

16s rRNA-Sequenzierung der Muttermilch-Mikrobiota über mehrere Laktationsstadien hinweg in der BeBiCo-Kohorte

Lydia Marraffino, BMA 23-26
Biomedizinische Analytikerin HF

Department for Biomedical Research, University of Bern & Gastroenterology/Mucosal Immunology Prof. Stephanie Ganal-Vonarburg

1. Zusammenfassung

Ziel dieser Diplomarbeit war es, die Zusammensetzung und zeitliche Entwicklung der Muttermilchmikrobiota sowie den möglichen Einfluss des Geburtsmodus zu untersuchen. Dafür wurde im Rahmen der BeBiCo Studie 478 Muttermilchproben von 120 Müttern zu 6 Zeitpunkten (Tag 10, Woche 6, 10, 14, 24, 36) nach der Geburt analysiert. Nach der Isolation bakterieller DNA und einer 16s rRNA-Sequenzierung erfolgte die bioinformatische und statistische Auswertung der Daten. Die Ergebnisse zeigten eine signifikante Abnahme der Alpha-Diversität über den Untersuchungszeitraum, insbesondere ab Woche 24, mit einer Stabilisierung bis Woche 36. Auch die Beta-Diversität und Taxonomie veränderten sich im zeitlichen Verlauf. Für den Geburtsmodus konnte kein signifikanter Zusammenhang mit der Zusammensetzung der Muttermilch-Mikrobiota festgestellt werden. Zusammenfassend verändert sich die Muttermilch-Mikrobiota während der ersten 36 Wochen kontinuierlich. Die Zeit nach der Geburt scheint dabei einen stärkeren Einfluss auf die Zusammensetzung zu haben als der Geburtsmodus.

2. Einleitung

Die BeBiCo-Studie untersucht den Einfluss von Umwelt- und mütterlichen Faktoren auf die Entwicklung der kindlichen Mikrobiota und des Immunsystems. Die mikrobielle Prägung beginnt bereits im Mutterleib, wobei die wesentliche Besiedlung während und nach der Geburt erfolgt [1]. Die frühe Kindheit gilt als wichtiges „Window of Opportunity“ für die Entwicklung von Mikrobiota und Immunsystem. Störungen in dieser Phase können das Risiko für Allergien, Asthma und Übergewicht erhöhen [2]. Die Mikrobiota bezeichnet die Gesamtheit der Mikroorganismen eines bestimmten Lebensraums, beispielsweise des Darms [3].



3. Ziele und Fragestellungen

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist es, die Mikrobiota in den Muttermilchproben aus Probandinnen der BeBiCo-Studie während den ersten 36 Wochen postnatal mittels 16s rRNA-Sequenzierung zu charakterisieren.

- Wie verändert sich die Muttermilch-Mikrobiota in der Zusammensetzung von Tag 10 bis Woche 36 postnatal?

4. Material und Methodik

Die 478 bei -80°C gelagerten Proben wurden aufbereitet und die DNA extrahiert und quantifiziert. Anschliessend erfolgte die PCR-Amplifikation ausgewählter bakterieller Genabschnitte (16s rRNA, V5 & V6) sowie die Gelelektrophorese und Aufreinigung der DNA. Nach äquimolarem Pooling wurde die DNA mittels Ion-Torrent-NGS sequenziert. Individuelle Primer ermöglichten die Zuordnung zu den Probandinnen. Abschliessend erfolgten die bioinformatischen Auswertungen und Visualisierungen in RStudio.

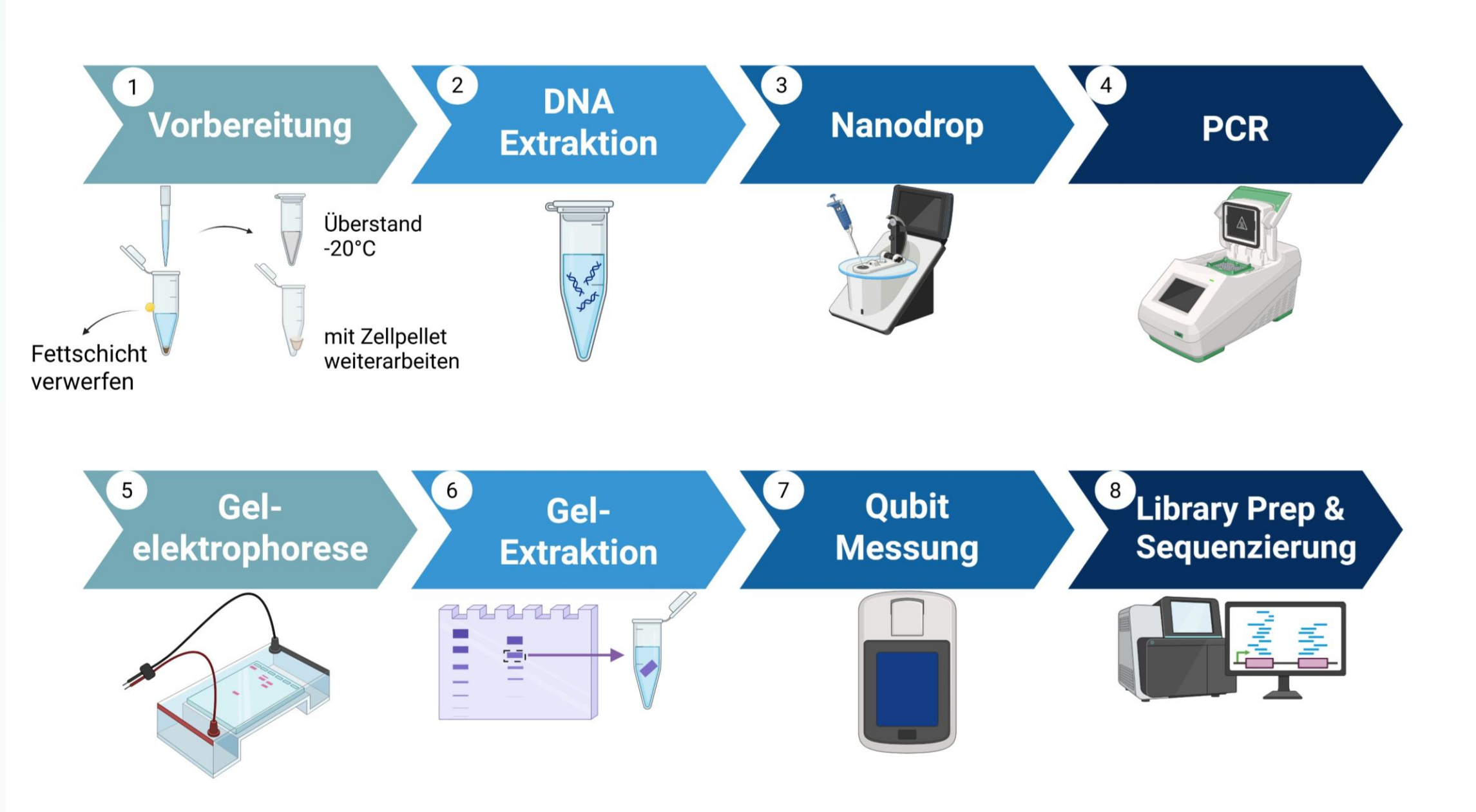


Abb. 2: durchgeführten Arbeitsschritte; von der Muttermilch zur detektierten Sequenz

5. Resultate

Abb. 3: Beta-Diversität innerhalb aller Muttermilchproben aus der BeBiCo-Studie farblich markiert, entsprechend der untersuchten Zeitpunkte. Die Grösse der Ellipsen verändert sich im Aitchison nicht stark, dafür ändert sich die Richtung.

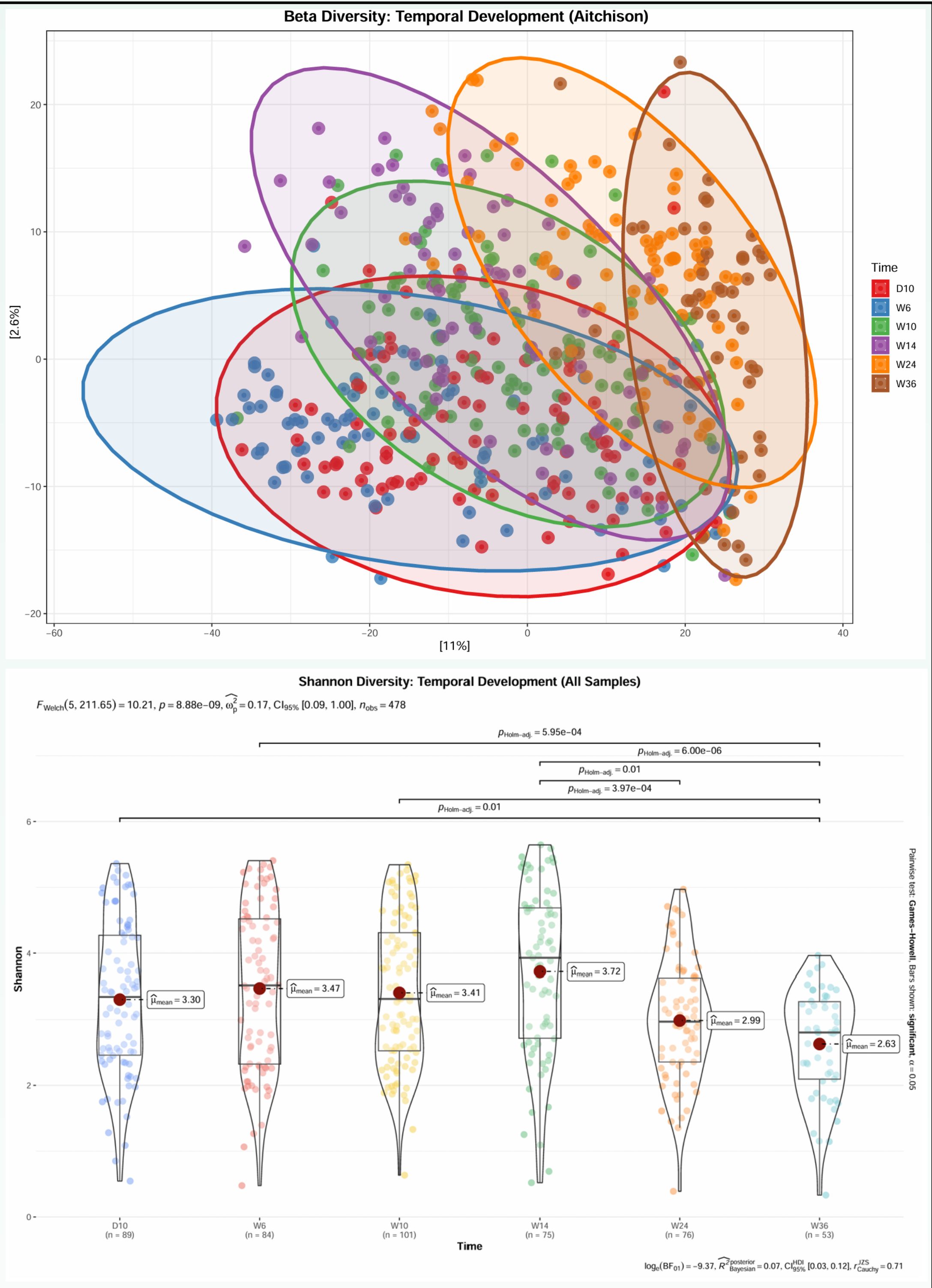


Abb. 4: Verteilung der Shannon-Diversität der Muttermilch-Mikrobiota zu den Zeitpunkten in der BeBiCo-Studie. Zeigt eine Signifikanz zwischen den Proben Tag 10 und Woche 36 und einen Abfall der Alpha-Diversität ab Zeitpunkt Woche 24. Wenn der p-Wert <0.05 gilt das als statistisch signifikant.

6. Diskussion

Die Analysen zeigten deutliche Veränderungen der Muttermilchmikrobiota im Verlauf der ersten 36 Wochen. Während die Zusammensetzung zu Beginn stärker variierte, kam es im weiteren Verlauf zu einer zunehmenden Angleichung und kontinuierlichen Umstrukturierung der mikrobiellen Gemeinschaft. Diese zeitlichen Veränderungen wurden auch statistisch bestätigt. Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit zeigen, dass sich ihre Vielfalt und bakterielle Zusammensetzung im Verlauf der Laktation kontinuierlich verändern und zunehmend stabilisieren. Der Zeitpunkt nach der Geburt hat dabei einen deutlicheren Einfluss gezeigt. Insgesamt stellt die Muttermilchmikrobiota ein dynamisches System dar, das zur Entwicklung der kindlichen Mikrobiota beitragen kann.

Referenzen

- [1] Kalbermatter et al., 06/2020, S.1 / Gomez De Agüero et al. 2016
- [2] Kalbermatter et al., 06/2020, S.2-5
- [3] Microbial metagenomic sequencing – What is Metagenomics / QUIAGEN, o.J.

Abbildungen

- Abb. 1: Schematische Darstellung des Studiendesigns und der Langzeitbegleitung der Mutter-Kind-Paare, (erstellt mit ChatGPT, Marraffino 2026)
- Abb. 2: Arbeitsschritte im Labor, erstellt mit BioRender, Marraffino 2026
- Abb. 3: erstellt in Rstudio mittels Skript, Beta-Diversität der untersuchten Zeitpunkte (Marraffino 2026)
- Abb. 4: erstellt in Rstudio mittels Skript, Verteilung der Shannon-Diversitäten über die Zeitpunkte (Marraffino 2026)