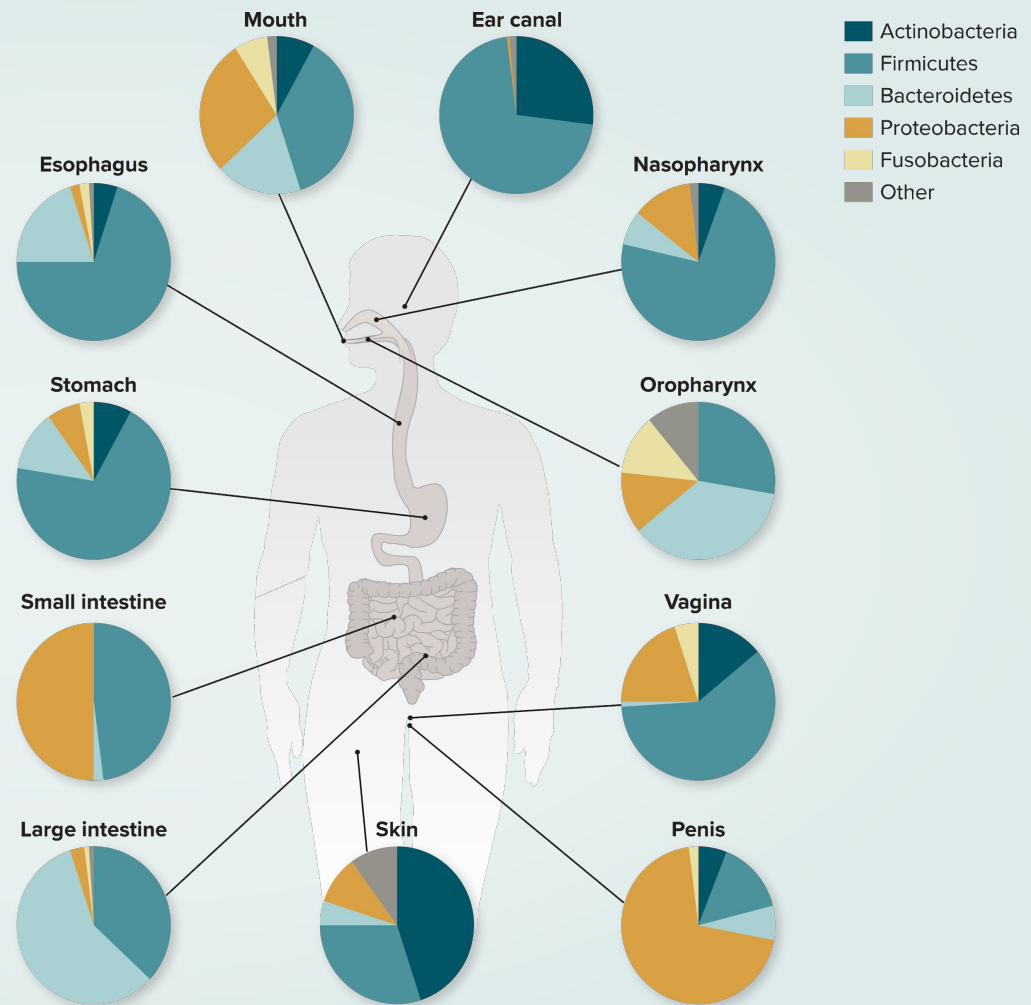


A mikrobiom vizsgálati módszerei és az eredmények értelmezése

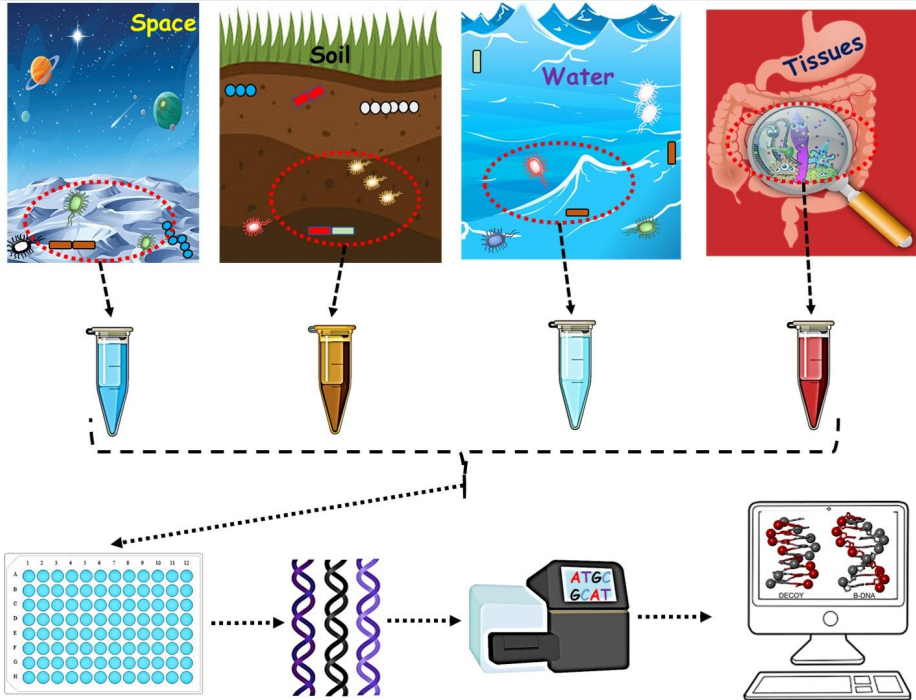
Ari Eszter
SZBK, ELTE
arieszter@gmail.com

A mikrobiom

A mikrobiom az emberi testben élő szimbionta, kommenzalista, és patogén mikroorganizmusok, főként baktériumok, alkotta ökológiai rendszer.



Amplikon szekvenálás vs. Metagenomika



Funkcionális metagenomika

az élőlényközösség DNS-e



A fajösszetétel és
abundancia profilozása:

16S

szekvenálás

Egyezés keresése 16S
adatbázisban

A mikrobiom faj-
összetételének
meghatározása

Szekvenálás alapú
metagenomika:

MINDEN DNS

megszekvenálása

Genom összeszerelés,
Referenciához illesztés,
Annotáció

A közösség funkciójának
meghatározása,
Teljes genomok
meghatározása

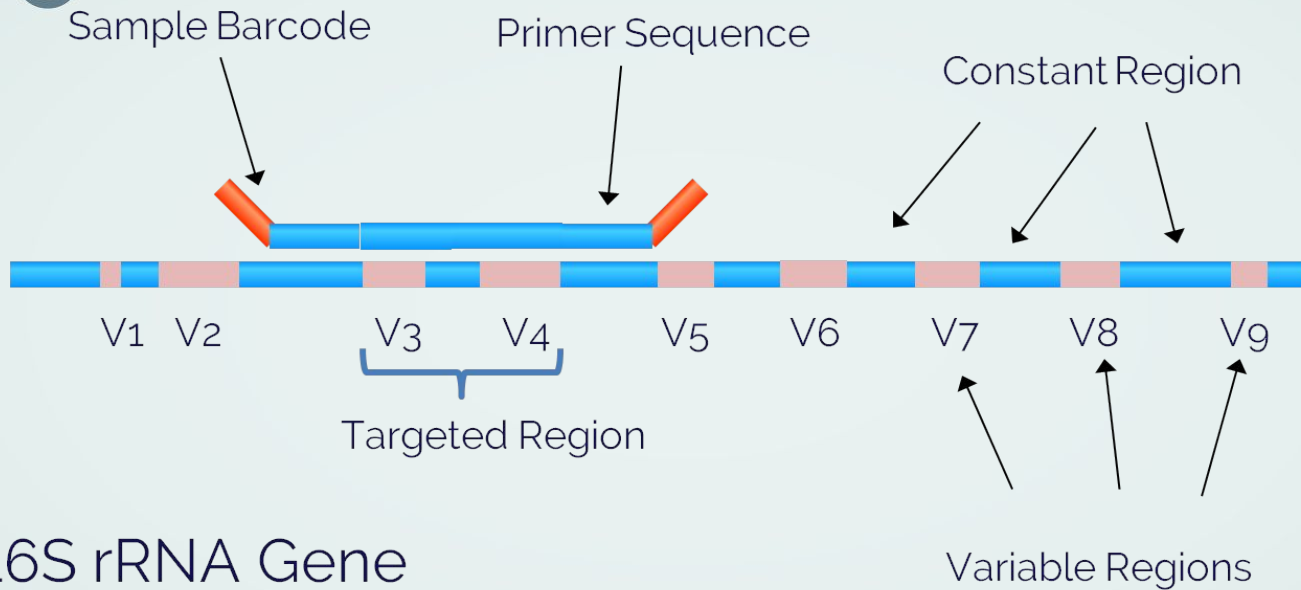
Hogyan vizsgáljuk egy minta taxonómiai diverzitását?

Amplikon szekvenálás = DNS bárkódolás = Marker gén metagenomika

- Lókusz, melynek elég jó a felbontása a vizsgált taxonok azonosításához.
- Legyen standard, hogy a szekvenciákat meglévő adatbázisok (SILVA, Greengenes, stb.) segítségével be tudjuk azonosítani.
- **Baktériumok** és Archeák: **16S rRNS** és 23S rRNS
- Eukarioták: 18S és 28S rRNS, ITS régió, citokróm oxidáz I, rbcL, stb...



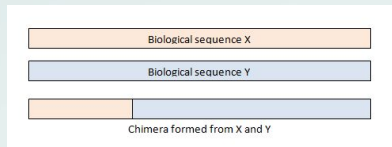
16S rRNS



16S rRNA Gene

A taxonómiai besorolás szintje (törzs, faj, család) függ a megszekvenált konzervatív régióktól (egyszerre többet is lehet)

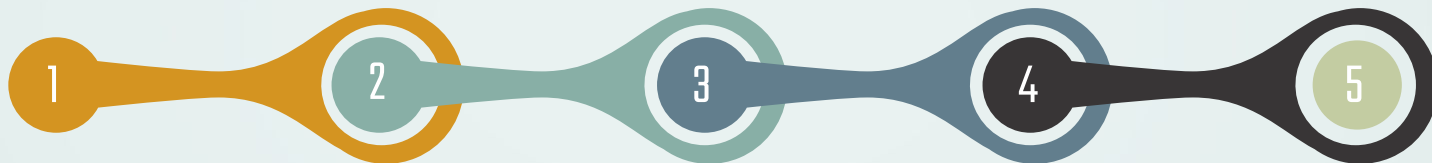
Munkamenet



Minőség ellenőrzés,
szűrés, kimérák
eltávolítása

	Sample_1	Sample_2	...
OTU_1	0	428	...
OTU_2	306	323	...
...

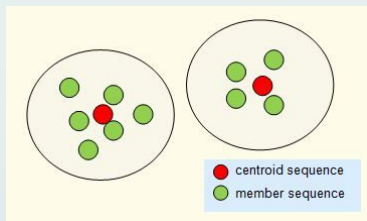
Abundancia táblázat
létrehozása



Szekvenálási
eredmény: *fastq* file

```
@HISEQ2500:282:1:1101:1220:1944 1  
ATCGGATCG...  
+  
<G.<G<AGGII...
```

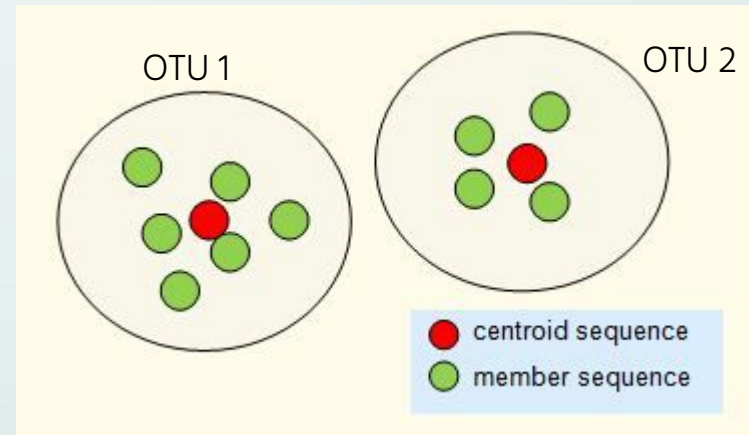
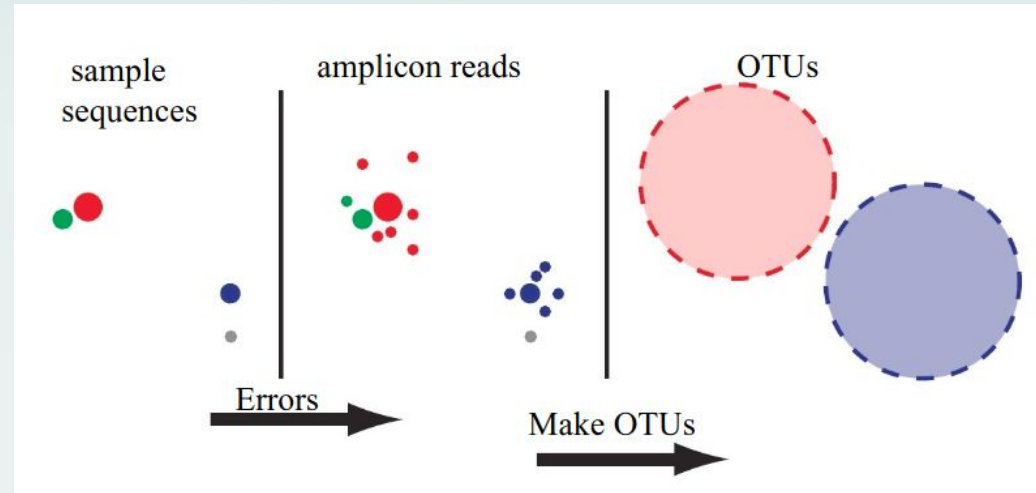
OTUk létrehozása,
taxonómiai besorolás



Vizualizáció,
adatelemzés:
Alfa-, Béta
diverzitás, stb.

OTUK

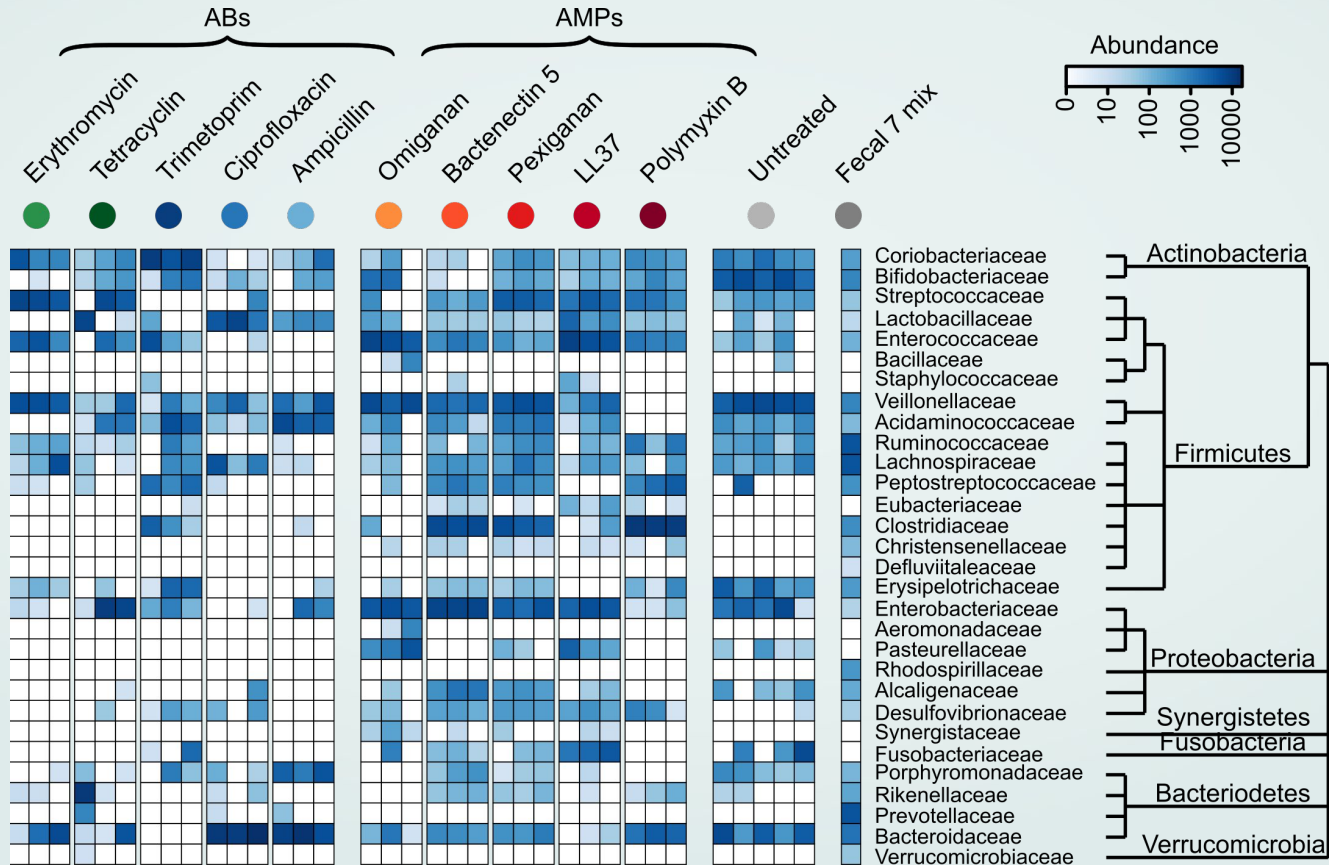
- Amplifikációs (PCR) vagy szekvenálási hibák
→ fals módon növelik az egyedi (unikális) szekvenciák számát
- A hasonló szekvenciákat összevonjuk
→ egy OTU-ba
 - Operational Taxonomic Unit
 - 1 reprezentáns szekvencia képviseli az OTUt



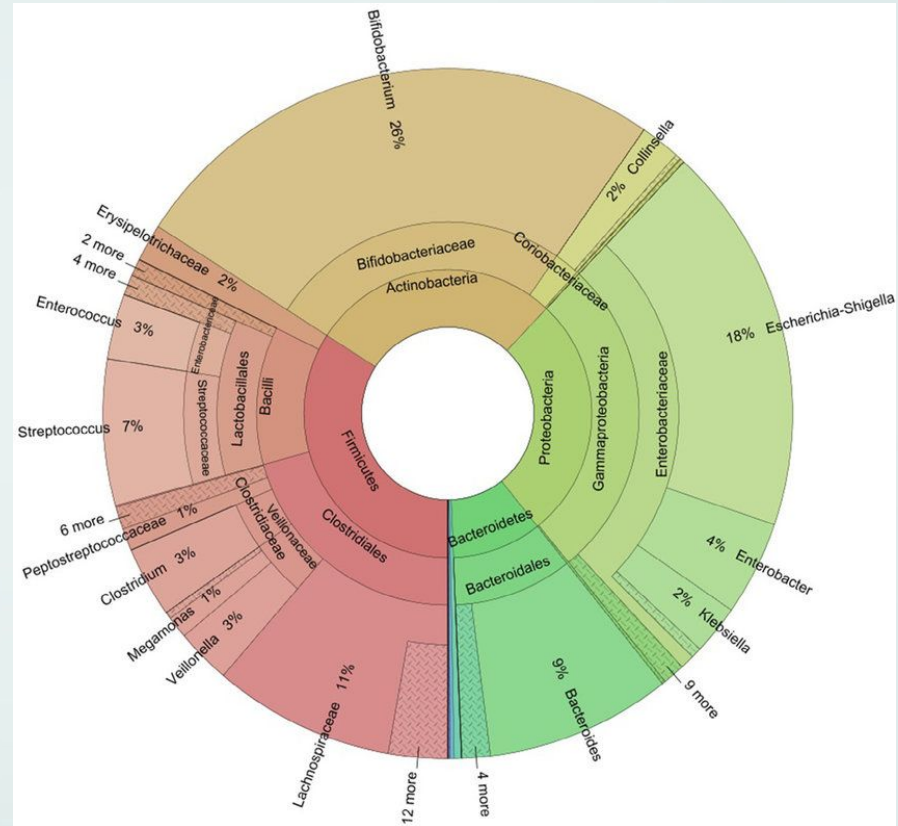
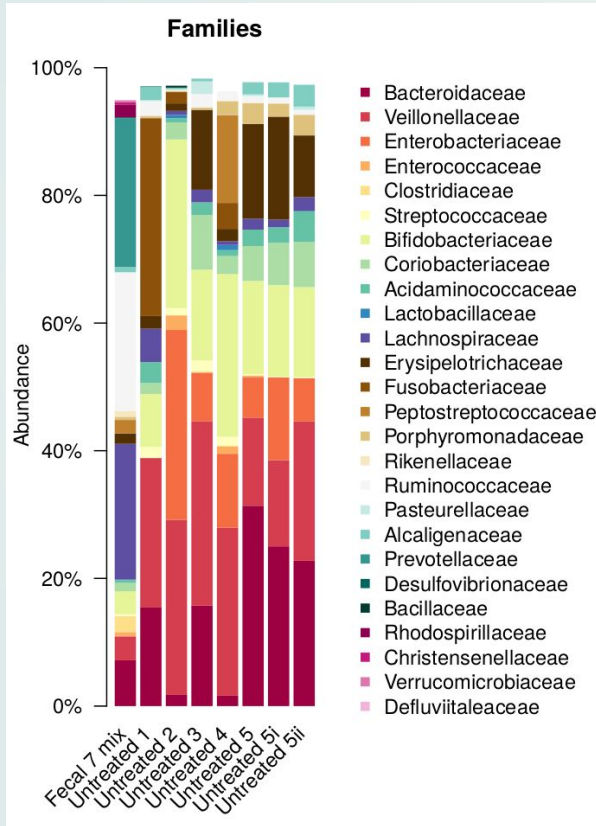
Abundancia táblázat

	Untreated 1	Untreated 2	Untreated 3	...
Otu00001	7	5853	1498	...
Otu00002	0	455	38	...
Otu00003	1759	4716	4686	...
Otu00004	0	0	0	...
Otu00005	1214	189	998	...
Otu00006	314	226	254	...
...

Vizualizáció: Abundanciák



Vizualizáció: Abundanciák



Alfa diverzitások

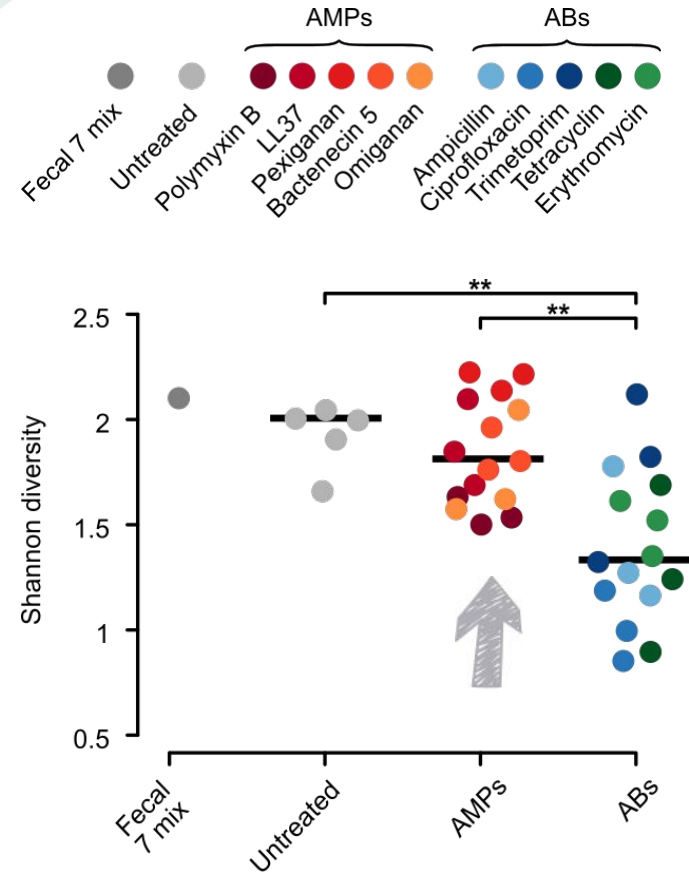
Shannon diverzitási index:

A jelenlét-hiány adatokon túl a taxonok tömegességét is figyelembe veszi.

Mann-Whitney U teszt:

Kezeletlen vs. AB-k: $p=0,005$

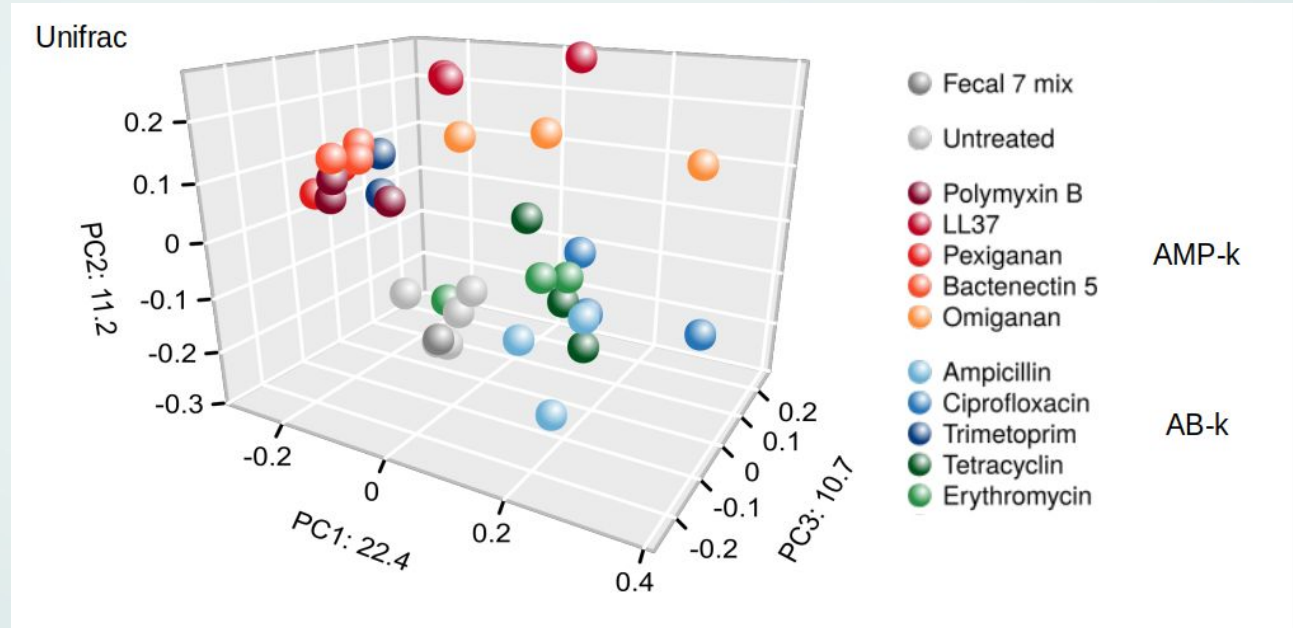
AMP-k vs. AB-k: $p=0,0003$



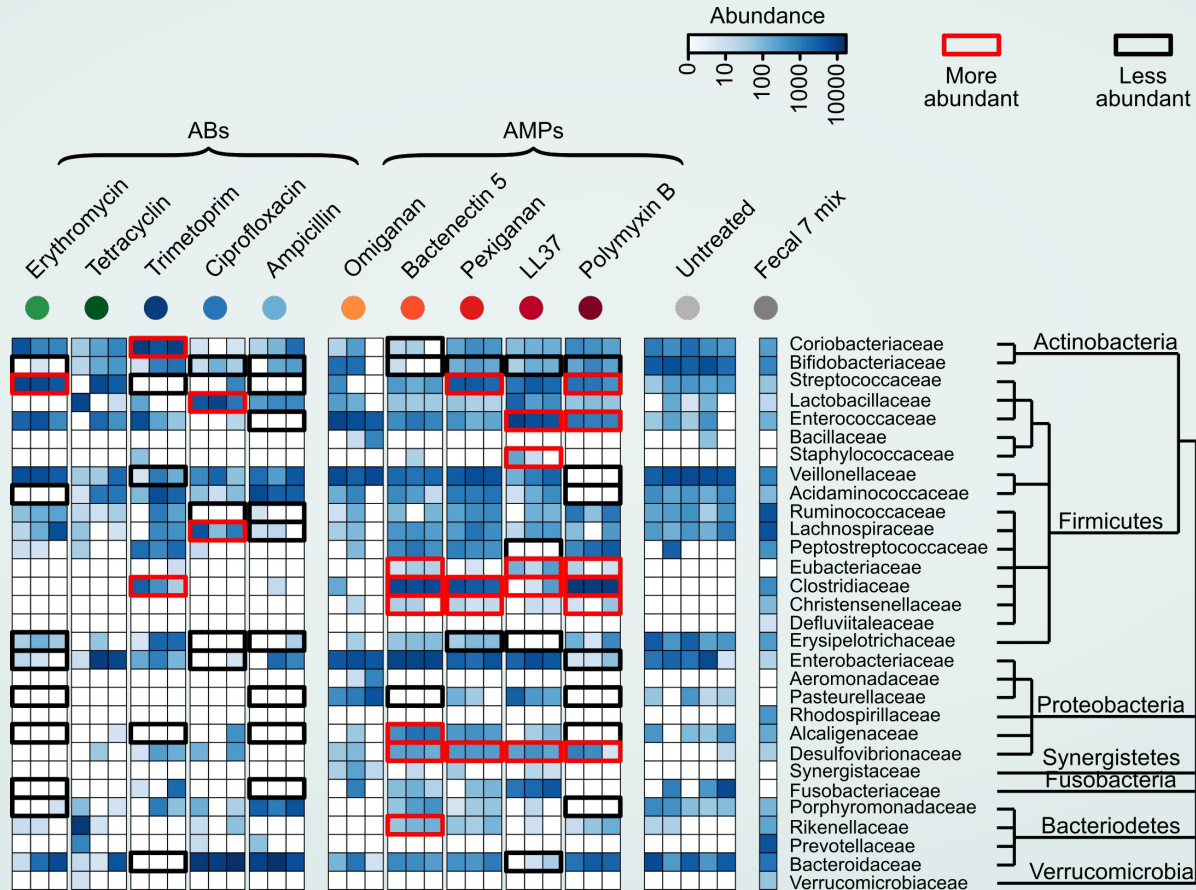
Béta diverzitások

A közösségek egymás közti változatosságának mérőszáma.

A közösségek páronkénti különbözőségének kiszámolásával is számszerűsítjük.



Differenciál abundancia elemzés



SZBK

Munkatársak

Szegedi Biológiai
Kutatóközpont:

- Kintses Bálint
- Pál Csaba
- Papp Balázs
- Vásárhelyi Bálint

Kollaborátorok

SZTE

Szegedi Tudományegyetem,
I. sz Belgyógyászati Klinika:

- Prof. Molnár Tamás
- Bálint Anita
- Rutka Mariann



Köszönöm a figyelmet!

Kérdések?