

**BlueLine**

*Instruments for Electrophoresis*

## **GEBRAUCHSANLEITUNG**

---

**BlueFlash Small  
BlueFlash Medium  
BlueFlash Large  
BlueFlash X-Large  
Blue Flash XX-Large**

**Semi-Dry Blotgeräte**



**SERVA Electrophoresis GmbH • Carl-Benz-Str. 7 • D-69115 Heidelberg**  
Phone +49-6221-138400, Fax +49-6221-1384010  
e-mail: [info@serva.de](mailto:info@serva.de) • <http://www.serva.de>

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Packliste</b>	<b>3</b>
<b>2. Gerätebeschreibung und technische Daten</b>	<b>3</b>
<b>3. Western Blot nach der Semi-Dry-Methode</b>	<b>4</b>
3.1. Einleitung	4
3.2. Geeignete Puffersysteme für die Semi-Dry-Blot-Methode	5
3.3. Geeignete Transfermembranen	6
<b>4. Arbeiten mit dem BlueFlash Semi-Dry-Blotter</b>	<b>7</b>
4.1. Durchführung eines Semi-Dry-Blots	7
4.2. Durchführung eines Semi-Dry-Blots mit zwei gestapelten Gelen	10
4.3. Pflege des BlueFlash Semi-Dry-Blotters	10
<b>5. Fehlersuche</b>	<b>11</b>
<b>6. Literatur</b>	<b>12</b>
<b>7. Empfohlene Produkte für den Proteintransfer</b>	<b>13</b>

## **Achtung**

**Dieses Gerät darf nur von geschultem Personal betrieben werden. Wenn es an eine Stromversorgungsquelle angeschlossen wird, steht es potentiell unter elektrischer (Hoch-) Spannung, die bei falscher Handhabung gesundheitsgefährdend ist.**

**Die BlueFlash Blotting-Systeme sind gemäß den gültigen Sicherheitsrichtlinien hergestellt. Sie sind für das Erzielen bester Ergebnisse bei gleichzeitig hoher Lebensdauer ausgelegt. Um dies zu gewährleisten, lesen Sie bitte vor Inbetriebnahme diese Bedienungsanleitung sorgfältig durch.**

Bitte überprüfen Sie nach dem Auspacken an Hand der Packliste, ob die Bestandteile des Gerätes vollständig sind und ob das Gerät unbeschädigt ist. Sollte dies nicht der Fall sein, benachrichtigen Sie bitte sofort **SERVA Electrophoresis GmbH** in Heidelberg bzw. Distributionspartner, um eine reibungslose Berichtigung zu gewähren.

**Die Garantiezeit beträgt 12 Monate und beginnt mit der Auslieferung. Die Garantie ist gültig für das komplette Gerät exklusive Verschleißteile (Steckkontakte). Wir bitten Sie, die Verpackungsmaterialien bis zu dem Ablauf der Garantiezeit aufzubewahren.**

*Hinweis: Senden sie bitte im Falle einer Reparatur immer das vollständige Gerät ein.*

## 1. Packliste

### BlueFlash Small, Medium, Large, X-Large und XX-Large (Kat.-Nr.: BF-S, BF-M, BF-L, BF-XL, BF-XXL)

Anzahl	Beschreibung
1	Haupteinheit bestehend aus Oberteil mit Flächenkathode und je einem roten und schwarzen Kabel mit Anschlussstecker zum Netzgerät, (optional gekühltem,) federnd gelagertem, selbstjustierendem Anodenträgereinsatz und Unterteil mit Sicherheits-Stromkontaktunterbrecherleiste
1	Bedienungsanleitung

## 2. Gerätebeschreibung und technische Daten

### Oberteil:

- Sicherheitsabdeckung mit aufgedruckter Kurzanleitung, Sicherheitselektroanschlusshülsen, -kabeln und -steckern.
- Integrierte SC-Flächenkathode (-) mit Blotkontakt-Andruckmechanismus für homogenen Transfer.

### Einsatz:

- Höhenverstellbarer (optional gekühlter) selbstjustierender Elektroenträger mit SC-Flächenanode (+)

### Unterteil:

- Standfeste Geräterwanne mit Sicherheits-Stromkontaktunterbrecherleiste mit vergoldeten Steckern

Beim **BlueFlash Semi-Dry Blotter** berühren sich die Elektroden des leeren Gerätes (d.h. ohne Blotsandwich) nicht. So ist bei sachgemäßer Handhabung ein Kurzschluss ausgeschlossen.

Material des Gehäuses: Plexiglas (PMMA)  
beständig gegen Ethanol (10 %); nicht beständig gegen organische Lösungsmittel (z. B. Aceton)

Elektrodenmaterial: synthetisch gebundener, homodisperser Reinstkohlenstoff (Synthetic Carbon, SC), hochleitfähig durch molekulare Vorzugsrichtung, korrosionsbeständig (pH 3 – 9 unter SDS)  
Achtung: Mechan. Reinigung nur auf Basis runder Sandkörner bzw. mit „Scotch Brit“-Schwamm, o. ä.

## Technische Daten

	BF-S	BF-M	BF-L	BF-XL	BF-XXL
Blotfläche (mm)	100 x 100	150 x 150	280 x 280	385 x 235	385 x 385
Min. Spannung	5 V	5 V	5 V	5 V	5 V
Min. Stromstärke	100 mA	100 mA	100 mA	100 mA	100 mA
Arbeitsbereich bei konst. Strom (mA/cm <sup>2</sup> )	0,8 – 3,5	0,8 – 3,5	0,8 – 3,5	0,8 – 3,5	0,8 – 3,5
Max. Betriebstemperatur	55 °C	55 °C	55 °C	55 °C	55 °C
Puffervolumen (für Gel, Blottingpapier, Transfermembran)	0.2 ml/cm <sup>2</sup> x Anzahl Blottingpapiere + 1,0 ml/cm <sup>2</sup> Transfermembran + 1,5 ml/cm <sup>2</sup> Gel				
Abmessungen (cm)	15 x 28 x 8,5	20 x 28 x 8,5	45 x 33 x 8,5	37 x 43 x 8,5	50,5 x 43 x 8,5
Gewicht	ca. 1,5 kg	ca. 2,5 kg	Ca. 5 kg	ca. 6,5 kg	ca. 6,5 kg

## 3. Western Blot nach der Semi-Dry-Methode

### 3.1. Einleitung

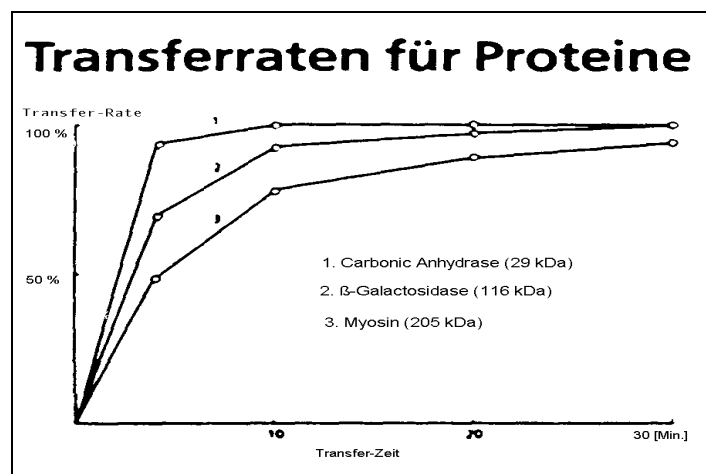
Der BlueFlash Semi-Dry Blotter ist ein aus drei Teilen bestehendes Gerät, das zum elektrophoretischen Transfer von Proteinen und Nukleinsäuren eingesetzt werden kann. Die Übertragung elektrophoretisch aufgetrennter Proteine und Nukleinsäuren aus einem Gel auf eine stabile Trägermatrix (Transfermembran) gehört zu den am weitesten verbreiteten Verfahren in den modernen Biowissenschaften. Nachdem die Moleküle auf der Transfermembran immobilisiert sind, steht ein breites Spektrum analytischer Nachweisverfahren zur qualitativen und quantitativen Untersuchung der übertragenen ("geblotteten") Moleküle zur Verfügung. Die Art des Nachweisverfahrens ist zum einen von der Art der geblotteten Moleküle (DNA, RNA oder Proteine) abhängig, zum anderen von der gewählten Transfermembran.

Während Nukleinsäuren üblicherweise durch Kapillar-, Druck- oder Vacuumtransfer geblottet werden (Southern bzw. Northern Blot), steht beim Transfer von Proteinen, dem Western Blot, der elektrophoretische Transfer im Vordergrund (Tankblot, Semi-Dry Blot). Das Blotten nach dem Semi-Dry-Verfahren (Kyhse-Andersen, 1984) ist sehr weit verbreitet, da es in der Handhabung im Vergleich zum Tankblot einfacher ist und deutlich weniger Zeit erfordert. Dabei hat sich vor allem für den Transfer von hochmolekularen Proteinen das Blotten mit diskontinuierlichen Puffersystemen (z. B. Kyhse-Andersen, 1984) bewährt.

Beim Transfer von Proteinen hat der BlueFlash Semi-Dry-Blotter gegenüber Tankblottern mehrere Vorteile. Zum einen ist die benötigte Puffermenge deutlich geringer, zum anderen ist der Einsatz von kontinuierlichen (Towbin et al., 1979) sowie diskontinuierlichen Puffersystemen (Kyhse-Andersen et al., 1984) möglich. Mit dem BlueFlash Semi-Dry Blotter können bis zu 2 Gele gleichzeitig geblottet werden, die Transferzeit beträgt zwischen 5 und 45 Minuten.

### 3.2. Geeignete Puffersysteme für die Semi-Dry-Blot-Methode

Anders als beim Tankblot kann beim Semi-Dry-Blot wahlweise ein kontinuierliches oder ein diskontinuierliches Puffersystem für den Transfer der Proteine verwendet werden. In vielen Fällen liefert das kontinuierliche Puffersystem zufriedenstellende Ergebnisse. Um jedoch die Vorteile des Semi-Dry-Blots voll ausnutzen zu können, empfehlen wir die Verwendung eines diskontinuierlichen Puffersystems. Mit einem diskontinuierlichen Puffersystem erfolgt der Proteintransfer nach dem Prinzip der Isotachophorese, ähnlich wie im Sammelgel bei der diskontinuierlichen SDS-Polyacrylamid-Elektrophorese: Die negativ geladenen Proteine wandern in einer eng konzentrierten Front in Richtung Anode. Dadurch ist der Proteintransfer über einen weiten Größenbereich sehr gleich-mäßig und selbst große Proteine wie z. B. Myosin mit 205 kD lassen sich in nur 30 Minuten zu 80 % aus einem 1 mm dicken 10 % PAA-Gel auf eine NC-Blotmembran transferieren.



#### Puffersysteme

Es empfiehlt sich die Puffer in 1-Liter Chargen anzusetzen, die für 6 Monate bei Raumtemperatur aufbewahrt werden können.

##### 1. für den kontinuierlichen Blot (nach Towbin, 1979)

Puffer:           25 mM Tris  
                  192 mM Glycin  
                  20 %     Methanol

(Towbin Buffer 10x, for Western Blotting, Kat.-Nr. 42558.02)

bzw. 1/2-konzentrierter Elektrophorese-Laufpuffer des von Ihnen verwendeten Gelsystems an Anode und Kathode.

Maximale Stromstärke: 3,5 mA/cm<sup>2</sup> Gelfläche

## 2. für den diskontinuierlichen Blot ( modifiziert nach Kyhse-Andersen, 1984)

Anodenpuffer 1: 300 mM Tris/HCl, pH 10,4 in 20 % Methanol  
Anodenpuffer 2: 30 mM Tris/HCl, pH 10,4 in 20 % Methanol  
Kathodenpuffer: 40 mM 6-Aminocaprinsäure  
25 mM Tris/HCl, pH 9,4 in 20 % Methanol  
(Semi-Dry Blotting Buffer Kit for Western Blotting, Kat.-Nr. 42559.01)

Maximale Stromstärke: 2,5 mA/cm<sup>2</sup> Gelfläche

### Hinweise für den Transfer mit Methanol/SDS

Methanolzusatz: bis max. 20 % (v/v)  
SDS-Zusatz: bis max. 1 % (w/v)

Um unerwünschte Nebeneffekte beim Western Blot durch Methanol/SDS zu vermeiden, müssen Sie den Gebrauch der Zusätze vor dem routinemäßigen Einsatz testen.

Methanol:

- erhöht die Bindung von Proteinen an Nitrocellulose,
- hemmt die Quellung des Gels,
- kann die Löslichkeit von Proteinen herabsetzen, Proteine lassen sich dann schlechter blotten.

SDS:

- verleiht den Proteinen eine gleichmäßige negative Ladung,
- kann die antigenen Eigenschaften eines Proteins verändern,
- kann die Proteinbindung an die Membran hemmen.

### 3.3. Geeignete Transfermembranen

Für Western Blot-Anwendungen empfehlen wir neben der klassischen Nitrozellulose (z.B. NC 45- bzw. NC 2- Nitrozellulosemembran) insbesondere aufgrund der besseren Handhabbarkeit (kein Brechen oder Reißen) vliesverstärkte Nitrozellulosemembranen (z.B. Nylon-Bind B mit 0,45 µm Porengröße). Nitrozellulose hat ideale Bindungs-eigenschaften für die meisten Proteine und unspezifische Bindungsstellen sind leicht zu blockieren. Nitrozellulose ist für die meisten Färbemethoden die am besten geeignete Membran. Proteine unter 20 kD werden bei 0,2 µm Porengröße zum Teil besser gebunden als bei 0,4 µm. PVDF-Membranen (z.B. Fluorobind PVDF Membran) finden ihren Einsatz bei speziellen Anwendungen wie z.B. die Bindung stark hydrophober Proteine oder zur Sequenzierung von Proteinen nach dem Western Blot. Für den Immunnachweis von Proteinen mit Chemilumineszenzmarkern ist eine amphotere Nylonmembran (z. B. Nylon-Bind A) aufgrund ihrer Bindungseigenschaften und Wechselwirkung mit dem Chemilumineszenz-Substrat besonders gut geeignet.

## 4. Arbeiten mit dem BlueFlash Semi-Dry-Blotter

Bitte beachten Sie:

- Nach dem ersten Transfer können auf den Elektrodenoberflächen als Gebrauchsspuren dunkle bzw. matte Stellen auftreten. Diese sind material- und fertigungstechnisch (Feinstabrieb durch Oberflächenvergütung) bedingt und haben keinen Einfluss auf die Transferleistung.
- Für einen effizienten Semi-Dry-Transfer mit dem BlueFlash Semi-Dry-Blotter empfehlen wir eine Modifikation des diskontinuierlichen Puffersystems von Kyhse-Andersen (1984). Sie können jedoch auch andere Puffersysteme verwenden (Puffer: siehe 3.2.). Wir empfehlen GB004 Gel-Blottingpapiere (Whatman) für den Semi-Dry Blot. Andere Blottpapiertypen können verwendet werden: 1 Blatt GB004 entspricht 2 Blättern GB003 oder 4 Blättern GB002.

### **ACHTUNG:**

Die **maximale Betriebstemperatur von 55 °C darf nicht überschritten** werden! Dies kann beispielsweise beim Einsatz einer elektr. Leistung >20 W über einen Zeitraum von mehr als 30 Min. auftreten.

### 4.1. Durchführung eines Semi-Dry-Blots

#### Puffervolumen

Die folgenden diskontinuierlichen und kontinuierlichen Puffervolumen sind für das Befeuchten und die Äquilibration empfohlen:

GB004 Blotpapier	0,2 ml/cm <sup>2</sup> x Anzahl Blätter
Membran	1.0 ml/cm <sup>2</sup>
Gel	1.5 ml/cm <sup>2</sup>

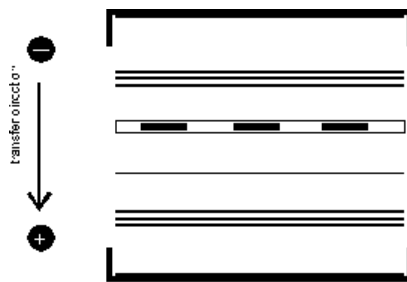
Zum Beispiel für ein 10 x 10 cm Sandwichblot:

120 ml zum Anfeuchten von 6 Blättern GB004

100 ml zum Anfeuchten der Membran

(Bitte beachten: PVDF-Membranen sollten in vor dem Äquilibrieren in Transferpuffer in 100 % Methanol angefeuchtet werden)

150 ml für die Äquilibration eines Polyacrylamidgels

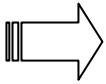


**Abb. 1: Aufbau eines Blotsandwiches**

**Hinweis:** Bei allen Manipulationen mit Elektrophoresegelelen und Blotmembranen sollten Schutzhandschuhe getragen werden!

1. Transfermembran und 6 x Gel-Blottingpapier (GB 004, Whatman) auf die Größe des Elektrophoresegels zuschneiden.  
*Die Zuschnitte für die Transfermembran und das Gel-Blottingpapier dürfen nicht größer als das Elektrophoresegel sein. Nur so ist der optimale Stromfluss gewährleistet - ausschließlich durch das Gel!*
2. Transfermembran vorsichtig auf Aqua bidest. bzw. bei Durchführung eines diskontinuierlichen Blots auf den Anodenpuffer 2 (s. S. 5) legen und die Membran für 5 - 10 Min. durch Kapillarkräfte benetzen lassen.  
*Die gleichmäßige und vollständige Benetzung der Transfermembran ist die Voraussetzung für einen guten Transfer! Es ist notwendig PVDF-Membranen vor dem Äquilibrieren in dem entsprechenden Kathodentransferpuffer mit 100 % Methanol zu befeuchten.*
3. Bei Durchführung eines diskontinuierlichen Blots, Gel nach der Elektrophorese für 5 Min. in Kathodenpuffer (s. S. 5) äquilibrieren, ansonsten zur Vermeidung von dissoziativen Bandenverbreiterungen Gel direkt einsetzen.  
*Es ist wichtig die Gel-Äquilibrierungszeit konsistent zu halten. Verkürzte oder verlängerte Zeiten können die Transfereffizienz beeinflussen.*
4. Vor dem Aufsichten der getränkten Gelblottpapiere auf die Anode sollte die Oberfläche mit einem Papiertuch abgewischt werden, das mit dem entsprechenden Transferpuffer getränkt wurde. Wenn der Stapel aufgeschichtet wurde, wischen Sie die Oberfläche der Kathode mit dem entsprechenden Kathodenpuffer ab.  
Drei Blotting-Papierzuschnitte in Towbin-Puffer oder halbkonzentriertem Elektrophorese-Laufpuffer, bzw. bei Durchführung eines diskontinuierlichen Blots zwei Blotting-Papierzuschnitte in Anodenpuffer 1 (s. S. 5) legen, kurz abtropfen lassen und die nassen Zuschnitte auf die Anode ((+), Geräte-Unterteil) legen. Einen Blotting-Papierzuschnitt in Anodenpuffer 2 (s. S. 5) legen, kurz abtropfen lassen und auf die zwei mit Anodenpuffer 1 (s. S. 5) getränkten Zuschnitte legen.  
*Wichtig ist ein ausreichend großes Pufferreservoir und ein luftblasenfreier Papierstapel.*
5. Angefeuchtete Transfermembran luftblasenfrei auf die Blottingpapier-Zuschnitte legen. Entfernen Sie eventuell vorhandene Luftblasen durch vorsichtiges Ausrollen mit z. B. einer sauberen Pasteurpipette.

6. Das äquilibrierte Gel luftblasenfrei auf die Transfermembran legen.
7. Drei Blotting-Papierzuschnitte in Towbin-Puffer oder halbkonzentrierten Elektro-phorese-Laufpuffer bzw. bei diskontinuierlichem Blot in Kathodenpuffer legen, kurz abtropfen lassen und die nassen Zuschnitte luftblasenfrei auf das Gel legen.
8. Geräte-Oberteil (Kathode) auf das Unterteil (Anode) mit dem Blotsandwich setzen. Steckkontakte verbinden und das Gerät an ein Netzgerät anschließen (schwarz = Kathode = (-), rot = Anode = (+)).



Bitte versichern Sie sich, dass die Elektrodenkontakte im Deckel vollständig und richtigen auf den Kontaktfedern im Geräteunterteil sitzen. Der Deckel muss vollständig geschlossen werden, bevor das Netzgerät eingeschaltet wird!  
Überschreiten Sie nie den maximalen Strom oder die maximale Spannung!

### Transferbedingungen:

Stromstärke 2,5 mA/cm<sup>2</sup> bzw. 3,5 mA/cm<sup>2</sup> (a,b) Gelfläche, konstant

Zeit 30 Min.

Unter diesen Bedingungen ist keine externe Kühlung notwendig.

Wir empfehlen folgende konstante maximale Stromstärken für die genannten Gelformate:

a) **diskontinuierlicher Blot:** Gelgröße 10 cm x 10 cm, 2,5 mA/cm<sup>2</sup> Gelfläche

Gele/Blot	Fläche	Stromstärke
1	100 cm <sup>2</sup>	250 mA

b) **kontinuierlicher Blot:** Gelgröße 10 cm x 10 cm, 3,5 mA/cm<sup>2</sup> Gelfläche

Gele/Blot	Fläche	Stromstärke
1	100 cm <sup>2</sup>	350 mA
2	200 cm <sup>2</sup>	700 mA

### ACHTUNG:

Bei höheren Stromstärke/längeren Transferzeiten erwärmen sich die Elektroden und das Blotsandwich. **Maximale Betriebstemperatur ist 55 °C .**

9. Das Netzgerät nach dem Blotten ausschalten, Steckkontakte abziehen und das Oberteil des BlueFlash Semi-Dry-Blotters abnehmen. Bereits bei leichtem Anheben des Sicherheitsdeckels unterbrechen die Steckkontakte die Stromzufuhr.
10. Nehmen Sie das Blotsandwich vorsichtig auseinander. Die Transfermembran steht zur weiteren Analyse zur Verfügung.

Zur Kontrolle auf vollständigen Transfer (Restproteinanteil) kann das Gel gefärbt werden. Inkubations- und Färbeprozesse können sehr effektiv auf dem großflächigen und auf langfristigen Dauerbetrieb ausgelegten Labor-Wipptisch "KICK II" (Kat.-Nr. KICK II) durchgeführt werden.

**Hinweis:**

Unter den genannten Bedingungen wird Myosin (205 kD) zu mind. 80 % aus einem 1 mm dicken 10 % PAA-Gel auf die Membran transferiert bei Verwendung eines diskontinuierlichen Blotsystems. Für unterschiedliche Proben bzw. Proteine können Sie das Standardprotokoll Ihren individuellen Bedürfnissen anpassen und die Transferzeiten entsprechend verkürzen oder verlängern.

**Beachten Sie dabei unbedingt die mögliche Erwärmung des Blotsandwiches!**

**4.2. Durchführung eines Semi-Dry Blots mit zwei gestapelten Gelen**

Zum gleichzeitigen Blotten von zwei Gelen mit dem BlueFlash Semi-Dry-Blotter sind keine Dialysemembranen oder Cellophanblätter nötig. Für effizienten Transfer sollte das **kontinuierliche Puffersystem** eingesetzt werden.

1. Bereiten Sie wie oben beschrieben das Gel, die Membranen sowie das Blotting-Papier vor.
2. Setzen Sie luftbalsenfrei auf den Transferstapel des ersten Gels drei Blatt in Transferpuffer getränktes Blottingpapier auf, darauf die zweite Transfermembran, das zweite Gel sowie drei weitere in Transferpuffer getränkte Blottingpapiere. Darauf setzen Sie das Geräte-Oberteil (Kathode).
3. Der Transfer erfolgt bei **3,5 mA/cm<sup>2</sup> Geloberfläche für 30 Minuten**.
4. Das Netzgerät nach dem Blotten ausschalten, Steckkontakte abziehen und das Oberteil des Blotters abnehmen.
5. Nehmen Sie vorsichtig das Blotsandwich auseinander. Die beiden Transfer-membranen stehen jetzt zur weiteren Analyse zur Verfügung.

**4.3. Pflege des BlueFlash Semi-Dry-Blotters nach jedem Blotvorgang**

Reinigen Sie die Elektroden nach jedem Transfer mit einem fusselreien Tuch angefeuchtet mit deion. Wasser oder milder Detergenzienlösung (z.B. 0,1 % SDS). Bei starker Verunreinigung können Sie die Elektroden mit handelsüblicher Reinigungsmilch auf Basis runder Sandkörner (z. B. Stahlfix, Ceranfeldreiniger) reinigen. Nach einer solchen Reinigung müssen Sie die Pflegezusätze der Reinigungsmilch mit Ethanol (10 %) entfernen. (Ideal auch "Scotch-Brit"-Schwamm, blaue Seite!) Zur Reinigung des Gehäuses verwenden Sie eine milde Spülmittellösung, ggf. Ethanol (10 %).

**Wichtig:** Verwenden Sie **niemals organische Lösungsmittel** zur Reinigung der Elektroden oder des Gehäuses!

## 5. Fehlersuche

<u>Problem</u>	<u>Ursache</u>	<u>Lösung</u>
Kein Transfer	<ul style="list-style-type: none"> <li>Reihenfolge von Membran und Gel vertauscht</li> <li>Strompolung am Netzgerät vertauscht</li> <li>Saures Puffersystem: Transfer in Richtung Kathode</li> </ul>	Reihenfolge von Transfermembran und Gel umkehren Strompolung korrigieren: Rot = Anode = (+) Schwarz = Kathode = (-) Transfermembran nach oben, d. h. auf die Kathodenseite (Oberteil), Gel nach unten, d.h. auf die Anodenseite (Unterteil)
Schwacher Transfer	<ul style="list-style-type: none"> <li>zu kurz geblottet (Gelfärbung!)</li> <li>zu lange geblottet, durchgeblottet, d.h. Proteinfärbung auf beiden Seiten der Membran.</li> </ul>	Transferzeit verlängern  Transferzeit reduzieren, Nitrozellulose mit kleinerer Porengröße oder PVDF-Membran verwenden.
Ungleichmäßiger Transfer	<ul style="list-style-type: none"> <li>Luftblasen beim Aufbau des Blotsandwiches</li> <li>Luftblasenbildung bei zu langem Transfer durch Elektrolyse u. Erwärmung</li> <li>Ungleichmäßiger Blotting-Stromfluss weil Papiere und Transfermembran größer sind als das Gel</li> <li>Blotting-Papiere teilweise ausgetrocknet</li> <li>Membran nicht ausreichend benetzt</li> <li>verunreinigte Elektroden</li> <li>zu lange geblottet, durchgeblottet</li> </ul>	Luftblasen durch vorsichtiges Ausrollen mit einer <u>sauberen</u> Pasteurpipette entfernen. Transferzeit reduzieren, Puffer kühlen  Transfermembran und Blotting-Papiere müssen auf Gelgröße zugeschnitten sein, keinesfalls größer (s. S. 8)! Transferzeit reduzieren (s. S: 9)  s. S: 8  s. S. 10
Proteinfärbung auf beiden Seiten der Membran	<ul style="list-style-type: none"> <li>zu lange geblottet, durchgeblottet</li> </ul>	Transferzeiten reduzieren, Nitrozellulose mit kleinerer Porengröße oder PVDF Membran verwenden.
Spannungsgerät schaltet häufig ab	<ul style="list-style-type: none"> <li>Netzgerät arbeitet nicht im niederen Voltbereich (zu hoher Innenwiderstand des Netzgerätes)</li> </ul>	Netzgerät mit Spannungsbereich ab 10 V verwenden.
Hoher Spannungsanstieg beim Blotten	<ul style="list-style-type: none"> <li>Austrocknung des Blotsandwiches</li> </ul>	Transferzeit reduzieren, Blottingpapier-Zuschnitte stärker tränken.

<u>Problem</u>	<u>Ursache</u>	<u>Lösung</u>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bildung von Elektrolysegasen an den Elektroden</li> <li>• Membran nicht ausreichend vorbenetzt</li> </ul>	Puffer vorkühlen, Transferzeit reduzieren. s. S. 8
Starke Erwärmung von Blotsandwich und Gerät	<ul style="list-style-type: none"> <li>• zu hohe Stromstärke</li> <li>• Transferzeit zu lang</li> <li>• Puffer mit zu hoher Leitfähigkeit</li> </ul>	Stromstärke reduzieren  Puffer vorkühlen, Transferzeit reduzieren. Kontrollieren Sie die Puffer, verwenden Sie einen der auf S. 5/6 aufgeführten Puffer.

## 6. Literatur

- 1) Kyhse-Andersen, J. 1984. J. Biochem-Biophys. Methods 10: 203-209
- 2) Towbin, H; Staehelin, T.; Gordon, J. 1979. Proc. Natl. Acd. Sci. USA 76: 4350-4354
- 3) Westermeier, R. 1990. Elektrophoresepraktikum VCH, D-69451 Weinheim

**Sollten Sie weitere Fragen haben zur SERVA BlueLine, können Sie sich gerne an unseren Technischen Service in Heidelberg wenden. Tel.: +49 (0) 62 21-1 38 40 44**

## 7. Empfohlene Produkte für den Proteintransfer

Die SERVA Reagenzien für die Elektrophorese unterliegen der ständigen Qualitäts- und Applikationskontrolle, um optimale Ergebnisse zu gewährleisten. Wir empfehlen den Einsatz der Reagenzien besonders bei Betrieb der BlueLine Elektrophoresegeräte, da die Qualität der Verbrauchsmittel auf die Geräte abgestimmt ist (Applikationstest).

Produkt	Kat.-Nr.	Abpackung
ε-Aminocaproic Acid	12548	100 g
Glycin analytical grade	23390	100 g 500 g 1 kg 5 kg
Tris	37190	250 g 1 kg 5 kg
SDS Sodium Dodecyl Sulfate	20760	100 g 250 g 1 kg
Sodium Dodecyl Sulfate in pellets	20765	100 g 250 g 1 kg
Methanol for HPLC	45630	2,5 l
Semi-Dry Blotting Buffer Kit (for Western Blotting)	42559	3 x 500 ml
Towbin Buffer 10x, for Western Blotting	42558	2 l
Nitrocellulose NC 45, 0,45 µm	42516	10 Blätter 8,8 x 8,8 cm
Nitrocellulose NC 45, 0,45 µm	71208	1 Rolle 30 cm x 3 m
Nitrocellulose NC 2, 0,2 µm	71223	5 Blätter 20 x 20 cm
Nitrocellulose NC 2, 0,2 µm	71224	1 Rolle 30 cm x 3 m
Fluorobind, PVDF, 0,2 µm	42572	10 Blätter 20 x 20 cm
Fluorobind, PVDF, 0,2 µm	42573	20 Blätter 10 x 10 cm
Fluorobind, PVDF, 0,2 µm	42571	1 Rolle 25 cm x 3 m
Nylon-Bind A, amphoteric, 0,2 µm	42566	1 Rolle 30 cm x 3 m
Nylon-Bind A, amphoteric, 0,45 µm	42517	10 Blätter 8,0 x 8,3 cm
Nylon-Bind A, amphoteric, 0,45 µm	42564	20 Blätter 10 x 10 cm
Nylon-Bind A, amphoteric, 0,45 µm	42567	1 Rolle 30 cm x 3 m
Nylon-Bind A, amphoteric, 0,45 µm	42568	10 Blätter 20 x 20 cm
Nylon-Bind B, positive, 0,45 µm	42518	10 Blätter 8,0 x 8,3 cm

<b>Produkt</b>	<b>Kat.-Nr.</b>	<b>Abpackung</b>
Nylon-Bind B, positive, 0,45 µm	42565	20 Blätter 10 x 10 cm
Nylon-Bind B, positive, 0,45 µm	42569	1 Rolle 30 cm x 3 m
Nylon-Bind B, positive, 0,45 µm	42570	10 Blätter 20 x 20 cm
Fluorobind Membrane, PVDF, 0,2 µm	42571	1 Rolle 25 cm x 3 m
Fluorobind Membrane, PVDF, 0,2 µm	42572	10 Blätter 20 cm x 20 cm
Fluorobind Membrane, PVDF, 0,2 µm	42573	20 Blätter 10 cm x 10 cm
Immobilon™-P-membrane, PVDF, 0,2 µm	42574	1 Rolle 26,5 cm x 3,75 m
Immobilon™-P-membrane, PVDF, 0,2 µm	42579	10 Blätter 9 cm x 12 cm

Weitere Produkte für die Elektrophorese finden Sie im **SERVA** Hauptkatalog, den wir Ihnen auf Wunsch gerne zusenden. Oder informieren Sie sich unter [www.SERVA.de](http://www.SERVA.de).