

# Maak kennis met extremofielen

Prof. dr. Huub Op den Camp

NIBI Onderwijsconferentie, Lunteren, 13 januari 2017

“De biologie van het allerkleinste”



# Wat weten jullie al: instaptoets

Ga naar → <https://b.socrative.com/login/student>

Room number: 286260

Succes !!

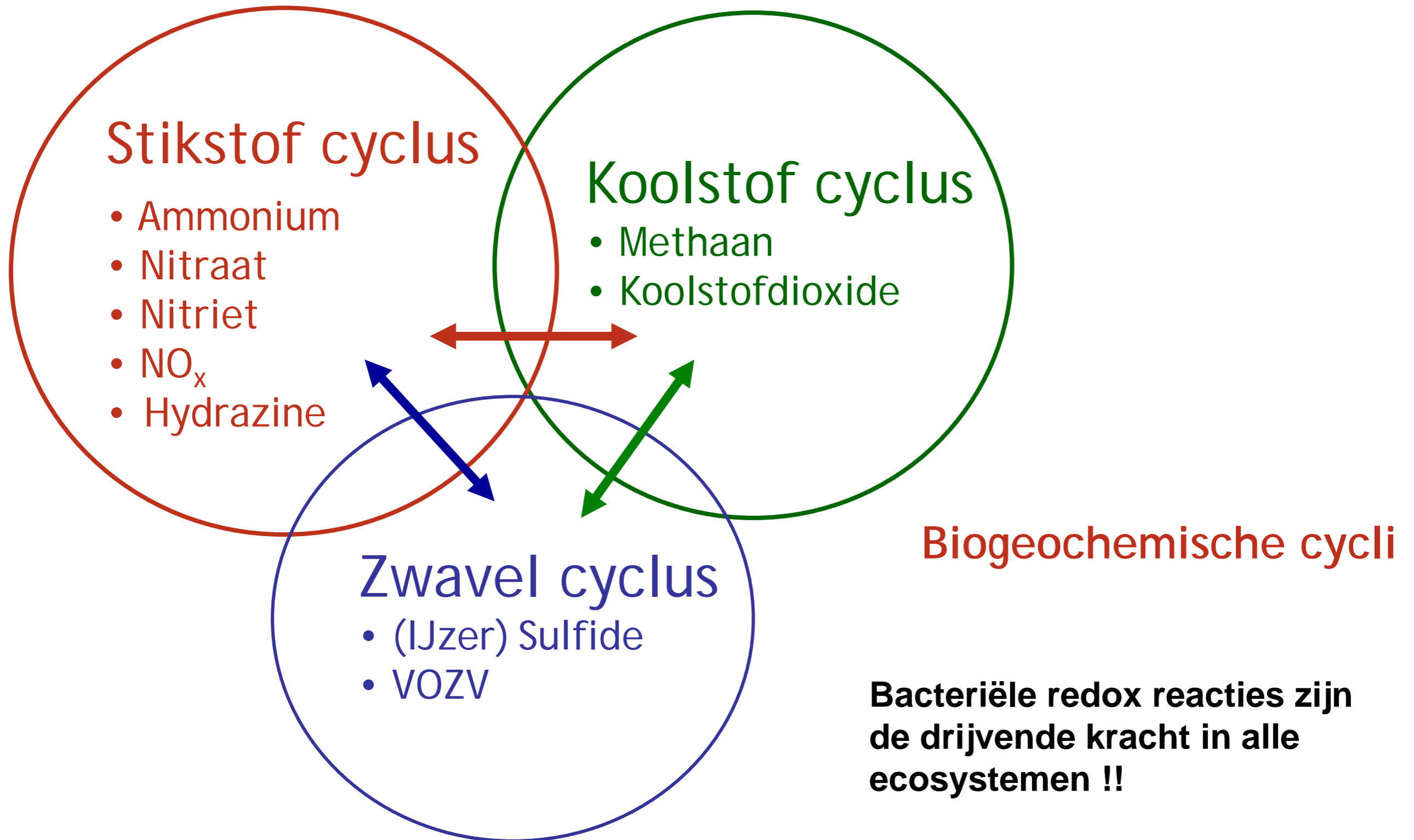


# Wat is een extremofiel?



# Inleiding

- Microbiologen bestuderen microscopisch kleine levende wezens: bacteriën, gisten, schimmels, algen en protozoen
- Onderzoek is gericht op vorm, structuur, reproductie, (eco)fysiologie, metabolisme en classificatie
- Onderzoek en onderwijs gericht op begrijpen en toepassen



# Inleiding

Wie doet **W**at,  
**W**aar,  
**W**anneer,  
**W**aarom  
en met **W**ie



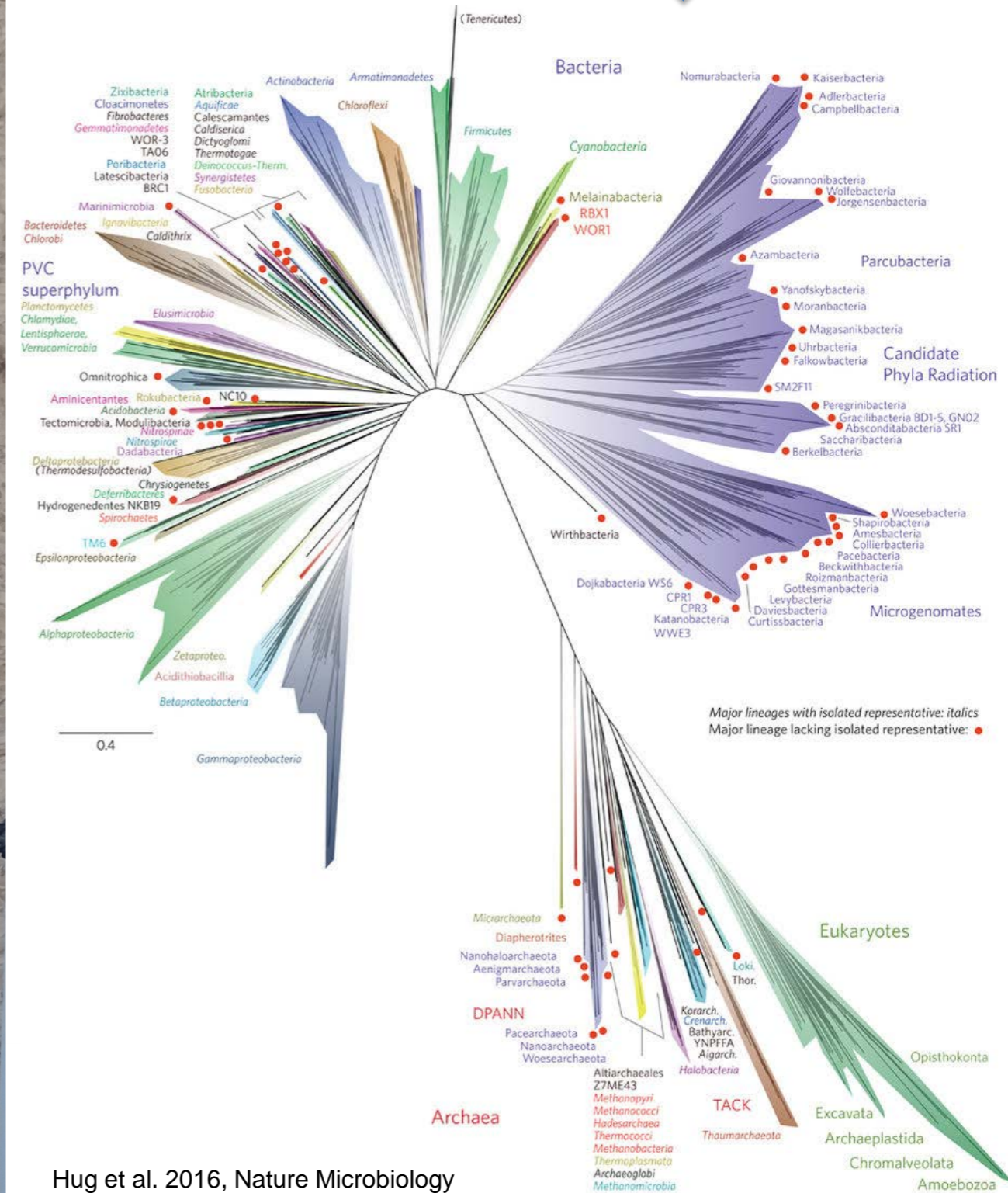
Simone de Koster  
\* 15 april 1989  
† 29 maart 2015





← Kunst

Wetenschap ↓

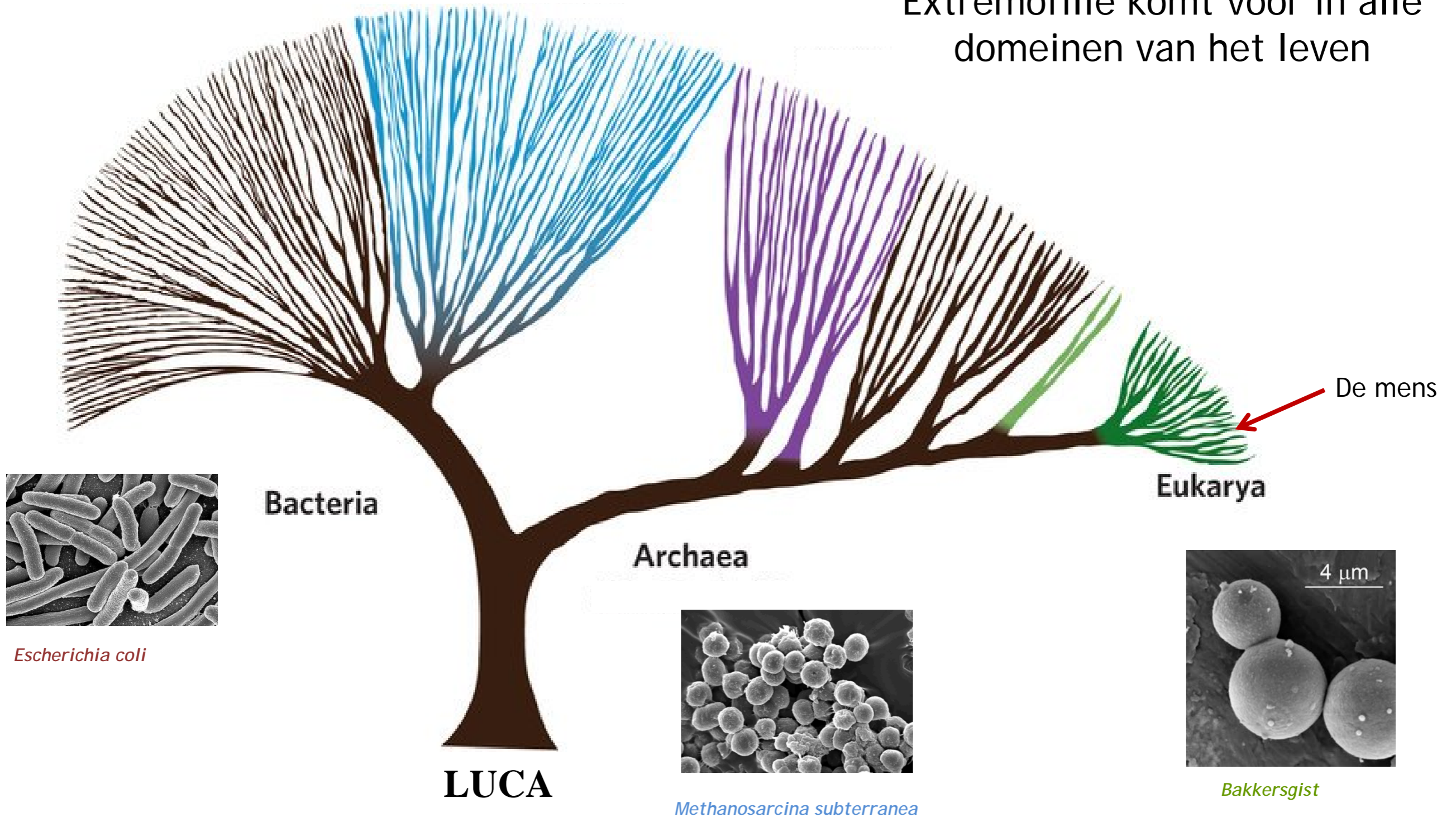


Hug et al. 2016, Nature Microbiology



# The Tree of Life: een eenvoudiger weergave

Extremofilie komt voor in alle domeinen van het leven



<http://www.nature.com/articles/nmicrobiol201656>

## Het machtigste leven op aarde

Jasper Buikx – microbioloog bij ARTIS-Micropia



Jasper Buikx (1988) studeerde af als bioloog aan de Universiteit Leiden en is werkzaam bij ARTIS. Vanaf de opening van ARTIS-Micropia

in oktober 2014 is Buikx als microbioloog verbonden en is daar verantwoordelijk voor de wetenschappelijke inhoud en educatie van het museum.

L2

Plenaire avondlezing  
vrijdag 20:30-21:30 uur

Je ziet ze niet, maar ze zijn er wel. Ze zitten op je, ze zitten in je, en jij alleen hebt er al meer dan honderdduizend miljard. Ze zijn er als je eet, als je ademt en als je zoent. Ze zitten overal, op je handen en in je buik. En ze bemoeien zich met alles. Zij bepalen hoe onze wereld eruitziet: wat je ruikt en wat je proeft; of je ziek wordt, of juist beter. Ze kunnen ons redden of vernietigen. Microben, de kleinste en machtigste organismen op onze planeet. We weten nog maar weinig van ze af, maar kunnen veel van ze leren. Over onze gezondheid, alternatieve energiebronnen en wie weet wat nog meer. Als je de wereld van héél dichtbij bekijkt, gaat er een nieuwe voor je open. Mooier en bijzonderder dan je je ooit hebt kunnen voorstellen.

Jasper Buikx neemt je mee in de wereld van het allerkleinste. En laat hierbij zien welke talenten microben bezitten en hoe ze ons leven beïnvloeden.

Neem het beerdiertje bijvoorbeeld. Ze overleven temperaturen van  $-270\text{ }^{\circ}\text{C}$  tot  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , röntgenstraling dat duizend keer zo sterk is als de dosis die dodelijk is voor een mens, en zelfs het vacuüm van de ruimte.

Ook op en in ons lichaam spelen microben een belangrijke rol. Weet je hoeveel microben je uitwisselt tijdens een tongzoen? In je mond is het een drukte van belang. Er leven alleen al 10 miljard bacteriën, verdeeld over zo'n 700 soorten. De exacte samenstelling van het leven in je mond is voor iedereen uniek, net als een vingerafdruk. Maar als je regelmatig met dezelfde persoon tongzoent, gaat de

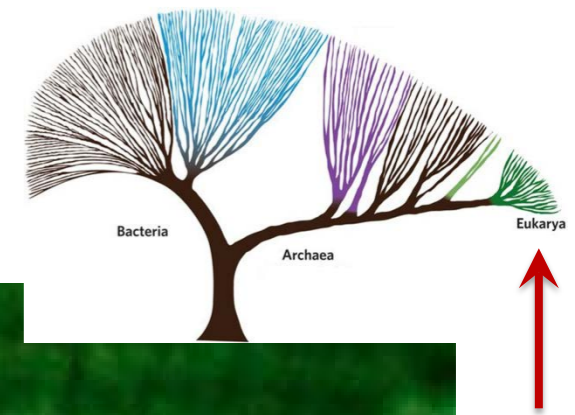


verzameling bacteriën in jullie speeksel wel meer op elkaar lijken.

Tijdens deze avondlezing ontdek je van alles over jezelf en de wereld om je heen. Bovendien doe je

ook ideeën op over hoe je dit alles zichtbaar kan maken in de klas.

# Het beerdiertje (*Tardigrada*)



0.5 tot 1.5 mm groot

→ alleen overleving, geen groei

[http://www.flabber.nl/Bart-Jan de Brouwer](http://www.flabber.nl/Bart-Jan%20de%20Brouwer)

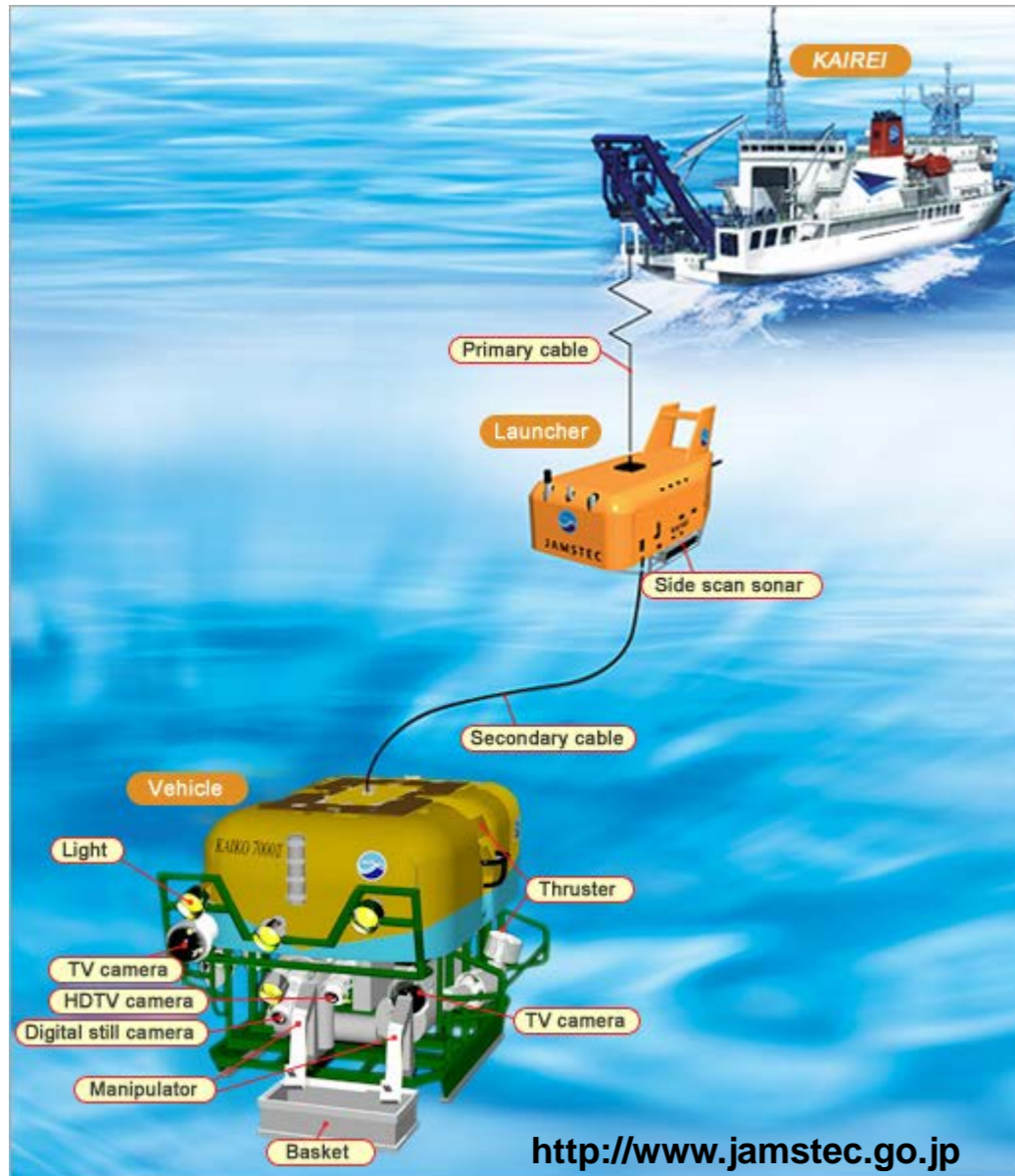
## Voorbeelden van extremofielen

- Barofielen (hoge druk, 1100 atm)
- Halofielen (hoge zout concentraties 3.5% [zee] tot 30%)
- Xerofielen (droogte)
- Alkalifielen (hoge pH, >11)
- Acidofielen (lage pH, < 1)
- Psychrofielen (lage temperatuur, -15°C)
- Thermofielen (hoge temperatuur, 122°C)



De Psychrofiel

# Barofielen



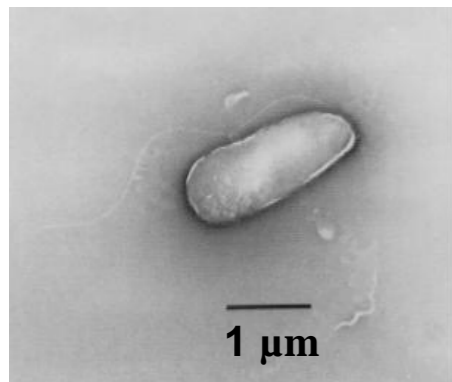
**Mariana Trench: 2.5 °C, druk 1100 atm**



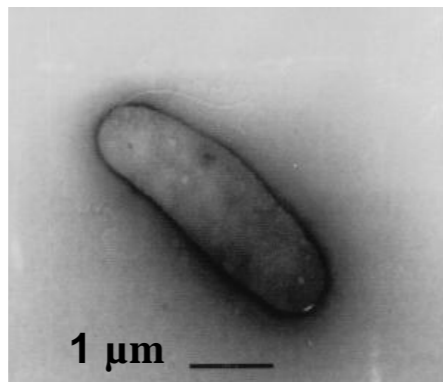
# Groei van barofielen uit de Mariana trench



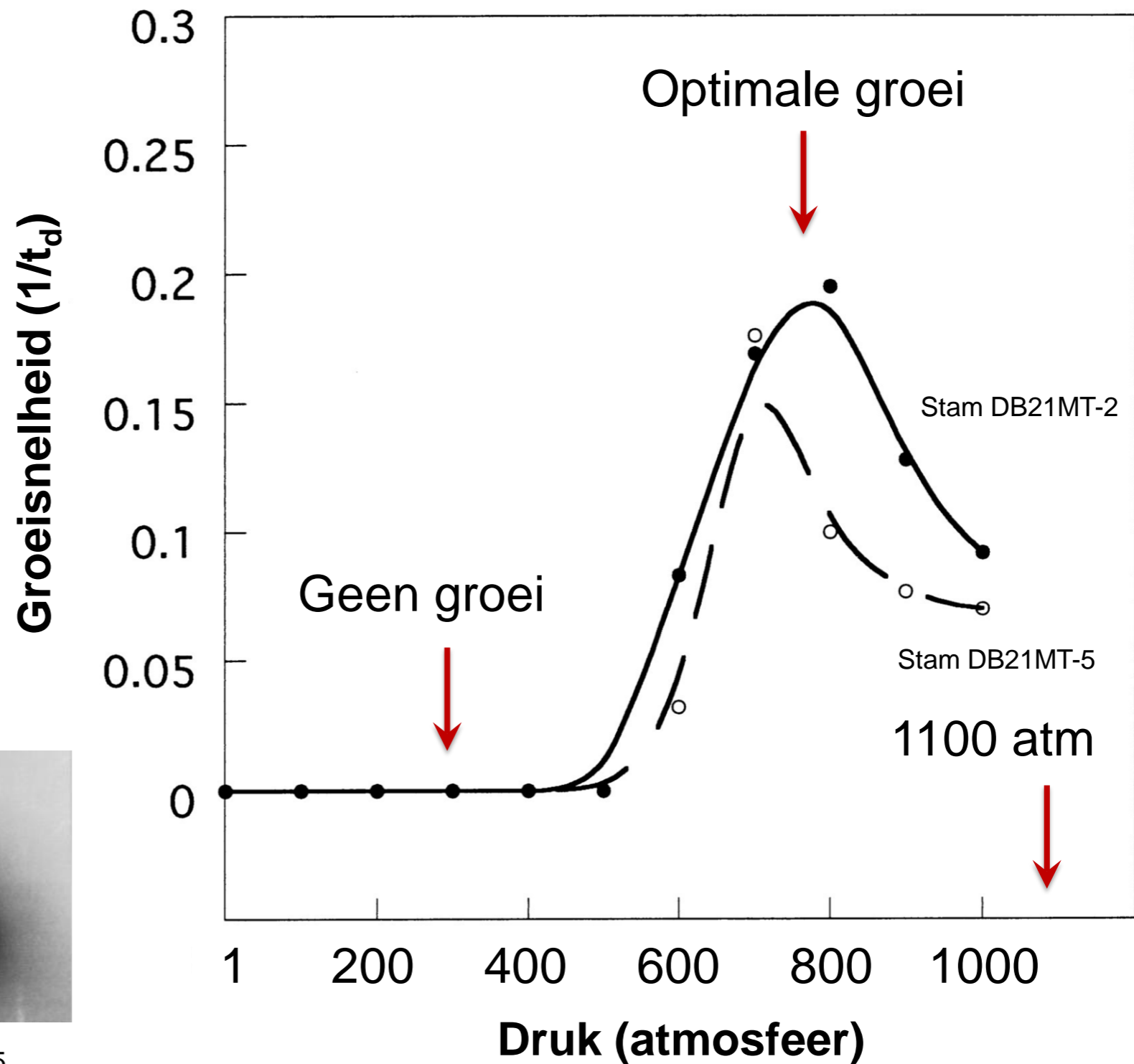
Robot-arm voor monstername op 11 km diepte



Stam DB21MT-2



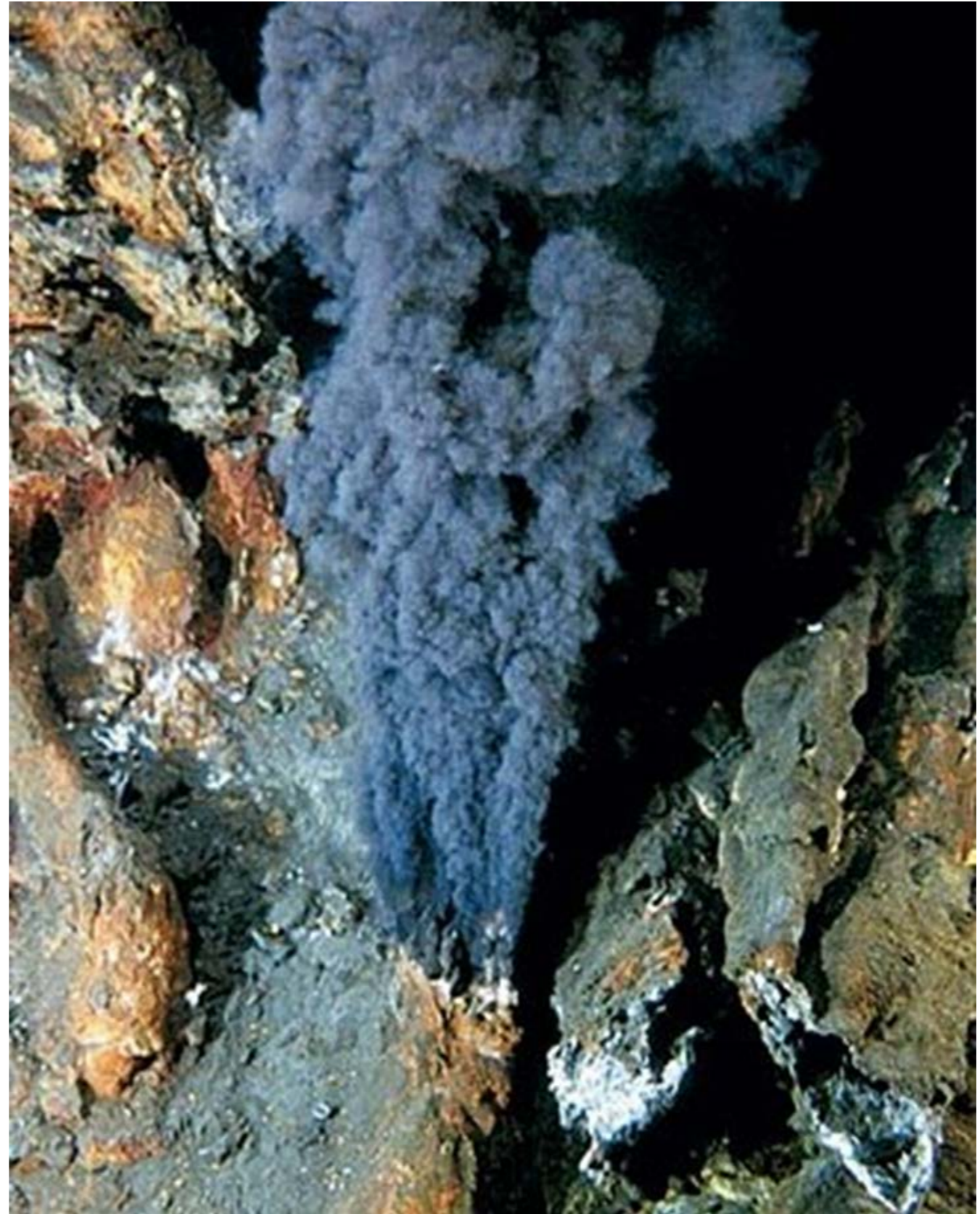
Stam DB21MT-5



## Nog meer verrassingen in de diepzee (2,5 – 3 km diepte)



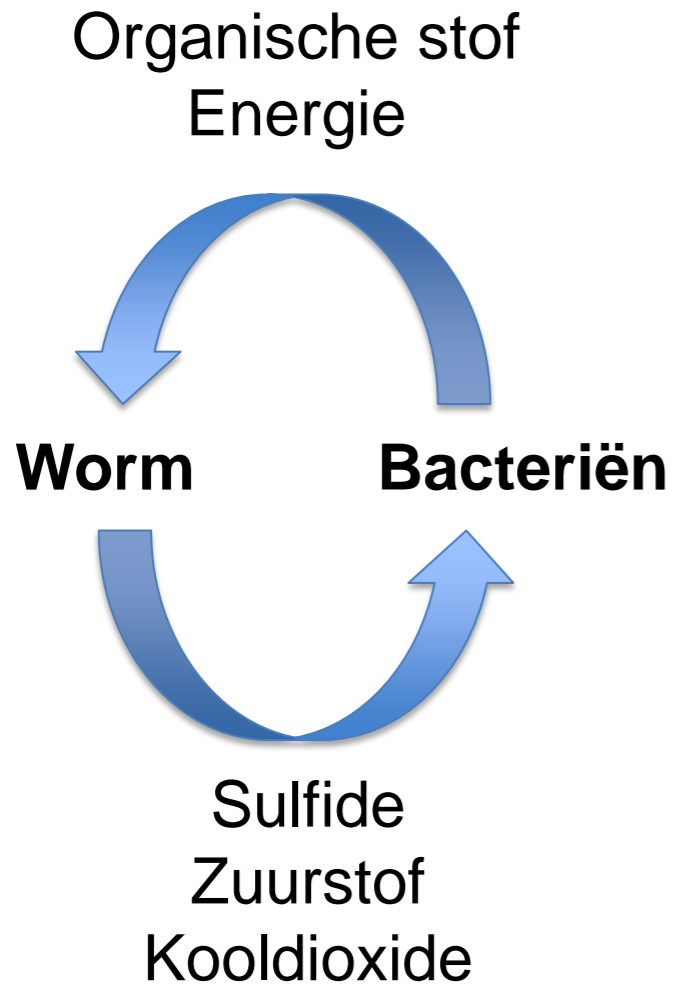
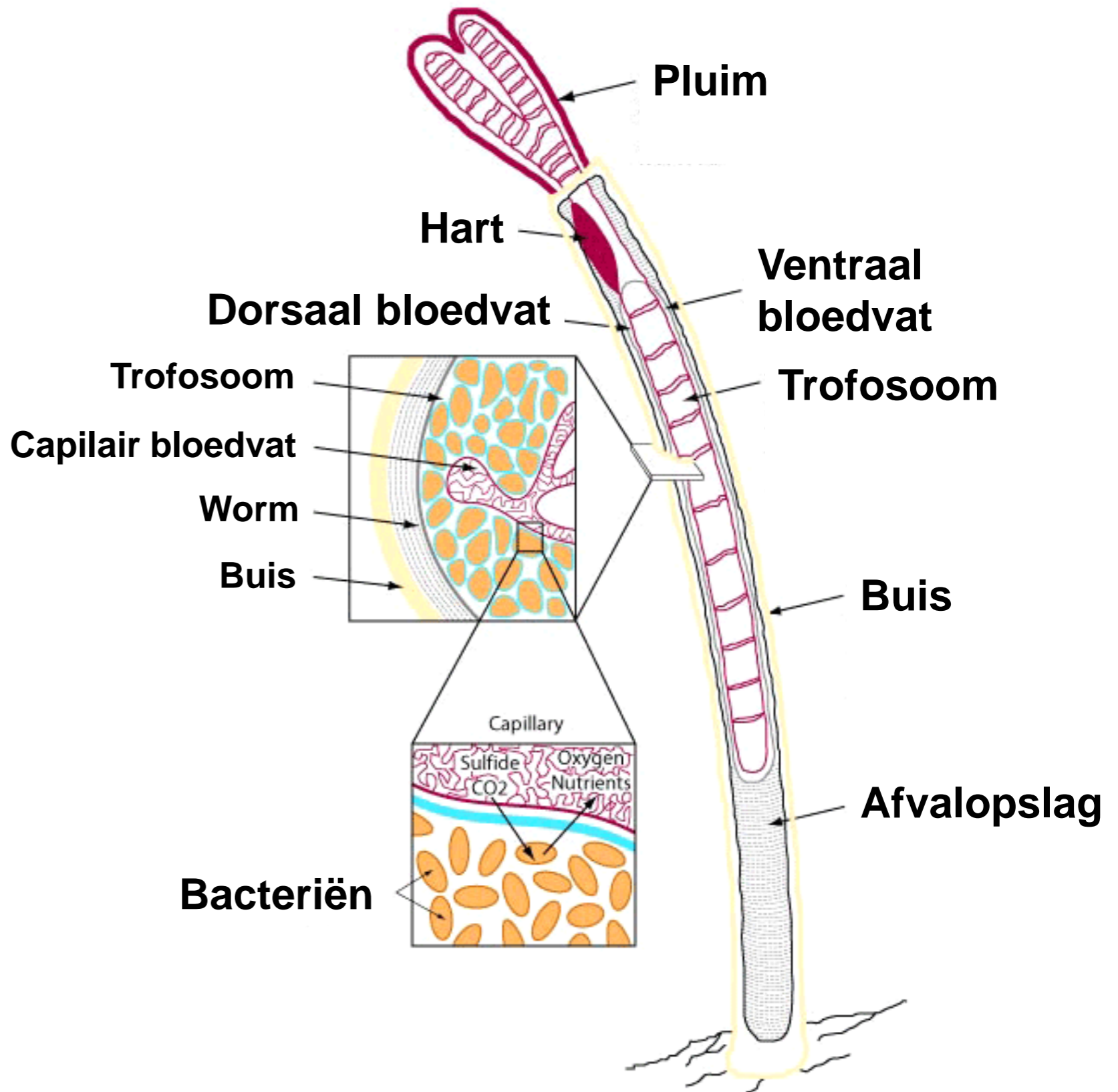
# Black smokers



[https://www.youtube.com/watch?v=QffkyLYB\\_PA](https://www.youtube.com/watch?v=QffkyLYB_PA)



# Een perfecte symbiose

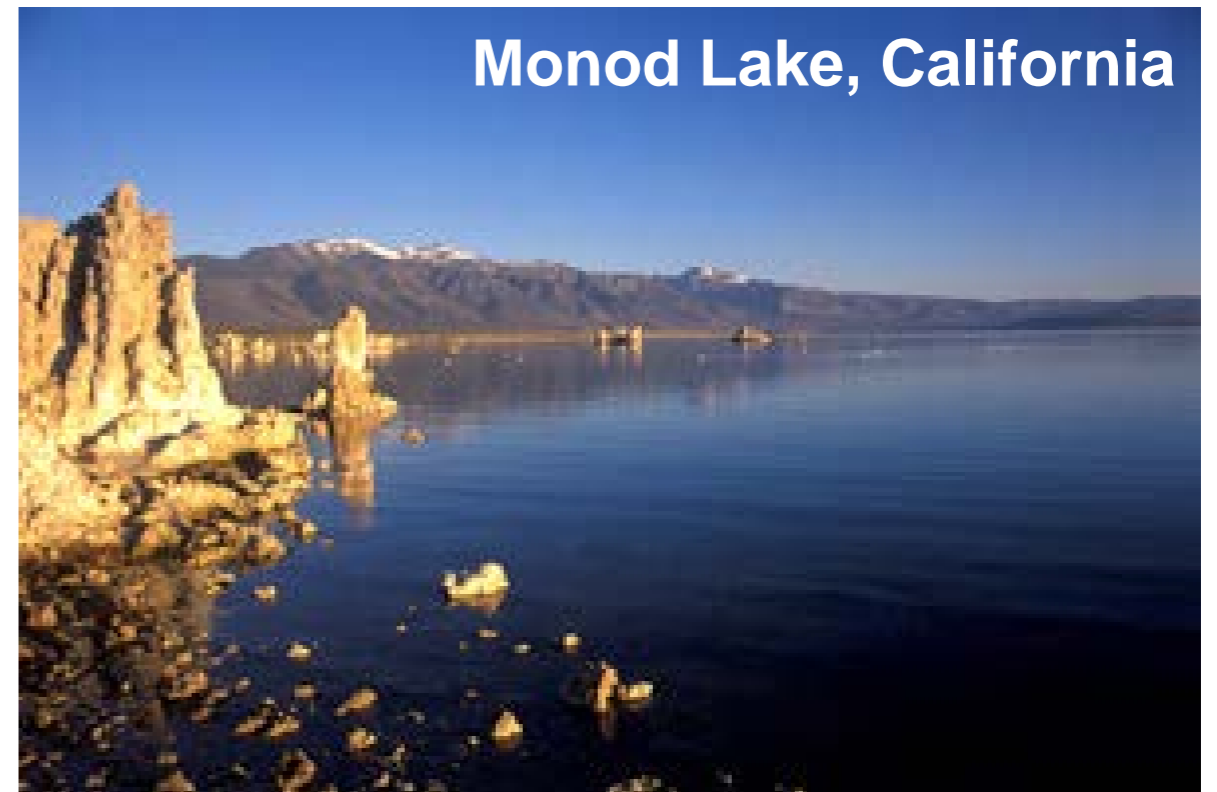


NOAA Okeanos Explorer Program, Galapagos Rift Expedition 2011 - [Flickr NOAA Photo Library](#)

# Halofielen (vaak ook alkalifiel)



Octopus spring Yellowstone Parc



Monod Lake, California

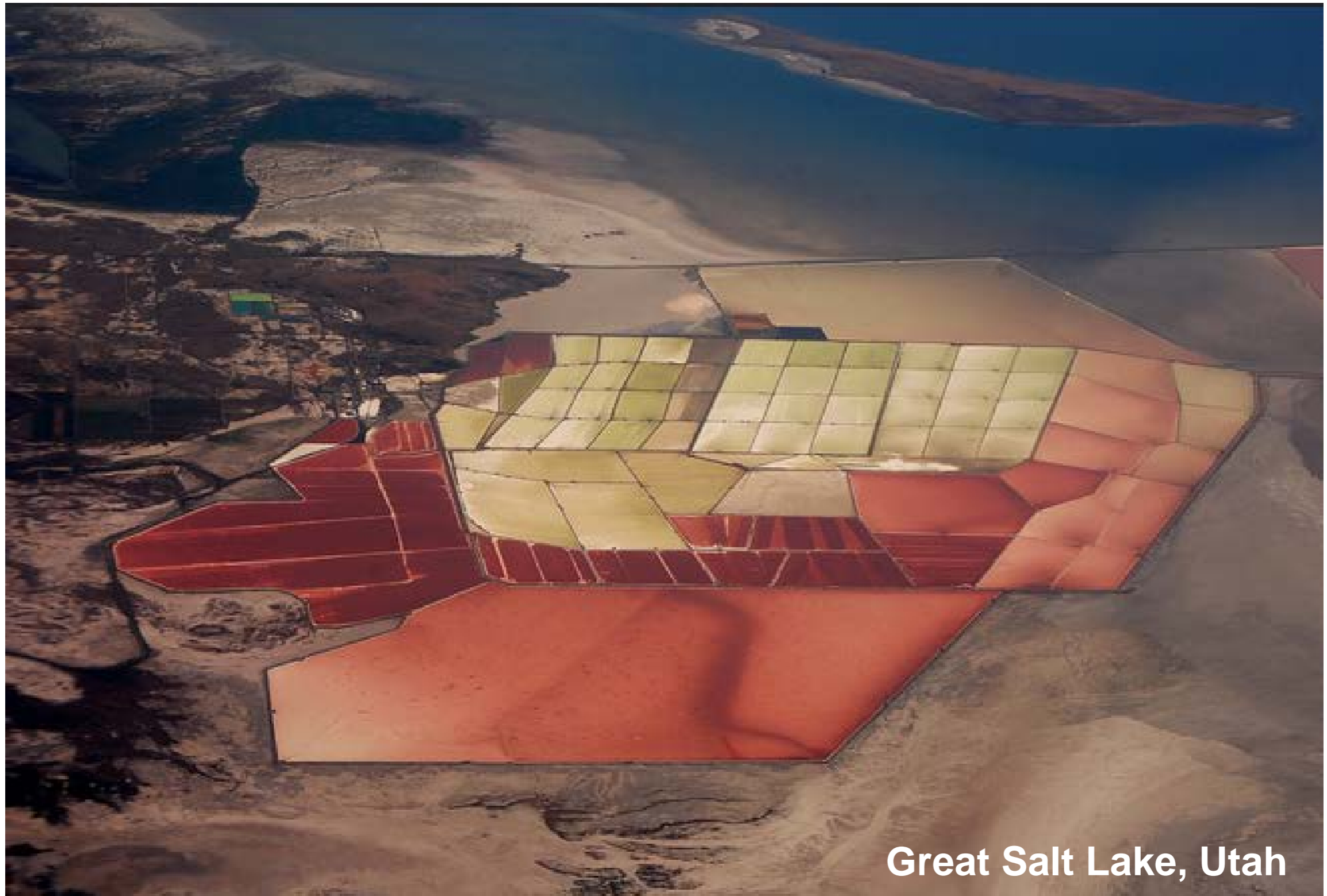


Lake Natron, Tanzania



Lake Magadi, Kenia

# Halofielen en zoutwinning



Great Salt Lake, Utah

# Halofielen



Alicante, Spain

Henk Bolhuis & Francisco Rodriguez-Valera

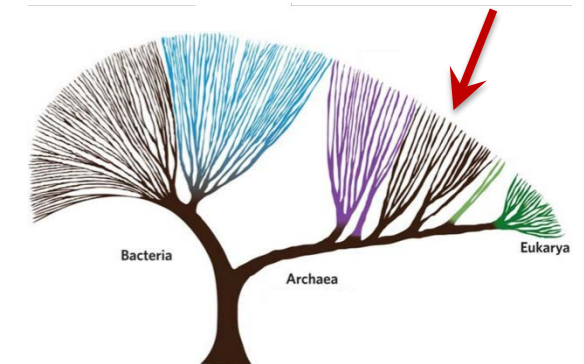


MicrobeWiki

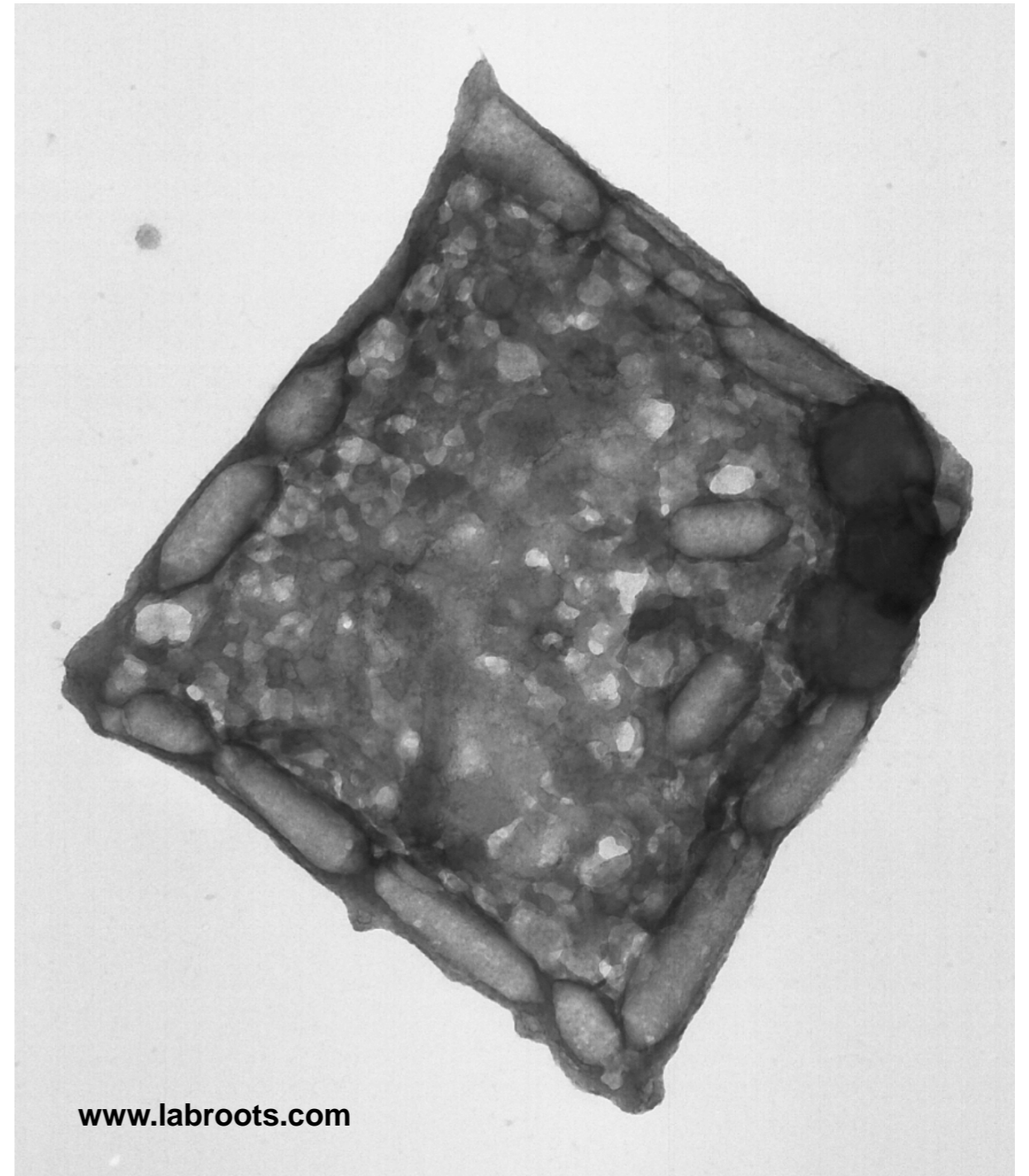
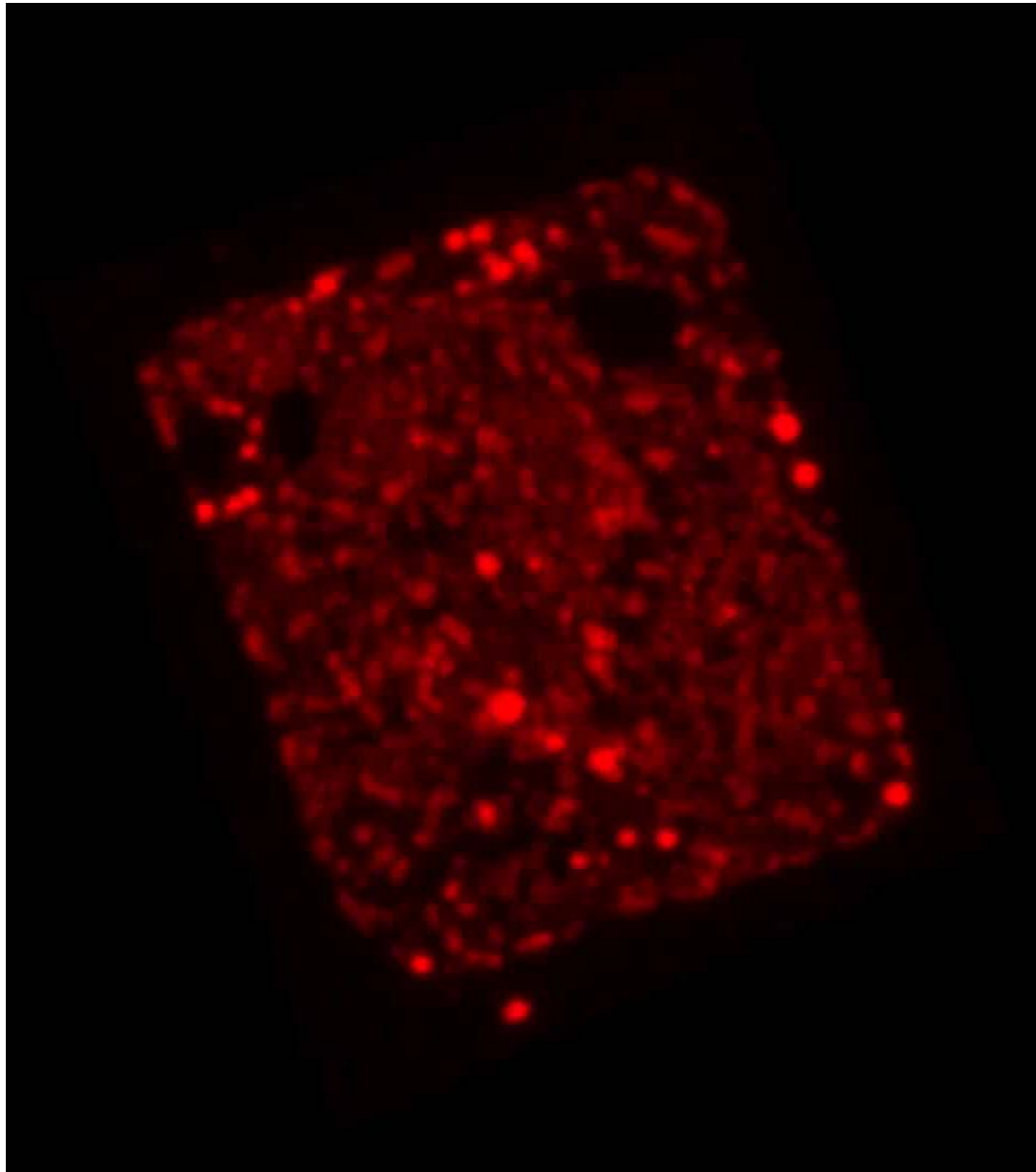
*Haloquadratum walsbyi*

<http://www.slideshare.net/AnjaliMalik3/extremophiles-imp-1>

[http://www.slideshare.net/guest82ae33/extremophiles?next\\_slideshow=1](http://www.slideshare.net/guest82ae33/extremophiles?next_slideshow=1)



# *Haloquadratum walsbyi*





Mount Etna erupts on December 3, 2015. MARCO RESTIVO/DEMOTIX/CORBIS

# Hier is het allemaal begonnen, ...



Campi Flegrei (brandende velden), Napels



**Fumarolen**



**Oude Romeinse Sauna**



**Modderpoel (Fangaia)**



# Fumarolen

“Bocca Grande”  
(= grote mond)

Stoom van 160°C



# Arjan Pol neemt monsters van de modderpoel .....



Heet: 50-70 °C

Zuur: pH 1-2

Weinig zuurstof

## bij de oude sauna .....



Hete damp:  $>70\text{ }^{\circ}\text{C}$

Zuur: pH 1-2

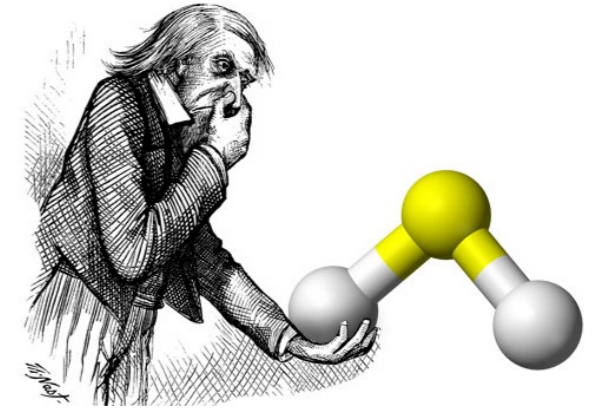


# en monsters van de zure bodem van de vulkaan



# Mogelijke voedingsstoffen voor de vulkaan microben

- Koolstofdioxide
- Zwavelverbindingen (o.a. waterstofsulfide)
- Methaan (aardgas)
- Waterstofgas
- Ammoniak
- Koolmonoxide
- Zuurstof (vanuit de lucht)





Pol et al. Nature **450**: 874-878 (2007)

➤ **Methaan (aardgas)**



Smeulders et al. Nature **478**: 412-416 (2011)

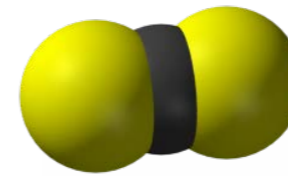
➤ **Zwavelverbindingen**

## Koolstofdioxide (CO<sub>2</sub>)

- Koolstofdioxide wordt als oplosmiddel gebruikt in de viscose/kunstzijde industrie
- Toxisch, vluchtig, ontvlambaar en explosief
- Koolstofdioxide moet verwijderd worden
- Biofilters zetten koolstofdioxide om in zwavelzuur (>10% → recyclen )



Nieuwe **acidofiele** bacteriën  
uit de Solfatara voor biofilters





Marc Ruygrok, 2009

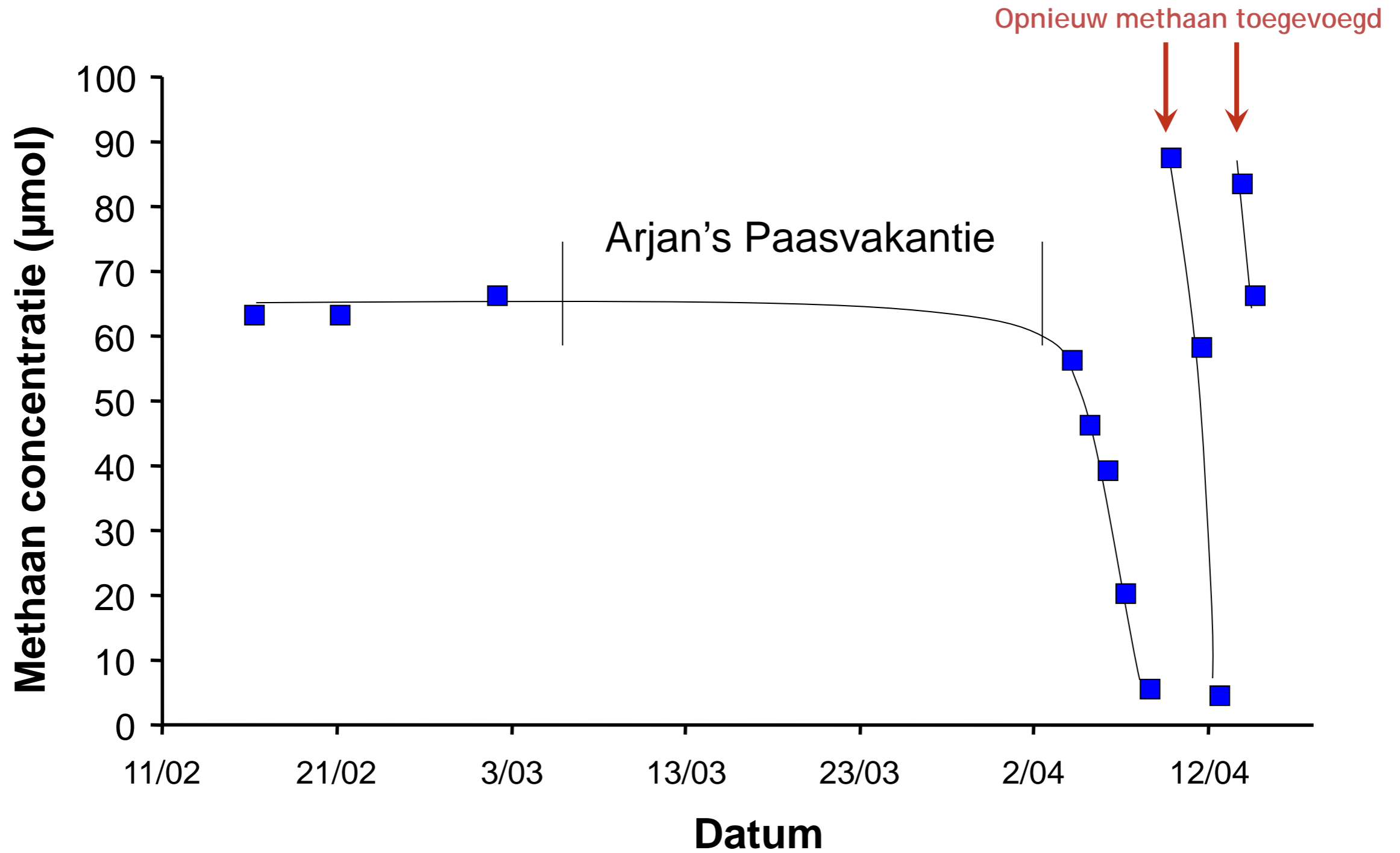


# Ophoping van acidofiele methaan-eters

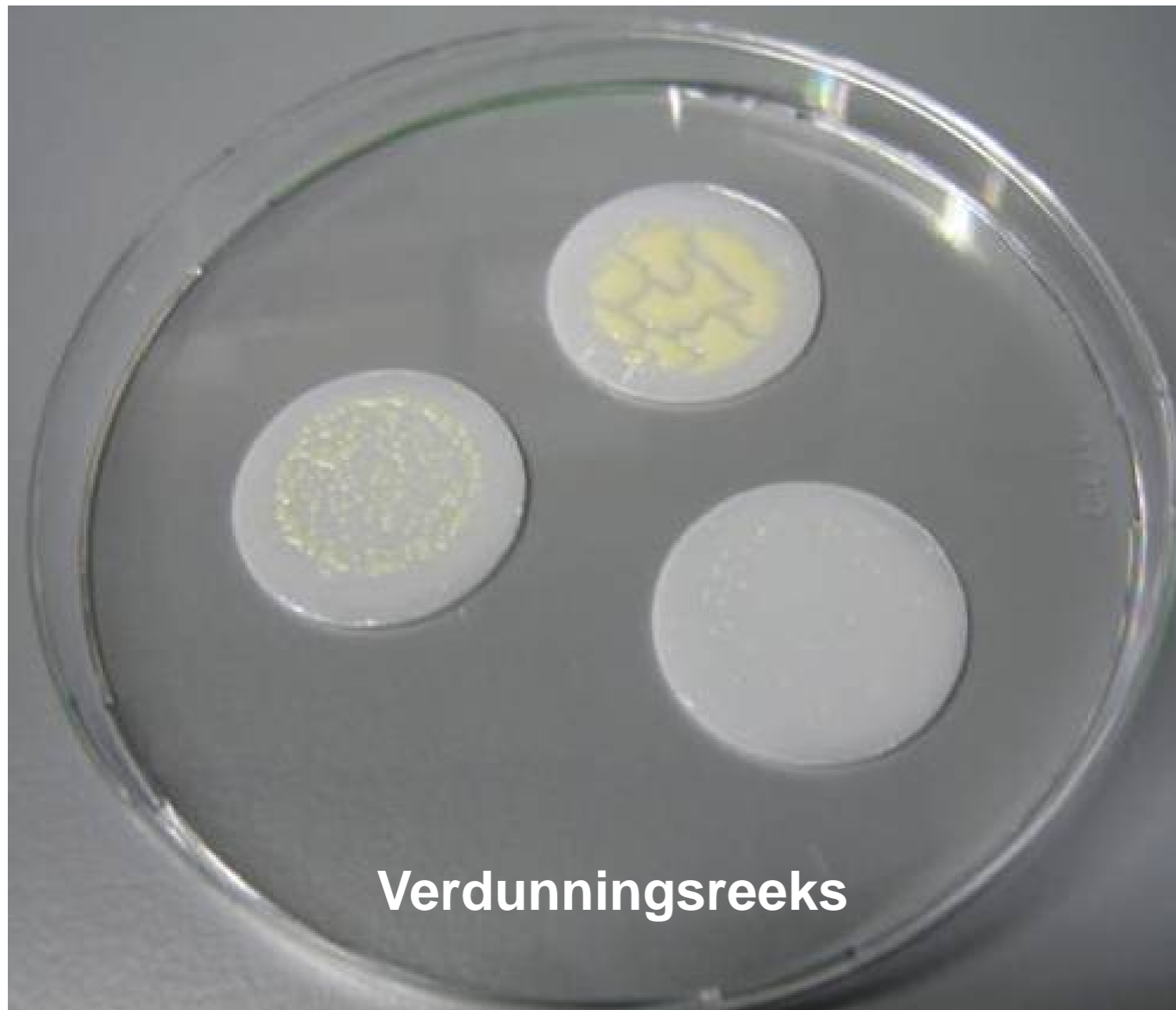


- ✓ 10 ml mineraal medium in 100 ml flesjes
  - ✓ pH 2, 50 °C
  - ✓ Methaan als voeding
  - ✓ 1 ml modder uit de Solfatara modderpoel
  - ✓ Schudden
- Wekenlang geen activiteit maar dan .....

# Ophoping van acidofiele methaan-eters



# Isoleren van de bacterie via drijvende filters



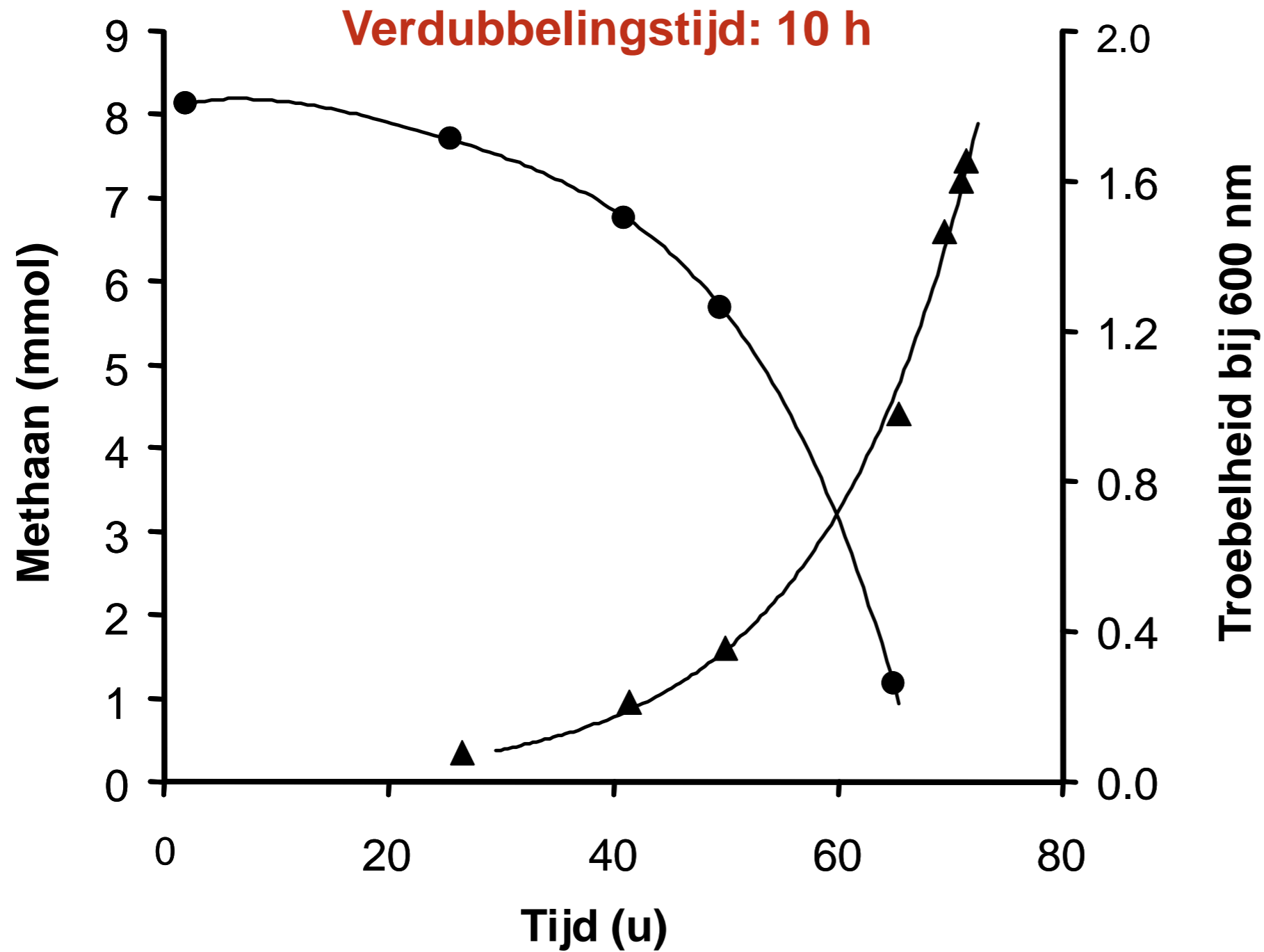
Geen groei op agar !



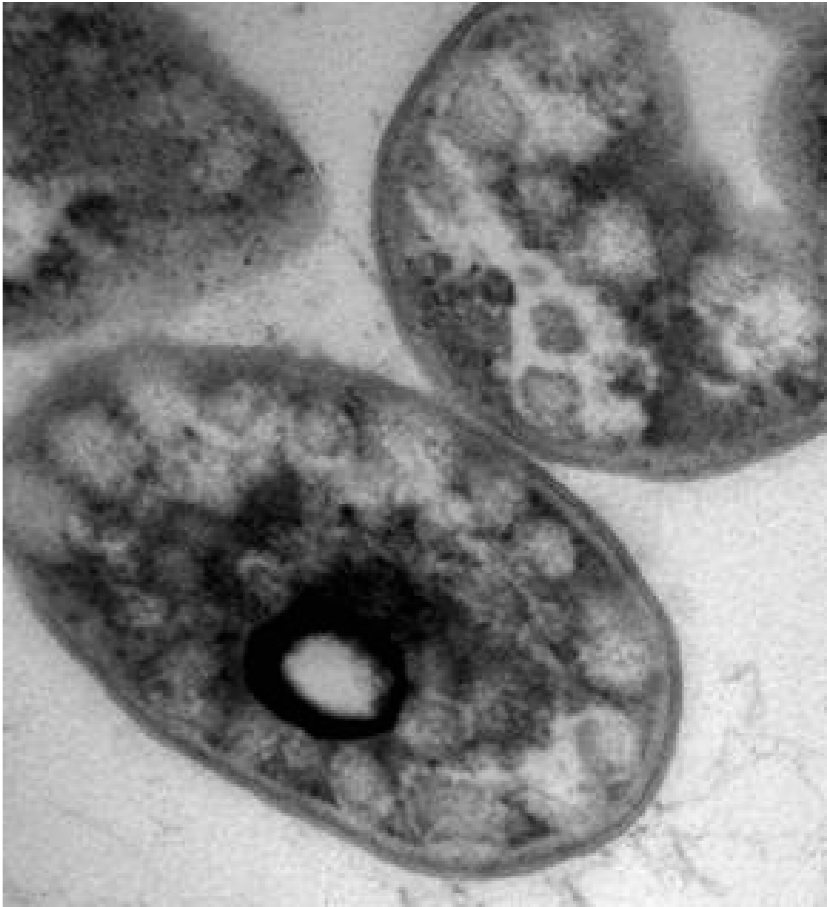
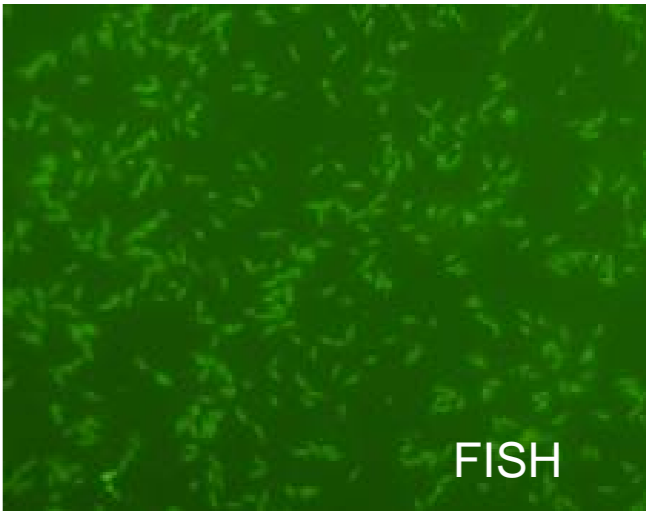
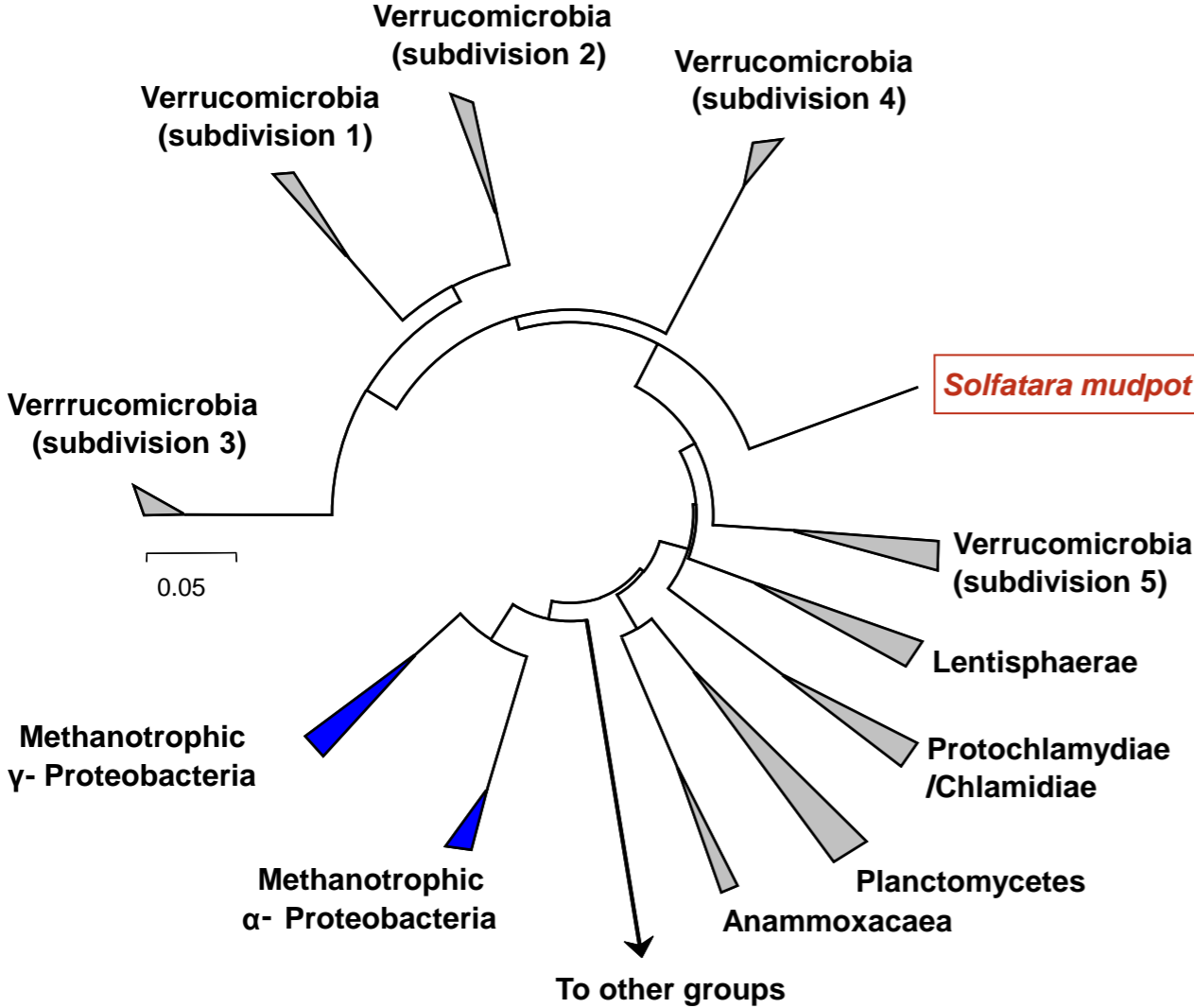
# Groei karakteristiek

Temperatuur 55 °C

pH = 2



# Identificatie van de bacterie: 16S rRNA





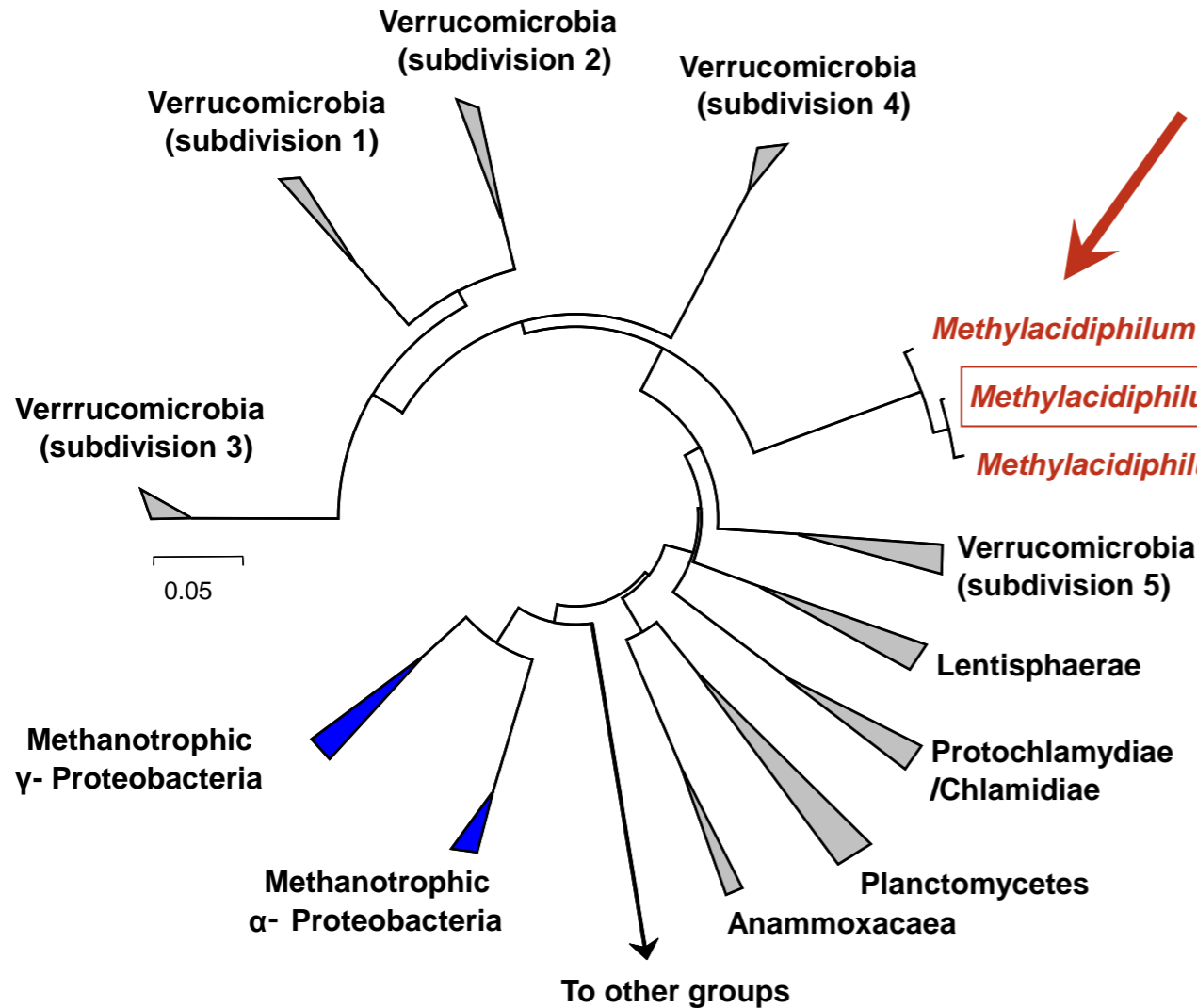
# Methanotrophy below pH 1 by a new *Verrucomicrobia* species

Arjan Pol<sup>1</sup>, Klaas Heijmans<sup>1</sup>, Harry R. Harhangi<sup>1</sup>, Dario Tedesco<sup>2</sup>, Mike S. M. Jetten<sup>1</sup> & Huub J. M. Op den Camp<sup>1</sup>

Mud volcanoes, mudpots and fumaroles are remarkable geological features characterized by the emission of gas, water and/or semi-liquid mud matrices<sup>1</sup> with significant methane fluxes to the atmosphere ( $10^{-1}$  to  $10^3$  t y<sup>-1</sup>)<sup>2-4</sup>. Environmental conditions in these areas vary from ambient temperature and neutral pH to high temperatures and low pH. Although there are strong indications for

at these sites are microbially oxidized into sulphuric acid, creating an extremely acidic environment. The very acidic soil of the Solfatara was shown to support significant methane consumption<sup>2</sup>, but so far it is unknown which microbes could be responsible for this consumption. Obligately aerobic methanotrophs are assumed to be a unique group of bacteria, belonging to either the Alpha or Gamma subclass

# Een verassende bevestiging:



doi:10.1038/nature06411

nature

## ➤ Hell's gate, New Zealand

LETTERS

### Methane oxidation by an extremely acidophilic bacterium of the phylum Verrucomicrobia

Peter F. Dunfield<sup>1†</sup>, Anton Yuryev<sup>2</sup>, Pavel Senin<sup>3,4</sup>, Angela V. Smirnova<sup>1</sup>, Matthew B. Stott<sup>1</sup>, Shaobin Hou<sup>3,4</sup>, Binh Ly<sup>3,4</sup>, Jimmy H. Saw<sup>3</sup>, Zhemin Zhou<sup>5</sup>, Yan Ren<sup>5</sup>, Jianmei Wang<sup>5</sup>, Bruce W. Mountain<sup>1</sup>, Michelle A. Crowe<sup>1</sup>, Tina M. Weatherby<sup>6</sup>, Paul L. E. Bodelier<sup>7</sup>, Werner Liesack<sup>8</sup>, Lu Feng<sup>5</sup>, Lei Wang<sup>5</sup> & Maqsudul Alam<sup>3,4</sup>

*Methylacidiphilum inferorum* V4

*Methylacidiphilum fumariolicum* SolV

*Methylacidiphilum kamchatkense* Kam1

*Methylokorus inferorum* V4

*Acidimethylosilex fumarolicum* SolV

*Methyloacida kamchatkensis* Kam1

### Methane oxidation at 55°C and pH 2 by a thermoacidophilic bacterium belonging to the Verrucomicrobia phylum

Tajul Islam\*, Sigmund Jensen\*, Laila Johanne Reigstad\*, Øivind Larsen\*, and Nils-Kåre Birkeland\*†‡

\*Department of Biology and †Centre for Geobiology, University of Bergen, P.O. Box 7800, N-5020 Bergen, Norway

Edited by James M. Tiedje, Michigan State University, East Lansing, MI, and approved November 13, 2007 (received for review May 4, 2007)

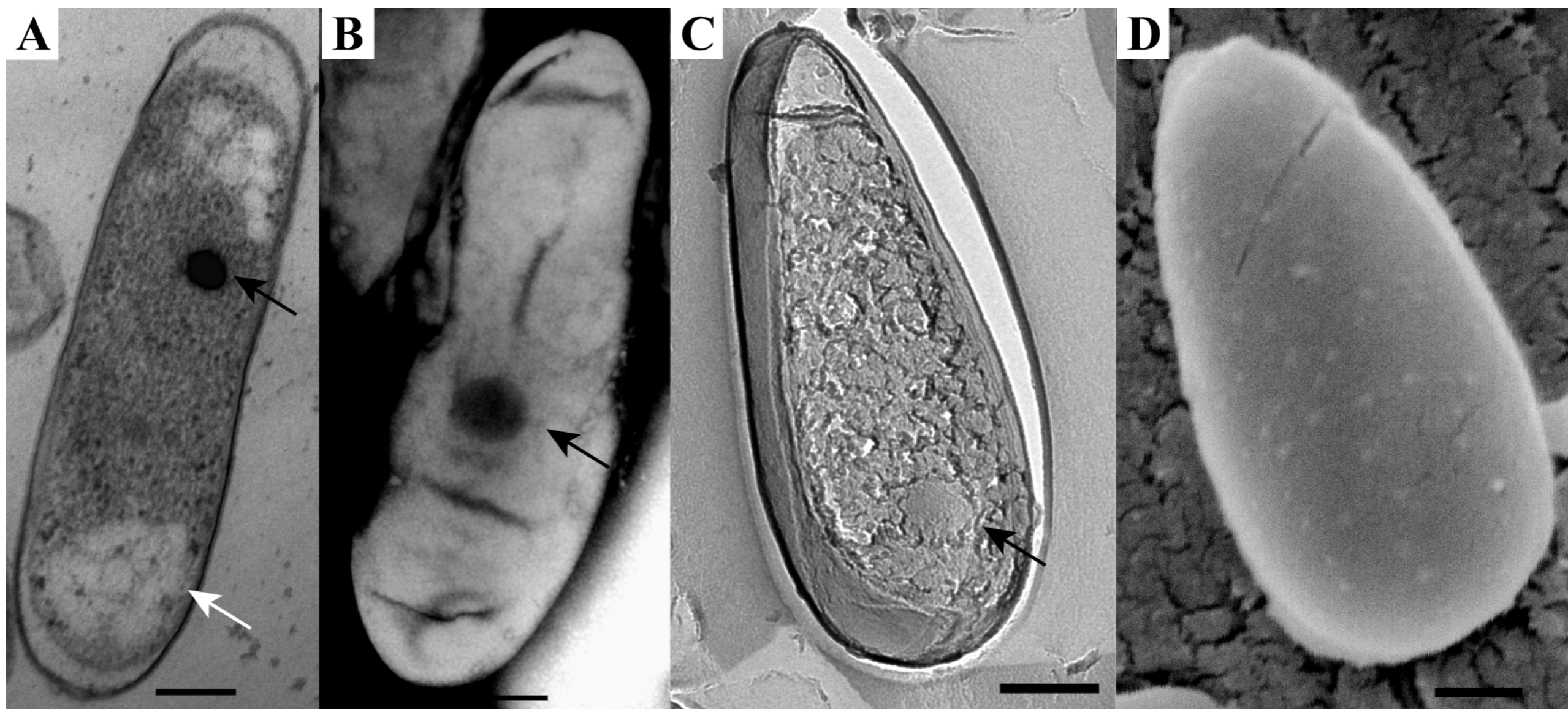
Methanotrophic bacteria constitute a ubiquitous group of microorganisms playing an important role in the biogeochemical carbon cycle and in control of global warming through natural reduction of methane emission. These bacteria share the unique ability of using methane as a sole carbon and energy source and have been found in a great variety of habitats. Phylogenetically, known methanotrophs constitute a rather limited group and have so far only been affiliated with the Proteobacteria. Here, we report the isolation and initial characterization of a nonproteobacterial obligately methanotrophic bacterium. The isolate, designated Kam1, was recovered from an acidic hot spring in Kamchatka, Russia, and

1896 is described in ref. 8. Both of the latter organisms are sheathed bacteria found in fresh water and well known for blocking of wells, but they have not yet been cultivated. So far, all cultivated MOB belong to the gamma and alpha subclasses of the Proteobacteria phylum, forming 14 established genera (9). The origin and evolution of biological methane oxidation is unclear, but particulate methane monooxygenase shares an evolutionary relationship with the ammonium monooxygenase present in the phylogenetically much more diverse group of nitrifying prokaryotes (10, 11). A common ancestor of these enzymes is plausible.

## ➤ Uzon Caldera, Kamchatka

Op den Camp et al. (2009) Environ. Microbiol. Rep 1:293-306

# Morfologisch onderzoek: elektronen microscopie



## *Methylophilum fumariolicum* SolV

- A. Hoge druk vriezen en vries-substitutie
- B. Negatief kleuring
- C. Vries-etsen
- D. cryoSEM

Schaalbalkjes 200 nm

van Teeseling et al. (2014) AEM 80:6782-6791

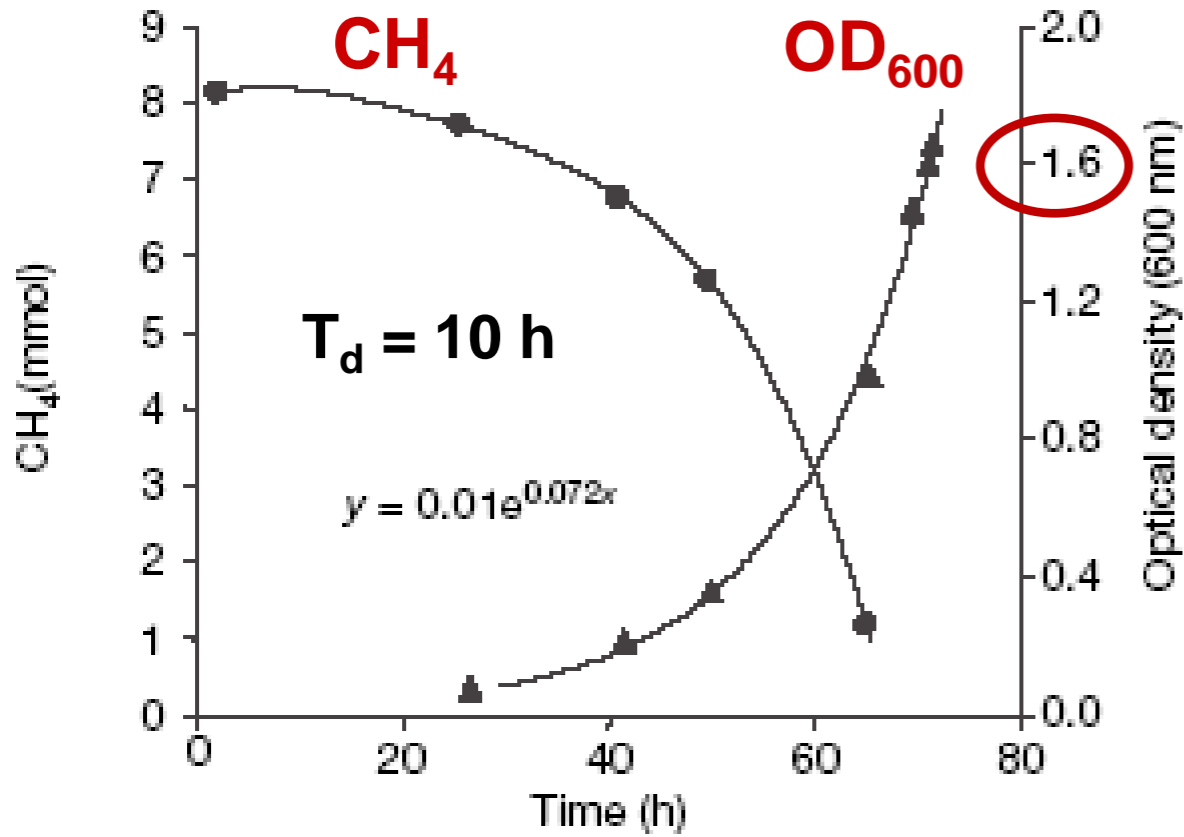


# Identificatie van de lichte en donkere deeltjes in de bacteriecel

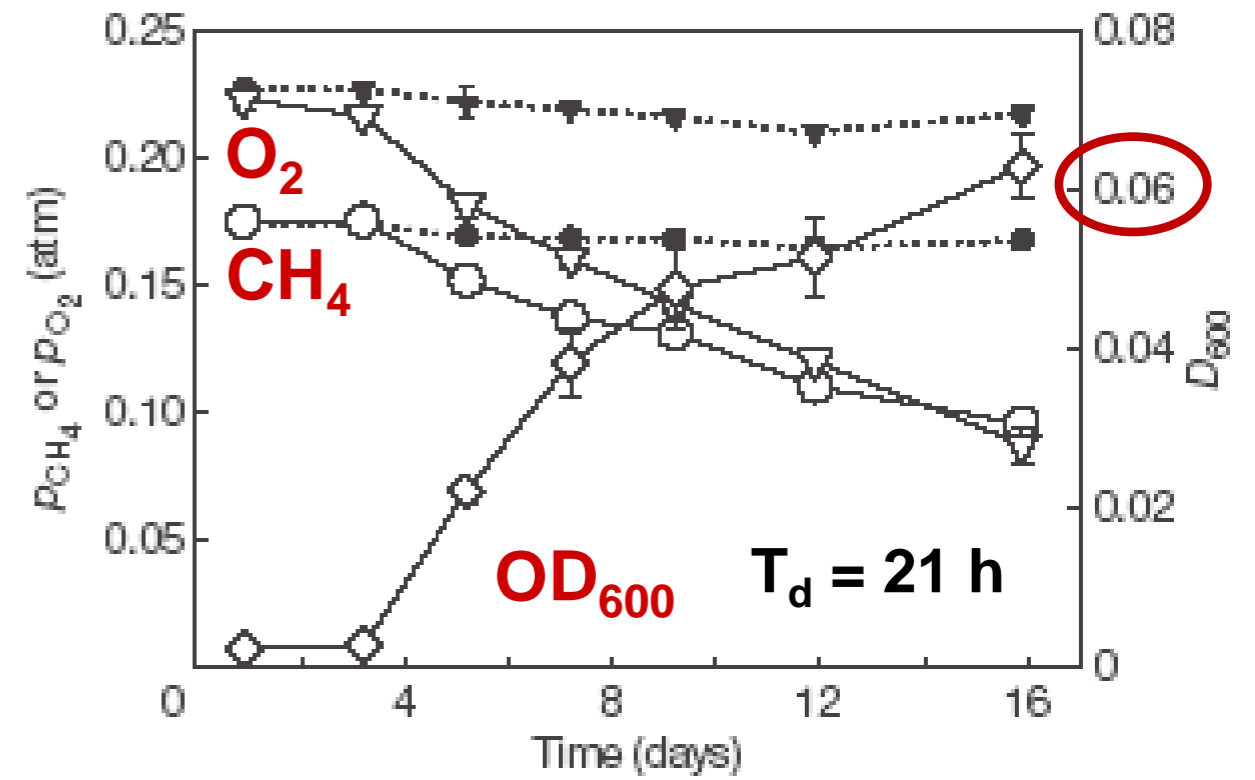


Courtesy Rob Mesman

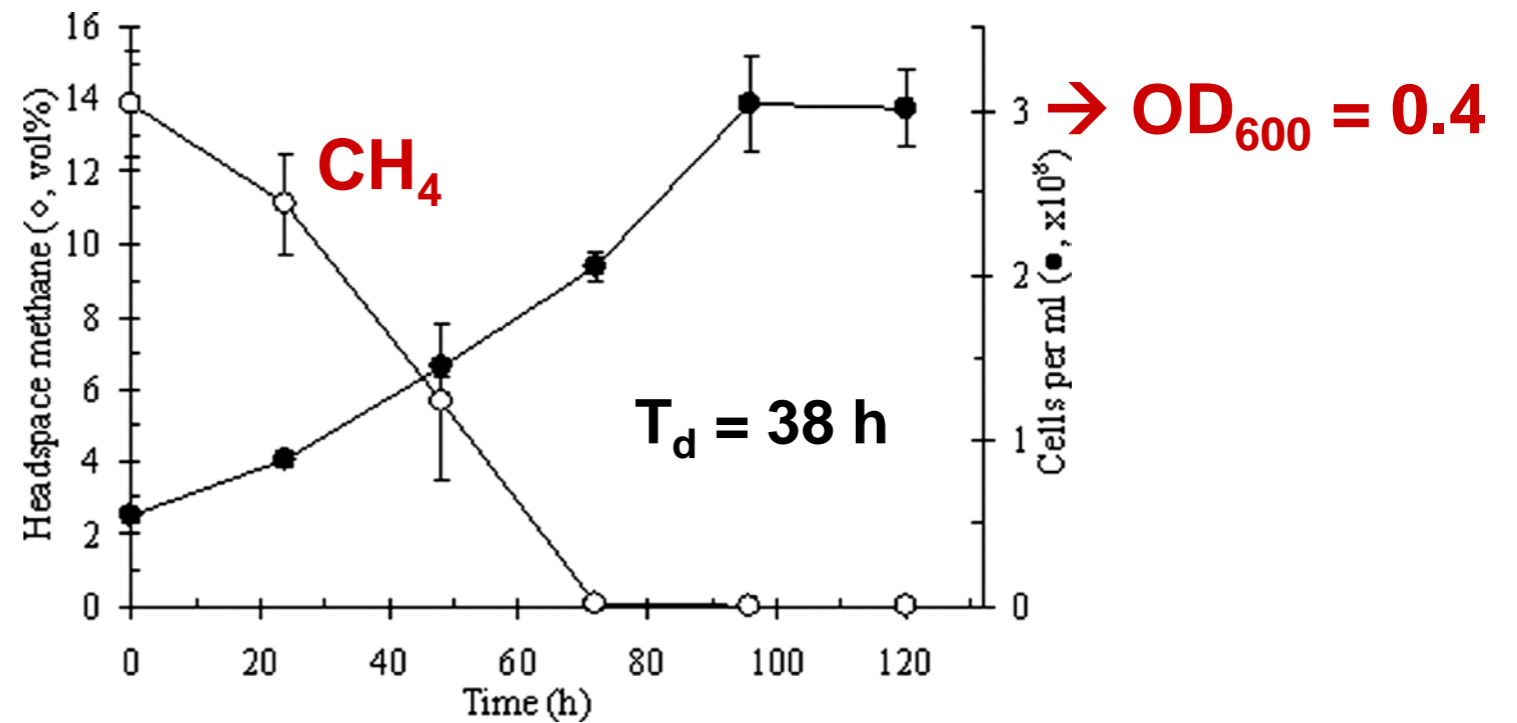
### Methylophilum fumariolicum SolV



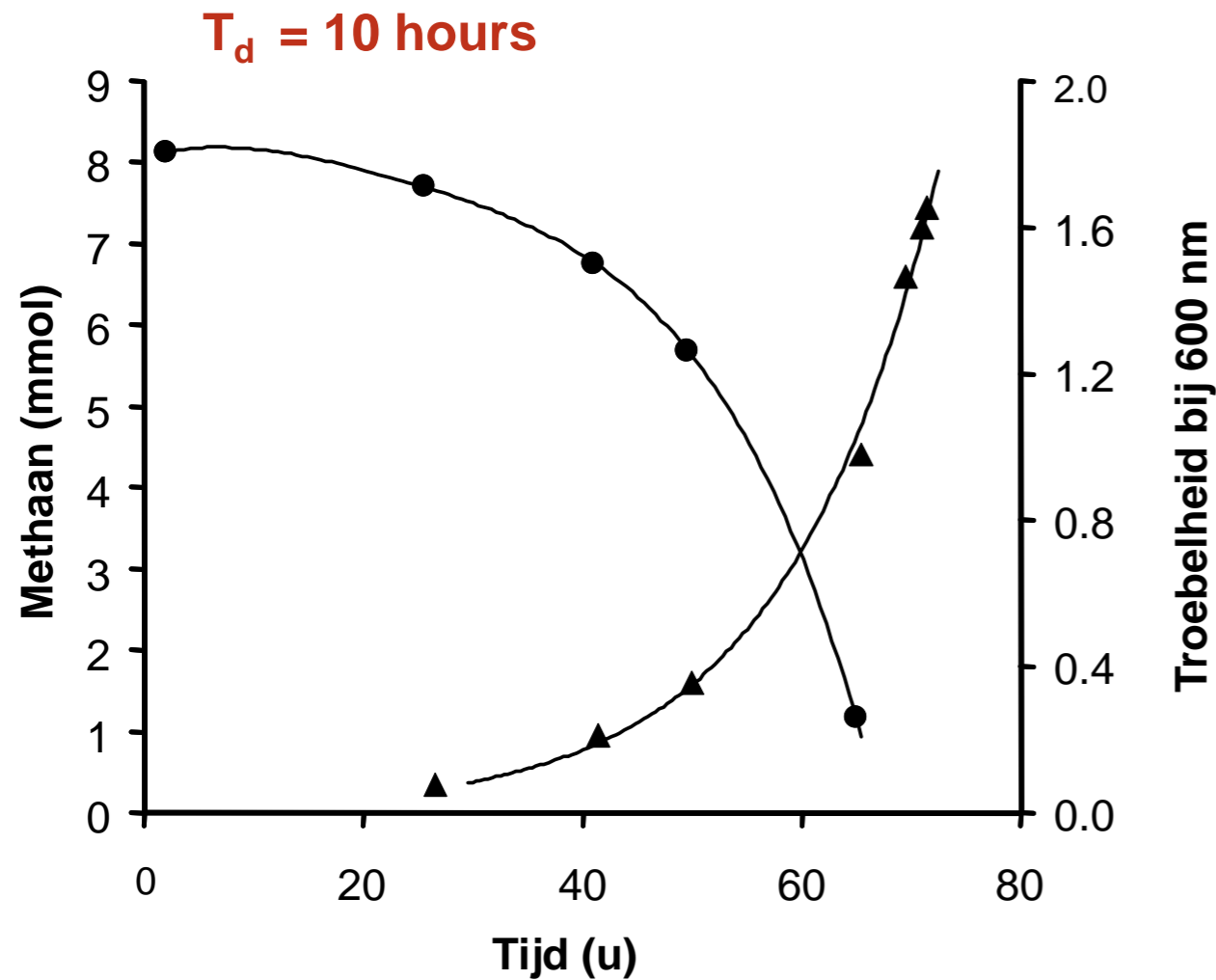
### Methylophilum inferorum V4



### Methylophilum kamchatkensis Kam1



# Groei karakteristiek



Voor optimale groei is water uit de Italiaanse modderpoel nodig

→ waarom?



Water monster uit de Solfatara

- Droog → 4 uur bij 550 °C
- oplossen in zuur
- het werkt nog !!
- moet een mineraal zijn

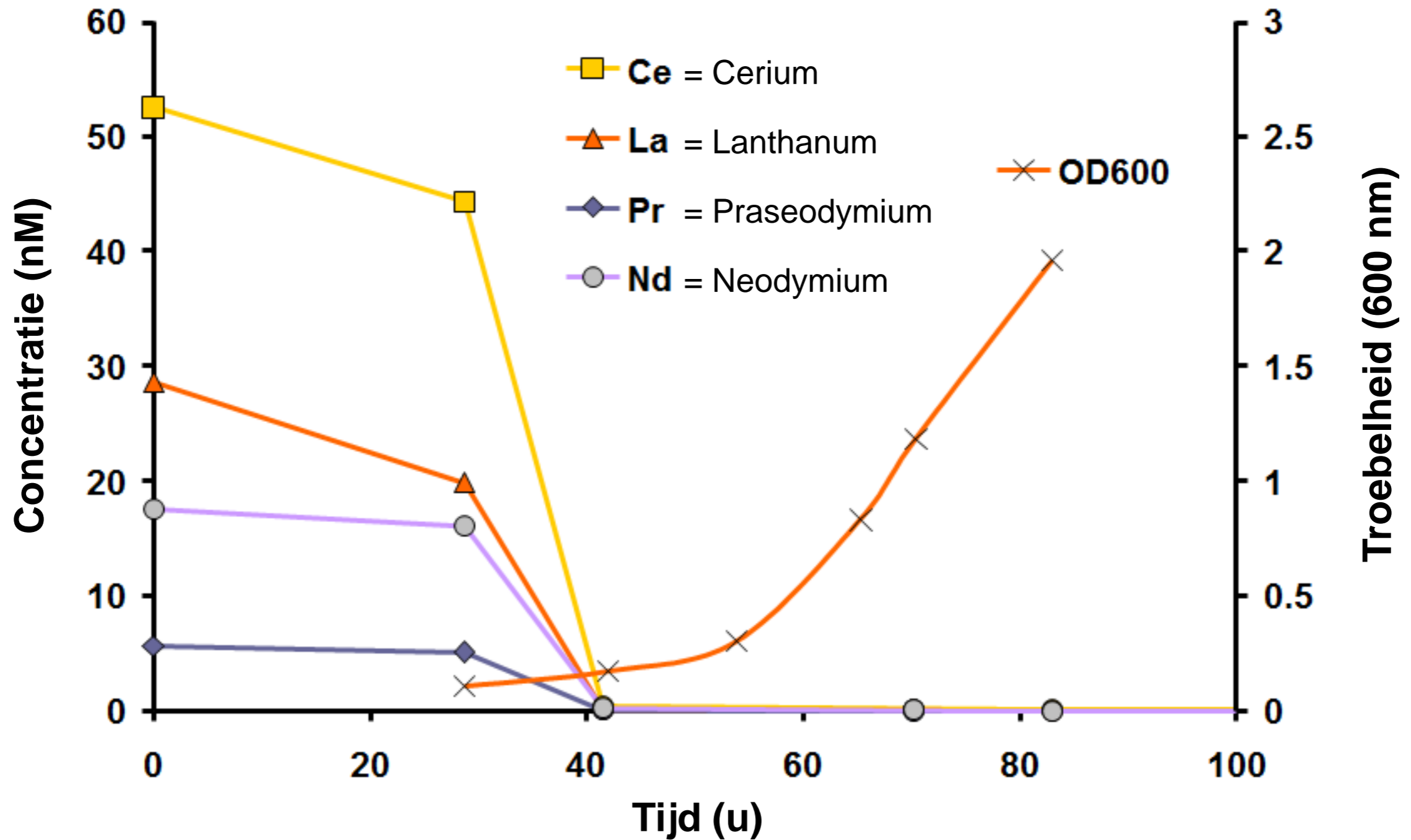
# ICP-MS analyse van het modderpoelwater

**Table 1. Bijzondere aardmetalen in water van de Solfatara modderpoel**

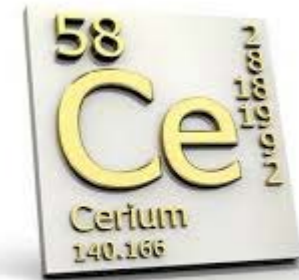
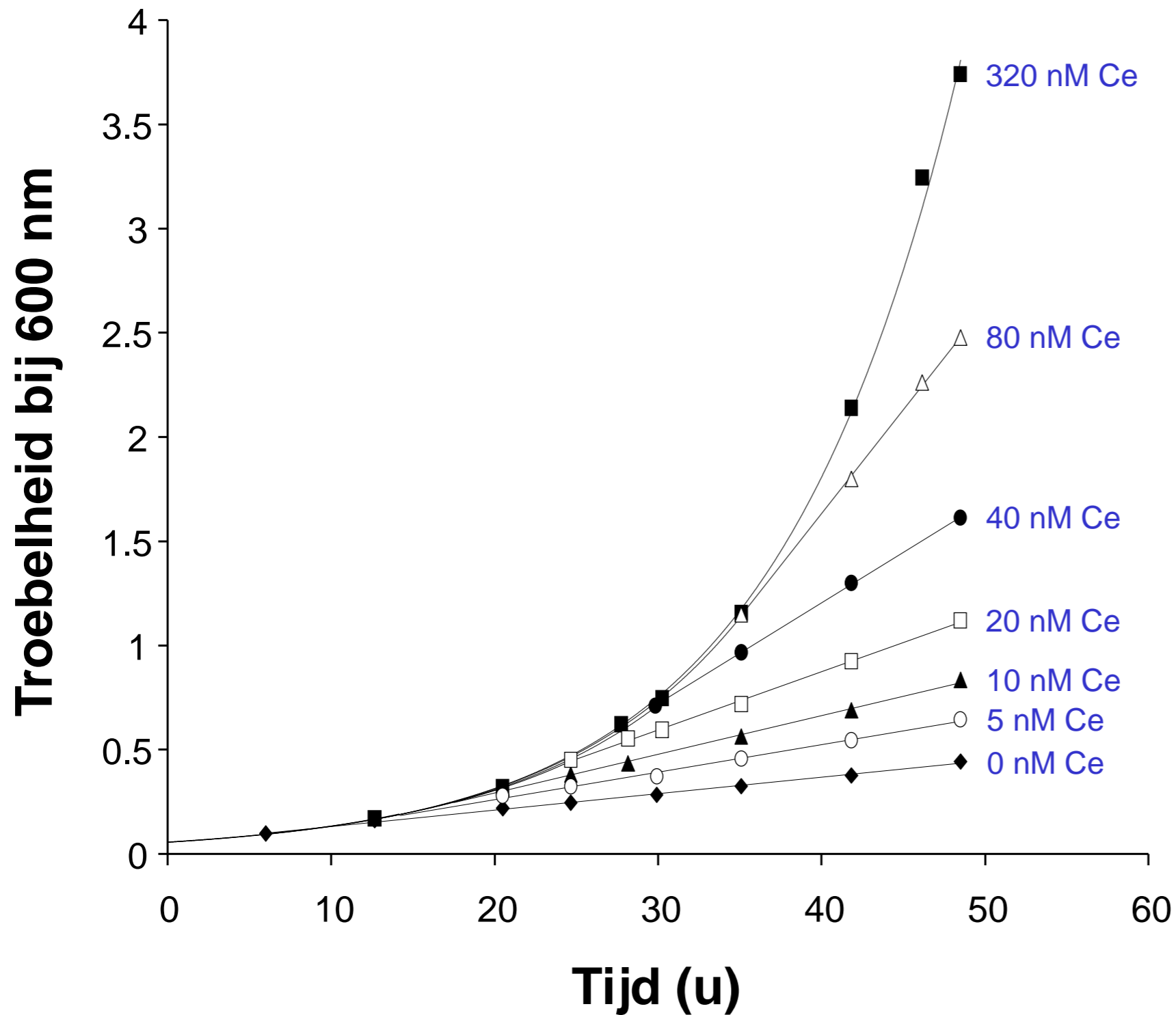
	Concentratie ( $\mu\text{M}$ )	
Bemonstering	2011	2009
La	0.7	0.47
Ce	1.4	0.95
Pr	0.13	0.09
Nd	0.45	0.29
Sm	0.07	0.045
Eu	0.01	0.01
Gd	0.06	0.04
Totaal	2.8	1.9

Chemische symbolen

# Wat gebeurt er tijdens de groei met Solfatara water?



# Groei op medium met Cerium

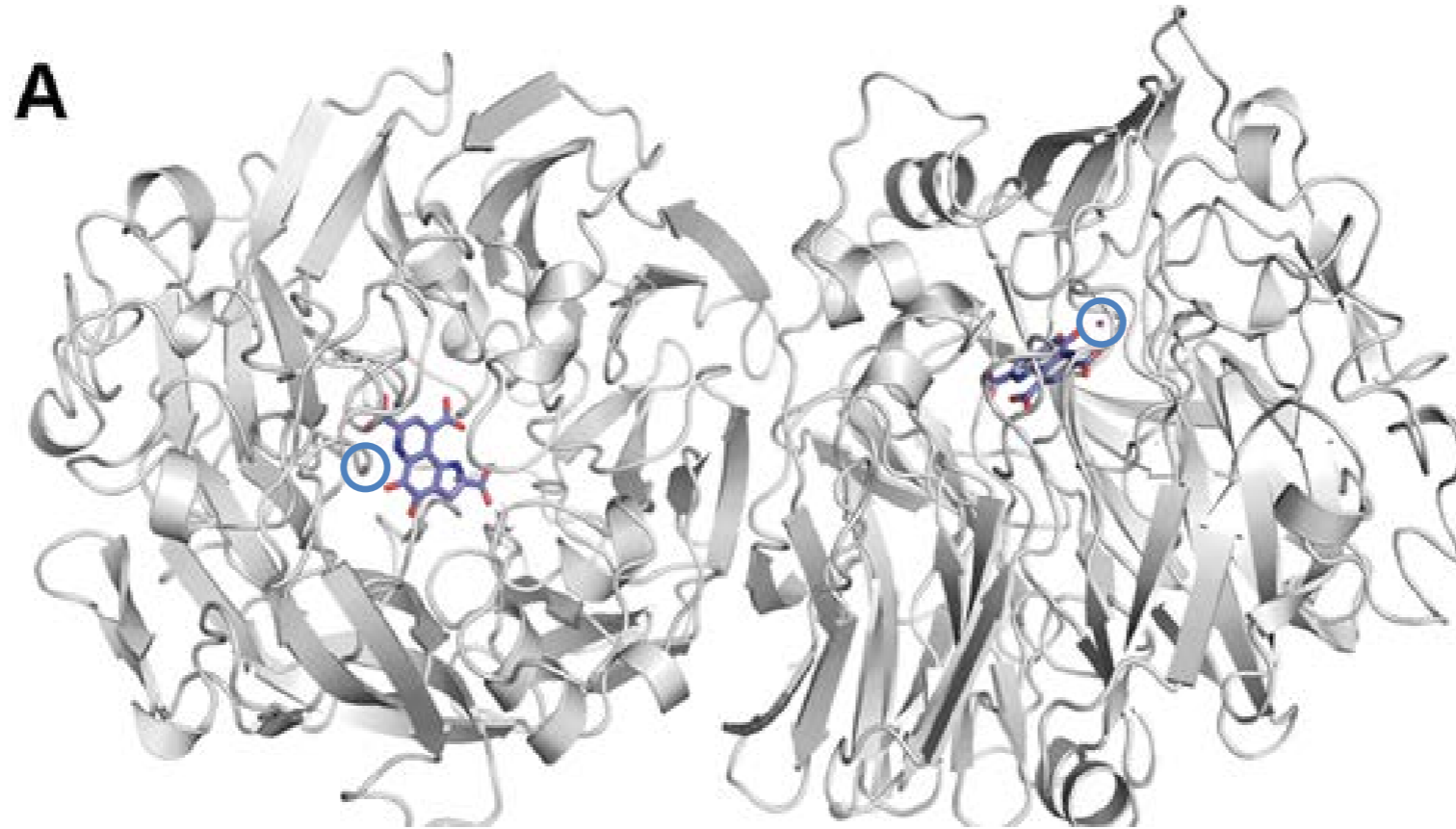


Vervangt het water uit de modderpoel



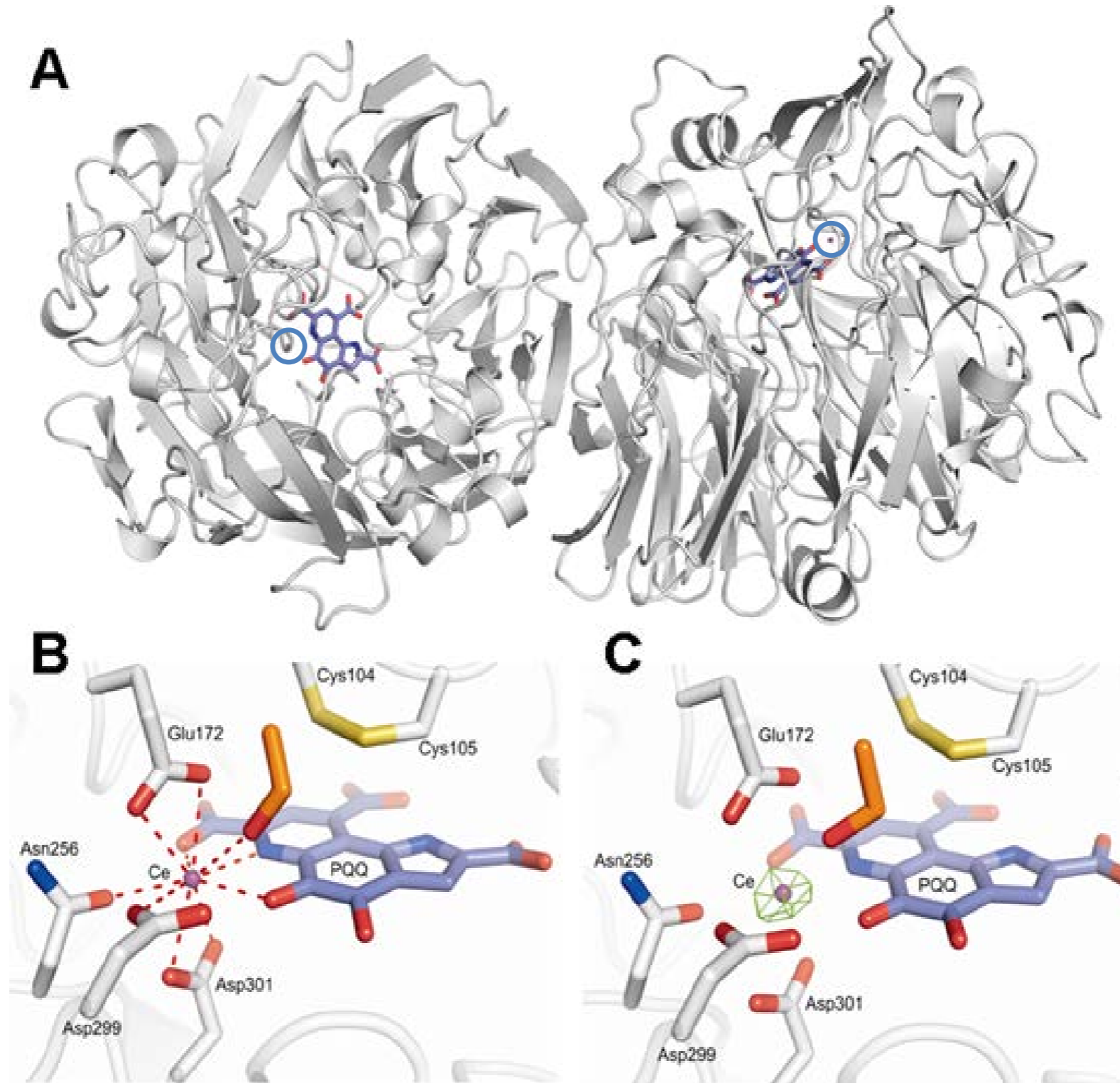
Nodig om een enzym actief te maken

# Kristalstructuur van het methanol dehydrogenase

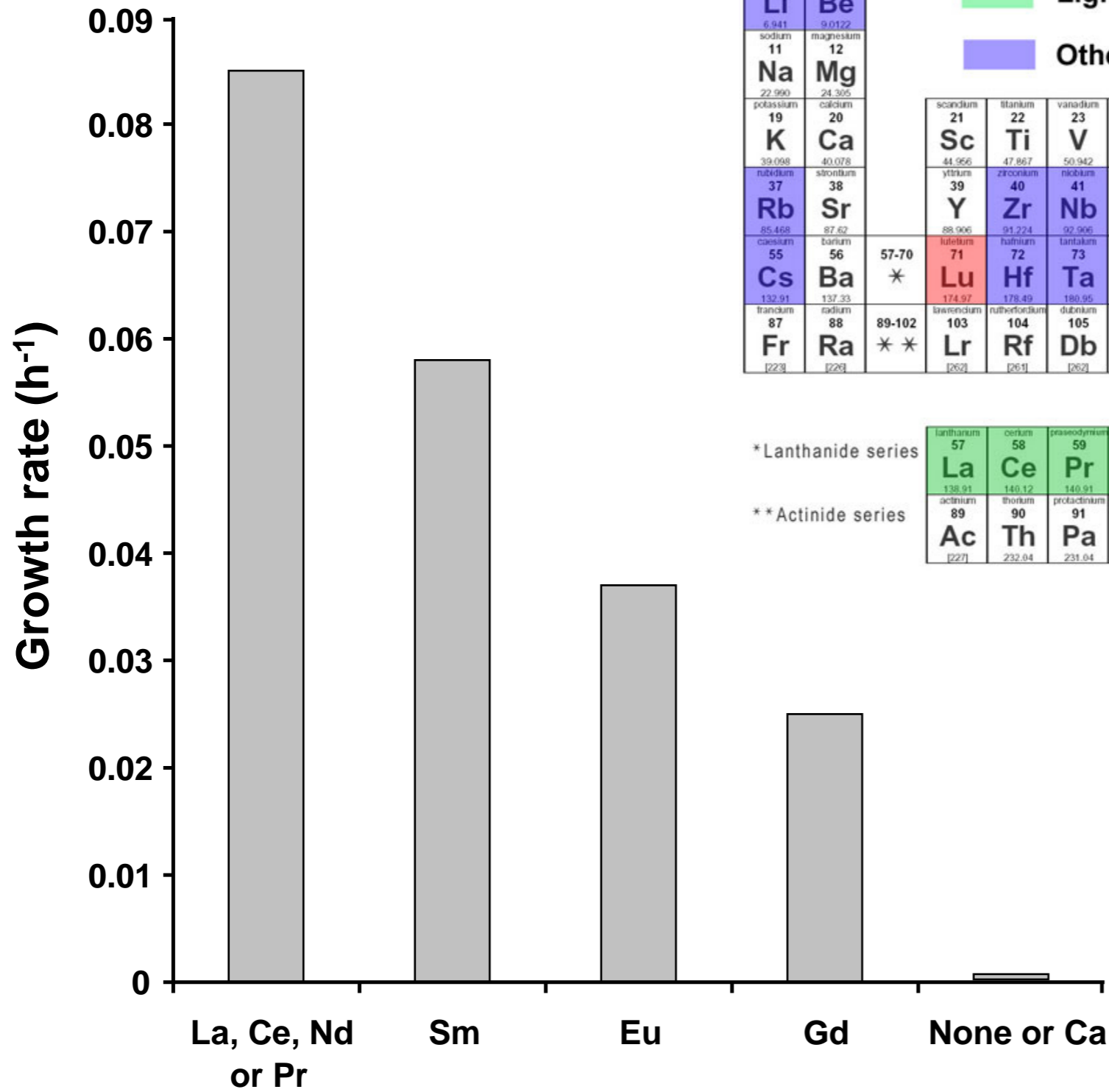


- In “normale” methanol dehydrogenases zit hier een calcium atoom

# Kristalstructuur van het methanol dehydrogenase







hydrogen 1 H 1.0079																	helium 2 He 4.0026						
lithium 3 Li 6.941	beryllium 4 Be 9.0122																	boron 5 B 10.811	carbon 6 C 12.011	nitrogen 7 N 14.007	oxygen 8 O 15.999	fluorine 9 F 18.998	neon 10 Ne 20.180
sodium 11 Na 22.990	magnesium 12 Mg 24.305																	aluminum 13 Al 26.982	silicon 14 Si 28.086	phosphorus 15 P 30.974	sulfur 16 S 32.065	chlorine 17 Cl 35.453	argon 18 Ar 39.948
potassium 19 K 39.098	calcium 20 Ca 40.078	scandium 21 Sc 44.956	titanium 22 Ti 47.867	vanadium 23 V 50.942	chromium 24 Cr 51.996	manganese 25 Mn 54.938	iron 26 Fe 55.845	cobalt 27 Co 58.933	nickel 28 Ni 58.693	copper 29 Cu 63.546	zinc 30 Zn 65.39	gallium 31 Ga 69.723	germanium 32 Ge 72.61	arsenic 33 As 74.922	selenium 34 Se 78.96	bromine 35 Br 79.904	krypton 36 Kr 83.80						
rubidium 37 Rb 85.468	strontium 38 Sr 87.62	yttrium 39 Y 88.906	zirconium 40 Zr 91.224	niobium 41 Nb 92.906	molybdenum 42 Mo 95.94	technetium 43 Tc [98]	ruthenium 44 Ru 101.07	rhodium 45 Rh 102.91	palladium 46 Pd 106.42	silver 47 Ag 107.87	cadmium 48 Cd 112.41	indium 49 In 114.82	tin 50 Sn 118.71	antimony 51 Sb 121.76	tellurium 52 Te 127.60	iodine 53 I 126.90	xenon 54 Xe 131.29						
caesium 55 Cs 132.91	barium 56 Ba 137.33	57-70 *	lutetium 71 Lu 174.97	hafnium 72 Hf 178.49	tantalum 73 Ta 180.95	tungsten 74 W 183.84	rhenium 75 Re 186.21	osmium 76 Os 190.23	iridium 77 Ir 192.22	platinum 78 Pt 195.08	gold 79 Au 196.97	mercury 80 Hg 200.59	thallium 81 Tl 204.38	lead 82 Pb 207.2	bismuth 83 Bi 208.98	polonium 84 Po [209]	astatine 85 At [210]	radon 86 Rn [222]					
francium 87 Fr [223]	radium 88 Ra [226]	89-102 **	lawrencium 103 Lr [262]	rutherfordium 104 Rf [261]	dubnium 105 Db [262]	seaborgium 106 Sg [266]	bohrium 107 Bh [264]	hassium 108 Hs [269]	meitnerium 109 Mt [268]	unnilium 110 Uun [271]	ununium 111 Uuu [272]	unubium 112 Uub [277]	unquadrium 114 Uuq [289]										

\* Lanthanide series

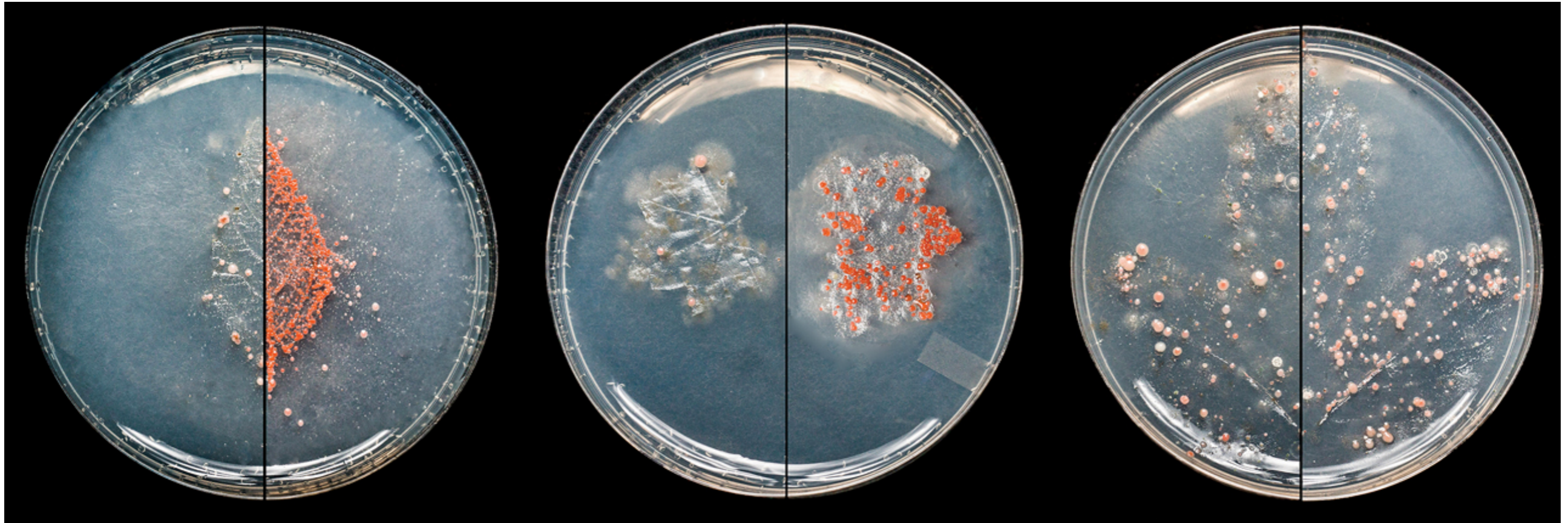
\*\* Actinide series

lanthanum 57 La 138.91	cerium 58 Ce 140.12	praseodymium 59 Pr 140.91	neodymium 60 Nd 144.24	promethium 61 Pm [145]	samarium 62 Sm 150.36	europium 63 Eu 151.96	gadolinium 64 Gd 157.25	terbium 65 Tb 158.93	dysprosium 66 Dy 162.50	holmium 67 Ho 164.93	erbium 68 Er 167.26	thulium 69 Tm 168.93	ytterbium 70 Yb 173.04
actinium 89 Ac [227]	thorium 90 Th 232.04	protactinium 91 Pa 231.04	uranium 92 U 238.03	neptunium 93 Np [237]	plutonium 94 Pu [244]	americium 95 Am [243]	curium 96 Cm [247]	berkelium 97 Bk [247]	californium 98 Cf [251]	einsteinium 99 Es [252]	fermium 100 Fm [257]	mendelevium 101 Md [258]	nobelium 102 No [259]

**Zeldzame aardmetalen**



# Toenemende belangstelling in REE



- ✓ Achterzijde van bladeren van planten gevonden op de campus van San José State University
- ✓ Afdrukken op een agar plaat ammonium mineraal medium met methanol
- ✓ zonder (links) of met (rechts) 20  $\mu\text{M}$   $\text{LaCl}_3$
- ✓ Incubatie bij kamertemperatuur gedurende 1 week



Skovran & Martinez-Gomez (2015) Science 348:862-863

# Plannen voor de toekomst



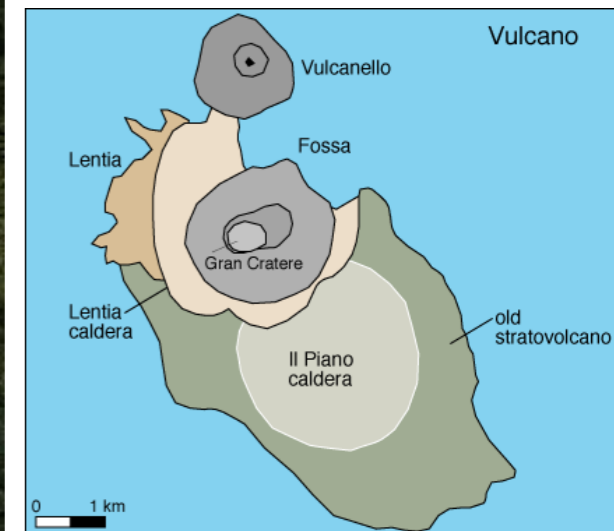
Solforata di Pomezia

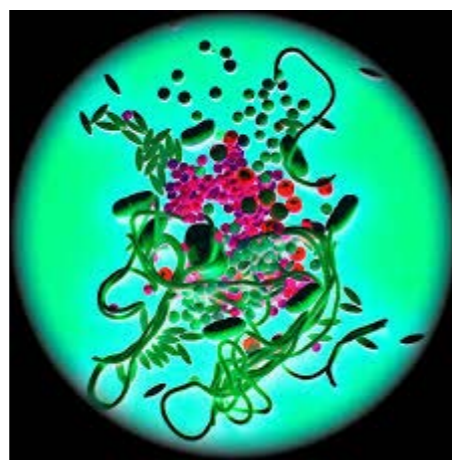
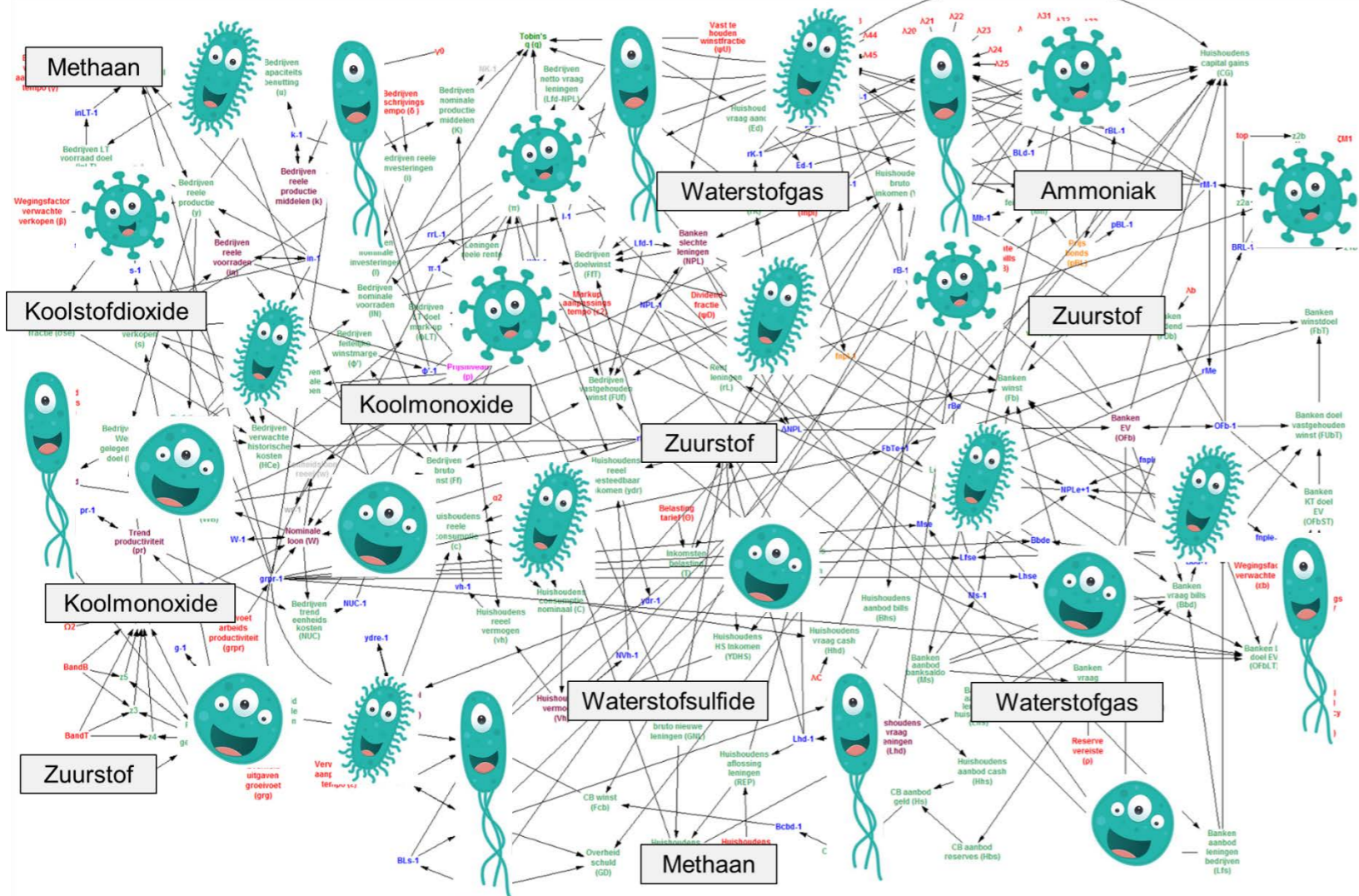


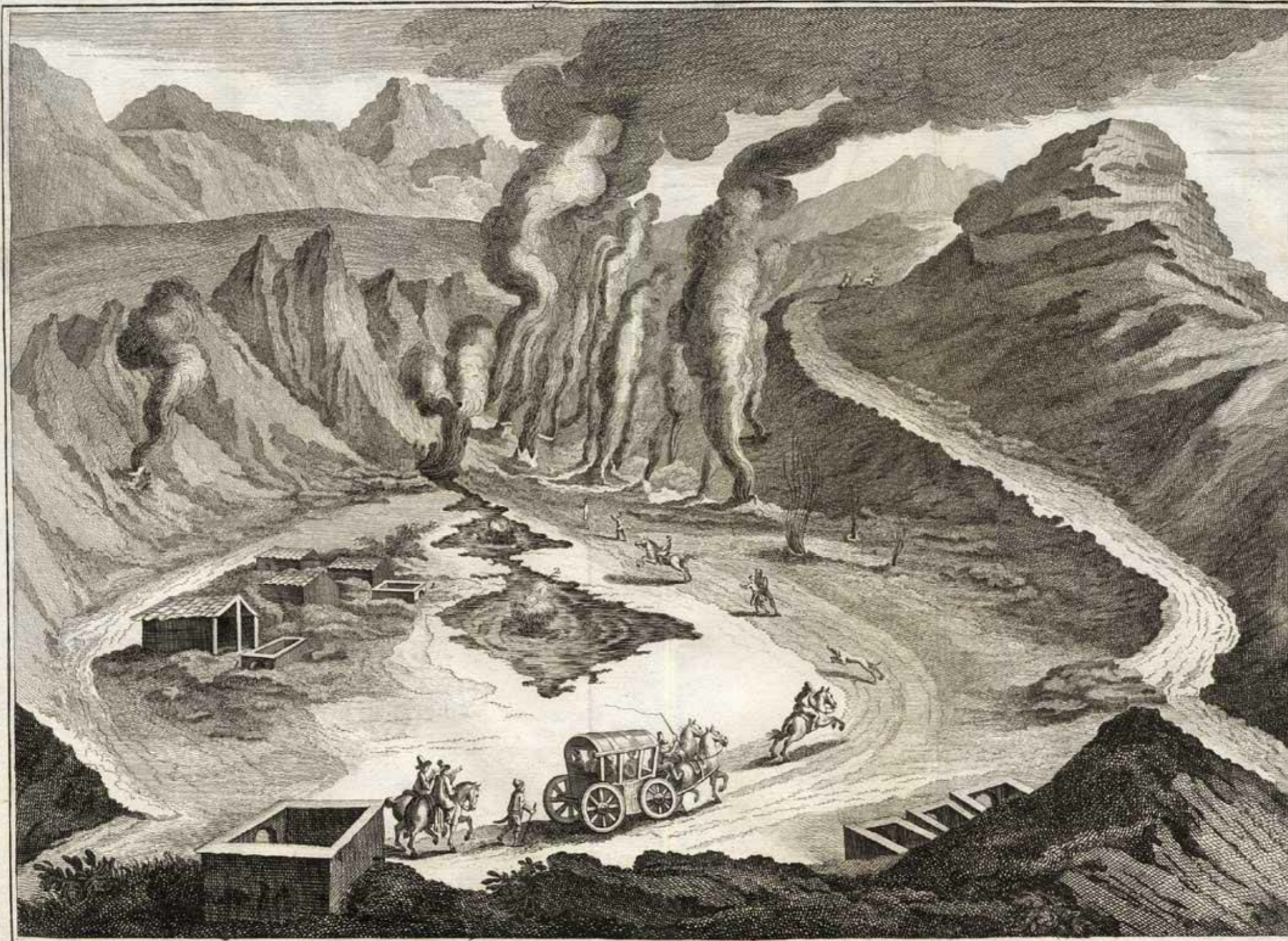
Solfatara di Pozzuoli



Eiland Vulcano







De la Font. 206.

Benard. Fecit.

*Histoire Naturelle, vue de la Soufriere qui est près de Louzole au Royaume de Naples appellée Solfatara.*  
 1. Ateliers où l'on travaille pour obtenir l'Alun.      2. Source qui bouillonne et qui paroît enflammée.