Immunblot

W. Stöcker und W. Schlumberger
Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck,
Deutschland

Synonym(e) Linienblot; Western Blot

Englischer Begriff immunoblot; Western blot

Definition Als Immunblot wird eine Technik bezeichnet, bei der Proteine oder andere Antigene auf Nitrocellulose-, Nylon- oder andere Membranen aufgetragen oder übertragen werden und Streifen der Membranen dann nacheinander mit Patientenproben, enzymmarkierten Antikörpern und einem präzipitierenden Substrat inkubiert werden. Positive Reaktionen stellen sich auf den Membranstreifen als Farbbanden dar, die visuell oder automatisch mit Scanner- oder Kamerasystemen ausgewertet werden.

Eine Sonderform des Immunblots ist der ► **Western blot**. Hier werden die Antigene zunächst elektrophoretisch aufgetrennt, bevor man sie durch einen Elektrotransfer auf die Membran überträgt.

Physikalisch-chemisches Prinzip Das Immunblotting (Variante Western blot) besteht aus 3 Arbeitsschritten. Beim ersten Schritt, der elektrophoretischen Trennung eines Proteingemischs in Einzelproteinfraktionen, werden als Trenntechniken vorwiegend die hochauflösende ein- oder zweidimensionale Flachgelelektrophorese (s. ► **Elektrophorese**) oder die ► **Isoelektrische Fokussierung** eingesetzt. Trägermaterialien sind Polyacrylamid

oder Agarose. Der sekundäre Träger immobilisiert die Proteine, sodass keine Diffusion mehr stattfinden kann, er besteht z. B. aus Nitrocellulose oder Nylon. Der Proteintransfer vom primären auf den sekundären Träger erfolgt durch einfache oder unterstützte Diffusion (Vakuum, Überdruck, Unterdruck) oder elektrophoretisch (Elektroblotting). Nach dem Transfer der Proteine werden durch Blockierungssubstanzen (► **Blockieren**) unspezifische Bindungsstellen des sekundären Trägers abgesättigt. Der dritte Arbeitsschritt beinhaltet die spezifische Immunreaktion unter Verwendung spezifischer Antikörper, die bei Einsatz eines enzymmarkierten Zweitantikörpers in einer Farbreaktion sichtbar gemacht wird. Beurteilt wird das entstandene Bandenmuster. Alternativ zu Enzymen kommen auch andere Marker (Betastrahler, ► **Lumineszenz-Marker**) zur Anwendung.

Einsatzgebiet Nachweis von Antigenen verschiedenster Art und Antikörpern.

Untersuchungsmaterial Serum, Plasma.

Instrumentierung Inkubationsautomaten, Scanner, Kamerasysteme, Software für die automatische Auswertung.

Sensitivität Je nach Detektionssystem gelingen mit der Methode sehr empfindliche und spezifische Nachweise.

Literatur

Peters JH, Baumgarten H (1990) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung, 2. Aufl. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, S 444–450