

SPRINGER LABOR MANUAL

Springer

Berlin

Heidelberg

New York

Barcelona

Budapest

Hong Kong

London

Milan

Paris

Tokyo

Martin Holtzhauer

Biochemische Labormethoden

Zweite, überarbeitete Auflage
Mit 15 Abbildungen



Springer

Dr.rer.nat.habil. Martin Holtzhauer
Institut für Biochemie und Molekulare Physiologie
Universität Potsdam
c/o Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin
Robert-Rössle-Str. 10, D-13122 Berlin-Buch

ISBN-13: 978-3-540-58584-8 e-ISBN-13: 978-3-642-97609-4
DOI: 10.1007/978-3-642-97609-4

Die Deutschen Bibliothek
CIP-Eintrag beantragt

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.

© Springer-Verlag Berlin, Heidelberg 1995

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.

Sollte in diesem Werk direkt oder indirekt auf Gesetze, Vorschriften oder Richtlinien (z.B. DIN, VDI, VDE) Bezug genommen oder aus ihnen zitiert worden sein, so kann der Verlag keine Gewähr für Richtigkeit, Vollständigkeit oder Aktualität übernehmen. Es empfiehlt sich, gegebenenfalls für die eigenen Arbeiten die vollständigen Vorschriften oder Richtlinien in der jeweils gültigen Fassung hinzuzuziehen.

Die Vorschriften für die praktische Ausführung von biochemischen Methoden, die in vorliegendem Buch gegeben werden, entbinden den Leser nicht von seiner Verantwortlichkeit, die nötigen Sicherheitsvorkehrungen zu treffen. Weder der Autor noch der Verlag übernehmen irgendeine Haftung.

Einbandgestaltung: Struve & Partner, Heidelberg
Satz: Datenkonvertierung durch Lewis & Leins Buchproduktion, Berlin;
Herstellung: PRODUserv Springer Produktions-Gesellschaft, Berlin

SPIN: 10465927 02/3020-5 4 3 2 1 0 – Gedruckt auf säurefreiem Papier.

Vorwort

Biochemische Methoden fließen in immer zahlreichere benachbarte Wissensbereiche ein. Für die Lösung der jeweiligen Aufgaben werden altbewährte ebenso wie erst vor wenigen Jahren publizierte Laborverfahren benötigt, von denen einige tagtäglich angewandt werden, andere aber so selten, daß ihre Details aus der Erinnerung verschwunden sind.

Meist besitzt der in den biowissenschaftlichen Disziplinen Arbeitende eine Vielzahl von ausgefeilten Spezialvorschriften für die Lösung der unmittelbaren Arbeitsaufgaben, für nicht täglich benötigte Methoden ist man jedoch auf die Suche in der Fachliteratur angewiesen, und nicht immer läßt sich die in einer Originalarbeit beschriebene Methode ohne Schwierigkeiten nacharbeiten. Aus dieser Erfahrung heraus resultiert das Bemühen, eine begrenzte Auswahl von Laborvorschriften und Tabellen zusammenzustellen, die auf ihre Praktikabilität hin überprüft wurden und die hiermit Fachkolleginnen und -kollegen in der Form von Protokollen vorgelegt werden in der Hoffnung, daß ihre Beschreibung so erfolgte, daß bei einiger Laborpraxis ein müheloses und erfolgreiches Nacharbeiten möglich ist.

Die Auswahl wurde unter dem Gesichtspunkt getroffen, möglichst vielseitig verwendbare Labormethoden aufzunehmen, aber selbstverständlich waltet in jeder Auswahl eine gewisse Willkür. Ebenso können die „Biochemischen Labormethoden“ nicht die Originalliteratur ersetzen, die deshalb in der Regel bei den Vorschriften oder Kapiteleinleitungen als Quelle angegeben wurde.

Im Hinblick auf ein handliches Format dieser Arbeitsblätter wurde darauf verzichtet, Analysenverfahren für spezielle Substanzen und Enzyme aufzunehmen, da Auswahl und Beschränkung auf diesem Gebiet kaum möglich erscheint. Es wurde auch bewußt auf Erläuterungen zur Theorie der vorgestellten Methoden verzichtet. Entsprechende einführende Literatur ist sicherlich in der unmittelbaren Umgebung der Nutzer der „Biochemischen Labormethoden“ zu finden.

Um den Rahmen eines handhabbaren Laborbuchs für biochemische Methoden nicht zu sprengen, wurde außerdem auf Methoden verzichtet, die unmittelbar im Zusammenhang mit der Gentechnik stehen, d.h. auf DNA- und RNA-Isolations-, Charakterisierungs-, Sequenzierungs- und Manipulationsmethoden, zumal anzunehmen ist, daß in den entsprechenden Labors die einschlägigen exquisiten Standardwerke wie der „MANIATIS“ vorhanden sind.

Der Zweck dieser Zusammenstellung wäre erfüllt, wenn sie als praktisches Hilfsmittel im Labor die tägliche Routine erleichterte oder zur eigenen Sammlung von bewährten Vorschriften anregen würde. Vor allem soll aber erreicht werden, die Scheu vor einer Erweiterung des individuellen Methodenspektrums abzubauen und die Arbeitsmethoden, sowohl die der Originalliteratur, die hier vorgelegten als auch die eigenen, kritisch zu überprüfen und zu erweitern.

Daß trotz der unermesslichen Fülle von Originalarbeiten und zahlreichen hervorragenden Methodenzusammenstellungen dennoch ein Bedarf besteht, zeigt der Umstand, daß für das vorliegende Bändchen eine zweite, überarbeitete Auflage vorgesehen wurde.

Schließlich sei allen Kollegen, die durch eine angeregte Diskussion die Zusammenstellung dieser Methodensammlung förderten, einer ersten kritischen Überprüfung unterzogen und bei der Ausmerzung nicht weniger Fehler behilflich waren, sowie Frau Dr.HERTEL und Frau Dr.BÖRSCH-SUPAN vom Springer-Verlag, mit deren Hilfe es möglich war, manche „Betriebsblindheit“ zu vermeiden, herzlich gedankt.

Martin Holtzhauer

Berlin-Buch, im Oktober 1994

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	XIII
1 Quantitative Methoden	1
1.1 Quantitative Proteinbestimmungen	1
1.1.1 Proteinbestimmung nach LOWRY u. Mitarbeitern	2
1.1.1.1 Standardmethode	2
1.1.1.2 Mikromethode	3
1.1.2 Proteinbestimmung nach LOWRY u. Mitarbeitern in Gegenwart störender Begleitsubstanzen	4
1.1.3 Proteinbestimmung nach BRADFORD	6
1.1.4 Proteinbestimmung in Probenlösungen für die SDS-Gelelektrophorese	7
1.1.5 Proteinbestimmung mit Amidoschwarz	8
1.1.6 Mikro-Biuret-Methode	9
1.1.7 Proteinbestimmung mit BCA (Bicinchoninsäure)	9
1.1.7.1 Standardmethode	10
1.1.7.2 Mikromethode	10
1.1.8 Proteinbestimmung nach KJELDAHL	11
1.1.9 Protein-Konzentrationsbestimmung durch UV-Absorptionsmessung (Photometrie)	12
1.2 Quantitative Nucleinsäurebestimmungen	14
1.2.1 DNA-, RNA- und Proteintrennungsgang nach SCHMIDT und THANNHAUSER	14
1.2.2 RNA-Bestimmung mit Orcin	15
1.2.3 DNA-Bestimmung mit Diphenylamin	16
1.2.4 DNA- bzw. RNA-Bestimmung in Gewebehomogenaten	17
1.2.5 Quantitative Nucleinsäurebestimmung durch UV-Messung	18
1.3 Quantitative Phosphatbestimmung	20
1.3.1 Bestimmung von anorganischem Phosphat	20
1.3.2 Bestimmung von Gesamt-Phosphat	21
1.3.3 Phospholipid-Bestimmung	22
1.4 Monosaccharid-Bestimmung	23
1.5 Auswertung quantitativer Analysen	23
2 Elektrophorese	27
2.1 Elektrophoresesysteme	27
2.1.1 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese nach LAEMMLI	29
2.1.2 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese nach WEBER, PRINGLE und OSBORN	34
2.1.3 Harnstoff-SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese zur Trennung niederer Molekularer Proteine	36

2.1.4	TRICINE-SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese für Proteine und Oligopeptide im Molmassenbereich von 1000 bis 50.000 Dalton	37
2.1.5	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese bei pH 2.4	38
2.1.6	Harnstoff-Polyacrylamid-Gelelektrophorese bei pH 2	39
2.1.7	Anodisches diskontinuierliches Polyacrylamid-Gelelektrophoresesystem	40
2.1.8	Kathodisches diskontinuierliches Polyacrylamid-Gelelektrophorese-System	42
2.1.9	Zweidimensionale Polyacrylamid-Gelelektrophorese (IEF und SDS-PAGE)	42
2.1.9.1	Erste Dimension: Isoelektrische Fokussierung (IEF)	43
2.1.9.2	Zweite Dimension: SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	49
2.1.10	Nicht-denaturierende Nucleinsäure-Elektrophorese	50
2.1.11	Denaturierende Nucleinsäure-Elektrophorese	51
2.1.12	Identifizierung von Phosphoamino-säuren (Papierelektrophorese)	53
2.2	Hilfsmittel für die Kontrolle der Elektrophorese	55
2.2.1	Markerfarbstoffe für die Kontrolle der Elektrophorese	55
2.2.1.1	Anodische Systeme	55
2.2.1.2	Kathodische Systeme	55
2.2.2	Eichproteine für die Polyacrylamid-Gelelektrophorese	55
2.2.3	Kovalente Farbmarkierung von Eichproteinen	58
2.3	Färbemethoden	58
2.3.1	Proteinfärbung mit organischen Farbstoffen	58
2.3.1.1	Amidoschwarz 10 B	59
2.3.1.2	Coomassie Brillant Blue R250 bzw. G250	60
2.3.1.3	Fast Green	61
2.3.1.4	Stains All	61
2.3.2	Silberfärbung von Proteinen (Glutaraldehyd-Fixierung)	62
2.3.2.1	Citrat/Formaldehyd-Entwicklung	62
2.3.2.2	Alkalische Entwicklung	63
2.3.2.3	Silberfärbung mit Wolframatokieselsäure	64
2.3.2.4	Kontraststeigerung nach BERSON	64
2.3.3	Silberfärbung von Proteinen (Formaldehyd-Fixierung)	65
2.3.4	Silberfärbung von Glycoproteinen und Polysacchariden	66
2.3.5	Abschwächen von silbergefärbten Gelen	66
2.3.6	Färbung von Proteinen auf Blotting-Membranen	67
2.3.6.1	Färbungen auf Nitrocellulose-Blotting-Membranen mit Farbstoffen	67
2.3.6.2	Proteinfärbung auf Nitrocellulose-Blotting-Membranen mit Tusche	68
2.3.6.3	Färbung auf Nitrocellulose mit kolloidalem Gold	69
2.3.6.4	Proteinfärbung auf PVDF-Blotting-Membranen mit Farbstoffen	69
2.3.7	Färbung von Proteolipiden bzw. Lipiden und Lipoproteinen	70
2.3.8	Färbung von Glycoproteinen und Polysacchariden	70
2.3.8.1	Färbung mit SCHIFFSchem Reagenz (PAS staining)	70
2.3.8.2	Färbung mit Thymol	71
2.4	Elektroelution aus Gelen	72
2.4.1	Quantitative Elektroelution von Proteinen aus Polyacrylamid-Gelen	72
2.4.2	Entfernung von SDS	73
2.4.3	Elektrotransfer von Proteinen (Western blot)	73

2.4.4	Immunchemischer Antigennachweis nach Elektrotransfer	75
2.4.4.1	Detektion von Meerrettich-Peroxidase (POD)	76
2.4.4.2	Detektion von alkalischer Phosphatase (AP)	76
2.4.5	Chemolumineszenz-Detektion auf Blotting-Membranen	77
2.4.6	Kohlenhydrat-spezifische Glycoprotein-Detektion nach Elektrotransfer	78
2.4.7	Allgemeiner Kohlenhydrat-Nachweis auf Western blots	79
2.4.8	Transfer von Nucleinsäuren (SOUTHERN- bzw. Northern-Blot)	81
2.5	Trocknung von Elektrophoresegelen	82
2.6	Autoradiographie von radioaktiv markierten Verbindungen in Elektrophoresegelen	83
3	Chromatographische Methoden	89
3.1	Dünnschichtchromatographie	89
3.1.1	Bestimmung der N-terminalen Aminosäure im Polypeptid (Dünnschichtchromatographie von modifizierten Aminosäuren)	89
3.1.2	Trennung von Nucleosidphosphaten	92
3.1.2.1	Gradienten-Dünnschichtchromatographie	92
3.1.2.2	Nachweis von Phosphaten	93
3.1.3	Lipidextraktion und Dünnschichtchromatographie von Lipiden	93
3.2	Säulenchromatographie	95
3.2.1	Praktische Hinweise zur Säulenchromatographie von Proteinen	95
3.2.2	Konzentrierung von Proteinlösungen	100
3.2.2.1	Säurefällung	100
3.2.2.2	Aussalzen	101
3.2.2.3	Ausfällen mit organischen Verbindungen	101
3.2.2.4	Lyophilisation	102
3.2.2.5	Ultrafiltration	102
3.2.3	Gelfiltration	104
3.2.3.1	Auswahl des Trägermaterials	105
3.2.3.2	Füllen einer Gelfiltrationssäule	106
3.2.3.3	Probenauftrag und Elution	107
3.2.3.4	Reinigung	108
3.2.3.5	Bestimmung von Ausschlußvolumen V_0 und Gesamtvolumen V_t	108
3.2.4	Ionenaustauschchromatographie	110
3.2.4.1	Vorbehandlung von Ionenaustauscher-Materialien	110
3.2.4.2	Test der Bindungsbedingungen	112
3.2.4.3	Probenauftrag	113
3.2.4.4	Elution	114
3.2.4.5	Reinigung und Regenerierung	115
3.2.5	Hydrophobe Chromatographie	118
3.2.5.1	Test der Bindungsbedingungen	118
3.2.5.2	Elution	118
3.2.5.3	Regenerierung	119
3.3	Affinitätschromatographie	119
3.3.1	Bromcyan-Aktivierung von Polysaccharid-Chromatographieträgern	123
3.3.2	Kopplung an Bromcyan-aktivierte Gele	124
3.3.2.1	Bestimmung des gebundenen Diamin-Spacers	125
3.3.3	Herstellung Chlorameisensäureester-aktivierter Perlcyclulosen	126
3.3.3.1	Aktivierung mit ClCOONB	126

3.3.3.2	Bestimmung des Aktivierungsgrades von ClCOONB-aktivierter Perlcellulose durch HONB-Messung	126
3.3.4	Kopplung von Liganden an ClCOONB-aktivierte Perlcellulose	127
3.3.4.1	Kopplung von Weizenkeim-Lektin an ClCOONB-aktivierte Perlcellulose	127
3.3.5	Kopplung von Reaktivfarbstoffen an Polysaccharide (Farbstoff-Affinitätschromatographie)	128
3.3.6	Kovalente Bindung von Biotin (Biotin-Avidin/Streptavidin-System)	129
3.4	Hochauflösende Ionenaustausch-Chromatographie (HPIEC) von Mono- und Oligosacchariden	130
4	Immunchemische Methoden	135
4.1	Konjugation von Haptenen (Peptiden) an Carrier-Proteine	135
4.1.1	Aktivierung von Carrier-Proteinen	136
4.1.2	Konjugation	136
4.1.3	Immunisierung	137
4.2	Ammonsulfat-Fraktionierung von Immunglobulinen	138
4.3	HEIDELBERGER-Kurve	139
4.4	Doppelt-radiale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY	140
4.4.1	Reinigung des Agars	141
4.4.2	Vorbereitung der Platten	141
4.4.3	Immundiffusion	142
4.4.4	Sichtbarmachung der Präzipitationslinien	142
4.5	Immunopräzipitation von Antigenen	142
4.6	Immunelektrophorese	144
4.7	Gegenstromelektrophorese	146
4.8	dot-blot-Test	147
4.9	Enzym-Immunsorbent-Test (EIA bzw. ELISA)	148
4.10	Meerrettichperoxidase-Immunglobulin-Konjugat (Glutaraldehyd-Methode)	150
4.10.1	Affinitätschromatographische Reinigung von Meerrettichperoxidase	150
4.10.2	Affinitätschromatographie von Immunglobulin	150
4.10.3	Glutaraldehyd-Konjugation	151
4.11	Alkalische Phosphatase-Immunglobulin-Konjugat (Glutaraldehyd-Methode)	152
4.11.1	Konjugation	152
4.11.2	Indikatorreaktion für AP	152
4.12	Kopplung (Konjugation) von Glycoproteinen	153
4.13	Protein-kolloidales-Gold-Komplex	154
4.13.1	Herstellung des Goldsols	155
4.13.2	Proteinbeladung	156
5	Zentrifugation	159
5.1	Differentialzentrifugation	160
5.2	Dichtegradientenzentrifugation	161
5.2.1	Stufengradientenzentrifugation	162
5.2.2	Saccharosegradientenzentrifugation	163
5.2.2.1	Präparation von Oberflächenmembranen (Sarkolemm, SL) des Herzmuskels	163
5.2.2.2	Enzym-Bestimmung: Oubain-sensitive Na,K-ATPase	167

5.2.2.3	Rezeptor-Bestimmung: DHP-Bindungsstellen in der Oberflächenmembran	169
5.2.2.4	Bestimmung der Dissoziations- und Assoziationskinetik des DHP-Rezeptors	170
5.2.2.5	Nicht-denaturierender Saccharosegradient zur RNA-Trennung	171
5.2.2.6	Denaturierende RNA-Gradientenzentrifugation	172
5.2.3	Isopyknische Zentrifugation	173
5.2.3.1	Reinigung hochmolekularer DNA im CsCl-Gradienten	174
5.2.3.2	Zellfraktionierung mittels Percoll	174
5.2.3.3	Leukozytenpräparation	176
5.3	Drehzahl-Zentrifugalbeschleunigungs-Nomogramme	176
6	Radioaktive Markierung	179
6.1	[³² P]-Phosphat-Inkorporation in Proteine	180
6.2	Iodierung mit [¹²⁵ I]-Iodverbindungen	182
6.2.1	Chloramin-T-Methode	182
6.2.2	Iodierung mit BOLTON-HUNTER-Reagens	183
6.3	Radioaktiver Zerfall	184
6.4	Zerfallstabellen für [³² P]Phosphor, [³⁵ S]Schwefel und [¹²⁵ I]Iod	184
6.5	Scintillator-Lösungen für die Flüssigszintillationsmessung	187
7	Puffersysteme	191
7.1	pK-Werte und Molmassen von Puffersubstanzen	191
7.2	Diagramm zur Pufferberechnung	194
7.3	pH-Farbindikatoren	195
7.4	Pufferlösungen	196
7.4.1	Häufig verwendet Pufferlösungen	197
7.4.2	Puffer bzw. Medien für Gewebe- und Zellkulturen bzw. Organperfusion	200
7.4.3	pH-Eichpuffer	202
7.4.4	Flüchtige Puffer	202
8	Reinigungsvorschriften für ausgewählte Laborchemikalien	205
8.1	Reinigungsmittel	205
8.2	Reinigungsvorschriften für einige Laborchemikalien	206
9	Tabellen	211
9.1	Konzentrationsmaße	211
9.2	Umrechnung SI-fremder Maßeinheiten in SI-Einheiten	211
9.3	Molmassen und andere Stoffdaten häufig verwendeter Substanzen	212
9.4	Proteindaten	217
9.5	Protease-Inhibitoren	221
9.6	Aminosäure-Einbuchstabencode und Molmassen der Aminosäuren	222
9.7	Spektroskopische Daten von Nucleotiden	224
9.8	Stoffwerte von Detergenzien (Tensiden)	225
9.9	Brechungsindex und Dichte von Saccharose-Lösungen	226
9.10	Ammoniumsulfat-Tabelle	227
9.11	Angaben zur Herstellung verdünnter Lösungen	229
9.12	Mischungskreuz	230

10	Anhang	233
10.1	Statistische Formeln	233
10.1.1	Mittelwert und zusammenhängende Größen	233
10.1.2	Ausgleichsgerade (lineare Regression)	234
10.1.3	t-Test	235
10.2	Formeln zur Versuchsauswertung	237
10.2.1	Rezeptorbindungsstudien	237
10.2.2	Enzymkinetik	240
10.2.3	Molmassenbestimmung in SDS-Elektropherogrammen	243
10.3	Software für die Laborpraxis	243
10.3.1	Datenauswertung und -präsentation	244
10.3.2	Statistik-Programme	244
10.3.3	Sonstiges	245
Index		246

Abkürzungen

A_{280}	Absorption (Extinktion) von Licht der Wellenlänge 280 nm
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
AP	alkalische Phosphatase
bp	Basenpaare (Nucleinsäure)
BSA	Rinder-Serumalbumin (engl. bovine serum albumin)
% C	prozentualer Anteil an Vernetzer (engl. cross-linker), bezogen auf die Gesamtmenge T an Acrylamid-Monomeren
cAMP	cyclo-AMP
cc	konstanter Strom (engl. constant current)
cv	konstante Spannung (engl. constant voltage)
D	Dalton (relative Molmasse)
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dpm	Zerfälle pro Minute (engl. decays per minute)
DTE	erythro-1,4-Dimercapto-2,3-butandiol (Dithioerythritol, CLELANDS Reagenz)
DTT	threo-1,4-Dimercapto-2,3-butandiol (Dithiothreitol, CLELANDS Reagenz)
$E_{280}^{1\%}$	Extinktionskoeffizient einer 1 %igen Lösung bei der Wellenlänge 280 nm
ϵ_{280}	molarer Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge 280 nm
EDTA	Ethylendiaminetetraessigsäure, Na_2 -Salz
EGTA	Ethylenglycol-bis(N,N,N',N'-aminoethyltetraessigsäure)
EIA	Enzym-Immunoassay (engl. enzyme-linked immunoassay), auch ELISA
g	relative Zentrifugalbeschleunigung ($1 \cdot g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$)
g_{av}	g bei mittlerem Abstand von der Rotorachse
g_{max}	g bei maximalem Abstand von der Rotorachse
I	Ionenstärke
Ig	Immunglobulin (z.B. IgG - Immunoglobulin G)
M	molar (Mole pro Liter)
M_r	relative Molmasse
mAK	monoklonaler Antikörper
mol-%	Moleküle pro 100 Moleküle bzw. Mole pro 100 Mole
N	normal (Vale pro Liter)
NEM	N-Ethylmaleinimid
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PBS	phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung (engl. phosphate buffered saline)
pI	isoelektrischer Punkt

pK	negativer dekadischer Logarithmus der Gleichgewichtskonstanten
PMSF	Phenylmethansulfonsäurefluorid
POD	Meerrettich-Peroxidase (engl. horse-radish peroxidase, HRP)
PVDF	Polyvinylidendifluorid (Material für Ultrafiltrations- und Blotting-Membranen)
R _f	relative Laufstrecke
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl. revolutions per minute)
ρ	Dichte
SDS	Natrium-dodecylsulfat (engl. sodium dodecylsulfate)
% T	gewichtsprozentualer Anteil an Gesamt-Acrylamid in einem PAGE-Gel (Acrylamid + Vernetzer)
TBS	Tris-gepufferte physiologische Kochsalzlösung (engl. Tris buffered saline)
TCA	Trichloressigsäure
Tris	Tris-hydroxymethyl-aminomethan
v/v	Volumen pro (Gesamt-)Volumen
w/v	Masse pro (Gesamt-)Volumen
w/w	Masse pro (Gesamt-)Masse