



Pflanzen im Schulbiologiezentrum Hannover

Kurzinformationen

Zusammenstellung: Ingo Mennerich, November 2009

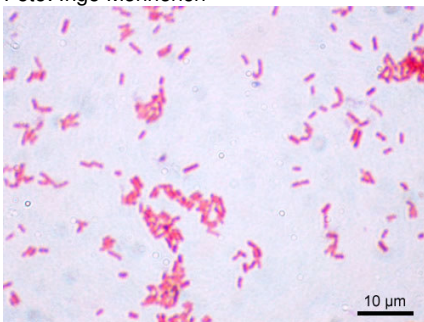
Bakterien (Beispiel: Escherichia coli)

Besonderheiten:

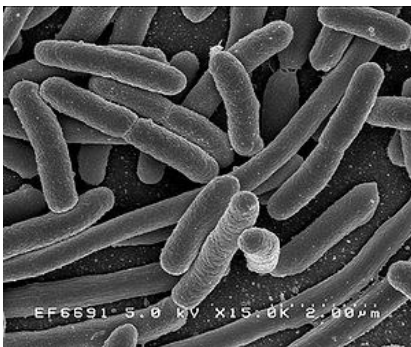
Stäbchenförmiges, begeißeltes und bewegliches, gram-negatives Bakterium, typischer „Bewohner“ (Kommensal) des Verdauungstrakts (Enterobakterium) von Säugern, Indikator für (fäkale) Verunreinigungen, Wildformen führen z.B. zu Durchfallerkrankungen, der im Schulbiologiezentrum gehaltene Typ K12 ist ein gentechnisch veränderter, harmloser (!) nicht-pathogener Laborstamm



Escherichia coli auf Standard-II-Nähragar
Foto: Ingo Mennerich



Unten: Gram-Färbung (E. coli)
Foto: Y_tambe, Wikimedia Commons, GNU-Lizenz für freie Dokumentation



Oben: E. coli
Foto: Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH, Wikimedia commons, public domain

Systematik:

- Klasse: Gammaproteobacteria
- Ordnung Enterobacteriales
- Familie: Enterobacteriaceae
- Gattung: Escherichia

Vorkommen:

- Verdauungstrakt von Säugern, Fäkalien, Abwasser
- Als Laborstamm K12 als Modellorganismus

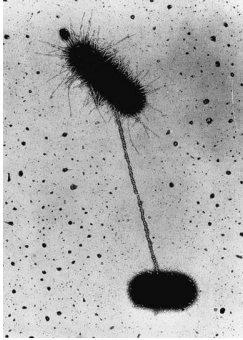
Evolution:

- Zellen ohne Zellkern, ringförmige DNA
- ca. 4,6 Mill. Basenpaare, 5000 Gene
- Genom (K 12) unter cmr.jvci.org
- Evolution im Labor: E. coli-Langzeit-Experiment (seit 1988) von Richard Lenski: E. coli (Wildtyp) kann auf Glucose, nicht aber auf Citrat wachsen. Glucosearm aber Citratreich gehalten findet sich nach mehreren tausend Generationen eine steigende Zahl von Exemplaren, die Citrat metabolisieren.
- Ähnlich: Antibiotika-resistente Stämme!

Habitus

- Stäbchenförmig, 1 – 5 μm lang, 0,5 μm dick
- Ketten aus mehreren Einzelzellen möglich
- Bewegung durch peritrich (über den ganzen Körper verteilte) Geißeln (Flagellen)
- Scheinbar in zitternder Bewegung oder ruhend
- Eigenbewegung kaum von Brownscher Molekularbewegung zu unterscheiden





Fortpflanzung:

- **Vegetativ:** Teilung, unter optimalen Bedingungen alle 20 Minuten
- Ringförmige DNA (kein Zellkern) wird verdoppelt und auf beide Zellhälften verteilt und dort an die Innenwand angeheftet, die Zelle in der Mitte eingeschnürt
- Nach Inkubation Anlauf- /lag-Phase, exponentielle Phase mit konstanter Teilungsrate, stationäre Phase („Plateau“), Absterbephase (Abnahme der Nährstoffe, Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte)
- Relative Konzentration in Flüssig-Kulturen lässt sich mit Photometer (550nm, rot) bestimmen (wiederholte Messung der Extinktion)
- **Sexuell** durch so genannte „Sex-Pili:“ Eine „männliche“ Zelle entwickelt einen röhrenförmigen Kanal der sich mit einer „weiblichen“ Zelle verbindet, Austausch von DNA
- Dadurch „transgene“ Übertragung von Eigenschaften zwischen Stämmen z.B. unterschiedlicher Pathogenität
- Bildet keine Sporen

Abbildung oben: E. coli mit Sex-Pili, Foto: David B. Fankhauser, University of Cincinnati

Abbildung unten: E. coli mit Geißeln und Pili, Foto: Ang Li, National University of Singapore (<http://www.icmm.csic.es/spmage/>)

Verwendung in der Schule:

- Relativ ungefährliches Mikroskopieren von Bakterien (nicht pathogener Stamm), dauerhafte Haltung bei 4°C in Nähragar, Abgabe in Flüssig-Agar oder auf Standard-II-Nähragar
- Techniken des sterilen Arbeitens, Herstellen steriler Nährböden, Keimzahlbestimmung
- Übertragen von E. coli (K12)-Kulturen auf sterile Nährböden (ausgeglühte Impföse oder Drigalski-Spaltel), Bebrüten bei unterschiedlichen Temperaturen (Optimum 37°C)
- **Methylenblau-Färbung:** Auf Objektträger übertragene Probe (Impföse) mit der Kante des Deckglases dünn ausstreichen, dann fixieren, d.h. 2 – 3 mal kurz durch die Flamme eines Gasbrenners ziehen, mit Methylenblau benetzen, nach 1 – 2 Minuten mit Wasser abspülen und bei 400 – 600facher Vergrößerung mikroskopieren
- **Gram-Färbung:** Auf Objektträger übertragene Probe mit der Kante des Deckglases dünn ausstreichen, fixieren, d.h. 2 – 3 mal kurz durch die Flamme eines Gasbrenners ziehen, Gentianaviolett durch einen Filter auf das Präparat geben, nach 2 Minuten abgießen, mit Lugolscher Lösung bedecken, abgießen, erneut auftropfen, 2 Minuten einwirken lassen, in 96% Äthanol schwenken bis sich keine Farbe mehr löst und mikroskopieren: Gram-negative Bakterien (E. coli) werden rot (!), Gram-positive (mit dickerer Zellwand) blau gefärbt
- **„Lebensraum Mensch“:** Mensch besteht aus etwa 10 Billionen (10^{13}) Zellen und wird von etwa der 10fachen Zahl von Bakterien besiedelt,
- **Desinfektionstest:** Dazu E. coli (nicht pathogen!) mit Fingerspitze aufnehmen und auf sterilen Nähr-Agar bringen, Finger nach der Aufnahme a) unbehandelt lassen, b) mit Papierhandtuch abwischen, c) mit Wasser, d) mit Seife waschen, e) in Äthanol tauchen f) mit Desinfektionsmittel (z.B. Sagrotan) spülen. Bei Körpertemperatur 37°C im Brutschrank inkubieren
- Pathogene E. coli Stämme (z.B. O157:H7, blutige Durchfälle, zerstört Erythrozyten, Nierenschäden)
- Übertragung z.B. durch Kontakt mit verunreinigten Toiletten (z.B. Türgriffe): Bestimmung der E. coli-Konzentration, Proben auf sterilen Nährboden übertragen, bei 37°C bebrüten und unter **Schutzvorrichtungen** mikroskopieren (Mundschutz, Desinfektion der Hände und des Arbeitsgeräts, fachgerechte Entsorgung der Petrischalen)
- **Antibiotika-Test:** Sterilen Standard-II-Nähragar dünn (!) mit Flüssig-Kultur übergießen, Antibiotika (Apotheke) in Wasser auflösen, damit Filterpapierblättchen tränken und steril (!) auf die Bakterienkultur bringen: Wachstums hemmung im Umkreis des Antibiotikums (Achtung: Dabei entstehen resistente Keime! Petrischalen durch fachgerecht Autoklavieren entsorgen!)

Lupe, Binokular und Mikroskop:

- Übertragung auf neuen, sauberen Objektträger mit ausgeglühter Impföse, mit der Kante des Deckglases dünn auf dem Objektträger ausstreichen und einem Tröpfchen Wasser benetzen
- 400 - 600x Vergrößerung: E. coli stäbchenförmig, scheinbar ungerichtete (Zick-Zack)-Bewegung (Brownsche Molekularbewegung); empfohlen: mit Öl-Immersion mikroskopieren

