

3 Materialien

3.1 Geräte

Autoklaven	Webeco
Computerprogramme	Word für Windows, Corel Draw, Excel, GCG, Winstat
Elektronenmikroskop	Zeiss EM 10
Elektrophoresekammern	BioRad, Mechanikwerkstatt des Institutes
Filme Kodak Elite 160T, Ektachrome 64T	
Fotopapier	Ilford
Hybridisierungsöfen	MWG-Biotech
Inverses Mikroskop	Zeiss Labovert
Lichtmikroskop	Leitz Aristoplan
Kameraaufsatz	Leitz
Belichtungssteuerung	Leitz Orthomat E
Magnetrührer	Gerhardt
Mikrowellenöfen	Siemens
Netzgeräte	Pharmacia, Biorad
pH-Meter	WTW pH Meter pH 523
Photometer	Pharmacia Gene Quant II
Pipetten	Gilson, Eppendorf
Schüttelinkubatoren	Infors
Stereomikroskop	Wild, Heerbrugg
Kameraaufsatz	Leitz
Belichtungssteuerung	Wild Leitz
Sterilbank	Heraeus, Nuairé
Thermocycler	Techne, bio-med Thermocycler 60
UV-Fotoanlage	Cybertech CS1 Mitsubishi
UV-Lampe	Desaga
Vakuumpumpe	KNF, Neuberger
Vakuumpkonzentrator	Eppendorf Concentrator 5301
Vortex	Heidolph, Boskamp
Waagen	Sartorius
Wasserbad	Hartenstein
Zellkulturschrank mit Kühlaggregat	Nunc
Zentrifugen	Heraeus Sepatech Biofuge und Minifuge RF, Beckmann J2-21, Eppendorf Centrifuge 5417 R

3.2 Verbrauchsmaterialien

Die Verbrauchsmaterialien stammten von den Firmen Schleicher & Schüll, Eppendorf, Sarstedt und Greiner.

3.3 Chemikalien, Antibiotika, Enzyme

Verwendete Chemikalien wurden von den Firmen Roche, Difco, Life Technologies, Merck, Sigma, Oxoid, Roth und Serva geliefert.

Alle genannten Antibiotika stammen von der Firma Sigma.

Die Enzyme stammen von den Firmen New England Biolabs, Boehringer, Life Technologies, Pharmacia, und Promega.

3.4 Bakterienstamm und Plasmid

***E. coli*-Stamm:**

DH5 α F⁻, Φ 80*dlacZ* Δ M15, Δ (*lacZY A-argF*), U169, *recA1*, *endA1*, *hsdR17* (rK⁻, mK⁺), *supE44*, λ^- , *tfi-1*, *gryA*, *relA1* (Gibco)

Plasmid:

pUC18: Klonierungsvektor (2,7 kb), der durch die multiple cloning site (MCS) im *lacZ*-Gen eine einfache Blau-Weiß-Selektion von Rekombinanten auf X-Gal-IPTG-Platten erlaubt. Bindestellen für Reversen- (RP) und Universal- (UP) Sequenzierungsprimer sind vorhanden. pUC18 vermittelt eine Ampicillin-Resistenz.

3.5 Bakterien- und Zellkulturmedien

Medien und Agarplatten für *E. coli*:

LB (Luria Bertani)-Medium:

Pepton	5 g
Hefeextrakt	2,5 g
NaCl	5 g
dest. H ₂ O	ad 500 ml
autoklavieren	

LB-Agarplatten:

vor dem autoklavieren 15 g Agar / l Medium zugeben

für Antibiotika-Selektionsplatten:

nach dem autoklavieren 1 ml Ampicillin-Stammlsg. (50 mg/ml H₂O)

für Blau-Weiß-Selektionsplatten:

nach dem autoklavieren 500 μ l IPTG (20%) und 1,2 ml X-Gal (2% in DMF) steril zugeben.

Medien für Symbiontenkultivierungsversuche:**Müller-Hinton-Yeast-Glucose-Fructose-Pyruvat-Medium:**

Müller-Hinton-Broth	5 g
Hefeextrakt	7,5 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
Na-Pyruvat	0,5 g
dest. H ₂ O	ad 498 ml
autoklavieren	
+ 1 ml 50% Glucoselösung (steril)	
+ 1 ml 50% Fructoselösung (steril)	

Müller-Hinton-Yeast-Glucose-Fructose-Saccharose-Pyruvat-Medium:

Müller-Hinton-Broth	5 g
Hefeextrakt	7,5 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
Na-Pyruvat	0,5 g
dest. H ₂ O	ad 498 ml
autoklavieren	
+ 0,75 ml 50% Glucoselösung (steril)	
+ 0,75 ml 50% Fructoselösung (steril)	
+ 0,5 ml 50% Saccharoselösung (steril)	

Müller-Hinton-Yeast-Saccharose-Pyruvat-Medium:

Müller-Hinton-Broth	5 g
Hefeextrakt	7,5 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
Na-Pyruvat	0,5 g
dest. H ₂ O	ad 498 ml
autoklavieren	
+ 2 ml 50% Saccharoselösung (steril)	

Brain-Heart-Infusion-Medium (BHI-Medium):

Brain-Heart-Infusion	19 g
dest. H ₂ O	ad 500 ml
autoklavieren	

2 x YT-Medium:

Trypton	4 g
Hefeextrakt	2,5 g
NaCl	2,5 g
dest. H ₂ O	ad 500 ml
autoklavieren	

NB-Glucose-Fructose-Saccharose-Medium:

Nutrient Broth 4 g
 dest. H₂O ad 495 ml
 autoklavieren
 + 2 ml 50% Glucoselösung (steril)
 + 2 ml 50% Fructoselösung (steril)
 + 1 ml 50% Saccharoselösung (steril)

NB-Glucose-Fructose-Medium:

Nutrient Broth 4 g
 dest. H₂O ad 495 ml
 autoklavieren
 + 2,5 ml 50% Glucoselösung (steril)
 + 2,5 ml 50% Fructoselösung (steril)

NB-Saccharose-Medium:

Nutrient Broth 4 g
 dest. H₂O ad 495 ml
 autoklavieren
 + 5 ml 50% Saccharoselösung (steril)

LB-Medium:

siehe *E. coli*-Medium

SOB-Medium:

Trypton 10 g
 Hefeextrakt 2,5 g
 NaCl 0,25 g
 dest. H₂O ad 490 ml
 autoklavieren
 + 5 ml 1 M MgCl₂ (steril)
 + 5 ml 1 M MgSO₄ (steril)

Grace's Insect Medium (Sigma)**Schneider's Insect Medium (Life Technologies)****TC 100 Insect Medium (Biochrom KG)****3.6 Oligonukleotide****Oligonukleotide für die Sequenzierungen**

UP 5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3'
 17-mer; M 13 universal primer; pUC Polylinker

RP 5'-AACAGCTATGACCATG-3'
 16-mer; M 13 reverse primer; pUC Polylinker

Oligonukleotide für die Amplifikation der 16S rDNA

- SL 5'-TTGGGATCCAGAGTTTGATCATGGCTCAGAT-3'
31-mer; *Bam*HI-Schnittstelle; komplementär zum Matrizenstrang
- SR 5'-CACGAATTCTACCTTGTTACGACTTCACCCC-3'
31-mer; *Eco*RI-Schnittstelle; komplementär zum codierenden Strang

Oligonukleotide für den spezifischen Nachweis von Symbionten

- CAMP.L 5'-GAATTACTGGGCGTAAAGAGT-3'
21-mer; komplementär zum Matrizenstrang
- CAMP.R 5'-GGAACGTATTCACCGTGAC-3'
19-mer; komplementär zum codierenden Strang
- flori2 5'-CATCCAAAGAACTGTG-3'
16-mer; komplementär zum Matrizenstrang

Oligonukleotide für die *In situ*-Hybridisierung

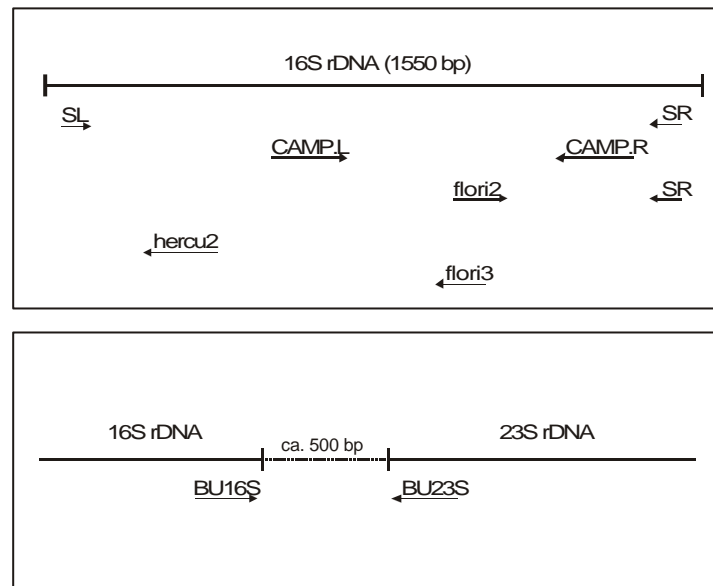
- hercu2 5'-GTGGGCTATTACCCCG-3'
16-mer; komplementär zum codierenden Strang
- flori3 5'-CTCTACTCAGTTCTTTGGG-3'
18-mer; komplementär zum codierenden Strang

Bei den Oligonukleotiden für die *In situ*-Hybridisierungen ist es wichtig, dass sie zum codierenden Strang und somit zur rRNA komplementär sind.

Oligonukleotide für die Kontrolle der rDNA-Operon-Reihenfolge

- BU16S 5'-GGAACCTGCGGTTGGATCACCTCC-3'
24-mer; komplementär zum Matrizenstrang
- BU23S 5'-GCGGGATCCCTGCAGCGGTTGATTTCTTTTCCTCAAGG-3'
38-mer; komplementär zum codierenden Strang

Übersicht über die Lage der für die PCR und *In situ*-Hybridisierungen verwendeten Oligonukleotide:



3.7 Ameisen

Arten und Herkunftsorte

Art	Herkunftsort	Sammler
<i>C. floridanus</i>	Florida/Ft. Pierce	J. Gadau; K. Schilder
<i>C. rufipes</i>	Brazil/Rio	F. Roces
<i>C. abdominalis</i>	Trinidad	S. Cover
<i>C. silvicola</i>	Peru/Cuzco Amazonico	S. Cover
<i>C. sericeiventris</i>	Argentina/Misiones	F. Roces
<i>C. castaneus</i>	Florida, ABS, Bayhead	J. Gadau; K. Schilder
<i>C. ligniperdus</i>	Deutschland/Leinach, Waldrand	C. Elsishans; M. Obermayer
<i>C. planatus</i>	Florida/Monroe Co., W. Summerland Key	S. Cover
<i>C. socius</i>	Florida/Citrus Co. Citrus Wildlife	S. Cover
<i>C. balzani</i>	Peru/Madre de Dios, Cuzco Amazonicos	S. Cover
<i>C. rufipes B</i>	Argentinien/El Bagual	F. Roces; B. Hölldobler
<i>C. pennsylvanicus</i>	USA	B. Hölldobler
<i>C. herculeanus</i> (E)	Würzburg Umgebung/Spessart	M. Obermayer
<i>C. herculeanus</i> (A)	Idaho/USA	L.D. Hansen

Haltung im Labor

Die *Camponotus*-Kolonien werden in Plastikbehältern unterschiedlicher Größe gehalten. Der Boden dieser Behälter ist mit Gips ausgegossen, in den Nestflächen eingelassen sind, die mit Glasscheiben abgedeckt werden. Eine rote Folie auf den Glasscheiben schützt die Nester vor

einfallendem Licht. Die Wände der Behälter sind mit Fluon® (ICI Coop, USA) bestrichen, um die Tiere am Entkommen zu hindern. Um eine ausreichend hohe Luftfeuchtigkeit innerhalb der Nester zu gewährleisten, wird der Gipsboden alle 2 Tage mit Wasser befeuchtet. Zusätzlich wird ein mit einem Wattepfropf verschlossenes Reagenzglas, das mit Wasser gefüllt ist, in den Plastikbehälter gelegt. Die Kolonien werden zweimal wöchentlich mit Honigwasser und Schabenteilen gefüttert.