

De invloed van toxische metaalconcentraties op *Cupriavidus metallidurans* CH34

Inge Martens

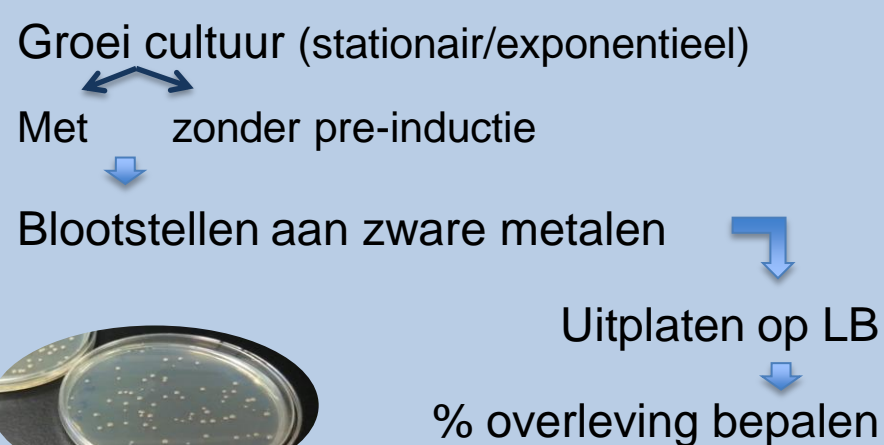
Academiejaar: 2014-2015

INLEIDING

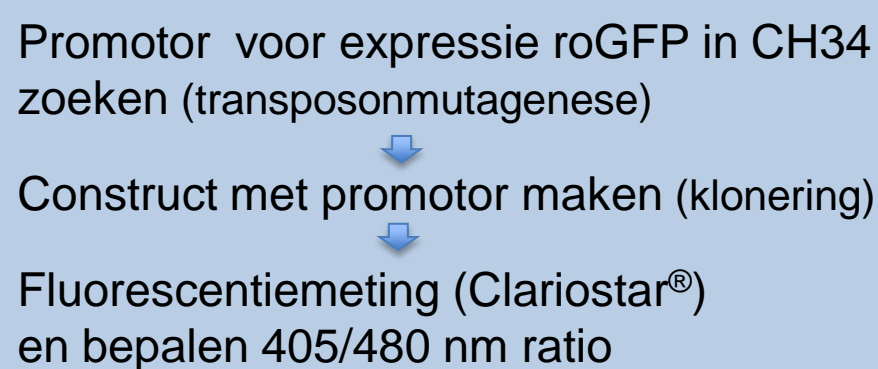
Cupriavidus metallidurans CH34, een gramnegatieve bodembacterie, bezit tal van resistentiegenen tegen zware metalen. Dat maakt CH34 een interessant organisme voor het bestuderen van de microbiële respons tegen zware metalen. Het doel van dit onderzoek is het effect van zware metalen, aan toxische concentraties (boven de minimale inhibitorische concentratie) op CH34 na te gaan. Om het effect te bepalen wordt de overlevingsgraad bepaald na blootstelling aan zware metalen. Daarnaast wordt nagegaan of oxidatieve stress uitgelokt wordt door de aanwezigheid van zware metalen. In een derde experiment wordt getest of het mogelijk is om nanopartikels, gevormd door *C. metallidurans*, aan te tonen met UV-VIS-spectrofotometrie als snelle en eenvoudige meetmethode.

MATERIAAL EN METHODEN

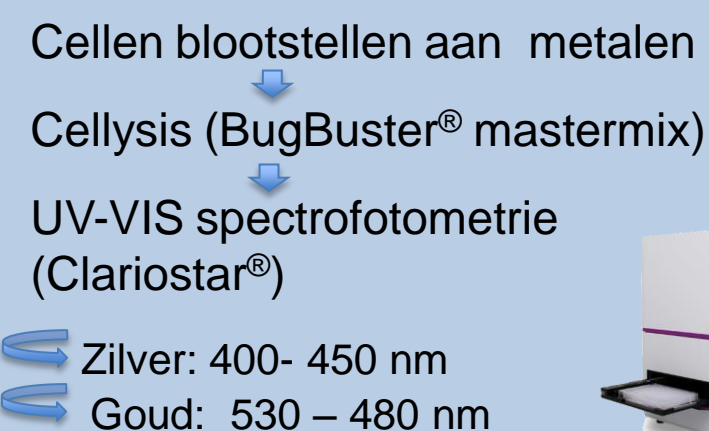
Overlevingsexperimenten



Metten oxidatieve stress

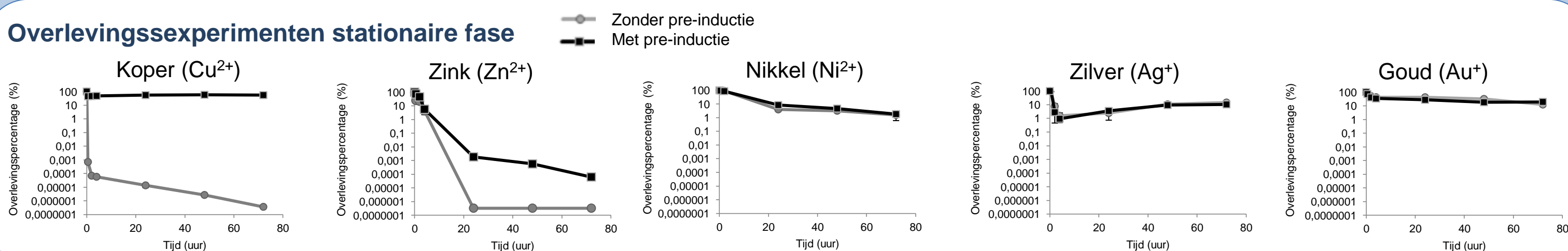


Metten nanopartikels



RESULTATEN

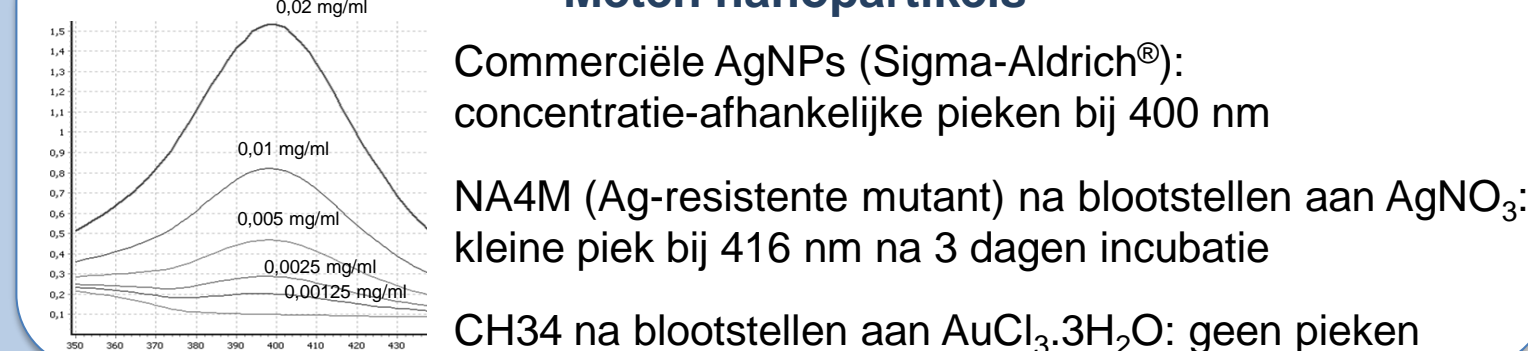
Overlevingsexperimenten stationaire fase



Metten oxidatieve stress

Meting Clariostar® (480/520 nm)	Gfp	Construct
CH34 wildtype	78	- pBBR vector
CH34 met construct (Rmet_R0078)	665	- <i>rogfp2</i> gen
CH34 met construct (Rmet_4198)	708	- promotor Rmet_4981 gen of promotor Rmet_R0078 gen
DG 1 met construct (P _{BAD} promotor)	9616	

Metten nanopartikels



BESLUIT

Toxische concentraties van zware metalen hebben een duidelijk effect op *C. metallidurans* CH34. De overleving na blootstelling aan toxische metaalconcentraties is afhankelijk van het metaal, de groeifase van de cellen, de duur van de blootstelling en van eventuele pre-inductie.

De geselecteerde promotoren brachten niet de verwachte hoeveelheid roGfp tot expressie in CH34, waardoor de 405/480 nm ratio niet bepaald kon worden. Verder onderzoek naar een methode voor het meten van oxidatieve stress is dus nodig, vooraleer kan nagegaan worden of de zware metalen oxidatieve stress uitlokken.

De UV-VIS-metingen geven een indicatie dat biologische zilvernanopartikelvorming door *C. metallidurans* detecteerbaar is met deze methode, het bekomen resultaat moet echter bevestigd worden met een extra controle (bv. elektronenmicroscopie).

Promotoren / Copromotoren: Dr. Rob Van Houdt
Dr. Kristel Sniegowski

Dugué, G. (s.a.). *Genetically-Encoded Redox Indicators*. Opgehaald van openoptogenetics: http://www.openoptogenetics.org/index.php?title=Genetically-Encoded_Redox_Indicators#tab=Background

Zhang, H.; Wang, P.; Qi, Q. (2006). Molecular effect of FadD on the regulation and metabolism of fatty acid in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology letters*.

BMG Labtech – CLARIOstar. Opgehaald van Huberlab: [http://www.huberlab.ch/Sortiment/%EF%BB%BF%Life-Science/High-Throughput-Screening-\(HTS\)/Microplatten-Reader/BMG-Labtech---CLARIOstar/p/cat_100605](http://www.huberlab.ch/Sortiment/%EF%BB%BF%Life-Science/High-Throughput-Screening-(HTS)/Microplatten-Reader/BMG-Labtech---CLARIOstar/p/cat_100605)