

Uppdateringar och fördjupningar augusti 2015

Dessa uppdateringar och förslag till fördjupningsläsning är avsedda att förmedla dynamiken i dagens mikrobiologi, genom att fokusera på specifika delområden och där presentera en del pågående forskning. För att underlätta för studenter att fördjupa sig i dessa områden är texten försedd med källhänvisningar, så väl till sammanfattningsartiklar som till originalarbeten. Sidhänvisningarna avser andra upplagan av "Introduktion till mikrobiologi".

Kapitel 2 Desinfektionsmedel mot ebolavirus¹

Desinfektion riktad mot virus är ofta ett problem eftersom många virus inte går att odla på laboratorier och det därför är svårt att veta om virusen avdödas eller inte. För virus som kan odlas är odlingsproceduren, som ju kräver levande värdceller och deras ofta komplexa medier, svårhanterlig i fält och också mycket kostsam. Den här problematiken ställdes på sin spets i samband med ebolavirusepidemin i Afrika 2014. Trots att höljeförsedda virus, som ebolaviruset, ofta är känsliga för uttorkning och därmed inte överlever så länge utanför sina värdar fanns det data som visar att ebolavirus överlevt så länge som 46 dagar i serum.² Det behövs alltså effektiva procedurer som är validerade för fältbruk för att säkra vården av infekterade patienter.

Standardmetoder för desinfektion riktad mot ebolavirus inkluderar alkohol, klorföreningar och väteperoxid³. Även UV-bestrålning och γ -bestrålning har använts men är knappast möjliga att använda i fält. Cook och medarbetare⁴ studerade systematiskt inaktivering av ebolavirus med natriumhypoklorit och etanol. Deras studier utfördes på ebolavirus av Makonastammen⁵ från en patient. Viruset blandades upp med jord blandad med bl.a. serumalbumin, trypton och mucin (detta var avsett att efterlikna patientsekret där ebolavirus normalt befinner sig) som sedan torkades in på små rostfria stålplattor (0,5 cm²) med svagt räfflad yta. Försöksupplägget avsåg alltså att efterlikna ebolavirus som är intorkat från patienters serum. Virus odlades sedan upp på konventionellt sätt i cellkulturer.

Först undersökte de hur ebolaviruset kunde överleva på olika sorters ytor (plastrock, ansiktsmask, bomullsrock och rostfritt stål), utan desinfektion. De fann inga levande virus på bomullsrocken efter 24 timmar. På alla övriga testade ytor överlevde virusen längre. På stålplattorna överlevde ungefär hälften av ca 2×10^7 tillsatta infektiösa virus per stålplatta efter 192 timmar. Sedan studerade de den virusavdödande effekten av olika desinfektionsmedel. Natriumhypoklorit testades i koncentrationer från 0,01 % till 1 %. Också här använde de ca 2×10^7 infektiösa virus per platta, och fann då att 0,01 % natriumhypoklorit inte hade någon effekt medan virus inte alls kunde påvisas fem minuter efter tillsats av 0,5 % - 1 % natriumhypoklorit. Etanol testades i en enda koncentration, 67 %. Detta visade sig vara det mest effektiva desinfektionsmedlet de testade; redan efter en minut var 85 % av tillsatta virus avdödade.

¹ I läroboken kallat Marburg-Ebolavirus

² Piercy m.fl. (2010) *J Appl Microbiol* 109:1531

³ Mollur m.fl. (2015) *Radiology* 275:538; Cook m.fl. (2015) *Viruses* 7:1975

⁴ Cook m.fl. (2015) *Viruses* 7:1975

⁵ Isolerad från Guinea 2014 med 97 % sekvenslikhet jämfört med alla andra kända ebolastammar

Världshälsoorganisationen (WHO) rekommenderar idag 0,5 % hypoklorit för desinfektion, vilket enligt Cook m. fl. bör vara tillräckligt om virusmängden inte är alltför stor och behandlingen genomförs under minst fem minuter. För etanoldesinficering, som kan vara att föredra om det handlar om känsligt material, finns idag inga bestämda riktlinjer, men den genomförda studien utgör en god grund för sådana i framtiden.

Kapitel 3 Obligat flercelliga bakterier

Flercellighet hos bakterier har varit känd länge (se fig. 3.1 i läroboken), med exempel från streptomyceter (sid. 132, fig. 6.3), myxobakterier (sid. 138) och cyanobakterier (sid. 133-134, fig. 6.4). Hos myxobakterier aggregeras ursprungligen frilevande celler till avancerade fruktkroppar, en företeelse som gett många forskare möjligheter att studera kommunikation och differentiering bland bakterier. Hos streptomyceter och cyanobakterier resulterar ofullständig celledelning i långa filament med eller utan interna cellväggar mellan nukleotiderna; också här förekommer differentiering inom den flercelliga strukturen. Filament orsakade av ofullständig celledelning uppkommer också hos många för övrigt encelliga bakterier som konsekvens av stress. Hos enterobakterier kan detta vara en av konsekvenserna av induktion av SOS-systemet.

Flercelligheten i en grupp magnetotaktiska⁶ bakterier verkar dock vara något utöver det vanliga. Dessa bakterier har varit kända sedan 1990-talet, men kunskapen om dem har begränsats av att de inte gått att odla, varför fysiologi, utveckling etc. varit svåra att studera.⁷ Analys av deras 16S-rRNA-gener placerar dem i δ -proteobakteriefylumet nära kända sulfatreducerande bakterier; också många encelliga sulfatreducerare är magnetotaktiska. Flercelliga magnetotaktiska bakterier har beskrivits från många olika miljöer i världen.⁸ De först observerade formerna var sfäriska där cellerna är organiserade i en spiral, men det finns också ellipsoida där cellerna i stället ligger i sammanflätade cirklar.

Förra året lyckades Abreu och hennes medarbetare inte bara sekvensera största delen av genomet hos en flercellig magnetotaktisk bakterie, *Cand. Magnetoglobus multicellularis* från Arauamasjön i Brasilien, utan också odla den i ett syntetiskt medium.⁹ Denna bakterie bildar sfärer 6–10 μm i diameter bestående av 10–40 flagellerade celler i ett encelligt lager organiserat som en spiral där cellerna är tätt bundna till varandra på ett sätt som påminner om täta fogar mellan epitelceller hos djur. Sfärens inre är ihåligt, vilket påminner om cellorganisationen hos grönalger som *Volvox*. Samma forskningsgrupp hade tidigare visat att sfären uppträder som en organism: den rör sig med hjälp av ett stort antal flageller per cell, och förökas efter celltillväxt genom att hela sfären delas. Rörelsemönstret är komplicerat; sfären kan simma, rotera, ”vandra” i vattenytan eller alternera mellan bakåtrörelser och framåtrörelser i något som kallats pingpong-rörelse. Enskilda celler är i allmänhet immotila, och dör efter att de separeras från sfären.¹⁰

⁶ Magnetosomer, inklusioner som innehåller magnetit (magnetiskt järn), finns hos bakterier i olika fyla och möjliggör för bakterien att orientera sig i förhållande till jordmagnetismen (magnetotaxi). Forskare tror att magnetotaktiska bakterier på detta sätt lättare kan orientera sig i gyttjiga sediment; de påträffas i många olika akvatiska miljöer.

⁷ Lefèvre och Bazylnski (2013) *Microbiol Mol Biol Rev* 77:497

⁸ T.ex. Simmons (2007) *Environm Microbiol* 9:206; Wenter (2009) *Environm Microbiol* 11:1493; Zhang m.fl. (2014) *Res Microbiol* 165:481; Chen (2015) *Environm Microbiol* 17:637

⁹ Abreu m.fl. (2014) *ISME J* 8:1055

¹⁰ Abreu m.fl. (2006) *Internat Microbiol* 9:267; Abreu m.fl. (2007) *Int J Syst Evol Microbiol* 57:1318

Med hjälp av magneter (för att separera ut magnetiska celler) och ljusmikroskop (för att identifiera sfärerna) kunde Abreu och medarbetare nu uppnå ett i det närmaste rent isolat av *Cand. M. multicellularis*, vars genom de sekvenserade.⁹ De uppskattar att deras sekvens motsvarade ca 90 % av bakteriegenomet, även om alla kontiger inte kunde sammanfogas. Analys av de öppna läsramarna visade att *Cand. M. multicellularis* sannolikt erhåller energi genom respiration av organiska föreningar med sulfat som elektronmottagare, och troligen skapar och utnyttjar en Na⁺-potential över cellmembranet för att bilda ATP. Bakterien är sannolikt kapabel till såväl kemotaxi som (negativ) fototaxi, och fyndet av gener liknande dem involverade i cirkadianska (dygnsvarierande) cykler korrelerar väl med bakteriernas observerade dygnsrelaterade beteenden i naturen. De gener som kan vara associerade med flercelligheten visade störst likheter med sådana gener hos filamenterande bakterier som cyanobakterier och *Beggiatoa* (en γ -proteobakterie). Forskarna konstruerade ett syntetiskt odlingsmedium där *Cand. M. multicellularis*, anrikad som ovan (det var alltså inte fråga om en strikt renkultur) växte anaerobt med enkla organiska föreningar som energikälla och sulfat som elektronmottagare. De kunde med detta bekräfta att organismen var flercellig under hela sin livscykel; inga enskilda fria celler förekom. Tyvärr förlorade sfärerna sina magnetosomer och sin motilitet under odlingen, och utvecklade en mycket tjockare kapsel än den som omgav sfärerna i naturliga miljöer. Men med detta odlingsmedium som utgångspunkt, och med tillgång till dess genomsekvens, verkar forskargruppen vara nära en närmare karakterisering av organismen och dess unika flercellighet. Vad har lett fram till selektionen av obligat flercellighet, och förekommer någon differentiering inom sfären?

Kapitel 4 Typ VI-sekretion

En av de senast upptäckta (2006) sekretionsmekanismerna hos bakterier med gramnegativa cellväggar är typ VI-systemet (T6SS). Typ VI-sekretionsapparater, som liknar fagsvansar (sid 81) och också fungerar ungefär som sådana, kan insöndra effektorer i såväl andra bakterieceller som eukaryota celler på liknande sätt som fager insöndrar sina genom i värdceller. De verkar ha bred värdspecificitet, och kan därför fästa till ett stort antal olika andra celler och därmed fungera som "försvarssystem" mot konkurrenter i naturen (genom att injicera effektorer som påverkar värdcellen negativt). De bäst kända effektorerna som ut- och insöndras via T6SS är toxiner, där en kognat¹¹ immunitetsfunktion skyddar den producerande bakterien från toxinets verkan. Toxinerna kan påverka cellväggen, cellmembranet eller nukleinsyror i cellen. Här är några nyare arbeten om systemen.

Hcp och toxiner

Två proteiner som ingår i T6SS hos de flesta undersökta bakterier är Hcp och VgrG¹². Dessa ingår i själva sekretionsapparaten och insöndras också som effektorer. VgrG är ett lysozymliknande enzym som angriper cellväggen. Hcp bildar ringformade strukturer

¹¹ Kognat innebär ungefär "naturlig partner", dvs. de två "hör ihop" och bildas och fungerar i förhållande till varandra i naturen

¹² Hcp (hemolysin coregulated protein) är samreglerat med hemolysin och homologt till svansrörspoteinet gp19 hos fag T4; VgrG (valine glycine repet protein G) är ett protein med upprepade valin-glycinsekvenser som är homologt till svansutskottsproteinerna gp5-gp27 hos fag T4.

som fungerar som chaperoner¹³ hos *Pseudomonas aeruginosa*. De binder andra T6SS-utsöndrade effektorer och kan på så sätt stabilisera dem; utan Hcp insöndras signifikant mindre mängd av andra effektorer.¹⁴ Huruvida Hcp har någon effekt utöver denna chaperonfunktion är ännu oklart.

Decoin och medarbetare¹⁵ fann en kraftig överproduktion av Hcp från en kultur av en *Pseudomonas fluorescence*-stam (MFE01) isolerad från naturen. Ingen motsvarande överproduktion av andra effektorer noterades, och andra stammar av *P. fluorescence* visade inte samma omfattande utsöndring. Deras studier visade att MFE01 inte påverkade eukaryota celler, från vare sig djur, växter eller amöbor men däremot dödade många andra bakterier, såväl andra *Pseudomonas*-stammar som *E. coli* och exempelvis *Pectobacterium atrosepticum*, en bakterie som kan orsaka blötröta på potatis. Bakteriedödandet krävde cell-cellkontakt och en intakt *hcp2*-gen, men forskarna testade inte om överproduktion av Hcp2 i frånvaro av resten av T6SS-proteinerna hade någon effekt. *Serratia marcescens*, som också har ett aktivt T6SS, var okänsliga för MFE01, och forskarna kunde visa att det protein (Rap) som skyddade *Serratia*-cellerna från deras eget T6SS-utsöndrade toxin också delvis skyddade dem mot MFE01. Observera dock att detta skydd inte är riktat mot Hcp utan mot toxinerna.

Decoin m.fl.¹⁵ drog slutsatsen att överproduktionen av Hcp hos MFE01-bakterierna måste ge bakterierna en evolutionär fördel eftersom produktionen är kostsam. Fältförsök visade att MFE01 reducerade förekomsten av *Pectobacterium atrosepticum* (en potentiell konkurrent om föda för MFE01) och signifikant hämmade uppkomsten av blötröta på potatis orsakad av denna bakterie; MFE01 hade självt ingen skadlig effekt på potatisen. Denna kompetitiva fördel för MFE01 kan kanske förklara "vinsten" med överproduktionen av Hcp. Detta innebär att MFE01 kanske kan användas för att bekämpa *Pectobacterium*-sjukdomar hos växter. Den exakta verkningsmekanismen är dock fortfarande oklar eftersom MFE01 inte verkar överproducera några T6SS-toxiner. På vad sätt ger Hcp-överproduktionen en kompetitiv fördel till MFE01-bakterierna?

T6SS och horisontell genöverföring

Vibrio cholerae hör till de bakterier som kallas "naturligt transformerande" (sid 107), dvs. de har specifika upptagssystem för DNA från omgivningarna. Borgeaud och medarbetare¹⁶ visade med hjälp av RNA-sekvensering att generna som kodar för T6SS hos denna bakterie uppreglerades av samma faktorer (TfoX, HapR och QstR¹⁷, vilkas uttryck i sin tur induceras av kitin och kitinderivat) som uppreglerar kompetens. Med hjälp av en *Vibrio*-stam där uttrycket av *tfoX* kunde induceras kunde forskarna visa att induktion av *tfoX* ledde till uttryck av T6SS, vilket i sin tur dödade tillsatta *E. coli*-celler. Därefter testade de denna *Vibrio*-stam (predator) mot ett *Vibrio*-isolat från en naturlig miljö (byte). Bytet saknade de gener som krävs för att bilda T6SS, men bar på gener som ger kanamycinresistens. När predator och byte odlades tillsammans under betingelser som inducerade T6SS-bildningen hos predatorn uppkom talrika kanamycinresistenta

¹³ En chaperon är ett protein som deltar i veckning och återveckning av proteiner, och därmed skyddar dem mot denaturering.

¹⁴ Silverman m.fl. (2013) *Mol Cell* 51:584

¹⁵ Decoin m.fl. 2014, *PLoS One* 9(2): e89411. doi:10.1371/journal.pone.0089411

¹⁶ Borgeaud m.fl. (2015) *Science* 347:63

¹⁷ TfoX (transformation) är en positiv regulator för transformation; HapR (hemagglutinin/protease regulator) uppreglerar uttrycket av hemagglutinin/proteas A; QstR (QS and TfoX-dependent regulator) uppregleras av såväl kворum (den är homolog till bioluminescensregulatorn LuxR, se fig. 4.8) som TfoX och HapR.

predatortransformanter. Genom att använda olika mutanter som predatorer kunde forskarna visa att transformationen krävde alla normala kompetensfunktioner, och också fungerande T6SS. Deras slutsats var att kompetens i detta fall involverade inte bara förmågan att ta upp DNA ur omgivningen, utan också den funktion – dödande av andra bakterieceller med hjälp av T6SS – som genererade DNA i omgivningen som de kompetenta cellerna sedan kunde ta upp.

Kapitel 5 Kodonutnyttjande

Antagandet att den genetiska koden är universell ligger bakom all tolkning av metagenomiska sekvensdata. Visserligen har en del undantag påträffats – i mitokondrier, en del virus, bakterier och encelliga eukaryoter – men dessa har betraktats som enstaka undantag. I förra årets uppdatering (kap. 6) beskrevs exempelvis en studie av genom från drygt 200 icke-odlade bakterier och arkéer, som visade att stoppkodonet UGA sannolikt avkodades med glycin hos bakterier i fylumet *Gracilibacteria*.¹⁸

Ivanova och medarbetare¹⁹ har fört sådan analys längre genom att gå igenom 5,6 terabaser ($5,6 \times 10^{12}$ b) sekvens, varav 450 Gb ($4,5 \times 10^{11}$ b) var i kontiger om mer än en kb, från tillsammans 145 olika undersökningar, för att söka efter evidens för att kodon som i den universella koden innebär stopp i stället avkodas med någon aminosyra. De använde ett dataprogram som sökte efter öppna läsramar, dels enligt den universella koden, dels med sådana förändringar i stoppkodonutnyttjandet som påvisats i olika system tidigare. Bland de kontiger som var längre än en kb var det drygt 30 000 som gav signifikant flera öppna läsramar när programmet läste en del stoppkodon som aminosyror, vilket innebär att knappt hälften av de undersökta 450 Gb befann sig i kontiger som eventuellt utnyttjade en del stoppkodon för att koda för aminosyror. Hos bakterier var den enda implicerade omkodningen att kodonet UGA (opal²⁰) lästes som en aminosyra. Detta var samma omkodning som Rinke funnit i två fyla utan odlade representanter och som andra forskare funnit hos mykoplasma och ett fåtal bakterier som inte kunnat odlas; Ivanova m.fl. fann att den möjliga omkodningen i deras material var begränsad till dessa grupper. Fylogenetisk analys visade att omkodningen i så fall uppkommit två gånger oberoende av varandra. Hos eukaryoter implicerades UGA-omkodningar i mitokondriella sekvenser, och UAA(ockra)- och UAG(amber)-omkodningar i nukleära sekvenser. De nukleära omkodningarna påträffades enbart hos ciliater. Virussekvenser (endast DNA-virus analyserades) innehöll också möjliga UAG- och UGA-omkodningar. Dessa virus hörde till Caudovirales (svansförsedda fager, sid 261), och frånvaron av gener kodande för integraser tydde på att de var lytiska. Inga tecken på aminosyrakodning från universella stoppkodon påträffades i de sekvenser som kunde hänföras till arkéer.¹⁹

Ivanova och medarbetare undersökte också om det fanns skillnader i möjlig stoppkodonsanvändning i metagenom från olika miljöer. Trots att sekvenser från humana källor bara utgjorde 10 % av alla kontiger svarade de för 51 % av alla med möjliga omkodningar. Också sekvenser från färskvattenmiljöer var överrepresenterade

¹⁸ Rinke m.fl. (2013) *Nature* 499:431

¹⁹ Ivanova m.fl. (2014) *Science* 344:909

²⁰ Färg- och ädelstensbeteckningarna på stoppkodonen startade med ett labbskämt. De först upptäckta nonsensmutationerna (mutationer som orsakar stoppkodon, avkodningsbara med hjälp av mutanta tRNA) till sekvensen UAG uppkallades efter en vän till forskarna vid namn Bernstein, vilket är bärnsten på tyska. Och bärnsten är "amber" på engelska

bland dem med möjliga omkodningar; de utgjorde 13 % av alla kontiger men innehöll 44 % av alla med potentiella omkodningar. Marina sekvenser, som utgjorde 48 % av hela datasetet, innehöll bara 4 % av de möjliga omkodningarna.¹⁹

Det är nästan förvånande att alternativ kodonanvändning verkar vara begränsad till enstaka utvecklingslinjer bland bakterier, virus och eukaryoter – den genetiska koden verkar verkligen vara stort sett universell! Ändå är det uppenbart en företeelse som måste beaktas vid analys av DNA-sekvenser från naturliga miljöer. Det är också något som behöver beaktas vid konstruktion av sekvenser för inkorporering i mikroorganismer, vare sig avsikten är att de ska kunna utbyta information med det residenta genomet eller inte. Det ska kanske anmärkas att varken de ovan citerade studierna eller andra i detta område adresserar frågan om något kodon läses med en annan aminosyra än i den universella koden. Analys av detta skulle kräva aminosyrasekvensering av ett mycket stort antal proteiner, vilket knappast låter sig göras med dagens metoder.

Kapitel 6 Systematik

Det är en utmaning att karakterisera bakterier som inte går att odla. Fylumet Gracilibacteria som omnämndes i uppdateringen till kapitel 5 omfattar sådana bakterier. Närbesläktade med dessa är flera andra fyla med icke-odlingsbara bakterier. Samtliga dessa är små, med små genom, där många saknar olika biosyntetiska vägar, vilket antagligen är en orsak till att de inte låtit sig odlas; de måste vara beroende av andra organismer i omgivningen för sin metabolism. Brown och medarbetare²¹ har rekonstruerat hela eller delar av genomen från knappt 800 sådana bakterier från mer än 35 fyla²² (inklusive Gracilibacteria) i ett monofyletiskt superfylum (kandidatfylumgrenen, CPR). Genomsekvenserna erhöles genom metagenomisk analys av partikulärt material mellan 0,2 och 1,2 µm från grundvatten i Colorado, USA, och sekvenserna identifierades som tillhörande CPR-fyla baserat på 16s rRNA-jämförelser. Baserat på förekomsten av CPR-genom i deras totala sekvenspool uppskattar de att grenen omfattar mer än 15 % av diversiteten i hela bakteriedomänen.²¹

CPR-bakterierna skiljer sig från bakterier i fyla med odlade representanter på många sätt, kanske framför allt när det gäller ribosomernas uppbyggnad och de gener som kodar för ribosomalt RNA. Introner är vanliga i gener som kodar för både 16S och 23S ribosomalt RNA. Både intronerna och sekvensvariationer i konserverade regioner gör att "standard"-primrar riktade mot bakteriella 16S rRNA-gener inte kan amplifiera dessa från många av CPR-bakterierna. Många ribosomala proteiner (rp) saknar uppenbara homologer hos olika CPR-bakterier: rpL30²³ saknas hos alla där det undersökts, rpL9 saknas i flera fyla, och i en grupp saknas också rpL1. Både rpL1 och rpL9 anses essentiella för ribosomfunktion hos bakterier. Inom de bakteriefyla med odlade representanter som presenteras i läroboken är det vanligt att även relativt närbesläktade bakterier har mycket varierande genomstorlek och metabolisk kapacitet. CPR-bakterierna, å andra sidan, verkar mycket mer enhetliga: samtliga är små, med små

²¹ Brown m.fl. (2015) *Nature* 523:208

²² Kriterier för hur fyla ska avgränsas är inte helt klara. I LPSN:s (List of prokaryotic names with standing in nomenclature) databas [<http://www.bacterio.net/-classifphyla.html>] anges i juli 2015 för bakterier 30 etablerade fyla och ca 60 kandidatfyla (utan odlade representanter). Enligt ett nytt förslag [Yarza 2014, *Nature Rev Microbiol* 12:635] skall fyla definieras av >75 % sekvensidentitet i 16S-rRNA-gener. Detta skulle öka antalet bakteriefyla till ca 1500.

²³ L betecknar proteiner tillhörande den stora subenheten.

genom, och med ungefär samma metaboliska begränsningar enligt databasjämförelserna: alla har inkomplett citronsyracykel och saknar membranelektrontransportproteiner; en del saknar t.o.m. ATP-syntas. De flesta har ofullständig nukleotid- och aminosyrabiosyntes.²¹ Självklart är det möjligt, om än kanske inte så troligt, att en del av dessa funktioner kan utföras av proteiner kodade från gener som inte har homologer i databaserna; det är omöjligt att avgöra så länge inte bakterierna kunnat odlas.

Sammantaget verkar CPR-grupperingen omfatta bakterier med unika egenskaper och en unik livsstil, som innebär beroende av andra organismer i omgivningen för olika metaboliter. Det blir spännande att så småningom få läsa om de första odlade representanterna för denna utvecklingsgren!

Kapitel 7. Bakterier och klimatförändringar

Klimatförändringar är en realitet idag – temperaturen ökar och nederbördsmonstret förändras. Ännu finns ganska få undersökningar av hur bakterier påverkas av klimatförändringar, men nedan sammanfattas en del av vad som publicerats på sistone.

Terrestra miljöer

Ungefär en tredjedel av jordens landyta utgörs av öken. Klimatförändringar och bland annat människornas ökande användning av grundvatten gör att öknarna brer ut sig – vad får det för konsekvenser? Ökenmikrobiom domineras av aktinobakterier, bakteroideter och proteobakterier. Autotrofena representeras av cyanobakterier; de och aktinobakterier i släktet *Frankia* bidrar också med kvävefixering.²⁴ Relativt många undersökningar visar med olika grad av sofistikerad att en temperaturökning resulterar i lägre totalt antal mikroorganismer, att denna effekt förstärks om temperaturökningen åtföljs av mer extrem nederbörd (långvarig torka följt av kraftiga skyfall), och att förhöjd CO₂-halt resulterar i ökat antal mikroorganismer.

Maestre m.fl.²⁵ fann att två till tre graders temperaturökning ledde till att biomassan i det översta jordlagret (bioskorpan) reducerades till mindre än hälften på fyra år. Utflödet av CO₂ ökade, samtidigt som assimilering av CO₂ minskade. Uttorkning hade liknande om än mindre uttalade effekter.²⁴ Andresen m.fl.²⁶ visade att torka inte påverkade den totala mikrobiotan nämnvärt, ökad CO₂-halt (550 ppm jämfört med dagens ungefär 400 ppm) ledde till ökat antal mikroorganismer, medan 1 °C förhöjd temperatur ledde till starkt reducerat antal mikroorganismer.

Evans och medarbetare²⁷ fann tre olika mönster i hur av dem definierade operativa taxonomiska enheter (OTUer)²⁸ svarade på sekventiell torka och kraftig nederbörd: "känsliga" OTUers relativa förekomst reducerades under de fyra cyklerna, "opportunistiska" OTUer ökade i relativ mängd under de första cyklerna men minskade sedan igen, och "toleranta" OTUer ökade i relativt antal under försökets gång. Samma tre mönster erhöles med bakterier från såväl ett område som utsatts för extrem nederbörd

²⁴ Makhallanyane m.fl. (2015) *FEMS Microbiol Rev* 39:203

²⁵ Maestre m.fl. (2013) *Glob Change Biol* 19:3835

²⁶ Andresen m.fl. (2014) *PLOS One* 9(1): e85070. doi:10.1371/journal.pone.0085070

²⁷ Evans m.fl. (2014) *Ecol Lett* 17: 155

²⁸ En OTU är taxonomisk grupp definierad av DNA-sekvensdata. En OTU har i sig ingen taxonomisk status, utan det är den beskrivande forskaren som bestämmer hur gruppen avgränsas, dvs. vilka egenskaper som ska avgöra inneslutande eller uteslutande. OTUer kan definieras på vilken taxonomisk nivå som helst.

som från det "normala" området, men de toleranta utgjorde en större del i den extrema gruppen. Resultaten visar att mer extrem nederbörd här innebär dels att andra bakterier kommer att dominera i jorden, men också att en del taxa kan anpassa sig till de ändrade betingelserna.²⁷ Tyvärr gjorde Evans m.fl. inga försök att identifiera bakteriegrupper i de olika kategorierna, vilket förstås hade gjort deras studie mycket mer informativ.

Relativt få arbeten har direkt adresserat effekter på olika mikroorganismtaxa. Gschwendtner m.fl.²⁹ undersökte effekter på kväve metabolismen, och visade att såväl mineralisering³⁰ av kväveföreningar som nitrifiering och denitrifiering reducerades av en temperaturökning på 0,8 °C, mest denitrifieringen, och att denitrifieringen också påverkades mest av kombinationen av förhöjd temperatur och torka. De identifierade en del av de bakteriesläkten som påverkades.²⁹ Garcia-Pichel och medarbetare³¹, undersökte cyanobakterier i bioskorpan i torra regioner i Nordamerika och fann att en temperaturhöjning med genomsnittligt två till tre grader ledde till att den dominerande cyanobakterien *Microcoleus vaginatus* ersattes av *M. steenstrupii* (trots samma släktnamn är dessa två inte nära släkt). Konsekvenserna av detta är dock än så länge okända.

Akvatiska miljöer

Klimatförändringar har konsekvenser också för kretsloppen i haven. Santos m.fl.³² undersökte effekten av stigande temperaturer på kvävefixering hos korallsymbionter. Bakterier från korallpolyper studerades med hjälp av PCR riktat mot 16S-rRNA-gener (för artbestämning) och *nifH*³³ (för bestämning av kvävefixeringsförmåga). De fann att en temperaturökning på två till fyra grader ledde till reducerad fotosyntes (av symbiotiska xanteller, se sid 245) men tiofaldig ökning av förekomsten av kvävefixerande bakterier i polyperna. Fylogenetisk undersökning visade att γ -proteobakterier dominerade vid lägre temperaturer. Vid högre temperaturer minskade dessa, medan α -proteobakterier, i synnerhet *Azospirillum*-, *Rhizobium*- och *Rhodobacter*-lika bakterier, ökade. Cyanobakterier (främst *Oscillatoria*-lika) och β -proteobakterier detekterades bara efter 4,5 graders temperaturhöjning, liksom klorobier.

Tidigare data har tytt på att korallernas xanteller, som står för deras viktiga koldioxidassimilering, är kvävebegränsade och får sin kväveförsörjning av kvävefixerande medsymbionter. Den ökade kvävefixeringen med ökande temperaturer kunde därför vara positiv för dessa xanteller. Tyvärr skadas xantellerna av långa värmeperioder, vilket visades av den reducerade fotosyntesen vid högre temperaturer. Högre temperaturer ledde också ofta till minskad produktion av dimetylsulfoniopropionat i korallerna. Detta är ett ämne som har antimikrobiell verkan, vilket kan innebära att inte bara kvävefixerarna utan också andra, potentiellt patogena bakterier kan öka i koncentration efter temperaturhöjning.³²

Ett bakteriesläkte som gynnas av ökande temperaturer är *Vibrio*, som omfattar några humanpatogener och också en del fiskpatogener.³⁴ Exempelvis i Nederländerna

²⁹ Gschwendtner m.fl. (2014) *PLOS One* 9(12): e114278. doi:10.1371/journal.pone.0114278

³⁰ Mineralisering innebär omvandling av organiska molekyler till oorganiska.

³¹ Garcia-Pichel m.fl. (2013) *Science* 340:1574

³² Santos m.fl. (2014) *ISME J* 8:2272

³³ *nifH*-genen (nitrogen fixation) kodar för dinitrogenreduktas, det enzym som reducerar kväve vid ammoniakbildning.

³⁴ Levy (2015) *Environm Health Persp* 123:A82

har varmare somrar medfört flera *Vibrio*-infektioner.³⁵ Också cyanobakterier ökar i antal med ökande temperaturer³⁶. I en stor undersökning av sjöar i USA fann Rigosi m.fl.³⁷ att ökande temperatur gav störst ökning av mängden cyanobakterier i mesotrofa³⁸ sjöar, och att olika släkter påverkades olika.

Ovanstående kan sammanfattas som att alla data hittills tyder på att klimatförändringar kommer att påverka sammansättningen av mikrobiotan, så att somliga former ökar medan andra minskar. De totala konsekvenserna av detta för kretslopp, näringskedjor och hälsa går det ännu inte att uttala sig om, men det som framkommit hittills ser inte lovande ut.

Kapitel 8 *Helicobacter* – vän eller fiende?

Ska vi räkna *Helicobacter* som "vän" eller "fiende"? Upptäckten att *Helicobacter* är en väsentlig orsak till magsår hos människan³⁹, och också kan bidra till magcancer⁴⁰, talar ju för att bakterien hör till våra "fiender". *H. pylori* har associerats också till mukosaförknippad lymfom (MALT) och till sjukdomstillstånd utanför magsäcken som hjärt-kärlsjukdomar, anemi, Parkinsons och Alzheimers sjukdomar, fetma och hudsjukdomar.⁴¹ USA:s hälsovårdsmyndighet (NIH) rekommenderade 1994 att *Helicobacter pylori* skulle utrotas med hjälp av antibiotika.⁴²

Samtidigt visade också tidiga forskningsresultat att *Helicobacter* förekommer hos väldigt många människor som inte alls blir sjuka av den. I utvecklingsländer kan upp till 70–90 % av befolkningen bära på *H. pylori*, medan incidensen är lägre (ner till 10–25 %) i industriländer.⁴³ Bakterien sprids huvudsakligen vertikalt, från mor till barn. Incidensen kan minska snabbt: I Japan bar 2013 69 % av undersökta mormödrar *Helicobacter*, men bara 43 % av deras döttrar och 13 % av deras barnbarn.⁴⁴ De allra flesta smittas före 10 års ålder, men bara 10 % eller färre utvecklar *H. pylori*-associerade sjukdomar och då först i vuxen ålder.⁴⁵ *H. pylori* har funnits i människans magsäck sedan minst 58 000 år⁴⁶, och den dominerar helt mikrobiomet där även om metagenomiska studier identifierat över 100 andra bakteriearter också.⁴¹ Vad har nedgången i *H. pylori*-infektioner i vår del av världen för konsekvenser?

Utan *H. pylori* i magsäcken ökar diverse sjukdomar i svalg och matstrupe, inklusive cancer. Här tror forskarna att den mycket sura magsaften i en magsäck utan *H. pylori* och dess ureas kan bidra till uppkomsten av dessa sjukdomar. Kolonisering med *H. pylori* i magsäcken kan också direkt reducera syrautsöndringen; här verkar den typ

³⁵ Exempelvis Sterk m.fl. (2015) *Risk Anal* doi: 10.1111/risa.12365; Tout m.fl. (2015) *Front Microbiol* 6, doi: 10.3389/fmicb.2015.00432

³⁶ Exempelvis Gkelis m.fl. (2014) *Harmful Algae* 39:322; Taranu m.fl. (2015) *Ecol Lett* 18: 375

³⁷ Rigosi m.fl. (2014) *Limnol Oceanogr* 59:99

³⁸ En mesotrof sjö har "lagom" mycket tillgänglig näring, jämfört med en oligotrof (näringfattig) eller eutrof (övergödd).

³⁹ Marshall m.fl. (1988) *Lancet* 2:1437

⁴⁰ Kitadai m.fl. (1994) *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 61:1

⁴¹ Llorca Otero m.fl. (2014), / *Best Practice Res Clin Gastroenterol* 28:1017

⁴² NIH consensus conference (1994) *JAMA* 272:65

⁴³ Go (2002) *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 16supp1:3

⁴⁴ Urita m.fl. (2013) *J Paed Child Health* 49:394

⁴⁵ Dunn m.fl. (1997) *Clin Microbiol Rev* 10:720

⁴⁶ Linz m.fl. (2007) *Nature* 445:915

IV-sekretionsapparat som styrs från patogenitetsögen *cag* och effektorn CagA⁴⁷ vara väsentlig. Den kroniska inflammation i magsäcksepitet som blir konsekvensen av *H. pylori*-kolonisering påverkar också neuroendokrina celler där, inklusive hormoner som leptin och ghrelin som påverkar människans näringsupptag och -utnyttjande. Eliminering av *H. pylori* har ofta åtföljts av viktökning, men data är här inte helt entydiga. Hos barn anses *H. pylori*-infektion skydda mot övervikt. På senare år har forskare också påvisat att förekomst av *H. pylori* är korrelerat till lägre förekomst av atopisk (ärfeligt orsakad) astma hos barn.⁴¹ Å andra sidan är *Helicobacter*-infektioner ibland också associerade till ökad risk för anemi hos barn.⁴⁸

Kolonisering med *Helicobacter pylori* i magsäcken verkar alltså medföra såväl fördelar som nackdelar för människor. Vad som överväger, och vad som orsakar att infektionsfrekvensen går ned i industrivärlden är oklart, men den snabba minskningen tyder på att ett gigantiskt experiment är igång där vi kanske snart får svaret på den frågan?

Kapitel 9 Nya antibiotika mot grampositiva bakterier

Teixobaktin

Sökandet efter nya antibiotika i naturen kompliceras av att de allra flesta bakterier inte lätt låter sig odlas direkt ur naturliga källor. Ling m.fl.⁴⁹ använde en ny metod för att odla sådana bakterier. Forskarna spädde ett jordprov och applicerade det i en behållare med kanaler, ett s.k. iChip, så att i genomsnitt en cell hamnade i varje kanal. Därefter täcktes chippet med två semipermeabla membran och placerades tillbaka i jorden. Nu kunde olika näringsämnen och tillväxtfaktorer diffundera genom membranerna och bakterierna kunde tillväxa och bilda kolonier. När väl en första koloni erhållits lät sig många bakterier odlas vidare på mer konventionellt sätt. Metoden beskrivs i mer detalj av Piddock⁵⁰. De erhållna bakteriekolonierna screenades för antimikrobiell aktivitet, vilket resulterade i isolering av en β -proteobakterie som fick namnet *Eleftheria terrae*, och teixobaktin, ett nytt antibiotikum främst aktivt mot bakterier med grampositiva cellväggar.

Teixobaktin visade sig binda till lipid II (C55PP-NAM(pep)₅-NAG, fig. 4.12) som är en prekursor till peptidoglykan (samma som påverkas av vankomycin). Det binder också till lipid III (C55-PP-NAG-NAMan-P-glyc⁵¹) som är en prekursor till väggteikoinsyra. Teixobaktin angriper alltså syntesen av den grampositiva cellväggen på två ställen, och syntesen av den gramnegativa cellväggen på ett ställe (om det kommer igenom yttermembranet). Ämnet var mycket effektivt mot grampositiva bakterier som *Mycobacterium tuberculosis* och *Staphylococcus aureus*, också multiresistenta stammar av dessa, men hade ingen eller dålig effekt mot de flesta gramnegativa bakterier som testades, och visade ingen toxicitet mot mammalieceller i kultur.

Forskarna⁴⁹ undersökte risken för resistensutveckling mot teixobaktin hos *Staphylococcus aureus* genom att odla bakterierna i kulturer med varierande

⁴⁷ CagA (cytotoxin associated gene A) är ett exotoxin som bl. a. är inblandat i orsakandet av magcancer; patogenitetsögen har benämnts efter detta protein som den kodar för.

⁴⁸ Taye m.fl. (2015) *BMC Inf Dis* 15:270 doi: 10.1186/s12879-015-1012-y; Serrano m.fl. (2015) *Helicobacter* doi: 10.1111/hel.12247

⁴⁹ Ling m.fl. (2015) *Nature* doi:10.1038/nature14098

⁵⁰ Piddock (2015) *J. Antimicrob Chemother* doi:10.1093/jac/dkv175

⁵¹ NAMan = N-acetyl-mannosamin; glyc = glycerol

teixobaktinkoncentration, från $0,25 \times \text{MIC}$ (sid 188) till $4 \times \text{MIC}$ och inkubera över natten. Celler från den kultur med näst högsta antibiotikakoncentrationen som tillåtit växt späddes och nya kulturer sattes med samma teixobaktinkoncentrationer. Detta upprepades i 30 dagar, varefter kulturerna testades för förekomst av resistent mutant (med högre MIC-värde än ursprungligen). Inga sådana påträffades, medan ofloxacin (en fluorokinolon, sid 203) under samma betingelser gav mutant med $256 \times \text{MIC}$. Ling m.fl. menar att det faktum att teixobaktin har två olika angreppspunkter och dessa inte är proteiner minskar risken för resistens kraftigt.⁴⁹ Piddock⁵⁰ har uttryckt farhågor för spridning av resistens även mot detta antibiotikum eftersom den producerande bakterien ju måste vara resistent mot det antibiotikum som den producerar. Man kan sedan tänka sig att dessa jordbakterier kan överföra resistensgener till bakterier som infekterar människa.

När väl ett nytt antibiotikum isolerats tar det dock lång tid att utveckla det till ett läkemedel. Som läkemedel måste ämnet vara lösligt så det kan tas upp i kroppen, vara potent och säkert, och allt detta kostar mycket pengar. Teixobaktin har ännu en lång väg att gå innan det eventuellt kan bli ett läkemedel. Som Piddock⁵⁰ framhåller är det inte så säkert att det är värdefullt att få ett nytt antibiotikum mot grampositiva bakterier eftersom det redan finns många på marknaden. Det skäl som finns är att det går att använda mot *Mycobacterium tuberculosis*.

Auranofin

För ett läkemedel som redan är registrerat är förstås processen mot antibiotikaanvändning kortare och billigare eftersom det redan föreligger mycket information om ämnets egenskaper och effekt på människa. Harbut och medarbetare⁵² fann att ett redan registrerat läkemedel mot reumatiska sjukdomar, auranofin⁵³ (en guldförening), har antibiotisk effekt mot vissa grampositiva bakterier som *Mycobacterium tuberculosis* och *Staphylococcus aureus*. De kunde visa att auranofin hämmade tioredoxinreduktas som medverkar i syntesen av DNA, i proteinveckning och som skydd mot oxidativ stress som uppkommer i närvaro av reaktiva syreföreningar (sid 71).

Hos människa och gramnegativa bakterier finns också glutathion och glutathionreduktas som kan utföra samma reaktioner som tioredoxinsystemets enzym. Hos många grampositiva bakterier som *Mycobacterium tuberculosis* och *Helicobacter pylori* finns inte glutathionreduktas och därför blir tioredoxinreduktas essentiellt.

Kapitel 10 Bioremediering av olja

De stora oljespillen utanför Alaska (oljetankern Exxon Valdez 1986), i Persiska viken (i samband med Kuwaitkriget 1991) och i Mexikanska golfen (British Petroleums oljerigg 2010) har aktualiserat mikroorganismernas förmåga att bryta ned olja i naturen. Vilka är de begränsande faktorerna och kan förhållandena läggas till rätta för effektivare bioremediering vid oljespill i vatten?

Själva nedbrytningen katalyseras av oxygenaser specifika för olika typer av kolväten, vilket innebär att det som regel behövs flera olika mikroorganismer för att bryta ned den blandning av olika typer av kolväten som utgör olja. Det faktum att kolvätena är olösliga i vatten reducerar kontaktytan mellan mikrober och kolväten och

⁵² Harbut m.fl. (2015) *Proc Natl Acad Sci USA* 112:4453

⁵³ tidigare registrerat i Sverige som antireumatiskt läkemedel med namnet Ridaura.

försvårar nedbrytningen. Det är vanligt att dispergeringsmedel (som bryter upp stora oljedroppar i mindre och därmed ökar den möjliga kontaktytan) tillsätts kontaminerat vatten för att snabba på nedbrytningen. Resultaten spretar dock – ibland hämmar dispergeringsmedlet nedbrytningen, ibland har det ingen effekt och ibland stimuleras nedbrytningen. Mikroorganismerna kan också utnyttja dispergeringsmedlet som energikälla i stället för oljan, vilket ju inte riktigt var vad som var meningen.⁵⁴

Till stor del orsakas de spretiga resultaten säkert av att studierna utförts under olika betingelser, som vad för dispergeringsmedel och vad för olja som använts, förhållandet mellan mängd dispergeringsmedel och olja, hur tillgången på övriga näringsämnen ser ut och vad för mikroorganismer som finns på den aktuella platsen. Sådana betingelser är förstas svåra att kontrollera i fält. Ett kontrollerat försök visade att dispergenten Corexit EC9500A bröts ner snabbare än oljan.⁵⁵ En ökning av CO₂-produktionen efter dispergenttillsats kan därför misstas för snabbare oljenedbrytning när det i själva verket är dispergenten som bryts ned. Somliga kolväten bröts ner snabbare efter dispergering medan andra bröts ner snabbare i råoljan, och någon definitiv slutsats angående dispergenternas roll för oljenedbrytningen går inte att dra i dagens läge. Detta är kanske inte så förvånande eftersom oljenedbrytande bakterier dels har ganska hydrofoba ytor, som gör det möjligt för dem att binda oljan, dels själva producerar emulgeringsmedel.⁵⁶ Också angående toxiciteten är data oklara, och inga av de dispergenter som idag är tillåtna av USA:s miljömyndighet (Environmental Protection Agency) har testats noggrant i fält. Tvärtom visar studier efter spillet i Mexikanska golfen att den dispergent som användes där sannolikt ökade oljans toxicitet avsevärt.⁵⁷ Kleindienst m.fl. drar slutsatsen att användandet av dispergenter för att öka nedbrytningshastigheten för olja efter spill kan ifrågasättas: nyttan är inte uppenbar och skadeverkningar är otillräckligt utredda.⁵⁴

Däremot kan tillsats av begränsande näringsämnen, som kväve och fosfor, öka nedbrytningshastigheten. Det går åt ungefär 150 g kväve och 30 g fosfor för att omvandla 1 kg kolväten till biomassa. Lösliga kväve- och fosforföreningarna är inget alternativ; de späds snabbt ut från oljespillet. Olika olösliga varianter har testats. Ron och Rosenberg argumenterar för guano som en effektiv tillsats av såväl kväve (i form av urinsyra) och fosfor (i form av fosfat).⁵⁶ Marina fåglar producerar stora kvantiteter guano, vilket har gjort att många marina bakterier kan utnyttja ämnet. I försök med oljenedbrytande stammar av *Alcanivorax* visade sig guano understödja tillväxt upp till 10⁸ bakterieceller per mL, och nedbrytning av 70 % av oljan. Vattenlösliga kväve- och fosforföreningar var inte alls lika effektiva i detta system.⁵⁸

Kapitel 11 Motilitet hos arkéer

Arkéernas flageller (ibland kallade arkeller) liknar funktionellt flageller hos såväl bakterier som encelliga eukaryoter, men de har helt annan struktur. De är homologa till typ IV-pili hos bakterier. Också typ IV-pili är ju associerade till motilitet, men med en helt annan mekanism: ett (ospecifikt) adhesin i änden fäster en pilus till en yta, och när pilusen sedan depolymeriseras från sin bas kortas den in, och bakterien rör sig mot fästpunkten. Hur fungerar arkéflagellerna?

⁵⁴ Kleindienst m.fl. (2015) *Nature Rev Microbiol* 13:388

⁵⁵ Ron och Rosenberg (2002) *Curr Op Biotechnol* 13:249

⁵⁶ Ron och Rosenberg (2014) *Curr Op Biotechnol* 27:191

⁵⁷ Rico-Martinez m.fl. (2013) *Environ Poll* 173:5

⁵⁸ Knezevich m.fl. (2006) *Biomed J* 10:83

Arkéflagellerna är uppbyggda på ungefär samma sätt inom hela domänen. De består av sulfaterade flagellinmonomerer i en högerviden helix (bakterieflagellerna är vänsterhelixar, medan typ IV-pili också är högerhelixar), och monomererna är glykosylerade med samma glykaner som i S-lagrets glykoprotein. Glykosyleringen sker utanför cellmembranet, och är nödvändig för att den nya monomeren ska inkorporeras i flagellen, vilket visar att dessa flageller sätts ihop utanför cellmembranet. Genetiska studier visade att monomererna bildas som preprotein med en kort signalpeptid i den N-terminala änden, vilket är vad som skulle förväntas om de utsöndras genom ett typ II-liknande system på liknande sätt som bakteriernas typ IV-pili (sid. 79, fig. 4.13A). Arkéflagellerna är inte ihåliga, vilket omöjliggör transport av monomerer inuti den växande flagellen för inkorporering i spetsen, som sker hos bakterier. Bakteriernas flagellmonomerer saknar också glykosylering och signalpeptider, och utsöndras genom en typ III-liknande apparat (fig. 4.13B, sid. 80). Arkéflagellerna saknar de ringar som förankrar bakterieflageller i cellmembran och cellvägg (fig. 3.7).⁵⁹

Arkéflagellerna roterar.⁶⁰ Energin kommer från ATP och inte proton- (eller natrium-)potentialen som för bakterieflageller.⁵⁹ Någon rotation har inte påvisats för bakteriernas typ IV-pili, men en homolog bakteriestruktur, den pseudopilus som "puttar ut" utsöndrade komponenter genom en por i yttermembranet i gramnegativa cellväggar (fig. 4.13A), har nyligen visats rotera under sammansättningen⁶¹. Den ATPas som driver sammansättningen av typ II-pseudopili och typ IV-pili hos bakterier är homolog till den ATPas som driver polymeriseringen av arkéflagellin och sannolikt också arkéflagellens rotation.⁶² Denna ATPas (FlaI hos *Methanococcus maripaludis*) står i kontakt med arkéflagellens membranförankrade bas FlaJ, också homolog till motsvarande protein i typ IV-pili.⁵⁹ Arkéerna kan komma upp i avsevärda hastigheter, 400–500 cellängder per sekund, att jämföra med *E. coli*, eller för den delen en gepard, som kommer upp i maxhastigheter av ca 20 cellängder (kroppslängder) per sekund⁶³. Hur själva rotationen åstadkoms är fortfarande oklart, men ATPasen – FlaI – bildar en ringformad hexamer där konformationsförändringar orsakade av ATP-hydrolys skulle kunna driva rotationen.⁶⁴

Det är tänkvärdt att motilitet åstadkoms på tre helt olika sätt i de tre domänerna, och att en och samma "basstruktur", typ II-sekretionsapparaten, kan utnyttjas till så många olika funktioner.

Kapitel 12 Hur är eukaryoter släkt med arkéer och bakterier?

Idag används huvudsakligen genomikdata för att undersöka släktskap mellan organismer. Detta är svårt för närbesläktade grupper som däggdjur eller blommväxter, vilkas stamformer levde för sådär 200 miljoner år sen, och naturligtvis oerhört komplicerat för organismer vars gemensamma stamform levde för 1–4 miljarder år sedan. Analyserna kräver mycket sofistikerade dataprogram, och bygger på att data sorterar och filtreras på olika sätt för att få fram en trovärdig signal bakom ett

⁵⁹ Albers och Jerrel (2015) *Front Microbiol* 6, doi:10.3389/fmicb.2015.00023

⁶⁰ Shahapure m.fl. (2014) *Mol Microbiol* 91:716

⁶¹ Nivaskumar m.fl. (2014) *Structure* 22:685

⁶² Ghosh m.fl. (2011) *Biochem J* 437:43

⁶³ Herzog och Wirth (2012) *Appl Environm Microbiol* 78:1670

⁶⁴ Reindl m.fl. (2013) *Molecular Cell* 49:1069

bakgrundsbrus av horisontellt överförda gener och miljarder års mutationer. Det är då kanske inte egendomligt att olika grupper kommer fram till olika resultat.

Upptäckten av Lokiarchaeota⁶⁵, en grupp som 16s rRNA-analys placerar på krenarkésidan av det fylogenetiska trädets, i ett superfylum kallat TACK⁶⁶, stödjer hypotesen att eukaryoternas närmaste släktingar på arkésidan återfinns här. Genomanalysen visade att ungefär 3 % av *Cand. Lokiarchaeums* genom kodar för proteiner homologa till eukaryota proteiner, framför allt sådana som är involverade i processer som påverkar formen på membran och cellvägg, inklusive fagocytos. Likheter med eukaryota aktinkodande gener, och förekomsten av gener kodande för proteiner som hos eukaryoter är inblandade i polymerisering och depolymerisering av aktinfilament (sådana saknas hos andra arkéer och bakterier), antyder att *Cand. Lokiarchaeum* kan ha ett dynamiskt aktincellskelett⁶⁴, vilket ju skulle underlätta den fagocytos som behövs för etablerandet av mitokondrier och kloroplaster.

Det är alltså möjligt att eukaryoterna inte är en systergrupp till arkéerna, utan i stället härstammar från en av dagens två huvudgrupper av arkéer. Detta är i och för sig inte någon ny hypotes, utan föreslogs redan för femton år sedan baserat på en ribosomstruktur som senare visade sig vara oinformativ.⁶⁷ En del fylogenomiska studier leder till samma slutsats, att eukaryoternas närmaste släktingar återfinns i TACK-gruppen⁶⁸, medan andra forskare inte finner eukaryoterna närmare någon av de två huvudgrenarna⁶⁹ och åter andra menar att problemet är olösligt⁷⁰. Mitokondriernas och kloroplasternas bakteriellsprung är idag oomtvistat, och har förstås lett till omfattande förekomst av gener med bakteriellt ursprung i eukaryota celler. Många olika hypoteser har lagts fram om att också andra eukaryota organeller är av endosymbiotiskt ursprung, men inga av dessa har fått generellt stöd⁷¹. Den idag vanligaste hypotesen är i stället att endomembransystemen inklusive kärnan utvecklats från cellmembranet, kanske före inlemmandet av mitokondrier.⁷²

Det mesta av ovanstående är baserat på sekvensanalyser. Vad händer om också morfologiska kännetecken inkluderas? De mest utvecklade hypoteserna som inkluderar sådana kännetecken och syftar till plausibla utvecklingslinjer som förklarar morfologiska särdrag hos olika grupper och är kompatibla med genomikdata kommer från Cavalier-Smith.⁷³ Hans träd skiljer sig en del från dem som är vanliga i fylogenomiska arbeten, bland annat med att lägga trädets rot bland Posibacteria (med grampositiva väggar), från vilka såväl Negibacteria (med gramnegativa väggar) och Neomura (Archaeobacteria) [alla namn enligt Cavalier-Smiths terminologi] härstammar. Enligt hans hypotes utvecklades eukaryoterna ur neomurer, och deras närmaste arkésläktingar återfinns i TACK-gruppen som har liknande cellväggsuppbyggnad, (avsaknad av murein/pseudomurein, förekomst av glykoproteiner). Fagocytos av

⁶⁵ Spang m.fl. (2015) *Nature* 521:173

⁶⁶ Det omfattar idag Thaumarchaeota, Aigarchaeota, Crenarchaeota och Korarchaeota

⁶⁷ Rivera och Lake (1992) *Science* 257:74;

⁶⁸ Exempelvis Guy och Ettma (2011) *Trends Microbiol* 19:580; Williams m.fl. (2012) *Proc Roy Soc London B* 279:4870; Koonin och Yutin (2014) *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:016188

⁶⁹ Exempelvis Rochette m.fl. (2014) *Mol Biol Evol* 31:832

⁷⁰ Gribaldi m.fl. (2010) *Nature Rev Microbiol* 8:743

⁷¹ Keeling (2014) *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:a016196

⁷² Koumandou m.fl. (2013) *Crit Rev Biochem Mol Biol* 4:373; Baum och Baum (2014) *BMC Biol* 12:76 doi:10.1186/s12915-014-0076-2; Devos m.fl. (2014) *Curr Op Cell Biol* 28:8

⁷³ Cavalier-Smith (2014) *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6: a016006 och många tidigare artiklar av samma författare

bakterier resulterade sedan i mitokondrier och kloroplaster. Detta ger alltså ungefär samma härstamning av eukaryoter som de ovan beskrivna genomsekvensstudierna.

En tentativ sammanfattning av dagens läge blir då att eukaryoter kan ha utvecklats ur arkéer i TACK-gruppen, att deras energikonserverande organeller (mitokondrier och kloroplaster) har uppkommit via endosymbios men att endomembransystemen inklusive kärnan sannolikt har endogent ursprung.

Kapitel 13 Mag-tarmbakterier kan underlätta virusinfektioner

Norovirus, som ingår i gruppen Calicivirus, orsakar bl.a. vinterkräksjuka (sid. 275) hos människa. Det har hittills varit mycket svårt att odla detta virus i cellkultur⁷⁴. Forskare har därför i stället isolerat viruset från infekterade patienters tarmuttömning efter att ha filtrerat tarminnehållet genom ett 0,2 µm membran för att bli kvitt kontaminerande bakterier. Sådana filtrerade isolat innehåller dock inga infektiösa norovirus.

Jones och hennes medarbetare⁷⁵ hypotetiserade att något i de ofiltrerade tarmproverna behövdes för produktiv norovirusinfektion, och testade ofiltrerade prover. De fann att humana norovirus i sådana prover kunde infektera humana B-celler (lymfocyter av B-typ, se sid 167) i cellkultur. Sedan tidigare är det känt att norovirus binder till vissa blodgruppsantigen (proteiner på ytan av röda blodkroppar). Personer som saknar dessa antigen är okänsliga för norovirusinfektion⁷⁶. Det var känt sen tidigare att *Enterobacter cloacae*, som fanns i tarmuttömningarna, kunde bilda dessa blodgruppsantigener. Jones forskargrupp fann att *Enterobacter cloacae*, liksom renat blodgruppsantigen, stimulerade bindning av viruset till mänskliga B-celler.

Andra studier har tidigare visat betydelsen av bakterier i samband med virusinfektioner hos möss. Ett retrovirus (musbröstkörteltumörvirus, MMTV) har visat sig etablera persisterande infektioner i mus enbart i närvaro av magtarmbakterier, bl.a. kolibakterier, *Bacillus cereus* och *Enterococcus faecalis*.⁷⁷ Även poliovirus och reovirus förmåga att infektera möss förstärktes i närvaro av samma magtarmbakterier.⁷⁸ I samtliga fall verkade bakteriernas LPS vara inblandad, antingen genom att virus band direkt till LPS eller genom de effekter LPS har på immunsystemet. Även om dessa studier enbart gäller möss tyder Jones och medarbetares arbete⁷⁵ på att samma förhållanden gäller hos människor, och att alltså människans normalflora i tarmen underlättar för virus att etablera infektioner där.

⁷⁴ Takanashi m.fl. (2014) *Arch. Virol* DOI 10.1007/s00705-013-1806-4

⁷⁵ Jones m.fl. (2014) *Science* 346:755

⁷⁶ Marionneau m.fl. (2002) *Gastroenterology* 122:1967-1977

⁷⁷ Kane m.fl. (2011) *Science* 334:245

⁷⁸ Kuss m.fl. (2014) *Science* 334:249; Robinson m.fl. (2014) *Cell Host Microbe* 15:36