



Genbibliotheken und Gensonden

von

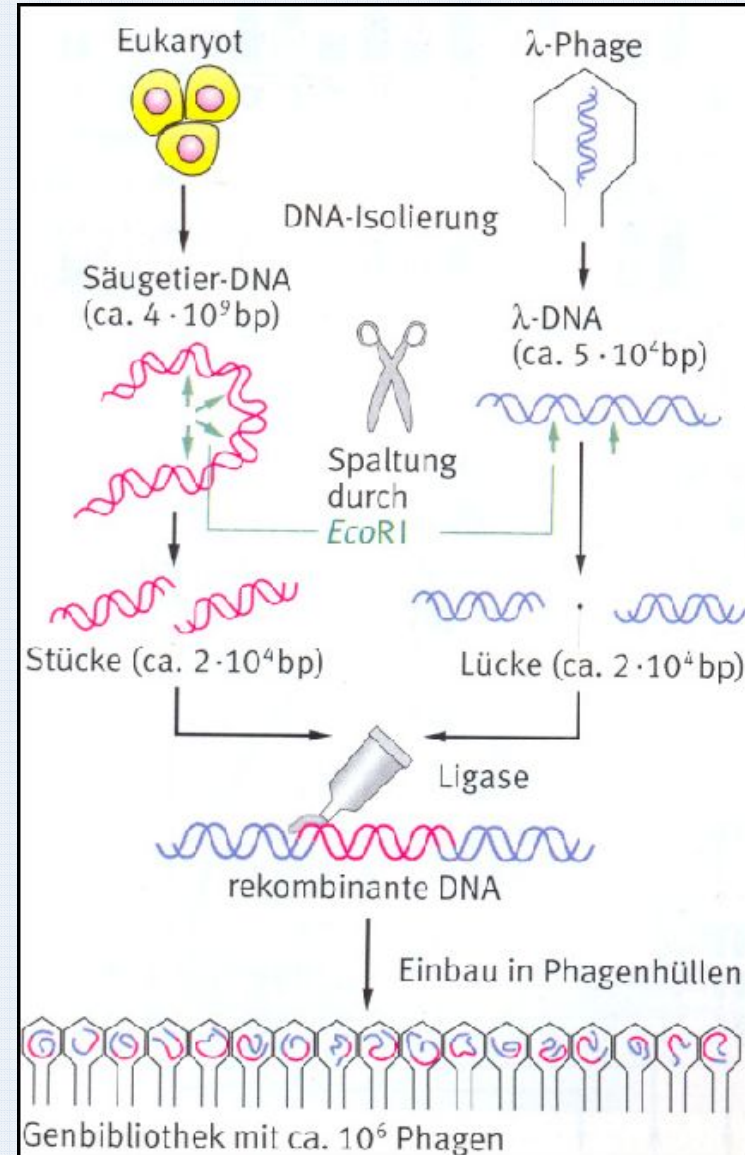
Anita Hupperz

Übersicht

- Wie erhält man DNA-Abschnitte, die man zur Rekombination verwenden kann?
- Wie findet man aus der Genbibliothek gewünschtes Gen heraus?
- Wie erhält man Gensonden?

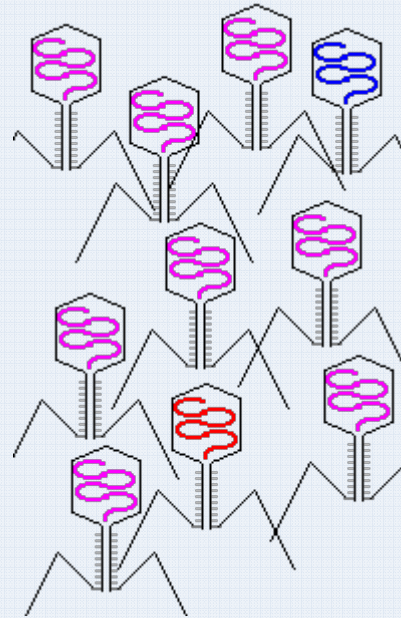
Wie erhält man DNA-Abschnitte, die man zur Rekombination verwenden kann?

- DNA aus Zelle des Spenderorganismus isolieren
 - mit Restriktionsenzym zerlegen
- λ -Phagen
 - Schrotschussmethode
- Verbindung von rekombinanter DNA mit Hüllproteinen des Phagen
 - infektiöse Phagen
 - Vermehrung in *E. coli*



Genbibliothek

→ entstandene Sammlung von Phagen mit verschiedensten DNA-Fragmenten
= Genbibliothek



Wie findet man aus der Genbibliothek gewünschtes Gen heraus?

- mit Gensonden
= kurze, radioaktiv markierte DNA-Stücke

Vorgang:

1. infizierte E.coli-Kultur wird auf Nährboden
ausplattiert
→ jede infizierte E.coli-Zelle startet
Infektionskette → Plaques entstehen

2. Stempeln mit Folie aus Nitrocellulose
aus Nitrocellulose

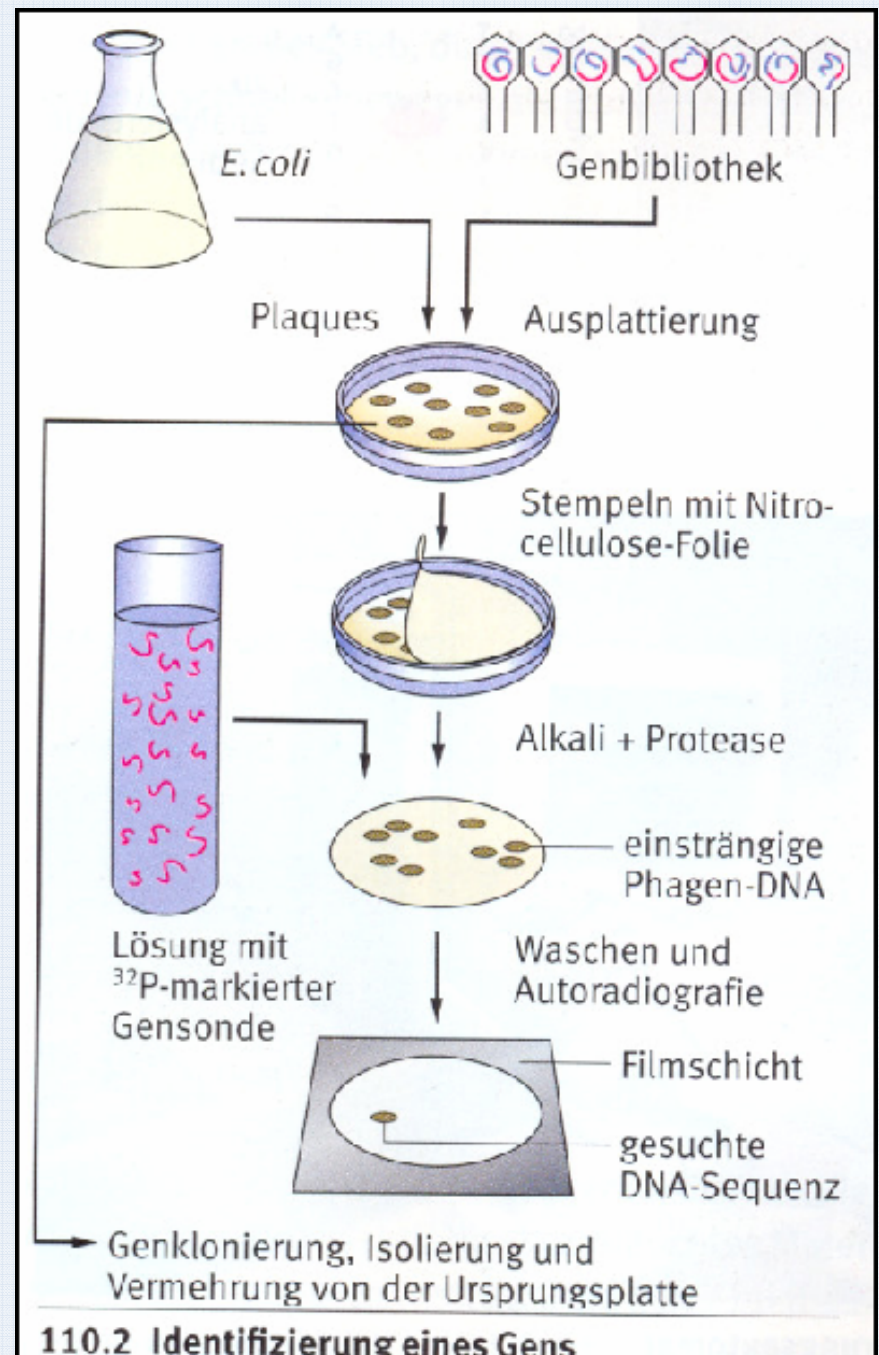
→ Phagen bleiben daran haften

3. Behandlung mit
Akali und Protease

→ einzelsträngige
DNA bleibt übrig

4. Zugabe von
Gensonde

→ hybridisiert mit
gesuchtem DNA-
Fragment



→ Phage mit gesuchter DNA kann durch Radioaktivität auf Ursprungsplatte identifiziert werden

→ Genklonierung, Isolierung und Vermehrung von Ursprungsplatte

Wie erhält man Gensonden?

- Zellen, die bestimmtes Protein synthetisieren, enthalten viel mRNA für dieses Protein
 - Isolierung der mRNA und Umschreibung in DNA-Strang
- Nach Synthese des Komplementärstrangs erhält man komplementäre DNA (cDNA)
 - einzelsträngige und markierte cDNA-Stücke

- Konstruktion von Gensonden, wenn Aminosäuresequenz des Genprodukts bekannt ist

→ Rückübersetzung in passende Nucleotidsequenz und Synthese

- Über Gene aus verwandten Organismen
 - viele Proteine und dazugehörige Nucleotidsequenzen eines verwandten Organismus stimmen mit gesuchter DNA überein
- Besitzt man entsprechende, bekannte DNA-Stücke aus verwandtem Organismus
 - Gensonden

Quelle

- Grüne Reihe Materialien S II, Genetik, Schroedel, Seite 110