**Examenvragen Microbiologie 2019-2020 uit de lessen**

1. Micro-organisme opsporen met anti-fungale activiteit in farmaceutisch bedrijf. (Bekend of onbekend)
2. Vergelijken van de celwand en het celmembraan bij bacteriën (gram +, gram -) en Archaea.

**Algemeen**

· Peptidoglycaan:

- Polysachariden opgebouwd uit 2 suikerderivaten (N-acetylglucosamine, N-acetylmuraminezuur)

- Β1,4-verbinding

- Aminozuren:

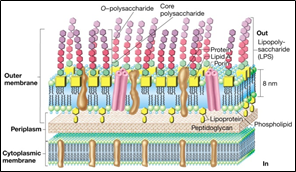
o L-alanine

o D-glutaminezuur

o L-lysine

o D-alanine

· Cross-linking à rigide matrix



**Gram –:**

· Cross-link: verbinding tussen NH2-groep van mesodiaminopimelinezuur en COOH-groep van D-alanine

· Binnen membraan: 1 à 2 lagen peptidoglycaan

· Periplasma: zone tussen binnen en buitenmembraan. Bevat specifieke enzymen voor initieel metabolisme van nutriënten, bindings- en transportproteïnen voor opname van metabolieten en chemoreceptoren betrokken bij chemotaxis (\*)

· Buiten membraan:

· 2 lagen, asymmetrisch gestructureerd

o Buitenlaag: lipopolysachariden (LPS)

§ Amfifiele moleculen, samenstelling varieert binnen en tussen soorten

§ Bestaat uit 3 delen:

\* Lipide A: soms toxisch (endotoxine), komt vrij wanneer bacterie afsterven, veroorzaakt door koorts en dilatatie

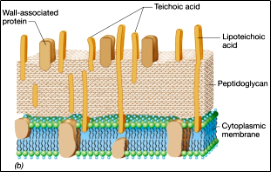
\* Core polysachariden

\* O-antigen

o Binnenlaag: fosfolipiden

· Lipoproteïnene: verbinding tussen peptidoglycaan laag en hydrofobe deel van fosfolipiden laag

· Porines: trimere transmembraanproteïnen die kanaaltjes vormen waardoor de buitenmembraan relatief doorlaatbaar is voor kleine moleculen



**Gram +:**

· Cross-link: korte tussenketen (soort specifiek) dat L-lysine met D-alanine verbindt

· Meerdere lagen peptidoglycaan met (lipo)teïchoinezuren

· polymeer van suikeralcoholen, voornamelijk glycerolfosfaat covalent gebonden aan peptidoglycaan

· soms verbonden met lipiden, verankerd in het cytoplasmatische membraan

· negatief geladen waardoor divalente kationen Mg2+, Ca2+ worden gebonden

· verhinderen celwandbreuk of cellysis en kunnen antifagocytair werken

**Gram-kleuring:**

· gram + à paars, bevatten veel lagen peptidoglycaan waardoor het kristalviolet-I2 complex niet kan worden weggewassen bij ontkleuring

· gram - à rood, hebben maar 1 à 2 lagen petidoglycaan, daarom kleur van laatste kleuring (safranine) omdat dit niet wordt weggewassen

Archaea:

* celwand met zeer uiteenlopende structuur
* geen peptidoglycaan

→ pseudopeptidoglycaan:

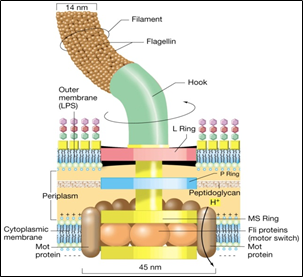
N-acetyl-talosaminuronezuur ↔ N-acetylmuraminezuur

𝛃 1,3 binding ↔ 𝛃 1,4 binding → resistent tegen lysozyme

→ pseudomureïnezuur

→ celwand uit polysacharide, proteïnen of glycoproteïnen

1. Werking flagel



**Prokarya:**

· Beweging door rotatie

· Energie door proton motive force en H+ transport geeft mogelijks ladingsverschuiving in MS- en C-ring

· Snelheid variabel

· Meer dan 40 genen betrokken

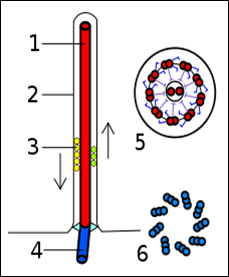
- Structurele proteïnen

- Export structurele proteïnen

- Regulatie synthese

· Groeit aan de tip, flagellinestransport via hol flagelkanaal uit cytoplasma

· Flagellen groeien continu en breken geregeld af

fungo

**Eukarya:**

· opgebouwd rond microtubuli georganiseerd in een 9+2 schema

· beweging verkregen door het onderling verschuiven van microtubuli

· ATPase en dyneïne spelen een belangrijke rol

· Gebruiken een slaande beweging

1. Structuur cili/flagellen vergelijken bij prokaryoten en eukaryoten. (H2 en H3)
2. Je werkt in farmaceutisch bedrijf, ga op zoek naar een organisme die drug maakt die fungostatisch is.
3. Wat doet fenol? (H6)

Lost alles op (membraan) en zorgt voor denaturatie van proteïnen.

1. (H6) Werkingsmechanisme antimicrobiële drugs !!
2. (H6) Je krijgt schema van ‘Antimicrobiële drugs’ werkingsmechanisme. De drugs zijn weggelaten, vul overal 1 drug in die niet op hetzelfde target inwerkt.
3. (H6) Welke drug werkt het best bij een bepaalde patiënt?
4. (H6) Welk mechanisme (conjugatie, transformatie of transductie) is het meest effectief om resistentie door te geven tussen verschillende species?
5. (H7) Wat zijn de trucjes van virussen om met een heel klein genoom toch veel te kunnen doen?
6. (H9) Definities van mutualisme, commensalime, etc.
7. (H9) Geef en leg uit: de koolstofcyclus.
8. (H9) Verschil in ademhaling tussen aeroob en anaeroob?
9. (H10) Verschil in fotosynthese voor aeroob en anaeroob?
10. (H9) Specificiteit fermentatie
11. (H9) Geef en leg uit: de stikstofcyclus
12. (H10) Welke mechanismen voor C-fixatie ken je?
13. (H10) Wat weet je over fotosynthese in de microbiële wereld?

**Examenvragen vorige jaren ‘Bios wiki’**

**1. PROKARYA**

i. vergelijk de opbouw van de celwand van gram positieve en negatieve bacteriën met behulp van een schema, hoe zou je eenvoudig een onderscheid kunnen maken? [3 → 2011-2007]

**Algemeen**

· Peptidoglycaan:

- Polysachariden opgebouwd uit 2 suikerderivaten (N-acetylglucosamine, N-acetylmuraminezuur)

- Β1,4-verbinding

- Aminozuren:

o L-alanine

o D-glutaminezuur

o L-lysine

o D-alanine

· Cross-linking à rigide matrix

**Gram –:**

· Cross-link: verbinding tussen NH2-groep van mesodiaminopimelinezuur en COOH-groep van D-alanine

· Binnen membraan: 1 à 2 lagen peptidoglycaan

· Periplasma: zone tussen binnen en buitenmembraan. Bevat specifieke enzymen voor initieel metabolisme van nutriënten, bindings- en transportproteïnen voor opname van metabolieten en chemoreceptoren betrokken bij chemotaxis (\*)

· Buiten membraan:

· 2 lagen, asymmetrisch gestructureerd

o Buitenlaag: lipopolysachariden (LPS)

§ Amfifiele moleculen, samenstelling varieert binnen en tussen soorten

§ Bestaat uit 3 delen:

\* Lipide A: soms toxisch (endotoxine), komt vrij wanneer bacterie afsterven, veroorzaakt door koorts en dilatatie

\* Core polysachariden

\* O-antigen

o Binnenlaag: fosfolipiden

· Lipoproteïnene: verbinding tussen peptidoglycaan laag en hydrofobe deel van fosfolipiden laag

· Porines: trimere transmembraanproteïnen die kanaaltjes vormen waardoor de buitenmembraan relatief doorlaatbaar is voor kleine moleculen

**Gram +:**

· Cross-link: korte tussenketen (soort specifiek) dat L-lysine met D-alanine verbindt

· Meerdere lagen peptidoglycaan met (lipo)teïchinezuren

· polymeer van suikeralcoholen, voornamelijk glycerolfosfaat covalent gebonden aan peptidoglycaan

· soms verbonden met lipiden, verankerd in het cytoplasmatische membraan

· negatief geladen waardoor divalente kationen Mg2+, Ca2+ worden gebonden

· verhinderen celwandbreuk of cellysis en kunnen antifagocytair werken

**Gram-kleuring:**

· gram + à paars, bevatten veel lagen peptidoglycaan waardoor het kristalviolet-I2 complex niet kan worden weggewassen bij ontkleuring

· gram - à rood, hebben maar 1 à 2 lagen petidoglycaan, daarom kleur van laatste kleuring (safranine) omdat dit niet wordt weggewassen

ii. structuur + werking van de bacteriële flagel + chemotaxis.[2007]

(\*)**chemotaxis** is beweging op basis van een concentratiegradiënt in de tijd, reactie is aanpassen runs en tumbles

**2.** **MICROBIËLE GROEI (H5)**

i. wateractiviteit + welke organismen kunnen tegen lage + oplossing (H5) [2008]

· aw = wateractiviteit = waterbeschikbaarheid

= P/P0 (Dampspanning oplossing/Dampspanning H2O)

· ligt tussen 0 en 1 met optimum > 0.97

· watergehalte ≠ aw, omdat water aan sommige stoffen gebonden is dus aw < watergehalte

· organismen die tegen een lage aw kunnen:

o halofielen: leven bij een hoge zoutconcentratie

o halotolerant: leven beste bij een hoge aw, maar kunnen ook overleven bij een lage

o osmofielen: leven bij een hoge suikerconcentratie

o xerofielen: leven op gedroogde producten

· oplossing: aanpassen van interne aw met compatibele solutes (suikers, suikeralcoholen en aminozuren)

ii. Wat zijn psychrofiele organismen? Hoe zijn ze aangepast aan hun milieu? Waarin verschillen ze met psychrotolerante organismen? (H5)

· Groei-minimum bij ≤ 0°C en –maximum ≤ 20°C

· Leven in permanente koude omgevingen, mogelijk omdat nog vloeibaar water aanwezig

· Proteïnen functioneel bij lage temperaturen, denaturatie bij kamer T

· Cytoplasmamembraan met veel onverzadigde vetzuren, betere fluïditeit

· Optimaal transport doorheen membraan bij lage T

· Psychotoleranten: overleven koude T maar groei-optimum tussen 20-40°C

iii. Verdedigingsmechanismes van de cel tegen toxische (welke) O2 producten (ontstaan door fotochemische reacties).(H5) [3 → 2007-2007-2010]

(hoofdstuk 5, dia 35)

superoxides O2-, peroxides H2O2 en zuurstofradicalen OH●

CATALASE: H2O2 + H2O2 → 2H2O + O2

PEROXIDASE: H2O2 + NADH → 2H2O + NAD+

SUPEROXIDEDISMUTASE: O2- + O2- +2H+→ H2O2 + O2

SUPEROXIDEDISMUTASE/CATALASE COMBI: 4O2- + 4H+ → 2H2O + 3O2

SUPEROXIDE REDUCTASE

NEUTRALISATIE DOOR CAROTENOÏDE PIGMENTEN

**3. CONTROLE VAN MICROBIËLE GROEI**

i. Antifungale drugs; waarom moeilijker te maken dan antibacterieel en bespreek de reactiemechanismen van

Fungi zijn eukaryoten in tegenstelling tot bacteriën die prokaryoot zijn. Aangezien de mens ook tot de eukaryoten behoort is het moeilijker om een specifieke target te vinden die enkel de fungi aanvalt

ii. Waarom is het moeilijker om antiviraal middel te vinden dan een antibacterieel? Virussen gebruiken de replicatie machinerie en proteïnen van gastheer, dus op dit deel kan het middel niet inwerken en een virus heeft ook geen eigen metabolisme. Kan wel inwerken op viraal DNA of RNA bijvoorbeeld op reverstranscriptase bij retrovirus

iii. penicillines hebben geen effect op Archaea en Gram negatieve bacterien. Juist of fout, leg uit ahv biochemische werking penicilline.

werking van penicilline berust op het verstoren van de peptidoglycaansynthese die nodig is voor de celwand van bacteria. Gezien Archaea niet beschikken over peptidoglycaan loopt er weinig mis als deze een penicilineshot krijgen. Normaal wordt petptidoglycaan ketens aan elkaar gebonden via transpeptidase. De Beta-lactam ring vertoont gelijkenis en bindt irreversibel aan het enzyme waardoor het de cross-linking inhibeert. Geraakt niet door het buiten membraan van gram-negatieve bacteria

iv. Vorming / structuur van endosporen, + voordelen voor overleving bacterie + invloed groeicontrole-methodes (H2)

· Vorming + structuur + voordelen:

o Intracellulair gevormde dormante cellen

o Zeer resistent tegen nutriënten tekort, hitte, koude, chemicaliën, UV, droogte, …

o Dormantie kan jaren duren

o Vorming geïnduceerd door nutriënten tekort, vooral C- en N-bron

o Ontkieming bij gunstige groeiomstandigheden

o Differentiatieproces duurt ~8uur

o Structuur:

§ Exosporum: dun proteïnelaagje

§ Sporemantel: spore-specifiek proteïnen

§ Buitenste sporemembraan: overblijfsel moedercel

§ Sporecortex: peptidoglycaanlaag met weinig cross-links

§ Binnenste sporemembraan: omvat spore-protoplast

§ Spore-protoplast: sterk gedehydrateerd cytoplasma met nucleoid, ribosomen,… bevat veel calcium gebonden aan diplicolinezuur (DPA)

· Invloed groeicontrole-methodes:

o Endosporen zijn resistenter tegen veranderende omgevingsfactoren dan vegetatieve cellen

o Sterilisatie: methode waarbij ook endosporen worden vernietigd

§ Commerciële: enkel een reductie van endosporen van Clostridium botulinum

§ Stoom: alle endosporen sterven

§ Chemische: sterven allemaal

§ Chemische decontaminatie: sterven niet noodzakelijk

o Halogenen à enkel chloor

o Natriumnitraat en natriumnitriet voorkomt groei van endosporen

o Weerstandigheid aan irradiatie:

Virus > endospoor > vegetatieve cellen (gram+ > gram-)

v. resistentie tegen antibiotica: ontstaan + mechanismes + vervangers in post-antibiotica-tijdperk voor het behandelen van bacteriële infecties. (H6) [2007]

· Ontstaan: veelvuldig gebruik van antibiotica verhoogt de selectiedruk. Bijkomend verhoogd het gebruik van antibiotica in veeteelt de selectiedruk en het risico van resistentie genen via voeding darmflora

· Mechanisme:

o Chromosomale resistentie:

§ Genetische modificatie van het doelwit

o Plasmide-gebonden resistentie:

§ Doelwit is niet aanwezig

§ Enzymatische modificatie van het antibioticum

§ Cellen zijn impermeabel

§ Activatie effluxpompen

§ By-pass van het doelwit waarbij een gevoelige chemische signaalweg wordt omgezet naar een ongevoelige signaalweg

o Resistentie is niet species specifiek, maar kan overgedragen worden tussen verschillende soorten

· Vervangers:

o Nieuwe drugs:

§ verhinderen dat bacterie kan binden aan weefsel, hierbij wordt de bacterie niet gedood, dus geen selectiedruk

§ richt tegen R-plasmiden

o vaccinatie: verhinderen infectie

o targets identificeren op basis van bioinformatica applicaties

o bio-control: competitors en parasieten van pathogene organisme

o bacteriofaag therapie: evolueren automatisch mee met organisme en vermenigvuldigen zich, dus 1 dosis normaal voldoende en resistentie bijna onmogelijk

o ziekenhuizen volspuiten met goede bacteriën

28.12 “Antimicrobial drug resistence and new treatment strategies” p 896 handboek!

vi. -Hoe weet je of een medicijn bacteriostatisch, bacteriolytisch, bacteriocide, fungistatisch, fungicide is. (bijvraag: hoe zou jij dat bepalen als biochemist?) Wat is MIC en hoe bepaal je dat, fenolcoëfficient bespreken. De criteria bespreken voor een medicijn, antiseptica, desinfectans. Bacteriostatisch: totaal aantal cellen blijft gelijk, aantal

· Bacteriostatisch, fungistatisch : verhindert de groei

· Bacteriocide, fungicide: doden, maar maken niet kapot

· Bacteriolytisch: doden via cellysis

· Bepalen welke: onderzoeken hoeveel nog aanwezig

o Alles weg à lytisch

o Niet weg à incuberen en terug onderzoeken:

§ Groei à statisch

§ Geen groei à cidaal

· MIC: minimaal inhibitorische concentratie

o laagste concentratie nodig om groei volledig te inhiberen

o afhankelijk van:

§ inoculum

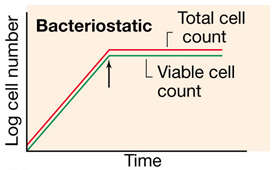
§ temperatuur

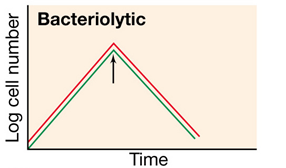
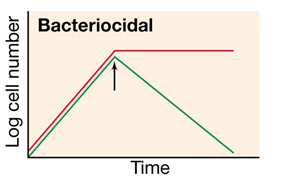
§ incubatietijd

§ samenstelling medium

o standaardisatie: vergelijken met MIC fenol = fenol coëfficiënt methode

o agar-diffusiemethode: opmeten groei-inhibitie-zone





-Stel men vraagt je om een antifungaal middel te ontwikkelen tegen gistinfecties bij mensen. Op welke principes zou je dit kunnen baseren en staaf met een voorbeeld. Hoe ga je te werk om te bepalen of je product een bacteriostatische of bacteriocide werking heeft? [3 → 2010-2007-2007]

· celwand van fungi is opgebouwd uit chitine, middel vinden dat hierop inwerkt.

· DNA-synthese (flucytosine)

· Mitotische spoelvorming (griseofulin)

· Ergosterol: komt niet voor bij hoge eukaryoten, zij hebben cholesterol (synthetische azolen en polyenen)

vii. Geef de biochemische werkingsmechanismen van: quinolones, aminoglycosiden, synthetische azolen en sulfonamides

· Quinolones:

o Inhibitoren voor bacterieel DNA gyrases (DNA ontrollen)

o Breed spectrum voor zowel gram + als –

· Aminoglycosiden:

o Inhibitie proteïnesynthese op 30S ribosomale subeenheid

o Breed antimicrobieel spectrum

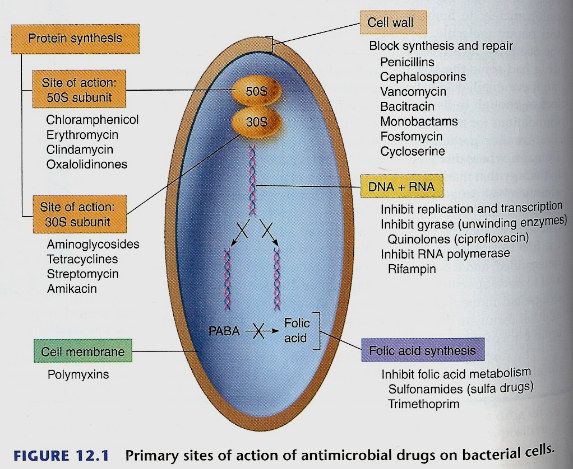
· Synthetische azolen: inhiberen ergosterol synthese en membraansynthese

· Sulfonamides:

o Precursor voor synthese van foliumzuur

o Veel klinische micro-organismen zijn resistent geworden omdat ze exogene foliumzuurverbindingen kunnen opnemen

viii.  *infectievraag* Een patiënt met een bacteriële infectie werd behandeld met chloramphenicol maar dit was niet erg werkzaam. Men zou kunnen combineren met vancomycine, tetracycline en cephalosporine. Wat gaat het minst werkzaam zijn? en welk het meeste?



· Chlooramfenicol: inhibitie translatie-elongatie van de 50S subeenheid

· Vancomycine: blokkeert synthese en reparatie celwand door rechtstreeks interactie D-alanine

· Tetracycline: inhibitie translatie-elongatie van de 30S subeenheid

· Cefalosporine: blokkeert synthese en reparatie celwand door inwerking op transpetidase

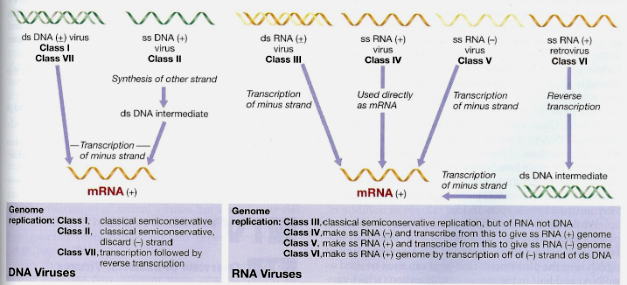
· Beste zijn vancomycine en cefalosporine, omdat deze allebei inwerken op een totaal ander aspect dan chlooramfenicol, tetracycline is het minst geschikt, want heeft bijna dezelfde werking als chlooramfenicol

ix. bespreek de biochemische werkingsmechanisme van ampiciline en cephalosporine [2010]

· Ampicilline: is een semisynthetisch penicilline die wel werkzaam is tegen gram -, werkt in op het peptidoglycaan membraan doordat de β-lactamring een binding aangaat met het transpeptidase i.p.v. D-alanine. Dit is mogelijk omdat ze structurele gelijkenissen hebben.

· Cefalosporine: bevat net zoals penicilline een β-lactamring, dus gaat inwerken op de peptidoglycaansynthese, verschil is dat het resistent is tegen de meeste penicillinase en minder allergieën geeft

**4.** **GOOD MORNING BAAALTIMOOORE!!!**



· **Class I:** ds DNA (±) virus

Het mechanisme van de mRNA productie en gen replicatie is hetzelfde als gebruikt wordt bij de gastheer

· **Class II:** ss DNA (+) virus

Vooraleer mRNA kan geproduceerd worden, moet een complementaire DNA streng aangemaakt worden. Dit komt omdat RNA polymerase een dubbelstrengs DNA nodig heeft als template. Het ds DNA intermediair wordt ook gebruikt voor transcriptie

· **Class III:** ds RNA (±) virus

mRNA wordt gesynthetiseerd door een RNA-polymerase dat door het virus zelf is meegebracht. Hierbij worden ss RNA (+) strengen gemaakt die dienst doen als mRNA. De mRNA wordt afgeschreven van de -streng.

· **Class IV:** ss RNA (+) virus

Genoom is een (+) streng dat rechtstreeks gebruikt kan worden als mRNA. Dit mRNA codeert voor een virus specifiek RNA-replicase die (-) strengen zal aanmaken. Deze kunnen dan dienen als template om meer (+) strengen aan te maken. Deze kunnen dan als mRNA gebruikt worden OF als genoom voor een nieuw virus

· **Class V:** ss RNA (-) virus

Genoom is een (-) streng, dit is de foute polariteit voor een mRNA streng, daarom moet er eerst mRNA gesynthetiseerd worden. Aangezien de cellen van de gastheer geen geschikt RNA-polymerase bezitten, wordt dit meegebracht door het virus. Hiermee wordt het complementaire (+) RNA streng gesynthetiseerd. Dit (+) RNA kan gebruikt worden als mRNA of als template om meer (-) RNA aan te maken

· **Class VI:** ss RNA (+) retrovirus

Retrovirussen zijn virussen die het ss RNA (+) omzetten in ds DNA intermediaire via reverse trasncriptase (enzym) afkomstig van het virus zelf. De ss RNA streng is (+), maar wordt toch niet gebruikt als mRNA. Het dsDNA intermediaire doet dienst als template voor het mRNA, dit gebeurt via gewone enzymen

· **Class VII:** ds DNA (±) virus

Het virus repliceert via een RNA intermediaire. Het gebruikt ook reverse transcriptase. Het virus gebruikt dezelfde strategie als de virussen uit Class I, maar de DNA replicatie is heel ongewoon. Dit komt doordat het genoom slechts gedeeltelijk dubbelstrengs is

**5.VIRUSSEN**

i. Mexicaanse griep is van het type H1N1. Leg uit wat HxNx is en leg antigene shift en antigene drift uit. Tot welke baltimore klasse behoort influenza.(bijvraag: middelen tegen influenza)

· **HxNx:** influenza virussen beschikken over de eiwitten hemagglutinine en neuraminidase. Deze eiwitten staan in voor de vasthechting van het virus aan zijn gastheer. Voor beide eiwitten bestaan er tal van verschillende mutaties. Het cijfer dat op de plaats van x komt te staan, geeft weer over welke vorm van mutatie het gaat. De combinatie van deze mutaties zorgt ervoor dat het virus zeer schadelijk is of niet.

· **Antigene-shift:** is een proces waarbij twee of meer verschillende RNA strengen van een virus of RNA strengen van verschillende virussen gecombineerd worden ter vorming van een subtype. Hierbij wordt een mix van oppervlakte proteïnen gevormd die significant verschillend is van die van de afkomstige virussen.

· **Antigene-drift:** is een mechanisme voor variatie in virussen dat de accumulatie van mutaties in de genen die coderen voor antigen-bindende plaatsten inhoud

· **Baltimore klasse:** influenza is een virus met enkelstrengs (-) RNA. Dit betekent dat het behoort tot Class V

**6.** **METAGENOMICS**

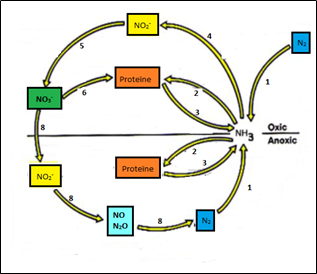
i. Wat is metagenomics, wat kun je met deze techniek doen en beschrijf de voordelen aan de hand van een creatief (zelfverzonnen)voorbeeld [3 → 2011-2011-2008]

Functionele en genetische analyse van microbiële populaties. Bevat veel meer soorten dan aanvankelijk waargenomen met de traditionele methodes van groei op voedingsmedia. Studie van genen die recht uit het milieu komen. Met Sanger-sequencing kan de tegelijk met de klonale vermeerdering de basevolgorde bepaald worden

**7.**  **MICROBIËLE ECOLOGIE**

i. Bespreek biogeochemische cycli adhv een schematische voorstelling van de C-cyclus./N-cyclus [2 →2007-2009]

N-cyclus:



**1: stikstof fixatie:**

aerobe *Azobacter, Cyanobacterium*, *(symb)Rhizobium, Frankia*

anaerobe: Clostridium Perfringens, Groene en Purperen Zwavel Bacteriën

8H+ +8 e + N2 →2NH3 + 2H2 è via nitrogenasecomplex (denitrogenase+ denitrogenasereductase) geïnactiveerd door O2 of gebonden N è kost veel energie

**2:Ammoniak-Assimilatie**

**3:Ammonificatie**

**4:nitrosification** Nitrosomonas

**5:nitrificatie** Nitrobacter

Ammoniamono-oxigenase:

NH3+O2 + 2e + 2H+→ NH2OH+H2O

Hydroxylamine-oxidoreductase

NH2OH + H2O → NO2 +5H+ + 4e

Nitriet oxidoreductase:

NO2- + H2O ® NO3- + 2H+ + 2e

**6:Nitraat-Assimilatie**

**7:nitraat-reductie**

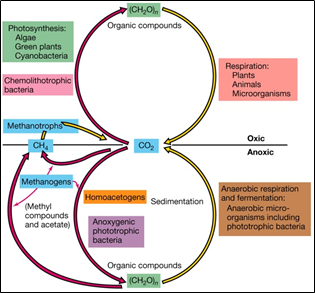
**8:Denitrificatie** Bacillus, Pseudomonas

**9:Dissimilatieve reductie:** NO3- → NH3

**10: Annamox:** NH4+ + NO2- → N2 + 2H2O

Planctomycetes, vreemde bacteriën met inclusies. Gebeurd in anammoxosoom om hevig reductans hydrazine niet aan de cel bloot te stellen, ook e-transportketen met ATP-productie.

C-Cyclus



**Koolstoffixatie:**

-aeroob e-transport (cyclic + notcyclic) fotosynthese:

CO2 +12NADPH + 18 ATP→C6H12O6+12 NADP+ +18 ADP + 18P

-CHEMOLITOTROFIE AEROOB

*waterstofoxidatie*=> pmf / H2 voor NAD+ reductie =NADH = CO2 fixatie calvin

*zwaveloxidatie*=> pmf /NAD+ →NADH via reverse e-flow = CO2 fixatie

ijzeroxidatie=> pmf/ NAD+ → NADH via reverse e-flow

-SERINE PATHWAY

formldhyd+CO2 +CoA+2NADH+2ATP → AcetCoA+ 2NAD++2ADP + 2P + 2H2O

FOTOSYNTHESE ANOXYGEEN: cyclische e-flow

-purperen bacteriën reversed e-flow voor reductie CO2

-Heliobacter/groen zwavel ferrodoxine reductans voor CO2 via omgekeerde citroenzuur

-Hydroxypropionaatweg 3CO2 + 4H + 3ATP →glyoxylaat

HOMOACETOGENEN

2HCO3- + 4 H2 + H+ ® acetaat + 4 H2O (chemolithotroof met H2 als e-donor)

NH3O

**8. METABOLE DIVERSITEIT**

i. Vergelijk de energie en reducerend vermogen vorming bij fototrofen en fermentatie. [2007]

· **Fototrofen:**

o Licht omzetten naar bruikbare energie = ATP

§ Fotoautotroof: CO2

§ Fotoheterotroof: organische stoffen

o Fotosynthese: manier waarmee licht wordt omgezet naar energie

§ Licht omzetten naar bruikbare energie en reducerend vermogen voor de fixatie van CO2

§ Lichtreactie: omzetten lichtenergie in chemische energie (ATP)

§ Donkerreactie: reductie van CO2 tot organische componenten d.m.v. ATP en reducerend vermogen van NADH of NADPH. De vorming van NAD(P)H vereist elektronentransfer. Als elektronendonor fungeren:

\* H2O → ½ O2 + 2e- + 2H+ oxygene fotosynthese

\* H2S, S0, H2, Fe2+ anoxygene fotosynthese

§ Chlorofyl (groen) en bacteriochlorofyl (blauw)

§ Plaats:

\* Eukaryoten: thylakoïd membraan in chloroplasten

\* Prokaryoten:

° Cytoplasmamembraan

° Invaginatie cytoplasmamembraan, lamellae en chromatoforen (purperen bacteriën)

° Cytoplasmatisch membraan en chlorosomen (groene bacteriën)

° Thylakoïd membraan (cyanobacteriën)

§ Carotenoïden en phycobilines

· **Fermentatie:**

o Anaerobe respiratie met energiewinning uit substraatfosforylatie

o Slechts een gedeelte van het gefermenteerde substraat wordt gebruikt voor de biosynthese, de rest wordt als eindproduct gereduceerd

o Energie naar biomassa zo laag mogelijk houden is het voordeligste

o ATP synthese d.m.v. substraatfosforylatie: gebruik van energierijke bindingen in organische intermediairs voor fosforylatie van ADP

o Fermentatiebalans: gebalanceerde oxidatie-reductie proces waarbij het aantal e- in producten overeenkomstig is met het aantal e- in de substraten

o Extra energie winnen door productie van acetaat via acetyl-CoA als energetische intermediair voor bijkomende substraatfosforylatie

ii. Nitraatreductie. En bespreek deze bij E.coli en Pseudomonas stutzeri. [2009]

· **Nitraatreductie =** denitrificatie

o Dissimilatie: meerstapsreductie waarbij eindproduct afhankelijk is van bacteriesoort

o Reductie tot ammonium (NH4+) mogelijk in sommige bacteriën

o Omzetting stikstofverbinding naar gasvorm

à nadelen voor de landbouw, denitrificatie = verlies N uit bodem

à voordeel voor waterzuivering, verlies nutriënten = minder algengroei

o NO2 wordt door zonlicht omgezet naar NO wat op zijn beurt reageert met ozon ter vorming van nitriet (NO2-) wat als zure regen (HNO2) terug op aarde komt

· **E.coli**: NO32- → NO2-

· **Pseusomonas stuzeri:** NO3- → N2

iii. Bespreek de acetyl coA pathway en welke organisme deze gebruiken (2) [2008]

· Acetaat-vorming via twee inputtaken: CO2 omzetten naar methyl of carbonyl

4H2+2CO2→acetaat +2H2O + H+

· Welke:

o anaerobe ammonium oxidators (anammox)

o homoacetogenen (acetaatsynthese)

o Homoacetogenen, sulfaatreduceerders, methanogenen (acetaatsynthese autotroof)

o sulfaatreduceerders, methanogenen (acetaat oxidatie energiewinning e-donor)

iv. Methanotrofen en methylotrofen, geef energiewinning en koolstof assimilatie

· Oxidatie C1 verbindingen

· Gebruik C1 verbindingen (methaan, methanol, methylaminen) als e--donor en als C-bron voor biosynthese => geen autotrofie (CO2)

· Oxidatie methaan:

(CH4) → methanol (CH3OH) → formaldehyde (CH2O) → mierenzuur (HCOOH) → CO2

· Methanotrofie vereist methaan mono-oxygenase (MMO): incorporeert één O atoom van O2 in substraat en reduceert het andere O atoom tot H2O

· e- nodig voor oxidatie CH4 komen van cytC

· assimilatie koolstof voornamelijk van formaldehyde via:

o serine pathway

o ribulosemonofosfaat-weg

v. geef alle pathways voor C02 fixatie? (het zijn er btw 8 en geen 5 zoals de meeste denken) [5 → 2010-2009-2007-2007-2008]

· calvin cyclus: 6CO2 + 12 NADPH + 18 ATP → C6H12O6(H2PO3) + 12NADP+ + 18ADP + 17Pi

(chemolothotrofie-aeroob, zwavelbacteriën, purpere bacteriën)

· omgekeerde citroenzuurcylus: 3CO2 + 12H+ + 5ATP → C3H6O3PO32- + 3H2O

(heliobacter, groene zwavel bacteriën, sommige niet-fototrofe archeae)

· hydroxypropionaat-weg: 2CO2 + 4H+ + 3ATP → glyoxylaat

(anoxygene fototrofe niet-zwavelbacterie Chloroflexus)

· acetogenese via acetyl-CoA weg: 2CO2 + 8H+ → acetaat + 2H2O

· methanogenese: CO2 → methaan

· serine pathway: formaldehyde + CO2 + CoA + 2NADH + 2H+ + 2ATP → actetyl-CoA + 2NAD+ +

2ADP + 2Pi + 2H2O

· pyruvaatcarboxylase: pyruvaat + ATP + CO2 ® oxaalazijnzuur + ADP + Pi

· Phosphoenolpyruvaatcarboxylase: fosfoenolpyruvaat + CO2 ® oxaalazijnzuur + Pi

vi. Geef de schematische voorstelling van de anoxygene fotosynthese bij purper- en de oxygene fotosynthese bij cyano-bacteriën. Bespreek verschillen, incl. morfologische kenmerken en plaats dit in een algemeen microbiële context. [3→2010 2011-2007]

vii. -Denitrificatie en nitrificatie + waterzuivering (sl66 H10)

-Denitrificatie en nitrificatie en stikstoffixatie + Bespreek bondig de reacties en plaats in de stikstofcyclus. Wat heeft zuurstof hiermee te maken?

-Stikstoffixatie: Bespreek en wat heeft zuurstof hiermee te maken? [3→ 2011-2011-2008]

**9.** **RANDOMNESS**

i. -hoe ga je te werk om uit een bodemstaal alle micro-organismen te identificeren / een fungistatisch metaboliet te zoeken

-Hou zou je ALLE organismen in een bodemstaal classificeren en metabolisme nagaan? (metagenomics)

-Stel je hebt een bodemstaal met daarin nieuwe 'ongekende' organismen, beschrijf hoe je te werk zou gaan om deze te identificeren en welke manieren je zou gebruiken voor de classificatie [2009-2008-2007]

ii. *infectievraag*: Een gistcultuur is geïnfecteerd met cyanobacteriën. Geef een aantal manieren om weer een zuivere gistcultuur te verkrijgen.

licht uitdoen

iii. wat zijn fylogenetische merkers, wat doen ze en geef meerdere voorbeelden en leg uit [2→2008-2008]