

Instruktionen zur Benutzung des Ettan Dige®-Systems

- Für ein gutes Experiment sollten 3-4 2D-Gele angefertigt werden.
- Für externe Kollaborationen sollte die Proteinaufreinigung in Hinblick auf die von Amersham vorgeschriebenen Protokolle abgesprochen sein.
- Am besten ist es, wenn man mit dem Proteinextrakt bereits ein 2D-Gel gemacht hat (Silver-staining; am besten Foto zeigen oder mitbringen).
- Pro Gel werden insgesamt 150µg Protein benötigt:

50µg "untreated" Extrakt

50µg "treated" Extrakt

50µg Mischung aus beiden Proteinextrakten = interner Standard

AS1: Färbung der Proteinextrakte: mit 400 pmol Fluorochrom pro 50 µg Extrakt

Dauer: 1 Stunde

Einzelkosten: 150 Euro pro Gel = 3 Farbstoffe für 3 Extrakte

Gesamtkosten: Bei 3-4 Gelen werden deshalb Euro 600.- veranschlagt

AS2: Vorquellen und Isoelektrische Fokussierung

Dauer: 24 h Vorquellzeit und 24h IEF

Kapazität: maximal 6 Strips

Einzelkosten: Strips á 18cm oder á 24 cm stehen zur Verfügung (18cm = 8 Euro; 24cm = 10 Euro)

Gesamtkosten: Bei 3-4 Gelen werden deshalb Euro 32-40 veranschlagt.

AS3: 2D Gel-Elektrophorese

Dauer: 5-16h

Kapazität: maximal 6 Gele

Einzelkosten: Gel kostet 10 Euro

Gesamtkosten: Bei 3-4 Gelen werden deshalb Euro 40 veranschlagt.

AS4: Scannen & Auswertung am Fluoreszenz-Scanner

Dauer: Scannen eines Gels: 1h; Auswertung für 4 Gele: 6h

Gesamtkosten: Bei 3-4 Gelen werden 180 Euro veranschlagt.

AS5: Spotpicken / Trypsinverdau / Massenspektrometrische Analyse

Dauer: Spotpicking: 1h; Trypsinverdau: O/N; Massenspektrometrie: 5 h

Einzelkosten: Pro analysierten Spot 15 Euro

Gesamtkosten: Bei 50 Spots werden 750 Euro veranschlagt.

A. Aufstellung der Arbeitszeit & Kosten

(intern - im Rahmen einer wissenschaftlichen Kooperation)

	Zeit in Stunden	Materialkosten in Euro
AS1	1	600
AS2	(24+)24	32-40
AS3	5-16	40
AS4	10	180
AS5	22	750 (pro 50)
Summe	7 Arbeitstage	max. 1610 Euro

B. Aufstellung der Arbeitszeit & Kosten

(extern - ohne eine wissenschaftliche Kooperation)

	Arbeitszeit in Euro	Materialkosten in Euro
Summe	1000 Euro	1610 Euro

C. Zuschläge für ZAFES

Summe	20 %
--------------	------

Kontaktpersonen:

Dr. Thorsten Strube (th.strube@zafes.de)

Dr. Yvonne Syha (y.syha@zafes.de)