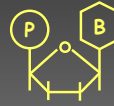


Molekularbiologie in der klinischen Diagnostik und Therapie

Struktur der DNA

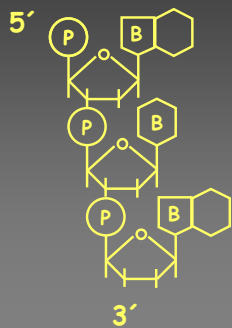


Desoxyribose

Phosphat

Base:
Pyrimidinderivat
oder Purinderivat

Struktur der DNA



Desoxyribose

Phosphat

Base:
Pyrimidinderivat
oder Purinderivat

Struktur der DNA

DNA-Doppelhelix

Stränge antiparallel

H-Brücken
zwischen den Basen

Stabilität

Funktion der DNA

Speicherung der
Erbinformation

Gene = Abschnitte
auf der DNA mit
einem definierten
Anfang und Ende

codieren für **Proteine**

Replikation

DNA-Replikation ist **semikonservativ**

Replikation

Was wird benötigt?

DNA-Doppelstrang als Matrize

Helikase

Einzelstrang-bindende Proteine

RNA-Primer

Polymerasen

Nukleosidtriphosphate

Replikation

Wie ist der Ablauf?

Trennen der Doppelstränge
(Helikase)

Replikation

Wie ist der Ablauf?

Stabilisieren der
Einzelstränge
(SSB-Proteine)

Synthese und
Anlagerung der Primer

Replikation

Wie ist der Ablauf?

Verlängerung des
Nukleotid-Strangs
(Polymerase, dNTPs)

Entfernen und
Ersetzen der Primer

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Vervielfältigung von DNA-Abschnitten

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Selektive Replikation

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
Helikase
Einzelstrang-bindende Proteine
RNA-Primer
Polymerasen
Nukleosidtriphosphate

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
Helikase
Einzelstrang-bindende Proteine
RNA-Primer
Polymerasen
Nukleosidtriphosphate

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
Helikase
Einzelstrang-bindende Proteine
RNA-Primer
Polymerasen
Nukleosidtriphosphate

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
Helikase
Einzelstrang-bindende Proteine
RNA-Primer
Polymerasen
Nukleosidtriphosphate

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
Helikase
Einzelstrang-bindende Proteine
RNA-Primer
Polymerasen
Nukleosidtriphosphate

Polymerase Chain Reaction (PCR)
Was wird benötigt?
DNA-Doppelstrang als Matrize
- Zellen, die DNA enthalten
- RNA, die mittels reverser Transkription zu doppelsträngiger DNA umgeschrieben wurde (RT-PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Was wird benötigt?

Statt Helikase Denaturierungsschritt

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Was wird benötigt?

RNA-Primer (forward + reverse)

Annealing-Temperatur - einzige Variable

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Was wird benötigt?

Taq DNA-Polymerase / dNTPs

Elongation des DNA-Strangs

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Vermehrung
(Amplifizierung)
der DNA im
Thermocycler

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Protokoll der Amplifizierung

1. 95°C

Denaturierung der DNA und
Primer

2. Pro Zyklus (meist 30):

30 sec Annealing (x°C)

2 min Elongation (72°C)

30 sec Denaturierung (95°C)

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Darstellung der amplifizierten DNA

Gelelektrophorese

Darstellung der Banden mittels

Ethidiumbromid (Gavel) im UV-Licht

genetischer Fingerabdruck

„Haarige Beweise“

genetischer Fingerabdruck

codierende (nur ca. 1,4%) oder
nicht codierende Gene (= Loci)

nicht codierende Loci bestehen häufig
aus sich wiederholenden Sequenzen

Anzahl der sich wiederholenden
Sequenz ist variabel und individuell:
Variable Number of Tandem Repeats
(VNTR) oder
Short Tandem Repeats (STR)

genetischer Fingerabdruck

Jedes Individuum hat von jedem VNTR-
Locus 2 Versionen (2 Allele)

Beispiel: „TPOX“:

Allel1: AATGAATGAATGAATGAATGAATG
Allel2: AATGAATGAATGAATGAATGAATG

es gibt zahlreiche bereits identifizierte
VNTR-Loci

genetischer Fingerabdruck

Wieviele VNTR-Loci sollte man für
die Identifikation eines Individuums
heranziehen?

Fiktives Beispiel:

An jedem Genort gäbe es 10 mögliche
Wiederholungen. Dann wäre die Chance,
dass 2 Personen den gleichen
genetischen Fingerabdruck haben:

bei 1 Genort 1:10

bei 2 Genorten 1:100

bei 16 Genorten 1:10¹⁶

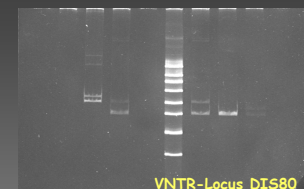
genetischer Fingerabdruck

Wieviele VNTR-Loci sollte man für
die Identifikation eines Individuums
heranziehen?

Sicherheit der Identifikation eines
Individuums potenziert sich durch die
Amplifikation möglichst vieler VNTR-
Loci

genetischer Fingerabdruck

genauso funktioniert die
Bestimmung der
Familienzugehörigkeit...



... jetzt könnt ihr bei
jedem Nachmittags-Talk
mitreden ☺