

Kap. 12 – Prokaryot diversitet: *Bacteria*

Med bakgrunn i 16S rRNA sekvensering kan domenet *Bacteria* inndeles i 12 riker:

1) Aquifex - Hydrogenobacter

- hypertermofile kjemolitotrofer
- oks. H₂/red- S-forbind.
- vokser ved temp. på opptil 95°C => beslektet med urbakt.

2) Thermotoga

- hypertermofile kjemoorganotrofer (anaerob fermentering)

3) Grønne ikke-svovel bakterier

- *Chloroflexus* gruppen
- fototrofe arter er vanligst, men finner også 2 ikke-fototrofe arter
- termofile => oppstod da jorda var blitt litt kaldere

NÅ mistes termofili & hypertermofil som obligatorisk egenskap.

Kap. 12 – Prokaryot diversitet: *Bacteria*

4) Deinokokker & slektninger

- *Deinococcus* (motstandsdyktige mot stråling)
- *Thermus aquaticus* (termofil; Taq polymerase)

5) Spinochetes

- svært ulike morfologier

6) Grønne svovel bakterier

- fototrofer

7) Bacteriodes - flavobakterier

- stor forskjeller i fysiologi, fra *Bacteriodes* til strengt aerobe *Sporocytophaga*, til glidende bakt. som *Flexibacter*

8) Planctomyces-Pirella gruppen

- organismer som reproducerer via knoppskyting, mangler peptidoglykanlag
- primært akvatiske
- har aerob metabolisme

9) Chlamydiae

- intracellulære parasitter som forårsaker sykdom

Kap. 12 – Prokaryot diversitet: Bakterier

De resterende 3 riker er store grupper med mange slekter & arter:

10) Gram-positive bakterier

- stavformede & kokker
- kan inndeles i 2 grupper:
 - # lav GC-innhold (< 50%)
 - # høy GC-innhold (> 50%)
- stor heterogen gruppe

11) Cyanobakterier

- Oksiske fototrofe organismer hvis "røtter" er beslektet med G⁺-bakterier

12) Proteobakterier (Purpur bakterier)

- største bakt. gruppe, med de største fysiologiske forskjeller
- 5 subgrupper: α , β , γ , δ , ϵ
- mange er fototrofer, men ikke-fototrofer finnes også
- diversiteten oppstod over lang tid under evolusjonen, ved utskiftning av **fotosyntetisk egenskap** med andre metoder for **energidannelse** (f. eks. **kjemoorganotrofi/kjemolitotrofi**) => kunne kolonisere andre nisjer

PSEUDOMONADER

- Alle slektene er lineære/svakt bøyde G⁻ staver med polare flageller
- Hører til blant purpurbakteriene, og er mulige etterkommere av fototrofe bakt. som mistet evnen til fotosyntese
- Danner ikke CO₂ ved glukose nedbrytning, og er positive på oksidasetest; undersøker her om cytokrom C er tilstede (gir da en blå/brun farge)
- Viktige organismer for nedbrytning av løselige forbind. i oksiske miljøer
- Mange metaboliserer glukose via **Entner-Duodoroff pathway**: glukose omdannes til KDGP; denne prosessen finnes ikke hos G⁺-bakterier
- Kan ikke degradere polymerer, og noen få arter er patogene - f.eks.:
 - *Pseudomonas aeruginosa* - forårsaker urin-/luftveisinfeksjoner
 - multiresistent pga. R-plasmid
 - *Pseudomonas syringae* - angriper blader og plantemateriale

NEISSERIA & ANDRE G⁻ KOKKER

Består av mange ≠ bakt. med likhet i gramfarging (G⁻), immobilitet, ikke-fermentativ aerob metabolisme og DNA-sammensetning – 5 slekter er kjent:

- 1) *Neisseria* - *N. gonorrhoeae* forårsaker gonore
- *N. meningitidis* forårsaker hjernehinnebetennelse

2) *Moraxella**

3) *Kingella*

4) *Branhamella*

5) *Acinetobacter**- kan være patogene & parasitter på dyr

1 - 4 er oxidase pos. & penicillin sensitive.

1 - 3 er lette å isolere, vanligvis fra dyr/mennesker.

2 - 5 er staver, som først blir kokker i stasjonærfasen.

* Noen arter kan hoppe 1-5 µm via rykkvise bevegelser!

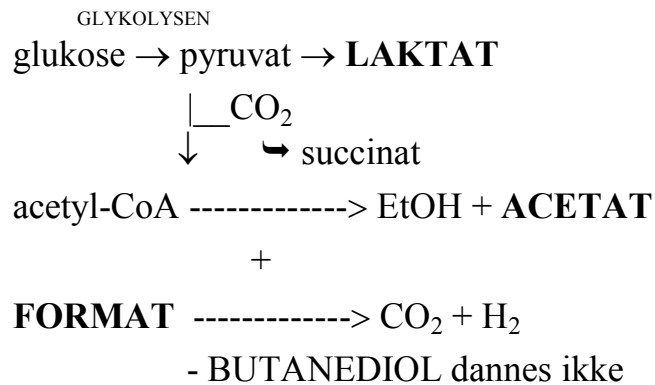
ENTEROBAKTERIER

Fylogenetisk sorterer denne homogene gruppen av bakterier innenfor γ-subgruppen av purpurbakterier – karakteristikk:

- Ikke-sporulerende bakt. - finner arter med/uten peritriche flageller
- Fakultative aerobe & oxidase negative - mange vokser på flere ≠ typer forbind., og fermenterer sukker til ≠ sluttprodukter
- Mange arter er patogene for mennesker, dyr og planter
- Slekter karakteriseres ut fra ≠ nøkkeltester, f.eks. indoltest: bruker medium med høy kons. av Trp og sjekker for dannelse av indol
- Karakterisering av arter foregår også via kit og DNA prober
- Artene kan også skilles fra hverandre mhp. typen *fermentering* & hva slags endeprodukt(er) som dannes

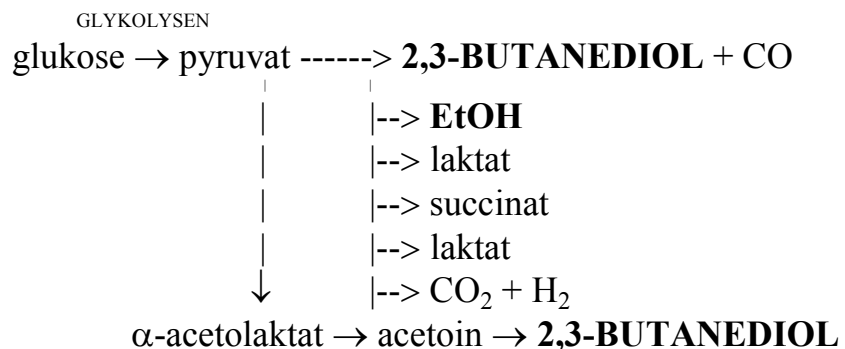
FERMENTERING HOS ENTEROBAKTERIER

- **Blandet-syre fermentering** - mengden $\text{CO}_2 = \text{H}_2$
 - 3 syrer dannes i tilstrekkelig mengde
 - finnes hos f.eks. *E. coli*



FERMENTERING HOS ENTEROBAKTERIER

- **2,3-butanediol fermentering** - mindre syre dannes
 - 4 hovedprodukter
 - mengden $\text{CO}_2 > \text{H}_2$
 - finnes hos f.eks. *Enterobacter*



- Fermentering av 2,3-butanediol \Rightarrow også $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ fra format

ENTEROBAKTERIER

- *Escherichia* - universelle, finnes hos ~ alle mennesker & dyr
 - danner vitaminer (særlig vit K) => viktig ernæringsmessige
 - fakultative, aerobe konsumerer O₂ => tarmen er **anoksisk**
 - vokser på mange ≠ C-forbind. (aa, sukker, syrer)
 - noen er patogene => diare & urinveisinfeksjoner
- *Shigella* - veldig nært beslektet med *Escherichia* => de kan gjennomgå genetisk rekombinasjon & er sensitive for de samme bakteriofager
 - enkelte stammer har DNA 70- ~ 100% identisk med *E. coli*
 - *S. dysenteriae*
 - # vanlig patogen
 - # invaderer epitelcellelaget i tarmen
 - # produserer endo-/neurotoksin etter kolonisering

ENTEROBAKTERIER

- *Salmonella* - nært slektning av *Escherichia*; 45-50% identitet på DNA nivå
 - vanligvis patogene hos mennesker & dyr, og gir tyfoid feber og diare/katarr
 - karakteriseres ut fra 3 celleoverflate **antigener**:
 - # **O-antigenet** (cellevegg antigen)
 - # **H- eller flagellantigenet**
 - # **Vi-antigenet** (ytre polysakkaridlag)
 - O-antigenet består av komplekse lipopolysakkarider, som er en del av **endotoksinet** (> 1000 ≠ typer er kjent)
 - videre inndeling av antigener er basert på spesifisiteten av flagell antigener

ENTEROBAKTERIER

- ***Proteus*** - raske, mobile bakt. som produserer **urease**
 - fjern slektning av *E. coli*
 - forårsaker urinveis- og nyreinfeksjoner
 - heterogen gruppe med GC-innhold 39-50%
 - ”svermer” på skåler
 - bruker både NO_3^- & S-forbind. som e^- -donor under anaerob vekst
- ***Yersinia*** - 3 patogene slekter er kjent (har urease):
 - # *Y. pestis* - forårsaker byllepest (f.eks. svartedauden)
 - # *Y. pseudotuberculosis*: forårsaker tuberkulose hos dyr, sjeldent hos mennesket
 - # *Y. enterocolitica*: forårsaker tarminfeksjoner hos mennesker & dyr, smitter via vannkilder

ENTEROBAKTERIER

- Butanediol fermenterende bakterier
 - Nærmere beslektet til hverandre sml. med bakt. som har blandet-syre fermentering.
 - Har høyere GC-innhold (53-58%).
 - Ingen rekombinasjon forekommer mellom de to gruppene
 - Kan ha plasmid (som ikke integreres i genomet)
 - ***Klebsellia***
 - # en art kan forårsake lungebetennelse hos mennesker
 - # finnes i jord & vann og de fleste arter kan (som de eneste enterobakt.) fiksure N_2
 - ***Serratia***
 - # danner også butanediol
 - # syntetiserer røde pigmenter
 - # isoleres fra jord & vann, og fra tarmen til insekter, vertebrater og noen ganger mennesker

VIBRIO & SLEKTNINGER

- Består av aerobe fakultative G⁻-bakt.
- Finner både staver og krummede former
- De fleste arter har polare flageller, noen har peritriche
- Oxidase positive - kan lett skilles fra *Pseudomonas*
- Finnes både i ferskvann og i marine miljøer – 4 slekter:
Vibrio, *Aeromonas*, *Photobacterium* og *Plesiomonas*
 - *V. cholera* - forårsaker kolera (høy feber, kraftig diarè)
- vokser opptil pH ≈ 9 (isoleres vha. dette)
 - *V. parahemolyticus* - marin organsime, finnes i rå fisk
- kan gi mage-tarmkatarr
- isoleres fra sjøvann eller skalldyr
 - Noen arter har luminiscens – ”lyser i mørket”

RICKETTSIA OG BESLEKTEDE ARTER

- Obligate intracellulære parasitter - kan ikke kultiveres uten bruk av vertsceller; penetrerer levende vertsceller
- Forårsaker bl.a. tyfus, «Rocky Mountain spotted fever» og «Q-fever»
- Fylogenetisk beslektet med proteobakterier
- Formerer seg i cytoplasma via binær fisjon => replikasjon medfører cellelysing med tilhørende frigjørelse av nye celler
- ***Rickettsia*** - har distinkt energimetabolisme => oks. bare Glu/Gln (oks. verken glukose, glukose-6-P, eller organiske syrer)
 - har respiratorisk kjede => kan utføre e⁻-transport
 - noen makromolekyler for vekst dannes, resten «fås» fra verten
 - overlever ikke lenge uten verten => smitte skjer f.eks. fra insekter
 - *R. quintana*
 - # forårsaket «skyttergravsfeber» under WW1
 - # utviklet seg muligens fra planteassosierte bakt.

SPIRILLER

- Obligate aerobe, men også mikroaerofile fakultative organismer med store fysiologiske forskjeller => organiseres etter utseende
- Antall vridningen av flagellene definerer artene:
 - Én vridning => ligner en vibrio
 - Flere vridninger => ligner spirocheter.
- Hører til blant proteobakteriene – er mobile G⁻ spiraller
- Mobile mikroaerofile spiriller inneholder 5 - 40 magnetiske partikler (Fe₃O₄) kalt **magnetosomer** => kan orientere seg via **magnetotaxis**

- *Bdellovibrio*
 - vibriolignende obligat aerob parasitt som snylter på andre bakt. (G⁻) => får næring fra denne cellens cytoplasma
 - replikerer i periplasma => danner en **bdelloplast**
 - energi fås via oks. av aminosyrer og TCA-syklus
 - heterogen gruppe som er vidt utbredt i jord og vann
 - hører til blant proteobakt.
 - angripes av virus kalt **bdelleofag**
- *Helicobacter* og *Campylobacter*
 - de fleste arter er patogene for mennesker og dyr
 - er mikroaerofile og dyrkes fram fra kliniske prøver
 - *H. pylori* - forårsaker magesår
 - *C. jejuni* - forårsaker tarminfeksjoner med diaré og blødning

Gram-positive bakterier

Inndeles i 2 subgrupper ut fra 16S rRNA analyser:

1) *Clostridium* gruppen

- endospordannere
- melkesyrebakterier
- de fleste G⁺-kokker
- har generelt lavt GC-innhold

2) *Actinomycetes* gruppen

- ≠ slekter av *Actinomycetes* med høyt GC-innhold
- slekten *Propionibacterium*

De fleste G⁺-kokker er relativt hardføre => tåler tørke og høye saltkons.

Isoleres lett på rikt medium med 7.5% NaCl; etter utsåing på agarskål vil de dominere

Er ofte pigmenterte => er lette å velge ut på skåler

Inkluderer bakt. med vidt ≠ fysiologiske karakterer

Staphylococcus og *Micrococcus*

Begge slekter er aerobe & inneholder karakteristisk respiratorisk system.

Er begge **katalase pos.** (danner H₂O + O₂ fra H₂O₂) => skiller seg ut fra streptokokker og enkelte G⁻ kokker

- ***Micrococcus*** - obligat aerob
 - danner syre fra glukose **KUN** under aerobe beting.
 - høyt GC-innhold
 - finnes i støvpartikler og i jord
- ***Staphylococcus*** - fakultativ aerob som produserer syre anaerobt & aerobt
 - vanligvis lavt GC-innhold
 - 2 arter er vanlige parasitter på mennesket => kan forårsake alvorlige sykdommer:
 - # *S. epidermis* - koagulase neg., ikke patogen
 - mangler pigmenter
 - finnes vanligvis på huden eller i slim
 - # *S. aureus* - koagulase pos. => fibrin vil koagulere og danne blodpropp
 - har gul pigment, og er patogen
 - kan gi byller, meningitt, lungebetennelse mm.

Streptokokker og andre kokker

Består av et bredt utvalg av arter fra ≠ habitater, inndeles i 3 slekter

Noen er patogene for mennesker/dyr – andre er viktige for produksjon av melkeprodukter & fermenterte varer

- *Streptococcus* - to grupper anerkjennes ut fra typen **hemolyse**:

1) α -hemolyse: mange enterokokker, lactokokker og streptokokker forårsaker dannelse av grønne brune soner rundt kolonier på blodagar – skyldes tap av K^+ fra røde blodceller (ikke ekte hemolyse)

2) β -hemolyse: streptokokker skiller ut **streptolysin O** eller **S** => hemolyse av røde blodceller på agar

- kan også deles inn i **immunologiske grupper** ut fra fra spesifikke antigener kalt **O** eller **A** => kalles **Lancefield grupper**
- *S. pyogenes* er vanlig i halsen => forårsaker vond hals og såre mandler, kan i verste fall også være dødelig ("kjøttspisende" = skiller ut enzymer som løser opp vevet i kroppen)

Endospordannende G^+ staver og kokker

- Flere slekter er kjent med varierende morfologi & energimetabolisme
- De fleste arter danner én endospor per celle => sporulering er overlevelse og ikke reproduksjon
- Ikke nært beslektet, men økologisk beslektet i det de er jordbakterier
- Flagelltypen varierer iht. artstypen
- *Bacillus* & *Clostridium* er mest kjent – *Anaerobacter* er spesiell siden den kan danne opptil 5 endosporer per celle

Bacillus

- lett å isolere fra jord & støvpartikler
- blant de vanligste bakt. i jord
- spordannere isoleres ved å varme opp jord til 80°C i 10 min. => ved utstryking på skål nesten bare *Bacillus*
- varierende krav til vekstmedium
- mange arter danner extracellulære hydrolytiske enzymer (f.eks. **katalase & superoxid dismutase**) som bryter ned polysakkarider, nukleinsyrer & lipider => bruker degraderte produkter som C-kilde
- varierende GC-innhold
- finner aerobe til fakultative aerobe arter
- mange danner antibiotika, ofte i sammenheng med dannelsen av sporer, f.eks. bacitracin
- noen arter danner **insektisider** som kan fremstå som krystallinske strukturer under sporuleringen, f.eks. *B. thuringensis*
- mest "lest" siste 3 år: "brev-bakterien" *B. anthracis*, som forårsaker miltbrann
- *B. cereus*: opportunistisk patogen som kan forårsake ≠ typer sykdommer (matforgiftning, blodforgiftning mm.)

Clostridium

- mangler cytokrom systemer & mekanismen for e⁻-transport fosforylering => ATP dannes kun via substratnivå fosforylering
- inndeles i subgrupper iht. hvilken typen anaerob energimekanisme som anvendes (dvs. e⁻-donorer)
- strengt anaerobe, lever i anoksiske lommer i jord
- mange arter fermenterer sukker => **butyrat** som hovedprodukt, men også aceton & butanol dannes
- noen klostridia som danner aceton-butanol fikserer N₂, f.eks. *C. pasteurianum*, og denne antas å være ansvarlig for størstedelen av N-fikseringen i jord
- noen klostridier får energi via fermentering av enkelt aminosyrer, eller aminosyre-par (Stickland reaksjon)
- lukt som oppstår fra fermentering skyldes eks. H₂S
- flere arter fra jord kan forårsake sykdommer:
 - # *C. botulinum* => botulisme
 - # *C. tetani* => stivkrampe
 - # *C. perfringens* => koldbrann
- patogene klostridier produserer en spesifikk eller en gruppe toksiner

G⁺-bakterier med høyt GC-innhold

• *Mycobacterium*

- har såkalt ”syre fasthet” under Ziehl-Neelson fargeprosessen => farges rødt (pga. mycolinsyre, unikt for denne slekten) mens andre bakt. farges blått
- fjernes lipiddelen med alkalisk EtOH => bakt. farges G⁺
- grupperes med andre bakt. med høyt GC-innhold
- pleomorfe, stavformede bakt. som kan gjennomgå greinet eller filamentøs vekst
- inndeles i de som vokser hurtig & de som vokser langsomt
- tilstedeværelse av ≠ pigmenter => kan klassifiseres i 3 grupper:
 - # Ikke-pigmenterte: f.eks. *M. tuberculosis*
 - isoleres fra patogen materiale
 - virulent => danner snorlignende strukturer under kultivering, forårsaker tuberkulose
 - motstandsdyktig mot kjemikalier (høyt lipidinnhold i cellevegg)
 - # De som danner pigment under lys: f.eks. *M. marinum*; prosessen kalles fotokromgenese (finnes også hos sopp)
 - # De som danner pigment i mørke: f.eks. *M. gordonae*

Filamentøse G⁺-bakterier med høyt GC-innhold

- vokser forgreinede strukturer som danner et nettverk: *mycelium*
- grupperes etter sportypen som dannes
- har høyest GC-innhold av alle bakterier: 63-78%
- fylogenetisk nært beslektet gruppe
 - *Streptomyces*
 - primært en jordorganisme
 - produserer **geosmin** som gir karakteristisk jordlukt
 - > 500 arter kjent, og > 50% produserer antibiotika, f.eks. **kloramfenikol**, **tetrasyklin** & **streptomycin**
 - hensikten med antibiotika produksjon kan være å hjelpe sporene i konkurransen om næring
 - mange arter produserer mer enn ett antibiotikum
 - de fleste arter produserer ekstracellulære enzymer => kan livnære seg på f. eks. cellulose
 - sent i vekstfasen dannes sporoforer som kalles **conidia**; disse er ≠ *Bacillus* sporer

Klamydiaer

- Egen gren blant *Bacteria*, med lite/ingen likheter til andre slekter
- Har ikke peptidoglykan i cellevegg, klassifiseres som G⁻-bakterier
- Metabolismen er ”degenerert” => har hatt et stort tap av metabolske funksjoner og er obligat parasitt
- 3 arter er kjent:
 - *C. psittaci* - forårsaker «Papegøye syken» (feber) hos fugler, kan gi lungebetennelse hos mennesket
 - *C. trachomatis* - forårsaker trakoma (øyesykdom) og klamydia
 - *C. pneumoniae* - forårsaker ≠ respiratoriske sykdommer
- Under livssyklusen sees 2 ≠ typer celler:
 - en liten, tettpakket resistent celle kalt ”elementary body”; det er denne som overføres mellom ”verter”
 - en mindre tettpakket celle kalt ”reticulate body”, som kan dele seg
- Genomet er større enn hos virus, men kun $\frac{1}{8}$ - $\frac{1}{5}$ av *E. coli* => har den enkleste biokjemien av alle cellulære organismer

Spirocheter

- Utbredt i vandige miljøer & dyrekropper
- Noen forårsaker sykdom i dyr & mennesker
- Unik morfologisk struktur => slank, fleksibel kveilet celleform. Et skall omgir aksial fibriller [2-100 fibriller (ligner på flageller)] og en sylinder. Når fibrillene beveger seg en vei mens skallet går en annen => roterende bevegelse
- 16S rRNA sekvensering viser at disse bakt. danner en tett fylogenetisk gruppe => klassifisert i 6 slekter, hvorav alle er motstandsdyktige mot antibiotikumet *rifampicin*

Treponema

- anaerobe vertssassosierte parasitter hos dyr & mennesket
- morfologi \neq andre spirocheter: flat, bølget form
- mikroaerofil og temp. sensitiv (dør ved $\sim 42^{\circ}\text{C}$)
- *T. pallidum* etableres i vertens kjønnsorganer => syfilis
- noen arter finnes i munnen hos mennesket, andre i rumen hos husdyr
- noen fermenterer små organiske forbind. som aminosyrer o.l., mens andre fermenterer polymerer som stivelse

Slektene *Leptospira* og *Leptonema*

- er strengt aerobe bakterier som bruker FS som C-kilde
- både parasitter og frittlevende arter finnes
- **Weils sykdom** => nyrebetennelse & gulsott (smittebærere: dyr)

Borrelia

- de fleste arter er patogene for dyr & mennesket
- flått er bærere av *B. burgdorferi* => kan gi Lyme's syndrom
- eneste kjente prokaryot med lineær kromosom

Legionella pneumophila

- næringskrevende G^{-} stavbakterie
- finnes i innsjøer, bekker og jord
- varme- og klorresistent
- forårsaker "Legionær syndromet" (legionellose)
- vannbåren patogen som overføres via aerosoler
- dør ved temp. $> \sim 63^{\circ}\text{C}$
- 10 serotyper er kjent

Corynebacterium

- hører til blant høy GC bakterier
- inkl. både patogene & saprofyttede arter (spiser døde celler)
- har en oppsvulmet del => klubbform, derav navnet (coryne = klubbe)
- *C. diphtheriae* - forårsaker difteri pga. difteritoksin
 - MW \approx 62 kDa, 2 subenheter :A og B
 - sistnevnte binder til overflatereseptor på celler og tillater frakt av A subenheten inn i cellen hvor den blokkerer peptid syntese (innaktiverer EF-2)

Bordetella

- hører til blant β -subgruppen av Proteobakterier
- forårsaker infeksjoner i nedre del av lungene (bronkiene)
- *B. pertussis* produserer 2 toksiner
 - pertussis eksotoksin, som skader vevet i lungene
 - endotoksin, som induserer "whooping cough"