

# DNA-Sequenzierung bei *Pinus mugo*

Sarina Brändle, Jasmin Jauch, Sara Looser, Thaniya Rajalingam,  
Jan Raymann, Arina Sprecher



## Einleitung

Im diesjährigen DNA-Projekt wurden im Bergell die Chloroplasten-DNA des Unterartenkomplexes von Bergkiefern (*Pinus mugo*) untersucht. Dieser zeichnet sich durch drei sehr ähnliche Pinus-Arten aus, wovon zwei an vielen Stellen im Gebiet des Engadins wachsen und nur schwer voneinander und anderen Pinus-Arten unterscheidbar sind. Zum Vergleich wurden zudem Tannen (*Abies alba*), Fichten (*Picea*) sowie Lärchen (*Larix decidua*) beprobt.

## Extraktion



Bei der Extraktion wird die DNA durch Mörsern der Proben aus den Pflanzenzellen isoliert, damit diese für spätere Untersuchungen verwendet werden kann.



Da das Extraktionsverfahren in der **academia** bereits mehrmals erfolgreich angewendet wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Extraktion funktioniert hat.

## PCR



Da der DNA-Gehalt nach der Extraktion noch gering ist, wird eine Polymerase-Chain-Reaktion (PCR) durchgeführt, um das vorhandene Erbmaterial zu vervielfachen.



Da die zu vermehrende Sequenz rund 4'500 Basenpaare lang ist, ist die PCR leider fehleranfällig. Möglicherweise muss der Erwärmungszyklus angepasst werden.

## Aufreinigung



Das Ziel der Aufreinigung ist es, Verunreinigungen in der DNA zu entfernen, damit die Prozesse danach nicht durch Reste beeinträchtigt werden können.



Da in den sequenzierten Proben weiterhin nur ganz kurze Sequenzen gefunden wurden, sind Fehler in der Durchführung möglich. Diese konnten aber trotz langer Fehlersuche nicht entdeckt werden.

## Sequenzierung



Bei der Sequenzierung wurden zwei verschiedene Verfahren angewendet, welche es ermöglichen, die genaue Abfolge der Basen sichtbar zu machen und auszulesen.



Die Analyse mittels Sangersequenzierung und Oxford-Nanopore-Technology (einer der neusten Methoden zur Sequenzierung) wurde durch die Microsynth AG durchgeführt.

## Resultate

Obwohl mehrere Versuche durchgeführt wurden, weisen die Sequenzen nur eine geringe Qualität und Länge auf. Dies deutet auf einen bislang nicht entdeckten Fehler in der Verarbeitung hin. Deshalb wurde das gesamte Vorgehen ein weiteres Mal wiederholt, um mögliche Fehler im Prozess zu finden. Das war aber nicht der Fall.

## Fazit

Obwohl nicht die erhofften Schlüsse aus diesem Projekt gezogen werden konnten, wird das gewonnene Wissen und die Erfahrung für weitere DNA-Projekte sehr hilfreich sein. Zudem konnte auch das saubere Aufarbeiten von nicht erfolgreichen Versuchen erlernt werden. Das ist ein weiterer wichtiger Zweig der Wissenschaft, welcher häufig unterschätzt wird.