

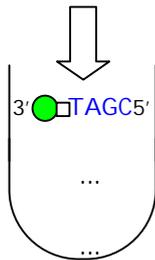
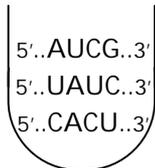
DNA-Chips - Wie misst man Unterschiede in der Genexpression von Tumor- und Normalgewebe?

Vorbereitung: Ein DNA-Chip mit Ausschnitten aus z.B. allen bekannten Genen des Menschen wird hergestellt.

Aus Gewebeproben von Tumor- und Normalgewebe wird jeweils die gesamte RNA isoliert.

Exemplarisch betrachten wir das weitere Vorgehen für Ausschnitte aus jeweils 3 RNA-Stücken. Ergänzen Sie an den mit ... gekennzeichneten Stellen die fehlenden Informationen.

RNA aus Normalgewebe

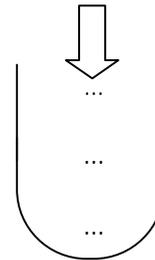
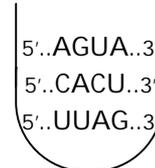


cDNA-Stücke mit grün fluoreszierendem Farbstoff

Was passiert? ...

Was passiert? ...

RNA aus Tumorgewebe



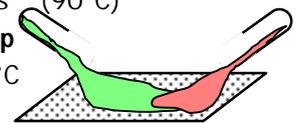
cDNA-Stücke mit rot fluoreszierendem Farbstoff

Herstellung von fluoreszenzmarkierter cDNA aus der RNA

-  grün fluoreszierender Farbstoff
-  rot fluoreszierender Farbstoff

Wichtiges Enzym: ...

Kurzes Erhitzen des Chips (90°C)
Aufbringen der beiden markierten cDNAs auf den Chip

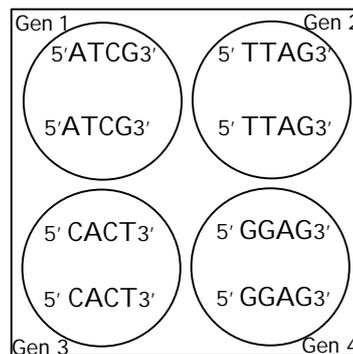


Mehrere Stunden bei 37°C

Abwaschen der überschüssigen cDNA

So sieht ein Ausschnitt aus dem Chip jetzt aus:

Ergänzen Sie die fehlenden cDNA-Stücke!

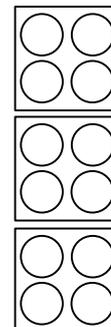


Kennzeichnen Sie jeweils die fluoreszierenden Stellen auf dem Chip farbig!

Anregung des grün fluoreszierenden Farbstoffs mit einem Laser (λ = 532 nm)

Anregung des rot fluoreszierenden Farbstoffs mit einem Laser (λ = 635 nm)

Verrechnung der beiden Bilder (rot+ grün = gelb)



Auswertung:

- a) Welche Schlüsse über die Genexpression in den beiden Gewebetypen lassen sich aus diesem Ergebnis ziehen? ...
- b) Geben Sie mögliche Erklärungen für die unterschiedliche Genexpression! ...