

Wechselbäder und Kettenreaktionen

Was die DNA im Labor so alles durchstehen muss

von Ilka Lehnen-Beyel (Text) und Friederike Groß (Illustrationen)

NEULICH BEGEGNETE uns die Doppelhelix völlig ausgepowert. „Was ist los?“, fragten wir. Da erzählte sie folgende Geschichte:

„Hätte ich gewusst, was mich in dem Labor so alles erwartet, hätte ich wohl schleunigst Reißaus genommen. Gut, das wäre sicher schwierig geworden, schließlich habe ich als DNA nur sehr eingeschränkte Möglichkeiten der Fortbewegung. Wie auch immer, jetzt ist es zu spät. Und irgendwie war es ja auch interessant, so viel über mich herauszufinden.“

Auf den ersten Blick wirkte alles harmlos. Das Labor war picobello sauber, und auch die Wissenschaftler machten einen sympathischen Eindruck. Einer kam gleich auf mich zu und murmelte etwas von ‚reinigen und dann ab in die PCR‘. Was das hieß, war mir schnell klar, als ich intensiv gebadet wurde – es ging ganz schön zur Sache: Salzlösungen, Phenolwaschungen und viel Alkohol waren beteiligt.

Anschließend zog ich um in ein Miniatur-Reagenzglas aus Plastik. Dort warteten auf mich schon zwei andere DNA-Fragmente – mit nicht einmal 30 Nukleotiden viel kleiner als ich –, ebenso wie ein geheimnisvolles Protein namens Taq, dazu ein Haufen einzelner Nukleotide, also die Bausteine, aus denen ich auch selbst bestehe. Der Forscher steckte uns in einen grauen Kasten und startete die **Polymerase-Kettenreaktion**, englische Abkürzung: **PCR**. Wie ich hinterher erfuhr, ist diese Methode extrem wichtig für die Biotechnologie, denn sie kann ganz gezielt ein bestimmtes Stück einer DNA vervielfältigen.

Ich erschrak, als ich spürte, wie die Umgebungstemperatur sehr rasch stieg,

auf 95 Grad Celsius – und wie ich auseinanderfiel. Denn bei dieser Hitze schaffe ich es nicht, die beiden Stränge meiner Doppelhelix zusammenzuhalten. Glücklicherweise sank die Temperatur nach einer Minute wieder auf erträgliche 60 Grad. Und dann passierte etwas Unerwartetes: Die beiden kleinen DNA-Fragmente, die sich mir als **Primer** vorgestellt hatten, schmiegt sich jeweils an einen meiner Einzelstränge – und zwar so, dass einer am Beginn des Teils von mir haftete, der die Forscher interessierte, und einer am Ende.

Anschließend – die Temperatur war auf kuschelige 65 Grad gestiegen – schlug die Stunde von **Taq**, was einfach eine Kurzform von **DNA-Polymerase aus *Thermus aquaticus*** ist. Taq ist also ein Enzym, dessen Job es ist, DNA-Doppelstränge herzustellen, und es stammt von einem Bakterium aus heißen Quellen – deswegen hatte es auch das 95-Grad-Bad problemlos überstanden.

Taq machte sich ans Werk und produzierte, ausgehend von den beiden Primern, zu jedem meiner beiden Einzelstränge den passenden zweiten Strang. Danach hatte ich mich sozusagen verdoppelt.

Und dann ging die ganze Sache wieder von vorne los – auseinanderfallen, Primer anheften, Doppelstrang herstellen. Immer und immer wieder, etwa 30 Mal. Am Ende hatte ich viele, viele neue Geschwister, die exakt genauso aufgebaut waren wie ich oder, besser gesagt, wie der Teil von mir, der zwischen den beiden Primern lag. „Mission erfüllt“, kommentierte der Forscher.

Doch auch nach dieser Prozedur war nichts mit Verschnaufen. Im Gegenteil: Die Wissenschaftler wollten uns gleich ans Eingemachte – **Sequenzieren** –, hörte ich einen von ihnen sagen. Ich hab’s nachgeschlagen: Es heißt, sie wollten gucken, in welcher Reihenfolge unsere Basenbausteine angeordnet waren. Also zogen wir wohl oder übel um in einen weiteren grauen Kasten.

Zusammenbleiben durften wir allerdings nicht: Man teilte uns in vier Gruppen ein. Sonst ähnelte alles den Gegebenheiten bei der PCR. Jeder Gruppe wurde aber noch ein geheimnisvolles Reagenz mitgegeben: Es sah aus wie ein gewöhnliches Nukleotid – je nach Gruppe A, T, C oder G –, hatte aber an der Ribose eine OH-Gruppe zu wenig (siehe Basiswissen Zelle, Folge 2, in bdw 8/2012).

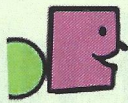
Was dann passierte, ist schwierig zu erklären. Man kann es sich vorstellen, als würde jemand eine Kette knüpfen aus roten, blauen, gelben und grünen Holzperlen – die stehen für die verschiedenen Nukleotide: Er nimmt immer wieder eine neue Perle aus einem Gefäß und verlängert damit die Kette. Irgendwann erwischt er dabei eine Perle, die nur auf einer Seite eine Öse hat – das geheimnisvolle OH-Mangel-Nukleotid. Das kann er zwar noch an die Kette anhängen, danach geht aber nichts mehr. Haben diese verstümmelten Perlen alle eine bestimmte Farbe, bekommt der Knüpfer im Lauf der Zeit unterschiedlich lange Ketten, die stets mit der gleichen Farbe enden. Die Prozedur kann er dann mit den drei anderen Farben wiederholen.

Und genau das geschah auch mit uns DNA-Molekülen in dem grauen Kasten: Am Ende gab es uns in vielen verschiedenen Längen, wobei alle Geschwister



in einem Reaktionsgefäß mit dem gleichen Baustein aufhörten – dem **Kettenabbruch-Nukleotid**. Zu allem Überflus mussten die vier Gruppen anschließend noch ein Wettrennen veranstalten. Dabei sollten wir uns durch ein Dickicht kämpfen – die Forscher nannten es **Gelelektrophorese**. Logisch, dass die kleineren von uns schneller vorwärts kamen als die größeren. Deswegen befanden wir uns auch an unterschiedlichen Stellen im Dickicht, als das Rennen plötzlich abgebrochen wurde.

Erstaunlich: Die Forscher konnten aus unserer Verteilung tatsächlich unsere Basenfolge, also die **Sequenz**, ablesen. Sie guckten einfach, zu welcher Gruppe die gehörten, die am weitesten gekommen waren. Deren Kettenabbruch-Baustein war ein ‚A‘, was die Forscher vermerkten. Dann suchten sie nach dem zweiten Sieger, also den



zweitkürzesten Fragmenten, das waren DNAs aus der C-Gruppe. Es folgte zweimal die G-Gruppe, dann wieder ein A und schließlich ein T. Daraus leiteten die Forscher dann logisch ab, dass die ursprüngliche Sequenz ACGGAT gewesen sein musste. Ich war beeindruckt.

Mittlerweile weiß ich natürlich, dass es heute sehr viel schnellere und elegantere Möglichkeiten gibt, um unsere Geheimnisse zu lüften. Doch was ich mit-

gemacht habe, war lange Zeit die einzige verfügbare Sequenziermethode.

Ihr verdanken die Menschen, dass sie wissen, wie ihr Genom aufgebaut ist – und damit ein Stück weit auch die Erkenntnis, woher sie kommen und wohin sie gehen.“ ■

Was der DNA im Biotech-Labor sonst noch blüht und wie sie das Innenleben von Mäusen, Bakterien und Tomaten kennenlernt, das ist Thema der nächsten Folge.

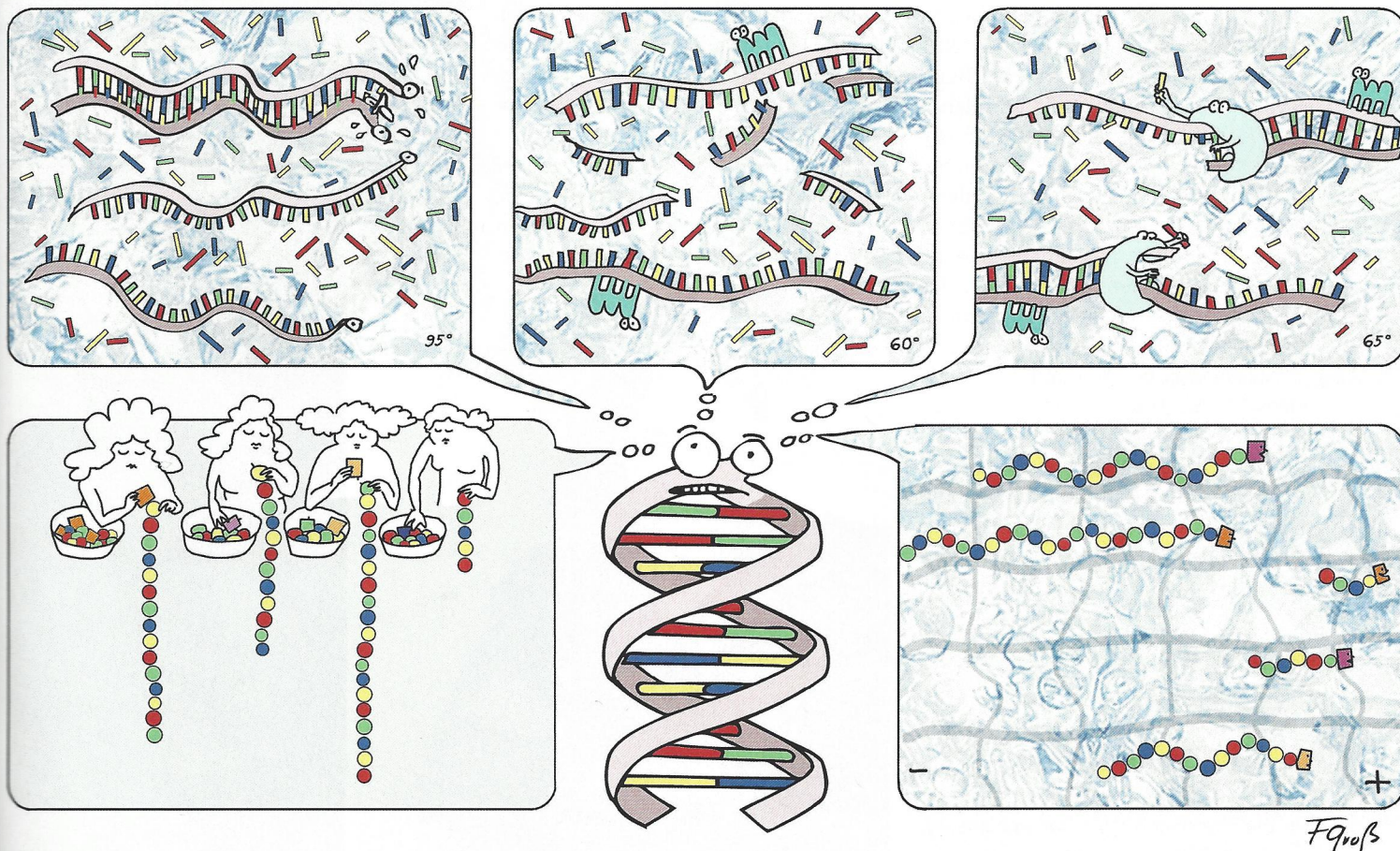
Die Sequenzierung

Name: Kettenabbruch-Methode nach Frederick Sanger, auch als Didesoxymethode bekannt

Geburtsjahr: um 1975

Maximale Länge sequenzierbarer DNA-Fragmente: 1000 Basenpaare

Genauigkeit: 99,999 Prozent – damit die genaueste, wenn auch eine der langsamsten Methoden



Auseinanderfallen, Primer anheften, Doppelstrang herstellen mit der Hilfe von Taq – das ist die Polymerase-Kettenreaktion (obere Reihe). Unten: Sequenzierung nach der Kettenabbruch-Methode (links) und Wettrennen im Gelelektrophorese-Dickicht.