

Biogáz termelő mikroba közösség jellemzése újgenerációs DNS szekvenátor segítségével



Wirth Roland
Phd hallgató
Biotechnológiai Tanszék
SZTE TTIK
Keszthely, 2012. 10. 24-26.



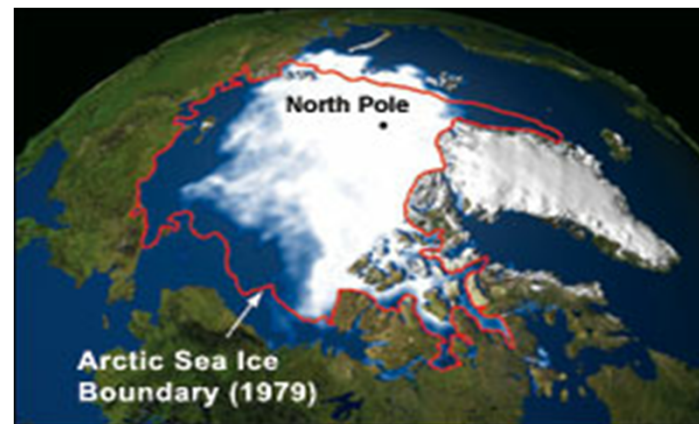
Háttér

- A XXI. század; a korlátozott energiahordozók százada:

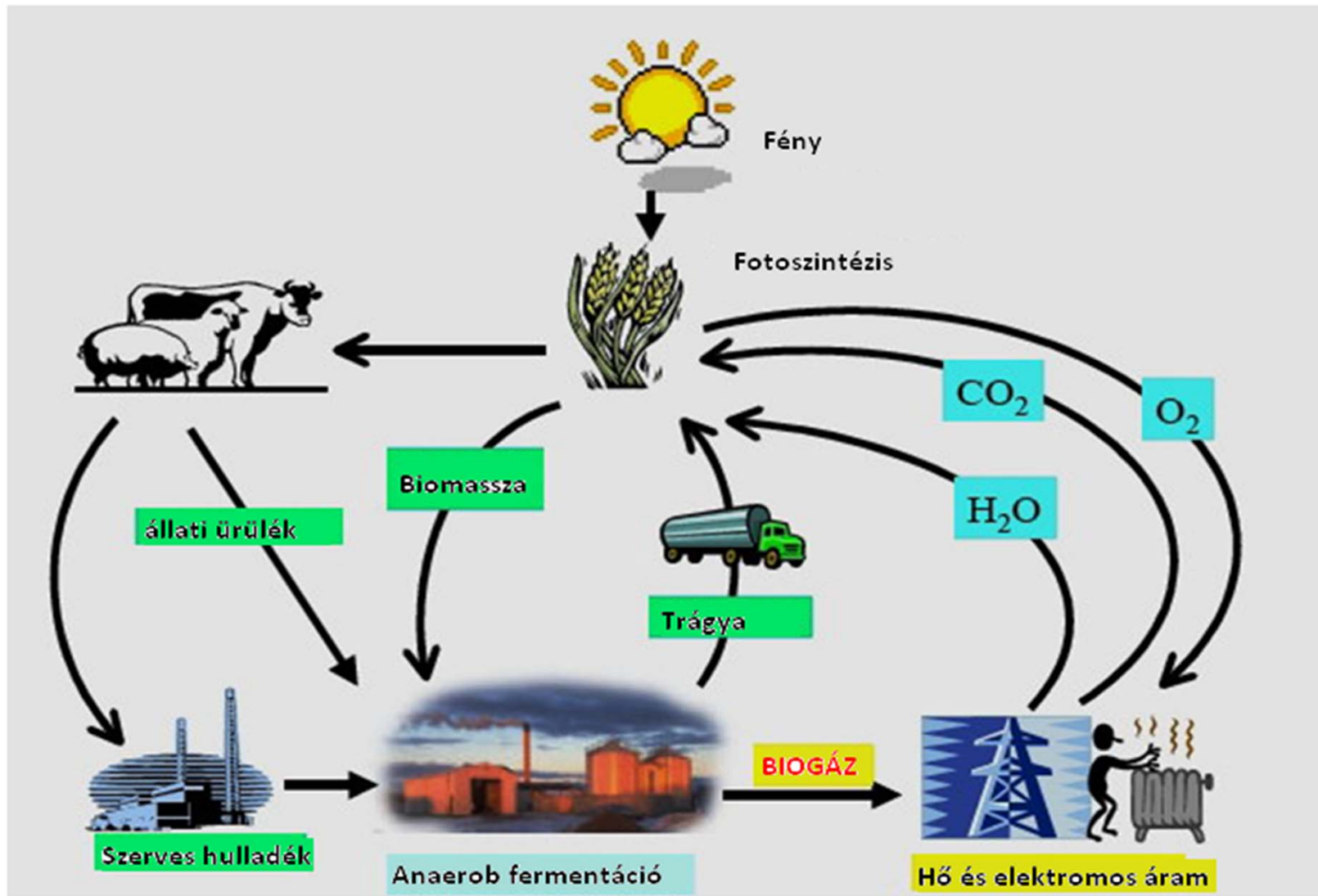
- Megnövekedett energia igény
- Csökkenő energia hordozó forrás

Klíímaváltozás elleni küzdelem ↔ fenntartható fejlődés
= **megújuló energia**

Pl.: bioetanol, biodízel, **biogáz**



Biogáz, mint alternatív energia hordozó



Az anaerob fermentáció eredménye: a biogáz

- Archaea-k és Bacteria fajok együttműködnek a biogáz termelés során
 - Hogyan határozhatjuk meg ezeket?
- Hagyományos mikrobiológiai módszerek

DE: sok mikroba nem tenyésztethető!



Megoldás: metagenomika



Metagenomika

„ A metagenomika a természetes környezetből vett mintákban található örökítő anyag vizsgálata. ”

/Wikipedia/



- Különböző kémiai reakciók
- Az adatok elemzésére hatalmas adatbázisok és kifinomult bioinformatika áll rendelkezésre



454 Life Technologies és a SOLiD

„Szintézis alapú szekvenálás”



(Roche)

Leolvasási hossz
250-450 bp $\Leftrightarrow$ **35-50 bp**

Bázis pár leolvasás per futás
0.5-1.0 Gb $\Leftrightarrow$ **3-10 Gb**

Bázis pár leolvasás per nap
0.2-1.0 Gb $\Leftrightarrow$ **1-1.5 Gb**

Szekvenciák száma
1.2 M $\Leftrightarrow$ **100 M**

Futási idő
0.5 nap $\Leftrightarrow$ **3-7 nap**

„Ligálás alapú szekvenálás”



(Applied Biosystems)

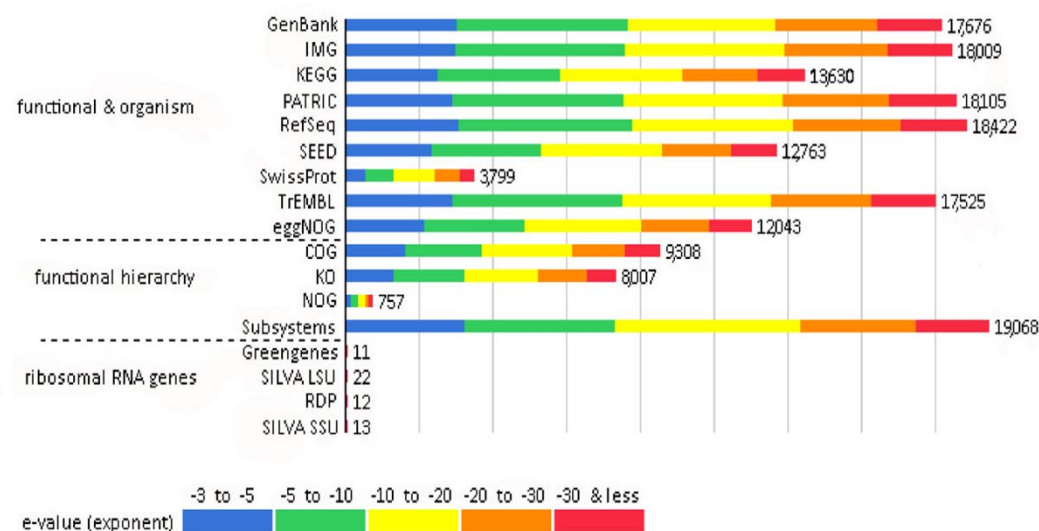
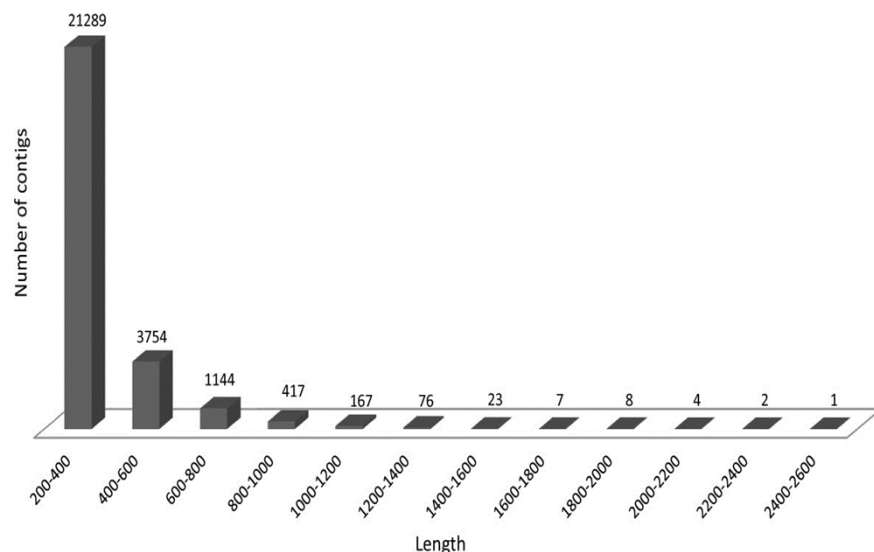
Biogáz fermentáció paraméterei

- Folyamatosan vagy szakaszosan táplált reaktorok
- Térfogat: 5 liter
- Hőmérséklet: 37 ± 1.0 °C
- Kukorica szilázs (70% total oTS) – sertés hígtrágya ($\approx 30\%$ total oTS)
- pH: 7.9 -8.4
- Biogáz termelés: $610 L_N/kg$ oTS
- 52% metán tartalom

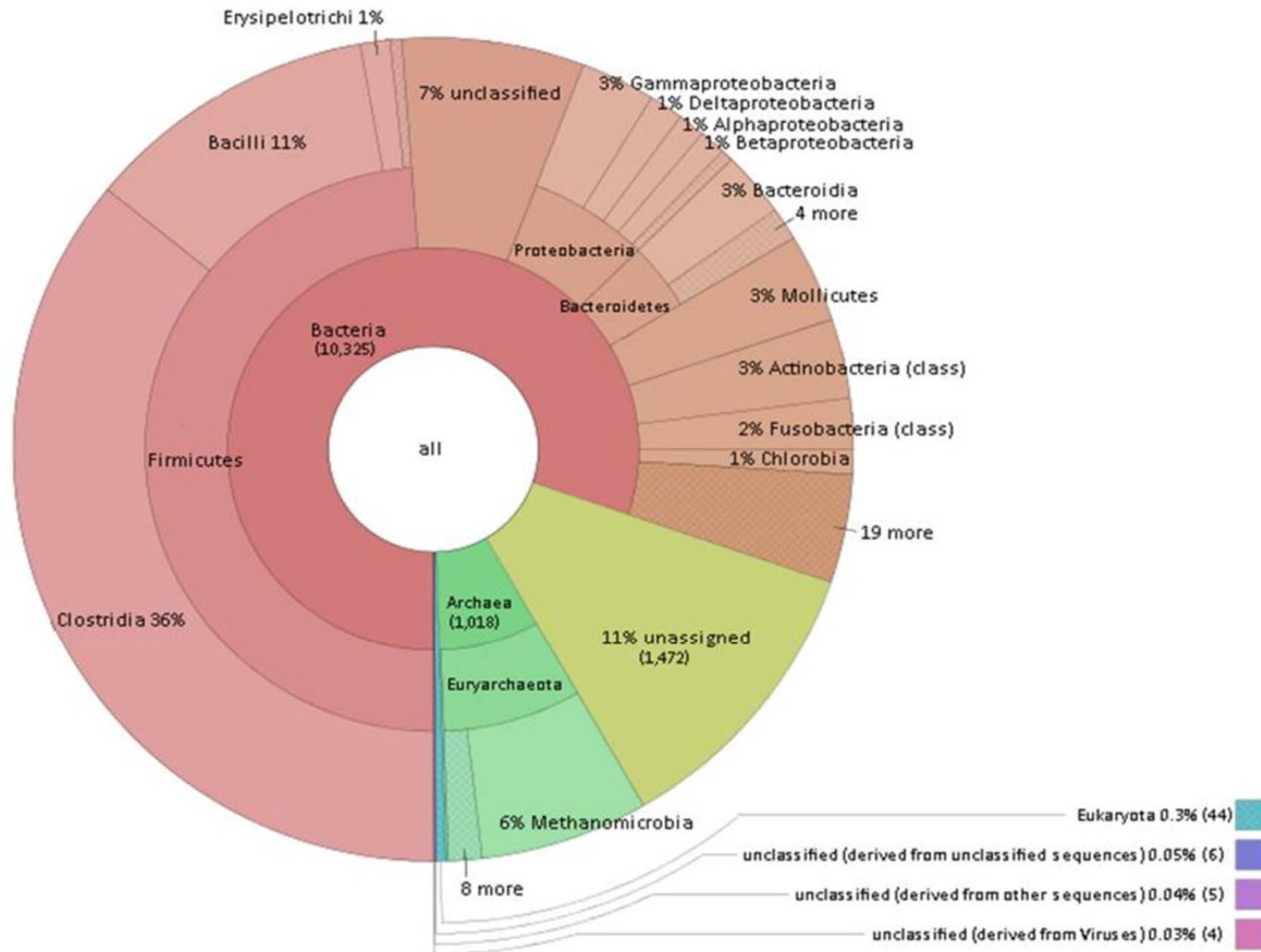


Metagenom adatok vizsgálata

- CTAB / fenol:kloroform módszer
- ABI SOLiD™ 4 : 50 nukleotid hosszúságú leolvasások
- CLC Bio Genomics Workbench 4.6 : a leolvasások kontigokba való rendezése (minőség ellenőrzés)
- MG-RAST : kontigok további vizsgálata (minőség ellenőrzés)
- A kontigok adatbázisokhoz való hozzárendelése
- Különböző minőségi követelmények beállítása (százalékos egyezés, e-érték, minimum leolvasási hossz)
- M5nr: filogenetikus besorolás, Subsystems: functionális vizsgálatok



Biogáz termelő mikroba közösség rendszertani összetétele

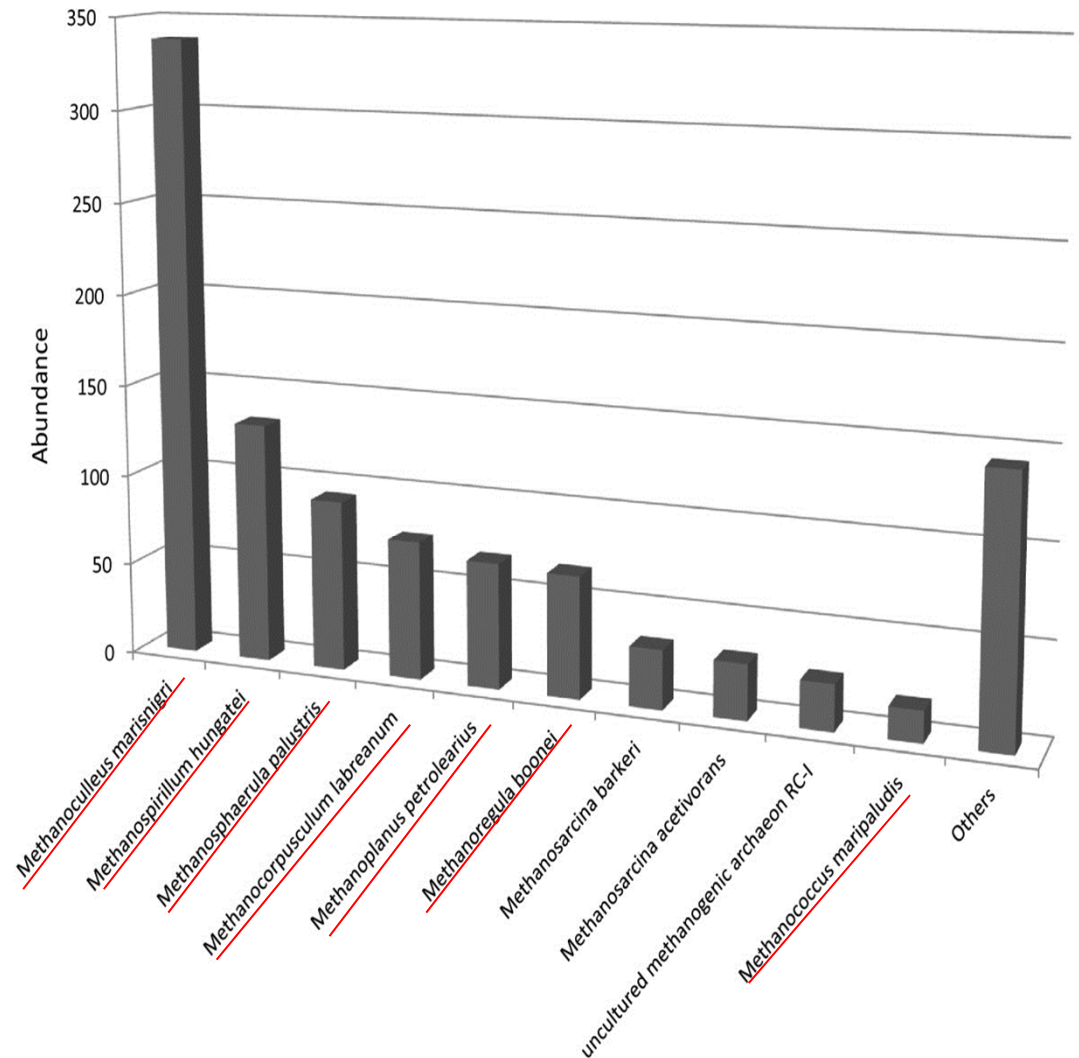


Archaea: metán termelés

- Acetotróf ill. hidrogenotróf metanogének vannak jelen a biogáz fermentorban
- Methanomicrobiales rend domináns
- *Methanoculleus marisnigri* a leggyakoribb faj

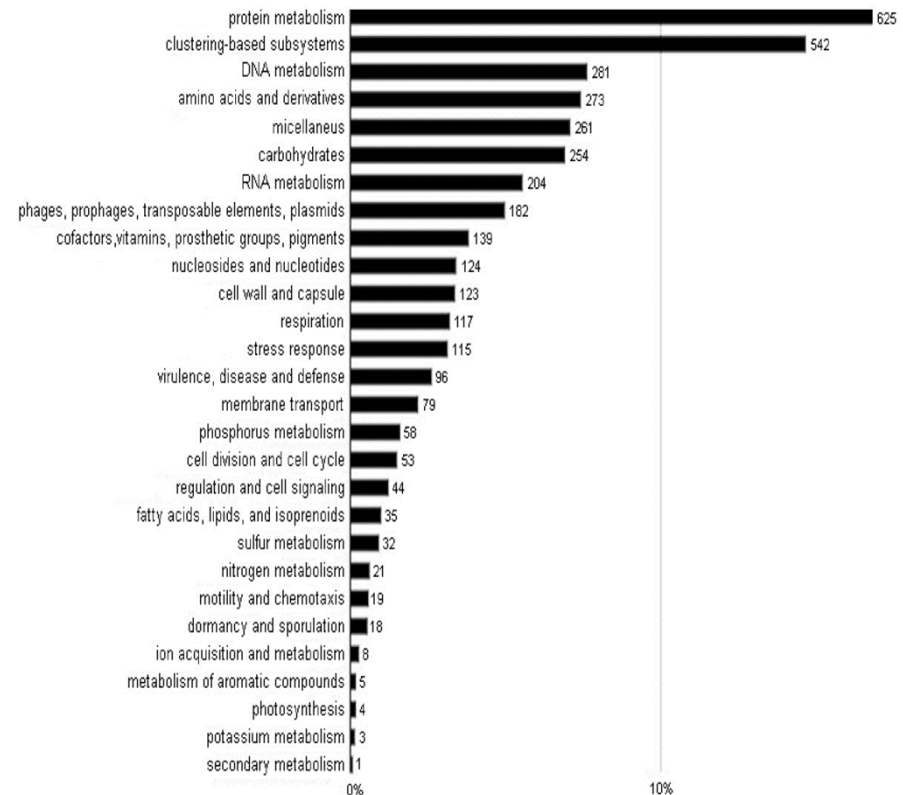


A metán nagyrészt a hidrogenotróf útvonalon keletkezik.

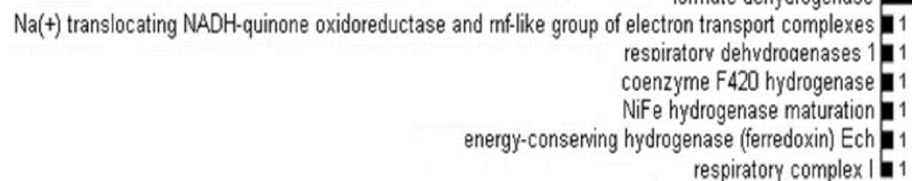


Funkcionális elemzés

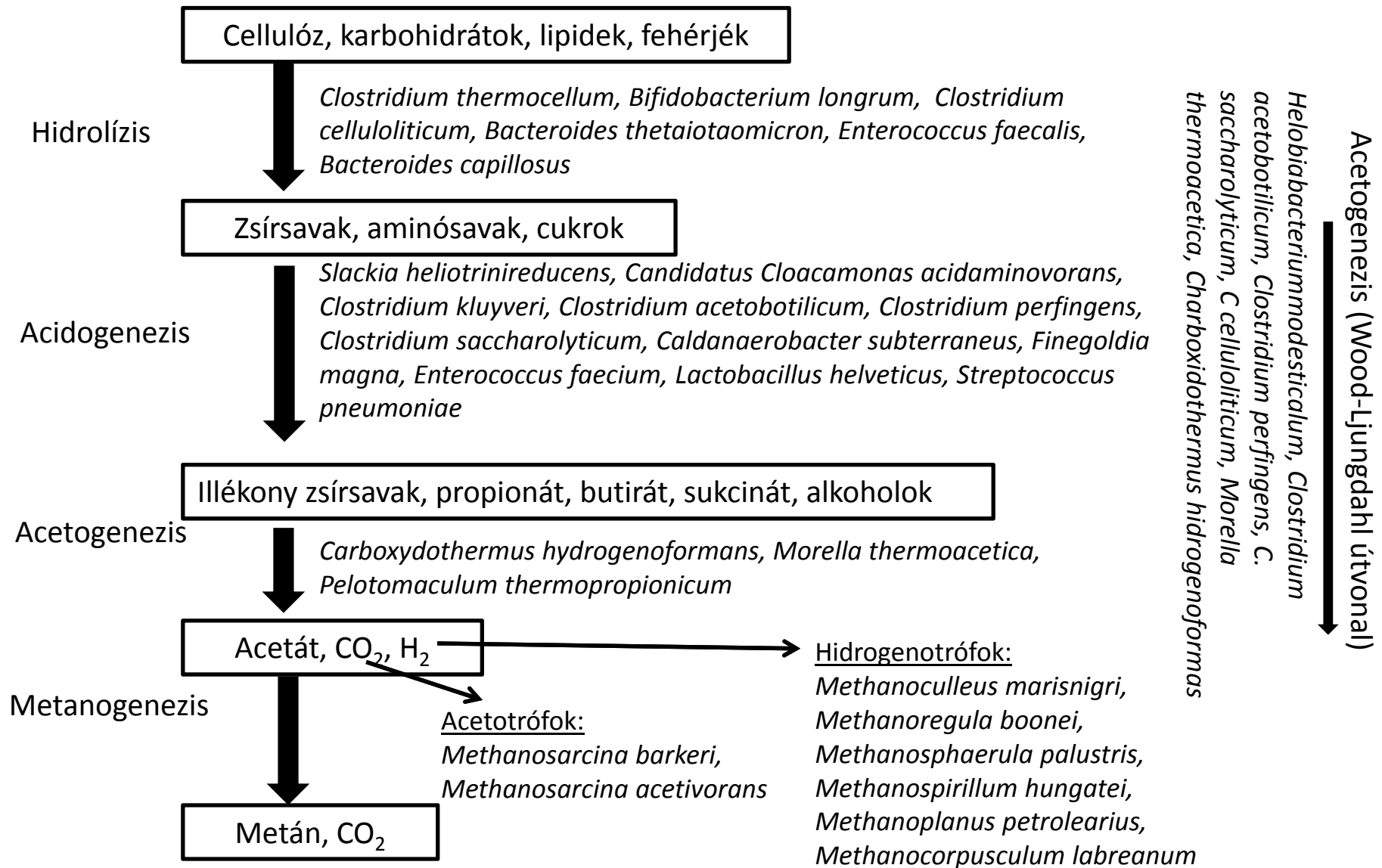
- A legtöbb COG a közösség alap működéséhez kapcsolható
- Energia termelés és raktározás
- Szénhidrát metabolizmus:
cellulóz bontás



Hidrogenázok: fontosak a biogáz termelő közösség számára.

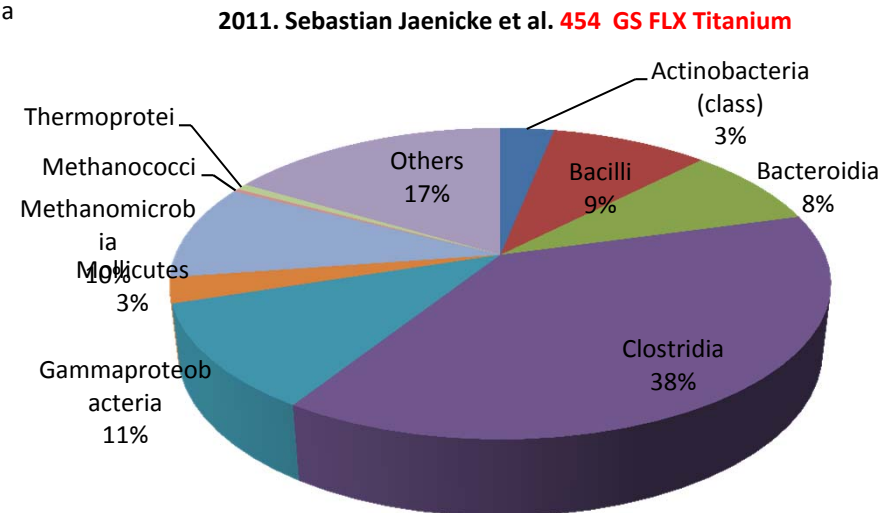
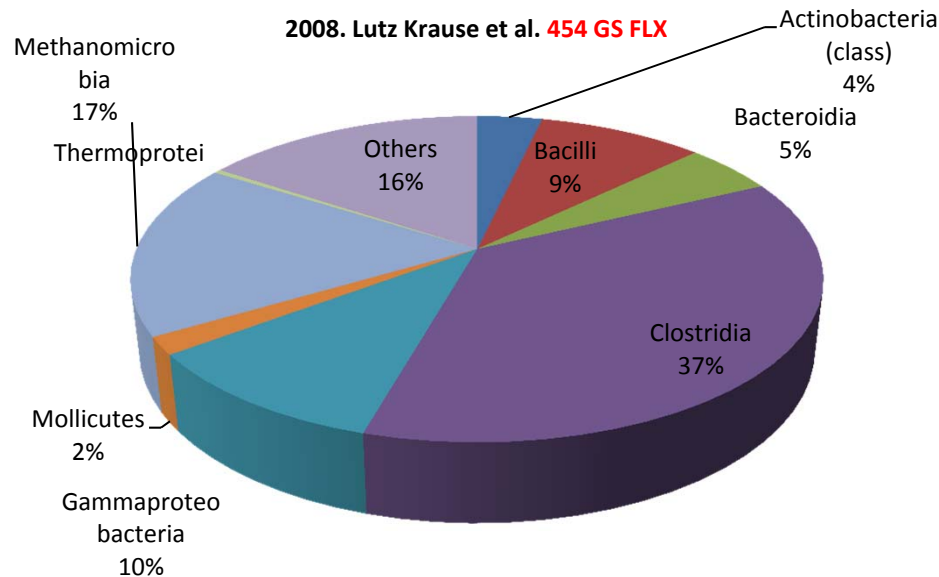
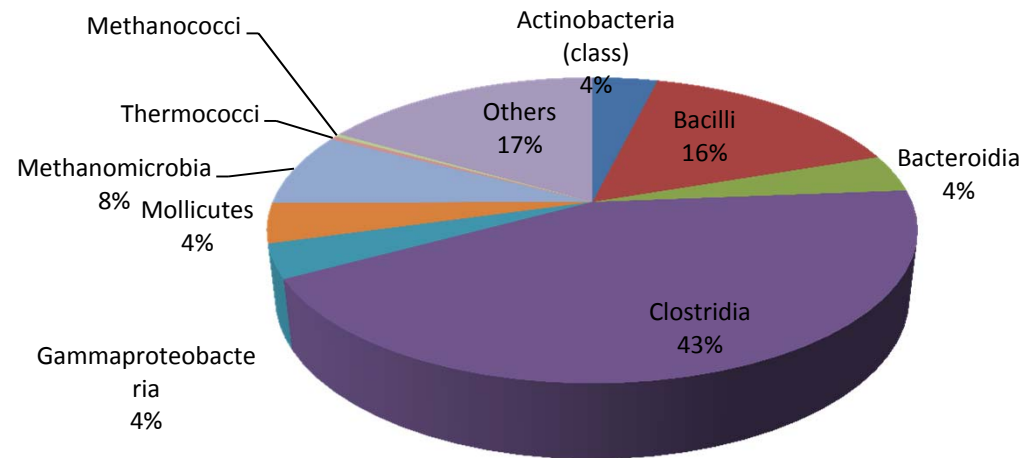


Biogáz termelő táplálék lánc



Korábbi eredményekkel való összehasonlítás

SOLiD 4



Összegzés

- 454 és SOLiD adatok jól összehasonlíthatóak egymással —→ újgenerációs szekvenálási módszerek validálhatók, és reprodukálhatók.
- Elsősorban Firmicutes és Bacteroides törzsek bontják a növényi biomasszát.
- H_2 termelő mikrobák fontos szerepet játszanak a biogáz termelésben.
- A Methanomicrobiales rend dominanciája és a sok hidrogenáz aktivitással bíró mikroba jelenléte azt sugallja, hogy hidrogenotróf metanogenezis a meghatározó útvonal.
- *Methanoculleus marisnigri* a leggyakoribb faj a biogáz fermentorban.
- A biogáz mikrobiális közösség hatékony működéséhez egyensúly szükséges a H_2 termelők és fogyasztók között.

Köszönetnyilvánítás



Kovács Etelka
Maróti Gergely
Bagi Zoltán
Rákhely Gábor
Kovács L. Kornél



MTA SzBK Biofizikai és Biokémiai Intézet

EU támogatás: HUSRB/1002/214/041 IPA és HURO/1001/193/2.2.2. CBC határmenti.

Hazai: GOP-1.1.2.-07/1-2003/8-0007, TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0005,
Baross_ALGOLABH, OMFB-00356/2010 és TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012.

Köszönöm a figyelmet!

Elérhetőség:

Szegedi Tudományegyetem, Biotechnológia Tanszék, Közép fasor 52. Szeged H-6726

E- mail: roland.w@freeamil.hu

További információ:

Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read next generation DNA sequencing, *Biotechnology for Biofuels* 2012, 5:41.