

Coloration des protéines : méthode au nitrate d'argent (d'après Schägger 2006 Nature protocols)

>> méthode optimisée pour les gels de type Tricine-SDS-page, les protéines membranaires et compatible spectro de masse.

Incuber successivement le gel dans :

1. solution de fixation : entre 30 min à 60 min pour un gel de 0,7 mm à 1,5 mm d'épaisseur à T%=16. Pause possible.
2. eau milliQ : même temps que étape 1. Pause possible.
3. sensibilisation du gel au thiosulfate de sodium : même temps que étape 1
4. nitrate d'argent : même temps que étape 1
5. rinçage rapide avec eau milliQ : qq secondes
6. développement de la coloration : carbonate de sodium (Na_2CO_3) 2% (4g / 200ml), formaldéhyde 0,036% (72 μl / 200ml)¹
7. stoppe la réaction avec EDTA 50 mM (~même temps que étape 1)²
8. lavage à l'eau milli Q

solution de fixation : préparer plusieurs heures à l'avance (désactiver les aldéhydes contaminants de l'ammonium) : méthanol 50 %, ac. acétique 10 %, acétate d'ammonium 100 mM \Leftrightarrow 7,7 g/l.

thiosulfate de sodium : $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,005% \Leftrightarrow 10 mg / 200 ml

Nitrate d'argent : AgNO_3 0,1% \Leftrightarrow 200 mg / 200 ml

Developpeur : Na_2CO_3 2% \Leftrightarrow 4 g / 200 ml, formaldéhyde 0,036% (72 μl / 200 ml)

¹début de la coloration en 2 minutes d'après Schagger...d'après moi c'est plutôt 20 minutes.

²pour la spectro de masse, enlever rapidement l'EDTA pour pouvoir rincer à l'eau au plus vite les restes de formaldéhyde