

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