

Mikrobiyoloji ve infeksiyon Hastalıkları Uzmanları Mikrobiyom Çalışmalarında Niçin Yer Almalı ve Temel Kavramlar

Dr. Kenan Midilli

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji ABD - Tıbbi Viroloji Bilim Dalı

1977

[Nature](#), 1977 Feb 24;265(5596):687-95.

Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA.

[Sanger F.](#), [Air GM.](#), [Barrell BG.](#), [Brown NL.](#), [Coulson AR.](#), [Fiddes CA.](#), [Hutchison CA.](#), [Slocombe PM.](#), [Smith M.](#)

Abstract

A DNA sequence for the genome of bacteriophage phi X174 of approximately 5,375 nucleotides has been determined using the rapid and simple 'plus and minus' method. The sequence identifies many of the features responsible for the production of the proteins of the nine known genes of the organism, including initiation and termination sites for the proteins and RNAs. Two pairs of genes are coded by the same region of DNA using different reading frames.

1981

[Nature](#), 1981 Apr 9;290(5806):457-65.

Sequence and organization of the human mitochondrial genome.

[Anderson S.](#), [Bankier AT.](#), [Barrell BG.](#), [de Bruijn MH.](#), [Coulson AR.](#), [Drouin J.](#), [Eperon IC.](#), [Nierlich DP.](#), [Roe BA.](#), [Sanger F.](#), [Schreier PH.](#), [Smith AJ.](#), [Staden R.](#), [Young IG.](#)

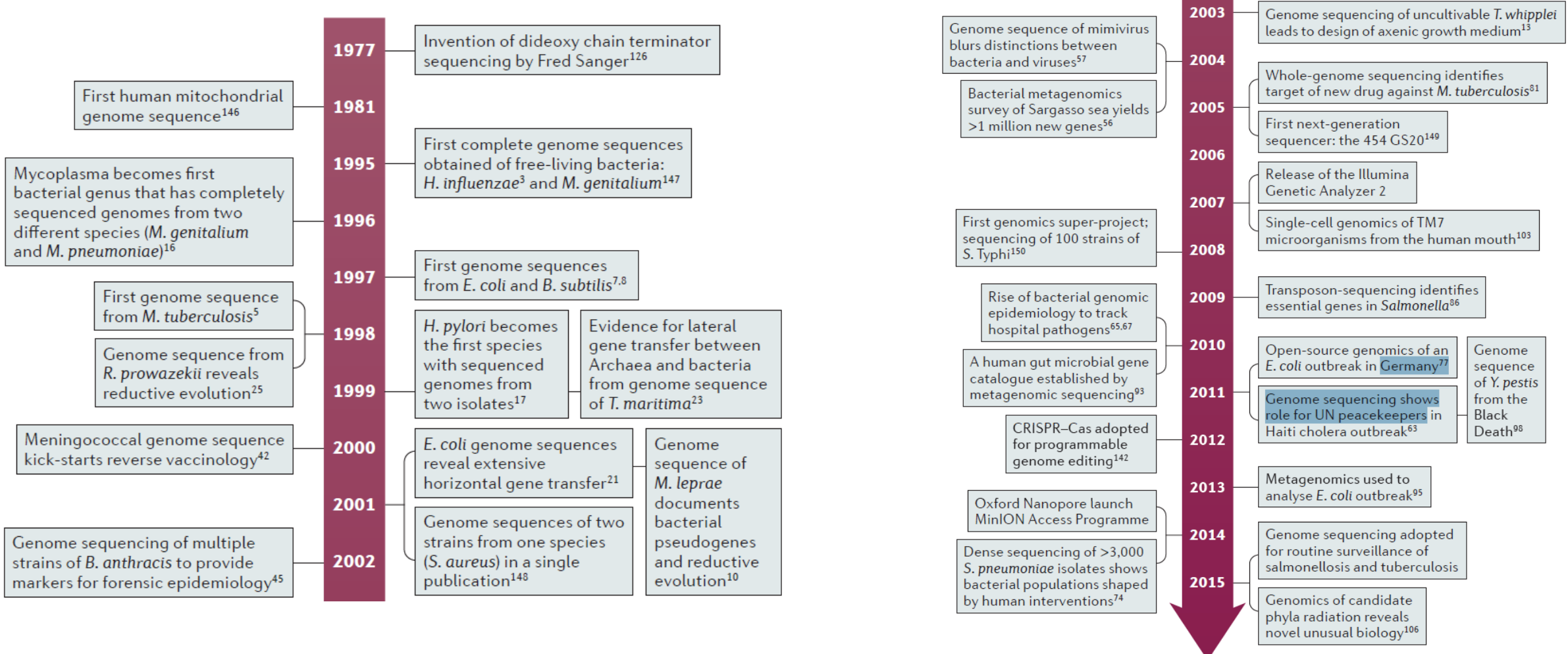
Abstract

The complete sequence of the 16,569-base pair human mitochondrial genome is presented. The genes for the 12S and 16S rRNAs, 22 tRNAs, cytochrome c oxidase subunits I, II and III, ATPase subunit 6, cytochrome b and eight other predicted protein coding genes have been located. The sequence shows extreme economy in that the genes have none or only a few noncoding bases between them, and in many cases the termination codons are not coded in the DNA but are created post-transcriptionally by polyadenylation of the mRNAs.

1995

Whole-Genome Random Sequencing and Assembly of *Haemophilus influenzae* Rd

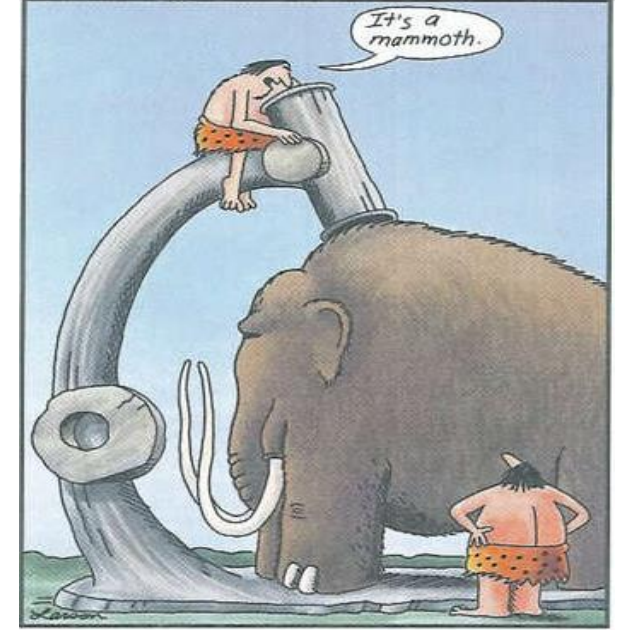
Robert D. Fleischmann, Mark D. Adams, Owen White, Rebecca A. Clayton, Ewen F. Kirkness, Anthony R. Kerlavage, Carol J. Bult, Jean-Francois Tomb, Brian A. Dougherty, Joseph M. Merrick, Keith McKenney, Granger Sutton, Will FitzHugh, Chris Fields,* Jeannine D. Gocayne, John Scott, Robert Shirley, Li-Ing Liu, Anna Glodek, Jenny M. Kelley, Janice F. Weidman, Cheryl A. Phillips, Tracy Spriggs, Eva Hedblom, Matthew D. Cotton, Teresa R. Utterback, Michael C. Hanna, David T. Nguyen, Deborah M. Saudek, Rhonda C. Brandon, Leah D. Fine, Janice L. Fritchman, Joyce L. Fuhrmann, N. S. M. Geoghagen, Cheryl L. Gnehm, Lisa A. McDonald, Keith V. Small, Claire M. Fraser, Hamilton O. Smith, J. Craig Venturi†



Başlangıç: 2005 yılında yeni kuşak dizileme tekniği ile



BİR DEVRİMİN
ORTASINDAYIZ...



İnsan ekzom analizi 15 milyon dolardan 1000 doların altına düştü → 15 000 kez daha ucuzladı

Yeni kuşak dizileme ve diğer yüksek çıktılı teknikler



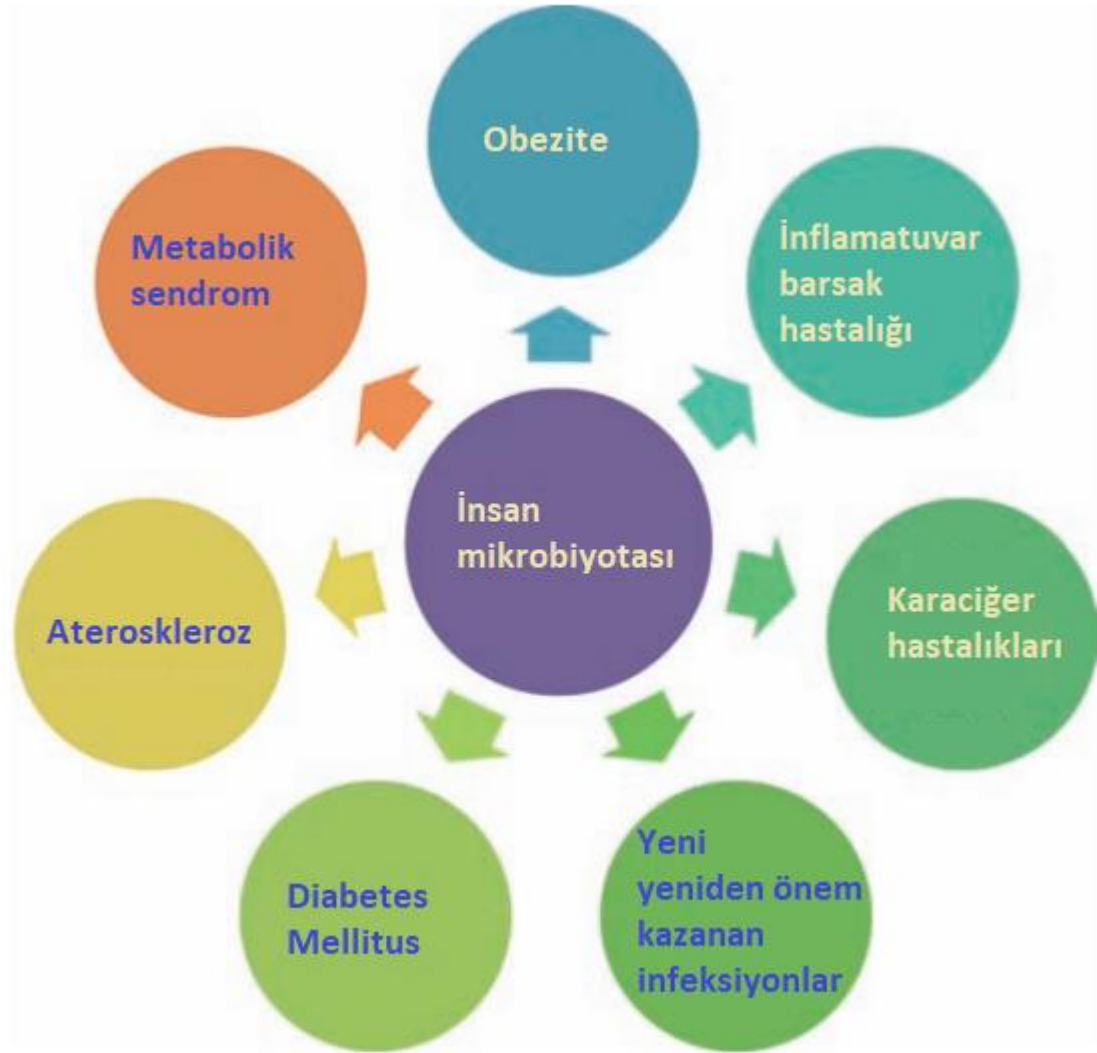
Biyoinformatik ve teknolojideki gelişmeler



Yeni kuşak dizilemeye dayalı çalışmalar:

- Kim(ler) var?
- Ne yapıyor (lar)?
 - Konakla etkileşimleri
 - Birbirleri ile etkileşimleri
 - Dış etmenlerden nasıl etkileniyorlar
 -
- Bilgi ve verilerin klinik uygulamaya aktarılmaları:
 - Girişimsel çalışmalar





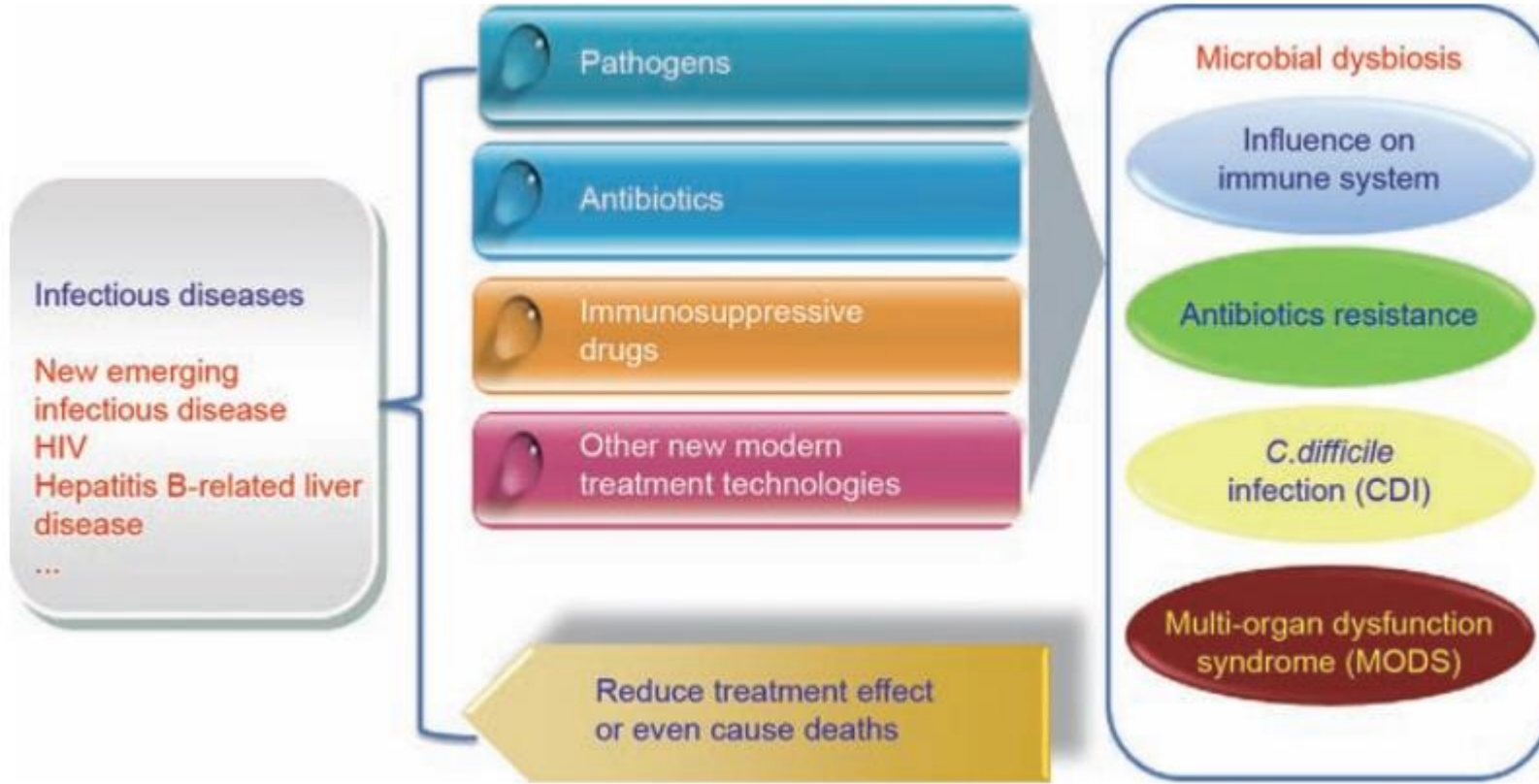
Barsak mikrobiyomu → İkinci beyin, ekstra organ, ikinci genomumuz

Barsak florasının restorasyonuna yönelik girişimler → Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler, kontrabiyotikler

Genomik ve transkriptomik analizler → Yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi; aşı çalışmaları

Salgınların gerçek zamanlı olarak izlenmesi

Üretilmeyen bakterilerin üretilmesi için → iChip, i-Tip, Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME), gut-on-a-chip system, 3D-organoidler



ÇÖZÜMLERE DOĞRU İLK ÖNEMLİ ADIM: FEKAL TRANSPLANTASYON

Temel kavramlar

Mikrobiyota: Belli bir çevrede bulunan mikroorganizmaların toplamı. Daha çok 16S RNA, 18S RNA genleri ya da başka marker gen ya da genom bölgelerinin moleküler yöntemlerle amplifikasyonu ve dizilenmesine dayanır. Farklı araçlar kullanılarak elde edilen her bir dizi değişik düzeylerde bir mikrobik taksona yerleştirilir (filumdan türe kadar).

Mikrobiyom: Mikroorganizmalar da dahil olmak üzere habitatın toplamını tanımlamak için kullanılan bir terim. Belli bir çevredeki biyotik ve abiyotik faktörlerin ikisini de kapsar. Bazıları mikrobiyom tanımını bir mikrobiyota içerisinde bulunan genler ya da genomların toplamı ile kısıtlamaktadır. Mikrobiyom çevre ile ilişkilendirilmiş metagenom şeklinde de tanımlanabilir. Mikrobiyom metagenomik, metabonomik, metatranskriptomik ve metaproteomik kombinasyonunun klinik ya da çevresel metaverilerle kombine edilmiş hali olarak da tanımlanabilir.

Metataksonomik: Elde edilen tüm diziler arasındaki bağlantıyı göstererek mikrobiyotanın tamamını karakterize etmek ve bir metataksonomik ağaç oluşturmak için kullanılan yüksek çıktılı süreç. Ancak viruslarda bu tarz universal bir viral gen yoktur.

Metagenom: Bir mikrobiyotanın tüm üyelerinin genom ve genlerinin toplamı. Örnekten ekstrakte edilen DNA'nın dizilemesine dayanır. Elde edilen dizile bir referans veritabanı ile eşleştirilir ya da haritalandırılır.

Metabolomik: Tek bir köken ya da tek bir dokuya ait metabolik profili belirlemek için kullanılan analiz sürecini (NMR spektroskopisi ve kütle spektroskopisi gibi) tanımlamak için kullanılır. Elde edilen profil **metabolom** olarak adlandırılır.

Metabonomik: Memeliler gibi daha kompleks sistemlere ait metabolit profillerin çıkarılmasıdır. Örneğin idrar, dışkı ya da plazma gibi.

Metatranskriptomik: Ekspresyon edilen RNA'ların yüksek çıktılı dizileme ile analiz edilmesi olup kompleks mikrobiyomların ekspresyon profilleri ve düzenlenmesine ilişkin verilerin elde edilmesini sağlar.

Metaproteomik: Belli bir zaman noktasında bir klinik ya da çevre örneğinde bulunan ve tanımlanan tüm proteinlerin özelliklerinin belirlenmesidir.

Resistom: Bir mikrobiyom içersindeki antimikrobik direnç gen havuzu

Holobiyont: Bir hayvan ve mikrobiyal ekleri. İki hayvan aynı genotipe sahip oldukları halde, mikrobiyal ekleri farklı olabilir ve farklı holobiyont fenotipleri sergileyebilir.

Taksa: Aynı filogenetik düzlemde sınıflandırılmış ve birbirleri ile bağlantılı mikroorganizma (organizma) topluluğu (filum, aile, cins, tür gibi)

OTU (operational taxonomic unit): 18S rDNA dizisi düzeyinde %97 ve üzerinde benzerlik gösteren birimler

Alfa çeşitliliği: Aynı örnek içindeki çeşitlilik

Beta çeşitliliği : Örnekler arası çeşitlilik (kolon, deri gibi farklı bölgeler; hastalar)



Mikrobiyom alışmaları ile ilgili sorunlar:

1- Mikrobiyom çalışmalarının birçoğu mikrobiyolog ya da infeksiyon hastalıkları uzmanı hatta tıp doktoru olmayan araştırmacılar tarafından tasarlanıp yürütülmekte

2- Mikrobiyom alışmaları hala tasarım ve yöntemsel açıdan pekçok kısıtlılıklar içermekte:

- Örnekleme ve DNA ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen sonuçlar deęiřebilmekte
- Örnekleme ve test aşamalarındaki kontaminasyon sorunları
- Amplifikasyon aşamasındaki verimlilik farklılıkları
- 16S rRNA dizilemelerinde oluşabilecek kimerik diziler filtrasyondan kaçabilmekte ve olağanın üstünde biyolojik çeşitlilik yanılsaması yaratabilmekte
- Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde kullanılan veritabanları ve biyoinformatik programlarına göre sonuçlar ve yorumlar değişebilmekte

- Dizilenen 16S rDNA dizilerinin uzunluđu tüm türleri ayırtetmek için yeterli olmayabilir
- 16S rDNA kopya sayıları bakterilerde değişken
- Mikrobiyota profilleri biyoinformatik araçları ile oluşturulmakta ve bakteri türünün klinik önemine ilişkin yorumlar genellikle spekülasyonlara dayanmaktadır (bakteri- hastalık ilişkilendirmelerinde Koch koyutları tamamlanmamakta); çoğu zaman yeni tanımlanan türler henüz kültürde üretilmemiş türler
- Epidemiyolojik çalışmaların çoğu küçük kohortlar üzerinde gerçekleştiriliyor
- Yanlılık ve çıkar ilişkileri

3- Mikrobiyom çalışmalarından elde edilen verilerin kliniğe uyarlanması

4- Mikrobiyotayı değiştirmeye yönelik uygulama ya da terapötiklerin etkinlik, risklerinin, yan etkilerinin incelenmesi

5- Yüksek çıktılı yöntemlerin tanı, epidemiyolojik amaçlar için kullanımı

6- Saklama – güvenlik ve tekrarlanabilirlik sorunları – standart prosedürlerin tanımlanmamış ya da düzenlenmemiş olması