

# GEBRAUCHSANLEITUNG

## Chemiluminescence reagent for HRP

Cat. No.: 42582

### PRODUKTBESCHREIBUNG

Das Chemilumineszenz-Reagenz ist eine gebrauchsfertige Detektionslösung zu der noch direkt vor Gebrauch 30 % Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ , nicht mit-geliefert) im Verhältnis 1:1000 zugesetzt werden muss. Die fertige Substrat-lösung kann anschließend zur Chemilumineszenzdetektion von immobilisierten Proteinen (Western-Blot) oder immobilisierten Nukleinsäuren (Southern-/Northern-Blot) mit Hilfe von Meerettich-Peroxidase verwendet werden. In Gegenwart von  $H_2O_2$ , katalysiert HRP die Oxidation von Luminol. Im Anschluss an die Oxidation bildet sich ein energetisch angeregtes Zwischenprodukt, das unter Emission von Licht in einen stabilen Endzustand übergeht. Die Lichtemission kann durch Zusatz von phenolischen Verbindungen, sog. Enhancer, noch verstärkt werden. Mit Hilfe dieser Methode, können auf Membranen immobilisierte spezifische Antigene oder Nukleinsäure-Fragmente entweder direkt, wenn sie mit HRP markiert sind bzw. indirekt mit HRP-markierten Antikörpern oder Streptavidin detektiert werden.

---

#### Vorteile dieser Detektionsmethode:

- hochsensitives, nicht-radioaktives System
  - Dokumentation auf Filmen bzw. Chemilumineszenz-geeigneten Dokumentationssystemen, z.B. Proxima, Isogen.
  - Detektion innerhalb kurzer Expositionszeiten möglich
  - hohe Auflösung
- 

#### Anwendung:

- Chemilumineszenz-Reagenz mit 30 %  $H_2O_2$  im Verhältnis 1: 1000 mischen
- Überschüssigen Waschpuffer vom Blot entfernen, allerdings sollte der Blot nicht austrocknen
- Detektionslösung direkt auf den Blot geben ( $0,1 \text{ ml/cm}^2$ ) und 1-2 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- Überschüssige Detektionslösung entfernen und den Blot in Saran-Folie einschlagen. Wichtige: Luftblasen vorsichtig beseitigen
- Blot mit Vorderseite nach oben in Filmkassette legen, Film auflegen und 30 - 60 Sekunden belichten, Film entwickeln
- Je nach Ergebnis weitere Belichtungszeiten wählen
- Bei sehr starken Signalen sollte nach 20 bis 30 Minuten Abklingzeit nochmals ein Film belichtet werden

Ver. 09/09