

1	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	<i>Escherichia coli</i>	3
2.2	Kommensalen und Pathogene.....	5
2.3	Extraintestinal-pathogene <i>E. coli</i> (ExPEC).....	6
2.3.1	Uropathogene <i>E. coli</i> (UPEC)	7
2.3.2	Neugeborenenmeningitis-assoziierte <i>E. coli</i> (NMEC).....	8
2.3.2.1	Modelle der Blut-Hirn-Schranke.....	9
2.3.3	Aviär pathogene <i>E. coli</i> (APEC)	9
2.4	Pathogenitätsinseln.....	10
2.4.1	Allgemein	10
2.4.2	GimA (genomic island of meningitic <i>E. coli</i> containing <i>ibeA</i>)	11
2.4.2.1	<i>ibeA</i>	12
2.4.2.2	GimA.....	12
2.5	Phylogenetischer Hintergrund.....	14
2.5.1	Multilokus-Enzym-Elektrophorese (MLEE)	15
2.5.2	Sequenz-basierte Methoden	16
2.5.2.1	Multi-Lokus-Sequenztypisierung (MLST).....	17
2.5.2.2	Möglichkeiten zur weitergehenden Verwendung von MLST-Sequenzdaten ..	18
2.5.2.2.1	Minimum-Spanning-Tree (MSTree)	18
2.5.2.2.2	Clonal Frame-Analyse	19
2.5.2.2.3	Analyse der Populationsstruktur	20
2.6	Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) und Selektion	21
2.6.1	Pathoadaptation.....	22
2.6.2	Spuren von multiplen horizontalen Gentransfers	23
2.6.3	Detektion von positiver Selektion	23
3	MATERIAL UND METHODEN	26
3.1	Material.....	26
3.1.1	Bakterienstämme	26
3.1.2	Oligonukleotide	26
3.1.3	Chemikalien, Reaktionskits und Enzyme	27
3.1.3.1	Puffer und Lösungen	27
3.1.3.1.1	Reagenzien für Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	27
3.1.3.1.2	Hybridisierungslösungen	28
3.1.3.1.3	Agarose-Gelelektrophorese	29
3.1.3.2	Reaktionskits.....	30
3.1.3.3	Chemikalien	30
3.1.4	Software	30
3.1.5	Geräte und sonstiges	31
3.1.6	Nährmedien und -böden	32

3.2 Methoden	33
3.2.1 Kultur von <i>E. coli</i>	33
3.2.2 DNS-Präparation	33
3.2.3 Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren	33
3.2.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	34
3.2.4.1 PCR-Analyse des putativen GimA-Insertionslokus	35
3.2.4.1.1 Screening-PCR	35
3.2.4.1.2 Long-Range-PCR	36
3.2.4.1.3 <i>In silico</i> -Analyse von vollständig sequenzanalysierten <i>E. coli</i> -Stämmen	37
3.2.5 Agarose-Gelelektrophorese	37
3.2.6 DNS-DNS-Hybridisierung	37
3.2.6.1 Dot-Blot	37
3.2.6.2 Sondenherstellung mittels PCR	38
3.2.6.3 Hybridisierungsvorgang und Visualisierung	38
3.2.6.4 Strippen der Membran	39
3.2.6.5 Analyse des putativen GimA-Insertionslokus mittels DNS-DNS-Hybridisierung	39
3.2.7 Phylogenetische Analyse	39
3.2.7.1 Multi-Lokus-Sequenz-Typisierung (MLST)	39
3.2.7.2 Minimum-Spanning-Tree (MSTree)	42
3.2.7.3 Clonal Frame-Analyse	42
3.2.7.4 Analyse der Populationsstruktur (Structure-Analyse)	43
3.2.8 Sequenzanalyse von <i>ibeA</i> und Computergestützte Analyse	44
3.2.8.1 Sequenzanalyse von <i>ibeA</i>	44
3.2.8.2 Single-Lokus-Sequenz-Typisierung (SLST)	45
3.2.8.3 Evolutionäre Analyse von <i>ibeA</i>	46
3.2.9 Statistik	46
4 ERGEBNISSE	47
4.1 Nachweis von GimA	47
4.1.1 PCR-Analyse des putativen GimA-Insertionslokus	47
4.1.1.1 Screening-PCR	47
4.1.1.2 Long-Range-PCR	48
4.1.1.3 <i>In silico</i> -Analyse von vollständig sequenzanalysierten <i>E. coli</i> -Stämmen	50
4.1.2 DNS-DNS-Hybridisierung	52
4.1.3 Zusammenfassung der Untersuchung zum Nachweis von GimA	54
4.2 Verteilung der Varianten des GimA-Insertionslokus innerhalb der <i>E. coli</i>-Population	55
4.2.1 Multi-Lokus-Sequenztypisierung (MLST)	55
4.2.1.1 GimA+	56
4.2.1.2 GimA-remnant	56
4.2.1.3 GimA-	57
4.2.1.4 Heterogene STs	59
4.2.2 Minimum-Spanning-Tree (MSTree)	59
4.2.3 Clonal Frame-Analyse	61
4.2.4 Structure-Analyse	62
4.2.5 Gemeinsame Betrachtung von Clonal Frame- und Structure-Analyse	66
4.2.5.1 Verteilung der Varianten des GimA-Insertionslokus	67
4.2.5.2 Assoziationen zwischen der Herkunft der Isolate und den Locusvarianten	68
4.2.5.3 Assoziationen zwischen den Pathovaren und Locusvarianten	68

4.3	Sequenzanalyse von <i>ibeA</i>	70
4.3.1	Sequenzanalyse von <i>ibeA</i>	70
4.3.2	Single-Lokus-Sequenztypisierung (SLST)	71
4.4	Evolutionäre Analyse von <i>ibeA</i>	79
5.	DISKUSSION	81
5.1.	Polymorphismus des GimA-Insertionslokus	81
5.2.	Assoziation von GimA mit Phylogruppe B2	82
5.2.1.	GimA – eine intrinsische chromosomale Region	83
5.2.2.	Entwicklung von <i>ibeA</i>	84
5.2.3.	GimA als originärer Bestandteil der Phylogruppe B2	86
5.3.	Entwicklung von GimA	89
5.3.1.	Reduktive Evolution	90
5.3.2.	„Change of function“ Mechanismus	90
5.4.	Variantenbildung und Pathovare	91
5.4.1.	APEC und NMEC	91
5.4.2.	UPEC	93
5.4.3.	Asymptomatische Besiedlung der Harnwege	93
5.5.	Weitergehende Charakterisierung des <i>pptE</i>-Fragmentes	94
6	ZITIERTER LITERATUR	96
7	ZUSAMMENFASSUNG	113
8	SUMMARY	115
9	ANHANG	117
10	PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	136
11	DANKSAGUNG	137
12	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	139