

Smart Protein Layers

Quick Guide Protein Labeling

1 Benötigte Materialien für das SPL-labeling

- Smart Label Working Solution (SLW)
- SPL Buffer
- SPL Smartalyzer (SMA)
- 60 mM DTT (frisch angesetzt)
- Calibrator-Mix
- Probe mit einer Konzentration von ca. 5 µg/µl

(bei Konzentrationen unter 1 µg/µl fragen Sie das Service Team)

2 Herstellung SLW (nur vor der ersten Anwendung)

1. Lassen Sie Smart Label Reagent A und Smart Label Reagent B bis auf Raumtemperatur erwärmen und zentrifugieren Sie kurz.
2. Zum Lösen des Smart Label entnehmen Sie 15 µl aus Smart Label Reagent B (beinhaltet Molsiebe, um Wasserkontamination zu vermeiden) und überführen diese in Smart Label Reagent A. Mischen Sie sorgfältig und zentrifugieren Sie kurz.
3. Überführen Sie die gesamte Flüssigkeit aus Smart Label Reagent A in Smart Label Reagent B, mischen und zentrifugieren Sie kurz.
4. Die SLW ist nun gebrauchsfertig und bis zu 6 Monate haltbar. Lagern Sie nicht verwendete SLW bei -20°C bis -80°C.

3 Vorbereitung des Calibrator (CAL)- Mix

1. Überführen Sie pro Gel 8 µl des CAL A (Größenstandard) und 2 µl des CAL B (sek. AK-Kontrolle) in ein frisches Reaktionsgefäß.
2. Geben Sie pro Gel 2 µl 60 mM DTT (frisch hergestellt) zu und mischen Sie kurz.
3. Denaturieren Sie den CAL-Ansatz für 5 min bei 95°C.
4. Der CAL ist nun bereit für die elektrophoretische Auftrennung.
5. Tragen Sie pro Gel 12 µl CAL auf.

Smart Protein Layers

Quick Guide Protein Labeling

4 Vorbereitung des Reaktions- und Lade- Mixes (RL Mix)

6 µl	SPL Buffer	} x (n*+1)	*Probenzahl
2 µl	60 mM DTT		
2 µl	SMA (S oder L)		

Hinweis

Sowohl SMA als auch CAL B können verdünnt eingesetzt werden, sollte die Signalstärke zu hoch sein. Setzen Sie in diesem Fall eine Vorverdünnung an (z.B. 1:100 in H₂O). Die einzusetzenden Volumina für das einzelne Experiment sollten sich nicht ändern.

5 SPL-Labeling

Variante A) Gleiche Volumina mit unterschiedlichen Konzentrationen (nur mit SPL möglich)

Protein-Konz.	Proben-Volumen	H ₂ O**	RL-Mix	SLW	Denaturier.	Gel-Beladung
bis zu 10 µg/µl	10 µl	-	10 µl	1 µl	5 min, 95 °C	21 µl

Variante B) Gleiche Proteinmengen in unterschiedlichen Volumina (Beispiel in Tabelle)

50 µg	4 µl	6 µl	10 µl	1 µl	5 min, 95 °C	21 µl
50 µg	9 µl	1 µl	10 µl	1 µl	5 min, 95 °C	21 µl

** oder Puffer, in welchem die Probe gelöst wurde

Für ein Pipettierschema als Excel Sheet fragen Sie Ihr NHD Service Team (info@dyeagnostics.com).