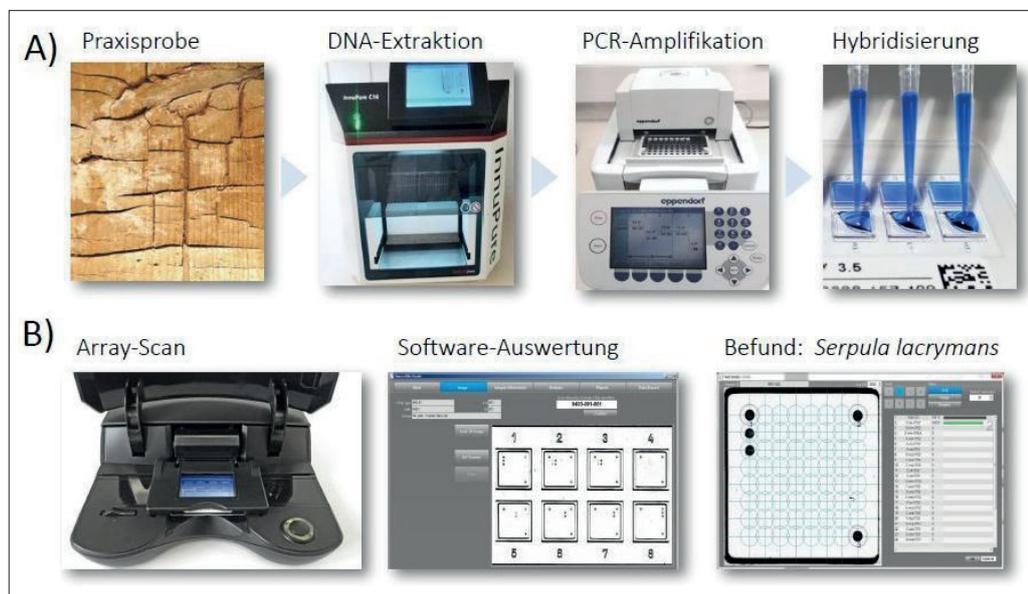


Neuartige DNA-Makroarrays zur Diagnostik von 50 Hausfäulepilzen

Für eine zuverlässige und preisgünstige Diagnostik der 50 wichtigsten Hausfäulepilze (holzerstörende Basidiomyceten und Moderfäulepilze) wurden in einer Kooperation des Mykolabors Dresden und der Chipron GmbH (Berlin) zwei DNA-Makroarray-Kits entwickelt, WDF 1.0 und WDF Plus 1.0 (WDF = wood-decay fungi). Die entwickelte DNA-Chip-Technologie kombiniert eine gattungsübergreifende PCR-Amplifikation kurzer Bereiche der Pilz-DNA mit einer einfachen und kostengünstigen, nicht fluoreszenzbasierten DNA-Makroarray-Hybridisierungsplattform. Zudem wurde ein spezielles Protokoll auf der Basis des innuPREP Plant DNA Kits-IPC16 mit dem automatischen DNA-Extraktionssystem InnuPure® C16 für verschiedene Praxisproben entwickelt.

Die beiden Diagnostik-Kits ermöglichen eine Steigerung der analytischen Sensitivität und einen hohen Probendurchsatz bei geringem Zeitaufwand. Das Funktionsprinzip ist in der Abbildung dargestellt.

Funktionsprinzip



Anwendungsgebiete

Die neuartigen DNA-Makroarrays zur Pilzdiagnostik werden seit 2016 durch die Chipron GmbH produziert und das Mykolabor Dresden begleitete die Markteinführung als Referenzlabor. Seit 2005 bietet das Mykolabor Dresden die molekularbiologische Pilzbestimmung mit verschiedenen Methoden (Ja/Nein-Test für den Echten Hausschwamm, Sequenzierung und DNA-Chip-Technologie) und seit drei Jahren die DNA-Makroarray-Technologie als Dienstleistung an. Die erfolgreiche Analyse von mehr als 600 Praxisproben hat die Praxistauglichkeit der neuartigen DNA-Diagnostik im Vergleich zu herkömmlichen Methoden zur Pilzbestimmung bestätigt.

Potentielle Anwender sind insbesondere Prüf- bzw. Analytiklabors, Sachverständige sowie Forschungseinrichtungen, die in den Bereichen Holz- und Bautenschutz, Baumdiagnostik und Phytopathologie bzw. Mykologie tätig sind. Generelle Anwendungsgebiete sind Forst- und Holzwirtschaft, Bauwesen, Immobilienwirtschaft sowie der Garten- und Landschaftsbau.

Danksagung

Die dargestellten Ergebnisse sind Bestandteil des mit Mitteln des Zentralen Innovationsprogramms Mittelstand (ZIM) des Bundesministeriums für Wirtschaft und Energie (BMWi) geförderten Projektes „Entwicklung einer neuartigen, kostengünstigen LCD-Array-Technologie für die Diagnostik von praxisrelevanten Hausfäulepilzen“ Vorhabens (Reg.-Nr. KF 3118101MD3 und KF2178724MD3)

Institut für Holztechnologie
gemeinnützige GmbH

Zellescher Weg 24
01217 Dresden · Germany

☎ +49 351 4662 0

☎ +49 351 4662 211

✉ info@ihd-dresden.de

www.ihd-dresden.de

Ansprechpartner



Projektleiterin

Dipl.-Ing. Sc.

Natalie Rangno

+49 351 4662 242

natalie.rangno@ihd-dresden.de

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Förderkennzeichen:
KF2178724 (IHD)
KF3118101 (Chipron)

Pilzarten, die mit Hilfe des LCD-Arrays WDF1.0 Kit detektiert und identifiziert werden

Anz.	Pilz-Art (der neue Artname)	Deutsche Bezeichnung	Fäule-Typ	Sonde
1	<i>Serpula lacrymans</i>	Echter Hausschwamm	Braunfäule	S.lac37_ITS2
2	<i>Serpula himantioides</i>	Wilder Hausschwamm	Braunfäule	S.him_ITS2W
3	<i>Antrodia xantha</i> (<i>Amyloporia xantha</i>)	Gelber Porenschwamm	Braunfäule	A.xan_ITS2
4	<i>Antrodia sinosa</i> (<i>Amyloporia sinuosa</i>)	Schmalsporiger Weißer Porenschwamm	Braunfäule	A.sin_ITS2
5	<i>Antrodia vaillantii</i> (<i>Fibroporia vaillantii</i>)	Weißer Porenschwamm	Braunfäule	A.vai_ITS2
6	<i>Antrodia serialis</i>	Reihige Tramete	Braunfäule	A.ser_ITS2
7	<i>Donkioporia expansa</i>	Ausgebreiteter Hausporling	Weißfäule	D.exp_ITS2
8	<i>Coniophora puteana</i>	Brauner Kellerschwamm	Braunfäule	C.put_ITS2
9	<i>Coniophora marmorata</i>	Marmorierter Kellerschwamm	Braunfäule	C.marm_ITS2
10	<i>Coniophora olivacea</i>	Olivbrauner Kellerschwamm	Braunfäule	C.oli_ITS2
11	<i>Oligoporus placenta</i> (<i>Rhodonia placenta</i>)	Rosafarbener Saftporling	Braunfäule	O.plac_ITS2
12	<i>Tapinella panuoides</i> (<i>Paxillus panuoides</i>)	Muschelkrempling	Braunfäule	T.pan_ITS2
13	<i>Asterostroma cervicolor</i>	Ockerfarbene Sternsetenpilz	Weißfäule	A.cer_ITS2
14	<i>Coprinus spp.</i> (<i>C. cinereus</i> und <i>C. radians</i>) (<i>Coprinellus spp.</i>)	Tintlinge (Struppiger Tintling und Strahlfüßiger Tintling)	Weißfäule	C.rad_ITS2
15	<i>Neolentinus lepideus</i> (<i>Neolentinus suffrutescens</i>)	Schuppiger Sägeblättling	Braunfäule	N.lep_ITS2
16	<i>Daedalea quercina</i>	Eichenwirrling	Braunfäule	D.quer_ITS2
17	<i>Leucogyrophana mollusca</i>	Sklerotien Hausschwamm	Braunfäule	L-moll_ITS2
18	<i>Leucogyrophana pinastri</i>	Gelbbrandiger Hausschwamm	Braunfäule	L.pina_ITS2
19	<i>Schizophyllum commune</i>	Gemeiner Spaltblättling	Weißfäule	S.com_ITS2
20	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	Balkenblättling	Braunfäule	G.trab_ITS1
21	<i>Gloeophyllum sepiarium</i>	Zaunblättling	Braunfäule	G.sep_ITS1
22	<i>Gloeophyllum abietinum</i>	Tannenblättling	Braunfäule	G.abi_ITS1
23	<i>Laetiporus sulphureus</i>	Schwefelporling	Weißfäule	Laet_ITS2B

Pilzarten, die mit Hilfe des LCD-Arrays WDF2.0 Kit detektiert und identifiziert werden

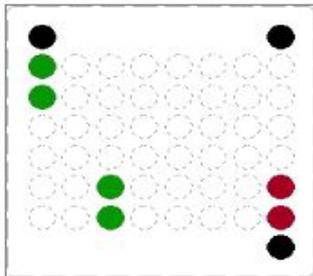
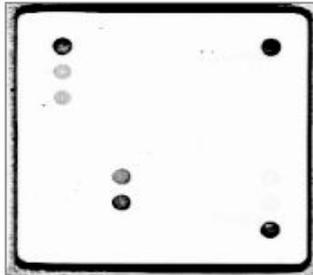
Anz.	Pilz-Art	Deutsche Bezeichnung	Fäule-Typ	Sonde
1	<i>Serpula lacrymans</i>	Echter Hausschwamm	Braunfäule	S.lac_ITS2
2	<i>Stereum spp.</i>	Schichtpilze	Weißfäule	Stere.sp_ITS2
3	<i>Stereum hirsutum</i>	Haariger Schichtpilz	Weißfäule	S.hirs_ITS1
4	<i>Stereum sanguinolentum</i>	Blutende Nadelholz-Schichtpilz	Weißfäule	S.sang_ITS1 S.sang_ITS1-B
5	<i>Trametes (Coriolus) versicolor</i>	Schmetterlingsporling	Weißfäule	T.vers_ITS1
6	<i>Gloeophyllum striatum</i>	nicht bekannt	Braunfäule	G.stri_ITS1
7	<i>Coniophora arida</i>	Trockener Kellerschwamm	Braunfäule	C.ari_ITS1
8	<i>Phellinus ferruginosa</i>	Rostbrauner Feuerschwamm	Weißfäule	F.ferr_ITS1
9	<i>Fomes fomentarius</i>	Echter Zunder-schwamm	Weißfäule	Fo.fom_ITS1
10	<i>Armillaria mellea</i>	Gemeiner Hallimasch	Weißfäule	A.mell_ITS1
11	<i>Bjerkandera adusta</i>	Angebrannter-, Rauchporling,	Weißfäule	B.adus_ITS1
12	<i>Heterobasidium annosum</i>	Gemeiner Wurzelschwamm	Weißfäule	H.anno_ITS2
13	<i>Fomitopsis pinicola</i>	Rotrandiger Baumschwamm	Weißfäule	F.pini_ITS2
14	<i>Chaetomium globosum</i>	Moderfäulepilze	Moderfäule	Chaet_ITS2 C.glob_ITS2
15	<i>Paecilomyces spp.</i>	nicht bekannt	Moderfäule	Paec.sp_ITS2
16	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	nicht bekannt	Moderfäule	P.lila_ITS1 P.lila_ITS2
17	<i>Paecilomyces variotii</i>	nicht bekannt	Moderfäule	P.vari_01/02 ITS2 P.vari-B_ITS2
18	<i>Petriella setifera</i>	nicht bekannt	Moderfäule	P.seti_ITS2
19	<i>Trichurus spiralis</i>	nicht bekannt	Moderfäule	T.spir_ITS2
20	<i>Humicola grisea</i>	nicht bekannt	Moderfäule	H.gris_ITS1A H.gris_ITS1B
21	<i>Humicola fuscoatra</i>	nicht bekannt	Moderfäule	H.fusc_ITS2

Kontrollsonden des LCD-Arrays WDF1.0 und WDF2.0

Anz.	Sonde	Nachweis positiv	Nachweis negativ
1	Lambda 1500	erfolgreiche DNA-Extraktion; Fragment der zugesetzten Lambda-DNA der Probe nachweisbar	keine erfolgreiche DNA-Extraktion; Fragment der zugesetzten Lambda-DNA der Probe nicht nachweisbar
2	HYB-Control	erfolgreiche Hybridisierungsreaktion	keine erfolgreiche Hybridisierungsreaktion

Befundprotokoll: WDF 1.0 (Muster)

Chip-Type	WDF 1.0	Lot	003	Cut Off	DL	Used
Cs.No.	0435	ID	006	100	Probe	
Image	0435-003-006-2.tif				Define 2	
					Define 3	
					Define 4	
Comment						



Color Code
■ WD-Fungi-ITS2
■ WD-Fungi-ITS1
■ Lambda Control
 Features manually set by user
 None
 None

ID	Identity	Value	10,000	20,000	30,000	40,000	50,000	60,000
1	HYB-Ctrl	55641	[Bar chart showing value 55641]					
2	S.lac37_ITS2	12559	[Bar chart showing value 12559]					
3	S.him_ITS2W	0	[Bar chart showing value 0]					
4	A.xan-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
5	A.sin-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
6	A.vai-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
7	A.ser_ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
8	D.exp-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
9	C.put-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
10	C.marm_ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
11	C.oli-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
12	O.plac-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
13	T.pan-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
14	A.cer-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
15	C.rad-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
16	N.lep-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
17	D.quer-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
18	L.moll-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
19	L.pina-ITS2	0	[Bar chart showing value 0]					
20	S.com-ITS2	40362	[Bar chart showing value 40362]					
21	G.trab-ITS1	0	[Bar chart showing value 0]					
22	G.sep-ITS1	0	[Bar chart showing value 0]					
23	G.abi-ITS1	0	[Bar chart showing value 0]					
24	Laet_ITS2-B	0	[Bar chart showing value 0]					
25	Lambda1500	974	[Bar chart showing value 974]					

Untersuchungsergebnis

Probe	LCD-Array WDF 1.0 Kit	Ergebnisse
Musterprobe	23 Pilzspezifische Sonden	positiv – Sonde S.lac_ITS2 spezifisch für <i>Serpula lacrymans</i> positiv – Sonde S.com_ITS2 spezifisch für <i>Schizophyllum commune</i>
	zwei Kontrollsonden als Nachweis der erfolgreichen DNA-Extraktion und Hybridisation	positiv – Sonde Lambda 1500 (DNA-Extraktion) und Sonde HYB-Control (Hybridisation)