

Innhold

1 introduksjon	5
1.1 Mikrobielle celler	5
1.2 Evolusjonære forhold og fylogenetisk tre.	6
1.3 Mikrobielle samfunn	6
1.3.1 Typer av interaksjoner	6
1.3.2 Ekstremofiler	7
1.4 Fordeling av mikroorganismer	7
1.5 Betydning av mikroorganismer for mennesker	7
1.6 mikroskopi	8
1.6.1 lysmikroskop	8
1.6.2 Optiske prinsipper	8
1.6.3 Fluorescensmikroskop	8
1.6.4 Elektronmikroskop	8
2 Grunnleggende trekk ved bakterier	8
2.1 Morfologi	8
2.2 Cellestørrelse	8
2.2.1 Overflate-volum ratio	9
2.3 Membranstruktur	9
2.3.1 Fosfolipider	9
2.3.2 membranfunksjon	10
2.4 membranproteiner	10
2.4.1 Transportproteiner	10
2.5 Cellevegg	11
2.5.1 Peptidoglykan	11
2.5.2 Gram-positive bakteriers cellevegg	11
2.5.3 LPS	12
2.6 Celle-vegg i Arkea	12
2.7 Overflatestrukturer på celler	13
2.8 Cellelagring	13
2.8.1 Polyfosfat og svovelgranauler	13
2.8.2 Biomineralisering	13
2.8.3 Magnetosomer	13
2.9 Gassvesikler	13
2.10 Endosporer	14
2.11 Mikrobiell bevegelse	14
2.11.1 Flageller	14
2.12 Bakteriell Bevegelse	15
2.12.1 Taxi: bevegelse mot/fra et stimuli	16
2.13 Bakterielle responsmekanismer	16
2.14 Sensorkinase	17
2.15 Quorum sensing	17
3 Bakteriell metabolisme	18
3.1 Næring	18
3.1.1 Makronæringsstoffer	18
3.1.2 Mikronæringsstoffer	18
3.1.3 Medium og laboratoriekultur	18
3.2 Typer metabolisme	18
3.2.1 Redoks-reaksjoner	19
3.2.2 Måter å danne ATP	19
3.2.3 Ulike e-akseptorer	21

4 Mikrobiell vekst	21
4.1 Bakteriell vekst	22
4.2 Mikrobielle tilpasninger til ekstreme forhold	23
4.2.1 tilpasninger til lave temperaturer	23
4.2.2 tilpasninger til høye temperaturer	23
4.2.3 pH	24
4.2.4 Osmolaritet	24
4.2.5 Oksygen	25
4.2.6 Kjemisk bakteriekontroll	26
5 Mikrobiell evolusjon og systematikk	27
5.0.1 Fylogeni	27
5.1 Mikrobiell Evolusjon	27
5.2 Mikrobiell systematikk	28
6 Fototrofi	29
6.1 Fototrofisk metabolisme	29
6.2 Diversitet i fototrofe bakterier	31
6.2.1 Cyanobakterier	31
6.2.2 Fototrofe purpurbakterier	33
6.2.3 Aerobe anoksygene fototrofe	33
6.2.4 Grønne bakterier	34
6.2.5 Andre fototrofe bakterier	34
7 Kjemolitotrofi	35
7.1 Kjemolitotrof metabolisme	35
7.2 Hydrogenoksidasjon	35
7.2.1 Hydrogenmetaboliserende bakterier	36
7.3 Sovelmetabolisme	36
7.3.1 Oksidasjon av reduserte svovelforbindelser	36
7.3.2 Soveloksiderende mikroorganismer	37
7.4 Jern Fe ²⁺ oksidasjon	38
7.4.1 Jernoksiderende bakterier	38
7.5 Nitrifikasjon og annamox	39
7.5.1 Ammoniumoksiderende bakteria og archaea	40
7.5.2 Nitrittoksiderende bakterier	40
7.5.3 Ammoniumoksiderende Archaea	40
7.5.4 Annamox	41
8 Kjemoorganotrofi	41
8.1 Metanotrofe og metylotrofe bakterier	41
8.1.1 Aerobe fakultative metylotrofe	41
8.1.2 Aerobe metanotrofe	41
8.2 Eddiksyrebakterier	42
9 Proteobacteria	42
9.1 Gammaproteobacteria	42
9.2 Enteriske bakterer - enterobacteriales	42
9.2.1 Escherichia	43
9.2.2 Andre mixed-acid fermenters	43
9.2.3 Butanediolfermentere	44
9.3 Pseudomonadales og Vibrionales	44
9.3.1 Pseudomonadales	44
9.3.2 Vibrionales	44

10 Firmicutes	45
10.1 Lactobacillaes	45
10.1.1 Lactobacillus	46
10.1.2 Streptococcus og andre kokker	46
10.1.3 Listeria:	46
10.1.4 Staphylococcus:	46
10.2 Sporulerende Bacillales og Clostridiales	46
10.2.1 Bacillus	46
10.2.2 Clostridium	47
11 Mindre viktige Phyla	47
11.1 Phyla Tenericutes	47
11.1.1 Mycoplasma	48
11.2 Phyla Actinobacteria	48
11.2.1 Propionibacterium	48
11.2.2 Mycobacterium	48
11.3 Filamentøse Actinobacteria	48
11.3.1 Streptomyces	49
12 Virus	49
12.1 Virionstruktur	50
12.2 Virusets livssyklus	51
12.3 Dyrking og telling av virus	53
12.4 Virustyper	53
12.4.1 Bakteriofager	53
12.4.2 Bakteriofag T4	54
12.4.3 Bakteriofag Lambda	55
12.4.4 Dyrevirus	55
12.4.5 Retrovirus	56
12.5 Virosfæren og viral økologi	58
12.6 Forsvarsmekanismer mot virus	59
12.7 Antivirale medisiner	59
12.8 Klassifisering av virus	59
12.8.1 Baltimore klasse II: enkeltrådig DNA bakteriofag	60
12.8.2 Bakteriofag M13	60
12.9 Viral evolusjon	60
12.10 Viroider	61
12.11 Prioner	61
13 Archaea	61
13.1 Ekstremt halofile archaea	63
13.2 Euryarchaeota	63
13.2.1 Metanogene Archaea	64
13.2.2 Thermoplasmatales	65
13.2.3 Thermococcales	65
13.3 Fyla <i>Nanoarchaeota</i>	65
14 Eukaryoter	65
14.1 Endosymbiose	65
14.2 Fylogeni i eukaryoter	66
14.3 Amobeozoa	67
14.4 Sopp	67
14.4.1 Fysiologi, struktur og symbiose	67
14.4.2 Reproduksjon	67
14.4.3 Fylogeni	68

14.4.4 Ascomycetes	68
14.5 Antifungale medisiner	69
14.6 Protister	70
14.6.1 Diplomonader og Parabasalider	70
14.6.2 Euglenozoans	70
14.6.3 Alveolates	71
14.6.4 Stramenopiles	72
14.6.5 Cercozoans og Radiolarians	73
14.7 Rød og grønnalger	73
14.7.1 Rødalger	73
14.7.2 Grønnalger	74
15 Karbon, nitrogen og svovelsyklus	74
15.1 Karbonsyklus	74
15.1.1 Fotosyntese og nedbrytning	75
15.1.2 Karbonbalanse og koblede sykluser	75
15.1.3 Metanogenese og syntopi	76
15.2 Nitrogensyklus	78
15.2.1 Nitrogenfiksering og denitrifisering	78
15.3 Svovelsyklus	82
15.3.1 Hydrogensulfid og sulfatreduksjon	82
16 Pattedyr som mikrobielt habitat	85
16.1 Pattedyrs mage	85
16.1.1 Drøvtyggere	86
17 Humant mikrobiom og menneske-mikrobe interaksjoner	88
17.1 Kolonisering	88
17.2 Hudens mikroflora	89
17.3 Munnens mikroflora	89
17.4 Fordøyelseskanalens mikroflora	89

1 introduksjon

1.1 Mikrobielle celler

Bakterier/Archaea: Prokaryoter.

Makromolekyler i prokaryoter:

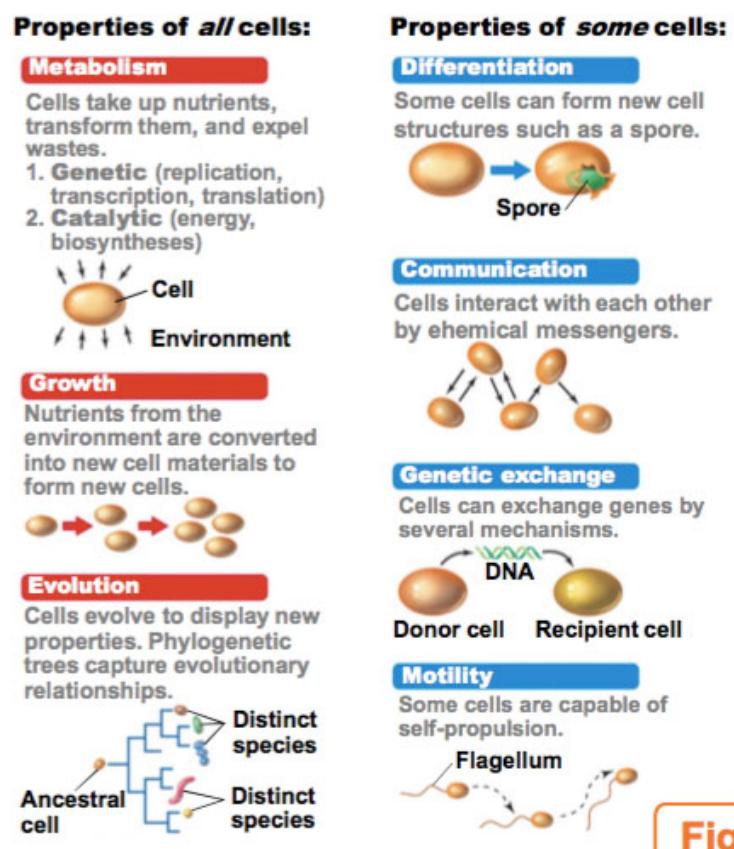
Protein:55%, RNA: 20%(høy veksthastighet)

Stort antall makromolekyler(millioner), mange forskjellige typer makromolekyler (tusenvis).

Trekk i cellulært liv:

Alle celler: Metabolisme, vekst/reproduksjon, evolusjon.

Noen celler: Bevegelse, differensiering, Utveksle genetisk materiale, kommunikasjon.



Figur 1.1: Trekk ved cellulært liv

Celler kan deles opp i en ”maskindel” og en ”kodende del” (Dette er mer eller mindre definisjonen på liv)

Tabell 1.1: Celledeler

Maskindel	Kodende del
Energi(ATP)	Lagring(DNA)
Enzym	Kopiering - replikasjon
Metabolisme	Genuttrykk

Liv på jorda: rundt 4 milliarder år

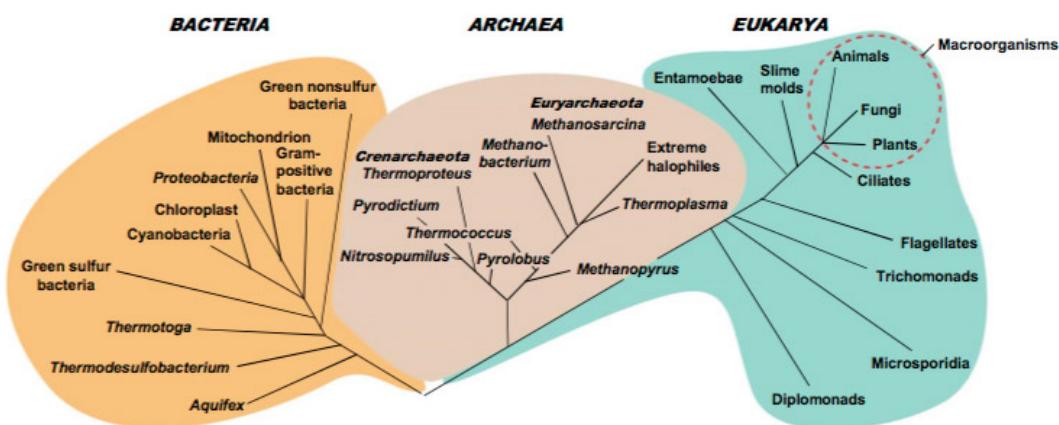
Første 1.5 milliarder år: anoksisk. Muligens lettere for liv å oppstå under anokside forhold.
Cyanobakterier: første fotosyntetiske organismer i ordets mest brukte betydning.

1.2 Evolusjonære forhold og fylogenetisk tre.

Fylogeni: Studier av evolusjonære relasjoner mellom organismer

Overgang klassisk systematikk -> genteknologi.

Livets tre (fig 1.2) er utledet basert på ribosomal RNA gen fylogeni. 16s for prokaryoter og 18s for eukaryoter.



Figur 1.2: livets tre

Kloroplaster har cyanobakterier som nærmeste slektning og mitokondrier har protobakterier som nærmeste evolusjonære slektning.

Man tror endosymbiose skjedde mellom 500 millioner og 1 milliard år siden.

1.3 Mikrobielle samfunn

Mikrobiologiske interaksjoner individ < populasjon < laug < samfunn < økosystem

lauget: Mange heterotrofer med ca. samme nisje.

Ligning 1.1 forklarer hvordan et mikrobielt samfunn utvikler seg over tid.

$$\frac{dB}{dT} = \mu B - t * B = (\mu - t)B \quad (1.1)$$

Forklaringer på ligning 1.1:

$\frac{dB}{dT}$ = endring biomasse over tid

μ = vekstvilkår; avhengig av ressurstilgang, konkurranse

t = Tap/mortalitet, predasjon

1.3.1 Typer av interaksjoner

- Kommensalisme (0/+), eks: tarmflora
 - Mutualisme (+/+), eks: nitritt fikserende og ammonium oksiderende
 - Konkurranse (-/-), eks: om ressurser som kan konsumeres (mat), plass
 - Ammensalisme (0/-), eks: melkesyre bakterier som senker pH i melk
 - Parasittisme (+/-), eks: virus
 - Predasjon (+/-), eks: heterotrofer
- I alle økosystemer finner man eksempler på konkurranse, predasjon og parasittisme.

1.3.2 Ekstremofiler

Mikroorganismer finnes overalt, også i miljøer som er ekstreme for oss.
 Forskjell mellom ekstremofil(liker seg) og ekstremotolerante(kan overleve, for eks bjørnedyr).
Typer ekstremofiler:

- **Høy temperatur:** Hypertermofil (obs: ingen tåler koking)
- **Lav temperatur:** Psychrofil
- **pH:** Acidofil(surt), Alkalofil(basisk)
- **Trykk:** Barofil
- **Salt(NaCl):** Halofil

1.4 Fordeling av mikroorganismer

Table 1.2 Distribution of microorganisms in and on Earth^a

Habitat	Percent of total
Marine subsurface	66
Terrestrial subsurface	26
Surface soil	4.8
Oceans	2.2
All other habitats ^b	1.0

Antatt antall bakterier på jorda: $2.5 \cdot 10^{30}$
 Mikrobielt karbon tilsvarer ca plantebiomasse.
 Mikrobielt N P er ca. 10 x plantebiomasse.

1.5 Betydning av mikroorganismer for mennesker

Før: mye patogene bakterier og infeksjoner førte til dødsfall. I dag er dette ikke en spesielt vanlig dødsårsak i den vestlige verden, men er fortsatt et problem i mange U-land, ikke minst på grunn av dårlig hygiene.

Økende antibiotikaresistens er også et potensielt problem

Positive sider ved mikroorganismer i mennesker: Patogenbeskyttelse(konkurranse bla.), Ernæring(vitamin og fettsyresyntese), viktig for normalutvikling og immunsystemet.

Mikroorganismer i matlagning

Positivt: Fermentert mat, alkohol, gjær i baking

Negativt: Bedervelse. Mye mat går til spille.

Mikroorganismer i landbruk

tradisjonelt har man har man i landbruket vært avhengig av nitrogenfikserende bakterier. Bakteriers nitrogensyklus og svovelsyklus har vært viktig for mange økosystemer. I dag har kunstgjødsel til en viss grad tatt over.

Energi og miljø

Biodrivstoff: Alkohol, metan, diesel.

Bioremediering: Oljesøl, pesticider (tilførsel, selektive, aksellerere)

Industriell mikrobiologi: tradisjonell/GMO

1.6 mikroskopi

1.6.1 lysmikroskop

Oppløsning begrensende.

Oppløsning:

$$\frac{0.5\lambda}{NA} \quad (1.2)$$

NA= Numerisk apertur

Kontrast er viktig. celler absorberer og sprer lys.

Farging/pigmentering øker kontrasten.

Gramfarging: Differensiell farging. Gram-positive bakterier: Lilla.

G-Negative bakterier fargeløse pga. tykk peptidoglykanvegg

1.6.2 Optiske prinsipper

Lysfelt

Mørkefelt: Ser ikke lyskilden direkte, men refleksjoner av objektet

Fasekontrast

1.6.3 Fluorescensmikroskop

Low pass ved en gitt bølgelengde; slipper kun gjennom lys under den bølgelengden

Består av eksitasjonsfilter, dikroisk speil og kromatisk strålesplitter

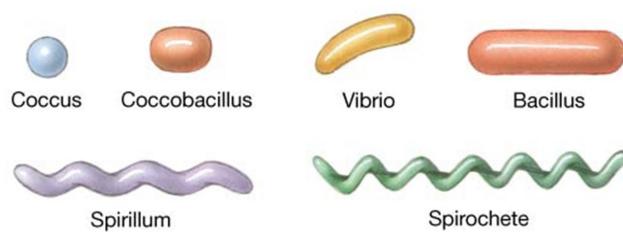
Visualisering ved emisjon

1.6.4 Elektronmikroskop

TEM: Transmission electron microscopy SEM: Scanning electron microscopy

2 Grunnleggende trekk ved bakterier

2.1 Morfologi



Figur 2.1: bacillus=staver på norsk

Figur 2.2 viser forskjellige vanlige bakterieformer

2.2 Cellestørrelse

Det er et stort spenn i størrelsene på mikroorganismer.

Den største observerte er 10^8 x større enn E-coli.

De største mikroorganismene er kjemolitotrofe, og størrelsen til encellede organismer begrenses av diffusjon(max) og DNA-avlesning(min)

De største observerte bakteriene har flere kopier av genomet sitt.

2.2.1 Overflate-volum ratio

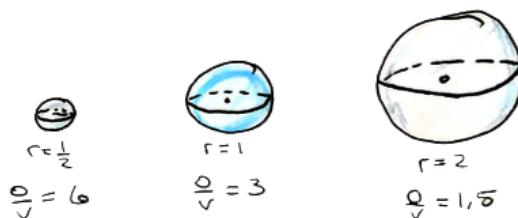
$$\text{Overflate} = 4\pi r^2$$

$$\text{Volum} = \frac{4}{3}\pi r^3$$

$$\frac{O}{V} = \frac{3}{r} = \frac{1.5}{d}$$

Størrelsen av kokker bestemmes av sammenhengen mellom overflate og volum. $\frac{O}{V}$ faller når r øker. Høy $\frac{O}{V}$ er gunstig under gode betingelser.

Små celler (lav $\frac{O}{V}$) kan danne større populasjoner enn store celler(høy $\frac{O}{V}$) på samme mengde næring.



Figur 2.2: Omkrets/volum forhold

2.3 Membranstruktur

Den cytoplasmatiske membran omgrir cytoplasma og separerer cellen fra omgivelsene. Når cellemembranen ikke er intakt kan det ses på som en form for død.

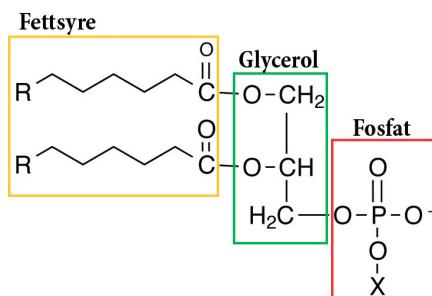
Membranen er selektiv permeabel; permeabel for noen typer molekyler(eks. Vann), og impermeabel for andre(eks. H^+).

Membranen er fluid, ikke rigid eller statisk.

2.3.1 Fosfolipider

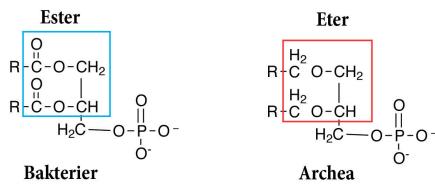
Lipid bilayer(dobbelt fosfolipidlag): 8nm.

Kjedelengde og metningsgrad på fettsyren varierer.



Figur 2.3: Fosfolipidets grunnleggende oppbygning

Lipidet består av en hydrofob og en hydrofil del, hvor de to hydrofobe delene utgjør innsiden av det doble fosfolipidlaget rundt cellene. Dobbeltlaget stabiliseres av hydrogenbindinger og hydrofobe interaksjoner.



Figur 2.4: Forskjeller mellom fosfolipider i archaea og bakterier

Archea har enkelt fosfolipidlag, som gjør essensielt sett den samme funksjonen.

2.3.2 membranfunksjon

3 viktige funksjoner:

- Barriære:
 - Forhindrer lekkasje, kontrollert inn/ut-slipp
- Proteinanker
 - Transport, bioenergi
- Energikonservasjon
 - Protonpumpa, gradient.

Selektiv permeabilitet gir kontroll på hvilke stoffer som går inn og ut av cellen. (H^+ har lav diffusjonsrate, men kan pumpes inn av proteiner).

2.4 membranproteiner

Typer membranproteiner og funksjon:

- Utvendige: proseserer substrat utenfor cellen, bryte ned polymerer til monomerer
 - Gjennomgående: transport
 - Innvendige: Energigenerering
- Proteinene er dynamiske og reguleres.

2.4.1 Transportproteiner

Kan transportere stoffer mot konsentrasjongradienten.

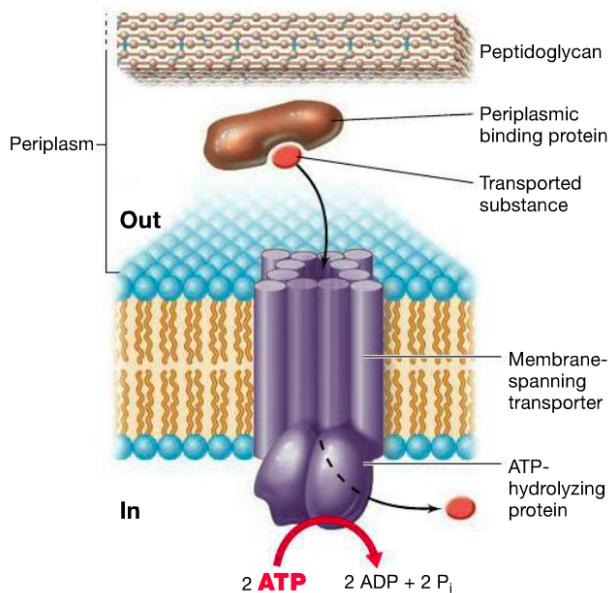
Uten transportproteiner blir opptaksraten linær som diffusjonsraten.

Med transportproteiner øker opptaket frem til proteinene mettes, da opptaksraten jevner ut. Transportproteiner er spesifikke for molekyler/grupper av molekyler og reguleres fra gennivå til funksjonsnivå.

3 Klasser av transportsystemer

- **1: Enkel transport**
 - Energi: Protonbevegelse
- **2: Gruppe-translokasjon**
 - Energi: energirikt organisk molekyl
 - Et transmembrant protein, men flere proteiner/enzymer involvert i transportprosessen.
- **3: ABC-transporter**
 - Energikilde: ATP
 - Periplasmisk protein affinitet for substrat og transporter
 - Ofte i gram-negative, men forekommer også i gram positive.
 - ABC = ATB binding cassette

Figur 2.5 viser ABC-transporterens struktur



Figur 2.5: ABC-transporter. Periplasmisk bindingsprotein har stor affinitet for substasitet. Membranproteiene lager en transportkanal og cytoplasmisk ATP-hydrolyserende proteiner gir energi til porten

2.5 Cellevegg

2.5.1 Peptidoglykan

Celleveggen i bakterier består av **peptidoglykan**

Peptidoglykan er et polysakkard av alternerende N-acetylglukosamin (NAG) og N-acetylmuraminsyre(NAM) i $\beta(1 \rightarrow 4)$ -bindinger + aminosyrer (både D og L form)

Sammen dannes et kryssbundet glycan tetrapeptid.

Peptidoglykan brytes ned av lysozym. Lysozymet hydrolyserer $\beta(1 \rightarrow 4)$ -bindingen
figur 2.6 viser strukturen til den repeterende enheten i peptidoglykan

Figur 2.6: glycan tetrapeptid, den repeterende enheten i peptidoglykan.

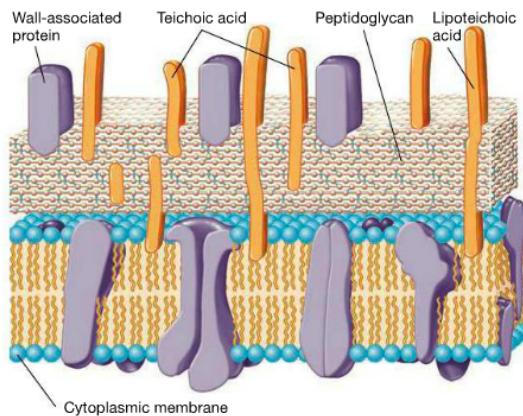
2.5.2 Gram-positive bakteriers cellevegg

Peptidoglykan syntetiseres i 50nm brede kabler.

Teicoic acid koblet til NAM gir negativ ladning på utsiden av cellen.

Lipoteitoisk syre - kovalent bundet til membranlipider.

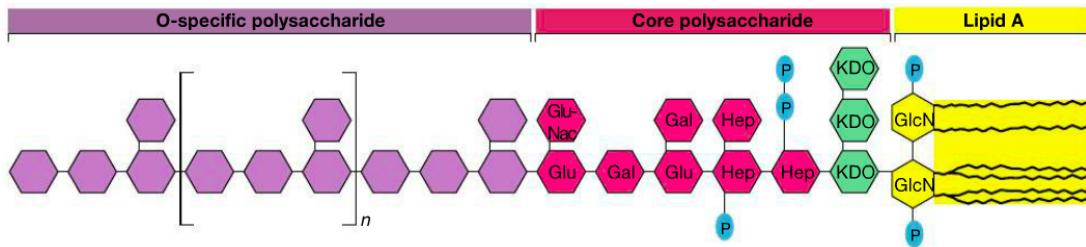
Figur 2.7 viser gram-positive bakteriers cellevegg



Figur 2.7: Gram-positiv cellevegg

2.5.3 LPS

LPS=Lipopolsakkharid. LPS er den ytre membranen i gram-negative bakterier. Figur 2.8 viser LPS' oppbygning.



Figur 2.8: LPS-struktur. Lipid A og polysakkard delene varierer mellom forskjellige gram-negative bakterier, men hovedtrekkene er stort sett like. O-spesifikke polysakkarder varierer stort mellom forskjellige arter. Det er lipid A delen som kan være toksisk for dyr.

2.6 Celle-vegg i Arkea

Pseudomurein:

Altermeterende N-acetylglucosamin og N-acetyltalosaminuerisk syre
Ulik ved:

- NAT, ikke NAM
- $\beta(1-3)$, ikke $\beta(1-4)$
- Kun L-aminoesyror
- Lysozym og persilin-insensitiv

Parakrystallisk Surface layer:

Tverrbundede molekyler av protein og glycoprotein.

Tabell 2.1: Forskjeller mellom bakterier og arkars membran/cellevegg

Bakterier	Arker
Peptidoglykan +/- LPS	Pseudomurein
Slag +/- andre komponenter	S-lag
Noen uten cellevegg	Tykk polysakkardvegg +/- sulfaterte Glykoproteiner

2.7 Overflatestrukturer på celler

Kapsel: Lag organisert i en tett matrix som eksluderer små partikler

Slimlag: Lag mer deformert og eksluderer ikke små partikler. Løsere festet.

Bidrar til faste, innkapsle patogener, binde vann. Vannbinding er spesielt viktig for bakterier i jord.

Ustikkere fra cellen:

fimbria: festet til overflater, små ”hår”.

pili: lenger en fimbriae og kun en/få per celle. Funksjoner:

- Genetisk horisontal overføring (sexpilus)
- Faste av patogener
- Bevegelse (spesiell type pili)

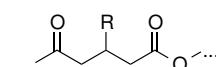
2.8 Cellelagring

Lagringspolymere som karbon

1: Lagring som PHA(polyhydroxyalkanoate)

Esterbindinger

lagres i granuler omsluttet av en membran



Figur 2.9: Polyhydroxyalkanoate

2: Glykogen

Polymer av glukose

2.8.1 Polyfosfat og svovelgranuoler

PO_4^{3-} lagres i granuoler av polyfosfat(esterbinding)

Organismer som oksiderer H_2S danner S° som akkumulerer i granuoler utenfor cellen. (Periplasma) S° reduseres til SO_4^{2-} .

2.8.2 Biomineralisering

Bakterien lager mineraler

Benstonitt: Ba, Sr, Ca, Mg^+ , karbonat(CO_3^{2-})

2.8.3 Magnetosomer

Gir mulighet til orientering i et magnetisk felt

Partikler av Fe_3O_4 eller Fe_3S_4

Magnetotaksi=migrere langs jordas magnetiske felt.

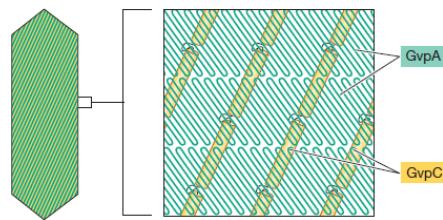
2.9 Gassvesikler

Struktur for å regulere tetthet og oppdrift

Kun gass slipper inn

Gassvesikkelprotein = Gvp

GvpA er hydrofob -> vann slipper ikke inn



Figur 2.10: Gassvesikkelprotein

2.10 Endosporer

Dannes under sporulasjon

Endosporer er ekstremt resistente for varme, kjemikalier og radioaktiv stråling.

Endosporen kan ligge i hvile i flere år.

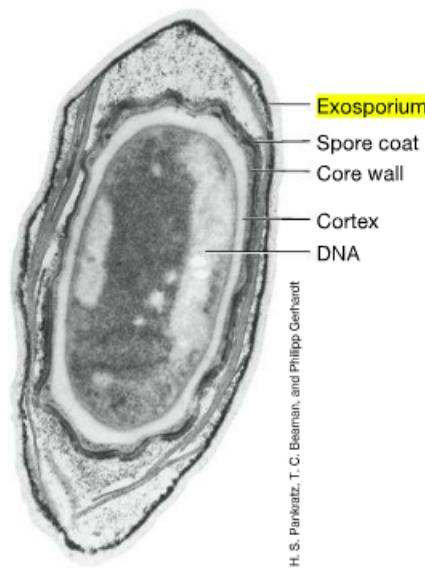
Exosporiumet er et tynt lag av protein

Figur 2.11 viser en endospore med exosporiumet markert

Dipolionisk syre (DPA) akkumulerer i kjernen.

- Binder vann -> redusert vanngmengde. Bidrar til dehydrering.

Rundt 20 bakterieslekter har sporedannelse, ikke archaea. Bare gram-positive.



Figur 2.11: Gassvesikkelprotein

2.11 Mikrobiell bevegelse

Metoder for bevegelse:

- Gassvesikler
- Flageller/Cilier
- Gliding(i forbindelse med underlag/overflate)

Funksjon: øke fitness, ved å finne ressurser/unngå predasjon.

2.11.1 Flageller

Synliggjøres ved Leifson-farging.

Typer:

Polar: Festet i en/begge ender

Peritrich: Festet rundt hele cellen

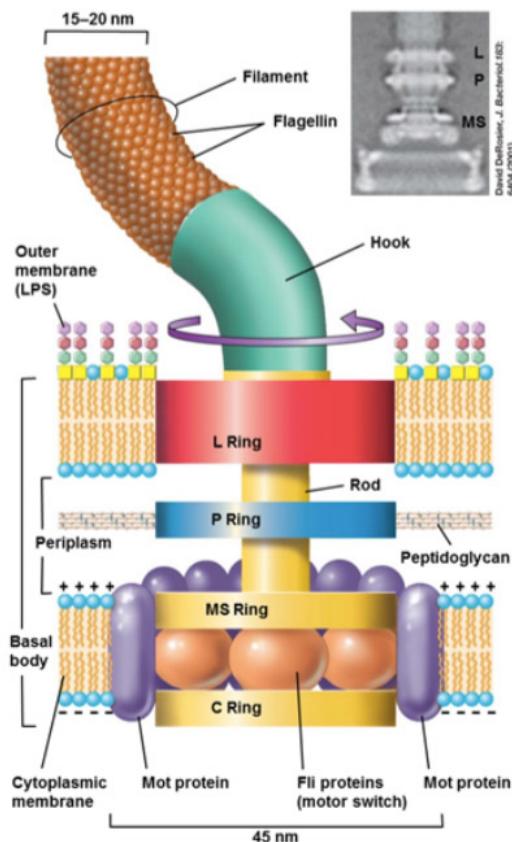
Lophotroch: Polar, i bunt(fler flageller)

Flagellbevegelse: Rotasjon, ikke ”pisking”

Celler kan noen ganger gro flageller etter behov.

Flagellenes bølgelengde kan brukes til å taksonomisk identifisere mikroorganismen.

Proteinet som bygger opp flageller: Flagellin. Gener som koder for flagellin er veldig konservert, noe som kan tyde på at de oppsto tidlig i evolusjonen.



Figur 2.12: Flagellers oppbygning

Som vist i figur 2.12 består flagellen av en rotordel og en statordel.

Tegningen viser en gram-negativ bakterie, da den har to membraner. Nærmest L-ringen kroker det seg. Filament-delen er oppbygd av flagellin.

Motoren er trolig drevet av en protonpumpe som pumper ca. 1000 H^+ pr. omdreining.

- Hos noen Arker er det ATP, ikke H^+ som driver bevegelsen

Flagellsyntese kontrolleres av ca. 50 gener, og skjer trinnvis. Det bygges ”fra bunn” (C-ring) og oppover.

2.12 Bakteriell Bevegelse

På vår skala beveger bakterier seg sakte, men E.Coli, som ikke er den raskeste bakterien, beveger seg faktisk rundt 60 kropps lengder pr sekund, noe som er over dobbelt så fort som en gepard i full sprint.

Bevegelser for forskjellige typer bakterieflageller:

Peritrikke: Motoren går mot klokka, og den beveger seg i en rett linje. Den svømmer ett strekk, roterer med klokka og endrer retning.

Polare: Reversible rotasjoner; kan rotere med eller mot klokka. Bevegelsen er unidireksjonell, den kan kun stoppe opp og rotere for å endre retning.

Glidende bevegelse: ca. 10 μm /sek, eller rundt $\frac{1}{6}$ av E.Coli.

Finnes i cyanobakterier, flavobakteriekomplekser etc. Enda ikke observert hos Arker.

Mekanismen for gliding varierer fra forskjellige arter;

Cyanobakterier: slim

Flavobakterier: slim, rotasjon, glideproteiner, pili.

2.12.1 Taxi: bevegelse mot/fra et stimuli

Krever evne til deteksjon og målrettet bevegelse.

Fototaxi: Lysavhengig. Scotofobisk taxi: mørkeredd.

Kjemotaxi: avhengig av kjemisk gradient.

To typer bevegelse: Random walk, biased random walk.

Random walk: ingen stimuli, bare loker rundt.

Biased random walk: Målrettet "Tilfeldig" bevegelse, med sampling ca. hvert sekund, med mulighet for å endre retning basert på ideelle forhold. En bakterie "husker" ikke mer enn ca 3 sekunder/samples tilbake.

Andre typer taxi: Aerotaxi(oksygen), osmotaxi(saltkonsentrasjon)

Spesiell bevegelse: *Chlamydomonas*. En form for padling, drevet av ATP-transport.

2.13 Bakterielle responsmekanismer

Bakterier regulerer metabolismen i respons til endringer i extracellulært miljø: Temperatur, pH, O₂, sukkertype.

Noen stoffer kan diffundere inn og påvirke genuttrykk direkte.

Vanligere med signaltransduksjon. De fleste signaloverføringssystem har 2 komponenter.

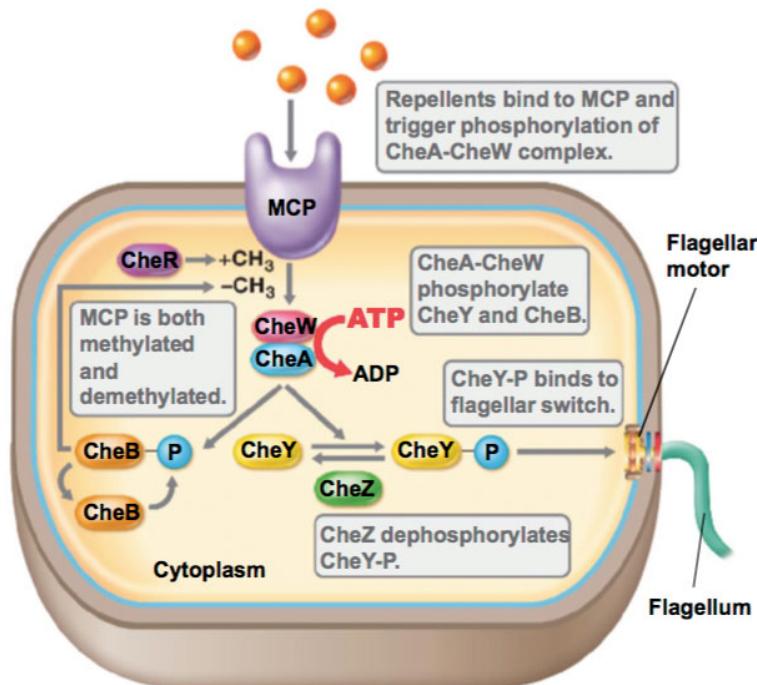
To-komponent systemer:

- 1. Sensor kinase (i membran)
 - Binder signal, autofosforylerer
- 2. Responsregulator(i cytoplasma)
 - DNA-bindende protein som regulerer transkripsjon
- Fosfataser fungerer som av-knapp

Regulering av chemotaxis

Modifiserte tokomponentsystemer kan merke konsentrationsendring over tid og regulere flagellrotasjon.

2.14 Sensorkinase



Figur 2.13: Regulering av kjemotaxi

1. Mottak/signaloverføring

Hvert Mcp kan gjenkjenne et stoff.
Attraktanter -> ikke fosforylering
Repellanter -> fosforylering

2. Overføring responsregulator

3. Flagellbevegelse

Attraktant: mot klokka
Repellant: med klokka.

Fullt metylert MCP merker ikke attraktanter, bare repellanter.

Che proteiner er også involvert i andre taxier.

Fototaxi: lys-sensor i stedet for MCP

Aerotaxi: redoksprotein overvåker oksygennivå

2.15 Quorum sensing

Prokaryoter kan reagere på nærvær av andre bakterier/celler av samme art.

Quorum sensing: en måte å måle sin "egen" tetthet, og dermed endre adferd.

Patogener venter til nok celler er tilstede før patogen aktivitet begynner.

Quorum sensing primært i *G*⁻, men også i noen *G*⁺ prokaryoter.

AHL: Hver art lager et autoindusermolekyl, som diffunderer inn/ut av cellen. En slag signatur.

Høy autoinduserkonsentrasjon starter genuttrykk.

I tillegg til AHL, lager mange *G*⁻ bakterier AI-2, som er lik mellom flere arter.

G⁺ bruker korte peptider, ikke AHL.

Quorum sensing er med på biofilmdannelse.

Biofilm: mange bakterier produserer slim som beskytter kolonien. Biofilm reduserer antibiotikaeffekt.

Flageller kan feste bakterier i hverandre under dannelsen av biofilm.

Moden biofilm er nesten soppaktig.

3 Bakteriell metabolisme

3.1 Næring

3.1.1 Makronæringsstoffer

Karbon

Karbon bidrar til ca. 50 % av bakteriell tørrvekt. og inngår i alle makromolekyler.

Heterotrofe bakterier spiser for å ta opp karbon, mens autotrofe bakterier fikserer karbon selv.

Andre makronæringsstoffer: Nitrogen, fosfor, svovel, kalium, magnesium, natrium, kalium, jern

3.1.2 Mikronæringsstoffer

Springvann inneholder nok mikronæringsstoffer for bakterier, men for å gro bakterier tilsettes det mikronæringsstoffer i overskudd.

Spormetaller: f.eks FeS proteiner involvert i elektrontransport og jerncytokromer

Vekstfaktorer: Organiske forbindelser som noen organismer trenger i små mengder. F.eks vitaminer, aminosyrer, puriner, pyrimidiner.

3.1.3 Medium og laboratoriekultur

Definert medie: Uorganiske/organiske forbindelser.

Dest.vann. Kjenner innhold nøyaktig.

Komplekst medie: Ukjent sammensetning.

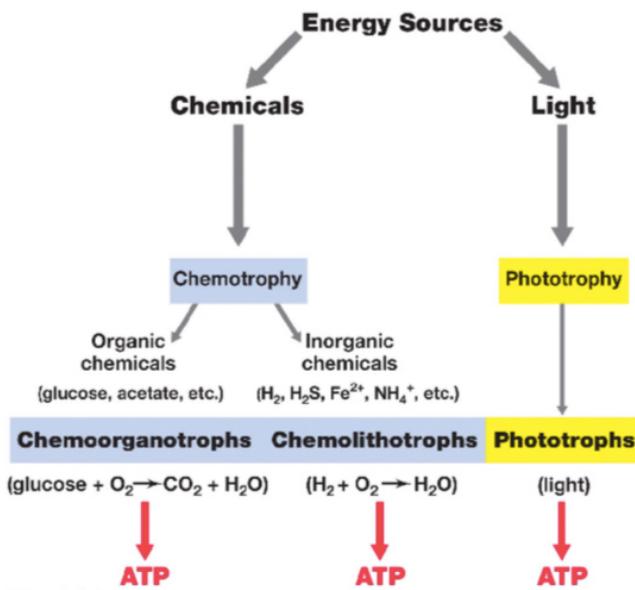
Anriket medium: Komplekst medium + tilsett stoff. eks: Blod i serum

Selektivt medium: Tilsatt stoffer som kan hindre vekst i noen arter.

Differensielt medium: Indikator tilsett.

3.2 Typer metabolisme

Mikroorganismer kan inndeles i kategorier basert på hvordan de får energi:



Figur 3.1: Oversikt over typer bakteriell metabolisme

Alle mikroorganismer trenger karbon.

Kjemoorganotrofe er alltid heterotrofe, og har to hovedmåter å skaffe energi, både *fermentering* og *respirasjon*

Kjemoorganotrofe er:

- De eneste som kan fermentere
- Kan kjøre e- transportkjede ved tilgjengelig elektronakseptor
- Elektronakseptor:
 - O₂ - aerob respirasjon
 - Noe annet, f. eks: S^o, NO₃⁻, SO₄²⁻ - anaerob respirasjon.

Kjemolitotrofe

Elektronondonor: H₂, H₂S, Fe²⁺, NH₄⁺ etc.

Kan ha enten aerob eller anaerob respirasjon

Fotofosforylering: Elektroner kan komme enten fra O₂ eller ikke.

Det finnes både kjemolitoautotrofe og noen få kjemolitoheterotrofe.

Det finnes mange Fotoautotrofe, men også noen fotoheterotrofe.

3.2.1 Redoks-reaksjoner

Redoks-reaksjoner brukes til å lage ATP. Glukose er energikilde/elektronondonor.

Naturens beste e⁻ akseptør er O₂.

Elektronbærere er ofte koenzymer som NAD(H)⁺/NADP(H)⁺

3.2.2 Måter å danne ATP

Fermentering: Substratnivå-fosforylering.

Respirasjon: Substratnivå-fosforylering + oksidativ fosforylering. ATP dannes ved proton motive force.

Glyklysen

1. Steg, forberedelse: -2ATP - 2Glukose + 2G₃P

2. Steg, redoks: + 2NADH + 4ATP + 2Pyruvat

Totalt: Glukose + 2ATP + 2NAD⁺ → 2NADH + 4ATP + 2Pyruvat

ATP dannet ved substratnivåfosforylering.

Fermentering:

3. Bruk av NADH og produksjon av fermenteringsprodukter.

Fermentering gir navn fra:

1. Produkt: alkohol, melkesyre etc.

2. Start-substrat: Aminosyrefermentering. Ikke via glykolysen.

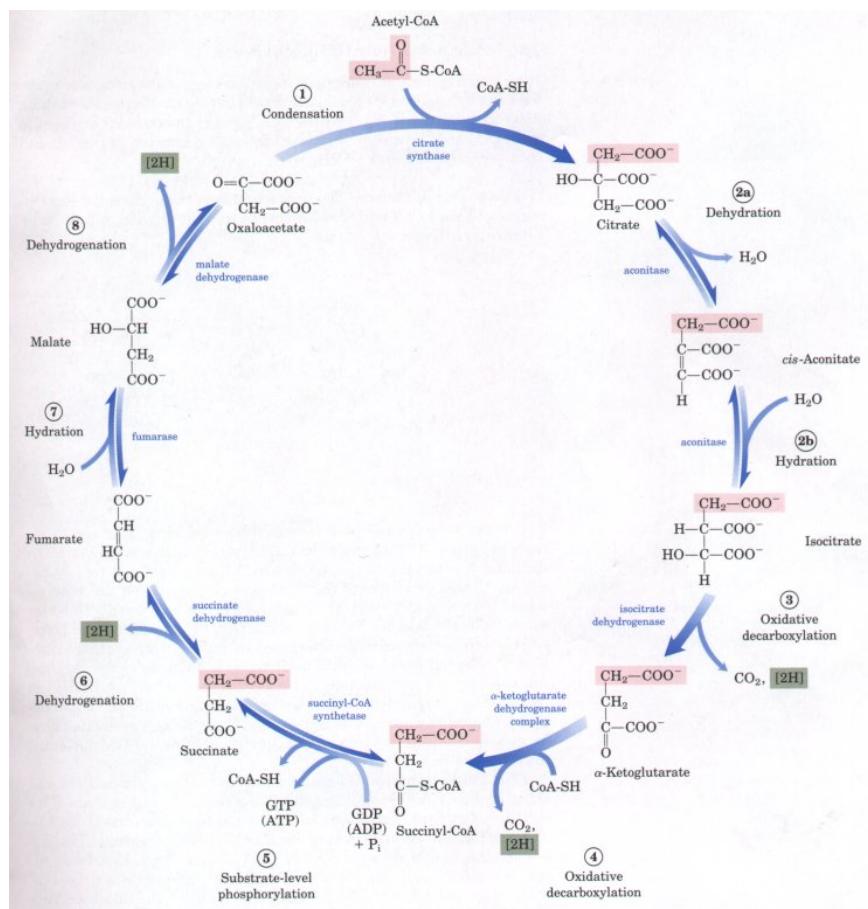
Fermentering må være balansert (*atomer/e⁻*). Produktet må skilles ut (kan bli toksisk).

Andre fermenteringer:

Fettsyrefermentering: 3 ATP(netto)

Gjær kan velge aerob respirasjon/fermentering. Respirasjon gir mye mer ATP.

Sitronsyresyklus



Figur 3.2: Oversikt over sitronsyresyklusen

Frigitt energi lagres i NADH. Brukes også til biosyntese

1 syklus: Pyruvat + 4 NAD⁺ + GDP(ADP) + FAD → 3CO₂ + 4 NADHFADH₂ATP(GTP)

I elektrontransportkjeden dannes 3 ATP pr. NADH og 2 ATP pr FADH₂.

Hos prokaryoter dannes totalt 38 ATP pr. Glukose. Hele respirasjonen skjer i cytoplasma.

3.2.3 Ulike e-akseptorer

Anaerob respirasjon har like elektrontransportkjede som ved aerob respirasjon.
Proton Motive Force dannes, men endelig elektronakseptor er ikke O₂

Fakultativt anaerobe: Helst O₂, kan bruke andre.
Obligat anaerobe: ikke O₂. For noen er O₂ giftig.
Ikke-oksygen metabolisme: dissimilativ metabolisme.

Assimilativ metabolisme: NO₃⁻, SO₄²⁻, CO₂ brukes som *byggesteiner*”, ikke som energikilder

Tabell 3.1: Assimilativ vs. dissimilativ metabolisme

	Assimilativ	Dissimilativ
Energikilde	Nei	Ja
e- akseptor	NO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻
Redusert stoff	Organisk materiale	N ₂

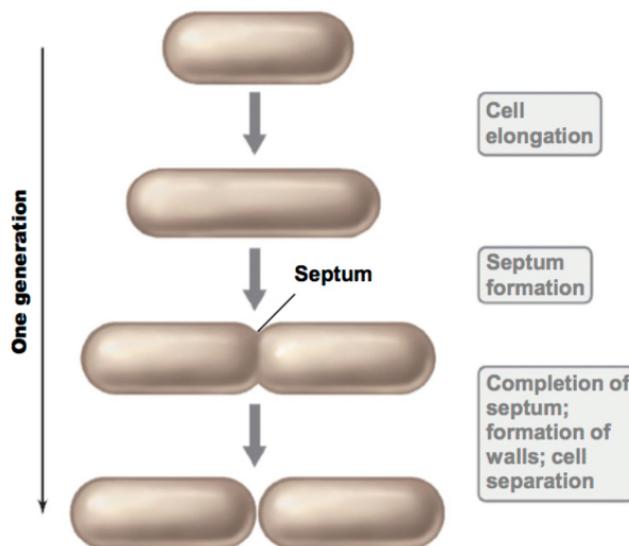
Denitrifikasjon er et eksempel på N₂ som redusert stoff.
e- transportkjeden ved nitratreduksjon minner om O₂-kjeden, men i stedet for O₂-kjeden:
 $2H^+ + 0.5O_2 \longrightarrow H_2O$ er reaksjonen:
 $NO_3^- + 2H^+ \longrightarrow NO_2^- + H_2O$

4 Mikrobiell vekst

Økning i antall celler i en populasjon skjer via celledeling; binær fisjon.

Binær fisjon: en celle deler seg til to identiske celler

Noen celler kan også dele seg ved knoppskyting.



Figur 4.1: Binær fisjon

Septum: Cellemembran. Celleveggen vokser innover cella.

Generasjonstid: en celledelingssyklus. Varierer med; temp, medium, art.

Deling: Kopiering av koromosomet, segrering av kromosomet, cellevekst.

Divisom: delingsmaskineri.

Angir hvor cella skal dele seg.

3 typer proteiner:

1. Septumdannelse: FTS-proteiner
2. Hvor/når septum dannes: Min-proteiner
3. Ftsk-proteiner

4.1 Bakteriell vekst

Eksponentiell vekst kan uttrykkes ved ligning 4.1

$$\mu = \frac{\ln(N_2) - \ln(N_1)}{t_2 - t_1} \quad (4.1)$$

Time (h)	Total number of cells	Time (h)	Total number of cells
0	1	4	256 (2^8)
0.5	2	4.5	512 (2^9)
1	4	5	1,024 (2^{10})
1.5	8	5.5	2,048 (2^{11})
2	16	6	4,096 (2^{12})
2.5	32	.	.
3	64	.	.
3.5	128	10	1,048,576 (2^{20})

(a)

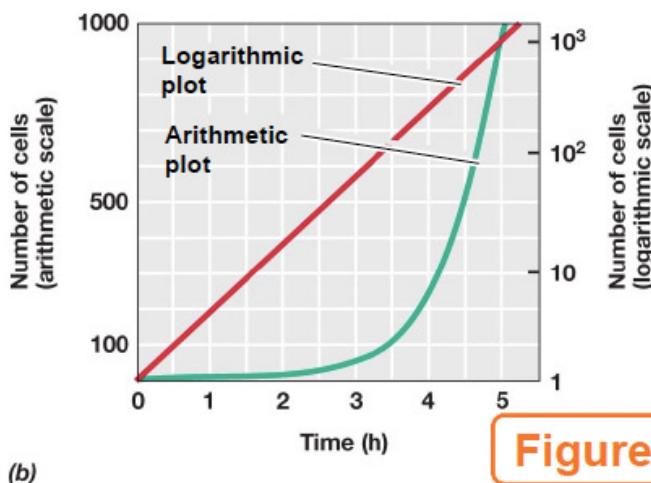


Figure 5.9

Totalt celletall (telling i mikroskop)

- Levende + døde celler, noen for små
- Fasekontrast/farging
- 10^6 celler/ml, celler må immobiliseres.

Levende celletall (kimtallanalyse)

- Antall celler som kan vokse på et bestemt næringsmedium
- Fortynnningsserier, teller plater med 30-300 kolonier pr plate. Regner tilbake til originaltall.

– Inkuberingsbetingelser, tid, klumper, heterogen prøve.

Spektfotometri, indirekte måling av vekst

– Turbiditet

– Renkulturer: OD proporsjonal med celletall/tørvekt

– Rask måling, lite volum nødvendig.

4 viktige faktorer som påvirker mikrobiell vekst: pH, Temperatur, O_2 , H_2O .

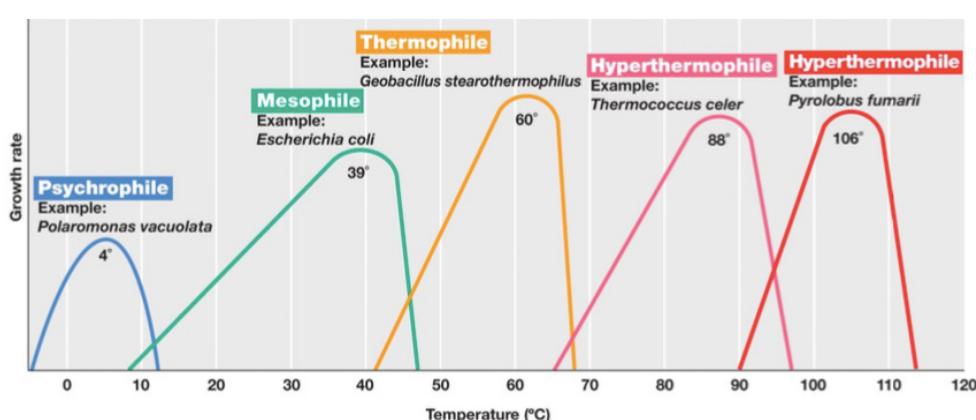
Ulike bakterier har ulike krav til temperatur. Dette gjenspeiler hvilket miljø de er isolert fra.

Kardinaltemperaturer: Min, max, optimum.

T_{opt} : varierer fra 4°C til 100°C. Et typisk temperaturområde er 25 - 40 °C. Enzymatiske reaksjoner skjer her så fort som mulig

T_{min} : Membraner blir geleaktig, transportprosesser blir så trege at vekst ikke forekommer.

T_{max} : Proteiner denatureres, membran kollapser. *thermal lysis*



Figur 4.2: Temperatuoptimum for forskjellige typer bakterier.

4.2 Mikrobielle tilpasninger til ekstreme forhold

4.2.1 tilpasninger til lave temperaturer

Psykrofile: $T_{opt} < 15^\circ C$, $T_{max} 20^\circ C$, $T_{min} < 0^\circ C$ **Psykrotolerante:** $T_{opt} : 20-40^\circ C$, kan vokse ved temperaturer ned mot $0^\circ C$.

Molekylære tilpasninger:

Enzymer: mere α -heliks og mindre β -pleated sheet gir økt fleksibilitet ved lave temperaturer. Høyere andel polare aminosyrer og lavere andel hydrofobe aminosyrer.

Cryobeskyttere: glycerol, antifrysproteiner, sukkerarter.

Mer umettede fettsyrer, noen flerumettede i cellemembran.

4.2.2 tilpasninger til høye temperaturer

Termofile: $T_{opt} > 45^\circ C$

Hypertermofile: $T_{opt} > 80^\circ C$. Finnes i varme kilder og hydrotermale skorsteiner.

Over 65 °C kan kun arker og noen bakterier leve.

Den øvre grensen for fototroft liv er termofile cyanobakterier som lever ved 70-74 °C.

Molekylære tilpasninger:

Termostabile enzymer: Økt antall ionebindinger og tettpakket hydrofob kjerne.

Stabiliserende molekyler: di-inositolfosfat, di-glycerolfosfat, mannosylglycerat stabiliserer proteiner.

Membranstabilitet kommer av lipider anriket med mettede fettsyrer.

Archaea: Monolipid - C_{40} hydrokarbonkjede fra repeterete isoprenenheter, eterbindinger i stedet

for esterbindinger.

Bioteknologiske applikasjoner av termofili

Taq polymerase brukes i PCR.

Varmestabile enzymer finnes i vaskemidler.

4.2.3 pH

En mikroorganisme kan overleve over 2-3 pH-enheter. Sopp er noe mer syretolerant. De fleste naturlige miljøer har en pH på ca. 5-9.

Noen alkophile er også halofile (primært archaea)

Noen nøkkelorganismer:

- *Picrophilus oshimae*: obligat acidofil archaea, pH_{opt} 0.7, i ekstrem sur termisk vulkanjord.
Tåler ikke $pH > 4.0$
- *Bacillus firmus*: pH 7.5-11, Na^+ -gradient istedenfor protongradient driver transportprosesser og bevegelse.

Bioteknologisk applikasjon: Produksjon av hydrolytiske enzymer (proteaser, lipaser).
F.eks til bruk i vaskemidler.

Molekylære tilpasninger:

Membranene til de *acidofile* trenger høy $[H^+]$ for å ikke lysere. *Alkalifile* bruker H^+ til proton motive force, og trenger mekanismer for å holde H^+ nær membranen, for å unngå spontan dannelse av vann.

Optimal pH handler om ekstracellulær pH. Intracellulær pH er vanligvis 6-8.

P.oshimiae: pH_{int} 4.6. For alkalofile er intern pH målt opp til 9.5

Utfordringer med høy/lav intern pH; DNA er syre-labilt, og RNA er base-labilt.

Ved dyrking av mikroorganismer er pH-kontroll viktig. Derfor tilsettes buffere.

4.2.4 Osmolaritet

Vann er grunnlaget for alt liv. Vannaktivitet er avhengig av konsentrasjonen av salter/sukker.

Cytoplasma har høyere konsentrasjon av oppløst stoff.

Vann diffunderer inn i cellen for å utligne det osmotiske trykket, positiv balanse.

I miljø med lav vannaktivitet diffunderer vann ut av cellen.

Vannaktivitet: **Halofile organismer**: Lav vannaktivitet, trenger NaCl.

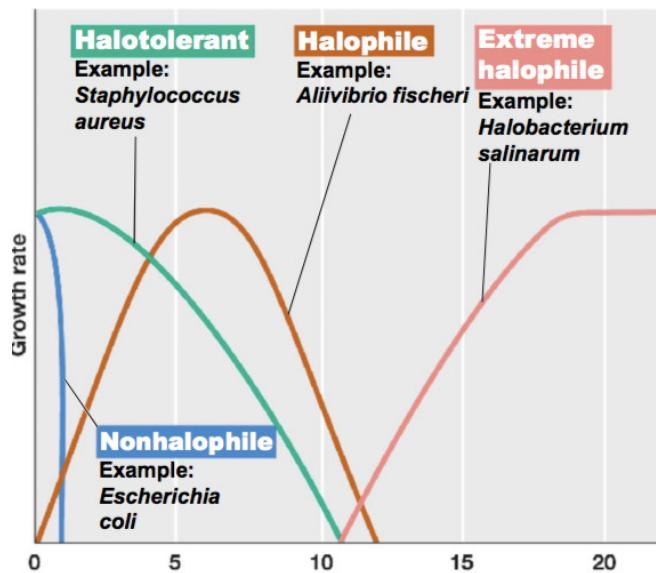
Sjøvann inneholder ca 3 % NaCl. Ekstremt halofile miljøer inneholder 15-30 % NaCl.

Halotolerante vokser bedre uten saltstoffene, men kan også vokse i salt miljø.

Osmofile foretrekker miljøer med høy sukkerkonsentrasjon.

Xerofile liker tørre miljøer.

Strategier for å unngå inntørking: Pumpe inn ioner, produsere kompatible forbindelser (sukker, sukkeralkoholer, aminosyrer), justere vannaktiviteten i cytoplasma.



Figur 4.3: Halofile bakterier. Vekstrate som funksjon av NaCl-konsentrasjon.

4.2.5 Oksygen

Typer organiser:

- **Obligat aerobe**: Krever O₂, respirerer.
- **Mikraerofile**: Krever redusert O₂-konsentrasjon, begrenset respirasjonskapasitet, kan ha O₂-labile enzymer
- **Fakultative aerobe**: Kan vokse ved både oksiske og anoksiske betingelser
- **Aerotolerante anaerobe**: kan vokse i nærvær av O₂, men bruker ikke O₂ som elektron-akseptør.
- **Obligat anaerobe**: O₂ inhiberer/dreper cellene, mange prokaryoter. Noen sopp og protzoer.

O₂: Kraftig oksidasjonsmiddel. Reduseres lett til vann. Mange oksygengerivater er toksiske. H₂O₂ er ikke fullt så toksisk som superoksid (O₂^{·-}) og Hydroksyl radikal. Superoksid og hydroksylradikal kan oksidere alle molekyler i en celle.

enzym som detoksifiserer

Fig. 5.30



(a) Catalase



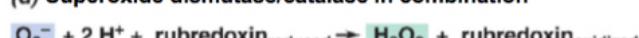
(b) Peroxidase



(c) Superoxide dismutase



(d) Superoxide dismutase/catalase in combination



(e) Superoxide reductase



Fig. 5.31

4.2.6 Kjemisk bakteriekontroll

Antimikrobielle forbindelser dreper eller inhiberer vekst.

bacteriostatic; inhiberer vekst

bacteriocidal; dreper. Lytisk.

MIC: laveste konsentrasjon som fullstendig inhiberer vekst.

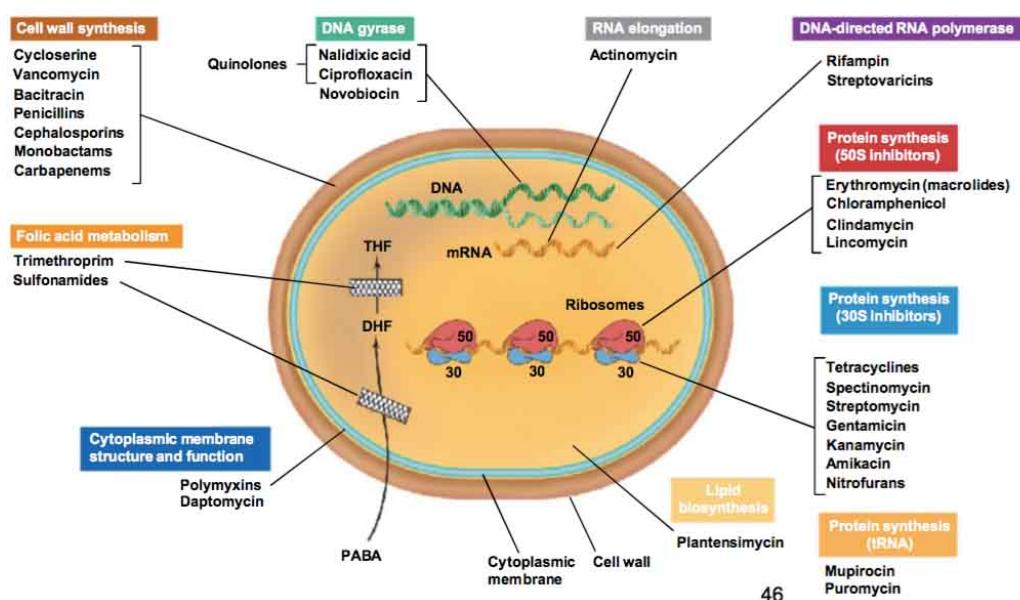
Avhenger av organisme, inokulumsmengde, temperatur, mediumssammensetning etc.

Antimikrobielle stoffer finnes i:

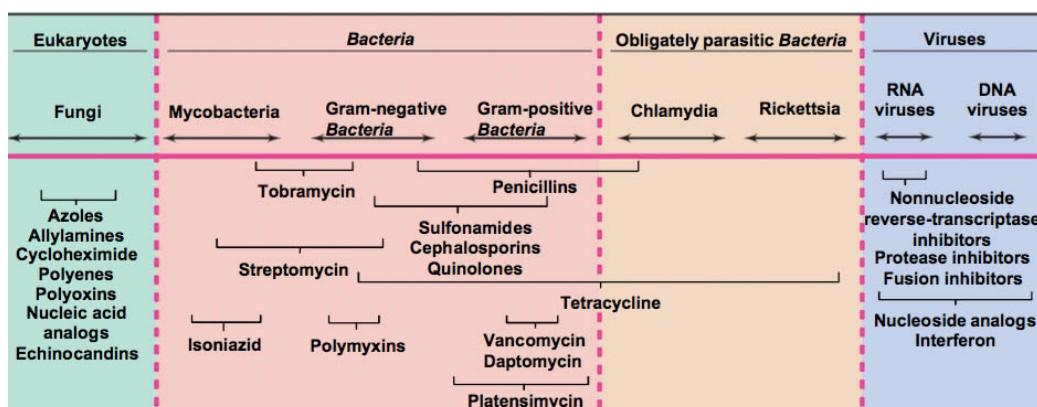
Mat, kjøletårn, tekstiler, papirprodukter.

Produkter som skal hindre bakterievekst; Steriliserende, desinfiserende, antiseptiske stoff og såper.

Antimikrobielle forbindelser klassifiseres etter molekylær struktur, virkningsmekanisme og aktivitetsspektrum



Figur 4.4: Antimikrobielle stoffer



Figur 4.5: Bredspektret mot smalspektret antibiotika

5 Mikrobiell evolusjon og systematikk

Jorda ble dannet for ca. 4.5 milliarder år siden. Etter ca. 500 millioner år kom flytende vann og jordskorpa størknet.

Livet må ha oppstått i havet eller under grunn. Primitiv metabolisme var anaerob og sannsynligvis kjemolitotrof med H_2 og H_2S som energikilde.

Det er antatt at rekkefølgen i livets opprinnelse var: RNA-verden, Proteinsyntese, DNA, lipidmembraner.

Viktige hendelser i biologisk evolusjon

- LUCA(last universal common ancestor): 4.25 milliarder år siden
- Skilles til *Bacteria* og *Archaea* for 3.8 - 3.7 milliarder år siden.
- De første organismene må ha vært autotrofe, og la grunnlaget for de heterotrofe.
- Anoksisk fotosyntese basert på lysenergi for ca. 3,5 milliarder år siden.
- Oksygenisk fotosyntese (2.5-3.3 milliarder år siden) førte til dannelse av oksisk miljø og eksplosjon i biologisk evolusjon.
 - Nye metabolismer, oksygen og ozonlag førte til nisjeseparering og diversifisering samt kolonisering av landjorda.
- *Eukarya* for ca. 2 milliarder år siden.

Eukaryote. To hypoteser;

1. Organisme med kjerne fra *Archaea*. Så endosymbiose
2. Hydrogenhypotesen. "mitokondrie først".

5.0.1 Fylogeni

SSU Ribosomal RNA gen kan brukes til å finne likheter mellom forskjellige organismer. SSU rRNA har konserverte og variable regioner.

Alternativt kan gener for konserverte proteiner benyttes til å finne slektskap.

SSU rRNA genanalyse

Framgangsmåte: DNA isoleres, 16S gen amplifiseres med PCR, DNA sekvenseres, sekvenser settes opp på linje med hverandre og fylogenetisk tre opprettes.

Først blir likheter satt opp på linje, før en avstandsmatrice blir utarbeidet basert på likhetene.

En avstandsmatrice kan deretter benyttes til å lage et fylogenetisk tre.

Et problem med å observere forskjeller i gener er rekurente mutasjoner, en mutasjon som "nullstiller" en tidligere mutasjon, så det observerte antallet mutasjoner blir lavere enn det reelle.

Horizontal genoverføring kan også gi problemer, da det kan overføre gener mellom to arter som ikke nødvendigvis er i vertikal slekt. Evolusjonær historie baserer seg på vertikal genoverføring.

5.1 Mikrobiell Evolusjon

Viktige begreper:

- Allelfrekvens (i en populasjon)
- Mutasjoner
- Rekombinering
- Seleksjon
- Fitness
- Genetisk drift (tilfeldig, gennivå, populasjon)

Naturlig seleksjon vil si at de observerte mutantene er selektert (til en viss grad) for miljøfaktorer.

Kjernegenomet er genomet alle stammer av en art deler. For E.Coli er ca. 39% av genene felles.

Pangenomet er det reelle genomet i et gitt individ.

5.2 Mikrobiell systematikk

Systematikk handler om diversitet og slektskap

Fylogeni: Artenes evolusjonære historie

Taksonomi:Karakterisering, identifisering, navnsetting.

Prokaryoter organiseres etter egenskaper, ikke utseende. Graden av DNA-DNA hybridisering ser noe om slektskap. Over 75 % hybridisering indikerer samme art. Over 50% hybridisering indikerer samme familie. Ved 100% hybridisering er det samme strain.

Mest spesifikk identifisering får man ved å kombinere 16S og hybridisering.

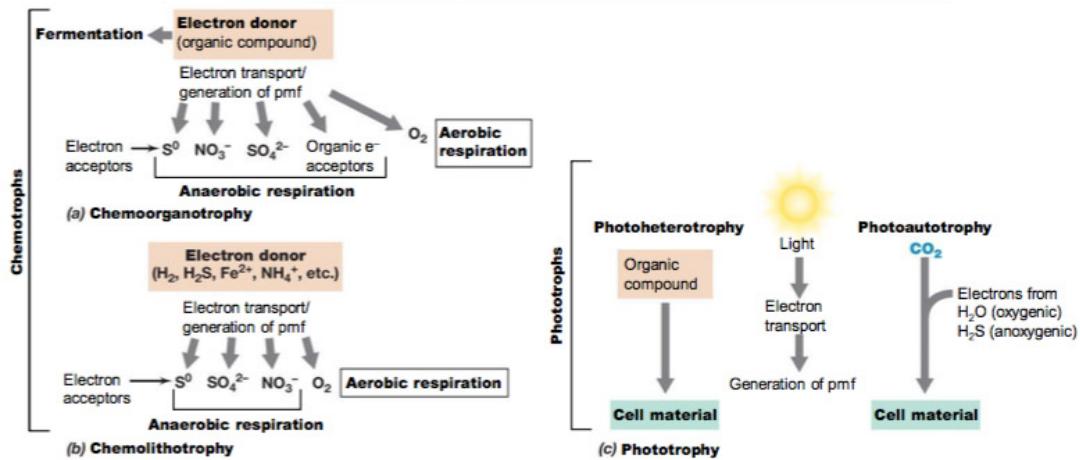
Tradisjonell taksonomi benytter seg av fenotypiske trekk, som sett i tabell 5.1

Tabell 5.1: Fenotypiske trekk brukt i taksonomi

Kategori	Karakteristikker
Morfologi	Kolonimorfologi; gram-reaksjon; cellestørrelse og form; flagelleringsmønster, sporedannelse, vesikler, granuoler, glycogen, magnetosomer;kapsel, S-lag eller slimlag; vedheng eller stilker, fruktlegemer
Bevegelighet	Ikke-bevegelig; glidende; svømmende(flagellær) bevegelighet; swarming; bevegelighet ved gassvesikel
Metabolisme	Energikonserveringsmekanisme (fototrof, kjemoorganotrof, kjemolitotrof); benyttelse av karbon, nitrogen eller svovelforbindelser; sukkerfermentering; nitrogenfiksering; vekstfaktorkrav
Fysiologi	Temperatur, pH og saltkrav for vekst; oksygenrespons(aerob, faktativ, anaerob); katalase/oksidase-test; produksjon av ekstracellularære enzymer
Lipidkjemi	Fettsyrer, polare lipider, quinoner
Celleveggkjemi	Peptidoglykan; aminosyresammensetning; krysskoblinger
Andre trekk	Pigmenter; luminisens; antibiotikasensitivitet; serotype; produksjon av unike forbindelser, f.eks antibiotika

Taksonomisk Hierarki: Domain, Phylum, Class, Order, Family, Genus, Species.

Kan også dele inn etter Fysiologisk diversitet. Dvs. Etter energikilde/karbonkilde. Se figur 5.1.

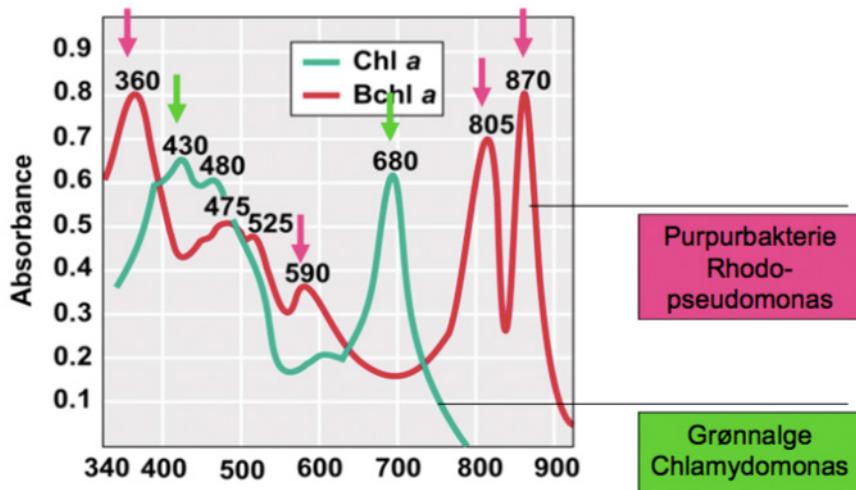


Figur 5.1: Fysiologisk diversitet i mikroorganismer

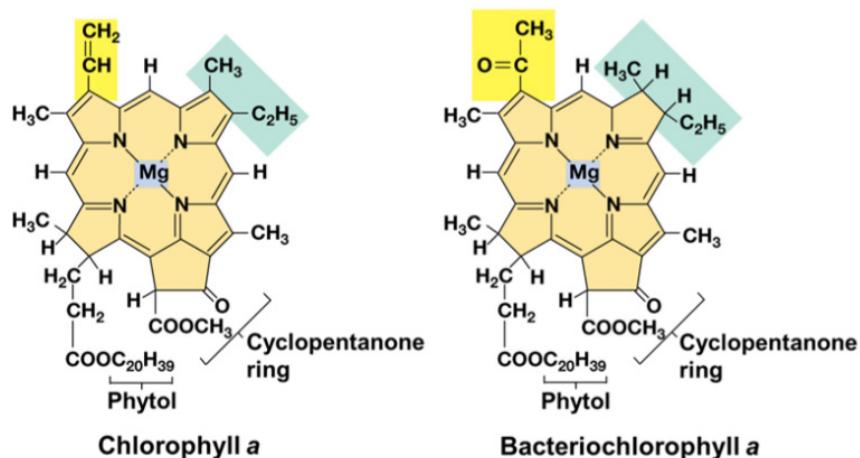
6 Fototrofi

6.1 Fototrofisk metabolisme

Det finnes to hovedtyper fotosyntese: **okksisk** (cyanobakterier) og **anokksisk** (purpurbakterier). Grønnalger har klorofyll a, som planter, mens purpurbakterier har bakterieklorofyll a. Disse har sammenlignbar, men ikke identisk struktur, noe som gir litt forskjellig absorpsjonspektrum, med absorpsjonsmaksimum for cyanobakterier ved 430 og 680 nm, og for purpurbakterier ved 360, 805 og 870 nm. (fig 6.1 og 6.2)



Figur 6.1: Fysiologisk diversitet i mikroorganismer



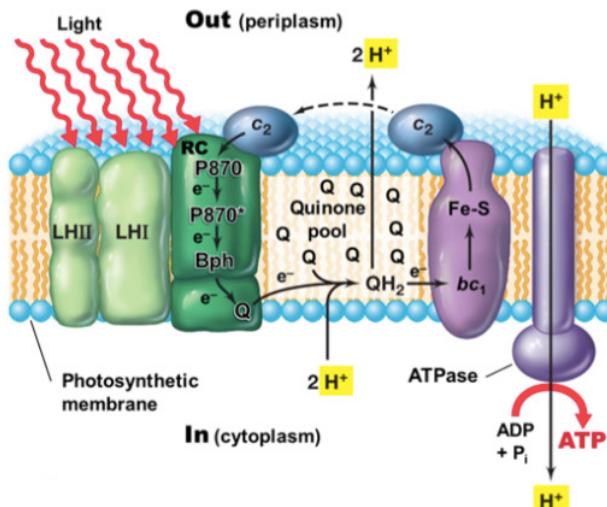
Figur 6.2: Fysiologisk diversitet i mikroorganismer

I anoksiske mikroorganismer skjer fotosyntesen i membranen, ved hjelp av enten *kromatoforer* eller *lamellarmembraner*.

Klorosomer er det mest effektive lyshøstingssystemet i anoksiske bakterier, og finnes i grønne svovelbakterier. Både gram+ og gram-. Klorosomene fungerer som et antennesystem og inneholder bakterieklorofyll a, c,d eller e.

Anoksiske fototrofer har også karotenoider som assessoriske pigmenter.

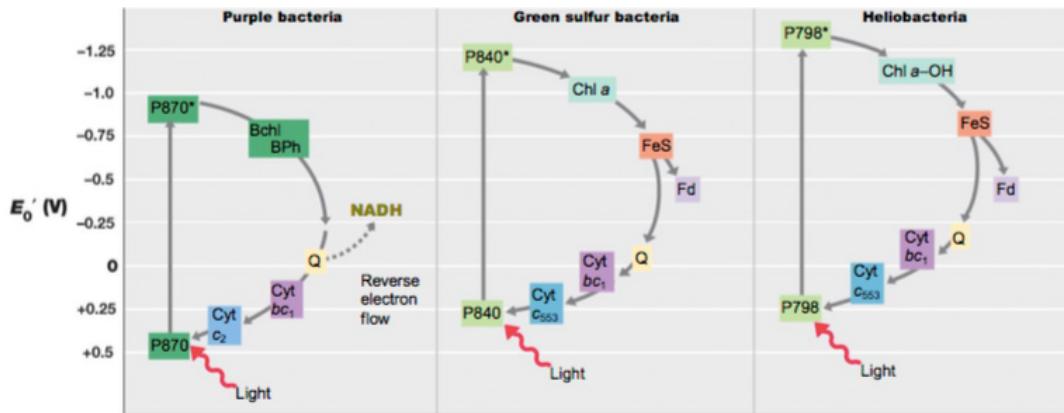
Elektronstrøm i anokskisk fotosyntese: lys absorbert av antennesystemet overføres til reaksjonssenteret P870 i membranen, en svak elektrondonor, til det eksitere P870*, en sterk elektrondonor. Via syklisk elektronstrømming reduserer P870* bakterieklorofyll a, som videre reduserer bakteriepheotyn a. Quinon overfører elektronet til cytochrome bc1 via et jernsulfidkompleks til cytochrome c2, og tilbake til P870. Når c2 overfører elektronet tilbake pumpes 2 H⁺ ut av cellen og disse protonene genererer så ATP via ATPase og proton motive force som i de fleste andre elektrontransportkjeder. Figur 6.3 viser en oversikt over proteinkompleksene i purpurbakteriens reaksjonssenter.



Figur 6.3: Proteinkomplekser og elektronstrøm gjennom purpurbakteriers membranproteiner.

Fotosyntetisk elektronstrøm i andre anoksiske fototrofer

Alle anoksiske fotosyntetiske bakterier har en del til felles, men det er også en del viktige forskjeller. Reaksjonssenterene i grønne ikke-svovel bakterier og purpurbakterier er relativt like, men skiller seg mer ut fra reaksjonssenterene til grønne svovelbakterier og heliobakterier.



Figur 6.4: Forskjeller i elektronstrøm

Figur 6.4 viser forskjellen mellom forskjellige typer fototrofe anoksiske bakters elektronstrøm. Mens purpurbakterier produserer NADH til CO_2 -fiksering via revers elektronstrøm, produserer i stedet heliobakterier og grønne svovelbakterier ferredoxin, som fungerer som en direkte elektrondonor i CO_2 -fikseringen.

6.2 Diversitet i fototrofe bakterier

Anoksygen og oksygen fotosyntese har mange fellestrekker og inkluderer både autotrofe og heterotrofe bakterier.

De anoksygene bruker $\text{H}_2, \text{Fe}^{2+}$ og H_2S som tidlige elektronondoner.

Anoksygen fotosyntese skjer i de 5 fyla; *Proteobacteria*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* og *Acidobacteria*.

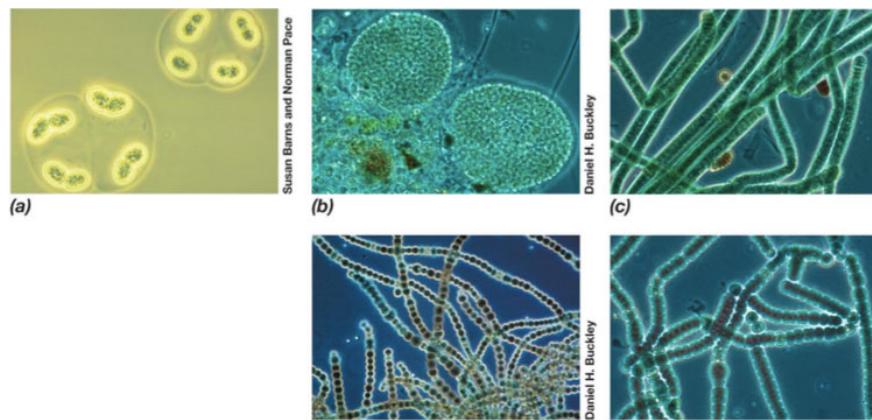
Kun 1 fylum har oksygen fotosyntese: *Cyanobacteria*.

6.2.1 Cyanobakterier

Cyanobakteriers morfologi: 5 forskjellige typer; *Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriiales*, *Nostocales*, *Stigonematales*. Cyanobakterier varierer i størrelse fra 0.5 μm til 100 μm i diameter. Bakteriene kan deles i 5 grupper; (1) *Chroococcales* som er encellede og deler seg ved binær fisjon. (2) *Pleurocapsales* er også encellede, men deler seg ved kolonial/multipel fisjon. (3) *Oscillatoriiales* er filamentøse ikke-heterocyster. (4) *Nostocales* er filamentøse, deler seg langs en enkelt akse og har evne til cellulær differensiering. (5) *Stigonematales* ligner på *Nostocales*, men deler seg i flere plan via filamenter. Tabell 6.1 og figur 6.5 viser en oversikt over forskjeller mellom forskjellige cyanobakteriephylla.

Tabell 6.1: Oversikt over cyanobakteriers morfologi og gruppering

Group	Genera
Group I, Chroococcales. Unicellular or cell aggregates	<i>Gloeothecce</i> (Figure 14.2a), <i>Gloeobacter</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Cyanothece</i> , <i>Gloeocapsa</i> , <i>Synechocystis</i> , <i>Chamaesiphon</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Crocospaera</i> (Figure 14.7a), <i>Prochlorococcus</i> , <i>Prochloron</i>
Group II, Pleurocapsales. Reproduce by formation of small spherical cells called baecocytes produced through multiple fission	<i>Pleurocapsa</i> (Figure 14.2b), <i>Dermocarpa</i> , <i>Xenococcus</i> , <i>Dermocarpella</i> , <i>Myxosarcina</i> , <i>Chroococcidiopsis</i>
Group III, Oscillatoriales. Undifferentiated filamentous cells that divide by binary fission in a single plane	<i>Lyngbya</i> (Figure 14.2c), <i>Spirulina</i> (Figure 14.5), <i>Arthrosira</i> , <i>Oscillatoria</i> (Figure 14.6a–b), <i>Microcoleus</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Trichodesmium</i> (Figure 14.7b)
Group IV, Nostocales. Filamentous cells that produce heterocysts	<i>Nodularia</i> (Figures 14.2d), <i>Nostoc</i> , <i>Calothrix</i> (Figure 14.8a–b), <i>Anabaena</i> (Figure 14.6c), <i>Cylindrospermum</i> , <i>Scytonema</i> , <i>Richelia</i> (Figure 14.7c)
Group V, Stigonematales. Cells divide to form branches	<i>Fischerella</i> (Figures 14.2e, 14.8c, d), <i>Stigonema</i> , <i>Chlorogloeoopsis</i> , <i>Hapalosiphon</i>

**Figur 6.5:** Visuell representasjon av tabell 6.1, hvor a-e=1-5

Nostocales og *Stigonematales* deler en felles stamfar.

Membraner: Cyanobakterier har et spesialisert membransystem kalt tylakoider, som lar de høste lysenergi. Dette er ikke ulikt hvordan kloroplasten i planter fungerer. Cyanobakteriers cellevegg inneholder peptidoglykan og minner om gram-negative bakteriers cellevegg. Cyanobakterier produserer klorofyll a, og de fleste har også pigmenter kalt *phycobiliner* som fungerer som hjelpepigmenter i fotosyntesen. Noen cyanobakterier produserer et rødt psychobilin kalt fycocyanin.

Cyanobakterier har flere former for bevegelighet, med gliding som den vanligste. De fleste

viser også fototaxi og kjemotaxi.

Synechococcus kan svømme på en måte som fortsatt er uklar.

Noen species kan også lage hvilestrukturer kalt akineter som kan beskytte organismen mot blå kulde og mørke.

Mange cyanobakterier har også gassvesikler. Disse brukes for å justere cellens retning i væsken så den får optimal tilgang på lys.

Nitrogenfiksering: Mange cyanobakterier kan fiksere nitrogen. Men siden nitrogenase inhiberes av oksygen kan ikke nitrogenfiksering skje samtidig som oksygen fotosyntese. Det finnes flere tilpasninger til å separere nitrogenfikseringen fra fotosyntesen. De to vanligste metodene går ut på å skille nitrogenfikseringen enten i tid, ved å kun gjøre nitrogenfiksering *om natten*, når det ikke foregår fotosyntese, eller i rom, ved å danne adskilte deler av cellen kalt *heterocyster*. Heterocyster dannes kun av filamentøse bakterier, gjerne med cystene på hver side av bakterien, eller langs filamentene. Heterocystene har en tykkere cellevegg, som stopper diffusjon av O₂ inn i cysten.

Cyanobakterier finnes i ferskvann, jord og marine miljøer. Cyanobakterier er særdeles viktig for næringskjedene i havet. Små encellede cyanobakterier som *Synechococcus* og *Prochlorococcus* står for 85 % av all marin fotosyntese og 35% av all fotosynteseaktivitet på jorden!

6.2.2 Fototrofe purpurbakterier

Purpur svovelbakterier

Nøkkelslekter: *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*

Purpur svovelbakterier er anoksygeniske fototrofer som bruker hydrogensulfid H₂S som elektrodonor for fotosyntese. De finnes gjerne i lysende anokside soner med tilgjengelig hydrogensulfid. Typiske steder er elver, marine sedimenter og varme svovelkilder. Den karakteristiske purpurfargen kommer fra karatenoider involvert i lyshøsting.

Bakteriene har et type II fotosystem med enten bakterieklorofyll a eller b.

Som elektrononor benyttes H₂S og andre reduserte svovelforbindelser.

Det er to familier av purpur svovelbakterier: *Chromatiaceae* lagrer S⁰ granuoler inni cellene, og har et vesikulært intracellulært fotosyntetisk membransystem. *Ectothiorhodospiraceae* oksiderer H₂S til S⁰ utenfor cellen, og har lammelære intracellulære fotosyntetiske membransystemer. Mange av disse er også ekstremt halofile eller alkalifile.

Purpur ikke-svovelbakterier

Nøkkelslekter: *Rhodospirillum*, *Rhodoferax*, *Rhodobacter*

Purpur ikke-svovelbakterier er blandt de mest metabolsk allsidige av alle mikroorganismer. De er ikke nødvendigvis purpur, men syntetiserer mange forskjellige karatenoider, som gir dem masse forskjellige farger.

De består av både alfa- og beta-protobakterier. De er hovedsaklig fotoheterotrofe, og som elektrodonor bruker de H₂S i lav konsentrasjon, organiske forbindelser og H₂.

Selv om de primært er fototrofe kan noen også vokse i mørke ved hjelp av aerob respirasjon. Noen kan også vokse ved hjelp av fermentering eller anaerob respirasjon.

Så godt som alle purpur ikke-svovelbakterier kan også fiksere N₂, og vil utkonkurrere andre bakterier i nitrogenrikt medium.

6.2.3 Aerobe anoksygene fototrofe

Nøkkelslekter: *Roseobacter*, *Erythrobacter*

Obligate aerobe heterotrofer som bruker lys som en supplementell energikilde.

Rene heterotrofer.

Har bakterieklorofyll a og type II fotosystem, men kan ikke fiksere CO₂, og må derfor ta opp

organisk karbon for å vokse. Kan ha gul, oransje eller rosa farge i kultur.
Er avhengig av en dag/natt syklus for å fotosyntetisere. Da lages bakterieklorofyll a i mørket, og brukes til å konservere energi ved fotofosforylering når lyset kommer tilbake.
Finnes i marint miljø.

6.2.4 Grønne bakterier

Fototrofe grønne svovelbakterier

Nøkkelslekter: *Chlorobium*, *Chlorobaculum*, "*Chlorocromatium*"

Lite metabolsk allsidighet. Ikke-bevegelige. Utelukkende anaerobisk anoksygenisk fototrofe. I likhet med purpur svovelbakterier oksideres H_2S som elektrondonor først til S^0 , så til SO_4^{2-} . S^0 deponeres utenfor cellen. Karbonfiksering ikke via Calvinsyklus, men via revers sitronsyresyklus.

Inneholder bakterieklorofyll c,d eller e og oppbevarer pigmentene i spesielle strukturer kalt *klorosomer*. Dette er avlange bakterieklorofyll-rike enheter med en tynn membran, koblet til cellens cytoplasmiske membran. Klorosomene flytter energi inn i fotosystemet, som fører til ATP syntese. Klorosomet er et veldig effektivt lyshøstingskompleks, en tilpasning til lavere lysintensiter enn andre fototrofe.

Type I fotosystem.

Fototrofe grønne svovelbakterier har også den høyeste toleransen for H_2S av de anoksiske fototrofene. Dette, kombinert med klorosomene lar bakteriene vokse dypere enn noen andre anoksiske fototrofer.

Grønne svovelbakterier kan gå inn i et samarbeid med kjemoorganotrofe bakterier, kalt et *konsortium*.

Grønne ikke-svovelbakterier

Nøkkelslekter: *Chloroflexus*, *Heliothrix*, *Roseiflexus*

Bakteriene er filamentøse

Anoksygene fototrofer av fylumet *Chloroflexi*.

Kan være både fotoheterotrofe og autotrofe. Vokser best som fotoheterotrofe med enkle karbonkilder som elektrondonor.

Bakteriene er filamentøse og har evnen til glidende bevegelse.

De fleste gror også godt i mørke med aerob respirasjon.

En slags hybrid mellom grønne svovelbakterier og purpurbakterier.

Inneholder både reaksjonssentrale med bakterieklorofyll a og klorosomer med bakterieklorofyll c. Bruker type II fotosystem, som purpur svovelbakterier.

Chloroflexus er en hybrid med et unikt CO_2 -spor. Den er antatt som den eldste fototrofe bakterien. Den er fotoauto, fotohetero og kjemoheterotrof

6.2.5 Andre fototrofe bakterier

Helio bacteri a er gram+ bakterier, som er anoksygene fototrofe som produserer et unikt pigment, bakterieklorofyll g.

Vokser heterotroft ved hjelp av noen utvalgte organiske forbindelser. De produserer også sporer.

Acidobacteri a er en termotolerant anoksygen fotorof. Produserer bakterieklorofyll a, og bakterieklorofyll c i klorosomer og har et type I fotosystem, ikke ulikt grønne svovelbakterier.

De kan også gro aerobt. Som elektronodonor benyttes kortkjedete fettsyrer.

7 Kjemolitotrofi

7.1 Kjemolitotrof metabolisme

Kjemolitorofe organismer får energi ved oksidasjon av uorganiske forbindelser. De fleste kjemolitotrofe bakterer er også autotrofe. Det er to typer kjemolitotrofi:

- Litoautotrofe: får C fra CO_2
- Litomiksotrofe: får C enten fra CO_2 eller fra organiske forbindelser. (ikke autotrofe)

Det finnes stor variasjon av reduserte forbindelser. Tabell 7.1 viser en oversikt over energiutbytte av forskjellige energidonorer.

Tabell 7.1: Energiutbytte fra forskjellige uorganiske elektronodonorer

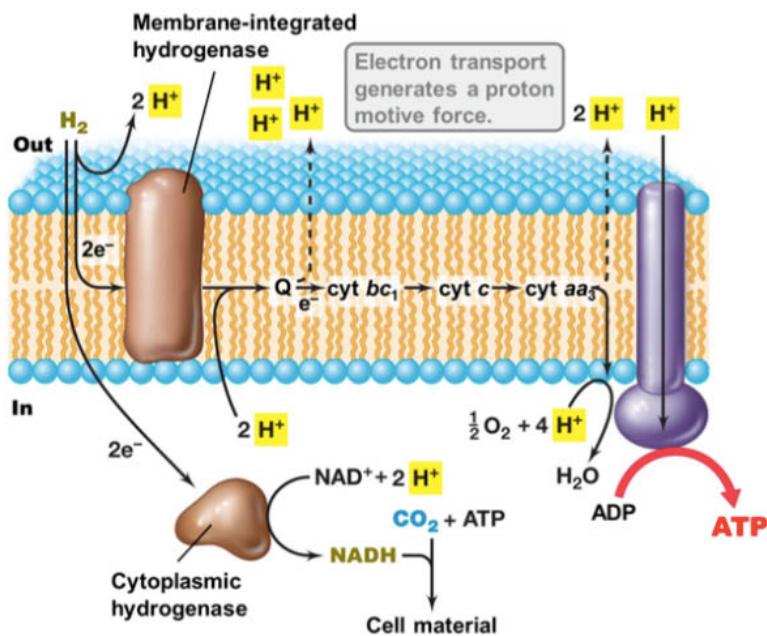
Electron donor	Chemolithotrophic reaction	Group of chemolithotrophs	E°_o of couple (V)	ΔG° (kJ/reaction)	Number of electrons/reaction	ΔG° (kJ/2 e ⁻)
Phosphite ^b	$4 \text{HPO}_3^{2-} + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow 4 \text{HPO}_4^{2-} + \text{HS}^-$	Phosphite bacteria	-0.69	-364	8	-91
Hydrogen ^b	$\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	Hydrogen bacteria	-0.42	-237.2	2	-237.2
Sulfide ^b	$\text{HS}^- + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$	Sulfur bacteria	-0.27	-209.4	2	-209.4
Sulfur ^b	$\text{S}^0 + \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	Sulfur bacteria	-0.20	-587.1	6	-195.7
Ammonium ^c	$\text{NH}_4^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 2 \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	Nitrifying bacteria	+0.34	-274.7	6	-91.6
Nitrite ^b	$\text{NO}_2^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$	Nitrifying bacteria	+0.43	-74.1	2	-74.1
Ferrous iron ^b	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \frac{1}{4} \text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$	Iron bacteria	+0.77	-32.9	1	-65.8

Kjemolitotrofer kan bruke mange naturlige kilder for uorganiske forbindelser. Både vulkanaktivitet, jordbruk og gruvedrift, forsøpling og mye annet er energikilder. Kjemolitotrofer får energi enten direkte fra forbindelsen, hvis den har negativt nok reduksjonspotensiale, eller via revers elektrontransport, som fototrofe purpurbakterier.

7.2 Hydrogenoksidasjon

Hydrogen er et vanlig produkt av mikrobiell metabolisme, spesielt fra fermentering. Flere aerobe kjemolitotrofe bakterier kan oksidere H_2 , og mange bacteria og archaea kan oksidere H_2 anaerobt, med en annen elektronakseptør enn oksygen.

Figur 7.1 viser en oversikt over ATP-generering i H_2 -oksidasjon



Figur 7.1: Funksjon og bioenergetikk for hydrogenasene i aerobiske hydrogenbakterie

Når bakterier vokser kjemolitotroft fikserer de CO_2 med calvinsyklus, men hvis brukbare organiske forbindelser som glukose er tilgjengelig blir calvinsyklus undertrykt, og energien i glukose utnyttet direkte. Dette sier man at H_2 -bakterier er fakultative kjemolitotrofer. I naturen bytter de mest trolig mellom kjemoorganotrofi og kjemolitotrofi i forhold til næringsgrunnlaget i miljøet.

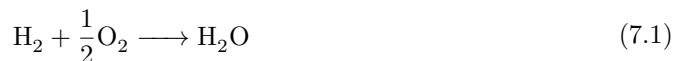
Mest trolig vokser H_2 -bakterier best der det ikke er konstant oksygentilgang

7.2.1 Hydrogenmetaboliserende bakterier

Nøkkelslekter: *Ralstonia*, *Paracoccus*

H_2 -oksidasjon finnes i veldig mange forskjellige organismer og i så godt som alle alle anaerobiske Archaea.

For bakterier med H_2 som hoveddonor av elektroner og O_2 som elektronakseptør er det reaksjonen i ligning 7.1 som genererer mesteparten av energien til bakterien:



Alle H_2 -bakterier har en eller flere hydrogenase-enzymere som lar de binde H_2 og bruke det til enten å produsere ATP eller for å redusere H_2 til autotrot vekst.

De fleste hydrogenbakterier vokser best i miljøer med 5-10% O_2 fordi hydrogenaser er oksygensensitive. Det må også være nikkel(Ni^{2+}) tilgjengelig i miljøet, da så godt som alle hydrogenaser har nikkel som en viktig kofaktor. Noen hydrogenbakterier kan også fiksere nitrogen.

Noen hydrogenbakterier kan også vokse aerobisk med karbon monoksid (CO) som elektronadonator. Siden CO er giftig for mange aerobe bakterier produserer carboxidotrofe bakterier CO-resistente cytochromer.

7.3 Sovelmetabolisme

7.3.1 Oksidasjon av reduserte svovelforbindelser

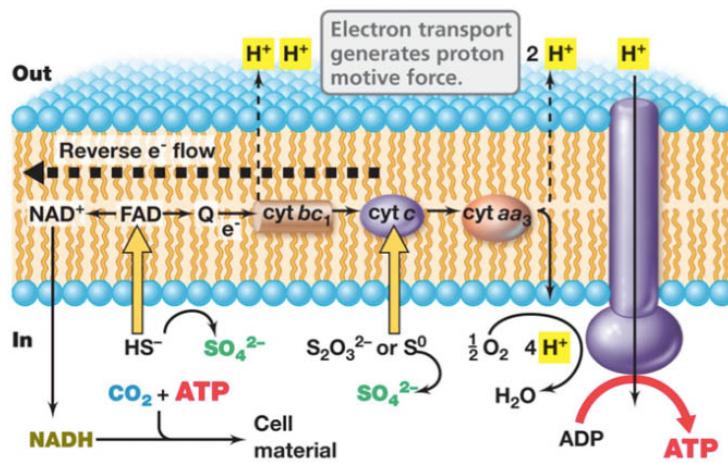
Sovelbakterier har ofte granauler av elementært svovel.

Energetikk ved svovel

De vanligste svovelforbindelsene brukt som elektronondonor er hydrogensulfid(H_2S), elementært svovel (S^0) og thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$). Sulfitt (SO_3^{2-}) kan også oksideres. Vanligvis er det terminale oksidasjonsproduktet sulfat (SO_4^{2-}). Sulfidoksidasjon skjer i flere steg, hvor det første oksidasjonssteget lager elementært svovel.

Noen organismer lagrer svovelet i granauler, hvor det kan brukes som energi for videre oksidasjon hvis det ikke er mer sulfid igjen. da kan S^0 reduseres til H_2S^- som så transporteres in i cellen og går inn i kjemolitotrof metabolisme.

Oksidasjon av reduserte svovelforbindelser produserer protoner, så en av bieffekten av svovelkjemolitotrofi er forsuring av miljøet. Dette fører til at mange svovelbakterier er acidotolerante eller acidofile. Figur 7.2 viser en oversikt over elektrontransportkjeden i svovelkjemolitotrofi.



Figur 7.2: Oksidasjon av reduserte svovelforbindelser av svovel-kjemolitotrofer. NADH skapes ved revers elektronflyt

7.3.2 Svoveloksiderende mikroorganismer

Nøkkelslekter: *Thiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa*

Svoveloksiderende bakterier finnes i varme kilder og hydrotermale rør og marine sediment. H_2S blir frigjort inn i oksygenert vann som et produkt av svoveloksidasjonen.

Det er stor morfologisk og fysiologisk diversitet. Cellen kan variere i størrelser fra $<1 \mu m$ til $750 \mu m$.

De fleste svoveloksiderende bakteriene er obligate aerobe, men noen bakterier kan også reducere NO_3^- ved denitrifisering.

Noen er obligate kjemolitotrofer. De som vokser på denne måten er også autotrofe, og konverterer CO_2 til cellemateriale gjennom calvinsyklus. Disse har som regel *karboksisomer* som inneholder store mengder enzymer som brukes i calvinsyklus, noe som øker organismens evne til å fiksere CO_2 .

Andre svovel-kjemolitotrofer er fakultative kjemolitotrofe, og kan vokse enten kjemolitotroft eller kjemoorganotroft.

ikke-filamentøse bakterier; *Thiobacillus*, *Achromatium*.

Thiobacillus er gram-negative stavformede betaproteobakterier. De oksiderer H_2S, S^0 og thiosulfat og produserer dermed svovelsyre. pga. dette er de vanligvis acidofile.

acidithiobacillus ferrooxidans kan oksidere Fe^{2+} og er en viktig kilde for oksidering av denne jerntypen.

Achromatium er en sfærisk svoveloksiderende kjemolitotrof som vanligvis finnes i ferskvann med nøytral pH. Det er en type gammaproteobakteria, og har mye til felles med purpur svovel-

bakterier. *Achromatium* har svovelgranauler som lagrer S⁰ intracellulært. Cellene kan også lagre store kalsitt(CaCO₃) granauler. Dette kan muligens brukes som en karbonkilde for autotrof vekst.

7.4 Jern Fe²⁺ oksidasjon

7.4.1 Jernoksiderende bakterier

Jernoksidasjon av Fe²⁺ til Fe³⁺ er vekstgrunnlaget for kjemolitotrofe jernbakterier. Dette foregår gjerne i veldig sure miljøer, noe som forklarer hvorfor mange jernoksiderende bakterier er sterkt acidofile, med mulighet til vekst helt ned til pH 0.

De best kjente jernbakteriene *Acidithiobacillus ferrooxidans* og *Leptospirillum ferrooxidans* kan vokse autotroft med Fe²⁺ som elektrondonor ned til pH 1. Disse bakteriene er vanlig i sure miljøer.

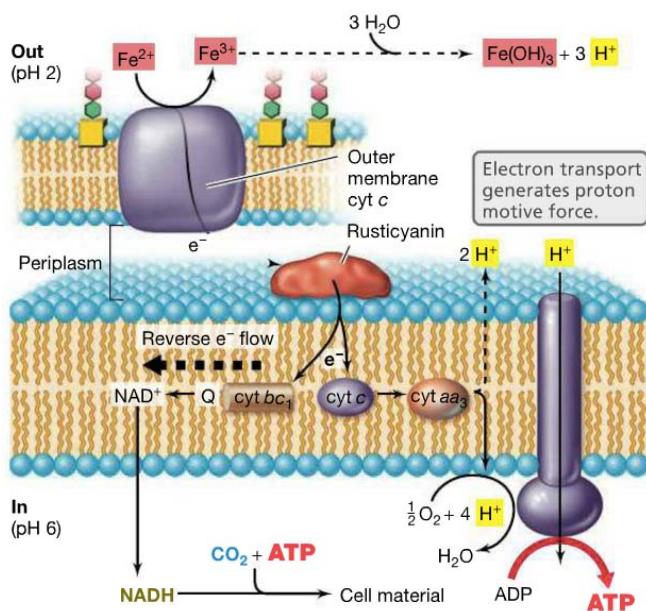
Ferroplasma, en type *archaea*, kan oksidere jern på pH lavere enn 0.

Ved nøytral pH går Fe²⁺ spontant over til Fe³⁺, så jernbakteriene må holde til der Fe²⁺ går fra anoksiiske til oksiske forhold. Typiske steder er der jernrikt grunnvann slippes ut og eksponeres for O₂. Bakteriene oksiderer her jern(II) før det går til Jern(III). Eksempler på bakterier her er *Gallionella ferruginea*, *Sphaerotilus natans* og *Leptothrix discophora*

Energi fra jernoksidasjon

Bioenergetikken til jernoksidasjon av *Acidithiobacillus ferrooxidans* og andre acidofile jernoksiderere er av interesse på grunn av redoks paret Fe³⁺/Fe²⁺ sitt store reduksjonspotensial ved lav pH ($E_0' + 0.77V$ ved pH 2.)

Respirasjonskjeden til *ferrooxidans* har cytochromer av typen c og aa₃ og et periplasmisk kopper-innholdende protein kalt rusticyanin. De har også et jern-oksiderende protein i cellens ytre membran. Figur 7.3 viser en oversikt over elektronstrøm ved Fe²⁺.



Figur 7.3: Elektronstrøm gjennom jern(II) oksidasjon av *Acidithiobacillus ferrooxidans*. rusticyanin mottar elektroner fra jern(II) oksidert fra en type c cytochrom.

En ting som er interessant å merke seg er hvordan proton motive force funker i *A.ferrooxidans*. Siden de lever i et proton-rikt miljø, med en cytoplasmisk pH på 5.5-6, kan man tro at de kan lage ATP kun ved hjelp av denne naturlige gradienten. Protoner som går inn i cellen må dog forbrukes for å ikke senke cytoplasmisk pH for mye. Protonene blir forbrukt ved O₂ reduksjon

til H_2O i elektrontransportkjeden. Dette krever elektroner som igjen kommer fra oksidasjonen av $\text{Fe}_2^+ \longrightarrow \text{Fe}^{3+}$

Autotrofi i *A.ferrooxidans* kommer fra calvinsyklus. På grunn av at elektrondonoren har så høyt potensiale går det med mye energi til revers elektrontransport for å skape nok NADH til å drive CO_2 -fiksering.

NADH dannes ved reduksjon av NAD^+ fra elektroner fra Fe^{2+} som transporteres tilbake gjennom cytochrom bc₁ og quinon. Dette går utover proton motive force.

Den høye energikostnaden til calvinsyklusen og det relativt dårlige energiutbyttet av jernoksidasjonen gjør at det skal store mengder Fe^{2+} til for å danne en liten mengde cellemateriale. *A.ferrooxidans* vokser derfor svært sakte, og i miljøer med mye acidofile jernoksiderende bakterier er det produktene, og ikke et høyt antall bakterieceller som gir tegn på deres tilstedeværelse i miljøet (elver farges rustfargede).

7.5 Nitritifikasjon og annamox

Denitrifiserende mikroorganismer er organismer som vokser ved å anaerobt respirere uorganisk nitrogen(NO_3^- , NO_2^-) til NO(g) , $\text{N}_2\text{O(g)}$ og $\text{N}_2(\text{g})$. Disse er vanligvis fakultativt aerobe og kjemoorganotrofe og bruker organisk karbon som karbonkilde og elektrondonor.

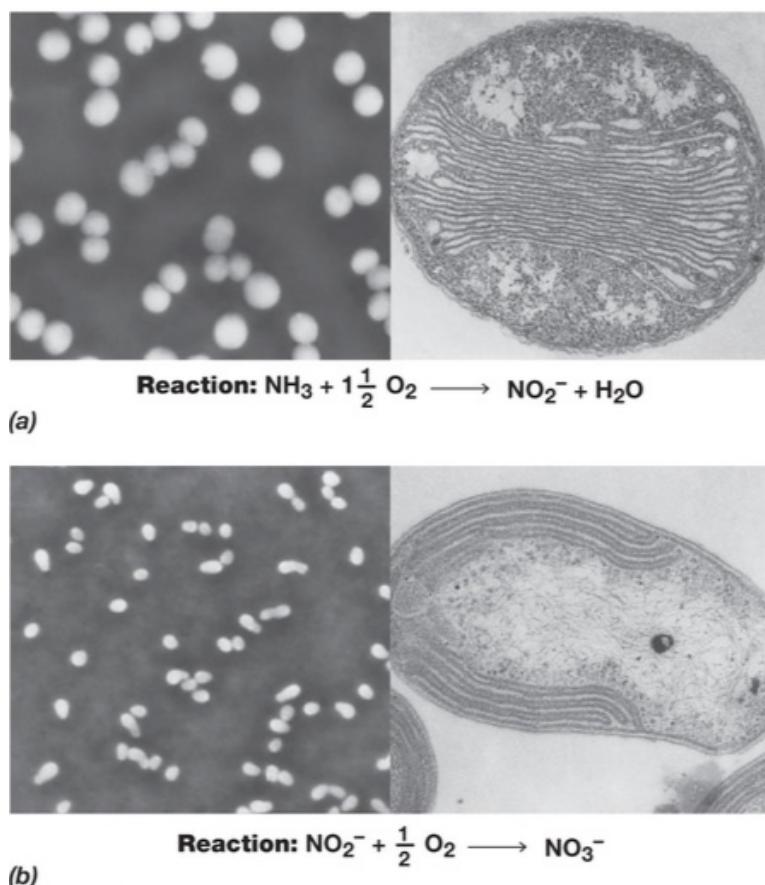
Nitrifiserende er derimot organismer som kan vokse kjemolitotroft på reduserte uorganiske nitrogenforbindelser.

Nitrifiserende mikroorganismer er vanligvis obligate aerobe som også kan vokse autotroft. De fleste benytter calvinsyklus til CO_2 -fiksering.

Ingen mikroorganismer utfører komplett oksidasjon av NH_3 til NO_3^- . Nitrifisering er resultatet av de kombinerte aktivitetene til to typer organismer: *ammonium oksiderende*(oksiderer NH_3 til NO_2^- og nitritt–oksiderende, som produserer NO_3^- fra NO_2^- .

Ammoniumoksidiserende mikroorganismer har vanligvis navn som begynner med *Nitroso-* mens nitratprodusenter begynner vanligvis med *Nitro-*.

Mange nitrifiserende organismer har interne membranstabler som kan minne om fotosyntetiske membraner. Disse inneholder enzymene som benyttes i nitrifikasjon; *ammonium monoooksygenase* og *nitritt oksidoreduktase*.



Figur 7.4: nitrifiserende bakterier. a) viser ammoniumoksiderende, b) viser nitrittoksiderende

7.5.1 Ammoniumoksiderende bakteria og archaea

Nøkkelslekter: *Nitrosomas*, *Nitrosospira*, *Nitrosopumilus*.

Ammoniumoksiderere finnes i Beta og Gammaproteobakteria og i noen archaea. Ammoniumok siderende bakterier finnes i jord og vann. Størst mengde finnes i steder med veldig mye NH_3 , som f.eks steder der kloakk blir behandlet.

Ammoniumoksiderende archaea er vanligere der $[\text{NH}_3]$ er lav, og er mest trolig de dominante ammoniumoksiderene i havet. De er også vanlige i jord.

7.5.2 Nitrittoksiderende bakterier

Nøkkelslekter: *Nitrospira*, *Nitrobacter*.

Nitrittoksiderende bakterier er Alfa,Beta,Gamma og Deltaproteobakteria og i fylumet *nitrospira*.

Nitrospira mangler de indre membranene til proteobakteriene. *Nitrospira* kan ha fått mulighet til nitrifisering via horisontal genoverføring.

7.5.3 Ammoniumoksiderende Archaea

Nøkkelslekter: *Nitrosopumilus*, *Nitrososphaera*

Nitrosopumilus maritimus gror kjemolitotroft ved å aerobt oksidere NH_3 til NO_2^- . Den er autotrof(bruker CO_2 som eneste karbonkilde). Den finnes på åpent hav, og er dermed tilpasset ekstremt næringsfattige miljøer. *N. Maritimus* kan vokse i miljøer med 100x lavere $[\text{NH}_3]$ enn nitrifiserende bakterier trenger.

Mange typer *Thaumarcheaota* har blitt isolert fra så forskjellige habitat som hav, marint sediment, jord og varme kilder. Alle kjente typer er kjemolitotrofe ammoniumoksidere og kan vokse på veldig lave $[NH_3]$. De er funnet i temperaturområder fra arktiske hav helt opp til varme kilder opp mot 76 °C.

Nitrososphaera viennensis, funnet primært i jord, kan vokse ved en stor variasjon av $[NH_3]$. Fra veldig lave, til veldig høye.

7.5.4 Annamox

Selv om alle ammoniumoksidende prokaryoter er obligate aerobe organismer, kan NH_3 og oksideres anoksisk. Denne prosessen kalles *Annamox*. Ammoniakk oksideres med NO_2^- som elektromakseptor og N_2 som produkt. Ligning 7.2 viser en oversikt over annamox-prosessen.



En viktig annamox organisme, *Brocadia anammoxidans*(props for navn!), er en spesiell bakterie, da den mangler peptidoglykan, og har membranomsluttede områder i cytoplasma. En av dem, anammoksomet(igjen, props!) er der annamox-reaksjonen skjer.

Annamoksomet er analogt til det man kaller organeller i eukaryoter. Lipidene er ikke vanlige membranlipider, men er fettsyrer bestående av flere syklobutanringer bunder til glycerol med ester og eterbindinger. Dette gir en uvanlig tykk membran som hindrer uønsket diffusjon fra annamoksomet og inn i cytoplasma. Dette for å forhindre at giftige intermediater ødelegger bakteriecellen, spesielt hydrazin, N_2H_4 .

Annamokse bakterier er autotrofe, men de fikserer ikke CO_2 på samme måte som aerobe ammoniumoksidende bakterier, men bruker acetyl-CoA veien.

Annamox-bakterier finnes naturlig i kloakk, og annet avfallsvann der det er mye ammoniakk. De lever i de anoksiske sonene. Annamox er en viktig økologisk prosess, og fjerner trolig over halvparten av NH_3 fra marine sedimenter.

8 Kjemoorganotrofi

8.1 Metanotrofe og metylotrofe bakterier

Metylotrofe: Får energi og karbon fra organiske stoffer uten C-C bindinger.

Metanotrofe er kjemoorganoheterotrofe

Proteobacteria, Firmicutes, Actionbacteria, Bacteriodetes, Verucomicrobia, Euryarchaeota.

Metanotrofe er en undergruppe som bruker metan for vekst.

Aerobe metylotrofe er vanlige i jord og i akvatiske miljøer med tilgjengelig O_2 .

Metan produseres av anaerobe metylotrofe metanogene *Archaea*.

8.1.1 Aerobe fakultative metylotrofe

Oksiderer ikke metan, men andre metylerte stoffer: Metanol, halometaner, metylerte aminer.

Vanlig med aerob respirasjon i tillegg til oksidasjon av andre organiske stoffer.

Noen arter er denitrifiserende, og kan vokse anaerobt.

8.1.2 Aerobe metanotrofe

De fleste aerobe metanotrofe bakterier er obligate metylotrofe.

Det finnes to hovedtyper, og man skiller dem utifra karbonassimilasjon, cellestruktur og fylogeni:

Tabell 8.1: Hovedtyper aerobe metanotrofe

Type	Karbonassimilasjon	Membraner	Fylogeni
I	Ribulosefosphatsporet	Membraner i diskformede vesikler	γ -proteobacteria
II	Serinsporet	Membraner langs periferiet til cellen	α -proteobacteria

Metanotrofe bakterier har et nøkkelenzym: **Metan monooksygenase** som omdanner metan + O₂ til metanol.(CH₃OH) Metan monooksygenase finnes i de interne membransystemene der metan oksideres. Metanotrofe er viktige i karbonsyklusen som en metanoppsamler. aerobe metanotrofe bakterier er vanlige både i jord og vandige miljøer.

Verrucomicrobia oksiderer metan, men mangler enzymer for karbonassimilering, så den bruker calvinskyklus for CO₂-fiksering. Den er derfor kjemoorganoautotrot.

8.2 Eddiksyrebakterier

Viktige slekter: AcetobacterGluconobacter .

Eddiksyrebakterier er Gram-negative, obligat aerobe aproteobakterier. De er bevegile staver. *Gluconobacter* er polart flagellert, mens *Acetobacter* er peritrikøs.

Får energi gjennom ufullstendig oksidasjon av alkoholer og sukker til organiske syrer.

Produserer eddiksyre (C₂H₄O₂) gjennom ufullstendig oksidasjon av etanol (C₂H₅OH). De er relativt syretolerante og lever godt ved pH<5.0. De vokser i fermenterende fruktjuicer, vin og øl.

Industrielt brukes de til produksjon av eddiksyre, C vitamin og cellulose (noen).

9 Proteobacteria

Proteobakteria har stor diversitet med 6 klasser. Mange slekter innen forskjellige klasser kan ha de samme egenskapene.

De er gram-negative, kan være staver,kokker,spiriller eller budding og kan vokse enten aerobt eller anaerobt.

9.1 Gammaproteobacteria

Gammaproteobacteria har over 1500 arter i 15 ordner.

De er fototrofe, kjemolitotrofe og kjemoorganotrofe.

Mange kjente patogene bakterier er gammaproteobakterier.

De har aerob/anaerob respirasjon eller fermentativ metabolisme, og mange er lette å dyrke fram.

Den største og mest kjente orden er **Enterobacteriales**.

9.2 Enteriske bakterer - enterobacteriales

viktige genus: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*.

Enteriske bakterier er en relativt homogen fylogenetisk gruppe.

De er fakultativt aerobe, Gram-negative, ikke-sporulerende staver. De er ikke-bevegelige celler med (peritrikøse) flageller.

De gir negativ oksidase-test, men positiv katalasetest.

Næringskravene er enkle: de fermenterer sukker til div. produkter.

Noen reduserer nitrat til nitritt via anaerob respirasjon.

Inneholder mange patogene bakterier, patogene for både mennesker, dyr og planter (forskjellige). De finnes dog også i normal tarmflora.

For å skille patogene og ikke-patogene arter på lab må det mange analyser/tester til.

Den mest kjente, og vår alles kjære venn: **Escherichia coli**.

Enteriske bakterier kan skilles i to grupper ut i fra fermenteringsproduktet (Begge fermenterer glukose).

Gruppe 1: blandet syrefermentering: produkt: eddiksyre, melkesyre, røvsyre, etanol, CO₂, H₂. Like mengder H₂ og CO₂ produseres, da blandet syre fermentende bakterier kun produserer CO₂ fra røvsyre gjennom enzymet formiat hydrogenlyase og reaksjonen:



Typiske bakterier: *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*.

Gruppe 2: 2,3-butanediol fermentering.

Hovedprodukter er butanediol, etanol + CO₂+H₂, via reaksjonen i 9.1 + 2 CO₂ ved dannning av butanediol. Dvs. at det dannes mindre syre, men mer gass.

Typiske bakterier: *Enterobacter*, *Serratia*.

Butanediolproduksjon kan oppdages ved Voges-Proskauer (VP)-testen. Butanediolproduksjon gir tydelig rødfarge. Dette er en måte å skille forskjellige γ -proteobakterier fra hverandre.

9.2.1 Escherichia



Figur 9.1: E.Coli er kule folk

E.Coli finnes som en del av normalfloraen i fordøyelseskanalen til mennesker og varmblodige dyr, dog ikke som en av de mest dominante bakteriene.

I tarmen syntetiserer den vitaminer, bla. vitamin K, og holder tarmen anoksisk, da den er fakultativt aerob. Villtyper har enkle næringskrav og kan benytte seg av mange ulike karbon- og energikilder.

Noen stammer er patogene og kan forårsake magesyke hos barn og urinveisinfeksjoner.

Typene EPEC og EHEC gir deg diare :(

VTEC gir alvorlig tarminfeksjon.

9.2.2 Andre mixed-acid fermenters

Salmonella

Patogen for mennesker og varmblodige dyr

Minner om *E.Coli*, og har en hybridiseringssrate på mellom 50-70% med *E.Coli*.

S.typhimurium forårsaker tyfus. Den er enteropatogen, dvs. at den går inn i celler.

Genus *Salmonella* har over 1000 forskjellige serotyper med forskjellig antigen-spesifitet.

Shigella Vanligvis patogen. Kan gi dysenteri via. *Shigella dysenteriae*. Produserer endotoksin og nevrotoksin. Overføres via vann eller mat. Problem i U-land.

Proteus

Mer fjernet beslektet med *E.Coli* enn de andre nevnte.

Er patogen og kan gi urinveisinfeksjoner. Er også raskt bevegelige.

9.2.3 Butanediolfermenterer

Enterobacter aerogenes: i tarm, vann og kloakk. Kan forårsake urinveisinfeksjoner.

Klebsiella pneumoniae: Vanlig i jord og vann. Fikserer nitrogen kan forårsake lungebetennelser.

Serratia: Produserer progidiosiner, sekundærmetabolitter, røde pigmenter. Finnes i vann, jord og i vertebrat/insekt-tarmer

9.3 Pseudomonadales og Vibrionales

9.3.1 Pseudomonadales

Kjemoorganotrofe bakterier som oksiderer organiske substrat ved respirasjon.

Alle kan vokse aerobt, noen anaerobt med nitrat som e-akseptor. De er oksidase-positive og katalase-positive.

De finnes i jord og vann, og noen er patogene mot planter/dyr/mennesker.

Pseudonomader er Gram-negative polart flagellerte aerobe staver som kan bruke diverse C-kilder.

Viktige genus: *Pseudomonas*(γ), *Burkholderia*(β), *Zumomonas* (α), *Xanthomonas* (γ)
Stavene er rette/delvis krummede. De har svært enkle næringskrav og obligat respiratorisk (aerob/anaerob) metabolisme.

Bruker mange forskjellige organiske karbon og energikilder: fettsyrer, sukker organiske syrer, alkoholer, aromater, aminosyrer og aminer.

Kan ikke bryte ned polymerer, da de ikke har hydrolytiske enzymer.

Patogene pseudonomader:

- *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistisk patogen; påvirker individer med svekket immunforsvar. Kan forårsake hud, urin og luftveisinfeksjoner og cystisk fibrose. Er naturlig motstandsdyktig mot mange antibiotika.

Noen *Pseudomonas* er plantepatogener. De frigir plantetoksiner, lytiske enzymer og plantevekstfaktorer som ødelegger plantecellevevet.

9.3.2 Vibrionales

Gram negative, fakultativt aerobe staver/krumme staver. Primært polare, men også noen peritrikose flageller. Fermentativ metabolisme!

Gir positiv oksidase test.

Man kan skille *Vibrionales* fra *Pseudomonas* ved sukker-fermenteringstest, da *Pseudomonas* ikke fermenterer.

Finnes i ferskvann og marine miljøer. Mange har **bioluminiscens**, blant annet *Vibrionaceae*:
Vibrionaceae er marine bakterier assosiert med fisk/blekksprut.

De er fakultativt aerobe, men er kun bioluminiserende med O₂ tilstede.

Bioluminiscensen kommer av enzymet luciferase som katalyserer reaksjon 9.2



Elektronene fra FMNH₂ går rett til O₂, ikke via elektrontransportkjede.

Luminiscensproteinene (luxCDABE) reguleres av LuxR. LuxR + AHL aktiverer transkripsjon. AHL er en autoinducer som akkumulerer og transkriberer luxCDABE når konsentrasjonen når kritisk nivå (quorum sensing).

Høy tetthet av lysende celler i områder(havet) med lite lys tiltrekker seg dyr som spiser dem, noe som lar bakteriene etablere seg i den næringsrike tarmen.

10 Firmicutes

Firmicutes er et bakteriephyla. Bakteriene er:
Gram positive, har lavt GC-innhold, mange ikke-sporulerende og noen sporulerende slekter.

10.1 Lactobacillales

Melkesyrebakterier; LAB (lactic acid bacteria)

Viktige genus: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*.

Egenskaper: Gram positive, staver/kokker, lav [GC], syretolerante, oksidase negative, katalase negative, anaerobe aerotolerante.

Fermenterende: melkesyre hovedprodukt. Mangler elektrontransportkjede, noe som gir lav vekst i kombinasjon med et begrenset biosynteseapparat og komplekse næringskrav.

Lactobacillales er brukt i matkonservering i over 2000 år (suck it, jesus!).

Bakteriociner bidrar også til konservering og senker pH ved syreproduksjon.

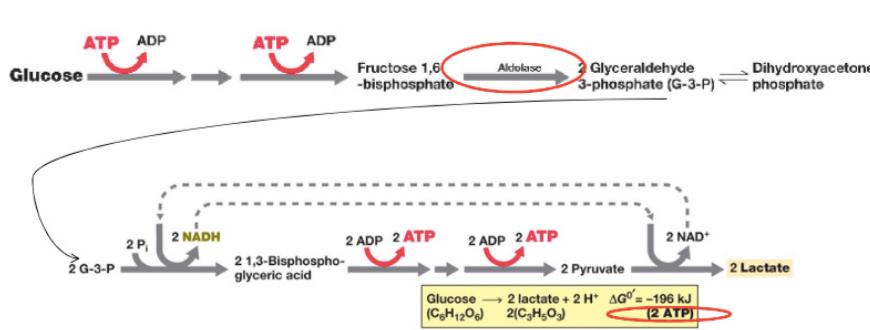
Probiotika ("gode bakterier"): *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*

Melkesyrebakterier fermenterer sukker på to måter:

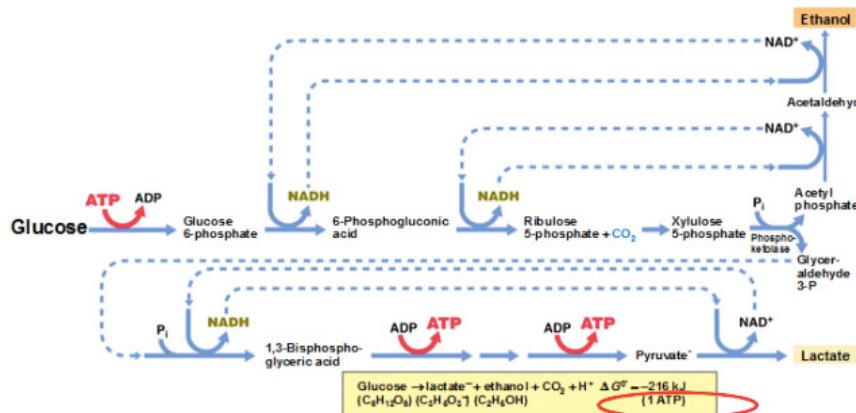
Homofermentativt: kun melkesyre

Heterofermentativt: melkesyre + etanol + CO₂.

Forskjellene skyldes enzymet aldolase i glykolyse. Kun homofermentative har aldolase. Forskjellene i fermenteringene vises i figur 10.1 og 10.2



Figur 10.1: homofermentativ melkesyreformentering via glykolySEN.



Figur 10.2: heterofermentativ melkesyreformentering.

Heterofermenterende har enzymet fosfoketolase som gir 1xG3P, som fortsetter i glyklysen og 1x acetylfosfat. CO_2 dannes også.

10.1.1 Lactobacillus

Staver som vokser i kjeder. De fleste er homofermentative.

Brukes i produksjon av fermenterte melkeprodukter og fermenterte grønnsaker.

Lactobacillus er de mest syretolerante LAB, og tåler pH 4.

De er så godt som aldri patogene.

10.1.2 Streptococcus og andre kokker

Homofermentative, noen patogene, noen industrielt viktige. Noen forårsaker karies.

Lactococcus finnes i forskjellige melkeprodukter.

Enterococcus er streptokokker som finnes i avføring. Noen kan være patogene.

Streptococcus finnes i mat. Noen er patogene. *streptococcus deles inn i 2 grupper:*

1. *Pyogenes*: produserer streptolycin O/S - β -hemolyse. Er patogen.
2. *Viridans*: ufullstendig hemolyse (grønnskjær) - α -hemolyse. Relativt upatogen

10.1.3 Listeria:

Gram-positive, obligat aerobe, katalase positive kokker i kjeder på 3-5.

L.monocytogenes er et intracellulært patogen som kan forårsake listeriose, tarminfeksjon og hjernehinnebetennelse i individer med nedsatt immunforsvar.

Finnes i ferdigmat og andre steder. Vokser fra 4 - 37 °C.

Listeriose er grunnen til at gravide skal unngå upasteurisert ost og spekemat.

10.1.4 Staphylococcus:

Fakultativt aerobe(respirasjon/fermentering), kakkoid, som tåler miljøer med lite vann og høy saltkonsentrasjon. Mange er pigmenterte og alle er katalase positive.

Staphylococcus er kommensale og patogene.

Staphylococcus epidermidis er en ikke-pigmentert, ikke-patogen bakterie som er vanlig å finne på hud.

Staphylococcus auerus er et gulpigmentert patogen som forårsaker lungebetennelse, hjernehinnebetennelse, kviser, byller og benmargsbetennelse. Generelt dårlig stemning... Spesielt kjip er MRSA - methicillin resistant *S.Auerus*.

10.2 Sporulerende Bacillales og Clostridiales

Nøkkelslekter: *Bacillus*, *Clostridium*

Gram-positive, lav GC. Inndeles ut fra cellemorfologi, plassering av endosporer, forhold til O_2 , energimetabolisme.

Kan selekteres for ved å inkubere i 10 min ved 80°C: *Bacillus*(aerobe og fakultativt aerobe arter), *Clostridium*(Obligat anaerob, fermentativ).

Naturlige habitat er primært i jord.

10.2.1 Bacillus

Vokser på definert medium med forskjellige C-kilder.

Mange produserer hydrolytiske enzymer som kan bryte ned polymerer (polysakkardider, nukleinsyrer) og lipider.

Mange produserer antibiotika ved sporulering/stasjonær fase.

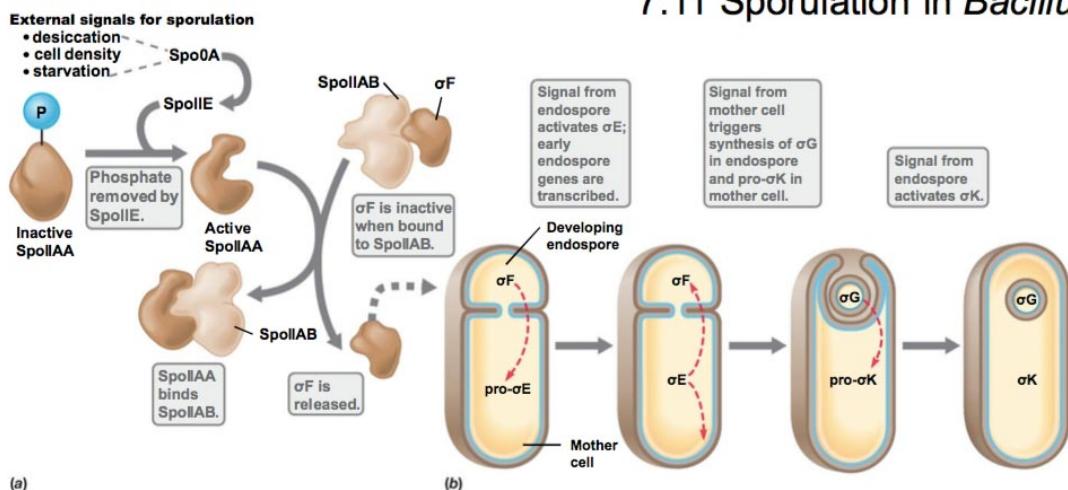
Noen patogene, noen produserer insektgifter(Bt)

Sporulering er en regulering av utvikling som respons på dårlige vekstforhold(lite næring/vann, dårlig temp.) Voksende/vegetative celler blir til sporer.

5 sensor kinaser signaliserer ved transport av fosfat hvordan forholdene i miljøet er. Ved riktig stimulering fosforyleres flere sporuleringsfaktorer, og til slutt Spo0A. Når Spo0A er høyt fosforylert skrus gener for sporulering på.

σ F initierer så en kaskade av sigma-faktorer. Noen klare til aktivering, noen uttrykkes der og da. Disse σ -faktorene styrer gentranskripsjon, og er nødvendig for dannelse av endosporer.

7.11 Sporulation in *Bacillus*



Figur 10.3: Sporulering i *Bacillus* som respons på ekstern stimuli

Celler med aktiv Spo0A skiller ut et protein som lyserer celler av samme art der Spo0A ikke er aktivt + et protein som forsinker sporulering i andre celler, samt et anti-toxin som beskytter egen celle. Dette for å sørge for å få mest mulig av de allerede dårlige næringssforholdene, så sporuleringen kan skje vellykket.

10.2.2 Clostridium

Fermentativ. Mangler elektrontransportkjede. Obligat anaerob.

Clostridium finnes vanligvis i jord. Noen kan også fiksere nitrogen.

Noen er patogene og kan gi matforgiftning, botulisme, stivkrampe, koldbrann.

Clostridium bedriver to typer fermentering:

1. Sakkarolytisk: Sukker fermenteres til smørsyre(hovedprodukt), aceton, butanol. Skjer spesielt under lav pH. Hvis pH holdes nøytral fortsetter smørsyreproduksjonen. Dette gir høyere ATP-utbytte.

2. Proteolytisk: (AA fermentering) fermenterer proteiner fra døde organismer. Innebærer komplekse fermenteringsspor, men alle har fettsyre-CoA som produkt, som gir ATP ved substratnivå fosforylering. Andre produkter er NH₃ og CO₂. Produktene lukter død og fordervelse.

11 Mindre viktige Phyla

11.1 Phyla Tenericutes

Phyla Tenericutes har ikke cellevegg

11.1.1 Mycoplasma

Blant de minste organismer som kan vokse og formere seg selvstendig, med diameter på bare 0.2-0.3 µm. Både aerob og anaerob.

Enkel cellestruktur, og små genomer (500 -1100 kbp)

Ikke positiv gramtest, men i slekt med gram-positive bakterier.

Intracellulære parasitter i planter og dyr.

Steroler stabiliserer cellen. Membranen stabiliseres av lipoglykaner; polysakkarkerider kovalent bundet med membranlipider. De bidrar også til festing til vertscelle overflateresepor.

Krever veldig komplekst vekstmedium.

Antibiotikasensitiv (dog ikke mot de antibiotikatypene som stopper celleveggsyntese).

11.2 Phyla Actinobacteria

Gram-positive, høyt innhold GC, primært aerobe.

Staver/filamentære

Lever i jord og på plantemateriale.

Få patogene, unntatt *Mycobacterium*.

Brukes i industri til produksjon av antibiotika og fermenterte melkeprodukter.

11.2.1 Propionibacterium

Først oppdaget i Emmentaler-ost. CO₂-produksjonen skaper hullene i gulosten, mens propionsyre gir smaken.

Obligat anaerobe, fermenterer melkesyre, karbohydrater og polyhydroxyalkholer til propionsyre, eddiksyre og CO₂.

Propionibacterium er sekundærfermenterer. De får energi ved å fermentere andres fermenteringsprodukter.

Ved sveitserostproduksjon er det kultur med både melkesyrebakterier og propionsyrebakterier. Melkesyrebakterier danner melkesyre fra melkesukker, og danner ostemassen. Melkesyren blir fermentert av propionsyrebakteriene og danner propionsyre, acetat og CO₂. Cheese Holes, y'all!...

11.2.2 Mycobacterium

Stavform. Beveger seg sakte, men vokser fort. Har forskjellig pigmentering pga. gule karatenoider.

Cellevegg med mykolsyrer kovalent bundet til celleveggens peptidoglykan. Overflaten blir hydrofob og voksaaktiv.

Farges røde under syre-fast farging. For gram-farging må lipiddelen av mykolsyrene fjernes.

Flere humanpatogene med *Mycobacterium tuberculosis* som den mest kjente. Den er saktevoksende og vanskelig å dyrke. Dette gjør den dermed vanskelig å diagnostisere.

Mycobacterium har enkle næringskrav. Driver aerob oksidasjon av glycerol/acetat og får nitrogen fra NH₃.

11.3 Filamentøse Actinobacteria

Viktig slekt *Streptomyces*

Actinomycetene er en stor gruppe filamentøse bakterier med tørke-bestandige sporer. De danner mycelium, et nettverk av filamenter/tråder som kan minne om sopp.

De fleste danner konidiesporer (ikke varmeresistente).

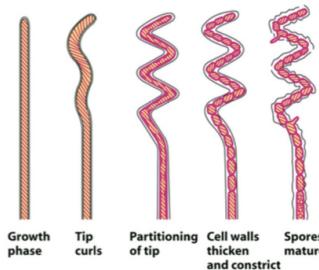
Ved lite næring dannes lufthyfer - sporer.

11.3.1 Streptomyces

Over 500 arter.

vokser ved forgreining ved hyfe enden. diameter på 0.5-1 µm. relativt ubegrenset lengde. De indre hyfene mangler ofte indre cellevegger.

Luftmycel; sporoforer.



Figur 11.1: Faser i sporedannelse hos *Streptomyces*

figur 11.1 viser sporedannelse. Dette skjer ikke som ved dannelse av endosporer. Kryssveger dannes i multinukleate sporoforer, og enkeltsporer avskyllles. Conidia og sporoforer er ofte pigmenterte.

Konidiesporer finnes primært i jordbakterier i alkalisk/nøytral jord, men finnes også i vann. Geosminer, en organisk forbindelse produsert av streptomyces, skaper jordlukt.

Streptomyces kan lett isoleres fra jord, ofte via et selektivt medium med stivelse, asparagin eller kalsium-malat som karbonkilde. Ekstracellulære hydrolytiske enzymer gjør at de kan benytte seg av polymerer.

50% av isolerte *Streptomyces* produserer antibiotika. Mer enn 500 ulike typer. Noen kan lage flere typer. Dette er en av grunnene til at de har store genom, >8Mbp

Tabell 11.1 viser en oversikt over noen antibiotika produsert av *Streptomyces*.

Tabell 11.1: Noen vanlige antibiotika produsert av *Streptomyces* og relaterte antibiotika

Chemical class	Common name	Produced by	Active against ^a
Aminoglycosides	Streptomycin	<i>S. griseus</i> ^b	Most gram-negative Bacteria
	Spectinomycin	<i>Streptomyces</i> spp.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , penicillinase-producing <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	Neomycin	<i>S. fradiae</i>	Broad spectrum, usually used in topical applications because of toxicity
Tetracyclines	Tetracycline	<i>S. aureofaciens</i>	Broad spectrum, gram-positive and gram-negative Bacteria, rickettsias and chlamydias, <i>Mycoplasma</i>
	Chlortetracycline	<i>S. aureofaciens</i>	As for tetracycline
Macrolides	Erythromycin	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	Most gram-positive Bacteria, frequently used in place of penicillin; <i>Legionella</i>
	Clindamycin	<i>S. lincolnensis</i>	Effective against obligate anaerobes, especially <i>Bacteroides fragilis</i> , the major cause of anaerobic peritoneal infections
Polyenes	Nystatin	<i>S. noursei</i>	Fungi, especially <i>Candida</i> (a yeast) infections
	Amphotericin B	<i>S. nodosus</i>	Fungi
None	Chloramphenicol	<i>S. venezuelae</i>	Broad spectrum; drug of choice for typhoid fever

^aMost antibiotics are effective against several different Bacteria. The entries in this column refer to the common clinical application of a given antibiotic. The structures and mode of action of many of these antibiotics are discussed in Sections 27.11–27.14.

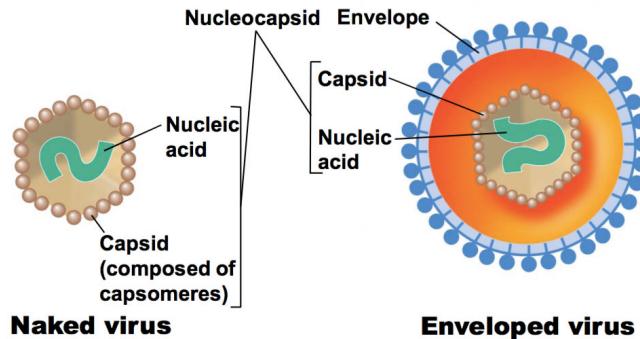
^bAll species names beginning with an "S." are species of *Streptomyces*.

12 Virus

Virus kan defineres som et genetisk element som ikke kan replikere seg uten å være inni en levende celle. Det vil si at det er en obligat intracellulær parasitt.

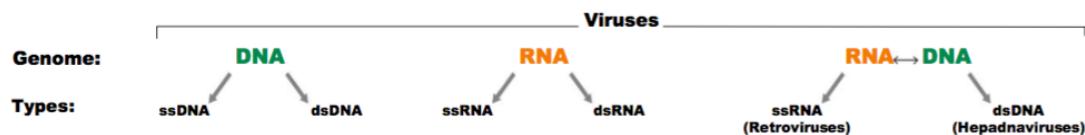
Den ekstracellulære formen av et virus kalles et *virion*. Dette kan eksistere utenfor verten og sørger for spredningen fra en vertscelle til en annen.

Virionet består av et nukleinsyre-genom beskyttet av en proteinkapsid og noen gangen også membraner/nuclear envelope. Virus kan deles inn i ”nakne” og enveloped virus(fig12.1)



Figur 12.1: To typer virus

Mens levende celler har dobbelt-trådig DNA i en dobbel heliks har virus enten RNA eller DNA, både enkelttrådig og dobbelttrådig. Noen har sirkulære genomer, de fleste har lineære.



Figur 12.2: Virus kan klassifisieres utifra hva slags arvemateriale de har ss=single strand, ds=double strand

Genomer og størrelse:

Genomets størrelse kan variere fra noen få gener til 350 (største hittil). Til sammenligning er det minste kjente bakteriegenomet 121 gener.

RNA-virus som infiserer dyr har kun 2 gener og 2000 bp.

Største kjente virus har et genom på 1-25 Mbp. Megavirus infiserer protozoa.

DNA virus har større genom enn RNA virus. Ingen kjente RNA-virus har mer enn 40 gener.

De aller fleste virus er mindre enn prokaryote celler med diameter på 0.02-0.3 µm.

En alternativ måte å klassifisere virus på er utifra hvilke verter de infiserer: Bakterievirus(bakteriofager), arkevirus, dyrevirus, plantevirus, andre virus.

12.1 Virionstruktur

Ulike virus har ulik form. Kapsidet er et proteinlag som beskytter nukleinsyren, og består av 1 til flere forskjellige proteinmonomerer.

En kapsomer er en subenhet i kapsidet. Det er den minste synlige enheten i et elektronmikroskop.

Nukleokapsider (nukleinsyre+kapsid) er symmetriske:

Stav-formede virus har helisk symmetri.

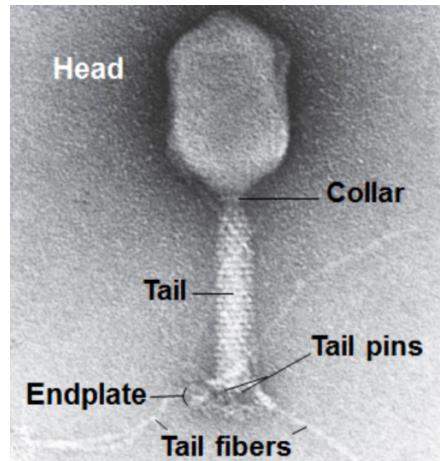
Sfæriske virus danner en icosahedrisk struktur, den mest effektive arrangering av subenheter i et skall.

Lengden av viruset er bestemt av genomlengden, bredden er bestemt av størrelse/pakking av proteinsubenheter.

Enveloped virus en en membran rundt nukleokapsidet og et dobbelt lipid lag med proteiner (fig. 12.1). De fleste med envelope er dyrevirus, men det finnes noen enveloped bakterie/plantevirus.

Influensaviruset er enveloped. Det har membranlipider fra vertscellen men virale membranproteiner.

Bakteriofag T4 (fig. 12.3) er eksempel på et komplekst virus. Det har hode og hale. Halen består av 20 forskjellige proteiner, og hodet enda flere.



Figur 12.3: Bakteriofag T4

Noen virioner har enzymer som er nødvendige for infeksjon.
Noen fager har lysozym for inngang/utgang av bakteriecellen.

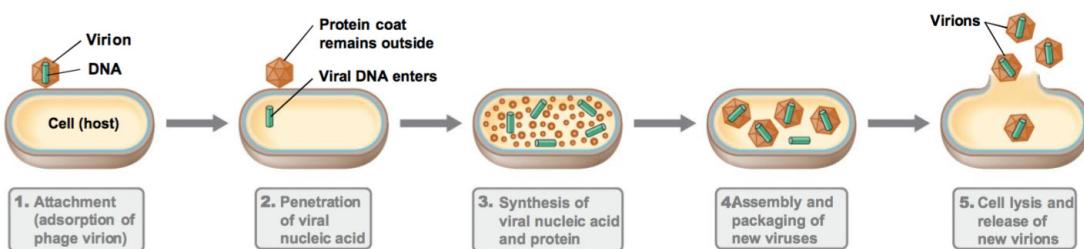
Noen RNA-virus har egne nukleinsyrerepolymeraser.

Retrovirus har RNA-avhengig DNA polymerase - **revers transcriptase**.

Dyrevirus har neuraminidaser, enzymer som spalter glykosidbindinger i glykoproteiner og glykolipider, for å slippe virioner ut av bindevev.

12.2 Virusets livssyklus

Den generelle livssyklusen for virus har 5 faser: Attachment, gjennomtrengning, biosyntese, assembly og release (12.4). En livssyklus er ca. 20-60 min for fager og 8-40 timer for dyrevirus.

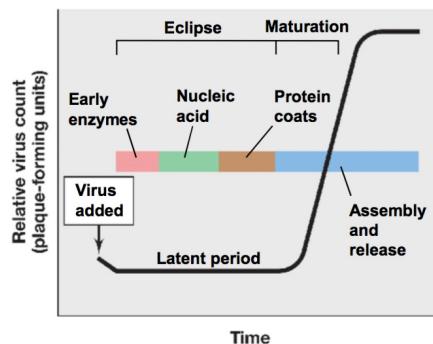


Figur 12.4: Generell oversikt over virus' livssyklus

Virusets livssyklus kan illustreres som en ett-stegs vekstkurve (12.5)

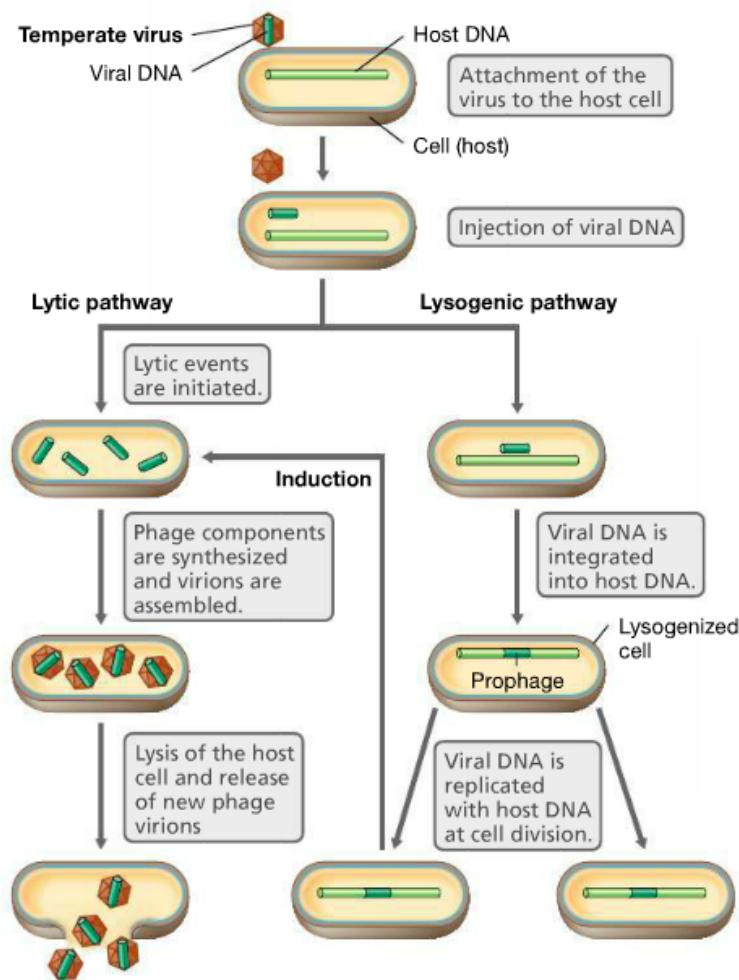
Latent fase: eclipse + maturation.

Burst size: Antall virioner frigitt.



Figur 12.5: Faser i virusets livssyklus

Det finnes to forskjellige Virale livssykluser: *Virulent* og *Temperat*.
 I *Virulent* modus lyserer viruset vertscellen etter infeksjon.
 I *Temperat* modus replikerer virus sitt genom sammen med vertens. I denne modusen kalles virusene *Profager*, og dreper ikke vertscellen.
 Temperate virus kan velge to veier; lysogen og lytisk vei. I den lysogene veien uttrykkes ikke de fleste virusgenene, og profagen replikeres sammen med vertskromosomet. De lytiske genene kontrolleres av et fag-kodet repressorprotein. En bakterie som inneholder en profag kalles **lysogen**. Ved spesielle forhold kan lysogene virus bytte til lytisk spor og begynne virionproduksjon. Siden repressorproteinene hindrer uttrykning av virusgener er infiserte celler immune mot reinfisering. Figur 12.6 viser en oversikt over temperate virus' livssyklus.



Figur 12.6: Livsvyklus og forskjellige spor for temperate virus.

12.3 Dyrking og telling av virus

Enklest å dyrke bateriofager: dyrkes i bakteriekulturer. Både i agar og suspensjon. For å dyrke plantevirus kan man trenge hele planten.

For å dyrke fram animalske virus trenger man enten tellelinjer eller vev/organer. Det er vanlig med dyremodeller. Dyrevirus er ofte ikke infektiøse nok til å effektivt dyrke de.

Måter å telle på: *Titer*: antall virioner per volum væse

Plaque assay: lik CFU metoden, for å måle infeksjon.

Plaques er klare soner som oppstår på utplantede vertsceller(bakterie eller vevskultur).

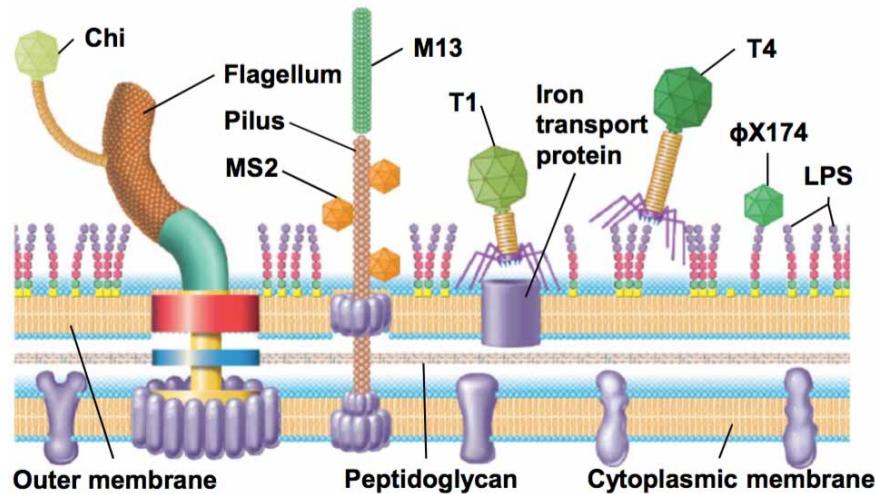
Hver plaque oppstår som resultat av infeksjon med et enkelt virion.

Antall telte plaque er nesten alltid lavere enn direkte tellinger med elektronmikroskop pga. inaktive virioner og/eller ikke optimale forhold for infeksjon.

12.4 Virustyper

12.4.1 Bakteriofager

Figur 12.7 viser forskjellige fager, og hvordan de interagerer med bakteriens ytre membran.



Figur 12.7: Forskjellige fager på utsiden av en bakteriemembran

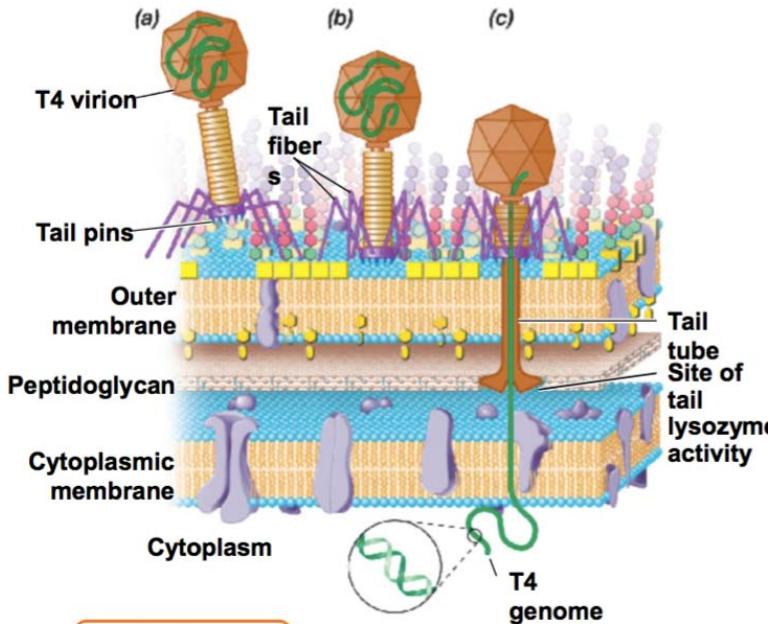
De mest studerte bakteriofagene infiserer enteriske bakterier (bakterier som finnes i tarmflora); *E.Coli*, *Salmonella*.

De fleste fager har dobbelttrådig DNA i genomet, og de fleste har ikke envelope.

De er gjerne strukturelt komplekse, med hoder, haler og andre komponenter og er enten virulente eller temperate. Brukes til genetic engineering.

12.4.2 Bakteriofag T4

Bakteriofag T4 er et *E.Coli*-virus med en kompleks penetrasjonsmekanisme. Figur 12.8 viser en mer detaljert oversikt over T4-fagen som infiserer en bakteriecelle.



Figur 12.8: Bakteriofag T4 infiserer en bakteriecelle

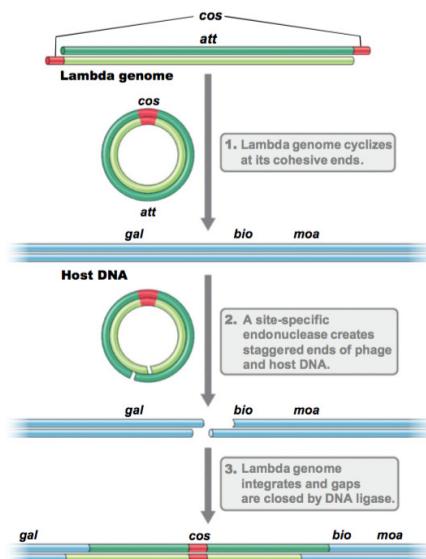
Genomet til T4-fagen er ikke identisk i hvert virion. Det er sirkulært permuttert. I tillegg har T4-DNAet 3-kbp repeterete sekvenser på hver ende.

Replikasjon skjer i enkeltenheter, så rekombinasjon til et langt molekyl, konkatemer. Konkatemeret tres inn i fag-hodene, og DNA kuttes når faghodet er fyllt opp. Det er plass til litt mer enn 1 genomenhet i faghodet, så genomet kuttes litt forskjellig.

12.4.3 Bakteriofag Lambda

Komplekst virus, kan minne om T4 morfologisk.

Dobbeltrådig DNA-molekyl, med enkelttrådig hale i 5' enden på begge trådene. Disse er komplementære. VirusDNAet lagres som en lineær tråd, men når de introduseres til cytoplasma går de komplementære endene sammen og lager en sirkulær tråd. En endonuclease lager staggered ends både i fag- og vertsDNA, som gjør at Lambda-genomet kan integreres i vertsgenomet. 12.9.



Figur 12.9: Fasene i lambdagenomet integrering i vert.

I det lytiske sporet syntetiseres en lang, lineær DNA konkatemer via en rolling circle mekanism, med en av trådene som templat, og kun i en retning. Dette er en svært effektiv metode og produsere mye DNA fort. Spesifikke DNA-kuttende enzymer kutter DNA på riktig sted (cos). Dette DNA pakkes til virioner.

Kontrollsystemet for om Lambda går den Lytiske eller den lysogene ruten er styrt av en komplisert genetisk switch. To repressorproteiner er viktige:

cl-proteinet (lambda repressor): Hemmer lytisk spor

Cro repressor Aktiverer lytisk spor.

Hvilken repressor som akkumulerer først bestemmer hvilket spor det blir.

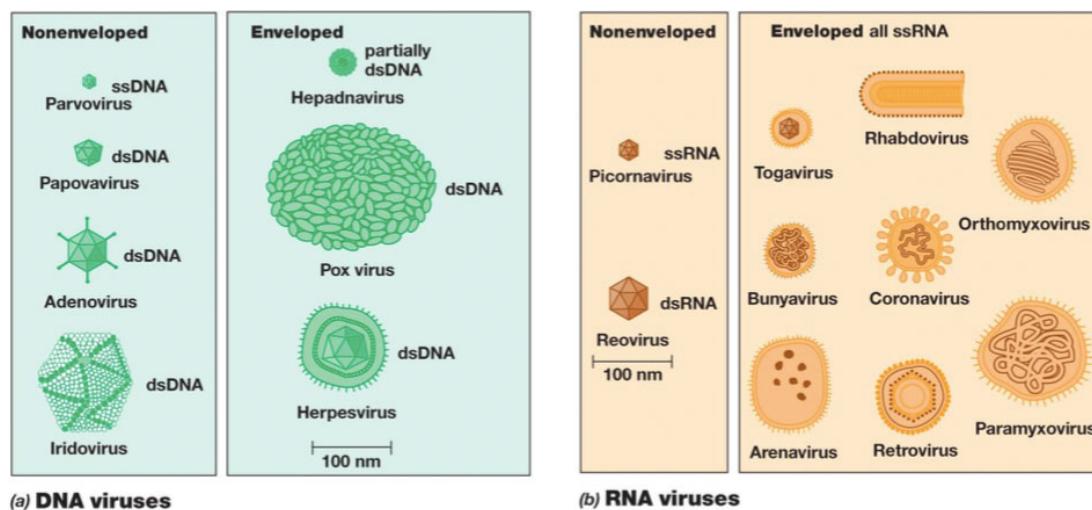
12.4.4 Dyrevirus

Hele virionet går inn i dyrecellen (i motsetning til nukleinsyren hos bakteriofager). Pga størrelse?

Replikasjon skjer primært i nukleus til vretsellen.

Mange dyrevirus har envelope. Denne kan de få når de forlater vretsellen, ved å ta med seg en del av cellemembranen. Dette gjør også viruset vanskeligere å spotte for immunforsvaret.

Dyrevirus klassifiseres ut i fra hva slags genom de har. Fig. 12.10 viser en oversikt over forskjellige typer dyrevirus.

**Figur 12.10:** Forskjellige typer virus**Konsekvensene av virusinfeksjoner i dyreceller:**

Lytiske infeksjoner fører til lysis/celledød.

ved vedvarende infeksjoner: frigjøring av virioner fra vertscellen fører ikke til lysis, men den infiserte cellen forblir i live og fortsetter med virion-produksjon.

Latent infeksjon: forsinkelser mellom infeksjon og lysis(herpes).

Transformasjon: noen virus(eks. HPV) kan forandre normale celler til kreftceller.

Celle-fusjon: To/flere celler blir til en multinuklear celle.

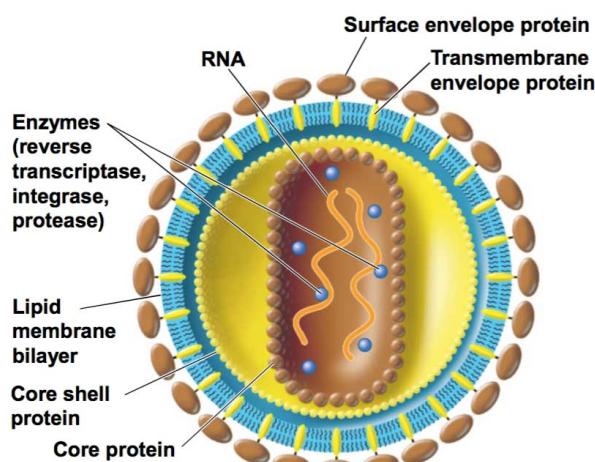
12.4.5 Retrovirus

Retrovirus er RNA-virus som repliserer seg via en DNA-intermediat. Retrovirus har envelopes, noen forårsaker kreft.

Det mest kjente og fryktede retroviruset er **HIV**.

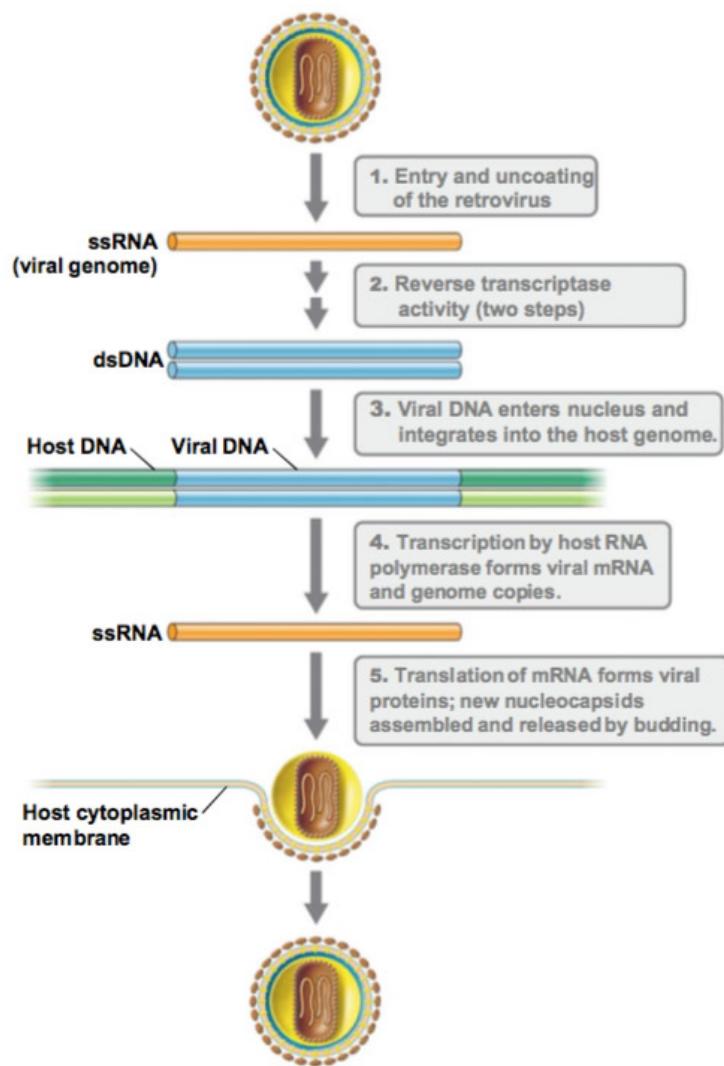
Retrovirus bruker enzymet *revers transkriptase* til å kopiere informasjon fra RNA-genomet sitt til DNA. (det motsatte av transkripsjon i det sentrale genetiske dogmet). Det benytter også enzymet integrase(DNA endonuclease) og protease.

Virionet inneholder også spesifikke tRNA som brukes som primer for revers transkriptase og i replikasjon. Figur 12.11 viser strukturen til et typisk retrovirus.



Figur 12.11: Strukturen til et typisk retrovirus.

Retrovirusets genom har et unikt genom med noen spesifikke gener, **gag**, **pol**, **env**. gag koder for strukturelle proteiner, pol for revers transkriptase og integrase, og env for envelope proteiner. Hver ende av genomet inneholder repeterende enheter. Figur 12.12 viser en oversikt over hvordan retroviruset repliserer seg.



Figur 12.12: Replikasjon hos retrovirus

12.5 Virosfæren og viral økologi

Det er 10^6 prokaryote celler pr. ml sjøvann. 10^7 virus pr. ml sjøvann. Dette tilsvarer ca 5% av total biomasse. Mellom 5-50% av alle sjøvannsbakterier drepes hver dag av bakteriofager. Pga. dette har bakteriofager stor effekt på evolusjonen til bakterier. Dette kan gi nye egenskaper. Lysogeni er et eksempel. Noen virus kan også bidra til horisontal genoverføring via transduksjon.

Siden mange prokaryoter i sjøvann er *Archaea*, er det naturlig å tro at mange virus er spesifikke for arker.

Hvis det er mange potensielle verter lønner lytisk spor seg. Hvis få potensielle verter lønner lysogenet spor.

Virus har den største delen av Jordens diversitet, og de fleste virus er bakteriofager.

Viralt metagenom: summen av virale gener i et gitt miljø.

De fleste virusgener har ukjent funksjon.

12.6 Forsvarsmekanismer mot virus

Eukaryote: Immunforsvar, RNA interference.

Prokaryote: CRISPR (minner om RNA interference), Restriksjons-modifiserings-system.

Virusstrategier for å unnslippe restriksjonsenzymet:

Kjemisk endring av eget DNA ved glykosylering eller metylering.

Produksjon av proteiner som hemmer vertens restriksjonssystem.

12.7 Antivirale medisiner

De fleste antivirale medisiner er også toksiske for mennesker, da virus bruker reseptorer som også vertscellen trenger. Det er vanskelig å lage medisiner som kun tar knekken på virusene uten å også påvirke vertscellene. På tross av dette rammer antivirale medisiner virus hardere enn verten.

Antivirale medisiner er ofte nukleosid analoger og hemmer revers transkriptase hos retrovirus. De påvirker også vertens DNA-replikasjon, og er toksisk over tid. Virus kan utvikle resistens.

AZT er HIV-medisin og inhiberer revers transkriptase

Nonnukleosid revers transcriptase inhibitors, *NNRTI*, binder revers transkriptase direkte og hemmer den. Den er alikevel litt toksisk for vertscellen, da den også hemmer vanlig nuklein-syresyntese.

Proteasehemmere er effektive mot HIV. De hindrer replikasjon ved å binde HIV protease, som prosesserer proteiner til HIV-kapsidet.

Influensamedisiner:

Neuramidase inhibitorer (som Tamiflu) inhiberer frislipp av virus fra bindevev.

Syntetiske aminer inhiberer uncoating og replikasjon ved å interagere med influensa A ionetransport-protein. Virus utvikler dog fort resistens.

Virus interefrence:

Infeksjon av et virus som hemmer et annet
Interferoner er små cytokiner som hindrer virusformering ved å stimulere kroppens friske celler til å produsere antivirale stoffer.

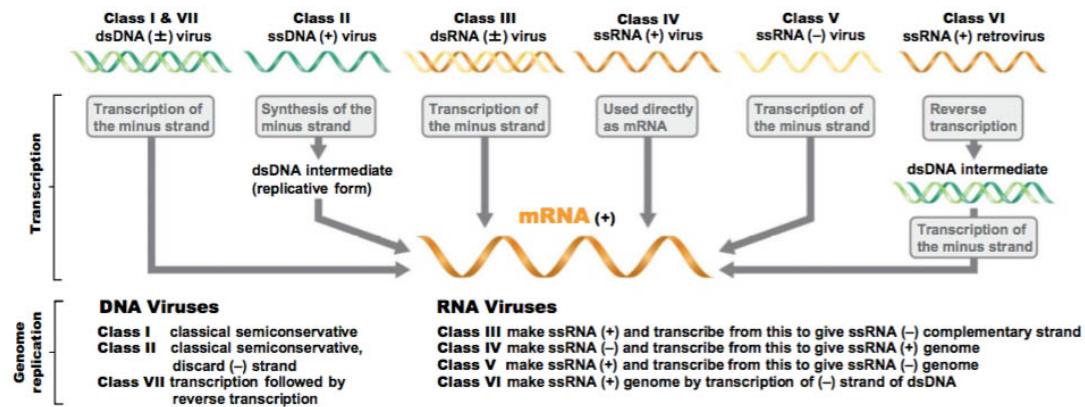
12.8 Klassifisering av virus

Tabell 12.1 viser Baltimore klassifikasjonssystemet for virus.

Figur 12.13 viser de forskjellige virustypene basert på Baltimore systemet. Tabell 12.2 viser eksempler på forskjellige virale genomer.

Tabell 12.1: Baltimoresystemet for virusklassifikasjon

Class	Description of genome and replication strategy	Examples	
		Bacterial viruses	Animal viruses
I	Double-stranded DNA genome	Lambda, T4	Herpesvirus, pox virus
II	Single-stranded DNA genome	φX174	Chicken anemia virus
III	Double-stranded RNA genome	φ6	Reoviruses (Section 16.9)
IV	Single-stranded RNA genome of plus sense	MS2	Poliiovirus
V	Single-stranded RNA genome of minus sense		Influenza virus, rabies virus
VI	Single-stranded RNA genome that replicates with DNA intermediate		Retroviruses
VII	Double-stranded DNA genome that replicates with RNA intermediate		Hepatitis B virus



Figur 12.13: mRNA formasjon og nye genommer i DNA og RNA virus

Tabell 12.2: Noen typer virale genommer

Virus	Host	DNA or RNA	Single- or double-stranded	Structure	Viral genome	
					Number of molecules	Size (bases or base pairs) ^a
H-1 parvovirus	Animals	DNA	Single-stranded	Linear	1	5,176
2 — ϕ X174	Bacteria	DNA	Single-stranded	Circular	1	5,386
Simian virus 40 (SV40)	Animals	DNA	Double-stranded	Circular	1	5,243
4 — Poliovirus	Animals	RNA	Single-stranded	Linear	1	7,433
7 — Cauliflower mosaic virus	Plants	DNA	Double-stranded	Circular	1	8,025
Cowpea mosaic virus	Plants	RNA	Single-stranded	Linear	2 different	9,370 (total)
3 — Reovirus type 3	Animals	RNA	Double-stranded	Linear	10 different	23,549 (total)
Bacteriophage lambda	Bacteria	DNA	Double-stranded	Linear	1	48,514
Herpes simplex virus type 1	Animals	DNA	Double-stranded	Linear	1	152,260
1 — Bacteriophage T4	Bacteria	DNA	Double-stranded	Linear	1	168,903
Human cytomegalovirus	Animals	DNA	Double-stranded	Linear	1	229,351

12.8.1 Baltimore klasse II: enkelttrådig DNA bakteriofag

Mange dyrer og plantevirus, og noen bakteriofager har enkelttrådig + DNA genom. Før transkripsjon må det syntetiseres en komplementær - strand av DNA.

Bakteriofag ϕ X174: Sirkulært +ssDNA i et icosahedralt viron.

Veldig lite genom, med overlappende gener. Replikasjon via rolling circle replication.

12.8.2 Bakteriofag M13

Bakteriofag M13 er en filamentøs, helixsymmetrisk bakteriofag. Den brukes til kloning og som DNAskvenseringsvektor.

Viruset forlater vertscellen uten å lysere den, via budding. Selv om det ikke dreper cellene vokser infiserte celler sakttere.

12.9 Viral evolusjon

Virus kan enten ha oppstått etter celler, eller være rester av en tidlig form for RNA-liv. Kan være rester av RNA-celler som kvittet seg med MYE gener.

Virusene kan være selektert for av bakterier for horisontal genoverføring. De første virusene kan ha vært kun lysogene.

12.10 Viroider

Viroider er infeksiøse RNA-molekyler uten proteinkapsid. De er de minste kjente patogenene og forårsaker mange plantesykdommer.

De består av små, sirkulære ssRNA. Viroider koder ikke for proteiner, og er helt avhengig av vertsenzymer.

Deres sekundærstruktur gir stabilitet. Siden de ikke har kapsid, og dermed ikke overflatereseporer er de avhengig av skader i vertscellen for å entre cellen.

De sprer seg internt i planten via plasmodesmata.

De kopierer seg med plantecellers RNA-replikase.

12.11 Prioner

Prioner er infeksiøse proteiner. Kan kanskje kalles det motsatte av viroider da de ikke har arvestoff, bare proteiner.

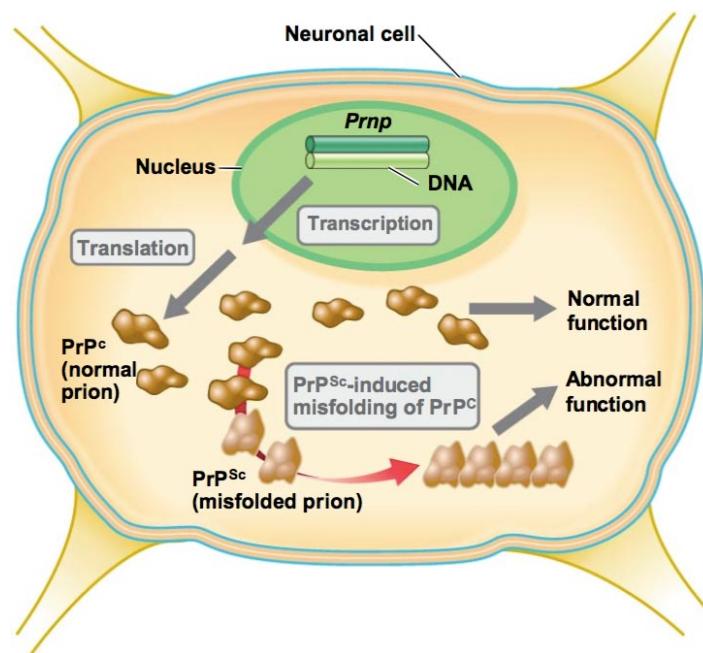
De kan føre til sykdom i dyr via overførbar spongiform encephalopati (svampaktig hjerne).

Vertscellegenet *Prnp* koder for villtype prion, et membranprotein i friske eukaryote celler.

Det replikeres ved at feilfoldete prioner induserer feilfolding i andre prionproteiner. De akkumulerer i nerveceller/hjerner og gir sykdom

Eksempler på prionsykdommer: Skrapesyke(sauer), Kugalskap(gjett èn gang), Creutzfeldt-Jakob(kugalskap i mennesker), Kuru(kannibaler).

Figur 12.14 viser hvordan prioner sprer seg.



Figur 12.14: Spredning av fielfollede prioner

13 Archaea

Domenet *Archaea* inkluderer flere fyla, inkludert *Euryarcheota*, *Crenarchaeota*, *Thaumarchaeota*, *Korarchaeota* og *Nanoarchaeota*.

Arker er kjemotrofe med unntak av *Halobacterium* som kan generere energi fra lys, dog ikke med tradisjonell fotosyntese.

Tabell 13.1 viser en oversikt over viktige strukturelle og fysiologiske forskjeller mellom de tre rikene; Bacteria, Archaea, Eukarya.

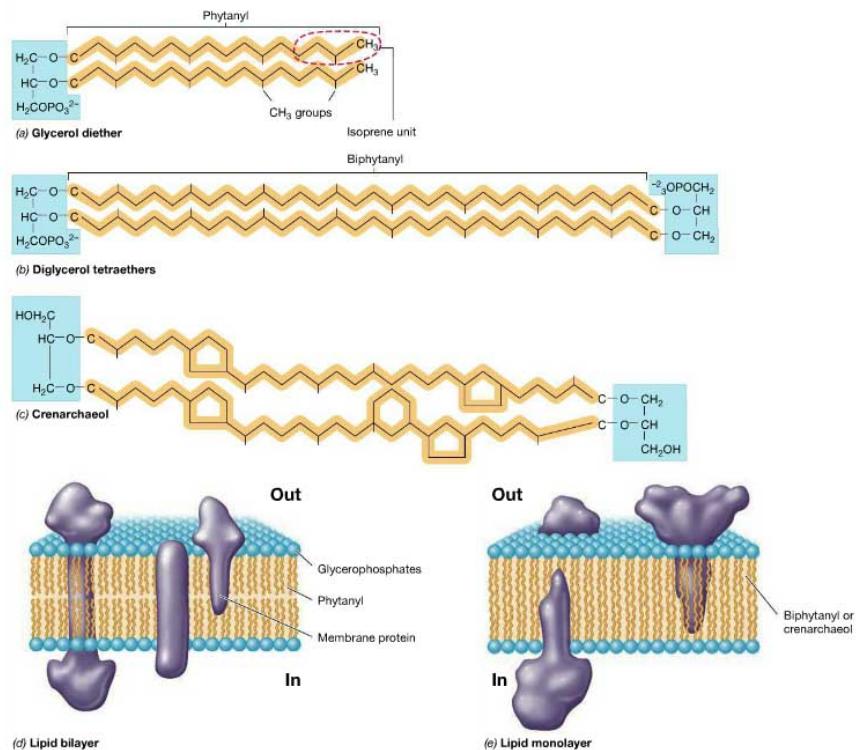
Tabell 13.1: Viktige strukturelle og fysiologiske trekk i de tre rikene

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

I motsetning til bakterier som har esterbindinger i membranen, har arker eterbindinger. Membranen til arker kommer enten fra glycerol diitere med 20-karbon sidekjeder (phytanyl gruppe, fig. 13.1 a) eller diglycerol tetraetere med en 40-karbon sidekjede, fig. 13.1 b. I tetraeteret lipidet er endene av phytanyl kjeden som peker innover kovalent bundet til hverandre.

Mange arkemembranlipider har også ringer på hydrokarbon-sidekjedene, 13.1 c.

Figur 13.1 viser forskjellige viktige lipider i arker, og en oversikt over arkers membran.



Figur 13.1: Viktige lipider i *Archaea* og arkemembraners struktur. i både a) og b) er lipidets hydrokarbon bundet til glycerol med eterbinding. c) er crenarchaeol, et viktig lipid i *Thaumarchaeota*, som inneholder 5- og 6-karbon ringer. d,e viser at arkars membran kan være et enkeltlag eller et dobbeltlag. Det kan også være en blanding

13.1 Ekstremt halofile archaea

Haloarchaea er ekstremofile og lever i hypersaline miljøer. De er kjemoorganotrofe og vokser på organisk materiale fra primærprodusenter. De er gram-negative og deler seg ved binær fisjon. De fleste er ikke-bevegelige og alle er ikke-sporulerende.

De aller fleste Haloarchaea er obligat aerobe og bruker aminosyrer og organiske syrer som karbon/energikilde. For optimal vekst trenger de også vitaminer.

De er ikke sukkerfermentende, og noen få har anaerob respirasjon. Flere har gassvesikler.

Hypersaline miljø, CO₂-fikserende økosystemer:

I de fleste saltsjøer finner man den eukaryote algen *Dunaliella*. Denne er den største, og noen ganger eneste, oksogene fototrofe organismen i de fleste saltsjøer. I de mest alkaliske soda lakes hvor man ikke finner *Dunaliella* er anoksiske fototrofe purpurbakterier dominerende.

Det finnes også noen ekstremt halofile kjemoorganotrofe bakterier.

Saltsjøer har forskjellig ione-innhold, som selekterer for ulike mikrober. "Soda lakes" er hypersaline alkaliske sjøer med mye karbonat og lite Cl²⁺ og Mg²⁺.

13.2 Euryarchaeota

Euryarchaeota er en fysiologisk variert fyla med mange ekstremofile; både ekstremt halofile, hypertermofile og termoacidofile archaea.

Nøkkelslekt: *Halobacterium*.

Halobacterium er ekstremt halofil, den krever >9%, 1.5M NaCl for å vokse.

For optimale vekstbetingelser trenger den vanligvis 2-4 M NaCl, og de fleste kan vokse i mettet saltløsning (5.5M/32% NaCl)

De finnes i kunstig saltede miljøer (f.eks saltet mat), avdampa vannpytter og saltsjøer. Det

finnes mange hypersaline miljøer, men færre hypersaline, dette primært på varme tørre steder. *Halobacterium* har i likhet med *Halococcus* enorme plasmider som står for 25-30 % av totalt cellulært DNA. Plasmidene har et lavere GC-innhold enn det kromosomale DNAet.

Vannbalanse i ekstremt halofile:

For halofile organismer er det en utfordring å opprettholde osmotisk balanse og de gjør dette ved å pumpe inn ioner.

Halobacterium pumper store mengder K⁺ inn i cellen. Dette gjør den intracellulære K⁺-konsentrasjonen større enn den ekstacellulære Na⁺-konsentrasjonen, noe som fører til positiv vannbalanse.

Andre tillpasninger til høye saltkonsentrasjoner:

Halobacterium har cellevegg med glykoproteiner med mange negativt ladede aminosyrer (glu, asp), og stabiliseres av Na⁺. Ved for lave saltkonsentrasjoner vil celleveggen lysere.

De intracellulære aminosyrene har derimot mer polare aminosyrer, som stabiliseres av den høye K⁺-konsentrasjonen. Ribosomene krever også K⁺.

Lysdrevet ATP-syntese

Noen haloarchaea har lysdrevet ATP-syntese. De har røde og oransje karatenoider kalt bakterioruberiner.

Under forhold med lav O₂ tilgang syntetiserer *Halobacterium salinarum* og noen andre haloarker et protein kalt **bakteriorhodopsin** og setter det inn i sin ytre membran. Bakteriorodopsin absorberer grønt lys rundt 570 nm.

I sammenheng med bakteriorhodopsin er et molekyl som heter retinal, et karotenoidlignende molekyl som kan absorbere lys og pumpe protoner over membranen. Ved lysabsorbsjon endres retinal fra trans til cis. Denne overgangen er koblet til en translokering av 1 H⁺. Etter H⁺ er pumpet ut endre retinal tilbake til trans.

I samarbeid med ATPase gir dette proton motive force og bidrar til vekst(dog sakte) under anoksiske forhold. Protonpumpen pumper også Na⁺ og K⁺.

13.2.1 Metanogene Archaea

Nøkkelslekt: *Methanocaldococcus*

Metanogene Archaea er obligat anaerobe CH₄-produserende mesofile(foretrekker moderate temperaturer). De fleste er ikke halofile.

De viser stort morfologisk mangfold når det kommer til form og cellevegg. Celleveggene inkluderer pseudomoreinvesser i *Methanobacterium*, cellevegger av methanochondroitin i *Methanosarcina*, proteinvegger i *Methanocaldococcus*, glycoproteinvegger i *Methanoplanus* og S-lagvegger i *Methanospirillum*.

Metanogene arker habitater varierer, og de finnes i:

Anoksiske sedimenter, tarmer(rumen, cecum, tykktarm), geotermiske kilder for H₂ og CO₂. Hydrotermale vents, kloakkslamanlegg og som endosymbionter i protzoa.

Substrater for metanogenese:

De aller fleste organiske forbindelser kan konverteres til CH₄ og CO₂, men ikke nødvendigvis uten hjelp fra andre mikroorganismer. Det er interessant å merke seg at metanogene arker ikke kan benytte seg av glukose som en (direkte) energikilde.

Følgende substrater kan reduseres direkte til metan:

CO₂-type substrater: CO₂, format, CO. (elektronene til reduksjon av substratene kommer fra H₂, noen alkoholer, pyruvat).

Metylerte substrater: Metanol, methylamin, dimethylamin, trimethylamin, dimethylsulfid.

Aceotrofiske substrater: acetat,pyruvat.

Methanocaldococcus jannaschii er en midell-metanogen. Den er hypertermofil og har et sirkulært genom på 1.66 Mbp.

Den har ca. 1700 gener: sentral-metabolismen og celledelingen er lik som hos bakterier. Genene for transkripsjon og translasjon er mer lik eukaryote.

40% av genene mangler ortologer hos bakterier og eukaryoter, og har ukjent funksjon.

13.2.2 Thermoplasmatales

Nøkkelslekt: *Thermoplasma*

Thermoplasma mangler cellevegg, og vokser optimalt ved 55°C og pH 2 i komplekst medie.

De er fakultativt aerobe, og kan gro anaerobisk ved svovelrespirasjon.

Man finner de på kullavfallsdynger. Der lever de på kullavfall. Mikrobiell aktivitet varmer opp kullavfallet som frigir organiske stoffer som kan oksideres for energi.

Siden de mangler cellevegg er *Thermoplasma* utsatt for osmotisk stress, og for å klare å overleve ved lav pH og høy temperatur har de en unik membranstruktur. Membranen består av **lipoglycan**. Lipoglykan er et tetraeter lipid monolag med mannose, glukose og glykoproteiner. Den har et lite genom på 1.5 Mb. DNAet benytter seg av et svært basisk DNA-bindende protein som organiserer DNAet inn i globulære partikler, ikke ulikt eukaryoters nukleosomer.

13.2.3 Thermococcales

Nøkkelslekter: *Thermococcus*, *Pyrococcus*, *Methanopyrus*

Thermococcales er en type hypertermofile *Euryarchaeota*.

Thermococcus og *Pyrococcus* finnes i anoksiske varme kilder. De er obligat anaerobe kjemoorganotrofe. Som elektronakseptør benytter de S⁰. Med svovel tilstede danner de H₂S, og uten svovel danner de H₂.

Cellene er sfæriske og de er polart flagellerte.

Thermococcus vokser ved 55-95 °C, mens *Pyrococcus* ved 70-106 °C med optimum rundt 100 °C.

De er like hverandre, og den største forskjellen er varmekravene.

13.3 Fyla Nanoarchaeota

Nanoarchaeum equitans er en av de minste kjente levende organismer, og har det minste genommet (0.49 mbp) av alle arker.

Den er kokkoid, har en diameter på 0.4 µm og volumet er kun 1 % av E.Coli.

N.Equitans er en obligat symbiont og lever på den termofile mikroorganismen *Ignicoccus hospitalis*.

Nanoarchaeum får trolig energien og karbonet sitt fra *Ignicoccus*. Den mangler mange essensielle gener for biosyntese og katabolisme.(glykolyse, ATPase)

Den har et temperaturopimum på 70-98 °C med optimum rundt 90 °C.

14 Eukaryoter

Leser du dette er du en eukaryot! Hvis ikke: ring nature...

14.1 Endosymbiose

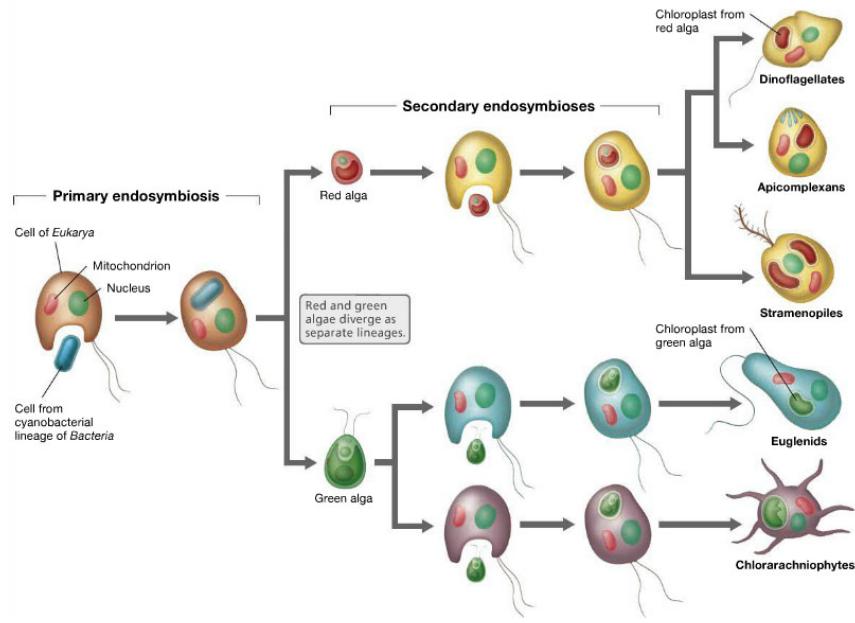
Mange tror at kloroplaster og mitokondrier stammer fra tidlige prokaryote celler. Dette kalles endosymbiose(teorien). Det er snakk om primær endosymbiose.

Denne teorien underbygges av flere observasjoner:

- Kloroplaster og mitokondrier har eget DNA
- Eukaryote cellekjerner inneholder gener fra bakterier
- Kloroplaster og mitokondrier har egne typer ribosomer, 80s/70s, I likhet med *Bacteria/Archaea*.
- Noen antibiotika påvirker kloroplaster og mitokondrier.

- Hydrogenosomer: organeller med eget DNA og ribosomer, som har RNA som minner om *Bacteria*.

Man har også sekundær endosymbiose, der en celle tar opp en annen. En celle kan f.eks ta opp en hel rød/grønnalge, ta kloroplasten, og dermed bli fototrof. Endosymbiose skjer fortsatt i naturen, det er ikke bare noe man kan se spor av. Figur 14.1 viser en oversikt over primær og sekundær endosymbiose.

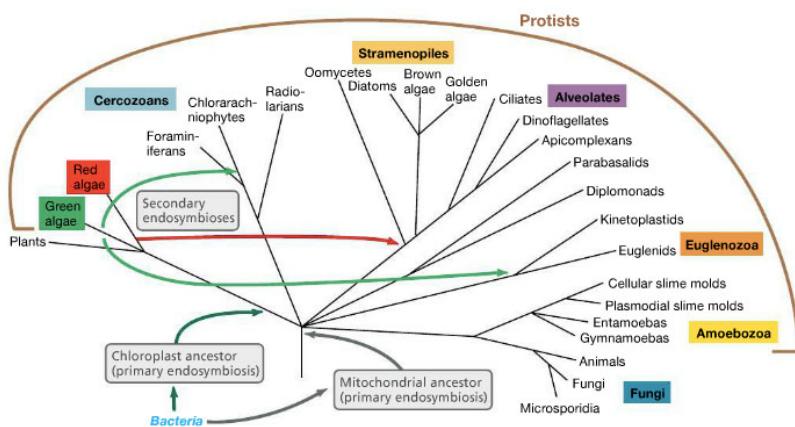


Figur 14.1: Fototrofi via primær og sekundær endosymbiose

14.2 Fylogeni i eukaryoter

Å lage fylogenetisk tre for eukaryoter er litt mer komplisert enn hos prokaryoter, bla. fordi 18s rRNA-gener ikke gir et like godt bilde på familieforhold som 16s rRNA. Fylogenien må derfor baseres på andre gener, bla. tubulin, RNA polymerase og ATPase.

Eukaryotisk molekylær fylogeni er fortsatt ikke ferdig utviklet. Figur 14.2 viser *Eukarya* sitt fylogenetiske tre, sånn det ser ut pr. idag.



Figur 14.2: Fylogenetisk tre hos eukaryoter. Treet er baster på en kombinasjon av sekvensering av flere gener og proteiner.

14.3 Amoebozoa

Nøkkelslekter: *Amoeba*, *Entamoeba*, *Physarum*, *Dictyostelium*

Amoebozoa er terrestriske og akvatiske protister med pseudopodier, som de bruker både til bevegelse, og til å spise med.

De største gruppene er *gymnamoebae*, *entamoebae* og slimsopp.

Gymnaeobae er frittlevende i jord og vann, og beveger seg ved cytoplasmiske strømninger, også kalt amoeboid movement.

Entamoeba er parasitter hos vertebrater og invertebrater, og finnes gjerne i munnen og tarm-systemet hos dyr. *Entamoeba histolytica* er patogen hos mennesker og kan forårsake dysenteri, som igjen fører til blodig diaré.. Så hold deg unna da.

Slimsopp har en livssyklus som minner om sopp, og har fått navnet herfra. De er bevegelige og lever på råtnende plantemateriale og mikroorganismer. De kan også danne sporer.

Det er to grupper slimsopp: plasmodiale(acellulære) og cellulære.

Plasmodial slimsopp har i vegetativ form en masse av protoplasma av udefinert størrelse og form. Dette kalles plasmodia.

Cellulære slimsopp er i vegetativ form haploide enkeltamøber. Når det er lite næring kan de danne fruktlegemer med sporer.

De kan også formere seg seksuelt, der to amøber fusjonerer til en makrocyste som deler seg videre.

14.4 Sopp

14.4.1 Fysiologi, struktur og symbiose

Man antar at det finnes over 1.5 millioner arter sopp, og rundt 100.000 er beskrevet.

De er kjemoorganotrofe og har enkle næringskrav. Ekstracellulære enzymer bryter ned proteiner, polysakkarker og lignende. De er viktige nedbrytere i naturen og lever på døde dyr og planter.

Mange sopp kan vokse ved lav pH og høye temperaturer.

De fleste sopptyper er obligat anaerobe.

De fleste typer sopp har cellevegg som består av kitin, er multicellulære og koblet sammen med et nettverk av **hyfer**.

Hyfer kan produsere konidiesproter, aseksuelle pigmenterte sporer som er tørkeresistente. En samling av hyfer kalles et *mycelium*

Noen sopper har fruktleger for reproduksjon. Disse kan inneholde millioner av sporer som spres av vind, vann eller dyr.

Noen typer sopp; gjærsopp, vokser som enkeltceller.

De fleste planter er avhengig av sopp for å ta opp alle mineralene de trenger fra jorda. Disse soppene assosieres symbiotisk med plantene i *mycorrhizae*(betyr sopprøtter). Myccorhizal sopp har nær fysisk kontakt med planterøttene, og hjelper planten ta opp fosfat, vann og mineraler fra jorda i bytte mot næringsstoffer fra planten.

Ectomycorrhizae er mellom basidimycetes og røttene til vedplanter, mens *endomycorrhizae* er mellom glomeromycetesopp og ikke-ved planter.

Noen sopp har symbiose med cyanobakterier eller grønnalger. Et eksempel på dette er lav.

14.4.2 Reproduksjon

Sopp benytter seg både av aseksuell og seksuell reproduksjon, som nevnt over. **Aseksuell formering** skjer ved:

vekst og spredning av hyfers hyfe-filamenter.

Aseksuell produksjon og spredning av sporer

Enkel celledeling: dette skjer i gjær.

Seksuell reproduksjon: De fleste sopptyper produserer også seksuelle sporer. Sporene dannes

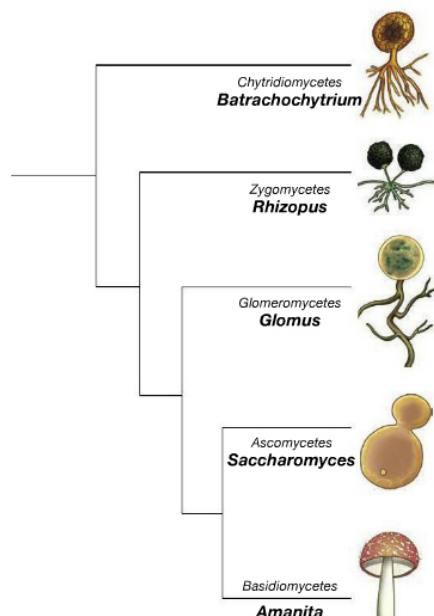
ved fusjon av enten unicellulære gameter eller fra spesialiserte hyfer.

De kan også komme fra fusjon av to haploide sporer som danner en diploid celle. Denne cellen går så gjennom meiose og mitose, og danner individuelle haploide sporer.

14.4.3 Fylogeni

Sopp er nært beslektet med dyr, og det antas at de skilte lag for ca. 1.5 milliarder år siden, basert på sammenligning av rRNA-sekvenser.

Figur 14.3 viser en oversikt over forskjellig fylogenetiske grupper av sopp.



Figur 14.3: Fylogeni av sopp basert på 18s rRNA sekvensering

14.4.4 Ascomycetes

Nøkkelslekter: *Saccharomyces*, *Candida*, *Aspergillus*

Ascomycetes er en divers gruppe sopp som blant annet inneholder bakegjær og muggsopp. De finnes naturlig i jord og vann.

De lever av å bryte ned dødt plantemateriale.

Saccharomyces Cervisiae.

Er enkeltcellede acomyceter. Cellene er sfæriske, ovale eller sylinderiske.

De deler seg ved budding. Dette skjer ved at en ny celle formas som en utvekst av den gamle cellen, og deler seg til slutt fra foreldrecellen.

De lever på sukker. De er fakultativt aerobe og kan fermentere. Som andre gjærsopper gror de godt i sukkerrike habitater som frukt og blomster.

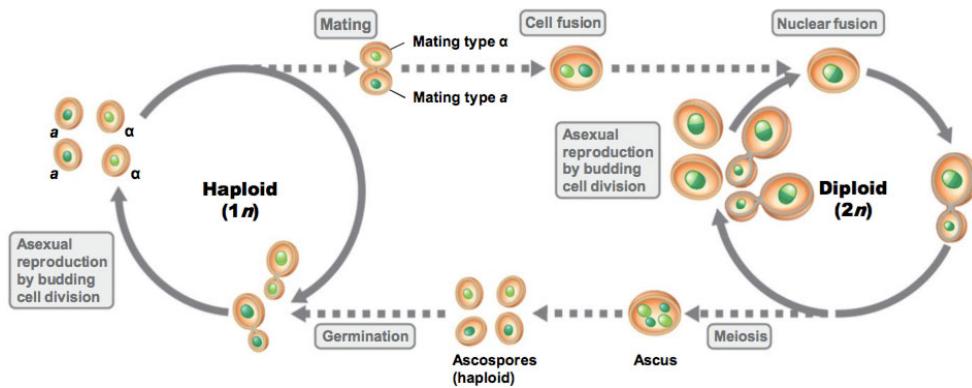
S. Cervisiae er en modellorganisme, og den første eukaryoten som fikk hele genomet sitt sekvensert.

De har seksuell reproduksjon. To celler går sammen til en, og inne i den sammenkobla cellen skapes en zygote. Denne gjennomgår meiose og sporer formas. Cellene kan gro vegetativt enten haploid eller diploid.

S. Cervisiae har to paringstyper (haploide celler): α og a . Disse er analoger til hann- og hunnkjønn. Hormoner produsert i gjæren av en viss paringstype gjør at den kan smelte sammen med en celle av den motsatte paringstype.

Cellene har et genetisk forhåndsbestemt paringstype, men kan endre dette ved å endre gentranskripsjon.

Figur 14.4 viser livssyklusen til *S.Cervisiae*



Figur 14.4: Livssyklus til *S.Cerervisiae*. Cellene kan gro vegetativt lenge, som enten haploid eller diploide celler før en ny del av livssyklusen inntreffer.

14.5 Antifungale medisiner

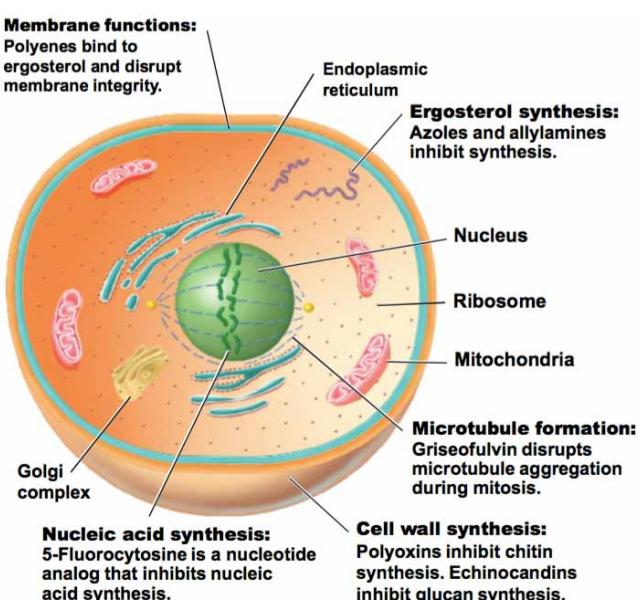
Sopp og dyr er begge eukaryoter og har dermed veldig like celler. Dette gjør det utfordrende å produsere antifungale medisiner, soppmidler, som ikke er skadelige for mennesker/dyr. Noen få medisiner virker på strukturer eller metabolske prosesser som er unike for sopp. Figur 14.5 og 14.1 viser en oversikt over forskjellige soppmidler og måter de brukes på.

Ergosterol-inhibitorer virker på soppmembrankomponenten ergosterol.

Echinocandiner inhiberer syntese av 1,3 β -D glukan (fucker celleveggen).

Andre antifungaler går etter biosyntese av folat, replikasjon og mikrotubuli(under mitose).

Ikke overraskende er motstandsdyktige sopper et økende problem.



Figur 14.5: Mål for noen antifungaler. Membran- og celleveggmålene vist i figuren finnes ikke i dyr.

Tabell 14.1: Forskjellige antifungaler.

Category	Target	Examples	Use
Allylamines	Ergosterol synthesis	Terbinafine	Oral, topical
Aromatic antibiotic	Mitosis inhibitor	Griseofulvin	Oral
Azoles	Ergosterol synthesis	Clotrimazole Fluconazole Itraconazole Ketoconazole Miconazole Posaconazole	Topical Oral Oral Oral Topical Experimental
Chitin synthesis inhibitor	Chitin synthesis	Nikkomycin Z	Experimental
Echinocandins	Cell wall synthesis	Caspofungin	Intravenous
Nucleic acid analogs	DNA synthesis	5-Fluorocytosine	Oral
Polyenes	Ergosterol synthesis	Amphotericin B Nystatin	Oral, intravenous Oral, topical
Polyoxins	Chitin synthesis	Polyoxin A Polyoxin B	Agricultural

14.6 Protister

Protister inkluderer både fototrofe og ikke-fototrofe mikrobielle eukaryoter. De er fordelt over de fleste steder i naturen, og viser stor morfologisk og fylogenetisk variasjon, mest av alle eukaryoter.

14.6.1 Diplomonader og Parabasalider

Nøkkelslekter: *Giardia*, *Trichomonas*

Diplomonader og parabasalider er unicellulære, flagellerte protister uten (tradisjonelle) mitokondrier og kloroplaster. De finnes i anoksiske miljøer, enten som symbionter eller parasitter.

Diplomonader har to cellekjerner, og mitosomer, reduserte mitokondrier. De mangler elektrotransportproteiner og sitronsyresyklusenzymene.

Til å være eukaryot har den et relativt lite genom på bare 12Mbp. De forårsaker diaré via sykdommen giardiose-

Parabasalider har et parabasal-legeme, som bla. gir støtte til cellens golgiapparat.

De mangler mitokondrier, men har hydrogenosomer for anaerob metabolisme.

De lever i urinveiene og tarmene til dyr som parasitter eller kommensale symbionter.

En kjent type er *Trichomonas vaginalis*. Gjett hvor den bor... Hint: den gir kjønnsykdommer. Genomet er så godt som tomt for introns, og det er også overraskende stort for en parasitt på 160 Mbp. Det viser også tegn til at den kan ha fått bakteriegener via horisontal genoverføring. Genomet er mye repeterende og transposable elementer.

14.6.2 Euglenozoans

Nøkkelslekter: *Trypanosoma*, *Euglena*.

Euglenozoans er encellede, flagellerte, eukaryoter. De har en krystallinsk stav i flagellen sin. De lever enten frittlevende eller parasittisk.

Kinetoplastids er en gruppe *Euglenozoans* oppkalt etter kinetoplast; en stor masse DNA i deres ene store mitokondrie.

De lever primært i vann, og spiser bakterier.

Noen er parasitter og kan være patogene for mennesker og dyr. *Trypanosoma* forårsaker afrikansk sovesyke, som gjerne er dødelig. Den lever i blodet, før den går videre til sentralnervesystemet.

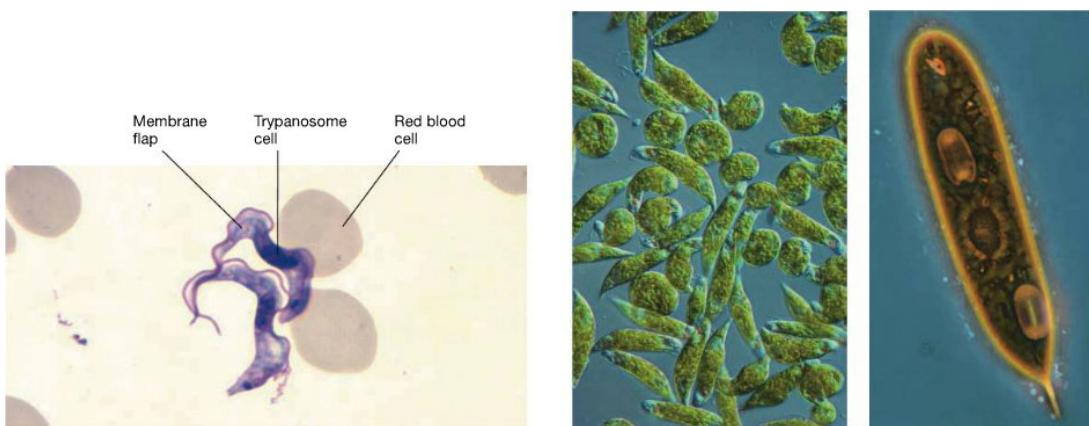
Euglenids er bevegelige mikrober som er ikke-patogene.

De er både kjemotrofe og fototrofe. De er vanligvis fototrofe, men i mørket kan de miste kloroplastene sine og leve kjemoorganotrof.

De fleste har to flageller, dorsalt og ventralt.

Euglenids kan spise bakterier ved fagocytose.

Figur 14.6 viser *Trypanosoma* (venstre) og *Euglena* (begge til høyre).



Figur 14.6: Venstre: *Trypanosoma brucei*, forårsaker afrikansk sovesyke. Midten/høyre: *Euglena*

14.6.3 Alveolates

Nøkkelslekter: *Gonyaulax*, *Plasmodium*, *Paramecium*.

Alveolates er karakterisert ved at de har **alveoli**, en sekkr under cytoplasmamembranen. Man vet ikke helt hva disse gjør, men man tror de kan bidra til å opprettholde osmotisk balanse, og gi beskyttelse. Det finnes tre viktige Alveolater: ciliater, dinoflagellater og apicomplexans.

Ciliater har fått navnet sitt fra det at de i noen livsstadier har cilia, små hår rundt hele cellen som bidrar til bevegelse.

De mest kjente ciliatene er *Paramecium*. Disse bruker cilia ikke bare til bevegelse, men også til å spise med. De har en slags proto-munn. De børster maten inn mot cellemunnen, lukker den inn i en vakuole, og sprøyter inn fordøyelsesenzymer i vakuolen.

Ciliater er unike blant protister ved at de har to typer cellekjerner: *macronuclei* og *micronuclei*.

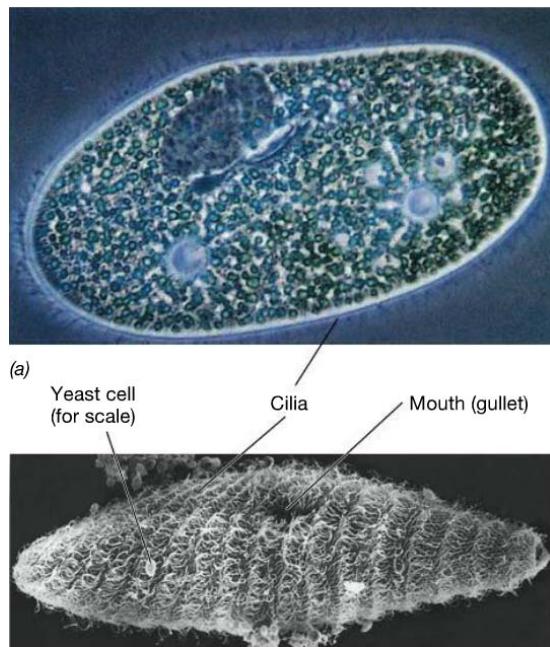
Genene i macronucleus regulerer grunnleggende cellefunksjoner som vekst og næringsopptak, mens mikronukleus har gener involvert i seksuell reproduksjon.

Reproduksjonen skjer ved en delvis fusjon av to *Paramecium*-celler og utveksling av micronuclei. De har et svært genom, med over dobbelt så mange gener som mennesker, ca 40 000, bare i makronukleus! Suck it, humans...

Mange *Paramecium* er verter for endosymbiotiske prokaryoter eller eukaryoter (vanligvis grønnalger).

Ciliater kan også være symbionter, for eksempel i rumen hos storfe.

Noen ciliater er også dyreparasitter. *Balantidium Coli* finnes i tarmene til husdyr, men kan smitte mennesker. I så fall kan de produsere dysenteriaktige symptomer. Igjen: Suck it, humans... figur 14.7 viser *Paramecium*



Figur 14.7: *Paramecium*. Øverst fasekontrast fotomikroografi, nederst scanning electron micrograph.

Dinoflagellater er en divers gruppe marine og ferskvanns fototrofe alveolater, som har fått evnen til å fotosyntetisere via sekundær endosymbiose (fig. 14.1).

Den har to flageller av forskjellige lengde, som går rundt cellen og gir den evnen til å spinne. De finnes både frittlevende og symbiotisk med koraller.

Flere typer dinoflagellater er toksiske. Tette populasjoner kan drepe fisk og forgifte mennesker når de akkumulerer. De kalles *red tide* da de avgir en rød farge i vannet.

Spesielt ille er *Pfiesteria piscicida* (piscicide betyr fiskedød på latin). Symptomer for fiskeforgiftning hos mennesker er pusteproblemer og utslett.

Apicomplexer er ikke-fototrofe obligate parasitter som forårsaker sykdom i mennesker. Mest kjent av sykdommene er malaria, forårsaket av *Plasmodium*. Dette er sykdommen som har drept flest mennesker gjennom tidene.

De er ikke bevegelige i den voksne delen av livssyklusen. De tar opp fast føde gjennom membranen, ikke ulikt sopp og bakterier.

De har organellen apicoplast. Dette er et degenerert kloroplast som har mangler pigmenter som gir fotosyntetisk evne. Apicoplasten har noen egne gener og katalyserer biosyntese av fettsyrer, isoprenoider og heme.

14.6.4 Stramenopiles

Nøkkelslekter: *Phytophtora*, *Nitzschia*, *Ochomonas*, *Macrocystis*.

Kjente organismer er Oomyceter (vannmugg), Diatomeer (kiselalger), Gullalger(chrysofytter) og Brunalger.

De karakteriseres av mange korte, hårlignende utløpere.

Det finnes både kjemeorganotrofe og fototrofe organismer.

Diatomeer inneholder over 200 forskjellige unicellulære, fototrofe mikroorganismer. De er en viktig del av planktonmiljøer. De lever i både ferskvann og i havet.

Karakteristisk for diatomeer er at de produserer en silica-cellevegg med proteiner og polysakkarider som beskytter mot predasjon. Denne kan ha mange forskjellige former. Den eksterne strukturen, *frustulen* er ofte til stede etter cellen dør og alt organisk materiale er borte.

Man regner med at de er en relativt ny art, ca. 200 millioner år gammel.

Oomycetes, også kalt vannmugg ble tidligere gruppert med sopp(muggsopp, duh.) på grunn av at den vokser filamentøst og at den har hyfer. Bortsett fra disse likhetene har de ikke spesielt mye fylogenetisk til felles med sopp. De har bla. cellulose-cellevegg, i motsetning til chitin. De har også flageller. De er dog økologisk relativt like som sopp, da de lever som nedbrytere, i vandige habitater.

Phytophthora infestans forårsaker råte på poteter og var en medvirkende faktor til potetkrisa i Irland.

Gullalger, også kalt chrysofytter får navnet sitt fra den gyllenbrunefargen, fra kloroplast-pigmentet sitt.

De fleste er encellede, og noen danner kolonier.

Brunalger er marine og flercellede. De er gjerne makroskopiske. Den største kan bli 50 meter lang!

De fleste typer tang og tare er brunalger.

14.6.5 Coccozoans og Radiolarians

Disse skiller seg fra andre protister på grunn av sine trådlignende pseudopodier.

Coccozoans inkluderer chlorarachnionfytter og foraminiferans som viktige grupper.

Chlorarachnionfytter er amøbeliknende fototrofer som finnes både marint og i ferskvann. De har tatt opp kloroplaster fra grønnalger via sekundær endosymbiose. De bruker en enkelt flagell for bevegelse.

Foraminifera er utelukkende marine organismer.

De danner skall-lignende strukturer; *tests*. Tests er laget av organisk materiale forsterket med kalsiumkarbonat. Den er ikke helt festet til organismen, og cellen kan gå delvis ut av testen når den spiser.

Testen er dog såpass tung at bakterien bare synker til bunnen av havet og blir der.

De kan ha endosymbiotiske føholt med flere typer alger.

Hvite klippene i dover er fossilerte tests.

Radiolarians

Er heterotrofe, primært marine organismer.

Har silisum-tests. Navnet kommer fra testens radiale symmetri.

14.7 Rød og grønnalger

Algene er de eneste fotosyntetiske mikroorganismene som har fått kloroplastene sine fra primær endosymbiose. Rød- og grønnalgene har klorofyll og bedriver oksygen fotosyntese.

14.7.1 Rødalger

Nøkkelslekter: *Poysiphonia*, *Cyanidium*, *Galdiera*

Rødalgene kalles også rodofytter, og finnes vanligvis i marine miljøer. Noen få finnes også i ferskvann og på landjorda. Det finnes både encellede og flercellede, og noen av de flercellede rødalgene er makroskopiske.

Rødfargen kommer fra det assessoriske pigmenter *phyocerythrin*. Jo dypere algen lever, jo mer phyocerythrin produserer den, og jo mørkere rødfarge får den.

Rødalgene er fototrofe og inneholder klorofyll a. Kloroplastene har ikke klorofyll b, men har phycobiliproteiner.

Rødalger er det man lager agar av.

Cyanidioschyzon merolae er små, med diameter på 1-2µm, og et genom på bare 16.5 Mbp, et av de minste hos fototropiske eukaryoter.

14.7.2 Grønnalger

Nøkkelslekter: *Chlamydomonas*, *Volvox*(holler!)

Grønnalger kalles også chlorofytes.

De har kloroplaster med klorofyll a og b, som gir den karakteristiske grønnfargen.

Grønnalger er nært beslektet med grønne planter, og har en lik sammensetning av fotosyntetiske pigmenter.

De fleste grønnalger lever i ferskvann, med noen i marine og terrestriske habitater.

Grønnalger har en variert morfologi, som varierer i alt fra encellede, filamentøse og koloniale. Det finnes også flercellede grønnalger.

De fleste har en kompleks livssyklus som inkluderer både seksuelle og asekuelle reproduktive stadier.

Grønnalgen *Osteococcus tauri* er en av de minste kjente eukaryotene. Den har en diameter på rundt 2 μ m, og har det minste genomet i noe kjent fototrofisk eukaryot, på 12.6 Mbp. Den brukes som modellorganisme for genomreduksjon og spesialisering i eukaryoter.

Endolitiske alger vokser inne i porøse steiner.

15 Karbon, nitrogen og svovelsyklus

15.1 Karbonsyklus

Alle næringsstoffsbykluser er koblet til karbonsyklus på en eller annen måte, men spesielt nitrogensyklusen er tett koblet, da C, N og H₂O er de viktigste bestanddelene i liv.

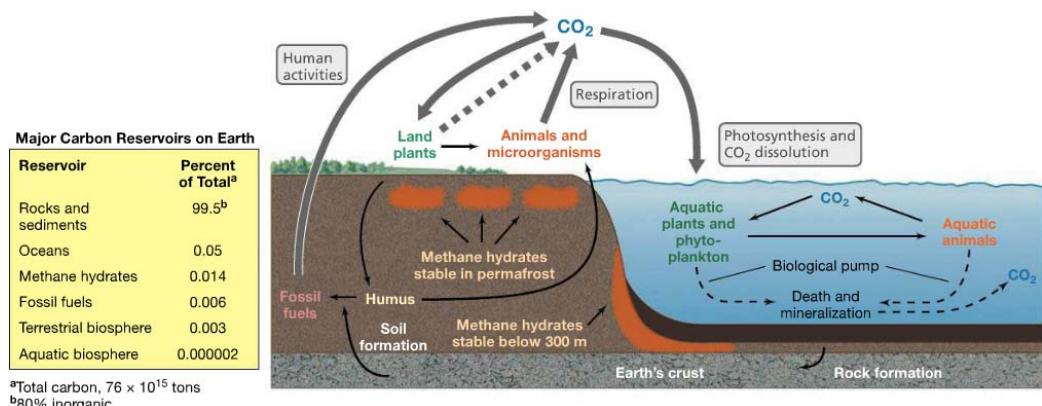
Mesteparten av jordas karbonreserver er bundet opp i inorganisk karbon i sediment og jordskorpe. Det tar dog så lang tid for CO₂ og gå ut av disse reservene at de ikke har så mye betydning i menneskelig tidsperspektiv.

Mye av det tilgjengelige karbon er i landplanter: skoger, gress, jordbruk.. Her skjer mesteparten av CO₂-fikseringen.

Det er dog enda mer karbon i dødt organisk materiale, også kalt humus(ikke maten), enn i levende organismer. Noe humus bruker flere årtier på å brytes ned, mens annet går mye fortare. Den kjappeste overføringen av karbon er via atmosfæren, i form av CO₂ via fotosyntese fra landplanter og marine mikroorganismer, og tilbake til atmosfæren via respirasjon fra dyr og kjemoorganotrofe mikroorganismer.

Mikrobiell nedbrytning av dødt organisk materiale er den viktigste bidragsyter av CO₂ til atmosfæren. Dog har menneskelig aktivitet etter den industrielle revolusjonen ført til en økning på ca. 40% av atmosfærisk CO₂.

Figur 15.1 viser en oversikt over karbonsyklus og de største karbonreservene på jorda i prosent.



Figur 15.1: Karbonsyklusen. Karbon og oksygensyklusene er nært koblet, da oksygen fotosyntese både fjerner CO₂ og produserer O₂

15.1.1 Fotosyntese og nedbrytning

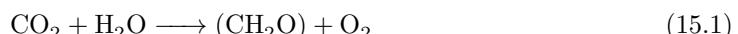
Nye organiske forbindelser syntetiserer biologisk på jorda ved CO₂-fiksering av fototrofe og kjemolitotrofe organismer. De fleste organiske forbindelser stammer fra fotosyntesen, og man kan si at fototrofer er grunnlaget for karbonsyklusen.

Fototrofe organismer finnes stort sett overalt hvor det er sol.

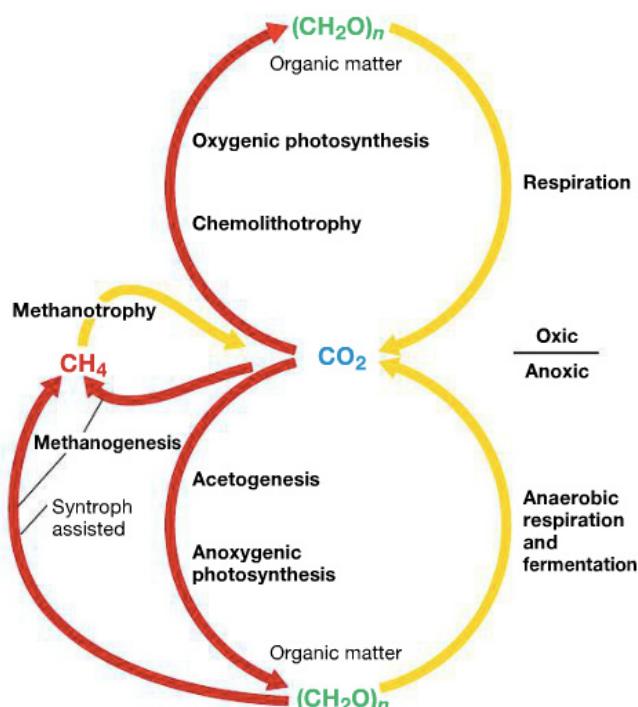
Det er to grupper oksogene fototrofe organismer: planter og mikroorganismer.

På landjorda dominerer plantene, mens mikroorganismene dominerer i vann.

Redokssyklusen for karbon, fig. 15.2, drives av lys. Den begynner med fotosyntetisk CO₂-fiksering, med lys som indirekte elektrondonor. ligning 15.1 gir en forenklet fotosynteseligning.



Fototrofe organismer driver også respirasjon, både i lyset og i mørket. Da er ligningen den motsatte av 15.1



Figur 15.2: Karbons redokssyklus. Autotrofe prosesser er i kontrast med heterotrofe. Gule piler indikerer oksidasjon, røde indikerer reduksjon

Autotrofe organismer bygger biomasse fra CO₂, og denne biomassen gir det karbonet som heterotrofe organismer trenger.

Organiske forbindelser blir brytt ned til CH₄ og CO₂. Karbondioksid produserer i anoksiske miljøer av metanogene organismer, fra reduksjon av CO₂ med hydrogen(H₂), eller ved at acetat deles til CH₄ og CO₂.

Det meste av metanet blir enten sluppet opp i atmosfæren, eller oksideres til CO₂ av metanotrofe mikroorganismer.

Metan er en svært potent drivhusgass.

15.1.2 Karbonbalanse og koblede sykluser

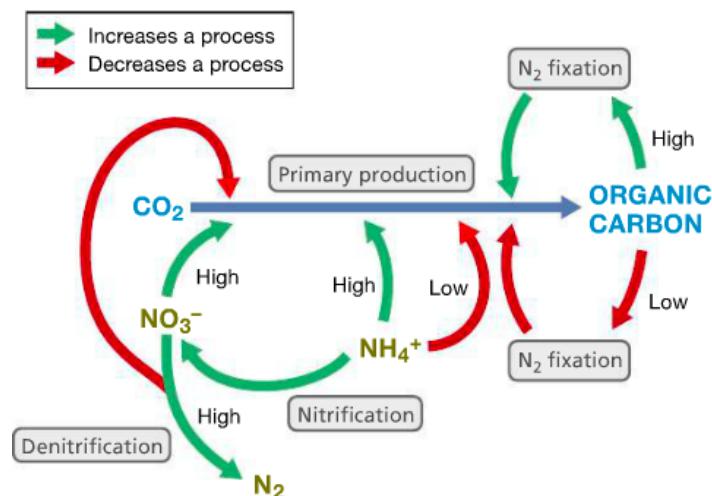
I praksis er alle næringssykluser koblede; en endring i en syklus endrer funksjonen til de andre. Spesielt nært koblet er karbon og nitrogenssyklusene. CO₂-fiksering er i direkte sammenheng

med mengden produsenter, som igjen er avhengig av nitrogen, som ofte er en begrensende faktor i vekst.

Store endringer i biomasse kan senke primærproduksjon og føre til økte CO_2 nivåer.

På samme måte stimulerer store mengder organiske karbon nitrogenfiksering, som igjen gir mer nitrogen til å danne nye primærprodusenter.

Store mengder NH_3 stimulerer primærproduksjon og nitrifisering, men inhiberer nitrogenfiksering. Store mengder Nitrat(NO_3^-), stimulerer primærproduksjon, og øker også denitrifiseringsraten, som fjerner N fra miljøet og fører til negativ påvirkning på primærprodusentene. Figur 15.3 viser en oversikt over hvordan karbon og nitogensyklusene er kobla sammen.



Figur 15.3: Koblede sykluser. Nitrogen- og karbonsyklusene er koblet sammen på mange måter.

15.1.3 Metanogenese og syntopi

De fleste organiske forbindelser oksideres av aerobe prosesser. Men siden oksygen løser seg dårlig i vann, og brukes opp når det er tilgjengelig, ender mye organisk karbon opp i anokiske miljøer.

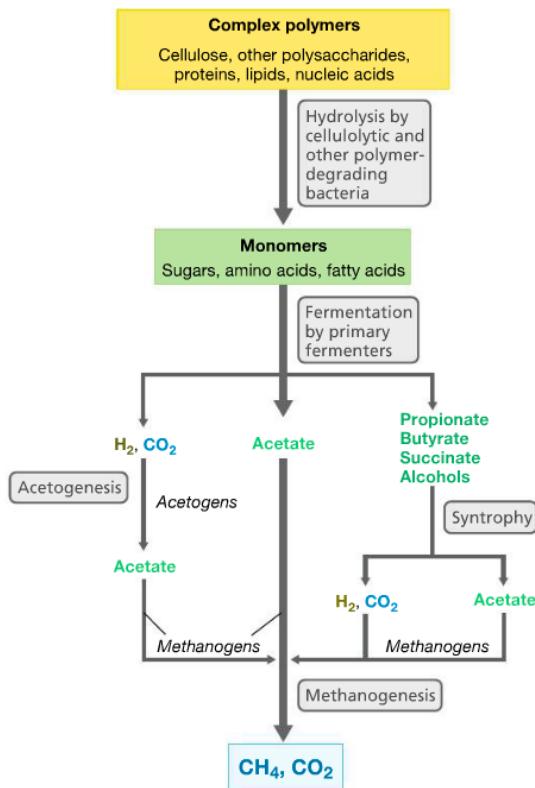
En viktig prosess i anokiske miljøer er metanogenese, produksjon av CH_4 med H_2 som elektrodonor.

De fleste metanogener bruker CO_2 som terminal elektronakseptør. Kun noen få andre substrater, hovedsakelig acetat, konverteres direkte til CH_4 av metanogener.

For å konvertere de fleste forbindelser til metan må metanogenene samarbeide med *syntrope* organismer, som gir dem forgjengere til metanogenese.

Syntropi går ut på at to eller flere organismer samarbeider om å anaerobt degradere organiske forbindelser.

Figur 15.4 viser hvordan anoksisk dekomposisjon skjer via syntropi.



Figur 15.4: Anoksisk nedbrytning. I anoksisk dekomposisjon samarbeider fermentative anaerobe organismer om å konvertere komplekse organiske forbindelser til metan og CO₂.

Polysakkarker, proteiner, lipider og nukleinsyrer fra døde organismer ender opp i anoksiske habitater, og blir katabolisert.

Hydrolyse av disse polymerene skaper monomerer. Disse blir igjen elektronondonorer.

Syntropiske bakterier er sekundærfermenterer, siden de fermenterer fermenteringsprodukter og skaper H₂, CO₂ og acetat.

For at de syntrope bakteriene skal klare å vokse er de avhengige av at en annen organisme forbruker H₂, og de kan ikke vokse i ren kultur. Det teoretiseres at H₂ overføres via organismer ved direkte kontakt, med kabellignende strukturer.

Grunnen til at de trenger en H₂-konsument er at det forskyver likevekten i flere av fermenteringsreaksjonene i den ønskede retningen.

Termitters karbonmetabolisme: metanogene symbionter og acetogene bakterier.

Mange anaerobe protister spiller en viktig rolle i karbonsyklusen, og inni disse protistene lever H₂-forbrukende endosymbiotiske *archaea*.

Et eksempel på dette skjer i baktarmen til termitter. Her er metanogene tilstede inne i protister.

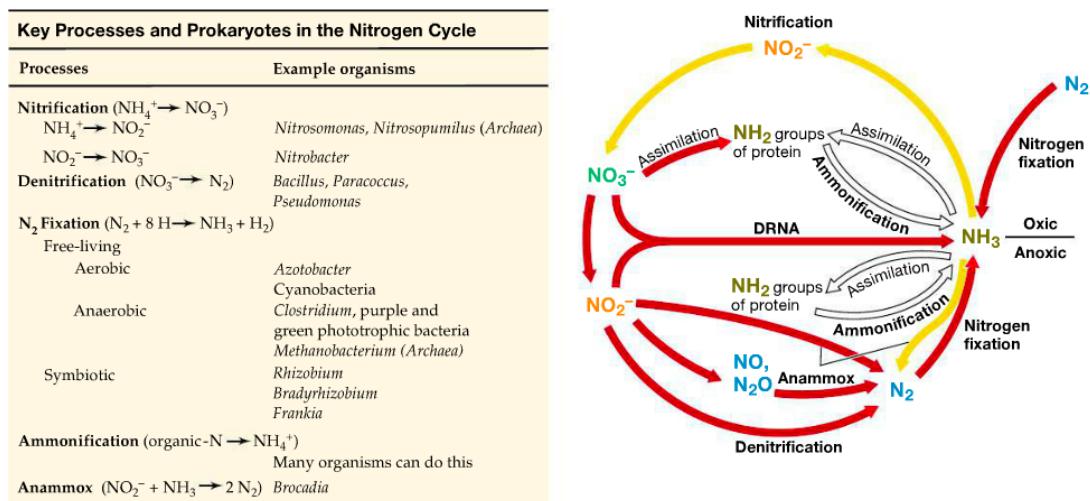
Viktige prosesser her er acetogenese og metanogenese. De metanogene symbiontene er av genera *Methanobacterium* eller *Methanobrevibacter*.

I baktarmen bor acetogene bakterier og endosymbiotiske metanogener, som forbuker H₂ fra glukosefermentering fra cellulolytiske protister. Acetogenene er ikke endosymbionter, men bor i baktarmen og forbruker H₂ fra primærfermenteringen og reduserer CO₂ for å lage acetat.

Acetogenene kan i motsetning til metanogene også fermentere glukose og metoksylerte aromatiske forbindelser direkte til acetat. Dette er spesielt viktig for termitter, som lever på treverk. Lignin brytes ned av acetogenene, og acetatet de produserer er termittens primærenergikilde.

15.2 Nitrogensyklus

Nitrogensyklusen innebefatter fire viktige mikrobiale nitrogentransformasjoner: **nitrifikering**, **denitrifikering**, **annamox** og **nitrogen fiksering**. Figur 15.5 viser de viktigste prosessene i nitrogensyklusen.



Figur 15.5: redokssyklus for nitrogen. Oksidasjonsreaksjoner vises ved gule piler, og reduksjoner med røde piler.

15.2.1 Nitrogenfiksering og denitrifikering

Den mest utbredte og stabile formen av nitrogen er nitrogengass (N_2). Men det er kun et lite antall prokaryoter som faktisk kan bruke N_2 som nitrogenkilde. Som nevnt tidligere kalles denne prosessen nitrogenfiksering, og den foregår essensielt sett som i ligning 15.2



Mesteparten av nitrogenet som resirkuleres på jorda er allerede fiksert, det vil si N + andre grunnstoffer, som ammoniakk(NH_3) eller nitrat(NO_3^-).

Når NO_3^- brukes som elektronakseptør i anaerob respirasjon er sluttproduktet vanligvis N_2 , NO eller N_2O . Tabell 15.1 viser en oversikt over forskjellige nitrogenfikserende mikroorganismer. Merk at alle kjemolitrofe frittlevende anaerober er *archaea*.

Tabell 15.1: Noen nitrogenfikserende organismer

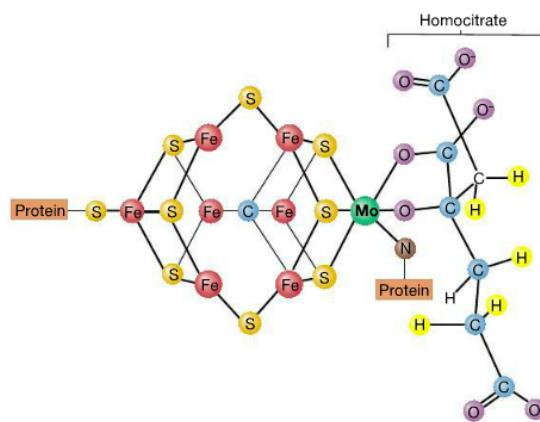
Free-living aerobes		
Chemoorganotrophs	Phototrophs	Chemolithotrophs
Azotobacter, Azomonas, Azospirillum, Klebsiella, ^b Methylomonas	Cyanobacteria (e.g., Anabaena, Nostoc, Gloeothece, Aphanizomenon)	Alcaligenes Acidithiobacillus
Free-living anaerobes		
Chemoorganotrophs	Phototrophs	Chemolithotrophs ^c
Clostridium Desulfotomaculum	Purple bacteria (e.g., Chromatium, Rhodobacter) Green bacteria (e.g., Chlorobium) Heliobacteria	Methanosaerina Methanococcus Methanocaldococcus
Symbiotic		
With leguminous plants	With nonleguminous plants	
Soybeans, peas, clover, etc. with <i>Rhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i>	Alder, bayberry, autumn olive, many other bushy plants, with the actinomycete <i>Frankia</i>	

^aOnly some common genera are listed in each category; many other nitrogen-fixing genera are known.

^bNitrogen fixation occurs only under anoxic conditions.

^cAll are Archaea.

Nitrogenfiksering katalyses av enzymkomplekset **nitrogenase**. Nitrogenase består av to proteiner; dinitrogenase og dinitrogenase reduktase. Begge proteinene inneholder jern, og dinitrogenase inneholder også molybden. Jernet og molybdenet går sammen og danner komplekset jern-molybden kofaktor(FeMo-co). Det er i dette aktive setet at N_2 -reduksjonen foregår. FeMo-co er kjemisk sett $\text{MoFe}_7\text{S}_8^*$ Homositrat. Figur 15.6 viser kofaktoren.

**Figur 15.6:** FeMo-co.

Det finnes to alternative nitrogenaser uten molybden. I deres kofaktorer er molybden byttet ut med enten vanadium eller jern, som da er eneste metallet i enzymet. Arken *Methanosaerina*

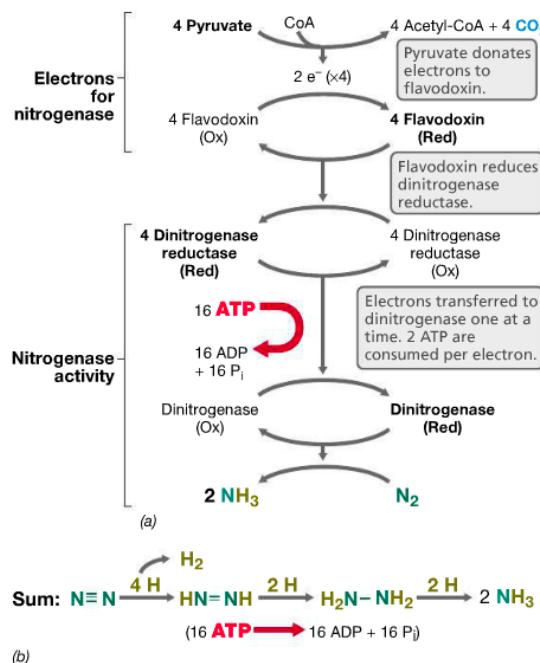
barkeri er metabolsk fleksibel og har gener som koder for nitrogenase med molybden, vanadium og jern.

Som nevnt i tidligere kapitler inhiberes nitrogenfiksering av oksygen, som binder seg irreversibelt til, og deaktivérerer, nitrogenase reduktase. Aerobe nitrogen-fikserende bakterier har derfor strategier for å fjerne/skjerme oksygen fra områdene der det skjer nitrogenfiksering.

Dette kan skje ved bruk av slim, respirasjon(forbruk av O₂), kompartmentalisering ved heterocyster eller konformasjonsbeskyttelse.

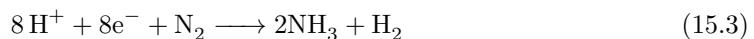
Elektronflyt i nitrogenfiksering:

Aktivering og redusjon av N₂ er svært energikrevende, da en trippelbinding må brytes. For å redusere N₂ til NH₃ kreves det seks elektroner, og det skjer i flere reduksjonssteg (fig 15.7). Elektronene flytter seg: Elektrondonor → dinitrogenase reduktase → dinitrogenase → N₂



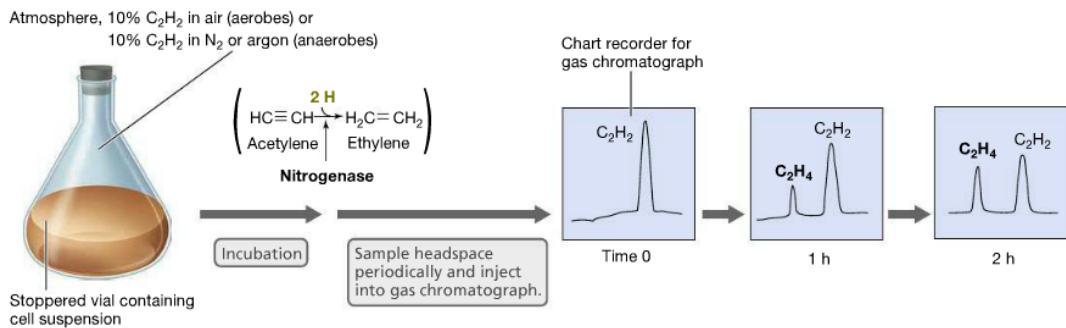
Figur 15.7: Nitrogenfiksering ved nitrogenasekomplekset

Nitrogenreduksjonen kan oppsummeres i ligning 15.3. Elektronene overføres via jern-svovel proteinene ferredoxin eller flavodoxin.



For å undersøke og kvantifisere nitrogenfiksering brukes ofte noe som kalles *acetylene reduction assay*(15.8). Denne metoden utnytter det at nitrogenaser ikke er N₂-spesifikke og bruker i stedet et annet trippelbundet substrat, acetylen, for å katalysere reaksjonen C₂H₂ → C₂H₄, der acetylen blir redusert til etylen.. Denne reduksjonen krever bare to elektroner og går mye fortare enn nitrogenreduksjon.

en prøve inkuberes med acetylen og gassfasen analyseres senere ved gasskromatografi for å se etter etylen.

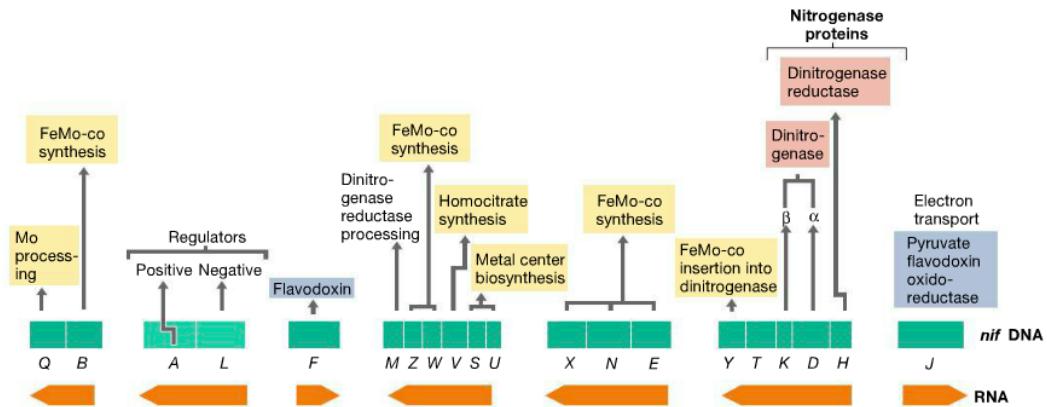


Figur 15.8: Acetylene reduction assay av nitrogenase aktivitet. Ved tid 0 vises ingen etylen, men når forsøket går fremover produseres etylen i samme kvanta som acetylen forbrukes

Regulering av nitrogenase-syntese

Regulering av nitrogenase-syntese i *Klebsiella pneumoniae*, en kjemoorganotrof bakterie, danner et regulon kalt *nif-regulonet* (fig 15.9).

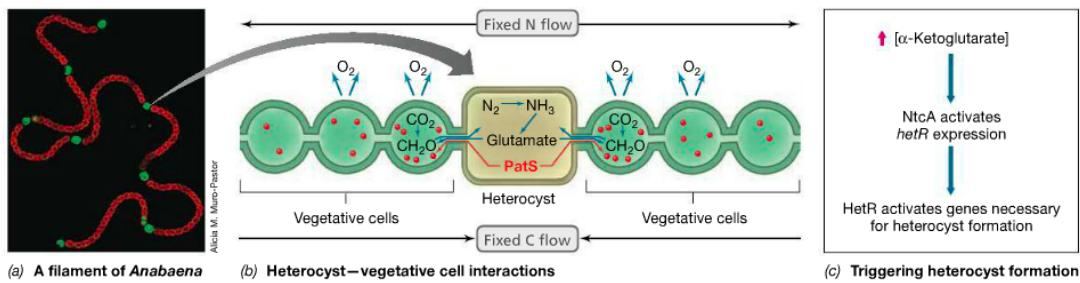
nif-regulonet består av 20 gener organisert i operoner, så gener med like produkter transkriberes sammen. Det inneholder gener for nitrogenasestruktur, FeMo-co syntese, og flere reguleringsgener. Nitrogenfiksering undertrykkes av O₂ og fiksert nitrogen. Mye av denne reguleringen skjer ved uttrykkelse av *nif* gener. NH₃ produsert av nitrogenase fungerer ikke som en repressor, da den forbrukes nesten med en gang. Men hvis NH₃ er i overskudd, som f.eks i miljøer eller kultur med høy [NH₃] undertrykkes nitrogenase-syntese. Dette er for at ATP ikke skal kastes bort på å lage NH₃ når det allerede er tilgjengelig.



Figur 15.9: nif-regulonet Proteiner som katalyserer FeMo-co syntese i gult.

Som nevnt tidligere danner cyanobakterier heterocyster for å skille O₂ og nitrogenase i forskjellige rom. Heterocystedannelse i *Anabaena* stimuleres av nitrogenmangel, og kun noen spesifikke celler i filamentet skaper heterocyster. Dette skjer i et relativt jevnt mønster og en under streng cellulær kontroll, via regulatorene PatS og PatA.

Dette er et unikt eksempel på multicellulær mønsterdannelse i prokaryoter. Figur 15.10 viser en oversikt over heterocystedannelsen.



Figur 15.10: Regulering av heterocystdannelse. a) fluorescens mikroskopisk bilde. b) molekylfordeling i heterocyster. Fotosyntetisk fiksert karbon i vegetative celler overføres til heterocysten, mens fiksert nitrogen fra heterocystene deles med de vegetative cellene. Proteinet PatS fordeles også til naboceller, og inhiberer heterocystformasjon. c) reaksjonskaskade for heterocystdannelse.

15.3 Svovelcyklus

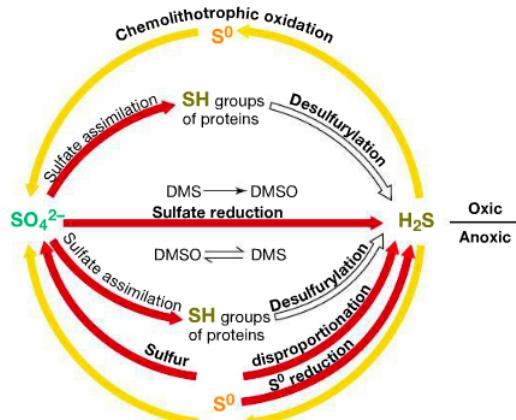
Mikrobielle svoveltransformasjoner er enda mer komplekse enn de av nitrogen.

Dette kommer både av at svovel kan ha mange oksidasjonstall, og at mange svoveltransformasjoner skjer spontant(abiotisk). På tross av de mange oksidasjonsstatene til svovel, er det bare tre som er viktige i naturen:

- 2: (sulfhydryl, R-SH og sulfid, HS⁻)
- 0 : (Elementært svovel, S⁰)
- +6: (Sulfat, SO₄²⁻)

Mye svovel, spesielt SO₂ går inn i svovelcyklen fra menneskelig aktivitet, spesielt forbrenning av fossilt brennstoff.

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>Desulfurobacter</i> , many hyperthermophilic Archaea
Sulfur disproportionation (S ₂ O ₃ 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 → DMS)	Many organisms can do this
Desulfurylation (organic-S → H ₂ S)	Many organisms can do this



Figur 15.11: Redokssyklus for svovel. Gule piler indikerer oksidasjoner, og røde piler indikerer reduksjon. Reaksjoner uten redoks i hvitt.

15.3.1 Hydrogensulfid og sulfatreduksjon

En viktig svovelgass er hydrogensulfid(H₂S). Det produseres av bakteriell sulfatreduksjon eller slippes ut fra vulkaner og varme svovelkilder.

H₂S er veldig reaktivt, men det eksisterer allikevel i forskjellige former, avhengig av pH. Ved pH<7 er det mest H₂S og ved pH>7 er det mest av de mindre reaktive HS⁻ og S²⁻. Alle tre typene kalles sulfid.

Sulfat-reduserende bakterier finnes i mange forskjellige deler av naturen. I anoksiske habitater

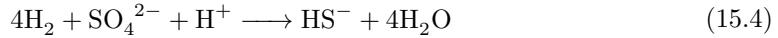
som ferskvannssedimenter og jord, er reduksjonen begrenset av SO_4^{2-} -tilgjengelighet. I marine sedimenter er sulfatredusjon begrenset av tilgang på karbon, og kan øke betydelig ved influx av biologisk materiale. Pga. dette kan dumping av søppel og kloakkavfall i ahvet føre til økt sulfatredusjon. Hydrogensulfid er giftig for mange dyr og planter, og økt sulfatredusjon kan derfor føre til massedød.

Biokjemi i sulfatredusjon

Redusjon av SO_4^{2-} til H_2S krever åtte elektroner og går gjennom mange steg. For at SO_4^{2-} skal reduseres må det først aktiveres i en reaksjon som krever ATP. Enzymet ATP sulfurylase katalyserer feste av SO_4^{2-} til en av ATPs fosfatgrupper. Dette danner APS(Adenosine phosphosulfate). Dette øker reaksjonens E_0 til ca 0V, som gjør at sulfat kan reduseres med en elektronondonor som NADH. Ved dissimilativ sulfatredusjon blir SO_4^{2-} i APS redusert direkte til SO_3^{2-} av APS reduktase, med frigjøring av AMP. Ved assimilativ reduksjon blir enda en fosfatgruppe lagt til APS før SO_4^{2-} reduseres. Produktet er også her SO_3^{2-} , som videre reduseres til H_2S av enzymet sulfitt reduktase.

Ved dissimilativ sulfatredusjon blir proton motive force dannet ved elektrontransportreaksjoner som danner ATP via ATPase. En viktig elektronbærer er cytochrome c3. Denne overfører elektroner fra periplasmisk hydrogenase til det membranbundede proteinkomplekset Hmc. Enzymet hydrogenase spiller en viktig rolle i sulfatredusjonen. H_2 krysser cellemembranen og oksideres av periplasmisk hydrogenase til elektroner og protoner som bidrar til å skape proton motive force.

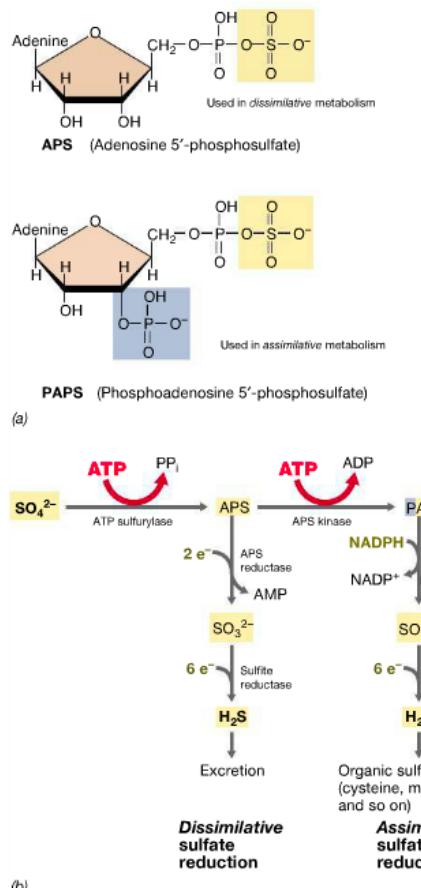
For hver SO_4^{2-} som reduseres produseres netto 1 ATP, via reduksjonen i ligning 15.4.



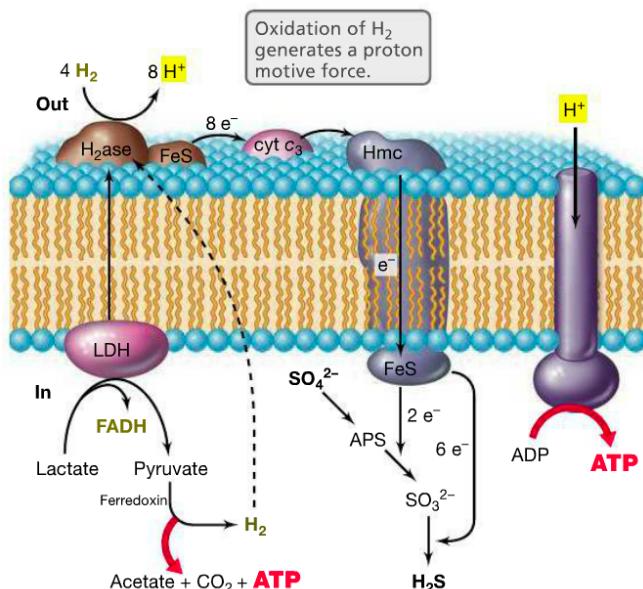
Når laktat eller pyruvat brukes som elektronondonor, produseres ATP ikke bare fra proton motive force, men også ved substratnivåfosforylering ved pyruvatoksidasjen. Marine sulfatreduserende bakterier kobler acetat/fettsyre oksidasjoner og sulfatredusjon, som vist i ligning 15.5.



Figur 15.12 viser hvordan sulfat aktiveres og reduseres. Figur 15.13 viser en oversikt over elektrontransport og energikonservering over membranen i sulfatreduserende bakterier.

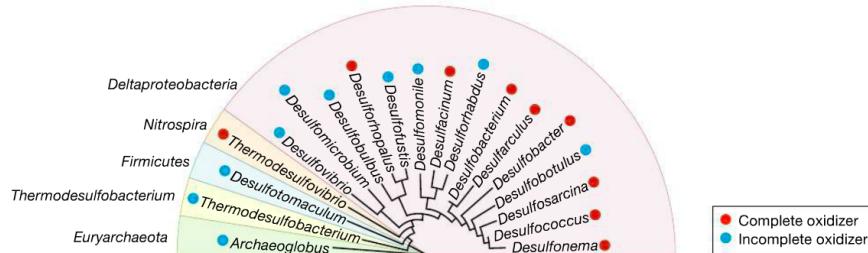


Figur 15.12: Aktivert sulfat og biokjemi for sulfatredusjon To forskjellige former aktivert sulfat kan lages, begge ADP-derivater



Figur 15.13: elektrontransport og energikonservering i sulfatreduserende bakterier

Nøkkelslekter: *Desulfuromonas*, *Wolinella*, *Sulfolobus* Dissimilativt sulfatreduserende prokaryoter finnes i fem forskjellige fyla. figur 15.14 viser en oversikt over de forskjellige.



Figur 15.14: Dissimilativt sulfat-reduserende bakterier de røde sirklene viser komplett oksidasjon, de som kan oksidere både acetat og CO₂. Blått indikerer ufullstendig oksidasjon, de kan ikke oksidere acetat.

16 Pattedyr som mikrobielt habitat

16.1 Pattedyrs mage

Pattedyrs levevis og mikrobielle mage/tarm flora påvirkes i stor grad av diett.

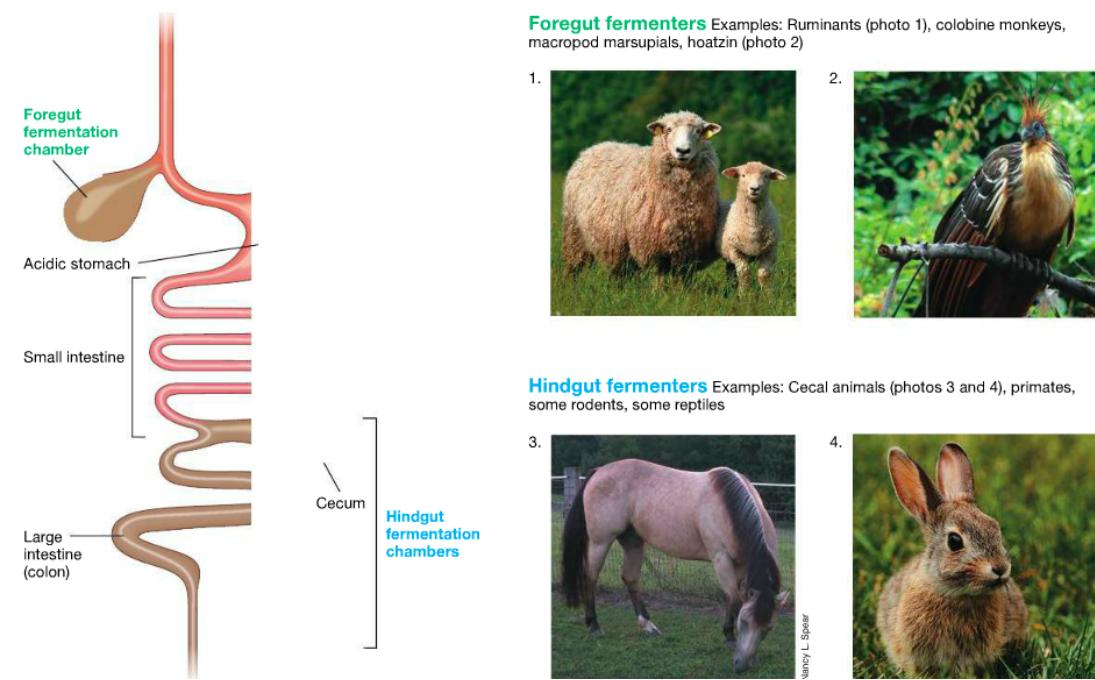
Det er tre vanlige diettpreferanser for patteredyr: **Herbivore**: spiser planter, **Carnivore**: spiser kjøtt og **omnivore**, som spiser begge deler.

De aller fleste pattedyr har et tarmsystem som benytter seg av mutualistiske forhold med mikroorganismer. En viktig del av fordøyelsen hos pattedyr kommer fra mikrobiell fermentering.

Monogastriske dyr, med en enkelt "mage", får en god del av energien fra mat ved hjelp av mikrobiell fermentering, mens herbivore er helt avhengig av fermenteringen. Spesielt evnen til å katabolisere cellulose er veldig viktig for å utnytte energien i plantekost for herbivorer.

I planteetere er det to former for fordøyelse, formage(for gut)- og bakk mage(hindgut)-fermenterer. Ved formagefermentering fermenteres maten før tynntarmen, og finnes i drøvtyggere, pungdyr og en form for apekatt (colobine). Næringsstoffer fra maten fordøyes av mikrobiota før den går inn i magesekken og tynntarmen.

Hester og kaniner bruker bakk mage-fermentering. De har bare en mage, men bruker et organ kalt *cecum*, et organ mellom tynn- og tykktarmen til fermentering. I cecumet bor det fiber- og cellulosefordøyende mikroorganismer. Figur 16.1 viser en oversikt over forskjeller i fermentering for for-og bakk magefermenterer.



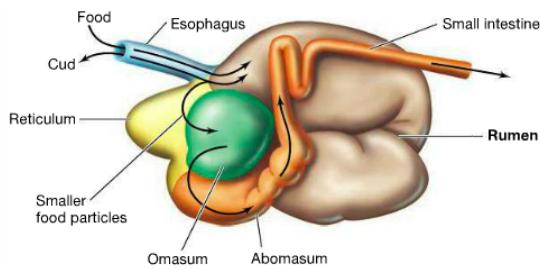
Figur 16.1: Forskjellig organisering av tarm i vertebrater.

16.1.1 Drøvtyggere

Drøvtyggere har et spesielt fordøyelsesorgan, *rumen*, der cellulose og andre plantepolysakkardier fordøyes av mikroorganismer. Eksempler på ruminante dyr, drøvtyggere, er kuer, sauvar, kameler, bøffel, elg, og mange flere. De er jordas dominerende planteetere.

Rumen: anatomi og aktivitet.

Vitkige trekk ved Rumen er stort volum (100-150 liter i ku), og posisjonen i tarmsystemet, foran magen. Rumen holder konstant temperatur på rundt 39°C, har en pH på 5.5-7 og et anoksisk miljø. Figur 16.2 viser rumen i forhold til andre deler av fordøyelsessystemet.

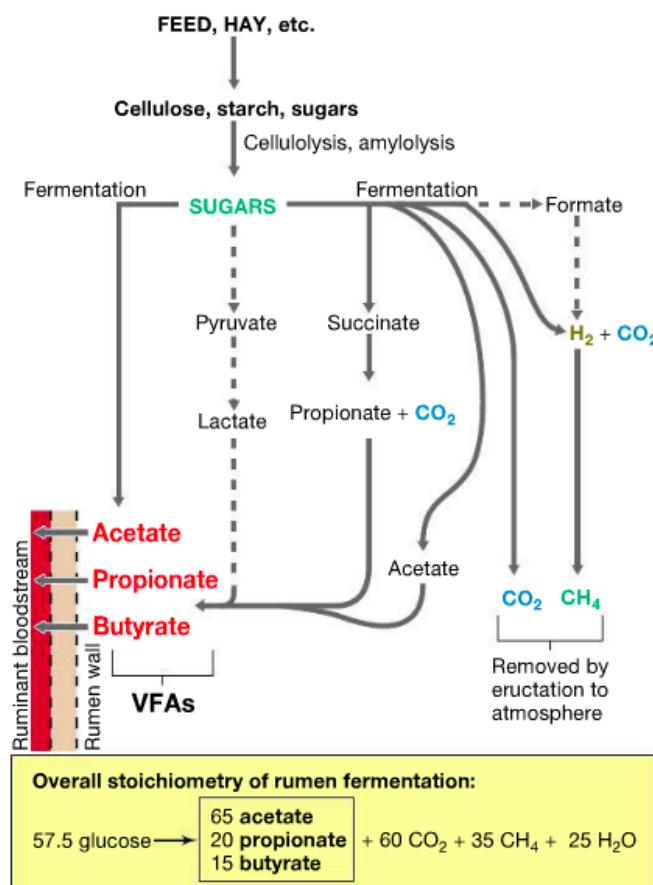


Figur 16.2: Kuens rumen og tarmsystem Abomasum er kuens variant av menneskets sure mage.

Når kua svelger maten sin går maten inn i reticulum, det første av fire ”mager”. Delvis fordøyd plantemateriale flytter seg mellom rumen og reticulum, gjerne kalt *reticulo-rumen* sammen. Reticulum fungerer først og fremst for å samle små matpartikler og flytte det til omasum. Større matpartikler (cud) blir fordøyd på nytt.

Mikrobiell fermentering i rumen: Mat kan være i rumen i mellom 20-50 timer. I denne perioden hydrolyses cellulose til glukose som så fermenteres med forskjellige fettsyrer som fermenteringsprodukt, sammen med gassene CO₂ og CH₄. Syrene går inn i blodbanen og ok-

sideres av dyret som energi. Gassene rapes opp og ødelegger atmosfæren. Thanks a lot, cow... Rumen inneholder masse bakterier, 10^{10} – 10^{11} bakterier pr. gram mat i rumen. De fleste bakteriene er festet til matpariklene, og følger maten gjennom tarmsystemet, der det blir fordøyd. Bakteriene er i tillegg til sin rolle som fermenterer en viktig kilde til protein og vitaminer. Figur 16.3 viser en oversikt over biokjemiske reaksjoner i rumen.



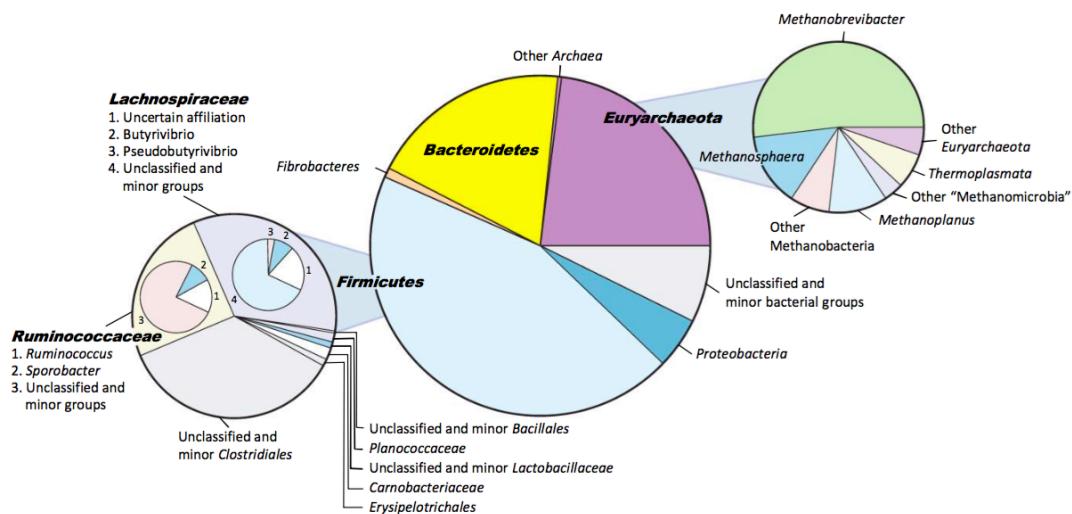
Figur 16.3: Biokjemiske reaksjoner i rumen. De viktigste reaksjonsveiene er hele streker.

Rumenbakterier:

I rumen dominerer anaerobe bakterie, da det er et anoksisk rom.

Det er antatt at det er rundt 300-400 forskjellige bakterietyper i en vanlig rumen. Figur 16.4 viser en oversikt over et gjennomsnittlig rumenbiom.

Firmicutes og *bacteroidetes* er de dominerende *bacteria* i rumen, mens så godt som alle *archaea* er metanogene.



Figur 16.4: Mikrobielle samfunn i rumen Informasjonen sier mest om diversitet, ikke så mye om relative mengder.

Mikrobiomet i rumen er dynamisk, og de dominerende mikroorganismene forandres ved endring av diett fra cellulose-rik (med *Fibrobacter* og *Ruminococcus* som viktige cellulolytiske bakterier) til stivelse-rik (med *Ruminobacter* og *Succinomonas* i stort antall). Hvis dyret får en pektin-rik diett blir *Lachnospira* en vitkig del av mikrobiomet. Noen av fermenteringsproduktene blir brukt av sekundærfermenterer til å generere energi.

Endringer i rumens mikrobiom: ved kjappe endringer i kostholdet, kan uønskede bakterier vokse fram, som produserer andre, sterkere syrer enn de vanlige, som igjen senker pH i rumen og tar knekken på vanlige rumenbakterier. Dette kan føre til sykdom og død hos dyret. Framvekst av noen uvanlige rumenbakterier kan også ha positiv helseeffekt. Et eksempel er bakterien *Synergistes jonesii* som kan konvertere toksiske substanser i planter som ellers har høy næringsverdi til ikke-toksiske metabolitter, som lar dyret spise planten. Dette er et interessant forskningsområde.

17 Human mikrobiom og menneske-mikrobe interaksjoner

Det finnes mange eksempler på menneske-mikrobe interaksjoner.

De kan bidra til fordøyelse, syntetisere næringsstoffer, forsvare mot skadelige mikrober (probiota), indusere genekspresjon i verten, og de kan være sykdomsfremkallende.

17.1 Kolonisering

Før fødsel blir barnet utviklet i et steril miljø, og det er først ved fødselen at kolonisering av mikroorganismer begynner.

Forskjellige bakterier koloniserer forskjellige deler av kroppen på forskjellige tidspunkter. I tillegg er det stor diversitet i menneskets normale mikroflora, og mikroflora kan variere stort selv mellom individer i samme populasjon.

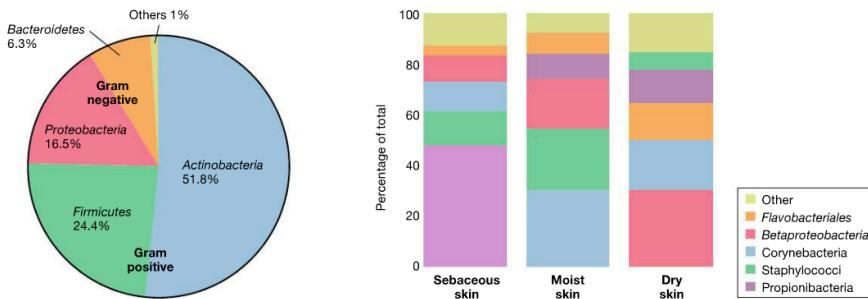
Siden kroppen har så mange forskjellige mikromiljøer både internt og eksternt har disse miljøene også forskjellig mikroflora.

Kolonisering skjer gjerne ved mukosale membraner, ved epitelceller som interagerer med det

eksterne miljøet. Epitelceller med slim, mucus, fjerner ofte mikrober ved fysiske prosesser, som nysing, men noen mikroorganismer kan kolonisere også slimhinnene.

17.2 Hudens mikroflora

Figur 17.1 viser en oversikt over hudens mikroflora.



Figur 17.1: Hudens mikroflora dataene stammer fra analyse av huden til 10 friske mennesker

Huden er et variert økosystem med flere mikroøkosystemer, blant annet tørr hud, fuktig hud og fet hud. Som figuren over viser har hvert mikroøkosystem sin egen unike sammensetning av mikroorganismer.

Igjen sier ikke figuren så mye om det totale antallet mikroorganismer, men mer om diversitetsforholdet.

Eukaryote mikroorganismer holder også til på huden, med spesielt forskjellige sopptyper, vanligst av typen *Malassezia*. Hos personer med nedsatt immunforsvar kan sopp kolonisere huden og skape alvorlige infeksjoner.

Mange faktorer påvirker hudens mikrobiom, bla. været, personlig hygiene, og alder. Unger har en mer variert mikroflora, og større sjanse for å ha patogener til stede på huden

17.3 Munnens mikroflora

Munnen er, som huden, et økosystem med flere lokale mikromiljøer som alle kan ha vekstbedingelser for forskjellige mikroorganismer.

Spytt inneholder næringsstoffer, men også lysozym og lactoperoksidase, som dreper bakterier. På tross av spyttets antimikrobielle effekt er det såpass mye næringsstoffer nær overflater som tenner og gom at bakterier kan vokse og forårsake skade og sykdom.

Bakterier i voksnede tenner er anaerobe og danner biofilm.

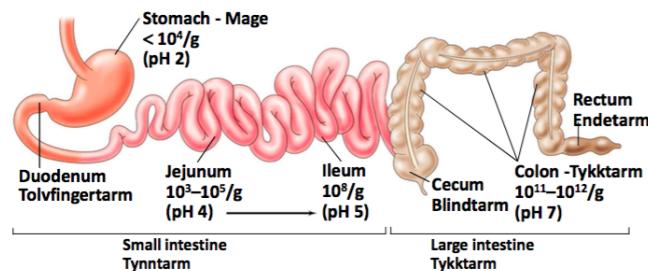
Oral mikroflora: I munnen er det stor diversitet i mikroorganismer, men et flertall har fukultativt aerob metabolisme. Det finnes dog noen obligate anaerobe og med aerob metabolisme. Det er mest av bakterier fra fyla *Firmicutes*, og *Streptococcus* er det vanligste genus, og kanstå for så mye som 25% av bakteriene i munnen til noen mennesker. Andre vanlige genera er *Abiotrophia*, *Gemella* og *Granulicatella*.

17.4 Fordøyelseskanalens mikroflora

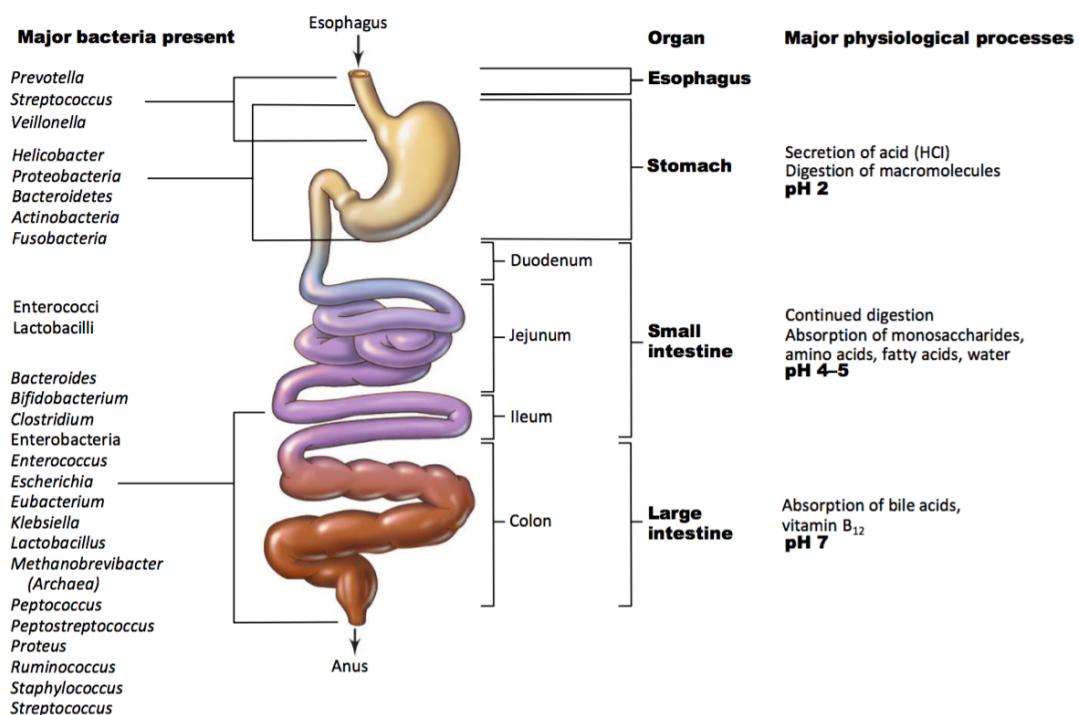
Vi deler her opp fordøyelskanalen i mage, tynntarm og tykktarm. Fordøyelsekanalen har et overflateareal på ca. 400m^2 og består av ca. 10^{14} mikrobielle celler, der de fleste er bakterier. Næringsstoffene går nedover fordøyelsessystemet, og møter mange forskjellige mikrobielle miljøer.

Figur 17.2 og 17.3 viser oversikt over menneskets tarmsystem og mengde/type prokaryote i

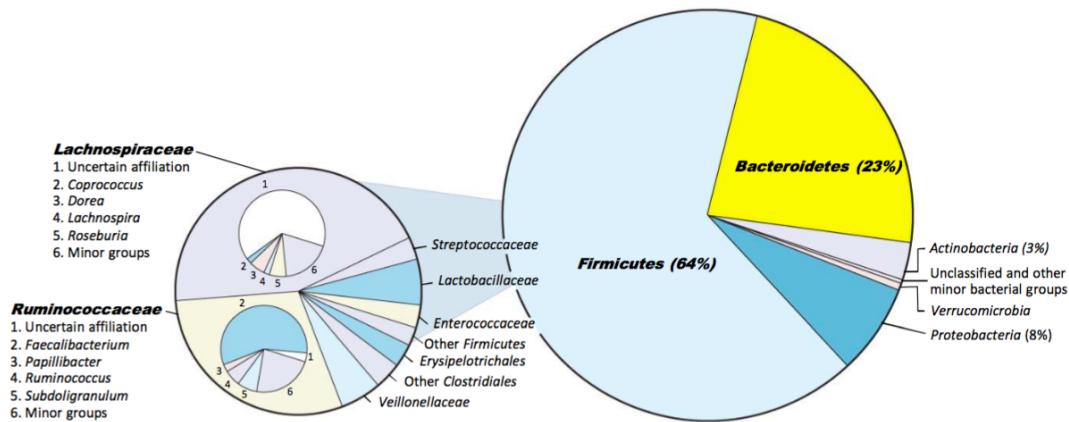
de forskjellige delene, mens 17.4 sier noe om sammensetningen av forskjellige typer bakterier i tykktarmen.



Figur 17.2: Prokaryote i menneskets tarm



Figur 17.3: Mikroflora i menneskets fordøyelsessystem Bakteriene presentert representerer et gjennomsnittlig friskt voksent menneske.



Figur 17.4: Mikrobesamfunnet i tykktarm hos mennesket basert på 16s sekvensering

Magen

Magen fungerer som en kjemisk barriere til resten av fordøyelsessystemet, på grunn av den lave pH-en (rundt 2). Det er allikevel bra med bakterier i magen.

De aller fleste mager inneholder flere typer gram+ bakterier, og *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actionbacteria* og *Fusobacteria*. Den vanligste enkeltorganismen i magen er *Helicobacter pylori* som har en tendens til å kolonisere mageveggen, og kan forårsake magesår.

Tynntarmen

Tynntarmen har to distinkte miljøer i *duodenum* (tolvfingertarmen) og *ileum*, koblet sammen av *jejunum*. Tolvfingertarmen ligger nærmest magen og har en relativt sammenlignbar mikroflora og pH. Fra tolvfingertarmen og nedover mot ileum øker pH-en gradvis, og det blir flere og flere bakterier (ref. figur 17.3). I nedre ileum er det størst antall bakterier (i tynntarmen), på tross av at miljøet blir stadig mer anoksisk. Typiske bakterier her er fusiforme anaerobe bakterier.

Tykktarmen

Ileum går inn i blindtarmen, som kobler tynn og tykktarmen. I tykktarmen er det et enormt antall prokaryoter. Her skjer det primært fermentering.

Bakteriene som holder til her lever på næringstoff fra fordøyd mat.

Det er fakultative aerobe tilstede, nevneverdig *E.Coli*, men de er i undertall i forhold til de andre bakteriene. Det lille oksygenet som er tilstede forbrukes av de fakultativt aerobe, og gjør tarmen primært anoksisk.

Det er ikke uvanlig med opp mot 10^{11} obligate anaerobe prokaryoter pr. gram i tykktarmen. Mer enn 99% av alle bakterier er *Bacteroidetes* og gram-positive arter. Det er vanligvis ikke protister til stede men de kan komme inn og forårsake infeksjoner ved f.eks forurenset vann.

Produkter av tarmens mikroflora

Tarmens mikroorganismer produserer mange viktige stoffer for oss, og mengden avhenger av diett.

Viktige metabolitter er vitamin B₁₂ og vitamin K. Mikroorganismer syntetiserer også mange enzymer som hjelper til med å konvertere komplekse karbohydrater til monosakkarker og produksjon av reaktive fettsyrer.

1/3 av vekta av bæsjen din er bakterier. (poo-emoji)

Tabell 17.1 viser en oversikt over produksjon og metabolitter fra mikroorganismer i tarmen.

Tabell 17.1: Biokjemiske og metabolske bidrag fra tarmsystemets mikroorganismer

<i>Process</i>	<i>Product</i>
Vitamin synthesis	Thiamine, riboflavin, pyridoxine, B ₁₂ , K
Gas production	CO ₂ , CH ₄ , H ₂
Odor production	H ₂ S, NH ₃ , amines, indole, skatole, butyric acid
Organic acid production	Acetic, propionic, butyric acids
Glycosidase reactions	β-Glucuronidase, β-galactosidase, β-glucosidase, α-glucosidase, α-galactosidase
Steroid metabolism (bile acids)	Esterified, dehydroxylated, oxidized, or reduced steroids

Mikrobesamfunnet i tarm og fedme

Man tror at mikroorganismer i tarmen har en effekt på overvekt i mennesker. Dette baserer seg på studier på mus som har vist at overvektige mus har en annen sammensetning av mikrober i magen enn vanlige muss, med flere *Fimicutes* og metanogene *Archaea*, med halvparten så mange *Bacteroidetes*.

I mennesker har man sett at også mennesker som er overvektige har en overvekt av *Bacteroidetes* og metanogene arker. Man tror metanogenene fjerner H₂ produsert av *Bacteroidetes*.

Endringer i menneskets mikrobiom og sykdom

Endringer i mikrobiomet kan føre til kronisk inflammatorisk tarmsykdom (IBD). Dette kommer av en ubalanse mellom immunsystemet og den vanlige mikrofloraen i fordøyelsessystemet. En sånn forstyrrelse mellom mikrobiota og vert homeostase kalles **dysbiose**.

De siste årene har det skjedd mye innen forskning på forholdet mellom mikroflora og personers fysiske og psykiske helse.

Mikroflora har blitt koblet opp mot overvekt, diabetes, inflamasjoner, autisme, ADHD, hjerneutvikling og mer. Det skal nevnes at dette ikke nødvendigvis er bekreftet bare fordi det er en samvariasjon.

Det vil trolig skje en endring i medisin fra en ”beat them”, til en ”join them” taktikk vis-a-vis mikrober. Altså finne ut hvordan mikrobene kan bidra til positiv helse, ikke bare hvordan de bidrar patogen.