

## PCR = Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)

Abb.1 Kary Mullis



[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1993/illpres/index-2.gif](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/illpres/index-2.gif) 22.07.2007

Der amerikanische Chemiker *Kary Mullis* etablierte 1983 die **Polymerase Chain Reaction (PCR)**. 1993 wurde er für diese Entwicklung mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt. Die PCR ist ein Standardverfahren in der Molekularbiologie. Wie bei der **DNA-Replikation** im lebenden Organismus (**in vivo**) findet bei der PCR in jedem Zyklus eine Verdopplung der DNA statt. Im Gegensatz zur DNA-Replikation, bei der das gesamte Genom verdoppelt wird, können bei der PCR, die im Labor außerhalb des lebenden Organismus (**in vitro**) stattfindet, nur kurze und bekannte **DNA-Sequenzen** vervielfältigt (**amplifiziert**) werden. Der Begriff „Kettenreaktion“ beschreibt die Tatsache, dass die Produkte des vorherigen Zyklus als Ausgangsstoffe für den nächsten Zyklus dienen, wodurch eine **exponentielle DNA-Vervielfältigung** stattfindet.

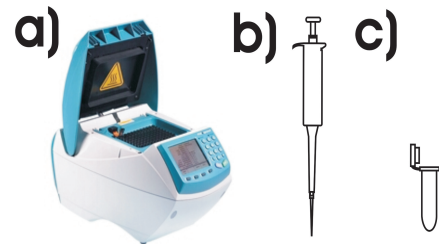
**Aufgabe 1:** Beschriften Sie die abgebildeten PCR Geräte a) - c) und erklären Sie kurz die Funktion des Geräts a).

a) Name und Funktion des Geräts:

b) Name des Geräts:

c) Name des Geräts:

Abb. 2: PCR Geräte



**Aufgabe 2:** Erklären Sie kurz in eigenen Worten die Aufgabe der PCR.

**Aufgabe 3:** Als PCR Chemikalien werden die Template DNA, die Primer, die Taq Polymerase und die dNTPs benötigt. Fügen Sie zu den abgebildeten PCR Chemikaliensymbole den richtigen Namen hinzu und verbinden Sie diese mit den richtigen Funktionen.

Tabelle 1: Chemikalien der PCR und ihre Funktionen:

PCR Probe	Name und Symbol	Funktion während der PCR
	<b>A)</b> 	<b>1)</b> trägt die zu amplifizierenden DNA Sequenz. (Template = Schablone)
	<b>B)</b> 	<b>2)</b> Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs); - phosphorylierte (energiebeladene) Bausteine zur Synthese des neuen DNA-Strangs; von jeder Base gibt es Nukleotide (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)
	<b>C)</b> 	<b>3)</b> thermostabiles Enzym, - synthetisiert den neuen DNA Strang; - stammt aus dem Bakterium <i>Thermus aquaticus</i> (thermostabil bis 100°C)
	<b>D)</b> 	<b>4)</b> flankieren die zu amplifizierende DNA Region und ermöglichen die Bindung der Taq Polymerase.

Hinweis: Die Größen- und Mengenverhältnisse sind in den Abbildungen nicht maßstabsgetreu.

# PCR: DNA-Amplifikation (Vervielfältigung) Teil 1

**Aufgabe:** Ordnen Sie die unten stehenden Punkte den Bildabschnitten aus Abb.1 zu (Bleistift).

A) **Elongation:**

Verlängerung

B) **Annealing:**

Anlagerung der Primer

C) dNTP Mix

D) zu amplifizierende DNA Region (D1S80)

E) Template-DNA

(Schablonen DNA)

F) Taq-DNA-Polymerase

G) Primer

H) **DNA-Denaturierung:**

Einzelstrang DNA

I) **Resultat des 1. PCR Zyklus**

J) Taq-Polymerase bindet an die Primer

Abb.1: PCR 1. Zyklus (Cycle)

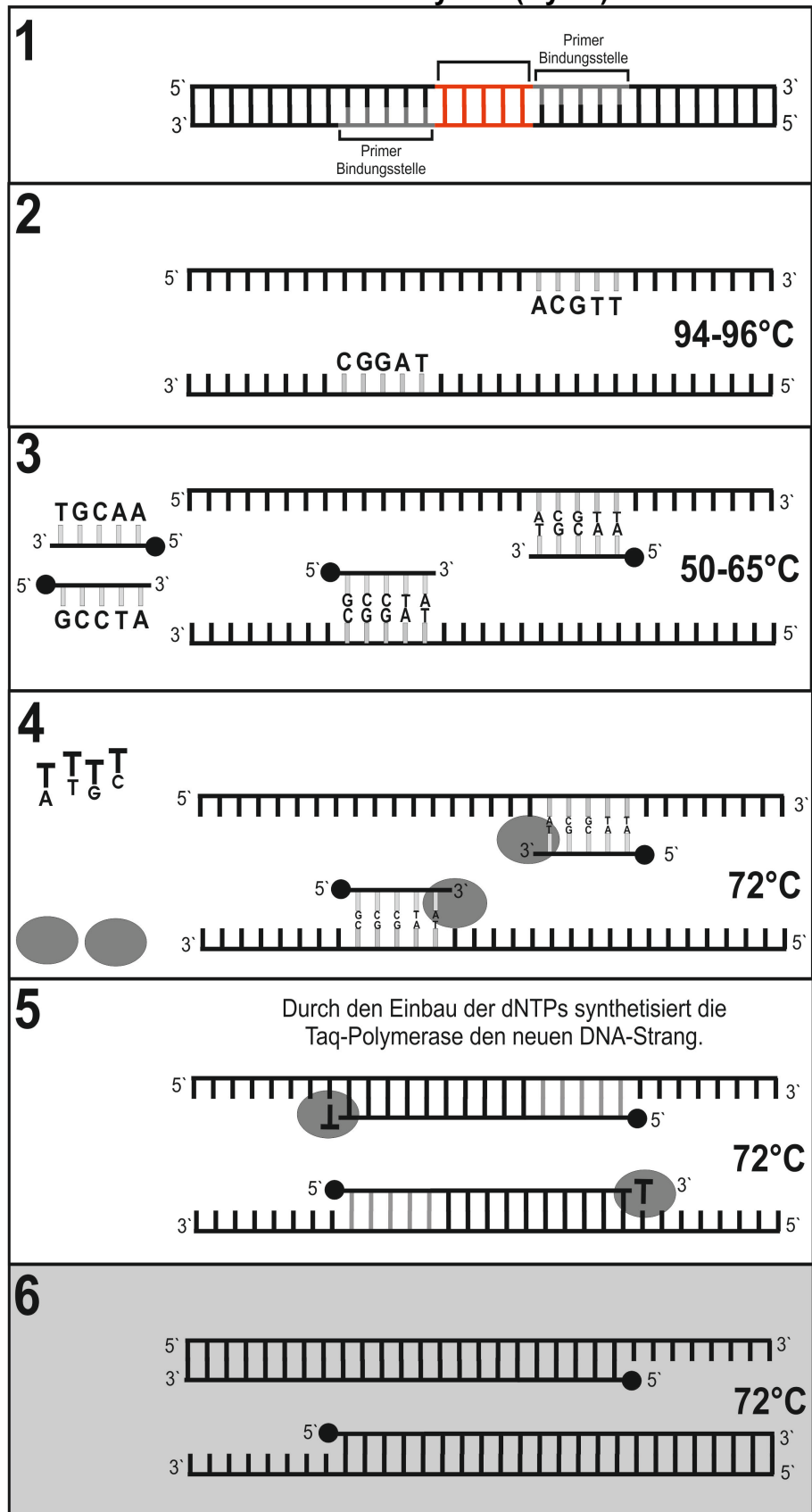
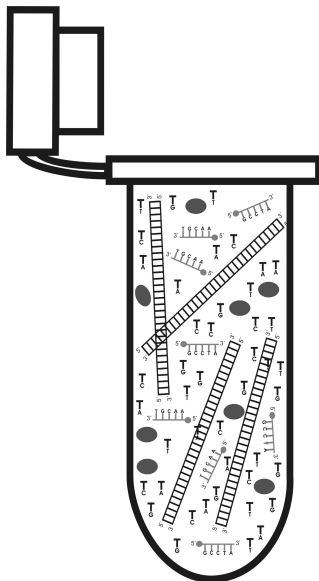


Abb. 2: PCR-Probe



## PCR: DNA-Amplifikation (Vervielfältigung) Teil 2

### Aufgaben:

- 1) Zeichnen Sie den PCR-Amplifikations-Graphen (Zyklen 1-6) und deuten Sie den Kurvenverlauf.
- 2) Berechnen Sie die Kopienanzahl nach 30 PCR-Zyklen. (Die Ausgangsprobe enthält 1 DNA-Doppelstrang.)
- 3) Erklären Sie, was hinsichtlich der Länge der PCR-Produkte zu beobachten ist, wenn man die Resultate des 1.-3. PCR-Zyklus mit dem Resultat des 4. vergleicht.

Abb.1: PCR Resultate des 2. - 4. Zyklus (Cycle)

