

Pilze bestimmen mit DNA

Vortrag Yngvar Cramer

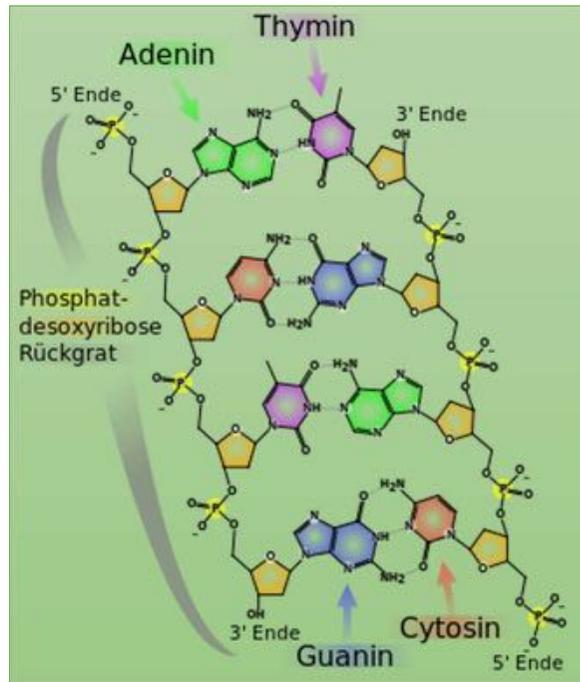
WK 2021 VSVP Fiesch

Zukunft der Pilzbestimmung ?

Unterlagen

- Vortrag WK-Tagung Morschach
- Vortrag J.E.C. Tagung Brennabu (Norwegen)
- Neueste Fortschritte der DNA - Technik (Corona ...)

Aufbau der DNA (Doppelstrang)



- Rückgrat aus Zucker + Phosphat
- 4 Aminosäuren
 - A – Adenin
 - T – Thymin
 - C – Cytosin
 - G – Guanin
- Basenpaare
 - A – T G – C
- Abfolge -> Sequenz
ACTGACTG....

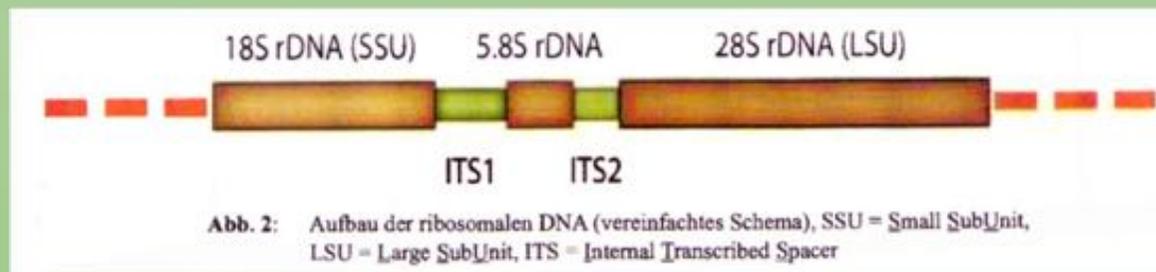
Grösse der DNA ? Genom

- Menschliches Genom ca. 3.2 Milliarden Basenpaare
- Pilz Genom -> 50 Millionen Basenpaare
- Erste Bestimmung des menschlichen Genoms kostete ca. 3. Milliarden Dollar

- Untersuchung der DNA ->
- Das Genom wird in kleinere Bruchstücke gespalten und diese Bruchstücke dann vervielfältigt

Welche Bruchstücke der DNA werden für die Pilzbestimmung verwendet ?

- Für die Gensequenzierung der Pilze wird die sogenannte Region ITS1 verwendet
- Diese umfasst ca. 600 – 1000 Basenpaare



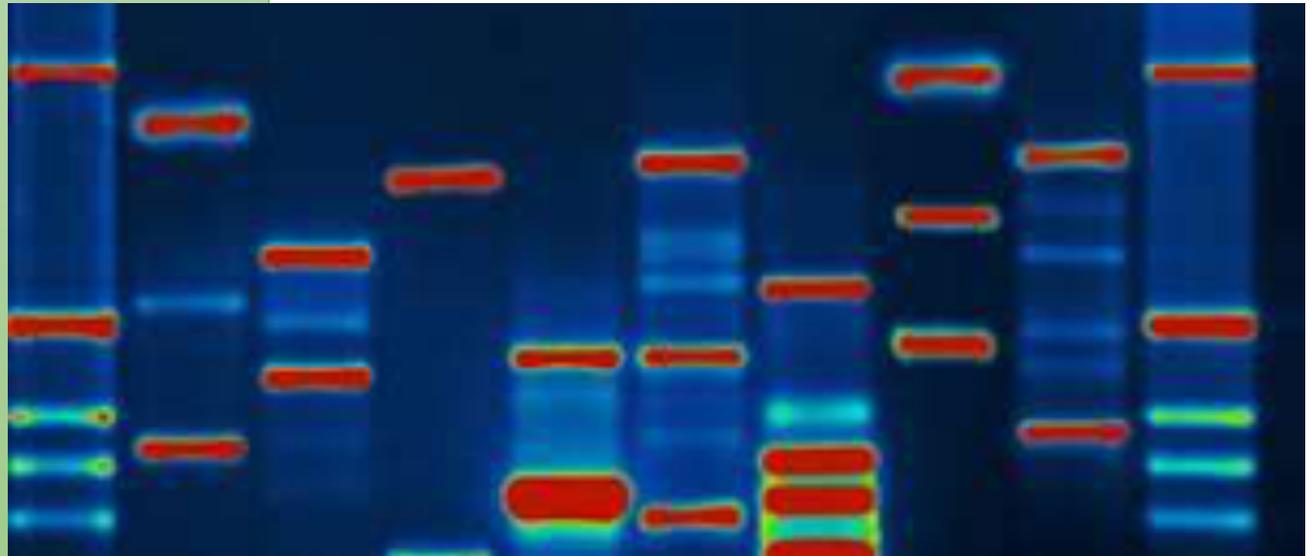
Vervielfältigen des DNA-Bruchstückes im PCR

- PCR : Polymerase Chain Reaktion

1. Von den Pilzen wird eine Probe genommen
2. Von den Pilzen wird die DNA extrahiert (
3. Die DNA wird denaturiert (ca. 90° C)
4. Ein sogenannter spezifischer Primer wird dazugegeben
(Der Primer bestimmt die Anfang und Ende der Sequenz, die vervielfältigt werden soll, bei Pilzen die sogenannten ITS-Primers)
5. In einem Zyklus (Abkühlen auf 60 Grad, erhitzen auf 85 Grad wird die gewünschte DNA Sequenz verdoppelt.
6. Nach 20 bis 30 Zyklen steht genügend DNA Material zur weiteren Analyse zur Verfügung

Überprüfung der vervielfältigten DNA

- 600 +/- Basenpaare ?
- Verunreinigungen ?
- > Elektrophorese



Sequenzierung der DNA

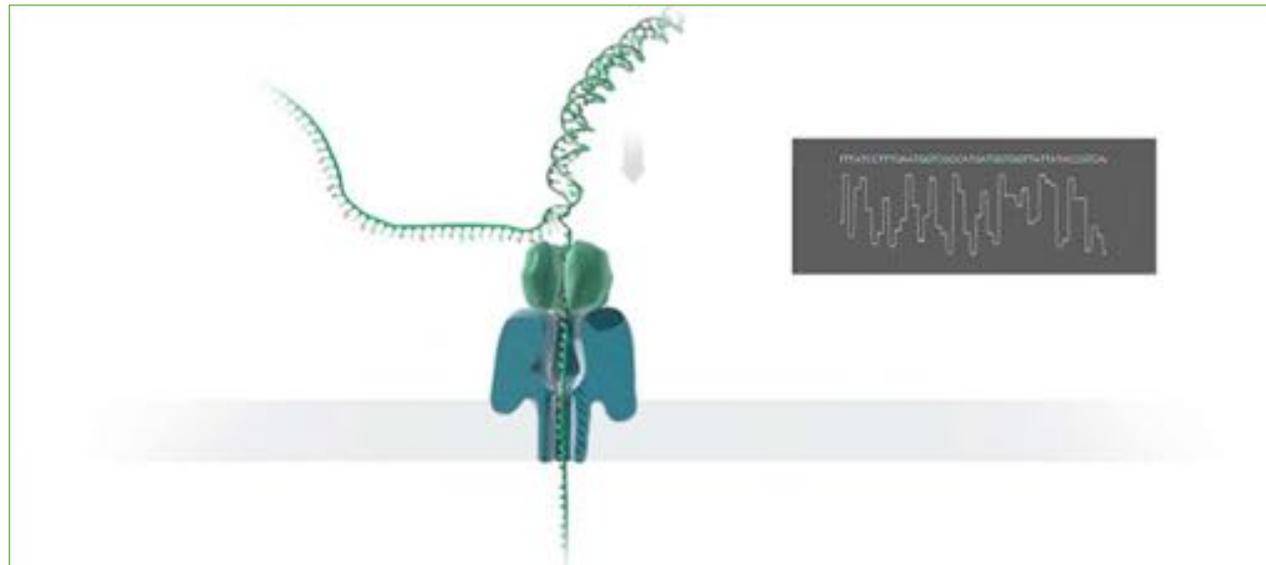
- Sanger Methode
- Gleichzeitige Analyse von 96 Proben
- CHF 100'000+



- Oxford Nanopore Sequenzierer
- CHF 1'000



Oxford Nanopore Mini-Ion



Pilz-Bestimmung mit DNA im Verein ?

Projekt in England:

Lost and Found Fungi - Citizen Science Mycology

- Probennahme
- PCR mit "Bentolab"
- Einschicken der Probe zur Sequenzierung
- Zukunft: DNA Sequenzierung mit dem Mini-Ion

Warum machen die Engländer das ?

- Erstellung eines Pilzinventars ist sehr aufwändig
- Zur Bestimmung der Pilze sind erfahrene Mykologen gefragt (von diesen gibt es nur wenige)
- Bestimmung einer umstrittenen Art dauert Stunden bis Tage
- Die Vorbereitung der Proben für die DNA-Bestimmung kann auch von Laien vorgenommen werden.

Das Bento Lab



Schulung und Labor im Verein



Wie weiter (1)?

Hackuarium Ecublens:

- AT HACKUARIUM, WE WANT TO BRING BIOLOGY (AND BIOLOGISTS) TO THE WORLD, AND THE REAL WORLD BACK TO BIOLOGY. OUR LABORATORY IS AN EXCUSE TO MEET AND DISCUSS, BUILD AND DEVELOP IDEAS IN A NEUTRAL, OPEN, NONCOMPETITIVE AND NOT-FOR-PROFIT ENVIRONMENT.
- Projekte:
 - DNA von 100+ Biersorten
 - Open Food DNA
 - BeeMos (Open Bees Monitoring)
 - Open Mycelium Structures



HACKUARIUM

AN OPEN LABORATORY FOR DIY BIOLOGY (AND BEYOND)

Wie weiter (2)?

- Wenn die Engländer das können, können wir das auch
 1. DNA-Sequenzierung von Pilzen (ITS) im Hackuarium (Cortinarien, Sporenfallen, etc.)
 - Sanger- Methode
 - Mini Ion
 2. Vergleich der Sequenzen mit den DNA-Datenbanken (zB Mycobank)
 3. Demonstration der Methode + Übungen an der nächsten WK