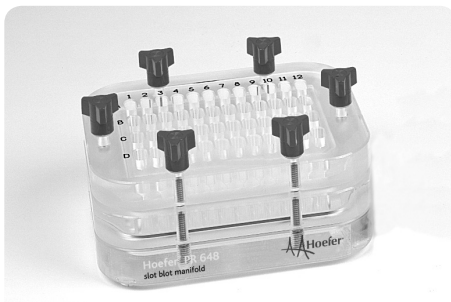


Hoefer PR648

Slot Blot Manifold



Indice

Introduzione.....	1
Specificazioni.....	2
Procedura per l'utilizzo standard del Hoefer PR648 ...	3
Impostazione del Hoefer PR648	3
Applicando i vostri campioni	5
Rimozione della macchia	5
Cura e manutenzione	6
Risoluzione dei problemi	7
Informazioni per l'ordine	8

Introduzione

Slot-dot-blotting e tecniche sono state ampiamente utilizzato in biologia molecolare per immobilizzare gli acidi nucleici e proteine di membrane per la determinazione omologie di acidi nucleici, quantificazione mRNA, studiando il legame al recettore ormonale, rilevando le interazioni proteina-acidi nucleici, e lo screening per le proteine specifiche per attività o anticorpo. Le slot-a forma di macchine prodotte dalla Hoefer® PR648 blot molteplici slot di filtrazione sono più affidabile e preciso quantificata mediante densitometria a scansione dot blot. Per una serie di punti, il percorso di scansione deve passare direttamente attraverso il centro di tutti i punti. Gli slot non sono così esigente in allineamento e consentono molto più ampi percorsi di analisi rappresentativi.

La Hoefer PR648 blot collettore slot di filtrazione è progettato e costruito per fornire un sigillo efficace attorno a ciascun slot di assicurare una forma coerente e dimensione. Il meno 50 µl di campione applicato ad una membrana attraverso la fessura produrrà un gruppo ben definito con il campione uniformemente distribuito.

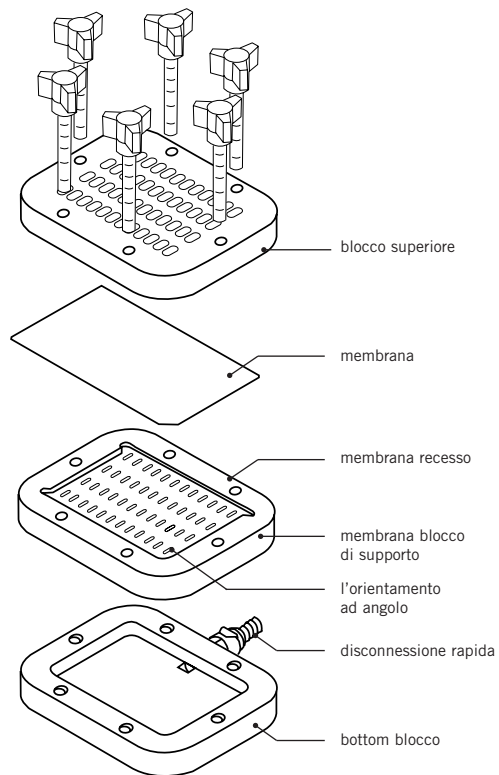
Ogni PR648 blot slot di Hoefer è composto da tre blocchi separati. Il blocco superiore dispone di 48 slot per i campioni etichettati, disposti in una matrice 4 × 12. La membrana blotting è collocato in una rientranza sulla parte superiore del mezzo (supporto della membrana) di blocco. Il blocco inferiore ha un connettore per la sorgente di vuoto.

Per assemblare il PR648 blot slot di Hoefer, è sufficiente posizionare la membrana nella cavità della membrana blocco di sostegno, impilare i blocchi insieme, quindi inserire e stringere le viti. Collegare il connettore sul blocco inferiore per una sorgente di vuoto e applicare i campioni nelle fessure.

Specificazioni

Numero di slot:	48
Slot dimensioni:	6 mm × 0,80 mm
Slot distanza:	9,0 mm × 18 mm (da centro a centro)
Slot membrana di superficie:	4,8 mm ²
Volume massimo bene:	1 ml
Recess dimensione:	82 mm × 115 mm
Unità di dimensioni:	12 cm × 15,5 cm × 8 cm

Fig 1. Il PR648 Slot Blot per Hoefer configurarlo per l'uso standard.



Procedura per l'utilizzo standard del Hoefer PR648

La seguente procedura produce un ben definito blot con bordi taglienti con molti tipi di campioni. Per determinare il carico ottimale per slot per la particolare membrana ed i campioni che si utilizza, si consiglia prima blotting una serie di diluizioni seriali.

Impostazione del Hoefer PR648

1

Posizionare il blocco basso sul banco di laboratorio. Posizionare il blocco di supporto della membrana (blocco intermedio), con la O-ring rivolto verso il basso, sulla sommità del blocco inferiore.

La rientranza membrana nel blocco di supporto membrana ha un angolo curvo. Orientare il blocco con questo angolo in basso a destra (vedi Fig. 1).

2

Indossare guanti per evitare di lasciare impronte digitali sulla membrana. Posizionare la membrana di taglio template, lato dorsale verso il basso, sulla membrana. Esercitare una leggera pressione sul modello di lasciare un segno sulla membrana. Tagliare la membrana lungo il segno. Il modello è stato dimensionato per consentire rigonfiamento di tutti i tipi di membrana.

3

Immergere la membrana in tampone appropriato per alcuni minuti per bagnare completamente. (Una membrana secco trarrà campione sotto la cresta di tenuta e fuori dalla fessura, risultante in una immagine fessura ben definita sulla membrana.)

4

Posizionare la membrana completamente entro la cavità, allineando l'angolo ritagliato della membrana con l'angolo ritagliato della rientranza.

Assicurarsi che la membrana è piatta e si inserisce completamente nella zona, con bordi paralleli ai bordi rientranza. Se la membrana non è posizionata correttamente, sollevarla e riposizionarla.

Nota: Non stringere eccessivamente. Over-serraggio cause perdite.

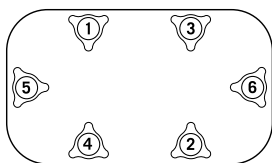


Fig 2. Nell'ordine corretto per stringere le viti.

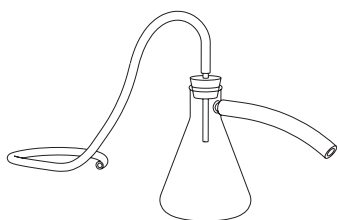


Fig 3. Correggere set-up della trappola liquido.

5

Attenzione il blocco superiore, con lettere e numeri rivolti verso l'alto, sulla parte superiore del blocco di supporto della membrana.

6

Inserire la vite nei fori filettati. Serrare le viti fino a quando le manopole è sufficiente toccare la superficie del blocco.

7

Stringere ogni vite solo una piccola quantità, secondo la sequenza illustrata in Figura 2. Ripetete la sequenza di una o due volte fino a quando tutte le viti siano serrate.

8

Fissare la blot fessura di una pompa da vuoto con piccolo vuoto regolabile ed un vuotometro. Se una pompa a vuoto regolabile non è disponibile, utilizzare un aspiratore acqua o un vuoto casa e posizionare una valvola di sfiato e vuotometro nella linea del vuoto.

9

Per mantenere liquidi di essere aspirato nella sorgente di vuoto, impostare una trappola liquido tra il blot fessura e la sorgente di vuoto, come mostrato in fig 3:

- Usare un pallone di braccio di lato in depressione e un tappo con un piccolo foro.
- Inserire un tubo di vetro attraverso il foro tappo. Posizionare il tubo in modo che si estenda al di sotto del braccio laterale pallone quando il tappo è a posto.
- Tappare il pallone. Utilizzare una lunghezza di tubo in gomma per collegare il tubo di vetro del tappo al connettore sul Hoefer PR648.
- Utilizzare un secondo tratto di tubazione per collegare il braccio laterale del pallone alla luce di aspirazione della pompa da vuoto o la linea del vuoto.

Nota: Non utilizzare campioni contenenti solventi organici.

Applicando i vostri campioni

1

Accendere la pompa per vuoto e regolare la pompa o la valvola di spurgo finché il vuoto è 13-25 cm Hg.

2

Spegnere il vuoto.

3

Accuratamente caricare un campione, almeno 50 μ l di volume, in ciascun pozzetto. (A 50 μ l dimensioni è necessario distribuire il campione uniformemente sulla fessura.) Per evitare la formazione di bolle, pipetta ciascun campione contro il fondo della parete laterale del pozzo. Ciò è particolarmente importante che il campione contenga proteine o detergenti. Se le bolle dovrebbero costituire, sciacquarli con la punta pipettatore.

4

Accendere il vuoto e impostarlo a 13-25 cm Hg. Quando tutto il liquido campione è stato tirato attraverso la membrana, aggiungere 1 ml di tampone per ciascuno slot, contro il fondo pipettando-parete laterale. Regolare vuoto di 38-50 cm Hg. Dopo tutto il tampone viene tirato attraverso, ripetere due volte per un totale di tre risciacqui.

Rimozione della macchia

1

Con il vuoto ancora, rimuovere le viti e con attenzione sollevare il blocco superiore.

2

Utilizzando pinze, sollevare la membrana off e metterlo su carta pulita e asciutta filtro. Spegnere il vuoto.

3

Elabora la membrana secondo il protocollo.

4

Se si prevede di eseguire la scansione stessa blot con un densitometro, asciugare la membrana piatta mettendo sul lato liscio di un foglio polyethulene poroso. Asciugare per alcuni minuti in un essiccatore sotto vuoto gel senza calore.

Cura e manutenzione

1

Se la macchia slot è utilizzato con materiali radioattivi, decontaminare l'O-ring tra usi. Si potrebbe desiderare di acquistare un secondo anello per non radioattivo lavoro. (Vedere Informazioni per l'ordine.)

2

Lavare accuratamente tutti i blocchi in un delicato a base di acqua detergente di laboratorio, quindi sciacquare bene in acqua distillata. Breve esposizione a soluzioni di lavaggio 5% può essere usato. Non usare alcol etilico o altri solventi organici. Non sterilizzare in autoclave la macchia slot o lavare ad alte temperature.

3

Asciugare tutte le macchie asciugare immediatamente. Acrilico in grado di assorbire l'acqua, che può causare a deformarsi.

4

Conservare il blot fessura lontano dalla luce diretta del sole. Se si memorizza lo assemblato, non stringere le viti.

5

Conservare il PR648 Slot Blot con la membrana di taglio template, flat side-up, tra i blocchi middle e top. Questo proteggerà la cresta di tenuta che circonda le slot.

Risoluzione dei problemi

problema	soluzione
Se l'area del campione sulla membrana è più grande della dimensione di slot, o se la soluzione è fuoriuscita dallo slot...	
<i>Le viti vengono serrate troppo o non abbastanza serrato.</i>	Seguire attentamente le istruzioni di serraggio nei passaggi 6 e 7 Impostazione del PR648 Slot Blot.
<i>La membrana non è posizionata correttamente con la cavità.</i>	Assicurarsi che la membrana è piatta e si inserisce completamente nella cavità con i suoi bordi paralleli ai bordi rientranza.
<i>La membrana è asciutto.</i>	Prima assorbente, assicurarsi di bagnare la membrana in un tampone di bagnare a fondo.
Se le impressioni di piccole dimensioni mostrano sulla membrana intorno alla macchia...	
<i>Questo è normale.</i>	Le impressioni, che indicano una buona tenuta, non influenzerà i risultati, se la membrana si esegue la scansione in modalità di riflessione. Posizionare la membrana piatta sul lato liscio di un foglio di polietilene poroso, e asciugare per alcuni minuti in un essiccatore a gel senza calore.
Se ci sono bolle nello slot...	
<i>Ci sono proteine o detergenti nel campione. In alternativa, il campione è stato spruzzato rapidamente nello slot.</i>	Per evitare la formazione di bolle, assicurarsi di pipetta campione lentamente e contro il fondo parete laterale della scanalatura. Se necessario, bolle a filo fuori con una pipetta.

Informazioni per l'ordine

prodotto	quantità	codice
Unità di base		
Hoefer PR648 Slot Blot con connettore rapido Fit e taglio template membrana.	1	PR648
Parti di ricambio per il PR648 Slot Blot		
Block Top	1	PR654
Membrana blocco di supporto (blocco centrale). Include O-ring.	1	PR659
In basso Block	1	PR656
O-rings	1	PR657
Viti	6	PR658
Membrane di taglio template	1	PR659

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Numero verde: 1-800-227-4750

Telefono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer è un marchio registrato di
Hoefer, Inc.

© 2012 Hoefer, Inc.

Tutti i diritti riservati.

Stampato negli USA.

