

Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok FK-129266 számú pályázat keretén belül igényelt rendelés szakmaspecifikus leírása

Beszerzési eljárás tárgyának pontos leírása:

Shotgun könyvtárkészítés metagenom analízishez 33db

Illumina szekvenálás 2x150 PE leolvasással ~3M leolvasás 33 db

Bioinformatikai analízis 33 db

A szekvenálás-alapú metagenomika alkalmas komplex mikrobiális közösségek pontos összetételének meghatározására, anélkül hogy a közösség egyes tagjait tenyésztetni kellene. Információt nyújt a mikrobák együttműködéséről, a közösségi szintű anyagcserefolyamatokról is, mely tovább növeli a módszer jelentőségét. A mikrobióm-kutatások jelenleg forrongó témaköre az orvos-mikrobiológiai tudományos életnek, és pillanatnyilag az Illumina szekvenálás és shotgun könyvtárkészítés a legmodernebb és precízebb módja a metagenom analízisnek.

A genom szekvenálása, vagyis nagyon hosszú, összefüggő DNS szakaszok szekvenciájának meghatározása összetett művelet, mivel a szekvenálás eredményeként kapott néhány száz bázispár hosszúságú DNS szakaszokból össze kell állítani a nagyságrendekkel nagyobb genom (az egy-egy kromoszómának megfelelő DNS molekulák) teljes szekvenciáját. Az összeállításra alapvetően két technikát különböztethetünk meg. A régebbi és nagyon munkaigényes technika a térkép-alapú módszer. A másik az úgynevezett **teljes genom shotgun** („sörétes puska“) **módszer (WGS=Whole Genome Shotgun sequencing)**, amely egyszerűbb, de nagyon komoly számítástechnikai kapacitást igényel. A DNS-t itt is „feldarabolják”, de jóval kisebb szakaszokra. Hagyományos WGS esetén plazmid vektorokat használnak, és a végeredmény egy sok százezer vagy akár millió tagból álló „plazmid könyvtár”. Az így kapott klónokat szekvenálják, és az átfedő szekvenciarészletek alapján szekvencia-kontigokat állítanak össze, majd a teljes genom szekvenciáját. (1) **Új generációs (NGS) WGS** esetén is kontigokat hoznak létre, de a klónok felszaporítása nem a vektorba ligálás-mikróbákkal felszaporítás módján történik, hanem közvetlenül már a szekvenálás során a genomot fragmentálják, ezeket a fragmenseket valamilyen felületre kötik, felszaporítják, majd a klónokat szekvenálják és a kontigokat illesztik. Az NGS legnagyobb előnye, hogy párhuzamosan tud sok százezer/millió

nyerhetünk a kutatásunkhoz az Illumina szekvenálás és shotgun könyvtárkészítés alkalmazásával.

Felhasznált irodalom:

1. Nyitray László, Alexa Anita, Fodor Krisztián, Garai Ágnes, Glatz Gábor, Radnai László, Rapali Péter, Szakács Dávid, Várkuti Boglárka, Zeke András: Géntechnológia és fehérjemérnökség (2013) Eötvös Loránd Tudományegyetem

Szeged, 2021. április 28.

Tisztelettel: -----

Dr. Bálint Anita