

Brock

Mikrobiologie kompakt

Michael T. Madigan
John M. Martinko
David A. Stahl
David P. Clark

EXTRAS
ONLINE

Editiert und herausgegeben von Martina und Dieter Jahn

ALWAYS LEARNING

PEARSON

Michael T. Madigan
John M. Martinko
David A. Stahl
David P. Clark

Brock Mikrobiologie kompakt

13., aktualisierte Auflage

Editiert und herausgegeben von
Martina und Dieter Jahn

Brock

Mikrobiologie kompakt

**Michael T. Madigan
John M. Martinko
David A. Stahl
David P. Clark**

Editiert und herausgegeben von Martina und Dieter Jahn

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der
Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten
sind im Internet über <http://dnb.dnb.de> abrufbar.

Die Informationen in diesem Produkt werden ohne Rücksicht auf einen eventuellen Patentschutz veröffentlicht. Warennamen werden ohne Gewährleistung der freien Verwendbarkeit benutzt. Bei der Zusammenstellung von Texten und Abbildungen wurde mit größter Sorgfalt vorgegangen. Trotzdem können Fehler nicht vollständig ausgeschlossen werden. Verlag, Herausgeber und Autoren können für fehlerhafte Angaben und deren Folgen weder eine juristische Verantwortung noch irgendeine Haftung übernehmen. Für Verbesserungsvorschläge und Hinweise auf Fehler sind Verlag und Herausgeber dankbar.

Alle Rechte vorbehalten, auch die der fotomechanischen Wiedergabe und der Speicherung in elektronischen Medien. Die gewerbliche Nutzung der in diesem Produkt gezeigten Modelle und Arbeiten ist nicht zulässig. Fast alle Produktbezeichnungen und weitere Stichworte und sonstige Angaben, die in diesem Buch verwendet werden, sind als eingetragene Marken geschützt. Da es nicht möglich ist, in allen Fällen zeitnah zu ermitteln, ob ein Markenschutz besteht, wird das ©-Symbol in diesem Buch nicht verwendet.

Es konnten nicht alle Rechteinhaber von Abbildungen ermittelt werden. Sollte dem Verlag gegenüber der Nachweis der Rechtsinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar nachträglich gezahlt.

Authorized translation from the English language edition, entitled Brock Biology of Microorganisms, 13th Edition, by Michael T. Madigan, John M. Martinko, David A. Stahl, David P. Clark, published by Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings, Copyright © 2012 by Pearson Education, Inc.

All rights reserved. No part of this book may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording or by any information storage retrieval system, without permission from Pearson Education, Inc.

GERMAN language edition published by PEARSON DEUTSCHLAND GmbH, Copyright © 2015.

Coverabbildung:

Oben links: Anheftung eines Bakteriophagen an *Planctomyces limnophilus*, Negative staining mit Uranylacetat, transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme.

Oben rechts: *Clostridium difficile*, rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.

Unten links: *Escherichia coli* EPEC auf Fibroblasten, *E. coli* EPEC sitzt auf Aktinpodesten, die von der Wirtszelle gebildet werden, rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.

Unten rechts: *Aspergillus niger* auf einer Agarplatte gewachsen, rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.

10 9 8 7 6 5 4 3 2

18 17

ISBN 978-3-86324-260-3 (Buch)
ISBN 978-3-86326-726-1 (E-Book)

© 2015 by Pearson Deutschland GmbH,
Lilienthalstr. 2, D-85399 Hallbergmoos / Germany
Alle Rechte vorbehalten
www.pearson.de
A part of Pearson plc worldwide

Programmleitung: Kathrin Mönch, kmoench@pearson.de
Übersetzung: Freya Thomm-Reitz, Regensburg
Korrektorat: Anton Schmid, Puchheim (Kapitel 1 bis 12);
Christian Schneider, München (Kapitel 13 bis 17)

Fachlektorat: Martina und Dieter Jahn
Herstellung: Philipp Burkart, pburkart@pearson.de
Satz: Gerhard Alfes, mediaService, Siegen, (www.mediaservice.tv)

Coverabbildung: M. Rohde, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, HZI, Braunschweig
In Zusammenarbeit mit: C. Jogler, Leibnitz Institut DSMZ-Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig; M. Jahn, Technische Universität Braunschweig, Braunschweig;
S. Benesch, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, HZI, Braunschweig

Druck und Verarbeitung: CPI books GmbH, Leck
Printed in Germany

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	xvi
----------------------	-----

Kapitel 1: Mikroorganismen und Mikrobiologie

1.1 Einführung in die Mikrobiologie	2
1.1.1 Die Wissenschaft der Mikrobiologie	2
1.1.2 Mikrobielle Zellen	3
1.1.3 Mikroorganismen und ihre Lebensräume	5
1.1.4 Evolution und die Verbreitung mikrobiellen Lebens	6
1.1.5 Der Einfluss der Mikroorganismen auf den Menschen	9
1.2 Die Entdeckung der Mikrobiologie	13
1.2.1 Die historischen Wurzeln der Mikrobiologie: Hooke, van Leeuwenhoek und Cohn	13
1.2.2 Pasteur und der Niedergang der Theorie der Spontanzeugung	16
1.2.3 Koch, Infektionskrankheiten und die Reinkultur in der Mikrobiologie	17
1.2.4 Die wachsende Bedeutung der mikrobiellen Vielfalt	20
1.2.5 Die Ära der modernen Mikrobiologie	22
1.3 Das Sichtbarmachen des Winzigen	23
1.3.1 Einige Grundlagen der Lichtmikroskopie	23
1.3.2 Kontrastvergrößerung in der Lichtmikroskopie	25
1.3.3 Die dreidimensionale Darstellung von Zellen	27
1.3.4 Das Elektronenmikroskop	29

Kapitel 2: Zellstruktur von Mikroorganismen

2.1 Zellform und Zellgröße	32
2.1.1 Zellmorphologie	32
2.1.2 Zellgröße und was es bedeutet, klein zu sein	32
2.2 Die Cytoplasmamembran und der Transport	36
2.2.1 Die Cytoplasmamembran	36
2.2.2 Die Funktionen der Cytoplasmamembran	39
2.2.3 Transport und Transportsysteme	40
2.3 Die Zellwände bei den Prokaryoten	44
2.3.1 Die Zellwand der <i>Bacteria</i> : Das Peptidoglykan	44
2.3.2 Die äußere Membran	48
2.3.3 Die Zellwände der <i>Archaea</i>	51

2.4	Weitere Zellwandstrukturen und Zellwandeinschlüsse	52
2.4.1	Zelloberflächenstrukturen	52
2.4.2	Zelleinschlüsse	54
2.4.3	Gasvesikel	56
2.4.4	Endosporen	57
2.5	Mikrobielle Bewegung	61
2.5.1	Geißeln und Beweglichkeit	61
2.5.2	Die Gleitbewegung	66
2.5.3	Mikrobielle Taxien	67
2.6	Die eukaryotische Zellstruktur	71
2.6.1	Die eukaryotische Zellstruktur und der Zellkern	71
2.6.2	Das Mitochondrium und das Hydrogenosom	72
2.6.3	Der Chloroplast	73
2.6.4	Endosymbiose: Verwandtschaften von Mitochondrien und Chloroplasten mit den <i>Bacteria</i>	73
2.6.5	Andere Organellen und eukaryotische Zellstrukturen	75

Kapitel 3: Stoffwechsel

3.1	Ernährung und Kultivierung von Mikroorganismen	80
3.1.1	Ernährung und Zellchemie	80
3.1.2	Kulturmedien	83
3.1.3	Die Laborkultur	84
3.2	Energetik und Enzyme	85
3.2.1	Bioenergetik	86
3.2.2	Katalysatoren und Enzyme	88
3.3	Oxidations-Reduktions-Reaktionen und energiereiche Verbindungen	90
3.3.1	Elektronendonator und Elektronenakzeptor	90
3.3.2	Energereiche Verbindungen und Energiespeicherung	92
3.4	Die wichtigsten Wege des Katabolismus	95
3.4.1	Glykolyse	95
3.4.2	Atmung und Elektronenüberträger	97
3.4.3	Die protonenmotorische Kraft	99
3.4.4	Der Citratzyklus	102
3.4.5	Die Vielfalt des Katabolismus	104
3.5	Die Phototrophie	106
3.5.1	Die Photosynthese	106
3.5.2	Chlorophylle und Bakteriochlorophylle	106
3.5.3	Carotinoide und Phycobiline	110
3.5.4	Anoxygene Photosynthese	111
3.5.5	Oxygene Photosynthese	116

3.6 Chemolithotrophie	118
3.6.1 Die Energetik der Chemolithotrophie	118
3.6.2 Die Wasserstoffoxidation	119
3.6.3 Die Oxidation reduzierter Schwefelverbindungen	120
3.6.9 Eisenoxidation	122
3.6.5 Nitrifizierung	124
3.6.6 Anammox	126
3.7 Die wichtigsten Biosynthesen: Autotrophie und Stickstofffixierung	128
3.7.1 Der Calvinzyklus	128
3.7.2 Weitere autotrophe Wege bei Phototrophen	130
3.7.3 Stickstofffixierung und Nitrogenase	132
3.8 Fermentationen	133
3.8.1 Energetische und Redox-Betrachtungen	133
3.8.2 Milchsäure- und gemischte Säure-Gärungen	136
3.8.3 Gärungen von Clostridien und die Propionsäure-Gärung	139
3.8.4 Gärungen ohne Substratkettenphosphorylierung	142
3.8.5 Syntrophien	143
3.9 Anaerobe Atmung	146
3.9.1 Anaerobe Atmungen: Generelle Betrachtungen	146
3.9.2 Die Nitratreduktion und die Denitrifikation	148
3.9.3 Sulfat und die Schwefelreduktion	150
3.9.4 Acetogenese	153
3.9.5 Die Methanogenese	155
3.9.6 Andere Elektronenakzeptoren	161
3.9.7 Organische Elektronenakzeptoren	163
3.9.8 Die anaerobe Oxidation von Kohlenwasserstoffen, die mit der anaeroben Atmung verknüpft ist	164
3.10 Aerober chemoorganotropher Abbau	167
3.10.1 Molekularer Sauerstoff als Reaktionsmittel und die aerobe Kohlenwasserstoffoxidation	167
3.10.2 Methylotrophie und Methanotrophie	169
3.10.3 Der Zucker- und Polysaccharidmetabolismus	171
3.10.4 Der Metabolismus von organischen Säuren	174
3.10.5 Der Lipidstoffwechsel	175
3.11 Grundlagen des Anabolismus	177
3.11.1 Die Biosynthese von Zuckern und Polysacchariden	177
3.11.2 Die Biosynthese der Aminosäuren und Nucleotide	178
3.11.3 Die Biosynthese der Fettsäuren und Lipide	179
3.11.4 Regulation der Aktivität biosynthetischer Enzyme	181

Kapitel 4: Mikrobielles Wachstum

4.1	Die bakterielle Zellteilung	186
4.1.1	Zellwachstum und Zweiteilung	186
4.1.2	Fts-Proteine und die Zellteilung	187
4.1.3	MreB und die Determinanten der Zellmorphologie	189
4.1.4	Die Peptidoglykansynthese und die Zellteilung	191
4.2	Das Wachstum einer Population	193
4.2.1	Das Prinzip des exponentiellen Wachstums	193
4.2.2	Die Mathematik des exponentiellen Wachstums	194
4.2.3	Der mikrobielle Wachstumszyklus	195
4.2.4	Die kontinuierliche Kultur: der Chemostat	197
4.3	Messung des mikrobiellen Wachstums	200
4.3.1	Mikroskopische Messungen	200
4.3.2	Bestimmung der Lebendkeimzahl	201
4.3.3	Trübungsmessungsmethoden	204
4.4	Temperatur und mikrobielles Wachstum	206
4.4.1	Die Wirkung der Temperatur auf das Wachstum	206
4.4.2	Mikrobielles Leben in der Kälte	207
4.4.3	Mikrobielles Leben bei hohen Temperaturen	211
4.5	Weitere Umwelteinflüsse auf das Wachstum	213
4.5.1	Säuregehalt und Alkalinität	213
4.5.2	Osmotische Einflüsse	215
4.5.3	Sauerstoff und Mikroorganismen	218
4.5.4	Toxische Formen des Sauerstoffs	220
4.6	Die Kontrolle mikrobiellen Wachstums	222
4.6.1	Physikalische antimikrobielle Kontrolle	223
4.6.2	Chemische antimikrobielle Kontrolle	230
4.6.3	Verwendung antimikrobieller Wirkstoffe <i>in vivo</i>	233
4.6.4	Antimikrobielle Medikamentenresistenz und Medikamentenentwicklung	243

Kapitel 5: Prinzipien der Genetik

5.1	Mutation	252
5.1.1	Mutationen und Mutanten	252
5.1.2	Die molekularen Grundlagen der Mutation	255
5.1.3	Mutagenese	258
5.2	Gentransfer	262
5.2.1	Die genetische Rekombination	263
5.2.2	Transformation	265

5.2.3	Transduktion	268
5.2.4	Konjugation: Allgemeine Grundlagen	270
5.2.5	Komplementation	271
5.2.6	Gentransfer bei <i>Archaea</i>	274
5.2.7	Mobile DNA: Transponierbare Elemente	275

Kapitel 6: Molekularbiologie der *Bacteria*

6.1	DNA-Struktur und genetische Information	280
6.1.1	Makromoleküle und Gene	280
6.1.2	Die Doppelhelix	283
6.1.3	Die Überspiralisierung	285
6.1.4	Chromosomen und andere genetische Elemente	287
6.2	Chromosomen und Plasmide	288
6.2.1	Das Chromosom von <i>Escherichia coli</i>	288
6.2.2	Plasmide: Allgemeine Grundlagen	291
6.2.3	Die Biologie der Plasmide	293
6.3	Die DNA-Replikation	294
6.3.1	Matrizen und Enzyme	295
6.3.2	Die Replikationsgabel	295
6.3.3	Die bidirektionale Replikation und das Replisom	298
6.4	Die RNA-Synthese: Die Transkription	300
6.4.1	Überblick über die Transkription	301
6.4.2	Sigmafaktoren und Konsensussequenzen	303
6.4.3	Termination der Transkription	305
6.4.4	Die Transkriptionseinheit	305
6.5	Die Proteinstruktur und die Proteinsynthese	307
6.5.1	Polypeptide, Aminosäuren und die Peptidbindung	307
6.5.2	Die Translation und der genetische Code	308
6.5.3	Die Transfer-RNA	311
6.5.4	Die Schritte der Proteinsynthese	313
6.5.5	Der Einbau von Selenocystein und Pyrrolysin	316
6.5.6	Die Faltung und Ausscheidung von Proteinen	317

Kapitel 7: Molekularbiologie der *Archaea* und Eukaryoten

7.1	Die Molekularbiologie der <i>Archaea</i>	322
7.1.1	Chromosomen und die DNA-Replikation bei den <i>Archaea</i>	322
7.1.2	Transkription und RNA-Prozessierung bei <i>Archaea</i>	324
7.1.3	Die Proteinsynthese bei <i>Archaea</i>	326
7.1.4	Gemeinsamkeiten der <i>Bacteria</i> und der <i>Archaea</i>	327

7.2 Die Molekularbiologie der Eukaryoten	328
7.2.1 Gene und Chromosomen bei <i>Eukarya</i>	328
7.2.2 Überblick über die eukaryotische Zellteilung	330
7.2.3 Die Replikation der linearen DNA	330
7.2.4 RNA-Prozessierung	333
7.2.5 Transkription und Translation bei <i>Eukarya</i>	336

Kapitel 8: Regulation der Genexpression

8.1 Überblick über die Regulation	340
8.2 DNA-Bindeproteine und die Regulation der Transkription	341
8.2.1 DNA-Bindeproteine	341
8.2.2 Die negative Kontrolle der Transkription: Repression und Induktion	343
8.2.3 Die positive Kontrolle der Transkription	346
8.2.4 Die globale Kontrolle und das <i>lac</i> -Operon	347
8.2.5 Die Kontrolle der Transkription bei den <i>Archaea</i>	350
8.3 Registrierung von Umweltveränderungen und Signaltransduktion	351
8.3.1 Zwei-Komponenten-Regulations-Systeme	351
8.3.2 Die Regulation der Chemotaxis	353
8.3.3 Quorum sensing	355
8.3.4 Die stringente Antwort	357
8.3.5 Weitere Netzwerke globaler Kontrolle	358
8.4 Die Regulation der Entwicklung der <i>Bacteria</i>	361
8.4.1 Die Sporulation bei <i>Bacillus</i>	361
8.4.2 Die Differenzierung bei <i>Caulobacter</i>	362
8.5 Die Regulation durch RNA	363
8.5.1 Regulation durch RNA und die Antisense-RNA	363
8.5.2 Das CRISPR-Antivirales Verteidigungssystem	365
8.5.3 Riboswitches	366
8.5.4 Attenuation	368

Kapitel 9: Mikrobielle Genomik

9.1 Genome und Genomik	372
9.1.1 Einführung in die Genomik	372
9.1.2 Sequenzierung und Zuordnung des Genoms	373
9.1.3 Analysen mit Hilfe der Bioinformatik und Genverteilungen	375
9.1.4 Die Genome der eukaryotischen Mikroorganismen	380
9.1.5 Metagenomik	380

9.2	Genomfunktion und Regulation	381
9.2.1	Microarrays und Transkriptom	381
9.2.2	Proteomik und das Interaktom	384
9.2.3	Metabolomik	386

Kapitel 10: Mikrobielle Evolution und Systematik

10.1	Die frühe Erde, der Ursprung des Lebens und die mikrobielle Vielfalt	388
10.1.1	Entstehung und Frühgeschichte der Erde.	388
10.1.2	Der Ursprung zellulären Lebens	390
10.1.3	Mikrobielle Diversifikation: Folgen für die Biosphäre der Erde	394
10.1.4	Der endosymbiontische Ursprung der Eukaryoten.	395
10.2	Die mikrobielle Evolution	397
10.2.1	Der Evolutionsprozess	397
10.2.2	Evolutionsanalyse: Theoretische Aspekte	399
10.2.3	Evolutionsanalyse: Analytische Methoden	400
10.2.4	Mikrobielle Phylogenie	404
10.3	Mikrobielle Systematik	406
10.3.1	Phänotypische Analyse: Fettsäuremethylester (FAME)	406
10.3.2	Analysen des Genotyps	408
10.3.3	Das Spezieskonzept in der Mikrobiologie.	411
10.3.4	Klassifizierung und Nomenklatur.	414

Kapitel 11: Bacteria

11.1	Die Phylogene der <i>Bacteria</i>	416
11.2	<i>Proteobacteria</i>	417
11.2.1	Die phototrophen Purpurbakterien.	418
11.2.2	Die nitrifizierenden Bakterien.	421
11.2.3	Die schwefel- und eisenoxidierenden Bakterien	422
11.2.4	Wasserstoffoxidierende Bakterien.	425
11.2.5	Methanotrophe und Methyilotrophe	427
11.2.6	Pseudomonaden.	430
11.2.7	Essigsäurebakterien	431
11.2.8	Frei lebende, aerobe stickstofffixierende Bakterien	432
11.2.9	<i>Neisseria</i> , <i>Chromobacterium</i> und Verwandte.	434
11.2.10	Die Enterobakterien	434
11.2.11	<i>Vibrio</i> , <i>Aliivibrio</i> und <i>Photobacterium</i>	437
11.2.12	Rickettsien	439
11.2.13	Spirillen	441
11.2.14	Knospende und gestielte Bakterien.	445
11.2.15	Die Myxobakterien.	449
11.2.16	Sulfat- und schwefelreduzierende <i>Proteobacteria</i>	452
11.2.17	Die <i>Epsilonproteobacteria</i>	455

11.3	<i>Firmicutes</i>, <i>Mollicutes</i> und <i>Actinobacteria</i>	457
11.3.1	Nichtsporulierende <i>Firmicutes</i>	457
11.3.2	Endosporenbildende <i>Firmicutes</i>	461
11.3.3	<i>Mollicutes</i> : Die Mycoplasmen	464
11.3.4	<i>Actinobacteria</i> : Coryneforme Bakterien und Propionsäurebakterien	466
11.3.5	<i>Actinobacteria</i> : <i>Mycobacterium</i>	468
11.3.6	Filamentöse <i>Actinobacteria</i> : <i>Streptomyces</i> und Verwandte	470
11.4	Cyanobakterien und Prochlorophyten	474
11.4.1	Cyanobakterien	474
11.4.2	Die Prochlorophyten	477
11.5	Chlamydien	479
11.6	Die Planktomyceten	481
11.7	Die <i>Verrucomicrobia</i>	482
11.8	Die <i>Flavobacteria</i> und die <i>Acidobacteria</i>	483
11.8.1	<i>Bacteroides</i> und <i>Flavobacterium</i>	483
11.8.2	<i>Acidobacteria</i>	483
11.9	Die <i>Cytophaga</i>-Gruppe	485
11.10	Grüne Schwefelbakterien	486
11.11	Die Spirochäten	488
11.12	Die Deinokokken	491
11.13	Die grünen Nicht-Schwefel-Bakterien: <i>Chloroflexi</i>	492
11.14	Hyperthermophile Bakterien	494
11.14.1	<i>Thermotoga</i> und <i>Thermodesulfobacterium</i>	494
11.14.2	<i>Aquifex</i> , <i>Thermocrinis</i> und Verwandte	495
11.15	<i>Nitrospira</i> und <i>Deferribacter</i>	496
 Kapitel 12: Archaea		
12.1	Diversität	500
12.2	<i>Euryarchaeota</i>	502
12.2.1	Die extrem halophilen <i>Archaea</i>	502
12.2.2	Methanogene <i>Archaea</i>	507
12.2.3	<i>Thermoplasmatales</i>	510

12.2.4	<i>Thermococcales</i> und <i>Methanopyrus</i>	512
12.2.5	<i>Archaeoglobales</i>	513
12.2.6	<i>Archaeoglobus</i>	513
12.2.7	<i>Nanoarchaeum</i> und <i>Aciduliprofundum</i>	514
12.3	<i>Crenarchaeota</i>	516
12.3.1	Habitate und Energiemetabolismus	516
12.3.2	<i>Crenarchaeota</i> aus terrestrischen, vulkanischen Habitaten	517
12.3.3	<i>Crenarchaeota</i> aus vulkanischen Habitaten im Meer	519
12.3.4	<i>Crenarchaeota</i> aus nicht thermalen Habitaten und die Nitrifizierung bei den <i>Archaea</i>	522
12.4	Evolution und das Leben bei hohen Temperaturen	523
12.4.1	Die obere Temperaturgrenze mikrobiellen Lebens	523
12.4.2	Molekulare Anpassung an das Leben bei hohen Temperaturen	524
12.4.3	Hyperthermophile <i>Archaea</i> , Wasserstoff und die mikrobielle Evolution	526

Kapitel 13: Eukaryotische Mikroorganismen

13.1	Die eukaryotische mikrobielle Vielfalt	530
13.2	Protisten	531
13.2.1	Diplomonaden und Parabasalia	531
13.2.2	Euglenozoen	532
13.2.3	Alveolate – Ciliaten, Dinoflagellaten und Apicomplexa	533
13.2.4	Stramenopile – Diatomeen, Oomyzeten und Goldalgen	536
13.2.5	Cercozoen und Radiolaria	537
13.2.6	Amoebozoen	538
13.3	Pilze	540
13.3.1	Physiologie, Struktur und Symbiosen	541
13.3.2	Vermehrung und Phylogenie	543
13.3.3	Chytridiomyzeten	544
13.3.4	Zygomyceten und Glomeromyzeten	545
13.3.5	Ascomyceten	546
13.3.6	Basidiomyzeten und deren Lebenszyklus	548
13.4	Rotalgen und Grünalgen	549
13.4.1	Rotalgen	549
13.4.2	Grünalgen	550

Kapitel 14: Die wichtigsten mikrobiellen Habitate und ihre Vielfalt

14.1	Mikrobielle Ökologie	554
14.1.1	Grundlegende Konzepte der Ökologie	554
14.1.2	Die Versorgung des Ökosystems: Biogeochemie und Nährstoffkreisläufe	556

14.2 Nährstoffkreisläufe	557
14.2.1 Der Kohlenstoffkreislauf	557
14.2.2 Syntrophie und Methanogenese	560
14.2.3 Der Stickstoffkreislauf	563
14.2.4 Der Schwefelkreislauf	565
14.2.5 Der Eisenkreislauf	567
14.2.6 Die Kreisläufe von Phosphor, Kalzium und Silizium	569
14.3 Der mikrobielle Lebensraum	572
14.3.1 Lebensräume und Mikrolebensräume	572
14.3.2 Oberflächen und Biofilme	574
14.3.3 Mikrobielle Matten	578
14.4 Terrestrische Lebensräume	580
14.4.1 Böden	580
14.4.2 Der Bereich unterhalb der Oberfläche	584
14.5 Aquatische Lebensräume	586
14.5.1 Süßwasser	586
14.5.2 Küstengewässer und Ozeanwasser: phototrophe Mikroorganismen	588
14.5.3 Die Tiefsee	594
14.5.4 Hydrothermalsysteme	598
 Kapitel 15: Mikrobielle Symbiosen	
15.1 Symbiosen zwischen Mikroorganismen	602
15.1.1 Flechten	602
15.2 Pflanzen als mikrobielle Habitate	605
15.2.1 Die Leguminose-Wurzelknöllchensymbiose	605
15.2.2 <i>Agrobacterium</i> und Wurzelhalsgallen	611
15.2.3 Mykorrhiza	613
15.3 Säugetiere als mikrobielle Habitate	615
15.3.1 Der Säugetierdarm	615
15.3.2 Der Pansen und Wiederkäuer	617
15.3.3 Das menschliche Mikrobiom	621
15.4 Insekten als mikrobielle Habitate	625
15.4.1 Vererbte Insektensymbionten	625
15.4.2 Termiten	628
15.5 Aquatische Invertebraten und mikrobielle Habitate	630
15.5.1 Der hawaiianische Tintenfisch	630
15.5.2 Marine Invertebraten in Hydrothermalsystemen und Gasaustrittsstellen	632
15.5.3 Blutegel	634
15.5.4 Riffbauende Korallen	636

Kapitel 16: Wechselwirkung zwischen Menschen und Mikroorganismen

16.1 Nützliche Wechselwirkungen zwischen Menschen und Mikroorganismen	640
16.1.1 Überblick über die Wechselwirkungen zwischen Menschen und Mikroorganismen	640
16.1.2 Die normale Mikroflora der Haut	642
16.1.3 Die normale Mikroflora der Mundhöhle.	643
16.1.4 Die normale Mikroflora des Gastrointestinaltrakts.	646
16.1.5 Die normale Mikroflora anderer Körperregionen	649
16.2 Mikrobielle Virulenz und Pathogenese	651
16.2.1 Die Messung der Virulenz	651
16.2.2 Eindringen des Pathogenen in den Wirt – Anheftung	652
16.2.3 Kolonisierung und Infektion	654
16.2.4 Eindringen	655
16.2.5 Exotoxine	656
16.2.6 Endotoxine	662
16.3 Wirtsfaktoren einer Infektion	663
16.3.1 Risikofaktoren des Wirts bei einer Infektion.	664
16.3.2 Angeborene Resistenz gegenüber einer Infektion.	666
 Abbildungsverzeichnis	 669
 Index	 673

Vorwort

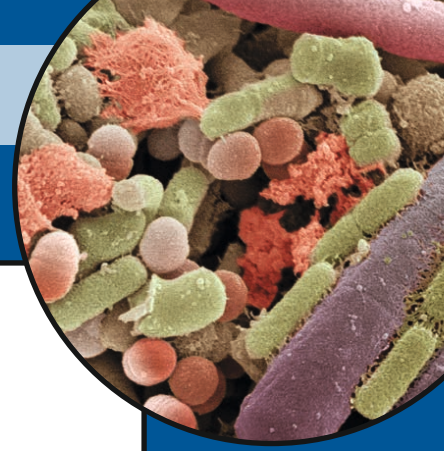
Die sehr aktive Forschung vieler naturwissenschaftlicher Disziplinen führt dazu, dass das Wissen und mit diesem die zugehörigen Lehrbücher immer mehr anschwellen. Davon blieb auch die Mikrobiologie nicht verschont. Gerade Lehrbücher, die mehrere Disziplinen verbinden, leiden in Bezug auf ihren Umfang besonders darunter, immer auf dem Stand der Wissenschaft zu bleiben. Zu unseren Studienzeiten konnte man ein einfaches Mikrobiologielehrbuch im Format DIN A5 im Handgepäck auf dem Fahrrad mit ins Schwimmbad nehmen, um dort vielleicht einmal hineinzuschauen. Heute wird bei den mehrere Kilogramm schweren Werken erst gar nicht mehr über so etwas nachgedacht. Zudem wirken die fast 2000 Seiten vieler Standard-Lehrbücher nicht gerade motivierend auf Anfänger. Oft suchen diese dann ihr Heil im Internet, mit eher gemischtem Erfolg. Bleibt die Frage, ob ein Lehrbuch wirklich für die breite Masse der Studenten das Niveau eines Nachschlagewerkes erfüllen muss. Vor diesem Hintergrund haben wir auf einer Tagung die Herausgeber des Mikrobiologie-Standardwerks „Brock Mikrobiologie“ zuerst einmal mit der Äußerung provoziert, dass man für das normale Biologiestudium gut auf über die Hälfte des „Brock“ verzichten könne, insbesondere da viele der im Buch gebotenen Inhalte inzwischen durch unabhängige Fachdisziplinen mit eigenständigen Lehrbüchern vertreten werden – wie etwa Immunologie, Biotechnologie und Virologie. So kam im Laufe der Diskussion die Idee auf, durch Reduktion der Inhalte des großen „Brock Mikrobiologie“ einen „kleinen Brock“ zu schaffen, der nun hier als „Brock Mikrobiologie kompakt“ vorliegt.

In der praktischen Umsetzung erwies sich das Streichen von fast 1000 Seiten als eine wirkliche Herausforderung, denn der Charakter des „Brock“ mit seinen vielen Stärken sollte erhalten bleiben. Zuerst wurden die Curricula einer Vielzahl von Mikrobiologie-Modulen in verschiedenen Bachelorstudiengängen deutscher Hochschulen verglichen, um essentielle Inhalte zu identifizieren. Wir haben dann entschieden, die einmalige Beschreibung der mikrobiellen Vielfalt des „Brock“, die zugehörige Genetik, Molekularbiologie und Biochemie sowie mikrobielle Gemeinschaften und

Habitats in den Mittelpunkt zu stellen. Diese Themen wurden neu zusammengestellt, ohne wesentliche Veränderung der Inhalte. Wir haben dann als Nächstes die Kapitel gestrichen, zu denen es eigene starke Lehrbücher gibt, und deren Inhalt somit wahrscheinlich nicht mehr aus dem „Brock“ gelernt wird. Dazu gehören Virologie, Gentechnologie, Biotechnologie, Immunologie, Diagnostik, Infektionskrankheiten und Lebensmittelmikrobiologie. Das permanente Weiterschreiben des Buches über 13. Auflagen hinweg hatte bei einigen Kapiteln zu Dopplungen der Inhalte geführt, die wir ebenso herausgenommen haben. Weiterhin haben wir viele Wiederholungen von Inhalten, die durch paralleles Beschreiben im Text, Auflisten in Tabellen oder Zeigen in Abbildungen entstanden waren, gestrichen. Schließlich wurde der lexikonartige Anhang zum Nachschlagen auf die Homepage zum Buch verbannt. So haben wir von 36 auf nun 16 Kapitel und von ca. 1650 auf 720 Seiten reduziert. Es ist uns bewusst, dass die Auswahl der Inhalte für die Streichung subjektiven Anschauungen der Editoren folgt und sicher nicht überall ungeteilte Zustimmung finden wird. Ein Feedback ist an dieser Stelle für uns sehr wichtig. Wir hoffen aber, dass der „kleine Brock“ trotzdem auf breiter Front Mikrobiologieinteressierte durch Studium und Beruf begleitet.

Wolfenbüttel
Martina und Dieter Jahn

In der Abbildung sehen Sie Bakterien, die von der Oberfläche einer menschlichen Zunge stammen. Bakterien sind eigenständige Mikroorganismen, die mit anderen Mikroorganismen in mikrobiellen Gemeinschaften leben und mit ihnen in Wechselwirkung treten.



1 Mikroorganismen und Mikrobiologie

1.1 Einführung in die Mikrobiologie	2
Die Wissenschaft der Mikrobiologie	2
Mikrobielle Zellen	3
Mikroorganismen und ihre Lebensräume	5
Evolution und die Verbreitung mikrobiellen Lebens	6
Der Einfluss der Mikroorganismen auf den Menschen	9
1.2 Die Entdeckung der Mikrobiologie	13
Die historischen Wurzeln der Mikrobiologie:	
Hooke, van Leeuwenhoek und Cohn	13
Pasteur und der Niedergang der Theorie	
der Spontanzeugung	16
Koch, Infektionskrankheiten und die Reinkultur	
in der Mikrobiologie	17
Die wachsende Bedeutung der mikrobiellen Vielfalt	20
Die Ära der modernen Mikrobiologie	22
1.3 Das Sichtbarmachen des Winzigen	23
Einige Grundlagen der Lichtmikroskopie	23
Kontrastvergrößerung in der Lichtmikroskopie	25
Die dreidimensionale Darstellung von Zellen	27
Das Elektronenmikroskop	29

Die Mikrobiologie beschäftigt sich mit der Untersuchung von Mikroorganismen. **Mikroorganismen** sind alle mikroskopisch kleinen, einzelligen Organismen, zu denen auch die Viren zählen, die zwar mikroskopisch klein sind, aber keine Zellen haben. Mikrobielle Zellen unterscheiden sich grundlegend von Pflanzen- und Tierzellen, denn Mikroorganismen sind selbständige Einheiten, die ihr Leben unabhängig von anderen Zellen führen. Im Gegensatz dazu sind pflanzliche und tierische Zellen nicht in der Lage, allein in der Natur zu überleben. Sie existieren nur als Teil vielzelliger Strukturen, wie zum Beispiel als Organe von Tieren oder als Blätter von Pflanzen.

Womit beschäftigt sich die Mikrobiologie? In der Mikrobiologie geht es um mikrobielle Zellen und wie diese funktionieren, vor allem aber um Bakterien, eine sehr große Gruppe sehr kleiner Zellen (► Abbildung 1.1), die alle zusammen von grundlegender Bedeutung für das Leben sind. In der Mikrobiologie beschäftigt man sich auch mit der Vielfalt und Evolution mikrobieller Zellen, wie die verschiedenen Arten der Mikroorganismen entstanden und warum. Es geht außerdem darum, was die Mikroorganismen auf der Welt leisten, im Boden, im Wasser, im menschlichen Körper, in den Tieren und Pflanzen. Auf die eine oder andere Weise sind alle anderen Lebensformen von Mikroorganismen betroffen oder werden von ihnen unterstützt. Damit kann man die Mikrobiologie als die Grundlage der Wissenschaft der Biologie bezeichnen.

In diesem Kapitel werden wir unsere Reise in die Welt der Mikroorganismen beginnen. Hier werden wir entdecken, was Mikroorganismen sind und welchen Einfluss sie auf den Planeten Erde haben. Wir legen die Grund-

lagen, um die Struktur und die Evolution der Mikroorganismen zu untersuchen, auf die wir im nächsten Kapitel eingehen werden. Wir werden die Mikrobiologie auch im historischen Kontext betrachten, als Prozess wissenschaftlicher Entdeckungen. Ausgehend von den bahnbrechenden Beiträgen sowohl der frühen Mikrobiologen als auch der heute tätigen Forscher, werden wir sehen, welchen Einfluss Mikroorganismen auf die Medizin, die Landwirtschaft, die Umwelt und noch viele andere Bereiche unseres Lebens haben.

Einführung in die Mikrobiologie

1.1

In den ersten Abschnitten dieses Kapitels werden wir das Fachgebiet der Mikrobiologie vorstellen. Wir werden die Mikroorganismen als Zellen betrachten, untersuchen, wo und wie Mikroorganismen in der Natur vorkommen, uns einen Überblick über die Evolutionsgeschichte mikrobiellen Lebens verschaffen und untersuchen, welchen Einfluss Mikroorganismen auf das Leben des Menschen hatten und künftig haben werden.

1.1.1 Die Wissenschaft der Mikrobiologie

In der Wissenschaft der Mikrobiologie beschäftigt man sich mit zwei miteinander verknüpften Hauptthemen: (1) der wissenschaftlichen Fragestellung, das Leben mikroskopisch kleiner Organismen zu verstehen und (2)

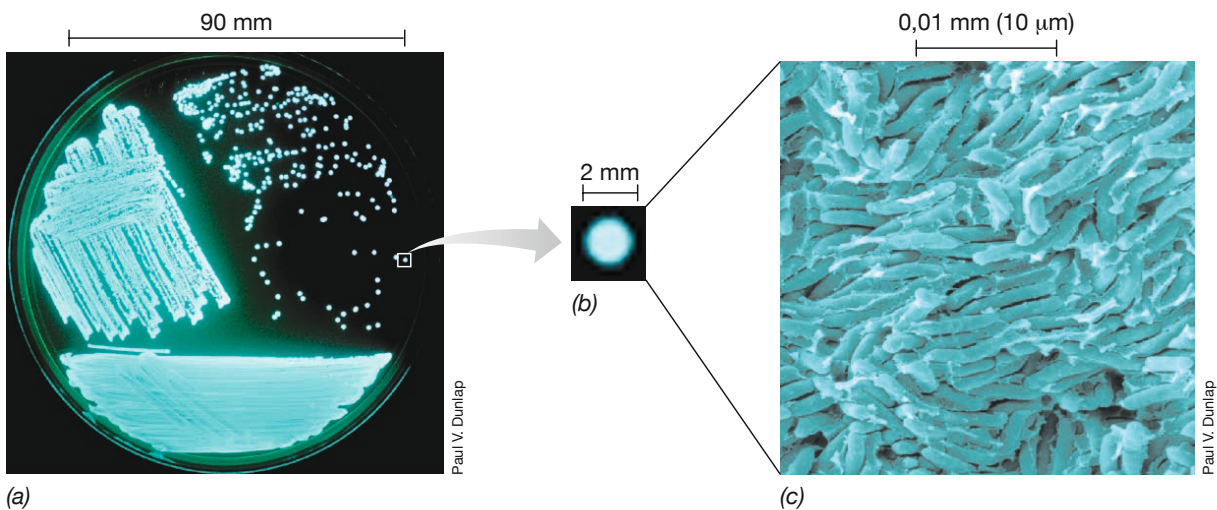


Abbildung 1.1: Mikrobielle Zellen. (a) Biolumineszente (lichtemittierende) Kolonien des Bakteriums *Photobacterium*, die in einer Laborkultur auf einer Petrischale gezüchtet wurden. (b) Eine Kolonie kann mehr als 10 Millionen (10^7) einzelne Zellen enthalten. (c) Mit dem Rasterelektronenmikroskop aufgenommene Zellen des Bakteriums *Photobacterium*.

unser gewonnenes Verständnis mikrobieller Lebensprozesse zum Wohl der Menschen und unserer Erde anzuwenden.

Als Teil der *Grundlagenforschung der Biologie* verwendet und entwickelt man in der Mikrobiologie Hilfsmittel, um grundlegende Prozesse des Lebens zu untersuchen. Ausgehend von ihren Untersuchungen der Mikroorganismen haben die Wissenschaftler mittlerweile ein recht genaues Bild der grundlegenden chemischen und physikalischen Lebensprozesse gewonnen, denn mikrobielle Zellen haben viele Gemeinsamkeiten mit den Zellen vielzelliger Organismen. Tatsächlich weisen *alle* Zellen viele Gemeinsamkeiten auf. Im Gegensatz zu pflanzlichen und tierischen Zellen können mikrobielle Zellen im kleinen Maßstab im Labor zu extrem hohen Zelldichten heranwachsen (Abbildung 1.1). Dadurch eignen sie sich besonders gut für biochemische und genetische Untersuchungen. All diese Eigenschaften machen Mikroorganismen zu hervorragenden Modellorganismen, um Lebensprozesse bei höheren Organismen, auch beim Menschen, zu verstehen.

In der *angewandten Wissenschaft der Biologie* steht die Mikrobiologie im Mittelpunkt vieler wichtiger Fragestellungen der Human- und der Tiermedizin, der Landwirtschaft und der Industrie. Hier ein Beispiel: obwohl Infektionskrankheiten bei Pflanzen und Tieren immer eine mikrobielle Ursache haben, spielen viele Mikroorganismen eine sehr wichtige Rolle für die Fruchtbarkeit von Böden und die Gesundheit der Nutztiere. Viele Verfahren der Großindustrie, wie die Herstellung von Antibiotika und menschlicher Proteine, beruhen überwiegend auf Mikroorganismen. Somit haben Mikroorganismen jeden Tag sowohl positive als auch negative Auswirkungen auf das Leben des Menschen.

Ogleich die Mikroorganismen die kleinste Lebensform darstellen, bilden sie alle zusammengenommen den größten Anteil der Biomasse auf Erden und führen viele für höhere Organismen lebenswichtige chemische Reaktionen durch. Ohne Mikroorganismen hätten sich höhere Lebensformen niemals entwickeln können und könnten jetzt nicht fortbestehen. Tatsächlich ist der Sauerstoff, den wir einatmen, das Ergebnis früherer mikrobieller Aktivität (wie wir in Abbildung 1.6 sehen werden). Darüberhinaus ist das Leben von Menschen, Pflanzen und Tieren im Zusammenhang mit der Verwertung wichtiger Substanzen der Nahrungskette und dem Aufbau organischen Materials eng mit mikrobiellen Aktivitäten verknüpft. Wir können mit Sicherheit behaupten, dass für die Unterstützung und Aufrechterhaltung des Lebens auf der Erde keine andere Lebensform ebenso wichtig ist.

Mikroorganismen existierten bereits Milliarden von Jahren auf der Erde bevor Pflanzen und Tiere auftraten.

Später werden wir lernen, dass die genetische und physiologische Vielfalt mikrobiellen Lebens die der Tiere und Pflanzen bei weitem übertrifft. Diese große Vielfalt ist für einige spektakuläre Eigenschaften der Mikroorganismen verantwortlich. So werden wir zum Beispiel sehen, wie Mikroorganismen in Lebensräumen gedeihen, an denen andere Organismen sterben würden und dass ihre vielfältigen physiologischen Fähigkeiten sie zu den größten Chemikern der Welt machen. Wir werden ferner auf die Evolutionsgeschichte der Mikroorganismen eingehen und erfahren, dass man auf Grund der evolutionären Verwandtschaft drei Gruppen von Zellen unterscheidet. Abschließend werden wir uns damit beschäftigen, wie die Mikroorganismen es schafften, wichtige Beziehungen mit anderen Organismen einzugehen, einige zum Wohl, andere zum Schaden der Organismen.

Wir beginnen unser Studium der Mikrobiologie mit der Betrachtung der Zellstruktur der Mikroorganismen.

1.1.2 Mikrobielle Zellen

Ein grundlegender Lehrsatz der Biologie besagt, dass die **Zelle** die fundamentale Einheit des Lebens ist. Eine einzelne Zelle stellt eine Einheit dar, die durch eine Membran von anderen, ebenfalls mit einer Membran umgebenen Einheiten, abgegrenzt wird (► Abbildung 1.2). Die Membran bestimmt die Ausdehnung der Zelle, hält das richtige Verhältnis der Bestandteile der Zelle aufrecht und verhindert, dass die Zelle ausläuft. Die Zellwand verleiht der Zellstruktur Stabilität. Allerdings bedeutet diese Kompartimentierung der Zelle nicht, dass eine Zelle ein *geschlossenes* System ist. Ganz im Gegenteil, die Membran ist semipermeabel und folglich ist die Zelle eine offene, dynamische Struktur. Zellen können kommunizieren, sich bewegen und mit ihrer Umgebung Stoffe austauschen, so dass sie einem ständigen Wandel unterliegen.

Eigenschaften zellulären Lebens

Welches sind die grundlegenden Eigenschaften der Zellen? In (► Abbildung 1.3) sind sowohl die Eigenschaften zusammengefasst, die alle Zellen gemeinsam haben, als auch die Eigenschaften, die nur einige von ihnen kennzeichnen. Allen Zellen ist eine Form des **Metabolismus** eigen. Das heißt, Zellen nehmen Nährstoffe aus ihrer Umgebung auf und wandeln diese in neues Zellmaterial und Abfallprodukte um. Während dieser Umwandlungsabläufe speichert die Zelle Energie, auf die sie zurückgreifen kann, um die Synthese lebenswichtiger Strukturen durchzuführen. Die Bildung neuer Strukturen führt zur Teilung der Zelle, so dass zwei Zellen

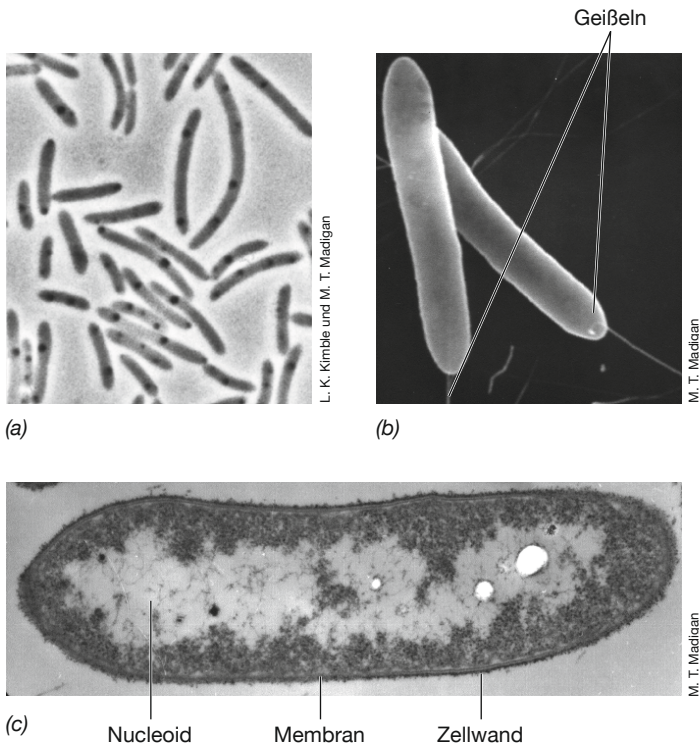


Abbildung 1.2: Bakterielle Zellen und einige Zellstrukturen. (a) Lichtmikroskopische Aufnahme stäbchenförmiger Zellen des Bakteriums *Heliobacterium modesticaldum*; eine einzelne Zelle hat einen Durchmesser von ungefähr 1 μm . (b) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der gleichen Zellen wie in (a) mit den Geißeln, Strukturen, die wie Propeller rotieren und den Zellen Schwimmfähigkeit verleihen. (c) Längsschnitt durch eine Zelle des Bakteriums *H. modesticaldum*, die unter einem Elektronenmikroskop analysiert wurde. Der helle Bereich zeigt verdichtete DNA, das Nucleoid der Zelle.

entstehen. Die metabolischen Fähigkeiten der Zellen unterscheiden sich ganz außerordentlich, aber das Ziel jeden Metabolismus einer Zelle besteht darin, am Ende zwei Zellen zu bilden. In der Mikrobiologie verwenden wir immer den Begriff **Wachstum**, nicht „Vermehrung“, wenn wir von einer Zunahme der Anzahl der Zellen durch Zellteilung sprechen.

Alle Zellen sind der **Evolution** unterworfen, ein Vorgang, in dem genetische Varianten im Hinblick auf die Eignung zur Fortpflanzung selektiert werden. Grundsätzlich ist die Evolution ein langsamer Vorgang, der aber, wenn ein starker Selektionsdruck besteht, in mikrobiellen Zellen sehr schnell ablaufen kann. So werden wir heute bei pathogenen (Krankheit erregenden) Bakterien Zeuge der Selektion für Antibiotikaresistenz in Folge des unüberlegten Umgangs mit Antibiotika in der Human- und Tiermedizin. Evolution ist *das* alles bestimmende Thema der Biologie. Die fundamentalen Lehrsätze der Evolution – Variation und natürliche Selektion auf der Grundlage der Lebensfähigkeit – bestimmen gleichermaßen die mikrobiellen Lebensformen und das Leben der höheren Organismen.

Obwohl alle Zellen einen Metabolismus besitzen, wachsen und sich entwickeln, unterscheiden sich die gemeinsamen Eigenschaften je nach Zellspezies. Viele Zellen sind zur **Bewegung** fähig, charakteristisch ist dabei die Bewegung durch Selbstantrieb (Abbildung 1.2). Dank ihrer Beweglichkeit vermögen sich die Zellen aus einer Gefahr oder ungünstigen Umweltbedin-

gungen fort zu bewegen und neue Ressourcen oder Lebensmöglichkeiten zu nutzen. Einige Zellen durchlaufen eine **Differenzierung**. Dabei handelt es sich um einen Vorgang, bei dem zum Beispiel veränderte Zellen entstehen, die auf Wachstum, Verbreitung oder Überleben spezialisiert sind. Andere Zellen reagieren auf chemische Reize in ihrer Lebensumgebung, auch auf solche, die von anderen Zellen ausgehen, sowohl von Zellen der eigenen Spezies als auch von Zellen anderer Spezies. Die Reaktionen auf diese Reize können neue Zellaktivitäten auslösen. Wir können somit feststellen, dass Zellen **kommunizieren**. Da dieses Gebiet des mikrobiellen Lebens noch weiter erforscht werden wird, ist es durchaus möglich, dass sich die Kommunikation der Zellen untereinander als Eigenschaft aller mikrobiellen Zellen herausstellen wird.

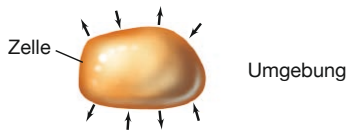
Zellen als biochemische Katalysatoren und als genetische Einheiten

Man kann die Routineabläufe bei Zellen aus zwei Blickwinkeln betrachten. Auf der einen Seite kann man Zellen als biochemische Katalysatoren ansehen, die chemische Reaktionen durchführen, die man als Metabolismus bezeichnet (► Abbildung 1.4). Andererseits kann man Zellen als Maschinen betrachten, die einen genetischen Code erzeugen, DNA replizieren und diese dann so weiterverarbeiten, dass RNAs und Proteine entstehen, die

I. Eigenschaften aller Zellen

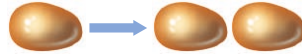
Kompartimentierung und Metabolismus

Eine Zelle ist ein Kompartiment, das Nährstoffe von der Umgebung aufnimmt, diese umwandelt und Endprodukte in die Umgebung entlässt. Deshalb ist die Zelle ein offenes System.



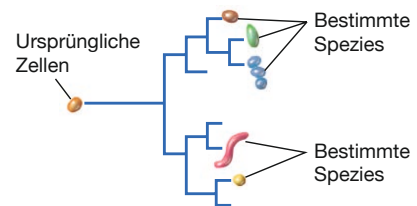
Wachstum

Chemische Substanzen aus der Umgebung werden unter genetischer Steuerung bereits vorhandener Zellen in neue Zellen umgewandelt.



Evolution

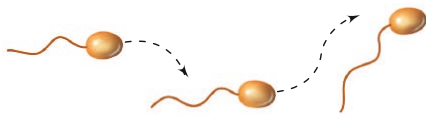
Zellen enthalten Erbliche Gene und entwickeln sich, wobei sie neue biologische Eigenschaften aufweisen. Phylogenetische Stammbäume zeigen die evolutionären Beziehungen zwischen den Zellen.



II. Eigenschaften einiger Zellen

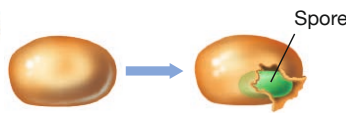
Beweglichkeit

Einige Zellen sind fähig, sich selbst vorwärts zu bewegen.



Differenzierung

Einige Zellen können im Lauf des Zellzyklus neue Strukturen wie zum Beispiel Sporen bilden.



Kommunikation

Viele Zellen kommunizieren oder treten miteinander über chemische Substanzen, die freigesetzt oder aufgenommen werden, in Wechselwirkung.

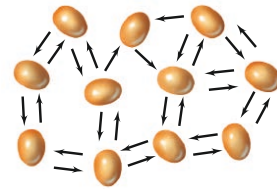


Abbildung 1.3: Die Eigenschaften zellulären Lebens.

unter den jeweiligen vorherrschenden Lebensbedingungen für den Erhalt und das Wachstum der Zelle sorgen. Zwei Hauptvorgänge gehen von der DNA aus: Die Bildung von RNAs (Transkription) und die Bildung von Proteinen (Translation) (Abbildung 1.4).

Zellen koordinieren ihre katalytischen und genetischen Funktionen und fördern so das Wachstum. Am Ende der Abläufe, die schließlich zur Zellteilung führen, liegen alle Bestandteile der Zelle zweifach vor. Das geht nur dann, wenn die katalytische Maschinerie der Zelle, ihre **Enzyme**, Energie und Vorläufer für die Biosynthese aller Zellbestandteile liefert und alle Gene (das **Genom** der Zelle) sich replizieren (Abbildung 1.4). Die katalytischen und genetischen Funktionen der Zelle müssen daher sehr gut aufeinander abgestimmt sein. Wir werden später außerdem lernen, dass diese Funktionen so reguliert werden, dass sichergestellt ist, dass neues Zellmaterial in der richtigen Reihenfolge und Menge gebildet wird und die Zelle optimal auf ihre Lebensumgebung eingestellt ist.

1.1.3 Mikroorganismen und ihre Lebensräume

In der Natur leben mikrobielle Zellen in Verbindung mit anderen Zellen in Zusammenschlüssen, die man als Populationen bezeichnet. Eine Population ist eine Gruppe von Zellen, die aus einer einzigen Elternzelle durch aufeinander folgende Zellteilungen entstanden. Die unmittelbare Lebensumgebung, in der eine mikrobielle Population lebt, bezeichnet man als **Habitat**. Zellpopulationen interagieren in **mikrobiellen Gemeinschaften** mit anderen Populationen (► Abbildung 1.5). Die Vielfalt und das Auftreten von Mikroorganismen in mikrobiellen Gemeinschaften werden durch die Ressourcen (Nahrung) und die Lebensbedingungen (Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffgehalt usw.) gesteuert, die in dem jeweiligen Habitat vorherrschen.

Populationen mikrobieller Gemeinschaften treten miteinander in Wechselwirkung, sowohl zum gegenseitigen Nutzen als auch zum Schaden oder neutral. So

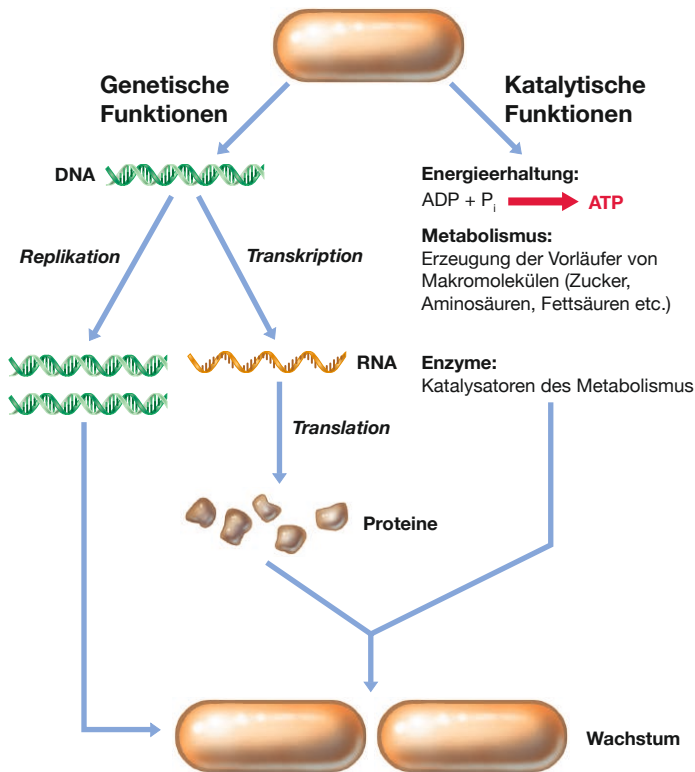


Abbildung 1.4: Die katalytischen und genetischen Funktionen der Zelle. Damit sich eine Zelle selbst vermehren kann, müssen Energie und Vorläufer der Synthese neuer Makromoleküle vorhanden sein. Ferner muss das genetische Material repliziert werden, damit jede Zelle nach der Zellteilung eine Kopie erhält, und Gene müssen exprimiert werden (transkribiert und translatiert), um Proteine und andere Makromoleküle zu bilden. Replikation, Transkription und Translation sind die molekularen Schlüsselprozesse in Zellen.

können zum Beispiel die Stoffwechselprodukte einer Gruppe von Organismen die Nährstoffe oder sogar ein Gift für andere Gruppen von Organismen sein. Habitate unterscheiden sich ganz erheblich voneinander. Ein Habitat, das das Wachstum eines Organismus begünstigt, kann für einen anderen Organismus tatsächlich schädlich sein. Alle lebenden Organismen werden mit den physikalischen und chemischen Gegebenheiten ihrer Lebensumgebung zusammenfassend als **Ökosystem** bezeichnet. Zu den größten mikrobiellen Ökosystemen gehören aquatische (Ozeane, Teiche, Seen, Ströme, Eis und heiße Quellen) und terrestrische (Böden, tiefere Erdschichten) sowie weitere Organismen, sowohl Pflanzen als auch Tiere.

Ein Ökosystem wird in hohem Maße durch mikrobielle Aktivitäten beeinflusst und in manchen Fällen sogar gesteuert. Mikroorganismen, die metabolische Prozesse durchführen, entnehmen dem Ökosystem Nährstoffe und verwenden sie zum Bau neuer Zellen. Gleichzeitig scheiden sie Abfallprodukte ihres Metabolismus in die Umwelt aus. Somit vergrößern und verkleinern sich Ökosysteme, je nachdem, welche Ressourcen zur Verfügung stehen und welche Bedingungen gegeben sind. Im Laufe der Zeit vollzieht sich im Ökosystem in Folge der metabolischen Aktivitäten ganz allmählich sowohl eine chemische als auch eine physikalische Veränderung. So ist zum Beispiel molekularer Sauerstoff (O_2) für einige Mikroorganismen lebenswichtig, für andere

aber giftig. Wenn aerobe (Sauerstoff verbrauchende) Mikroorganismen O_2 aus einem Habitat entfernen und es dadurch anoxisch machen (O_2 -frei), dann können die veränderten Bedingungen das Wachstum anaerober Mikroorganismen begünstigen, die zwar zuvor im Habitat vorhanden waren, aber nicht wachsen konnten. Mit anderen Worten, wenn sich die Ressourcen und Bedingungen in einem mikrobiellen Habitat verändern, ändert sich der Bestand an Zellpopulationen, wodurch das Habitat wiederum verändert wird.

Nachdem wir etwas über mikrobielle Struktur und Funktion, Genetik, Evolution und Vielfalt gelernt haben, werden wir in späteren Kapiteln darauf eingehen, auf welche Weise Mikroorganismen auf Tiere, Pflanzen und das gesamte globale Ökosystem wirken. Damit beschäftigt sich die Disziplin der **mikrobiellen Ökologie**, die heutzutage vielleicht die interessanteste Teildisziplin der Mikrobiologie ist.

1.1.4 Evolution und die Verbreitung mikrobiellen Lebens

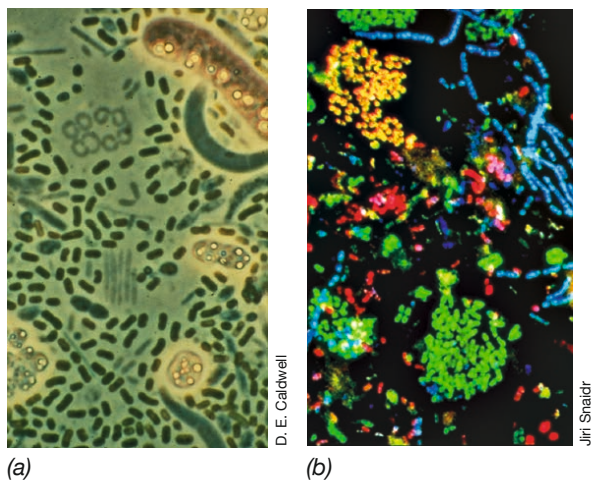
Mikroorganismen waren die ersten eigenständig existierenden Einheiten auf der Erde, die die Eigenschaften eines lebendigen Systems aufwiesen (Abbildung 1.3). Wir werden sehen, dass einer bestimmten Gruppe von Mikroorganismen, den so genannten *Cyanobakterien*,

eine Schlüsselfunktion in der biologischen Evolution zukommt, denn Sauerstoff (O_2) – ein Abfallprodukt ihres Metabolismus – bereitete den Planeten Erde für komplexere Lebensformen vor.

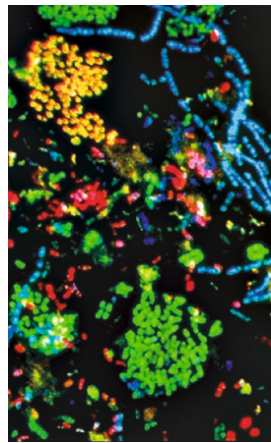
Die ersten Zellen und der Beginn der biologischen Evolution

Wie entstanden Zellen? Waren die Zellen, so wie wir sie heute kennen, die ersten sich selbst replizierenden Strukturen auf der Erde? Da alle Zellen ähnlich strukturiert sind, nimmt man an, dass alle Zellen von einer gemeinsamen Vorfahrenzelle abstammen, dem

ältesten universellen gemeinsamen Vorfahren (LUCA „last universal common ancestor“). Nachdem die ersten Zellen aus nicht lebendigem Material hervorgegangen waren, ein Vorgang, der Hunderte von Millionen Jahren dauerte, gingen aus dem dann erfolgten Wachstum Zellpopulationen hervor. Diese begannen mit anderen Populationen in mikrobiellen Gemeinschaften in Wechselwirkung zu treten. Die Evolution selektierte nach Verbesserung und Diversifizierung dieser frühen Zellen, was zu den hoch komplexen und unterschiedlichen Zellen führte, die wir heute antreffen. In den Kapiteln 10 bis 13 werden wir uns mit dieser Komplexität und Vielfalt beschäftigen. Im Kapitel 10 werden wir uns mit dem Thema auseinandersetzen, wie Leben aus nicht belebter Materie entstand.



(a)



(b)



(c)

Abbildung 1.5: Mikrobielle Gemeinschaften. (a) Aufnahme einer Bakteriengemeinschaft, die sich in den Tiefen eines kleinen Sees (Wintergreen Lake, Michigan) entwickelte, es werden Zellen phototropher grüner Bakterien und Purpurbakterien (große Zellen mit Schwefelglobuli) abgebildet. (b) Eine Bakteriengemeinschaft in einer Klärschlammprobe. Die Probe wurde mit verschiedenen Farbstoffen gefärbt, von denen jeder eine andere Bakteriengruppe anfärbte. Aus *Journal of Bacteriology* 178: 3496–3500, Abbildung 1.2 (©) 1996 American Society for Microbiology. (c) Purpurschwefelbakterien, wie in Teil a abgebildet (siehe auch Abbildung 1.7), die eine dichte Blüte in einem kleinen spanischen See bildeten.

Das Leben auf der Erde im Lauf von Milliarden von Jahren

Die Erde ist 4,6 Milliarden Jahre alt. Forschern liegen Beweise vor, dass Leben erstmals vor 3,8 bis 3,9 Milliarden Jahren auftrat und diese Organismen waren ausschließlich Mikroorganismen. Tatsächlich waren Mikroorganismen die längste Zeit der Erdgeschichte die einzige Lebensform auf der Erde (► Abbildung 1.6). Allmählich, über ganz lange Zeitabschnitte hinweg, traten komplexere Lebensformen auf. Welches waren auf diesem langen Weg die Höhepunkte der Evolution?

Während der ersten ungefähr zwei Milliarden Jahre war die Atmosphäre der Erde anoxisch. Es gab keinen O_2 , wohl aber Stickstoff (N_2), Kohlendioxid (CO_2) und einige wenige andere Gase. Nur Mikroorganismen mit anaerobem Metabolismus vermochten unter diesen Bedingungen zu überleben, wozu aber viele verschiedene Zelltypen zählten. Dazu gehörten Zellen, die Methan bilden, so genannte *Methanogene*. Die Evolution phototropher Mikroorganismen – Organismen, die ihre Energie aus dem Sonnenlicht ziehen – entstanden eine Milliarde Jahre nach der Entstehung der Erde. Die ersten Phototrophen waren recht einfache Organismen, wie zum Beispiel die Purpurbakterien und andere anoxygene (nicht Sauerstoff erzeugende) Phototrophe (► Abbildung 1.7, siehe auch Abbildung 1.5). Diese sind noch heute in anoxischen Habitaten weitverbreitet. Cyanobakterien (oxygene oder Sauerstoff erzeugende Phototrophe) (Abbildung 1.7) gingen fast eine Milliarde Jahre später aus anoxygenen Phototrophen hervor und leiteten den Prozess ein, in dessen Verlauf die Atmosphäre mit Sauerstoff angereichert wurde. Schließlich entwickelten sich in Folge des Anstiegs von O_2 in der Atmosphäre höhere Organismen, die an Komplexität zunahmten und in den Pflanzen und Tieren, die wir heute kennen, ihre Krönung fanden (Abbildung 1.6).

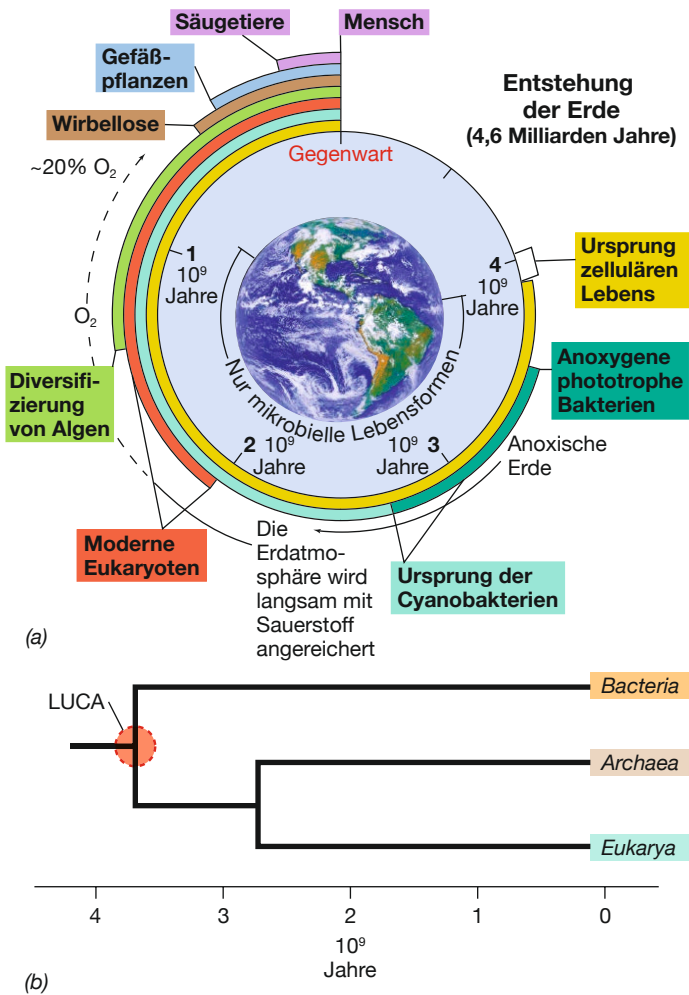


Abbildung 1.6: Zeitlicher Verlauf der Entwicklung des Lebens auf der Erde und Ursprung der verschiedenen Zelldomänen. (a) Vor ungefähr 3,8 Milliarden Jahren entstand zelluläres Leben auf der Erde. Mit den Cyanobakterien begann vor ungefähr 3 Milliarden Jahren (3×10^9) langsam die Sauerstoffanreicherung auf der Erde, aber die heutige O₂-Konzentration in der Atmosphäre wurde erst vor 500–800 Millionen Jahren erreicht. Eukaryotische Zellen haben einen Zellkern und gehören sowohl zu den mikrobiellen Organismen als auch zu den multizellulären Organismen. (Wirbellose haben eine Schale oder schalenähnliche Teile.) (b) Die drei Domänen der zellulären Organismen sind *Bacteria*, *Archaea* und *Eukarya*. Die beiden letztgenannten Abstammungslinien zweigten ab lange bevor mit Zellkern ausgestattete Zellen mit Organellen (sie werden in Teil a als „moderne Eukaryoten“ bezeichnet) in der Reihe der Fossilien auftraten. LUCA, der älteste gemeinsame Vorfahre. Beachten Sie, dass während 80 % der Erdgeschichte ausschließlich mikrobielle Organismen auf der Erde lebten.

Später werden wir uns mit der Evolutionsgeschichte auseinandersetzen, aber beachten Sie, dass die Ereignisse, die sich nach LUCA abspielten, zur Evolution der drei wichtigsten Entwicklungslinien mikrobieller Zellen führten, den *Bacteria*, den *Archaea* und den *Eukarya* (Abbildung 1.6). Mikrobielle *Eukarya* waren die Vorfahren der Pflanzen und Tiere.

Woher wissen wir, dass die Evolution sich so abspielte wie in Abbildung 1.6 dargestellt? Nun, die Antwort ist, dass wir niemals wissen werden, ob alle Einzelheiten unserer Darstellung richtig sind. Wissenschaftler können allerdings Übergänge in der Evolution durch *Biomarker* rekonstruieren. Das sind spezifische Moleküle, die für bestimmte Gruppen heutiger Mikroorganismen charakteristisch sind. Das Auftreten oder Fehlen eines bestimmten Biomarkers in Gesteinsformationen aus Urzeiten, deren Alter bekannt ist, gibt daher darüber Auskunft, ob die Gruppe zu jener Zeit bereits auf der Erde war.

Auf die eine oder andere Weise und über außerordentlich lange Zeitabschnitte (Abbildung 1.6), bevöl-

kerte die natürliche Selektion jedes geeignete Habitat auf der Erde mit einer oder mehreren Populationen von Mikroorganismen. Dies führt uns zu der Frage, wie heute das mikrobielle Leben auf der Erde verteilt ist. Was wissen wir über dieses wichtige Thema?

Die Verbreitung mikrobiellen Lebens

Wir sind von mikrobiellem Leben umgeben. Wenn wir natürliche Materie wie Böden oder Wasser untersuchen, so stoßen wir unweigerlich auf mikrobielle Zellen, aber auch in kochend heißen Quellen und Gletschereis wimmelt es nur so von Mikroorganismen. Obwohl sie auf der Erde weitverbreitet sind, scheinen diese winzigen Zellen unbedeutend zu sein. Was wäre, wenn wir sie alle zählen könnten? Wie groß wäre wohl ihre Zahl?

Schätzungen der Gesamtzahl mikrobieller Zellen auf der Erde zeigen, dass diese Zahl im Bereich von $2,5 \times 10^{30}$ Zellen liegt. Die Gesamtzahl des Kohlenstoffs, der in dieser sehr großen Anzahl sehr kleiner Zellen

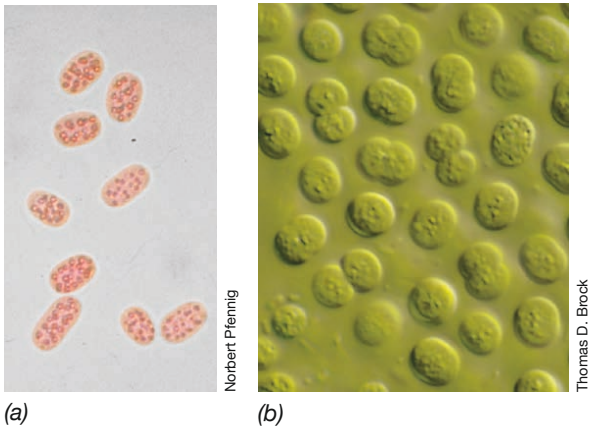


Abbildung 1.7: Phototrophe Mikroorganismen.

(a) Ein Purpurschwefelbakterium (anoxygene Phototrophe). (b) Cyanobakterien (oxygene Phototrophe). Purpurbakterien traten auf der Erde auf lange bevor sich oxygene Phototrophe entwickelten (siehe Abbildung 1.6a).

vorkommt, entspricht der aller Pflanzen auf der Erde (und pflanzlicher Kohlenstoff übertrifft bei weitem tierischen Kohlenstoff). Außerdem beträgt der Stickstoff- und Phosphorgehalt aller mikrobiellen Zellen das Zehnfache des Gehalts der gesamten pflanzlichen Biomasse.

So klein mikrobielle Zellen auch sein mögen, so stellen sie doch den Hauptanteil der Biomasse der Erde und sind das bedeutendste Reservoir lebenswichtiger Nährstoffe. Die meisten mikrobiellen Zellen werden in nur ganz wenigen, großen Habitaten gefunden. Die meisten mikrobiellen Zellen leben nicht auf der *Oberfläche* der Erde, sondern unterhalb der Erdoberfläche, unter dem Meeresboden der Ozeane und im *Erdinneren* (► Tabelle 1.1). Als Habitat mikrobiellen Lebens kommt eine Tiefe von bis zu 10 km unter der Erdoberfläche

in Frage. Später werden wir erfahren, dass mikrobielle Habitats im *Erdinneren* verschiedene Populationen mikrobiellen Lebens hervorbringen, die auf ungewöhnliche Weise leben und außerordentlich langsam wachsen. Verglichen mit dem *Erdinneren* enthalten Böden und Wasser einen relativen geringen Prozentsatz des gesamten mikrobiellen Lebens. Tierische Populationen (dazu gehört auch der Mensch), die stark von Mikroorganismen kolonisiert sein können (siehe Abbildung 1.10), beherbergen nur einen winzigen Bruchteil der Gesamtzahl mikrobieller Zellen auf der Erde (Tabelle 1.1).

Die meisten Erkenntnisse, die wir über mikrobielles Leben bisher gewonnen haben, verdanken wir der Untersuchung von Organismen, die auf der Erdoberfläche leben, so dass es ganz offensichtlich für künftige Generationen von Mikrobiologen noch viel über die Lebensformen, die die Biologie der Erde dominieren, zu entdecken und aufzuklären gibt. Bedenken wir weiterhin, dass bereits die Organismen, die auf der Erdoberfläche leben, eine außerordentliche Vielfalt aufweisen, dann wird die Jagd auf neue Mikroorganismen in den bislang unerforschten Habitats der Erde so manche große Überraschung bringen.

1.1.5 Der Einfluss der Mikroorganismen auf den Menschen

Im Laufe der Jahre waren die Mikrobiologen außerordentlich erfolgreich. Sie erkannten, wie Mikroorganismen arbeiten, und dank ihrer Erkenntnisse steigerten sie den Nutzen der Mikroorganismen und verringerten deren schädliche Wirkungen. Dabei hat die Mikrobiologie bei den Fortschritten eine entscheidende Rolle gespielt, die für die Gesundheit und das Wohlerge-

Tabelle 1.1: Verteilung der Mikroorganismen in und auf der Erde^a

Habitat	Gesamtzahl in Prozent ^a
Schichten unter dem Meeresboden	66
Tiefere Erdschichten	26
Erdoberfläche	4,8
Ozeane	2,2
Alle weiteren Habitats ^b	1,0

^aDie Daten wurden von William Whitman zusammengestellt, Universität von Georgia, USA. Sie beziehen sich auf die Gesamtzahl von *Bakterien* und *Archaea* (schätzungsweise $2,5 \times 10^{30}$ Zellen). Diese gewaltige Anzahl von Zellen enthält zusammen ungefähr 5×10^{17} Gramm Kohlenstoff.

^bEnthält nach abnehmender Anzahl geordnet: Süß- und Salzwasserseen, domestizierte Tiere, Meereslebewesen, Termiten, Menschen und domestizierte Vögel.

hen des Menschen erreicht wurden. Abgesehen davon, dass man erkannt hat, dass Mikroorganismen Krankheiten verursachen, verdanken wir der Mikrobiologie große Fortschritte bei der Lebensmittelherstellung und der Landwirtschaft. Wir können heutzutage mikrobielle Aktivitäten für den Menschen nutzbar machen, mit Hilfe von Mikroorganismen Energie erzeugen und die Umwelt von Verschmutzungen reinigen.

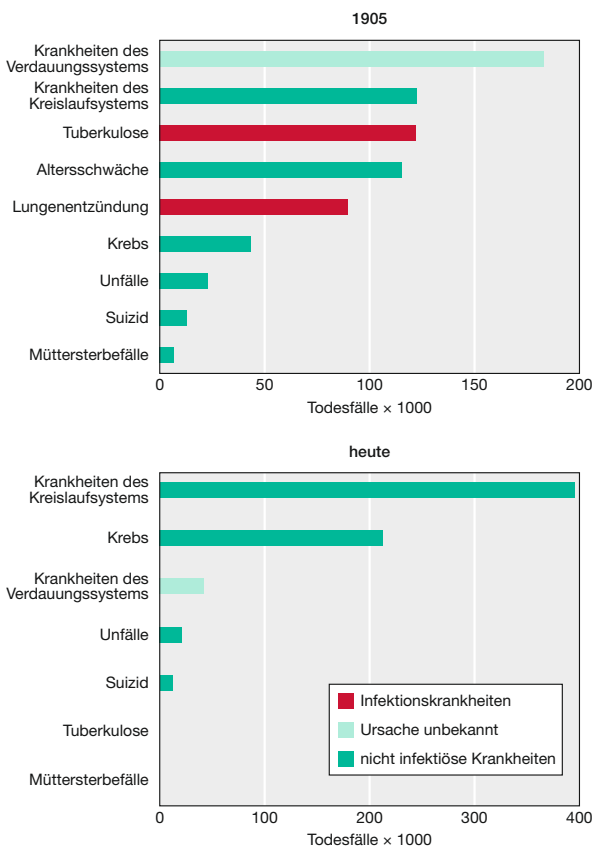
Mikroorganismen als Krankheitserreger

Die in ► Abbildung 1.8 zusammengefasste Statistik zeigt den Erfolg, den die Mikrobiologen seit Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts bei der Bekämpfung von Infektionskrankheiten verzeichnen konnten. Die Daten ermöglichen einen Vergleich der wichtigsten heutigen Todesursachen in Deutschland mit denen vor 100 Jahren. Zu Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts waren Infektionskrankheiten, die von Mikroorganismen verursacht wurden, die man als **Pathogene** bezeichnet, die Haupttodesursachen. Kinder und vor allem ältere Menschen fielen den mikrobiellen Krankheiten in großer Zahl zum Opfer. Heutzutage sind Infektionskrankheiten, was die Todesrate zumindest in den Industrieländern betrifft, von viel geringerer Bedeutung. Die Kon-

trolle der Infektionskrankheiten ist das Ergebnis eines immer umfassenderen Verständnisses von Krankheitsverläufen, verbesserter Hygiene, öffentlicher Gesundheitsvorsorge sowie der Anwendung antimikrobieller Agentien, wie zum Beispiel Antibiotika. Wie wir in den nächsten Abschnitten sehen werden, geht die Mikrobiologie als Wissenschaft auf die Untersuchung der Ursache von Infektionskrankheiten zurück.

Obwohl man heute viele Infektionskrankheiten behandeln kann, können Mikroorganismen immer noch eine große Bedrohung darstellen, besonders in Entwicklungsländern. Nach wie vor sind in Entwicklungsländern mikrobielle Krankheiten eine der Haupttodesursachen und Millionen von Menschen sterben weiterhin an mikrobiellen Krankheiten wie Malaria, Tuberkulose, Cholera, der Afrikanischen Schlafkrankheit, Masern, Lungenentzündung und anderen Atemwegs- und schweren Durchfallerkrankungen. Außerdem sind die Menschen auf der ganzen Welt von plötzlich auftretenden Krankheiten bedroht, wie der Vogelgrippe oder der Schweinepest oder dem Ebola-Fieber, wobei es sich in erster Linie um Erkrankungen von Tieren handelt, die unter bestimmten Bedingungen auf den Menschen übertragen werden können und sich schnell innerhalb einer Population ausbreiten. Aber das ist längst noch nicht alles. Denken Sie an die Bedrohung, die von Terroristen ausgeht, die Mikroorganismen verbreiten! Ganz ohne Zweifel steht fest, dass Mikroorganismen auch weiterhin für alle Menschen überall auf der Welt eine Bedrohung darstellen werden.

Obwohl wir immer die Bedrohung vor Augen haben müssen, die von pathogenen Mikroorganismen ausgeht, so sind doch die meisten Mikroorganismen für den Menschen nicht schädlich. Vielmehr fügen die meisten Mikroorganismen dem Menschen keinen Schaden zu, sondern nutzen ihm. In vielen Fällen sind sie sogar von immensen Wert für das Wohlergehen des Menschen und die Prozesse auf unserem Planeten. Jetzt werden wir unsere Aufmerksamkeit auf diese Mikroorganismen richten.



Mikroorganismen, der Verdauungsvorgang und die Landwirtschaft

Das landwirtschaftliche System beruht auf der Wiederverwertung von Nährstoffen durch Mikroorganismen. Ein Beispiel: Eine ganze Reihe der wichtigsten Feld-

Abbildung 1.8: Todesraten bei den zehn wichtigsten Todesursachen in Deutschland 1905 und 2002. Infektionskrankheiten waren im Jahr 1905 die Haupttodesursache, während sie heutzutage für relativ wenige Todesfälle verantwortlich sind. Die Daten wurden vom statistischen Bundesamt zur Verfügung gestellt.

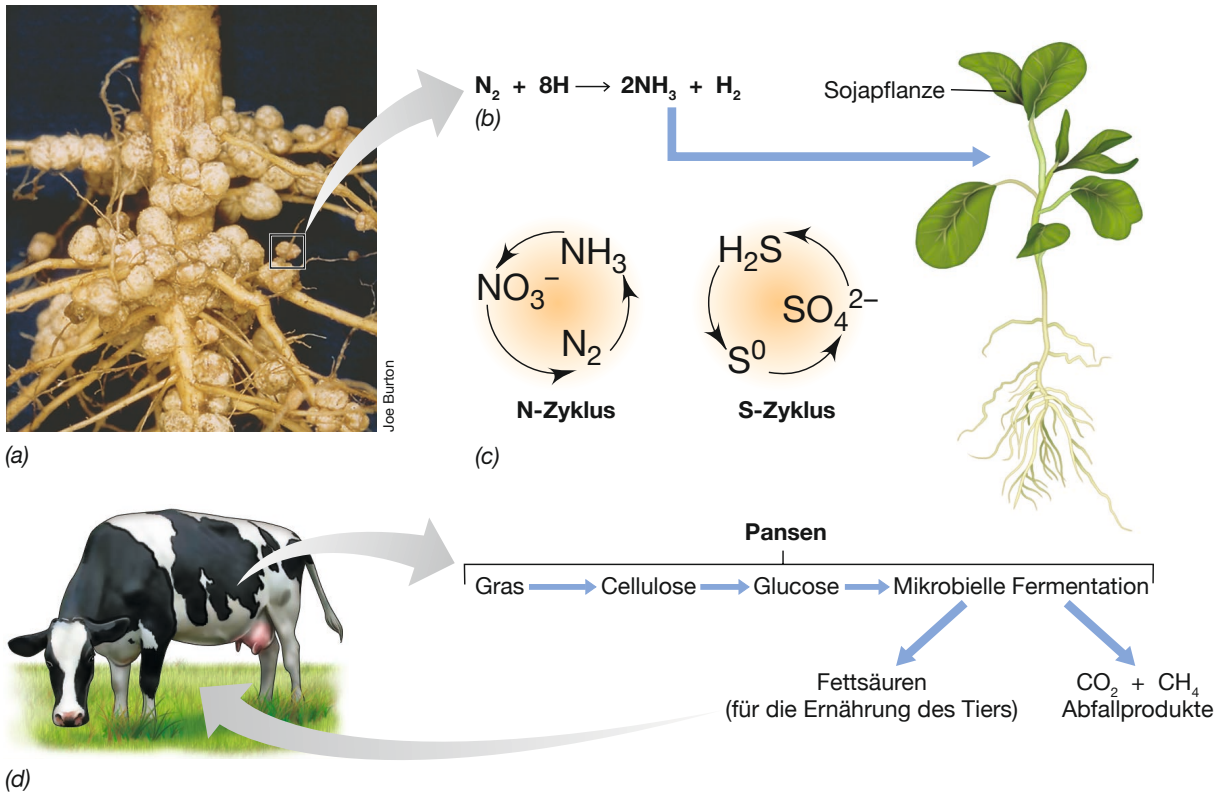


Abbildung 1.9: Mikroorganismen in der modernen Landwirtschaft. (a,b) Die Wurzelknöllchen dieser Sojabohnenpflanze enthalten Bakterien, die molekularen Stickstoff (N_2) für das Wachstum der Pflanze speichern. (c) Der Stickstoff- und der Schwefelkreislauf, wichtige Nährstoffkreisläufe in der Natur. (d) Wiederkäuer. Mikroorganismen im Pansen der Kuh wandeln Cellulose aus dem Gras in Fettsäuren um, die das Tier dann verwerten kann.

früchte zählt zu den Leguminosen. Sie leben in enger Verbindung mit Bakterien, die an ihren Wurzeln Strukturen bilden, die man als *Wurzelknöllchen* bezeichnet. In den Wurzelknöllchen wandeln diese Bakterien Stickstoff der Atmosphäre (N_2) in fixierten Stickstoff (NH_3) um, den die Pflanzen als Stickstoffquelle für ihr Wachstum brauchen (► Abbildung 1.9). Dank der Aktivitäten dieser stickstofffixierenden Bakterien brauchen die Leguminosen keinen teuren und umweltschädlichen Dünger. Andere Bakterien verwerten Schwefelbestandteile, oxidieren giftige Schwefelverbindungen wie Schwefelwasserstoff (H_2S) zu Sulfat (SO_4^{2-}), einem wichtigen Pflanzennährstoff (Abbildung 1.9).

Von großer landwirtschaftlicher Bedeutung sind außerdem die Mikroorganismen, die in Wiederkäuern leben wie in Rindern und Schafen. Diese wichtigen landwirtschaftlichen Nutztiere besitzen ein besonderes Verdauungssystem, den *Pansen*, in dem große Populationen von Mikroorganismen Cellulose, den Hauptbestandteil der Zellwände der Pflanzenzelle, bei neutralem pH-Wert (Abbildung 1.9) verdauen und fermentieren. Ohne diese symbiontischen Mikroorganismen könnten Rinder und Schafe nicht von zellu-

losereichen (aber ansonsten nährstoffarmen) Substanzen wie Gras und Heu leben. Viele domestizierte und wilde Pflanzen fressende Säugetiere – darunter Hirsche, Bisons, Kamele, Giraffen und Ziegen – sind auch Wiederkäuer.

Das Verdauungssystem der Wiederkäuer unterscheidet sich erheblich von dem des Menschen und der meisten anderen Tiere. Beim Menschen gelangt die Nahrung in einen sehr sauren Magen, in dem die meisten Verdauungsvorgänge eher chemischer als mikrobieller Natur sind. Im menschlichen Verdauungssystem treten die großen mikrobiellen Populationen nur im Dickdarm auf, einem Teil des Darms, der sich an den Magen und den Dünndarm anschließt und in dem eine zu geringe Zahl von Bakterien lebt, die Cellulose abbauen können. Allerdings können andere Teile des menschlichen Körpers dicht mit Mikroorganismen bevölkert sein. Wie im Dickdarm befinden sich auch auf der Haut und in der Mundhöhle (► Abbildung 1.10) große Mengen mikrobieller Flora, von denen die meisten dem Wirt Nutzen bringen oder ihm zumindest keinen Schaden zufügen.

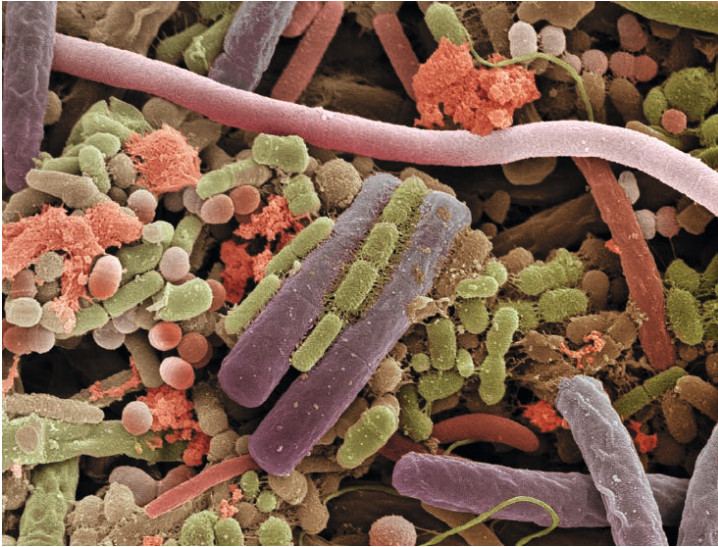


Abbildung 1.10: Bakterielle Gemeinschaft in der menschlichen Mundhöhle. Die Mundhöhle warmblütiger Tiere enthält eine große Anzahl verschiedener Bakterien, wie man auf dieser elektronenmikroskopischen Aufnahme (eingefärbt) von Zellen, die man von einer menschlichen Zunge abschabte, sieht.

Allerdings können Mikroorganismen den Pflanzen und Tieren nicht nur von Nutzen sein, sondern auch schädliche Wirkung ausüben. Durch Mikroorganismen verursachte Krankheiten bei Pflanzen und Tieren, die für die Herstellung von Nahrung für Menschen genutzt werden, haben jedes Jahr erhebliche wirtschaftliche Verluste in der Agrarindustrie zur Folge. In einigen Fällen kann ein Lebensmittelprodukt ernsthafte Erkrankungen beim Menschen zur Folge haben, so zum Beispiel wenn pathogene *Escherichia coli* oder *Salmonella* durch infiziertes Fleisch übertragen werden oder wenn mikrobielle Pathogene mit frischem Obst oder Gemüse aufgenommen werden. Somit haben Mikroorganismen einen bedeutenden Einfluss auf die Agrarindustrie, sowohl in positiver als auch in negativer Hinsicht.

Mikroorganismen, Lebensmittel, Energie und die Umwelt

Mikroorganismen sind in der Lebensmittelindustrie von großer Bedeutung, auch was den Umgang mit verdorbenen Lebensmitteln, Lebensmittelsicherheit und Lebensmittelherstellung betrifft. Sobald Pflanzen und Tiere für den menschlichen Verzehr verarbeitet werden, müssen die Produkte in einer der Gesundheit zuträglichen Form an den Verbraucher geliefert werden. Jedes Jahr gehen der Wirtschaft durch verdorbene Lebensmittel enorme Geldsummen verloren. Bei der Gründung der Konserven-, Tiefkühl- und Trockennahrungsindustrie verfolgte man das Ziel, Lebensmittel zu konservieren, die sonst leicht durch die Aktivität von Mikroorganismen verdorben werden könnten. Die

Lebensmittelsicherheit verlangt eine ständige Überwachung der Lebensmittelprodukte, um sicherzustellen, dass die Produkte von pathogenen Mikroorganismen frei sind. Auftretende Erkrankungen sollen zurück verfolgt werden, damit die Ursachen der Erkrankungen ausgemacht werden.

Allerdings sind nicht alle Mikroorganismen in Lebensmitteln schädlich für die Nahrungsmittelprodukte oder deren Konsumenten. Zu den Milchprodukten, die von mikrobieller Aktivität abhängen, dazu zählt auch die Fermentation, gehören Käse, Joghurt und Buttermilch. Sauerkraut, Mixed Pickles und auch einige Wurstwaren danken ihre Existenz mikrobieller Fermentation. Außerdem beruht die Herstellung von Backwaren und alkoholischen Getränken auf den Fermentationsaktivitäten der Hefe, die Kohlendioxid (CO_2) erzeugt, das den Teig aufgehen lässt, und Alkohol als wichtigen Inhaltsstoff. Viele dieser Fermentationsvorgänge werden in Kapitel 3 dieses Buches behandelt.

Einige Mikroorganismen bilden *Biokraftstoffe*. Erdgas (Methan) ist ein Produkt anaeroben Abbaus organischer Substanzen durch den Metabolismus methanogener Mikroorganismen (► Abbildung 1.11). Ethylalkohol (Ethanol), ein Produkt mikrobieller Fermentation von Glucose, der aus Nutzpflanzen wie Zuckerrohr und Maisstärke gewonnen wird, ist in einigen Ländern ein wichtiger Treibstoff (Abbildung 1.11). Abfälle wie zum Beispiel Hausmüll, der Dung der Nutztiere und Cellulose können auch durch mikrobielle Aktivität in Biokraftstoff umgewandelt werden und sind dabei für die Herstellung von Ethanol wesentlich effektiver als Mais. Auch aus der



(a)

John A. Breznak



(b)

Abbildung 1.11: Biokraftstoffe. (a) Methan wird in einem Trichter aus Sumpfsedimenten gewonnen, wo es von Methanogenen gebildet wurde und dann zur Vorführung in einem Experiment angezündet wurde. (b) Eine Ethanolanlage in den USA. Aus Mais oder anderen Nutzpflanzen gewonnener Zucker wird zu Ethanol fermentiert und als Zusatzstoff für Benzin verwendet.

Nutzpflanze Sojabohne wird Biokraftstoff gewonnen, denn aus Sojabohnen kann man Biodiesel für Dieselmotoren gewinnen. Da die weltweite Erdölgewinnung abnimmt, ist es sehr wahrscheinlich, dass Biokraftstoffe künftig bei der Bereitstellung von Energiequellen eine immer größere Rolle spielen werden.

Mikroorganismen können auch helfen, durch Menschen verursachte Umweltschäden zu bereinigen. Dieses Verfahren nennt man *biologische Sanierung*. In der *industriellen Mikrobiologie* und der *Biotechnologie* werden wertvolle Wirtschaftsgüter hergestellt. Mikroorganismen können eingesetzt werden, um ausgelaufenes Öl, Lösungsmittel, Pestizide und andere Umweltgifte zu beseitigen. Die biologische Sanierung beschleunigt durch zwei Methoden die Beseitigung schädlicher Stoffe: (1) entweder werden der mit Umweltschäden belasteten Umgebung spezifische Mikroorganismen zugesetzt oder (2) der Umgebung werden Nährstoffe zugefügt, die das Wachstum bereits vorhandener Mikroorganismen fördern und so zum Abbau der Umweltgifte beitragen. Das Ziel ist in beiden Fällen, den Abbau des Umweltgiftes zu beschleunigen.

In der industriellen Mikrobiologie werden Mikroorganismen in großem Maßstab gezüchtet, um Produkte von relativ geringem wirtschaftlichem Wert herzustellen, dazu zählen Antibiotika, Enzyme und verschiedene Chemikalien. Im Gegensatz dazu verwendet man in der Biotechnologie *genetisch veränderte* Mikroorganismen, um Produkte von hohem wirtschaftlichem

Wert herzustellen, zum Beispiel menschliche Proteine.

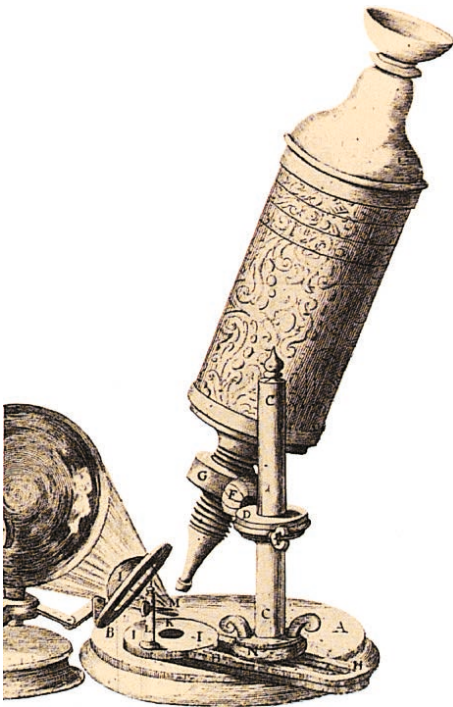
Die Entdeckung der Mikrobiologie

1.2

Die Zukunft jeder Wissenschaft baut auf Verdiensten der Vergangenheit auf. Obwohl die Mikrobiologie auf sehr frühen historischen Wurzeln beruht, so hat sich die Mikrobiologie als systematische Forschungsrichtung erst im 19. Jahrhundert entwickelt. Seither hat sich die Mikrobiologie schneller entwickelt als jede andere Disziplin der Biologie und sich in mehrere neue, verwandte Gebiete verzweigt. Im Folgenden werden wir die während dieser Entwicklung beschrittenen Wege nachvollziehen und einige besondere Leistungen darstellen.

1.2.1 Die historischen Wurzeln der Mikrobiologie: Hooke, van Leeuwenhoek und Cohn

Obwohl man schon lange vermutete, dass es Wesen gab, die zu klein waren, als dass man sie mit dem bloßen Auge sehen könnte, war ihre Entdeckung doch erst mit der Erfindung des Mikroskops möglich. Robert Hooke



(a)



(b)

Abbildung 1.12: Robert Hooke und die frühe Mikroskopie.

(a) Zeichnung des von Robert Hooke 1664 benutzten Mikroskops. Die Linse war am Ende eines verstellbaren Balgs (G) befestigt, wobei die Beleuchtung durch eine einzige Linse auf das Objekt gerichtet wurde (1). (b) Diese Zeichnung eines Schimmelpilzes, der auf einer Lederoberfläche wuchs, sowie weitere Zeichnungen und der Begleittext, die Robert Hooke 1665 in *Micrographia* veröffentlichte, waren die ersten Beschreibungen von Mikroorganismen. Die runden Strukturen enthalten Sporen des Schimmelpilzes. Vergleichen Sie Hookes Mikroskop mit dem von van Leeuwenhoek in der Abbildung 1.13.

(1635–1703), ein englischer Mathematiker und Naturgeschichtler, war auch ein hervorragender Mikroskopiker. In seinem berühmten Buch *Micrographia* (1665), dem ersten Buch, das sich mit mikroskopischen Beobachtungen beschäftigte, beschrieb Hooke neben vielen anderen Phänomenen die Fruchtkörper von Schimmelpilzen (► Abbildung 1.12). Damit war er der erste Mensch, der jemals Mikroorganismen beschrieb. Der erste Mensch, der je Bakterien mit seinen eigenen Augen sah, war ein holländischer Leinenkaufmann und Amateurwissenschaftler, der Mikroskope baute: Antoni van Leeuwenhoek (1632–1723). Van Leeuwenhoek, der das Werk von Hooke sehr gut kannte, verwendete im Jahr 1684 sehr einfache, selbst gebaute Mikroskope (► Abbildung 1.13), mit denen er natürliche Substanzen auf ihren mikrobiellen Inhalt untersuchte.

Nach heutigem Standard würde man van Leeuwenhoeks Mikroskope als primitiv bezeichnen, aber durch sorgfältige Handhabung und Fokussierung war er in der Lage, Organismen zu erkennen, Bakterien, die erheblich kleiner waren als Pilze. Bei der Untersuchung von Ausgüssen von Pfefferpflanzen entdeckte er im Jahr 1676 die Bakterien. Er berichtete der angesehenen Royal Society of London in einer Reihe von Briefen von seinen Beobachtungen, die diese 1684 in englischer Übersetzung veröffentlichten. Abbildung 1.13b zeigt einige Zeichnungen, die van Leeuwenhoek von den, wie er sie nannte, „wee animalcules“ anfertigte. Die Abbildung 1.13c zeigt ein Foto, aufgenommen durch ein Mikroskop von van Leeuwenhoek.

Im Laufe der Jahre wurden van Leeuwenhoeks Beobachtungen von vielen anderen Forschern bestätigt. Allerdings machte man in den folgenden 150 Jahren nur langsame Fortschritte, was das Verständnis der Natur und die Bedeutung dieser winzigen Organismen betraf. Erst im 19. Jahrhundert standen in den Laboratorien verbesserte Mikroskope und einfache Hilfsmittel zur Anzucht von Mikroorganismen zur Verfügung. Mit Hilfe dieser Geräte wurden die Vielfalt und die Natur mikrobieller Lebensformen offensichtlich.

Von der Mitte bis zum Ende des 19. Jahrhunderts wurden in der Wissenschaft der Mikrobiologie bedeutende Fortschritte erzielt, denen wir zwei Hauptfragestellungen zu verdanken haben, die damals die Biologie und die Medizin stark beschäftigten: (1) Gibt es eine Spontanzeugung und (2) was sind Infektionskrankheiten? Zwei herausragende Forscher der noch in den Kinderschuhen steckenden Wissenschaft der Mikrobiologie beantworteten diese grundlegenden Fragen: der französische Chemiker Louis Pasteur und der deutsche Arzt Robert Koch. Doch bevor wir uns mit ihrem Werk beschäftigen, wollen wir kurz auf die bahnbrechenden Leistungen des deutschen Botanikers Ferdinand Cohn eingehen, eines Zeitgenossen von Pasteur und Koch

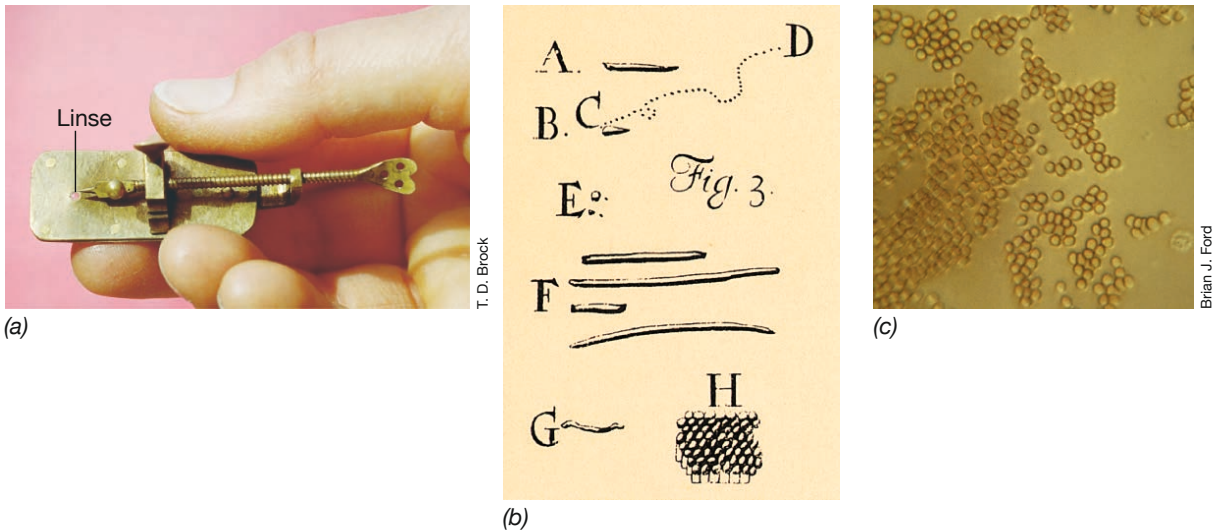


Abbildung 1.13: Das Mikroskop von van Leeuwenhoek. (a) Nachbau des Mikroskops von Antoni van Leeuwenhoek. (b) Van Leeuwenhoeks Zeichnungen von Bakterien, die 1684 veröffentlicht wurden. Selbst aus diesen einfachen Zeichnungen können wir mehrere Formen weitverbreiteter Bakterien erkennen: A, C, F und G, Stäbchen; E, Kokken; H, Kokkenpakete. (c) Aufnahme eines menschlichen Blutabstrichs mit dem Fotomikroskop, aufgenommen durch ein Mikroskop von van Leeuwenhoek. Rote Blutkörperchen sind deutlich zu erkennen.

und dem Begründer eines Fachgebiets, das wir heute *Bakteriologie* nennen.

Ferdinand Cohn (1828–1898) wurde in Breslau geboren (jetzt in Polen). Er war ein studierter Botaniker und ausgezeichneter Mikroskopiker. Sein Interesse für die Mikroskopie führte ihn zum Studium einzelliger Algen und später zu den Bakterien, darunter war das große Schwefelbakterium *Beggiatoa* (► Abbildung 1.14). Cohns Interesse galt besonders den hitzeresistenten Bakterien, wodurch er entdeckte, dass einige Bakterien Endosporen bilden. Heute wissen wir, dass bakterielle Endosporen durch Differenzierung aus einer (vegetativen) Mutterzelle hervorgehen (Abbildung 1.3) und dass Endosporen extrem hitzeresistent sind. Cohn beschrieb den gesamten Lebenszyklus des Endosporenbildenden Bakteriums *Bacillus* (vegetative Zelle – Endospore – vegetative Zelle) und wies nach, dass vegetative Zellen durch Kochen abgetötet werden können, Endosporen jedoch nicht.

Cohn verdanken wir noch viele andere Forschungsleistungen. Er legte den Grundstein für ein System zur Klassifizierung von Bakterien. Dazu gehört auch ein früher Versuch, eine Bakterienspezies zu definieren, ein Unterfangen, das bis heute nicht gelungen ist. Er gründete außerdem eine bedeutende wissenschaftliche Zeitschrift für Pflanzen- und Mikrobiologie. Cohn war ein energischer Fürsprecher der Techniken und der Forschungsarbeit des ersten medizinischen Mikrobiologen, Robert Koch. Cohn werden einfache, aber effektive Methoden zugeschrieben, die die Verunreinigung steriler Kulturen verhindern, wie etwa die Verwen-

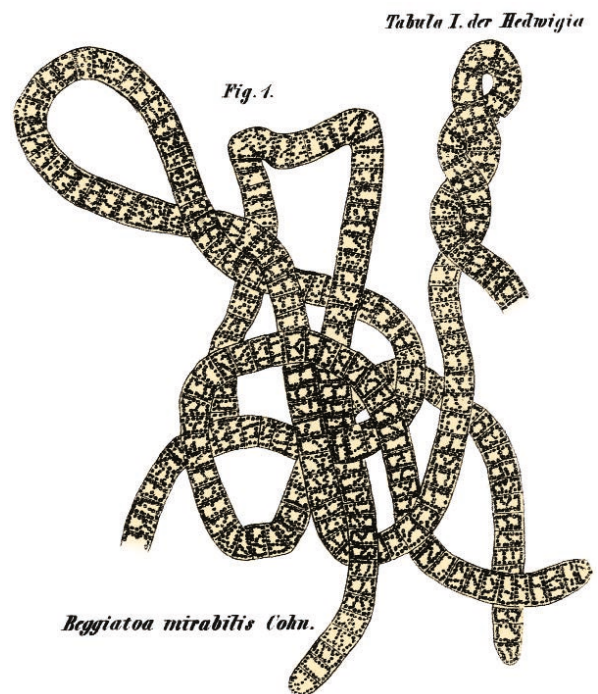


Abbildung 1.14: Zeichnung des langen filamentösen schwefeloxidierenden Bakteriums *Beggiatoa mirabilis* von Ferdinand Cohn. Die kleinen Globuli innerhalb der Zellen bestehen aus elementarem Schwefel, der durch die Oxidation von Schwefelwasserstoff (H_2S) entsteht. Cohn hatte als Erster 1866 erkannt, dass die Globuli aus Schwefel bestehen. Eine Zelle von *B. mirabilis* hat einen Durchmesser von $15\ \mu m$. Vergleichen Sie mit Abbildung 1.17. *Beggiatoa* bewegt sich durch einen Gleitmechanismus auf einer festen Oberfläche, wobei sich die Zellen oft umeinander wickeln.

dung von Baumwolle, um Glaskolben und Röhren zu verschließen. Robert Koch griff diese Methoden später auf und vermochte dadurch bei der Isolierung und Beschreibung mehrerer krankheitserregender Bakterien schnelle Fortschritte zu erzielen (siehe Abschnitt 1.2.3).

1.2.2 Pasteur und der Niedergang der Theorie der Spontanzeugung

Das späte 19. Jahrhundert war die Blütezeit der Wissenschaft der Mikrobiologie. Die Theorie der Spontanzeugung wurde durch die brillanten Forschungsergebnisse des Franzosen Louis Pasteur (1822–1895) widerlegt.

Optische Isomere und Fermentationen

Pasteur war ein ausgebildeter Chemiker und einer der Ersten, der die Bedeutung von *optischen Isomeren* erkannte. Ein Molekül ist optisch aktiv, wenn eine reine Lösung oder ein Kristall das Licht in nur eine Richtung lenken. Pasteur untersuchte Weinsäurekristalle, die er mit der Hand in Kristalle aufteilte, die einen Strahl polarisierten Lichts nach links bzw. nach rechts lenkten. Pasteur fand heraus, dass der Pilz *Aspergillus* D-Weinsäure metabolisierte, die das Licht nach links lenkte, den optischen Isomer L-Weinsäure aber nicht metabolisierte. Die Tatsache, dass ein lebender Organismus zwischen optischen Isomeren zu unterscheiden vermochte, war für Pasteur von großer Bedeutung, so dass er damit begann, lebende Organismen fortan als asymmetrische Einheiten anzusehen.

Pasteur übertrug seine Auffassung von der Asymmetrie des Lebens auf seine Arbeiten zur Fermentation und schließlich zur Untersuchung der Spontanzeugung. Anlässlich der Einladung eines ortsansässigen Industriellen, der Probleme mit der Alkoholgewinnung aus fermentierten Rüben hatte, untersuchte Pasteur den Prozess der Alkoholfermentation, die man zu jener Zeit für einen rein chemischen Vorgang hielt. Man nahm an, dass die Hefezellen in der fermentierenden Flüssigkeit durch die Fermentation als komplexe chemische Substanz gebildet wurden. Obwohl Ethylalkohol keine optischen Isomere bildet, ist Amylalkohol eines der Nebenprodukte der Rübenfermentation und kam nur in einer optisch aktiven Form vor. Pasteur untersuchte die fermentierende Flüssigkeit und fand heraus, dass der Amylalkohol aus nur einem optischen Isomer besteht. Ausgehend von seiner Arbeit über den Metabolismus der Weinsäure bedeutete dies für Pasteur, dass es sich bei der Rübenfermentation um einen biologischen Vorgang handelte. Durch Untersuchungen unter dem Mikroskop und weitere einfache, aber folgerich-

tige Experimente gelangte Pasteur zu der Überzeugung, dass der Prozess der Alkoholfermentation von lebenden Organismen, den Hefezellen, katalysiert wurde. Mit den Worten Pasteurs: „... der Vorgang der Fermentation ist eng verknüpft mit dem Leben und der strukturellen Geschlossenheit von Zellen und nicht mit deren Tod und Zerfall.“ Auf der Grundlage dieser Erkenntnis unternahm Pasteur eine Reihe klassischer Experimente zur Spontanzeugung. Diese Experimente werden für immer mit seinem Namen und der Wissenschaft der Mikrobiologie verbunden bleiben.

Spontanzeugung

Die Theorie der **Spontanzeugung** war so alt wie die Bibel. Die Grundidee der Spontanzeugung ist leicht zu verstehen. Wenn man zum Beispiel Lebensmittel längere Zeit aufbewahrt, dann verderben sie. Unter dem Mikroskop erkennt man, dass es in dem verdorbenen Lebensmittel nur so von Bakterien und vielleicht sogar von Maden und Würmern wimmelt. Woher kommen diese Organismen, die in dem frischen Lebensmittel nicht zu erkennen waren? Einige meinten, dass sie aus Samen und Keimen entstanden, die sich aus der Luft auf den Lebensmitteln absetzen, andere hingegen behaupteten, dass sie durch *Spontanzeugung* entstanden. War das die richtige Erklärung? Ein scharfer Verstand war nötig, um dieses kontrovers diskutierte Problem zu lösen, und damit war es genau die Art von Aufgabe, die das Interesse von Louis Pasteur erweckte.

Pasteur wurde ein mächtiger Gegner der Spontanzeugung. Pasteur folgerte aus seinen Entdeckungen über die Fermentation, dass die Mikroorganismen, die man auf den verdorbenen Lebensmitteln beobachtete, auch in der Luft vorkamen. Daraus schloss er, dass die Zersetzung auf die Aktivität von Mikroorganismen zurückzuführen war, die in der Luft vorkamen oder auf den Oberflächen der Behälter, in denen man die nun verdorbenen Lebensmittel aufbewahrt hatte. Pasteur dachte weiter. Wenn man Lebensmittel so behandelte, dass alle lebenden, verderblichen Organismen abgetötet würden, das heißt, die Lebensmittel würden **sterilisiert** und somit von weiterem Befall geschützt, dann würden sie nicht verderben.

Pasteur setzte Hitze ein, um die Kontamination zu verhindern. Das Töten der Bakterien und aller anderen Mikroorganismen auf oder in Substanzen ist ein Verfahren, das wir heute als *Sterilisation* bezeichnen. Die Befürworter der Spontanzeugung kritisierten derartige Experimente und behaupteten, dass für die Spontanzeugung „Frischlufte“ nötig sei. Im Jahr 1864 widerlegte Pasteur diesen Einwand auf einfache und brillante Weise, indem er einen Schwannenhalsglaskolben konstruierte, den man heute als *Pasteurkolben* bezeichnet

(► Abbildung 1.15). In solch einem Glaskolben konnte man Nährlösungen aufkochen und sterilisieren. Zwar konnte Luft in den abgekühlten Glaskolben eindringen, doch die Biegung in dem Hals hinderte bestimmte Substanzen, auch Mikroorganismen, daran, in die Nährlösung zu gelangen und diese zu kontaminieren.

Wenn man jedoch am Ende des Experiments kontaminierte Substanz mit der sterilen Flüssigkeit in Berührung kommen ließ, wimmelte es in der Flüssigkeit bald von Mikroorganismen. Dieses Experiment legte ein für alle Mal den Streit um die Theorie der Spontanzeugung bei, und von diesem Zeitpunkt an stand die Wissenschaft der Mikrobiologie auf festen Füßen. Es ist kein Zufall, dass Pasteurs Arbeit auch zur Entwicklung effektiver Sterilisationsmethoden führte, die später verfeinert und sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der angewandten Forschung übernommen wurden. Auch die Forschung im Bereich der Nahrungsmittelindustrie verdankt Pasteur viel, da seine Prinzipien heutzutage bei der Haltbarmachung von Milch durch Erwärmung und der Konservierung anderer Lebensmittel (Pasteurisierung) angewandt werden.

Weitere Leistungen von Louis Pasteur

Viele weitere Triumphe in der Mikrobiologie und Medizin säumen Pasteurs Lebensweg. Zu seinen größten Erfolgen in seiner wissenschaftlich sehr produktiven Schaffenszeit von 1880 bis 1890 zählt die Entwicklung von Impfstoffen gegen Milzbrand, Cholera und Tollwut. Der populärste Erfolg Pasteurs war sein Sieg über die Tollwut mit der ersten Impfung eines Menschen gegen Tollwut im Juli 1885. Geimpft wurde der französische Junge Joseph Meister, der von einem tollwütigen Hund gebissen worden war, und zu jener Zeit bedeutete der Biss eines tollwütigen Tieres den sicheren Tod. Schnell verbreitete sich die Kunde von der erfolgreichen Impfung des Joseph Meister und einer weiteren, die einem jungen Hirten, Jean Baptiste Jupille, das Leben rettete. Innerhalb eines Jahres reisten mehrere Tausende nach Paris, um dort mit Pasteurs Impfstoff gegen Tollwut geimpft zu werden.

Pasteur erlangte mit seiner Tollwutimpfung legendären Ruhm, was die französische Regierung zur Gründung des Pasteur-Instituts in Paris im Jahr 1888 veranlasste. Ursprünglich war das Pasteur-Institut als klinisches Zentrum zur Behandlung von Tollwut und anderen Infektionskrankheiten gedacht, doch heute ist das Pasteur-Institut eines der wichtigsten Zentren biomedizinischer Forschung, dessen Schwerpunkt auf der Entwicklung von Antisera und Impfstoffen liegt. Die bahnbrechenden Entdeckungen Pasteurs auf dem Gebiet der Human- und der Tiermedizin sind nicht allein an sich von größter Bedeutung, sondern trugen

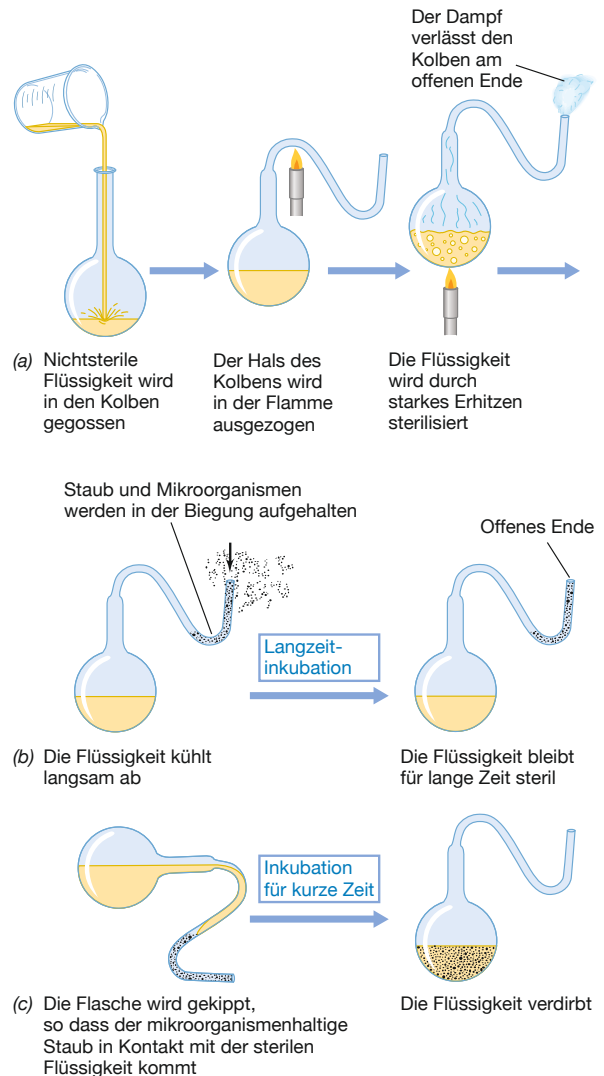


Abbildung 1.15: Der Niedergang der Theorie der Spontanzeugung: Pasteurs Experiment mit dem Schwanenhalskolben. In (c) verdirbt die Flüssigkeit, weil mit dem Staub Mikroorganismen in den Kolben gelangen.

dazu bei, die Keimtheorie der Krankheiten zu erhärten, deren Prinzipien zur gleichen Zeit von einem zweiten herausragenden Forscher dieser Ära entwickelt wurden, Robert Koch.

1.2.3 Koch, Infektionskrankheiten und die Reinkultur in der Mikrobiologie

Der Beweis, dass Mikroorganismen Krankheiten verursachen konnten, brachte den größten Anstoß für die Entwicklung der Mikrobiologie als eigenständigen

dige wissenschaftliche Disziplin der Biologie. Bereits im 16. Jahrhundert vermutete man, dass etwas, das eine Krankheit verursachte, von einem erkrankten Menschen auf einen gesunden übertragen werden konnte. Nach der Entdeckung der Mikroorganismen war man weithin der Auffassung, dass diese Organismen dafür verantwortlich waren, doch fehlte der endgültige Beweis. Entdeckungen auf dem Gebiet der Hygiene durch Ignaz Semmelweis und Joseph Lister lieferten indirekte Beweise für die Bedeutung der Mikroorganismen als Krankheitserreger, aber erst durch die Arbeit des deutschen Arztes Robert Koch (1843–1910) wurde die Theorie der Infektionskrankheit experimentell belegt.

Die Keimtheorie der Krankheiten und die Koch'schen Postulate

In seinen frühen Arbeiten untersuchte Koch den Milzbrand (Anthrax), eine Krankheit, die bei Rindern aber nur selten beim Menschen auftritt. Anthrax wird durch ein Endosporen bildendes Bakterium mit dem Namen *Bacillus anthracis* ausgelöst. Durch sorgfältiges Mikroskopieren und die Verwendung bestimmter Stämme fand Koch heraus, dass die Bakterien immer im Blut eines Tieres auftraten, das der Krankheit erlag. Koch überlegte, dass das bloße Auftreten des Bakteriums bei erkrankten Tieren nicht den Beweis für Ursache und Wirkung erbrachte. Er erkannte die Möglichkeit, Ursache und Wirkung experimentell mit Anthrax zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen begründeten das heutige Standardverfahren zur Untersuchung von Infektionskrankheiten.

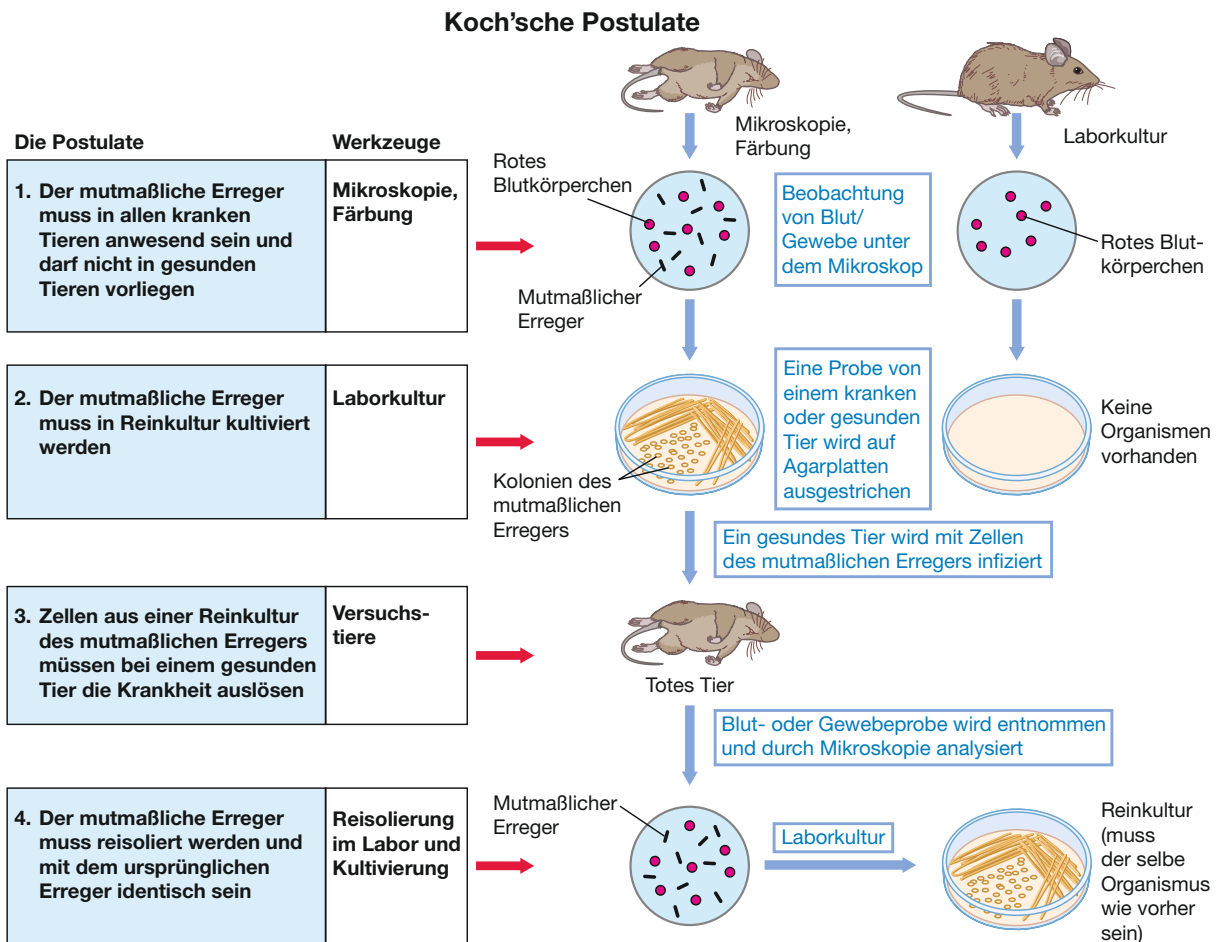


Abbildung 1.16: Die Koch'schen Postulate, mit denen er nachweist, dass ein spezifischer Mikroorganismus eine spezifische Infektionskrankheit verursacht. Beachten Sie, dass nach der Isolierung der Reinkultur des vermutlich pathogenen Bakteriums dieses sowohl die Krankheit verursachen muss und auch wieder aus dem erkrankten Tier isoliert werden muss. Es ist außerordentlich wichtig, für das Wachstum des pathogenen Organismus günstige Bedingungen herzustellen, ansonsten kann man es nicht isolieren.

Koch wählte Mäuse als Versuchstiere. Auf der Grundlage sorgfältiger Kontrollen bewies Koch, dass eine gesunde Maus, wenn man ihr eine geringe Menge Blut einer erkrankten Maus injizierte, schnell an Anthrax erkrankte. Er entnahm der neu erkrankten Maus Blut, injizierte dieses einer weiteren und beobachtete wieder die charakteristischen Krankheitssymptome. Dieses Experiment führte Koch aber einen entscheidenden Schritt weiter. Er fand heraus, dass man die Anthraxbakterien in Nährflüssigkeiten *außerhalb des Wirts* kultivieren konnte und dass die Bakterien sogar nach vielen Übertragungen in der Laborkultur die Krankheit immer noch übertrugen, wenn man ein gesundes Tier infizierte.

Auf der Grundlage dieser und weiterer Experimente über den Erreger der Tuberkulose formulierte Koch eine Reihe präziser Kriterien, die man heute die **Koch'schen Postulate** nennt. Diese müssen erfüllt werden, um nachzuweisen, dass ein spezifischer Mikroorganismus eine spezifische Krankheit verursacht. Die Koch'schen Postulate lauten folgendermaßen:

- 1 Der die Krankheit verursachende Organismus muss immer in den Tieren auftreten, die an der Krankheit leiden, aber nicht in gesunden Tieren.
- 2 Der Organismus muss in Reinkultur außerhalb der Tierkörpers kultiviert werden können.
- 3 Der isolierte Organismus muss die Krankheit auslösen, wenn er in gesunde, anfällige Tiere injiziert wird.
- 4 Der Organismus muss aus den neu infizierten Tieren isoliert und wieder im Labor kultiviert werden können. Danach sollte er immer noch der gleiche Organismus wie der ursprüngliche sein.

Die Koch'schen Postulate sind in ► Abbildung 1.16 zusammengefasst. Sie bedeuteten für die Untersuchung von Infektionskrankheiten einen epochalen Fortschritt. Die Postulate boten nicht allein die Möglichkeit, Ursache und Wirkung einer Infektionskrankheit miteinander in Beziehung zu setzen, sondern dienten zugleich dazu, die Bedeutung der *Laborkultur* des mutmaßlichen Infektionserregers zu betonen. Mit diesen Postulaten als Richtlinie gelang es Koch, seinen Studenten und nachfolgenden Mikrobiologen, die ursächlichen Erreger der wichtigsten Infektionskrankheiten bei Menschen und domestizierten Tieren zu entdecken. Diese Entdeckungen führten zur Entwicklung erfolgreicher Behandlungsmethoden für die Prävention und Heilung vieler Infektionskrankheiten, wodurch die wissenschaftlichen Grundlagen der klinischen Medizin und der Gesundheitsfürsorge für die Menschheit erheblich verbessert wurden (Abbildung 1.8).

Koch und die Reinkulturen

Gemäß dem zweiten der Koch'schen Postulate muss der vermutlich pathogene Organismus isoliert werden und getrennt von anderen Organismen wachsen. In der Mikrobiologie bedeutet das, dass die Kultur *rein* sein muss. Koch hat dieses Prinzip bei der Formulierung seiner berühmten Postulate nicht außer Acht gelassen. Damit er dieses Ziel auch erreichen konnte, entwickelten er und seine Mitarbeiter mehrere einfache, aber geniale Methoden, um Bakterien in **Reinkultur** zu erhalten und wachsen zu lassen.

Koch begann seine Versuchsreihen, indem er feste Nahrungsmittel wie Kartoffelscheiben zur Kultivierung von Bakterien verwendete. Er entwickelte allerdings bald verlässlichere Methoden, von denen viele noch heute angewandt werden. Koch beobachtete, dass sich auf einer festen Oberfläche, die in Luft inkubiert wurde, Bakterienkolonien entwickelten, wobei jede eine charakteristische Form und Farbe zeigte. Er schloss daraus, dass jede Kolonie von einem einzigen Bakterium abstammte, das auf die Oberfläche gefallen war, dort geeignete Nährstoffe gefunden und sich vermehrt hatte. Jede dieser Kolonien repräsentierte eine Population identischer Zellen, mit anderen Worten, eine Reinkultur. Koch erkannte rasch, dass feste Medien eine einfache Möglichkeit waren, Reinkulturen zu erhalten. Da nun aber nicht alle Organismen auf Kartoffelscheiben wachsen, entwickelte er einheitlichere und reproduzierbare Nährlösungen, die mit Gelatine und später mit Agar verfestigt wurden. Dies sind Labortechniken mit denen noch heute gearbeitet wird.

Tuberkulose: Die endgültige Überprüfung der Koch'schen Postulate

Die Krönung der Leistungen Robert Kochs in der medizinischen Mikrobiologie war die Entdeckung des Erregers der Tuberkulose. Zu der Zeit als Koch seine Arbeit aufnahm (1881) war die Tuberkulose die Ursache für ein Siebtel aller erfassten Todesfälle (Abbildung 1.8). Es lagen deutliche Hinweise vor, dass es sich bei der Tuberkulose um eine ansteckende Krankheit handelte, aber den Mikroorganismus, den man verdächtigte, hatte man niemals zuvor gesehen, weder im erkrankten Gewebe noch in einer Kultur. Koch war fest entschlossen, den Erreger der Tuberkulose nachzuweisen. Zu diesem Zweck bediente er sich aller Methoden, die er so sorgfältig im Rahmen seiner vorangegangenen Untersuchungen über den Milzbrand entwickelt hatte: Mikroskopie, das Färben von Gewebe, die Isolierung von Reinkulturen und die Analyse von Tiermodellen.

Wie man heute weiß, ist es sehr schwierig, das Bakterium *Mycobacterium tuberculosis* zu färben, da große

Mengen einer wachsähnlichen Flüssigkeit in seiner Zellwand vorkommen. Koch entwickelte jedoch eine Färbemethode für *M. tuberculosis* in Gewebeproben. Mit Hilfe dieser Methode entdeckte er blaue, stäbchenförmige Zellen von *M. tuberculosis* in tuberkulösen Geweben. Koch war allerdings durch seine früheren Arbeiten über Anthrax bekannt, dass er den Organismus kultivieren musste, um nachzuweisen, dass es sich um den Erreger der Tuberkulose handelte.

Es war nicht leicht, Kulturen von *M. tuberculosis* anzulegen, doch schließlich gelang es Koch, wachsende Kolonien dieses Organismus auf einem Medium zu züchten, das geronnenes Blut enthielt. Später verwendete er Agar, der kurz zuvor als Verfestigungsmittel eingeführt worden war. Selbst unter den besten Bedingungen wächst *M. tuberculosis* in einer Kultur nur langsam, doch dank seiner Hartnäckigkeit und Geduld gelang es ihm schließlich, aus einer Reihe menschlicher und tierischer Proben Reinkulturen dieses Organismus zu gewinnen.

Von diesem Zeitpunkt an war es für Robert Koch relativ leicht, seine Postulate anzuwenden (Abbildung 1.16), um den endgültigen Beweis zu erbringen, dass es sich bei dem von ihm isolierten Organismus um den Erreger der Tuberkulose handelte. Man kann Meerschweinchen sehr leicht mit *M. tuberculosis* infizieren und dann sterben sie nach einiger Zeit an systemischer Tuberkulose. Koch wies nach, dass das Gewebe erkrankter Meerschweinchen große Mengen von *M. tuberculosis* enthielt und dass Reinkulturen, die man von diesen Tieren gewonnen hatte, die Krankheit auf nicht infizierte Tiere übertrugen. Somit hatte Koch alle vier seiner Postulate erfolgreich erfüllt und die Ursache der Tuberkulose war nachgewiesen. 1882 gab Koch die Entdeckung des Erregers der Tuberkulose bekannt. 1884 veröffentlichte er einen Artikel, in dem er seine Postulate sehr klar darstellt. Im Jahr 1905 erhielt Robert Koch für seine Beiträge zur Tuberkulose den Nobelpreis für Physiologie bzw. Medizin. Koch feierte noch viele weitere Triumphe in der Medizin, dazu gehören die Entdeckung des Organismus, der die Cholera verursacht sowie die Entwicklung eines Verfahrens zur Tuberkulosedagnostik (der Tuberkulintest).

Die Koch'schen Postulate heute

Wenn man menschliche Krankheiten untersucht, für die ein Tiermodell zur Verfügung steht, dann ist es recht einfach, die Koch'schen Postulate anzuwenden. Dies ist in der modernen klinischen Medizin allerdings nicht immer so einfach. So verursachen die Erreger einiger Krankheiten des Menschen bei den uns bekannten Versuchstieren keine Erkrankung. Zu diesen zählen viele Krankheiten, die von Bakterien verursacht werden, die nur *innerhalb* der Zellen leben, wie Rickettsien oder Chlamydien, aber

auch Krankheiten, die von einigen Viren oder parasitischen Protozoen verursacht werden. Daher ist es nicht möglich, bei diesen Krankheiten einen eindeutigen Nachweis für Ursache und Wirkung zu erbringen. Der klinische und epidemiologische (die Krankheit zurückverfolgende) Nachweis für praktisch jede Infektionskrankheit des Menschen liefert keinen sicheren Beweis für die spezifische Ursache der Krankheit. Somit ist es nicht möglich, alle Koch'schen Postulate auf jede Infektionskrankheit des Menschen anzuwenden, obgleich die Koch'schen Postulate der „goldene Standard“ der medizinischen Mikrobiologie bleiben werden.

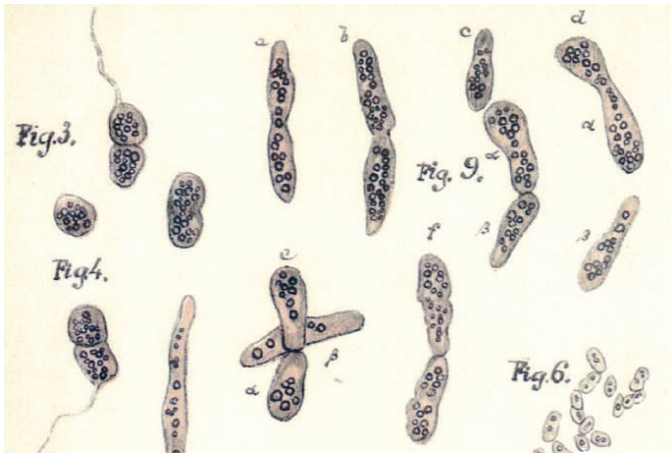
1.2.4 Die wachsende Bedeutung der mikrobiellen Vielfalt

Mit der Weiterentwicklung der Mikrobiologie im 20. Jahrhundert weitete sich der Forschungsschwerpunkt aus. Hatte man sich anfänglich auf die grundlegenden Prinzipien, Methoden und medizinischen Aspekte konzentriert, so gewannen danach Untersuchungen über die mikrobielle Vielfalt im Boden und im Wasser sowie die metabolischen Vorgänge, die die in diesen Regionen lebenden Organismen katalysieren, an Bedeutung. Zwei bahnbrechende Forscher dieser Ära waren der Holländer Martinus Beijerinck und der Russe Sergei Winogradsky.

Martinus Beijerinck und die Methode der Anreicherungskultur

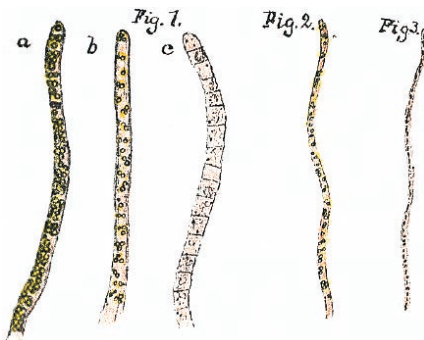
Martinus Beijerinck (1851–1931) war Professor am Delfter Polytechnikum in Holland. Er hatte ursprünglich Botanik studiert, weshalb er seine Karriere in der Mikrobiologie mit der Untersuchung der Mikrobiologie von Pflanzen begann. Beijerincks bedeutendster Beitrag zur Mikrobiologie war seine klare Formulierung der **Anreicherungskultur**. Bei der Anreicherungskultur werden Mikroorganismen auf selektive Weise aus natürlichen Proben isoliert, wobei die Anforderungen, die die Mikroorganismen an Nährstoffe und Inkubation stellen, sehr genau berücksichtigt werden, um eine bestimmte metabolische Gruppe von Organismen zu begünstigen. Beijerincks geschickte Anwendung der Anreicherungskultur wurde sofort akzeptiert, als er Winogradskys Entdeckung des Vorgangs der Stickstofffixierung aufgriff und das aerobe, stickstofffixierende Bakterium *Azotobacter* aus dem Boden isolierte.

Mit Hilfe der Anreicherungskultur isolierte Beijerinck die ersten Reinkulturen vieler im Boden und im Wasser vorkommender Mikroorganismen, darunter sulfatreduzierende und schwefeloxidierende



Mit Genehmigung aus *Microbiologie du Sol*

(a)



Aus Winogradsky, S. 1949.
Microbiologie du Sol.
Masson, Paris.

(b)

Bakterien, stickstofffixierende Wurzelknöllchenbakterien (Abbildung 1.9), *Lactobacillus*-Spezies, grüne Algen, verschiedene anaerobe Bakterien und viele weitere Mikroorganismen. Dank des Einsatzes selektiver Filtrationstechniken bewies Beijerinck bei seinen Untersuchungen zur Tabakmosaikkrankheit, dass das infektiöse Agens kein Bakterium sondern ein Virus war, das irgendwie in die Zellen der Wirtspflanze aufgenommen wurde und die lebende Pflanze brauchte, um sich zu vermehren. In dieser scharfsinnigen Arbeit beschrieb Beijerinck nicht nur zum ersten Mal einen Virus, sondern stellte auch die heute gültigen grundlegenden Lehrsätze der Virologie auf.

Sergei Winogradsky, das Konzept der Chemolithotrophie und die Stickstofffixierung

Sergei Winogradsky (1856–1953) hatte ähnliche Interessen wie Beijerinck – die Vielfalt der Bakterien im Boden und im Wasser. Sehr erfolgreich isolierte er aus natürlichem Probenmaterial mehrere sehr wichtige Bakterien. Winogradsky interessierte sich besonders für Bakterien, die an der Wiederverwertung von Stickstoff- und

Schwefelkomponenten beteiligt waren, wie zum Beispiel nitrifizierende Bakterien und Schwefelbakterien (► Abbildung 1.17). Er wies nach, dass diese Bakterien spezifische chemische Veränderungen in der Natur katalysieren und führte das wichtige Konzept der **Chemolithotrophie** ein, der *Oxidation anorganischer Bestandteile* zur Energiegewinnung. Desweiteren wies er nach, dass diese Organismen, die er als *Chemolithotrophe* bezeichnete, ihren Kohlenstoff aus CO_2 gewannen. Damit hatte Winogradsky entdeckt, dass chemolithotrophe Bakterien ebenso wie phototrophe Organismen *autotroph* sind.

Winogradsky isolierte als Erster ein stickstofffixierendes Bakterium, den Anaerobier *Clostridium pasteurianum*. Wie gerade erwähnt, nutzte Beijerinck Jahre später diese Entdeckung zur Isolierung aerober stickstofffixierender Bakterien. Winogradsky, der fast 100 Jahre alt wurde, veröffentlichte viele wissenschaftliche Artikel und eine bedeutende Monographie, *Microbiologie du Sol* (Bodenmikrobiologie). Dieses Werk, ein Meilenstein der Mikrobiologie, enthält Originalzeichnungen von vielen Organismen, die er während seines langen erfolgreichen Arbeitslebens untersuchte (Abbildung 1.17).

Abbildung 1.17: Schwefelbakterien.

Die Originalzeichnungen wurden von Sergei Winogradsky Ende der 1880er Jahre angefertigt, kopiert und dann von seiner Ehefrau Hélène handkoloriert. (a) Purpurschwefelbakterien. Die Bilder 3 und 4 zeigen Zellen von *Chromatium okenii* (vergleichen Sie diese mit den mikroskopischen Aufnahmen von *C. okenii* in Abbildung 1.5 und Abbildung 1.7). (b) *Beggiatoa*, ein chemolithotrophes Schwefelbakterium (Vergleichen Sie mit Abbildung 1.14).

1.2.5 Die Ära der modernen Mikrobiologie

Im 20. Jahrhundert entwickelte sich die Mikrobiologie schnell in zwei verschiedene, jedoch einander ergänzende Richtungen – die *Angewandte Mikrobiologie* und die *Allgemeine Mikrobiologie*. Während dieser Zeit wurden viele Hilfsmittel für die Laborarbeit entwickelt, die Wissenschaft der Mikrobiologie etablierte sich und gleichzeitig entstanden neue Forschungsgebiete. Nur wenige der neuen Forschungsgebiete waren eindeutig der Angewandten Mikrobiologie oder der Allgemeinen Mikrobiologie zuzuordnen. Die meisten widmeten sich sowohl der Erforschung (Allgemeine Mikrobiologie) als auch der Lösung von Problemen (Angewandte Mikrobiologie).

Als die wichtigsten Gebiete der allgemeinen Mikrobiologie, die im 20. Jahrhundert gegründet wurden, sind die mikrobielle Physiologie (Ernährung, Stoffwechsel), Genetik (Gene, Vererbung, genetische Vielfalt), Biochemie (Enzyme, chemische Reaktionen von Zellen) Ökologie (mikrobielle Vielfalt, Aktivität im Lebensraum, Biogeochemie) und die Systematik (Klassifizierung, Nomenklatur) zu nennen. Aus Virologie und Molekularbiologie wurden eigene Disziplinen. In der angewandten Mikrobiologie etablierten sich die Medizinische Mikrobiologie (Infektionskrankheiten), Landwirtschafts-/Bodenmikrobiologie und Wasser/Abwassermikrobiologie. Auch hier wurden die Immunologie und Biotechnologie mit der industriellen Mikrobiologie zu eigenständigen Disziplinen.

Mehreren Mikrobiologen verdanken wir wichtigste Beiträge, die während dieser Zeit geleistet wurden. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts konzentrierten sich viele Forscher weiterhin auf die medizinischen Aspekte der Mikrobiologie und selbst heute befassen sich viele Mikrobiologen mit krankheitserregenden Mikroorganismen, die Menschen, Tieren und Pflanzen schaden. Nach dem Zweiten Weltkrieg setzte man einen neuen und aufregenden Schwerpunkt mit der Untersuchung der genetischen Eigenschaften der Mikroorganismen. Aus der mikrobiellen Genetik entwickelte sich die „moderne Biologie“, angetrieben von der Molekularbiologie, der Gentechnologie und der Genomik. Diese molekulare Herangehensweise revolutionierte das wissenschaftliche Denken in den Naturwissenschaften und hat das experimentelle Vorgehen zu den größten Herausforderungen der Biologie gemacht.

So wurden unter anderem Nobelpreise vergeben für die Ein-Gen-Ein-Enzym Hypothese (Beadle, Tatum, 1941), die Aufklärung der Vererbung genetischer Eigenschaften bei Bakterien (Delbrück, Luria, 1943), der Konjugation und Transduktion (Lederberg, 1946/1952), der DNA Struktur (Watson, Crick, Wilkins, 1953), das Konzept des Operons (Jacob, Monod, Lwoff, 1959) und die Ribosomenfunktion

(Brenner, 1961). Weitere Höhepunkte waren die Aufklärung des genetischen Code (Nirenberg, Holley, Khorana, 1966), die Etablierung der rekombinanten DNA Technologie (Smith, Nathans, Arber, Berg, 1970/1973) und das Verständnis der DNA Replikation (Kornberg, 1974), die Entwicklung der Protein- und DNA Sequenzierung (Sanger, 1958/1977), der Polymerasekettenreaktion (Mullis, 1985), die Entdeckung der Archaea (Woese, 1977) und von *Helicobacter pylori* als Magengeschwürursache (Marshall, Warren, 1982).

Viele der heutigen Fortschritte in der Mikrobiologie werden von der Revolution, die die Genomik mit sich brachte, vorangetrieben. Wir befinden uns mitten in der Ära der „molekularen Mikrobiologie“. Die schnellen Fortschritte in der DNA-Sequenzierung und die verbesserte Leistung der Computer erbrachten gewaltige Mengen an Information über Genome, denen wir Fortschritte in der Medizin, Landwirtschaft, Biotechnologie und mikrobiellen Ökologie verdanken. Man braucht nur wenige Stunden, um die Sequenz eines gesamten Genoms zu erhalten (obwohl die Sequenzanalyse ein weitaus zeitintensiverer Vorgang ist). Aus dem sich rasant entwickelnden Fachgebiet der Genomik entwickelten sich wiederum hoch spezialisierte Fachgebiete wie die *Transkriptomik*, die *Proteomik* und die *Metabolomik*. Ihr Schwerpunkt liegt jeweils auf der Erforschung der RNA-Struktur, der Proteine und der Regulation des Metabolismus in den Zellen. In Kapitel 9 werden wir näher auf die Genomik, Transkriptomik, Proteomik und Metabolomik eingehen.

Alles deutet darauf hin, dass die molekulare Mikrobiologie an Bedeutung gewinnen wird, da wir nun einen Zeitabschnitt betreten, in dem die Möglichkeiten der Technologie unsere Fähigkeit, interessante wissenschaftliche Fragestellungen zu formulieren, fast übertrifft. Tatsächlich steht die mikrobielle Forschung heute kurz vor der Definition des *kleinsten Genoms* – dem kleinsten Bestand an Genen in einer lebenden Zelle. Wenn eine solche genetische Grundlage zur Verfügung steht, dann müssten Mikrobiologen in der Lage sein, die Grundvoraussetzungen von Leben zu definieren, zumindest mit den Begriffen der Biochemie. Wenn dieser Tag gekommen ist, kann dann die Schaffung einer lebenden Zelle aus nicht lebenden Bestandteilen, das heißt, die spontane Erschaffung unter kontrollierten Laborbedingungen noch in weiter Ferne liegen? Mit Sicherheit nicht. Bleiben Sie aufmerksam, denn viele aufregende Erkenntnisse der Wissenschaft liegen vor uns!

Das Sichtbarmachen des Winzigen

1.3

Aus historischer Sicht betrachtet, blühte die Wissenschaft der Mikrobiologie auf, als man mit verbesserten Instrumenten Mikroorganismen zu erkennen vermochte. Somit sind *Mikrobiologie* und *Mikroskopie* eng miteinander verknüpft. Das Mikroskop ist das wichtigste Instrument des Mikrobiologen und jeder Student der Mikrobiologie benötigt einiges Hintergrundwissen darüber, wie Mikroskope funktionieren und wie man mikroskopiert. Daher beginnen wir unsere kurze Reise in die mikrobielle Welt mit einer Betrachtung der verschiedenen Mikroskope und der mikroskopischen Methoden, die dazu nötig sind, Mikroorganismen sichtbar zu machen.

1.3.1 Einige Grundlagen der Lichtmikroskopie

Damit wir *Mikroorganismen* sehen können, brauchen wir entweder ein *Lichtmikroskop* oder ein *Elektronenmikroskop*. Im Allgemeinen nutzt man Lichtmik-

roskope, um Zellen bei relativ geringer Vergrößerung anzusehen. Elektronenmikroskope werden herangezogen, wenn man Zellen und Zellstrukturen bei sehr starker Vergrößerung analysieren will.

Alle Mikroskope haben Linsen, die das Bild vergrößern. Allerdings bestimmt nicht der Grad der Vergrößerung, wie gut wir kleine Objekte sehen können, sondern das Kriterium der **Auflösung** – die Fähigkeit, zwei benachbarte Objekte als verschiedenartig und voneinander getrennt zu erkennen – gibt uns die Möglichkeit, das Winzige zu erkennen. Obwohl man die Vergrößerung nahezu unbegrenzt steigern kann, ist dies mit der Auflösung nicht möglich, denn sie wird uns von den physikalischen Eigenschaften des Lichts diktiert.

Wir beginnen mit der Lichtmikroskopie, deren Auflösungsgrenze bei ungefähr $0,2\mu\text{m}$ liegt (μm ist die Abkürzung für Mikrometer, 10^{-6} m). Danach werden wir uns mit dem Elektronenmikroskop beschäftigen, dessen Auflösung wesentlich größer ist als die des Lichtmikroskops.

Das zusammengesetzte Lichtmikroskop

Das Lichtmikroskop verwendet sichtbares Licht, um Zellstrukturen zu erhellen. In der Mikrobiologie werden mehrere Typen von Lichtmikroskopen verwendet:

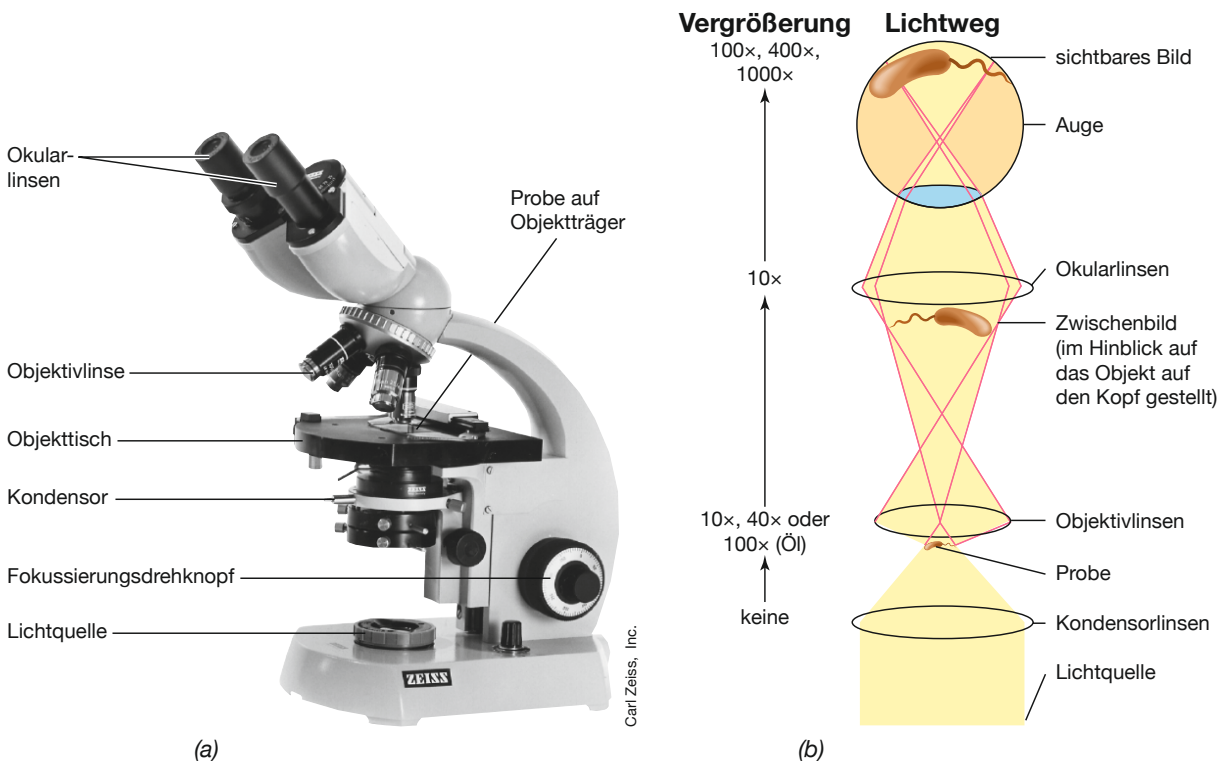


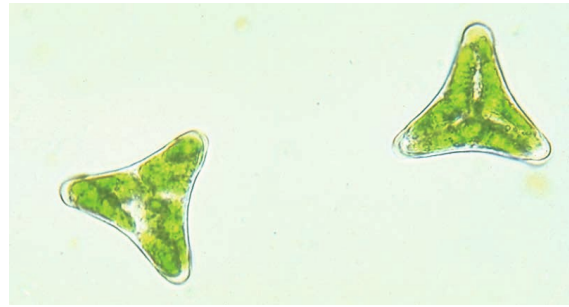
Abbildung 1.18: Mikroskopie. (a) Ein zusammengesetztes Lichtmikroskop. (b) Weg des Lichts durch ein zusammengesetztes Lichtmikroskop. Neben Okularen mit zehnfacher Vergrößerung gibt es Okulare mit einer 15- bis 30-fachen Vergrößerung.

das *Hellfeld-*, das *Phasenkontrast-*, das *Differenzial-Interferenzkontrast-*, das *Dunkelfeld-* und das *Fluoreszenzmikroskop*.

Mit dem Hellfeldmikroskop werden Proben auf Grund des geringen Kontrastes, der zwischen ihnen und dem Umgebungsmedium vorliegt, sichtbar gemacht. Kontrastunterschiede entstehen, weil Zellen Licht in unterschiedlichem Maß absorbieren oder streuen. Das zusammengesetzte Hellfeldmikroskop wird im Allgemeinen in Laborkursen der Biologie und der Mikrobiologie eingesetzt. Das Mikroskop enthält die Bezeichnung zusammengesetzt, weil es aus zwei Sätzen von Linsen besteht, *Objektiv-* und *Okularlinse*, die zusammen das Bild sichtbar machen. Die Lichtquelle wird durch die Kondensorlinse auf das Objekt gerichtet (► Abbildung 1.18). Bakterienzellen sind nur bedingt gut unter dem Hellfeldmikroskop zu erkennen, weil die Zellen zu wenig mit dem sie umgebenden Medium kontrastieren. Eine Ausnahme stellen die pigmentierten Organismen dar, denn die Farbe des Organismus selbst sorgt für mehr Kontrast, so dass die Zellen besser sichtbar werden (► Abbildung 1.19). Der Kontrast kann allerdings bei Zellen, denen die Pigmentierung fehlt, verstärkt werden, worauf wir im folgenden Abschnitt eingehen werden.

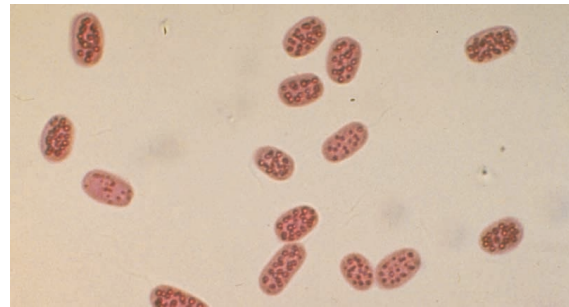
Vergrößerung und Auflösung

Die Gesamtvergrößerung eines zusammengesetzten Mikroskops ist das *Produkt* der Vergrößerung seines Objektivs und der Okularlinsen (Abbildung 1.18b). Mit dem Lichtmikroskop kann man maximal eine 2000-fache Vergrößerung erzielen. Darüber hinaus gibt es keine Verbesserung. Die Auflösung ist eine Funktion der Wellenlänge des benutzten Lichts und einer Eigenschaft der Objektivlinsen, die man als *numerische Apertur* bezeichnet – ein Maß, um die Fähigkeit, Licht zu bündeln, zu messen. Es gibt eine Entsprechung zwischen der Vergrößerung einer Linse und ihrer numerischen Apertur: Linsen mit höherer Vergrößerung haben immer eine höhere numerische Apertur (die numerische Apertur ist neben der Vergrößerungsangabe auf die Linse gestempelt). Der Durchmesser des kleinsten Objektes, das von einer Linse aufgelöst werden kann, entspricht $0,5\lambda/\text{numerische Apertur}$, wobei λ die Wellenlänge des benutzten Lichts ist. Gemäß dieser Formel ist die Auflösung dann am höchsten, wenn blaues Licht benutzt wird, um ein Präparat anzusehen (denn blaues Licht besitzt eine kürzere Wellenlänge als weißes oder rotes Licht), und ein Objektiv mit einer sehr hohen numerischen Apertur verwendet wird. Daher werden viele Lichtmikroskope mit einem blauen Filter auf der Kondensorlinse ausgestattet, um die Auflösung zu erhöhen.



T. D. Brock

(a)



Norbert Pfennig

(b)

Abbildung 1.19: Mikroskopische Aufnahme pigmentierter Mikroorganismen mit einem Hellfeldmikroskop. (a) Eine Grünalge (Eukaryot). Die grünen Strukturen sind Chloroplasten. (b) Ein phototrophes Purpurbakterium (Prokaryot). Die Algenzelle hat einen Durchmesser von ungefähr 15 μm und die Bakterienzellen sind ungefähr 5 μm dick.

Wie bereits erwähnt, liegt die maximale Auflösung eines zusammengesetzten Lichtmikroskops bei ungefähr 0,2 μm . Dies bedeutet, dass zwei Objekte, die näher als 0,2 μm beieinander liegen, nicht als unterschiedliche und getrennte Objekte auflösbar sind. Die in der Mikrobiologie verwendeten Mikroskope sind mit Okularlinsen ausgestattet, die eine 10- bis 20-fache Vergrößerung leisten und mit Objektivlinsen, die 10- bis 100-fach vergrößern (Abbildung 1.18b). Bei 1000-facher Vergrößerung können Objekte von 0,2 μm gerade noch aufgelöst werden. Bei einer Objektivlinse mit 100-facher Vergrößerung und bei bestimmten anderen Objektivlinsen mit sehr hoher numerischer Apertur wird ein hochwertiges optisches Öl zwischen die Proben und das Objektiv gelegt. Linsen, auf denen man Öl verwendet, nennt man *Ölimmersionslinsen*. Immersionsöle erhöhen die Fähigkeit einer Linse, Licht zu bündeln, denn man kann die Strahlen sammeln und ansehen, die das Präparat in Winkeln abstrahlt, die die Linse normalerweise nicht erfassen könnte.

1.3.2 Kontrastvergrößerung in der Lichtmikroskopie

Im Allgemeinen bedeutet die Verbesserung des Kontrasts in der Mikroskopie auch eine Verbesserung des Bildes, das man schließlich erhält. Man kann Farbstoff einsetzen, um den Kontrast zu verstärken, aber es gibt noch viele andere Methoden.

Färbung: Kontrastvergrößerung in der Hellfeldmikroskopie

Man kann Farbstoffe verwenden, um Zellen zu färben und den Kontrast zu erhöhen, so dass man sie unter dem Hellfeldmikroskop leichter erkennen kann. Farbstoffe sind organische Verbindungen und jeder Farbstoff hat eine Affinität für spezifische Zellmaterialien. Viele Farbstoffe, die man in der Mikrobiologie verwendet, sind positiv geladen. Aus diesem Grund bezeichnet man sie als *basische Farbstoffe*. Dazu gehören zum Beispiel Methyleneblau, Kristallviolett und Safranin. Basische Farbstoffe gehen mit negativ geladenen Zellbestandteilen eine starke Bindung ein, wie beispielsweise mit Nucleinsäuren und sauren Polysacchariden. Da die meisten Zelloberflächen negativ geladen sind, verbinden sich diese Farbstoffe mit den Strukturen auf der Zelloberfläche mit hoher Affinität und sind damit hervorragende Allzweckfärbemittel.

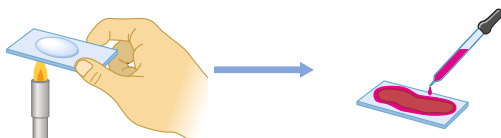
I. Herstellung eines Ausstrichs



Ausstreichen der Kultur auf dem Objektträger in einer dünnen Schicht

Lufttrocknen

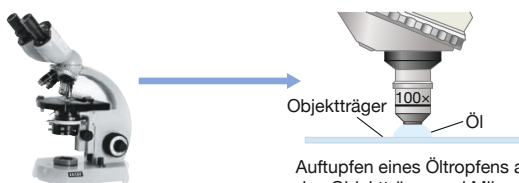
II. Hitzefixierung und Färbung



Durchziehen des Objektträgers durch eine Flamme zur Hitzefixierung

Färbung des Objektträgers, Abwaschen und Trocknen

III. Mikroskopie



Objektträger 100x Öl

Auftropfen eines Öltropfens auf den Objektträger und Mikroskopie mit der 100 × Objektivlinse

Zur Durchführung einer einfachen Färbung verwendet man zuerst getrocknete Zellpräparate (► Abbildung 1.20). Ein Objektträger aus Glas mit einer getrockneten Zellsuspension wird für eine oder zwei Minuten mit einer verdünnten Lösung des Farbstoffs überspült, mehrmals mit Wasser abgespült und dann trocken getupft. Man nimmt im Allgemeinen getrocknete und gefärbte Bakterienpräparate mit hoch auflösenden Linsen (Ölimmersionen), weil die Zellen so klein sind.

Differenzielle Färbungen: Die Gramfärbung

Farbstoffe, die verschiedene Zellen in unterschiedlicher Weise färben, nennt man *differenzielle* Farbstoffe. Eine wichtige in der Mikrobiologie angewandte Färbemethode ist die **Gramfärbung** (► Abbildung 1.21). Entsprechend der Reaktion auf die Gramfärbung werden die Bakterien in zwei Hauptgruppen unterteilt: *grampositive* und *gramnegative*. Durch die Gramfärbung werden die grampositiven Bakterien dunkel violett und die gramnegativen rosa gefärbt (Abbildung 1.21b). Dieser Farbunterschied bei der Gramfärbung liegt in den Unterschieden in der Zellwandstruktur grampositiver und gramnegativer Zellen begründet, worauf wir im Kapitel 2 zurückkommen werden. Nach der Färbung mit einem basischen Farbstoff, im Allgemeinen Kristallviolett, führt die Behandlung gramnegativer Zellen mit Ethanol zur Entfärbung der Zellen, grampositive Zellen werden aber nicht entfärbt. Erfolgt dann eine Färbung mit einem anderen Farbstoff, im Allgemeinen Safranin, dann kann man die beiden Zelltypen unter dem Mikroskop auf Grund ihrer unterschiedlichen Farben unterscheiden (Abbildung 1.21b).

Die Gramfärbung ist eine der nützlichsten Färbemethoden in der Mikrobiologie. Normalerweise beginnt man die Charakterisierung eines neuen Bakteriums, indem man bestimmt, ob es grampositiv oder gramnegativ ist. Hat man ein Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung – später werden wir darauf eingehen – kann man die Gramfärbung auf eine Ein-Schritt-Methode vereinfachen, wobei grampositive und gramnegative Zellen in unterschiedlichen Farben fluoreszieren (Abbildung 1.21c).

Abbildung 1.20: Färbung von Zellen für die Untersuchung unter dem Mikroskop. Färbemittel verbessern den Kontrast zwischen den Zellen und ihrem Hintergrund.

Das Phasenkontrast- und das Dunkelfeldmikroskop

Die Färbung, eine weitverbreitete Methode der Lichtmikroskopie, tötet Zellen und kann ihre Strukturen verzerren. Es gibt zwei Lichtmikroskope, die die Kontrastunterschiede ohne die Verwendung eines Farbstoffs hervorheben und die Zellen nicht abtöten. Diese sind das Phasenkontrastmikroskop und das Dunkelfeldmikroskop (► Abbildung 1.22). Gerade das Phasenkontrastmikroskop wird in der Lehre und der Forschung sehr häufig eingesetzt, weil man damit Frischpräparate (lebende Organismen) beobachten kann.

Das Phasenkontrastmikroskop beruht auf dem Prinzip, dass sich die Zellen im Brechungsindex (der Faktor, mit dem das Licht, wenn es durch das Material tritt, in seiner Geschwindigkeit verringert wird) von ihrer Umgebung unterscheiden. Das Licht, das durch eine Zelle tritt, unterscheidet sich somit von dem Licht, das durch die Flüssigkeit tritt, von der die Zelle umgeben ist. Dieser feine Unterschied wird durch eine Vorrichtung in der Objektivlinse des Phasenkontrastmikroskops, den so genannten *Phasenring*, vergrößert. Dies führt zu einem dunklen Bild vor einem helleren Hintergrund (Abbildung 1.22b). Der Ring besteht aus einer Phasenplatte, die die winzige Variation der Phase vergrößert. Die Entwicklung des Phasenkontrastmikroskops war die Grundlage für weitere Neuerungen in der Mikroskopie, wie die Fluoreszenzmikroskopie und die Konfokalmikroskopie (auf die wir später eingehen werden) und führte zu einem größeren Einsatz von Lichtmikroskopen in der Mikrobiologie.

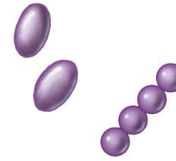
Das Dunkelfeldmikroskop ist ein Lichtmikroskop, bei dem das Licht nur seitlich auf das Objekt trifft. Nur das Licht erreicht die Linsen, das durch das Objekt gestreut wird, wodurch das Objekt vor einem dunklen Hintergrund hell erscheint (Abbildung 1.22c). Die Auflösung eines Dunkelfeldmikroskops ist ein wenig besser als die des Hellfeldmikroskops. Oftmals kann man Objekte unter dem Dunkelfeldmikroskop erkennen, die nicht durch das Hellfeldmikroskop und nicht einmal durch das Phasenkontrastmikroskop auflösbar sind. Das Dunkelfeldmikroskop ist hervorragend geeignet, um die Bewegung der Mikroorganismen zu untersuchen, denn man kann damit Flagellenbündel (die Strukturen, die die Schwimmotilität ermöglichen) erkennen.

Fluoreszenzmikroskopie

Das Fluoreszenzmikroskop wird verwendet, um Objekte sichtbar zu machen, die fluoreszieren – das heißt, dass sie Licht einer bestimmten Farbe emittieren, nachdem sie Licht einer anderen Farbe absorbiert

Schritt 1

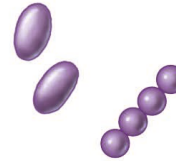
Ergebnis:
Alle Zellen sind violett



Färbung des hitzefixierten Ausstrichs mit Kristallviolett für 1 Minute

Schritt 2

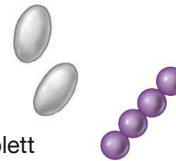
Ergebnis:
Alle Zellen bleiben violett



Zusatz einer Jodlösung und Inkubation für 1 Minute

Schritt 3

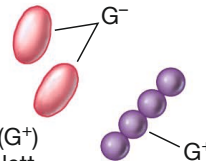
Ergebnis:
Grampositive Zellen sind violett
Gramnegative Zellen sind farblos



Kurze Entfärbung mit Ethanol – etwa 20 sec

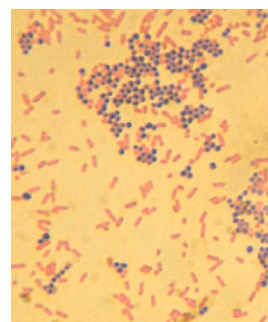
Schritt 4

Ergebnis:
Grampositive (G^+) Zellen sind violett
Gramnegative (G^-) Zellen sind rosa bis rot

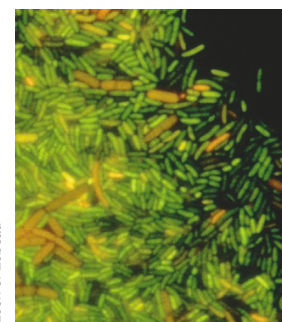


Gegenfärbung mit Safranin für 1 bis 2 Minuten

(a)



(b)



(c)

Abbildung 1.21: Die Gramfärbung. (a) Einzelschritte beim Vorgang der Gramfärbung. (b) Mikroskopische Aufnahme grampositiver (violett) und gramnegativer (rosa) Bakterien. Bei den Organismen handelt es sich um *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli*. (c) Zellen von *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativ, grün) und *Bacillus cereus* (grampositiv, orange), die in einem Schritt mit einem fluoreszierenden Färbemittel gefärbt wurden. Diese Methode ermöglicht es, grampositive von gramnegativen Zellen durch einen einzigen Färbeschritt zu unterscheiden.

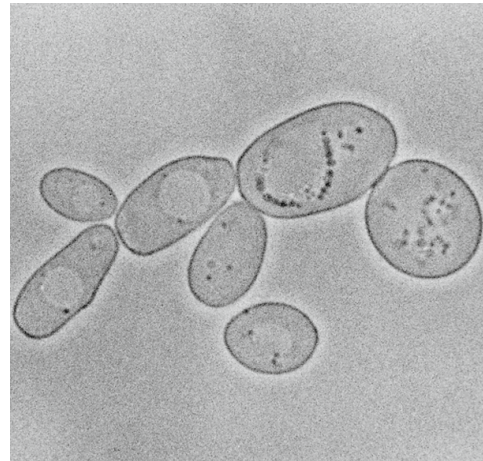
haben (► Abbildung 1.23). Entweder fluoreszieren Zellen, weil sie natürlich fluoreszierende Substanzen wie Chlorophyll oder andere fluoreszierende Bestandteile enthalten, ein Phänomen, das man als *Autofluoreszenz* bezeichnet (Abbildung 1.23a,b) oder aber die Zellen wurden mit einem fluoreszierenden Farbstoff behandelt (Abbildung 1.23c). DAPI (4',6-Diamidin-2-Phenylindol) ist ein häufig verwendeter Farbstoff, der die Zellen leuchtend blau färbt, weil er einen Komplex mit der zellulären DNA eingeht (Abbildung 1.23c). Man kann mit DAPI Zellen in verschiedenen Habitaten sichtbar machen, wie zum Beispiel im Erdboden, im Wasser, in Lebensmitteln oder in klinischen Proben. Die Fluoreszenzmikroskopie wird daher standardmäßig in der klinischen Diagnostik sowie in der mikrobiellen Ökologie eingesetzt, wobei Bakterien in ihrer natürlichen Lebensumgebung oder wie in Abbildung 1.23c dargestellt in einer Zellsuspension gezählt werden können.

1.3.3 Die dreidimensionale Darstellung von Zellen

Im Allgemeinen erhalten wir mit den bisher genannten Mikroskopen zweidimensionale Bilder. Wie kann man diese Begrenzung überwinden? Im nächsten Abschnitt werden Sie erfahren, dass das Rasterelektronenmikroskop eine Lösung für dieses Problem bietet, dass aber auch andere Lichtmikroskope ein Bild dreidimensional wiedergeben können.

Das differenzielle Interferenzkontrastmikroskop

Das differenzielle Interferenzkontrastmikroskop (DIC) ist eine Art Lichtmikroskop, das mit einem Polarisator in der Kondensorlinse polarisiertes Licht erzeugt (Licht auf einer Ebene). Das polarisierte Licht wird dann durch ein Prisma geleitet, das zwei verschiedene Strahlen erzeugt. Diese Strahlen durchleuchten das Objekt und gelangen an einer Stelle auf die Objektivlinsen, wo sie zu einem Strahl gebündelt werden. Da diese beiden Strahlen durch unterschiedliche Substanzen mit leicht unterschiedlichen Brechungsindizes laufen, sind die kombinierten Strahlen nicht vollkommen in Phase, sondern erzeugen einen Interferenzeffekt. Dieser Interferenzeffekt verstärkt erheblich die feinen Unterschiede in der Zellstruktur. Dadurch kann man mit Hilfe der DIC-Mikroskopie Zellstrukturen wie den Kern eukaryotischer Zellen (► Abbildung 1.24), Endosporen, Vakuolen oder Granula von Bakterienzellen in verstärkt dreidimensionaler Darstellung sehen. Die DIC-Mikroskopie wird im Allgemeinen verwendet, um nicht gefärbte Zellen anzusehen, weil man damit



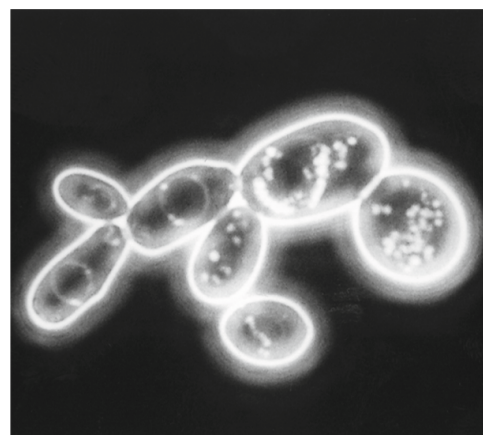
M. T. Madigan

(a)



M. T. Madigan

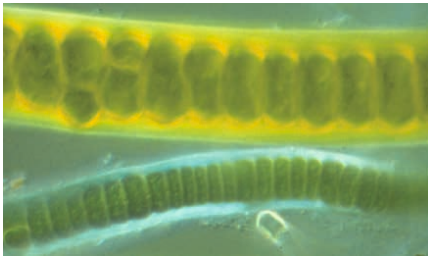
(b)



M. T. Madigan

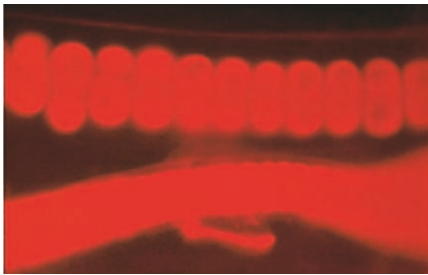
(c)

Abbildung 1.22: Zellen sichtbarmacht durch verschiedene Arten der Lichtmikroskopie. Der gleiche Bildausschnitt mit Zellen der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* unter (a) dem Hellfeldmikroskop, (b) dem Phasenkontrastmikroskop und (c) dem Dunkelfeldmikroskop. Der Durchmesser der Zellen liegt bei 8–10 µm.



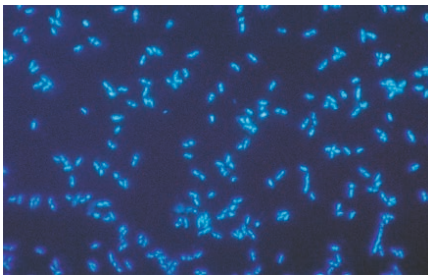
R. W. Castenholz

(a)



R. W. Castenholz

(b)



Nancy J. Trun

(c)

Abbildung 1.23: Fluoreszenzmikroskopie. (a,b) Cyanobakterien. Die gleichen Zellen unter dem Hellfeldmikroskop in Bild a und unter dem Fluoreszenzmikroskop in Bild b. Die Zellen fluoreszieren rot, weil sie Chlorophyll a und andere Pigmente enthalten. (c) Aufnahme von Zellen von *Escherichia coli* mit dem Fluoreszenzmikroskop. Die Zellen wurden durch Färbung mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI zur Fluoreszenz gebracht.

innere Zellstrukturen sichtbar machen kann, die unter dem Hellfeldmikroskop fast unsichtbar bleiben (siehe Abbildung 1.22a und Abbildung 1.24a).

Das Rasterkraftmikroskop

Ein weiteres Mikroskop, mit dem man dreidimensionale Bilder biologischer Strukturen sichtbar machen kann, ist das Rasterkraftmikroskop (AFM) (atomic force microscope). Beim Rasterkraftmikroskop wird eine pyramidenförmige Spitze ganz dicht an die Objekte geführt, um schwache atomare Abstoßungskräfte zwischen der Sonde auf der Spitze und den Atomen auf der Oberfläche des Objektes aufzubauen. Die Sonde tastet die Oberfläche des Objektes ab und verzeichnet

ständig jede Abweichung von einer flachen Oberfläche. Das Muster, das dadurch erkannt wird, wird durch eine Reihe von Detektoren festgehalten, die die digitale Information an einen Computer weiterleiten, der dann ein Bild erzeugt (Abbildung 1.24b).

Obwohl die mit einem Rasterkraftmikroskop erzeugten Bilder denen des Rasterelektronenmikroskops auf den ersten Blick ähneln (vergleiche Abbildung 1.24b und Abbildung 1.26c), bietet das AFM den Vorteil, dass man das Objekt nicht mit Fixiermitteln oder Beschichtungen behandeln muss. Das Rasterkraftmikroskop ermöglicht uns also, lebende Objekte anzusehen, was im Allgemeinen mit einem Elektronenmikroskop nicht möglich ist.



Linda Barnett und James Barnett

(a)



Suzanne Kelly

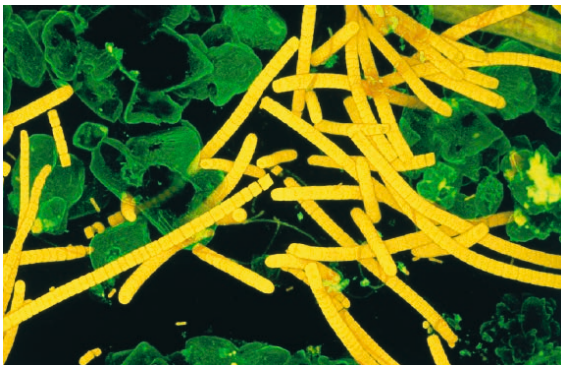
(b)

Abbildung 1.24: Dreidimensionale Aufnahme von Zellen. (a) Differenzielles Interferenzkontrastmikroskop und (b) Rasterkraftmikroskop. Die Hefezellen in Teil a sind 8 µm dick. Beachten Sie den deutlich sichtbaren Kern und vergleichen Sie diese Abbildung mit der Abbildung 1.22a. Die Bakterienzellen in Bild b sind 2,2 µm lang und stammen von einem Biofilm, der sich auf der Oberfläche eines Objektträgers entwickelte, den man 24 Stunden in den Wassernapf eines Hundes gelegt hatte.

Die Konfokale Laserrastermikroskopie

Beim konfokalen Laserrastermikroskop (CSLM) handelt es sich um ein computergestütztes Mikroskop, bei dem eine Laserquelle an ein Fluoreszenzmikroskop gekoppelt wird. Damit kann man dreidimensionale Bilder erzeugen und der Wissenschaftler kann verschiedene Ebenen im Objekt anschauen (► Abbildung 1.25). Der Laserstrahl wird genauestens ausgerichtet, so dass nur eine bestimmte Ebene des Objekts fokussiert wird. Wenn man den Strahl genau auf eine bestimmte Ebene lenkt, dann wird das Streulicht von anderer Brennebenen verringert. Somit sind bei relativ dicken Präparaten wie einem mikrobiellen Biofilm (Abbildung 1.25a) nicht nur Zellen auf der Oberfläche des Biofilms sichtbar, was bei einem konventionellen Lichtmikroskop der Fall wäre, sondern man kann auch Zellen in verschiedenen Ebenen ansehen, indem man die Brennebene des Laserstrahls entsprechend einstellt. Mit Hilfe des CSLM konnte man die Auflösung des zusammengesetzten Lichtmikroskops von $0,2\ \mu\text{m}$ auf $0,1\ \mu\text{m}$ verbessern.

Bei der Arbeit mit dem konfokalen Laserrastermikroskop, dem CSLM (confocal scanning laser microscope), werden die Präparate im Allgemeinen mit fluoreszierenden Farbstoffen gefärbt, damit sie sich stärker abheben (Abbildung 1.25). Alternativ kann man falsche Farbbilder erzeugen, indem man das Mikroskop so einstellt, dass die einzelnen Schichten unterschiedlich gefärbt werden. Das CSLM ist mit Computersoftware ausgestattet, so dass man digitale Bilder für die anschließende Bilderzeugung zusammenstellen kann. Somit kann man



Gernot Arp und Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

Abbildung 1.25: Konfokale Laserrastermikroskopie. Konfokalaufnahme des Biofilms einer mikrobiellen Gemeinschaft, die im Labor kultiviert wurde. Die grünen, stäbchenförmigen Zellen sind Zellen von *Pseudomonas aeruginosa*, die für den Versuch in den Biofilm eingeführt wurden. Es gibt weitere Zellen unterschiedlicher Farben in den verschiedenen Tiefen des Biofilms.

Bilder, die von verschiedenen Schichten gemacht wurden, digital übereinander legen, um so ein dreidimensionales Bild des gesamten Objekts zu rekonstruieren.

Das CSLM wird in der mikrobiellen Ökologie standardmäßig verwendet, besonders wenn es darum geht, Zellpopulationen in einem mikrobiellen Habitat zu identifizieren oder die in verschiedenen Schichten gelagerten Komponenten eines strukturierten mikrobiellen Habitats aufzulösen, zum Beispiel die Schichten eines Biofilms (Abbildung 1.25a). Das CSLM erweist sich als besonders nützlich, wenn man bei dicken Schichten die mikrobielle Zusammensetzung in der Tiefe analysieren möchte.

1.3.4 Das Elektronenmikroskop

Die Elektronenmikroskopie verwendet Elektronen statt sichtbarem Licht (Photonen), um Aufnahmen von Zellen und Zellstrukturen zu machen. Bei dem Elektronenmikroskop dienen Elektromagneten als Linsen. Das gesamte System steht im Vakuum. Elektronenmikroskope sind mit Kameras ausgestattet, damit der Wissenschaftler Aufnahmen machen kann, die man als *elektronenmikroskopische Aufnahme* bezeichnet.

Das Transmissionselektronenmikroskop

Das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) wird verwendet, um Zellen und Zellstrukturen bei sehr hoher Auflösung und Vergrößerung zu untersuchen. Die Auflösung eines TEM ist viel höher als die eines Lichtmikroskops, so dass man sogar Strukturen auf molekularer Ebene sichtbar machen kann. Das hat folgenden Grund: die Wellenlänge von Elektronen ist viel kürzer als die des sichtbaren Lichts und die Wellenlänge bestimmt die Auflösung. Dies sei an einem Beispiel erläutert. Während die Auflösung eines qualitativ hochwertigen Lichtmikroskops bei $0,2\ \mu\text{m}$ liegt, liegt das Auflösungsvermögen eines qualitativ hochwertigen TEMs bei ungefähr $0,2\ \text{nm}$ ($10^{-9}\ \text{m}$). Mit solch einer hohen Auflösung können sogar einzelne Proteine und Nucleinsäuremoleküle unter dem Elektronenmikroskop sichtbar gemacht werden (► Abbildung 1.26).

Im Gegensatz zum sichtbaren Licht dringen Elektronenstrahlen nicht sonderlich gut durch Zellen hindurch. Selbst eine einzelne Zelle ist zu dick, als dass man ihren Inhalt direkt unter dem TEM untersuchen könnte. Daher bedarf es besonderer Dünnschnitttechniken, um Präparate für die Untersuchung vorzubereiten. Eine einzelne Bakterienzelle wird zum Beispiel in viele, sehr dünne ($20\text{--}60\ \text{nm}$) Scheibchen geschnitten, die dann einzeln mit dem TEM untersucht wer-

den (Abbildung 1.26a). Um den erforderlichen Kontrast zu erhalten, werden die Präparate mit Farbstoffen wie Kaliumpermanganat, Uranylacetat, Lanthanacetat oder Bleisalzen behandelt. Da diese Substanzen aus Atomen mit hohem Atomgewicht bestehen, streuen sie die Elektronen sehr gut und verbessern auf diese Weise den Kontrast.

Das Rasterelektronenmikroskop

Wenn man nur die externen Merkmale eines Organismus untersuchen muss, dann ist es nicht nötig, Dünnschnitte anzufertigen. Intakte Zellen oder Zellkomponenten kann man mit dem Transmissionselektronenmikroskop unter Anwendung der so genannten *Negativfärbung* direkt ansehen (Abbildung 1.26b). Alternativ zu dieser Technik kann man das *Rasterelektronenmikroskop* benutzen (REM).

Bei der Arbeit mit dem Rasterelektronenmikroskop wird das Präparat mit dem dünnen Film eines Schwermetalls, wie zum Beispiel Gold, überzogen. Dann tas-

tet ein Elektronenstrahl das Präparat vor und zurück ab. Die von dem Metall gestreuten Elektronen werden gesammelt und aktivieren einen Bildschirm, der eine Aufnahme macht (Abbildung 1.26c). Mit dem REM kann man sogar recht große Präparate mit ausgezeichneter Tiefenschärfe (der Teil des Bildes, der scharf fokussiert wird) ansehen. Mit dem Rasterelektronenmikroskop steht dem Wissenschaftler ein breites Spektrum von Vergrößerungsstärken zur Verfügung, angefangen bei 15-facher bis hoch zu 100.000-facher Vergrößerung, aber normalerweise kann man nur die *Oberfläche* des Objektes sichtbar machen.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen, die mit dem TEM oder dem REM aufgenommen wurden, sind Schwarz-Weiß-Bilder. Oftmals wird mit Hilfe des Computers den Bildern Farbe zugefügt, um sie anschaulicher zu gestalten. Allerdings verbessert die Farbe nicht die Auflösung der Aufnahme oder die wissenschaftliche Information, die sich daraus schließen lässt. Die Auflösung wird von der Vergrößerung festgesetzt, mit der man die ursprüngliche Aufnahme anfertigte.

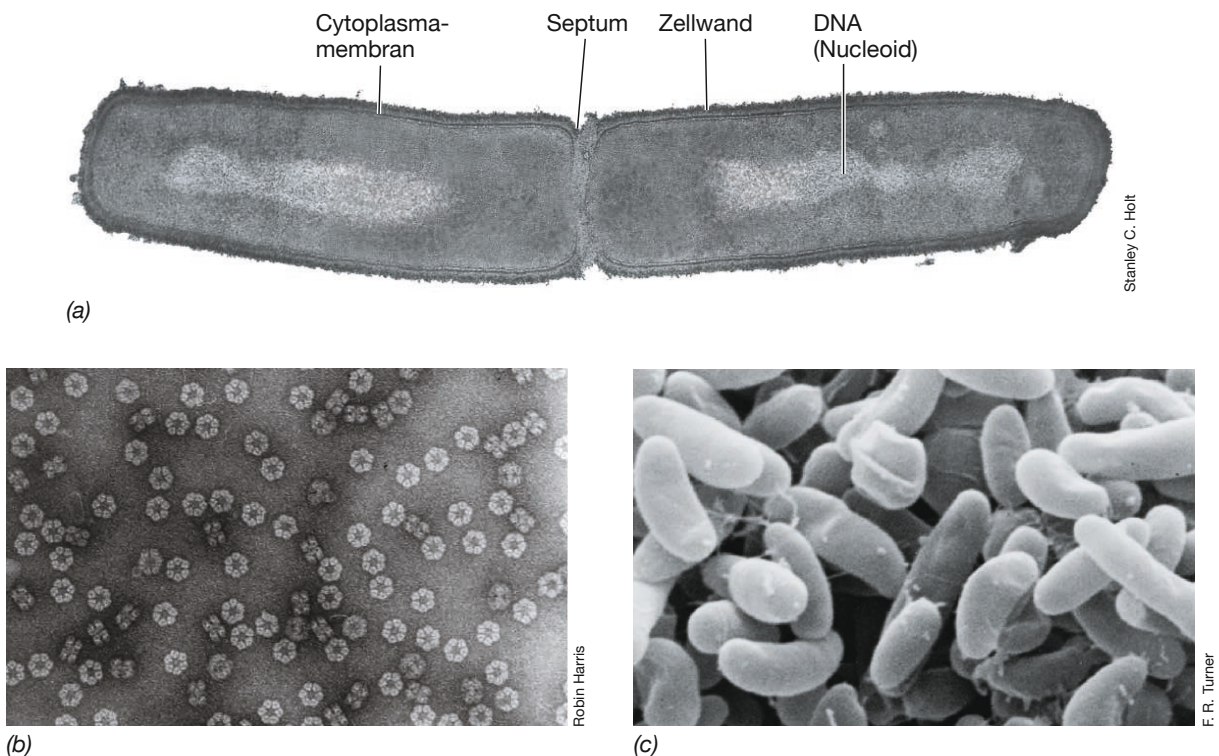
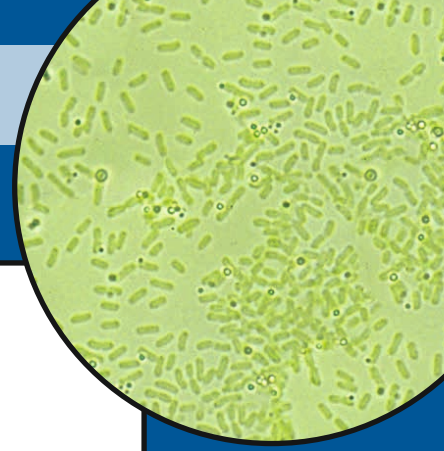


Abbildung 1.26: Elektronenmikroskopische Aufnahmen. (a) Aufnahme eines Dünnschnitts einer sich teilenden bakteriellen Zelle mit dem Transmissionselektronenmikroskop (TEM). Achten Sie auf die DNA, die das Nucleoid bildet. Die Zelle hat einen Durchmesser von ungefähr $0,8\ \mu\text{m}$. (b) TEM-Aufnahme negativ gefärbter Hämoglobinmoleküle. Jedes sechseckige Molekül hat einen Durchmesser von ungefähr 25 Nanometern (nm) und besteht aus zwei Ringen mit einem Durchmesser von 15 nm. (c) Aufnahme bakterieller Zellen mit dem Rasterelektronenmikroskop. Eine einzelne Zelle hat einen Durchmesser von $0,75\ \mu\text{m}$.

Grüne Schwefelbakterien sind phototrophe Mikroorganismen, die eine eigene phylogenetische Entwicklungslinie bilden und zu den ersten Phototrophen zählen, die auf der Erde auftraten.



2 Zellstruktur von Mikroorganismen

2.1 Zellform und Zellgröße	32
Zellmorphologie	32
Zellgröße und was es bedeutet, klein zu sein	36
2.2 Die Cytoplasmamembran und der Transport	36
Die Cytoplasmamembran	36
Die Funktionen der Cytoplasmamembran	39
Transport und Transportsysteme	40
2.3 Die Zellwände bei den Prokaryoten	44
Die Zellwand der <i>Bacteria</i> : Das Peptidoglykan	44
Die äußere Membran	48
Die Zellwände der <i>Archaea</i>	51
2.4 Weitere Zellwandstrukturen und Zellwandeinschlüsse	52
Zelloberflächenstrukturen	52
Zelleinschlüsse	54
Gasvesikel	56
Endosporen	57
2.5 Mikrobielle Bewegung	61
Geißeln und Beweglichkeit	61
Die Gleitbewegung	66
Mikrobielle Taxien	67
2.6 Die eukaryotische Zellstruktur	71
Die eukaryotische Zellstruktur und der Zellkern	71
Das Mitochondrium und das Hydrogenosom	72
Der Chloroplast	73
Endosymbiose: Verwandtschaften von Mitochondrien und Chloroplasten mit den <i>Bacteria</i>	73
Andere Organellen und eukaryotische Zellstrukturen	75

Zellform und Zellgröße

2.1

In diesem Kapitel werden wir die wichtigsten Strukturen der prokaryotischen Zelle betrachten: die Cytoplasmamembran, die Zellwand, die Zelloberflächenstrukturen, die Zelleinschlüsse und die Mechanismen der Motilität. Unser Augenmerk wird immer auf die Themen Struktur und Funktion gerichtet sein. Wir beginnen das Kapitel mit der Diskussion von zwei Schlüsseleigenschaften prokaryotischer Zellen – ihrer Form und ihrer Größe. Bei Zellformen der Prokaryoten unterscheidet man charakteristische Formen und extrem kleine Zellen. Die Form ist hilfreich, um Zellen der *Bacteria* und der *Archaea* zu unterscheiden. Die Zellgröße hat für ihre Biologie große Bedeutung.

2.1.1 Zellmorphologie

In der Mikrobiologie bezieht sich der Begriff **Morphologie** auf die Zellform. Bei den Prokaryoten unterscheidet man mehrere Zellformen, von denen die meisten allgemein gültige Bezeichnungen tragen, die zum Grundwortschatz des Mikrobiologen gehören.

Die Haupttypen der Morphologie

In der ► Abbildung 2.1 sehen Sie Beispiele für die morphologischen Typen der Bakterien. Ein Bakterium, das kugel- oder eiförmig ist, nennt man *Kokkus* (Plural Kokken). Ein Bakterium mit zylindrischer Form nennt man *Stäbchen* oder *Bacillus*. Manche Stäbchen sind gebogen und bilden spiralförmige Muster, die man als *Spirillen* bezeichnet. Bei vielen Prokaryoten bleiben die Zellen nach der Teilung in Gruppen oder Zellhaufen zusammen. Diese Anordnungen sind oft charakteristisch für bestimmte Genera. So formieren sich zum Beispiel Kokken zu langen Ketten (zum Beispiel das Bakterium *Streptococcus*), andere treten als dreidimensionale Würfel auf (*Sarcina*) und noch andere bilden traubenähnliche Zellhaufen (*Staphylococcus*).

Einige Bakteriengruppen sind sofort auf Grund der ungewöhnlichen Form ihrer Zellen erkennbar. Dazu gehören die Spirochäten, stark spiralisierte Bakterien, Bakterien mit Anhängen, deren Zellen schlauch- oder stielartige Auswüchse besitzen und filamentöse Bakterien, die lange, dünne Zellen oder Ketten von Zellen bilden.

Wenn Sie sich die abgebildeten Zellmorphologien anschauen, so sollten Sie beachten, dass dies *reprä-*

sentative Formen sind, von denen uns viele Variationen bekannt sind. Es gibt zum Beispiel dicke Stäbchen, kurze Stäbchen, lange Stäbchen, eine stäbchenförmige Zelle, die einfach in einer Dimension länger ist als in der anderen. Wir werden sogar noch quadratische und sternförmige Bakterien kennenlernen! Es gibt bei der Morphologie von Zellen kontinuierliche Übergänge, wobei einige Formen, wie die Stäbchen, sehr häufig vorkommen und andere eher selten.

Morphologie und Biologie

Zwar ist die Morphologie einer Zelle schnell zu erkennen, sie sagt aber nur wenig über die Eigenschaften der Zelle aus. Unter dem Lichtmikroskop sehen viele stäbchenförmige *Archaea* genauso aus wie stäbchenförmige *Bacteria*, wir wissen aber, dass sie verschiedenen phylogenetischen Domänen angehören. Daher ist es mit ganz wenigen Ausnahmen nicht möglich, von der Morphologie auf die Physiologie, Ökologie, Phylogenie oder jedwede andere Eigenschaft einer prokaryotischen Zelle zu schließen.

Wodurch wird die Morphologie einer Spezies bestimmt? Obwohl uns einiges darüber bekannt ist, *wie* die Zellform gesteuert wird, so wissen wir doch wenig darüber, *warum* eine bestimmte Zelle gerade diese Morphologie entwickelte. Wahrscheinlich sind mehrere selektive Kräfte an der Festlegung der Morphologie einer Spezies beteiligt. Zu diesen Kräften gehören die Optimierung der Nahrungsaufnahme (kleine Zellen und Zellen mit einem großen Verhältnis von Oberfläche zu Volumen), Schwimmfähigkeit in zähflüssigen Lebensräumen oder in der Nähe von Oberflächen (helikale oder spiralförmige Zellen), Gleitfähigkeit (filamentöse Bakterien) und so weiter. Somit handelt es sich bei der Morphologie nicht um eine triviale Eigenschaft einer mikrobiellen Zelle. Die Morphologie einer Zelle ist eine genetisch gesteuerte Eigenschaft und hat sich entwickelt, um die Fitness der Spezies in einem bestimmten Habitat zu maximieren.

2.1.2 Zellgröße und was es bedeutet, klein zu sein

Die Zellgrößen der Prokaryoten variieren von einem Durchmesser von nur ungefähr 0,2 µm bis zu einem Durchmesser von mehr als 700 µm (► Tabelle 2.1). Die weitaus meisten stäbchenförmigen Prokaryoten, die im Labor kultiviert wurden, sind zwischen 0,5 und 4 µm breit und weniger als 15 µm lang. Es gibt aber einige sehr große Prokaryoten, wie *Eupoliscium fishelsoni*, dessen Zellen länger als 600 µm (0,6 Millimeter) sind

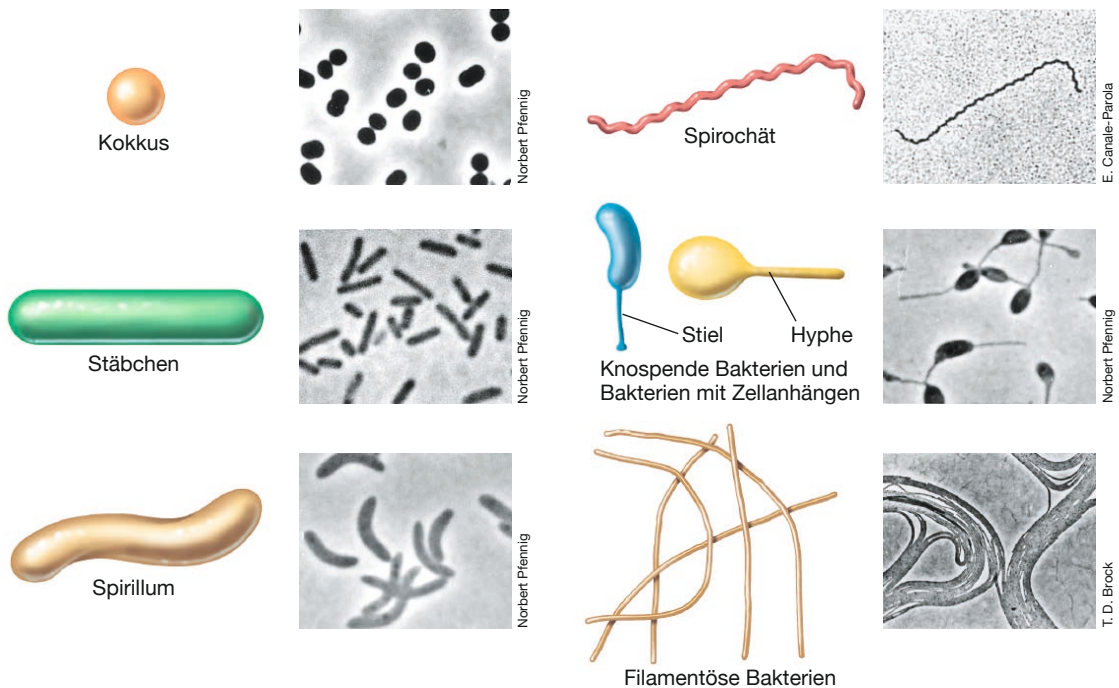


Abbildung 2.1: Repräsentative Zellmorphologien bei Prokaryoten. Neben jeder Zeichnung sehen Sie eine Phasenkontrast-aufnahme eines Modellorganismus mit der jeweiligen Morphologie. Die Organismen sind der Kokkus, *Thiocapsa roseopersicina* (Durchmesser einer einzelnen Zelle = 1,5 μm); Stäbchen, *Desulfoformenas acetoxidans* (Durchmesser = 1 μm); Spirillum, *Rhodospirillum rubrum* (Durchmesser = 1 μm); Spirochät, *Spirochaeta stenostrepta* (Durchmesser = 0,25 μm); knospend und mit Anhängen, *Rhodomicrobium vannielii* (Durchmesser = 1,2 μm); filamentös, *Chloroflexus aurantiacus* (Durchmesser = 0,8 μm).

(► Abbildung 2.2). Dieses Bakterium, phylogenetisch mit dem endosporenbildenden Bakterium *Clostridium* verwandt, ist ein Symbiont des Doktorfisches. *Epulopiscium fishelsoni* ist nicht nur wegen seiner Größe interessant, sondern auch wegen seiner ungewöhnlichen Zellteilung und der Mehrfachkopien seines Genoms. Es werden mehrere Tochterzellen gebildet und dann von der „Mutterzelle“ von *Epulopiscium* freigesetzt. Eine Mutterzelle von *Epulopiscium* enthält mehrere Tausend Kopien des Genoms, von denen eine jede ungefähr die Größe des Genoms von *Escherichia coli* (4,6 Millionen Basenpaare) hat. Diese viele Kopien scheinen notwendig zu sein, da das Zellvolumen von *Epulopiscium* so groß ist (Tabelle 2.1), dass eine Kopie des Genoms für die Transkription und Translation in der Zelle nicht reichen würde.

Die Zellen des größten uns bekannten Prokaryoten, des Schwefel-Chemolithotrophen *Thiomargarita* (Abbildung 2.2b) können einen Durchmesser von 750 μm erreichen und sind somit schon fast mit dem bloßen Auge sichtbar. Die Zellen besitzen eine Vakuole, in der Nitrat gespeichert wird, die bis zu 95 % des Volumens ausmacht. Man nimmt an, dass Probleme mit der Nährstoffaufnahme letztendlich die oberen Grenzen der Größe prokaryotischer Zellen bestimmen. Der Stoff-

wechsel einer Zelle verhält sich umgekehrt proportional zum Quadrat ihrer Größe. Bei sehr großen Zellen schränkt der Stoffwechsel die Nährstoffaufnahme so ein, dass die Zelle schließlich nicht mehr überleben kann, wohl aber kleinere Zellen.

Sehr große Zellen sind in der Welt der Prokaryoten nicht die Norm. Im Gegensatz zu *Thiomargarita* oder *Epulopiscium* liegen die Maße eines durchschnittlichen, stäbchenförmigen Prokaryoten, beispielsweise *E. coli*, bei ungefähr $1 \times 2 \mu\text{m}$. Diese Größe ist charakteristisch für die meisten Prokaryoten. Im Vergleich dazu können eukaryotische Zellen einen Durchmesser von 10 bis über 200 μm erreichen. Man kann also allgemein feststellen, dass prokaryotische Zellen im Vergleich zu eukaryotischen Zellen sehr klein sind.

Das Verhältnis von Zelloberfläche zu Zellvolumen, Wachstumsgeschwindigkeit und Evolution

Es bringt bedeutende Vorteile, klein zu sein. Im Verhältnis zum Zellvolumen haben kleine Zellen eine größere Oberfläche als große Zellen, das bedeutet, dass das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen größer ist. Denken Sie an einen runden Kokkus. Das Volumen dieser Zelle

Tabelle 2.1: Zellgröße und Zellvolumen einiger prokaryotischer Zellen, von der größten bis zur kleinsten

Organismus	Merkmale	Morphologie	Größe ^a (μm)	Zellvolumen (μm^3)	x-faches Volumen von <i>E. coli</i> (μm)
<i>Thiomargarita namibiensis</i>	Schwefel-Chemolithotropher	Kokken in Ketten	750	200.000.000	100.000.000
<i>Epulopiscium fishelsoni</i> ^a	Chemoorganotropher	Stäbchen mit spitz zulaufenden Enden	80 × 600	3.000.000	1.500.000
<i>Beggiatoa Spezies</i> ^a	Schwefel-Chemolithotropher	Filamente	50 × 160	1.000.000	500.000
<i>Achromatium oxaliferum</i>	Schwefel-Chemolithotropher	Kokken	35 × 95	80.000	40.000
<i>Lyngbya majuscula</i>	Cyanobakterium	Filamente	8 × 80	40.000	20.000
<i>Thiovulum majus</i>	Schwefel-Chemolithotropher	Kokken	18	3000	1500
<i>Staphylothermus marinus</i> ^a	Hyperthermophiler	Kokken in unregelmäßigen Gruppen	15	1800	900
<i>Magnetobacterium bavaricum</i>	Magnetotaktisches Bakterium	Stäbchen	2 × 10	30	15
<i>Escherichia coli</i>	Chemoorganotropher	Stäbchen	1 × 2	2	1
<i>Pelagibacter ubique</i> ^a	Mariner Chemoorganotropher	Stäbchen	0,2 × 0,5	0,014	0,007
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Pathogenes Bakterium	Pleomorph ^b	0,2	0,005	0,0025

^a Wenn nur eine Zahl gegeben ist, dann bezieht sich diese auf den Durchmesser einer kugelförmigen Zelle. Die angegebenen Werte beziehen sich auf die größte bekannte Zelle, die jeweils in der Spezies untersucht wurde. So hat beispielsweise eine durchschnittliche Zelle von *T. namibiensis* einen Durchmesser von nur ungefähr 200 μm . Doch es wurden schon Riesenzellen mit einem Durchmesser von 750 μm gefunden. Zum Vergleich: eine durchschnittliche Zelle von *S. marinus* hat einen Durchmesser von etwa 1 μm . Die Spezies *Beggiatoa*, die hier angegeben wurde, ist unklar und *E. fishelsoni* und *P. ubique* sind keine formell anerkannten taxonomischen Bezeichnungen.

^b *Mycoplasma* ist ein Bakterium ohne Zellwand und kann viele verschiedene Formen annehmen (pleomorph bedeutet „vielgestaltig“).

Quelle: Die Daten stammen von Schulz, H.N. und B.B. Jørgensen, 2001. Ann. Rev. Microbiol. 55: 105–137.

ist eine Funktion der dritten Potenz des Radius ($V = \frac{4}{3} \pi r^3$). Dagegen ist die Oberfläche eine Funktion der zweiten Potenz des Radius ($O = 4 \pi r^2$). Das Verhältnis von O/V bei einem Kokkus kann daher mit $3/r$ ausgedrückt werden (► Abbildung 2.3). Wenn die Größe der Zelle zunimmt, dann nimmt das Verhältnis von O/V ab. Schauen Sie sich zur Verdeutlichung dieses Sachverhaltes das Verhältnis von O/V bei einigen unterschiedlich großen Zellen in der Tabelle 2.1 an: *Pelagibacter ubique* 22, *E. coli* 4,5 und *E. fishelsoni* 0,05.

Das Verhältnis von O/V einer Zelle betrifft mehrere Aspekte der Zellbiologie, auch die Evolution. Da die Wachstumsrate einer Zelle unter anderem von der Geschwindigkeit des Nährstoffaustauschs abhängt, för-

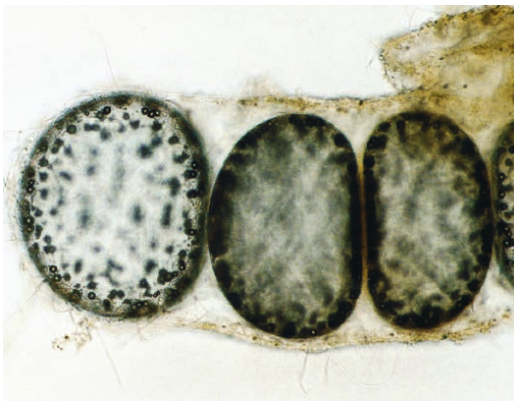
dert das höhere O/V-Verhältnis der kleineren Zellen einen schnelleren Nährstoffaustausch pro Einheit des Zellvolumens als bei größeren Zellen. Daher wachsen kleinere Zellen im Allgemeinen schneller als größere Zellen. Ferner bedeutete dies, dass pro Einheit verfügbarer Nährstoffe (die Nährstoffe, die für das Zellwachstum zur Verfügung stehen) kleine Zellen eine größere Population entwickeln als große Zellen. Wie wirkt sich das auf die Evolution aus?

Bei jeder Zellteilung wird das Chromosom der Zelle verdoppelt. Bei der DNA-Replikation treten spontane Fehler auf, so genannte *Mutationen*. Da die Mutationsrate bei allen Zellen unabhängig von der Größe ungefähr gleich zu sein scheint, bedeutet dies, dass die Zahl



Esther R. Angert, Harvard University

(a)



Heidi Schulz

(b)

Abbildung 2.2: Einige sehr große Prokaryoten. (a) Dunkelfeldaufnahme eines riesigen Prokaryoten, *Eupuliscium fishelsoni*. Die stäbchenförmige Zelle in diesem Feld ist ungefähr 600 μm (0,6 mm) lang und 75 μm breit und wird mit vier Zellen des Protisten (Eukaryot) *Paramecium* gezeigt, von denen jede ungefähr 150 μm lang ist. *E. fishelsoni* ist eine Spezies der *Bacteria*, phylogenetisch mit *Clostridium* verwandt. (b) *Thiomargarita namibiensis*, ein großer Schwefel-Chemolithotropher (Phylum *Proteobacteria* der *Bacteria*) und derzeit der größte uns bekannte Prokaryot. Der Durchmesser der Zelle liegt zwischen 400 bis 750 μm .

der Mutationen in einer Population steigt, je mehr Zellteilungen stattfinden. Mutationen sind der „Rohstoff“ der Evolution. Je größer die Mutationsgeschwindigkeit, desto größer sind die Evolutionsmöglichkeiten. Da prokaryotische Zellen relativ klein und genetisch haploid sind (weshalb Mutationen sofort sichtbar werden), sind sie im Allgemeinen in der Lage, schneller zu wachsen und sich weiterzuentwickeln als größere, genetisch diploide Zellen. Bei diesen letztgenannten ist nicht nur das Verhältnis von O/V kleiner, sondern die Wirkungen einer Mutation in einem Gen können durch eine zweite, nicht mutierte Genkopie überlagert werden. Diese grundlegenden Unterschiede zwischen prokaryotischen und eukaryotischer Zellen in Bezug auf Größe

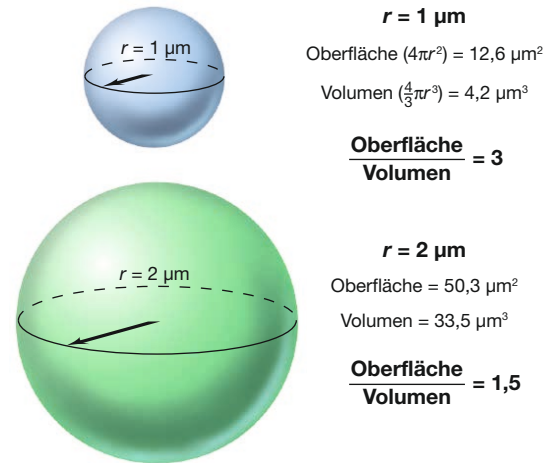


Abbildung 2.3: Das Verhältnis der Oberfläche und Volumen bei Zellen. In dem Maße, in dem die Größe der Zelle zunimmt, nimmt das Verhältnis Oberfläche zu Volumen ab.

und Genetik erklären, warum sich die Prokaryoten recht schnell an veränderte Umweltbedingungen und mühe- loser an neue Habitate anpassen können als eukaryotische Zellen. In späteren Kapiteln werden wir auf die Auswirkungen dieses Prinzips eingehen, zum Beispiel, was die enorme metabolische Vielfalt der Prokaryoten betrifft oder die Verbreitung der Antibiotikaresistenz.

Die unteren Grenzen der Zellgröße

Aus dem bisher Erarbeiteten könnte man also schließen: je kleiner Bakterien sind, desto größere selektive Vorteile werden sie in der Natur haben. Das ist allerdings nicht richtig, denn der Zellgröße sind untere Grenzwerte gesetzt. Schaut man sich das Volumen an, das nötig ist, um alle wichtigen Bestandteile einer unabhängigen Zelle unterzubringen – Proteine, Nucleinsäuren, Ribosomen und so weiter –, so kann eine Struktur mit einem Durchmesser von 0,1 μm oder weniger das einfach nicht leisten und Strukturen mit einem Durchmesser von 0,15 μm sind grenzwertig. Strukturen mit einem Durchmesser von 0,1 μm oder noch darunter, die in der Natur gelegentlich vorkommen, „sehen“ wie Bakterienzellen aus, sind es aber wahrscheinlich nicht. Trotzdem sind viele sehr kleine prokaryotische Zellen bekannt und viele wurden schon im Labor kultiviert. In den Ozeanen leben pro Milliliter 10^4 bis 10^5 winzige prokaryotische Zellen mit einem Durchmesser von 0,2 bis 0,4 μm . Später werden Sie lernen, dass viele pathogene Bakterien sehr klein sind. Untersucht man die Genome dieser Pathogenen so erkennt man, dass sie ausgeprägt „stromlinienförmig“ sind und ihnen viele Gene fehlen, deren Funktionen von ihren Wirten übernommen werden.

Die Cytoplasmamembran und der Transport

2.2

Im Folgenden werden wir die Struktur und Funktion eines sehr wichtigen Bestandteils der Zelle betrachten, der Cytoplasmamembran. Sie übernimmt viele Funktionen, eine der wichtigsten ist ihre „Wächterfunktion“ für Substanzen, die in die Zelle hineingelangen oder ausgeschieden werden.

2.2.1 Die Cytoplasmamembran

Die **Cytoplasmamembran** ist eine dünne Barriere, die die Zelle umgibt und das Cytoplasma von der Umgebung der Zelle trennt. Wenn die Membran beschädigt wird, dann wird der Zusammenhalt der Zelle zerstört, das Cytoplasma läuft in die Umgebung aus und die Zelle stirbt. Sie werden lernen, dass die Cytoplasmamembran nur wenig Schutz vor osmotischer Lyse bietet, aber eine hervorragende selektive Permeabilitätsbarriere ist.

Die Zusammensetzung der Membranen

Die allgemeine Struktur der Cytoplasmamembran ist eine Phospholipiddoppelschicht. Phospholipide enthalten sowohl hydrophobe (Fettsäuren) als auch hydrophile (Glycerinphosphat) Bestandteile und kommen in vielen verschiedenen chemischen Formen vor, die sich aus den verschiedenen Seitengruppen ergeben, die mit dem Glycerinrückgrat verknüpft sind (► Abbildung 2.4). Da Phospholipide in wässrigen Lösungen aggregieren, bilden sie auf natürliche Weise Doppelschichtstrukturen. In einer Phospholipidmembran weisen die Fettsäuren nach innen aufeinander zu und bilden dadurch eine hydrophobe Umgebung, während die hydrophilen Teile weiterhin der wässrigen äußeren Umgebung oder dem Cytoplasma ausgesetzt bleiben (Abbildung 2.4b).

Die Cytoplasmamembran einer Zelle hat eine Dicke von 6–8 Nanometern. Unter dem Elektronenmikroskop sieht sie aus wie zwei dunkle Linien, die durch eine helle Region getrennt sind (Abbildung 2.4c). Diese so genannte *Einheitsmembran* (wobei jede Phospholipid-

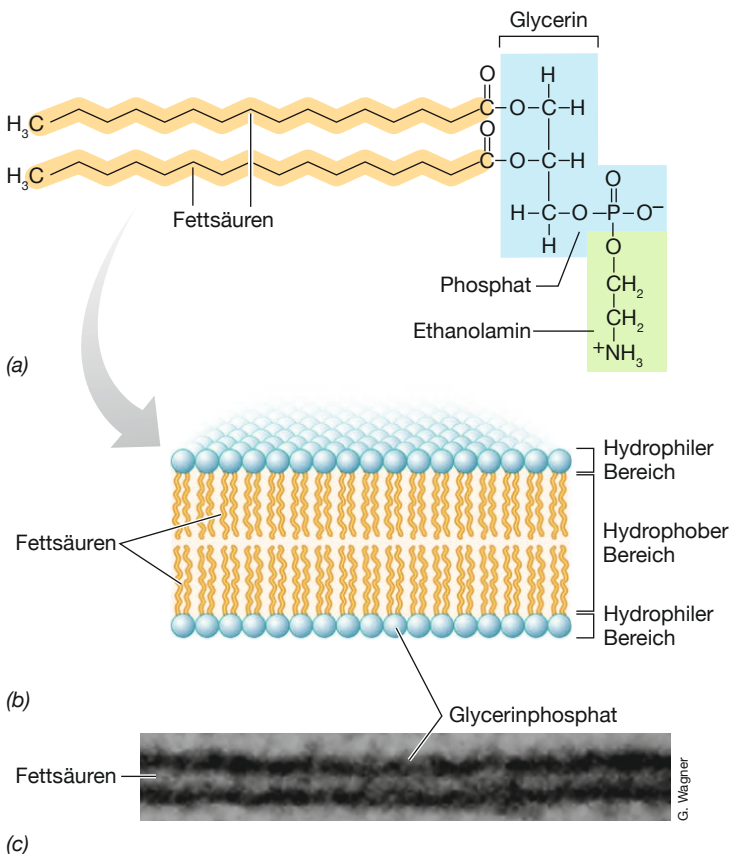


Abbildung 2.4: Membran mit einer Phospholipiddoppelschicht. (a) Struktur des Phospholipids Phosphatidylethanolamin. (b) Allgemeine Struktur der Doppelschicht der Membran; die blauen Bälle stellen Glycerin mit Phosphat dar und (oder) andere hydrophile Gruppen. (c) Aufnahme einer Membran mit dem Transmissionselektronenmikroskop. Die hell unterlegte Fläche ist die hydrophobe Region der in Teil b dargestellten Modellmembran.

schicht eine Hälfte der Einheit bildet) besteht aus einer Phospholipiddoppelschicht, in die Proteine eingebettet sind (► Abbildung 2.5). Zwar kann die Cytoplasmamembran in einer Abbildung recht steif wirken, doch in Wirklichkeit ist sie eher beweglich und in ihrer Konsistenz einem Leichtöl mit niedriger Viskosität ähnlich. Die Proteine haben eine gewisse Bewegungsfreiheit, es bleibt aber noch zu erforschen, wie groß diese genau ist. Die Cytoplasmamembranen einiger Bakterien werden durch Moleküle stabilisiert, die so genannten Hopanoide. Diese eher steifen, flachen Moleküle ähneln strukturell den Sterolen, Verbindungen, die die Membranen eukaryotischer Zellen stabilisieren, von denen viele keine Zellwand besitzen.

Membranproteine

Die wichtigsten Proteine der Cytoplasmamembran haben in den Regionen, die die Membran durchmessen, eine hydrophobe Oberfläche und dort hydrophile Oberflächen, wo sie die Umgebung und das Cytoplasma berühren. Die *äußere* Oberfläche der Cytoplasmamembran ist der Umgebung zugewandt. Bei den gramnegativen Bakterien tritt sie mit einer Reihe von Proteinen in Wechselwirkung, die Substrate binden oder große Moleküle für den Transport ins Zellinnere vorbereiten (Periplasmaproteine, siehe Abschnitt 2.2.2). Die *innere* Seite der Cytoplasmamembran ist zum Cytoplasma ausgerichtet und tritt mit Proteinen in Wechselwirkung, die an Reaktionen zur Energiebildung mitwirken oder andere wichtige Zellfunktionen ausführen.

Viele Membranproteine sind fest in die Membran eingebettet und werden daher als *integrale* Membranproteine bezeichnet. Andere Proteine sind zu einem Teil in der Membran verankert oder in Regionen außerhalb der Membran integriert, die in die Zelle hinein- oder aus der Zelle herausragen (Abbildung 2.5). Es gibt noch weitere Proteine, die so genannten peripheren Membranproteine, die nicht in die Membran eingebettet sind, trotzdem aber fest mit der Membranoberfläche verbunden. Einige dieser peripheren Membranproteine sind Lipoproteine, die am Aminoende des Proteins einen Lipidschwanz besitzen, der das Protein in die Membran verankert. Periphere Membranproteine treten bei wichtigen zellulären Abläufen wie beispielsweise dem Energiemetabolismus oder dem Transport mit integralen Membranproteinen in Wechselwirkung.

Die Proteine sind in der Cytoplasmamembran in Gruppen angeordnet (Abbildung 2.5). Dank dieser Struktur können Proteine, die miteinander in Wechselwirkung treten müssen, nebeneinander liegen. Eine Membran enthält sehr viele Proteine. Man nimmt an, dass die Abweichung in der Stärke der Lipiddoppelschicht (6–8 nm) notwendig ist, damit dickere und dünnere Inseln der Membranproteine aufgenommen werden können.

Die Membranen der Archaea

Im Gegensatz zu den Lipiden der *Bacteria* und *Eukarya*, in denen die Fettsäuren durch Esterbindungen an das Glycerin gebunden sind, enthalten die Lipide der

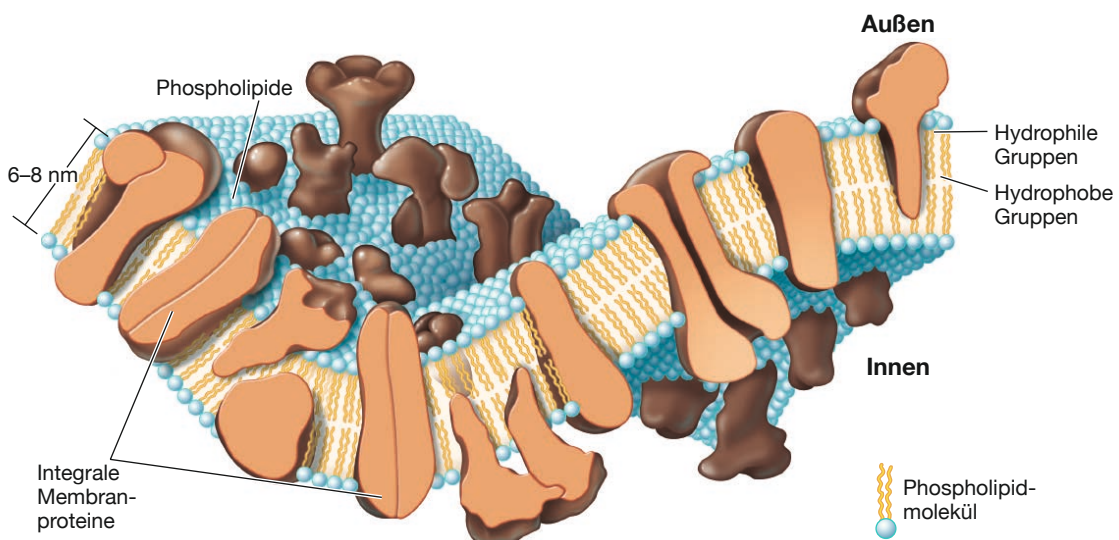


Abbildung 2.5: Struktur der Cytoplasmamembran. Die innere Oberfläche (*Innen*) zeigt in Richtung des Cytoplasmas und die äußere Oberfläche (*Außen*) zeigt in Richtung der Umgebung. Die Matrix der Cytoplasmamembran besteht aus Phospholipiden, wobei Proteine in die Oberfläche eingebettet oder mit der Oberfläche assoziiert sind. Obwohl es einige chemische Unterschiede gibt, ist die Struktur der dargestellten Cytoplasmamembran bei den Prokaryoten und den Eukaryoten im Allgemeinen ähnlich (aber in Abbildung 2.7e ist eine Ausnahme von dem Doppelschichtmodell abgebildet).

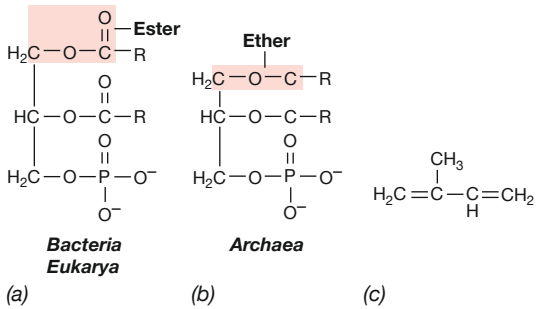


Abbildung 2.6: Allgemeine Struktur der Lipide. (a) Die Esterbindung und (b) die Etherbindung. (c) Isopren, die Grundstruktur der hydrophoben Seitenketten der archaeellen Lipide. Im Gegensatz dazu bestehen die Seitenketten der Lipide bei *Bacteria* und *Eukarya* aus Fettsäuren (siehe Abbildung 2.4a).

Archaea Etherbindungen zwischen dem Glycerin und ihren hydrophoben Seitenketten (► Abbildung 2.6). Archaeelle Lipide haben keine echten Fettsäureketten, sondern ihre Seitenketten bestehen aus sich wiederholenden Einheiten des hydrophoben, aus fünf Kohlenstoffatomen bestehenden Isoprens (Abbildung 2.6c).

Die archaeelle Cytoplasmamembran besteht entweder aus Glycerindiether (► Abbildung 2.7a) mit 20 Kohlenstoffseitenketten (die 20-C-Einheit bezeichnet man als *Phytanyl*gruppe) oder aus Diglycerintetraethern (Abbildung 2.7b) mit 40 Kohlenstoffseitenketten. Im Tetraethermolekül sind die Phytanylseitenketten, die von jedem Glycerinmolekül nach innen weisen, kovalent gebunden. Dadurch ergibt sich eine Lipidmonoschicht und keine Lipiddoppelschicht (Abbildung 2.7d,e). Im Gegensatz zu Lipiddoppelschichten sind Lipidmonoschichten gegenüber hohen Temperaturen extrem widerstandsfähig und daher bei Hyperthermophilen, das sind Prokaryoten, die bei Temperaturen über 80 °C wachsen, weitverbreitet. Es gibt auch Mem-

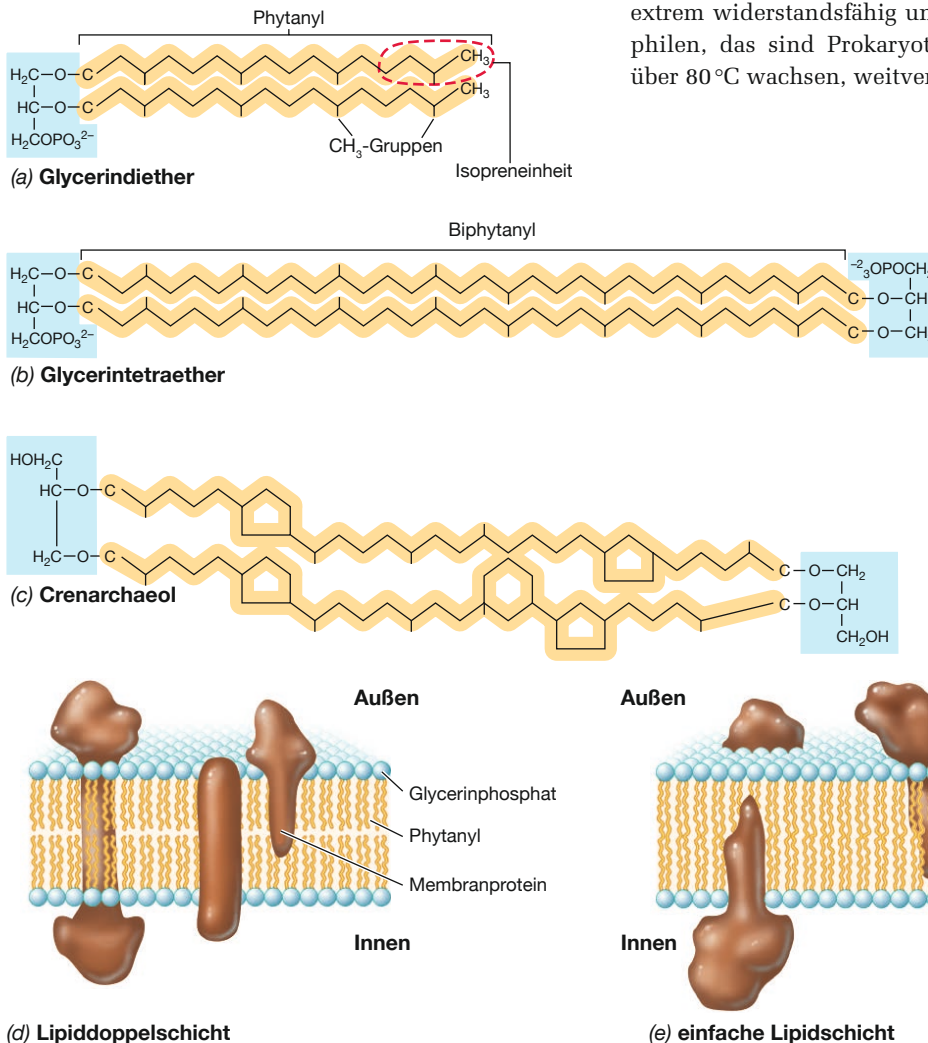


Abbildung 2.7: Hauptlipide der *Archaea* und die Struktur der archaeellen Membran. (a,b) Beachten Sie, dass der Kohlenwasserstoff des Lipids in beiden Fällen durch eine Etherbindung an das Glycerin gebunden ist. Der Kohlenwasserstoff ist Phytanyl (C₂₀) in Teil a und Biphytanyl (C₄₀) in Teil b. (c) Ein Hauptlipid bei den *Crenarchaeota* ist Crenarchaeol, ein Lipid, das 5- und 6-Kohlenstoffringe enthält. (d,e) Bei den *Archaea* kann die Membranstruktur eine Doppelschicht oder eine Einzelschicht sein.

branen, die aus Doppelschichten und Monoschichten bestehen, bei denen einige der nach innen, gegeneinander weisenden hydrophoben Lipide kovalent gebunden sind und einige nicht.

Viele archaeele Lipide enthalten auch Ringe innerhalb der Kohlenwasserstoffketten. So enthält zum Beispiel *Crenarchaeol*, ein bei den *Crenarchaeota* weitverbreitetes Lipid vier Cyclopentylringe und einen Cyclohexylring (Abbildung 2.7c). Die vorherrschenden Membranlipide der meisten Euryarchaeota, beispielsweise der Methanogenen und der extrem Halophilen, sind Glycolipide. Das sind Lipide, bei denen ein Kohlenhydratrest an Glycerin gebunden ist. Die Ringe, die in den Kohlenwasserstoffseitenketten gebildet werden, beeinflussen die Eigenschaften der Lipide (und damit die gesamte Funktion der Membran). Man hat festgestellt, dass die Anzahl und Position dieser Ringe in den Lipiden der verschiedenen Spezies stark variiert.

Trotz der chemischen Unterschiede zwischen den Cytoplasmamembranen der *Archaea* und den Organismen anderer Domänen ist die Grundkonstruktion der archaeele Cytoplasmamembran – hydrophile Oberflächen und ein hydrophobes Inneres – und der Membranen der *Bacteria* und *Eukarya* gleich. Die Evolution wählte diese Form aus, weil es die beste Lösung ist für die Hauptaufgabe der Cytoplasmamembran – Permeabilität. Auf dieses Thema werden wir im Folgenden eingehen.

2.2.2 Die Funktionen der Cytoplasmamembran

Die Cytoplasmamembran ist mehr als nur eine Barriere, die das Innere vom Äußeren der Zelle trennt. Die Membran übernimmt mehrere für die Zellfunktion sehr wichtige Aufgaben. Vor allem dient die Membran als *Permeabilitätsbarriere*, die das ungesteuerte Eintreten und Auslaufen von Bestandteilen des Cytoplasmas in die Zelle hinein oder aus ihr heraus verhindert. Ferner ist die Membran für viele Proteine ein Anker, von denen einige Enzyme sind, die die bioenergetischen Abläufe katalysieren, während andere für den Transport von Substanzen in die Zelle oder aus der Zelle heraus verantwortlich sind. Im nächsten Kapitel werden Sie sehen, dass die Cytoplasmamembran außerdem der Hauptort der *Energiespeicherung* der Zelle ist. Die Cytoplasmamembran kann energetisch geladen vorkommen, wobei eine Abspaltung von Protonen (H^+) von Hydroxylionen (OH^-) über die gesamte Oberfläche stattfindet. Diese Ladungstrennung ist eine Form von Energie, vergleichbar mit der potenziellen Energie einer geladenen Batterie. Diese Energiequelle, die so genannte protonenmotorische Kraft, ist für den

Antrieb vieler energiegebender Funktionen in der Zelle verantwortlich, dazu gehören auch einige Arten von Transport, Motilität und die Biosynthese von ATP.

Die Cytoplasmamembran als Permeabilitätsbarriere

Das Cytoplasma ist eine Lösung aus Salzen, Zuckern, Aminosäuren, Nucleotiden und einer Vielzahl anderer Substanzen. Die hydrophobe Natur der Cytoplasmamembran (Abbildung 2.5) macht diese Membran zu einer engmaschigen Diffusionsgrenze für diese Substanzen. Eine Substanz, die die Membran ungehindert in beide Richtungen durchqueren darf, ist Wasser. Es handelt sich zwar um ein schwach polares Molekül, doch ist es so klein, dass es zwischen den Phospholipidmolekülen der Lipiddoppelschicht hindurch gelangt (► Tabelle 2.2). Außerdem wird die Bewegung des Wassers durch die Membran von Transportproteinen, den *Aquaporinen*, beträchtlich beschleunigt. Das Aquaporin von *Escherichia coli* importiert und exportiert Wasser, je nachdem, ob die osmotischen Bedingungen im Cytoplasma hoch oder niedrig sind. Die relative Permeabilität der Membran für einige wenige biologisch relevante Substanzen wird in Tabelle 2.2 angegeben. Wie Sie aus der Tabelle ersehen, können die meisten Substanzen nicht passiv in die Zelle eintreten, sondern müssen transportiert werden.

Transportproteine

Transportproteine leisten mehr als nur die Beförderung von Substanzen durch die Membran – sie *sammeln* gelöste Stoffe gegen den Konzentrationsgradienten. Es ist leicht, die Notwendigkeit von trägerunterstützten Transporten zu verstehen. Wenn gelöste Stoffe nur durch Diffusion in die Zelle gelangen könnten, dann wären die Zellen niemals in der Lage, die für den Ablauf biochemischer Reaktionen erforderlichen intrazellulären Konzentrationen zu erreichen. Das heißt, das Verhältnis von Aufnahme und intrazellulärer Konzentration würde niemals die externe Konzentration übertreffen, die in der Natur oftmals sehr niedrig ist (► Abbildung 2.8). Daher müssen Zellen über Mechanismen verfügen, um gelöste Stoffe – von denen die meisten lebensnotwendig sind –, in Konzentrationen anzusammeln, die größer sind als die in ihren Habitaten. Darin besteht die Aufgabe der Transportproteine.

Transportproteine besitzen mehrere charakteristische Eigenschaften. Anders als bei der Diffusion zeigen Transportsysteme einen *Sättigungseffekt*. Wenn die Konzentration einer Substanz ausreichend hoch ist, um den Träger zu sättigen, was in der Natur sogar bei sehr niedrigen Substratkonzentrationen vorkom-

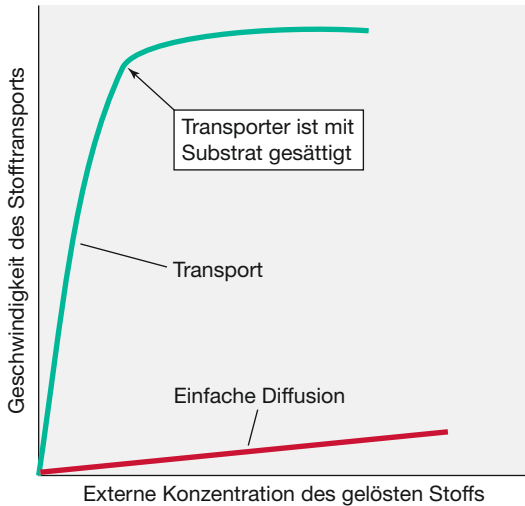


Abbildung 2.8: Transport versus Diffusion. Beim Transport hat die Aufnahmemenge den Sättigungsgrad bei relativ geringer äußerer Konzentration erreicht.

men kann, ist die Aufnahmegeschwindigkeit maximal und das Hinzufügen von Substrat erhöht die Aufnahmegeschwindigkeit nicht mehr (Abbildung 2.8). Diese charakteristische Eigenschaft der Transportproteine ist sehr wichtig für ein System, das Nährstoffe aus einer oftmals sehr verdünnten Nährstoffumgebung konzentrieren muss. Eine weitere Eigenschaft des trägergestützten Transports ist die hoch spezifische Natur des Transportvorgangs. Viele Trägerproteine reagieren nur mit einem einzigen Molekül, während wenige andere für eine eng verwandte Klasse von Molekülen Affinität zeigen, zum Beispiel Zucker oder Aminosäuren. Diese

Effektivität bei der Aufnahme führt dazu, dass nicht für jede einzelne Aminosäure oder jeden einzelnen Zucker verschiedene Transportproteine vorliegen müssen.

Die dritte und sehr wichtige Eigenschaft von Transportsystemen besteht darin, dass deren Biosynthese von der Zelle stark reguliert wird. Das heißt, dass der spezifische Anteil von Transportproteinen, der in der Cytoplasmamembran der Zelle jeweils vorliegt, sowohl von den in der Umgebung vorkommenden Nährstoffen als auch von deren Konzentration abhängt. Diese Steuerung der Biosynthese ist wichtig, weil ein bestimmter Nährstoff bei hohen Konzentrationen von einem Typ von Transporter in die Zelle importiert wird und bei niedrigen Konzentrationen des Nährstoffs von einem anderen Transporter mit höherer Affinität.

2.2.3 Transport und Transportsysteme

Der Nährstofftransport ist ein lebenswichtiger Vorgang. Die Zelle muss für ihren Metabolismus und ihr Wachstum ständig Nährstoffe aufnehmen und Stoffwechselprodukte ausscheiden. Für diese Vorgänge gibt es bei den Prokaryoten mehrere unterschiedliche Mechanismen, von denen ein jeder charakteristische Merkmale aufweist. Im Folgenden werden wir uns mit diesem Thema befassen.

Struktur und Funktion von Membrantransportproteinen

Bei den Prokaryoten gibt es mindestens drei Transportsysteme: einfacher Transport, Gruppentranslokation und das ABC-System. Beim **einfachen Transport**

Tabelle 2.2: Vergleich der Permeabilität von Membranen für verschiedene Moleküle

Substanz	Permeabilitätsrate ^a	Eindringvermögen in die Zelle durch Diffusion
Wasser	100	ausgezeichnet
Glycerin	0,1	gut
Tryptophan	0,001	durchschnittlich/schwach
Glucose	0,001	durchschnittlich/schwach
Chloridion (Cl ⁻)	0,000001	sehr schwach
Kaliumion (K ⁺)	0,0000001	außerordentlich schwach
Natriumion (Na ⁺)	0,00000001	außerordentlich schwach

^aSkalierung der relativen Permeabilität, bezogen auf die Permeabilität von Wasser, das mit 100 zu Grunde gelegt wird. Die Permeabilität der Membran für Wasser kann durch Aquaporine beeinflusst werden (siehe Text).

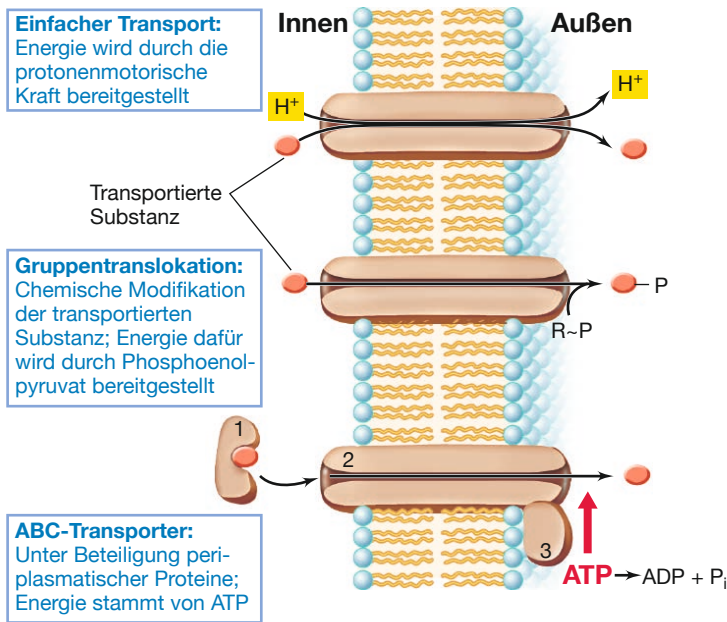


Abbildung 2.9: Die drei Klassen von Transportsystemen. Beachten Sie, wie einfache Transporter und das ABC-System Substanzen ohne chemische Veränderung transportieren, während die Gruppentranslokation zur chemischen Veränderung (in diesem Fall Phosphorylierung) der Transportsubstanz führt. Die drei Proteine des ABC-Systems sind mit 1, 2 und 3 beschriftet.

wirkt nur ein membrandurchspannendes Protein mit, bei der Gruppentranslokation ist eine Reihe von Proteinen am Transportvorgang beteiligt und beim ABC-System arbeiten drei Bestandteile zusammen: ein substratbindendes Protein, ein Membrantransporter und ein ATP-hydrolysierendes Protein (► Abbildung 2.9). Alle Transportsysteme benötigen in irgendeiner Form Energie, entweder in Form der protonenmotorischen Kraft oder in Form von ATP oder einer anderen, energiereichen organischen Verbindung.

In Abbildung 2.9 sind die Transportsysteme vergleichend dargestellt. Ganz gleich um welches System es sich handelt, die membrandurchspannenden Proteine weisen in der Aminosäuresequenz signifikante Ähnlichkeiten auf. Dies ist als Beweis ihrer gemeinsamen evolutionären Wurzeln zu verstehen. Membrantransporter bilden 12 α -Helices, die sich vor und zurück durch die Membran winden und so einen Kanal bilden. Durch diesen Kanal wird dann die Substanz in die Zelle transportiert (► Abbildung 2.10). Zu dem Transportvorgang gehört eine Konformationsänderung in dem Membranprotein, nachdem das Substrat gebunden wurde. Wie ein Tor, das sich öffnet, transportiert die Konformationsänderung dann das Substrat in die Zelle.

Es gibt mindestens drei Typen von Transportern: Uniporter, Symporter und Antiporter. *Uniporter* sind Proteine, die ein Molekül in eine Richtung durch die Membran transportieren, entweder hinein oder hinaus. *Symporter* sind Co-Transporter. Sie transportieren ein Molekül zusammen mit einer anderen Substanz, normalerweise einem Proton. *Antiporter* sind Proteine, die ein Molekül in die Zelle hinein bringen und gleichzeitig ein Molekül aus der Zelle hinaus transportieren.

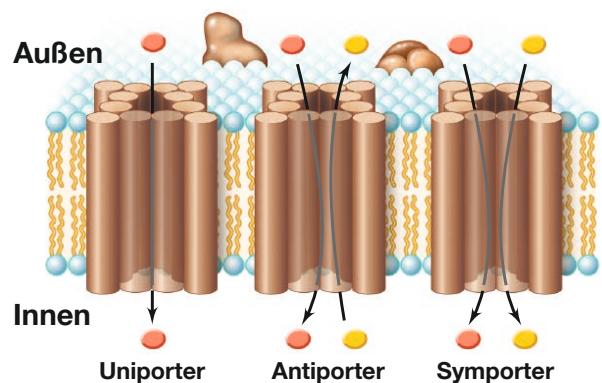


Abbildung 2.10: Struktur der membrandurchziehenden Transporter und Arten von Transportabläufen. Membrandurchziehende Transporter bestehen aus 12 α -Helices (jede als Zylinder dargestellt), die sich verdichten und einen Kanal bilden, der die Membran durchzieht. Sie sehen hier drei verschiedene Transportvorgänge; bei den Antiportern und den Symportern ist die mittransportierte Substanz gelb dargestellt.

Der einfache Transport: Die Lactose-Permease bei *Escherichia coli*

Das Bakterium *Escherichia coli* metabolisiert das Disaccharid Lactose. Lactose wird von den Zellen von *E. coli* durch die Aktivität eines Transportproteins aufgenommen, der *Lac-Permease*, die zu den Symportern gehört. Später werden Sie lernen, dass die *Lac-Permease* eines von drei Proteinen ist, die *E. coli* zur Metabolisierung von Lactose benötigt und dass die Synthese dieser Proteine von der Zelle stark reguliert wird (siehe Abschnitt 8.2.4).

Was für alle Transportsysteme gilt, trifft auch in diesem Fall zu: Die Aktivität der Lac-Permease benötigt Energie. Bei dem Transport eines jeden Lactosemoleküls in die Zelle wird die Energie der protonenmotorischen Kraft durch den Co-Transport von Protonen in das Cytoplasma verringert. Dank energiegewinnender Reaktionen wird die Energie der Membran wieder aufgebaut, worauf wir in Kapitel 3 genauer eingehen werden. Somit ist das Endergebnis der Aktivität der Lac-Permease eine energieangetriebene Konzentration von Lactose im Cytoplasma gegen den Konzentrationsgradienten.

Gruppentranslokation: Das Phosphotransferasesystem

Die **Gruppentranslokation** ist ein Transportmechanismus, bei dem die zu transportierende Substanz während der Beförderung durch die Membran chemisch verändert wird. Eines der am eingehendsten untersuchten Translokationssysteme bringt die Zucker Glucose, Mannose und Fructose in die Zellen von *E. coli*. Diese Verbindungen werden während des Transports vom *Phosphotransferasesystem* phosphoryliert.

Das Phosphotransferasesystem besteht aus einer Familie von Proteinen, die aufeinander abgestimmt arbeiten. Für den Transport eines bestimmten Zuckers sind fünf Proteine erforderlich. Bevor der Zucker transportiert wird, werden die Proteine des Phosphotransferasesystems selber abwechselnd gleich dem Ablauf einer Kaskade solange phosphoryliert und dephosphoryliert bis der Transporter (Enzym II_c) den Zucker während des Transportvorgangs phosphoryliert. Ein kleines Protein mit der Bezeichnung *HPr*, das Enzym, das *HPr* phosphoryliert (Enzym *I*) und das Enzym II_c sind alle drei Cytoplasmaproteine. Im Gegensatz zu diesen liegt Enzym II_b auf der inneren

Membranoberfläche und Enzym II_c ist ein integrales Membranprotein. *HPr* und Enzym *I* sind nichtspezifische Bestandteile des Phosphotransferasesystems und wirken an der Aufnahme verschiedener Zucker mit. Es gibt verschiedene Formen von Enzym *II*, von denen jede für den Transport eines anderen Zuckers verantwortlich ist (► Abbildung 2.11). Die Energie für das Phosphotransferasesystem stammt von der energiereichen Verbindung Phosphoenolpyruvat, einem wichtigen Zwischenprodukt der Glykolyse, einem wichtigen Weg des Glucosemetabolismus in den meisten Zellen (siehe Abschnitt 3.4.1).

Periplasmatische Bindeproteine und das ABC-System

Etwas später in diesem Kapitel werden Sie erfahren, dass bei den gramnegativen Bakterien zwischen der Cytoplasmamembran und einer zweiten Membranschicht, der so genannten *äußeren Membran*, einem gramnegativen Teil der Zellwand, ein Zwischenraum liegt, das *Periplasma* (siehe Abschnitt 2.3.2). Das Periplasma enthält viele verschiedene Proteine, von denen einige am Transport mitwirken. Man bezeichnet sie als *periplasmatische Bindeproteine*. Transportsysteme, die periplasmatische Bindeproteine zusammen mit einem Membrantransporter und ATP-hydrolysierenden Proteinen verwenden, bezeichnet man als **ABC-Transportsysteme**, wobei „ABC“ für ATP-Bindungskassette („ATP binding cassette“) steht, einer Struktureigenschaft von Proteinen, die ATP binden (► Abbildung 2.12). Bei den Prokaryoten hat man mehr als 200 verschiedene ABC-Transportsysteme entdeckt. ABC-

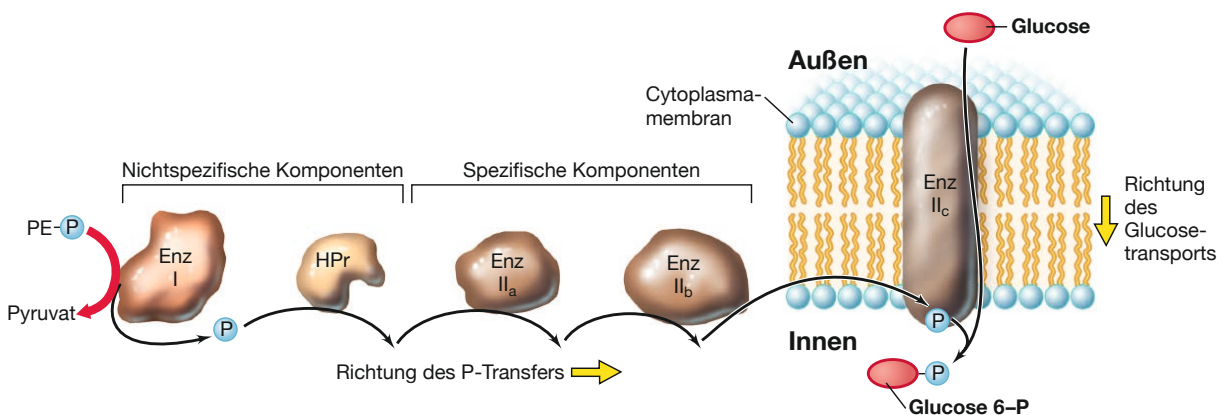


Abbildung 2.11: Mechanismus des Phosphotransferasesystems bei *Escherichia coli*. Für die Aufnahme von Glucose besteht das System aus fünf Proteinen: Enzym (Enz) *I*, die Enzyme II_a , II_b und II_c und *HPr*. Ausgehend von Phosphoenolpyruvat (PE-P) läuft die Phosphatkaskade zu Enzym II_c und dieses transportiert und phosphoryliert den Zucker. Die Proteine *HPr* und Enz *I* sind nichtspezifisch und wirken bei dem Transport aller Zucker mit. Die Bestandteile von Enz *II* sind für einen bestimmten Zucker spezifisch.

Transportersysteme dienen der Aufnahme von organischen Verbindungen wie Zucker und Aminosäuren, anorganischen Nährstoffen, wie Sulfat und Phosphat und von Spurenelementen.

Eine typische Eigenschaft periplasmatischer Bindeproteine ist ihre extrem hohe Substrataffinität. Diese Proteine können ihre Substrate sogar dann binden, wenn sie in extrem niedriger Konzentration vorkommen, zum Beispiel bei weniger als 1 Mikromolar (10^{-6}M). Wenn das Substrat aufgenommen wurde, tritt das periplasmatische Bindeprotein mit seinem Membrantransporter in Wechselwirkung und führt das Substrat mit der aus der ATP-Hydrolyse gewonnenen Energie in die Zelle ein.

Obwohl grampositive Bakterien kein Periplasma haben, nutzen sie auch ABC-Transportersysteme. Bei den grampositiven Bakterien sind die substratbindenden Proteine in der äußeren Oberfläche der Cytoplasmamembran verankert. Wenn diese Proteine ihr Substrat aber gebunden haben, dann interagieren sie mit einem Membrantransporter und katalysieren die Substrataufnahme unter ATP-Hydrolyse, genauso wie gramnegative Bakterien.

Der Proteinexport

Bisher haben wir uns bei dem Thema Transport auf kleine Moleküle beschränkt. Wie gelangen nun große Moleküle, zum Beispiel Proteine, aus der Zelle hinaus? Viele Proteine müssen entweder über die Cytoplasmamembran transportiert werden oder auf spezifische Weise in die Membran eingefügt werden, um richtig zu

funktionieren. Bei prokaryotischen Zellen erfolgt der Eintritt oder der Austritt durch die Membran durch die Aktivität anderer Proteine, der so genannten *Translokasen*, von denen die wichtigste das Sec-System (*Sec* für Sekretion) ist. Das Sec-System führt sowohl Proteine als auch integrale Membranproteine in die Membran ein. Das Sec-System kann die zum Transport bestimmten Proteine erkennen, weil sie auf spezifische Weise gekennzeichnet wurden. Auf diesen Vorgang werden wir später eingehen (siehe Abschnitt 6.5.6).

Proteinexport ist für Bakterien wichtig, weil viele bakterielle Enzyme außerhalb der Zelle funktionieren müssen (Exoenzyme). Zum Beispiel werden hydrolytische Exoenzyme wie Amylase oder Cellulase direkt in die Umgebung ausgeschieden, wo sie Stärke oder Cellulose jeweils zu Glucose spalten. Die Glucose wird dann von der Zelle als Kohlenstoff- oder Energiequelle genutzt. Bei den gramnegativen Bakterien sind viele Enzyme, die die Cytoplasmamembran durchqueren müssen, im Periplasma lokalisiert. Außerdem scheiden viele pathogene Bakterien während der Infektion des Wirts Proteintoxine oder andere toxische Proteine aus. Viele Toxine werden von einem zweiten Translokase-System ausgeschieden, dem so genannten *Typ-III*-Sekretionssystem. Im Gegensatz zum Sec-System wird bei diesem System das ausgeschiedene Protein von der Bakterienzelle direkt in den Wirt, zum Beispiel in eine menschliche Zelle, transportiert. All diese großen Moleküle müssen durch die Cytoplasmamembran hindurch und Translokasen wie SecYEG und das *Typ-III*-Sekretionssystem unterstützen diese Transportvorgänge.

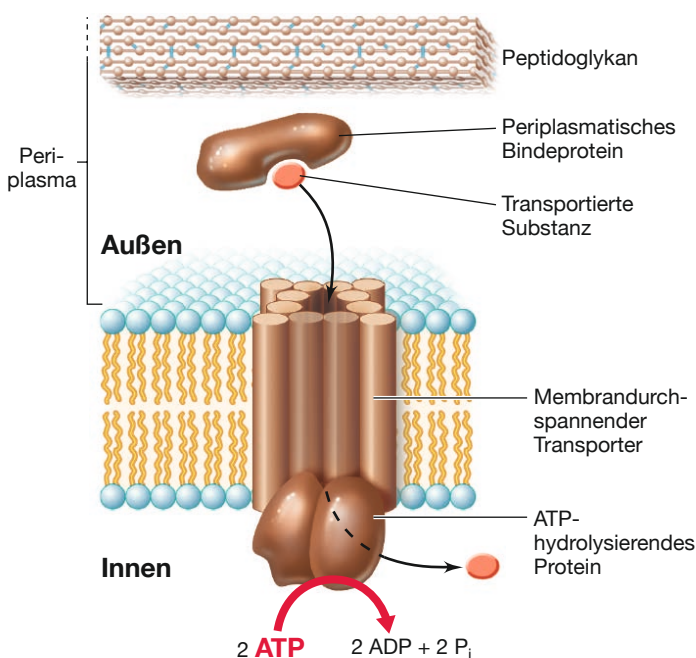


Abbildung 2.12: Mechanismus eines ABC-Transporters. Das periplasmatische Bindeprotein weist eine hohe Affinität zum Substrat auf, das die Membran durchziehende Protein aus dem Transportkanal und die cytoplasmatischen ATP-hydrolysierenden Proteine liefern die Energie für den Transportvorgang.

Die Zellwände bei den Prokaryoten

2.3

2.3.1 Die Zellwand der *Bacteria*: Das Peptidoglykan

Auf Grund der Aktivitäten der Transportersysteme enthält das Cytoplasma der Bakterienzellen eine hohe Konzentration gelöster Stoffe. Das hat einen beträchtlichen hydrostatischen Druck zu Folge – in den meisten bakteriellen Zellen ungefähr 2 Atmosphären. Dies entspricht in etwa dem Druck eines Autoreifens. Um diesem Druck standzuhalten und nicht zu platzen (Zelllyse), haben die Bakterienzellen Zellwände. Abgesehen

davon, dass sie die Zelle vor osmotischer Lyse schützen, verleihen die Zellwände der Zelle Form und Stabilität.

Die Spezies der *Bacteria* werden in zwei Hauptgruppen eingeteilt, die so genannten **grampositiven** und die **gramnegativen** Bakterien. Die Unterscheidung zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien beruht auf der **Gramfärbung** (siehe Abschnitt 1.3). Unterschiede in der Zellwandstruktur sind die Grundlage für die Gramfärbungsreaktion. Unter dem Elektronenmikroskop erkennt man auf der Oberfläche deutliche Unterschiede zwischen grampositiven und gramnegativen Zellen, wie aus der ► Abbildung 2.13 hervorgeht. Die gramnegative Zellwand oder Zellhülle, wie sie manchmal genannt wird, ist chemisch komplex und besteht aus mindestens zwei Schichten, während

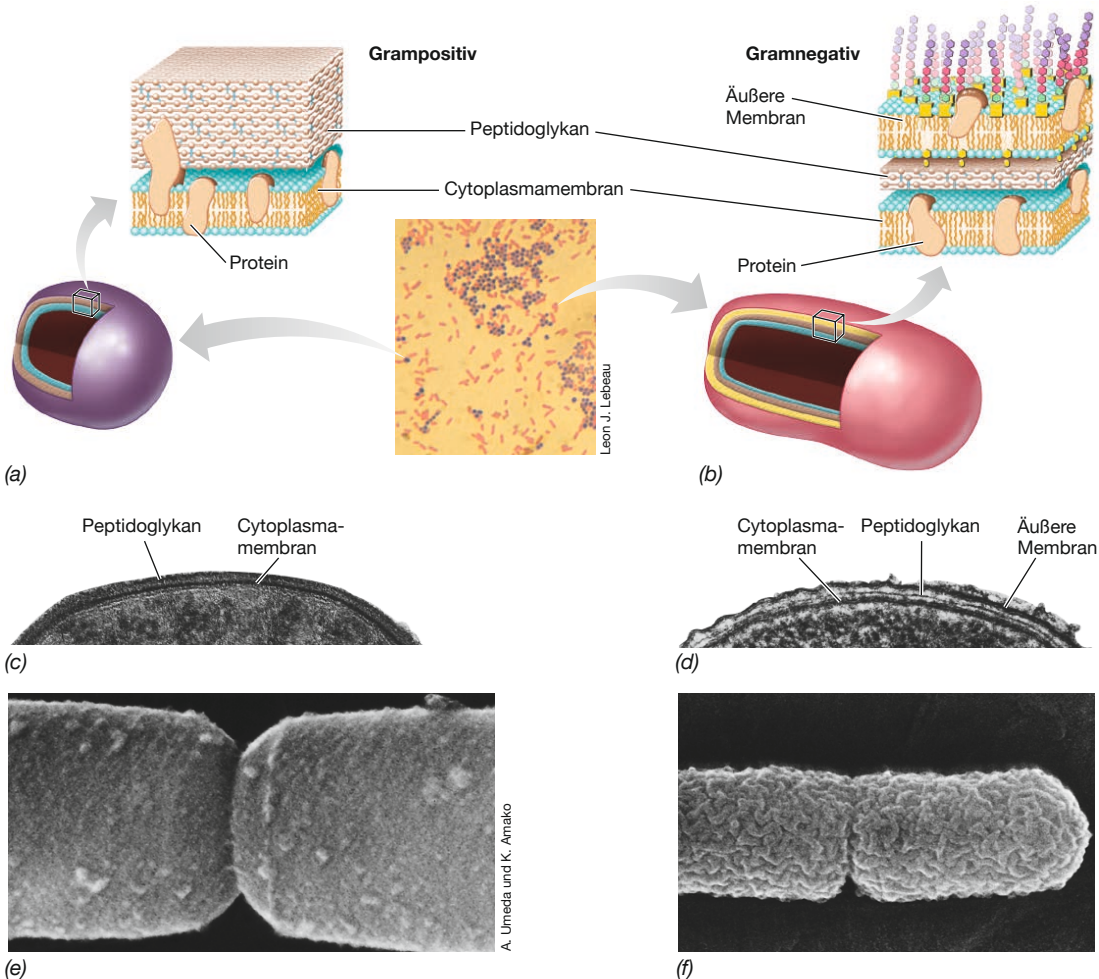


Abbildung 2.13: Die Zellwände der *Bacteria*. (a,b) Schematische Darstellung grampositiver und gramnegativer Zellwände. Die Aufnahme einer Gramfärbung in der Mitte zeigt Zellen von *Staphylococcus aureus* (violett, grampositiv) und *Escherichia coli* (rosa, gramnegativ). (c,d) Transmissionsmikroskopische Aufnahme (TEM) der Zellwand eines grampositiven und eines gramnegativen Bakteriums. (e,f) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme grampositiver und gramnegativer Bakterien. Achten Sie auf die Unterschiede in der Oberflächenstruktur. Jede Zelle der Aufnahme mit dem TEM hat einen Durchmesser von ungefähr 1 μm .

die grampositive Zellwand normal viel dicker ist und in erster Linie aus einem einzigen Molekültyp besteht.

Im Mittelpunkt dieses Abschnitts steht der Polysaccharidbestandteil der Zellwände der grampositiven und gramnegativen *Bacteria*, im nächsten Abschnitt werden die besonderen Zellwandbestandteile der gramnegativen *Bacteria* beschrieben. Abschließend werden wir uns in Abschnitt 2.3.3 kurz mit den Zellwänden der *Archaea* beschäftigen.

Peptidoglykan

Die Zellwände der *Bacteria* besitzen eine starre Schicht, die hauptsächlich der Festigkeit der Zellwand dient. Diese starre Schicht, das so genannte Peptidoglykan, ist ein Polysaccharid, das aus Zuckerderivaten besteht – *N-Acetylglucosamin* und *N-Acetylmuraminsäure* – sowie einigen wenigen Aminosäuren, darunter L-Alanin, D-Alanin und D-Glutaminsäure und entweder Lysin oder die strukturell entsprechende Aminosäure, Diaminopimelinsäure (DAP). Diese Bestandteile werden zu einer sich wiederholenden Struktur verbunden, dem *Glykantetrapeptid* (► Abbildung 2.14).

Lange Stränge von Peptidoglykan, die nebeneinander liegen, werden zu einer die Zelle umgebenden Schicht zusammengefügt (siehe Abbildung 2.16). Die Stränge werden durch Aminosäuren quer vernetzt. Die glykosidischen Bindungen, die die Zucker in den Glykansträngen verbinden, sind kovalente Bindungen, die der Struktur jedoch nur in eine Richtung Festigkeit verleihen. Die ganze Stärke der Peptidoglykanstruktur wird erst dann erreicht, wenn die Quervernetzung in die X- und Y-Richtung verläuft (► Abbildung 2.15). Das Ausmaß der Quervernetzung kommt bei verschiedenen Spezies von *Bacteria* in unterschiedlicher Ausprägung vor. Eine stärkere Ausprägung der Quervernetzung bewirkt größere Festigkeit.

Bei den gramnegativen Bakterien entsteht die Quervernetzung durch die Bildung einer Peptidbindung der Aminosäure DAP eines Glykanstrangs mit der Carboxylgruppe des terminalen D-Alanins auf dem daneben liegenden Glykanstrang (Abbildung 2.15). Bei den grampositiven Bakterien entsteht die Quervernetzung durch eine kurze Interpeptidbrücke, wobei die Art und die Anzahl der Aminosäuren je nach Spezies variieren. Beispielsweise besteht die Interpeptidbrücke bei dem grampositiven Organismus *Staphylococcus aureus* aus fünf Glycinresten, einer gemeinsamen Aminosäurebrücke (Abbildung 2.15b). In Abbildung 2.15c ist die gesamte Struktur des Peptidoglykans dargestellt.

Das Peptidoglykan kann von bestimmten Substanzen zerstört werden. Eine dieser Substanzen ist das Enzym *Lysozym*, ein Protein, das die β -1,4-glykosidischen Bin-

dungen zwischen *N-Acetylglucosamin* und der *N-Acetylmuraminsäure* im Peptidoglykan (Abbildung 2.14) spaltet und dadurch die Zellwand schwächt. Dann kann Wasser in die Zelle eindringen und es kommt zur Lyse. Lysozym kommt in den Ausscheidungen der Tiere vor, in der Tränenflüssigkeit, dem Speichel und anderen Körperflüssigkeiten. Es dient an vorderster Front als Verteidigung gegen bakterielle Infektionen. Wenn wir uns in Kapitel 4 mit der Biosynthese von Peptidoglykan beschäftigen, dann werden Sie sehen, dass das wichtige Antibiotikum Penicillin auch auf das Peptidoglykan wirkt, aber auf andere Weise als Lysozym. Während Lysozym das bereits bestehende Peptidoglykan zerstört, verhindert Penicillin die Biosynthese, was schließlich zur osmotischen Lyse führt.

Die Vielfalt von Peptidoglykan

Peptidoglykan kommt nur bei den Spezies der *Bacteria* vor – der Zucker *N-Acetylmuraminsäure* und die analoge Aminosäure DAP sind in den Zellwänden der *Archaea* und *Eukarya* niemals gefunden worden. Allerdings hat man nicht bei allen untersuchten *Bacteria* DAP im Peptidoglykan nachgewiesen, einige haben stattdessen Lysin. Eine ungewöhnliche Eigenschaft von Peptidoglykan ist das Vorkommen von zwei Aminosäuren mit der D-Konfiguration, D-Alanin und D-Glutaminsäure. Im Gegensatz dazu bestehen Proteine immer aus L-Aminosäuren.

Mehr als 100 verschiedene Peptidoglykane sind bekannt, wobei die Abweichungen normalerweise von den Querverbindungen und Interpeptidbrücken bestimmt werden. In jeder sich unterscheidenden Peptidoglykanstruktur ist der Glykananteil identisch, in dem nur die Zucker *N-Acetylglucosamin* und *N-Acetylmuraminsäure* vorkommen, die über eine β -1,4-Bindung verknüpft sind (Abbildung 2.14). Das Tetrapeptid weist nur in einer Aminosäure eine bedeutende Abweichung auf, dem Austausch von DAP gegenüber Lysin. Obwohl die Peptidzusammensetzung des Peptidoglykans variieren kann, bleibt das Rückgrat des Moleküls – alternierende Wiederholungen von *N-Acetylglucosamin* und *N-Acetylmuraminsäure* – unverändert.

Die grampositive Zellwand

Bei grampositiven Bakterien besteht die Zellwand zu 90% aus Peptidoglykan. Obwohl einige Bakterien nur eine Peptidoglykanschicht aufweisen, die die Zelle umgibt, besitzen viele grampositive Bakterien mehrere übereinander gestapelte Peptidoglykanschichten (Abbildung 2.13a). Man nimmt an, dass das Peptidoglykan von den Zellen in ungefähr 50 nm breiten „Kabeln“ verlegt

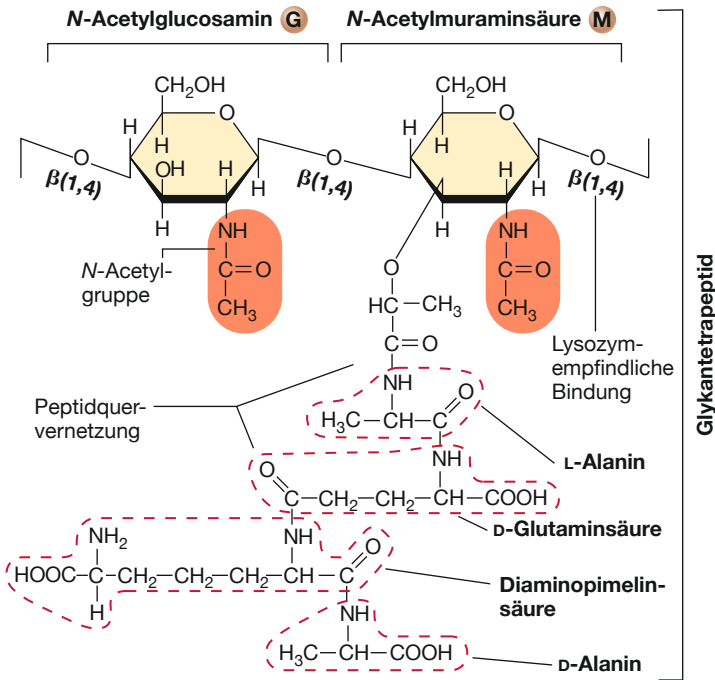


Abbildung 2.14: Struktur der sich wiederholenden Einheit von Peptidoglykan, des Glykanttetrapeptids. Die dargestellte Struktur findet man bei *Escherichia coli* und den meisten anderen gramnegativen *Bacteria*. Bei einigen *Bacteria* kommen andere Aminosäuren vor.

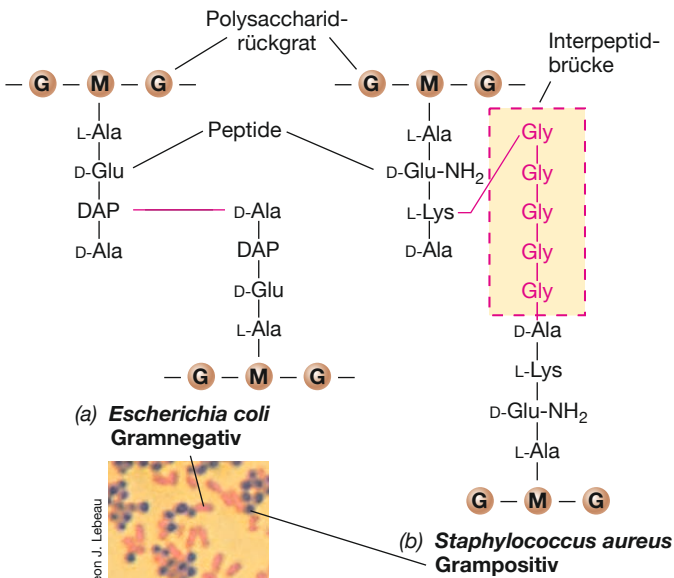
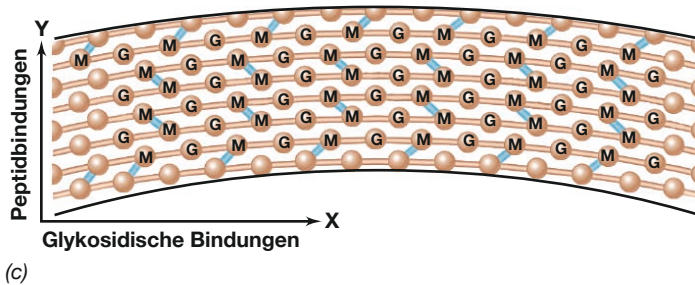


Abbildung 2.15: Peptidoglykan bei *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus*. (a) Es gibt im Peptidoglykan von *E. coli* und anderen gramnegativen *Bacteria* keine Interpeptidbrücke. (b) Die Glycylinterpeptidbrücke bei *S. aureus* (grampositiv). (c) Gesamtstruktur des Peptidoglykans. G, N-Acetylglucosamin; M, N-Acetylmuraminsäure. Beachten Sie, wie die glykosidischen Bindungen dem Peptidoglykan in der X-Richtung Festigkeit verleihen, während die Peptidbindungen in der Y-Richtung Festigkeit verleihen.



wird, wobei jedes Kabel aus mehreren quervernetzten Glykansträngen besteht (► Abbildung 2.16a). Wenn das Peptidoglykan „reift“, werden die Kabel quervernetzt und bilden so eine noch festere Zellwandstruktur.

Viele grampositive Bakterien enthalten eingebettet in ihre Zellwand säurehaltige Substanzen, die man **Teichonsäuren** nennt. Der Begriff „Teichonsäuren“ umfasst alle Zellwand-, Cytoplasmamembran- und Kapselpolymere, die aus Glycerinphosphat, Erythritolphosphat oder Ribitolphosphat bestehen. Diese Polyalkohole sind durch Phosphatester verbunden

und enthalten im Allgemeinen Zucker oder D-Alanin (Abbildung 2.16b). Teichonsäuren werden kovalent an die Muraminsäure des Peptidoglykans in der Zellwand gebunden. Da die Phosphate negativ geladen sind, sind Teichonsäuren zumindest teilweise für die negative Ladung auf der gesamten Zelloberfläche verantwortlich. Teichonsäuren dienen außerdem dazu, Ca^{2+} und Mg^{2+} für den eventuellen Transport in die Zelle zu binden. Einige Teichonsäuren sind kovalent an Membranlipide gebunden, diese bezeichnet man als Lipoteichonsäuren (Abbildung 2.16c).

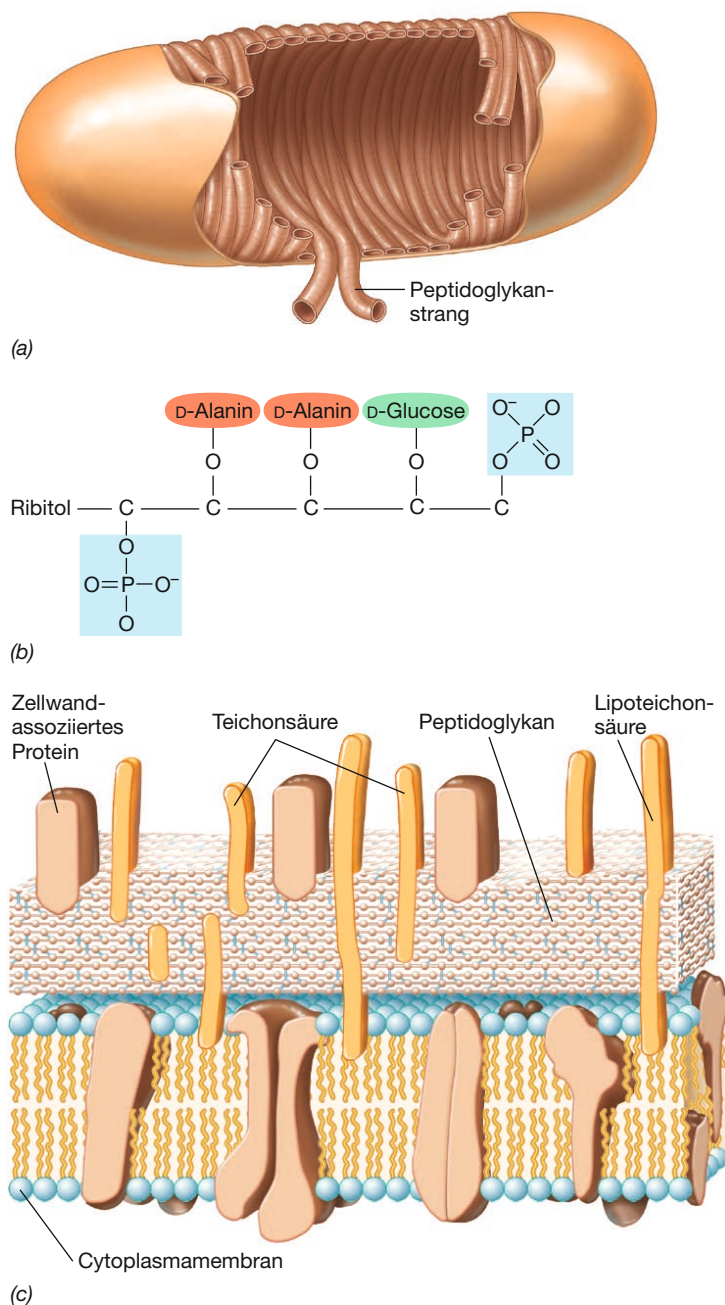


Abbildung 2.16: Struktur einer grampositiven bakteriellen Zellwand. (a) Schematische Darstellung eines grampositiven Stäbchens sowie des inneren Aufbaus des Peptidoglykan „kabels“. (b) Struktur einer Ribitolteichonsäure. Die Teichonsäure ist ein Polymer aus sich wiederholenden Ribitoleinheiten. (c) Zusammenfassende Darstellung der grampositiven bakteriellen Zellwand.

In Abbildung 2.16 ist die Struktur der Zellwand grampositiver *Bacteria* dargestellt. Die Abbildung zeigt, wie Teichonsäuren und Lipoteichonsäuren in der gesamten Zellwandstruktur angeordnet sind. Ferner wird dort abgebildet, wie Peptidoglykanstränge senkrecht entlang der Achse eines stäbchenförmigen Bakteriums verlaufen.

Zellen ohne Zellwände

Es gibt fast keinen Prokaryoten, der in der Natur ohne Zellwände überleben könnte, doch einigen gelingt dies. Dazu gehören die Mycoplasmen, eine Gruppe pathogener Bakterien, die bei Menschen und Tieren mehrere Infektionskrankheiten hervorrufen. Außerdem die Thermoplasmen, eine Gruppe von *Archaea*, die von Natur aus keine Zellwand haben. Diese Bakterien können ohne Zellwand überleben, weil sie entweder ungewöhnlich widerstandsfähige Cytoplasmamembranen besitzen oder aber sie leben in osmotisch geschützten Habitaten, wie zum Beispiel dem Tierkörper. Bei den meisten Mycoplasmen kommen Sterole in den Cytoplasmamembranen vor. Diese dienen wahrscheinlich dazu, der Membran Stärke und Festigkeit zu verleihen, genauso wie in den Cytoplasmamembranen der eukaryotischen Zellen.

2.3.2 Die äußere Membran

Bei den gramnegativen Bakterien bestehen nur 10 % der gesamten Zellwand aus Peptidoglykan (Abbildung 2.18b). Die **äußere Membran** macht den größten Teil der Zellwand aus. In letzter Konsequenz ist diese Schicht eine zweite Lipiddoppelschicht, die aber nicht nur aus Phospholipiden und Proteinen besteht wie die

Cytoplasmamembran (Abbildung 2.5). Die gramnegative äußere Membran enthält auch Polysaccharide. In der äußeren Membran sind die Lipide und Polysaccharide zu einem Komplex verknüpft. Aus diesem Grund wird die äußere Membran auch als **Lipopolysaccharidschicht** oder einfach als **LPS-Schicht** bezeichnet.

Chemie und Aktivität des LPS

Die Chemie des LPS ist bei einigen Bakterien bekannt. Wie in ► Abbildung 2.17 dargestellt, besteht der Polysaccharidanteil von LPS aus zwei Bestandteilen, dem *Kernpolysaccharid* und der *O-spezifischen Seitenkette*. Bei der *Salmonella*-Spezies, deren LPS am eingehendsten untersucht wurde, besteht das Kernpolysaccharid aus Ketodesoxyoctonat (KDO), mehreren aus 7-C-Atomen bestehenden Zuckern (Heptosen), Glucose, Galactose und *N*-Acetylglucosamin. Die an den Kern gebundene *O*-spezifische Seitenkette enthält normalerweise Galactose, Glucose, Rhamnose und Mannose ebenso wie eine oder mehrere Didesoxyhexosen, wie zum Beispiel Abequose, Colitose, Paratose oder Tyvelose. Diese Zucker sind in Sequenzen aus vier oder fünf Bestandteilen verknüpft, die oft verzweigt sind. Durch die Wiederholung dieser Sequenzen entsteht die *O*-spezifische Seitenkette.

Die topologische Anordnung der LPS-Schicht in der gramnegativen Zellwand ist in ► Abbildung 2.18 dargestellt. Bei dem Lipidteil von LPS, dem so genannten *Lipid A*, handelt es sich nicht um ein typisches Glycerinlipid (siehe Abbildung 2.7a), sondern die Fettsäuren sind über die Aminogruppen eines Disaccharids gebunden, das aus Glucosaminphosphat besteht (Abbildung 2.17). Das Disaccharid ist durch KDO an das Kernpolysaccharid gebunden. Zu den Fettsäuren, die man im Allgemeinen im Lipid A findet, gehören

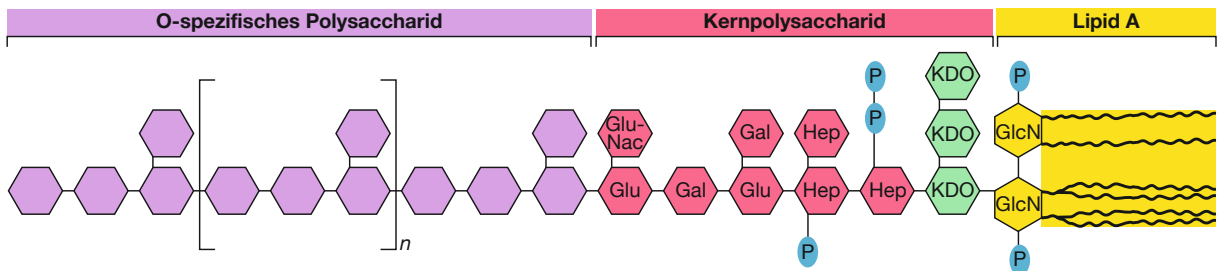


Abbildung 2.17: Struktur der Lipopolysaccharidschicht gramnegativer *Bacteria*. Die Chemie des Lipids A und der Polysaccharidbestandteile variiert von Spezies zu Spezies bei den gramnegativen *Bacteria*, aber die wichtigsten Bestandteile sind im Allgemeinen gleich (Lipid A – KDO – O-spezifisch). Das O-spezifische Polysaccharid ist sehr unterschiedlich bei den Spezies. KDO, Ketodesoxyoctonat; Hep, Heptose; Glu, Glucose; Gal, Galactose; GluNac, *N*-Acetylglucosamin; GlcN, Glucosamin; P, Phosphat. Glucosamin und die Lipid-A-Fettsäuren sind durch Aminogruppen verbunden. Der Lipid-A-Anteil des LPS kann für Tiere toxisch sein und enthält den Endotoxinkomplex. Vergleichen Sie diese Abbildung mit der Abbildung 2.18 und beachten Sie die Farbkodierung der Bestandteile des LPS.

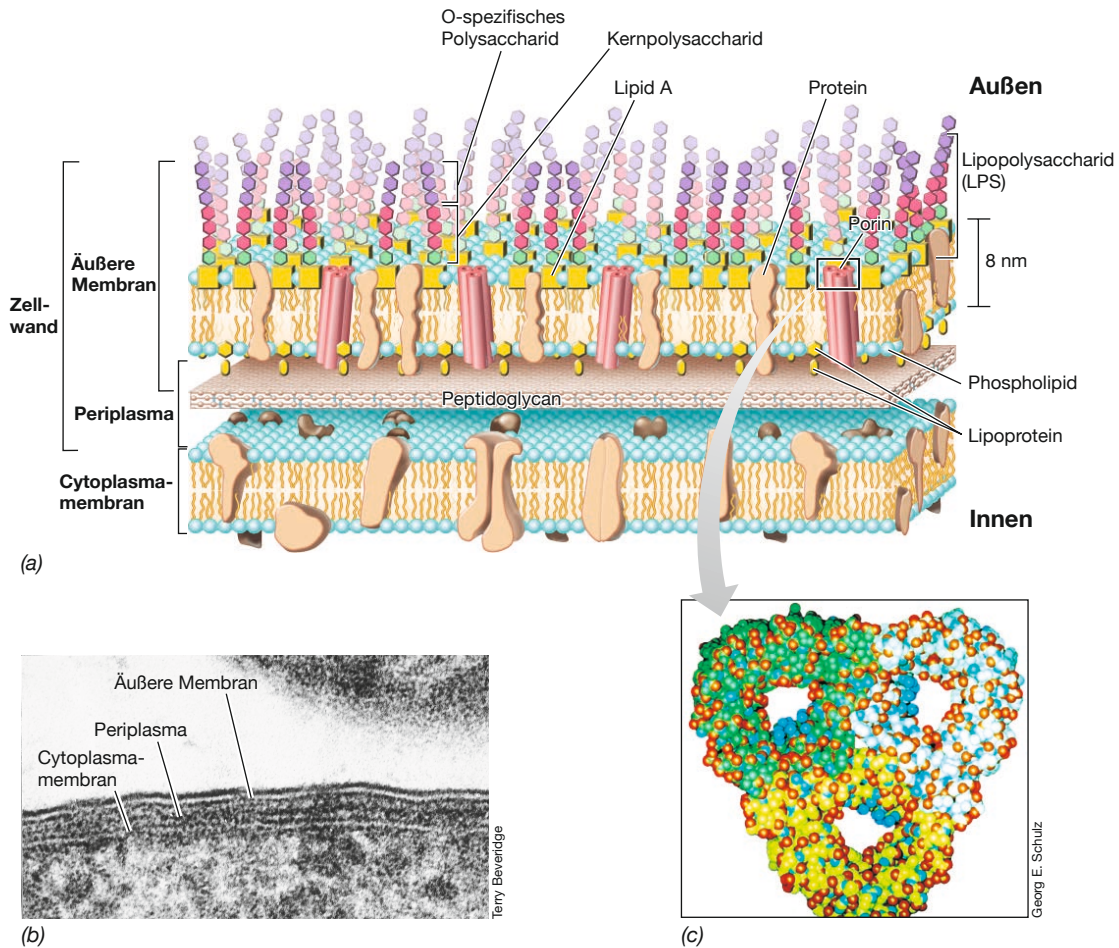


Abbildung 2.18: Die gramnegative Zellwand. (a) Anordnung des Lipopolysaccharids, Lipid A, Phospholipid, Porinen und Lipoprotein in der äußeren Membran. Siehe Abbildung 2.17 für Einzelheiten und die Struktur von LPS. (b) Aufnahme mit dem Elektronenmikroskop der Cytoplasmamembran und der Zellwand einer Zelle von *Escherichia coli*. (c) Molekularmodell von Porinproteinen. Beachten Sie, dass es vier Poren gibt, jeweils von einem der Proteine gebildet, die ein Porinmolekül bilden sowie eine kleinere zentrale Pore zwischen den Porinproteinen. Es handelt sich um eine senkrechte Ansicht auf die Membran.

Capron- (C_6), Laurin- (C_{12}), Myristin- (C_{14}), Palmitin- (C_{16}) und Stearinsäuren (C_{18}).

In der äußeren Hälfte der äußeren Membrandoppelschicht ersetzt LPS einen Großteil des Phospholipids. Im Gegensatz dazu kommt das Lipoprotein zusammen mit den üblichen Phospholipiden in der inneren Hälfte der äußeren Membran vor (Abbildung 2.18a). Das Lipoprotein dient als Anker, der die äußere Membran an das Peptidoglykan bindet. Obwohl man die gesamte Struktur der äußeren Membran als Lipiddoppelschicht ansehen kann, unterscheidet sich ihre Struktur von der Struktur der Cytoplasmamembran (siehe Abbildung 2.7 und Abbildung 2.18a).

Obwohl die Hauptfunktion der äußeren Membran in der Strukturgebung liegt, ist ihre Toxizität für Tiere

eine ihrer wichtigsten biologischen Eigenschaften. Zu den gramnegativen Bakterien, die für den Menschen und andere Säugetiere pathogen sind, gehören neben vielen anderen Spezies Vertreter der Gattungen *Salmonella*, *Shigella* und *Escherichia*. Einige der Symptome, die diese Pathogenen hervorrufen, gehen auf toxische Bestandteile in der äußeren Membran zurück. Toxizität steht in Zusammenhang mit der LPS-Schicht, vor allem mit dem Lipid A. Der Begriff *Endotoxin* verweist auf den toxischen Bestandteil von LPS. Einige Endotoxine verursachen beim Menschen heftige Symptome, darunter Fieber, Diarrhö und Erbrechen. Als klassische Beispiele seien die Endotoxine von *Salmonella* und enteropathogener Stämme von *E. coli* genannt, die für Lebensmittelvergiftungen verantwortlich sind.

Das Periplasma und die Porine

Obwohl die äußere Membran für kleine Moleküle durchlässig ist, lässt sie keine Proteine oder andere große Moleküle hindurch. Tatsächlich besteht eine der Hauptaufgaben der äußeren Membran darin, Proteine, deren Aktivitäten außerhalb der Cytoplasmamembran ablaufen, davon abzuhalten, sich von der Zelle zu entfernen. Diese Proteine kommen in einer Region vor, die man **Periplasma** nennt (siehe Abbildung 2.18). Diese Region, die zwischen der äußeren Oberfläche der Cytoplasmamembran und der inneren Oberfläche der äußeren Membran liegt, hat einen Durchmesser von ungefähr 15 nm. Auf Grund der hohen Konzentration von Proteinen in dieser Region ist das Periplasma von gelähmlicher Konsistenz.

Je nach Organismus enthält das Periplasma mehrere verschiedene Klassen von Proteinen. Dazu gehören hydrolytische Enzyme, die beim ersten Schritt des Abbaus von Nährstoffmolekülen mitwirken, Bindeproteine, die den Transportvorgang von Substanzen einleiten (siehe Abschnitt 2.2.3) und Chemorezeptoren. Das sind Proteine, die bei der Reaktion der Chemotaxis mitwirken (siehe Abschnitt 2.5.3). Die meisten dieser Proteine erreichen das Periplasma mit Hilfe des Sec-Proteinexportsystems in der Cytoplasmamembran (siehe Abschnitt 2.2.3).

Die äußere Membran der gramnegativen Bakterien ist für kleine Moleküle recht durchlässig, obwohl es sich um eine Lipiddoppelschicht handelt. Das liegt an den **Porinen**, die in die äußere Membran eingebettet sind. Sie dienen als Kanäle für den Eintritt und den Austritt gelöster Substanzen. Es sind mehrere Porine bekannt, darunter sowohl spezifische als auch nichtspezifische Klassen.

Nichtspezifische Klassen von Porinen bilden wassergefüllte Kanäle, durch die jede kleine Substanz hindurch passt. Spezifische Porine besitzen dagegen eine Bindungsstelle für nur eine Substanz oder eine kleine Gruppe strukturell verwandter Substanzen. Porine sind Transmembranproteine, die aus drei identischen Untereinheiten bestehen. Abgesehen von dem Kanal, der in jeder fassähnlichen Struktur des Porins enthalten ist, verbinden sich die fassartigen Elemente der Porinproteine so, dass in der äußeren Membran ein Loch von ungefähr 1 nm Durchmesser entsteht, durch das sehr kleine Substanzen hindurch gelangen (Abbildung 2.18c).

Die Beziehung zwischen Zellwandstruktur und der Gramfärbung

Man nimmt an, dass die strukturellen Unterschiede zwischen der Zellwand grampositiver und gramnegativer *Bacteria* für die unterschiedlichen Reaktionen auf die Gramfärbung verantwortlich sind. Bei der Gram-

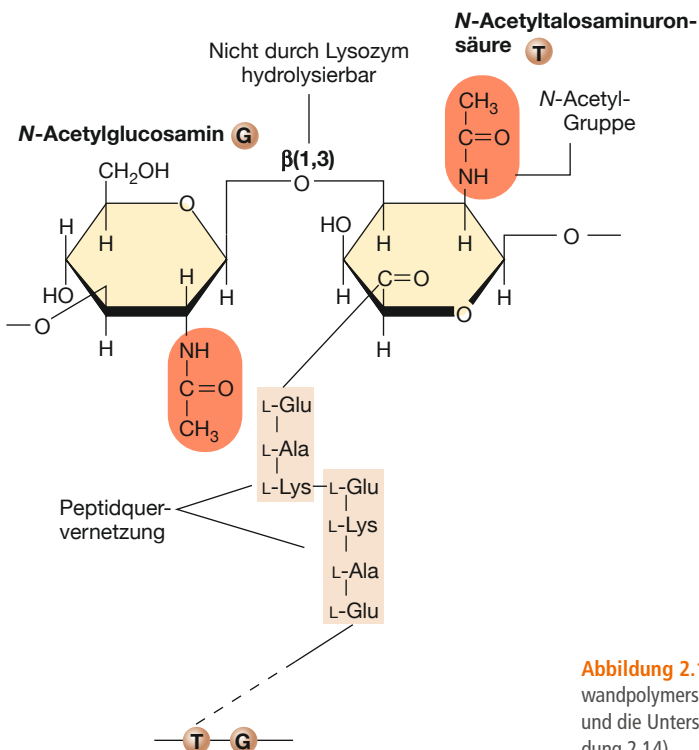


Abbildung 2.19: Pseudomurein. Struktur des Pseudomureins, des Zellwandpolymers der Spezies *Methanobacterium*. Beachten Sie die Ähnlichkeiten und die Unterschiede zwischen Pseudomurein und dem Peptidoglykan (Abbildung 2.14).

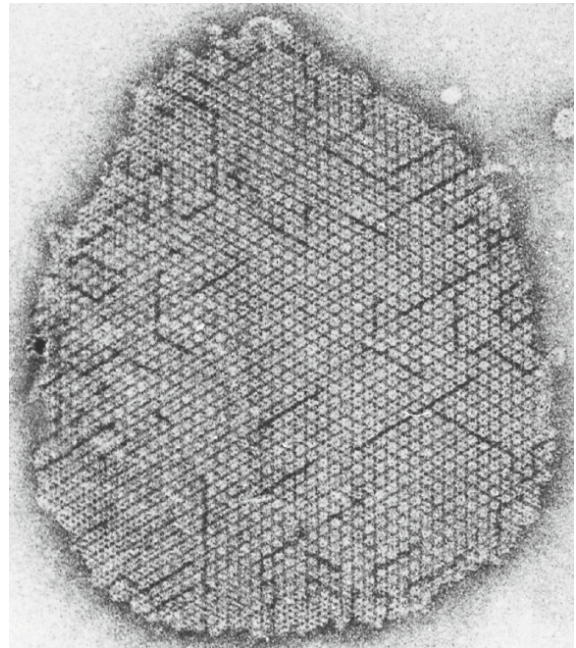
färbung bildet sich innerhalb der Zelle ein nicht löslicher Kristallviolettjodkomplex, Dieser Komplex wird bei gramnegativen Bakterien, nicht aber bei grampositiven Bakterien extrahiert (siehe Abschnitt 2.1.2). Wie wir gesehen haben, besitzen die grampositiven Bakterien sehr dicke Zellwände, die vor allem aus Peptidoglykan bestehen (Abbildung 2.16). Diese werden durch den Alkohol dehydriert, wodurch sich die Poren in der Wand schließen und den in Wasser nicht löslichen Kristallviolettjodkomplex daran hindern, zu entweichen. Dagegen durchdringt der Alkohol bei den gramnegativen Bakterien problemlos die lipidreiche äußere Membran und extrahiert den Kristallviolettjodkomplex aus der Zelle. Nach der Behandlung mit Alkohol sind gramnegative Zellen fast nicht mehr erkennbar, es sei denn, sie werden mit einem zweiten Farbstoff gegengefärbt, einer Standardmethode bei der Gramfärbung (siehe Abbildung 1.21)

2.3.3 Die Zellwände der *Archaea*

Peptidoglykan, ein wichtiger Biomarker der *Bacteria*, ist in den Zellwänden der *Archaea* nicht enthalten. Außerdem fehlt den *Archaea* die äußere Membran (mit Ausnahme von *Ignicoccus*). Stattdessen kommt in den Zellwänden der *Archaea* eine Vielfalt chemischer Verbindungen vor, darunter Polysaccharide, Proteine und Glykoproteine.

Pseudomurein und andere Polysaccharidzellwände

Die Zellwände einiger methanogener *Archaea* enthalten ein Molekül, das dem Peptidoglykan verblüffend ähnlich ist, ein Polysaccharid mit der Bezeichnung *Pseudomurein* (der Begriff „Murein“ stammt von dem lateinischen Wort für „Wand“ und bezeichnete früher Peptidoglykan; ► Abbildung 2.19). Das Rückgrat des Pseudomureins besteht aus sich abwechselnden Wiederholungen von *N*-Acetylglucosamin (auch im Peptidoglykan enthalten) und *N*-Acetyltalosaminuronsäure. Letztere ersetzt die *N*-Acetylmuraminsäure des Peptidoglykans. Das Pseudomurein unterscheidet sich auch insofern von Peptidoglykan, als die glykosidischen Bindungen zwischen den Zuckerderivaten vom β -1,3- und nicht, wie bei den *Bacteria*, vom β -1,4-Typ sind und die Aminosäuren stammen alle vom L-Stereoisomer ab. Man nimmt an, dass das Peptidoglykan und das Pseudomurein entweder durch konvergente Evolution nach dem Abzweigen der *Bacteria* und *Archaea* auftraten oder, und das ist wahrscheinlicher, dass sie sich aus einem gemeinsamen Polysaccharid entwickelt haben, das in den Zellwänden aller gemein-



Susan F. Koval

Abbildung 2.20: Der S-Layer. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme eines Teils einer S-Schicht, die die parakristalline Beschaffenheit zeigt. Es wird die S-Schicht von *Aquaspirillum serpens* (einer Spezies von *Bacteria*) gezeigt. Diese S-Schicht weist wie viele der bei *Archaea* gefundenen S-Layer eine hexagonale Symmetrie auf.

samer Vorfahren der Domänen *Bacteria* und *Archaea* vorkam.

In den Zellwänden einiger anderer *Archaea* kommt kein Pseudomurein vor, sondern andere Polysaccharide. So haben Vertreter der Spezies *Methanosarcina* zum Beispiel dicke Polysaccharidzellwände, die aus Polymeren von Glucose, Glucuronsäure, Galactosamin und Acetat bestehen. Extrem halophile (salzliebende) *Archaea* wie *Halococcus*, die mit *Methanosarcina* verwandt sind, haben ähnliche Zellwände, die auch Sulfat (SO_4^{2-}) enthalten. Die negative Ladung der Sulfate bindet Na^+ -Ionen, die in den Habitaten von *Halococcus*, Salinen, Salzmeeren und salzigen Seen in hohen Konzentrationen vorkommen. Dies dient der Stabilisierung der Zellwand in einer stark polaren Lebensumgebung.

S-Layer (Hüllproteine)

Der am meisten verbreitete Zellwandtyp bei den Spezies der *Archaea* ist die parakristalline Oberflächenschicht, der **S-Layer**. S-Layer bestehen aus Protein- oder Glykoproteinmolekülen, die unter dem Elektronenmikroskop in geordneter Form erkennbar sind (► Abbildung 2.20). Die parakristalline Struktur der S-Layer ist so angeordnet, dass symmetrische Strukturen entstehen, hexagonal, tetragonal oder dreieckig, je nach

Anzahl und Struktur der Protein- oder Glykoproteinuntereinheiten, aus denen sie bestehen. S-Layer hat man in allen wichtigen Abstammungslinien der *Archaea* sowie in mehreren *Bacteria*-Spezies entdeckt.

Die Zellwände einiger *Archaea*, zum Beispiel des methanogenen *Methanocaldococcus jannaschii*, bestehen nur aus einem S-Layer. Somit sind S-Layer fest genug und dienen als Schutz vor osmotischer Lyse. In vielen Organismen kommen S-Layer jedoch noch zusätzlich zu anderen Zellwandbestandteilen vor, im Allgemeinen sind das Polysaccharide. Bei *Bacillus brevis*, einer *Bacteria*-Spezies, kommt ein S-Layer zusammen mit einem Peptidoglykan vor. Wenn ein S-Layer zusammen mit anderen Zellwandbestandteilen auftritt, dann bildet der S-Layer immer die äußerste Schicht der Zellwand, diejenige Schicht, die in direktem Kontakt zur Umgebung steht.

Abgesehen davon, dass der S-Layer Schutz vor osmotischer Lyse bildet, hat er aber noch viele weitere Aufgaben. Er dient zum Beispiel als Schnittstelle zwischen der Zelle und ihrer Umgebung. Wahrscheinlich dient der S-Layer als selektives Sieb, das nur Substrate mit geringem Molekulargewicht Einlass gewährt und große Moleküle und Strukturen (wie zum Beispiel Viren) ausschließt. Der S-Layer könnte auch dazu dienen, Proteine in der Nähe der Zelloberfläche zu halten, ganz so wie die äußere Membran (siehe Abschnitt 2.3.2) bei den gramnegativen Bakterien.

Somit haben wir einige Phänomene der Zellwandchemie bei den Spezies der *Archaea* in einer Bandbreite kennengelernt, die von Molekülen, die dem Peptidoglykan stark ähneln, bis hin zu Molekülen, die keinen Polysaccharidbestandteil besitzen, reicht. Mit nur wenigen Ausnahmen enthalten *Archaea* alle in irgendeiner Form eine Zellwand. Ebenso wie bei den *Bacteria* schützt die archaeelle Zellwand vor osmotischer Lyse und gibt der Zelle ihre Form. Da die *Archaea* in ihren Zellen kein Peptidoglykan aufweisen, sind sie von Natur aus gegen die Aktivität von Lysozym (siehe Abschnitt 2.3.1) und gegen das Antibiotikum Penicillin resistent, Wirkstoffe, die das Peptidoglykan entweder zerstören oder seine korrekte Synthese verhindern.

Weitere Zellwandstrukturen und Zellwandeinschlüsse

2.4

Neben den Zellwänden können prokaryotische Zellen andere Schichten oder Strukturen besitzen, die mit ihrer Umgebung in Kontakt treten. Außerdem enthalten die Zellen oft einen oder mehrere Zelleinschlüsse, von denen wir einige jetzt näher anschauen werden.

2.4.1 Zelloberflächenstrukturen

Viele Prokaryoten sondern auf ihrer Zelloberfläche schleimige oder klebrige Sekrete ab. Diese Substanzen bestehen entweder aus Polysaccharid oder Protein. Sie gelten nicht als Bestandteil der Zellwand, weil sie nicht sonderlich zur Festigkeit der Zelle beitragen. Diese Schichten werden mit den Begriffen „Kapsel“ und „Schleimschicht“ bezeichnet.

Kapseln und Schleimschichten

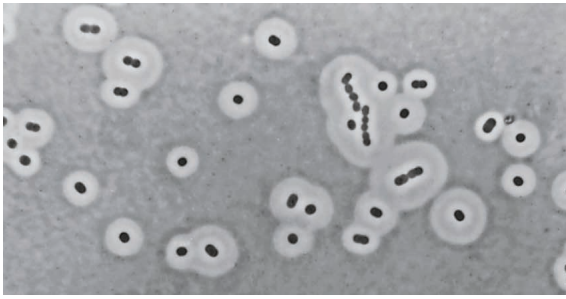
Je nach chemischer Zusammensetzung und dem Wasseranteil sind die Kapseln und Schleimschichten sehr verschieden, dick oder dünn, starr oder flexibel. Normalerweise nennt man eine Schicht, die in einer dicht gepackten Matrix angeordnet ist, die kleine Partikel ausschließt, **Kapsel** (► Abbildung 2.21). Wenn man die Schicht aber leicht deformieren kann, dann schließt sie keine Partikel aus und ist nicht so leicht zu erkennen. Diese Form nennt man Schleimschicht. Außerdem sind Kapseln normalerweise fest an die Zellwand angeheftet und einige binden sogar kovalent an das Peptidoglykan. Schleimschichten sind dagegen oft nur locker gebunden und können von der Zelloberfläche abfallen.

Polysaccharidschichten erfüllen bei den Bakterien mehrere Funktionen. Oberflächenpolysaccharide wirken bei der Anheftung von Mikroorganismen auf festen Oberflächen mit. Später werden Sie lernen, dass pathogene Mikroorganismen auf spezifischen Wegen in den Tierkörper eindringen, indem sie im Allgemeinen zuerst spezifisch an die Oberflächenbestandteile des Wirtsgewebes binden. Diese Bindung wird oft durch Oberflächenpolysaccharide vermittelt. Viele nichtpathogene Mikroorganismen binden in der Natur auch an feste Oberflächen, manchmal entsteht dabei eine dicke Zellschicht, der so genannte Biofilm. Bei der Entwicklung von Biofilmen spielen extrazelluläre Polysaccharide eine Schlüsselrolle.

Kapseln übernehmen noch andere Funktionen. Zum Beispiel ist es für Phagozyten des Immunsystems normalerweise schwieriger, verkapselte pathogene Bakterien zu erkennen und dann zu zerstören. Da äußere Polysaccharidschichten eine beträchtliche Menge Wasser binden, ist es wahrscheinlich, dass diese Schichten auch bei der Resistenz gegen Austrocknung eine Rolle spielen.

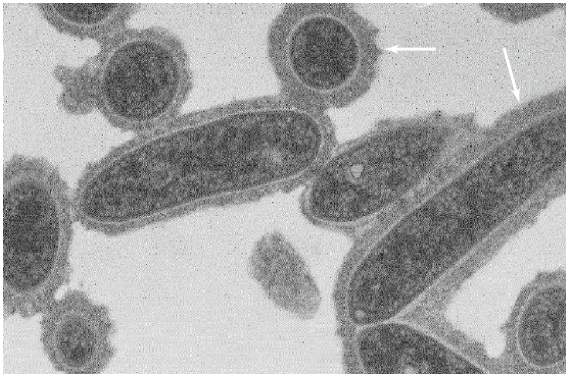
Fimbrien und Pili

Fimbrien und Pili sind filamentöse Strukturen, die aus Protein bestehen und aus der Zelloberfläche herausragen. Sie können viele Aufgaben übernehmen. Mit den



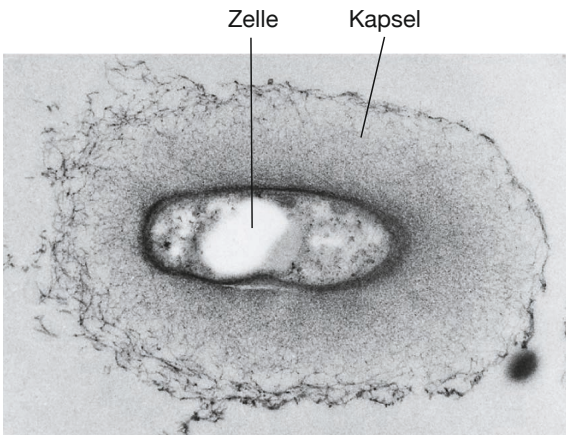
Elliot Juni

(a)



M.T. Madigan

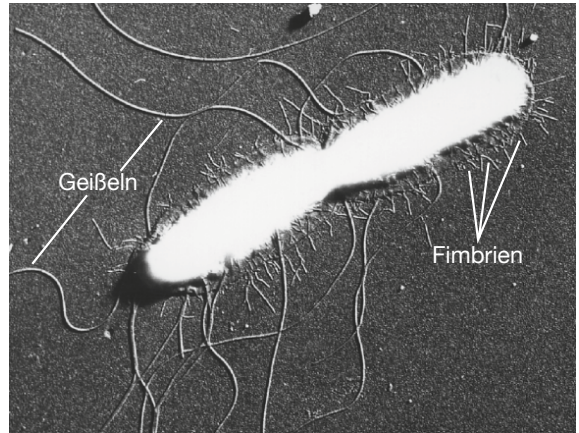
(b)



Frank Dazzo und Richard Heitzgen

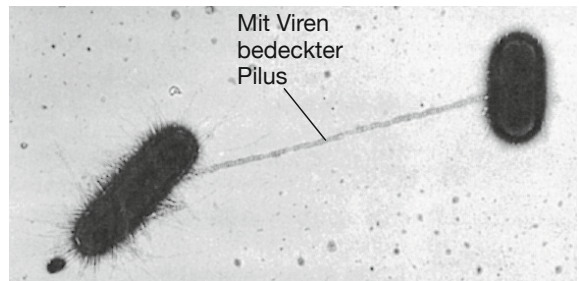
(c)

Abbildung 2.21: Bakterielle Kapseln. (a) Eine Kapsel einer *Acinetobacter*-Spezies, die man durch die Negativfärbung mit Tusche im Phasenkontrastmikroskop sieht. Die Tusche dringt nicht in die Kapsel ein und daher werden deren Umrisse als helle Struktur auf einem dunklen Hintergrund sichtbar. (b) Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnitts von Zellen von *Rhodobacter capsulatus* mit deutlich erkennbaren Kapseln (Pfeile). Die Zellen haben einen Durchmesser von ungefähr 0,9 μm . (c) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme einer Zelle von *Rhizobium trifolii*, die mit Rutheniumrot gefärbt wurde, um die Kapsel sichtbar zu machen. Die Zelle besitzt einen Durchmesser von ungefähr 0,7 μm .



J. P. Duguid und J. F. Wilkinson

Abbildung 2.22: Fimbrien. Elektronenmikroskopische Aufnahme einer sich teilenden Zelle von *Salmonella typhi* mit Geißeln und Fimbrien. Eine einzelne Zelle hat einen Durchmesser von ungefähr 0,9 μm .



Charles C. Brinton, Jr.

Abbildung 2.23: Pili. Ein Pilus einer Zelle von *Escherichia coli*, die (eine Form des genetischen Transfers) mit einer zweiten Zelle eine Konjugation durchläuft. An den Pilus haben sich spezielle Viren angeheftet. Die Zellen besitzen einen Durchmesser von ungefähr 0,8 μm .

Fimbrien (► Abbildung 2.22) können sich Zellen auf Oberflächen anheften, die pathogenen Bakterien sogar auf tierischem Gewebe. Auf den Oberflächen können sie Häutchen bilden (dünne Zellschichten auf einer flüssigen Oberfläche) oder Biofilme. Zu den bekanntesten menschlichen Pathogenen, bei denen die Fimbrien zum Verlauf der Krankheit beitragen, gehört die Spezies *Salmonella* (Salmonellose), *Neisseria gonorrhoeae* (Gonorrhö) und *Bordetella pertussis* (Keuchhusten).

Pili ähneln den Fimbrien, sind aber normalerweise länger und auf der Oberfläche befindet sich nur ein Pilus oder wenige Pili. Da Pili Rezeptoren für bestimmte Typen von Viren sein können, kann man sie am besten unter dem Elektronenmikroskop betrachten, wenn sie mit Viruspartikeln überzogen werden (► Abbildung 2.23). Es sind viele Typen von Pili bekannt, die man nach ihrer Struktur und Funktion unterscheidet. Pili

haben zwei sehr wichtige Aufgaben: sie ermöglichen den genetischen Austausch zwischen Zellen in dem Vorgang, den man als Konjugation bezeichnet, und sie sind an der Anheftung von Pathogenen an spezifische Wirtsgewebe und dem nachfolgenden Eindringen in den Wirt beteiligt. Diese letztgenannte Funktion ist am besten bei gramnegativen Pathogenen untersucht worden, wie zum Beispiel *Neisseria*, einer Gattung, die Gonorrhö und Meningitis verursacht. Pili kommen aber auch in grampositiven Pathogenen vor, wie *Streptococcus pyogenes*, dem Erreger der Racheninfektion und von Scharlach.

Eine wichtige Klasse von Pili, die so genannten Typ-IV-Pili, unterstützt Zellen nicht nur bei der Anheftung, sondern auch bei einer ungewöhnlichen Form der Zellmotilität, der Zuckbewegung. Typ-IV-Pili haben einen Durchmesser von 6 nm und kommen nur an den Zellpolen der stäbchenförmigen Zellen vor. Die Zuckbewegung ist eine Form des Gleitens auf einer festen Oberfläche (siehe Abschnitt 2.5.2). Bei der Zuckbewegung sorgen eine Ausdehnung und ein sehr schneller Abbau der Struktur dafür, dass die Zelle auf einer festen Oberfläche kriecht, wobei die Energie für die Depolymerisation von ATP geliefert wird. Bestimmte Spezies von *Pseudomonas* und *Moraxella* sind für ihre Zuckbewegung bekannt.

Typ-IV-Pili spielen auch eine Schlüsselrolle bei der Kolonisierung bestimmter menschlicher Pathogene, darunter *Vibrio cholerae* (Cholera) und *Neisseria gonorrhoeae* (Gonorrhö). Die Zuckbewegung dieser Pathogenen unterstützt den Organismus vermutlich bei der Ortung spezifischer Stellen zur Anheftung, um den Krankheitsverlauf einzuleiten. Man nimmt außerdem an, dass Typ-IV-Pili bei einigen Bakterien am genetischen Transfer durch einen Transformationsvorgang mitwirken. Dieser Vorgang, zusammen mit der Konjugation und Transduktion sind die uns bekannten Wege des horizontalen Gentransfers bei Prokaryoten (Kapitel 5).

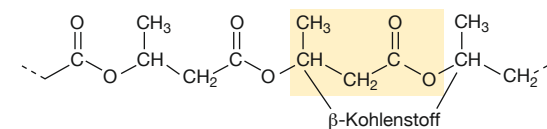
2.4.2 Zelleinschlüsse

In prokaryotischen Zellen gibt es oft Granula oder andere Zelleinschlüsse. Zelleinschlüsse dienen als Energiereserven und als Reservoir für strukturelle Bausteine. Man kann diese Einschlüsse oft direkt unter dem Lichtmikroskop erkennen. Meistens sind sie von einschichtigen Membranen (Nichteinheitmembranen) umschlossen, die sie vom Cytoplasma trennen. Das Speichern von Kohlenstoff oder anderen Substanzen in einem nicht löslichen Einschluss verschafft der Zelle einen Vorteil, weil sie dadurch den osmotischen Stress verringert, der aufkäme, wenn die gleiche Substanzmenge im Cytoplasma in gelöster Form vorläge.

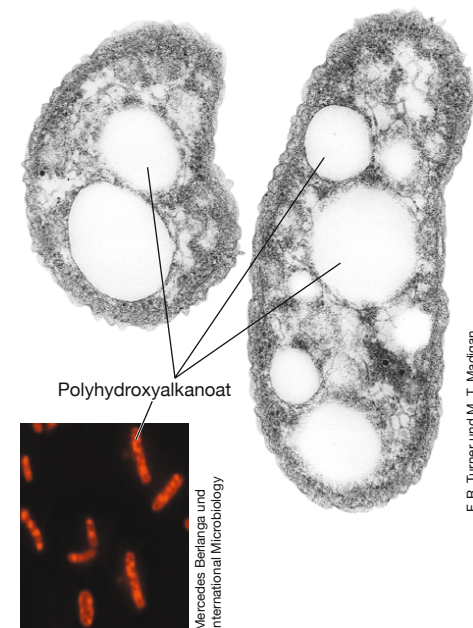
Kohlenstoffspeichernde Polymere

Bei prokaryotischen Organismen besteht einer der häufigsten Einschlusskörper aus **Poly- β -Hydroxybuttersäure (PHB)**, einem Lipid, das aus β -Hydroxybuttersäureeinheiten gebildet wird. Die Monomere von PHB sind durch Esterbindungen verknüpft, wobei sie lange PHB-Polymere bilden. Dann aggregieren die Polymere zu Granula, die man entweder unter dem Lichtmikroskop oder unter dem Elektronenmikroskop betrachten kann (► Abbildung 2.24).

Das Monomer in einem solchen Polymer kann nicht nur aus Hydroxybutyrat (C_4) bestehen, sondern kann in der Länge erheblich variieren, von nur C_3 bis zu C_{18} . Somit wird der eher allgemeine Ausdruck *Poly- β -Hydroxyalkanoat* (PHA) oft verwendet, um diese Klasse von Kohlenstoff-Energiespeicherpolymeren zu beschreiben. PHAs werden von den Zellen syntheti-



(a)



(b)

F. R. Turner und M. T. Madigan

Abbildung 2.24: Poly- β -Hydroxybuttersäure. (a) Chemische Struktur von Poly- β -Hydroxybuttersäure, einem häufig vorkommenden PHA. Eine Monomereinheit ist farbig unterlegt. Weitere PHAs werden gebildet, indem die $-\text{CH}_3$ -Gruppe an dem β -Kohlenstoff durch längere Kohlenwasserstoffketten ersetzt wird. (b) Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnitts von Zellen eines Bakteriums, das PHA-Granula enthält. Farbaufnahme: Nilerotgefärbte Zellen eines Bakteriums, das PHA enthält.

siert, wenn Kohlenstoff im Überfluss vorhanden ist und für die Biosynthese oder zur Energiegewinnung gespalten, wenn die Bedingungen dies verlangen. Viele Prokaryoten bilden PHAs, sowohl Spezies der *Bacteria* als auch der *Archaea*.

Ein weiteres Speicherprodukt ist Glykogen, ein Polymer aus Glucose. Ebenso wie PHA dient Glykogen als Speicher für Kohlenstoff und Energie. Glykogen wird gebildet, wenn in der Umgebung Kohlenstoff im Überfluss vorhanden ist, und verbraucht, wenn die Kohlenstoffmenge begrenzt ist. Glykogen ähnelt der Stärke, dem Hauptspeicher der Pflanzen, unterscheidet sich aber geringfügig in der Weise, wie die Glucoseeinheiten miteinander verbunden sind von der Stärke.

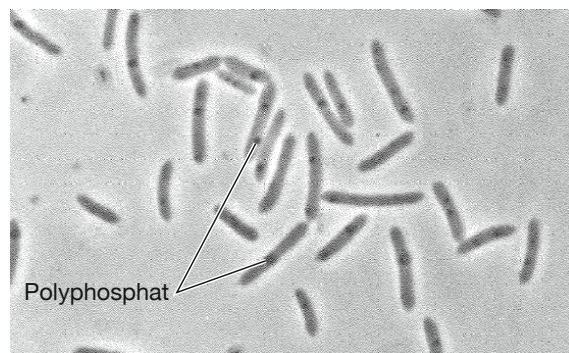
Polyphosphate und Schwefel

Viele Mikroorganismen speichern anorganisches Phosphat (PO_4^{3-}) in Form von Polyphosphatgranula (► Abbildung 2.25a). Diese Granula können abgebaut und als Phosphatquelle für Nucleinsäuren und Phospholipidbiosynthesen benutzt werden. Bei einigen Organismen können sie auch zur Bildung der energiereichen Verbindung ATP verwendet werden. Phosphat kommt in natürlichen Lebensräumen oft nur in geringen Mengen vor. Wenn eine Zelle zufällig über einen Phosphatüberschuss verfügt, dann ist es für sie von Vorteil, diesen Überschuss als Polyphosphat für später zu speichern.

Viele gramnegative Prokaryoten können reduzierte Schwefelverbindungen oxidieren, wie zum Beispiel Schwefelwasserstoff (H_2S). Die Oxidation von Schwefel steht entweder mit anderen Reaktionen des Energiemetabolismus (Chemolithotrophie) oder CO_2 -Fixierung (Autotrophie) in Zusammenhang. In jedem Fall kann elementarer Schwefel (S^0) in der Zelle in unter dem Mikroskop sichtbaren Globuli gespeichert werden (Abbildung 2.25b). Der Schwefel bleibt so lange vorhanden, wie die Quelle reduzierten Schwefels, aus der er gewonnen wurde, vorhanden ist. Das Periplasma weitet sich nach außen und nimmt die Globuli auf, wenn H_2S zu S^0 oxidiert wird und zieht sich dann nach innen zurück, wenn S^0 zu SO_4^{2-} oxidiert wird.

Magnetische Speichereinschlüsse: Magnetosomen

Einige Bakterien vermögen sich innerhalb eines Magnetfeldes zu orientieren, weil sie **Magnetosomen** besitzen. Magnetosomen sind intrazelluläre Partikel des Eisenminerals Magnetit – Fe_3O_4 (► Abbildung 2.26). Magnetosomen verleihen der Zelle einen magnetischen Dipol, so dass sie auf ein magnetisches Feld reagieren können. Bakterien, die Magnetosomen bilden, führen *Magnetotaxis* aus, den Vorgang der Orientierung und



M. T. Madigan

(a)



Norbert Piennig

(b)

Abbildung 2.25: Polyphosphat und Schwefelspeicherprodukte. (a) Aufnahme mit dem Phasenkontrastmikroskop von Zellen von *Heliobacterium modesticaldum*, bei der die Polyphosphate als dunkle Granula zu erkennen sind. Eine Zelle besitzt einen Durchmesser von ungefähr 1 μm . (b) Aufnahme mit dem Hellfeldmikroskop von Zellen des Purpurschwefelbakteriums *Isochromatium buderi*. Die intrazellulären Einschlüsse sind Schwefelglobuli, die durch die Oxidation von Schwefelwasserstoff (H_2S) entstehen. Eine einzelne Zelle ist ungefähr 4 μm dick.

Wanderung entlang der magnetischen Erdfeldlinien. Obwohl das Wort Magnetotaxis die Nachsilbe „-taxis“ enthält, gibt es keinen Beweis dafür, dass magnetotaktische Bakterien das sensorische System der chemotaktischen oder phototaktischen Bakterien benutzen (Abschnitt 2.5.3). Vielmehr verleiht die Aneinanderreihung von Magnetosomen in der Zelle dieser magnetische Eigenschaften, die die Zellbewegung in ihrer Umgebung in eine bestimmte Richtung steuern.

Die Hauptaufgabe von Magnetosomen ist nicht bekannt. Man hat Magnetosomen aber in einer Vielzahl aquatischer Organismen gefunden, die im Labor am besten bei niedrigen O_2 -Konzentrationen wachsen. Man nimmt daher an, dass eine Funktion der Magnetosomen darin besteht, diese hauptsächlich aquatischen

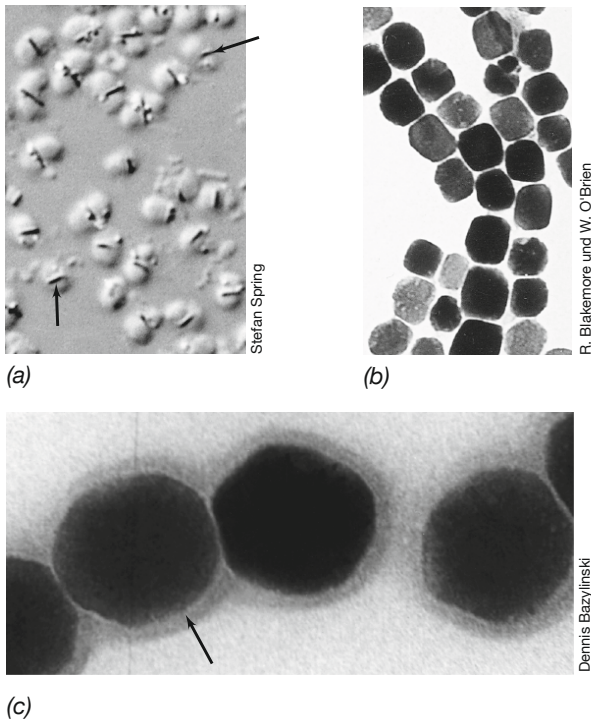


Abbildung 2.26: Magnetotaktische Bakterien und Magnetosomen. (a) Interferenzmikroskopische Aufnahme runder magnetotaktischer Bakterien. Beachten Sie die Ketten von Magnetosomen (Pfeile). Eine einzelne Zelle hat einen Durchmesser von ungefähr 2,2 μm . (b) Aus dem magnetotaktischen Bakterium *Magnetospirillum magnetotacticum* isolierte Magnetosomen; jeder Partikel ist ungefähr 50 nm breit. (c) Aufnahme von Magnetosomen eines magnetischen Kokkus mit dem Transmissionselektronenmikroskop. Der Pfeil zeigt auf die Membran, die jedes Magnetosom umgibt. Ein einzelnes Magnetosom hat eine Breite von ungefähr 90 nm.

Zellen in Abwärtsrichtung (in Richtung des Magnetfelds der Erde) zu den Sedimenten zu steuern, wo niedrigere O_2 -Konzentrationen vorherrschen.

Magnetosomen sind von einer Membran umgeben, die Phospholipide, Proteine und Glykoproteine enthält (Abbildung 2.26b,c). Bei dieser Membran handelt es sich nicht um eine richtige Einheitsmembran (Doppelschicht) wie bei der Cytoplasmamembran (Abbildung 2.5). Die Proteine spielen bei der Ausfällung von Fe^{3+} (das von chelatbildenden Substanzen in löslicher Form in die Zelle gebracht wird) zu Fe_3O_4 in dem sich entwickelnden Magnetosom eine Rolle. Eine ähnliche, nicht aus einer Einheitsmembran bestehende Schicht umschließt die Granula von PHA. Die Morphologie von Magnetosomen scheint speziesspezifisch zu sein, wobei die Form bei bestimmten Spezies von viereckig zu rechteckig bis zu nagelförmigen Strukturen variieren kann, die dann innerhalb der Zelle Ketten bilden (Abbildung 2.26).

2.4.3 Gasvesikel

Einige Prokaryoten sind planktonisch schwebende Organismen im Wasser von Seen und in den Ozeanen. Diese Organismen vermögen zu schweben, weil sie Gasvesikel enthalten. Gasvesikel verleihen ihren Zellen Auftrieb, so dass sie sich in einer Wassersäule als Reaktion auf Umweltfaktoren bewegen können.

Die spektakulärsten Fälle von Bakterien mit Gasvesikeln sind die Cyanobakterien, bei denen es in Seen oder anderen Gewässern zu Massenentwicklungen kommt, den so genannten *Blüten*. Zellen mit Gasvesikeln steigen an die Oberfläche eines Sees und werden vom Wind zu dichten Zellschichten zusammengeschoßen. Gasvesikel kommen vor allem bei vielen aquatischen Bakterien vor, sowohl bei den *Bacteria* als auch bei den *Archaea*. Allerdings hat man niemals eukaryotische Mikroorganismen mit Gasvesikeln gefunden.

Die allgemeine Struktur von Gasvesikeln

Gasvesikel sind spindelförmige Strukturen aus Protein. Obwohl sie hohl sind, sind sie starr und variieren in Länge und Durchmesser (► Abbildung 2.27). Die Gasvesikel der verschiedenen Organismen variieren in einer Länge von ungefähr 300 bis zu mehr als 1000 nm und im Durchmesser von 45 bis 120 nm, aber die Gasvesikel eines bestimmten Organismus haben mehr oder weniger die gleiche Größe. In einer Zelle kann die Anzahl der Gasvesikel von einigen wenigen bis zu Hunderten schwanken. Gasvesikel sind für Wasser und gelöste Stoffe undurchlässig, aber durchlässig für Gas. Man kann Gasvesikel in Zellen entweder mit dem Lichtmikroskop oder dem Transmissionselektronenmikroskop erkennen, wo sie Haufen von Vesikeln bilden, die man als *Gasvakuolen* bezeichnet. Man erkennt sie als unregelmäßige, helle Einschlüsse.

Die molekulare Struktur von Gasvesikeln

Das konische Gasvesikel besteht aus zwei verschiedenen Proteinen. Das größere Protein, *GvpA*, das die Hülle bildet, ist ein kleines, hydrophobes und sehr starres Protein. Die Starrheit ist lebenswichtig, denn die Struktur muss dem Druck, der von außen auf das Gasvesikel einwirkt, standhalten. Das kleinere Protein, *GvpC*, dient der Festigung der Gasvesikelmembran durch Quervernetzung von Kopien von *GvpA* (► Abbildung 2.28).

Gasvesikel sind aus Kopien des *GvpA*-Proteins aufgebaut, die in parallel angeordneten „Rippen“ eine wasserdichte Hülle bilden. Die Rippen werden von dem *GvpC*-Protein verklammert, wobei mehrere *GvpA*-