

Korte svar til *Innføring i mikrobiologi*

av Arne Tronsmo og Geir Mathiesen, Universitetsforlaget (2024)

Kapittel 1 Introduksjon

1. Vitenskapen om mikroorganismene.
2. Polysakkarider, nukleinsyrer, fett og proteiner.
3. Se faktaboks kapittel 1.1.
4. De autotrofe kan benytte kun uorganisk karbon og andre uorganiske forbindelser til å bygge opp sitt cellemateriale. De heterotrofe må benytte ulike organiske forbindelser for å bygge opp cellematerialet.
5. Robert Hook introduserte celledoget. Antoni van Leeuwenhoek var den første som så og beskrev bakterier.
6. Se kapittel 1.2.
7. Se kapittel 1.2.
8. Avliving av teorien om spontan generasjon til mikroorganismer. Pasteuriseringssteknikken for å øke holdbarheten på melk. Vaksinerings. At gjær var ansvarlig for produksjon av alkohol (etanol) i vin.
9. Rekkefølge i kolonne C: f, d, c, b, e, a.
10. d.
11. Utviklingen av det naturlige taksonomiske klassifiseringssystemet for alle organismer basert på morfologi (utseende).
12. Han var den første som beskrev bakterien *Mycobacterium lepra*, som er årsaken til spedalskhet.
13. Vekstfaktoranaloger kan erstatte funksjonelle deler av et molekyl som er nødvendig for vekst, for eksempel et vitamin, og når de gjør det, vil de blokkere opptak eller utnyttelse av de egentlige vekstfaktorene. Vekstfaktoranaloger som benyttes som medisin må ikke være skadelig for pasienten.
14. Se kapittel 1.5.
15. Bioremediering betyr at man benytter mikroorganismer til å bryte ned og eventuelt metabolisere og dermed fjerne f.eks. olje, toksiske kjemikalier og andre forurensninger i naturen.

Kapittel 2 Kjemi

1. a. Ionebinding. b. Enkel kovalent binding. c. Dobbel kovalent binding.
2. Det skyldes vannets polare egenskaper som gjør at forbindelser som skal reagere med hverandre lettere kommer i direkte kontakt.
3. pH er definert som den negative 10-logaritmen til hydrogenionkonsentrasjonen ($-\log_{10} [\text{H}^+]$).
4. En sur løsning har flere protoner (H^+) enn hydroksylioner (OH^-).
En nøytral løsning har like mange protoner (H^+) som hydroksylioner (OH^-).
En basisk løsning har færre protoner (H^+) enn hydroksylioner (OH^-).
5. I en løsning som inneholder en buffer, vil pH endre seg mye mindre når den tilføres små mengder syre eller baser enn en løsning uten buffer.

Vi benytter buffere i næringsmedier for å redusere forandringer i pH når organismene under vekst skiller ut H^+ eller OH^- .
6. Karbohydratene er bygd opp av monosakkarider som består av grunnstoffene karbon, oksygen og hydrogen. Den generelle formelen er $(\text{CH}_2\text{O})_n$.
7. a. Primærstrukturen bestemmes av rekkefølgen på aminosyrene. Sekundærstrukturene dannes ved hydrogenbindinger mellom aminosyrene og danner en alfa-heliks struktur eller betaplater. Tertiærstrukturen er den stabile tredimensjonale strukturen til et polypeptid som dannes på grunn av ulike svake bindinger mellom aminosyrene. Kvartenærstrukturen består av en samling av to eller flere polypeptider.

b. Peptider er to eller flere aminosyrer koblet sammen med peptidbindinger. Proteiner består hovedsakelig av lange peptidkjeder.
8. DNA består av tre deler, pentosen deoksyribose, en fosfatgruppe og en syklisk nitrogenbase. Nitrogenbasen er enten adenin (A), tymin (T), cytosin (C), eller guanin (G). RNA skiller seg fra DNA ved at den har pentosen ribose istedenfor deoksyribose og nitrogenbasen uracil (U) istedenfor tymin (T).
9. ATP er det viktigste energibærende molekylet i cellene. ATP består av pentosen ribose, tre fosfatgrupper og nitrogenbasen adenin (A).
10. Lipidene har ikke en felles kjemisk struktur, men de er alle ikkepolare og derved uløselige i vann. Fett består av fettsyrer bundet til glyserol. Fosfolipidene består av to fettsyrer og fosfat bundet til glyserol. Lipidene er energilager i cellene og fosfolipidene er strukturkomponenten i membranene.

Kapittel 3 Mikroskopi

1. a. Du kan se en liten organisme som ikke er synlig med det blotte øyet.

b. Du kan skille mellom ulike bakterietyper slik som grampositiv, gramnegative og mycobakterier.

2. a. 10^{-6}
 - b. nm
 - c. 10^3
3. a. Se prosedyre i kapittel 3.3.
 - b. Se s. 44.
 - c. Se kapittel 3.3, s.41.

Utseende etter dette trinnet:

Behandling med	Gram +	Gram -
Krystall fiolett	Blå	Blå
J/JK	Blå	Blå
Etanol vask	Blå	Fargeløs
Safranin	Blå	Rød

4. $0,3\mu\text{m}$.
5. Stativ med lyskilde, kondensor, objektivbord med grov og finskrue for regulering av høyden på bordet (fokusering av preparatet) objektivrevolver og okularer. Kondensoren samler lyset i preparatet. Grov og finskrue regulerer høyden på bordet (fokusering av preparatet). Objektivene forstørrer bildet og okularet forstørrer bildet ytterligere.
6. Oppløsning er evnen til å skille små detaljer. Forstørring er hvor mange ganger større bildet blir enn virkeligheten.
7. Med et fasekontrastmikroskop kan man få et godt bilde av ufargede preparater. Kan i levende preparater se om organismene kan bevege seg.

Før undersøkelse i et lysmikroskop vil fiksering og farging ta livet av organismene og kunne føre til forandring (skrumping) av organismene.
8. a. På grunn av at elektronstrålene har en mye kortere bølgelengde enn lys vil elektronmikroskopet kunne gi en mye høyere oppløsning, ca. 1000X sammenliknet med lysmikroskop.
 - b. For å se tredimensjonale strukturer i et elektronmikroskop må man benytte et Scanning elektronmikroskop (SEM).
9. **Gramfarging** skiller bakterier (*Bacteria*) i grampositive og gramnegative. **Syrefastfarging** benyttes for å skille bakterier i slekten *Mycobacterium* fra andre bakterier. **Flagellfarging** benyttes for å kunne se bakterieflageller i et lysmikroskop. **Negativ farging** benyttes for å kunne detektere kapsel i

et lysmikroskop, omgivelsene farges, men ikke kapselen. **Endosporefarging** benyttes for å kunne detektere endosporer i et lysmikroskop.

10. Bruk av krystallfiolett som en motfarge i negativ farging hjelper til med å visualisere og skille kapsler fra bakterieceller ved å farge selve bakteriecellene. I negativ farging benyttes negativt ladete fargestoffer som nigrosin eller India-blekk, som ikke fester seg til bakteriene eller kapslene på grunn av avstøtning fra den negativt ladede cellemembranen. Dette resulterer i at fargestoffet farger bakgrunnen. Når krystallfiolett tilsettes som en motfarge, binder den seg til og farger bakteriecellene, men ikke den slimete kapselen rundt dem. Dette skaper en kontrast mellom de fargede bakteriecellene og den mørke bakgrunnen, og gjør at kapslene blir synlige som et lyst eller klart «halo» rundt de fargede bakteriene.

Kapittel 4 Den prokaryote og den eukaryote cellen

1. Se figur 4.1.

2. Plasmider i bakterier er små, ringformede DNA-strukturer som ofte inneholder gener som gir bakteriene spesielle egenskaper, slik som toksinproduksjon eller resistens mot antibiotika. Spredningen av plasmider er et potensielt problem når det gjelder antibiotikaresistens fordi plasmidene kan overføres relativt enkelt mellom bakterieceller, til og med til andre arter. Dette kan føre til at resistensgener spres raskt blant bakteriepopulasjoner, noe som er spesielt problematisk i sykehusmiljøer der det er viktig å kunne kontrollere infeksjoner effektivt.

3. Kapsellaget er permanent bundet til bakteriens overflate og beskytter den mot fagocytose, mens EPS-laget ikke er direkte bundet og spiller en nøkkelrolle i dannelsen av biofilm ved å holde mikroorganismer på plass i en beskyttende matriks.

4. Se figur 4.5 og 4.6.

5. Ved enkel diffusjon slipper bare vann og noen små molekyler gjennom membranen. Større molekyler må transporteres gjennom membranen ved hjelp av transportproteiner.

6. Passiv transport skjer uten tilførsel av ekstern energi. Aktiv transport krever tilførsel av energi, vanligvis fra ATP.

7. Se kapittel 4.2 og figur 4.7.

8. Se kapittel 4.2 og figur 4.8.

9. Se kapittel 4.2 og figur 4.9.

10. En levende celle er avhengig av en funksjonell membran for å kunne regulere transport av avfallsstoffer ut av cellen og næringsstoffer inn i cellen. Skade i membranen kan føre til lekkasje av viktige molekyler som fører til at cellen dør.

11. a. En cellevegg er nødvendig for bakterier som lever i et miljø som er har et høyere osmotisk potensiale enn det som er inne i cellen.

b. Det er noen bakterier som mangler cellevegg (veggløse), for eksempel mykoplasma. De har en forsterket cytoplasmamembran og lever i miljøer med samme osmotiske potensial som det er inne i cellen.

c. Celleveggen til *Bacteria* kalles for peptidoglykan, fordi strukturkomponenten består av lange glykankjeder av N-acetylglukosamin (NAG) og N-acetylmuraminsyre (NAM) bundet sammen med peptidkjeder.

12. a Se figur 4.12 og 4.13.

b. Se kapittel 4.2.

13. Det generelle Sec-systemet i bakterier transporterer proteiner gjennom cellemembranen ved hjelp av et signalpeptid som er en del av den N-terminale delen av proteinet. Signalpeptidet er en kort sekvens av aminosyrer som fungerer som et sorteringssignal. Når signalpeptidet er translatert, bindes det til spesifikke proteiner som forhindrer folding, deretter bindes det til proteinet SecA. SecA, sammen med proteinet som skal sekreteres, binder seg til SecYEG, et proteinkompleks som danner en kanal gjennom membranen. SecA er en ATPase som bruker energi fra ATP til å transportere polypeptidet gjennom SecYEG-kanalen. Når proteinet er transportert gjennom membranen, klipper et enzym kalt signalpeptidase av signalpeptidet, og proteinet folder seg til sin korrekte 3D-struktur.

14. Se kapittel 4.2.

15. Poriner er transportkanaler gjennom yttermembranen hos de gramnegative bakteriene. De er lokalisert i yttermembranen.

16. Splitting av den eksisterende peptidoglykankjeden med autolysin er nødvendig for å kunne sette inn nye byggesteiner (NAM(M)-NAG(G)-peptidenhet). Baktopenol er bæreren av M-G-peptidenheten. Transpeptidering er dannelse av peptidbindinger mellom muraminsyre-enheter i de parallelle kjedene. Transpeptidasen binder sammen med en kovalent binding den nye M-G-peptidenheten med en peptidoglykanenhet i en eksisterende kjede.

17. Endosporer dannes hovedsakelig av bakterieslektene *Bacillus* og *Clostridium*. En endospore dannes i en celle og er ikke et spredningsorgan da den bare gir opphav til en ny celle når den spirer. Endosporen er en hvilestruktur som kan overleve ugunstige forhold som høy temperatur (100 °C), en temperatur som vil drepe den vegetative cellen.

18. Mikroorganismene produserer enzymet cellulase (bryter ned cellulose) som skilles ut av cellen (eksoenzymer) og cellulase vil bryte ned cellulosen til monomeren glukose. Glukose monomeren transporteres inn i cellen ved hjelp av spesifikke transportproteiner (gruppetransport).

19. Den kan være mindre da den ikke inneholder organeller, men den har allikevel alle nødvendige livsfunksjoner som gjennomføres på genene på DNA, i cytoplasma, i/på cytoplasmamembranen og i celleveggen.

20. Endosporen har mye lavere vanninnhold enn den vegetative cellen, og den inneholder dipikolinsyre og små syreløselige sporeproteiner som stabiliserer og beskytter DNA.

21. Flagellen hos den prokaryote cellen består av en hul tråd av proteinet flagellin som er festet til cytoplasmamembranen med en «krok» og et basallegeme. Den eukaryote flagellen består av et basallegeme og en ring av ni par doble mikrotubuli pluss to sentrale mikrotubuli inne i

plasmamembranen. Begge gir organismene mulighet til å bevege seg i et vandig miljø, hos de prokaryote med en roterende bevegelse, hos de eukaryote med en piskebevegelse.

22. 4 minutter og 10 sekunder.

23. Mitokondriene inneholder DNA og ribosomer (70S) av *Bacteria* typen.

24. Gassvesiklene hos akvatiske fotosyntetiske bakterier gjør at de kan komme opp mot overflaten slik at de kan utnytte sollyset.

25. a. Se figur 4.2.

b. Se figur 4.19.

c. Kloroplaster finnes ikke i dyreceller.

26. Forholdet mellom overflate og volum øker når størrelsen (radien) på cellen går ned. Forholdet mellom overflate og volum (O/V) er $3/r$.

27. Liten størrelse gir raskere vekst (flere celler) og at de er haploide fører til at alle mutasjoner blir uttrykt.

28. Se kapittel 4.3.

29. Mitokondriene er eukaryotenes energifabrikk hvor respirasjonen (sitronsyresyklusen) foregår. Ved aerob respirasjon er de viktige endeproduktene ATP og CO_2 . Kloroplastene er sete for fotosyntesen hvor glukose og O_2 er de viktigste endeproduktene.

30. a. Se kapittel 4.4 og 4.5.

b. Cyanobakteriene var de første organismene som produserte oksygen til biosfæren.

31. Se kapittel 4.5.

Kapittel 5 Mikrobiell metabolisme

1. **Metabolisme** er summen av alle biokjemiske prosesser i en celle, både katabolisme og anabolisme. Også kalt stoffskifte. **Anabolisme** er alle biosyntetiske reaksjoner i cellen som er involvert i syntese av alle cellekomponentene fra enkle molekyler. Krever vanligvis tilføring av energi i form av ATP. **Katabolisme** er alle biokjemiske reaksjoner i cellen som leder til nedbrytning av store molekyler til mindre molekyler. I prosessen frigis energi (vanligvis i form av ATP) i cellen.

2. En red-ox reaksjon er en koplet reaksjon hvor en av substansene mister elektroner og et annet får elektroner.

a. Den endelige elektronakseptoren i aerob respirasjon er molekylært oksygen, i anaerob respirasjon et annet uorganisk molekyl eller i noen tilfeller er et organisk molekyl.

b. En elektrontransportkjede benyttes i respirasjon, men ikke i fermentering. Endelig elektronakseptor i respirasjon er vanligvis uorganisk, i fermentering organisk.

c. I syklisk fosforylering returnerer elektronene til klorofyll, i ikke-syklisk fosforylering får klorofyllet elektroner fra hydrogen atomer.

3. a. Fotofosforylering.

b. Oksidativ fosforylering.

c. Substrat-nivå fosforylering.

4. Oksidasjon.

5. For å kunne syntetisere nye molekyler og reparere skadede molekyler.

6. Enzymene reduserer aktiveringsenergien til reaksjonen ved å føre reaktantene sammen.

7. Temperatur, pH og substratkonsentrasjonen.

8. a. ATP-utbytte per mol glukose ved fermentering er 2, ved anaerob respirasjon ca. 30 og ved respirasjon maks 36 (eukaryote) eller 38 (prokaryote).

b. Energiutbytte ved fermentering er mindre enn ved respirasjon fordi organismen ikke kan utnytte NADH til energiproduksjon og det er mye mer energi igjen i endeproduktene som melkesyre eller etanol enn det er i endeproduktet ved respirasjon. Ved fermentering er det ingen sitronsyresyklus eller elektrontransportkjede.

9.

Energiproduserende prosess	Vekst med/uten oksygen	Endelig elektronakseptor	Type fosforylering for å generere ATP	Mol ATP per mol glukose
Aerob respirasjon	O ₂	O ₂	Substratnivå og Oksidativ	36 (Eukaryote) 38 (Prokaryote)
Anaerob respirasjon	Ikke O ₂	NO ₃ ⁻ SO ₄ ²⁻ CO ₃ ²⁻ Fe ³⁺ Fumarsyre	Substratnivå og Oksidativ	Variabelt flere enn 2 færre enn 38
Fermentering	Ikke O ₂	Et organisk molekyl	Substratnivå	1 eller 2

b. Dyrke organismen i et fullstendig mineralmedium med og uten glukose. Ved vekst i begge mediene er organismen autotrof, hvis den bare vokser i mediet med glukose er den heterotrof.

10. Gruppering av organismer etter deres energi- og karbonkilde.

Næringstype	Energikilde	Karbonkilde	Eksempler på mikroorganismer
Fotoautotrof	Lys	CO ₂	Aerobe: Cyanobakterier Anaerobe: Grønne og purpur bakterier
Fotoheterotrof	Lys	Organisk	Grønne og purpur bakterier ikke-svovel bakterier
Kjemoautotrof	Kjemisk	CO ₂	Jernoksiderende bakterier
Kjemoheterotrof	Kjemisk	Organisk	Fermentative bakterier, aerobe bakterier, dyr, protozoer, sopp.

11. a. NAD⁺ er nødvendig for å fange opp elektroner i glykolysen. Uten tilgang på NAD⁺ vil glykolysen stoppe.

b. Ved respirasjon blir NAD⁺ gjendannet fra NADH i sitronsyresyklusen.

c. I fermenteringen blir NAD⁺ gjendannet fra NADH ved for eksempel omdanning av pyruvat til etanol eller melkesyre.

12. Ved konkurrerende hemning konkurrerer substratet med inhibitoren om det aktive setet på enzymet. Ved ikke-konkurrerende hemning binder inhibitoren seg til det allosteriske setet og forandrer den tredimensjonale strukturen til det aktive setet slik at det ikke lenger kan binde substratet.

Endepunktinhibering skjer når endeproduktet (sluttproduktet) binder seg til det allosteriske setet i et enzym tidligere i synteseveien.

13. Se figur 5.16.

14. En katalysator senker aktiveringsenergien, noe som fører til at reaksjonen går mye raskere. Et enzym er et protein som er en kjede med aminosyrer. Enkelte proteiner har bundet til seg en ikke-proteindel som kalles prostetisk gruppe eller en kofaktor (et grunnstoff).

15. Enzymet binder substratet i sitt aktive sete.

16. Aktiveringsenergi er den energimengden som reaktantene minst må ha for at reaksjonen skal kunne skje.

17. $\text{Glukose} + 2 \text{ ATP} + 2 \text{ PO}_4^{3-} + 2 \text{ NAD}^+ = 2 \text{ pyruvat} + 4 \text{ ATP} + 2 \text{ NADH} + 2 \text{ H}^+$

Nettoresultatet er $2 \text{ pyruvat} + 2 \text{ NADH} + 2 \text{ ATP}$

18. NADH og FADH₂ er den reductive kraften som kan benyttes til dannelsen av ATP i sitronsyresyklusen eller til å redusere organiske forbindelser i anabolske reaksjoner. Cytokromene fungerer som bærere av elektronene som overføres fra NADH og FADH₂ i elektrontransportkjeden.

19. Molekylene som dannes i syklusen kan brukes som byggesteiner til ulike synteseveier.

20. Se kapittel 5.4.

21. **Energikonservering** er lagring av energi i form av ATP. **Kjemiosmoseteorien** ble utviklet av Peter Mitchell og forklarer at ATP kan genereres ved at H⁺ transporteres ut av mitokondriemembranen (Eukaryoter) eller cytoplasmamembranen (Prokaryoter) og så blir ført tilbake gjennom ATP-asen hvor det da genereres ATP. **Substratnivåfosforilyring** er dannelsen av ATP ved direkte overføring av et høyenergi fosfatmolekyl fra en organisk forbindelse til ADP.

22. $6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ H}_2\text{O} = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O}$.

Mørkereaksjonen er den som ikke krever lys, men som benytter ATP og reaktiv kraft i form av NADPH som er dannet i lysreaksjonen til å fikse CO₂ til glukose.

I fotosystem I reduseres NADP til NADPH som er den reductive kraften i mørkereaksjonen. **I fotosystem II** spaltes vann til oksygen, protoner og elektroner slik at det kan genereres ATP i en elektrontransportkjede.

23. Den anoksiske fotosyntesen til purpur og grønne bakterier produserer ikke O₂. Den oksiske fotosyntesen produserer oksygen og skaffer energi til alger og cyanobakterier.

24. To viktige roller for pentosefosfatveien er å danne byggesteiner for mange viktige molekyler i cellene, og å danne reaktiv kraft i form av NADP.

Kapittel 6 Mikrobiell vekst

1. Mikroorganismer som lever ved lave temperaturer tilpasser cellemembranene sine ved å inneholde flere umettede fettsyrer. Umettede fettsyrer har dobbeltbindinger som fører til knekk i fettsyrene, noe som gjør at de ikke kan pakkes så tett sammen. Dette bidrar til at cellemembranen forblir fleksibel selv ved lave temperaturer, noe som er nødvendig for å opprettholde transport av næringsstoffer inn og avfallsstoffer ut gjennom cellemembranen. Mange har også enzymer som ofte inneholder flere α-helikser og færre β-flak i proteinstrukturen, sammenlignet med enzymer som har liten aktivitet ved lave temperaturer. α-helikser gir større fleksibilitet til enzymene, noe som gjør dem i stand til å katalysere reaksjoner ved lavere temperaturer. Kuldeaktive proteiner inneholder i tillegg også ofte flere polare og færre hydrofobe aminosyrer enn proteiner hos mesofile organismer. Enkelte organismer kan produsere en form for frostvæske i cytoplasmaet. Dette senker frysepunktet for vannet inne i cellene, noe som er viktig fordi cellene ikke kan opprettholde metabolske funksjoner uten tilgang på fritt vann. I tillegg kan is ødelegge cellestrukturer.

2. Termofile mikroorganismer har varmem stabile proteiner, disse proteinene inneholder flere ionebindinger, mer hydrofobe aminosyrer (i det indre) og disulfidbroer, som alle bidrar til økt stabilitet og beskyttelse mot denaturering ved høye temperaturer. For termofile mikroorganismer er det også viktig at cellemembranene er stabile ved høye temperaturer. Dette oppnås ved å ha lange og mettede

fettsyrer i fosfolipidene i membranen, slik at fettsyrene kan pakkes tett. Dette forhindrer membranen i å «smelte» ved høye temperaturer.

3. *H. pylori* produserer enzymet urease, som omdanner urea i magen til ammoniakk og karbondioksid. Denne kjemiske reaksjonen endrer miljøet rundt bakterien så det blir litt mindre surt, noe som gir beskyttelse mot magesyren. Bakterien har en spiralform og er utstyrt med flageller, som gjør at den kan bevege seg gjennom mageslimet. Dette lar den komme nærmere magesekkens epitelvegg, som er mindre sur enn magesaft.

Bakterien er spiralformet med flageller, noe som gjør at den kan bevege seg gjennom mageslimet og nærme seg magesekkens mindre sure epitelvegg. Her kan den binde seg fast og blir dermed ikke vasket ut.

4. De beskytter seg ved å ha enzymer som bryter ned / forandrer de toksiske formene av oksygen. Eksempler på enzymer er katalase og peroksidase som omdanner hydrogenperoksid til vann.

5. Se tabell 6.2. Det som kjennetegner de halofile bakteriene er at de kan øke ionestyrken inne i cellene ved å konsentrere lavmolekylære forbindelser som sukker, alkoholer og aminosyrer.

6. En biofilm er et komplekst aggregat av mikroorganismer i flere lag på en fast overflate. De fleste bakterier lever i biofilm fordi det gir dem beskyttelse mot uttørking, antibiotika og immunsystemet. Biofilmen gir også høyere toleranse mot antibiotika, celle-til-celle-kommunikasjon, deling av næring og utveksling av genetisk informasjon.

7. Ved binær fisjon (to-deling) så øker først bakteriens lengde, og kromosomet replikeres. Kromosomene trekkes fra hverandre. Plasmamembranen invaginerer sentrum av cellen mellom de delte kromosomene. Celleveggen vokser mellom disse membranene og cellen deles i to.

8. a. Tegn en vekstkurve for vekst i et lukket system (Bach kultur) med log antall bakterier på Y-aksen og tid i minutter på X-aksen. Marker lagfase, eksponentiell fase, stasjonær fase og dødsfase (se figur 6.8, s.114).

b. Bakteriene deler seg med konstant hastighet i den eksponentielle fasen.

c. Det blir ingen eller meget kort lagfase hvis en bakterie i den eksponentielle fasen overføres til samme næringsløsning.

d. Bakteriene kommer i den stasjonære fasen når et av de essensielle næringsstoffene begynner å bli i begrensede mengder eller at opphopning av avfallsstoffer hemmer veksten.

e. Generasjonstiden kan beregnes ut ifra vekstkurven ved å bestemme tiden det tar for at celledallet har doblet seg. Eller ut ifra formelen beskrevet i kapittel 6.3.

9. a. En kjemostat er et vekstkammer med konstant volum for dyrking av kontinuerlige kulturer av mikroorganismer hvor både veksthastighet og celledall kan kontrolleres uavhengig av hverandre ved å variere næringskonsentrasjon og fortynningshastighet.

b. Ved likevekt i en kjemostat vokser organismene med konstant hastighet og mengden oppløst oksygen, næring, pH, omrøring og celledall er konstant.

c. Hvis fortynningshastigheten blir for høy vil kulturen vaskes ut.

10. Se figur 6.12 og kapittel 6.6. NB: Full kontroll med volumer i fortynningsrørene og av prøvene som overføres i fortynningsserien og til petriskålene er absolutt nødvendig.

11. Varmer denaturerer proteiner (enzymer) og fører dermed til den sikre død for cellene.

12. Kardinaltemperaturer er henholdsvis minimumstemperaturen (den laveste temperaturen for vekst av bakterien), optimumtemperaturen (den temperaturen hvor organismen vokser raskest) og maksimumtemperaturen (den høyeste temperaturen en organisme kan vokse ved).

13. a. C = Karbon: Viktigste byggestein i levende celler.

H = Hydrogen: Kilde til elektroner og komponent i organiske molekyler.

O = Oksygen: Komponent i organiske molekyler, elektroakseptor i aerobe organismer.

N = Nitrogen: Komponent i aminosyrer (proteiner) og nukleinsyrer.

P = Fosfor: Komponent i fosfolipider, nukleinsyrer og ATP.

S = Svovel: Komponent i noen aminosyrer.

b. I et definert medium kjenner man den nøyaktige kjemiske sammensetningen av mediet, mens et **komplekst medium** består av ekstrakter fra ulike kilder hvor den eksakte sammensetningen ikke er kjent.

14. Direkte metoder er de hvor antall celler i en løsning kan bestemmes ved hjelp av et mikroskop og tellekammer, eller etter fortynning og utplating, hvor hver celle gir opphav til en synlig koloni. For å beregne antallet i løsninger med lave konsentrasjoner av mikroorganismer kan man benytte MPN-metoden eller membranfilter metoden (se kapittel 6.6). Indirekte metoder måler ikke antall celler, men gir et indirekte mål for biomasse. Indirekte metoder er måling av turbiditet, måling av metabolsk aktivitet, forandring i pH eller bestemmelse av tørrvekten til kulturen. For å kunne estimere antall celler ved måling av turbiditet, kan man benytte en standardkurve. Standardkurven lages ved å plote data fra den direkte og turbiditetsmålingen i samme diagram. Ut ifra denne standardkurven kan man så senere estimere antall celler i prøven som er målt med turbidimeter eller spektrofotometer.

15. Kjølning forlenger holdbarheten fordi lave temperaturer stopper eller reduserer veksthastigheten til mikroorganismene. Frysing stopper all vekst. Salting og sukker øker det osmotiske potensialet og gjør det vanskelig for mikroorganismene å få tak i vann.

16. Oljen dekker karbon- og energibehovet til en oljedegraderende bakterie, men ikke behovet for nitrogen og fosfor. Derfor setter man til nitrogen og fosfor for at disse elementene ikke skal være begrensende for effektiv nedbrytning av oljen.

17. a. Et **kjemisk definert medium** er et medium hvor eksakt alle kjemiske komponenter er kjent.

Et **komplekst medium** er et medium hvor man ikke i detalj kjenner alle de kjemiske komponentene.

Et **selektivt medium** er «utvelgende» med det menes at de gir vekstmuligheter bare for noen typer av mikroorganismer.

Et **differensielt medium** undertrykker ikke andre mikroorganismer, men gjør det enklere å differensiere mellom ulike mikroorganismer, ved for eksempel at spesifikke bakterier får farge.

Et **anrikningsmedium** benyttes for å gi vekstvilkår til spesielle grupper av mikroorganismer, for eksempel de som kan leve på fenol som eneste karbonkilde.

b. Vi benytter **kjemisk definerte medier** når vi vil undersøke effekten av ulike kjemiske forbindelser på veksten til mikroorganismen. I alle andre tilfeller benytter man nesten utelukkende komplekse medier tilpasset de ulike mikroorganismene, da de er enklere å lage og gir gode vekstvilkår.

18. a. A.

b. B.

c. A.

d. A.

e. A.

19. **Aerobe organismer** er helt avhengige av oksygen som endelig elektronakseptor i aerob respirasjon.

Anaerobe organismer kan ikke benytte oksygen, for de obligat anaerobe er oksygen en gift.

Fakultativt anaerobe organismer benytter oksygen som endelig elektronakseptor når det er oksygen til stede, men skifter over til anaerob respirasjon eller fermentering når det er anaerobe forhold.

De **aerotolerante** kan ikke benytte oksygen som endelig elektronakseptor, men for dem er oksygen ikke en gift.

Mikroaerofile organismer krever oksygen, men kan bare tolerere relativt lave oksygenkonsentrasjoner.

Anaerobe organismer som ikke skades av oksygen har avgiftings systemer for å uskadeliggjøre giftige biprodukter fra oksygen som siglet oksygen, superoksid anion og H_2O_2 . Dette er for eksempel enzymene katalase, peroksidase og superoksid-dismutase.

20. En **renkultur** har oppstått fra en enkelt celle og består dermed av kun en art, mens en **anrikningskultur** er en samling av mikroorganismer med felles egenskaper dyrket frem på et selektivt medium.

21. **Sporelementer** er uorganiske forbindelser (grunnstoffer) som organismene trenger i små mengder. **Vekstfaktorer** er organiske forbindelser, for eksempel vitaminer, som organismene trenger i små mengder.

22. a. Ved anrikning må man velge et medium som stimulerer den/de organismene man ønsker å dyrke, men ikke alle andre. Man må da velge en karbonkilde som de man vil anrike kan benytte, men som kan benyttes av få andre. Det kan være nødvendig å tilsette antimikrobielle forbindelser som hemmer andre organismer enn de man vil anrike.

b. Cyanobakterier

c. Nitrifikasjonsbakteriene (*Nitrosomonas* og *Nitrobacter*).

d. De aller fleste bakteriene.

23. MPN-metoden benyttes når man forventer et lite antall bakterier i prøven. Man tar 5 prøver med henholdsvis 10 ml, 1 ml og 0,1 ml og tilsetter disse volumene i en næringsløsning sammen med en indikator som forandrer farge hvis det er vekst av bakterier i prøven (en eller flere bakterier i den opprinnelige prøven). Ut ifra en statistisk tabell kan man da estimere sannsynlig antall bakterier (MPN-indeks), og laveste og høyeste antall i 100 ml av prøven.

24. a. En **psykrofil organisme** har optimumstemperatur under 20 °C. En **mesofil organisme** har optimumstemperatur mellom 20 °C og 45 °C. En **termofil organisme** har optimumstemperatur mellom 45 °C og 80 °C. En **hypertermofil organisme** har optimumstemperatur over 80 °C.

b. **Optimumstemperaturen** til en psykrofil organisme bestemmes ved å måle veksthastigheten ved ulike temperaturer under 20 °C.

25. a. $200 \times 2^8 = 51200 = 5.12 \times 10^4$ *Staphylococcus aureus* bakterier. n= generasjonstiden, i eksemplet er n=8

b. Fordi nitrogen, fosfor og karbon er nødvendige byggesteiner i alle celler.

Cyanobakterier og andre fotosyntetiske bakterier kan benytte uorganisk karbon (CO₂) som karbonkilde. Autotrofe organisme som for eksempel *Nitrosomonas* kan også benytte CO₂ som karbonkilde for å bygge opp sitt organiske materiale.

Escherichia coli er et eksempel på en bakterie som må ha tilgang på organisk karbon.

c. En aerob endosporedanner kan anrikes fra en prøve fra naturen etter at den er kokt. En **fototrof nitrogenfikserende cyanobakterie** kan anrikes i et mineralmedium uten bundet nitrogen i lys. En **fenol-oksyderende bakterie** kan anrikes i et mineralmedium hvor fenol er eneste karbonkilde.

Kapittel 7 Hvordan kontrollere uønsket mikrobiell vekst

1. Koking (100 °C) dreper alle vegetative bakterier og sopp.

Autoklaving (121 °C) og hermetisering dreper alle organismer også endosporer.

Lav temperatur (ned mot 0 °C) dreper ikke, men reduserer veksthastigheten til de psykrofile organismene og stopper veksten til de mesofile.

Frysing stopper veksten, men de fleste mikroorganismer overlever. Eukaryote organismer dør som regel ved frysing

Salt og sukker har hemmende effekt, hvis konsentrasjonen gjør at det osmotiske potensialet i løsningen er større enn det osmotiske potensialet inne i cellene. Mikroorganismene vil da ikke kunne utnytte vannet i kjemiske reaksjoner i cellen og veksten vil stoppe opp.

Ioniserende stråler dreper mikroorganismer.

Ikke-ioniserende stråler (UV) dreper, men de som har tykk cellevegg kan overleve.

Pasteurisering dreper de fleste patogene og de som raskt kan ødelegge næringsmiddelet.

2. **Sterilanter** er meget effektive kjemikalier som både dreper vegetative celler og endosporer.

Desinfeksjonsmidler brukes på dødt materiale og dreper vegetative celler, men ikke endosporer.

Antiseptika dreper eller hemmer mikroorganismer. Kan benyttes på levende vev.

Bakteriostatiske forbindelser hemmer bakterier.

Bakteriocide forbindelser dreper bakterier.

Bakteriolytiske forbindelser føret til at bakteriecellene lyserer.

Fungistatiske forbindelser hemmer sopp.

Fungicide forbindelser dreper sopp.

3. **Hypokloritt** er et meget effektivt desinfeksjonsmiddel, proteiner og cellemembran er angrepspunkt i cellene. Hypokloritt ender opp som ufarlige klorioner og vann.

4. Med **synergistisk effekt** mener vi at effekten av to hemmende midler er større enn summen av midlene brukt hver for seg. Dette betyr blant annet at vi kan mer enn halvere konsentrasjonen av hvert middel, men få samme effekt.

5. Man lager en næringsløsning med en fortyningsserie av det midlet man vil teste. Så tilsettes mikroorganismen og den laveste konsentrasjonen som ikke gir vekst er **MIC** (Minimal Inhibitory Concentration) verdien.

6. Hemme eller drepe mikroorganisme. Ikke være skadelig for konsumenten.

7. **E-stoffer** er en fellesbetegnelse på kjemiske forbindelser som blir tilsatt for enten å øke holdbarheten, erstatte sukker eller gi bestemte farger, smak eller konsistens i næringsmidler (mat og drikke) eller i kosmetikk. Det finnes omtrent 400 godkjente E-stoffer, og E står for at tilsetningen er EU godkjent.

E-stoffer kan være naturlige kjemiske forbindelser som benzosyre (det naturlige konserveringsmidlet i for eksempel multer og blåbær), eller kjemisk syntetiserte forbindelser.

8. **Salt og sukker** er i seg selv ikke giftige, men de har den fysiske effekt ved at de øker det osmotiske potensiale slik at mikroorganismen ikke kan transportere vann inn i cellene og benytte det i kjemiske reaksjoner. Salt brukes for å konservere kjøtt for eksempel spekemat, mens sukker benyttes som konserveringsmiddel i syltetøy.

Vi kan finne *Penicillium*-soppen på syltetøy fordi den kan leve ved et høyere osmotisk potensiale enn bakterier.

9. **Sterilfiltrering** benyttes når vesken ikke tåler autoklivering for eksempel en vitaminløsning.

10. I den såkalte **MIC testen** tester man effekten av ulike konsentrasjoner av det antimikrobielle midlet for å finne den laveste konsentrasjonen som hindrer vekst.

I **agar-diffusjonstesten** dypper man filterpapierskiver i ulike konsentrasjonen av den antimikrobielle forbindelsen og måler størrelsen på hemningssonen (halo).

11. **En biofilm** er et lag som består av mange bakterier ofte flere ulike arter eller andre mikroorganismer i en matriks av polysakkarider, proteiner og DNA fra bakteriene, festet til en overflate. Bakteriene er mye bedre beskyttet i en biofilm enn som frittlevende organismer. Dette fører til at det kan være vanskelig å fjerne mikroorganismene fra overflater, for eksempel i rør i næringsmiddelindustrien. For eksempel vil desinfeksjonsmidler (som klorin og hydrogenperoksid) eller antibiotika først reagere med overflaten av matriksen, og derved miste mye av sin virkning før de når ned til bakteriene inne i biofilmen.

Kapittel 8 Mikrobiell genetikk

1. **DNA** er arvematerialet som inneholder den genetiske koden til organismen. **Ribosomalt RNA (rRNA)** er en av byggesteinene i ribosomene.

Budbringer RNA (mRNA) lages ved transkripsjon (kopi av DNA) av gener på DNA og transporterer koden til ribosomene.

Transport RNA (tRNA) er molekyler som i den ene enden har en sekvens på tre basepar (antikodon), som må passe til den tilsvarende (komplementære) sekvensen på mRNA under proteinsyntesen. Dette fører til at en aminosyre kan settes inn på den voksende peptidtråden som dannes under proteinsyntesen (translasjon).

2. Se kapittel 8.1.

3. c.

4. Se kapittel 8.2.

5. Se kapittel 8.6.

6. **Quorum-sensing** er signaler mellom celler av samme art. For at signalene skal kunne få biologisk effekt må konsentrasjonen av signalmolekylene komme over en viss konsentrasjon, det vil si at det må være mange av samme bakterie som produserer signalet. Eksempler på Quorum-sensing er bioluminescens hos bakterier, produksjon av toksiner (bakteriosiner) og i dannelsen av biofilmer.

7. **En mutasjon** er en arvbar forandring i basesekvensen i genomet til en organisme. **En mutant** er en organisme hvor genomet har en mutasjon som skiller den fra villtypen.

8. En leserammeforskyvning vil føre til at alle tripletter etter mutasjonen blir feil (forskjøvet). Dette fører i de aller fleste tilfellene til et uvirksomt protein. En missens mutasjon fører bare til at en aminosyre blir feil. Dette kan føre til ingen effekt, bedre virkning eller redusert virkning.

9. Den bakterien som benyttes i Ames-testen har en mutasjon som fører til at det må tilsettes Histidin i mediet for at bakterien skal kunne vokse. Den er auxotrof for histidin. Ved tilbakemutasjon til villtype genet vil den igjen kunne vokse uten histidin i mediet.

10. a. 1.

b. 2.

c. 5.

d. 3.

e. 4.

11. Fordi mutasjon og rekombinasjon fører til større genetisk variasjon og noen få av disse genforandringene vil kunne gi egenskaper til mutanten som gir den konkurransefordeler i forhold til vilttypen under visse forhold.

12. I. c.

II. a.

III. d.

13. Se kapittel 8.6 og kapittel 12.5.

14. d.

15. **Transposoner**, også kalt hoppende gener, er en type av DNA-elementer som inneholder en eller flere gener samt gener som gjør at de kan flytte seg fra en del av DNA til en annen.

Kapittel 9. Klassifisering av mikroorganismer

1. **Taksonomi** er vitenskapen om klassifisering av organismer (identifisering og navnsetting (nomenklatur). **Fylogeni** er ordning av arter inn i høyere taxa og konstruksjon av evolusjonære trær som viser evolusjonært slektskap.

2. *Bacteria* og *Archaea*.

3. Se tabell 9.1.

4. d.

5. Se kapittel 9.5.

6. 16S rRNA-underenheten har blitt identifisert som et universelt gen som er til stede i alle bakterier og arker. Den langsomme mutasjonsraten til 16S RNA genet gjør det til en sekvens som kan brukes til sammenligning og identifisering av forskjellige arter og stammer. Sekvenseringsresultatet kan raskt sammenliknes med kjente 16S RNA-sekvenser i databaser og på den måten identifisere til art.

7. **Stamtred med rot** viser posisjonen til alle stamfedrene som er undersøkt. **Stamtred uten rot** viser slektskapet mellom organismer som har blitt undersøkt, men ikke informasjon om hva som er den eldste grenen i treet.

8. Man isolerer først DNA-et fra organismen, klipper DNA-et ved hjelp av restriksjonsenzymer og separerer DNA-fragmentene ved hjelp av elektroforese. Eller en amplifiserer DNA-fragmenter ved hjelp av PCR, fragmentene vil være av ulik lengde og dermed gi spesifikke mønstre ved elektroforese for ulike arter.

9. Se tabell 9.2.

10. A. b.

B. a.

11. A. b.

B. b.

Kapittel 10 Fysiologisk og fylogenetisk mangfold blant de prokaryote mikroorganismene

1. **De anoksiske fototrofe bakteriene** er anaerobe fotosyntetiske bakterier som ikke kan benytte vann som elektrondonor, men isteden benytter H_2 , Fe_2^+ eller H_2S som elektrondonor. Eksempler er Purpur ikke-svovelbakterier (*Rhodospirillum*), Purpur svovelbakterier (*Chloromasticum*), Grønne svovelbakterier (*Chlorobium*), og Grønne ikke-svovelbakterier (*Chloroflexus*).

2. Se tabell 10.1.

3. **Felles:** Bakterieklorofyll og evnen til å fikse CO_2 .

Ulikheter: Anoksiske benytter H_2 , Fe_2^+ eller H_2S som elektrondonor i fotosyntesen. Cyanobakteriene bruker H_2O .

Anoksiske har fotosystem I, cyanobakteriene både fotosystem I og II.

Anoksiske har bakterieklorofyllet i rikt foledede utvekster av cytoplasmamembranen. Cyanobakteriene har bakterieklorofyllet i tylakoider. Noen cyanobakterier kan fikse nitrogen.

4. Fordi de fleste har pigmenter som kalles fytybiler som har en blå-grønn farge.

5. Frittlevende **nitrogenfikserere** (*Azotobacter*, *Klebsiella*)

Nitrifiserende bakterier (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*). Denitrifiserende bakterier (*Pseudomonas*), Ammonifikasjon (de aller fleste bakteriene). Assimilasjon av ammonium og nitratassimilasjon (de aller fleste bakteriene).

6. **De jernreducerende bakteriene** benytter oksiderte metaller som Fe^{3+} som elektronakseptor og kobler dette med oksidering av H_2 eller en organisk forbindelse. De fleste er heterotrofe selv om de teoretisk kunne vært autotrofe. **De jernoksiderende bakteriene** skaffer seg energi ved å oksidere toverdige jern (Fe^{2+}).

Hydrogenbakteriene benytter H_2 som elektrondonor og oksygen som elektronakseptor.

7. Det var rik tilgang på H_2 tidlig i jordens liv. H_2 -metabolisme krever relativt få enzymer.

8. Felles er at de kan benytte organiske forbindelser uten en kovalent C-C binding som karbon- og energikilde. Bare de metanotrofe kan benytte metan.

9. De vil redusere utslipp av metan fra anaerob jord og dette vil redusere tilførsel av metan til atmosfæren som er en sterk drivhusgass.

10. *Bdellovibrio* kan parasitere andre bakterier.

11. **Myxobakteriene** kan parasitere andre bakterier.

De har meget store genomer til å være i domene *Bacteria*.

De har den mest kompliserte livsformen inne bakteriene ved at de kan gå sammen og danne fruktlegemer med relativ komplisert morfologi.

12. **Spirillene** beveger seg med en polar flagell.

Spiroketene har to flageller innenfor cytoplasmamembranene festet til hver sin pol. Når flagellene roterer i samme retning, beveger bakterien seg med en korketrekker-lik bevegelse.

13. **De termofile organismene** kan ha: Proteiner med flere alfaheliksstrukturer enn vanlig, og en mer hydrofob kjerne og hydrofil overflate.

Ikke-kovalente ionebindinger (saltbroer) på overflaten til proteinene.

Varmesjokkproteiner (chaperons) som hjelper til med refoldingen av delvis denaturerte proteiner.

De kan ha økt konsentrasjon av K^+ og kompatible organiske forbindelser som stabiliserer DNA.

De har med mer varmemestabile membran. Mange innen *Archaea* har lipid monolag som er mer stabile enn den mer vanlige dobbeltmembranen.

De med dobbeltmembran har mettede fettsyrer og lengre fettsyer i membranen.

14. Se kapittel 10.5.

15. Se kapittel 10.6.

16. *Enterobacteriales* er en relativt homogen fylogenetisk gruppe innen *Gammaproteobacteria*. De kalles entrobakterier fordi de lever inne i tarmene til dyr. De er fakultativt anaerobe, stavformede og, hvis mobile, peritrikt flagelert. De er oksigenase negative og katalase positive. De deles i to grupper; de med blandet syrefermentering (*Esherichia*, *Salmonelle*, *Proteus* og *Yersinia*), og de med 2,3-butandiolfermentering (*Entrobacter*, *Klebsielle* og *Serratia*).

17. De skilles først og fremst på oppbyggingen av celleveggen. De grampositive har en cellevegg som består av ca 90 % av mange lag med peptidoglukan og teichoinsyre. De gramnegative har en vegg som består av et tynt lag med peptidoglukan, et periplasmatiske rom med en gelliknende substans og en yttermembran som består av et dobbelt fosfolipid lag med Lipid A og en polysakkaridkjede med O-spesifikke polysakkadider.

18. **Mycoplasma** er celleveggløse bakterier med en forsterket cytoplasmamembran. **Cyanobakteriene** er aerobe fotosyntetiserende og mange av dem kan også fikse nitrogen. De fleste **mycobakteriene** er humanpatogene som *Mycobacterium tuberculosis*, årsaken til tuberkulose og *M. lepra* er årsaken til spedalskhet. De kan skilles fra andre bakterier på grunn av en spesiell vegg som kan detekteres ved syrefast farging.

19. *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* og *Bacteroidetes*

Kapittel 11 Eukaryote mikroorganismer

1. Se tabell 11.1.

2. **Protozoene** er komplekst oppbygd encellede eukaryotiske mikroorganismer. De er bevegelige, som regel uten cellevegg og de fleste er fargeløse. Protozoene er en svært evolusjonistisk mangfoldig gruppe. De kan leve som plankton i vann, i jord og noen er patogene på dyr og mennesker. De skaffer seg næring ved å spise andre organismer eller ta opp næringspartikler ved fagocytose.

3. **Chromistene** har klorofyll c og andre pigmenter som ikke er til stede hos plantene.

Kloroplast kommer opprinnelig fra en rødalge og er lokalisert i lumen til endoplasmatiske retikulum og ikke som i planter i cytosol. Chromistene har to flageller med ulik lengde.

De fleste **Diatomeene** (kiselalger) er mikroskopiske frittlevende alger i salt og ferskvann. Men noen er fastsittende på bunnen eller på planter. De har en indre pektinmembran og et ytre kiselskall. Kiselalgene er en matkilde for marine organismer.

Gullalgene er mikroskopiske organismer som er vanlig i ferskvann. Noen er fargeløse mens de fleste har gulbrun-gylden kloroplast. De lever fototrofe når det er tilgang på lys, men de fleste kan være fakultativt heterotrofe når det er mangel på lys og rik tilgang på oppløste næringsstoffer.

Eggsporesoppene (*Oomycetene*) likner morfologisk på ekte sopp, men på det cellulære og molekylære nivå er de mer lik planter.

Brunalgene er plantelignende alger som tang og tare. De inneholder klorofyll a og c og er derfor ikke klassifisert som planter.

Svepeflagelatene eller **kalkflagellatene** er encellede alger som har to flageller med ulik lengde og en organell kalt haptonema. De er blant de vanligste fytoplanktonene i havet, hvor flere av de lager toksiner som kan drepe fisk.

Silicoflagelatene er marine encellede alger med kiselskall som kan leve både fototroft og heterotroft.

Gulalgene kan leve hovedsakelig i ferskvann. Kloroplasten inneholder klorofyll a og c pluss karotener. Celleveggen består av cellulose og hemicellulose.

4. De **cellulære slimsoppene** (*Acrasimycota*) lever i jord på døde planterester som encellede amøber, men kan gå sammen og danne snegleliknende agragater som utvikler seg til cellulære trådformede fruktlegemer som produserer haploide sporer. Haploide sporer kan smelte sammen og danne makrocyster som frigjør haploide amøber.

De **acellulære slimsoppene** (*Myxomycota*) er haploide amøber som kan smelte sammen og danne diploide multicellulære plasmodier (en masse av cytoplasma som inneholder mange kjerner inne i en felles cytoplasmamembran). Plasmodiene kan bevege seg ved hjelp av cytoplasmatiske strømninger som en stor amøbe. De kan overleve tørke ved å danne tykkveggede overlevelsesstrukturer kalt sklerotier. Mange livnærer seg av bakterier. Noe som *Plasmodiophora brassicae* (klumprot organismen på kålvekster) er intercellulære parasitter på planter. Andre kan parasitere sopp og alger.

5. b.

6. Korrekte påstander er a, c, d, e.
7. **Sopp** kalles for osmotrofe fordi de mangler munn og må derfor bryte ned organisk næring (karbohydrater, proteiner og fett) til monomerer som kan tas inn gjennom celleveggen og cytoplasmamembranen.
8. Se kapittel 11.4 og tabell 11.2.
9. a. **Mycelsoppen** karakteriseres av trådformede hyfer. **Gjær** er runde/ovale encellede organismer.
- b. Ja, noen gjær kan også under visse forhold danne hyfer. Disse kalles for dimorfiske sopper.
- c. **Rhizomorfe** dannes ved at mange hyfer går sammen og danner en rotliknende kompakt streng. Rhizomorfe kan transportere næring frem til den hyfespissen som leter etter næring. På denne måten kan soppen vokse fra et næringsrikt miljø til et næringsfattig miljø for å finne ny næring.
10. Se kapittel 11.4 og tabell 11.3.
11. Se tabell 11.3. Konidiesporer er aseksuelle.
12. Fordi ved å skille ut penicillin, vil den svekke konkurransen om næring fra bakteriene i omgivelsene.
13. **Lav** er primerkolonisatorer ved at de er de første som kan etablere seg når nytt land frigjøres. Det skyldes at fotobionten (algen eller cyanobakterien) kan fikse CO₂ og soppen kan feste laven til uorganiske overflater og løser ut mineraler fra substratet den vokser på. Hvis fotobionten er en cyanobakterie, kan den også fikse nitrogen fra lufta.
14. **Sopp** har mange roller i naturen ved at de er veldig tilpasningsdyktige og kan konkurrere om de fleste næringsstoffene med andre mikro- og makroorganismer. De er de viktigste nedbrytere av dødt organisk materiale. Noen kan danne mycorrhiza (sopprot) med planter som hjelper plantene med opptak av mineraler og vann.
15. Gjærformen er fordelaktig i næringsrike omgivelser, mens hyfeformen er fordelaktig i næringsfattige omgivelser.
16. **Mycorrhiza** er en symbiotisk assosiasjon mellom en sopp og roten til en plante. **Endomycorrhiza**-soppene trenger inn i rotcellene og danner forgrenede strukturer inne i rotcellene som kalles arbuskuler og som er omsluttet av plantecellens cytoplasmamembran. Vi finner endomycorrhiza soppene på de fleste urteaktige plantene.
- Ektomycorrhiza**-soppene trenger ikke inn i rotcellene men lever mellom plantecellene og soppen danner et hylster (mantel) utenpå røttene til trær.

Fordelen for planten er at de får bedre tilgang på mineraler (hovedsakelig fosfor) og vann.

Sopp kan brukes til bioremediering og produksjon av soyasaus.

Trichoderma-soppen benyttes i biologisk kontroll av sykdommer og til produksjon av cellulase.

18. **Symbiose:** Samliv mellom to ulike organismer eller populasjoner. Eksempel: Mycorrhiza og planter og *Rhizobium* og belgvekster.

Parasittisme: En organisme snylter på en annen. Eksempel: Alle virus er obligate parasitter. *Corynebacterium diphtheria* som parasitterer og gir sykdom (difteri) på mennesker.

Mutualisme er et samliv hvor begge parter har fordeler. Eksempler Lav = samliv mellom sopp + alge eller cyanobakterie. Vomma hos drøvtyggere hvor bakterier bryter ned cellulose til fettsyrer, døde bakterier gir proteiner og protozoer holder bakterieantallet i sjakk.

Kapittel 12 «De ekstra små» virus og infeksjose partikler

1. Virus har et absolutt krav til en vertscelle for at den skal kunne formere seg.
2. 1. Inneholder enten DNA eller RNA.
2. Har en proteinkappe rundt sitt arvemateriale.
3. Formerer seg inne i en vertscelle.
4. Fører til dannelse av et viron, en komplett utviklet viruspartikkel som beskytter og kan overføre nukleinsyren til en annen vert.
3. Se kapittel 12.2 og tabell 12.1.
4. Virus kan bare vokse i levende celler, derfor kan de ikke dyrkes på et næringsmedium.
Plantevirus kan dyrkes i en cellekultur av mottakelige planteceller.
Dyrevirus kan dyrkes i befruktete egg, i levende forsøksdyr eller i en cellekultur av celler fra en mottakelig vert.
Humane virus kan dyrkes i en cellekultur av humane celler for eksempel i HeLa celler.
Å dyrke bakteriofager er enkelt hvis man kan dyrke vertsbakterien på et kunstig medium. De kan da dyrkes på en «plen» av en mottakelig bakterie.
5. Se kapittel 12.3. For bakteriofager kan man lage en fortyningsserie av viruset og så spre de på en «bakterieplen» med en mottakelig bakterie og telle antall plaque.
6. Se kapittel 12.5.
7. Ved generell transduksjon er det helt tilfeldig hvilken del av bakteriens DNA som tas inn i og overføres med bakteriofagen til den nye bakterien den infiserer. Ved spesialisert transduksjon er det bare den delen av DNA som er på den ene eller den andre siden av den profagen hadde gått inn i bakteriegenomet, som kan overføres til en ny bakterie.
8. Bakterier bruker CRISPR-systemet til å beskytte seg mot virusinfeksjon, de opparbeider seg immunitet. Dette systemet ligner menneskets adaptive immunitet, der antistoffer og «huskeceller» dannes mot tidligere infeksjoner.

9. Cas-proteiner spiller en nøkkelrolle i dannelsen av minnebanken og immunitet. Disse proteinene gjenkjenner en spesifikk DNA-sekvens, kjent som PAM-sekvens (Protospacer Adjacent Motif), når viruset injiserer DNA i organismen. Cas-proteinene klipper virus-DNAet nær PAM-sekvensen og setter inn den utklippede sekvensen i CRISPR-lokus som en ny spacer, som deretter blir permanent innlemmet i organismens genom. Ved neste virusangrep kan bakterien bruke spaceren til å gjenkjenne og angripe viruset før det kan infisere bakterien. Hvis et virus sprøyter DNA som matcher en av spacer-sekvensene, vil det bli gjenkjent og det fører til at Cas-enzymet (Cas9) kutter det innkommende DNAet. Klippingen av virus-DNAet hindrer replikasjonen og forhindrer dermed invasjonen skade av viruset.

10. e.

11. a, b, og c.

12. Se figur 12.14.

13. Retrovirus er virus med RNA genom men ulik andre RNA-virus har de et DNA mellomstadium som en del av replikasjonszyklusen. Retrovirus går mot den vanlige informasjonsflyten i cellen som er DNA-mRNA-protein og har isteden informasjonsflyten ssRNA-ssDNA-dsDNA-mRNA-protein.

14. Når E6 og E7 genene settes inn i vertsgenomet vil genproduktet (proteinene) nøytralisere tumorundertrykkende proteiner i vertsceller som hemmer ukontrollert cellevekst og kreftutvikling. Det finnes også gener på viruset som holder uttrykket av E6 og E7 i sjakk, E1 og E2, men disse forsvinner ved integrering av HPV i verts-DNA, og dermed oppheves denne begrensningen. Dermed får E6 og E7 fritt spillerom.

15. For at satRNA skal kunne replikere, må den ha hjelp av et såkalt hjelpevirus som må være til stede i cellen samtidig. Satellitt-RNA bruker enzymene og proteiner som produseres av hjelpeviruset for å kopiere seg selv.

Kapittel 13 Antimikrobielle forbindelser

1. De **antimikrobielle midlene** som benyttes som medisin til mennesker og dyr bør helst ha: 1) Selektiv toksisitet, 2) Ikke føre til hypersensitivitet eller andre bivirkninger, 3) Ikke stimulere utvikling av resistens og 4) Ikke skade normal mikroflora.

2. Vi kan dele virkningsmekanismene til antimikrobielle forbindelser i fem grupper.

Gruppe 1 hemmer celleveggsyntesen, eksempel Penicillin.

Gruppe 2 inhiberer proteinsyntesen ved å hemme translasjonen på ribosomene, eksempler er tetrasyklin og kloramfenikol.

Gruppe 3 inhiberer replikasjon og transkripsjon på DNA, eksempler er quinoloner og rifampin.

Gruppe 4 ødelegger funksjonen til cytoplasmamembranen. Polymyxin B virket på bakteriemembraner, mens andre ødelegger funksjonen til soppmembraner ved å binde seg spesifikt til ergosterol.

Gruppe 5 vekstfaktoranaloger, hemmer syntesen av forbindelser organismen må ha ved å ta plassen til et substrat i en metabolsk sti, slik at det riktige molekylet ikke blir dannet.

3. a. **Resistens mot antibiotika** er mangel på sensitivitet hos en mikroorganisme mot denne forbindelsen. Resistens kan utvikles når organismen blir konstant eksponert for middelet.

b. Mikroorganismene produserer spesifikke enzymer som kan splitte antibiotika-molekylet til en inaktiv form, for eksempel penicillinase.

Sykdomsorganismen forhindrer at antibiotikumet kommer frem til målet. Et eksempel er at de gram-negative bakteriene kan lukke porinene i yttermembranen.

Mikroorganismen modifierer målet for antibiotikumet.

Mikroorganismen har effektive pumper som fører til at antibiotikumet ikke oppnår tilstrekkelig konsentrasjon inne i cellen.

En genetisk forandring (mutasjon) i den patogene mikroorganismen forandrer et metabolsk spor som ikke inkluderer det trinnet antibiotikumet blokker.

c. Utviklingen av resistens kan reduseres ved å bare bruke forbindelsen når det er nødvendig, overforbruk og feil bruk er viktige drivere av antibiotikaresistens. Følg anvisningen til legen.

4. Ved bruk av to antimikrobielle midler med ulike virkningsmekanismer, kan man redusere faren for utvikling av resistens og ha fordel av den synergistiske effekten ved at dosene kan reduseres. Dette reduserer også faren for bivirkninger. Et problem som må unngås er å kombinere medisiner som sammen har en antagonistisk effekt (motvirker hverandre).

5. ESKAPE er bakteriene *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Enterobacter* spp. Disse kan være svært virulente og er ofte resistente mot flere typer antibiotika.

6. De spres ofte ved konjugasjon eller transformasjon.

7. a.

8. **Kjemoterapi** er behandling av infeksjonssykdommer eller kreft med kjemiske preparater eller antibiotika.

Antibiotika (klassisk definisjon) er en kjemisk substans produsert av mikroorganismer og som dreper eller hemmer veksten til andre mikroorganismer i svært lav konsentrasjon.

Selektiv toksisitet er en egenskap til noen antimikrobielle forbindelser ved at de er toksiske for mikroorganismer, men ikke toksisk for verten.

9. a. **Penicillin** ble oppdaget av Alexander Fleming i 1928. Han dyrket *Staphylococcus aureus* på agarskåler og fant at rundt en forurensning med en sopp var det en sone hvor det ikke vokste bakterier. Han forsto at soppen måtte skille ut en forbindelse som hemmet veksten av denne humanpatogene bakterien.

b. Penicillin hemmer bakteriecelleveggsyntesen ved å forhindre at det dannes peptidkjeder mellom peptidoglykankjedene i en bakterie som deler seg. Dette fører til at veggen blir så svak at bakterien sprekker.

c. Semisyntetisk penicillin er et naturlig penicillinmolekyl som er kjemisk modifisert utenfor beta-laktam kjernen. Man lager semisyntetisk penicillin enten for å gjøre de resistente mot nedbrytning av penicillinase, at de kan tas oralt (ikke brytes ned i magesekken) eller øke virkningsområde til å dekke både gramnegative og grampositive bakterier.

10. Et **bredspektret antibiotika** virker både mot grampositive og gramnegative bakterier. Et **smalspektret antibiotika** virker bare mot en smalere gruppe bakterier. Fordelen med et smalspektret antibiotika er at det bare hemmer noen bakterier og ikke mange andre bakterier i tarmen som er nytteorganismer for oss. Bredspektret antibiotika benyttes bare når man ikke vet hvilken bakterie som er årsaken til sykdommen.

11. **Antibiotikaet** må hemme den patogene mikroorganismen. Den må ha minst mulige bivirkninger. Den må være stabil ved lagring i romtemperatur og må kunne produseres i stor skala.

12. Fordi virus er avhengige av den eukaryote vertens cellemaskineri, er det vanskelig å hemme viruset uten å skade verten. Sopp og protozoer har den eukaryote celletypen. Derfor vil de fleste midlene som hemmer sopp og protozoer også kunne hemme celler i den eukaryote verten.

13. **Penicillin** blokkerer celleveggsyntesen. Streptomycin påvirker 30S RNA, som fører til feilavlesning av mRNA hos prokaryoter. Cycloheximid hemmer eukaryot proteinsyntese.

Kapittel 14 Mikrobiell økologi

1. **Økologi** er studiet av organismer i sine naturlige omgivelser (inkluderer kjemiske, fysiske og biologiske faktorer).

2. 1) Primærprodusentene, 2) Konsumentene, 3) Nedbryterene.

3. a. Prinsippet er at det utvikles et økosystem med utgangspunkt i slam tilsatt en karbonkilde, for eksempel cellulose, kalsiumkarbonat og eventuelt kalsiumsulfat hvis ikke slammet er rikt på sulfat. Kolonnen plasseres i lys, men ikke i direkte sollys. Mikrobiell aktivitet fører til at det utvikles både aerobe soner og anaerobe soner som vil anrike ulike mikroorganismer.

På toppen utvikles det enten mikroalger eller cyanobakterier som produserer oksygen, mens lenger ned i kolonnen blir det anaerobe forhold. De anaerobe bakteriene produserer H_2 , organiske syrer og alkoholer. Er det sulfat til stede, vil det også utvikles sulfatreduserende bakterier. Disse produserer H_2S som stimulerer veksten av anoksiske fototrofe purpur og grønne svovelbakterier.

b. Anrikning av organismer fra ekstreme omgivelser utføres ved å overføre en jord- eller vannprøve fra et økosystem til en Winogradsky-kolonne og plassere den i et fysisk miljø som tilsvarer de ekstreme omgivelsene man vil studere.

4. **Metagenomikk** er å finne og karakterisere den totale mengden DNA i en prøve (sekvensering). Slik får man oversikt over organismene som er til stede.

Metatranskriptomikk er måling av hele populasjonens genekspressjon ved bruk av RNA sekvensering.

Metaproteomikk er måling av hele populasjonens proteinproduksjon ved bruk av massespektroskopi.

Fordelen med metagenomikk i forhold til kulturbaserte teknikker er at man kan studere diversiteten i et økosystem selv om man ikke klarer å isolere og dyrke alle organismene på laboratoriet.

5. a. Man kan benytte mikrosensorer for å måle pH og konsentrasjonen av H_2 , O_2 , CO_2 , NO_2^- , NO_3^- , N_2O , og H_2S i et økosystem for eksempel i en biofilm.

Ved bruk av radioisotoper (radioaktive isotoper) har man en meget følsom måte å måle mikrobiell aktivitet på. Man kan for eksempel måle lysavhengig optak av radioaktivt karbondioksid ($^{14}CO_2$) av fotoautotrofe organismer eller reduksjon av $^{35}SO_4^{2-}$ til $H_2^{35}S$ i marine sedimenter eller måle frigjøring av $^{14}CO_2$ fra ^{14}C merket organisk materiale.

b. Noen av reaksjonene som kan måles med bruk av radioisotoper kan skyldes abiotiske prosesser. For å unngå dette må man ha en negativ kontroll hvor alle organismene er drept. Det kan for eksempel gjøres ved å tilsette 4 % formalin til prøven som vil drepe alle mikroorganismene. Aktiviteten i denne prøven må så trekkes fra resultatene fra den «levende» prøven.

6. Se svar på forrige spørsmål.

7. De må ha tilgang på alle grunnstoffene som cellen består av. De må ha tilgang på en energikilde og vann. Avhengig av om de er aerobe eller anaerobe må de ha / ikke ha tilgang til oksygen. Temperatur og pH må også være innenfor det området hvor organismen kan vokse.

8. **Symbiose** er tett samliv mellom organismer av ulike arter.

Parasittisme er der en av artene har en fordel av dette samlivet, mens det er til mer eller mindre skade for verten.

Mutualisme, symbiose der begge parter har fordel av samlivet.

9. Mesteparten av karbonet på jorda er bundet i dødt organisk materiale og fossilt karbonrikt materiale, for eksempel olje. Gjennom respirasjonen til mikroorganismer, planter og dyr dannes CO_2 ved nedbryting (oksidasjon) av organiske molekyler. Det frigjorte CO_2 vil igjen bindes ved at det syntetiseres til organiske molekyler (karbohydrater) i alger, cyanobakterier og planter samt noe av autotrofe bakterier. I siste tiårene har menneskelig aktivitet gjennom forbrenning av olje, kull og gass gjort at nettotilførselen av CO_2 i atmosfæren øker. Dette fører til at temperaturen på jorda stiger som følge av drivhuseffekten. Se også figur 14.2.

10. a. Se kapittel 14.3.

b. Nitrifikasjon er en aerob prosess mens denitrifikasjon er en anaerob prosess. Ved nitrifikasjon skjer det en oksidasjon som frigjør energi, slik at nitrifikasjonsbakteriene kan fikseres CO_2 , de er kjemoautotrofe.

Ved denitrifikasjon blir nitrat, nitritt, nitrogenmonoksid og lystgass benyttet som elektronakseptorer og ender til slutt som N_2 .

11. *Nitrosomonas* oksiderer NH_4^+ til nitritt (NO_2) som *Nitrobacter* oksideres videre til-nitrat (NO_3^-). Comammox-bakterier kan utføre hele denne prosessen, altså i en og samme bakterie, fra ammoniakk til nitrat.

12. **Nitrogenfiksering** er en metabolsk prosess hvor molekylært nitrogen (N_2) reduseres til ammonium ($N_2 + 8H^+ \rightarrow 2NH_3 + H_2$) ved hjelp av enzymkomplekset nitrogenase. Dette føret til at det blir mer tilgjengelig nitrogen for vekst.

Ingen Eukaryoter og bare noen få prokaryoter (frittlevende og symbiotiske) kan fikserer nitrogen.

Utfordringen for de aerobe er at de må beskytte nitrogenasen mot oksygen, og for de frittlevende å skaffe seg nok energi til å drive prosessen.

13. Se kapittel 14.3.

14. De lager et gunstig miljø for *Rhizobium* bakteriene slik at de kan fikserer nitrogen. En bakterioide er den formen *Rhizobium* omdannes til når den lever i rotknollene og har da ikke cellevegg slik at cellene får en irregulær form. Bakteroidene kan ikke dele seg. Leg hemoglobin regulerer oksygentilgangen slik at det er nok oksygen til at bakteroidene kan gjennomføre aerob respirasjon og det hindrer samtidig at nitrogenasen ikke blir ødelagt av oksygen.

15. **Cyanobakterier**; Med sopp er de fotobionten og nitrogenfiksereren i lav. Med algen *Azolla* fikserer de nitrogen. **Mycorrhiza**, er sopp som vokser inn i (endomycorrhiza) eller utenpå røttene (ektomycorrhiza) til planter og øker plantenes opptak av mineraler og vann. ***Rhizobium*** fikserer nitrogen i rotknollene til leguminosene. ***Frankia*** lever i rotknollene til trær, først og fremst or, men også i røttene til andre planter hvor de fikserer nitrogen.

16. Hadde mikroorganismer mer effektivt kunne resirkulert plast på lignende måte som annen biomasse, ville plastavfall ikke vært et så stort problem. Da ville karbonet i plast gått inn i næringskjeden igjen.

17. **Biodegradering** er nedbrytning av komplekse kjemiske forbindelser i en biologisk prosess. **Bioremediering** er bruk av mikroorganismer til å bryte ned forurensing. **Bioaugmentasjon** er at man tilsetter mikrober på forurensingsstedet som man vet kan bryte ned forurensningen til ufarlige stoffer, dette kan også være genetisk modifiserte organismer (GMO). **Kompostering** er en metode for å behandle fast organisk materiale som regel plantemateriale, ved å stimulere den mikrobielle nedbrytningen.

18. Sørge for riktig C/N forhold (ca. 30) ved å for eksempel gjødsle komposten med kalksalpeter ($CaNO_3$) og gi tilgang på nok luft (oksygen) ved å spa om komposten.

19. Mangel på næring og konkurranse fra andre mikroorganismer.

20. Kjemikerne kobler klor til organiske forbindelser for å gjøre de mer resistente mot nedbrytning. Dette skyldes at de fleste mikroorganismer ikke har enzymer til å unytte disse molekylene. Miljøeffekten er at det tar mye lenger tid å få brutt ned disse forbindelsene enn de naturlige uklorerte forbindelsene. Dette fører til forurensning av miljøet.

21. **Det første trinnet** fjerner fysisk faste stoffer og partikulært organisk materiale. Økt utfelling oppnås ved å tilsette til kjemikalier som aluminiumsulfat eller anioniske polymerer.

Det sekundære rensetrinnet kan foregå aerobt eller anaerobt. Ved aerob rensing er det brukt tre metoder. Det enkleste er å blåse luft inn i store basseng som vannet strømmer sakte gjennom for å få en aerob nedbrytning av det oppløste organiske materialet. En mer effektiv metode er kraftig innblåsing av luft i triklingfiltere hvor bakteriene i en biofilm på steinlaget bryter ned det organiske materialet.

Den tredje metoden er ved hjelp av aktivt slam-prosessen hvor man har kraftig innblåsing av luft og poder med en kultur fra prosessen (aktivt slam).

Det anaerobe rensetrinnet foretas i store anaerobe rensetårn.

Det tertiære rensetrinnet er en fysiokjemisk eller biologisk prosess som kan inkludere bioreaktorer, utfelling, filtrering, tilsetning av klor eller behandling med UV og ozon (O₃). Dette er behandling som kan lede til drikkevannskvalitet, men er meget kostbar og derfor relativt lite brukt i Norge.

22. **BOD** (biochemical oxygen demand) er et mål på mengden oksygen som mikroorganismene bruker under standardbetingelser ved å oksidere det organiske materialet i en vannprøve. Måles for å kunne bestemme om det er rent nok til å slippes ut i naturen uten å føre til eutrofiering.

23. **Drivhuseffekten** skyldes at økt konsentrasjon av CO₂ og metan i atmosfæren fører til at mer av varmen som strømmer ut fra jordoverflaten reflekteres tilbake (ikke slipper ut av atmosfæren), og dette fører til økt temperatur på jorda. Årsaken til økt konsentrasjon av CO₂ er blant annet økt forbrenning av fossilt materiale (kull, naturgass, olje), som frigjør mer CO₂ enn det som blir fiksert av fotosyntetiske og autotrofe organismer.

Kapittel 15 Anvendt og industriell mikrobiologi

1. **Pasteurisering** dreper de fleste patogene og de som raskt kan ødelegge næringsmidlet.
2. For å drepe endosporedannende bakterier hovedsakelig *Clostridium*.
3. Ved pakking i kontrollert atmosfære av for eksempel kjøttprodukter, tilsetter man en gassblanding av nitrogen, CO₂ og eventuelt litt oksygen inn i en lukket emballasje. Det fører til at den biologiske omsetningen i produktet reduseres og mikroorganismene hemmes – lengre holdbarhet. For frukt og vegetabilier som respirerer er det ikke nødvendig å tilsette en gassblanding. Her benytter man en film som er tilpasset produktets respirasjon slik at man oppnår en CO₂-mengde inne i emballasjen som hemmer mikrobiell aktivitet.
4. Se kapittel 15.2 og 15.3 og tabell 15.1.
5. Se kapittel 15.3.
6. Se kapittel 15.3.
7. Se faktarute kapittel 15.5.
8. Primære metabolitter produseres samtidig som det produseres nye celler, altså under veksten, mens de sekundære produseres i sen eksponentiell fase eller i stasjonær fase. Eksempel på en primær metabolitt er etanol, og på en sekundær *Penicillin*.
9. c.
10. d.

11. **Industriell mikrobiologi** er hvor man benytter mikroorganismer til å produsere produkter eller til å bidra i en kjemisk prosess. I industriell mikrobiologi lages det for eksempel:

1. **Antibiotika** som produseres som en sekundær metabolitt av utvalgte mikroorganismer. Antibiotika-molekylet har ofte så komplekse kjemiske strukturer at det er mer effektivt (rimeligere) å la mikroorganismene lage antibiotika enn å fremstille de ved komplekse kjemiske synteser.

2. **Enzymer** som benyttes for eksempel i vaskemidler eller i industrielle prosesser.

3. **Fermentering** av matvarer slik at de får ønsket smak og/eller økt holdbarhet, for eksempel yoghurt og ost.

4. Prosesser som avgifter forurensning.

12. Målet med sterilisering i sykehus og på laboratoriet er å oppnå fullstendig sterilisering. I kommersiell sterilisering er målet å eliminere matødeleggere og sykdomsfremkallende mikroorganismer. Begge har som mål å hindre sykdom fra mikroorganismer.

13. Melk tilsettes melkesyre bakterier og løype og det gjør at melkeproteinene og mye av fettene koagulerer og felles ut. Denne ostemassen skjæres opp i biter og veskefasen (mysen) separeres fra ostemassen ved pressing. For harde oster kuttes ostemassen opp i små biter for å fjerne mye myse, for bløte ostetyper kuttes den opp i større biter. Harde oster modnes ved anaerob vekst av melkesyre bakterier og eventuelt propionsyre bakterier. Bløte oster modnes med sopp, hovedsakelig *Penicillium* arter.

14. Næringsstoffene må løses i vann. Vannet er også nødvendig for hydrolysen av stivelsen. Malt er karbon og energikilden som dannes ved spiring av kornet. Under spiringen av kornet vil amylasen først bryte ned mye av stivelsen til oligosakkarider og glukose. Gjæren omdanner glukosen til etanol. Humlen tilsettes for å gi smak og som konserveringsmiddel (hemmer vekst av bakterier).

15. En **bioreaktor** har følgende fordeler fremfor en enkel tank.

- Man kan dyrke i større kulturvolumer.
- Bioreaktoren har prosessinstrumenter som gjør at man kan måle og kontrollere kritiske parametere som temperatur, pH, mengde oppløst oksygen samt oksygentilgang og omrørings hastighet.
- Sterilisering og vask av utstyret kan gjøres på stedet.
- Optimal lufting og omrøring resulterer i bedre cellevekst og høyere celletall (celletetthet).
- Man kan enkelt gjøre aseptisk prøvetaking og høsting av kulturen.
- Det er enklere å sikre at prosessen går som planlagt.

Kapittel 16 Patogenitet og immunologi

1. **Patogenitet** er en sykdomsfremkallende (patogens) evne til å forårsake en sykdom. **Virulens** er graden av patogenitet til en organisme.

2. c.

3. **Betennelse** (inflammasjon) er kroppens respons på skade. De karakteristiske symptomene er rødfarging, smerte, varme og opphovning.

4. **Normalfloraen** er den bakteriefloraen som er naturlig til stede i og på kroppen. Kan beskytte mot infeksjon blant annet ved at den opptar plass og bidrar til et stabilt miljø som er vanskelig å komme inn i for utenforstående organismer.
5. **Bakteriene i tykktarmen** bryter ned maten slik at næringsstoffene kan absorberes. De produserer blant annet vitamin B₁₂ og vitamin K. Steroider fra leveren blir omdannet til bioaktive steroider. Bakteriene (normalfloraen) beskytter også mot patogene mikroorganismer og forhindrer derved sykdom.
6. **Det medfødte immunforsvaret** trer raskt i funksjon når kroppen kommer i kontakt med fremmede organismer som må bekjempes. **Det adaptive immunforsvaret** trer i funksjon når fremmede mikroorganismer invaderer kroppens vev.
7. **Antistoffer** er løselige glykoproteiner som produseres av B-celler og plasmaceller når de kommer i kontakt med et antigen. Antistoffene er bygd opp av to lange og to korte polypeptidkjeder. De reagerer spesifikt med antigenene. Antistoffene kan blokkere interaksjonen mellom den patogene organismen eller dens produkter og verten. Andre kan binde og avgifte toksiner. Binding av antistoffer kan også føre til antistoffavhengig celledrap ved hjelp av komplement, makrofager og nøytrofile granulocytter.
8. **Antigener** er spesifikke molekyler eller molekylstrukturer som er blitt gjenkjent av antigenreseptorer på B- og T-lymfocytter. Denne kontakten stimulerer veksten av spesifikke B- og T-celler som kan være i kroppen i mange år.
9. **Cytokiner** er små løselige peptider som frigjøres fra T-celler, nøytrofile granulocytter, NK-celler og makrofager når kroppen angripes av mikroorganismer. De virker som signalproteiner og kan regulere funksjonen til andre celler. De kan indusere feber, stimulere leveren til å danne akutfaseproteiner og de kan dirigere nøytrofile granulocytter og makrofager til infeksjonsstedet.
10. En person som har blitt frisk har antistoffer mot patogenet slik at hen er immun mot denne sykdommen.
11. Et **endotoksin** er en del av LPS (lipopolysakkarider) som er en del av yttermembranen til noen gramnegative bakterier. Lipid A delen i LPS har en toksisk effekt. Denne delen er skjult inne i membranen når bakterien er levende, men når den dør frigis dette og Lipid A blir eksponert og kan ha en toksisk effekt.

Eksotoksin er toksiner som skilles ut av noen grampositive bakterier. Det er tre typer eksotoksiner; cytotoxiner ødelegger permabiliteten til membranen, AB-toksiner virker inne i celler hvor det er A-subenheten som er toksisk og superantigentoksiner som overstimulerer immunforsvaret.
12. **Fagocytter** er en gruppe immunceller som kan gjenkjenne, ta inn og bryte ned patogene organismer. **Lymfocytter** er en undergruppe av de hvite blodlegemene som deles i tre grupper som har forskjellige oppgaver i immunforsvaret: B-celler, T-celler og naturlige drepeceller.
13. Ved å **vaksinere** med å injisere et svekket patogen, en mutant av patogenet eller en forbindelse som er produsert av patogenet, vil det adaptive immunsystemet produsere antistoffer som leder til utvikling av hukommesceller. Ved senere smitte med denne sykdomsorganismen vil disse hukommescellene raskt initiere ny antistoff-produksjon som fører til at vedkommende ikke blir syk.

14. **Epidemiologi** er studiet av forekomst, spredning og sykdomsårsak i en populasjon. **En endemisk sykdom** er sykdom som opptrer bestandig i et lite antall av populasjonen. **En epidemi** er en sykdom som smitter mange. **En pandemi** er en epidemi som sprer seg til hele verden.

15. **Kliniske symptomer** på en infeksjon kan deles i 5 stadier. 1. Infeksjon, 2. Inkubasjonsperioden, 3. Akuttperioden, 4. Minskning i symptomene og 5. Rekonvalesensperioden.

16. **Zoonoser** er infeksjonssykdommer hovedsakelig på dyr, men hvor patogenet også kan føre til sykdom på mennesker.

Kapittel 17. Molekylærbiologiske metoder

1. I en PCR-reaksjon amplifiseres (kopieres) en spesifikk del av en DNA-sekvens (polymerisering).

2. De tre trinnene er denaturering, annealing (hybridisering) og enlongering (polymerisering). De ulike stegene beskrives i figur 17.2.

3. En PCR-reaksjon må bestå av mange sykluser fordi hver syklus doubler mengden av det spesifikke DNA-fragmentet som kopieres. Ved å gjennomgå mange sykluser, kan en liten mengde DNA kopieres til mange nok kopier til å kunne analyseres eller brukes videre.

4. Fordi det ble isolert en varmestabil polymerase fra denne bakterien, som «overlever» de høye temperaturene i en PCR-reaksjon. I dag benyttes mange andre polymerase med liknende egenskaper i PCR.

5. Se kapittel 17.1 Sekvensering av DNA og RNA.

6. Små mengder **dideoksybaser** tilsettes i Sanger-sekvensering for å avslutte forlengelsen av DNA-tråden under kopiering. Når dideoksybasene inkorporeres istedenfor de vanlige basene, dannes DNA-kjeder med ulike lengder som kan separeres og analysert for å bestemme sekvensen av det opprinnelige DNA. Dette skjer fordi det ikke er mulig å koble til en ny vanlig base (ATP, GTP, CTP, TTP) til dideoksybaser.

7. Andre generasjons sekvenseringsteknologier som 454-pyrosekvensering og Illumina-sekvensering kalles «sekvensering-ved-syntese» fordi de bruker en metode der DNA-polymerase syntetiserer en ny DNA-tråd basert på DNA-templatet (altså det som skal sekvenseres). Under denne prosessen inkorporeres basespesifikke markører (dideoksybaser) i den nye DNA-tråden, noe som gir et unikt signal for hver base som blir lagt til. Dette signalet blir registrert og brukt til å bestemme DNA-sekvensen til fragmentet som skal sekvenseres. Se også figur 17.6.

8. Ved sekvensering av et helt genom oppnår man ofte mange korte DNA-fragmenter eller «reads». For å konstruere det fulle genomet, brukes dataanalyseverktøy til å sette sammen disse fragmentene i riktig rekkefølge, en prosess som kalles «assembly». Dette gjøres ved å identifisere og matche overlappende sekvenser fra de forskjellige fragmentene, som deretter legges sammen til lengre, kontinuerlige sekvenser (contigs). Disse contigs gir til slutt en oversikt over hele genomet. Se også figur 17.5.

9. Et open reading frame (ORF) er en sekvens av DNA eller RNA som har potensialet til å bli transkribert til mRNA og deretter oversatt til et protein. Den starter med en startkodon (vanligvis ATG), og slutter med en stoppkodon.
10. Når et gen er overlappende, betyr det at deler av DNA-sekvensen for ett gen også inngår i sekvensen til et annet gen. Uttrykket styres av en og samme promoter.
11. Antibiotikaresistensgenene i plasmider brukes som seleksjonsmarkører i genkloning. Når de transformeres til bakterieceller, tillater disse genene å selektere for de cellene som har tatt opp plasmidet, ved å eksponere dem for antibiotikumet som resistentgenet beskytter mot. Bare de cellene som har plasmidet med antibiotikaresistensgenet vil overleve, noe som gjør det enklere å identifisere de ønskede klonene.
12. Gjær er ofte effektive til å sekretere proteiner ut av cellen, dette gjør opprensing av disse enklere. Dessuten kan de postranslasjonelt modifisere proteiner, det kan av til være viktig for å få et funksjonelt protein.
13. En **ekspresjonsvektor** er en type plasmid eller virus som er spesielt designet for å uttrykke et gen av interesse i en målorganisme. En «**shuttle-vektor**» er en type plasmid som er designet til å kunne replikere seg i to forskjellige organismer. Dette gjør det mulig å klonere et gen i en organisme (for eksempel en bakterie) og deretter overføre det til en annen organisme (for eksempel en gjær) uten å måtte klonere det på nytt. Det er ofte enklere å klonere inn gener i plasmider som kopieres i *E. coli* enn gjær, derfor «lager» en plasmidet først i *E. coli* før det ferdige plasmidet transformeres inn i gjær.
14. Den kan benyttes til å genmodifisere planter ved hjelp av dens naturlige mekanisme for genoverføring. *A. tumefaciens* har et plasmid kalt Ti-plasmid, som inneholder en sekvens kjent som T-DNA. Under en naturlig infeksjon, overføres T-DNA fra bakterien og integreres i plantens kromosom, og det uttrykkes deretter som en del av plantens eget DNA. Det er verdt å merke seg at denne teknikken kun fungerer på plantearter som naturlig kan infiseres av *A. tumefaciens*.
15. Genredigering er en genmanipulering hvor DNA blir endret, lagt til, eller fjernet i en DNA-sekvens og brukes ofte i forbindelse med bruk av CRISPR-Cas9-systemet.
16. Fordi CRISPR/Cas9 kan syntetisere (bestille) en sekvens som er komplementær til den spesifikke DNA-sekvensen på genomet som skal redigeres. En kan derfor velge hvilken som helst sekvens/område i et genom. Den syntetiske sekvensen, som benyttes kalles single guide RNA (sgRNA).
17. Da limes DNA-endene i bruddet sammen for å reparere. Dette er en upresis prosess og ofte settes/fjernes ekstra baser inn og vil dermed forstyrre en leseramme om det finnes i området og genet blir ødelagt.
18. Hovedforskjellen mellom ikke-homolog endesammenføring (NHEJ) og homologirettet reparasjon (HDR) er at NHEJ er en upresis mekanisme som fikser DNA-brudd ved å «lime» sammen endene, noe som kan medføre tilfeldige mutasjoner som punktmutasjoner, delesjoner eller innskudd. Mens HDR er en presis prosess som bruker et intakt, homologt DNA-stykke som en templat for å reparere bruddet, noe som gjør det mulig å nøyaktig fjerne eller sette inn spesifikt DNA. Denne metoden brukes i bioteknologi for målrettet genmodifisering.

19. **Genomikk** er å analysere den totale mengden DNA i en prøve. **Transkriptomikk** er studiet av det totale settet av RNA-molekyler, viktigst mRNA i en prøve/område/celle. Det kan gi informasjon om hvilke gener som blir uttrykt, i hvilken grad og på hvilke tidspunkter. **Proteomikk** er å studere proteomer, som er det komplette settet av proteiner i en prøve/område/celle. Dette omfatter identifikasjon, kvantifisering og karakterisering av alle proteiner i prøven.

20. For å finne **proteomet** i en prøve, ville jeg først startet med en bottom-up tilnærming. Først ville jeg hydrolysere eller kløyve proteinene i prøven til mindre fragmenter, vanligvis peptider, ved hjelp av trypsin. Deretter ville jeg brukt væskrokromatografi (LC) for å separere disse peptidene. Videre ville jeg brukt elektroprayonisering (ESI) for å overføre de separerte peptidene til et massespektrometer med tandem massespektrometri (MS/MS) for å skanne ionene og generere fragmenterte massespektre. Dataene samlet inn fra MS-analysen av peptidene kan så benyttes til å identifisere hvilke proteiner som var til stede i den opprinnelige prøven. Dette gjøres ved hjelp av databaser som inneholder informasjon om proteiner og peptidsekvenser.

Hvis jeg var interessert i å studere posttranslasjonelle modifikasjoner på intakte proteiner, ville jeg også vurdert å bruke en top-down tilnærming, som analyserer intakte eller hele proteiner uten forutgående nedbryting av proteiner til peptider.