

Westernblot - Lösungshinweise

Aufgabe 1

Membranen sind deutlich länger haltbar und können mit Reagenzien behandelt werden, ohne in Mitleidenschaft gezogen zu werden.

Aufgabe 2

PAGE ohne denaturierende oder linearisierende Hilfsstoffe (SDS, DTT, Mercaptoethanol) => Trennung ist sehr schonend, Tertiärstruktur bleibt erhalten. Trennung erfolgt aufgrund der Molekülmasse, aber auch der Stromlinienform und der Ladung.

Aufgabe 3

Um eine Immundetektion zu ermöglichen, werden die Banden mit elektrischem Strom auf eine Nitrocellulose oder PVDF-Membran übertragen. Die Membran wird dabei Seite an Seite an das Gel angelegt. Nitrozellulose: kostengünstiger, aber weniger haltbar und nicht so resistent gegenüber Chemikalien.

Aufgabe 4

Die Proteine sind auf dem Gel negativ geladen (z.B. wegen SDS, und/oder umgebenden pH-Wert). => Werden beim Blotting zum Pluspol hin gezogen! => Membran ist in Richtung Pluspol angeordnet.

Aufgabe 5

spezifische Markierung: Beruht auf Schlüssel-Schloss-Prinzip. Es werden Analyte an genau passende („maßgeschneiderte“) Nachweismoleküle gebunden.

Aufgabe 6:

Zu Bild 2: Durch das Stripping wurde der Primär-AK entfernt, da mit einem markierten Sek-AK keine Bande mehr entsteht.

Zu Bild 3: Damit wird bewiesen, dass Lactoglobulin das Stripping unbeschadet überstanden hat. Spezifischer Nachweis ist nämlich möglich.

Aufgabe 8

Irgendein IgG-AK wurde fixiert, so dass hier garantiert der markierte Sekundär-AK (Nachweisreagenz) bindet. Dient auch der Positiv-Kontrolle und zeigt, dass das Nachweisreagenz prinzipiell funktioniert.

Aufgabe 9

Auf dem Membranstreifen sind charakteristische Ag des HI-Virus der Proteingröße nach aufgebracht. Es kann sich um das Ergebnis einer Gelelektrophorese handeln.