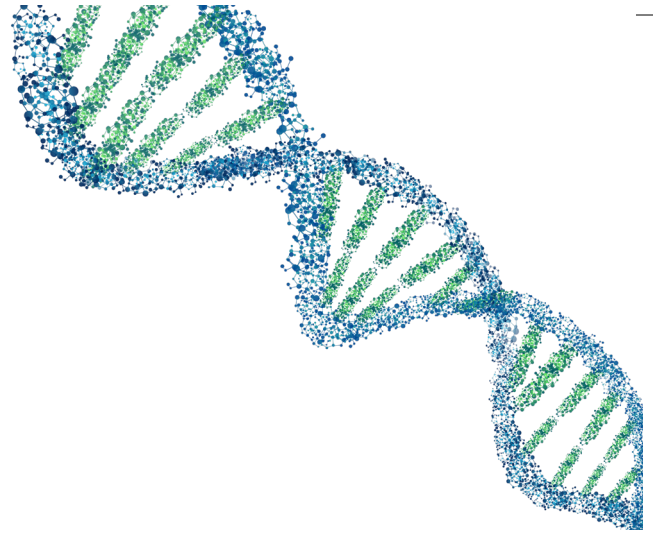


BÖLÜM 19

METAGENOMİK ANALİZLER



Aycan GÜNDOĞDU¹

Tarihsel gelişimi boyunca, mikrobiyoloji biliminin temelini mikroorganizmaların habitatlarından izole edilerek *in vitro* koşullarda üretilmesi konvansiyonu oluşturmuştur. Genel anlamda bir mikroorganizmayı morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genetik incelemeye tabi tutabilmek amacıyla tekil olarak yaşam koşullarını idame ettirebileceği bir kültür ortamının sağlanması, konvansiyonel mikrobiyolojinin gereklerinden sayılmıştır¹. Öte yandan, gezegenimizin biyosferinde farklı koşullara adapte olabilecek şekilde evrimleşmiş olan mikroorganizmalar yalnızca abiyotik çevresi ile değil, ekolojik denge ve alışveriş ilişkisinde olduğu diğer mikroorganizmalar ile de elzem simbiyotik yaşam şekilleri kurmaktadır². Koloniler ve komüniteler arasında sinyalleşme yolları ve metabolik yolak ortaklıkları şeklinde ortaya çıkan bu işbirliği, kimi zaman türlerin ihtiyaç duyduğu karşılıklı beslenme ve savunma ilişkilerini de içermektedir. Bu sebeple, yaşam ağacının önemli bir kısmını oluşturan mikroorganizmaların büyük çoğunluğunun bu simbiyotik ilişkiler oluşturulmadan abiyotik kültür ortamlarında yaşamsal faaliyetlerini yürütmesi

mümkün olmamaktadır³. Bu büyük teknik engel, özellikle karmaşık komünitelerden oluşan mikrobiyomların kapsamlı olarak incelenebilmesi için 19. ve 20. yüzyıllar boyunca aşılamamıştır. Ancak 21. yüzyılın başından itibaren kültürden bağımsız olarak çevresel örneklerin moleküler incelemesini mümkün kılan teknolojilerin ortaya çıkmış olması mikroorganizmaları gittikçe genişleyen bir filogenetik evrende incelememize imkan tanımaktadır. Yeni nesil moleküler teknolojilerin yardımıyla bir çevresel örnekteki tüm genetik materyalin, mikroorganizmaları kültürde üretmeksizin, toplu halde analiz edilmesi tekniğine metagenomik adı verilmektedir⁴.

Yüksek çıktı üretebilen moleküler teknolojilerin geliştirilmiş olması metagenomik tekniklerinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bunların içerisinde özellikle yeni nesil dizileme (YND) en büyük öneme sahiptir. Herhangi bir organizmaya ait genomun tamamının ortaya çıkarılması ilk nesil dizileme teknolojileri (örneğin, Sanger dizileme) ile büyük zaman, emek ve maliyet gerektirmekteydi. Öyle ki, öncül olarak dizilenen mikroorganizmalarla-

¹ Doç Dr., Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., agundogdu@erciyes.edu.tr

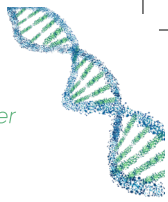
anahtar öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Genel kapsamda metagenomik analiz gerektiren pek çok uygulama saymak mümkündür. Biyoterapötik olarak kullanılacak mikroorganizmaların keşfi, hastalık prognozuna olumlu katkı sağlayacak diyetetik müdahalelerin bulunması, fekal mikrobiyota transferi için doğru mikrobiyota kompozisyonuna sahip donörlerin veya süperdonörlerin tespit edilmesi, ilaç moleküllerinin bağırsak mikroorganizmalarına bağımlı farmakokinetiğinin tahminlenmesi, immünoterapi uygulamalarında bağırsak mikrobiyomu tarafından modüle edilen bağışıklık komponentlerinin ortaya çıkarılması gibi söz konusu uygulamalara örnekler verilebilir.

İlaç keşfi

Metagenomik analizler, tedavi amaçlı olarak biyoterapötiklerin yanı sıra tedavide etkinlik gösterebilecek birçok küçük molekülün keşfine yönelik olarak da imkanlar sunmaktadır. Hem insan mikrobiyomunun hem de doğadaki çevresel örneklerden elde edilecek komünitelerin içerisinde biyoaktif olarak büyük önem arz eden ikincil metabolitleri üreten mikroorganizmalar bulunmaktadır. İkincil metabolitler çoğunlukla biyosentetik gen kümeleri halinde gen adaları formunda bulunan yolaklar tarafından üretilmektedir. Bu kümelerin fiziksel olarak bir arada bulunması *in silico* tespitini kolaylaştırmaktadır. Öte yandan, ikincil metabolitler her ne kadar fonksiyon ve yapı yönünden büyük bir çeşitliliğe sahip olsa da, bu molekülleri sentezleyen biyosentetik makine düzeni büyük oranda benzer bileşenlerden oluşmaktadır. Bu durum ise enzim sınıfları üzerinden yakın homoloji tespitleriyle biyosentetik gen kümelerinin tespitini uygun kılmaktadır. Son yıllarda bu yolakların biyoinformatik yöntemlerle tespitine ve sınıflandırılmasına yönelik yaklaşımlar geliştirilmiştir⁴¹. Bu sayede metagenomlar üzerinde ilaç üretmeye yönelik rekombinant öğeleri taramak ve keşfetmek zaman içerisinde mümkün olacak ve ilaç endüstrisinde potansiyel olarak önemli sonuçlara sebebiyet verebilecektir.

Kaynaklar

1. Laupland KB, Valiquette L. The changing culture of the microbiology laboratory. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2013;1;24(3): 125-8.
2. Raina JB, Eme L, Pollock FJ, Spang A, Archibald JM, Williams TA. Symbiosis in the microbial world: from ecology to genome evolution. *Biology Open* 2018;15;7(2): bio032524.
3. Rappé MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. *Annual Reviews in Microbiology* 2003;57(1): 369-94.
4. Dupré J, O'Malley MA. Metagenomics and biological ontology. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 2007;1;38(4): 834-46.
5. Land M, Hauser L, Jun SR, Nookaew I, Leuze MR, Ahn TH, et al. Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Functional & integrative genomics* 2015;15(2): 141-61.
6. Watson JD. The human genome project: past, present, and future. *Science* 1990;248(4951): 44-9.
7. Maron PA, Ranjard L, Mougél C, Lemanceau P. Metaproteomics: a new approach for studying functional microbial ecology. *Microbial ecology* 2007;53(3): 486-93.
8. Bauermeister A, Mannocho-Russo H, Costa-Lotufo LV, Jarmusch AK, Dorrestein PC. Mass spectrometry-based metabolomics in microbiome investigations. *Nature Reviews Microbiology* 2021;22: 1-8.
9. Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *science* 2004;2.
10. Tyson GW, Chapman J, Hugenholtz P, Allen EE, Ram RJ, Richardson PM, et al. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature* 2004;428(6978): 37-43.
11. Kim M, Lee KH, Yoon SW, Kim BS, Chun J, Yi H. Analytical tools and databases for metagenomics in the next-generation sequencing era. *Genomics & informatics* 2013;11(3): 102.
12. Gilbert JA, Jansson JK, Knight R. The Earth Microbiome project: successes and aspirations. *BMC biology* 2014;12(1): 1-4.
13. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007;449(7164): 804-10.
14. Ehrlich SD, MetaHIT Consortium. MetaHIT: The European Union Project on metagenomics of the human intestinal tract. In *Metagenomics of the human body 2011* (pp. 307-316). Springer, New York, NY.
15. Almeida A, Nayfach S, Boland M, Strozzi F, Beracochea M, Shi ZJ, et al. A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nature biotechnology* 2021;39(1): 105-14.
16. Nayfach S, Roux S, Seshadri R, Udway D, Varghese N, Schulz F, et al. A genomic catalog of Earth's microbiomes. *Nature biotechnology* 2021;39(4): 499-509.
17. Zhao M, Xue K, Wang F, Liu S, Bai S, Sun B, et al. Microbial mediation of biogeochemical cycles revealed by simulation of global changes with soil transplant and cropping. *The ISME journal* 2014;8(10): 2045-55.



18. Pflughoeft KJ, Versalovic J. Human microbiome in health and disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2012;7: 99-122.
19. Mason OU, Hazen TC, Borglin S, Chain PS, Dubinsky EA, Fortney JL, et al. Metagenome, metatranscriptome and single-cell sequencing reveal microbial response to Deepwater Horizon oil spill. *The ISME journal* 2012;6(9): 1715-27.
20. Suman J, Rakshit A, Ogireddy SD, Singh S, Gupta C, Chandrakala J. Microbiome as a key player in sustainable agriculture and human health. *Frontiers in Soil Science* 12.
21. Wood DE, Salzberg SL. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome biology* 2014;15(3): 1-2.
22. Menzel P, Ng KL, Krogh A. Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nature communications* 2016;7(1):1-9.
23. Segata N, Waldron L, Ballarini A, Narasimhan V, Jousson O, Huttenhower C. Metagenomic microbial community profiling using unique clade-specific marker genes. *Nature methods* 2012;9(8):811-4.
24. Jiao JY, Liu L, Hua ZS, Fang BZ, Zhou EM, Salam N, et al. Microbial dark matter coming to light: challenges and opportunities. *National Science Review* 2021;8(3): nwa280.
25. Bairoch A. The ENZYME database in 2000. *Nucleic acids research* 2000;28(1): 304-5.
26. Wommack KE, Bhavsar J, Ravel J. Metagenomics: read length matters. *Applied and environmental microbiology* 2008;74(5): 1453-63.
27. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature biotechnology* 2017;35(9): 833-44.
28. Chistoserdova L. Functional metagenomics: recent advances and future challenges. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 2009;26(1): 335-52.
29. Boolchandani M, Patel S, Dantas G. Functional metagenomics to study antibiotic resistance, pp: 307-329. In: *Antibiotics* 2017. Humana Press, New York, NY.
30. Liu N, Li H, Chevrette MG, Zhang L, Cao L, Zhou H, et al. Functional metagenomics reveals abundant polysaccharide-degrading gene clusters and cellobiose utilization pathways within gut microbiota of a wood-feeding higher termite. *The ISME Journal* 2019;13(1):104-17.
31. Belton JM, McCord RP, Gibcus JH, Naumova N, Zhan Y, Dekker J. Hi-C: a comprehensive technique to capture the conformation of genomes. *Methods* 2012;58(3): 268-76.
32. DeMaere MZ, Liu MY, Lin E, Djordjevic SP, Charles IG, Worden P, et al. Metagenomic Hi-C of a healthy human fecal microbiome transplant donor. *Microbiology resource announcements* 2020;9(6): e01523-19.
33. Amrane S, Raoult D, Lagier JC. Metagenomics, culturomics, and the human gut microbiota. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2018;16(5): 373-5.
34. Harrington CT, Lin EI, Olson MT, Eshleman JR. Fundamentals of pyrosequencing. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2013;137(9): 1296-303.
35. Wang Y, Zhao Y, Bollas A, Wang Y, Au KF. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nature biotechnology* 2021;39(11): 1348-65.
36. Ardui S, Ameer A, Vermeesch JR, Hestand MS. Single molecule real-time (SMRT) sequencing comes of age: applications and utilities for medical diagnostics. *Nucleic acids research* 2018;46(5): 2159-68.
37. Bertrand D, Shaw J, Kalathiyappan M, Ng AH, Kumar MS, Li C, et al. Hybrid metagenomic assembly enables high-resolution analysis of resistance determinants and mobile elements in human microbiomes. *Nature biotechnology* 2019;37(8): 937-44.
38. Gu W, Deng X, Lee M, Sucu YD, Arevalo S, Stryke D, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids. *Nature Medicine* 2021;27(1): 115-24.
39. Thoendel MJ, Jeraldo PR, Greenwood-Quaintance KE, Yao JZ, Chia N, Hanssen AD, et al. Identification of prosthetic joint infection pathogens using a shotgun metagenomics approach. *Clinical Infectious Diseases* 2018;67(9): 1333-8.
40. Vijay A, Valdes AM. Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *European journal of clinical nutrition* 2021;28: 1-3.
41. Walker AS, Clardy J. A Machine Learning Bioinformatics Method to Predict Biological Activity from Biosynthetic Gene Clusters. *Journal of Chemical Information and Modeling* 2021;61(6): 2560-71.