Dichtegradientenzentrifugation

K. J. Lackner¹ und D. Peetz²

¹Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsmedizin Mainz, Mainz, Deutschland

²Institut für Labormedizin, Helios Klinikum Berlin-Buch, Berlin, Deutschland

Englischer Begriff density gradient centrifugation

Definition Variante der Ultrazentrifugation, die in einem präformierten Dichtegradienten stattfindet.

Physikalisch-chemisches Prinzip Das Prinzip der Dichtegradientenzentrifugation beruht darauf, dass mithilfe von Salzen, Kohlenhydraten oder anderen inerten Substanzen ein Dichtegradient in einem Zentrifugenröhrchen präformiert wird, der die Auftrennung von Molekülen, Organellen gemäß ihrer Dichte in der Ultrazentrifuge erlaubt.

Einsatzgebiet Analytische oder präparative Trennung von Molekülen, wie Nukleinsäuren, Lipoproteinen, oder Zellbestandteilen wie Organellen, Membranfraktionen oder Zellpopulationen wie Leukozyten, die sich in ihrer Dichte unterscheiden.

Untersuchungsmaterial Biologische Flüssigkeiten, Vollblut, Zellhomogenate u. a.

Instrumentierung Zentrifuge, Hochgeschwindigkeitszentrifuge oder Ultrazentrifuge, die in aller Regel mit einem Ausschwingrotor bestückt sind. Das Volumen und die Geometrie der Zentrifugenröhrchen richten sich nach der Trennaufgabe. Gradientenmischer, Fraktionssammler, Pumpen sind optional je nach Vorgehensweise.

Fehlermöglichkeit Fehlerhafte Herstellung des Dichtegradienten, falsche Auswahl des Moleküls, das den Gradienten bildet. Inadäquate Zentrifugation. Fehlerhafte Sammlung der Fraktionen z. B. über zu breiten Schlauchquerschnitt mit erneuter Vermischung.

Praktikabilität – Automatisierung – Kosten Mit Ausnahme der Vortrennung von Leukozyten für die Durchflusszytometrie im Wesentlichen Methode für Forschung und Entwicklung. Für die Leukozytentrennung gibt es vorkonfektionierte Systeme, die im Routineeinsatz geeignet sind. Keine wesentliche Automatisierung, deshalb hoher Personaleinsatz. Reagenzkosten eher niedrig im Vergleich zu den Kosten der sich anschließenden Zellcharakterisierung.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Die Methode ist für verschiedene biochemische und zellbiologische Fragestellungen derzeit konkurrenzlos. Für die Zellseparation in der Diagnostik ist die Magnetseparation von Zellen als potenziell automatisierbares Verfahren mit außerdem höherer Spezifität von größerem Interesse.