

8 Anhang

Lösungen für die 2-DE

Lösung zur Proteindesorption (Lösung D)

SDS	1,0 g
DTE	0,232 g
Aqua bidest.	ad 10,0 ml

Lösung zur Solubilisierung der desorbierten Proteine vor der IEF

Harnstoff	24,0 g	8 M
CHAPS	2,0 g	4% (w/v)
TRIS	0,25 g	40 mM
DTE	0,5 g	65 mM
Bromphenolblau-Lsg. (0,25%, (w/v))	100 µl	
Aqua bidest.	ad 50 ml	

Rehydratisierungslösung für Immobiline DryStrips (Amersham Pharmacia Biotech)

Harnstoff	15,0 g	5 M
Thioharnstoff	7,6 g	2 M
CHAPS	1 g	2% (w/v)
DTE	0,08 g	10 mM
Resolyte pH 3,5-10	1 ml	2% (v/v)
Bromphenolblau-Lsg. (0,25%, (w/v))	0,3 ml	
Aqua bidest.	ad 50,0 ml	

Proteintransfer von der IEF zur SDS-PAGE (Äquibrierungslösungen)

Äquibrierungslösung I

DTE	2,0 g
SDS	3,0 g
TRIS-HCl Puffer pH 6,8	10,0 ml
Glycerol (87%)	34,5 g
Harnstoff	36,0 g
Bromphenolblau-Lsg. (0,25%, (w/v))	0,5 ml
Aqua bidest.	ad 100,0 ml

Äquibrierungslösung II

Iodoacetamid	4,0 g
SDS	2,0 g
TRIS-HCl Puffer pH 6,8 (0,5 M)	10,0 ml
Glycerol (87%)	34,5 g
Harnstoff	36,0 g
Bromphenolblau-Lsg. (0,25%, (w/v))	0,5 ml
Aqua bidest.	ad 100,0 ml

SDS-PAGE-Gele mit Acrylamid-Gradient 9-16% (für 9 Gele)**Lösung 8,59% Acrylamid**

TRIS-HCl Puffer pH 8,8 (1,5 M)	66,5 ml
Acrylamid/PDA-Lösung (30%/0,8%)	76 ml
Aqua bidest.	120,5 ml
Natriumthiosulfat-Lösung (5%)	1,3 ml
TEMED-Lösung	100 µl
Ammoniumpersulfat-Lösung (10%)	1,0 ml

Lösung 16,84% Acrylamid

TRIS-HCl Puffer pH 8,8 (1,5 M)	66,5 ml
Acrylamid/PDA-Lösung (30%/0,8%)	149 ml
Aqua bidest.	47,5 ml
Natriumthiosulfat-Lösung (5%)	1,3 ml
TEMED-Lösung	100 µl
Ammoniumpersulfat-Lösung (10%)	1,0 ml

SDS-PAGE**Oberer Elektrodenpuffer**

SDS	1,0 g
TRIS	3,0 g
Glycin	14,9 g
Aqua bidest.	ad 1000,0 ml

Unterer Elektrodenpuffer

SDS	14,0 g
TRIS	42,4 g
Glycin	208,0 g
Natriumazid	3 g
Aqua bidest.	ad 14 Liter

Silberfärbung**Protokoll zur Proteinfixierung**

1	Aqua bidest.	5 min waschen
2	Ethanol 96% (unvergällt) 800,0 ml	60 min
	Essigsäure 99% 200,0 ml	
	Aqua bidest. ad 2000,0 ml	
3	Ethanol 96% (unvergällt) 100,0 ml	mind. 120 min
	Essigsäure 99% 100,0 ml	
	Aqua bidest. ad 2000,0 ml	

Protokoll zur Silberfärbung

1	Aqua bidest.	5 min waschen
2	Glutaraldehyd 50% 20,0 ml	30 min
	Natriumacetat-Trihydrat 68,0 g	
	Aqua bidest. ad 1000,0 ml	
3	Aqua bidest.	3 x 10 min waschen
4	2,7-Naphthalindisulfonsäure 1,0 g	2 x 30 min
	Aqua bidest. ad 2000,0 ml	
5	Aqua bidest.	4 x 15 min waschen
6	Silbernitrat 6,0 g	30 min (Färbelösung auf 8 Gele aufteilen)
	NaOH (10N) 1,5 ml	
	Ammoniaklösung (25%) 10,0 ml	
	Aqua bidest. ad 750,0 ml	
7	Aqua bidest.	4 x 4 min waschen
8	Citronensäure-Monohydrat 0,15 g	ca. 7 min (Entwicklerlösung auf 4 Gele aufteilen)
	Formaldehydlösung (mind. 37%) 2,0 ml	
	Aqua bidest. ad 2000,0 ml	
9	Essigsäure 99% 100,0 ml	Entwicklungsstop
	Aqua bidest. ad 2000,0 ml	