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

VerfasserInnen: Martin Dinkel martindinkel@yahoo.de
Tabea Kipfer TabeaKipfer@access.unizh.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... Neu kommt eine Klassifizierung hinzu, die auf dem Vergleich von Nucleotidsequenzen bestimmter Gene, z.B. von 16S rRNA Genen (abgekürzt als 16S rDNA), 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. Auch ist die rRNA Sequenz konserviert und Teile ihrer Sequenz variieren nur geringfügig, da allzugrosse Veränderungen essenzielle Funktionen beeinträchtigen würden. 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. Durch Überlagerung verschiedener solcher Astabschnitt-Diagramme, die aus verschiedenen organismusspezifischen Sequenzdaten gewonnen wurden, kann schliesslich ein phylogenetischer Stammbaum konstruiert werden.

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

Wir hatten vier verschiedene 16S rDNA Sequenzen zur Verfügung (siehe auch: <http://www.unizh.ch/~horath/sequences.txt>), für welche wir den entsprechenden Organismus suchten. Dazu benutzten wir die Datenbank des NCBI auf dem Internet. Unter der entsprechenden Rubrik bei BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) gaben wir die Sequenz ein und der Computer erstellte ein entsprechendes "Alignment", d.h. er verglich die Sequenz mit denjenigen der Datenbank und listete alle

Organismen mit ähnlichen Sequenzen auf. Der Organismus mit den wenigsten Abweichungen steht meistens zuoberst.

Ergebnisse

Wir fanden, dass die gegebenen Sequenzen zu folgenden Organismen gehören:

Sequenz 1: *Chromatium okenii*, Sequenz 2: *Rhodoplanes roseus*, Sequenz 3: *Mitochondrium aus menschlicher Gewebezelle* und Sequenz 4: *Escherichia coli*.

Fazit

Hat man einmal die Sequenz der 16s rDNA eines bestimmten Organismus, so lassen sich mit Hilfe von BLAST seine nächsten Verwandten leicht identifizieren. Um sicher zu gehen, kann man zum Beispiel auch noch andere Datenbanken konsultieren und physiologische Tests durchführen.

Anhang

Literatur: BBOM 10th, Kapitel 11.4 und 11.5, Anleitungen Experiment 13

Internet-Links: National Center for Biotechnology Information NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Andere Datenbanken: The Ribosomal Database Project (RDP): <http://rdp.cme.msu.edu/html/>

The European Molecular Biology Laboratory: <http://www.embl-heidelberg.de/>

The EMBL Outstation - European Bioinformatics Institute (EBI): <http://www.ebi.ac.uk/index.html>

The Oligonucleotide Probe Database (OPD): <http://www.cme.msu.edu>

Die vier Sequenzen zum "CopyPasten": <http://www.unizh.ch/~horath/sequences.txt>