

13. Phylogenie der Prokaryoten basierend auf dem 16S rRNA Gen

VerfasserInnen: Gaby Schmohl gaby.schmohl@gmx.ch

Michele Wegmann estrellamisch@bluewin.ch

Tutor: Thomi Horath horath@hotmail.com

Einleitung

Bei Versuch 13 ging es um die Benutzung eines Internetprogrammes zur systematisch-taxonomischen Bestimmung von Mikroorganismen anhand ihrer 16S rRNA-Gen-Basensequenz. Mit Hilfe des Programmes BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) vom "National Center for Biotechnology Information, NCBI" können nahe verwandte Organismen gefunden werden.

Theoretischer Hintergrund

Anfänglich wurden Prokaryoten anhand ihres Phänotyps klassifiziert: Form, Bewegung, Stoffwechselfähigkeiten, Verhalten, Membranstruktur, Zellwand... Seit einigen Jahren kommt eine Klassifizierung hinzu, die auf dem Vergleich von Nucleotidsequenzen bestimmter Gene, z.B. von 16S rRNA Genen, beruht.

Wieso gerade die 16S rRNA Gene ?

Ribosomale RNA kommt bei allen Organismengruppen vor. RNA und Ribosomen spielen schon seit dem Beginn des Lebens wichtige Rollen in der Proteinsynthese und gehören deshalb zu den ganz frühen biologischen Innovationen. Die 16S rRNA ist geeignet für phylogenetische Nachweise, weil sie relativ stabil ist, da allfällige Mutationen sich sofort auf die Funktion auswirken. Unsinnige Mutationen sind nicht überlebensfähig.

Bestimmte Sequenzabschnitte innerhalb der 16S rDNA hingegen unterscheiden sich je nach Organismengruppe stark. Diese Abweichungen dienen als Mass für den Verwandtschaftsgrad von Organismen. Man führt den Begriff der "evolutionary distance, ED" ein, der angibt, um wieviele Prozente sich die Basenabfolgen zweier Organismen unterscheiden. Hat man die "Evolutionsdistanzen" verschiedener Organismen berechnet und in einer Distanzmatrix aufgetragen, so kann man die Organismen in einem Baumdiagramm so anordnen, dass die Länge der Astabschnitte auf dem Papier jeweils proportional zur ED zwischen zwei Organismen ist.

Das prokaryotische 70S Ribosom besteht aus einer grossen und einer kleinen Untereinheit.

Die kleinere 30S Untereinheit enthält die 16S rRNA aus etwa 1500 Basen und ist somit effizienter (schneller, billiger) sequenzierbar als die RNA der grossen Untereinheit (ca. 2900 Basen). (vgl. Abbildung 11.8 in BBOM 10th)

Vorgehen

Mit dem Programm lassen sich Sequenzen mit denjenigen der Datenbank vergleichen. Das Programm liefert eine Liste von möglichen Organismen, wobei die Übereinstimmung der Sequenzen in Prozenten angegeben wird. Der Organismus mit den wenigsten Abweichungen steht meistens zuoberst.

Ergebnisse

Die erste Sequenz gehört zum *Chromatium okenii*. Dieser Mikroorganismus lebt im Lago Cadagno. Die zweite Sequenz stimmt mit dem menschlichen Mitochondrium überein.

Fazit

Hat man einmal die Sequenz der 16s rDNA eines bestimmten Organismus, so lassen sich mit Hilfe von BLAST seine nächsten Verwandten leicht identifizieren.

Anhang

Literatur: BBOM 10th, Kapitel 11.4 - 11.8, Anleitungen Experiment 13

Internet-Links: National Center for Biotechnology Information NCBI:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>