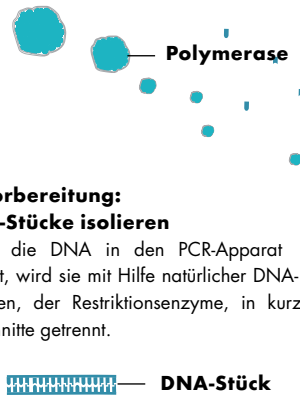
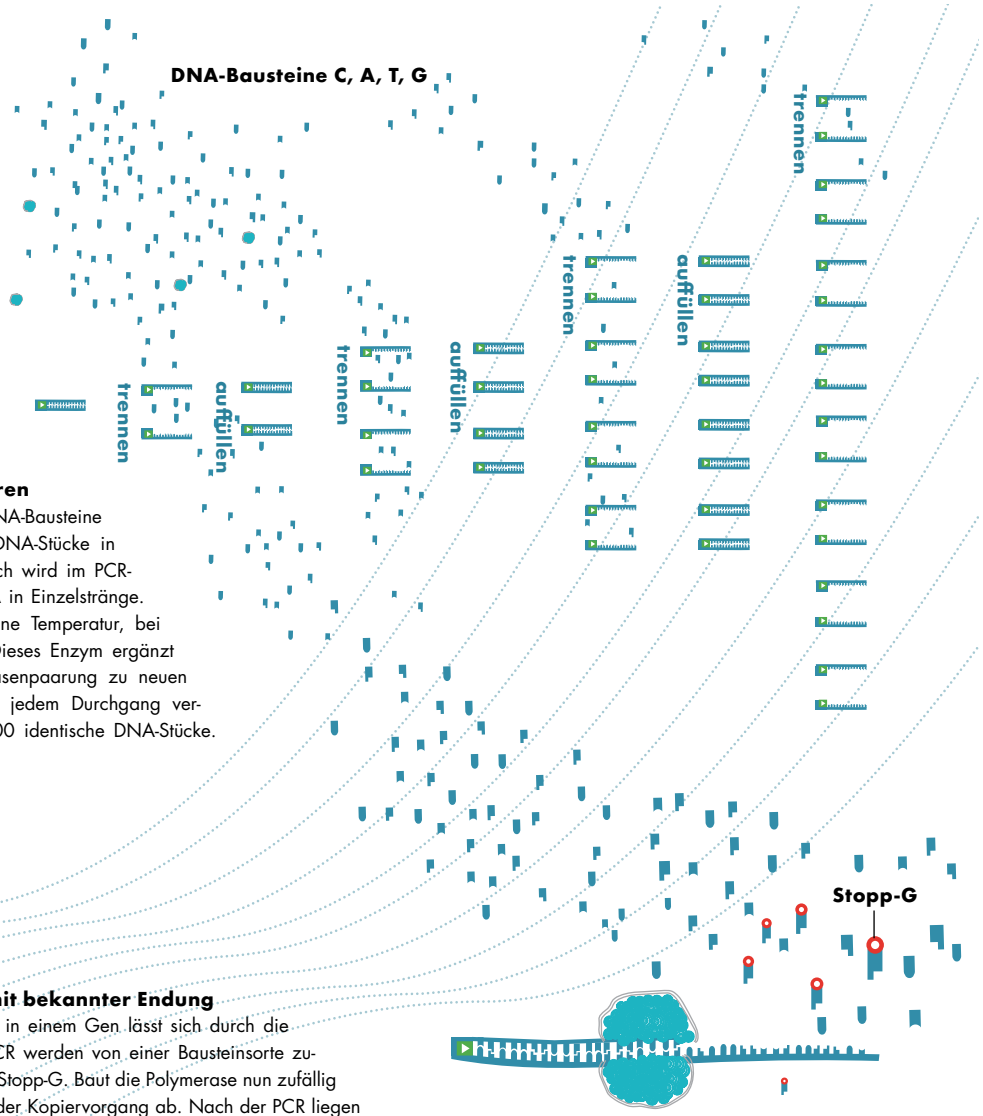
Genomik – die DNA-Welt

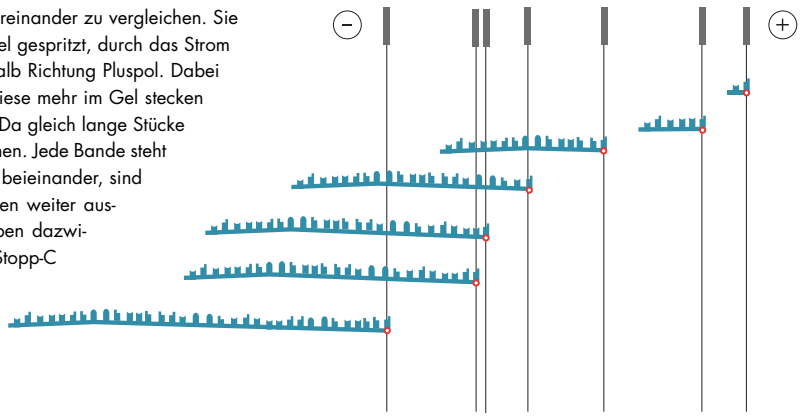
www.gensuisse.ch





1. Vorbereitung:
DNA-Stücke isolieren
Bevor die DNA in den PCR-Apparat kommt, wird sie mit Hilfe natürlicher DNA-Scheren, der Restriktionsenzyme, in kurze Abschnitte getrennt.

2. PCR-Technik: exponentiell vermehren
Um eine PCR durchzuführen, werden die DNA-Bausteine A, C, T, G sowie Polymerase-Enzyme und DNA-Stücke in kleine Plastikbehälter gegeben. Dieses Gemisch wird im PCR-Apparat zuerst erhitzt. Dabei zerfällt die DNA in Einzelstränge. Dann wird diese Mischung abgekühlt auf eine Temperatur, bei der die Polymerase besonders gut arbeitet: Dieses Enzym ergänzt die Einzelstränge auf der Grundlage der Basenpaarung zu neuen Doppelsträngen. Ein DNA-Stück wird so mit jedem Durchgang verdoppelt. 15 Durchgänge ergeben über 30 000 identische DNA-Stücke.

3. Sequenzierung: DNA-Fragmente mit bekannter Endung
Die Reihenfolge der einzelnen DNA-Bausteine in einem Gen lässt sich durch die Kettenabbruch-Methode bestimmen. Für die PCR werden von einer Bausteinsorte zusätzlich «Stopper» beigemischt, beispielsweise Stopp-G. Baut die Polymerase nun zufällig statt eines normalen G ein Stopp-G ein, bricht der Kopiervorgang ab. Nach der PCR liegen vom zu untersuchenden DNA-Stück viele Kopien unterschiedlicher Länge vor, die alle mit einem Stopp-G enden.

4. Elektrophorese: Sortieren nach Grösse
Die erhaltenen Teilstücke sind viel zu klein, um sie direkt untereinander zu vergleichen. Sie werden vom Gentechniker oder der Gentechnikerin in ein Gel gespritzt, durch das Strom fliesst. DNA-Stücke sind negativ geladen und wandern deshalb Richtung Pluspol. Dabei kommen die kurzen DNA-Stücke weiter als die langen, da diese mehr im Gel stecken bleiben. Nach der PCR liegt jedes Teilstück tausendfach vor. Da gleich lange Stücke im Gel gleich weit wandern, kann man im Gel Banden erkennen. Jede Bande steht für ein Teilstück, das mit G endet. Liegen zwei Banden direkt beieinander, sind auch im Gen zwei G direkt nebeneinander. Sind die Banden weiter auseinander, befinden sich entsprechend viele andere Buchstaben dazwischen. Durch die Wiederholung des Vorgangs mit Stopp-A, Stopp-C und Stopp-T kann die ganze Gensequenz bestimmt werden.