

# Mikróby, nádory a bioinformatika

Eva Budinská

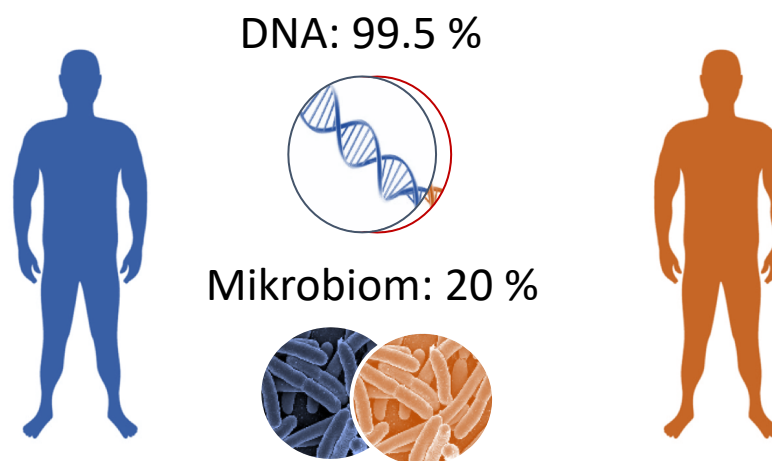
17.2.2020



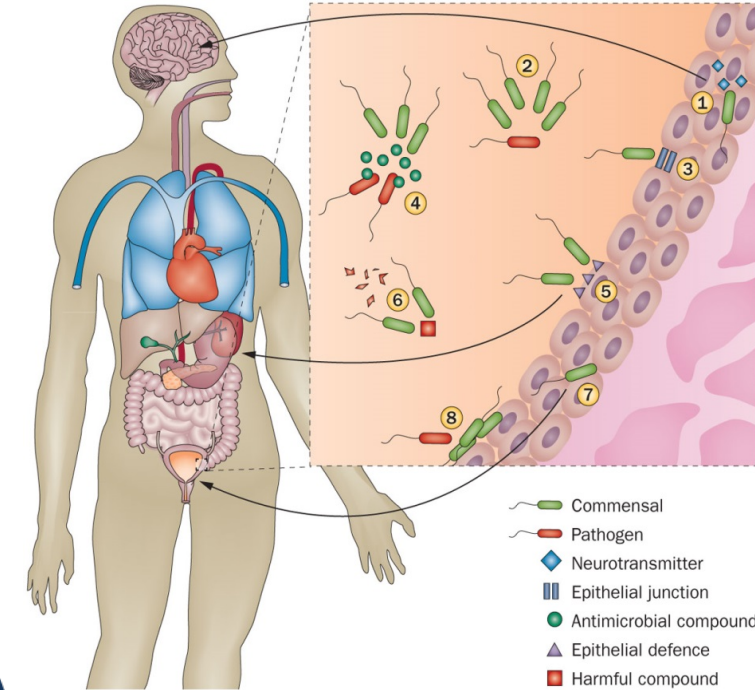
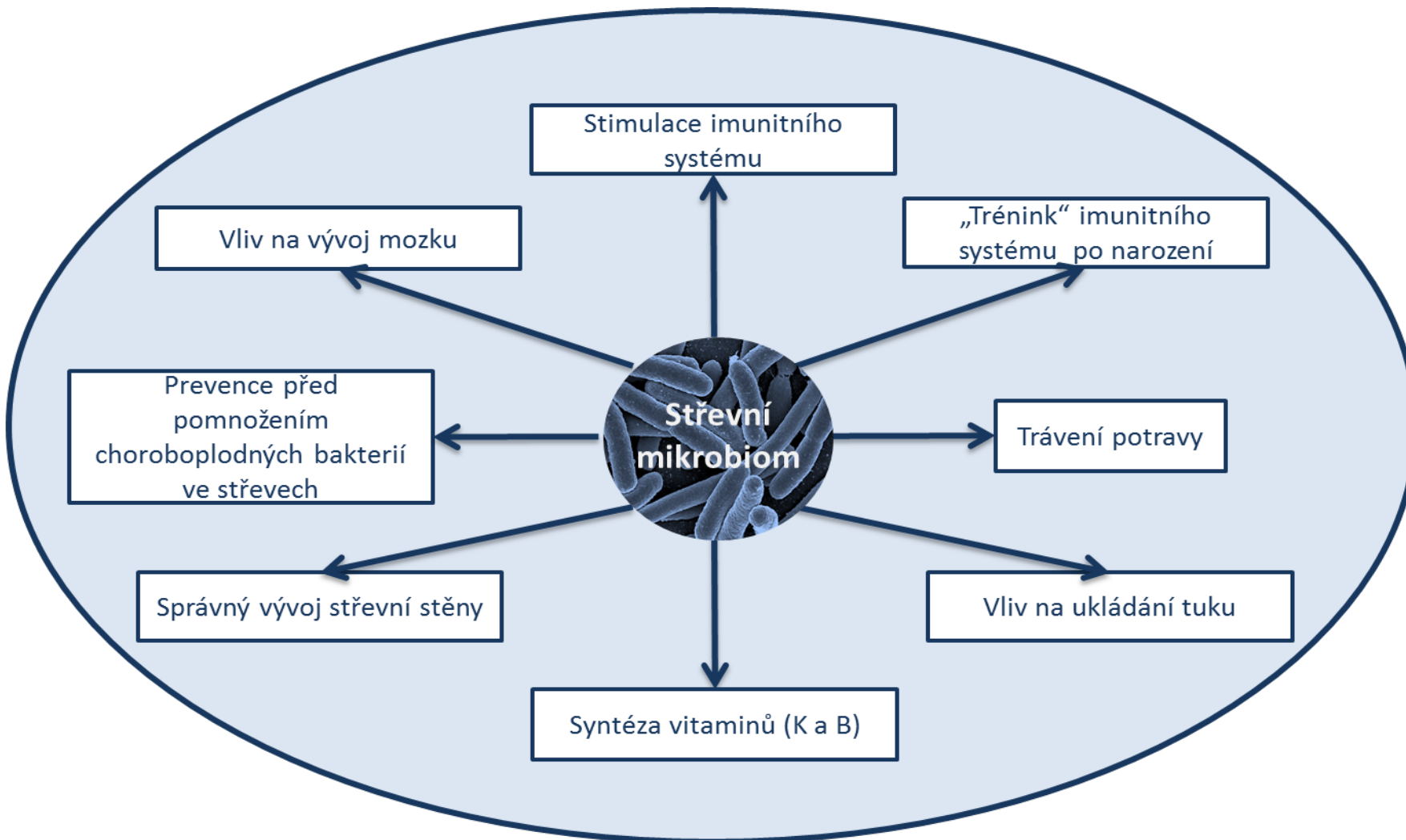
# Mikróby a člověk

# Mikróby – věděli jste, že?

- Bakterií máme v těle více, než vlastních buněk
- Bakteriální geny převyšují počtem geny lidské 100:1
- Ve střevě žije více než 1000 druhů bakterií
- Na základě mikrobiomu lze identifikovat člověka podobně, jako pomocí otisku prstů
- Každý člověk má individuální složení střevního mikrobiomu, liší se z 80-90%

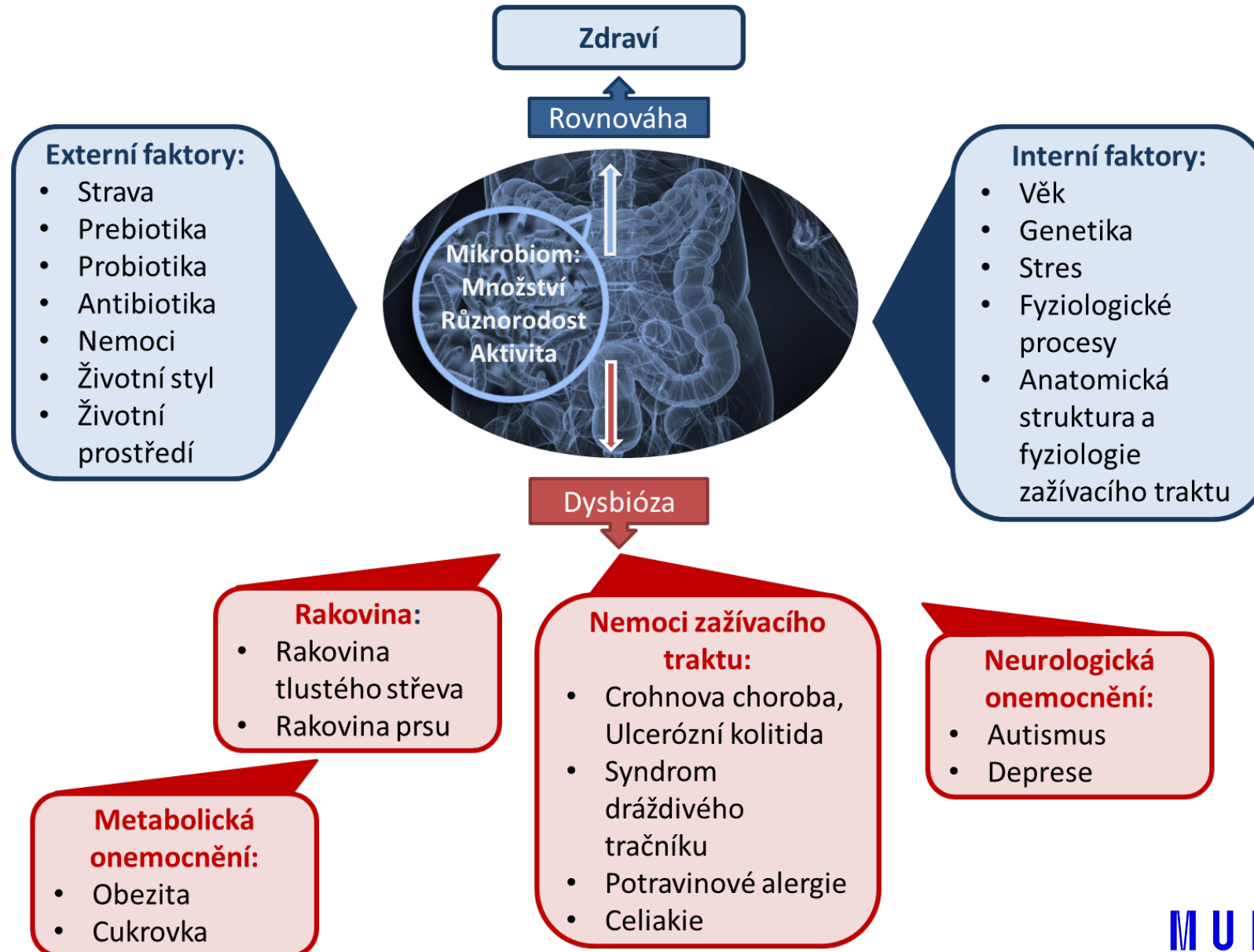


# Význam mikrobiomu

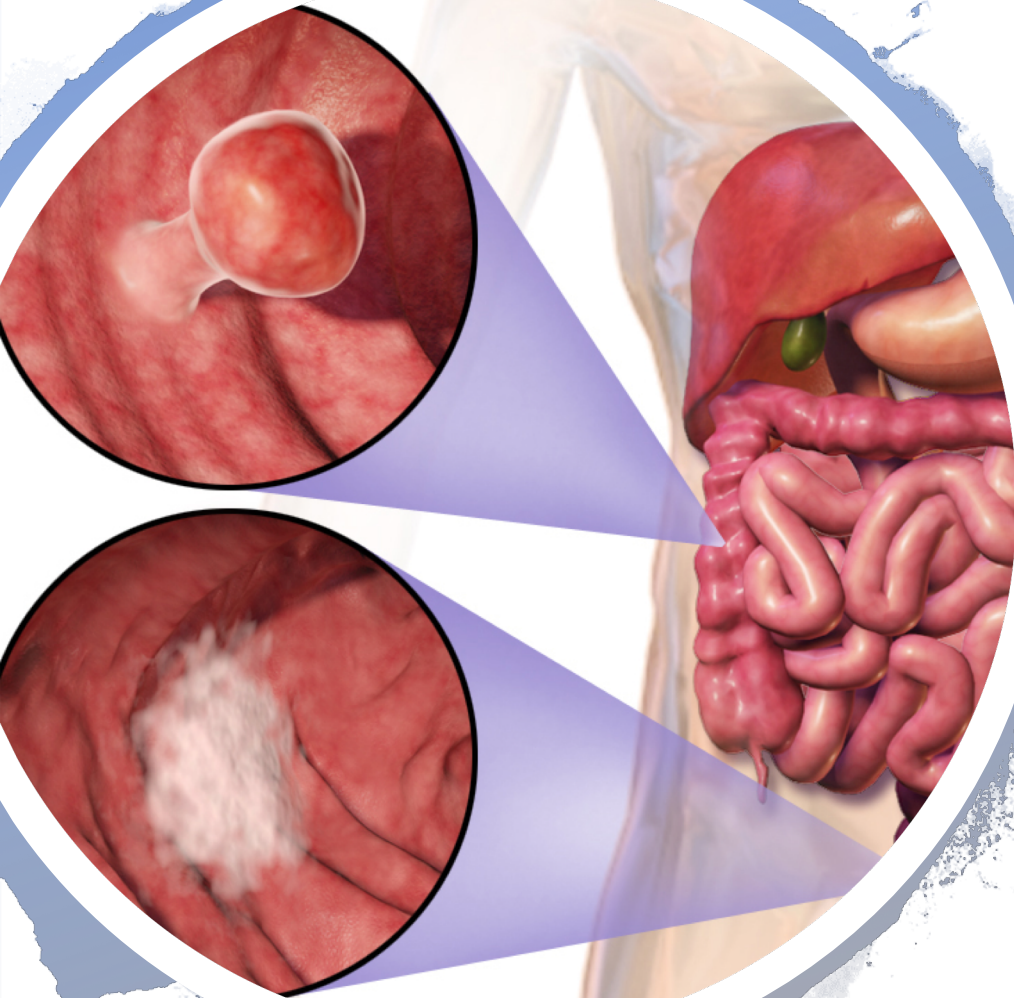


Sommer, F. & Bäckhed, F. Nat. Rev. Microbiol. Publ. Online; 2013

# Mikrobiom v nemoci i ve zdraví

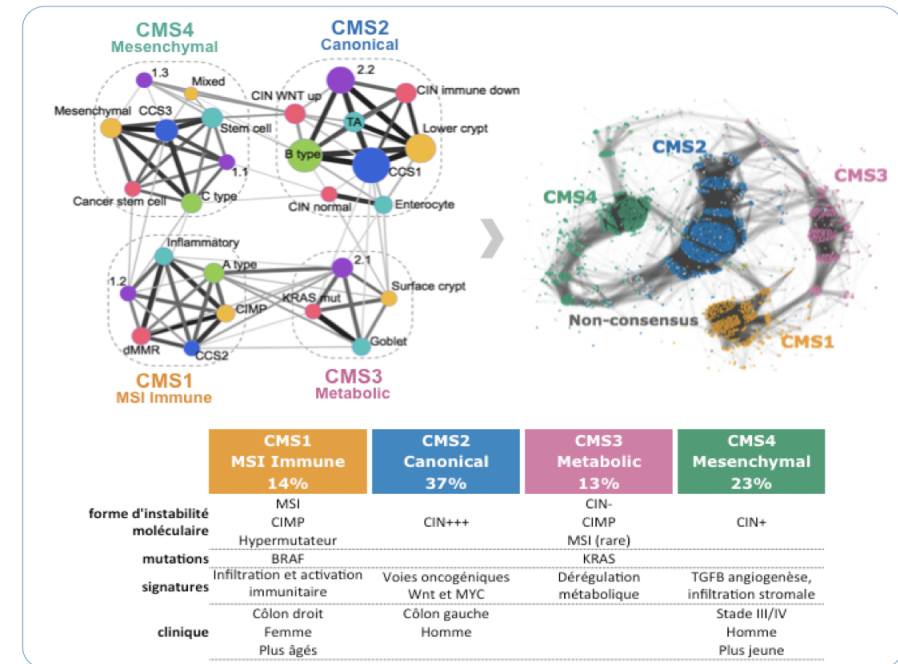
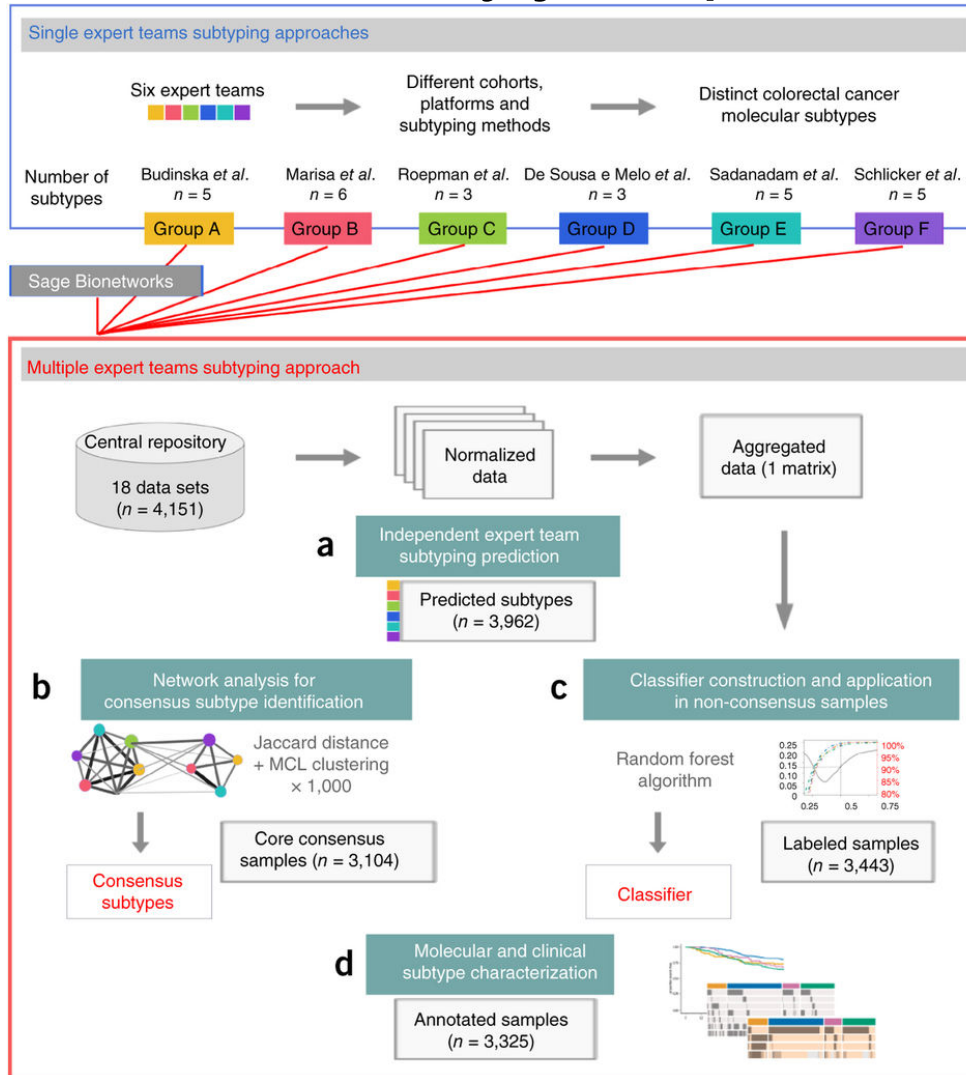


# Rakovina tlustého střeva

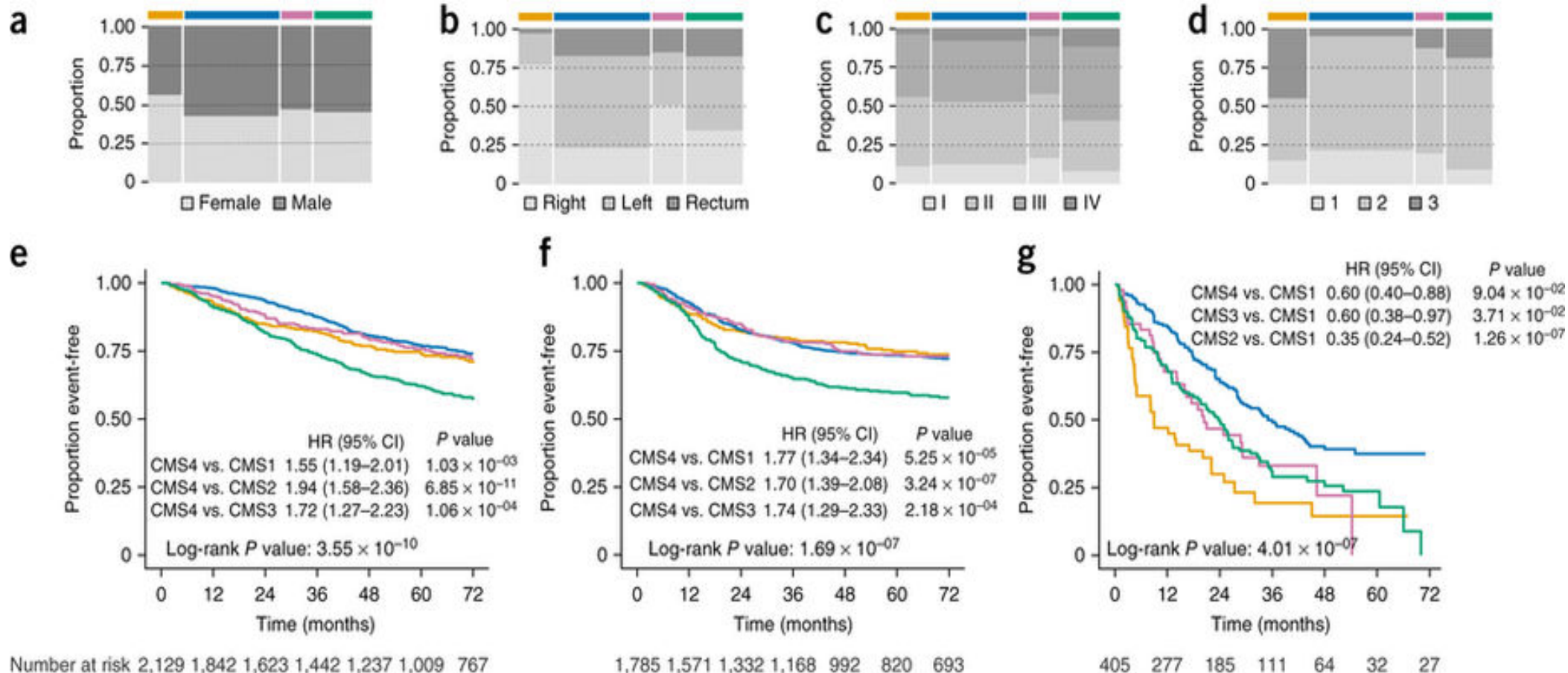


- 2. nejčastější nádorové onemocnění v ČR (3. na světě)
- Velice heterogenní (různorodé)
- Nádory se stejnými klinickými charakteristikami mají úplně jinou odpověď na léčbu
  
- Řešení se hledají na **molekulární úrovni!**
- Studuje se teda **genom, transkriptom, epigenom, proteom .... nově i mikrobiom nádorů**

# Nádory tlustého střeva se liší aktivitou svých genů – rozdíly jsou patrné na molekulární úrovni



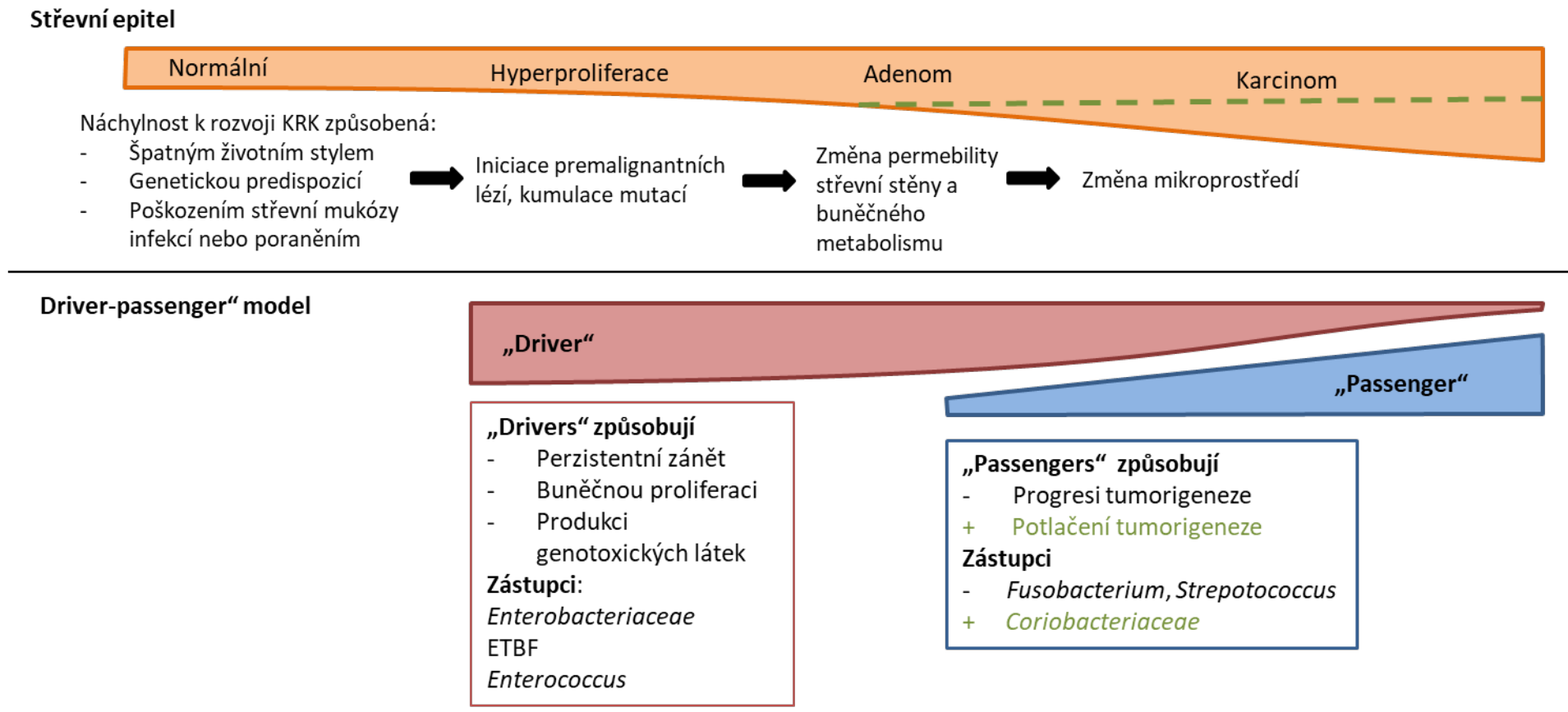
... a také z pohledu přežití pacientů...



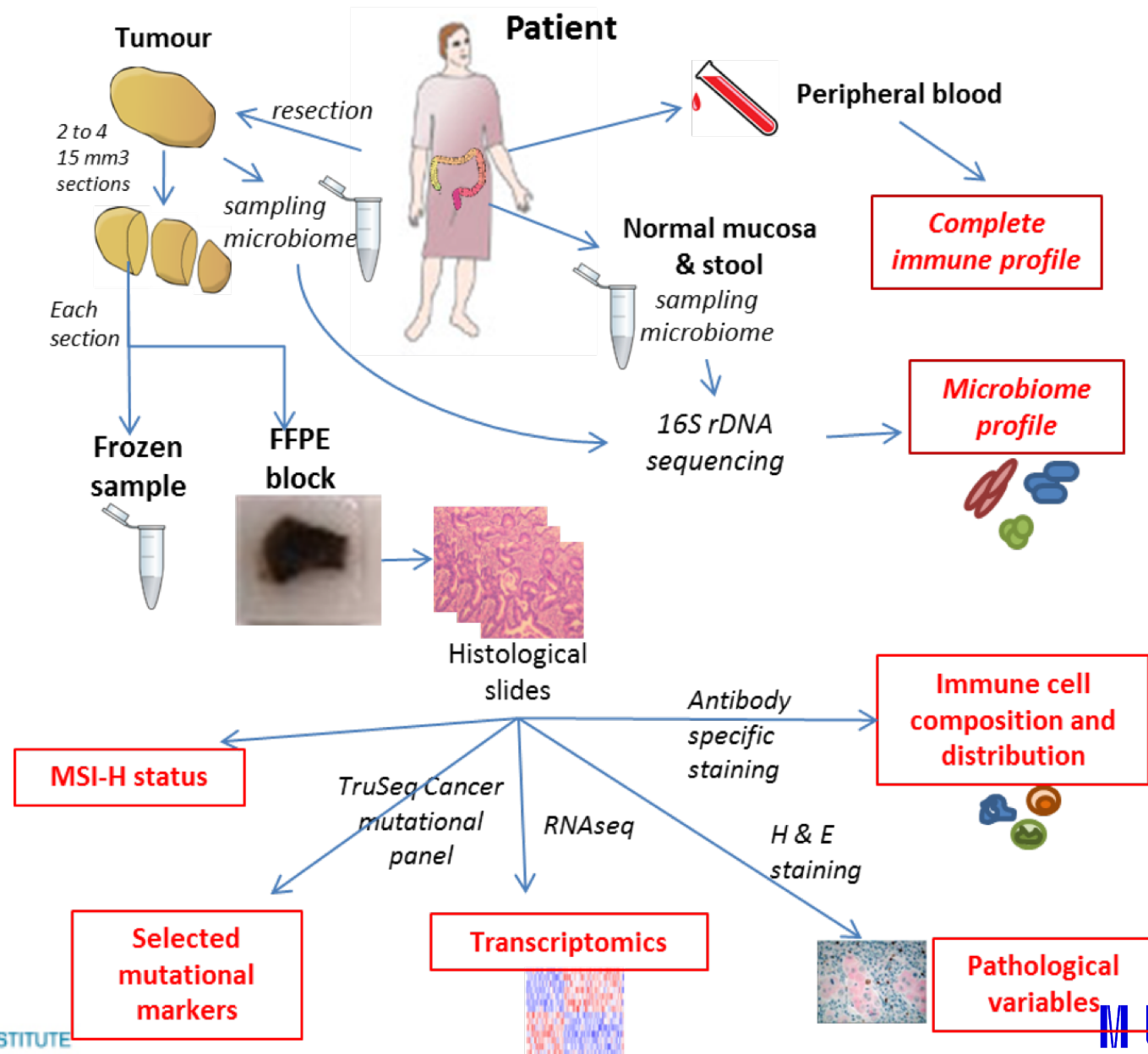


# Vliv mikrobiomu na vývoj rakoviny tlustého střeva

## Bakteriální „driver-passenger“ model

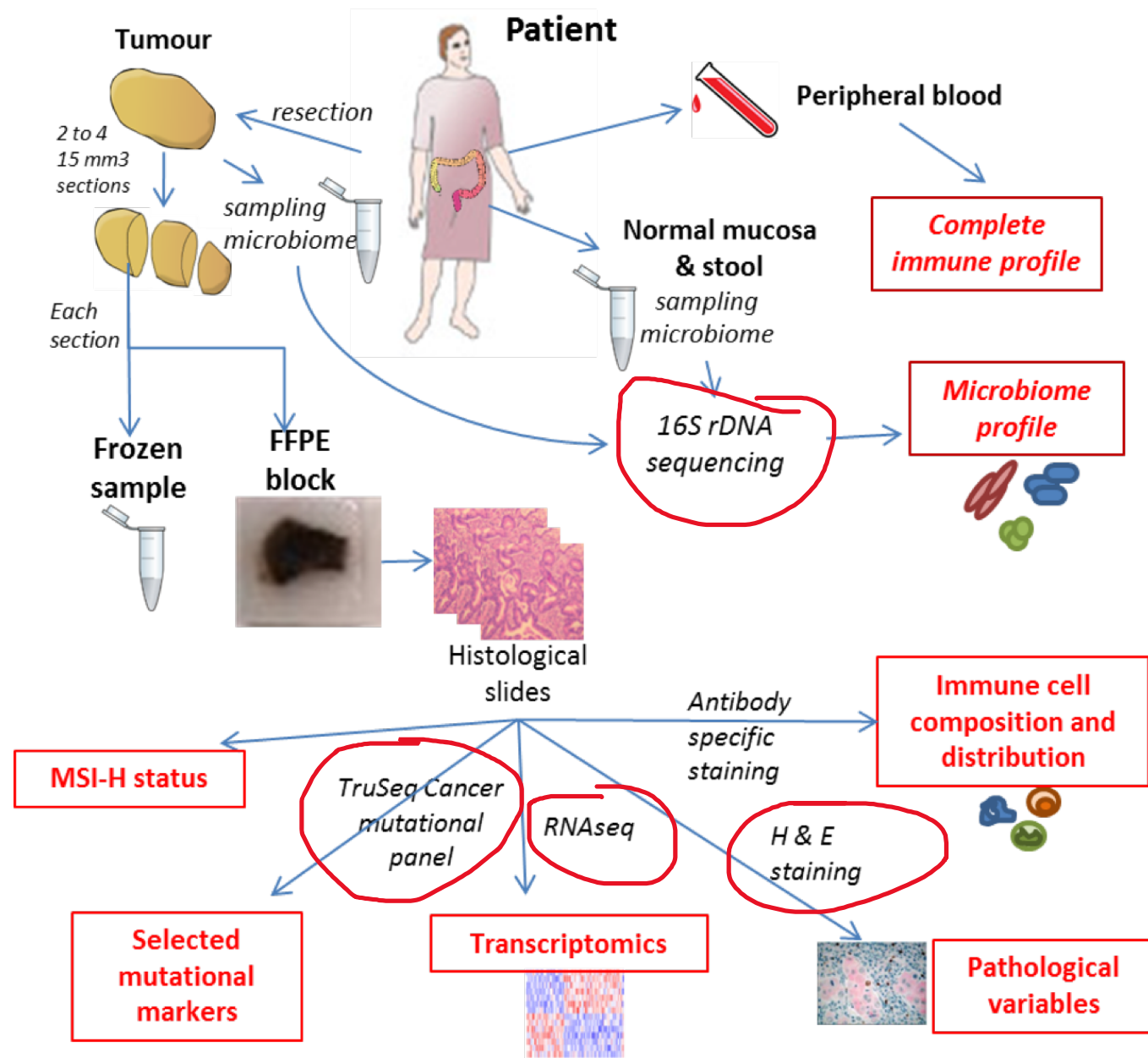


# Komplexní pohled na různorodost rakoviny tlustého střeva

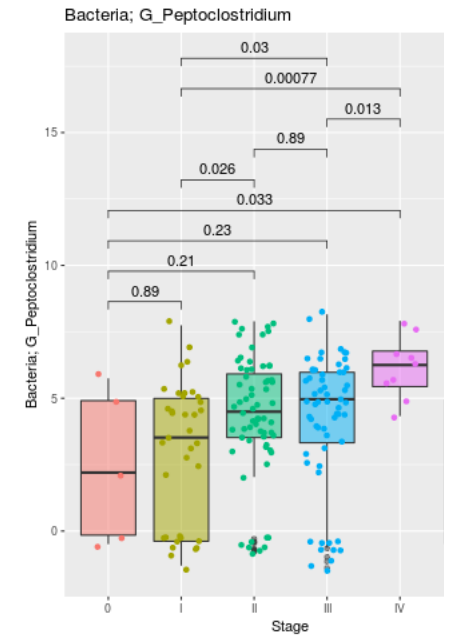
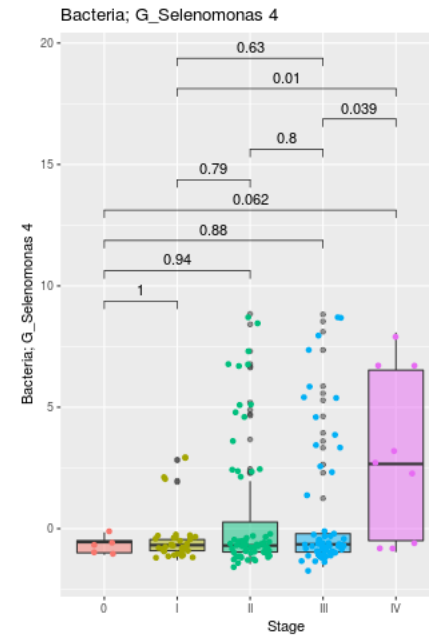
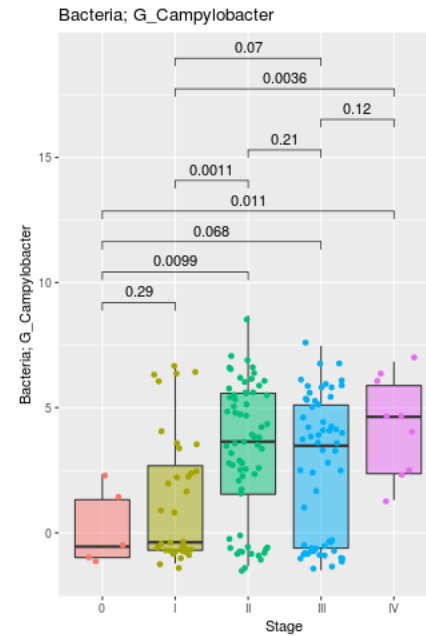
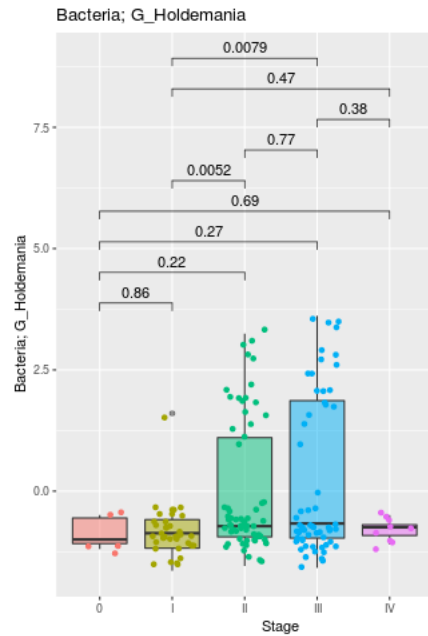
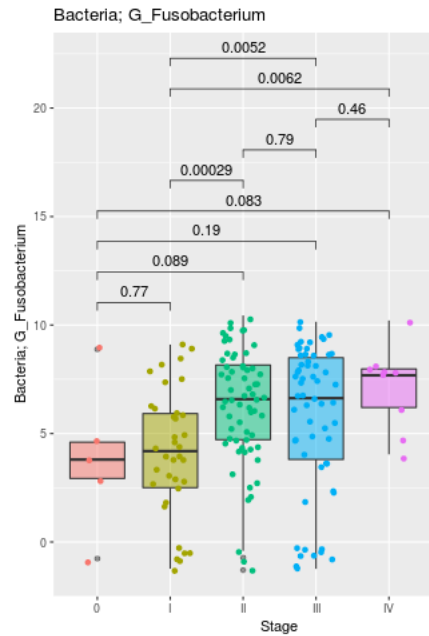


# Cíle projektu Střevobiom

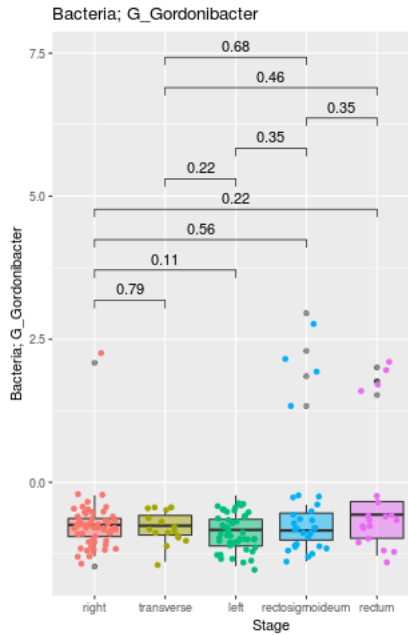
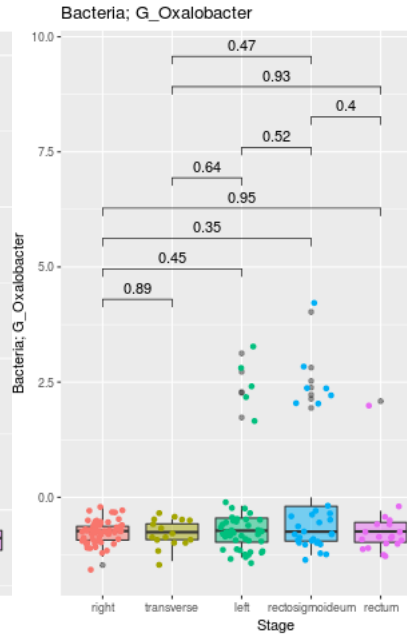
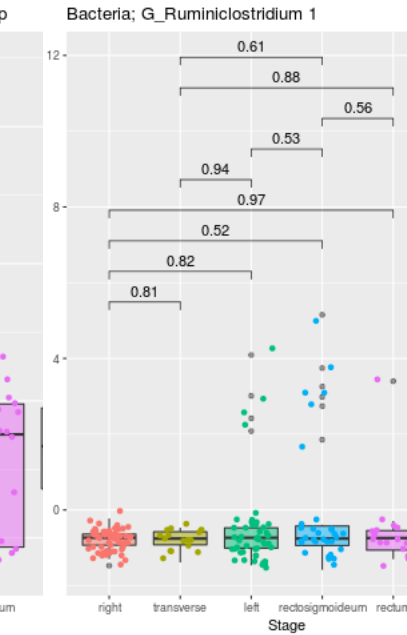
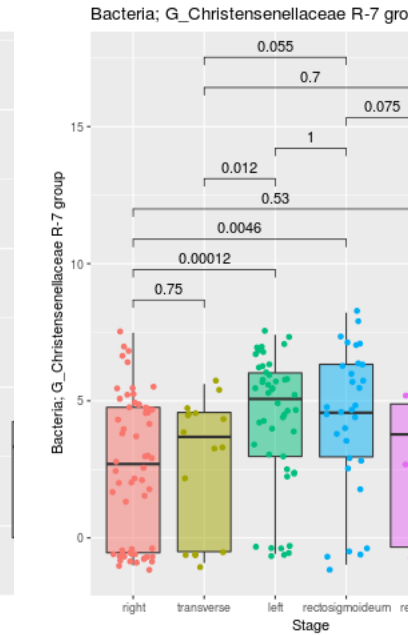
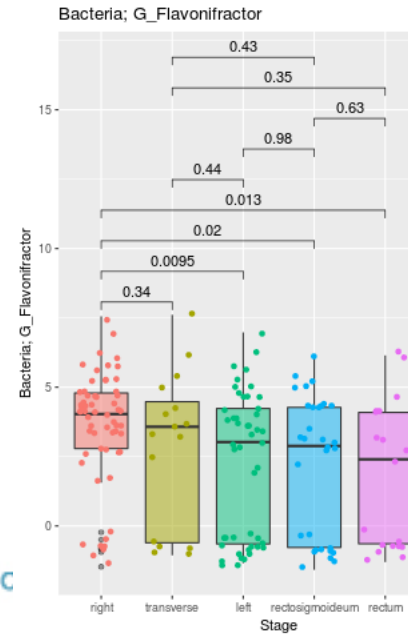
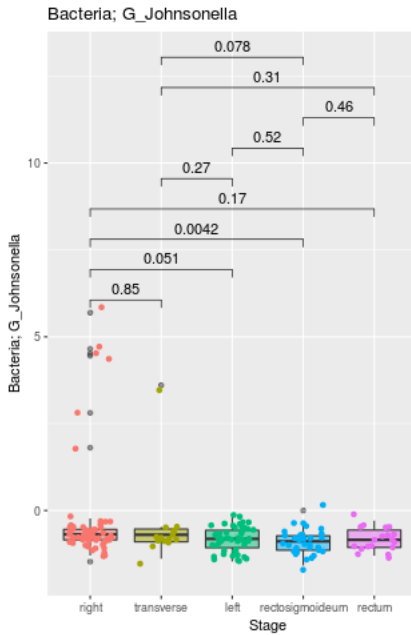
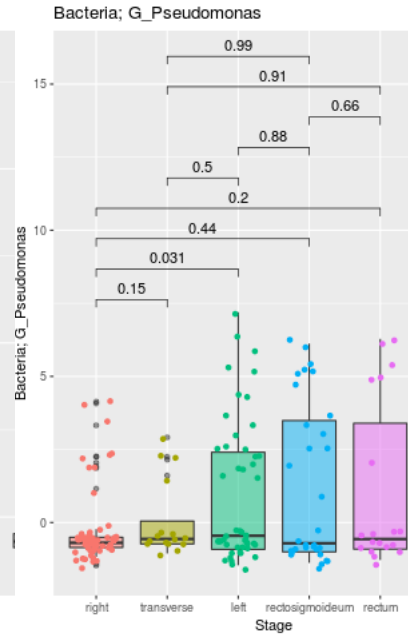
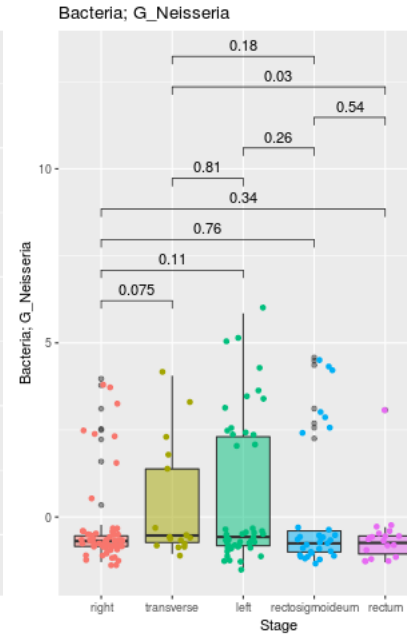
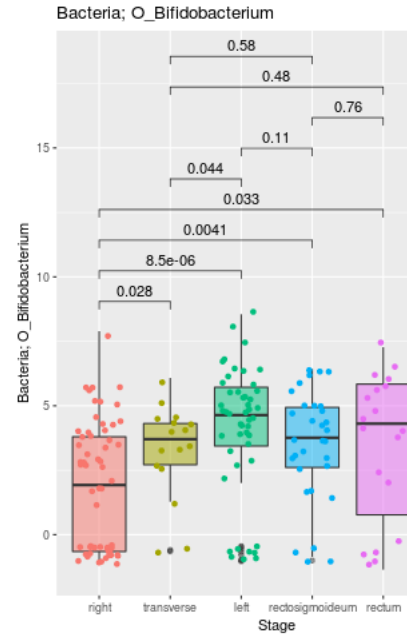
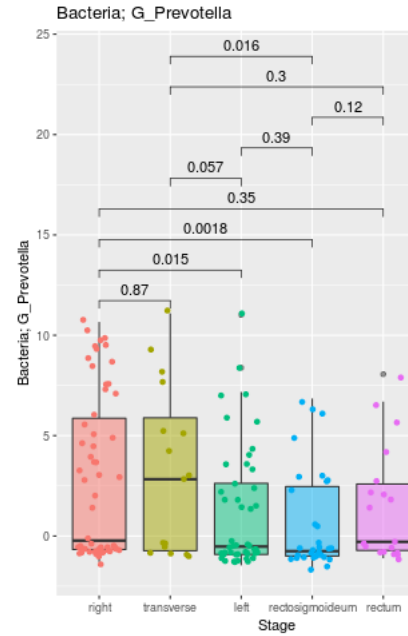
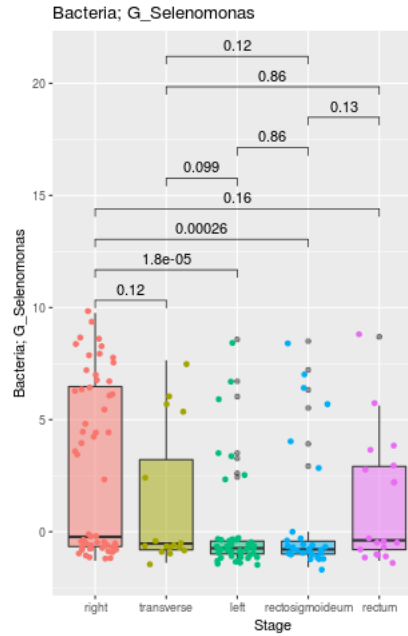
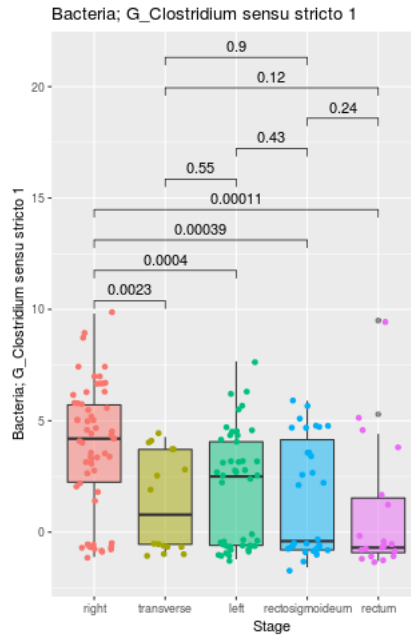
- Zjistit jaký mikrobiom je na nádorech a jak to souvisí s jejich molekulárním profilem, agresivitou
- Definovat nové molekulárně-imunitně-histopatologicko-mikrobiální podtypy



# Bakteriální rody se změnou abundance mezi různými nádory různých stadií

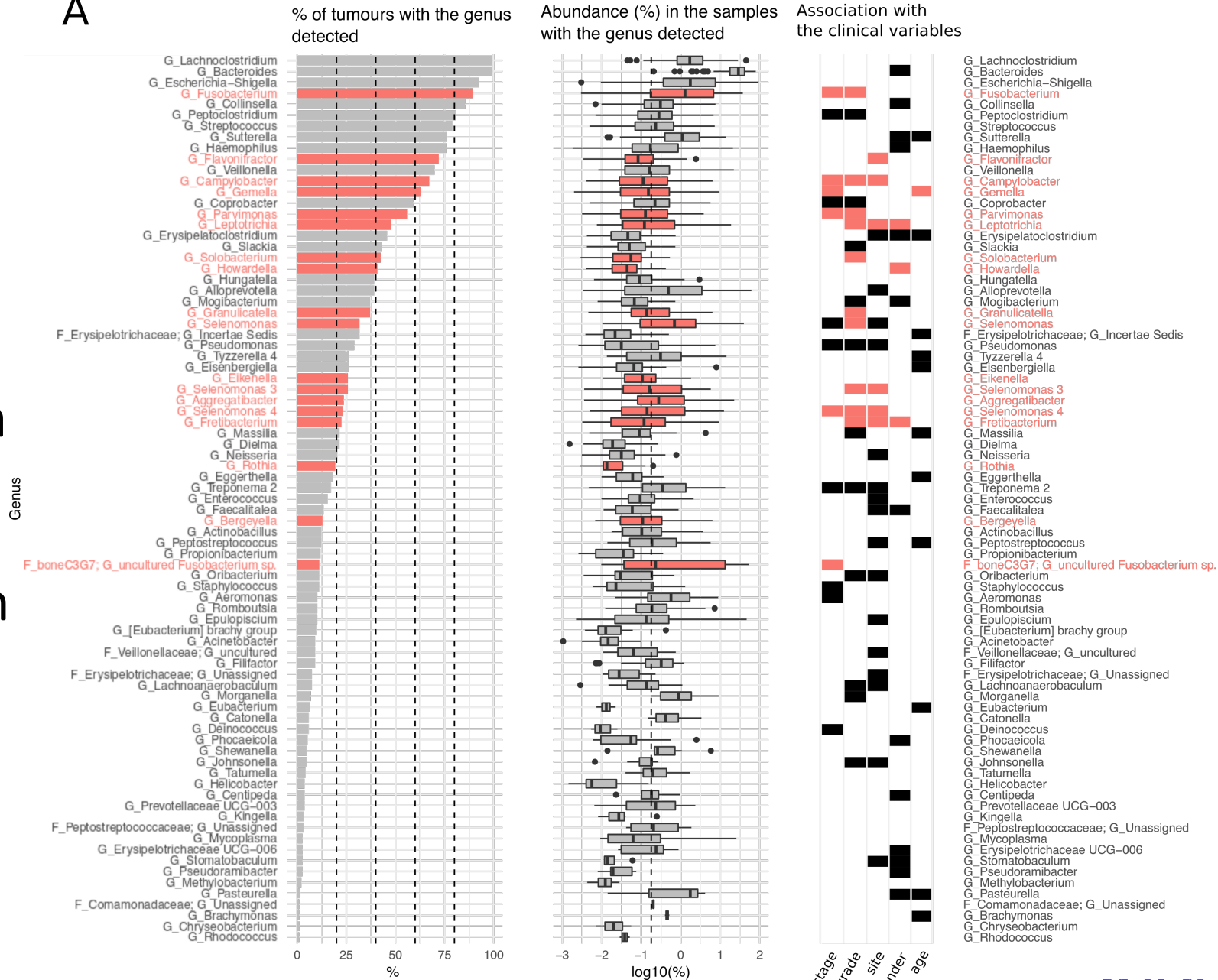


# Bakteriální rody a pozice nádoru

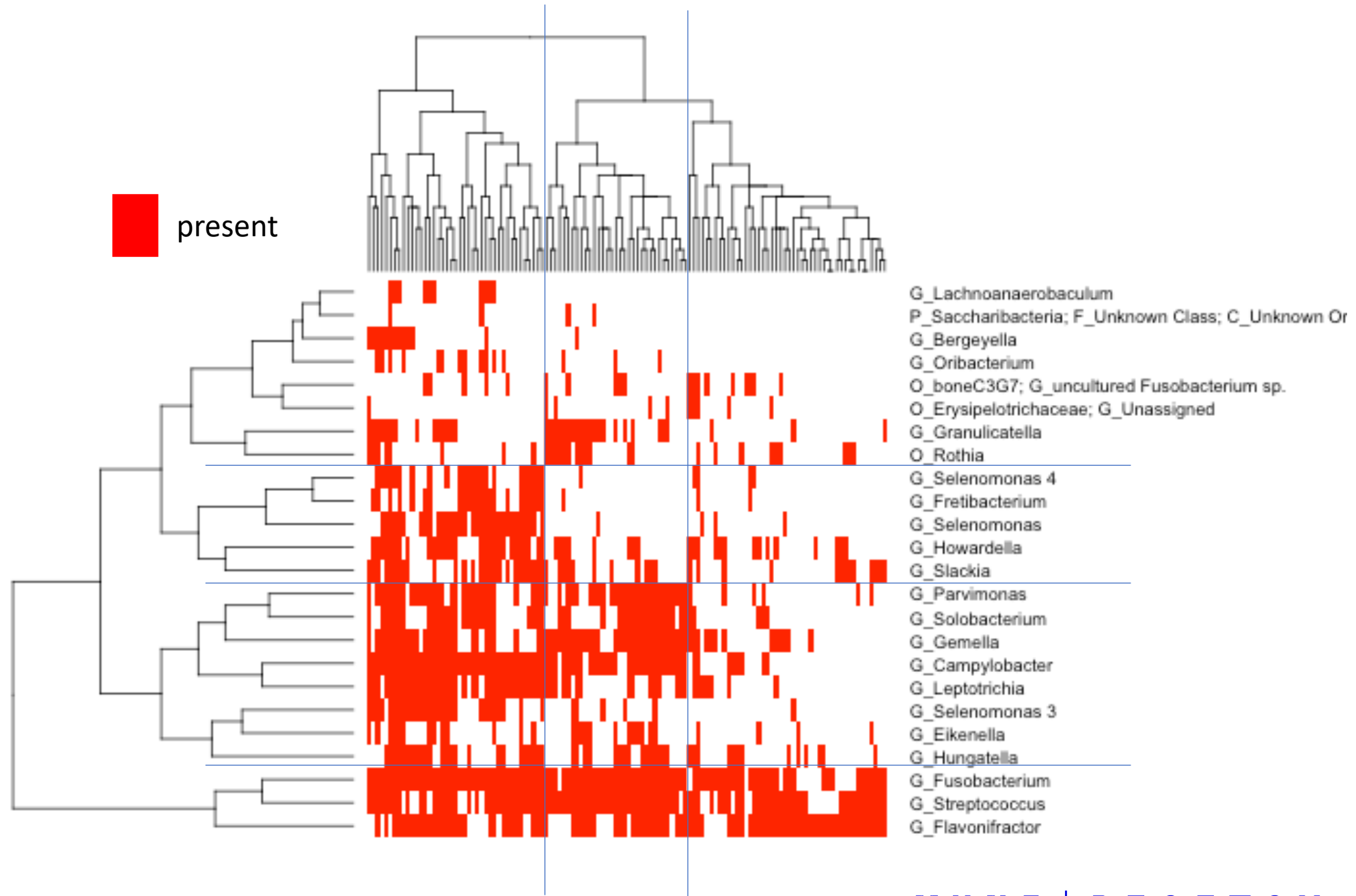


Bakterie významně častěji se vyskytující na nádorech v porovnání se stolicí a jejich asociace s klinickými proměnnými

A

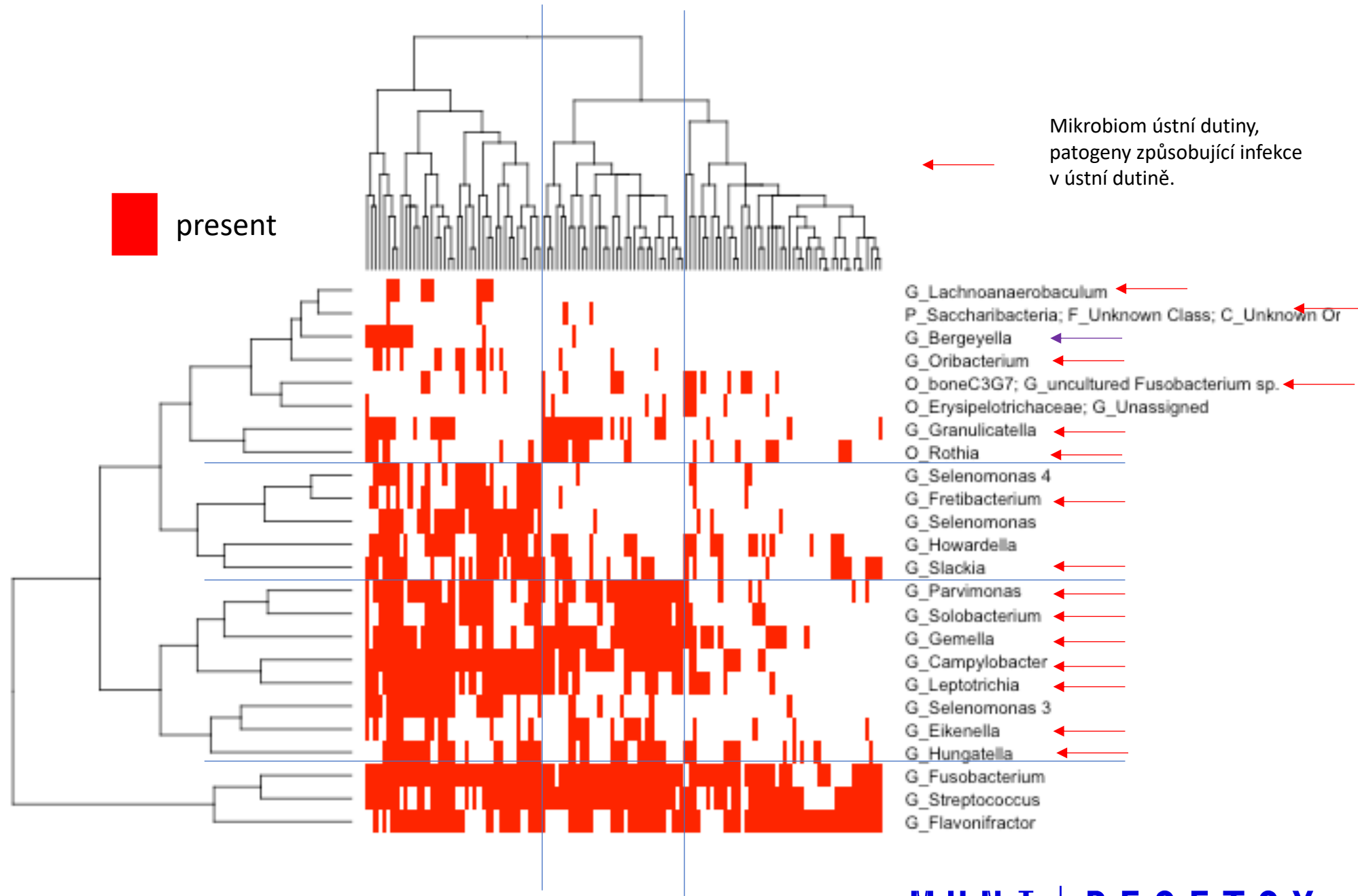


# Shlukování nádorů na základě bakterií které jsou na jejich povrchu

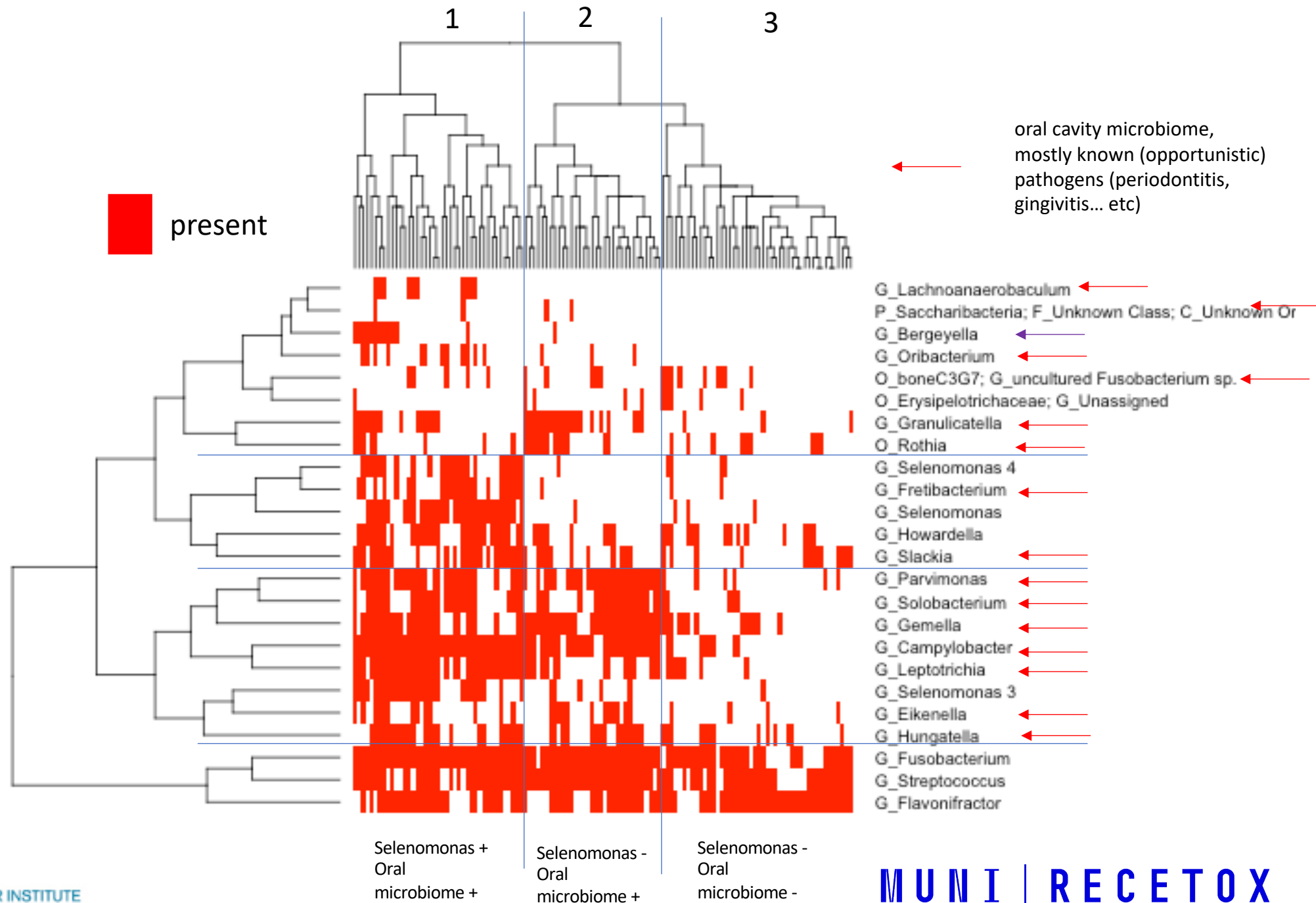




# Shlukování nádorů na základě bakterií které jsou na jejich povrchu



# Shlukování nádorů na základě bakterií které jsou na jejich povrchu



Jak získáme informaci o druzích bakterií a jejich abundancích v stěrech z nádorů nebo ze stolice?

# Klasické způsoby studia mikrobů

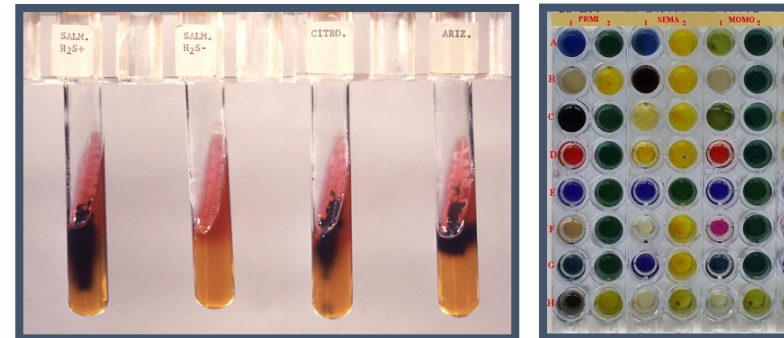
## Kultivace



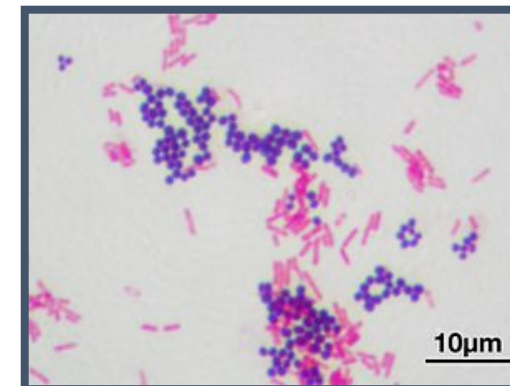
Izolace čistých kultur



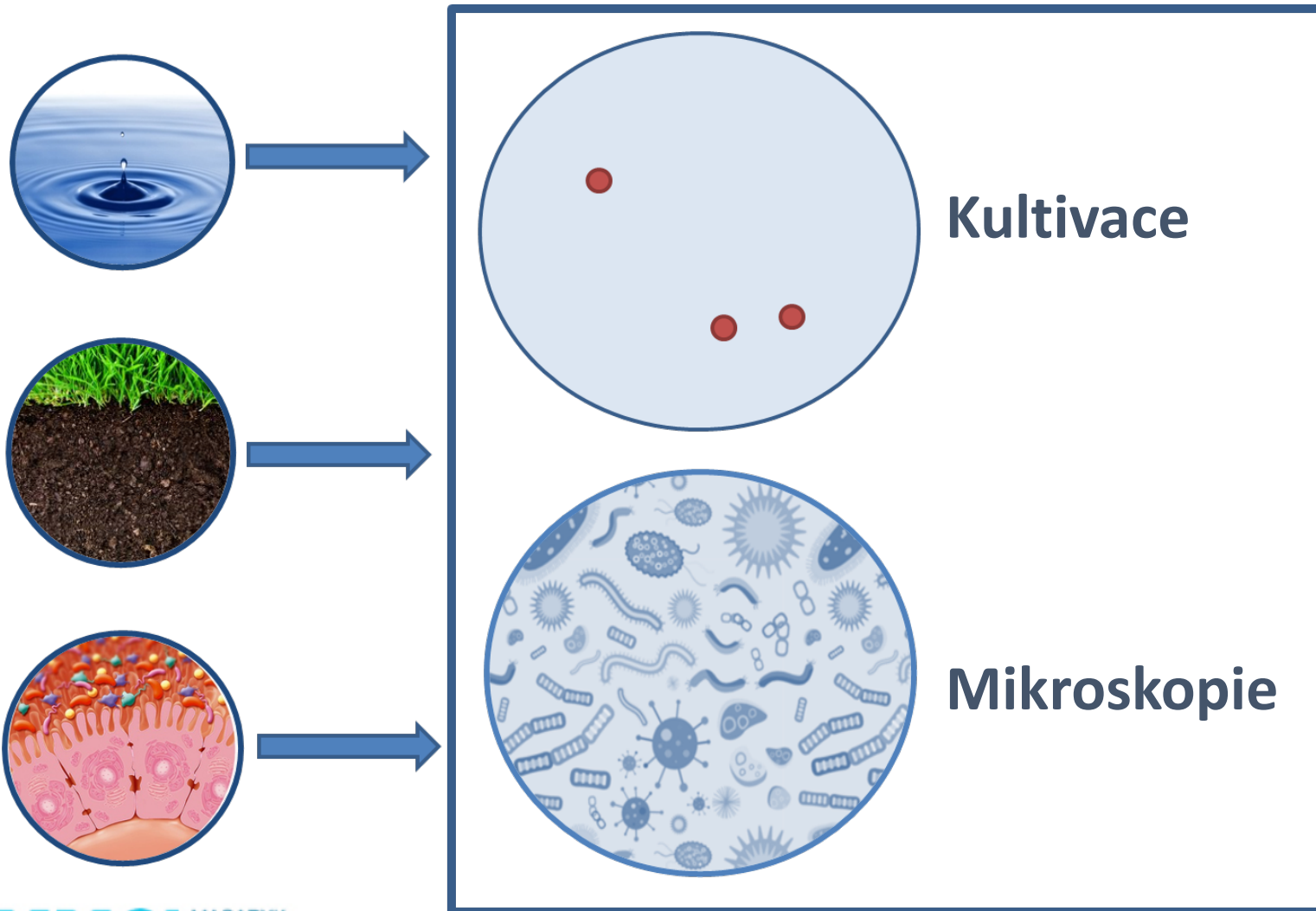
## Biochemické testy



## Mikroskopie



# Problémy klasických technik

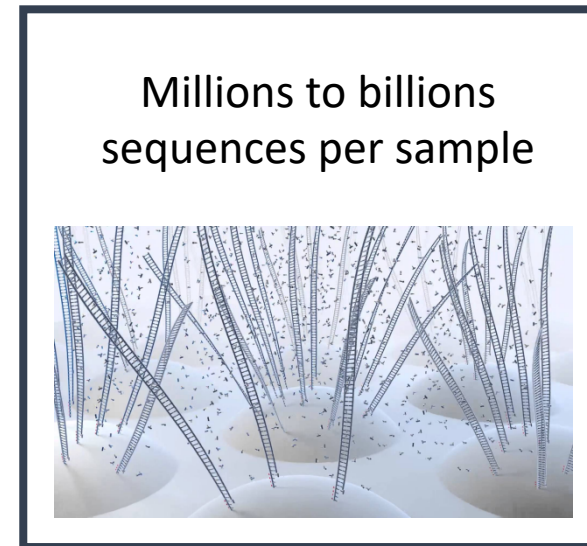
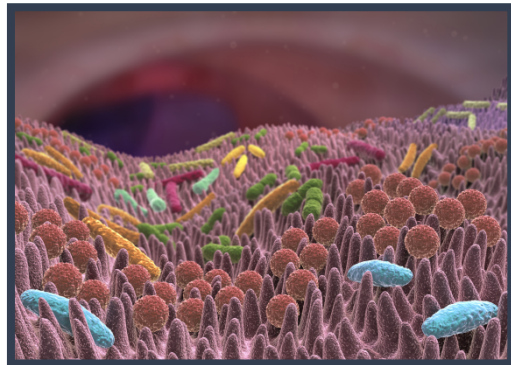


Zdaleka ne všechny bakterie lze jednoduše kultivovat!

Odlišné bakterie vypadají stejně!

# Jak studujeme bakterie, které nelze kultivovat?

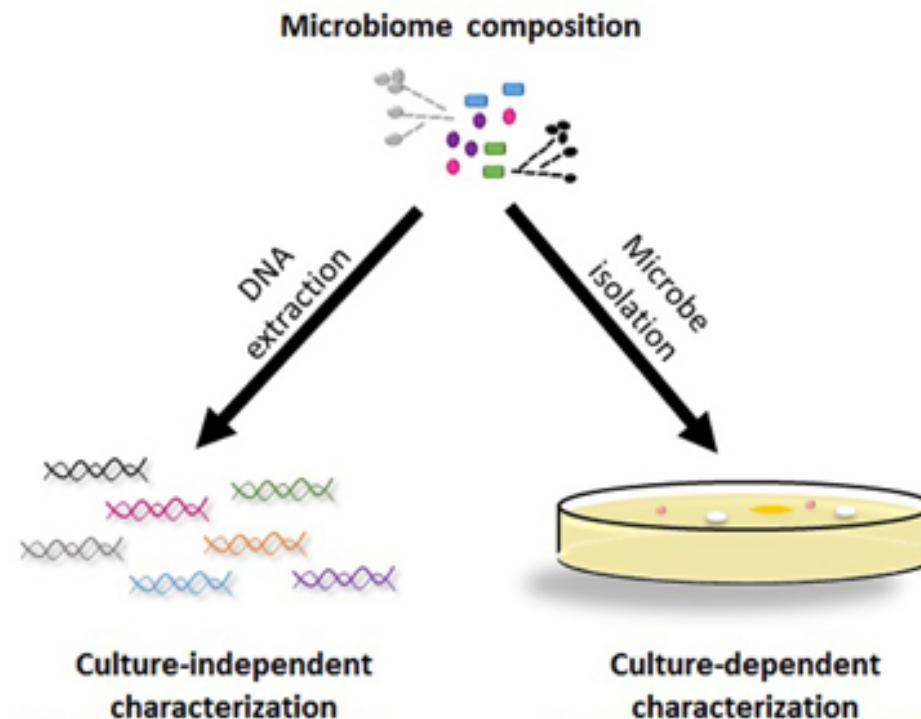
**Pomocí sekvenace DNA (>99,9% bakterií je nekultivovaných - neznámých)**



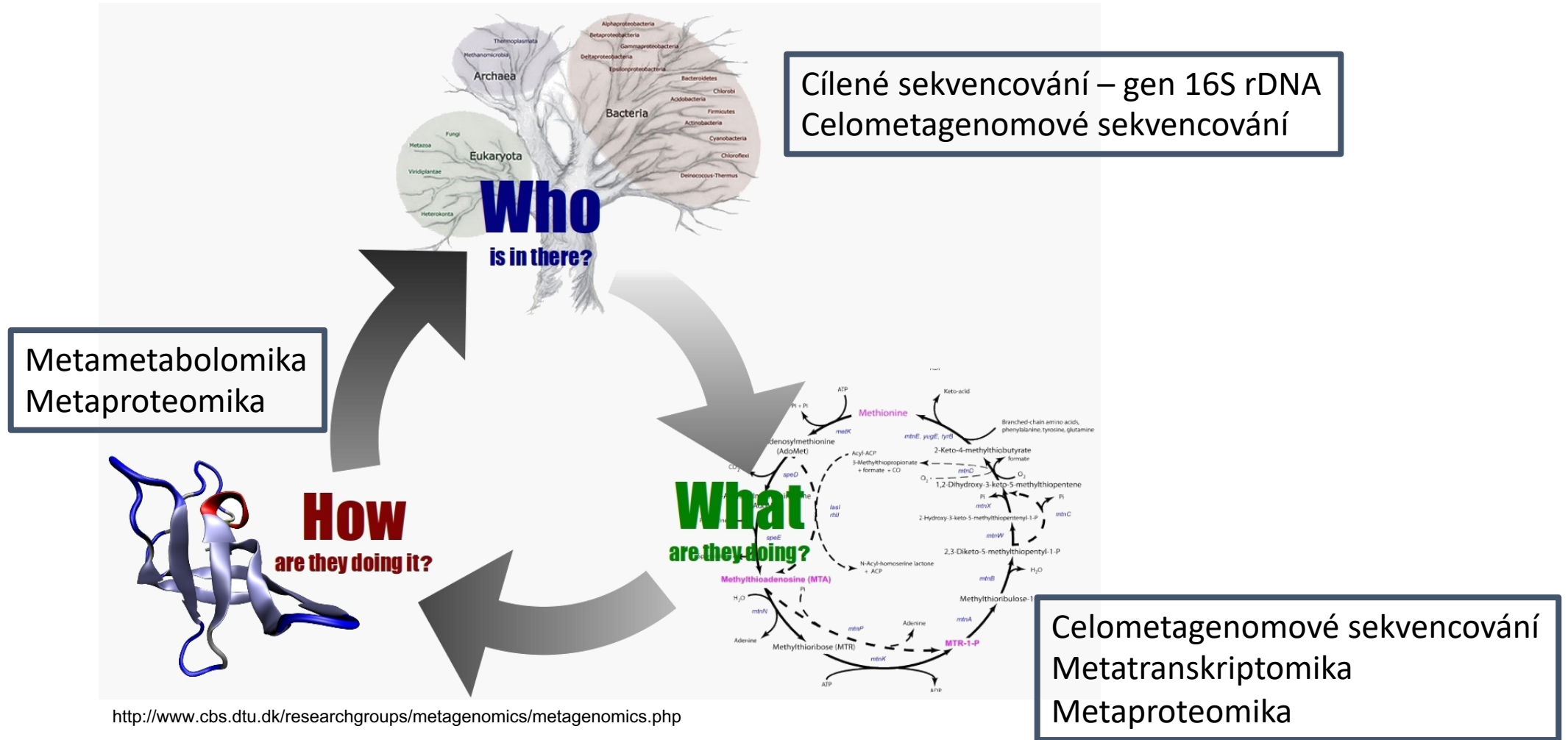
80-tá léta – 12 bakteriálních kmenů, každý reprezentován kultivovanými zástupci  
Dnes: více než 100 bakteriálních kmenů 2/3 nemají žádné kultivované zástupce

# Metagenomika

- Analýza genomu mikrobů nezávislá na kultivaci
- Metagenom = veškerý genetický materiál ve vzorku, skládá se z genomů mnoha organismů



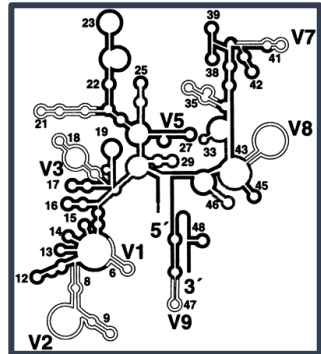
# Metody studia mikrobiomu





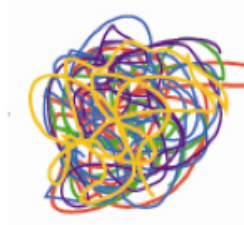
# Cílené sekvencování 16S rRNA genu

Kdo je tam?



Sample  
(e.g. water,  
soil, sediment,  
faeces, biopsy, ...)

DNA  
extraction



DNA

PCR



PCR-amplified  
rRNA genes

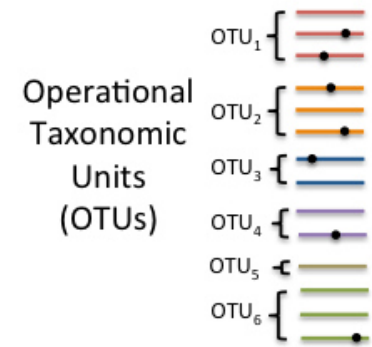
DNA  
sequencing

```
>seq1
AATGTAGTA...
>seq2
AACGTAGGT...
>seq3
...
```

rRNA gene  
sequences

laboratoř

cluster  
sequences ↓ (e.g. >99%  
Identity)

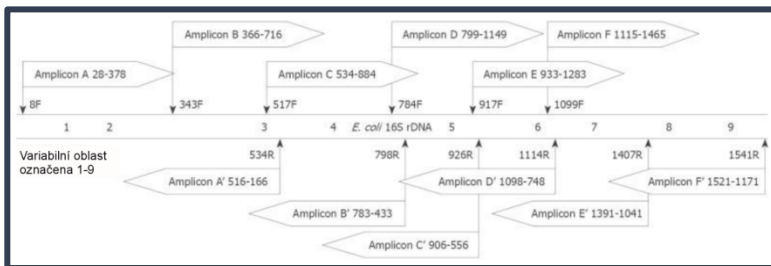


OTU	Species	Sample1	Sample2	Sample3
1	<i>E.coli</i>	17	0	335
2	<i>S.aurus</i>	231	11800	45
3	unknown	30	0	0
...	...	...	...	...

Counts of OTUs  
per sample

BLAST-search  
rRNA sequence  
database  
←  
with millions  
of taxonomically  
classified  
rRNA sequences  
(e.g. RDP, Silva)

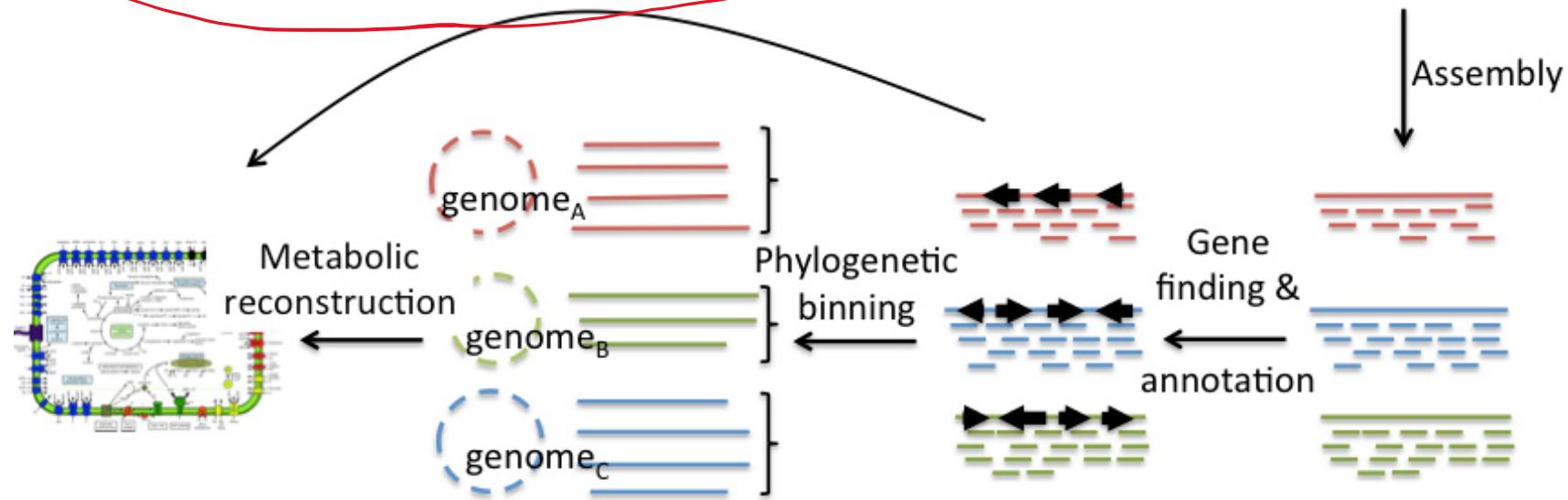
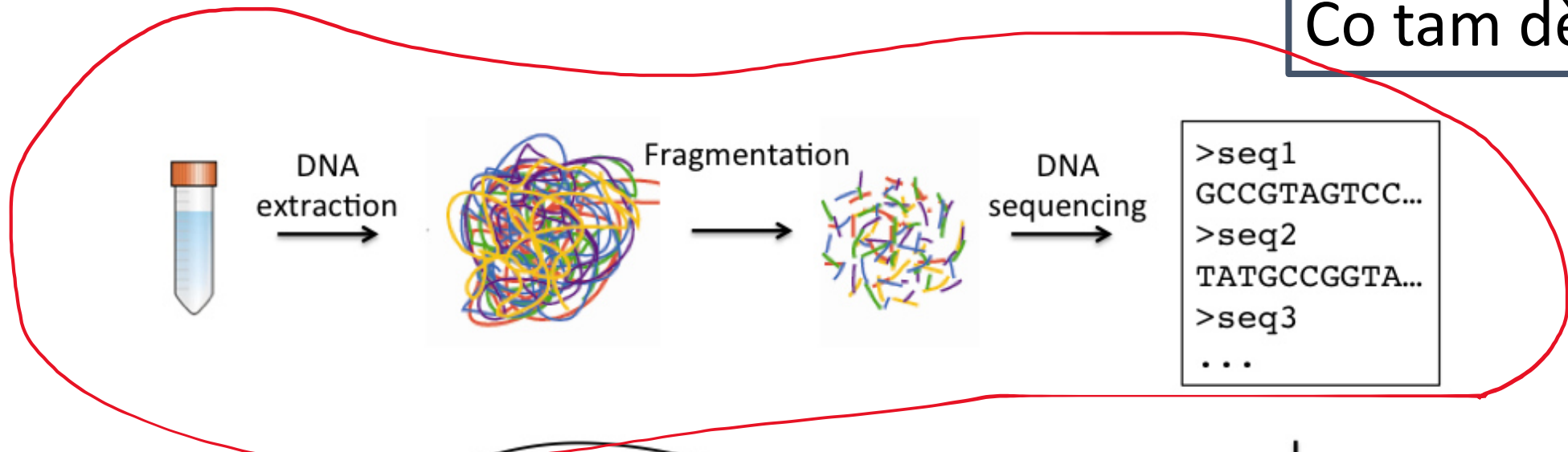
bioinformatika

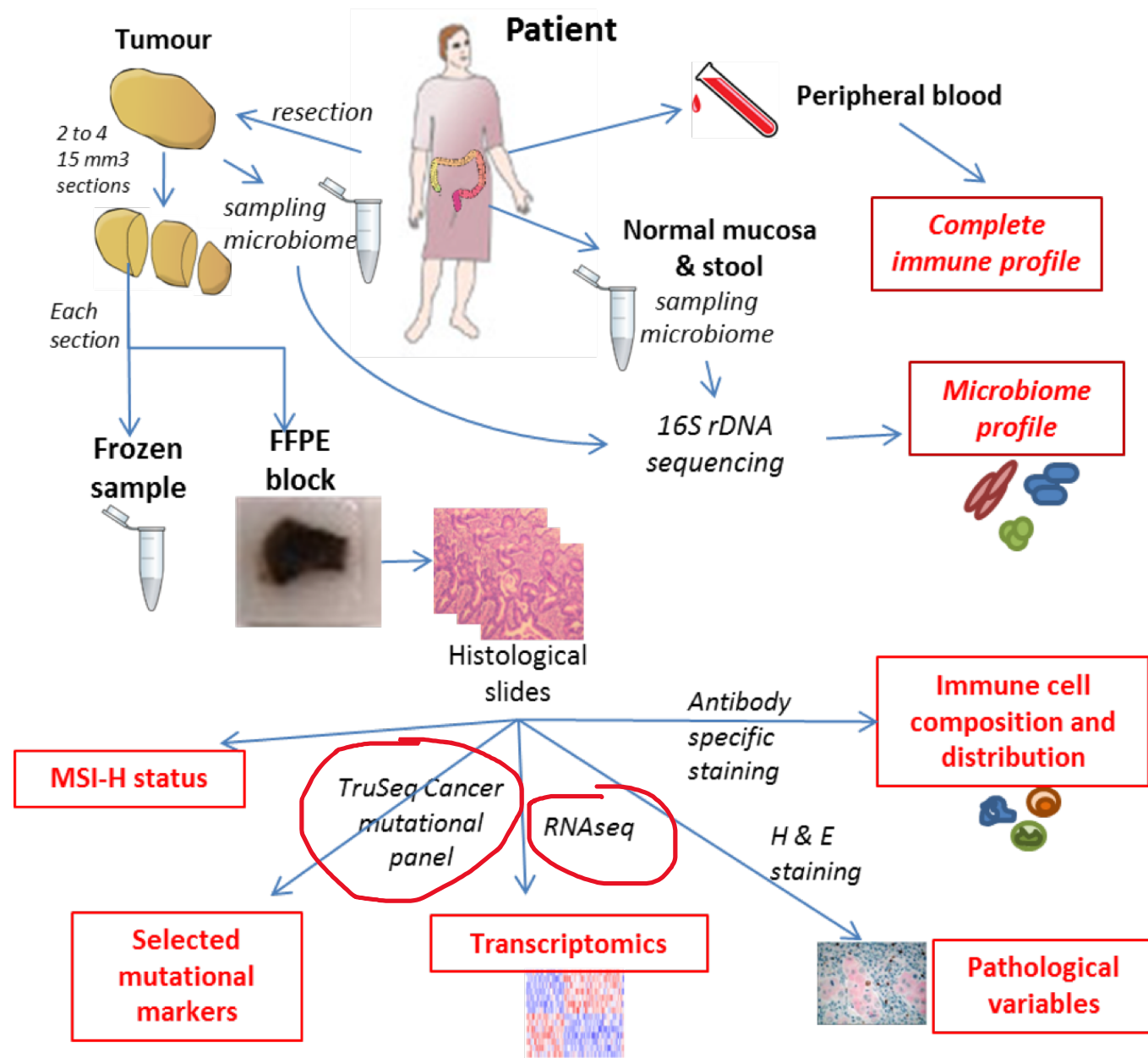


# Celometagenomové sekvenování

Kdo je tam?  
Co tam dělá?

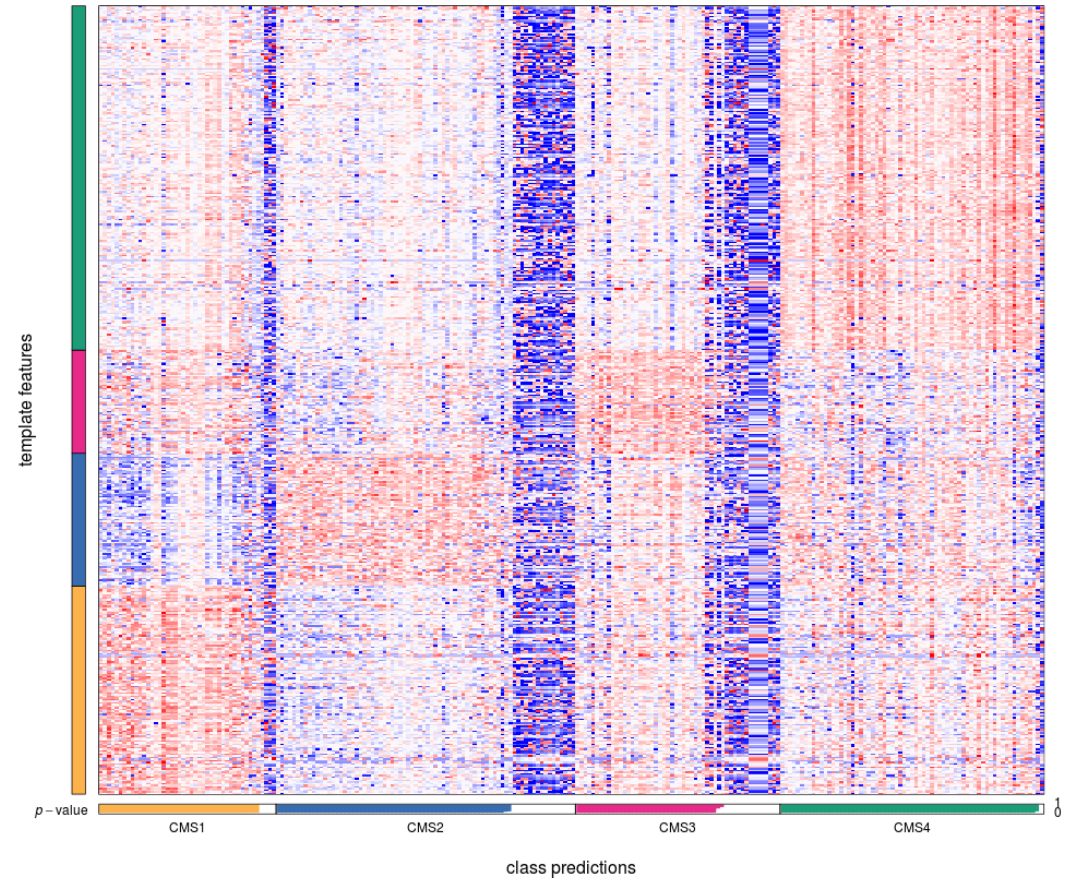
laboratoř



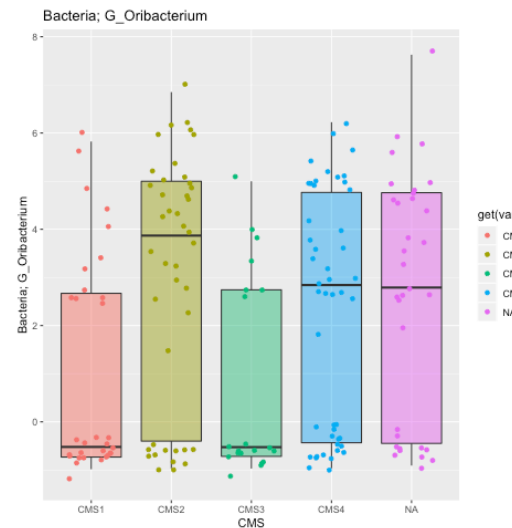
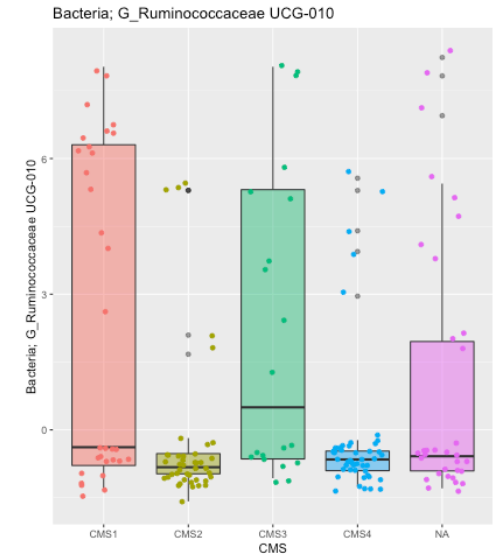
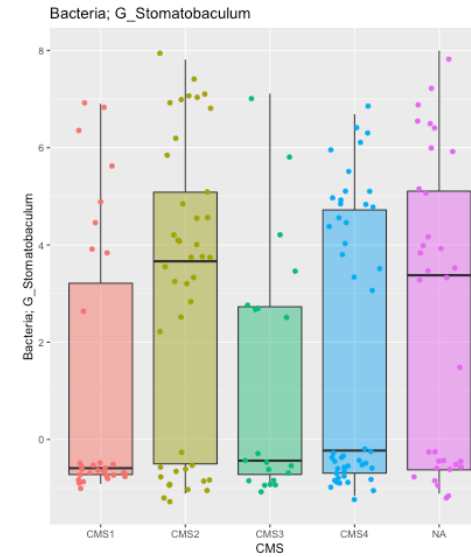
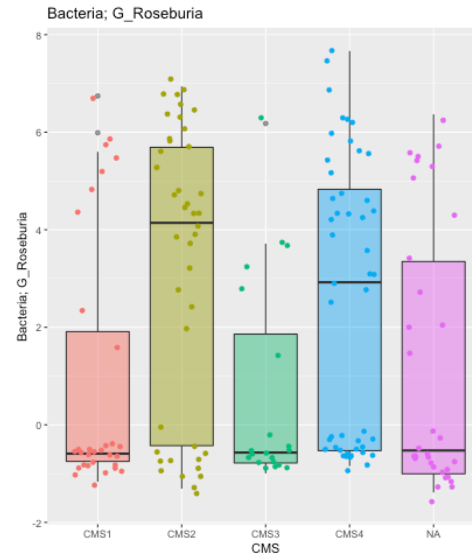
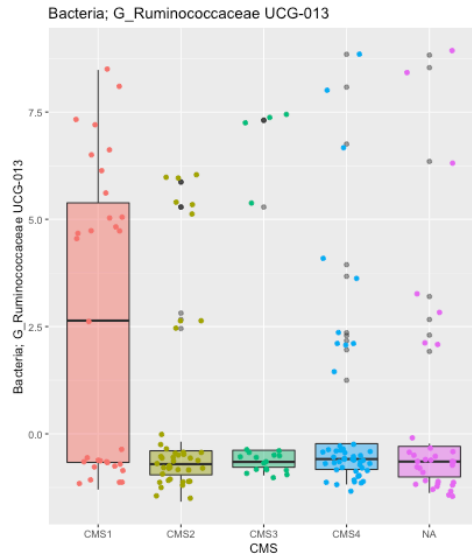


# Genová exprese a mutace nádorů

- Analýza mutací a genové exprese nádorů s pomocí sekvencování nové generace
- Zařazení nádorů do molekulárních podtypů



# Jsou rozdíly mezi bakteriemi a molekulárním profilem?



## KTO SA NA TOM PODIEĽAL

**MMCI-RECAMO:** Roman Šefr (head of surgery), Rudolf Nenutil (expert pathologist), Lenka Dubská (immunologist), Beatrix Bencsiková (clinician), Roman Hrstka (molecular biologist), Veronika Brychtová (molecular biologist)

### **The Bioinformatics in Exposomics Group:**

Barbora Zwinsová, Stanislav Smatana, Vlad Popovici (image analysis), Jakub Jamárik, Hana Vespalcová

### **The Microbiome Group:**

Petra Vídeňská (head), Kristýna Šmerková, Lenka Mícenková, Martina Hrivňáková, Petra Šplíchalová



The project is funded by Ministry of Health of Czech Republic (AZV 16-31966A)