



Gebrauchsanweisung

Roti®-Blue

Kolloidale Coomassie-Färbung

A. Einleitung

Roti®-Blue ist eine kolloidale CBBG-250 Färbung für Proteine in Polyacrylamidgelen. Durch seine kolloidalen Eigenschaften bindet der Farbstoff mit hoher Spezifität an Proteine und nur minimal an die Gelmatrix. Dadurch entfallen die ausgedehnten Waschschriffe zur Hintergrundentfärbung.

Die Sensitivität von Roti®-Blue ist mit der von Silberfärbungen vergleichbar (<30 ng/Protein).

Roti®-Blue eignet sich auch zum Anfärbung von Membranen nach dem Transfer (Blot).

B. Färbung mit Roti®-Blue

Die Proteinbanden können Sie bereits nach 30 min erkennen. Diese sind dann an der Oberfläche gefärbt. Die Tiefenfärbung findet im Verlauf der folgenden Stunden (abhängig von der Geldicke) statt. Die Hintergrundfärbung bleibt auch bei Übernacht-Inkubationen (15 h) minimal.

Während des Färbevorgangs das Gel sanft schütteln. Je nach Schüttel- und Temperaturbedingungen fallen bei längeren Färbedauern größere Kolloidkomplexe aus. Dies beeinträchtigt die Färbungsqualität nicht.

Es empfiehlt sich nach der Färbung das Gel für den Waschvorgang in eine zweite, saubere Färbeschale zu überführen. Auf dem Gel ausgefallene Farbstoffkomplexe lassen sich in der Waschlösung durch ruckartige Bewegungen in Lösung bringen.

Für Gele, die nach dem Färben geblottet werden sollen, empfehlen wir das Färben ohne Fixierungsschritt.

C. Färbungsprotokoll

Die Rezepte für die Fixierlösung, Roti®-Blue Färbelösung, Waschlösung, Stabilisierungslösung und Trocknerlösung finden Sie unter Punkt D beschrieben.

A) Färbung ohne Fixierung

Empfohlen für Gele bis 12 ml Volumen vor dem Blotten

1. Inkubieren Sie Ihr Gel nach der Elektrophorese für 2-15 h direkt in 100-200 ml 1x Roti®-Blue Färbelösung. Fahren Sie dann fort wie unter Punkt B.2. beschrieben.

Alternativ:

B) Färbung mit Fixierung

Empfohlen für alle Gele, die nicht geblottet werden sollen.

1.a. Inkubieren Sie Ihr Gel nach der Elektrophorese für 60 min in 100-300 ml Fixierlösung.

1.b. Anschließend inkubieren Sie das Gel für 2-15 h in 100-300 ml 1x Roti®-Blue Färbelösung.

2. Waschen: Überführen Sie das Gel in eine saubere Färbeschale. Inkubieren Sie das Gel unter Schütteln in 100 ml Waschlösung für 5 min.

Auf dem Gel ausgefallene Farbstoffkomplexe lassen sich in der Waschlösung durch ruckartige Bewegung in Lösung bringen.

3. Aufbewahrung: In der Stabilisierungslösung können Sie Ihr Gel über einen längeren Zeitraum aufbewahren. Nehmen Sie einen dicht verschlossenen Behälter, da bei Wasserverlust das Gel schrumpft.

4. Trocknen: Inkubieren Sie Ihr Gel unter Schütteln in 100 ml Glycerinlösung für 30 min. Wechseln Sie die Glycerinlösung nach 15 min. Das Gel kann dann zwischen Cellophanfolien getrocknet werden wie dort beschrieben.

C) Färbung von Membranen vor Western-Nachweisreaktionen

1. Inkubieren Sie die Membran nach dem Blot für 15 min. bis 1 h direkt in 100-200 ml 1x Roti®-Blue Färbelösung. Die Banden sollten nur schwach angefärbt werden.

2. Waschen Sie die Membran für ca. 5 min. in Waschlösung.

3. Vor den Nachweisreaktionen: Entfärben Sie die Membran für ca. 30 min in PBS oder TBS.

D. Puffer und Lösungen

Fixierlösung (100 ml):

79 ml H₂O + 1 ml o-Phosphorsäure 85 % + 20 ml Methanol

Roti®-Blue Färbelösung (100 ml):

Schütteln Sie die Flasche Roti®-Blue (5X-Konz.) vor dem Ansetzen der Färbelösung mehrmals kräftig durch !

1. Mischen Sie 60 ml H₂O + 20 ml Methanol.
2. Geben Sie unter Rühren 20 ml Roti®-Blue (5X-Konz.) dazu.

Die fertige Färbelösung ist keine klare Lösung. Sie enthält Farbstoff in kolloidaler Form. Die Farbstoffkügelchen lösen sich erst nach und nach während des Färbeprozesses. Eine Überfärbung des Gels wird so vermieden, da der Farbstoff sofort an die Proteine bindet und nur minimal an die Gelmatrix.

Waschlösung (100 ml):

25 ml MeOH 99,8 % + 75 ml H₂O

Stabilisierungslösung (100 ml):

20 g Ammoniumsulfat in Gesamtvolumen 100 ml lösen.

Glycerinlösung vor dem Geltrocknen (100 ml):

10 ml Glycerin 99,5 % + 20 ml Ethanol + 70 ml H₂O

Empfohlene Reagenzien von Roth:

- Methanol, p.A., Best.-Nr. 4627.1
- Phosphorsäure, p.A., Best.-Nr. 6366.1
- Ethanol, p.A., Best.-Nr. 9065.1
- Glycerin p.A., Best.-Nr. 3783.1
- Ammoniumsulfat, Best.-Nr. 9212.1
- Roti®-Stock 10x PBS, Best.-Nr. 1058.1
- Roti®-Stock 10x TBS, Best.-Nr. 1060.1
- Geltrocknungsrahmen MINI Best.-Nr. K420.1
- Ersatzpackung Cellophan MINI Best.-Nr. K422.1
- Geltrocknungsrahmen MINI Best.-Nr. K421.1
- Ersatzpackung Cellophan MINI Best.-Nr. K423.1

Roti®-Blue	A152.2	250 ml
	A152.1	1 l



Instructions for use

Roti®-Blue

Colloidal Coomassie staining

A. Introduction

Roti®-Blue is a colloidal CBBG-250 staining solution for proteins in polyacrylamide gels. Its colloidal properties allow the dye to accurately bind to the proteins and only minimally to the gel matrix. This means that the extensive washing procedure normally required in background destaining is no longer necessary. The sensitivity of Roti®-Blue solution can be compared to that of silver staining (<30 ng/protein). Roti®-Blue is also suitable for staining of membranes after transfer (blot).

B. Staining with Roti®-Blue in general

Proteins can be detected after 30 mins. They are stained on the surface. Depth staining occurs in the course of the next few hours (depending on gel thickness). Background staining remains minimal even after overnight incubation (15 h). Gently shake the gel during the staining process. Depending on shaking and temperature conditions, greater colloid complexes are precipitated during longer staining procedures. The quality of the staining is not impaired.

We recommend that upon completion of staining, the gel be transferred to another clean staining box prior to washing. Precipitated dye complexes on the gel can be dissolved in the washing solution. In case gels are to be blotted after staining we recommend omitting fixation.

C. Staining Procedure

The formulas for the fixing solution, Roti®-Blue staining solution, washing solution, stabilizer and drying solution are listed below.

A) Staining without fixation

Recommended for gels of up to 12 ml volume prior to blotting

1. Following electrophoresis incubate gel for 2-15 h in 100-200 ml Roti®-Blue staining solution. Proceed as described in B.2. Washing.

Alternatively:

B) Staining with fixation

Suitable for all gels that shall not be blotted

1.a. Following electrophoresis incubate gel for 60 mins. in 100-300 ml fixing solution
1.b. Subsequently incubate gel for 2-15 h in 100-300 ml Roti®-Blue staining solution.

2. Washing: Transfer gel to a clean staining box. Incubate gel in 100 ml washing solution whilst shaking for 5 mins. Any possible dye complexes on the gel can be dissolved in the washing solution by jerking and jolting. Gels can now be stored (3.) or dried (4.).

3. Storage: Gels may be stored in stabilizing solution over a longer period. Use an air-tight container as gel shrinks upon loss of water.

4. Drying: Incubate gel whilst shaking in 100 ml drying solution for 30 mins. Change solution to fresh Drying solution after 15 mins. The gel can then be dried between cellophane sheets as described there.

C) Staining of membranes prior to Western Blot reactions

1. Following blotting, incubate membrane for 15 mins. to 1 h directly in 100-200 ml 1x Roti®-Blue staining solution. Bands should be stained only weakly.

2. Wash membrane for approx. 5 mins. in washing solution.

3. Prior to detection reactions: Destain membrane for approx. 30 mins. in PBS or TBS.

D. Buffers and solutions

Fixing solution (100ml):

79 ml H₂O + 1 ml o-phosphoric acid 85 % + 20 ml methanol

Roti®-Blue staining solution (100 ml):

Thoroughly shake the Roti®-Blue (5 x conc.) solution several times before use !

1. Mix 60 ml H₂O + 20 ml methanol.
2. Stir in 20 ml Roti®-Blue (5 x concentrate).

The prepared staining solution is not a clear solution. It contains dye in colloidal form. The dye beads only dissolve gradually during the dyeing process. Overstaining of the gel is thus avoided as the dye binds immediately to the proteins and only minimally to the gel matrix.

Washing solution (100 ml):

25 ml MeOH 99.8 % + 75 ml H₂O

Stabilizer solution (100ml):

Dissolve 20 g ammonium sulphate in H₂O to make 100 ml total volume

Drying solution (100 ml):

10 ml glycerine 99.5 % + 20 ml ethanol + 70 ml H₂O

We recommend use of the following Roth reagents:

- Methanol, p.A., Art.no. 4627.1
- Phosphorsäure, p.A., Art.no. 6366.1
- Ethanol, p.A., Art.no. 9065.1
- Glycerin p.A., Art.no. 3783.1
- Ammoniumsulfat, Art.no. 9212.1
- Roti@-Stock 10x PBS, Art.no. 1058.1
- Roti@-Stock 10x TBS, Art.no. 1060.1
- Gel drying frames MINI Art. No. K420.1
- Replacement cellophane sheets MINI Art. No. K422.1
- Gel drying frames MINI Art. No. K421.1
- Replacement cellophane sheets MINI Art. No. K423.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5
76185 Karlsruhe
Postfach 100121
76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149
E-Mail: info@carlroth.de
Internet: www.carlroth.de

e.d. 11/2018

Roti®-Blue	A152.2	250 ml
	A152.1	1 l