

Inhaltsverzeichnis

1	Überblick über die Mikroorganismen	1
1.1	Prokaryonten und Eukaryonten	2
1.1.1	Das taxonomische und phylogenetische System der Mikroorganismen	2
1.1.2	Diversität bezüglich Form und Größe	5
1.1.3	Diversität bezüglich des Stoffwechsels	5
1.2	Wachstums- und Nährstoffansprüche	6
1.3	Die natürlichen Standorte der Mikroorganismen	8
1.4	Stoffkreisläufe und Nahrungsketten	9
1.4.1	Kohlenstoffkreislauf	9
1.4.2	Aerobe und anaerobe Nahrungsketten	9
1.4.3	Stickstoffkreislauf	10
1.4.4	Schwefelkreislauf	12
1.5	Biotechnologie	13
1.6	Kultivierbare und nichtkultivierbare Mikroorganismen	13
1.7	Eingesetzte Mikroorganismen	15
1.7.1	Bezugsquellen für Mikroorganismen	16
	Weiterführende Literatur	16
2	Vorschriften und Gesetze im Zusammenhang mit mikrobiologischen Arbeiten	19
2.1	Pathogene Mikroorganismen	20
2.2	Gentechnisch veränderte Mikroorganismen	20
2.3	Mikrobiologische Arbeiten im Produktionsmaßstab	20
2.4	Biostoffverordnung (BioStoffV)	21
2.5	Biologische Arbeitsstoffe und Risikogruppen	21
2.6	Risikobewertung und Einstufung der Arbeiten	23
2.7	Sicherheitsmaßnahmen und räumliche Voraussetzungen	24
3	Versuche	25
3.1	Quantitative Bestimmungen	27
3.1.1	Versuch 1: Bestimmung der Anzahl von Hefezellen in 1 g Bäckerhefe	27
3.1.2	Versuch 2: Keimzahl in Milch und Milchprodukten	31
3.1.3	Versuch 3: Aufnahme einer Wachstumskurve mit <i>Cupriavidus necator</i>	33
3.2	Anreicherung, Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen	39
3.2.1	Versuch 4: Anreicherung von Luftkeimen	40
3.2.2	Versuch 5: Anreicherung von Leuchtbakterien	43
3.2.3	Versuch 6: Anreicherung von Myxobakterien	47
3.2.4	Versuch 7: Anreicherung und Isolierung Violacein-produzierender Stämme der Gattungen <i>Chromobacterium</i> und <i>Janthinobacterium</i>	50
3.2.5	Versuch 8: Direktisolierung aerober Endosporenbildner (<i>Bacillus megaterium</i>)	53
3.2.6	Versuch 9: Anreicherung und Isolierung saccharolytischer Clostridien	56
3.2.7	Versuch 10: Direktisolierung und taxonomische Bestimmung fluoreszierender Pseudomonaden	60
3.2.8	Versuch 11: Das Bestimmen coliformer Keime in Wasserproben und die Isolierung sowie taxonomische Bestimmung von <i>Escherichia coli</i>	63
3.2.9	Versuch 12: Direktisolierung von <i>Streptococcus salivarius</i>	68
3.2.10	Versuch 13: Anreicherung und Isolierung von <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	72

3.2.11	Versuch 14: Anreicherung und Isolierung von <i>Propionibacterium</i> sp.	75
3.2.12	Versuch 15: Anreicherung und Isolierung aerober N ₂ -Fixierer (<i>Azotobacter</i> sp.)	78
3.2.13	Versuch 16: Anreicherung und Isolierung anaerober N ₂ -Fixierer (<i>Clostridium pasteurianum</i>)	81
3.2.14	Versuch 17: Anreicherung von Nitrifizierern	84
3.2.15	Versuch 18: Anreicherung von Denitrifizierern	87
3.2.16	Versuch 19: Anreicherung und Isolierung von Knallgasbakterien	90
3.2.17	Versuch 20: Winogradsky-Säulen zur Anreicherung anoxygener phototropher Bakterien.	94
3.2.18	Versuch 21: Anreicherung und Isolierung von Schwefel-Oxidierern (farbloße Schwefelbakterien)	98
3.2.19	Versuch 22: Anreicherung sulfatreduzierender Bakterien.	102
3.3	Herstellung biotechnisch relevanter Produkte und Lebensmittel mit Mikroorganismen	105
3.3.1	Versuch 23: Herstellung von Ethanol mit Hefe	106
3.3.2	Versuch 24: Herstellung von Glycerol mit Hefe durch Abfangverfahren	111
3.3.3	Versuch 25: Herstellung von Citronensäure mit <i>Aspergillus niger</i>	115
3.3.4	Versuch 26: Herstellung von Dihydroxyaceton mit Essigsäurebakterien	118
3.3.5	Versuch 27: Herstellung des Farbstoffs Indigo mit einem rekombinanten Stamm von <i>Escherichia coli</i>	120
3.3.6	Versuch 28: Herstellung und Nachweis von Antibiotika	124
3.3.7	Versuch 29: Herstellung von Insektentoxinen mit <i>Bacillus thuringiensis</i>	127
3.3.8	Versuch 30: Herstellung von Xanthan mit <i>Xanthomonas campestris</i>	130
3.3.9	Versuch 31: Herstellung von Dextran mit <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	134
3.3.10	Versuch 32: Herstellung mikrobieller Cellulose mit Essigsäurebakterien	137
3.3.11	Versuch 33: Herstellung von Alginat mit <i>Azotobacter vinelandii</i>	140
3.3.12	Versuch 34: Herstellung von Bioplastik, Poly(3HB), mit <i>Cupriavidus necator</i>	143
3.3.13	Versuch 35: Herstellung eines Elastomers mit <i>Pseudomonas oleovorans</i>	148
3.3.14	Versuch 36: Herstellung von Poly(γ -D-glutamat) mit <i>Bacillus licheniformis</i>	153
3.3.15	Versuch 37: Herstellung und Isolierung von Cyanophycin mit einem rekombinanten Stamm von <i>Escherichia coli</i>	156
3.3.16	Versuch 38: Herstellung von Sauerkraut	160
3.3.17	Versuch 39: Umwandlung von Wein in Weinessig	164
3.3.18	Versuch 40: Herstellung von Natto	168
3.3.19	Versuch 41: Herstellung von Tempeh	172
3.4	Abbauleistungen von Mikroorganismen	174
3.4.1	Versuch 42: Mikrobieller Abbau von Poly(3-hydroxybutyrat)	175
3.4.2	Versuch 43: Mikrobieller Abbau von Kautschuk	180
3.4.3	Versuch 44: Mikrobieller Abbau von Stärke	184
3.4.4	Versuch 45: Partieller mikrobieller Abbau einer Fotokopie	187
3.4.5	Versuch 46: Mikrobieller Abbau von Kohlenwasserstoffen	190
3.4.6	Versuch 47: Mikrobieller Abbau von Polyethylenglykol	197
3.4.7	Versuch 48: Wirkungsweise und mikrobieller Abbau von Roundup®	201
3.5	Bakteriophagen und Viren	207
3.5.1	Versuch 49: Nachweis von Coli-Phagen im Abwasser	208
3.5.2	Versuch 50: Nachweis des Tabak-Mosaik-Virus (TMV)	212
3.6	Auslösung von Mutationen, Anreicherung von Mutanten und Übertragung von DNA	214
3.6.1	Versuch 51: Genotoxizitätstests mit <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> und <i>Escherichia coli</i>	215

3.6.2	Versuch 52: Erweiterung des Spektrums verwertbarer Substrate bei <i>Cupriavidus necator</i> durch Mutagenese	223
3.6.3	Versuch 53: Poly(3HB)-negative Mutanten von <i>Cupriavidus necator</i>	227
3.6.4	Versuch 54: Transformation von <i>Bacillus subtilis</i>	232
3.6.5	Versuch 55: Transformation von <i>Escherichia coli</i>	236
3.6.6	Versuch 56: Konjugation bei <i>Cupriavidus necator</i> und <i>Escherichia coli</i>	239
3.6.7	Versuch 57: Transposon-induzierte Mutanten von <i>Cupriavidus necator</i>	244
3.6.8	Versuch 58: Elektroporation von <i>Mycobacterium smegmatis</i>	250
	Weiterführende Literatur	254
4	Exkursionen und Demonstrationen von Mikroorganismen an natürlichen Standorten, in Umweltproben und in der Industrie	259
4.1	Exkursionen	261
4.1.1	Exkursion 1: Kommunale Abwasserkläranlagen	261
4.1.2	Exkursion 2: Kompostwerke	265
4.1.3	Exkursion 3: Biogasanlagen	271
4.1.4	Exkursion 4: Bierbrauerei und Braustätten	274
4.1.5	Exkursion 5: Weinherstellung in Winzereien	278
4.1.6	Exkursion 6: Silage in der Landwirtschaft	283
4.1.7	Exkursion 7: Mikrobiologie und Biotechnologie im Supermarkt	285
4.1.8	Exkursion 8: Industrielle Herstellung von Nährmedien für die Mikrobiologie	289
4.2	Demonstrationen	292
4.2.1	Demo 1: Symbiotische N ₂ -fixierende Bakterien und Wurzelknöllchen	292
4.2.2	Demo 2: <i>Rhizobium radiobacter</i> und induzierte Pflanzentumore	296
4.2.3	Demo 3: <i>Claviceps purpurea</i> und Mutterkorn-Alkaloide aus infiziertem Getreide	301
4.2.4	Demo 4: Flechten: Ektosymbiosen von Pilzen mit Grünalgen oder Cyanobakterien	304
4.2.5	Demo 5: Anaerobe Süßwassersedimente und das Volta-Experiment	307
4.2.6	Demo 6: Farbstreifen-Sandwatt und Nordseeküste	309
	Literatur	313
5	Methoden	315
5.1	Kultivierung von Mikroorganismen	317
5.1.1	Methode 1: Herstellen von Nährmedien	317
5.1.2	Methode 2: Sterilisation	318
5.1.3	Methode 3: Herstellen einer Verdünnungsreihe mit Zellsuspensionen	322
5.1.4	Methode 4: Vereinzelung	323
5.1.5	Methode 5: Kultivierung anaerober Mikroorganismen	326
5.1.6	Methode 6: Verwendung einer Gasstation	326
5.1.7	Methode 7: Dichtegradientenzentrifugation	329
5.2	Mikroskopische Methoden	330
5.2.1	Methode 8: Lichtmikroskopie	330
5.2.2	Methode 9: Messokular	332
5.2.3	Methode 10: Zählkammer	332
5.2.4	Methode 11: Tusche-Präparat	333
5.3	Einfache taxonomische Verfahren zur Charakterisierung von Mikroorganismen	333
5.3.1	Methode 12: Bestimmung des Gram-Verhaltens	333
5.3.2	Methode 13: Sporenfärbung	336
5.3.3	Methode 14: Biochemische Charakterisierung von Anreicherungs- und Reinkulturen	336
5.3.4	Methode 15: Färbung von Poly(3HB) mit Sudanschwartz B und Nilrot	340
5.3.5	Methode 16: Färbung von Poly(glucose) mit Lugol'scher Lösung	341

5.4	Molekulargenetische Methoden	341
5.4.1	Methode 17: Isolierung von Plasmid-DNA aus <i>Escherichia coli</i> (»Koch-Methode«)	342
5.4.2	Methode 18: Transformation von <i>Escherichia coli</i>	342
5.4.3	Methode 19: Isolierung von Gesamt DNA aus <i>Bacillus subtilis</i>	343
5.4.4	Methode 20: Auslösung von Mutationen	344
5.5	Photometrische Methoden	346
5.5.1	Methode 21: Lambert-Beer'sches Gesetz	346
5.5.2	Methode 22: Messung der Trübung von Zellsuspensionen	346
5.5.3	Methode 23: Proteinbestimmung ganzer Zellen	347
5.5.4	Methode 24: Einfacher und gekoppelter optisch-enzymatischer Test	348
5.6	Quantifizierung von Zellen und Medienbestandteilen	355
5.6.1	Methode 25: Bestimmung der Trockenmasse einer Zellsuspension	355
5.6.2	Methode 26: Bestimmung des Ammoniumgehalts	355
5.7	Chromatographische und elektrophoretische Methoden	356
5.7.1	Methode 27: Bestimmung des Polyhydroxyalkanoat-Gehalts	356
5.7.2	Methode 28: Trennung und Nachweis von Proteinen und Cyanophycin	357
5.7.3	Methode 29: Gelpermeationschromatographie (GPC)	358
	Weiterführende Literatur	359
6	Chemikalien, Nachweisreagenzien und Medien	361
6.1	Herstellung von Medien, Puffern und Lösungen	362
6.2	Medien- und Chemikalienliste	362
7	Modulare Zusammenstellung von Versuchen für unterschiedliche Zielgruppen	377
	Stichwortverzeichnis	383