

Hoefer PR648

Slot Blot Manifold



Conteúdo

Introdução	1
Especificações.....	2
Procedimento para o uso padrão da Hoefer PR648...	3
Configurando o Hoefer PR648	3
Aplicando suas amostras.....	5
Remover seu blot	6
Cuidados e manutenção	7
Solução de problemas.....	8
Solicitação de informações.....	9

Introdução

Ranhura e dot-blotting técnicas têm sido utilizadas extensivamente em biologia molecular para imobilizar os ácidos nucleicos e proteínas em membranas para a determinação homólogas de ácidos nucleicos, quantificando mRNA, estudando receptor da hormona de ligação, a detecção de interações proteína-ácido nucleico, e triagem para proteínas específicas por actividade ou anticorpo. As manchas em forma de fenda produzidos pela Hoefer® PR648 ranhura múltipla filtração blot são mais confiável e precisa quantificada por densitometria de manchas de pontos. Para uma série de pontos, o caminho de digitalização deve passar directamente através do centro de todos os pontos. Slots não são tão exigentes em alinhamento e permitir percursos de digitalização muito mais amplas representativas.

O Hoefer PR648 ranhura colector filtração blot foi projetado e fabricado para fornecer uma vedação eficiente em torno de cada slot de segurar uma forma consistente e tamanho. Tão pouco quanto 50 µl de amostra aplicado a uma membrana através da ranhura irá produzir uma banda claramente definida com a amostra distribuída uniformemente.

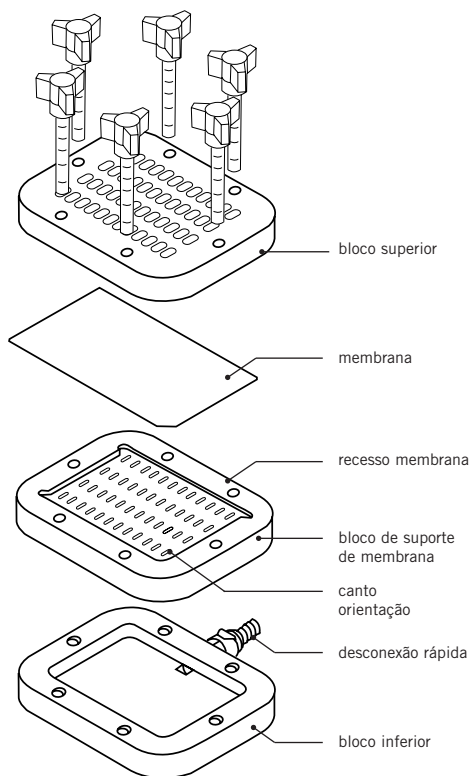
Cada Hoefer blot ranhura PR648 é composto por três blocos separados. O bloco superior tem 48 slots marcados para amostras, dispostas em um 4 × 12 da matriz. A membrana blotting é colocado em um rebaixo na parte superior do bloco (suporte de membrana) do meio. O bloco inferior tem um conector para a fonte de vácuo.

Para montar o Hoefer blot ranhura PR648, basta colocar a membrana em recesso bloco membrana suporte, empilhar os blocos em conjunto, e insira e aperte os parafusos. Encaixe o conector no bloco inferior para uma fonte de vácuo e aplicar as amostras nas ranhuras.

Especificações

Número de slots:	48
Dimensões slot:	6 mm × 0,80 mm
Espaçamento slot:	9,0 mm × 18 mm (a partir de centro a centro)
Ranhura área de superfície de membrana:	4,8 mm ²
Volume bem máximo:	1 ml
Dimensão Recess:	82 mm × 115 mm
Dimensões:	12 cm × 15,5 cm × 8 cm

Fig 1. O Hoefer PR648 Slot Blot criado para uso padrão.



Procedimento para o uso padrão da Hoefer PR648

O procedimento seguinte produz um blot bem definido, com arestas com muitos tipos de amostras. Para determinar a carga ideal por slot para a membrana especial e amostras que você está usando, sugerimos que primeiro mata-borrão de um conjunto de diluições em série.

Configurando o Hoefer PR648

1

Coloque o bloco inferior na bancada do laboratório. Coloque o bloco de suporte de membrana (bloco central), com o O-ring voltado para baixo, em cima do bloco de fundo.

O recesso de membrana no bloco de suporte de membrana tem um canto curvo. Oriente o bloco com este canto no canto inferior direito (ver Fig. 1).

2

Use luvas para não deixar impressões digitais na membrana. Coloque a membrana de corte de modelo lado do cume, para baixo, sobre a membrana. Exercer uma ligeira pressão sobre o modelo para deixar uma marca na membrana. Corte a membrana ao longo da marca. O modelo foi dimensionado para permitir o inchaço de todos os tipos de membrana.

3

Embeber a membrana em tampão apropriado para alguns minutos para molhar completamente. (A membrana seca vai chamar amostra sob o rebordo de vedação e para longe da ranhura, o que resulta numa imagem de ranhura mal definida na membrana.)

4

Coloque a membrana completamente dentro do recesso, alinhando o canto cortado da membrana com o canto cortado do recesso.

Assegure-se a membrana é plana e se encaixa completamente dentro da área, com arestas paralelas às

Nota: Não aperte demais. O aperto excessivo causa vazamentos.

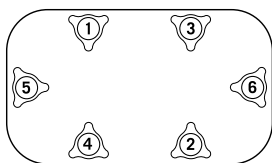


Fig 2. Ordem correta de aperto dos parafusos.

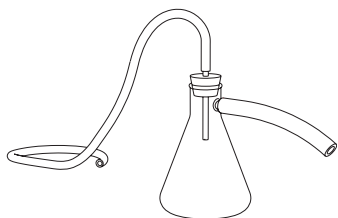


Fig 3. Corrija set-up da armadilha líquido.

arestas do recesso. Se a membrana não estiver posicionado corretamente, levante-a e reposicioná-lo.

5

Cuidadosamente fixar o bloco de topo, com letras e números para cima, na parte superior do bloco de suporte de membrana.

6

Insira o parafuso nos furos roscaados. Aperte os parafusos até os botões basta tocar a superfície do bloco.

7

Mão-apertar cada parafuso apenas uma pequena quantidade, seguindo a sequência mostrada na Fig. 2. Repita a sequência de uma ou duas vezes até que todos os parafusos estão firmes.

8

Anexar o blot ranhura para uma bomba de vácuo pequena com vácuo ajustável e um manômetro de vácuo. Se uma bomba de vácuo ajustável não estiver disponível, usar um aspirador de água ou de um vácuo casa e colocar uma válvula de purga e manômetro de vácuo na linha de vácuo.

9

Para manter líquidos a partir de ser sugado para a fonte de vácuo, configurar uma armadilha de líquido entre o blot ranhura e da fonte de vácuo, como mostrado na Fig. 3:

- Use um frasco de vácuo lado do braço e uma rolha com um pequeno orifício.
- Inserir um tubo de vidro através do orifício de rolha. Posicionar o tubo de modo que ela se estende abaixo do braço lateral balão quando a rolha está no lugar.
- Fechar o frasco. Use um comprimento de tubagem de borracha para ligar o tubo de vidro na rolha para o conector da Hoefer PR648.
- Use um segundo comprimento de tubagem para ligar o braço lateral do balão para o porto de entrada da bomba de vácuo ou para a linha de vácuo.

Aplicando suas amostras

1

Ligar a bomba de vácuo e ajustar a bomba ou sangrar válvula até que o vácuo é 13-25 cm Hg.

2

Desligue o vácuo.

3

Cuidadosamente carregar uma amostra, pelo menos, 50 µl de volume, em cada poço. (Um tamanho de 50 µl é necessário para distribuir a amostra uniformemente ao longo da ranhura.) Para evitar a formação de bolhas, pipeta de amostra de cada um contra o fundo da parede lateral do poço. Isto é especialmente importante que sua amostra contém proteínas ou detergentes. Se as bolhas devem formar, lave-os com a ponta pipeta.

4

Ligue o vácuo e ajustá-la em 13-25 Hg cm. Quando todo o líquido da amostra ter sido puxado através da membrana, adicionar 1 ml de tampão para cada ranhura, pipetagem contra a parede de fundo lado. Ajustar vácuo para 38-50 de Hg cm. Depois de todo o buffer é puxado através de, repetir mais duas vezes para um total de três lavagens.

Nota: Não utilizar amostras contendo solventes orgânicos.



Remover seu blot

1

Com o vácuo ainda ligado, remova os parafusos e, cuidadosamente, retire o bloco de cima.

2

Usando uma pinça, levantar a membrana fora e colocá-lo na limpeza, papel de filtro seco. Desligue o vácuo.

3

Processar a membrana de acordo com o protocolo.

4

Se você pretende digitalizar o blot-se com um densitômetro, secar a membrana plana, colocando-o no lado liso de uma folha polyethulene poroso. Secá-lo por diversos minutos num secador de gel de vácuo, sem calor.

Cuidados e manutenção

1

Se a mancha slot é usado com materiais radioactivos, descontaminar a O anel entre os usos. Você pode desejar comprar um segundo anel para não-radioativo de trabalho. (Veja as informações da compra.)

2

Lave todos os blocos completamente em um detergente de laboratório suave à base de água, em seguida, lavar bem em água destilada. Uma breve exposição a soluções alcalinas de 5% pode ser usado. Não utilizar etanol ou outros solventes orgânicos. Não autoclave o blot ranhura ou lavá-lo a altas temperaturas.

3

Seque todos os borrões secar imediatamente. Acrílico pode absorver água, o que pode fazer com que a urdidura.

4

Guarde o blot slot longe da luz solar direta. Se você armazená-lo montado, não aperte os parafusos.

5

Armazenar o PR648 Slot Blot com a membrana de corte de modelo, plana voltada para cima, entre os blocos de topo e intermediários. Isto irá proteger o rebordo de vedação circundante das ranhuras.

Solução de problemas

problema

solução

Se a área da amostra sobre a membrana é maior que o tamanho de entalhe, ou se a solução está vazando para fora da ranhura...

Parafusos são apertados demais ou não apertados o suficiente.

A membrana não está posicionado correctamente com o recesso.

A membrana é seco.

Siga atentamente as instruções de aperto nas etapas 6 e 7 em Configurando o Hoefer PR648 Slot Blot.

Assegure-se a membrana é plana e se encaixa completamente no interior da cavidade com as suas arestas paralelas às arestas do recesso.

Antes de mata-borrão, certifique-se de mergulhar a membrana em tampão para molhá-lo completamente.

Se as impressões pequenas mostrar na membrana ao redor da mancha...

Isto é normal.

As impressões, que indicam uma boa vedação, não afetarão os resultados, se você verificar a membrana no modo de refletância. Coloque a membrana plana no lado liso de uma folha de polietileno poroso, e secá-lo por diversos minutos num secador de gel sem calor.

Se existirem bolhas na ranhura...

Existem proteínas ou detergentes presentes na amostra. Ou, a amostra foi esguichada rapidamente para dentro da ranhura.

Para evitar a formação de bolhas, certifique-se de pipeta da amostra lentamente e com cuidado contra o fundo das paredes laterais do slot. Se necessário, bolhas de lavar fora com uma ponteira.

Solicitação de informações

produto	quant.	código
Unidade Básica		
Hoefer PR648 Slot blot manifold com conector de encaixe rápido e modelo de corte da membrana.	1	PR648
Peças de reposição para o PR648 Slot Blot		
Bloco de topo	1	PR654
Bloco membrana de suporte (bloco do meio). Inclui O-ring.	1	PR659
Bloco de fundo	1	PR656
O-rings	1	PR657
Parafusos	6	PR658
Modelo de corte da membrana	1	PR659

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Toll Free: 1-800-227-4750

Telephone: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer é uma marca registrada da
Hoefer, Inc.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos os direitos reservados.

Impresso nos USA.

