Cycle-Sequencing

J. Arnemann

Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln,
Deutschland

Synonym(e) [Sequenzier-PCR](#)

Englischer Begriff cycle-sequencing

Definition Cycle-Sequencing ist eine spezifische PCR-basierte Methode zur DNA-Sequenzierung nach Sanger.

Beschreibung Physikalisch-chemisches Prinzip: Die Grundlage des Cycle-Sequencings ist eine unidirektionale PCR unter Einsatz eines Primers und einer Mischung aus 4 normalen dNTPs (Desoxyribonucleosidtriphosphate) und 4 unterschied-

lich fluoreszenzmarkierten ddNTPs (Dideoxynucleosidtriphosphate). Die Methode folgt dabei dem Prinzip der Sequenzierung nach Sanger. Die Dideoxynukleotide (ddNTPs) bewirken bei Einbau in den neu zu synthetisierenden DNA-Strang einen Kettenabbruch. Mittels dieser Methode werden auch aus kleinen Mengen DNA hinreichend markierte Sequenzprodukte hergestellt. Die Produkte werden aufgereinigt, denaturiert und mittels Kapillarelektrophorese aufgetrennt. Die fluoreszenzmarkierten Sequenzfragmente werden vom Laserdetektor automatisch dokumentiert und nachfolgend mittels spezifischer Computerprogramme benutzergerecht aufbereitet (s. a. ► [Sanger-Sequenzierung](#)).

Literatur

Hughes S, Moody A (Hrsg) (2007) PCR. Scion Publishing Ltd., Bingham