

Chương 5:

Tiến hóa và đa dạng vi sinh vật

- 1. Tiến hóa và hệ thống học phân tử vi sinh vật**
- 2. Vi rút**
- 3. Vi khuẩn**
- 4. Vi khuẩn cổ**
- 5. Vi sinh vật nhận thật**

Tiến hóa và hệ thống học phân tử vi sinh vật

Trái đất và sự hình thành các dạng thức ban đầu của sự sống

- Sự hình thành trái đất:
 - + 4,6 tỷ năm trước theo thuyết “big bang”
 - + Xuất hiện các hồ lớn, đại dương khoảng 3,86 tỷ năm trước
- Bằng chứng sự hiện diện của vi sinh vật: các lớn sinh khối vi sinh vật dạng sợi (stromatolite) hóa thạch cổ
- Đặc điểm hóa lý của trái đất sơ khai:
 - + Không có O_2 , H_2O , CH_4 , CO_2 , N_2 , NH_3 , CO , H_2 , H_2S , FeS , HCN
 - + Trên $100^\circ C$
- Nguồn gốc sự sống:
 - + Các chất hữu cơ đơn chất được hình thành bằng các phản ứng quang hóa
 - + Các đại phân tử được hình thành do phản ứng loại phân tử nước trên bề mặt khô của các giá thể vô cơ (FeS_2 , đất sét)
 - + Các phân tử hữu cơ rất bền, không bị ôxi hóa



Tiến hóa về mã di truyền ở tế bào nguyên thủy

- **Dạng sống sơ khai: RNA và một vài protein**
- **Dạng sống RNA:**
 - + **Giai đoạn sớm của dạng sống RNA: RNA có chức năng sao mã và một vài chức năng xúc tác cần thiết**
 - + **Giai đoạn tế bào RNA: RNA được bao bọc bởi một túi lipoprotein**
 - + **Giai đoạn muộn của dạng sống RNA: tính chuyên biệt xúc tác của RNA không cao, yêu cầu tăng dần về tính phức tạp trong cấu trúc tế bào đã hình thành áp lực chọn lọc protein làm xúc tác thay cho RNA**
- **Dạng sống DNA: được tiến hóa do DNA có ưu điểm hơn RNA**
 - + **Sao mã bởi DNA có độ chính xác cao hơn RNA**
 - + **DNA có tính bền cao đáp ứng nhu cầu dự trữ thông tin**
 - + **Hình thành hệ thống thông tin nội bào: DNA → RNA → protein**



Sterile Earth



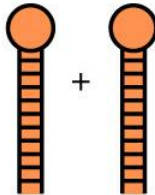
Prebiotic syntheses
(proteins and RNA
made abiotically)



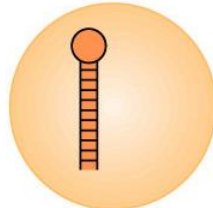
RNA



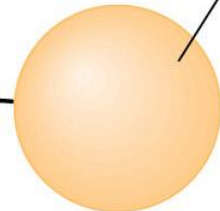
**Self-replicating
RNAs**



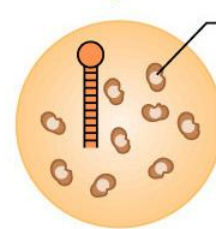
Early cellular life
(RNA as coding and
catalytic molecule)



Lipoprotein
vesicle



**The
RNA World**



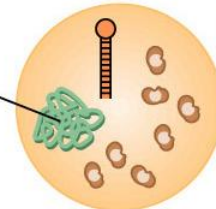
Protein

**Proteins assume catalytic
functions** (RNA only as
coding molecule)



**Evolution of DNA
from RNA**

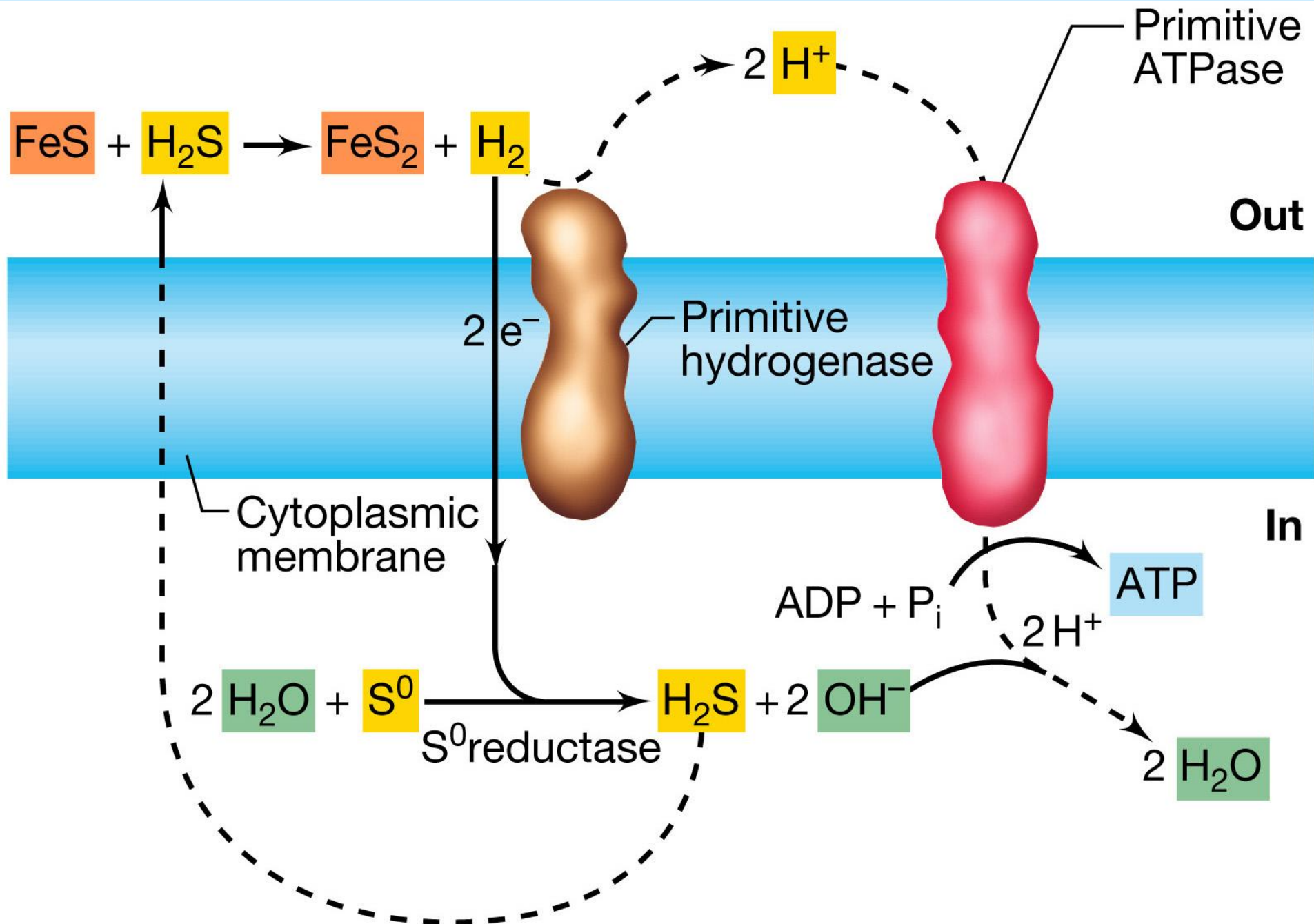
DNA



Modern cellular life
(DNA replaces RNA as
coding molecule leading to
DNA → RNA → Protein)

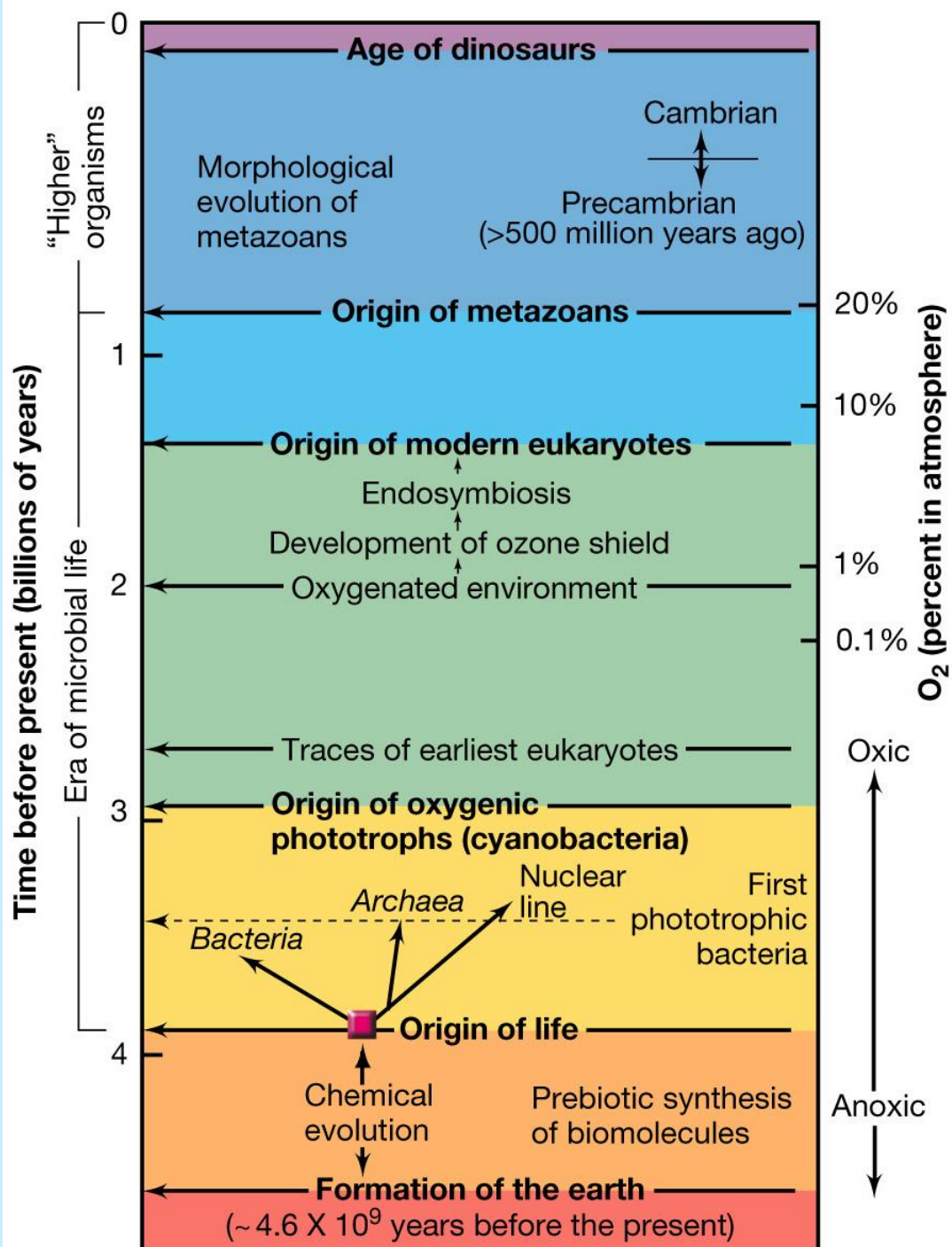
Biến dưỡng ở tế bào nguyên thủy

- Tế bào nguyên thủy cần có phương thức đơn giản để thu nhận năng lượng
- Hóa năng vô cơ kỵ khí:
 - + Dùng H_2S và FeS dồi dào trên bề mặt trái đất làm chất cho và nhận điện tử
 - + Ba enzyme hydrogenase, S^0 reductase và ATPase
- Nguồn C:
 - + Giả thuyết dị dưỡng C: sử dụng các chất hữu cơ dồi dào của trái đất
 - + Giả thuyết tự dưỡng C: Aquifex nằm ở gốc của cây phát sinh loài, có bộ gen rất nhỏ nhưng có khả năng tự dưỡng



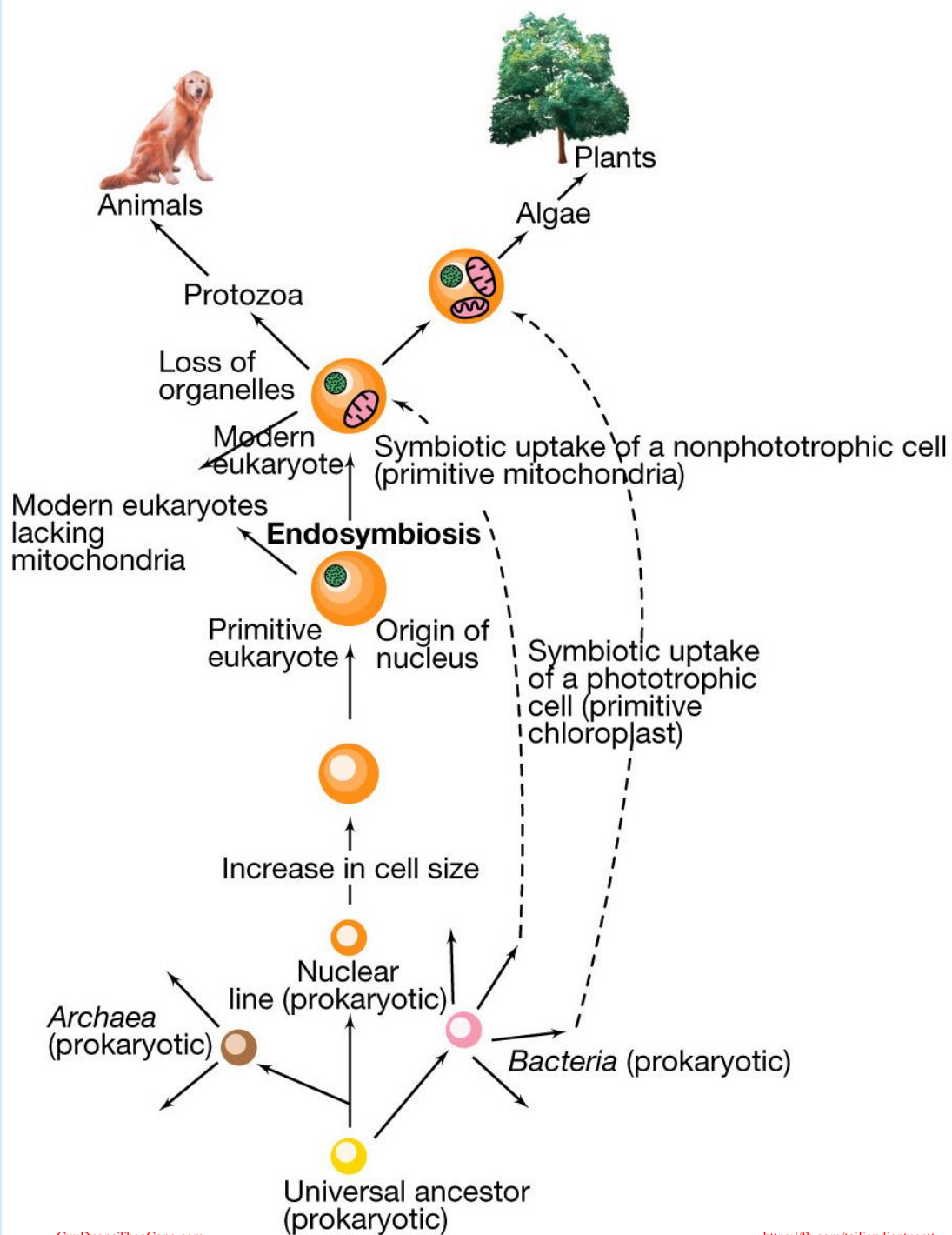
Tiến hóa của các phương thức biến dưỡng năng lượng

- Phương thức hóa năng vô cơ kỵ khí
- Hình thành vòng porphyrin, cytochrome
- Hô hấp kỵ khí (chất cho điện tử vô cơ và hữu cơ)
- Hình thành chlorophyll và phương thức quang năng không sinh ôxi (quang năng)
- Phương thức quang năng sinh ôxi
- Phương thức hóa năng hữu cơ, vô cơ hiếu khí
- Hình thành tầng O₃ và sự tiến hóa của sinh vật trên cạn



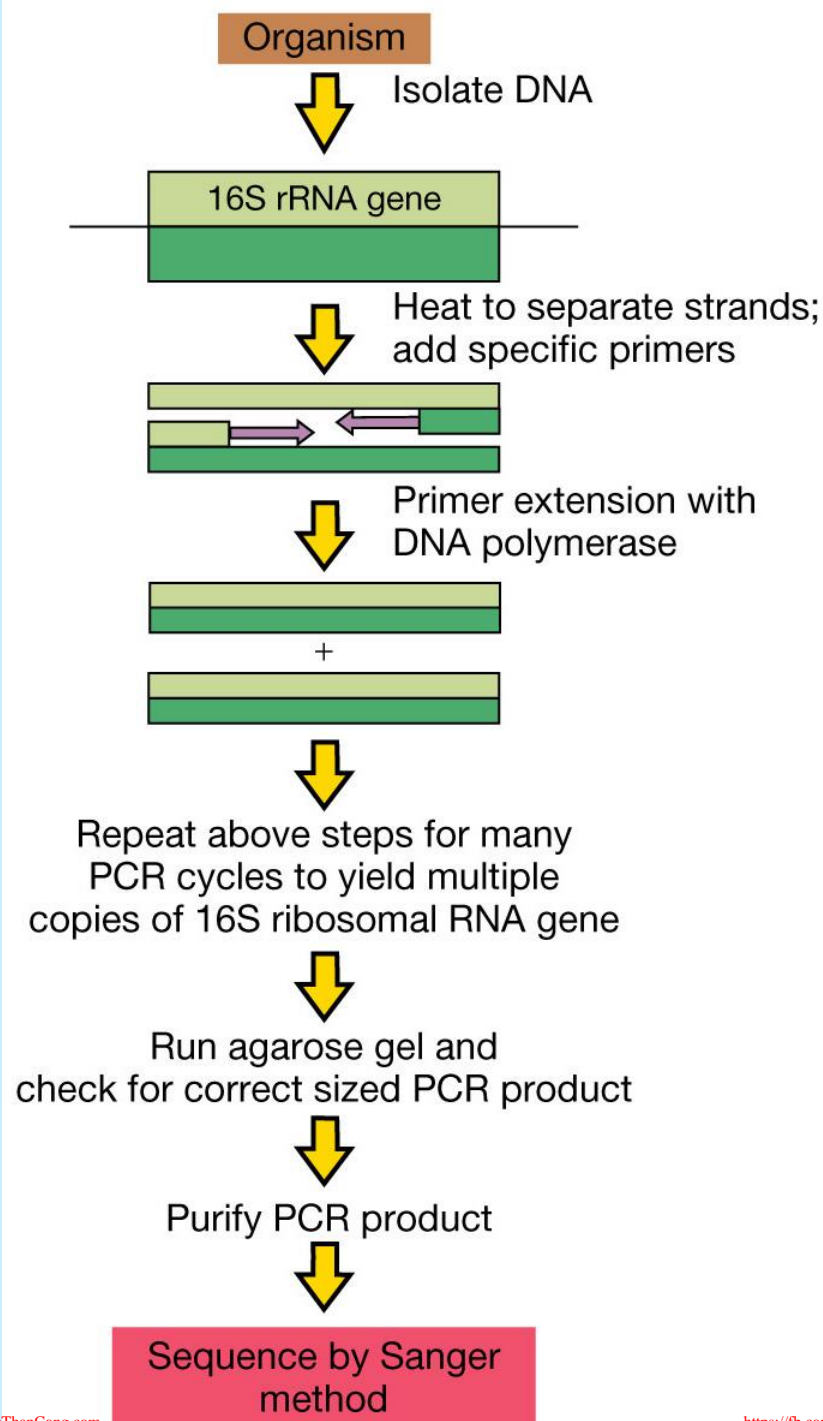
Sự hình thành tế bào nhân thật

- Sự hình thành nhân và hệ thống phân bào:
 - + Tổ chức bộ gen theo phương thức phân đoạn để quản lý dung lượng lớn thông tin di truyền
 - + Đảm bảo sự sao mã và phân chia trật tự bộ gen từ tế bào mẹ sang tế bào con
 - + Tạo nguồn đột biến tái tổ hợp phong phú
- Ti thể: nội cộng sinh (endosymbiont) của tế bào tiền nhân có phương thức biến dưỡng hô hấp hiếu khí
- Lục lạp: nội cộng sinh của tế bào tiền nhân có phương thức biến dưỡng quang năng sinh ôxi



Thước đo tiến hóa

- Nguyên tắc xác định quan hệ tiến hóa: hai vi sinh vật có cùng tổ tiên chung, có một đại phân tử có cùng chức năng thì nếu thời gian kể từ khi chúng tách khỏi tổ tiên chung càng dài thì số lượng các base khác biệt trên đại phân tử càng lớn
- Thước đo tiến hóa (evolution chronometer): đại phân tử hiện diện rộng rãi trong sinh vật, có cùng chức năng và không tiến hóa quá nhanh
- Phân tử rRNA 16S, 18S (small subunit rRNA, SSU rRNA) là thước đo tiến hóa:
 - + Hiện diện trong tất cả vi sinh vật, có chức năng không đổi
 - + Dễ dàng phân tích trình tự
 - + Có những vùng trình tự tiến hóa nhanh và những vùng thay đổi chậm hơn nên có thể được sử dụng để xác định tương quan tiến hóa giữa hai loại cách nhau rất xa cũng như giữa hai loài rất gần nhau.

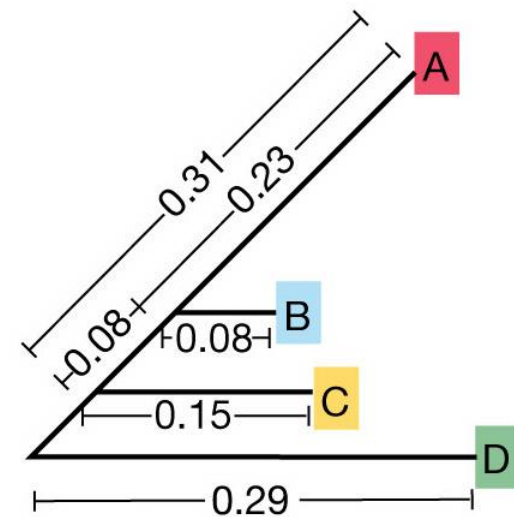


Organism	Sequence	Analysis
A	C G U A G A C C U G A C	For A \rightarrow B, three differences occur out of a total of twelve; thus $\frac{3}{12} = 0.25$
B	C C U A G A G C U G G C	
C	C C A A G A C G U G G C	
D	G C U A G A U G U G C C	

(a) Sequence alignment and analysis

Evolutionary distance	Corrected evolutionary distance
E_D A \rightarrow B 0.25	0.30
E_D A \rightarrow C 0.33	0.44
E_D A \rightarrow D 0.42	0.61
E_D B \rightarrow C 0.25	0.30
E_D B \rightarrow D 0.33	0.44
E_D C \rightarrow D 0.33	0.44

(b) Calculation of evolutionary distance



(c) Phylogenetic tree

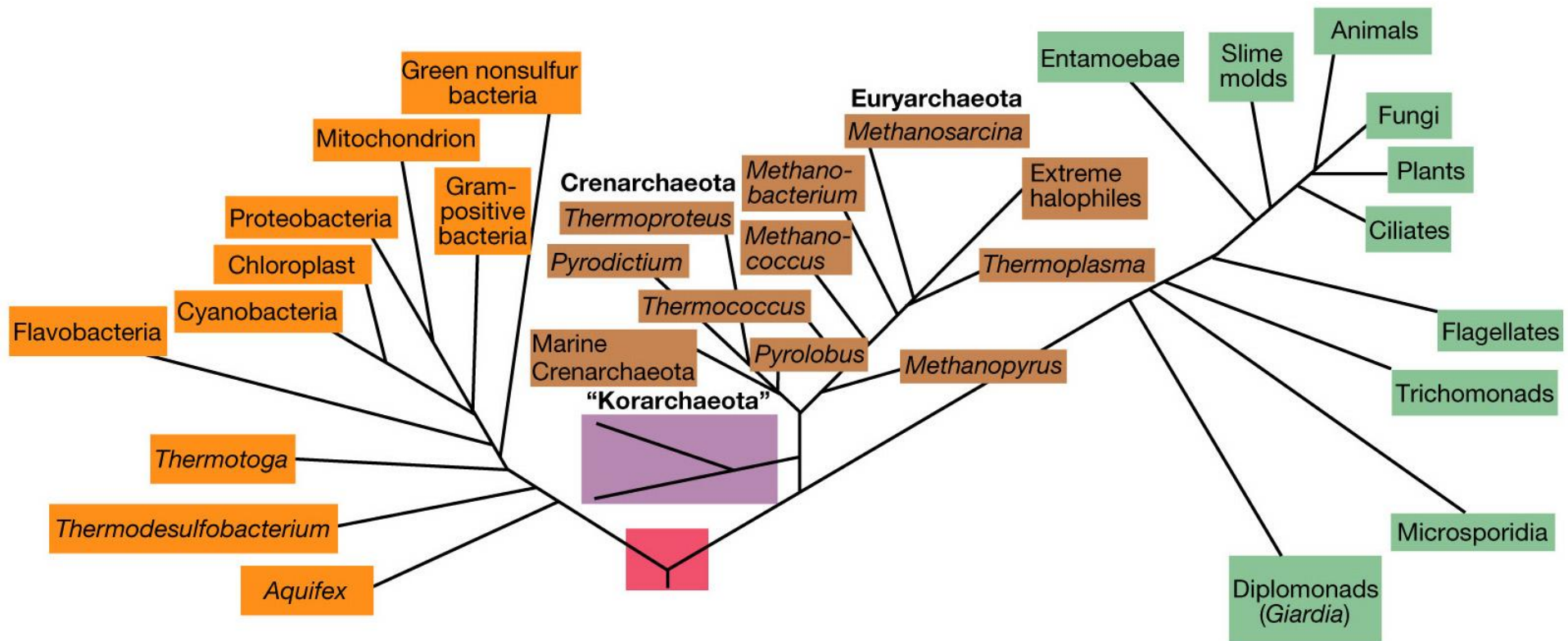
Tiến hóa của tế bào dựa trên các trình tự rRNA

- Cây phát sinh loài (phylogenetic tree) xây dựng từ các trình tự RNA 16S dựa trên những khác biệt về trình tự của từng cặp sinh vật
- Hơn 489.840 trình tự SSU rRNA trong một cơ sở dữ liệu gọi là Ribosomal Database Project (RDP, <http://www.cme.msu.edu>)
- Các dữ liệu từ sự phân tích các trình tự rRNA cho phép xây dựng được cây phát sinh loài

Bacteria

Archaea

Eukarya



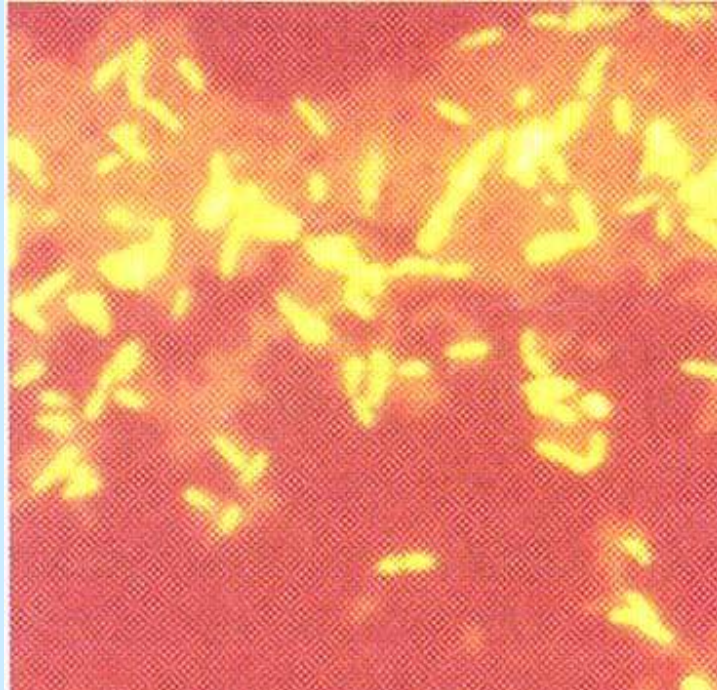
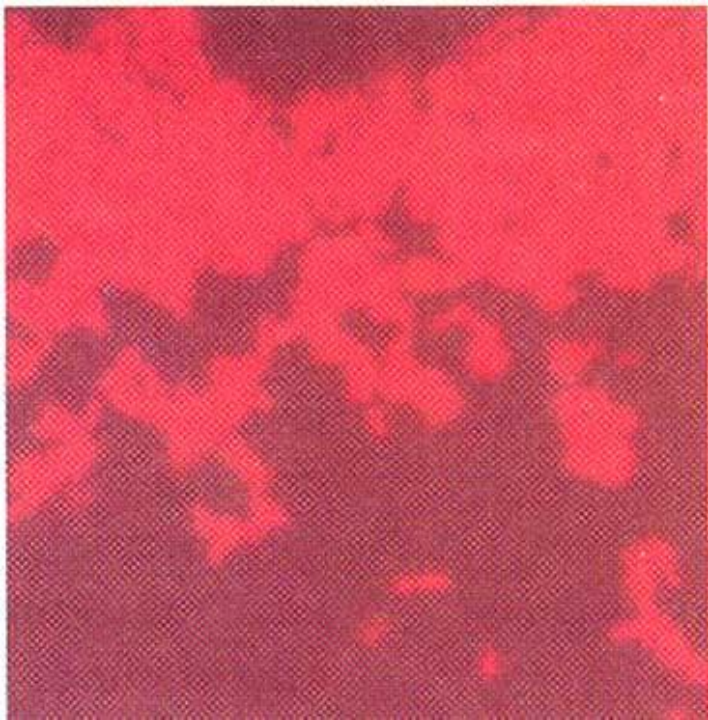
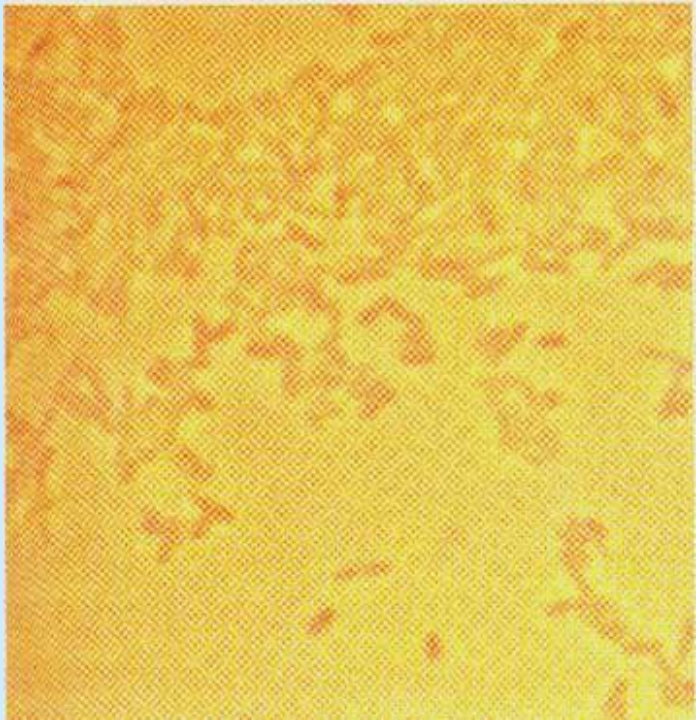
Ứng dụng của tiến hóa học phân tử

1. Các trình tự nhận diện (signature sequence) chuyên biệt cho từng giới, cho một nhóm chuyên biệt trong giới, một giống, một loài rất hữu dụng trong việc nhận diện, định danh một vi sinh vật mới

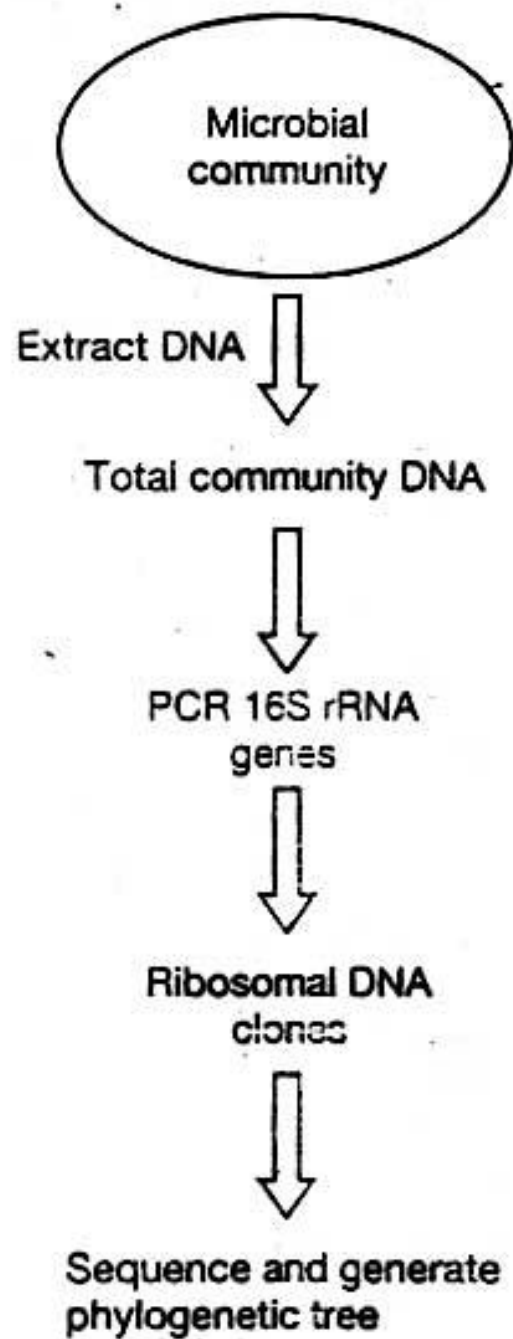
- Các trình tự nhận diện được tổng hợp, đánh dấu bằng chất huỳnh quang và dùng để phát hiện chuyên biệt vi sinh vật, được gọi là mẫu dò phát sinh loài

- Kết hợp giữa mẫu dò phát sinh loài và phương pháp lai phân tử (lai *in-situ*, có thể xác định trực tiếp chủng thuần hay thành phần của quần xã vi sinh vật hiện diện trong một mẫu tự nhiên: kỹ thuật lai *in-situ* huỳnh quang FISH (fluorescence *in-situ* hybridization))

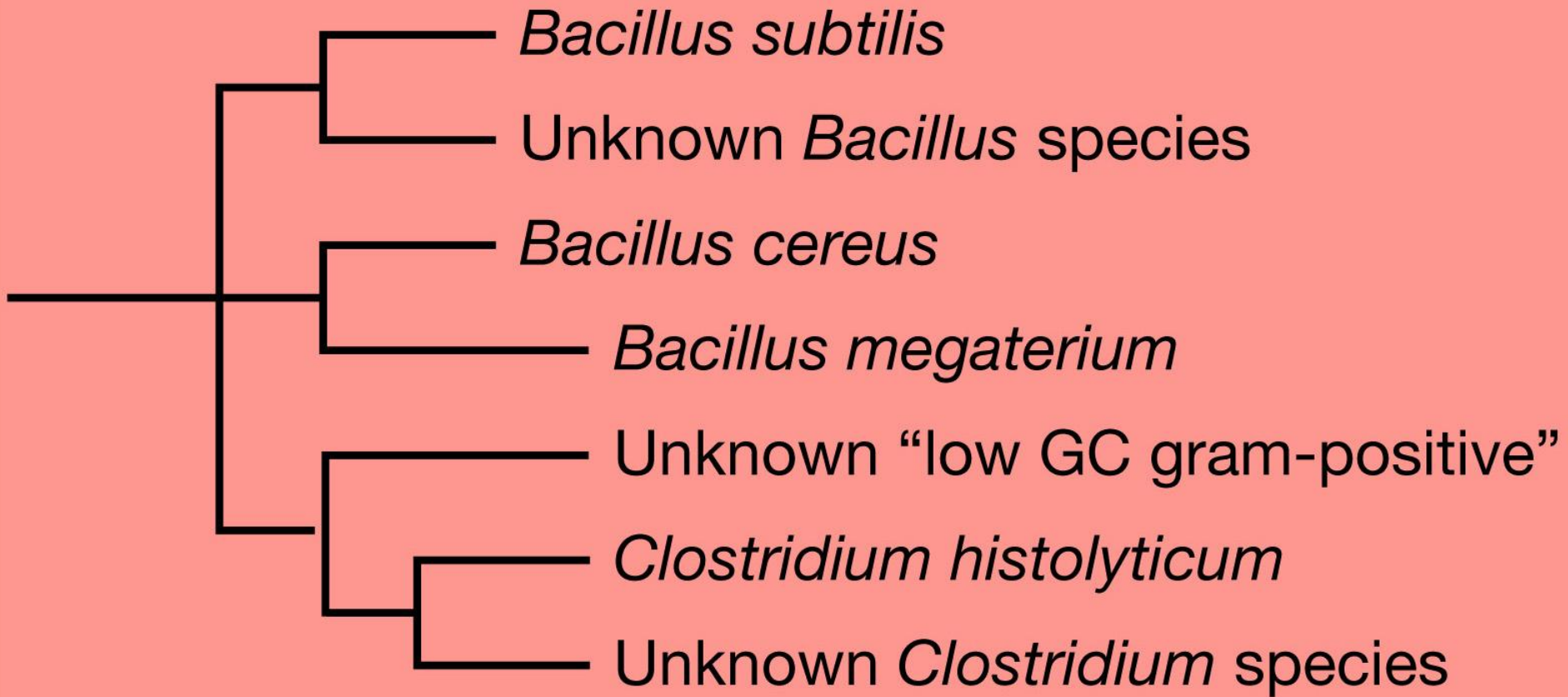
2. Kỹ thuật giải trình tự rRNA được dùng trong sinh thái học vi sinh vật để phân tích thành phần các quần xã vi sinh vật mà không cần phân lập, nuôi cấy chủng vi sinh vật



- Metagenome (đa bộ gen)
- Taxonomy (phân loại học)
- Systematics (hệ thống học)



(a)



(b)

Một số đặc trưng kiểu hình của các giới

- Vách tế bào: peptidoglycan (Bacteria), glycoprotein (Archea), cellulose hoặc chitin (Eukarya)
- Thành phần lipid: liên kết ether giữa glycerol và acid béo (Archea), liên kết ester (Bacteria và Eukarya)
- Cấu trúc RNA polymerase: một loại RNA polymerase với bốn polypeptid khác nhau (Bacteria), hai loại RNA polymerase, mỗi loại có 8 - 10 polypeptid (Archea). ba loại RNA polymerase, 10 - 12 polypeptid/enzyme (Eukarya)
- Ribosome: 70S (Bacteria và Archea), 80S (Eukarya)
- Aminoacid đầu tiên: formylmethionine (Bacteria), methionine (Archea và Eukarya)
- Tác nhân ức chế sinh tổng hợp protein ở vi khuẩn khác với ở Archea và Eukarya

Isolation of bacterium from
intestine of warm-blooded animal



Obtain pure culture



Gram reaction



Gram-negative



Rod-shaped



Facultative



Ferments lactose,
producing acids
and gas



Perform biochemical tests:
(Positive: indole, methyl red, mucate;
negative: citrate, Voges-Proskauer, H₂S)



Escherichia coli

Phân loại học phân tử

- Dựa trên sự khác biệt ở mức độ phân tử: thành phần GC, phần trăm lai DNA, giải trình tự SSUrNA, vân tay RNA, thành phần lipid
- Thành phần GC: để chứng minh các chủng là không có liên hệ với nhau; hai vi sinh vật có thành phần base khác nhau thì chúng không có liên hệ với nhau
- Phần trăm lai DNA: cho phép định danh một loài mới hoặc xác định mối quan hệ đến mức giống và loài giữa hai vi khuẩn
 - + So sánh phần trăm lai (DNA-DNA) giữa chủng cần khảo sát với một chủng đã biết (chủng chuẩn)
 - + Trên 70% lai: hai chủng cùng loài (khác chủng); trên 20% lai: hai chủng cùng giống; dưới 10%: hai chủng khác giống
- SSUrRNA: xác định tên loài dựa vào cơ sở dữ liệu RDP
- Vân tay RNA (ribotyping): kết hợp cắt giới hạn với lai bằng mẫu dò phát sinh loài
- Thành phần lipid:
 - + Kỹ thuật FAME (fatty acid methyl ester): tách chiết lipid và axit béo từ chủng thuần, tạo dẫn xuất methyl ester, phân tích bằng sắc ký khí GC
 - + Xác định tên loài dựa vào cơ sở dữ liệu

Organism

Prokaryotes

Bacteria

Archaea

Eukaryotes

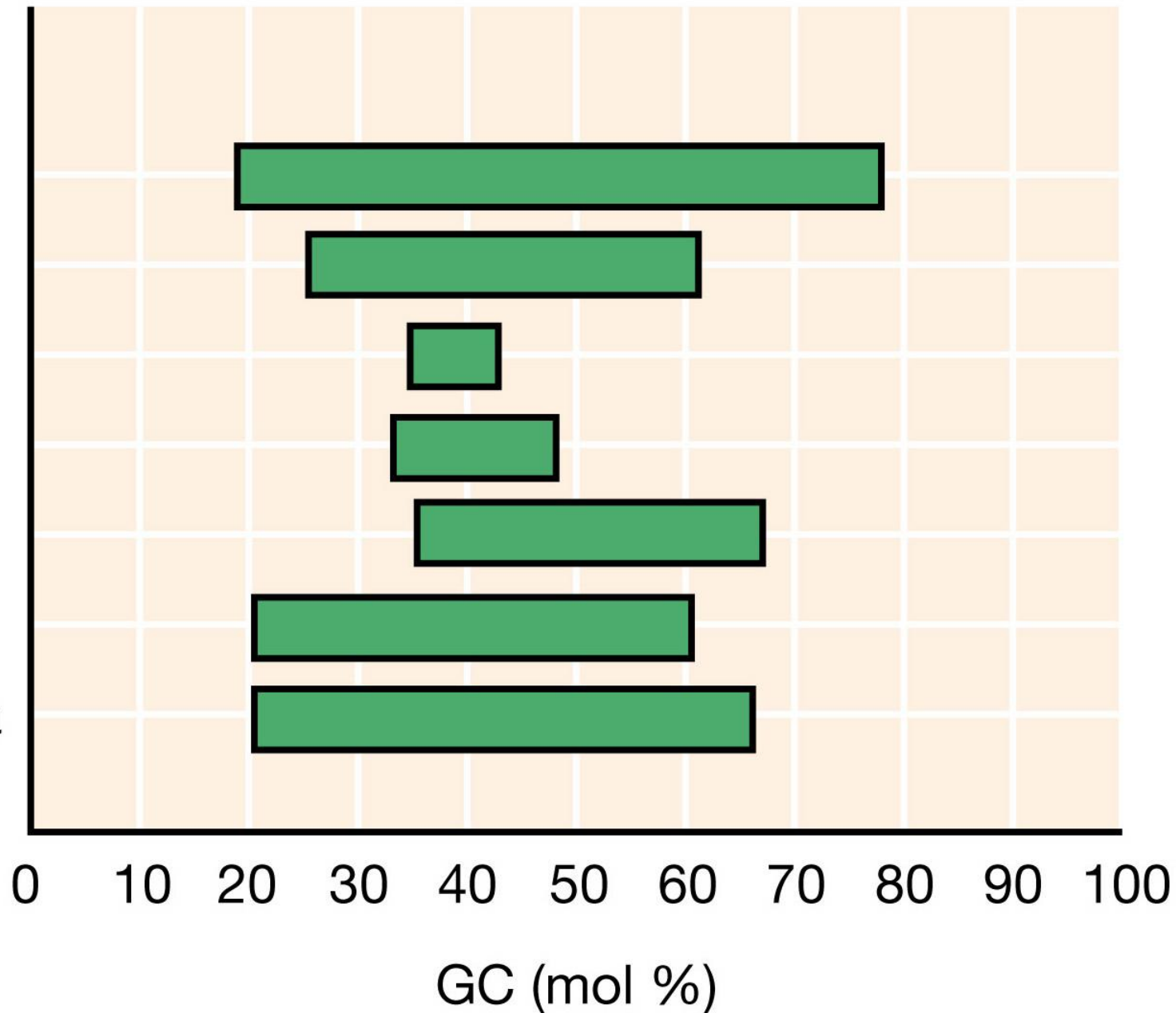
Animals

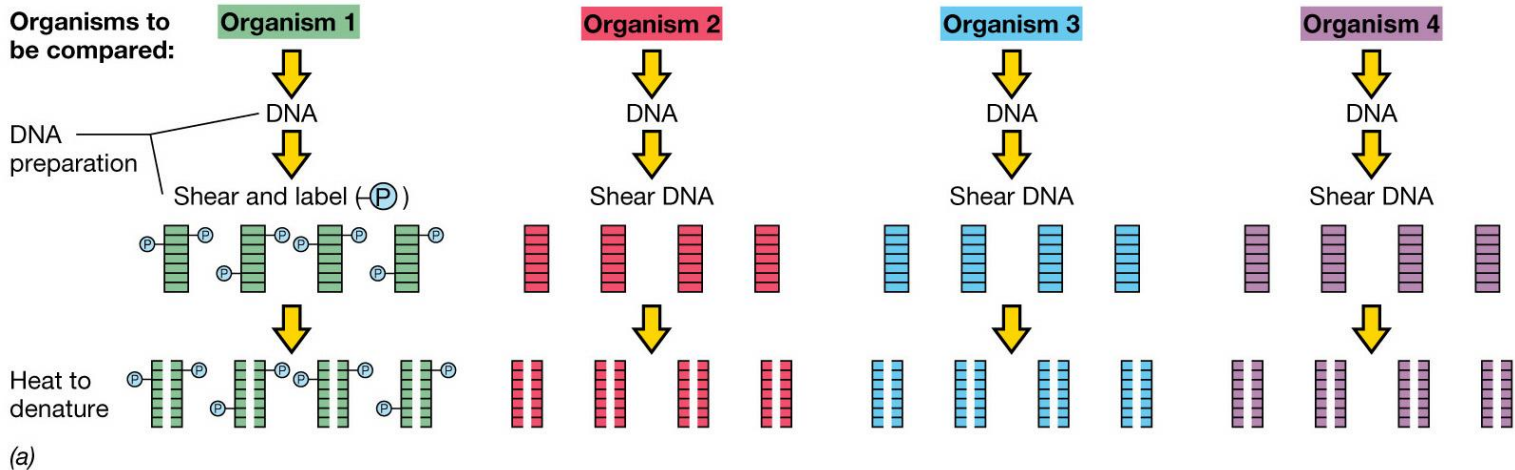
Plants

Algae

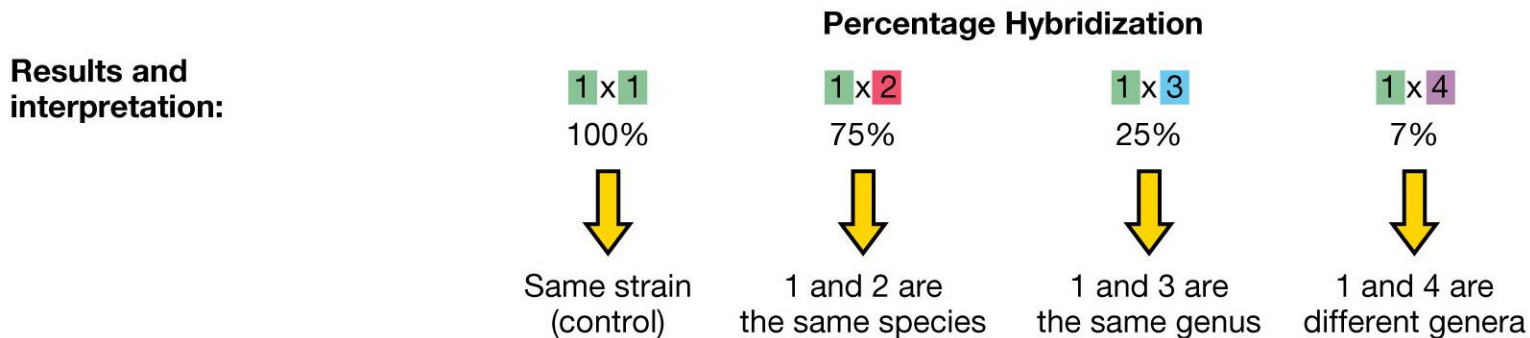
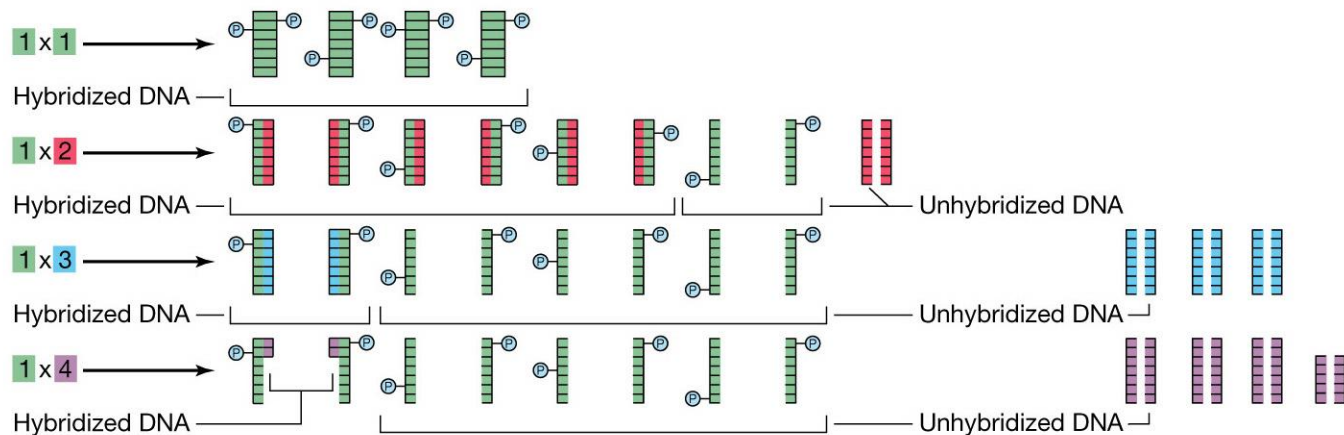
Fungi

Protozoa





Hybridization experiment: Mix DNA from two organisms—unlabeled DNA is added in excess:





Bacterial culture



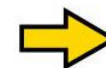
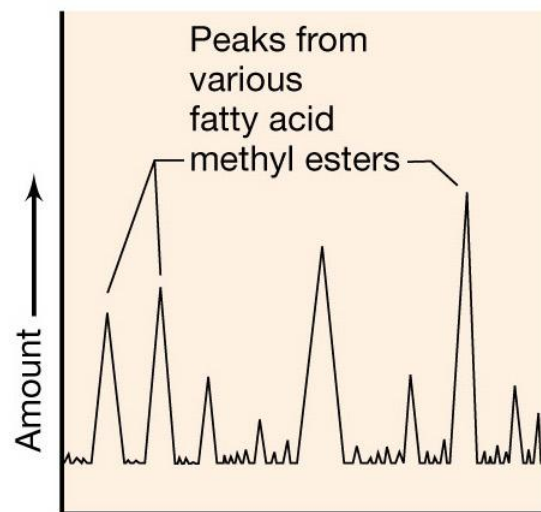
Extract fatty acids



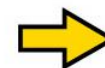
Derivatize to form
methyl esters



Gas chromatography



Compare
pattern of
peaks with
patterns in
database



Identify
organism

(b)

Phân loại học truyền thống và khóa phân loại Bergey

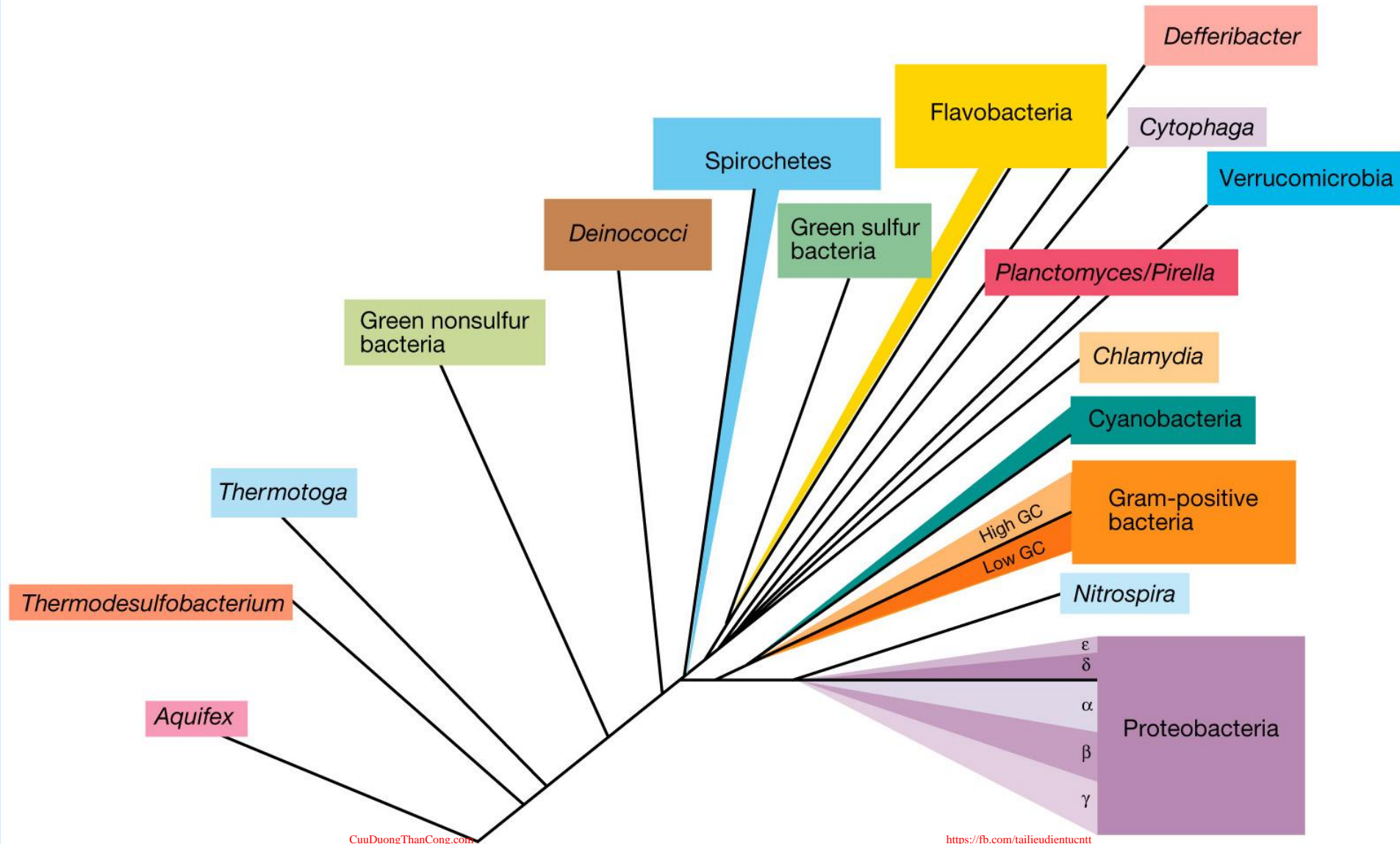
- **Phân loại học vi khuẩn:** sắp xếp các loài vi khuẩn dựa trên các đặc điểm kiểu hình
- **Các bộ sưu tập giống thường lưu giữ các chủng điển hình (type strain)** dùng làm chủng chuẩn có các đặc điểm của loài
- **Các đặc điểm kiểu hình quan trọng:** nhuộm Gram, hình thái tế bào và sự hiện diện của các cấu trúc tế bào như nội bào tử, phản ứng sinh hóa, phản ứng miễn dịch
- **Khóa phân loại Bergey (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology)** gồm các đặc tính kiểu hình dùng để sắp xếp vi khuẩn theo phân loại truyền thống
- **Các bậc phân loại:**
 - + **Dòng (clone):** các tế bào của cùng một quần thể
 - + **Chủng (strain):** các chủng khá đồng nhất về mặt di truyền
 - + **Loài:** các chủng có đặc điểm kiểu hình giống nhau và giống với chủng chuẩn (type strain, type culture)
 - + **Giống (genus), họ (family), bộ (order), lớp (class), ngành (kingdom), giới (domain)**

Virút

Giới Vi khuẩn (Bacteria)

Sự đa dạng của Giới vi khuẩn

Gồm 14 nhánh tiến hóa hình thành 14 ngành (kingdom)



Ngành I: Proteobacteria

Được chia thành 5 phân ngành: α , β , γ , δ , ϵ

- Vi khuẩn tía (Chromatium, Ectothiorhodospira, Rhodobacter, Rhodospirillum)
- Vi khuẩn nitrate hóa (Nitrosomonas, Nitrobacter)
- Vi khuẩn ôxi hóa sắt, lưu huỳnh (Thiobacillus, Beggiatoa)
- Vi khuẩn ôxi hóa hydrogen (Ralstonia, Alcaligenes)
- Vi khuẩn ôxi hóa methane và methyl (Methylomonas, Methylobacter)
- Pseudomonas (Pseudomonas, Burkholderia, Zymomonas, Xanthomonas)
- Vi khuẩn acetic acid (Acetobacter, Gluconobacter)
- Vi khuẩn cố định đạm tự do (Azotobacter, Azomonas)
- Neisseria, Chromobacterium
- Vi khuẩn đường ruột (Escherichia, Salmonella, Proteus, Enterobacter)
- Vibrio và Photobacterium
- Rickettsia (Rickettsia, Coxiella)
- Spirilla (Spirillum, Bdellovibrio, Campylobacter)
- Vi khuẩn áo giáp (Sphaerotillus, Leptothrix)
- Vi khuẩn nảy chồi, có mấu (Hyphomicrobium, Caulobacter)
- Vi khuẩn trượt (Myxococcus, Stigmatella)
- Vi khuẩn khử sulfate (Desulfovibrio, Desulfobacter, Desulfuromonas)

Ngành II: Vi khuẩn gram dương

- GC thấp:

+ không tạo bào tử (Staphylococcus, Micrococcus, Streptococcus, Lactobacillus)

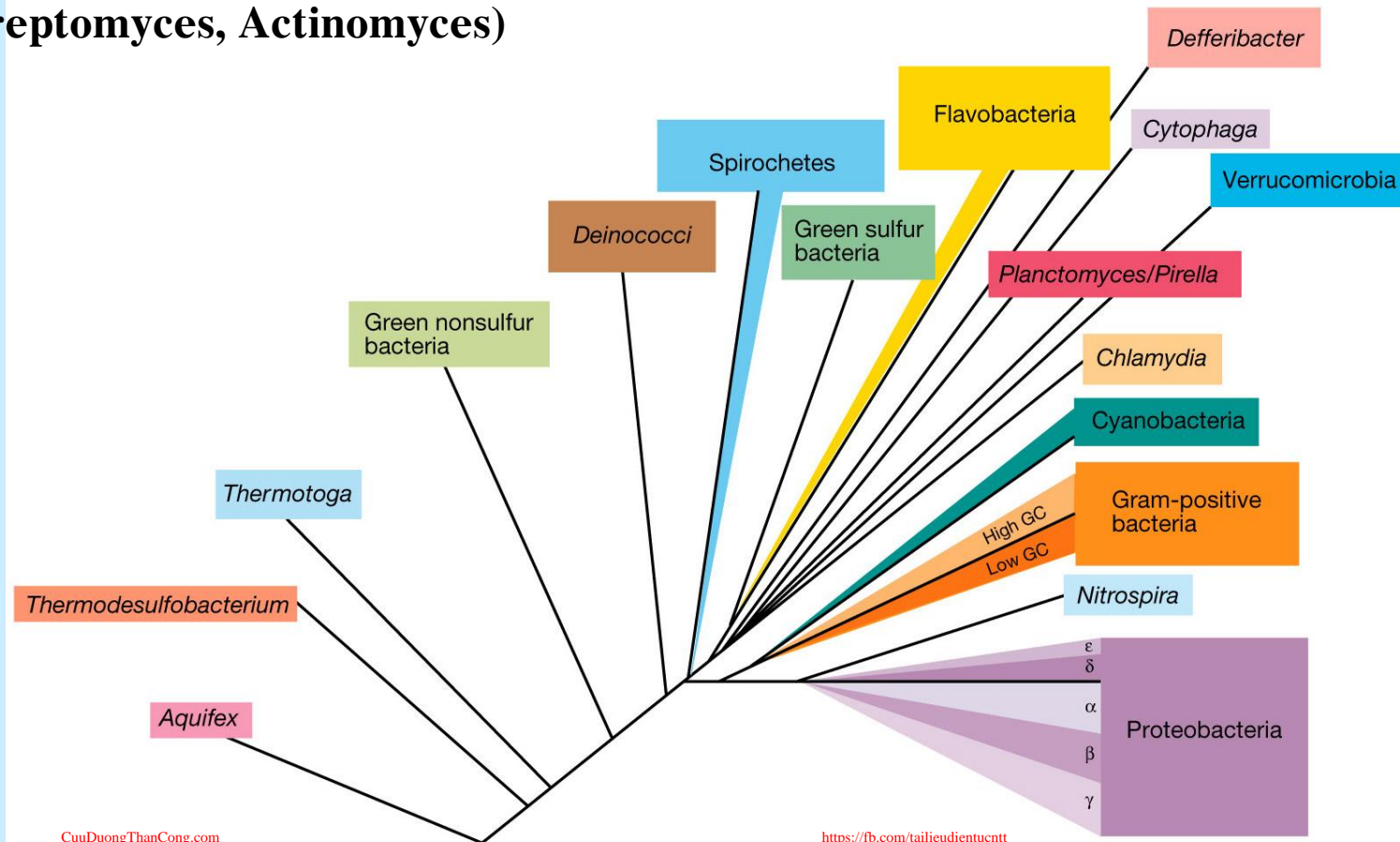
+ tạo bào tử (Bacillus, Clostridium, Sporosarcina, Heliobacterium)

+ không vách (Mycoplasma, Spiroplasma)

- GC cao:

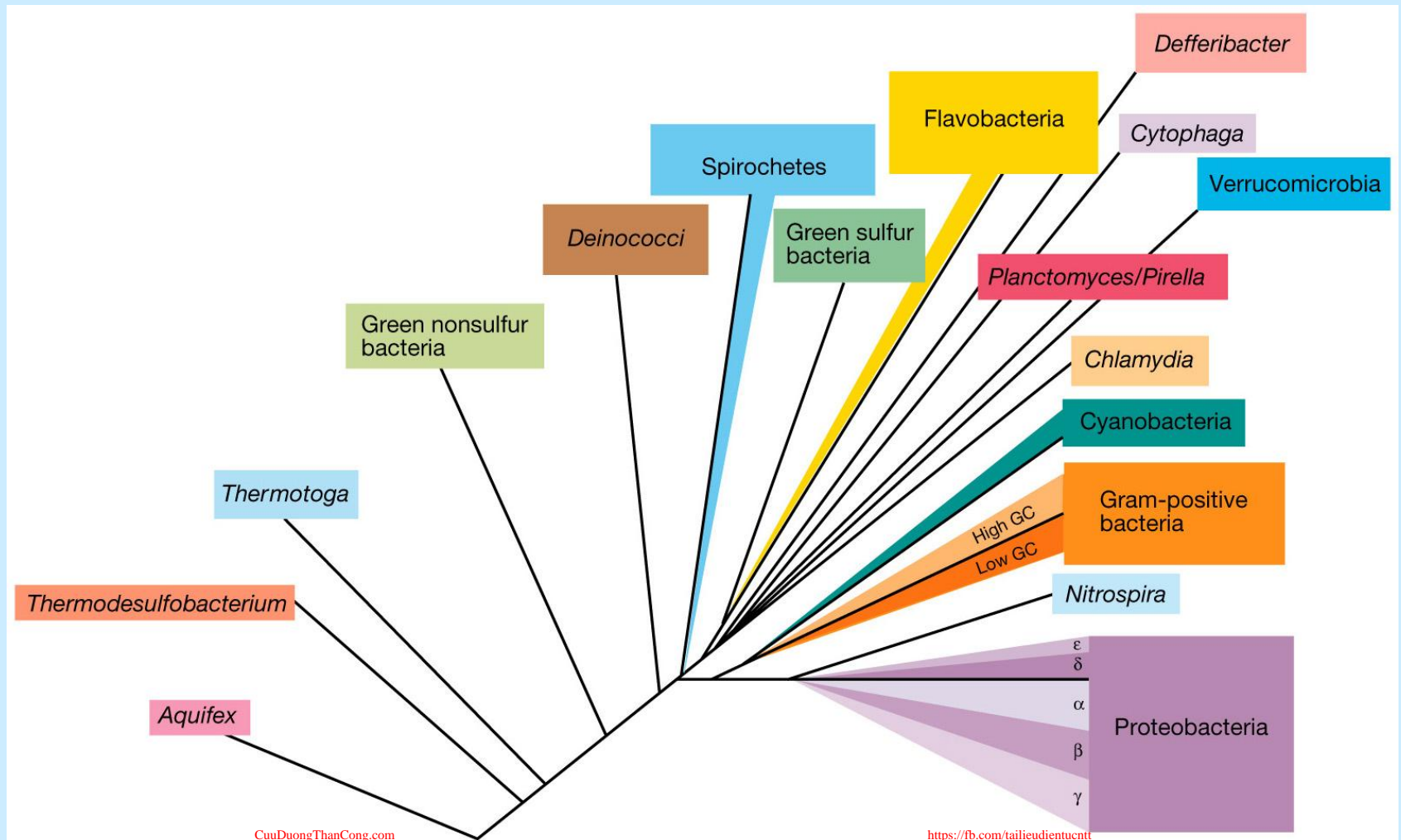
+ đơn bào (Corynebacterium, Anthrobacter, Propionicbacterium, Mycobacterium)

+ dạng sợi (Streptomyces, Actinomyces)



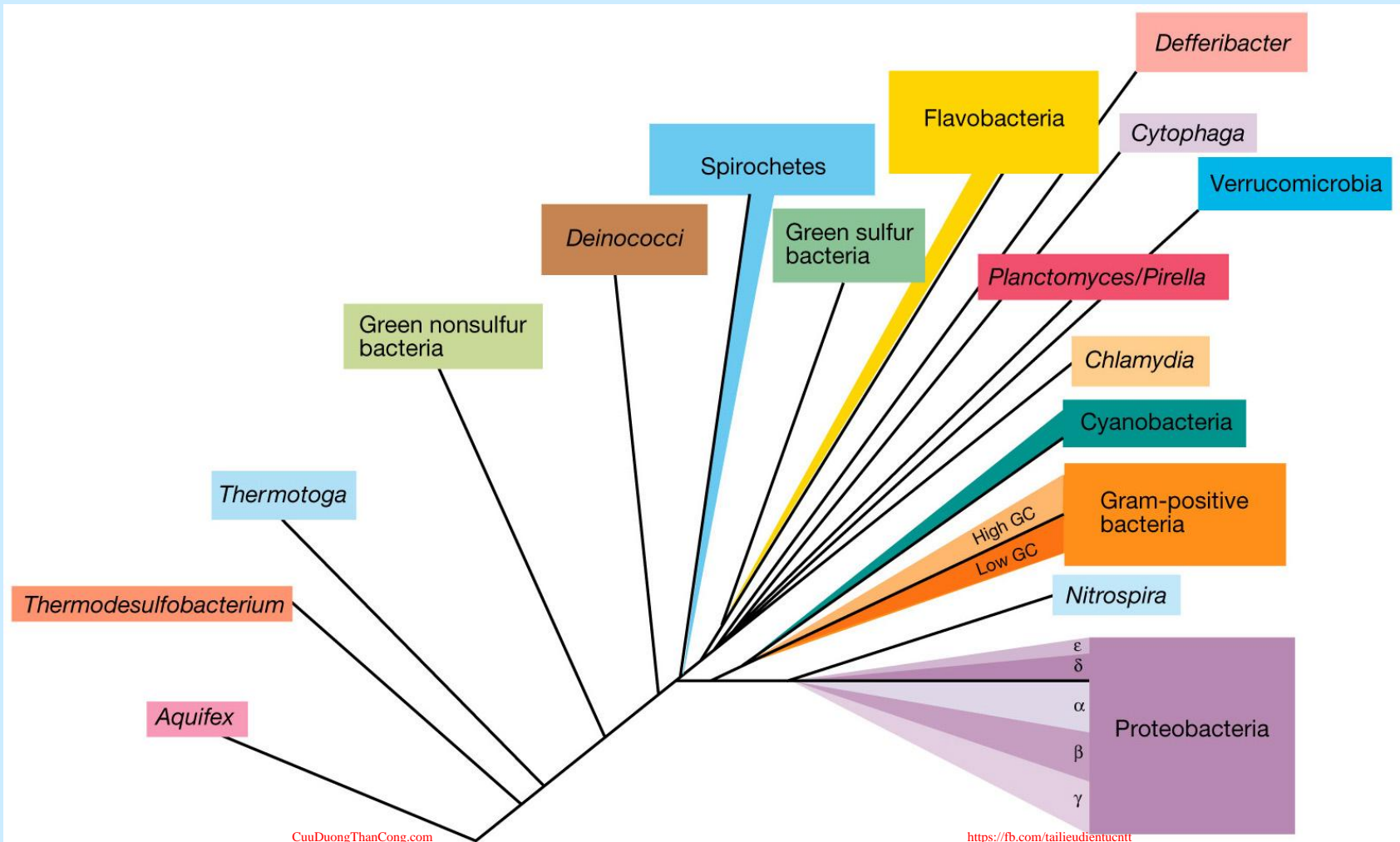
Ngành III: Cyanobacteria, Prochlorophytes

- Vi khuẩn lam (Synechococcus, Oscillatoria, Nostoc)
- Prochlorophyte (Prochloron, Prochlorothrix)



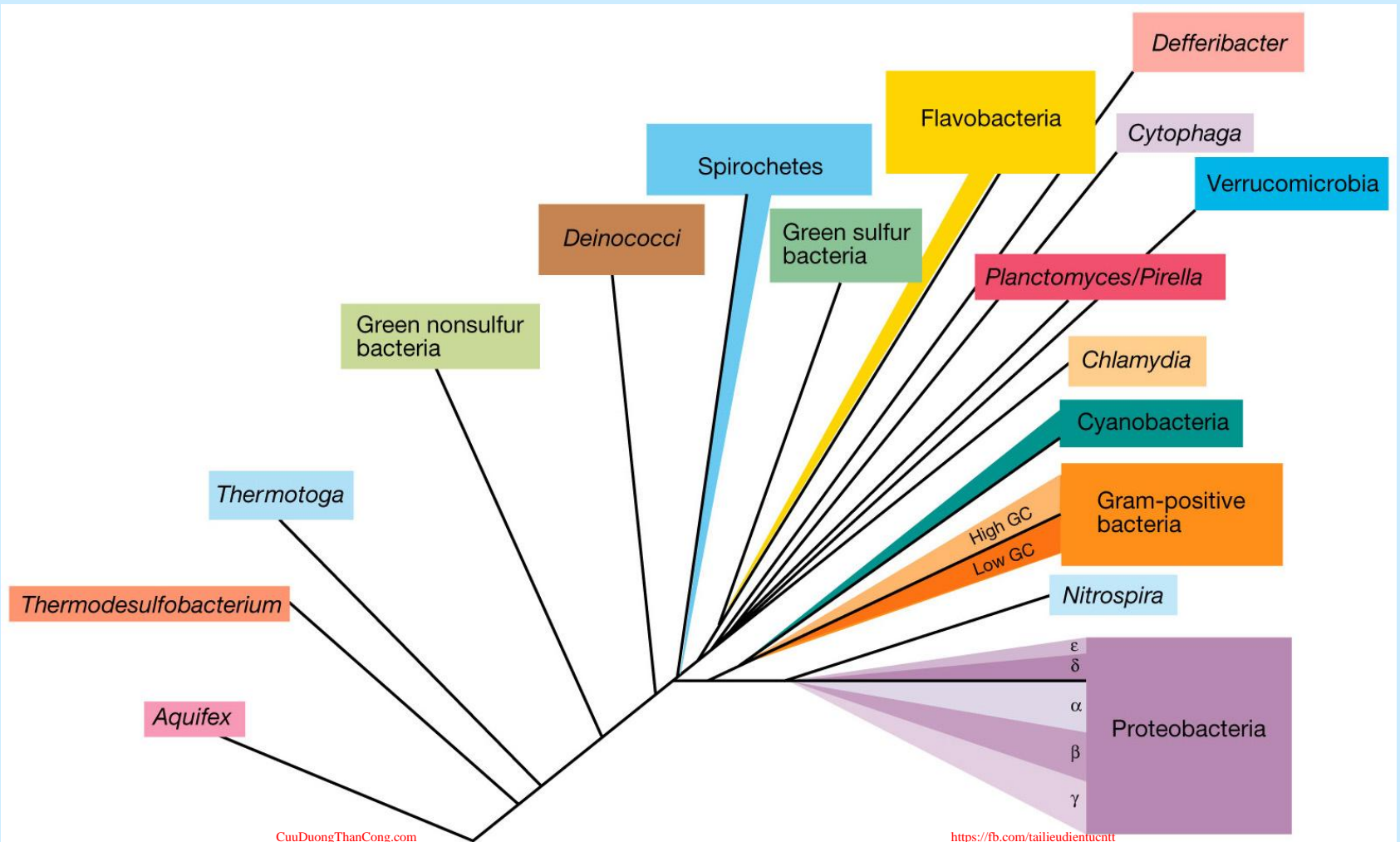
Ngành IV: Chlamydia

- Chlamydia



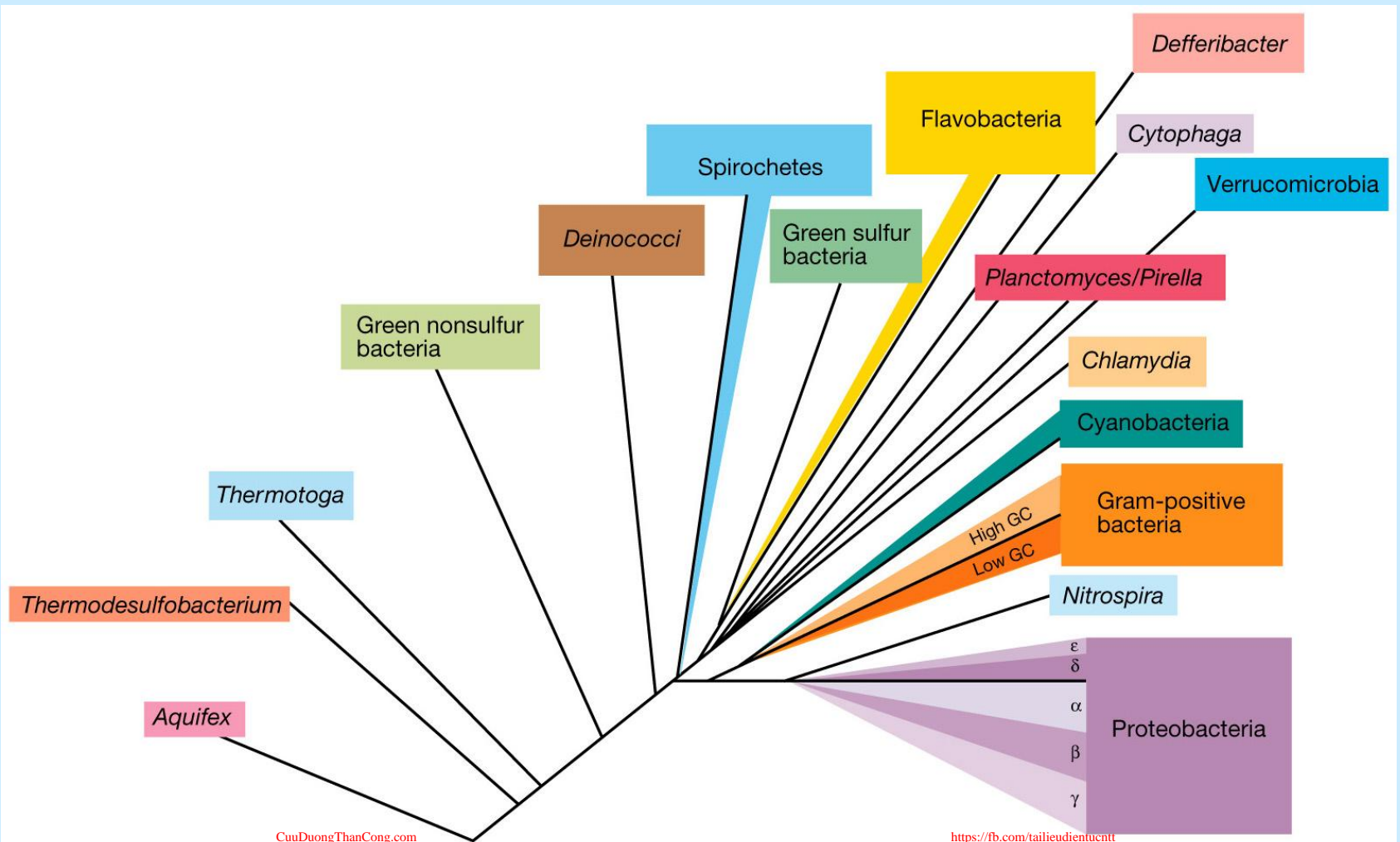
Ngành V: Planctomyces/Pirella

- Planctomyces
- Pirella



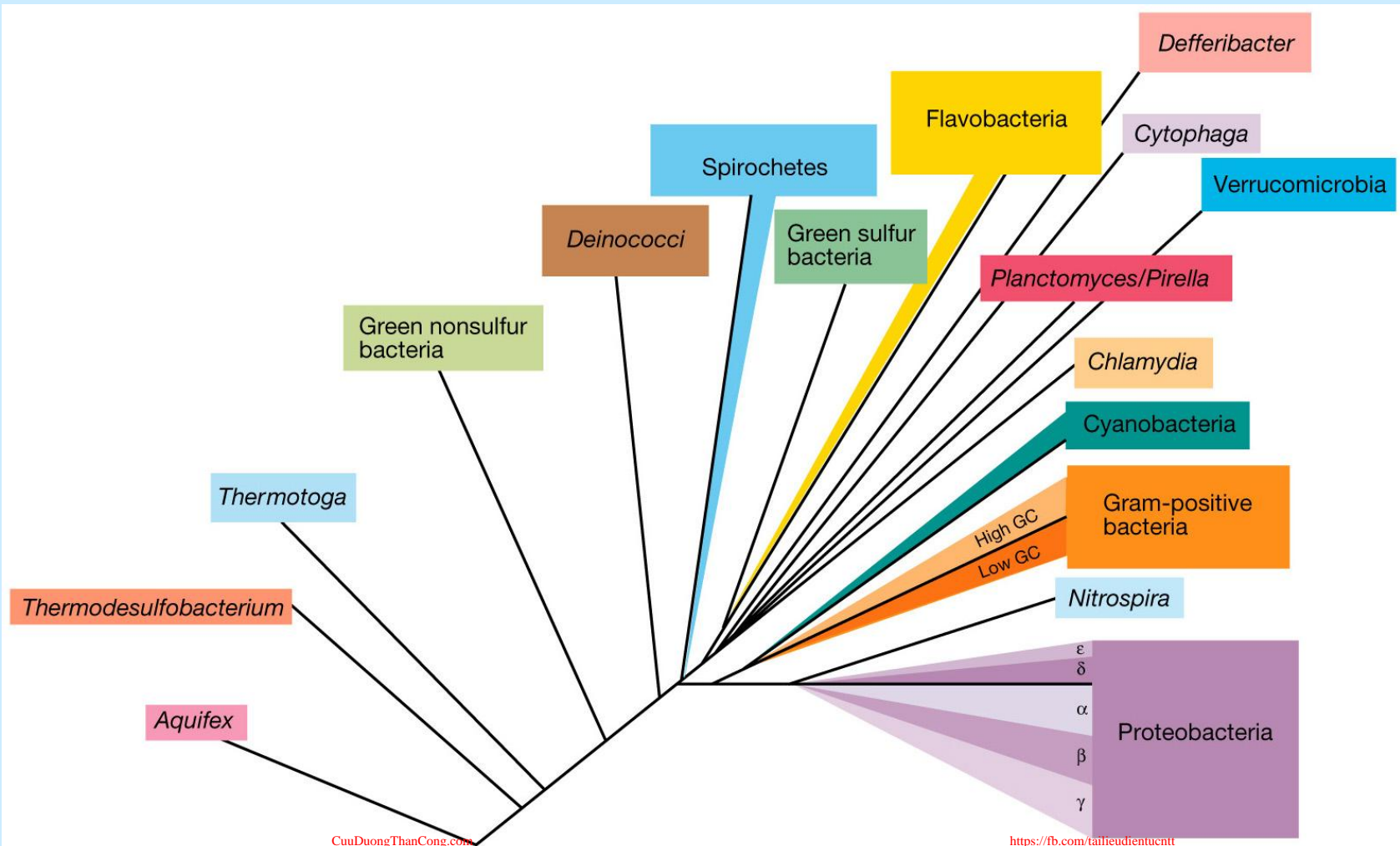
Ngành VI: Bacteroides/Flavobacteria

- Bacteroides
- Cytophaga



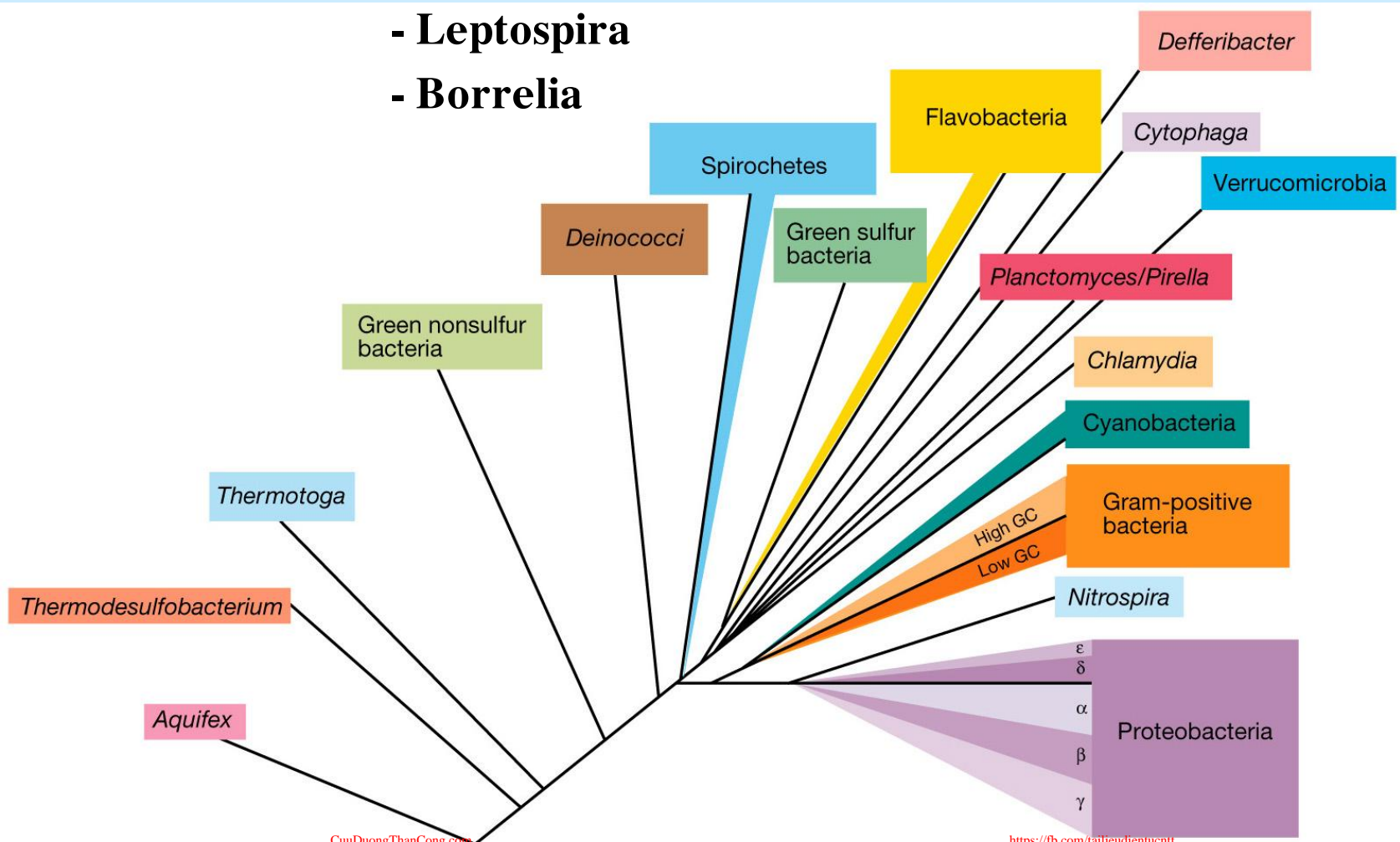
Ngành VII: Green sulfur bacteria

- Chlorobium
- Prosthechochloris
- Chlorochromatium



Ngành VIII: Spirochetes

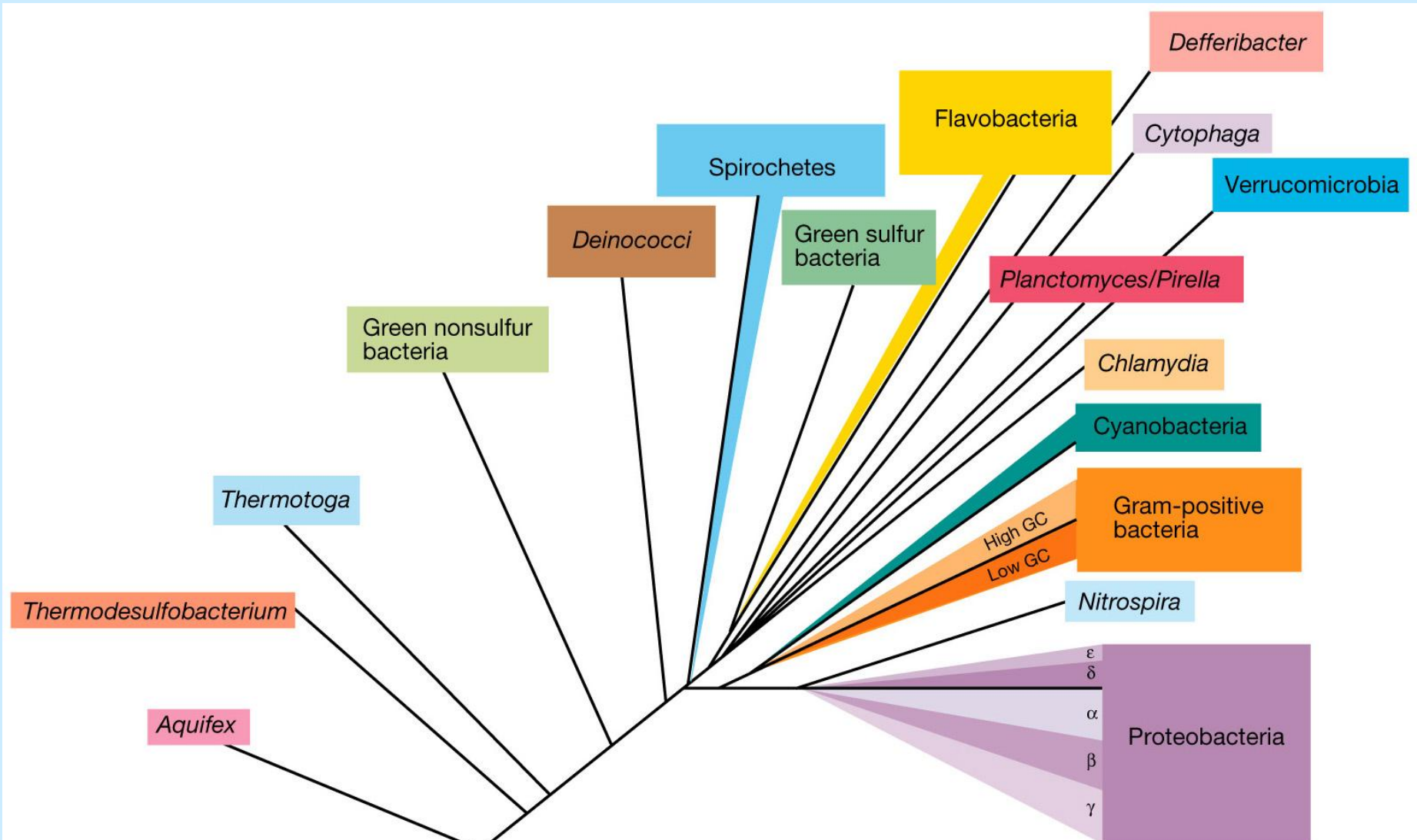
- Spirochaeta
- Treponema
- Cristispira
- Leptospira
- Borrelia



Ngành IX: Deinococci

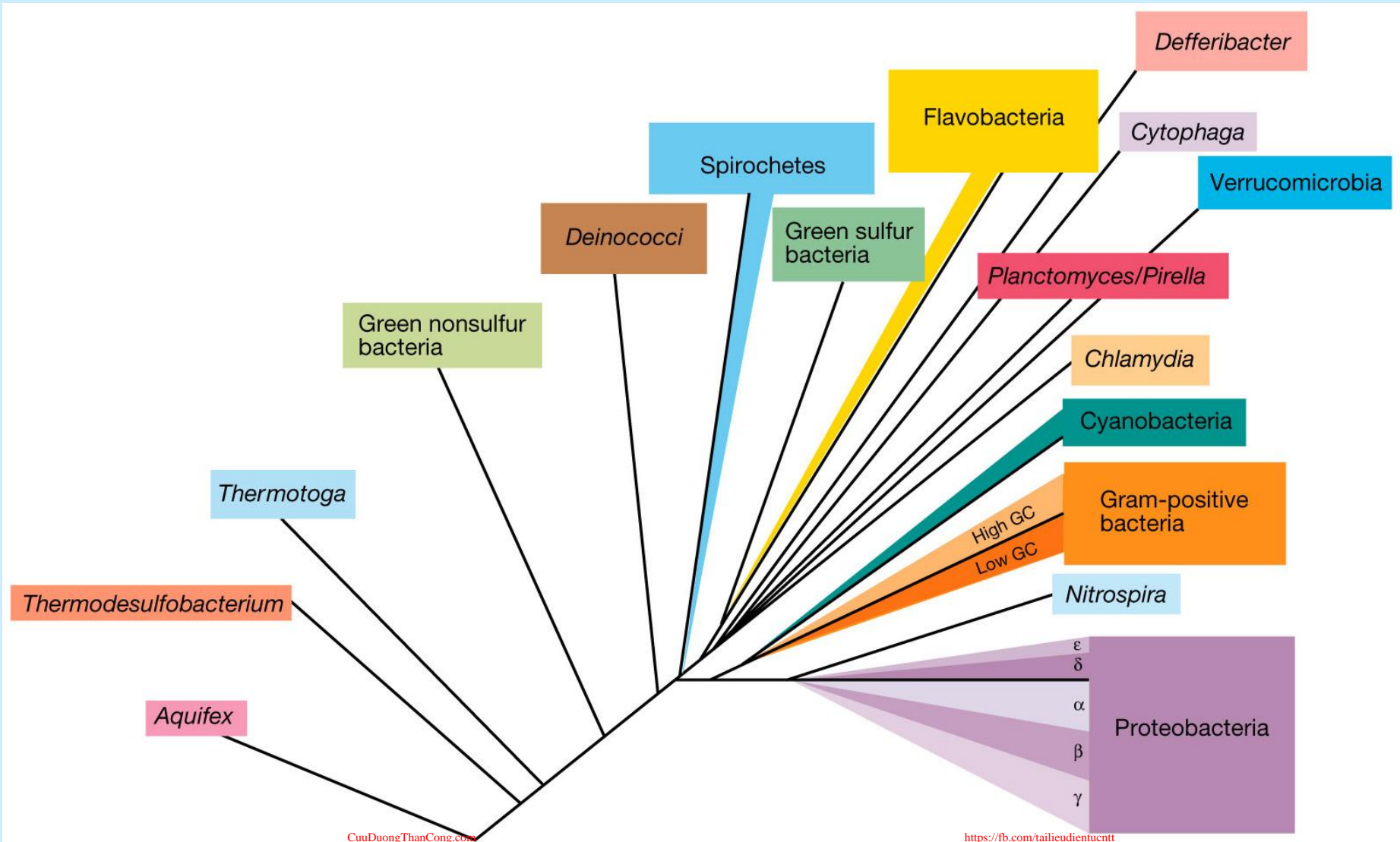
- Deinococci

- Thermus



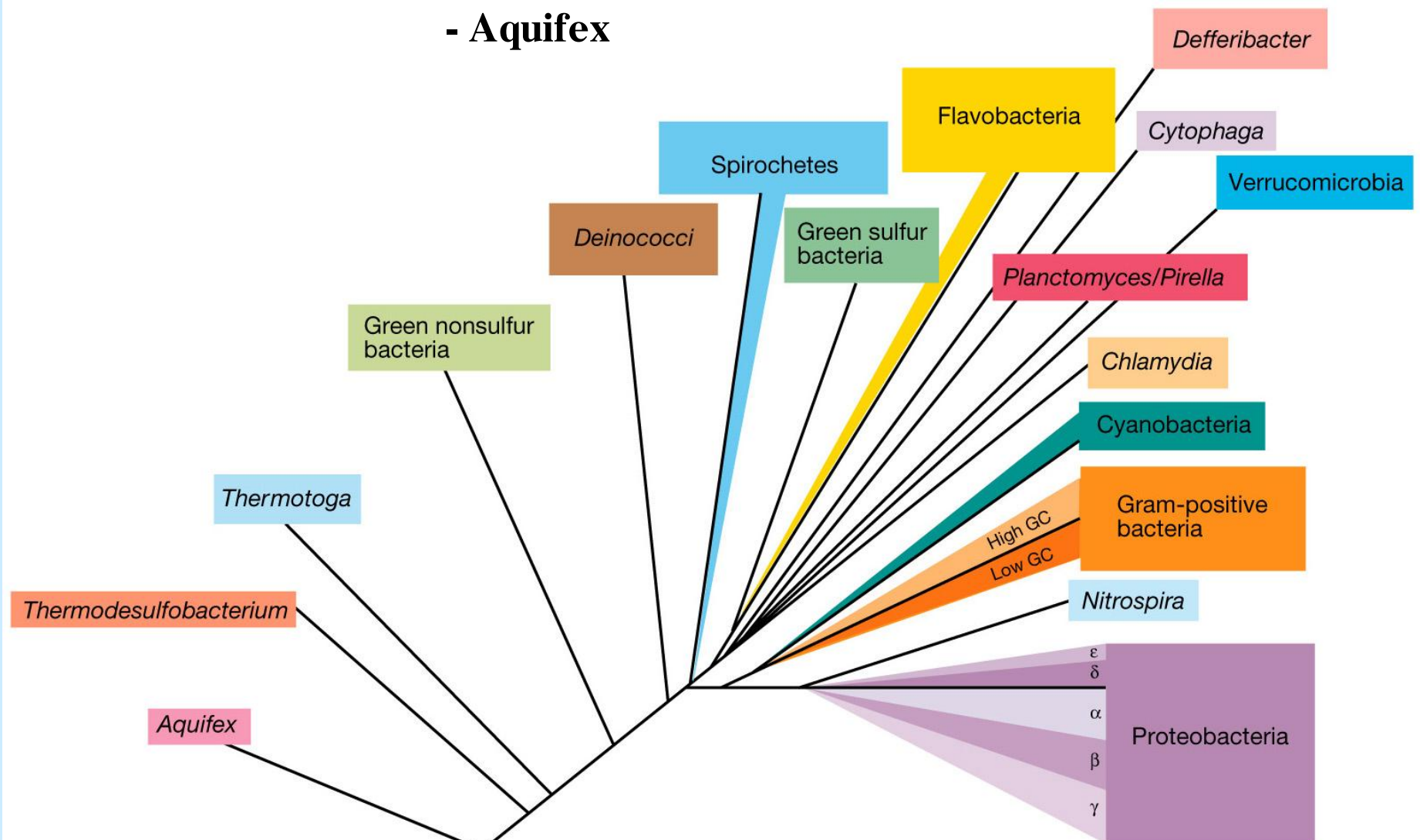
Ngành X: Green Nonsulfur bacteria

- Chloroflexus
- Thermomicrobium



Ngành XI, XII, XIII: Hperthermophiles

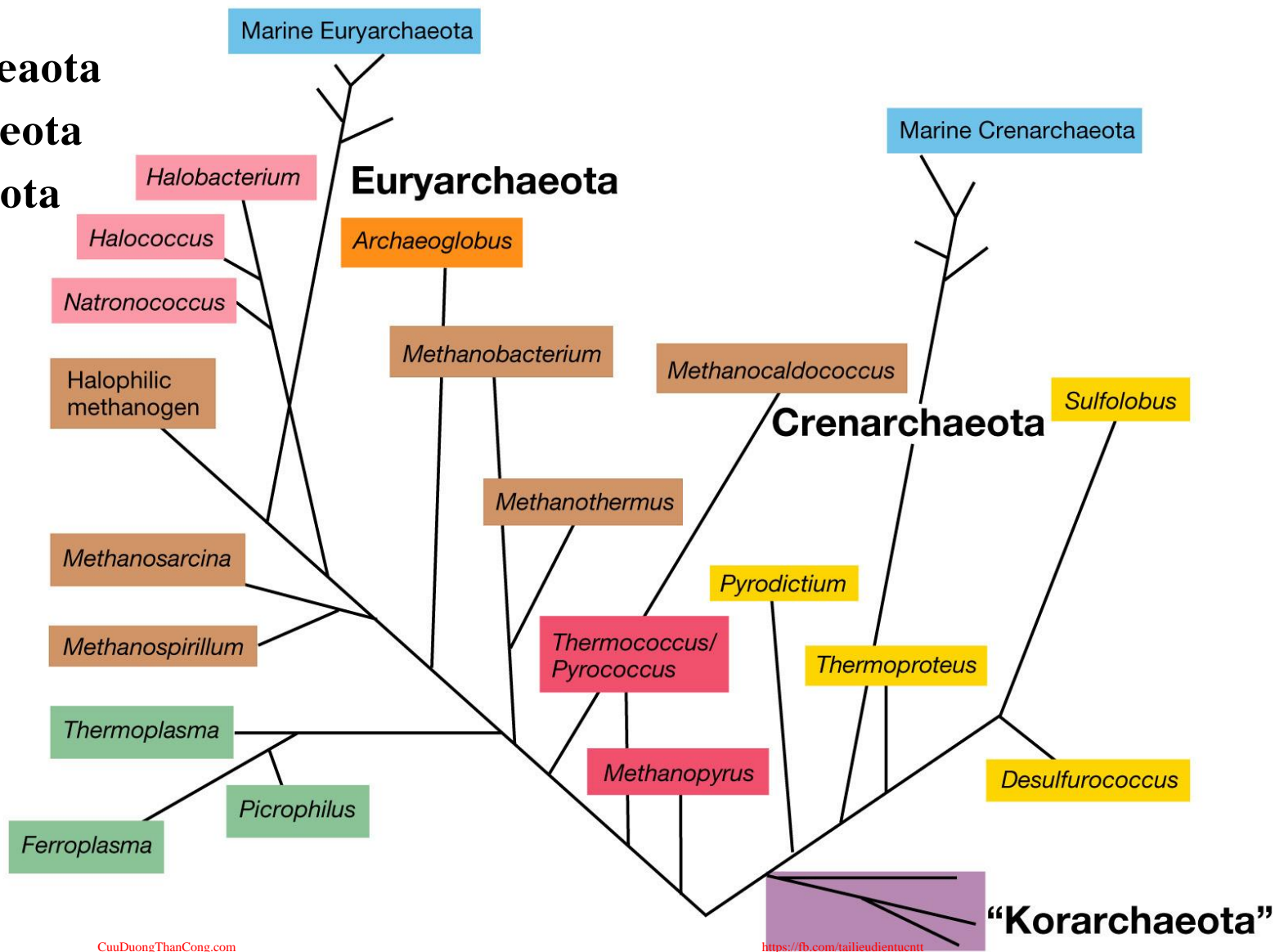
- Thermotoga
- Thermodesulfobacterium
- Aquifex



Giới Vi khuẩn cổ (Archaea)

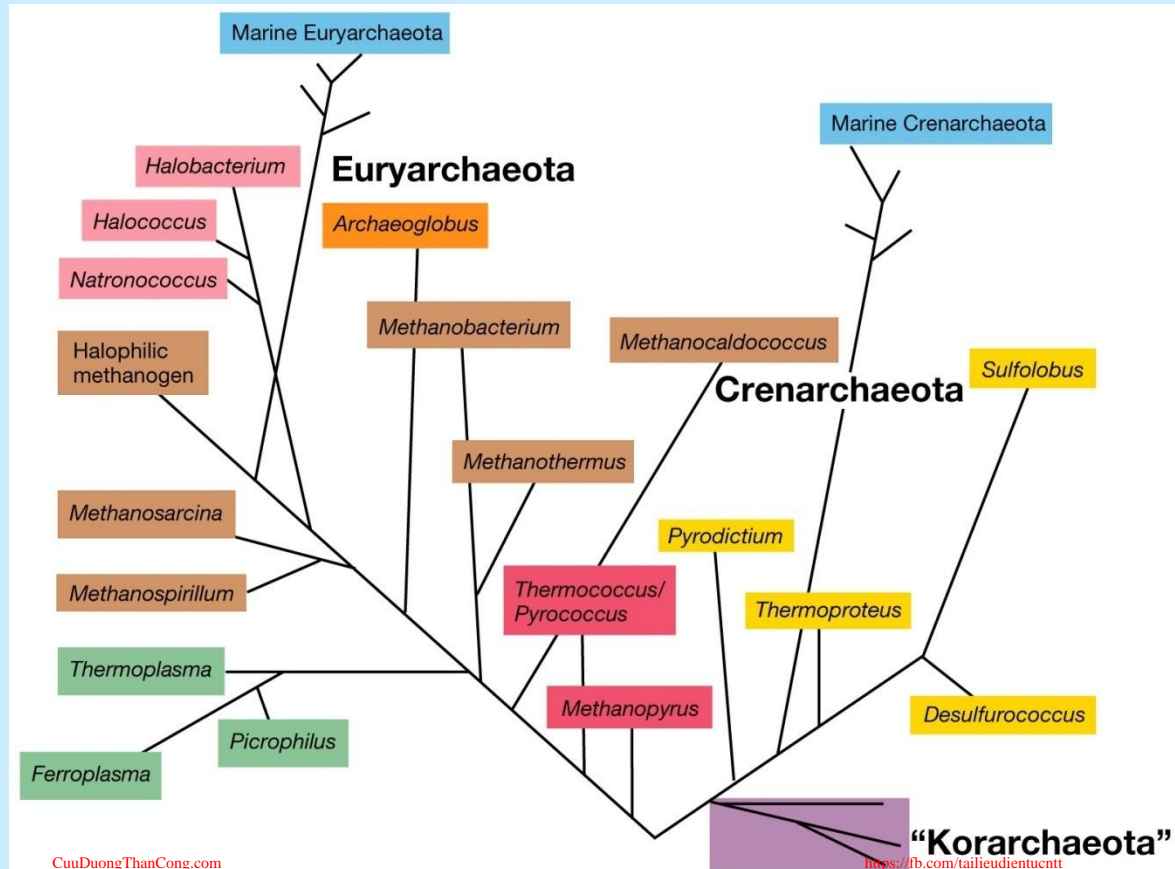
Ba ngành:

- Euryarchaeota
- Crenarchaeota
- Korarchaeota



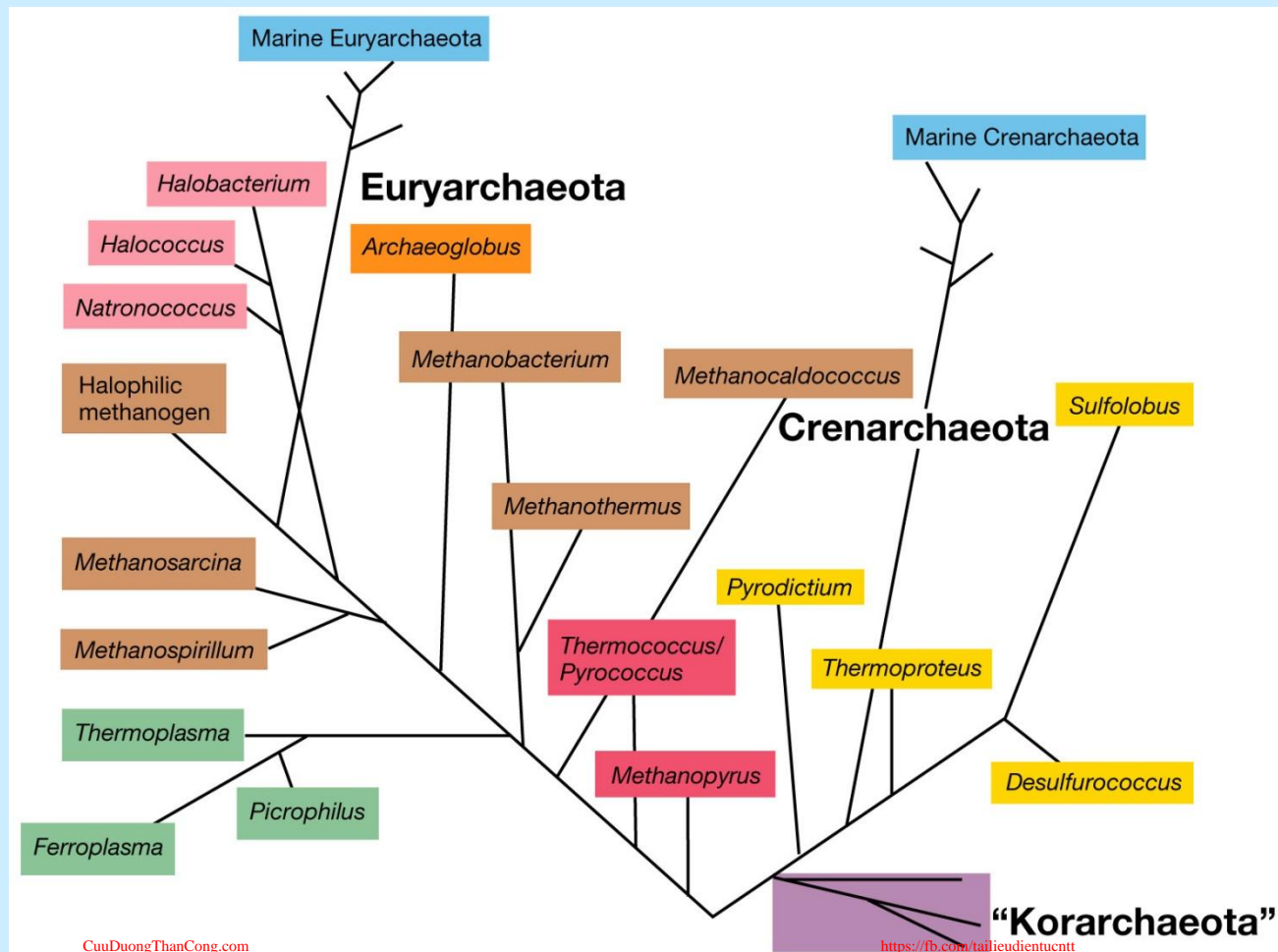
Ngành Euryarchaeota

- Archae ưa mặn cực đoan (*Halobacterium*, *Haloferax*, *Natronobacterium*)
- Archae sinh methane (*Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcinia*)
- Thermoplasmatales (*Thermoplasma*, *Picrophilus*)
- Archae ưa nhiệt cực đoan Thermococcales (*Thermococcus*, *Pyrococcus*, *Methanopyrus*) và Archaeoglobales (*Archaeoglobulus*, *Ferroglobus*)



Ngành Crenarchaeota

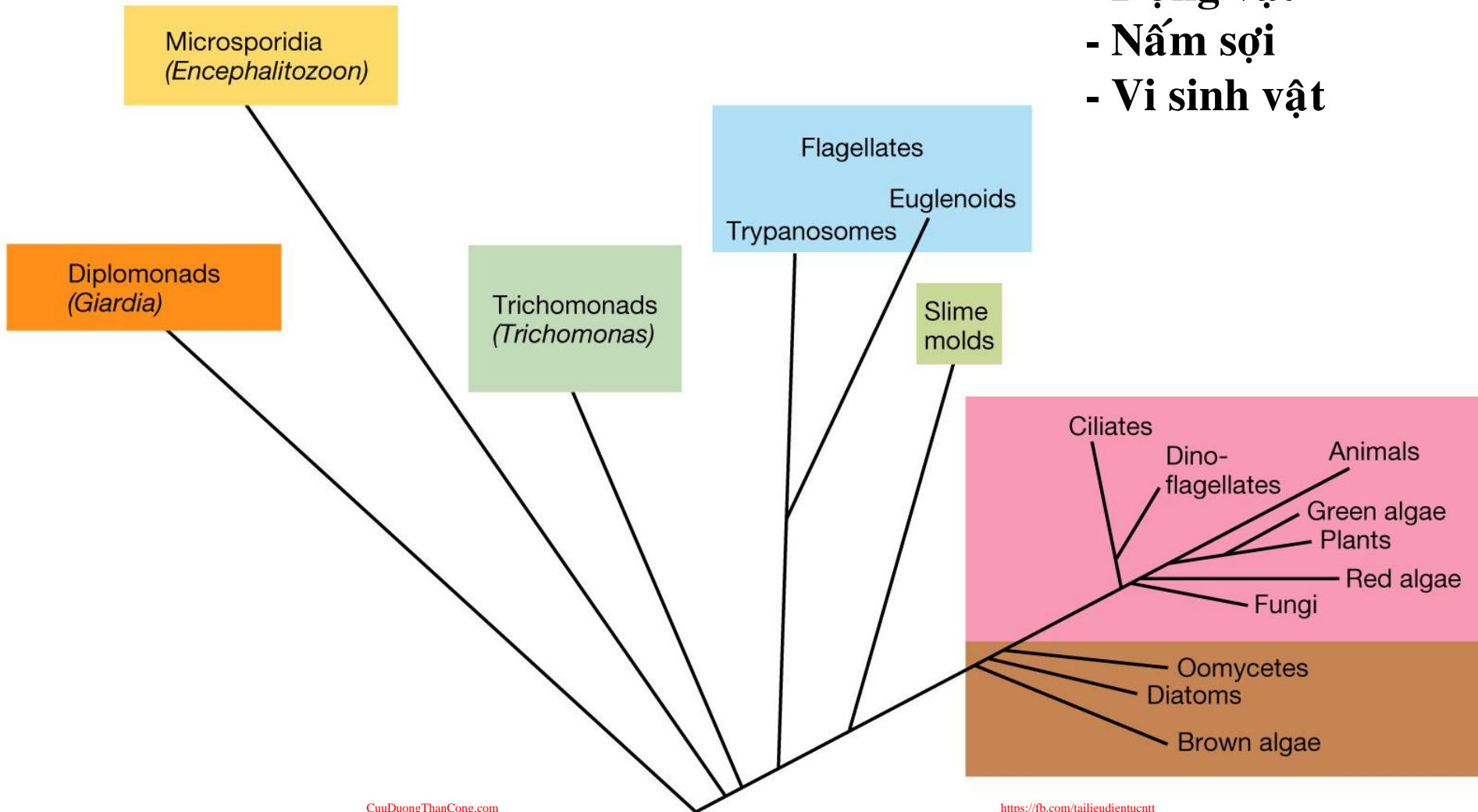
- Archae ưa nhiệt vùng núi lửa trên cạn Sulfolobales và Thermoproteales (Sulfolobus, Aidianus, Thermoproteus)
- Archae ưa nhiệt vùng núi lửa đại dương Desulfurococcales (Pyrodictium, Pyrolobus, Staphylothermus)



Giới Sinh vật nhân thật (Eukarya)

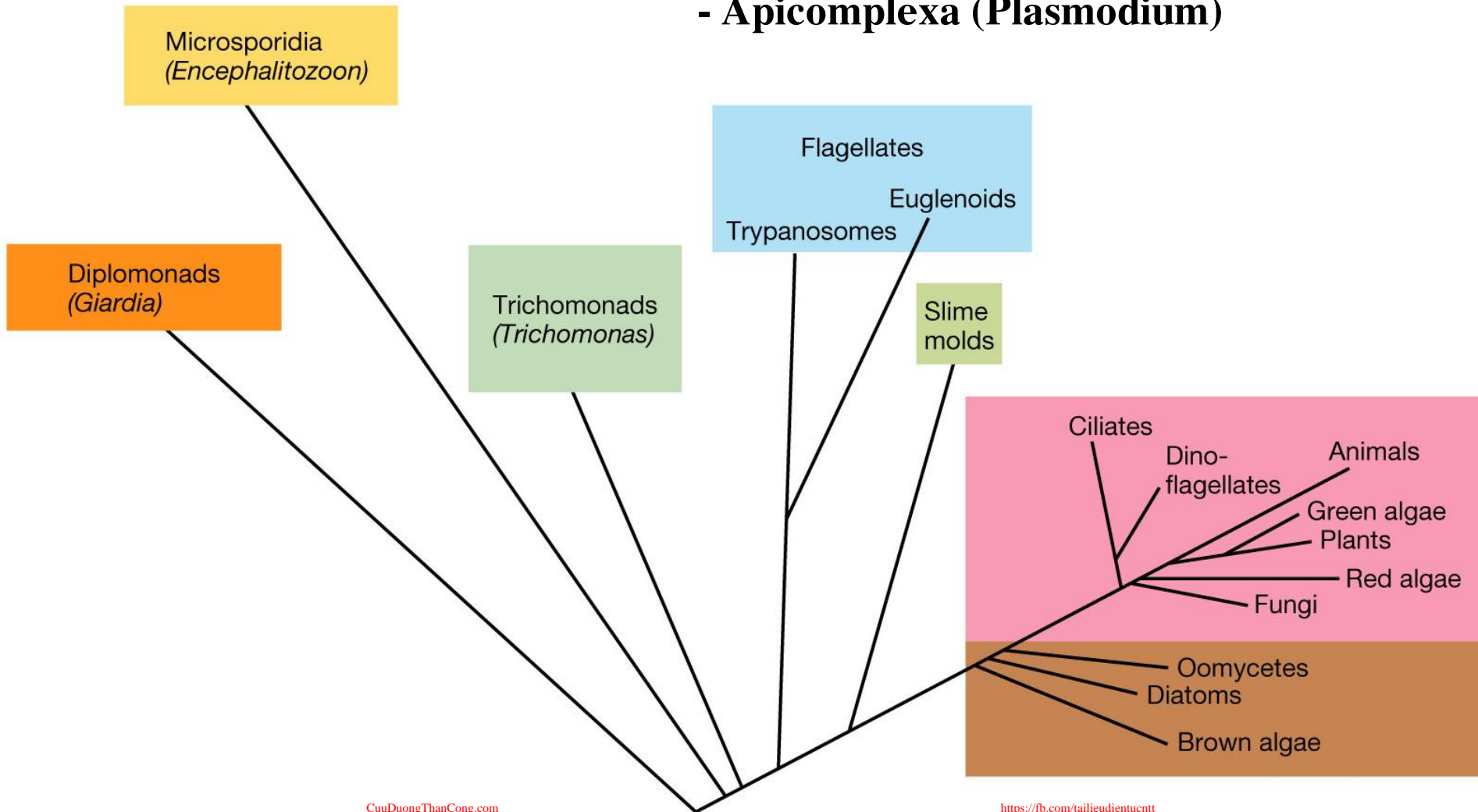
Các ngành:

- Thực vật
- Động vật
- Nấm sợi
- Vi sinh vật



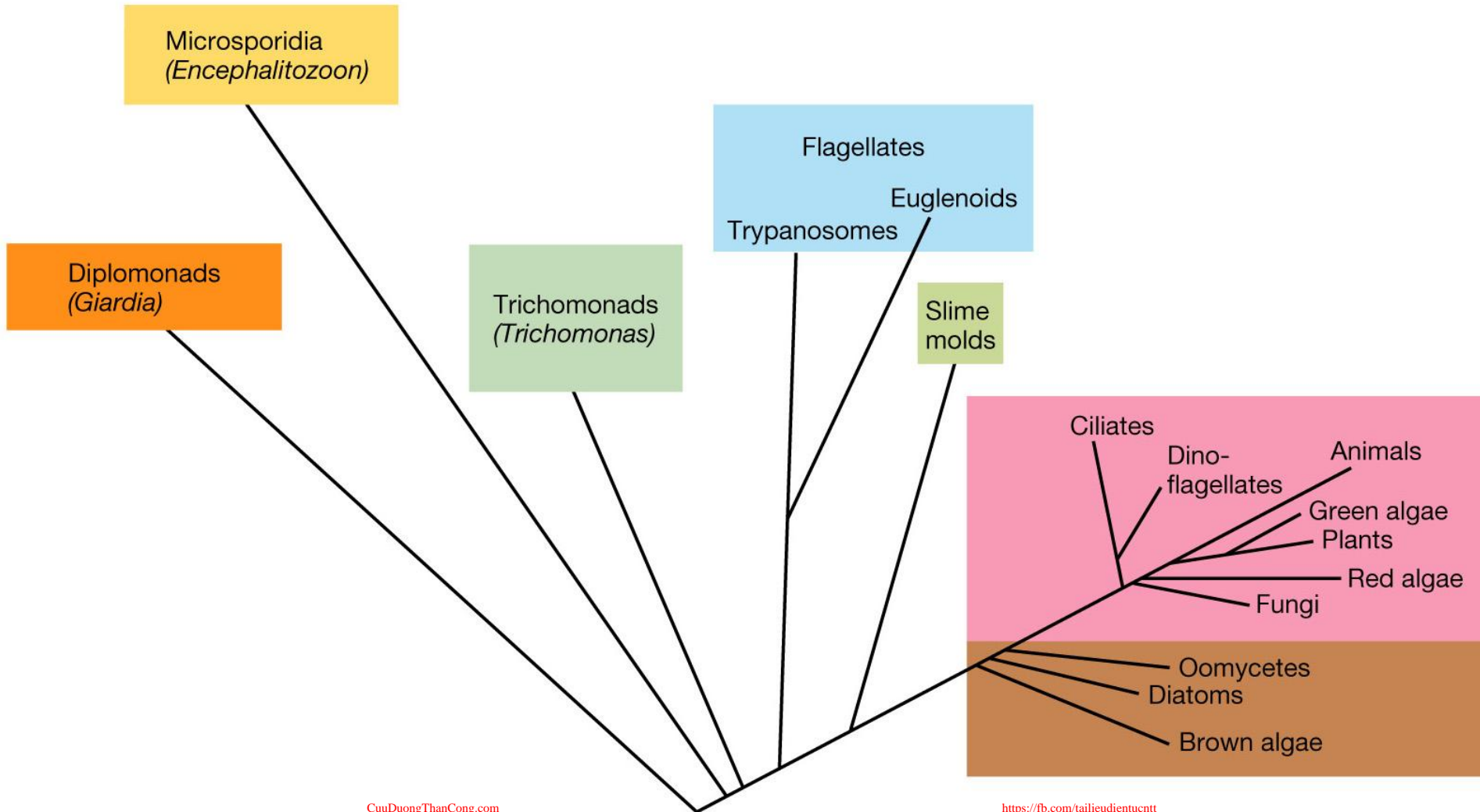
Protozoa

- Mastigophora (Trypanosoma)
- Euglenoids (Euglena)
- Sarcodina (Amoeba)
- Ciliophora (Paramecium)
- Apicomplexa (Plasmodium)



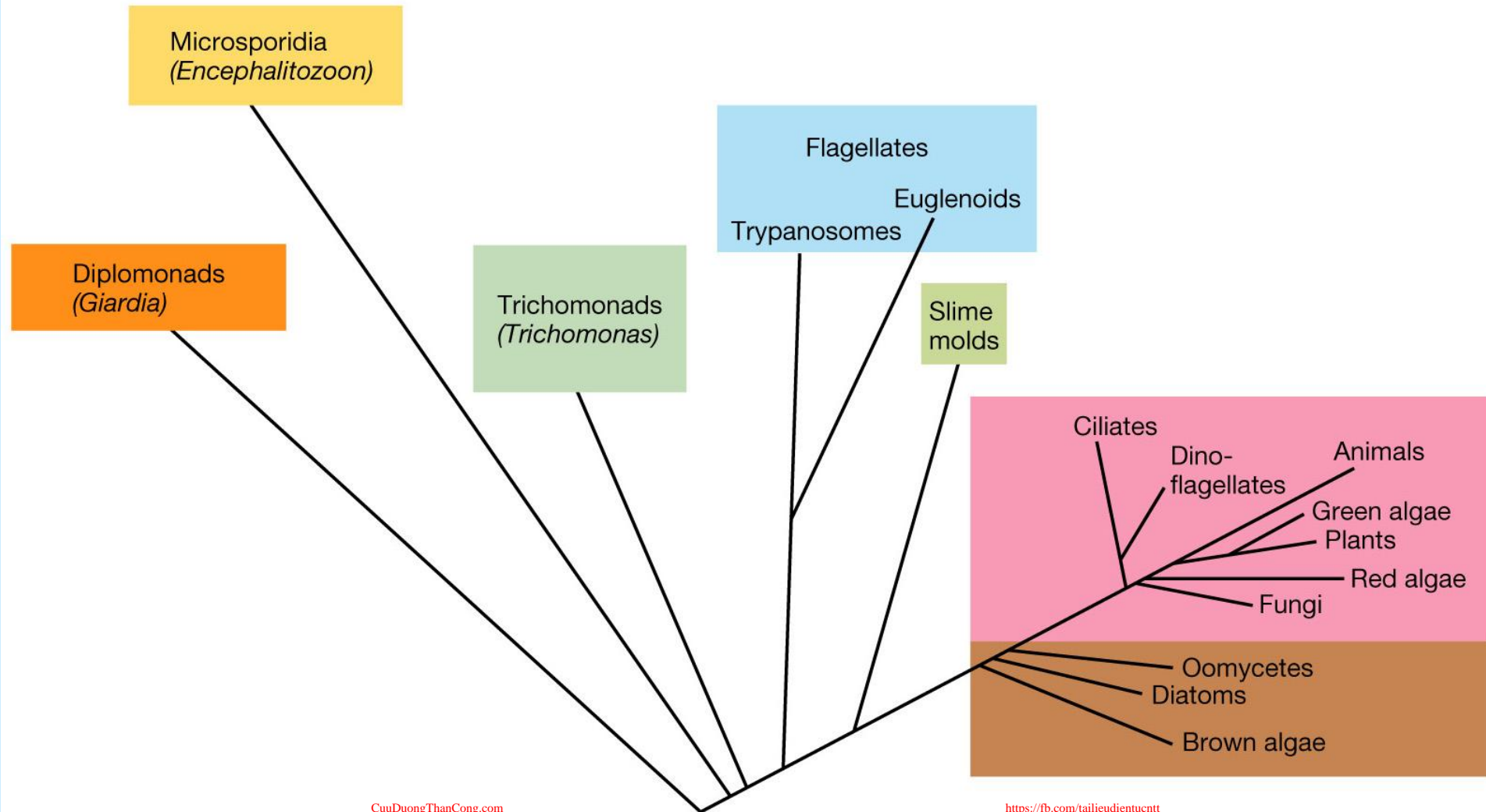
Nấm sợi (Fungi)

- Ascomycetes (Saccharomyces)
- Basidiomycetes (Agaricus)
- Zygomycetes (Mucor, Rhizopus)
- Oomycetes (Allomyces)
- Deuteromycetes (Penicillium, Aspergillus, Candida)



Mốc nhày (Slime molds)

- Dictyostelium
- Physarum



Tảo (Algae)

- Chlamydomonas
- Euglena
- Gonyaulax

