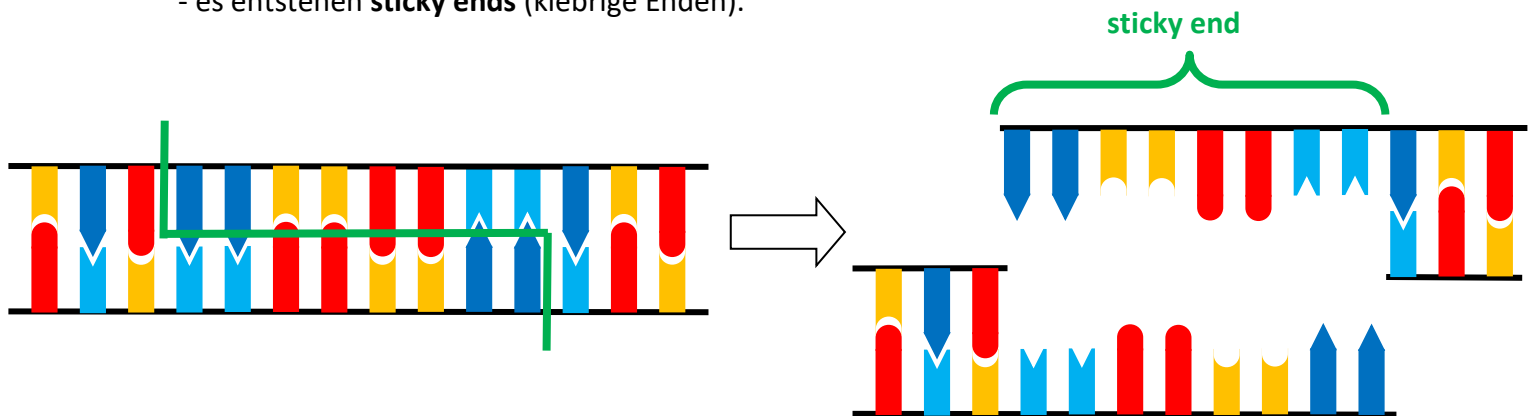


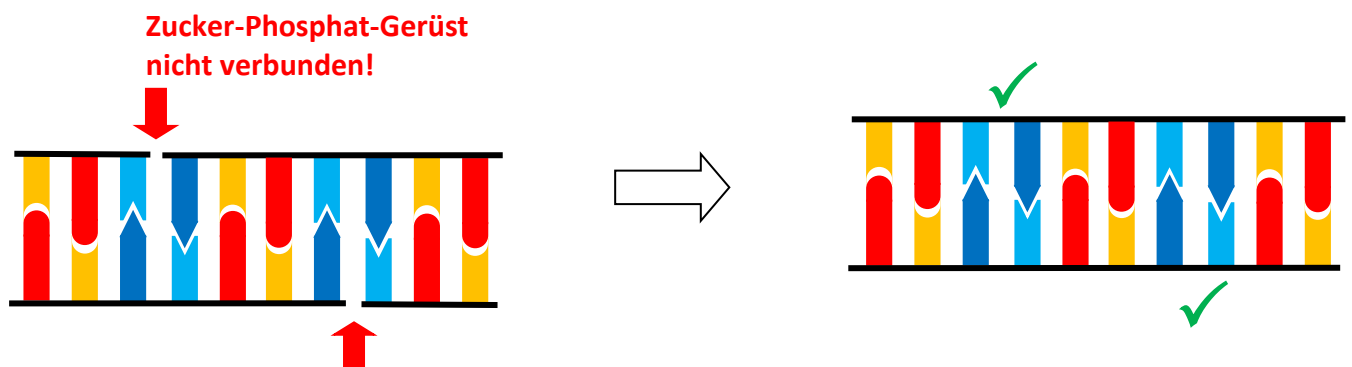
## 2.5 Gentechnik

### 2.5.1 Gentechnische Werkzeuge und Verfahren

- **Restriktionsenzyme** (aus Bakterien)
  - Schneiden an *palindromischen Sequenzen* den DNA-Doppelstrang *versetzt* durch,
  - es entstehen **sticky ends** (klebrige Enden).



- **Ligasen** (ebenfalls Enzyme)
  - Verknüpfen komplementäre Doppelstränge am Zucker-Phosphat-Gerüst



- **Vektoren:** Plasmide und Viren
  - Als Vektoren werden „Objekte“ oder „Strukturen“ bezeichnet, die in der Lage sind, Fremdgene in andere Organismen einzubringen.
- ❖ **Plasmide** (ringförmige DNA, in Bakterien natürlicherweise vorhanden)
  - Damit ein Plasmid zum Transport von Fremdgenen in Bakterien geeignet ist, sollten auf dem Plasmid vorhanden sein
    - bekannte Restriktionsenzymstichstelle
    - Marker (z.B. Antibiotikaresistenz, in der Regel zwei verschiedene)
    - ori (origin of replikation), hier beginnt die DNA-Polymerase mit der Replikation (ein Plasmid, das eine ori-Stelle besetzt wird im Bakterium häufig repliziert (vervielfältigt). Dadurch lässt sich die Produktion des gewünschten Produkts steigern. (s. aAB: Genetische Werkzeuge und Verfahren)
- ❖ **Viren**
  - Auch Viren können manipuliert werden, um Erbgut in andere Zellen einzuschleußen.

- **Allgemeines, stark vereinfachtes Verfahren der klassischen Gentechnik**

- ❖ Herausschneiden des gewünschten Gens aus Spender-DNA (auch künstlich hergestellte DNA möglich)
- ❖ Aufschneiden eines Plasmids mit dem gleichen Restriktionsenzym.
- ❖ Neben dem eigentlichen Strukturgenen werden i.d.R auch Regulatorgene eingebaut, die das Ablesen des Strukturgens steuern.

→ Urspr. Plasmid + neue Gene = **Hybridplasmid / rekombinante DNA**

- ❖ Einschleusen des Hybridplasmids in Bakterien (z.B. durch  $\text{Ca}^{2+}$ -Behandlung)
- ❖ Vermehrung, **Klonierung**

- **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

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

**Mehrfaches Schneiden** bestimmter DNA-Abschnitte mit speziellen Restriktionsenzymen.

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