

Prüfung des Vorhandenseins des Bakteriums *Wolbachia Pipientis* in Bachflohkrebsen mittels PCR und Elektrophorese Gel

Fragestellung/Ziele:

- Das Bakterium *Wolbachia Pipientis* besser kennenlernen.
- Die Frage «Kann sich das Bakterium *Wolbachia Pipientis* in Bachflohkrebsen, aus einem Zürcher Bach, einnisten?» beantworten.
- Die Methoden, um diese Frage zu beantworten, verstehen.
- Selbstständig ein wissenschaftliches Experiment durchführen und bei Misserfolg Lösungsansätze erarbeiten.



Bachflohkrebs auf Petrischale (eigene Aufnahme)



Bachflohkrebs durch Binokular (eigene Aufnahme)

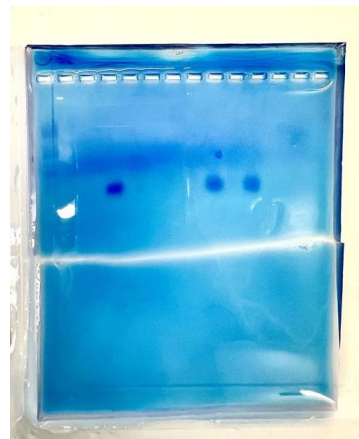
Einleitung:

Wolbachia Pipientis ist ein gramnegatives Bakterium, das sich in einen Grossteil von Arthropoden und Filariennematoden einnisten kann. Meist nistet es sich in die Geschlechtsorgane ihres Wirts ein. Dort kann es die Fortpflanzung und Entwicklung ihres Wirts manipulieren, um ihre Verbreitung und ihr Überleben zu sichern. Dazu verwendet sie vier verschiedene Strategien: die Verweiblichung, die Parthenogenese, die Zytoplasmatische Inkompatibilität und das Male Killing. Diese Manipulationen können Wissenschaftler nutzen, um die Verbreitung von Krankheiten zu verringern, welche durch Tiere verbreitet wird, die *Wolbachia* infizieren kann.

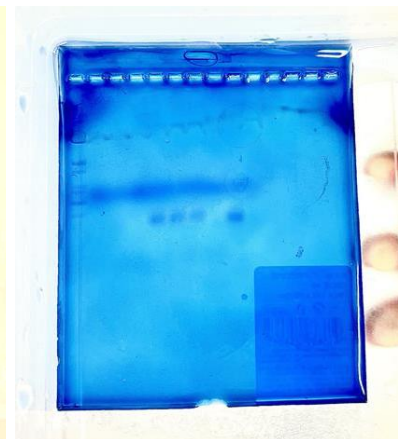
Vorgehensweise:

Als erster Schritt erfolgte das Sammeln von Bachflohkrebsen (genauer *Gammarus fossarum*) an einem Bach. Als nächstes seziierte ich die gefangenen Bachflohkrebsen, um ihr Inneres besser freizulegen und so die DNA-Extraktion zu vereinfachen. Dabei entfernte ich Panzer, Fühler und Kopf. Bei der DNA-Extraktion wird das Erbgut freigelegt und gereinigt, so dass es für die anschließende Polymerase-Kettenreaktion bereit ist. Die PCR vervielfacht die extrahierte DNA mehrmals mittels eines PCR-Mixes, welcher unter anderem Primer, Polymerase und Puffer enthält, und einer PCR Maschine. Zuletzt kam die Gel Elektrophorese. Bei der Gel Elektrophorese stellt man ein Gel her und pipettiert in das Gel die DNA Proben hinein. Dann wird das Gel in eine Wasserwanne gelegt, die unter Strom gestellt wird. So entsteht ein Positiv- und ein Negativ-Pol. Eine DNA ist negativ geladen und wird so vom positiven Pol angezogen. Wenn die

Bachflohkrebs infiziert wird mit der Extraktion ihrer DNA auch die DNA des Bakterium extrahiert. Die beiden verschiedenen DNAs sind aber verschieden lang, sodass wenn sie durch das Gel wandern, sie unterschiedlich schnell voran kommen. Das Gel hat kleine Poren durch die sich eine kürzere DNA schneller fortbewegen kann als eine längere. Also trennen sich während der Elektrophorese die beiden Erbgüter. Danach fehlt nur noch das Einfärben des Gels, damit man die DNAs von blossen Auge sehen kann. Ich führte den Versuch insgesamt zwei Mal durch, da ich bei dem ersten Durchlauf keine brauchbaren Ergebnisse erhielt, weil man das Gel nicht lesen konnte. Da ich nicht wusste, ob nur das Gel nicht funktionierte oder noch andere Schritte, bereitete ich mehr Proben als beim ersten vor und änderte Kleinigkeiten bei einzelnen Proben ab. Das heisst, ich bearbeitete einige Proben genau wie beim ersten Durchgang und andere Proben ein bisschen anders. Jedoch blieben die Schritte genau die gleichen. Bei der Sezierung schnitt ich einige Bachflohkrebsen längs auf ohne den ganzen Panzer zu entfernen. Bei der PCR hatte ich drei PCR-Mixe für die Proben, einen mit den original Primern, einer mit den original Primern mit Q-Solution und einer mit anderen Primern. Während allen Schritten wurden immer positive und negative Kontrollproben, zum Vergleich und zur Absicherung der Ergebnisse, mit verarbeitet. Diese wurden mir von «The *Wolbachia* Project» zur Verfügung gestellt. Nach der Durchführung des Experiments schrieb ich meine Maturaarbeit, in welcher ich zusätzlich noch genau erklärte, wie jede Methode und jede einzelne Komponente der Methode funktioniert. Bachflohkrebsen wurden vorher noch nie auf *Wolbachia Pipientis* geprüft.



Gel 1 des zweiten Versuches (eigene Aufnahme)



Gel 2 des zweiten Versuches (eigene Aufnahme)

Resultate: Die Gels des zweiten Versuches zeigten sowohl bei den Positivkontrollen als auch bei manchen Bachflohkrebsproben zwei Markierungen: eine Markierung für die Bachflohkrebs DNA und eine Markierung für die DNA des *Wolbachia Pipientis* Bakteriums. Somit konnte ich meine Hauptfrage beantworten: Ja, *Wolbachia Pipientis* kann Bachflohkrebsen aus einem Zürcher Bach infizieren.