

Till Biskup

# Mikrobiologie

Einführung und Grundlagen  
der allgemeinen Mikrobiologie

1. Auflage

# Mikrobiologie

Einführung und Grundlagen  
der allgemeinen Mikrobiologie

1. Auflage  
© 2000 Till Biskup

Version 0.9.11a  
8. Januar 2011

gesetzt mit L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X 2<sub>ε</sub>  
unter Verwendung von MAKEINDEX, GlossT<sub>E</sub>X und B<sub>I</sub>B<sub>T</sub>E<sub>X</sub>  
Formeln mit  $\mathcal{A}\mathcal{M}\mathcal{S}$ -L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X

Das Werk, einschließlich aller seiner Teile, ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Autors unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

---

Kontakt: [till@till-biskup.de](mailto:till@till-biskup.de)

# Vorbemerkungen

---

Die hier vorliegenden Ausarbeitungen sind meine Vorbereitung auf die Vordiploms-Prüfung in Mikrobiologie bei Prof. Borriss. Daher kommt ihnen auch nicht der Charakter eines druckreifen Skriptes zu, da ich — nicht zuletzt aus zeitlichen Gründen — nur das für mich wichtigste herausarbeitete. Der Leser möge mir daher verzeihen, wenn manche Punkte noch nicht ausgearbeitet sind oder gänzlich fehlen.

Für die Ausarbeitung kamen im wesentlichen die “Mikrobiologie” von W. Fritsche [5] und das “Skript zum Mikrobiologischen Grundkurs” im 4. Semester [1] zur Verwendung, ergänzt wurden beide durch den Brock [9]. Die Gliederung des vierten Teils (Bakteriengenetik) entstammt in groben Zügen der Genetik-Vorlesung von Prof. Börner [3].

Ein Wort zur Fachliteratur: Immer wieder wird die Frage an mich herangetragen, mit welchen Büchern man sich auf die Prüfung vorbereiten kann. Meine eigene Erfahrung hat zeigt, daß der FRITS in manchen Punkten einfach nicht zufriedenstellend ist. Besondere Vorsicht ist bei den zuweilen groben Fehlern geboten (ein Beispiel: die Reaktion 2 im Calvin-Cyclus verbraucht ATP und bildet es nicht, wie in der Grafik 12-5 angegeben). Dem BROCK dagegen kann kein deutsches Lehrbuch hinsichtlich didaktischer Ausgereiftheit das Wasser reichen. Auch wenn ich selbst nicht so sehr der Fan amerikanischer Lehrbücher bin: zum Lernen sind sie unübertroffen.

Das Skript gliedert sich analog zur Vorlesung in vier Teile, zu denen ich im folgenden kurze Bemerkungen machen möchte.

**Zellbiologie** Da der Schwerpunkt mikrobiologischer Forschung an der HU Berlin bei Prokaryoten liegt, beschränkt sich die Behandlung des Komplexes Zellbiologie im wesentlichen auf die prokaryotische Zelle. Eine Sonderstellung nehmen die Archaea ein — in der auf Sequenzvergleichen der rRNA beruhenden Systematik von WOESE als eigene Domäne betrachtet —, deren Besonderheiten kurz dargestellt werden.

Viele Gemeinsamkeiten zeichnen Pro- und Eukaryoten aus, und da ich die Zelle schon in einem anderen Skript — “Die Zelle” [2] — behandelt habe, fasse ich mich hier entsprechend kurz.

**Stoffwechsel** Bei den Mikroorganismen, insbesondere bei Bacteria und Archaea, verschwimmen die Grenzen zwischen Auto- und Heterotrophie, ja teilweise scheinbar sogar zwischen Kata- und Anabolismus, letzteres dadurch, daß ähnliche Reaktionen in beiden, von ihrem Ziel entgegengesetzten, Stoffwechselwegen vorkommen.

Gerade die Betrachtung des Stoffwechsels zeigt uns die Vielfalt der Mikroorganismen. Es scheint keine Möglichkeit zu geben, die nicht von irgendeiner

Gruppe verwirklicht wurde. Diese Vielfalt macht das Stoffgebiet aber auch unübersichtlich, weshalb ich mich bemühte, mit der vorliegenden Darstellung eine möglichst klare Strukturierung der unterschiedlichen Wege des mikrobiellen Metabolismus zu schaffen. Der Leser möge selbst entscheiden, ob es mir gelungen ist.

**Physiologie und Ökologie** Prinzipiell zeichnet das Kapitel “Ernährungstypen” noch einmal die großen Linien des vorangegangenen Stoffwechsel-Teils auf, allerdings hier speziell unter dem Gesichtspunkt der Ernährung und der Einteilung entsprechend dieses Kriteriums. Das folgende Kapitel soll eine Übersicht über Wechselwirkungen zwischen Bakterien und anderen Organismen geben, ist derzeit aber noch sehr unvollständig.

Abgeschlossen wird dieser Teil durch eine Darstellung der Viren, angefangen von ihrer Stellung und der Zugehörigkeit zum Leben bis hin zu aktuellen Themen wie humanpathogenen Viren und Prionen.

**Genetik** Da die Genetik ein sehr großes und zudem eigenständiges Forschungsgebiet ist, wird ihr im vierten Semester noch eine eigene Vorlesung gewidmet. Daher kann im gegebenen Kontext nur kurz auf sie eingegangen werden. Dafür liegt der Schwerpunkt auf der Bakteriengenetik, davon abweichende Mechanismen bei Eukaryoten sowie die gesamte Chromosomentheorie der Vererbung fallen damit heraus.

Berlin, im Oktober 2000

Till Biskup

# *Danksagung*

---

Danken möchte ich an dieser Stelle all denen, die mir Verbesserungsvorschläge und Korrekturhinweise zu diesem Skript machten, insbesondere Sebastian Schrader und Jan Ihlau.

# *Kurzinhalt*

---

1 Einführung	1
<hr/>	
Teil I Biologie der prokaryotischen Zelle	5
<hr/>	
2 Morphologie prokaryotischer Zellen	7
3 Interne Struktur prokaryotischer Zellen	11
4 Differenzierung	23
<hr/>	
Teil II Grundlagen des mikrobiellen Stoffwechsels	27
<hr/>	
5 Wachstum	31
6 Katabolismus	37
7 Kohlenstoff- und Stickstoff-Assimilation	65
8 Anabolismus	73
<hr/>	
Teil III Physiologie und Ökologie von Mikroorganismen	81
<hr/>	
9 Ernährungstypen	83
10 Interaktionen mit anderen Organismen	87
11 Viren	91
<hr/>	
Teil IV Genetische Mechanismen bei Bakterien	101
<hr/>	
12 Das genetische Material	103
13 Funktion des genetischen Materials	109
14 Variation des genetischen Materials	123

<b>Anhang</b>	<b>133</b>
A Literaturliste zur Vorlesung	135
B Klausurfragen	137
C Prüfungsschwerpunkte	145

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Einführung</b>	<b>1</b>
1.1	Entstehung der Mikroorganismen (evolutionäre Aspekte) . . . . .	2
1.1.1	Wann sind die Mikroorganismen entstanden? . . . . .	2
1.1.2	Phasen der Evolution . . . . .	2
1.2	Entwicklung der Mikrobiologie . . . . .	4
1.2.1	Phasen der Historischen Entwicklung nach FRITSCHKE . . . . .	4
<hr/>		
<b>Teil I</b>	<b>Biologie der prokaryotischen Zelle</b>	<b>5</b>
<hr/>		
<b>2</b>	<b>Morphologie prokaryotischer Zellen</b>	<b>7</b>
2.1	Zell- und Kolonieförmigkeiten . . . . .	8
2.2	Beurteilungskriterien von Kolonien . . . . .	8
<b>3</b>	<b>Interne Struktur prokaryotischer Zellen</b>	<b>11</b>
3.1	Stoffliche Zusammensetzung . . . . .	12
3.1.1	Lipide . . . . .	12
3.1.2	Nukleinsäuren . . . . .	12
3.1.3	Proteine . . . . .	14
3.1.4	Speicherstoffe . . . . .	15
3.2	Zellhülle . . . . .	16
3.2.1	Aufbau . . . . .	16
3.2.2	Funktion . . . . .	16
3.2.3	Permeabilität . . . . .	16
3.2.4	Transportmechanismen . . . . .	16
3.3	Zellwand . . . . .	17
3.4	Fimbrien . . . . .	19
3.5	Flagellen und Pili . . . . .	19
3.6	Charakteristika der Archaea . . . . .	19
3.6.1	Transkriptions- und Translationsysteme . . . . .	19
3.6.2	Membranstruktur . . . . .	20
3.6.3	Zellwandstruktur . . . . .	21
3.6.4	Mechanismus der CO <sub>2</sub> -Fixierung . . . . .	21



<b>4</b>	<b>Differenzierung</b>	<b>23</b>
4.1	Heterocysten . . . . .	24
4.2	Endosporen . . . . .	24
<hr/>		
<b>Teil II Grundlagen des mikrobiellen Stoffwechsels</b>		<b>27</b>
<hr/>		
<b>5</b>	<b>Wachstum</b>	<b>31</b>
5.1	Kultur von Mikroorganismen . . . . .	32
5.2	Wachstum . . . . .	32
5.2.1	Wachstumsparameter . . . . .	32
5.2.2	Wachstumskurve . . . . .	34
5.2.3	Meßmethoden . . . . .	35
5.3	Zelluläre Vorgänge . . . . .	35
5.3.1	Zellteilung . . . . .	35
5.3.2	Zellwachstum . . . . .	35
<b>6</b>	<b>Katabolismus</b>	<b>37</b>
6.1	Atmungsprozesse . . . . .	38
6.1.1	Atmung . . . . .	38
6.1.2	Unvollständige Oxidation der Essigsäurebakterien . . . . .	52
6.1.3	Anaerobe Atmung . . . . .	54
6.2	Gärungen . . . . .	59
6.2.1	Alkohol-Gärung . . . . .	59
6.2.2	Milchsäure-Gärung . . . . .	60
6.2.3	Propionsäure-Gärung . . . . .	60
6.2.4	Gemischte Säure-Gärung und 2,3-Butandiol-Gärung . . . . .	60
6.2.5	Buttersäure- und Butanol-Aceton-Gärung . . . . .	61
6.2.6	Proteinabbau und Vergärung von Aminosäuren . . . . .	61
6.2.7	Anaerobe Acetogenese . . . . .	62
<b>7</b>	<b>Kohlenstoff- und Stickstoff-Assimilation</b>	<b>65</b>
7.1	Chemolithotrophie und Phototrophie . . . . .	66
7.1.1	Chemolithotrophie . . . . .	66
7.1.2	CO <sub>2</sub> -Assimilation durch den Calvin-Cyclus . . . . .	70
7.1.3	Bakterielle Photosynthese . . . . .	70
7.2	Stickstoff-Fixierung . . . . .	71
7.2.1	Stickstoffbindung freilebender Bakterien . . . . .	71

7.2.2	Symbiotische Stickstoffbindung der Rhizobien . . . . .	71
7.2.3	Die Actinorhiza . . . . .	71
<b>8</b>	<b>Anabolismus</b>	<b>73</b>
8.1	Stoffaufnahme . . . . .	74
8.2	Glyoxylsäure-Cyclus und Gluconeogenese . . . . .	76
8.3	Aminosäure-Synthese . . . . .	77
8.4	Nucleotid-Synthese . . . . .	79
8.5	Biosynthese von Makromolekülen . . . . .	79
8.5.1	Peptidoglykan-Synthese . . . . .	79
8.5.2	Protein-Synthese . . . . .	79
8.6	Stoffwechselregulation . . . . .	80
8.7	Komplexe Regulationssysteme . . . . .	80
<hr/>		
<b>Teil III</b>	<b>Physiologie und Ökologie von Mikroorganismen</b>	<b>81</b>
<hr/>		
<b>9</b>	<b>Ernährungstypen</b>	<b>83</b>
	Übersicht . . . . .	84
9.1	Autotrophie . . . . .	85
9.1.1	Photolithotrophie . . . . .	85
9.1.2	Chemolithotrophie . . . . .	85
9.2	Heterotrophie . . . . .	85
9.2.1	Chemoorganotrophie . . . . .	85
9.2.2	Photoorganotrophie . . . . .	86
<b>10</b>	<b>Interaktionen mit anderen Organismen</b>	<b>87</b>
	Übersicht . . . . .	88
10.1	Interaktion von Bakterien mit Bakterien . . . . .	88
10.1.1	Sukzession . . . . .	88
10.1.2	Antagonismen . . . . .	88
10.1.3	Mutualistische Symbiosen . . . . .	88
10.2	Interaktion von Bakterien mit Pflanzen . . . . .	89
10.2.1	Phytopathogene Mikroorganismen . . . . .	89
10.2.2	Mykorrhiza . . . . .	89
10.3	Interaktion von Bakterien mit Mensch und Tier . . . . .	89
10.3.1	Antagonistische Interaktionen . . . . .	89
10.3.2	Mutualistische Interaktionen . . . . .	89

<b>11 Viren</b>	<b>91</b>
11.1 Historie ihrer Entdeckung . . . . .	92
11.2 Wesen der Viren . . . . .	92
11.3 Bacteriophagen . . . . .	95
11.3.1 Aufbau der Phagen . . . . .	95
11.3.2 Nachweis von Bacteriophagen . . . . .	96
11.3.3 Phagen–Vermehrung . . . . .	96
11.4 Humanpathogene Viren . . . . .	98
11.5 Viroide und Prionen . . . . .	99
11.5.1 Viroide . . . . .	99
11.5.2 Prionen . . . . .	99
<b>Teil IV Genetische Mechanismen bei Bakterien</b>	
<b>12 Das genetische Material</b>	<b>103</b>
12.1 Aufbau . . . . .	104
12.2 Verpackung . . . . .	106
12.3 Replikation . . . . .	106
<b>13 Funktion des genetischen Materials</b>	<b>109</b>
13.1 Transkription . . . . .	110
13.1.1 Komponenten der Transkription . . . . .	110
13.1.2 Ablauf der Transkription . . . . .	111
13.1.3 Regulation der Transkription . . . . .	113
13.2 Translation . . . . .	116
13.2.1 Komponenten der Translation . . . . .	116
13.2.2 Ablauf der Translation . . . . .	117
13.3 Attenuierung: Verknüpfung von Translation und Transkription .	119
13.4 Posttranslationale Prozesse . . . . .	120
13.4.1 Posttranslationale Modifikationen . . . . .	120
13.4.2 Proteintransport . . . . .	120
<b>14 Variation des genetischen Materials</b>	<b>123</b>
14.1 Mutation . . . . .	124
14.1.1 Genmutation . . . . .	125
14.1.2 Chromosomenmutation . . . . .	125
14.1.3 Genommutation . . . . .	125

14.1.4 DNA-Reparatur . . . . .	125
14.2 Rekombination . . . . .	125
14.2.1 Homologe Rekombination . . . . .	126
14.2.2 Nichthomologe Rekombination: Spezielle Transduktion . . . . .	130
14.3 Transponierbare Elemente . . . . .	130
14.3.1 IS-Elemente . . . . .	131
14.3.2 Transposons . . . . .	131
14.3.3 transponierbare Bacteriophagen . . . . .	132
<hr/>	
<b>Anhang</b>	<b>133</b>
<hr/>	
<b>A Literaturliste zur Vorlesung</b>	<b>135</b>
A.1 Teil I: Biologie der prokaryotischen Zelle . . . . .	135
A.2 Teil II: Stoffwechsel . . . . .	135
A.3 Teil III: Ökologie und Physiologie . . . . .	135
A.4 Teil IV: Bakteriengenetik . . . . .	135
<b>B Klausurfragen</b>	<b>137</b>
B.1 Klausur 1999 . . . . .	137
B.2 Nachklausur 1999 . . . . .	140
B.3 Ergänzungen Klausur 2000 . . . . .	143
B.4 Fragen 1. Nachklausur 2000 . . . . .	144
<b>C Prüfungsschwerpunkte</b>	<b>145</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>149</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>150</b>
<b>Index</b>	<b>151</b>

# Abbildungsverzeichnis

---

1.1	Phylogenetischer Stammbaum der drei Domänen der Organismen	2
1.2	Phylogenetischer Stammbaum der Prokaryota mit Einteilung in die drei Domänen aufgrund von rRNA-Sequenzvergleichen durch C. WOESE, nach [5]	3
4.1	Vielfalt des Stoffwechsels; nach [5]	29
6.1	The degradation of glucose via the glycolytic pathway, from [11]	39
6.2	The reactions of the citric acid cycle, from [11]	44
6.3	Struktur von NAD <sup>+</sup> /NADH (Nicotinamid-adenin-dinucleotid)	47
6.4	Struktur der Funktion von FAD/FADH <sub>2</sub> (Flavin-adenin-dinucleotid)	47
6.5	Bedeutung der Protonenmotorischen Kraft (pmf) für die Zelle	49
6.6	anaerob-methanogene Nahrungskette; nach [5]	59
6.7	Gemischte Säuregärung ("Ameisensäuregärung") der Enterobakterien; Endprodukte der Gärung eckig eingerahmt	60
8.1	The basis precursors of the purine skeleton [9]	79
12.1	Zentrales Dogma der Molekularbiologie (F. CRICK)	105

# *Tabellenverzeichnis*

---

3.1	RNA-Species . . . . .	13
6.1	Gesamtbilanz des oxidativen Glucose-Abbaus . . . . .	45
9.1	Oxidative Prozesse chemolithotropher Bakterien . . . . .	85
11.1	Geschichte der Entdeckung der Viren . . . . .	92
12.1	(prokaryotische) DNA-Polymerasen I, II, III . . . . .	107

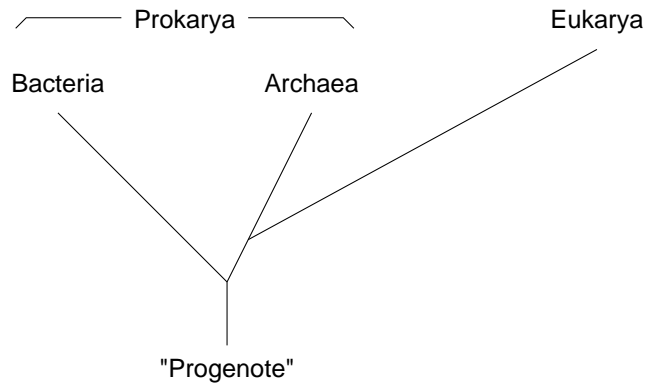
## **Kapitel-Übersicht**

- 1.1 Entstehung der Mikroorganismen (evolutionäre Aspekte)**
- 1.2 Entwicklung der Mikrobiologie**

## 1.1 Entstehung der Mikroorganismen (evolutionäre Aspekte)

**Bemerkung** Die hier dargestellte Evolution der Mikroorganismen widerspricht den Ansichten des Autors. Mehr Informationen dazu im Vorwort und auf meiner Homepage: [www.till-biskup.de](http://www.till-biskup.de)

---



---

**Abbildung 1.1:** Phylogenetischer Stammbaum der drei Domänen der Organismen

### 1.1.1 Wann sind die Mikroorganismen entstanden?

- älteste Belege für das Auftreten von Mikroorganismen
  - Stromatolithen<sup>1</sup>
    - \* z. T. ca. 3.5 Mrd. Jahre alt
  - Ablagerungen organischen Kohlenstoffs mit einem für Lebewesen typischen Isotopenverhältnis
    - \* in 3.8 Mrd. Jahre alten Ablagerungen
- Alter der Erde
  - 4.6 Mrd. Jahre [5]
  - Entstehung des Lebens bereits in den ersten Mrd. Jahren

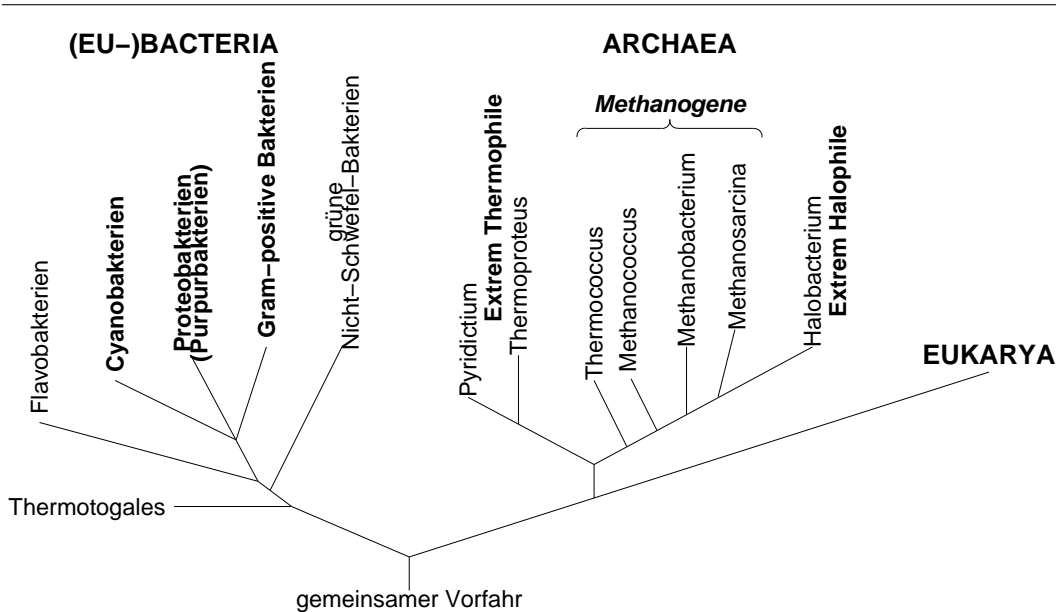
### 1.1.2 Phasen der Evolution

- Uratmosphäre
  - ohne Sauerstoff
  - vermutete Inhaltsstoffe:
    - \* H<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S

---

<sup>1</sup>griech. στρωμα, das Ausgebreitete, Decke, Lager; λιθος, Stein





**Abbildung 1.2:** Phylogenetischer Stammbaum der Prokaryota mit Einteilung in die drei Domänen aufgrund von rRNA-Sequenzvergleichen durch C. WOESE, nach [5]

- Evolution des Stoffwechsels
  - erste Organismen
    - \* anaerob
    - \* vermutlich chemoorganotroph und chemolithotroph
  - Photosynthese
    - \* notwendige Voraussetzung
      - Porphyrin-Ringsystem, u. a. zum Elektronentransport
    - \* erster Schritt: anoxygene Photosynthese
      - schon bei den ältesten bekannten Stromatolithen<sup>2</sup>
      - Wasserstoffdonor: reduzierte Verbindungen wie H<sub>2</sub>S
    - \* zweiter Schritt: oxygene Photosynthese
      - möglich durch zweite Lichtreaktion, gekoppelt mit dem manganhaltigen, wasserspaltenden Enzym (WOC — water oxidizing complex)
      - Verfügbarmachung von H<sub>2</sub>O als Quelle für Reduktionsäquivalente
- Bedeutung der oxygenen Photosynthese für die weitere Evolution
  - oxygene Photosynthese verbunden mit der Freisetzung molekularen Sauerstoffs
    - \* Konsequenzen

<sup>2</sup>Dieses Auftreten der anoxygenen Photosynthese bei den nach evolutiver Datierung ältesten bekannten Lebewesen stellt die Theoretiker vor das Problem, annehmen zu müssen, daß der ungeheuer komplizierte Stoffwechselapparat Photosynthese schon in der ersten Phase der Evolution entstanden sein muß.

1. toxische Effekte des Oxidationsmittels
  - “global gas warfare”<sup>3</sup>
2. Ausbildung des Ozonschildes gegen die UV–Einstrahlung
3. Entwicklung aerober Organismen
  - nutzen Sauerstoff als Wasserstoff–Akzeptor

•

## 1.2 Entwicklung der Mikrobiologie

### 1.2.1 Phasen der Historischen Entwicklung nach FRITSCHE

1. Phase: Die frühe Phase — Entdeckung der Mikroorganismen (1680-1860)
2. Phase: Die klassische Periode — Gärungsprozesse und Medizinische Mikrobiologie (1860-1910)
3. Phase: Entwicklung der Allgemeinen und Ökologischen Mikrobiologie (1885-1930)
4. Phase: Die Antibiotikaphase — Beginn der Biotechnologie (ab 1928)
5. Phase: Herausbildung der molekularen Mikrobiologie — Grundlage der Gentechnik (ab 1960)

---

<sup>3</sup>[10] schreibt unter dieser Überschrift: “Evolving in an oxygen-free atmosphere, the first photosynthetic bacteria consumed and gave off other gases. Then mutant offspring began to produce oxygen, poisoning the parents. As the air became richer in oxygen, the offspring took over the surface; the parents retreated.”

# *Biologie der prokaryotischen Zelle*

---



## Übersicht

---

2 Morphologie prokaryotischer Zellen

3 Interne Struktur prokaryotischer Zellen

4 Differenzierung

---



## Kapitel-Übersicht

### 2.1 Zell- und Koloniefornen

### 2.2 Beurteilungskriterien von Kolonien

## 2.1 Zell- und Kolonieformen

- Zellformen
  - Kokken (Mikrokokken)
    - \* kugelförmig
  - Stäbchen
    - \* zylindrisch gerade
  - Spirillen
    - \* schraubenförmig
  - Vibrionen
    - \* gekrümmte Stäbchen
  - coryneforme Bakterien
    - \* keulenförmig
- Kolonieformen
  - bei Kokken
    - \* Diplokokken
      - Zweierpakete
    - \* Streptokokken
      - perlschnurartige Verbände
    - \* Staphylokokken
      - Trauben von Kokken
    - \* Sarcinen
      - Achter-Pakete
  - bei Stäbchen
    - \* Fäden

## 2.2 Beurteilungskriterien von Kolonien [1]

- Farbe
  - Farbstoffbildung von Licht, Temperatur und Nährbodenzusammensetzung abhängig
    - nur unter definierten Kulturbedingungen aussagekräftig
- Geruch
  - Bsp.:
    - \* erdig
    - \* muffiger Geruch (Streptomyceten)
- Konsistenz

- schleimig viskos (*Klebsiella pneumoniae*)
- ledern-zäh (*Candida*)
- bröckelig (*Streptomyces*)
- wattig (*Neurospora*)
  
- Oberfläche
  - glatt-glänzend (*Escherichia coli*)
  - rauh-stumpf
  - faltig (viele Hefen)
  - fädig-spiralig (*Bacillus cereus*)
  
- Transparenz
  - durchsichtig (*Pseudomonas sp.*)
  - undurchsichtig (*Bacillus subtilis*)
  
- Kolonierand
  - glattrandig (*Escherichia coli*)
  - unregelmäßig gelappt (*Rhodococcus, Bacillus subtilis*)
  - gefranst (*Streptomyces sp.*)
  - verästelt (*Bacillus cereus var. mycoides*)
  
- Profil
  - flach (*Pseudomonas aeruginosa*)
  - erhaben-halbkugelig (*Streptomyces*)
  - nabelförmig





# *Interne Struktur prokaryotischer Zellen*

---

# 3

## **Kapitel-Übersicht**

- 3.1 Stoffliche Zusammensetzung**
- 3.2 Zellhülle**
- 3.3 Zellwand**
- 3.4 Fimbrien**
- 3.5 Flagellen und Pili**
- 3.6 Charakteristika der Archaea**

## 3.1 Stoffliche Zusammensetzung

- 20 Elemente häufig
- wichtigste Elemente in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit
  - H, C, O, N, P, S
- funktionelle Gruppen
  - Carboxyl
  - Aldehyd
  - Alkohol
  - Keto
  - Ester
  - Ether

### 3.1.1 Lipide

- 

### 3.1.2 Nukleinsäuren

- Pyrimidin-Basen
  - Cytosin, Thymin, Uracil
- Purin-Basen
  - Adenin, Guanin
- Basenpaarung durch H-Brücken
  - immer Purin-Pyrimidin
  - A=T
  - G≡C

eine 9-förmige  
Ringstruktur

das Paarungsverhalten ist  
konstant

## DNA

### DNA-Struktur

- normal rechtsgängig
- einwindig
  - eine Windung: 10.4 bp  $\triangleq$  3.4 nm
- *E. coli*-Chromosom
  - 4500 kbp = 4.5 Mbp
  - Länge: 1.4 mm
- auch Bakterienchromosom mit Sekundärstruktur

bevor wir die Tatsache  
ganz durchschauen, will  
ich Sie wieder auf den  
Boden der Tatsachen  
412 hockholen.

### taxonomische Einordnung mit Hilfe der DNA

- zwei Methoden
  1. Schmelzkurve der DNA
    - Maß für den GC-Gehalt
    - je mehr G und C, desto höher der Schmelzpunkt
      - \* drei H-Brückenbindungen (statt zwei bei A=T)
  2. DNA-Hybridisierung
    - Maß für den Verwandtschaftsgrad
      - \* beruht auf der Watson-Crick-Basenpaarung

### RNA

- Thymin (T) durch Uracil (U) ausgetauscht
- (meist) einsträngig
- unterschiedliche RNA-Species
  - vgl. Tab. 3.1, S. 13

	Sedimentationskoeffizient <sup>1</sup> / S	Anzahl Nucleotide	rel. Anteil
rRNA	23	2900	
	15	1540	80%
	6	120	
tRNA	4	75	15%
mRNA <sup>2</sup>	heterogen		5%

**Tabelle 3.1:** RNA-Species

### Zusammensetzung des prokaryotischen Ribosoms

- Sedimentationskoeffizient: 70S
- zwei Untereinheiten
  1. 50S
    - 23S-rRNA
    - 5S-rRNA
    - 34 Proteine
  2. 30S
    - 16S-rRNA
    - 21 Proteine

<sup>1</sup>für Prokaryoten

<sup>2</sup>Halbwertszeit  $t_{\frac{1}{2}} \leq$  wenige Minuten

### 3.1.3 Proteine

- drei Gruppen (Einteilung nach Funktion)
  1. Enzyme
  2. Strukturproteine
  3. regulatorische Proteine
- Aminosäuren (AS)
  - per Konvention 20 AS
    - \* 21. AS: Selenocystein (1 S-Atom durch Selen (Se) ersetzt)
  - biologisch aktive Konformation
    - \* L-Form
  - Racemasen
    - \* besonders bei Prokaryoten
    - \* D- → L-Form
  - AS-Kategorien
    1. saure AS
    2. basische AS
    3. neutrale AS
  - saure und basische AS
    - \* nur wenige
    - \* für Proteinkonformation wichtig
  - neutrale AS
    - \* überwiegen
- Protein
  - bis zu 1000 AS lang

#### Struktur von Proteinen

- 1°
  - Primärstruktur
  - AS-Sequenz
    - \* Anzahl und Reihenfolge
- 2°
  - Sekundärstruktur
  - zwei Formen
    - \*  $\alpha$ -Helix
    - \*  $\beta$ -Faltblatt

- 3°
  - Tertiärstruktur
  - Faltblatt + helikale Bereiche
    - Untereinheit (UE)
- 4°
  - Quartärstruktur
  - mehrere Untereinheiten
    - \* Anzahl und Art
  - homolog
    - \* UE gleich, identisch
  - heterolog
    - \* UE verschieden
- Chaperone
  - “molekulare Gouvernanten”
- Proteindenaturierung
  - durch Säure, Hitze, Alkohol, ...
  - Zerstörung der Quartär-, Tertiär- und Sekundärstruktur der Proteine
  - teilweise reversibel
    - \* abhängig vom Grad der Denaturierung

### 3.1.4 Speicherstoffe

- Kohlenhydrate
  - Stärke
  - Glykogen
- Lipide
  - Poly- $\beta$ -hydroxybuttersäure (PHB)
    - \* besitzt als Polymer Eigenschaften eines Kunststoffes
  - Gruppe: Poly- $\beta$ -hydroxyalkanoate
- Polyphosphat
- Schwefel
  - auch in Form von Granula

## 3.2 Zelhülle

### 3.2.1 Aufbau

- Doppelschicht (Bilayer) aus Phospholipiden
- zum Aufbau bei Archaea vgl. Kap. 3.6.2, S. 20

### 3.2.2 Funktion

- Permeabilität
- selektiver Transport
- Matrix für komplexe Prozesse
  - Beispiele: Photosynthese, Atmung

### 3.2.3 Permeabilität

Substanz	rel. P. <sup>3</sup> / %
H <sub>2</sub> O	100
Glycerin	0.1
Tryptophan	0.1
Glucose <sup>4</sup>	0.001
Cl <sup>-</sup>	0.000 001

### 3.2.4 Transportmechanismen

1. Diffusion
2. sekundärer Transport
  - (a) passiv
    - Uniporter
    - erleichterte Diffusion
  - (b) aktiv
    - Symporter
      - zu transportierendes Teilchen wird gemeinsam mit anderem Teilchen transportiert
      - oft von H<sup>+</sup>-Gradienten getrieben
    - Antiporter
      - zu transportierendes Teilchen wird durch anderes Teilchen im Gegentransport ausgetauscht
3. primärer Transport

---

<sup>3</sup>rel. P. = relative Permeabilität

<sup>4</sup>allein Diffusion

- aktiv
- Beispiel: ATPase als Protonentranslokator

#### 4. Gruppentranslokation (PTS)

- bei Gram<sup>+</sup> und Gram<sup>-</sup> Bakterien
- besonders bei Aufnahme von Hexosen

**aktiver Transport** energieabhängiger Transport entgegen dem Konzentrationsgefälle ohne chemische Modifikation der zu transportierenden Substanz [9]

**Gruppentranslokation** energieabhängiger (aktiver) Transport einer Substanz, der mit einer chemischen Modifikation dieser Substanz einhergeht (allgemein Phosphorylierung) [9]

## 3.3 Zellwand

### Übersicht

- allgemeine Charakteristika der Eubacteria
  - Vorkommen von D-Aminosäuren
    - \* Alanin, Glutaminsäure

#### 1. Gram-positive Eubacteria

- relativ einfacher Zellwandaufbau
  - im Vergleich zu Gram-negativen
- stoffliche Zusammensetzung
  - mehrschichtige Peptidoglykanstruktur (90%)
  - eingelagerte Teichonsäuren
- hohe Artspezifität bezüglich
  - Querverbindung der Tetrapeptidketten
  - Aminosäurebausteine
- Teichonsäuren
  - kettenförmige Makromoleküle aus Glycerol- oder Ribitolphosphat
  - teils D-Alanin oder Glucose als Substituenten
  - mit der Zellmembran und dem Peptidoglykan verbunden
  - reichen über die Wandoberfläche hinaus
  - haben Antigen-Eigenschaften
  - Funktionen (vermutlich)
    - \* u. a. Bildung von Kationen (?)

### 2. Gram-negative Eubacteria

- komplexere Wandstruktur
  - (a) meist einschichtige Peptidoglykan-Schicht
    - aus N-Acetyl-Glucosamin (GlcNAc) und N-Acetyl-Muraminsäure (MurNAc)
  - (b) **äußere Membran**
- Peptidoglykan
  - relativ einheitlich aufgebaut
  - typisch Tetrapeptidkette aus L-Alanin, D-Glutaminsäure, Meso-Diaminopimelinsäure (m-DMP) und D-Alanin
    - \* hängt am MurNAc
  - endständiges D-Ala-Molekül immer mit der m-DMP der benachbarten Tetrapeptidkette verbunden
- charakteristischer Baustein
  - **Meso-Diaminopimelinsäure** (m-DMP)
    - \* Vorstufe des Lysins
- periplasmatischer Raum
  - zwischen Peptidoglykanschicht und Membranen
  - enzymatischer Reaktionsraum
    - \* Enzymmoleküle hier fixiert
    - \* Zugang durch Substanzen von außen und innen
    - \* Funktionen
      - Inaktivierung von Antibiotika
      - Zusammenbau von Monomeren aus dem Zellinneren
      - Rezeptoren für chemotaktische Reize und deren Weitergabe an den Geißelapparat
- äußere Membran
  - Aufbau weicht von dem der Cytoplasmamembran ab
  - nach innen gerichtete Schicht
    - \* im wesentlichen aus Phospholipiden
  - äußere Schicht
    - \* aus Lipopolysacchariden (LPS)
      - stammspezifisch
      - wichtig bei Erkennungsreaktionen zwischen Krankheitserreger und Wirt

### 3. Archaea

- viele Besonderheiten
- *kein* Peptidoglykan (Muramin)
- Details vgl. Kap. 3.6.3, S. 21



## 3.4 Fimbrien

**Fimbrien** starre, 0.2 bis 12  $\mu\text{m}$  lange Strukturen ( $\varnothing$  3–14 nm). Dienen der Anheftung an tierische und menschliche Zellen, spielen keine Rolle bei der Bewegung. Vorkommen bei einigen Enterobakterien (*E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*), dort zahlreich (10–1000). [5]

- 

## 3.5 Flagellen und Pili

**Flagellen** *Geißeln*, 5–20  $\mu\text{m}$  lang ( $\varnothing$  14 nm); dienen der aktiven Bewegung durch Rotation; in der Cytoplasmamembran verankert. [5]

**Pili** länger als Fimbrien, nur ein bis wenige; dienen dem intraspezifischen Kontakt. Als Sex-Pili Funktion der Übertragung von Teilen der genetischen Information, andere Typen als Rezeptoren für Bakteriophagen. [5]

## 3.6 Charakteristika der Archaea

**Literatur** [5, S. 84ff.]

- wichtig für die Betrachtung der Besonderheiten der Archaea
  - grundlegende Gemeinsamkeiten mit den Bacteria und Eukaryota
    - läßt nach [5] auf gemeinsamen Ursprung aller Organismen schließen
- wesentliche Charakteristika [5]
  - Komponenten der Translations- und Transkriptionssysteme
  - Membranstruktur
  - Zellwandstruktur
  - Mechanismus der  $\text{CO}_2$ -Fixierung

### 3.6.1 Transkriptions- und Translationssysteme

**Literatur** [5, S. 84f.]

#### Transkriptionssystem

- Struktur des Nucleotids oder Chromosoms
  - mit Proteinen assoziiert

- \* den Histonen der Eukaryota ähnlich
- Introns
  - Intron** DNA–Abschnitt, der den codierenden Bereich (Exon) unterbricht [5]
- RNA–Polymerase
  - verschiedene Typen
  - mehr Untereinheiten als bei den Bacteria
    - \* Bacteria: 4 UE
    - \* Archaea: 8–10 UE

### Translationssystem

- spezifische rRNA–Struktur
  - führte in der Klassifikation nach CARL WOESE zu einer eigenen Domäne Archaea
  - spiegelt sich in der Form der Ribosomen wider
- Besonderheiten der Proteinbiosynthese
  - Grund für Unwirksamkeit vieler Antibiotika, die die bakterielle Proteinsynthese hemmen
    - \* Erythromycin, Streptomycin, Chloramphenicol
  - spezifisches Startcodon für die ribosomale Peptidsynthese
    - \* Synthese beginnt mit Methionin (Bacteria: Formylmethionin)

### 3.6.2 Membranstruktur

**Literatur** [9, p. 65]

- neben der spezifischen rRNA–Struktur markantestes Merkmal
- lipophile Komponente
  - **Isoprenoidalkylketten** (*nicht* Fettsäuren)
    - \* durch **Etherbindung** an Glycerin gebunden
    - \* Länge der Ketten kann schwanken
    - \* auch pentazyklische Ringe in der Kette
  - Bilayer
    - \* Glyceroldiether
    - \* Glycerol–Komponenten (polar) nach außen gerichtet
  - Monolayer
    - \* Glyceroltetraether
    - \* noch stabiler als Bilayer

### 3.6.3 Zellwandstruktur

Literatur [9, pp. 73–4]

- Aufbau der Zellwand stark uneinheitlich
- Gemeinsamkeit aller Archaea
  - kein Peptidylglykan (Murein)
- Zellwand-Typen [5]
  1. Pseudopeptidoglycan/Pseudomurein
    - N-Acetyltalosaminsäure anstelle von N-Acetylmuramin
    - Glykankomponenten  $\beta$ -1,3-verknüpft
    - ausschließlich L-Aminosäuren
  2. Polysaccharide, Glykoproteine, Proteine
    - (Pseudo)peptidoglykan-Struktur fehlt völlig
  3. S-Layer (*surface layer*)
    - aus kristallin angeordneten Glykoprotein-Untereinheiten
      - \* bilden hexagonales Muster
    - nicht nur bei Archaea, auch bei Bacteria [5]
      - \* durch Fehlen bei Modellorganismen (*E. coli*, *Bac. subtilis*) lange Zeit übersehen

### 3.6.4 Mechanismus der CO<sub>2</sub>-Fixierung

Literatur [5, S. 87ff.]

- nicht wie bei Eubakterien und Pflanzen über den CALVIN-Cyclus
- zwei (alternative) Wege
  1. Reduktiver Acetyl-CoA-Weg
  2. Reduktiver Tricarbonsäure-Cyclus

#### Reduktiver Acetyl-CoA-Weg

- 

#### Reduktiver Tricarbonsäure-Cyclus

-



**Kapitel-Übersicht**  
**4.1 Heterocysten**  
**4.2 Endosporen**

**Schlagwörter** Heterocyste, Endospore

### 4.1 Heterocysten [5]

**Heterocyste** *heterocyst*, differenzierte Cyanobakterien-Zelle, die Stickstoff-Fixierung durchführt [9]

- Heterocysten
  - differenzierte Zellen der Cyanobakterien
  - Orte der Stickstoffbindung
- morphologische Besonderheiten
  - dickwandig
  - hell
- enzymatische Ausstattung
  - Nitrogenase
    - \* fixiert molekularen Stickstoff ( $N_2$ )
  - $H_2$ -regenerierende Hydrogenase
  - Photosystem I
    - \* stellt ATP bereit
  - Photosystem II *fehlt*
    - \* in den benachbarten (vegetativen) Zellen lokalisiert
    - \* Nachbarzellen liefern den Heterocysten Reduktionsäquivalente und Assimilate

### 4.2 Endosporen

**Endosporen** extrem hitzeresistente, dickwandige, differenzierte Zellen; Vorkommen bei manchen Gram-positiven Bakterien [9]

- zur Sporulation (Sporenbildung) befähigte Vertreter
  - *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*, *Deulfotomaculum*
- Endosporen widerstandsfähig gegen
  - extreme Hitze
    - \* stundenlanges Kochen
    - \* Sterilisation nur durch Autoklavieren oder fraktionierte Sterilisation

- jahrzehntelange Austrocknung
- Strahlung
- chemische Desinfektionsmittel
- Ursache der hohen Resistenz
  - extreme Dehydratisierung der Proteine
    - \* Wassergehalt der Sporen: 15%
  - Dipicolinsäuregehalt
  - Hüllenbildung

### Sporenbildung (Sporogenese, Sporulation)

- Hauptschritte
  1. Sporenprotoplast–Abschnürung
  2. Vorsporenbildung
  3. Cortex–Bildung (Sporenrinde)
  4. Coat–Bildung (Sporenhülle)
- Induktion der Sporenbildung
  - durch Nährstoffmangel
  - differenzielle Genexpression
    - \* Aktivierung von ca. 200 Genen





# *Grundlagen des mikrobiellen Stoffwechsels*

---

# *II*

## Übersicht

---

5 Wachstum

6 Katabolismus

7 Kohlenstoff- und Stickstoff-Assimilation

8 Anabolismus

---



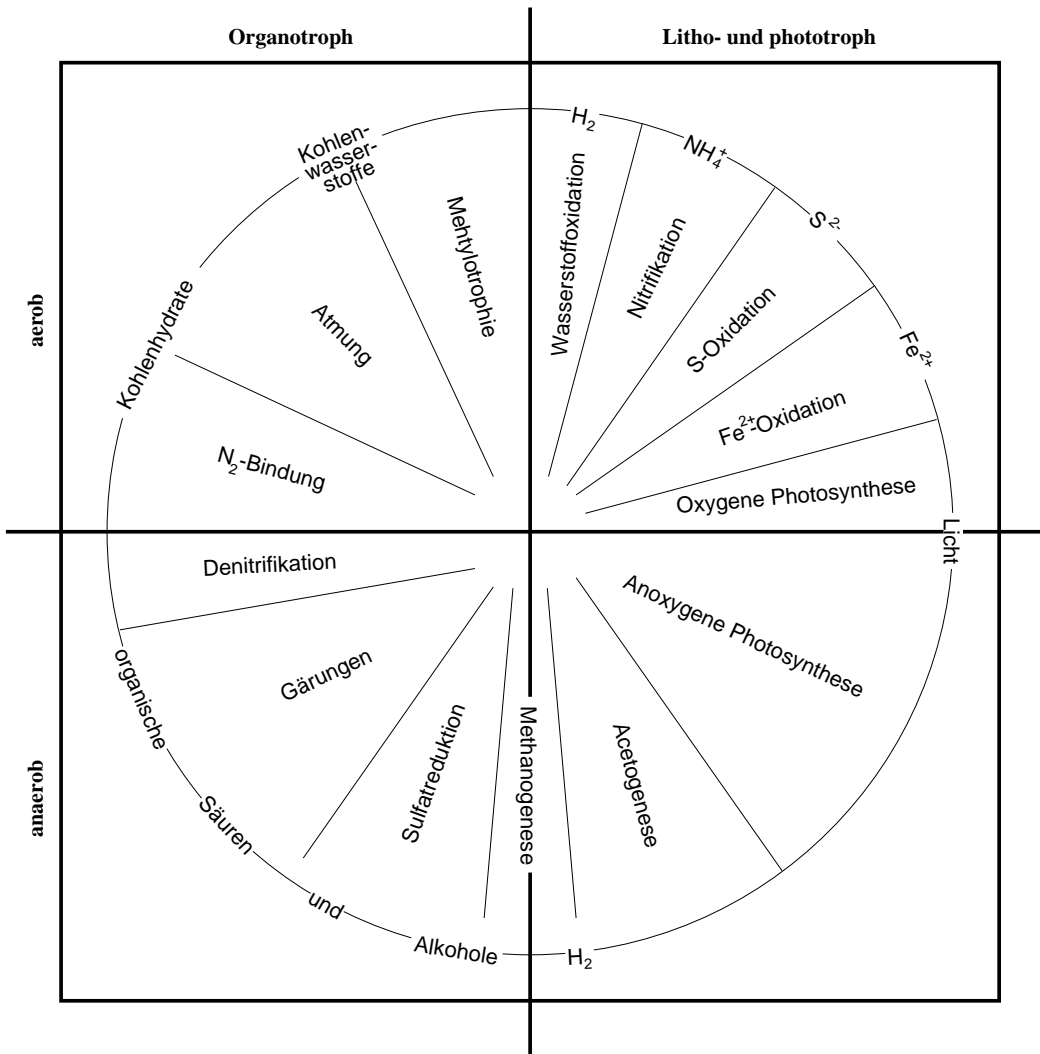


Abbildung 4.1: Vielfalt des Stoffwechsels; nach [5]



## Kapitel-Übersicht

- 5.1 Kultur von Mikroorganismen
- 5.2 Wachstum
- 5.3 Zelluläre Vorgänge

## 5.1 Kultur von Mikroorganismen

### Einteilung der Elemente

#### 1. Makroelemente

- essentielle Elemente
  - C, O, H, N S, P
- weitere Elemente
  - $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ , Fe,  $Cl^-$

#### 2. Mikroelemente

- Spurenelemente
- Metalle
  - essentielle Cofaktoren für bestimmte Enzyme
  - Zn, Mn, Mo, Se, Co, Cu, Ni, W

### Typen von Nährmedien

#### 1. Vollmedien (Komplexmedien)

- Beispiele:
  - Hefeextrakt
  - Fleischextrakte
  - Pepton (Pepsin-Verdau)
  - Trypton (Trypsin-Verdau)
- Inhalt
  - Aminosäuren, Peptide, Vitamine

#### 2. Minimalmedien

- definierte Medien
- Suppline
  - zugesetzte organische Substanzen
  - Beispiele
    - \* Aminosäuren, Vitamine

## 5.2 Wachstum

### 5.2.1 Wachstumsparameter

- pH-Wert
- $O_2$ -Gehalt
- Temperatur
- (Salzgehalt)

### pH-Wert

- pH im Cytoplasma grundsätzlich nahe des Neutralpunktes
  - Regulationsmechanismen
- Ausnahmen
  - insbesondere Archaea
  - Bsp.: Halophile, extrem Halophile, Acidophile
- gesamtes Spektrum
  - zwischen pH 1 und pH 12

### O<sub>2</sub>-Gehalt

- Aerobes
  - nutzen alle Sauerstoff
  - 1. obligate
    - Sauerstoff existentiell
  - 2. fakultative
    - Sauerstoff wird verwendet, aber nicht existentiell
  - 3. microaerophile
    - niedrigerer P<sub>O<sub>2</sub></sub> als in normaler Atmosphäre
- Anaerobes
  - Sauerstoff wird im Stoffwechsel nicht verwendet
  - 1. aerotolerant
    - tolerieren Anwesenheit von Sauerstoff
  - 2. obligat
    - strikte Anaerobier
    - Sauerstoff schädlich, lethal

### Temperatur

- Psychrophile
  - Cryophile
  - kälteliebend
  - in kalten Meeresregionen
  - Temperaturmaxima 10–20°C
- Mesophile

- Temperaturmaxima 40–50°C
- Temperaturoptima 35–40°C
- Thermophile
  - Temperaturoptima 40–70°C
- extrem Thermophile
  - Bacteria
  - $\leq 88^\circ\text{C}$
- Hyperthermophile
  - Archaea
  - bis 113°C
- maximale Obergrenze bei ca. 150°C
  - thermisches Aufbrechen der chemischen Bindungen

### 5.2.2 Wachstumskurve

- typischer Verlauf in fünf Phasen
  1. lag-Phase
    - Verzögerungsphase
  2. log-Phase
    - Phase exponentiellen Wachstums
    - erscheint in logarithmischer Auftragung als Gerade (daher der Name)
  3. Phase verzögerten Wachstums
    - *Retardation Phase*
    - Konzentration der Substrate und damit die Wachstumsrate nehmen ständig ab
  4. stationäre Phase
    - Zellen teilen sich nicht mehr
    - Nährmedium aufgebraucht
  5. Absterbephase
    - abnehmende Lebendzellzahl



### 5.2.3 Meßmethoden

- Quantifizierung
  1. Zählkammer
  2. Lebendzellzahl
    - Auszählung von Kolonien auf Agarzellplatte
    - \* Einzelzelle → Kolonie
  3. Zellmasse (Trockengewicht)
- indirekte Bestimmung
  - optische Trübungsmessung

## 5.3 Zelluläre Vorgänge

### 5.3.1 Zellteilung

1. DNA-Replikation
  - Verdoppelung der Chromosomen
  - Zunahme der Zellmasse
2. Ausbildung eines Septums
  - Verteilung der Chromosomen
3. Querteilung

### 5.3.2 Zellwachstum

#### in exponentieller Phase

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

$$\approx \frac{\log N - \log N_0}{0.3}$$

$N$  = Zellzahl  
 $N_0$  = Zellzahl zu Beginn  
 $n$  = Generationszahl

#### Generationszeit

$$g = \frac{t}{n}$$

$t$  = Zeitraum zwischen Messungen

### Teilungsrate

$$\nu = \frac{n}{t}$$

### Bakteriendichte (Zellmasse)

$$x \propto \frac{dx}{dt}$$
$$\mu x = \frac{dx}{dt} \qquad \mu = \text{Wachstumsrate}$$
$$\mu = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} = \frac{\ln 2}{t_d}$$

### Verdoppelungszeit

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

### Verdünnungsrate bei kontinuierlicher Kultur

$$D = \frac{f}{V}$$

$f$  = Zuflußrate  
 $V$  = Volumen des Gefäßes

## **Kapitel-Übersicht**

**6.1 Atmungsprozesse**

**6.2 Gärungen**

**Katabolismus** Abbau organischer Substrate zur Energiegewinnung und Bereitstellung von Bausteinen für Synthesen. [5]

### 6.1 Atmungsprozesse

#### 6.1.1 Atmung

**Atmung** vollständige Substratoxidation zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  mit Sauerstoff als entständigem (terminalem) Elektronenakzeptor

- Charakteristika der Atmung
  - katabole Reaktionsfolge
  - Abbau organischer Substanz zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$
  - freie Energie wird zur ATP-Bildung benutzt
- Hauptphasen der Atmung
  1. Glucoseabbau bis zum Pyruvat
    - drei unterschiedliche Wege:
      - (a) Embden-Meyerhof-Parnas-Weg (Fructose-1,6-bisphosphat-Weg)
      - (b) Entner-Doudoroff-Weg (2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat-Weg)
      - (c) Pentosephosphat-Cyclus
  2. Oxidative Pyruvatdecarboxylierung
  3. Tricarbonsäure-Cyclus
  4. Atmungskette

#### **Embden-Meyerhof-Parnas-Weg (Fructose-1,6-bisphosphat-Weg)**

- EMP-Weg
- sehr verbreitet
  - vom überwiegenden Teil eukaryotischer Mikroorganismen beschrieben
  - bei vielen Bakterien
  - auch als Einleitung zahlreicher Gärungsprozesse
- Historie
  - zuerst am Muskelgewebe untersucht
  - als **Glykolyse** bekannt geworden

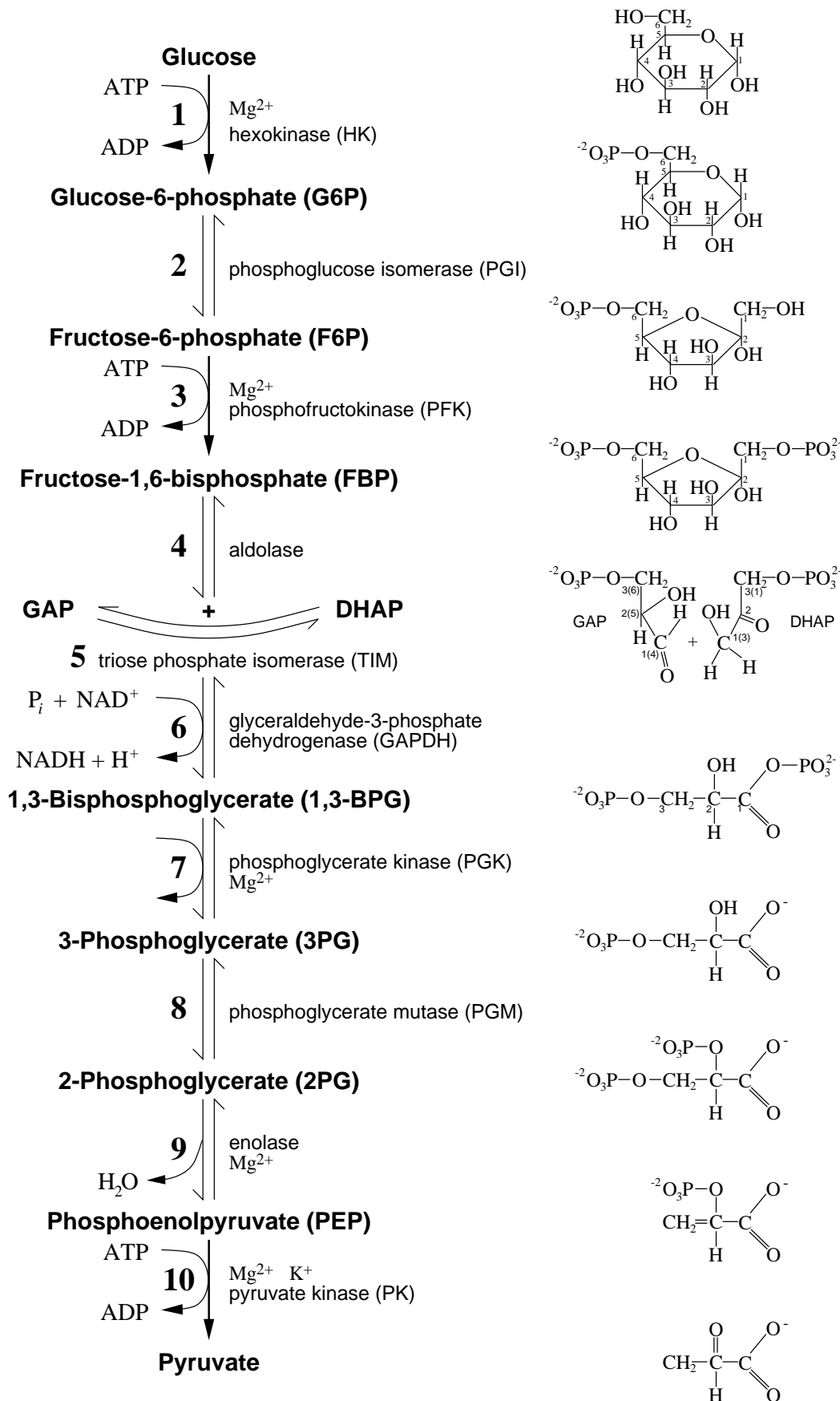


Abbildung 6.1: The degradation of glucose via the glycolytic pathway, from [11]

### Reaktionsschritte

1. Phosphorylierung der Glucose zu Glucose-6-phosphat
  - mit Glucoseaufnahme gekoppelt
  - Mechanismus der Glucose-Aufnahme und -Phosphorylierung organismenspezifisch
    - (a) Bäckerhefe
      - Hexokinase
    - (b) *E. coli*
      - Phosphoenolpyruvat-Glucose-Phosphotransferase-System
        - \* PEP-PTS-System
        - \* Enzymsystem aus drei Komponenten
        - \* in der Membran lokalisiert
        - \* phosphoryliert Glucose mittels PEP
          - PEP enthält Phosphat in energiereicher Bindung
          - Potential der Bindung wird auf Glucose übertragen
2. Isomerisierung des Glucose-6-Phosphates zu Fructose-6-phosphat
  - Enzym: Glucosephosphat-Isomerase
3. Phosphorylierung der Fructose zu Fructose-1,6-bisphosphat
  - Phosphorylierung in Position 1 der Hexose mittels ATP
  - Fructose-1,6-bisphosphat charakteristisches Zwischenprodukt dieses Abbauweges (→ Name!)
4. Spaltung des Fructose-1,6-bisphosphates in zwei C<sub>3</sub>-Komponenten
  - Enzym: Aldolase
  - Produkte:
    - Glycer(in)aldehyd-3-phosphat
    - Dihydroxyacetonphosphat
  - beide Produkte stehen durch eine Isomerase im Gleichgewicht
    - Isomerase: Triosephosphat-Isomerase
5. Dehydrogenierung des Glycerinaldehyd-3-phosphates
  - Dehydrogenierung zur Carbonsäure
  - leitet die ATP-Synthese durch Substratstufenphosphorylierung ein
    - ATP-Bereitstellung eine Funktion des Fructose-1,6-bisphosphat-Weges
  - Enzym: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
6. Phosphoglycerat-Kinase-Reaktion
  - Übertragung der Phosphatgruppe in Position 1 auf ADP

- erste Substratkettenphosphorylierung des EMP–Weges
- Phosphorylierung und Oxidation des Glycerinaldehyds zur Carbonsäure miteinander verbunden
- Enzym: Phosphoglycerat–Kinase

## 7. Isomerase–Reaktion

- Übertragung der Phosphatgruppe von Position 3 zur Position 2
- Enzym: Phosphoglycerat–Mutase

## 8. Wasserabspaltung durch Enolase

- Wasserabspaltung erhöht das Gruppenübertragungspotential der Phosphorylgruppe
- Enzym: Enolase

## 9. Pyruvatkinase–Reaktion

- Übertragung der Phosphorylgruppe von PEP auf ADP
- Produkte:
  - Pyruvat
  - ATP

**Oxidative Pyruvat–Decarboxylierung**

- Pyruvat
  - steht im Zentrum des Intermediärstoffwechsels
  - dient der Synthese zahlreicher Metabolite
  - kann auf verschiedenen Wegen weiteroxidiert werden
    - \* Atmung: Oxidation durch Pyruvat–Dehydrogenase zu Acetyl–CoA
- Pyruvat–Dehydrogenase
  - Multienzym–Komplex
  - besteht aus drei Enzymen
    1. Pyruvat–Dehydrogenase
    2. Dihydrolipoyl–Transacetylase
    3. Dihydrolipoyl–Dehydrogenase
- Coenzym A
  - eines der wichtigsten Transportmetaboliten
  - fungiert v. a. als Acetylgruppenüberträger
  - Acylthioesterbindung relativ energiereich
 
$$\Delta G^{0'} = -34 \text{ kJ}$$
- Produkt
  - Acetyl–Coenzym A (Acetyl–CoA)

### Tricarbonsäure–Cyclus (TCC, Citronensäure–Cyclus, KREBS–Cyclus)

- Bezeichnungen
  - Tricarbonsäure–Cyclus (Tricarbonacid Cycle, TCA cycle, TCC)
  - Citronensäure–Cyclus (citric acid cycle)
  - KREBS–Cyclus (KREBS cycle)
- Funktionen
  1. Abbau der Acetyl–Gruppe
    - zur Gewinnung von Reduktionsäquivalenten
      - \*  $\text{NADH}^+$ ,  $\text{FADH}_2$
    - GTP und ATP (in der anschließenden Atmungskette)
  2. Bereitstellung von Zwischenprodukten für Synthesen

### Reaktionsschritte

1. Synthese von Citrat
  - aus Acetyl–CoA und Oxalacetat
  - Energie zur Knüpfung der Bindung stammt aus dem Thioester
  - Enzym: Citrat–Synthase
2. Isomerisierungen
  - Enzym: Aconitase
3. erste Dehydrogenierung
  - mit Decarboxylierung zu 2–Oxoglutarat ( $\alpha$ –Ketoglutarat) verbunden
  - Enzym: Isocitrat–Dehydrogenase
    - katalysiert Dehydrogenierung und Decarboxylierung
    - bei einigen Organismen  $\text{NAD}^+$ –, bei anderen (Bsp.: *E. coli*)  $\text{NADP}^+$ –spezifisch
4. zweite Dehydrogenierung
  - Enzym: 2–Oxoglutarat–Dehydrogenase
  - Mechanismus
    - ähnlich der oxidativen Decarboxylierung
    - Multienzymsystem mit gleichen Cofaktoren
      - \* katalysiert  $\text{CO}_2$ –Abspaltung, CoA–Übertragung und  $\text{NADH}$ –Bildung
5. Substratstufenphosphorylierung
  - Enzym: Succinat–Thiokinase



- Energie der Thioesterbindung des Succinyl-CoA wird zur GTP- oder ATP-Synthese genutzt

### 6. dritte Dehydrogenierung

- Enzym: Succinat-Dehydrogenase
- Oxidation von Succinat zu Fumarat
- Bildung von  $\text{FADH}_2$  (statt NADH)
  - Redoxpotential dieser Reaktion ( $E^{0'} = +0.03 \text{ V}$ ) reicht nicht zur Reduktion von  $\text{NAD}^+$  ( $E^{0'} = -0.32 \text{ V}$ )

### 7. Hydratisierung von Fumarat zu Malat

- Enzym: Fumarase

### 8. vierte Dehydrogenierung

- Enzym: Malat-Dehydrogenase
- Umsetzung von Malat zu Oxalacetat
  - notwendiges Ausgangsprodukt für neuen Durchlauf des Zyklus regeneriert

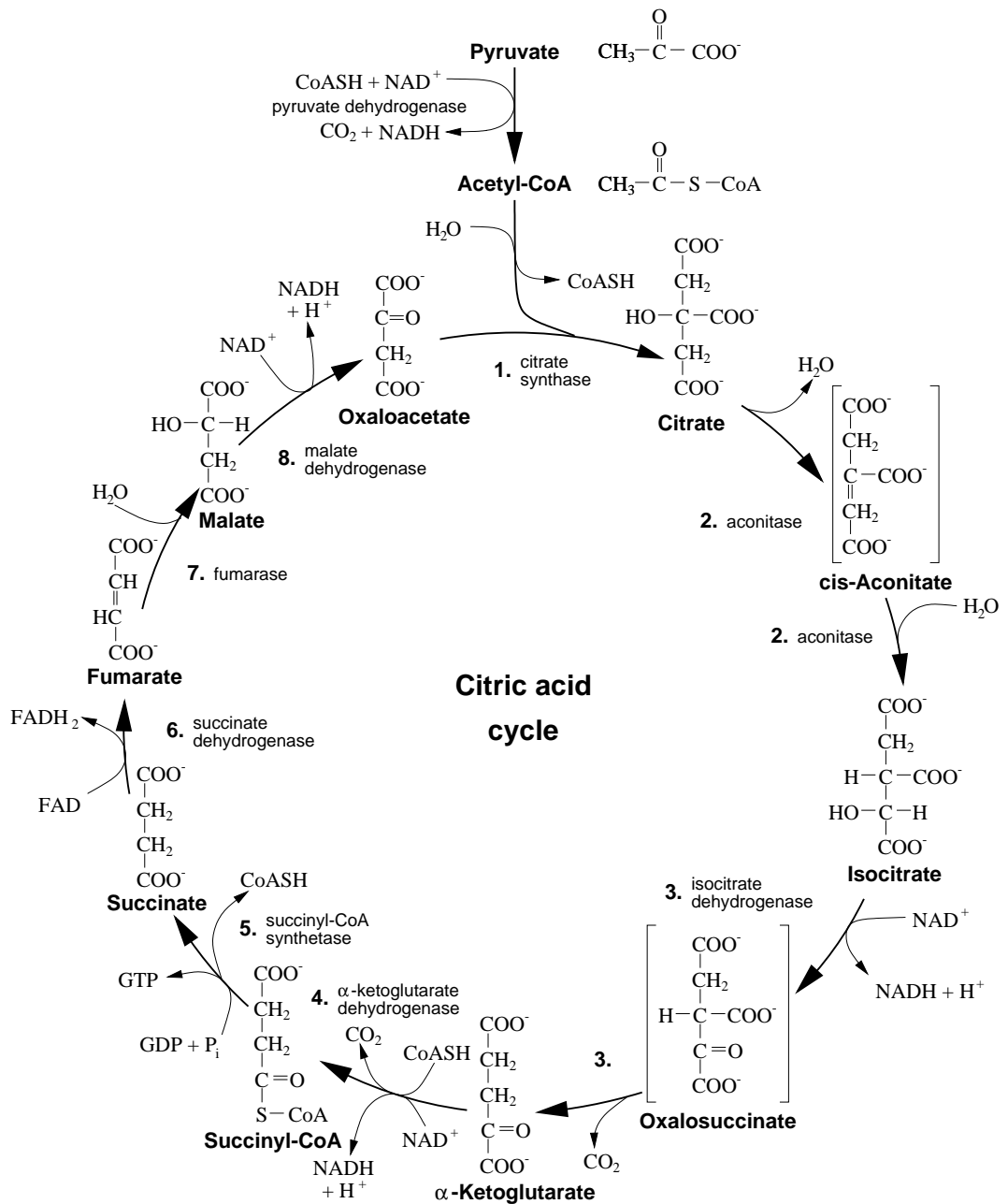
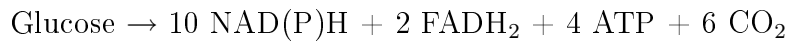


Abbildung 6.2: The reactions of the citric acid cycle, from [11]

## Ergebnis

- oxidative Decarboxylierung einer C<sub>2</sub>-Einheit
- Freisetzung von 2 Äquivalenten CO<sub>2</sub>
- Gesamtbilanz des Glucoseabbaus



- CO<sub>2</sub>
  - für die Zelle ohne Bedeutung
- Reduktionsäquivalente
  - 10 NAD(P)H<sup>+</sup>, 2 FADH<sub>2</sub> (entspricht 24 H)
  - dienen der weiteren Energiegewinnung in der Atmungskette
    - \* werden dort regeneriert
  - ohne Regeneration käme der Stoffwechsel aus Mangel an H-Akzeptoren schnell zum Stillstand

	ATP	NADH + H <sup>+</sup>	FADH <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>
EMP	2	2	—	—
PDH	—	2	—	2
TCA	2	6	2	4
$\Sigma$	4	10	2	6

**Tabelle 6.1:** Gesamtbilanz des oxidativen Glucose-Abbaus

## Atmungskette

- Aufgaben
  1. Regenerierung von NAD<sup>+</sup>
  2. Koppelung mit ATP-Synthese
- Atmungskette besteht aus Wasserstoff- und Elektronencarriern
  - in den Membranen der Bakterienzelle (bzw. der inneren Mitochondrienmembran)
  - Anordnung nach steigendem Redoxpotential
    - \* Reduktionsäquivalente von NADH bzw. FADH<sub>2</sub> werden schrittweise über steigendes Redoxpotential zu O<sub>2</sub> transportiert
    - \* gleichzeitig Transport von Protonen durch die Membran
      - Protonengradient
        - dient der ATP-Bildung

- Wasserstoff-Carrier
  - Flavoproteine, Ubichinone (Coenzym Q)
  - prosthetische Gruppen können 2 H-Atome übertragen
- Elektronen-Carrier
  1. Eisen-Schwefel-Proteine (Fe-S-Proteine)
    - enthalten Eisen-Atome
      - \* untereinander über Sulfidschwefel verbunden
      - \* mit dem Protein über Cystein-Schwefel verbunden
    - Redoxsysteme
      - \* übertragen durch den Wertigkeitswechsel des Eisens Elektronen
  2. Cytochrome
    - Eisen im Zentrum des Porphyrinringsystems
    - große Zahl verschiedener Cytochrome
      - \* Unterscheidung in Seitenketten des Porphyrinringsystems und der Proteinbindung
        - bedingen unterschiedliche Redoxpotentiale
      - \* Redoxpotentiale ( $E'_0$ )
        - reichen von  $-0.2$  V bis  $+0.4$  V (bei Cytochrom a)
    - Cytochrom a
      - \* endständige (terminale) Oxidasen
      - \* reagieren mit dem Sauerstoff
- bakterielle Atmungskette
  - weitaus vielfältiger als die der Eukaryoten
    - \* Unterscheidung von vier Typen von Cytochromen
      - Cytochrom a, b, c, d
      - Cytochrom o ist ein b-Typ-Cytochrom mit Endoxidase-Aktivität
  - Grund für die Vielfalt
    - \* Bakterien vielfältigen und wechselnden Umwelteinflüssen ausgesetzt
    - \* daher oft **verzweigte Atmungsketten**
      - mehrere Endoxidasen
    - \* mitochondriale Atmungsketten
      - in das konstante Milieu der Zelle eingebettet

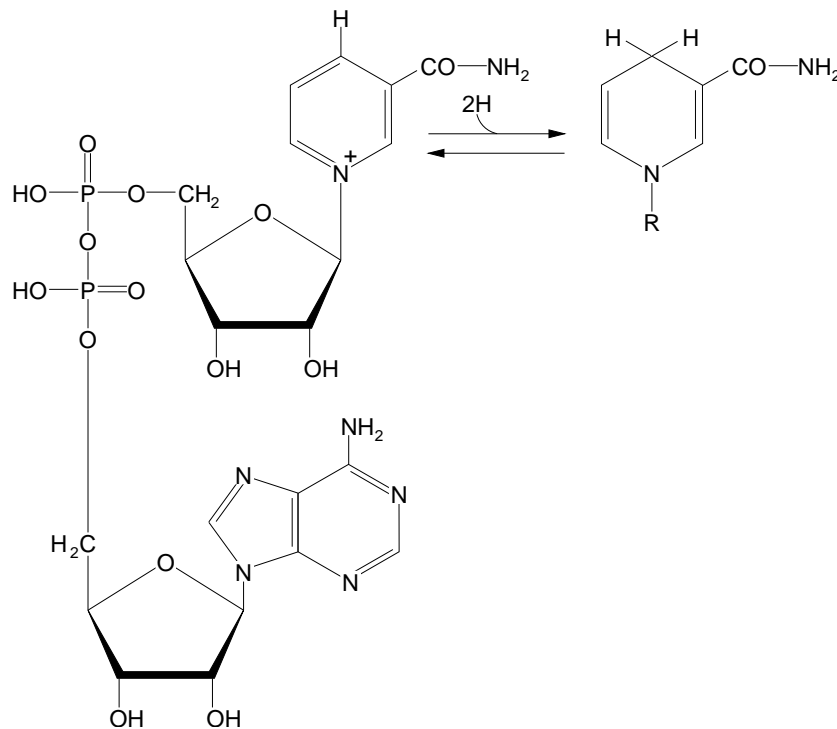


Abbildung 6.3: Struktur von  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  (Nicotinamid-adenin-dinucleotid)

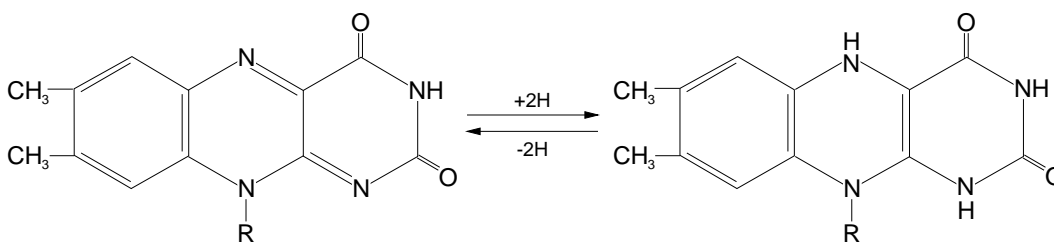


Abbildung 6.4: Struktur der Funktion von  $\text{FAD}/\text{FADH}_2$  (Flavin-adenin-dinucleotid)

### Anordnung der Wasserstoff- und Elektronen-Carrier in der Membran

- drei komplexe Protonen-Pumpen (Wasserstoff-Carrier)
  - durch zwei mobile Elektronen-Carrier miteinander verbunden
- Folge der räumlichen Orientierung der Moleküle
  - **vektorieller Protonentransport**
    - \* Grundlage der Chemiosmotischen Theorie (s. u.)
- Wasserstoff aus den Substraten
  - wird ionisiert
  - Protonen werden durch Proteinkomplexe aus der Membran nach außen transportiert

- Elektronen werden durch Komponenten bis zur terminalen Cytochromoxidase gereicht
  - \* dort Reaktion mit Sauerstoff
- (stark vereinfachte) Anordnung in der Membran
  1. NADH-Reduktase aus Flavoprotein und Fe-S-Komplex
    - erste Protonenpumpe (Protonen-Carrier)
    - reduziert NADH zu NAD<sup>+</sup>
  2. Coenzym Q
    - mobiler Elektronen-Carrier
    - überträgt Elektronen von der NADH-Reduktase auf die Cytochrom-Reduktase
  3. Cytochrom bc<sub>1</sub> (Cytochrom-Reduktase)
    - zweite Protonenpumpe
  4. Cytochrom c
    - mobiler Elektronen-Carrier
    - überträgt Elektronen von der Cytochrom-Reduktase auf die Cytochrom-Oxidase
  5. Cytochrom aa<sub>3</sub> (Cytochrom-Oxidase)
    - dritte Protonenpumpe
    - überträgt die Elektronen auf Sauerstoff

### Chemiosmotische Theorie

- vier Postulate [4]
  1. Der Elektronenfluß in der Elektronentransportkette ist unmittelbar mit der Translokation von Protonen und dem Aufbau eines Protonengradienten verknüpft.
  2. Es gibt eine protonentranslozierende ATPase, an der die Entladung des Protonengradienten mit der Synthese von ATP gekoppelt ist.
  3. Die Translokation von Protonen ist auch mit dem Transport von Anionen und Kationen verbunden, wodurch der Austausch wichtiger Metaboliten zwischen Kompartimenten von Zellen und Zellorganellen möglich ist.
  4. Die unter 1–3 genannten Systeme sind in intakten, Ionen-*impermeablen* Membranen lokalisiert.
- ATP-Synthase
  - F<sub>1</sub>F<sub>0</sub>-ATPase, F-ATPase
  - katalysierte Reaktion

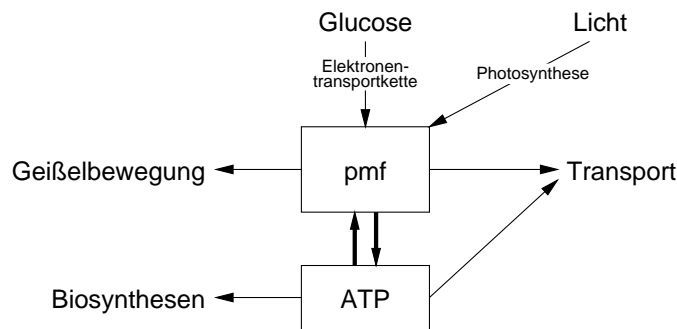
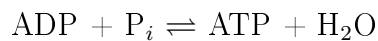


Abbildung 6.5: Bedeutung der Protonenmotorischen Kraft (pmf) für die Zelle



– Struktur des Enzyms bei *E. coli*

\*  $F_1$

- $\alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \varepsilon$
- wasserlöslich
- katalytische Zentren:  $\beta_3$

\*  $F_0$

- a b<sub>2</sub> c<sub>12</sub>
- H<sup>+</sup>-Kanal
- durchspannt die Membran

– kleiner molekularer Rotor

\* Verbindung v. a. mit  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  durch b-UE

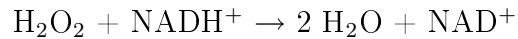
– Energie verbrauchender Schritt

- \* Ablösung des ATP vom Enzym
- \* kovalente Verknüpfung von  $\text{ADP} + \text{P}_i$  quasi *ohne* Energiezufuhr

### toxische Sauerstoffspezies

- Entstehung toxischer Sauerstoffspezies durch Nebenreaktionen der Atmung
  - katalysiert durch Flavin- und Fe-S-Proteine sowie Chinone
- Grund für die Toxizität
  - oxidieren organische Zellkomponenten
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - *Wasserstoffperoxid*
  - abbauende Enzyme
    - \* **Catalase**
    - $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

### \* Peroxidase



### • $\text{O}_2^{\bullet-}$

– *Superoxidradikal*

– wesentlich toxischer als  $\text{H}_2\text{O}_2$

– Bildung

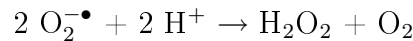
\* ebenfalls durch Wasserstoff- und Elektronen-Carrier in Gegenwart von Oxidasen

\* Übertragung nur eines Elektrons

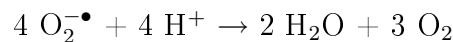
– Schutzfunktion: **Superoxid-Dismutase**

\* bei vielen aeroben Mikroorganismen

\* Reaktion



\* Detoxifikation durch Zusammenwirken von Superoxid-Dismutase und Catalase



## Entner-Doudoroff-Weg (2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat-Weg)

### • alternativer Weg zur Bereitstellung von Pyruvat

– Alternative zum EMP-Weg (wie auch der Pentosephosphat-Cyclus)

### • Vertreter

– v. a. Gram-negative Bakterien

– *Pseudomonas*-, *Xanthomonas*-, *Rhizobium*-Arten

– *Thiobacillus*

– *E. coli* baut über diesen Weg Gluconat ab

### • wesentliche Unterschiede zum EMP-Weg

– in den einleitenden Reaktionen der Aktivierung und Spaltung der  $\text{C}_6$ -Verbindung

## Reaktionsschritte

1. Phosphorylierung der Glucose

- Enzym: Hexokinase

2. Dehydrogenierung zu 6-Phosphogluconolacton

- Enzym: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

3. Umsetzung zu 6-Phosphogluconat



- Enzym: Gluconolactonase
- 4. Dehydrierung zu 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat (KDPG)
  - KDPG charakteristische Verbindung des Entner-Doudoroff-Weges
  - Enzym: 6-Phosphogluconat-Dehydrase
- 5. Spaltung zu Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat
  - Enzym: 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat-Aldolase
    - KDPG-abhängige Aldolase
- 6. Abbau des Glycerinaldehyd-3-phosphates
  - gleiche Reaktionen wie beim EMP-Weg
  - zweimalige ATP-Bildung

### Bilanz

- ATP-Ausbeute geringer als beim EMP-Weg
  - Grund: zweite C<sub>3</sub>-Verbindung ist bereits Pyruvat
- Bilanz-Formel
$$\text{Glucose} \rightarrow 2 \text{ Pyruvat} + 1 \text{ ATP} + 2 \text{ NAD(P)H}$$

### Besonderheiten bei einigen Pseudomonaden

- erste Dehydrogenierungen der Glucose zu Gluconat und 2-Ketogluconat an der Membran
- freigesetzte Reduktionsäquivalente
  - gehen direkt in die benachbarte Atmungskette ein
- Gluconat oder 2-Ketogluconat
  - werden in das Cytoplasma aufgenommen
  - werden in den Entner-Doudoroff-Weg eingespeist

### Pentosephosphat-Cyclus

- alternativer Weg zur Bereitstellung von Pyruvat
  - Alternative zum EMP-Weg (wie auch der Entner-Doudoroff-Weg)
- mehrere Funktionen
  - Einschleusung von Glucose in den Intermediärstoffwechsel
    - \* bei vielen Mikroorganismen von untergeordneter Bedeutung
  - Bildung von Ribosen

- \* für den Aufbau von Nucleotiden und Nucleinsäuren
- \* wichtiger als Einschleusung von Glucose
- Bildung von NADPH
- \* für Synthesen
- Charakteristika
  - Dehydrogenasen meist NADP<sup>+</sup>-spezifisch
- Anteil an der Zuckerverwertung
  - bei vielen Bakterien etwa ein viertel des aufgenommenen Zuckers
  - bei manchen nur dieser Weg zur Glucoseverwertung
    - \* Vertreter
      - *Gluconobacter oxidans*, *Thiobacillus novellus*, *Brucella abortus*
    - \* Grund
      - Fehlen von Schlüsselenzymen der anderen Abbauege

### 6.1.2 Unvollständige Oxidation der Essigsäurebakterien

- Grund für unvollständige Oxidation
  - Fehlen von Schlüsselenzymen der Abbauprozesse
- Vertreter
  - Essigsäurebakterien wie *Gluconobacter*
- fehlendes Enzym
  - Succinat-Dehydrogenase
    - \* Schlüsselenzym des TCA-Cyclus
  - kein Abbau von Acetyl-CoA möglich
- Folge: unvollständige Oxidation von Glucose oder Ethanol
  - Endprodukt: Essigsäure
    - \* wird angehäuft
- zwei Gattungen der Essigsäurebakterien
  - *Gluconobacter*, *Acetobacter*
  - gehen unterschiedliche Stoffwechselwege
- unvollständige Oxidation bei *Gluconobacter*
  - Verwertung von Glucose über den Pentosephosphat-Weg
  - Oxidation der Triose
    - \* über Pyruvat zu Acetaldehyd

- \* weiter zu Essigsäure oxidiert
  - wird angehäuft
- unvollständige Oxidation bei *Acetobacter*
  - Oxidation von Ethanol zu Essigsäure
    - \* zwei enzymatische Reaktionen
  - Anhäufung von Essigsäure
    - \* bis zu Konzentrationen von 0.4 M
  - Überoxidierer, Peroxidierer
    - \* können nach Verbrauch des Ethanols Essigsäure zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O oxidieren
- ATP-Bildung
  - über die Atmungskette
- Wasserstoffakzeptor
  - Methoxatin
    - \* *Pyrrroloquinolinquinon* (PQQ)
    - \* Chinonderivat
    - \* verleiht dem Speiseessig seine gelbe Farbe
    - \* Coenzym der Alkohol- und Glucose-Dehydrogenase
    - \* erfüllt dem NADH entsprechende Funktion
    - \* Unterschied zu NADH
      - höheres Redoxpotential ( $E'_0 = +0.12$  V)
- technische Verwendung der Essigsäurebakterien
  - Essigsäureproduktion
  - Biotransformationen
- energetische Sicht der Substratverwertung
  - unökonomisch
  - hoher Stoffumsatz führt zu geringer ATP-Bildung
    - Vorkommen
- Vorkommen
  - in relativ nährstoffreichen Biotopen
    - \* Bsp.: auf Pflanzen gemeinsam mit Ethanol bildenden Hefen

### 6.1.3 Anaerobe Atmung

**anaerobe Atmung** vollständige Substratoxidation zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  mit alternativen Elektronenakzeptoren (*nicht* Sauerstoff, z. B. Nitrat, Sulfat)

- Energieausbeute
  - bei einigen Vertretern für die zur Verfügung stehenden Substrate hoch
- Abgrenzung zur Gärung
  - Elektronenakzeptoren anorganischer Art
    - \* stammen nicht aus dem Metabolismus des Ausgangssubstrates

#### Typen der anaeroben Atmung

- Nitratatmung
  - Wasserstoffdonor
    - \* Kohlenhydrate
  - Wasserstoffakzeptor
    - \*  $\text{NO}_3^-$
- Sulfatatmung
  - Wasserstoffdonor
    - \* Fettsäuren,  $\text{H}_2$
  - Wasserstoffakzeptor
    - \*  $\text{SO}_4^{2-}$
- Carbonatatmung
  - vereint Charakteristika der Gärung und Chemolithotrophie
  - 1. Acetogenese
    - Wasserstoffdonor
      - \* organische Verbindungen,  $\text{H}_2$
    - Wasserstoffakzeptor
      - \*  $\text{CO}_2$
  - 2. Methanogenese
    - Wasserstoffdonor
      - \* Acetat,  $\text{H}_2$
    - Wasserstoffakzeptor
      - \*  $\text{CO}_2$

## Nitratatmung (Denitrifikation)

- Übertragung von Reduktionsäquivalenten auf Nitrat
  - Nitratreduktion bis zu elementarem Stickstoff
    - \*  $N_2$  entweicht gasförmig
- Folgen/Nutzung
  - Stickstoffverluste von Böden
  - Stickstoffeliminierung aus Abwässern
- Nebenprodukt
  - Distickstoffoxid ( $N_2O$ )
    - \* klimarelevant
    - \* trägt zum Treibhauseffekt bei
  - Bildung vor allem bei Nitrat-Überschuß und Mangel an Elektronendonatoren
- auch als **dissimilatorische Nitratreduktion** bezeichnet
  - ähnliche Reaktionen bei der assimilatorischen Nitratreduktion
    - \* Reduktion von Nitrat zu Ammonium
    - \* Assimilation des Ammoniums über Aminosäuren
- Vorkommen
  - bei sehr verschiedenen Bakteriengattungen
  - fakultative Anaerobier
    - \* *Pseudomonas*-Arten, *Bacillus licheniformis*, *Paracoccus denitrificans*
    - \* atmen in Gegenwart von Sauerstoff
    - \* Induktion des Nitratreduktase-Systems
      - durch Sauerstoffmangel und Anwesenheit von Nitrat
- Nitratreduktase-System
  - Enzyme in der Membran lokalisiert
  - Abzweigung des Elektronenflusses
    - \* bei vielen denitrifizierenden Bakterien auf der Redoxstufe der Cytochrome b und c
    - \* Abzweigung auf die Reduktasen der Nitratatmung
  - beteiligte Enzyme
    1. Nitrat-Reduktase
      - \* Cofaktor enthält Molybdän
    2. Nitrit-Reduktase
      - \* enthält Eisen

- \* katalysierte Reaktionen sehr komplex
  - Bindung von zwei Nitrit-Molekülen
  - Reduktion zu Distickstoffoxid in zwei Schritten
- \* Distickstoffoxid
  - kann freigesetzt werden
  - wird überwiegend bis zu Stickstoff reduziert

### 3. Distickstoffoxid-Reduktase

- Nitrat-Nitrit-Atmung
  - bei Enterobakterien wie *E. coli*
  - Stoffwechselweg führt nur bis zum Nitrit
    - \* Nitrit wird im Medium angehäuft
  - mögliche Gefahr
    - \* in Lebensmitteln enthaltenes Nitrat kann bei Säuglingen durch Darmbakterien in Nitrit reduziert werden
    - \* Nitrit gelangt in die Blutbahn und reagiert mit dem Eisen des Hämoglobins
      - Methämoglobin
      - kann keinen Sauerstoff transportieren (Cyanose)
- Nitrat-Ammonifikation
  - Reduktion von Nitrat bis zum Ammonium
    - \* über Nitrit und Hydroxylamin
    - \* Ammonium wird ausgeschieden
  - Bedeutung
    - \* NAD<sup>+</sup>-Regeneration
    - \* wahrscheinlich auch der Nitrit-Entgiftung

## Sulfatreduktion

- Sulfat reduzierende Bakterien
  - Desulfurikanten, sulfidogene Bakterien
  - obligat anaerob
  - Vorkommen
    - \* in anoxischen Gewässersedimenten
  - leben von durch Gärung gebildeten Produkten
    - \* Lactat, Malat, Propionat, Ethanol, H<sub>2</sub>
  - zwei Gruppen
    1. unvollständige Oxidierer
      - \* *Desulfovibrio*-Arten (z. B. *D. desulfuricans*), *Desulfotomaculum nigrificans*, *Desulfobulbus propionicus*

- \* bauen die organischen Substrate bis zu Acetat ab
- 2. vollständige Oxidierer
  - \* mineralisieren Acetat, z. T. auch Benzoat und C<sub>1</sub>–C<sub>14</sub>–Fettsäuren
    - Endprodukte: CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O
  - \* Vertreter
    - *Desulfotomaculum acetoxidans*, *Desulfobacter postgatei*,  
*Desulfonema limicola*

### Ablauf der unvollständigen Oxidation

- H- bzw. Elektronen-Carrier
  - Ferredoxin
    - \* Fe-S-Protein
    - \* sehr niedriges Redoxpotential ( $E'_0 = -0.41 \text{ V}$ )
  - Desulfoviridin
    - \* bewirkt bei der Sulfitreduktion den sechsfachen Elektronentransfer
    - \* komplex aufgebautes Sirohämprotein
      - enthält zwei Tetrapyrrolringssysteme und Fe-S-Zentren
- Oxidation des Lactats zum Acetat
  1. Oxidation des Lactats zum Pyruvat
    - Enzym: Lactat-Dehydrogenase
  2. Oxidation des Pyruvats zum Acetyl-CoA
    - Enzym: Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase
    - Freisetzung von CO<sub>2</sub>
    - Bindung von CoA
  3. Umsetzung von Acetyl-CoA zu Acetylphosphat
    - Enzym: Phosphotransacetylase
    - Abspaltung des CoA
  4. Substratstufenphosphorylierung
    - Enzym: Acetat-Kinase
    - bei anaeroben Bakterien verbreitete Reaktion
- Reduktion des Sulfats
  - erfordert Aktivierung
    1. Aktivierung des Sulfates
      - durch ATP
      - Bildung von Adenosin-5'-phosphosulfat (APS)
      - Enzym: ATP-Sulfurylase
    2. Reduktion des APS zu Sulfit

- unter Bildung von AMP
- Enzym: APS-Reduktase
- 3. Reduktion des Sulfits zu H<sub>2</sub>S
  - Enzym: Sulfitreduktase
  - beteiligter H-Carrier: Desulfoviridin

### vollständige Oxidation

- Mineralisierung von Acetat zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O
- verschiedene Wege der Acetatoxidation
  1. oxidativer Acetyl-CoA-Weg
    - Aktivierung des Acetats
    - Spaltung des Acetyl-CoA
      - \* Enzym: Kohlenmonoxid-Dehydrogenase (CO-DH)
  2. modifizierter Tricarbonsäure-Cyclus
    - Abweichungen vom üblichen TCA-Cyclus
      - \* Citratbildung durch Citratlyase katalysiert
        - führt über intermediäre Bildung von Acetylphosphat zur Synthese eines Äquivalents ATP
        - Form der Substratkettenphosphorylierung
        - bei der dissimilatorischen Sulfatreduktion beide Formen der ATP-Bildung
    - Ausbeute
      - \* gering
      - \* ungünstiges Redoxpotential des Redoxpaares  $\text{SO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{S}$  ( $E'_0 \approx -0.2 \text{ V}$ )

### Methanogenese

- nur bei Archaea
- streng anaerob
- Lebensräume
  - Sedimente
  - Moore
  - Reisfelder
  - Pansen von Wiederkäuern
  - Faultürme von Kläranlagen
- Endprodukt des *Energiestoffwechsels*
  - Methan



- Substrate
  - H<sub>2</sub>, Acetat, Methanol, Formiat, Methylamin
  - fallen als Stoffwechsellendprodukte anderer Bakterien an
    - Methanogene Ende einer Nahrungskette

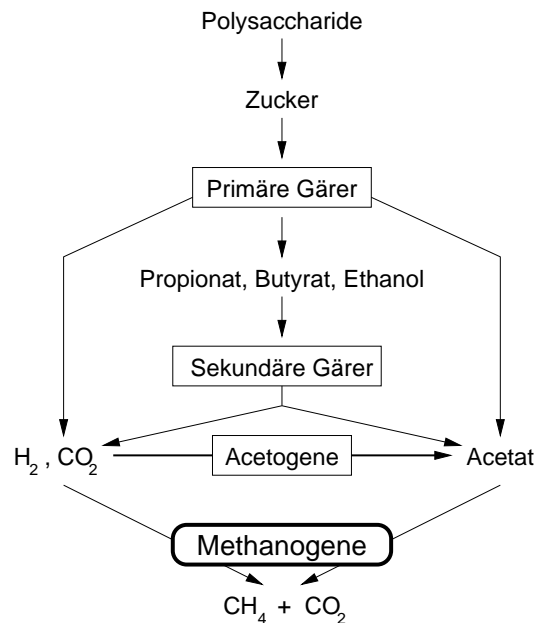
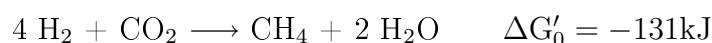


Abbildung 6.6: anaerob-methanogene Nahrungskette; nach [5]

- Bilanz der Methanogenese

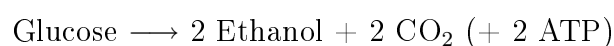


## 6.2 Gärungen

**Gärung** *fermentation* Der Energiebereitstellung dienende Prozesse, bei denen auf Grund des Mangels an anorganischen Elektronenakzeptoren die während der Substratoxidation anfallenden Elektronen (Reduktionsäquivalente) auf organische Akzeptoren übertragen werden.

### 6.2.1 Alkohol-Gärung

- Bilanz der alkoholischen Gärung



## 6.2.2 Milchsäure-Gärung

### Homofermentative Milchsäuregärung

- Bilanz der homofermentativen Milchsäuregärung



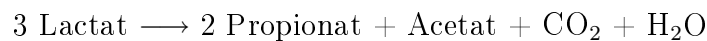
### Heterofermentative Milchsäuregärung

- Bilanz der heterofermentativen Milchsäuregärung



## 6.2.3 Propionsäure-Gärung

- Bilanz des Succinat-Propionat-Weges

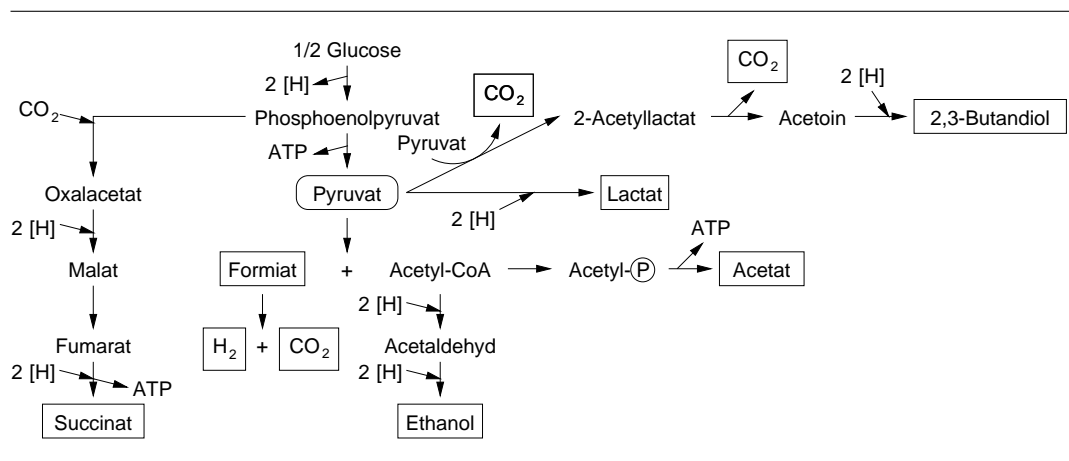


## 6.2.4 Gemischte Säure-Gärung und 2,3-Butandiol-Gärung

- Bilanz der gemischten Säure-Gärung



- Bilanz der 2,3-Butandiol-Gärung



**Abbildung 6.7:** Gemischte Säuregärung (“Ameisensäuregärung”) der Enterobakterien; Endprodukte der Gärung eckig eingerahmt

### 6.2.5 Buttersäure- und Butanol-Aceton-Gärung

- Bilanz der Buttersäure-(Butyrat)-Gärung



- Bilanz der Butanol-Aceton-Gärung



### 6.2.6 Proteinabbau und Vergärung von Aminosäuren

- Proteine

- C-, Energie- und N-Quelle für viele Mikroorganismen
- extracelluläre Proteasen
  - \* zerlegen die Proteine extracellulär in Peptide und Aminosäuren
  - \* pH-Optimum bakterieller Proteasen im alkalischen Bereich (pH 8–10)
  - \* Peptide und Aminosäuren werden in die Zelle aufgenommen
- Weiterverwertung der Peptide und Aminosäuren
  1. Proteinbiosynthese
    - (a) direkt
    - (b) nach Desaminierung
  2. C- und Energiequelle
    - \* nach Desaminierung und Decarboxylierung
    - \* unter anaeroben Bedingungen kein vollständiger Abbau  
→ Vergärung

- Vergärung von Aminosäuren

- besonders durch Clostridien
  - \* proteolytische/peptolytische Clostridien
  - \* natürlicher Standort
    - eiweißhaltige Medien
- Reaktionen
  1. Acrylat-Weg
    - \* Vertreter: *Clostridium propionicum*
    - \* Abbau von Alanin
    - \* Endprodukte: Acetat, Propionat
  2. Abbau von Glutaminsäure
    - \* Vertreter: *Cl. tetanomorphum*
    - \* über 2-Methylfumarat
    - \* Endprodukt: Butyrat
  3. **Stickland-Reaktion**
    - \* besonderer Gärungstyp

- \* Vertreter: u. a. *Cl. botulinum*
- \* gleichzeitige Nutzung zweier Aminosäuren
- \* einfachster Fall
  - Alanin Wasserstoff-Donor
  - Glycin Wasserstoff-Acceptor
- Fäulnisgeruch beim Eiweißabbau
  - \* durch primäre Amine verursacht
    - werden durch Decarboxylierung von Aminosäuren gebildet

### 6.2.7 Anaerobe Acetogenese

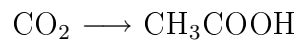
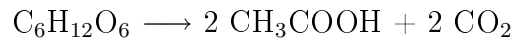
- Vertreter
  - homoacetogene Bakterien
    - \* obligate Anaerobier
- zwei Wege der Acetatbildung
  1. chemolithotroph
    - Elektronendonator: H<sub>2</sub>
    - Elektronenacceptor: CO<sub>2</sub>
  2. chemoorganotroph
- zusammenfassende Reaktionen der anaeroben Acetogenese
$$2 \text{ CO}_2 + 4\text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2 \text{ H}_2\text{O} \quad \text{chemolithotroph}$$
$$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \longrightarrow 3 \text{ CH}_3\text{COOH} \quad \text{chemoorganotroph}$$
- Ablauf
  - vollkommen anders als aerobe Essigsäurebildung (vgl. Kap. 6.1.2, S. 52)
  - homoacetogen
    - Essigsäure einziges Stoffwechselendprodukt
- Vertreter
  - Gram-positiv
    - \* Clostridien
  - Gram-negativ
    - \* Gattung *Acetobacterium*
- Lebensraum
  - nährstoffreiche anoxische Sedimente
  - an Biogasbildung beteiligt
    - auch in Biogasreaktoren zu finden

**chemolithotrophe anaerobe Acetogenese**

- vgl. Kap. 7.1.1, S. 69

**chemoorganotrophe anaerobe Acetogenese**

- formaler Ablauf



- untrennbare Verknüpfung zwischen chemolitho- und chemoorganotropen Reaktionsschritten
- chemoorganotrophe Reaktionsschritte
  1. Spaltung von Glucose in 2 Pyruvat
    - über EMP-Weg
  2. Decarboxylierung des Pyruvats zu Acetyl-CoA
    - über Ferredoxin-abhängige Oxidoreduktase
  3. Umsetzung des Acetyl-CoA zu Acetat und ATP
    - Enzyme
      - \* Phosphotransacetylase
      - \* Acetatkinase
- zwei Formen des Energiestoffwechsels
  - Gärung
  - Chemolithotrophie
- chemolithotropher Weg entspricht anaerober Atmung
  - H<sub>2</sub> als Elektronendonator
  - CO<sub>2</sub> als Elektronenacceptor
  - Carbonat-Atmung
    - \* vgl. Kap. 6.1.3, S. 54



# *Kohlenstoff- und Stickstoff-Assimilation*

---



## **Kapitel-Übersicht**

**7.1 Chemolithotrophie  
und Phototrophie**

**7.2 Stickstoff-Fixierung**

## Übersicht

### Chemolithotrophie und Phototrophie

Chemolithotrophie

CO<sub>2</sub>-Assimilation durch den Calvin-Cyclus

Phototrophie

### Stickstoff-Fixierung

freilebende Bakterien

Rhizobien

Actinorhiza

## 7.1 Chemolithotrophie und Phototrophie

**Chemolithotrophie** Deckung des Energiebedarfs durch die Oxidation anorganischer Verbindungen [9]

**Phototrophie** Nutzung von Lichtenergie durch Organismen [9]

- Gemeinsamkeiten chemolithotropher und phototropher Bakterien
  - Assimilation von CO<sub>2</sub> durch den Calvin-Cyclus
- Lebensräume
  - meist mineralische Böden
- Energie- und Reduktionsäquivalente
  - Chemolithotrophe
    - \* Oxidation anorganischer Verbindungen
  - Phototrophe
    - \* Verwertung der Lichtenergie

### 7.1.1 Chemolithotrophie

- Elektronendonatoren
  - Sulfid
  - elementarer Schwefel
  - Thiosulfat
  - Eisen(II)-Ionen
  - Ammonium
  - Nitrit
  - Wasserstoff
  - Kohlenmonoxid
- ATP-Synthese



- durch **Atmung**
  - Chemolithotrophe oft aerob
- Ausnahmen:
  1. Nitratatmer
    - \* Nitrat als Wasserstoffacceptor
    - \* **anaerobe Nitratatmung**
  2. methanogene Archaea
  3. homoacetogene Bakterien
- rückläufiger Elektronentransport
  - Transport über die Atmungskette “bergauf” zum  $\text{NAD}^+$ 
    - Energieaufwand
  - Grund
    - \* Redoxpotential einiger zur Energiegewinnung genutzter Reaktionen zu positiv
      - $\text{NAD}^+$  kann nicht direkt reduziert werden
- Spezialisierung auf bestimmte Elektronendonatoren
- Einteilung nach Elektronendonatoren
  - Schwefelverbindungen
    - \*  $\text{H}_2\text{S}$ 
      - *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thiotrix*, *Thioploca*
    - \*  $\text{S}^0$ 
      - *Sulfolobus acidocaldarius*, *Acidianus*, *Pyrobaculum*
    - \*  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 
      - *Thiobacillus*
  - Eisen(II)
    - \* Pyrit-haltige<sup>1</sup> Böden, Gesteine und Erze
      - *Thiobacillus ferrooxidans*
    - \* Gewässer und Drainagerohre (z. B. Moorgräben)
      - *Gallionella*, *Leptothrix*
  - Stickstoff-Verbindungen
    - \* Ammonium
      - *Nitrosolobus multiformis*, *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosococcus oceani*
    - \* Nitrit
      - *Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrococcus mobilis*, *Nitrospina gracilis*
  - Kohlenmonoxid
    - \* carboxidotrophische Bakterien

---

<sup>1</sup>Pyrit:  $\text{FeS}_2$ ; auch andere sulfidische Eisenverbindungen

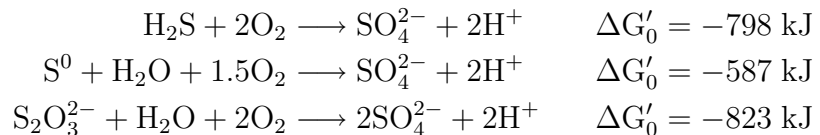
– Wasserstoff

1. “Knallgasbakterien”
2. methanogene Archaea (Methanogenese)
3. homoacetogene Bakterien (anaerobe Acetogenese)

### Oxidation von Schwefelverbindungen

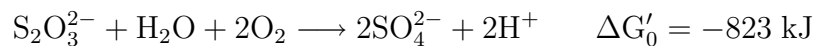
1. *Thiobacillus*-Arten

• Reaktionen



2. fädige Schwefelbakterien

• Reaktion



### Eisen(II)-Oxidation

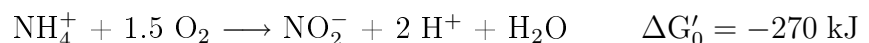
• Reaktion



### Nitrifikation

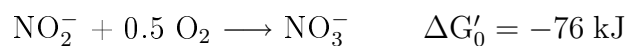
• Ammoniumoxidierer

– Reaktion



• Nitritoxidierer

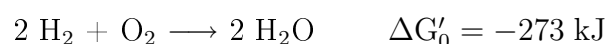
– Reaktion



### Wasserstoff- und Kohlenmonoxid-Oxidation

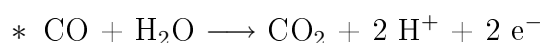
• Wasserstoff-Oxidation

– Reaktion



• CO-Oxidation

– Reaktion



## Methanogenese

- vgl. Kap. 6.1.3, S. 58

## chemolithotrophe anaerobe Acetogenese

- Acetyl-CoA-Weg
  - vgl. Methanogenese (Kap. 6.1.3, S. 58)
  - Aufgaben
    - \* Energiebereitstellung
    - \* autotrophe CO<sub>2</sub>-Assimilation
- Hauptreaktionen
  1. Hydrogenase
    - Wasserstoffaktivierung
  2. Formiat-Dehydrogenase
    - Reduktion eines CO<sub>2</sub>-Moleküls zu Formiat
  3. Formyl-Tetrahydrofolsäure-Synthese
    - Bindung von Formiat an Tetrahydrofolsäure (THF)
    - THF
      - \* verbreiteter Carrier für C<sub>1</sub>-Einheiten
  4. B<sub>12</sub>-Methyl-Transferase
    - transferiert Methylgruppe zur CO-Dehydrogenase
  5. CO-Dehydrogenase
    - komplexes Enzym
      - \* mehrere Untereinheiten
      - \* enthält Nickel, Eisen-Schwefel-Cluster, Zink
    - Reduktion von CO<sub>2</sub> zu CO
    - Verbindung des CO mit der zweiten C<sub>1</sub>-Verbindung
    - CO
      - \* kann auch direkt in die Reaktion eingehen
      - \* bildet spätere Carboxylgruppe des Acetats
    - Carbonylierungsreaktion
      - \* Synthese von Acetyl-CoA
        - aus CO und Methylgruppe
        - unter Beteiligung von Coenzym A
- Acetyl-CoA
  1. wird zu Acetat umgesetzt
    - ATP-Bildung
  2. Anabolismus
    - \* Carboxylierung zu Pyruvat

· Grundlage für den Aufbau der Zellsubstanz

- Energiebilanz



- ATP-Bildung

1. über Acetokinase-Reaktion
2. über Elektronentransport-Phosphorylierung

### 7.1.2 CO<sub>2</sub>-Assimilation durch den Calvin-Cyclus

- Calvin-Cyclus
  - Ribulosebisphosphat-Cyclus
  - reduktiver Pentosephosphat-Cyclus
- drei Phasen
  1. CO<sub>2</sub>-Fixierung
  2. Reduktion
  3. Regeneration des CO<sub>2</sub>-Acceptors

### 7.1.3 Bakterielle Photosynthese

**Photosynthese** Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie (ATP) und Bildung von Reduktionsäquivalenten (NADH, NADPH) für die Reduktion im Calvin-Cyclus. [5]

- drei Bakteriengruppen zur Photosynthese befähigt
  - anoxygene Photosynthese
    1. Purpurbakterien
    2. Grüne Bakterien
  - oxygene Photosynthese
    3. Cyanobakterien

#### Anoxygene Photosynthese

#### Purpurbakterien

- 

#### Grüne Bakterien

-

Oxygene Photosynthese

- 

## 7.2 Stickstoff-Fixierung

### 7.2.1 Stickstoffbindung freilebender Bakterien

- 

Biochemie der Stickstoffbindung

- 

Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff

- 

### 7.2.2 Symbiotische Stickstoffbindung der Rhizobien

- 

### 7.2.3 Die Actinorhiza

-



## **Kapitel-Übersicht**

- 8.1 Stoffaufnahme**
- 8.2 Glyoxylsäure-Cyclus und Gluconeogenese**
- 8.3 Aminosäure-Synthese**
- 8.4 Nucleotid-Synthese**
- 8.5 Biosynthese von Makromolekülen**
- 8.6 Stoffwechselregulation**
- 8.7 Komplexe Regulationssysteme**

**Anabolismus** Synthesestoffwechsel, Aufbau von Polymeren aus niedermolekularen Intermediärstoffwechsel-Produkten (intermediären Monomeren) mit Hilfe von Energie. [5]

- vier Ebenen des Anabolismus
  1. Bildung von Vorstufenverbindungen und Reduktionsäquivalenten
    - *precursor metabolics, reducing power*
  2. Monomere
  3. Makromoleküle
  4. Zellstrukturen

**anaplerotische Reaktionen** *Auffüllreaktionen*, Neusynthese von Stoffen, die innerhalb zyklischer Stoffwechselreaktionen in bestimmten Konzentrationen erforderlich sind. [7]

- wichtigste anaplerotische Reaktion
  - Bildung von Oxalacetat aus Phosphoenolpyruvat (PEP)
    - \* Enzym: **PEP-Carboxylase**
    - \* Reaktion
$$\text{PEP} + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{Oxalacetat} + \text{P}_i$$
    - \* Bedeutung von Oxalacetat
      - Citrat-Nachlieferung (TCC)
      - Bildung der Aminosäuren der Aspartat-Familie
- weiteres wichtiges Enzym
  - Pyruvat-Carboxylase
  - Reaktion
$$\text{Pyruvat} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \longrightarrow \text{Oxalacetat} + \text{ADP} + \text{P}_i$$

## 8.1 Stoffaufnahme

**Hauptmechanismen mikrobiellen Stofftransportes [5]**

1. einfache Diffusion
  - nur für kleine, ungeladene Moleküle möglich
  - Bsp.:
    - $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$
  - Stofftransport bis zum Konzentrationsausgleich
  - Bedeutung



- wesentlichster Prozeß für Gasaustausch und Wasseraufnahme

## 2. erleichterte Diffusion

- Modell der fixen Pore
  - Membranproteine beteiligt
    - \* Carrier, Permeasen
    - \* reagieren in stereospezifischer Weise mit bestimmten Substraten
- beschleunigt die einfache Diffusion

## 3. aktiver Transport

- Transportproteine beteiligt
- Stoffakkumulation in der Zelle entgegen dem Konzentrationsgradienten
  - durch Koppelung mit energieliefernden Prozessen
- zwei Formen der Energiezufuhr
  - (a) chemiosmotisch
    - direkte Koppelung mit dem Protonenpotential
    - beim elektrochemischen Gradienten freiwerdende Energie wird zum Transport genutzt
    - spielt bei Mikroorganismen große Rolle
    - Formen
      - A. Symport
        - \* Substrat wird mit dem Protoneneinstrom in die Zelle transportiert
        - \* Substrat und Protonen haben Bindungsorte an derselben Permease
      - B. Antiport
        - \* entgegengerichtete Stofftransporte zwischen Innen und Außenraum
  - (b) ATP-abhängig
    - durch ATP-Synthase
    - bei Anaerobiern und Eukaryoten
      - \* haben keine Atmungskette in der (äußeren) Membran

## 4. Gruppentranslokation

- Aufnahme von Glucose und anderen Zuckern
- Beispiel: **Phosphoenolpyruvat-Phosphotransferase-System**
  - PEP-PTS-System
  - überträgt energiereiche Phosphatgruppe des intrazellulären PEP auf Glucose
    - \* über vier gekoppelte enzymatische Reaktionen

- Übertragung auf Phosphatgruppen an dem in die Membran integrierten Protein
- im Cytoplasma Freisetzung von Glucose-6-phosphat
- System besitzt gleichzeitig regulatorische Funktion

### 5. Eisentransportsystem

- dient der Eisenversorgung der Zellen bei Eisenmangel
- Eisen
  - kommt in der Natur reichlich vor
  - aerob und im neutralen Bereich in schwer löslicher Form
    - \* Eisen(III)-Hydroxid-Polymer
      - praktisch unlöslich
      - Löslichkeit  $10^{-18} - 10^{-20}$  M
- Siderophore
  - niedermolekulare Metabolite der Mikroorganismen
  - wirken als Chelatoren
  - binden Eisen im Medium mit hoher Affinität
  - transportieren es in die Zelle
- Transport
  - über Rezeptor- und Transportproteine
    - \* in der Membran lokalisiert
- Eisen-Freisetzung in der Zelle
  - unter Reduktion
  - Abbau der Siderophore
    - \* müssen neu synthetisiert werden

## 8.2 Glyoxylsäure-Cyclus und Gluconeogenese

### Glyoxylsäure-Cyclus

- ermöglicht Aufbau von  $C_4$ -Dicarbonsäuren aus  $C_2$ -Verbindungen
- kein eigenständiger Stoffwechselweg
  - in den TCC (Citronensäure-Cyclus) integriert
- Reaktionen
  1. Isocitrat-Lyase
$$\text{Isocitrat} \longrightarrow \text{Succinat} + \text{Glyoxylat (CHO-COOH)}$$
  2. Malat-Synthase
$$\text{Glyoxylat} + \text{Acetyl-CoA} \longrightarrow \text{Malat}$$
- Bedeutung

- Bildung zusätzlicher C<sub>2</sub>–Verbindungen
  - \* Malat, Oxalacetat
  - \* können aus dem Cyclus entnommen werden
    - wichtig für Synthesen

### Gluconeogenese

- Synthese von Zuckern
  - wichtig z. B. für den Aufbau von Zellwandpolymeren
- erfolgt über reversible Reaktionen des EMP–Weges
  - aber: einige Reaktionen aus energetischen Gründen irreversibel
- Einleitung der Gluconeogenese
  - Bildung von PEP aus Oxalacetat
    - \* Enzym: PEP–Carboxykinase
- anschließende Reaktionen
  - Reaktionen des EMP–Weges
    - \* reversibel
  - Ausnahme
    - \* Phosphofructokinase
      - nicht reversibel
    - \* alternatives Enzym
      - **Fructose–1,6–bisphosphatase**

## 8.3 Aminosäure–Synthese

- de novo–Synthese der Aminosäuren
  - bei vielen Mikroorganismen möglich
- Stickstoffquellen
  1. Nitrat–Ionen (NO<sub>3</sub><sup>–</sup>)
    - Reduktion zu Ammonium
    - assimilatorische Nitratreduktion
      - \* einleitende Schritte gleichen der dissimilatorischen Nitratreduktion (vgl. Kap. 6.1.3, S. 55)
  2. elementarer Stickstoff (N<sub>2</sub>)
    - Fixierung als Ammonium
      - \* durch Nitrogenase
  3. Harnstoff (CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>)

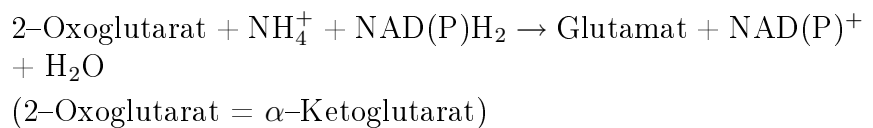
- Spaltung zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_4^+$
- Enzym: Urease
- zwei Schritte der Aminosäure-Synthese
  1. direkte Aminierung
    - vom Ammonium-Ion ausgehend
    - Reaktionen
$$\text{Pyruvat} + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{Alanin}$$
$$\alpha\text{-Ketoglutarat} + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{Glutamat}$$
  2. Transaminierung
    - Ausgangspunkt
      - \* Produkte der direkten Aminierung
    - Übertragung der Aminogruppe auf andere Substrate
      - Synthese weiterer Aminosäuren

### direkte Aminierung von $\alpha$ -Ketoglutarat

1.  $c(\text{NH}_4^+) \geq 1 \text{ mM}$

- **L-Glutamat-Dehydrogenase**

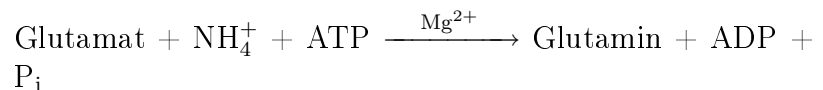
- reduktive Aminierung



2.  $c(\text{NH}_4^+) < 1 \text{ mM}$

- **Glutamin-Synthetase**

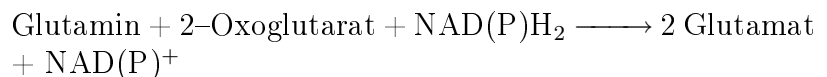
- Aminierung



- **Glutamat-Synthase**

- Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase (GOGAT)

- Reaktion



### Regulation der Glutamin-Synthetase

- allosterisches Enzym
  - immer aus  $>1$  Polypeptidketten
  - Glutamin-Synthetase
    - \* Dodecamer

- \* 12 identische Untereinheiten (UE)
- \* ca. 55–60 000 Dalton pro UE

- Regulation

1. Feedback-Inhibierung

- Produkt des katalysierten Stoffwechselweges inhibiert Enzym am Beginn dieses Weges

2. Adenylierung

- kovalente Modifikation jeder UE
- Bindung eines AMP-Restes

3. Syntheserate der Enzyme

- auf der Ebene der Transkription des GS-Gens
- Beteiligung einer Vielzahl regulatorischer Proteine

## 8.4 Nucleotid-Synthese

- 

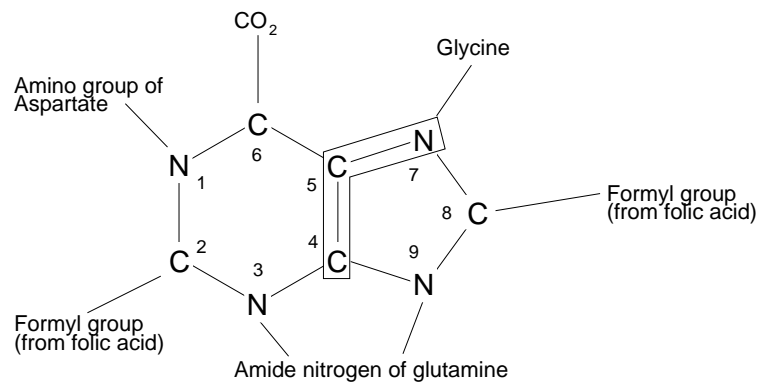


Abbildung 8.1: The basis precursors of the purine skeleton [9]

## 8.5 Biosynthese von Makromolekülen

- 

### 8.5.1 Peptidoglykan-Synthese

- 

### 8.5.2 Protein-Synthese

-

## 8.6 Stoffwechselregulation

- 

## 8.7 Komplexe Regulationsysteme

-

*Physiologie und Ökologie von*  

---

*Mikroorganismen*

*III*

Übersicht

---

9 Ernährungstypen

10 Interaktionen mit anderen Organismen

11 Viren

---





Kapitel-Übersicht  
Übersicht  
9.1 Autotrophie  
9.2 Heterotrophie

# Übersicht

## Ernährungstypen

### 1. bezüglich des Energiestoffwechsels

- Unterscheidung nach Art der Energiequelle
  - chemotroph
    - \* Energiegewinnung durch oxidativen Abbau organischer oder anorganischer Substrate
  - phototroph
    - \* Energiegewinnung durch Umwandlung von Licht- in chemische Energie
- Unterscheidung nach Art des Oxidations-/Reduktionsmittels
  - chemotroph
    - \* organotroph
      - *chemoorganotroph*
      - Energiegewinnung durch die Oxidation (Dehydrogenierung) organischer Substanzen
    - \* lithotroph
      - *chemolithotroph*
      - Energiegewinnung durch die Oxidation (Dehydrogenierung) *anorganischer* Substanzen
  - phototroph
    - \* organotroph
      - *photoorganotroph*
      - Elektronen für die Bildung von Reduktionskraft aus organischen Verbindungen
    - \* lithotroph
      - *photolithotroph*
      - Elektronen für die Bildung von Reduktionskraft aus *anorganischen* Verbindungen

### 2. bezüglich des Kohlenstoff-Stoffwechsels (der Kohlenstoff-Quelle)

- autotroph
  - CO<sub>2</sub> ist Kohlenstoff-Quelle (für die Synthese von Zellsubstanz)
- heterotroph
  - organische Substanzen sind die Kohlenstoff-Quelle
  
- Beispiele
  - chemo-organo-heterotroph<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>zur Verdeutlichung mit Bindestrichen geschrieben, normale Schreibweise: heterochemoorganotroph

- \* alle Tiere
  - Kohlenstoff-Quelle: organische Substanzen (heterotroph)
  - Energiegewinnung: aus chemischen Substanzen (chemotroph)
  - Oxidationsmittel: organische Substanzen (organotroph)
- photo-litho-autotroph
  - \* grüne Pflanzen (oxygene Photosynthese)
    - Kohlenstoff-Quelle: CO<sub>2</sub>
    - Energiegewinnung: Umwandlung von Licht- in chemische Energie (phototroph)
    - Elektronendonator: H<sub>2</sub>O<sup>2</sup> (lithotroph)

## 9.1 Autotrophie

### 9.1.1 Photolithotrophie

### 9.1.2 Chemolithotrophie

Gruppe	e <sup>-</sup> -Donor	Reaktion	Anz. e <sup>-</sup>	$\Delta G'_0$ <sup>3</sup>
Wasserstoffbakt. <i>Ralstonia eutropha</i>	Wasserstoff	$\text{H}_2 + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	2	237.2
Thiobakterien <i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Sulfid	$\text{HS}^- + \text{H}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$	2	209.4
Beggiatoa	Schwefel	$\text{S}^0 + 1.5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$	6	-195.2
Nitrifikanten <i>Nitrosomas</i>	Ammonium	$\text{NH}_4^+ + 1.5\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+$	6	-137.4
<i>Nitrobacter</i>	Nitrit	$\text{NO}_2^- + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$	2	75.6
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Eisen	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \frac{1}{4}\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	1	65.8

**Tabelle 9.1:** Oxidative Prozesse chemolithotropher Bakterien

## 9.2 Heterotrophie

### 9.2.1 Chemoorganotrophie

#### Atmung

**Literatur** [5, S. 198ff.]

<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O ist nur bei der oxygenen Photosynthese Elektronendonator, bei anoxygener Photosynthese kommen z. B. auch H<sub>2</sub>S und Thiosulfat (Schwefel-Purpurbakterien, *Chromatiaceae*) vor

<sup>3</sup>in kJ · (2e<sup>-</sup>)<sup>-1</sup>

Anaerobe Atmung

Literatur [5, S. 218ff.]

Nitratatmung (Denitrifikation)

Sulfatreduktion

Gärung

Literatur [5, S. 227ff.]

Methylotrophie

Literatur [5, S. 309ff.]

methylotrophe Bakterien — TypI

methylotrophe Bakterien — TypII

methylotrophe Hefen

## 9.2.2 Photoorganotrophie

# *Interaktionen mit anderen Organismen*

---

# 10

## **Kapitel-Übersicht Übersicht**

**10.1 Interaktion von Bak-  
terien mit Bakterien**

**10.2 Interaktion von Bak-  
terien mit Pflanzen**

**10.3 Interaktion von Bak-  
terien mit Mensch  
und Tier**

## Übersicht

### Typen biologischer Interaktion (nach FRITSCHÉ)

- **Antagonismus**

- *Konkurrenz*

- Def.: Individuen einer Population verschiedener Arten konkurrieren um die gleichen Nährstoffe und andere Umweltfaktoren, z. B. Licht

- **Amensalismus**

- \* *Antibiose*

- Def.: Hemmung einer Art durch Stoffwechselprodukte, z. B. Antibiotika, einer anderen Art

- **Parasitismus**

- Def.: Eine Art (Parasit) lebt auf oder im Organismus einer anderen Art (Wirt) und bezieht die Nährstoffe aus den lebenden Zellen des Wirtes.

- **Räubertum**

- Def.: Die als Räuber auftretende Art frisst die Organismen der Beuteart

- **Kommensalismus**

- Def.: Eine Art nutzt die Stoffwechselprodukte einer anderen Art, ohne diese zu beeinflussen

- **Mutualismus**

- *Symbiose*

- Def.: Beide Partner werden durch das Zusammenleben gefördert

- **Syntrophie**

- Def.: Mutualistisches Zusammenleben führt zu Wirkungen, die die Leistungen der Partner qualitativ und quantitativ übertreffen

## 10.1 Interaktion von Bakterien mit Bakterien

### 10.1.1 Sukzession

### 10.1.2 Antagonismen

### 10.1.3 Mutualistische Symbiosen

#### methanogene Systeme

- Primäre Gärer

- 
- Sekundäre Gärer

- 
- Acetogene

- 
- methanogene Archaea
- 

Flechten: Beispiel einer Ektosymbiose

*Cyanophora* — rezenter Beleg der Endosymbionten-Hypothese?

## 10.2 Interaktion von Bakterien mit Pflanzen

### 10.2.1 Phytopathogene Mikroorganismen

### 10.2.2 Mykorrhiza

## 10.3 Interaktion von Bakterien mit Mensch und Tier

### 10.3.1 Antagonistische Interaktionen

### 10.3.2 Mutualistische Interaktionen





## Kapitel-Übersicht

11.1 Historie ihrer Entdeckung

11.2 Wesen der Viren

11.3 Bacteriophagen

11.4 Humanpathogene Viren

11.5 Viroide und Prionen

### weiterführende Literatur

- KNIPPERS ET. AL. (1997): Molekulare Genetik. Thieme  
BIRGE, E. (1994): Bacterial and bacteriophage genetics, Springer  
WINNACKER (): Viren: Die heimlichen Herrscher  
MADIGAN ET AL. (1997): Biology of Microorganisms, pp. 248–303

**Viren** Infektiöse Partikel, die nur eine Art von Nucleinsäuren (DNA oder RNA) als genetische Information enthalten und von einer Proteinhülle (Capsid) umgeben sind. [5]

## 11.1 Historie ihrer Entdeckung

1893	IVANOWSKY	Tabakmosaikvirus (TMV)
1899	W. M. BEIJERINCK	
1898	LOEFFLER, FROSCH	animalische Viren
1915	TWORT	
1917	D'HERELLE	Viren in Bakterien, Bacteriophagen

**Tabelle 11.1:** Geschichte der Entdeckung der Viren

## 11.2 Wesen der Viren

- Nucleocapsid
  - Nucleinsäure und Capsid
- mehrere Hüllen
  - bei einigen Viren
  - aus Protein, Lipiden und Polysacchariden
- Virion
  - komplettes Virus
- **keine Lebewesen**
  - können sich nicht selbständig reproduzieren
  - zur Vermehrung auf Stoffwechsel eines Wirtes angewiesen
    - “Viren leben nicht, sondern werden gelebt”
  - zur Diskussion um die Zugehörigkeit zu den Lebewesen:

“Die für die Organismen charakteristischen Moleküle sind weit mannigfaltiger als jene, welche sich in der unbelebten Natur — z. B. in komplexen Gesteinsformationen, im Boden, in Mineralwässern oder in der Atmosphäre — finden. Sie sind außerdem meist größer und weit komplizierter gebaut als die einfachen Salzmischungen und Elemente der Erdkruste... Die Abgrenzung der Lebewesen gegen die unbelebte Natur ist also ganz scharf, auch die Viren haben sie nur scheinbar verwischt.”

[4, S. 1; Hervorhebung vom Verfasser]

- Form und Größe
  - sehr vielgestaltig
  - Größe von  $< 100$  nm bis zu mehreren  $\mu\text{m}$
  - Form von kugelförmig bis zu komplizierten Strukturen (Phagen  $\lambda$ , T)
- genetische Information
  - entweder als DNA oder RNA
  - Nucleinsäuren ein- oder doppelsträngig
    - \* sowohl DNA als auch RNA
    - \* doppelsträngig: ds (*double strand*)
    - \* einzelsträngig: ss (*single strand*)

### Vermehrung: Replikation der Nucleinsäuren

- Verdoppelung der Nucleinsäuren (Replikation) entscheidender Prozeß der Vermehrung
- in der Wirtszelle
- verschiedene Mechanismen
  - DNA
    - \* Replikation durch DNA-Polymerasen
  - RNA
    - \* Replikation durch RNA-abhängige RNA-Polymerasen
  - RNA-enthaltende Tumoviren
    - \* RNA wird in DNA umgeschrieben und in das Wirtsgenom integriert
    - \* Übersetzung RNA  $\rightarrow$  DNA durch spezielles Enzym
      - Reverse Transcriptase

### Überlappende Gene: Informationsspeicherung auf kleinstem Raum

- bei manchen Viren Basensequenz normal nicht ausreichend zur Codierung der benötigten Proteine
- Lösung: Überlappende Gene
  - eine Nucleotidsequenz kann zwei oder drei verschiedene Proteinsequenzen codieren
- Ablesung
  - Start durch spezielle Startcodons
  - an verschiedenen Stellen
  - Ablesen mit verschiedenem Raster

### Capsid

- Proteinhülle
- besteht aus Untereinheiten
  - Capsomeren
- zwei Grundformen (nach Anordnung der Capsomere)
  1. helikale Struktur
    - Bsp.: Tabakmosaikvirus (TMV)
      - \* 300 nm langes Hohlstäbchen
      - \*  $\varnothing$  18 nm
      - \* aus 2130 Capsomeren in 130 Windungen
        - aneinandergelagert
        - umschließen die RNA
        - bestehen aus je 158 Aminosäuren
  2. polyedrische Struktur
    - Bsp.: viele kugelig erscheinende Viren
    - vorherrschende Struktur: Eikosaeder-Struktur
      - \* im einfachsten Fall aus 12 Capsomeren
      - \* häufig wesentlich mehr
        - Herpes-Virus: 162 Capsomere
        - Adenovirus: 252 Capsomere
- einige Viren komplexer aufgebaut
  - Bsp.: Phagen, Pockenviren

### Hüllen

- aus Lipiden und Polysacchariden
- Bestandteile kommen als Bausteine der Wirtsmembran vor

## Bedeutung der Viren

- verschiedene Aspekte
  1. Krankheitserreger
    - Infektionserkrankungen bei Menschen, Tieren und Pflanzen
    - schwer zu bekämpfen
      - \* Vermehrung sehr eng mit dem Stoffwechsel der Wirtszelle verbunden
      - \* Eingriff in den Stoffwechsel schädigt auch den Wirt
  2. Bacteriophagen: Objekte der Molekularbiologie
    - bedeutender Beitrag zum Wissenszuwachs auf diesem Gebiet
  3. biologische Schädlingsbekämpfung
    - durch Insektenviren

## 11.3 Bacteriophagen

**Bacteriophagen** *Phagen*, Viren, die in Prokaryoten vermehrt werden. Vermehrung führt zum Tod des Wirtes [5]

- Bakterien befallende Viren
  - kommen an den natürlichen Standorten der Bakterien vor
- bisher über 800 Bacteriophagen nachgewiesen
  - sehr wirtsspezifisch
  - mehrere Phagen mit gleichem Wirt möglich
    - \* Infektion i. d. R. nicht gleichzeitig
- Lysotypie
  - Typisierung von Bakterienstämmen mit Hilfe von Phagen

### 11.3.1 Aufbau der Phagen [5]

- vielgestaltig
- Typen
  1. T-Phagen
    - Kopf und Schwanzteil
    - Bsp.: T-Phagen,  $\lambda$
  2. Polyeder-Typen
    - ohne Schwanz

- Nucleinsäuren
  - T-Phagen
    - \* Doppelstrang-DNA
  - auch Phagen mit Einzelstrang-DNA und -RNA

### 11.3.2 Nachweis von Bacteriophagen [1]

1. Infektion eines für den Phagen sensitiven Bakterienstammes
    - durch Phagenlysat
  2. Ausplattieren
  3. Ergebnis
    - (a) geschlossener Bakterienrasen
      - keine (virulenten) Phagen vorhanden
    - (b) Bakterienrasen mit Plaques (Löchern)
      - Suspension enthält Phagen
- Entstehung der Plaques
    - durch Lysieren einer großen Anzahl von Bakterien
    - an einer Stelle, wo anfangs eine einzige Bakterienzelle infiziert wurde
      - \* einzelne Bakterienzelle produziert große Menge Phagen
      - \* Phagen infizieren die Nachbarzellen
  - Aussehen der Plaques
    - phagenspezifisches Merkmal
      - \* Durchmesser, trüb/klar

### 11.3.3 Phagen-Vermehrung

- eigentliche Vermehrung des Phagen im lytischen Zyklus
- Lysogenie
  - Integration des Phagen-Genoms in das Wirtsgenom
  - Transkription des Phagen-Genoms weitgehend blockiert
- Grundproblem der Virus-Replikation [9]
  - der Virus muß eine lebende Wirtszelle dazu bringen, alle essenziellen Komponenten für neue Viren zu synthetisieren
  - Komponenten müssen richtig zusammengesetzt werden
  - fertige, neue Virionen müssen die Zelle verlassen, um neue Wirte zu infizieren

## Lytischer Zyklus

- virulente Phagen
  - zerstören den infizierten Wirt
  - beginnen direkt nach der Infektion mit dem lytischen Zyklus
- sieben Phasen der Replikation eines Bacteriophagen [9]
  1. Adsorption
  2. Injektion
  3. frühe Schritte der Replikation (Synthese der viralen Enzyme)
  4. Replikation der Phagen-DNA/RNA
  5. Synthese der Phagen-Proteine
  6. Zusammenbau der Untereinheiten der Struktur-Proteine und Verpackung der Nucleinsäure
  7. Lysis: Freisetzung der reifen Virionen
- Phagenvermehrung [5]
  - ringförmige DNA wird aufgeschnitten
  - komplementärer Strang wird synthetisiert
    - \* mit Hilfe bakterieller DNA-Polymerasen
  - weitere Replikationen
  - nach einiger Zeit Zusammenbau der Phagen
    - \* Hüllproteine
      - werden gleichzeitig mit Nucleinsäure produziert
      - umschließen jeweils einen Einzelstrang Nucleinsäure
    - \* fertige Phagen werden freigesetzt

## Lysogener Zyklus [5]

**temperente Phagen** Phagen, deren Genom mit dem Wirtsgenom zusammen repliziert werden kann und die während der Lysogenie keine Lysis der Zelle bewirken [9]

- temperente Phagen
  - Phagen, die den lysogenen Zyklus einschlagen können
  - bestuntersuchtes Beispiel
    - \* Phage  $\lambda$
- Prophage
  - in das Bakteriengenom integrierte Phagen-DNA

- lysogenes Bakterium
  - Bakterium mit integriertem Prophagen
- Lysogenie
  - Zustand der Integration eines Prophagen
  - Expression des Phagen-Genoms wird kontrolliert und weitgehend unterdrückt
  - basiert auf molekularem Schalter
    - \* steuert Phagenentwicklung in einem oder anderem Weg
  - eines der entscheidenden Modelle für die Aufklärung biologischer Differenzierungsprozesse
- Phasen des lysogenen Zyklus [9]
  1. Adsorption (Anheftung des Phagen)
  2. Injektion
  3. Integration der viralen DNA in die Wirts-DNA
  4. Zellteilungen und normales Zellwachstum
- Besonderheiten
  - nur ein Gen der Phagen-DNA wird exprimiert
    - \* Repressor
    - \* blockiert weitere Aktivitäten des Phagen-Genoms
    - \* Phage  $\lambda$ : Lambda-Repressor
  - Integration der Phagen-DNA in das Wirts-Genom
    - \* ortsspezifisch
    - \* kann zu spezialisierter Transduktion führen
- Eintreten in lytischen Zyklus
  - durch (künstliche und natürliche) Mutationen, äußere Einwirkungen, UV-Strahlung
  - bei der Reparatur von DNA-Schäden durch den Wirt Abbau des Lambda-Repressor-Proteins
    - \* durch proteolytisches Enzym
    - \* hebt diffiziles Gleichgewicht der Repressor-Proteine auf
- Besonderheit der Lysogenie
  - lysogene Bakterien gegen Infektion mit gleichen Viren immun
    - \* beruht auf Exprimierung des Repressor-Gens des Phagen-Genoms

### 11.4 Humanpathogene Viren

-



## 11.5 Viroide und Prionen

**Viroide** Sehr kleine nackte RNA-Moleküle, die bei Pflanzen Krankheiten auslösen; RNA codiert nicht für Proteine. [9]

**Prionen** infektiöse Proteinpartikel (“small proteinaceous infectious particles”), deren extrazelluläre Form vielleicht keine Nukleinsäuren enthält [9]

### 11.5.1 Viroide [5]

- nicht mit Viren identisch
- sehr kleine, nackte RNA-Moleküle
  - einsträngig zirkulär
  - längliche Gestalt
    - \* durch streckenweise intramolekulare Basenpaarung
- RNA codiert nicht für Proteine
  - für Vermehrung notwendige Mechanismen müssen im Wirt vorhanden sein
- Wirkungsmechanismus
  - Viroid-RNA greift wahrscheinlich in die Genexpression des Wirtes ein
- kleinste pathogene Strukturen [9]
- zusätzlicher Unterschied zu Viren [9]
  - extra- und intrazelluläre Form identisch

### 11.5.2 Prionen

#### weiterführende Literatur

PRUSINER, S. B. (ed.). 1996. *Prions, Prions, Prions*. Springer, New York

- infektiöse Proteinpartikel [9]
  - scheinen in extrazellulärer Form keine Nukleinsäuren zu enthalten
    - \* wenn doch enthalten, dann viel zu kurz, um das Protein zu codieren
  - repräsentieren den Viroiden entgegengesetztes Extrem
- Ursache der Prionen-Erkrankungen [5]
  - Proteine in normalen Nervenzellen mit metastabilen Eigenschaften

- \*  $\alpha$ -helikale Faltblattstruktur kann in  $\beta$ -Struktur umklappen
- \* beide Formen chemisch identisch
- \* verschiedene Eigenschaften beider Strukturen
  - korrelieren mit den Krankheitssymptomen
- Krankheitsauslösung
  - \* Kristallisationskeim entscheidend
    - geht von Monomeren der  $\beta$ -Struktur aus
  - \* verändertes Molekül kann Veränderung weiterer Moleküle bewirken
    - Kettenreaktion
  - \* Veränderung eines normalen Zellproteins wird zur Krankheitsursache
    - auch durch Mutationen Struktur der Prionen veränderbar

# *Genetische Mechanismen bei Bakterien*

---

*IV*

## Übersicht

---

12 Das genetische Material

13 Funktion des genetischen Materials

14 Variation des genetischen Materials

---



**Kapitel-Übersicht**

**12.1 Aufbau**

**12.2 Verpackung**

**12.3 Replikation**

## 12.1 Aufbau

- Prototypen Gram-positiver und -negativer Bakterien
  - Gram-positiv
    - \* *Bacillus subtilis*
  - Gram-negativ
    - \* *Escherichia coli*
- Grund für relativ höheren Basenanteil pro Genzahl bei Eukaryoten
  - relativ lange, nicht codierende Sequenzen der Eukaryoten-Gene

### Unterschiede zwischen Pro- und Eukaryoten

#### 1. codierende Sequenzen

- Eukaryoten
  - Gene unterbrochen
  - kein zusammenhängender Abschnitt codierender Sequenzen
    - \* “**Mosaikgene**”
  - Splicing
- Prokaryoten
  - Gene zusammenhängender Abschnitt codierender Sequenzen
  - Ausnahme: Archaea
    - \* vgl. Kap. 3.6.1, S. 19

#### 2. Struktur der DNA

- Prokaryoten
  - ringförmig
- Eukaryoten
  - linear
  - Chromosom

#### 3. Genom

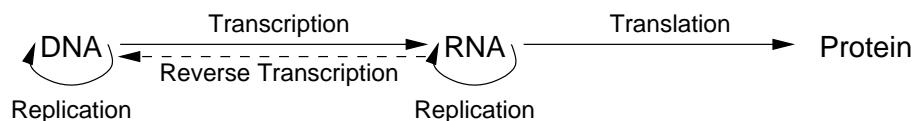
- Prokaryoten
  - 1 Chromosom
    - \* ringförmig
    - \* Replikon
      - Replikon** ein von einem Replikationsstartpunkt in seinem Replikationsverhalten kontrolliertes DNA-Segment [6]
      - \* geschlossene Vermehrungseinheit
  - Origin (ori)
    - \* Ursprungspunkt der *bidirektionalen* DNA-Replikation

- Terminus (ter)
  - \* Zusammenlaufen beider Replikationsgabeln
  - \* Ende der Transkription
- gleicher Mechanismus bei Plastiden
 

**Plastiden** kleine, ringförmige DNA–Abschnitte mit maximal 300 Genen
- Eukaryoten
  - viele Origins pro Chromosom
  - \* mehrere 1000

### zentrales Dogma der Molekularbiologie

- Information ist zwischen DNA und RNA reziprok austauschbar
- Informationstransfer zum Protein irreversibel



**Abbildung 12.1:** Zentrales Dogma der Molekularbiologie (F. CRICK)

### Experimenteller Nachweis der Codierung in Triplets

- Leseraster–Mutationen zeigen, daß der genetische Code in Triplets — von einem festen Standpunkt — gelesen wird
- Acridine: Mutagen
  - Deletion (Entfernung von Basen)
  - Insertion (Einfügung von Basen)
- Colinearität zwischen Gen und Protein
  - Reihenfolge der Nucleotide entspricht der Reihenfolge der Aminosäuren
- Universalität des genetischen Codes
  - nicht in jedem Fall haltbar
  - geringere Veränderungen bei mtDNA und bestimmten Hefen
- open reading frame (ORF)
  - bei Bacteriophagen Überlappung und gleichzeitige Nutzung

## 12.2 Verpackung

- 

## 12.3 Replikation

- semikonservativ
- Auftrennung der beiden DNA-Stränge
  - Voraussetzung für die Replikation
  - relativ komplizierter Vorgang
  - unter Beteiligung von Enzymen
    - \* Topoisomerasen
    - \* Helicase
      - zieht Helix der DNA auseinander
- Synthese der Tochterstränge
  - durch/an DNA-Polymerasen
  - Replikationsgabel
    - \* *replication fork*
    - \* Ort der Neusynthese der Tochterstränge
  - Chemie
    - \* Phosphodiesterbindung schließt eine hydrophile Attacke des 3'-OH-Endes des letzten Nucleotids auf das 5'-Ende der Triphosphatkette ein
    - \* Freisetzung von Polyphosphat
  - Nucleotid
    - \* Base + Zucker (Desoxyribose) + Phosphatrest
  - Vorgang an den DNA-Polymerasen
    1. Transphosphorylierung
    2. Hydrolyse des Pyrophosphates
- Vorwärts-Strang
  - *leading strand*
  - wird von der Polymerase III in einem Zug synthetisiert
- Rückwärts-Strang
  - *lagging strand*
  - Synthese in Abschnitten
    - \* **Okasaki-Fragmente**



Polymerase	I	II	III
Funktion	Reparatur Replikation	Reparatur	Replikation
Molmasse	109 kDa	90 kDa	900 kDa
Untereinheiten	Monomer	Monomer	> 16
Enzymmoleküle pro Zelle	400	?	10–20
3'–5'–Exonuklease	+	+	-
5'–3'–Exonuklease	+	-	-

**Tabelle 12.1:** (prokaryotische) DNA–Polymerasen I, II, III

- \* ein Abschnitt ca. 2000 bp
- Grund
  - \* Synthese nur in 3'–5'–Richtung möglich
- semikonservative Replikation
- Aufgabe der DNA–Polymerase I
  - Abbau der RNA–Primer
  - Ersetzung durch DNA–Sequenzen
- Ligase
  - verbindet Einzelstücke (Okasaki–Fragmente) des langing strand

### DNA–Polymerase I

- Entdecker: ARTHUR KRONBERG
  - KRONBERG–Enzym
- intensiv untersucht
- 3'–5'–Exonuclease–Aktivität
  - vom Enzym selbst reguliert
  - sehr geringe Fehlerrate
    - \*  $1 : 10^5$
    - \* Fehler werden von der 3'–5'–Exonuclease behoben
  - Neukoppelung immer am 3'–Ende
- 5'–3'–Exonuclease–Aktivität
  - 2. Kontrollmechanismus
  - nach Abschluß der Replikation
- Größe
  - ca. 1000 AS
- *nicht* das Hauptenzym der DNA–Replikation

### DNA-Polymerase III

- “Replikationsenzym”
- sehr selten in der Zelle
  - Grund für späte Entdeckung
    - \* 20 Jahre nach der DNA-Polymerase I entdeckt
- Proteinkomplex
  - “Replisom”
  - viele Untereinheiten
- Grund für Komplexität
  - Polymerase kann lange am Substrat verweilen
    - \* Zeitdauer (Bakterien, 2000 kBp): 40 min
    - Prozessivität
- sehr hohe Prozessivität
  - Voraussetzung für zügige Replikation
  - durch “Klammerkomplex” der anderen Untereinheiten ermöglicht
- kann ca.  $\frac{1}{10}$  des Bakterienchromosoms auf einmal synthetisieren

# *Funktion des genetischen Materials*

---

# 13

## **Kapitel-Übersicht**

### **13.1 Transkription**

### **13.2 Translation**

### **13.3 Attenuierung: Verknüpfung von Translation und Transkription**

### **13.4 Posttranslationale Prozesse**

### 13.1 Transkription

- Unterschied zur Replikation
  - RNA
  - nur ein Strang
- Definitionen
  - template strand** dient als Matrize
  - coding strand** entspricht der mRNA-Sequenz
  - Transkriptionseinheit** zu RNA transkribierte DNA, die am Promoter beginnt und am Terminator endet
- Transkription immer länger als das Transkriptionsprodukt
- Promoter<sup>1</sup>
  - bestimmte Basensequenz
  - Protein-DNA-Wechselwirkung
    - \* dient der Anheftung der RNA-Polymerase
  - Prokaryoten
    - \* –35- und –10-Region
- Terminator
  - Stop-Signal für Transkription

#### 13.1.1 Komponenten der Transkription

##### Aufbau der (prokaryotischen) RNA-Polymerase

- bei Prokaryoten nur eine RNA-Polymerase (RNA-P)
  - durch verschiedene Gene codiert
    - verschiedene Untereinheiten
- 4 verschiedene Untereinheiten
  - $\alpha, \beta, \beta'$ 
    - \* konstante Größe in den einzelnen Species
  - $\sigma$ 
    - \* stark abweichende Größe bei einzelnen Bakterienspecies
- aktives Zentrum
  - in  $\beta$ - $\beta'$ -Komplex
- Core: 2  $\alpha, \beta, \beta'$

---

<sup>1</sup>Achtung: Promoter, nicht Promotor!

- hohe Affinität zueinander
- reicht zur Bindung an die DNA
  - \* aber: nicht spezifisch
  - Promoter
- $\sigma$ -Faktor
  - bestimmt Spezifität der DNA-Bindung
  - Erkennung eines bestimmten Promoters

### eukaryotische RNA-Polymerasen

- 3 RNA-Polymerasen
- einzelne RNA-Polymerasen aus wesentlich mehr Untereinheiten
- vielfältige Transkriptionsfaktoren
  - analog zum  $\sigma$ -Faktor
- Hefe-RNA-Polymerase
  - meist Gruben mit Nucleinsäure-Bindungsstellen
  - untere Grube
    - \* 25 Å breit, 5–10 Å tief
    - \* Bindungsstelle für DNA
  - oberer Kanal
    - \* 12–15 Å weit, 20 Å tief
    - \* Bindungsstelle für RNA

## 13.1.2 Ablauf der Transkription

### Stadien der Transkription

1. Erkennung spezifischer Matrizen-Sequenzen
  - RNA-P bindet an den DNA-Doppelstrang
  - DNA wird im Promoterbereich entwunden
2. Initiation
  - Ketten von 2–9 bp (Oligopeptide) werden synthetisiert und freigesetzt
  - bei Überschreitung der kritischen Kettenlänge von 9 bp Elongation
3. Elongation
  - RNA-P “gleitet” auf dem DNA-Strang entlang
  - Transkriptionsfaktor wird gelöst

- “Gleiten”
    - ruckartiges Gleiten
    - diskontinuierliches Vorwärtsschreiten
    - daher bei der Initiation 9–10 bp synthetisierbar
      - \* obwohl die RNA-P fest sitzt
  - RNA wird durch Basenpaarung mit einem DNA-Strang (“Matri-zenstrang”, template strand) synthetisiert
  - DNA-Blase
    - *Transkriptionsblase*
    - entwundene DNA
    - begleitet RNA-P
  - RNA-P erreicht das Ende des Gens
4. Termination
- RNA-P und RNA werden freigesetzt
  - Wiederherstellung des DNA-Doppelstrangs

### Promoter

- typischerweise 3 Komponenten
  1. Consensus-Sequenzen
    - bei –35 und –10
  2. Startpunkt der Transkription
  3. Window
    - zwischen –35 und –10
    - 16–19 bp lang
- Stärke des Promoters
  - korreliert mit Häufigkeit des Ablesens
  - hängt mit Ähnlichkeit zu konservierten Sequenzen der –35- und –10-Region zusammen
  - starke Promotoren
    - starke Transkription
    - hohe Effektivität/Ausbeute (→ wichtig in der Gentechnik)

### intrinsische Terminatoren

- in der DNA vorgegeben (codiert)
- mechanisch aufgrund der Struktur der mRNA ausgelöst
- G-C-reiche Region

- gefolgt von U
- schließen Palindrom-Strukturen mit ein
  - Palindrome** Erkennungssequenzen aus vier, fünf oder sechs Basenpaaren [5]
    - Ausbildung von Haarnadelstrukturen
    - 7–20 bp
- Haarnadel-/Bäumchenstruktur von neusynthetisierter mRNA gebildet
  - nie von DNA, dort nur codiert
- echte und Pseudo-Terminatoren
  - echte Terminatoren
    - \* rho-unabhängig
  - rho-abhängiger Terminator
    - \* rho-Protein unterstützt Ablösung der RNA-Polymerase am Terminator

hier sagt sich die RNA-P:  
"Halt, was soll das ganze,  
diese Struktur hindert  
mich am Weitergleiten",  
und macht erst mal eine  
Denkpause

Jetzt kann dieser  
rho-Faktor, der egtl.  
immer zu spät kommt,  
aufschließen.

### 13.1.3 Regulation der Transkription

- Gene in Bakterien häufig geclustered
  - oft nur ein Promoter pro Cluster
  - Operon
    - Operon** Folge mehrerer Gene unter gemeinsamer Kontrolle.
- negative Kontrolle eines Operons
  - trans-wirkender Repressor bindet an cis-wirkenden Operator
    - Ausschaltung der Transkription
- positive Kontrolle
  - trans-wirkende Faktoren müssen an cis-wirkende Stellen gebunden werden, um Transkription am Promoter zu initiieren
  - in Eukaryoten Strukturen individuell kontrolliert
- cis/trans-Wirkung
  - trans-Wirkung
    - \* Regulator kann auch an anderen Gensequenzen als der eigenen binden
      - Überbrückung räumlicher Entfernungen
  - cis-Wirkung
    - \* Wirkung nur innerhalb des eigenen Sequenzabschnittes
    - \* Bsp.:

- DNA-Sequenz (Operator) kann nur unmittelbar daneben liegendes Gen/Operon regulieren
- Einteilung der Proteine nach Expression
  - induzierbare Proteine
    - \* nur nach Bedarf synthetisiert
  - konstitutive Proteine
    - \* permanent in der Zelle präsent
- Regulation der induzierbaren Proteine (Kontrollebenen)
  1. Transkription
    - am besten bekannt
    - (a) positive Regulatoren
    - (b) negative Regulatoren
      - Bsp.: Lac-Operon
  2. Translation

### Negative Kontrolle eines Operons

- trans-wirkender Repressor bindet an cis-wirkenden Operator
  - Abschaltung der Transkription
- in Bakterien häufig mehrere Gene koordiniert reguliert
- zwei Ebenen der Regulation
  1. Regulation der Stärke des Promoters
  2. regulatorische Region in der Nähe des Promoters
- Operator-Sequenzen
  - regulatorische Sequenzen bei negativer Regulation
- negative Kontrolle
  - Repressor
    - \* Protein
    - \* trans-Wirkung
  - Operator
    - \* DNA
    - \* cis-Wirkung
  - Bindung von Repressor an die Operator-Region verhindert Anlagerung der RNA-Polymerase an die DNA
- das Operon — die genetische Kontrolleinheit



- mehrere Strukturen gemeinsam kontrolliert
  - als Einheit transkribiert
- in cis wirkende Elemente
  - \* Promoter(s)
  - \* Terminator(en)
- in trans wirkende Elemente
  - \* Produkte der Regulatorgene
- Vorkommen
  - Bacteria und Archaea
  - *nicht* Eukaryota
    - \* i. d. R. jedes Strukturgen unter Kontrolle seines eigenen Promoters
    - \* fast ausschließlich positive Kontrolle
      - Promoter i. d. R. zu schwach für Bindung von RNA-P
- Lac-Repressor
  - erster genau untersuchter Operator
- CAP-Bindungsprotein
  - positiver Regulator
  - kann unspezifisch auf viele Operons wirken
  - Katabolit-Repression
    - \* in Gegenwart von Glucose Repression aller andere Stoffwechselwege codierender Gene
    - \* globale Kontrolle

### Das Lac-Operon

- Operon-Hypothese
  - J. MONOD, F. JACOB (1961)
  - Operon: Promoter, Operator, Strukturgene
- untersuchter Stoffwechselweg:
  - Spaltung von Lactose durch  $\beta$ -Galactosidase
    - \* Untersuchungen durch J. MONOD (1940er)
    - \* Diauxie
      - in zwei Etappen Nutzung unterschiedlicher Zucker
- Lac-Operon
  - ca. 6000 bp

- LacI-Gen mit eigenem Promoter und Terminator
- Operon
  - \* Promoter P
  - \* Operator O
  - \* Strukturgene
    - LacZ ( $\beta$ -Galactosidase)
    - LacY (Permease)
    - LacA (Transacetylase)
- LacA
  - \* physiologische Funktion bis heute nicht verstanden
  - \* wird nicht gebraucht (!?)
- MONOD
  - \* Postulat eines bis dahin unbekanntes Moleküls
    - mRNA
- mRNA
  - \* kurzlebig (*E. coli*: max. 2 min)
  - schnelle Regulation möglich
- Katabolit-Repression
  - Glucose verursacht Katabolit-Repression durch Reduktion des Spiegels von cAMP
  - cAMP
    - \* einzelne P-Gruppe mit 3'- und 5'-Ende des Zuckerrings verbunden

## 13.2 Translation

### 13.2.1 Komponenten der Translation

#### tRNA

- Acceptorstelle für Aminosäuren
- Anticodon
  - Kontaktstelle für genetischen Code
- Aminoacyl-tRNA-Synthetase
  1. Aktivierung der Aminosäure
  2. kovalente Bindung an tRNA

## Ribosom

- 2 Bindungsstellen für beladene tRNA
  - P = Peptidyl-Bindungsstelle
    - \* P-site
  - A = Aminoacyl-Bindungsstelle
    - \* A-site

### 13.2.2 Ablauf der Translation

- Adaptorhypothese [12]
  - *adaptor hypothesis*
  - CRICK 1955 [11]
  - zur Erklärung des Übersetzungsvorganges von Nucleinsäure-Sequenz in Aminosäure-Sequenz
  - auf Basis rein theoretischer Überlegungen entwickelt
  - Inhalt der Hypothese
    - \* Aminosäuren binden nicht direkt an Nucleotide des entsprechenden Codons
    - \* Adaptormolekül stellt spezifische Bindung an das Codon her
      - enthält Nucleotide, die sich mit dem Codon über H-Brücken paaren können
      - Erkennungsmechanismus über Basenpaarung
    - \* Enzym, das die Aminosäure an den entsprechenden Adaptor bindet
      - hochgradig spezifisch
  - experimenteller Befund
    - \* Adaptormolekül
      - *transfer-RNA* (tRNA)
    - \* spezifisches Enzym
      - Aminoacyl-tRNA-Synthetasen
- Wobblehypothese [12]
  - *wobble hypothesis*
  - engl. *wobble*, wackeln
  - CRICK
  - zur Erklärung der Degeneration des Genetischen Codes [11]
    - \* *genetic code degeneracy*
    - \* viele tRNAs binden an zwei oder drei unterschiedliche Codons
    - \* *isoaccepting tRNAs*
      - unterschiedliche tRNAs, die für die gleiche Aminosäure codieren

- Basenpaarung des dritten Nucleotids eines Codons weniger spezifisch als diejenige der ersten beiden

### 1. Initiation

- erfordert 30S–Untereinheit und IF 3 (Initiationsfaktor 3)
- nur fMET–RNA entert den partiellen P–Site an der 30S–UE
  - fMET = Formyl–Methionin
    - \* nur bei Prokaryota
- Ribosomen–Bindungsstelle
  - mRNA
    - \* AGGAGG
    - \* hochkonserviert<sup>2</sup>
      - vor jedem Gen maximal 1–2 Basen ausgetauscht
  - 16S–rRNA
    - \* am 3′–Ende CCTCCT
    - \* 3′–Ende Anticodon zur Ribosomen–Bindungsstelle der mRNA
- polycistronische mRNA
  - polycistronische mRNA** *polycistronischer Messenger*, mRNA, die das Transkript mehrerer Gene trägt [6]
  - i. d. R. jedes Gen getrennt translatiert

### 2. Elongation [12]

#### (a) Bindung der entsprechenden Aminoacyl–tRNA

- Codon–Erkennung
- durch Elongationsfaktor
  - Protein
  - nicht permanent mit dem Ribosom gebunden
- Bindung an die Aminoacyl–tRNA–Bindungsstelle
- Energiebereitstellung durch Hydrolyse von GTP zu GDP

#### (b) Bildung der Peptidbindung

- durch Peptidyltransferase
  - integraler Bestandteil der großen Ribosomenuntereinheit

#### (c) Translokation

- unbeladene tRNA verläßt P–Bindungsstelle
  - Peptidyl–tRNA wird von der A– auf die P–Stelle verschoben
  - mRNA verschiebt sich um drei Basen
- mindestens ein weiterer Elongationsfaktor beteiligt

---

<sup>2</sup>Dieser Begriff impliziert die evolutive Sicht, die betreffende Sequenz habe sich innerhalb der postulierten mehr als 2 Mrd. Jahre nur extrem wenig verändert. Sie wird vom Verfasser *nicht* geteilt.

- benötigt GTP als Energiequelle

#### 3. Termination [12]

- an Stopcodons
  - UAA, UGA, UAG
  - normalerweise keine tRNA-Moleküle mit entsprechenden Anticodons
    - \* Ausnahme: sog. *Nonsense-Suppression*
  - Stopcodons werden von Terminationsfaktoren erkannt
- Bindung eines Terminationsfaktors
  - an das Stopcodon
  - aktiviert Peptidyltransferase
    - \* hydrolysiert Bindung zwischen tRNA und Polypeptid
  - Polypeptid löst sich vom Ribosom
- Ribosom dissoziiert in seine beiden Untereinheiten

## 13.3 Attenuierung: Verknüpfung von Translation und Transkription

**Attenuation** zusätzliches Regulationssystem, das auf der Kontrolle der Transkriptionsrate durch intramolekulare Sekundärstrukturen der mRNA beruht. [6]

- alternative mRNA-Sekundärstrukturen werden durch die Bewegung des Ribosoms bestimmt. Durch die Ausbildung der jeweiligen mRNA-Sekundärstruktur wird darüber entschieden, ob die Transkription des gesamten Gens stattfindet.
- trp-Operon
  - am besten untersucht
- Regulation durch Attenuierung
  - Leader-Transkripte und Leader-Regionen in AS-Biosynthese-Operons
- Faltung der mRNA
  - a) zwei Bäumchen mit Terminator
  - b) ein Bäumchen
- Ausbildung der Strukturen
  - von Trp-Konzentration abhängig
- Geschwindigkeit der Translation
  - steuert Fortsetzung der Transkription

## 13.4 Posttranslationale Prozesse

- Chaperone

**Chaperone** Polypeptidketten bindende Proteine, Polypeptide chain binding proteins (PCBs), molekulare Chaperone; vermitteln die korrekte Faltung und Oligomerisierung von Polypeptidketten, sind jedoch keine Bestandteile der entstehenden Strukturen. [7, E1994]

- “molekulare Ammen”

- unterstützen die Proteinfaltung in Eukaryoten und Prokaryoten

- relativ unverändert

- \* Grund:

- jede Veränderung in der Struktur wahrscheinlich für die Zelle tödlich

- zwei große Gruppen

1. hsp70 (DnaK), hsp40 (DnaJ)

2. hsp60 (GroEL), hsp10 (GroES)

- weitere Funktion

- Aufrechterhaltung der Funktionsfähigkeit anderer Proteine unter extremen Bedingungen

- Hitzeschock etc.

### 13.4.1 Posttranslationale Modifikationen

- durch nicht Aminosäure-haltige Reagenzien

- Verankerung des Proteins in der Membran

- \* über verschiedene Acylbindungen

- hauptsächlich bei Eukaryoten

- z. T. auch bei Prokaryoten

### 13.4.2 Proteintransport

- Signalsequenzen in Eukaryoten

- Signalsequenz

- \* *Signalpeptid, leader*

- \* am N-Terminus

- \* 20–30 Aminosäuren lang

- \* dem eigentlichen Protein vorgelagert

- \* molekulares Erkennungszeichen

- Abspaltung des Signalpeptids

- \* nach erfolgter Translokation
- \* durch Signalpeptidase
- \* wichtig für die Funktionsfähigkeit von Proteinen
- GÜNTER BLOBEL
- Protein-Export in Bakterien
  - SecB
    - \* erforderlich als Chaperon
    - \* bindet nascentes Protein
    - \* SecB → SecA
  - SecA
    - \* peripheres Membranprotein
    - \* mit integralem Membranprotein SecE/Y assoziiert
  - signal recognition particle
    - \* SRP
    - \* bei Bakterien SecB
  - Translokation erfordert H<sup>+</sup>-Gradienten an der Membran
  - Signalpeptidase
    - \* integrales Membranprotein
    - \* spaltet die Signalsequenz ab
- Topographie von Membranproteinen
  - abhängig von Zahl und Anordnung der Transmembran-Regionen
  - α-Helix durchspannt Membran
    - \* bis zu 12 Schleifen pro Protein
    - Membranproteine schwer zu isolieren





# *Variation des genetischen Materials*

---

14

Kapitel-Übersicht

14.1 Mutation

14.2 Rekombination

14.3 Transponierbare Elemente

## 14.1 Mutation

### Einteilung nach phänotypischen Konsequenzen

- neutral
  - keine Auswirkungen auf den Phänotyp
  - keine Veränderung der Aminosäure-Sequenz
    - Degeneration des genetischen Codes
- konditional
  - phänotypische Veränderungen nur unter bestimmten Bedingungen
  - restriktive Bedingungen
    - \* phänotypische Veränderungen
  - permissive Bedingungen
    - \* keine phänotypischen Veränderungen
- temperatursensitiv
  - ts-Mutanten
  - Beispiel einer konditionalen Bedingung
  - restriktive Bedingung
    - \* erhöhte Temperatur
- auxotroph
  - Mutation verursacht Defekt in Synthese eines essentiellen Metaboliten
  - Supplementierung des Mediums notwendig
- lethal
  - Mutation führt zum Absterben des Organismus

### Einteilung nach Ort der Veränderung

1. Genmutation
  - innerhalb eines Gens
2. Chromosomenmutation
  - Veränderungen reichen über ein Gen hinaus
3. Genommutation
  - *Ploidiemutationen*
  - nur bei Eukaryoten
  - vollkommen anderer Typ der Mutation als 1. und 2.
    - zahlenmäßige Veränderungen von Chromosomen oder Chromosomensätzen
  - *keine* Veränderung der DNA-Sequenz

## Einteilung nach Ursache

- spontane Mutationen
  - endogen
  - Häufigkeit
    - \*  $10^{-10} - 10^{-11}$  nt/Generation<sup>1</sup>
- induzierte Mutationen
  - durch äußere Einflüsse hervorgerufen
  - Mutagene
    - \* UV, Chemikalien
  - Häufigkeit
    - \*  $10^{-6} - 10^{-7}$  nt/Generation

### 14.1.1 Genmutation

- 

### 14.1.2 Chromosomenmutation

- 

### 14.1.3 Genommutation

- 

### 14.1.4 DNA-Reparatur

- 

## 14.2 Rekombination

- Historie
  - JOSHUA LEDERBERG (1947)
    - \* Nachweis von Austauschprozessen bei Bakterien
      - “Konjugation”
    - Beginn der Bakteriengenetik
  - T. A. AVERY (1944)
    - \* DNA transformierendes Agens

---

<sup>1</sup>nt/Generation = Nucleotide pro Generation

### 14.2.1 Homologe Rekombination

- höhere Organismen (Eukaryoten)
  - Meiose
    - vollständiger Chromosomensatz nimmt teil
- Prokaryoten
  - partielle Austauschprozesse
  - Donor- und Rezipientenzelle
    - parasexuelle Prozesse
    - \* begriffliche Abgrenzung zu sexuellen Prozessen (nur bei Eukaryota)
- Ergebnis: Heterogenote
- Austauschprozeß auf molekularer Ebene mit den Eukaryota übereinstimmend

### Transformation

**Transformation** Aufnahme reiner DNA durch eine Rezipientenzelle [5]

**Kompetenz** Fähigkeit der Rezipientenzelle, DNA aufzunehmen

- Kompetenz
  - komplexe, genetisch kontrollierte Erscheinung
  - natürliche Kompetenz
    - \* bei Gram-positiven Bakterien
    - \* Teil des Lebenszyklus
      - meist am Ende der exponentiellen Wachstumsphase
  - induzierte Kompetenz
    - \* künstlich hervorgerufen
    - \* Methoden
      - chemische Behandlung (z. B.  $\text{CaCl}_2$ )
      - Stromstöße (Elektroporation)
- Konsequenzen der Kompetenz
  - Aufnahme von DNA durch die kompetente Zelle
  - Rekombination zwischen Wirts-DNA und aufgenommener DNA
- Vorgang
  - aufgenommene DNA-Stücke werden in einzelsträngige Form umgewandelt

- können sich an homologe Bereiche des Rezipientenchromosoms anlagern
- allgemeine Rekombination
  - \* Integration der einzelsträngigen DNA-Moleküle in das Rezipientenchromosom
  - \* Bildung eines Heteroduplex
- eine Replikationsrunde
  - Homoduplices
  - \* können neue Information phänotypisch ausprägen
- praktische Bedeutung
  - Experimente zur Feststellung von Koppelungsgruppen von Genen
  - Gentechnik
    - \* gezielte Vermehrung von DNA-Sequenzen

## Konjugation

**Konjugation** Transfer genetischen Materials von einer prokaryotischen Zelle zu einer anderen durch direkten Zell-Zell-Kontakt [9]

- Status einer Donorzelle
  - abhängig vom Vorhandensein eines Sexualfaktors
    - \* F-Plasmid
    - \* trägt alle genetischen Informationen für die bei der Konjugation ablaufenden Vorgänge
      - tra-Operon
- Donor-Zelle
  - F<sup>+</sup>-Zelle
  - kann Konjugationsereignisse mit potentiellen Partnern einleiten
- Rezipienten-Zelle
  - F<sup>-</sup>-Zelle
  - besitzt *kein* F-Plasmid
- typische Phasen der Konjugation (unter besonderer Berücksichtigung der Vorgänge bei *E. coli*)
  1. Ausbildung von Pili durch die Donorzellen
    - Pili = Organellen mit filamentöser Struktur
  2. Pili erkennen Rezeptoren an der Zelloberfläche, binden an diese
  3. Retraktion (Rückbildung) der Pili

- schließlich Kontakt der Zelloberflächen von Donor- und Rezipientenzelle
- 4. Bildung von Konjugationspaaren oder -aggregaten
  - Konjugationsaggregate = mehrere Zellen kontaktieren
  - gehen von instabilem in stabilen Paarungszustand über
- 5. Anschaltung der für die konjugative Replikation und den Transfer des F-Plasmids verantwortlichen Gene
- 6. Einzelstrangbruch im  $\text{oriT}$  des F-Plasmids
  - nach Erreichen eines stabilen Konjugationspaares
- 7. Transfer des F-Plasmids
- 8. DNA-Stränge werden in Donor und Rezipient zu kompletten Doppelstrang-F-Plasmiden ergänzt
- Ergebnis der Konjugation
  - $\text{F}^-$ -Zellen zu  $\text{F}^+$ -Zellen geworden
    - \* können ihrerseits Pili ausbilden und Konjugationsereignisse einleiten
- $\text{tra}$ -Operon
  - codiert alle erwähnten Vorgänge
  - größtes bisher bekanntes Operon bei Bakterien

### Hfr-Zellen [5]

- Zellen mit F-Plasmid im bakteriellen Chromosom
  - Insertion des F-Plasmids in das bakterielle Chromosom selten
  - über IS-Elemente
- Konjugation
  - Einzelstrangbruch in  $\text{oriT}$
  - F-Plasmid mit daran “hängenden” chromosomalen Genen wird übertragen
  - abschließend Übertragung der restlichen Teile des F-Plasmids
- Übertragung meist unvollständig
  - bricht vorzeitig ab
  - Plasmid gelangt nicht vollständig in Rezipientenzelle
  - keine Umwandlung der Rezipienten in  $\text{F}^+$ -Zellen
- Rezipientenzellen
  - für übertragene chromosomale Gene diploid
  - Rekombination unter Bildung eines Heteroduplex möglich

→ Genneukombination

- experimentelle Nutzung der Genübertragung durch Hfr-Zellen
  - Erstellung von Genkarten
  - Abbruch der Konjugation in definierten Zeitintervallen
    - \* Genkarte in “Konjugationsminuten”
- F’-Faktoren
  - substituierte F-Plasmide
  - mit Teilen chromosomaler DNA beladene F-Plasmide
  - entstehen bei fehlerhafter Excision des F-Plasmids aus dem Chromosom der Hfr-Zelle
    - \* sehr seltener Vorgang
  - DNA-Sequenzen können im Zuge einer Konjugation auf Rezipientenzelle übertragen werden

### Allgemeine Transduktion

**Transduktion** Übertragung von Bakteriengen durch Phagen [5]

**allgemeine Transduktion** beliebige bakterielle Gene werden durch Phagen übertragen [5]

- bei virulenten Phagen
  - treten in lytischen Zyklus ein
- zufällige Verpackung von Bruchstücken bakterieller DNA zusammen mit dem Phagen-Genom
- auf fehlerhafte Verpackung des Phagen-Genoms zurückzuführen
- Infektion einer Rezipientenzelle durch defekte transduzierende Phagen
  - allgemeine Rekombination zwischen Donor-DNA und Rezipienten-Genom möglich
    - \* transduziertes Genstück in Genom des Rezipienten eingebaut
- experimentelle Nutzung
  - Aufstellung und Präzisierung von Gen- und Chromosomenkarten

### 14.2.2 Nichthomologe Rekombination: Spezielle Transduktion

**spezielle Transduktion** *spezialisierte Transduktion*, spezifische DNA–Stücke des Wirtsgenoms werden in das Virengenom eingebaut, ersetzen meist manche Viren–Gene [9]

- temperente Viren
  - inserieren an bestimmter Stelle in das Wirtsgenom
  - Excision
    - \* in seltenen Fällen fehlerhaft
    - \* Mitverpackung von Wirts–DNA
- experimenteller Befund
  - für betroffene Gene defekte Stämme können durch Rekombination nach Infektion mit dem Phagen wieder prototroph werden

### 14.3 Transponierbare Elemente

**transponierbare Elemente** DNA–Sequenzen, die innerhalb des Genoms ihre Position verändern können und an verschiedenen Stellen eingebaut werden können [5]

- transponierbare Elemente bei Bakterien
  1. IS–Elemente
  2. Transposons
  3. transponierbare Bacteriophagen
- zwei Formen der Transposition
  - replikative Transposition
    - \* ursprünglicher Donor behält Transposon
  - nichtreplikative Transposition
- zusammengesetzte Transposons
  - tragen häufig Antibiotikaresistenzen
  - häufig im Genom
  - können auch springen
    - \* benachbartes Inserieren mechanistisch unmöglich
  - Folgen



- \* “Abschaltung” von Genen durch Zerstörung des Leserasters
- \* Blockierung von Promotoren
- \* *aber*
  - auch positiver Einfluß: Promoter-Verstärkung

### 14.3.1 IS-Elemente [5]

**IS-Elemente** DNA-Sequenzen, die keine phänotypischen Merkmale codieren, sondern nur solche Proteine, die für den Transpositionsvorgang selbst von Bedeutung sind. [5]

- Charakteristikum
  - kurze, terminale, invertiert-repetierte Sequenzen
    - \* ca. 15–25 bp lang
- Größe
  - zwischen 800 und 2000 bp
- Wirkungen
  - Ausfall von der Insertion betroffener Gene
  - Verstärkung der Genwirkung/-expression
  - Entstehung von Hfr-Stämmen
    - \* durch Übertragung des F-Plasmids
    - \* Hfr-Zellen
      - *high frequency of recombination*
      - können theoretisch ihr gesamtes Chromosom bei der Konjugation übertragen
      - vgl. S. 128

### 14.3.2 Transposons [5]

**Transposons** (Tn), transponierbare Elemente, die neben den zur Transposition notwendigen Genen ein oder mehrere Markergene tragen. [5]

- größer als IS-Elemente
  - > 2000 bp [1]
  - zwei Klassen von Transposons
    - \* Unterscheidung nach Struktur
    - 1. Klasse-1-Transposons
      - \* Bsp.: Tn10

- \* zentrale DNA-Sequenz
  - trägt z. B. ein Resistenzgen
- \* flankierende IS-Elemente
  - codieren für Transposase
- 2. Klasse-2-Transposons
  - \* Bsp.: Tn3
  - \* an ihren Enden kurze invertierte Sequenzwiederholungen
  - \* Transposase-Gen und Strukturgene
    - im zentralen Teil des Transposons
- Erkenntnis aus Untersuchungen von Klasse-1-Transposons
  - DNA-Sequenzen, die sich zwischen zwei IS-Elementen befinden, sind prinzipiell sprunghfähig
- Bedeutung
  - Anpassung einer Bakterienpopulation an veränderte Umweltbedingungen
  - Grund
    - \* Transpositionsprozesse zwischen Teilen des bakteriellen Chromosoms oder Chromosomen und Plastiden
    - \* Übertragung transponierbarer Elemente zwischen Zellen
  - Beispiel
    - \* Weiterreichen von Resistenzgenen oder Genen zur Verwertung bestimmter Substrate

### 14.3.3 transponierbare Bacteriophagen

**transponierbare Bacteriophagen** Riesentransposonen, temperente Phagen, die wie Transposons die Fähigkeit zur Integration in das Wirtsgenom über spezielle Transduktion besitzen [1]

- Beispiel:
  - Phage Mu
    - \* Name wegen der durch die zufällige Integration in das Wirtsgenom hervorgerufenen Mutationen
- Insertion in das Bakterienchromosom
  - phänotypisch erkennbare Mutationen möglich
- Excision aus dem Bakterienchromosom
  - häufig benachbarte DNA-Abschnitte mitverpackt

# *Anhang*

---



# Literaturliste zur Vorlesung



## A.1 Teil I: Biologie der prokaryotischen Zelle

Lehrbücher

Handbücher/Nachschlagewerke

Zeitschriften

## A.2 Teil II: Stoffwechsel

## A.3 Teil III: Ökologie und Physiologie

## A.4 Teil IV: Bakteriengenetik

Lewin, B. *Genes VII*. Oxford University Press

<http://www.oup.com/genesvii/> Abbildungen aus dem Lewin

Knippers et. al. *Molekulare Genetik*. Thieme

Madigan, Martinko, Parker *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall



## B.1 Klausur 1999

- 4 Unterschiede zwischen Pro- und Eukaryoten
  - Prokaryoten ohne Zellkern/ohne Organellen
  - Prokaryoten mit Zellwand aus Peptidoglycan
  - Prokaryoten besitzen ringförmige DNA
  - Prokaryoten besitzen 70S-Ribosomen
- Wachstumskurve
  - lag-Phase
    - \* Anlaufphase
    - \* Anpassung an das Milieu
  - exponentielle Phase
    - \* Phase exponentiellen Wachstums
  - Retardationsphase
    - \* Phase verzögerten Wachstums
  - stationäre Phase
    - \* Verzögerung und Beendigung des Wachstums
    - \* bedingt durch Nährstoffverbrauch und Anhäufung hemmender Stoffwechselprodukte
    - \* Zellzahl bleibt konstant
      - gleichzeitiges Absterben und langsamer Zuwachs von Zellen möglich
    - \* Dauer sehr unterschiedlich
  - Absterbe-Phase
    - \* Absterben der Zellen
    - \* kann mit Autolyse verbunden sein
    - \* Zeitpunkt des Beginns sehr unterschiedlich
- schädigende Umweltfaktoren, gegen die bakterielle Endosporen im Vergleich zu vegetativen Zellen erheblich stärker geschützt sind
  - Hitze, Trockenheit, Strahlung, chemische Desinfektionsmittel
- IMViC-Reihe, pH-Indikator
  - beide Tests erläutern

- \* IMViC
  1. Indolbildung
    - Indolentstehung bei Tryptophanabbau
    - Indolnachweis durch KOVACS-Reagenz (kirschrote Färbung)
  2. Methylrot
    - pH-Indikator, Nachweis von Säurebildung
    - bei  $\text{pH} < 4.5$  rote Färbung
  3. VOGES-PROSKAUER-Test
    - Nachweis von Acetoinbildung aus Glucose
  4. Citrat-Verwertung
    - Nachweis der Alkalisierung (bei Decarboxylierung von Carbonsäuren) durch Bromthymolblau
- 4 organische Säuren benennen, die als Endprodukte der Gärung von Enterobakterien in größeren Mengen anfallen können
  - \* Succinat
  - \* Lactat
  - \* Acetat
  - \* Formiat
- 3 Mechanismen der genetischen Übertragung bei Bakterien + 3 Mechanismen der genetischen Rekombination
  - Mechanismen genetischer Übertragung
    - \* Transformation
      - Übertragung von Erbmaterial in Form von freier DNA
    - \* Transduktion
      - Übertragung von DNA durch bakterien-spezifische Viren (Bakteriophagen)
    - \* Konjugation
      - Übertragung von genetischen Merkmalen durch direkten Zellkontakt
  - Mechanismen genetischer Rekombination
    - \* parasexuelle Rekombinationen
      - im Zusammenhang mit Transformation, Transduktion und Konjugation
    - \* spezialisierte Transduktion
      - Integration des Phagen-Genoms temperenter Phagen ( $\lambda$ ) in das Wirtsgenom
    - \* transponierbare Elemente
      - DNA-Sequenzen, die ihre Position innerhalb des Genoms verändern können
      - IS-Elemente, Transposons, transponierbare Bakteriophagen
- Aufbau des bakteriellen Peptidoglycans
  - Benennen Sie Glycanmonomere + Art der Verknüpfung



- \* N-Acetyl-Glucosamin, N-Acetyl-Muraminsäure, alternierend  $\beta$ -1,4-glycosidisch verknüpft
- Zusammensetzung und Vernetzung der Peptideinheiten der Zellwand
  - \* L-, D-Alanin, D-Glutaminsäure, m-Diaminopimelinsäure, L-Lysin
  - \* Verknüpfung Muraminsäure-Aminosäure durch Lactylgruppen
  - \* Verknüpfung der AS durch Peptidbindungen
- Mu ist mobiles Element
  - Nenne 2 weitere Klassen von mobilen genetischen Elementen.
    - \* IS-Elemente, Transposons
  - Wie heißt das Genprodukt von Mu, das den lysogenen Zustand aufrecht erhält?
    - \* Repressor (hemmt die Transkription des Lysozym-Gens)
  - Wie heißt das Phagengenom im lysogenen Zustand?
    - \* Prophage
  - Kodiertes Enzym vom Phagen Mu?
    - \* Transposase (für den Einbau in das Wirts-Genom)
- antibiotische Wirkung von Penicillin + Tetracyclin
  - Penicillin: Zellwandsynthese
    - \* hemmt die Quervernetzung des Peptidoglykans durch die Glykopeptid-Transpeptidase
  - Tetracyclin: 70S-Ribosomen-Inhibition
    - \* blockiert die Bindung der Aminoacyl-tRNA an die 30S-UE der Ribosomen
- existierende Mechanismen der Resistenz bei diesen Antibiotika
  - \* Penicillin
    - Spaltung des  $\beta$ -Lactamringes durch  $\beta$ -Lactamasen (Penicillinasen)
    - Acylierung durch Penicillin-Acylase
  - \* Tetracyclin
    - Herabsetzung der Permeabilität der Zellwand für Tetracyclin [11]
- konjugative Übertragung
  - F-Plasmid
    - \* Sexualfaktor
    - \* trägt alle genetischen Informationen, die für die bei der Konjugation ablaufenden Vorgänge codieren
    - \* tra-Operon

- Donorzelle (F<sup>+</sup>)
  - \* bildet Pili
    - Organellen mit filamentöser Struktur
    - erkennen Rezeptoren an der Zelloberfläche von Rezipienten und binden an diese
    - danach Retraktion (Rückbildung) der Pili
  - Kontakt der Zelloberflächen von Donor- und Rezipientenzelle
  - \* “Anschalten” der Gene für die konjugative Replikation und den Transfer des F-Plasmids
  - \* Einzelstrangbruch in oriT des F-Plasmids
  - \* Transfer des F-Plasmids
  - \* bei beiden Partnern Ergänzung des F-Plasmids zu DNA-Doppelstrang
  - \* nach Konjugation aktives Auseinanderstreben der Konjugationspartner
- Rezipient (F<sup>-</sup>)
  - \* im Ergebnis der Konjugation zu Donorzellen geworden
- tra-Operon des F-Plasmids
  - \* steuert alle Vorgänge
  - \* größtes bisher bekanntes Operon bei Bakterien

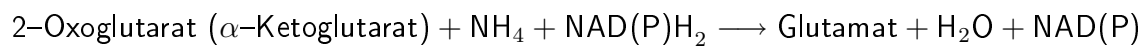
## B.2 Nachklausur 1999

- Wirkung von Immersionsöl beim Mikroskop
  - Erhöhung des Brechungsindex
- Welche Bakterien sind unter dem Mikroskop erkennbar?
  - alle
  - Bsp.: *Bacillus subtilis*
- 2 direkte und 2 indirekte Methoden, um Verlauf des Wachstums einer Bakterienkultur im Flüssigmedium zu verfolgen
  - direkte Methoden
    - \* Gesamtzellzahl
      - mikroskopische Auszählung der Zellen mit Zählkammer
    - \* Lebendzellzahl
      - Zählen der koloniebildenden Bakterien nach Ausplattieren von Zellsuspensionen auf Agarplatten
  - indirekte Methoden
    - \* Bakterienmasse
      - Naß-, Trockengewicht oder Proteingehalt pro Volumeneinheit
    - \* Trübungszunahme

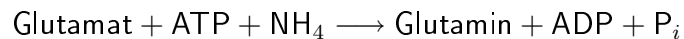
- Messung der optischen Dichte
- psychro-, halo-, acidophil
  - psychrophil — kälteliebend
  - halophil — salzliebend
  - acidophil — säureliebend
- Sterilisationsverfahren + Anwendungsbeispiel
  - Autoklavieren
    - \* feuchtes Erhitzen unter Druck
    - \* Sterilisation von Medien, Instrumenten, etc.
  - trockene Hitze
    - \* Glasgeräte und Operationsinstrumente
  - Filtration
    - \* Sterilisation von Flüssigkeiten durch Aussieben der Bakterien
  - UV- bzw. Röntgenstrahlung
    - \* großflächige Sterilisation (Labors)
- 8 Endprodukte der gemischten Säuregärung von Enterobakterien
  - Succinat
  - Ethanol
  - Formiat
  - Acetat
  - Lactat
  - 2,3-Butandiol
  - H<sub>2</sub>
  - CO<sub>2</sub>
- Zellhüllen: Unterschiede zwischen gram<sup>+</sup> und gram<sup>-</sup>
  - gram<sup>+</sup>
    - \* Mureinnetz aus ca. 40 Schichten
  - gram<sup>-</sup>
    - \* Murein dünnschichtig
    - \* spezielle äußere Membran
      - enthält Lipopolysaccharide, Teichonsäuren
      - verhindert Eindringen größerer Moleküle
      - schützt vor hydrophoben Schadstoffen
- 3 Möglichkeiten des Gentransfers bei Prokaryoten
  - Transformation
  - Transduktion

- Konjugation
- 2 Antibiotika, die die Synthese der bakteriellen Zellwand blockieren + 2, die die Translokation am 70S-Ribosom inhibieren
  - Zellwand
    - \* Penicillin, Cephalosporin
  - Inhibierung der Translokation am 70S-Ribosom
    - \* Tetracyclin, Chloramphenicol
- Nettogleichungen Glutamat-DH, Glutamin-Synthetase, Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase

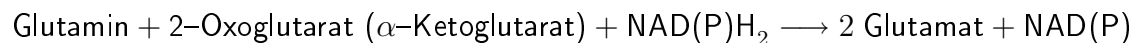
Glutamat-DH



Glutamin-Synthetase



Glutamat-Synthase (Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase)



- Mu-Versuche
  - Was passiert, wenn Mu-sensitive E. Coli reingegeben werden + 1 Tropfen Phagensuspension in Mitte von Platte (bei 30°C)?
    - \* Es entsteht ein trüber Plaque
  - Warum sind im Plaque weniger Bakterien gewachsen?
    - \* ein Teil der Phagen hat direkt nach der Infektion den lytischen Zyklus durchlaufen (→ Lyse der Zellen)
  - Was ist mit Bakterien passiert, die im Plaque wachsen, wenn die Platte bei 42°C inkubiert, welcher Unterschied ergibt sich zu bei 30°C inkubierten?
    - \* durch den erhöhten Streß sind viele Phagen in den lytischen Zyklus übergegangen
    - viele Zellen wurden lysiert, der Plaque ist klar
- Konjugation
  - Welcher Partner hat Sexpilus/Sexpili?
    - \* F<sup>+</sup> (Donor)
  - Welcher Partner hat Kopie des Plasmids als erster?
    - \* Rezipient (?)
  - Wie heißt der Mechanismus der DNA-Replikation bei der konjugativen Übertragung?
    - \* Rolling-Circle-Mechanismus

## B.3 Ergänzungen Klausur 2000

- Überlegen Sie sich ein Selektionsmedium, um ein Plasmid mit einem Chloramphenicol-Resistenzgen von einem prototrophen Donorstamm in einen Tetracyclin-resistenten, Arginin-auxotrophen Empfängerstamm konjugativ zu übertragen. Begründung!
  - Minimalmedium
    - + Chloramphenicol (Selektion gegen nichtkonjugierte Empfängerstämme)
    - + Tetracyclin (Selektion gegen Donorstamm)
    - + Arginin (notwendig, da Empfängerstamm Arginin-auxotroph)
- Wirkungsmechanismus folgender Antibiotika
  - Ampicillin
    - \* Zellwandsynthese (vgl. Penicillin)
  - Tetracyclin
    - \* blockiert die Bindung der Aminoacyl-tRNA an die 30S-UE der Ribosomen
  - Sulfonamid
    - \* Hemmung der Folsäuresynthetase (bakt. Enzym, das die Bildung von Folsäure aus p-Aminobenzoessäure katalysiert) [8]
    - \* Tetrahydrofolsäure (THF)
      - biologisch aktive Form der Folsäure
      - Coenzym für die Übertragung von C<sub>1</sub>-Resten
  - Nalidixinsäure
    - \* stört den Nucleinsäurestoffwechsel
- Wachstumsverlauf einer statischen Bakterienkultur in Flüssigmedium: Skizze der Wachstumskurve und Benennung der Phasen
- Phage Mu
  - Warum im Plaque weniger Bakterien gewachsen?
    - \* ein Teil der Phagen hat direkt nach der Infektion des Wirtes den lytischen Zyklus durchlaufen
  - Was hat sich bei den Bakterien ereignet, die im Plaque wachsen?
    - \* Phage wurde durch Transposase in das Bakteriengenom integriert (→ Prophage)
  - Unterschied zwischen den Plaques bei 30°C und 42°C
    - \* bei 42°C klarer Plaque, da viel mehr Phagen den lytischen Zyklus durchlaufen haben (erhöhter Streß, Excision des Prophagen aus dem Wirts-Genom)

**Quellen:** Skript zum Mikrobiologie-Praktikum, [7], [5], [11], [8]

## B.4 Fragen 1. Nachklausur 2000

1. (a) Geben Sie die Gleichung für das Auflösungsvermögen eines optischen Instrumentes an und definieren Sie die Variablen! (4P)  
(b) Welchen Term dieser Gleichung nennt man "numerische Apertur"! (1P)
2. Definieren Sie die Begriffe "Makro-" und "Mikroelemente" im Zusammenhang mit den Nährstoffansprüchen von Mikroorganismen! Nennen Sie je 4 Beispiele! (5P)
3. (a) Nennen Sie zwei Sterilisationsverfahren und je ein Anwendungsbeispiel aus dem Laboralltag! (2P)  
(b) Nennen Sie zwei Methoden zur Teilentkeimung und je ein Anwendungsbeispiel! (2P)
4. Bei der Gärung von Enterobakterien kommt es u.a. zur Gasbildung.  
(a) Welche Gase werden freigesetzt? (1P)  
(b) Erklären Sie, warum *Klebsiella terrigena* bei der Vergärung von Glucose deutlich mehr Gas produziert als *E. coli*! Um welches Gas handelt es sich hierbei? (2P)
5. Zu welchen Endprodukten vergärt die "Bäckerhefe" Glukose? (1P)
6. (a) Nennen Sie zwei Arten chemischer Bindungen im Murein! (1P)  
(b) Bei der Isolierung von chromosomaler DNA aus *Bacillus subtilis* wurden u.a. folgende Substanzen eingesetzt: Lysozym, SDS, Natriumdesoxycholat, NaCl. Beschreiben Sie die Wirkung der einzelnen Stoffe während der Aufarbeitung! (2P)
7. Sie transformieren einen Tryptophan-auxotrophen *Bacillus subtilis*-Stamm mit chromosomaler DNA aus einem Tryptophan-prototrophen Elternstamm. Welche der folgenden Substanzen dürfen im Medium zur Selektion Tryptophan-prototropher Transformanten nicht enthalten sein: Trypton, Glucose, Ammonium-Ionen, Tryptophan? (2P)
8. (a) Nennen Sie und charakterisieren Sie drei Mechanismen der DNA-Rekombination in *E. coli* (4.5P)  
(b) Auf welchem Mechanismus beruht die Erzeugung von Mutationen durch den Phagen Mu? (1.5P)
9. Beschreiben Sie kurz für die folgenden Klassen von Antibiotika je einen konkreten Resistenzmechanismus, der in der Natur verbreitet ist: Penicilline, Aminoglykoside Tetracycline. (3P)
10. Sie haben im Praktikum die Aktivität der Glutamin-Synthetase durch den "Transferase-Test" qualitativ bestimmt. Welche Funktion haben die folgenden Substanzen, die im Testgemisch oder in der Stopp-Lösung vorhanden waren: Hydroxylamin, Trichloressigsäure + Salzsäure, Fe<sup>3+</sup>-Ionen, N-Cotyl-N,N,N-Trimethylammoniumbromid (=CTAB; Hilfestellung: ein Detergenz)? (4P)



## 1. Die eukaryotische und die prokaryotische Zelle

- Besonderheiten der Bakterienzelle; Zellformen und -größen
- Nucleotid, Ribosomen, Membranen, Zellwand
- Endosporen, Lebenszyklus eines Sporenbildners
- Bakterien, Archaea, Eukaryota

## 2. Wachstum von Mikroorganismen

- Nährböden und Wachstumsbedingungen
- Physiologie des Wachstums, Wachstumskurve, Wachstumsstadien, Generationszeit
- Kontinuierliche Kultur, Chemostat, Turbidostat
- Katabolismus und Anabolismus

## 3. Grundmechanismen des Stoffwechsels

- Glykolyse (EMP), Pentosephosphat-Weg, KDPG-(Entner-Doudoroff-)Weg
- Citrat-Cyclus (TCA), anaplerotische Reaktionen
- Atmung: Atmungskette und ATP-Gewinnung in Anwesenheit von O<sub>2</sub>
- Elektronentransportkette, Aufbau und Reaktion der ATPase

## 4. Mikrobielle Gärungen

- Abbau von Glucose unter anaeroben Bedingungen
- ATP-Gewinnung durch Substratstufenphosphorylierung
- Alkohol (Hefe, Bakterien), Bilanz
- Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure, Buttersäure

### 5. Stoffkreisläufe und Biosynthesen

- Mineralisierung von Kohlenstoff (Kohlenstoffkreislauf)
- Biosynthese von Aminosäuren, zentrale N-Assimilationsreaktionen
- Glutamat-Dehydrogenase, Glutamin-Synthetase, Glutamat-Synthase

### 6. DNA-Replikation

- DNA-Replikation und DNA-Polymerasen
- DNA-Polymerase III und das Replisom

### 7. Transkription

- Transkription in Pro- und Eukaryoten
- RNA-Polymerase, Promoter und akzessorische Elemente (Sigma, rho)
- Initiation, Elongation, Termination
- Operon-Konzept am Beispiel des Lac-Operons (Operator, Repressor, CAP)

### 8. Translation

- tRNA, Ribosom, 16S-rRNA, SD-Sequenzen
- Proteinsynthese am Ribosom: Initiation, Elongation, Termination
- Introns und Splicing bei Bakterien und Bacteriophagen?
- Posttranslationale Modifikation und Export (Glykolysierung, Processing von Signalsequenzen)

### 9. Mutagenese und Reparatur

- Genotyp und Phänotyp; Gene als Einheiten der Mutation?
- Punktmutationen: spontan und induziert; Nucleotid- und Leserastermutationen, natürliche Mutationsrate
- Mutogene Agentien: physikalische und chemische Mutogene
- Der AMES-Test
- DNA-Amplifikation durch Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)
- Natürliche Mechanismen der DNA-Reparatur: Funktion von recA, SOS-Antwort



---

## 10. Viren und Bacteriophagen

- Struktur von Viren
- Vermehrung und Quantifizierung, Lysogenie und Virulenz
- Humane Viren
- Allgemeine und spezielle Transduktion durch Bacteriophagen
- Der Phage Lambda, sein Genom und seine molekularen Kontrollmechanismen

## 11. Gentransfer bei Bakterien (parasexuelle Prozesse)

- Historisches Experiment bei Pneumococcen (GRIFFITH, AVERY)
- Transformation
- Transduktion
- Plasmide und Konjugation

## 12. Phototrophe Bakterien und autotrophe CO<sub>2</sub>-Fixierung

- Pigmente, Membransysteme
- Anoxygene und oxygene Photosynthese
- Calvin-Cyclus

## 13. Mikrobiologische Diversität

- Mikrobielle N<sub>2</sub>-Fixierung und Nitrogenase
- Agrobakterium und das Ti-Plasmid

### Empfohlene Literatur:

Vorlesung und Kurs Mikrobiologie im Grundstudium

**Schlegel, H. G.:** Allgemeine Mikrobiologie, 7. Auflage 1992

**Brock:** Biology of Microorganisms 1997 (Abschnitte: 1,3,4,5,8,11,12,13,15,16,17)

**Knippers:** Molekulare Genetik, Thieme 1997 (Abschnitte: 2,3,4,6,7,8,9)

**Lewin:** Genes VI, 1997 (Abschnitte: I, II, III, IV)

**Lengeler, Drews, Schlegel:** Biology of the Prokaryotes, 1999

sowie:

**Ptashne:** Der Phage Lambda, 1988

**Birge:** Bacterial and Bacteriophage Genetics, 3. Auflage 1994



# Literaturverzeichnis

---

- [1] AG FRIEDRICH (2000): *Mikrobiologischer Grundkurs*. Skript zum Praktikum
- [2] BISKUP, T. (1999): *Die Zelle*. Zusammenfassung aus Büchern und Vorlesungen, unveröffentlicht
- [3] BÖRNER, T. (2000): *VL Grundlagen der Genetik und Molekularbiologie, SS 2000*
- [4] CZIHAK, G.; H. LANGER und H. ZIEGLER, Hg. (1996): *Biologie. Ein Lehrbuch* (Springer, Berlin Heidelberg), sechste Aufl.
- [5] FRITSCH, W. (1999): *Mikrobiologie* (Spektrum, Heidelberg), 2. Aufl.
- [6] HENNIG, W. (1998): *Genetik* (Springer, Berlin Heidelberg), 2. Aufl.
- [7] HERDER VL., Hg. (1983ff.): *Lexikon der Biologie* (Herder und Spektrum Akad. Verl., Freiburg und Heidelberg)
- [8] HILDEBRANDT, H., Hg. (1998): *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch* (Walter de Gruyter, Berlin), 258. Aufl.
- [9] MADIGAN, M. T.; J. M. MARTINKO und J. PARKER (1997): *Brock Biology of Microorganisms* (Prentice Hall, New Jersey), eighth edition Aufl.
- [10] MONASTERSKY, R., *The Rise of Life on Earth*. In: *National Geographic*, Bd. 193(3):(1998), S. 54–81
- [11] VOET, D. und J. G. VOET (1995): *Biochemistry* (Wiley & Sons, New York, etc.), 2. Aufl.
- [12] WEHNER, R. und W. GEHRING (1995): *Zoologie* (Thieme, Stuttgart, New York), 23. Aufl.

# *Abbildungsverzeichnis*

---

# Index

---

- aktiver Transport, **17**
- allgemeine Transduktion, **129**
- Amensalismus, 88
- Anabolismus, **74**
- anaerobe Atmung, **54**
- anaplerotische Reaktionen, **74**
- Antagonismus, 88
- Antibiose, 88
- assimilatorischen Nitratreduktion, 55
- Atmung, **38**
- Atmungskette
  - verzweigte, 46
- Attenuation, **119**
  
- Bacillus subtilis*, 104
- Bacteriophagen, **95**
- BLOBEL, GÜNTER, 121
  
- Catalase, 49
- Chaperone, **120**
- Chemolithotrophie, **66**
- Chromosomenmutation, 124, **125**
- coding strand, **110**
- CRICK, FRANCIS, 105
  
- dissimilatorische Nitratreduktion, 55
  
- Endosporen, **24**
- Escherichia coli*, 104
- Evolution, 2
  - Phylogenetischer Stammbaum der drei Domänen, 2
  - Stammbaum der Prokaryota, 3
  
- Fimbrien, **19**
- Flagellen, **19**
- Fructose-1,6-bisphosphatase, 77
  
- Gärung, **59**
- Genmutation, 124, **125**
- Genommutation, 124, **125**
- Glutamat-Dehydrogenase, 78
- Glutamat-Synthase, 78
- Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase (GOGAT), 78
- Glutamin-Synthetase, 78
- Glykolyse, 38
- Gruppentranslokation, **17**
  
- Heterocyste, **24**
  
- induzierte Mutationen, 125
- Intron, **20**
- IS-Elemente, **131**
  
- Katabolismus, **38**
- Kommensalismus, 88
- Kompetenz, **126**
- Konjugation, **127**
- Konkurrenz, 88
- KRONBERG, ARTHUR, 107
  
- lagging strand, 106
- leading strand, 106
- lysogener Zyklus, **97**
- Lysogenie, 98
- lytischer Zyklus, **97**
  
- Mikroorganismen
  - Entstehung, 2
- Mosaikgene, 104
- Mutation
  - Chromosomenmutation, **125**
  - Genmutation, **125**
  - Genommutation, **125**
- Mutationen
  - induzierte, 125
  - spontane, 125
- Mutualismus, 88
  
- NAD, 47
- Nitratreduktion
  - assimilatorische, 55
  - dissimilatorische, 55
  
- Okasaki-Fragmente, 106
- Operon, **113**
  
- Palindrome, **113**
- Parasitismus, 88
- PEP-Carboxylase, 74
- Peroxidase, 50
- Phagen
  - temperente, **97**
  - virulente, 97
- Phosphoenolpyruvat-Phosphotransferase-System, 75
- Photosynthese, **70**
- Phototrophie, **66**
- Pili, **19**
- Plaques, 96

Plastiden, **105**  
Ploidiemutationen, 124  
polycistronische mRNA, **118**  
Prionen, **99**  
Pyrroloquinolinquinon, 53

Räubertum, 88  
replication fork, 106  
Replikon, **104**  
Replisom, 108  
Reverse Transcriptase, 93

signal recognition particle, 121  
spezialisierte Transduktion, 130  
spezielle Transduktion, **130**  
spontane Mutationen, 125  
Superoxid-Dismutase, 50  
Symbiose, 88  
Syntrophie, 88

temperente Phagen, **97**  
template strand, **110**  
Transduktion, **129**  
Transformation, **126**  
Transkriptionsblase, 112  
Transkriptionseinheit, **110**  
transponierbare Bacteriophagen, **132**  
transponierbare Elemente, **130**  
Transposons, **131**

verzweigte Atmungsketten, 46  
Viren, **91, 92**  
Viroide, **99**  
virulente Phagen, 97

Zentrales Dogma, 105