Sarkosyl-Elektrophorese

R. Westermeier
Freising, Deutschland

Synonym(e) *N*-Lauroylsarcosin-Elektrophorese; Sarkosyl-Polyacrylamidgel-Elektrophorese; Sarkosyl-PAGE

Englischer Begriff sarcosyl electrophoresis

Definition Bei der Elektrophorese im Polyacrylamidgel in Gegenwart des anionischen Detergenz Sarkosyl wird – analog zur SDS-PAGE – eine Trennung von Protein-Detergenzkomplexen nach Molekülgrößen durchgeführt.

Physikalisch-chemisches Prinzip Manche Formen von synthetischem Erythropoietin (EPO) sind PEGyliert und werden deshalb nach einer SDS-PAGE und Western Blotting nicht mit der gleichen Empfindlichkeit detektiert wie EPO-Moleküle ohne PEG. Weil das Sarkosyl nur an den Proteinanteil und nicht an den Polyethylenglykolanteil von PEGylierten Proteinen bindet, kann man diese mit PEG modifizierten Proteine beim nachfolgenden Western Blotting mit Antikörpern gegen Erythropoietin detektieren. Diese Methode ersetzt bei bestimmten Fragestellungen die SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese, denn SDS bindet sowohl an die Proteine als auch an die PEG-Reste; deshalb kann der generell verwendete Anti-EPO-Antikörper nicht mit den komplett mit SDS beladenen Molekülen interagieren.

Einsatzgebiet Dopingkontrolle zur Unterscheidung des synthetischen Erythropoietin vom körpereigenen Hormon in Human-Urinproben.

Untersuchungsmaterial Meist Humanurin

Instrumentalisierung Ausrüstung für Polyacrylamidgel-Elektrophorese bestehend aus Horizontal- oder Minivertikal-kammer, Blotting-System, Stromversorger, Umlaufthermostat und Chemilumineszenz-CCD-Kamerasystem.

Spezifität Hoch, weil es sich um ein immunanalytisches Verfahren handelt.

Sensitivität Je nach verwendetem Chemilumineszenz-Substrat im Bereich niedriger Picogramm bis hoher Femtogramm.

Fehlermöglichkeit Fehler bei der Elektrophorese können bei Verwendung von Fertiggelel minimiert werden. Für den Elektrotransfer bei Western Blotting können fertige Pufferkits eingesetzt werden.

Praktikabilität – Automatisierung – Kosten Mehrschrittige Methode, Aufwand wie bei normalem Western Blotting. Bei der Verwendung von Fertigprodukten ist mit höheren Kosten zu rechnen.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Sarkosyl-Elektrophorese ist eine Methode für biochemisch arbeitende Labors.

Literatur

Reichel C, Abzieher F, Geisendorfer T (2009) SARCOSYL-PAGE: a new method for the detection of MIRCERA and EPO-doping in blood. Published online in Wiley Interscience, 16 Dec 2009. www.drugtestinganalysis.com. <https://doi.org/10.1002/dta.97>