

GEBRAUCHSANLEITUNG

SERVA ProteinStain Fluo-R

Fluoreszenzfarbstoff zur Proteindetektion

(Kat.-Nr. 35090; 35091)



SERVA Electrophoresis GmbH - Carl-Benz-Str. 7 - D-69115 Heidelberg

Phone +49-6221-138400, Fax +49-6221-1384010

e-mail: info@serva.de - <http://www.serva.de>

Inhaltsverzeichnis

1. ALLGEMEINE INFORMATIONEN	2
1.1. Herstellen der Färbelösung	2
1.2. Herstellen einer Stocklösung	2
1.3. Lagerung	2
2. FÄRBEPROTOKOLLE	2
2.1. Protokoll für schnelles Färben von kleinformatigen Gelen	2
2.2. Färbeprotokoll für großformatige Gele	3
2.3. Protokoll für Direktfärbung (Fluo-R im Ladepuffer)	3
3. PROZESSIERUNG FLUO-R GEFÄRBTER GELE	3
3.1. Western Blotting	3
3.2. Silberfärbung	3

1. Allgemeine Informationen

SERVA ProteinStain Fluo-R ist ein sehr sensibler Fluoreszenzfarbstoff zur Proteindetektion, z.B. bei SDS-PAGE, native PAGE oder 2D-Gelen. Der Farbstoff interferiert nicht mit der Immundetektion, so dass die Gelfärbung vor dem Western-Transfer möglich ist. Die Sensitivität des Farbstoffes ist vergleichbar mit der Silberfärbung. Der kontrastreiche Fluo-R Farbstoff ist kompatibel mit der Silberfärbung und DIGE, sowie anschließender MS/MS-Analyse. Der optimale Anregungsbereich liegt bei 473/488 nm. Eine Anregung mittels UV Licht bei 254 nm oder Laser bei 532 nm ist auch möglich. Die Excitation bei 532 nm ist aber weniger sensitiv. Die Detektion erfolgt bei 610 nm.

1.1. Herstellen der Färbelösung

Das Lösen von 5 mg SERVA ProteinStain Fluo-R pro 3 L dest. H₂O ergibt eine 1 µM Färbelösung.

SERVA ProteinStain Fluo-R solution wird als 1 mM Lösung geliefert. Die Verdünnung von 1: 1000 liefert eine 1 µM Lösung.

1.2. Herstellen einer Stocklösung

20 mM Stocklösung: 5 mg SERVA ProteinStain Fluo-R pro 150 µl dest. H₂O

1.3. Lagerung

Kat.-Nr.	Produkt	Lagertemperatur
35090.01	SERVA ProteinStain Fluo-R	+15 - +30 °C
35090.02	SERVA ProteinStain Fluo-R	+15 - +30 °C
35091.01	SERVA ProteinStain Fluo-R solution	+2 - +8 °C

2. Färbeprotokolle

2.1. Protokoll für schnelles Färben von kleinformatigen Gelen

Schritt	Inkubationszeit	Lösung
1. Färben	1 h	1 µM Fluo-R in 40 % (v/v) Ethanol; 10 % (v/v) Essigsäure
2. Entfärben	20 min	40 % (v/v) Ethanol; 10 % (v/v) Essigsäure
3. Waschen	10 min	dest. H ₂ O
4. Dokumentation		

2.2. Färbeprotokoll für großformatige Gele

Schritt	Inkubationszeit	Lösung
1. Fixierung	Über Nacht	30 % (v/v) Ethanol; 10 % (v/v) Essigsäure
2. Waschen	4 x 30 min	20 % (v/v) Ethanol
3. Färben	6 h	1 μ M Fluo-R
4. Äquilibration	2 x 10 min	dest. H ₂ O
5. Entfärben	15 h	40 % (v/v) Ethanol; 10 % (v/v) Essigsäure
6. Äquilibration	2 x 10 min	dest. H ₂ O
7. Dokumentation		

2.3. Protokoll für Direktfärbung (Fluo-R im Ladepuffer)

Schritt	Inkubationszeit	Lösung
1. Ansetzen des Ladepuffers		Zugabe von 1 μ l einer 20 mM Stocklösung Fluo-R zu 1,5 ml Probenpuffer*
* Farbstoffe, wie z. B. Bromphenolblau und/oder Komplexbildner wie EDTA sollten nicht im Probenpuffer enthalten sein.		
2. Elektrophorese	Laufzeit des Gels entsprechend der Standardprozedur	Nach Standardprotokoll
3. Entfärben	20 min	40 % (v/v) Ethanol; 10 % (v/v) Essigsäure
4. Äquilibrieren	10 min	dest. H ₂ O
5. Dokumentation		

3. Prozessierung Fluo-R gefärbter Gele

3.1. Western Blotting

Nach der Färbung des Gels mit SERVA ProteinStain Fluo-R (siehe Abschnitt 2.) kann im Anschluss ein Western-Blotting durchgeführt werden. Dazu werden Gel und Blotmembranen in Blotpuffer für 30 min äquilibriert. Anschließend kann das Blotting und die Immunodetektion entsprechend dem etablierten Standardprotokoll durchgeführt werden.

3.2. Silberfärbung

SERVA ProteinStain Fluo-R gefärbte Gele können anschließend auch Silber-gefärbt werden. Hierzu erfolgt zunächst die Fixierung mit 45 % (v/v) Methanol/10 % (v/v) Essigsäure für 30 min. Anschließend erfolgt die Silberfärbung entsprechend dem etablierten Standardprotokoll.