**SILVER STAINING COMPATIBILE CON ANALISI MS**

**FISSAGGIO del gel**

Staccare e immergere il gel in una soluzione fixing (FIX):

**FIX**: 50 % Metanolo (MetOH)

10% Acido acetico

Lasciare il gel in FIX per 10 min, rimuovere la soluzione FIX, lavare fino a pH neutro e procedere con la colorazione.

E’ possibile colorare all’argento il gel dopo una colorazione al Coomassie (se quest’ultima risultasse troppo poco sensibile), in tal caso è necessario lavare in acqua 3x 10 min fino ad avere un pH neutro (6-7) e non è necessario ripetere il Fissaggio.

**SILVER STAINING**

Prima di procedere alla colorazione assicurarsi che la soluzione acquosa in cui è immerso il gel sia a pH neutro, altrimenti lavare ancora.

Soluzioni da preparare (prepare fresche le sol di AgNO3 e di sviluppo)

**Sensit**: Na2S2O3 0,02% (0,1g in 500ml) 🡪 si può conservare a 4°C e si usa fredda

**Silver**: AgNO3 0,2% (0,1g in 50 ml)

**Svilupp**o: Vtot=50 ml 1,5g Na2CO3 + 1 ml Na2S2O3 0,02% 100 formaldeide 37% *(non usare mai glutaraldeide: non è compatibile con la massa!)*

**Blocking:** Acido acetico 6%

Sequenza

- Immergere il gel nella sol **Sensit** (Na2S2O3) per 2-3 min in agitazione

- Fare 2-3 lavaggi veloci in H2O (2-3 min ciascuno)

- Immergere il gel nella soluzione **Silver** (AgNO3) per 25 min in agitazione

- Fare 2-3 lavaggi veloci in H2O (2-3 min ciascuno)

- Immergere il gel nella sol di **Sviluppo** agitando un pò fino a contrasto ottimale: se la soluzione diventa gialla, rinnovare la sol di Sviluppo in cui è immerso il gel.

- Quando il contrasto è ritenuto ottimale, *rimuovere velocemente* la sol di Sviluppo e sostituirla con la sol di **Blocking.** Il gel può essere conservato in questa soluzione o in acqua (in quest’ultimo caso in particolare è suggerita la conservazione a 4°C per evitare formazione di muffe).

N.B.: Seguire con molta attenzione le **Linee Guida** per evitare contaminazioni