

Restriction Enzyme Analysis Of Plasmid-DNA

VerfasserInnen: Marlys Mächler, marlys.maechler@gmx.net
Simone Mettler, simone_mettler@hotmail.com

Betreuer: Dominique Grütter, dgrueter@uwinst.unizh.ch

1. Einleitung

Restriktionsenzyme erkennen bestimmte Sequenzen auf der DNA und können sie schneiden. Die entstehenden DNA-Fragmente haben unterschiedliche Länge und somit auch unterschiedliche Grösse. Sie können mittels Gelelektrophorese voneinander getrennt werden. Dabei wandern verschieden grosse Stücke nicht gleich schnell (siehe Anleitung).

2. Durchführung

Plasmid-DNA von zwei verschiedenen Bakterienstämmen wird mit EcoRI geschnitten und auf einem Agarosegel aufgetragen (siehe Anleitung).

3. Ergebnisse

Untersucht wurden die Bakterienstämme 3 und 4. Bei Stamm 4 erhält man bei der Gelelektrophorese eine einzige Bande ziemlich am Anfang. Sie entspricht annähernd der Bande, die das ganze Plasmidstück angibt. Bei Stamm 3 ergeben sich drei verschiedene Banden, die erste auf gleicher Höhe wie bei Stamm 4, die anderen zwei in etwas weiterer Entfernung, aber nahe beieinander.

4. Diskussion

Das Bandenmuster von Stamm 4 lässt vermuten, dass der Plasmidring entweder gar nicht geschnitten wurde, oder dass der herausgeschnittene Teil so klein ist, dass er auf dem Gel nicht mehr sichtbar ist. Im ersteren Fall gäbe es jedoch keine Erklärung für die zwei weiter entfernten Banden in Stamm 3.

Tatsächlich ist letzteres der Fall: Im ursprünglichen Plasmid liegen die zwei einzigen EcoRI-Schnittstellen ziemlich nahe beieinander. Bei Stamm 3 wurde zwischen diesen Stellen ein DNA-Stück eingeschoben, nicht aber bei 4.

Die Bande bei Stamm 4 gibt deshalb den (annähernd) ganzen Plasmidring an. Das winzige, herausgeschnittene Teilchen ist zu klein (und läuft deshalb entsprechend schnell) um gesehen zu werden. Bei Stamm 3 wurde, wie bereits erwähnt, ein DNA Stück eingefügt. Diese Sequenz enthält selber auch eine EcoRI-Schnittstelle. Die erste Bande entspricht somit wieder dem (annähernd) ganzen Plasmidring, die zwei weiteren Banden entsprechen je einem Stück der eingeschobenen Sequenz.