

Mikrobielle Biozönosen & Ökosysteme (S. 25f Kap. 1)

Verbund mit anderen Zellen = Population, oft durch Zellteilung

Populationslebensgemeinschaften = Biozönosen

Auswirkungen aufeinander

- Können füreinander schädlich oder nützlich sein (oft Interaktion bei Nahrungsaufnahme)
- Populationen interagieren mit ihrer Umwelt
- Einheiten von Organismen und Habitat = Ökosystem

Bedeutung der MOs (S. 27 Kap. 1)Vorteile von MOs als Forschungsobjekte

- Physiologische Vielseitigkeit und Flexibilität
- Hohe Syntheseraten
- Rasches Wachstum
- Einfacher Zellaufbau
- Einfachheit der Struktur des genetischen Materials
- Mechanismen zur Genübertragung

Leistung der MOs bei den Stoffkreisläufen (S. 33ff Kap. 1)Kohlenstoff-Kreislauf

- Pflanzen überführen C in org. Verbindungen, welche mineralisiert werden
- Ein Teil des C gelangt als CH_4 in die Atmosphäre und wird durch OH-Radikale über CO zu CO_2 oxidiert → Aufrechterhaltung des CO_2 -Gleichgewichts
- Photosynthetische CO_2 -Fixierung (KH fällt als Assimilationsprodukte an)

Stickstoffkreislauf

- Abbauprodukt von Proteinen, die mit abgestorbenen Pflanzenmaterial in den Boden gelangen → N_2 -Fixierung
- In durchlüfteten Böden: Nitrifikation (=Oxidation zu Nitrit und Nitrat)
- Unter O_2 -Abschluss: Denitrifikation (=Abgabe von N_2 durch Bakterien)
- Assimilation von Nitrat durch Tiere und Pilze und Ammonifikation durch aerobe Bakterien

Phosphor-Kreislauf (limitierendes Element bei Pflanzenwachstum)

- Phosphate streben Meeressedimente zu
- Als Bestandteil von Gestein geht Phosphor an der Erdoberfläche in den biotischen Kreislauf über
- Phosphor liegt nahezu ausschließlich als Phosphat vor
- P-Kreislauf innerhalb von Organismen:
 - Energiestoffwechsel: Produktion von ATP-Molekülen
 - DNA und Zellmembranen enthalten Phosphor

Schwefel-Kreislauf

- Wird hauptsächlich als Sulfat aufgenommen
- Pflanzen reduzieren es zu S-haltigen Aminosäuren
- Schwefel, Sulfat & Sulfide sind durch Redox-Vorgänge miteinander verbunden
- Der von Pflanzen aufgenommene Schwefel wird an Konsumenten weitergegeben und in den Kreislauf zurückgeführt
- Sulfide werden bakteriell zu H_2S umgewandelt (unter anaeroben Bedingungen)
- Metallsulfide werden als Erze genutzt

Historische Wurzeln (S. 47 Kap. 1)Koch'sche Postulate

1. Der verdächtige Organismus muss bei allen erkrankten Tieren vorkommen und darf bei den gesunden nicht auftreten.
2. Der Organismus soll in einer Reinkultur wachsen.
3. Zellen aus der Reinkultur sollen bei einem gesunden Tier die Krankheit auslösen.
4. Der Organismus muss wieder isoliert werden um zu zeigen, dass es der selbe ist wie der Ursprüngliche.

Zusammensetzung der mikrobiologischen Zelle (S. 60ff Kap. 1)Gemeinsamkeiten prokaryotischer & eukaryotischer Zellen

1. Cytoplasmamembran (Trennung, Diffusionsbarriere)
2. Cytoplasma (enthält Proteine, Nukleinsäure, Ribosomen,...)
3. Zellwand (Stabilität, relativ permeabel)

Eukaryotische Zelle

- Größer und komplexer
- Kompartimentierung (=membranhüllte Strukturen)
- Echter Kern (enthält Großteil des Genoms)
- Organellen: Mitochondrien, Chloroplasten, Golgi-Apparat, ER
- DNA in linearer Form
- Diploide Zellen
- 80S-Ribosomen
- Eukaryotische Organismen: Algen, Pilze, Protozoen, Metazoen (=vielzellige Lebensformen wie Pflanzen, Tiere)

Prokaryotische Zellen

- keine Organellen
- kein membranhüllter Kern (DNA ringförmig in sich geschlossen, DNA-Moleküle: „Plasmide“)
- 70S-Ribosomen
- Unterscheidung zwischen Bacteria und Archaea
- Haploide Zellen

Viren

- Viren sind nicht-zelluläre Teilchen
- Statische Systeme
- Nicht vermehrungsfähig
- Eigene Gene, aber keine Ribosomen (Abhängigkeit von Zielzelle)
- Oft werden in Zielzellen Erkrankungen oder Veränderungen des genetischen Materials verursacht

Evolutionäre Verwandtschaft (S. 66ff Kap. 1)Phylogenie

=Wissenschaft der evolutionären Verwandtschaft von MOs

Evolutionäre Chronometer

...Maßeinheit für evolutionäre Verwandtschaft; ribosomale RNA-Moleküle sind ideale Chronometer

Phylogenetischer Stammbaum (nach Carl Woese)

1. Mittels Treeing-Programm erstellt
2. Zu vergleichende rRNA-Sequenzen werden gegeneinander verschoben bis zur besten Übereinstimmung („Sequenzalignment“)
3. Statistische Korrektur (für Mutationen)
4. Programm generiert Stammbaum
5. Drei Domänen des Lebens: Bacteria, Archaea, Eukarya

Endosymbiontenhypothese (S. 13f Kap. 2)

Organellen der Eukaryonten sind aus frei lebenden Prokaryonten hervorgegangen.

Die Eukaryontenzelle hat sich stufenweise aus der bakteriellen Domäne entwickelt:

1. Aufnahme eines aeroben Bakteriums in die Zelle → Vorläufer der Mitochondrien (für Energieversorgung)
2. Aufnahme von oxygenen, phototrophen Organismus → Vorläufer der Chloroplasten (für Photosynthese)

Einteilung von MOs nach physiologischen Kriterien (S. 17f Kap. 2)Art der Energiequelle

- Chemotroph: chemische (org. oder anorg.) Verbindung als Energiequelle
- Phototroph: Licht als Energiequelle (mittels Pigmente)

Art der Wasserstoffquelle

- Organotroph: org. Verbindungen als H-Donor (zB Glucose); meisten MOs sind chemooorganotroph
- Litotroph: anorganische H-Donoren (H_2S , H_2 , Fe^{2+} , NH_3)

Art der kohlenstoffquelle

- Heterotroph: C aus org. Verbindungen
- Autotroph: C-Bedarf durch Fixierung (Reduktion) von CO_2

Art des Energiegewinns

- Aerobe Atmung: Energiegewinnung nur in Gegenwart von O_2 (als H-Akzeptor)
- Anaerobe Atmung: NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{3+} , CO_3^{2-} als H-Akzeptor
- Gärung (anaerob): Zwischenprodukte, die beim Abbau von org. Verbindungen entstehen, dienen als H-Akzeptor

Mikrobielle Taxonomie (S. 27ff Kap. 2)Phänotypische Analysen

- Morphologie (Form, Größe, Gramfärbung)
- Beweglichkeit
- Ernährungsweise & Energie-Metabolismus (Verhältnis zu Sauerstoff, Temperatur, pH, Salzkonzentration)
- Andere Kriterien (Pigmentierung, Antibiotika-Sensitivität,...)

GC-Gehalt

=Guanin plus Cytosin Verhältnis der DNA; nur ein Zusatzkriterium bei der Identifizierung!

Molekulare Taxonomie (S. 31ff Kap. 2)3 Methoden

1. DNA:DNA Hybridisierung
2. Ribotyping
3. Lipidanalyse/Fettsäureanalyse

DNA:DNA Hybridisierung

- radioaktive Markierung der isolierten DNA
- Scherung in kleine Fragmente
- Denaturierung mittels Hitze
- Mischung mit Überschuss an nicht markierter DNA aus einem zweiten Organismus
- Annealing (Zusammenführung) durch Abkühlung
- Abtrennung der verbleibenden ss-DNA
- Quantifizierung des Gehaltes an Radioaktivität in ds-DNA
- Vergleich mit einem Kontrollorganismus

Hybridisierung >70% → dieselbe Spezies

Hybridisierung 25-70% → dasselbe Genus

Hybridisierung <10% → keine Verwandtschaft

Ribotyping

Analyse des Verdauungsmusters der DNA mittels rRNA-Sonden und Vergleich

- Amplifizierung (=gezielte Vermehrung) des rRNA-Operons von einer RNA-Präparation mittels PCR
- Schneiden mittels Restriktionsenzymen
- Auftrennen der Fragmente in Agarose-Gel
- Versetzen mittels rRNA-Sonden
- Digitalisierung des Gels
- Vergleich des Restriktionsmusters mit Referenzorganismen (Datenbank)

Fettsäurenanalyse: FAME (fatty acid methyl ester)

Art und Anteil von Fettsäuren in Cytoplasmamembran werden bestimmt

- Reinkultur (standardisierte Bedingungen)
- Extraktion der Fettsäuren, Derivatisierung zu Methylester, GC
- Vergleich des Fettsäuremusters mit Datenbankeinträgen

Cytoplasmamembran (CM) (S. 38ff Kap. 3)

- Doppelmembran von 8 nm Dicke
- Bestimmt Größe, Gestalt und Individualität einer Zelle
- Eukaryonten: zusätzlich Membran-umschlossene Organellen → „Kompartimentierung“

Aufgabe

- Barriere: Lipidkomponenten bilden Permeabilitätsschranke
- Verankerungsort für Proteine (Stofftransport, Bioenergetik, Chemotaxis)
- Energiekonservierung: Bildung von Ionengradienten

Zusammensetzung

- Phospholipid-Doppelschicht
- Art der Phospholipide bestimmt Membraneigenschaften
- Phospholipide sind amphiphil (hydrophober Schwanz, hydrophiles Köpfchen)
- Doppelschicht ist stabilste Anordnung (self-assembly)

Membranlipide

1. Phospholipide:

- Bestandteil aller biologischen Membranen
- Aufbau aus 4 Komponenten: Fettsäuren, Plattform (aus Glycerin oder Sphingosin), Phosphatgruppe, Alkohol

2. Glykolipide:

- Ableitung vom Sphingosind
- Bestandteile der Glycocalyx
- Typen von Glycolipiden: Cerebrosid, Ganglioside

3. Cholesterin:

- Aufbau: Steroidgerüst, Kohlenwasserstoffschwanz und OH-Gruppe als Enden
- Vorkommen nur in Säugetiermembranen, nicht bei Prokaryonten!
- Starres Molekül
- Bei Eukaryonten: Regulation der Membranfluidität

Merkmale biologischer Membranen

- Blattartige Struktur
- Hauptkomponenten: Lipide und Proteine
- Membranlipide sind amphiphil
- Vermittlung spezifischer Membranfunktionen durch Proteine
- Asymmetrie (Innen- & Außenseite sind unterschiedlich)
- Nicht-kovalente Molekülanordnung (liquid membranes)
- Flüssige Strukturen ermöglichen laterale (schnell) und transversale (langsam) Diffusion
- Elektrisch polarisiert

Peptidoglykan (PG) = Murein (S. 82, 91ff Kap. 3)Aufbau

- lineares Glykan-Backbone und Peptidanteil
- Glykanketten (aus GlcNAc und MurNAc)
- Glykanketten tragen zusätzlich Peptidketten
- Funktion: Stabilität durch Quervernetzung der Glykanketten (cross-linking)

Peptidoglykan ist charakteristisch für die Domäne Bacteria. MurNAc und m-DPA sind Signaturmoleküle, sie kommen bei Archaea und Eukarya nicht vor.

Es sind >100 verschiedene PG-Strukturen bekannt. Das Backbone ist einheitlich, aber die Aminosäuren variieren.

Biosynthese

3 Abschnitte

1. MurNAc-Pentapeptid-Synthese (im Cytoplasma)

- Ausgangspunkt: N-Acetylglukosamin-1-P
- Enzymatische Bildung eines Lactylethers
- Anhängen von 5 Aminosäuren
- Wachsendes Molekül wird an UDP als Träger gebunden
- 2 Möglichkeiten der Blockierung

2. Verknüpfung des Muraminsäure-Pentapeptids mit GlcNAc

- Austausch von UDP gegen Bactoprenol (Molekül wird lipophil; Transport durch Cytoplasmamembran wird ermöglicht)
- Reaktion des UndPP-M-Pentapeptids mit UDP-GlcNAc
- Flipping (mittels Transmembranprotein)

3. Einbau ins Peptidoglykangerüst und Knüpfung der Peptidbindung

- Quervernetzung durch Transpeptidierung
- Endständiges D-Alanin wird immer freigesetzt!
- Beim Einbau wird Bactoprenyl-PP frei

Archaeobakterien (S. 98f Kap. 3)Möglichkeiten des Zellwandaufbaus

1. Pseudopeptidoglykan: Backbone aus alternierenden Resten von GlcNAc und N-Acetylglucosaminuronsäure (NAT)
2. Polysaccharide oder Glykoproteine
3. aus Proteinen oder Glykoproteinen aufgebaute S-Schicht (am häufigsten!): S-Schichten sind zweidimensionale Proteinkristalle; Vorkommen bei extrem halophilen, methanogenen hyperthermophilen Archaea

Da Archaea kein PG besitzen, sind sie resistent gegenüber Lysozym und Penicillin!

Lipopolisaccharide (S. 102f, 110ff Kap. 3)

- kommen in der äußeren Membran (outer membrane) von gram-negativen Bakterien vor
- sind effektive Endotoxine der Bakterien (hitzestabil) → lösen Fieber, Diarrhö, Darmruhr aus
- tragen zur strukturellen Integrität der Bakterien bei
- Schutz vor Fremdorganismen (hydrophile Barriere); Selektionsvorteil
- Durch LPS ist äußere Membran häufig toxisch

Struktur: 3 Regionen

1. Lipid A:
 - hydrophober Teil des LPS
 - aus zwei β -1,6-gebundenen GlcN-Resten
 - ungewöhnliche Fettsäureketten in Esterbindung an beiden GlcN-Resten (Capronsäure, Laurinsäure,...)
2. Core:
 - Lipid A-Moleküle enthalten zwei bis vier Reste KDO (=inneres Core; wichtig zur Stabilisierung der äußeren Membran)
 - Lipid A und KDO-Reste sind der toxische Teil des LPS!!
 - Äußeres core: Heptose (unüblicher Zucker)
3. O-Antigen:
 - serologische Spezifität von LPS
 - 2-8 Zuckerreste in bis zu 50 Wiederholungen

Für Stabilität von LPS ist Ca^{2+} notwendig

Zellwandtypen bei Bakterien: Aufbau (S. 116f Kap. 3)Gram-positiv

- Cytoplasmamembran, Peptidoglykan (≤ 50 Schichten) mit Teichon- oder Teichuronsäuren, häufig S-Schicht

Gram-negativ

- Cytoplasmamembran, Peptidoglykan (1 Schicht), äußere Membran
- Äußere Membran: Lipiddoppelschicht, innen Phospholipide, außen LPS, häufig toxisch, Lipoproteine (Verbindung zw. PG & outer membrane), Porine
- Periplasmatischer Raum: zwischen Cytoplasmamembran und outer membrane

Glycocalyx (S. 125ff Kap. 3)

= Gesamtheit des extrazellulären Polysaccharidmaterials an der Oberfläche vieler Bakterien

Sie enthält:

- Integrale und periphere Membran-Glycoproteine
- Glykolipide
- Kapseln
- Schleime
- Scheiden
- LPS
- S-Schichtenglykoproteine

Aufgaben

- Verleiht Zelle unverwechselbares Oberflächenprofil (molekularer „Strichcode“ für Zell-Zell-Interaktionen)
- Erkennung der Glykankomponenten durch Selektine
- Beteiligung an Anheftung an spezifisches Wirtsgewebe
- Schutz vor phagozytierenden Zellen
- Schutz gegen Austrocknung

Speicherstoffe (S. 130ff Kap. 3)

...werden unter bestimmten Milieubedingungen intrazellulär abgelagert und dort in osmotisch inerte Form (=wasserunlöslich) gespeichert

Poly-β-Hydroxyfettsäuren (PHA)

- Lipidartige Verbindungen: Einheiten von C4 bis C8 Fettsäuren
- Polymere aggregieren zu Granula
- Häufigste Form: Poly-β-Hydroxybuttersäure
- Bei vielen aeroben Bakterien und Archaea
- Funktion: als Kohlenstoff-Speicherpolymere bei O₂-Mangel (nicht bei Eukarya!)

Glykogen

- Depot für Energie & Kohlenstoff
- Aus Glykose-Einheiten aufgebaut

Polyphosphate

- Große Reserven an anorganischem Phosphat
- Abbau bei Bedarf (Aufbau von Nukleinsäuren und Phospholipiden, Energielieferant bei Zellwachstum)

Elementarer Schwefel

- Speicherung abhängig vom H₂S-Gehalt des Milieus
- Schwefelgranula werden abgebaut, wenn Bakterien nicht genug reduzierende Schwefelverbindungen zur Energiegewinnung zur Verfügung stehen

Magnetosomen

- Intrazelluläre Partikel aus Magnetit (Fe₃O₄)
- Permanenter magnetischer Dipol → Zelle reagiert auf äußeres Magnetfeld; Magnetotaxis (=Bewegung entlang Magnetlinien)
- Vorkommen: bei Bakterien und Algen

Endosporen (S. 142ff Kap. 3)

Aufbau

- Exosporium (äußerste Lage): dünne Proteinschicht
- Sporenhülle: Schichten von spezifischen Sporenproteinen, reich an Cystein
- Cortex (Rinde): locker vernetztes Petidoglycan
- Core oder Sporenprotoplast: aus normaler Zellwand, CM & Cytoplasma

Spore unterscheidet sich von vegetativer Zelle in den Komponenten außerhalb der Zellwand.

Unterschiede: vegetative Zellen & Sporen

Merkmal	Vegetative Zelle	Endospore
Enzymat. Aktivität	Hoch	Gering
Metabolismus	Hoch	Gering
Hitzeresistenz	Gering	Hoch
Strahlungsresistenz	Gering	Hoch
Resistenz gegen Chemikalien	Gering	Hoch
Dipicolinatsäure	Nicht vorhanden	Vorhanden
Wassergehalt	Hoch, 80-90%	Gering, 10-25% im Core
Small acid-soluble proteins	Nicht vorhanden	Vorhanden
Reaktion auf Lysozym	sensitiv	resistent

Bildung

Endosporen werden im Inneren der Bakterienzelle gebildet. Die Sporenbildung wird durch Milieufaktoren reguliert: Bildung bei Mangel an Nährstoffen, nicht bei Austrocknung!

- Stadium 0: Beginn der inäqualen Teilung einer vegetativen Zelle
- Stadium I: Verdichtung der DNA (Sporenprotoplast enthält Genom)
- Stadium II: Sporenprotoplast wird von CM der Mutterzelle eingehüllt
- Stadium III: Bildung einer Vorspore
- Stadium IV: Dehydratisierung und Bildung der primordialen Cortex
- Stadium V: weitere Dehydratisierung, Ausbildung der Sporenhüllen
- Stadium VI: Sporenreifung → Ausbildung der Resistenzen
- Stadium VII: Freisetzung der Spore durch Autolyse der Mutterzelle; keine Stoffwechselaktivität!

Keimung:

Endosporen können rasch wieder in vegetative Zellen überführt werden:

1. Aktivierung: Erhitzung auf 80-100°C → Abtötung von vegetativen Zellen
2. Keimung wenn geeignete Nährstoffe vorhanden
3. Auswachsen:
 - Quellung & Neusynthese von RNA, Proteine, DNA
 - Austritt der Zelle aus Sporenhülle
 - Eventueller Beginn einer Zellteilung

Beispiel für Endosporenbildner: Bacillus, Clostridium

Flagellen: Bakteriengeißeln (S. 153ff Kap. 3)

Aufbau:

1. Geißelfaden:
 - Flagellin-Untereinheiten
 - Geißeln sind linksgewunden und hohl
2. Geißelhaken:
 - aus einer einzigen Proteinart aufgebaut

3. Basalkörper:

- Basis der Geißel
- In CM lokalisierter „Rotationsmotor“
- Aus 40 Proteinkomponenten aufgebaut: MotA & MotB (Transmembranproteine), 11 MotA/MotB-Paare bilden zentralen Ring, MS-Ring aus 30FliG-Untereinheiten

Funktionsprinzip: ATP-Synthase Mechanismus

- MotA und MotB bilden Ring mit 2 Halbkanälen
- Protonengradient über Membran liefert Energie → Kopplung der Rotation an Protonengradient
- Flagelle ist mit MS-Ring verbunden

Begeißelungsformen

1. peritriche Begeißelung
 - langsame, stetige Bewegung
 - Rotation gegen Uhrzeigersinn → Flagellen bilden ein Bündel → gerichtete Bewegung
 - Umkehr der Drehrichtung → Bündel fällt auseinander → Tumbelbewegung
 - Neuorientierung → neue Richtung
2. polare Begeißelung
 - rasche, zitternde Bewegung
 - Möglichkeit 1: Geißel als Schub- (gegen Uhrzeigersinn) oder Zuggeißel (im Uhrzeigersinn)
 - Möglichkeit 2: nur im Uhrzeigersinn → immer wieder Neuorientierung

Geißeln wachsen nicht von der Basis sondern von der Spitze aus.
Abgebrochene Flagellen können repariert werden!

Wachstumsfaktoren von mikrobiellen Wachstum (S. 3ff Kap. 4)

1. physikalische Einflussfaktoren (Umweltfaktoren)
 - Temperatur
 - pH-Wert
 - osmotischer Druck
 - Wasseraktivität (Salzkonzentration)
 - Sauerstoffpartialdruck
2. chemische Einflussfaktoren
 - Quellen für Kohlenstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Sauerstoff
 - Spurenelemente
 - Organische Wachstumsfaktoren

Temperaturklassen

- Psychrophile: $T_{\text{opt}} < 15^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{min}} < 0^{\circ}\text{C}$
- Psychrotolerante: $T_{\text{opt}} = 20-40^{\circ}\text{C}$, noch Wachstum bei 0°C !
- Mesophile: $T_{\text{opt}} = 20-42^{\circ}\text{C}$
- Thermotolerante: Wachstum bis 50°C
- Thermophile: $T_{\text{opt}} > 45^{\circ}\text{C}$, Wachstum bei $40-70^{\circ}\text{C}$
- Hyperthermophile: $T_{\text{opt}} > 80^{\circ}\text{C}$

pH-Klassen

- Neutrophile: H^+ und OH^- Ionen ausgeglichen; $\text{pH}_{\text{opt}} \sim 7$
- Acidophile: $\text{pH} < 5,5$, bei $\text{pH} \sim 7$ Lyse der Zelle
- Alkaliphile: $\text{pH} > 8,0$

Wasseraktivität: tolerierte Salzkonzentration

- Schwach halophile: 1-6% NaCl
- Mäßig halophile: 6-15% NaCl
- Extrem halophile: 15-30% NaCl
- Halotolerante: tolerieren Reduktion des a_w -Wertes der Umgebung
- Osmophile: bevorzugen hohen Zuckergehalt
- Xerophile: bevorzugen sehr trockene Umgebung

Klassen nach Sauerstoffbedarf

- Obligate Anaerobier: auf O_2 angewiesen
- Mikroaerophile: benötigen O_2 , tolerieren aber nur 0,01-0,03 bar
- Fakultativ Aerobe bzw. Anaerobe: bei Sauerstoff → aerobe Atmung, ohne Sauerstoff → Gärungs-Stoffwechsel
- Aerotolerante Anaerobier: wachsen auch bei Luftsauerstoff, Energie jedoch ausschließlich aus Gärung
- Obligate Anaerobier: Wachstum nur in sauerstofffreien Milieu

Mikro- & Makronährstoffe (S. 40ff Kap. 4)Makronährstoffe

- Kohlenstoff (C): Zelle ca. 50% C-Gehalt
- Stickstoff (N): ca. 12% der Trockensubstanz, wichtig für Proteine, Nukleinsäuren, div. Zellbestandteile
- Phosphor (P): zur Synthese von Nukleinsäuren und Phospholipiden
- Schwefel (S): in Vitaminen; strukturelle Rolle bei den Aminosäuren Cystein und Methionin
- Kalium (K): viele Enzyme benötigen Kalium
- Magnesium (Mg): zur Stabilisierung von Ribosomen, Zellmembranen und Nukleinsäuren
- Calcium (Ca): zur Stabilisierung von Zellwand & Endosporen (nicht essentiell)
- Natrium (Na): Bedarf von Habitat abhängig
- Eisen (Fe): Hauptrolle bei Zellatmung

Mikronährstoffe

- Metalle
- Oft Bestandteile von Enzymen
- Nur in Spuren erforderlich, aber essentiell!
- Bor, Chrom, Cobalt (Co), Kupfer (Cu), Mangan (Mn), Molybden (Mo), Nickel (Ni), Selen (Se), Zink (Zn)

Batch-Kultur (S. 62ff Kap. 4)

=statische Kultur

- Begrenzung des Wachstums, wenn keine Nährstoffe zu- oder Stoffwechselprodukte abgeführt werden
- Wachstumskurve hat sigmoide Gestalt

Wachstumsphasen

1. Anlaufphase (lag-Phase)
 - Zeitintervall zwischen Impfung und Erreichen der max. Teilungsrate
 - Dauer ist abhängig von: Vorkultur, Alter des Impfmateri- als, eignung des Nährmediums (Adaption an neue Bedingungen)
 - Veränderung der quantitativen Zusammensetzung der Bakterienzelle

2. exponentielle (logarithmische) Phase
 - konstante minimale Generationszeit
 - optimal zur Bestimmung der Wachstumsrate
 - Zellgröße & Zellproteingehalt oft konstant → „Standardzellen“
 - Geschwindigkeit hängt von Umwelt- bzw. Kultivierungsbedingungen ab
 - Prokaryotische MOs wachsen schneller als eukaryotische
3. stationäre Phase
 - kryptisches Wachstum: gleich viele Zellen sterben wie neue gebildet werden
 - Wachstumsrate von Substrat abhängig
 - Speicherstoffe können noch genutzt werden
 - Erreichte Bakterienmasse = Ertrag oder Ausbeute
4. Absterbephase
 - verläuft exponentiell
 - oft Zell-Lyse

Zu jedem Zeitpunkt herrschen andere Kulturbedingungen.

Diauxie: zweiphasiges Wachstum

wenn Gemisch an Nährstoffen vorliegt und Enzyme zur Verwertung von Population erst induziert werden

Parameter der Wachstumskurve

- Ertrag X: Differenz anfängliche und max. Bakterienmasse
- Ertragskoeffizient Y: Verhältnis Ertrag zum Substratverbrauch S
- Exponentielle Wachstumsrate μ : Geschwindigkeit des Zellwachstums
- Verdopplungszeit
- Auflaufzeit T_L : zur Beurteilung der Eigenschaften eines Bakteriums oder der Eignung eines Nährmediums

Kontinuierliche Kultur (S. 70ff Kap. 4)

=offenes System

- strebt Fließgleichgewicht (steady state) zu
- konstante Milieubedingungen: laufende Zufuhr neuer Nährlösung, in gleichem Maße Abfuhr der Bakteriensuspension

Parameter zur Steuerung der Kultur

1. Verdünnungsrate D:
 - D = Volumenwechsel pro Stunde
 - Wachstum erfolgt exponentiell
 - Bakteriendichte X = konstant → Kultur im Fließgleichgewicht
2. limitierender Nährstoff:
 - Kultur ist substratkontrolliert
 - Stabilität des Systems durch Begrenzung der Wachstumsrate über Konzentration eines Substrats
 - Kontrolle der Zelldichte oder Biomasse über den limitierenden Nährstoff

Wachstumsrate μ und Ausbeute sind unabhängig voneinander kontrollierbar.

Man kann mit Hilfe der Parameter verschiedene Populationen mit unterschiedlicher μ wachsen lassen.

Hitzesterilisation (S. 78ff Kap. 4)

Hitze

- Häufigstes Mittel zur mikrobiellen Wachstumskontrolle
- Kinetik der Hitzesterilisation: $T > T_{\max} \rightarrow$ letale Effekte, Denaturierung der Proteine
- Feuchte Hitze hat besseres Penetrationsvermögen als trockene Hitze
- Dezimale Reduktionszeit (D10): Zeit, die zu einer Reduktion der Populationsdichte um $f = 10$ führt
- Sterilisationsvorgänge sind auf Abtötung der Endosporen ausgelegt

Methoden zur Hitzesterilisation

1. Autoklavieren (feuchte Hitze)
 - Temperaturen über Siedepunkt des Wassers
 - Wasserdampf strömt unter Druck ein
 - Luft muss vor dem Schließen entfernt werden!
 - Dampf bei 2,15 bar entspricht 121°C
 - Typische Autoklavierzeit: 10-15 min
2. Tyndallisation (feuchte Hitze)
 - fraktionierte Sterilisation im strömenden Dampf bei 100°C
 - an 3 aufeinander folgenden Tagen Erhitzung auf 100°C für 30 min
 - zwischenzeitliche Aufbewahrung bei Brutschranktemperaturen
3. Pasteurisieren (feuchte Hitze)
 - Teilentkeimung zur Abtötung der vegetativen Formen von MOs bei 75-80°C für 5-10 min
4. trockene Hitze
 - Bakteriensporen werden erst bei höheren Temperaturen und längerer Einwirkzeit abgetötet als bei feuchter Hitze
 - 2 Stunden bei 160°C im Trockensterilisator

Antimikrobielle Agentien (S. 100ff Kap. 4)

Chemotherapeutik

- Agentien, die für in vivo-Gebrauch geeignet sind (Behandlung von mikrobiellen Infektionen bei Menschen)
- Hemmen (selektiv) bestimmte Bakterien
- Haben auf Wirtsorganismus keinen Effekt
- 11 unterschiedliche Substanzklassen

Antibiotika: „natürlich auftretende Chemotherapeutik“

- Chemische Verbindungen, die von MOs produziert werden um andere MOs zu inhibieren oder abzutöten
- Breitbandantibiotika wirken auf gram-positive und gram-negative Bakterien
- Wichtigste Angriffspunkte in Bakterien: Zellwand, Proteinbiosynthese, Nukleinsäuresynthese

Antibiotikaklassen

1. β -Lactam-Antibiotika
 - wichtigste Gruppe der Antibiotika: Penicilline
 - natürliches Penicillin wirkt nur auf gram-positive Bakterien
 - Wirkungsweise: Bindung an Transpeptidasen der Peptidoglycanvernetzung
2. Aminoglykosid-Antibiotika
 - Inhibierung der Proteinbiosynthese (Bindung an 30S-UE)
 - Gegen gram-negative Bakterien
 - z.B.: Streptomycin

3. Makrolid-Antibiotika
 - Inhibierung der Proteinbiosynthese (Bindung an 50S-UE)
 - z.B.: Erythromycin
4. Tetrazykline
 - Breitbandantibiotikum
 - Wechselwirkungen mit 30S-UE
 - z.B: Tetrazyklin

Viren (S. 4ff Kap. 5)

Eigenschaften

- Viren sind submikroskopisch kleine genetische Elemente, die sich ohne lebende Zelle nicht vermehren können → d.h. sie sind keine selbstständigen Organismen
- Viren haben eine extrazelluläre Form = Virion (Viruspartikel), welche metabolisch inaktiv ist
- Viren enthalten nur einen Typ von Nukleinsäure: DNA oder RNA, einzel- oder doppelsträngig (Ausnahme: Retroviren)
- Zur viralen Reproduktion ist nur Nukleinsäure erforderlich

Klassifikation

1. Baltimore Klassifikations-System: nach Art des viralen Genoms
2. Klassifikation nach Art des Wirtes: Unterscheidung von Tierviren, Pflanzenviren, Bakterienviren (Bakteriophagen)
3. Hierarchisches taxonomisches System: Ordnung, Familie (Subfamilie), Gattung, Spezies

Plaque-Test: zum Nachweis von Viren

Annahme: Jeder Plaque (Loch) ist von einem Virion verursacht

Durchführung:

- verschiedene Phagenverdünnungen werden mit Bakteriensuspension vermischt
- Übersichtung einer Agarplatte
- Inkubation → geschlossener Rasen von Bakterien mit durch Bakteriophagen verursachten Plaques
- Maß zur Quantifizierung: plaque forming units (pfu)

Lebenszyklus

1. Anheftung
 - bei zufälliger Berührung kommt es zur Anheftung
 - hohe Spezifität der Adsorption
 - Rezeptoren sind Zelloberflächenmoleküle der Wirtszelle; Fehlen/Änderung von Rezeptoren → Virus-Resistenz
2. Penetration: Einschließen der NS in die Zelle
 - Infektionsmechanismen beim T4-Coliphagen: Anheftung über Schwanzfasern, Verankerung, Löcherung der Zellwand, Injektion der Nukleinsäure
 - Tierviren mit Hüllmembranen: oft dringt ganzes Virion ein
3. Synthese von Virus-Nukleinsäure & Virus-Proteinen
 - Latenz-Periode (keine Bakteriophagen nachweisbar)
 - Umstellung des Stoffwechsels der infizierten Zelle: Einstellung der Synthese der Bakterien-DNA
 - Frühe Virus-Proteine: Virus-spezifische mRNA erforderlich
 - Späte Virus-Proteine: Strukturproteine
4. Zusammenbau & Verpackung der NS in neue Viruspartikel
 - Reifung = Vereinigung von Phagen-DNA, Hüllproteinen und Membrankomponenten

5. Freisetzung des fertigen Virus

- Erweichen der Bakterienzellwand durch Phagen-Lysozym

Arten von Entwicklungszyklen

1. virulente Viren: lytischer Zyklus
 - lysieren oder töten Wirtsorganismus
 - virulente Bakteriophagen sind ds-DNA Phagen
 - „normale“ 5 Stufen der Replikation
2. temperente Viren: lysogener Zyklus
 - Genom wird in Wirtszelle synchron mit Wirtsgenom repliziert
 - Latente, nicht infektiöse Form = Prophage
 - Virus-Respressorprotein verhindert Übergang in lytischen Zyklus; bei Zerstörung → Bildung und Freisetzung infektiöser Phagen

Retroviren (S. 53ff Kap. 5)Eigenschaften

- Enthalten RNA-Genom (zwei idente ssRNA(+)) Moleküle), replizieren aber über DNA-Zwischenstufe
- Informationstransfer durch reverse Transkriptase
- Ähnlichkeit mit beweglichen genetischen Elementen

Aufbau

- Hülle: 4 Strukturproteine, 3 Enzyme
- Lipiddoppelschicht: mit Transmembranproteinen
- Im Inneren: RNA, reverse Transkriptase, DNA Endonuklease, Protease
- Virion enthält spezielle tRNA-Moleküle
- Längliches Core & Hülle aus Core-Proteinen

Replikation

1. Eintritt in Wirtszelle: spezifische Rezeptoren
2. Entfernung der Virushülle
3. Reverse Transkription eines der beiden ssRNA(+)-Genome in ssDNA → sofortige Umwandlung der ssDNA in dsDNA
4. Integration der DNA-Kopie in Wirtsgenom → Provirus
5. Transkription der Provirus-DNA in mRNA und weiter in neue Virus-RNA
6. Einbau der Virus-RNA in Nukleokapside im Cytoplasma
7. Knospung des enveloped virus: durch Ausstülpung der Cytoplasmamembran
8. Freisetzung des Virus

Prionen (S. 70f Kap. 5)

- Kleine, Nukleinsäure-freie Proteine, mit distinkter extrazellulärer Form
- Infektiös
- Informationsfluss: Protein wird durch Nukleinsäure kodiert
- Chromosom der Wirtszelle enthält Gen, das für Protein kodiert, welches Prionen-Protein sehr ähnlich ist → Wirtspotein wird durch Prion modifiziert!