

Hvorfor bestemmer man bakterier ved hjælp af 16S rRNA-genet?

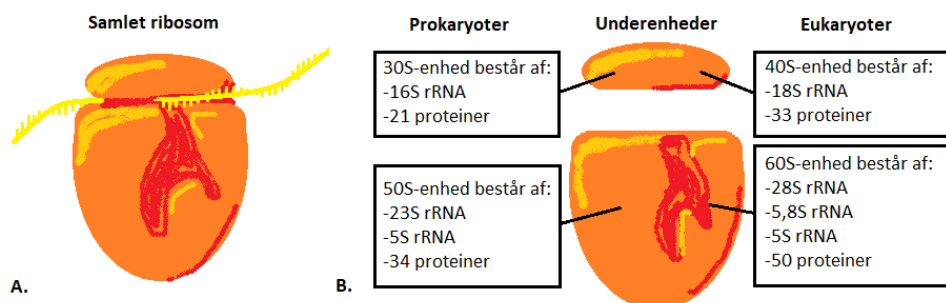
Når man skal bestemme hvilke bakterier man har i en prøve, er den mest enkle og præcise identifikationsmåde vi har i dag, at sammenligne de DNA-sekvenser vi finder i prøven, med de DNA-sekvenser der er indrapporterede til bioinformatiske databaser for forskellige bakterietyper.

1. Giv eksempler på hvor og hvornår det kan være interessant at identificere bakterier ved hjælp af DNA-sekventering.
2. Giv eksempler på hvor og hvornår det kan være interessant at kunne foretage DNA-sekventering i felten med et lille sekventeringsapparat som en Nanopore Flongle Flowcell.
3. Giv forslag til andre metoder til at identificere hvilke bakterier der er i en prøve. Hvilke metoder anvendte man fx før DNA-sekventering blev opfundet?

Hver gang en bakteriecelle deler sig, er der en risiko for at der sker mutationer. Det kan være udskiftning af en base, fx at et A skiftes ud med et G, indsættelse eller bortfald af baser. Hvis mutationen ikke skader bakterien, vil mutationen nedarves til bakteriens efterkommere. Nu kan man skelne mellem efterkommerne ved at sekventere deres DNA og sammenligne sekvenserne ved at holde dem op mod hinanden. Det kaldes alignment.

Når man sammenligner DNA-sekvenser får man hurtigt meget store datamængder. At sammenligne hele bakteriens genom vil kræve enorm computerkraft. Derfor har man valgt bestemte sekvenser ud af en passende længde, som man anvender som en standard.

Den sekvens man typisk anvender hos bakterier som standard er en del af genet for den lille enhed, 16S fra bakteriernes ribosom, Figur 1 sammenligner ribosomerne for prokaryoter og eukaryoter. Programmet Epi2Me som vi benytter, sammenligner resultaterne med en sådan database.



Figur 1. Ribosomet (A) og dets underenheder (B) i prokaryoter og eukaryoter. Grafik: Kresten Cæsar Torp

Som vist i figur 1, består ribosomer af to underenheder, en stor og en lille. Underenhederne er opbyggede af ribosomalt RNA (rRNA) og proteiner. Generne for rRNA er konservative, dvs. at der kun optræder relativt få forskelle i DNA-sekvensen mellem forskellige bakterietyper sammenlignet med andre afsnit af kromosomet. Årsagen er, at der sker en stærk selektion for at bevare genet, og mutanter selekteres fra. De kan derfor anvendes til at sammenligne fjerntbeslægtede organismer.

4. Forklar hvilken funktion ribosomerne har i cellen.
5. Forklar ved hjælp af evolutionsmekanismen selektion og ribosomernes rolle i cellen, hvorfor der kun er lille variation mellem bakterier i generne for ribosomer.
6. Forklar, hvorfor konservative gener kan være gode til at sammenligne fjerntbeslægtede organismer?

7. Forklar hvad der skal karakterisere de DNA-sekvenser, du ville anvende, hvis du skulle identificere individer indenfor samme art fx for at undersøge, hvem der har været på et gerningssted?