# غربالگری میکروارگانیسم های جدید و ژن های مفید آنها: از روش های سنتی تا متاژنومیکس

**فرشاد درویشی**

**دانشگاه مراغه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

## چکیده

متاژنومیکس (metagenomics) قلمروی است که امکان مطالعه ژنوم میکروارگانیسم ها کشت ناپذیر را فراهم می سازد. میکروارگانیسم ها دو سوم تنوع زیستی کره زمین را تشکیل می دهند. در بسیاری از محیط ها، ۹۹ درصد میکروارگانیسم ها را نمی توان با روش های استاندارد کشت داد. برای درک تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و نقش های بوم شناختی اکثر موجودات روش های مستقل از کشت مورد نیاز است. متاژنومیکس تجزیه و تحلیل ژنومی میکروارگانیسم ها از طریق استخراج مستقیم و کلون کردن DNA از محیط های طبیعی آنهاست. روش های غربالگری به منظور انتخاب ژن های خاص از درون کتابخانه های متاژنومی برای تعیین کاتالیزورهای زیستی و همچنین مولکول های فعال زیستی جدید طراحی شدند. حامل ها یا کروموزم های مصنوعی باکتریایی مختلف و ابزارهای داده‌پردازی زیستی و پایگاه های اطلاعاتی به منظور مطالعه کامل تنوع زیستی و ژن ها توسعه یافتند. در این مقاله روش ها و ابزارهای مختلف برای درک زیست شناسی میکروب های کشت ناپذیر شامل باکتری ها، آرکی ها (Archea) و ویروس ها از طریق تجزیه و تحلیل متاژنومیکی و همچنین کاربرد آن در علوم پزشکی و تغذیه، تولید آنتی بیوتیک ها و مواد داروئی و زیست فناوری بررسی می شوند.

**واژه های کلیدی**: غربالگری، روش های سنتی، روش های مستقل از کشت، متاژنومیکس، میکروارگانیسم های کشت ناپذیر

نویسنده مسئول:f.darvishi@ymail.com; f.darvishi@maragheh.ac.ir

## مقدمه

میکروارگانیسم ها به عنوان اولین اشکال حیات در فسیل هایی با عمر حدود ۳/۵ میلیارد سال یافت شدند. در حال حاضر، تعداد کل میکروارگانیسم های پروکاریوتی روی زمین $۴-۶\times ۱۰^{۳۰}$ با $۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۸}$ گونه ژنی (genospecies) مجزا تخمین زده شده است. امّا همین تنوع، مخزن ژنتیکی و زیستی عظیم و ناشناخته است که می تواند برای کشف ژن ها، مسیرهای متابولیسمی و محصولات جدید مورد استفاده قرار گیرد (۱, ۲).

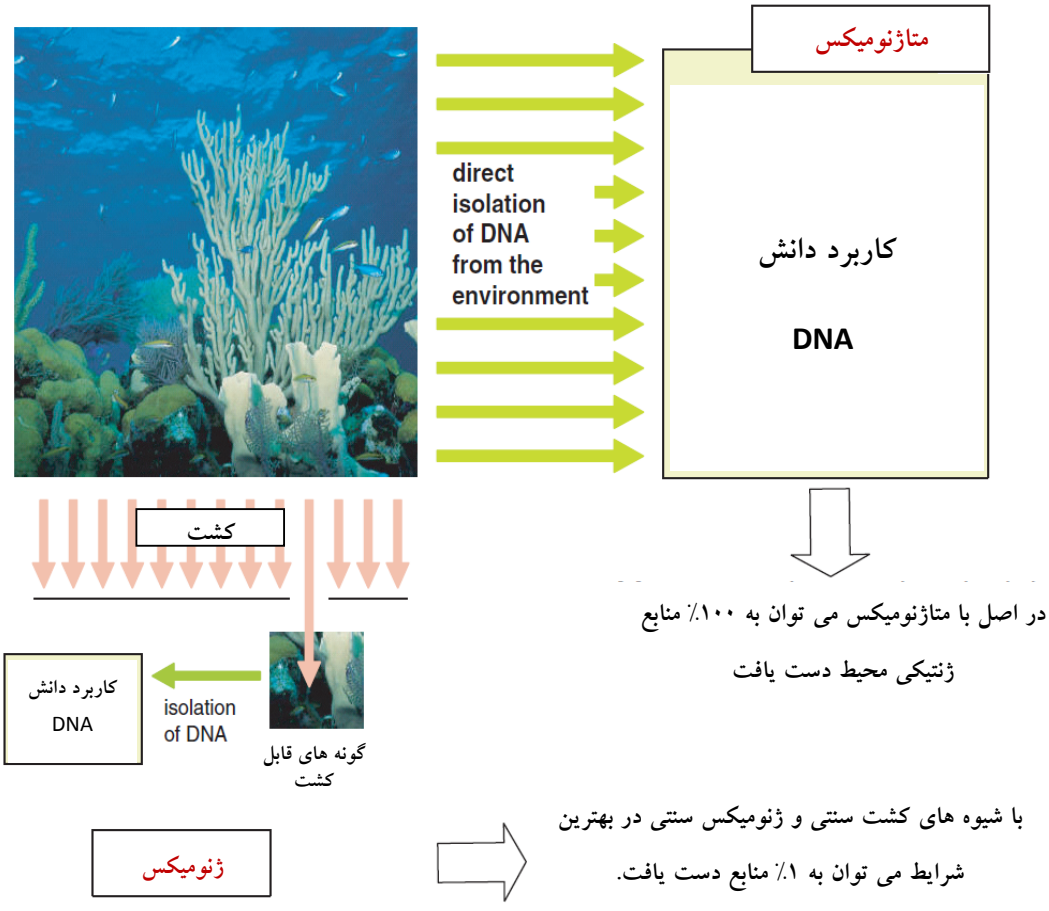
با روش های مرسوم شامل کشت دادن و جداسازی با استفاده از یک محیط کشت جامد یا مایع مناسب شرایط فیزیولوژیکی میکروارگانیسم می توان به این میکروارگانیسم ها دست یافت (۳). اما شرایط معمول در آزمایشگاه فشار انتخابی ایجاد می کند و در نتیجه از رشد بسیاری از میکروارگانیسم ها جلوگیری می کند. بسیاری از سلول های میکروبی با روش های میکروسکوپی قابل مشاهده و رنگ آمیزی نبوده، قادر به رشد و تشکیل کلنی بر روی محیط های کشت نیستند. تنها ۱ تا ۰/۱ درصد میکروارگانیسم های زنده موجود در خاک قابلیت کشت تحت شرایط استاندارد را دارند که این میزان برای میکروارگانیسم های محیط های آبی حتی ده تا هزاران بار کمتر تخمین زده شده است، در نتیجه ۹۹ درصد میکروارگانیسم ها را نمی توان با روش های استاندارد کشت داد. بعلاوه، ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک اکثر میکروب ها شواهد اندکی برای شناسایی میکروارگانیسم ها فراهم می سازند. تنها ۱ تا ۱۵ درصد ژنوم های میکروبی مطالعه شده است و بیش از ۸۵ درصد آنها هرگز مطالعه نشدند (۴-۶).

برای غلبه بر مشکلات و محدودیت های ناشی از روش های کشت، برای مشخص کردن گونه های میکروبی و اجتماعات آنها روش های مولکولی و فیلوژنتیکی مختلف بر پایه DNA به کار گرفته شده است. این روش ها به طور چشمگیری به دانش ما در مورد تنوع و اکولوژی میکروبی افزوده است. در کل روش های موجود که بر پایه تجزیه و

تحلیل ژن 16S rRNA در پروکاریوت ها یا 18S rRNA در یوکاریوت ها و همچنین برخی از ژن های مهم از لحاظ عملکردی استوار هستند، اطلاعات وسیعی در مورد رده بندی و گونه های موجود در محیط فراهم می کنند (۷-۱۰). هرچند این داده ها اغلب اطلاعات کمی در مورد ژنوم و نقش عملی میکروب های مختلف درون یک اجتماع به ما می دهند. توالی یابی RNA های ریبوزومی (rRNA) و ژن های رمزگذار آنها به عنوان زمان سنج های تکاملی، برای توصیف میکروارگانیسم های کشت نشده در محیط دوره جدیدی از اکولوژی میکروبی را آغاز کرده است. با استفاده از توالی یابی 16S rRNA به تنهایی وجود بیش از ۱۳۰۰۰ پروکاریوت جدیدتشخیص داده شده است. همچنین ژن 23S rRNA به دلیل طول بیشتر، حذف و اضافات مشخص به عنوان توالی شناسایی اضافی پیشنهاد شده است که می تواند نشانگر مولکولی بهتری برای تفکیک فیلوژنتیکی باشد (۱۱). اکولوژیست های میکروبی توانستند با استفاده از حامل کلون سازی بزرگ مثل کاسمیدها (cosmids)، فوسمیدها (fosmids) یا کروموزومهای مصنوعی باکتریایی (BACs) Bacterial Artificial Chromosomes و DNA با وزن مولکولی بالا نمونه ها و ساخت کتابخانه های ژنومی، اطلاعات با ارزشمندی در مورد میکروب های غیر قابل کشت به دست آورده اند (۴).

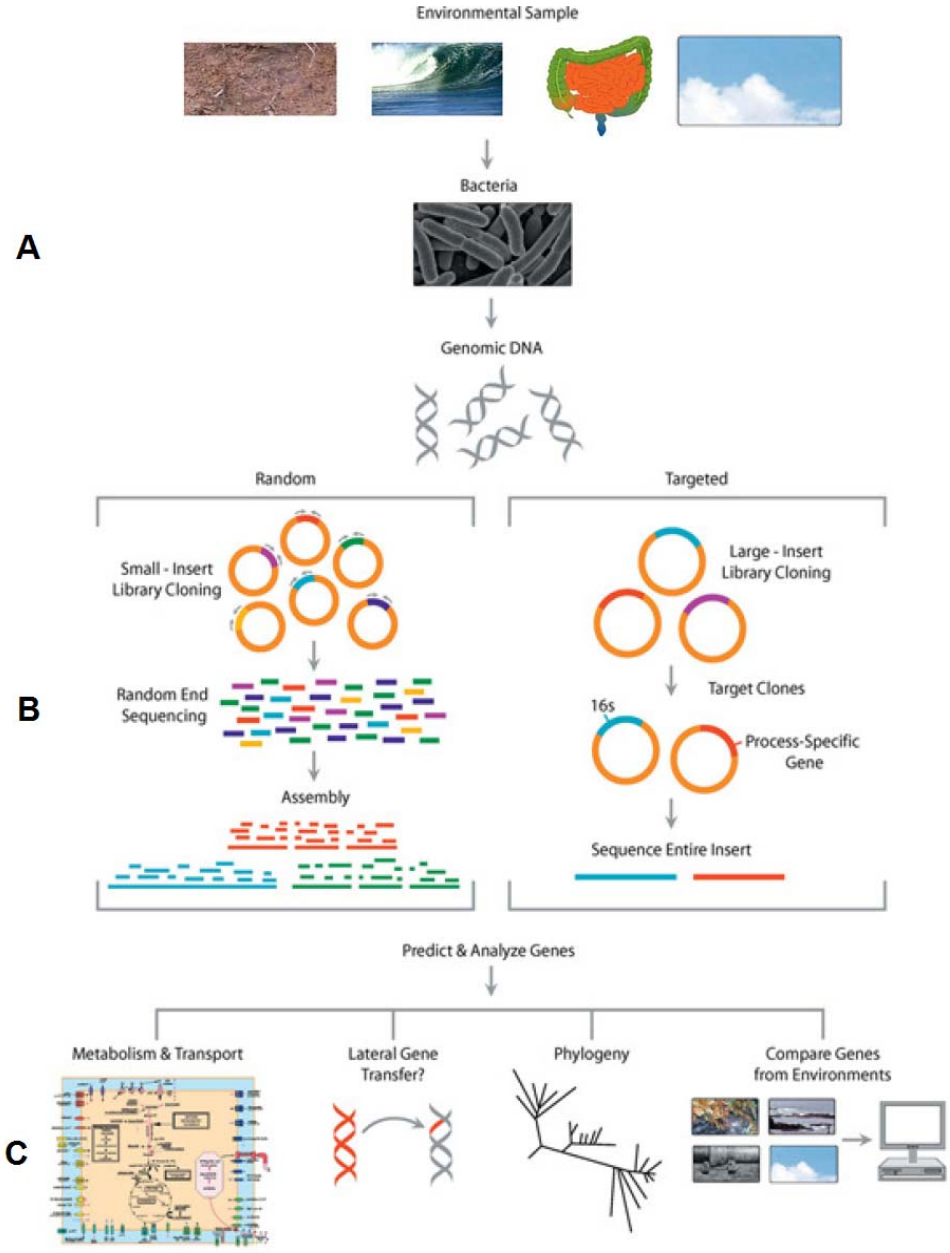
## متاژنومیکس

اصطلاح "اومیکس" (omics) یک واژه عمومی است که به جمع آوری، تجزیه و تحلیل کل اطلاعات ژنوم یک موجود اطلاق می شود.




**شکل ۱**- مقایسه متاژنومیکس و ژنومیکس. سریع و ارزان بودن، عدم نیاز به تهیه کشت خالص از موجودات مورد مطالعه و از همه مهمتر تجزیه و تحلیل حدود ۱۰۰ درصد همه موجودات در یک محیط خاص از مزایای متاژنومیکس نسبت ژنومیکس است.

ژنومیکس (Genomics) مطالعه جامع عملکرد و برهمکنش مجموعه کامل ژن های یک موجود و محصولات آنها است. تعیین توالی کامل ژنوم موجودات از اهداف ژنومیکس و برای مطالعات زیستی مفید است. ژنوم باکتری *هموفیلوس آنفولانزا* اولین ژنوم میکروبی بود که در سال ۱۹۹۵ به طور کامل توالی یابی شد و توالی یابی کامل ژنوم های میکروبی با سرعت زیادی در حال گسترش است. روش های ژنومیکس به تهیه کشت خالص وابسته است و در نتیجه این روش ها برای مطالعه موجودات کشت ناپذیر محدودیت دارند (۱۲).




**شکل ۲**- مراحل مطالعه متاژنومیکس. A) نمونه برداری و جداسازی اسیدهای نوکلئیک از نمونه های محیطی؛ B) ساخت کتابخانه متاژنومیک به دو روش تصادفی و هدفمند؛ C) تجزیه وتحلیل های کتابخانه متاژنومیک (۱۳).

در اواخر دهه ۱۹۸۰ میلادی نشان داده شد که مطالعه میکروارگانیسم های کشت ناپذیر محیط با تجزیه وتحلیل مستقیم توالی ژن های rRNA امکان پذیر است. این کشف به همراه اصلاح روش های جداسازی DNA از محیط و تکنیک های توالی یابی، منجر به رشد در مطالعات ژنومیکس جوامع میکروبی و ابداع اصطلاح متاژنومیکس (metagenomics) شد. متا (meta) واژه یونانی به معنی مافوق و ماورا است. اصطلاح متاژنومیکس اولین بار در سال ۱۹۹۸ توسط هندلسمون و همکارانش به کار رفت (۱۳).

به زبان ساده متاژنومیکس رشته علمی جدیدی است که امکان مطالعه ژنومی میکروارگانیسم های کشت ناپذیر را از نمونه های محیطی فرا هم می سازد. متاژنومیکس به ژنومیکس محیطی (environmental genomics)، اکوژنومیکس (ecogenomics) و ژنومیکس جمعیت (community genomics) نیز معروف است. متاژنومیکس به عنوان کاربرد تکنیک های ژنومیکس جدید برای مطالعه مستقیم جمعیت های میکروبی در محیط های طبیعی آنها بدون نیاز به کشت آزمایشگاهی تعریف می شود. البته همان طور که در شکل ۱ دیده می شود متاژنومیکس مزایای زیادی نسبت به ژنومیکس دارد، از جمله می توان به سریع و ارزان بودن، عدم نیاز به تهیه کشت خالص از موجودات مورد مطالعه و از همه مهمتر تجزیه و تحلیل حدود ۱۰۰ درصد همه موجودات یک محیط خاص اشاره کرد (۱۴).

متاژنومیکس نسبت به علوم اومیکس دیگر از جمله ژنومیکس، ترانسکریپتومیکس (Transcriptomics)، پروتئومیکس (Proteomics)، متابولومیکس (Metabolomics) جامع تر است و حتی در تجزیه و تحلیل کتابخانه های متاژنومیکی از آن استفاده می شود (۱۲, ۱۵). امروزه متاژنومیکس به مطالعه تنوع میکروبی در خاک، اعماق دریا، اکوسیستم معده ای- روده ای انسان و حیوانات و همچنین کاربرد آنها در علوم مختلف از جمله در میکروبیولوژی، زیست فناوری، پزشکی، ویروس شناسی و کشاورزی پرداخته است (۱۶).

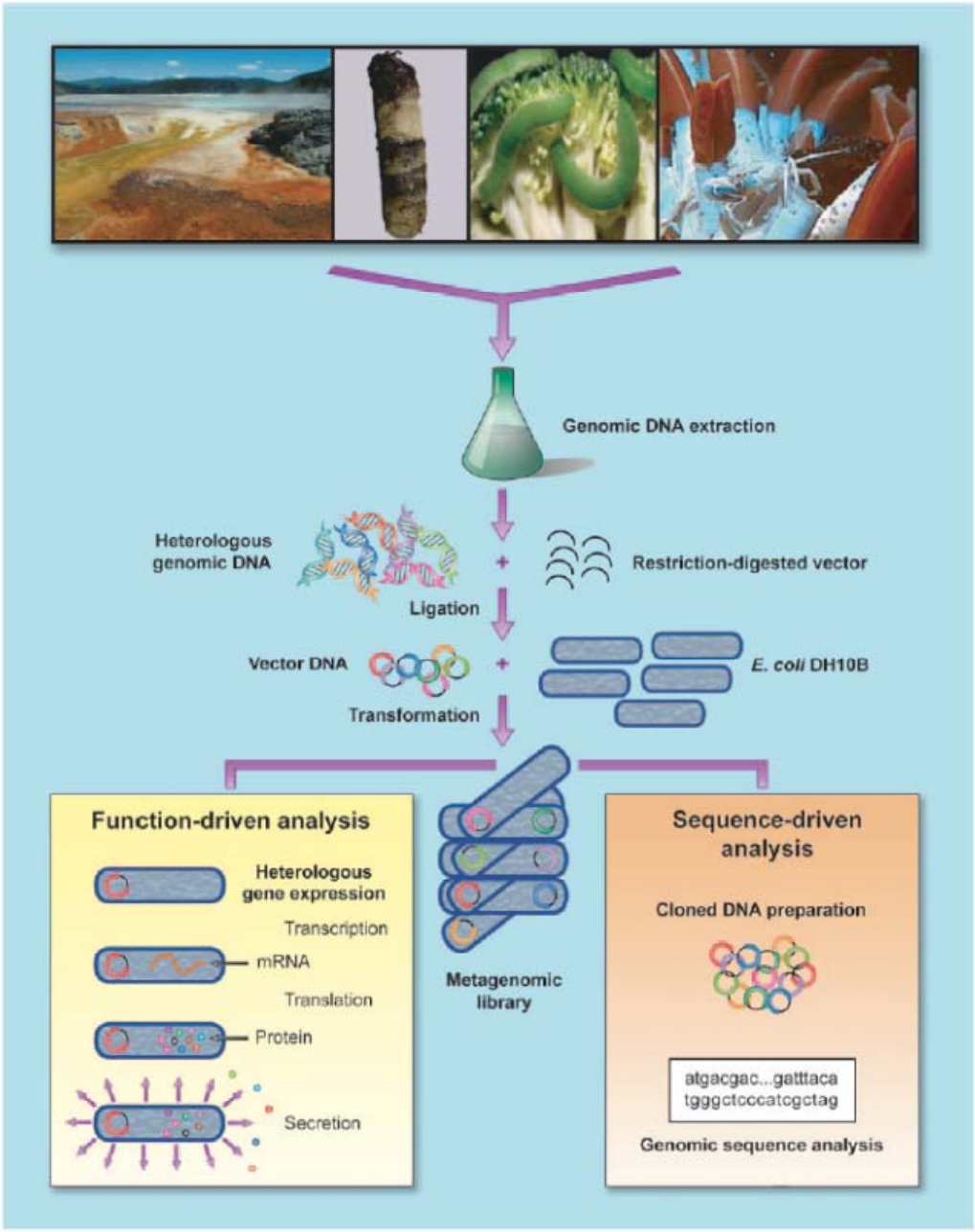
**مراحل مطالعه متاژنومیکس:** سه مرحله اصلی (شکل ۲) در فرآیند مطالعه متاژنومیکس و جود دارد که در ادامه به اختصار شرح داده می شوند:

**۱) نمونه برداری و جداسازی اسیدهای نوکلئیک:** در فرآیند متاژنومیکس از هر محیطی نظیر آب، خاک و سیستم گوارش حیوانات و غیره می توان نمونه برداری کرد. جمعیت های میکروبی معمولا ترکیبی از آرکی ها، باکتری ها، ویروس ها و آغازیان هستند که به خاطر تنوع ساختار و دیواره سلولی برای استخراج اسیدهای نوکلئیک آنها به روش های خاص نیاز داریم. هرچند کیت های تجاری مختلف برای جداسازی اسیدهای نوکلئیک از نمونه های محیطی در دسترس هستند، اما بسیاری از آزمایشگاه ها برای استخراج مطلوب در پی بهینه سازی روش های خود هستند (۱۷). دو نوع روش اصلی برای استخراج اسیدهای نوکلئیک از نمونه های محیطی وجود دارد: ۱) روش مستقیم و در محل؛ در این روش سلول ها در نمونه خاک لیز شده و سپس اسیدهای نوکلئیک بازیافت می شوند. ۲) روش غیر مستقیم؛ در این روش ابتدا سلول ها از خاک جدا می شوند و سپس برای به دست آوردن اسیدهای نوکلئیک تجزیه می شوند (۱۸).

جهت بالا بردن احتمال جداسازی اسیدهای نوکلئیک به منظور دستیابی بیشتر جمعیت های میکروبی گاهی از روش های غنی سازی استفاده می کنند. هر چند کشت های غنی سازی باعث ایجاد تنوع زیستی محدود می شوند، اما برای جداسازی سریع قطعات بزرگ DNA و کلون کردن ژن های جدید با ارزش زیست فناوری بالا بسیار موثر هستند (۴).

**۲) ساخت کتابخانه متاژنومی:** کتابخانه های متاژنومی ابزار قدرتمندی برای کشف تنوع میکروب های غیر قابل کشت به همراه مطالعات ژنومیکی، فیلوژنتیکی و همچنین درک ارتباط عملی بین محیط و این میکروب ها هستند.

ساخت کتابخانه متاژنومیک به دو روش تصادفی و هدفمند انجام می شود (شکل ۲ قسمت B). روش کلاسیک ساخت کتابخانه ی متاژنومیک شامل وارد نمودن توالی های کمتر از ۱۰ کیلو بازی به درون یک حامل است. اما حامل های بزرگ مثل کاسمید، فوسمید یا BAC ها که می توانند قطعه DNA به اندازه تقریبی ۲۰۰-۴۰ کیلو باز را حمل کنند، جایگزین حامل های قدیمی شدند (۱۵).




**شکل ۳**- روش های تجزیه و تحلیل کتابخانه متاژنومیک بر اساس تعیین توالی و عملکرد (۱۱).

**۳) تجزیه و تحلیل کتابخانه متاژنومیک:** کتابخانه های متاژنومیک بر اساس توالی و عملکرد بررسی و تحلیل می‌شوند (شکل ۳).

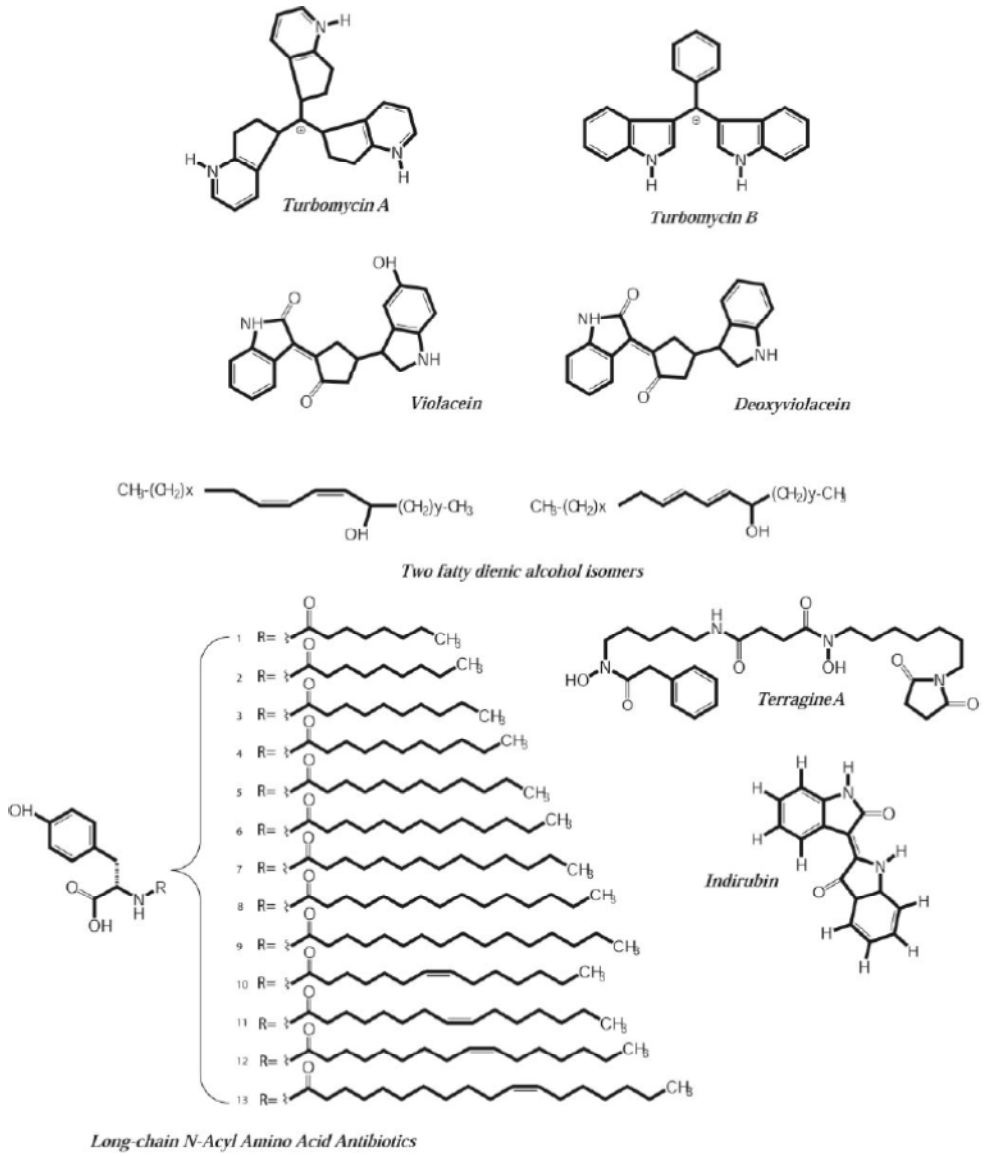
۱) تجزیه و تحلیل کتابخانه متاژنومیک بر اساس تعیین توالی؛ این روش بر اساس تعیین توالی و مقایسه فیلوژنتیکی با ژن های زمان سنج مولکولی نظیر 16S rRNA برای کلون های پروکاریوت ها موجود در کتابخانه متاژنومیک است که جایگاه قرار گیری موجودات را از لحاظ فیلوژنی نشان می دهد.

۲) تجزیه و تحلیل کتابخانه متاژنومیک بر اساس تعیین عملکرد؛ در این روش کلون ها موجود در کتابخانه متاژنومیک از لحاظ عملکرد خاص مانند آنتی بیوتیک ها، ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک و آنزیم های جدید و

غیره شناسایی می شوند. اساس این روش بر مبنای بیان کلون ها می باشد، اما بسیاری از ژن ها در یک میزبان باکتریایی خاص به دلایل مختلفی بیان نمی شوند و یا به طور ضعیف بیان می شوند. عدم رونویسی ژنهای مشتق شده از کتابخانه متاژنومیک، ترجمه ضعیف، ترشح ضعیف پروتئین خارجی، عدم تاخوردگی مطلوب پروتئین به علت نبود چاپرون های ضروری، کاربرد کدون (codon usage) بیان متفاوت از جمله این دلایل است. در حال حاضر آزمایشگاه های زیادی با ساخت حامل های سویه های میزبانی و پروموترهای جدید در صدد حل این مشکلات هستند (۴, ۱۹, ۲۰).

## کاربردهای متاژنومیکس

با وجود اینکه متاژنومیکس علم نوپایی است اما به خاطر قابلیت های بالای آن امروزه به عنوان یکی از علوم پیشرو و کاربردی در حوزه های مختلف علوم پایه، پزشکی، کشاورزی و صنعت مطرح است. در ادامه برخی از کاربردهای متاژنومیکس به ویژه در حوزه علوم پزشکی و پایه مرور می شود.

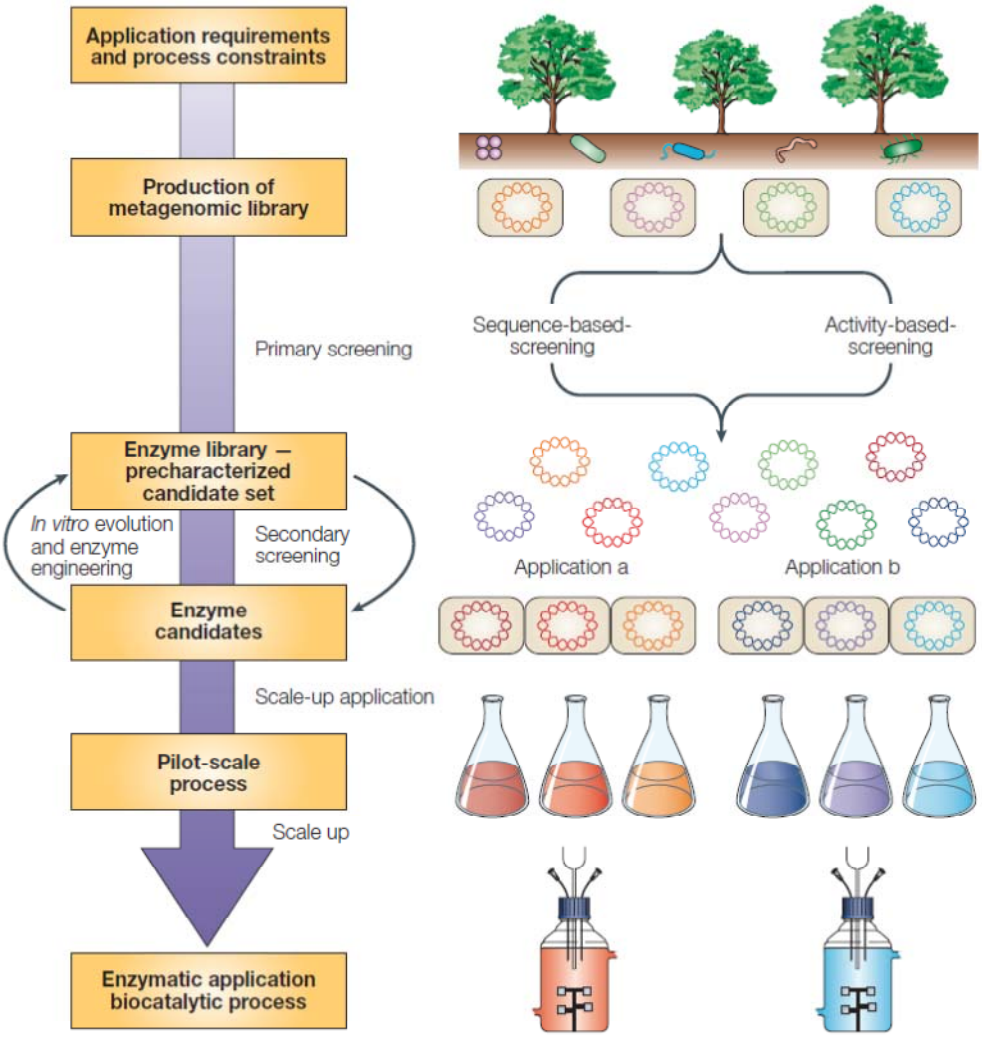



**شکل ۴**- آنتی بیوتیک ها و مواد دارویی کشف شده در کتابخانه های متاژنومیکی (۱۱).

**۱) کاربرد در علوم پزشکی و تغذیه:** فلور میکروبی سیستم گوارش انسان حدود ۱۰۰ تریلیون باکتری به همراه ویروس ها، آرکی ها و قارچ ها دارد که در ایجاد بیماری هایی مانند چاقی، دیابت و التهاب روده نقش دارند. مطالعه آنها با روش های قبلی به خاطر تعداد زیاد، سخت رشد بودن و یا کشت ناپذیر بودن ممکن نیست، در نتیجه به تازگی روش های متاژنومیک به کمک این مطالعات آمده است و نتایج خوبی داشته است (۲۱-۲۳). حتی از متاژنومیکس برای بررسی مبانی ژنتیکی و درمان سوء تغذیه استفاده شده است (۲۴). در یکی از علوم جدید به نام ژنومیکس تغذیه ای (Nutrigenomics) که روابط بین رژیم غذایی با رونویس ژن ها، بیان پروتئین و متابولیسم را مطالعه می کند. متاژنومیکس با شناخت میکروارگانیسم های پروبیوتیک و تاثیر آنها بر تغذیه به نوتریژنومیکس کمک می نماید (۲۵).

محققین با استفاده از روش های متاژنومیکس توانستند ویروس های جدید مرتبط با بیماریزایی در انسان و حیوانات را شناسایی کنند (۲۶, ۲۷). استفاده از روش های متاژنومیکس در شناسایی عوامل بیمارهای خود ایمنی کبد و تولد زودرس از دیگر کاربردهای متاژنومیکس در پزشکی هستند (۲۸, ۲۹).

**۲) منابع جدید آنتی بیوتیک ها و مواد دارویی:** میکروارگانیسم های غیر قابل کشت مخزن ژن های تولید کننده آنتی بیوتیک با تنوع ژنتیکی و ساختاری بسیار زیاد هستند (شکل ۴).




**شکل ۵**- طرح کلی کاربرد روش ها متاژنومیکس در شناسایی و تولید آنزیم های صنعتی (۳۲).

از کاربردهای دیگر متاژنومیکس جمع آوری اطلاعات در مورد مکانیسم های مقاومت به آنتی بیوتیک و تولید ترکیبات ممانعت کننده از مقاومت آنتی بیوتیکی است (۱۱).

**۳) کاربرد در بیوتکنولوژی و صنعت:** متاژنومیکس می تواند برای یافتن آنزیم ها یا کاتالیزورهای زیستی طبیعی جدید با ویژگی های خاص به کار رود که نقش به سزایی در گسترش آنزیم شناسی کاربردی دارد. شکل ۵ طرح کلی کاربرد روش ها متاژنومیکس را در شناسایی و تولید آنزیم های صنعتی نشان می دهد (۳۰-۳۲).

روش های متاژنومیکس می توانند برای نشان دادن میزان آلودگی های محیط زیست و پاک کردن این آلودگی ها، استخراج معادن توسط میکروارگانیسم های کشت ناپذیر به کار روند. همچنین این روش ها در شناسایی برهمکنش های مثبت و منفی میکروارگانیسم ها با گیاهان و استفاده از آنها برای افزایش بازده محصولات کشاورزی به کار رفته است (۲۰, ۳۳-۳۵).

## نتیجه‌گیری

متاژنومیکس علمی جدید با رشد سریع است که به عنوان کاربرد تکنیک های ژنومیکس جدید برای مطالعه مستقیم جمعیت های میکروبی در محیط های طبیعی آنها بدون نیاز به کشت آزمایشگاهی تعریف می شود. متاژنومیکس مزایای زیادی نسبت ژنومیکس دارد، از جمله می توان به سریع و ارزان بودن، عدم نیاز به تهیه کشت خالص از موجودات مورد مطالعه و از همه مهمتر تجزیه و تحلیل حدود ۱۰۰ درصد همه موجودات در محیط مورد نظر اشاره کرد. امروزه متاژنومیکس به مطالعه تنوع میکروبی در خاک، اعماق دریا، فلورهای انسان و حیوانات و همچنین کاربرد آنها در علوم مختلف از جمله در میکروبیولوژی، زیست فناوری، پزشکی، ویروس شناسی و کشاورزی پرداخته است. متاژنومیکس در آینده نزدیک به دلیل استفاده از روش های بررسی همه جانبه و جامع، به یکی از علوم بسیار پویا و کاربردی به ویژه در حوزه علوم زیستی و پزشکی تبدیل خواهد شد.

## منابع


1- Sleator RD, Shortall C, Hill C. Metagenomics. Letters in Applied Microbiology. 2008; 47(5): 361-6.

2- Cowan D, Meyer Q, Stafford W, Muyanga S, Cameron R, Wittwer P. Metagenomic gene discovery: past, present and future. Trends in Biotechnology. 2005; 23(6): 321-9.

3- Darvishi F, Hojati Z, Motovali-bashi M. Rapid isolation and molecular detection of streptomycin-producing streptomycetes. The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2006; 14(2): 51-5.

4- Singh J, Behal A, Singla N, Joshi A, Birbian N, Singh S, et al. Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. Biotechnology Journal. 2009; 4(4): 480-94.

5- Sait M, Hugenholtz P, Janssen PH. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. Environmental Microbiology 2002; 4(11): 654-66.

6- Suenaga H. Targeted metagenomics: a high-resolution metagenomics approach for specific gene clusters in complex microbial communities. Environmental Microbiology. 2012; 14(1): 13-22.

7- Darvishi F, Golbang N, Hojati Z, Motovali-bashi M. Isolation of the Streptomycin antibiotic production regulatory gene (*strR*) by PCR. Iranian Journal of Biology. 2006; 19(3): 264-71.

8- Hojati Z, Motovali-bashi M, Darvishi F, Golbang N. Detection of cloned *strR*, an antibiotic regulatory gene, using RFLP and Nested PCR. Pakistan Journal of Biological Sciences 2007; 10(18): 3079-84.

9- Mafakher L, Mirbagheri M, Darvishi F, Nahvi I, Zarkesh-Esfahani H, Emtiazi G. Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. New Biotechnology. 2010; 27(4): 337-40.

10- Mirbagheri M, Nahvi I, Emtiazi G, Mafakher L, Darvishi F. Taxonomic characterization and potential biotechnological applications of *Yarrowia lipolytica* isolated from meat and its products. Jundishapur Journal of Microbiology. 2012; 5(1): 346-51.

11- Handelsman J. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiology and Molecular Biology Review. 2004; 68: 669-85.

12- Otero JM, Nielsen J. Industrial Systems Biology. Industrial Biotechnology: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2010. p. 79-147.

13- Ghazanfar S, Azim A, Ghazanfar MA, Anjum MI, Begum I. Metagenomics and its application in soil microbial community studies: biotechnological prospects. Journal of Animal and Plant Sciences 2010; 6(2): 611-22.

14- Wooley JC, Godzik A, Friedberg I. A primer on metagenomics. PLoS Computational Biology. 2010; 6(2): e1000667.

15- Turnbaugh PJ, Gordon JI. An Invitation to the Marriage of Metagenomics and Metabolomics. Cell. 2008; 134(5): 708-13.

16- Chistoserdova L. Recent progress and new challenges in metagenomics for biotechnology. Biotechnology Letters. 2010; 32(10): 1351-9.

17- Kauffmann IM, Schmitt J, Schmid RD. DNA isolation from soil samples for cloning in different hosts. Applied Microbiology and Biotechnology. 2004; 64: 665-70.

18- Schmeisser C, Helen S, Wolfgang RS. Metagenomics, biotechnology with nonculturable microbes. Applied Microbiology and Biotechnology. 2007; 75: 955-62.

19- Ward N. New directions and interactions in metagenomics research. FEMS Microbiology Ecology. 2006; 55(3): 331-8.

20- Steele HL, Streit WR. Metagenomics: Advances in ecology and biotechnology. FEMS Microbiology Letters. 2005; 247(2) :105-11.

21- Vacharaksa A, Finlay BB. Gut Microbiota: Metagenomics to Study Complex Ecology. Current Biology. 2010; 20(13): R569-R71.

22- Virgin Herbert W, Todd John A. Metagenomics and Personalized Medicine. Cell. 2011; 147(1): 44-56.

23- Preidis GA, Versalovic J. Targeting the Human Microbiome With Antibiotics, Probiotics, and Prebiotics: Gastroenterology Enters the Metagenomics Era. Gastroenterology. 2009; 136(6): 2015-3.

24- Ahmed T, Haque R, Shamsir Ahmed AM, Petri Jr WA, Cravioto A. Use of metagenomics to understand the genetic basis of malnutrition. Nutrition Reviews. 2009; 67: S201-S6.

25- Senan S, Prajapati JB. Metagenomics - the concept and prospects in probiotic foods. Nutritional Therapy & Metabolism. 2011; 29 (1): 22-9.

26- Bexfield N, Kellam P. Metagenomics and the molecular identification of novel viruses. The Veterinary Journal. 2011; 190(2): 191-8.

27- Kristensen DM, Mushegian AR, Dolja VV, Koonin EV. New dimensions of the virus world discovered through metagenomics. Trends in Microbiology. 2010; 18(1): 11-9.

28- Hirschfield GM, Siminovitch KA. Metagenomics and autoimmune liver disease: searching for the unknown. Liver International. 2009; 29(3): 319-20.

29- Bukowski R, Fofanov V, Koshinsky H, Rojas M, Fofanov Y. 473: Metagenomics of preterm birth. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2009; 201(6, Supplement): S178.

30- Simon C, Daniel R. Achievements and new knowledge unraveled by metagenomic approaches. Applied Microbiology and Biotechnology. 2009; 85: 265–76.

31- Uchiyama T, Miyazaki K. Functional metagenomics for enzyme discovery: challenges to efficient screening. Current Opinion in Biotechnology. 2009; 20(6): 616-22.

32- Lorenz P, Eck J. Metagenomics and industrial applications. Nat Rev Micro. 2005; 3(6): 510-6.

33- Baldrian P, Head IM, Prosser JI, Schloter M, Smalla K, Tebbe CC. Ecology and metagenomics of soil microorganisms. FEMS Microbiology Ecology. 2011; 78(1): 1-2.

34-Valenzuela L, Chi A, Beard S, Orell A, Guiliani N, Shabanowitz J, et al. Genomics, metagenomics and proteomics in biomining microorganisms. Biotechnology Advances. 2006; 24(2): 197-211.

35- Caro-Quintero A, Konstantinidis KT. Bacterial species may exist, metagenomics reveal. Environmental Microbiology. 2012; 14(2): 347-55.

# Screening of New Microorganisms and Their Useful Genes: From Traditional Methods to Metagenomics

**Farshad Darvishi**

**Division of Microbiology، Department of Biology، Faculty of Sciences، University of Maragheh، Maragheh, I.R. of Iran**

## Abstract

Metagenomics is a discipline that enables the genomic study of unculturaled microorganisms. Microorganisms constitute two third of the Earth's biological diversity. In many environments, 99% of the microorganisms cannot be cultured by standard techniques. Culture-independent methods are required to study the genetic diversity, population structure and ecological roles of the majority of organisms.

Metagenomics is the genomic analysis of microorganisms by direct extraction and cloning of DNA from their natural environment. The screening methods have been designed to select specific genes within metagenomic libraries to detect novel biocatalysts as well as bioactive molecules. To study the complete biological diversity and genes, various vectors or bacterial artificial chromosomes, bioinformatics tools and databases are being developed. To understand the biology of uncultured microbes including bacteria, archaea and viruses the various methodologies and tools are reviewed through metagenomic analysis, Also the application of metagenomic studies in medical and nutrition sciences, antibiotics and pharmaceuticals production, and biotechnology are summerized.

**Key words:** Screening, Traditional methods, Culture-independent methods, Metagenomics, Uncultured microorganisms