

D

DOP-PCR



J. Arnemann

Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Deutschland

Synonym(e) PCR mit degenerierten Primern

Englischer Begriff degenerate oligonucleotide-primed PCR

Definition DOP-PCR ist eine Variante der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), bei der degenerierte, d. h. nicht sequenzspezifische Oligonukleotide als Primer für eine Amplifikation multipler Loci unter niedrigen Annealingtemperaturen eingesetzt werden.

Beschreibung Ziel der DOP-PCR ist es, multiple DNA-Abschnitte ohne Kenntnis der spezifischen DNA-Sequenzabfolge zu amplifizieren. Als zugrunde liegendes Prinzip werden zum einen degenerierte Primer zur initialen Bindung an die DNA und als Startpunkt für die Taq-Polymerase eingesetzt, zum anderen eine niedrige initiale Annealingtemperatur für die ersten PCR-Zyklen gewählt.

Die degenerierten Primer werden so ausgewählt, dass sie an ihrem 3'- und 5'-Ende jeweils definierte Basen haben, der Zwischenraum dagegen aus einer Mischung aus zufälligen (degenerierten) Basen besteht und zum Teil noch angefüllt mit Deoxyinosinmolekülen, die mit jeder beliebigen Base

binden können. Startet man die PCR bei niedrigen Annealingtemperaturen in den ersten Zyklen, wird eine unspezifische Bindung der degenerierten Primer an zahlreichen Stellen der Ziel-DNA gefördert und stabilisiert und somit eine Amplifikation dieser Abschnitte initiiert.

Diese Methode wird zum Teil in der Forensik eingesetzt, um durch diese „Prä“-PCR die genomische DNA aus Spurenmaterial anzureichern und eine Analytik von 13 oder mehr Loci zu ermöglichen. Weitere Anwendungen finden sich in der Genomkartierung und der molekular-zytogenetischen Chromosomenanalyse mittels FiSH-Technik. So ermöglicht die DOP-PCR durch Einsatz von direkt oder indirekt markierten Nukleotiden die Markierung größerer, klonierter DNA-Moleküle, wie z. B. YAC- oder BAC-DNA, die dann für die FiSH-Analyse eingesetzt werden können.

DOP-PCR findet Anwendung auf dem Gebiet der Genomkartierung, bei der radioaktiven oder Fluoreszenzmarkierung größerer DNA-Fragmente und bei der „Prä“-PCR zur Anreicherung forensischen Spurenmaterials („whole-genome amplification“).

Literatur

Telenius H (1992) Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics* 13(3):718–725