

Fragen zur Selbstkontrolle und Diskussion in der Arbeitsgruppe:

1. PCR-Ansatz (25µl):

Zusammensetzung

Funktion der Bestandteile?

- 16,5 µl H₂O..... Lösungsmittel
- 2,5 µl Puffer..... Stabilisierung des pH-Wertes
- 2,0 µl dNTP's..... Bausteine für neue Stränge
-
- 0,75µl MgCl₂..... Kontakte für Polymerase
- 0,5 µl Primer 1..... } Ansatzstelle vor und nach zu untersuchende
- 0,5 µl Primer 2..... } DNA-Sequenz
-
- 0,25 µl Formamid.....
-
- 1 µl DNA(50ng/µl)..... Analysesubstanz
-
- 1 µl Taq-Polymerase..... Verbinden der DNA-Einzelstränge zu Doppelstrang
..... dient als Katalysator - hitzestabiles Enzym
..... von Bakterien

2. Polymerasekettenreaktion:

Wozu dient die PCR?

- Nachweis, dass die gesuchte DNA-Sequenz in der Probe vorhanden ist u. inwieweit sie verändert ist
- Rückschlüsse auf Menge der DNA
- Sequenzanalyse
- Identifikation (Täter / Vater)

Wozu dient ein Leerwert (PCR-Ansatz ohne DNA)?

zum Vergleich / zum Test

zur Kontrolle, ob PCR funktioniert hat

Wonach richtet sich die Höhe der folgenden Temperaturen im PCR-Zyklus?

Denaturierungstemperatur (92°C)

Denaturierung des H-Brücken

Annealing-Temperatur (58°C)

Sequenzspezifische Bindungstemperatur
des Primers an DNA-Einzelstränge

Extensionstemperatur (72°C)

Synthese des DNA möglich

3. Elektrophorese:

Welchen Einfluß hat die Gelstärke (Agarosekonzentration) auf die Trennung der PCR-Produkte?

Wenn Wanderungsgeschwindigkeit sinkt (niedrige Agarosekonzentration) \rightarrow
bessere Trennung der PCR-Produkte

Wenn Produkte leicht - hartes Gel

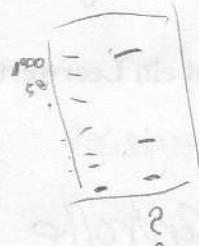
Wenn " schwer - leichtes Gel

Welche Möglichkeiten gibt es, die Größe eines PCR-Produktes im Agarosegel abzuschätzen?

über Längenmarker - hat def. Größe
 \hookrightarrow man vergleicht DNA-Probe und schätzt ab

Wozu sind die Ionen im Laufpuffer erforderlich?

zur elektr. Leitfähigkeit des Gels



Name: Königsdorf 65
Stammlistennummer:

Vorname: Emeline

Datum: 18.12.06 9

Welcher Zusammenhang besteht zwischen Spannung und Laufgeschwindigkeit?

je größer Spannung, desto größer Laufgeschwindigkeit

Gibt es neben den Agarosegelen weitere Gelarten?

Protein nachweis: Polyacrylamid

4. Visualisierung

Wozu dient das Ethidiumbromid im Agarosegel?

Visualisierung der DNA-Banden im UV-Licht

Welche Wirkung kann Ethidiumbromid auf den menschlichen Organismus haben?

- Stört Mitoseprozesse der DNA → Mutationen

Wie erfolgt die Sichtbarmachung der Ethidiumbromid-markierten DNA?

Was ist dabei arbeitsschutztechnisch zu beachten?

auf UV-Licht → Schutz durch Schleiße vor Blitzen
(Augenschutz)

Welche anderen Visualisierungsmethoden für DNA im Gel sind denkbar?

Anfärbung