

Arbeitsanleitung zur
Färbung mit ArgentQuick

Kat. Nr.: GF 10010

GF 10010 1 Kit besteht aus je 125 ml: Sensitivierer
Färbelösung A
Färbelösung B
Entwickler
Stopper

Literatur

- Poehling HM & Neuhoff V 1981, Electrophoresis 2, 141 - 147
- Rabilloud T 1990, Electrophoresis 11, 785 - 794

Spezifikation

- Zur Färbung von Gelen mit Protein- oder DNA-Banden
 - Lösung 1: Sensitivierer 125 ml enthält Glutardialdehyd
 - Lösung 2: Färbelösung A 125 ml enthält Silbernitrat
 - Lösung 3: Färbelösung B 125 ml enthält Natriumhydroxid und Ammoniak
 - Lösung 4: Entwickler 125 ml enthält Zitronensäure und Formaldehyd
 - Lösung 5: Stopper 125 ml enthält Zitronensäure
- Die Lösungen reichen zur Färbung von ca. 25 Gelen.
- Nachweisgrenze: 0,8 ng BSA (4 – 20 % Tris-Glycin-SDS-Gel, 5 mm Taschenbreite, 1 mm Geldicke)
 - Dauer: ~ 2 h, 10 – 12 Schritte
 - Lagertemperatur: 2 – 8°C, Haltbarkeit: 14 Monate

Allgemeine Hinweise

- Benutzen Sie saubere, runde Behälter, die ausschließlich für die Silberfärbung verwendet werden.
Achten Sie darauf, dass die Tiefe und der Durchmesser des Behälters ausreichend sind, damit jedes Gel mit 100 ml Lösung bedeckt werden kann. Ideal wäre ein Behälter mit einem Durchmesser von 14 cm und einer Höhe von 5,5 cm.
Stellen sie den Schüttler auf 60 Umdrehungen pro Minute.
- Benutzen sie ausschließlich destilliertes Wasser (18 MΩ/cm) für die Herstellung der Lösungen, für das Spülen der Gele, für das Spülen der Behälter und aber auch schon für die Herstellung der **Laufpuffer**.
Wasser mit weniger als 18 MΩ/cm führt je nach Verschmutzungsgrad zu einer Graufärbung des Hintergrundes des Gels und beeinträchtigt die Sichtbarkeit von Proteinspuren negativ.
Lagern sie das Wasser ausschließlich in Glasbehältern. In Plastikbehältern gelagertes Wasser kann mit organischen Komponenten verunreinigt werden.
- Vermeiden Sie die Vermischung der Bestandteile des Kits, dies gilt insbesondere für Färbelösung A und Färbelösung B in den Vorratsflaschen.
Benutzen Sie daher Einwegpipetten, um eine mögliche Vermischung zu vermeiden.
Bereiten Sie alle Lösungen frisch zu.

Detektion

- Entnehmen Sie bitte in Abhängigkeit des verwendeten Gelyps die Zusammensetzung der Lösungen und Inkubationszeiten der nachfolgenden Tabelle.
- Sie detektieren im Nanogramm-Bereich. Sie können schon eine Menge von ca. 1 ng BSA als deutliche Bande auf dem Anamed-Gel Typ Tris-Glycin 4-20 % 1.0 mm erkennen.

Die Empfindlichkeit der Silberfärbung variiert von Protein zu Protein. Wenn Sie mit einem Protein arbeiten, welches Schwierigkeiten bei der Silberfärbung zeigt, sollten Sie entweder die kolloidale Coomassie™-Färbung anwenden oder eine saure Silberfärbemethode mit Entwicklung im alkalischen Bereich vorziehen (siehe Literatur). Falls Sie ArgentQuick benutzen um ein Gel zu färben, welches bereits vorher mit Coomassie™ gefärbt wurde, lassen Sie den Fixierungsschritt aus dem beiliegenden Protokoll aus und führen Sie direkt die Sensitivierung durch.

- Möchten Sie die Färbung unterbrechen, z. B. über Nacht, dann ist hierfür der zweite Sensitivierungsschritt am besten geeignet.