

### Colorazione delle proteine con Comassie Instant Blue

a cura di G. Nappo

Uno dei coloranti più utilizzati per evidenziare le proteine su gel è il Comassie Blue. Si tratta di una famiglia di coloranti sviluppati oltre cent'anni fa per l'industria tessile e utilizzati negli anni '60 per la prima volta in ambito biochimico. Il Comassie si lega alle proteine principalmente grazie alla presenza nella molecola di gruppi solfonici che interagiscono con i residui basici presenti nella catena polipeptidica. Grazie alla sua versatilità, il Comassie permette di colorare proteine in soluzione, su gel denaturanti o nativi, di poliacrilammide o agarosio.

#### Obiettivo

Evidenziare le proteine dopo la separazione elettroforetica su gel (di poliacrilammide o di agarosio) utilizzando una colorazione a base di Comassie Blue.

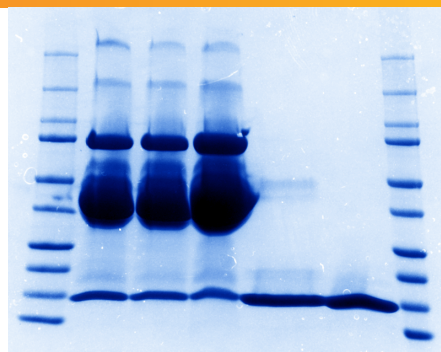
#### Procedimento

1. Rimuovere il gel dal supporto di corsa facendo attenzione a non romperlo.
2. Posizionare il gel in una vaschetta di plastica trasparente pulita.
3. Sciacquare con acqua.
4. Mescolare accuratamente la soluzione di colorazione invertendo più volte.
5. Dopo aver rimosso tutta l'acqua dalla vaschetta aggiungere circa 20 ml di soluzione di colorazione.
6. Coprire la vaschetta con il coperchio o con uno strato di pellicola trasparente e lasciare in agitazione a temperatura ambiente per circa 20 minuti.
7. Rimuovere la soluzione di colorazione e aggiungere acqua.
8. Effettuare 5 risciacqui veloci del gel.
9. Effettuare 3 lavaggi in acqua di 5 minuti ciascuno.
10. Osservare le bande ottenute.

#### Osservazioni

Se le bande risultassero troppo deboli è possibile effettuare la colorazione per tempi più lunghi, coprendo la vaschetta di incubazione in modo da evitare che il gel vada a secco. Generalmente, per un gel di poliacrilammide, dopo un'ora di incubazione si raggiunge il massimo del segnale.

Lo stesso protocollo può essere applicato anche a gel di proteine corsi su matrice di agarosio. In questo caso sarà necessario allungare i tempi di colorazione e decolorazione.



#### Tempo previsto

45 minuti

#### Materiale e Reagenti

- ✓ Gel di elettroforesi di proteine
- ✓ Guanti
- ✓ Vaschetta di plastica trasparente
- ✓ Acqua distillata
- ✓ Soluzione di colorazione InstantBlue Expedeon (Cat. ISB1L)

#### Strumentazione

- ✓ Agitatore