

Γονιδιωματική
Μεταγονιδιωματική[8]

Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας
και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Μεζίτη Αλεξάνδρα

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων

Οι κλασικές μικροβιολογικές τεχνικές (π.χ. απομονώσεις στελεχών) χρησιμοποιούνταν για χρόνια και βοήθησαν ιδιαίτερα κυρίως σε κλινικές μελέτες, αλλά δεν μπορούσαν να αποκαλύψουν την ποικιλότητα και τις αλληλεπιδράσεις σε περιβαλλοντικά δείγματα.

Με την αλληλούχηση του DNA επιτεύχθηκε:

- Η μελέτη εξελικτικών σχέσεων
- Μελέτη των προφίλ της ζωής σε περιβαλλοντικά δείγματα.
- Μελέτη της πλειονότητας των στελεχών που δεν μπορούν να απομονωθούν.
- Εκτίμηση των σχέσεων και των αλληλεπιδράσεων των μικροοργανισμών.

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων

Η μελέτη των 16S rRNA γονιδίων χρησιμοποιήθηκε ευρέως στην ανάλυση της Ταξινομικής μικροοργανισμών σε περιβαλλοντικά δείγματα εξαιτίας

- Του χαμηλού ρυθμού εξέλιξης τους και...
- της ανθεκτικότητας τους σε φαινόμενα οριζόντιας μεταφοράς.

Παρόλαυτα...

- Αποκρύπτουν τη μεταφορά άλλων γονιδίων ανάμεσα σε είδη και γένη και...
 - δεν προσφέρουν πληροφορίες για τον μεταβολισμό και άλλες προσαρμογές των ειδών.
- Έχει αποδειχθεί πλέον ότι μικροοργανισμοί με 99% παρόμοια rRNAs μπορεί να ανήκουν σε διαφορετικά είδη!!!!
- Ένας μικροοργανισμός μπορεί να έχει πάνω από ένα 16S rRNA γονίδια τα οποία δεν είναι αναγκαστικά πανομοιότυπα.

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων

Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea

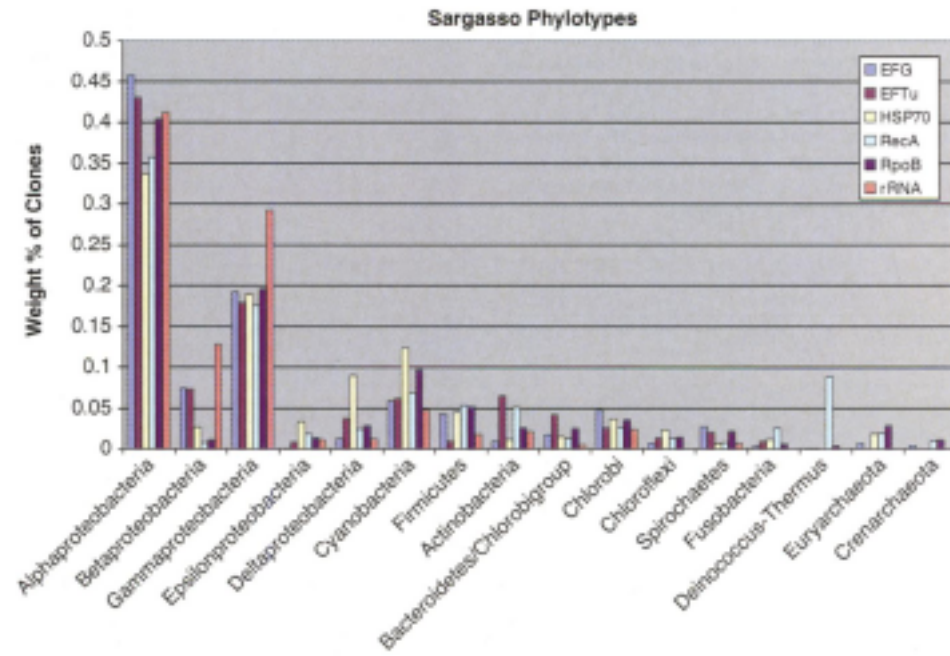
J. Craig Venter,^{1*} Karin Remington,¹ John F. Heidelberg,³
Aaron L. Halpern,² Doug Rusch,² Jonathan A. Eisen,³
Dongying Wu,³ Ian Paulsen,³ Karen E. Nelson,³ William Nelson,³
Derrick E. Fouts,³ Samuel Levy,² Anthony H. Knap,⁶
Michael W. Lomas,⁶ Ken Nealson,⁵ Owen White,³
Jeremy Peterson,³ Jeff Hoffman,¹ Rachel Parsons,⁶
Holly Baden-Tillson,¹ Cynthia Pfannkoch,¹ Yu-Hui Rogers,⁴
Hamilton O. Smith¹

We have applied "whole-genome shotgun sequencing" to microbial populations collected en masse on tangential flow and impact filters from seawater samples collected from the Sargasso Sea near Bermuda. A total of 1.045 billion base pairs of nonredundant sequence was generated, annotated, and analyzed to elucidate the gene content, diversity, and relative abundance of the organisms within these environmental samples. These data are estimated to derive from at least 1800 genomic species based on sequence relatedness, including 148 previously unknown bacterial phylotypes. We have identified over 1.2 million previously unknown genes represented in these samples, including more than 782 new rhodopsin-like photoreceptors. Variation in species present and stoichiometry suggests substantial oceanic microbial diversity.

- Τα δεδομένα προέκυψαν από περίπου 1800 διαφορετικά είδη
- 148 καινούριοι φυλότυποι
- 1.2 εκ. Καινούρια γονίδια

Μία από τις πρώτες περιβαλλοντικές μεταγονιδιωματικές μελέτες πραγματοποιήθηκε από τον C. Venter στη θάλασσα των Σαργασσών.

- Whole genome shotgun sequencing
- $\sim 1 \cdot 10^9$ br αλληλουχήθηκαν



Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων Κυανοβακτήρια

Βασικές αρχές και ερωτήματα εξέλιξης γονιδιωμάτων

- Οι προσαρμογές οδηγούνται από αλλαγές (γονιδιακή ανακαταταξη, απόκλιση, gene loss/acquisition).
- Πως επιλέγουν οι πληθυσμοί και υιοθετούν στρατηγικές;
- Αν ένα ενδιαίτημα διαφέρει στο χώρο και στο χρόνο με ποια κριτήρια διαφοροποιούνται τα είδη σε πληθυσμούς;
- Ποιες πρωτεΐνες θα αποκλίνουν;
- Από που προέρχονται τα καινούρια γονίδια;

Η κατανομή των Κυανοβακτηρίων στον ωκεανό είναι ιδανικό παράδειγμα για την απάντηση των παραπάνω ερωτημάτων.

- Το βάθος είναι η μόνη μεταβλητή αλλά και όλα όσα αλλάζουν με αυτό...
 - Ποιότητα και ένταση φωτός
 - Θερμοκρασία, Πίεση
 - Διαθεσιμότητα θρεπτικών
 - Ιοί και θηρευτές

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων Κυανοβακτήρια

Τα γένη *Prochlorococcus* και *Synechococcus* αποτελούν τους 'πρωταγωνιστές' των ωκεανών σε εύκρατα και τροπικά κλίματα

→ Πραγματοποιούν ένα σημαντικό ποσοστό της παγκόσμιας φωτοσύνθεσης.

→ Το *Prochlorococcus* προέκυψε από το *Synechococcus* σχετικά πρόσφατα.

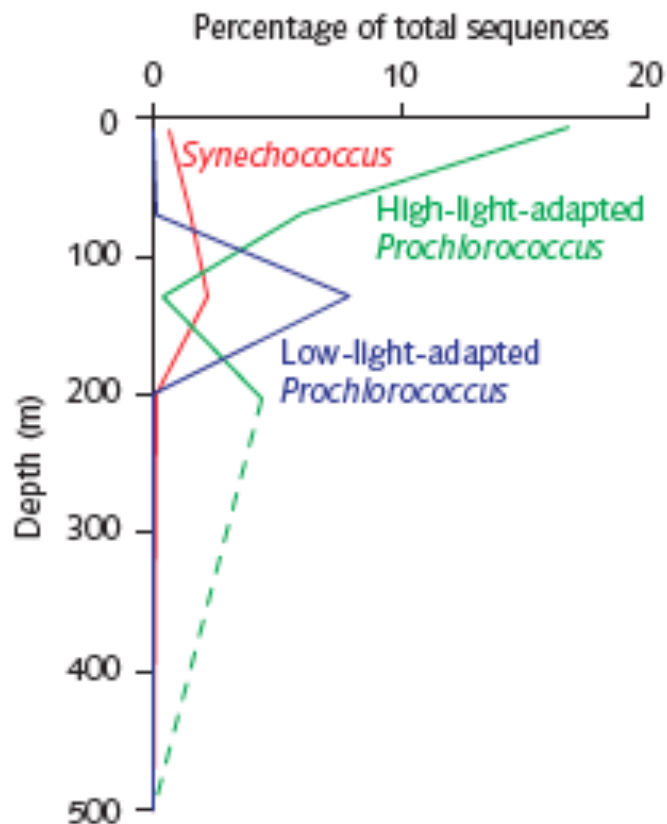


Figure 6.13 Distribution with depth of three types of cyanobacteria: *Synechococcus*, *Prochlorococcus* strains adapted to high-light-intensity habitats, and *Prochlorococcus* strains adapted to low-light-intensity habitats. The appearance of large amounts of low-light-adapted *Prochlorococcus* at 200 m, below the level where it seemed to have virtually disappeared, is puzzling. The broken line from 200–500 m depth is interpolated; measurements have been made at 200 and 500 m but not in between.

After: DeLong, Preston & Mincer, et al. (2006). Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. *Science* 311, 496–503.

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων *Synechococcus/Prochlorococcus*

Feature	<i>Prochlorococcus</i>		<i>Synechococcus</i>
	Strain MED4	Strain MIT9313	Strain WH8102
Preferred light level	High	Low	
Length (bp)	1 657 990	2 410 873	2 434 428
G+C (mol%)	30.8	50.7	59.4
Protein coding (%)	88	82	85.6
Protein coding genes	1 716	2 273	2 526
RNA genes	40	51	44

- Ο μικρότερος οργανισμός που παράγει Οξυγόνο → *Prochlorococcus* MED4.
- Περίπου μισές από τις πρωτεΐνες του *Synechococcus* είναι κοινές και στα τρία είδη.
- Μόνο 38 πρωτεΐνες μοναδικές στο *Prochlorococcus* ξεχωρίζουν τα δύο γένη.

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων *Synechococcus/Prochlorococcus*

Προσαρμογές στην ένταση του φωτός και στα διαφορετικά μήκη κύματος

→ Διαφορετικές πρωτεΐνες στο Φωτοσύστημα II για την προσαρμογή σε χαμηλες συγκεντρώσεις Fe.

→ Διαφορετικοί λόγοι συγκεντρώσεων χλωροφύλλης α_2 (high-light) και β_2 (low-light).

→ Αυξομειώσεις του αριθμού των γονιδίων των πρωτεϊνών που συγκεντρώνουν το φως.

Προστασία από φωτοχημικό στρες (UV → μεταλλάξεις στο DNA)

→ Γονίδια photolyase για την διόρθωση των μετάλλαξεων.

Μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων *Synechococcus/Prochlorococcus*

Χρήση πηγών Αζώτου

Διαφορετικά ένζυμα για το μεταβολισμό του αζώτου

Reaction	Enzyme	<i>Synechococcus</i>	<i>Prochlorococcus</i>	
		WH8102	MED4	MIT9313
$N_2 \rightarrow NH_4^+$	Nitrogenase	Absent	Absent	Absent
$NO_3^- \rightarrow NO_2^-$	Nitrate reductase	Present	Absent	Absent
$NO_2^- \rightarrow NH_4^+$	Nitrite reductase	Present	Present	Absent
$NH_3^+ \rightarrow$ glutamine	Glutamine synthase	Present	Present	Present

Προστασία από θηρευτές/ιούς

Διαφορετικοί πολυσακχαρίτες/λιποπολοσακχαρίτες στα τοιχώματα.

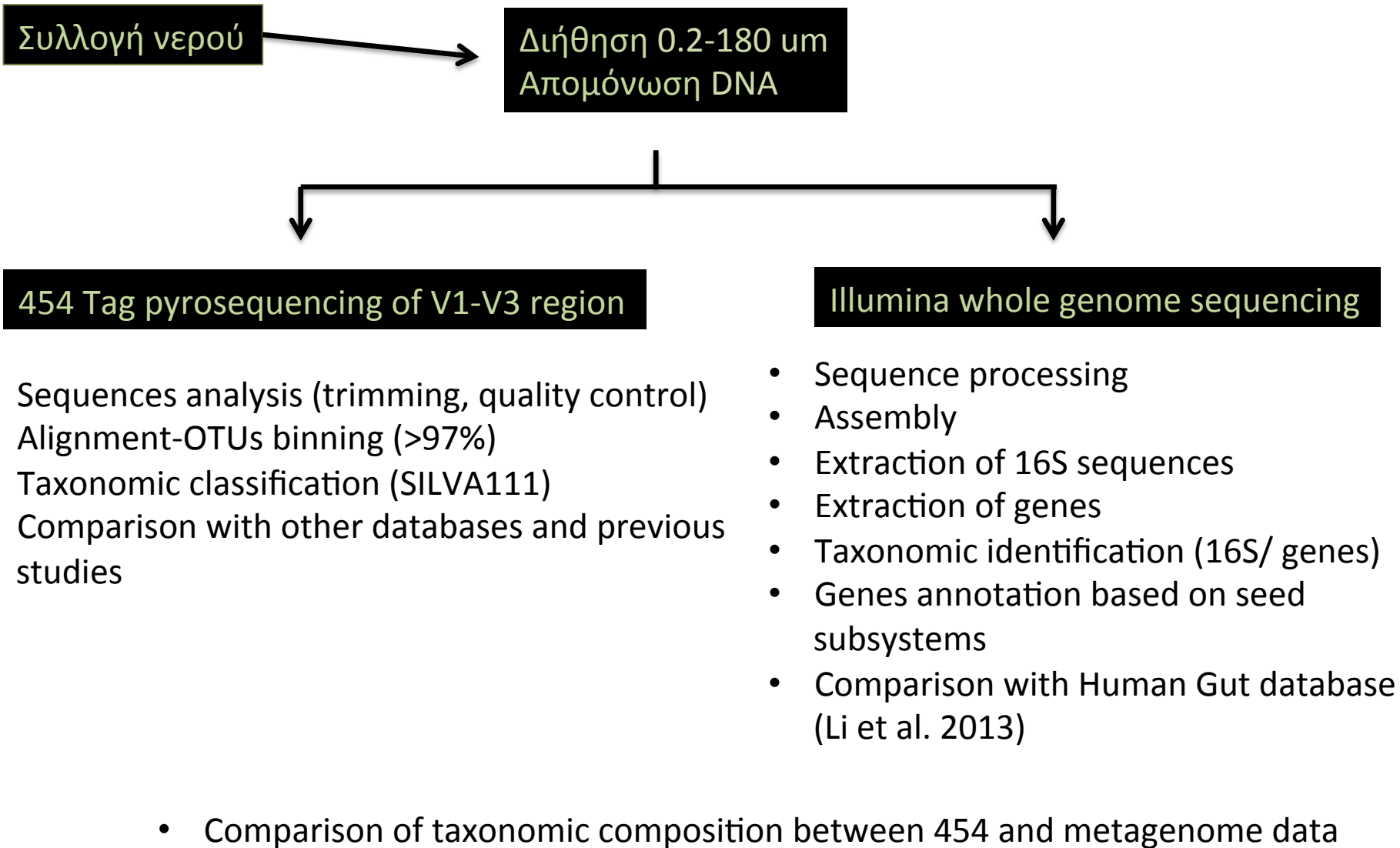
Anthropogenic effects on bacterial diversity and function along a river-to-estuary gradient in Northwest Greece revealed by metagenomics

Alexandra Meziti,^{1†} Despina Tsementzi,^{2†}
Konstantinos Ar. Kormas,³ Hera Karayanni¹ and
Konstantinos T. Konstantinidis^{2,4*}

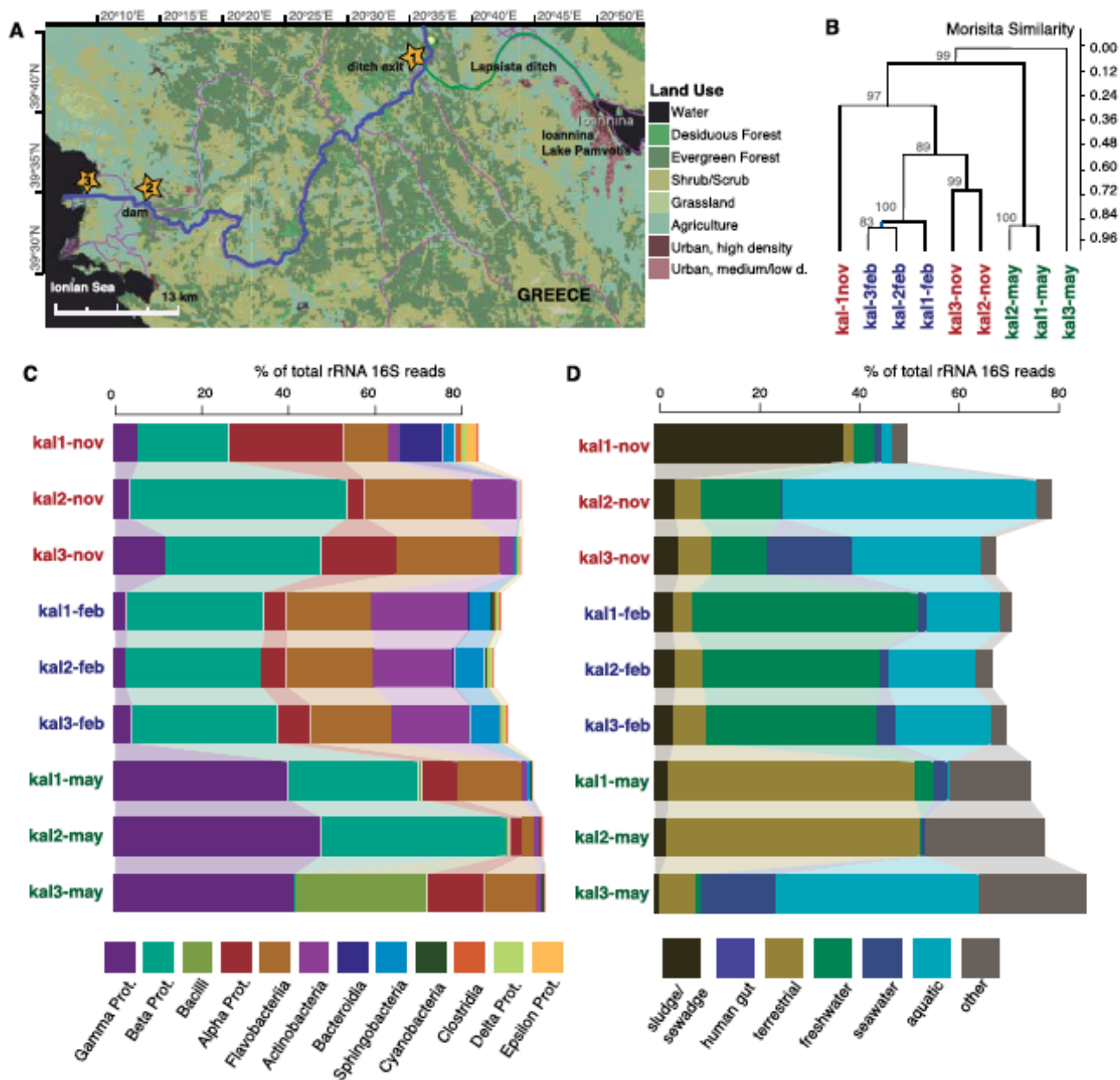
Studies assessing the effects of anthropogenic inputs on the taxonomic and functional diversity of bacterio-plankton communities in lotic ecosystems are limited. Here, we applied 16S rRNA gene amplicon and whole-genome shotgun sequencing to examine the microbial diversity in samples from the Kalamas River (Northwest Greece), a mid-size river that runs through agricultural and NATURA-protected areas, but also receives urban sewage from a large city through a manmade ditch. Samples from three different locations between the exit of the ditch and the estuary, during three different months showed that temporal differences of taxonomic and functional diversity were more pronounced than spatial ones, and <1% of total

taxa were shared among all samples, revealing a highly dynamic ecosystem. Comparisons of gene diversity with other aquatic habitats showed that only the high flow winter samples resembled more to freshwater environments while samples during the decreased water flow months were dominated by sewage inputs and soil-related organisms. Notably, microbial human gut signals were detectable over background freshwater and soil/runoff related signals, even at tens of kilometers downstream the city. These findings revealed the significance of allochthonous inputs on the composition and dynamics of river bacterial communities, and highlighted the potential of metagenomics for source tracking purposes.

Μέθοδοι



Ταξινομική ανάλυση-16S



Λειτουργική ανάλυση

