

1

Mikroorganismer

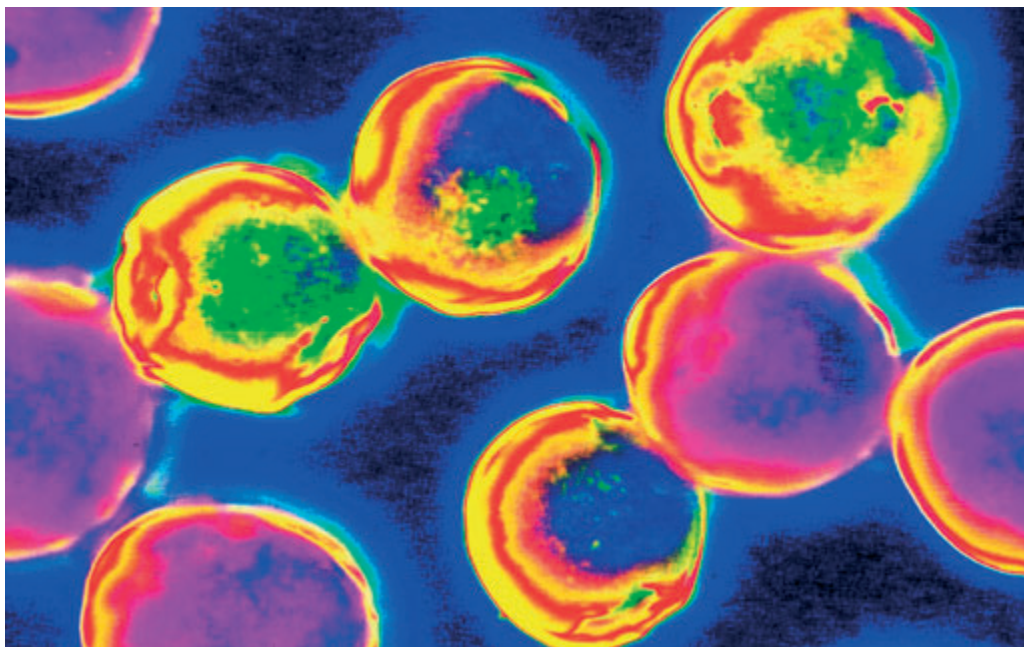
Livets ursprung

Om du hade varit ateist och fritänkare på 1600- och 1700-talet hade du med all säkerhet varit övertygad om att liv spontant uppstår ur död materia.

Lämnade man en kopp buljong på ett bord, så kunde man se att det efter en tid började krypa omkring olika organismer i den. Ville man få fram möss var det bara att ställa en korg med halm och en bit ost i ett avskilt hörn i stallet. Grodor och paddor bildades av slammet då floden svämmade över och insekter och maskar uppstod ur dagdropparna.

Exemplen på uralstring – då liv uppstår ur materia – kunde ses överallt, och uralstring var den allmänt accepterade förklaringen till livets ursprung bland icketroende under upplysningstiden.

På 1860-talet visade Louis Pasteur, genom en serie berömda experiment, att uralstringsteorin var felaktig. Han kokade olika lösningar och förseglade dem sedan. Dessa lösningar visade inga tecken på liv. Pasteur visade att det krävs liv för att åstadkomma liv. Alla levande organismer kommer således, menade han, ur andra levande organismer.



► 1.1 Halofila arkéer.

Dessa prokaryota organismer kan växa i omgivningar med extremt hög salthalt.

Cellen

Cellen är den minsta, självständiga, levande enheten i en organism. Varje cell har förmåga att utvinna energi, att göra sig av med avfallsprodukter och att reproducera sig. Celler kan leva länge om närings- och energitillförseln är god och om avfallsprodukterna transporteras bort så de inte ansamlas till giftiga doser. Olika celler har olika strategier för att få energi och näring.

Det finns två huvudtyper av celler, prokaryota- och eukaryota. De eukaryota har en cellkärna, till skillnad från de prokaryota, som saknar cellkärna.

Till gruppen mikroorganismer räknas alla prokaryoter och små eukaryoter som kräver mikroskop för att ses, t. ex. mikroalger, svampar och protozoer. Virus tillhör också ämnesområdet mikrobiologi. Mikroorganismer och virus är kraftfulla verktyg inom biotekniken.

För att kunna utnyttja de möjligheter som finns inom biotekniken och för att förstå dess begränsningar är det viktigt att känna till cellens utveckling. Kapitlet inleds därför med en presentation av hur den första cellen kan ha bildats. Därefter beskrivs uppbyggnaden av prokaryota celler samt hur prokaryota celler utbyter gener.

Avsnittet prokaryotens genom och genutbyte kan läsas med stöd av kapitel 3.



Den första cellen

Jorden bildades för ca 4,5 miljarder år sedan. De flesta forskare anser att de första levande cellerna bildades väldigt tidigt, redan för mellan 3,5 och 4 miljarder år sedan. Tills alldeles nyligen ansåg de flesta forskarna att de första levande cellerna bildades i grunda vatten eller i fuktiga sediment.

Jordytan var i början en mycket ogästvänlig miljö. Instrålningen från rymden var stor och jordytan träffades ofta av asteroider och kometer. De första levande cellerna kan ha bildats på havsbotten, vid sprickningszonerna på 2 000–3 000 meters djup. Andra anser att de första cellerna utvecklats i vattenfyllda bergssprickor. I samtliga fall handlar det om mycket extrema miljöer.

Det verkar mest troligt att de första cellerna var prokaryoter, eftersom man i dag finner prokaryoter i de mest extrema miljöer – på ställen där det är för varmt, för kallt, för surt, för salt eller för basiskt för eukaryota organismer att leva.

Att de första cellerna innehöll DNA har tidigare ansetts självklart. I dag börjar detta ifrågasättas. Det verkar inte rimligt att alla komplexa reaktioner mellan DNA och färdigt protein skulle utvecklas efter varandra. Möjligen kan det från början istället ha funnits en RNA-värld. Virus kan t. ex. ha antingen DNA eller RNA som genetisk kod.

Det har även spekulerats om att virus skulle kunna vara en variant av den tidigaste cellen. Men, hävdar många, virus kan inte ha uppkommit före levande celler, eftersom alla virus är intracellulära obligata parasiter, vilket innebär att de endast kan reproduceras i en cell. Virus använder värdcellens cellorganeller och enzymer för replikation och proteinsyntes.

Prokaryoter

Tidigare delades alla organismer in i två grupper: pro- och eukaryota organismer. Men när forskare på 1970-talet gjorde genetiska undersökningar, upptäcktes en grupp ”bakterier” som skiljde sig avsevärt från båda grupperna. De fick namnet arkéer.

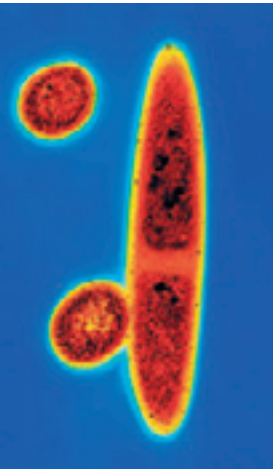
Numera delas därför de levande organismerna in i tre domäner eller rikena: eubakterier (*Bacteria*), arkéer (*Archaea*) och eukaryoter (*Eukarya*). Arkéer har lika mycket eller lika lite gemensamt med eubakterier som med eukaryoter.

TABELL

En jämförelse mellan de tre rikena med avseende på cellkaraktärer.

Karaktär	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eukarya</i>
Kärnmembran	–	–	X
Membransomslutna organeller	–	–	X
Peptidoglykan i cellväggen	X	–	–
Flera olika RNA-polymeras	–	(X)	X
Introner	–	(X)	X

(X) förekommer i vissa organismer.



► 1.2 Metanogen bakterie, *Methanospirillum hungatii*.

Arkéer

De flesta arkéer hittar man i extrema miljöer som varma källor eller i saltdammar. De delas in i tre stora huvudgrupper: metanogener, extrema halofiler och extrema termofiler. Mikroorganismer som lever i dessa miljöer har stort biotekniskt intresse.

Metanogener är obligata anaerober, vilket innebär att syrgas är giftigt för dem. De har ett unikt sätt att få energi – koldioxid (CO_2) reduceras av vätgas (H_2) och bildar metangas (CH_4).

Många metanogener lever i våtmarker och i sediment där andra bakterier har förbrukat all syrgas som fanns. Andra trivs bäst i den anaeroba delen av tarmen hos cellulosaätande djur som nötkreatur och termiter. Metanogener används inom biotekniken för rötning av slam och produktion av metangas, s.k. biogas (se kap. 13).



► 1.3 *Extrema termofiler* trivs i varma källor.

Extrema halofiler finns i saltdammar och i Döda havet, men även på saltad fisk. För att klara saltstressen måste de lagra ämnen som är osmotiskt aktiva utan att enzymaktiviteten i cellen skadas. Forskning pågår där man försöker manipulera växter så att de bildar dessa ämnen för att kunna växa på marker som innehåller mycket salt.

Vissa halofiler har även ett fotopigment, bakterierhodopsin, som är inbyggt i cellmembranet. Färgämnet ger bakterien en röd färg, vilket gör att saltet får en rödaktig ton. Bakterierhodopsinet absorberar ljus och använder denna energi till bilda en vätejongradient som sedan driver syntesen av ATP. Detta är den enklaste formen i naturen, där ljus omvandlas till kemisk energi.

Extrema termofiler trivs bäst i mycket varma källor, där temperaturen ligger mellan 60°C och 80°C. De har speciella membran och proteiner som inte förstörs av den höga värmen.

Termofila bakterier producerar värmestabila och värmeaktiva enzymer. Det mest kända värmestabila enzymet har störst aktivitet vid 75°C och används vid PCR för masskopiering av DNA (se s. 73).

Eubakterier

Eubakterier eller Bacteria, som man i dag säger, utgör den största gruppen av prokaryoterna. Det finns tusentals olika arter. Men bakterier kan egentligen inte delas in i arter som växter och djur eftersom de inte har sexuell förökning.

Bakteriesystematiken bygger på att man delar in bakterier som är lika i grupper. Det finns många sätt att gruppera bakterier. Två metoder som tidigare var vanliga, var att klassificera bakterier efter karaktärer som är synliga i mikroskop – t. ex. cellstorlek, cellform och färgningsreaktioner – eller efter metaboliska och fysiologiska likheter, t. ex. kvävefixerande bakterier eller sporbildande bakterier.

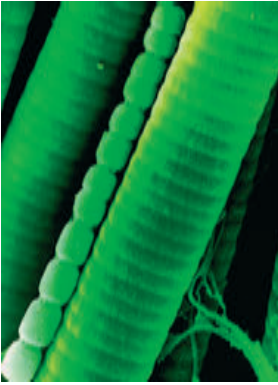
I dag domineras systematiken istället av de molekylära teknikerna. Sekvensen på kvävebaserna i vissa regioner på ribosomalt RNA visar mer om bakteriers släktskap och utveckling än utseende och biokemiska likheter. Många arter klassificeras nu om. I kapitlet om bioinformatik kan du läsa mer om dessa tekniker.

Prokaryota organismer delas numera in i grupper beroende på genetiska likheter, membran- och cellväggsupbyggnad samt på vilket sätt energi och näring tas upp och omsätts.



► 1.4 Höbakterie, *Bacillus subtilis*.

Prokaryoters struktur

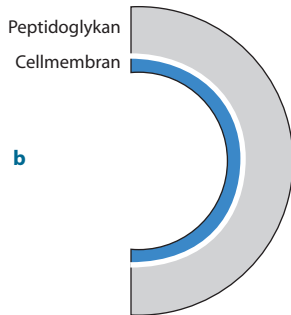
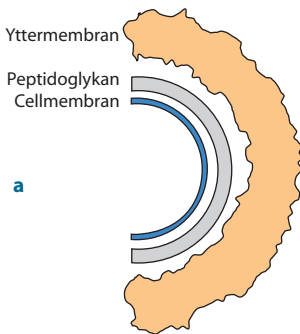


► 1.5 Fotosyntetiserande cyanobakterie, *Anabaena sp.*

Trots att arkéer och eubakterier är mycket olika har de en del likartade egenskaper. I det här avsnittet kommer arkéer och eubakterier att behandlas som en grupp, prokaryoter. Olikheter mellan grupperna kommer att påpekas när de är av betydelse.

Prokaryota organismer är encelliga. De är små, vanligen 1-5 μm och delas in i sfäriska (kocker), stavformade (baciller) eller spiralformade (vibrioner, spiriller och spirocheter). Storlek och form varierar med tillväxtförhållandena. Både vibrioner och stavar blir små och kulformade under näringsbrist.

De flesta prokaryoter lever ensamma, men vissa arter kan bilda grupper av två eller flera celler (kolonier). Alla celler i en koloni kan leva ensamma. Prokaryoter som lever i koloniform kan ha specialiserade celler. Ett exempel är *Anabaena*, en cyanobakterie, som lever i vatten och bildar långa trådar av celler. När *Anabaena* utsätts för energi- och näringsbrist omvandlas en del celler till heterocyster som kan fixera luftens kväve. Heterocysterna är jämnt fördelade över celltråden. Vilka celler som blir heterocyster verkar vara slumpartat.



► 1.6 Schematisk bild av cellväggen.

- a Gramnegativ bakterie.
- b Grampositiv bakterie.

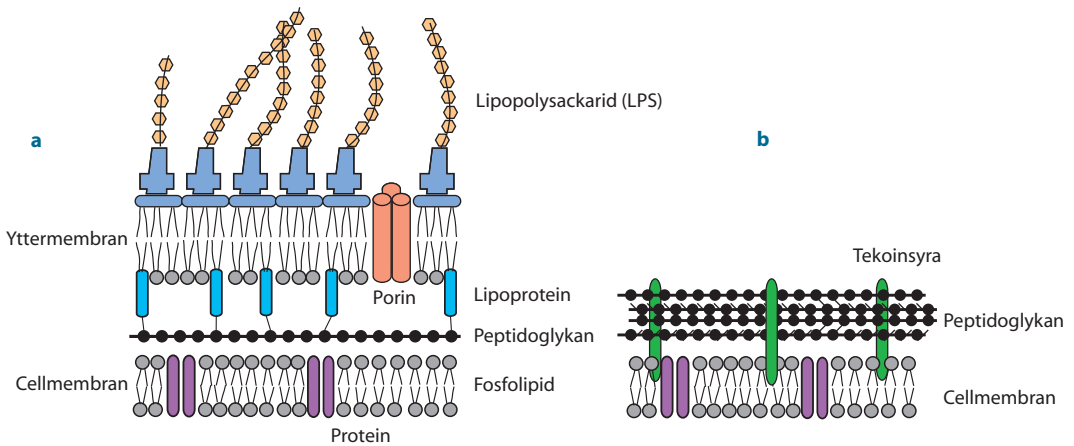
Prokaryoter har cellvägg

Eubakteria har en cellvägg av peptidoglykan. Peptidoglykan är en polysackarid som korsbinds med polypeptider. Arkéer saknar peptidoglykan. Deras cellvägg är uppbyggd av andra polysackarider eller av protein.

Både peptidoglykan och pseudomurein är uppbyggda av en polysackarid och proteiner, men ämnas struktur är väldigt olika.

Cellväggen ger prokaryoter dess form och skyddar dem från att brista. Med hjälp av en färgningsmetod, s. k. gramfärgning, kan man skilja på bakterier med tjock och tunn cellvägg. Prokaryoter delas in i grampositiva och gramnegativa celler beroende på hur de reagerar på färgningsmetoden.

Grampositiva bakterier har ett tjockt lager av peptidoglykan med ca 50% tekoinsyra insprängt, medan gramnegativa har ett tunt lager peptidoglykan och ett yttermembran som innehåller lipopolysackarider. Även arkéer kan klassificeras med gramfärgning trots att de saknar peptidoglykan.



► 1.7 Schematisk molekylär bild av cellväggen.

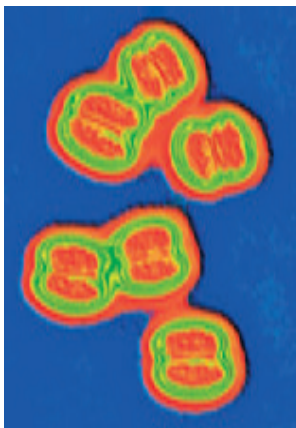
- a Gramnegativ bakterie.
- b Grampositiv bakterie.

Vanligen hittar man grampositiva bakterier i terrest miljö och gramnegativa i akvatisk miljö. Den akvatiska miljön är mer stabil, och därför klarar sig bakterien med ett tunt lager peptidoglykan.

Av de bakterier som är patogena (sjukdomsalstrande) är de gramnegativa vanligen mest besvärliga. Yttermembranet kan skydda bakterien från attacker från immunförsvaret. Dessutom är lipopolysackariden i yttermembranet ofta toxisk. Den gramnegativa bakterien är mindre känslig för antibiotika eftersom yttermembranet skyddar bakterien.

Många antibiotika (t.ex. penicilliner och vankomycin) blockerar eller stör cellväggssyntesen, vilket får till följd att bakterien lyserar (spricker sönder). Eftersom peptidoglykan är unikt för bakterier, påverkas inte människans celler. Däremot påverkas vi om antibiotikan slår ut vår egen normala bakterieflora.

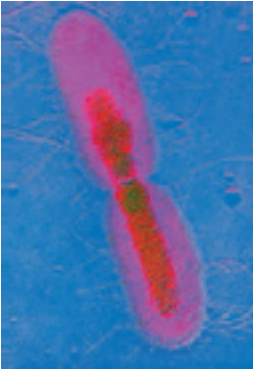
Bakterier kan bära på plasmider med gener som ger resistens mot vissa antibiotika. Kunskapen om bakteriers känslighet för antibiotika och deras utveckling av resistens används som hjälpmedel inom biotekniken (se kap. 4).



► 1.8 Bakterier med kapsel, *Neisseria meningitidis*.

Kapsel

Många bakterier kan bilda en kapsel runt cellen. Kapseln består vanligen av polysackarider, men kan även vara uppbyggd av polypeptider eller en blandning av dessa. Huvudbeståndsdelen är dock vatten. Kapseln ger bakterien ytterligare ett skydd, både mot förändringar i miljön och mot attacker från immunförsvaret. Kapseln gör det även lättare för bakterier att fästa vid ytor och att leva tillsammans i kolonier.



► 1.9 Bakterier med fimbrier, *E. coli*.

Fimbrier och pili

Vissa bakterier bildar fimbrier eller pili, som de också kallas. Fimbrier är utskott uppbyggda av proteiner som används av bakterien för att fästa vid olika ytor. De flesta fimbrier känner igen vissa specifika kolhydrater på en cells yta. Kolhydratmolekylen fungerar alltså som receptor. *E. coli*, som bl. a. ger urinvägsinfektion, fäster vid kolhydrater på epitelet i urinröret och *Neisseria gonorrhoeae*, som orsakar gonorré, fäster på liknande sätt vid genitalslemhinnan.

Andra pili kallas sexpili och fungerar som en kontakt- och igenkänningsyta mellan två bakterier så att utbyte av gener kan ske, s.k. konjugation (se s. 20).

FAKTA

Rörliga genetiska element

Plasmider är små DNA-molekyler som främst finns i bakterier, men även i jäst. Oftast är plasmider cirkulära. De kan variera kraftigt i storlek – vissa plasmider är mycket små, medan andra är upp till en tredjedel av kromosomens storlek.

Plasmiden bär ofta på gener som i normala fall inte är nödvändiga, men ibland är till fördel för bakterien, t.ex. resistensgener eller gener som behövs för att överleva i en specifik miljö. Plasmiden bär också på gener för initiering och kontroll av replikation av själva plasmiden.

Varje plasmidtyp har ett bestämt antal kopior i cellen. Plasmiden reglerar själv kopieantalet så att det hålls konstant.

Plasmider överförs huvudsakligen mellan bakterier, men kan även överföras mellan bakterier och eukaryota organismer. Plasmiderna replikeras vanligen oberoende av värdcellens genom (genetiska material) och kan transporteras mellan celler.

Transposoner, "hoppande gener", är DNA-fragment som finns i alla organismer. Dessa fragment kan byta plats och flytta runt i cellens genom. Processen där transposonen hoppar kallas transposition, och enzymerna

som genomför den kallas *transposaser*. Transposoner hoppar genom att flytta hela transposonen eller genom retrotransposition.

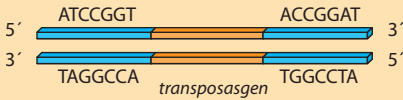
De flesta av dessa är retrotransposoner, dvs. transposoner som "hoppar" genom att bilda en RNA-kopia. Denna utgör sedan en mall för bildande av nytt DNA som kan införas i kromosomen. I dag vet man att hälften av majsgenomet och en tiondel av människans genom består av transposoner.

Om en transposon "hoppar" in i mitten av en gen kan genen inte avläsas normalt. Om den införs i den del av genen som reglerar transkriptionen kan transposonen antingen öka eller reducera produktionen av en genprodukt.

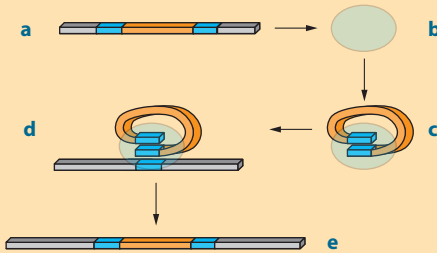
Transposoner i bakterier kan flytta mellan platser i kromosomen eller mellan kromosom och plasmid. De kan också hoppa mellan olika bakteriearter genom att följa med plasmider eller virus.

Plasmider, transposoner och virus är rörliga genetiska element. Gränsdragningen mellan dem är inte tydlig. Eftersom vissa av dem är värdspecifika kan de utnyttjas inom biotekniken för att föra in gener i en viss organism eller för att flytta gener.

Tre olika varianter av transposition



► 1.10a Transposon med genen för *transposas* och inverterade sekvenser. *Transposas* är det enzym som inkorporerar transposonen på ett nytt ställe på en kromosom. Inverterade sekvenser innebär att ordningen på basparen är spegelbilder av varandra.



► 1.10b IS-element.

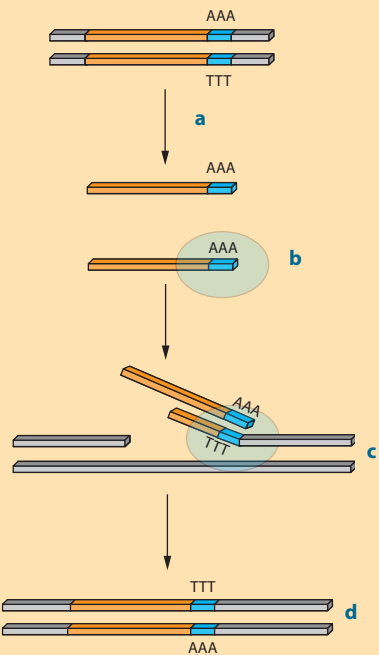
a IS står för Insertions Sekvenser och är den enklaste typen av transposon. Den bär endast på genen för enzymet *transposas* och har inverterade sekvenser på sidorna om genen.

b Ett *transposas* har syntetiserats.

c *Transposas* och transposon bildar ett aktivt komplex.

d Komplexet binder transposonen till en annan kromosom eller del av samma kromosom där det finns en komplementär sekvens.

e Komplexet upplöses och transposonen har bytt plats i genomet.



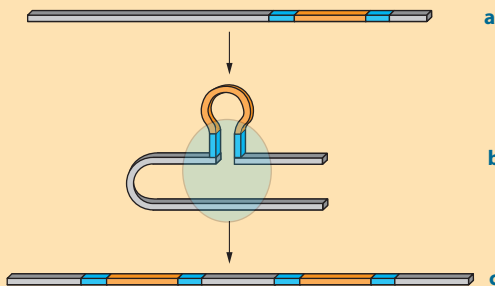
► 1.10c Retrotransposition.

a En RNA-kopia av den komplementära strängen till transposonen syntetiseras.

b Med RNA-kopian som mall syntetiseras enzymet *omvänt transkriptas* som binder till RNA-kopian.

c Komplexet binder till den DNA-sträng som är målet för transpositionen. Omvänt transkription startar och en DNA-kopia syntetiseras.

d Den nya DNA-strängen blir mall till en komplementär sträng. Den dubbelsträngade DNA-sekvensen utgör den nya transposonen.



a ► 1.10d Replikativ transposition.

a Kromosom med transposon.

b Ett aktivt *transposas*-transposon-komplex har bildats. Transposonen replikeras.

b ► **c** Komplexet upplöses och kromosomen får en ny kopia av transposonen.