

## Probleme

Auswahl von Problemen, von denen einige mit der Unterstützung von Tutoren und Tutorinnen bearbeitet werden

### Zweck

- Anleitung zur Analyse von Problemen
- Ausführung von Problemlösungen
- Präsentation von Lösungsansätzen
- Vertrautwerden mit wissenschaftlichen Ausdrucks- und Darstellungsweisen

Die einzelnen Probleme bestehen meist aus den folgenden Teilen:

- Aufgabenstellung
- Kurze Beschreibung des Themas mit Hinweisen auf Buchkapitel. Wichtige Begriffe sind hervorgehoben.
- Zusammenfassung von Fakten, an die man sich bei der Lösung erinnern sollte. Neue Begriffe werden kurz erklärt oder es wird auf entsprechende Lehrbuchkapitel bzw. auf Literaturstellen verwiesen.
- Hinweise auf Websites oder andere Quellen, die zusätzlich wertvolle Angaben enthalten.

Einzelne Beispiele werden übungshalber auf Englisch präsentiert.

### Übersicht

über die Probleme, die zur Zeit angeboten werden. Die Unterlagen sind als pdf Files im Lehrveranstaltungsordner auf der Lernplattform OLAT abgelegt. Um Zugang zu den Dokumenten zu bekommen, müssen Sie für die Lehrveranstaltung eingeschrieben sein.

#### P XX Photosynthese

- P XX\_1 Wachstumsausbeute
- P XX\_2 Stoffwechselftypen
- P XX\_3 Anoxigene Photosynthese mit Ferro-Eisen als Elektronendonator
- P XX\_4 Metabolism of *Chromatium okenii* in the dark
- P XX\_5 Licht- und Dunkelstoffwechsel von *Chromatium okenii*
- P XX\_6 Stoffwechselflexibilität von *Chromatium okenii*
- P XX\_7 Anaerobic dark metabolism of the microbial mat cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*

#### PXXI C-Autotrophie

- P XXI\_1\_1 Acetyl-CoA-Stoffwechselweg: Prozesse
- P XXI\_1\_2 Acetyl-CoA-Stoffwechselweg: Enzyme
- P XXI\_2\_1 C1-Fixierung: Serinweg
- P XXI\_2\_2 C1-Fixierung: Ribulosemonophosphatweg
- P XXI\_2\_3 C1-Fixierung: Ribulosebiphosphatweg
- P XXI\_2\_4 C1-Fixierung: Vollständiger, reduktiver Tricarbonsäurezyklus

#### P XXII Chemolithotrophie

- P XXII\_1\_1 Autotrophe Vielfalt
- P XXII\_2\_1 Chemolithotrophie durch Schwefeloxidation
- P XXII\_3\_1 Anaerobe Ammoniumoxidation
- P XXII\_4 Aerobe Ammoniumoxidation
- P XXII\_5 Eisen(II)-oxidierende, neutrophile Bakterien
- P XXII\_6 Acidophile Eisen(II)-oxidierende Bakterien
- P XXII\_7 Schwefel- Disproportionierung und Thiosulfat-Dismutierung mit Ferrihydrit

#### P XXIII Anaerobe Atmung

- P XXIII\_1\_1 Sulfat-reduzierende Dissimilation von Propionat
- P XXIII\_1\_2 Oxidation von Fettsäuren durch Sulfat-reduzierende Bakterien
- P XXIII\_2 Schwefel-Atmung und Fumarat-Atmung
- P XXIII\_3 Regulation der Denitrifikation durch Sauerstoff
- P XXIII\_4 Metall-Reduktion durch *Geobacter sulfurreducens*

- PXXIII\_5\_1 Elektronenübertragung mit Flavoproteinen  
 PXXIII\_5\_2 Protonen- und Elektronen-Transport mittels Chinonen  
 P XXIII\_6 Halorespiration

### P XXIV Fermentationen

- P XXIV\_1\_1 Homoacetatgärung durch *Clostridium thermoaceticum*  
 P XXIV\_1\_2 Säuregärung durch *Clostridium sp.*  
 P XXIV\_2\_1 Propionatstoffwechsel Acrylyl-CoA-Weg  
 P XXIV\_2\_2 Propionatstoffwechsel: Succinyl-Propionyl-CoA-Weg  
 P XXIV\_3 Fermentation von Aminosäuren durch Clostridien: Stickland Reaktion  
 P XXIV\_4--8 Fermentationsbilanzen: *Clostridien spp.*  
 XXIV\_4 Säuregärung *C. butyricum*  
 XXIV\_5 Einfluss von Eisen *C. perfringens*  
 XXIV\_6 Gemischte Säure- Alkoholgärung *C. butylicum*  
 XXIV\_7 Aceton- Butanolgärung *C. acetobutylicum*  
 XXIV\_8 Acetat-Laktat-Gärung *C. lacto-acetophilum*  
 P XXIV\_9\_1-4 Rumen fermentation  
 XXIV\_9\_1 Balancing overall degradation  
 XXIV\_9\_2 Fermentation patterns  
 XXIV\_9\_3 Syntrophism in fermentation  
 XXIV\_9\_4 Enzyme  
 P XXIV\_10 Anaerober Abbau von Isopropanol durch eine methanogene Gemeinschaft

### P XXV Abbau von Makromolekülen und Schadstoffen

- P XXV\_1 Anaerober Abbau von Toluol  
 P XXV\_2 Atrazin-Abbau  
 P XXV\_3 Anaerober Umbau von nitrierten Aromaten  
 P XXV\_4 Aerober Abbau von Nitroaromaten  
 P XXV\_5 p-Nitrophenol-Abbau durch *Arthrobacter sp.*  
 P XXV\_7\_1 Anaerobe, oxidative Mineralisierung von Vinylchlorid durch Huminstoffe  
 P XXV\_7\_2 Reduktive Dehalogenierung durch Vinylchlorid-Dehydrogenase aus anaeroben Bakterien  
 P XXV\_7\_3 Transformation von aromatischen Kohlenwasserstoffen

### P XXIX Repetitionen

- P XXIX\_03H Fragen aus Repi Herbst 2003  
 P XXIX\_03F Fragen aus Repi Frühjahr 2003  
 P XXIX\_02F Fragen aus Repi Herbst 2002  
 P XXIX\_1 Metabolic versatility  
 P XXIX\_2 Limitations to metabolic diversity  
 P XXIX\_3 Predictability of metabolic diversity  
 P XXIX\_4 Ändernde Stoffwechselstrategien  
 P XXIX\_5 Freie Reaktionsenergie bei der Milchsäuregärung  
 P XXIX\_6 Freie Energie aus der ATP-Hydrolyse  
 P XXIX\_7 Propionatstoffwechsel

### P XXX Bio-Thermodynamik und Bio-Energetik

- P XXX\_0\_0-3 Introduction to Thermodyn  
 XXX\_0\_0 Terms and definitions used with Thermodyn  
 XXX\_0\_0 Abbreviations used in Bio-Thermodynamics  
 XXX\_0\_1 Thermodyn: A simple spreadsheet for the calculation of free reaction energies  
 XXX\_0\_2 Introduction to thermodynamic modelling with Thermodyn  
 XXX\_0\_3 Thermodyn: Reconstructions  
 P XXX\_1 Anaerober Abbau von Benzoat durch syntrophe Gemeinschaft  
 P XXX\_2 Hemmung des Benzoatabbaus durch Acetat  
 P XXX\_3 Anoxigene Photosynthese mit Ferro-Eisen (siehe auch P XX\_3)  
 P XXX\_4 Acetogenic and sulfidogenic methanol utilization  
 P XXX\_5\_1 IHT: Degradation of Propionate by *Syntrophobacter wolinii* communities  
 P XXX\_5\_2 IHT: Metabolism of Butyrate by an anaerobic enrichment culture

P XXX_6	Thermochemical energy yield from substrate oxidation with different oxidants
P XXX_7	Chemolithoautotrophic growth of <i>Thioploca</i> sp. with reduced sulfur compounds employing nitrate as electron acceptor
PXXX_8	Sulfurogenic and sulfatogenic vs. oxigenic phototrophs in a meromictic lake

---

## Kurzbeschreibungen der Übungsinhalte

### P XX Photosynthese

#### P XX\_1 Wachstumsausbeute

In dieser Übung werden anhand des Stoffwechsels des phototrophen Nicht-Schwefelbakteriums *Rhodobacter sphaeroides* einige grundlegende metabolische und chemische Prinzipien, Enzyme von zentralen Stoffwechselwegen, Begriffe, die in der Stoffwechselphysiologie häufig vorkommen sowie die Kenntnisse über Wachstumsbedingungen in Erinnerung gerufen.

#### P XX\_2 Stoffwechseltypen

In dieser Übung werden einige Stoffwechselprinzipien am Beispiel des photo-organo-heterotrophen Wachstums von *Rhodospirillum rubrum* in Erinnerung gerufen. Wie kann *Rhodospirillum rubrum* mit Succinat als einziger Kohlenstoff- und Elektronenquelle organo-heterotrophe Photosynthese betreiben? Unter welchen Bedingungen kann Succinat als Elektronendonator für die Photosynthese dieses Nicht-Schwefelbakteriums dienen? Welche Stoffwechselprozesse spielen bei der assimilativen und dissimilativen Verwertung von Succinat eine Rolle? Welche anaplerotischen Reaktionen sind für die Verwertung von Succinat nötig? Und wie metabolisiert *Rhodospirillum rubrum* im Dunkeln?

#### P XX\_3 Anoxigene Photosynthese mit Ferro-Eisen als Elektronendonator

Unter den anoxischen Bedingungen im Präkambrium mögen bereits Prokaryoten existiert haben, die reduzierte Eisenverbindungen als Elektronendonatoren für die Photosynthese nutzen konnten. In der Übung werden Stämme von anaeroben phototrophen Purpurbakterien daraufhin untersucht, wie sie mit Siderit ( $\text{FeCO}_3(\text{s})$ ) oder mit Pyrrhotit ( $\text{FeS}(\text{s})$ ) als jeweils einziger Elektronenquelle, im Licht  $\text{CO}_2$  zu fixieren vermögen. Wie gelangen Elektronen aus der Oxidation der genannten Eisenverbindungen in den photosynthetischen Elektronentransport? Wie bilden diese Organismen NAD(P)H und ATP? Und können sie auch mit alternativen Elektronendonatoren leben?

#### P XX\_4 Metabolism of *Chromatium okenii* in the dark

An exercise based on actual experimental data which illustrate the synthesis of storage polymers (glycogen and polyhydroxybutyric acid) and sulfur by a phototrophic purple sulfur bacterium in the light and the consumption of these reserves through sulfur respiration in the dark.

#### P XX\_5 Licht- und Dunkelstoffwechsel von *Chromatium okenii*

Anhand von experimentellen Ergebnissen, die mit Anreicherungskulturen des phototrophen Purpurschwefelbakteriums *Chromatium okenii* erhalten wurden, sollen Hypothesen über den Stoffwechsel im Dunkeln und im Licht hergeleitet werden.

#### P XX\_6 Stoffwechselflexibilität von *Chromatium okenii*

Phototrophe Organismen müssen in der Lage sein, auch während Dunkelperioden Stoffwechsel zu betreiben. Aus vorgegebenen Assimilations- und Dissimilationsgleichungen und den zugehörigen ökologischen Bedingungen aus dem Habitat, soll die Stoffwechselflexibilität von *Chromatium okenii*, einem phototrophen Schwefelpurpurbakterium, nachvollzogen werden. Aus daraus abgeleiteten Arbeitshypothesen sollen Experimente vorgeschlagen und Methoden zu deren Durchführung diskutiert werden, mit denen die Stoffwechselflexibilität dieser Bakterien nachgewiesen werden könnte.

#### P XX\_7 Anaerobic dark metabolism of the microbial mat cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes*

*Microcoleus chthonoplastes* metabolizes phototrophically synthesized storage carbohydrates under anoxic conditions in the dark, via a mixed acid fermentation. A number of actual experimental data illustrate the metabolic potential of this cyanobacterium. The data will allow the student to reconstruct part of the organism's organo-heterotrophic metabolism.

---

### PXXI C-Autotrophie

#### P XXI\_1\_1 Acetyl-CoA-Stoffwechselweg: Prozesse

Ein Clostridium sp., das auf Methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) als alleiniger Kohlenstoff- und Elektronenquelle wächst, setzt dieses dissimilativ über den Acetyl-CoA-Weg um. Wir wollen überprüfen, inwieweit man aus hypothetischen Kenntnissen von

Stoffwechselmechanismen Stoffwechselbilanzen überprüfen kann. Ausserdem soll erklärt werden, wo im Acetyl-CoA-Weg ATP synthetisiert und wann Buttersäure gebildet werden.

### **P XXI\_1\_2 Acetyl-CoA-Stoffwechselweg: Enzyme**

Acetyl~CoA ist ein zentraler Metabolit im Stoffwechsel von anaerob und aerob lebenden Prokaryoten. Die biochemisch zentrale Rolle von Acetyl~CoA ist auf die chemischen Reaktivitäten des Methylen-C und des Carbonyl-C zurückzuführen. Vorläufer des Acetyl-CoA-Weges bildeten vermutlich einen der ersten C-1-Fixierungsweges, der von Prokaryoten im Präkambrium "entwickelt" wurde. In der Übung wird der Acetyl-CoA-Weg rekonstruiert und die Rolle der zugehörigen Enzyme diskutiert.

Homoacetogene Glukose-fermentierende *Clostridium thermoaceticum* z.B. bilden Acetyl-CoA einerseits durch die Decarboxylierung von Pyruvat mit Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase; andererseits wird es über den Acetyl-CoA-Weg aus CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> de novo synthetisiert. Ein Schlüsselenzym des Acetyl-CoA-Weges ist die Kohlenmonoxid-Dehydrogenase (CODH).

### **P XXI\_2\_1 C1-Fixierung: Serinweg**

Der Serinweg ist ein weiterer Stoffwechselweg durch welchen gewisse Prokaryoten C-1-Verbindungen assimilieren und C-C-Bindungen schaffen können. Methylotrophe Aerobier, z.B., wachsen auf Methanol oder Methylaminen als alleinigen Kohlenstoff-, Elektronen- und Energiequellen; sie sind demnach autotroph. Anhand einer Figur, die schematisch die Abfolge der Zwischenprodukte im Serinweg zeigt; werden die einzelnen Reaktionsschritte und die beteiligten Enzyme diskutiert und es wird hergeleitet, wie der Serinweg mit anderen zentralen Stoffwechselwegen gekoppelt sein kann.

### **P XXI\_2\_2 C1-Fixierung: Ribulosemonophosphatweg**

Gewisse methanotrophe und methylotrophe Aerobier assimilieren Formaldehyd (C1-Verbindung) mit Hilfe des Ribulosemonophosphatweges (RuMP-Weg), wobei Ribulosemonophosphat als C1-Akzeptor dient. Im ersten Schritt kondensiert Ribulose-5-monophosphat (RuMP) mit Formaldehyd. Im folgenden wird dieses zu Fructose-6-phosphat (F6P) isomerisiert, welches über verschiedene Reaktionen umgewandelt wird. In der Übung betrachten wir die initialen Reaktionen für die Bildung von Phosphoglyceraldehyd aus Formaldehyd.

### **P XXI\_2\_3 C1-Fixierung: Ribulosebisphosphatweg**

Die oxigen phototrophen Prokaryoten sowie zahlreiche Chemoautotrophe, inkl. einige Methylotrophe und die phototrophen Eukaryoten fixieren CO<sub>2</sub> über den Ribulosebisphosphatzzyklus (RuBP-Weg), auch Calvin-Zyklus genannt. Dieser kann grundsätzlich in zwei funktionelle Teile zerlegt werden: die eigentliche Carboxylierungsreaktion und die Reaktionen, in deren Verlauf Ribulosebisphosphat, der C1-Akzeptor, regeneriert wird. In der Übung konzentrieren wir uns auf die Carboxylierungsreaktion durch Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase, die wir als elektrophile Attacke am C2 des Enolat-Anion-Zwischenproduktes zu verstehen versuchen.

### **P XXI\_2\_4 C1-Fixierung: Vollständiger, reduktiver Tricarbonsäurezyklus**

Aus dem bekannten oxidativen Tricarbonsäurezyklus sollen Zwischenprodukte, Enzyme und Verlauf des Kreislaufes in reduktiver Richtung hergeleitet werden. Einigen strikt anaeroben chemotrophen Bakterien dient der vollständige, reduktive Tricarbonsäurekreislauf zur Fixierung von CO<sub>2</sub>. Wie gewinnen diese Organismen die für die Reduktionsschritte nötigen Reduktionsequivalente? Welche Zwischenprodukte für anabolische Stoffwechselwege gehen aus dem reduktiven Tricarbonsäurezyklus hervor? Durch welche Schlüsselenzyme kann schlüssig nachgewiesen werden, ob ein Organismus den reduktiven Tricarbonsäurezyklus betreibt oder den oxidativen?

---

## **P XXII Chemolithotrophie**

### **P XXII\_1\_1 Autotrophe Vielfalt**

Verschiedene lithotroph lebende Mikroorganismen können die Oxidation von anorganischen Molekülen mit der Fixierung von CO<sub>2</sub> koppeln, d.h. die Energie aus der Dissimilation dieser Moleküle zur Bildung von Biomasse nutzen. In dieser Übung werden die dissimilativen und assimilativen Redoxreaktionen für verschiedene chemolithoautotrophe Organismen zusammengestellt und untersucht, wie diese mit den CO<sub>2</sub>-Fixierungsreaktionen gekoppelt sind.

### **P XXII\_2\_1 Chemolithotrophie durch Schwefeloxidation**

Anhand von Daten aus Experimenten mit *Thiobacillus thiooxidans*, einem aeroben, acidophilen Schwefelbakterium wird die Schwefeloxidation bei saurem und bei neutralem pH sowie die Wirkung von Hemmstoffen untersucht.

**P XXII\_3\_1 Anaerobe Ammoniumoxidation**

Es werden die physiologischen Bedingungen untersucht, die zum Anammox-Patent, einem Verfahren zur anaeroben Nitrifikation (Anammox = Anaerobic ammonium oxidation) führten. Es stehen Daten aus Experimenten über die anaerobe Ammoniumoxidation zur Verfügung, mit deren Hilfe der Beweis für die Existenz des anaeroben Nitrifikationsprozesses erbracht werden soll.

**P XXII\_4 Aerobe Ammoniumoxidation**

Anhand von Messwerten, die mit einer nitrifizierenden Batchkultur erhoben wurden und den Kenntnissen über die Enzyme, die bei der aeroben Nitrifikation beteiligt sind sowie über den generellen Aufbau von Protonengradienten sollen Hypothesen über den Elektronen- und Protonentransport über die Cytoplasmamembran von nitrifizierenden Bakterien entwickelt werden.

**P XXII\_5 Eisen(II)-oxidierende, neutrophile Bakterien**

Anhand von publizierten Ergebnissen wird das experimentelle Vorgehen bei der Anreicherung von Ferro-Eisen-oxidierenden, neutrophilen Bakterien in gegenläufigen Agarosegradienten von  $O_2$  und  $Fe(II+)$  nachvollzogen. Pyrrhothit ( $FeS_{(s)}$ ) und Siderit ( $FeCO_{3(s)}$ ) dienen als Quellen für  $Fe(II+)$ , der Sauerstoff der Luft, welcher in den Agar diffundiert, dient als Oxidationsmittel. Die so angereicherten gamma-Proteobakterien werden phänotypisch charakterisiert.

**P XXII\_6\_ Acidophile Eisen(II)-oxidierende Bakterien**

Aufbauend auf den Angaben im Lehrbuch (BBOM 10th. Ed. 2003) über lithotrophe, Ferro-Eisen-oxidierende Prokaryoten, z.B. *Thiobacillus ferrooxidans*, werden Hypothesen über das ökologische Vorkommen, Gründe für die Acidophilie und für die Aerobie sowie die ökonomische Bedeutung von acidophilen, aeroben Ferro-Bakterien entworfen.

**P XXII\_7\_ Schwefel- Disproportionierung und Thiosulfat-Dismutierung mit Ferrihydrit**

Disproportionierung und Dismutierung von Schwefelverbindungen sind eine Art "anorganische Fermentation" bei welcher Schwefelatome eines mittleren Oxidationszustandes in einer energieliefernden Redoxreaktion zum Teil oxidiert zum Teil reduziert werden. *Desulfocapsa sulfoexigens*, ein anaerobes, gram-negatives Proteobakterium, wächst chemolithoautotroph durch Disproportionierung von  $S^0$ -Schwefel oder  $SO_3^{2-}$  (Sulfit)-Schwefel und Dismutierung von  $S_2O_3^{2-}$  (Thiosulfat)-Schwefel. Die in der Übung dargestellten Ergebnisse, die aus publizierten Experimenten stammen, sind nicht in allen Belangen richtig. Anhand von stöchiometrischen Gleichungen der beteiligten Prozesse soll eruiert werden, wo mögliche Fehler im Experiment liegen und wie das Experiment besser gemacht werden könnte.

**P XXIII Anaerobe Atmung****P XXIII\_1\_1 Anaerobe Atmung - Sulfat-reduzierende Dissimilation von Propionat**

Es wird der unvollständige und vollständige Abbau von kurzkettigen Fettsäuren unter anoxischen Bedingungen durch Sulfatreduzenten, durch Denitrifikanten und durch Fermentierer in Einzelkultur sowie in syntrophen Gemeinschaften untersucht.

**P XXIII\_1\_2 Anaerobe Atmung - Oxidation von Fettsäuren durch Sulfat-reduzierende Bakterien**

Es wird untersucht, durch welche Stoffwechselwege längerkettige Fettsäuren mit gerader und ungerader Anzahl C-Atome von gewissen Sulfat-reduzierenden Bakterien vollständig und unvollständig oxidiert und zu kurzkettigen Fettsäuren abgebaut werden.

**P XXIII\_2 Anaerobe Atmung - Schwefel-Atmung und Fumarat-Atmung**

Es wird quantitativ untersucht, wie anaerobe Anreicherungen Succinat als Kohlenstoff- und Elektronenquelle mit elementarem Schwefel als Elektronenakzeptor assimilativ und dissimilativ verwerten, wie Biomasse gebildet wird und wie die Organismen von der Atmung mit Schwefel auf Fumarat-Atmung umstellen können.

**P XXIII\_3 Anaerobe Atmung - Regulation der Denitrifikation durch Sauerstoff**

Anhand von experimentellen Daten, die mit dem fakultativ anaeroben Bakterium *Paracoccus halodenitrificans*, welches graduell von vollständiger Denitrifikation auf aerobe Atmung umstellen kann, wird der Einfluss von Sauerstoff auf die Denitrifikation in einer kontinuierlichen Chemostatkultur untersucht.

**P XXIII\_4 Anaerobe Atmung - Metall-Reduktion durch *Geobacter sulfurreducens***

Anhand von Angaben aus einer Publikation werden die physiologischen Fähigkeiten eines obligat anaeroben, nicht-fermentierenden, gram-negativen, Wasserstoff- und Acetat-oxidierenden, dissimilativ Metalle-reduzierenden Bakteriums untersucht.

**PXXIII\_5\_1 Elektronenübertragung mit Flavoproteinen**

FAD und FMN in Flavoproteinen übernehmen Elektronen aus oxidativen Stoffwechselreaktionen und übertragen diese auf Elektronenakzeptoren mit verschiedenen Redoxpotentialen. In der Übung werden anhand der Resonanzstrukturen des Flavinmoleküls jene elektrophilen Zentren bestimmt, die als eigentliche Elektronenüberträgeratome wirken.

**PXXIII\_5\_2 Protonen- und Elektronen-Transport mittels Chinonen**

Chinonmoleküle (Ubichinon, Plastochinon und Menachinon) dienen vielen Organismen für den Transport von Protonen über die Cytoplasmamembran und tragen damit zum Aufbau der pmf bei. In der Übung werden die durch Redoxreaktionen angetriebenen Protonentranslokationen über die Lipidmembran anhand von Chinonmolekülmodellen nachvollzogen.

**P XXIII\_6 Anaerobe Atmung - Halorespiration**

Anhand experimenteller Ergebnisse aus publizierten Tabellen und Figuren wird das durch reduktive Dehalogenierung von 3-Chlor-4-hydroxybenzoat unterstützte chemotrophe Wachstum von *Desulfitobacterium chlororespirans*, einem anaeroben, Gram-negativen, Sporen-bildenden Stäbchenbakterium analysiert.

---

**P XXIV Fermentationen****P XXIV\_1\_1 Homoacetatgärung durch *Clostridium thermoaceticum***

Gewisse Clostridien können Glukose über die Glykolyse via Pyruvat so abbauen, dass aus einem Molekül Glukose 3 Moleküle Acetat entstehen. Man spricht von "Homoacetatgärung". Der biochemische Weg, der zur Acetatbildung führt, ist gut bekannt. In der Übung sollen die Enzyme studiert werden, die Pyruvat zu Acetat decarboxylieren und jene, die Acetat im Acetyl-CoA Ast der Homoacetatgärung neu synthetisieren. Als Informationsquelle soll die Stoffwechseldatenbank auf dem www-Site: <http://www.expasy.ch/cgi-bin/search-biochem-index> herangezogen werden.

**P XXIV\_1\_2 Säuregärung durch *Clostridium sp.***

Ein aus anoxischen Seesedimenten isoliertes *Clostridium sp.* kann Ethanol zu Butyrat und Caproat vergären, wobei Acetat vermutlich als Zwischenprodukt, nicht aber als Endprodukt auftritt. Der biochemische Weg, der bei *Clostridium thermoaceticum* zur Acetatbildung führt (P XXIV\_1\_1) ist gut bekannt, beim neu isolierten *Clostridium sp.* ist man auf Hypothesen über Stoffwechselwege, die beteiligten Enzyme und Stöchiometrien angewiesen, die in dieser Übung formuliert werden sollen.

**P XXIV\_2\_1 Propionatstoffwechsel Acrylyl-CoA-Weg**

Eine ganze Reihe von Bakterien scheiden Propionat als „Elektronen-Senkeprodukt“ aus. Einer der beiden chemoorganoheterotrophen Stoffwechselwege ist die Propionatbildung über den Acrylyl-CoA-Weg. Bei der Fermentation von aus Glukose bzw. Laktat durch *Clostridium propionicum* über den mit der Glykolyse gekoppelten Acrylyl-CoA-Weg treten die Dissimilationsprodukte Propionat und Acetat auf. Im Rahmen der Übung soll untersucht werden, welche Enzyme im Acrylyl-CoA-Weg beteiligt sind und, was gewisse Clostridien gewinnen, wenn sie diesen Stoffwechselweg einsetzen.

**P XXIV\_2\_2 Propionatstoffwechsel: Succinyl-Propionyl-CoA-Weg**

Anhand des Stoffwechselschemas, welches den Succinyl-Propionyl-CoA-Weg (auch Methylmalonyl-CoA-Weg genannt) darstellt, sollen die Redoxbilanz und die ATP-Ausbeute hergeleitet werden. Es sind vor allem Bakterien der Gattung *Propionibacterium*, welche aus Laktat, Glycerin, Succinat und verschiedenen Aminosäuren sowie aus Glukose, Propionat über den Succinyl-Propionyl-CoA-Weg bilden.

**P XXIV\_3 Fermentation von Aminosäuren durch Clostridien: Stickland Reaktion**

Die Stickland-Reaktion beschreibt die Fähigkeit gewisser Clostridien, z.B. *Clostridium sporogenes*, die Oxidation einer Aminosäure gleichzeitig mit der Reduktion einer anderen Aminosäure zu koppeln. 17 essentielle Aminosäuren können sowohl Elektronendonator, als auch Elektronenakzeptor sein, einige sind ausschliesslich Elektronendonatoren und

Prolin ist ausschliesslich Elektronenakzeptor. Wir untersuchen, welche Produkte bei Sticklandreaktionen mit Aminosäuren und mit Purinen auftreten und wie die Redoxenergie in energiereiche Bindungen überführt wird.

#### **P XXIV\_4 - 8 Fermentationsbilanzen: *Clostridien spp.***

In dieser Übung untersuchen wir in virtuellen Experimenten die Stoffwechselfähigkeiten einiger Clostridien-Arten in anaeroben Batchkulturen. Dazu wird angenommen, dass Hexosen über die Glykolyse zu Pyruvat oxidiert und dieses über verschiedene fermentative Stoffwechselwege weiter metabolisiert wird. Mit Hilfe des Lehrbuches (BBOM 10th ed. 2003) lassen sich ATP-Ausbeuten bei den verschiedenen Stoffwechselwegen und die Synthese von Biomasse berechnen.

**XXIV\_4 Säuregärung *C. butyricum***

**XXIV\_5 Einfluss von Eisen *C. perfringens***

**XXIV\_6 Gemischte Säure- Alkoholgärung *C. butylicum***

**XXIV\_7 Aceton- Butanolgärung *C. acetobutylicum***

**XXIV\_8 Acetat-Laktat-Gärung *C. lacto-acetophilum***

#### **P XXIV\_9\_1-4 Rumen fermentation**

##### **XXIV\_9\_1 Balancing overall degradation**

In this exercise we will reconstruct basic rumen processes by developing stoichiometric equations from actual measurements of fermentation products in bovine rumen fluid. We will apply the rules for balancing complex chemical equations and learn how to best check the results.

The exercise refers to experiment 1 of the course "Diversity of Microorganisms - Bio III" and to the corresponding chapters in Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker: "Brock - Biology of Microorganisms", 9<sup>th</sup> or 10<sup>th</sup> Edition (1999 and 2003), Prentice Hall. Fig. 16.41 in BBOM 9<sup>th</sup> (pg 683) or Fig. 19.28 in BBOM 10<sup>th</sup> (pg 660) should be consulted before attempting to solve this problem.

##### **XXIV\_9\_2 Fermentation patterns**

In this exercise we will study microbial processes involved in the degradation of plant polymers in the rumen. We will develop balanced equations for the degradation of carbohydrate monomers and follow metabolic shifts which occur as a consequence of manipulating rumen habitat conditions through the addition of alternative substrates and growth promoting antibiotics.

The exercise refers to experiment 1 of the course "Diversity of Microorganisms - Bio III" and to the corresponding chapters in Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker: "Brock - Biology of Microorganisms", 9<sup>th</sup> or 10<sup>th</sup> Edition (1999 and 2003), Prentice Hall. Fig. 16.41 in BBOM 9<sup>th</sup> (pg 683) or Fig. 19.28 in BBOM 10<sup>th</sup> (pg 660) should be consulted before attempting to solve this problem.

##### **XXIV\_9\_3 Syntrophism in fermentation**

*Ruminococcus flavefaciens*, a cellulose degrader, produces acetate, formate and succinate from glucose in axenic batch cultures. This fermentation pattern is shifted if *Methanobrevibacter ruminantium*, a hydrogenotrophic and formatotrophic methanogen is added as a syntroph to the *Ruminococcus* culture. Suggestions for metabolic schemes describing the two patterns are offered in the exercise and the student is asked to complement them with the quantitative information given.

The exercise refers to experiment 1 of the course "Diversity of Microorganisms - Bio III" and to the corresponding chapters in Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker: "Brock - Biology of Microorganisms", 9<sup>th</sup> or 10<sup>th</sup> Edition (1999 and 2003), Prentice Hall. Fig. 16.41 in BBOM 9<sup>th</sup> (pg 683) or Fig. 19.28 in BBOM 10<sup>th</sup> (pg 660) should be consulted before attempting to solve this problem.

##### **XXIV\_9\_4 Enzyme**

Welches sind die Schlüsselenzyme in den Stoffwechselprozessen von anaeroben chemoorganoheterotrophen Hexose-Fermentierern in syntropher Interaktion mit hydrogenotrophen und formatotrophen Methanogenen im Pansen? Aus einer Auswahl von Enzymen sollen jene gefunden werden, welche die im vorgegebenen Stoffwechselschema zusammengestellten Reaktionen katalysieren.

Die Übung ergänzt P XXIV/9/3.

#### **P XXIV\_10 Anaerober Abbau von Isopropanol durch eine methanogene Gemeinschaft**

Wenn Organismen in einer Stoffwechselsymbiose zusammenwirken, so spricht man von Syntrophie. Isopropanol, zum Beispiel, kann nur im Zusammenspiel zwischen methanogenen und nicht-methanogenen Organismen anaerob vollständig zu CO<sub>2</sub> und CH<sub>4</sub> abgebaut werden. Die in der Übung dargestellten experimentellen Daten stellen die Isopropanol-Umwandlung durch eine anaerobe Mikrobengemeinschaft dar. Die Aufgabe besteht darin, aus dem

zeitlichen Verlauf der Substratverwertung, der Zwischenprodukthäufung und dem Erscheinen der Endprodukte, das Zusammenspiel der Organismen zu rekonstruieren.

## **P XXV Abbau von Makromolekülen und Schadstoffen**

### **P XXV\_1 Anaerober Abbau von Toluol**

Anhand von publizierten Ergebnissen wird der vollständige anaerobe Abbau von Toluol unter anoxischen Bedingungen untersucht. Dabei sollen die experimentellen Ansätze nachvollzogen und der Abbau aufgrund der vorliegenden Daten quantifiziert und kritisch diskutiert werden.

### **P XXV\_2 Atrazin-Abbau**

Atrazin (2-Chlor-4-isopropylamino-6-ethylamino-1,3,5-triazin, ein Herbizid), wird in der Natur nur langsam abgebaut und kann sich in Grundwasserträgern anhäufen. Anhand der in aeroben Kulturen von *Arthrobacter spp.* chemisch analytisch nachgewiesenen Zwischenprodukten sollen ein möglicher Abbauweg und die dazu nötigen Enzyme postuliert werden.

### **P XXV\_3 Anaerober Umbau von nitrierten Aromaten**

Nitroaromaten sind Stoffe, die bei der Herstellung von Sprengstoffen und gewissen Pestiziden auftreten. Sie können Schadstoffwirkung entfalten, wenn sie sich in gewissen Habitaten anhäufen; sie können aber selbst unter anoxischen Bedingungen mikrobiell abgebaut werden.

In der Übung wird anhand von molekularen Strukturdaten die Reaktionssequenz beim enzymatischen Umbau von Nitrobenzol zu 2-Methylchinolin und von o-Dinitrobenzol zu 2-Methylbenzimidazol dargestellt. Die Aufgabe besteht darin, die einzelnen Reaktionsschritte chemisch und enzymatisch zu charakterisieren.

### **P XXV\_4 Aerober Abbau von Nitroaromaten**

Unter oxischen Bedingungen wandelt *Moraxella spp.* p-Nitrophenol in p-Hydrochinon um und *Pseudomonas putida* macht aus ortho-Nitrophenol Catechol. In der Übung werden zuerst die Enzyme für den Umbau von nitrierten Aromaten zu Catechol bzw. Hydrochinon untersucht, anschliessend jene für die aerobe ortho-Spaltung und meta-Spaltung von Catechol und für die aerobe ortho-Spaltung von Hydrochinon. Von Interesse sind dann die Oxygenasen, welche zur Bildung von Dicarbonsäuren führen sowie die Enzyme, die  $\beta$ -Keto adipinsäure bilden und jene, die diese mittels CoASH aktivieren und für den weiteren Abbau durch  $\beta$ -Oxidation vorbereiten.

### **P XXV\_5 p-Nitrophenol-Abbau durch *Arthrobacter sp.***

Publizierte Ergebnisse zum Abbau von p-Nitrophenol beruhen auf Experimenten, die mit *Arthrobacter spp.* Stämmen gemacht wurden. Sie führten dazu, dass ein neuer Abbauweg postuliert werden konnte. Mit Hilfe einiger Mutanten sollen Experimente konzipiert und Schlüsselenzyme bezeichnet werden, die den postulierten Abbauweg rechtfertigen.

### **P XXV\_7\_1 Anaerobe, oxidative Mineralisierung von Vinylchlorid durch Huminstoffe**

Anhand einer publizierten Fallstudie werden der reduktive Umbau von chlorierten, aliphatischen Kohlenwasserstoffen unter anoxischen Bedingungen und in Gegenwart verschiedener Reduktionsmittel sowie die Rolle der Huminstoffe bei der Elektronenübertragung untersucht.

### **P XXV\_7\_2 Reduktive Dehalogenierung durch Vinylchlorid-Dehydrogenase aus anaeroben Bakterien**

In dieser Übung wird die reduktive Dehalogenierung von von PCE (Tetrachlorethen) und TCE (Trichlorethen) über cis-DCE (cis-Dichlorethen) bzw. VC (Vinylchlorid) in Zellextrakten unter oxischen und anoxischen Bedingungen untersucht. Die Fähigkeit von *Dehalococcoides ethenogenes* 195, der die vollständige anaerobe Umsetzung von PCE zu Ethen in Reinkultur alleine bewerkstelligen kann, wird mit dem Abbau bei vielen anderen dehalogenierenden Mikroorganismen verglichen, die PCE nur bis zur Vinylchlorid-Stufe abzubauen vermögen.

### **P XXV\_7\_3 Transformation von aromatischen Kohlenwasserstoffen**

Einige Pseudomonaden sind in der Lage, Benzol und andere aromatische Kohlenwasserstoffe in Metaboliten umzuwandeln, die durch Prozesse des Grundstoffwechsels vollständig oxidiert werden können. Die beteiligten Enzyme führen Sauerstoffatome ins Benzol ein, wodurch die aromatische Ringstruktur in ortho, meta oder para Position gespalten werden kann. Es resultieren ungesättigte Carbonsäuren. In der Übung betrachten wir die „Konditionierung“ und die ortho-Spaltung von Benzol unter oxischen Bedingungen.

## P XXIX Repetitionen

Dieser Ordner enthält einerseits die Fragen, die von Studierenden jeweils fürs Repetitorium vor den Prüfungen eingesandt wurden, andererseits Problemstellungen aus den verschiedenen Kapiteln des Kurses. Die Serie wird laufend ergänzt. Es empfiehlt sich, die hier zusammengefassten Übungen erst zu bearbeiten, nachdem man alle Kursinhalte gut bearbeitet hat.

P XXIX\_03H Fragen aus Repi Herbst 2003 (z.Zt. noch leer)

P XXIX\_03F **Fragen aus Repi Frühjahr 2003**

P XXIX\_02F **Fragen aus Repi Herbst 2002**

P XXIX\_1 **Metabolic versatility**

P XXIX\_2 **Limitations to metabolic diversity**

P XXIX\_3 **Predictability of metabolic diversity**

P XXIX\_4 **Ändernde Stoffwechselstrategien**

P XXIX\_5 **Freie Reaktionsenergie bei der Milchsäuregärung**

P XXIX\_6 **Freie Energie aus der ATP-Hydrolyse**

P XXIX\_7 **Propionatstoffwechsel**

## P XXX Bio-Thermodynamik und Bio-Energetik

### P XXX\_0\_0-3 Introduction to Thermodyn

The folder contains 5 documents with information on the background of Thermodyn and examples for its application in thermodynamic modelling and microbial bioenergetics.

XXX\_0\_0 **Terms and definitions used with Thermodyn**

XXX\_0\_0 **Abbreviations used in Bio-Thermodynamics**

XXX\_0\_1 **Thermodyn: A simple spreadsheet for the calculation of free reaction energies**

XXX\_0\_2 **Introduction to thermodynamic modelling with Thermodyn**

XXX\_0\_3 **Thermodyn: Reconstructions**

### P XXX\_1 Anaerober Abbau von Benzoat durch syntrophe Gemeinschaft

Anhand von publizierten Ergebnissen wird dargestellt, wie Benzoat durch eine Gemeinschaft aus 4 Prokaryoten zu Methan und Kohlendioxid abgebaut wird. Als Abbauprodukte treten kurzkettige Fettsäuren und Wasserstoff auf. Von den vier Mikroorganismen, die in der Anreicherung nachgewiesen werden können, sind drei in der Lage, aus Zwischenprodukten Methan zu bilden; keiner dieser Organismen kann das aromatische Substrat jedoch direkt verwerten. Dies bewerkstelligt der vierte Organismus des Konsortiums, ein gram-negatives, fakultativ anaerobes Bakterium. Unter Zuhilfenahme von Thermodyn soll die Thermodynamik der Teilreaktionen und die Gesamtreaktion berechnet und aus den Ergebnissen die ökophysiologische Rolle, die den drei Bakterien im Konsortium zukommt charakterisiert werden.

### P XXX\_2 Hemmung des Benzoatabbaus durch Acetat

Wie bereits in Aufgabe PXXX/1 diskutiert wurde, geschieht der anaerobe Abbau von Benzoat durch das syntrophe Zusammenwirken von mehreren Bakterien. Das erste Bakterium besorgt die Ringspaltung und die Zerlegung in Fettsäuren und Wasserstoff. Die Abbaureaktion ist solange exergon, als die Konzentrationen der Produkte niedrig gehalten werden. Anhand von experimentellen Daten soll die Wirkung von Acetat auf den Benzoat-Abbau thermodynamisch und kinetisch charakterisiert werden.

### P XXX\_3 Anoxigene Photosynthese mit Ferro-Eisen (siehe auch P XX\_3)

In Problem P XX/3 wird dargestellt, wie einige anaerobe phototrophe Purpurbakterien mit Elektronen aus Siderit ( $\text{FeCO}_{3(s)}$ ) bzw. Pyrrhotit ( $\text{FeS}_{(s)}$ ) autotrophe Photosynthese betreiben können. In dieser Problemstellung wird die Assimilationsgleichungen unter vorgegebenen Randbedingungen aus thermodynamischer Sicht bearbeitet. Es wird ausserdem berechnet, welches Redoxpotential die aus der Siderit-Ferrihydrit-Oxidationsreaktion freigesetzten Elektronen besitzen, um daraus bestimmen zu können, auf welche Elektronenüberträger des bakteriellen Photosystems diese Elektronen übertragen werden können.

**P XXX\_4 Acetogenic and sulfidogenic methanol utilization**

*Desulfotomaculum orientis* is able to switch its life style from being a sulfate-reducing respiring organism to becoming a fermenter if the environment gets depleted of sulfate. It converts methanol via the acetyl-CoA pathway to acetate in the absence of sulfate and it produces hydrogen sulfide as long as sulfate is present. In the exercise we will apply thermodynamic approaches to evaluate dissimilation and assimilation reactions under sulfate-reducing and acetogenic conditions and analyze the thermodynamic differences between the beginning and the end of the incubation in a batch culture.

**P XXX\_5\_1 IHT: Degradation of Propionate by *Syntrophobacter wolinii* communities**

In this exercise we will use Thermodyn to understand the role of interspecies hydrogen transfer by investigating metabolic coupling between a propionate utilizing hydrogen producer and a hydrogenotrophic sulfate reducer. We will first reconstruct syntrophic reactions from data given in a Thermodyn table and then find optimal H<sub>2</sub>-coupling concentrations from graphic presentations.

**P XXX\_5\_2 IHT: Metabolism of butyrate by an anaerobic enrichment culture**

Employing Thermodyn the student will analyze syntrophic interactions between a butyrate oxidizer and various hydrogen scavengers under given boundary conditions, and define optimal concentrations of H<sub>2</sub> for dissimilatory interspecies hydrogen transfer.

**P XXX\_6 Thermochemical energy yield from substrate oxidation with different oxidants**

Based on virtual chemostat experiments, the student will investigate the thermodynamic energy yields from the dissimilation of ethanol employing a number of different oxidants like SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, S<sup>0</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, H<sup>+</sup>, O<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

**P XXX\_7 Chemolithoautotrophic growth of *Thioplaca sp.* with reduced sulfur compounds employing nitrate as electron acceptor**

In this exercise the student is investigating the thermodynamics of lithoautotrophic biomass formation and associated dissimilation reactions carried out by the colorless sulfur bacterium *Thioplaca sp.* under boundary conditions which reflect intracellular concentrations of the reactants.

**PXXX\_8 Sulfurogenic and sulfatogenic vs. oxigenic phototrophs in a meromictic lake**

Why is it energetically more favourable for phototrophic microorganisms to use hydrogen sulfide as electron donor for photosynthesis than water? Applying bio-thermodynamics we will be able to illustrate, why sulfidotrophic and sulfurotrophic phototrophs are dominant over oxigenic phototrophs under actual boundary conditions in the redox transition zone of a sulfidic lake.