

<b>1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Kommensalen und Pathogene.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Extraintestinal-pathogene <i>E. coli</i> (ExPEC).....</b>	<b>6</b>
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
<b>2.4 Pathogenitätsinseln.....</b>	<b>10</b>
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
<b>2.5 Phylogenetischer Hintergrund.....</b>	<b>14</b>
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
<b>2.6 Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) und Selektion .....</b>	<b>21</b>
2.6.1 Pathoadaptation .....	22
2.6.2 Spuren von multiplen horizontalen Gentransfers .....	23
2.6.3 Detektion von positiver Selektion .....	23
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Material .....</b>	<b>26</b>
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

<b>3.2 Methoden.....</b>	<b>33</b>
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
<b>4 ERGEBNISSE .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1 Nachweis von GimA .....</b>	<b>47</b>
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
<b>4.2 Verteilung der Varianten des GimA-Insertionslokus innerhalb der <i>E. coli</i>-Population .....</b>	<b>55</b>
4.2.1 Multi-Lokus-Sequenztypsierung (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 Lokusvarianten .....	68
4.2.5.3 Assoziationen zwischen den Pathovaren und Lokusvarianten .....	68

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