

GEBRAUCHSANLEITUNG

SERVAGe/™ Neutral pH 7.4 Gradient

Precast Vertical Gels for Electrophoresis

(Kat.-Nr. 43221, 43223)



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. SERVAGEL™ NEUTRAL PH 7.4 GRADIENT	3
1.1. Allgemeine Hinweise	3
1.2. Lieferumfang und Produktbeschreibung	4
1.3. Zusammensetzung der Gele	4
1.4. Lagerbedingungen	4
2. HANDHABUNG DER GELKASSETTEN/DURCHFÜHRUNG DER ELEKTROPHORESE	5
3. STANDARD-ELEKTROPHORESE	6
3.1. Trennbereich der Gele	6
3.2. Herstellen der Laufpuffer	6
3.2.1. Laemmli-Puffer für SDS-PAGE	6
3.2.2. Tris-Tricin/SDS-Laufpuffer	6
3.3. Probenvorbereitung	6
3.3.1. Denaturierende Bedingungen (SDS)	6
3.3.2. Empfohlene Probenmenge	7
3.4. Elektrophoresebedingungen	7
3.4.1. Elektrophorese mit Laemmli-Laufpuffer	7
3.4.2. Elektrophorese mit Tris-Tricin/SDS-Laufpuffer	8
4. HIGH SPEED-ELEKTROPHORESE	8
4.1. Probenvorbereitung	8
4.2. Ansetzen des Laufpuffers	9
4.3. Probenauftrag	9
4.4. Einfüllen des Puffers	9
4.5. Elektrophoresebedingungen	9
4.6. Färbung der Gele	10
5. FÄRBEPROTOKOLLE	10
5.1. Färbung mit SERVA Blau R	10
5.1.1. Reagenzien und Lösungen	10
5.1.2. Durchführung	11

6. PROTEINTRANSFER	11
6.1. Tankblotting	12
6.2. Semi-Dry Blotting	12
7. PROBLEMLÖSUNGEN	14
8. BESTELLINFORMATIONEN	15

Ver 06/11

1. SERVAGel™ Neutral pH 7.4 Gradient

1.1. Allgemeine Hinweise

SERVAGel™ Neutral pH 7.4 Gradient Gele sind gebrauchsfertige Vertikalgele mit einem Neutralpuffersystem, welches die optimale Auftrennung von großen und kleinen Proteinen in einem Gel ermöglicht.

Diese Gele können mit SDS-Tris-Glycin- (Laemmli) sowie SDS-Tris-Tricin-Puffer in der Standardelektrophorese benutzt werden.

Außerdem kann bei Verwendung des Laemmli-Puffersystems eine *High speed*-Elektrophorese bei 400 V durchgeführt werden. Die Elektrophoresezeit verkürzt sich auf 20 min. Voraussetzung hierfür ist ein ausreichend großes Puffertankvolumen der Elektrophoresekammer.

Vorteile des Produktes für den Anwender:

- einfache und schnelle Handhabung
- hohe Auflösung, scharfe Banden, beste Reproduzierbarkeit
- hergestellt mit Chemikalien höchster Qualität
- Gel gegossen in Plastikkassette, unzerbrechlich, sicher versiegelt gegen Auslaufen
- lange Trennstrecke, mit cm-Skala auf Kassette, erleichtert reproduzierbare Läufe
- Kennzeichnung von Anode und Kathode für eine eindeutige Zuordnung
- Werkzeug zum einfachen, sicheren Öffnen der Kassette nach dem Lauf
- passend für viele gängige Elektrophoresekammern
(z. B. SERVA BlueVertical™ PRiME™, Hoefer Mighty Small™ SE 260, Hoefer miniVE™ SE 300, NOVEX XCell II®, etc.)

Die Fertiggele werden nach eigenem Verfahren der SERVA Electrophoresis GmbH hergestellt und unterliegen einer strikten Qualitätskontrolle. Jeder Produktionscharge wird eine eigene Lot-Nummer zugewiesen. Sollten einmal Fragen auftreten, bitten wir, diese Lot-Nummer zusammen mit der Katalog-Nummer anzugeben.

1.2. Lieferumfang und Produktbeschreibung

Packungsgröße:

Kat.-Nr. 43221.01, 43223.01 Box mit 10 Gradienten-Neutralgelen
Kat.-Nr. 43221.03, 43223.03 Box mit 2 Gradienten-Neutralgelen

Jedes Gel ist einzeln in einem Aluthenbeutel verpackt. Es ist durch eine mit Gelpuffer benetzte Lage Filterpapier gegen Austrocknung geschützt.
Ein Schlüssel zum Öffnen der Kassetten ist jeder Packung Gele beigelegt.

Kassette:

Außenmaß 10 cm x 10 cm
Anzahl der
Probentaschen 10 oder 12
Taschenvolumen 50 µl für Gele mit 10 Taschen, 35 µl für Gele mit 12 Taschen

Gel:

Material Acrylamid/N,N'-Methylenbisacrylamid
Maße Trenngel Länge 7 cm x Breite 8 cm
Schichtdicke 1 mm

1.3. Zusammensetzung der Gele

SERVAGel™ Neutral pH 7.4 Gele enthalten **kein SDS**. Der Trennbereich der Gele für denaturierte Proteine ist der Tabelle 3.1. zu entnehmen.

Acrylamid-Konzentration (T): Gradient 4-12 %
Quervernetzer-Konz. (C): 2,6 %
Sammelgel: 5 % T, 2,6 % C
Gelpuffer: Neutralgelpuffer pH 7,4

1.4. Lagerbedingungen

Lagern Sie die Gele bei 2 – 8 °C. Frieren Sie die Gele **nicht** ein und/oder setzen Sie die Gele nicht längere Zeit Raumtemperatur aus. Dies kann den Trenneigenschaften der Gele schaden. Bei Lagerung bei der empfohlenen Temperatur mindestens verwendbar bis: siehe Etikett.

2. Handhabung der Gelkassetten/Durchführung der Elektrophorese

Sicherheitshinweis:

Tragen Sie aus Sicherheitsgründen grundsätzlich geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung, wenn Sie mit den Gelen und den dazugehörigen Lösungen arbeiten.

1. Gele der Kartonverpackung entnehmen. Gele, die nicht gleich verwendet werden, sofort wieder bei 2 – 8 °C lagern. Aluthenbeutel mit einer Schere an der Oberseite aufschneiden, Gel entnehmen.
2. Gele so in die Elektrophoresekammer einsetzen oder einspannen, dass die ausgeschnittene Seite der Kassette dem Kathodenpuffertank zugewandt ist. Detaillierte Anweisungen sind der Bedienungsanleitung der Elektrophoresekammer zu entnehmen.
3. Elektrophoresepuffer einfüllen, Kamm gleichmäßig aus dem Gel ziehen, mögliche Gelreste oberhalb der Probetaschen entfernen und Geltaschen gut ausspülen, dabei Luftblasen vermeiden bzw. entfernen.
4. Proben auftragen, Geltaschen ohne Proben mit Probenpuffer (1x) beladen.
5. Elektrophoresekammer schließen und mit der Spannungsquelle verbinden. Spannungsquelle einschalten und Elektrophorese starten.
Bedingungen: siehe Abschnitt 3.
6. Nach Beendigung der Elektrophorese Spannungsquelle ausschalten, Verbindung zur Elektrophoresekammer unterbrechen, Elektrophoresepuffer entfernen und Kassetten entnehmen.
7. Zum Öffnen der Kassette diese senkrecht halten, am besten auf dem Tisch mit der Unterkante aufsetzen. Den beigefügten Schlüssel zum Öffnen mit der mit einem Pfeil gekennzeichneten Ecke des Schlüssels in die rechte obere Führungsschiene der Kassette (Pfeilkennzeichnung) einsetzen und mit einem kurzen Schlag von oben auf den Schlüssel die Kassette aufbrechen. Kassette wenden und Gegenseite wie beschrieben öffnen.
8. Zur Entnahme des Gels Platten vorsichtig lösen, so dass das Gel auf einer der Platten verbleibt.
Das Gel kann nun zur Färbung oder zum Transfer eingesetzt werden.

3. Standard-Elektrophorese

3.1. Trennbereich der Gele

Acrylamidkonzentration (%)	Trennbereich ($M_r 10^3$)
4-12 %	6,5 - 200

Das Gradientenneutralgel ergibt eine schärfere Auftrennung der Banden im Bereich von ca. 5 – 100 kDa.

3.2. Herstellen der Laufpuffer

3.2.1. Laemmli-Puffer für SDS-PAGE

Verdünnen Sie den 10 x Laemmli Buffer for SDS PAGE 1:10 (Kat.-Nr. 42556; Zusammensetzung siehe Tabelle), der pH-Wert liegt bei 8,6.

Komponenten	Konzentration	Menge
Tris	0,25 M	30 g/l
Glycin	1,92 M	144 g/l
SDS	1 %	10 g/l

3.2.2. Tris-Tricin/SDS-Laufpuffer

Verdünnen Sie den 20x Tris-Tricine/SDS Electrophoresis Buffer 1:20 (Kat.-Nr. 42560.01, Zusammensetzung siehe Tabelle), der pH Wert liegt bei pH 8,5.

Komponenten	Konzentration	Menge
Tris	1,2 M	145 g/l
Tricin	0,8 M	143 g/l
SDS	2 %	20 g/l

3.3. Probenvorbereitung

3.3.1. Denaturierende Bedingungen (SDS)

Der SERVA Tris/Glycin/SDS Sample Buffer (2x), Kat.-Nr. 42527, enthält **kein Reduktionsreagenz**. Sie können durch Zusatz von 5 % 2-Mercaptoethanol (Kat.-Nr. 28625) oder 10 mM DTT (Kat.-Nr. 20710) bestimmen, ob reduzierende Bedingungen herrschen (Konzentrationen beziehen sich auf den 1x Probenpuffer). Da die Reduktionsreagenzien mit der Zeit oxidieren, sollte dieser Puffer immer **frisch** angesetzt werden.

- Mischen Sie Ihre Probe mit dem gleichen Volumen 2x Probenpuffer (denaturierend, Zusammensetzung des Puffers zum Selbstansetzen siehe Tabelle). Das maximale Volumen pro Tasche beträgt 35 µl (12 wells) bzw. 50 µl (10 wells).
- Erhitzen Sie die Proben für 5 Minuten auf 95 °C. Bei Fluoreszenz-markierten Proben für 5 Minuten bei 65 °C erhitzen.
- Spülen Sie die Taschen sorgfältig mit Laufpuffer.
- Tragen Sie die Proben auf, und starten Sie die Elektrophorese.

Probenpuffer Komponenten	Konzentration 2x Puffer	Menge
1 M Tris-HCl pH 6,8	0,126 M	0,625 ml
10 % (w/v) SDS	4 %	2 ml
Glycerin	20 %	1 ml
0,1 % (w/v) Bromphenolblau	0,02 %	1 ml
2 M DTT	0,02 M	0,05 ml
<i>Oder: 2-Mercaptoethanol</i>	<i>10 %</i>	<i>0,5 ml</i>
Wasser, deion.		ad 5 ml

Bei Verwendung eines **Tris-Tricin-Laufpuffers** empfiehlt sich der Einsatz eines Tris-Tricin/SDS Probenpuffers:

SERVA Tris-Tricine/SDS sample buffer (2x), Kat.-Nr. 42551.01:

900 mM Tris/HCl (pH 8,45), 24 % Glycerin, 4 % SDS, 0,015 % SERVA Blue G und 0,005 % Phenolrot

3.3.2. Empfohlene Probenmenge

Menge/Bande	Färbemethode	SERVA Produkt
0,1 - 0,5 µg Protein	SERVA Blau, Coomassie [®] Brilliant Blue	DensiStain BlueG Solution, SERVA BlueR Staining Kit
10 - 50 ng Protein	Silberfärbung	Silver Staining Kit SDS PAGE

3.4. Elektrophoresebedingungen

Die Elektrophorese wird unter folgenden Bedingungen betrieben:

3.4.1. Elektrophorese mit Laemmli-Laufpuffer

Wir empfehlen den Lauf bei konstantem Strom. Zu Beginn Proben für 15 Minuten bei 10 mA/Gel einwandern lassen.

Danach wird eine limitierende Stromstärke von 20 mA/Gel eingestellt.

Die Spannung wird dabei während des Laufs von anfangs ca. 60 V auf ca. 200 V ansteigen. **Dauer:** ca. 70 Min.

Alternativ können die Gele aber auch bei einer konstanten Spannung von 150 V betrieben werden. Die Stromstärke sinkt während des Laufs von anfangs 20 - 25 mA auf ca. 10 mA. **Dauer:** ca. 70 Min.

3.4.2. Elektrophorese mit Tris-Tricin/SDS-Laufpuffer

Die Gele werden bei einer konstanten Spannung von 150 V betrieben. Die Stromstärke sinkt während des Laufs von anfangs ca. 35 mA auf ca. 20 mA.

Dauer: ca. 50 Min.

Alternativ kann der Lauf auch bei einer konstanten Spannung von 200 V erfolgen. Die Stromstärke sinkt während des Laufs von anfangs 50 – 60 mA auf 20 – 30 mA. **Dauer:** ca. 30 Min.

Wichtig: Bei diesen Bedingungen muss für ausreichende Kühlung gesorgt werden, um einen „Smile“-Effekt zu verhindern.

4. High Speed-Elektrophorese

Bei diesem Protokoll verkürzt sich die Elektrophoresedauer auf 20 Minuten.

WICHTIG: Dieses Protokoll sollte nur mit **SDS-Tris-Glycin (Laemmli)-Puffer** durchgeführt werden. Bitte beachten Sie außerdem, dass ein ausreichend großes Puffertankvolumen der Elektrophoresekammer gewährleistet ist, z. B. SERVA BlueVertical 104, Hoefer miniVE™ SE 300, NOVEX XCell II® (siehe hierzu auch Abschnitt 4.4.).

4.1. Probenvorbereitung

- Mischen Sie Ihre Probe mit dem gleichen Volumen 2x Probenpuffer (denaturierend, SERVA Kat.-Nr. 42527). Das maximale Volumen pro Tasche beträgt 35 µl (12 wells) bzw. 50 µl (10 wells).

Probenpuffer Komponenten	Konzentration 2x Puffer	Menge
1 M Tris-HCl pH 6,8	0,126 M	0,625 ml
10 % (w/v) SDS	4 %	2 ml
Glyzerin	20 %	1 ml
0,1 % (w/v) Bromphenolblau	0,02 %	1 ml
2 M DTT	0,02 M	0,05 ml
Oder: 2-Mercaptoethanol	10 %	0,5 ml
Wasser, deion.		ad 5 ml

- Erhitzen Sie die Proben für 5 Minuten auf 95 °C. Bei Fluoreszenz-markierten Proben für 5 Minuten bei 65 °C erhitzen.

4.2. Ansetzen des Laufpuffers

Für 1x Laufpuffer geben Sie 100 ml 10x Konzentrat (SERVA Kat.-Nr. 42556) zu 900 ml H₂O bidest.

Laufpuffer Komponenten	Konzentration 10x Puffer	Menge pro Liter
Tris	0,25 M	30 g
Glycin	1,92 M	144 g
SDS	1 %	10 g

4.3. Probenauftrag

- Spülen Sie die Taschen sorgfältig mit Laufpuffer.
- Beladen Sie das Gel mit max. 35 µl (12 wells) bzw. 50 µl (10 wells) Ihrer Probe/Probentasche.

Empfohlene Probenmenge

Menge/Bande	Färbemethode	SERVA Produkt
0,1 - 0,5 µg Protein	SERVA Blau, Coomassie [®] Brilliant Blue	<i>Densi</i> Stain BlueG Solution, SERVA BlueR Staining Kit
10 - 50 ng Protein	Silberfärbung	Silver Staining Kit SDS PAGE

4.4. Einfüllen des Puffers

Füllen Sie die Pufferkammern des Elektrophoresegeräts mit 1x Laufpuffer. Die äußere Pufferkammer muss bis zum unteren Ende der Probetaschen gefüllt werden, um während der Elektrophorese eine ausreichende Kühlung zu erzielen.

4.5. Elektrophoresebedingungen

Für ein Gel sind die Laufparameter folgendermaßen:

	1 Gel / Kammer	
Spannung	400 V	300 V
Stromstärke	ca. 105 mA (Start); 65 mA (Ende)	ca. 70 mA (Start); 35 mA (Ende)
Zeit	20 min	30 min

Bitte beachten: Der Laufpuffer erwärmt sich stark während der Elektrophorese, deshalb sollte nur ein Gel je Kammer verwendet werden. Falls dennoch **2 Gele** verwendet werden, empfehlen wir die **Spannung** auf **200 V** zu reduzieren. Die **Laufzeit verdoppelt** sich dadurch.

4.6. Färbung der Gele

Die Gele sind für alle üblichen Färbemethoden z.B. SERVA Blue R (Kat.-Nr. 42531) geeignet (siehe Abschnitt 5).

5. Färbeprotokolle

Sicherheitshinweis:

Tragen Sie aus Sicherheitsgründen grundsätzlich geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung, wenn Sie mit Fixier- und Färbelösungen arbeiten.

Für beste Ergebnisse verwenden Sie die bedienerfreundlichen Färbekits von SERVA wie SERVA *DensiStain* Blue G Staining Solution (Kat.-Nr. 35078.01), SERVA Blue R Staining Kit (Kat.-Nr. 42531.01) oder den SERVA Silver Staining Kit SDS PAGE (Kat.-Nr. 35076.01) bzw. für native Gele den SERVA Silver Staining Kit Native PAGE (Kat.-Nr. 35077.01).

Sie können auch andere wie z.B. das in Abschnitt 5.1. beschriebene Färbeprotokoll einsetzen:

5.1. Färbung mit SERVA Blau R

5.1.1. Reagenzien und Lösungen

Stammlösung 1	0,2 % SERVA Blau R (Kat.-Nr. 35051) in 90 % (v/v) Ethanol (Kat.-Nr. 11093) (100 mg SERVA Blau R in 50 ml Ethanol lösen)
Stammlösung 2	20 % (v/v) Essigsäure
Entfärber	20 % (v/v) Ethanol, 5 % (v/v) Essigsäure, 1 % (w/v) Glycerin (Kat.-Nr. 23176)
Konservierungslsg.	30 % (v/v) Ethanol, 5 % (w/v) Glycerin

5.1.2. Durchführung

Führen Sie alle Fixierungen und Färbungen auf einem Schüttler bei mäßiger Umdrehungszahl (50 Umdrehungen pro min) durch. Die angegebenen Zeiten gelten für die Inkubation bei Raumtemperatur. Kürzere Färbe- und Entfärbezeiten können durch Erhöhung der Temperatur erreicht werden.

Fixierung/Färbung	Fixierung und Färbung erfolgen in einem Schritt. Stammlösungen 1 und 2 werden zu gleichen Teilen gemischt und das Gel 30 Min. und länger darin inkubiert. (Die Färbelösung kann 2 - 3 x wiederverwendet werden.)
Entfärben	Gel nach dem Färbebad 1 Minute mit dest. Wasser spülen und anschließend in Entfärber geben. 2 x 60 Minuten entfärben. Wenn der Hintergrund noch nicht klar genug ist, Gel für 20 – 30 Minuten in 40 % Ethanol/10 % Essigsäure/2 % Glycerin entfärben.
Konservieren	Gel über Nacht in Konservierungslösung inkubieren. Das Gel kann anschließend in einem Trocknungsrahmen getrocknet werden.

6. Proteintransfer

Sicherheitshinweis:

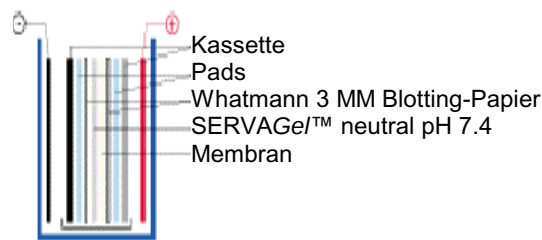
Tragen Sie aus Sicherheitsgründen grundsätzlich geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung, wenn Sie mit Gelen und Pufferlösungen arbeiten.

SERVAGel™ Neutral pH 7.4 Gele können im Tankblotter oder im Semi-Dry-Blotsystem geblottet werden. Dabei können kontinuierliche und diskontinuierliche Puffersysteme zum Einsatz kommen.

Hinweis: Beachten Sie bitte bezüglich der Transferparameter und Dauer die Angaben des Geräteherstellers (insbesondere die Angaben bezüglich max. Stromstärke und max. Spannung des Gerätes). Die Blottingdauer ist abhängig von Größe und Ladung der zu transferierenden Proteine und muss bei jeder Probe optimiert werden. Bei Markerproteinen mit mittleren Molekulargrößen ist eine Transferzeit von 60 min ausreichend.

6.1. Tankblotting

1. Schneiden Sie die Transfermembran und vier Blatt Whatmann 3 MM Papier auf Gelgröße (7 x 8 cm).
2. Äquilibrieren Sie die Membran in Transferpuffer (Towbin-Puffer, Kat.-Nr. 42558). Bei der Verwendung von PVDF-Membranen zunächst für 2 Minuten in Methanol und anschließend für weitere 5 Minuten in Transferpuffer äquilibrieren.
3. Befeuchten Sie die porösen Pads sowie die vier Blatt Whatmann 3 MM Papier ebenfalls mit Transferpuffer.
4. Entnehmen Sie das Gel der Kassette (siehe Abschnitt 2) und äquilibrieren Sie das Gel für 5 Minuten in Transferpuffer.
5. Bauen Sie das Transfersandwich auf und setzen Sie es in den Tankblotter.



6. Der Transfer erfolgt bei Raumtemperatur bei 250 mA bzw. ca. 60 V für ca. 1 - 2 Stunden (für Standardmarkerproteine).

6.2. Semi-Dry Blotting

1. Schneiden Sie die Transfermembran und vier Blatt Whatmann 3 MM Papier auf Gelgröße (7 x 8 cm).
2. Äquilibrieren Sie die Membran in Transferpuffer (Towbin-Puffer, Kat.-Nr. 42558) bzw. bei der Verwendung von PVDF-Membranen zunächst für 2 Minuten in Methanol und anschließend für weitere 5 Minuten in Transferpuffer.
3. Befeuchten Sie die vier Blatt Whatmann 3 MM Papier ebenfalls mit Transferpuffer.
3. Entnehmen Sie das Gel der Kassette (siehe Abschnitt 2) und äquilibrieren Sie das Gel für 5 Minuten in Transferpuffer.
4. Bauen Sie das Transfersandwich analog zum Tankblot-Sandwich auf, und platzieren Sie es im Semi-Dry-Blotter.
5. Der Transfer erfolgt bei Raumtemperatur mit $1,5 \text{ mA/cm}^2$ Gelfläche für ca. 1 Stunde (für Standardmarkerproteine).

Beim Transfer von unterschiedlich großen Proteinen empfiehlt sich der Einsatz eines diskontinuierlichen Blotting-Puffersystems (SERVA Semi-Dry Blotting Kit, Kat.-Nr. 42559.01).

Nach dem Transfer können die Proteine auf der Membran angefärbt werden:

- **Nachweis mit Ponceau S-Lösung** (0,2 %, Kat.-Nr. 33427): Die gewaschene Membran mit der gebrauchsfertigen Ponceau S-Lösung überschichten und ca. 5 Min. lang unter leichtem Schütteln färben. Den Hintergrund mit H₂O dest. entfärben bis die roten Banden klar sichtbar sind.
- **Färben mit Amidoschwarz:** Dazu werden die Membranen für 5 Minuten in Amidoschwarz-Färbelösung (1 % Amidoschwarz in 40 % Ethanol und 10 % Eisessig 1:10 verdünnen) inkubiert und anschließend in Entfärbelösung (40 % Ethanol, 10 % Eisessig und 2 % Glycerin) entfärbt.
Hinweis: Amidoschwarz ist keine reversible Färbung, jedoch empfindlicher im Nachweis als Ponceau S, vergleichbar mit einer Coomassie® Brilliant Blau R Färbung.

7. Problemlösungen

Erscheinungsbild	mögliche Ursache	Gegenmaßnahme
kein Strom	Stromkreis nicht geschlossen	Kontakte/Kabel von Spannungsquelle und Trennkammer überprüfen; Pufferfüllstand prüfen
wenig Strom	Parameter an der Spannungsquelle nicht richtig eingestellt	bei limit. Stromstärke die für die Kammer empfohlene Höchstspannung wählen, bei limit. Spannung Stromstärke maximal wählen
bogenförmige Pufferfront	Überhitzung	Puffer vorkühlen, Kühlung durch Umwälzthermostat oder Stromwerte reduzieren
Pufferfront wandert langsam	Laufpuffer verbraucht	stets frischen Laufpuffer verwenden
Banden sind unscharf	Diffusion nach Auftragen der Proben	Proben zügig auftragen, Elektrophorese sofort starten
	Diffusion nach der Trennung	Gel sofort nach der Elektrophorese in Fixierlösung überführen bzw. sofort färben
Banden ungleichmäßig oder verzerrt	Probevolumina zu gering oder zu unterschiedlich	mindestens 5 µl auftragen, Probevolumina annähernd gleich groß halten
	Salzgehalt der Proben unterschiedlich	Proben ggf. entsalzen (Dialyse, Gelfiltration)
	Überhitzung durch ungenügende Kühlung bei Anwendung des <i>High speed</i> -Protokolls	Ausreichend großes Laufpuffervolumen in der äußeren Pufferkammer verwenden (siehe Abschnitt 4.4.)
Streifenbildung	Präzipitat in der Probe	Probe zentrifugieren oder filtrieren
Banden breit, z. T. verschmiert	lipophile Substanzen in der Probe	Substanzen vor der Elektrophorese entfernen, evtl. SDS-Konzentration erhöhen
Bandenanzahl größer als erwartet	Protease-Aktivität	Protease-Inhibitor zusetzen, Zeit zwischen Probenvorbereitung und Lauf minimieren
	unvollständige Reduktion	Reduktionsbedingungen prüfen (evtl. Inkubationszeit verlängern, DTT-Konzentration erhöhen)

Mighty Small™ und miniVE™ ist ein Warenzeichen von Hoefer Inc.

XCell II® und ThermoFlow® Mini-Cell sind Warenzeichen von Novel Experimental Technology.

Coomassie® ist ein Warenzeichen von ICI Ltd.

8. Bestellinformationen

Fertiggele	Kat-Nr.
SERVAGel™ Neutral pH 7.4, 12 sample wells	43220
SERVAGel™ Neutral pH 7.4, 10 sample wells	43222
SERVAGel™ Neutral pH 7.4Gradient, 12 sample wells	43221
SERVAGel™ Neutral pH 7.4Gradient, 10 sample wells	43223
SERVAGel™ PRiME™ 8, 12 sample wells	43260
SERVAGel™ PRiME™ 8, 10 sample wells	43261
SERVAGel™ PRiME™ 10, 12 sample wells	43263
SERVAGel™ PRiME™ 10, 10 sample wells	43264
SERVAGel™ PRiME™ 12, 12 sample wells	43266
SERVAGel™ PRiME™ 12, 10 sample wells	43267
SERVAGel™ PRiME™ 12, 2D sample well	43268
SERVAGel™ PRiME™ 14, 12 sample wells	43269
SERVAGel™ PRiME™ 14, 10 sample wells	43270
SERVAGel™ PRiME™ 14, 2D sample well	43271
SERVAGel™ PRiME™ 4-12, 12 sample wells	43273
SERVAGel™ PRiME™ 4-12, 10 sample wells	43274
SERVAGel™ PRiME™ 4-20, 12 sample wells	43276
SERVAGel™ PRiME™ 4-20, 10 sample wells	43277
SERVAGel™ PRiME™ 8-16, 12 sample wells	43279
SERVAGel™ PRiME™ 8-16, 10 sample wells	43280
SERVAGel™ PRiME™ Starter Kit	43206
SERVAGel™ Neutral HSE, 12 sample wells	43245
SERVAGel™ Neutral HSE, 10 sample wells	43246
SERVAGel™ Neutral HSE, 2D	43247
SERVAGel™ Neutral HSE Starter Kit	43207
Geräte	
BlueVertical PRiME™ Mini Slab Gel System BV 104	BV 104
Blue Power 500x4 Power Supply	BP-500x4
BlueFlash Semi-Dry Blotter Medium (15 x 15 cm)	BF-M
Proteinmarker	
SERVA Protein Test Mixture 6 for SDS PAGE (6.5 – 97.4 kDa)	39207.01
SERVA Unstained SDS PAGE Protein Marker (6 – 200 kDa)	39215.01
SERVA Prestained SDS PAGE Protein Marker (6 – 200 kDa)	39216.01
SERVA Recombinant SDS PAGE Protein Marker (10 – 150 kDa)	39217.01
SERVA Recombinant SDS PAGE Protein Marker PLUS (10 – 150 kDa)	39218.01
Protein MW Standards for Native PAGE (12 – 450 kDa)	39064.01
Färbereagenzien und -Kits:	
SERVA DensiStain Blue G Staining Solution (2fach konzentriert, 500 ml)	35078.01
SERVA Blue R Staining Kit (2 x 500 ml)	42531.01
SERVA Silver Staining Kit SDS PAGE (25 Minigele)	35076.01
SERVA Silver Staining Kit Native PAGE (25 Minigele)	35077.01
SERVA Blue G	35050
SERVA Blue R	35051
Amidoschwarz 10 B (50 g)	12310.01
Ponceau S Lösung (0,2 %, 500 ml)	33427.01
Silbernitrat	35110

Puffer etc.	
SERVA Tris-Glycine/SDS electrophoresis buffer (10x)	42529
SERVA Tris-Glycine/SDS sample buffer (2x)	42527
SERVA Tris-Glycine native electrophoresis buffer (10x)	42530
SERVA Tris-Glycine native sample buffer (2x)	42528
Laemmli Buffer 10x, for SDS PAGE	42556
SERVA Tris-Tricine/SDS electrophoresis buffer (20x)	42560
SERVA Tris-Tricine/SDS sample buffer (2x)	42551
Towbin Buffer 10x, for Western Blotting (1 L)	42558.01
Semi-Dry Blotting Buffer Kit (3 x 500 ml)	42559.01
Bromphenolblau, Natriumsalz	15375
Dithiothreitol	20710
Ethanol, undenaturiert, absolut	11093
Glycerin (1L)	23176.01
2-Mercaptoethanol	28625
Glycine	23390
N-Tris(hydroxymethyl)methylglycine (Tricine)	37195
Tris(hydroxymethyl)aminomethan	37186
SDS in pellets	20765
SDS solution, 20 %	20767
Membranen	
Immobilon (PVDF), 26,5 cm x 3,75 m, Porengröße: 0,2 µm (1 Rolle)	42574.01
Fluorobind (PVDF), 10 x 10 cm, Porengröße: 0,2 µm (20 Blatt)	42573.01
Fluorobind (PVDF), 25 cm x 3 m, Porengröße: 0,2 µm (1 Rolle)	42571.01