



Molekulare Mikrobiologie

Versuchsdurchführende

Huyen Anh Nguyen (572309)
Johanna Laetitia Heide (...)

Versuchsort

Haus 14, Kursraum
Gruppe 3

Versuchsleiter

Prof. Dr. Marc Erhardt

Versuchsbetreuer

Dr. Caroline Kühne
Heidi Landmesser

Abgabe 31. Januar 2025

Contents

1	Note from the Author	2
2	Insertion mutagenesis using the transposable element T-Pop	3
2.1	Einleitung	3
2.2	Methode	3
2.3	Ergebnis	4
2.4	Diskussion	4
3	The Luria-Delbrück fluctuation test	5
3.1	Einleitung	5
3.2	Methode	5
3.3	Ergebnis	6
3.4	Diskussion	6
4	Phenotypic analysis of type-III protein secretion	7
4.1	Part I: Analysis of protein secretion via the FT3SS in Salmonella mutants using SDS-PAGE and western blot	7
4.1.1	Einleitung	7
4.1.2	Methode	7
4.1.3	Ergebnis	8
4.1.4	Diskussion	8
4.2	Luciferase assay to measure gene expression	8
4.2.1	Einleitung	8
4.2.2	Methode	9
4.2.3	Ergebnis	9
4.2.4	Diskussion	9
4.3	Motility assay to analyze the swimming behavior of Salmonella mutants	10
4.3.1	Einleitung	10
4.3.2	Methode	10
4.3.3	Ergebnis	11
4.3.4	Diskussion	11
5	Dissecting the regulatory mechanism of an unknown flagellar regulator	12
5.1	Einleitung	12
5.2	Methode	12
5.3	Ergebnis	12
5.4	Diskussion	13
6	Anhang	14
	Bibliography	14

Note from the Author

Wir erklären ausdrücklich, dass wir die Anmerkungen zur Anfertigung des Protokolls gelesen und befolgt haben, dass es sich bei der von uns eingereichte Arbeit um eine von uns erstmalig, selbstständig ohne fremde Hilfe verfasste Arbeit handelt und dass wir sämtliche verwendete zulässige Literatur (Fachpublikationen/-bücher), die unverändert oder abgewandelt wiedergeben werden, insbesondere Quellen für Texte, Grafiken, Tabellen und Bilder als solche kenntlich gemacht haben. Uns ist bewusst, dass Verstöße gegen diese Grundsätze als Täuschung betrachtet und entsprechend der Prüfungsordnung und/oder der Fächerübergreifenden Satzung zur Regelung von Zulassung, Studium und Prüfung der Humboldt-Universität zu Berlin geahndet werden.

Die Versuche werden wie im Skript "Praktikum Molekulare Mikrobiologie" von Dr. Caroline Kühne¹ durchgeführt. Nur bei Abweichungen werden diese in diesen Protokoll aufgeführt. Zudem wird in diesen Protokoll für die einzelnen Versuchen, die verwendete Phagen- und Sallmonella-Stämme aufgelistet, da in den meisten Versuchen, die unterschiedlichen Stämme unter den Studentenen-Gruppen aufgeteilt wurden.

Insertion mutagenesis using the transposable element T-Pop

2.1 Einleitung

In diesem Experiment wird untersucht, wie viele Gene des Salmonella-Chromosoms durch die Insertion des T-POP-Transposons in einem Salmonella-Stamm mit einer fljB-lac-Fusion beeinflusst werden. In den Salmonella-Zellen sind die beiden Gene fljB und fliC (Klasse-3-Proteine) für die Proteine der Filamente verantwortlich.² Der für diesen Versuch verwendete Salmonella-Stamm besitzt im fljB-Gen eine Mud-lac-Operon-Fusion. (Das MudJ-Element enthält eine Kanamycin-Resistenzkassette, die mit dem lac-Operon fusioniert ist, wobei die Kanamycin-Resistenzkassette durch eine Chloramphenicol-Resistenzkassette ersetzt wurde.) Das bedeutet, dass, wenn das fljB-Gen exprimiert wird, gleichzeitig auch das lac-Operon exprimiert wird, da das lac-Operon den fljB-Promotor nutzt.

2.2 Methode

In Table 2.1 wurden die in dem Versuch verwendete Biologisches Material aufgeführt.

Table 2.1: Verwendete biologische Material für die Insertion von Mutagene mittels eines T-Pop Transposon.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
P22 Phagen Lysat	TH3468	F'128 (pro-lac) zzf-3834::Tn10dTc[del-20 del-25] (T-POP3) / proAB4
Recipienten Salmonellazellen	EM8052	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) fljB23028::MudJ-Cm (Km in MudJ replaced by FCF)/ pNK2880 (Ap ^R)

Durchführung siehe Skript.¹

2.3 Ergebnis

Table 2.2: Mittelwert von der Table 6.1. Der Transposon T-POP wurde mit dem Phagenstamm TH3468 in die Salmonella-Recipientenstamm EM8052 in den Genom eingefügt. Hier wurde der Mittelwert der Anzahl der Gene ermittelt, die durch die Insertion betroffen sind.

#TcR	Lac ⁻	lac ⁻ (beide Platten)	Tc-dep.-Lac ⁻	Tc-dep.Lac ⁺	Ratio: $\frac{Lac^-}{\#TcR}$	Genes affected
130	2	1.5	0.5	0	2/130	72

Durch die T-POP insertion konnte im Durchschnitt bestimmt werden, dass 72 Gene für die flüB-lac-Expression verantwortlich sind (siehe Table 2.2).

2.4 Diskussion

Für die Expression des flüB-lac-Fusionsproteine sind ca. 60 Gene verantwortlich (Erwartungswert von Dr. Caroline Kühne im Praktikum vorgegeben). Hier wurde ein Wert von 72 affected Genes ermittelt, welches um 20% höher liegt als der erwartete Wert. Die Daten wurde aus dem Schnitt von 8 verschiedene Gruppe berechnet, wobei die Standardabweichung circa ± 31 Gene liegt.

Damit die Standardabweichung verringert werden kann, müsste der Versuch nochmal innerhalb der Gruppen die Replicaplaten mit n=6 für die MacConkey-Tc- und MacConkey-Lac-Tc-Platten wiederholt werden.

The Luria-Delbrück fluctuation test

3.1 Einleitung

In diesem Experiment wird die Hypothese überprüft, ob Mutationen adaptiv oder zufällig auftreten. Dazu werden zwei Salmonella-Stämme verwendet: ein Wildtyp-Stamm und ein Stamm mit einer Mutation im DNA-Reparatursystem. Beide Stämme werden mit dem Antibiotikum Rifampicin behandelt.

Anhand der Anzahl der koloniebildenden Einheiten auf den Antibiotika-Platten wird die Mutationsrate pro Kultur bestimmt und überprüft, ob die Mutationen adaptiv oder zufällig auftreten.

3.2 Methode

Table 3.1: Verwendete biologische Material für die den Luria-Delbrück Fluktationstest. Die Stämme wurden in E25-Medium (E Salz Minimal Medium mit 0.0025 % Glukose) kultiviert bevor es im Versuch in E1000 kultiviert wurde.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
Salmonella Wildtyp	EM7653	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) wildtype
Salmonella Mutant	EM8021	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δ mutS::FCF (Cm ^R)

3.3 Ergebnis

Table 3.2: Inoculum-Tabelle. Koloniezahlen von Wildtyp (EM7653) und Mutant (EM8021) der jeweiligen Gruppen, die auf LB-Rifampicin- und LB-Platten gewachsen sind.

Gr-No.	WT (EM7653)			Δ mutS (EM8021)		
	N_t	# cultures	# cultures with zero mutations	N_t	# cultures	# cultures with zero mutations
1	$1.36 \cdot 10^7$	36	36	$1.39 \cdot 10^7$	36	20
2	$6.2 \cdot 10^4$	36	36	$4.6 \cdot 10^4$	36	36
3	$1.085 \cdot 10^9$	36	36	$5.05 \cdot 10^6$	36	31
4	N/A	36	36	N/A	36	31
5	$1.34 \cdot 10^7$	36	36	$1.26 \cdot 10^7$	36	34
6	$2.6 \cdot 10^9$	36	33	$3.95 \cdot 10^9$	35	0
7	$9.2 \cdot 10^5$	36	36	N/A	36	28
8	N/A	36	36	N/A	36	30

Table 3.3: Durchschnittliche Poisson Verteilung p_0 , Mutationsrate a und Mutationsereignis pro Kultur m vom Wildtyp (EM7653) und Mutant (EM8021)

WT (EM7653)			Δ mutS (EM8021)		
p_0	a	m	p_0	a	m
0.982	$1.300 \cdot 10^{-9}$	0.017	0.732	$2.479 \cdot 10^{-8}$	0.312

In der Table 3.3 wurden die Poisson Verteilung p_0 , Mutationsrate a und Mutationsereignis pro Kultur nach folgende Rechnung bestimmt:
(Beispielzahlen wird für die Gruppe 3 eingesetzt)

$$p_0(WT) = \frac{\text{\#cultures with zero mutations}}{\text{\#cultures}} = \frac{36}{36} = 1$$

$$m(WT) = -\ln(p_0(WT)) = -\ln(1) = 0$$

$$a(WT) = \frac{m(WT)}{N_t(WT)} = \frac{0}{1.085 \cdot 10^9} = 0$$

Diese Rechnung wird für alle Gruppen gemacht und für den Mutantenstamm und dann den Mittelwert genommen. Für den Wildtyp wurde eine Mutationsrate von $1.300 \cdot 10^{-9}$ und pro Kultur eine Mutationsereignis von 0.017 bestimmt, während für die Mutante eine Rate von $2.479 \cdot 10^{-8}$ und Mutationsereignis pro Kultur von 0.312 bestimmt wurde. Zudem streuen die Werte an Kolonien zwischen den Platten sehr, da die meisten Kolonien nur bei den Mutantenstämmen gezählt wurden, was eine hohe Varianz bedeutet und somit eher eine zufällige Mutation hindeutet.

Leider wurde keine Photos von den Kulturen gemacht, das diese Aussage unterstützt. Bei einer Wiederholung des Versuches soll auch diese dokumentiert werden.

3.4 Diskussion

Wie in Tabelle 3.3 zu sehen ist, ist die Mutationsrate pro Kultur bei dem Mutantenstamm mit dem defekten DNA-Reparatursystem 17 Mal höher (0,312 Mutationen pro Kultur) als beim Wildtyp. Selbst unter Selektionsdruck durch Antibiotika ist die Mutationsrate beim Wildtyp 19 Mal niedriger als bei den Mutanten. In diesem Fall ist die Mutation nicht adaptiv, sondern erfolgt zufällig.

Phenotypic analysis of type-III protein secretion

Das Experiment für die Untersuchung des Typ-III Sekretionssystem für den Aufbau von dem Flagellum der Salmonella und die Genexpression des Flagellumproteins wird hier in drei Teile durchgeführt.

4.1 Part I: Analysis of protein secretion via the fT3SS in Salmonella mutants using SDS-PAGE and western blot

4.1.1 Einleitung

Die Salmonella-Bakterien verwenden das Typ-III-Sekretionssystem, um ihr Flagellum aufzubauen. Die hier verwendeten Stämme haben eine Mutation im Hin-Gen , sodass nur das Flagellumprotein FliC exprimiert werden kann, nicht jedoch die alternativen Flagellin-Proteine FljB und FljA , da das Hin-Gen nicht mehr invertierbar ist.

Die im Experiment verwendete Salmonella-Mutante hat eine Deletion im fliP-Gen , einem Bestandteil des fliPQR-Operons , welches die Typ-III-Pore formt. Die FliC-Expression wird zwischen dem Wildtyp und der Mutante verglichen, um festzustellen, ob FliC im Überstand oder in der Zelle zu finden ist.

4.1.2 Methode

Table 4.1: Salmonella-Stämme die für den Versuch der Analyse der Sekretionsproteine mittels SDS-PAGE und Western Blot verwendet wurde.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
Salmonella Wildtyp	EM8016	MvP103 sseC::aphT (Km^R) Δ hin5717::FRT (fliC-ON)
Salmonella Mutant	EM8035	MvP103 sseC::aphT (Km^R) Δ hin5717::FRT (fliC-ON) Δ fliP6659::tetRA

4.1.3 Ergebnis

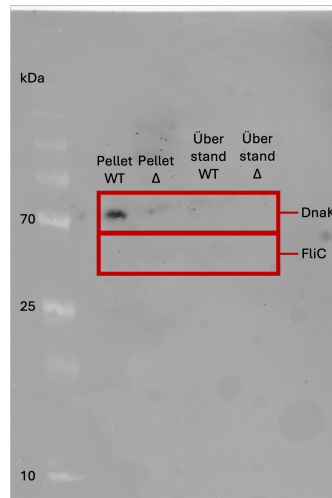


Figure 4.1: WesternBlot vom Überstand und vom Pellet des Wildtyps EM8016 und Mutant 8035 nach einem SDS-PAGE. Banden wurden mit Antikörper für DnaK und FliC sichtbar gemacht. DnaK gilt hier als Kontrollprotein und hat eine Molekülgröße von 77kDa und FliC eine Größe von 55kDa.

Im Figure 4.1 ist eine Bande bei 70 kDa im Pellet des Wildtyps zu erkennen und eine sehr schwache Bande bei der Mutante, die vom Antikörper DnaK gefärbt ist. Sonst sind keine weiteren Banden mehr erkennbar. FliC hat eine PRoteingröße von 55 kDa was hier nicht zu erkennen ist.

4.1.4 Diskussion

In unserer Gruppe sowie in den Gruppen 4, 7 und 8 war keine Bande bei 55 kDa sichtbar. Die Vermutung ist, dass die für die Färbung verwendete Antikörperlösung zu alt war und daher die Antikörper nicht mehr gebunden haben. Beide Blots wurden in einer Box mit derselben Antikörperlösung inkubiert. Die anderen Gruppen verwendeten eine frisch angesetzte Antikörperlösung. Um diese Vermutung zu überprüfen, müsste der Versuch mit einer frisch angesetzten Antikörperlösung wiederholt werden.

Nichtsdestotrotz ist die Färbung des Kontrollproteins DnaK bei allen Proben nicht einheitlich. Ein Pipettierfehler könnte dafür verantwortlich sein, dass nur im Pellet des Wildtyps eine stark gefärbte Bande vorliegt und bei den anderen Proben nicht. DnaK dient als Kontrollprotein und soll als Marker für die gleiche Konzentration der Proben fungieren.

4.2 Luciferase assay to measure gene expression

4.2.1 Einleitung

In diesem Experiment wird die Bedeutung des Proteins FlgE für den Aufbau des Flagellums untersucht. FlgE ist für die Bildung des Hooks verantwortlich, der das Verbindungsstück zwischen Basalkörper und Filament darstellt. Das Flagellum wird nur aufgebaut, wenn der Hook eine Länge von 55 nm erreicht hat. Das Typ-III-Sekretionssystem kontrolliert die Länge des Hooks und transportiert das Inhibitionsprotein FlgM aus der Zelle, sobald der Hook die 55 nm erreicht hat, sodass der σ -Promotor für die Flagellenproteine binden kann.

Die Gene für *flhD* (Klasse I), *flhB* (Klasse II) und *motA* (Klasse III) sind mit der Luciferase-Operon-Kassette gekoppelt, die bei Expression in Anwesenheit von Sauerstoff leuchten kann. Die hier verwendeten mutierten *Salmonella*-Stämme weisen Mutationen im *FlgE*-Gen auf und enthalten in den verschiedenen Stadien des Flagellumaufbaus die Luciferase-Kassette.

4.2.2 Methode

Table 4.2: Salmonella-Stämme die für den Luciferase Assay verwendet wurde.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
Salmonella Wildtyp 1	EM8009	pRG38 (P_{flhD} -luxCDABE; Tc^R)
Salmonella Wildtyp 2	EM8008	pRG52 (P_{flhB} -luxCDABE; Tc^R)
Salmonella Wildtyp 3	EM8007	pRG19 (P_{motA} -luxCDABE; Tc^R)
Salmonella Mutant 1	EM8044	$\Delta flgE22964::FCF$ / pRG38 (P_{flhD} -luxCDABE; Tc^R)
Salmonella Mutant 2	EM8045	$\Delta flgE22964::FCF$ / pRG52 (P_{flhB} -luxCDABE; Tc^R)
Salmonella Mutant 3	EM8043	$\Delta flgE22964::FCF$ / pRG19 (P_{motA} -luxCDABE; Tc^R)

4.2.3 Ergebnis

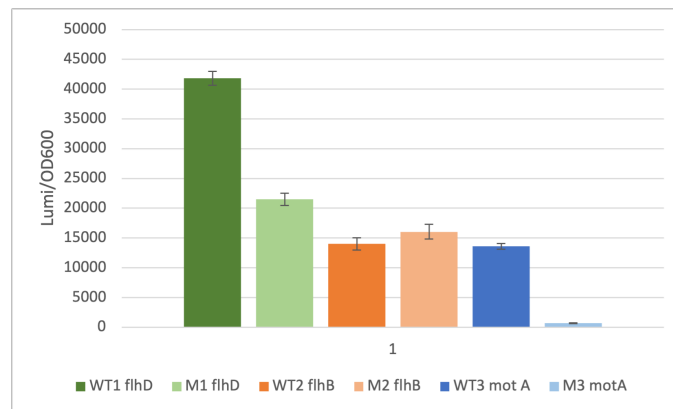


Figure 4.2: Luminiszenz-Verhältnis zu der Zelldichte im Vergleich von Wildtyp und Mutant.

In Figure 4.2 ist bis auf bei FlhB eine Senkung der Luminiszenz zu erkennen. Bei FlhB ist die Luminiszenz gleich hoch bei der Mutante wie beim Wildtyp, wenn die Standardabweichung mit berücksichtigt wird. Mot A wurde bei der Mutante kaum exprimiert.

4.2.4 Diskussion

Wenn FlgE nicht exprimiert wird, kann der Hook nicht die erforderliche Länge von 55 nm erreichen, wodurch der Inhibitor FlgM nicht aus der Zelle transportiert wird und somit die Klasse-III-Proteine nicht exprimiert werden können.

Bis zu den Klasse-II-Proteinen (also flhD und flhB) ist eine Expression messbar. Dass die FlhD-Lumineszenz bei den Mutanten fast halb so hoch ist, muss mit weiteren Versuchen noch einmal untersucht werden.

Die motA-Proteine können bei einem defekten FlgE nicht exprimiert werden, was in Abbildung 4.2 zu sehen ist. Die Lumineszenz ist hier fast 20-fach niedriger.

4.3 Motility assay to analyze the swimming behavior of Salmonella mutants

4.3.1 Einleitung

Hier wird das Motilitätsverhalten der Salmonella untersucht, indem die Bakterien in einen halbfesten Agarplatte inokuliert werden und den Halo vermessen wird, wie weit die Zellen geschwommen sind. Die vier Salmonella-Mutantenstämme (Deletion in jeweils fliT-, fliS-, fliP- und fliC-Gen) werden mit dem Wildtyp verglichen. Das fliT-Gen codiert für das positive Regulator-Chaperon, fliS-Gen codiert für den fliC-Chaperon, fliP-Gen codiert für die Pore des Sekretionssystem und fliC ist das Flagellum-Protein.

4.3.2 Methode

Table 4.3: Salmonella-Stämme die für den Motility-Assay verwendet wurde.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
Salmonella Wildtyp	EM8016	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δhin5717::FRT (fliC-ON)
Salmonella Mutant 1	EM8033	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δhin5717::FRT (fliC-ON) ΔfliT5758::FCF
Salmonella Mutant 2	EM8034	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δhin5717::FRT (fliC-ON) ΔfliS5728::FRT
Salmonella Mutant 3	EM8035	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δhin5717::FRT (fliC-ON) ΔfliP6659::tetRA
Salmonella Mutant 4	EM8036	MvP103 sseC::aphT (Km ^R) Δhin5717::FRT (fliC-ON) ΔfliC7715::tetRA

4.3.3 Ergebnis

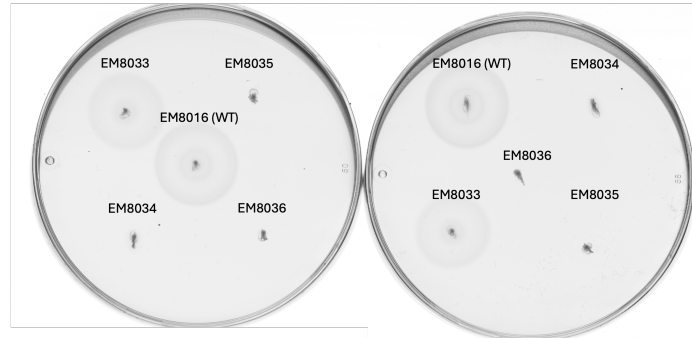


Figure 4.3: Inokulierte Kulturen in Motility Agar und Inkubation für 4h bei 37°C.

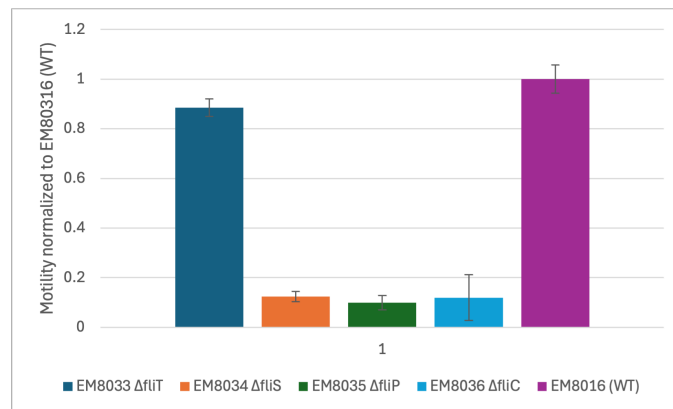


Figure 4.4: Durchschnittliches Durchmesser der Kulturen, die nach 4h bei 37°C sich bewegt haben. Normalisiert wurden die Werte auf dem Wildtyp EM8016 und die Standardabweichung von zwei Platten genommen.

Der Wildtyp und die Mutante EM8033 mit den deletierten *fliT*-Gen zeigen im Agar ein großes Halo (siehe Figure 4.3) Die Motilität dieser Stämme betrug auch $88 \pm 3.5\%$ vom Wildtyp. Bei den anderen Stämme wurde ein Halodurchmesser von circa $10 \pm 4.7\%$ vom Wildtyps gemessen.

4.3.4 Diskussion

Die Deletion der Gene *fliS*, *fliP* und *fliC* in den Salmonella-Zellen beeinflusst die Motilität der Zellen erheblich. Wie in den Abbildungen 4.3 und 4.4 zu sehen ist, gibt es kein Halo an der Inokulationssstelle der Stämme EM8034 (Δ *fliS*), EM8035 (Δ *fliP*) und EM8036 (Δ *fliC*). Beim Stamm EM8033 (Δ *fliT*) ist jedoch ein Halo zu erkennen, was darauf hindeutet, dass eine Deletion des *fliT*-Gens keinen großen Einfluss auf den Flagellumaufbau hat.

Dissecting the regulatory mechanism of an unknown flagellar regulator

5.1 Einleitung

In diesem Experiment wurde eine *fliL::MudJ*-Kassette sowohl in den Wildtyp- als auch in den Mutantenstamm eingefügt. Das MudJ-Element ist ein Lac-Fusionsprotein, dessen Expression mithilfe des β -Galactosidase-Substrats o-Nitrophenyl- β -D-galactosid photometrisch gemessen werden kann. Der Mutantenstamm weist eine Deletion in einem Regulator auf, dessen Einfluss auf die Regulation der Flagellenproduktion in diesem Experiment untersucht werden soll.

5.2 Methode

Table 5.1: Salmonella-Stämme die für die Untersuchung des unbekannten Flagella Regulator verwendet wurde.

Biologisches Material	Stamm	Genotyp
Salmonella Wildtyp	EM8017	<i>fliL23026::MudJ-Cm</i> (Km^R in MudJ replaced by FCF = Cm^R)
Salmonella Mutant	EM9900	<i>fliL23026::MudJ-Cm</i> (Km^R in MudJ replaced by FCF = Cm^R) Δ regulator:: <i>tetRA</i>

5.3 Ergebnis

Table 5.2: Miller Units vom Wildtyp 8017 und Mutant EM9900 der einzelnen Gruppen und ob durch die Deletion des Δ mutS einen Up-oder Down regulation gemessen wurde.

Gruppe	WT (EM8017)	Δ mutS (EM9900)	up/down
1	813.65	583.12	down
2	355.75	716.73	up
3	6.25	799.80	-
4	751.91	827.44	up
5	582.10	692.40	up
6	529.00	1062.0	up
7	1077.08	1054.04	down
8	811.18	663.10	down

Es wurden 3 Downregulation und 4 Upregulation gemessen und somit eine Overall Upregulation festgestellt. Gruppe 3 wurde aus der Zählung rausgenommen durch die starke Abweichende Messungen.

Die Millerunits wurde mit der Gleichung (5.1) bestimmt. Die Absorbtion der Probe bei $\lambda = 420\text{nm}$ und die Zelldichte bei $\lambda = 620\text{nm}$ wurde hier eingesetzt. Das Volumen v der im Assay verwendete Kulturvolumen beträgt $20\text{ }\mu\text{L}$ und die Reaktionszeit in Minuten wurde individuell von jede Gruppe aufgenommen. Für die Gruppe 3 wurde eine Reaktionszeit von 17 min für die Mutante und 31 min für den Wildtyp aufgenommen.

$$Millerunits = 1000 \cdot \frac{Abs_{420}}{OD_{600}} \cdot v \cdot t \quad (5.1)$$

5.4 Diskussion

Da die meisten eine Upregulation gemessen haben, wird vermutet, dass es sich bei den ΔmutS um einen Up-Regulator handelt. Es ist jedoch schwer zu beurteilen, ob die Mehrheit wirklich eine Upregulation messen würde. Der Versuch müsste mit mehr Replikaten wiederholt werden.

Die Versuchsbetreuerin enthüllte, dass der Regulator RflP deletiert wurde, ein negativer Regulator für FlhDC. Wenn dieser Regulator ausgeschaltet wird, dann wird der RflM-Regulator stärker exprimiert, was die Expression der Klasse-I-Proteine inhibiert. Dennoch können Klasse-II-Proteine exprimiert werden, weswegen FliL mit der MudJ-Kassette exprimiert werden kann und der β -Galactosidase-Test positiv ausfällt.

Bei der Gruppe 3 könnten die Mutationsstämme mit den Stämmen aus dem Versuch "Analysis of phenotypic heterogeneity by single-cell fluorescence microscopy" (siehe Abschnitt 7) vertauscht worden sein, da auch dort keine Ergebnisse gemessen werden konnten.

Anhang

Table 6.1: Versuch 2: Insertion mutagenesis using the transposable element T-POP. Der Transposon T-POP wurde in die Recipientenzellen des Stammes EM8052 (Table 2.1) über Nacht mit einem Phagenlysate TH3468 (Table 2.1) transduziert. Anzahl der Kolonien von Gruppe 1-8, die auf MacConkey-lactose Platten mit Tetracyclin und MacConkey-lactose Platten ohne Tetracyclin gewachsen sind, wurden bestimmt und die Anzahl der betroffene Gene ermittelt.

Gr.	#TcR	Lac ⁻	lac ⁻ (beide Platten)	Tc-dep.-Lac ⁻	Tc-dep.Lac ⁺	Ratio: $\frac{Lac^-}{\#TcR}$	Genes affected
1	246	5	3	2	0	5/246	81
2	77	1	0	0	1	1/77	52
3	115	1	1	0	0	1/115	35
4	93	2	1	1	0	2/93	86
5	33	1	1	0	0	1/33	121
6	95	0	0	0	0	NA	NA
7	106	1	1	0	0	1/106	38
8	274	6	5	1	0	6/274	88

Bibliography

¹ Dr. Caroline Kühne. Skript modul mb22 - praktikum molekulare mikrobiologie, 2024.

² Tomoko Yamaguchi. Structural and functional comparison of salmonella flagellar filaments composed of fljB and fliC. 2020. doi:10.3390/biom10020246.