

Zu 3.5.1 Gentechnische Werkzeuge und Methoden

- **Gelelektrophorese**

Ziel: **Auftrennung** verschieden langer DNA-Abschnitte.

Material: Agarose-Gel, Puffer-Lösung, Spannungsquelle.

Prinzip: DNA leicht negativ geladen; wird zur positiven Elektrode gezogen; lange DNA-Stücke wandern langsam durchs Gel (verheddern sich in Gelstruktur), kurze DNA-Stücke schneller.

Anfärbung, z.B. mit (Fluoreszenz-) Farbstoffen

- **Gensonden**

Zum **Auffinden** spezieller Sequenzen: Kurze, radioaktive DNA-Stücke binden exakt an der komplementären Stelle. Auf einem Röntgenfilm wird die Stelle sichtbar.

Vorher: Trennung des DNA-Doppelstranges durch Hitze!

Auch möglich: DNA-Sonde mit **fluoreszierendem Farbstoff** anstatt radioaktiver Markierung

Die Bindung komplementärer DNA-Stücke, also auch die Bindung von Gensonden an DNA, nennt man **Hybridisierung** (wohl am ehesten mit „Vermischung“ zu übersetzen).

Anwendung der Gensonden / Hybridisierung: z. B. bei der Chorionzottenbiopsie zum Test auf best. Erbkrankheiten, Test auf Mikroorganismen in Lebensmitteln, etc.

- **genetischer Fingerabdruck** (s. AB)

Mehrfaches Schneiden bestimmter DNA-Abschnitte mit speziellen Restriktionsenzymen.

Es ergeben sich charakteristische Bruchstücke, die durch **Gelelektrophorese** getrennt werden. Das entstehende **Bandenmuster** ist **individuell**.

→ Identifizierung: SOUTHERN-Blotting (s. AB)

- **P(olymerase) C(hain) R(eaktion)** (s. AB)

Ziel: Massenhafte **Vermehrung von DNA**

Material: DNA-Probe, zeitgesteuerte Heizplatte, Primer, Nucleotide, Taq-Polymerase

Methode: Abwechselndes **Erhitzen und Abkühlen**

- **reverse Transkriptase**

Problem: menschliche Gene enthalten Introns, Bakterien beherrschen aber das Spleißen nicht
Würde man ein DNA-Stück eines Menschen in ein Bakterium einbauen, würde kein funktionsfähiges Protein entstehen!

Lösung: Isolierung der mRNA (enthält keine Introns mehr!), Übersetzung in cDNA (*c = complementary*) mit Hilfe der reversen Transkriptase