

Hoefer PR648

Slot Blot Manifold

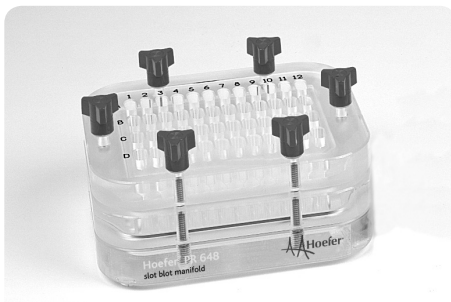


Tabla de contenidos

Introducción.....	1
Especificaciones.....	2
Procedimiento para el uso estándar de la Hoefer PR648.....	3
Configuración de la Hoefer PR648.....	3
La aplicación de las muestras.....	5
Extracción de la mancha.....	5
Cuidado y mantenimiento.....	6
Solución de problemas.....	7
Información para pedidos.....	8

Introducción

Ranura-y punto-Blot técnicas se han utilizado ampliamente en la biología molecular para inmovilizar ácidos nucleicos y proteínas en las membranas para la determinación de homologías de ácidos nucleicos, la cuantificación de ARNm, estudiando receptor de la hormona de unión, detectando nucleicos interacciones proteína-ácido, y la detección de proteínas específicas por actividad o un anticuerpo. Los borrones en forma de ranura-producidas por el Hoefer® PR648 slot blot múltiples filtración son más fiable y precisa cuantificó por densitometría de barrido de blots de puntos. Para una serie de puntos, el camino de exploración debe pasar directamente a través del centro de todos los puntos. Las ranuras no son tan exigentes en la alineación y permitir mucho más amplios caminos de análisis representativas.

El Hoefer PR648 slot blot distribuidor de filtración está diseñado y fabricado para proporcionar un sello eficiente en torno a cada ranura de asegurar una forma consistente y tamaño. Tan poco como 50 µl de muestra aplicada a una membrana a través de la ranura producirá una banda claramente definido con la muestra uniformemente distribuida.

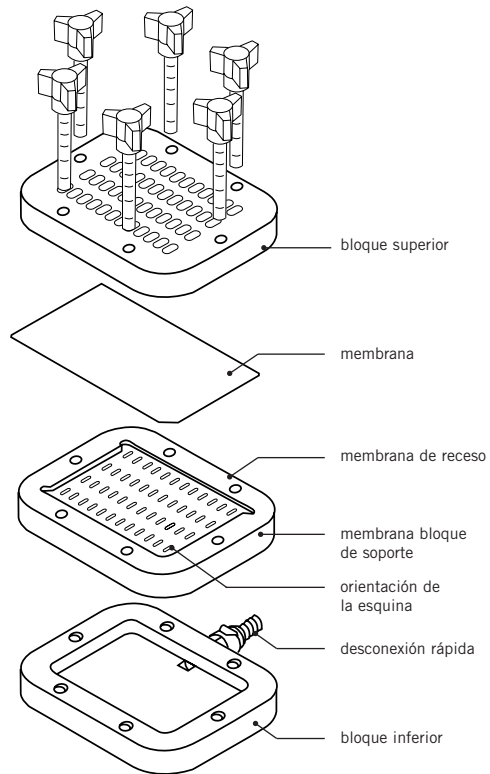
Cada Hoefer PR648 slot blot se compone de tres bloques separados. El bloque superior tiene 48 ranuras etiquetados para muestras, dispuestos en una matriz de 4 × 12. La membrana secante se coloca en un rebaje en la parte superior de la media (soporte de la membrana) del bloque. El bloque inferior tiene un conector para la fuente de vacío.

Para montar el Hoefer PR648 slot blot, basta con colocar la membrana en el receso de la membrana bloque de soporte, apilar los bloques juntos, e inserte y apriete los tornillos. Una el conector en el bloque inferior a una fuente de vacío y se aplican las muestras en las ranuras.

Especificaciones

Número de ranuras:	48
Dimensiones de ranura:	6 mm × 0,80 mm
Ranura de separación:	9,0 mm × 18 mm (de centro a centro)
Ranura superficie membrana:	4,8 mm ²
Volumen máximo, así:	1 ml
Receso de dimensión:	82 mm × 115 mm
Dimensiones:	12 cm × 15,5 cm × 8 cm

Fig 1. El Hoefer PR648 Slot Blot configurado para su uso estándar.



Procedimiento para el uso estándar de la Hoefer PR648

El siguiente procedimiento produce una mancha bien definida con bordes afilados con muchos tipos de muestras. Para determinar la carga óptima por ranura de la membrana en particular y las muestras de que está utilizando, le sugerimos que primero borrando una serie de diluciones seriadas.

Configuración de la Hoefer PR648

1

Coloque el bloque inferior de la mesa del laboratorio. Coloque el bloque de soporte de membrana (bloque central), con el O-anillo hacia abajo, en la parte superior del bloque inferior.

El rebaje de la membrana en el bloque de soporte de la membrana tiene una esquina curvada. Orientar el bloque con este rincón de la parte inferior derecha (ver Fig. 1).

2

Use guantes para evitar dejar huellas dactilares en la membrana. Colocar la membrana de corte plantilla, lado de caballete abajo, sobre la membrana. Ejercer una ligera presión sobre la plantilla para dejar una marca en la membrana. Cortar la membrana a lo largo de la marca. La plantilla se ha dimensionado para permitir el hinchamiento de todos los tipos de membrana.

3

Remoje la membrana en tampón apropiado para unos minutos para que se humedezca bien. (Una membrana seca se basará muestra bajo el reborde de sellado y lejos de la ranura, lo que resulta en una imagen ranura mal definida en la membrana.)

4

Colocar la membrana completamente dentro del rebaje, alineando la esquina recortada de la membrana con la esquina recortada del rebaje. Asegúrese de que la membrana es plana y se ajusta

Nota: No apriete demasiado. Un apriete excesivo causa fugas.

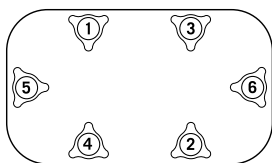


Fig 2. Orden correcto para apretar los tornillos.

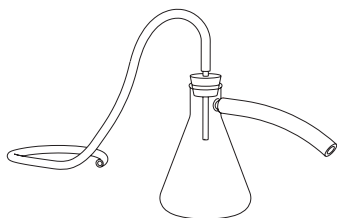


Fig 3. Corregir puesta en marcha de la trampa de líquidos.

completamente dentro del área, con los bordes paralelos a los bordes de recreo. Si la membrana no se coloca correctamente, se levante y vuelva a colocarla.

5

Coloque con cuidado el bloque superior, con letras y números hacia arriba, en la parte superior del bloque de soporte de la membrana.

6

Introduzca el tornillo en los orificios roscados. Apriete los tornillos hasta que los mandos sólo tiene que tocar la superficie del bloque.

7

Apriete cada tornillo sólo una pequeña cantidad, siguiendo la secuencia que se muestra en la figura 2. Repita la secuencia de una o dos veces hasta que todos los tornillos estén bien ajustados.

8

Una el slot blot a una pequeña bomba de vacío con vacío ajustable y un manómetro de vacío. Si una bomba de vacío ajustable no está disponible, utilice un aspirador de agua o un vacío de la casa y colocar una válvula de purga y manómetro de vacío en la línea de vacío.

9

Para retener los líquidos sea aspirado en la fuente de vacío, establecer una trampa de líquido entre el slot blot y la fuente de vacío tal como se muestra en la figura 3:

- Utilizar un brazo lateral matraz de vacío y un tapón con un pequeño orificio.
- Insertar un tubo de vidrio a través del agujero tapón. Coloque el tubo de modo que se extiende por debajo del brazo lateral matraz cuando el tapón está en su lugar.
- Tapar el frasco. Utilizar una longitud de tubo de goma para conectar el tubo de vidrio en el tapón para el conector de la Hoefer PR648.
- Utilizar una segunda longitud de tubería para conectar el brazo lateral del matraz a la lumbrera de admisión de la bomba de vacío o de la línea de vacío.

Nota: No use muestras que contienen disolventes orgánicos.

La aplicación de las muestras

1

Encienda la bomba de vacío y ajustar la bomba o la válvula de purga hasta que el vacío es 13-25 cm de Hg.

2

Apague la aspiradora.

3

Cuidadosamente cargar una muestra, por lo menos 50 μ l de volumen, en cada pocillo. (Un tamaño de 50 μ l es necesario para distribuir la muestra uniformemente sobre la ranura.) Para evitar la formación de burbujas, pipeta cada muestra contra la parte inferior de pared lateral del pozo. Esto es especialmente importante que la muestra contiene proteínas o detergentes. Si las burbujas se forman, lávelos con la punta de la pipeta.

4

Encienda el vacío y lo puso en 13-25 cm de Hg. Cuando todo el líquido de la muestra se ha tirado a través de la membrana, añadir 1 ml de tampón a cada ranura, pipeteando contra la pared inferior del lado. Ajuste de vacío a 38-50 cm de Hg. Después de todo el tampón se tira a través de, repetir dos veces más para un total de tres lavados.

Extracción de la mancha

1

Con el vacío sigue en pie, quite los tornillos y levante con cuidado el bloque superior.

2

Con unas pinzas, levantar la membrana y colóquelo sobre papel limpio, filtro seco. Apague la aspiradora.

3

Proceso de la membrana de acuerdo a su protocolo.

4

Si usted tiene pensado digitalizar la propia mancha con un densitómetro, secar la membrana plana al colocarlo en el lado suave de una hoja de polyethulene porosa. Secar durante varios minutos en un secador de gel de vacío sin calor.

Cuidado y mantenimiento

1

Si el Slot Blot se utiliza con materiales radiactivos, descontaminar el O-anillo entre usos. Es posible que desee comprar una segunda anilla para no radiactivo de trabajo. (Ver información).

2

Lavar todos los bloques a fondo en un detergente suave de laboratorio a base de agua, luego enjuague bien en agua destilada. Breve exposición a las soluciones de lejía 5% puede ser utilizado. No use el etanol u otros disolventes orgánicos. No autoclave el slot blot o lavar a altas temperaturas.

3

Borre todas las manchas se sequen inmediatamente. Acrílico puede absorber agua, lo que puede hacer que se deforme.

4

Guarde el slot blot lejos de la luz solar directa. Si almacena su montaje, no apriete los tornillos.

5

Guarde el PR648 Slot Blot con la membrana de corte de la plantilla, la parte plana hacia arriba, entre los bloques de media y superior. Esto protegerá el reborde de sellado que rodea las ranuras.

Solución de problemas

problema	solución
Si el área de la muestra sobre la membrana es mayor que el tamaño de la ranura, o si la solución se escape fuera de la ranura...	
<i>Los tornillos se aprietan demasiado lejos o no aprieta lo suficiente.</i>	Siga cuidadosamente las instrucciones de apriete en los pasos 6 y 7 en Configuración de la Hoefer PR648 slot blot.
<i>La membrana no está colocado correctamente con el rebaje.</i>	Asegúrese de que la membrana es plana y se ajusta completamente dentro del rebaje con sus bordes paralelos a los bordes de receso.
<i>La membrana está seco.</i>	Antes de secante, asegúrese de disfrutar de la membrana en tampón de mojarlo a fondo.
Si las impresiones pequeñas muestran en la membrana que rodea la mancha...	
<i>Esto es normal.</i>	Las impresiones, que indican un cierre hermético, no afectará a los resultados si escanea la membrana en el modo de reflectancia. Colocar la membrana plana en el lado liso de una lámina de polietileno poroso, y se seca durante varios minutos en un secador de gel sin calor.
Si hay burbujas en la ranura...	
<i>Hay proteínas o detergentes en la muestra. O bien, la muestra se roció con rapidez en la ranura.</i>	Para evitar que se formen burbujas, asegúrate de pipeta de la muestra lentamente y con cuidado contra la parte inferior de las paredes laterales de la ranura. Si las burbujas necesarias, vacíe con una punta de pipeta.

Información para pedidos

producto	cantidad	código
Unidad Básica		
Hoefer PR648 Slot Blot manifold con un conector rápido ajuste y la plantilla de corte de la membrana.	1	PR648
Piezas de repuesto para el PR648 Slot Blot		
Bloque superior	1	PR654
Membrana bloque de soporte (bloque medio). Incluye junta tórica.	1	PR659
Abajo Bloque	1	PR656
Las juntas tóricas	1	PR657
Tornillos	6	PR658
Membrana plantilla de corte	1	PR659

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Llamada gratuita: 1-800-227-4750

Teléfono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer es una marca registrada
de Hoefer, Inc.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos los derechos reservados.

Impreso en el USA.

