

DIE POLYMERASE-KETTENREAKTION (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR = polymerase chain reaction) ist ein Standard-Verfahren der Molekularbiologie. Es wird dazu verwendet, um bestimmte Abschnitte der Erbsubstanz (z. B. DNA) zu vervielfältigen. Die Bezeichnung „Kettenreaktion“ kommt daher, dass das Verfahren in mehreren Zyklen abläuft: In jedem Zyklus verdoppelt sich die Erbsubstanz und dient danach wieder direkt als Ausgangsmaterial für den nächsten Zyklus, wodurch eine exponentielle Vermehrung möglich ist. Kary B. Mullis entwickelte die Methode und bekam dafür im Jahr 1993 den Nobelpreis für Chemie verliehen. Im Gegensatz zur DNA-Replikation wird nicht das gesamte Genom verdoppelt. Bei der PCR wird nur ein bestimmter Teil vervielfältigt.

Informationsvideo zur PCR: <https://youtu.be/cqSTjJVO-il>

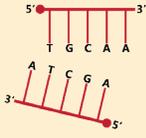
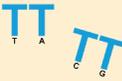
Aufgabe 1

Recherchieren Sie, in welchen Bereichen die Polymerase-Kettenreaktion verwendet wird. Nennen Sie mindestens drei Anwendungsbereiche für eine PCR.

Aufgabe 2

Benennen Sie die einzelnen Komponenten und ordnen Sie ihnen die richtige Funktion zu.

Für eine PCR werden verschiedene Komponenten benötigt: Zunächst wird die DNA-Probe mit dem zu untersuchenden Abschnitt der Erbsubstanz (die sogenannte Template DNA) benötigt. Des Weiteren werden Primer, DNA-Polymerase und Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs) gebraucht.

Komponenten	Funktion
 _____	Dieser Abschnitt der DNA dient als Vorlage zur Vervielfältigung.
 _____	Diese spezielle Polymerase ist besonders hitzebeständig und synthetisiert den neuen DNA-Strang.
 _____	Dabei handelt sich um kurze RNA- oder auch DNA-Abschnitte, die den Startpunkt der Synthese für die Polymerase auf den beiden Einzelsträngen der DNA markieren.
 _____	Die DNA-Polymerase nutzt diese Bausteine, um den neuen DNA-Strang zu synthetisieren. Für jede Base gibt es diese Nukleotide (dATP, dTTP, dCTP, dGTP).

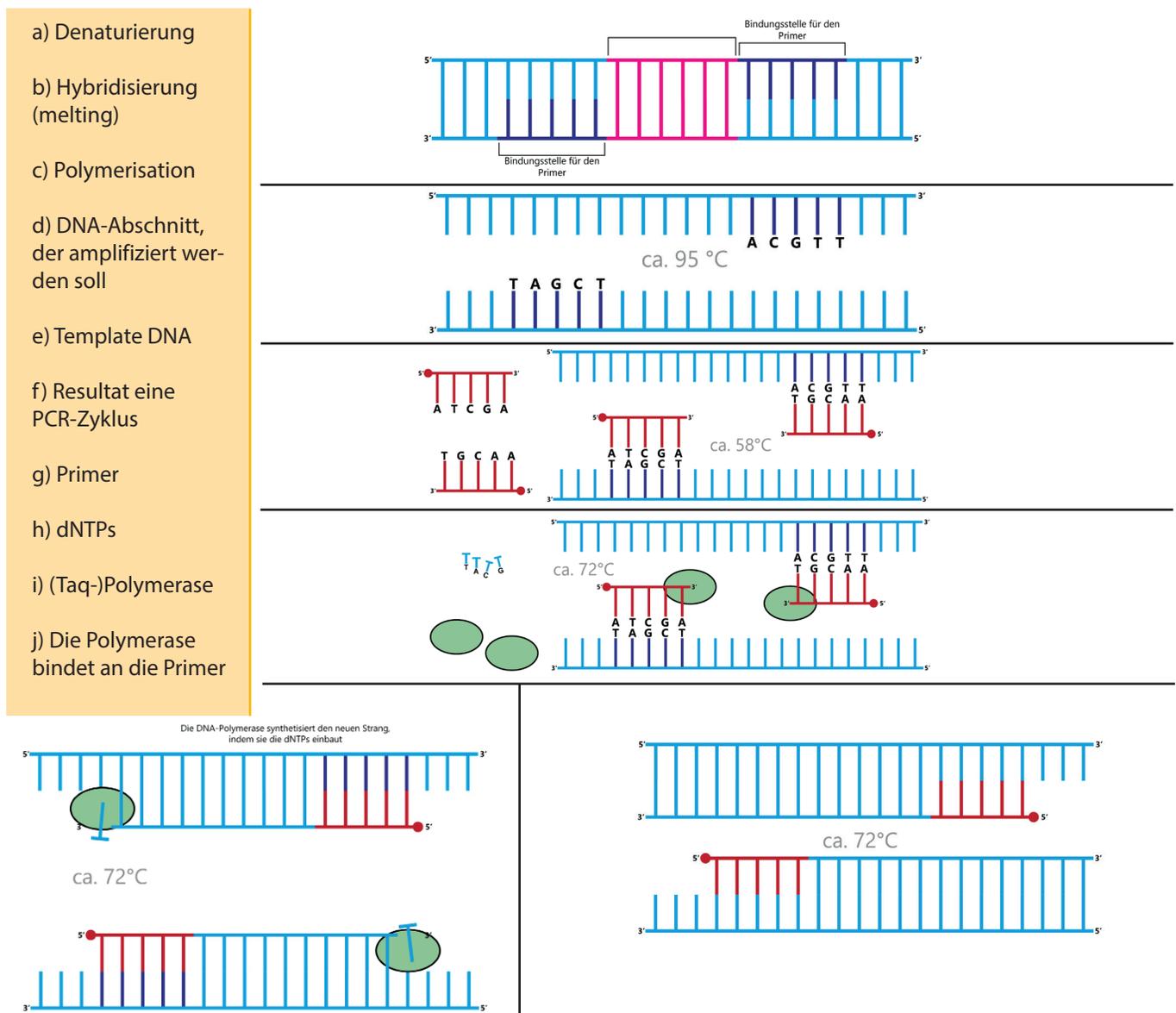
Aufgabe 3

Benennen Sie die einzelnen Phasen eines PCR-Zyklus und ordnen Sie die Begriffe den Abbildungen auf der folgenden Seite zu.

DIE POLYMERASE-KETTENREAKTION (PCR)

Eine Polymerase-Kettenreaktion läuft grundsätzlich in drei Phasen ab:

- Bei der Denaturierung wird die DNA „geschmolzen“. Daher spricht man im Englischen auch von „melting“. Dabei trennt sich der Doppelstrang bei ca. 95 °C in zwei Einzelstränge.
- Bei der Hybridisierung lagern sich die Primer an die beiden Einzelstränge an und markieren den Startpunkt für die Polymerase. Dieser Vorgang geschieht bei ca. 58 °C.
- Die Polymerisation läuft bei 72 °C ab. Hier ergänzt die DNA-Polymerase die beiden Einzelstränge durch dNTPs zu zwei neuen Doppelsträngen, die sich exakt gleichen. Sie dienen als Ausgangsmaterial für den nächsten Zyklus.



Aufgabe 4

Für eine PCR wird eine besondere Polymerase verwendet. Finden Sie heraus, um welche Polymerase es sich handelt und begründen Sie, warum der Einsatz dieser speziellen Polymerase so wichtig für das Verfahren ist.

Aufgabe 5

Es gibt verschiedene Varianten der PCR, die für verschiedene Zwecke verwendet werden. Informieren Sie sich über Reverse Transkriptase-PCR und begründen Sie, warum für den Nachweis der meisten Virus-Infektionen (zum Beispiel SARS-CoV-2) die Reverse Transkriptase-PCR eingesetzt wird.

ANTIGEN-SCHNELLTESTS

Zu Beginn der COVID-19-Pandemie war der Nachweis einer Infektion mit dem Virus nur mittels PCR-Verfahren möglich. Auch heute gilt dieser Test als sicherste Methode, um eine Infektion festzustellen oder auszuschließen. Mit dem Fortschreiten der Pandemie wurden allerdings auch neue und schnellere Tests entwickelt und zugelassen. Dabei handelt es sich unter anderem um sogenannte Antigen-Schnelltests. Während man bei einem PCR-Test meist mehrere Stunden auf das Ergebnis warten muss, erhält man bei einem Antigen-Schnelltest bereits nach wenigen Minuten ein Ergebnis. Dieses Prinzip wird nicht nur für den Nachweis von Krankheiten verwendet, sondern kommt zum Beispiel auch bei Schwangerschaftstests zum Einsatz. Es beruht dabei auf der sogenannten Immunchromatographie. Im Test-Kit sind besondere Antikörper vorhanden. Erkennen diese Antikörper spezielle Antigene (das kann zum Beispiel ein Strukturprotein des Virus aus der Speichelprobe sein oder ein bestimmtes Hormon im Urin bei einem Schwangerschaftstest), kommt es zu einer Farbreaktion. Der Test erscheint positiv. Sind keine oder nur wenige Antigene vorhanden, bleibt die Farbreaktion aus.

Aufgabe 1

Das Grundprinzip von Antigen-Schnelltests ist bei den meisten Tests häufig gleich. Zunächst wird die Probe (Speichel, Rachenabstrich, Urin, ...) auf das Auftragsvlies der Test-Kassette gegeben und die Probe fließt dort in Richtung Reagenzvlies. Dieses ist von außen nicht sichtbar. Dort befindet sich eine große Menge speziell markierter Antikörper, die an den Antigenen in der Probe binden, falls sie darin enthalten sind. Die ungebundenen Antikörper wandern mit dem Rest der Probe weiter und erreichen die erste Reagenzienzone (Testlinie – auf der Kassette meist mit einem T markiert). Dort befindet sich ein immobilisierter Antikörper, der gegen eine andere Stelle des Antigens gerichtet ist und an den Immunkomplex bindet. In der zweiten Reagenzienzone (Kontrolllinie – meist mit einem C (control) gekennzeichnet) befinden sich Sekundärantikörper, die an die freien Antikörper binden, allerdings nicht an den Immunkomplex. Bei einem korrekt durchgeführten Test setzt in der Kontrollzone daher immer ein Farbumschlag ein. Nur bei einem positiven Test färbt sich zusätzlich noch die Testlinie.

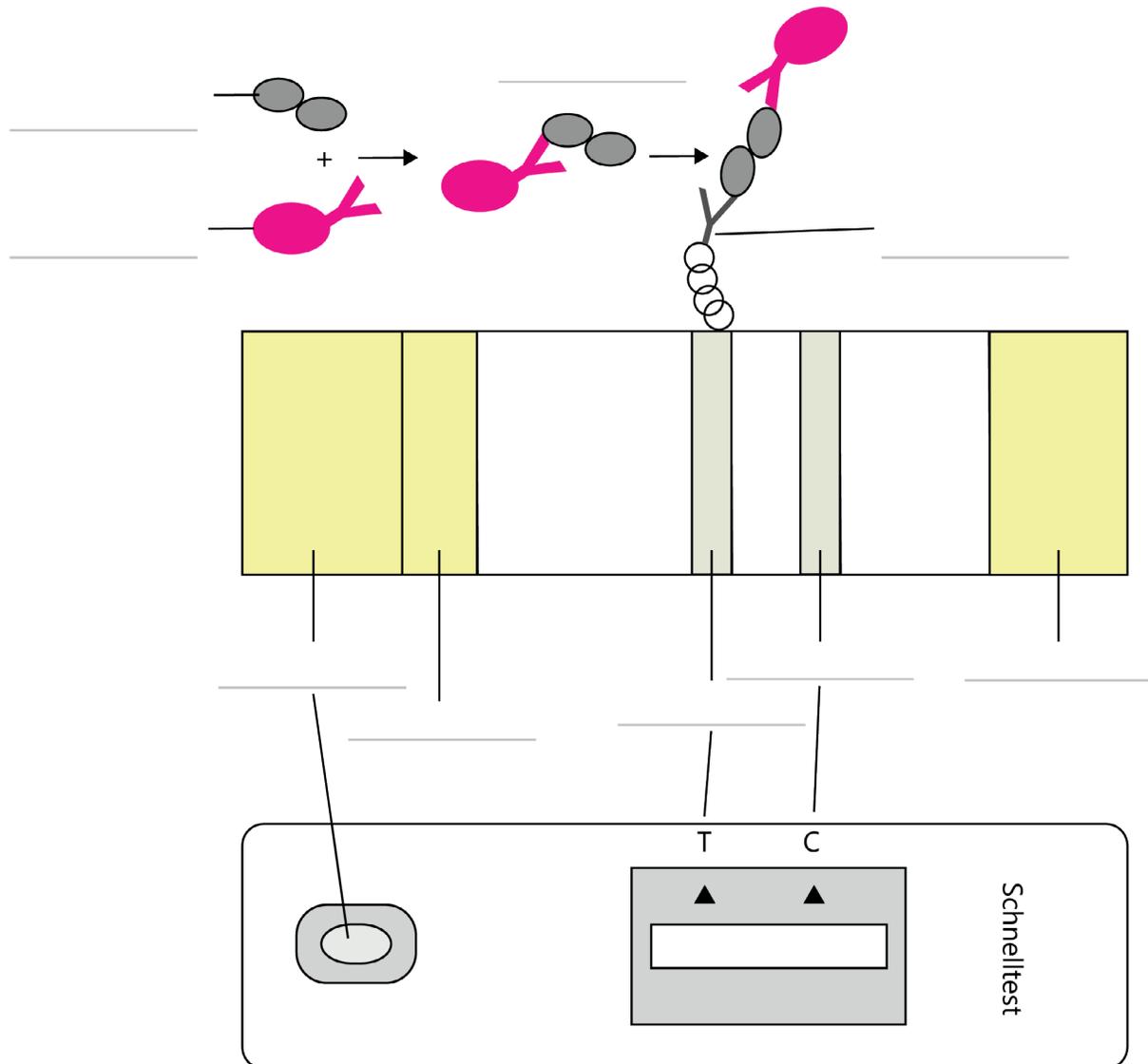
Beschriften Sie die Abbildung auf der folgenden Seite.

Aufgabe 2

Prinzipiell gilt, dass Schnelltests im Vergleich zu PCR-Tests weniger genau sind. Hierbei spielen die Spezifität und die Sensitivität der Schnelltests eine entscheidende Rolle für die Genauigkeit.

Recherchieren und beschreiben Sie, was man unter Sensitivität und Spezifität im Zusammenhang mit Antigen-Schnelltests versteht.

ANTIGEN-SCHNELLTESTS



Aufgabe 3

Vor dem Zutritt zu einem Konzert führt der Konzert-Veranstalter einen Antigen-Schnelltest bei allen Besucherinnen und Besuchern durch. Nur negativ getestete Personen dürfen das Konzert besuchen. Insgesamt erscheinen 10 000 Personen zum Konzert und werden getestet. 99 % der getesteten Personen erhalten ein negatives Testergebnis. Der Hersteller des Tests gibt an, dass nur zu 5 % falsch-positive und zu 10 % falsch-negative Testergebnisse angezeigt werden.

- Die Sensitivität eines Antigen-Schnelltests beträgt circa 95 %. Was bedeutet das?
- Berechnen Sie, wie viele Besucherinnen und Besucher im schlimmsten Fall falsch negativ getestet wurden.
- Wie viele Besucherinnen und Besucher wurden auf Basis der Herstellerangaben vermutlich falsch-positiv getestet? Berechnen Sie.
- Die Spezifität eines Antigen-Schnelltests beträgt circa 99 %. Was bedeutet das?
- Nennen Sie Faktoren, die zu einem falsch-negativen Ergebnis führen können.