

Untersuchung von Membran-DNA Komplexen in äußeren elektrischen Feldern

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung, Optimierung und Automatisierung einer neuartigen Methode zum Transferieren von DNA-Molekülen in Polyacrylamidgele. Zuerst wird die DNA-Lösung durch Kapillarkräfte in geeignete poröse Membranen absorbiert. Danach wird ein äußeres elektrisches Feld angelegt. Die Bindungskräfte zwischen der Membran und der DNA überlagern sich mit der elektrischen Feldkraft derart, dass eine resultierende Kraft auf die DNA-Moleküle in Richtung des Gels wirkt. Die praktischen Arbeiten wurden auf der am EMBL entwickelten automatischen DNA-Sequenziereinheit Arakis durchgeführt. Über die automatische Detektion und Analyse der DNA-Fragmente hinaus konnte mit dieser Methode das Auftragen der Proben vollständig automatisiert werden. Membrangebundene Proben trugen dazu bei den Durchsatz auf Arakis, bei gleichbleibender Qualität der Sequenzdaten, um mehr als den Faktor 4 zu erhöhen. Die Methode wurde erfolgreich auf das Sequenziersystem ABI PRISM 377 der Firma "Applied Biosystems" übertragen. Zur Kommerzialisierung wurde eine Lizenz an die Firma "MWG-Biotech" vergeben.

Examination of membrane-DNA complexes in external electric fields

This work presents the development, optimisation and automation of a method for the transfer of DNA-molecules into polyacrylamide gels. Initially the DNA-solution is absorbed by capillary forces into a suitable porous membrane. The application of an appropriate external electric field superposes the binding forces of the membrane to the DNA-molecules and results in a force towards the gel. The experimental work was performed on the automated DNA-sequencer Arakis developed at the EMBL. The obtained results enable the full automation of the sample loading and increased the throughput of Arakis by a factor of 4 without decreasing the quality of the sequencing data. The principle described in this work was successfully transferred to the DNA-sequencer ABI PRISM 377 from "Applied Biosystems". Commercialisation was achieved by licensing the method to "MWG-Biotech".