

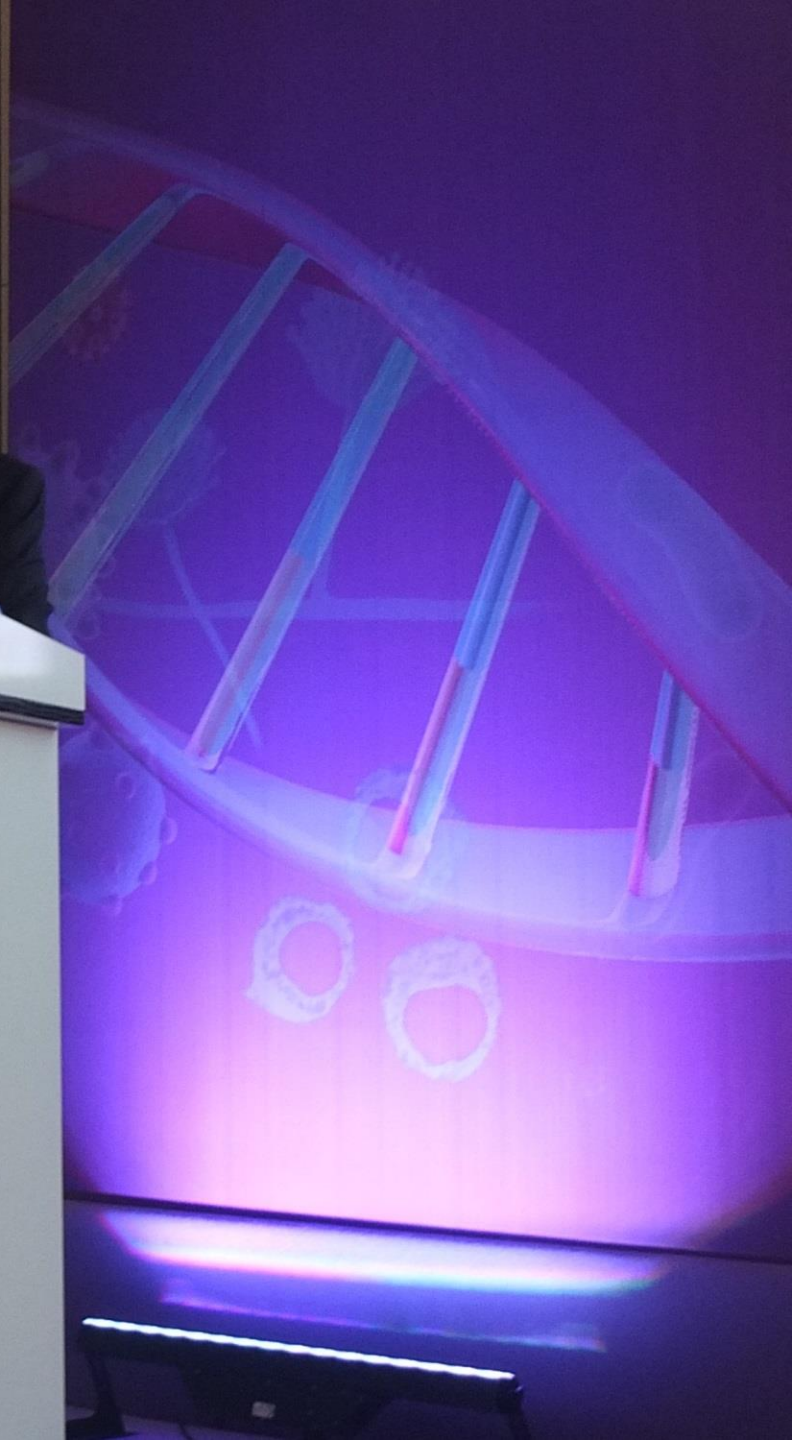


20.11.2015

15:18:26

HOŞGELDİNİZ

3. Ulusal
Klinik Mikrobiyoloji



Mikrobiyom Çalışmaları

Tanıl Kocagöz

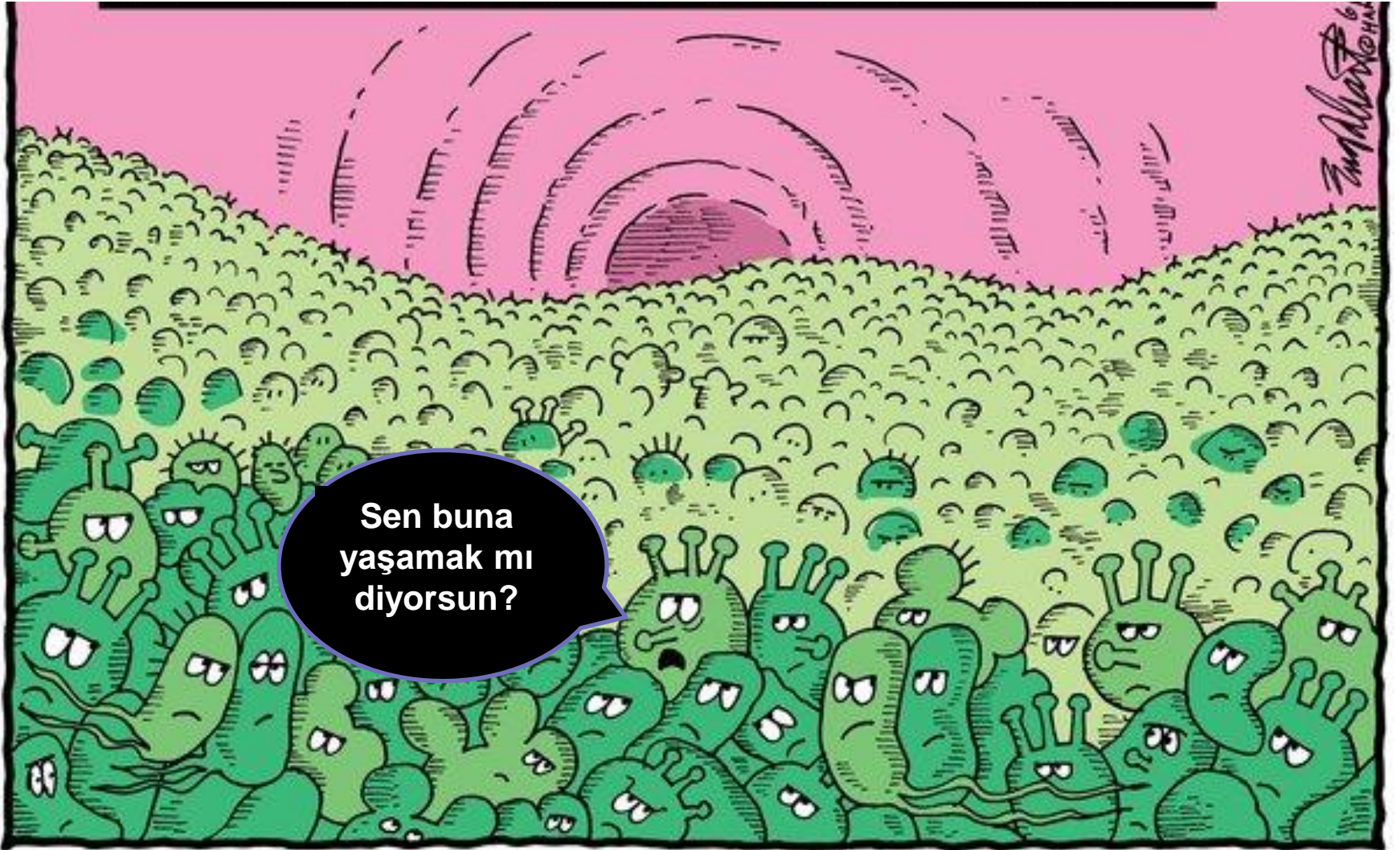


ACIBADEM
ÜNİVERSİTESİ

İnsan Mikrobiyomu

- İnsan vücudu 10^{13} hücreden oluşmaktadır
- İnsan vücudu 10^{14} mikroorganizma taşımaktadır. Mikroorganizmalar insan hücrelerinden 10 kat daha fazladır. Bunlara virüsler de eklenecek olursa sayı çok fazla artmaktadır.
- İnsan mikrobiyomu insan genomundan en az 100 kat daha büyüktür. Bugüne dek toplam 8 milyon farklı gen saptanmıştır.

İnsan vücudunda **yaşayan** bakteri ve mantarların sayısı
insan hücrelerinden on kat daha fazladır





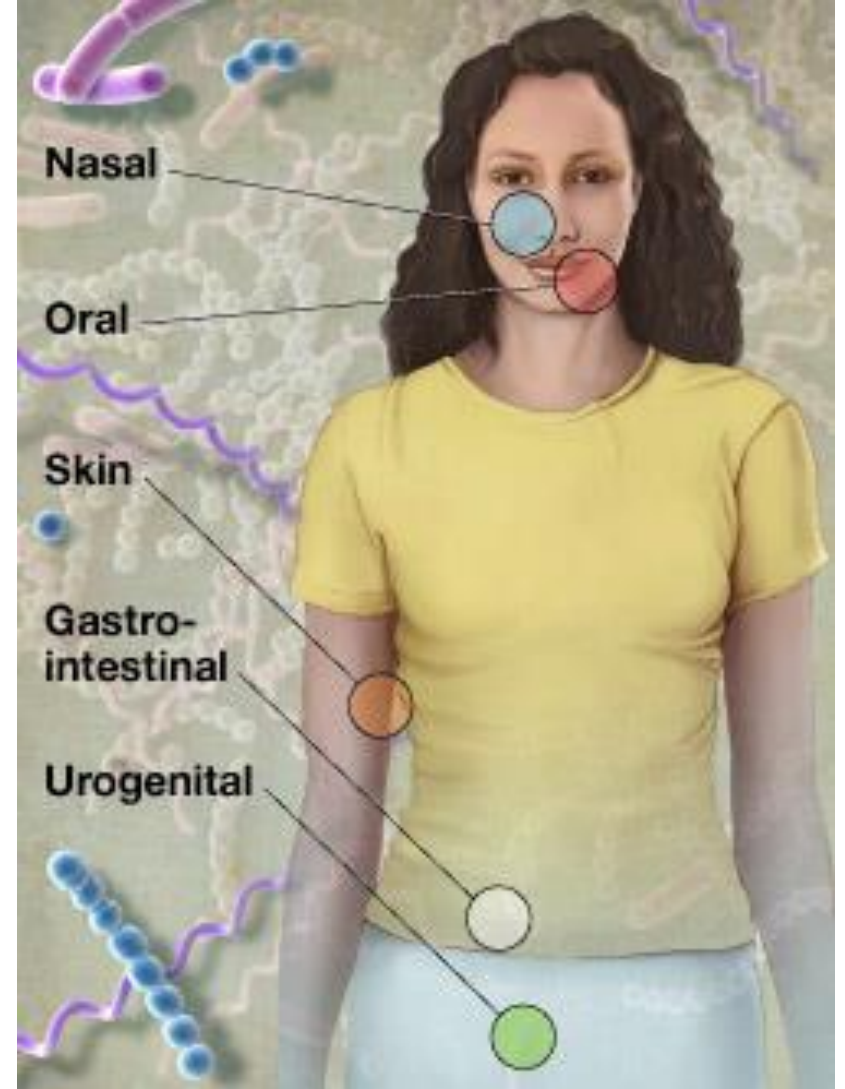
Human Microbiome Project

İnsan Mikrobiyom Projesi Hedefleri

- İnsan vücudundaki tüm mikroorganizmaları belirlemek
- İnsanlar arasında mikrobiyom farklılıklarını saptamak
- İnsan mikrobiyom değişikliklerinin hastalıklarla ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceğini araştırmak
- Mikrobiyomun saptanmasında kullanılacak yeni biyoinformatik program ve yaklaşımların geliştirilmesini sağlamak
- İnsan mikrobiyomu belirlenirken etik ve sosyal değerlere özen göstermek



- Human Microbiome Project
- İnsan Mikrobiyom Projesi (İMP)
- 2007 yılında NIH tarafından başlatıldı
- 300 gönüllünün 5 vücut bölgesinden değişik zamanlarda, toplam 11.700 örnek toplandı

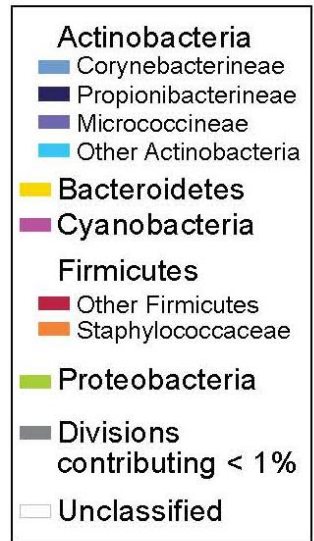
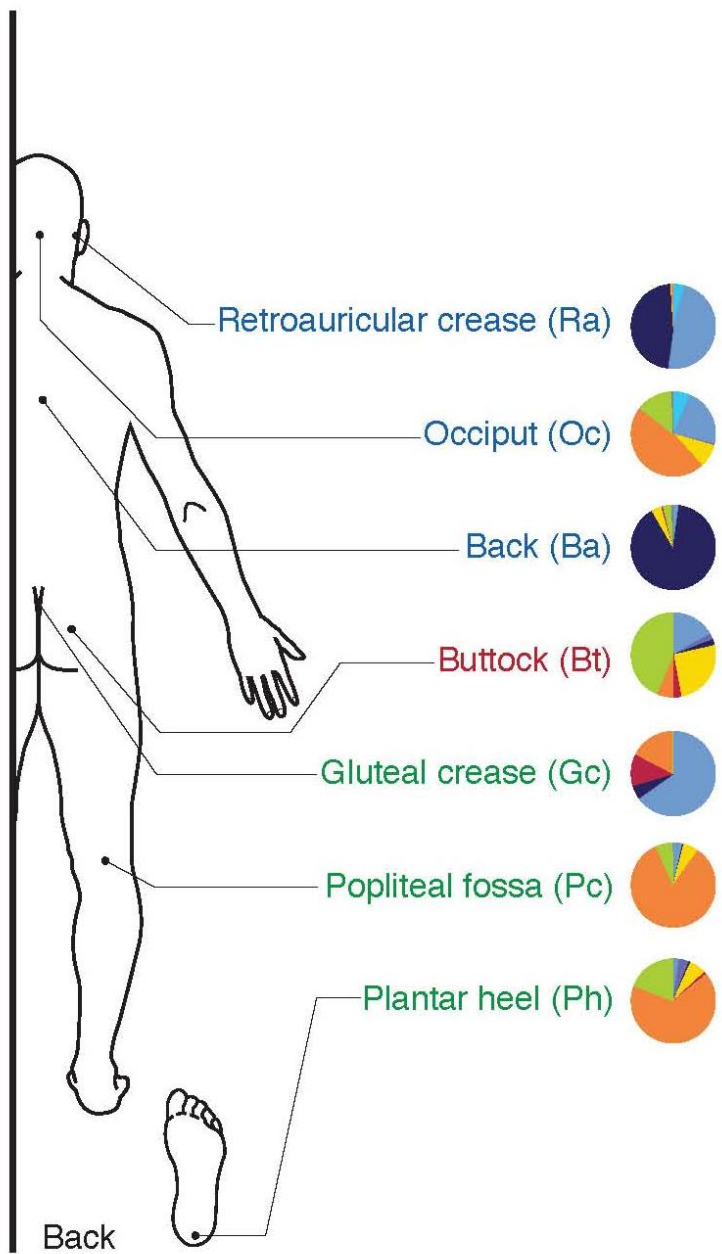
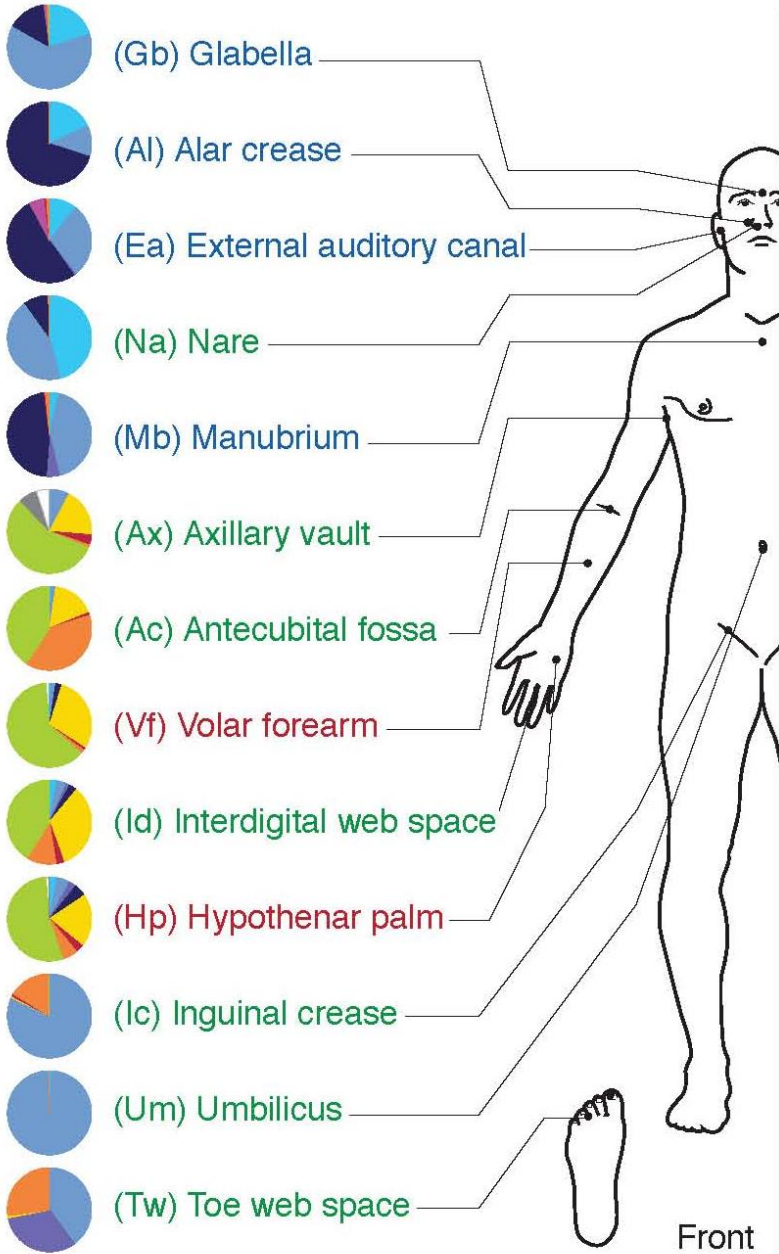


Araştırma Stratejisi

- **Geleneksel Mikrobiyoloji** türlerin soyutlanıp tek tek incelenmesine dayanmakta, ancak insan vücudundaki mikroorganizmaların büyük bir çoğunluğu üretilememekte.
- Üretilen mikroorganizmalar vücut ortamında olmadıkları için metabolik fizyolojileri doğal ortamını yansıtmamakta.
- **DNA dizi incelemesinde** ortaya çıkan ve hedef bir bölgeden çok örnekte bulunan tüm DNA'nın rastgele bölgelerinin çoğaltılması ve bunların çakışan bölgelerinden birleştirilerek DNA dizilerinin tamamının belirlenmesine dayalı yöntemler insan vücudunda yaşayan organizmaların tamamının saptanmasına olanak sağlamaktadır. Bu yolla kültürde üretilemeyen organizmalar da belirlenebilmektedir.

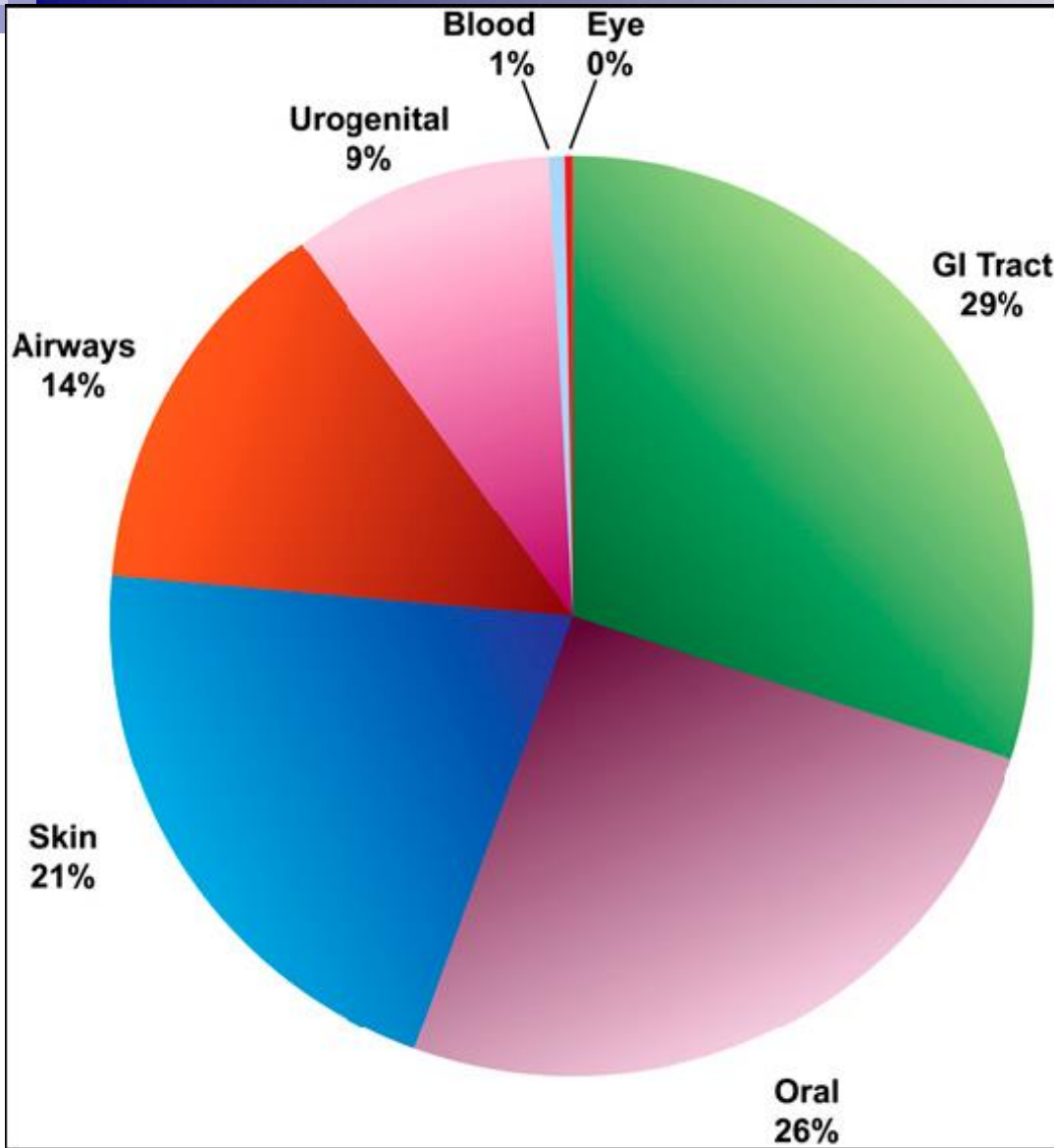
Mikrobiyom Projeleri ile Saptanan Mikroorganizmalar

- İMP ile insan vücundunda 10 bin kadar bakteri ve mantar türü; 3000'i aşkın virüs saptandı.
- Tüm dünyada çok sayıda mikrobiyom projeleri yürütülmeye başlandı; bu projeler diğer memeli hayvanlar ve ekolojik çevreleri kapsar hale geldi.



Front

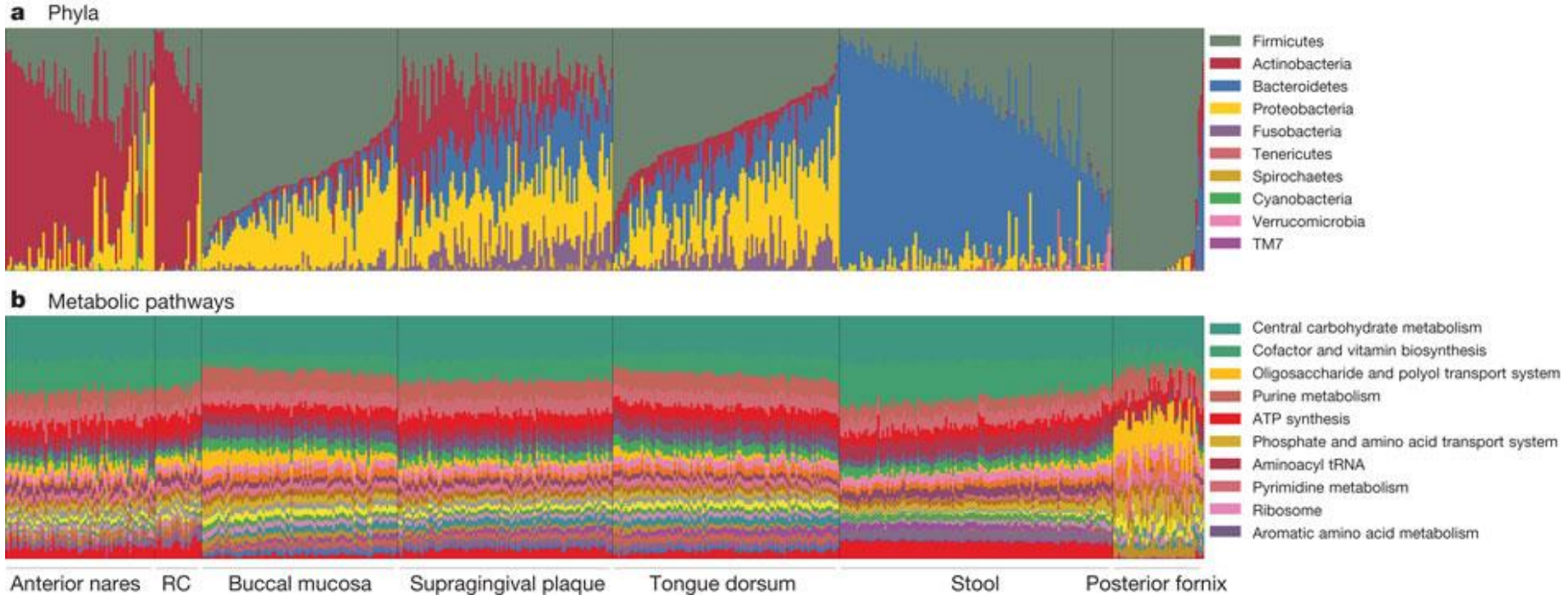
Back



İnsan vücudunda mikroorganizmaların dağılımı

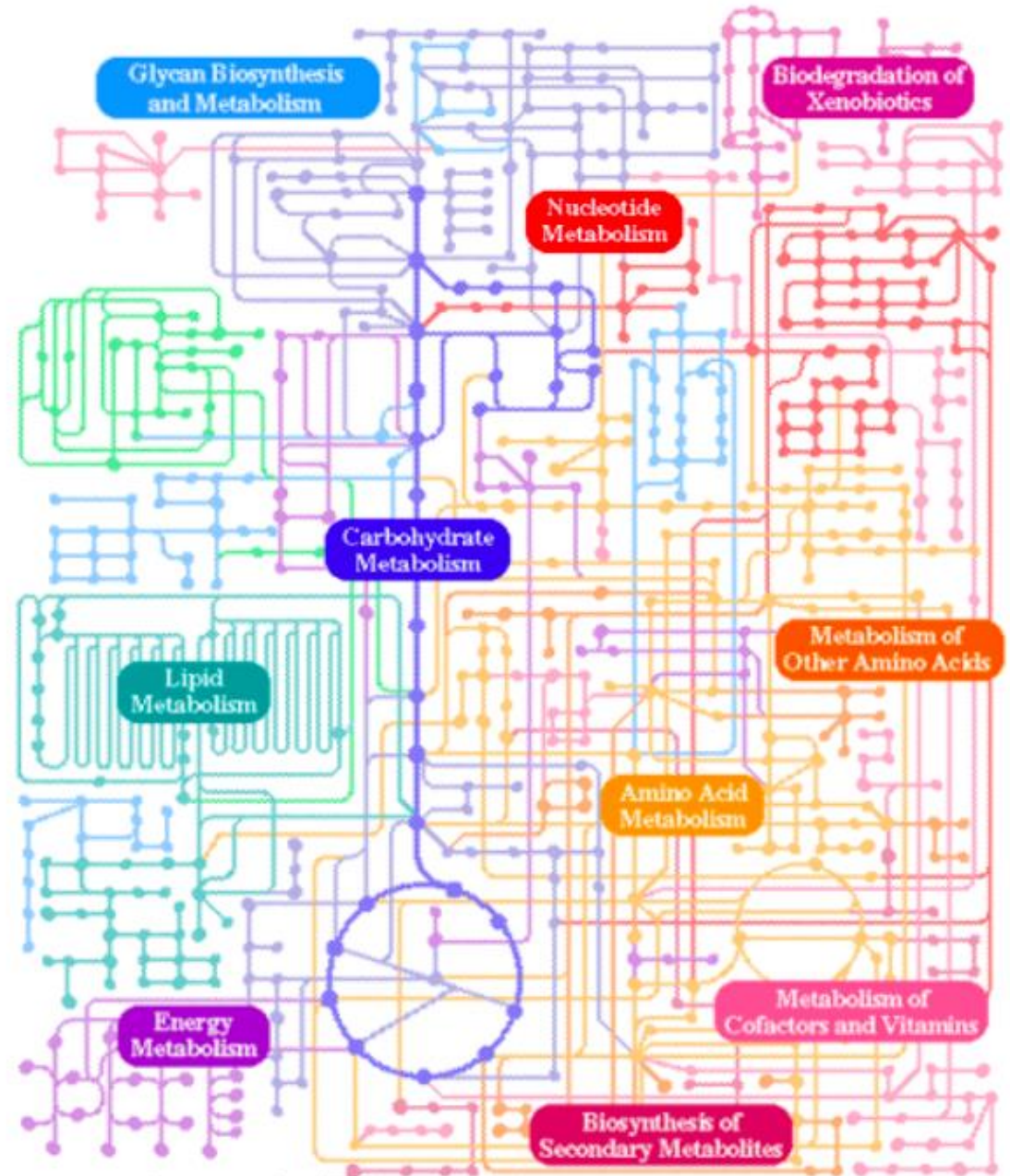
Metabolizma Florası

Vücut bölgelerinde bakteri türleri çok değişkenlik gösterse de metabolik yollar genelde korunuyor.



C Huttenhower *et al.* *Nature* **486**, 207-214 (2012) doi:10.1038/nature11234

8 milyon
genin işlevi
nedir?



İnsan Viromu



- Barsak ve diğer vücut bölgelerinde çok sayıda virüs bulunmakta
- Bunların büyük çoğunluğu bakteriyofaj
- Antibiyotik direnç genleri, toksin genleri gibi genleri transdüksiyon ile aktarabiliyorlar

DNA dizi incelemesi ve Biyoinformatik ürünü yeni virüsler

- Son yıllarda gelişen yüksek kapasiteli DNA dizi inceleme yöntemleri bir vücut bölgesinden alınan örneklerde bulunan tüm hücrelere ait DNA moleküllerinin, belli bir hedef bölge gözetmeden, dizilerinin tamamının kısaca bir sürede belirlenmesini sağlamıştır.
- Bu dizi incelemelerinin biyoinformatik programları ile incelenmesi insan vücudunda çok sayıda virüsün varlığını ortaya çıkartmıştır. Bunların %98'i gen bankasına bugüne dek kaydedilmiş dizilerle benzerlik göstermemektedir.

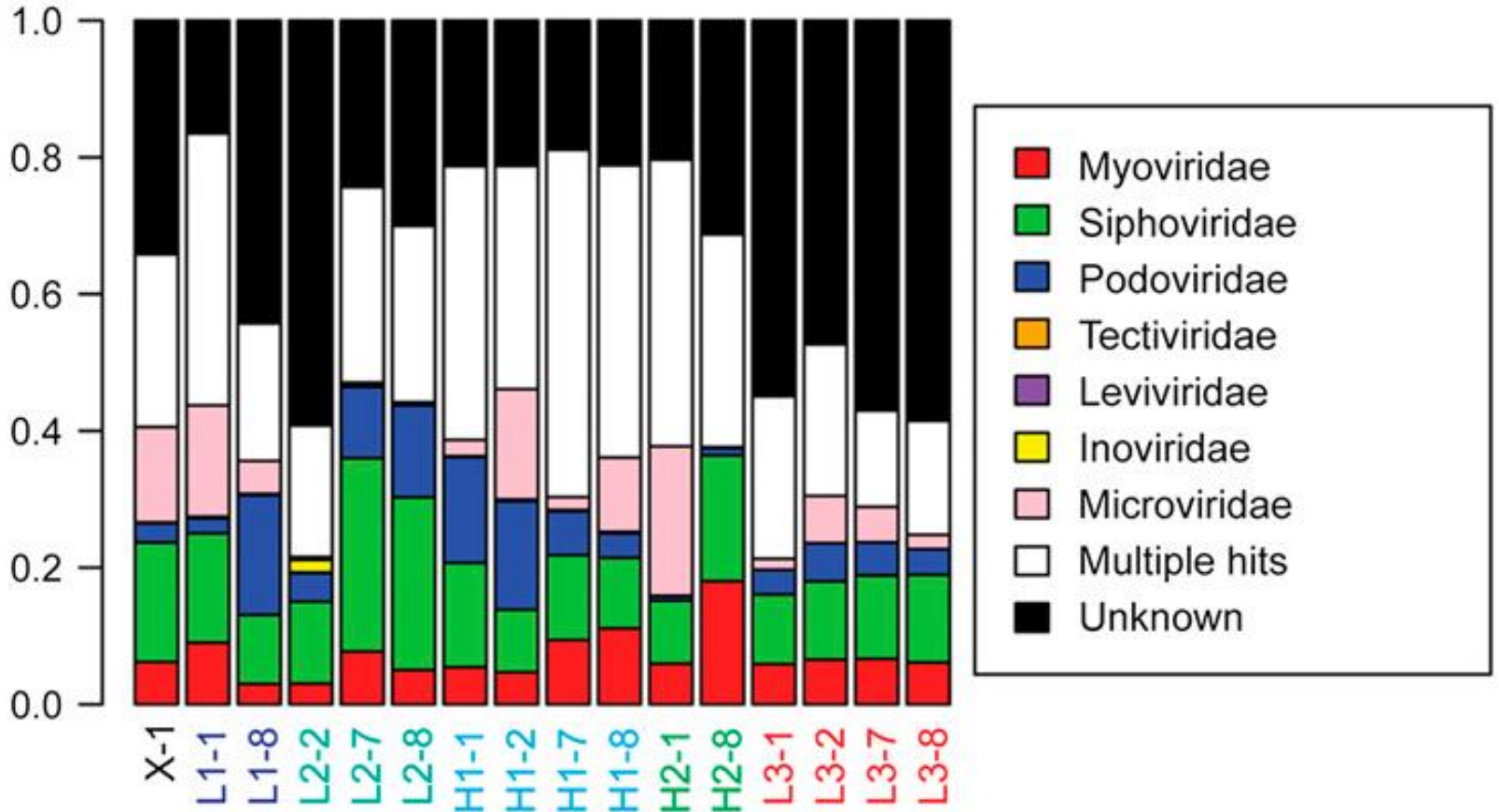
Gastrointestinal virom

- Bakteriyofajlar sayıca dünyada en fazla bulunan canlılardır.
- İnsan mide bağırsak sisteminde de çok sayıda bakteriyofaj saptanmıştır.
- Bunların insan sağlığı üzerindeki etkisi bilinmemektedir.
- Virüsler genlerini konak hücrelerin DNA'sına ekleyebilmektedir.
- Transdüksiyon ile gen aktarabilmektedirler.

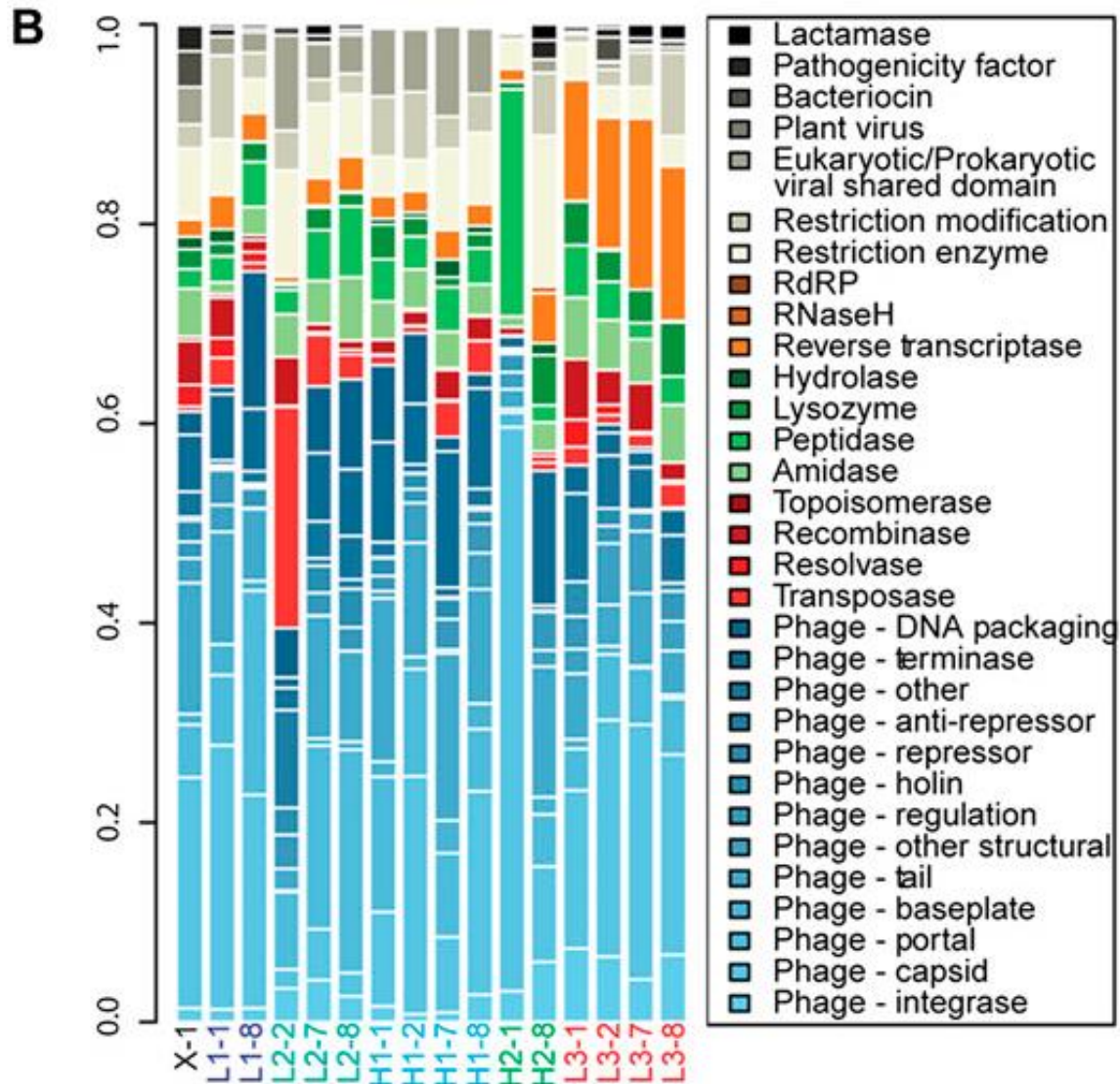
Transdüksiyon ile aktarılan genler

- Toksin genleri
- Enerji zengin bileşiklerin kullanılmasını sağlayan protein genleri
- Trombositlere bağlanma ile ilgili genler
- Antibiyotik ve çevresel stres faktörlerine dirençle ilgili genler

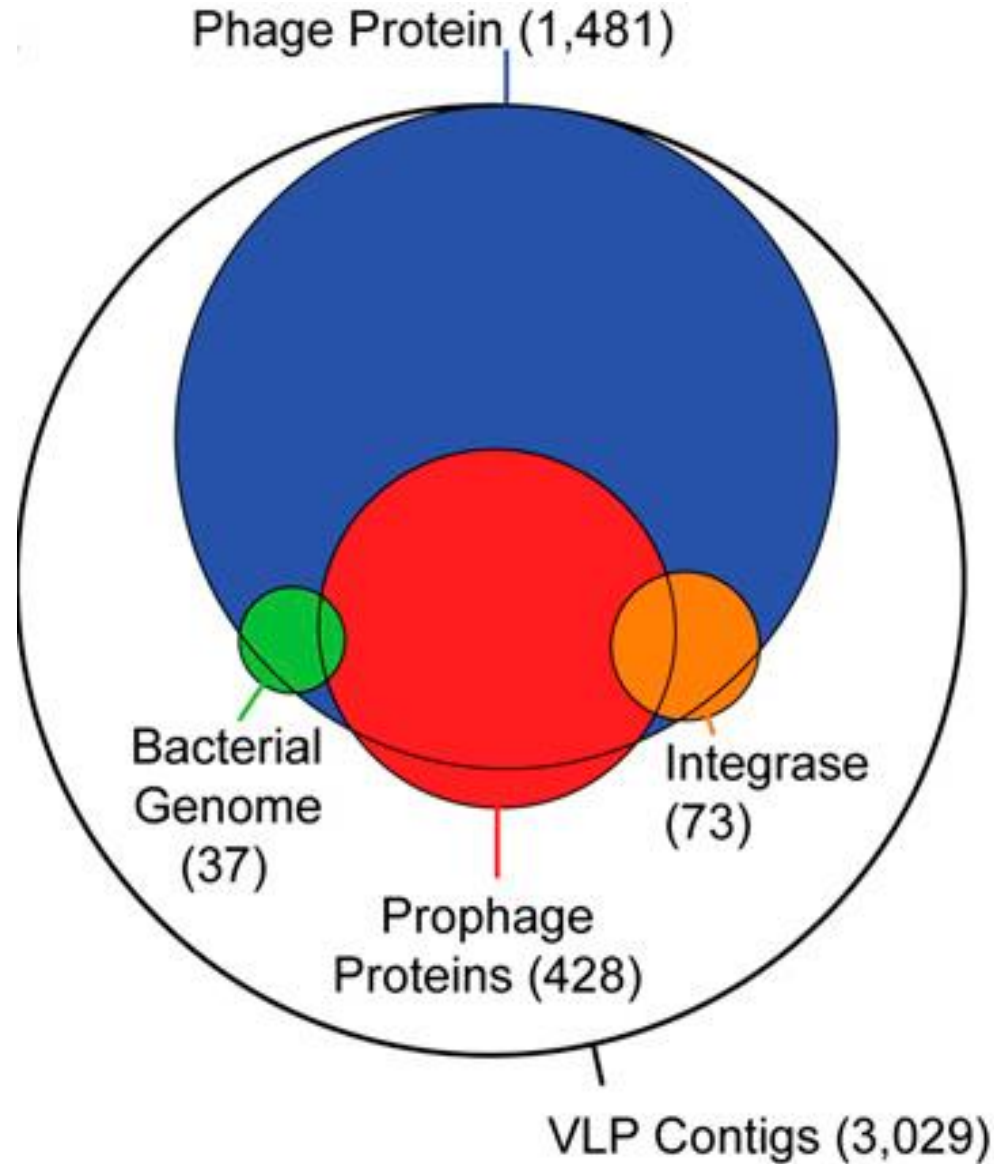
Bağırsak mikrobiyom virüsleri



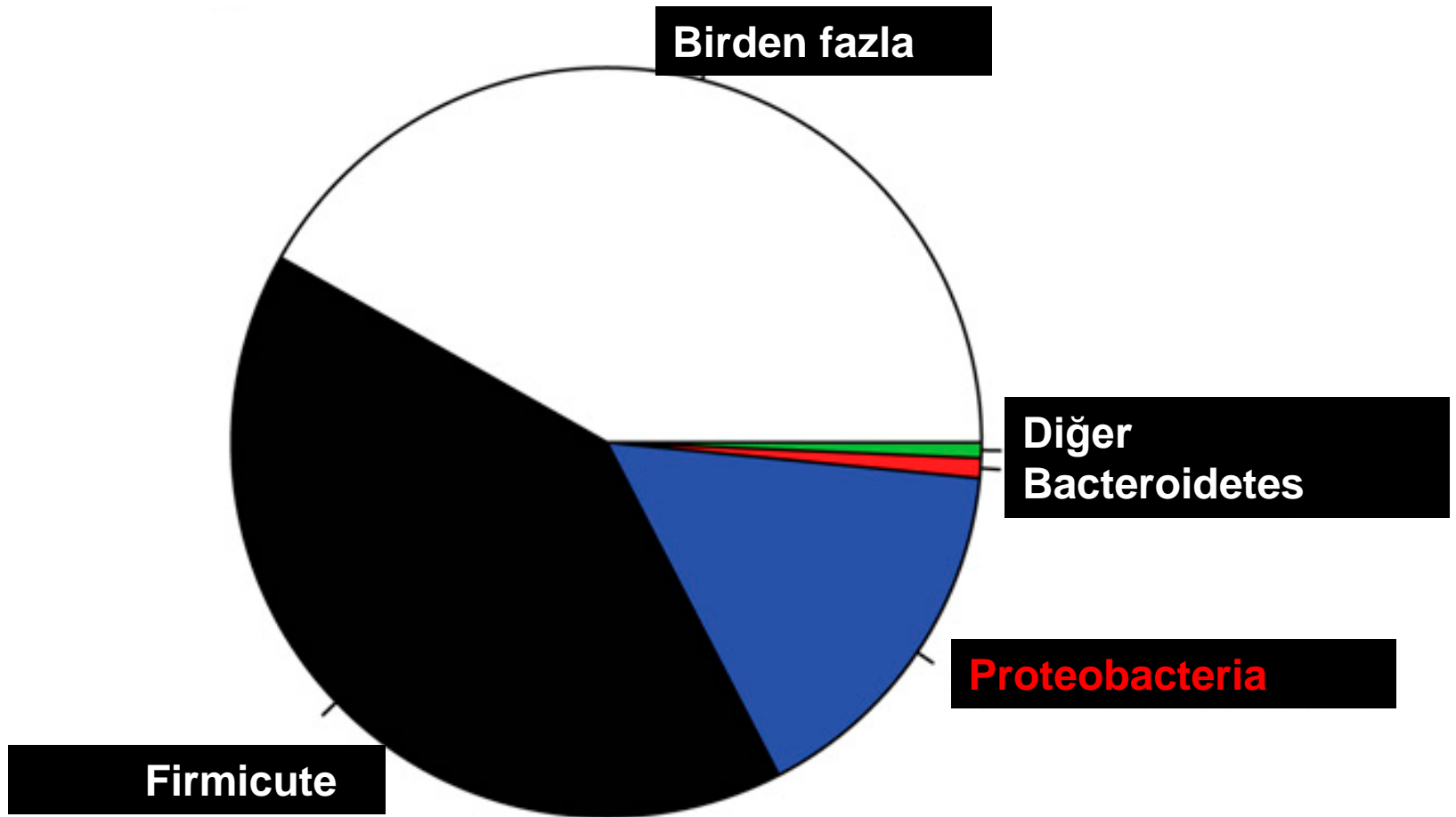
Viral proteinlerin işlevleri



Faj genlerinin işlevlerine göre dağılımı



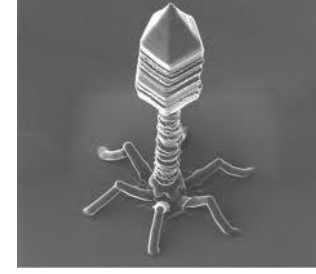
Fajların bakteri seçimleri



Bakteriyofaj rekabeti

- Bağırsak florasındaki bakterilerde çok sayıda “CRISPR” (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) adı verilen ve bakteriyofajlara karşı bir savunma mekanizması olduğu bilinen dizilere rastlanmıştır. Bu dizilerden üretilen RNA’lar proteinler ile birleşerek bakteri içerisine giren virüslerin DNA’larının parçalanmalarını sağlarlar.
- İlginç olan bu dizilere bakteriyofajlar içerisinde de rastlanmasıdır. Bakteriyofajların başka bakteriyofajların üremesini engelleyecek CRISPR dizileri taşıyarak, onlarla aynı ortamda rekabet ettiği düşünülmektedir

İnsan Viromunda Değişkenlik



- En fazla kişiler arasında değişkenlik görülüyor.
- Bakteriyel mikrobiyoma paralel değişkenlik ön planda.
- Diyet ile virom da değişiyor.

Genoma eklenme yerleri
İnsan sağlığı üzerine etkisi
Birlikte evrimleşme

Bakteri florasına etki
İnsan sağlığı ile ilişkisi

Endojen
retrovirüsler

Kronik viral
enfeksiyon

İnsan sağlığı üzerine etki
Bağışıklık sistemi ve diğer
hastalık etkenleri ile etkileşme

Komensal
bakteriyofajlar

Virom

Akut viral
enfeksiyon

Antibiyotik
direnç geni taşıyan
bakteriyofajlar

Yeni
virüsler

Virüs yapısı
Hastalık ilişkisi
Epidemiyoloji

Yeni
bakteriyofajlar

Bakteri florasına etkisi
İnsan sağlığını etkileyebilecek genler

Değişken İnsan Mikrobiyomu

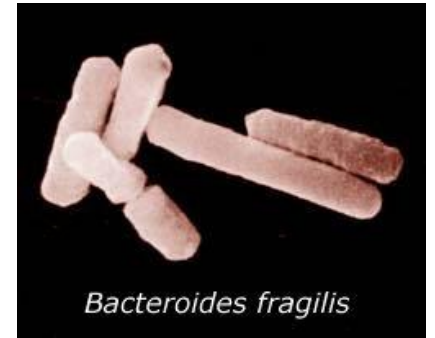


Barsak Mikrobiyomu ve Kolorektal Kanser

- Yüksek miktarda yağ ve kırmızı et tüketiminin N-nitrozo bileşikleri ve heterosiklik aromatik aminlerin düzeyini arttırarak kolorektal kansere yol açtığı düşünülüyor.
- Heterosiklik aminler hücrelerde DNA zedelenmesine neden oluyor. Bağırsak mikroorganizmalarından bazıları bu zedelenmeyi arttırırken bazıları bu bileşikleri alıp metabolize ederek ortadan kaldırabiliyor.
- Hayvan çalışmalarında *Bacteroides* ve *Clostridium* türleri kolon tümörlerinin büyümesini hızlandırırken, *Lactobacilli* ve *Bifidobacteria* türlerinin tümör oluşumunu engellediği gösterilmiş.

Barsak Mikrobiyomu ve Kolorektal Kanser

- Süperoksit oluşturan *Enterococcus faecalis*' in ve sülfat indirgeyen bakterilerin epitel zedelenmesine yol açtığı gösterilmiş.
- *Bacteroides vulgatus* ve *Bacteroides stercoris* fazla olduğu kişilerde kolon kanseri riski yüksek bulunurken, *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus S06*'nın fazla olduğu kişilerde düşük bulunmuş.

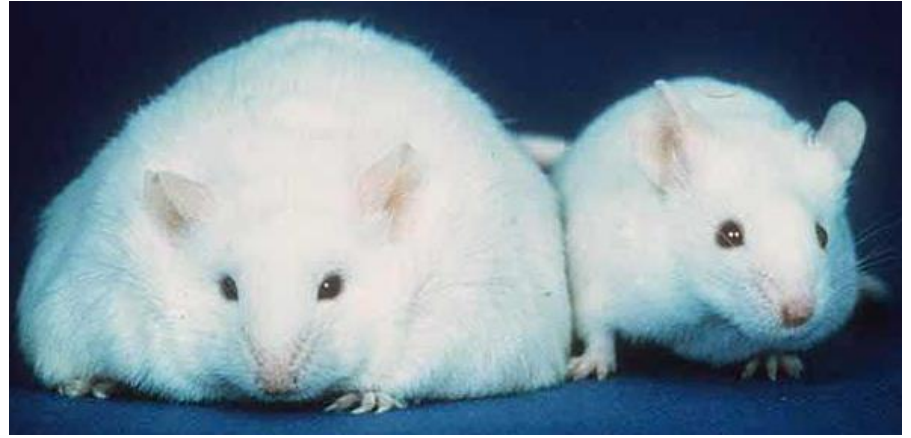


Barsak Mikrobiyomu ve Şişmanlık



- Aynı diyetle beslenen normal florası olan farelerin ağırlığı mikroorganizmadan arındırılmış farelere göre %40 daha fazla. Yemeklerin metabolize edilmesinde flora önemli yer tutuyor.
- *Bacteroides thetaiotaomicron*, bağırsak florasının baskın üyelerinden ve başka yolla sindirilemeyen polisakkaritlerin sindirilmesini sağlayarak kalori gereksiniminin %10-15 kadarını karşılıyor.
- *Lactobacillus* türleri safra asitlerinin bağlanmalarını engelleyerek yağ emilimini önemli ölçüde azaltıyor.

Barsak Mikrobiyomu ve Şişmanlık



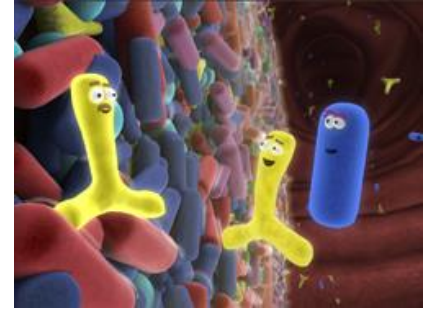
- Genetik olarak şişman fareler (obese - *ob / ob*) zayıf olanlara göre %50 daha az *Bacteroidetes*, o oranda daha fazla *Firmicutes* türlerini barsaklarında bulundurmakta.
- Bu farelerin barsak mikrobiyomlarınının gıdadaki kaloriden zengin bileşikleri daha etkin bir şekilde ortaya çıkardığı saptanmış.
- Daha önemlisi bu özellik mikrobiyom ile birlikte aktarılabiliriyor. Mikroorganizmadan arındırılmış fareler şişman fare mikrobiyomu ile kolonize edilirse zayıf fare mikrobiyomu ile kolonize edilenlere göre çok daha şişman oluyor.

Hipertansiyon ve Kardiyovasküler Hastalıkların Mikrobiyom ile İlişkisi

- Farklı gıdalar ile beslenen toplumlarda barsak mikrobiyomu farklılıklar gösteriyor.
- Bazı mikrobiyom üyelerinin barsakta ürettiği maddelerin kan basıncını yükselttiği ve böylece kalp ve damar hastalıklarına yol açabildiği gösterilmiş.

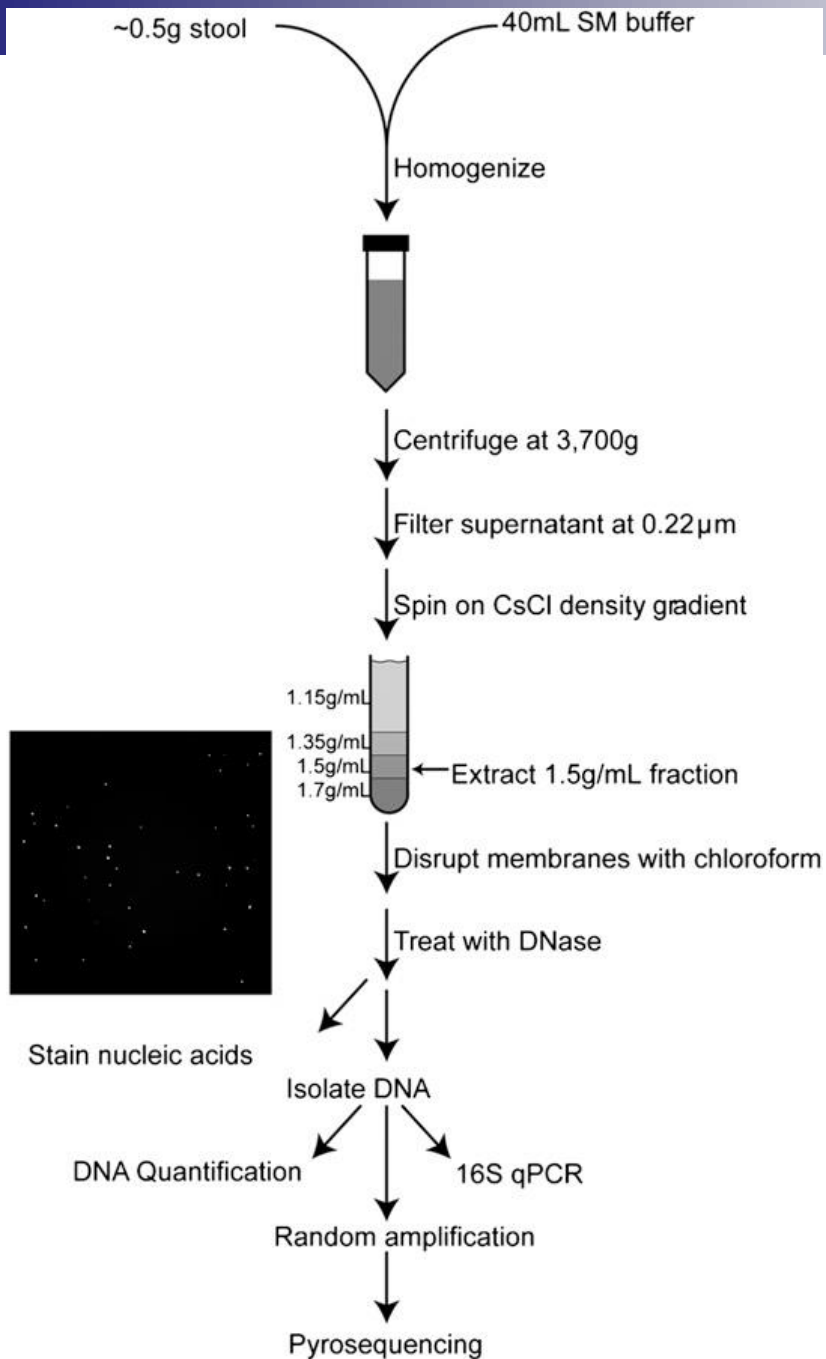
Probiyotikler ile «İyi» Barsak Mikrobiyomu Yaratabilir miyiz?

- Clostridium difficile enfeksiyonlarında fekal transplantasyon başarılı sonuçlar veriyor.
- Probiyotik organizmalar ile de başarılı sonuçlar alınıyor.



Türkiye'de Mikrobiyom Çalışmaları

- Ulusal Mikrobiyom Projesi?
- Ulusal işbirliği olanakları?
- Uluslararası işbirliği olanakları?
- Hangi araştırma yöntemleri kullanılabilir?
 - Tüm genom DNA dizileme yöntemleri
 - Anaerop kültür sistemleri
 - Viral izolasyon



Tüm virüslerin saptanmasında basit ve çok başarılı bir yöntem

- Yoğunluk kademeli santrifüj
- Kloroform ve DNaz
- Virüslerden nükleik asit saflaştırması
- Dizi incelemesi





Hıh! Kendini ne sanıyor?
Mikroorganizma yığını!



Hıh! Kendini ne sanıyor?
Bir yığın mikroorganizma!

Mikroplar!
Onlarsız Yaşayamam!...

