



Γενική Μικροβιολογία

Ενότητα 15^η

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ

Όνομα καθηγητή: **Δ. ΓΕΩΡΓΑΚΟΠΟΥΛΟΣ**

Όνομα καθηγητή: **Γ. ΖΕΡΒΑΚΗΣ**

Όνομα καθηγητή: **ΑΝ. ΤΑΜΠΑΚΑΚΗ**

Τμήμα: **ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





ΣΤΟΧΟΙ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

- Η φυλογενετική των μικροοργανισμών και οι μέθοδοι υπολογισμού των φυλογενετικών σχέσεων.

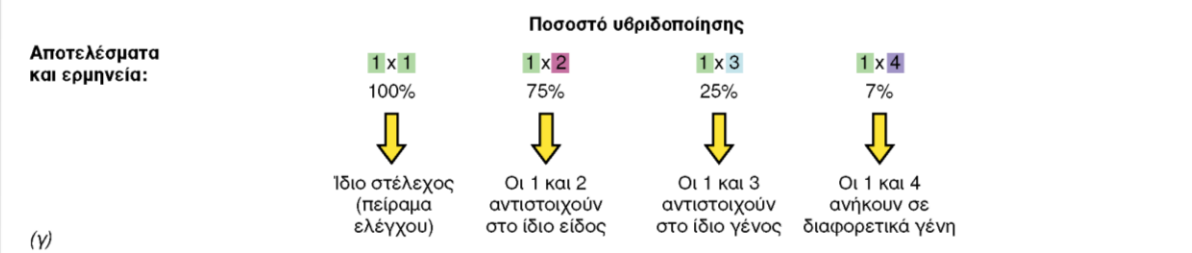
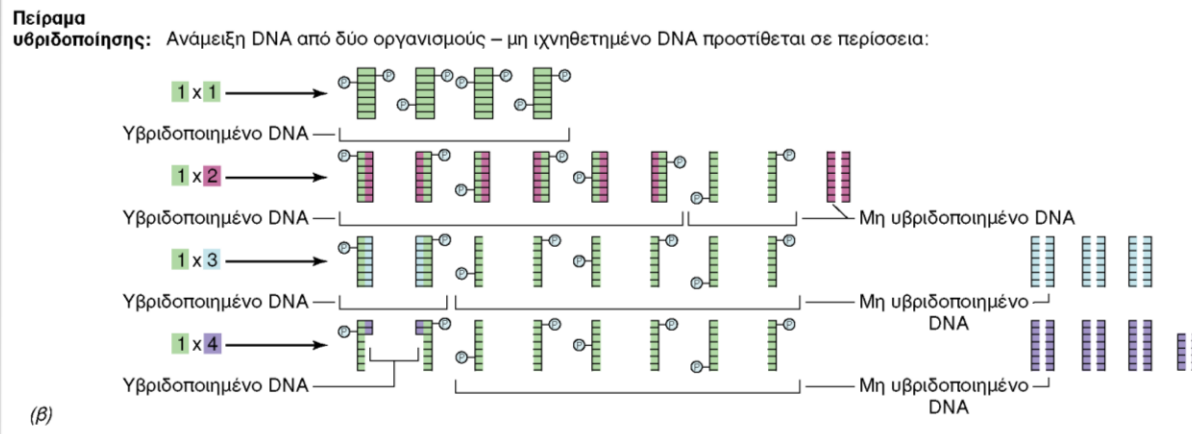
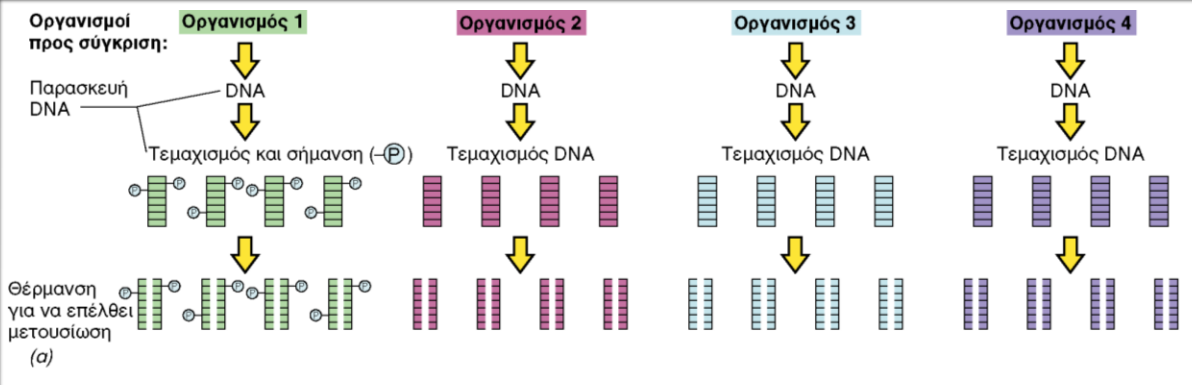


ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΙΑ

- Υβριδοποίηση DNA:DNA
- Καθορισμός ριβοτύπου (ανάλυση DNA που κωδικεύει ριβοσωμικό RNA)
- Λιπιδική ανάλυση (ανάλυση λιπιδίων μεμβρανών)



ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA:DNA



Εικόνα 11.19: Η γονιδιωματική υβριδοποίηση ως ταξινομικό εργαλείο, (α) Το DNA απομονώνεται από τους υπό έλεγχο οργανισμούς. Ένα από τα μόρια DNA ιχνηθετείται (εδώ απεικονίζεται το DNA του οργανισμού 1 σημασμένο με ραδιενεργό φωσφόρο). (β) Ένα πείραμα υβριδοποίησης στην πράξη. Όλοι οι συνδυασμοί δοκιμάζονται και σε κάθε πείραμα προστίθεται περίσσεια μη ιχνηθετημένου DNA, ώστε να αποφευχθεί η επανασύνδεση του ραδιενεργού DNA με τον εαυτό του. Μετά την υβριδοποίηση, το δίκλωνο DNA διαχωρίζεται από το μη υβριδοποιημένο, και μετράται η ραδιενέργεια μόνο στο υβριδοποιημένο DNA. (γ) Αποτελέσματα. Η ραδιενέργεια στα πειράματα ελέγχου θεωρείται ως το 100 % της τιμής υβριδοποίησης.



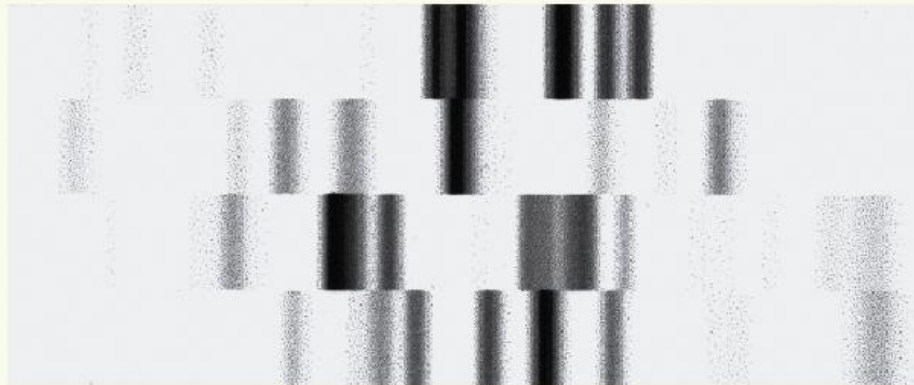
ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΡΙΒΟΤΥΠΟΥ

*Lactococcus
lactis*

*Lactobacillus
acidophilus*

*Lactobacillus
brevis*

*Lactobacillus
kefir*



Carl A. Batt

Εικόνα 11.20: Καθορισμός ριβοτύπου. Τα αποτελέσματα αναλύσεων ριβοτύπου όπως προκύπτουν από τέσσερα διαφορετικά Βακτήρια γαλακτικής ζύμωσης. Το πρότυπο των θραυσμάτων του DNA που σχηματίζεται μετά την πέψη από ένζυμα περιορισμού του DNA, το οποίο έχει ληφθεί από μια αποικία κάθε βακτηρίου και ιχνηλατηθεί με γονίδια rRNA 16S, είναι μοναδικό για κάθε είδος ή ακόμη και για στελέχη του ίδιου είδους. Τα πρότυπα γνωστών οργανισμών, που σχηματίζονται σε πηκτώματα, ψηφιοποιούνται και αποθηκεύονται σε βάσεις δεδομένων, ώστε να συγκρίνονται στις ταυτοποιήσεις οργανισμών που απομονώνονται από το περιβάλλον ή από κλινικές μελέτες.



ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

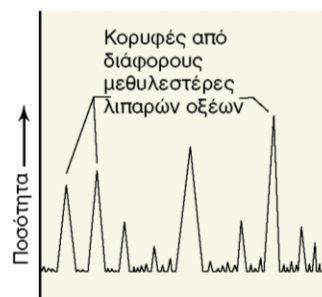
Κατηγορίες λιπαρών οξέων στα Βακτήρια

Κατηγορία	Παράδειγμα	Δομή παραδείγματος
Κορεσμένα	δεκατετρανοϊκό οξύ	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3$
Ακόρεστα	<i>ω</i> -7- <i>cis</i> δεκαεξανοϊκό οξύ	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_6-\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{H})-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_3$
Με τριμελή δακτύλιο (κυκλοπροπάνιο)	<i>cis</i> 7-8 μεθυλενοδεκαεξανοϊκό οξύ	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(\text{H})_2-\text{C}(\text{H})_2-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$
Διακλαδισμένα	13-μεθυλοδεκατετρανοϊκό οξύ	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{10}-\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$
Υδροξυοξέα	3-υδροξυδεκατετρανοϊκό οξύ	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$

(α)



(β)



Σύγκριση του προτύπου των κορυφών με καταχωρημένα πρότυπα σε βάση δεδομένων → ταυτοποίηση οργανισμού

Εικόνα 11.21: Ανάλυση μεθυλεστέρα λιπαρών οξέων (FAME) για την ταυτοποίηση βακτηρίων, (α) Κατηγορίες λιπαρών οξέων στα βακτήρια. Δίνεται ένα μόνο παράδειγμα από κάθε κατηγορία, αλλά στην πραγματικότητα έχουν ανακαλυφθεί από βακτηριακές πηγές τουλάχιστον 200 διαφορετικά λιπαρά οξέα. Ένας μεθυλεστέρας έχει μια μεθυλομάδα (-CH₃) στη θέση του πρωτονίου της καρβοξυλικής ομάδας (-COOH) του λιπαρού οξέος. (β) Πειραματική διαδικασία. Κάθε κορυφή από τον αεριοχρωματογράφο αντιστοιχεί σε έναν συγκεκριμένο μεθυλεστέρα λιπαρού οξέος και το εμβαδόν της κορυφής είναι ανάλογο προς την ποσότητά του.



Η ΕΝΝΟΙΑ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ

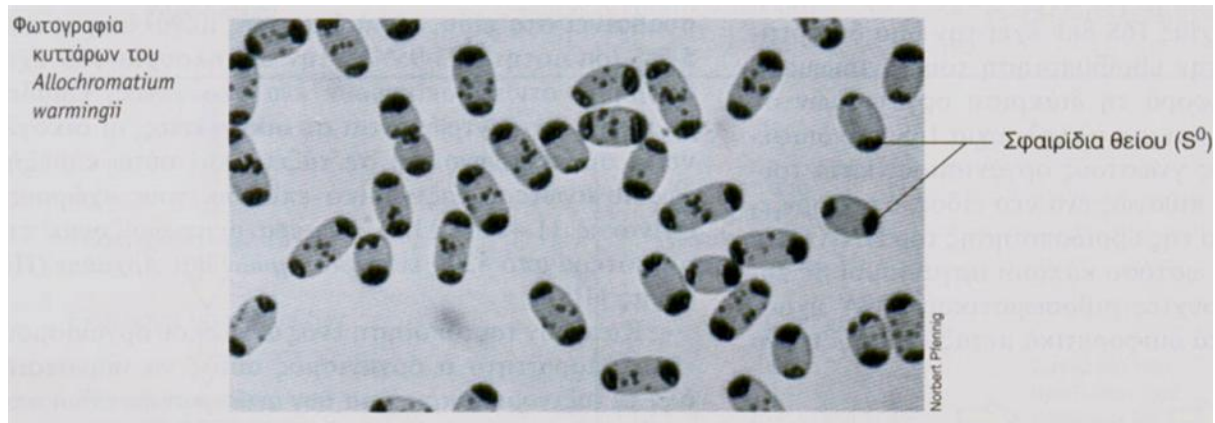
- Φυτά, Ζώα: είδος = αναπαραγωγική έννοια
- Μικροοργανισμοί αναπαράγονται αφυλετικά: είδος είναι πιο γενική έννοια
 - ❑ Πολυφασική ταξινόμια: Γενετικά κριτήρια (Αλληλουχίες SSU RNA, Γονιδιωματική Υβριδοποίηση) και Φαινοτυπικά κριτήρια
- Ομοιότητα 16S RNA >97%, Υβριδοποίηση DNA >70% = *ίδιο είδος*
- Ομοιότητα RNA ~93-95% = *ίδιο γένος*
- Ταξινομικά κριτήρια ανώτερων επιπέδων πιο γενικά από ταξινομικά κριτήρια κατώτερων επιπέδων



ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗΣ ΙΕΡΑΡΧΙΑΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ 11.5 Ταξινομική ιεραρχία του πορφυρού θειοβακτηρίου *Allochromatium warmingii*

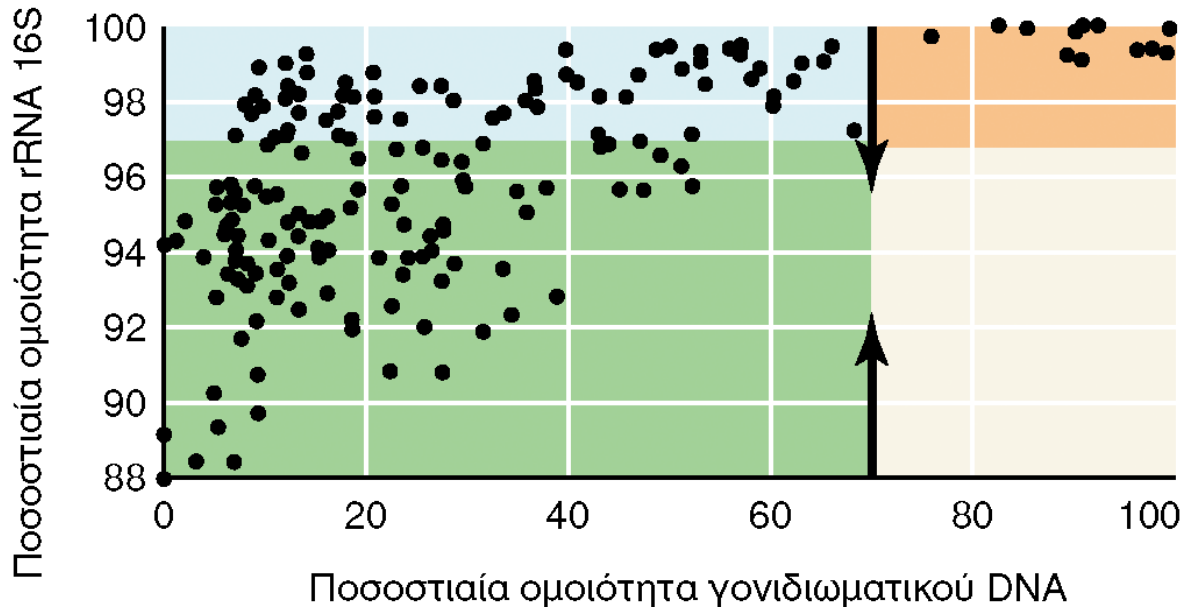
Ταξινομική υποδιαίρεση	Όνομασία	Ιδιότητες	Τεχνική επιβεβαίωσης
«Χώρος»	<i>Βακτήρια</i>	Προκαρυωτικά κύτταρα· αλληλουχίες ριβοσωματικού RNA τυπικές των <i>Βακτηρίων</i>	Μικροσκοπία· αλληλούχιση του ριβοσωματικού RNA 16S· παρουσία ειδικών βιομορίων, π.χ. πεπτιδογλυκάνης
Φύλο	γ-Πρωτεοβακτήρια	Αλληλουχίες ριβοσωματικού RNA χαρακτηριστικές των πρωτεοβακτηρίων	Αλληλούχιση του ριβοσωματικού RNA 16S
Ομοταξία	Ζυμοβακτήρια	Βακτήρια αρνητικά κατά Gram	Χρώση κατά Gram, μικροσκοπία
Τάξη	Chromatiales	Φωτοτροφικά πορφυρά βακτήρια	Χαρακτηριστικές χρωστικές (Δεσμός με Εικόνα 17.3)
Οικογένεια	Chromatiaceae	Πορφυρά θειοβακτήρια	Ικανότητα οξειδωσης H_2S και αποθήκευσης S^0 μέσα στα κύτταρα· μικροσκοπική παρατήρηση των κυττάρων για την παρουσία S^0 (βλ. φωτογραφία)
Γένος	<i>Allochromatium</i>	Ραβδόμορφα πορφυρά θειοβακτήρια	Μικροσκοπία (βλ. φωτογραφία)
Είδος	<i>warmingii</i>	Κύτταρα μεγέθους 3,5-4,0 μm 5-11 μm αποθήκευση θείου κυρίως στους πόλους του κυττάρου (βλ. φωτογραφία)	Μέτρηση κυττάρων στο μικροσκόπιο με τη χρήση μικρομέτρου· παρατήρηση της θέσης των σφαιριδίων S^0 στα κύτταρα (βλ. φωτογραφία)





ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΩΝ

ΤΟΥ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΙΚΟΥ RNA 16S ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΒΡΙΔΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΥ DNA, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΖΕΥΓΗ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ



Εικόνα 11.22: Συσχετισμός μεταξύ της ομοιότητας των αλληλουχιών του ριβοσωματικού RNA 16S και της υβριδοποίησης του γονιδιωματικού DNA, σε διάφορα ζεύγη οργανισμών. Τα δεδομένα αυτά είναι τα αποτελέσματα αρκετών ανεξάρτητων πειραμάτων με διάφορα είδη από τον «χώρο» των Βακτηρίων. Οι κουκκίδες στην πορτοκαλόχρωμη περιοχή αντιπροσωπεύουν συνδυασμούς στους οποίους τόσο η ομοιότητα των αλληλουχιών 16S όσο και η γονιδιωματική υβριδοποίηση εμφάνιζαν υψηλές τιμές· επομένως, σε κάθε περίπτωση, οι οργανισμοί που ελέγχθηκαν ανήκαν στο ίδιο είδος. Αντιθέτως, οι κουκκίδες στην πράσινη περιοχή αντιπροσωπεύουν συνδυασμούς που δείχνουν ότι οι οργανισμοί που ελέγχθηκαν ανήκαν σε διαφορετικά είδη, και αυτό υποδεικνύουν και οι δύο μέθοδοι. Οι κουκκίδες στη γαλάζια περιοχή δείχνουν ότι οι δύο οργανισμοί ήταν διαφορετικά είδη σύμφωνα με την υβριδοποίηση του γονιδιωματικού DNA, αλλά όχι σύμφωνα με τις αλληλουχίες 16S. Παρατηρήστε ότι σε τιμές υβριδοποίησης του DNA μεγαλύτερες του 70 % δεν υπάρχει ομοιότητα κάτω από 97% για το rRNA 16S. Δεδομένα που επανασχεδιάστηκαν, από το Rossello-Mora, R., & R. Amann. 2001. FEMS Microbiol. Revs. 25:39-67.



ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΕΙΔΟΓΕΝΕΣΗ

Πώς δημιουργούνται νέα είδη βακτηρίων;



Το προσαρμοστικό μεταλλάγμα επιβιώνει. Τα κύτταρα του αρχικού, άγριου τύπου Οικότυπου I υστερούν στον ανταγωνισμό

Εικόνα 11.23: Πιθανός μηχανισμός της βακτηριακής ειδογένεσης. Αρκετοί οικότυποι μπορεί να συνυπάρχουν σε ένα μόνο μικροβιακό ενδιαίτημα, καταλαμβάνοντας ο καθένας τον δικό του πρωτεύοντα οικολογικό θώκο. Όταν μια επωφελής μετάλλαξη συμβεί σε έναν οικότυπο, τότε το κύτταρο που φέρει την προσαρμοστική μετάλλαξη θα σχηματίσει τελικά έναν πληθυσμό ο οποίος θα αντικαταστήσει τον αρχικό οικότυπο. Με την επανάληψη της διαδικασίας αυτής σε δεδομένο οικότυπο, προκύπτει ένας γενετικά διακριτός πληθυσμός κυττάρων, που αντιπροσωπεύει ένα νέο είδος. Επειδή οι άλλοι οικότυποι δεν δρουν ανταγωνιστικά για τους ίδιους πόρους, μένουν ανεπηρέαστοι από τα συμβάντα των γενετικών μεταβολών και της επιλογής που λαμβάνουν χώρα έξω από αυτούς.



ΠΙΝΑΚΑΣ 11.6 ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ & ΑΡΙΘΜΟΙ

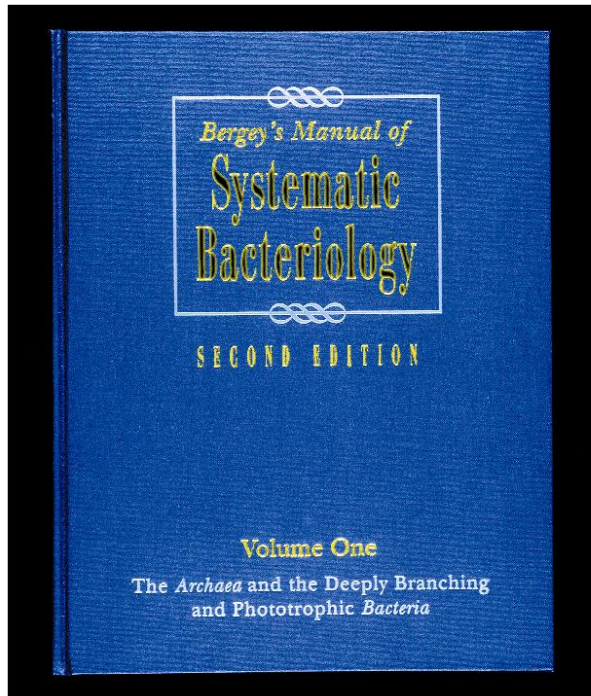
ΓΝΩΣΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΩΝ⁰

Κατηγορία	<i>Βακτήρια</i>	<i>Αρχαία</i>	Σύνολο
«Χώροι»	1	1	2
Φύλα	23	3 ^ο	26
Ομοταξίες	32	8	40
Τάξεις	77	12	89
Οικογένειες	182	21	203
Γένη	871	69	941
Είδη	5007	217	5224

^ο Οι αριθμοί αντιπροσωπεύουν γένη και είδη των Βακτηρίων και των Αρχαίων με επισήμως αποδεκτή ονομασία κατά το 2001. Τα «Κοραρχαιωτικά» συνιστούν ένα προσωρινά αποδεκτό φύλο. Πηγή: Garrity, G.M., Boone, D.R., & R.;W Castenholz (επιμ.). 2001. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2^η έκδ., τόμ. 1. Springer, Νέα Υόρκη.



ΕΡΓΑΛΕΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ



Εικόνα 11.24: Η δεύτερη έκδοση του Εγχειριδίου Συστηματικής Βακτηριολογίας του Bergey (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology). Αυτό το έργο αναφοράς περιγράφει σε πέντε τόμους τις κύριες ιδιότητες όλων των γνωστών προκαρυωτών, τόσο των βακτηρίων όσο και των Αρχαίων.

- Διωνυμική ονομασία (Γένος-Είδος, πχ. *Bacillus subtilis*)
- ATCC (Αμερικανική συλλογή μικροοργ.)
- DSMZ (Γερμανική συλλογή)
- Συντήρηση στους -80°C
- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology
- Prokaryotes (σειρά)



ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ

- Υβριδοποίηση DNA:DNA
- Ριβότυπος
- Ανάλυση λιπιδίων μεμβρανών



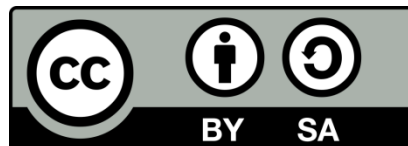
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❑ Βιολογία Των Μικροοργανισμών –
Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Κεφάλαιο 11,
ενότητα γ΄.



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





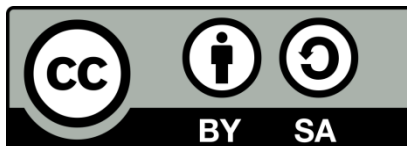
Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Γεωργακόπουλος Δ., Ζερβάκης Γ., Ταμπακάκη Αν. «Γενική Μικροβιολογία». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
<https://mediasrv.aua.gr/eclass/courses/PREDCS100/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων, π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
 - το Σημείωμα Αδειοδότησης
 - τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
 - το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)
- μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.