

Spender gesucht...

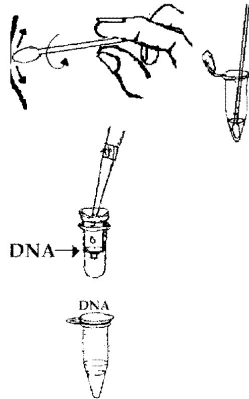
- Die molekularbiologische Typisierung als eine Voraussetzung für eine Transplantation-

Der Erfolg einer Organtransplantation hängt im Wesentlichen davon ab, inwieweit das Transplantat vom Immunsystem des Empfängers toleriert wird. Dabei spielen Moleküle auf der Zelloberfläche eine Rolle, mit deren Hilfe das Immunsystem "fremd" oder "selbst" erkennt und gegebenenfalls eine Immunantwort auslöst. Da sich diese Oberflächenmoleküle von Mensch zu Mensch durch eine hohe Variabilität auszeichnen, ist die Suche nach einem passenden Spender oft schwierig.

In unserem Experiment wird diese Variabilität mit sequenzspezifischen DNA-Sonden nachgewiesen und durch ein "Immunassay"-Verfahren sichtbar gemacht.

1. Isolierung der DNA mit Hilfe von Silika Technologie und Zentrifugation

1



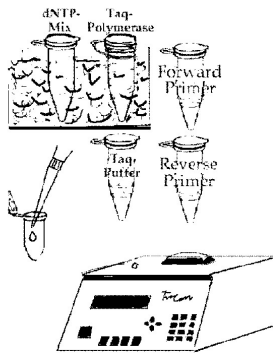
Mit einem sterilen Wattestäbchen wird ein Zellastrich der Mundschleimhaut genommen.

Mit Hilfe eines speziellen Verfahrens wird die DNA aus den Mundschleimhautzellen isoliert, indem sie an eine Silika-Membran (Pfeil) gebunden wird.

Am Ende wird die hoch gereinigte DNA der Mundschleimhautzellen - in einem Puffer gelöst - aufgefangen.

2. Vervielfältigung eines bestimmten DNA-Sequenzabschnitts mit PCR

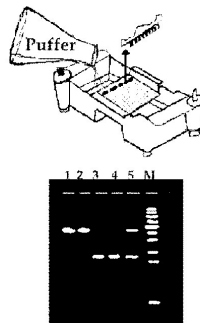
2



Mit Hilfe der "Polymerase Ketten Reaktion" können auch geringste Mengen von DNA nachgewiesen werden, indem die isolierte DNA gezielt vervielfältigt wird. In unserem Experiment handelt es sich um eine DNA-Sequenz in einem HLA (Human Leucocyte Antigen) Klasse II-Gen auf Chromosom 6.

3. Überprüfung der Ergebnisse der Schritte 1-2 durch Gelelektrophorese

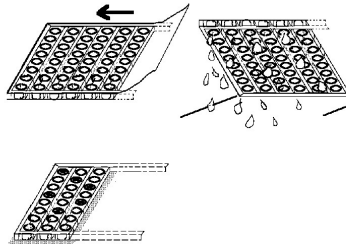
3



Um die DNA und das PCR-Produkt sichtbar zu machen, werden sie auf ein Agarose-Gel aufgetragen. Nach Anlegen einer Spannung wandert die DNA durch das Porensystem des Gels.

4. Hybridisierung mit sequenzspezifischen Oligonucleotid Sonden

4



Mit 23 kurzen Gensonden, so genannten sequence-specific oligonucleotides (SSO), die nur an komplementäre Zielsequenzen im HLA-Gen binden, können durch Hybridisierung mit dem entsprechenden PCR-Produkt einzelne Allele bzw. Allelgruppen differenziert werden.

Auf Wunsch ist ein Gespräch mit dem Ltd. Arzt Dr. Garritsen, Abt. für Transfusionsmedizin am Städtischen Klinikum BS, über die Bedeutung der HLA-Typisierung für die Blutstammzelltransplantation möglich.

Zeitbedarf für den Versuch mit Auswertung: 1,5 Kurstage