Zymographie

R. Westermeier
Freising, Deutschland

Synonym(e) Isoenzymdetektions-Elektrophorese

Englischer Begriff zymography

Definition Isoenzymdetektion mittels SDS-Elektrophorese und einem in das Polyacrylamidgel einpolymerisierten Substrat.

Physikalisch-chemisches Prinzip Für eine Isoenzymdetektion wird das entsprechende Substrat (z. B. Gelatine, Casein, Albumin, Hämoglobin) in das Gel für eine SDS-PAGE mit einpolymerisiert. Die Proben werden bei dieser Methode mit SDS-Puffer versetzt, aber nicht reduziert oder erhitzt. Nach der Elektrophorese wäscht man das SDS durch mehrfache Äquilibration in einer verdünnten Lösung mit nichtionischem Detergenz aus. Die Substratreaktion, z. B. Gelatineverdau durch Metalloproteasen, erfolgt bei 37 °C. Das Gel wird anschließend mit Coomassie-Blau angefärbt: die Enzymbanden bleiben transparent.

Es gibt auch eine umgekehrte Zymografie: Damit kann man Proteaseinhibitoren detektieren, wenn man beides, das Proteinsubstrat und die zu untersuchende Protease, mit ins Gel einpolymerisiert. Nach dem Auswaschen des SDS und der Inkubation erscheinen die Inhibitorbanden positiv gefärbt.

Einsatzgebiet Beispiel: Diagnose von malignen Tumorerkrankungen, dabei sind die Konzentrationen von Metalloproteasen im Plasma signifikant erhöht. S. a. ► [Disintegrin-Metalloproteinasen](#).

Untersuchungsmaterial Humanplasma.

Instrumentalisierung Ausrüstung für Polyacrylamidgel-Elektrophorese bestehend aus Horizontal- oder Minivertikalkammer, Stromversorger, Umlaufthermostat.

Spezifität Hoch, weil spezifische Enzyme oder Inhibitoren nachgewiesen werden.

Sensitivität Im Milligrammbereich (Coomassie-Brilliant-Blau-Färbung).

Fehlermöglichkeit Es gibt für manche Anwendungen Fertigteile, dadurch können Fehler bei der Elektrophorese minimiert werden.

Praktikabilität – Automatisierung – Kosten Einfache Apparaturen für vertikale Systeme zur Proteintrennung in Polyacrylamidgelen sind in der Anschaffung relativ günstig, zumal man in den meisten Fällen hierzu kein Kühlsystem und relativ einfach konstruierte Stromversorger braucht.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Zymographie-Blotting ist eine Methode für klinisch-chemische und für biochemisch arbeitende Labors.

Literatur

Lantz MS, Ciborowski P (1994) Zymographic techniques for detection and characterization of microbial proteases. *Methods Enzymol* 235:563–594