
essentials

Springer Essentials sind innovative Bücher, die das Wissen von Springer DE in kompakter Form anhand kleiner, komprimierter Wissensbausteine zur Darstellung bringen. Damit sind sie besonders für die Nutzung auf modernen Tablet-PCs und eBook-Readern geeignet. In der Reihe erscheinen sowohl Originalarbeiten wie auch aktualisierte und hinsichtlich der Textmenge genauestens konzentrierte Bearbeitungen von Texten, die in maßgeblichen, allerdings auch wesentlich umfangreicheren Werken des Springer Verlags an anderer Stelle erscheinen. Die Leser bekommen „self-contained knowledge“ in destillierter Form: Die Essenz dessen, worauf es als „State-of-the-Art“ in der Praxis und/oder aktueller Fachdiskussion ankommt.

Maria Mulisch

Verfahren der Immunlokalisation

Ein Überblick



Springer Spektrum

Maria Mulisch
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Deutschland

ISSN 2197-6708 ISSN 2197-6716 (electronic)
ISBN 978-3-658-03828-1 ISBN 978-3-658-03829-8 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-658-03829-8

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer Spektrum
© Springer Fachmedien Wiesbaden 2014

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Springer Spektrum ist eine Marke von Springer DE. Springer DE ist Teil der Fachverlagsgruppe Springer Science+Business Media
www.springer-spektrum.de

Vorwort

Dieses Werk basiert auf dem Kapitel „Immunlokalisation“ aus dem „Romeis – Mikroskopische Technik“, herausgegeben von Ulrich Welsch und Maria Mulisch, 18. Auflage 2010. Der ROMEIS ist seit fast 100 Jahren das Standardwerk der mikroskopischen Technik. Über 17 Auflagen hat dieses Laborhandbuch die Entwicklung der lichtmikroskopischen Verfahren begleitet und ist bis heute ein unverzichtbares Nachschlagewerk für Naturwissenschaftler, Mediziner und Studenten. Die 18. Auflage des ROMEIS wurde komplett neu verfasst, farbig illustriert und um moderne Techniken und Anwendungen der Licht- und Elektronenmikroskopie erweitert. Das Kapitel über Methoden der Immunlokalisation wurde gestrafft und um einige Rezepte und Abbildungen im Originalwerk gekürzt, um Anfängern einen einfachen und übersichtlichen Einstieg in die Thematik zu ermöglichen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Antikörper	3
2.1	Grundlagen	3
2.2	Bezug von Antikörpern	5
2.2.1	Polyklonale und monoklonale Antikörper	5
2.2.2	Peptidantikörper	9
2.2.3	Nanobodies	9
2.3	Reinigung von Antikörpern	10
3	Nachweisverfahren und Detektion	11
3.1	Direkte und indirekte Immunmarkierung	11
3.2	Wahl von Primär- und Sekundärantikörper	12
3.3	Indirekte Immunmarkierung über Protein A	13
3.4	Lokalisation mehrerer Antigene	13
3.5	Detektion	14
3.5.1	Fluorochromgekoppelte Antikörper	14
3.5.2	Enzymgekoppelte Antikörper	17
3.5.3	Goldmarkierte Antikörper und Silberverstärkung	20
3.6	Signalverstärkung	22
3.6.1	Die (Strept-)Avidin-Biotin-(ABC-)Technik	22
3.6.2	Enzym-Anti-Enzym-Komplex-Techniken	24
3.6.3	Tyraminkatalysierte Signalverstärkung	25
4	Vorbereitung und Behandlung der Proben	27
4.1	Whole mount-Immunmarkierung und preembedding-Verfahren	27

4.2	Markierung an Schnitten	28
4.2.1	Präparate für die Lichtmikroskopie	29
4.2.2	Präparate für die Elektronenmikroskopie	29
4.3	Durchführung der Immunmarkierung	30
4.4	Blockierung unspezifischer Bindungen	32
4.5	Inkubation mit Antikörpern	33
4.5.1	Handhabung und Verdünnung von Antikörpern	33
4.5.2	Inkubationsdauer und Temperatur	34
4.6	Waschschritte	34
4.7	Beispielhafte Rezepte für Immunmarkierungen	34
5	Kontrollen und Problembehandlung	39
5.1	Antigendemaskierung	41
5.1.1	Wiederherstellung der Antigenität von Schnittpräparaten für die Lichtmikroskopie nach Fixierung in Formaldehyd und nach Paraffineinbettung ...	42
5.1.2	Antigendemaskierung für die Immunelektronenmikroskopie	43
	Literaturliste	45