

Thermocycling zur *in vitro*-Vervielfältigung von DNA; Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

C. Harms, Bremerhavener Institut für Biologische Informationssysteme (BIBIS), Bremerhaven

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), zur Amplifikation von Nukleinsäure, zählt zu den größten wissenschaftlichen Entdeckungen in den vergangenen Jahren.

Unter Einsatz von Feinchemikalien wie – Bausteine der Nukleinsäure, Puffer sowie der DNA-Polymerase, einem Enzym, das in allen lebenden Organismen zu finden ist und ein Kennzeichen des Lebens begründet und zwar der Verdopplung des Erbmaterials. Eine Besonderheit dieses Enzyms ist seine Herkunft. Es wird aus thermophilen Bakterien isoliert, die z. B. bei über 110 °C in Geysiren leben. Die DNA-Polymerase dieser Lebewesen ist thermostabil und wird daher beim Erhitzen während der PCR-Zyklen nicht zerstört. Da nicht mehr ständig neue DNA-Polymerase hinzugefügt werden musste, konnte der Vervielfältigungs-Vorgang erheblich vereinfacht und automatisiert werden. Eine der ersten thermostabilen DNA-Polymerasen wurde aus *Thermus aquaticus* gewonnen und wird *Taq-Polymerase* genannt.

Die PCR wird eingesetzt, um einen kurzen genau definierten Teil eines DNA-Strangs zu vervielfältigen. Dabei kann es sich um ein Gen oder auch nur um einen Teil eines Gens handeln. Im Gegensatz zu lebenden Organismen kann der PCR-Prozess nur relativ kurze DNA-Abschnitte kopieren. Bei einer Standard-PCR können dies bis zu etwa 3.000 Basenpaare (3 kbp) lange DNA-Fragmente sein. Mit Hilfe bestimmter Polymerasengemische, weiterer Additive in der PCR-Reaktion und optimalen Bedingungen können sogar Fragmente mit einer Länge von über 20-40 kbp vervielfältigt werden, was immer noch sehr viel kürzer ist als die chromosomale DNA einer eukaryotischen Zelle. Eine menschliche Zelle enthält beispielsweise etwa drei Milliarden Basenpaare.

Der Prozess läuft in drei thermisch abhängigen Schritten ab [*Denaturierung* 95°C; *Primerhybridisierung (primer annealing)* 50-60°C, *Elongation* 62°C], wobei drei Schritte einen Zyklus beschreiben. Die Reaktion wird in der Regel nach 35 Zyklen gestoppt und die amplifizierten Fragmente über eine Gelmatrix separiert.