

- **Gelelektrophorese**

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

Material: Agarose-Gel, Puffer, Stromquelle.

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

**Anfärbung** mit (Fluoreszenz-) Farbstoffen, radioaktiven Stoffen

- **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!

- **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)

- **DNA-Hybridisierung** (s. AB)

Herstellung **einsträngiger DNA** einer zu testenden Probe (durch Erwärmen / Aufschmelzen).

Zugabe fluoreszenzmarkierter **DNA-Sonden**.

Binden alle → DNA-Sonden komplementär zum Präparat

Anwendung: Chorionzottenbiopsie, Test auf Mikroorganismen in Lebensmitteln, etc.

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

Ziel: Massenhafte **Vermehrung von DNA**

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

Vorgehen: Abwechselndes **Erhitzen und Abkühlen**

- **reverse Transkriptase**

Problem: menschliche Gene enthalten Introns,  
Bakterien beherrschen das Spleißen nicht  
→ kein funktionsfähiges Protein

Lösung: Isolierung der mRNA, Übersetzung in cDNA (c = complementary) mit Hilfe der reversen Transkriptase

### **3.12.2 Gentechnik in der Landwirtschaft (grüne Gentechnik)**

Probleme: Vielzelligkeit, Embryo gut geschützt

Vorgehen:

1. **Einzelzellen** erzeugen, Abbau der Zellwand durch Zellulasen → **Protoplasten**
2. Verwendung eines speziellen Vektors („gezähmtes“ **Ti-Plasmid**)

*Agrobacterium tumefaciens* enthält ein Ti-Plasmid (Tumor induzierend), das Gene des Bakteriums auf Pflanze überträgt und dort Tumorwachstum und Opininproduktion auslöst (Opine = Nahrung für Bakterium).

Übertragene Region = T-DNA

Mutation: keine Tumorbildung mehr möglich, aber Opininproduktion

→ diese Mutation wird als Vektor verwendet (s. AB)

3. Stimulation des Protoplasten **durch Hormone** zur vollständigen **Regeneration der Pflanze**

### **3.12.3 weitere Anwendungen (rote und weiße Gentechnik)**

s. AB , Referate und Buch