

## Hvordan er bakterier beslægtede?

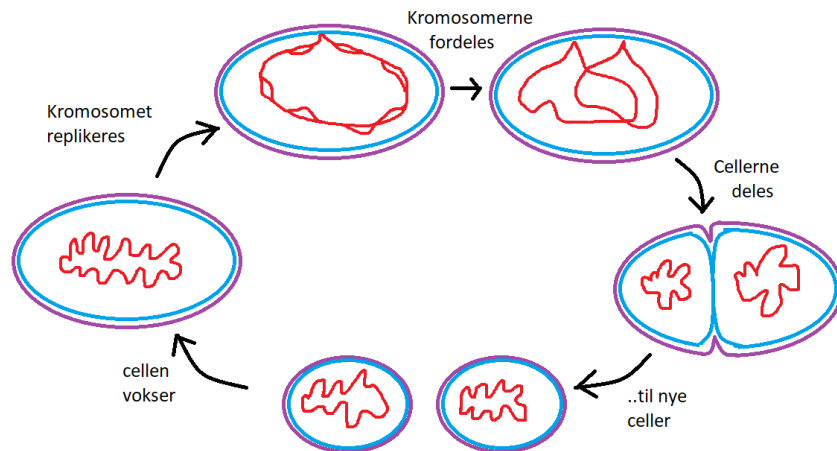
### Hvad er en art?

Vi tilhører arten, *Homo sapiens* og en ulv tilhører arten *Canis lupus*. Navnet med stort er slægtsnavnet og navnet med lille er artsnavnet. Men hvordan definerer vi en art? En almindelig tamhund er eksempelvis af underarten *Canis lupus familiaris*.

1. Find forskellige definitioner på hvad en biologisk art er.
2. Diskuter, hvilke problemer forskellene i definitioner peger på, når det gælder at definere en biologisk art.
3. Forklar forskellen mellem de to former for celledeling hos eukaryoter: meiose og mitose.
4. Forklar, hvornår ukønnet forering ved mitose foregår, fx i kroppen.
5. Forklar, hvilken betydning kønnet forering ved meiose og befrugtning har, når man definerer en art.
6. Forklar, hvilken betydning kønnet forering har, når vi opstiller og fortolker fylogenetiske træer over hvordan dyr eller planter er beslægtede.

### Hvordan er bakterier beslægtede?

Bakterier er kerneløse prokaryoter, og deres forering afviger fra eukaryote organismers ved at de ikke har kønnet forering. De formerer sig udelukkende ved en simpel celledeling, som svarer til eukaryoternes mitose. Den kaldes binær fission (deling i to). Figur 1 viser bakteriernes celledeling.



Figur 1. Bakteriers celledeling, binær fission. Grafik: Kresten Cæsar Torp

De mutationer, der er opstået i en bakteriecelle, nedarves pga. den ukønnede forering direkte til dattercellerne og videre i den celle-linie der stammer fra dem.

Er mutationen skadelig, fraselekteres celle-linien. Medfører den fænotypiske ændringer i bakterien uden at være skadelig, er der opstået en ny variant af bakterien. Det indebærer, at det er vanskeligt at afgrænse arter af bakterier, og det er vanskeligt at afgrænse, hvornår der er tale om en ny underart eller en ny art. I stedet vælger man ofte at tale om typer eller stammer.

Det fylogenetiske træ fra Nanoporesekventeringen er en statistisk sammenligning af hvilke sekvenser i databasen den analyserede sekvens matcher.



Figur 3. Oversigt over resultater i Epi2me.

I Epi2me kan I se, hvor nøjagtigt jeres sekvenser kunne bestemmes (angivet i procent). Hold cursoren hen over navnet på bakterien i træet.

7. Forklar, hvilken rolle bakterierne formering har for hvor nøjagtige match man kan finde ved alignment med databasen.
8. Forklar hvilken betydning bakterierne formering har for hvordan vi kan tolke et fylogenetisk træ for bakterier, sammenlignet med et fylogentisk træ for fx pattedyr.

### Andre metoder til bestemmelse af bakterier

Traditionelt har man identificeret bakterier ved undersøgelser i laboratoriet efter:

- deres udseende,
- udseendet af deres kolonier på en agarplade,
- hvordan de farves af forskellige farvestoffer (fx Gram-farvning),
- deres evne til at leve på forskellige substrater og ved forskellige temperaturer og
- hvilke biokemiske egenskaber de har, fx hvilke stoffer de kan omsætte.

Sekventering af bakterierne DNA og sammenligning ved alignment har givet helt ny viden om bakterierne inddeling og har gjort bakteriebestemmelse meget hurtigere og billigere end tidligere.

Når man identificerer en ny bakterieart i en prøve, skal man dog stadig isolere og dyrke bakterien i laboratoriet og man beskriver den efterfølgende ved disse laboratorieundersøgelser, før man navngiver den.

9. Forklar, hvilken viden de nævnte laboriemetoder giver, som DNA-sekventering ikke giver.
10. Giv mulige bud på hvilken viden sekventering giver, som laboratorieundersøgelserne ikke ville give.

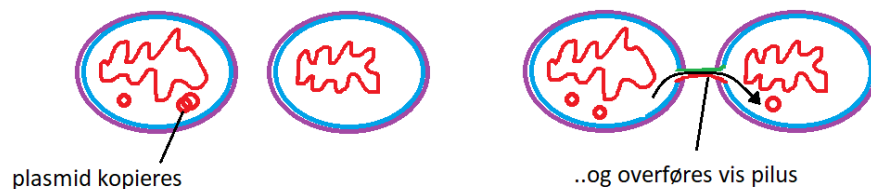
11. Diskuter, hvordan sekventering fx med Nanopore-teknikken gør bakteriebestemmelse hurtigere og billigere.
12. Diskuter nogle mulige anvendelsesmuligheder af teknikken.

### Udveksling af gener hos bakterier

Bakterier kan altså ikke udveksle gener med hinanden ved kønnet forering.

De har dog en mulighed for at udveksle DNA ved hjælp af plasmider. Plasmiderne er små cirkulære DNA-molekyler med et mindre antal gener. Generne kan fx være gener som giver resistens overfor bestemte giftstoffer, bl.a. antibiotika eller det kan være gener for enzymer, som sætter bakterien i stand til at udnytte bestemte næringsstoffer.

Plasmiderne er normalt ikke afgørende for bakteriens grundlæggende funktioner, men kan give bakterien nye muligheder i bestemte miljøer. Plasmider kan kopieres og videregives ved celledelingen eller de kan udveksles gennem pili, små protein-rør, bakteriecelle danner til naboceller. Denne sammenkobling af to bakterieceller kaldes konjugation. Figur 2 viser hvordan konjugationen kan foregå.



Figur 2. Konjugation og udveksling af plasmider mellem to bakterieceller. Grafik: Kresten Cæsar Torp

13. Forklar hvilken evolutionær betydning det har, at bakterier kan udveksle gener ved plasmider.
14. Forklar, hvordan resistens mod antibiotika kan spredes i en bakteriepopulation, hvis den udsættes for antibiotika. Inddrag figur 2.

Hvis bakterieceller udsættes for Calcium-ioner og et varme-kulde-chok, kan de optage plasmider fra deres omgivelser. Det udnyttes ved transformation af bakterier ved gensplejsning.

**Opgaven 'Molekylær evolution og sandsynlighedsmatricer' uddyber de matematiske modeller der ligger bag, hvordan man med bioinformatik kan undersøge processerne ved molekulær evolution.**

### Videre muligheder for databehandling

Epi2Me sammenligner sekvenserne i prøven med sekvenserne i offentligt tilgængelige databaser. Man kan dog også selv gå ind i disse databaser og foretage sammenligninger.

Det kan fx være en mulighed, hvis I fik sekvenser ud, som ikke kunne identificeres i Epi2Me, eller hvor barcoden ikke kunne identificeres.

Her skal vi prøve det der hedder BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) i en af de store databaser, Genbank.

Rent praktisk:

1. Åben hjemmesiden:  
<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE=BLASTHome>
2. Vælg Nucleotide BLAST
3. Åben en af FASTQ-filerne I fik ud af DNA-sekventeringen.
4. Kopier en sekvens fra FASTQ-filen og indsæt den i søgefeltet 'Enter... FASTA sequence'.
5. Tryk på BLAST.

Nu fremkommer en side med de indrapporterede sekvenser, som matcher sekvensen bedst.

6. Hvilke oplysninger kan ses på hjemmesiden? Klik lidt rundt på mulighederne.
7. Hvilke bakterier matcher bedst?
8. Hvor godt matcher sekvensen med de indrapporterede?
9. Klik på en af de bakterier der matcher. På et af fanebladene kan du finde de to sekvenser sat op mod hinanden. Her kan du se hvilke baser der er tilsvarende, og hvilke der afviger.
10. Kan du identificere følgende mutationstyper ved sammenligningen: Substitution (udskiftning), insertion (indsættelse), deletion (bortfald). Hvorfor er det svært at skelne mellem, om der er sket en insertion eller deletion?