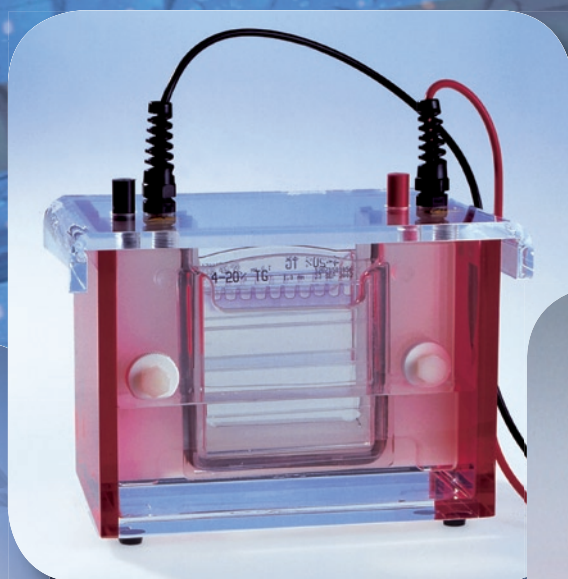


BIOforum

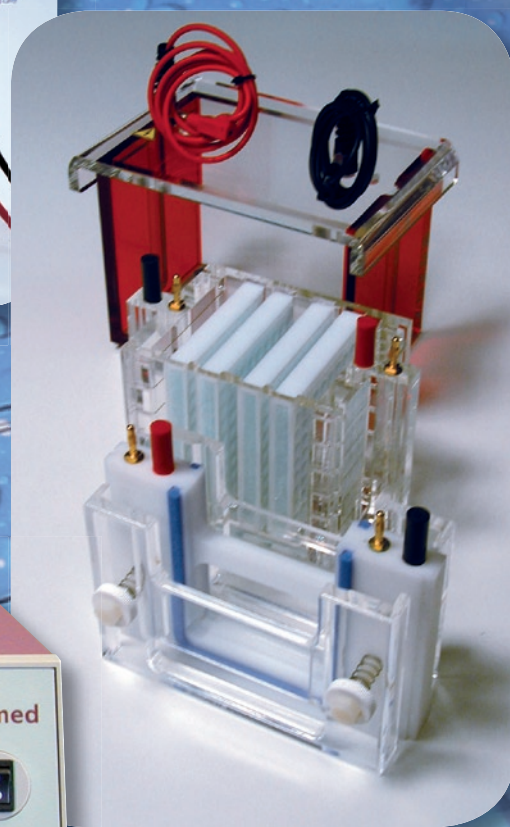
SONDERDRUCK

FORSCHUNG • ENTWICKLUNG • SERVICE

Und so könnte Ihr Elektrophorese Arbeitsplatz aussehen:



EcoCell, speziell konzipiert für 10cm x 10cm
Vertikal - Fertigele



EcoBlot; so einfach ist der Wechsel von
Elektrophorese auf Blottinganwendung



powerPhor - N, die programmierbare Stromversorgung

Das richtige Fertiggel von anamed dazu, und Ihre Elektrophorese gelingt:
sauber-flexibel-sicher-einfach professionell

Hätten Sie's gewusst?

In einigen Laboratorien werden ausschließlich Tris-Glycin-Gele verwendet, die Mitarbeiter anderer Labors schwören auf VarioGel. Warum das so ist, soll hier kurz erläutert werden.

Die Mobilität eines vollständig denaturierten Proteins in der SDS-PAGE-Elektrophorese ist abhängig von seiner Länge. Dennoch zeigen manche Proteine nach der Trennung im SDS-Gel nicht ihr „wahres“ Molekulargewicht, das sich aus der Aminosäure-Sequenz ergibt, sondern ein davon abweichendes, sog. apparentes Molekulargewicht. Besonders häufig werden diese Abweichungen bei Proteinen festgestellt, die stark sekundär strukturiert sind (z.B. Kollagen, Histone und stark hydrophobe Membranproteine) oder bei Peptiden, bei denen sich sekundäre Strukturen gegenüber der Größe stärker auswirken. Ursache für das beschriebene Phänomen ist, dass trotz der Anwesenheit von SDS Elemente der Sekundärstruktur erhalten bleiben [1].

Eine weitere Beobachtung ist, dass ein Protein in den verschiedenen Puffersystemen für die SDS-PAGE-Elektrophorese unterschiedliche Mobilitäten aufweisen kann [2]. Werden zwei Proteine miteinander verglichen, kann dies dazu führen, dass der Unterschied in der Laufstrecke in einem Gel des einen Puffersystems sehr groß, in einem Gel des anderen Puffersystems aber sehr klein ist. Im Extremfall kann die Reihenfolge sogar invertiert werden. Diese Beobachtungen werden damit erklärt, dass jedes SDS-Puffersystem einen anderen pH-Wert aufweist, der die Ladung der Proteine und deren Bindungskapazität für SDS beeinflusst.

Ein Beispiel soll dieses Phänomen verdeutlichen: für die Protein-Elektrophorese sind bei im Handel folgende Puffersysteme erhältlich: das Tris-Glycin-SDS-System [3] (TG), das Tris-Tricin-SDS-System [4] (TR) und pH-neutrale Systeme [5] wie das VarioGel-System (VG). Bestimmte Geltypen dieser Systeme zeigen sehr ähnliche Trennmuster der Proteinbanden eines Molekulargewichtstandards, obwohl sie sich in pH-Wert und Polyacrylamid-Konzentration unterscheiden (Abb. 1). Wer-

den mit Hilfe dieser Gele die Proteine eines Rindermuskelextraktes getrennt und die Bandenmuster verglichen, ergeben sich jedoch deutliche Unterschiede (Abb. 2). Auffällig sind in allen gezeigten Spuren drei Banden im mittleren Drittel der Gele und eine im unteren. Oberhalb der drei Banden sind die Proteinbanden 1 und 2 zu erkennen, deren Abstand im TG-Gel am kleinsten und im VG-Gel am größten ist. Dagegen sind die Proteinbanden 3 und 4 im TG-Gel deutlich voneinander getrennt, während sie im VG-Gel als eine Bande im

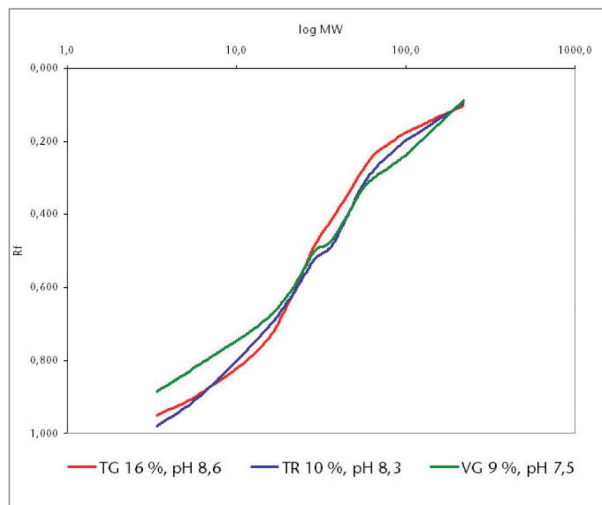


Abb. 1: Vergleich der Trennmuster eines Molekulargewicht-Standards in Gelen verschiedener Puffersysteme

Gel wandern. Bande 5 und 6 sind im TG-Gel unterschiedlich stark gefärbt, im TR- und VG-Gel dagegen gleich stark. Bande 7 und 8 sind im VG-Gel am weitesten voneinander getrennt, im TR-Gel sind die Banden nicht separiert.

Welche Konsequenzen hat das bei der Auswahl des Gelsystems für eine optimale Elektrophorese? Ist die Mobilität eines Proteins abhängig von den genannten Faktoren, wird eine Voraussage über das beste Trennsystem schwierig. Noch schwieriger oder fast unmöglich wird es, wenn mehrere Proteine oder komplexe Proteingemische wie Rohextrakte untersucht werden sollen. Eine universelle Antwort auf alle Anforderungen gibt es nicht, es sollte daher für jede Applikation die beste Lösung experimentell ermittelt werden.

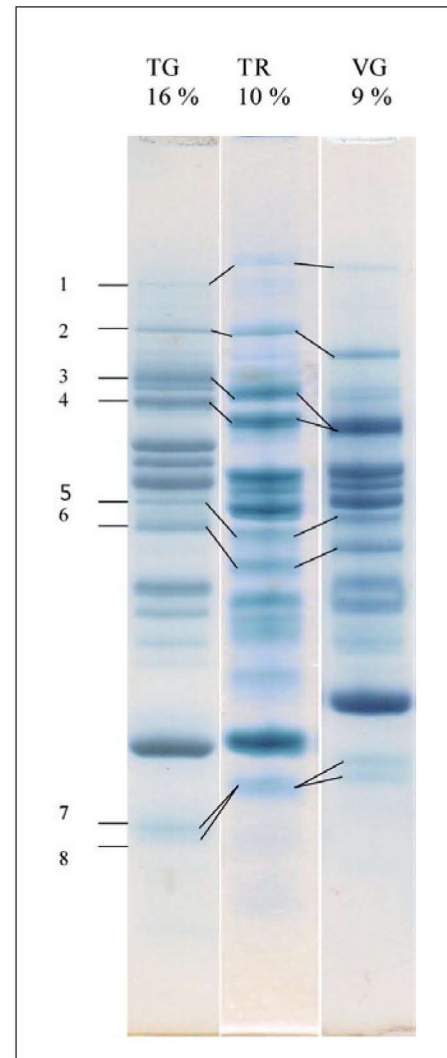


Abb. 2: Vergleich der Trennmuster von Rindermuskelextrakt auf Gelen verschiedener Puffersysteme TG (Tris-Glycin-SDS), TR (Tris-Tricin-SDS), VG (VarioGel)

Referenzen

- [1] Patton W. F. *et al.*: Anal Biochem 197, 25–34 (1991)
- [2] Wyckoff M. *et al.*: Anal Biochem 78, 459–481 (1977)
- [3] Laemmli U. K.: Nature 227, 680–685 (1970)
- [4] Schägger H. und von Jagow G.: Anal Biochem 166, 368–379 (1987)
- [5] Dante M. L. und Chrambach A.: Science 175, 95 (1972)

Kontakt:

Dr. Vera Kreis
anamed Elektrophorese GmbH
Entwicklung & Applikation
Ringstraße 4
64401 Groß-Bieberau
Tel.: 06151/95177-45
Fax: 06151/95177-47
vkreis@anamed-gele.com
www.anamed-gele.com