

Mikrobiyal Evrim ve Sistematigi

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Mikrobiyoloji

Bölüm 13

Eukarya'nın Gizemli Kökeni

- Eukarya domaini bitkiler, hayvanlar, mantarlar ve geniş mikrobiyal çeşitliliği kapsayan büyük bir canlı grubunu oluşturur.
- Bitkiler, hayvanlar ve mantarlar 400–600 milyon yıl önce ortaya çıkarak Eukarya'nın görece yeni üyeleri hâline gelir.
- Buna karşın ilk ökaryotik mikroorganizmalar bir milyar yıldan daha uzun süre önce gelişmiş kabul edilir.
- Ökaryotik hücrenin kesin kökeni hâlâ çözülememiş bir bilmece olup Eukarya'nın ne zaman ve nasıl ortaya çıktığı tam olarak bilinmemektedir.

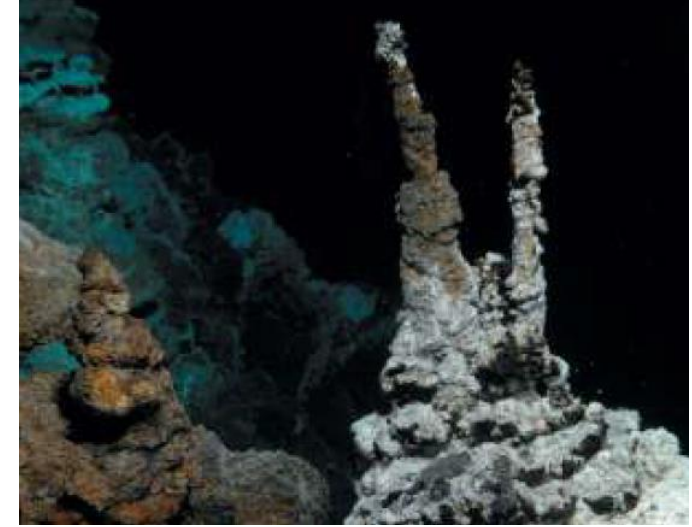


Eukaryaların Genetik Şeması: Bir Karışım Yapı

- Genomik analizler, ökaryotik genomların Bacteria ve Archaea kaynaklı genlerin karışımı olduğunu açıkça gösterir.
- Eukaryalar ayrıca yalnızca bu domain içinde bulunan ve başka hiçbir grupta görülmeyen özgün genlere de sahiptir.
- Elde edilen veriler Eukarya'nın Archaea ile ortak bir atayı paylaştığını ancak çok sayıda "imza gen" ile onlardan ayrıldığını düşündürür.
- Bu özgün genler ökaryotlara özgü hücresel özellikleri kodlayarak çok hücreliliğin kökeninde kritik bir rol oynamış görünür.

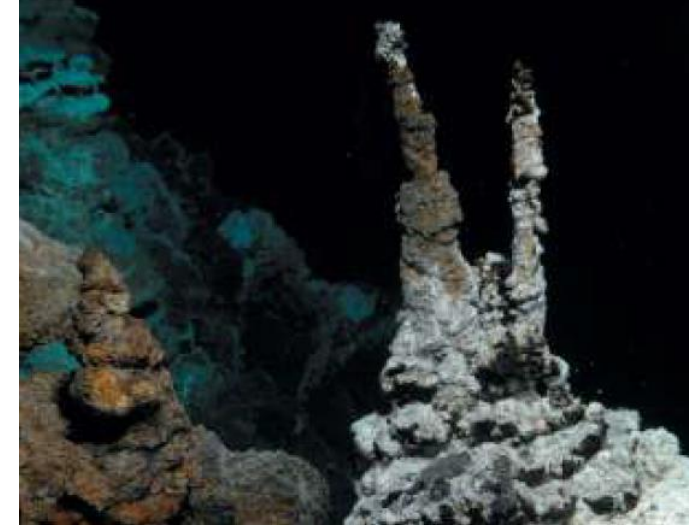
Lokiarchaeota'nın Keşfi ve Yeni Bir Bakış

- Lokiarchaeota, hidrotermal bir bölge olan Loki's Castle yakınındaki derin deniz tortullarında yapılan metagenom analizleriyle keşfedilen yeni bir Archaea filumudur.
- Bu organizmaların genomlarında özellikle zar yeniden şekillenmesi ve iskelet oluşumu ile ilişkili pek çok ökaryotik imza geninin bulunduğu ortaya çıkar.
- Bu özellikler, ilkel ökaryotik hücrelerde zar çökmesi ve bakteri endosimbiyozu gibi temel süreçlerin gerçekleşebilmesini kolaylaştırmış olabilir.
- Bu yeteneklerin varlığı, fagositoz gibi yeni beslenme biçimlerinin gelişimine de kapı aralamış görünür.



Ökaryot Özelliklerinin Archaea İçinde Ortaya Çıkışı

- Bulgular, ökaryotlara özgü kabul edilen pek çok özelliğin aslında Archaea içinde ortaya çıkmış olabileceğini düşündürür.
- Lokiarchaeota'nın varlığı, ökaryotik hücrelerin Archaea'nın kardeş grubu olarak değil, Archaea'nın içinden evrimleşmiş olabileceğini gösterir.
- Bu süreçte bakteriyel bir endosimbiyondan doğan mitokondri, ökaryotik hücrenin şekillenmesinde belirleyici bir adım olmuştur.
- Böylece hücresel karmaşıklığa giden ilk adımların Archaea domaini içinde atıldığı anlaşılır.



Evrimin Mikrobiyoloji İçindeki Merkezi Rolü

- Mikroorganizmaların Dünya'daki ilk yaşam formları olması nedeniyle evrim kavramı biyolojinin tüm alanlarına nüfuz eder.
- Bu bölümde, evrimsel ilişkileri çözmeye kullanılan deneysel yöntemler ve genetik analiz stratejileri tanıtılmaktadır.
- Fenotipik gözlemlerle birleştirilen bu güçlü yöntemler mikrobiyal dünyanın sistematüğini anlamamıza katkı sağlar.

Erken Dünya ve Yaşamın Kökenine Genel Bakış

- Bu kısımda yaşamın ortaya çıkabileceği koşullar ve en eski hücresel yaşamın izleri ele alınmaktadır.
- Canlılığın üç büyük soy hattı olan Bacteria, Archaea ve Eukarya'nın ayrılışı tartışılmaktadır.
- Her ne kadar erken dönem süreçlerinin çoğu spekülatif olsa da jeolojik ve moleküler veriler güçlü bir senaryo ortaya koyar.
- Bu keşifler, mikroorganizmaların Dünya tarihindeki belirleyici etkilerini anlamamıza yardımcı olur.

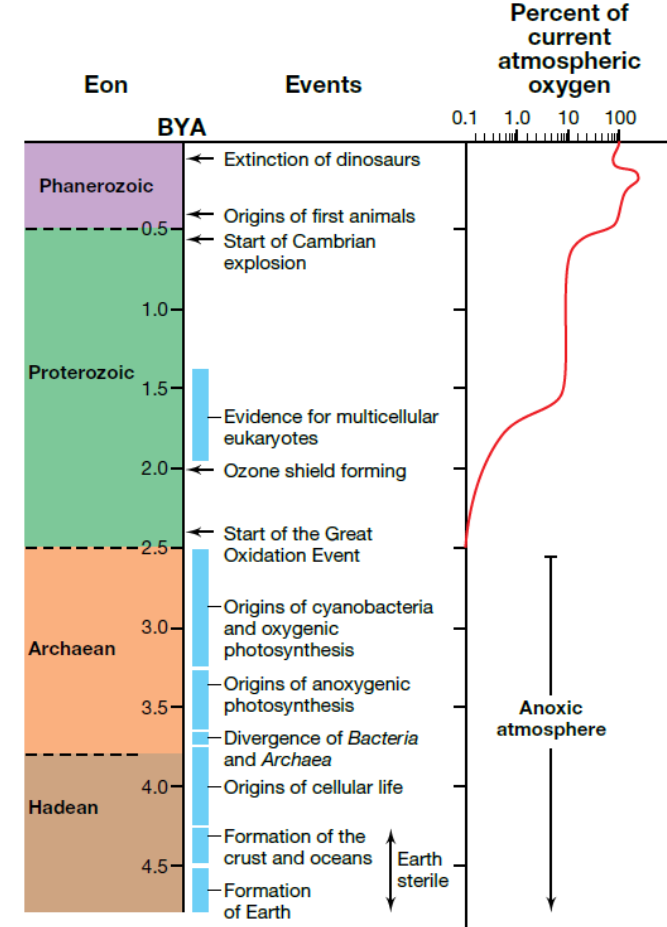


Dünyanın Oluşumu ve Erken Tarihi

- 4 milyar yıl önceki Dünya, kaynar denizler ve eriyik kayalardan oluşan sert koşullarıyla bugünkü gözlere tamamen yabancı bir yerdi.
- Erken Dünya'ya dair bilgi büyük ölçüde eski kayaç ve minerallerin kimyasal ve izotopik analizlerinden elde edilir.
- Yaşamın hikâyesi, Güneş Sistemi'nin oluşumunu izleyen dönemde Dünya'nın şekillenmesiyle başlar.
- Bu süreçlerin aktarımı, yaşamın ortaya çıkışını anlamamanın temelini oluşturur.

Dünyanın Oluşumu: İlk Adımlar

- Dünya yaklaşık 4.5 milyar yıl önce, bir süpernovadan arta kalan toz ve gaz bulutunun zamanla çökmesiyle oluşmuştur.
- Güneş'in oluşumu sırasında yayılan enerji, gezegen öncesi maddelerin ısınmasına ve birleşerek yoğunlaşmasına yol açmıştır.
- Çarpışmalar ve radyoaktif bozunmanın oluşturduğu ısı, genç Dünya'nın erimiş magma hâlinde olmasına neden olmuştur.
- Soğumanın ilerlemesiyle metalik çekirdek, manto ve düşük yoğunluklu kabuk oluşmuştur.

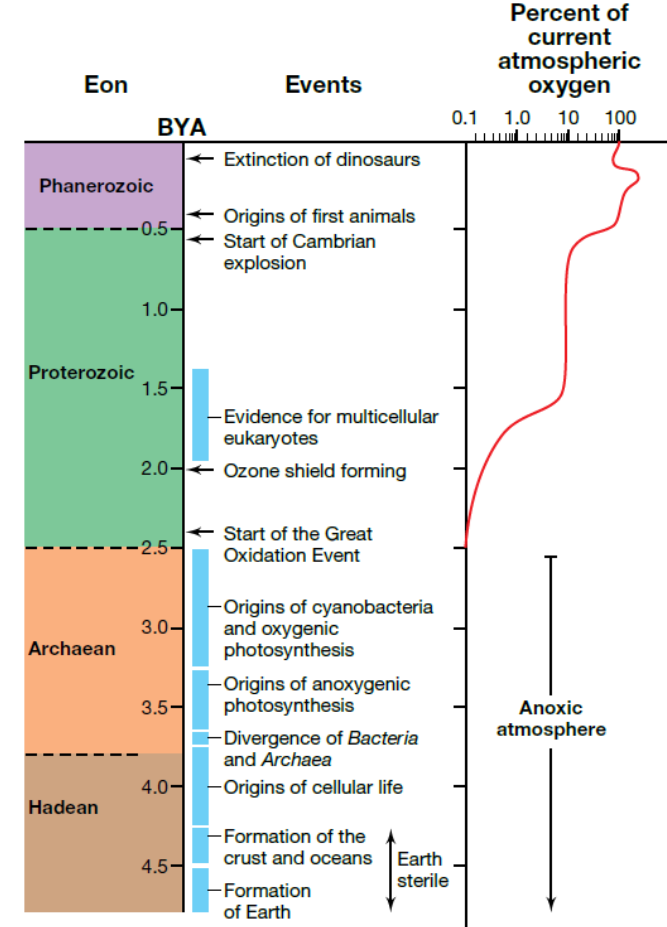


Erken Dünyanın Zorlu Koşulları

- Genç Dünya yüzeyi milyonlarca yıl boyunca gök cisimlerinin yoğun bombardımanına maruz kalarak yaşam için elverişsiz bir ortam oluşturmuştur.
- Su, volkanik gazların dışarı çıkışı, buzlu kuyruklu yıldız ve asteroid çarpmalarıyla Dünya'ya taşınmıştır.
- O dönemin yüksek sıcaklıkları nedeniyle su yalnızca buhar hâlinde bulunmuş ve Dünya kesinlikle steril bir gezegen olmuştur.
- Yeryüzünün en eski kayalarları korunmamış olsa da, erken dönemde oluşmuş zirkon mineralleri bu çağa dair önemli ipuçları sunar.

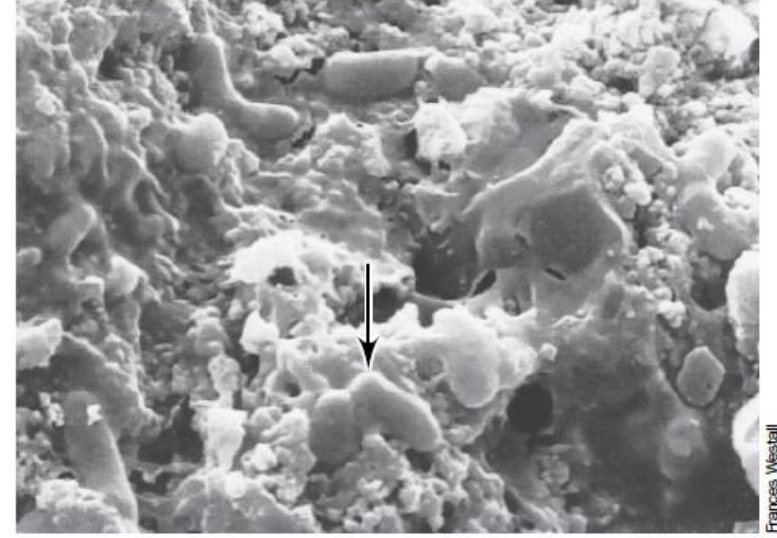
Sıvı Suyun Varlığı ve Yaşamın Koşulları

- Yaşam için gerekli olan sıvı suyun varlığı, zirkon kristallerinin izotop analizlerinden 4.3 milyar yıl öncesine kadar izlenebilir.
- Bu kristallerdeki oksijen izotop oranları, erken Dünya'da katı kabuk ve sıvı suyun oluşmuş olduğunu gösterir.
- Zirkon içindeki grafit katmanları, yaşamın 4.1 milyar yıl önce var olmuş olabileceğini düşündüren biyojenik karbon sinyalleri taşır.
- Yandaki figür, bu erken dönem bulgularının kronolojisini görsel olarak özetlemektedir.



En Eski Tortul Kayaçlar ve Hücresel Yaşam İzleri

- En eski tortul kayaçlar 3.86 milyar yıl önce okyanus ortamlarında oluşmuş ve yaşam varlığını destekleyen bir sahne sunmuştur.
- Bu kayaçlar eski denizlerin varlığını ve sediman birikimini doğrulayan jeolojik kayıtlar içerir.
- Kayaçlarda görülen fosilleşmiş hücre benzeri yapılar, erken mikrobiyal yaşama ilişkin çarpıcı kanıtlar sunar.
- Yandaki figür, bu fosil benzeri yapıların mikroskobik görünümünü paylaşarak yaşamın kadim kökenine ışık tutar.



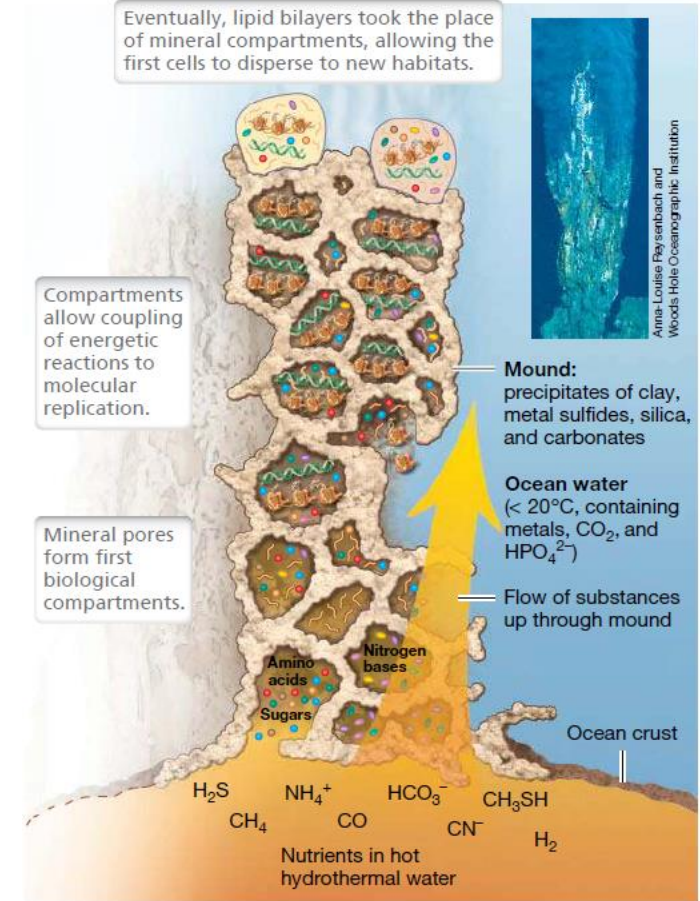
Yaşamın Kökenine Genel Bakış

- Dünya'daki yaşamın kökeni, zamanın derinliklerinde kaybolduğu için doğrudan kanıtlarla aydınlatılması güç bir süreç olarak karşımıza çıkar.
- Bu döneme ait kayaçların çok azının bozulmadan günümüze ulaşmış olması, yaşamın başlangıcına ilişkin ipuçlarını oldukça sınırlı kılar.
- Deneysel bulgular, erken Dünya koşullarında RNA nükleotidleri, amino asitler ve lipitler gibi organik moleküllerin kendiliğinden oluşabileceğini ve ilk canlı sistemler için gerekli önkoşulları sağlayabileceğini gösterir.
- Ancak 4 milyar yıldan daha eski dönemde Dünya yüzeyindeki çok yüksek sıcaklıklar ve yoğun ultraviyole radyasyonu, bildiğimiz yaşamın ortaya çıkması için oldukça elverişsiz bir ortam oluşturmuştur.



Hidrotermal Bacalarda Yaşamın Başlangıcı Olasılığı

- Bir görüşe göre yaşam, okyanus tabanındaki hidrotermal sistemlerde ortaya çıkmış olabilir.
- Okyanus derinliklerindeki bu bölgeler, yüzeye kıyasla daha istikrarlı ve daha az düşmanca koşullar sunarak yaşamın başlangıcı için daha uygun bir ortam oluşturabilir.
- Hidrojen ve hidrojen sülfür gibi indirgenmiş inorganik bileşiklerden sağlanan bol ve sürekli enerji kaynağı, bu sistemleri kimyasal açıdan zengin hale getirir.
- Bu ortamlarda oluşan mineral yapılar, biyolojik zarlar ortaya çıkmadan önce enerji korunumu için gerekli olabilecek bölmeli yapılara ev sahipliği yapmış olabilir.

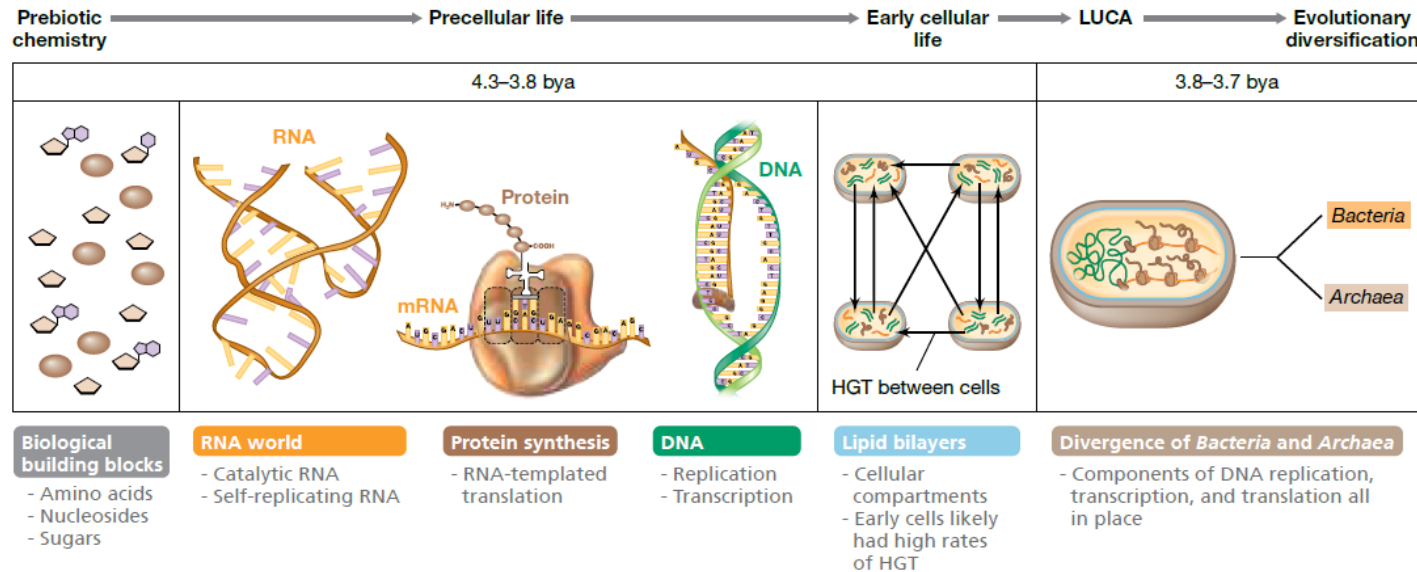


Prebiyotik Kimya ve İlk Kendini Kopyalayan Sistemler

- Hidrotermal sistemlerde amino asitler, lipitler, şekerler ve nükleotid bazları gibi yaşamın temel yapıtaşları olabilecek moleküller abiyotik olarak oluşabilir.
- Bu moleküllerin varlığı, ilk kendini kopyalayabilen sistemlerin ortaya çıkmasını sağlayan prebiyotik kimyasal süreçlere zemin hazırlamıştır.
- Yaşam ister deniz tabanında ister başka bir ortamda başlamış olsun, kendini eşleyebilen ilk yapıların gelişebilmesi için mutlaka bu tür bir prebiyotik kimyanın varlığı gerekiyordu.
- Bu erken sistemler, hücresel yaşamın öncülleri olarak değerlendirilen en temel biyokimyasal düzeneklerin başlangıcını temsil eder.

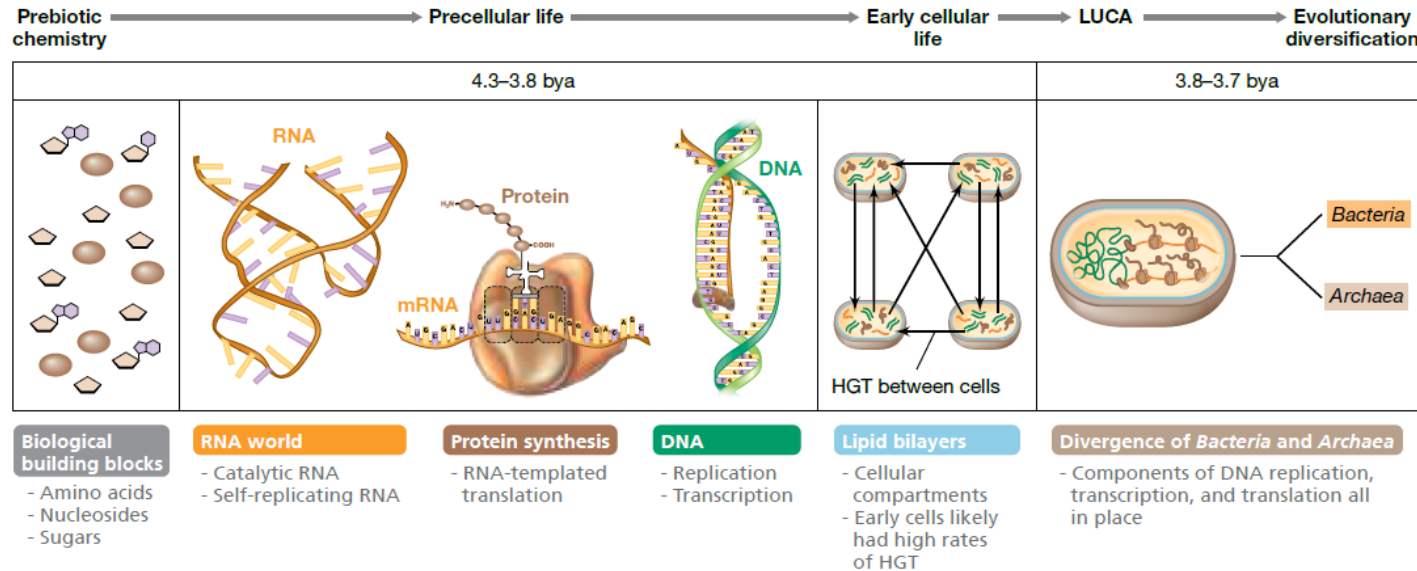
RNA Dünyası Hipotezi

- İlk kendini kopyalayabilen sistemlerin merkezinde RNA moleküllerinin bulunmuş olabileceği düşünülür.
- RNA, ATP ve NADH gibi tüm hücrelerde bulunan bazı temel kofaktörlerin bileşeni olması yanında küçük moleküllere bağlanabilme yeteneğine de sahiptir.



RNA Dünyası Hipotezi

- RNA aynı zamanda katalitik işlevler üstlenebilir ve rRNA, tRNA ve mRNA üzerinden protein sentezini yönlendirebilir.
- Bu özellikler, bazı RNA moleküllerinin bir zamanlar kendi sentezlerini katalizleyebilmiş olabileceğini ve bu nedenle erken yaşamda DNA ve proteine ihtiyaç duyulmamış olabileceğini düşündürür.



RNA'dan DNA ve Protein Dünyasına Geçiş

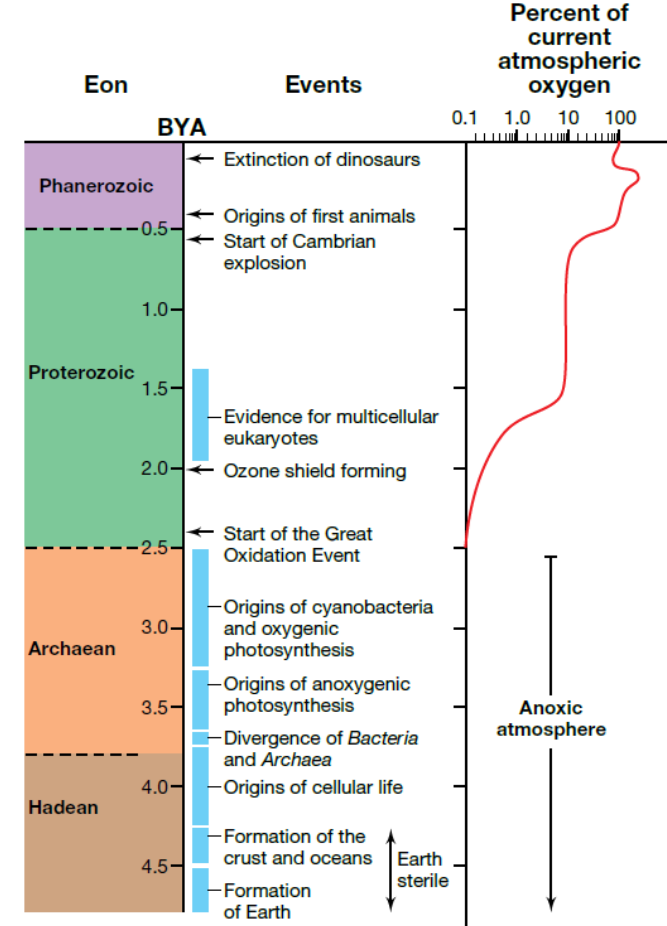
- Karşılaştırmalı genomik çalışmalar, en erken virüslerin DNA yerine RNA genomlarına sahip ilkel hücre benzeri yapılardan evrimleşmiş olabileceğini düşündürür.
- Zamanla proteinler, RNA'nın katalitik görevlerinin yerini almış ve daha kararlı bir molekül olan DNA, genetik bilginin depolanması için temel yapı haline gelmiştir.
- Bu geçiş DNA–RNA–protein üçlü sisteminin şekillenmesini sağlamıştır.
- En erken hücresel yaşam biçimleri, bu üçlü sisteme ek olarak enerji korunumu sağlayan bir zar yapısına da sahip olmuş olabilir.

LUCA ve İlk Hattın Ayrılması

- Tüm canlıların ortak atası olan son evrensel ortak ata (LUCA), yaklaşık 3.8–3.7 milyar yıl önce yaşamış olabilir.
- Bu dönem, Bacteria ve Archaea'nın birbirinden ayrılarak tanıdığımız çeşitli yaşam biçimlerine doğru evrimleşmeye başladığı döneme denk gelir.
- Bu süreç, yoğun biyokimyasal yeniliklerin ve yeni moleküler düzeneklerin doğal seçilimle şekillendiği bir dönem olarak düşünülür.
- Böylece, ilk kendini kopyalayabilen sistemlerin yapısal ve işlevsel özellikleri zaman içinde giderek karmaşık hale gelmiştir.

Hücresel Yaşamın Ortaya Çıkışı ve Metabolik Çeşitlilik

- Hücrelerin ortaya çıkmasının ardından mikrobiyal yaşam, Dünya'nın sunduğu kaynakları kullanarak uzun bir metabolik çeşitlenme dönemi geçirmiştir.
- Dünya'nın büyük bölümü, okyanuslar da dahil olmak üzere, uzun süre anoksikti.
- Bu nedenle ilk hücresel yaşam biçimleri enerjiyi yalnızca anaerobik metabolizmalarla elde edebilmiştir.
- CO₂'nin başlıca karbon kaynağı olması muhtemeldir çünkü abiyotik organik karbon kaynakları yaşam arttıkça hızla sınırlayıcı hale gelmiştir.

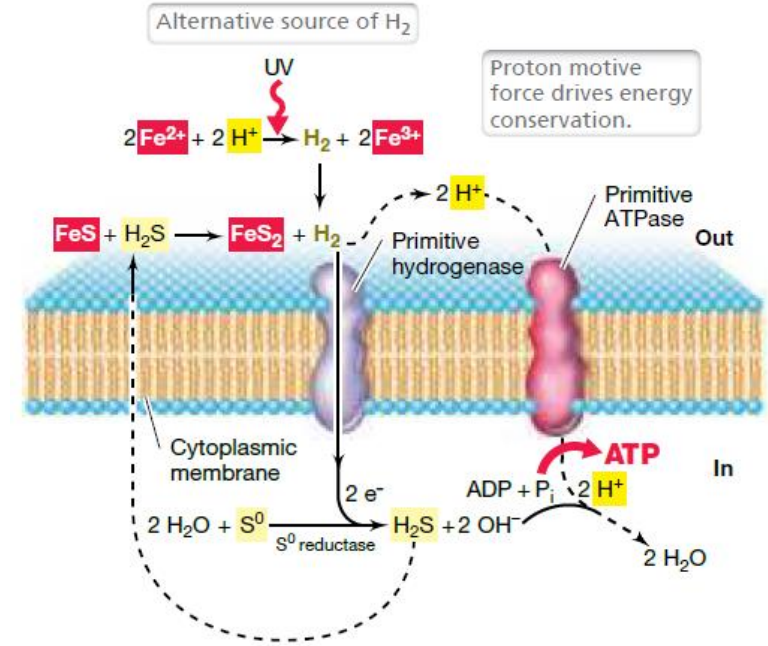


Erken Dünya'da Azot ve Karbon Kaynakları

- Erken Dünya'da sabitlenmiş azot kaynakları da hızla tükenmiş ve mikroorganizmalar atmosferik N₂'yi kullanabilmek için azot fiksasyonunu geliştirmiştir.
- Kayalardaki izotop oranları, azot fiksasyonunun 3.2 milyar yıl kadar önce ortaya çıkmış olabileceğini düşündürür.
- Hem ototrof karbon fiksasyonu hem de azot fiksasyonu bugün mikroorganizmalar arasında yaygın olarak görülmeye devam eder.
- Bu metabolik yenilikler, erken hücrelerin geniş kaynaklara erişebilmesini sağlamıştır.

Hidrojen Tabanlı Enerji Metabolizması

- Hidrojenin erken hücrelerin enerji metabolizmasında başlıca yakıt olduğu düşünülür ve bu görüş yaşam ağacındaki dallanmalarla da desteklenir.
- En erken dallanan Bacteria ve Archaea türlerinin hemen hepsi H₂'yi elektron vericisi olarak kullanır ve ototroftur.
- Elementel kükürtün (S⁰) indirgenmesi de erken elektron alıcılarından biri olabilir.
- H₂ ve kükürt bileşiklerinin bolluğu, hücrelere neredeyse sınırsız bir enerji kaynağı sunmuş olabilir.



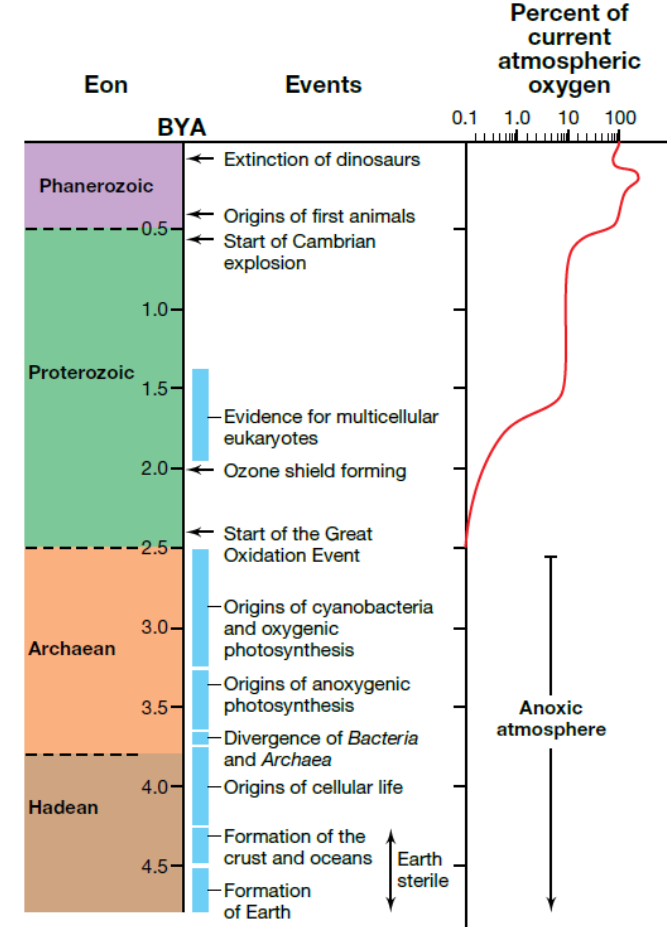
Erken Kemolitotrofik Metabolizmalar

- Bazı erken mikroorganizmalar H_2 ve CO_2 'yi kullanarak asetat ya da metan üretmiş olabilir.
- Bu kemolitotrofik yollar, CO_2 'nin ototrofik olarak indirgenmesini sağlayarak büyük miktarlarda organik bileşik sentezine katkı sağlamıştır.
- Zamanla bu organik maddeler birikmiş ve yeni enerji stratejileri geliştirebilen çeşitli kemoototrofların evrimine zemin hazırlamıştır.
- Bu süreç, organik bileşiklerin oksidasyonu üzerinden enerji üreten farklı metabolik yolların oluşmasını mümkün kılmıştır.



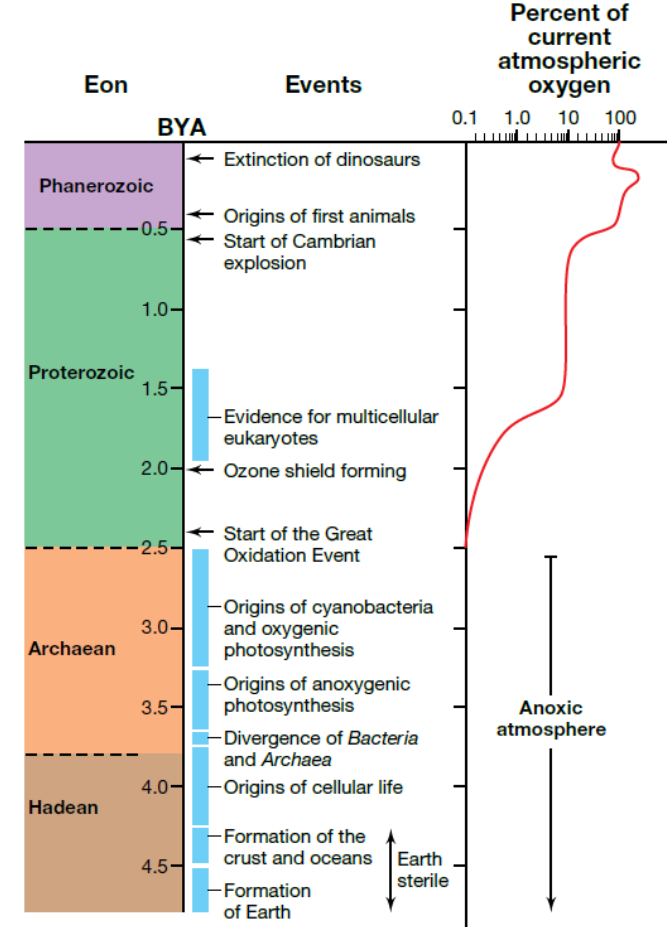
Oksijenin Yükselişi ve Dünya'nın Değişen Biyosferi

- Zaman içinde Dünya, günümüzde soluduğumuz yüksek O₂ seviyelerine sahip oksik bir gezegen haline gelmiştir.
- Yandaki figürde gösterilen bu büyük jeokimyasal dönüşüm, mikrobiyal faaliyetlerin bir sonucu olarak gerçekleşmiştir.
- Oksijenin yükselişi, gezegenin biyosferini ve mikrobiyal evrimin yönünü kökten değiştiren bir dönüm noktası olmuştur.



Fotosentezin Evrimi ve Dünya Kimyasının Değişimi

- Fotosentezin ortaya çıkışı, Dünya'nın kimyasını kökten değiştiren büyük bir biyolojik yenilik olarak kabul edilir.
- Fototrofik canlılar, güneş enerjisini kullanarak H_2S , S^0 veya H_2O gibi molekülleri okside eder ve CO_2 'den organik moleküller sentezler.
- İlk fototroflar anoksijenik olup, bunlardan oksijen üreten ilk canlılar olan siyanobakteriler evrilmiştir.
- Fotosentez ürünlerinin zamanla birikmesi, mikrobiyal yaşamın çeşitlenmesini hızlandıran ekolojik bir dönüşüm yaratmıştır.



Stromatolitlerin Kökeni ve Önemi

- Fosilleşmiş stromatolitler, 3.5 milyar yıl öncesine kadar uzanan ve Dünya'daki yaşamın en eski doğrudan kanıtlarını sunan yapılardır.
- Stromatolitler, bazı mikrobiyal matların karbonat veya silikat minerallerinin çökmesine yol açmasıyla oluşan katmanlı kayalardır.
- 2.8–1 milyar yıl önce oldukça yaygın olan bu yapılar, son bir milyar yılda büyük ölçüde azalmış olsa da günümüzde bazı sığ deniz havzalarında ve kaplıcalarda modern örnekleri hâlen görülür (Figür c, d, e).
- Siyanobakteriler ve *Chloroflexus* gibi fototrofik bakteriler modern stromatolit oluşumunda temel rol oynar.



(a)



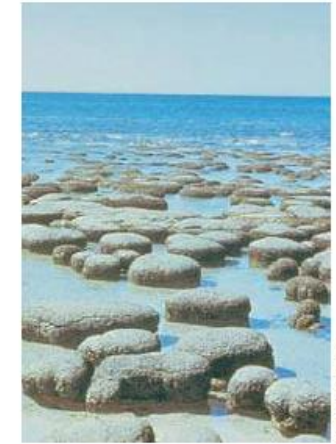
(b)



(c)



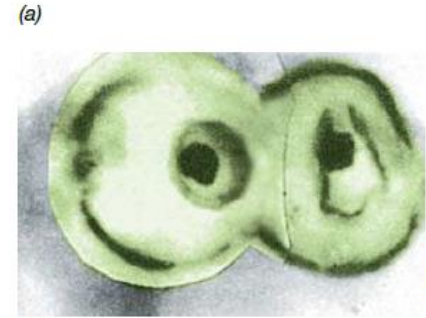
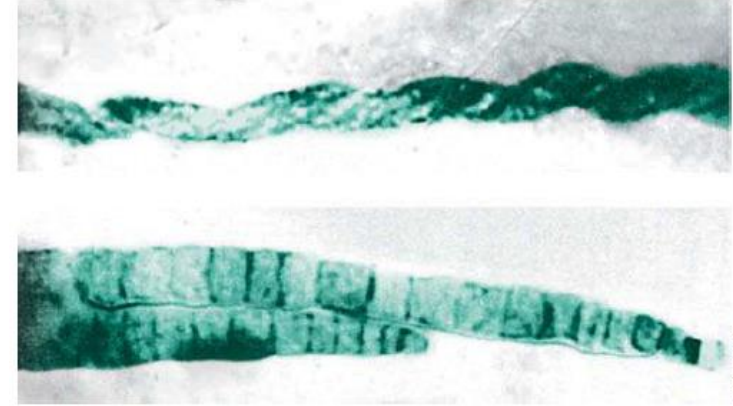
(d)



(e)

Stromatolitlerdeki Mikrofosiller ve Fototrofların Kökeni

- Antik stromatolitlerde bulunan mikrofosiller, modern fototrofik bakteri türlerine şaşırtıcı derecede benzeyen yapılara sahiptir (Figür a).
- Bu benzerlik, fototrofların bakteriler içinde 3.5 milyar yıldan daha önce evrimleşmiş olabileceğini düşündürür.
- Bu erken fototroflar, fosil kayıtlarda gördüğümüz ilk stromatolitlerin oluşumuna katkı sağlamıştır.
- Fototrofik yaşamın çeşitlenmesi, gezegenin biyokimyasal evriminde belirleyici bir aşama yaratmıştır.



(a)

(b)

J.W. Schopf

J.W. Schopf

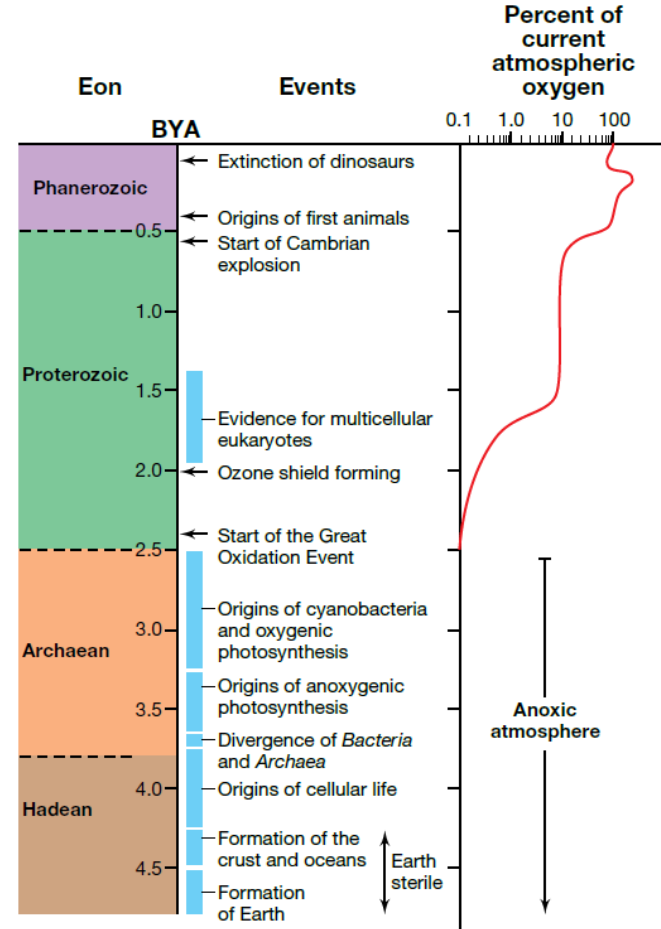


Anoksijenik Fotosentezden Oksijenik Fotosenteze Geçiş

- İlk fototroflar CO₂ fiksasyonu için H₂S gibi elektron vericilerini kullanmış ve atık ürün olarak elementel kükürt (S⁰) üretmiştir.
- Güneş enerjisinin kullanımı, fototrofların geniş ekolojik ortamlara yayılmasına olanak sağlamıştır.
- 2.5–3.3 milyar yıl önce siyanobakteriler, H₂O'yu elektron vericisi olarak kullanarak oksijenik fotosentezi gerçekleştiren fotosistemleri geliştirmiştir.
- O₂ üretiminin başlaması, biyosfer tarihinde görölmüş en büyük kimyasal dönüşüme yol açmış ve aerobik solunum gibi yeni metabolik yolların evrimleşmesini mümkün kılmıştır.

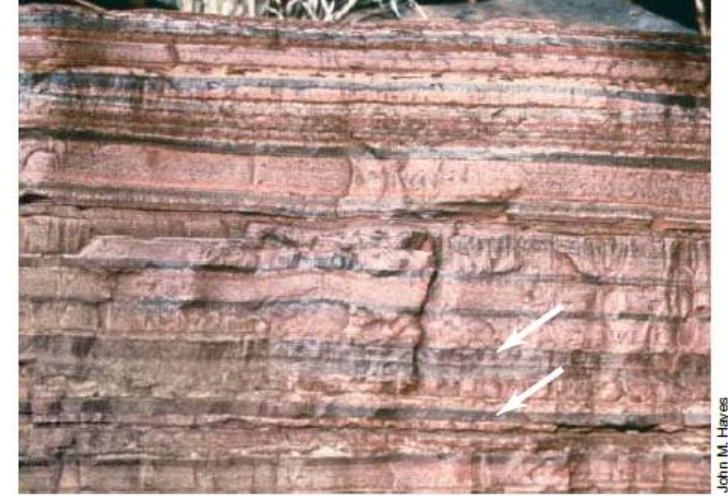
Oksijenin Yükselişi ve Büyük Oksidasyon Olayı

- Oksijenik fotosentez, atmosferde O₂ birikmeden yüz milyonlarca yıl önce ortaya çıkmıştır.
- Üretilen O₂, başlangıçta okyanuslardaki Fe²⁺ içeren minerallerle reaksiyona girdiğinden atmosferde birikmemiştir.
- 2.4 milyar yıl önce atmosferik O₂ 1 ppm düzeyine ulaşmış ve bu artış Büyük Oksidasyon Olayı'nın başlangıcını oluşturmuştur.
- Bu olay, Dünya'nın çevresel koşullarının geri dönüşü olmayan bir şekilde oksijenli bir yapıya geçmesine neden olmuştur.



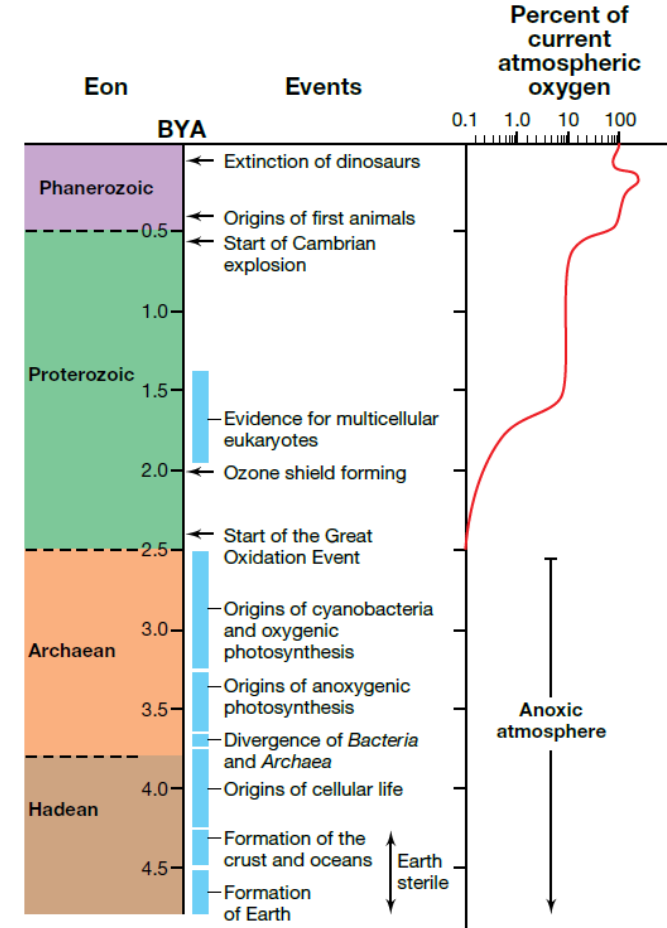
Banded Iron Formations (BIF) ve Jeolojik Kayıt

- Siyanobakterilerin ürettiği O_2 , Fe^{2+} içeren mineralleri Fe^{3+} içeren oksitlere dönüştürmüş ve bu oksitler suda çözünmediğinden deniz tabanına çökelmiştir.
- Bu çökelimler, demir ve silika bakımından zengin bantlı tortul kayalar olan 'banded iron formations' yapılarını oluşturmuştur.
- Prekambriyen dönemine ait kayalardaki demirin büyük bölümü bu bantlı oluşumlar hâlinde bulunur ve günümüzde önemli bir demir cevheri kaynağıdır.
- Fe^{2+} tamamen tükendikten sonra atmosferde O_2 birikmeye başlamış ve 600–900 milyon yıl önce modern düzeyine (~%21) ulaşmıştır.



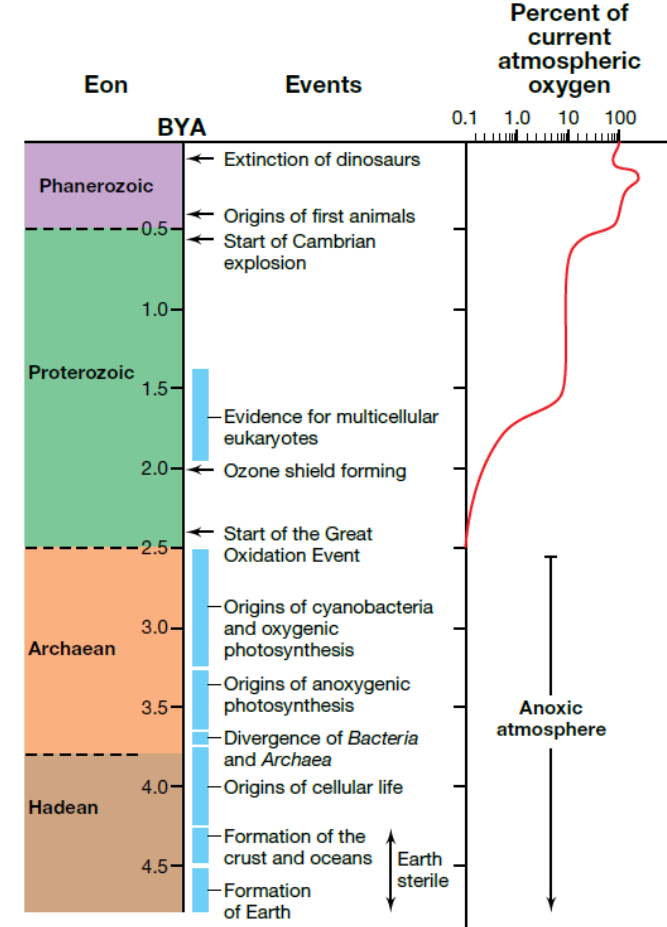
Oksijenin Ekosistem ve Mikrobiyal Yaşam Üzerindeki Etkileri

- Atmosferin anoksikten oksik hale geçmesi, O₂'ye duyarlı birçok Bacteria ve Archaea türünü yalnızca anoksik habitatlara sıkıştırmıştır.
- O₂'nin toksisitesi ve oksitleyici gücü, bu mikroorganizmaların yaşam alanlarını büyük ölçüde sınırlandırmıştır.
- Buna karşılık, oksijenli atmosfer yeni metabolik yolların (örn. sülfid oksidasyonu, nitrifikasyon, aerobik kemolitotrofler) evrimini mümkün kılmıştır.
- O₂ soluyabilen organizmalar, O₂/H₂O redoks çiftinin yüksek indirgenme potansiyeli sayesinde büyük bir enerji avantajı kazanmış ve daha hızlı çoğalabilmiştir.



Ozon Tabakasının Oluşumu ve UV Koruması

- O₂'nin varlığı, güneşten gelen UV ışınlarının etkisiyle O₃ (ozon) oluşumuna yol açmış ve bu durum güçlü bir UV koruyucu tabaka meydana getirmiştir.
- Ozon tabakası, 300 nm'ye kadar olan UV radyasyonunu büyük ölçüde soğurarak canlıları DNA hasarından korumuştur.
- Ozon tabakası öncesinde Dünya yüzeyi yoğun UV nedeniyle yaşam için oldukça elverişsizdi ve yaşam daha çok okyanuslarda veya yeraltında korunabiliyordu.
- Ozon kalkınının gelişmesiyle birlikte canlılar yeryüzüne yayılma fırsatı bulmuş ve kara ekosistemleri giderek daha çeşitli hâle gelmiştir.

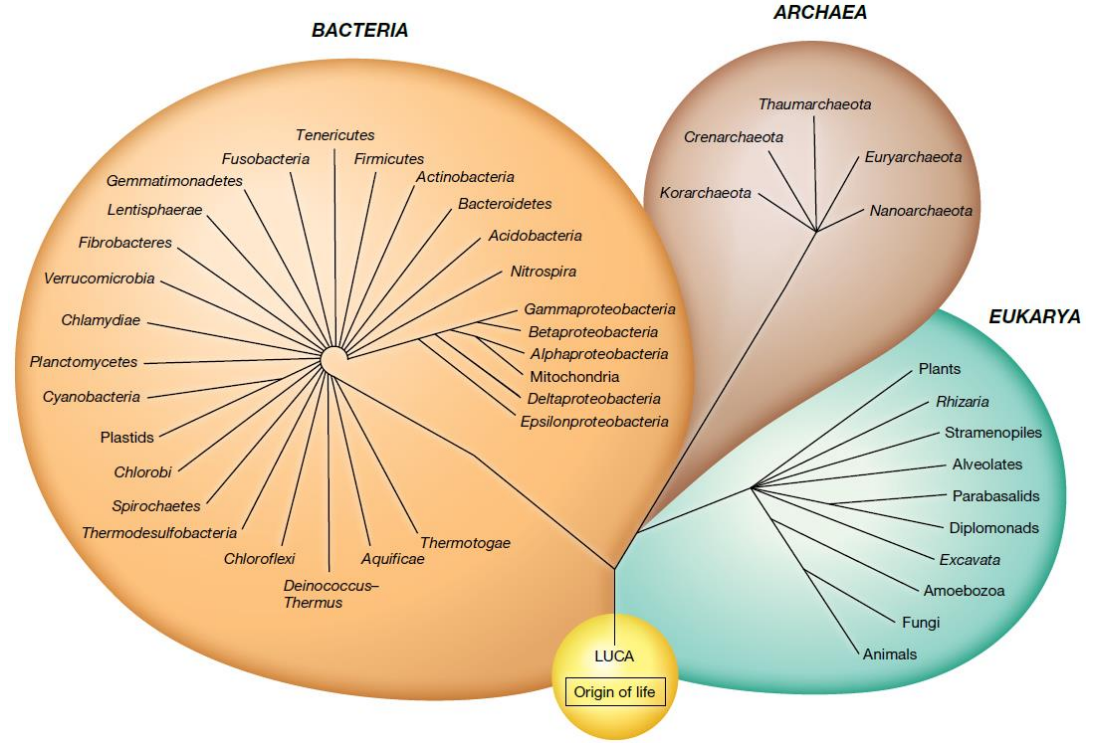


DNA'nın Evrimsel Tarihi Kaydetmesi

- Moleküler dizilerin, özellikle DNA dizilerinin, evrimsel geçmişi kayıt eden bir yapı olduğu anlaşılmadan önce mikroorganizmaların kökeni büyük ölçüde belirsizdi.
- Mutasyonların rastgele oluşarak zamanla DNA dizisinde kalıtsal değişimler biriktirmesi, evrimsel süreçlerin temelini oluşturur.
- Birbirine yakın akraba olan organizmalar benzer DNA dizilerine sahipken, uzak akraba gruplarda diziler daha farklıdır.
- Bu nedenle, ilgili organizmaların nükleotit dizilerindeki benzerlikler incelenerek evrimsel tarihleri, yani filogenileri yeniden inşa edilebilir.

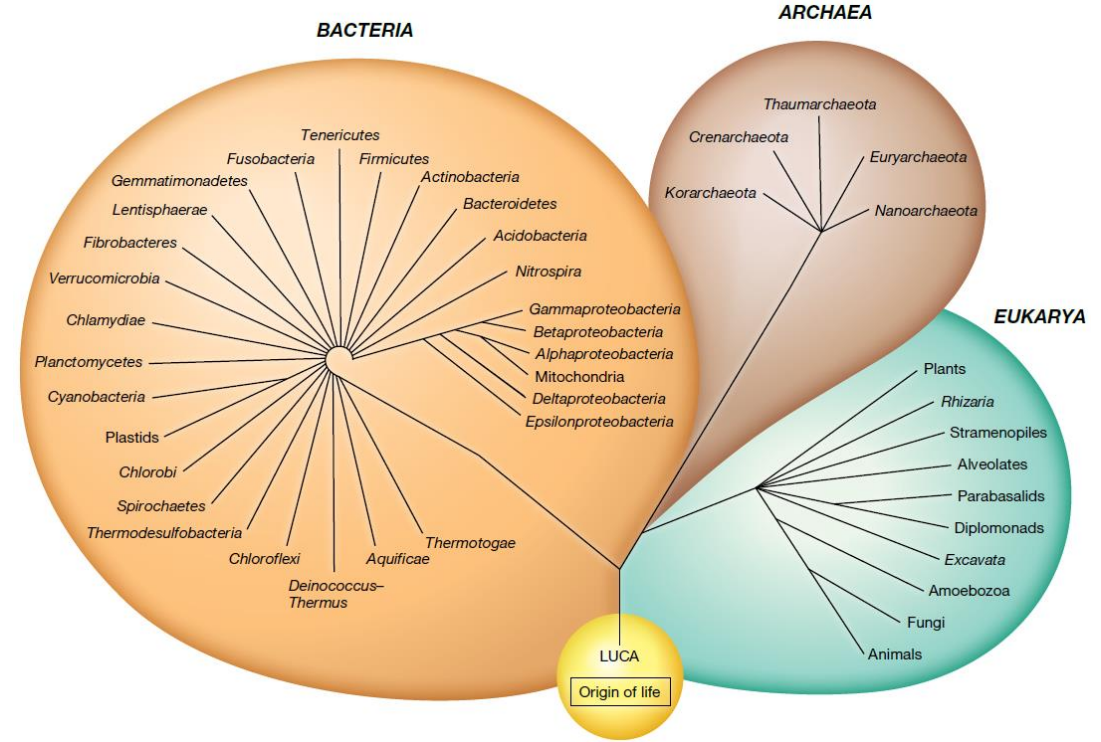
Carl Woese ve Evrensel Yaşam Ağacı

- Carl Woese, çok çeşitli organizmaların ribozomal RNA genlerindeki nükleotit dizileri üzerinden ilk evrensel yaşam ağacını oluşturmuştur.
- Evrensel yaşam ağacı, Dünya'daki tüm yaşamın soy ağacını gösterir ve canlıların Bacteria, Archaea ve Eukarya olmak üzere üç domaine ayrıldığını açıkça ortaya koyar.
- Ağacın kökü, tüm canlıların paylaştığı son ortak atayı, yani LUCA'yı temsil eder.
- Bu ağaç, ilk canlıların mikroorganizmalar olduğunu ve yaşam tarihinin büyük bölümünde mikrobiyal hayatın baskın olduğunu gösterir.



Genomik Veriler ve Üç-Domain Kavramı

- Genomik çalışmalar, hüresel işlevlerin merkezinde yer alan genlerin filogenetik analizleri üzerinden üç-domain modelini destekler.
- Bugün yaşayan neredeyse tüm hücrelerin paylaştığı en az 60 gen bulunur ve bu genlerin LUCA'da da mevcut olduğu anlaşılmaktadır.
- Transkripsiyon, translasyon ve DNA replikasyonu gibi temel süreçlerde görev alan bu korunmuş genler arasında, Eukarya genleri Archaea genlerine Bacteria genlerinden daha fazla benzerlik gösterir.
- Bu veriler, Bacteria ve Archaea'nın, ökaryotik hücrelerin kökeninden önce birbirinden ayrıldığını ve LUCA'nın prokaryotik bir hücre yapısına sahip olduğunu destekler.

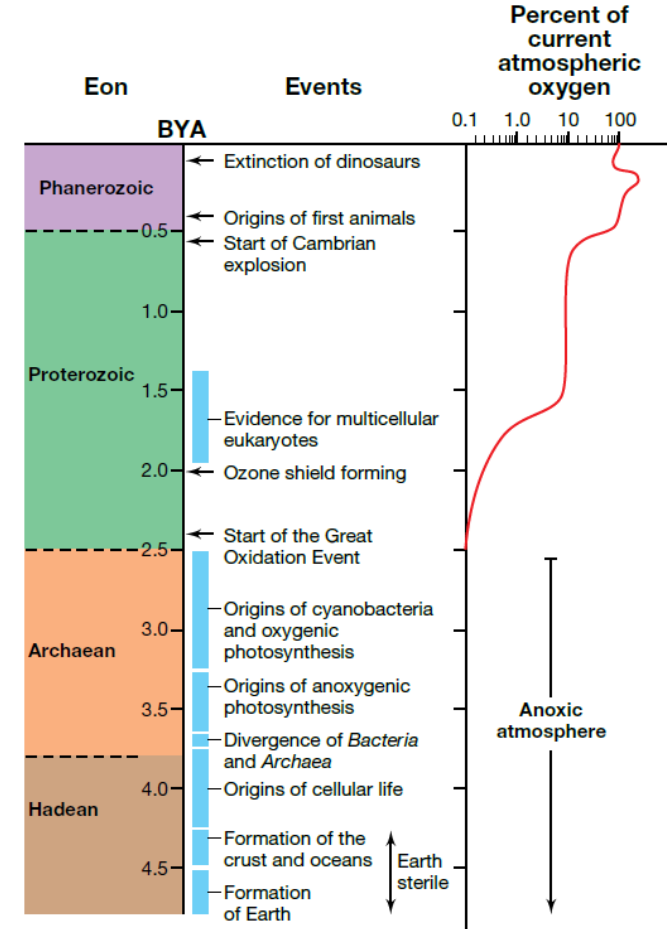


Üç Domainin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

- Üç domainin tam olarak nasıl ortaya çıktığı hâlâ tartışmalı olsa da, Bacteria, Archaea ve Eukarya'nın Dünya'daki temel evrimsel soy hatlarını temsil ettiği açıktır.
- Bacteria ve Archaea'nın, Eukarya'dan önce birbirinden ayrıldığı anlaşılmaktadır.
- Üç domain arasında paylaşılan birçok gen bulunması, yaşamın erken dönemlerinde yatay gen aktarımının çok yaygın olduğu fikrini destekler.
- Zamanla bu yatay aktarımı sınırlayan bariyerlerin ortaya çıkması, genomik kararlılığın sağlanmasına ve soy hatlarının belirginleşmesine yol açmıştır.

Domainlerin Zaman İçindeki Ayrışması

- Bacteria ve Archaea'nın yaklaşık 3.7 milyar yıl önce birbirinden ayrıldığı düşünülmektedir.
- Ardından, yaklaşık 1.2–2.7 milyar yıl önce Eukarya, Archaea'dan ayrılarak bağımsız bir domain hâline gelmiştir.
- Zaman içinde her domain kendi içerisinde genetik, fizyolojik ve yapısal özellikler biriktirerek birbirinden ayrılan büyük canlı gruplarını oluşturmuştur.
- Böylece yaklaşık 4 milyar yıllık mikrobiyal evrimin sonunda, ortak bir atadan gelen ancak birbirinden belirgin biçimde ayrılmış üç domain ortaya çıkmıştır.



Eukarya'nın Kökenine Geçiş

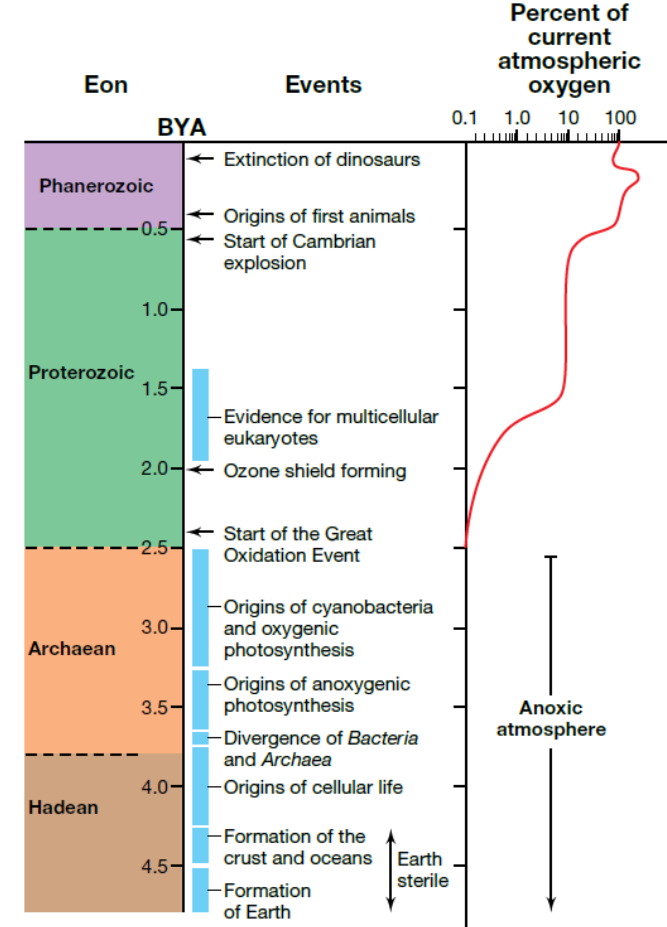
- Evrimsel sürecin detaylarına geçmeden önce, prokaryotik hücre yapısından belirgin şekilde farklı olan ve ayrı bir filogenetik grup oluşturan Eukarya'ya kısaca odaklanmak gerekir.
- Bugünkü ökaryotik hücre yapısı, kısmen prokaryotik hücrelerin etkisiyle şekillenmiştir.
- Bu nedenle, ökaryotik hücrenin nasıl ortaya çıktığını anlamak için prokaryotik katkıların incelenmesi gerekir.

Ökaryotların Endosimbiyotik Kökeni

- Eukarya'nın Archaea soyundan ayrılması, çekirdek ve organellerin ortaya çıkmasıyla birlikte hücresel evrimde büyük bir dönüm noktasıdır.
- Bu süreç, ökaryotik hücre yapısının nasıl oluştuğunu açıklayan endosimbiyoz yaklaşımıyla ele alınmaktadır.
- Güncel bir hipoteze göre, ökaryotların kökeni Archaea'nın içinden gelen bir soya dayanır.
- Ökaryotların genetik olarak iki farklı domainin genlerini taşıyan "kimera" yapıda olduğu anlaşılmaktadır.

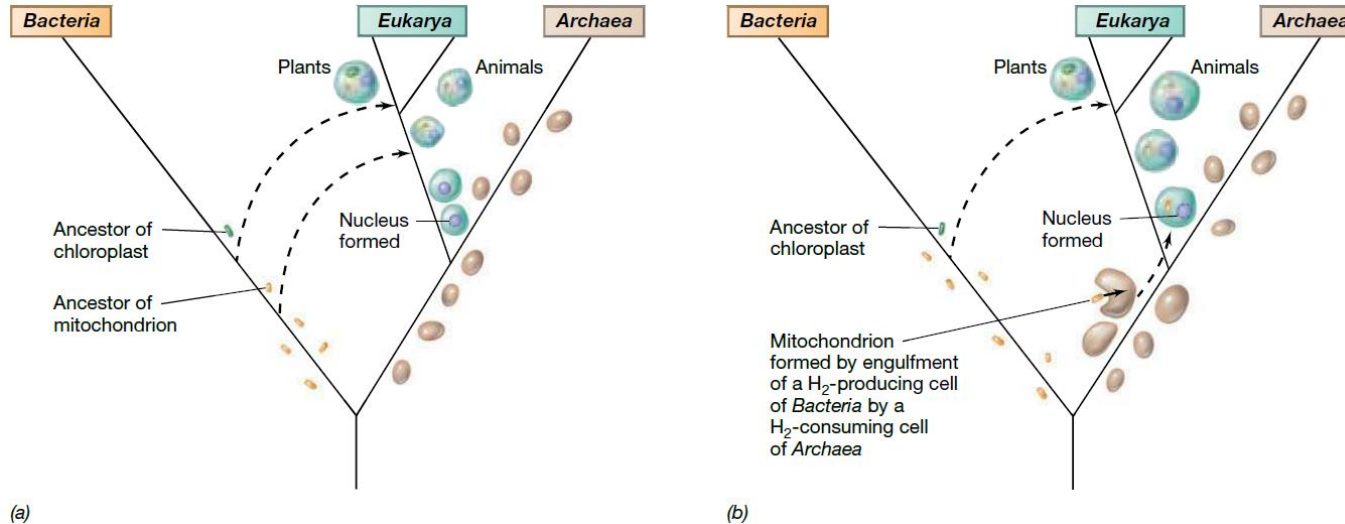
Oksijen Artışı ve Ökaryotların Ortaya Çıkışı

- Dünya'nın giderek daha oksijenli bir hale gelmesi, organelli ökaryotik mikroorganizmaların ortaya çıkışını ve bu canlıların evrimsel sürecini derinden etkilemiştir.
- Ökaryotik hücrenin kesin kökeni bilinmemekle birlikte, tanınabilir çekirdeğe sahip en eski mikrofosillerin yaklaşık 2 milyar yıl yaşında olduğu düşünülmektedir.
- Çok hücreli ve giderek karmaşıklaşan alg mikrofosilleri 1,9 ile 1,4 milyar yıl önceye tarihlenir.
- Yaklaşık 0,6 milyar yıl önce O₂ seviyeleri günümüze yaklaşmışken, denizlerde Ediacaran faunası olarak bilinen büyük çok hücreli organizmalar bulunmaktaydı.



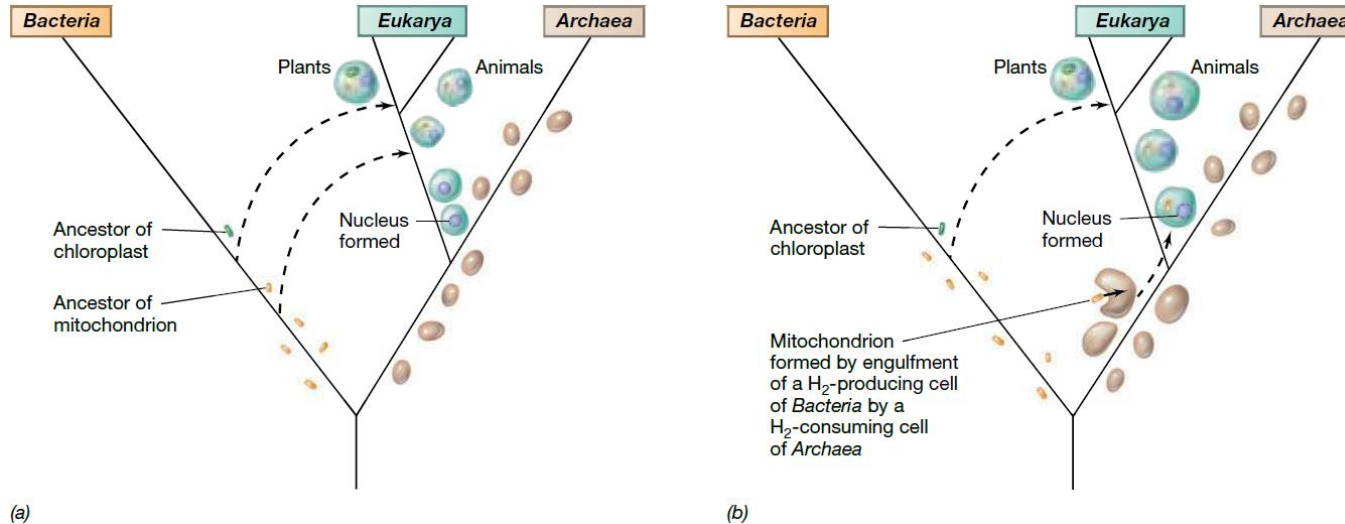
Endosimbioz ve Organellerin Kökeni

- Organellerin kökenini açıklayan güçlü ve iyi desteklenmiş açıklama, endosimbiyotik hipotezdir.
- Bu hipoteze göre, modern ökaryotların mitokondrisi aerob solunum yapabilen bir bakterinin erken ökaryotik hücrelerin sitoplazmasına kararlı biçimde alınmasıyla ortaya çıkmıştır.



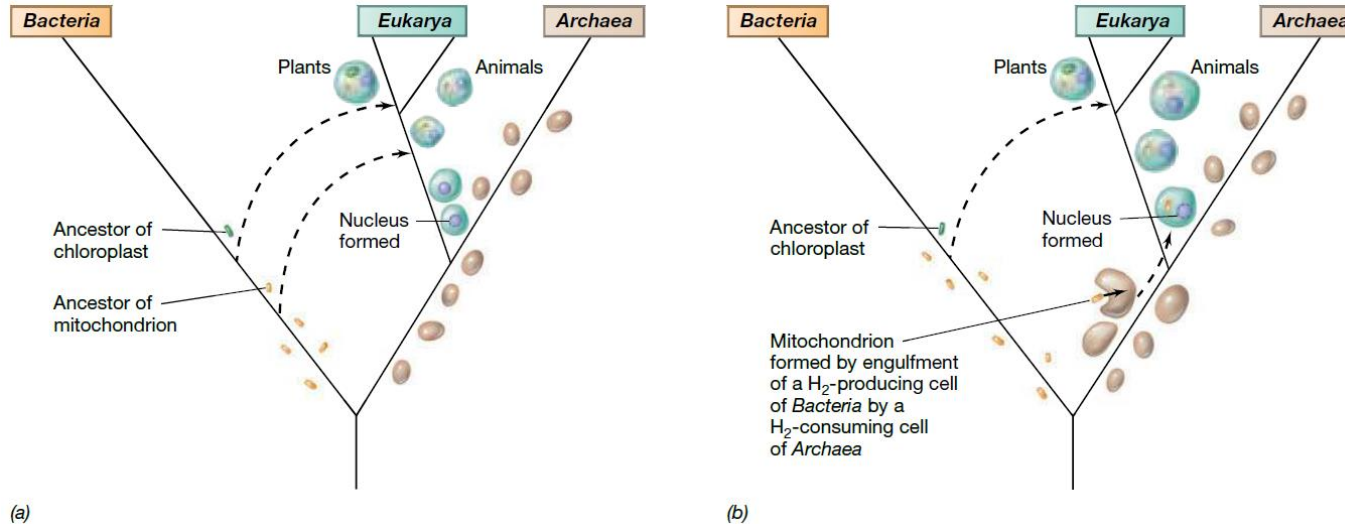
Endosimbiyoz ve Organellerin Kökeni

- Endosimbiyotik mitokondriler hücrenin solunum kapasitesini artırmış ve bu sayede mitokondri içeren erken ökaryotlar tüm canlı Eukarya'nın ataları hâline gelmiştir.
- Günümüzde hemen tüm ökaryotik hücrelerde mitokondri bulunmakla birlikte, bazı anaerobik mikrobiyal ökaryot soylarında bu yapılar sonradan kaybolmuştur.



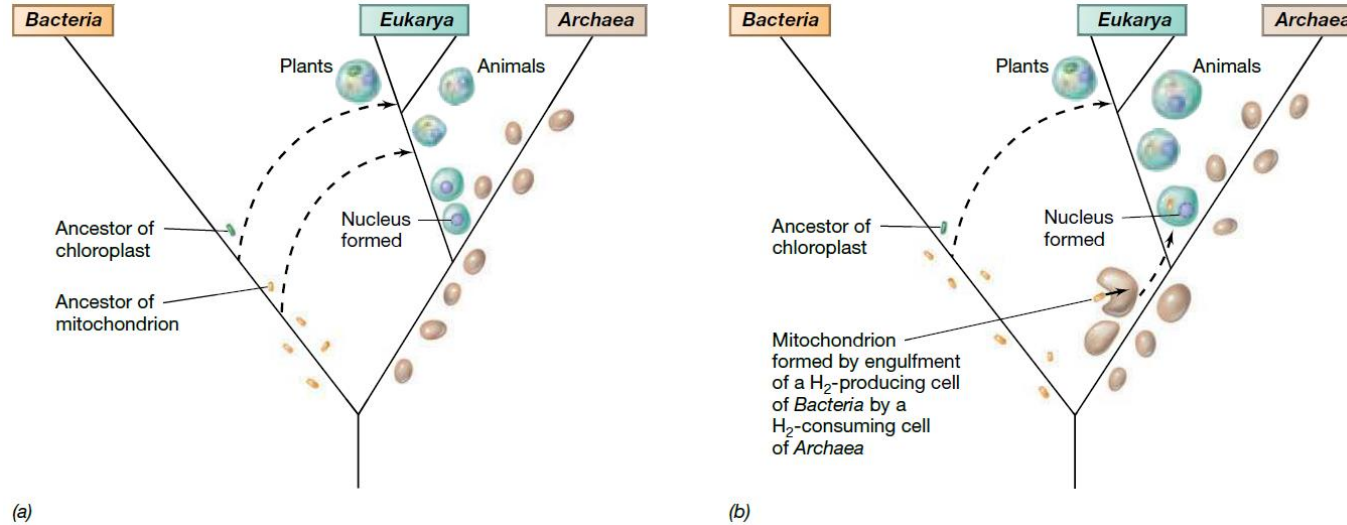
Kloroplastların Kökeni ve Fotosentezin Ortaya Çıkışı

- İkinci büyük endosimbiyotik olay, kloroplastların kökenini oluşturmuş ve bu süreç yaşamın evriminde önemli bir dönüm noktası yaratmıştır.
- Kloroplastlar, siyanobakteri benzeri bir hücrenin bir ökaryotik soyun sitoplazmasına kararlı biçimde alınmasıyla oluşmuştur.



Kloroplastların Kökeni ve Fotosentezin Ortaya Çıkışı

- Bu endosimbioz sonucunda Eukarya içinde fotosentez ortaya çıkmış ve tüm fototrofik ökaryotlar bu kloroplastı edinmiş ortak atadan türemiştir.
- Atmosferik O₂ seviyesi, mitokondrinin atasının O₂ tüketmesi ve kloroplastın atasının O₂ üretmesi nedeniyle organellerin endosimbiyotik kökeniyle yakından ilişkilidir.



Endosimbiyozun Metabolik Çeşitliliğe Katkısı

- Mitokondri ve kloroplastların kazanımı, erken ökaryotik hücrelerin metabolizmasını çeşitlendirmiş ve farklı enerji kaynaklarının kullanılabilmesini sağlamıştır.
- Mitokondriler aerob solunumu mümkün kılmış, kloroplastlar ise güneş ışığından enerji elde edilmesini sağlamıştır.
- Bu organellerin endosimbiyotik kökeni, modern Eukarya'nın çeşitlenmesinin temelini oluşturmuştur.



Mitokondri ve Kloroplastların Endosimbiyotik Kanıtları

- Mitokondri ve kloroplastların fizyolojisi, metabolizması ve genomik özellikleri endosimbiyozu güçlü biçimde desteklemektedir.
- Her iki organelde de Bacteria ve Archaea'daki gibi 70S boyutunda ribozomlar bulunur ve 16S rRNA içerirler.
- Bu organellerdeki 16S rRNA gen dizileri bakterilere özgü özellikler taşır; mitokondrinin atası *Alphaproteobacteria*, kloroplastın atası ise *Cyanobacteria* içinde konumlanmaktadır.
- Serbest yaşayan bakterilerde ribozomları inhibe eden antibiyotiklerin, bu organellerin ribozomlarını da inhibe etmesi endosimbiyotik kökene ek bir kanıttır.



Organellerin Genetik Yapısı ve Bakteriyel Benzerlikler

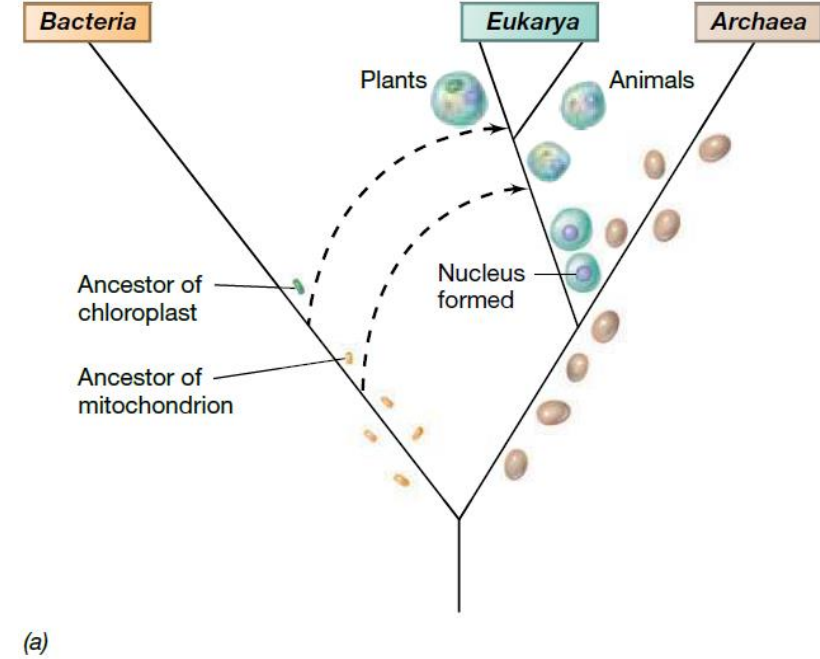
- Mitokondri ve kloroplastlar, bakterilerde olduğu gibi kovalent kapalı halkasal DNA taşır.
- Bu gen dizilerinin filogenetik analizi bakteriyel bir soyun varlığına işaret etmektedir.
- Modern ökaryotik hücrelerdeki organellerde, bakteriyel kökeni açıkça gösteren birçok başka belirti daha bulunmaktadır.

Ökaryotik Hücrenin Oluşumu ve Genetik Kimerizm

- Ökaryotik hücrenin hangi yollarla ortaya çıktığı tam olarak çözülememiştir, ancak modern ökaryotik genomun hem Bacteria hem Archaea kaynaklı genleri içeren bir kimera olduğu açıktır.
- Ökaryotlarda bilgi işleme mekanizmalarını kodlayan genler Archaea'ya benzerken, metabolik genlerin çoğu Bacteria'ya benzemektedir.
- Transkripsiyon ve translasyon gibi süreçlerde Archaea ile ortak özellikler bulunurken, ester bağlı membran lipidleri ve glikoliz yolu Bacteria ile ortak özelliklerdir.
- Ayrıca bazı endosimbiontlardan çekirdek genomuna gen transferleri gerçekleşmiştir.

Seri Endosimbioz Hipotezi

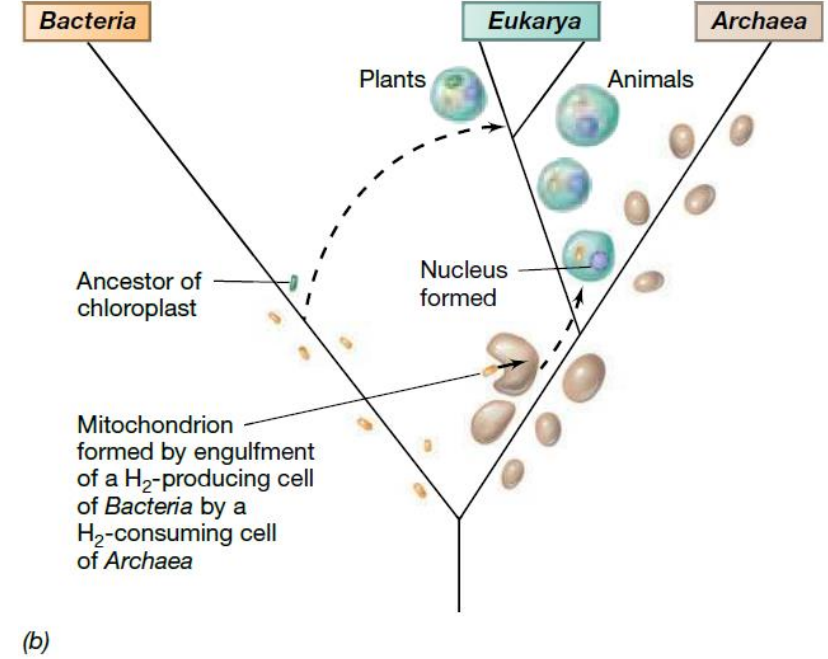
- İlk büyük görüş olan seri endosimbioz hipotezi, ökaryotların Archaea'dan ayrılan çekirdekli bir soy olarak ortaya çıktığını ve ardından mitokondri ve kloroplastları endosimbiozla kazandığını savunur.
- Bu hipoteze göre bakteri hücresi konak tarafından yok edilmemiş, sitoplazma içinde çoğalıp kalıcı bir endosimbiont hâline gelmiştir.
- Ökaryotların bakterilere benzeyen genlerinin, endosimbionttan çekirdek genomuna aktarılan genler olduğu düşünülmektedir.
- Ancak bu hipotezin en büyük sorunu, Archaea ile karşılaştırıldığında Bacteria ve Eukarya'nın benzer membran lipidlerine sahip olmasını açıklamakta zorlanmasıdır.





Sembiyogenez ve Hidrojen Hipotezi

- İkinci büyük görüş olan sembiyogenez hipotezi, ökaryotik hücrenin Bacteria ve Archaea arasındaki simbiyotik bir ilişkiden doğduğunu öne sürer.
- Hidrojen hipotezi olarak bilinen bir versiyonda, H₂ üreten bir Bacteria türü ile H₂ tüketen bir Archaea türü arasındaki ortak yaşamdan ökaryotik hücrenin ortaya çıktığı düşünülür.
- Bu senaryoda bakteriyel ortak, aerob koşullarda solunum yapabilen ve anaerob koşullarda H₂ üretebilen kemoototroftur.
- Söz konusu iki ortak, bakterinin daha sonra konak tarafından içselleştirilmesine ve mitokondrinin oluşumuna kadar uzun süre birlikte evrimleşmiş olabilir.



Nükleusun Kökeni ve Lipid Gen Transferi

- Sembiyogenez modelinde, bakteriden konağa lipid biyosenteziyle ilgili genlerin aktarılması, konağın yağ asidi içeren lipidler sentezlemesine olanak sağlamıştır.
- Bu lipid yapıları, çekirdek zarı gibi iç zar sistemlerinin oluşumuna elverişli bir ortam yaratmış olabilir.
- Böylece nükleusun endosimbiyozdan sonra ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Nükleusun Ortaya Çıkışı ve RNA İşleme Gereksinimi

- Nükleusun evrimsel süreçte mitokondriden önce mi yoksa sonra mı oluştuğu hâlen kesin değildir.
- Bir görüş, nükleusun ortaya çıkışının Eukarya'daki RNA işleme süreçlerinin evrimiyle ilişkili olduğunu savunur.
- Ökaryotik genlerde intronların bulunması ve bunların translasyondan önce uzaklaştırılması gerektiği, RNA işleme için nükleer bir bölmenin yararlı olabileceğini düşündürmektedir.
- Bu nedenle, spliceosome'un çekirdekte, ribozomların ise sitoplazmada bulunmasını sağlayan bir nükleer zarın evrimleşmiş olabileceği öne sürülmektedir.



Mikrobiyal Evrimin Genel Çerçevesi

- Mikrobiyal evrimde pek çok temel ilke tüm canlılarda ortak olsa da Bacteria ve Archaea'ya özgü bazı özellikler süreci farklılaştırır.
- Bu mikroorganizmalar genellikle haploit ve eşeysizdir ve çoğalmadan bağımsız gerçekleşebilen yatay gen transferi mekanizmalarına sahiptir.
- Bakteri ve Archaea genomları oldukça heterojen ve dinamiktir, bu da soyların hızlı çeşitlenmesine zemin hazırlar.

Evrimin Temel Tanımı

- En basit tanımıyla evrim, bir popülasyonda allel frekanslarının zaman içinde değişmesiyle gerçekleşen “değişerek türeme” sürecidir.
- Alleller aynı genin farklı versiyonlarıdır ve yeni alleller mutasyon ve rekombinasyon yoluyla ortaya çıkar.
- Allel frekanslarındaki bu değişiklikler farklı mekanizmalar aracılığıyla mikrobiyal türlerin kökenini ve ayrışmasını belirler.
- Bu temel süreçler, mikrobiyal çeşitliliğin oluşumunu anlamamız için kritik bir çerçeve sunar.

Genetik Çeşitliliğin Kaynağı Olarak Mutasyon

- Mutasyonlar zaman içinde biriken rastgele DNA değişiklikleridir ve evrimsel süreci yönlendiren doğal varyasyonun temel kaynağını oluşturur.
- Mutasyonların çoğu nötr veya zararlıdır, ancak bazıları organizmaya avantaj sağlayabilir.
- Substitüsyon, delesyon, insersiyon ve duplikasyon gibi farklı mutasyon türleri genetik çeşitliliği artırır.
- Özellikle duplikasyonlar, özgün fonksiyonu koruyan bir yedek kopya yaratarak gen işlevlerinin çeşitlenmesine olanak verir.



Genetik Çeşitlilikte Rekombinasyonun Rolü

- Rekombinasyon, DNA parçalarının kırılıp yeniden birleşmesiyle yeni genetik kombinasyonların oluşmasını sağlayan bir süreçtir.
- Bu mekanizma, genomda zaten bulunan genetik materyalin yeniden düzenlenmesini veya yatay gen transferiyle gelen DNA'nın entegrasyonunu mümkün kılar.
- Homolog rekombinasyon yüksek derecede benzer dizilere ihtiyaç duyarken, non-homolog rekombinasyon böyle bir benzerlik gerektirmez.
- Bu farklı rekombinasyon türleri mikrobiyal genomların esnekliğini ve evrimsel potansiyelini artırır.

Seçilim Sürecinin Temelleri

- Mutasyon ve rekombinasyon sonucu oluşan yeni allellerin popülasyonda nasıl değiştiğini belirleyen temel güçlerden biri doğal seçilimdir.
- Seçilim, bir organizmanın gelecek nesillere katkısını belirleyen “fitness” kavramı üzerinden değerlendirilir.
- Genetik kodun dejenere yapısı nedeniyle birçok mutasyon nötrdür ve zamanla genomda birikme eğilimindedir.
- Zararlı mutasyonlar popülasyondan elenirken, faydalı mutasyonlar seçilimle desteklenerek frekansta artış gösterebilir.

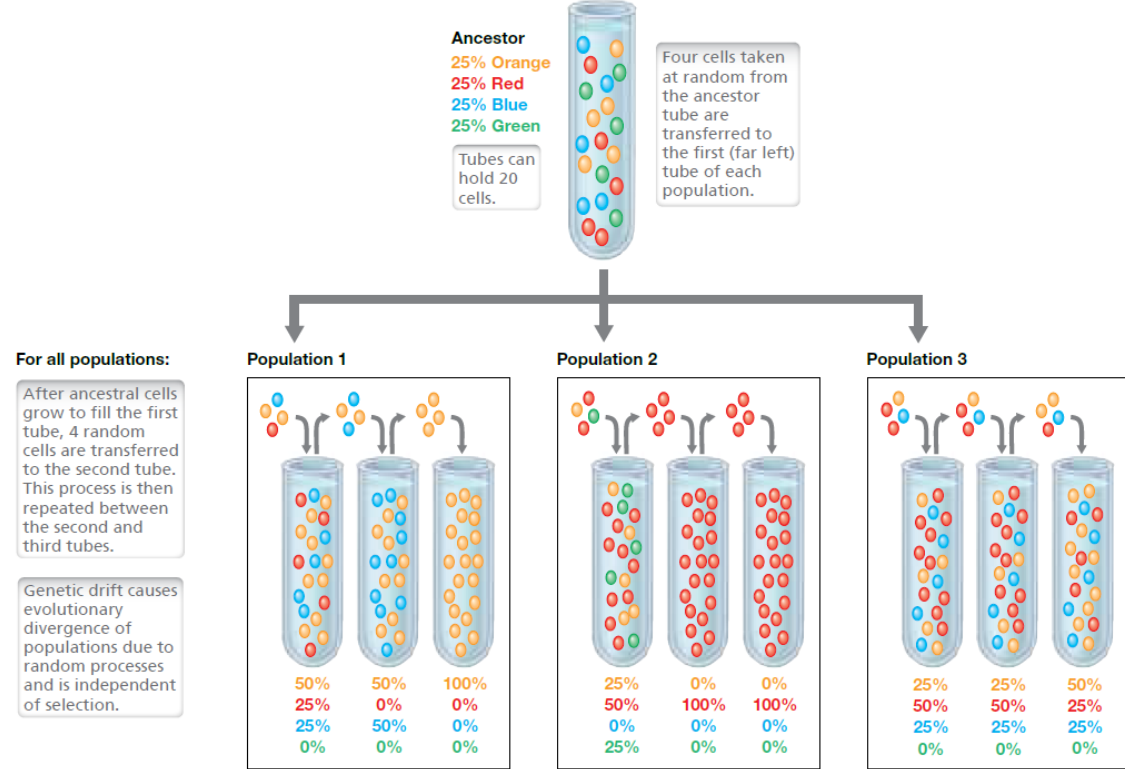
Yararlı ve Zararlı Mutasyonların Evrimsel Etkisi

- Zararlı mutasyonlar gen fonksiyonunu bozarak organizmanın fitness'ını düşürür ve doğal seçim tarafından zamanla popülasyondan uzaklaştırılır.
- Faydalı mutasyonlar ise organizmanın üreme başarısını artırarak popülasyonda daha yaygın hale gelir.
- Örneğin bir patojende antibiyotik direnci sağlayan mutasyon, antibiyotik tedavisi altındaki bir konakta güçlü bir seçim avantajı yaratır.
- Tüm mutasyonların rastgele olduğu unutulmamalıdır, çevresel koşullar sadece avantaj sağlayanları seçerek öne çıkarır.



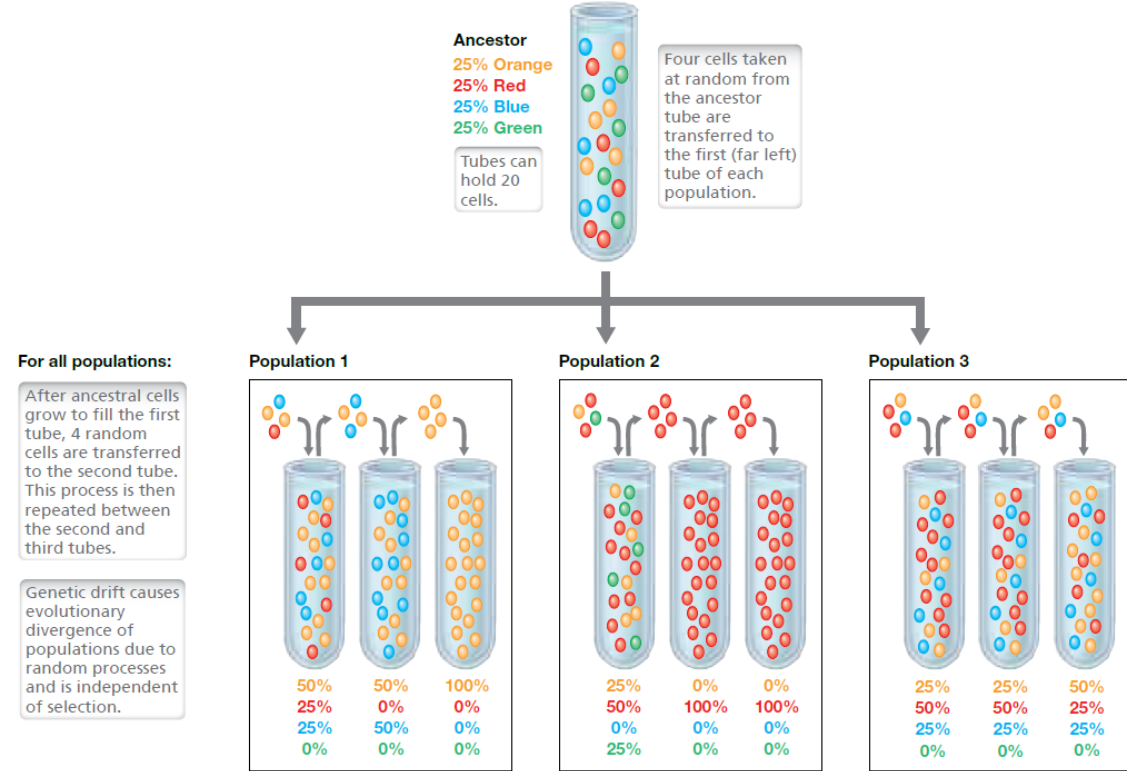
Genetik Sürüklenme: Rastlantısal Evrimsel Değişim

- Genetik sürüklenme, doğal seçim olmaksızın allel frekanslarının rastlantısal biçimde değişmesine neden olabilen önemli bir evrimsel mekanizmadır.
- Popülasyondaki bazı bireylerin tamamen şansa bağlı olarak daha fazla yavru bırakması zaman içinde genetik yapıyı değiştirebilir.



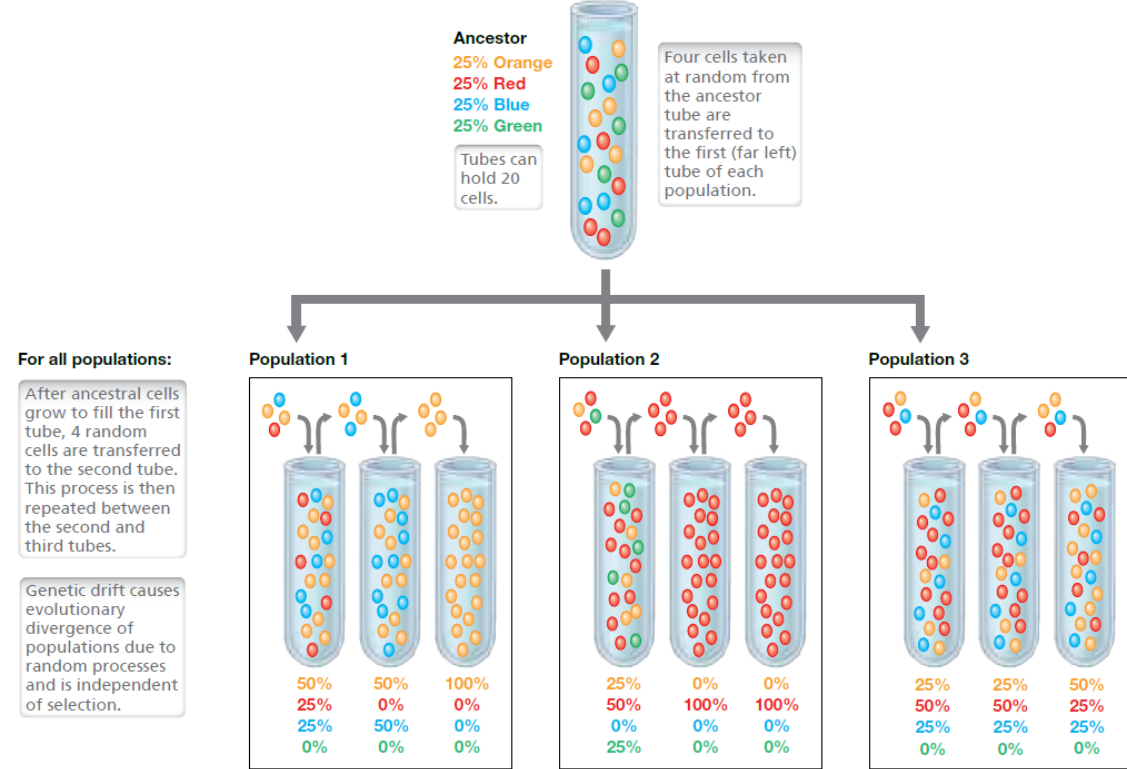
Genetik Sürüklenme: Rastlantısal Evrimsel Değişim

- Genetik sürüklenme özellikle küçük popülasyonlarda ve “bottleneck” (darboğaz) olarak adlandırılan ani küçülme dönemlerinde güçlüdür.
- Patojenlerin yeni bir konağı az sayıdaki hücreyle kolonize etmesi, onların evriminde genetik sürüklenmeyi önemli bir faktör haline getirir.



Darboğaz Etkisi ve Patojen Evrimi

- Darboğaz olaylarında popülasyon ciddi biçimde küçülür ve sonraki nesiller kalan az sayıdaki bireyin genetik yapısından türeyerek yeniden büyür.
- Bu durum, rastlantısal allel değişimlerinin doğal seçilimden bağımsız biçimde popülasyon genetiğini hızla değiştirmesine yol açabilir.
- Patojenlerde her yeni enfeksiyonun küçük bir hücre grubuyla başlaması, genetik sürüklenmenin etkisini daha da artırır.
- Bu hızlı ve rastlantısal değişimlerin patojen evriminde nasıl gerçekleştiği yandaki figürde gösterilmektedir.



Mikroorganizmalarda Hızlı Evrimsel Değişimlere Genel Bakış

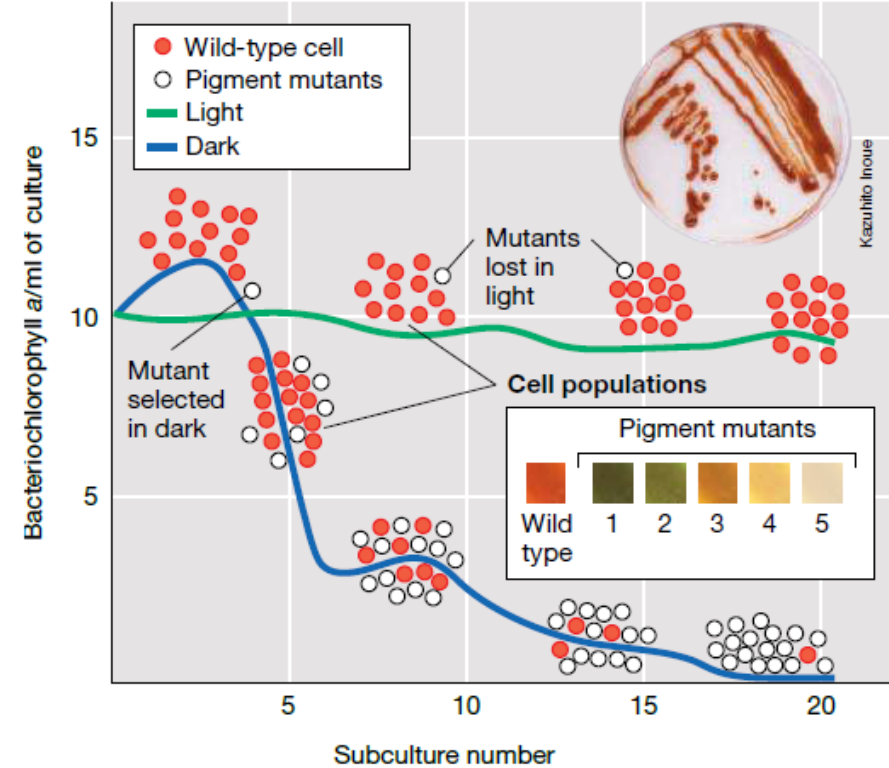
- Çevrenin değişmesi ya da hücrelerin yeni bir ortama aktarılması, mikrobiyal popülasyonlarda kısa sürede gözlenebilen evrimsel değişimleri tetikler.
- Mikroorganizmaların büyük popülasyonlar oluşturması ve çok hızlı çoğalması, yeni nesillerin dakikalar içinde ortaya çıkmasını sağlayarak evrimsel süreçlerin laboratuvarında takip edilebilmesine imkân verir.
- Bir popülasyonda zaten mevcut olan kalıtsal çeşitlilik, çevredeki seçim baskısı değiştiğinde doğal seçilimin etki edeceği temel materyali oluşturur.

Rhodobacter ve Fotopigment Sentezinin Evrimi

- *Rhodobacter*, doğal olarak ışıklı ve oksijensiz ortamlarda anoksijenik fotosentez yapan mor bir fototrof bakteridir.
- Kültürde oksijensiz koşullarda ister ışık olsun ister karanlık olsun, hücreler, O₂ yokluğu pigment sentezini tetiklediği için, bakteriyoklorofil ve karotenoid üretir.
- Işıklı ortamda bu pigmentler ATP üretimine katkı sağlar ancak karanlıkta hücreye hiçbir fayda sağlamadan enerji tüketir.
- Rastgele mutasyonlarla pigment üretimi azalmış hücreler doğada rekabet avantajı sağlamazken, karanlıkta yetiştirilen kültürlerde enerji tasarrufu nedeniyle seçim avantajı sağlar.

Rhodobacter'de Karanlık Ortamda Seçilim ve Mutantların Baskınlığı

- Sürekli karanlıkta yetiştirilen kültürlerde, fotopigment sentezlemeyen ya da azaltılmış sentez yapan mutantlar birkaç nesil içinde popülasyona hâkim duruma gelir.
- Bunun nedeni, bu mutantların gereksiz pigment sentezi yapmadıkları için enerji ve kaynak tasarrufu sağlayarak en fit organizmalar haline gelmesidir.
- Buna karşılık ışıklı koşullarda fototrof fenotip için seçim çok güçlü olduğundan pigment mutantları hızla popülasyondan elimine edilir.
- Bu hızlı fenotip değişiminin kültürde nasıl gerçekleştiği yandaki figürde gösterilmektedir.



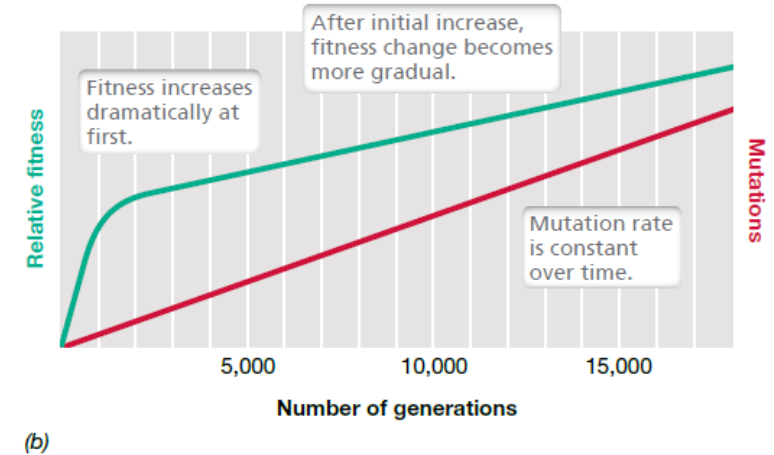
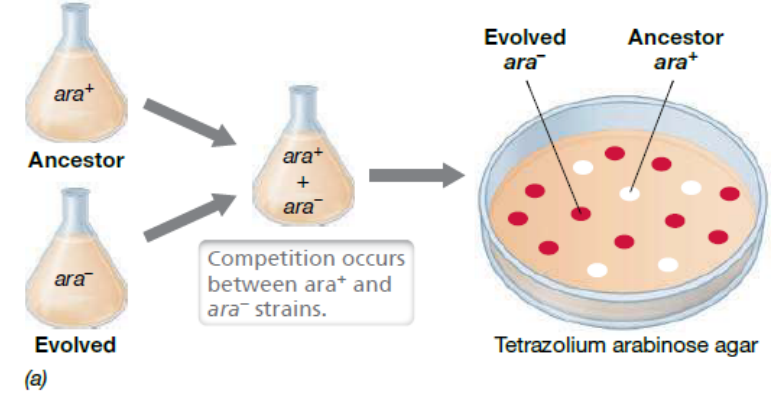
Deneyisel Evrim ve *E. coli* LTEE'nin Temelleri

- Deneyisel evrim, bakterilerin hızlı büyüme hızı ve donarak saklanabilmeleri sayesinde ataların bir “fosil kaydı” gibi korunup daha sonra evrimleşmiş hatlarla karşılaştırılmasını mümkün kılan bir çalışma alanıdır.
- 1988'den bu yana süren *E. coli* uzun dönem evrim deneyi (LTEE), 12 paralel hattın 50.000 nesilden fazla süreyle evrimini takip etmiştir.
- LTEE'de kültürler minimal glikoz ortamında aerobik olarak yetiştirilmiş ve bu ortam, normalde zengin besiyerinde çoğalan *E. coli* için yeni bir adaptif çevre oluşturmuştur.
- Bu ortam değişimi, *E. coli*'nin zaman içinde yeni seçim baskılarına yanıt olarak evrimleşmesine zemin hazırlamıştır.



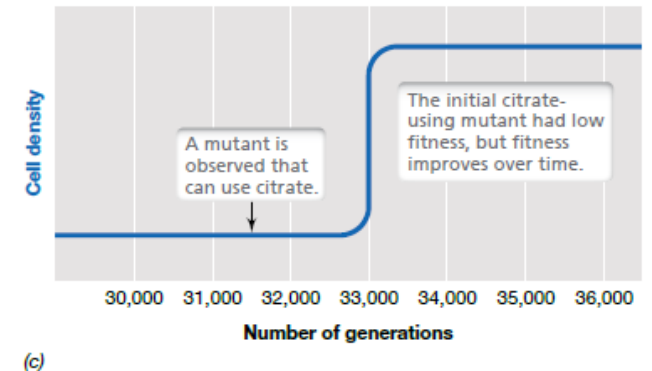
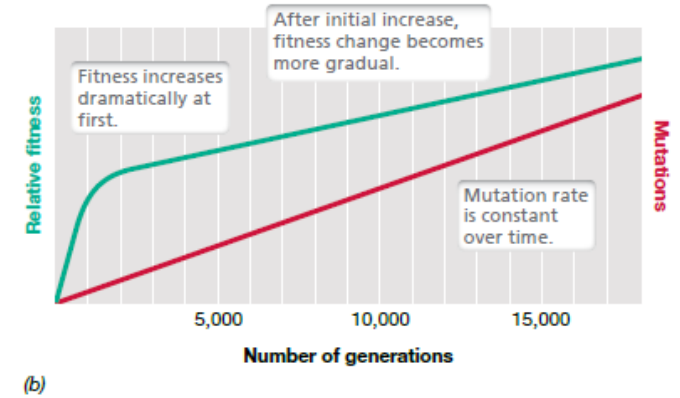
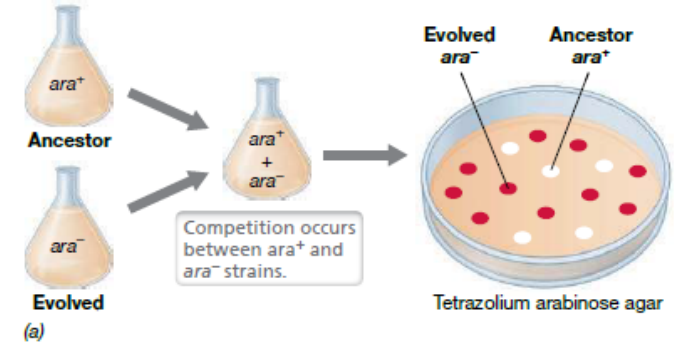
LTEE'de Genetik İşaretleyiciler ve Mutasyonların Birikimi

- Hem ata hem de evrimleşmiş hatlar, kolonilerin kırmızı veya beyaz görünmesini sağlayan nötr bir genetik işaretleyici taşımaktadır.
- Bu işaretleyici, evrimleşmiş hatların ata ile rekabetteki bağıl uygunluğunu ölçmeyi mümkün kılmıştır (Figür a).
- Genom dizileme analizleri, evrim hattında mutasyonların zamanla rastlantısal olarak biriktiğini göstermiştir.
- Bununla birlikte, minimal glikoz ortamında hatların uygunluğu özellikle ilk 500 nesilde belirgin şekilde artmıştır (Figür b).



E. coli'de Yeni Bir Özelliğin Evrimi: Sitrat Kullanımı

- Deneyin 31.500. neslinde, 12 hattan yalnızca biri sitrati enerji kaynağı olarak kullanabilme yeteneği kazanmıştır.
- Sitrat ortamda pH tamponu olarak bulunmasına rağmen, aerobik koşullarda sitrat kullanamamak *E. coli* için ayırt edici bir tanısal özelliktir.
- Rastlantısal mutasyonların birikimi, bu hatta mevcut genlerin yeni şekilde düzenlenmesine ve tamamen yeni bir adaptif özelliğin ortaya çıkmasına yol açmıştır.
- Sitrat kullanabilen hatların glikozun yanı sıra sitrati da katabolize edebilmesi, bu hücrelerin ata popülasyondan daha yüksek yoğunlukta büyümesine olanak sağlamıştır (Figür c).



Evrimde Şans, Seçilim ve Çevresel Bağlam

- Sadece 12 hattan birinin sitrat kullanım yeteneğini geliştirmiş olması, evrimin şans unsuru taşıdığını ve nadir mutasyon kombinasyonlarının kritik rol oynadığını hatırlatır.
- *Rhodobacter* örneğinde, doğal ortamda dezavantaj oluşturan bir mutasyon, karanlık laboratuvar koşullarında seçim avantajına dönüşerek metabolik bir özelliğin kaybına yol açmıştır.
- *E. coli* örneğinde ise binlerce nesil boyunca biriken mutasyonlar, uygun çevre koşulları altında tamamen yeni bir metabolik yeteneğin ortaya çıkmasına imkân vermiştir.
- Seçilim baskısı ortadan kalktığında ise bu tür avantajcı mutasyonların popülasyonda kalıcı olması beklenmez; sitrat olmadığı durumda sitrat kullanabilen hücreler zamanla popülasyondan kaybolabilir.



Mikroorganizmalarda Türleşmenin Zaman Ölçeği

- Mikroorganizmalarda bir tür içinde, hızlı evrim nedeniyle geniş genetik ve fenotipik çeşitlilik gösteren çok sayıda birey bulunur.
- Dizilim değişimleri, iki soyun birbirinden ayrıldığı zamanı tahmin etmek için bir moleküler saat olarak kullanılabilir.
- Moleküler saat yaklaşımı, nükleotit değişimlerinin zamana orantılı birikmesi, değişimlerin çoğunun nötr olması ve rastlantısal gerçekleşmesi varsayımlarına dayanır.

Moleküler Saatin Jeolojik Kayıtlarla Kalibre Edilmesi

- Moleküler saat tahminlerinin en güvenilir hâli, jeolojik kayıtlardan elde edilen kanıtlarla kalibre edilebildikleri durumlardır.
- Bu kalibrasyon, uygun fosil kayıtlara sahip böceklerde yaşayan zorunlu bakteriyel simbiyontlar üzerinden yapılabilir.
- Gen dizilim farklılıkları kullanılarak mikroorganizma türlerinin birbirinden ne kadar zaman önce ayrıldığı tahmin edilebilir.

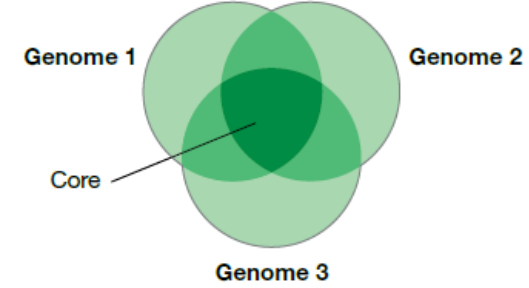
E. coli Örneği ve Türleşmenin Uzun Süreç Oluşu

- Moleküler saat hesaplamaları, *E. coli* K-12 ile gıda kaynaklı patojen *E. coli* O157:H7 suşlarının yaklaşık 4.5 milyon yıl önce ayrıldığını göstermektedir.
- Benzer şekilde, 16S rRNA genlerinde yüzde 2.8 dizilim farklılığı olan *E. coli* ile *Salmonella enterica*'nın 100–140 milyon yıl önce ortak bir atayı paylaştığı tahmin edilmektedir.
- Bu nedenle mikroorganizmalar hızlı şekilde yeni özellikler geliştirebilse de, türleşme sürecinin çok uzun zaman ölçeklerinde gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

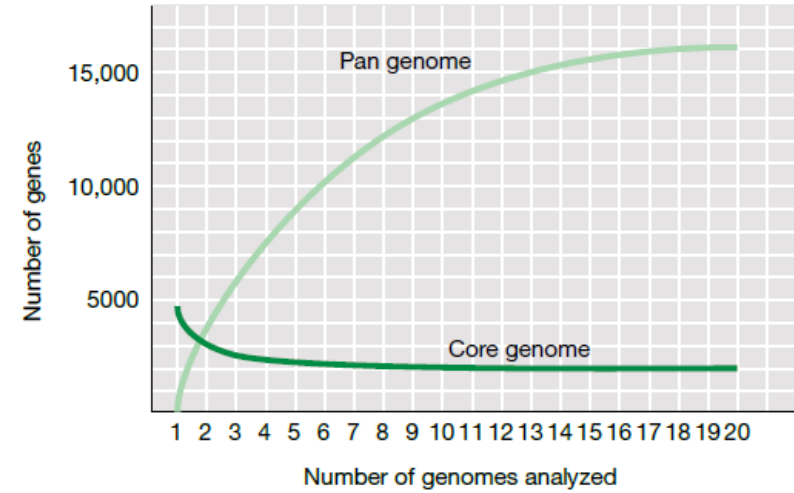


Mikrobiyal Genomların Evrimi ve Çekirdek/Pan Genom Kavramı

- İlk kez aynı türün birden fazla suşunun genomları karşılaştırıldığında, genomların dinamik doğası çarpıcı şekilde ortaya çıkmıştır.
- *E. coli* K-12 ve iki patojen suşunun genomları karşılaştırıldığında, bu üç genomun yalnızca % 39'unun ortak olduğu görülmüştür.
- Her bir genom, yatay gen transferiyle edinilmiş kendine özgü çok sayıda gen içerir ve bu durum mikrobiyal genomların yüksek değişkenliğini yansıtır.



(a)



(b)



Çekirdek ve Pan Genomun Mikrobiyal Evrimdeki Rolü

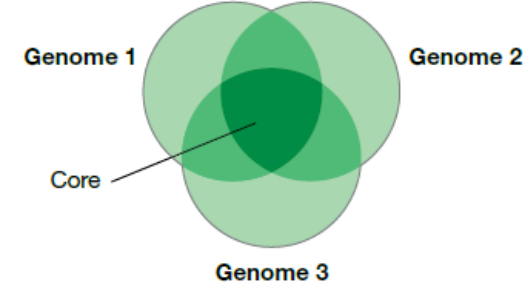
- Bir türün farklı suşlarındaki genler iki sınıfa ayrılır: tüm suşlarda ortak olan çekirdek genom ve ortak olmayan genleri de içeren pan genom.
- Çekirdek/pan genom kavramı daha önce ele alınmış olup (Bölüm 9), burada bu düzeni şekillendiren evrimsel güçler incelenmektedir.
- Bu yaklaşım, mikrobiyal genomların hangi genleri koruduğunu ve hangi genleri çevreden edindiğini anlamada önemli bir çerçeve sunar.

E. coli Genomunun Dinamik Yapısı

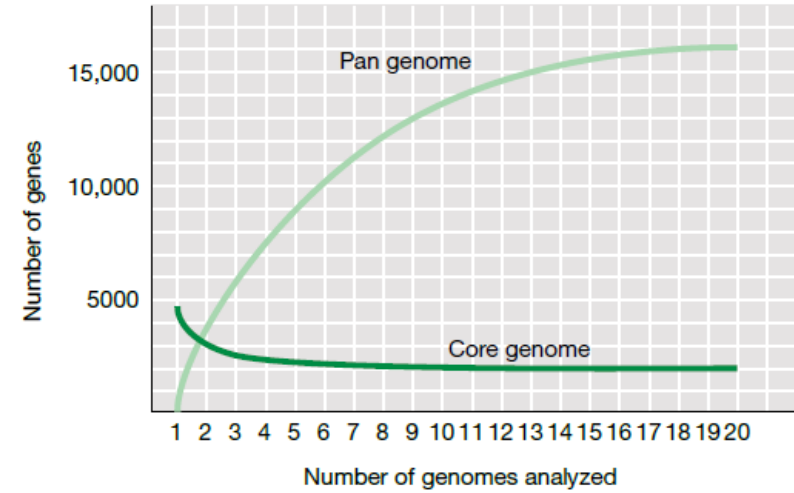
- *E. coli* genomları ortalama 4721 gen içerir; bazı suşlarda bu sayı 4068'e düşerken bazılarında 5379'a kadar çıkmaktadır.
- Çekirdek genom yalnızca 1976 gen içerir ve bu miktar ortalama bir *E. coli* genomundaki genlerin yarısından azını oluşturur.
- Suşlar arasındaki evrimsel uzaklık arttıkça çekirdek genom boyutunun azalacağı öngörülmektedir; örneğin tüm Bacteria ve Archaea türlerinde yalnızca yaklaşık 60 genin evrensel olduğu tahmin edilmektedir.

E. coli Pan Genomunun Sürekli Büyümesi

- *E. coli* suşlarında genom dizileme arttıkça pan genomun büyüklüğü de sürekli artmaya devam etmektedir.
- Yirmi suşun incelendiği bir çalışmada toplam 17.838 benzersiz gen bulunmuş, çekirdek genom çıkarıldığında 15.862 genin tüm suşlarda ortak olmadığı anlaşılmıştır (Figür b).
- Bu benzersiz genlerin büyük kısmı dikey kalıttan değil, yatay gen transferinden elde edilmiştir.



(a)



(b)



Yatay Gen Transferi ve Filogenetik Mesafe İlişkisi

- Gen alışverişi örüntüleri filogenetik uzaklıkla ilişkilidir ve uzaklık arttıkça yatay gen transferi oranı düşmektedir.
- *E. coli* çekirdek genomunda çoğu yatay gen transferi, 50–500 baz çifti uzunluğunda DNA parçalarının homolog rekombinasyonu yoluyla yakın akrabalar arasında gerçekleşir.
- Bu durum, genomlar arasındaki evrimsel ilişkilerin gen değişim dinamiklerini belirlediğini göstermektedir.



Genomların Dinamik Doğası ve Evrimsel Güçler

- Çekirdek/pan genom düzeni, birçok mikrobiyal türde gözlenen genel bir genomik özelliktir.
- Aynı tür içinde genom boyutlarının ve gen içeriklerinin dramatik biçimde değişebilmesi, mikrobiyal genomların hızla genişleyip daralabilen dinamik yapısını ortaya koyar.
- Pan genomun varlığı, prokaryotların çevrelerindeki mikroorganizmalardan düzenli olarak gen aldığını ve varyasyonların mutasyon ile rekombinasyon yoluyla şekillendiğini göstermektedir.

Mikrobiyal Genomlarda Gen Silinmelerinin Rolü

- Gen silinmelerinin mikrobiyal genom dinamiklerinde önemli bir yer tutar ve birçok durumda gen ilavelerine göre çok daha sık gerçekleşir.
- Silinmelere karşı koyan temel güç seçilimdir ve hücreye uyum avantajı sağlayan genler bu sayede korunur.
- Prokaryot genomlarında gereksiz veya işlevsiz unsurların zamanla silinmesi yaygındır ve bu durum Bacteria ve Archaea genomlarının sıkı paketlenmiş, az non-coding bölge içeren yapısını açıklar.

Gen Silinmeleri, Uygunluk ve Genetik Sürüklenme

- Yatay gen transferiyle kazanılan çoğu gen gibi, yeni edinilmiş genlerin büyük kısmı nötr veya zararlı olabileceğinden zaman içinde genomdan silinir.
- Popülasyon boyutlarının küçük olduğu ya da popülasyonların dar boğazlardan geçtiği durumlarda genetik sürüklenme bu silinmeleri destekleyebilir.
- Zorunlu hücre içi simbiyontlarda ve patojenlerde görülen çok küçük genomlar da bu silinme sürecinin bir sonucudur; çünkü bu organizmaların gereksinim duyduğu birçok metabolit konak tarafından sağlanır.



Mikrobiyal Sistematik, Filogeni ve Taksonomiye Genel Bakış

- Sistematik, canlıların çeşitliliğini ve aralarındaki ilişkileri inceleyerek filogeniyi taksonomi ile birleştiren bir çalışmadır.
- Taksonomi, organizmaların tanımlanması, adlandırılması ve belirlenen ölçütlere göre sınıflandırılmasını kapsayan bir bilim alanıdır.
- Modern bakteriyel taksonomi, fenotipik, genotipik ve filogenetik verilerin birlikte kullanıldığı polifazik bir yaklaşımı benimser.
- Bu üçlü yaklaşım, bakterilerin benzerliklerine ve evrimsel ilişkilerine dayanarak yeni türlerin tanımlanmasına olanak tanır.

Fenotipik, Genotipik ve Filogenetik Analizlerin Rolü

- Fenotipik analiz, hücrenin morfolojik, metabolik, fizyolojik ve kimyasal özelliklerini değerlendirerek türler arasındaki benzerlikleri ortaya koyar.
- Genotipik analiz, organizmaların genom özelliklerini inceleyerek filogenetik açıdan anlamlı ilişkiler kurar.
- Filogenetik analiz, moleküler dizi verilerini kullanarak organizmaları evrimsel çerçeve içinde konumlandırır.
- Türlerin sınıflandırılmasında bu yöntemlerin birbirini tamamlaması, sistematığın güvenilirliğini güçlendirir.



Moleküler Filogeninin Temeli ve Evrimsel Kayıt

- Moleküler diziler, geçmiş evrimsel olayların kaydını taşıyarak filogenetik ağaçların oluşturulmasını mümkün kılar.
- Tüm hücrelerde DNA bulunması ve zaman içinde rastlantısal mutasyonların birikmesi, organizmalar arasındaki genetik uzaklığın hesaplanmasını sağlar.
- İki organizmanın DNA dizileri arasındaki farklılık, ortak atadan ayrıldıktan sonra biriken mutasyon sayısı ile ilişkilidir.
- Bu nedenle, DNA dizi karşılaştırmaları mikrobiyal yaşamda evrimsel yakınlıkların çıkarılmasında güçlü bir araçtır.

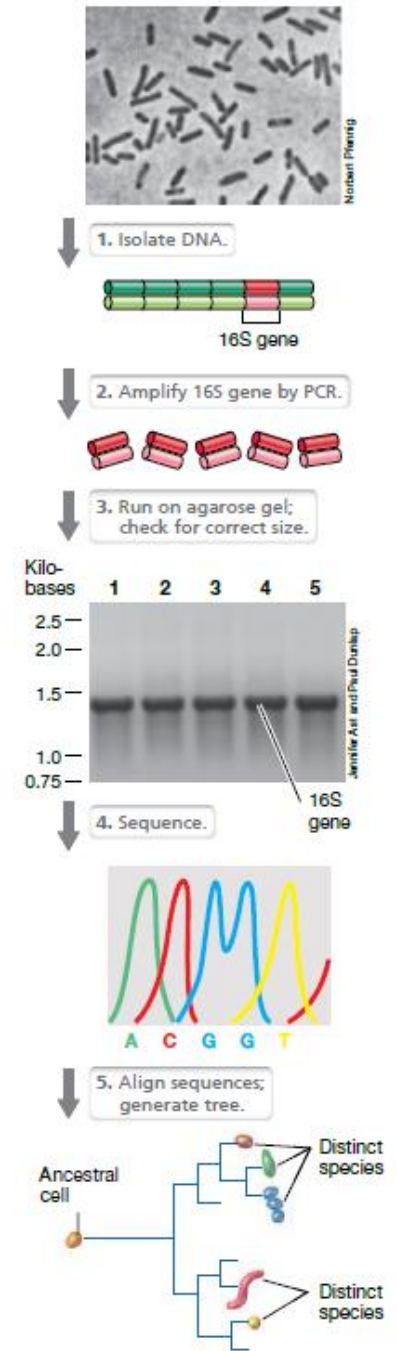
DNA Dizilerinin Elde Edilmesi: Kültürlerden Genomlara

- Moleküler filogeni çalışmaları, DNA, RNA veya protein gibi makromoleküllerin dizilenmesiyle başlar; burada özellikle DNA dizileri ele alınır.
- Laboratuvarında saf olarak yetiştirilebilen mikroorganizmalardan genomik DNA kolaylıkla izole edilerek doğrudan dizilenebilir ya da PCR ile belirli genler çoğaltılabilir.
- DNA dizileme teknolojilerindeki gelişmeler sayesinde tüm genom dizileme, mikrobiyal filogenide standart bir araç haline gelmiştir.
- Küçük alt birim ribozomal RNA (SSU rRNA) geninin yüksek korunmuşluğu ve tüm hücrel organizmalarda bulunması, bu genin filogenide temel başvuru noktası olmasını sağlamıştır.



PCR ve SSU rRNA Geninin Hedeflenmesi

- PCR, herhangi bir organizmaya ait DNA bölgesini çoğaltmak için tasarlanabilen primerlerle çalışır ve SSU rRNA geni için standart primerler yaygın şekilde kullanılır.
- SSU rRNA primerleri, tür, cins, filum ya da domain düzeyinde seçici olabilecek şekilde tasarlanabilir; hatta tüm organizmaları hedefleyen “evrensel” primerler de vardır.
- PCR ürünleri agaroz jel elektroforeziyle görüntülenir, jelden çıkarılır, saflaştırılır ve aynı oligonükleotidler kullanılarak dizilenir.
- Ayrıca, kültür gerektirmeden çevresel örneklerden SSU rRNA genlerinin PCR ile çoğaltılması veya metagenomik yaklaşımlarla çevresel DNA'nın doğrudan dizilenmesi mümkündür.



Dizi Hizalaması ve Homolojinin Anlamı

- Filogenetik çıkarım yapılacak genlerin mutlaka homolog olması gerekir, çünkü homoloji ortak bir atadan miras alınan bir özelliktir.
- Dizi benzerliği yüzde olarak ifade edilen sürekli bir ölçüttür ancak homolojiyi tek başına belirlemez; bu nedenle benzerlik ve homoloji kavramları birbirinin yerine kullanılamaz.
- Homolog genler ortolog veya paralog olabilir ve filogenetik analizler genellikle aynı işlevi koruyan ortolog genlere odaklanır.
- Mutasyonlar insersiyon veya delesyon içerebildiğinden, dizilerin hizalanması ve boşlukların eklenmesi gerekir; bu işlemle dizilerin her konumunun ortak atadan miras alındığından emin olunur.

Sequences before alignment

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

Sequences after alignment

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

(a)

Sequence differences

	1	2	3
1	-	-	-
2	11	-	-
3	6	11	-

	1	2	3
1	-	-	-
2	3	-	-
3	0	3	-

(b)



Dizi Hizalamasının Filogenideki Kritik Rolü

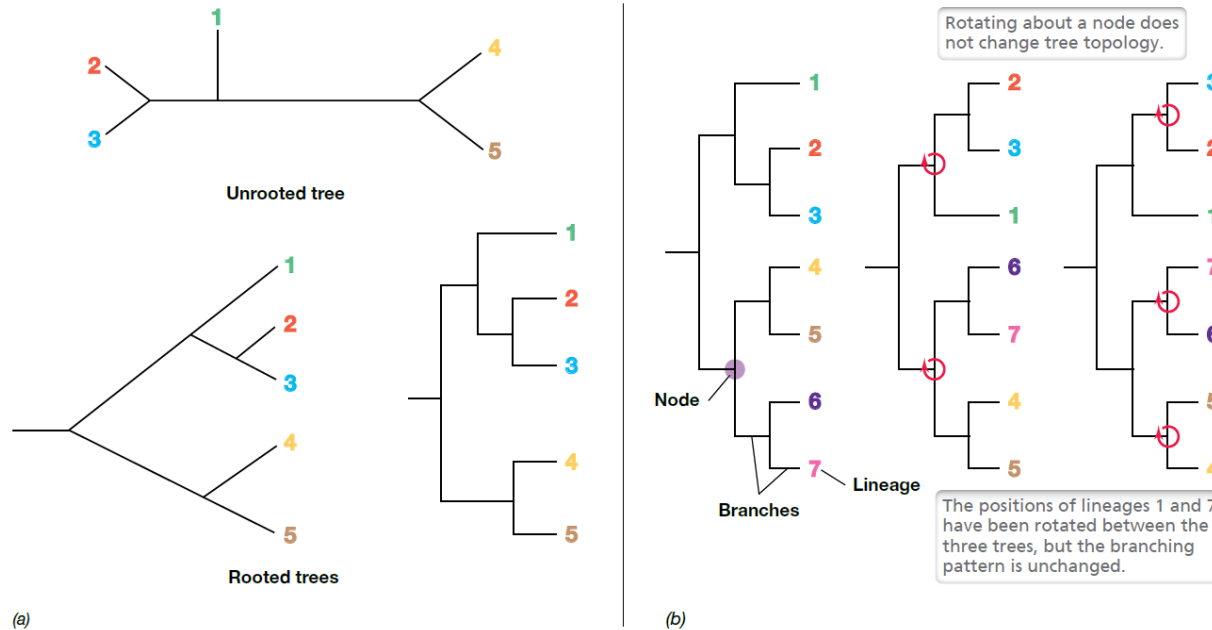
- Doğru hizalama, dizilerin evrimsel olarak nasıl ayrıştığını açıklayan açık bir hipotez niteliği taşır.
- Hatalı hizalamalar, yanlış yerleştirilen boşluklar veya yanlış eşleşmeler nedeniyle filogenetik analizleri doğrudan etkileyebilir.
- Bu nedenle, hizalama sürecinde belirlenen boşluklar ve eşleşmeler, türlerin ortak ata dizisinden nasıl uzaklaştığına ilişkin önemli ipuçları içerir.
- Filogenetik analizlerin güvenilirliği, hizalamanın doğruluğuna büyük ölçüde bağlıdır.

Filogenetik Ağaçların Amacı

- Filogenetik ağaçlar bir organizmanın evrimsel geçmişini betimleyen ve bir aile ağacına benzeyen şemalardır.
- Mikroorganizmalar fosil bırakmadığı için ataları bilinmez ancak yaşayan organizmaların DNA dizileri üzerinden bu ilişkiler çıkarılabilir.
- Yakın bir atayı paylaşan organizmaların benzer özelliklere sahip olması beklenir ve bu nedenle filogenetik ağaçlar organizma özelliklerine ilişkin hipotezler geliştirmeye imkân tanır.
- Filogenetik ağaçlar sınıflandırma ve tür tanımlamada da önemli bir araçtır.

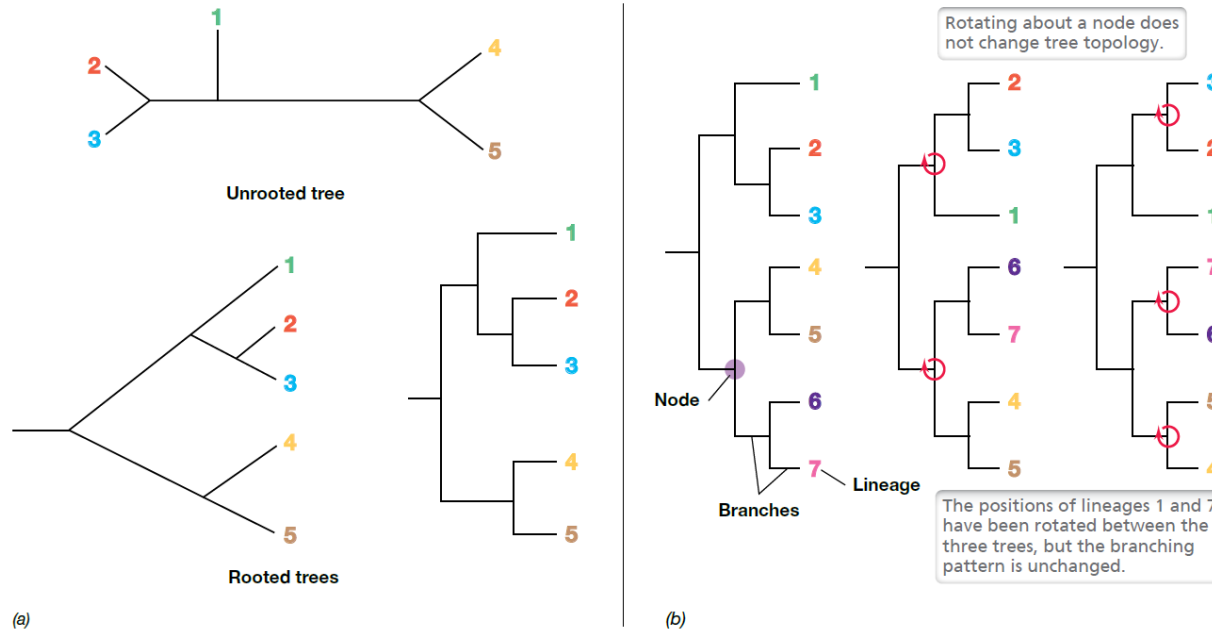
Filogenetik Ağaçların Yapısal Bileşenleri

- Filogenetik ağaçlar düğümlerden ve dallardan oluşur.
- Dallların uçları günümüzde var olan türleri temsil eder ve ağaçlar köklü veya köksüz olarak oluşturulabilir.



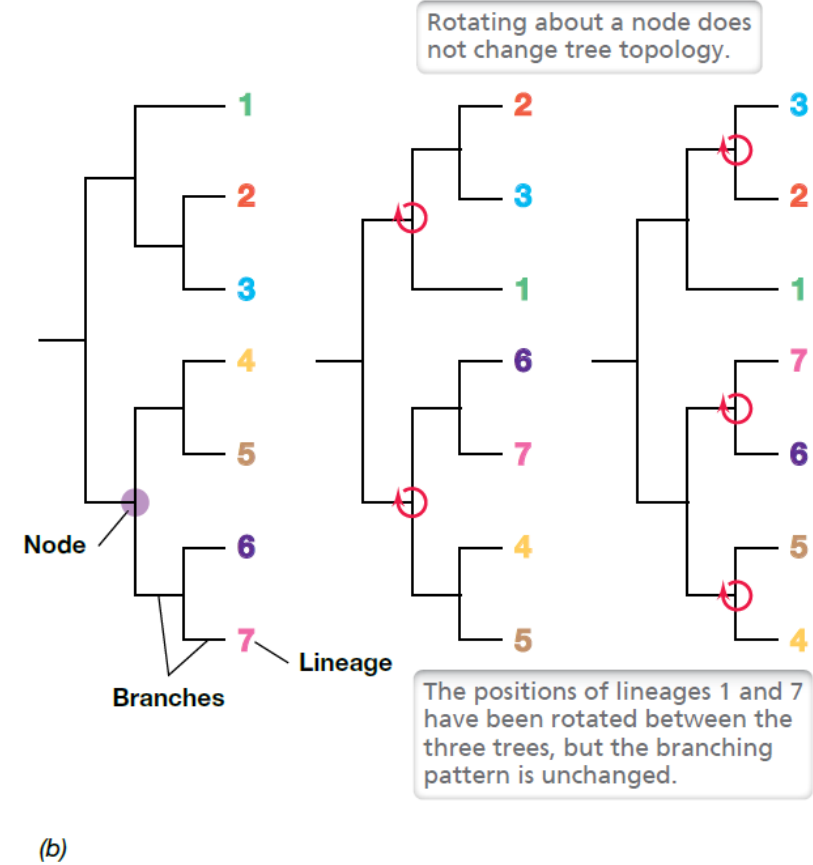
Filogenetik Ağaçların Yapısal Bileşenleri

- Köklü ağaçlar incelenen tüm organizmaların ortak atasının konumunu gösterirken köksüz ağaçlar yalnızca göreceli ilişkileri ortaya koyar.
- Düğümler, geçmişte bir atanın iki yeni soy hattına ayrıldığı evrimsel aşamayı ifade eder.



Dal Uzunlukları ve Ağaç Topolojisi

- Bir dalın uzunluğu o dal boyunca gerçekleşen değişim sayısını temsil eder.
- Filogenetik bir ağaçta yalnızca düğümlerin konumu ve dal uzunlukları bilgi taşır.
- Düğümler etrafında yapılan döndürmeler ağacın topolojisini değiştirmez.



Doğru Filogenetik Ağacı Bulmanın Güçlüğü

- Bir diziler grubunun evrimsel geçmişini en doğru biçimde yansıtan yalnızca tek bir filogenetik ağaç vardır.
- Bu ağacı dizilerden çıkarmak zordur çünkü olası ağaç sayısı dizilerin sayısı arttıkça büyük ölçüde yükselir.
- Örneğin dört dizi için yalnızca üç olası ağaç varken sekiz dizide 10.395 farklı ağaç mümkündür.
- Yüz rastgele dizi için oluşturulabilecek olası ağaç sayısı 2×10^{182} gibi olağanüstü yüksek bir değere ulaşır.



Moleküler Veriden Ağaç Çıkarımı

- Filogenetik analiz, dizilerin evrimsel geçmişini en doğru temsil eden tek doğru ağacı belirlemeye çalışır.
- Ağaç oluşturma süreci, bir algoritma uygulanarak veya optimalite kriterleri kullanılarak yürütülebilir.
- Algoritmalar belirli adımlarla tek bir ağaç üretir.
- UPGMA ve neighbor-joining, filogenetik ağaç kurmak için kullanılan algoritmalardır.

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

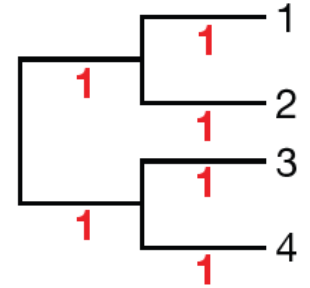
(a)

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)

Optimalite Kriterlerine Dayalı Yöntemler

- Parsimony, maksimum olabilirlik ve Bayes analizleri optimalite kriteri kullanan yöntemler arasında yer alır.
- Bu yöntemler birçok farklı ağacı değerlendirir ve en iyi optimalite skoruna sahip olanı seçer.
- Optimalite skorları, moleküler dizilerin zaman içindeki değişimini tanımlayan evrimsel modellere dayanarak hesaplanır.
- Evrimsel modeller, örneğin, dizideki farklı konumlar arasında yer değiştirme hızları veya baz frekanslarındaki değişiklikleri dikkate alabilir.



Filogenetik Ağaçların Sınırları

- Birden fazla ağacın eldeki verilere eşit derecede iyi uyduğu durumlarda gerçek ağacı seçmek güçleşir.
- Bootstrap yöntemi, verilerin rastgele yeniden örneklenmesine dayanan istatistiksel bir yaklaşımdır.
- Bootstrap değerleri, ağaçtaki bir düğümün diziler tarafından ne kadar desteklendiğini gösterir.
- Yüksek bootstrap değerleri doğru bir düğüme işaret ederken düşük değerler belirsizliği ortaya koyar.



Homoplazi ve Evrimsel Zorluklar

- Homoplazi, yani yakınsak evrim, ortak atadan gelmeyen ancak benzer görünen özelliklerin bağımsız olarak evrilmesiyle ortaya çıkar.
- Kanatların hem böceklerde hem de kuşlarda bağımsız olarak evrilmesi buna bir örnektir.
- Moleküler dizilerde benzer pozisyonların ortak atadan değil yinelenen mutasyonlardan kaynaklanması da homoplazidir.
- Homoplazinin zamanla artması filogenetik ağacın doğru şekilde yeniden kurulmasını zorlaştırır (Figür b).

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

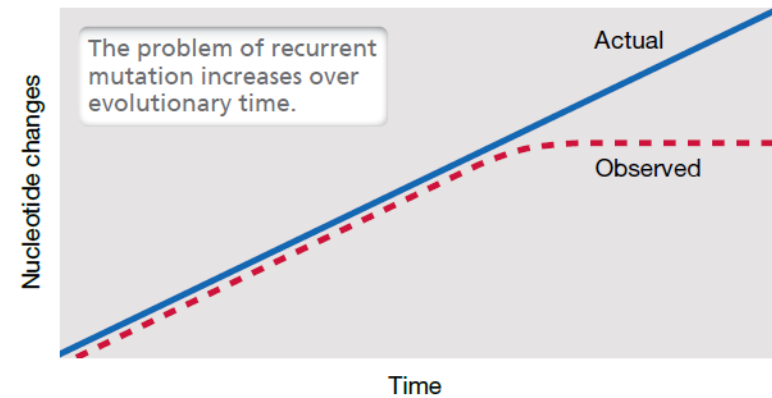
Four differences are observed between sequences 1 and 4.

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

Substitution mutations

Only one difference is observed between sequences 1 and 4.

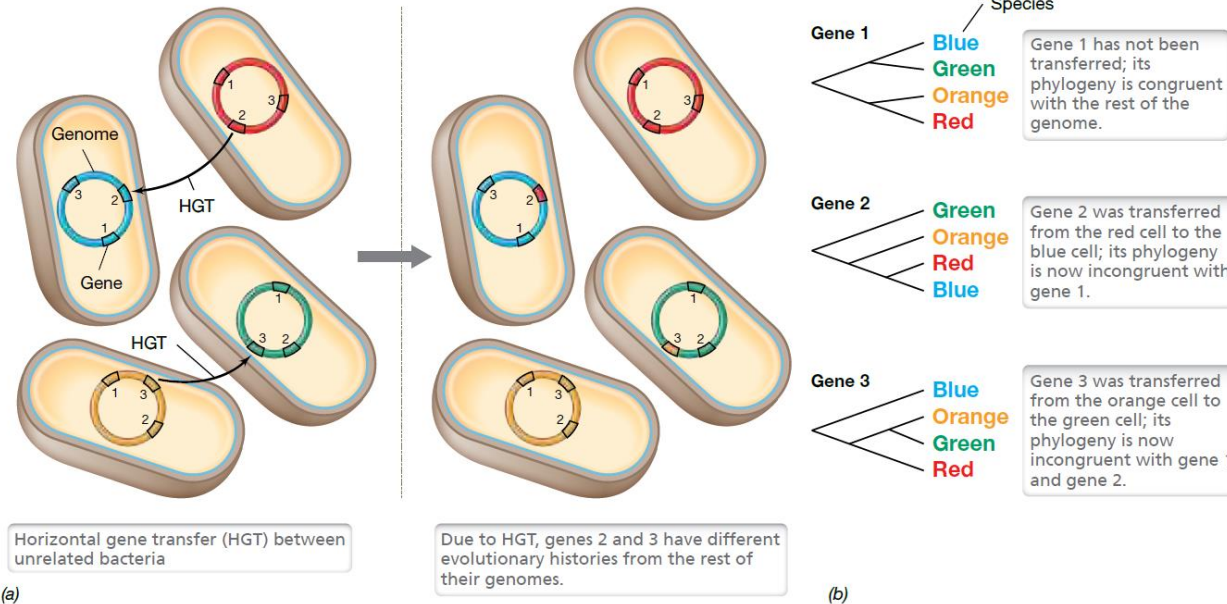
(a)



(b)

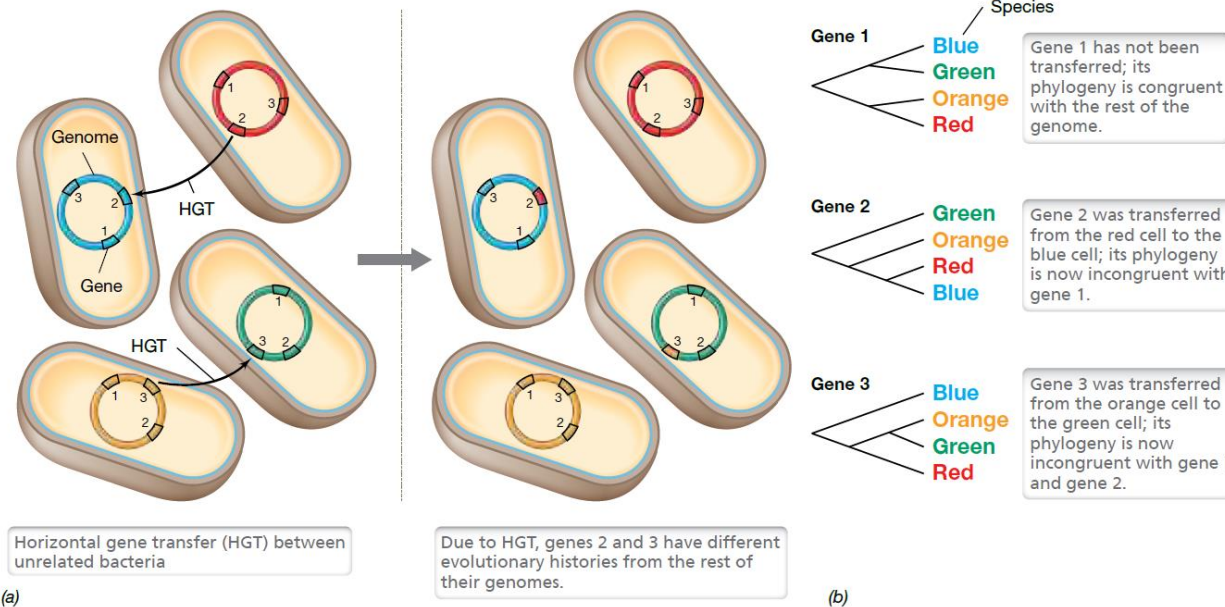
Yatay Gen Transferinin Etkileri

- Mikroorganizmalarda yaygın olan yatay gen transferi, filogenetik ağaçların yorumlanmasını zorlaştırır.
- Bir genin filogenisini çıkarırken genin tüm evrimsel süreç boyunca dikey olarak aktarılmış olduğu varsayılır.



Yatay Gen Transferinin Etkileri

- Yatay gen aktarımı bu varsayımı ihlal eder.
- Bu nedenle gen filogenisi ile organizma filogenisinin aynı şeyi ifade etmediği unutulmamalıdır.



SSU rRNA Genlerinin Önemi

- SSU rRNA genleri yatay gen transferine çok düşük sıklıkta uğradığı için güvenilir bir filogenetik kayıt sunar.
- rRNA gen filogenileri genetik bilgi işlevi taşıyan diğer genlerden elde edilen filogenilerle büyük ölçüde uyumludur.
- Bununla birlikte birçok mikrobiyal genom, evrimsel süreçte bir noktada yatay gen transferiyle kazanılmış genler taşır.
- Bu durum mikrobiyal evrimin anlaşılması açısından önemli sonuçlara sahiptir.

Mikrobiyolojide Tür Kavramına Genel Bakış

- Türlerin biyolojik çeşitliliğin temel birimleri olması, mikrobiyal dünyanın açıklanmasını ve değerlendirilmesini doğrudan etkiler.
- Günümüzde mikroorganizmalar için evrensel olarak kabul edilen tek bir tür tanımı bulunmadığından, sınıflandırma süreci çeşitli tartışmalar içermektedir.
- Mikrobiyal sistematik, fenotipik veriler ile genotipik ve dizi temelli filogenetik bilgileri bir araya getirerek mikroorganizmaları tanımlamak için standart bir çerçeve sunar.
- Çalışmalarda yaygın olarak kullanılan pratik bir mikrobiyal tür tanımı geliştirilmiş olsa da, türün ne olduğu konusundaki tartışmalar devam etmektedir.

Bakteri ve Achaea İçin Filogenetik Tr Kavramı

- Bir türün yeleri hem genetik hem de fenotipik açıdan bütüncül olmalı ve diğerk türlerden belirgin Şekilde ayrılmalıdır.
- Trn monofiletik olması, yani o türü oluşturan suşların diğerk türlerden ayrı, yakın bir ortak atayı paylaşması beklenir.
- Filogenetik tür tanımı, ortak özellikler taşıyan, genetik olarak bütünleŐik ve yakın bir ortak ataya sahip suŐlardan oluşan mikrobiyal grupları ifade eder.
- Bu yaklaşım bir evrimsel türleşme modeline dayanmaz ve daha çok taksonomiye kolaylaŐtırmak amacıyla geliştirilmiştir.



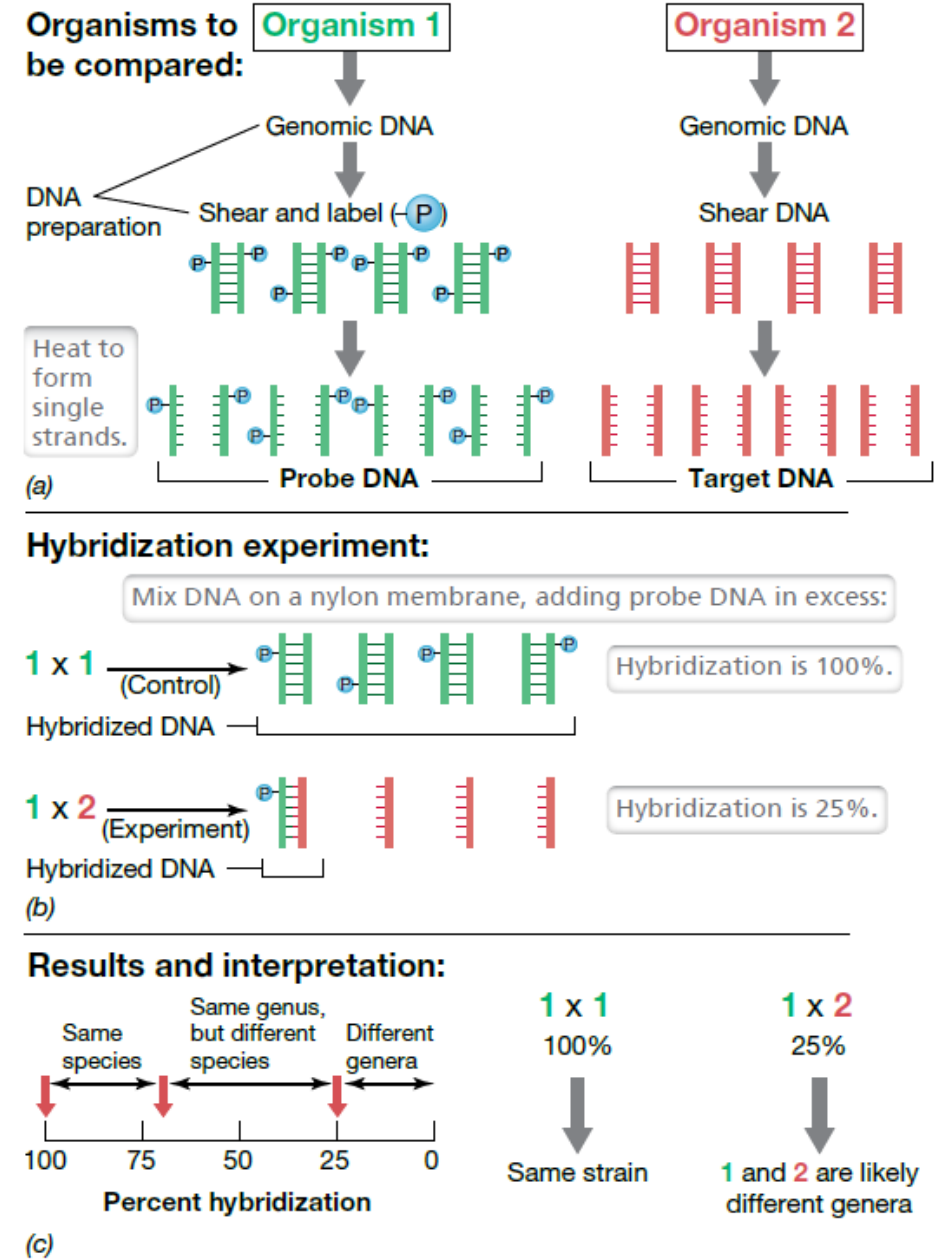
Filogenetik Tür Kavramının Operasyonel Kullanımı

- Bakteri ve Archaea türleri, çok sayıda ortak özelliğe sahip olan ve SSU rRNA genleri yakın bir ortak ataya işaret eden suş grupları olarak tanımlanır.
- Tür tanımlamaları, birçok farklı özelliği birlikte değerlendiren polifazik bir yaklaşım ile yapılır.
- Genomik benzerlik düzeyi ve SSU rRNA dizilerinin karşılaştırılması tür ayrımında en önemli kriterler arasındadır.
- Bu kriterler taksonomik değerlendirmelerde uzman yargısı ile birlikte kullanılmaktadır.



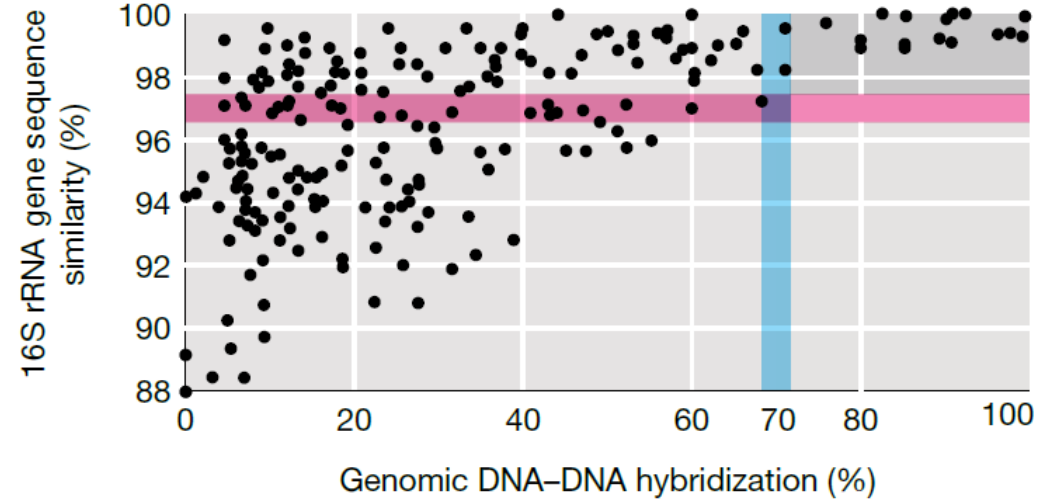
DNA–DNA Melezleşmesi ve Tür Ayrımı

- İki organizmanın genomik benzerliği, DNA–DNA melezleşme oranının ölçülmesiyle belirlenir.
- Bir organizmadan elde edilen işaretli DNA probu ısıtılarak çift zinciri ayrılır ve hedef organizmanın tek zincirli DNA'sı ile yeniden eşleşmesi sağlanır.
- Melezleşme oranı, probun kendi organizmasının DNA'sı ile oluşturduğu eşleşmeye göre yüzdesel olarak hesaplanır.
- Bu deneysel düzenek ve değerlendirme süreci yandaki figürde gösterilmektedir.



Tür Sınırlarının Belirlenmesinde Kullanılan Eşik Değerler

- İki organizma arasında DNA–DNA melezleşme değerinin yüzde 70'in altında olması onların farklı türler olduğuna işaret eder.
- SSU rRNA gen dizisi farkının yüzde 3 veya daha fazla olması da iki organizmanın ayrı türler olduğunu destekler.
- Bu eşiklerin güvenilir ve tutarlı olduğu deneysel bulgularla doğrulanmıştır.
- Bu filogenetik tür kavramı çerçevesinde 10.000'den fazla Bakteri ve Archaea türü resmen kabul edilmiştir.



Cins ve Üst Taksonomik Düzeyler

- Türün üzerindeki takson olan cins seviyesinin tanımlanmasında daha esnek ve yoruma dayalı bir yaklaşım kullanılır.
- Farklı cinsler, genellikle SSU rRNA gen dizisi açısından yüzde 5'in üzerinde bir farklılık gösterir.
- Tür üstündeki taksonomik kademeler için şu anda genel kabul görmüş kriterler bulunmamaktadır.

Bakteri ve Archaea Türlerinin Sayısı Üzerine Yaklaşımlar

- Yaklaşık 4 milyar yıllık evrim sonucunda bugün gördüğümüz geniş mikrobiyal çeşitlilik ortaya çıkmıştır.
- Tür tanımındaki belirsizlik nedeniyle toplam tür sayısına dair kesin bir tahmin yapmak zor olsa da, bu sayının çok yüksek olacağı kabul edilmektedir.
- Bilinen bitki ve hayvan türlerinin toplamından çok daha fazla sayıda Bakteri ve Archaea türünün bulunduğu düşünülmektedir.
- Tanımlanmış 10.000 türün, gerçek tür sayısının yalnızca çok küçük bir bölümünü temsil ettiği açıktır.



Çevresel Çeşitlilik ve SSU rRNA Dizilerinden Elde Edilen Bulgular

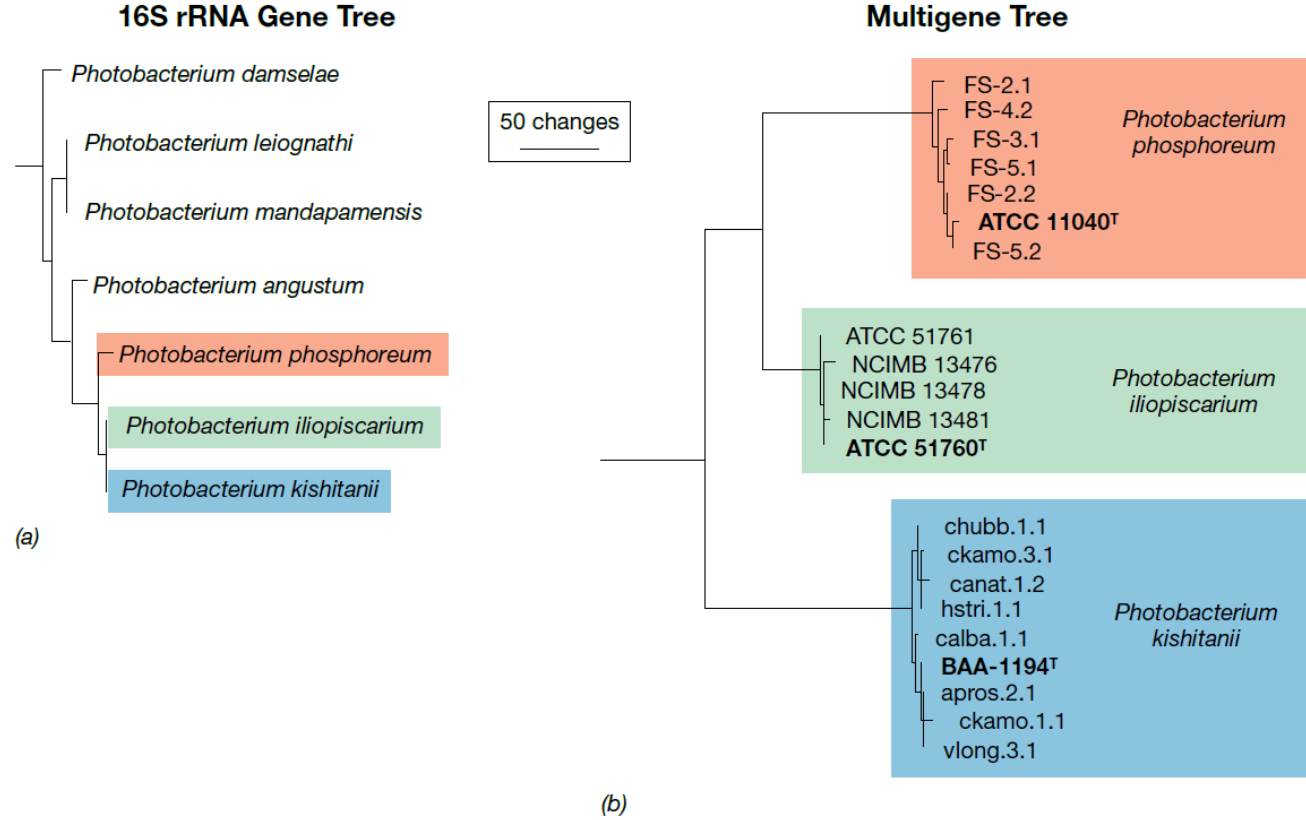
- Dünyadaki her ortam çok çeşitli mikrobiyal topluluklar içerir ve tek bir gram toprakta 10.000'den fazla türün bir arada bulunabildiği gösterilmiştir.
- 1977'den bu yana 3.3 milyondan fazla SSU rRNA dizisi üretilmiş ve mikrobiyal çeşitliliğin anlaşılmasında kullanılmıştır.
- 'Ribosomal Database Project' bu dizilerin sürekli artan bir koleksiyonunu barındırır ve filogenetik ağaç oluşturma gibi analiz araçları sağlar.
- Bitki ve hayvanların neredeyse tamamının çok sayıda özgün mikroorganizma içeren mikrobiyomlara sahip olması, mikrobiyal çeşitliliğin benzersiz büyüklüğünü ortaya koyar.

Sistematikte Polifazik Yaklaşımın Temeli

- Bakteri ve Archaea türlerinin tanımlanması günümüzde polifazik bir yaklaşım ile gerçekleştirilir ve bu yaklaşım birden fazla yöntemin birlikte kullanılmasına dayanır.
- Polifazik yaklaşım, türlerin doğru adlandırılması ve kabul edilen filogenetik tür kavramına uygun şekilde sınıflandırılması için farklı veri türlerini bütünleştirir.

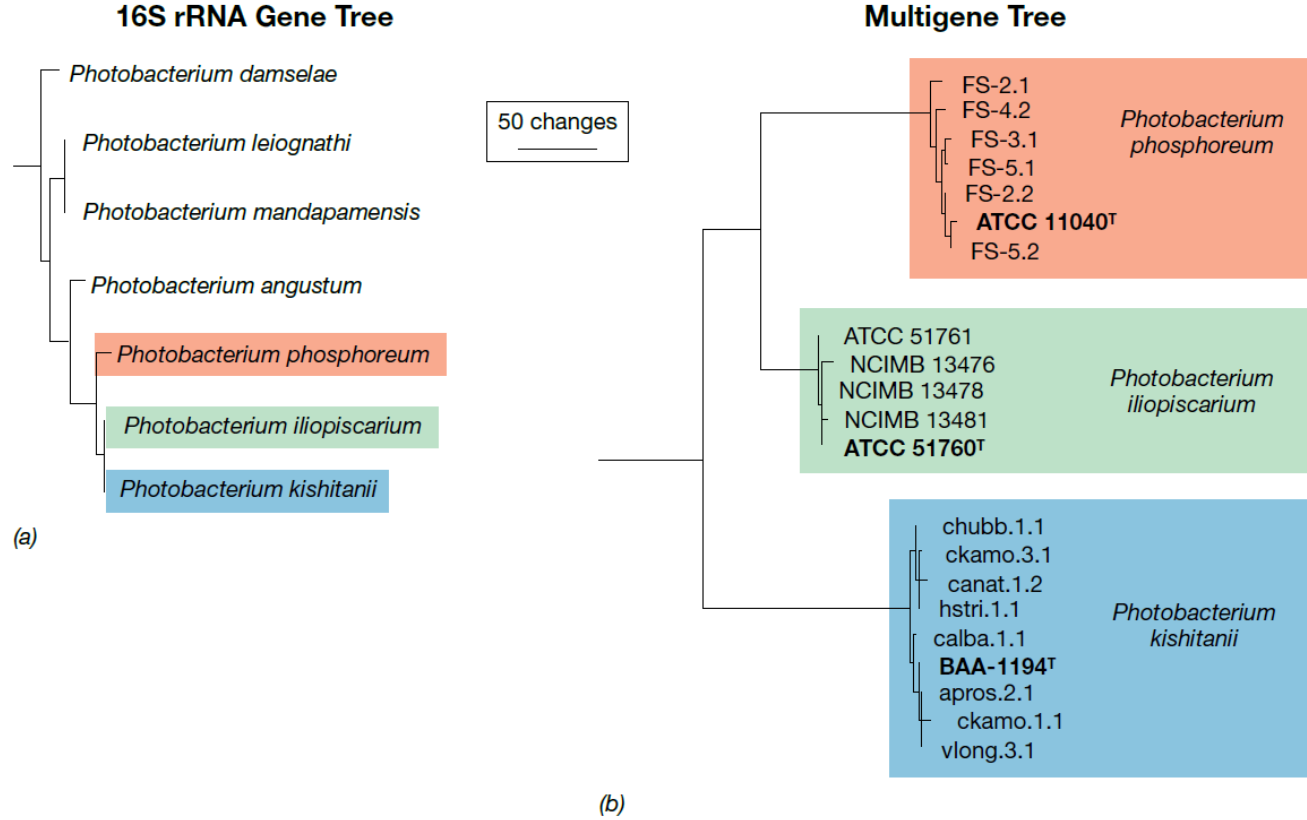
Gen Dizisi Analizlerinin Rolü

- Gen dizileri genellikle PCR ile çoğaltılmış DNA parçalarından elde edilir ve filogenetik analizlerde değerlendirilir.
- SSU rRNA gen dizileri çok korunduğu için filogenetik açıdan değerli olsa da, yakın akraba türleri ayırt etmekte her zaman yeterli değildir.



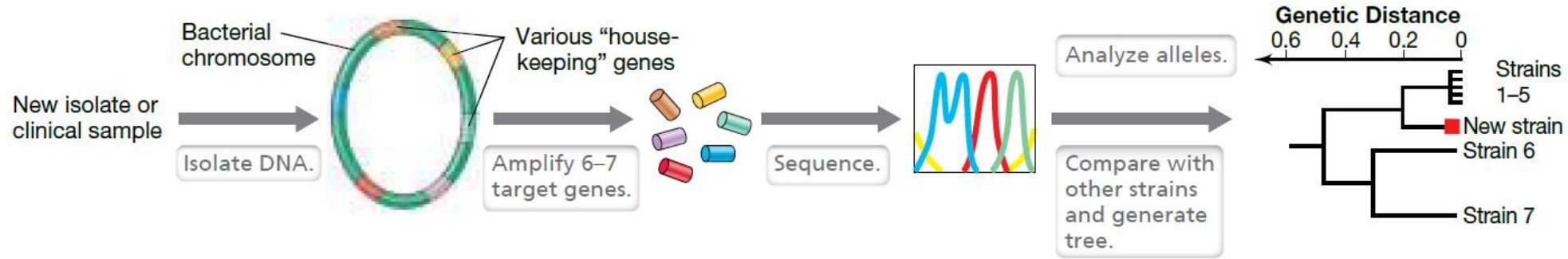
Gen Dizisi Analizlerinin Rolü

- Buna karşılık *recA* ve *gyrB* gibi diğer korunan protein kodlayan genler, daha hızlı mutasyon biriktirdikleri için tür düzeyinde daha ayırt edici bilgiler sağlayabilir.
- Protein kodlayan genlerin dizileri, rRNA dizilerinin ayırt edemediği türleri bile ayırabilme kapasitesi taşır.



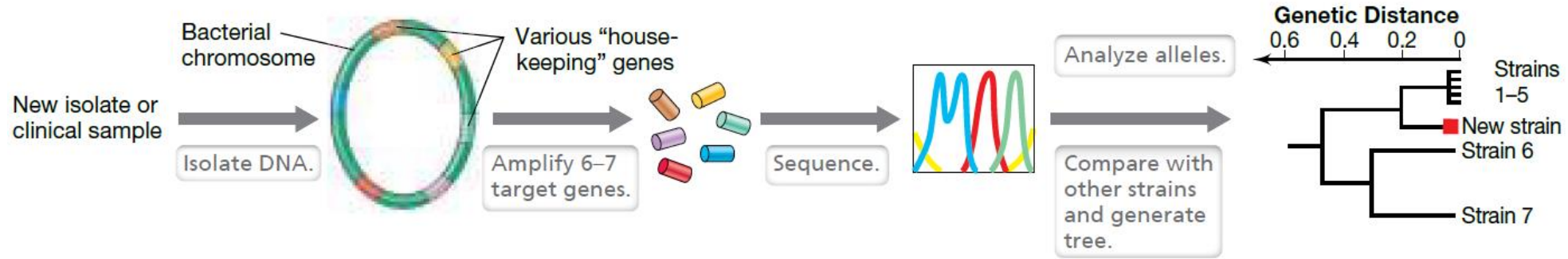
Multilocus Sequence Typing (MLST) Yaklaşımına Giriş

- MLST, bir organizmadaki birden fazla “housekeeping” geninin dizilenmesi ve bu dizilerin birlikte değerlendirilmesine dayanan bir yöntemdir.
- Housekeeping genleri daima kromozomda bulunur ve hücrelerin temel işlevlerini kodladıkları için tüm bireylerde korunmuş durumdadır.



Multilocus Sequence Typing (MLST) Yaklaşımına Giriş

- Her gen için yaklaşık 450 baz çifti uzunluğunda bir bölge amplifiye edilerek dizilir ve elde edilen alleller numaralandırılır.
- Bir suşun sahip olduğu allel kombinasyonu, ona özgü multilocus dizilim tipini oluşturur.

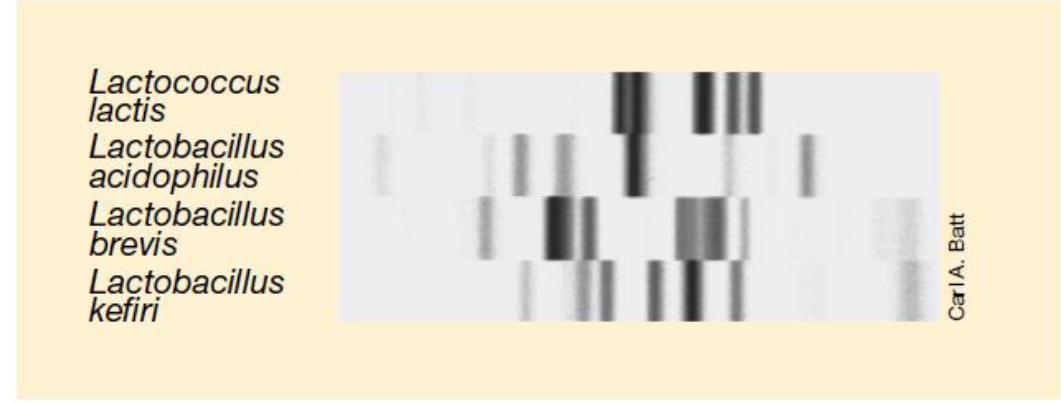


MLST'nin Ayırt Edici Gücü ve Uygulama Alanları

- MLST, incelenen genlerden yalnızca birinde tek bir nükleotid değişikliği olması durumunda bile iki suşu birbirinden ayırabilecek kadar yüksek çözünürlüğe sahiptir.
- Bu yöntem en çok klinik mikrobiyolojide kullanılmış ve aynı tür içindeki zararsız ve patojen suşların ayırt edilmesine olanak sağlamıştır.
- *E. coli* K-12 gibi zararsız bir suş ile *E. coli* O157:H7 gibi ciddi enfeksiyonlara yol açabilen suşların ayrılabilmesi buna önemli bir örnektir.
- MLST ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda virülant bir suşun popülasyon içinde nasıl yayıldığını izlemek ve çevresel suşların coğrafi dağılımlarını belirlemek için de yaygın şekilde kullanılır.

Genom Parmak İzi Analizine Giriş

- Genom parmak izi analizi, bir tür içindeki farklı suşlar arasındaki polimorfizmleri hızlı bir şekilde değerlendirmeyi amaçlayan yöntemlerin genel adıdır.
- Bu yöntemlerde parmak izini oluşturan DNA parçaları, belirli genlerden veya tüm genomdan elde edilen fragmentlerden oluşabilir.
- Ribotiplendirme, genom parmak izi yöntemleri arasında SSU rRNA genlerinin genom üzerindeki yerleşimine dayanan özel bir yaklaşımdır.
- Ribotiplendirme sürecinin temel adımları ve mantığı yandaki figürde gösterilmiştir.

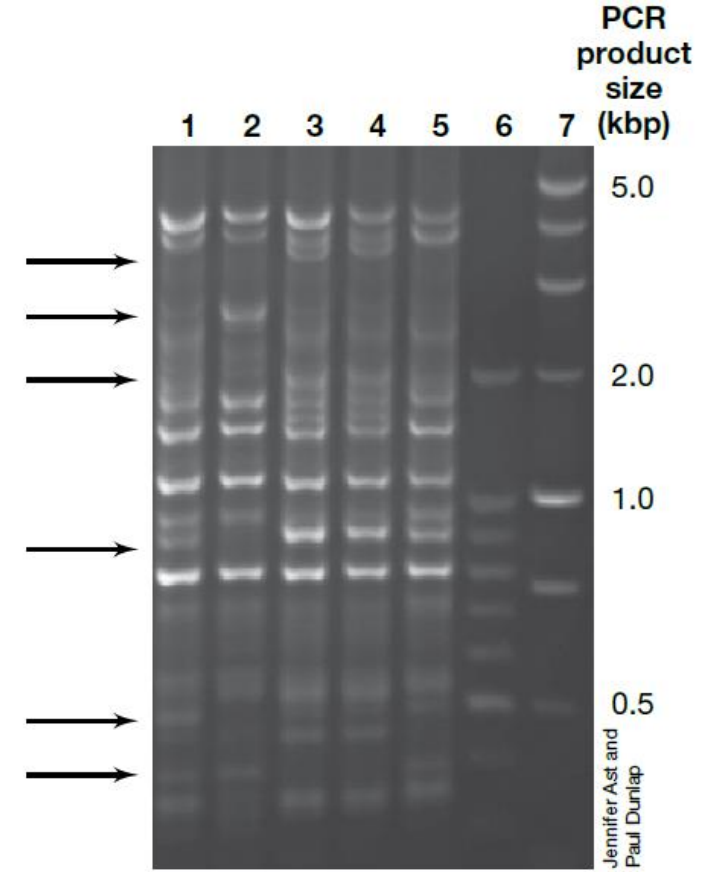


Ribotiplendirmenin Mantığı ve Uygulamaları

- Farklı türler genomlarında 1 ile 15 arasında değişen sayıda rRNA operonu taşır ve bu sayı tür içindeki tüm suşlarda sabittir.
- Suşlar arasındaki genom dizisi farklılıkları, restriksiyon enzimlerinin farklı kesim noktaları oluşturmasına ve farklı uzunluklarda DNA fragmentleri ortaya çıkmasına neden olur.
- Bu fragmentler SSU rRNA gen probu ile işaretlendiğinde her suşa özgü bant desenleri oluşur ve bunlara “ribotip” adı verilir.
- Ribotiplendirme, klinik tanıdan gıda ve su analizlerine kadar pek çok alanda farklı tür ve suşları hızlı biçimde ayırt etmek için kullanılır.

Diğer Genom Parmak İzi Yöntemleri (rep-PCR ve AFLP)

- rep-PCR yöntemi, bakteri kromozomu boyunca dağılmış halde bulunan tekrarlayıcı DNA elementlerinin varlığından yararlanarak her suş için karakteristik bant desenleri oluşturur.
- Bu tekrarlayıcı elementlerin sayısı ve konumu suşa özgü olduğu için PCR ile amplifiye edilen fragmentlerin uzunlukları değişir ve ortaya bir parmak izi paterni çıkar.
- AFLP yöntemi, genomik DNA'nın bir veya iki restriksiyon enzimi ile kesilmesi ve bu fragmentlerin seçici PCR amplifikasyonundan sonra jel elektroforezi ile ayrılmasına dayanır.
- rep-PCR ve AFLP ile oluşturulan suşlara özgü bant desenlerinin ayırt edici gücü yandaki figürde örneklenmiştir.



Çoklu Gen ve Tüm Genom Analizlerinin Yükselişi

- DNA dizileme kapasitesindeki artış ve maliyetlerin düşmesi, çoklu gen ve tüm genom verilerinin bakterilerin tanımlanmasında giderek daha fazla kullanılmasına olanak verir.
- Tüm genomlar üzerinde gerçekleştirilen geniş kapsamlı dizilim analizleri, mikrobiyal fizyoloji ve evrim hakkında önemli bilgiler sunar.
- Bu analizler, yatay gen aktarımının mikrobiyal evrimde oynadığı büyük rolü ve mikrobiyal genomların yüksek düzeydeki dinamik yapısını ortaya koymuştur.
- Böylece, genom düzeyindeki veriler mikrobiyal çeşitliliğin anlaşılmasına güçlü bir katkı sağlar.

Ortolog Genler ve Filogenetik Yaklaşımlar

- Ortak işlevi olan homolog genler olan ortologlar karşılaştırılarak bu genlerin ortalama nükleotit benzerliği filogenetik yöntemlerle hesaplanır.
- Farklı mikrobiyal türler genellikle ortak ortolog genlerinde %95'in altında ortalama nükleotit benzerliği gösterir.
- Gen içeriklerinin (varlık/yokluk durumu), sentezinin (gen diziliş sırası) ve genom GC içeriğinin karşılaştırılması suşlar arasındaki ilişkiler hakkında ek bilgiler sunar.
- Tüm genom dizileri ayrıca bir hücrenin metabolik kapasitesinin yeniden kurgulanması ve genetik potansiyelinin anlaşılması için kullanılabilir.

Karşılaştırmalı ve Popülasyon Genomiği Yöntemleri

- Sistematik analizlerde kullanılmak üzere karşılaştırmalı genomik ve popülasyon genomiği alanlarında çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.
- Bu yöntemler, türlerin birbirleriyle olan filogenetik ve işlevsel ilişkilerinin daha doğru biçimde değerlendirilmesini sağlar.
- Genom düzeyindeki bu yaklaşımlar, tür tanımlama süreçlerini daha bütüncül ve güvenilir bir temele oturtur.

Fenotipik Analizlerin Taksonomideki Rolü

- Bir bakterinin gözlenebilir özellikleri olan fenotip, türler arasında ayırım yapmak için birçok önemli karakter sunar.
- Yeni bir mikroorganizma tanımlanırken genellikle bir dizi fenotipik özellik rutin biçimde belirlenir.
- Bu fenotipik sonuçlar, daha önce tanımlanmış organizmaların fenotipleriyle karşılaştırılarak değerlendirilir.
- Hangi fenotipik özelliklerin inceleneceği, tanımlanan organizmanın türüne ve çalışma bağlamına bağlı olarak değişir.

Klinik ve Uygulamalı Ortamlarda Fenotipik Testler

- Klinik tanısal mikrobiyoloji gibi hızlı sonuç gerektiren durumlarda, iyi tanımlanmış bir fenotipik özellik seti mikroorganizmaları hızlıca ayırt etmek için kullanılır.
- Yandaki tablo, tanımlama ve tür betimlemelerinde kullanılan fenotipik özelliklerin genel kategorilerini ve örneklerini listelemektedir.
- Tabloda verilen parametreler sayesinde fenotipik analizler, pratikte hızlı ve etkili bir ilk ayırım basamağı oluşturur.

Some phenotypic characteristics of taxonomic value	
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; ^b 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

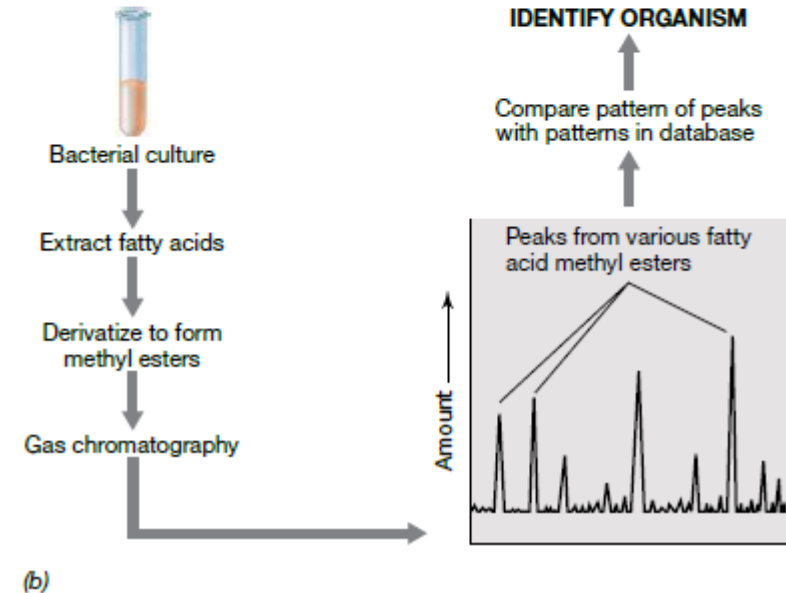


FAME Yöntemi ve Yağ Asidi Profil Analizleri

- Sitoplazmik membran lipitlerindeki ve Gram-negatif bakterilerin dış membran lipitlerindeki yağ asidi türleri, taksonomik analizlerde kullanılan önemli fenotipik özelliklerdir.
- Bu yağ asitlerini tanımlamaya yönelik teknik FAME (fatty acid methyl ester) olarak adlandırılır ve klinik, halk sağlığı ile gıda ve su denetim laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılır.
- Bakterilerdeki yağ asidi kompozisyonu, zincir uzunluğu ve çift bağ, halka, dallanma ya da hidroksil grubu bulunup bulunmaması gibi özellikler açısından türden türe değişir.
- FAME analizlerinde standart koşullarda yetiştirilen hücrelerden elde edilen yağ asitleri, gaz kromatografisi ile analiz edilerek bilinmeyen bakterinin profili geniş bir referans veri tabanı ile karşılaştırılır.

Classes of Fatty Acids in Bacteria

Class/Example	Structure of example
I. Saturated: tetradecanoic acid	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3$
II. Unsaturated: omega-7-cis hexadecanoic acid	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_6-\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{H})-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_3$
III. Cyclopropane: cis-7,8-methylene hexadecanoic acid	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(\text{H})-\text{C}(\text{H})-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$
IV. Branched: 13-methyltetradecanoic acid	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_{11}-\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_3$
V. Hydroxy: 3-hydroxytetradecanoic acid	$\text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_3$



FAME Profillerinin Sınırlılıkları ve Değişkenliği

- Bir organizmanın yağ asidi profili sıcaklık, büyüme fazı (örneğin log fazı ya da durağan faz) ve kullanılan büyüme ortamına bağlı olarak değişebilir.
- Bu nedenle karşılaştırmalı sonuçların güvenilir olması için bilinmeyen organizmanın belirli bir ortamda ve belirli bir sıcaklıkta yetiştirilmesi gerekir.
- Ancak pek çok organizma için bu koşulları standardize etmek mümkün değildir ve bu durum FAME analizlerinin taksonomideki kullanımını sınırlar.
- Ayrıca, bir tür içindeki suşlar arasında FAME profillerinin ne ölçüde değiştiği hâlen araştırılan bir konudur.



Fenotipik Özelliklerin Kullanımında Dikkat Edilmesi Gerekenler

- Fenotipik özellikler çoğu zaman büyüme koşullarına yüksek derecede bağımlıdır ve laboratuvar ortamında gözlenen fenotipler doğal ortam fenotiplerini her zaman doğru biçimde yansıtmayabilir.
- Bu nedenle sistematik analizlerde fenotipik özellikler kullanılırken dikkatli değerlendirme yapmak gerekir.
- Farklı fenotipik karakterlerin tür tanımlama sürecindeki güvenilirliği, incelenen taksonomik gruba bağlı olarak değişebilir.
- Bu durum fenotipik verilerin her zaman tek başına kesin bir sistematik sonuç sağlamayabileceğini gösterir.

Mikrobiyal Taksonominin Genel Çerçevesi

- Taksonomi, Bacteria ve Archaea'nın sınıflandırılması ve adlandırılmasını ele alan bir bilim dalıdır ve sistematik çalışmaların temelini oluşturur.
- Yeni türlerin tanımlanması ve kültür koleksiyonlarında muhafaza edilmesi, prokaryotik türlerin sistematığında kritik bir rol oynar.
- Mikrobiyolojide kullanılan başlıca taksonomik kaynaklar ve kültür koleksiyonlarının bilimsel önemi bu kapsamda değerlendirilir.

Sınıflandırmanın Temel Yapısı

- Sınıflandırma, organizmaların fenotipik benzerlikleri ya da evrimsel ilişkilerine göre giderek genişleyen gruplar hâlinde düzenlenmesidir.
- Bir tür bir veya birkaç suştan oluşur ve benzer türler cinslere, benzer cinsler ise aile, takım, sınıf ve en sonunda domain düzeyine kadar gruplandırılır.
- Bu hiyerarşik düzenleme mikrobiyal çeşitliliğin anlaşılmasına temel oluşturur.

Adlandırma ve Bakteriyolojik Kod

- Adlandırma, Carl Linnaeus tarafından geliştirilen ikili sistem doğrultusunda yapılır ve organizmalara bir cins adı ile bir tür adının verilmesi esasına dayanır.
- Bu adlar Latin ya da Latinleştirilmiş Yunanca kökenlidir ve çoğu zaman organizmanın belirleyici bir özelliğini ifade eder.
- Yeni taksonların oluşturulması, Uluslararası Bakteri Adlandırma Kodu'nun belirlediği kurallara uymayı gerektirir ve böylece mikrobiyal isimlendirme bilimsel tutarlılık kazanır.

Yeni Bir Türün Geçerli Olarak Tanımlanması

- Doğadan izole edilen yeni bir prokaryotun mevcut taksonlardan yeterince farklı olup olmadığı değerlendirilerek yeni bir takson olarak tanımlanıp tanımlanmayacağına karar verilir.
- Yeni bir cins veya türün geçerli kılınabilmesi için organizmanın ayrıntılı bir tanımının ve ayırt edici özelliklerinin yayımlanması gerekir.
- Ayrıca, canlı kültürlerin en az iki farklı uluslararası kültür koleksiyonunda muhafaza edilmesi zorunludur.

Yeni Taksonların Yayınlanması ve Onaylanması

- Yeni taksonları tanımlayan makaleler hakem değerlendirmesine tabi tutulur ve yayımlanarak bilimsel kayda geçirilir.
- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM), yeni taksonların tanımlanmasında resmi yayın organı olup aynı zamanda yeni onaylanmış isimlerin listesini yayımlar.
- Yeni isimler bu dergide doğrulandığında, ilgili taksonomik referans kaynaklarına eklenmenin yolu açılmış olur.

Geçerli İsim Kaynakları ve Çevrimiçi Listeler

- Bakteriyel isimlerin geçerliliğini gösteren iki önemli çevrimiçi kaynak List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature ve Prokaryotic Nomenclature Up-to-Date siteleridir.
- IJSEM'de onaylanan yeni isimler bu kaynaklara aktarılır ve böylece güncel taksonomik bilgiler araştırmacıların kullanımına sunulur.
- Bu kaynaklar mikrobiyal çeşitliliğin takibi ve isim karışıklıklarının önlenmesi açısından büyük önem taşır.

Kültüre Alınamayan Organizmalar ve “*Candidatus*”

- Moleküler ve genomik tekniklerle bir mikroorganizmanın fenotipik ve genotipik özellikleri kültüre alınmadan da karakterize edilebilir.
- Ancak iki farklı uluslararası kültür koleksiyonunda izole bir kültür olarak muhafaza edilmeden, Bakteriyolojik Kod’a göre geçerli bir tür adı verilemez.
- Bu durumda “*Candidatus*” eki, iyi tanımlanmış fakat henüz saf kültürü elde edilmemiş organizmalar için geçici bir taksonomik ad olarak kullanılır.



“*Candidatus*” Örnekleri

- “*Candidatus Pelagibacter ubique*” küresel ölçekte yaygın bir deniz bakterisi olup laboratuvar ortamında zor yetiştirildiği için bu statüyü taşır.
- “*Candidatus Helimonas lunata*”, kültürde büyütülebilmesine karşın saf kültürü elde edilemediği için yine *Candidatus* statüsünde kalır.
- Bu örnekler, kültür elde edilememesinin isimlendirme sürecini nasıl sınırladığını gösterir ve sistematik çalışmalar açısından öğreticidir.

Uluslararası Prokaryot Sistematığı Komitesinin Rolü ve Taksonomik Standartlar

- Uluslararası Prokaryot Sistematığı Komitesi, Bacteria ve Archaea'nın nomenklatür ve taksonomisini denetleyen otoritedir.
- Komite, IJSEM'in ve Uluslararası Bakteri Adlandırma Kodu'nun yayımlanmasını sağlar ve bilimsel uygulamalara yön verir.
- Ayrıca, farklı bakteri ve arke grupları için yeni tür tanımlama standartlarını belirleyen alt komiteleri koordine eder.

Bergey's Manual: Prokaryotların Sistematik Temeli

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Bacteria ve Archaea için en yaygın kabul gören sınıflandırma sistemi olarak mikrobiologlara kapsamlı bir başvuru kaynağı sunar.
- Bu eser, 1923'ten bu yana tanınmış tüm prokaryotik türlere ilişkin bilgileri derleyen temel bir kaynak olarak kullanılmaya devam eder.
- Her bölüm, uzmanlarca hazırlanmış tablolar, fotoğraflar ve figürlerle türlerin tanımlanmasını destekleyen sistematik bilgiler içerir.
- Bergey's Manual, taksonomik yargının bilimsel değerlendirmeye dayandığı durumlarda standart bir referans noktası oluşturur.



The Prokaryotes: Prokaryot Biyolojisine Derin Bir Bakış

- The Prokaryotes, Bacteria ve Archaea'nın fizyolojisi, ekolojisi, filogenisi, izolasyonu ve kùltivasyonu hakkında kapsamlı bilgiler sunan ikinci büyük kaynaktır.
- Bu eser, üniversite kùtùphaneleri aracılığıyla çevrimiçi erişime açık geniş bir referans olarak mikrobiyologlarca sıkça kullanılmaktadır.
- Bergey's Manual ve The Prokaryotes birlikte, prokaryot biyolojisinin hem kavramsal hem de ayrıntılı yönlerini sunarak araştırmacılara güçlü bir temel sağlar.
- Yeni izole edilen mikroorganizmaların tanımlanmasında bu iki kaynak, modern mikrobiyoloji için birincil bilgi merkezleri olarak kabul edilir.

Kültür Koleksiyonlarının Rolü ve Önemi

- Ulusal mikrobiyal kültür koleksiyonları, mikroorganizmaları kataloglayan ve saklayan kalıcı merkezler olarak mikrobiyal sistematığın temel taşını oluşturur.
- Bu koleksiyonlar, araştırmacılara belirli bir ücret karşılığında ihtiyaç duyulan mikroorganizma kültürlerini sağlayarak bilimsel çalışmalara katkı sunar.
- Koleksiyonların sunduğu kültürler, bitki ve hayvan müzelerinin aksine, dondurulmuş veya liyofilize edilmiş şekilde canlı tutulur ve böylece sürekli pasajlamanın yol açabileceği genetik değişimlerin önüne geçilir.

Tip Suşlar ve Kültür Koleksiyonlarındaki Konumları

- Kültür koleksiyonlarının kritik bir görevi de, yeni tanımlanan bakteri türlerinin tip suşlarını barındırmak ve gelecekteki karşılaştırmalar için referans noktası oluşturmaktır.
- Yeni bir tür yayınlandığında seçilen tip suş, o türün isimlendirme standardı olarak kabul edilir ve diğer suşların taksonomik değerlendirmesinde temel ölçüt olarak kullanılır.
- Bir tür adının geçerli kabul edilebilmesi için tip suşun en az iki farklı ülkenin ulusal koleksiyonunda muhafaza edilmesi gerekir.



Teşekkür
ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

