

Kolloidale Coomassie-Färbung: „Blue Silver“ Stain

Zusammensetzung der Färbelösung:

0,12% Coomassie Brilliant Blue G-250 (w/v), 10% Ammoniumsulfat (w/v), 10 % Phosphorsäure (v/v), 20% Methanol (v/v).

Herstellung der „Blue Silver“ Färbelösung:

1/10 des Endvolumens an Wasser vorlegen und die benötigte Menge Phosphorsäure zugeben, so dass die Endkonzentration der Phosphorsäure in der fertigen Lösung 10% beträgt. Anschließend Ammoniumsulfat als Pulver hinzugeben (ebenfalls 10% bezogen auf die fertige Lösung) und unter Rühren auflösen. Anschließend 0,12 % Coomassie Brilliant Blue G-250 zugeben und unter Rühren auflösen. Wenn alle Feststoffe gelöst sind, mit Wasser bis auf 80% des Endvolumens auffüllen. Schließlich wasserfreies Methanol unter Rühren zugeben bis 100% des Endvolumens erreicht sind. Es entsteht eine dunkelgrüne Lösung, die bei der Adsorption an Proteine in SDS-Polyacrylamidgelen eine tiefblaue Farbe annimmt. Die Lösung sollte in einer braunen Flasche aufbewahrt werden und ist bei Raumtemperatur ca. 6 Monate stabil.

Färbung der Gele:

Im Anschluss an die Elektrophorese die Gele in der Färbelösung bis zum Erreichen der gewünschten Intensität oder bis zum Endpunkt (über Nacht) inkubieren. Anschließend das Gel 2 x 30 min in Wasser waschen, um den Hintergrund zu entfärben.

Referenz:

Candiano, G., Bruschi, M., Musante, L., Cantucci, L. *et al.*,
Blue Silver: A very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for
proteome analysis. *Electrophoresis* (2004), 25, 1327–1333.

Ein guter Übersichtsartikel mit Protokollen für Coomassie-Färbungen:
Westermeier, R.

Sensitive, quantitative, and fast modifications for coomassie blue staining of polyacrylamide gels.
Proteomics (2006), 6, Supplement 2, 61-64.