

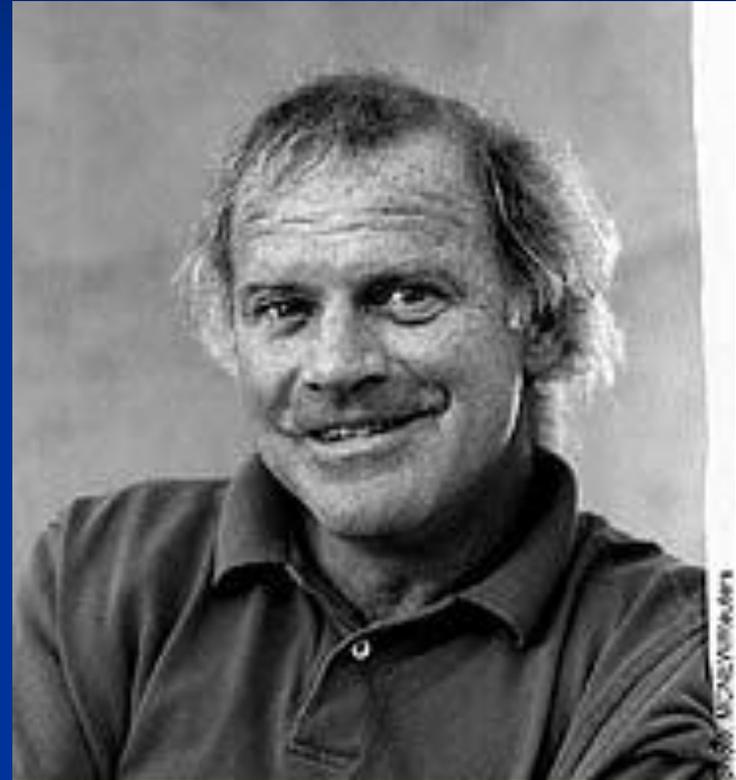
PCR

Polymerase-Kettenreaktion

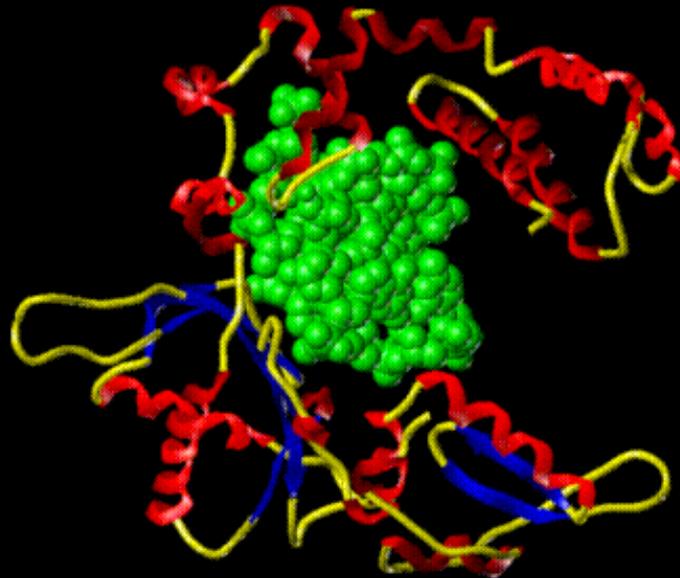
Polymerase Chain Reaction

PCR

- Kary MULLIS
(1993 Nobelpreis
für Chemie)



DNA-Polymerase



DNA polymerase beta (8ICX)

- In allen Lebewesen
- Verdoppelt DNA vor Zellteilungen
- Erzeugt einen Komplementärstrang an geöffneter DNA

Durchführung

- Vervielfältigung eines kurzen, genau definierten Teils eines DNA-Stranges
(Gen, Teile eines Gens, nicht codierende Sequenzen)

Was wird gebraucht:

- Die zu vervielfältigende Original-DNA
- Zwei Primer (Starthilfen) für Anfang und Ende der Sequenz
- Polymerasen um den Abschnitt zu kopieren
- Nukleotide zum Bau der Kopie-Sequenzen

Der Ablauf

- Jeder PCR-Prozess besteht aus einer Serie von 20 -30 Zyklen.
- Jeder Zyklus besteht aus 3 Schritten

1. Schritt: Schmelzen

- Die DNA wird auf 96° C erhitzt, dabei werden die Basenpaarbindungen aufgebrochen.
- Die DNA ist nun in 2 Einzelstränge getrennt (*Melting*)

2. Schritt: Anlagern

- Nach Trennung der Stränge wird die Temperatur auf 68°C gesenkt.
- Jetzt lagern sich die Primer an die einzelnen Stränge an (*Annealing*).

3. Schritt: Verlängerung

- Bei 72° C beginnt die DNA-Polymerase an den angelagerten Primern mit dem Anbau neuer komplementärer Stränge
(Elongation)

Taq-Polymerase von *Thermus aquaticus*

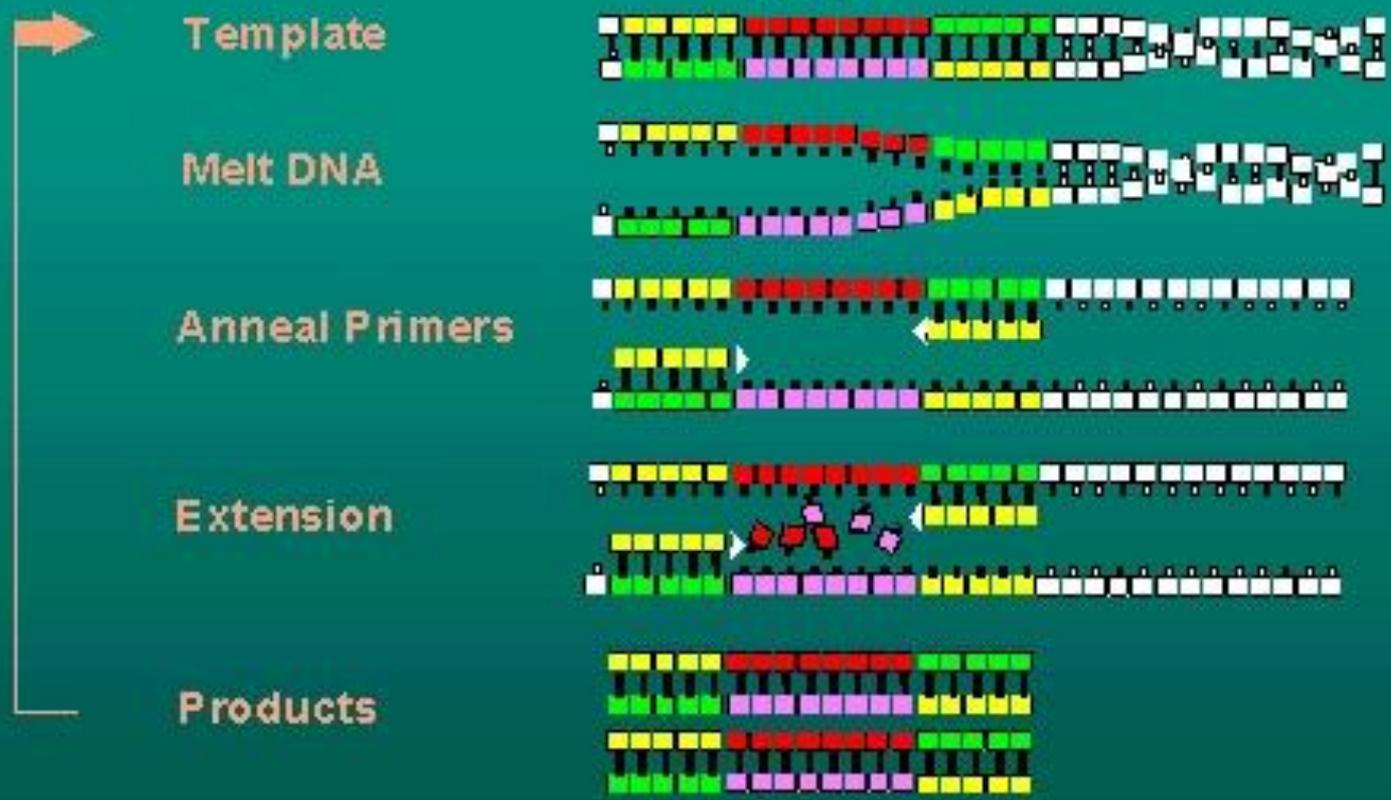


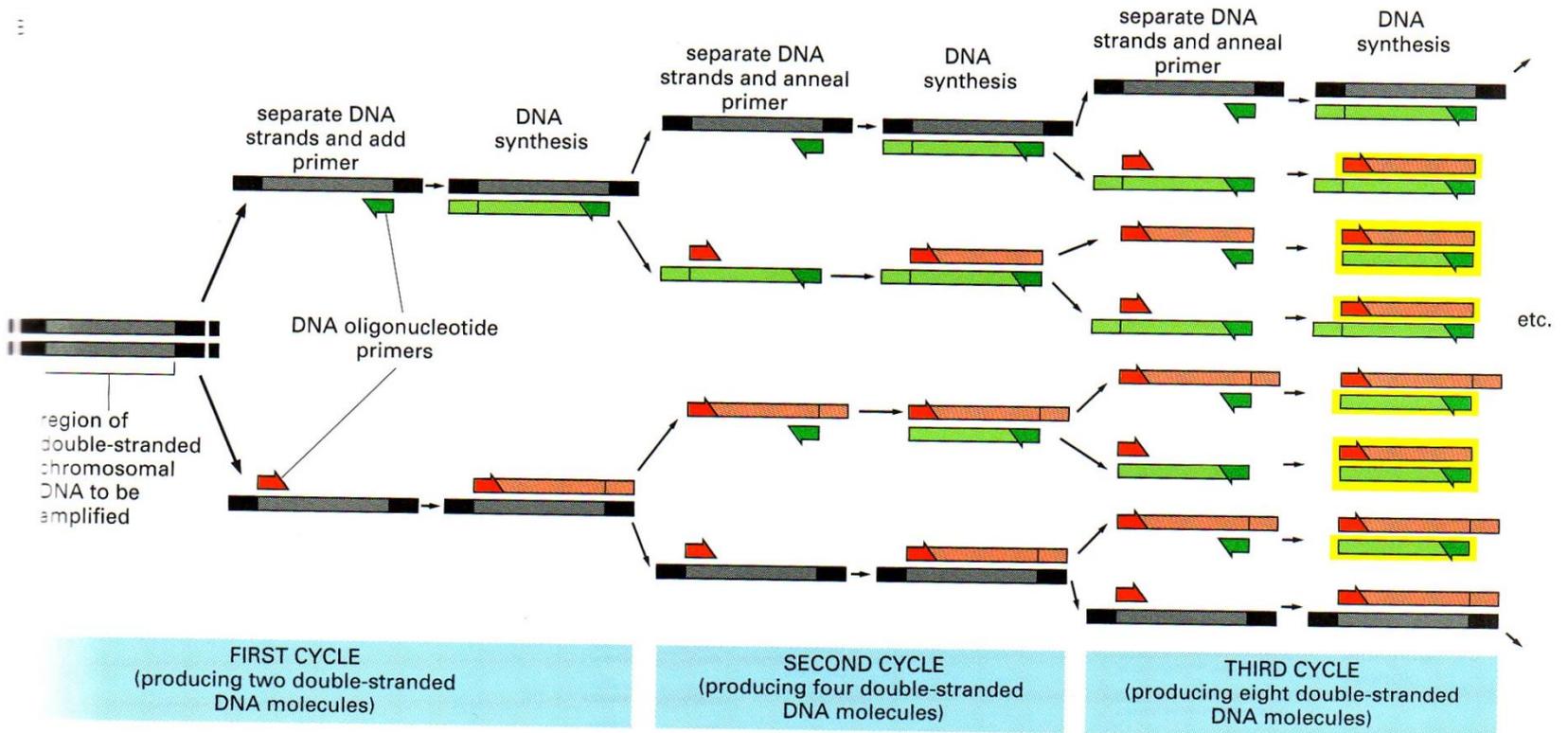
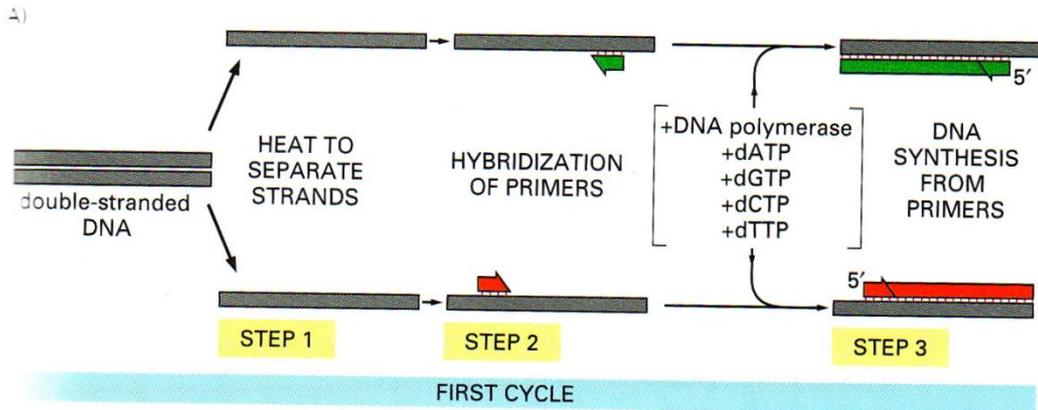
Vervielfältigung

- Durch häufiges Wiederholen dieses Vorganges wird eine exponentielle Vervielfältigung (Amplifizierung) dieses DNA Abschnittes erreicht.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

----- Target -----





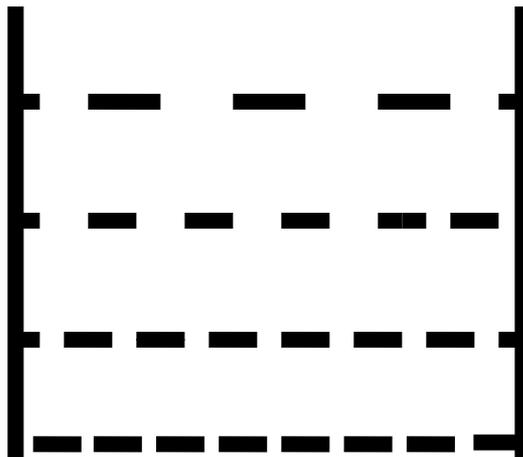
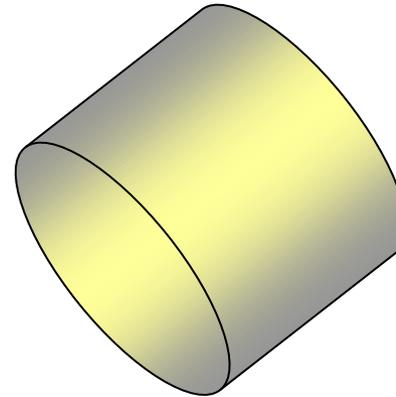
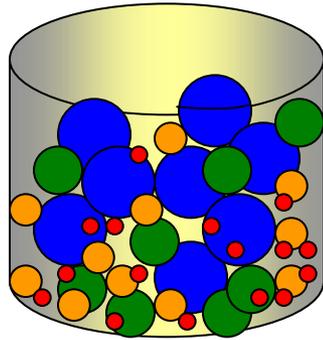
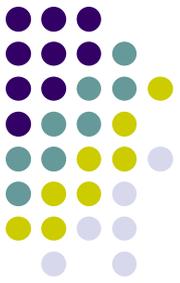
Thermocycler



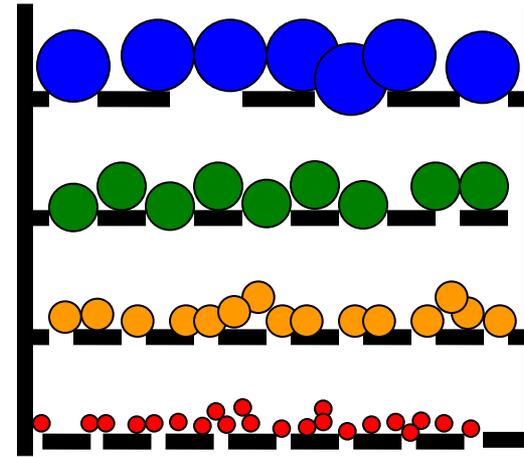
Elektrophorese

Die Trennung der vermehrten DNA-
Sequenzen

Schema zur Gensortierung

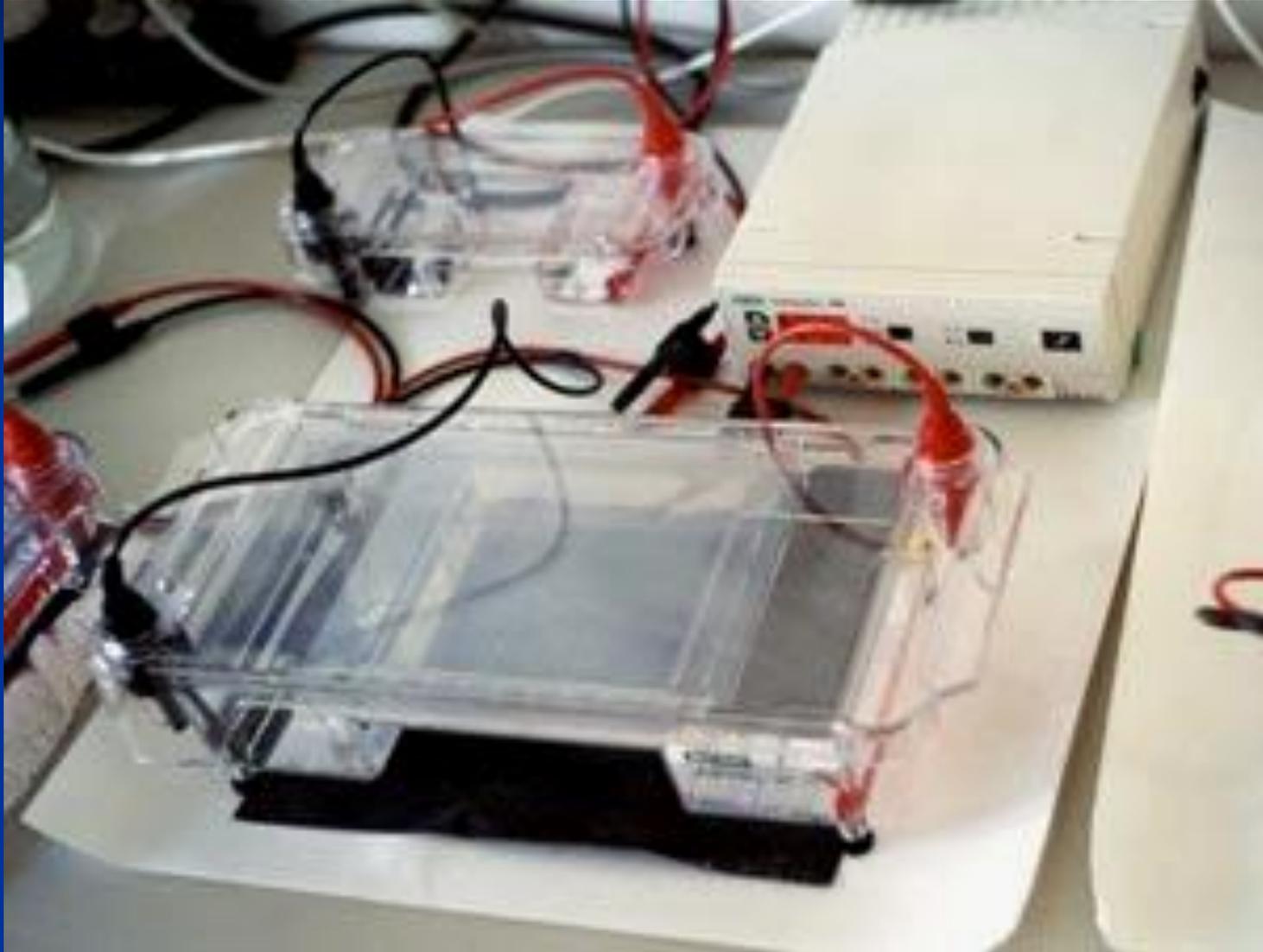


Durch PCR vermehrte
Gensequenzen

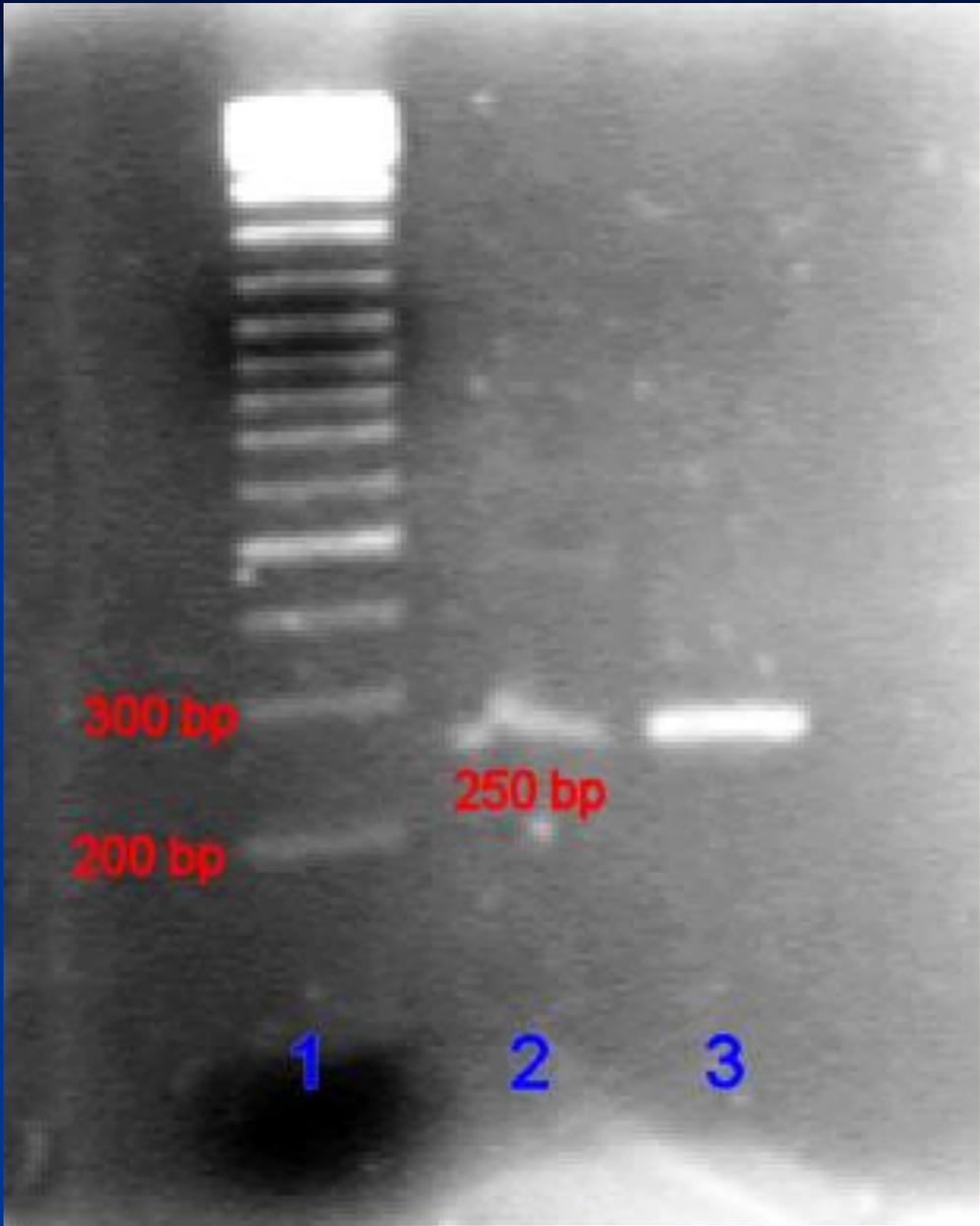


Gensequenzen nach
Größe sortiert

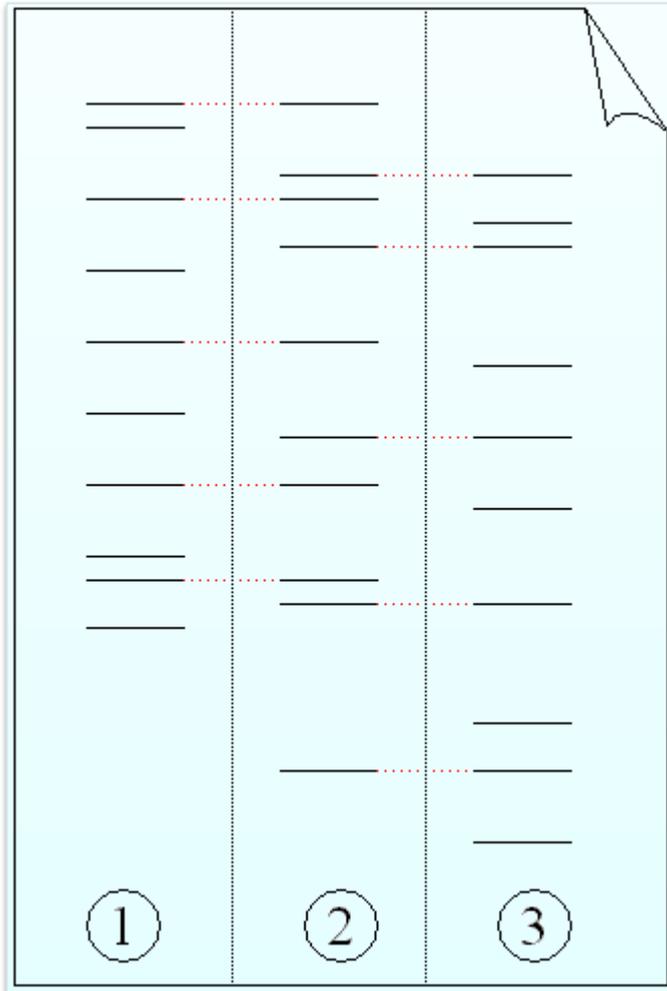
Elektrophorese mit Agar-Gel



- Die Länge des PCR-Produkts kann durch einen Vergleich mit einer DNA-Leiter, die DNA-Fragmente bekannter Größe enthält und parallel zur Probe im Gel mitläuft, bestimmt werden .



Elektrophorese von PCR vervielfältigter DNA-Fragmente.



- (1) Vater, (2) Kind, (3) Mutter.

Das Kind hat Teile der Fingerabdrücke der beiden Elternteile geerbt wodurch es über einen eigenen, einzigartigen Fingerabdruck verfügt.

Anwendung

- Gerichtsmedizin (Forensik)
- Vaterschaftstest
- Krankheitsnachweis
- Stammbaumanalyse
- Nachweis gentechnischer Veränderungen
- Klonierung von Genen
- Analyse fossiler DNA

■ Thank you for your attention

