

Die rekombinante DNA-Technologie 3

DNA/RNA/Protein-Gelelektrophorese – Besammlung nach Grösse

Barbara C. Biedermann Nucleinsäuren (DNA, RNA) und Proteine sind in der Regel grosse biologische Moleküle. Der Einzelbaustein der Nucleinsäuren, das Nucleotid, hat ein durchschnittliches Molekulargewicht von 335 d. Sie erinnern sich: d steht für Dalton und entspricht der Molekulargewichtseinheit. 1 Mol (das sind immer 6×10^{23} Moleküle = Avogadro-Zahl) Nucleotide sind also 335 g schwer. Der Einzelbaustein der Proteine, die Aminosäure, hat ein durchschnittliches Molekulargewicht von etwa 100 d. Zum Vergleich: Natrium, das positiv geladene Ion von Kochsalz (Natriumchlorid, NaCl), hat ein Molekulargewicht von 23 d. Oder Glukose, der Blutzucker, mit der Strukturformel $C_6H_{12}O_5$ ist 180 d schwer. Albumin, das mengenmässig vorherrschende Plasmaprotein, hat 584 Aminosäuren und ist somit etwa 60 kd schwer. Seine mRNA setzt sich aus 2215 Nucleotiden zusammen, ist 742 kd schwer. Und das Albumin-Gen, mit allen seinen Introns,

ist 16961 Nucleotide lang, also 5681 kd schwer. Um so grosse Biomoleküle ihrer Grösse nach aufzutrennen, eignet sich die Gelelektrophorese besonders gut. Bei einer Gelelektrophorese wandern die Biomoleküle durch ein Molekularsieb zum Pluspol, zur Anode, des elektrischen Feldes. Je grösser die aufzutrennenden Biomoleküle sind, desto langsamer wandern sie durch die Maschen der Gelmatrix. Kleine Moleküle wandern hingegen praktisch ungehindert durch. Selbstverständlich bestimmt der pH-Wert, das heisst die Protonenkonzentration, bei welchem die Elektrophorese durchgeführt wird, den Ladezustand der Biomoleküle und damit die Wanderichtung. Gelelektrophoresen werden meist bei basischem pH (das heisst bei niedriger Protonenkonzentration) durchgeführt, so dass die Biomoleküle insgesamt negativ geladen sind. Nach der Auftrennung eines Molekülgemisches nach Grösse müssen die Bestandteile einfach sichtbar gemacht werden. Nucleinsäuren werden meist durch eine fluoreszierende Substanz, z.B. Ethidium-Bromid, sichtbar gemacht. Proteine werden mit Farbstoffen, z.B. Coomassie-Blau, gefärbt. Das Molekularsieb für die Nucleinsäureauftrennung besteht meistens aus Agarose, einem natürlich gelierenden Material aus Seegras. Um die im Vergleich zu Nucleinsäuren in ihrer Struktur viel polymorpheren Proteine zu denaturieren und gleichmässig negativ zu laden, verwendet man gebräuchlicherweise ein bestimmtes Detergens, Natrium (engl. Sodium)-Dodecylsulfat. Das Molekularsieb für die Proteinauftrennung besteht in der Regel aus einem synthetischen Polymer, dem Polyacrylamid. Die Substanzen, die die Gelmatrix für die Eiweissgelelektrophorese bilden: Sodium-Dodecylsulfat und Polyacrylamid liefern das gebräuchliche Akronym SDS-PAGE.

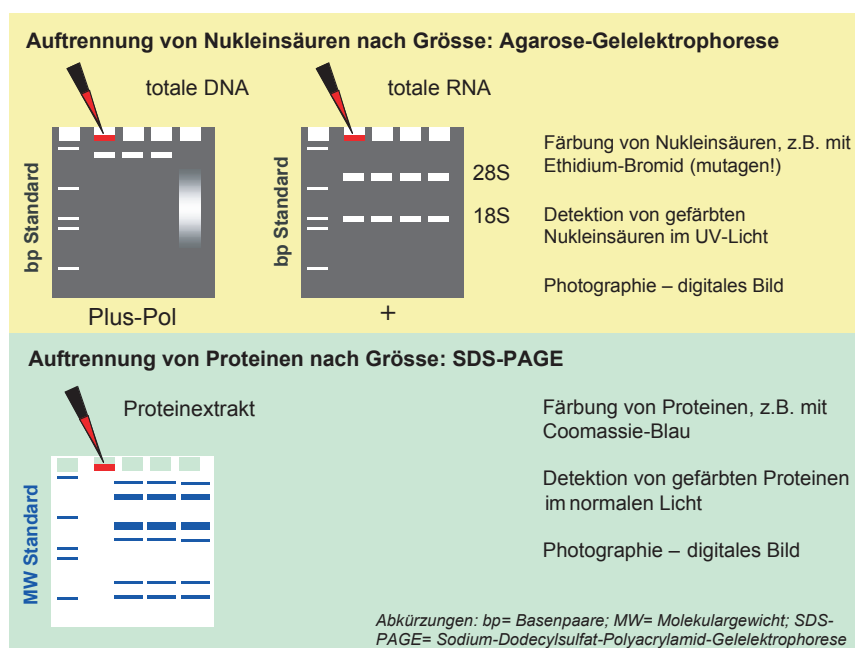


Abbildung 1.

Die gebräuchlichsten Verfahren zur Gelelektrophorese von Nucleinsäuren (DNA und RNA) und Proteinen: Agarose-Gelelektrophorese und SDS-PAGE. Die Standards auf Proteingelen werden in Molekulargewicht (dalton) geeicht, jene auf Nucleinsäurengelen in Anzahl Basenpaare (bp).

Korrespondenz:

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