

Kapitel 16

Zerschneiden und Neuverknüpfen von DNA

- Das Wissen über die DNA-Transkription, die Translation und die Replikation dient dazu, rekombinante DNA-Moleküle zu erzeugen, die aus Sequenzen von verschiedenen Organismen bestehen.
- Restriktionsenzyme, die von Bakterien zur Abwehr von Viren produziert werden, binden die DNA an spezifischen Erkennungssequenzen und zerschneiden sie.
[Siehe Abbildung 16.1](#)
- DNA-Fragmente, die durch Zerschneiden mit Restriktionsenzymen entstehen, können entsprechend ihrer Größe in einer Gelelektrophorese aufgetrennt werden. Die Sequenzen dieser Fragmente lassen sich zudem durch Hybridisierung mit einer Sonde identifizieren.
[Siehe Abbildung 16.2](#), [Abbildung 16.3](#) und [Tutorium 16.1](#)
- Viele Restriktionsenzyme erzeugen in den beiden DNA-Strängen versetzte Schnitte, die zu kohäsiven Enden mit ungepaarten Basen führen. Diese kohäsiven Enden eignen sich für die Erzeugung von rekombinanter DNA, wenn man DNA aus verschiedenen Spezies mit demselben Restriktionsenzym schneidet.
[Siehe Abbildung 16.4](#)

Wie man neue Gene in Zellen einschleust

- Bakterien, Hefen und Kulturpflanzen dienen im Zusammenhang mit der Gentechnik häufig als Wirtsorganismen.
- Die neu eingeführte DNA muss Teil einer Replikationseinheit sein, wenn sie in den Wirtszellen erhalten bleiben soll. Um dies für eine transfizierte DNA sicherzustellen, kann man die DNA in einen Vektor einfügen.
- Für die Transfektion von Bakterien, Hefen und Pflanzenzellen gibt es jeweils spezielle Vektoren. Diese müssen einen Replikationsursprung, Erkennungssequenzen für Restriktionsenzyme sowie Reportergene enthalten, die ihrer Identifizierung in den Wirtszellen dienen.
[Siehe Abbildung 16.5](#)
- Mithilfe von Reportergenen, die bestimmte Phänotypen in Bezug auf Nährstoffumsetzung, Antibiotikaresistenz oder Fluoreszenz hervorbringen, lassen sich die Wirtszellen identifizieren, die einen rekombinanten Vektor aufgenommen haben.
[Siehe Abbildung 16.6](#)

Quellen für Gene, die kloniert werden sollen

- Das Zerschneiden von DNA mit einem Restriktionsenzym erzeugt viele Fragmente, die einzeln und zufällig mit einem Vektor verknüpft und in Wirtszellen eingeführt werden können, sodass man eine Genbibliothek erhält.
[Siehe Abbildung 16.7](#)
- Die in einem bestimmten Gewebe zu einem bestimmten Zeitpunkt erzeugten mRNAs lassen sich extrahieren und können dazu dienen, mithilfe einer reversen Transkription komplementäre DNA (cDNA) zu produzieren.
[Siehe Abbildung 16.8](#)

- Eine dritte Quelle für DNA ist die chemische Synthese im Labor. Mithilfe von Methoden der organischen Chemie kann man DNA-Sequenzen herstellen oder mutieren.

Einige weitere Werkzeuge für die Manipulation von DNA

- Die Inaktivierung (den Knockout) eines Gens kann man mithilfe einer homologen Rekombination herbeiführen.
[Siehe Abbildung 16.9](#)
- Die DNA-Chip-Technologie ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung von Tausenden von Sequenzen.
[Siehe Abbildung 16.10](#) und [Tutorium 16.2](#)
- Eine Antisense-RNA oder Interferenz-RNA, die zu einer spezifischen mRNA komplementär ist, kann durch eine Hybridisierung mit der mRNA deren Translation hemmen.
[Siehe Abbildung 16.11](#)
- Ein Two-Hybrid-System ermöglicht es festzustellen, welche Proteine in der Zelle miteinander interagieren.
[Siehe Abbildung 16.12](#)

Anwendungen künstlich veränderter DNA in der Biotechnologie

- Die Gentechnik hat viele neue Anwendungen in der Biotechnologie möglich gemacht, etwa die Herstellung von eukaryotischen Genprodukten im großen Maßstab.
- Expressionsvektoren können Sequenzen wie Promotoren und Terminatoren der Transkription enthalten, sodass ein untersuchtes Gen in einer Wirtszelle exprimiert werden kann.
[Siehe Abbildung 16.13](#) und [Tutorium 16.1](#)
- Mithilfe der Gentechnik kann man medizinisch wirksame Proteine herstellen, die man auf andere Weise nur schwer in den notwendigen Mengen gewinnen könnte.
[Siehe Abbildung 16.14](#) und **Tabelle 16.1**
- Da die Gentechnik gegenüber der herkömmlichen Biotechnologie verschiedene Vorteile besitzt, wird sie in der Landwirtschaft vielfach angewandt.
Siehe Tabelle 16.2
- Da Pflanzenzellen kloniert werden können, um adulte Pflanzen zu erzeugen, hat die Einführung von neuen Genen in Nutzpflanzen schnelle Fortschritte gebracht. Transgene Nutzpflanzen können an ihre Umgebung besser angepasst werden.
- Beim Pharming stellt man mithilfe von transgenen Tieren nutzbringende Produkte in deren Milch her.
- In der Öffentlichkeit gibt es erhebliche Bedenken gegenüber der Anwendung der Gentechnik bei der Herstellung von Nahrungsmitteln.
- Da die DNA eines Individuums unverwechselbar ist, kann man mithilfe der Polymerasekettenreaktion mit nur wenigen Zellen durch Erstellen eines genetischen Fingerabdrucks einen bestimmten Organismus identifizieren.
[Siehe Abbildung 16.17](#) und [Abbildung 16.18](#)