

2.2.4	Polymerase-Kettenreaktion	27
2.2.4.1	Die PCR	27
2.2.4.2	Komponenten des Mastermix	28
2.2.4.3	Temperaturprogramm	30
2.2.4.4	Nested PCR	31
2.2.4.5	Reinigung der PCR-Produkte	32
2.2.5	Agarose – Gelelektrophorese	32
2.2.6	Sequenzierung	34
2.2.6.1	DNA-Mengenabschätzung	34
2.2.6.2	Cycle sequencing	35
2.2.6.3	DNA-Fällung und Reinigung von ddNTPs	36
2.2.6.4	Kapillarelektrophorese	37
2.2.7	TaqMan™ PCR-Technologie	38
3.	Ergebnisse	43
3.1	Suche nach geeigneten DNA-Sequenzen	43
3.2	Qualitativer Nachweis unter Anwendung der PCR mit anschließender gelelektrophoretischer Auftrennung	48
3.2.1	Phosphodiesterase-Gen (Schwein, Rind)	48
3.2.1.1	PCR mit Temperaturgradient	48
3.2.1.2	BosPDE-Primer (Rind)	50
3.2.1.3	SusPDE-Primer (Schwein)	54
3.2.2	Ryanodin (Schwein), Leptin (Säuger und Geflügelarten)	56
3.2.3	Myostatin (Säuger und Geflügelarten)	60
3.3	Anwendung der TaqMan™ PCR-Technologie	63
3.3.1	Qualitativer Nachweis	63
3.3.1.1	Überprüfung der Spezifität der Primer-Sonden-Systeme	63
3.3.1.2	Überprüfung der Empfindlichkeit der Primer-Sonden-Systeme	66
3.3.1.3	Identifizierung von Rind und Schwein in prozessierten Wurstproben	68
3.3.1.4	Multiplex-PCR	69
3.3.2	Relative Quantifizierung	71
3.3.2.1	Primertitration	71
3.3.2.2	Ermittlung der Amplifikationseffizienz	72
3.3.2.3	Methoden der relativen Quantifizierung	76
4.	Diskussion	99
4.1	Suche nach geeigneten Genen	99
4.2	Überprüfung der Primer in der PCR mit anschließender gelelektrophoretischer Auftrennung	100
4.3	Anwendung der TaqMan™ PCR-Technologie	101