

Genetischer Nachweis von *Wolbachia*

Thomas Albrecht, Raphael Appenzeller, Gian Flurin Gantenbein, Salome Haller

Grundlagen

Wolbachia sind Bakterien, die unter anderem in Insekten leben. Laut Literatur sind schätzungsweise 25-75% aller Insektenarten mit *Wolbachia* infiziert. Es sind Endosymbionten, das heisst sie leben innerhalb der Wirtszellen.

Ein Befall kann verschiedene Auswirkungen haben. Die Präsenz von *Wolbachia* kann zum Beispiel männliche Individuen töten, weibliche Nachkommen erzwingen, oder gar das Geschlecht der Insekten verändern.



Elektronen-Mikroskop-Aufnahme einer Insektenzelle mit *Wolbachia*.

Resultate und Diskussion

Um herauszufinden, ob und welche Insekten aus Italien von *Wolbachia* befallen sind, haben wir 139 Exemplare gesammelt. Für über 80 Exemplare aus 15 verschiedenen Ordnungen haben wir eine genetische Analyse durchgeführt. Bei 59 Exemplaren konnte die Arthropoden-DNS nachgewiesen werden. In 18 Fällen wurde *Wolbachia*-DNS gefunden. Einige untersuchte Insekten (mit Ordnungen) sind hier dargestellt.



Fliegen (Diptera)



Heuschrecken (Orthoptera)



Schmetterlinge (Lepidoptera)



Mücken (Diptera)



Grillen (Saltatoria)



Bienen (Hymenoptera)

Legende: ✓ *Wolbachia* nachgewiesen ✗ keine *Wolbachia* nachgewiesen

Wolbachia konnte in Mücken, Fliegen, Wiesen-Sandbienen, Sumpfheuschrecken, Webspinninnen und Zimmermännern nachgewiesen werden. Damit konnte bestätigt werden, dass *Wolbachia* auch in der Region um Arezzo (Toskana) vorkommt.

In der Ordnung der Zweiflügler (Diptera) wurde ein besonders hoher Anteil an *Wolbachia* gefunden. Das kommt aber auch daher, dass dreizehn Mückenlarven untersucht wurden, die alle *Wolbachia* hatten. Diese Mückenlarven wurden aus einer kleinen Pfütze gefischt und stammen daher wahrscheinlich vom selben Muttertier ab. Da *Wolbachia* Endosymbionten sind, können die Eizellen schon im Mutterleib infiziert und so an die nächste Generationen weitergegeben werden.

Die *Wolbachia*-DNS wurde auch sequenziert. Das Titelhintergrundbild ist ein Ausschnitt aus dem genetischen Code von einem *Wolbachia*-Bakterium.

Fazit

In diesem Pilot-Projekt wurden erfolgreich Methoden der Genetik angewandt. Mit Extraktion, PCR und Gel-Elektrophorese konnte bei verarbeiteten Proben Arthropoden-DNS nachgewiesen werden. Bei einigen Proben konnte auch *Wolbachia*-DNS gefunden werden. Somit wurde gezeigt, dass *Wolbachia* auch in Arezzo weit verbreitet ist. Ausserdem wurde *Wolbachia* in mindestens fünf verschiedenen Insektenordnungen nachgewiesen.

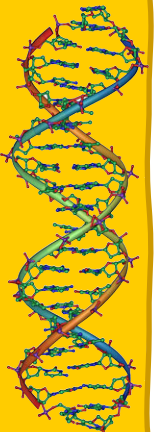
Das Projekt entstand in Zusammenarbeit mit der Vanderbilt Universität (USA). Um weltweit Daten über *Wolbachia* zu sammeln, arbeitet die Vanderbilt-Universität mit Schulen zusammen. Sie stellten Chemikalien, Referenzproben und Wissen zur Verfügung, womit Schulen selber nach *Wolbachia* suchen können. Die Resultate der Schulen werden gesammelt und für weitere Forschungszwecke verwendet. Diese Kollaboration ermöglichte es der *academia* in das Themengebiet der Genetik einzusteigen. Wir hoffen, dass noch viele weitere spannende Genetikprojekte in der *academia* durchgeführt werden.

Nachweis von Lebewesen

mittels genetischer Analyse

DNS (Desoxyribonukleinsäure) ist ein helixförmiger Molekülkomplex, der in allen Lebewesen enthalten ist. Abschnitte der DNS, die ein Protein kodieren, heissen Gene. Die Gene bestimmen den Aufbau der Zellen und somit des ganzen Organismus. Wenn man weiss, wie die DNS aufgebaut ist, kann man herausfinden, um welche Art es sich handelt.

Wenn man die DNS aus Insektenzellen analysiert, findet man DNS-Abschnitte, die typisch für die entsprechende Insektenart sind. Manchmal kommt in der Insektenzelle aber auch *Wolbachia*-DNS vor. Früher war der Nachweis von so kleinen Lebewesen nur mit hohem Aufwand möglich. Die genetische Analyse ermöglicht hingegen einen relativ einfachen Nachweis von *Wolbachia*.



Methodik

Extraktion der DNS

In der Natur rund um das Lagerhaus wurden Insekten, Spinnen und andere Arthropoden von Hand oder mit Insektenfallen gefangen. Im Lagerhaus wurden die Insekten verarbeitet und in mehreren Schritten wurde DNS extrahiert und gesäubert. Dabei musste sehr sauber gearbeitet werden, da bei molekularbiologischen Versuchen auch kleinste Kontaminationen das Ergebnis verfälschen können.



PCR: Polymerase Chain Reaction

Die Polymerase-Chain-Reaktion (kurz: PCR) ist eine Methode zur Vervielfältigung der DNS. Hierbei gibt man der extrahierten DNS eine Primermischung bei, die Anfangssequenzen für Insekten- und *Wolbachia*-DNS enthält. Diese Primer docken an bestimmten Stellen der DNS an und verursachen eine Verdoppelung der DNS-Abschnitte, falls diese vorhanden sind. Durch Ändern der Temperatur kann dieser Prozess kontrolliert und die Verdoppelung wiederholt werden. Nach 30 Durchgängen sind 2^{30} , also mehr als eine Milliarde, Einzelstränge gebildet worden.

Gel-Elektrophorese

Mit der Gel-Elektrophorese weist man nach, ob der gesuchte DNS-Abschnitt in einer Probe enthalten ist oder nicht. Die PCR-Produkte werden in Taschen eines Gels pipettiert. Da die DNS-Fragmente negativ geladen sind, kann eine Spannung angelegt werden, damit sie in Richtung des Plus-Pols (nach unten) wandern. Grössere DNS-Fragmente kommen weniger schnell voran, da sie stärker mit dem Gel interagieren.

In unserem Fall ist der *Wolbachia*-DNS-Abschnitt kürzer als der Insektenabschnitt. Im unteren Bild ist sichtbar, dass die Extraktion und Vervielfältigung bei den Proben 2, 3, 4, 7 und 8 geglückt ist, da dort Balken sichtbar sind. Bei den Proben 3 und 8 ist ein zweiter Balken sichtbar, was heisst, dass wir dort *Wolbachia* nachweisen konnten.



Legende

1. Referenzprobe um die Länge der DNS abzuschätzen (MMR)
2. Weberknecht
3. Fliege mit *Wolbachia*
4. Asseljäger
5. Spinne
6. Weberknecht
7. *Drosophila* negative Referenzprobe
8. *Drosophila* positive Referenzprobe