

GEBRAUCHSANLEITUNG

SERVA HPE Silver Staining Kit

Sensitive Proteinfärbung für SDS Polyacrylamidgele

(Kat.-Nr. 43395)



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>

Inhaltsübersicht

1. SERVA HPE SILVER STAINING KIT	2
1.1. Allgemeine Hinweise	2
1.2. Kit Komponenten	2
1.3. Zusätzlich benötigte Materialien	2
1.4. Lagerungsbedingungen	3
2. PROTOKOLL A: MS-KOMPATIBLE FÄRBUNG	4
2.1. Benötigte Lösungen	4
3. PROTOKOLL B: FÄRBUNG MIT HÖHERER SENSITIVITÄT	6
3.1. Benötigte Lösungen	6
4. BESTELLINFORMATIONEN	7

1. SERVA HPE Silver Staining Kit

1.1. Allgemeine Hinweise

Der Silberfärbekit von SERVA erlaubt die Proteindetektion in Polyacrylamid-Gelen mit hoher Sensitivität, und ist besonders gut geeignet für Folien-gestützte HPE Gele nach ein-und zweidimensionalen Trennungen. Die Färbung basiert auf Silbernitrat. Bei Anwendung des Kits nach **Protokoll A** ist die Färbung **kompatibel mit anschließender Massenspektrometrie (MS)-Analyse**. Bei Anwendung nach **Protokoll B** werden die Proteine in der Matrix miteinander vernetzt, dadurch **erreicht man eine höhere Nachweisempfindlichkeit**. Der Kit ist mit Automated Gel Stainer (GE Healthcare) kompatibel.

1.2. Kit Komponenten

Komponente	Menge
Zitronensäure	10 g
Natriumthiosulfat	0,5 g
Glycin	10 g
Formaldehyd (37 %)	5 ml
Glutaraldehyd (25 %)	100 ml
Solution A	100 ml
Solution B	200 ml
Solution C	20 ml
Solution D	100 ml
Solution E	Trockensubstanz ausreichend für 10 ml Lösung

1.3. Zusätzlich benötigte Materialien

Verwenden Sie bitte nur Reagenzien in p.A.-Qualität. Sollte nur vergällter Ethanol verfügbar sein, verwenden Sie bitte nur MEK (Methylethyketon) vergällten Ethanol. Hochqualitatives, demineralisiertes Wasser ist ebenfalls wichtig für beste Färbeergebnisse.

- Ethanol (95 %)
- Glyzerin (85 %)

1.4. Lagerungsbedingungen

Der Kit ist bei der empfohlenen Lagertemperatur von +15 °C bis +30 °C mindestens verwendbar bis: siehe Etikett.

Bitte beachten Sie, dass Lösung E als Trockensubstanz im Kit geliefert wird. Sobald diese mit Wasser rekonstituiert ist, sollte die Lösung entweder bei +4 °C bis +8 °C kurzfristig (1 Woche stabil) oder bei -15 °C bis -30 °C langfristig (6 Monate stabil) in Aliquots gelagert werden.

Alle anderen Lösungen können bei +15 °C bis +30 °C gelagert werden. Lagerungsdetails entnehmen Sie bitte der nachfolgenden Tabelle.

Komponente	Temperatur
Zitronensäure	+15 °C bis + 30 °C
Formaldehyd (37 %)	+15 °C bis + 30 °C
Natriumthiosulfat	+15 °C bis + 30 °C
Glycin	+15 °C bis + 30 °C
Glutaraldehyd (25 %)	+15 °C bis + 30 °C
Solution A	+15 °C bis + 30 °C
Solution B	+15 °C bis + 30 °C
Solution C	+15 °C bis + 30 °C
Solution D	+15 °C bis + 30 °C
Solution E	Trockensubstanz: +15 °C bis + 30 °C
	Rekonstituiert in ddH₂O: +4 °C bis +8 °C (1 Woche stabil) -15 °C bis -30 °C (aliquotiert; 6 Monate stabil)

2. Protokoll A: MS-kompatible Färbung

2.1. Benötigte Lösungen

Die angegebenen Volumina sind ausreichend für die Färbung von 1 Gel (19 cm x 25 cm):

- Lösung 1, 500 ml:
(15 % v/v Ethanol/1 % w/v Zitronensäure) 75 ml Ethanol
5,0 g Zitronensäure
ad 500 ml dH₂O
- Lösung 2, 250 ml (unter Rühren mischen): 50 ml dH₂O
25 ml Solution A
25 ml Solution B
81 mg Natriumthiosulfat
79 ml Ethanol
ad 250 ml dH₂O
- Lösung 3, 250 ml (unter Rühren mischen): 100 ml dH₂O
ACHTUNG: Diese Lösung enthält Silber. 5 ml Solution C
25 ml Solution B
ad 250 ml dH₂O
325 µl Formaldehyde (37 %)
- Lösung, 4, 250 ml (unter Rühren mischen): 200 ml dH₂O
25 ml Solution D
325 µl Formaldehyde (37 %)
250 µl Solution E
ad 250 ml dH₂O
- Lösung 5, 250 ml: 2,5 g Glycin
(1 % w/v Glycin) ad 250 ml dH₂O
- Lösung 6, 250 ml: 15 ml Glyzerin (85 %)
ad 250 ml dH₂O

Schritt	Lösung	Inkubationszeit
1. Fixierung	Lösung 1	45 min
2. Fixierung	Lösung 1	45 min
3. - 6. Waschen	je 250 ml dH ₂ O	4 x 10 min
7. Sensitizing	Lösung 2	30 min
8. - 11. Waschen	je 250 ml dH ₂ O	4 x 5 min
Tropfentest vor dem Färbeschritt: 100 µl Lösung 3 + 100 µl Lösung 4		
12. Silberschritt	Lösung 3	45 min
13. - 15. Spülen	je 250 ml dH ₂ O	3 x 1 min
16. Entwickeln	Lösung 4	2 bis 4 min (nach Sicht)
17. Stoppen	Lösung 5	30 min
18. Konservieren	Lösung 6	30 min
19. Trocknen	Gel lufttrocknen und anschließend die Deckfolie, die mit dem Gel geliefert wird, auf Geloberfläche rollen.	Einige Stunden

3. Protokoll B: Färbung mit höherer Sensitivität

3.1. Benötigte Lösungen

Die angegebenen Volumina sind ausreichend für die Färbung von 1 Gel (19 cm x 25 cm):

- Lösung 1, 500 ml:
(15 % v/v Ethanol/1 % w/v Zitronensäure) 75 ml Ethanol
2,5 g Zitronensäure
ad 500 ml dH₂O
- Lösung 2, 250 ml (unter Rühren mischen): 50 ml dH₂O
25 ml Solution A
25 ml Solution B
81 mg Natriumthiosulfat
25 ml Glutaraldehyd (25 %)
79 ml Ethanol
ad 250 ml dH₂O
- Lösung 3, 250 ml (unter Rühren mischen):
ACHTUNG: Diese Lösung enthält Silber. 100 ml dH₂O
5 ml Solution C
25 ml Solution B
ad 250 ml dH₂O
325 µl Formaldehyde (37 %)
- Lösung 4, 250 ml (unter Rühren mischen): 200 ml dH₂O
25 ml Solution D
325 µl Formaldehyde (37 %)
250 µl Solution E
ad 250 ml dH₂O
- Lösung 5, 250 ml:
(1 % w/v Glycin) 2,5 g Glycin
ad 250 ml dH₂O
- Lösung 6, 250 ml: 15 ml Glyzerin (85 %)
ad 250 ml dH₂O

Schritt	Lösung	Inkubationszeit
1. Fixierung	Lösung 1	45 min
2. Fixierung	Lösung 1	45 min
3. - 6. Waschen	je 250 ml dH ₂ O	4 x 10 min
7. Sensitizing	Lösung 2	30 min
8. - 11. Waschen	je 250 ml dH ₂ O	4 x 5 min
Tropfentest vor dem Färbeschritt: 100 µl Lösung 3 + 100 µl Lösung 4		
12. Silberschritt	Lösung 3	45 min
13. - 15. Spülen	je 250 ml dH ₂ O	3 x 1 min
16. Entwickeln	Lösung 4	2 bis 4 min (nach Sicht)
17. Stoppen	Lösung 5	30 min
18. Konservieren	Lösung 6	30 min
19. Trocknen	Gel lufttrocknen und anschließend die Deckfolie, die mit dem Gel geliefert wird, auf Geloberfläche rollen.	Einige Stunden

4. Bestellinformationen

Produkt	Menge	Kat.-Nr.
Reagenzien/Chemikalien		
Ethanol undenatured 96 %	1 L	11094.01
	2,5 L	11094.02
Glycerol from plant	1 L	23176.01