

Technologie

PCR ([englisch](#) *Polymerase Chain Reaction*, **PCR**, pl; reakcja łańcuchowa polimerazy),
Polymerase-Kettenreaktion
RFLP (ang. Restriction Fragment Length Polymorphism),
RealTime PCR czy **analiza sekwencyjna DNA**.

RT-PCR steht für [Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion](#) und ist die Kombination aus zwei Methoden der [Molekularbiologie](#), um die [Genexpression](#) von spezifischen [Genen](#) in [Zellen](#), [Geweben](#) oder [Blutserum](#) nachzuweisen. Verwendet wird die RT-PCR in [Forschung](#) und [Diagnostik](#).

[Protein-Engineering](#)

Viele Enzyme können heute mit Hilfe von [gentechnisch](#) veränderten [Mikroorganismen](#) hergestellt werden.

Die PCR wird in biologischen und medizinischen Laboratorien für eine Vielzahl verschiedener Aufgaben verwendet, zum Beispiel für die Erkennung von [Erbkrankheiten](#) und [Virusinfektionen](#), für das Erstellen und Überprüfen [genetischer Fingerabdrücke](#), für das [Klonieren](#) von [Genen](#) und für [Abstammungsgutachten](#). Die PCR zählt zu den wichtigsten Methoden der modernen Molekularbiologie und viele wissenschaftliche Fortschritte auf diesem Gebiet (z.B. Im Rahmen des [Humangenomprojekts](#)) wären ohne diese Methode nicht denkbar gewesen.

-----→ **PCR-Anwendungsgebiete**

Die PCR kann für eine Vielzahl von Experimenten und Analysen eingesetzt werden, einige Beispiele werden weiter unten vorgestellt.

Genetischer Fingerabdruck

Der [genetische Fingerabdruck](#) wird in der [Gerichtsmedizin](#) zur Identifizierung einer Person eingesetzt, indem seine oder ihre DNA mit einer vorhandenen Probe verglichen wird. Beispielsweise kann eine Blutprobe von einem Tatort mit dem Blut eines Verdächtigen verglichen werden. Die Probe kann minimal sein, das heißt, eine einzige Zelle (in deren Zellkern die DNA ist) genügt. An Tatorten findet man meistens [Blut](#), [Sperma](#), [Speichel](#), [Haut](#), [Haare](#) oder ähnliche Zellen (Speichel und Haare enthalten zwar keine Zellkerne, jedoch sind im Speichel meist Zellreste zu finden, an Haaren oft die Haarwurzeln). Theoretisch genügt ein einziger Strang. Zuerst spaltet man die DNA-Probe in Fragmente auf, die dann mittels PCR vervielfältigt werden. Die vervielfältigten Fragmente werden anschließend durch Gelelektrophorese getrennt. Die so gewonnene Anordnung der DNA-Fragmente nennt man DNA-Fingerabdruck. Diese Fragmente enthalten jedoch größtenteils [polymorphe](#) Bereiche. Das sind sich wiederholende DNA-Abschnitte im nicht kodierenden Bereich der DNA ([junk DNA](#)), sogenannte repetitive Sequenzen. Diese Sequenzen liegen zwischen den Genen. Deshalb lässt sich anhand des genetischen Fingerabdrucks keine [Disposition](#) feststellen.

Vaterschaftstest

[Pcr fingerprint.png](#)



Elektrophorese von PCR vervielfältigter DNA-Fragmente. (1) Vater. (2) Kind. (3) Mutter. Das Kind hat Teile der Fingerabdrücke der beiden Elternteile geerbt wodurch es über einen eigenen, einzigartigen Fingerabdruck verfügt.

Obwohl diese erzeugten „Fingerabdrücke“ einzigartig sind (bei eineiigen [Zwillingen](#) sind sie nahezu identisch; Unterschiede können hier nur mit zusätzlichem Aufwand nachgewiesen werden), können genetische Beziehungen, zum Beispiel zwischen Eltern und Kindern oder zwischen Geschwistern durch zwei oder mehr genetische Fingerabdrücke bestimmt werden, was bei [Vaterschaftstests](#) zum Einsatz kommt (Abb. 3). Eine Abwandlung dieser Technik wird auch zur Bestimmung [evolutionärer](#) Beziehungen zwischen Organismen angewandt.

Erkennung von Krankheiten

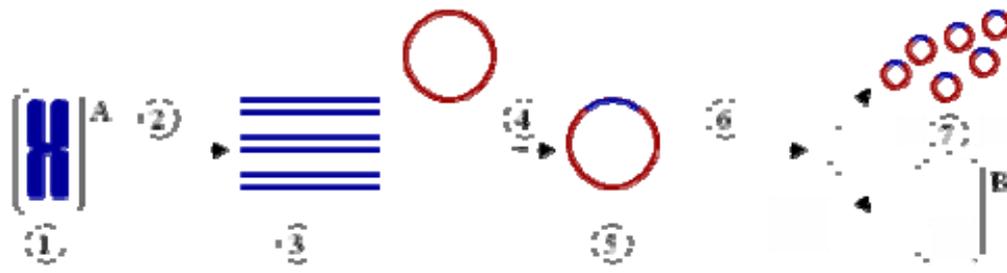
Die Erkennung von [Erbkrankheiten](#) in einem vorliegenden [Genom](#) ist ein langwieriger und komplizierter Vorgang, der durch den Einsatz von PCR bedeutend verkürzt werden kann. Jedes Gen, das in Frage kommt, kann durch PCR mit den entsprechenden Primern amplifiziert (= vervielfältigt) und anschließend sequenziert werden (DNA sequenzieren heißt, die Sequenz der Nukleotide (oder Basen) der DNA zu bestimmen), um [Mutationen](#) aufzuspüren.

Virale Erkrankungen können ebenfalls durch PCR erkannt werden, indem man die [Virus](#)-DNA vervielfältigt bzw. bei RNA-Viren diese [RNA](#) erst in DNA umschreibt und dann mittels PCR vervielfältigt (die [RT-PCR](#)). Diese Analyse kann sofort nach der Infektion erfolgen, oft Tage oder Wochen vor dem Auftreten der Symptome. Erfolgt die Diagnose so früh, erleichtert das den Medizinern die Behandlung erheblich.

Die PCR kann auch zu Reihenuntersuchungen eingesetzt werden. So wird sie z. B. von Blutspendediensten zur Routineuntersuchung von Blutkonserven eingesetzt. Durch die frühestmögliche Entdeckung einer gefährlichen [Infektionskrankheit](#) beim Spender (z. B. [HIV](#), [Hepatitis B](#)) kann das sog. [diagnostische Fenster](#) nahezu geschlossen werden. Durch die Empfindlichkeit der PCR-Tests ist es möglich, Proben in sog. Pools (z. B. 96 Einzelproben) zusammenzufassen. Wird ein Pool positiv getestet, wird seine Größe solange verkleinert (meistens halbiert), bis die verursachende Probe gefunden ist.

Klonierung von Genen

Das Klonieren eines Gens - nicht zu verwechseln mit dem [Klonen](#) eines ganzen Organismus - ist ein Vorgang, bei dem ein Gen aus einem Organismus isoliert und anschließend in einen anderen eingepflanzt wird. PCR wird oft benutzt, um das Gen zu vervielfältigen, das dann in einen [Vektor](#) (ein Vektor ist ein Mittel, mit dem ein Gen in einen Organismus verpflanzt werden kann), beispielsweise ein [Plasmid](#) (ein ringförmiges DNA-Molekül), eingefügt wird (Abb. 4). Die DNA kann anschließend in einen anderen Organismus eingesetzt werden, in dem das Gen oder sein Produkt besser untersucht werden kann. Das [Exprimieren](#) eines klonierten Gens kann auch zur massenhaften Herstellung nutzbarer Proteine wie z. B. Arzneimittel dienen.



Klonierung eines Gens mit Hilfe eines Plasmids:

- (1) Chromosomale DNA von Organismus A.
- (2) PCR Reaktion.
- (3) Mehrere Kopien eines einzelnen Gens von Organismus A.
- (4) Einfügen des Gens in ein Plasmid.
- (5) Plasmid mit dem Gen aus Organismus A.
- (6) Einfügen des Plasmids in Organismus B.
- (7) Vervielfältigung oder Expression des Gens, das aus Organismus A stammt, im Organismus B.

Mutagenese

Mutagenese ist eine Möglichkeit, die Sequenz der Nukleotide (Basen) der DNA zu verändern. Es gibt Situationen, in denen man mutierte (veränderte) Kopien eines bestimmten DNA-Strangs benötigt, um die Funktion eines Gens zu bestimmen. Mutationen können in kopierte DNA-Sequenzen auf zwei grundsätzlich verschiedene Arten während des PCR-Prozesses eingefügt werden.

Gezielte Mutagenese (z. B.: “site-directed mutagenesis”) erlaubt es dem Forscher, an spezifischen Stellen auf dem DNA-Strang Mutationen zu erzeugen. Meist wird dafür die gewünschte Mutation in die Primer integriert, die für die PCR verwendet werden. Bei der *gezielten bzw. stellenspezifischen Mutagenese* ist mindestens einer der Primer nicht 100prozentig identisch mit der DNA an die er sich anlagert. Während der Amplifikation wird so eine Mutation in das DNA-Fragment eingeführt.

Zufällige Mutagenese (“random mutagenesis”) beruht hingegen auf der Verwendung von fehlerträchtigen Polymerasen (bzw. Polymerasen ohne Mechanismus zur Fehlerkorrektur) während des PCR-Prozess. Bei der zufälligen Mutagenese können Ort und Art der Mutationen nicht beeinflusst werden und müssen erst durch eine Sequenzierung identifiziert werden.

Eine Anwendung der zufälligen oder gezielten Mutagenese ist die Analyse der Struktur-Funktions-Beziehungen eines Proteins. Nach der Veränderung der DNA-Sequenz kann man das entstandene Protein mit dem Original vergleichen und die Funktion aller Teile des Proteins bestimmen. Weiterhin können damit auch Funktionen der Nukleinsäure selbst (mRNA-Transport, mRNA-Lokalisation, etc.) untersucht werden.

Analyse alter (fossiler) DNA

Da die PCR aus nur geringen DNA-Problemen eine beliebige Menge von Material erzeugen kann, ist sie besonders für die sehr alte aDNA geeignet, die in der Natur nur noch in für Untersuchungen nicht mehr ausreichenden Mengen vorkommt. Dabei beruhen nahezu alle wissenschaftlichen Erkenntnisgewinne in Bezug auf die aDNA und somit viele seit langem ausgestorbener Arten auf der Methode der PCR.

Geschlechtsbestimmung

Die PCR kann eingesetzt werden, um Material für einen Nachweis der geschlechtsspezifischen Chromosomen zu gewinnen. Das ist bei den üblichen Haussäugetieren nicht üblich, außer eventuell bei Zwittern. Bei manchen Tieren im Zoo, besonders aber bei Vögeln, Reptilien oder Fischen, ist es die schonendste und sicherste Variante. Im Heimtierbereich ist diese PCR Methode bei Papageien üblich.

EN ISO 9001:2000

<http://de.wikipedia.org/wiki/Qualitätsmanagementnorm>

In Branchen wie der [Luft-](#) und [Raumfahrt](#), [Medizintechnik](#), [Arznei-](#) und [Lebensmittelherstellung](#) ist Qualitätsmanagement auch gesetzlich vorgeschrieben.

Eine **Qualitätsmanagementnorm** beschreibt, welchen Anforderungen das Management eines Unternehmens genügen muss, um einem bestimmten Standard bei der Umsetzung des [Qualitätsmanagements](#) zu entsprechen, und kann sowohl informativ für die Umsetzung innerhalb eines Unternehmens als auch zum Nachweis bestimmter Standards gegenüber Dritten dienen.

Mit der Normenreihe **EN ISO 9000 ff.** sind [Normen](#) geschaffen worden, die die Grundsätze für Maßnahmen zum [Qualitätsmanagement](#) dokumentieren. Gemeinsam bilden sie einen zusammenhängenden Satz von Normen für Qualitätsmanagementsysteme, die das gegenseitige Verständnis auf nationaler und internationaler Ebene erleichtern sollen.

EN ISO 9001

legt die Anforderungen an ein Qualitätsmanagementsystem (QM-System) für den Fall fest, dass eine Organisation ihre Fähigkeit darlegen muss, Produkte bereitzustellen, welche die Anforderungen der Kunden und allfällige behördliche Anforderungen erfüllen, und anstrebt, die Kundenzufriedenheit zu erhöhen.

Diese [Norm](#) beschreibt modellhaft das gesamte Qualitätsmanagementsystem und ist Basis für ein umfassendes Qualitätsmanagementsystem.

Die acht Grundsätze des Qualitätsmanagements:

1. Kundenorientierung
2. Verantwortlichkeit der Führung
3. Einbeziehung der beteiligten Personen
4. Prozessorientierter Ansatz
5. Systemorientierter Managementansatz
6. Kontinuierliche Verbesserung
7. Sachbezogener Entscheidungsfindungsansatz
8. Lieferantenbeziehungen zum gegenseitigen Nutzen