

Inhaltsverzeichnis

A Zusammenfassung.....	1
B Einleitung.....	2
1. Resistenzen werden durch mobile genetische Elemente verbreitet.....	3
2. Resistenz kann durch unterschiedliche Mechanismen vermittelt werden.....	4
3. Bakterien können Triphenylmethanfarbstoffe entfärben	5
4. Die Resistenzplasmid-Arbeitsgruppe isoliert weitere Kristallviolett-resistente Bakterien aus Klärschlammproben	7
5. Zielsetzungen.....	9
C Material und Methoden.....	10
1. Material.....	10
1.1. Bakterienstämme und Plasmide.....	10
1.2. Nährmedien und Medienzusätze.....	12
1.3. Puffer und Lösungen.....	13
1.4. Verwendete Kits.....	15
1.5. Enzyme.....	15
1.6. Längenstandards.....	16
2. Methoden.....	16
2.1. Kultivierung von Bakterien	16
2.2. Gelelektrophorese.....	17
2.3. Isolierung von DNA.....	18
2.4. Manipulation von DNA.....	22
2.5. Transformation von E.coli.....	25
2.6. Sequenzierung von Klonen	29
2.7. Bioinformatrische Methoden und Programme	30
D Ergebnisse.....	33
1. Die Kristallviolett-resistenten Isolate aus dem Klärschlamm weisen starke Ähnlichkeit zu Bakterien der Familie der Comamonadaceae auf	33
2. Die Kristallviolett-resistenten Delftia-Stämme teilen sich in zwei Untergruppen auf.....	34
3. Die Plasmide der Kristallviolett-resistenten Isolate haben nicht die gleiche Größe wie das Referenzplasmid pGNB1.....	36
4. Die Plasmide der Isolate KV11 und KV29 kodieren für Resistenz gegen und Entfärbung von Kristallviolett und vermitteln nach Übertragung diese Fähigkeiten auch E.coli.....	38
5. Die Plasmide pKV11, pKVB29 und pGNB1 sind drei unterschiedliche Kristallviolett-entfärbende Plasmide, deren Restriktionsprofile ähnlich sind	39
6. Das Plasmid pKV11 ist verwandt mit Plasmiden der Inkompatibilitätsgruppe IncP-1 β und die für Kristallviolett-Resistenz und -Entfärbung verantwortliche Genregion besitzt Ähnlichkeit zu der entsprechenden Genregion von pGNB1.....	42

7. Das Plasmid pKV10 kodiert für ein mögliches RND-Efflux-System, sowie eine Glutathione S-Transferase und gehört nicht zu der Gruppe der IncP-Plasmide...	46
8. pKV16 kodiert für ein mögliches RND-Efflux-System, eine Oxidoreduktase-Aktivität und Schwermetall-Resistenz.....	53
9. Die beiden Plasmide des Kristallviolett-resistenten Isolats KV17 sind verwandt mit Plasmiden der IncP-1 β - bzw. der IncQ-Inkompatibilitätsgruppe.....	58
10. Das Plasmid pKV36 besitzt Sequenzabschnitte mit hoher Ähnlichkeit zu pGNB1 und ist verwandt mit IncP-1 β -Plasmiden.....	62
E Diskussion.....	65
1. Plasmid-kodierte Kristallviolett-Resistenz unter Beteiligung eines tmr-ähnlichen Gens scheint in der Gattung Delftia weit verbreitet zu sein.....	65
2. Für das Referenzplasmid pGNB1 konnte eine Modell-Plasmid-Karte erstellt werden, aus der sich eine Gesamt-Plasmidgröße von 53,76 kb für pGNB1 ergibt	66
3. Die Kristallviolett-Resistenzgenregionen der Plasmide pKV11 und pGNB1 besitzen strukturelle Ähnlichkeiten.....	69
4. Auf dem Plasmiden pKV10 und pKV16 könnte Kristallviolett-Resistenz durch Efflux-Systeme, Glutathion S-Transferasen oder Dehydrogenasen vermittelt werden.....	71
5. Die Plasmide des Kristallviolett-resistenten Isolats KV17 könnten der Gruppe der IncP-1 β - und IncQ-Plasmide angehören.....	74
6. Das Plasmid pKV36 könnte ein Derivat von pGNB1 sein.....	75
7. Plasmid-kodierte Kristallviolett-Resistenz und -Entfärbung wird besonders häufig durch IncP-Plasmide vermittelt.....	76
F Ausblick.....	78
G Literatur	80
H Abkürzungen.....	88
I Danksagung.....	90
J Erklärung.....	91