

## **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](mailto:info@serva.de) • <http://www.serva.de>

## **Inhaltsübersicht**

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

# 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 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	<b>Trockensubstanz:</b> +15 °C bis + 30 °C
	<b>Rekonstituiert:</b> +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  
2,5 g Zitronensäure  
ad 500 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 2, 250 ml (unter Rühren mischen):  
50 ml dH<sub>2</sub>O  
25 ml Solution A  
25 ml Solution B  
81 mg Natriumthiosulfat  
79 ml Ethanol  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 3, 250 ml (unter Rühren mischen):  
**ACHTUNG: Diese Lösung enthält Silber.**  
100 ml dH<sub>2</sub>O  
5 ml Solution C  
25 ml Solution B  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O  
325 µl Formaldehyde (37 %)
- Lösung, 4, 250 ml (unter Rühren mischen):  
200 ml dH<sub>2</sub>O  
25 ml Solution D  
325 µl Formaldehyde (37 %)  
250 µl Solution E  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 5, 250 ml:  
(1 % w/v Glycin)  
2,5 g Glycin  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 6, 250 ml:  
15 ml Glyzerin (85 %)  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O

<b>Schritt</b>	<b>Lösung</b>	<b>Inkubationszeit</b>
1. Fixierung	Lösung 1	45 min
2. Fixierung	Lösung 1	45 min
3. - 6. Waschen	je 250 ml dH <sub>2</sub> O	4 x 10 min
7. Sensitizing	Lösung 2	30 min
8. - 11. Waschen	je 250 ml dH <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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 dH<sub>2</sub>O
- Lösung 2, 250 ml (unter Rühren mischen):  
50 ml dH<sub>2</sub>O  
25 ml Solution A  
25 ml Solution B  
81 mg Natriumthiosulfat  
25 ml Glutaraldehyd (25 %)  
79 ml Ethanol  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 3, 250 ml (unter Rühren mischen):  
**ACHTUNG: Diese Lösung enthält Silber.**  
100 ml dH<sub>2</sub>O  
5 ml Solution C  
25 ml Solution B  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O  
325 µl Formaldehyde (37 %)
- Lösung 4, 250 ml (unter Rühren mischen):  
200 ml dH<sub>2</sub>O  
25 ml Solution D  
325 µl Formaldehyde (37 %)  
250 µl Solution E  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 5, 250 ml:  
(1 % w/v Glycin)  
2,5 g Glycin  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O
- Lösung 6, 250 ml:  
15 ml Glyzerin (85 %)  
ad 250 ml dH<sub>2</sub>O

<b>Schritt</b>	<b>Lösung</b>	<b>Inkubationszeit</b>
1. Fixierung	Lösung 1	45 min
2. Fixierung	Lösung 1	45 min
3. - 6. Waschen	je 250 ml dH <sub>2</sub> O	4 x 10 min
7. Sensitizing	Lösung 2	30 min
8. - 11. Waschen	je 250 ml dH <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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

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