

Die rekombinante DNA-Technologie 4

DNA/RNA/Protein-Hybridisierung – das Finden der Stecknadel im Heuhaufen

Barbara C. Biedermann Die Auftrennung von Nucleinsäuren- und Proteingemischen nach Grösse ist ein hilfreiches Instrument zur groben Beurteilung ihrer Zusammensetzung. Eine qualitativ gute Präparation genomischer DNA sollte die chromosomale DNA möglichst intakt enthalten. Wenn ein entwirrt Chromosom eine durchschnittliche Länge von 4–5 cm hat, sollte eine solche Präparation zur Hauptsache riesige Nucleinsäurefragmente enthalten, die kaum in ein Agarosegel eindringen. Und die totale RNA eines Gewebes oder kultivierter Zellen enthält die typischen, grossen 28-S- und 18-S-Banden (S = Svedberg-einheit, Sedimentationsmass in der Ultrazentrifugation) der ribosomalen RNA. Die Ethidium-

bromid- und Coomassiefärbung sind jedoch unspezifisch, das heisst sie färben alle Nucleinsäuren und alle Proteine gleichermassen an. Um eine bestimmte Nucleinsäure oder ein bestimmtes Protein in einem Proteingemisch nachzuweisen, verwendet man die spezifische Hybridisierung einer markierten Probe an das Biomolekül. Für die spezifische Hybridisierung von Nucleinsäuren werden komplementäre Nucleotidstücke verwendet, für die spezifische Hybridisierung von Proteinen in der Regel Antikörper. Die Markierung von Nucleinsäuren und Proteinen durch Hybridisierung erfolgt – im Gegensatz zur elektrophoretischen Trennung – im physiologischen Milieu, das heisst in einer physiologischen Salzlösung, bei neutralem pH. Sie kann auch nicht direkt im Trenn-Gel erfolgen. Die Nucleinsäuren oder Proteine müssen, wiederum entlang eines elektrischen oder physikalischen Gradienten, auf ein papierartiges Trägermaterial transferiert werden. Man nennt diesen Vorgang «blotten» (für engl. *to blot* = mit einem Fließpapier aufsaugen). Der britische Biochemiker Edwin M. Southern hat in den 70er Jahren den DNA-Blot entwickelt, um spezifische DNA in einem Gemisch nachzuweisen. Einen DNA-Blot nennt man deshalb *Southern-Blot*. Findigerweise wurde der Nachweis von elektrophoretisch aufgetrennter RNA mittels einer markierten Probe «Northern»-Blot genannt, und der Proteinnachweis mit Hilfe eines markierten Antikörpers erhielt den Namen «Western»-Blot. (Der «Eastern»-Blot muss erst noch erfunden werden.)

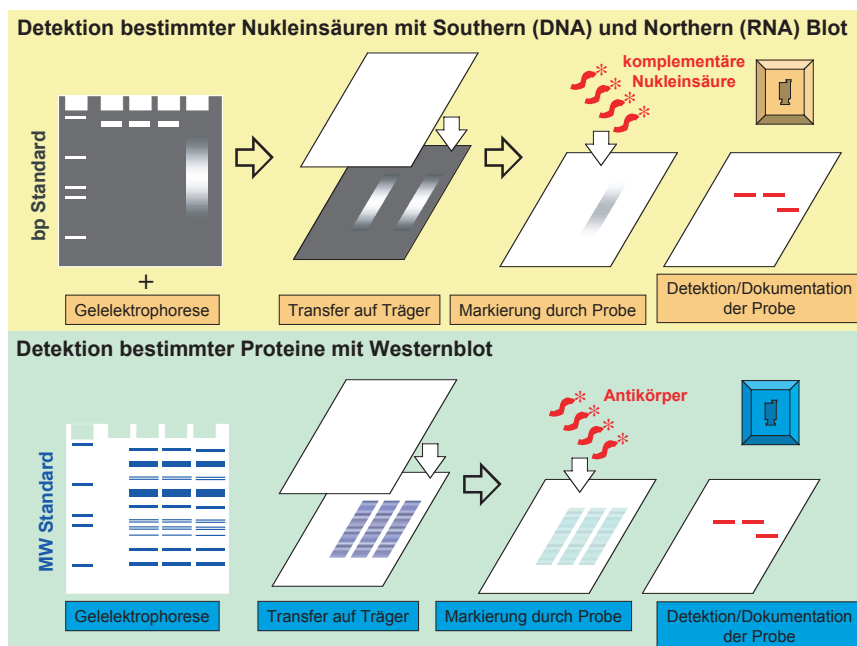


Abbildung 1. Blotting in allen Himmelsrichtungen: Southern-Blot für DNA, Northern-Blot für RNA und Western-Blot für Proteine.

Korrespondenz:
 PD Dr. med. Barbara C. Biedermann
 Medizinische Universitätsklinik
 Kantonsspital
 CH-4101 Bruderholz
barbara.biedermann@unibas.ch