# Bioinformatika v environmentální mikrobiologii

O. Uhlík1, M. Strejček1, L. Musilová1, J. Šuman1, J. Wald1, J. Rídl2, M. Hroudová2, T. Macek1

1Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 3, 166 28 Praha 6, email: ondrej.uhlik@vscht.cz

2Ústav molekulární genetiky v.v.i., Akademie věd České republiky, Oddělení genomiky a bioinformatiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

Jedním z hlavních úkolů environmentální mikrobiologie je porozumět mikrobiální diverzitě, fylogenetické i metabolické, a faktorům, které ji ovlivňují. Donedávna předcházela charakterizaci mikroorganismů vždy jejich izolace z životního prostředí a následná kultivace. Rutinně kultivovat za laboratorních podmínek však lze pouze okolo 1 % mikroorganismů. Mikrobiální diverzita tak začala být v druhé polovině 80. let studována pomocí molekulárně biologických technik založených na studiu buď taxonomicky významných genů (v drtivé většině 16S rRNA geny pro studium prokaryot a 18S rRNA geny pro studium eukaryot) nebo funkčních genů, které byly amplifikovány pomocí PCR a amplikony byly využity pro tvorbu genových knihoven. Do příchodu "next-generation" sekvenování ale nebylo z kapacitních důvodů možné studovat mikrobiální diverzitu v dostatečné hloubce. Při využití pyrosekvenace amplikonů taxonomicky významných či funkčních genů je tento problém odbourán. I tento přístup má ale určitá úskalí – zejména se jedná o nutnost eliminace chyb způsobených metodikou vedoucích k nadhodnocení diverzity. Ke vzniku chyb dochází při polymerasové řetězové reakci jednak chybovostí enzymu DNA-polymerasy a vznikem tzv. chimér. Četnost chybného zařazení nukleotidu do syntetizovaného řetězce může být snížena výběrem DNA-polymerasy s opravnou aktivitou. Eliminace chimér vznikajících během vlastního experimentu ale možná není. Této problematice je věnována velká pozornost, protože chiméry mohou představovat 5 – 45 % z celkového počtu sekvencí. Pokud by nedošlo k eliminaci chimerních sekvencí při analýze, diverzita by byla uměle nadhodnocována. Další komplikovanou částí může být vlastní pyrosekvenace, kde je problematické především čtení homopolymerů. Cílem příspěvku je představit tyto problémy a zároveň prezentovat bioinformatické nástroje, které je nutno použít za účelem získání adekvátního obrazu mikrobiální diverzity.

Poděkování: Autoři studie děkují za finanční podporu poskytnutou MŠMT ČR (projekt LH14004) a GAČR (projekt 13-20414P).