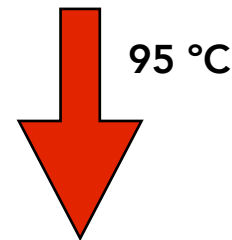


# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 1

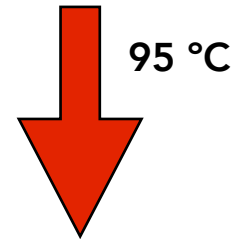


# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 1



**Aufgabe:**  
Erläutern Sie, was  
hier passiert!



# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

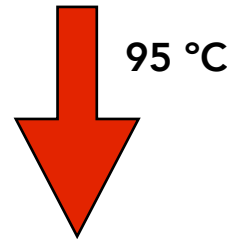
## Schritt 1

3' **A** - C - G - T - C - A - A - A - G - C - T - A - T - G - T - G - A - C - A - A - C - C - G - T - A - G - A - T - T - A - C - A - C - G - T - T - A 5'

5' **T** - G - C - A - G - T - T - T - C - G - A - T - A - C - A - C - T - G - T - T - G - G - C - A - T - C - T - A - A - T - G - T - G - C - A - A - T 3'

**Lösungsvorschlag:**

Der DNA-Doppelstrang wird durch starkes Erhitzen auf 95 °C in zwei DNA-Einzelstränge aufgespalten.



3' A - C - G - T - C - A - A - A - G - C - T - A - T - G - T - G - A - C - A - A - C - C - G - T - A - G - A - T - T - A - C - A - C - G - T - T - A 5'

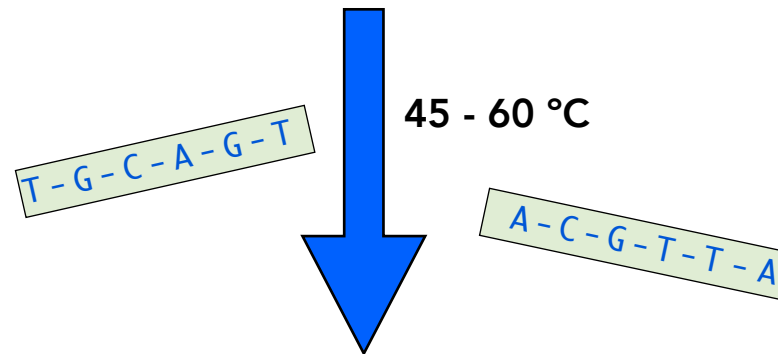
5' T - G - C - A - G - T - T - T - C - G - A - T - A - C - A - C - T - G - T - T - G - G - C - A - T - C - T - A - A - T - G - T - G - C - A - A - T 3'

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 2

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T



3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T 3'

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

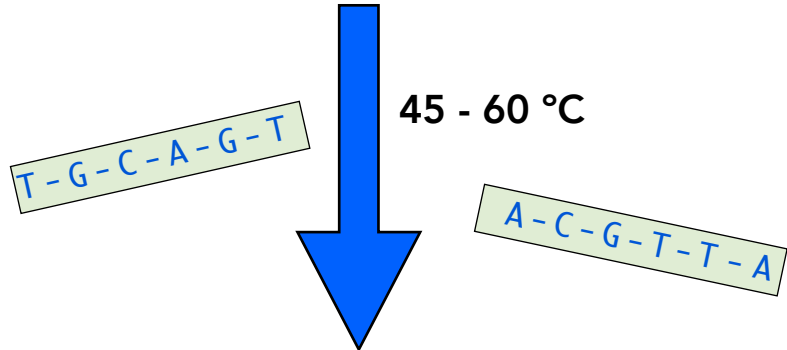
# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 2

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

**Aufgabe:**  
Erläutern Sie, was hier passiert!



3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T 3'

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 2

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

### Lösungsvorschlag:

Zunächst wird die Temperatur auf 45 bis 60 °C abgesenkt.

Dann werden zwei kurze DNA-Abschnitte dazugegeben, die sich komplementär an die Anfänge der beiden DNA-Einzelstränge anlagern.

45 - 60 °C

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

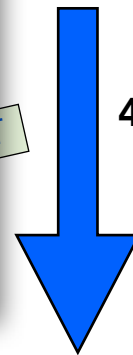
## Schritt 2

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

### Info:

Solche DNA-Abschnitte werden als **Primer** bezeichnet. Sie sind notwendig, damit die DNA-Polymerase am 3'-OH-Ende mit der DNA-Replikation beginnen kann.

T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T



45 - 60 °C

A-C-G-T-T-A

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

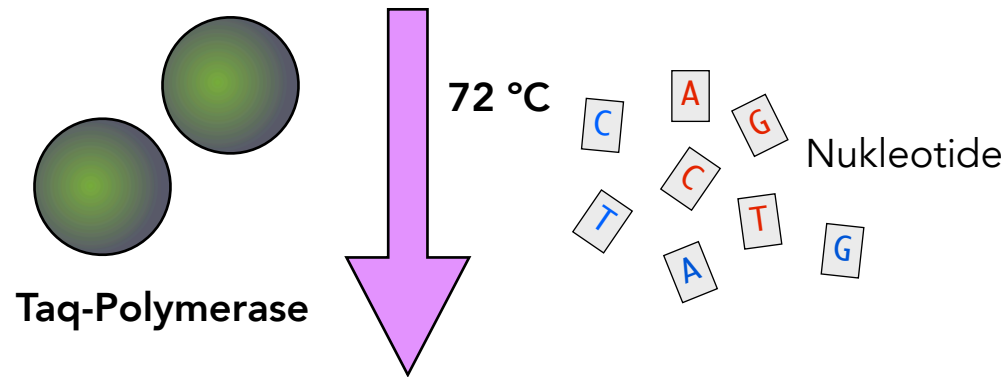
5' T-G-C-A-G-T 3'

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

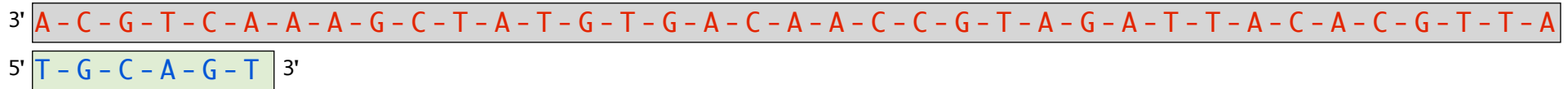
## Schritt 3



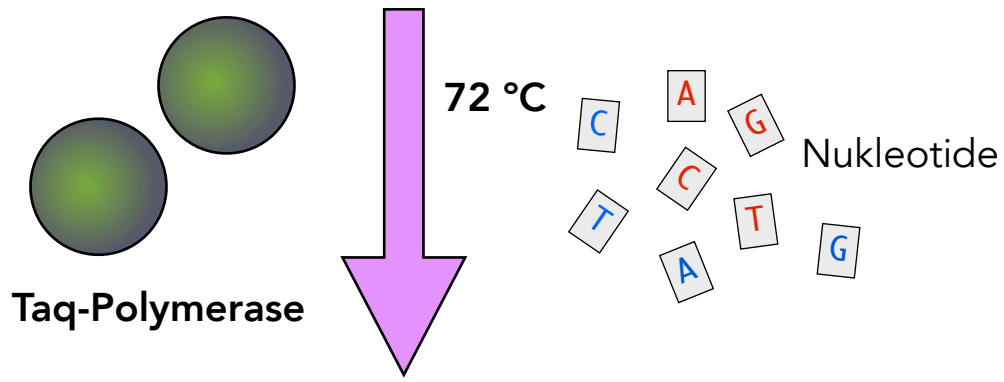


# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 3

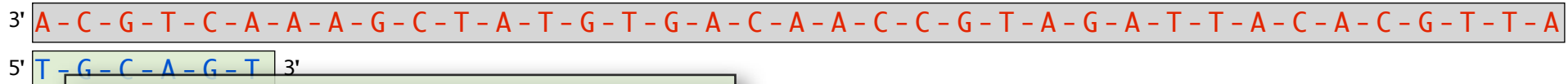


**Aufgabe:**  
 Erläutern Sie, was hier passiert!



# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

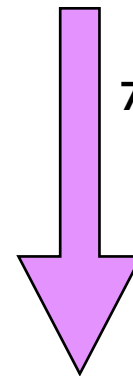
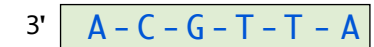
## Schritt 3



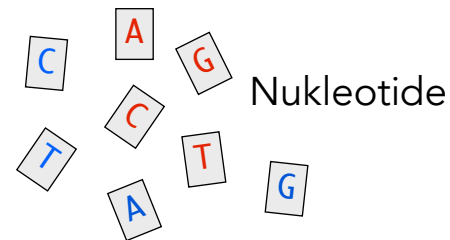
### Lösungsvorschlag:

Die Temperatur wird auf 72 °C erhöht.

Die Taq-Polymerase ergänzt dann mit Hilfe der vorhandenen Nucleotide die beiden Einzelstränge zu neuen DNA-Doppelsträngen.



72 °C



# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Schritt 3

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T 3'

**Lösungsvorschlag:**

Die Temperatur wird auf 72 °C erhöht.

Die Taq-Polymerase ergänzt

dann mit Hilfe der vorhandenen Nucleotide beider DNA-Doppelsträngen.

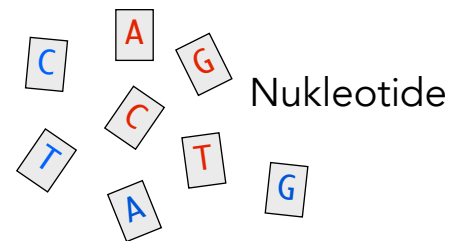
**Aufgabe:**

Sehen Sie hier irgendwelche Probleme? Wenn ja: Welche?

3' A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

72 °C



3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C-A-C-G-T-T-A

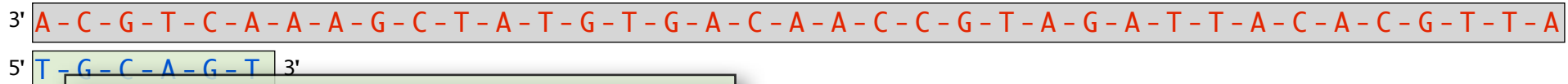
5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

3' A-C-G-T-C-A-A-A-G-C-T-A-T-G-T-G-A-C-A-A-C-C-G-T-A-G-A-T-T-A-C A-C-G-T-T-A

5' T-G-C-A-G-T-T-T-C-G-A-T-A-C-A-C-T-G-T-T-G-G-C-A-T-C-T-A-A-T-G-T-G-C-A-A-T

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

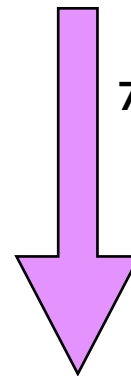
## Schritt 3



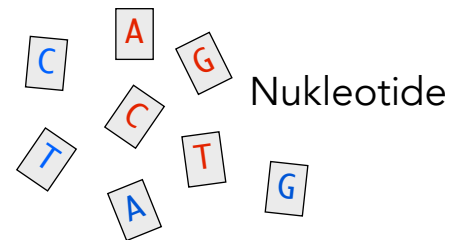
### Lösungsvorschlag:

Die Temperatur wird auf 72 °C erhöht. Normalerweise denaturieren Enzyme wie die Polymerase schon bei Temperaturen von über 40 bis 45 °C. Bei 72 °C kann eigentlich kein Enzym mehr arbeiten.

Taq-Polymerase



72 °C



# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

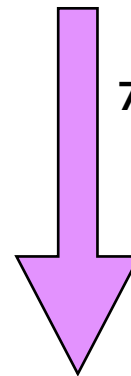
## Schritt 3



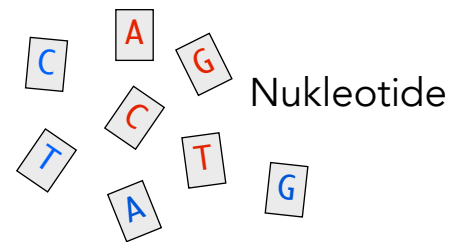
**Info:**

Die Taq-Polymerase wird aus thermophilen Bakterien (*Thermus aquaticus*) gewonnen, die normalerweise in heißen Schwefelquellen bei Temperaturen um 100 °C leben.

Taq-Polymerase

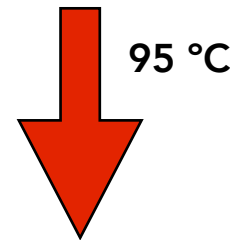


72 °C



# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Zyklus 2, Schritt 1

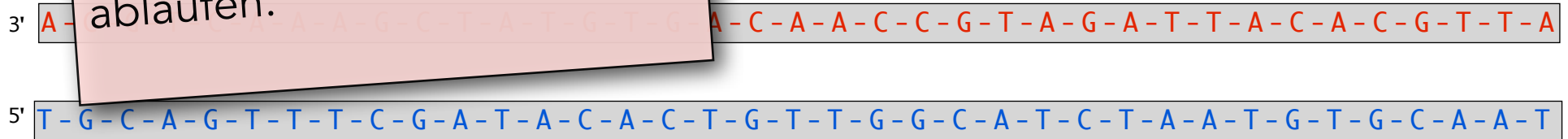
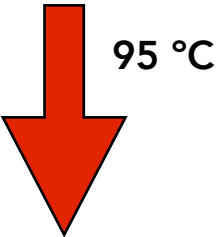


# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Zyklus 2, Schritt 1



**Aufgabe:**  
 Erläutern Sie, wie die  
 nächsten Schritte der PCR  
 ablaufen.

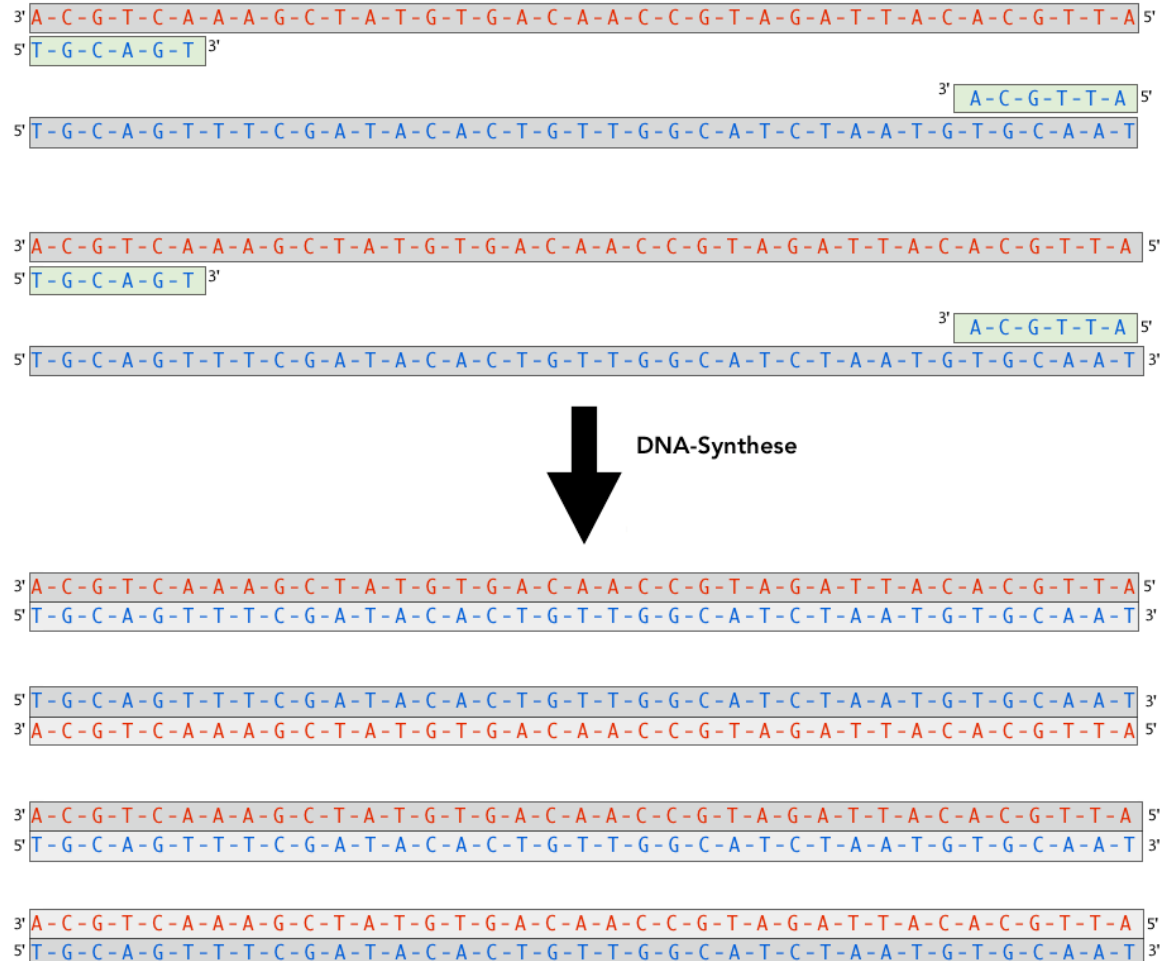


# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Zyklus 2, Schritt 2 u. 3

### Lösungsvorschlag:

Es werden wieder Primer an die Einzelstränge angelagert. Dann vervollständigen die Taq-Polymerasen die DNA-Einzelstränge zu neuen DNA-Doppelsträngen. Dann beginnt der nächste Zyklus und so weiter...



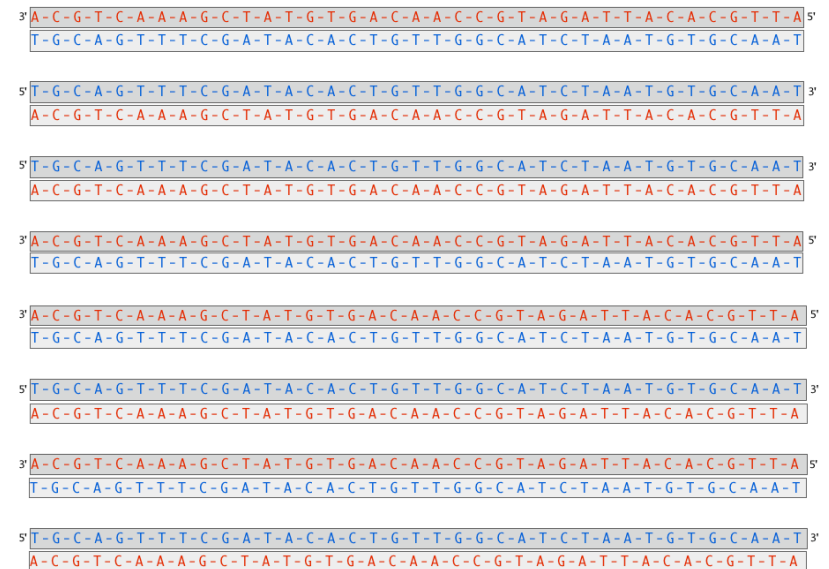
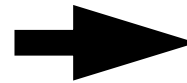
↓ 95 °C ,  
Anlagerung von Primern




# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

weitere Zyklen...

 95 °C ,  
Anlagerung von Primern



 95 °C ,  
Anlagerung von Primern

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Thermocycler



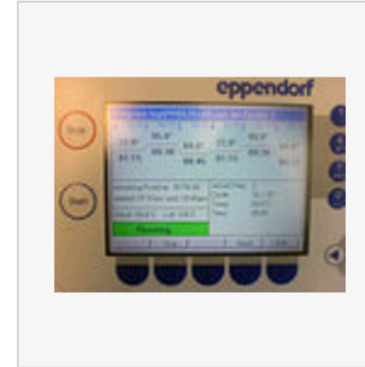
Thermocycler „Baby Blue“, ca. 1986



Thermocycler



Moderner Thermocycler



Display des Bedienelements, Statusanzeige des laufenden PCR-Programms



geöffneter Thermocycler, Heizblock mit acht PCR-Reaktionsgefäßen

Bildquelle: Wikipedia, Artikel "Thermocycler"

Bei einer normalen PCR werden ca. 30 bis 40 Zyklen durchlaufen. Ein Zyklus dauert etwa 5 Minuten. In einem Thermocycler können bis zu über 300 Reaktionsgefäße gleichzeitig erhitzt werden.

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Anwendungsgebiete

### Forensik

Jeder Täter hinterlässt Spuren am Tatort (verlorene Haaren, Hautschuppen, Blut, Sperma, Speichel...). Ein einziges Haar genügt heute, um ein genetisches Profil des Täters zu erstellen. Dazu wird die Täter-DNA mit der PCR vervielfacht.

Von den in Frage kommenden Verdächtigen werden Speichelproben genommen und ebenfalls der PCR unterworfen.

Die Täter-DNA und die Verdächtigen-DNA wird nun einer Gelelektrophorese unterzogen. Die Täter-DNA ergibt im UV-Licht ein typisches Bandenmuster, die DNA der Verdächtigen ebenfalls. Man kann dann sehen, ob das Bandenmuster eines der Verdächtigen mit dem des Täters übereinstimmt.

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Anwendungsgebiete

### Antigen-Test

Mit der PCR man sehr schnell fremde DNA im körpereigenen Gewebe nachweisen.

So kann man zum Beispiel Bakterien- oder Virenerkrankungen (**Corona-PCR-Test**) nachweisen, lange bevor der Körper des Patienten Antikörper produziert hat.

Bei der **Pool-Technik** werden Proben vieler Menschen zusammengemischt. In diesem Pool wird dann nach den betreffenden Antigenen gesucht. Fällt der Test negativ aus, so weiß man, dass keiner der Menschen infiziert ist. Bei einem positiven Testergebnis verfährt man nach dem Prinzip der **binären Suche**: Aufteilung in zwei Pools, der positive Pool wird wieder in zwei Pools aufgeteilt etc. Bei kleinen Pools kann man dann auch jede Person individuell testen.

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Anwendungsgebiete

### Lebensmittel-Analytik

Mit Hilfe der PCR kann man fremde Gene in Lebensmitteln nachweisen.

So kann man beispielsweise überprüfen, ob in dem verkauften Rindfleisch nicht etwa Schweinefleisch enthalten ist.

### Evolutionsbiologie

Hier kann man mit Hilfe von PCR und genetischem Fingerabdruck den Verwandtschaftsgrad zwischen verschiedene Arten und Gattungen relativ genau bestimmen, so dass man bessere und genauere Stammbäume aufstellen kann.

# Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

## Anwendungsgebiete

### Verwandtschafts-Analyse / Vaterschaftsnachweis

Die PCR-Methode kann auch zur Rekonstruktion menschlicher Stammbäume genutzt werden; ein exakter Vaterschaftsnachweis über PCR/Gelelektrophorese ist heute kein Problem mehr.

### Gentechnik

Bei der Gentechnik bringt man fremde Gene in Bakterien ein, damit diese die entsprechenden Proteine in großem Maßstab herstellen. Die dazu erforderliche DNA wird aus der Original-DNA mit Hilfe der PCR hergestellt.