

APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

Um ein gutes Signal-zu-Hintergrund-Verhältnis zu erreichen, ist es wichtig bei ELISA und Western Blot unspezifische Antikörper-Bindungsstellen zu blockieren.

Proteinhaltige Blockierungs-Lösungen, z. B. Magermilchpulver-, BSA- oder Casein-Lösungen, können neben unspezifischen Antikörper-Bindungsstellen auch spezifische Bindungsstellen (Epitope) maskieren.

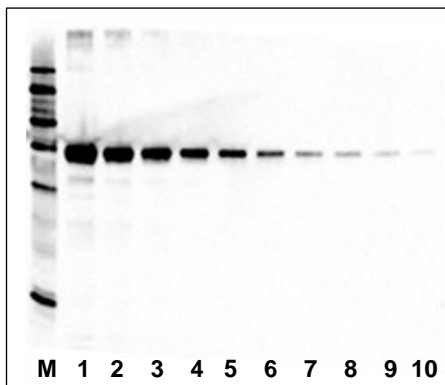
Mit BlueBlock PF (proteinfrei, polymerbasiert) werden unspezifische Bindungen blockiert, spezifische Bindungsstellen hingegen bleiben erhalten, wodurch sich die Signalstärke erhöht.

SERVA BlueBlock PF ist ein 10-fach konzentriertes, proteinfreies, polymerbasiertes Blockierungsreagenz, das auch zur Verdünnung der Antikörper eingesetzt werden kann. Das Blockierungsreagenz enthält kein Natriumazid (NaN₃).

Eigenschaften und Vorteile

- Blockierung unspezifischer Bindungsstellen
- Protein-frei, Polymer-basiert - Enthält keine Phospho-Proteine wie Casein- oder Magermilch-basierte Blockierungslösungen – Geeignet für die Analytik von Phospho-Proteinen
- Spezifische Bindungsstellen bleiben erhalten - Erhöhte Signalstärke und Sensitivität (Abbildung 1)
- Kurze Blockierungszeit – 5 min (Abbildung 2)
- *All-in-One*-Protokoll - Blockieren und Antikörper-Inkubation in einem Schritt (Abbildung 3)
- Geeignet für gängige Western-Blot-Detektionssysteme, z. B. kolorimetrisch, Fluoreszenz und Chemilumineszenz (Abbildung 4)
- Ebenfalls geeignet für ELISA

Abbildung 1: Signalstärke und Sensitivität



Marker (M): SERVA VisiBlot Standard I (SERVA Kat.-Nr. 39260)

Probe (1 - 10): Human Transferrin (SERVA Kat.-Nr.36756)

Auftragsvolumen: 5 µl/Spur

Spur	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[ng/Spur]	500	250	125	62,5	31,3	15,6	7,8	3,9	1,8	0,9

Blockierung: 30 min 1x SERVA BlueBlock

1. Antikörper: Rabbit Anti-Human Transferrin (DAKO A0061); 1:10.000 in 1x SERVA BlueBlock

2. Antikörper: Anti-Rabbit-IgG –HRP 1:10.000 (Sigma A0545) in 1x SERVA BlueBlock

Chemilumineszenz-Detektion

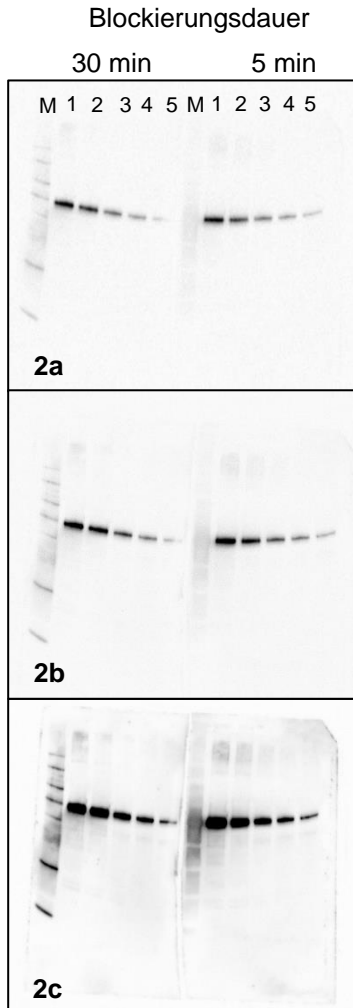
APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

Abbildung 2: Blockierungsdauer und -effizienz

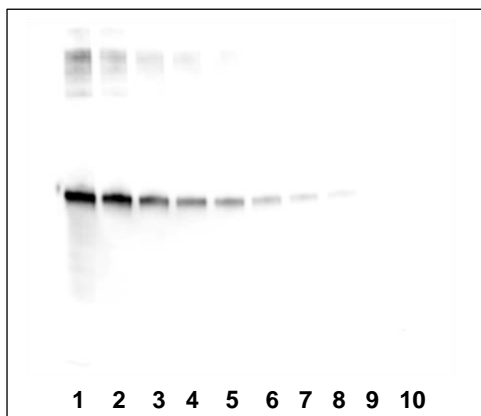


Marker (M): SERVA VisiBlot Standard I (SERVA Kat.-Nr. 39260)
 Probe (1 - 10): Human Transferrin (SERVA Kat.-Nr. 36756)
 Auftragsvolumen: 5 µl/Spur

Spur	1	2	3	4	5
[ng/Spur]	40	20	10	5	2,5

- Antikörper:
 Polyclonal Rabbit Anti-Human Transferrin (DAKO A0061);
 1:10.000 in 1x BlueBlock
 - Antikörper:
 Anti-Rabbit-IgG –HRP 1:10.000 (Sigma A0545) in 1x BlueBlock
- Chemilumineszenz-Detektion (SERVA Musketeer)
- Expositionszeit: 2a – 1 s; 2b – 10 s; 2c – 60 s

Abbildung 3: All-in-One-Protokoll



Marker (M): SERVA VisiBlot Standard I (SERVA Kat.-Nr. 39260)
 Probe (1 - 10): Human Transferrin (SERVA Kat.-Nr.36756)
 Auftragsvolumen: 5 µl/Spur

Spur	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[ng/Spur]	500	250	125	62,5	31,3	15,6	7,8	3,9	1,8	0,9

- Antikörper (Ak): Rabbit Anti-Human Transferrin (DAKO A0061)
 - Antikörper (Ak): Anti-Rabbit-IgG –HRP (Sigma A0545)
- Antikörperlösung: 2 µl 1. Ak + 2 µl 2. Ak in 20 ml 1x SERVA BlueBlock
- Blockierung & Ak-Inkubation:
 Blotmembran in Antikörperlösung 60 min bei RT inkubieren
- Chemilumineszenz-Detektion

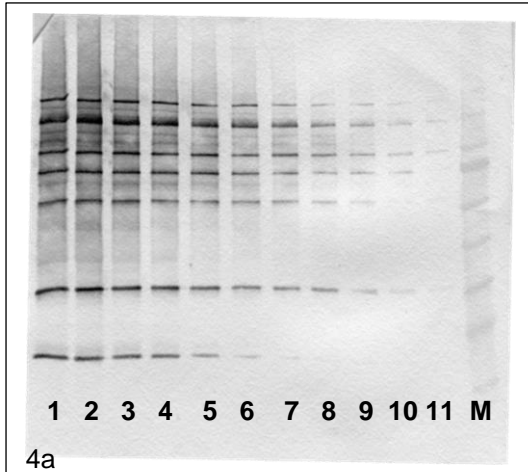
APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

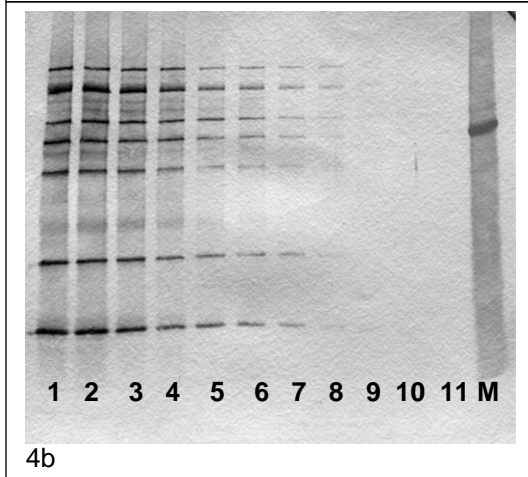
Abbildung 4: Detektion mit Farbsubstraten



Marker (M): SERVA Triple Color Standard II (SERVA Kat.-Nr. 39257)
 Probe (1 - 11): SERVA VisiBlot Standard I (SERVA Kat.-Nr. 39260)
 Probevolumen: 5 µl/Spur

Spur	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Verdünnungs- faktor	2	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024

Detektion:
 4a - Anti-Goat-IgG-AP (1: 5.000) - BCIP/NBT
 4b - Anti-Goat-IgG-HRP (1:5.000) - TMB



APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

Empfohlenes Standard-Protokoll für Western-Blotting und ELISA

	Western Blot	ELISA
Verdünnung	Konzentrat mit dest. Wasser auf 1x verdünnen, z. B. 10 ml BlueBlock PF + 90 ml dH ₂ O Gut mischen	
Blockierung	5 min (optimal: 30 min)	1 h
1. AK-Inkubation	Inkubation mit 1x BlueBlock PF bei Raumtemperatur (RT) auf Schüttler Alternativ über Nacht bei + 2 °C bis + 8 °C Antikörper (AK) in 1x BlueBlock PF verdünnen 1 h bei RT auf Schüttler	
Waschen	3 x 5 min mit PBS-T oder TBS-T	
2. AK-Inkubation	AK in 1x BlueBlock PF verdünnen 1 h bei RT auf Schüttler	
Waschen	3 x 5 min mit PBS-T oder TBS-T	
Detektion	Nachweis entsprechend dem verwendeten Enzym-Substrat-System	

Empfohlenes All-in-one-Protokoll für Western-Blots (Mini-Gel Format)

Verdünnung	Konzentrat mit dest. Wasser auf 1x verdünnen, z. B. 10 ml BlueBlock PF + 90 ml dH ₂ O Gut mischen
Antikörper-Lösung	1x BlueBlock-Lösung + 1. Antikörper + 2. Antikörper 1. und 2. Antikörper in der üblichen Western Blot-Verdünnungen einsetzen, z. B. 1:2.000 (1. AK) und 1:5.000 (2. AK)
WICHTIG: Antikörper-Lösung 5 min vor-inkubieren bevor die Lösung auf die Blotmembran gegeben wird.	
Waschen der Blot-Membran	5 min mit PBS-T oder TBS-T
Blockierung & Inkubation	20 ml Antikörper-Lösung auf die Blot-Membran geben 1 - 2 h bei RT auf Schüttler
Waschen	3 x 5 min mit PBS-T oder TBS-T
Detektion	Nachweis entsprechend dem verwendeten Enzym-Substrat-System

APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

Bestellinformationen

Produkt	Kat.-Nr.	Menge
Puffer		
BlueBlock PF (10x) for Blotting & ELISA	42591.01	250 ml
	42591.02	1 L
PBS-T Puffer (10x), steril	42597.01	1 L
TBS-T Puffer (10x), steril	42598.01	1 L
Substrate für Meerrettich-Peroxidase (HRP)		
SERVA <i>Light</i> Polaris CL HRP WB Substrat Kit	42584.01	100 ml
	42584.02	250 ml
	42584.03	500 ml
SERVA <i>Light</i> Eos CL HRP WB Substrat Kit	42585.01	50 ml
	42585.02	250 ml
	42585.03	500 ml
SERVA <i>Light</i> Eos Ultra CL HRP WB Substrat Kit	42586.01	20 ml
	42586.02	100 ml
SERVA <i>Light</i> Helios CL HRP WB Substrat Kit	42587.01	20 ml
	42587.02	100 ml
	42587.03	200 ml
SERVA <i>Light</i> Vega CL HRP WB Substrat Kit	42588.01	50 ml
	42588.02	250 ml
	42588.03	500 ml
SERVAColor TMB Blot Solution	37071.01	100 ml
	37071.02	250 ml
TMB ready-to-use substrate for blotting	37070.01	100 ml
Substrate für Alkalische Phosphatase (AP)		
SERVAColor BCIP/NBT Blot Solution	15245.01	250 ml
BCIP/NBT ready-to-use substrate for blotting	15246.01	100 ml

APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

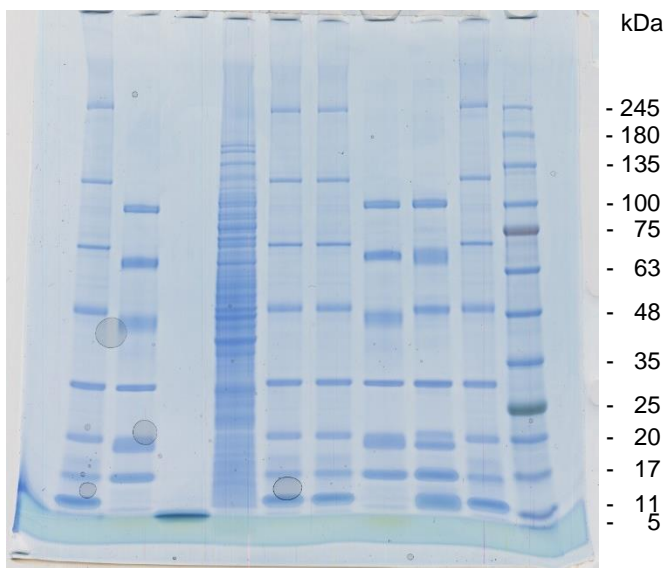
IF TIME MATTERS

Verkürzen Sie nicht nur die Blockierungsdauer, sondern auch die Dauer der Elektrophorese und des Proteintransfers - Hier finden Sie die passenden SERVA Produkte:



1. Elektrophorese: SERVA Gel™ Neutral HSE

- HSE = *High Speed Electrophoresis*
- Laufbedingungen mit dem Laemmli-Puffersystem: 400 V, **20 min**



Bestellinformationen:

Produkt	Probentaschen	Kat.-Nr.
SERVA Gel™ Neutral HSE	15	43249.01
	12	43245.01
	10	43246.01
	2D	43247.01

2. Transfer: SERVA Xpress Blotting Kits

- Gebrauchsfertig
- Gleichmäßiger Transfer von hoch- und niedermolekularen Proteinen innerhalb von **15 min**
- Blotting Vlies statt Blotpapier für effizienten und störungsfreien Transfer



APPLICATION NOTE

BlueBlock PF (10x) für Blotting und ELISA

Kat.-Nr. 42591

Vers 0520

Bestellinformationen:

Produkt	Kit-Komponenten (Blot-Format 80 x 85 mm)	Kat.-Nr.
Xpress Blotting Kit for Westen Blotting	250 ml 10x SERVA Xpress Blottingpuffer 20x Blottingvliese 10x Connection Paper	42662.01
Xpress NC Blotting Kit for Westen Blotting	250 ml 10x SERVA Xpress Blottingpuffer 20x Blottingvliese 10x Connection Paper 10x Nitrocellulose-Blotmembran (Porengröße: 0,2 µm)	42663.01
Xpress PVDF Blotting Kit for Westen Blotting	250 ml 10x SERVA Xpress Blottingpuffer 20x Blottingvliese 10x Connection Paper 10x PVDF-Blotmembran (Porengröße: 0,2 µm)	42664.01