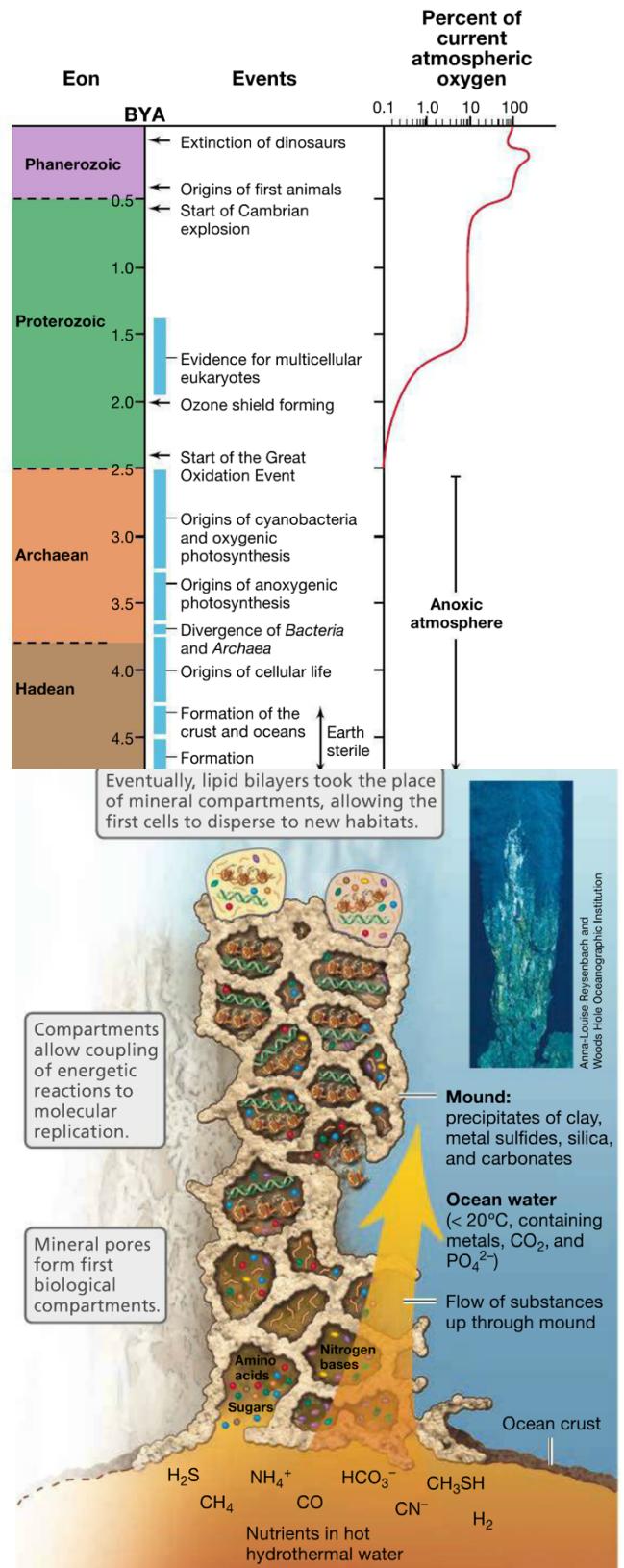
Det er funnet bevis på at jorda ble dannet for 4,5 milliarder år siden ved hjelp av en radioaktiv isotop. Jorda var ubeboelig de første 500 millioner årene, overflaten var en smelte og asteroider bombarderte. Vann og herding av overflaten var en forutsetning for liv. Den eldste steiner er datert til 3,86 milliarder år gammel. Ulike teorier for oppstandelsen av liv: en er at ettersom organiske forbindelser for liv spontant dannes på overflaten kunne liv oppstå her, men grunnet ekstremt høye temperaturer og UV radiasjon har man gått mer i retning av at livet oppsto i havet eller undergrunnen. I hydrotermale varme kilder var det mange reduserte forbindelser, og et tenkt oppstandelsesløp er: RNA, protein, DNA, lipidmembran.

LUCA – "last universal common ancestor" er tenkt å være den cellen alle andre celler stammer fra, og oppstod for 4,25 milliarder år siden. *Bacteria* og *Arkea* skilte seg for 3,8-3,7 milliarder år siden, og *Eukarya* oppstod for 2 milliarder år siden.

Den primitive metabolismen var anaerob, da jorda ikke var oksygenert. Antageligvis var de kjemolitotrofe og utnyttet H₂ og H₂S.

OKSYGENERING

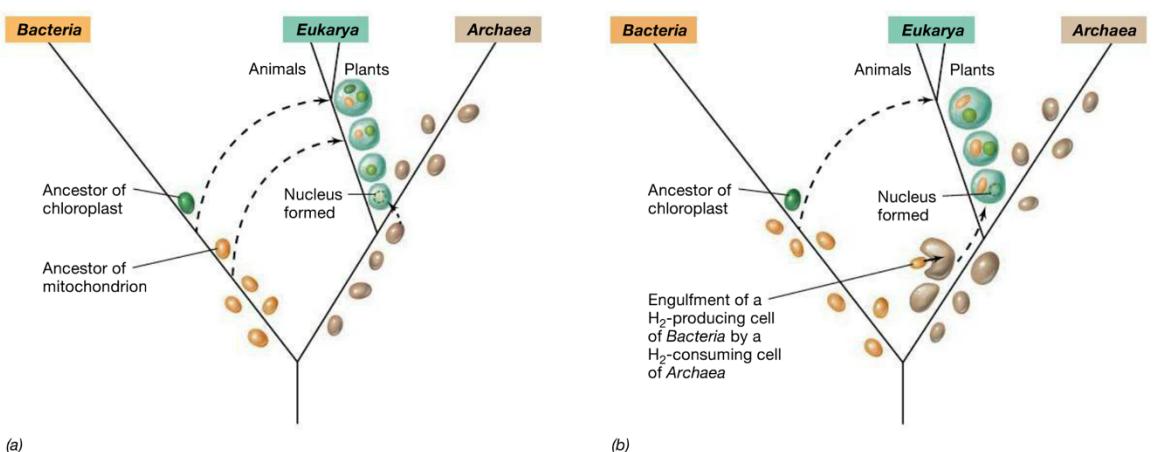
De første 2 billionene år – anoksisk. Cyanobakterier oksygenerte, men det tok 300 millioner år før konsentrasjonen av O₂ økte. Dette kom av at O₂ reagerte spontant med reduserte Fe²⁺. Dette kan observeres som jernbånd, ettersom Fe³⁺ felte ut. O₂ økningen ga rom for nye metabolismer, og dannet ozonlaget, som reduserte radiasjonen og muliggjorde for liv på land.



De første fototrofe var anoksiiske. De første bevisene på liv finnes i stromatolitter – fossiliserte mikrobielle formasjoner. De første fototrofe hadde H_2S som elektronondonor og genererte S_0 . Etterhvert tok H_2O over, og O_2 ble avfallsprodukt.

ENDOSYMBIOSEN

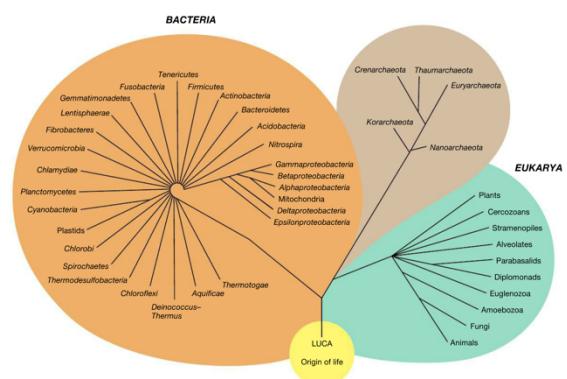
Den endosymbiotiske hypotesen dreier seg om at en mikrobe har gått inn i en annen og de har levd i symbiose. Dette har resultert i kloroplast og mitokondrie. Dette støttes blant annet i at mitokondrie og kloroplast har 16sRNA. Eukarya er en kimer, dvs en sammensetning av både arkea og bakteria. Bakteria og eukarya har samme lipidmembran, mens den deler større sammenlikninger med arkea når det gjelder transkripsjon. Det er to hypoteser for hvordan endosymbiosen skjedde: (a) Eukarya oppstod fra en cellelinje med kjerne som stammet fra arkea, og (b) Hydrogenhypotesen, H_2 produserende bakterie gikk inn i en arkea. Bakterien ble til mitokondrie og kjernen ble dannet senere.



FYLOGENI

Fylogeni er den evolusjonære historien til en organisme, og fylogenetiske trær er diagrammer som fremstiller evolusjonær historie. Basert på genomiske analyser ønsker man å lage det universale tre, som beskriver evolusjonære sammenhenger mellom alle organismer, det finnes kun et riktig universalt tre.

DNA gjorde fylogeni for prokaryote mye lettere, men visse krav ble stilt til hva man skulle sammenlikne; DNA sekvensen må være relativt universell, konservert og ha passe lengde. SSU rRNA passer godt inn i disse kravene. Studier på SSU rRNA viste at det er tre domener arkea, bakteria, eukarya.



Hvordan de tre domene oppstod er fortsatt ikke avklart, og man referer til dette som det universelle fylogenetiske krattet. Man tenker seg at det var en tidlig fase med mye horisontal genoverføring for å utveksle genene for informasjonshåndtering. Etterhvert utviklet det seg barrierer som begrenset overføringen, og dermed ga rom for evolusjon og arts dannelse.

Etter at DNA sekvenser er isolert, amplifisert (PCR) og sekvensert må man begynne å sammenlikne sekvenser for å avgjøre evolusjonære forhold.

Fylogeni kan kun deduseres fra gener som har homologi, dvs. gener som er arvet fra en felles stamfar. Når man skal sette opp et tre er det viktig å tenke på alignment, man må som oftest tilføre hull i en sekvens slik at man danner posisjonell homologi.

Sequences before alignment

1	GGA	CCT	AAA	TTT	ATA	CCC
2	GGA	AAA	GGG	CCC	AAA	CGC
3	GGA	GGG	CCT	TTT	ATA	CCC

Sequence differences

	1	2	3
1	-	-	-
2	11	-	-
3	6	11	-

Sequences after alignment

1	GGA	-----	CCT	AAA	TTT	ATA	CCC	
2	GGA	AAA	GGG	CCC	-----	AAA	CGC	
3	GGA	---	GGG	CCT	---	TTT	ATA	CCC

	1	2	3
1	-	-	-
2	3	-	-
3	0	3	-

(a)

(b)

Det fylogenetiske treet består av noder og forgreninger. Nodene angir felles stammor, forgreninger indikerer artsdannelse. Tuppen av en gren er arter som eksisterer i dag/ er analysert og lengden av grenen angir forskjellighet eller tid.

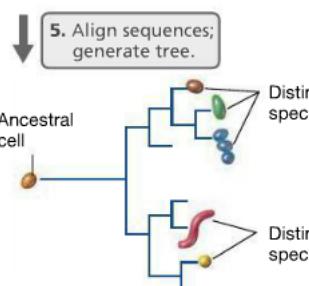
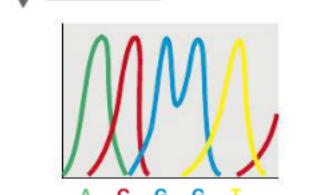
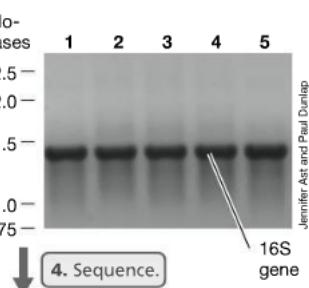
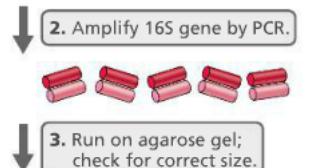
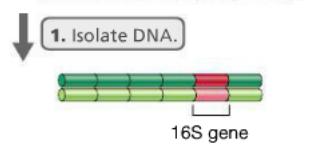
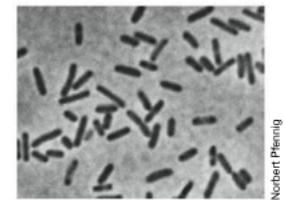
Å konstruere treet gjøres enten ved å lage en (1) algoritme, eller (2) et optimaliseringskriteria.

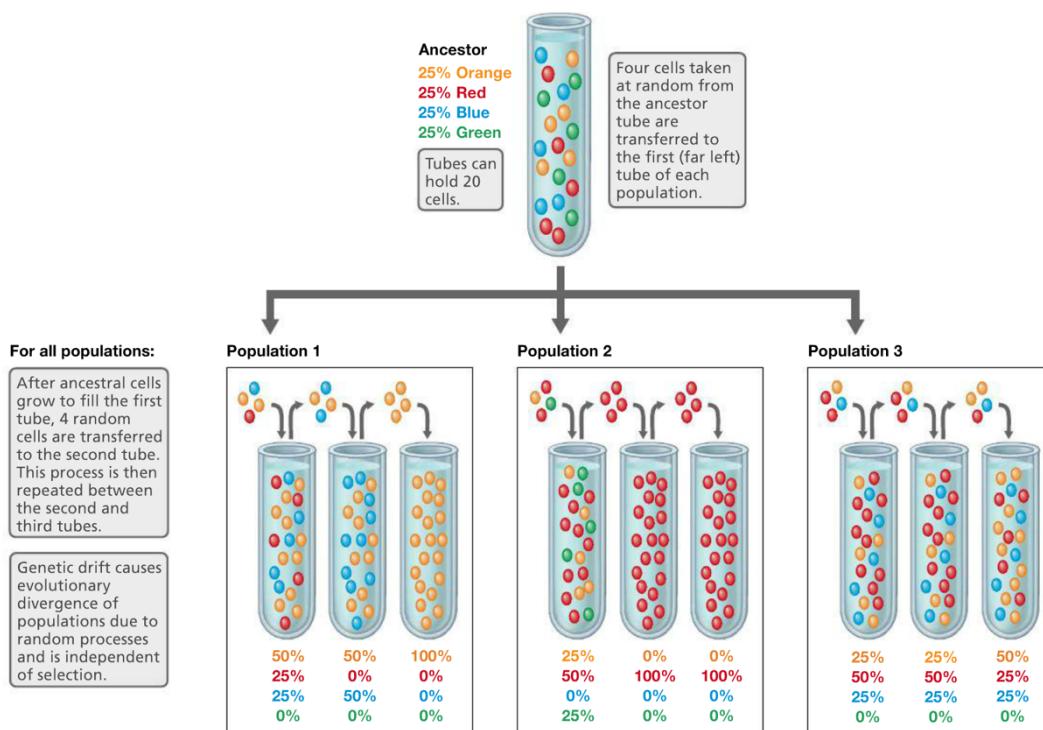
Begrensninger ved det fylogenetiske treet: Homoplasy er at to organismer kan ha samme trekk, men ikke være i slektskap (eks fugler og insekteter med vinger). I tillegg kan en mutasjon skje på samme base flere ganger, og nukleotidendringen mellom to organismer virker mindre enn den faktisk er.

Horisontal genoverføring fører også til kluss. Det fylogenetiske treet må anta at genetisk informasjon arves vertikalt. Det er dermed viktig å skille mellom gen fylogeni, der man følger evolusjonen til et gen, og organismal fylogeni, der man følger evolusjonær historie til cellen.

MIKROBIELL EVOLUSJON

Evolusjon er endring i allel frekvens i et sett av organismer over tid. Et allel er alternative variasjonen av et gen. Endring i frekvens skjer grunnet mutasjon og rekombinasjon. Mutasjon er tilfeldige endringer i DNA sekvenser og deles inn i substitusjoner, delesjoner, innsættinger og duplikasjoner. Rekombinasjon er når DNA segmenter brytes og settes sammen. Seleksjon er definert på basis av fitness som er evnen en organisme har til å produsere avkom og øke genetisk variasjon. Mutasjoner kan være nøytrale, gunstige eller ødeleggende mtp fitness. Genetisk drift fører til evolusjon, men ikke på grunn av naturlig seleksjon. Genetisk drift oppstår når noen medlemmer av en populasjon får mye flere avkom.





To eks på at nye egenskaper utvikles fort er vist med *Rhodococcus* og *E.coli*. Rhodococcusen er en fototropisk lilla bakterie som produserer to pigmenter. Når bakterien kultiveres i mørke vil etterhvert mutanter med annereldes pigmenter vinne over villtypen. I et langstrekende eksperiment med *E.coli* har man prøvd å simulere evolusjon. En av linjene ble dyrket på kun glukose som karbon og energi kilde. Etter hvert vokste det opp kolonier som kunne vokse på citrat, en av forbindelsene i bufferløsningen.

Blitt vanlig å dele inn genomet til mikrobielle arter inn i kjerne- (gener som alle medlemmene av arten har) og pangenom (kjernegenomet + alle genene som ikke deles av alle). F.eks for *E.coli* kjernegenomet 1976, men pangenomet er 17838!

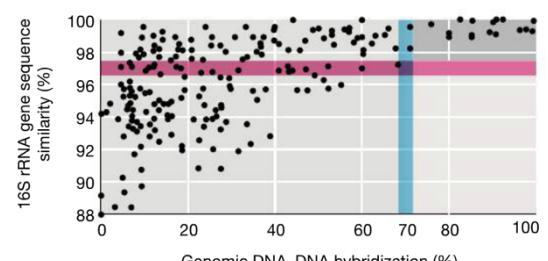
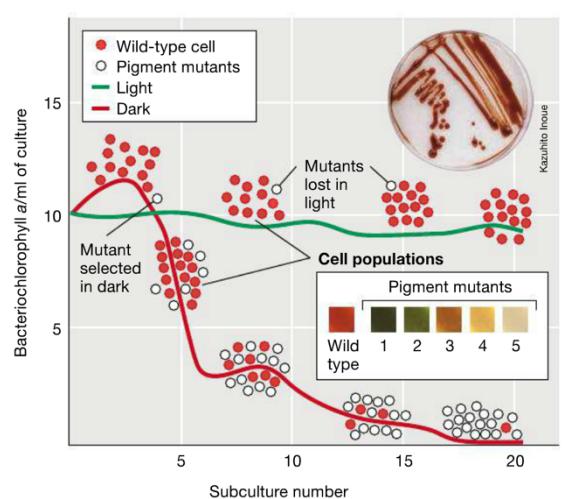
SYSTEMATIKK

Systematikk er studiet av diversiteten av organismer og deres slektskap. Systematikken linker fylogeni og taxonomi (karakterisering, identifisering og navnsetting). Artsbegrepet innen mikrober har ingen definert definisjon. Det finnes mellom 10 og 20 ulike definisjoner. Den mest aksepterte definisjonen i dag er det fylogenetiske arts konseptet som definerer at en gruppe stammer er en art hvis de deler diagnostiske trekk og har samme stamfar.

Graden av DNA-DNA hybridisering kan utnyttes for å kartlegge den geonomiske likheten. Hvis 70% eller mindre av genomet hybridiserer og det er mer enn 3% forskjell i 16sRNA er de to organismene forskjellige arter.

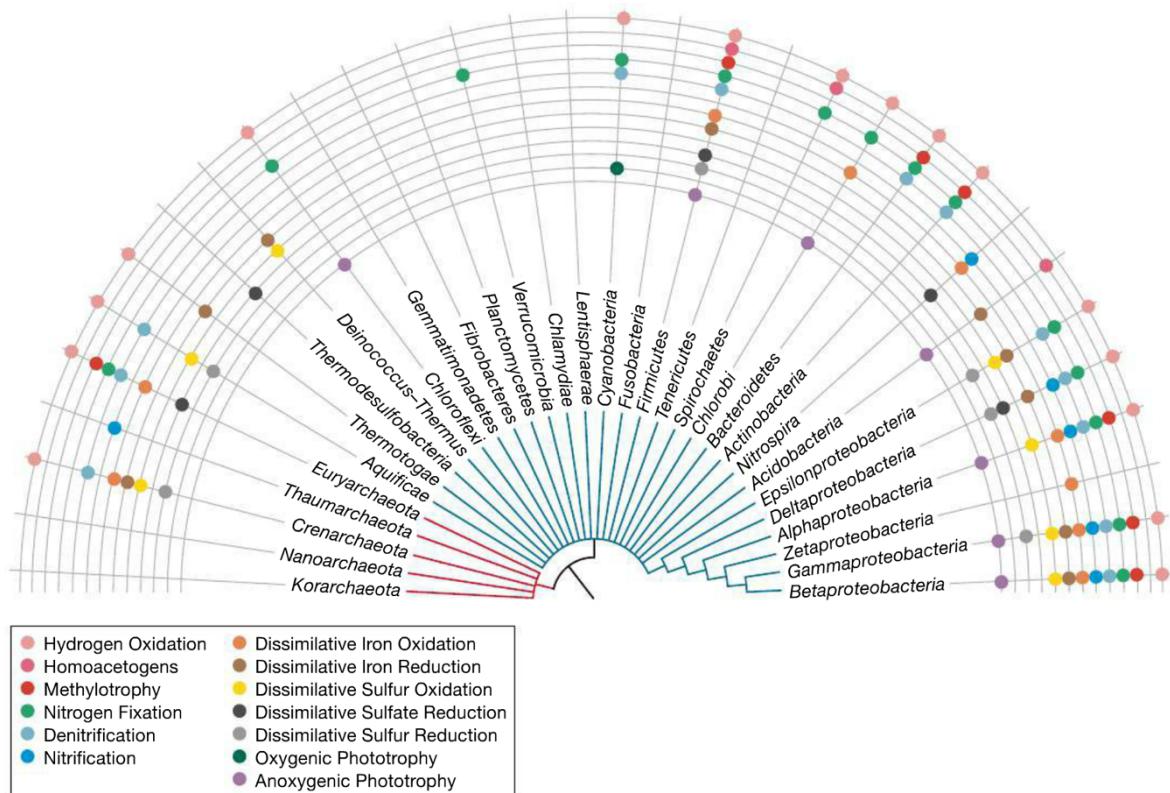
MLST – multi lokus sekvens typing er en metode hvor flere husholdningsgener sekvenseres og kollektivt brukes for å skille mellom organismer. Fingerprinting med rep-PRC er når man sammenlikner genomisk DNA fra flere stammer på samme agar. I tillegg til genomiske analyser er det vanlig å gjøre fenotypiske analyser; morfologi, bevegelighet, metabolisme, fysiologi, lipidmembran, celle vegg eller andre egenskaper.

Mikroorganismer navngis etter Carl Linnaeus' system; domene, fyla, klasse, orden, familie, genus og art.



FUNKSJONELL DIVERSITET

Ulikt fra fylogenetisk diversitet ved at det legges vekt på diversiteten i form og funksjon relatert til fysiologi og økologi.



FOTOTROPISKE BAKTERIER

Fotosyntesen begynte med bakterier, og de første fototropene drev anoksisk fotosyntese. Anoksygene fototropiske bakterier er tilstede i 5 fyla; *Proteobacteria*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* og *Acidobacteria*. De anoksigene inneholder enten type I eller II fotosystem. Oksygene fototropiske utgjør kun et fyl - *Cyanobacteria*. Cyanobakteriene inneholder begge fotosystemene.

CYANOBACTERIA

Nøkkel genus: *Prochlorococcus*, *Crocospaera*, *Synechococcus*, *Trichodesmium*, *Oscillatoria*, *Anabaena*

Deles inn i 5 morfologiske grupper. *Prochlorofytter* er en unik slekt cyanobakterier, og er en del av *Chroococcales* i dag. Alle *stigonematales* deler stamfar med *nostocales*. Dette tyder på at forgrenede filamenter oppstod innen cyanobakterier som kunne differensiere. Cyanobakteriene har begge fotosystem og de kan alle fiksere CO₂ gjennom Calvin syklusen. Mange kan fiksere N₂ og de fleste syntetiserer egne vitaminer. Den spesialiserte membran strukturen er kalt thylakoiden. Celleveggen er av peptidoglycan og er strukturelt lik G⁻. De produserer klorofyll a, og de festa har phycobiliner.

Group I, Chroococcales.
Unicellular or cell aggregates

Group II, Pleurocapsales.
Reproduce by formation of small spherical cells called baeocytes produced through multiple fission

Group III, Oscillatoriaceae.
Undifferentiated filamentous cells that divide by binary fission in a single plane

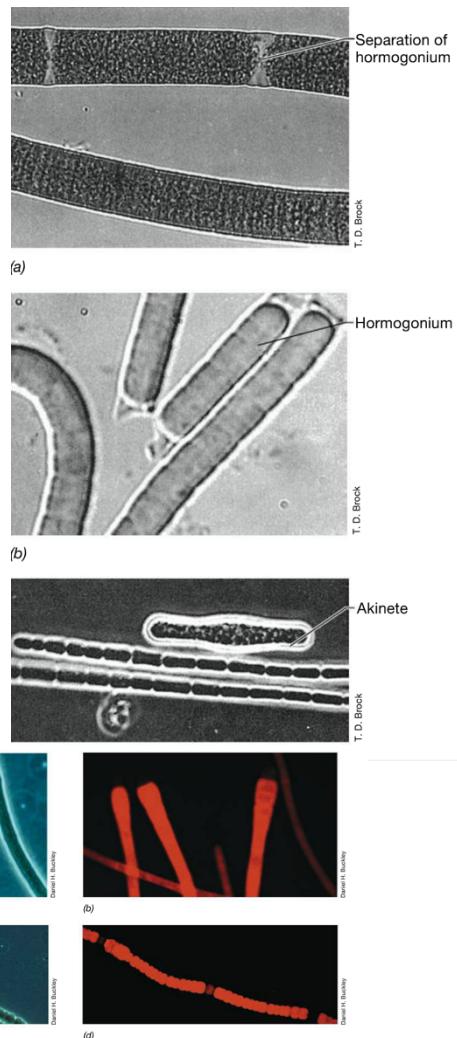
Group IV, Nostocales.
Filamentous cells that produce heterocysts

Group V, Stigonematales. Cells divide to form branches

Mange cyanobakterier beveger seg via glidende bevegelse, og de fleste utsyrer fototaxi og kjemotaxi. Mange av de akvatiske cyanobakteriene inneholder gass vesikler slik at de får riktig oppdrift. Cyanobakteriene kan lage mange forskjellige strukturer; mange kan lage store slikaktige omslutninger, andre kan lage hormogonia som er korte bevegelige filamenter som kan brekke av. Akineter beskytter organismen for mørke, uttørking og kulde. Aktinen har tykk cellevegg og spirer når forholdene blir bedre. Da kommer en ny vegetativ celle frem. Cyanophycin er en kopolymer av asparagin og arginin og fungerer som et nitrogen lagrings produkt.

N – fiksering kan ikke skje sammen med oksygenisk fotosyntese, og de N-fikserende cyanobakteriene løser dette på litt ulike måter. *Cyanothece* og *Crocospaera* fikserer kun på natten, mens *Trichodesmium* kun fikserer på dagen. Mange arter av *Nostocales* og *Stigonematales* fasiliteter N-fiksering ved å danne heterocyster som er differensierte celler som har en tykk vegg. Anatomien til cysten gjør det vanskelig for O_2 å komme over membranen, og nitrogenase kan jobbe i anoksisk miljø. Heterocysten mangler fotosystem II.

Cyanobakteriene representerer i stor grad de som forsyner havet med N. Marin N-fiksering er dominert av unicellulære arter (*Synechoccus* og *Prochlorococcus*) og *Trichodesmium*.



PURPUR SVOVEL BAKTERIER

Klasse: *Gammaproteobacteria*, Orden: *Chromatiales*, Genus: *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*

Anoksygene fototrofe som bruker H_2S /andre reduserte svovelforbindelser som elektron donor i fotosyntesen. Får sin farge fra karotenoid, og inneholder bacterioklorofyll a eller b. CO_2 fikseringen skjer via Calvin syklusen. S_0 lagres i granuler og svovelen brukes ikke før sulfidlagret blir lite. Hvor granulen er plassert skiller de to familiene *Chromatiaceae* (lagrer svovel inne i cella, vesikkelt fotosyntetisk membran) og *Ectothiorhodospiraceae* (svovellager utenfor cella, lamellar intracellulær fotosyntetisk system).

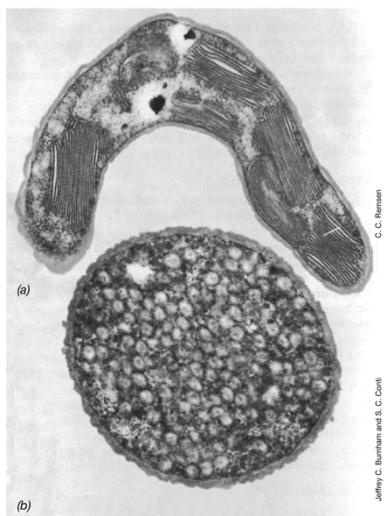


Figure 14.11 Membrane systems of phototrophic purple bacteria as revealed by transmission electron microscopy. (a) *Ectothiorhodospira mobilis*, showing the photosynthetic membranes in flat sheets (lamellae). (b) *Allochromatium vinosum*, showing the membranes as individual, spherical vesicles.

PURPUR IKKE-SVOVEL BAKTERIER

Klasse: *Alfa- og betaproteobakter* Genus: *Rhodospirillum*, *Rhodoferax*, *Rhodobacter*

Mest metabolsk allsidige mikroorganismen kjent. De har svært varierende farger og er typisk fotoheterotrofe. Type II fotosystem, med enten bacterioklorofyll a eller b. Noen kan vokse fotoautotrofisk, med H₂, H₂S og Fe²⁺. Andre kan vokse i mørket med aerob respirasjon, mens andre kan vokse i mørket ved aerob respirasjon. Andre igjen kan drive fermentering eller anaerob respirasjon. En viktig bemerkning er at de alle kan fiksere N₂.



AEROBE ANOKSIGENE FOTOTROFE

Klasser: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* Genus: *Roseobacter*, *Erythrobacter*

Obligat aerob heterotrof som bruker lys som ekstra kilde til energi. Driver kun anoksigen fotosyntese under oksiske forhold. Inneholder bacterioklorofyll a og type II fotosystem. Kan ikke fiksere CO₂. Må drive fotosyntese på dag/natt syklus.

GRØNNE SVOVELBAKTERIER

Fyla: *Chlorobi* Genus: *Chlorobium*, *Chlorobaculum*, *Chlorochromatium*

Typisk ikke mobile og strengt anaerobe anoksogene fototrofer. Primært korte til lange staver, de oksiderer H₂S til S⁰ og videre til SO₄²⁻. S⁰ avsettes kun utenfor cella. Pigmentene er organisert i klorosomer, og inneholder bacterioklorofyll c, d eller e. Type I fotosystem. Bor i anokside sulfidiske sure miljø. Noen arter danner mutualistisk assosiasjon kalt consortium sammen med en kjemoorganotrof bakterie.

GRØNNE IKKE-SVOVELBAKTERIER

Genus: *Chloroflexus*, *Heliothrix*, *Roseiflexus*. Fyla *Chloroflexi* Klasse: *Chloroflexi*

Alle som er litt kultivert har vært filamentære, med glidende bevegelse. Vokser best som fotoheterotrof. Mange vokser bra i mørket gjennom aerobisk respirasjon. Reaksjonssenter med bacterioklorofyll a og klorosomer med bacterioklorofyll c, type II fotosystem.

HELIOBACTERIA

Fyla: *Firmicutes* Genus: *Helio bacterium*

Gram positiv bakterie, med bacterioklorofyll g. Type I fotosystem. Alle er stav formede filamentære celler. Strengt anaerobe, og de kan gro kjemotrofisk i mørke ved pyruvat fermentering. Produserer endosporer.

FOTOTROFISK ACIDOBACTERIA

Chloracidobacterium thermophilum er en termofil oksygen tolerant fototrof. Produserer bacterioklorofyll a og klorosomer med bacterioklorofyll c. Type I fotosystem. Kan gro aerobisk.

DISSIMILATIV SVOVEL OKSIDERENDE BAKTERIER

Genus: *Thiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa*

Kjemolitotrofe som oksiderer reduserte svovel forbindelser som H_2S , S^0 , tiosulfat eller thiocyanate. Vanlig i marine sedimentter, svovel kilder og hydrotermale systemer.

De fleste er obligat aerobe hvor S^0 lagres i granuler. Noen svovel kjemolitotrofe er obligate kjemolitotrofe, da er det vanlig å inneholde carboxysomer som inneholder et høyt nivå av Calvin syklus enzymer. Andre er fakultative kjemolitotrofe, da kalles de mixotrofe ettersom de både kan være hetero og autotrofe.

Thiobacillus er et genus av mange gram negative, stav formede *Betaproteobacteria*. Ofte acidofile fordi de generer svovelsure H_2SO_4 . *Achromatium* er et annet genus som inneholder kuleformede svovel oksiderende kjemolitotrofe. De er vanlige i ferskvann sedimentter ved nøytral pH. De lagrer S^0 internt og har i tillegg granuler med kalitt (CaCO_3)

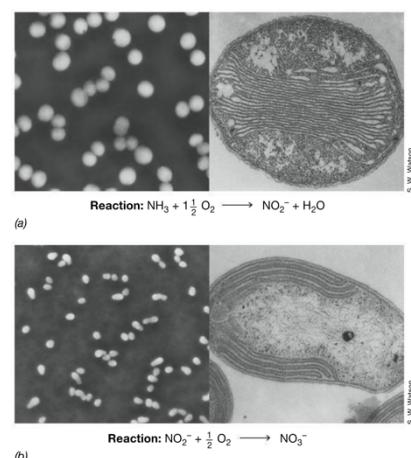
Oksidasjonen av H_2S til H_2SO_4 er spontan og rask i tilstedeværelse av O_2 , derfor er det utviklet minst 6 ulike strategier.

1. *Thiothrix* – filamentær svovel kjemolitotrof *Gammaproteobacteria*. Danner filamenter som holdes sammen i et punkt og danner strukturer kalt rosetter. De bruker strukturen til å posisjonere seg i høystrøms miljøer nedforstrøms av H_2S .
2. *Beggiatoa* – filamentære, glidende, *Gammaproteobacteria*. Filamentene kan flekse og snurre slik at mange filmsenter tvinnes og danner en kompleks tuft. De bruker bevegelsen til å posisjonere seg der H_2S og O_2 opptrer samtidig
3. *Thiomargarita* – ikke mobil. Strategi er å separere oksidasjon av H_2S og reduksjon av O_2 i tid. Inneholder store vakuoler som den fyller med NO_3^- . Cellene oksiderer H_2S til S^0 ved å redusere NO_3^- i vakuolen, deretter lagrer de S^0 intracellulært. Hvis de da kommer i vann der H_2S mangler bytter de til aerob oksidasjon av S^0 , denne energien bruker de til å fulle opp vakuolen med NO_3^-
4. *Thioploca* – store filamentære bakterier med intracellulære S^0 granuler og vakuoler fylt med NO_3^- . Ettersom de er bevegelige kan de posisjonere seg avhengig om de skal drive anaerobisk respirasjon med H_2S eller aerob respirasjon av S^0 .
5. *Thiovulum* – raske celler, kontrollerer strømningen av næringsstoffer til cellen. De sekretærer et slim som linker celler sammen i en sløraktig struktur. Sløret brer seg over en H_2S kile. De generer og regulerer gradienten av H_2S og O_2 .
6. Svovel bakterier som danner symbiotiske forhold med eukaryote. Eks Rifta (tubeworm). Verten regulerer H_2S og O_2 konsentrasjoner, og bakterien fikserer CO₂.

NITRIFISERENDE OG DENITRIFISERENDE BAKTERIER

Denitrifiserende bakterier driver anaerobisk respirasjon av uorganisk nitrogen, NO_3^- , NO_2^- til gass produktene NO, N_2O , N_2 . Disse er typisk fakultativ aerobic og kjemoorganotrofe.

Nitrifiserende mikroorganismes gror kjemolitotroft og reduserer uorganisk nitrogen. Typisk obligat aerobic. Ingen kjemolitotrof er kjent som kan gjøre komplett oksidasjon av NH_3 til NO_3^- . Nitrifiseringen er dermed en sekvens – (1) ammoniakk oksiderende (NH_3 til NO_2^-), (2) nitritt oksiderende (NO_2^- til NO_3^-). Ammoniakk har ofte genus som begynner på Nitroso-, mens nitrat produsentene Nitro-.



Anrikningskultur: mineralsalt media med NH_3 eller NO_2^- som fungerer som elektronondonorer og HCO_3^- som eneste karbonkilde. Organismene produserer lite ATP per oksidasjon, og dermed vil det ta lengre tid før man ser vekst. Bedre påvisning gjennom påvisning av NO_2^- eller NO_3^- avhengig av elektronondonor.

Ammoniakk oksiderende er innenfor *Alfa*, *gamma* og *proteobacteria* og *Thaumarchaeota*. Utbredt i jord og vann, forekommer i stor grad der NH_3 finnes, eks kloakk. Ved lave konsentrasjoner av NH_3 dominerer arkea.

Nitritt oksiderende: *Alfa*- , *beta*- , *gamma* og *deltaproteobakterier*, og *Nitrospira*.

THAUMARCHAEOTA

Thaumarchaeota er et arkeaphylum som inneholder arken *N. Maritimus* , en arke som vokser kjemolitotroft ved aerobisk oksidasjon av ammoniakk til nitritt. Den er adaptert til ekstreme næringsstoff mangler, og kan vokse på svært lave NH_3 konsentrasjoner. De har et unikt lipid kalt crenarchaeol . Hvor arken trives varierer veldig. Mange av artene har urease aktivitet. Mange er planktoniske.

DISSIMILATIV JERN OKSIDASJON

Genus: *Acidithiobacillus*, *Gallionella*

Fe^{2+} oksiderer spontant i nærvær av O_2 ved nøytral pH, men er stabil under anoksiske forhold eller aerobisk med $\text{pH}<4$.

- Acidofilisk aerob jern oksiderende bakterie. Favorisert i jern rike syrlige områder, eks vann fra jerngruver eller vulkanske områder.
- Nøytrofile aerobe jern oksiderende. Disse bakteriene trives i områder der jernrikt anokskisk vann møter luft. Alle er *proteobacteria*.
- Anaerobisk jern oksiderende, enten kjemotroisk eller fototrofisk. Disse trives i anoksiske sedimenter. Anoksiske områder promoterer løseligheten av Fe^{2+} over en større pH skala.

HYDROGEN METABOLISERENDE BAKTERIER

H_2 er en god elektronondonor. H_2 oksidering finnes i alle genus av anaerobiske arkea. Alle hydrogen bakterier inneholder en eller flere hydrogenasær som binder H_2 , enten for å produsere ATP eller for reduserende kraft. De fleste gror best microaerofilt fordi hydrogenasen gjerne er oksygen sensitiv. Man må kultivere med Ni^{2+} , som er en viktig kofaktor.

CO oksidasjon: noen kan gro aerobt på CO, disse kalles carboxydotrofiske bakterier. De har CO resistente cytokromer. De er en stor grunn til at ikke CO konsentrasjonen har økt i atmosfæren

NANOARCHAEOTA

Fylaet er representert av en enkelt art, *Nanoarchaeum equitans* som er en av de minste organismene kjent, og har det minste genomet av Arkea. Kokkoid form og kan ikke vokse i ren kultur fordi den er avhengig av verten sin *Ignicoccus hospitalis*. Den er dermed den eneste arkea symbionten. *Ignicoccus* er en autotrof som bruker H_2 som elektronondonor, og S^0 som elektron akseptor. Verten gir mest sannsynlig organisk karbon og energi til arken, da den mangler mange nødvendige enzymer for ATP syntese.

METANTROFE OG METYLTROFE BAKTERIER

Metyltrofe organismer bruker organiske forbindelser som mangler C-C bindinger som elektron donorer i energi metabolisme og som karbon kilder. Mange fyla av *Bacteria* og noen arker).

Aerob methyltrofe er vanlig i jord og akvatiske miljøer med O_2 , anaerobe er vanlig i anoxiske miljøer som f.eks marine sedimenter, mange anaerobe er arkea.

AEROBE FAKULTATIVE METYLTROFE

Klasse: *Alpha-, Beta- og Gammaproteobacteria, Actinobacteria og Firmicutes* Genus: *Hyphomicrobium, Methylobacterium*

Aerobe fakultative methyltrofe kan ikke bruke metan som substrat. De fleste kan gro med aerob respirasjon med organiske forbindelser. Noen kan vokse anaerobt, da er de denitrifiserende.

AEROBE METANOTROFE

Fyla: *Proteobacteria* Genus:
Methylomonas,
Methylosinus

Bruker metan, og andre C1 forbindelser som substrat som elektrondonorer og typisk karbonkilde. De er kjemoorganoheterotrofe.

Metan finnes i mange miljøer i naturen, da de produseres av metanogene *Archaea*. To grupper basert på intern struktur og assimilasjons veier.

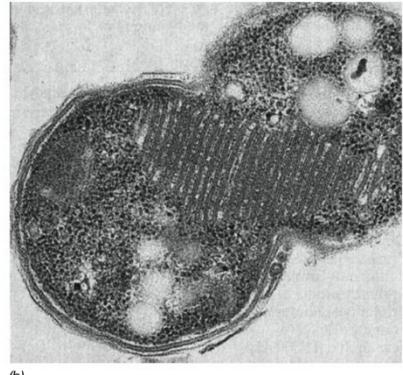
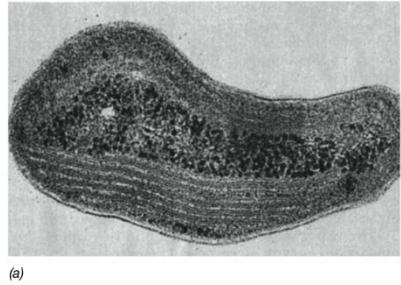


Figure 14.38 Methanotrophs. (a) Electron micrograph of a cell of *Methylosinus*, illustrating a type II membrane system. Cells are about 0.6 μm in diameter.
(b) Electron micrograph of a cell of *Methylococcus capsulatus*, illustrating a type I membrane system. Cells are about 1 μm in diameter. Compare with Figure 14.33.

1. Type I: assimilerer C1 forbindelser via ribulosemonofosfat syklusen og er *Gammaproteobacteria*. De mangler komplett TCA. Membranen er arrangert som stabler av diskformede vesikler
2. Type II assimerer C1 mellomprodukter via serinesporet og er *Alfaproteobacteria*. De har parede membranen langs utkanten av cellen.
3. *Methylacidiphilum* bruker Calvin syklusen til å assimerere CO_2 , er et eksempel på kjemoorganoautotrof.

Viktig enzym er metan monooxygenase ($CH_4 + O_2 \rightarrow$ metanol). Metanotrofe er derfor obligat aerobe. Enzymet ligger i interne membranstrukturer med steroler. Metanotrofe er vanlig i både jord og vandige miljøer. De har en viktig rolle i karbon syklusen, ettersom de tar i mot CH_4 . Det er tenkt at metanotrofe tidligere var ammonium oksiderende bakterier, ettersom metan monooxygenase også oksiderer ammoniakk.

EDDIKSYRE BAKTERIER

Klasse: *Alphaproteobacteria* Genus: *Acetobacter, Gluconobacter*

Obligate aerober som produserer eddiksyre fra sukker og alkohol. Gram negative og bevegelige staver polart flagellert: *Gluconobacter*, peritrichous: *Acetobacter*. Ukomplett oksidasjon av alkoholer og sukker som fører til akkumulasjon av organiske syrer. Når etanol er substrat er eddiksyre produkt. Ettersom de danner syrer er de syre tolerante. Finnes i fermenterende juicer (øl, vin, cider). Er viktig industrielt i produksjon av eddiksyre, og C-vitamin (sorbitol oksideres til sorbose). Noen kan også produsere ekstremt ren cellulose. Påvises på CaCO_3 agar med etanol. Eddiksyren vil løse opp kalsium karbonatet.

BAKTERIER

Oksidase test påviser cytokrom c oxidase, et enzym i mange respirerende bakterier. Katalase testen påviser katalase, et enzym vanlig i bakterier som gror i oksygen.

GAMMAPROTEOBACTERIA

15 ordner med over 1500 arter. Stor diversitet, fototrofe, kjemolitotrofe, kjemoorganotrofe. Mange patogene arter. Mye ulik metabolisme. Kjent fordi de er lette å dyrke.

ENTEROBACTERIALES – ENTERISKE BAKTERIER

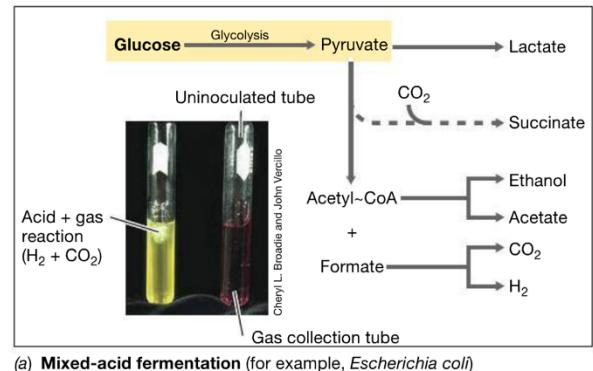
Viktige genus: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*

Fakultativ aerob, gram negativ, ikke sporulerende, staver, ikke bevegelige eller bevegelige med peritrichous flagella. Oksidase negativ og karalase positiv. De har generelt enkle næringskrav og fermenterer sukker til forskjellige produkter. Noen kan drive anaerob respirasjon (reduksjon nitrat til nitritt). Mange patogene arter, men også mange arter som er essensielle. For å klassifisere patogen/ikke patogen kreves det mange analyser.

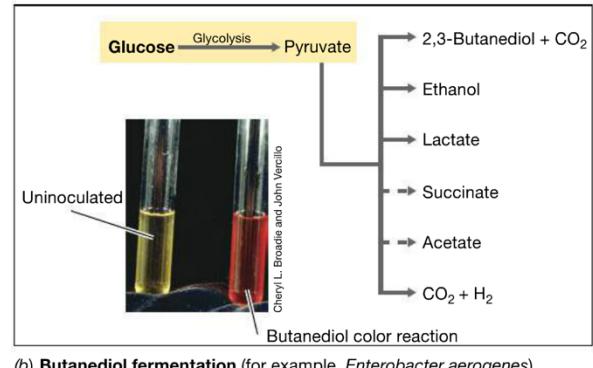
Fermenteringsgrupper:

1. Blandet syre fermentering. Eddiksyre, melkesyre og ravsyre (+etanol, CO₂, H₂) er produkter. CO₂ og H₂ produseres i like mengder, grunnet reaksjonen HCOOH → H₂ + CO₂ katalysert av hydrogenlyase.
 - a. *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus* ++
2. 2,3-butanedial fermentering. Hovedprodukt er butanediol, etanol, CO₂ og H₂. CO₂ dannes fra spalting av maursyre og 2 ekstra ved danning av butanediol. Denne fermenteringen er dermed gjenkjent av mindre syre og mer gass.
 - a. *Enterobacter*, *Serratia* ++

Voges-Proskauer indikerer butanediolproduksjon (gir rødfarge, nederste figuren).



(a) Mixed-acid fermentation (for example, *Escherichia coli*)



(b) Butanediol fermentation (for example, *Enterobacter aerogenes*)

Escherichia

Finnes i blandt annet fordøyelseskanalen og er en del av normalfloraen. I tarmen kan den være viktig for syntese av vit K, og fordi den er fakultativ aerobe konsumerer den O₂ og holder tarmen anoxisk.

Noen er patogene, f.eks diarrea og urinveisinfeksjon. EPEC – enteropathogenic *E.coli* produserer enterotoxin som fører til diare. Enterotoxin er enten verotoksin eller shigatoksin. EHEC – enterohemoragisk *E.coli* gir blodig diare, og følgesykdom med nyresvikt og eventuell død.

Salmonella

Nesten alltid patogen og nært beslektet til E.coli. Vanlig sykdom er tyfus (*S. typhimurium*) og diare. Over 1000 serotyper med ulike O-antigen. Vanskligere for kroppen å kjenne igjen.

Shigella

Typisk patogen for mennesker, produserer endotoksin og nevrotoksin som har enterotoksiske effekter. Forårsaker kraftig gastroenteritts kalt bacillarisk dysenteri.



Proteus

Svært bevegelige celler. Produserer enzymet urease som bryter ned urease, dermed vanlig å finne i urinveiene. Karakteristisk svermfenotype,. Kolonier får serie av ringer. ->

Enterobacter

Enterobacter aerogenes: i tarm, vann og kloakk, kan forårsake urinveisinfeksjoner

Klebsiella

De fleste kan fiksere nitrogen. *Klebsiella pneumoniae*: kan forårsake lungebetennelse.

Serratia

Serratia marcescens produserer prodigiosiner (en rød sekundærmetabolitter som er et pigment). I vann, jord, vertebrat/insekt –tarmer.

PSEUDOMONADALES

Viktige genus – Pseudomonas.

Kjemoorganotofe, organiske substrat oksideres ved respirasjon. Alle kan vokse aerobt, oksidase positive, katalase positive. Noen kan vokse anaerobt, men da driver de nitratrespirasjon. De finnes i jord og vann, og endel er patogene. Viktig å huske at de aldri driver fermentering.

Pseudomonadales er ulike Pseudomonader som er et begrep for G⁻ polart flagellerte aerobe staver som kan bruke diverse karbon kilder. Eksempler på pseudomonader er Pseudomonas (γ), Burkholderia (β), Zymomonas (α), Xanthomonas (γ). Kjennetegn er rett/delvis stav, enkle næringskrav, ikke fermentative og at de mangler hydrolytiske enzymer.

Pseudomonas aeruginosa: Opportunistisk patogen (infeksjon i individer med svekket immunforsvar). Mange er naturlig motstanddyktige mot antibiotika, grunnet resistance transfer plasmid.

VIBRIONALES

Viktige genus: *Vibrio*, *Aliivibrio*, *Photobacterium*

Fakultativ aerobe staver og kurvede staver som har fermentativ metabolisme. Gram negative. De fleste har polare flageller, men noen har peritrichouse. Skilles fra Pseudomonas ved en fermenteringstest. *Vibrio cholerae* er grunnet til kolera.

Mange er akvatiske og driver bioluminisens.

Bakteriell biolumicenc

Prosessen der lys sendes ut, og er utbredt i marine miljøer. Koloniserer og f.eks gi lys i spesielle lys organ i marine fisk og blekksprut. Bakteriene kjenner igjen av lyset og de kan leve symbiotisk, saprofyttisk, parasittisk eller i frie kolonier.

Mekanisme: biolumicenc kun når O_2 er tilstede. Lumicenc krever luxCDABE genet, som blant annet transkriberer for luciferase som bruker O_2 , et lang alifatisk aldehyd og redusert flavin mononukelotid. Elektronene fra flavinmolekylet går direkte til O_2 .



Autoinduksjon: transkripsjon av lux genet kontrolleres. LuxR transkriberer for aktivatorprotein, og må selv aktiveres av acyl homoserine laktone. Høy konsentrasjon av AHL fører til at genet transkriberes – eksempel på quorum sensing.

Genus	Habitat	Patogen	Fermentering
Escherichia	Fordøyelseskanal	Noen typer, eks diare og urinveisinfeksjon	Blandet syre
Salmonella	Fordøyelseskanal	Nesten alltid patogen. Tyfus, diare	Blandet syre
Shigella	Fordøyelseskanal, mat, vann	Vanligvis patogen bacillarisk dysenteri	Blandet syre
Proteus	Urinveiene	Venligvis patogen	Blandet syre
Enterobacter	Tarm, vann, kloakk	Noen, urinveisinfeksjon	Butanediol
Klebsiella	Jord, vann	Noen, lungebetennelse	Butanediol, kan også fiksere nitrogen.
Serratia	Vann, jord, vertebrat/insekt tarm	Ja. Infeksjoner	Butanediol

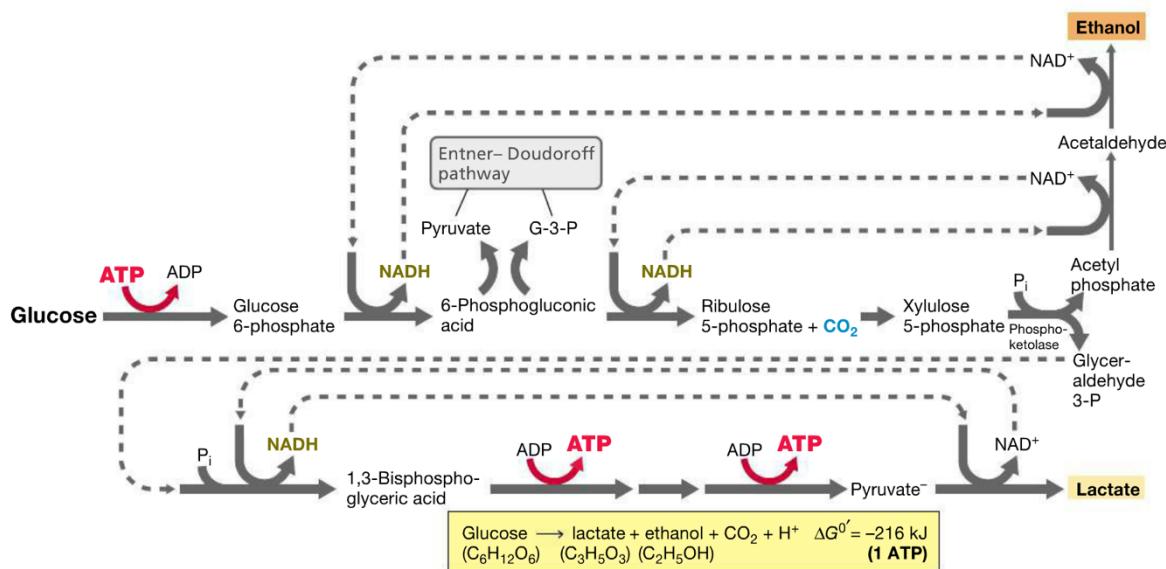
FIRMICUTES

Gram positive bakterier, kalles også lav GC gram positive bakterier, ettersom de har et lavt innhold av guanin og cytosin. Mange er ikke-sporulerende.

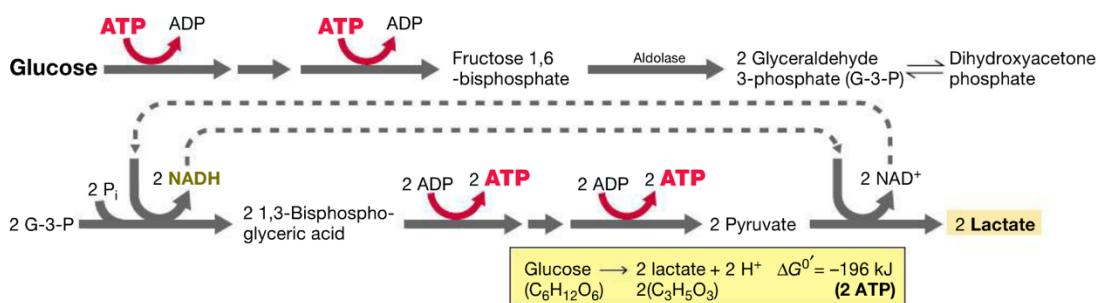
LACTOBACILLALES

Viktige gener: *Lactobacillus, Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus*

Ordenen inneholder melkesyre bakteriene. Ikke sporulerende, oksidase og katalase negative staver eller kokki som har eksklusiv fermenterende metabolisme. De mangler porphyriner og cytokromer og de fleste er ikke sensitive til oksygen og er aerotolerante anaerobe. De har komplekse næringskrav. Skilles i to grupper; hetero og homofermentative



(b) Heterofermentative



(a) Homofermentative

MELKESYRE FERMENTERING

Melkesyrebakteriene produserer melkesyre som eneste eller hoved fermenteringssprodukt. Enten homofermentasjon – kun melkesyre eller heterofermentativ – melkesyre + andre produkt, hovedsakelig etanol og CO₂. Heterofermenterende mangler aldolase, og oksiderer glukose-6-fosfat til 6-fosfoglukulat og videre til xylose 5-P. Produseres kun 1 ATP per glukose. En annen metode er Entner – Doudoroff sti som utnyttes av mange pseudomonader.

Lactobacillus

Typisk stav formet, gror i kjeder, de flest er homofermentative. Typisk mer resistent mot syrlige miljø enn andre melkesyre bakterier. Sjeldent/aldri patogen. Eks *L. acidophilus* –melk.

Streptococcus, Lactococcus og andre cocci

Homofermentative kokkformede melkesyrebakterier. Noen er patogene, noen fører til karies, andre er industrielt viktige. *Lactococcus* er viktig for mange melkeprodukter. *Enterococcus*: streptokokker som finnes i avføring, noen patogene.

Streptococcus finnes i mat, noen er patogene, andre ikke. Delt i to subgrupper, skiller ved hemolyse av blodagar. Beta hemolyse.

- 1) Pyogenes – produserer streptolycin O eller S og utfører β -hemolyse
- 2) Viridans - ukomplett hemolyse, agaren får grønnskjær.

BACILLALES

Inneholder typisk aerob og fakultativ aerobe kjemoorganotrofe. Sammen med *Clostridiales* er de de eneste ordnene som produserer endosporer. De inndeles ut ifra cellemorphologi, plassering av endosporen, forhold til O₂ og energimetabolismen. Man selekterer for disse artene ved å koke en prøve i 80 grader i 10 minutter og deretter inkuberere aerobt for *Bacillus*, eller anaerobt for *Clostridium*. De naturlige habitatene er jord.

Listeria

Gram positive, katalase positive, oligat aerobe coccibacili som lager kjeder på 3-5 celler., ikke sporulerende. Vokser som regelt bra ved lave temperaturer, dette tillater vekst i kjøleskap.

Staphylococcus

Fakultativ aerob, kokkoid. Tåler lav vannaktivitet, og høy saltkonsentrasjon. Alle er katalase positive. Mange er pigmenterte.

Staphylococcus epidermidis – ikke-pigmentert, ikke-patogen, vanlig på hud

Staphylococcus aureus – gul pigmentert patogen. Lungebetennelse, hjernehinnebetennelse, kviser og byller, benmargsbetennelse. Denne bakterien kalles også MRSA - methicillin resistant *S. aureus*

Bacillus

Gror på definert medium med mange forskjellige karbonkilder. Mange arter produserer hydrolytiske enzymer som bryter ned polymerer og lipider. Mange produserer antibiotika ved sporulering/stasjonærfasen. Noen er patogene. Noen produserer insektsgifter. Genmodifisert mais inneholder Bt toxinet som dreper insekter.

Sporuleringen: Cellene begynner å sporulere når det er dårlige tider. Eks lite vann, høy temperatur, lite næring, osv. Vegetative celler -> endosporer.

- 5 sensor kinaser overvåker miljøet. Signal sendes når det er unormalt, fosforylering av sltere sporuleringsfaktorer som tilslutt fosforylerer Spo0A.
- Høyt innhold av fosforyerte Spo0A fører til at gener for sporulering skrus på. Et av produktene, SpolIIE defosforyliserer SpolIAA, som videre fjerner antisigmafaktoren SpolIAB.
- 4 sigma faktorer: σ F, σ G, σ E, σ K kontrollerer utviklingen ved å styre transkripsjon av nødvendige gener

Når SpoOA er aktiv blir det skilt ut et protein som lyserer nærliggende cellen. Proteinet lyserer også egne celler, i tillegg til å forsinke deres sporulering. Hvis SpoA er aktivert i den andre cellen vil det skilles ut beskyttende proteiner. Dette bidrar til bedre næringstilgang gjennom sporuleringsprosessens.

CLOSTRIDIALES

CHAPTER 7 • METABOLIC REGULATION **257**

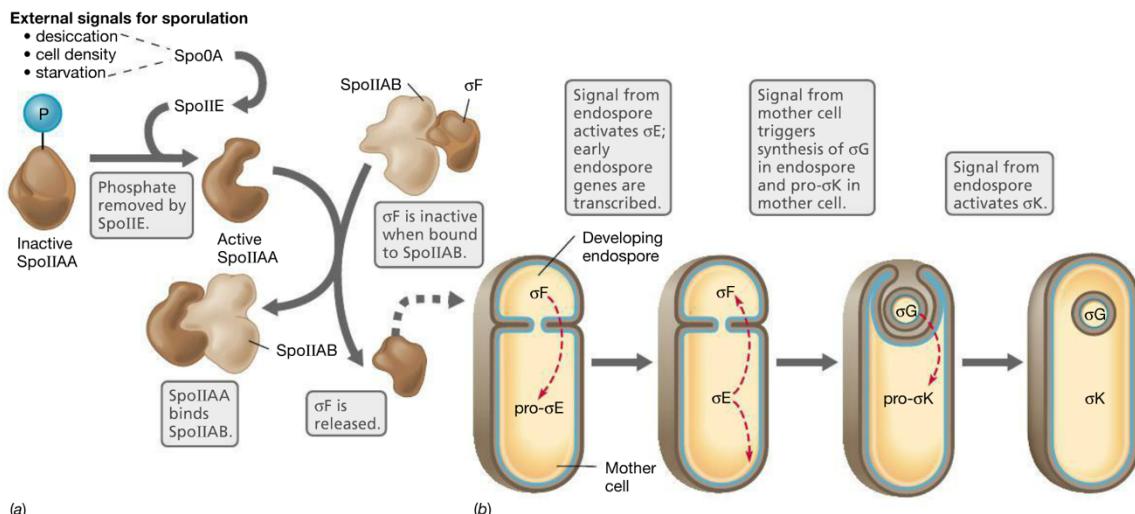


Figure 7.25 Control of endospore formation in *Bacillus*. After an external signal is received, a cascade of sigma (σ) factors controls differentiation. (a) Active SpoIIAA binds the anti- σ factor SpoIIAB, thus liberating the first σ factor, σ F. (b) σ F initiates a cascade of sigma factors, some of which already exist and need to be activated, others of which are not yet present and whose genes must be expressed. These σ factors then promote transcription of genes needed for endospore development.

Sarcina

Ikke sporulerende

Clostridium

Fermentativ bakterie som mangler elektrontransportkjede. Er dermed obligat anaerob. To typer fermentering; ATP syntesen gjøres via substrat level fosforylering. To hovedtyper, sakkrolytisk(sukker) og proteolytisk(protein) fermentering. Den sakkrolytiske fermenterer sukker og produserer smørsyre (butyric acid). Glukose brytes ned til pyruvat og NADH via glykolsen. Pyruvat splittes til acetyl-CoA, CO₂ og H² via fosforolytisk reaksjon. Hvis pH holdes konstant (eks buffer) vil bakterien holde seg til produksjon av smørsyre, men hvis pH faller blir aceton og butanol også produkter.

Proteolytisk degraderer proteiner fra døde organismer, noen bryter kun ned individuelle aminosyrer. Det er komplekse fermenteringsspor, men de ender opp med fettsyre-CoA derivater, som videre gir ATP ved substrat nivå fosforylering. Andre produkter er ammoniakk og CO₂. Noen fermenterer kun aminosyre par, hvor en er donor og en akceptor. Det kalles Stickland reaksjons. Feller for clostridal fermentering er at det produseres illeluktende forbindelser.

De fleste lever i jord, og noen fikserer nitrogen. Noen er patogene, kan gi matforgiftning, stivkrampe, botulisme, koldbrann.



TENERICUTES

Kun en klasse; *Mollicutes*. Noen av de minste organismene kjent. Mange patogene arter. Viktig genus er *Mycoplasma*. Tenrecutene kalles gjerne mycoplasmas. Disse bakteriene mangler cellevegg, og de har ikke peptidoglycan. De motstår osmotisk lysering ved å utnytte steroler i membranen som

Figure 15.26 Colonies of a *Mycoplasma* species on agar. I

gjør strukturen mer rigid. I tillegg har de lipoglycaner som er polysakkarkerer bundet til membranlipider. Dette stabiliserer og bidrar til festning til vertscellens overflateresektorer. De fleste mycoplasmas krever komplekse medium, med mange vekstfaktorer. De er ikke sensitive mot antibiotika som angriper celleveggssyntesen. Når de vokrer på agar får de spesielle strukturer fordi de faller ned i mediumet og danner porer.

ACTINOBACTERIA

Gram positive, stav til filamentærformede og primært aerobisk. Ni ordre, men de fleste artene hører til *Actinomycetales*. Vanlig i jord og plantemateriale. Svært få arter er patogene, utenom innenfor slekten *Mycobacterium*. Industrielt viktige for fermentering av melkeprodukter og antibiotikaproduksjon

Propionibacterium

Propionsyre bakteier: Oppdaget i Swiss (Emmentaler) ost. Disse bakteriene som gir hull og den spesielle smaken iosten. De er gram positive, anaerobe som fermenterer melkesyre, karbohydrater, polyhydroxy alkoholer til propionsyre, eddiksyre og CO₂.

Under sveitserost produksjon er det først homofermentative melkesyrebakterer som omdanner melkesukker til melkesyre. Deretter driver propionsyre bakteriene sekundær fermentering på melkesyren og danner sine produkter.

Mycobacterium

Mange patogene arter, blant annet *M. tuberculosis*. De er stavformede, og er delt inn i sakte og hurtig voksende. Noen er også filamentære. Noen mycobakteria produserer gule karoteinoider. Pigmenteringen deles inn ikke pigmentert; photochromogenesis (pigment når kultivert i lys) og scotochromogenesis (pigment når kultivert i mørke)

Har egenskapen acid-fatness som er grunnet at celleveggen inneholder mykolsyrer kovaltent bundet til peptidoglykan. Dette gir overflaten en voksaig egenskap. Blir dermed ikke farget godt med Gram farging. Man kan syre-fast farge (Ziehl-Neelsen). Da farges bakterien under oppvarming av fenol og et rødt basisk fargemiddel. Syre faste blir røde, mens ikke syre faste blir blå.

De fleste har enkle næringskrav og driver aerob oksidasjon av glyserol eller acetat, med nitrogen fra NH₃. *M. tuberculosis* er vanskeligere å dyrke og må stimuleres av fettsyrer og lipider fra egg. Generasjonstiden er svært lang. Virulensfaktoren til *M. tuberculosis* er koblet til cord factor.

ACTINOMYCETES

Gruppe fylogenetisk like filamentære bakterier som er aerobe gram positive. Mange har evnen til å danne uttørknings resistente sporer. Filamentene elogerer og danner hyphae, og netverket av filamenter kalles mycelium.

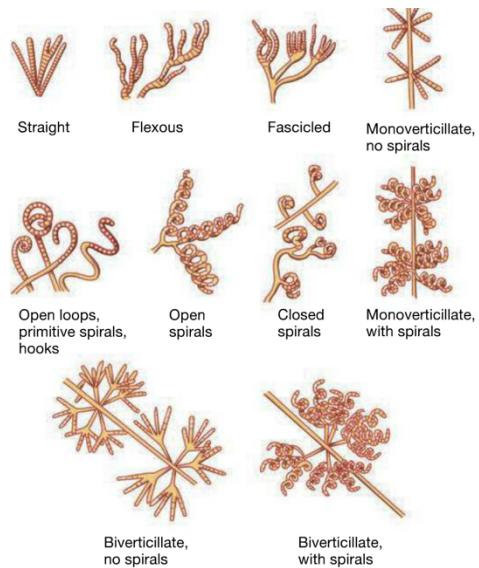
Streptomyces

Over 500 arter er kjent. Vekst skjer i enden av hyfen, og diameteren på filamenter er mellom 0,5-1 µm og har ubegrenset lengde. Filamentene mangler gjerne indre cellevegg. Når kolonien blir eldre danner luftmycel sporophorer som gir oppgav til sporer. Sporene kalles conidia og dannes ved at kryssvegger danner i multinukleære sporophorer, og tilslutt skiller enkeltsporer av. Strukturene er ofte pigmenterte og har karakteristiske utseender for en art.

Bakteriene er primært jordakterier og triver i alkalist eller nøytrale miljøer. De finnes også i vann. De har en karakteristisk jordlukt grunnet metabolitten geosmin.

Isoleringen er relativt enkel; jordsuspensjon i selektiv medium med stivelse, asparagin eller kalsium-malat som karbonkilde. De inneholder extracellulære hydrolytiske enzymer som gjør at de kan bryte ned polymerer.

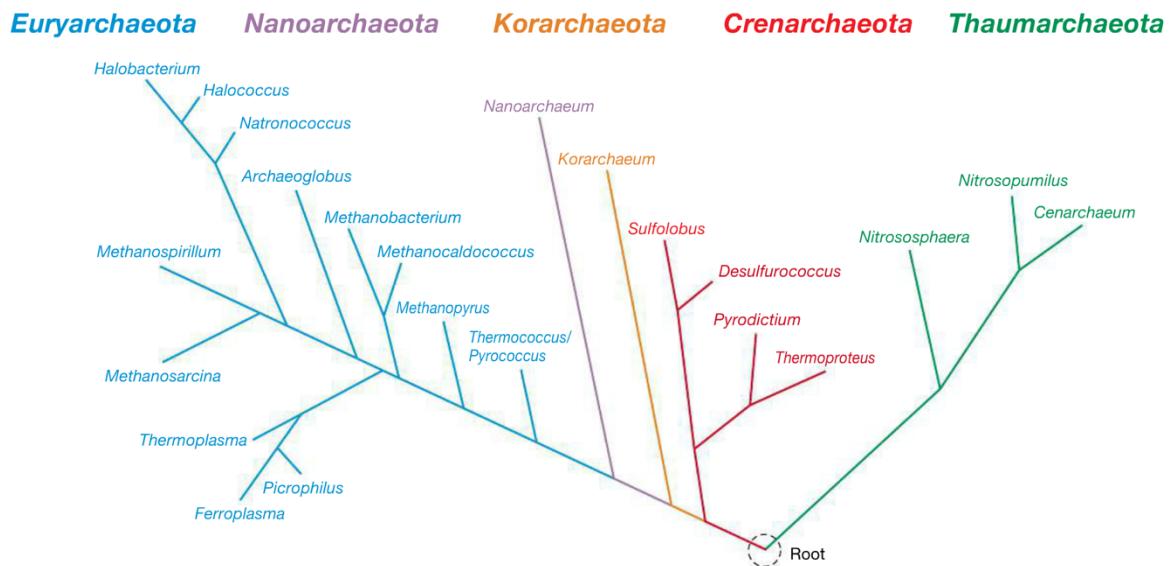
Over 50% av isolerte *Streptomyces* produserer antibiotika, og det er karakterisert over 500 ulike typer. Antibiotikaproduksjon krever mange gener, og derfor har bakteriene store genomer. Noen kan til og med lage flere typer antibiotika.



Phyla	Klasse	Orden/(genus)	Gram	Oksygen	Respirasjon	Fermentering	Oksidase	Katalase
Proteobacteria	α	Eddiksyre bakterier	neg	Aerob	O2	Nei	neg	neg
	γ	Enterobacteriales	neg	aerob	O2	nei		
		Pseudomonadales	neg	Fakultativ aerob	O2/N03	Ja	neg	pos
		Vibrionales	neg	Obligat aerob/anaerob	O2/N03	Nei	pos	pos
				Fakultativ aerobe	O2/N03	Ja	pos	pos
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	pos	Aerotolerant aerob	Nei	Ja	neg	neg
		(listeria)	pos	Obligataerob		Ja	pos	pos
		(Staphylococcus)	pos	Fakultativ aerob		Ja	pos	pos
		Clostidiales	pos	obligat anaerob	Nei,	Ja	neg	neg
Tenericutes	Mollicutes	"pos	"pos	Fak aerob /obligat anaerib	Nei	ja	neg	neg
Actinobacteria	(Propionibacterium)	pos		Anaerob	Nei	Ja	pos	Pos
	(Mycobacterium)	pos		Obligat aerob	O2	Nei	pos	pos
	(Streptomycester)	pos		Aerob	O2	Ja	pos	pos

ARKER

Arker er kjemotrofe med et unntak som er *Halobacterium*. I phylaet *Euryarchaeota* finner vi ekstremt halofile, metanogene, termoacidofile og ekstremt termofile. *Nanoarchaeota* består foreløpig bare av en liten parasittisk art.



EKSTREMT HALOFILE ARKER

Bor i miljøer med høye salt konsentrasjoner. Habitatene kalles hypersaline. Ekstremt halofil indikerer at organismen ikke bare er halofil, men at den krever høye saltkonsentrasjoner (over 1,5M (9%) NaCl for vekst). Vanligst er 2-4 M NaCl, og de fleste kan vokse i mettet saltlösning 5,5 M. Ekstremt hypersaline habitater er sjeldne. Man finner de gjerne i saltet mat, avdampede vannpytter og saltsjøer.

Soda lakes er alkale hypersaline miljø med lite Ca^{2+} og Mg^{2+} grunnet at de feller ut ved høy pH. Marine saltsjøer er også vanlig habitat, når det blir høy kons av salt blir vannet rødaktig grunnet blooming av celler. Den euakryote algen *Dunaliella* er tilstede i de felste saltsjøer.

Deles inn i ekstremt halofile og haloalkalifile; eks hendholdsvis *Halobacterium* og *Natronbacterium*. *Natronbacterium* gror optimalt ved lav Mg^{2+} kons og høy pH. Haloarkea farges gram negativt, reproduserer ved binær fisjon og danner ikke sporer eller hvilestrukturer. Mange ulike morfologiske former. Mange har gas vesikler, mest sannsynlig for å holde seg i oxisk sone ettersom de fleste er obligate aerobe. De fleste ekstremt halofile har ikke flagella, men noen har det. *Halobacterium* og *Halococcus* har store plasmider (opp til 30%) av cellulært DNA. GC ratio er litt ulikt det kromosomal. De fleste bruker amino- eller organiske syrer som elektrondonorer. Sukker fermentering skjer ikke. *Halobacterium* har cytokrom a b og c. Noen haloarkea kan vokse anaerob ved anaerob respirasjon med nitrat eller fumarat.

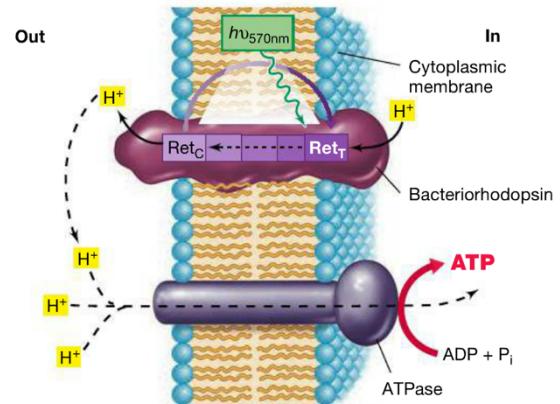
VANNBALANSE

Halobacterium krever både Na^+ og K^+ . Kompatible forbindelser i cytosol, men syntetiserer de ikke selv, pumper inn K^+ slik at K^+ konsentrasjonen inne alltid er større enn Na^+ utenfor. Celleveggen er bygget opp av glycoprotein som stabiliseres av Na^+ . Uten N^+ lyserer cellen fordi aspartate og glutamat ikke blir stabilisert, deres negative ladning vil medføre at de repellerer hverandre. Cytoplasmiske proteiner har lite hydrofobe aminosyrer og lysine. Ribosomene krever også høy KCl for stabilitet.

BACTERIORHODOPSIN

Noen arkea har lysdrevet ATP syntese. Bacterioruberines - rød og oransje karotenoider C₅₀ pigment. Bacteriorhodopsin – festet i cytoplasmisk membran. Konjugert med retinal som gir en lilla farge. Etter absorasjon av lys går retinal fra trans til cis og transformasjonen er koblet med translokasjonen av protoner over cytoplasmisk membran. Bacteriorhodopsinen blir syntetisert ved lav O₂. Pumpen fungerer også til å pumpe Na⁺ ut av cellen, og K⁺ inn, i tillegg til å ta inn aminosyrer.

Andre rhodopsiner. Halorhodopsin – lys drevet klorid pumpe, pumper Cl⁻ inn som anion for K⁺. To andre sensor rhodopsiner er med på phototaxi.



METANOGENE

Er obligat anaerobe, og de fleste metanogene er mesofile og ikke halofile. Nøkkelslekt er *Methanocaldococcus*. Det er ulik celleegg hos de metanogene arkene, pseudomurein, S-lag, methanochondroitin, protein eller glykoprotein. Generelt stort morfologisk mangfold. Metanogene artker finnes i anoksiiske sedimenter, tarm, geotermiske kilder, hydrotermale vents, kloakslamanlegg osv.

Tre typer substrat reduseres til metan.

- 1) CO₂ type substrat: CO₂, formiat, CO. Elektroner fra H₂ (litt alkohol/pyruvat)
- 2) Metylert substrat: metanol (CH₃OH), methylamin, dimethylsulfid.
- 3) Acetate: acetat, pyruvat.

Sukker kan omdannes til metan, men da må metanogenen samarbeide med en anaerobisk bakterie.

Methanocaldococcus jannaschii er modell-metanogen. Arten er hypertermofil med 1.66 Mbp sirkulært genom. 1700 gener; sentral-metabolisme og celledeling lik Bacteria. Gener for transkripsjon og translasjon er mer lik eukaryote. 40% av genene er unike, og overlapper ikke med gener fra *Bacteria* eller *Eukarya*.

THERMOPLASMATALES

Termofile og ekstremt acidofile genera; *Thermoplasma*, *Ferroplasma* og *Picrophilus*. *Thermoplasma* og *Ferroplasma* mangler celleegg

Thermoplasma er kjemoorganotrot og vokser optimalt ved 55 grader og pH 2 i komplekst media. To arter er beskrevet og begge er fakultativ aerobe som driver svovel respirasjon. Unik cytoplasmisk membran, lipopolysakkrid kalt lipoglycan i tetraherer lipid monolag med mannose og glukose. Relativt lite genom

Ferroplasma er kjemolitotrif og acidofil, men ikke termofil, 35 grader optimal. Oksiderer toverdig jern til treverdig og bruker CO₂ som energikilde. *Picrophilus* optimal pH 0,7, kan vokse under 0. Har celleegg S-lag. Lavere GC ratio enn de andre. Gror heterotrofisk på komplekst media

TERMOCOCCALES OG METANOPYRUS

Termococcus - spfærisk hypertermofilisk *euryarchaeote*. Anoxiske termale vann. Har tuft av polareflagella. Obligat anaerob kjemoorganotrof. Metaboliserer protein og andre komplekse organiske mikser med S⁰ som elektronakseptor. Temp 55-95 grader.

Pyrococcus gror ved høyere temp 70-106 grader med optimum 100. Ellers morfologisk svært lik *Termococcus*. Protein stivelse maltose oksideres som elektron donorer og S⁰ er terminal akseptor. Lager H₂S når S⁰ er tilgjengelig, og H² når den ikke er tilgjengelig

Methanopyrus er stav formet hypertermofil metanogen. Produserer CH₄ fra H₂ og CO₂. Gror raskt for en autotrof orgnamsme, g=1 time. Lipidene i arker har phytanyl isteden for fettsyrer, men i *methanopyrus* er lipidet umettet kontra mettet som er vanlig.

NANOARCHAEOTA

En art, *Nanoarchaeum equitans* er en av de minste organismene kjent og har det minste arkea genom. Er en cocciod som kun kan replisere når de sitter fast på verten *Ignicoccus hospitalis* som er hypertermofil. *N. Equitans* lever et parasittisk liv. Optimal temp 90 grader og kan leve mellom 70-98 grader. *I. hospitalis* er autotrof, bruker H₂ som elektronodonor og S⁰ som akseptor. Gir mest sannsynlig *N. Equitans* organisk karbon, og det er sannsynlig at den også får ATP.

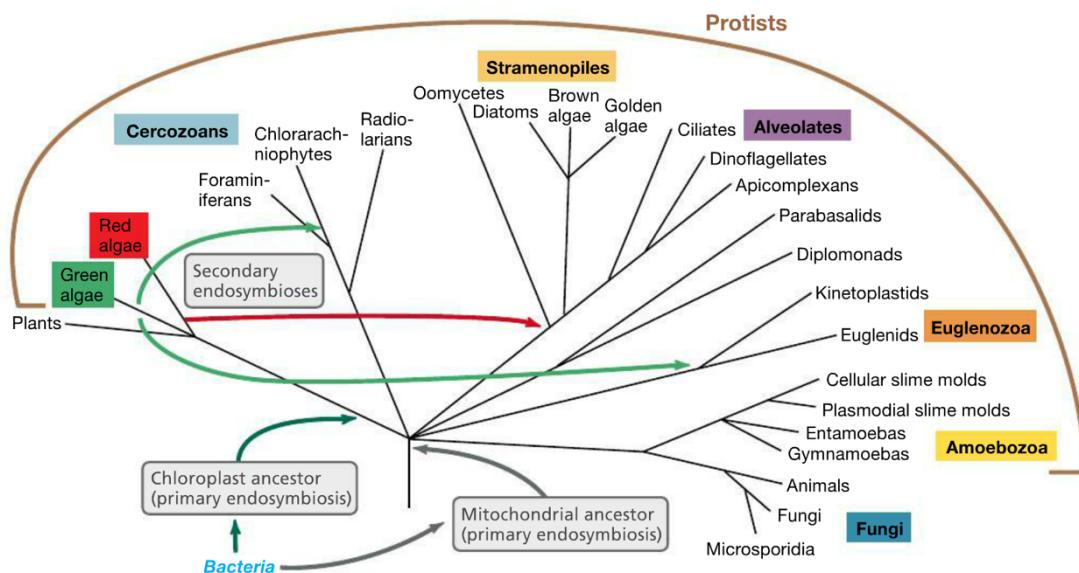
N. Equitans har cellevegg av S lag og genomet er veldig lite, mangler mange viktige gener for normal metabolisme. Mangler biosyntese for lipider, aminosyrer, nukleotider koenzym og noen gener for ATPase.

EUKARYOTE

Oppstandelsen til eukaryote celler har størst oppslutning i den endosymbiotiske hypotesen fordi;

1. Mitokondriet og kloroplasten inneholder DNA og kan produsere sine egne proteiner som respirationsskjeden og fotosyntetiske apparat. DNAet er i sirkulær form.
2. Eukaryote nukleus inneholder gener derivert fra bakterier. Man har konkludert med at genene er translokert
3. Ribosomene er av 70s og ikke 80s som i resten av den eukaryote cellen.
4. Antibiotika som forstyrrer 70s protein syntesen inhiberer protein syntese i både bakterie cellen og i mitokondriet/kloroplasten i eukaryote.
5. Hydrogenosomer finnes også. Disse er lokalisert i noen amitokondriate (uten mitokondrie) organismer. Gir cellen ATP fra fermenterende rx.

Mitokondriet, kloroplasten og hydrogenosomet stammer fra primær endosymbiose. Sekundær endosymbiose når hele alger ble tatt opp av en eukaristisk celle og kloroplastene tatt vare på. Fylogenetiske trær er basert på tubulin gener, RNA polymerase, ATPase, heatshock og fler.



DIPLOMONADER OG PARABASALIDS

Unicellulære flagellære protister som mangler mitokondrie og kloroplast. De lever i anoksiske habitat (tarmsystem) og er enten symbiotiske eller parasittiske. Konserverer energi ved fermentering.
Dipomonader – inneholder to nukeli av samme størrelse. Relativt lite og kompakt genom. Eks. *Giardia*
Parabasalids – har en parabasal kropp som gir strukturell støtte til golgiapparatet. Har hydrogenosom for anaerob metabolisme. Bor i tarm og urinsystem i pattedyr. Eks. *Trichomonas*

EUGLENOZOANS

Unicellulære frie eller parasittiske flaggelerte eukaryoter.

KINETOPLASTIDENE

Inneholder kinetoplast – masse av DNA en stor mitokondrie. Lever primært i akvatiske habitat der de spiser bakterier. Noen er parasittiske mot dyr. Genus: *Trypanosoma* – infeksiøs mot mennesker, er små og tynne og halvmåneformede. En enkel flagell. Mange smitter mennesker via fluer.

EUGLENIDER

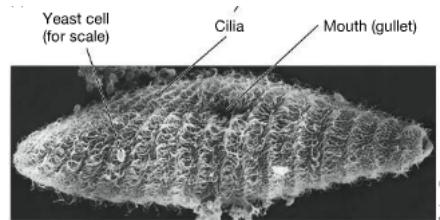
Bevegelige, ikke patogene som er både kjemo- og fototrofe. To flageller. Bor eksklusivt i akvatiske habitat. Kan drive fagocytose på bakterier.

ALVEOLATER

Karakteriseres ved at de har alveoli (cytoplasmiske sekker lokalisert under den cytoplasmiske membranen). Man er ikke helt sikker på hva funksjonen til alveolien er, men man tenker seg at den opprettholder osmotisk balanse og kontrollerer vann inn og utflux. Tre typer:

CILIATER

Bruker cilia for bevegelse og har cilia på minst et steg i livssyklusen. To typer nukleoi; micro og makronuclei. *Paramecium* er kjent. Bruker cilia for bevegelighet og næringsinntak. Har en gullet (munn) som tar inn mat (eks bakterieceller). Mange av artene er verter for endosymbiotiske prokaryoter/eukaryoter, mens andre er dyreparasitter.



FIGUR 4: PARAMECUM

DINOFLAGELLATER

Marin og ferskvann fototrof alveolat. Fotosyntetiske system gjennom sekundær endosymbiose. Har to flageller. Noen er frittlevende mens andre er symbiotiske. Mange arter er toksiske. Eks er red tides av *Gonyaulax*. Neurotoksinet fører til paralytisk skjell fisk forgiftning.

APICOMPLEXANER

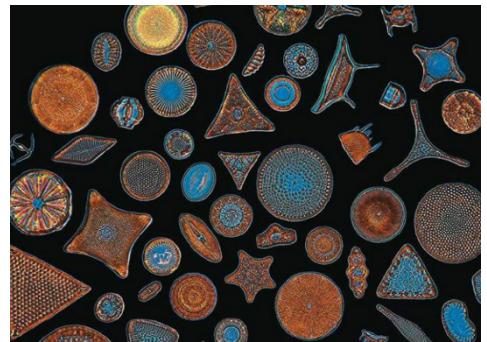
Ikke fototropiske obligate parasitter som fører til sykdom som f.eks malaria. Ikke bevegelig voksen fase og næring tas opp fra løsning rundt cellen. Produserer strukturer kalt sporozoitter (overføring av parasitter til ny vert). De inneholder også apicoplaster (degenererte kloroplaster uten pigment eller fototrofisk kapasitet) som kan metabolisere fettsyrer, isoprenoid, heme biosyntese og eksport til cytoplasma.

STRAMENOFILE

Inkluderer både kjemoorganotrofe og fototrofe mikro og makroorganismes. Har flagella med mange korte hårlignende ekstensjoner.

DIATOM

Over 200 genus. De er unicellulære, fototrofiske, største komponent av plankton. Produserer celleegg av silica som proteiner og polysakkarker festes i. Veggen har stor variasjon mellom arter, mange ser veldig fine ut. Denne eksterne strukturen kalles frustule og blir ofte igjen etter at cellen har dødd. Frustulen har ofte morfologisk symmetri; pinnate symmetri (like deler på motsatt side av en akse) og radial symmetri.



OOMYCETENE

Også kalt vann mugg; filamentær vekst og inneholder coenocytiske (multinukleære) hyfer. Celleveggen er av cellulose og de er fagellerte. Mange av artene er phytopatogene (plante patogene).

GYLLEN OG BRUN ALGER

Gyllen alge – chrysophyter – unicellulære marine og ferskvanns fototrofe. Noen er organotrofe og spiser ved fagocytose eller transport over membranen. De er gyllen brune fordi de har gulbrunt karoteinoid.

Brun alge – primært marine og er multicellulære og makroskopiske. Brune i fargen på grunn av et karoteinoid.

CERCOZOANS

Inkluderer – chlorarachniofytter og foraminiferans. Chlorarachniofytter er ferskvann og marine amøbe liknende fototrofer som utvikler en fagell. Foraminifera er eksklusivt marine og danner skjell liknende strukturer kalt tests. Dannes av organisk materiale forsterket med kalsium karbonat. Grunnet vekten faller gjerne organismen til bunnen av vannsøylen. Tests er relativt resistente mot nedbrytning og er lette å fossilisere.

RADIOLARANIS

Planktoniske marine som danner tråliknende pseudopodia.

AMOEBOZOA

Terrestrielle og akvatiske protister som bruker pseudopodia til å bevege seg og spise.

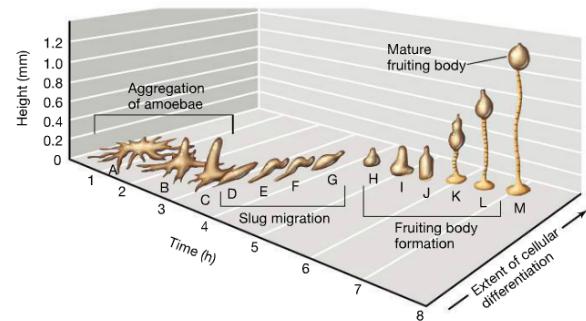
GYMNAMOEAS OG ENTAMOEAS

Gymnamoeasene er fritt levende protister som bor i akvatiske og terrestrielle områder. Bruker pseudopodia til å bevege seg ved en prosess kalt amoebid bevegelse. De spiser ved fagocytose på bakterier eller andre protister. *Amoeba* er vanlig i sølepytt/dam. Entamoebas er parasitter i vertebrater og invertebrater. Vanlig habitat er oral og intestinal kanal.

SLIMSOPP

Produserer frukt kropper med sporer. Bevegelige og kan krysse en solid overflate ganske raskt. Delt i to grupper – plasmodiale slipsopper (vegetativ form er masser av protoplasma av udefinert størrelse og form) og cellulare slimsopper (vegetativ form er enkelt amoeba). De plasmodiale eksisterer som en ekspandere masse av protoplasma kalt plasmodium.

Cellular slimsopp, eks *Dictyostelium discoideum* har en aseksuell livssyklus der vegetative celler aggregerer, migrerer og produserer frukt kropper.



FIGUR 5: *DICTYOSTELIUM DISCODEUM*

SOPP

Lever i jord eller dødt plantematerie. Mange er patogene

FYSIOLOGI, STRUKTUR OG SYMBIOSE

Kjemoorganotrofe. De fleste er aerobe. De spiser ved å skille ut ekstracellulære enzymer som bryter ned polymere. Stor økologisk aktivitet er nedbrytning av trær, papir, klær osv. Lignin er del av trær brytes ned sammen med cellulose av visse wood-rotting sopp. To typer; 1. Brun rot, cellulose angripes, mens lignin blir liggende igjen. 2. Hvit rot – både cellulose og ligning nedbrytes.

De fleste sopp er multicellulære og danner nettverk av filamenter kalt hyfer. Hyfer er tubulære celler som omgir den cytoplasmiske membranen. Ofte slik at hver celle er delt ved cross-walls. Filamentene vokser typisk i tuppen terminal celle. Hyfene vokser sammen til mycelium. Antenne hyfer som når luft danner sporer kalt conidia (aseksuelle sporer). Noen sopp danner makroskopiske reproduksjonsstrukturer kalt fruiting bodies (mushroom). Noen sopp vokser som enkeltceller, f.eks gjær. De fleste cellevegger er av chitin (N-acetylglukosamin).

Mycorrhizae er et symbiotisk forhold mellom sopp og planterøtter. Sopper hjelper planten med å ta opp fosfor. To typer; ectomycorrhizae mellom basidiomyceter og røttene til trær og endomycorrhizae mellmo glomeromycete sopp og ikke tre planter.

Mange sopp assosierer seg med cyanobakterier eller grønnalger og danner lav.

REPRODUKSJON

Reproduserer aseksuelt via en av tre måter;

1. Vekst og spredning av hyfe filamenter
2. Aseksuell produksjon av sporer
3. Celle deling (eks budding gjær)

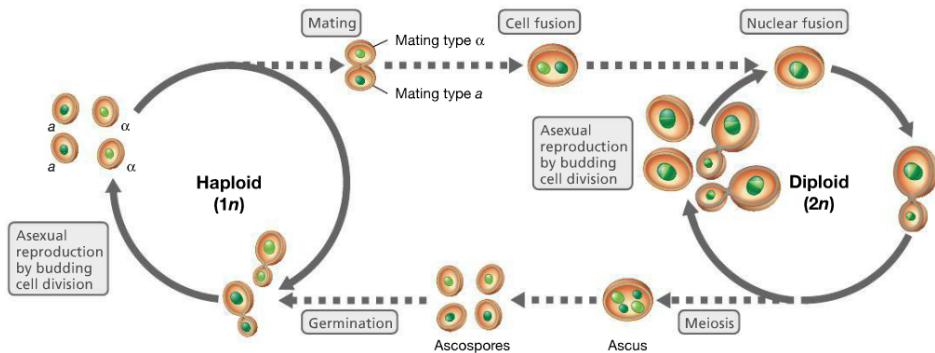
Noen sopp danner sporer gjennom seksuell reproduksjon. Sporene dannes av fusjon av unicellulære gameter eller spesialiserte hyfer kalt gametangia. Eller at to haploide cellen går sammen og danner en diploid som gjennomgår meiose og mitose. Sporer som dannes inne i en sekk kalles ascosporer.

ASCOMYCETER

Akvatisk og terrestrielle miljø, danner asc - celler som har to haploide nuklei fra forskjellige parringstyper som danner et diploid nukleus.

SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Cellene er sfæriske, ovale eller sylinderiske og celle deling tar plass via budding. Typisk fakultativ aerob. Cellene kan gro vegetativt i enten haploid eller diploid steg. Danner to forskjellige parrings typer. a og α.



ANTIFUNGALLE LEGEMIDDLER

Mange metabolske spor i sopp er like i vertscellen som gjør legemiddelet toksisk. Noen er selektive for sopp;

- Ergosterol inhibitører – ergosterol finnes i cytoplasmiske membranen (istedet for kolesterol). En er polyene som bindes til ergosterol og fører til at membranen blir permeabel. Azoler og allylaminer inhiberer biosyntesen. Allylaminer kan kun brukes på overflater fordi den ikke tas opp av dyrevev.
- Echinocandins er celle vegg inhibitører som blokkerer aktiviteten til 1,3,beta-D-glucan syntase.
- Polyoxiner – inhiberer chitin biosyntese.
- Andre legemidler inhiberer folat syntese, DNA topologi, mikrotubuli aggressjon.

RØD ALGE

Også kalt rhodofyter – hovedsak marine miljø men kan også finnes i ferskvann og terrestrielle. Fototropiske og inneholder klorofyll a, men ikke b. De har heller phycobiliproteiner. Pigmentet kalles phycocyanin og de danner strukturer kalt phycobilisomer. Rød alger er enten filamentære, løvaktige eller koralliske (hvis de avsetter kalsium karbonat).

GRØNN ALGE

Også kalt chlorophytter – kloroplaster med klorofyll a og b. To hovedtyper; 1) clorophyter og 2) charophyceans. De fleste grønnalger bor i ferskvann, mens andre finnes i fuktig jord eller på snø. Morfologien til klorofyttene rangerer fra unicellulær, til filamentær til colonial (aggregater av celler).

Volvox danner kolonier komponert av flere hundre flagellære celler. Koblet sammen gjennom tynne tråder av cytoplasma, som medfører at kolonien kan svømme i samme retning.

Noen grønnalger har potensiale som biologisk drivstoff, *B. Braunii* ekskretter lange hydrokarboner som har konsistent som rå olje.

Endolitiske fototrofer - Gror inni stein. Vanlig i tørre miljø som ørken eller kalde tørre miljø.

Table 12.1 Major structural and physiological characteristics of Bacteria, Archaea, and Eukarya^a

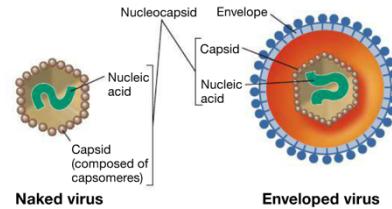
Characteristic	Bacteria	Archaea	Eukarya
Morphological			
Prokaryotic cell structure	Yes	Yes	No
Cell wall	Peptidoglycan present	No peptidoglycan	No peptidoglycan
Membrane lipids	Ester-linked	Ether-linked	Ester-linked
Membrane-enclosed nucleus	Absent	Absent	Present
Flagella mechanism	Rotation	Rotation	Whiplike
Sensitivity to chloramphenicol, streptomycin, kanamycin, and penicillin	Yes	No	No
Physiological/special structures			
Dissimilative reduction of S ⁰ or SO ₄ ²⁻ to H ₂ S, or Fe ³⁺ to Fe ²⁺	Yes	Yes	No
Nitrification (ammonia oxidation)	Yes	Yes	No
Chlorophyll-based photosynthesis	Yes	No	Yes (in chloroplasts)
Denitrification	Yes	Yes	No
Nitrogen fixation	Yes	Yes	No
Rhodopsin-based energy metabolism	Yes	Yes	No
Chemolithotrophy (Fe ²⁺ , NH ₃ , S ⁰ , H ₂)	Yes	Yes	No
Endospores	Yes	No	No
Gas vesicles	Yes	Yes	No
Storage granules of poly-β-hydroxyalkanoates	Yes	Yes	No
Growth above 70°C	Yes	Yes	No
Growth above 100°C	No	Yes	No

^aNote that for many features, only particular representatives within a domain show the property.

VIRUS

GENERELT OM VIRUS

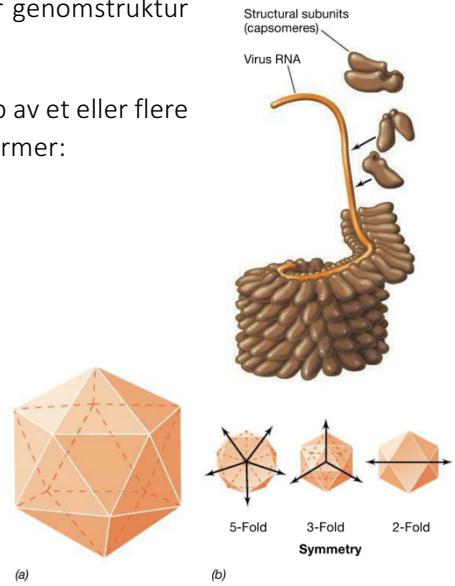
Virus er et genetisk element som kun kan replisere inni en vertscelle. Virus er obligate intracellulære parasitter. Virus partikkelen = virionet er den ekstracellulære formen av viruset og eksisterer utenfor vertscellen. Kapsid er proteinkappen rundt genomet. De fleste virus er nakne, dvs kun kapsid, mens andre har membran/envelope. I enveloped virus kalles kapsidet og nukleinsyrene for nukleocapsidet.



Viruset repliseres enten lytisk eller lysogent. Den lysogene (virulente) infeksjonen dreper cellen, mens den lysogene endrer vertsgenomet til å inneholde det virulente genomet. Alle celler har dsDNA, mens virus kan ha enkelttrådig eller dobbelttråding RNA eller DNA genom. Det kan være lineært eller sirkulært. Enkelttrådig genom er enten plus eller minus, og reflekterer om basesekvensen er henholdsvis lik eller komplementær til mRNAet. Virus kan enten klassifiseres for genomstruktur eller type vert de infiserer. Bakterielle virus kalles bakteriofager.

Kapsidet er bygget opp av kapsomerer. Kapsidet kan være bygget opp av et eller flere proteiner. Viruser er svært symmetriske og det eksisterer to hovedformer:

2. Helisk symmetri – stav formet.
- eks tobakk mosaikk virus
- lengde bestemt av lengde på genom
3. Isosahedral – sfærisk form
- bredde bestemt av størrelse og pakking av kapsomer.
- 20 triangulære flater, 12 punkt og 30 kanter.
- Enklest form har 3 kapsomerer per flate – totalt 60 i kapsidet
- Eks. HPV viruset har 360 kapsomerer, totalt 72 klustre hvor 5/kluster.



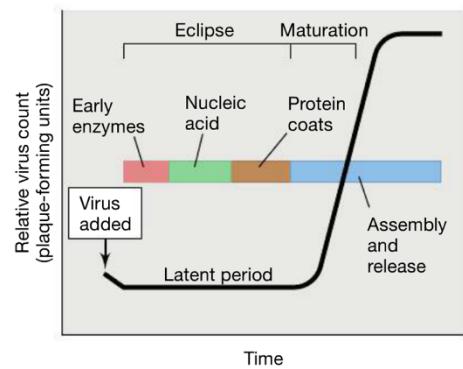
Enveloped virus har en membran rundt nukleokapsidet. De fleste med envelope er dyrevirus, men det fins noen enveloped bakterie og plantevirus. Eks. Influenzavirus. Membranlipider er fra vertscellen men noen membranproteinene er virale (viktig for festing til og frigjøring fra vertscelle). Virus kan være ganske komplekse, f.eks bakteriofag T4, med hode, halefiber og hale. Halen består av 20 proteiner, og hodet enda fler!

Noen virioner kommer med enzymer: eksempler er lysozym liknende, neuraminidaser – bryter opp glycoproteiner og glykolipider i dyre bindevev, RNA virus har RNA replicasær, Retrovirus har revers transkriptase.

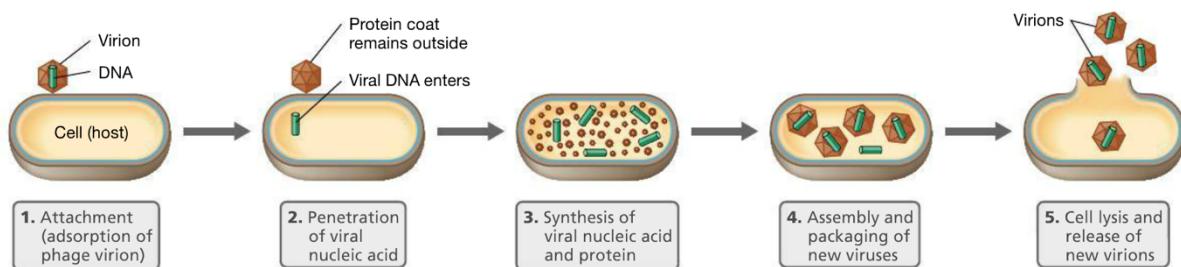
LIVSSYKLUSEN

Livssyklusen består av 5 hovedfaser

1. Festing av virionet til vertscellen
2. Penetrering – nukleinsyre inn i vertscellen
3. Syntese – nukleinsyre og proteiner repliseres
4. Sammensetning og pakking – kapsidene settes sammen og genomet dyrtes inn
5. Frigjørelse



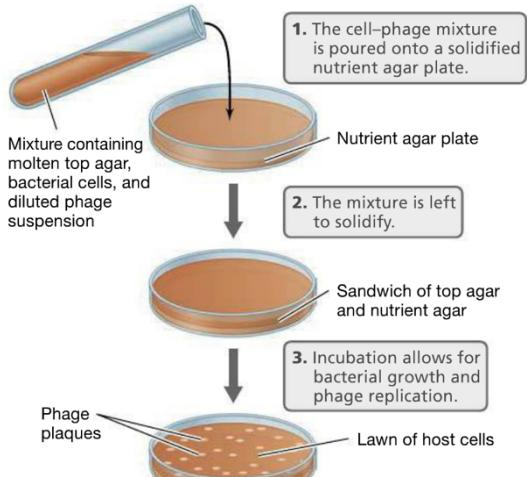
Vekst responsen følger en et-stegs kurve. I de første minuttene går virus inn i eclipse fase, hvor enzymer, nukleinsyre og proteinene syntetiseres. I matureringsfasen settes enkeltkomponentene sammen til mange nye virioner. Eclipse og matureringsfasen danner latens perioden. Replikasjonstiden varier fra 20-60 minutter i mange bakterier til 8-40 timer i mange dyrevirus.



KULTIVERING, DETETEKTERING OG TELLING

Vertscellene må dyrkes først. Enklest å dyrke antall bakteriofager, dette kan gjøres både på agar og i suspensjon. Plantevirus kan trenge hele planten, mens animalske virus kan kultiveres i vevskulturer. **Burst size:** antall virioner frigitt per celle. **Titel:** antall virioner per volum væske. **Plaque assay:** måler infeksjon, plaques er klase soner som oppstår på vertesceller som har vært infisert.

Plating efficiency er antall PFU (plaque forming units) og er nesten alltid lavere enn direkte tellinger med elektronmikroskop. Inaktive virioner eller ikke optimale forhold for infeksjon fører til lavere telling.



BAKTERIOFAG

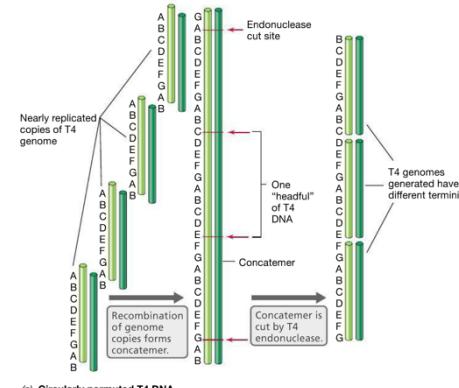
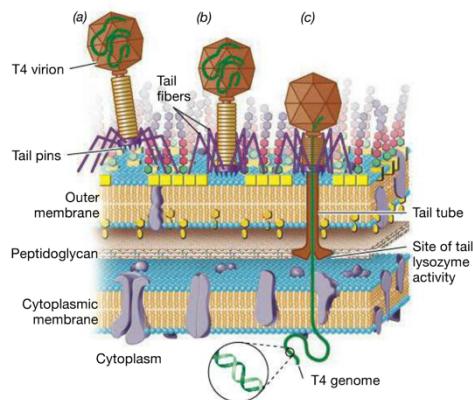
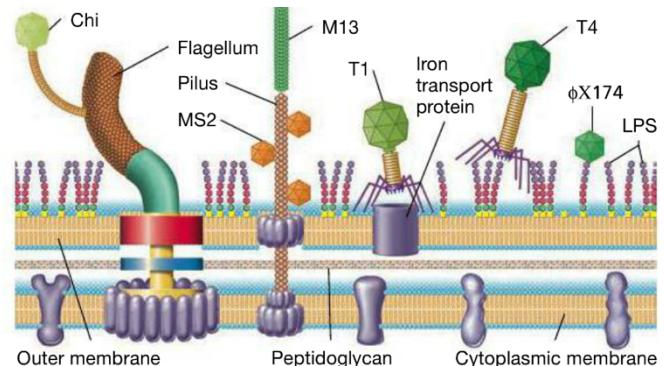
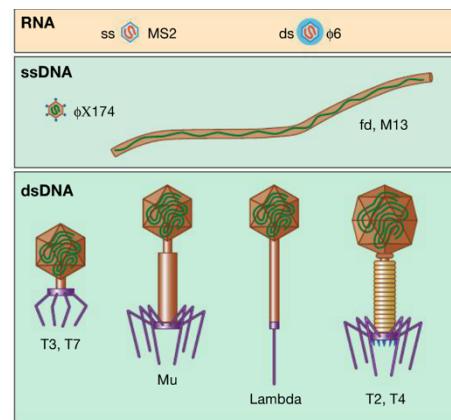
De vanligste er de med hode og hale. Men det finnes mange andre. ssDNA i pluss må konserveres til dsDNA for å være i replikativ form.

LIVSSYKLUSEN FOR T4

Virionet fester seg på strukturer utenfor cella, f.eks protein, karbohydrat eller liknende. Når den har festet seg blir det virale genomet pumpet inn i cellen, mens capsidet blir igjen utenfor.

T4 festing

En kompleks penetrasjonsmekanisme er bakteriofag T4. T4 angriper *E.coli* ved at tuppene av halefiberne interagerer med polysakkarder i LPS laget. Bindingen fører til at halefibrene kontraherer og drar halen i kontakt med den ytre membranen. T4 lysozym vil deretter lage en liten pore slik at T4 DNAet går inn i cellen gjennom en tube.



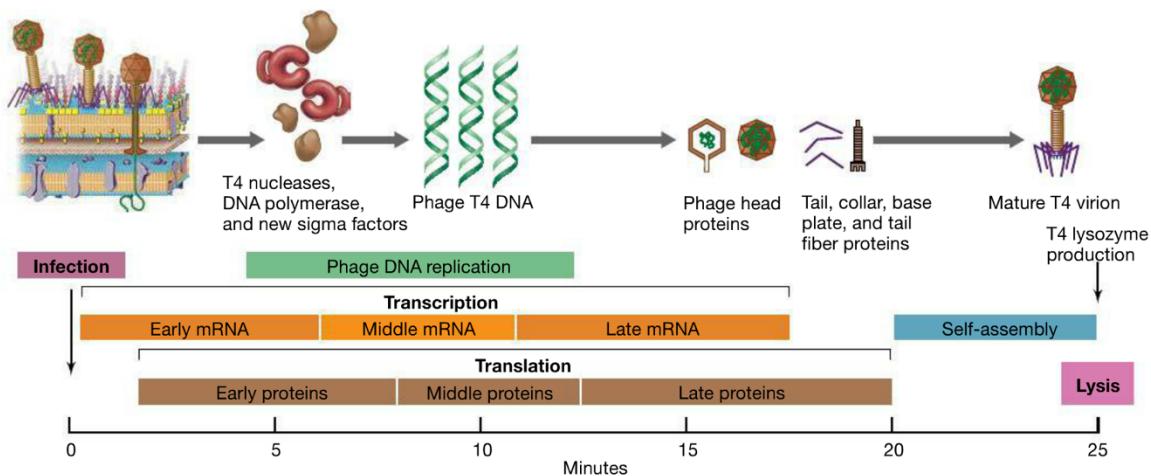
T4 genom

T4 genomet koder for sin egen DNA polymerase, primaser og helicaser. Genomet er ikke like i alle virionene, de har samme gener men arrangert i en annen orden. Dette kalles **sirkulær permutasjon**. T4 genomet repliseres som en enhet, og danner deretter et langt DNA molekyl kalt **konkatemer**. Når DNA pumpes inn i kapsidet kuttes ikke konkatemeren på spesifikke sekvenser, men ved en spesifikk lengde, der kapsidet er fult. Dette kalles **headful packaging**. T4 holder litt ekstra, og dermed vil hvert hode inneholde 3-6 kbp ekstra.

Dyr har immunforsvar, mens bakterier har andre strategier. Eks restriksjons endonukleaser kløver fremmed DNA ved spesifikke steder. Kutter ikke sitt eget fordi det beskyttes ved å modifisere DNAet, gjerne metylering. Restriksjons enzymer er spesifikke for dsDNA, og påvirker kun virus med dsDNA. Det virale genomet kan adaptere seg etter dette, eks har T4 utviklet en mekanisme der det har 5-hydroxynethylcytosin istedet for cytosin, og dermed kjennes den ikke igjen.

T4 sammensetning og pakking

Ganske raskt etter infeksjon blir T4 DNAet transkribert og translatert. T4 koder for tre hovedtuper proteiner, tidlige, middels og sene proteiner. Tidlige proteiner: syntese og glucosylering av den spesielle T4 basen, T4 replisomet som lager fag spesifikt genom, og proteiner som modifiserer RNA polymerase. Middels og sene: RNA polymerase modifiserende proteiner igjen, virion struktur og release proteiner. Proteiner for viralt hode, hale og halefibre.

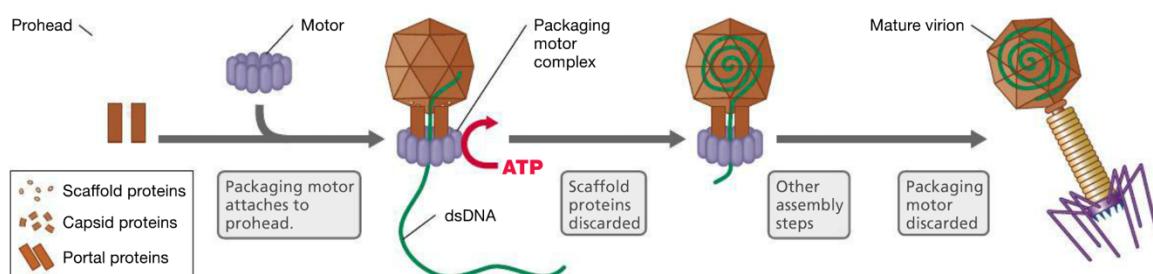


Fag koder for sigma faktor som gjør at RNA polymerase ikke kjenner igjen sine egne promotorer. Fagen koder også for at RNA polymerasen først skal gjenkjenne tidlige, så middels og til slutt sene protiener.

Bakteriofag DNAet pumpes inn i kapsiden ved å bruke en energi linket motor. Pakkingen deles inn i tre steg

1. Forløpere til hodet kalt prohode settes sammen. Inneholder scaffold proteiner
2. Pakke motor festes på åpningen av prohodet, dsDNA pumpes inn ved å bruke ATP
3. Pakke motoren går av og kapsidet forsegles

Etter at hodet er lastet vil halen, halefibrene og andre komponenter settes sammen, mest gjennom self assembly. To enzymer kombineres og sprekker opp den cytoplasmiske membranen og peptidoglycanlaget, og cellen lyserer.



TEMERATE BAKTERIOFAGER

Temerate virus infiserer verten sin og kan etablerer et stabilt forhold til verten. Disse virusene kan enten gå inn i lytisk eller lysogen syklus. Under lysogen syklus blir det virale genomet satt inn i vertens, og dette kan gi nye egenskaper, kalt lysogenisk konversjon. En celle som har et temperat virus er lysogen.

Replikasjonssyklusen: Når genomet til viruset blir en del av verten kalles det virale gemonet profag. Den lysogeniske syklusen vedlikeholdes av repressor proteiner , profagen kan induseres til lytisk syklus

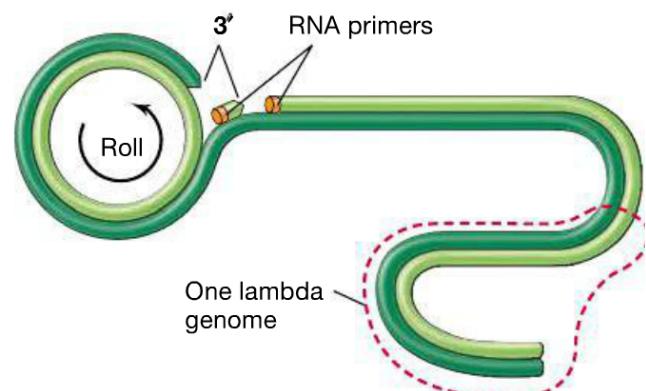
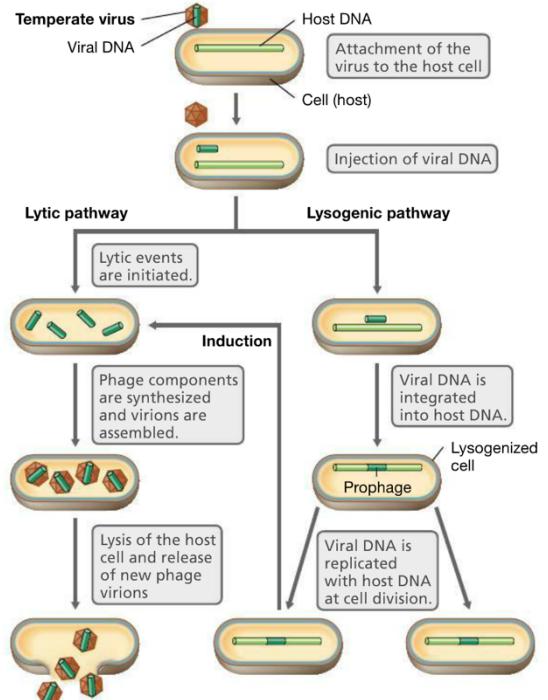
Lambda

Infiserer *E.coli* dsDNA med hode og hale. Ved 5'ende i hver DNA tråd er det en 12 nukleotid sekvens som er komplementær. Når DNA går inn i cellen baseparrer disse sekvensene og dannes cos stedet. Genomet blir dermed syklist. Hvis det blir lysisk syklus vil DNA syntetiseres gjennom rullende sirkel replikasjon.

1. Brudd i en DNA tråd, og det syntetiseres en lang enkelttråd (mørkegrønn) ved at 3'ende forlenges.
2. Lysegrønn syntetiseres på samme måte som vanlig lagging strand.

<https://www.youtube.com/watch?v=fB1OkshHAVw>

Hvis det blir lysogen vil enzymet lambda integrase integrere lambda genomet. Om det skal være lysogen eller lytisk syklus bestemmes av lambda repressorene cl protein og Cro. Proteinet som akkumulerer først bestemmer. cl proteinet undertrykker transkripsjon av lambda gener, inkludert cro og det blir lysogenisk fase. Cro undertrykker proteinet cII, som er proteinet som aktiverer syntesen av cl. Cro fører dermed til lytisk sti. cII kontrolleres igjen av proteaser som sakte bryter ned og cIII som stabiliserer cII og motvirker protease angrep.

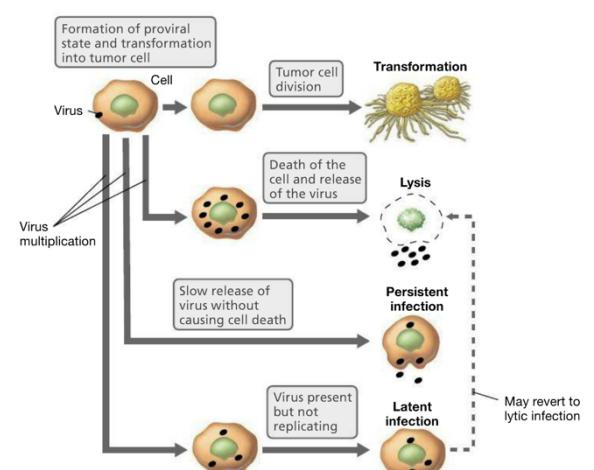


DYRE VIRUS

To hovedforskjeller mellom dyre og bakterie virus er (1) hele virionet går inn i dyreceller, og (2) eukaryote celler har et nukleus RNA virusene har generelt mye mindre genomer enn DNA virus.

Minst fire forskjellige utfall

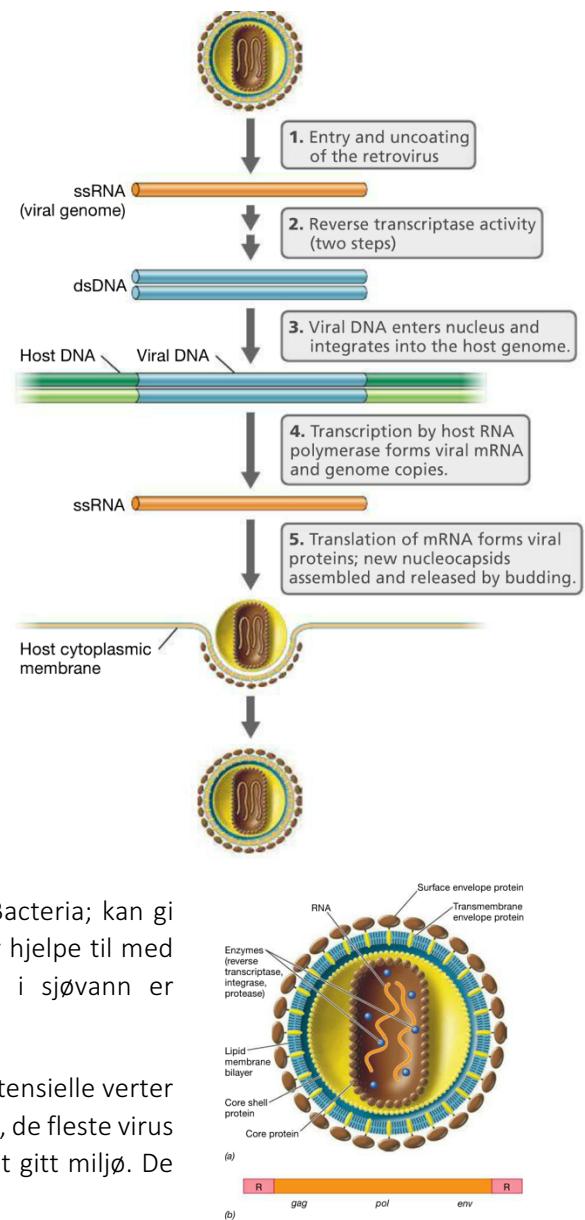
1. Virulent infeksjon – resulterer i lysering
2. Latent infeksjon – viralt DNA repliserer ikke, og vertscellen er uskadd. Lytisk hendelser eks Herpes.
3. Persistent infeksjon –virioner budder av, og vertscellen lyserer ikke nødvendigvis
4. Transformasjon – viruset omdanner en normal celle til en svulst.



RETROVIRUS

Inneholder RNA genom, men repliseres inne i cellen med DNA intermediat. Utnytter enzymer revers transkriptase som omdanner RNA til DNA. I tillegg enzymene integrase og retroviral spesefik protease. Genomet er to identiske ss RNA i pluss form, inneholder genene; gag – struktur, pol – reverse transkriptase og integrase og env – envelope proteiner. Eks er HIV.

1. Replikasjonen begynner når virionet går inn i cellen og envelopen fjernes. Revers transkriptase begynner inne i nucleocapsidet
2. En ssDNA lages og revers transkriptase lager dsDNA
3. dsDNA friges fra nucleocapsidet sammen med integrase protein
4. dsDNA settes inn i verts DNA og retroviraltDNA er nå provirus



VIROSSPHÆREN

10^6 prokaryote per ml sjøvann, og ca 10 ganger flere virus. Mellom 5-50% av prokaryote dør i sjøen hver dag av bakteriofager. Bakteriofager har stor effekt på evolusjon hos Bacteria; kan gi nye egenskaper gjennom lysogeni (lysogenisk konversjon), eller hjelpe til med horisontal genoverføring (transduksjon). Mange prokaryoter i sjøvann er Archaea og mange marine virus er nok spesifikke for arker.

Mange potensielle verter fører til at lytisk spor lønner seg, få potensielle verter –lysogeni lønner sg. Mesteparten av jordens diversitet fins i virus, de fleste virus er bakteriofager. Viral metagenom: summen av virale gener i et gitt miljø. De fleste virusgener har ukjent funksjon

ANTIVIRALE MEDIKAMENTER

Virus bruker reseptorer på cellen og vertens replikasjonssenter. Dermed er mange antivirale medisiner også toksiske for oss.

HIV ANTIVIRALE MEDIKAMENTER

Nukleosid analoger er gjerne forbindelser som er nukleosid revers transkriptase inhibitorer (NRTIs). AZT – azidothymidine er et eks på nukleosid analog. Inhiberer multiplikasjon av HIV og andre retrovirus ved å blokkere revers transkripsjon og produksjon av viralt kodet DNA intermedier. Mange NRTIs mister antiviral potentistet fordi medikament resistans utvikles over tid. Nonnukleosid revers transcriptase inhibitorer (NNRTI) binder revers transkriptase direkte og hemmer den. Proteasehemmere er effektive for behandling av HIV. Hindrer replikasjon at viralt genom ved å binde HIV protease.

ANDRE MEDISINER

Neuraminidase blokkerer det aktive setet til neuaminidase og inhiberer viruset fra å slippe ut av infisert celle. Syntetiske aminer inhiberer uncoating og replikasjon via interaksjon med influensa A ionetransport-protein (rask resistens).

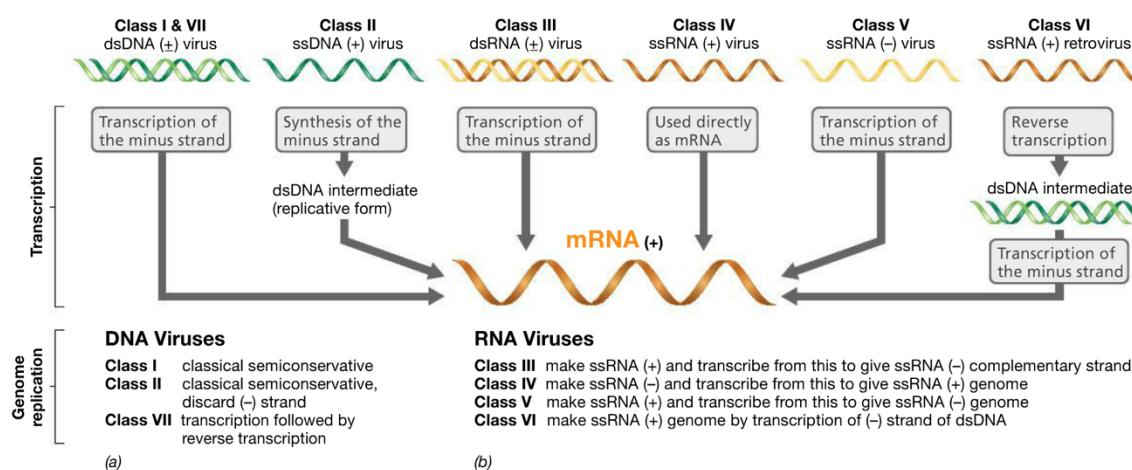
Virus interference – infeksjon av et virus hemmer et annet virus. Interferoner er små proteiner i cytokin familien. De forhindrer virusformering ved å stimulere kroppens friske celler til å produsere antivitale stoffer. Interferoner er verds spesifikke, ikke virus spesifikk.

VIRALE GENOM

Genomet for virus varierer veldig, generelt er RNA genomet mindre enn DNA genomet. Baltimore sjema er basert på forholdet mellom viralt genom og dens mRNA og deler virus inn i 7 klasser. Viralt mRNA er alltid i plus konfigurasjon.

Virus med en tråd kan enten være positiv eller negativ tråd virus. Klasse II virus er komplementære til mRNAet og må derfor først danne dsDNA intermediat kalt replikativ form. RNA virus må ha med eller transkribere for en RNA replikase. Retrovirus må ha med revers transkriptase for å utføre revers transkripsjon.

CHAPTER 9 • VIRAL GENOMES AND DIVERSITY 291

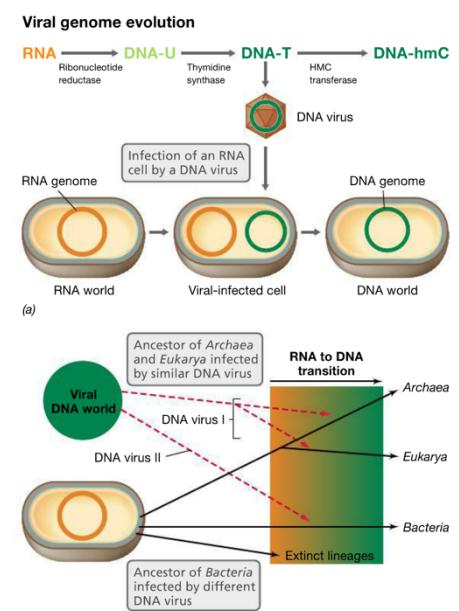


VIRAL EVOLUSJON

Man tenker seg at virus oppstod etter celler fordi alle virus krever en vertscelle for å replisere. Men det er også hypoteser om at virus er levninger etter RNA verdens. En annen hypotese er at virus en gang var celler, som med tiden har mistet så mange gener at de nå er avhengige av en vertscelle.

En driver for virus kan ha vært en mekanisme for å raskt overføre gener ved blant annet horisontal genoverføring. Muligens var de første lysogene, og utviklet seg til å bli lytiske etterhvert.

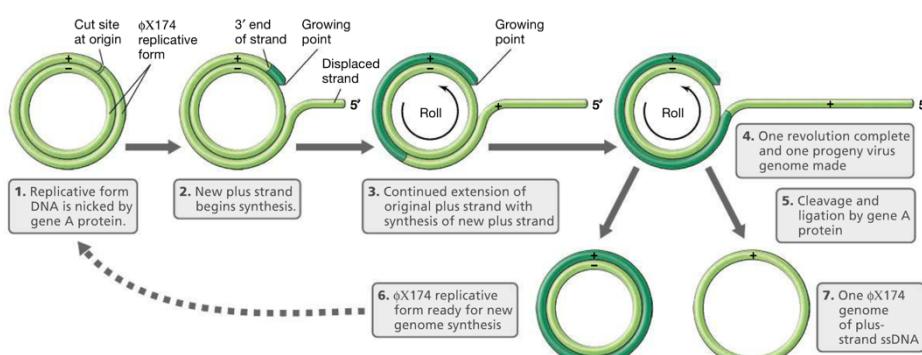
Det er også mulig at virus var de første med DNA: og at de tre domenene gjennom genoverføring fikk maskineriet for DNA genom.



VIRUS MED DNA GENOM

Fag ϕ X174

Sirkulært genom, med få gener. Har overlappende gener; for lite DNA til å kode for alle virale proteiner, med mindre genomet leses av flere ganger i ulik leseramme. Replikasjonen følger rolling circle replikasjon. Protein A kutter plus tråden, og rotasjon og syntese gir lineært plus genom. A proteinet kutter plus genomet i riktig lengde og limer endene sammen. E proteinet promoterer celle lysering ved å inhibere peptidoglycan syntese.



M13

Filamentær fag som fester seg til piluser på vertscellen. Unik ved at cellen ikke lyserer, men M13 DNAet blir dekt med proteiner mens den går gjennom cellemembranen.

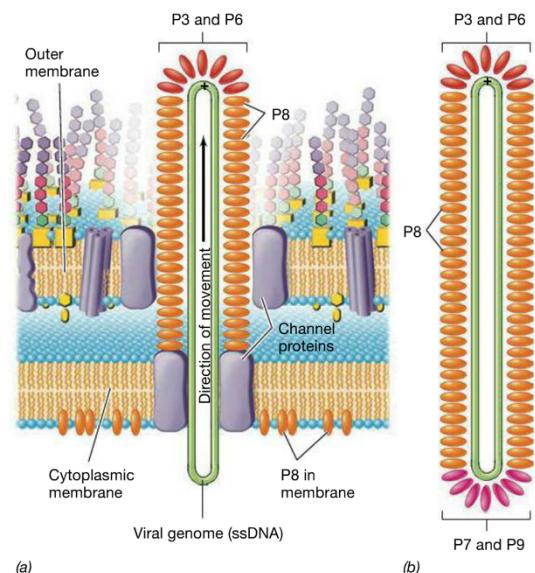
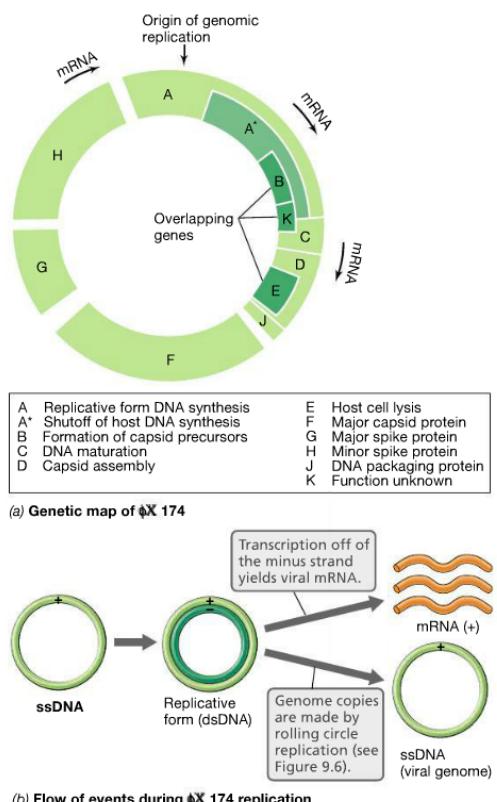
M13 brukes mye i kloning fordi den har lite genom. Infisererte celler kan være kontinuerlig kilde til klonet DNA.

VIROIDER

Infektsjøse ssRNA molekyler uten protein kapsid. Vanlig plante sykdom. Ingen viroider er kjent som infiserer dyr eller mikroorganismer. Ekstracellulær form er naken RNA, sekundær struktur som gir den harpin liknede struktur. Kommer inn i planten gjennom sår. Koder ikke for proteiner, og er helt avhengig av verten En av RNA polymerasene har RNA replikase aktivitet. Resultatet er store RNA molekyler med mange viroid enheter. Viroidet har ribozym aktivitet og selv kløyver. Sykdommen er ofte relatert til vekst, og man tror viroidene etterlikner eller intiferer med plantenes small regulatory RNA.

PRIONER

Infektsjøse proteiner, uten DNA eller RNA. Gir sykdom i dyr – overførbar spongiform encephalopatier (svampaktig hjerne). Det er verten som selv koder for prionet. Genet Prnp (Prion protein) koder for den native formen PrP^C (Prion Protein cellulær), og finnes i neuroner til friske dyr. Den patogene formen PrP^{Sc} (Prion Protein Scrapie) har en annen konformasjon, men lik aminosyresekvens. Når den patogene formen kommer inn i en celle omdanner den det normale proteinet til det patogene.

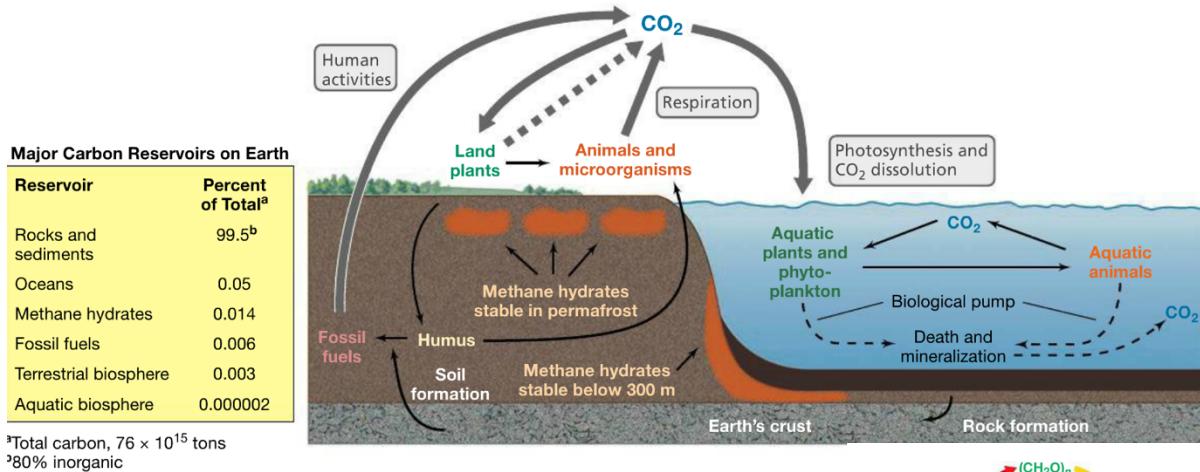


Burst size	antall virioner frigitt
Kapsid	Proteinkappen rundt virusgenomet
Konkatemer	Et DNA molkeyl bestående av to eller fler separate molekyler linket ende til ende og danner et langt lineært molekyl
Lysogenisk konversjon	Viralt genom innsatt i vertsgenom fører til nye egenskaper
Nukleokapsid	Kapsidet og genomet i enveloped virus
Plaque assay	måler infeksjon, plaques er klase soner som oppstår på vertesceller som har vært infisert.
Titel	antall virioner per volum væske
Sirkulær permutasjon	Genomer som inneholder samme gener, men som er arrangert i en annen rekkefølge
Virulent/lytisk infeksjon	Viruset overtar vertscellens metabolisme til å replikere viruset og sette sammen nye virioner.
Virus	Genetisk element omgitt av en et protein kapsid og som replikeres inni en vertscelle
Virion	Virus partikkelen

NÆRINGS SYKLUSER

KARBON SYKLUSEN

Karbon resirkuleres som CO_2 . Det største C reservoaret er i sedimenter og stein. Stor del i planter, men enda mer i humus (dødt organisk materiale). CO_2 fjernes fra atmosfæren gjennom fotosyntese og frigis via respirasjon.



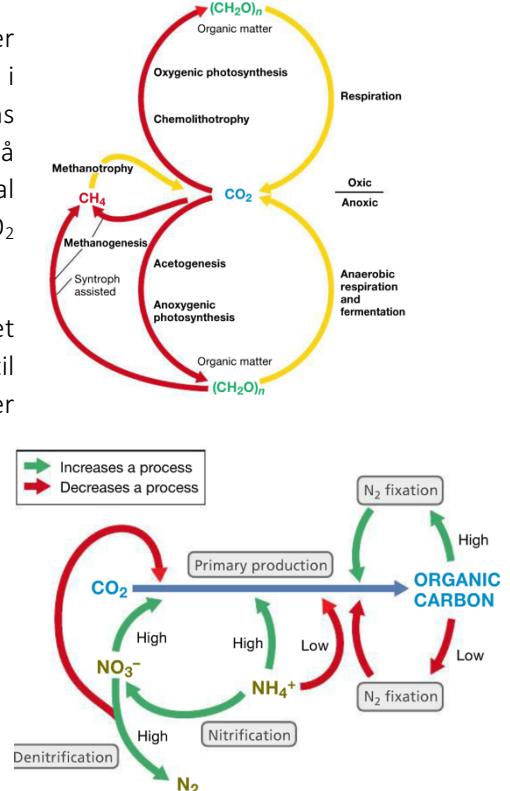
Organisk materiale syntetiseres fra CO_2 fiksering. Det meste kommer fra fotosyntese, og disse organismene er dermed fundamentet i karbon syklusen. Planter dominerer terrestrielle miljø, mens mikroorganismer dominerer akvatiske. Raten av fotosyntese må overskride raten av respirasjon for at organisk materiale skal oppsamles. Organiske forbindelser brytes ned til CH_4 og CO_2 . CO_2 produseres via aerob og anaerob respirasjon.

Metan produseres i anoksiiske miljøer av metanogene. Dette metanet er uløselig og diffunderer til oksiske miljøer hvor det frigis til atmosfæren eller oksideres til CO_2 av metanotrofe. Store mengder CH_4 fra mikrobiell aktivitet er fanget i metan hydrater som er frossen CH_4 . Her er de største lagrene av CH_4 . Hydratene er svært dynamiske og frigir CH_4 som respons på endring i trykk, temperatur og fluid bevegelse. Anaerobisk oksidasjon av CH_4 er koblet til reduksjon av sulfat, nitrat og oksider av jern og mangan.

Næringssyklusene er koblet. CO_2 fiksering kontrolleres av blant annet tilgjengelig N. Høyt nivå av organisk C stimulerer N fiksering, som igjen gjør at man kan ha flere primære produsenter. Lave nivåer har motsatt effekt. Høye nivåer av ammoniakk stimulerer primær produksjon og nitrifisering, men hemmer nitrogen fiksering. Osv.

For å omdanne de fleste organiske forbindelser til CH_4 må metanogene samarbeide med andre organismer – syntrofer – som produserer forløperne til CH_4 syntese.

Syntropiske bakterier driver sekundære fermentering fordi de fermenterer primære fermenteringsprodukt. Det er overføringen av H_2 som medfører at syntropiske assosiasjoner fungerer. Metanogene arkea lever inne i anaerobe protister som H_2 konsumerende endosymbionter. Denne



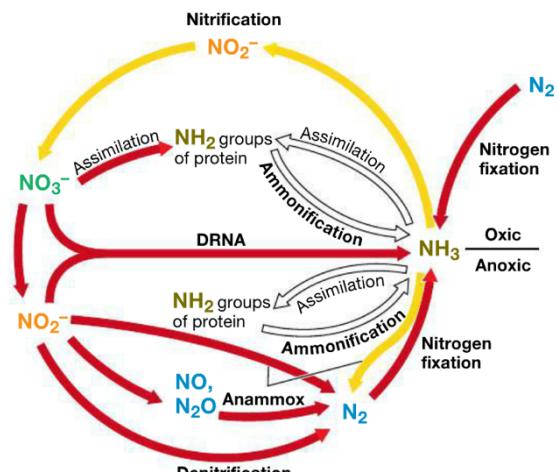
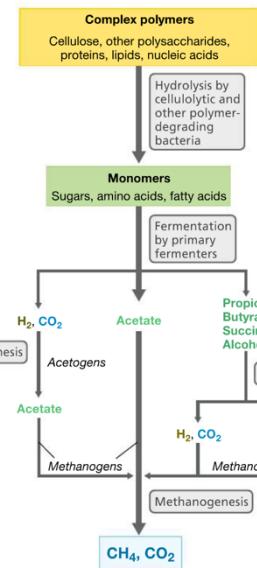
endosymbiotiske forholdet finnes i blant annet termitt tarmsystem. Endosymbiotiske metanogene konsumerer H₂ generert fra glukose fermentering.

NITROGEN SYKLUSEN

N₂ er hoved reservoaret for N på jorden. Få som kan bruke N₂

- Nitrogen fiksering – N₂ → 2NH₃
- Denitrifisering – NO₃⁻ til N₂, NO eller N₂O
 - skadelig for landbruk – dersom jord gjødslet med NO₃⁻ blir vannmettet dannes anokside miljøer og denitrifisering fjerner N fra jorda.
 - Bra for å fjerne N fra kloakk slik at man minimerer vekst av alger
 - N₂O → NO, NO reagerer ned ozon og danner nitritt NO₂⁻, som kommer ned til jorda som HNO₂. Fjerner ozon og produserer N₂O som er svært potent klimagass.
- Ammonifikasjon – ammoniakk friges under nedbrytning av organisks N. NH₃ eksisterer som NH₄⁺ ved nøytral pH som raskt tas opp av planter og mikroorganismer.
- Dissimilativ reduksjon av nitrat til ammionakk (DNA)
- Nitrifisering – NH₃ til NO₃⁻ i oksisk jord ved nøytral pH. To stegs prosess, en organisme fra NH₃ til NO₂⁻ og en annen fra NO₂⁻ til NO₃⁻. Denne NO₃⁻ kan friges via denitrifisering.
 - For jordbruket burde man derfor tilsette NH₃ som gjødsel, og hindre nitrifisering, tilsetter inhibitorer. Eks nitrappyrin som inhiberer første steg i nitrifiseringsprosessen.
- Ammonox – ammoniakk oksideres under anokside forhold av bakterien *Brocadia*. NH₃ → N₂

Key Processes and Prokaryotes in the Nitrogen Cycle	
Processes	Example organisms
Nitrification (NH ₄ ⁺ → NO ₃ ⁻) NH ₄ ⁺ → NO ₂ ⁻ NO ₂ ⁻ → NO ₃ ⁻	<i>Nitrosomonas, Nitrosopumilus</i> (Archaea) <i>Nitrobacter</i>
Denitrification (NO ₃ ⁻ → N ₂)	<i>Bacillus, Paracoccus, Pseudomonas</i>
N ₂ Fixation (N ₂ + 8 H → NH ₃ + H ₂)	Free-living Aerobic: <i>Azotobacter</i> , Cyanobacteria Anaerobic: <i>Clostridium</i> , purple and green phototrophic bacteria, <i>Methanobacterium</i> (Archaea) Symbiotic: <i>Rhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Frankia</i>
Ammonification (organic-N → NH ₄ ⁺)	Many organisms can do this
Anammox (NO ₂ ⁻ + NH ₃ → 2 N ₂)	<i>Brocadia</i>



NITROGEN FIKSERING

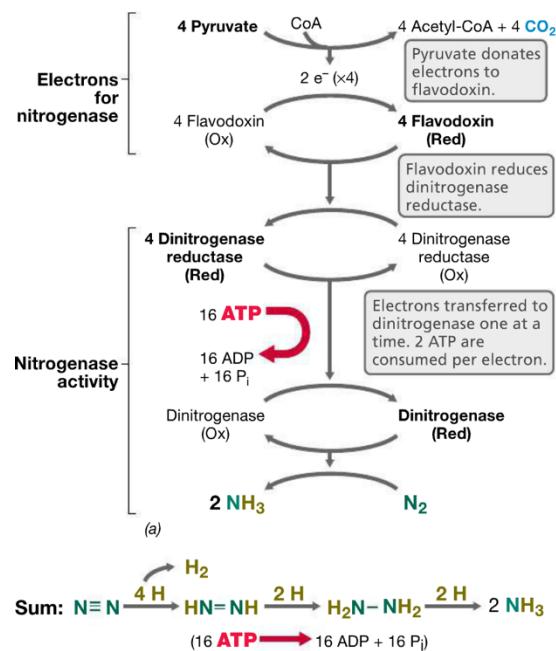
NH₃ til NO₂

Katalyses av enzym komplekset nitrogenase som består av to proteiner; dinitrogenase og dinitrogenase reductase. Begge inneholder jern, mens dinitrogenase også inneholder molybdenum. Nitrogen fikserende arka produserer nitrogenase med jern som eneste metall. Nitrogen fiksering inhiberes av oksygen fordi dinitrogenase reductase irreversibelt inaktivieres av O₂. Men mange av

nitrogenfikserende bakterier er obligate aerobe. Nitrogenasen beskyttes ved rask fjerning av oksygen og av beskyttende O₂ retarderende slim lag. Heterocyste cyanobakterier produserer heterocyster som har anokside forhold, mens cellene rundt har oksidiske.

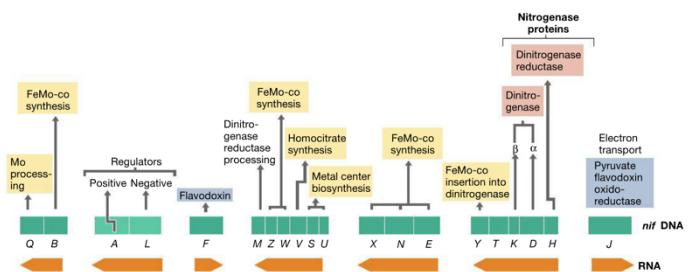
6 elektroner kreves for å redusere N₂ til NH₃. Det trengs 8 elektroner fordi 2 brukes til å fiksere H₂. Elektron donor – dinitrogenase reductase – dinitrogenase – N₂. Elektronene overføres til reductasen gjennom jern svovel proteiner (ferredoxin eller flavodoxin). I tillegg til elektronene kreves ATP, som har som hensikt å senke reduksjonspotensiale til dinitrogenase reductase. Totalt 16 ATP per N₂ reduksjon.

Nitrogenaser kan også omdanne acetylene til etylene, og er en rask metode for å måle nitrogenase aktivitet. Definitivt bevis for at man har nitrogenase aktivitet er å inkuberes med ¹⁵N₂ som tracer. Dersom det produseres ¹⁵NH₃ er det solid bevis på nitrogenase aktivitet.



NIF REGULONET

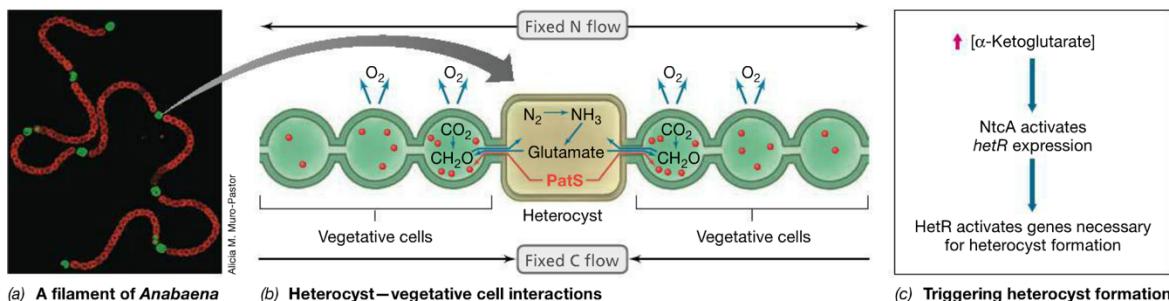
Genene for nitrogen fiksering. Undertrykkes av O₂, og av fikserte former av nitrogen. Hvis det er mye O₂ tilstede vil den negative regulatoren NifL-FAD oksideres og undertrykke transkripsjon. Ammoniakk undertrykker via proteinet NtrC. Aktiv NtrC promoterer transkripsjon av nifA, som koder for NifA som videre er aktivator for nif regulonet. NtrC er aktiv når det er lite NH₃.



HETEROCYST FORMASJON

Dannelsen krever morfologiske og metabolske forandringer – blant annet en fortykket membran som hindrer O₂ diffusjon og inaktivering av fotosystem II. Nitrogenase må utrykkes. α-ketoglutarat akkumulerer når det er lite NH₄⁺ og aktiverer transkripsjon av NtcA som videre aktiverer hetR gener som koder for HetR som regulerer heterocyste formasjon.

Heterocyste formasjon i *Anabaena* trigges av nitrogen mangel. Heterocysten gir fiksert nitrogen til de vegetative cellene som gir karbon til heterocysten. Differensierte celler produserer PatS som diffunderer inn i vegetative celler og danner en gradient. PatS undertrykker HetR og dermed blir ikke genene aktiveret. En annen regulator PatA promoterer aktiviteten til HetR og undertrykker PatS.



SVOVEL SYKLUSEN

Kun tre signifikante oksidasjonsstadier; -2 (R-SH, HS⁻), 0 (S⁰) og +6 (sulfat SO₄²⁻).

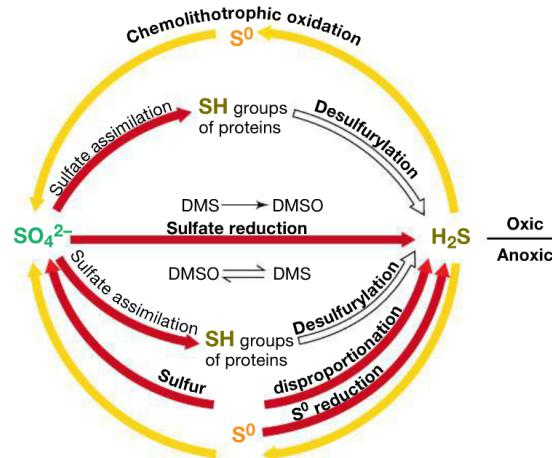
Hydrogen sulfid (H₂S) produseres fra bakteriell sulfat reduksjon eller frigis fra sulfid kilder eller vulkaner. H₂S er flyktig, og finnes i mange former avhengig av pH. Sulfat redusering i anokiske habitat begrenses av sulfat tilgjengelighet, samt god tilgjengelighet på organisk materiell. I marine sedimenter begrenses reduksjonen av karbon. Her er det et problem med frislipp av kloakk og søppel i havet fordi dette trigger sulfat reduksjonen. Produktet hydrogen sulfid er toksisk for mange fisk og dyr.

Under oksiske forhold oksiderer sulfid spontant. Svovel oksiderende kjemolitotrofe bakterier (flest aerobe) kan katalysere denne oksidasjonen, men dette er kun signifikant i overgang mellom en sulfidkilde og oksygen. Dersom det er lys kan fototropiske lilla og grønne svovel bakterier drive anoksk oksidasjon av sulfid.

Svovel oksideres av svovel oksiderende kjemolitotrofe. Svovel er uløselig, og bakteriene må feste seg til svovelkristaller. Produktet er svovelsyre, og dermed senker dette pH-en.

Organiske forbindelser: lukter vondt og er svært flyktige. Dimetyl sulfid har størst signifikans. Produseres i marine miljøer fra dimethylsulfoniopropionat som brukes energi og karbonkilde. Dimetyl sulfid i anokiske habitat omdannes på tre måter: 1) metanogenese 2) elektronondonor i fotosyntese 3) elektron donor i energi metabolisme

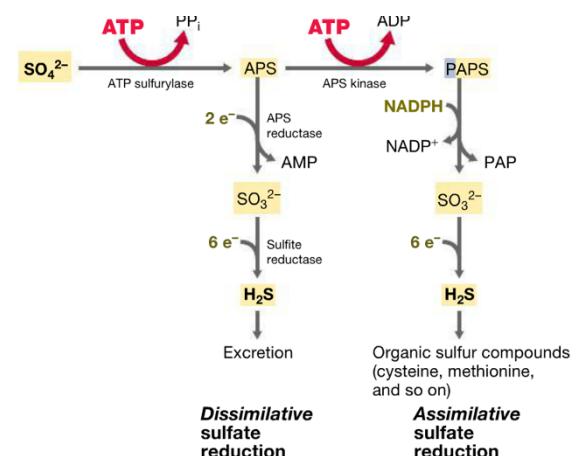
Key Processes and Prokaryotes in the Sulfur Cycle	
Process	Organisms
Sulfide/sulfur oxidation (H ₂ S → S ⁰ → SO ₄ ²⁻)	
Aerobic	Sulfur chemolithotrophs (<i>Thiobacillus</i> , <i>Beggiatoa</i> , many others)
Anaerobic	Purple and green phototrophic bacteria, some chemolithotrophs
Sulfate reduction (anaerobic) (SO ₄ ²⁻ → H ₂ S)	
	<i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfbacter</i> , <i>Archaeoglobus</i> (Archaea)
Sulfur reduction (anaerobic) (S ⁰ → H ₂ S)	
	<i>Desulfuromonas</i> , many hyperthermophilic Archaea
Sulfur disproportionation (S ₂ O ₄ ²⁻ → H ₂ S + SO ₄ ²⁻)	
	<i>Desulfovibrio</i> , and others
Organic sulfur compound oxidation or reduction (CH ₃ SH → CO ₂ + H ₂ S) (DMSO → DM ⁺)	
	Many organisms can do this
Desulfurylation (organic-S → H ₂ S)	
	Many organisms can do this



SULFAT OG SVOVEL REDUKSJON

Sulfat reduseres av sulfat reduserende bakterier. Endeproduktet er hydrogen sulfid. Genus *Desulfovibrio* (*D. Desulfuricans*) er eksempler.

Reduksjonen av sulfat til hydrogen sulfid krever 8 elektroner og går gjennom flere trinn. Først aktiveres sulfat til adenosin fosfosulfat (APS). Reduksjonspotensialet øker da fra -0,52 til ca 0V og det blir dermed favør å redusere APS og oksidere NADH. I dissimilativ svovel reduksjon reduseres APS direkte til



SO_3^{2-} , mens i assimilativ reduksjon blir en annen fosfat lagt til APS – PAPS. Begge gir SO_3^{2-} . Som videre reduseres til H_2S av sulfid reductase.

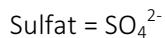
Under den dissimilative driver elektron transport reaksjonene PMF. Cytokrom c_3 er viktig elektronbærer. c_3 mottar elektroner fra en periplasmisk hydrogenase og overfører elektronene til Hmc som videre overfører elektronene til APS reductase.

Dispropionering er en prosess der et molekyl oksideres mens et annet reduseres, som tilslutt gir to ulike produkter.

Dissimilativ svovel metabolisme er når en organisme konserverer energi gjennom oksidasjonen eller reduksjonen av svovel forbindelser. Svovel har 8 oksidasjonstilstander.

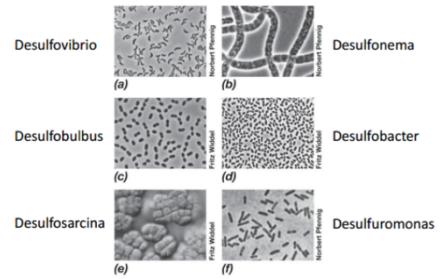
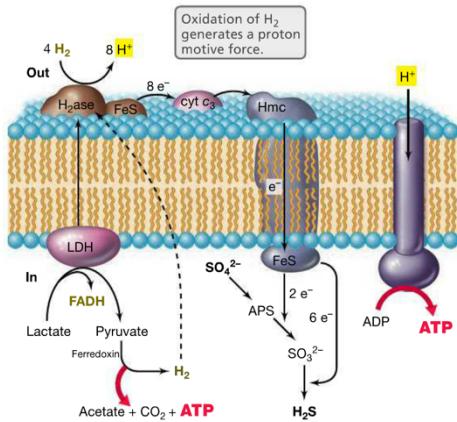
DISSIMILATIVE SULFAT REDUSERENDE BAKTERIER

Genus: *Desulfovibrio*, *Desulfobacter*



Bakteriene får energi ved å koble oksideringen av H_2 /andre organiske forbindelser til reduksjon av SO_4^{2-} . Generelt obligate anaerobe. Derfor må strengt anoksiske teknikker må utnyttes på lab. De deles inn i to fysiologiske typer: (1) komplett oksidering – oksiderer acetat og andre fettsyrer til CO_2 og (2) ukomplett oksidering – kan ikke oksidere acetat til CO_2 . Utbredt i akvatisk og terrestrielle områder som inneholder SO_4^{2-} . H_2S (produktet) lukter som råtnede egg, og er en god indikator på svovelreduserende bakterier.

Desulfovibrio - må kultiveres i anoksisk laktat – sulfat medium med Fe^{2+} . Det kreves en reduksjons agent som thioglycerat. Når sulfat reduserende bakterier vokser vil H_2S kombinere med Fe^{2+} som felles ut som et svart kompleks. Purifikasjon oppnår ved å fortyne løsningen i molten agar tubes.



DISSIMILATIV SVOVEL REDUSERENDE BAKTERIER

Genus: *Desulfuromonas*, *Wolinella*, *Sulfolobus*

Bruker respiratorisk svovel reduksjon til å skaffe energi. De kan redusere S^0 og andre oksiderte former av svovel til H_2S , men kan ikke redusere SO_4^{2-} . De fleste er obligat anaerobe, men fakultativ aerobe er også vanlig.

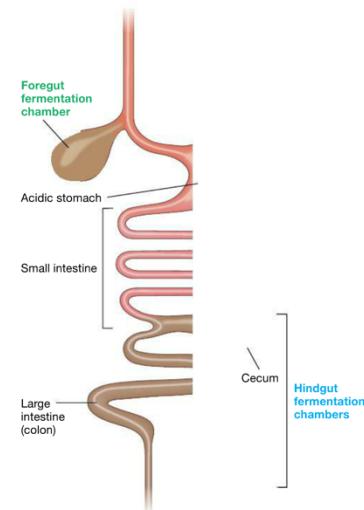
MIKROORGANSIMER OG DYR

Patogene mikroorganismer førte før til mye død, idag er dette kun problem i U-land.

landbruk – legumer og noduler, rumen i drøvtyggere
 fordøyelseskanalen – 10^{11} mikroorganismer per gram
 mat – fermenterende mat, fordervelse, sykdomsoverføring, alkohol, baking
 biodrivstoff – cellulose/maisstivelse -> glukose –(etanol fabrikk)-> etanol. Andre er metan eller diesel.
 bioremidering – oljesøl, pesticider
 industriell mikrobiologi – GMO, tradisjonell (antibiotika)

PATTEDYR TARMSYSTEM

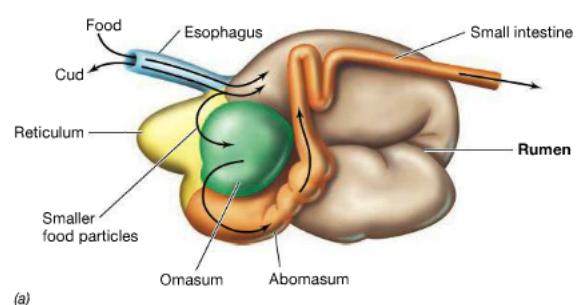
Pattedyr er enten herbivore (planteetere), carnivore (kjøttetende) eller omnivore (spiser begge deler). Monogastriske pattedyr har kun et rom før tarmen, magesekken. Mikrobielle assosiasjoner har ledet til at man kan katabolisere plante fibre, som cellulose. Kun mikroorganismer som har glycoside hydrolase og polysakkharid lyaser. Herbivorer er enten foregut eller hindgut. I foregut fermentering skjer mikrobiell fermentering før magesekken, mens hindgut fermenterende har en mage og et organ kalt cecum. Cecum er lokalisert mellom tynn og tykk tarmen og inneholder mikrobører som bryter ned fiber og cellulose.



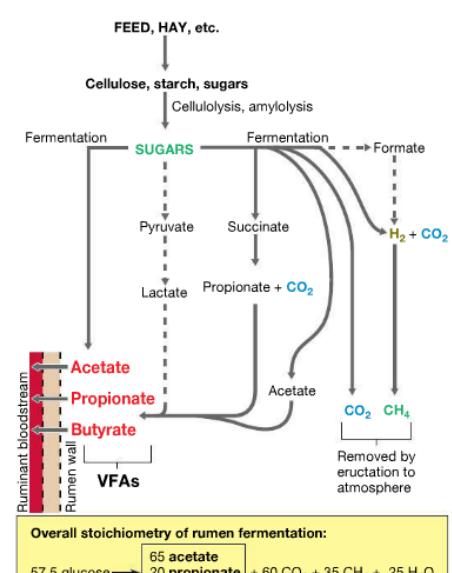
DRØVTYGGERE

Herbivorer med spesielt organ, rumen, posisjonert før magesekken. Innsiden av rumen kan observeres gjennom en fistula. Maten går først inn i retikulum. Plantematerie flyter fritt mellom rumen og retikulum. Små matpartikler transporteres til omasum.

Polysakkarider brytes ned til glukose som videre fermenteres til VFA, volatile fatty acids (eddkysyre, propionsyre og smørsyre), samt CO₂ og metan. Bakteriene syntetiserer også amino syrer og vitaminer og er drøvtyggerens hovedkilde til disse næringsstoffene.



Anaerobe bakterier dominerer i rumen fordi det er anoxisk. Rumen inneholder ca 300-400 arter basert på 16s rRNA analyser med operational taxonomic units. *Firmicutes* og *Bacteroidetes* dominerer av bakteriene og metanogene er nesten hele populasjonen av arkea. Hva drøvtyggeren spiser vil avgjøre hvilke bakterier som dominerer. Dersom en ku går fra grovfor til korn veldig raskt vil *Streptococcus bovis* vokse raskt. Dette vil igjen medføre at pH senkes, ettersom *S. bovis* er en melkesyrebakterie, som igjen medfører at mange av de normale rumenbakteriene



dør. Denne tilstanden kalles acidose. Bakterier kan også være bra, en tropisk legume med høy næringsverdi inneholder et toksin som en bakterie nøytraliserer.

Protister i rumen gjør i grove trekk samme jobb som bakteriene, i tillegg til at de spiser bakteriene. Sopp er viktig for å bryte ned lignin, hemicellulose og pektin.

HUMANE MIKROBIOMET

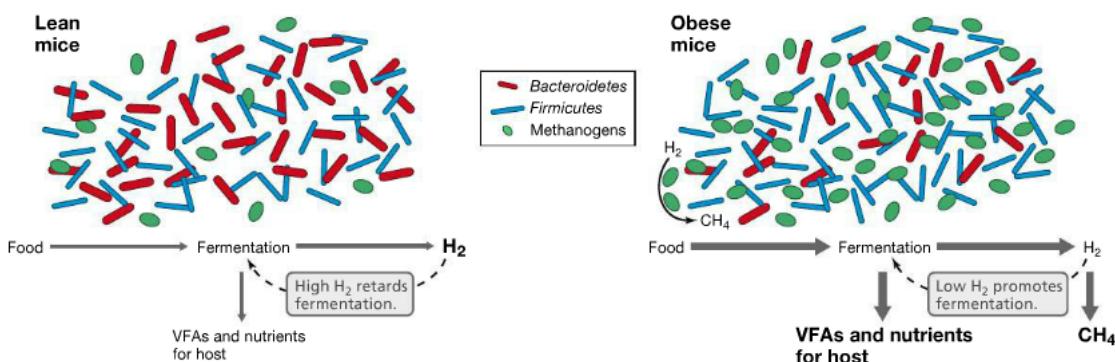
Det er estimert at menneskets mikrobiom er 10^{14} , 10 ganger flere celler enn menneske. Det er stor variasjon mellom mikrobiomet til mennesker. Det er ikke en enkelt art som skiller seg ut. Men sammenhenger blir tydeligere på et høyere taksonomisk nivå. Den normale mikrofloraen som vokser både inni og utenpå kroppen består av flere hundre forskjellige arter. Kolonisering begynner gjerne på slimhinner som består av epitel celler. Disse utskilles mucus (slim) som bakteriene festes på.

MAGE OG TARM

Tarmen har ca 400 m^2 overflateareal og har ca 10^{14} bakterieceller. Kolonisering av tarmen begynner rett etter fødsel, noen arter overfører fra mor til barn. Spedbarns tarmbiom er dominert av *bifidobacteria* (under klassen *Actinobacteria*). Ved 3 år begynner biomet å likne et voksent. Eldre individer har generelt mindre diversitet og reduserte nivå av *Firmicutes*, samt høyere nivå av *Bacteroides*.

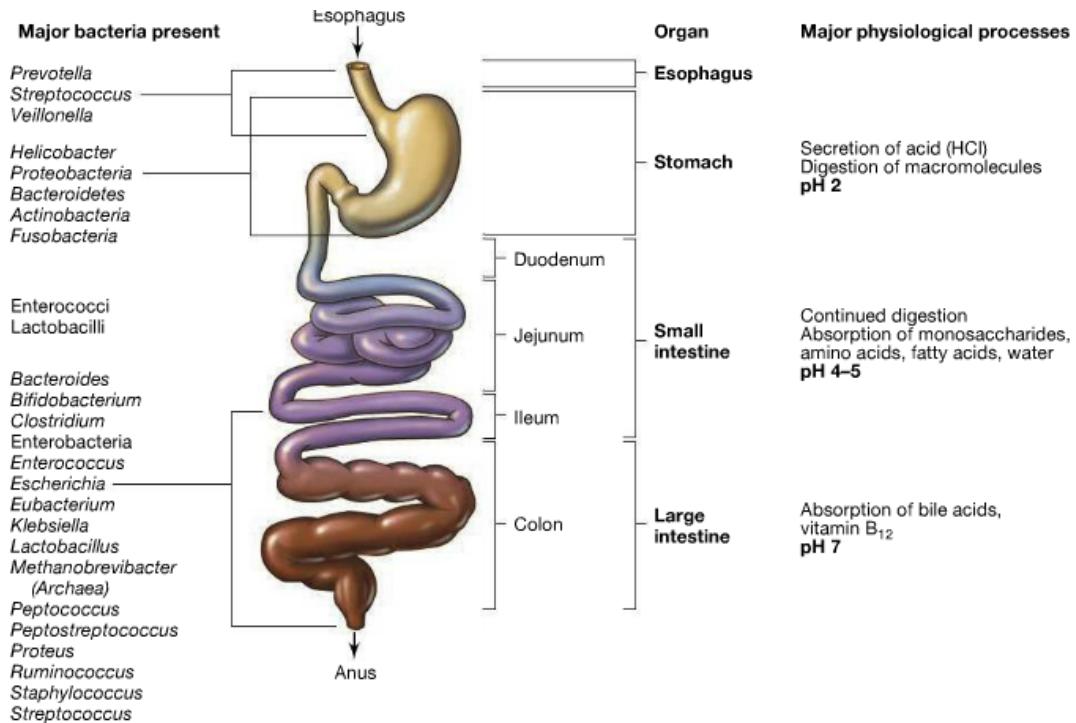
E.coli utgjør mye mindre del en tidligere tenkt. *Gammaproteobacteria* mindre enn 1%. 98% av bakteriene faller innenfor fire fyla; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*. Det er identifisert mellom 3500-35 000 arter. Enterotyper beskriver tarm samfunn. Sekvensering tyder på at det finnes 3 balanserte eneterotyper.

Bakteriene hjelper oss med blant annet å syntetisere essensielle aminosyrer, folat, B12 og K. Bakteriene omdanner også sterioide fra gallesyren til bioaktive sterioide. Studier på bakteriefrie mus har vist at bakteriene hjelper cellene å uttrykke gener; kolonisering triggerer glukose opptak og lipid absorasjon. Bakteriefrie mus har generelt mye mindre kroppsfeitt enn vanlige mus, og går opp i vekt når de blir introdusert for bakterier. Mus genetisk anlagt for å være overvektige har generelt 50% mindre *Bacteroidetes*, økning i *Firmicutes* og mye større antall metanogene *Arkea*. De metagonene er tenkt å øke effektiviteten til mikrobiell fermentering, ettersom de fjerner H_2 . Mer fermenteringsprodukter bidrar til at verten kan absorbere mer næring.



Mage: syrlig, pH 2, en kjemisk barriere for mikroorganismer. Vanlig med gram positive. *Helicobacter pylori* koloniserer magesekkveggen og forårsaker magesår for individer mottagelige for dette. Gjennom tynntarmen senkes pH og bakterie antallet øker. I tykktarmen er fakultativt anaerobe bakterier viktig for å holde miljøet anoksisk. En normal voksen frigir flere hundre milliliter gas hver dag, hvorav

halvparten er N₂ fra luft. Bakterier utgjør ca 1/3 av avføringen. Bakteriene har en til to doblinger om dagen, ettersom det utstøtes ca 10¹³ bakterier i avføringen hver dag.

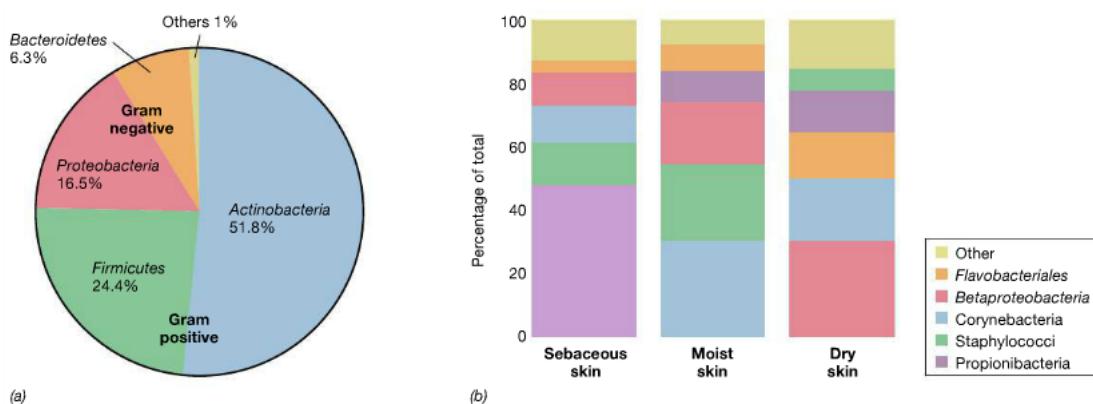


MUNN

Minst 750 arter. Både anaerobe og aerobe organismer. Mange arter som danner biofilm. Spyt innholder næringsstoffer, men er ikke så godt vekstmiddel fordi konsentrasjonen er lav, i tillegg til at de inneholder lysozyme og lactoper oxidase.

HUD

Stor variasjon mellom fuktig, tørr eller oljete hud. Oljete hud produserer sebum. Ca 2 m² hud. Fire fyla som dominerer; *Actionobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*. Over 200 genus identifisert, mens disse tre utgjorde over 60% (*Corynebacteria*, *Propionibacteria*, *Staphylococcus*). Analyserer estimerer diversitet, ikke mengde.



RESPIRASJONS KANALEN

I øvre del av respirasjons organet er det mange bakterier som er festet til mucus. De skilles enten ut som snørr eller svelges. Den nedre delen er steril i friske voksne. Luftens hastighet senes og organismer i luften blir fanget i veggene. Cilia slår oppover og bakterier kommer dermed ikke ned i lungene. Noen kommer ned, og forårsaker sykdom.

URINVEIER

Nyrer og blære er sterile i friske voksne. Uretraen koloniseres av fakultativ aerobe gram negative bakterier. Vaginaen er svakt syrlig og inneholder store mengder glykogen. *Lactobacillus* fermenterer polysakkaridet og produserer melkesyre som opprettholder den lokale syrligheten. Før puberteten og etter overgangsalderen er *L. Acidophilus* borte.

SYKDOM

Endring i mikrobiomet har lenge vært assosiert med IBD (inflamatorisk bowel disease). Ubalanse mellom immunsystemet og normal tarmflora. Forstyrrelser i homeostase mellom mikrofloraen og vert kalles dysbiota.

