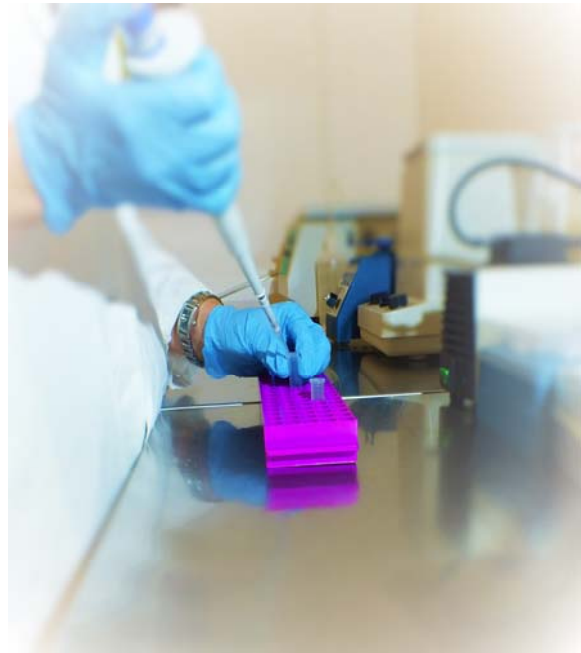


Methodenbeschreibung SENSAQUANT

Mit der molekularbiologischen Methode der quantitativen real-time Polymerasekettenreaktion (qPCR) lassen sich definierte Abschnitte der DNA vervielfältigen und quantifizieren.

Für eine quantitative Bestimmung dieser Sequenzen muss zunächst die DNA aus entsprechender Probematrix isoliert werden. Als Probematrix eignen sich sowohl Grundwasser als auch Boden. Für die Extraktion der DNA stehen uns verschiedene Präparationsmethoden zur Verfügung.

Die einfachste Möglichkeit der Quantifizierung der PCR-Produkte ist die Nutzung interkalierender Farbstoffe. Ein Nachteil dieses Verfahrens ist die geringe Spezifität, da zwischen verschiedenen PCR-Produkten nicht unterschieden werden kann.



Eine hohe Spezifität bietet die von uns verwendete TaqMan-Methode, da die Sonde nur sequenzspezifisch (Target-Gen) hybridisiert. Die Detektion der exponentiellen Vervielfältigung der DNA-Abschnitte während der PCR wird durch die fluoreszenzmarkierte Sonde bewirkt. Nur wenn die zu untersuchende Sequenz in der Probe vorhanden ist, kann ein Signal detektiert werden.

Im molekulargenetischen Labor der Sensatec werden als targets die Sequenzen der Gene *bvcA*, *vcrA*, *tceA* untersucht. Diese Sequenzen codieren für die entsprechenden Enzyme der VC-Dehalogenasen BvcA und VcrA sowie der TCE-Dehalogenase TceA.

Die Untersuchung der 16S-rDNA dient als Marker für den Nachweis von Dehalococcoides spp.. Die Primer für diese DNA-Sequenzen liegen in hochkonservierten Bereichen des Dehalococcoides-Genoms. Diese Untersuchung trifft keine Aussage über eine erreichte Quantität an funktionellen Enzymen, sondern quantitativ über das Vorhandensein von genetisch miteinander verwandten Bakterienstämmen.

Das im Labor durchgeführte Analyseverfahren der qPCR kann nicht zwischen DNA aus vitalen oder toten Mikroorganismen unterscheiden.

Sensortechnik

Sensatec GmbH
Niederlassung Berlin
Tempelhofer Weg 8
D - 12099 Berlin

Grundwassersanierung

Telefon (0 30) 8094 1576
Telefax (0 30) 8094 1578
E-Mail berlin@sensatec.de
Web www.sensatec.de

Umweltbiotechnologie

Geschäftsführer
Dr. Stephan Hüttmann
Amtsgericht Kiel 7092 KI
USt-IdNr. DE 814 366 928

Prozesstechnisches Labor

Bankverbindung
Kieler Volksbank eG
IBAN DE90 2109 0007 0034 2025 01
BIC GENODEF1KIL