

Uppdateringar och fördjupningar

sept. 2012

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, såväl till sammanfattningsartiklar som till originalarbeten. Sidhänvisningarna avser andra upplagan av "Introduktion till mikrobiologi".

Kapitel 3 Aktinliknande filament hos bakterier

Cellskelettelement hos bakterier var okända till upptäckten av aktinhomologen MreB 1991, och först i början av 2000-talet hade medlemmar av de tre stora familjerna av sådana element identifierats hos bakterier (se sid 48). Deras funktioner har sedan studerats intensivt. Nyare forskning har identifierat ytterligare komponenter och klarlagt flera väsentliga funktioner som är beroende av dessa cellskelettelement.¹ Idag vet vi att de bakteriella aktinhomologerna är genetiskt mycket mer divergenta än vad eukaryoternas aktinproteiner är², och polymeriserar till olika strukturer: raka eller helikala filament, eller knippen^{2, 3}. Den stora diversiteten innebär sannolikt att de har flera hittills okända funktioner – ett spännande forskningsfält idag!

Inte ens när det gäller det längst studerade proteinet, MreB, är funktionen helt klarlagd. MreB hos *E. coli*, och dess homologer hos andra bakterier är nödvändigt för att cellerna ska bli stavformade – i frånvaro av MreB blir kolibakterierna runda. Eftersom bakterier är så små som de är förutsätter studier av enskilda celler ingrepp som kan orsaka artefakter, t.ex. fixering inför elektronmikroskopi eller "märkning" av proteiner genom att den kodande sekvensen gentekniskt förlängs med koden för en fluorescerande peptid, så att proteinet sedan kan ses i ljusmikroskop. Sådana studier har visat att MreB bildar filament som har kontakt med cellmembranet på flera ställen utefter cellens längd. Syntesen av nya cellväggskomponenter styrs genom att MreB vid dessa kontaktpunkter interagerar med flera av de proteiner som syntetiserar nya cellväggskomponenter, bl.a. transpeptidaset/transglykosylaset Pbp2 (se sid 77). Genom att MreB-filamenten inte är statiska utan dynamiska och kontakter nya punkter på cellmembranet där de initierar ny cellväggssyntes, kommer ny cellvägg bara att bildas utefter bakteriecellens långa sidor.⁴ Filamentens förflyttning verkar drivas av cellväggssyntesen på ett sådant sätt att nya tillväxtpunkter sprids jämt över bakteriens långsidor.⁵ Nyare data tyder på att MreB kanske inte bildar långa, helikala filament som man tidigare menat utan flera kortare filament, som kanske inte ens helikala.^{5, 6} De tidigare observerade långa helikala filamenten skulle då kunna vara artefakter orsakade

¹ Ingerson-Mashar och Gitai (2012) *FEMS Microbiol Rev* 36:256

² Popp och Robinson (2011) *Mol Microbiol* 80:300

³ Popp m.fl. (2010) *J Mol Biol* 397:1031

⁴ Cellväggen på de korta sidorna, cellpolerna, bildas som skiljevägg mellan två dotterceller när en cell delas, och syntesen styrs av bl.a. FtsZ och ett annat transpeptidas/transglykosylas, Pbp3

⁵ White och Gober (2012) *Trends Microbiol* 20:74

⁶ Swulius och Jensen (2012) *J. Bacteriol* doi:10.1128/JB.00505-12

av den metodik som använts.⁶ Vi har uppenbart mycket kvar att lära om hur MreB styr cellmorfologin! MreB är också en nyckelspelare avseende lokalisering av flera cytoplasmatiska proteiner, som de proteiner som orsakar glidande motilitet hos myxokocker, och pilusassocierade proteiner hos *Pseudomonas*. Hur detta går till är dock ännu oklart.

Bakterieceller innehåller flera andra aktinhomologer med andra funktioner. Polymeriseringen av ParM, som kodas från koliplasmiden R1, separerar plasmider till varsin cellpol ungefär som kärnspolen vid mitosen hos eukaryota celler. Hur Alfa i *Bacillus subtilis* bidrar till plasmidsegregering är mindre väl känt.⁷ Polymerisering och depolymerisering av MamK-filament hos magnetotaktiska bakterier bidrar dynamiskt till såväl sammanförandet av magnetosomerna (korn av magnetiskt järn innanför ett proteinhölje, se sid 47) utefter filamentet som dettas lokalisering i mitten av cellen, men också här är detaljerna dåligt kända.⁸

Kapitel 4 Biofilm

I samband med biofilm (sid 92) uppkommer problem med s.k. persisterande celler som uppvisar okänslighet mot antibiotika (sid 191–192). På grund av de stora problem detta orsakar inom medicinen är det ett mycket aktivt forskningsfält. Berk m.fl.⁹ har studerat biofilmbildningen i detalj med hjälp av avancerad märkningsteknik och därigenom kunnat avgöra vilka olika proteiner som ingår i biofilmen och hur de binds till bakterierna och till polysackarider som också ingår i biofilmen. Forskarna har märkt ("taggat") tre proteiner benämnda RbmA, RbmC och Bap1 genom att klona tre specifika gensekvenser kodande för peptiderna Myc och FLAG samt en human influensahemagglutininepitop i ena änden av respektive gen. De taggade proteinerna kan då påvisas med antikroppar riktade mot taggarna, vilket då visar var proteinerna befinner sig i biofilmen. De fann att RbmA medverkar i bindningen mellan bakterieceller och Bap1 i bindningen till den yta som biofilmen bildats på. En heterogen blandning av RbmC och Bap1 tillsammans med polysackarid band till det hölje som omgav bakterierna i biofilmen. Resultaten visade också att bakteriecellerna i biofilmen är organiserade i cellgrupper. Dessa cellgrupper är sedan i sin tur organiserade i större grupper. Forskarnas tidsstudier visade att de olika komponenterna som ingår i biofilmen bildas vid specifika tidpunkter efter att den första cellen bundit till en yta. Först bildades RbmA, sedan Bap1 och sist RbmC. Studierna utfördes på kolerabakterier och resultaten kan naturligtvis skilja sig från dem man skulle få med andra bakterier.

Kim m.fl.¹⁰ rapporterade att ett kemiskt ämne med beteckningen C10 (3-[4-(4-metoxyfenyl)piperazin-1-yl]piperidin-4-yl bifenyl-4-karboxylat) i kombination med antibiotika kan döda persisterande celler i en biofilm. Detta ämne verkar förändra de persisterande cellerna så att de åter blir antibiotikakänsliga och kan avdödas med antibiotika (fluorokinoloner). Detta är den första observationen av *en* substans som tillsammans med antibiotika kan orsaka en sådan här förändring och forskarna menar att genom att detaljstudera mekanismen för denna effekt så kan man också klarlägga hur de persisterande cellerna uppkommer. Man kan tänka sig att detta ämne skulle kunna utvecklas till ett nytt läkemedel, men detta diskuteras inte i artikeln.

⁷ Popp m.fl. (2010) *J Mol Biol* 397:1031-1041

⁸ Sonkaria m.fl. (2012) *PLoS One* 7:e34189; Klumpp och Faivre (2012) *PLoS One* 7:e33562

⁹ Berk m.fl (2012) *Science* 337:236

¹⁰ Kim m.fl 2012 *Antimicrob. Agents Chemother.* 55:5380

Nguyen m.fl.¹¹ visade att den antibiotikatolerans som uppstår hos persisterande celler orsakas av s.k. stringent respons. Stringent respons är ett av bakteriernas svar på aminosyrasvält, och innebär bl.a. att ribosomal RNA-syntes avstängs. Mutas de gener som medverkar i denna respons kommer cellerna att vara känsliga för antibiotika även när de inte tillväxer. Resultaten visar därmed att det är en aktiv process som leder till tolerans och inte enbart att tillväxten avstannar.

Kapitel 5, 11 Horisontell genöverföring

Betydelsen av horisontell genöverföring i evolutionen kan knappast överskattas (se sid 104ff). De tre välkända mekanismerna transduktion, transformation och konjugation har karakteriserats huvudsakligen från laboratoriestudier av kolibakterier och *Bacillus subtilis*. Det förvånar säkert ingen att dagens möjligheter till studier som inte förutsätter odling på laboratorier, och studier av andra mikroorganismer, har avslöjat nya varianter och nya mekanismer som utvidgar synen på horisontell genöverföring bland mikroorganismer.

Världshaven täcker ungefär 70 % av jordens yta och består av mer än tusen miljarder kubikkilometer vatten, vilket befolkas av mikroorganismer. Vad som händer här är förstuds av fundamental betydelse för livets utveckling på jorden, och det är just i de marina miljöerna talrika metagenomiska (se sid 144) studier gett fundamentala insikter om mikroorganismerna. Ett genöverföringsagens (GTA, sid 105) är en fagliknande partikel med ett slumpmässigt innehåll av DNA från den cell partikeln bildats i, ungefär som en generellt transducerande fagpartikel.¹² GTA-partiklarna verkar dock sällan eller aldrig innehålla något fag-DNA, eller ens rymma ett helt faggenom, vilket då förstuds omöjliggör produktion av nya fagpartiklar i infekterade celler. Bara ett fåtal GTA:er från olika bakterier och arkéen *Methanococcus voltae* har studerats i detalj. Dessa är inte homologa (vilket antyder att de uppkommit oberoende av varandra), och alla utom en bildar svansförsedda partiklar. De bäst studerade transducerar α -proteobakterier, vilka är mycket talrika i marina miljöer, och gav transduktionsfrekvenser i laboratoriemiljö som vida översteg tidigare observerade frekvenser av "konventionell" transformation och transduktion.¹³ Studier i naturliga miljöer visade på transduktion också under sådana betingelser.¹⁴ Här har evolutionen uppenbart "renodlat" en av de två effekter fagpredation har på bakterier och arkéer – genöverföringen – medan den celldöd som orsakas av lytisk växt minimerats (se sid 267). Mera forskning krävs för att visa hur denna renodling påverkar evolutionen, och under vilka omständigheter, om några, den ena eller den andra är mest fördelaktig.

De traditionella genöverföringsmekanismerna konjugation, transformation och transduktion, samt de ovan beskrivna genöverföringsagensen, har alla beskrivits för olika grupper av arkéer. Kunskapen om horisontell genöverföring i denna domän är fortfarande rudimentär, men har redan visat på överföringsmekanismer som inte är kända från bakterier. Arkéer i släktet *Haloferax* kan fusera och bilda en komplett diploid cell. Från denna segregerar senare haploida celler igen. *Haloferax*-cellerna begränsas utåt av ett S-lager och saknar hård cellvägg, vilket kanske är vad som möjliggör fusionen. S-lager i stället för en hård cellvägg är relativt vanliga hos arkéer, där alltså denna

¹¹ Nguyen m.fl. (2011) *Science* 334:982

¹² Kunskaper om GTA sammanfattas av Lang m.fl. (2012) *Nat Rev Microbiol* 10:472

¹³ McDaniel m.fl. (2010) *Science* 330:50

¹⁴ McDaniel m.fl. (2012) *PLoS One* 7:e43506

rekombinationsmekanism skulle kunna vara mer spridd.¹⁵) Nyligen visade Naor m. fl.¹⁶ att celler från olika arter av halofiler (*Haloferax volcanii* och *H. mediterrani*) kan genomföra en fullständig cellfusion. När cellerna så småningom åter separerade fann forskarna hybrider med DNA från bägge de ursprungliga cellerna, med utbytta DNA-segment i storleksordningen 310–530 kilobaspar, trots att de deltagande cellerna bara visade 87 % DNA-identitet hos gemensamma gener. Här verkar alltså barriären för utbyte genom homolog rekombination (se sid 102) vara lägre än hos bakterier, vilket naturligtvis har betydelse för evolutionen hos dessa arkéer.

Kapitel 6 Arter och artbildning.

Vad är en art hos bakterier och hur bildas bakteriearter? Det pragmatiska svaret är att en art omfattar individer vilkas DNA överensstämmer till en viss procent (se sid 128), och nya arter bildas genom mutationer och horisontell genöverföring, som orsakar sekvensdivergens i en population. Sådana definitioner bortser från önskemål att artbegreppet också ska ha ett biologiskt innehåll, så att det är rimligt att tala om gemensamma egenskaper som karakteriserar en art till skillnad från en annan. Finns det sådana naturliga grupper bland bakterier, och spelar geografiska och andra miljömässiga faktorer någon roll för att etablera nya arter?

Dagens möjligheter till fullskalig genomsekvensering kastar visst ljus över de här frågorna. Det finns många förslag till hur bakteriearter kan definieras och systematiseras utifrån gemensamma stamformer. Det vanligaste är att jämföra hela genomsekvenser. Eftersom horisontellt överförda gener då troligtvis ger sinsemellan olika träd medan alla vertikalt nedärvda gener bör ge samma träd, kommer träd baserade på genomsekvenser huvudsakligen att visa släktskap i vertikal led. Också förekomsten av stora insertioner och deletioner, förekomsten av specifika punktmutationer och ordningsföljden mellan generna används som kriterier.¹⁷ För tillämpning av dessa kriterier behövs information om hur omfattande horisontell överföring egentligen är i naturliga populationer.

Genom att sekvensera totalt 240 isolat av multiresistent *Streptococcus pneumoniae* isolerade i 22 länder mellan 1984 och 2008, kunde Croucher m.fl.¹⁸ visa att bara 26 % av genomet inte bytts ut genom rekombination i något av isolaten under dessa 24 år. Ungefär 5 % av rekombinationshändelserna omfattade mer än 30 kb. Detta får nog betraktas som ett mycket omfattande horisontellt utbyte under en kort tid, men kan vara högre än för andra bakterier eftersom pneumokockerna saknar CRISPR-system (se sid 259).¹⁹ Gendiversiteten i denna pneumokockstam liknar då faktiskt den hos en population eukaryoter med slumpmässig parning: artbarriären utgörs i bägge fallen av kravet på sekvenslikhet för den homologa rekombination som integrerar nytillkommet DNA i cellens genom, respektive tillåter kromosomparning i den eukaryota meiosens första profas.

¹⁵ Hos organismer med hårda cellväggar kan i stället membranvesiklar möjliggöra partiell överföring av cellkomponenter inklusive DNA mellan celler; Deatherage och Cookson (2012) *Infect Immun* 80:1948

¹⁶ Naor m.fl. (2012) *Curr Biol* 22:1444

¹⁷ Zhi m.fl. (2012) *Antonie van Leeuwenhoek* 101:21

¹⁸ Croucher m.fl. (2011) *Science* 331:430

¹⁹ Bikard m.fl. (2012) *Cell Host Microbe* 16:177

I naturen verkar bakterier trots allt vara organiserade i ekologiskt definierade grupper av närbesläktade organismer som delar diverse egenskaper inklusive anpassningar till just denna ekologiska nisch²⁰ – d.v.s. ungefär så som den ekologiska artdefinitionen för djur och växter ser ut. En genomanalys av ekologiskt skilda stammar av den marina bakterien *Vibrio cyclitrophicus* visade att i de enskilda genomen hade nästan alla gemensamma gener i dessa ekologiskt skilda stammar olika evolutionär historia, vilket innebär att även om alla bakterier i en viss ekologisk nisch delade ett antal gener hade dessa nischspecifika gener inte följts åt vertikalt, utan spritts horisontellt på olika vägar inom gruppen.²¹ Gener av mindre betydelse för just denna ekologiska nisch hade ofta mer heterogent ursprung. Det här betyder att den senaste nischselektion en bakteriepopulation genomgått kommer att präglade hur vi ser på dess evolution – selektion för en ny nisch innebär att ett nytt set gener kommer att svepa genom populationen, och då dölja spåren efter tidigare nischselektioner som omfattat delvis andra gener. Bakteriearter definieras då inte så mycket av gemensamma stamformer, utan av vilka nischfördelaktiga gener som för tillfället ankrat i deras kromosomer.²²

Det horisontella utbytet är alltså mycket omfattande också i naturliga miljöer, och framtida forskning får utvisa om det finns ett naturligt biologiskt artbegrepp för bakterier eller inte.

Kapitel 1, 7 Symbios

Symbiosen (sid 141, 146) mellan svampodlande bladskärarmyror (sid 17) och såväl deras svampar som olika bakterier är obligat så tillvida att myrorna inte kan leva utan svamparna, vilka utgör deras enda näringskälla. Svamparna skyddas från andra mikroorganismer och myrorna hjälper till att sprida dem till nya myrsamhällen. Mehdiabadi m.fl.²³ har undersökt närmare vilka olika svamparter och myrarter som lever i symbios med varandra. Forskarna har sekvenserat dels DNA från olika svamparter som ingår i symbios med bladskärarmyror och dels olika bladskärarmyror DNA. De upprättade sedan fylogenetiska träd (sid 20 och 99) för svampar och myror.

Utifrån de fylogenetiska träden menar forskarna att det finns en samevolution mellan svampar och myror. När de undersökte olika myrarter i artkomplexet *Cyphomyrmex wheeleri* fann de att varje myrart bara lever i symbios med en specifik svampvariant, och de fylogenetiska träden tyder på att de gjort detta i miljoner år trots att det funnits andra svampvarianter i närheten. Forskarna menade sig också se i de fylogenetiska träden att i de sällsynta fall när svampen i symbiosen bytts ut så har detta lett till att en ny myrart uppkommit.

De ovan beskrivna studierna belyser tydligt komplexiteten i symbiosen. Den har utvecklats under mycket lång tid och lett till mycket speciella beroendeförhållanden mellan de olika arterna som ingår i symbiosen. Läs mera om symbios i följande avsnitt om det humana mikrobiomet!

²⁰ Preheim m.fl. (2011) *Appl Environm Microbiol* 77:7195

²¹ Shapiro m.fl. (2012) *Science* 336:48

²² Papke och Gogarten (2012) *Science* 336:45

²³ Mehdiabadi m.fl. (2012) *Nature Communications* doi:10.1038/ncomms1844

Kapitel 8 Det humana mikrobiomet

Människans mikrobiom utgörs av alla mikrobiella genom i människokroppen (sid 164). Det varierar hos samma individ på olika ställen i kroppen och förändras också av miljön, näringsintaget och hälsotillståndet. Bakterierna bildar olika ämnen som påverkar den lokala bakteriefloran, och kan orsaka effekter på hela människokroppen genom att påverka näringsutnyttjandet, immuniteten och hela kroppens metabolism. Bakterier som finns i munhålan har t.ex. många gener som behövs för att metabolisera enkla kolhydrater medan man hos bakterier från mag/tarmkanalen finner gener som behövs för att utnyttja komplexa kolhydrater.²⁴

Det finns idag en förhoppning att en bättre förståelse av vårt mikrobiom kan göra det möjligt att finna nya strategier för att behandla och förebygga sjukdom.²⁵ Flera forskargrupper har studerat hur mikrobiomet påverkar människans hälsa. I ett av dessa forskningsprojekt, Human Microbiome Project (HMP, huvudsakligen i USA), har forskarna sekvenserat 3000 olika bakterier från 18 olika ställen på människokroppen hos olika individer.²⁴ Här är det de friska människornas bakterieflora som studerats. I ett annat projekt, The Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHit, huvudsakligen i Europa)²⁶), undersöks skillnader mellan mikrobiomen hos friska och sjuka individer. Genom att kombinera 22 sekvenserade metagenom från exkrement från individer från olika länder med tidigare data har forskare kunnat identifiera tre olika "enterotyper" med höga nivåer av antingen *Bacteroides* eller *Prevotella*, bakterier i fylumet Bacteroidetes, eller *Ruminococcus* som hör till fylumet Firmicutes.²⁷ En del data tyder på att variationer i tarmmikrobiomet (vilken enterotyp som förhärskar) kan vara förknippade med frekvensen övervikt och tarminflammation, men vad som är orsak och vad som är verkan här är ännu oklart.²⁸

Interaktion mellan olika bakterier i mikrobiomet belyses av försök utförda på möss med en patogen enterobakterie, *Citrobacter rodentium*. *C. rodentium* ger hos mus infektioner i mag/tarmkanalen av samma slag som enterohemorragiska kolibakterier (EHEC, se sid 184) ger hos människor. Kamada m.fl.²⁹ har visat att när möss infekteras med *C. rodentium* minskar antalet kommensala bakterier i tarmen. De infekterande bakterierna kan då föröka sig. För att undersöka hur de infekterande bakterierna påverkade bakterierna i tarmen jämförde forskarna infektion av bakteriefria möss³⁰ och vanliga möss. Det visade sig då att typ III-sekretion var nödvändig för att de infekterande bakterierna ska kunna etablera sig i vanliga möss, men däremot inte för etablering i bakteriefria möss. Detta sekretionssystem insöndrar den receptor som möjliggör fast förankring av EHEC till tarmepitelet (se sid 170). Denna receptor är alltså antagligen nödvändig för att bakterierna ska kunna kolonisera en miljö i kroppen som redan är koloniserad av andra bakterier. I samma arbete undersökte forskarna hur dietens innehåll av kolhydrater påverkade infektionsförloppet. Deras resultat visade att

²⁴ Pennisi (2012) *Science* 336:1369

²⁵ Pflyghoeft och Versalovic (2012) *Annu Rev Pathol Mech Dis* 7:99

²⁶ Balter (2012) *Science* 336:1246

²⁷ Arumugam m.fl. (2011) *Nature* 473:174

²⁸ Greenblum m.fl. (2012) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109:594

²⁹ Kamada m.fl. (2012) *Science* 336:1325

³⁰ möss som förlöst genom kejsarsnitt och fötts upp i en helt steril miljö, så att de inte kunnat koloniseras av några bakterier

mössens normala diet hade ovannämnda konsekvens: patogenen tävlade ut kommensalerna från tarmen. En diet huvudsakligen innehållande enkla kolhydrater ledde emellertid till att *C. rodentium* snabbt minskade i antal i de normala mössen, men inte i de bakteriefria mössen. Forskarna kunde visa att detta berodde på att en vanlig tarmkommensal, *Bacteroides thetaiotaomicron*, som normalt föredrar mer komplexa kolhydrater, då konkurrerade ut enterobakterierna om de enkla kolhydrater som var den enda tillgängliga energikällan för bägge. Så socker i maten är inte enbart av ondo, åtminstone inte för möss!

Kapitel 12 Svampar

Svampar kan bidra med så mycket som en fjärdedel av biomassan på Jorden, och tre fjärdedelar av den mikrobiella biomassan i jorden där de är mycket viktiga för nedbrytningen av komplexa organiska föreningar. Exoenzym utsöndrade från hyfspetsarna orsakar nedbrytning av komplexa organiska föreningar, och transport inom hyferna möjliggör nedbrytning och utnyttjande av dessa föreningar också i torra områden. Eftersom exoenzymen (framför allt lackaser, ligninperoxidaser och manganperoxidaser) har låg substratspecificitet (selektade för att möjliggöra utnyttjande av lignocellulosa av varierande sammansättning som näringskälla?) kan de bryta ned ett stort antal ämnen med olika strukturer, vilket också utnyttjats inom bioremediering.³¹ Effektiv bioremediering verkar förutsätta symbios mellan svampar och bakterier i de flesta miljöer. Även om svamparna huvudsakligen är begränsade till terrestriska miljöer förekommer de också i marina mikrobmatror, och många kan leva vid marina salthalter.³² Svamphyferna bidrar också till mineralisering och jordbildning, vilket är en viktig aspekt av hållbart landutnyttjande.³³

Svamparna deltar också i omfattande symbioser med växter och andra mikroorganismer såväl parasitiska som mutualistiska. Hur de kommunicerar med sina symbionter i naturen, och hur de orsakar sjukdomar, är dock inte särskilt väl känt. Flyktiga komponenter (VOC) utsöndras från såväl bakterier som svampar, och innebär kommunikation mellan mikroberna i jorden.³⁴ En del av dessa deltar i kvorumreglering (se sid 67), bäst känt från olika aspekter av morfogenes hos jästsvampar som *Candida albicans* och *Saccharomyces cerevisiae*.³⁵ Askomyceten *Trichoderma pseudokoningii* är ett välstuderat exempel på svampar som lever i rotsfären (rhizosfären), också endofytiskt (= endosymbiotiskt inne i växtceller), och där interagerar med såväl växter som andra svampar. Den blev föremål för ett helt nummer av tidskriften *Microbiology* 2012³⁶. Svampen bidrar direkt till bättre tillväxt hos växten bl.a. genom att öka stresstoleransen, öka förmågan till kväveupptag och öka motståndskraften mot patogener. Mycket av detta orsakas just av utsöndrade komponenter, t.ex. trickokoniner (en typ av peptider som inte syntetiserats på ribosomer) som orsakar apoptos hos växtpatogena svampar³⁷. Andra endofytiska svampar bildar sekundärmetaboliter (se sid 91) som påverkar inte bara värdväxterna utan också andra endofytiska svampar och

³¹ Harms m.fl. 2011, *Nature Rev Microbiol* 9:177-192

³² McGenity m.fl. (2012) *Aquatic Biosystems*, 8 doi:10.1186/2046-9063-8-10

³³ Mapelli m.fl. (2012) *J Biotechnol* 157:473

³⁴ Effmert m.fl. (2012) *J Chem Ecol* 38:665

³⁵ Albuquerque och Casadevall (2012) *Medical Mycology* 50:337

³⁶ *Microbiology* (2012) 158(1) [det finns flera tidskrifter med detta namn; denna är publicerad av Society of General Microbiology]

³⁷ Shi m.fl. (2012) *Microbiology* 158:166

bakterier.³⁸ Potentialen hos dessa sekundärmetaboliter och andra utsöndrade signalsubstanser från svampar för att förbättra växtproduktionen är idag under intensivt studium.

Växtpatogena svampar verkar till skillnad från patogena bakterier och parasiter ha evolverat mot större genom med omfattande genduplikationer.³⁹ Många av de expanderade genfamiljerna kodar för proteiner som är involverade i interaktioner med värdorganismen. En liknande företeelse har nyligen observerats hos den enda chytriden som är en allvarlig patogen hos vertebrater: *Batrachochytrium dendrobatidis*, som är en huvudorsak till den omfattande groddjursdöd som setts i hela världen på senare år. Hur svampen orsakar sjukdomen är ännu inte känt, men denna art, men inte närbesläktade icke-patogena chytrider, har omfattande duplikationer av sekvenser kodande för en specifik kolhydratbindande domän CBM18, som tros binda till kitin.⁴⁰ Hur detta ökar svampens virulens är inte känt, men identifieringen av denna duplikation, liksom identifieringen av duplicerade gener hos växtpatogener, ökar möjligheterna att finna något sätt att stoppa infektionerna.

Kapitel 13 Konstgjorda virus

Genetisk variation (drift och skift, se sid 276–277) hos influensavirus orsakar omfattande variation hos viruset vilket i sin tur ligger bakom återkommande världsomfattande epidemier. För att bättre förstå hur olika virustyper kan ge upphov till olika svårighetsgrad i infektionerna, och därmed bättre kunna behandla dem, har forskarna på senare år framställt nya och nygamla varianter. Den första var det H1N1-virus som orsakade den spanska sjukan, som dödade 20–50 miljoner människor 1918–1919.⁴¹ I det här fallet använde sig forskarna av proteinsekvenserna för de ingående virusproteinerna för att framställa virusets arvs massa (se sid 224). Resultaten visar att det virus de framställt var mer virulent än H1N1 från idag⁴², och hade en kraftigt dödande effekt på möss och embryonala kycklingceller. Publiceringen ledde till en diskussion om huruvida det var etiskt försvarbart att återskapa en allvarlig patogen⁴³, men det återskapade viruset har gett ökad insikt i virulensmekanismerna hos influensavirus⁴⁴.

För att virus ska kunna orsaka pandemier krävs att de kan spridas via luften. H5N1-virus, som orsakade fågelinfluensaepidemin 2005, kan normalt inte spridas via luften och infekterar sällan människor; när det gör det är dock infektionerna ofta mycket allvarliga. I år (2012) har två forskargrupper visat hur viruset kan förändras så att det kan smitta luftburet mellan tamillrar. Tamillrar anses som de bästa försöksdjuren i detta fall men resultaten kan naturligtvis skilja sig från vad som händer när människor infekteras. De två olika forskargrupperna arbetade på lite olika sätt.

³⁸ Kusari m.fl. (2012) *Chem Biol* 19:792-798

³⁹ Raffaele och Kamoun (2012) *Nature Rev Microbiol* 10:417

⁴⁰ Abramyan och Stajich (2012) *mBio* 3: e00150-12

⁴¹ Tumpey m.fl. (2005) *Science* 310:77

⁴² Den s k svinfluensaepidemin 2009-2010 orsakades av ett H1N1-virus

⁴³ T.ex. Bubnoff (2005) *Nature Medicine* 11:1130

⁴⁴ T.ex. Taugenberger och Kash (2011) *Virus Research* 162:2

Herfst m.fl.⁴⁵ satte med hjälp av genteknik in mutationer i viruset som de förväntade sig skulle leda till att det kunde spridas via luften, och infekterade illrar i nosen med det genmodifierade viruset. Sedan isolerades virus från illrarna och användes för att infektera nya illrar. Efter 8–10 sådana här rundor hade forskarna fått fram virus som kunde spridas genom luften. Dessa hade alla mutationer som påverkade receptorbindning och polymerasproteinkomplexet så att viruset kunde replikera i den svalare miljön i illrarnas övre luftvägar jämfört med den högre värmen i mag/tarmkanalen hos fåglar. Inga illrar dog dock av influensan.

Imai m.fl.⁴⁶ startade med ett virus som var en hybrid med hemagglutiningenen (H) från H5N1 och övriga segment från ett pandemiskt H1N1-virus. Genom ytterligare fyra mutationer i H-genen (vilka påverkar receptorbindningen) uppkom ett virus som kunde spridas via aerosoler. Inte heller detta virus var dödligt för illrarna.

Publiceringen av dessa arbeten sköts upp efter att Science Advisory Board for Biosecurity (NSABB) år 2011 uppmanade tidskriften Science att inte publicera detaljdata. Man var rädd för att de nyframställda virusen skulle användas i biologisk krigföring och att artiklarna skulle visa hur man kunde framställa sådana stridsmedel. I flera artiklar bl.a. i Science⁴⁷ diskuteras de modifierade H5N1-virusen, och där kan man läsa inlagor från forskare med olika åsikter i frågan om publiceringen. Diskussionerna rörde också den andra gruppens resultat, som skulle publiceras i Nature. Diskussionen ledde till att NSABB efter några månader ändrade sig och nu är båda gruppernas forskningsresultat publicerade^{45, 46}.

Vad tycker du – ska sådan här forskning utföras och publiceras?

⁴⁵ Herfst m.fl. (2012) *Science* 336:1534

⁴⁶ Imai m.fl. (2012) *Nature* 486:420

⁴⁷ T.ex. Enserink (2012) *Science* 336:1494 och Malakoff (2012) *Science* 335:387