

1.MIKROORGANIZMI KOT CELICA

-celica je samostojna enota, izolirana od ostalih s cel.membrano in mogoče cel.st.(nek.bakterije in protozoi). Cel.membrana je bariera,ki loči cel.od okolja. Jedro oz.jedrna regija vsebuje genetske info. DNA. Citoplazma-v njej so sestavine, ki omogočajo rast in delovanje cel., voda, makromolekule(belak.,n.k., lipidi, polisaharidi), majhne org.mol., anorg.ioni.

-vse celice naj bi imele univerzalnega prednika, ker so vse iz +/-enakih

-cel.je DINAMIČNA ENOTA:konstantno spreminjanje in menjavanje delov;kljub prenehanju rasti poteka izmenjava snovi z okoljem

-cel.je odprt sistem-neprestano spreminja, a ostaja generalno enaka

-cel.se delijo na prokariotske in evkariotske

-m.o.ne tvorijo psevdotkiv

PROKARIOTSKA	EVKARIOTSKA
ARHEBAKTERIJE	ALGE,GLIVE,PROTOZOI
manjši 1-10ym	večji 10-100ym
cel.st.(peptidoglikan)	cel.st.
memb.(ni sterolov)	memb.(steroli)
jedrna regija	prava jedra(kromosomi,histani)
binarna cepitev(fisija)	mitoza,mejoza
ribosomi-manjši 70S	Ribosomi-vezani v ER,80S, 4 različ.rRNA
inkluzije(C,N,S,P)	organeli(KL,ER,GA;MT)
Ni citoskeleta	citoskelet

2.GLAVNE ZNAČILNOSTI ŽIVE CELICE

a)hranjenje:sprejemanje snovi, transformacija iz ene oblike v drugo, sproščanje E, izločanje odpadkov

b)replikacija ali rast:usmerjanje lastne sinteze,pri m.o. je rast številčna

c)diferenciacija: sprememba v obliki, funkciji cel.; del življ.cikla celice v kateri se tvorijo posebne razmnoževalje, preživetvene strukture

d)kem.signalizacija:odzivanje na kem. ali fiz.signale in posledično TAKSIJA(premikanje cel.), KOMUNIKACIJA med cel. Evolucija je spreminjanje dednih lastnosti (mutacije, prenos info. V horizontalni in vertikalni smeri) vpliva na selekcijo in tvorbo novih vrst (speciacijo)

-le nekateri org. imajo speciacijo in premikanje, vsi pa imajo hranjenje, replikacijo in rast.

3.RAST, MUTACIJE IN EVOLUCIJA MIKROBNIH CELIC

RAST-večanje št.celic, naraščanje mase, velikosti in delitve c.;;Cel.rast poteka do končne velikosti, nato se deli in tvori dva celici.Ob delitvi se morajo cel.E in prekurzurje za biosintezo makromolekul. Med rastjo in podvojevanjem se mora duplcirati tudi DNA, na način da sta hčerinski cel. Genetsko enaki mater.cel.

MUTACIJA-podedovana sprememba bazne sekvence v NK;;Mutacije so napake, ki se pojavijo pri prepisovanju DNA;oz.trajni spremembi v sekvenci nukleotidov, ki se prenesejo na potomca. Učinek: ni posledice;okvarjen protein, ustavljena sinteza proteina—posledičen propad in smrt celice; izboljšan protein, selektivna prednost celice, nadomestitev mat.tipa celice (naravni izbor v tem primeru ne uniči mutacije)

EVOLUCIJA-sprememba sekvenc alelov v populaciji v več generacijah,pomambna dejavnika sta naključje in naravna selekcija.;; Naravna selekcija je posledica naravnih variacij zaradi mutacij in posledično efektov. Posledica evolucije je velika diverziteteta MO—so hitrorastoči in deleči se

organizmi, gen.inform. in mutacije se prenašajo zelo hitro na potomce, ne samo v horizontalni pač pa tudi v vertikalni smeri.

4.ŠTIRI VRSTE CEL.MAKROMULEKUL

-proteini,nuk.kisl.,lipidi, polisaharidi-oglj.hidrati

5.GLAVNI KEM.ELEMENTI, KI JIH NAJDEMO V CEL, KI SO ŽIVE!

*makroelementi:C,H,N,O,P,S

*oligoel.: P,Na,Ca,Mg,...

*mikroelementi: Fe, Cu, Co,...

6.KOLIKO GENOV VSEBUJE TIPIČNA BAKT.CEL.?

3500 genov (3000 kodirajočih genov, 1000-2000 izraženih genov v nekem trenutku)

7.DIVERZITETA MO-ZNANE IN NEZNANE VRSTE MO? OCENA ŠT.NEZNANIH VRST BAKT.? NA ČEM TEMELJI? OZNAKA NEKULTIVABILNIH ORG?

bakt.: znanih od 0,9-1% vrst(4200), neodkritih 3milj.

Glive: znanih 5% (7200), neodkritih 1,5 milj.

Virusi: znanih 1% vrst

Končna ocena št. MO temelji na hitrosti odkrivanj novih vrst

Nekultivabilnih org. so.org., za katere ne znamo ustvariti pogojev za gojenje in vitro.

8.NAŠTEJ NEKAJ VPLIVOV NA ČLOVEKA

- a) bolezenski agenti: nekoč mo glavni vzrok smrti, sedaj se je ta delež močno zmanjšal, sedaj javne službe obvladujejo infekcije. Infekcije danes ogrožajo ljudi v nerazvitem svetu (otoki)-bolniki z AIDSOM in rakom; izkoreninjenje črnih koz (1977), še vedno malarija, TBC, kolera, spalna bolezen, diareje. Mnogi so koristni, antibiotiki (identifikacije zdravljenje in preventiva)
- b) kmetijstvo: mnoge konet.rastline živijo v simbiozi z bakt., ki omogočajo vezavo atmosferskega dušika (noduli na koreninah), ki ga lahko rastli.uporabijo; simbiotske bakterije v prebavilih prežvekovalcev (ramp)omogočajo prebavo;nakatero bakt.so sestavni del cikla (kroženja) C,N,S, ki jih pretvorijo v obliki primerni za rastlinsko sprejemanje;povzročajo tudi bolezn rast.in živali (velik ekonomski vpliv)
- c) prehrambena ind.:kvarjenje hrane;fermentacija (mlečni izdelki, kvas, alkoholne pijače), dodatki (fruktoza, aspartam, citronska kisl.)
- d) energija in ekologija: produkcija metana,etanola, biomase(E shranjena v živih org.);bioremediacija (odstranjevanje olj,topil, polutantov), razgrajujejo surovo nafto.
- e) BTH:genetski inžiniring (aplikacija genetskih sprememb org. v namen sinteze specifičnih produktov visoke komercialne vrednosti,npr.insulin), farmacija, genska terapija
- f) Tekstilna: obdelava usnja,...

10. ZAKAJ SO MO POMEMBNI V ŽIVILSKI & AGRONOMSKI IND?

glej vprašanje nazaj

11. GLAVNI RAZLOGI UMRLJIVOSTI NA ZAČETKU STOLETJA & DANES? ZAKAJ SO RAZLIKE?

Začetek st: veliko infektivnih bolezn, ki so jih povzročali mo glavni vzrok smrti

Danes: glavni vzrok smrti srčna & rakasta obolenja

Po 2. Sv v.: zveča se razumevanje procesa obolevanja, izboljšanje sanitarnih razmer, odkritje & uporaba antimikrobnih agensov

Hkrati nezdrava prehrana & način življenja, kancerogena sevanja & snovi v okolju

glej vprašanje 9a)

- driska:umre >5 mio otrok/leto

- TBC: 3 mio ljudi

- malarija: 300 mio bolnih v Afriki, umre >1 mio otrok/leto

12. ZAKAJ SO MO POMEMBNI V BTH IND.?

glej nazaj vprašanje 9e)

13. KRATKA RAZLAGA POMENA MO NA NASLEDNJIH PODROČJIH:

- a) biološki nadzor škodljivcev: genetsko spremenjeni org. (npr. transogene rast.) so bolj rezistentni (produkcija toksičnih snovi za škodljivce) ali pa uporaba patogenih org., ki napadajo škodljivce
- b) recikliranje elementov: razgrajanje kompleksih molekul, absorpcija snovi (npr. odpadna olja, topila, toksične snovi)
- c) normalna flora: vezava atmosferskega dušika, ki ga lahko prevzamejo rast. & živali; kroženje C, S, ki ga lahko prevzamejo rast.
- d) obdelava odpadkov: razpadanje razlitih olj, pesticidov, topil, polutantov
- e) proizvodnja človeškega inzulina: razgradnja humanih genov na odseke, njihova modifikacija, dodajanje & odzemanje s pomočjo mo & njihovih encimov; s pomočjo genskega inženiringa tvorba novih genov; vstavitve željenega gena v mo, ki ga pripravimo do podvojevanja & tvorbe željenega genskega produkta -> inzulin (gen za humani inzulin, mikrobiološka proizvodnja inzulina)
- f) proizvodnja cepiv: včasih proizvodnja iz mrtvih ali oslabljenih, inaktivnih virusov; danes s pomočjo genskega inženiringa mo (bakterije proizvajajo antigene) tvorba cepiv

ZGODOVINA MB:

1. PRVA OPAZOVANJA MO:

- 1664, Robert Hooke: prvi opazoval plesni (evkariontske celice, niso mo)
- Antoni van Leeuwenhoek: prvi uporabljal mikroskop (sistem leč), opazoval mo (protozoi, alge, glive, bakt. ...); serija pisem napisanih Royal Society of London (1623 do 1674); opisal prve detajle mo (1684); opazoval zobne naslage, gnojnico, sluzi

2. SPONTANA GENERACIJA & RAZVOJ MB

- teorija spontane generacije: razvij živega iz nežive snovi; v zraku je živa sila – agens, ki dahne življenje stvarim
- vzgoj miši: dovolj je posoda z luknjami za zrak, v kateri je zrnje
- Francesco Redi (1668): nasprotnik spontane generacije; trdil je, da se muhe razvijejo iz ličink, te pa iz jajčec; vzel je tri posode z mesom; eno je pustil odprto, drugo je zaprl, tretjo pa je zaprl in prekuhal meso. Na prvi je bilo veliko, na drugi malo, na tretji pa nič ličink. Zagovorniki spontane generacije so trdili, da je živo silo uničil s segrevanjem in je preprečil dostop skozi odprtino.

RAZVOJ MB: skoki v razvoju so razvoj mikroskopa (19. st., posebej elekt. mikroskop od leta 1945 do 1950) in razvoj mb. tehnik (19. st. & dalje)

- Lazaro Spallanzani (1788): uporabljal sterilna bakteriološka gojišča; dokazal da sterilno mesno juho naselijo mo iz zraka, se v njej razmnožujejo & razgradijo njene sestavine; zaprta pa ostane sterilna

- Schwann: juha sterilna, če doteka zrak skozi razgreto cev

- Schröder & von Dusch: zamaški iz vate

- Louis Pasteur (1864): dokončno prepričal zagovornike spontane generacije

KAKO JE ZNANI PASTEURJEV EKSPERIMENT PREPRIČAL ZAGOVORNIKE SPONTANE GENERACIJE?

- izvedel poskus s steklenico z labodjim vratom

- mesno juho (bujon) vlij v steklenico, zavil vrat steklenice; ni je zamašil, zavil bujon - sterilizacija

- omogočen dostop »žive sile«, kljub temu bujon ostane neokužen še mnogo let, okuži se če steklenico nagnemo, da pride v stik z mo v kolenu

KDO PRVI UPORABI DEZINFEKTANTE PRI KIRURŠKIH POSTOPKIH?

- Joseph Lister (1867): pri operacijah začel uporabljati antiseptične tehnike: umivanje rok, razkuževanje površin s fenilom, prekuhavanje, likanje, preoblačenje

- Ignaz Semmelweis (1860): porodničar, prepoznal prenašanje septične vročice med nosečnicami

18. NAJPOMEMBNEJŠI PASTEURJEVI PRISPEVKI MB:

- sterilizacija: uničenje ali odstranitev vseh mo (T)
- pasterizacija: ugotovil, da se večina patogenih org. Uniči, če mošt nekaj minut segreva pri 70°C, hkrati se delno odstranijo nepatogeni
- fermentacija: poskušal rešiti problem vinarjev, saj se jim je vino zaradi nadaljnega vrenja pretvorilo v kis; preprečitev dostopa zraka ali sterilizacija
- prvi opisal aerobe & anaerobe
- odkril protozoja, patogenega za sviloprejkje
- odkril vaccine proti ptičji kugi, steklini, antraksu + priprava cepiva (atenuiranje mo – oslabit do primernosti za cepivo) (1. Staranje ptičje kuge, 2. Gojenje antraksa pri visoki T, 3. Sušenje stekline, 4. prehod prašičje rdečice preko živali druge vrste)

19. NAJPOMEMBNEJŠI KOCHOVI PRISPEVKI MB:

- začetnik medicinske mb-dokazal, da mo povzročajo nekatere bolezni - preučeval antraks (*Bacillus anthracis*) - Kochovi postulati: dokaz da specifičen tip mo povzroča specifično bolezen: 1. Organizem stalno prisoten pri živali, ki trpijo za boleznijo in odsoten pri zdravih živalih 2. Organizem vzgojen v čisti kulturi (stran od telesa živali) 3. Taka kultura ob inokulaciji v susceptibilno zdravo žival povzroča karakteristične simptome bolezni 4. Organizem po izolaciji iz zdravih živali & vzgojitvi v laboratorijski kulturi enak originalnemu organizmu -poskus ponovil 20x; kontrola (enak poskus z zdravo živaljo)
- odkril povzročitelja tuberkuloze (*Mycobacterium tuberculosis*); 70% smrti -to omogočila upoaba agarja, čiste kulture (redčenje do posameznih kolonij), petrijevka, mikroskopa -odkril diferencialno barvanje (modra M. tuberculosis-metilensko modrilo, rjava tkivo-bismarck rjava) -uporaba poskusnih živali
- filtracija vode
- cepivo proti koleri (*Vibrio cholerae*)
- koncept prenašalcev bolezni: prenašanje z živali na človeka
- razvoj mikrofotografije
- gojenje na trdem gojišču za lažje opazovanje kolonij: krompirjeve rezine, želatina nato agar

20. PREDNOSTI TRDNIH GOJIŠČ PRED TEKOČIMI & AGARJA PRED ŽELATINO:

- tekoča gojišča: ni tvorbe kolonij ampak peletkov (ni mogoča enostavna izolacija čistih kult. & opazovanje morfologije kolonij), potrebno stresanje z namenom prezračevanja
- trdna gojišča: tvorba kolonij ali konfluentna rast, lažje preučevanje mo, prezračevanje ni potrebno
- želatina: pri 37°C (najugodnejša T za veliko mo) se utekočini
- agar: pri 37°C v stanje gel, večina mo (izjema nekatere morske bakt.) ga ne razgrajuje
- trdno gojišče (krompir, želatina) odkril Robert Koch
- agar odkrije Frannie Hesse (mož Walter)

21. KOCHOVI POSTULATI

glej vprašanje 19

22. ODKRITELJ POVZROČITELJA TBC & KATERE MB TEHNIKE MU TO OMOGOČIJO?

- 70 % smrti povzroči TBC
- Koch (1882): sam razvil tehnike
- Glej vprašanje 19

23.ODKRITJE VAKCINE PROTI ČRNIM KOZAM

- Edward Jenner (1798): ljudje, ki so zboleli za milo obliko koz (kravja oblika) so bili kasneje na to bolezen odporni; dečku (8 let) iniciiral mikroba, ki je povzročal kravjo obliko koz, ta je razvil odpornost proti črnim kozam

24. ODKRITJE VAKCINE PROTI STEKLINI

- pri človeku jo je leta 1885 odkril Louis Pasteur
- uvede izraz virus (strup): virus rakies
- otroku inokuliral posušeno hrbtenjačo (atenuian virus)
- ta je preživel

25. ODKRITJE PRVEGA KEMOTERAPEVTSKEGA AGENSA

- Paul Ehrlich (1910): preizkušal serijo kem. substanc, derivatov, barvil (arzena); tako odkril, da salvarsan deluje proti sifilisu
- predvideval, da proti mo poleg barvil delujejo tudi druge kem. snovi (vezava na mo)

26. ODKRITJE SULFONAMIDA

- Gerhard Damark (1935): kem agens (ki delujejo kot antibiotiki); in vivo hidrolizirajo v sulfonilamid in deluje proti streptokokom (preizkus na miših)

27. ODKRITJE PRVEGA ANTIBIOTIKA

- Aleksander Flming (1929): penicilin; na ploščah opazoval konfluentno rast G+ bakt.; odšel na potovanje, T je bila nizka, kontaminacija s kulturo glive *Penicillium notatum*, okoli rje razbistrivena cona
- Izolacija penicilina dolgo neuspešna, komercialno dostopen šele po 2. sv. v. (1945); začne se obdobje BTH

28. KEMIOZMOTSKA TEORIJA PETRA MITCHELLA

- Peter Mitchell (1959): energetski procesi v cel. delujejo na principu razlik v kem. potencialih snovi
- Kemiosmoza: uporaba ionskih (predvsem protonskih) gradientov za sintezo ATP
- Najpomembnejša je protonska gibalna sila

29. NAJPOMEMBNEJŠA ODKRITJA BEIJERNICKA & WINOGRADSKEGA

-začetnika mikrobne ekologije

-Martinus Beijernick (1901): odkrije obogatitveno kulturo (tekoče gojišče brez N & 1 g prsti, org. preživijo, ker sami vežejo atmosferski dušik – nekaj časa zaradi N, ki ga sproščajo odmrli mo; kulturo ponovno inokuliramo, da zvišamo % željenih org.); ugotovil, da so mo ključni za biogeokemijsko kroženje snovi, preučeval bakt., ki sodelujejo pri fiksaciji

-Winogradsky: avtotrofna rast kemolitotropov (nitrificirajočih bakt.)

30.GLAVNE RAZLIKE V RAZVOJU MB PRED & PO 2.SV.V.

- pred 2.sv.v.: medicinska mb & imunologija; odkritje novih bakt. Patogenov & principov njihovega delovanja na org. ter imunski odzivi org.; kmetijska mb; odkritje antibiotikov & ind. kemikalij
- po 2.sv.v.: ind. mb; akvatična mb, sanitarnamb, mikrobna ekologija, genetika mo, BTH, študij virusov, molekularna biologija

- začetek stoletja: taksonomija, citologija, biokemija mo
BAZIČNA (raziskovalno orodje):

- mikrobna taksonomija
- m. fiziologija
- m. biokemija
- m. genetika
- molekularna biologija
- virologija
- BTH
- m. filogenija

APLIKATIVNA (praktična uporaba):

- medicinska mb
- sanitarna mb
- živilska mb
- agronomska mb
- ekološka mb
- industrijska mb
- imunologija
- BTH

31. KATERO ODKRITJE SPODBUDI RAZVOJ IND. MB?

- razvoj agronomske mb (zemeljske)-odkritje antibiotikov, indust. kemikalij
- razvoj ind. mb po 2.sv.v.

MIKROSKOPIJA

32. PRIPRAVA VZORCEV ZA SVETLOBNO MIKROSKOPIJO

1. nanos vzorca na objektivno stekelce
2. sušenje vzorca in fiksiranje na objektnik s 3x potegom skozi plamen Bunsenovega gorilnika
3. fiksacija (ohranitev not. & zun. Struktur)-ohranitev nespremenljivosti
 - a) kemična: ohranitev not. struktur; EtOH, AcOH, formaldehid, glutaraldehid
 - b) fizikalna: ohranitev zun. struktur; segrevanje
4. barvanje
5. pogledamo pod mikroskopom

33. FIKSIRANJE PREPARATOV

- glej vprašanje 31
- inaktivacija encimov, učvrstitev cel. struktur

34. BARVANJE PREPARATOV – RAZLIČNE TEHNIKE

- barvila: org. snovi s specifično afiniteto do določene sestavine cel; vezava poteče zaradi ionskih, kovalentnih ali hidrofobnih vezi
- kromofor: del molekule, ki omogoča obarvanje(kulture)
- barvila: * ionska: + kationska (metilensko modrilo, kristal vijolično, safranin, malahitno zelenilo)->DNA,RNA,polisaharidi +anionska (eozin, rožnati bengal, kisli fuksin, kongo rdeče)->proteini * kovalentna (Feulgen-Schiffov reagent)->acidorezistentne bakt. Mycobacterium * hidrofobna (Sudan III)->lipidi, Sudan črno barvilo * diferencialna (po Gramu)->G+, G- bakt.

- barvanje: * enostavno (eno barvilo obarva eno strukturo): -pozitivno(obarvamo specifične strukture) -negativno(z barvili, ki nimajo afinitete do sestavin c obarvamo okolico)->indijsko črnilo, tuš, nigrozin *diferencialno (zaporedje barvil): - po Gramu - po Ziehl-Nielsenu

35. ENOSTAVNA BARVILA

- ionska, kovalentna, hidrofobna
- glej vprašanje 34

36. DIFERENCIALNO BARVANJE

- barvila ne obarvajo vseh vrst celic enako
- kombinacije enostavnih barvil
- < barvanje po Gramu: kristal vijolično, lugalova raztopina (ojačitveni agens), kristali barvila se povečajo, bolje ujamejo v cel. st.), alkohol (izpere barvo iz G- cel., ki imajo na cel. površini lipidno plast, EtOH jo raztopi), safranin (diferencialno obarva G- cel. roza do rdeče)

37. POSEBNA BARVILA

- za kapsule: indijsko črnilo (negativno barvanje, ni afinitete do sestavin celice), metilensko rdečilo
- za flagele: Leifsonovo barvilo
- za spore: Ziel-Nielson (malahitno zelenilo-zeleno obarva spore)
- za znotrajcelične vključke

38. ZAKAJ SE KATIONSKA BARVILA UPORABLJAJO ZA SPLOŠNO OBARVANJE CELIC MO?

Cel. površine navadno negativno nabite; nanje se ta barvila dobro vežejo

39. V KAKŠNEM PRIMERU NAJBOLJE UPORABITI

a) ENOSTAVNO BARVILO

b) DIFERENCIALNO BARVILO

c) NEGATIVNO BARVILO ->kapsule

d) FLAGELARNO BARVILO ->za opazovanje flagelacije

Glej vprašanje 34, 36, 37

40. BARVA G- BAKTERIJ PO BARVANJU PO GRAMU

- roza do rdeča (safranin, kristal vijolično se spere)
- glej vprašanje 36

41. NA ČEM TEMELJIJO RAZLIKE V OBARVANOSTI CELIC PO GRAMU?

Na različni strukturi cel. stene G+ in G- bakt. (debelina, velikost por, prepustnost, kem. sestava)- bolj fiz. kot kem. lastnosti

42. ZAKAJ ALKOHOL ZLAHKA RAZBARVA G- BAKT

glej vprašanje 36

43. KAKŠEN JE NAMEN BARVANJA PREPARATOV PRI SVETLOBNI MIKROSKOPIJI?

- celice so bolj vidne, povečan kontrast
- lahko opazujemo določene cel. strukture

44. KATERE MIKROSKOPSKE TEHNIKE LAHKO VČASIH IZBOLJŠAJO RESOLUCIJO?

- mikroskopiranje s temnim poljem: opazujemo svetel objekt na temnem polju; opazujemo lahko žive org.; svetloba doseže org. le s strani; edina svetloba, ki doseže lečo je tista, ki jo razprši org.; opazujemo mobilnost – vidimo lahko flagele
- fazno-kontrastna mikroskopija: opazujemo notranje strukture; barvanje ni potrebno; temelji na različnem refraktivnem indeksu org.; opazujemo lahko žive org., vidimo svetel objekt na

temnem ozadju; pred kondenzorskimi lečami filter, ki dovoli vstop le majhnemu snopu žarkov v objektivu fazno ploščico, ki pomakne (dodatno lomi) žarek, da dobimo le eno sliko

- c) fluorescentna mikroskopija: opazujemo strukture, ki fluorescirajo; avtofluorescenca ali obarvanje s fluorescentnimi barvili; uporaba v klinični diagnostični mb & m. ekologiji; uporabljamo UV svetlobo
- d) elektronska mikroskopija: uporabljamo curek e-, SEM ali TEM (scan & transmission electron microscope); funkcijo leč prevzamejo elektromagneti; vacuum; opazovanje ultrastruktur

45. RAZLOŽI POJME RESOLUCIJA, NUMERIČNA APERTURA, POVEČAVA

- resolucija: pove nam najmanjšo razdaljo med dvema točkama, pri kateri ju še zaznamo kot dve ločeni točki; predmetov, ki so manjši od $\frac{1}{2} \lambda$ uporabljene svetlobe ne zaznamo; je funkcija numerične aperture
- numerična apertura: pove nam količinosvetlobe, ki jo lahko zbere neka leča
- povečava: pove, kolikokrat je realna slika večja od opazovanega predmeta; leče z večjo NA imajo tudi večjo povečavo

46. KATERA JE ZGORNJA MEJA LOČLJIVOSTI ZA SVETLOBNI MIKROSKOP?

0,2 μm (min $\lambda_{\text{vis}} = 0,4 \mu\text{m}$)

47. OPIŠI NAČIN DELOVANJA FLUORESCENTNEGA MIKROSKOPA

- izkoriščamo pojav fluorescence
- preparat obsevamo skozi vzbujevalni filter (preseva svetlobo določene, daljše valovne dolžine- UV svetlobo), ta pa emitira svetlobo druge valovne dolžine, ki jo od obsevane svetlobe ločimo z zapornim filtrom pred okularjem

48. OPIŠI NAČIN DELOVANJA FAZNO-KONTRASTNEGA MIKROSKOPA

- glej vprašanje 44 b)
- svetloba, ki vstopa skozi kondenzator, pride do vzorca in se na različno debelih ali različno gostih delcih različno lomi
- vidimo svetel objekt na temnem ozadju

49. OPIŠI NAČIN DELOVANJA MIKROSKOPA S TEMNIM POLJEM

- objekte osvetljujemo indirektno (od strani); leče v objektivu doseže le svetloba, ki jo razprši org.
- glej vpr. 44 a)

50. OPIŠI DELOVANJE TEM(TRANSMISIJSKEGA ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA)

- namesto svetlobe curek e-
- namesto leč elektromagneti
- vakuum, večja ločljivost
- narediti moramo ultratanke rezine materiala (20 do 60 nm)
- kontrast omogoča barvanje: osmijev tetraoksid, permanganat, uran, lantar?
- ti atomi imajo veliko M & dobro sipajo e-

51. OPIŠI NAČIN DELOVANJA SEM (SCAN ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA)

- opazovanje zunanjih značilnosti, površine objekta
- negativno barvanje: objekt prekrijemo s tanko plastjo težke kovine
- žarek e- iz SEM usmerimo na objekt
- zberemo sipane e-
- opazovanje večjih objektov, velika globinska ločljivost
- slika=elektronski mikrograf

52. POMANJKLJIVOST SEM & TEM V PRIMERJAVI S SVETLOBNIM MIKROSKOPOM?

EM: drag, nedostopen širši uporabi, občutljiv na tresljaje, zahtevna & dolgotrajna priprava preparatov (kem. fiksacija), potreben vakuum (ne dobimo celotne slike celice ali manjše strukture)

53. GLAVNE PREDNOSTI EM V PRIMERJAVI S SVETLOBNIM MIKROSKOPOM?

- velika ločljivost: 1000x večja, ločljivost 0,2 nm
- pri SEM kvalitetna 3d slika, dobra globinska ostrina

54. KATERI TIP MIKROSKOPA BI UPORABILI ZA OPAZOVANJE 3D STRUKTUR CEL

SEM

55. TIP MIKROSKOPA ZA OPAZOVANJE BAKT. NUKLEOTIDA

TEM

56. ELEKTRONSKA MIKROGRAFIJA JE:

- fotografija(ki prikaže sliko) slike, narejene z EM
- prikaže mikroskopsko majhne objekte
- tvori jo kamera

57. KATERI TIP EM BI UPORABILA ZA OPAZOVANJE BAKT. BIČKOV?

- SEM: površina
- TEM: prerez

58. GLAVNE ZNAČILNOSTI KONFOKALNE MIKROSKOPIJE

- za opazovanje biofilmov
- opazujemo lahko različne žariščne globine
- mo lahko opazujemo v različnih globinah, njihovo 3D razporejenost

59. KATERI TIP MIKROSKOPA BI UPORABILI ZA OPAZOVANJE:

- OBARVANEGA RAZMAZA BAKT. CEL: svetlobni mikroskop, čim večja ločljivost, imerzijsko olje
- NEOBARVANIH, MAJHNIH BAKT., KJER NAS NE ZANIMAJO PODROBNOST: * mikroskopiranje v temnem polju * (fazno kontrastni mikroskop)
- NEOBARVANEGA, ŽIVEGA TKIVA, KJER BI MORALI VIDETI NEKAJ INTRACELULARNIH PODROBNOSTI: fazno kontrastni mikroskop
- VZORCA, KI SEVA SVETLOBO, KADAR JE OSVETLJEN Z UV: fluorescentni mikroskop
- INTRACELULARNIH PODROBNOSTI CEL., VELIKIH 1 μ M: TEM

FUNKCIONALNA ANATOMIJA PROKARIOTSKE CEL.

60. MORFOLOGIJA PROK. CEL. – NARIŠI JIH

- koki: okrogle specifične cel.; kok(1), diplokok(2), tetrada(4;2 v ravnini), sarcina(8;3 v ravnini); stafilokok(nepravilen skupek večih cel.), streptokok (celice povezane v verigo)
- bacili: paličaste celice; bacil (1), diplobacil(2), streptobacil(veriga); kokobacil(oblika med kokom & bacilom)
- vibrio: toga zavita vijačnica z enim zavojem
- spiril: toga zavita vijačnica z več zavoji
- spiriheta: prožna spiralasta oblika, ki se spreminja; hitro gibljiva, plavajoča; ovita z aksialnim filamentom, čezenj sega zun. ovojnica

- filamenti: nitasti; posebne strukture: *pecelj za pritrjanje na podlago, *brst

61. NARIŠI GLAVNE MORFOLOŠKE TIPE CELIC BAKTERIJ:

kok, bacil, vibrio, spirala, spiroheta, filament

bički	pili
kapsula	nukleotid
cel. stena	citoplazma
	cel. membrana

62. VELIKOST MIKROBNIH CELIC

a) prokarionti: *večinoma 0,1 do 0,1 μm (povprečje 0,5 do 2 μm); tudi do 50 μm (MZC)

*E.Coli: 1 μm X3 μm (~uporabna kot mikroskopsko merilce) *Epolopiscium fistelsoni:dolg 0,5 mm (njavečja bakt.)

b) evkarionti: 2 do 200 μm *Narochlorum eukaryotum: 1 do 2 μm

63. KATERA FIZIKALNA LASTNOST CEL. SE POVEČA, KO SE CEL. ZMANJŠUJEJO?

Razmerje P:V

64. NARIŠI OSNOVNO STRUKTURO CEL. MEMB.

fosfat	
glicerol	hidrofilna regija
mašč. k.	hidrofobna regija
	hidrofilna regija

65. RAZLIKE V SESTAVI PEPTIDOLGIKANA PRI G+ & G- BAKT

- peptidoglikan (murein) zgrajen iz dveh sladkornih derivatov

N-acetilglukozamin:NAG

N-acetilmuraminska kislina:NAM

- med nima je močna kovalentna β -1,4-glikozidnaa vez
- na vsako NAM so vezane 4 AK (med sabo povezane s peptidno vezjo)
- AK so: L-Ala, D-Glu, diaminopimelična k. (L), D-Ala
- AK so redko v D- obliki -> LDLD izmenjava je pomembna
- Osnovna enota: glikantetrapeptid (2x sladkor + 4AK)

G- BAKT: dve nasprotno si orientirani osnovni enoti se povežeta s peptidno vezjo (D-Ala---DAP)- direktna povezava; tej povezavi pravimo transpeptidacija

G+ BAKT: dve nasprotni enoti se povežeta tako, da dodatno okrepitev omogoča peptidni mostiček iz 5ih AK (npr. Gly)

- polna moč peptidoglikana je dosežena, ko se peptidoglikanske verige prečno povežejo preko AK

G+: 90% cel. stene tvori peptidoglikan (malo tetionske? kisline); veliko slojev peptidoglikana (primer Staphylococcus aureus?)

G-: 10% cel. stene tvori peptidoglikana (primer E. coli)

G+: 1. DAP,Lys, druge AK 2. D-Glu na (2.mestu) lahko kem. modificirana (npr. karboksilacija) 3. Na L-Ala (1.mesto) in D-Ala (3.mesto) lahko pride do substitucije 4. 5 AK povezanih s

peptidnih s peptidnimi vezmi tvori peptidni mostiček, ki povezuje dve peptidogliki verigi (dve osnovni enoti) 5. V peptidnem mostu najpogosteje Gly, Thr, Asp; ni razvejanih, aromatskih AK, AK s -S-S-; ni Arg, Pro, Hys

G-: 1. DAP vedno prisotna 2. Direktna povezava AK dveh peptidogliki verig (Dap-NH₂...HOOC-D-Ala) 3. Ni prečnih AK povezav

66. ZAKAJ JE PEPTIDOGLIKAN TAKO MOČNA MOLEKULA?

- β -1,4-glukozidne vezi med sladkorji
- prečne peptidne povezave te osnovne verige se ojačajo

67. OSNOVNA ENOTA PEPTIDOGLIKANSKE CEL. ST.

- glej vpr. 65
- glikantetrapeptid

68. MONOMERNE SESTAVINE PEPTIDOGLIKANA

glej vpr. 65

69. RAZLIKE MED EV & ERHEBAKTERIJSKO CEL. STENO

- nekatere arheobakterije imajo netipično cel. st. -> glej odg. 65
- 1. lahko brez cel. st. (Theuroplasma?)
- 2. pseudomurein/pseudopeptidoglikan
 - NAG in N-acetilalosaminuronska kislina
 - Sladkorji povezani z β -1,3-glikozidno vezjo (nanjo lizocimi ne delujejo)
 - Ni D-AK
- 3. polisaharidna, glikoproteinska ali proteinska cel. st.
 - ni ne mureina ne pseudomureina
 - polisaharid (Metharosalicija?), polisaharid+sulfidni ostanki (Halococcus)
- 4. S-PLAST: kompleksna cel. ovojnica
 - proteini ali glikoproteini urejeni v teksagonalna polja (tudi tetra 6 trigonalna polja)
 - pokriva enega ali več odsekov, lahko večplastna
 - kristaliničen izgled, parokristalinska? Tvorba
 - (Methanospinellum, Metharothrix)
 - naj bi preprečevala vstop večjih molekul, pri patogenih zaščita pred obrambnim mehanizmom gostitelja

70. OPIŠI PERIPLAZMATSKI PROSTOR & NJEGOVO FUNKCIJO

to je špranja med cel. steno & plazmalemo

- G+: nekaj nm
- G-: do 70 nm; v njej je peptidogliki plast (rahlo peptidogliki omražje); konsistenca gela; vsebuje tri tipe proteinov: hidrolitične encime (razgradnja molekul hrane), vezni proteini (začnejo proces transporta substratov), signalni proteini (kemoreceptorji, omogočajo komunikacijo)

71. KAJ JE TRANSPEPTIDACIJA & ZAKAJ JE POMEMBNA?

- tvorba peptidne vezi med kratkimi peptidi prisotnimi v peptidogliki polimeru
- je končen korak pri tvorbi peptidogliki
- peptidogliki verigam da rigidnost v vseh smereh

72. SINTEZA CEL. ST. PRI DELITVI BAKT.

- kontrolirano delovanje avtolizinov razreže dele obstoječe cel. st.
- tvorba novih peptidogliki. enot do končane tvorbe septuma -> cel se razdeli
- pri tvorbi sodelujeta dva nosilca: baktoprenol & uDP

- baktoprenol(lipidni prenašalec): * C55 izoprenoidni alkohol *s fosfodiestersko vezjo povezan z NAM *nanjo vezan pentapeptid (pri povezavi NAM z AK sodeluje UDP) *nato se prek peptidnega mostu petih Gly (hidrofobna) veže še NAG
- baktoprenol transportira gradbene enote peptidoglikana prek memb., kjer se ta disaharidni pentapeptid vgradi v nastajajoči del cel. st.
- funkcija baktoprenola je, da ustvari zadostno hidrofobne sladkorje, da lahko ti preidejo prek memb.; spremeni hidrofilno naravo
- nato insertira disaharidni pentapeptidni kompleks v glikansko verigo, ta se vrne v cel.
- E za vezave (zunaj cel. ni E molekul)da odcep 5. Molekule Gly (dodatna enota)
- poteče še transpeptidacija; tvorba prečne povezave veerig peptidoglikana s tvorbo različnih peptidnih vezi

*Avtolizin hidrolizira glikansko vlakno, peptidne vezi, povezave med glikanskimi vlakni & peptidnimi podenotami; nahaja se v citoplazmi, memb., peripl. Prostoru, na območju rastočega septuma, gojišču

73. FUNKCIJA BAKTOPRENOLA

glej vpr. 72

74. RAZLIKE V NAČINU DELOVANJA LIZOCIMA & PENICILINA, KI POVZROČA LIZO BAKT.CEL

- lizocimi: *cepijo β -1,4 glikozidno vez med glikansko verigo; omogočajo cel. rast (protoplast, sferoplast- ne odstranimo vse stene) *deluje na odrasle cel., ne pa na arheje brez cel. st. Ali z β -1,3 glikozidno vezjo

- penicilin: *preprečuje transpeptidacijo *deluje na rastoče cel. *manj uporaben za G- bakt., ki že imajo povezavo *pri G+ bakt. ošibi cel.st. poteče osmotska liza

75. NASTANEK & LASTNOSTI PROTOPLASTOV

- protoplast je cel. brez cel.st. (manjka del stene ->sferoplasti)
- dobimo jo pri delovanju lizinov na bakt. cel
- ta v kontroliranih, ugodnih razmerah lahko uspeva naprej (izotonično okolje)

76. ZAKAJ SAHAROZA STABILIZIRA BAKT. CEL. OBDELANO Z LIZOCIMOM & PREPREČI NJENO LIZO?

- z ustrezno konc. Saharoze ustvarimo izotonično okolje
- če ga ne bi ustvarili bi cel. turgor pretrgal cel. memb.- potekla bi avtoliza

77. POSLEDICE TEGA, DA DAMO G- CEL. BAKT. V:

- a) H₂O (dest.):nič, cel. stena zdrži turgor, ki se tvori zaradi hipotoničnega okolja
- b) H₂O (dest)+lizocim: lizocim razgradi cel.st., turgor zaradi hipoton. Okolja narase & oretga cel. memb. – avtoliza
- c) H₂O (dest)+lizocim+saharoza(10%):isto, le da protoplast zaradi izotoničnega okolja ne bi avtoliziral
- d) H₂O(dest)+penicilin: isto kot pri a) za odrasle cel.(brez hrane odmrejo), rastoče cel. pa bi propadle zaradi osmotske lize – glej vpr 74

78. PODOBNOSTI OZ. RAZLIKE MED PEPTIDOGLIKANOM & PSEVDOGLIKANOM

- Razlike: namesto NAM je NAT (N – acetiltalozaminska k.)
- β -1,3-glikozidna vez
- ni D-AK
- Podobnosti: glikanska veriga NAG + sladkor

- AK-L

79. OPIŠI NETIPIČNE CEL ST. ARHEJ

glej vpr. 69

80. OPIŠI S-PLAST

glej vpr 69.4.

81. TEIHOIČNE/TEJHONSKE KISLINE-KAJ SO, KJE SE NAHAJAJO

- pri G+ bakt. /debela peptidoglik. St.), v mureinski plasti (segajo prek cele plasti, do njene sredine ali vezane na vrhu), vezane lahkonamemb. Ali na polimere v kapsuli, ki vsebujejo glicerol-P ali ribitol-P ostanke
- če je vezana namemb. lipide je LIPOTEIHONSKA KISLINA
- sestava: alkohol ribitol ali glicerol; P(fosfatni estri); stranske sk.: AK(D-Ala), sladkorji v vseh kombinacijah -> lahko polimerizirana
- so neg. nabite zato prispevajo k neg. nabitosti cel. površine (kationska barvila)
- vrste: *teihonska k. *lipoteihonska k. *kapsularna (teihonska)k. (gosto prisotne; strukt. na zun. strani stene): -omogočen dostop (kationskim) barvilom ->vezava + ionov -neg. naboj cel. površja -regulacija delovanja avtolizinov -pomagajo pri prehodu molekul -antigenska specifičnost bakt. (G+ bakt.)

82. SESTAVA LIPOPOLISAHARIDNE PLASTI (LPS) V CEL. ST. G- BAKT.

- poleg ce. Memb. & periplazmatskega prostora s peptidogl. G- bakt prekriva še lipopolisaharidna – LPS plast v zun. memb.
 - iz treh osnovnih enot:
 - 1.lipid a vgrajen v zun. del zun. memb. –NAG-P povezavi z m.k. –med disaharidom &m.k. esteraminska vez -fosfatna kislina
 - 2.polisaharid stržena/sredice -iz KDO (ketodeoksioktonat) -3x heptoza -2x Glc -2xGal -lahko stranski sladkorji
 - 3.oligo polisaharidi(okta) -polimerizirane enote iz več sladkorjev -daje antigensko specifičnost
 - v zun. memb. se lahko LPS asociira z različnimi proteini zun. polovice memb.
 - čez zun. memb. segajo integralni proteini (transport), porini
 - spodnja stran memb. podobna navadni memb.
 - na not. strani z lipoproteini (Graurovi proteini) vezana v peptidogl. plast
- G-: zun. memb.-LPS plast, zun. del peripl. špr., peptidogl. plast, not. del peripl. špr, not. memb. (peptidogl. plast – tanka, večslojna – 1 do 5 plasti, kompleksna, 10% peptidogl., debela 1 do 3 nm)
- G+: peptidogl. plast-debela, peripl. špr.-tanka, memb. (90% peptidogl., do 25 plasti peptidogl., 20 do 80 nm debela)

83. FUNKCIJA LPS:

1. ovira za antibiotike (penicilin)
2. zmanjšano delovanje lizocimov, detergentov, težkih kovin
3. zaščita pred preb. encimi, želodčnimi solmi, toksini
4. barvilom omogoča dostop
5. zaščita pred fagocitozo s strani imunskega sistema
6. neg. naboj površja
7. nosilec toksigenega delovanja-eksotoksin (Salmonella, Shigella, E. Coli)
8. antigenska specifičnost

84. ENDOTOKSINI G- BAKT.

- zun. memb. sloj je toksičen za živali
- Salmonella, Shigella, E. Coli
- Toksične lastnosti so povezane z LPS plastjo, posebej lipidom A(endotoksin)
- Lastnosti: termostabilnost, toksičnost v velikih dozah, rahlo imunogen, podobnost ne glede na izvor, splošni sistemski učinek (pirogenost?, šok, koagulacija krvi, oslabelost, diareja, vnetje, krvavitve, tuberkuloza)

85. FUNKCIJA & NAHAJANJE PORINOV

- za prehod snovi prek memb. delujejo kot kanali za nizkomolek. hidrofilne snovi
- v zun. memb. G- bakt.
- sestava: *3 enake transmemb. podenote *tvorijo odprtino $2r=1\text{nm}$
- prehajajo snovi $M=500$ do 5000
- porini so: *specifični: specifično vezavno mesto(npr za B12) *nespecifični: odprtina napolnjena z vodo (prehod virusov)
- zun. memb. prepušča hidrofobne snovi, ne prepušča encimov, zadržuje jih v peripl. špr.

86. GLIKOKALIKS BAKT. – POMEN & SESTAVA

- glikokaliks ima vrstno specifično sestavo (taksonomski znak): 1. Polisaharidi (polialkoholi, aminosladkorji)- 70 do 80 % vseh glikokaliksov 2. Polipeptidi 3. Kombinacija obojih
- tipi: *kapsula(polisaharidna, kompaktna, čvrsta) *sluzna plast (rahla, lažje odstranljiva) *S-plast (pri arhejah & glikokaliksu bakt., kristalinična; tetra ali heksagonalna simetrija)
- funkcije: *pripenjanje na površino *oblikuje biofilme (skupina mo, trda podlaga, različne plasti, komunikacija), pelikule (vodna površina, tekoča) *poveča virulenco(*Streptococcus pneumoniae*) *zaščita pred izsuševanjem (vsebuje 90 do 95 % vode), virusi, hidrofobnimi toksičnimi agensi (detergenti), fluktuacijami ionov, pH, osmotskim stresom, encimi, predatorskimi bakt. (*Bdellovibrio*), imunskim sistemom(teleza)

87. RAZLIKE MED EVBAKTERIJSKO & ARHEBAKTERIJSKO MEMB.

- evbakt.: glicerol & m.k. povezane z estersko vezjo
- arhebakt: glicerol & fitanli? povezave z estersko vezjo; fosfolipidi, sulfolipidi, glikolipidi; ni m.k. ampak derivati ozoprenola (30C) ->FITALILI; narava lipidnega dela se spreminja; ki je memb. dvoslojna tvori oba sloja glicerolni dieter (fitanil. enoti); če pa se oba sloja povežeta s kovalentnimi vezmi dobimo diglicerolni tetraeter oz enoslojno memb. (hipertrofilne arheje, bifitarilna enota)
- evbakt.: fosfolipidni dvosloj; hidrofilna & hidrofobna regija

88. GLAVNE ZNAČILNOSTI LIPIDOV V MEMB. ARHEBAKT

- glej vpr 87
- lipidni del – 20 do 40 C atomov, če je potrebno še pentaciklični obroči (na tem delu se memb. stanjša)
- $n \times C + m. \text{pentacikel} = 20 \text{ ali } 40 \text{ C} (15 + \text{pentacikel}, 35 + \text{pentacikel})$

89. GLAVNE ZNAČILNOSTI LIPIDOV V MEMB. BAKT.

- enaki kot evkariontski
- fosfolipidi: esterska vez, hidrofilni & hidrofobni del
- kationi (Mg^{2+} , Ca^{2+}) stabilizirajo memb, ker se ionsko vežejo z neg naboji fosfolipida

90. VLOGA STEROLOV & HOPANOIDOV V MEMB. – PRI KATERIH ORG SE POJAVLJAJO

- steroli: pri evkariontski cel.; rast. (fitosterol), glive (ergosterol?), živali(holesterol)

- hopanoidi: pri prok. Cel. (anaerobnih & aerobnih); najpogostejši diplopten (30 C); za sintezo ni potreben O₂
- funkcija: stabilizirajo & zmanjšajo fleksibilnost memb.

91. POSEBNOSTI CITOPLAZMATSKE MEMB. MIKOPLAZEM

ni cel. st., zato za rigidnost citopl. memb. potrebuje sterole, ki jih prevzamejo iz okolja (paraziti v telesu, osmotsko zaščitene)

92. ZAKAJ IONIZIRANE MOLEKULE NE PREHAJAJO ZLAHKA SKOZI MEMB? KAKO?

- memb. v not. hidrofobna, ioni pa hidrofilni -> med njimi odboj, prehod nemogoč
- skozi memb. prehaja voda, majhne nepol. mol., hidrofobne mol. (nepolarne mol.)
- prehajajo prek transportnih proteinov v memb.
- ioni so hidrotizirani

93. DELOVANJE MEMB. TRANSPORTNIH PROTEINOV:

- uniport: prehod ene molekule v eno smer
- kotransport: prenašajo eno molekulo s pomočjo druge: *simport: obe molekuli v eno smer; *antiport: molekuli prehajata v nasprotni smeri
- aktivni transport, v nasprotni smeri konc. grad.
- a) pasivni transport:
 - majhne nepolarne molekule (O₂, CO₂, enostavni sladk.), voda, molekule topne v maščobah (m.k., alkoholi, Ar)
 - smer konc. grad., ni porabe E, transport poteka do izenačitve konc. (enostavna difuzija(plini); olajšana difuzija(sodelovanje peumeraz?, ekstracelularnih encimov); osmoza(prehod topila v smeri konc. gradienta)
- b) aktivni transport:
 - >enostaven
 - hidrofilne, nabite mol. (org. k., anorg. soli), ioni, velike mol. (belj)
 - akumulacija topljencev proti konc. grad
 - poraba E: ATP, H⁺ gradient, gradient Na^{*} (evkarionti)
 - >skupinska translokacija: snov se med transp. kem modificira
 - sladkorji, purini, pirimidini, m.k.
 - poraba E
 - ni konc grad. Snovi, ko se ta kem spremeni
 - >ABC transport: molekula se transportira v kem nespremenjeni obliki

94. ZAKAJ SO TRANSP. PROT. POTREBNI?

- citopl. memb. deluje kot bariera za določene snovi
- difuzija, osmoza snovi, ki prehajajo je počasen proces
- transport snovi v cel. je lahko reguliran

95. ZAKAJ CEL. NE MOREJO PRIDOBITI HRANIL SAMO S POMOČJO DIFUZIJE?

- ker je citopl. memb. semipermeabilna
- difuzija je počasna

96. KATERE SNOVI PREHAJAJO V CEL. PASIVNO?

Glej vpr 93a)

97. PRINCIPI PREHODA SNOVI SKOZI CITOPL. MEMB.

- pasivno: skozi memb., skozi kanale z difuzijo

- aktivno: prek memb. transp. p. (preprosti transport (uniport, simport, antiport); skupinska translokacija; ABC transport)

98. RAZLIKE MED PASIVNIM & AKTIVNIM TRANSPORTOM

- konc. gradient, E, snovi
- glej vpr 93

99. OPIŠI SKUPINSKO TRANSLOKACIJO GLC

- transportira jo fosfotransferazni sistem (fs)
- mehanizem je fosforilacija s FS
- pri E.coli sodeluje v njem 24 encimov (4 specifični za Glc)
- proteini v kaskadi se fosforilirajo & defosforilirajo
- ko En2 Iic sprejme P in fosforilira sladkor, se Glc transportira
- PEP je ključni intermediat metabolnih procesov
- Glc-6-P je intermediat, ki lahko neposredno vstopi v različne metabolne reakcije v celici
- Določeni proteini znotraj verige so specifične za posamezne sladkorje

100. OPIŠI ABC TRANSPORTNI SISTEM

- to je ABC binding caseth
- znotraj celice ATP hidrolaza hidrolizira ATP v ADP in P, s tem celica oz encim, vezan na transmemb. kanal pridobi energijo
- na drugi strani memb. v periplazmatskem prostoru periplazmatski protein specifično veže določeno snov (do konc. 10^{-6} M), prenese jo prek integralnega proteina v notranjost

101. OPIŠI TRANSPORT SNOVI S PERMEAZAMI

- to je enostavni aktivni transport
- transport sladkorjev, AK, org. k., ionov (sulfat, fosfat, K)
- E daje ATP, nekaterim pa protonska gibalna sila (Lac permeaza/pgs, Malt/ATP -> E.coli)
- E pridobljena z razgradnjo org. ali anorg. snovi ali svetlobna E služi tvorbi protonskega gradienta prek memb. (največja konc H^+ zunaj memb.)
- Memb. postane nabita -> cel. memb., memb MT, memb KPL
- Prevzem snovi omogoča majhen elektrokem potencial protonske gibalne sile
- Prenašalec ima specifično mesto za substrat & za proton
- K^+ : uniport
- Sulfat, fosfat: simport z H^+
- Lac: simport, Lac permeaze
- Na^+ : antiport z H^+

102. GLAVNE STRUKTURNE KOMPONENTE TREH GLAVNIH TIPOV AKTIVNEGA TRANSPORTA

- Enostavni en transmemb. protein v obliki kanala, ATP, prot. Gib. Sila
- Skupinska translokacija: kaskada proteinov, PEP
- ARC TRANSPORT: ATP hidrolaza, integralni protein, periplazmatski protein

103. PRIMERJAJ TE OBLIKE GLEDE NA KEM. SPREMEMBE SNOVI

- le pri skupinski translokaciji pride do kem modifikacij
- pri ABC in enostavnem transportu se molekula transportira nespremenjeno

104. ENERGETSKE ZAHTEVE TEH TIPOV:

- enostavni: protonska gibalna sila, ATP
- ABC: ATP

- Skupinska translokacija: PEP

105. KATERI TIP AKT TRANSP JE NAJPRIMERNEJŠI ZA TRANSPORT SNOVI V MAJHNIH KONC.

ABC, ker ima zelo veliko specifičnost; veže snovi v konc 10⁻⁶ M

106. KATERE TIPE VKLJUČKOV NAJDEMO V BAKT. CEL

- volutinske inkluzije: vazave anorg fosfata, potrebujejo ga za sintezo ATP, to je strukt & E rezerva; to so velike granule; imajo jih org., ki živijo v okolju, bogatem s P; alge, glive, protozoji, bakt. (*Corcynebacterium dyp thriae*?)
 - polisaharidne granule: rezerve glikogena ali škroba (E); vidimo jih z EM ali barvamo z jodom; alge, glive, protozoji, bakt.
 - lipidne inkluzije: barvanje z barvili, topnimi v maščobah, imajo obliko granule (*vključek je PHA: poli- β - hidroksialkanoat (zaloga C in E, dolg od 4C do 18C, aplikacija za bioplastike); esterska vež *PHB: poli- β - hidroksibtrična? Kislina; esterska vež
 - karboksisomi: avtotrofni org.; poliedrične, heksagonalne strukt; vsebujejo encim RubisCo (ribuloza 1,5- BI- P karboksilaza); nitrifikacijske in cianobakt; tiobacili; tu poteka Calvinov cikel (tvorba E, red. CO₂)
 - žveplene granule: akumulacija S (akceptor e-); oksidacija reduciranih oblik S do elementarnega S in sulfata; ta sodeluje v metabolizmu kemotsintetskih & kemolitotrofnih bakt. (železove & žveplave, *Thiobacillus*); E rezerva
 - plinske vakuole: akvatični prokarionti (cianobakt., hslobskt., anoksiogene fotosintetske bakt.); alge; do nekaj sto na cel, vrstno specifičnih velikosti (300 do 700 nm x 60 do 110 nm); cel se lahko odzivajo na svetlobo, O₂, prisotnost toksinov, hranil
- zgradba: *votli, vretenasti, rigidni, cilindri, zloženi v skladovnice *vse obdaja proteinska memb. (selektivno permeabilna- prepušča zrak, vode ne, podobna sestava pri različnih org)
 - molekularna sestava: iz dveh različnih tipov proteinov: GvpA & GvpC *GvpA: v večini (97%); hidrofoben (hidrofobne, nepolarne AK: Val, Ala, Leu so na notranji površini vezikla, hidrofilne AK pa so na zunanji strani vakuol *GvpC: večji, v manjših količinah; o jača steno plinske vakuole *GvpA tvori β - negubano ravnino, ke daje steni rigidnost; paralelno zložena rebra dajejo celotni strukturi vodotesen učinek *GvpC tvori prečne povezave med posameznimi rebri GvpA
 - p=1atm, zmanjšajo gostoto cel
- magnetosomi: akvatične bakt., alge- sedimenti; vsebujejo kristale magnetita (Fe₃O₄); celicam omogočijo tvorbo trajnega mag. dipola in reakcije na mag. polje ->magnetotaksija (orientacija & migracija vzdolž mag. polja); magnetosomi so obdani z memb., ki vsebujejo fosfolipide, proteine & glikoproteine; memb. ima vlogo helavije & precipitacije Fe³⁺ (prenos Fe³⁺ v magnetosom s helatnimi agenti v topni obliki ter pretvorba v netopno Fe₃O₄ obliko v magnetosomu); vrstno spec. morfologija kristalov
 - acetokromatska zrnca/granule: vsebujejo fosfate; lahko jih spec. obarvamo s kem. reakcijami (barve) & opazujemo z EM – pojav je METAKROMATIČNOST

107. KAKŠEN POMEN IMAJO ZA CEL

- metakromatične granule: rezerva fosfata (strukt. & E)
- polisaharidna zrna: rezerva E
- lipidni vključki: rezerva C & E
- karboksisomi: encim RubisCo, Calvinov cikel (red CO₂)
- plinske vakuole: lebdenje v vodi, premikanje navzgor & navzdol

109. MAGNETOSOMI-SESTAVA & POMEN, KAKŠNE LASTNOATI CEL. Z NJIMI PRIDOBIJO?

- glej vpr 106 g)
- magnetotaksija: orientacija s pomočjo mag. polja (ptice, čebele, delfini, bakt.)
- fosili magnetot. bakt. omogočajo preučevanje sprememb mag. polja zemlje
- pridobivanje magnetita: mag. trakovi; magnetosomi razgrajajo H₂O₂, ki je stranski produkt povečane konc O₂

108. PLINSKI VEZIKLI- SESTAVA & POMEN

glej vpr 106 f)

110. REZERVNE SNOVI PRI BAKT

fosfati (polifosfatna, volutinska zrna), žveplo (žveplene granule), PHA- PHB (rezerva C & E v lipidnih granulah), fosfati (metakromatična zrnca)

111.PHB VKLJUČKI

-glej 106c

112.KARBOKCISOMI

-glej 106 d

113.RAZLIKE MED BAKT.VKLJUČKI IN ORGANELI

-bakt.cel. nimajo organelov; nekateri vključki/ inkluzije obdani s posebnim ovojem, ni ovoja iz elementarne membrane, I vloga je kopičenje snovi

-evk.cel.: organeli obdani z elementarno memb., vloga je poleg kopičenja zelo pogosto sinteza, razgradnja snovi

114.OPIS KROMOSOMA BAKT.

-nukleotid=jedrna regija (agragirana dna)

kromosom:-*kovalentno* zaprta krožna dna mol.braz histonov in memb.ovoja;-*haploidnost* (ni komplementarnosti, mutacija se vedno izrazi);-*izmene*:-Geninrata obscuriglobus (sladkovodna brsteča bakt,nukleoid z 2 jed,memb.,cel.st.iz proteinov)- *Borrelia burgdorferi*, *Streptomyces*-nekaterere(linearna)-*Rhodobacter sphaeroides* več krožnih kromosomov;-po cepitvi je lahko v cel.več krom-zavitost *DNA*:-raztegnjena mol. D=1mm-E.coli 2r=2-3 μ m,>50 superzvitih področij;-ta področja stab.strukturni prot.-*superzavitost DNA*:lahko ima poz.(kot desnosučni dvojni heliks) ali neg.(L)zavitost-ta prevladuje;*DNA giraza*=*DNA* topoizomeraza II.-zavija mol.*DNA*;bakt.in arheje; zaradi torzije ena od verig počí; prekinjena vijačnica se poveže po superzvitu, da se *DNA* ne odvijje nazaj;-*DNA tropoizomeraza I=helikaza*-odvija superzvito *DNA*; prok.in ev.; pri prepisovanju *DNA* sprosti strukture nek.področij(nek.geni se prepisujejo);-*reverzna giraza*-omogoča poz.zavitost *DNA*, v smeri Dvijačnice;hipertermofili in arheje;-*arheje* imajo za stab.*DNA* kompleksnejše prot.kot evbakt.. Termofilne bakt.imajo več C=G parov

115. KAJ je NUKLEOTID

-glej 114

-pritrđitev nukleotida:memb.blizu mesta iniciacije replikacije (E.Coli); v cel.steni-močna vezava na polu

116.KAJ JE BAKT.KROMOSOM IN KOLIKO JIH IMA ENA CEL.

-ima većinoma enega

-glej 114

117.GENETSKE IZMENJAVE PRI PROKARIONTIH

- a) konjugacija:prenos *DNA* je rezultat kontakta cel.
- b) Transdukcija: virusi prenašajo *DNA* (npr. z ene bakt. Na drugo)

- c) Transformacija: vključena je prosta DNA; donorske cel.večinoma lizira sprosti DNA v medij; to golo DNA sprejme recipientska cel.

-arheje in nek.bakt.; +plazmidi

119.BAKT.ENDOSPORA-ZGRADBA IN POMEN ZA BAKT.

-tvorijo jih g+bakt. (bacillus, clastidium, sporosarcinae)

-rezistentne, dormantne strukture; funkcija je preživetje neugodnih razmer, ne pa razširjenje

-spora-od zunaj navznoter si sledijo:

- a) eksosporium:tanek prot.plašč
- b) sporni plašč: dekel, iz več proteinskih plasti
- c) korteks: cel.st.; peptidoglikan z manj prečnih povezav; do 1/2 volumna spore
- d) sredica/sprorni protoplast=ostanek prvotne vegetativne cel.

-DNA, ribosomi, bivša memb. In cel.st., citoplazma, manj RNA (ni aktivna), encimi

-veliko DIPIKOLINSKE K.:poveže se s Ca²⁺ ioni (skupaj 10 do 15 %sredice) in stabilizira n.k. (DNK,RNK)

SASP (small acid soluble proteins): -stabilizirajo n.k., jih ščitijo pred poškodbami UV žarkov, sušenjem, suho toploto; vir E pri germinaciji endospore

-10 do 30% vode veg.cel.

-konsistenca gela

120.BAKT.ENDOSPORA-ZGRADBA IN POMEN ZA LJUDI

-spoznali smo :toplotno odpornost

-zato razvili primerne metode sterilizacije medija/gojišča, kirurškega orodja

-avtoklav (12 atm, 121; posebno sterilni material 2x20 min s 48h premori, subletalne? T pospešijo kalitev spor, ki jih nato uničimo

-pomen:-ind.mb.(sterilizirani ovseni otrobi-gojišče za plesen-sir)

-medicin.mb.(kirurški pribor.)

-živilska industrija(sterilizacija hrane)

-spore so termično izredno odporne (13 vrenja v vreli vodi;povprečno 3-4h)

-odporne na žarčenje, kem.agense, izsuševanje, razkužila

121. SPORULACIJA = SPOROGENEZA

Začne se zaradi pomanjkanja hranil (N,P,S), prenehanja rasti, razmnoževanja Cel. Hiter proces: 8 – 10 ur, vpletenih 200 genov, spore dolgožive (250 mio let). Tri stopnje:.aktivacija: subletalna T, germinacija: sporulacija, rast – vse tri skupaj – kasnejša kalitev spor. a) tvorba aksialnega filameta (tvori ga DNA, ki se zgosti okoli njega) b) septum pregradi veg. Cel. Od mesta tvorbe spore (plazmalema se uviha) c) oblikovanje II memb, ki obda nastajajočo sporo d) tvorba korteksa (memb. Se razmakneta) e) akumulacija Ca²⁺ dipikolinske k. f) tvorba plašča (spor. plašč in eksosporium g) dozorevanje spor h) liza sporangija

122. SPORANGIJ BAKT. CEL.

To je materinska celica (nosilec spore) – G+ bakt.. Pozicija sporangija: centralno terminalno, subterminalno. Ob tvorbi spore izgublja genetski material – prehaja v sporo. Lažje se obarva kot spora. Manj Ca²⁺ in dipikolinske k. , velika encimska, metabolna sintetska aktivnost, manjša termostabilnost, odpornost na sevanje, kemikalije, lizocime. 80 – 90% vode, ph 7, ni SASP

123. KAJ IN KJE JE DIPIKOLINSKA K.

Glej odgovor 119

124. KAJ SO SASP IN KAKŠNA JE NJIHOVA FUNKCIJA

Glej odgovor 119

125. KAJ SE ZGODI, KO ENDOSPORA ZAČNE KALITI

a) aktivacija: subletalna (visoka) T, dolgotrajna hramba suspenzije spor pri 40C ali sobni T, določeni nutrienti. B) kalitev/germinacija: adebelitev (sprejem vode) spore, pok stene spore, absorpcija plašča, izguba rezistence (Cadipikolinata, SASP), povečan metabolizem. C) rast: prevzem vode, sinteza RNA, proteinov, DNA; cel. Se izlušči iz spore in se začne deliti

126. RAZLIKE V STRUKT, KEM. SESTAVI IN ODPORNOST VEG. CEL. IN SPORE VEG. CEL = (V); ENDOSPORA = (E)

•struktura: V- tipična G+, E- eksosporium, sporni plašč, debel korteks. • mikroskop. Videz: V – nerefraktilna, E – refraktilna; • Ca²⁺: V – malo, E – veliko, •dipikol. k. : V – ni, E – je, •encimska akt.: V- visoka, E – nizka, •metabolizem (prevzem vode): V- visok, E- nizek/odsoten, •mRNA: V- je, E- malo ali nič. • sinteza makromol.: V- je, E- ni, •odpornost na Q: V- slaba, E- visoka, •odpornost na h*V: V-nizka, E- visoka, •odpornost na kemik., kisline: V- nizka, E- visoka, •obarvanje: V-težko, E-lahko, •odpornost na lizocim: V-občutljiva, E-odporna, •vsebnost vode: V-80-90%, E- 10-25% v skorji, •SASP: V- odsotni, E- prisotni, •pH citoplazme: V- 7, E- 5 – 5.5 (oz. 5.5 – 6)

127. PRIMERJAJ ZGRADBO PROK. (P) IN EVKARIONTSKE (E) CELICE

• cel. Stena: P- psevdopeptidoglikani, E- celuloza, hitin, odsotna, •dedni material: P-en krožen kromosom, E- več linearnih kromos., •histoni: P- ni, E- da, •org. ded. Material: P-jed. Regija – nukleoid, E- jedro, •inkluzije: PŠ-da, E- ne •organeli: P- ne, E- da, •ribosomi: P- prosti, 70S, E- na ER, prosti, 80S, •bički P_ raznolika zgradba, E- 9X2+2 zgradba, ločene cel. Funkc.

128. GLAVNE RAZLIKE MED EV IN ARHEBAKT.

Evbakt: • plazmalema: hopanoidi, fosfolipidni dvosloj, estrska vez. • peptidogl. Plast: NAG in NAM, D in L a.k.

Arhebakt: • plazmalema: glicerol in fitaliti, 2X glicerolni dieter ali diglicerolni tetraeder, etrska vez, • psevdopeptidogl. Plast: NAG in NAT, D a.k., • histoni

129. GLAVNE PODOBNOSTI MED EV IN ARHEBAKT

•Prokarionti – enoc, nukleoid, ena krožna DNA, •inkluzije, 70S ribosomi, plazmidi

130. NAČINI GIBANJA BAKTERIJ

a) biček, b) polzenje (več vrst), c) vertikalno premikanje s pomočjo plinskih vakuol • taksije: kemo, foto, ano, osmo → usmerjena gibanja

131. RAZLIKA MED BAKT IN EVKARIONT. BIČKOM

*2r = 20nm (ožji), *d = 15 – 20 mikro. M (daljši), *razporeditev, *oblika: •spiralno zaviti ali sinusoidni • »semirigidni« (nagib vrtenja bička glede na cel. Se spreminja) • glede na vrtenje bička se mo. Premika naprej ali nazaj • G+ in G- b akt. Imajo različne bičke. * prokarionti 4 osnovne komp.: 1. filament – tvori ga globularni (strukt.) protein FLAGELIN (trojna levosučna vijačnica), votel (vstop virusa). 2. kljuka – na bazi bička. 3. sistem obročev: • G+ bakt: 1 par: zasidran v memb. -2M-S obroča • G- bakt: 2 para; L obroč (hidrofobni prot.) v LPS plasti, P obroč(hidrofilni prot.) v peptidogl. Cel. Steni, 2Ms obroča (polarni prot.). 4. motor okrog sistema S-M obročev in osi. Osi : proteini. • mot: poganjajo flagelarni motor, povzročajo rotacijo filamenta • Fli: delujejo kot stikalo motorja, glede na znotrajcel. Signale spreminjajo rotacijo bička.

*evkarionti – debelejši, krajši biček . 1. filament: 9X2+2 mikrotubuli – ti drsijo drug ob drugem in spreminjajo obliko bička. 2. bazalno telo: 9X3 mikrotubuli, *biček zamahne (zavesljaji) ali se vrti, * ATP

132. RAZPOREDITEV BIČKOV PRI BAKTERIJAH

a) monotrihna: en biček polarno → sunkovito premikanje in obračanje, b) amfitrihna: dva bička polarno, c) lofotrihna: skupek flagelov polarno ali bipolarno, d) peritrihna: flageli enakomerno po vsej površini, premikanje počasi, naravnost

133. PERITRIHNOST

Glej odgovor 132d

134. SKICIRAJ VSE RAZPOREDITVE BIČKOV BAKT

Glej odgovor 132

135. STRUKTURA BIČKA BAKTERIJ

Glej odgovor 131

136. KEMIJSKA SESTAVA BAKT. BIČKA

• filament – trojni heliks proteina flagelina • kljuka – en sam tip proteina, različna a.k. sestava, proteinu HAP 1,2,3 (manj heterogeni), daje antigenske lastnosti • sistem obročev – L obroč: hidrofob. Prot., P obroč: hidrofilni prot., MS obroč: polarni protein • motor in fli proteini

137. KAJ JE FLAGELIN IN KJA GA NAJDEMO

glej odgovor 131

138. KAJ JE VIR E ZA DELOVANJE BIČKOV

• protonska gibalna sila (1000 H⁺ za eno rotacijo) → prok.cel. ; - spreminjanje hitrosti v odvisnosti od (jakosti) proton. Gib. Sile, - 60 cel. Dolžin na sek • ATP – evk. Cel.

139. KAKO BAKT. BIČEK PREMICA NAPREJ

• z desno ali levosučno rotacijo (spiralno zaviti), • z sinusoidnim videzom, ko so sploščeni, • sprememba smeri : - nagib vrtenja se spremeni, - smer rotacije se spremeni, • rotacija zaradi pretoka H⁺ skozi Mot prot. Kompleks v not. Cel., vrti se baza bička zasidrana med L, P, MS in posledično filament

140. NAČIN GIBANJA BIČKA IN PREMIKANJE BAKT.

• smer rotacije uravnava Fli protein, rotacijo pa Mot protein, • rotacija bička, • glej 139

141. GIBANJE BAKT IN TAKSIJA

• taksija: usmerjeno gibanje k ali stran od stimulusa, • utripanje/nihanje na mestu – zaznavanje okolice- naključen premik- ponoj vajo, • vzrok za taksijo: gibanje je temporalno (časovno) in prostorsko; bakt. Se odzivajo na temporalni gradient signalov. *v kratkih časovnih intervalih zaznavajo okolje (vklapljanje čutil), * temporalne reakcije: odziv kemoreceptorjev ali fotoreceptorjev, *vpliv gradienta atraktantov in repelentov, * senzorični sistem odgovorov → gibanje bičkov, kemično voden; kemotaksija. A) kemotaksija: pozitivni kem. dražljaji – ATRAKTANTI, negat.- REPELENTI, b) fototaksija: različne val.dolžine svetlobe, predvsem fototrofi, c) skafofototaksija: strah pred temo, d) aerotaksija: aerobi in anaerobi, e) osmotaksija: odziv na osmotske premembe.

142. FOTOTAKSIJA

Premikanje proti svetlobi določene val. Dolžine ali v smeri naraščajočega gradienta jakosti svetlobe, glej odgovor 141b

143. KEMOTAKSIJA

• kem. voden senzorični sistem odgovorov • glej odg. 141a • atraktant: daljši teki, krajši postanki

145. KAKO BAKT. ZAZNAVAJO PRISOTNOST ATRAKTANTA V OKOLJU

temporalno z različnimi receptorji, glej odg. 141

146. STRUKT. IN FUNK. RAZLIKE FIMBRIJ IN PILOV

• švilni -1-100, • G- bakt., • tanki, kratki, ravni priveski, • na polu celice ali celični površini • pritrjevanje na površino (ali drugo celico med konjugacijo) **a)** fimbrije: 3 do 10 nm X 1 do 5 nm; iz pilina ; tvorba pelikul in biofilma, pritrjevanje na površine, **b)** 9 do 10 nm X 5nm; na enem ali

obeh polih celice. * spolni pili: za konjugaijo, * fragmentaren prenos genskega materiala od donorske k recipientski »omega«, * vezava določenih virusov • GIBANJE BAKTERIJ **a**) rojenje: če živijo v kolonijah se robne celice na trdnih gojiščih diferencirajo, bički se podaljšajo, cel. Migrirajo do ugodnejših razmer, dodatni bički jim odpadejo (redki skrajšajo), cel. So kratke, »rojiči« cel. Se ne delijo → vse to prispeva k manjši porabi E.. **b**) gibanje spirohet: značilna oblika vijačnice z aksialnim (periplazm., endo) flagelom (filamentom, fibrilo). *kemijska sestava podobna flagelu, *naviti okrog cel. Cilindra od pola do 2/3 cel. * pritrjeni na obeh koncih cilindra blizu cel polov. *prekrivanje obeh šopov na sredini. **c**) polzenje: * pritrđitev na površino s filamenti (glikoprot.), * gibanje z »gosenicami« (proteinski izrastki skozi steno) * pritrđitev s sluzjo in premikanje po njej * polzenje, valjenje, zvijanje, premikanje okoli pola. • vplivi: vlažnost (vlažni polisaharidi), Ca²⁺ (učvrstitev strukt.), H⁺ gibal.sila.

147. RAZLIKA MED KATABOLIZMOM IN ANABOLIZMOM

• katabol: razgradnja snovi, generacija E (S→P), • anabol: tudi biosinteza, s pomočjo nutrientov iz okolja. Izgradnja v osn. Cel. Strukt. , poraba E (enostavne sestavine → makromolekule)

148. RAZLOŽI POJME – ZA VSAKEGA NAVEDI PRIMER

• metabolizem: vsi kem. procesi, ki se odvijajo v celici, katabol in anabol • avtotrofi: (Thiobacillus) , sam biosint. Vse cel. Materiale iz CO₂ kot vitamin C • heterotrof: biosinteza snovi, vir C so org. snovi (človek) • fototrof: vir E je svetloba (rastline) • kemotrof: vir E so kem. snovi ; litotrof – vir E so anorg. Snovi (zelene alge) , organotrof: vir E so org. snovi (človek)

149. GLAVNE ZNAČILNOSTI ANOKSIGENE FOTOSINTEZE

• fotosintetski aparat iz pigmentnega, proteinskega in ATP-aznega kompleksa • pigmentni kompleks: 200 do 300 molekul klorofilov, reakcijski centri, antenski centri, ATP-azni kompleks • v reakc. Centrih potečejo spremembe, antenski centri svetlobo le zberejo

a) reakcijski center: 3 proteini, fotosintetski del * 2 mol. Bakterioklorofila a (poseben par) * 2 mol. Bakterioklorofila a (neznan funkc) * 2 mol. Bakteriofitina (bakterioklor a – Mg²⁺) * 2 mol. Karotenoida (akcesorni pigment) **b**) center za izplen svetlobe I: * bakterioklorofil a = B870 **c**) center za izplen svetlobe II: * bakterioklorofil a = B800 – B850 **d**) citokromski bc₁ kompleks : * skupen fotosint. In respiratornemu ciklu. * sintezo ATP med fotosintet. e- tokom je posledica tvorbe prot. Gibal sile in aktivnosti ATP-az zaradi razlike v kemiosmotskem potencialu * ta proces tvorbe ATP je ciklična fosforilacija, ker e- stalno krožijo po zaprtem krogu * to je Q cikel * to je bakt. Fotosinteza * genetika bakt. Fotosinteze : - škrlatne fototrofne bakt., zelene žveplove bakt., - superoperoni: operoni zgoščeni v regije od 40 do 45 kbp, koordiniran proces prepisovanja, operoni v hierarhičnih odnosih, produkti transkripcije so v interakciji * O₂ je glavni regulatorni signal anoksične fotosint. * njegova prisotnost inhibira transkripcijo. REVERZNI TOK e- : * poleg ATP potrebuje avtotrof tudi reducirajočo moč – NADPH * vir e- za red. NADP ni voda, ampak H₂S, S, S₂O₃, H₂, org. snovi, Fe²⁺ * donor e- mora imeti nižji red. potencial kot NADP (to je le vodik, reduk) * dva načina prenosa e- : 1. iz visoko red. snovi H₂, 2. bolj oksid. Snovi (H₂S) oddajo e- Qpool → reverzni e- transport

POVZETEK: • fotosinteza potrebuje svetlobo v E kvantih in pigmentih, občutljive na svetlobo • potekata dva sklopa reakcij: 1. svetlobne reakcije (nujno potrebna svetloba) UV → ATP; 2. temotne reakcije (svetloba nepotrebna, poteka ves čas) ATP + CO₂ → org. snov • potrebna je reducirajoča moč (vir e-) – NADPH. – ta pa e- dobi od: * H₂S, red. org. snovi → anoksična fotosinteza * (bakt: škrlatne in zelene žveplove) * H₂O – oksigena fotosinteza (rast evk. Mo., prok. Mo.)

150. RAZLIKE MED OKSIGENO IN ANOKSIGENO FOTOSINTEZO

-OKSIGENA FOTOSINTEZA

- oksig. Avtotrofi s pomočjo svetlobe tvorijo ATP in NADPH • vodo razcepijo na O₂ in e⁻ • dva sistema svetlobnih reakcij : fotosintezna (FSI) * FSI : klorofil 700. * FSII : klorofil P680 – oba v reakcijskem centru • FSI je evolucijsko starejši, deluje neodvisno • FSII deluje le v povezavi s FSI • to je z Z shema fotosistemov • proces je neciklična fosforilacija (fotofosforilacija).
- transport e⁻ iz FSII na FSI generira protonsko gibalno silo za sintezo ATP • to je neciklična fosforilacija • ATP se lahko tvori tudi s ciklično fosforilacijo v FSI s prenosom e⁻ iz P700 na Cyt bf → ta tok ustvari memb. kemiosmotski gradient

-ANOKSIGENA FOTOSINTEZA PRI OKSIGENIH FOTOTROFIH

- deluje le FSI → ciklična fosforilacija • anoksični pogoji in H₂, H₂S : e⁻ donorji, red. moč iz okolja

Anoksigena fotosinteza: • cikl. Fosforilacija • vir e⁻ : H₂S, H₂, S, S₂O₃²⁻, org. snovi • O₂ jo inhibira • tvorba ATP (NADPH E potratna)

Oksigena fotosinteza: • necikl. Fosforilacija • vir e⁻ : H₂O • poteka v prisotnosti O₂ • tvorba ATP in NADPH

151. RAZLIKE MED BAKTERIOKLOROFILOM IN KLOROFILOM

BKL: • KL – Mg²⁺ • A= 400<nm>800nm • porfirinski obroč, fitol , KL: • ima Mg²⁺, porfirinski obroč, alkohol fitol • A: 430nm, 680nm • zeleni, Absorbirajo rdečo in modro svetlobo • a,b,c

152. LOKACIJA BAKTERIOKLOROFILOV

- na fotosintetskih memb., * Evk. Cel. * → tilakoide kpl., * prok . cel. → škrlatne bakt.: kromatofore (memb. invaginacije), * → heliobakt.: zun. Memb., * → zelene bakt: »klorosoini« (klp podobne memb. v citoplazmi), * → cianobakt: alofikocianinski kompleksi (vzdolž zun. Memb,)

153. ZAKAJ SE BKL. NAHAJAJO V MEMB.?

- ker imajo hidrofobno alkoholno – fitolno molekulo • ta se veže le v lipidno memb. – tudi hidrofoben lipidni del

154. OPIŠI ORGANIZACIJO REAK. CENT. V BAKT. FOTOSINT. KOMPL.

- glej odgovor 149 • obdani z antenskim kompleksom (za izplen svetlobe)

155. RAZLIKA MED ANTESKIMI PIGMENTI IN PIGMENTI REAK. CENTRA – KATERIH JE VEČ?

- glej odgovor 149. • antenski pigmenti zbirajo fotone in jih posredujejo v reakcijski center v obliki eksctonov → teh je več • pigmenti reak. Cent. Omogočajo tvorbo zelenih produktov

156. FOTOFOSFORILACIJA

- produkcija ATP s fotosint.

157. AKCESORNI PIGMENTI

A) karotenoidi: • rumeni, rdeči, rjavi • fotoprotektivna vloga (pred kratkimi valovnimi dolžinami) • prenos svetlobne E do reak. Centra • zaščita pred prostimi radikali • generacija ATP holobakt.

B) fikobilini: • s proteini tvorijo fikobilisome • fikoeritrin (rdeč, 550nm), fikocianin (moder, 620 nm), alafikocianin (650 nm)

C) fikobilisomi: • alafikocianin obkrožata fikoeritrin in fikocianin (antenski centri) • proteini • dodaten način za izplen svetlobe v povezavi s klorofilnimi centri

158. AVTOTROFNA FIKSACIJA CO₂ – CC/CALVINOV CIKEL

- temotne reakcije • poraba ATP, NADP • encima: Rubisco (ribuloza – biF karkoksiloza) • fosforibulokinaza

CO₂ + ribuloza – 1,5 – biP --karboksilacija, Rubisco H₂O--→2X PGA (P glicerinska k.)
 -----ATP---→ 1,3 – diP-glicerat -----NADH, redukcija-----→ gliceraldehid-3-P → v anaerob.reak

• v nadaljnjih reakcijah se regenerira ribuloza-5-P ---- fosforil, ATP---→ ribuloza-1,5-?

159. KEMOLITOTROFIJA

• pridobivanje E iz oksidacije anorganskih mol. • večina C iz CO₂ → kemolitotrof. Avtotrofi • sinteza ATP podobna kot pri kemoorganotrofih * vendar donor e- anorg. (H₂S, S) * povezana z oksidacijo e- donorja • akceptor e- je O₂, H₂, NO₃⁻ • žveplo oksidirajoče, hidrogene, nitrificirajoče, železove bakt.

160. KAKO SE KEMO ORGANOTROFI RAZLIKUJEJO OD KEMOLITOTROFOV GLEDE VIRA E

• vir E so org. ne pa anorg. molekule

PRIMER	VIR E	DONOR H ⁺ /e ⁻	vir C	PRIMERKI
Avtolitotrofni avtotrof	h V	anorg.mol.	CO ₂	A
Avtoorganotrofni heterotrof	h V	org. mol.	Org.mol. CO ₂	B
Kemolitotrofni avtotrof	anorg. mol	anorg.mol.	CO ₂	C
Kemoorganotrofni heterotrof	org. mol	org. mol.	Org. mol.	D

A: alge , škrlatne in zelene S bakt., cianobakt., B: škrlatne in zelene neS bakt., C: S oksidirajoče, hidrogene, nitrificirajoče, Feb akt., D: protozoi, glive, nefotosintetske bakt.

161. ZAKAJ KEMOLITOTROFI UPORABLJAJO DOLOČENE ANORG. SUBSTANCE

• kot vir E in donor H⁺/e⁻ , • ker jih je v okolju dovolj

162. ZAKAJ OKSIDACIJA H₂ PRINESE VEČ E, ČE JE e- AKCEPTOR O₂, KOT PA, ČE JE e- AKCEPTOR HSO₄²⁻

• ker je Δ red. pot. Med H₂ in O₂ večji kot med H₂ in SO₄²⁻

163. VLOGA HIDROGENAZE

• oksidira H₂, prenese e- z njega na NAD(P)⁺ ter ga red. do NAD(P)H

164. KAKO PRIDOBIJO ŽVEPLOVE KEMOLITOTROFNE BAKT. C ZA CEL. RAST

• iz CO₂, Izjemoma org mole.

165. KAKO SE Fe OKSIDIRA ANOKSIČNO

• vijolične fototrofne bakt., • Fe²⁺ uporabijo kot e- donor za reverzni e- tok • tvori se oks. Fe³⁺

166. ZAKAJ SE VEČINA OKSIDACIJ Fe V NARAVI DOGAJA PRI KISLIH POGOJIH

• večina mo., ki oks. Fe je acidofilnih in aerobnih • le v kislih pogojih (pH 3) Fe²⁺ ne oksidira spontano v Fe³⁺ → je stabilno • Fe²⁺ ima boljše donorske sposobnosti • aerobnih, ker je O₂ dober akceptor e- • največja razlika v red. potenc.

167. ZAKAJ JE VEČINA MO., KI OKSIDIRAJO Fe ACIDOFILNIH IN AEROBNIH

• glej odgovor 166, za delovanje ATP-az uporabljajo tudi naravno prot. gib. silo

168. KATERI e- DONOR UPORABLJAJO BAKT., g. Nitrosomonas IN g. Nitrobacter

• NH₃ ---- Nitrosomonas----→ NO₂⁻ ----- Nitrobacter-----→ NO₃⁻

169. VIR C IN e- DONOR NITRIFICIRAJOČIH BAKT.

• glej vprašanje 168 • vir C je CO₂, pri Nitrobacter org.snov → miksotrofi

170. ANAMOKS REAKCIJA

• anaerobna amoniakalna oksidacija: anoksični pogoji • koristna za čiščenje odpadnih voda • neznane bakt in mehanizem 5NH₄⁺ + 3NO₃⁻ → 4N₂ + 9H₂O + 2H⁺ + Δ G

171. KAKO LAHKO PROKARIONTI V ANAEROB. OKOLJU PRIDOBIVAJO E? KAKO NASTAJA

• več vrst pridobivanja E : A) fermentacija: anoksidativni metabolizem, drugi akceptorji e- (zun.), B) respiracija : * aerobna : akceptor e- je O₂ (zun.), * anaerobna : akceptor e- ni O₂
C) oksidacija anorg. snovi.: H₂S, Fe, amonija, nitrita
PRIDOBIVANJE E V ANAEROB. OKOLJU PROK.

A) FERMENTACIJA

• tvori se malo E, poteče delna oksidacija, majhna razlika v E_o med izhodno in končno snovjo, ni terminalnih akceptorjev e- (poteče delna red. org. intermediata – dodatno odlagališče e-) • generacija ATP s fosforilacijo na nivoju substrata (org. intermediatov) • sproščena E se shrani v fosfatnih vezeh ATP • encimske reakcije za sintezo ATP (org. intermediati ----E- → ADP) • nad se regenerira

Organotrofija – respiratorni metabolizem: I. glikoliza v citoplazmi vseh celic, II. Fermentacija, Aerobna respiracija, anaerobna respiracija, III, Krebsov cikel

B) RESPIRACIJA

• substrat popolnoma oksidiran do CO₂ • velika razlika v E_o • večji izplen E • terminalni akceptor e- ; O₂: aerobna, drug : anaerobna

• ANAEROBNA RESPIRACIJA – KEMOLITOTROFIJA

• drugi e- akceptorji • redukcija snovi in izločitev v okolje ali poraba v metabolizmu • ni O₂ v okolju • sistem za prenos e- • obligatni anaerobi: drugačen sistem, • fakultativni: podoben aerobni respiraciji • redukcije anorg. akceptorjev: a) nitrata: Nitratno dihanje: NO₃⁻ → NO₂⁻ → NO₂, NO, N₂ b) sulfata: sulfatno dihanje: SO₄²⁻ * SO₃²⁻ (sulfit) * P-SO₄²⁻ (fosfosulfat) → SO₃²⁻ - H₂S c) CO₂: karbonatno dihanje: CO₂ * CH₄ (metanogeno) * acetat (acetogeno) d) Fe³⁺: železovo dihanje: Fe³⁺ → Fe²⁺ e) Mn⁴⁺: mangansko dihanje: Mn⁴⁺ → Mn²⁺ f) SeO₄²⁻: selensko dihanje: SeO₄²⁻ → SeO₃²⁻ → SeO ?=> redka asimilacija,

• AEROBNA RESPIRACIJA – ORGANOTROFIJA

• TCA = cikel trikarboksilne k. = Krebsov cikel, • sprememba org. C v CO₂ • cikel citronske kisline

• KEMOLITOTROFIJA

• oksidacija anorg. snovi (e- donorjev) • rezultat je H⁺ gib. Sila in produkcija ATP • reducirajoča moč: anorg snov ali NADH iz reverznega transporta e- • terminalni akceptor e- je; O₂: aerobna in Drug: anaerobna

• Oksidacije: a) H₂ : vodikove bakt. H₂ + 1/2 O₂ → H₂O

b) S : žveplove bakt: H₂S, S, S₂O₃²⁻, SO₄²⁻ S → HS⁻ → H₂SO₄, H⁺(v okolje)

c) Fe²⁺ : obligatni acidofili Fe²⁺ → Fe³⁺

d) Nh₃, NO₂⁻ : Nitrosomonas. Nitrobacter NH₃ → NO₂⁻ → NO₃⁻
anoksični pogoji

172. KOMPONENTE SISTEMA ZA PRENOS e-

a) prosto prehajanje memb: NADP⁺ (prenašata H⁺), NAD⁺, Q (e- od te – S do Cyt)

b) čvrsto pripeti v memb: NADH dehidrogenaze (prenašajo H iz NADH)

• flavoproteini: vsebujejo derivat riboflavina, sprejemajo H atome, oddajajo e-, red. in oksidacija se izmenjujeta • Fe-s proteini: Fe atomi vezani na žveplov protein (kem.), zelo pogost je feredoksin (Fe₂S₂), prenašajo le e-, ne H atomov, red. se Fe atom centralnega dela • citokromi: vsebujejo porfirinski obroč z Fe, prenašanje e- s pomočjo Fe

173. PROTONSKA GIB. SILA IN OKSIDATIVNA FOSFORILACIJA

• prot. gibalna sila : med transp. E- prek e- prenašalcem se H⁺ in e- ločijo, H⁺ se izločijo na zun. Stran memb. cel., e- pa potujejo do končnega akceptorja • na not. Strani memb. se nabere znotraj

memb. zaradi razpada H₂O • prek memb. se ustvari pH gradient oz. elektrokem. Potencial, kemiosm. Gradient. • to stanje memb. opišemo kot protonsko gibalno silo

174. OPIŠI REVERZNI TOK e- ZAKAJ JE POTREBEN

Škrlatne b. za rast potrebujejo poleg ATP tudi NADH, glej odgovor 149

175. ZAKAJ LAHKO REČEMO, DA STA PROT. GIB. SILA IN ATP RAZLIČNI E OBLIKI

ker je reakcija $ADP + P \leftrightarrow ATP$, ki jo katalizira ATP-aza reverzibilna, glej odgovor 173

176. KAKO TRANSPORT e- PREKO PRENAŠALNIH PROTEINOV POVZROČI PROT. GIB. SILO

Glej odgovor 173

177. KATERA STRUKT. V CELICI PREVEDE PROT. GIB. SILO V ATP

•ATP-aza, • glej odgovor 173

178. NASTAJANJE IN FUNKCIJA ATP PRI BAKTERIJAH

•Glej odgovor 173, • ATP je nosilec E v cel., • po hidrolizi ATP se sprosti E, ki jo cel. Uporablja pri biosintezi (anabolizem), za gibanje (motilnost), za aktivni transport hranil

179. BAKT. FIKSACIJA C:

• avtotrofi: CO₂ → Calvinov cikel (glej odgovor 158), • heterotrofi: org snovi

180. VIR C AVTOTROFNIH ORGANIZMOV

• CO₂

181. CALVINOV CIKEL

• temotni del fotosinteze, • odgovor 158

182. MIKSOTROF

•org. ki kot vir C uporablja org. snovi, vir E pa anorg. Snovi, • kemolitotrof

183. POMEN O₂ KOT TERMINALNEGA AKCEPTORJA e- ANAEROB. IN AEROBOV

• respiracija: anaerobi – ni O₂, drugi akceptorji, aerobi - O₂

184. ANAEROBNA RESPIRACIJA- GLAVNI TIPI

Glej odgovor 171

185. ZAKAJ SE PRI AEROBNI RESPIRACIJI SPROSTI VEČ E KOT PRI DENITRIFIKACIJI

• anaerobno okolje → denitrifikacija, * krajša respiratorna veriga e- prenašalcev * manjša razlika Eo • aerobno okolje → aerobna respiracija * obratno

186. DENITIFIKACIJA

KEMOLITOTROFIJA – AEROBNA RESPIRACIJA

a) oksidacija H₂ • vodikove bakt: fakultativni kemolitotrofi, kemoorganotrofi, avtotrofi, miksotrofi • H₂ → veriga za transport e- → O₂: $H_2 + 1/2 O_2 \rightarrow H_2O$ • red. moč: H₂, NADPH (reverzibilni transp e-)

b) oksidacija S spojin: • vir e- : H₂S, S, S₂O₃-, • S → HS- (topna oblika, prehod v cel.) → H₂SO₄, stranski produkt ja H⁺ (v okolje) • veriga za transport e- : ATP, NADPH, CC, NO₃- (e- akceptor fakultativnih anaerobov)

c) Fe oksidacija: • glej odgovor 165, 166

d) Oksidacija NH₃, NO₂-: nitrifikacija • NH₃ → Nitrosomonas → NO₂- → Nitrosobacter → NO₃- • aerobni pogoji, • veriga za transport e- * ATP (e- na O₂), CC, • anamox – glej odgovor 170

ANAEROBNA RESPIRACIJA

a) redukcija NO₃- in denitrifikacija: nitratno dihanje (anabolizem) • asimilacija in desimilazija → energijski metabolizem * asimilativni metabolizem, • denitrifikacija: nitrat reduktaza, nitrit

reduktaza (anoksičen proces) • asimilacija: tvorba NH₃, • desimilacija: tvorna N₂O, NO, N₂, • izguba dušika iz tal, čiščenje odpadnih voda (Pseudomonas)

b) redukcija S: sulfatno dihanje • asimilacija in desimilacija, • ATP potreben, • transport e- preko Cyt C₃, • SO₄²⁻ + Patp → edenzinfosulfat -P-> P – adenzin – P- sulfat (PAPS) → SO₃²⁻ (sulfid), • kemolitotrofne (na sulfatu – reducent sulfata) H₂ bakt. , avtotrofne bakt., na acetatu

c) METANOGENEZA IN ACETOGENEZA

• redukcija CO₂ • METANOGENEZA: + arheje: kemolitotrofni avtotrofi, * donor e- je H₂, * tvori se metan, * fiksacija CO₂ po Ac-CoA poti • ACETOGENEZA: * Clostridium aceticum, Acetobacterium, * donor e- je H₂, * tvori se acetat, * manj sproščene E • obligatni anaerobi • če rastejo na CO₂ in H₂ so avtotrofi

d) redukcija Fe³⁺ v Fe²⁺ • glive, kemoorganotrofne in kemolitotrofne bakt. • anaerobna oksidacija org. in anorg e- donorjev • Fe²⁺ je boljše topen → geokem. Proces

e) redukcija Mn⁴⁺ • kemoorganotrofi, • Mn⁴⁺ → Mn²⁺

f) redukcija Se • SeO₄²⁻ → SeO₃²⁻ → Se

187. PRIMERJAJ NITRIFIKACIJO IN DENITRIFIKACIJO

a) mikrobi: NITRIFIKACIJA – •Nitrosomonas, Nitrobacter • DENITRIF: - Bacillus licheniformis, Paracoccus denitrificans, Pseudomonas aeruginosa, Thiobacillus denitrificans

b) pogoji okolja: •NITRIF.: -kisik, tla • DENITRIF: - ni kisika, tla, morska voda

c) sprememba dostopnosti hraniv • NITRIF: - vezava N₂, bogatenje tal • DENITRIF:- izguba N iz tal

188. SUBSTANCA, KI JE ODSOTNA PRI KATAB. GLC MED FERMENTACIJO JE PA PRISOTNA IN POTREBNA PRI RESPIRACIJI

• zun. Akceptor e- → O₂ (aerobna), drug (anaerobna)

189. RAZLIKA MED ACETOGENEZO IN METAGENEZO

• glej odgovor 186

190. FERMENTACIJA IN PRIMER FERMENT. PRODUKTA, KI GA UPORABLJAMO LJUDJE

• fermentacija: anaerobni katabolizem pri katerem org. snov služi kot e- donor in akceptor, pri katerem se ATP tvori s fosforilacijo na nivoju substrata • produkt : etanol → alkoholne pijače

191. RAZLIKA MED FERMENTACIJO IN RESPIRACIJO

• respiracija: obstaja zun. Akceptor e-

192. FOSFORILACIJA NA NIVOJU SUBSTRATA

• glej odgovor 171

193. RAZLIKA FERMENTACIJE IN RESPIRACIJE GLEDE NA SINTEZO ATP

• slab E izkoristek fermentacije: ATP se tvori s fosforilacijo na nivoju substrata, 1 mol ATP

• velik E izkoristek respiracije, ATP se tvori z oksidativno fosforilacijo , 15 mol

194. PRI KATERIH REAKCIJAH GLIKOLIZE SO VPLETENE OR REAKCIJE

• tvorba 2 mol piruvata in ATP, • gliceraldehid – 3- P –oks> 1,3- difosfoglicerat, • red. NAD⁺ v NADH

195. PRI KATERIH PA NISO VPLETENE

• pri vseh razen – glej odgovor 194, 171 (kjer se porablja ATP)

196. VLOGA NAD⁺ V GLIKOLIZI

• Co = NAD⁺, • sprejme 2 H atoma, se red. v NADH, • sodeluje v edini OR reakciji

197. KOLIČINA SPROŠČENIH CO₂ IN H₂ MED TCA CIKLOM (NA EN ACETAT)

• 3 mol CO₂, 8H → 4H₂

198. KOLIKO SKUPNIH VLOG IMATA GLIKOLIZA IN TCA CIKEL

• oba vključujeta razgradnje stopnje glukoze, • zadnji stopnji respiratorne razgradnje glukoze (tca cikel) so take kot pri glikolizi, • ključen intermediat je piruvat, katerega oksidacija omogoča tvorbo ATP, • končni produkt glikolize je začetni substrat TCA cikla

199. ZAKAJ MED GLIKOLIZO NASTANE 8 ATP, MED FERMENTACIJO PA 2

• fermentacija iz enega piruvata 1 ATP, NADH se ponovno reducira, • glikoliza: ! ATP in ! NADH → 3ATP iz enega piruvata

200. MIKROBNI HABITAT

• okolje v katerem živi en ali skupina mo., to je mikrookolje, ki je zelo majhno in raznoliko

201. RAZLOŽI POJME

• populacija: skupina osebkov iste vrste (tvori jo lahko ena sama materinska cel. Mo.) • habitat: lokacija v naravi, kjer prebiva populacija. • združba: različne populacije znotraj nekega okolja • ekosistem: skupina org. v njihovem naravnem okolju (fizikalne in kemične konstituente okolja)

202. PARAMETRI, KI DEFINIRAJO NIŠO NEKEGA MO

• vir hrane, paraziti, simbionti, predatorji, habitat → vloga mo. V okolju, interakcije z drugimi org., njegov efekt na okolje, • organizmi si lahko delijo isti življ. Prostor, če v njem zasedajo različne niše

203. KAKO MIKROBI SPREMINJAJO KEM. IN FIZ. KARAKTERISTIKE OKOLJA

• med presnovo sprejemajo snovi iz okolja, jih kem. spremenijo, nerabne snovi pa vrnejo nazaj v okolje v drugačni obliki • tako se elementi med kroženjem po ekosist. Spreminjajo (kem. sprememb.) → proces je biogeokemijsko kroženje

204. KOMETABOLIZEM – NAVEDI

• metabolizem neke snovi v prisotnosti druge snovi, ki služi kot primarni vir E → npr: razgradnja pesticidov, ki so odporni na napad mo.

205. BAKT. BIOFILMI – NASTANEK IN POMEN V ZDRAVSTVU IN TEHNOLOGIJI

• na površinah (raztopin) je lahko več hranil zato so tu mo. Aktivnejši in številčnejši • večina mo. Na površini tvori biofilm – mikrokolonije bakt. Ce. Pritrjene na površino z adhezivnimi polisaharidi, obdane z glikokaliksom, cel. So v več slojih • bakt. Celice znotraj biofilma so zaščitene pred napadom imunskega sistema zato se pojavljajo težave pri uvajanju umetnih površin kot medicinskih implantatov, saj se njih lahko tvorijo biofilmi patogenih mo. Pojavljajo se kot zobne obloge → mo tvorijo kisline, ki povzročajo karies • v industriji lahko upočasnijo tok vode skozi cevi, povečajo hitrost njihove korozije in razgrajajo potopljene objekte (oljne ploščadi, čolne, obmorske instalacije)

206. BAKT. BIOFILMI – NASTANEK IN POMEN V NARAVI

• glej odgovor 205, • odmrli rastlinski ali drug org. material služi kot podlaga → ki jo mo. Uporabljajo kot vir hranil • sluzi

207. MIKROBNE ODEJE

• so zelo podobne biofilmu, a debelejšje → cianobakt., anox. Fotosint.bakt. , kemoorganotrofi (sulfat reducirajoče bakterije)

208. FIKSACIJA N₂

• poteka delno v atmosferi, v proizvodnji dušičnih gnojil, pri gorenju ali pa (85%) s pomočjo bakt. V prisotnosti kisika • to so lahko prostoživeči organizmi → nitrificirajoče bakt. (glej odgovor 186), simbionti stročnic , cianobakterije (Nitrosomonas, Nitrobacter) • potreben je nevtralen pH

209. EKOLOGIJA FOTOSINT. BAKT

• to so fotolitotrofni avtotrofi (škrlatne in zelene žveplove bakt., cianobakt. • potrebujejo svetlobo kot vir E , CO₂ kot vir C • potrebujejo anorg. donor e → rastejo na mineraliziranih tleh, ne potrebujejo org. snovi v tleh • ne tvorijo O₂ (anoksigena fot.), tvorijo O₂ (oksigena fot.)

210. METODE ZA UGOTAVLJANJE BAKT. POPULACIJE V NARAVI

• v naravi se razmere hitro spreminjajo * hitra sprememba količine hranil in razporeditve * mo. Ne rastejo v čisti kulturi • rast populacij v okolju je počasna, ko pa se količina hranil poveča, število hitro naraste → zato uporabljamo direktne in indirektnemetode • vzorčenje in transport ter izolacija posamezne vrste mo. • štetje pod mikroskopom, štetje v komori po Petrif- Hauserju, štetje kolonij, štetje kolonij na filtru Etc. Ugotavljanje MPN, Breedova metoda

DRUGE METODE

a) bogatitvena kult./bogatitveno gojišče: selektivni medij in inkubacijski pogoji za omogočitev preživetja le zelenih org., ustvarimo ustrezno ekološko nišo, primeren habitat da dobimo željen »inokulum«

b) Wirogradsky kolona: izolacija škrlatnih in zelenih (anaerobnih) fototrofnih bakt., preučevanje mo. Tal, miniaturni anaerobni ekosistem dolgotrajni vir prok., vključenih v kroženje hranil • stekleni cilindri • 2/3 blata : bogat z org snovmi (sulfati) , vir C, CaCO₃, CaSO₄, (pufer, vir sulfata) • voda (jezero, mlaka , jarek) • pokrijemo z alufolijo • svetloba • zgoraj: alge, cianobakt. • blato: sulfat reduc. Bakt., • vrh blata: škrlatne in zelene žveplene bakt. • voda nad blatom: škrlatne in žveplene bakt. * vzorčenje: odpipetiramo določen nivo.

c) izolacija do čiste kulture

d) redčenje z agar shake tuke method • redčenje mo. V vodi • nanašanje na/v agarna gojišča • tvorba ločenih kolonij

e) spiranje vzorcev z ogromnimi količinami vode • ohranijo se le najmasovnejše prisotni mo.

f) vabe: posebna gojišča v dializni cevi, ki privabijo le določene mo.

211. PRIMERJAJ RAST BAKT. V NARAVI IN LABORATORIJU

• narava: počasnejša rast zaradi; a) pogostih nizkih količin nutrientov, b) neenakomerno porazdeljenih hranil, c) Mo. Ne rastejo v čisti kulturi • pogoji spremenljivi, redko optimalni. •E. Colli: generacijski čas v prebavilu 12h, v laboratoriju 20 min. • nekatere bakt. Iz zemlje v laboratoriju rastejo 100X hitreje

212. EKOLOŠKE MERITVE AKTIVNOSTI MO. Z IZOTOPI

• ocena metabolne aktivnosti metabolno sorodnih mo., merimo le eno samo vrsto transformacije, meritve morajo biti dovolj občutljive, to omogoča tudi kratkotrajno inkubacijo vzorca iz narave • npr: fotoavtotrofija (privzem 14 CO₂), red. sulfata (35SO₄²⁻ : H₂S), metanogeneza (14CO₂ : 14CH₄), kemoorganotrofija (vnos 14C org. spojini) • preučujemo hitrost kem. procesa, poznati moramo količino radioakt. In neradioaktivnega substrata → določimo spec. Akt. • KONTROLA: kontrola z mrtvimi celicami • pokazati moramo, da lahko transformacijo preprečimo z mikrobicidi • opazujemo aktivnost posamezne cel. Mo.

213. GLAVNE PREDNOSTI METOD ZA DOLOČANJE AKTIVNOSTI MO.

Glej odgovor 212

214. KONTROLA Z APOSKUS INKORPORACIJE 14CO₂ FOTOTROF. BAKT. ALI PA RED 35SO₄²⁻ PRI SULFAT REDUCIRAJOČIH BAKT.

• kontrola z mrtvimi celicami → 4% formalin, toplota, mikrobicidi

215. KAKO NAM SESTAVA OZ. RAZMERE 12C/13C V NEKI SNOVI POVE ALI JE TA BIOL. ALI NEBIOL. IZVORA

• lažji 12C: biološkega izvora oz. biogen, snovi, ki jih bakt. Tvorijo z metabolnimi procesi imajo večkrat 12C, ker imajo bakt. Raje lažje C atome • težji 13C: abiogena snov, geološkega izvora

216. ZAKAJ SO SULFIDI PO IZOTOPSKI SESTAVI TEŽKI

• snovi v neživem okolju (geološki izvor) npr. iz vulkanov imajo sestavo iz težkih izotopov (35 S)

• organizmi za sintezo snovi raje uporabljajo lažje izotope (^{32}S)

217. OPIŠI PRINCIP DELOVANJA FISH METODE

• FISH = fluorescent. In »situ« »hibridizotop« * opazovanje naravnih vzorcev * fluorescentno označene sonde • uporabljamo sonde iz n.k. (kratek del n.k., komplementaren bazni sekvenci gena na katerega (ga hibridizira) se veže, npr: rRNK) • dva načina označevanja: radioizotopi, fluorescentne barve

a) posušene celice, b) ustvarimo permeabilnost, c) cel. Opazujemo z avtoradiografijo, fluorescentno mikroskopijo • opazujemo lahko združbe mo. a) ekstrakcija n.k. iz predstavnikov, b) uporaba sond iz n.k., c) dobimo klonne ribosomalne RNA → sekvencioniramo, d) tvorimo filogenetsko drevo m.o. * za zasledovanje mo. * za identifikacijo genov * identifikacija, kvantifikacija

218. UPORABA FLUORESCENTNIH BARVIL ZA OGOTOVITEV ŠT. IN VRSTNE SESTAVE MO. V NARAVNEM VZORCU

• uporaba fluorescentnih barvil spec. Za žive celice (npr. n.k. → akridin oranžno) • uporaba fluorescentnih protiteles – določimo posamezno vrsto in št. • fluorescentne n.k. – sonde – glej odgovor 217

219. ALI JE DOLOČANJE POPULACIJE MO. Z OLIGONUKLEOTID. SONDAMI ENAKO NATANČNO KOT GOJENJE V LABORATORIJU

• ne, gojenje v laboratoriju je manj natančno • z oligom. Sondami lahko identificiramo in kvantificiramo tudi m.o., ki jih lahko najdemo le v naravi, v laboratoriju pa jih ne znamo gojiti.

220. MERITVE Z MIKROELEKTRODAMI: majhne steklene elektrode za preučevanje MO v njihovem mikrookolju; pH, O_2 , N_2O , sulfid – lahko merimo tudi absorpcijo UV; lahko insertiramo v mikrobn oedejo, določamo lahko metabolne tipe MO, konc. ionov, redoks potencial; insertiramo z mikromanipulatorjem; zelo natančne meritve

221. LASERSKA PINCETA – OPIS & NAČIN UPORABE: mikromanipulator, z njegovo pomočjo lahko odvezamo / prenesemo posamezno c. / njen del

222. OBOGATITVENA KULTURA – PRINCIP & PRIMERI: glej 210.; Chujev bujon – za bakt., ki fiksirajo atm. N_2

223. BAKT. & RUDARSTVO: indikatorji za prisotnost določenih elementov v tleh; razgrajujejo nafto; tvorijo biogene rudnine; *Thiobacillus ferrooxidans* napada pirit in tvori Fe^{2+} ione iz Fe^{3+} (acid mine drainage => tvorba kislin & vodotopnih kovin); mikrobn odstranitev vrednih kovin – včasih koristno (pridobivanje Cu)

224. BIOGEOKEM. CIKEL ELEMENTA V NARAVI: spreminjanje oksid. Stanja elementa, ko nanj delujejo različni org. (/ drugi dejavniki) med kroženjem v ekosistemu: redoks reakcije; kroženje med živo & neživo naravo – kem. snovi

225. RAZLIKA MED MINERALNIMI & ORG. TLEMI: mineralna: malo org., veliko anorg. snovi, delovanje vremenskih pojavov; org. tla: malo anorg., veliko org. snovi, delovanje organizmov

226. ZAKAJ LAHKO IZ ISTEGA VZORCA TAL IZOLIRAMO TAKO OBLIGATNE ANAEROBE KOT AEROBNE BAKT.? Ker bakt. Koeksistirajo & sodelujejo (mikrobn oedeja); mikrookolja se v prsti hitro spreminjajo; v neugodnih razmerah se lahko G^+ bakt. ohranijo s pomočjo spor

227. OPIŠI PRINCIP KOLONE PO WINOGRADSKEM: glej 210. b)

228. KAKO LAHKO UPORABIMO WINOGRADSKI KOLONO ZA PREUČEVANJE DELOVANJA KSENOBIOTIKOV? Inokuliramo kult. & dodamo ksenobiotik; lahko selektivno izberemo MO v inokulumu, ki ga lahko razgradi; opazne so večje variacije v MO z

določeno fiziologijo kot v navadni bogatit. Kult., ker so dejavniki bližje tistim v naravnem okolju & hitreje rastoči MO ne zavirajo rasti drugih MO

229. KSENOBIOTIKI – KAJ SO & ZAKAJ JIH MO TEŽKO RAZGRAJUJEJO?

Ksenobiotik je kem. sint. Snovi, ki v naravnem okolju nikoli niso obstajali; MO, ki jih razgrajujejo, donedavno niso bili prisotni v naravi; herbicidi + insekticidi + fungicidi = pesticidi z različno kem. zgradbo, nekateri močno odporni na mikrobo razgradnjo; razgradnja zaželjena, vpliv okolijskih faktorjev –bakt., glive: vir C &/ali e (vir E), -razgradnja z drugim virom E: kometabolizem

RAST MO.

227. MIKROBNA RAST: to je večanje št. c., rast mikrob. Populacije; seveda rastejo tudi posamezne c., ko dosežejo kritično maso oz. količino DNA, dobi c. impulz za delitev / binarno fisijo

228. BINARNA FISIJA: cepitev c., nastaneta dve prok. c.; *E. coli*: podaljšanje c. do 2x običajne dolžine; tvorba septuma => rezultat rasti c. memb. & c. stene v notranjost c.; septum se dokonča; delitev c.; hkrati poteka replikacija DNA & tvorba ostalih sestavin c.

229. ZAKAJ SE MORA BAKT. KROMOSOM PODVOJITI PRED CEPITVIJO? DNA se lahko pravilno porazdeli, le če je pripeta na c. memb.; zato poteče replikacija DNA, pritrditev & nato fisija; zmanjša se možnost za napake

230. HITROST RASTI MO: sprememba št. c. ali mase c. na časovno enoto

231. GENERACIJSKI ČAS: čas, ki je potreben, da se iz ene c. tvori dve oz., da se številčnost (oz. sama) populacije podvoji

232. ZAKAJ PRIKAZUJEMO RAST MO SEMILOGARITEMSKO? Ker je rast eksponentna => na navadnem grafu dobimo krivuljo; linearno prikazana rast => če je linija ravna, takoj vemo, da je rast eksponentna (lažje preučevanje, napovedovanje)

233. RASTNI CIKLUS BAKT. POPULACIJE V ZAPRTEM SISTEMU: LAG faza: privajanje MO na okolje, sinteza snovi; LOG faza: intenzivna sinteza & rast; STACIONARNA faza: max št. MO, zaloga hranil upada, kopičenje številnih metabolitov; faza ODMIRANJA: odmiranje MO, upad št. delitev

234. LAG FAZA: zakasnitvena faza; MO se navajajo na okolje, se ne delijo; sintetizirajo potrebne snovi, encime za novo okolje; povečana aktivnost c.; vplivi: starost kult., sestava podlage, T, atm. Sestava => ob ponovnem vnosu v enako okolje

235. KDAJ PRIDE DO LAG FAZE? Ob vnosu m. populacije v svež, nov medij/okolje; vnos stare kult. V enak medij => vidna lag faza; vnos v revnejši medij; glej 233., 234.

236. EKSPONENTNA FAZA: vpliv T, sestave, vrste MO; glej 233.

237. STACIONARNA FAZA: poteka E metabolizem, biosinteza; rasti ni oz. je počasna; *E. coli* sur (survival) gen => mutacije povzročijo vstop v stacionarno fazo; glej 233.

238. VSTOP V STAC. FAZO: glej 233. 237.

239. METODE ZA UGOTAVLJANJE BAKT. BIOMASE V TEKOČEM GOJIŠČU V LABORATORIJU: koncentracija (centrifugiranje) znanega V kulture & tehtanje dobljenega pelleta; določanje suhe teže (10 do 20% mokre teže) po segrevanju pri 90 do 110°C čez noč; merjenje turbidenc – TURBIDIMetrija: fotometer, spektrometer: »Klett enote«, proporcionalne št. oz. masi c.; merjenje optične gostote; umeritvena krivulja – merimo optično gostoto znanih konc. MO; redčenje

240. METODE ZA UGOTAVLJANJE VELIKOSTI BAKT. POPULACIJ NA TRDNEM GOJIŠČU V LABORATORIJU: štetje kolonij; le viakilne c. sposobne tvoriti kolonije – št. CPU; redko cepljene do posameznih kolonij, upoštevanje števnosti plošč; delo v več paralelkih, redčenjih: -pipetiranje & razmaz po agarju; -pipetiranje & prelivanje agarja

241. SPEKTROFOTOMETRIČNO DOLOČANJE BAKT. BIOMASE: glej 239.

242. DIREKTNO ŠTETJE MO NA PLOŠČAH: nenatančna metoda; statistika; delo v več paralelkah; kolonijo lahko tvori tudi gruča MO; napaka zaradi redčenja

243. KEMOSTAT: je naprava, ki omogoča kontinuirano merjenje št. c. & hitrosti rasti v kontinuirani kulturi MO; dva elementa: stopnja razredčitve & koncentracija omejitvenega hranila; konc. nutrientov vpliva na hitrost rasti (A) & št. c. (B) oz. izkoristek: -nizka konc. nutrientov: reducirana A; -zmerna do visoka konc.: nespremenjena A, zmanjšan B; A&B lahko kontroliramo neodvisno: -A s spremembo redčitve, -B s spremembo konc. hranila, prisotnega v omejeni količini; min E potreben za vzdrževanje c. strukture & integritete je E vzdrževanja; konc. nutrienta vpliva tudi na konc. c.

244. V KATERIH EKSTREMNIH POGOJIH ŽIVIJO PROK.? KAKO PRIDOBIVAJO E? -nizka T: Arktika, Antarktika, jame, oceani, gorski vrhovi, hladilnik; -visoka T: vulkani, termalni vreli, tektonske špranje, kompost, pralni stroj; -visok P: dno oceanov; -visok pH: kis, želodec; -nizek pH: slana alkalna jezera; -nizka a_w ; energijo pridobivajo avto & heterotrofno, vendar imajo večinoma drugačne mehanizme (posl. drugačne strukt. c.)

245. FIZ-KEM POGOJI, KI VPLIVAJO NA RAST MO: -T: psikrofilni, mezofili, termofili, ekstremni termofili; -pH: acidofili, alkalofili; -P: barofili; - a_w : kserofili, ozmofili, halofili (dostopnost vode); - O_2 : anaerobi (striktni/obligatni), mikroaerofili, fakultativni anaerobi, aerotolerantni anaerobi, aerobi (striktni/obligatni)

246. VPLIVI DEJAVNIKOV OKOLJA NA RAST MO – TEMP.: vsak MO ima optimalno (optimum), max & min (pesimum) rastno T; glede na temp. območje v katerem uspevajo so euri-, stenotermni; pesimumasta max & min T pri kateri še opazimo rast MO; T vpliva na hitrost eksponentne rasti

247. KARDINALNE T E. COLI: mezofil (min: 8, opt: 39, max: 48°C)

248. RAZLIKE MED PSIKROFILOM & HIPERTERMOFILOM: v kardinalnih T: min, opt, max; glej 249.; kraj uspevanja: hladen, topel; T območje encimskega delovanja; psikrofilni aktivno rastejo v mikrookoljih s tekočo vodo; psikrotoleranti: uspevajo pri 0°C, opt = 20 do 40°C

249. KARDINALNE TOČKE PRI MO, PRILAGOJENIH NA RAZLIČNE T: -psikrofilni: -5.0; 5.15; 15.20; -mezofili: 10.20; 20.40; 40.45; -termofili: 25.45; 45.60; 60.80; -hipertermofili: 65.80; 80-100; 100>

250. V KATERIH OKOLJIH PRIČAKUJEMO PSIKROFILE? konstantno hladno; glej 244.

251. ADAPTACIJA MEMB. PSIKROFILOV – POMEN: akt. transport hiter pri nizkih T, večja konc. nenasičenih mašč. ohranja fluidnost; polinenasičene m.k. – veliko dvojnih vezi

252. RAZLIKE PSIKROTOLERANTOV OD PSIKROFILOV? bolj razširjeni; glej 248.

253. V KATEREM OKOLJU USPEVAJO TERMOFILI & HIPERTERMOFILI – BTH POTENCIAL? Fumarole (do 500°C); termalni gradient; velik BTH potencial

254. STRUK. PRILAGODITVE MEMB. HIPERT. BAKT./ARHEJ: bogata z nasičenimi m.k.; ohranjanje viskoznosti; arheje: ni m.k. ampak glicerolfosfat etersko vezan ogljikovodik (polimer izoprenoidnih enot), ki mnogokrat tvori diglicerolni tetraeter

253. BTH POTENCIAL: encimi; DNA Pol (*Thermus aquaticus*), PCR tehnike (tag. Pol)

255. PRILAGODITVE HIPERT. NA PROT. NIVOJU: le nekaj drugačnih a.k. kot pri mezofilih; a višja opt T delovanja; veliko ionskih mostov med a.k. (Na^{2+}); tesno pakirana hidrofobna notranost prot.; naravna odpornost proti razvijanju v vodnem okolju; tudi T stabilni ribosomi

256. OKOLJE BAROFILOV: glej 248.

257. SIMBIOZA BAKT. & KOLOBARNIKI (g. POGONOPHORA): Hb veže tudi H_2S => to so cevkaši, mnogoščetinci; celotno telo napolnjeno s trofosomom => spremenjen

gastrointestinalni trakt, napolnjen s spužvastim tkivom, 50% teže; napolnjen z žveplenastimi granulami & prok. c. (3×10^9 /g tkiva), S bakt.; encim »itiodanese« $S_2O_3^-$ v S ali SO_3^- , encim CC; bakterija omogoča prehrano črva

258. ADAPTACIJE MO NA RAST V MOR. GLOBINAH: rastejo pri nizkih konc. hranil; kemoorganotrofija, prilagojenost na P, nizka T; barotolerantni: metabolna akt. se z globino manjša, hitrost rasti je enaka; barofilni: nad 500atm rast še mogoča, opt 400atm, rastejo tudi pri 1atm (ekstremni obligatni barofil: 1000atm, rastni opt 700 do 800atm, potrebujejo P); -naraščajoči P manjša sposobnost encima, da veže substrat, encimi so zato zviti tako, da je tlak min; -večji delež nenasičenih m.k. (težja tvorba gela); -barofili, ki rastejo pri 500 do 600atm: spremembe v prot. sestavi zun. memb., npr.: tip porina, ki se sintetizira pri visokem P, ne pa pri 1atm; OB TEKTONSKIH ŠPRANJAH KJER IZHAJA MAGMA: temp. do $100^\circ C$ & več; kemolitotrofi, večinoma obligatni anaerobi; n.k. vsebujejo več C-G bp (tri H vezi); glej 254.

259. HELICOBACTER »PEFLORI«: onesnažena voda, hrana (nepasterizirano mleko); gastritis, čiri & rak na želodcu; G-, spirila, kronično v razvitih državah; vnetje sluznice => antibiotik

260. VPLIVI a_w – VODNE AKTIVNOSTI OKOLJA NA RAST MO – NAŠTEJ NEKAJ TIPIČNIH HABITATOV: vpliv količine vode & konc. topljencev; a_w =razmerje parnih tlakov raztopine & čiste vode; a_w med 0 in 1; osmoza, hipo- ali hipertonično okolje; hidrostatski tlak; -morska voda = halofili, halotoleranti; -slana okolja = ekstremni halofili; -sladko okolje = osmofili; -suho okolje = kserofili

261. KOMPATIBILNI TOPLJENCI V C. – TIPI & POMEN: v okoljih z nizko a_w MO obdržijo vodo le če zvišamo not. konc. topljenca; topljenec neinhibitoren za kem. procese v c.; kompatibilni topljenec spremeni a_w citoplazme; dobro topni sladkorji, alkoholi, a.k. & derivati, K^+ (ekstremni halofili); sintet. sami / prevzem iz okolja

262. TOKSIČNI RADIKALI O_2 & ENCIMI, KI JIH INAKTIVIRAJO: anaerobne bakt. – O_2 ne sme biti prisoten; a) to so kisikovi singleti, zun. e^- sozelo reaktivni, zato potečejo v org. spontane & neželjene oksidacije; nastane fotokem & biokem (delovanje peroksidaz); b) superoksidni anion (O_2^-), vodikov peroksid (H_2O_2), hidroksilni radikal (OH^\cdot); nastanejo z red. O_2 v H_2O med respiracijo, poškodujejo c. srukt.; -katalaza: $2H_2O_2 \Rightarrow 2H_2O + O_2$; -peroksidaza: $H_2O_2 + NADH + H^+ \Rightarrow 2H_2O + NAD^+$; -superoksidna dismutaza: $2O_2^- + 2H^+ \Rightarrow H_2O_2 + O_2$; -aerobi & fakultativni aerobi večinoma vsebujejo katalazo & superoksidno dismutazo

263. BAKT. & NJIHOV ODNOS DO O_2 : aerobi rastejo v prisotnosti O_2 , respiratorni metab.; mikroaerofili: potrebujejo znižan parcialni P O_2 v zraku & zvišan p. P CO_2 ; aerotolerantni anaerobi: O_2 ni toksičen, ferment. metab.; anaerobi: O_2 zanje toksičen, ferment. metab.; fakultativni anaerobi: rastejo z ali brez O_2 , resp. & ferment. metab.

264. KAKO SUPEROKSID DISMUTAZA ŠČITI C.: v kombinaciji s katalazo lahko ponovno tvori O_2 (& vodo); glej 262.

265. KAJ MORAJO VSEBOVATI GOJIŠČA ZA GOJENJE MO V LAB. RAZMERAH? Hranila, vir E, ustrezne fiz.kem. dejavnike (pH, T, plini, a_w , viskoznost)

266. MAKRONUTRIENTI: so snovi, ki jih org. potrebuje v velikih količinah (C, N, O, H, P, S, Na, K, Ca, Mg, Fe)

267. MIKRONUTRIENTI: so snovi, ki jih org. potrebuje v majhnih količinah (Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V, Zn, Fe)

268. ZAKAJ JE C MAKRO-, Cu PA MIKRONUTRIENT? Glej 266., 267.

269. RASTNI FAKTORJI: org. snovi, ki jih v majhnih količinah potrebujejo le nekatere c. (vit., a.k., purini, pirimidini), ker jih same ne morejo sintet.; vitamini (za Co)

270. V KATERIH DVEH TIPIH MAKROMOLEKUL SE NAHAJA VEČINA N V C.? beljakovine in n.k.

271. RAZLIKA MED KOMPLEKSNIMI & KEM. DEFINIRANIMI GOJIŠČI? – kompleksna: ne poznamo natančne kem. sestave; -definirana: točno določene konc. čistih kemikalij

272. ZAKAJ JE RUTINSKO GOJENJE MLEČNOKISL. BAKT. ENOSTAVNEJŠE V KOMPLEKSNEM KOT V KEM. DEF. MEDIJU? Ker so m.kisl. bakt. prehransko zahtevne (celo bolj od človeka), je lažje uporabiti kompl. Gojišče kot z dolgotrajnim postopkom priprave definiranega gojišča

273. VIRI V NARAVI, LAB., IND. MERILU – OGLJIK: -CO₂, a.k., m.k., org. k., polisah., sladk., N-baze, Ar spojine; -glc, malat, acetat, piruvat, kvasni ekstrakt, pepton; -melasa, sirotka, CLS (corn seed liquor), odpadna celuloza

274. VIRI DUŠIKA: -proteini, n.k., c. stena (peptidogl.), amonij, nitrat, N₂; -NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, KNO₃, N₂, urea, a.k., N-baze; -CSL, sojina moka, kostna moka

275. VIRI ŽVEPLA: Cys, Met, vit (krotin, tiamin, CoA), sulfat (SO₄²⁻), sulfid (SH⁻, H₂S), kovinski sulfidi (FeS, CuS, ZnS, NiS); -Na₂SO₄, Na₂S₂O₃, Na₂S; -jajčni emulgati, Cys

276. VIRI FOSFORJA: -org. fosfati, PO₄³⁻; -KH₂PO₄, Na₂HPO₄; -isto

277. KATERE BAKT. PRIDOBIVAJO Fe IZ OKOLJA & KAKŠNO VLOGO IMA TA V C. METABOLIZMU? Vloga: sestavni del cyt, katalaze, peroksidaze, Fe-S proteinov, oksigenaz, nitrogenaz; vloga v c. respiraciji; *E. coli*, *Salmonella typhimurium*

NADZOR RASTI MO

278. STERILNO- KAJ SE ZGODI, ČE GOJIŠČA NISO STERILIZIRANA? Sterilno: odsotni živi org. & virusi; če gojišče ni sterilno, ne moremo preučevati zelene vrste MO, ker bi bili rezultati poizkusov napačni, drugi MO bi lahko celo prerasli našo kulturo; ni možna izolacija čiste kulture

279. FIZIKALNE METODE ZA NADZOR RASTI MO: a) sterilizacija: uničimo ali odstranimo vse žive MO: -s toploto (suho toploto: sterilizatorji, manjša učinkovitost, višja T, dalj časa (160 do 200°C, 2h); vlažno toploto: avtoklav, 121°C, vodna para, pritisk; tindalizacija: 30min, 100°C, 3 dni zapored); -filtracija (plini, T občutljive tekočine); -sevanje: ionizirajoče; -vžiganje b) pasterizacija: zmanjšanje št. MO, uničimo patogene MO: -HTST: 15s, 71°C; -UHT: 2s, 141°C; -LTH: 30 min, 63 do 66°C; - neionizirajoče sevanje (UV): laminarji

280. KEM. METODE ZA NADZOR RASTI MO: plini – sterilizacija, etilen oksid, pare formaldehida, vodikovega peroksida; razkuževanje – dezinfekcija (razkuževanje površin & prostorov), antiseptiki (razkuževanje tkiv), baktericidi, bakteriostatiki, bakteriolitiki

281. STERILIZACIJA, DEZINFEKCIJA, PASTERIZACIJA: glej 279., 280.

282. RAZLIKA MED DEZINFEKTOM & ANTISEPTIKOM – PRIMERI: glej 280.; antiseptik: 70% etanol, 3% H₂O₂, kationski detergenti (kvarterne amonijeve spojine); dezinfektik: HgCl, CuSO₄, I_{2(aq)}, Cl_{2(g)}, fenolove-, Cl- spojine, kation. Deter., etilenoksid, ozon

283. STERILIZACIJA S TOPLOTO – MEHANIZEM DELOVANJA: smrt. Z višanjem T narašča eksponentno (dlje pri nižji T); decimalne redukcijski čas = čas, ki je potreben za zdesetkanje št. MO; termalni čas smrti = čas, potreben za uničenje vseh org.; glej 279.

284. STERILIZACIJA Z IONIZIRAJOČIM SEVANJEM – VIRI: glej 279.; gama & X žarki; viri: rentgen, katodne X-žarkovne cevi, radioaktivni izotopi

285. TIPI FILTROV ZA STERILIZACIJO: a) globinski filtri: večplasten (papir, azbest, steklena vlakna); predfiltri (so porozni), sterilizacija zraka b) memb. Filter: tog disk (celulozni acetat / nitrat), deluje kot cedilo c) filter z nukleacijsko progo / nukleoporni filter: tanki

polikarbonatni filmi, obdelani z jedersko radiacijo & kemikalijami, MO lahko nato opazujemo pod mikroskopom

286. MERJENJE ANTIMIKROBNE AKTIVNOSTI: a) MIC (min inh. konc.), MBK (min baktericidna konc.); serija epruvet z različnimi konc. agenta, inokulirane z bakt. kult.; dilucijski antibiogram – kvantitativen b) difuzijski antibiogram; Kirky-Bannjeva, Stokesova metoda, test E; kvalitativen & semikvantitativen test; c) inkorporacijski antibiogram; gojišče z določeno konc. antibiotika

287. RAZLOŽI POJME: BAKTERICIDEN- ubija MO, **BAKTERIOSTATIČEN-** zavira rast MO, **BAKTERIOLITIČEN-** MO ubija z lizo

288. RASTNI ANALOGI – PRINCIP DELOVANJA & PRIMER: snovi, ki so (kem.) sorodne rastnemu faktorju, a so dovolj različne, da ne morejo nadomestiti njihove funk. v MO; sulfa zdravila (sulfanilamid): kemoterapevtik, ki so selektivno toksični (za človeka, za bakt.)

289. BIOKEM. OSNOVE POGLAVITNIH TIPOV REZISTENCE PROTI ANTIBIOTIKOM (AB): a) MO nima struktur, ki jo AB napada (npr c. stene); b) MO ne prepušča AB (G- c. stena ne prepušča penicilina); c) MO lahko inaktivira AB (encim); d) MO spremenijo tarčo AB; e) MO spremeni metabolno pot, ki jo AB blokira; f) MO izčrpajo AB, ki je vstopil v c.

290. GENETSKE OSNOVE POGLAVITNIH TIPOV REZISTENCE PROTI AB: a) mutacije kromosomskih genov; b) odpornost na R plazmidih (rezistentni plazmidi); c) sprememba tarče delovanja AB; d) prisotnost genov v R plazmidu, ki inaktivirajo AB, preprečujejo njegov vstop v c. ali ga aktivno izčrpavajo iz nje

291. PRENOS REZISTENCE NA AB: pretirana uporaba AB v okolju povzroča selekcijo odpornih MO; genetska izmenjava med MO, ki so odporni & MO, ki niso odporni: -R plazmid: konjugacija, rezistenčne determinante so geni, ki kodirajo rezistenco proti AB, RTF (rezistenčni prenosni faktor): odsek z geni, ki sodelujejo pri konjugaciji & prenosu genov

292. MEHANIZMI DELOVANJA POGLAVITNIH SKUPIN AB: a) beta-laktamski AB: penicilin & cefalosporini (inhibicija tvorbe c. stene – inaktivacija transpeptidaz) b) aminoglikozidni AB: streptomycin, kanamicin, gentamicin, neomicin (inhibicija sinteze proteinov); c) makrolidni AB: euhomicin, oleandomicin, spiramicin, tilozin (inhibicija sinteze proteinov); d) tetraciklini : kloro- & oksitetraciklin (inh. sint. prot.)

293. IDEALEN AB: selektivno delovanje (le na MO), širok spekter (na vse org.), MO nanj ne morejo razviti rezistence

294. DELOVANJE BETA-LAKTAMSKIH AB: vezava PBP (penicillin binding proteins) & njihova inaktivacija; to so transpeptidaze, ki ne morejo izvesti transpeptidacije; inhibicija sinteze c. stene

295. DELOVANJE GLIKOZIDNIH AB: vezava na 30S podenoto ribosoma, inhibicija sinteze proteinov

296. AB, KI ZAVIRAJO SINTEZO C. STENE: cefalosporin, penicilin, vankomicin

297. RAZLIKE MED ŠIROKO & OZKOSPEKTRALNIM AB – PRIMER: a) širokosp.: tetraciklini; delujejo na G+ & G- bakt.; b) ozkosp.: penicilin; delujejo le na eno skupino MO

298. NADZOR RASTI VIRUSOV: a) kem. inhib. rasti & replikacije: uspešni +/- le v lab., ker poškodujejo c. gostitelja; rifamicin, AZT (HIV); b) interferoni: antivirusne substance, ki jih tvorijo živalske c. kot odgovor na virusne infekcije; nizko molekularni proteini, ki inhibirajo virusno razmnoževanje v c.

299. ZAKAJ NE POZNAME ANTIVIRUSNIH AB? Virusi so metabolno aktivni le v c. gostitelja; AB, ki bi jih uporabili bi zato škodili gostitelju

300. INTERFERONI: glej 298.; IFN-alfa (levkociti), IFN-beta (fibroblasti), IFN-gama (limfociti); tvorba kot odgovor na virus, virusne n.k., viruse inaktivirane z obsevanjem

301. ZAKAJ OBSTAJA LE MALO KLINIČNO USPEŠNIH AB PROTI GLIVAM? Podobna c. struktura, kot pri gostitelju (& metabolizem); tako lahko predstavljajo glivni AB potencialno toksičnost za gostiteljsko c. & jo poškodujejo; nekaj AB je vseeno selektivno toksičnih za glive

302. BTH: uporaba živih org. za izvedbo definiranih kem. procesov za ind, uporabo; tradicionalna in moderna

303. BIOREAKTOR – FERMENTOR: služi fermentaciji, različnih velikosti (<10m³ za LMO produkte, >200m³ za kemikalije, AB); aerobni & anaerobni: -aerobni fermentor: large scale fermentorji skoraj vedno iz nerjavečega jekla, velik cilinder, zaprt pri vrhu & dnu, z več cevmi & ventili, hladni ovoj – plašč, tudi notranje spirale (sterilizacija, vzdrževanje primerne T); sistem za prezračevanje (mehurčki zraka – prepihanje, perforirane plošče ali šobe, mešala), ki ga poganja motor; sistem za kontrolo fermentacije; za odstranjevanje odplak; -omogoča anoksično sekundarno obdelavo odpadnih voda, razgradnja polisah., proteinov & lipidov, tvori se CH₄ & CO₂

304. RAZLIKE MED RASTJO V ZAPRTEM SISTEMU & KONTINUIRANI KULT.: glej 233., 243; rast v kontinuirani kulturi je vedno eksponentna oz. vedno je vidna le log faza

305. KONTINUIRANA FERMENTACIJA – PRIMER: glej 243.; snovi dovajamo & odvajamo; skušamo doseči ravnotežno stanje (razmerje hranila : metaboliti=1:1); pride lahko do kontaminacije / spontane mutacije; uravnavan pretok; tvorba etanola (primarni metabolit)=> uporablja jih MO

306. ŠARŽNA FERMENTACIJA – PRIMER: zaprt sistem; diskontinuiran postopek; dobimo sekundarne metabolite, AB=> MO jih izloča v okolje

307. LASTNOSTI IND. MO: izbrani zaradi njihove produkcije metabolitov; pred uporabo modificirani za specifično proizvodnjo metabolitov z velikim izkoristkom z genet. Mutacijami & rekombinacijami; MO mora proizvajati želen metabolit, moramo ga znati izolirati v čisti kult., mora biti genet. Stabilen & sposoben rasti v large scale kult., ugodno je če tvori spore ali druge strukt., ki jih zlahka inokuliramo, znati ga moramo ohraniti dolgo časa; hitra rast, kratek proizvodni čas, nezahtevna prehrana, neškodljiv človeku & ekonomsko pomembnim org., zlahka odstranljiv iz medija (veliki)

308. TIPI PRODUKTOV, KI JIH PRIDOBIVAMO Z IND. MB.: primarni metaboliti: rezultat prve faze rasti (etanol); sekundarni metab.: rezultat stac. faze (AB, penicilin); -AB, citronska k., kvas, vino, pivo, destilati

309. FERMENTACIJA – POMEN PRI IND. MB.: kateri koli large scale proces, ki ga izvajajo MO, neodvisno ali je to fermentacija v »biki« smislu

310. RAZLIKA MED PRIM. & SEK. METABOLITOM – PRIMER: glej 308., 311.

311. RAZLIKE PRI BTH PRIDOBIVANJU SEK. & PRIM. METABOLIZMA: -prim. metab. Pridobivamo v trofofazi, ti so nujni za preživetje, rast; udeleženi v običajnem metab., pri vseh c. +/- enaki; -sek. metab. Pridobivamo v idiofazi, niso nujni za preživetje, sinteza le v posebnih razmerah (induktorji – intermediati metab., stradanje); -šaržno gojenje – zaprt sistem; -kontinuirano gojenje – pretok, biomasa, prim. metab.; -semikontinuirano gojenje – najprej kontinuirano (biomasa), nato šaržno (metaboliti)

312. RAZLIKE MED TROFO- & IDIOFAZO: glej 311.; trofofaza: faza rasti v sek. metab.; idiofaza: faza produkcije metabolitov v sek. metabolizmu

313. PENICILIN KOT VRSTA METABOLITA: sek. metab., ni nujen za preživetje c., tvori se v stac. fazi, ko začne primanjkovati hranil

314. KATERI TIP METABOLITOV LAŽJE PROIZVAJAMO V VELIKIH KOLIČINAH? Sek. tip

315. NAČIN & VZROK ZA PREZRAČEVANJE V FERMENTORJU: pri large scale fermentaciji je prezračevanje velikih količin fermentacijske brozge izredno težko; prepihanje skozi šobe ali perforirane plošče na dnu (čim manjši mehurčki – večje razmerje P:V, boljši prehod plinov); mešala (lopaticice, poganja jih motor, v več nivojih – vrh, sredina, dno)

EVOLUCIJA, SISTEMATIKA & TAKSONOMIJA

316. ARGUMENTI ZA BAKT. POREKLO MT & KLP: kpl & mt vsebujejo ribosome prok. tipa, katerih delovanje inhibirajo AB; vsebujejo malo krožno organizirane DNA, rRNA sekvence karakteristične za nekatere vrste bakt., neodvisno podvojevanje

317. ENDOSIMBIOZA: teorija, ki trdi da so bili mt (aerobne bakt.) & kpl (oksigena fototrof. bakt.) sprva prostoživeče bakt., ki so si ustvarile stabilen življ. prostor v primitivnih evk. c., ki so sčasoma tvorile moderno evk. c.

318. RNA OBLIKE ŽIVLJ.: prvotne oblike življ. naj bi vsebovale RNA, ki je imela tudi encimsko aktivnost (ribocimi) – doba RNA življ.; RNA se je samoreplicirala & imela min katalitično funk.; nato se je vključila v lipoproteinske vezikle, čez čas se je razvil mehanizem za njuno skupno podvojevanje; razvoj prot. Katalizatorjev; selekcija, evolucija

319. STROMATOLITI: laminirane fosilizirane mikrobne preproge, zgrajene iz slojev primarno filamentoznih prok., ki vsebujejo ujete sedimentne delce

320. STAROST ZEMLJE & NAJSTAREJŠIH FOSILOV MO: zemlja: 4,6 milijard let; fosili: Grenlandija 3,8 milijard let

321. RAZLIKE MED DANAŠNJO IN NEKDANJO ATMOSFERSKO SESTAVO

Nekoč: reducirajoča, voda, CH₄, CO₂, NH₃, N₂, CO, H₂, sulfidi (H₂S, FeS), HCN, toplejša

Danes: CO₂, O₂, N₂, H₂, voda, Ar, hladnejša, oksidirajoča

322. TVORBA PRVIH ORG.SNOVI NA ZEMLJI

-vir E: UV svetloba, strele, radioaktivnost, toplota E

-plinska resonanca +UV ali el.udari—sladkor, a.k., purini, pirimidini, nukleotidi, tioestri, m.k.—polimerizacija v polipept. In polinukleotidi

-tvorba na izpostavljenih površinah (suhe)

323. DOKAZI ZA OBSTOJ RNA ŽIVLJ.—ZAKAJ SE NI OHRANILO

-RNA ima encimsko aktivnost (ribocime)

-evolucijsko kot kat.sčasoma prevladuje protein nad RNA

324. PREDNOSTI REPLIKACIJE DNA-RNA-PROTEINI PRED RNA ŽIVLJ.

-DNA shranjuje vse info. Na enem mestu; stabilnejša od RNA; manjša poraba E zaradi regulacije genske ekspresije; encimi, ki replicirajo RNA naredijo več napak od tistih, ki replicirajo DNA (večja kompleksnost celic zahteva natančnost)

325. PRIDOBIVANJE e PRVIH CEL.

-anaeroben metabolizem, enostavne reakcije

FeS + H₂S → FeS₂ + H₂; sprememba G° < 0

-dovalj E za tvorbo tioestrov, ATP

H₂ možen e- donor za tvorbo H₂S iz S

326. LASTNOSTI PRVIH CELIC

vodna suspenzija vsaj dveh polimerov---koacervati (podobni najpreprostejšim cel.)—kompleksni koacervati—praelice (ni cel.st., jed. ovojnice in plastidov, dedni material, inkluzije, cel.memb. oz. lipoproteinski vezikli).

327. TIP METABOLIZMA PRVIH OBLIK ŽIVLJE.

--anaeroben metabolizem, enostavne reakcije

FeS+H₂S----FeS₂+H₂; sprememba G°<O

-dovalj E za tvorbo tioestrov, ATP

H₂ možen e- donor za tvorbo H₂S iz S

328.AVTOTOFIJA

-uporaba CO« kot edinega vira C

329.VZROK ZA RAZVOJ EVK.JEDRA

-oddelitev in nadzor replikacije DNA od ostalih procesov v cel. Zaradi povečane količine DNA

-replikacija DNA/ genoma med sp.??

330.DOKAZI, DA SO BILI PROK.NA ZEMLJI MILJ.LET PRED EVKARIONTI

-sferosomi, fosili bakt.

-endosimbionti teorija(glej ENDOSIMBIOZA)

331.LASTNOSTI, KI SO OMOGOČALE REPLIKACIJO PRIMITIVNIH ORG.

-glej 318 in 324

332.EKOLOŠKE IN EVOLUCIJSKE PREDNOSTI PROK.PRED EVK.

-haploidni—vsaka mutacija se izrazi;hitro razmnoževanje-ugodna mutacija se hitro razširi, mutirani org. prevladajo;zato zelo raznovrstni, najdemo jih v vseh habitatih

333.FIZIOLOŠKE IN BIKE LASTNOSTI SKUPINE

-jedro:le evk.

-jed.regije: arheje in bakt.

-Cel.st.:bakt.(proteini,peptidoglikani),

evk.

(celuloza,hitin,0),arheje(pseudopeptidoglikani,polisaharidi, proteini, glikoprot.)

-lipidi: bak.in ev.(esterska vez, m.k.-ravne),arh.(etrška vez, razvejene verige CH)

-kiralnost glicerola:arh.(L),bak.in ev.®

-RNA polimeraza:bak.(enostavna \$ strukt.),arh.(več tipov kompleksnejših molekul),evk.(RNA pol+pol.za+RNAin rRNA)

-sinteza proteinov: arh. (70 S ribosomi, sinteza podobna evk.), bak.(70 s), evk.(80S)

-odpornost na AB:ab ki vplivajo na prok.sintezo pro ne vplivajo na arheje

334.POMEN EVOLUCIJSKE RAZDALJE

-nekatero makromolekule so evlucijski kromometri, merilo za evlucijske spremembe; s preučevanjem info. Molekul lahko izmerimo, določimo evlucijsko razdaljo med dvema 335.vrstama org. (npr. razlike v sekvenci nukleotidov ali ak. Homolognih molekul)

OLIGONUKLEOTIDNA SONDA-PRINCIP DELOVANJA

-glej 217(opiši princip delovanja FISH metode)

336.PRINCIP FISH

-glej 217

=flurescent in situ hibridization (opazujemo naravne vzorce)

337.VARIANTE FISH TEHNIKE, KI SO UPORABLJENE V MIKROBNI EKOLOGIJI

a)filogenetska FISH obdelava(glej 217)

-rRNA sonde za znane rodove prok. In evk.MO

b)fish barvanje kromosomov

-identif. enega ali skupine genov

c)fish reverzna transkriptaza pri PCR tehniki

-izoloramo mRNA želenih genov—z reverzno transkriptazo prepis v DNA, ki se veže na določen gen (primer)---transkripcija

-sinteza DNA

338.FILOGENIJA

-razvoj vrste

-uvrstitev vrste v taksone in tvorba evlucijskih draves na osnovi naravnih evlucijskih odnosov (sorodnosti)

339.PODPISNA SEKVENCA

-kratki oligonukleotidi definirane sekvence v 16 S ali 18 S rRNA, ki je značilna za spec. Org. ali skupino filogenetsko sorodnih org.

340.LASTNOSTI 16 S RRNA KOT FILOGENETSKEGA KRONOMETRA

-eksperimentalno bolj obvladljiva; uporaba za določanje filogenije pro. In evk.; začetki 1970-a, Care Woese

341.ZAKAJ JE RRNA DOBER EVOLUCIJSKI KRONOMETER

-antične molekule, funkcion.konstantne, univerzalno prisotne, dokaj dobro se ohranja struktura(konzervativno dedovanje) skozi dolge filogenetske razdalje

-velika možnost variacij v nukleotidni sekvenci

-podobnost v sekvencah rRNA dveh org. nakazuje njuno sorodstvo

342.ZAKAJ SO RRNA BOLJ PRIMERNE ZA FILOGENETSKE ŠTUDIJE KOT PROTEINI

-njihovo dedovanje ni tako konzervativno; struktura se zaradi mutacij hitro spreminja

-morali bi biti: univerzalno razporejeni, funkcionalno homologni in imeti identično funkc.

349.BAKT.VRSTA

-sev, ki so mu skupne vse pomembnejše znač., od drugega seva pa se razlikuje v eni ali več teh znač.

-za razliko je dovolj 3% razlik v sekvenci rRNA

350.UNIVERZALNO DREVO ŽIVLJENJA

-prikazuje relativne evlucijske pozicije glavnih skupin živih org.

evkarionti in bak. Imajo enako starodaven izvor

-korenina dravesa prikazuje točko, ko so vsi org. na svetu imeli skupnega prednika; najprej razvoj v dve veji (bak. In ev.); kasneje razcep ene veje (arheje in ev.)

-arheje so najprimitivnejša (razvejitev je najbližje korenini); najdalje od korenine so najrazvitejši

-arheje so se razvile v ekstremnih pogojih in tam tudi preživele

-noben danes živečih org. ni primitiven, je modern

351.EVOLUCIJSKI KRONOMETRI

-glej 334(pomen evlucijske razdalje)

-nekateri makromolekule so evol.kronometri

-št.razlik v sekvencah makromolekul je proporcionalno št. Stabilnih mutacij sprememb, ohranjenih v zapisu DNA, ki kodira to makromol. Pri nekem org., ki se je razvil iz skupnega prednika

352.GLAVNA EVOLUCIJSKA ODKRITJA PREUČEVANJA RRNA SEKVENC.KAKO SO TE SPREMENJENE KLASIČEN POGLED NA EVOLUCIJO IN NAŠA RAZMIŠLJANJA O IZVORU EVK.ORG.?

-tvorba filogenetskega drevesa; ni petih kraljestev ampak 3 od katerih sta 2 prok.:arheje, bakt., evkarionti----3 najvišji taksoni; skupni prednik; bak. Ter arh. In pro.org. so se razvili istočasno; noben danes živečih org. ni primitiven

353.ZAKAJ FENOTIPSE KARAKTERISTIKE NEPRIMERNE ZA DOLOČANJE EVO.ODNOSOV?

-na fenotip org. ne vplivajo samo evlucijske sorodnosti, ampak tudi dejavnikov okolja

-homologen in analoge razvoj

354.GENOMSKE METODE-POMEN ZA KVALIFIKACIJO PROK:

-analiza rRNA

-sekvencioniranje: ekstrakcija rRNA—dodatek komplementarnega DNA pri...---transkripcija z reverzno transkriptazo in označevanje z različnimi ddNTP v 4 ločenih reakcijah---DNA odseki (različno dolgi, konec pri A,G,C,T)—ločitv z elektroforezo—zapis DNA—obraten zapis rRNA

355.TAKSONOMSKI IN FILOGENETSKI PRISTOP K KLASIFIKACIJI BAKT.

-filogenetski: uporaba evolucijskih krometrov, določanje evolucijskih razdalj, tvorba filogenetskih dreves, sekvencioniranje rRNA(glej pomen evol.razdalje, lastnosti 16S rRNA kot filog...,zakaj je rRNA dober evol.krom.,univerzalno drevo življ.,evol.krom, glavne razlike...): razlike v genotipu

-taksonomski:znanost klasifikacije ki temelji na identifikaciji in nomenklaturi, temelji na fenotipskih analizah kot bazi za klasifikacijo;bakt.cel. pa so zato premajhne in vsebujejo malo struktur.razlik; uporabne so le genotipske/filogenetske analize(fenotipskih je vedno manj)

356.KAKO LAHKO OZNAČIMO OLIGONUKL.SONDE, DA POSTANEJO VIDNE

-glej 217(opiši princip delovanje FISH metode)

357.ZAKAJ REZULTATI ANALIZ MIKROBNIH ZDRUŽB LAHKO ZELO PRESENETLJIVI

-filogenetske analize mikrobnih združb so v skoraj vseh primerih pokazale prisotnost mo, ki prej nikoli niso bili kultivirani

-to podpira hipotezo, da je biodiverziteteta mo veliko večja kot tista, ki jo poznamo pri izoliranih mo

-mb ima še veliko dela

358.TEMELJ KONSTRUKC.SPEC.SONDE ZA LOČEVANJE BAK.IN ARHEJ

-razlike v 16S rRNA

359.RAZLIKE MED TAKSONOMIJO IN FILOGENIJO

-glej 355

360.MODERNI PRISTOPI V TAKSONOMIJI BAKT.

-glej 355

361.TEMELJI KLASIČNE BAK. TAKSONOMIJE-KRITERIJI

-glej 355

Npr. med. idetifikacija in taksonomija—fenotip (morfologija kolonij in cel., bike festi, sporogeneza, barvanje po G)

362.FENOTIPSKI KRITERIJI

-glej prejšnji odgovor

363.DEFINIRAJ BAK.VRSTO

-glej 349

364.BIKE METODE

- a) katalazni preiskus: dokazujemo katalazo, ki razgrajuje H₂O₂
- b) oksidazni preiskus: dokazujemo prisotnost cytc(akceptor e-); +:violično
- c) Russelov dvojni sladkor: dokazujemo ali sev fermentira Lac, Glc ali oba sladkorja in ali pri tem nastaja plin
- d) Dokazovanje ureaze: dokazujemo ureazo, ki cepi ureo v amonijak in CO₂; +:rumeno
- e) Test IMVC:

I:nastanek indola pri razgradnji triptofana; +:rdeč obroč

M:razgradnja glc di org.k.; +:rdeč

V: nastajanje acetona pri fermentaciji sladkorja; +:rdeči

C:uporaba citrata kot edinega vira C; +:modra

- a) Test O/F: ugotavljamo ali mo sladkorje razgrajuje z O ali F metabolizmom;+O/+F:fumeno

b) Hidroliza škroba; razgrajuje škrob; +: cona z bistrivitve okoli kolonije

VIRUSI

365.SPLOŠNE KARAKTERISTIKE VIRUSOV

- a) znaki življenja: razmnoževanje v povezavi z živo cel., prenos določenih značilnosti naslednjim generacijam pri razmnoževanju, razvoj in izpoplnjevanje po naravni selekciji, je agregat molekul, podobnih tistim, ki jih najdemo v drugih živih cel.; replikativno nuk.k.
- b) razlike od živih cel.: preprosta acelularna zgradba; odsotnost ene od nuk.k. v istem vironu (DNA ali RNA); nezmožnost delitve v neodvisnosti od žive cel.; drugačne cel.delitve kot pri prok. In evk.; nezmožnost pretvorbe E in asimilacije novih snovi brez prisotnosti žive gostiteljske cel.; nezmožnost aktivnega gibanja
- c) virusi: genetski element, ki ima v genomu DNA ali RNA in je lahko izmenoma v dveh stanjih: intracel.(virus)---poteka replikacija, ekstracel.(viron)

366.ZGRADBA VIRUSOV

-DNA ali RNA: eno ali dve vlakni n.k.: ss(signale strand), ds(dauble strand); poz. Ali neg. orientirana; krožna ali linearna; mRNA vedno linearna; pri nek. Na n.k. vezane a.k. ali polipeptidi (pomen za replikacijo); pri nek. Je n.k. segmentirana v več molekul

-kapsida: obdaja genom; iz ene ali več vrst prot.molekul—kapsomer; enote se sestavljajo; so enostavne-kodira jih nekaj genov; so nekovalentno vezane; nukleokapsida: kapsida(beljak.ovoje⁹⁺ n.k.—povečuje hitrost s...

-simetrije kapsid: ikozaedrične (sferične po obliki) in paličaste (simetrija v obliki heliksa)

--ikozaedrična: 20 trikotnih ploskev(n.209, 12 kotov; najučinkovitejša razporeditev ploskev, ki tvorijo lupino; kapsida iz kapsomer; podenote kapsomer so protomere—pet protomer tvori pentamero, šest pa heksamero (ravnino trikotnika)—vsaka ploskev ima 3 morfološke enote, ki so enake ali različne

---paličasta: npr. virus mozaične bolezni tobaka; vsebuje RNA; enake proteinske enote urejene v vijačnico (toga ali fleksibilna; dolžina določena z dolžino n.k., širina z velikostjo in urejenostjo prot.enot⁹)

367.VIRUSI Z OVOJNICO

-lipidni dvosloj (izvor iz gostiteljske cel.) pogosto specifični zun. Glikoproteini (peplomere, karakteristične za virus); za prodiranje, pritrjevanje v celico; na not.strani struk.proteini za vezavo na spodaj ležečo kapsido; pleomorfno (spreminjanje oblike); nekatere izjeme so mesomorfne (virus stekline); pogosto spec. encimi; obe simetriji; bakteriofagi; živalski virusi

368.KAPSIDA

-glej 366

369.VIRUSNA SIMETRIJA

-glej 366

370.KOMPLEKSNI VIRUSI

-več delov različnih oblik in simetrij; nekateri bakt.virusi: ikozaedrična glava, helikalni rep; T4: rep iz 20 ločenih proteinov, glava iz mnogo različnih proteinov, repni filament, sestava delov nato povezava

371.BAKTERIOFAGI

-virusi ki napadejo bakt., kompleksna zgradba

-npr. T4

-glej prejšnji odgovor

372.VIRUSNE N.K.

--glej 366

373.KAJ POMENI POZITIVNA OZNAKA VIRUSNE N.K.

-orientacija (konfiguracija) n.k.---+:enako kot mRNA, -:obratno kot mRNA

374.VIRUSNA mRNA

-vedno linearna, tvorijo jo virusi v začetni fazi razmnoževanja z lastno polimerazo n.k.

375.KAKO VIRUS SPREMENI FUNKCIJO CEL.??*

-virus inducira gostiteljsko celico, da proizvaja nove komponente za tvorbo novih virusov

-adsorpcija na površino; kapsida ostane zunaj; n.k. pridejo v not.; sinteza n.k. in virusnih proteinov (pred tem sprememba v biokem.sintezi gostiteljeve cel.)-to časovno obdobje je eklipsa; navzven sprememba v gost.cel.niso vidne; zlaganje n.k. in beljak.delov v zrele virione, pri tem v cel. Narašča titer (konc) viriona (še vedno latentno obdobje; sproščanje- ne povzroči sprememb v gost.cel. ali pa povzroči lizo; nekateri virusi ostanejo v cel.

376.DEFINIRAJ VIRION-V ČEM SE RAZLIKUJE OD CEL.?

-glej 65

377.RAZLIKA MED VIRUSOM IN PLAZMIDOM

- **virus**-glej splošne karakteristike virusov; ima izvencel. obliko
- **plazmid**- ekstrakromosomski genetski element, ki ni esencialen za rast in nima izvencel.oblike

378.PROFAG

-intracelularno, latentno stanje bakteriofaga; intergriran v bakt. kromosom; replicira se skupaj z bakt.; ne prepisuje se dokler nanj deluje represorski protein, ki ga kodira sam

379.DEF.VIRUSNO GOSTITELJSKO CEL.

-cel., ki jo virus napade in izkorišča za lastno replikacijo

380.UČINKI VIRUSNE INFEKCIJE NA GOST.CEL

-glej 375

-dedne spremembe (namnožitev virusa-liza cel.; transformacija v tumorsko cel.; trajna infekcija-sproščanje brez smrti; latentna infekcija-smrti; inhibicija gostiteljske DNA, RNA, sinteze prot.; sprememba permeabilnosti memb.)

381.ZAKAJ LAHKO VIRUSI OKUŽIJO LE SPEC. CEL?

- okužijo lahko le receptorje, na katerem se lahko vežejo s proteini na površini; vezava virusov na receptorje je specifična

382.PRIMERJAVA PRIPENJANJA KOMPLEKSNIH VIRUSOV IN ŽIVAL.VIRUSOV

-fagi na pile, flagele, sestavine cel.ovojnice

-žival.virusi: sestavine cel.ovojnice, transp.vezni proteini, pasiven prehod-fago/endocitoza

383.OPIŠI FAZE REPLIKACIJE VIRUSA-ignor this

- a) adsorpcija: spec.vezava virusa na receptorje-proteine, polisaharide, lipoproteinski-polisaharidni kompleks
- b) penetracija: T4: rep se skrči, skorja repa se stakne s cel.ovojnico, lizocimi naredijo odprtino, prenos DNA v cel.
- c) Restrikcija: restriktaze za lastno zaščito, metiliranje sekvenc tudi glikoziliranje, ki bi jih restriktaze (bakt.vežejo tujo DNA) prepoznala in razgradila virusno DNA
- d) Tvorba virusnih n.k. in proteinov: tvorba RNA v citoplazmi, DNA v jedru
- e) Tvorba proteinov ovojnice, inkorporacija v membrano cel., enako tudi lipidov in ogl.hidratov
- f) Brstenje, sproščanje

384.SPLOŠNE ZNAČILNOSTI REPLIKACIJE VIRUSA

--glej 375

-adsorpcija, penetracija, zgodnji koraki replikacije-spremembe v biosintezi poteh gostitelja; replikacija n.k.; sinteza prot.; sestava in pakiranje n.k.; sprostitvev

385.FAZE REPLIKACIJE BAKTERIOFAGA

- a) adsorpcija:pili, bički
- b) penetracije: rep se skrči; stik konca repa s cel.površino; izločanje lizocima, ki naredi odprtino v cel.steno; prenos DNA v ODPRTINO
- c) bakt.kromosom se na določenem mestu (kodira profag) odpre, profag se vključ v bakt. Kromosom; represorski prot.profaga prepreči pomnožitev lastne DNA; hčerinska bakt.cel vsebuje tudi genom profaga –pridobi nove lastnosti
- d) zun.agensi (T,UV,kemikalije) prekinejo lizogeni cikel; profag se obnaša kot virulenten virus po izdovitvi bak.kromosoma; gost.cel. sintetizira protein RECA (običajno sodeluje pri replikaciji) razgradnji virusni represorski protein
- e) sinteza sestavnih delov virusa:nk in proteinov
- f) sproščanje iz cel.

386.KAJ DEFINIRA LATENTNO FAZO

-kliničnih znakov (simptomov) okužbe na cel. Ne opazimo

-to je zgodnja faza virusne replikacije, ko ne zaznamo infektivnih virionov

387.KAJ DEF. EKLIPSO

-to je obdobje virusne sinteze nk in prot. V gost.cel.

-to je obdobje prvih nekaj min. po infekciji-virusna nk se loči od prot.ovojnice, virion ne obstaja več v infektivni obliki

388.KATERE VRSTE ENCIMOV VSEBUJEJO VIRUSI

-represorski encim, restriktaze, lizocim, reverzne transkriptaze

-neusaminidaze?(prekinejo glikozidne vezi glikoproteinov in glikolipidov v veznem tkivu živalskih cel.-sprostitev virusa);polimeraze nk

389.KOLIKO ENCIMOV VSEBUJEJO VIRUSI

-izredno malo

390.PRIMERJAJ REPLIKACIJO NK ŽIVAL. RNA OZ. DNA VIRUSOV *nariši si sam(-a)!!!

-DNA v jedru

-RNA v citoplazmi

391.OPIŠI RAZMNOŽEVANJE RETROVIRUSOV

-RNA virusi-prepis ssRNA(+) z reverzno transkriptazo v ds DNA intermediat-ta se vključ v gost.genom

- a) vstop v cel.
- b) Prepis RNA genoma v ssDNA, nato tvorba dsDNA intermediata s pomočjo reverzne transkriptaze
- c) Integracija dsDNA v gost.genom (pomaga LTR-long terminal repeatsekv.
- d) Transkripcija virusne DNA v mRNA in RNA
- e) Enkapsidacija RNA-nukleokapsida v citoplazmi
- f) Brstenje-sprostitev iz cel.

392.GLAVNE ZNAČILNOSTI RETROVIRUSOV

-nekaj lastnosti DNA, nekaj pa RNA virusov

-podobni transpozonom,nastali naj bi kot pobegli cel. Tranzicijski elementi podobni bak.virusom

-reverzna transkriptaza

-lahko so onkogeni; imajo ovojnico

393.REVERZNA TRANSKRIPTAZA

-proces prepisa info.v RNA v DNA

394. POZITIVEN ENOVERIŽNI RNA VIRUS

-enaka struktura kot mRNA

395. PREKRIVANJE GENOV PRI VIRUSIH

-virusi z malo genetskih info.-majhni genomom imajo prek. n.k. za kodiranje vseh genov pomembnih za reprodukcijo

-zato se je pri njih pravilo prekrivanje genov, kar pomeni, da lahko en odsek na nk kodira več kot en produkt

zato se uporablja dva bralna okvirja, ki začneta translacijo na nasprotnih straneh DNA

396. KAJ JE ZNAČ. ZA VIRUS GRIPE-ZAKAJ TEŽKO NAJTI CEPIVO?

-orthomyxovirus, napad sluznice

-ovojnica, helikalna simetrija nukleokapside

-ima segmentiran genom; brsti-polimorfen, ovojnica ima bodice na zun. strani (hemoglutini-povzročča aglutinacijo eritrocitov in neuraminidasa)

-ker je genom segmentiran lahko poteče antigenski prekok: zamenjava segmentov dveh različnih sevov, antigeni se spremenijo—virus postane odporen na cepivo (rezultat imunizacije)

-cepivo temelji na protitelesih proti hemoglutininu

397. FUNK. MONOKLONSKIH PROTITELES PRI ZAVIRANJU VIRUSNIH INFEK.

-protitelo, ki je produkt enega samega klona limfocita B

-odgovor imunskega sistema na prisotnost antigena

-omogoča prepoznavo virusnih antigenov in uničenje virusa

398. FUNK. RESKRIPTAZ V BAK. CEL.

-prepoznajo tujo DNA in jo razrežejo, lastno DNA zaščitijo z metilacijo baz. Nekateri virusi so se nanje prilagodili- metilacija in glikozilacija baz ali tvarba encimov, ki inaktivirajo delovanje reskriptaz. Nekateri restriktaze prepoznajo modif. DNA.

399. TEMPERIRAN BAKT. VIRUSI-LIZOGENI CIKEL

LIZOGENIJA-infekcija s temperiranim virusom, ki se konča s cel. smrtjo. Temperiran virus lahko svoj genom podvaja skupaj s cel. in do lizogenije. To niso virulentni virusi, ker običajno lizirajo cel. Povzročajo bolj subtilne efekte, zato jim rečemo temperirani. Ti vstopijo v fazo lizogenije, kjer večina virusnih genov ni izražena virusni genom pa je repliciran skupaj z gostiteljevim. V določenem obdobju spontana produkcija virionov

-nastane, če postane bakterija imuna, še preden napravi proti lizi prvi korak, ki ga ne more več preklicati.

LIZOGENI CIKEL-

a) infekcija

c) tvorba mRNA, replikacija DNA, sinteza beljakovin delov, sestava

d) virusna DNA v cel. Obstaja v obliki PROTIVIRUSA oz. PROFAGA. Intergrira se v bakt. Kromosom in se replicira skupaj z njim in z bakt. Cel.; njegovi geni, ki kontrolirajo litične poti niso izražene, ker jih nadzoruje represorski protein (inhibira tudi ekspresijo drugih genov, ki vstopajo v cel.), lizogeni imajo imunost proti infekciji z virusom enakega tipa

e) ko je represor inaktiviran(T;UV;kemikalije) se profag inducira in tvori nove virione in povzroči lizo cel.

400. ONKOVIRUSI

-virus ki povzročča raka; praviloma virusi, retrovirusi, herpesivirusi, poxvirusi, adenovirusi, popovirusi-prenašajo ali vplivajo na onkogene, ki jih vsebujejo(vključni še razlago onkogenov)

-src geni:kodirajo prot.fosfokinaze; prenašajo onkogene in agense, ki aktivirajo

401. VIRUSI IN RAKAVA BOLENJA

-onkovirusi povzročajo raka in vsebujejo onkogene. Virusi aktivirajo onkogen-transdukcija. Povzročijo transformacijo celic in kontrolirajo rast in delitev. Tvorijo se žarišča infekcije in tumorov; benigni,maligni; metastaze (zasevki); promocija-tvorba rakave cel.po iniciaciji (gen.spremembi)

402.ONKOGENI

-glj 400

-so del onkovirusov

-kodirajo delitev cel.; v cel.običajno dominantni; kontrolorajo jih protoonkogeni (aktivacija protoonkogeno-onkogen) in tumor supresorski geni (inaktivacija TSG-pnkogen); biti morata v ravnotežju

403.LATENTNE INFEKCIJE Z VIRUSI

-povzročajo jih živalski virusi-zakasnitev med virusno okužbo in pojavom simptomov. Latentna prisotnost virusa- vsake toliko pride do izbruha

-so inaparentne infekcije, ki so kronične in pri katerih nekaterih virusih dosežejo s svojim gost.ravnovesje

404.POČASNE VIRUSNE INFEKCIJE

-žival.virusi-cel.ob sproščanju virusa preživi in tvori virus čez dolgo časovno obdobje. Infekcije, ko se virusi počasi namnožijo in počasi sproščajo. Zanje je značilna dolga inkubacija, ki traja več mesecev ali več let, ko se virus nenehno razmnožuje in vedno huje poškoduje tkiva.

405.RASTL.VIRUSI

-povzročajo škodo v kmetijstvu(tobačni mozaični virus). Rastlinam cel.st. daje dobro zaščito zato lahko prodirajo le preko poškodb cel.st.; med cel. Se premikajo preko plazmodezem. Pri rast.so znani viroidi

-manj kot živalskih

406.VIROIDI

=rastlinski »virusi«;nk brez kapside (kratke, krožne, niso dvojne rezistentne proti nukleazam, ne kodirajo proteinov-RNA kodirajo 1-2 proteina)- so MO, ki povzročajo nek.bolezni (vretenast gomolj krompirja...). Njihova zgradba še ni docela pojasnjena, ker ni proteinskega plašča ni genov, ki bi kodirali proteine, tudi encimov, ki bi sodelovali proti replikaciji ni. Popolnoma so odvisni od gost. –pobegli introni

407.PRIONI

-značilna intracel.oblika, ekstracel.je le protein

-infektivni delci (250ak), povzročajo napredujoče bolezni CŽS, ljudi in živali: dedna nespečnost, seropie(ovce), BSE (krave), množenje potovanje po živčevju, tvorba vakuolizacije, ljudje vsebujemo gen, ki kodira podoben protein, odporni na proteaze in termično stabilni

408.KRITERIJI ZA VIRUSNO TAKSONOMIJO

- a) označitev: ime glavnega gostitelja, št., črka
- b) konvencionalna klasifikacija: najvišji takson je fam.:VIRIDAE; g:ime gostitelja+ virus; navadna imena, izjemoma binomialna
- c) stare def.simptomatske, nove so deskriptivne

ICTV:international comitee for on the taxonomy of viruses

Vrsta virusa: enaka gen,info in ekol.niša

73 fam.:kriteriji-narava gost.znač.n.k., simetrija kapside, prisotnost ovoja in odpornost na etru; premer kapsomere, imunološke lastnosti; intracel. Lokacija virusne replikacije, bolezen posebne klinične znač.; prenos okužbe

409.IZOLACIJA VIRUSA

-odstranimo cel.primesi; centrifugiramo (oborimo se pri 20000-100000 obratih)

-izolacija iz cel.kulture 8virusi so sorazmerno neobstojni in izgubijo svojo infektivnost po večini že pri 22°C, ZATO MORA MATERIAL PO JEMANJU ČIMPREJ V LABORATORIJ

410.IDENTIFIKACIJA VIRUSA

-morfologija

-kriteriji za taksonomijo

-serološke metode-določamo količino specifičnih protiteles za virus. Jemljemo akutni in rekoalescenti serum, včasih še 3 serum, ker nastanejo nek.protitelesa pozno.Viruse razvrščamo po nuk.kisl. in oblikovnih posebnostih. Sorodne viruse se loči po antigenskih znač.patogenosti.

-histološke preiskave tkiv in s kožnimi preiskusi(Hsiung, 1964)

-elektronski mikroskop

411.GOJENJE ŽIVALSKIH VIRUSOV V LABORATORIJU

a) žive živali v organih (umetno vzgojeni)

b) embrio v jajcu(v rumenjaku v vrečki, na horioalantoični mrenici ali v amnijski votlini)

c) živalska tkivna kultura—1.cel.linija: histološki, kjer rastejo do kontaktne inhibicije—enoslijni biofilm-permanentna cel.tkiva-rakave cel.brez kont.inh. v žariščih tvorijo tumorje; so brez življ. dobe-HELLA)

412.KOLONIJE IN PLAQUE

PLAQUE-cona lize ali cel.inhibicije, ki jo je povzročila virusna infekcija na cel. Kulturi (liza cel.-razbistritev)

KOLONIJA-makroskopsko vidna populacija cel., ki nastane na trdnem mediju in nastane iz ene same materinske cel.

413.PFU-PLAQUE FORMING UNITS

-z njo opredelimo infektivnost

417.PLAZMIDI-IZVENKROMOSOMSKI ELEMENTI

-genetska izmenjava pri prokariotih:-fragmentiran proces (izmenjava se le del genoma);-nikoli diploidna ali komplementarna izmenjava genoma;-enosmeren proces(od donorja k recipientu)

TRANSPOZONI-izvenkromosomski elementi

-plazmidi so majhni gen.elementi; obstajajo od kromosoma v citoplazmi; replicirajo se neodvisno od kromosomske DNA

-večinoma krožna, lahko linearna DNA (dvojna vijačnica)

-večina prokariotov,malo ev.-eden ali več na cel.; različna velikost

-razlika od virusa:-ne tvori škode v cel.-večinoma koristni;-ne obstaja v izvencel.okolici

-lastnosti: F-fertilnost(sposobnost konjugacije, prisotnost virusa; nastanek pilusov)

R-rezistenca (na antibiotike, toksine, imunski sistem)

Virulenca: Col/količina

-virulenca=lastnost pogojena s plazmidi omogočajo nek.metabolne procese

-virulenčni plazmidi povzročajo virulenco bakt.

418.KAKO SE BAKT.KROMOSOM RAZLIKUJE OD KROMOSOMA EV.CEL.?

-bakt.kromosom (GLEJ 114)

-evk.kromosom:- v jedru (dvojna jed.memb.-jed.ovoj.)

-več na cel.; introni in eksoni

-introni=nekodirajoče sekvence DNA (97%člov.genoma):I

-eksoni=kodirajoče sekvence DNA(90%prok.genoma):E

-na gen pride od 0 do 50 intronov:-prok.:>90%E, redki I; evk.:veliki I (do 99%):glive(do 70%, 4-40% I), človek(3%E)