

Information:

Die bei einer PCR zum Einsatz kommenden Primer ermöglichen dem Molekularbiologen die gezielte Amplifikation eines gewünschten DNA-Bereichs. Im Vorfeld der praktischen Durchführung einer PCR ist es notwendig, die passenden Primer zu „designen“, also an den zu amplifizierenden DNA-Bereich und an die Versuchsbedingungen anzupassen. Dieser Schritt ist maßgeblich an dem erfolgreichen Gelingen einer PCR beteiligt und benötigt daher große Sorgfalt. Das Beachten der folgenden Regeln erleichtert dabei das Primerdesign und vergrößert die Erfolgchancen:

- Primer sollten eine Länge von 18-30 Basenpaaren besitzen
- Ein Anteil von 40-60% Guanidin und Cytosin (G+C) ist wünschenswert
- Die Schmelztemperatur sollte 55-80 °C betragen
- Am 3'-Ende sollten ein oder zwei G oder C sitzen

Arbeitsaufträge:

a) Begründen Sie mit Hilfe Ihres Wissens über die molekulare Struktur und der chemischen Eigenschaften der DNA die Regeln zum Primerdesign.

Das Ziel im Labor ist es, einen Abschnitte der unten angegebenen DNA-Sequenz zu amplifizieren. Der amplifizierte Bereich muss die komplette codierende Sequenz enthalten. Zunächst ist es jedoch nicht wichtig, ob das Amplikon direkt beim ATG beginnt und beim Stopp endet.

b) Erstellen Sie in Partnerarbeit auf Grundlage der angegebenen Sequenz ein aufeinander abgestimmtes Primerpaar (sense und antisense), welches die oben genannten Kriterien erfüllt.

1	ccatcttctct	cttccccgat	ctgtttcttc	cacaaagata	ttttcttta	ttctctcgca	gttcaattag	ggtttcaatc
81	tctctgctct	gcttgtcatc	accaccacca	ccaccaccgt	cgctgctct	ctgtatctct	ccggcgggtt	ctctctctac
161	ttcccccgga	ggattaaaag	atggaccagt	ctttatttt	gatattccgt	tagcttgttc	agtattgta	gaagctgtac
241	cgtaagact	tttaatatct	caa ATGGATG	ATGGTGGGCA	TCGTGAGAAT	GGTCGGCATA	AAGCAGCAGT	TCAGGGCCAG
321	TGGTTGATGC	AGCATCAGCC	GTCGATGAAA	CAAGTGATGT	CGATAATAGC	AGAGCGCGAT	GCACCGATTC	AGGAGAGAAA
401	TCTGGCGATA	TCAGAGAAAA	AAGCAGCAGT	AGCTGAAAGG	GACATGGCGT	TTCTTCAGAG	GGACACCGCC	ATTGCTGAGC
481	GCAACAATGC	GATAATGGAG	AGAGACAGTG	CTCTTACAGC	ACTCCAATAC	CGTGAGAACT	CTATGGTTAC	TGCTCCTGCT
561	GCCAATATGT	CAGCATGTCC	ACCAGGATGT	CAAATATCAC	GTGGTGTAAA	ACACTGCAC	CATCCGCACA	TGCATCATCA
641	TCATCAACAA	CATCACATAC	CTCAGTTGAC	TGAAAATGCA	TATGAAACCA	GAGAGATGGA	GCCAAATGAT	GGTCTCCCAA
721	CATCACCACC	TGCCGGATCC	ACCTTGGAAAT	CTGCCAAACC	AAAACGTGGT	AAAAGAGTGA	ACCCAAAGGC	GACAACACAA
801	ACTGCTGCTA	ATAAGAGAGG	GCCAAAAAAT	CAGAGGAAGG	TTAAGAAAGA	GAGCGAGGAC	GACTTAAACA	AGATAATGTT
881	TGTAAAGACG	ACCCATGACT	ACACAGACGA	AGATTCAAGT	AAGCATATCT	TAATAGGATC	AAAATCTGAC	TGGAAAAGTC
961	AAGAAATGGT	GGGGCTGAAC	CAAGTGGTTT	ACGACGAGAC	AACGATGCCA	CCACCTGTAT	GTTCATGTAC	AGGAGTTCTC
1041	AGACAGTGCT	ACAAATGGGG	AAATGGAGGT	TGGCAATCAT	CGTGTTCAC	AACTACACTA	TCAATGTATC	CTTTACCTGC
1121	ACTGCCCAAC	AAAAGGCATG	CTCGAGTTGG	TGGACGGAAA	ATGAGCGGAA	GCGCGTTCAA	CAAGCTTCTA	AGCCGGCTTG
1201	CTGCAGAAGG	GCATCATGAT	CTTCAAACC	CGGTCGATCT	GAAGGACCAT	TGGGCAAAGC	ACGGTACAAA	CCGCTACATT
1281	ACGATTAAT	GATatgtgca	tttaggtgtg	agttgttctt	acgacattat	ctgattttaa	atcatgtgta	ctaaattcaa
1361	ataaactcga	gaggaaaaga	attgtatgtg	gagccaatgt	tatgtttgat	tatataattc	gaaaattttt	agt