



Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi

Dergiye Geliş Tarihi: 25.10.2013  
Yayına Kabul Tarihi: 05.01.2015

Baş Editör: Bilge Hilal ÇADIRCI  
Alan Editörü: Sinan EĞRİ

### Protein Elektroforez Jellerinin Boyanmasında Coomassie' ye Alternatif Doğal Boyalar

Fatma GEDİKLİ<sup>a,1</sup> (fatma.gedikli@gop.edu.tr)

İsa GÖKÇE<sup>b</sup> (isa\_gokce@yahoo.co.uk)

<sup>a</sup>GOP Ün. Fen-Edebiyat Fak. Kimya Bölümü 60240 TOKAT

<sup>b</sup>GOP Ün. Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü 60240 TOKAT

**Özet** – Bu çalışmada; proteinlerin elektroforez jellerinin boyanmasında doğal boyaların kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla; ceviz (*Juglans regia*), karadut (*Morus nigra*), kökboya (*Rubia tinctorum*), karamuk (*Berberidis crataegina*) ve kızılgağaç (*Alnus glutonisa*) kullanılmıştır. Bu bitkilerden hazırlanan materyal ile kan proteinlerinin bulunduğu SDS PAGE jelleri boyanmıştır. 9x6 cm büyüklüğündeki jellere kan proteinlerinden; albümin, globülin, hemoglobin, fibrinojen koşulmuş, ardından bu jellere doğal boyalar uygulanmış ve Coomassie Brilliant Blue ile boyanmış olan kontrol jeli ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak; protein bantlarının gözlenmesi için elektroforez jellerinin boyanmasında doğal boyalardan bazıları kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler** –  
Protein, elektroforez,  
doğal boyalar

Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research (2013)

### Natural Dyes Alternative to Coomassie for Staining of Protein Electrophoresis Gels

**Abstract** – In this study, it was investigated that whether natural dyeing matters are able to stain electrophoresis gels or not. In this purpose walnut (*Juglans regia*), black mulberry (*Morus nigra*), madder (*Rubia tinctorum*), barberry (*Berberidis crataegina*) and alder (*Alnus glutonisa*) were used for gel staining. Blood proteins such as albumin, globulin, hemoglobin and fibrinogen used as SDS PAGE samples and after running, the gels were stained with natural dye solutions and compared with the Coomassie stained gels. In conclusion, some of the natural dyes can be used for staining protein bands on polyacrylamide electrophoresis gels.

**Keywords** –  
Protein, electrophoresis,  
natural dyeing

Received: 25.10.2013

Accepted:05.01.2015

## 1. Giriş

<sup>1</sup>Sorumlu Yazar

## 1.1. Elektroforez

Elektroforez, yüklü moleküllerin bir elektriksel alandaki hareketlerinin izlendiği bir tekniktir. Çözünmüş durumdaki moleküllerin elektrik yüklerinin kütlelerine oranıyla belirlenen hızlarda elektriksel alanda hareket etmeleri prensibine dayanır.

Bu sistemde analizi yapılacak örnek bir destek ortamına uygulanır. Modern elektroforetik tekniklerde destek ortamı olarak daha çok jeller tercih edilmektedir. Jeller, içerisinde uygun bir tampon bulunan bir elektroforez aygıtına yerleştirilerek işlem gerçekleştirilir. Analiz edilecek örnek jele bir leke ya da ince bir bant halinde uygulanır. Katı jel desteği ile ayırımı yapılacak moleküllerin hareketi, moleküllerin yüküne, boyutuna, biçimine, kimyasal içeriğe ve uygulanan elektriksel alana bağlıdır (Reed et al.,1998).

Oldukça hızlı ve kullanışlı bir teknik olan elektroforezin bir homojenattaki farklı molekülleri ayırma kapasitesi genellikle fazla yüksek değildir. Bu nedenle bu teknikten preparatif olarak sınırlı ölçüde yararlanılmaktadır. Buna karşılık az miktardaki protein ya da nükleik asit karışımlarını saflaştırmakta ve analizlerini yapmakta geniş çapta kullanılmaktadır (Harris & Angal,1990; Scopes,1994).

Tüm elektroforez tiplerinin temeli;  $V=IR$  ve  $P=I^2R$  elektriksel eşitliklerine dayanır. Aralarındaki başlıca fark destek ortamının tipi ve konumudur. Dikey ya da yatay konumdaki destek ortamı; selüloz ya da poliakrilamid vb jellerden hazırlanabilir. Selüloz; amino asitler ve karbohidratlar gibi düşük molekül ağırlıklı olan moleküller için, poliakrilamid gibi jeller ise daha büyük olanlar (protein, nükleik asitler) için destek ortamı olarak kullanılır (Ausubel, 1989).

Proteinler izoelektrik noktalarının (pI) üzerindeki pH değerlerinde (-) yüklüdürler ve elektriksel alanda anoda göç ederler; bu noktanın altında ise (+) yüklüdür ve katoda göç ederler (Temizkan ve Arda, 2003).

Akrilamidin polimerizasyonu ile hazırlanan poliakrilamid jellerin elektroforetik ayırımlarda çeşitli üstünlükleri vardır: küçük ya da orta boydaki (yaklaşık  $1 \times 10^6$  Da' a kadar) nükleik asitler ve proteinler için yüksek ayırma gücüne sahiptir; oldukça büyük boyuttaki örnekler için uygundur. Göç eden moleküllerle destek materyali arasındaki etkileşim en düşük düzeydedir. Destek materyali fiziksel olarak oldukça kararlı ve dayanıklıdır. Poliakrilamid jellerle yapılan elektroforez örnekteki bileşenlerin daha iyi ayrışmalarına yol açar. Çünkü ayırım hem moleküler elekleme hem de elektroforetik harekete dayanır. PAGE'nin jel geçirgenlik kromatografisinden farkı, poliakrilamid jelde küçük moleküllerin büyük moleküllerden daha hızlı hareket etmeleridir. (Temizkan ve Arda, 2003).

Proteinlerin ayrılması için kullanılan standart bir jel genelde %7.5 poliakrilamid içerir. Bu jeller 10.000- 1.000.000 Da arasındaki moleküller için kullanılabilir ama en iyi çözünme 30.000- 300.000 Da arasında elde edilir. Bir jelin ayırma gücü ve molekül boyutu aralığı akrilamidin ve bis-akrilamidin konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonda daha büyük porlar oluşur ve yüksek molekül ağırlıklı biyolojik moleküllerin analizi yapılabilir; yüksek konsantrasyonlarda ise, daha küçük porların oluşumu düşük molekül ağırlıklı olanların analizine izin verir (Boyer, 2000).

Proteinler denatüre (SDS içeren) bir jelde molekül büyüklüğüne göre; doğal (“native”) bir jelde ise molekül biçimi, büyüklüğü ve yüküne göre ayrılır. Denatüre ortamda gerçekleştirilen elektroforez (SDS-PAGE) molekül ağırlığı belirlemelerinde kullanılır. Bu tip bir elektroforetik ayırmada çözünürlüğü daha az olan proteinlerin ayrışması sağlanır, ancak uygulanan protein karışımı düşük molekül ağırlıklı tioller (2-merkaptoetanol veya DTT) ve SDS varlığında ısıtılarak denatüre edildiğinden biyolojik aktivite ortadan kalkar. Doğal koşullar altında (SDS’siz ortamda) gerçekleştirilen elektroforezde ise, çözünebilen (“soluble”) proteinler biyolojik aktivitelerini kaybetmeksizin ayrılırlar (Laemmli, 1970).

SDS-PAGE’nin en önemli yararı, polipeptidlerin molekül ağırlıklarının belirlenmesine olanak vermesidir. Molekül ağırlığı bilinmeyen protein örnek, molekül ağırlığı bilinen standart proteinlerle (Tablo 1.1.) birlikte, aynı jel üzerinde yan yana ceplere uygulanır ve ayrı hatlarda elektroforetik olarak ayrılır. Boyama sonrasında jelde gözlenen bantların bir standart markör le karşılaştırılması ile proteinin molekül ağırlığı hakkında bir fikir edinilebilir (Gersten, 1996).

**Tablo 1.1.** SDS-PAGE’ de kullanılabilir bazı standart protein karışımları (markör)

Kit içinde bulunan standart proteinler	Molekül ağırlığı (kDa)
$\alpha$ -2-Makroglobulin ( insan plazması)	180.0
$\beta$ -Galaktosidaz ( <i>E. coli</i> )	116.0
Fosforilaz B (tavşan kası)	97.0
Katalaz	58.0
Alkol dehidrogenaz	39.8
Karbonik anhidraz	29.0
Lizozim (yumurta akı)	14.3

## 1.2. Coomassie ile Boyama

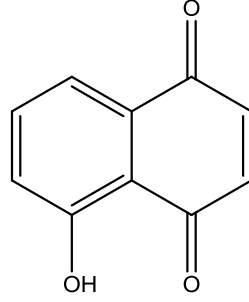
R250 veya G250 olmak üzere farklı formlardaki, coomassie mavisini, proteinlerin boyanması için yaygın kullanılan bir belirteçtir. Bu boyalar, proteinlerle kimyasal tepkimeye girmez, ancak sadece kovalent olmayan kompleksler oluşturur. Etkileşimin esasen iyonik olduğu düşünülür, fakat bağlanma proteinlerin üzerindeki başlıca gruplara, olası apolar Van der Waals güçleri ile bağlıdır. Bu nedenle boyalar, tüm proteinlere eşit olarak bağlanmaz. Bununla beraber, iki boya yapısal benzerdir; farklı fiziksel ve boyama prosedürüne ihtiyaç duyarlar ve hiçbir parçacık protokolü birbiri ile yer değiştirmez (Bradford, 1976).

Jeldeki proteinlerin boyanmasında, oldukça yaygın olarak kullanılan Coomassie mavisini; özellikle R250 formudur. Bu prosedür, boyanın sudan etkilenmeyecek şekilde proteinlere bağlanmasına ve çözünmemesine dayanır. Jelin yıkanması ile boyanın, tamamı değil ama fazlası uzaklaşmış olur, bu yüzden mavi boyanın bağlanması ile proteinler görünür hale gelir. Bir poliakrilamid jelde yaklaşık 0.1  $\mu$ g protein saptanabilir. Diğer boyaların bazıları proteinlerle, sıkı şekilde bağlanır, fakat çoğu, Coomassie mavisini kadar hassas değildir (Tal ve ark.,1985).

## 1.3. Boyama Amaçlı Kullanılan Bitkiler

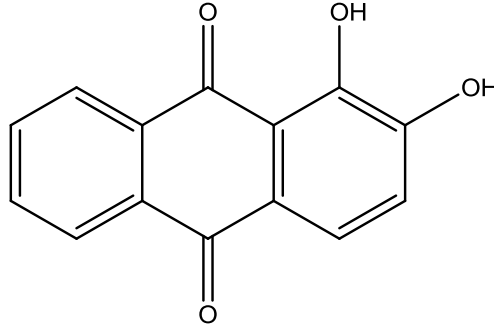
# Ceviz (*Juglans regia*) tanen, uçucu yağ ve acı lezzetli bir boyar madde (juglon) (Şekil 1.1.) taşımaktadır. Bu maddenin redüklenmiş türevi taze yapraklarda glikozit halinde bulunur ve

boyamada kullanılır (Korur, 1937). Ceviz ağacının kökünden, gövde kabuklarından, yapraklarından ve meyvesinin yeşil kabuklarından boya yapılır (Anonim, 1991).



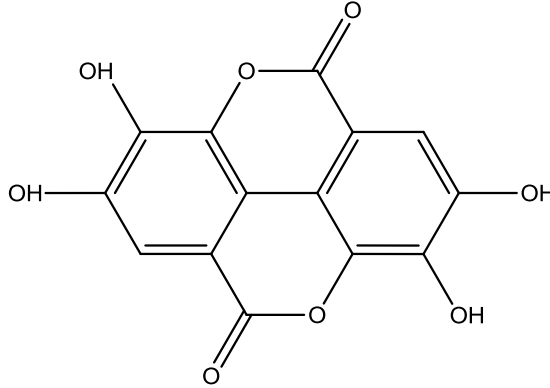
Şekil 1.1. Juglon

# Kökboya (*Rubia tinctorum*) 1-2 m uzunluğunda, gövdesi köşeli ve sert dikenli, çok yıllık tırmanıcı bir bitkidir. Bileşimi; boyar madde veren glikozitler taşır. Bu glikozitlerin en önemlisi ruberitik asit olup, enzimler ile hidroliz sonucu, kökün boyar maddesi olan alizarin'i (Şekil 1.2.) verir (Korur, 1937). Kimyasal açıdan kökboya köklerinde, birden fazla boyar madde vardır. Bunlar; Rubiritrik asidi, Alizarin, Rubiadin glikoziti, Rubiadin, Purpurin, Ksanto purpurin, Pseudo purpurin, Munjistin' dir. Kökboyanın, kök ve meyvelerinden labaratuvar koşullarında birbirinden güzel renkler elde etmek mümkündür. Kurutulmuş ve öğütülmüş kökboya kökleri ile çeşitli metal tuzlarıyla muamele edilen yünlerin yarım saat kaynatılması suretiyle kırmızının farklı tonlar aldığı görülmüştür (Anonim, 1991).



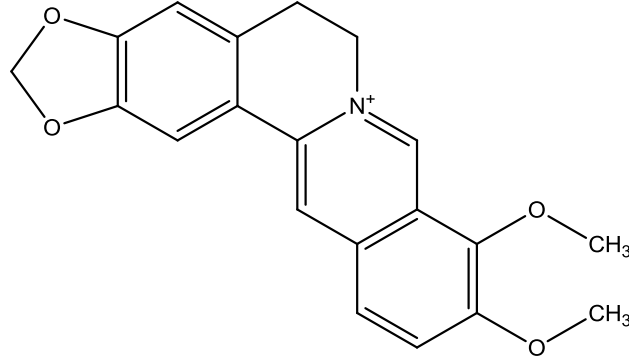
Şekil 1.2. Alizarin

# Karadut (*Morus nigra*) şekerler, organik asitler (tartarik ve sitrik asitler) ve boyar maddeler (*ellajik asit*- Şekil 1.3.) taşımaktadır (Baytop, 1999).



Şekil 1.3. Ellajik Asit

# Karamuk (*Berberidis crataegina*) 2 m yüksekliğe ulaşabilen, çalı görünümünde, dikenli ve sarı çiçekli bir ağaççıktır. Gövde ve kökün iç kısmı sarı renklidir. Meyveleri olgunlukta siyah renklidir. Bileşimi; meyveleri (*Fructus Berberidis crataeginae*), tanen, organik asitler (malik, tartik, sitrik asitleri) ve C vitamini taşımaktadır (Baytop, 1999). Bu bitkinin kök, odun, filiz ve kabukları *berberin* (Şekil 1.4.) denilen alkaloid halindeki boyar maddeyi içerdiğinden pamuğu, yünü ve ipeği sarıya boyar (Anonim, 1991).



Şekil 1.4. Berberin

# Kızılağaç (*Alnus glutinosa*) kışın yaprağını döken ağaç veya ağaççık halinde odunsu bitkilerdir. Köklerinde bulunan havanın serbest azotunu bağlayan yumrular nedeniyle toprakları azotça zenginleştirir. Yaprakları ve kabuğu boyamada kullanılmaktadır (Önal, 2000). Kızılağaçtaki boyar maddelerin yapısı henüz aydınlatılmamıştır. Fakat yapısındaki sepileyici özelliği olan maddelerin (kateşik tanen) varlığı bilinmektedir (Anonim, 1991).

## 2. Materyal Metot

### 2.1. Doğal Boyarların Hazırlanması

Kızılağaç “GOÜ - Doğal Boyalar Araştırma ve Uygulama Merkezi” nden, diğer bitkiler 2005 yılının temmuz ayında, Tokat Merkez Kaşıkçı Bağları civarındaki bahçe ve açık arazilerden toplanmıştır.

Ceviz, kökboya ve kızağaç gölgede kurutuldu. Kurutulduktan sonra öğütücüde çekilerek toz hale getirildi. 75 g madde tartılıp 500 mL deiyonize suda 2 saat süreyle kaynatıldı ve süzüldü. -20 °C’ de ki dondurucuda saklandı.

Karadut ve karamuk meyveleri soğuk preste ezildi ve suyu süzüldü. -20 °C’ deki dondurucuda saklandı.

### 2.2. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi)

Polipeptidlerin ilerleme hızları, sadece iç elektriksel yükleri tarafından değil, aynı zamanda molekül ağırlıkları tarafından da belirlenmektedir. SDS, polipeptidlerin ana iskeletini çevreleyerek proteinleri denatüre eden anyonik bir deterjandır. Ayrıca moleküllere negatif bir yük de kazandırmaktadır.

SDS- PAGE’ nin en önemli yararı molekül ağırlıklarını belirlenmesine olanak vermesidir. Molekül ağırlığı bilinmeyen örnek standartla birlikte aynı jele uygulanır ve ayrı hatlarda elektroforetik olarak birbirinden ayrılır. Boyama sonrasında jelde gözlenen bantların

karşılaştırılması ile protein molekül ağırlıkları belirlenebilir. Aşağıda verilen yöntem en çok kullanılan kesikli SDS jel elektroforezi tekniklerinden biridir (Laemmli, 1970).

#### Kullanılan çözeltiler

- Lower buffer: 1.5 M'lık Tris çözeltisi ve % 0.4'lük SDS çözeltisi kullanılarak pH 8.8'e getirildi.
- Upper buffer: 0.5 M'lık Tris çözeltisi ve % 0.4'lük SDS çözeltisi kullanılarak pH 6.6'a getirildi.
- Running buffer (5x): 1 M glisin, 0.12 M Tris ve % 0.5'lik SDS çözeltisi kullanıldı.
- Stain: 250 mL metanol, 50 mL glasiyel asetik asit, Coomassie brilliant blue 0.5 g alınarak su ile 500 mL'ye tamamlandı.
- Destain: 250 mL metanol, 50 mL glasiyel asetik asit, su ile 500 mL'ye tamamlandı.
- **Resolution jel (alt jel):** %40'lık akrilamid çözeltisinden 2.1 mL, lower buffer çözeltisinden 2.25 mL, de-iyonize sudan 3.98 mL alınarak karıştırıldı ve en son aşamada 50 µL %10'lük APS ve 20 µL TEMED eklendi.
- **Stacking jel (üst jel):** %40'lık akrilamid çözeltisinden 0.35 mL, upper buffer çözeltisinden 1 mL, de-iyonize sudan 2.59 mL alınarak karıştırıldı ve en son aşamada 50 µL % 10'lük APS ve 10 µL TEMED eklendi.

Cam tabakaların arasına ayıraçlar (spacer) yerleştirildi ve sabitlendi. Resolution jel (alt jel) çözeltisi hazırlanarak APS ve TEMED en son aşamada ilave edildi. Bu çözelti hızlı bir şekilde cam tabakaların arasına dikkatlice döküldü, yüzeyin düzgün olması için 1-2 damla bütanol damlatıldı ve polimerleşmenin tamamlanması için 10 dakika beklendi. Polimerleşme tamamlandıktan sonra yüzeydeki bütanol yıkanarak uzaklaştırıldı. Stacking jel (üst jel) çözeltisi hazırlanarak en son aşamada APS ve TEMED ilave edildi. Hızlı bir şekilde resolution jelin üzerine döküldü, tarak (comb) yerleştirildi ve polimerleşmesi için 10 dakika beklendi. Kuyucukların (well) yerleri belirlenerek tarak çıkarıldı böylelikle SDS PAGE jeli koşulumak üzere hazır duruma getirildi.

#### 2.2.1. Coomassie Blue ile Boyama

Coomassie "brilliant blue" parlak mavisi; proteinlere rastgele bağlanan bir boyar maddedir. Jel üzerinde proteinlerin çöktüğü bölgeler boya ile mavi renge boyanır. Alt zemindeki fazla boya, yıkama [bağlanmamış boyayı uzaklaştırma "destaining"] çözeltisi ile yok edildikten sonra, jel asetik asitli suda saklanır. Ancak bu çözeltide uzun süre bekletilen jel dayanıklılığını yitirir, bantlar kaybolabilir; bunun için boyama sonunda hemen fotoğrafı çekilmeli yada kurutarak saklanmalıdır (Tal et al., 1985).

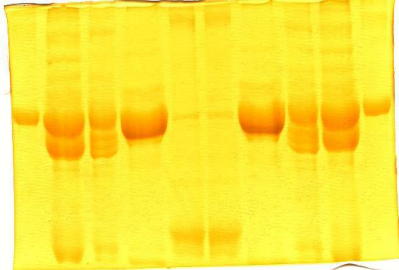
#### 2.2.2. Doğal Boyarlar ile Boyama

Boya hazırlanırken; 250 mL metanol, 50 mL asetik asit balon jeye alınıp hacim 500 mL'ye tamamlanana dek doğal boyarların süzütüsünden eklendi. Jel SDS- PAGE tankına yerleştirildi, tanka 1x koşma tamponu dolduruldu. Kuyucuklara 20 µL olmak üzere sırasıyla;

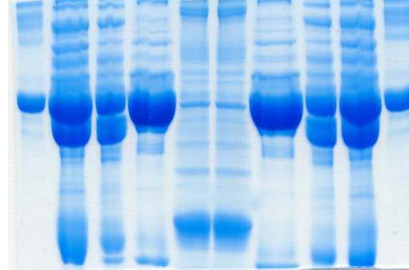
SSA (sığır serum albümin), globülin, fibrinojen, albümin, hemolizat, hemolizat, albümin, fibrinojen, globülin ve SSA verilerek cihaz 200 V sabit gerilimde çalıştırıldı. Koşma tamamlandıktan sonra alet kapatıldı. Jel dikkatlice çıkarıldı. Saf su ile yıkanarak boyama kabına alındı. Üzerine boya eklendikten sonra 1-2 dakika mikrodalga fırında bekletildi. Sonra 1 saat süreyle çalkalandı ve boya alınarak, jel yıkandı. Boya çıkarma “destain” çözeltisi içinde 1 gün süreyle bekletildi. Daha sonra saf su içine alınarak, “scanner” cihazında görüntüsü alındı.

### 3. Bulgular ve Tartışma

Doğal boyalar ile yapılan jel boyama çalışmalarının sonuçları görülmektedir.

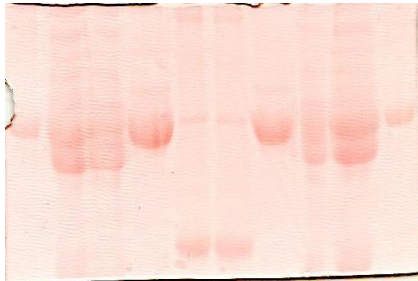


Şekil 3.1. (a) Ceviz ile boyanan jelin

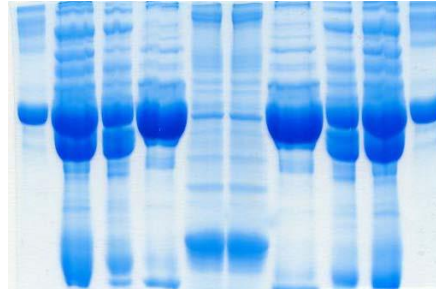


(b) Comassie ile boyanan jel ile karşılaştırılması

Ceviz ile hazırladığımız boya proteinleri boyamış ve bantları görünür hale getirmiştir. Kontrol jeli ile karşılaştırma yapıldığında tüm bantların rahatlıkla gözlenebildiği görülmektedir, fakat yine de düşük konsantrasyondaki proteinleri Comassie boyasına göre biraz daha az boyamaktadır.

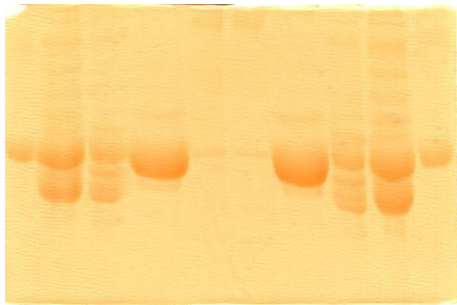


Şekil 3.2. (a) Karadut ile boyanan jelin

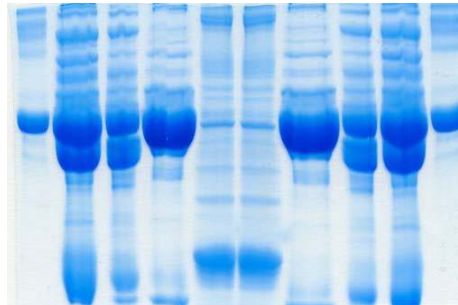


(b) Comassie ile boyanan jel ile karşılaştırılması

Karadut ile hazırladığımız boya proteinleri boyamış fakat düşük konsantrasyonlu olanları fazla belirginleştirmemiştir. Kullanılan boyanın konsantrasyonunu artırma veya boya maddesinin saf olarak kullanılması gibi işlemlerle bantlar daha belirgin hale getirilebilir.



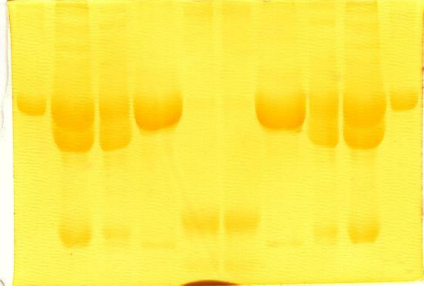
Şekil 3.3. (a) Karamuk ile boyanan jelin



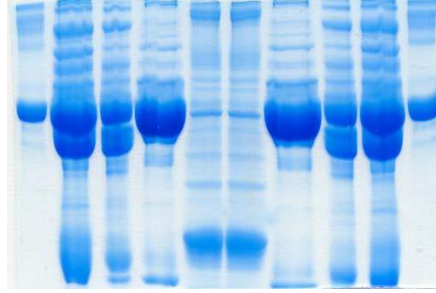
(b) Comassie ile boyanan jel ile karşılaştırılması



Karamuk ile hazırladığımız boya proteinleri boyamış fakat düşük konsantrasyonlu olanları belirginleştirmemiştir. Bunun için boyayı daha derişik hale getirme veya saf olarak kullanma gibi işlemler uygulanarak daha belirgin bantlar elde edilebilir.

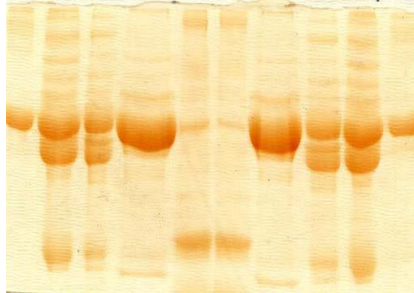


Şekil 3.4. (a) Kızılağaç ile boyanan jelin

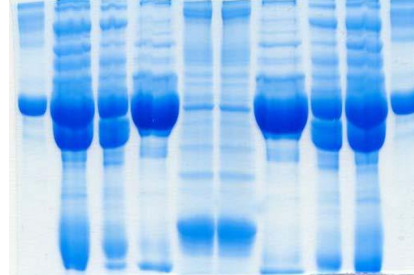


(b) Comassie ile boyanan jel ile karşılaştırılması

Kızılağaç ile hazırladığımız boya proteinleri boyamış fakat tüm bantları belirginleştirmemiştir. Üzerinde çalışma yapılarak bantlar daha belirgin hale getirilebilir.



Şekil 3.5. (a) Kökboya ile boyanan jelin



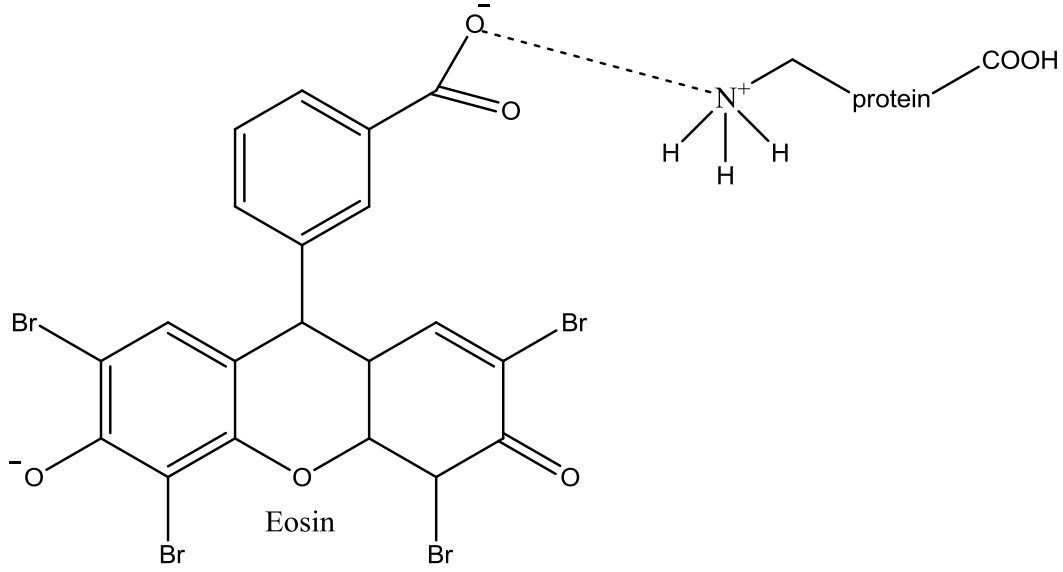
(b) Comassie ile boyanan jel ile karşılaştırılması

Kökboya ile hazırladığımız boya proteinleri boyamış ve tüm bantları belirginleştirmiştir. Boyanın üzerinde çalışılması halinde Coomassie boyasına alternatif olarak üretilmesi mümkündür.

Yün kimyasal yapı itibariyle hem amino gruplar hem de karboksilik gruplar içermektedir. Bu nedenle hem asidik, hem bazik hem de nötr ortamda boyama yapılabilmektedir. Mordan olarak ilave edilen metal tuzları yün ile boyarmadde arasında bir tuz köprüsü kurmak suretiyle boyamalar gerçekleşmektedir. Mekanizma: [Yün --- Mordan (Me<sup>+</sup>) ---- Boyar madde] şeklindedir (Önal, 1996a; Önal, 2005).

Bu çalışmada kullanılan proteinler; metaloprotein değildir (yani metal içermezler) ve boyama yapılırken mordan kullanılmamıştır. Bu nedenle boyama mekanizması metal köprüsü üzerinden değil proteinlerin sahip oldukları fonksiyonel gruplar ile boya molekülleri arasındaki etkileşmeler sonucu oluşan rasgele bağlanmalardır. Buna örnek olarak Şekil 3.6.' da yaygın bir boya olan "eosin" in proteini boyama mekanizmasının nasıl gerçekleştiğini gösterilmektedir. Eosin asidik bir boya olduğu için proteinin + yüklü kısmı ile etkileşmiştir, ancak bazik boyalarda durum tam tersidir. Yani boya proteinin - yüklü kısmı ile etkileşir (Anonim, 2014).





Şekil 3.6. Eosinin proteinle etkileşimi

#### 4. Sonuç

Elde edilen verilere göre bantların gözlenmesi için bir sıralama yapılacak olursa; *kökboya*>*ceviz*>*kızılağaç*>*karadut*>*karamuk* şeklinde olduğu görülmektedir. Sıralamadan anlaşıldığı gibi en iyi boyama yapan bitki kökboya ve bu sonuç literatür ile de oldukça uyumludur (Önal, 1996b). Kökboya ile yapılan boyamalarda (Eşberk ve Köşker, 1945; Harmancıoğlu, 1955) kırmızı, kahverengi ve turuncunun bir çok çeşidi ve tonu elde edilmiştir. Bu çalışmaların da gösterdiği gibi kökboya bitkisi boyamacılık açısından zengin içeriği ile oldukça değerli bir doğal boyardır. Üzerinde yapılacak küçük bir çalışmayla bile etkili bir boyanın elde edilmesi mümkündür.

Ceviz, kızağaç, karadut ve karamuk bitkileri kökboya kadar iyi olmasa bile çalışmanın geliştirilebilmesi için umut vericidir. Geliştirme yöntemi olarak derişimlerin artırılması, boyama süresini uzatılması, yıkama süresinin kısaltılması veya boya maddelerinin saf olarak kullanılması ile bu bitkilerin kimyasallarıyla bir protokol oluşturulabilir. Protokol oluşturulduğu takdirde Coomassie boyasına alternatif bir boyama tekniği geliştirilmiş olunabilir. Hem daha az maliyetli hem de daha kolay bulunabilir bir protokolün geliştirilmesiyle elektroforez çalışmaları esnasında doğal boya kaynakları rahatlıkla kullanılabilir. Ayrıca kullanılan boyar maddelerin spektroskopik özellikleri araştırılarak aynen Bradford yöntemiyle yapıldığı gibi spektroskopik yöntemle protein yada amino asitlerin kantitatif analizi yapılabilir. Farklı renklere oldukça etkin yeni boyar maddelerle değişik moleküler ağırlıklı proteinler boyanarak “Western blotting” için yeni ve daha kullanışlı “prestained” önceden boyanmış markör yapılabilir.

#### Kaynaklar

Anonim (1991). Sanayi ve Ticaret Bakanlığı Küçük Sanatlar Sanayi Bölgeleri ve Siteleri Genel Müdürlüğü : “Bitkilerden elde edilen boyalarla yün liflerinin boyanması”, Ankara

Anonim (1998). Bilim ve Teknik Dergisi, Şubat 1998, 66-67

- Anonim (2014). <http://fachschaften.kst.ch/chemie/chicd/kap10/kap105e.htm>. (11.04.2014)
- Ausubel, F.M. et al. (1989). Current Protocols in Molecular Biology. Supplement 23, USA
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İstanbul
- Boyer, R. (2000). “Modern Experimental Biochemistry”, 3rd ed., The Benjamin Cummings Publ. Comp., San Francisco
- Bradford, M.M. (1976). Anal. Biochem. 72, 248- 254
- Eşberk, T., Köşker, Ö. (1945). Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi “Kökboya (*Rubia tinctorum L.*)” Ankara. 4 (1): 376-384.
- Gersten, D.M. (1996). Gel Electrophoresis of Proteins Essential Techniques Series. Bios, Oxford
- Harmancıoğlu, M. (1955). Ankara Üniversitesi Yayını “Türkiyede bulunan Önemli Bitki Boyalarında elde Alınan Renklerin Çeşitli Müessirlere Karşı Yün Üzerinde Haslık Dereceleri” Ankara. 77/41. 221
- Harris, E.L.V. & Angal, S. (1990). “Protein Purification Methods: A Practical Approach”, ISBN 0 19 963002, IRL Press (at Oxford University Press), Oxford.
- Korur, N. R. (1937). Türkiye’de Nebati Boyalar- Y.Zir. Enst. Çalışmaları sayı 41,31, Ankara
- Laemmli, U.K.(1970). Nature 277, 680-685
- Reed, R. Holmes, D. Weyers, J. & Jones, A. (1998). “Practical Skills in Biomolecular Sciences” Edinburg Gate, Harlow
- Önal, A. (1996a). “Extraction of dyestuff from onion (*Allium Cepa L*) and its dyeing properties in the dyeing of wool, feathered leather and cotton”, Turk J of Chem, 20: 194-204
- Önal, A. (1996b). “Extraction of Dyestuff from Madder Plant (*Rubia tinctorum L.*) and Dyeing of Wool, Feathered Leather and Cotton”, Turk J of Chem, 20: 204-213
- Önal, A. (2000). Doğal Boyar Maddeler (Ekstraksiyon- Boyama), Tokat
- Önal, A., Sarı, A. & Soylak, M. (2005). Journal of Scientific and Industrial Research “Ellagic acid from gallnut (*Quercus infectoria*): Extraction and determination of its dyeing conditions for natural fibres” 64: 491-495
- Scopes, R. K. (1994). “Protein Purification. Principles & Practice”. 3rd ed., Springer Advanced Text in Chemistry (Series Editor: Charles R. Cantor) ISBN0-387-94072-3, Springer Verlag, New York, Inc.
- Tal, M., Silberstein, A. and Nusser, E., (1985). J. Biol. Chem. “Why does Coomassie Brilliant Blue R interact differently with different proteins? A partial answer. 260: 9976- 9980
- Temizkan, G. ve Arda, N. (2003). “Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler” İstanbul.