



## ROTI®Lumin ultra

Höchst effizientes Chemolumineszenz-Substrat für Meerrettich-Peroxidase (HRP)-vermittelte Western-Blots

- Sehr einfach anzuwenden
- Einfach aufsprühen
- Übertreffende Signalstärke für Detektionen im unteren Femtomgrammbereich
- Hervorragend geeignet für alle Expositionszeiten
- Geeignet für NC-Membranen, optimal für PVDF-Membranen

### I. Beschreibung

Neues, deutlich verstärktes Western-Blot Substrat auf Luminolbasis, zum chemolumineszenten Nachweis von Meerrettichperoxidase (HRP) auf Membranen. Die hochoptimierte Zusammensetzung ergibt eine äußerst hohe Signalstärke über mehr als 30 Minuten, mit einem erneuten Anstieg bei 10 bis 15 Minuten nach Auftrag. ROTI®Lumin ultra wurde hoch aufgereinigt und durch spezielle Enhancer und Stabilisierungsreagenzien in der Sensitivität um ein vielfaches gesteigert. ROTI®Lumin ultra stellt damit neben wenigen anderen Reagenzien das sensitivste verfügbare HRP-Chemolumineszenz-Substrat dar.

Durch die praktischen Sprühflaschen ist ein vorheriges, zeitaufwändiges Mischen nicht notwendig, Substrat-Lösung 1 und Verstärker-Lösung 2 werden einfach auf die Membranen gesprüht. Die Spraytechnik garantiert dabei eine äußerst feine und gleichmäßige Verteilung des Substrates auf der Membranfläche, so dass Artefakte durch ungleiche Verteilung des aufpipettierten Substrates vermieden werden. Die exzellente Signalstärke ermöglicht die Detektion von Proteinen im einzelnen Femtomgrammbereich und die deutliche Reduktion der Konzentration teurer Antikörper.

ROTI®Lumin ultra ermöglicht die mehrfache Verwendung eines Blots mit unterschiedlichen Proben. ROTI®Lumin ultra wird empfohlen zur Anwendung in Western-, Southern-, Dot-Blotting und Kolonie-Hybridisierungen.

### II. Prinzip

Die Meerrettich-Peroxidase (HRP) setzt in Anwesenheit von Wasserstoff-Peroxid Luminol um. Dabei entsteht ein Anion im angeregten Zustand, das beim Zurückfallen auf den Grundzustand Licht emittiert.

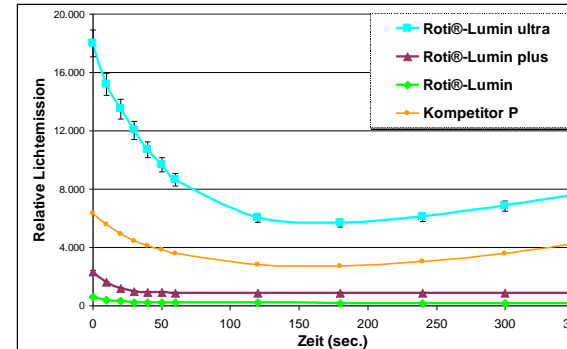


Abb. 1: Typischer Lumineszenzverlauf der ROTI®Lumin-Gruppe: 0 – 5 min. nach Mischen/Spray.

Sofort nach Mischen zeigt ROTI®Lumin ultra eine äußerst hohe Lichtemission (für ultrakurze Expositionszeiten). Die Lichtemission wird über einige Stunden auf sehr hohem Niveau gehalten (s. Abb. 1, 2).

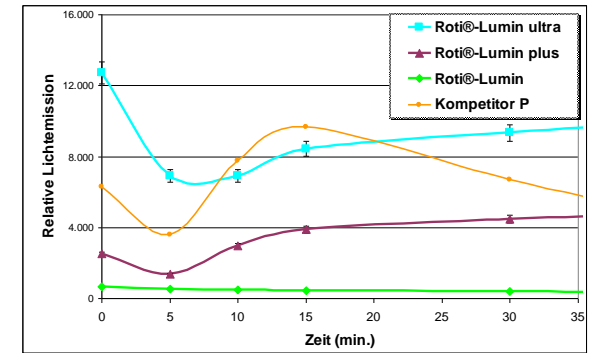


Abb. 2: Typischer Lumineszenzverlauf der ROTI®Lumin-Gruppe: 0 – 30 min. nach Mischen/Spray.

### III. Membranen

ROTI®Lumin ultra kann mit Nitrocellulose und PVDF-Membranen verwendet werden. Wir empfehlen die Verwendung der ROTI®PVDF Membran (T830.1).

### IV. Blockierungsreagenzien

Wir empfehlen auf Milchpulver- oder Casein basierende Blockierungsreagenzien, oder die Verwendung von ROTI®Block (A151.1), einem optimierten Blockierungsreagenz auf Polymerbasis. Bei Verwendung von BSA oder serumbasierenden Blockierungsreagenzien kann ein erhöhter Hintergrund auftreten.

### V. Anwendung

- Führen Sie Ihre, Western-Blot bzw. die Immunnachweis-Prozedur durch.
- Führen Sie nach Verwendung des HRP-Antikörpers oder z.B. HRP-Streptavidin mindestens 3 Waschstschritte im entsprechenden Puffer durch.
- Legen Sie die Membran gut abgetropft auf eine durchsichtige Plastikfolie.
- Sprühen Sie die Membran mit Lösung 1 ein. Für einen Mini-Blot von 7 x 8 cm Größe sind 3-4 Pumpstöße notwendig.

#### Carl Roth GmbH + Co. KG

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

ip 07/2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

- Sofort anschließend sprühen Sie die Membran mit Lösung 2 ein. (Gleiche Anzahl Pumpstöße.)
- Inkubieren Sie ca. 1 min bei RT, damit sich die Lösungen mischen und reagieren können. Während dieser Zeit: schlagen Sie die Membran in Plastikfolie ein und bringen Sie Membran, Kassette und Film in den Dunkelraum.
- Exponieren Sie für 10 sec bis 30 min. einen Röntgenfilm oder scannen Sie den Blot in einem Luminometer. Als erste Expositionszeit sollten nur ca. 10-20 sec. gewählt werden.
- Entwickeln Sie den Film.

## VI. Mehrmaliges Verwenden eines Blots, Entfernen gebundener Antikörper

- Waschen der Membran in TBST-Puffer
- Inkubation in ROTI®Free Stripping-Puffer für 30 min. bei 56 °C (z.B. im Schüttelwasserbad) im Abzug.
- 2x Waschen in TBST für je 20 min.
- Blockieren der Membran (s. IV.)
- Zugabe des primären Antikörpers und weiterer Nachweis nach Protokoll.

Eine Kontrolle des Strippens kann erfolgen durch kurze Chemolumineszenz-Färbung nach dem Waschen in TBST. Nach mehrmaligem Strippen kann eine leichte Abnahme der Signale membrangebundener Proteine und eine Zunahme des Hintergrundes auftreten.

### Anmerkung:

Bei Verwendung von ROTI®Block bleibt die Absättigung der unspezifischen Bindungsstellen unter diesen Bedingungen stabil. Es ist kein weiterer Blockierungsschritt nötig. Sie können direkt Ihren Blot mit dem nächsten Antikörper inkubieren.

## VII. Zusätzlich benötigte Reagenzien

### Waschpuffer: (Beispiel)

100 mM Tris, pH 7,5; 150 mM NaCl, 0,5 % Tween 20.

### Strip-Puffer:

Für Western-Blots: ROTI®Free Stripping-Puffer (Best.-Nr. 0083.1)

**SSC:** ROTI®Stock 20x SSC (Best. Nr. 1054.1)

**TBST:** ROTI®Stock 10 x TBST (Best. Nr. 1061.1)

**PBST:** ROTI®Stock 10 x PBST (Best. Nr. 1059.1)

**Blockierung:** ROTI®Block (Best. Nr. A151.1)

Casein (Best. Nr. 8569.1)

Milchpulver (Best. Nr. T145.1)

## VIII. Trouble Shooting

Zu starkes Signal oder höher Hintergrund	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vermindern Sie die Expositionszeit</li> <li>• Vermindern Sie die Konzentration des HRP-Konjugats</li> <li>• Erhöhen Sie die Blockierungszeit</li> <li>• Erhöhen Sie die Waschschritte</li> <li>• Tragen Sie weniger Probe auf das Gel auf</li> </ul>
Kein Signal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Überprüfen Sie den Transfer, indem Sie das entsprechende Gel mit Coomassie oder Ethidiumbromid färben</li> <li>• Überprüfen Sie den Proteintransfer, indem Sie die Membran mit Ponceau S oder Amido-Black anfärben</li> <li>• Überprüfen Sie, ob der HRP-Antikörper bezüglich Ihres primären Antikörpers spezifisch ist</li> <li>• „Verblitzen“ des Signals. Verringern Sie die Konzentration an primärem und sekundärem Antikörper</li> </ul>
Schwaches Signal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhöhen Sie die Expositionszeit</li> <li>• Legen Sie die Membran zur Exposition auf ein Filterpapier, das mit ROTI®Lumin ultra getränkt ist</li> <li>• Erhöhen Sie die Konzentration des HRP-Konjugats</li> <li>• Erhöhen Sie die Inkubationszeit für das HRP-Konjugat</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tragen Sie mehr Probe auf das Gel auf</li> </ul>
Präzipitat in Lösung 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Völlig unbedenklich – verändert die Qualität des Produktes nicht. Es handelt sich um präzipitiertes Magermilchpulver (Stabilisator, 1 mg/ml). Zum Lösen Flasche leicht schütteln oder einfach Überstand verwenden. <b>Nicht erhitzen!</b></li> </ul>

## IX. Lagerung

Lagern Sie ROTI®Lumin ultra Stocklösungen immer lichtgeschützt bei ca. 4 °C (2-8 °C).

## X. Haltbarkeit

ROTI®Lumin ultra ultra Stocklösungen sind bei sach- und fachgerechter Lagerung 1 Jahr ab Produktion haltbar.

## XI. Inhalt

### Ein MINI-Kit enthält:

20 ml ROTI®Lumin ultra Lösung 1 (Spray) (3990)  
20 ml ROTI®Lumin ultra Lösung 2 (Spray) (3991)  
Ausreichend für 2 000 cm<sup>2</sup> Membran (ca. 30 Mini-Gel Blots).

### Ein Kit enthält:

100 ml ROTI®Lumin ultra Lösung 1 (Spray) (3990)  
100 ml ROTI®Lumin ultra Lösung 2 (Spray) (3991)  
Ausreichend für 10 000 cm<sup>2</sup> Membran (ca. 150 Mini-Gel Blots).

*Die Einzelbestandteile dieses Kits können nicht separat nachgekauft werden.*

## ROTI®Lumin ultra

3734.1

Spray

1 Mini-Kit