

16S-rDNA-Sequenzierung



J. Arnemann

Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Deutschland

Englischer Begriff 16S rDNA sequencing

Definition Die 16S-rDNA-Sequenzierung dient der Identifizierung von Bakterienisolaten durch Amplifikation und Sequenzierung der speziesspezifischen variablen V2-V4- und V6-V9-Regionen der 16S-rDNA.

Beschreibung In Verbindung mit ► [Next-Generation-Sequencing \(NGS\)](#) lässt sich das Spektrum der Keime aus nativem Material, wie z. B. Wundabstrichen, Vaginalabstrichen oder Stuhlproben, als sog. ► [Mikrobiom-Analyse](#) identifizieren.

Das bakterielle Operon für rDNA ist organisiert in Spacer, 16S-rDNA-Gen, Spacer, 23S-rDNA-Gen, Spacer und 5S-rDNA-Gen. Während die transkribierten Gene für 16S-rDNA, 23S-rDNA und 5S-rDNA in ihrer Sequenzabfolge sehr stark konserviert sind, können die nicht transkribierten Spacer-Abschnitte eine gewisse Variabilität in der DNA-Sequenz zeigen, die man für eine individuelle Typisierung von Bakterienkeimen einsetzen kann. Ausgehend von definierten Primer-Paaren im konservierten Abschnitt des Operons werden jeweils die varia-

blen V2-V4- und V6-V9-Regionen der 16S-rDNA-Bereiche eines Bakterienisolates überbrückend amplifiziert und anschließend nach Sanger (► [Sanger-Sequenzierung](#)) sequenziert und ausgewertet. Die Sequenzen der variablen Bereiche sind für die diversen Bakterienspezies in Datenbanken, wie z. B. der 16S-rDNA Reference Library oder der Greengenes-Datenbank, gelistet und stehen zum Abgleich mit den erhobenen Sequenzdaten und zur Identifizierung der jeweiligen Bakterienspezies zur Verfügung.

Alternativ zur Sequenzierung von Isolaten kann mittels NGS auch ein Gemisch von Bakterienkeimen in nativem Material, wie z. B. Stuhlproben oder Abstrichen, analysiert werden. Der Amplifikationsschritt ist hierbei identisch zur Einzelprobe, die unterschiedlichen Amplifikate können jedoch durch die massive Parallelsequenzierung der NGS-Methode individuell hinsichtlich der DNA-Sequenz ausgewertet und mittels Bioinformatik die zugehörigen Bakterienkeime identifiziert werden. Dieser Prozess wird auch als Mikrobiom-Analyse bezeichnet und die diagnostische Bedeutung der Mikrobiom-Analysen aus diversen Abstrichproben oder Stuhlproben ist zunehmend.

Literatur

Woo PCY et al (2008) Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 14:908–934