

Metagenomika – omiczna analiza mikroflory żywności

Jakub Żmuda, Gabriela Zosiuk, Jan Sadurski

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

WPROWADZENIE

Metagenomika

Stanowi część przełomowej rewolucji w diagnostyce bezpieczeństwa żywności. Ma potencjał w bezpośredniej identyfikacji całych społeczności drobnoustrojów w żywności lub próbce środowiskowej

Zastosowanie w badaniach żywności

Pomimo ciągłego postępu w nauce i technologii żywności, zakażenia patogenami przenoszonymi przez żywność są nadal powszechne na całym świecie, powodując ponad 548 milionów chorób i 230 000 zgonów rocznie. Rutynowe monitorowanie mikrobiomu surowca, może ujawnić zmiany w liczbie i typie obecnych mikroorganizmów, które zaalarmują przetwórcę o potencjalnych zmianach i ryzyku związanym z bezpieczeństwem produktu lub jakością, powodując podjęcie działań dochodzeniowych i zaradczych. Przykładem patogenów przenoszonych na żywność, wykrywanych z wykorzystaniem metod metagenomicznych, są patogenne szczepy *Escherichia coli*, *Salmonella* czy *Clostridium*.

Metody sekwencjonowania

Pierwszej generacji

Metoda Sanger jest znana jako sekwencjonowanie metodą syntezy. Polega na wykorzystaniu jednej nici dwuniciowego DNA, jako matrycy do sekwencjonowania. Stosuje modyfikowane chemicznie nukleotydy, zwane dideoksynukleotydami (dNTP). Po włączeniu do nici DNA zapobiegają dalszemu wydłużaniu. Następnie otrzymujemy fragmenty DNA zakończone dNTP o różnej wielkości. Fragmenty rozdziela się wg. wielkości za pomocą elektroforezy, gdzie powstałe odcinki można pokazać za pomocą promieniowania rentgenowskiego lub UV.

Drugiej generacji

Sekwencjonowanie możliwe jest dzięki zastosowaniu platformom, jak Roche/454, Illumina czy Ion torrent. Uzyskiwane jest generowanie wielu milionów krótkich odczytów jednocześnie, ponadto sam proces jest szybki, a koszty niższe. Wynik jest wyświetlany bezpośrednio, bez konieczności przeprowadzenia elektroforezy. Wymagają jednak amplifikacji PCR, która jest czasochłonna i kosztowną procedurą, a odczyty są krótkie.

Trzeciej generacji

Aby zaradzić powyższym problemom, opracowana została metoda PacBio. Zapewnia niski koszt sekwencjonowania bez konieczności przeprowadzania PCR. Czas wykonania jest jeszcze krótszy, a wielkość odczytów - długa, przekraczająca kilka kilobaz w celu rozwiązania problemu powtarzalnych regionów u złożonych genomów.

Podsumowanie

Liczba badań wykorzystujących wysokoprzepustowe sekwencjonowanie do analizy mikrobiomu żywności ciągle wzrasta. W latach 2010-2021, „mikrobiota żywności” lub „mikrobiom żywności” w bazie danych Web of Science osiągnęło 25 448 publikacji. Przeglądy skoncentrowały były szczególnie na zastosowaniach związanych z bezpieczeństwem żywności i psuciem się. Inne zastosowania podejść metagenomicznych w przemyśle spożywczym są szerokie – o tematyce autentyczności żywności, pochodzenia lub zrozumienia składu mikrobiologicznego probiotyków i żywności fermentowanej, aż po potwierdzenia autentyczności surowców - identyfikacja podróbek lub zanieczyszczeń surowców, które mogą być niebezpieczne, takich jak alergeny lub toksyny a nawet potencjalnie groźne patogeny.

Źródła

1. C. Billington, J. M. Kingsbury, L. Rivas "Metagenomics Approaches for Improving Food Safety: A Review" *Journal of Food Protection* Vol. 85, Issue 3, 2022, p. 448-464
2. M. Kchouk1, J.F. Gibrat, M. Elloumi "Generations of Sequencing Technologies: From First to Next Generation" *Biol Med (Aligarh)* 2017
3. R.R. Miller, V. Montoya, J. L. Gardy "Metagenomics for pathogen detection in public health", *SpringerLink* 2013