

Produktinformation

Immuno Blue Western Blotting Substrate

Produkt-Nr.: PR840

NH DyeAGNOSTICS GmbH
Weinbergweg 23
D-06120 Halle

Technischer Support
Tel.: +49 (0) 345-2799 6413
E-Mail: service@dyeagnostics.com
www.dyeagnostics.com

copyright © NH DyeAGNOSTICS ©2016
Revision 04/2016

Kitinhalt (100 ml)

- Immuno Blue Reagent A (100 ml)
- Immuno Blue Reagent B (2.5 ml)

für 40 Minigel-Blots (4000 cm² Blotting Membran).

Lagerung

Dunkel bei 2°C bis 8°C lagern.
Vermeiden Sie starke Lichteinwirkung

Mind. haltbar bis: Siehe Aufdruck Kitverpackung

Sie benötigen zusätzlich:

- niedrig-fluoreszierende Blotting Membran
- Primärantikörper
- Sekundärantikörper konjugiert mit HRP
- Blockierungslösung
- Verdünnungs- und Waschpuffer
- Imager für die Detektion von blauer Fluoreszenz

Allgemeine Informationen

Immuno Blue ist ein hochempfindliches Fluoreszenzsubstrat für die Detektion von HRP-konjugierten Sekundärantikörpern. Immuno Blue wird durch die HRP zu einem blau fluoreszierenden Präzipitat umgesetzt, das stabil auf dem Blot verbleibt. Die Detektion erfolgt mittels Fluoreszenz Imaging. Abhängig von der Sensitivität des Imaging-Systems und der Abundanz des Zielproteins variiert die Belichtungszeit von wenigen Sekunden bis zu einer Minute. Das Signal bleibt mind. 4 Wochen stabil.

Western Blotting Ablauf:

Hinweis: Die folgenden Anweisungen sind generalisiert. Geeignete Blockierungsreagenzien, Waschpuffer, Antikörper-Verdünnungspuffer und Inkubationszeiten müssen für jede Anwendung in Vorversuchen entsprechend ermittelt werden. Nutzen Sie kein Natriumazid zur Konservierung. Natriumazid inhibiert die HRP.

1. Entnehmen Sie die Blotting Membran aus der Transfereinheit und blockieren Sie unspezifische Bindungsstellen unter Schütteln mit Blockierungslösung für 60 Minuten bei Raumtemperatur (RT).
2. Entfernen Sie die Blockierungslösung und geben Sie die Primärantikörper-Verdünnung auf die Membran. Inkubieren Sie die Membran schüttelnd für 60 Minuten bei RT oder über Nacht bei 2°C bis 8°C ohne Schütteln.
3. Entfernen Sie die Primärantikörper-Verdünnung und spülen Sie die Membran kurz mit Waschpuffer.
4. Waschen Sie die Membran 5-10 Minuten in Waschpuffer. Wechseln Sie den Waschpuffer mind. 3 mal. Größere Volumina Waschpuffer und längere Waschzeiten können den Hintergrund reduzieren.
5. Inkubieren Sie die Membran mit Sekundärantikörper-Verdünnung (HRP-konjugiert) für 60 Minuten schüttelnd bei RT.
6. Wiederholen Sie Waschschrift 3 und 4 um überschüssigen Sekundärantikörper zu entfernen.
7. Bereiten Sie die Immuno Blue Arbeitslösung vor, indem Sie Immuno Blue Reagent A and Reagent B im Verhältnis 40:1 mischen. Verwenden Sie mind. 30 µL der Arbeitslösung pro cm² Membran.

Hinweis: Die Immuno Blue Arbeitslösung ist bei RT für bis zu 45 Minuten stabil.

8. Inkubieren Sie die Blotting Membran für 5 Minuten mit frisch vorbereiteter Immuno Blue Arbeitslösung bei RT.
9. Entnehmen Sie die Membran aus der Immuno Blue Arbeitslösung und spülen Sie sie 2 mal kurz mit Waschpuffer.
10. Führen Sie die Fluoreszenzdetektion mit geeigneten Filterkonfigurationen durch:

Absorption max.	435 nm
Emission max.	510 nm

Das Immuno Blue Fluoreszenzsignal bleibt für mind. 4 Wochen stabil. Lagern Sie die Membran vor Licht geschützt bei RT.