

PBM 233 – Mikrobiologi for farmasøyter

Faglærer 2004: Per Arne Risøen

Biologisk seksjon, ZEB



Kap. 11 – Mikrobiell evolusjon og systematikk

Dateringer av fossiler viser at bakterier oppstod for ca. 3,6 milliarder år siden → mikroorganismer utviklet seg tidlig i jordas historie, via:

- *naturlig seleksjon*
- *genetisk rekombinasjon*
- *mutasjoner*

Forskere antar at **RNA** la grunnlaget for organismer som siden baserte sitt liv på bruken av **DNA**:

Initielt: RNA → protein

Siden: DNA → RNA → protein

Livet oppstod & utviklet seg fra én **encellet urorganisme**

- Primitiv
- Enkel metabolisme

Videre utvikling bestod i tilblivelsen av **flercellede organismer**

Evolusjonen kan følges via ”*kronometre*”:

- Makromolekyler som benyttes for å bestemme avstanden mellom arter
- F. eks. **16S rRNA** (høyt konserverert hos bakt.)
- Tilsvarende markør hos eukaryoter: **18S rRNA**

Benytter ofte **fylogenetiske trær** for å vise slektskapet mellom organismer → sekvensen til 16S rRNA blir ofte benyttet & **evolusjonsavstanden** (E_D) beregnes

Noen av posisjonene i 16S rRNA sekvensene er karakteristiske for arter:

- Bakterier har alltid en **A** i posisjon 675
- Eukaryoter har alltid en **T** i posisjon 880
- Begge disse markørene kalles *single-base signaturer*

”Livets tre”

Er basert på molekylær sekvensering, og viser at livet på jorda utviklet seg langs 3 hovedlinjer:

- 2 som inneholder kun prokaryoter
- 1 som består av eukaryoter

Inndeling & kortfattet forklaring av livets tre:

- 1) Roten indikerer en tilværelse der alt liv hadde et *felles opphav*, bestemt via sekvensering av kronometre
- 2) Initielt delte roten seg i 2 deler: *Bacteria* og *Archaea-Eukarya*, hvorav sistnevnte igjen delte seg i 2
- 3) Grenene *Archaea* og *Eukarya* er nærmere beslektet med hverandre enn hver av disse er til *Bacteria*
- 4) Grenen *Archaea* er mest primitive (lever i ekstreme miljø) => er etterlevninger av jordas tidligste livsformer
- 5) Grenen *Eukarya* - minst primitive
- 6) Dagens organismer er **moderne** organismer, godt utviklet for et liv i sine respektive miljøer

Domenet *Bacteria*

- Minst 12 distinkte linjer
- Plassering bestemt ut fra morfologi- & fysiologistudier, har siden blitt endret vha. moderne molekylærbiologi
- Gruppen *Aquitex* (termofile, kjemolitotrofe bakt.) indikerer at de første organismer levde i en næringsfattig, varm klode

Domenet *Archaea*

- 3 hovedgrupper: **Crenarchaeota**, **Euryarchaeota** & **Korarchaeota**
- Noen er beslektet med termofile bakt., men skiller seg fra disse ut fra **DNA sekvensen** mm.
- **Korarchaeota** gruppen er spesiell – kan ikke kultiveres, men 16S rRNA sekvens har blitt bestemt via PCR på celler

Domenet *Eukarya*

- Inndelt etter 18S rRNA sekvens (ekvivalenten til 16S rRNA)
- Utviklingen av denne linjen skjedde ikke-kontinuerlig, men rykkvis (muligens pga. endringer i klima, leved forhold etc.)
- Laverestående organismer av i dag eksisterte tidlig, f.eks. parasitter
- Oppstod for ca. 1,5 milliarder år siden (fossil dateringer) da O₂ nivåene ble tilstrekkelige; utviklingen har siden skutt fart

Organeller

- Livets tre indikerer at **kloroplaster & mitokondrier** oppstod fra **endosymbiotiske** bakt. som utviklet ”stabile par forhold” (antakeligvis skjedde dette flere ganger under evolusjonen):

- 1) Sekvensering angir at mitokondria oppstod fra en gruppe organismer som i dag omfatter *Agrobacterium*, *Rhizobium* og rickettsiaer (type proteobakt.)
- 2) Kloroplaster & cyanobakt. hadde muligens felles opphav

Inndeling av organismer ut fra egenskaper

Noen karakteristikk er unike for étt domene, mens andre finnes hos to domener:

1) Celleveggen

- Nesten alle (hittil) kjente bakterier har cellevegg bestående av **peptidoglykan** => signatur for slike organismer
- De eukaryoter som har cellevegg: denne består av **cellulose** eller **kitin**; *Archaea*: cellevegger med varierende sammensetning (fra **polysakkarider** til **glykoproteiner**)

2) Lipider

- Mest benyttede karakteristikk for å skille mellom *Bacteria* & *Archaea*
- *Bacteria* og *Eukarya* har membranlipider som inneholder FS bundet til glycerol via **ester-binding**
- *Archaea*: FS er bundet via **eter-binding**
- Glycerol ryggraden har ≠ stereoisomere former: R-form (*Bacteria* & *Eukarya*) og L-form (*Archaea*)

Inndeling av organismer ut fra egenskaper forts.

3) RNA polymerase

- *Bacteria*: én type m/sammensetning $\alpha_2\beta\beta'$ og \neq σ -faktorer
- *Archaea*: flere typer, ligner på de hos eukaryoter men antall peptider er lavere
- *Eukarya*: 3 typer som transkriberer hver sin type gener

4) Protein syntese

- Selv om ribosomene er ~ like store hos *Bacteria* & *Archaea* ligner protein syntesen hos sistnevnte det hos Eukarya; startkodon er lik (AUG) men:
 - # *Bacteria*: formylMet tRNA anvendes
 - # De to andre bruker vanlig Met tRNA
- Antibiotika påvirker prosessen hos *Bacteria*, men ikke hos de to andre (skyldes struktur forskjeller)

Klassisk taksonomi

Taksonomi - vitenskapen om klassifisering av arter; 2 hovedfelter

- Identifisering – en del kriterier anvendes ved arts bestemmelser
- Nomenklatur – navngiving av arter ut fra nøkkeltrekk til artene

I klassisk bakteriell taksonomi anvendes generelle og spesifikke kriterier for gruppering av organismer:

- morfologi
- måter for opptak av næring
- fysiologi
- vekst habitat
- GC innhold i genomet

Molekylær taksonomi

Involverer molekylære analyser av biomolekyler:

- DNA:DNA hybridisering – sml. graden av sekvenslikhet i DNA
- ribotyping – restriksjonsenzymene anvendes på DNA, og man sml. det båndmønsteret som oppstår
- lipid analyser av cellemembranen – FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*)

Navngiving av bakterier

Bakteriers navn gis med bakgrunn i ”*polyphasic taxonomy*” – denne metoden involverer både genetiske og fenotypiske trekk som SSU ribosomal sekvensering & genom hybridisering

- 16S rRNA sekvenser fra bakterier som avviker > 3% (har < 97% identitet) fra andre regnes som en ny art
- De bakterier (**stammer**) som er nært beslektet er medlemmer av samme **art** (identiteten ligger i området 93-97%)
- Videre inndeles arter i **slekter**, som er del av **familier**, som er del av **ordener** – til slutt snakker vi om **domener**

Nomenklaturen og Bergey's Manual

- Prokaryoter navngis som følger: **slektsnavn**, etterfulgt av **artsnavn**
- Navnene er som oftest Latin eller ”latinisert” Gresk som gjenspeiler spesielle egenskaper hos arten
- For å kunne aksepteres som en ny art, må detaljer oppgis ved publikasjon som viser hvordan denne skiller seg fra andre kjente arter; videre deponeres kulturen i én av følgende samlinger: ATCC eller DSMZ
- Data som offentliggjøres om arten gjøres vanligvis i tidsskriftet IJSEM – er det offisielle organet for publiseringen av nye arter av prokaryoter/gjærsopp
- IJSEM baner vei for godkjenningen av nye arter, og disse opptas senere formelt i ”*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*”