

VYUŽITÍ METOD MOLEKULÁRNÍ
BIOLOGIE (MMB) PŘI ŘÍZENÍ
SANAČNÍCH PRACÍ VYUŽÍVAJÍCÍCH
BIOLOGICKÉ METODY ČI
PODPOROVANOU ATENUACI.

*Vít Matějů, Robin Kycłt, Simona Vosáhlová,
Martina Mazalová*

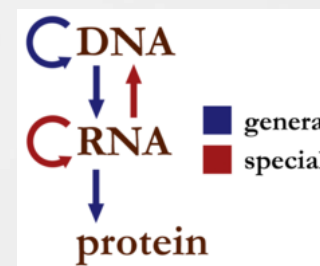
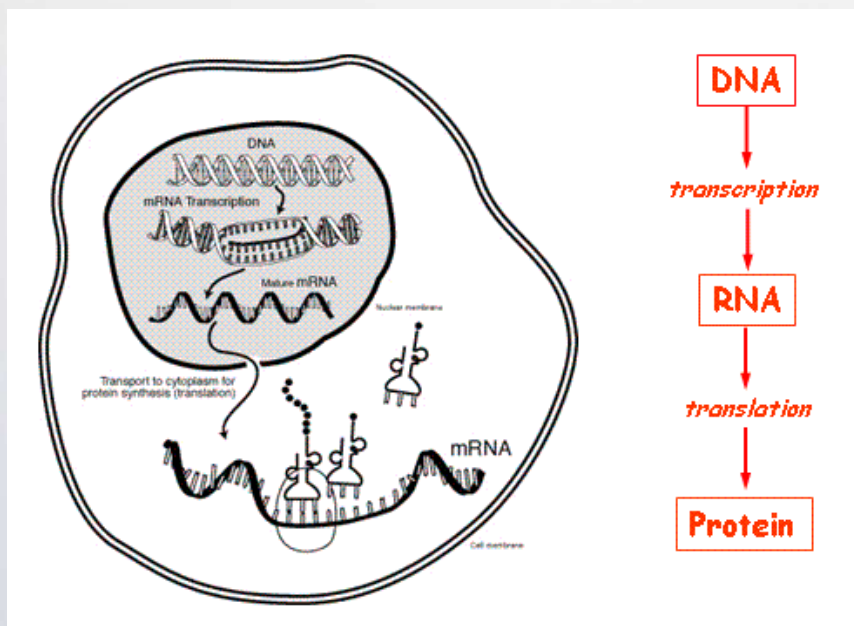
ABITEC, s.r.o. Budova VÚPP, Radiová 7,
102 31 PRAHA 10, info@abitec.cz

ABITEC



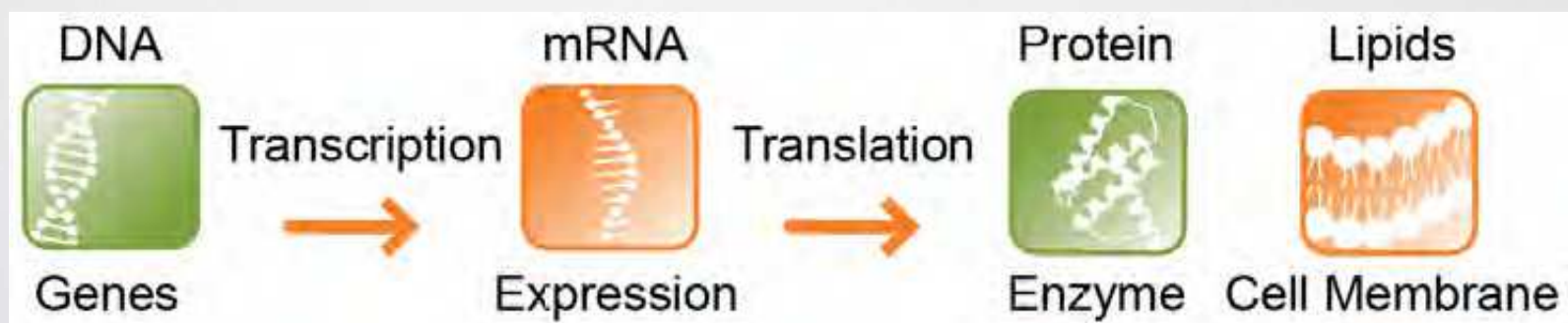
ÚSTŘEDNÍ PARADIGMA BIOLOGIE

Ústřední dogma biologie konstatuje: zakódovaná genetická informace pevně vázaná v DNA se přepisuje do individuálních přepravitelných kazet tvořených messenger RNA (mRNA); každá kazeta mRNA obsahuje program pro syntézu určitého proteinu (nebo malého počtu proteinů)



ABITEC

ÚSTŘEDNÍ PARADIGMA BIOLOGIE



ABITEC

K čemu jsou MMB ?

Jejich využitím lze snížit náklady na remediaci a zvýšit účinnost sanačního zákroku

- Určení, zda je možné na lokalitě využít přirozenou atenuaci (three lines of evidence U.S. EPA)
- Zjištění, zda bude dostatečná biostimulace bez dalších činností
- Identifikace lokalit, kde bude nutná bioaugmentace



ABITEC

THREE LINES OF EVIDENCE

1. Charakteristika kontaminačního mraku a jeho dynamika
2. Geochemické podmínky
3. Mikrobiologické a izotopické studie (s využitím metod molekulární biologie)



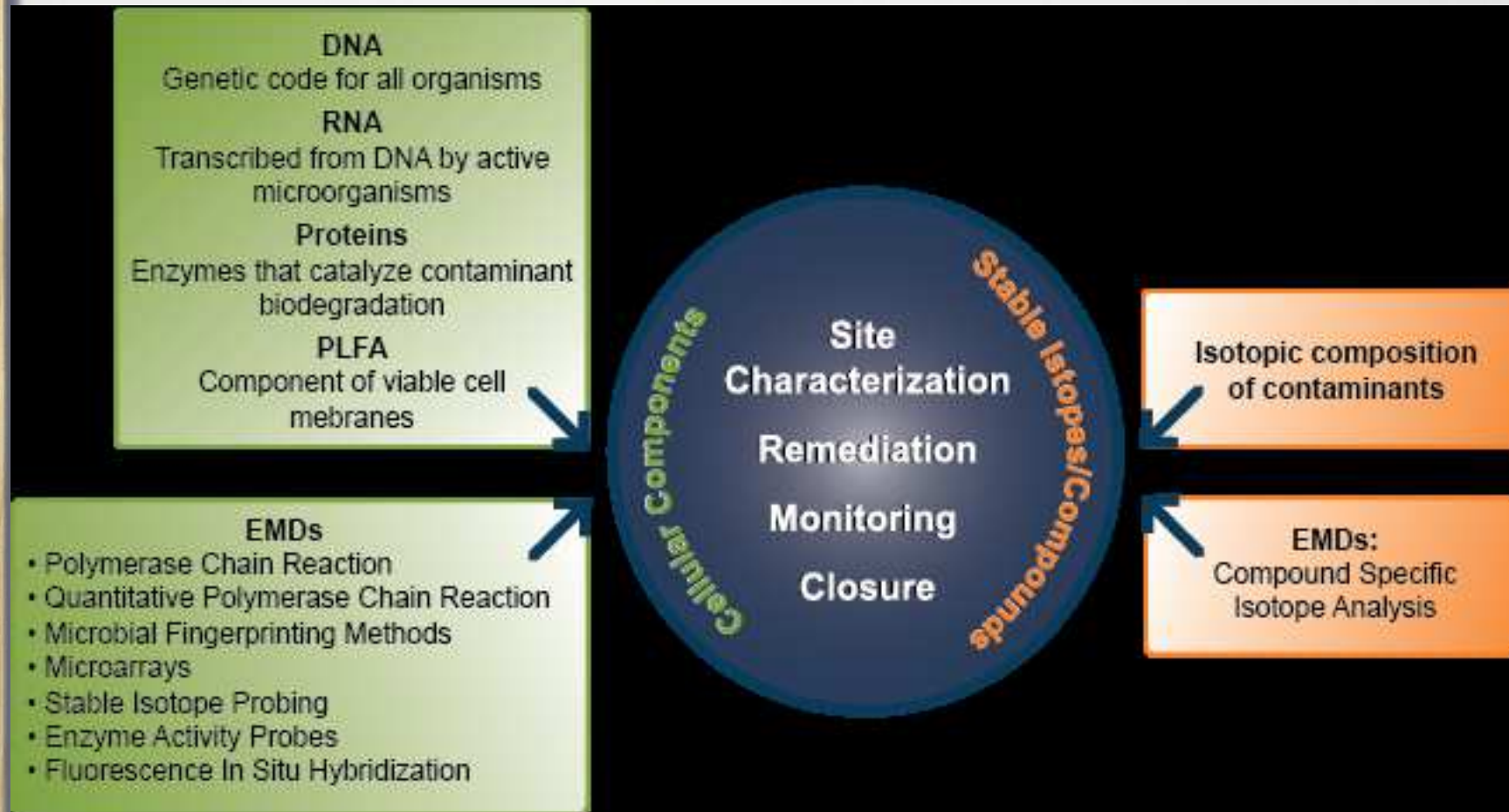
ABITEC

K čemu jsou MMB ?

- CHARAKTERIZACE LOKALITY
- SLEDOVÁNÍ PRŮBĚHU REMEDIACE
- MONITORING
- UKONČENÍ SANACE

ABITEC

MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKA PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ



METODY

- PCR (16S rRNA geny)

Informace: Kvantitativní: přítomnost/nepřítomnost 16S rRNA genů, o které se zajímáme

Používá se prakticky

ABITEC

METODY

- Kvantitativní PCR (qPCR) (16S rRNA geny; mRNA; funkční geny)

Informace: Kvantitativní: přítomnost specifických organismů

Používá se prakticky

ABITEC

METODY

- Knihovny klonů (16S rRNA genů a funkčních genů)

Informace: o biodiverzitě genů, vhodná pro konstrukci FISH (fluorescenční in-situ hybridizace) sond

Zatím jen v laboratoři

ABITEC

METODY

- FISH (fluorescenční in-situ hybridizace)

Informace: kvantitativní, detekce a kvantifikace organismů podílejících se na degradaci polutantů, jejich rozdělení v lokalitě a biodiverzita

Používá se především v laboratoři

METODY

- DGGE (denaturační gradientová gelová elektroforéza)

Informace: kvantitativní, přítomnost/nepřítomnost 16S rRNA a funkčních genů

Používala se i prakticky, ale využívání klesá

METODY

- PFLA (analýza fosfolipidů mastných kyselin)
Informace: i kvantitativní, detekce určitých skupin mikroorganismů a odhad množství biomasy

Využívá se i prakticky.

ABITEC

JAK SE PRAKTICKY VYUŽÍVAJÍ

- V současné době se prakticky, **ale v Evropě ne pravidelně**, používají metody založené na PCR (q-PCR, reverse transcription-qPCR), které jsou důležitým diagnostickým nástrojem pro monitoring bioremediace *in-situ* a nezbytným stupněm pro identifikaci a odhad exprese genů pro enzymy podílející se na biodegradaci či biotransformaci pollutantů.

ABITEC

JAK SE PRAKTICKY VYUŽÍVAJÍ

- Nedávno byly použity i metody FISH (fluorescenční in situ hybridizace) a CARD-FISH (Catalysed Reporter Deposition-FISH), které poskytují další informace o aktivitě a skutečné biodiverzitě mikrobiální populace. Ukázalo se, že jsou to metody vhodné a snadno aplikovatelné pro molekulární monitoring známých bakterií provádějící dechlorace chlorovaných ethylenů v kontaminovaných lokalitách i laboratořích.

ABITEC

VYUŽÍ MOLEKULÁRNÍCH METOD A VÝHODY

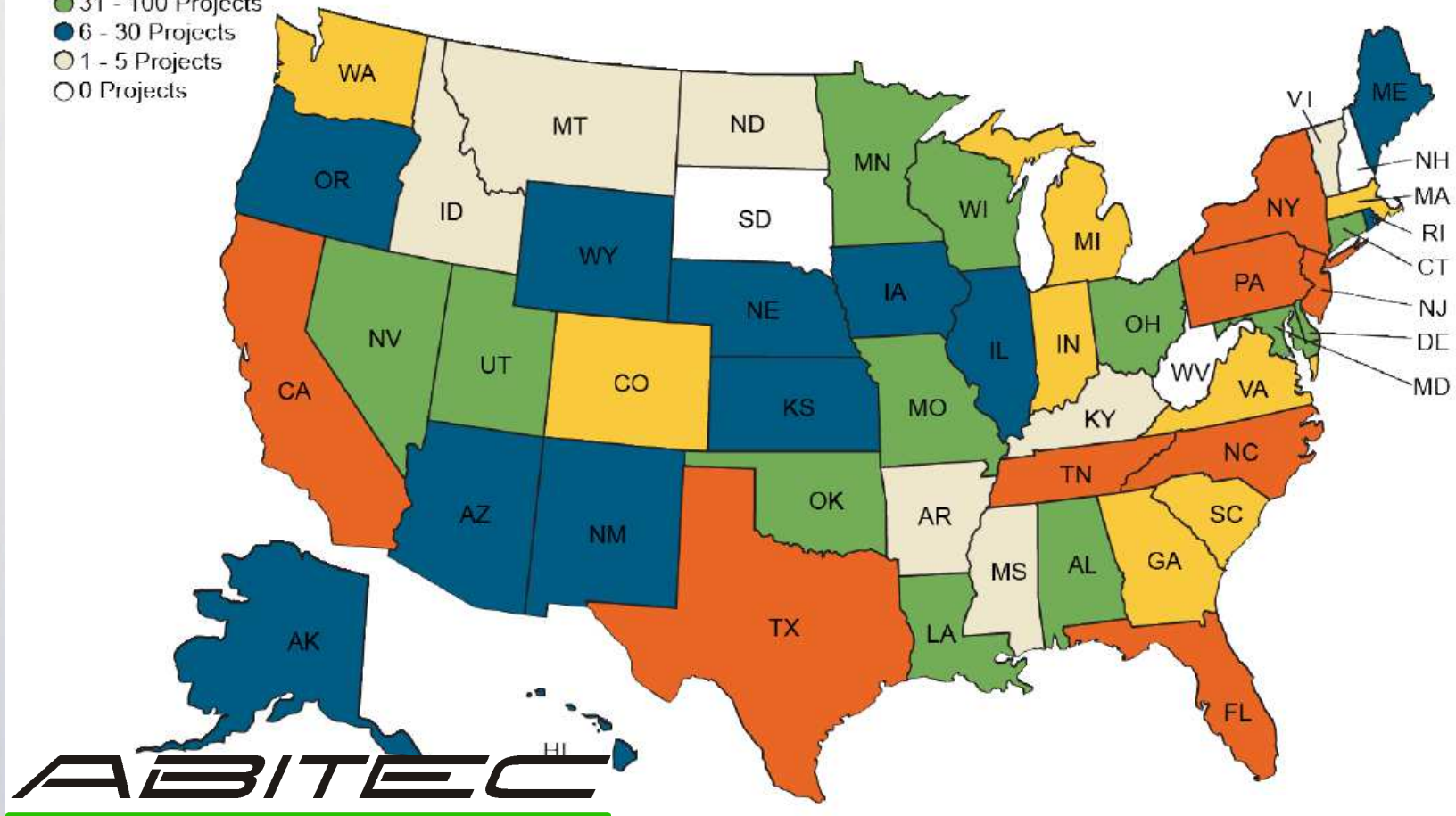
- zlepšení řízení prací na lokalitě
- zjištění, zda na lokalitě probíhá biotická či abiotická degradace
- identifikace specifické ohniska kontaminace nebo zjistit, zda existuje více ohnisek kontaminace na lokalitě (například izotopická frakcionace)
- zlepšení hodnocení a rozhodování o strategii remediaci
- identifikace degradační mechanismy a stupeň jejich dokončení
- identifikace potřeby obohacení prostředí přidavkem chemických látek nebo bioaugmentací
- odhad degradační rychlosti,
- nástroj při monitorování procesů na lokalitě
- zajištění doplňujících dat pro podporu ukončení sanace a další rozhodnutí při řízení prací

ABITEC

VYUŽITÍ MMB PŘI REMEDIACÍCH V USA

- > 200 Projects
- 101 - 200 Projects
- 31 - 100 Projects
- 6 - 30 Projects
- 1 - 5 Projects
- 0 Projects

2009 - 2012



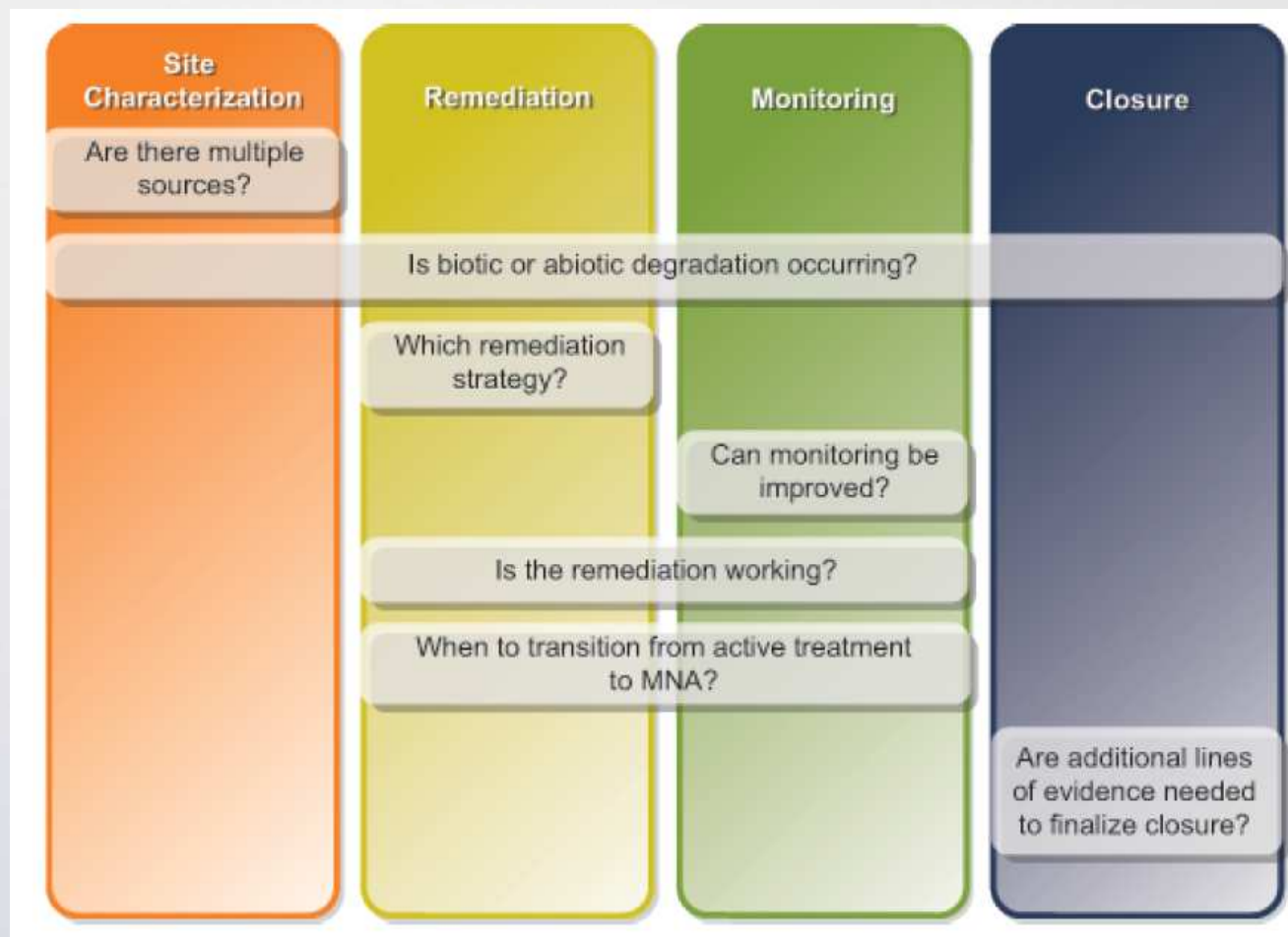
ABITEC

VYUŽITÍ MMB PŘI REMEDIACÍCH V USA

MMB byly použity na stovkách kontaminovaných lokalit v USA v letech 2009 až 2012. Uvedená data byla získána z komerčních laboratoří, které potřebné analýzy provádějí na komerční bázi jako službu.

ABITEC

VYUŽITÍ MMB PŘI REMEDIACÍCH



NĚJAKÉ OTÁZKY



DĚKUJI !!

