

Synthetische biologie: ombouwen van *E. coli*

Biologen hebben onderzocht welke stappen nodig zijn om een heterotrofe bacterie om te bouwen tot een chemo-autotrofe bacterie.

De biologen gebruikten voor hun onderzoek de darmbacterie *Escherichia coli*. Het genoom van deze bacterie is bekend, en de bacterie is snel en eenvoudig te kweken. *E. coli* is heterotroof en kan zowel aerobe als anaerobe dissimilatie uitvoeren.

In de darmen van mensen bevordert *E. coli* de vertering en produceert B-vitamines en vitamine K. Sommige varianten van de bacterie zijn voor mensen ziekmakend.

Uit de tekst blijkt dat er sprake is van symbiose tussen de verschillende *E. coli*-varianten en de mens:

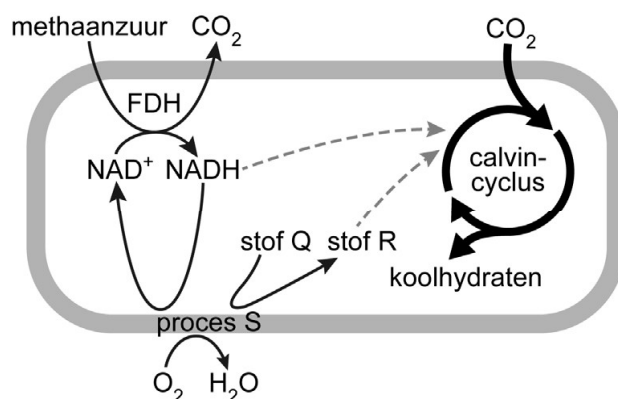
- 1 tussen de mens en niet-ziekmakende varianten;
- 2 tussen de mens en ziekmakende varianten.

2p 12 Schrijf de nummers 1 en 2 onder elkaar. Noteer erachter welke vorm van symbiose het meest passend is bij de bijbehorende relatie.

Om *E. coli* autotroof te maken, brachten de biologen genen in die coderen voor enkele enzymen van de calvincyclus. Deze genen zijn afkomstig van de bacterie *Pseudomonas*. Ook werd een gen ingebracht dat codeert voor het enzym FDH. Door dit enzym kan de stof methaanzuur dienen als donor van energierijke elektronen.

In afbeelding 1 zijn de stofwisselingsprocessen in de autotrofe *E. coli*-bacterie weergegeven zoals de onderzoekers die ontworpen hadden. In het kweekmedium zijn methaanzuur en zuurstof voldoende aanwezig.

afbeelding 1



In afbeelding 1 staan de stoffen Q en R, en het proces S dat op de celmembraan plaatsvindt.

2p 13 Schrijf de letters Q, R en S onder elkaar. Noteer de naam van de bijbehorende stoffen achter Q en R, en de naam van het bijbehorende proces achter S.

De aanpassingen die de biologen deden aan *E. coli* zijn een voorbeeld van genetische modificatie.

- 1p 14 Is de gemodificeerde *E. coli* **cisgeen** of **transgeen**? Licht je antwoord toe.

Bij de gemodificeerde *E. coli* is methaanzuur de donor van elektronen voor het verloop van de calvincyclus.

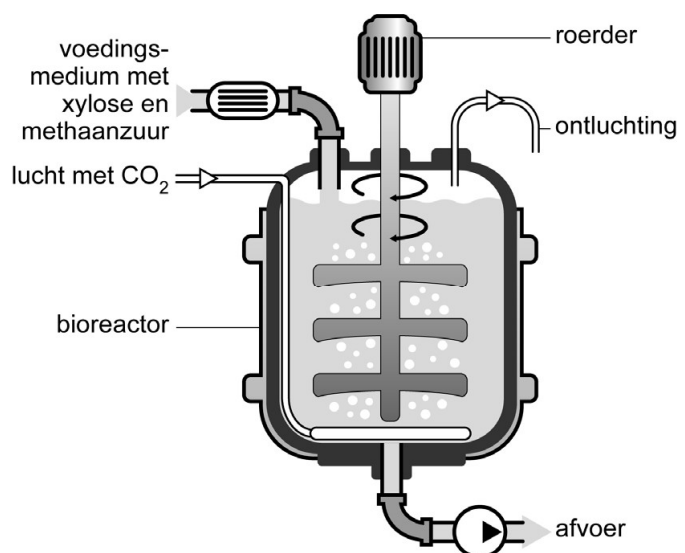
- 1p 15 Wat is de elektronendonor bij foto-autotrofe organismen?

- A licht
- B H_2O
- C O_2

De volgende stap was het stimuleren van de autotrofe levenswijze van *E. coli*. Dit kan worden bereikt door ervoor te zorgen dat *E. coli* geen glucose meer kan gebruiken voor de productie van ATP. De biologen schakelden daartoe drie genen uit die coderen voor enzymen die betrokken zijn bij de glycolyse. Vervolgens werd deze gemodificeerde *E. coli* gekweekt in een bioreactor (afbeelding 2) waaraan continu een voedingsmedium werd toegevoegd. Dit bevatte onder andere methaanzuur en de monosacharide xylose.

Xylose was nodig om ervoor te zorgen dat de bacteriën niet meteen zouden sterven aan energiegebrek. *E. coli* kan xylose namelijk omzetten in pyrodruivenzuur zonder daarbij gebruik te maken van de glycolyse. Tijdens de kweekperiode werd de hoeveelheid xylose in het voedingsmedium geleidelijk afgebouwd naar nul. Vanaf de bodem van de reactor werd lucht met CO_2 toegevoegd.

afbeelding 2



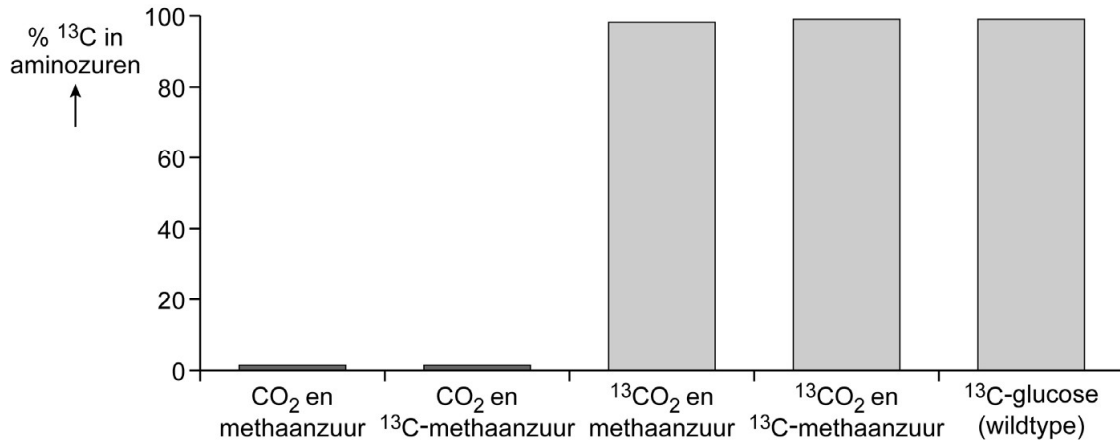
De *E. coli*-bacteriën waarmee werd gestart, hadden nog veel stofwisselingsprocessen die passen bij een heterotrofe levenswijze. Na 300 dagen waren de bacteriën in de bioreactor echter volledig autotroof.

- 2p 16 Leg uit hoe de *E. coli*-bacteriën in de bioreactor konden evolueren tot volledig autotrofe bacteriën. Benoem ook de selectiedruk die hierbij een rol speelde.

De biologen wilden weten of de gemodificeerde *E. coli*-bacteriën aan het einde van de kweekperiode alleen CO_2 gebruikten als koolstofbron. Om dat te onderzoeken, gebruikten ze koolstofverbindingen die gelabeld waren met de koolstofisotoop ^{13}C .

Ze maakten vier groepen die ze gelabeld of ongelabeld CO₂, en gelabeld of ongelabeld methaanzuur gaven. Als positieve controle was er een vijfde groep met normale (wildtype) *E. coli*-bacteriën die gelabelde glucose kregen. De vijf groepen bacteriën werden in aparte proefopstellingen gedurende tien generaties verder gekweekt. Na afloop werd het aandeel ¹³C in de aminozuren gemeten. De resultaten van deze proeven zijn weergegeven in afbeelding 3.

afbeelding 3



E. coli maakt aminozuren van glucose en anorganische stoffen uit het voedingsmedium. De positieve controle met wildtype *E. coli* laat zien dat de ¹³C uit de glucose inderdaad terecht komt in aminozuren.

- 2p 17 – Noteer de naam van het proces waarbij aminozuren geproduceerd worden van glucose en anorganische stoffen.
- Geef een voorbeeld van een anorganische verbinding die aan het voedingsmedium moet worden toegevoegd om dit proces mogelijk te maken.
- 2p 18 Licht toe aan de hand van afbeelding 3 dat de gemodificeerde bacteriën niet of nauwelijks methaanzuur, maar wel CO₂ gebruiken voor de productie van aminozuren.

De biologen maten bij gebruik van CO₂ en ¹³C-methaanzuur aanvankelijk een hoger percentage ¹³C in aminozuren. De waarde die je ziet in afbeelding 3 is hiervoor gecorrigeerd.

- 1p 19 Verklaar aan de hand van afbeelding 1 dat bij gebruik van CO₂ en ¹³C-methaanzuur toch ¹³C in aminozuren terecht kan komen.