Pressblotting

R. Westermeier
Freising, Deutschland

Englischer Begriff pressure blotting

Definition Transfer von Proteinen aus Agarose- oder Polyacrylamidgelen durch Druck und Kapillarkraft.

Physikalisch-chemisches Prinzip Agarosegele: Erst wird eine feuchte Blotmembran auf das Gel gelegt, darauf ein Stapel von trockenen Filterpapieren, darauf wiederum eine Glasplatte und ein Gewicht mit 1 kg/100 cm². Der Transfer erfolgt in ein paar Sekunden.

Pressblotting ist die ideale Methode für Proteintransfers aus IEF-Polyacrylamidgelen, weil die Proteine am isoelektrischen Punkt keine Nettoladung und deshalb keine elektrophoretische Mobilität für einen Elektrotransfer haben und weil großporige Gele verwendet werden. Zur Erhöhung der Löslichkeit von Proteinen in Harnstoffgelen inkubiert man Gel und Blotmembran vor dem Transfer für 3 Minuten in einem Puffer mit 4 mol/L Guanidin-HCl in 50 mmol/L Tris-Cl pH 7,5.

Einsatzgebiet Protein Blotting aus großporigen und folien-gestützten Agarose- und Polyacrylamidgelen.

Untersuchungsmaterial Biologische Flüssigkeiten, Gewebeextrakte, Zellysate.

Instrumentalisierung Ausrüstung für Polyacrylamidgel-Elektrophorese bestehend aus Horizontal- oder Minivertikal-kammer, Stromversorger, Umlaufthermostat; Glasplatte, Gewicht mit mehreren Kilogramm; es gibt auch eigene Apparaturen für Pressblotting mit Hebelsystem anstelle des Gewichts.

Spezifität Hoch, da die Methode auf Immunreaktion beruht.

Sensitivität Je nach verwendetem Detektionssubstrat von Nanogramm bis niedrigen Picogramm oder hohen Femto-gramm.

Praktikabilität – Automatisierung – Kosten Vereinfachtes Blotting von folien-gestützten Gelen.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Pressblotting ist eine Methode für biochemisch arbeitende Labors. Gibt meist gleichmäßigere Proteintransfers als Elektroblo-tting.

Literatur

Towbin H, Özbey Ö, Zingel O (2001) An immunoblotting method for high-resolution isoelectric focusing of protein isoforms on immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 22:1887–1893