

# Microbiële ecologie

Biodiversiteit → Identificeren en kwantificeren van m.o.'s

Microbiële activiteit → Metabole processen meten

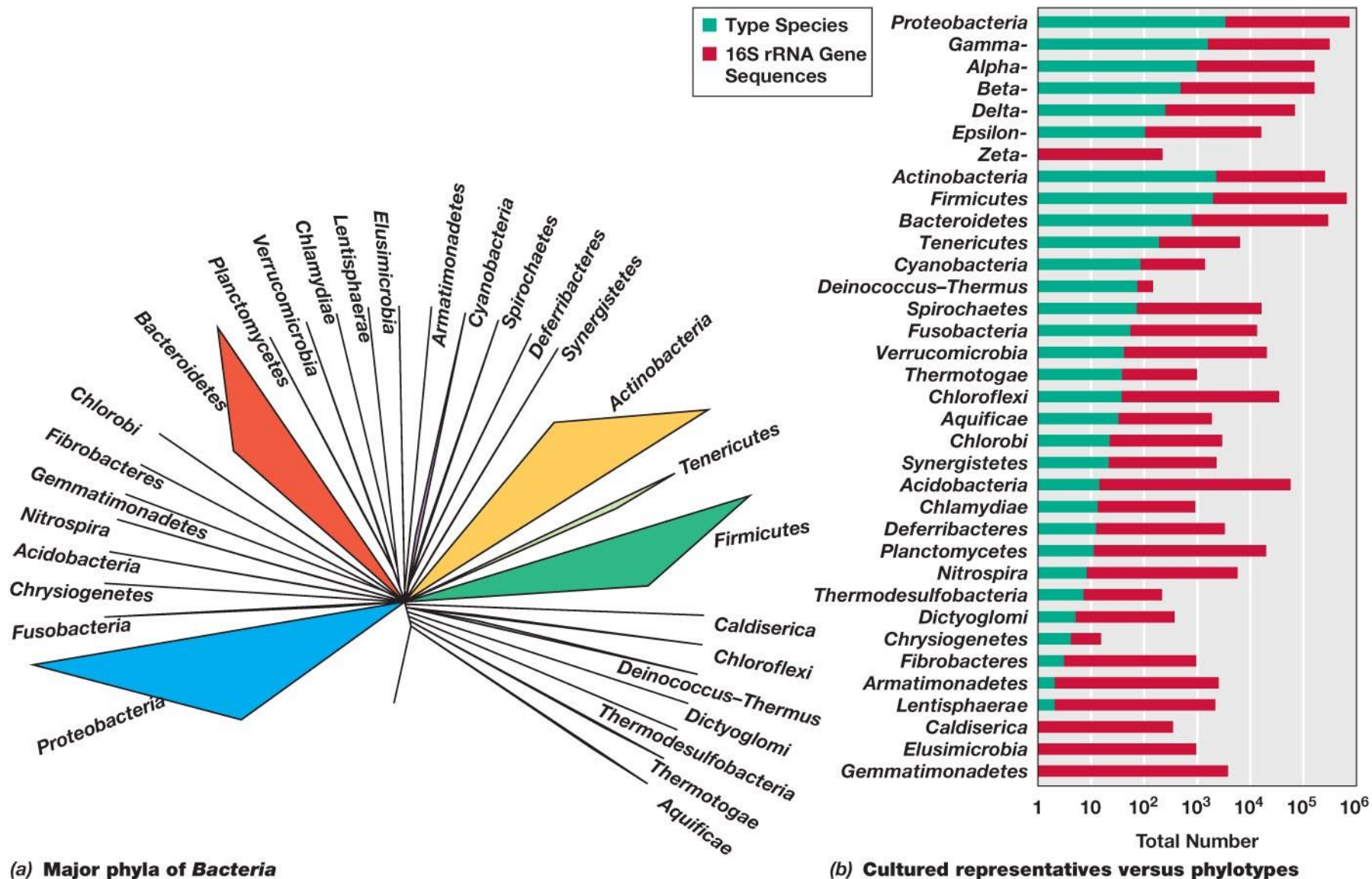
# Microbiële ecologie – ‘klassieke methode’

Enrichment cultures (ophopingscultures):

- ‘ophoping’ van een bepaald micro-organisme m.b.v. electief ophopingsmedium
- Succes afhankelijk van: inoculum (habitat), nutriënten, condities

Limitaties ophopingscultures:

- *‘Enrichment cultures can yield a firm positive conclusion, but never a firm negative conclusion’*
- Dus: dat je een bacterie kunt ophopen zegt weinig over de ecologische relevantie of hoeveelheid bacteriën in de habitat



**(a) Major phyla of Bacteria**

© 2015 Pearson Education, Inc.

**(b) Cultured representatives versus phylotypes**

# **Culture independent genetic analyses of microbial communities**

# **PCR Methods of Microbial Community Analysis**

# Voorbeelden van veel gebruikte genen

- SSU rRNA genen
- Genen die coderen voor metabole enzymen, b.v.:

Metabolic process <sup>a</sup>	Target gene	Encoded enzyme
Denitrification	<i>narG</i>	Nitrate reductase
	<i>nirK, nirS</i>	Nitrite reductase
	<i>norB</i>	Nitric oxide reductase
	<i>nosZ</i>	Nitrous oxide reductase
Nitrogen fixation	<i>nifH</i>	Nitrogenase
Nitrification	<i>amoA</i>	Ammonia monooxygenase
Methane oxidation	<i>pmoA</i>	Methane monooxygenase
Sulfate reduction	<i>apsA</i>	Adenosine phosphosulfate reductase
	<i>dsrAB</i>	Sulfite reductase
Methane production	<i>mcrA</i>	Methyl coenzyme M reductase
Degradation of petroleum compounds	<i>nahA</i>	Naphthalene dioxygenase
	<i>alkB</i>	Alkane hydroxylase
Anoxygenic photosynthesis	<i>pufM</i>	M subunit of photosynthetic reaction center

<sup>a</sup>All of these metabolic processes are discussed in Chapter 14.

# Phylotypes

**Phylotype:** een of meer organismen die hetzelfde of zeer nauw verwante sequenties van een marker gen delen

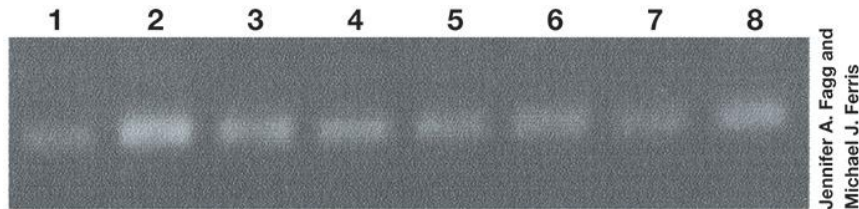
Beschrijving van de microbiële diversiteit van een habitat, uitsluitend op basis van nucleïnezuursequenties

Genus/ soort → pas mogelijk wanneer er meer fysiologische en genetische informatie bekend is (zie vorige les + hoofdstuk 13)

# Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

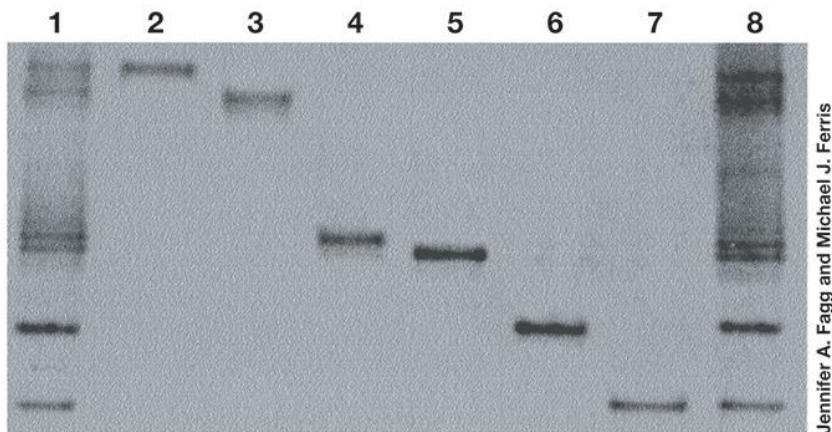
Gel bevat een gradiënt van een DNA-denaturerende stof

→ onderscheid PCR fragmenten met zelfde grootte, maar verschillende sequenties



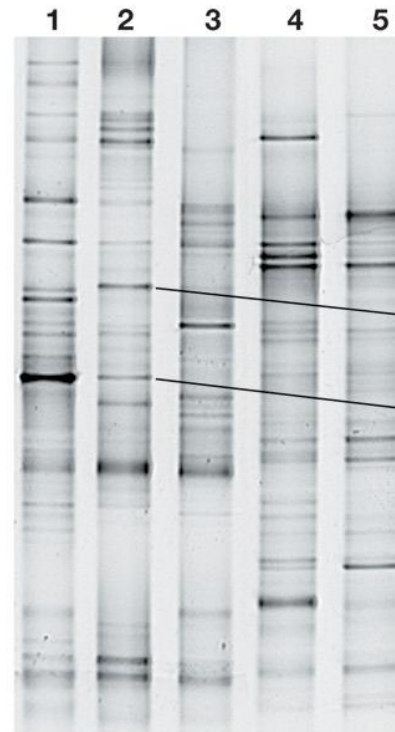
Jennifer A. Fagg and  
Michael J. Ferris

(a) **PCR amplification**



Jennifer A. Fagg and Michael J. Ferris

(b) **DGGE**



Gerard Muyzer and Abdelaziz Belila

This phylotype appears to be universal.

This phylotype is unique to treatment facility 2.

This phylotype is present in both treatment facilities 1 and 2.

(c) **DGGE of wastewater treatment plants**

**Figuur 19.17**



# T-RFLP

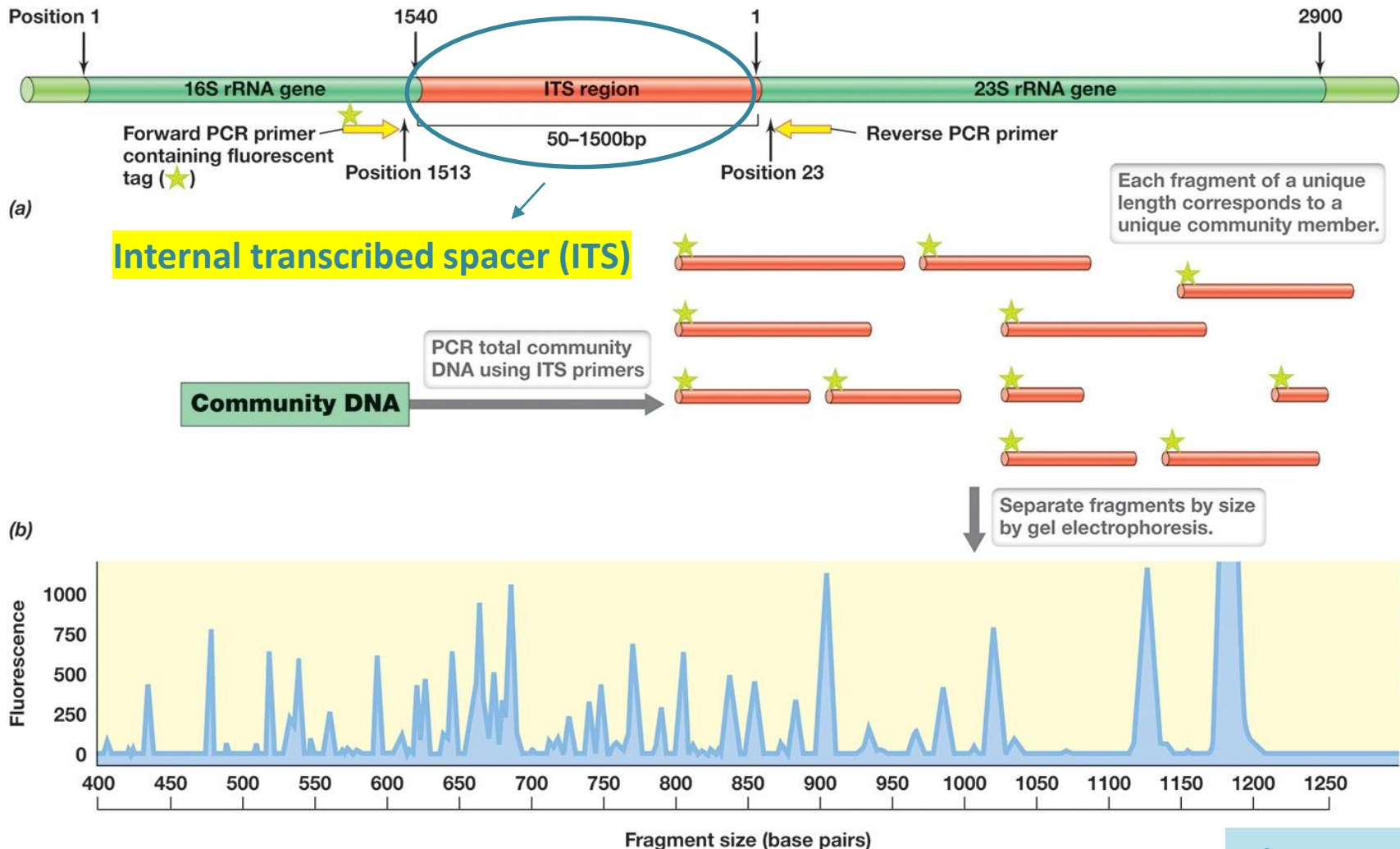
## Terminal restriction fragment length polymorphism

PCR met fluorescente primers ➡ restrictie ➡ scheiding op  
grootte ➡ (evt. sequencing)

Geeft (i.t.t. DGGE) ook fylogenetische informatie (waarom?)

# ARISA

## Automated ribosomal intergenic spacer analysis

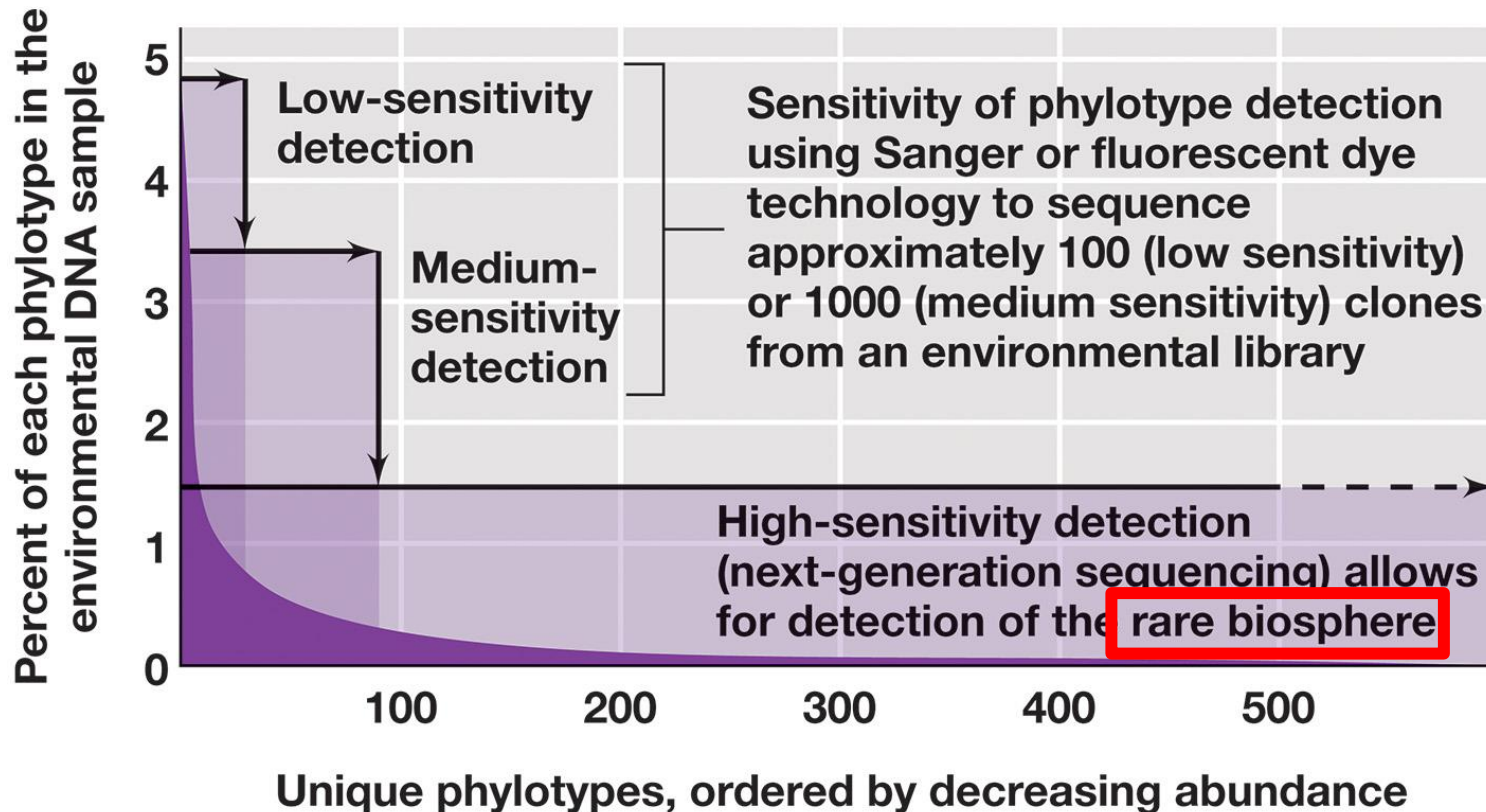


Figuur 19.18

# Next generation sequencing

PCR producten kunnen direct gesequenced worden

Deep sequence analysis (→ ook detectie van phylotypes die niet veel voorkomen → rare biosphere)



Figuur 19.19

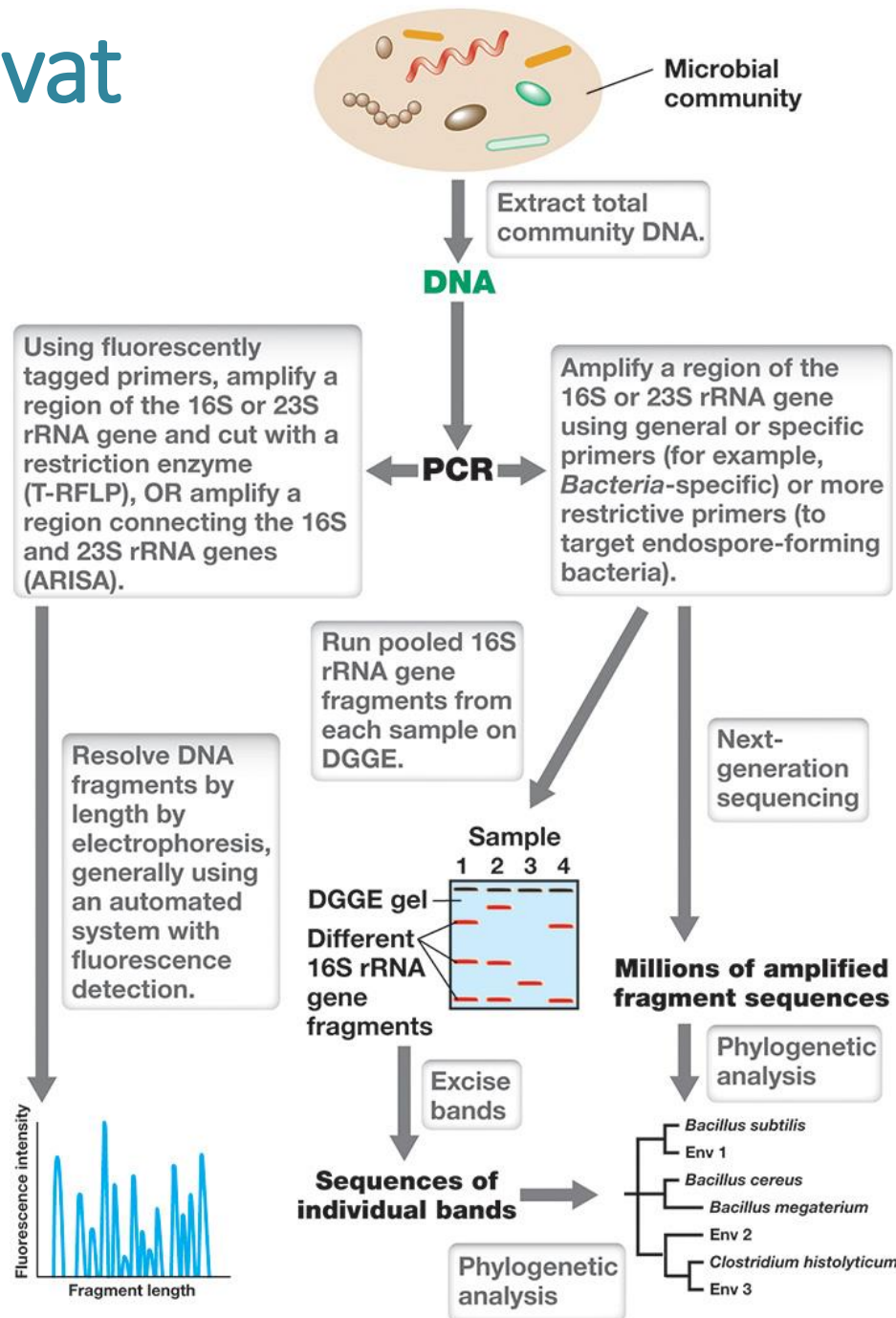
# Microbiële gemeenschappen

Bevatten veel phylotypes die nog niet eerder gekweekt zijn

qPCR: vaak zijn juist de meest voorkomende phylotypes niet goed te kweken

~0,1% van de ontdekte phylotypes is maar gekweekt!

# Samengevat



Figuur 19.16

# **Microarrays for Analysis of Microbial Phylogenetic and Functional Diversity**

# Microarrays

Niet alleen voor genexpressie, ook voor microbiële gemeenschappen:

- biodiversiteit → **phylochips** (niet veel meer gebruikt)
- genen van biogeochemisch belang → **functional gene microarray**  
(b.v. genen betrokken bij sulfaat respiratie, stikstoffixatie, etc)

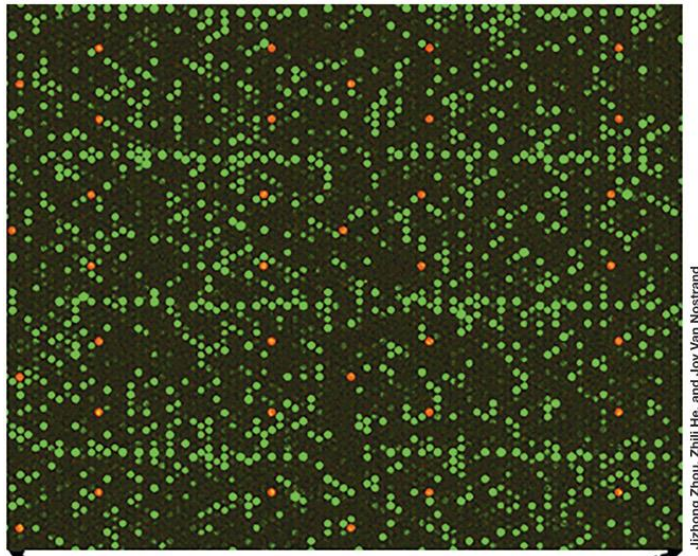
Nadelen:

- aspecifieke hybridisatie
- risico vals positieven
- kosten ontwikkeling



# GeoChip

- microarray functionele genen
- informatie over metabolisme in een habitat



Jizhong Zhou, Zhili He, and Joy Van Nostrand



(a)

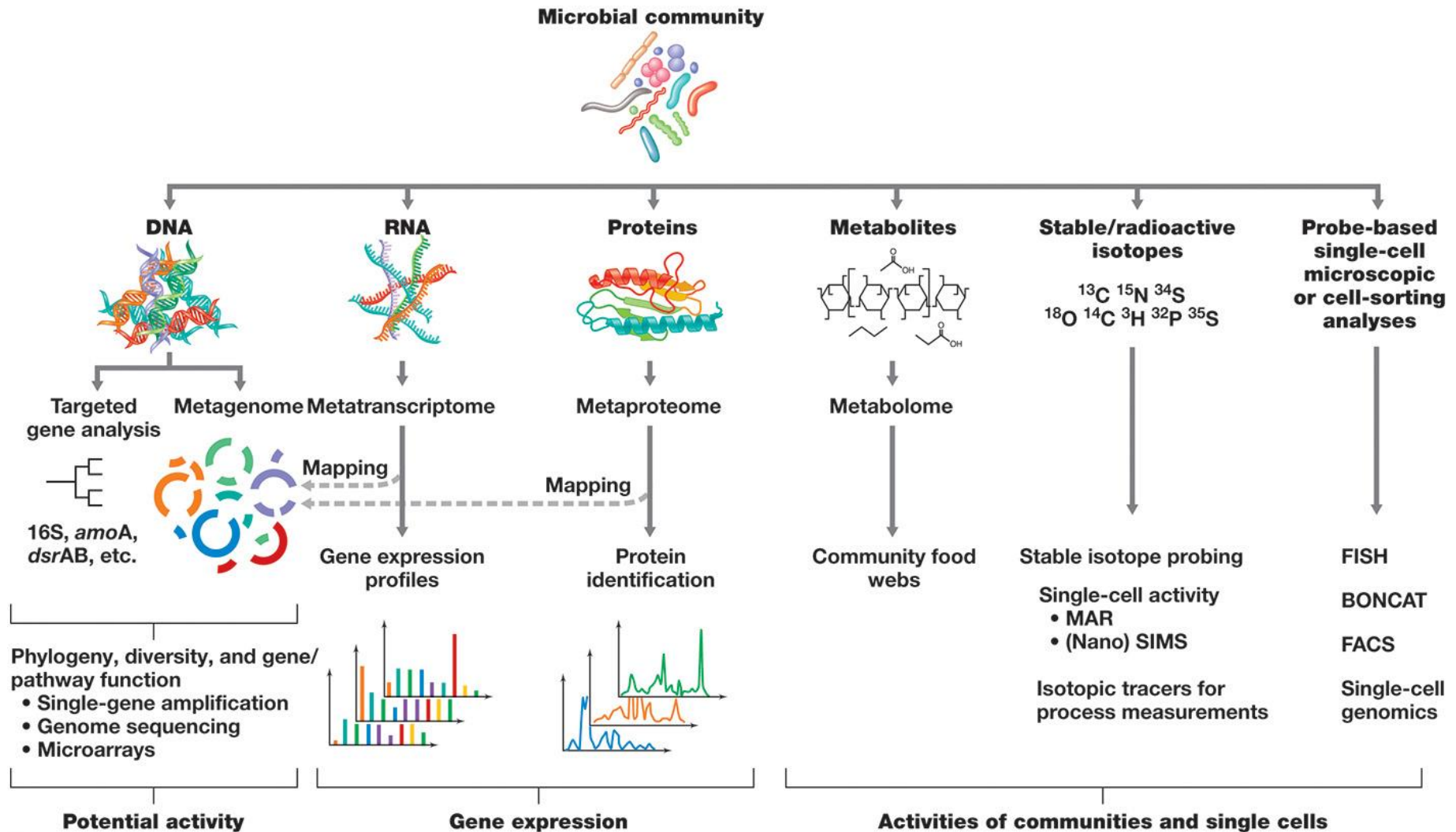
Functional category	Gene families	Total probes	Database gene coverage (%)
Carbon cycling	149	26922	49
Nitrogen cycling	32	6493	52
Sulfur cycling	27	4739	64
Phosphorus	7	3260	52
Metal homeostasis	121	43432	47
Viruses	115	2857	55
Other	81	10380	42
Organic remediation	104	11591	41
Virulence	639	21152	45
Secondary metabolism	68	4032	56
Electron transfer	15	797	65
Stress response	89	26306	33
<b>TOTAL</b>	<b>1447</b>	<b>161,961</b>	<b>44</b>

(b)



# Environmental Multi-Omics

# Multi-omics: overzicht



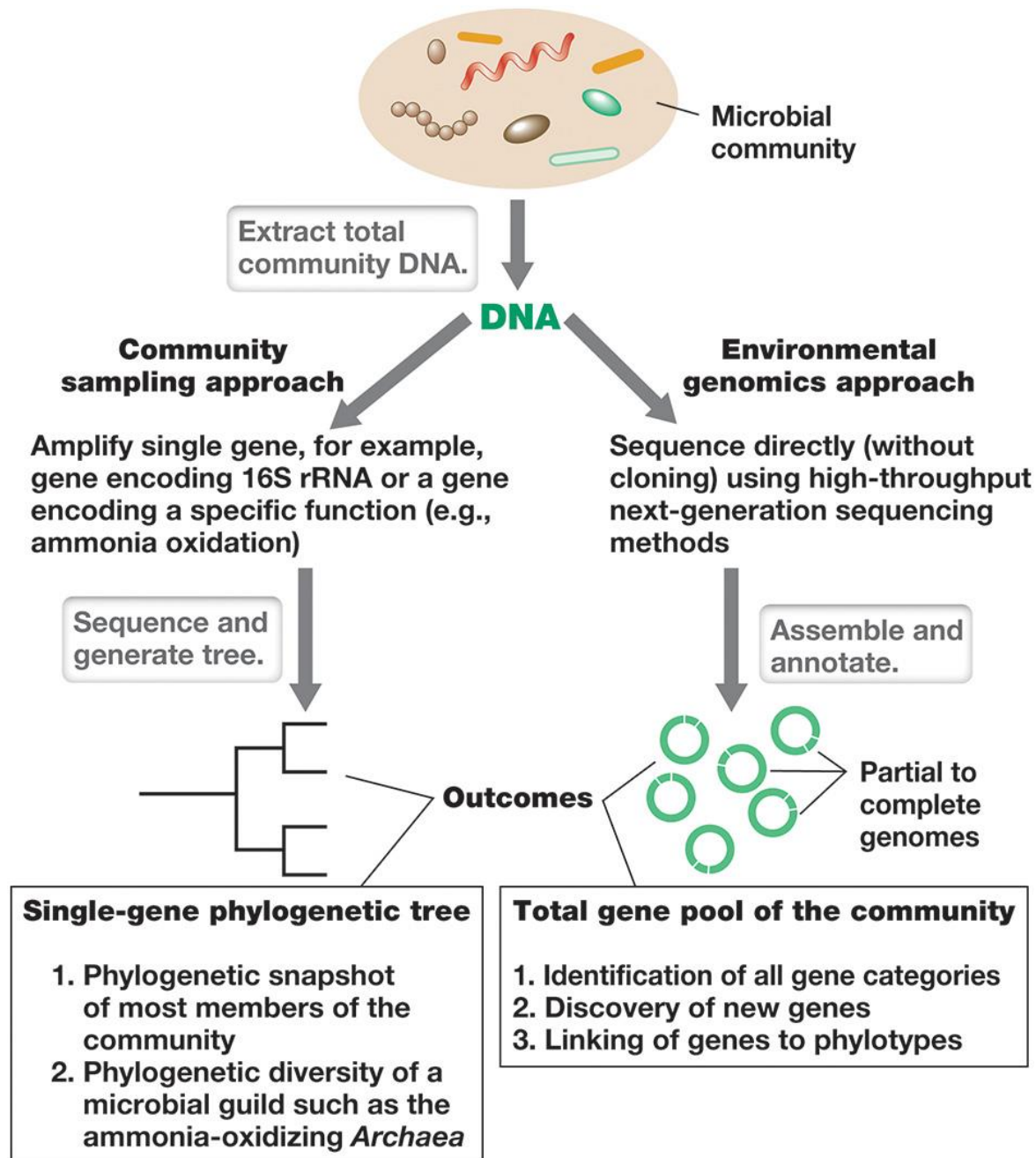
Figuur 19.21

# Environmental genomics (metagenomics)

Analyse van **alle** genen van een microbiële gemeenschap  
(**metagenoom**)

Steeds vaker: assembly (deels) complete genomen

Informatie over de fylogenetische en metabole diversiteit van  
een gemeenschap



# Environmental genomics (metagenomics)

Probleem: genomen niet altijd compleet of clonaal

Bestaan in plaats daarvan uit fragmenten van nauw verwante stammen of soorten.

B.v. grondmonster:

$10^{12}$  bacteriële en virale genen

$10^9$  genomen



nog te complex

# Metatranscriptomics en metaproteomics

## Metatranscriptomics:

- analyse van het **RNA** van een microbiële gemeenschap
- laat zien of genen tot expressie komen (en relatieve niveau)
- geeft inzicht in metabole processen

## Metaproteomics

- diversiteit en hoeveelheden van **eiwitten** in een gemeenschap
- technisch nog erg lastig
- vaak m.b.v. **massa spectrometrie**

Alle figuren in deze PowerPoint zijn afkomstig uit Brock Biology of Microorganisms (16<sup>th</sup> global edition, Pearson) tenzij anders aangegeven.