

Objet et domaine d'application :

Coloration des protéines peu abondantes, non détectées avec une coloration au bleu de coomassie, contenues dans un gel SDS-PAGE. (Action sur les groupes amino, groupes sulfure des résidus cystéine et méthionine et éléments de structure tridimensionnelle).

Rq : Cette coloration est utilisable après une coloration au bleu de coomassie

Hygiène et sécurité :

- Ethanol : (R11) Facilement inflammable (S7-16).
- Acide acétique : (R10-35) Inflammable. Provoque des brûlures graves (S23-26-36/37/39-45) Porter des gants et des lunettes, ne pas respirer les vapeurs.
- Nitrate d'argent : (R24-34) Toxique par contact avec la peau. Provoque des brûlures. (S26-27-36/37/39) Porter des gants et des lunettes. Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé.
- Formaldéhyde : (R23/24/25-34-40-43) Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Provoque des brûlures. Possibilité d'effet irréversibles. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. (S26-36/37/39-45-51) Porter des gants et des lunettes. Utiliser dans des zones bien ventilées.
- Glutardialdéhyde : (R22-23-34-42/43) Nocif en cas d'ingestion, toxique par inhalation, provoque des brûlures, peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau. (S26-36/37/39-45-51).
- Carbonate de sodium : (R36) Irritant pour les yeux. (S22-26).
- EDTA-Na2 : (R22-36) Nocif en cas d'ingestion. Irritant pour les yeux (S22-26).

Principe de la méthode :

- Merrill, C. R., Goldman, D. and Van Keuren, M. L., "Simplified Silver Protein Detection and Image Enhancement Methods in Polyacrylamide Gels," *Electrophoresis*, **3**, 17 (1982).

- Simplified method for silver staining of proteins in polyacrylamide gels and the mechanism of silver staining. *Electrophoresis* 6 (1985) 103–112, Heukeshoven, J. and Dernick, R.

Réactifs :

Désignation	Marque, ref ou qualité	Poids Moléculaire	Température de conservation	Lieu de stockage	prix
Silver staining kit (Pour 10 grand gels)	Amersham 17115001		RT	Labo 2	90€
Ethanol 96%		46.07	RT	Sous hotte	
Acide acétique	Prolabo 20.104.243	60.05	RT	Sous hotte	

Appareillage :

Balancelle et hotte (ou zone bien ventilée)

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Gitton Christophe	Karine Roy	Céline Henry
Fonction :	Technicien	Thésarde	IE
Visa :			Cellule AQ

I Préparation des réactifs jour J :

Utiliser les produits du kit de coloration

II Mode opératoire

Mettre des gants et des lunettes

1/ Fixation :

Ethanol	100mL	
Acide acétique	25mL	
Eau déionisée QSP	250mL	Agiter 30 min

2/ Sensibilisation :

Ethanol	75mL	
Glutardialdehyde (25%) spectrométrie de masse MALDI-TOF)	1.25mL (facultatif : non compatible avec la	
Thiosulfate de sodium (5% w/v)	10mL	
Acétate de sodium	17g (un sachet)	
Eau déionisée QSP	250mL	Agiter 30 min

3/ lavage :

Eau déionisée	250mL	3×5 min
---------------	-------	---------

4/ Réaction à l'argent :

Solution nitrate d'argent (2.5% w/v)	25mL	
Formaldehyde (37% w/v)	0.1mL	
Eau déionisée QSP	250mL	Agiter 20 min

5/ lavage :

Eau déionisée	250mL	2×1 min
---------------	-------	---------

5/ Révélation :

Carbonate de sodium	6.25g (un sachet)	
Formaldehyde (37% w/v)	0.05mL	
Eau déionisée QSP	250mL	Agiter 2 à 5 min (stopper au moment opportun)

5/ Stopper la révélation :

EDTA-Na ₂ . 2H ₂ O	3.65g (un sachet)	
Eau déionisée QSP	250mL	Agiter 10 min

Rincer à l'eau déionisée

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Gitton Christophe	Karine Roy	Céline Henry
Fonction :	Technicien	Thésarde	IE
Visa :			Cellule AQ