



Welkom bij Microbiologie 1

Brock Biology of Microorganisms

Sixteenth Edition, Global Edition

**BROCK BIOLOGY OF
MICROORGANISMS**
SIXTEENTH EDITION

Madigan • Bender • Buckley • Sattley • Stahl



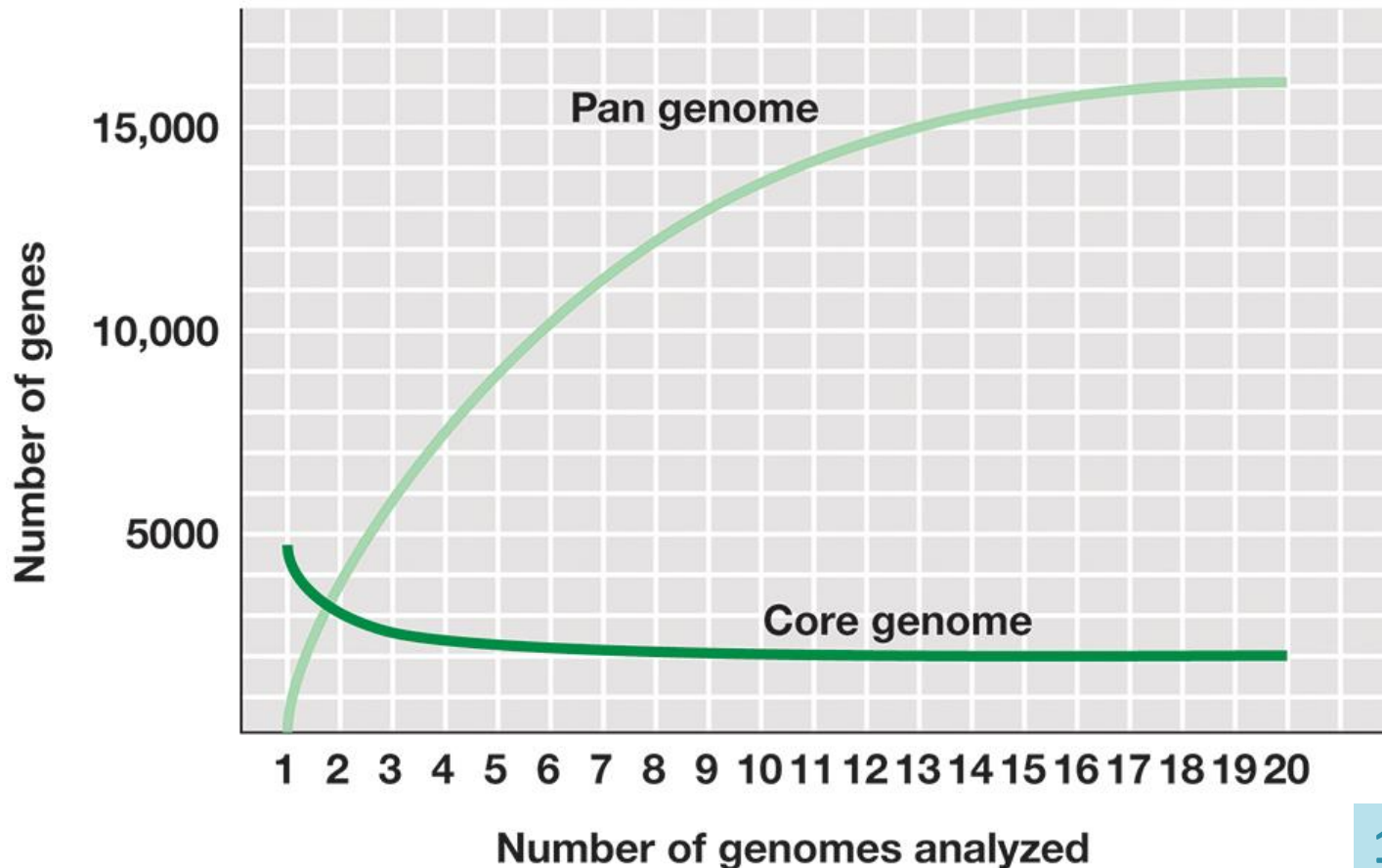
Chapter 13

Microbial Evolution and Genome Dynamics

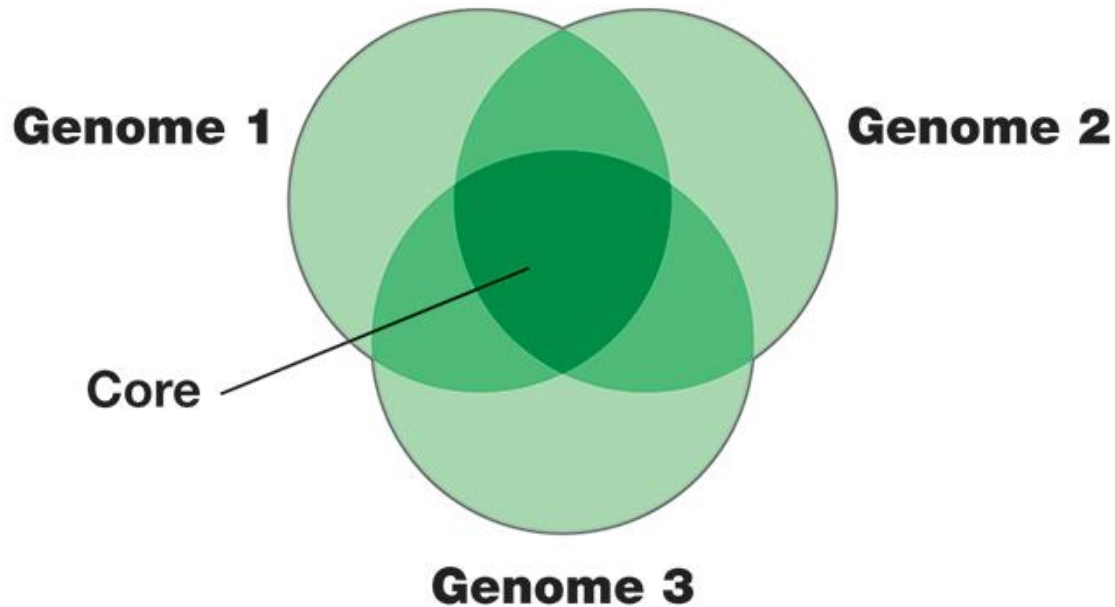


Vorige les: *Escherichia coli*

- gemiddeld 4721 genen
- **core genome** bestaat uit maar 1976 genen
- 15.826 genen niet in alle stammen (vaak via horizontal gene transfer)



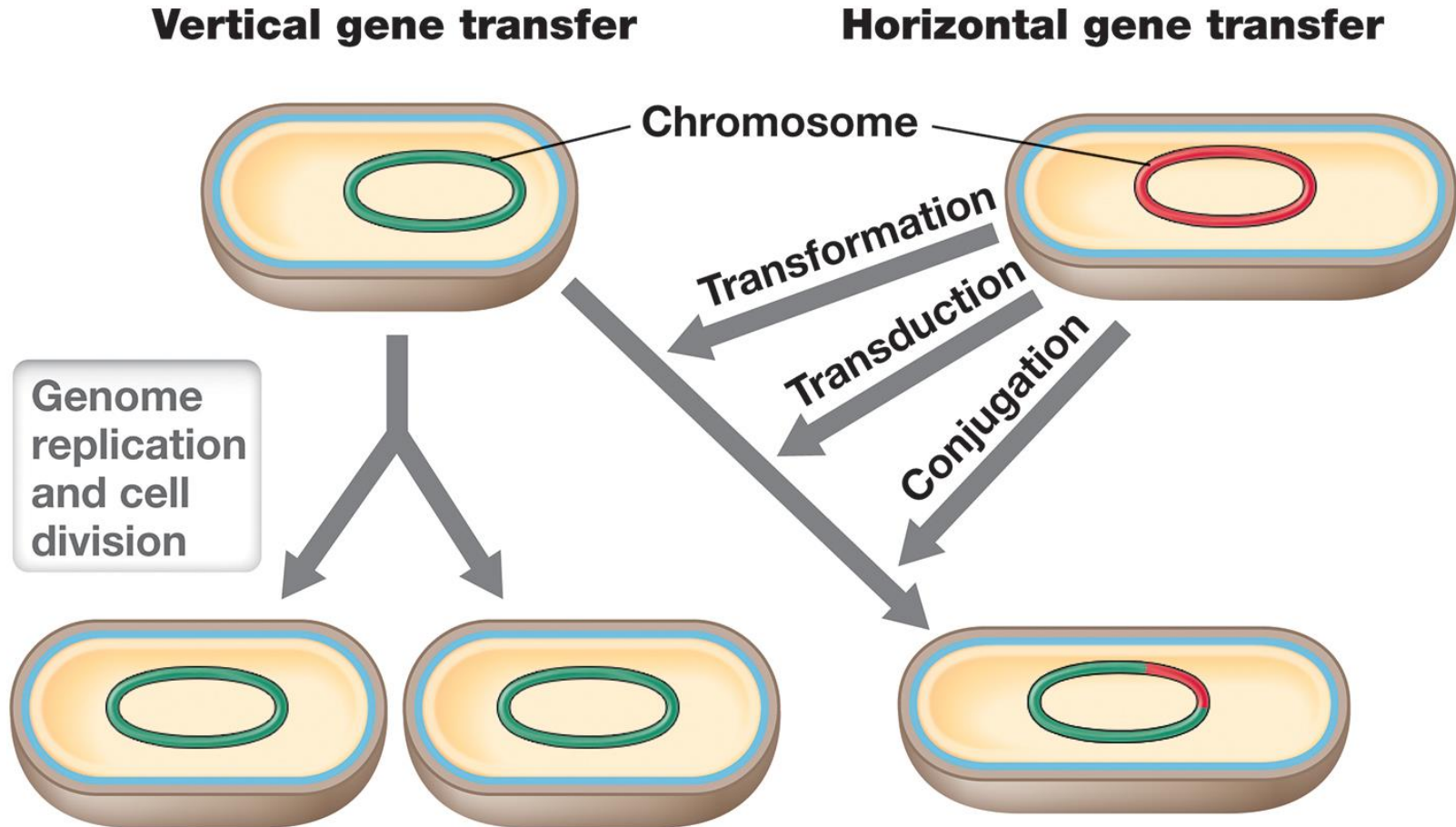
Vorige les: core en pan genoom



Core genoom: genen die aanwezig zijn in elke stam

Pan genoom: totaal aantal genen (van alle stammen samen)

Vorige les: horizontal gene transfer (HGT)



Chromosomal islands

= genomic islands

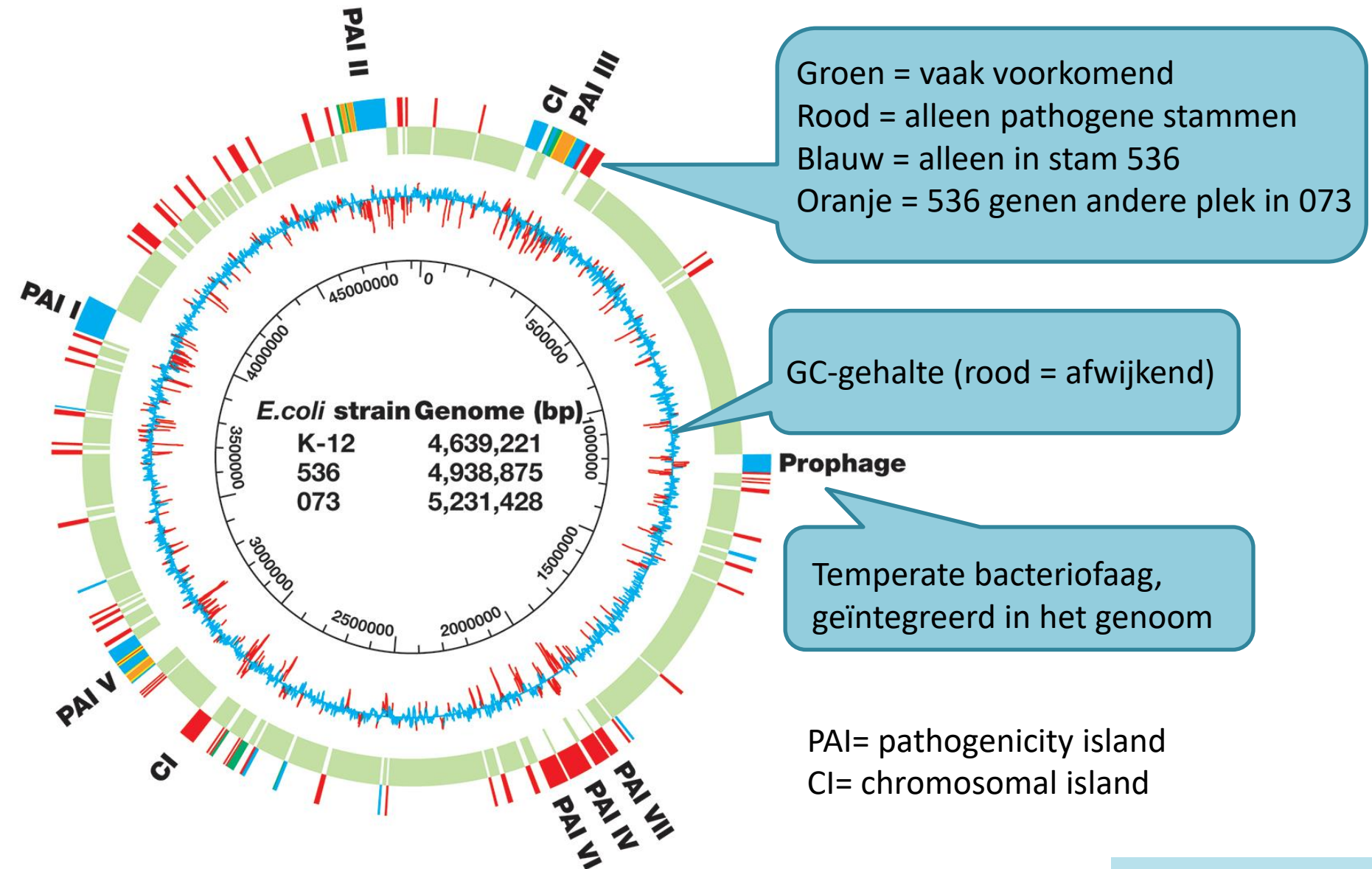
Clusters van genen met een speciale functie

Pathogenicity island: chromosomal island met virulentie factoren

Aanwijzingen voor overdracht via HGT:

- vaak geflankeerd voor inverted repeats
- GC-gehalte en codon gebruik
- meestal onderdeel van het pan genoom
- bevatten soms integrase gen
- soms experimenteel aangetoond

Pathogenicity en chromosomal islands

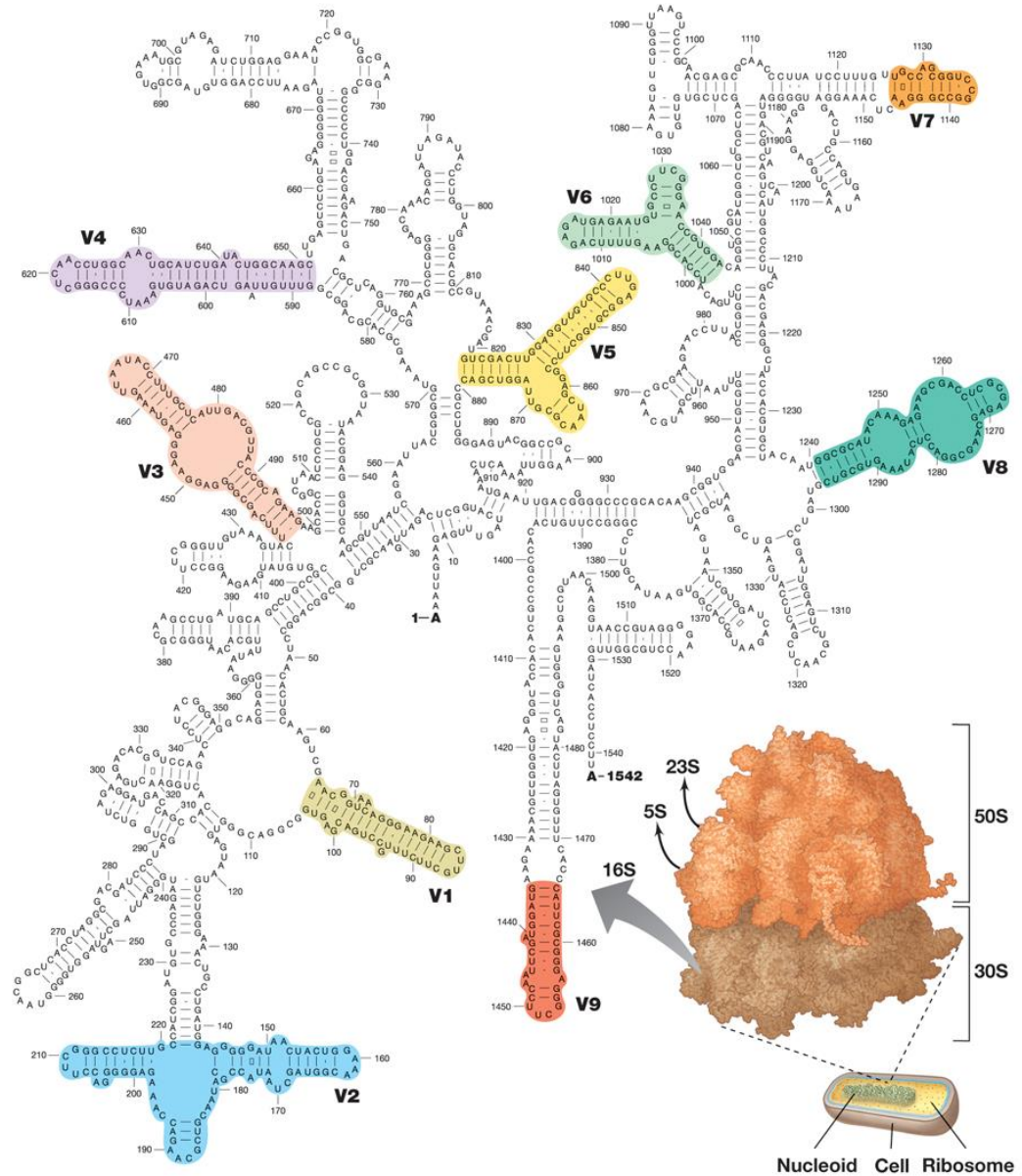


Fylogenie

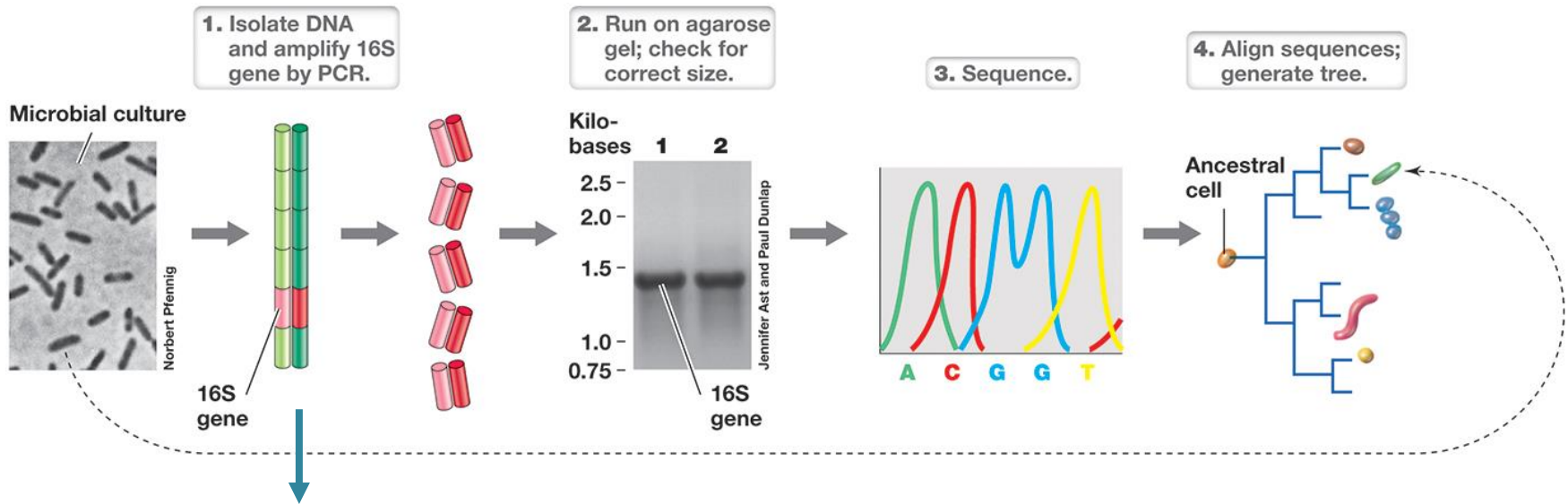
evolutionaire geschiedenis

16S rRNA (= Small Subunit (SSU) rRNA)

- universally distributed
- functionally constant
- highly conserved
- adequate length



Fylogenie



Primers kunnen universeel zijn of gericht zijn tegen b.v. een species, genus, phylum

Fylogenie - sequence alignment

Fylogenetische analyse:

- nodig: homologie (niet verwarren met similarity)
- meestal op basis van orthologen

Sequences before alignment

1 GGA CCT AAA TTT ATA CCC
2 GGA AAA GGG CCC AAA CGC
3 GGA GGG CCT TTT ATA CCC

Sequence differences

	1	2	3
1	–	–	–
2	11	–	–
3	6	11	–

Sequences after alignment

1 GGA --- --- CCT AAA TTT ATA CCC
2 GGA AAA GGG CCC --- --- AAA CGC
3 GGA --- GGG CCT --- TTT ATA CCC

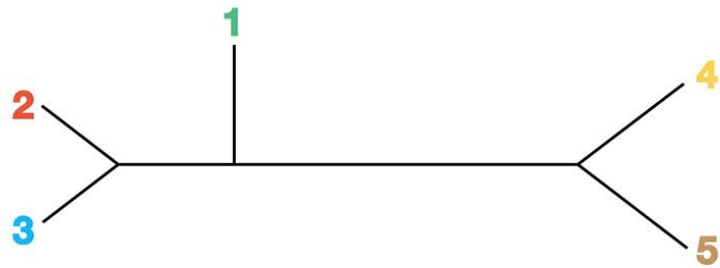
	1	2	3
1	–	–	–
2	3	–	–
3	0	3	–

(a)

(b)

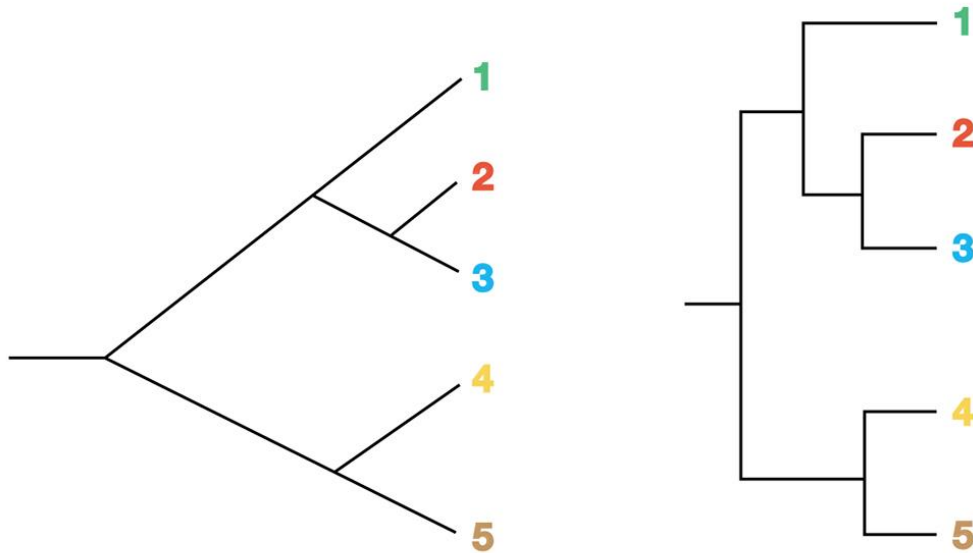
Fylogenetische boom

Weergave evolutionaire geschiedenis



Unrooted tree

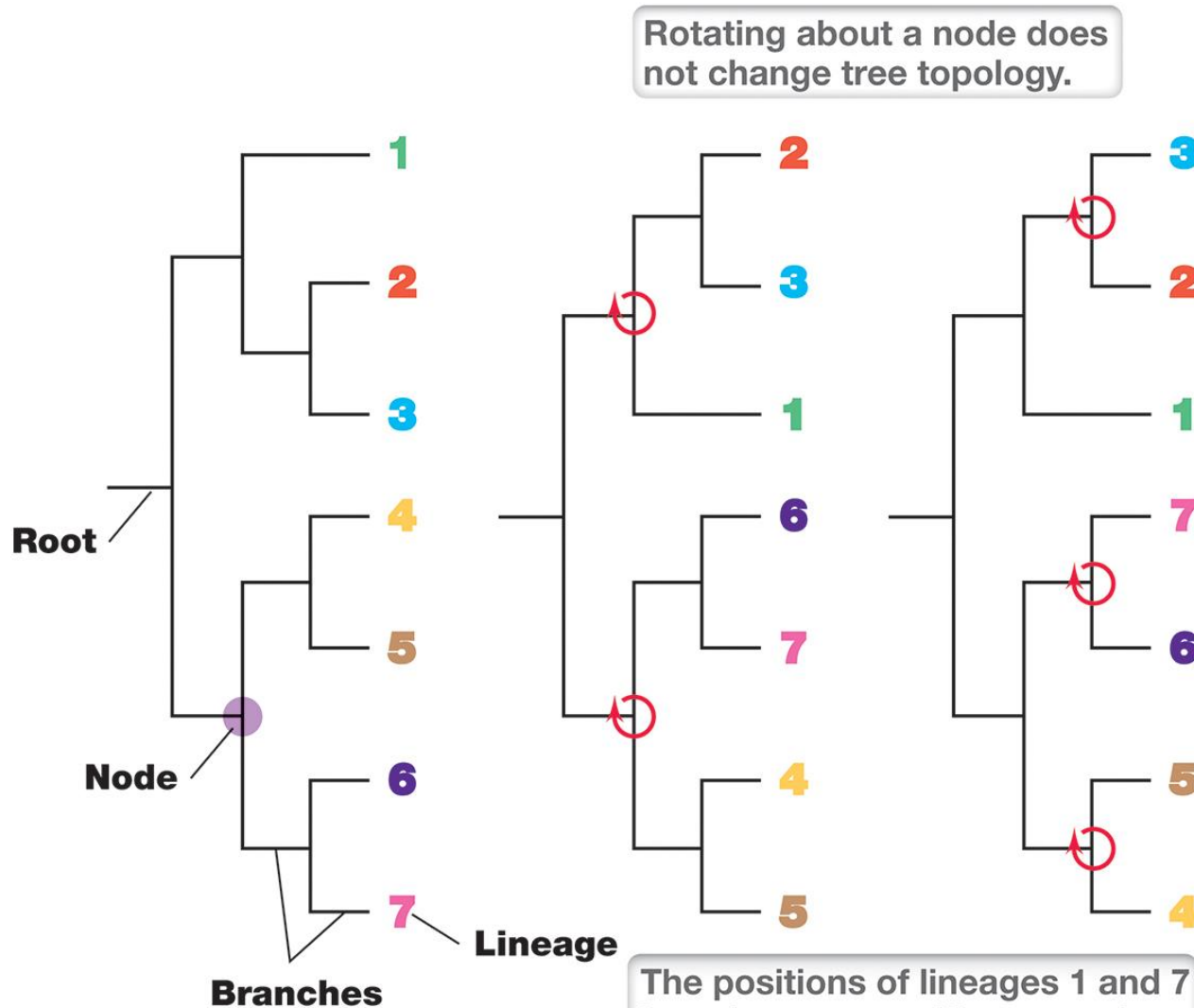
alleen relatieve relatie



Rooted trees

geeft positie gemeenschappelijke voorouder

Fylogenetische boom



Stel je hebt 4 organismen => 3 mogelijkheden

Stel je hebt 10 organismen => 2 miljoen mogelijkheden

Stel je hebt 20 organismen => een mol mogelijkheden

Hoe bouw je dan een fylogenetische boom?

Distance based methods

1. The first step in making a tree is to align sequences.

1 **A** **C** **T** **G** **A** **C**
2 **A** **C** **T** **C** **A** **T**
3 **A** **C** **A** **T** **G** **G**
4 **A** **C** **A** **A** **G** **A**

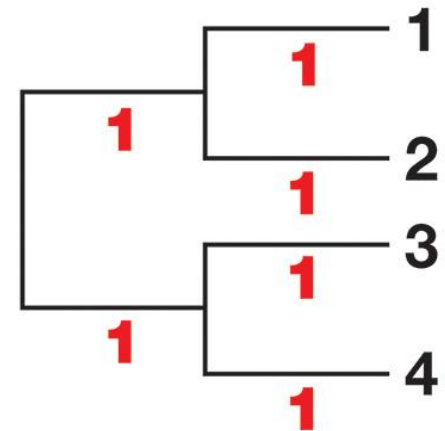
(a)

2. A distance matrix is calculated from the number of sequence differences.

	1	2	3	4
1	–			
2	2	–		
3	4	4	–	
4	4	4	2	–

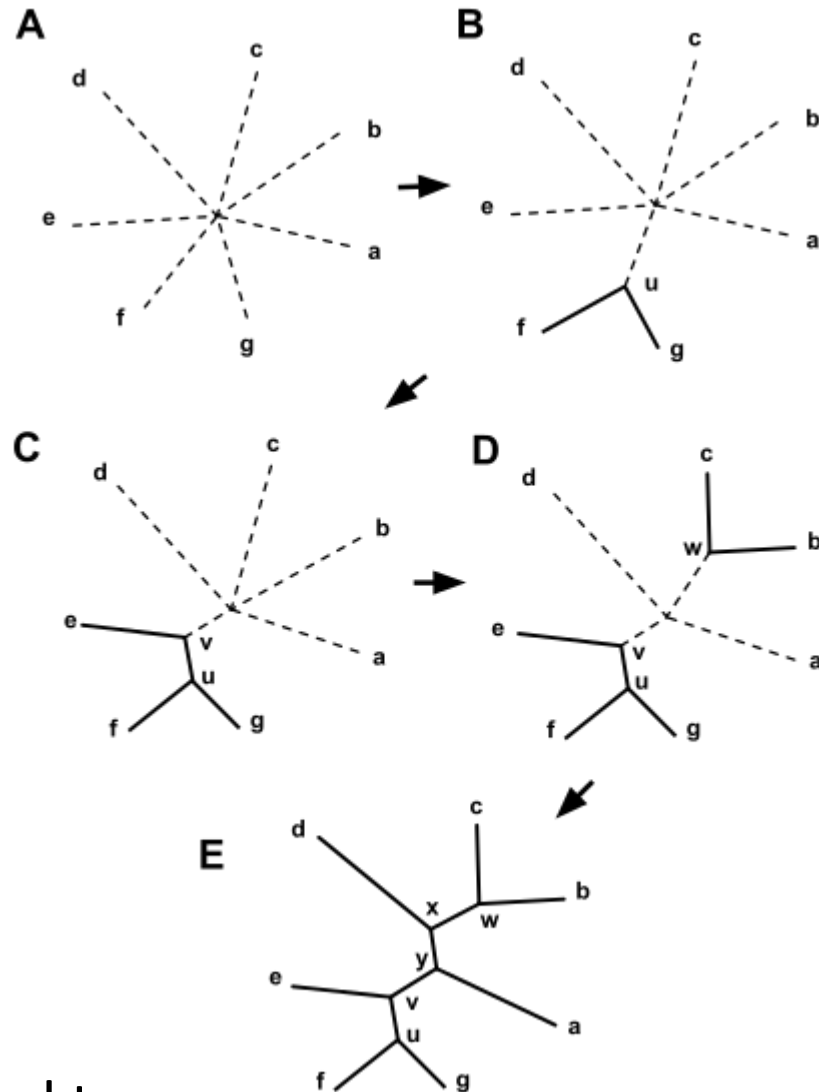
(b)

3. The tree is constructed by adding nodes to join lineages that have the fewest differences.



(c)

Voorbeeld: neighbour joining



NJ geeft een unrooted tree

Hoe 'bouw' je een fylogenetische boom?

Algoritmes waarmee één enkele boom wordt gemaakt. B.v.

- Neighbour Joining
- Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)

Methoden die gebruik maken van 'optimality criteria'. B.v.

- Parsimony
- Maximum Likelihood
- Bayesian

Deze methoden evalueren een groot aantal mogelijke bomen en kiezen dan de boom die het best bij de sequentie data past

Parsimony

‘Occams razor’

<https://www.youtube.com/watch?v=skcCu4RUkAg>

The tree that requires the smallest number of sequence changes to generate the sequences in the alignment is the most likely tree

Parsimony

Technique



Species I

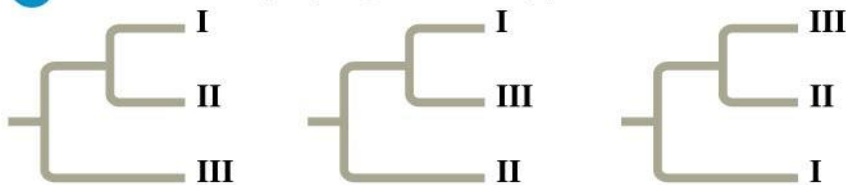


Species II



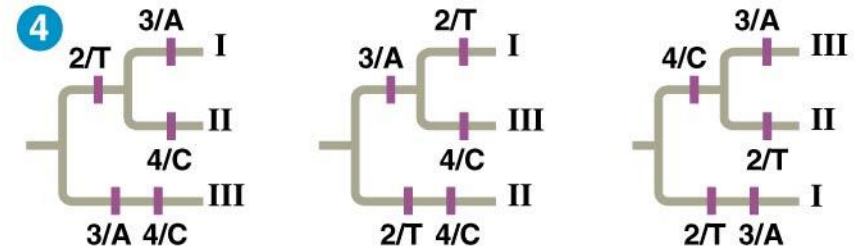
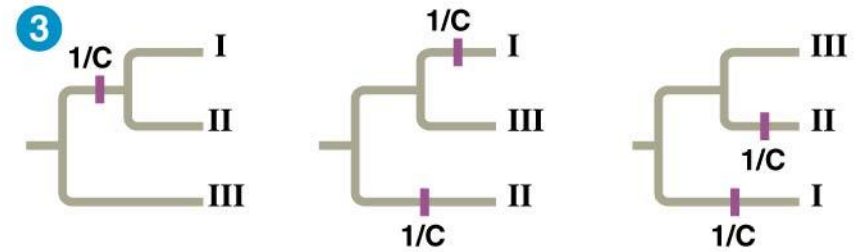
Species III

1 Three phylogenetic hypotheses:

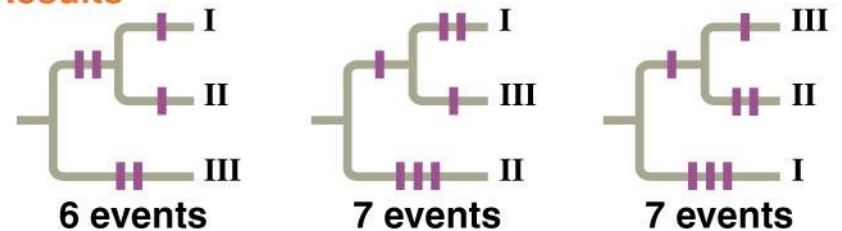


2

	Site			
	1	2	3	4
Species I	C	T	A	T
Species II	C	T	T	C
Species III	A	G	A	C
Ancestral sequence	A	G	T	T



Results



Maximum likelihood en Bayesian methoden

Selectie meest passende boom op basis van een evolutionair model

Bootstrapping

Het kan voorkomen dat de data in meerdere bomen 'passen'

Bootstrapping is een statistische methode waarbij de data opnieuw random 'gesampled' worden.

De bootstrap waarde geeft het percentage aan waarmee een bepaalde knoop in een fylogenetische boom wordt ondersteund door de sequentie data.

Dus: hoge bootstrap-waarde -> boom is betrouwbaar

Limitaties fylogenetische bomen - homoplasy

= convergent evolution

organismen delen een eigenschap die niet afkomstig is van een gemeenschappelijke voorouder

kan in sequenties het gevolg zijn van recurrent mutations

Recurrent mutations

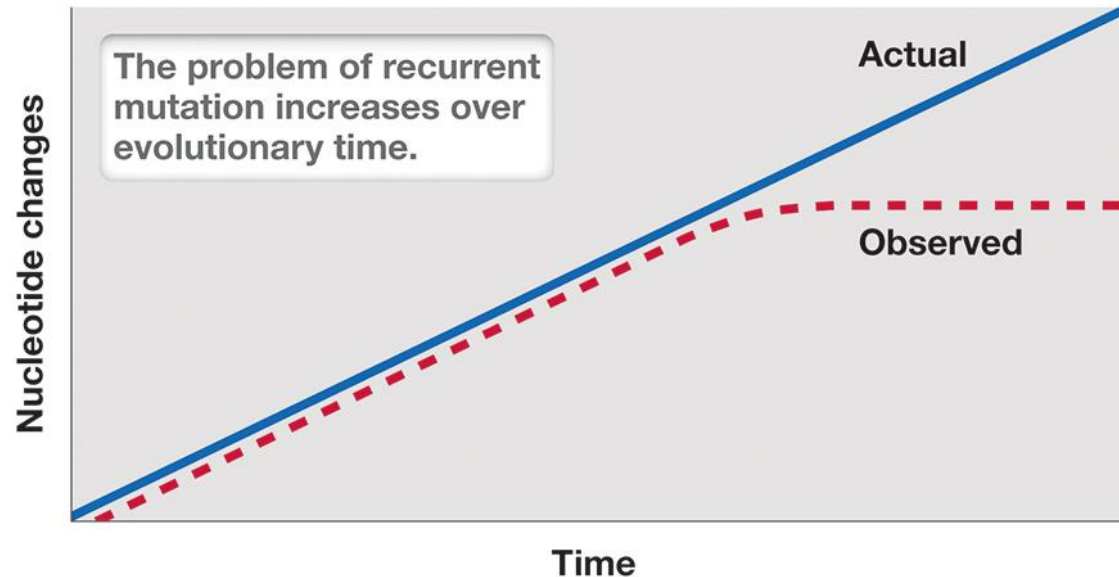
Recurrent mutation can erase evolutionary information, causing sequence differences to underestimate true distances.

1 A C T G
↓
2 A G T G
↓ ↓
3 A G A C
↓
4 C G A C

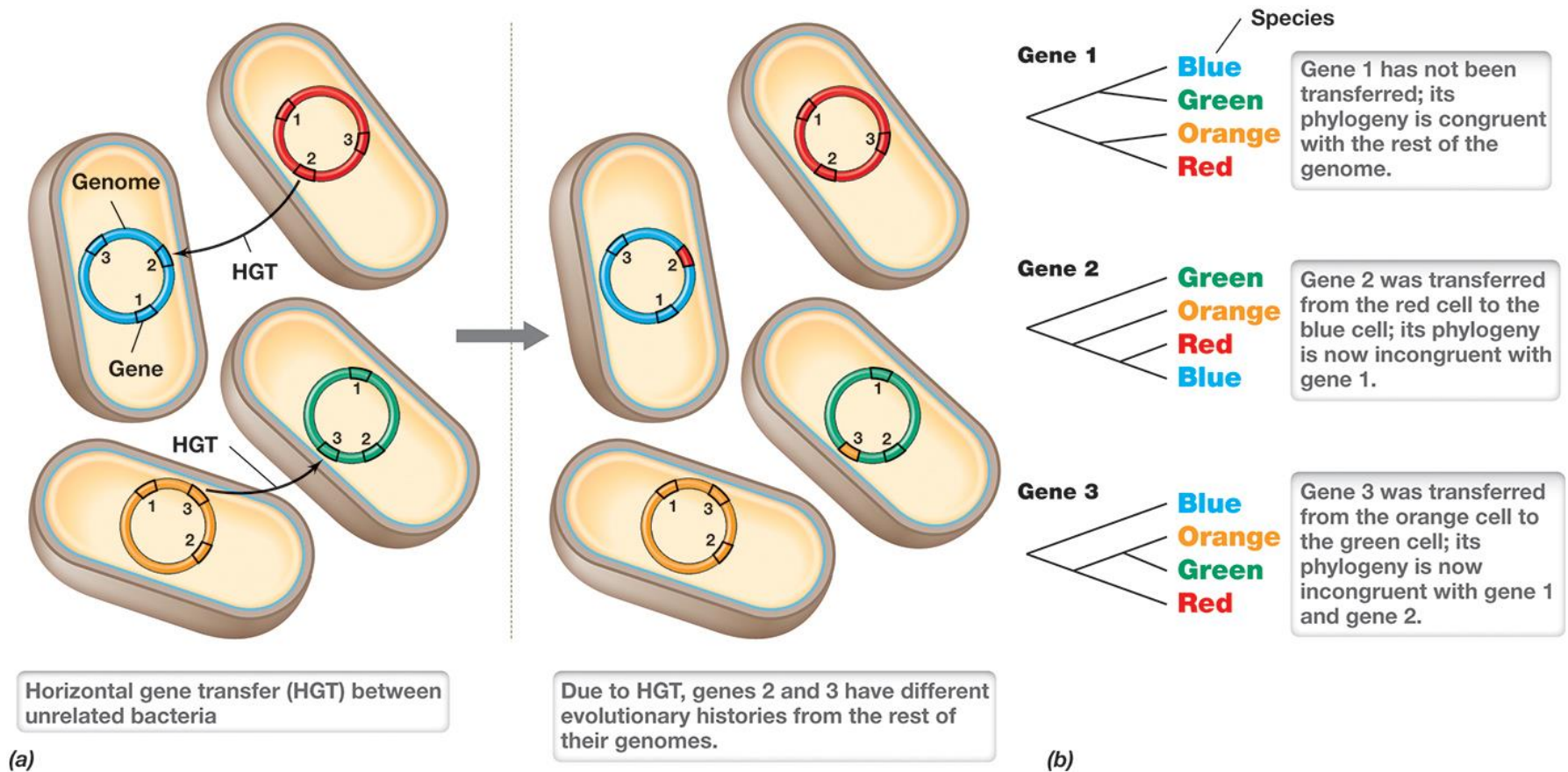
Four differences are observed between sequences 1 and 4.

1 A C T G
↓
2 A G T G
↓ ↓ Substitution mutations
3 A A T C
↓
4 A C T C

Only one difference is observed between sequences 1 and 4.



Limitaties fylogenetische bomen – HGT



Verschil fylogenie van genen en fylogenie van organismen

SSU rRNA genen: HGT frequentie erg laag

Toch analyse meerdere genen beter

Systematiek

naamgeving en classificatie

Systematiek

Diversiteit en relaties van organismen.

Fylogenie: evolutionaire geschiedenis

Taxonomie: identificatie, classificatie, naamgeving

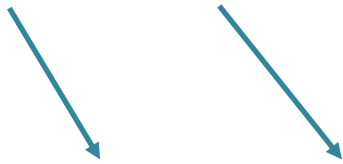
➡ maakt gebruik van een *polyphasic approach*

(gebruikt fenotypische, genotypische en fylogenetische informatie)

Nomenclatuur

Binominaal systeem (Carl Linnaeus)

Naam: Genus species



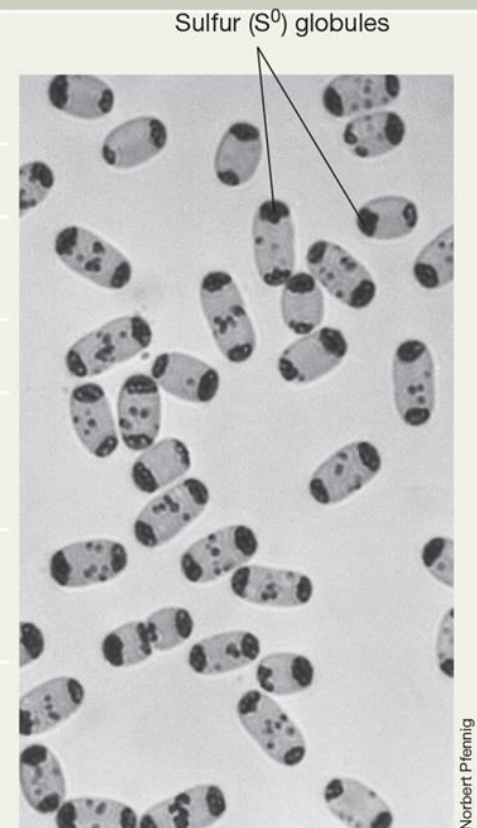
Voorbeeld: *Escherichia coli*

Wetenschappelijke tekst: één keer volledige naam noemen. Daarna mag je het genus afkorten (*E. coli*).

Taxonomy

Classificeren van organismen (in groepen met vergelijkbare organismen)

Taxon	Name	Properties	Confirmed by
Domain	<i>Bacteria</i>	Bacterial cells; rRNA gene sequences typical of <i>Bacteria</i>	Microscopy; 16S rRNA gene sequence analysis; presence of unique biomarkers, for example, peptidoglycan
Phylum	<i>Proteobacteria</i>	rRNA gene sequence typical of <i>Proteobacteria</i>	16S rRNA gene sequence analysis
Class	<i>Gammaproteobacteria</i>	Gram-negative bacteria; rRNA sequence typical of <i>Gammaproteobacteria</i>	Gram-staining, microscopy
Order	<i>Chromatiales</i>	Phototrophic purple bacteria	Characteristic pigments ► Figures 14.6, 14.7, and 14.13)
Family	<i>Chromatiaceae</i>	Purple sulfur bacteria	Ability to oxidize H_2S and store S^0 within cells; microscopic observation of S^0 (see photo); 16S rRNA gene sequence
Genus	<i>Allochromatium</i>	Rod-shaped purple sulfur bacteria; <95% 16S rRNA gene sequence identity with other genera	Microscopy (see photo)
Species	<i>warmingii</i>	Cells $3.5\text{--}4.0\text{ }\mu\text{m} \times 5\text{--}11\text{ }\mu\text{m}$; storage of sulfur mainly in poles of cell (see photo); <97% 16S rRNA gene sequence identity with other species	Cell size measured microscopically with a micrometer; observation of polar position of S^0 globules (see photo); 16S rRNA gene sequence

Cells of *A. warmingii*

Species

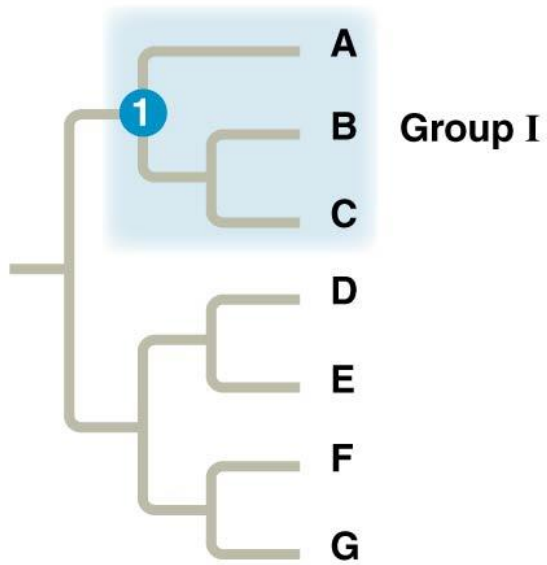
Taxonomische categorie die een groep individuen beschrijft. Groep is:

- monofyletisch (zelfde gemeenschappelijke voorouder)
- genomisch coherent
- fenotypisch coherent
- duidelijk anders dan andere species

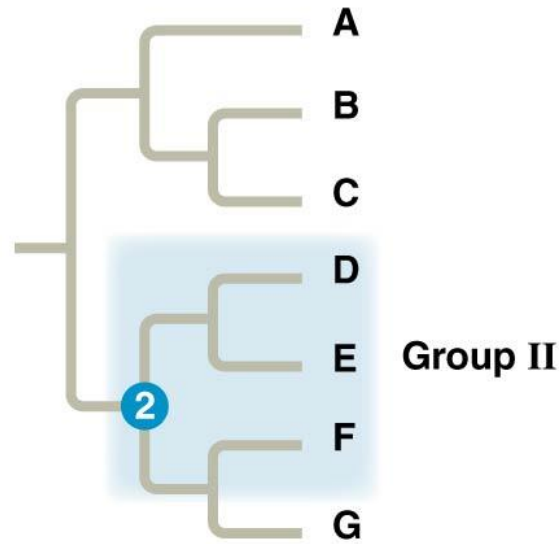
Beschrijving van microbiële soorten op basis van een *polyphasic approach* (fenotypische, genotypische en fylogenetische informatie)

Een species is monofyletisch

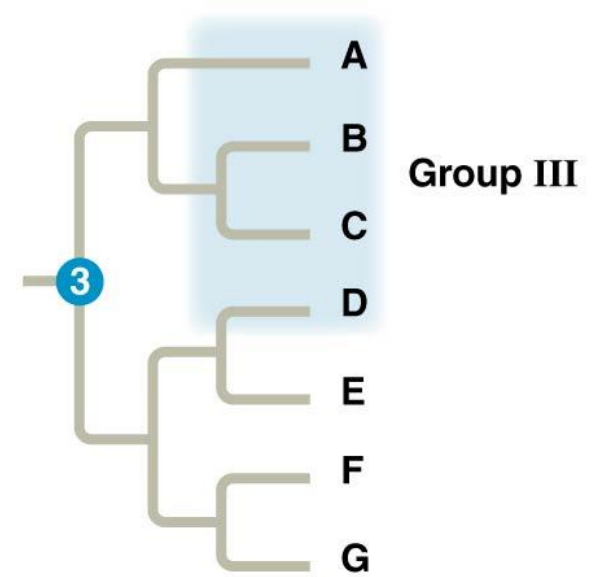
(a) Monophyletic group (clade)



(b) Paraphyletic group



(c) Polyphyletic group



© 2014 Pearson Education, Inc.

SSU rRNA gen en taxonomische rang

SSU rRNA genen:

- Zelfde soort meestal >98.6% sequence similarity
- Verschillende soorten meestal <97% sequence similarity

Voor hogere rangen (nog) geen vastgestelde cut-off, maar:

- Genus ~ 95% similarity
- Familie ~ 92% similarity
- Order ~ 89% similarity
- Klasse ~ 86% similarity
- Phylum ~ 83% similarity

Multilocus sequence typing (MLST)

SSU rRNA genen soms niet geschikt voor nauw verwante soorten

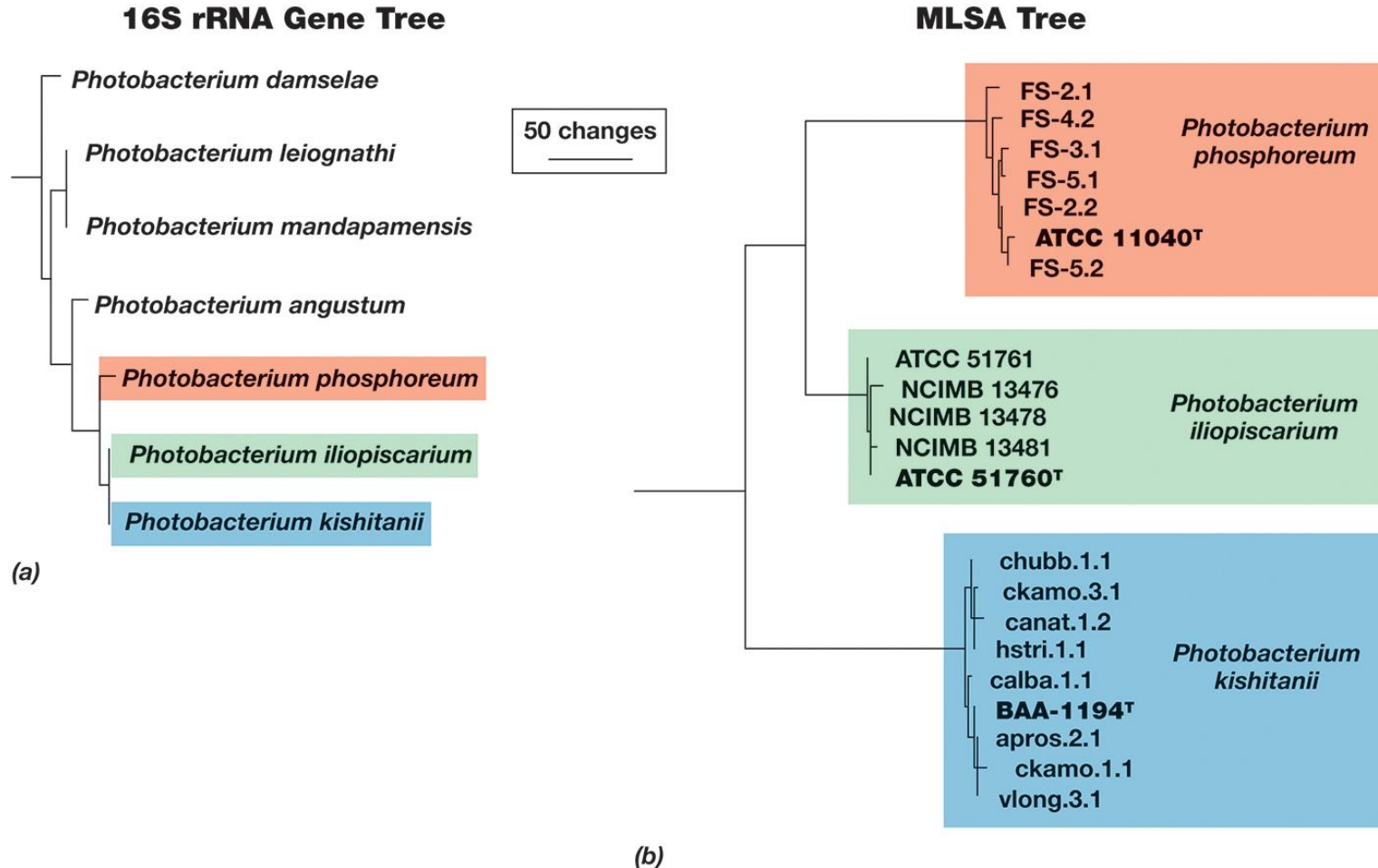
Eiwit-coderende genen: mutaties accumuleren sneller

MLST: analyse van meerdere (4 tot meer dan 1000!) geconserveerde ‘**housekeeping genes**’ (b.v. *recA*, *gyrA*)

Te gevoelig om soorten in hogere taxa dan ‘soorten’ in te delen

Toepassing in b.v. klinische microbiologie en epidemiologie

Multilocus sequence typing (MLST)



Figuur 13.32

Genoom analyse

Steeds vaker analyse van het hele genoom voor identificatie en beschrijving van micro-organismen.

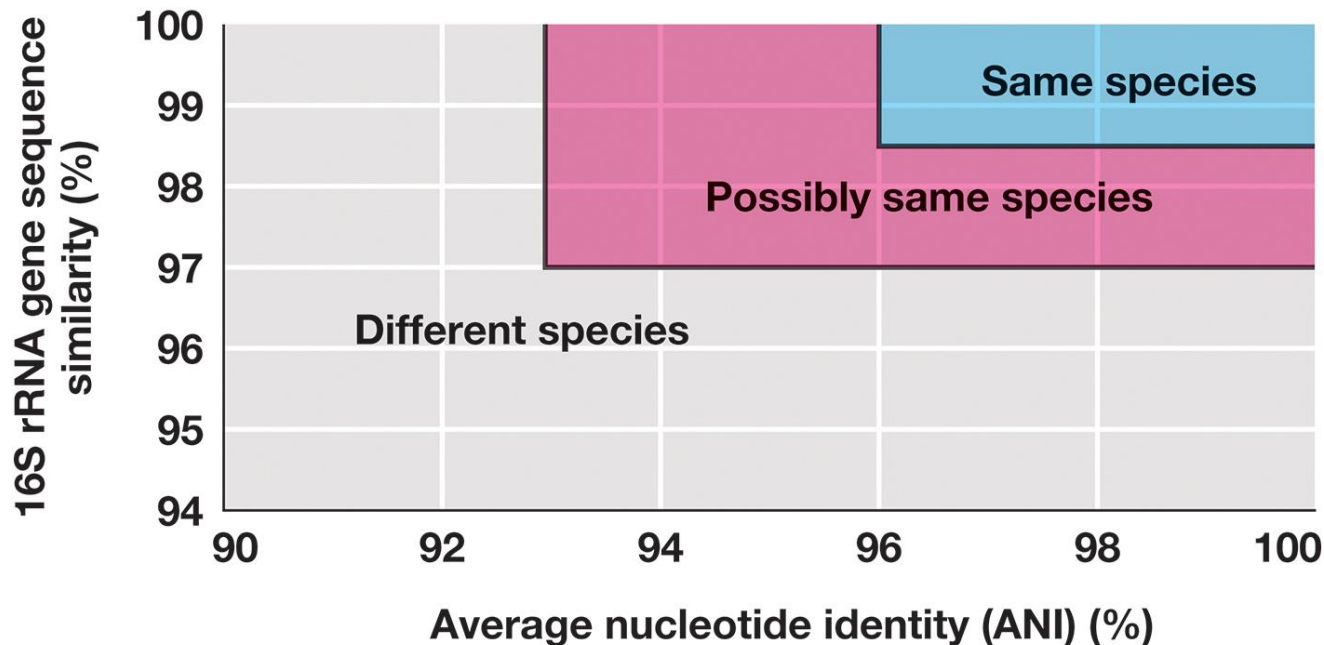
Inzicht in evolutionaire relaties b.v. op basis van:

- aan-/afwezigheid van genen
- **syntenie** (volgorde van genen in een genoom)
- GC-gehalte

Average nucleotide identity (ANI)

In silico:

- Genoom verdeeld in fragmenten van 1000 bp
- Elk fragment vergeleken met orthologe sequentie in ander genoom
- Berekening gemiddelde nucleotide identity



Figuur 13.31

Taxonomie: fenotypische analyse

Category	Characteristics
Morphology	Colony morphology; Gram reaction; cell size and shape; pattern of flagellation; presence of spores, inclusion bodies (e.g., PHB, ^a glycogen, or polyphosphate granules, gas vesicles, magnetosomes); capsules, S-layers, or slime layers; stalks or appendages; fruiting body formation
Motility	Nonmotile; gliding motility; swimming (flagellar) motility; swarming; motile by gas vesicles
Metabolism	Mechanism of energy conservation (phototroph, chemoorganotroph, chemolithotroph); utilization of individual carbon, nitrogen, or sulfur compounds; fermentation of sugars; nitrogen fixation; growth factor requirements
Physiology	Temperature, pH, and salt ranges for growth; response to oxygen (aerobic, facultative, anaerobic); presence of catalase or oxidase; production of extracellular enzymes
Cell lipid chemistry	Fatty acids; polar lipids; respiratory quinones
Cell wall chemistry	Presence or absence of peptidoglycan; amino acid composition of cross-links; presence or absence of cross-link interbridge
Other traits	Pigments; luminescence; antibiotic sensitivity; serotype; production of unique compounds, for example, antibiotics

^aPHB, poly- β -hydroxybutyric acid (◀ Section 2.7).

Nieuwe soorten beschrijven

International Code of Nomenclature of Prokaryotes (Prokaryotic Code)

Formele validatie

- Publicatie (gedetailleerde beschrijving) in peer reviewed journal (b.v. the *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *IJSEM*)
- Levensvatbare reincultures in ten minste twee culture collecties

Type strain:

- vertegenwoordigt een soort
- opgenomen in een culture collectie

Naamgeving: <https://lpsn.dsmz.de/>

Naamgeving

<https://lpsn.dsmz.de/>

Prokaryotic Code: alleen officiële naam wanneer de soort volledig gevalideerd is.

Voorlopige naam (beginnend met *Candidatus*) wanneer een organisme wel gekarakteriseerd is, maar nog niet in een reinculture gekweekt.

Fictief voorbeeld: *Candidatus* Hanzebacter ubiqua

Operational taxonomic unit (OTU)

cluster van (niet-gekweekte of onbekende) organismen, gegroepeerd op basis van DNA sequence similarity van een taxonomische marker

soort-achtige eenheid van diversiteit met >97% sequence similarity

B.v. op basis van SSU rRNA

Ribosomal Database Project (RDP; <http://rdp.cme.msu.edu/>)

Alle figuren in deze PowerPoint zijn eigen werk of afkomstig uit Brock Biology of Microorganisms (15th or 16th edition, Pearson) tenzij anders vermeld.