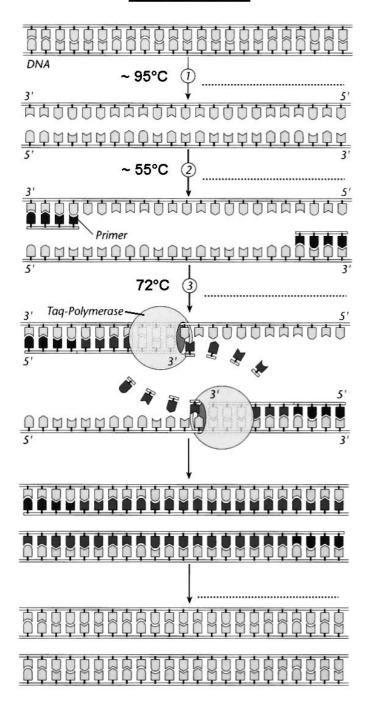
PCR-Methode



PCR-Methode

① Denaturierung der DNA:

- durch Erhitzen der "Matrizen-DNA" auf ~ 95°C werden H-Brücken zwischen den Strängen aufgeschmolzen
- es entstehen einzelsträngige DNA-Moleküle

2 Hybridisierung:

 beim Abkühlen des Reaktionsgemisches auf ~ 55°C binden die synthetischen Primer (Startermoleküle) an die komplementären Sequenzen der Matrizen-DNA

3 Polymerisation:

- vom 3´- Ende der Primer ausgehend wird an Matrizen-Strängen mittels hitzestabiler Taq-Polymerase der Komplementärstrang synthetisiert
- Wiederholung der 3 Schritte
 (20 bis 30 Zyklen → 10⁹ DNA-Kopien)
- Taq-Polymerase (Enzym) aus thermophilem Bakterium (heiße Quellen) <u>Thermus aquaticus</u> mit Temperaturoptimum bei 72°C
- Reaktionsgemisch enthält: Matrizen-DNA, Primer, Taq-Polymerase, DNA-Nucleotide
- PCR-Gerät mit automatischer Temperatursteuerung: <u>Thermocycler</u>