Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 133 (1991)

Heft: 1

Artikel: DNA-Diagnostik in der Tiermedizin, II. Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Autor: Hübscher, U.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-588364

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

SCHWEIZ. ARCH. TIERHEILK. 133, 27—31, 1991

Institut für Pharmakologie und Biochemie, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Zürich

DNA-DIAGNOSTIK IN DER TIERMEDIZIN: II. POLYMERASE KETTENREAKTION (PCR)

U. HÜBSCHER

ZUSAMMENFASSUNG

Die klinische Diagnose von genetischen und infektiösen Krankheiten verlagert sich allmählich auf die Ebene des Genmaterials, der Desoxyribonukleinsäuren. Eine vor kurzem entwickelte Methode erlaubt es, spezielle Abschnitte auf dem Genom von Viren, Bakterien, Parasiten sowie auch Zellen höherer Tiere im Reagenzglas in kürzester Zeit mehr als hundertmillionenmal zu vermehren. Diese sogenannte Polymerase Kettenreaktion (PCR) kann aus folgenden Gründen ganz neue Dimensionen in der Diagnostik eröffnen: (1) Die Technik ist so empfindlich, dass einzelne Zellen, Viren, Bakterien oder Parasiten zum Nachweis genügen. Voraussetzungen dazu ist die Kenntnis von Nukleinsäuresequenzen. (2) Der Frischegrad des Untersuchungsmaterials ist nicht sehr wichtig, da Nukleinsäuren viel stabiler sind als beispielsweise Enzyme oder andere Proteine. (3) Der Nachweis gelingt in den meisten Fällen schneller als mit gängigen Immunotests. (4) Die Standardisierung ist bereits so weit fortgeschritten, dass die Polymerase Kettenreaktion in Diagnoselabors durchführbar ist. Ziel dieser kurzen Übersichtsarbeit ist es, die Grundsätze dieser Technik darzustellen, sowie auf bestehende und mögliche Applikationen dieses Diagnostikverfahrens in der Tiermedizin hinzuweisen.

SCHLÜSSELWÖRTER: Polymerasekettenreaktion — DNA-Polymerase — Thermus aquaticus — DNA-Amplifikation — Primer

DNA DIAGNOSTIC IN VETERINARY MEDICINE: II. POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

DNA diagnostic has become very important for genetic and infectious diseases. With a new method, called the polymerase chain reaction (PCR), specific pieces of genomes from viruses, bacteria, parasites or even cells can be amplified more than hundred million fold in a very short time period. For the following reasons this opens a new dimension in diagnostics: (1) The technique is so sensitive that a single virus, bacterium, parasite or cell is sufficient to be detected provided part of its nucleic acid sequence is known. (2) The material does neither need to be fresh nor be stored under special conditions since the nucleic acids are much more stable than e.g. enzymes or other proteins. (3) The method is quicker than the usual immunodetection methods. (4) The polymerase chain reaction has been standardized recently so that it can be carried out in diagnostic laboratories. The purpose of this minireview is to give an introduction into the basic technique and to mention possible and already existing applications in veterinary medicine.

KEY WORDS: Polymerase chain reaction — DNA polymerase — Thermus aquaticus — DNA amplification — primer

EINLEITUNG

In der ersten Übersichtsarbeit über DNA-Diagnostik in der Veterinärmedizin wurde auf die DNA-Fingerprinting-Technik und ihre Möglichkeiten eingegangen (*Schelling* et al., 1991). Die Polymerase Kettenreaktion, englisch: Polymerase Chain Reaction (PCR), als weiteres DNA-Diagnostik-Hilfsmittel, hat in den letzten beiden Jahren eine ganz zentrale Bedeutung auch in der Veterinärmedizin erlangt (*Saiki* et al., 1985). Sie erlaubt mit Hilfe des Enzymes **DNA-Polymerase** spezielle DNA-Abschnitte (z. B. Gene oder Genteile) in weniger als zwei Stunden mehrere hundertmillionen Mal zu vermehren. Diese unwahrscheinlich hohe Anreicherung im Reagenzglas, die man als die sogenannte «in vitro DNA-Amplifizierung» bezeichnet, hebt die Testempfindlichkeit ebenfalls mehr als hundertmillionenmal an. Die entscheidendste Vereinfachung kam 1988 durch die Einführung einer DNA-Polymerase aus dem hitzestabilen Bakterium Thermus aqua-

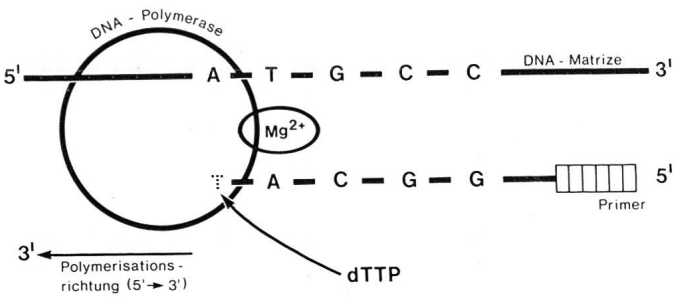
ticus (*Saiki* et al., 1988). Sie erlaubte die Automatisierung des Amplifizierungsverfahrens und somit auch den Weg in die praktische Diagnostik (*Schochetman* et al., 1988; *Peake*, 1989).

DNA-POLYMERASEN ALS DIE ZENTRALEN ENZYME DER DNA-VERMEHRUNG BEI SÄMTLICHEN LEBEWESEN

In der Weihnachtsausgabe 1989 der Zeitschrift «Science» wurde die DNA-Polymerase zum Molekül des Jahres 1989 erkoren (*Koshland*, 1989). Diese «Ernennung» beruht auf der praktischen Anwendbarkeit dieses Enzymes in der DNA-Diagnostik. In der Natur hat dieses Enzym wichtigste Aufgaben bei der genauen Vermehrung der DNA (= DNA-Replikation) und der ständigen Reparatur der DNA (= DNA-Reparatur) zu übernehmen (*Hübscher*, 1983; 1984; 1989; *Fry* und *Loeb*, 1986; *Burgers*, 1989; *Spadari* et al., 1989). Die Grundlagenforschung an diesem Enzym hat in den letzten zehn Jahren ergeben, dass der Mechanismus sämtlicher DNA-Polymerasen von niedrigsten Organismen (Bakteriophagen) bis zu den höchsten (Menschen) genau gleich ist (*Baker* und *Kornberg*, 1990). Diese funktionelle Konservierung ist auch auf der strukturellen Basis erhalten geblieben (*Hübscher* et al., 1981). Die DNA-Polymerasen von Bakteriophagen und Menschen zeigen sehr grosse Ähnlichkeiten in ihrer Aminosäurezusammensetzung (*Bernad* et al., 1989).

1956 hat Arthur Kornberg die DNA-Polymerase im Darmbakterium Escherichia coli entdeckt (*Kornberg* et al., 1956). Alle DNA-Polymerasen synthetisieren DNA nach demselben Prinzip der Basenpaarung (Abb. 1). Die DNA besteht aus einer langen Kette, deren Natur durch die lineare Reihenfolge der vier Basen Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin charakterisiert ist. Die DNA-Kette existiert in der Natur im allgemeinen als Doppelstrang, wobei die beiden Stränge durch eine einfache Gesetzmässigkeit zusammengehalten werden: Adenin paart sich immer mit Thymin und Guanin immer mit Cytosin. Die DNA-Polymerasen benutzten je einen DNA-Strang als **Matrize**. An diesen Matrizenstrang synthetisieren sie einen zweiten Strang, indem sie von den vier aktivierten (d. h. phosphorylierten) Basen Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin die Richtige auswählen und sie nach der oben erwähnten Basenpaarregelung (Adenin zu Thymin bzw. Guanin zu Cytosin) aneinanderketten. Aus einer einzelsträngigen DNA entsteht somit eine doppelsträngige. Die Geschwindigkeit der Basenauswahl und der Polymerisierung ist ausserordentlich hoch und beträgt 100–1000 pro Sekunde, bei weniger als einem Fehler pro eine Million Polymerisationsschritte. Damit die DNA-Polymerase weiss, wo sie beginnen soll, braucht sie einen Verankerungspunkt, den man als **Primer**

Abb. 1: Die DNA-Polymerase Reaktion



Dargestellt ist ein DNA-Polymerase-Molekül (Kreis), das an die DNA-Matrize gebunden ist und im Begriffe ist, eine aktivierte Base (dTTP) an den Primer (= Verankerungspunkt) zu synthetisieren. Die Basenpaarregel nach ***Watson*** *und* ***Crick*** *bestimmt, dass gegenüber Adenin ein Thymin und gegenüber Guanin ein Cytosin oder vice versa eingebaut wird. Die Polymerisationsrichtung (= DNA-Syntheserichtung) ist immer 5'→3'. Details siehe Text.*

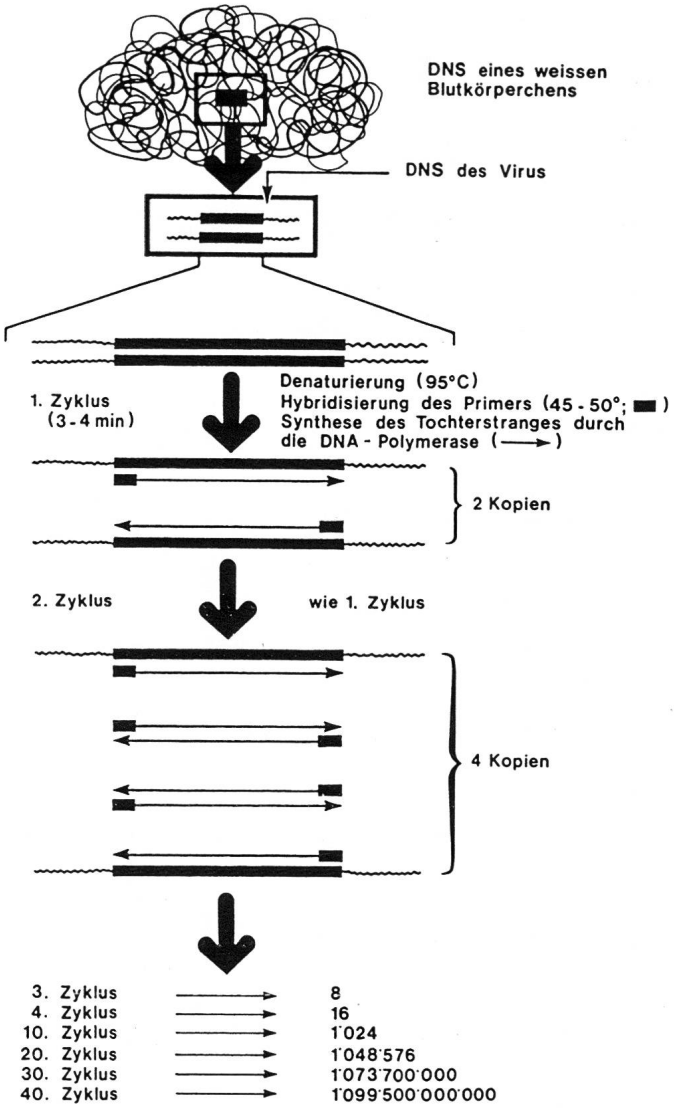
bezeichnet. Dieser ist in der Natur meistens ein kurzes Ribonukleinsäure-(RNA)-Stück. Im Reagenzglas aber – und dies ist bei der Diskussion der Polymerase-Kettenreaktion sehr wichtig – genügt als Primer ein kurzes DNA-Stück, das man als **Oligonukleotid** bezeichnet.

Die DNA-Polymerasen synthetisieren nur in der 5'→3' Richtung an einer Matrizen-DNA (Abb. 1). Die Synthese stoppt, sobald das Enzym das Ende der Matrize erreicht hat. Danach sucht es einen neuen Verankerungspunkt (Primer) und die DNA-Synthese läuft wieder in der 5'→3' Richtung ab. Magnesium ist ein notwendiger physiologischer Kofaktor für alle DNA-Polymerasen, wobei die Synthesegenauigkeit vor allem durch das Verhältnis von Magnesium zu den vier aktivierten Basen (Desoxyribonukleosid-5'-Triphosphaten) stark variieren kann.

DIE POLYMERASE KETTENREAKTION

Die eben erwähnten Eigenschaften der DNA-Polymerase können nun zur Reagenzglasvermehrung einer beliebigen DNA-Sequenz ausgenutzt werden, vorausgesetzt, eine solche Sequenz ist bereits bekannt. Dies soll am Beispiel des AIDS-Virus im Detail erläutert werden. Nehmen wir z. B. an, es besteht der Verdacht, dass bei einem Kinde bei der Geburt nur einige wenige Lymphozyten mit dem HIV-Virus, dem AIDS-Erreger, infiziert sind. Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion kann das Virusgenmaterial, das sich irgendwo in das Genmaterial einer einzelnen Zelle eingenistet hat, sozusagen als Nadel im Heustock gefunden werden. Zuerst werden die Lymphozyten aus einigen µl Blut des Kindes isoliert. Daraus

Abb. 2: Die Polymerase Kettenreaktion



Der detaillierte Ablauf der Reaktion ist im Text erläutert. Zuunterst sind die theoretischen Möglichkeiten bis zum 40. Zyklus dargestellt.

extrahiert man die DNA und vermehrt sie mit der Polymerase-Kettenreaktion. Die Abbildung 2 zeigt im Detail den Ablauf: Durch Erhitzen auf 95 °C werden zuerst die beiden DNA-Stränge denaturiert, das heisst, in zwei Einzelstränge zerlegt. Danach wird die Temperatur auf 45–50 °C gesenkt. Nun gibt man Primer-Oligonukleotide (Begriff siehe oben) dazu, die eine kurze bereits bekannte Basensequenz des HIV-Virus enthalten. Enthält ein einziges der DNA-Moleküle eine Basenreihenfolge, die derjenigen des HIV-Stückes komplementär ist (Adenin zu Thymin bzw. Guanin zu Cytosin), so paart es sich mit der Virussequenz, die sich irgendwo in der DNA eines Lymphozyten befindet. Somit ist eine Startstelle für die DNA-Polymerase entstanden (siehe auch Abb. 1). Als nächstes wird die DNA-Polymerase dazugegeben und die Reaktionstemperatur auf das Syntheseoptimum der DNA-Polymerase gebracht. Nach Ablauf der Synthese werden beide Stränge wieder bei 95 °C denaturiert, bei 45–50 °C wird der Primer wieder anhybridisiert, und die DNA-Polymerase synthetisiert bei der ihr optimalen Temperatur die nächsten Stränge. Die totale Reaktion (Denaturierung, Hybridisierung und Synthese) dauert 3–4 Minuten. Kürzlich konnte eine DNA-Polymerase aus hitzestabilen Archäobakterien isoliert werden, die den Hitzeschritt (95 °C) problemlos übersteht, so dass nach Anlauf der Reaktion keine kontinuierliche Zugabe des Enzymes notwendig ist (*Saiki* et al., 1988). Diese DNA-Polymerase aus *Thermus aquaticus* erleichtert den Prozess sehr (*Lawyer* et al., 1989). Da die DNA-Polymerase im allgemeinen sehr temperaturlabil ist, wird sie beim Trennen der neusynthetisierten Stränge inaktiviert. Sie musste bei jedem Zyklus, d. h. alle 3–4 Minuten neu dazupipettiert werden. Dies ist bei der *Thermus aquaticus* DNA-Polymerase (= Taq DNA-Polymerase) nicht mehr notwendig. Ein automatisiertes Wasserbad, das periodisch den Wechsel der drei Temperaturen (95 °C für Denaturierung der DNA, 45–55 °C zum Neuanhybridisieren der Primer und 75 °C für die DNA-Synthese durch die hitzestabile Taq DNA-Polymerase) computergesteuert ausführt, kann in 2–3 Stunden 40 solcher Zyklen ausführen, was einer theoretischen Vermehrung des HIV-Genabschnittes von einer Billion (10^{12}) entspricht (Abb. 2). Im praktischen Experiment wird wegen der Limitierung des Systems durch PCR eine Vermehrung von etwa 10^8mal erreicht. Aus einem Molekül ist somit genügend Material für einen einfachen biochemischen Nachweis entstanden. Wenn wir annehmen, dass Blut etwa 5000 Leukozyten pro µl enthält, entspricht das durch PCR-Amplifikation von 10^8 erhaltene Untersuchungsmaterial eines einzigen Lymphozyten einer «konventionellen Untersuchungsmenge» von etwa 20 ml Blut! PCR-Reaktion und ihre technische Durchführung sind in zwei «Kochbüchern» praxisnah beschrieben. Das erste (*Ehrlich*, 1989) geht vor allem auf die Grundzüge der Methodik ein, und das zweite (*Innis* et al., 1990) zeigt neben den Grundzügen der Methodik Anwendungsbeispiele in der Diagnostik und forensischen Medizin. Im weiteren geht letzteres auf die sehr wichtigen Aspekte der Labororganisation bei der Druchführung der PCR ein. Dies ist ausserordentlich wichtig, um falsch positive PCR-Resultate auszuschliessen oder mindestens zu minimalisieren (*Kwok* und *Higuchi*, 1989; *Sarkar* und *Sommer*, 1990).

ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN IN DER PRAXIS

Die praktischen Anwendungsmöglichkeiten sind in der Humanmedizin bereits zahlreich belegt. Tabelle 1 gibt eine kurze Auswahl bereits existierender Diagnosemöglichkeiten beim Menschen. Drei grosse Gebiete stehen im Vordergrund, nämlich der Nachweis viraler Infekte, die Diagnose genetischer Krankheiten und die Anwendungen in der forensischen Medizin, wo vielfach nur kleinste Mengen von Untersuchungsmaterial (Haarbälge, kleinste Blutspuren, Spermareste) zur Verfügung stehen. Die Forensik profitiert auch von der Tatsache, dass altes Untersuchungsmaterial (z. B. eingetrocknetes Blut oder Spermien) noch nach Monaten oder Jahren zur Analyse herangezogen werden kann. Die PCR, in Kombination mit DNA-Fingerprinting (siehe *Schelling* et al., 1991), kann mit 250 nl Blut oder mit einem einzigen Spermium durchgeführt werden (*Jeffreys* et al., 1988). Als Kuriosität sei hier noch angemerkt, dass die PCR erfolgreich mit DNA Überresten durchgeführt wurde, die von einer 4000 Jahre alten ägyptischen Mumie stammten (*Pääbo* et al., 1989).

*Tab. 1: Einige Anwendungsbeispiele in der humanmedizinischen Diagnostik und Genetik**

DIAGNOSTIK
Leukämieviren (z. B. HTLV I)
Humanes Immunodefizienzvirus (HIV)
Hepatitis B Virus
Genitale Papillomaviren
Cytomegalieviren
Enteroviren
Salmonellen
Vibrio cholerae
Legionella pneumoniae
Malaria
GENETIK (u. a. pränatale Diagnose)
HLA Typisierung
Duchenne'sche Muskelkrankheit
Sichelzellanämie
Chromosomentranslokationen
Phenylketonurie
Thalassämie
Blutfaktorendefekte (z. B. Faktor IX)

** Literaturzitate sind enthalten in Ehrlich (1989) und Innis et al., 1990. Im übrigen sei darauf hingewiesen, dass die Firma Perking Elmer/Cetus alle drei Monate eine neue PCR Bibliographie herausgibt, die kostenlos bezogen werden kann.*

*Tab. 2: Einige Anwendungsbeispiele in der veterinärmedizinischen Diagnostik in der Schweiz**

Feline Leukämie (FELV)
Felines Immunodefizienzvirus (FIV)
Afrikanische Schweinepest
Aujeszky Krankheit der Schweine
Bovines Herpes Virus 1
Canines Herpes Virus
Porzines Herpes Virus
Caprines Arthritis Enzephalitis Virus
Echinococcus multilocularis

** Die hier erwähnten Krankheiten sind zusammengestellt auf Grund einer Umfrage bei Kolleginnen und Kollegen der Veterinärmedizinischen Fakultäten der Universitäten Zürich und Bern. Die PCR zur Diagnose dieser Krankheiten ist entweder schon eingeführt, oder sie wird es in absehbarer Zeit sein.*

In der Veterinärmedizin gibt es bereits einige Krankheiten, die in der Schweiz mittels PCR diagnostiziert werden. Tabelle 2 dokumentiert diejenigen Krankheiten, die im Mai 1990 an den Veterinärmedizinischen Fakultäten der Universitäten Zürich und Bern entweder schon oder in den nächsten Monaten diagnostiziert werden.

Die Polymerase Kettenreaktion hat dank ihrer Einfachheit, Reproduzierbarkeit und Sensitivität innerhalb zweier Jahre von den molekularbiologischen und biochemischen Labors in die Diagnostiklabors der Human- und Veterinärmedizin Einzug gehalten. Ich wage vorauszusagen, dass die Handhabung in den nächsten Jahren noch mehr vereinfacht werden wird, so dass auch die Praktikerinnen und Praktiker sie direkt zur Diagnosestellung werden einsetzen können.

LITERATUR

Baker T. A., Kornberg A. (1990): DNA Replication. 2. Edition W. H. Freeman and Co, San Francisco, Ca. — *Bernad A., Blanco L., Làzaro J. M., Martin G., Salas M.* (1989): A conserved 3'→5' exonuclease active site in prokaryotic and eukaryotic DNA polymerases. Cell *59*, 219–228. — *Burgers P. M. J.* (1989): Eukaryotic DNA polymerases α and δ: Conserved properties and interactions from yeast to mammalian cells. Prog. Nucl. Acids Res. Mol. Biol. *37*, 235–280. — *Ehrlich H. A., ed.* (1989): PCR technology: principles and applications for DNA amplification. Stockton Press, London. — *Fry M., Loeb L. A.* (1986): Animal cell DNA polymerases. CRC Press, Boca Raton, FL. — *Hübscher U., Spanos A., Albert W., Grummt F., Banks G. R.* (1981): Evidence

that a high molecular weight replicative DNA polymerase is conserved during evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA *78*, 6771–6775. — *Hübscher U.* (1983): DNA polymerases in prokaryotes and eukaryotes: Mode of action and biological implication. Experientia (Review Article) *39*, 1–25. — *Hübscher U.* (1984): DNA polymerase holoenzymes. Trends Biochem. Sciences *9*, 390–393. — *Hübscher U.* (1989): DNA polymerases δ and α: Possible coordinated actions at the DNA replication fork, in: Highlights of modern biochemistry (eds. Kotyk, A., Skoda, J., Paces, V. and Kostka, V.), VSP, International Science Publisher, Zeist, The Netherlands, pp. 485–494. — *Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J., eds.* (1990): PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, Inc., New York. — *Jeffreys A. J., Wilson V., Neumann R., Keyte J.* (1988): Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction: towards DNA fingerprinting of single cells. Nucl. Acids Res. *16*, 10953–10971. — *Kornberg A., Lehmann I. R., Bessman M. J., Simms E. S.* (1956): Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. Biochim. Biophys. Acta *21*, 197–198. — *Koshland D. E.* (1989): The molecule of the year (Editorial). Science *246*, 1541. — *Kwok S., Higuchi R.* (1989): Avoiding false positives with PCR. Nature *339*, 237–238. — *Lawyer F. C., Stoffel S., Saiki R. K., Myambo K., Drummond R., Gelfand D. H.* (1989): Isolation, characterization and expression in Escherichia coli of the DNA polymerase gene from Thermus aquaticus. J. Biol. Chem. *264*, 6427–6437. — *Pääbo S., Higuchi R. G., Wilson A. C.* (1989): Ancient DNA and the polymerase chain reaction. J. Biol. Chem. *264*, 9709–9713. — *Peake I.* (1989): The polymerase chain reaction. J. Clin. Pathol. *42*, 673–676. — *Saiki R. K., Scharf S., Faloona F., Mullis K. B., Horn G. T., Ehrlich H. A., Arnheim N.* (1985): Enzymatic amplification of β-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sichle cell anemia. Science *230*, 1350–1354. — *Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Ehrlich H. A.* (1988): Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science *239*, 487–491. — *Sarkar G., Sommer S. S.* (1990): Shedding light on PCR contamination. Nature *343*, 27. — *Schelling C. P., Thomann P. E., Hübscher U.* (1991): DNA Diagnostik in der Tiermedizin: Die DNA Fingerprinting-Methode. Schweiz. Arch. Tierheilkunde, *133*, 13–22. — *Schochetman G., Ou C.-Y., Jones W. K.* (1988): Polymerase chain reaction. J. Inf. Diseases *158*, 1154–1157. — *Spadari S., Montecucco A., Pedrali-Noy G., Ciarrocchi G., Focher F., Hübscher U.* (1989): A double loop model for the replication of eukaryotic DNA. Mutation Res. *219*, 147–1956.

Le DNA-diagnosic dans la médecine vétérinaire: II. La réaction en chaîne de la polymérase (PCR)

Le DNA-diagnostic est devenu très important pour la génétique et les maladies infectieuses. Grâce à une nouvelle méthode, la réaction en chaîne de la polymérase (PCR), des parties spécifiques de génomes de virus, bactéries, parasites ou même cellules peuvent être amplifiées plus de cent millions de fois en une période de temps très courte. Ceci ouvre une nouvelle dimension dans les diagnostiques pour les raisons suivantes: 1) La technique est tellement sensible qu'un seul virus, une seule bactérie, parasite ou cellule est suffisant pour être détecté dans le cas où sa séquence en acides nucléiques est connue. 2) Le matériel n'a pas besoin d'être frais ni d'être conservé dans des conditions spéciales, puisque les acides nucléiques sont beaucoup plus stables que les enzymes ou des autres protéines. 3) La méthode est plus rapide que les méthodes d'immunodétection habituellement utilisées. 4) La réaction en chaîne de la polymérase a été récemment standardisée. Ainsi, elle peut étre utilisée dans des laboratoires de diagnostic.
Le but de cette mini-revue est de donner une introduction dans la technique de base et de mentionner des applications possibles et déjà existantes en médecine vétérinaire.

La diagnosi a livello del DNA: II. La reazione a catena della polimerasi (PCR)

La diagnosi di malattie di origine genetica o infettiva viene sempre più frequentemente effettuata a livello del DNA. Una nuova tecnica, la «reazione a catena della polimerasi» (PCR), ha reso possibile l'amplificazione di sequenze specifiche del DNA. Grazie a questa reazione si possono ottenere, in un lasso di tempo estremamente ridotto, centinaia di milioni di copie della sequenza scelta. Questo metodo apre nuovi orizzonti nell'ambito della diagnosi clinica, e questo per i seguenti motivi: 1) L'alta sensibilità di questa reazione permette di rivelare la presenza di un singolo virus, batterio o parassita. La sequenza di parte del genoma di questi deve essere però conosciuta. 2) Siccome DNA risulta essere più stabile di altre macromolecole come enzimi o proteine in generale, il materiale da analizzare non deve essere necessariamente fresco. Speciali accorgimenti per la conservazione del campione vengono quindi a cadere. 3) Il metodo é più veloce dei comuni tests immunologici correntemente applicati. 4) La reazione è stata ampiamente standardizzata, ciò che rende possibile la sua applicazione in laboratori prettamente adibiti alla diagnostica.
Lo scopo di questa breve pubblicazione, é quello di introdurre le nozioni di base riguardanti questa nuova tecnica. Si vuole inoltre porre l'accento sulle applicazioni possibili o già esistenti nel campo della medicina veterinaria.

Adresse: Prof. Dr. Ulrich Hübscher
Universität Zürich-Irchel
Institut für Pharmakologie und Biochemie
Winterthurerstrasse 190
CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 15. Mai 1990