

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