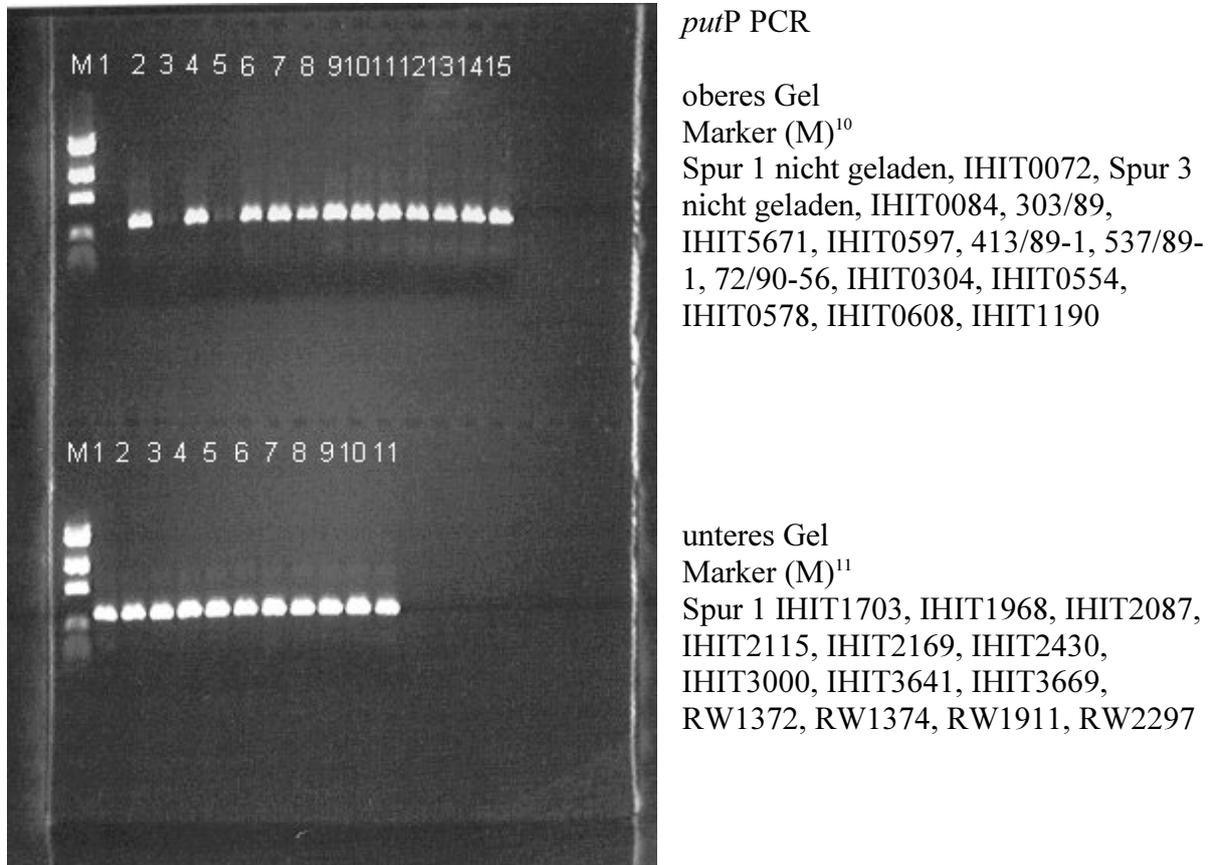


PCR-Elektropherogramm (beispielhaft für alle weiteren Gene).

Abb. 1 - Gelelektrophorese *putP* PCR zur Templategewinnung für die Sequenzierungsreaktionen



***mdh*-Locus** (810 bp, 29/7/22/17): Dieser Locus wies absolut, aufgrund seiner Länge, als auch in Relation zum *trpC*-Gen deutlich mehr Transversionen und Transitionen auf als die anderen Loci, so dass bei der Sequenzanalyse viele phylogenetisch relevante Punktmutationen nachweisbar waren. Ein sehr deutliches Cluster stellten die Stämme 537/89-1 (8/3/5/8), IHIT 1190 (10/3/7/10), IHIT1968 (10/3/7/10), IHIT3000 (8/3/5/8) und IHIT3669 (8/3/5/8) dar, wobei IHIT1190 und IHIT1968 nur noch zwei weitere Mutationen aufwiesen als die drei anderen. Die meisten Parsimonie-informativen Stellen besaß Stamm IHIT0072 (13/3/10/7). Sehr ähnlich verhielt sich Stamm IHIT0304 (8/1/7/8). Der Stamm IHIT0608 (13/1/12/7) wies gleichfalls viele Punktmutationen auf. Die Stämme IHIT0597 (6/0/6/6), IHIT0554 (6/0/6/6), IHIT2115 (6/0/6/6) und IHIT2430 (6/0/6/6) hatten eine hundertprozentige Übereinstimmung. Ähnlich verhielt es sich bei den Stämmen RW1372 und RW1374 (2/0/2/2).

¹⁰ Low DNA Masse Leiter (LifeTechnologies, Gibco BRL)

***cadB*-Locus** (442bp, 5/1/4/5): Interessanterweise gelang bei den Stämmen IHIT0597, IHIT0554, IHIT2115, IHIT2430, IHIT1190, IHIT1968 und IHIT1703 keine Amplifikation des Zielgenes. Trotz Auswahl neuer Oligonukleotidprimer gelang auch in weiteren Tests keine Amplifizierung von *cadB*-spezifischen Sequenzen. Deshalb wurde mittels DNA-DNA-Hybridisierung geprüft, ob diesen Stämmen das *cadB* fehlt. Tatsächlich gelang der *cadB*-Nachweis nicht (Abb. 2). Aus diesem Grund konnte bei den Stämmen IHIT0597, IHIT0554, IHIT2115, IHIT2430, IHIT1190, IHIT1968 und IHIT1703 keine Analyse durchgeführt werden. Bei der Gensequenzanalyse der verbliebenen Stämme zeigte sich eine sehr geringe Anzahl an Punktmutationen. Dies trat lediglich bei den Stämmen IHIT0072 (4/1/3/4), IHIT0304 (4/0/4/4) und 72/90-56 (2/0/2/2) auf. Der Stamm IHIT0072 wies bei seinen Punktmutationen die gleichen wie der Referenzstamm MG1655 auf.

¹¹ Low DNA Masse Leiter (LifeTechnologies, Gibco BRL)