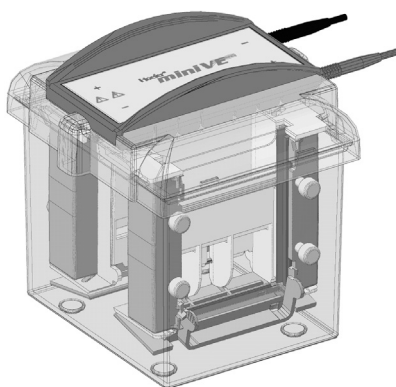


Hoefer SE300 miniVE

Mini-vertical unidade de electroforese em gel



Conteúdo

Informações Importantes.....	ii
Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE).....	vii
Introdução	1
Desempacotando	2
Especificações	3
O módulo de Electroforese	4
Eletroforese.....	14
Cuidados e manutenção	15
Solução de problemas de eletroforese.....	16
O módulo blot	18
Blotter cuidado e manutenção	23
Blotter solução de problemas.....	24
Bibliografia	26
Informações sobre pedidos	27

Informações Importantes – Português

- Se este equipamento é usado numa maneira não especificada por Hoefer, Inc. que a protecção fornecida pelo equipamento pode ser comprometida.
- Este instrumento é projectado para uso de interior de laboratório só.
- Só acessórios e partes aprovaram ou forneceu por Hoefer, Inc. pode ser usada para operar, manter, e servicing este produto.
- Só usa um estoque de poder que é CE marcou ou segurança registrada por um nacionalmente reconhecido testando laboratório.
- A tampa de segurança deve estar em lugar antes de ligar o estoque de poder leva a um estoque de poder.
- Desliga todos controlos de estoque de poder e desconecta os chumbos de poder antes de retirar a tampa de segurança.
- Circulam só água ou 50/50 glicol de água/ethylene pelo exchanger de calor se for assim equiparam. Não ligue o exchanger de calor a uma torneira de água nem qualquer fonte de refrigerante onde a pressão de água é não regulado.
- Nunca introduz anticongelante nem qualquer orgânico solvente em qualquer parte do instrumento. Orgânico solvente causará agressão irreparável à unidade!
- Não opera com temperaturas de buffer acima do máximo especificou especificações técnicas. Superaquecer causará agressão irreparável à unidade!

Důležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytována na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboratoři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo poskytnutých Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.
- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoř.

- Bezpečnosti lid musí být zavedena před připojením napájecí zdroj napájení vede k.
- Turn veškeré napájení kontroly vypnuto a odpojit před odběrem energie vede bezpečnostní viko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylen-glykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulováno.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpustitlům způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufru teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefer, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.
- Bare tilbehør og del godkendte eller forsynede ved Hoefer, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.
- bruger Bare en strømforsyning, der er CE markerede eller sikkerhed, som er blevet attesteret af en, som nationalt er blevet anerkendt prøve laboratorium.
- Sikkerhedslåget må være på plads før forbinding strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedslåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylene glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er unregulated.
- Introducerer Aldrig antifreeze eller noget organisk opløsningsmiddel ind i nogen del af instrumentet. Organiske opløsningsmidler vil forårsage uboelig skade til enheden!
- Driver ikke med stødpudetemperaturer over

maksimummet specificerede tekniske specifications. Overhedning vil forårsage uboelig skade til enheden!

Belangrijke Informatie – Dutch

- Indien deze uitrusting in een manier wordt gebruikt die niet door Hoefer, Inc. is gespecificeerd de bescherming die door de uitrusting is verzorgd kan worden geschaad.
- Dit instrument is voor binnenlaboratoriumgebruik enkel ontworpen.
- Enkel onderdelen en delen keurden goed of leverden door Hoefer, Inc. kan voor het bedienen worden gebruikt, handhavend en onderhouden van dit product.
- gebruik Enkel een netvoeding die CE is markeerde of veiligheid die door een is gecertificeerd die nationaal is herkend testene laboratorium.
- Het veiligheidsdeksel moet in plaats voor het verbinden van de netvoeding leidt tot een netvoeding zijn.
- Doe alle netvoedingscontroles Uit en koppel los de machtleiding voor het verwijderen van het veiligheidsdeksel.
- Circuleer enkel water of 50/50 water/ethyleen-glycol door de hitte exchanger zo ja uitrust. Verbind de hitte exchanger naar een waterkraan of koelmiddelbron niet waar de waterdruk niet geregulariseerd is.
- Stel Nooit antivriesmiddel of organische oplosmiddelen in deel van het instrument voor. Organische oplosmiddelen zullen onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!
- Bedien niet met buffertemperaturen boven het maximum specificerde technische specificaties. Oververhitting zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefer, Inc. the protection provided by the equipment may be impaired.
- This instrument is designed for indoor laboratory use only.
- Only accessories and parts approved or supplied

by Hoefer, Inc. may be used for operating, maintaining, and servicing this product.

- Only use a power supply that is CE marked or safety certified by a nationally recognized testing laboratory.
- The safety lid must be in place before connecting the power supply leads to a power supply.
- Turn all power supply controls off and disconnect the power leads before removing the safety lid.
- Circulate only water or 50/50 water/ethylene glycol through the heat exchanger if so equipped. Do not connect the heat exchanger to a water tap or any coolant source where the water pressure is unregulated.
- Never introduce antifreeze or any organic solvent into any part of the instrument. Organic solvents will cause irreparable damage to the unit!
- Do not operate with buffer temperatures above the maximum specified technical specifications. Overheating will cause irreparable damage to the unit!

Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojele ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäyttölle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettanut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtielijyit ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethylene glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.

- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Information Importante – French

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifique par Hoefer, Inc. la protection fourni par l'équipement pourrait être diminuée.
- Cet instrument est conçu pour l'usage de laboratoire intérieur seulement.
- Seulement les accessoires et les parties ont approuvé ou ont fourni par Hoefer, Inc. pourrait être utilisé pour fonctionner, maintenir, et entretenir ce produit.
- Utilisez Seulement une alimentation qui est CET a marqué ou la sécurité certifié par un nationalement reconnu essayant le laboratoire.
- Le couvercle de sécurité doit être à sa place avant connecter l'alimentation mène à une alimentation.
- Tourner tous contrôles d'alimentation de et débrancher les avances de pouvoir avant enlever le couvercle de sécurité.
- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par l'échangeur de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'échangeur de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.
- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité!

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefer, Inc. verwendet wird, kann der durch die Ausrüstung zur Verfügung gestellte Schutz verschlechtert werden.

- Dieses Instrument wird für den Innenlaborgebrauch nur dafür entworfen.
- Nur Zusätze und Teile genehmigten oder lieferten durch Hoefer, Inc. kann für das Funktionieren, das Aufrechterhalten, und die Wartung dieses Produktes verwendet werden.
- Verwenden Sie nur eine Energieversorgung, die CE gekennzeichnet oder durch ein national anerkanntes Probelaboratorium bescheinigte Sicherheit ist.
- Der Sicherheitsdeckel muss im Platz vor dem Anschließen der Energieversorgung sein führt zu einer Energieversorgung.
- Alle Energieversorgungssteuerungen abdrehen und die Macht trennen führt vor dem Entfernen des Sicherheitsdeckels.
- Nur Wasser oder 50/50 Glykol des Wassers/Äthylens durch den Wärmeaustauscher, wenn so ausgestattet, in Umlauf setzen. Verbinden Sie den Wärmeaustauscher mit einem Wasserklaps oder jeder Kühlmittel-Quelle nicht, wo der Wasserdruck ungeregelt wird.
- Führen Sie nie Frostschutzmittel oder jedes organische Lösungsmittel in jeden Teil des Instrumentes ein. Organische Lösungsmittel werden nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!
- Mit Puffertemperaturen über angegebenen technischen Spezifizierungen des Maximums nicht funktionieren. Die Überhitzung wird nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!

Informazioni Importanti – Italian

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefer, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è disegnato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefer, Inc. potrebbe essere usato per operare, per mantenere, e per revisionare questo prodotto.
- Usa Solo un alimentatore che è CE ha marcato o la sicurezza certificato da un nazionalmente riconosciuto testando il laboratorio.

- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spegne tutto i controlli di alimentatore e disinserisce i piombi di potere prima di togliere il coperchio di sicurezza.
- Circola solo l'acqua o 50/50 glicole di acqua/etilene attraverso lo scambiatore di calore se così equipaggiato. Non collegare lo scambiatore di calore a un rubinetto di acqua o qualunque fonte di refrigerante dove la pressione di acqua è sregolata.
- Non introduce mai l'antigelo o qualunque solvente organico in qualunque parte dello strumento. I solventi organici causeranno il danno irreparabile all'unità!
- Non opera con le temperature di tampone al di sopra del massimo ha specificato le descrizioni tecniche. Il surriscaldamento causerà il danno irreparabile all'unità!

Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefer, Inc. beskyttelsen som ha blitt git av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.
- Sikkerheten lokket må være på plass før forbindelse kraftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
- Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyrer. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vann tapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulated.
- Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemidler vil forårsake irreparabel skade på enheten !

- Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overoppheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

Wazne Informacje – Polish

- Jeżeli ten sprzęt jest wykorzystywany w sposób nie określone przez Hoefer, Inc. do ochrony przewidzianej przez urządzenie może zostać obniżony.
- Instrument ten jest przeznaczony do użytku w laboratoriach kryty tylko.
- Tylko akcesoriów i części zatwierdzone lub dostarczone przez Hoefer, Inc. mogą być wykorzystane do eksploatacji, utrzymania i obsługi tego produktu.
- korzystać jedynie zasilacza że jest noszące oznakowanie CE lub bezpieczeństwa uwierzytelnione przez uznane na poziomie krajowym laboratorium badawcze.
- Bezpieczeństwo lid musi być w miejsce przed podłączeniem zasilania prowadzi do zasilania.
- Zaś wszystkie źródła zasilania urządzenia sterujące off i odłączyć moc prowadzi przed odbiorem bezpieczeństwa lid.
- Krążą tylko wody lub wody 50/50/ethylene glycol wymiennik ciepła poprzez jeśli tak wyposażone. Nie należy połączyć wymiennik ciepła woda z kranu lub jakimkolwiek chłodziwo źródła, jeżeli ciśnienie wody jest nieuregulowanych.
- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamarzaniu lub jakichkolwiek na dowolną część dokumentu. Rozpuszczalniki organiczne spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!
- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

Información Importante – Spanish

- Si este equipo es utilizado en una manera no especificado por Hoefer, Inc. la protección proporcionado por el equipo puede ser dañada.
- Este instrumento es diseñado para el uso interior del laboratorio sólo.
- Sólo accesorios y partes aprobaron o suministraron por Hoefer, Inc. puede ser utilizado para operar, para mantener, y para atender a este producto.
- Sólo utiliza una alimentación que es CE marcó o la seguridad certificada por un nacionalmente reconocido probando el laboratorio.
- La tapa de la seguridad debe estar en el lugar antes de conectar la alimentación lleva a una alimentación.
- Apaga todos controles de alimentación y desconecta los plomos del poder antes de quitar la tapa de la seguridad.
- Circula sólo agua o 50/50 glicol de agua/etileno por el intercambiador de calor si éste es el caso equiparon. No conecte el intercambiador de calor a un toque de la agua ni cualquier fuente del líquido refrigerante donde la presión del agua está libre.
- Nunca introduce anticongelante ni algún solvente orgánico en cualquier parte del instrumento. Los solventes orgánicos causarán daño irreparable a la unidad!
- No opera con temperaturas de búfer encima del máximo especificó especificaciones técnicas. Recalentar causará daño irreparable a la unidad!

Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefer, Inc. skyddet tillhandahåll vid utrustningen kan skadas.
- Detta instrument formges för inomhuslaboratorium användning bara.
- Bara medhjälpare och delar godkände eller levererade vid Hoefer, Inc. kan användas för fungera, underhålla, och servicing denna produkt.
- använder bara en kraft tillgång som är CE markerade eller säkerhet intygade vid en nationellt erkänd testande laboratorium.
- Säkerheten locket måste vara på platsen före

koppla kraften tillgången blyen till en kraft tillgång.

- Vänder sig alla kraft tillgång kontroller av och kopplar bort kraften blyen före flytta säkerheten locket.
- Cirkulerar bara vatten eller 50/50 vatten/ethylene glycol genom värmen exchanger i så utrustad fall. Inte kopplar värmen exchanger till en vatten kran eller något kylmedel källa där vattnet trycket är unregulated.
- Inför aldrig kylvätska eller något organiska lösningsmedel in i någon del av instrumentet. Organiskt lösningsmedel ska orsaka irreparable skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparable skador på enheten!

Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE)

Português



Este símbolo indica que os resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos não devem ser eliminados como resíduos urbanos indiferenciados e devem ser recolhidos separadamente. Entre em contato com um representante autorizado do fabricante para obter informações sobre o desmantelamento do seu equipamento.

English



This symbol indicates that the waste of electrical and electronic equipment must not be disposed as unsorted municipal waste and must be collected separately. Please contact an authorized representative of the manufacturer for information concerning the decommissioning of your equipment.

French



Ce symbole indique que les déchets relatifs à l'équipement électrique et électronique ne doivent pas être jetés comme les ordures ménagères non-triées et doivent être collectés séparément. Contactez un représentant agréé du fabricant pour obtenir des informations sur la mise au rebut de votre équipement.

German



Dieses Symbol kennzeichnet elektrische und elektronische Geräte, die nicht mit dem gewöhnlichen, unsortierten Hausmüll entsorgt werden dürfen, sondern separat behandelt werden müssen. Bitte nehmen Sie Kontakt mit einem autorisierten Beauftragten des Herstellers auf, um Informationen hinsichtlich der Entsorgung Ihres Gerätes zu erhalten.

Italian



Questo simbolo indica che i rifiuti derivanti da apparecchiature elettriche ed elettroniche non devono essere smaltiti come rifiuti municipali indifferenziati e devono invece essere raccolti separatamente. Per informazioni relative alle modalità di smantellamento delle apparecchiature fuori uso, contattare un rappresentante autorizzato del fabbricante.

Spanish



Este símbolo indica que el equipo eléctrico y electrónico no debe tirarse con los desechos domésticos y debe tratarse por separado. Contacte con el representante local del fabricante para obtener más información sobre la forma de desechar el equipo.

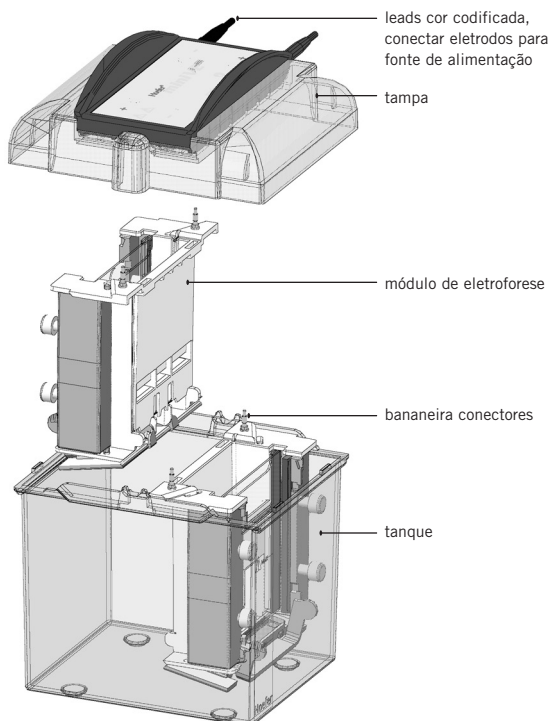
Nota: classificações mínimas de fornecimento de energia: 50 mA, 250 V de tensão de corrente constante ou constante.

Introdução

O Hoefer® SE300 sistema de eletroforese vertical, miniVE realiza eletroforese em gel vertical em formato mini-géis. A unidade básica inclui dois módulos de eletroforese. Cada módulo contém um sanduíche de gel, 10 cm de largura e até 10,5 cm de comprimento. Um gel pode ser convertido no lugar em cada módulo de eletroforese. Uma vasta gama de acessórios, encomendado separadamente (ver página 27), empresta o grau de miniVE alta de versatilidade. Estes incluem:

- Uma seleção grande de pentes e espaçadores
- Um módulo blot, para converter o miniVE em uma unidade de mini-blotting. (Consulte a página 18 para obter instruções.)

Fig. 1. Principais componentes do miniVE SE300 Hoefer.



Desempacotando

- Retire todas as embalagens com cuidado e comparar o conteúdo com a lista de embalagem, certificando-se todos os itens chegaram.
- Se alguma parte está faltando, contacte o seu escritório de vendas local. Inspecione todos os componentes de danos que possam ter ocorrido quando o aparelho estava em trânsito. Se qualquer parte estiver danificado, contate imediatamente a transportadora.
- Certifique-se de manter todo o material de embalagem para pedidos de indemnização ou de reembalagem caso seja necessário para devolver a unidade.
- Antes de usar, lavar o tanque e módulo com uma solução diluída de detergente não abrasivo laboratório. Enxaguar bem primeiro com água e depois com água destilada.

Especificações

Elektroforese

Tamanho sanduíche Gel	10,0 cm de largura x 8 a 10,5 cm de comprimento
Max. volume do tanque	1,6 litros com um módulo no lugar 1,4 litros com dois módulos em lugar
Max. tensão	600 V~
Max. potência	25 W por módulo eletroforese

Electrotransferência

Max. volume (módulo blot)	350 ml por módulo
Max. volume do tanque (para refrigeração passiva)	1,7 litros com um módulo no lugar 1,2 litros com dois módulos em lugar
Max. potência	15 W por blot módulo
Max. atual	400 mA

SE300 especificações miniVE

Temperatura máxima de operação	75 °C
Compatibilidade química	Para uso apenas com soluções aquosas diluídas entre pH 2 e pH 12. Não é compatível com solventes orgânicos ou álcoois concentrados, ácidos, bases, e agentes oxidantes.
As condições ambientais de operação	Humidade: até 80% Uso interno: 4-40 °C Altitude: até 2000 m Categoria Instalação: II Grau de poluição: II
Dimensões (L x P x A)	19,2 x 17,2 x 18,8 cm
Peso (tanque, na tampa e dois módulos de gel)	1.2 kg
Certificações de Produtos	EN61010-1, UL61010A-1, CSA C22.2 1010.1, CE certificadas

Esta declaração de conformidade é válida apenas para o instrumento quando ele é:

- utilizado em locais de laboratório,
- usado como entregues a partir de Hoefer, Inc., exceto para alterações descritas no manual do usuário, e
- ligado a outros CE-rotulados instrumentos ou produtos recomendados ou aprovados por Hoefer, Inc.

0 módulo de Electroforese

Esta secção descreve o uso do módulo de electroforese. Para obter instruções sobre como usar o módulo blot, consulte a página 18.

O módulo de electroforese aceita tanto auto fundido e géis pré-moldados de 8 cm de largura, a partir de 8-10.5 cm de comprimento, e 0,75-1,5 mm de espessura. Para obter instruções sobre como usar o módulo com géis pré-moldados, consulte a página 10.

Preparação do módulo

Para posicionar o módulo para aceitar o sanduíche gel, cada um dos três elementos de vedação de batente deve ser aberto.

1

Libertar a placa de vedação por aplicação de pressão para dentro suave para ambas as abas, como indicado pelas setas (Fig. 2).

2

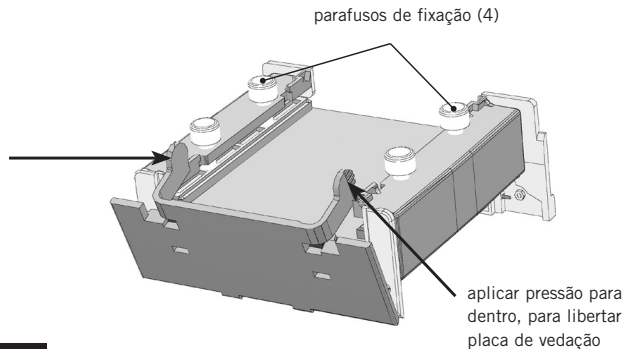
Segurando as abas, mova a placa na posição totalmente aberta.

3

Solte todos os parafusos quatro voltas 4-5 no sentido anti-horário. Não tente remover os parafusos dos grampos.

Nota: A placa de vedação tem três posições: fechado, ou seladas para o vazamento; semi-aberta, para a electroforese, e totalmente aberto, para a colocação do sanduíche gel.

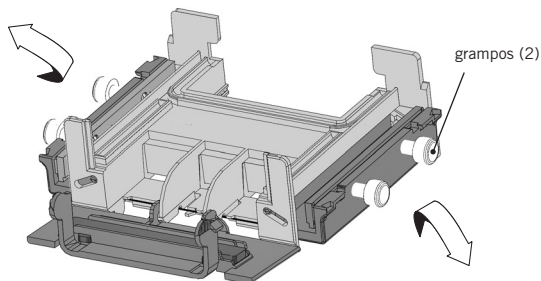
Fig 2. Módulo na posição fechada.



4

Para abrir o módulo, balance os grampos para fora.

Fig 3. Módulo na posição aberta.



5

Coloque o plano módulo sobre uma superfície de trabalho.

Preparando-se auto-cast géis

Um gel único pode ser convertido no módulo. Para lançar vários géis, use um rodízio 4-gel, como o SE235 Hoefer rodízio (ver informação sobre a encomenda na página 27).

Monte o sanduíche de gel

1

Preparar o módulo, tal como descrito na página 4.

2

Escolha uma placa entalhada, uma placa de vidro rectangular, e dois espaçadores. Use apenas placas unchipped para evitar fugas.

3

Montar o sanduíche de gel com o entalhe na parte superior da sanduíche e as cristas espaçadoras alinhar ao longo das bordas de vidro de placa sobre os lados da sanduíche (Fig 4).

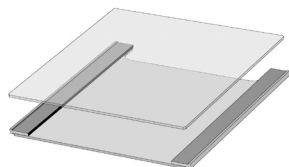


Fig 4. Montagem sanduíche de gel.

Coloque e selar o sanduíche no módulo

1

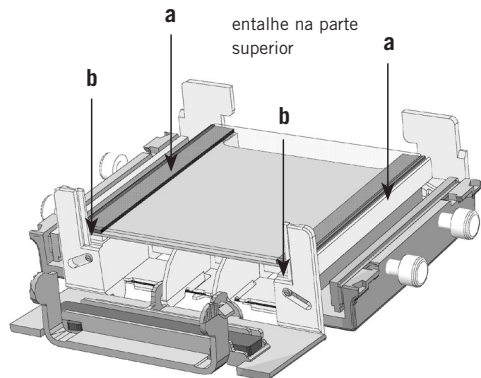
Importante! O alinhamento adequado é essencial para evitar fugas.

Nota: Uma vez que o sanduíche é cuidadosamente alinhados, segure os lados planos firmemente entre o polegar e os dedos, perto da fossa.

2

Lado da placa entalhada para baixo, coloque o sanduíche no módulo (Fig 5). Ajustar o sanduíche gel dentro das guias em ambos os lados (a) e contra os pés de guia na parte inferior (b).

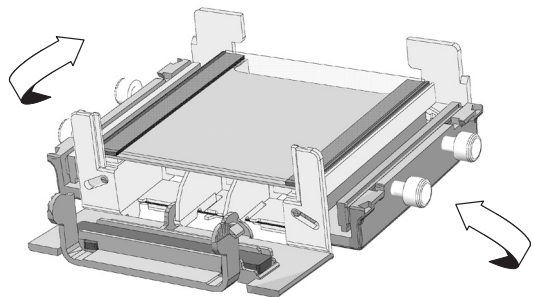
Fig 5. Colocar o sanduíche no módulo.



3

Enquanto suavemente segurando o sanduíche contra o módulo, oscile um grampo na posição sobre o espaçador, tomando cuidado para não colidir o sanduíche para fora do alinhamento (Fig 6).

Fig 6. Posicionamento dos grampos.



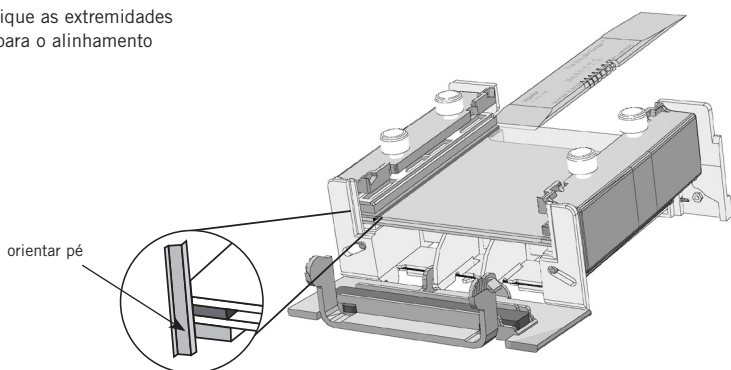
4

Importante! Verificar o alinhamento do bordo inferior da sanduíche contra os pés de guia (Fig 7).

Gire cada parafuso (alternando para manter a pressão mesmo) até que os grampos são fracamente protegido e permitirá que os espaçadores de ser ajustada, se necessário. Repita no outro lado.

Se os espaçadores e as placas de vidro não são perfeitamente alinhado contra os batentes, usar a extremidade rígida da cunha Maravilha Hoefer para pressionar contra as bordas do espaçador e placas de vidro e posicioná-los lave contra o pé de guia.

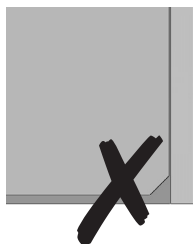
Fig 7. Verifique as extremidades inferiores para o alinhamento correto.



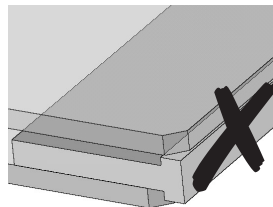
5

Conclua aperto apertando cada parafuso firmemente, a mão apertada. Não aperte demais, pois as placas podem rachar. Verifique o alinhamento espaçador.

Fig 8. Desalinhamentos causar vazamentos.

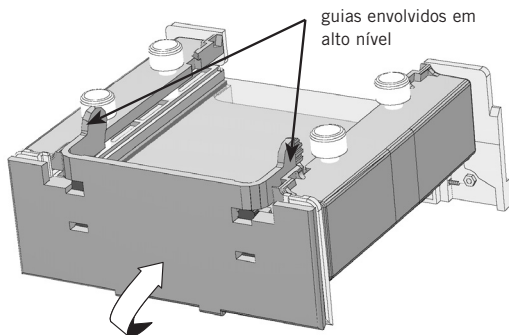


O espaçador não deve sobressair do sanduíche (ou ser rebaixado para ele).



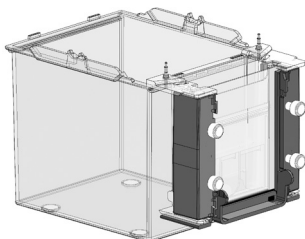
A placa de vidro não deve estar descansando sobre a cabeça do espaçador "T".

Fig 9. Montado módulo, com abas envolvidas em alto nível.



Nota: Para testar para o alinhamento, passar por um canto da Wonder Wedge em toda a borda inferior dos espaçadores e as placas de vidro. Se uma aresta “pega”, realinhar. Verifique ambos os lados.

Fig 10. Pendurar o módulo sobre o lado mais estreito do tanque para verter o gel.



6

Bloquear a placa de vedação para a posição fechada, envolvendo cada guia na sua extremidade superior do entalhe (Fig 9).

7

Pendurar o módulo a partir do lado mais estreito do tanque ou suportá-lo sobre a bancada para converter o gel (Fig 10).

Quando o módulo de pendurar no tanque, quer encher o tanque ou pendurar o segundo módulo do outro lado como um contrapeso.

Verter o gel resolver

1

Preparar a solução de monômero.

2

Pipetar a solução para o sanduíche devagar para que ela flui ao longo de um espaçador, tomando cuidado para não prender as bolsas de ar.

N gel de empilhamento

Encher a solução para o nível desejado e, em seguida, inserir um pente, a um ângulo ligeiro, na sanduíche, tomando cuidado para não prender o ar sob os dentes.

Atenção! A acrilamida é uma neurotoxina. Use sempre luvas e observe todos os procedimentos de segurança do laboratório.

Nota: Aproximadamente 10 ml de solução de monómero é necessário para converter um gel 1 mm de espessura.

A 1 cm de empilhamento de gel abaixo da poços

Encher a 3 cm abaixo da parte superior da placa de vidro rectangular. Sobrepor cada gel com uma fina camada de água saturada de n-butanol, água, ou tampão de gel diluído para evitar a exposição da solução de monómero ao oxigénio. Usar uma seringa de vidro equipada com uma agulha de calibre 22 para aplicar 100 µl da solução de sobreposição lentamente para um lado da sanduíche, próximo do espaçador. Permitir que a solução a fluir através da superfície nu.

Após a polimerização

1

Permitir um mínimo de uma hora para o gel para polimerizar.

2

Se um pente está no lugar, remova-o puxando-o pente enquanto suavemente para frente e para trás para quebrar o vácuo. Lavar os poços com tampão de electroforese para remover qualquer acrilamida não polimerizada.

Se uma sobreposição foi aplicado, lavar o sanduíche várias vezes com água bidestilada para a remover. Inverta o módulo de drenar.

Para garantir o contacto contínuo entre a resolução e de empilhamento géis, remover o líquido residual por blotting um canto do gel com um tecido macio.

Fundição o gel de empilhamento

1

Preparar a solução de monómero de empilhamento de gel.

2

Deaerate a solução de monómero de empilhamento gel, adicionar catalisador e iniciador e, em seguida, derramar. Usar uma pipeta para fornecer a solução em um canto da placa, tomando cuidado para não interceptar quaisquer bolhas.

Nota: Se o gel tem poços, pule para a “montagem final” na página 11.

Tip: Para calcular o volume, medir a distância em centímetros, a partir do topo do gel para resolver o entalhe na placa de vidro. Isto deve ser de pelo menos 2 cm. Multiplicar esta distância pela largura gel (8 cm) e da espessura do gel (cm) para o volume requerido (ml).

Nota: Para auxiliar no carregamento da amostra, marcar os locais bem com uma caneta laboratório marcação.

3

Inserir um pente (em um ligeiro ângulo para evitar que o ar aprisionamento) na sanduíche, permitindo que os lados do pente para repousar sobre os espaçadores.

4

Permitir um mínimo de uma hora para o gel para polimerizar.

Working with precast gels

1

Prepare o módulo de eletroforese como descrito em “Preparar o módulo” na página 4. Seguir as instruções do fabricante para preparar o gel para electroforese. Isto pode envolver a remoção de fita ou romper a borda de vedação a partir do fundo da cassete.

2

Retirar o pente e lavar os poços com tampão de eletroforese para remover qualquer acrilamida não polimerizada.

3

Se o gel está pronto para eletroforese, mova a placa de vedação para o “meio aberto” posição. Aplique uma leve pressão para ambos os separadores e trancá-los no menor nível.

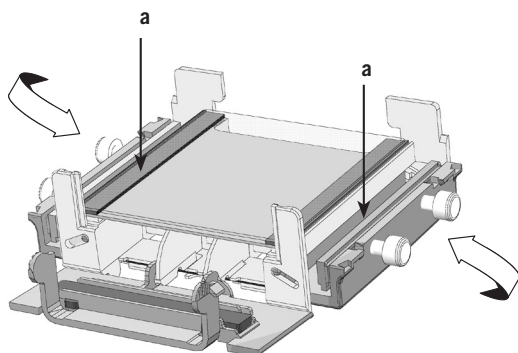
4

Posicionar a cassete no módulo. Orientar a cassete de modo que o lado entalhado é contra a junta, e os poços estão na parte superior do módulo. O centro da cassete dentro do guiderail em ambos os lados do módulo (a) (Fig. 11).

5

Prenda a fita. Balançar cada grampo na posição ao longo dos lados da cassete. Aperte cada parafuso, alterando para aplicar pressão até que o mesmo cassete é segura. A junta em torno da câmara tampão superior deve ser totalmente comprimida para proporcionar uma vedação, mas os parafusos não devem ser apertados para o ponto de que a pressão salienta a cassete.

Fig 11. Protegendo a cassete.



6

Verificar que ambas as superfícies do gel entrarão em contacto com tampão. Verifique se o slot de gel de contato de fundo está exposto.

7

Mova a placa de vedação para o “meio aberto” posição para se preparar para eletroforese. Aplique uma pressão suave para dentro de duas abas e trancá-las no menor nível.

A montagem final

1

Verifique se a placa de vedação está no “meio aberto” posição. A seta na Fig. 12 indica a posição correcta.

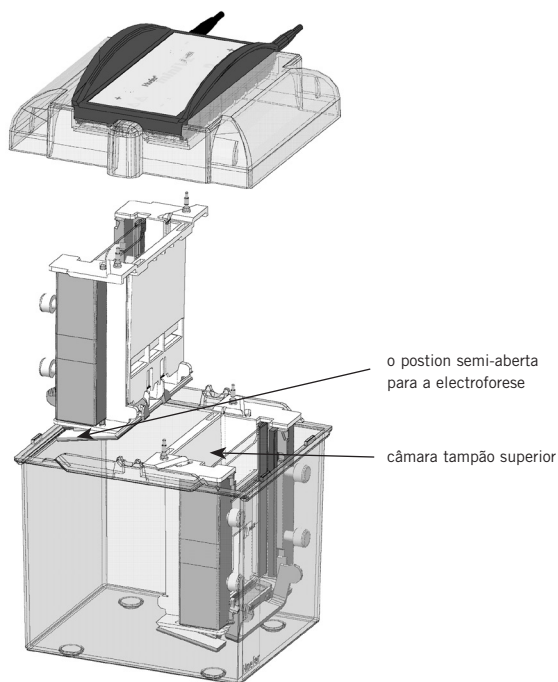
2

Abaixar cada módulo para dentro do tanque, assentando-a nas ranhuras de fixação.

Os assentos módulo adequadamente em apenas uma orientação com as fichas de banana em direcção ao centro do tanque eo gel virada para fora.

Fig 12. Preparando-se para eletroforese.

Sugestão: Como auxílio em amostras de carregamento, marque o local bem com uma caneta laboratório marcação ou usar a localização do decalque. O decalque localização só funciona com miniVE pentes e não géis pré-moldados.



3

Adicionar a quantidade apropriada de tampão de eletroforese para o tanque.

Adicionar 1,2-1,6 litros de reserva para o tanque quando apenas um módulo está no lugar, e 1,1-1,4 litros quando dois módulos estão no lugar.

Os níveis mínimos e máximos são marcados. Verificar que o eléctrodo inferior, que é de aproximadamente 2 cm do fundo do módulo, é completamente submersa. Para evitar a partir de tampão de entrar na câmara de tampão superior, verificar que o nível de buffer não está acima do nível máximo.

4

Adicionar a quantidade apropriada de tampão de eletroforese para a câmara de tampão superior.

Encher a câmara de tampão superior a um nível de 3-5 mm acima da placa de dentada. Isto requer aproximadamente 100 ml.

Nota: A quantidade de amostra de proteína adicionada a cada poço depende tanto a sensibilidade do método de coloração ea distribuição de proteínas entre as bandas separadas. Com Coomassie™ Blue, é possível detectar 1 µg, em uma única banda, com as manchas de prata mais sensíveis, é possível detectar tão pouco quanto 10 ng.

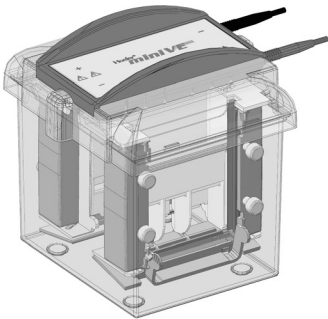


Fig 13. Totalmente montado com módulo miniVE eletroforese.

5

Preparar e aplicar a amostra.

Aumentar a densidade da amostra líquida com 10% de glicerol ou sacarose. Adicionar um corante de rastreo, tais como azul de bromofenol.

Subjacente à amostra nas cavidades utilizando uma pipeta de micro ou de ponta fina microseringa. A Tabela 1 mostra o volume de amostra necessário para diferentes números de poços e pente espessuras.

Tabela 1: capacidades well: volume de amostra (µl) por 1 mm de profundidade

número de poços	espessura pente (mm)		
	0,75	1,0	1,5
5	9,5	12,7	19,1
9	—	5,8	—
10	3,6	4,8	7,2
12	—	4,75	—
15	2,2	2,9	4,4
18	—	2,9	—

As conexões elétricas

1

Coloque a tampa de segurança sobre a unidade ea sede da tampa de modo que os plugues banana envolver as tomadas na tampa. A tampa é simétrica e se encaixa em qualquer orientação (Fig 13).

2

Ligue os fios codificados por cores para as tomadas de uma fonte de alimentação aprovado (vermelho com vermelho, preto com preto). A avaliação fornecimento mínimo de energia é de 250 V, 50 mA, voltagem ou constante constante. (Fonte de alimentação recomendada: PS300B).

Elektroforese

Para melhor resolução, elektroforese começar imediatamente após o carregamento da amostra.

Géis pode ser executado em qualquer tensão de corrente constante ou constante. Para separações Laemmli SDS, a faixa de tensão recomendada é 100-250 V e não deve exceder 300 V. Se você estiver executando géis a corrente constante, a corrente deve ser 10-20 mA por gel, dependendo da espessura do gel (10 mA para 0,75 mm, 15 mA durante 1,5 mm).

Verificar o progresso após 5 minutos, e novamente após meia hora, o controle da posição do corante de seguimento. A execução está completa quando o corante de rastreio atinge o fundo do gel.

Após a elektroforese

1

Desligue a fonte de alimentação e desconecte os cabos.

2

Remova a tampa de segurança e retire o módulo(s).

3

Libertar cada sanduíche gel ou cassete a partir do módulo.

Mover a placa de vedação para a posição totalmente aberta, pressionando para dentro em ambos os separadores e guiar a placa para abrir para fora. Em seguida, solte todos os parafusos quatro voltas 4-5 no sentido anti-horário. Balançar as braçadeiras para fora.

4

Remover o gel da sanduíche ou cassete.

Com cuidado, solte e deslize afastado ambos espaçadores. Deslizar um espaçador extra ou o Wonder Wedge Hoefer na extremidade inferior para impedir a quebra das orelhas das placas entalhadas e separar as placas.

Se estiver usando géis pré-moldados, siga as instruções do fabricante do gel.

5

Cuidadosamente levante o gel a partir da placa e colocá-lo em uma bandeja que contém tampão de mancha, fixador, ou transferência.

6

Limpe a unidade conforme descrito em “Cuidados e manutenção” abaixo.

Cuidados e manutenção

- Não autoclave ou aquecer qualquer parte acima 75 °C.
- Não mergulhe a tampa de segurança em qualquer líquido.
- Não use solventes orgânicos, oxidantes fortes ou soluções de limpeza, abrasivos ou ácidos fortes ou bases em qualquer parte do instrumento.

1

Imediatamente após cada uso, lave o reservatório e os módulos com água e, em seguida, enxaguar abundantemente com água destilada. Manuseie o módulo com cuidado para evitar danos aos plugues de banana. Deixar secar ao ar.

2

Limpe a tampa com um pano húmido. Se necessário, brevemente enxaguar o lado de baixo da tampa com água.

3

Placas de vidro limpas e espaçadores com uma solução diluída de um detergente de laboratório, tais como RBS-35™, em seguida, enxaguar abundantemente com torneira e água destilada. Placas de vidro podem ser tratadas com, mas não são armazenados em, soluções de limpeza ácidas.

4

Wipe placas com isopropanol para remover qualquer resíduo de vedação Gel..

Solução de problemas de eletroforese

Problema	Solução
Efeito sorriso na frente tampão	<i>Para reduzir a temperatura de funcionamento:</i> <ul style="list-style-type: none">• Encha o tanque até o nível máximo de buffer (marcado).• Prechill o buffer.• Realizar eletroforese em câmara fria.• Diminua a configuração da corrente ou tensão. (10 mA por gel 0,75 mm, 15 mA por gel 1,5 mm de espessura.)
Estrias proteína verticalmente	<ul style="list-style-type: none">• Centrifugar ou filtrar amostra antes de carregar para remover partículas.• Dialisar ou dessalinizar a amostra.
Extraordinariamente lento de execução (ou rápido)	<i>Ajuste as soluções:</i> <ul style="list-style-type: none">• Verificar as receitas, as concentrações de gel, soluções, e diluições. (Por exemplo, não utilize TRIS-HCl, em vez de tampão Tris.)• Se o pH requerido de uma solução for excedido, não fazer voltar titula. Prepare uma solução tampão nova.• Descarte as soluções mais velhos de acrilamida e usar o estoque só da mais alta qualidade.• Apenas usar uréia recém deionizada. <i>Ajuste as configurações de tensão ou corrente:</i> <ul style="list-style-type: none">• Para aumentar ou diminuir a taxa de migração, ajustar a tensão ou corrente por 25–50%.
Bandas são enviesadas ou distorcidas	<i>Verificar preparação de gel e de polimerização:</i> <ul style="list-style-type: none">• Desgaseificar a solução de gel de empilhamento e evitar bolhas de sob os dentes do pente.• Sobrepor o gel rodando com água saturada de n-butanol, antes da polimerização começa a evitar formando uma superfície de gel desigual. <i>Verificar a preparação da amostra:</i> <ul style="list-style-type: none">• Dialisar ou dessalinizar a amostra.• Centrifugar ou filtrar amostra antes de carregar para remover partículas.

Problema	Solução
Corada coleta:	<p><i>Perto da frente tampão</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • A proteína não é suficientemente limitada pelo gel resolver; aumentar a% T. <p><i>Perto do topo do gel quando a frente de tampão atingiu o fundo:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • O tamanho de poro de gel é muito pequeno. Diminuir o T% do gel de resolução. • A proteína precipitada. Aquecer a amostra a uma temperatura inferior (70 °C ou menos) para 1-2 minutos.
Resolução banda pobre	<ul style="list-style-type: none"> • Utilize apenas os reagentes de alta qualidade. • Realizar a separação em uma configuração mais baixa corrente ou tensão. • Dialisar ou dessalinizar a amostra. • Reduzir o volume da amostra ou concentração. • Apenas usar uréia recém deionizada. • Melhorar a dissociação das subunidades por amostra de aquecimento na amostra tampão SDS 1-2 minutos a 100 °C. • Adicione mais mercaptoetanol ou ditiotretiol, verificar o tratamento da amostra. • Só use géis que foram recém-preparadas. • Verificar valores de pH das soluções de separação e de empilhamento de gel. Não, titular back-buffers. <p><i>A preparação das amostras</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Amostras de calor para não mais do que 1-2 minutos a 100 °C. Armazenar em gelo após o aquecimento. • Armazenar amostra em gelo, antes que seja desnaturado. • Adicionar os inibidores de protease, se necessário, para evitar a degradação proteolítica da amostra. • Armazenar as amostras a serem congelados em alíquotas para evitar o congelamento e descongelamento repetidos. (Loja a -40 °C a -80 °C.)
Azul de bromofenol não afiar para uma zona concentrada no gel de empilhamento	<ul style="list-style-type: none"> • Despeje um alto gel de empilhamento. (Para melhores resultados, permitir uma altura de empilhamento de gel de 2,5 vezes a altura da amostra no poço.) • Descarte de soluções de acrilamida desatualizados e utilizar apenas o mais alto grau de acrilamida. • Ao preparar as amostras, evitar o uso de soluções com uma alta de sódio ou concentração de potássio.

O módulo blot

O Hoefer miniVE Módulo Blot, que podem ser encomendados separadamente, realiza electro-transfers em formato mini-géis. Cada módulo tem capacidade para até dois géis, 8,2 cm de largura e até 10,4 centímetros de comprimento. Um ou dois módulos podem ser executados ao mesmo tempo.

Montagem

1

Antes de usar, lave o reservatório eo módulo blot com uma solução diluída de detergente não abrasivo laboratório. Enxaguar bem com água e água destilada.

2

Separar duas das quatro vertentes de juntas incluídos em cada módulo.

3

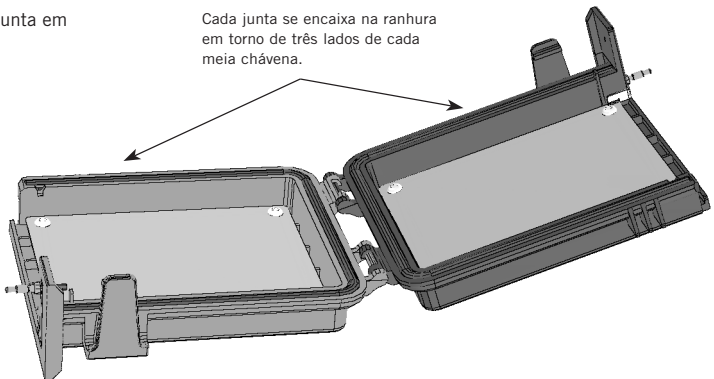
Abra o módulo liberando as duas guias.

4

Estabelecer uma vedação ao longo da ranhura inteiro em torno de três lados de cada meia chávena. Evite esticar ou torcer a junta, o comprimento deve apenas se encaixam. Pressione suavemente no lugar.

Fig 14. Instale uma junta em cada meio copo.

Cada junta se encaixa na ranhura em torno de três lados de cada meia chávena.



Preparação

Opcional: Passivo de refrigeração

Arrefeça a cerca de 2 litros de água desionizada a 4 °C. (Encher o tanque com água gelada serve como um dissipador de calor durante electro-transferência.)

Preparar tampão de transferência

Montagem de pilha requer aproximadamente 250 ml de tampão de transferência e um adicional de 300-350 ml de tampão é necessária para encher cada módulo. A receita para tampão Towbin é listado abaixo. A Bibliografia na página 26 lista fontes para outros buffers.

Towbin tampão

(25 mM Tris, 192 mM glicina, 0–20% (v/v) metanol, pH 8.3, 1 liter)

Tris (FW 121.1)	25 mM	3.0 g
Glicina (FW 75.07)	192 mM	14.4 g
SDS* (FW 288.4)	até 0.1% (3.5 mM)	1.0 g

* Opcional: Adicionando SDS pode melhorar a eficiência de transferência.

1

Dissolver em 750 ml de água destilada.

2

Adicionar metanol, conforme necessário.

Dependendo do tipo de membrana seleccionada, a adição de metanol pode melhorar os resultados de transferência. Devido tampões contendo metanol pode deteriorar-se, se for armazenado por longos períodos, adicionar metanol apenas antes da transferência.

3

Traga a 1 litro com água destilada. Não ajustar o pH, que deve ser entre 8,2 e 8,4.

Opcional: Chill antes da utilização.

Importante! Tentar colocar o gel correctamente pela primeira vez. As proteínas podem começar a transferir imediatamente. Uma vez que a transferência começa, movendo-se o gel vai distorcer os resultados ou causar “faixas de sombra” sobre a mancha.

Preparar a pilha de transferência

Transferir a amostra logo que possível após a electroforese para minimizar a difusão da amostra dentro do gel. Transferência electroforética pode ser realizada em até quatro géis de mini de uma só vez, se dois géis são colocados em cada um dos dois módulos.

A pilha de transferência consiste do gel e da membrana, papel de filtro, e três esponjas de embalagem. O gel determina o tamanho da membrana e papel de filtro.

1

Para cada gel, cortar a membrana e duas peças de papel de filtro do mesmo tamanho que o gel, mas não maior do que $8,5 \times 10,5$ cm.

2

Equilibrar o gel em tampão de transferência durante 10 minutos.

Equilibration permite que o gel a inchar ou encolher antes de ele contacta com a membrana de transferência e remove os sais do tampão em excesso e detergentes do gel. Mais de equilíbrio pode resultar em bandas difusas.

3

Membranas pré-molhadas de nitrocelulose ou nylon em água destilada, tomando cuidado para não prender as bolhas de ar.

Mergulhar uma extremidade da membrana para o tampão e, lentamente, submergir-la, permitindo que ele para molhar por acção capilar.

Pré-molhado PVDF ou outras membranas hidrofóbicos em metanol.

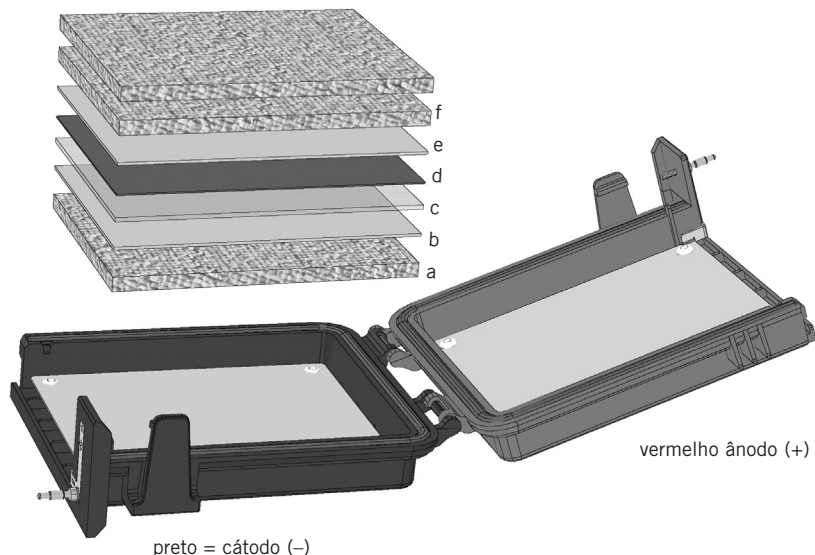
Após o pré-umedecimento, molhe todos os tipos de membrana em tampão de transferência por 2-5 minutos.

4

Molhar as duas peças de papel de filtro em tampão de transferência.

5

Fig 15. Montagem da pilha de transferência.



Nota: Para obter melhores resultados, evitar bolhas de como cada camada é aplicada. Sempre estabelecer contacto total ao longo de um lado e manter o contacto como a camada é reduzida em posição.

Montar a pilha de transferência de modo que as moléculas irão migrar para a membrana (Fig 15).

Para macromoléculas carregados negativamente (tais como proteínas são executados em um gel de SDS e ácidos nucleicos) montar a pilha de transferência do lado preto (cátodo). Proteínas irá transferir para o lado vermelho (ânodo).

- Centro de esponja uma embalagem no lado do cátodo preto.
- Lay um pedaço de papel de filtro molhado na esponja.
- Posicionar o gel equilibrada no papel de filtro. Molhar a superfície do gel com algumas gotas de tampão de transferência.
- Colocar a membrana sobre o gel. Não reposicionar a membrana uma vez entra em contato com o gel. Use uma vareta de vidro para a implantação de bolhas de ar.
- Lay um pedaço de papel de filtro molhado na membrana.
- Lay duas esponjas de embalagem sobre o papel de filtro. Uma pilha de transferência segundo, se adicionados, é colocado entre estas duas esponjas. Repita os passos b-e.

6

Verificar a posição da pilha de transferência.

A pilha de transferência deve ser centrada na placa de eletrodo. Nenhuma camada deve ser beliscado quando o módulo estiver fechada.

7

Dobre a metade vazia do copo sobre a pilha e pressione as metades juntas para tirar o módulo fechado. O estoque de transferência deve ser firmemente no lugar quando o copo está fechado. Substitua esponjas velhas e comprimido, se necessário, para encher o copo.

A montagem final

1

Lentamente, deitar 300-350 ml de tampão de transferência para a parte superior do módulo, para permitir que o ar a ser deslocado pelo buffer como ele preenche o copo. Toque levemente o copo blotting para desalojar as bolhas de ar nas esponjas de embalagem.

2

Posicionar o módulo (s) no tanque com as fichas de banana em direcção ao centro, o lado voltado para fora vermelho.

3

Adicionar água desionizada para o tanque, 1,7 litros de um módulo e 1,2 litros por dois módulos.

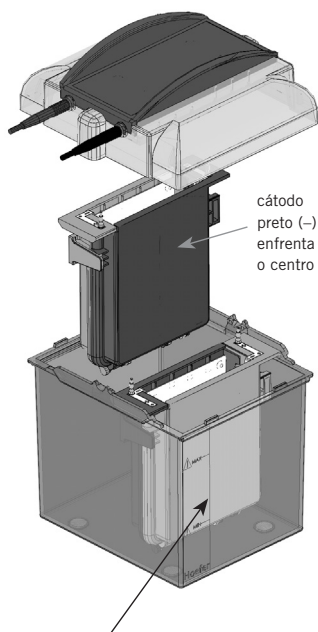
Para evitar a evaporação rápida, a temperatura do buffer não deverá exceder 75 °C. Refrigeração passiva é recomendada se a transferência será mais de uma hora, se a atividade biológica deve ser mantida, ou se a transferência de ácidos nucleicos. Frio de água desionizada a ~4 °C antes de adicionar ao tanque.

4

Colocar a tampa de segurança no tanque.

Qualquer orientação se encaixa e é correto. Conecte os cabos codificados por cores para as tomadas de uma fonte de alimentação aprovados, como o PS300B ou PS200HC: vermelho com vermelho, preto com preto.

Fig 16. A montagem final.



lado do ânodo vermelho (+) enfrenta a parede do tanque exterior

Importante! Condutividade tampão aumenta com o aumento da temperatura, proporcionando uma realimentação positiva que resulta em aquecimento rápido. Recomendamos programar o fornecimento de energia para manter a configuração atual constante para evitar o superaquecimento possível, especialmente se não houver refrigeração passiva está no lugar. Se a opção de programação é apenas para manter a configuração de tensão constante, monitorar e ajustar a tensão para manter a corrente a ou abaixo de 400 mA.

Electrotransferência

Eletroforéticos condições de transferência para blotting de proteínas em tampão Towbin: 25 V por 1-2 horas, 300-400 mA.

Depois electrotransferência

1

Desligue a fonte de alimentação e desconecte os cabos.

2

Remover a tampa de segurança.

3

Retire cada módulo e drená-lo por ele invertendo sobre uma pia. Evite molhar os plugues banana com buffer.

4

Abrir o módulo. Remover os géis e as membranas. Salve as esponjas da embalagem. Descarte o papel mata-borrão.

5

Rotular cada membrana e indicar o lado da amostra. Levantar a membrana (s) com uma pinça rombas e deixa-se secar ao ar.

6

Lavar o equipamento imediatamente após o uso.

Blotter cuidado e manutenção

- Não autoclave ou aquecer qualquer parte acima de 75 °C.
- Não utilize solventes orgânicos, oxidantes fortes ou soluções de limpeza, abrasivos ou ácidos fortes ou bases em qualquer parte do instrumento.
- Imediatamente após cada uso, lave a unidade com água e depois enxaguar abundantemente com água destilada. Manusear o módulo com cuidado para evitar danos para as fichas de eléctrodos. Deixar secar ao ar.

Blotter solução de problemas

problema	solução
Transferência incompleta <i>Áreas em branco na membrana</i>	<ul style="list-style-type: none">• Remova todas as bolhas de ar na pilha de transferência; cuidar especialmente grande durante a montagem da pilha para evitar bolhas de ar formando à medida que cada camada é colocada.• Verifique a continuidade do eletrodo.• Use um tampão de baixa força iônica.
<i>Moléculas não migram de gel</i>	<ul style="list-style-type: none">• Aumentar a intensidade do campo.• Aumentar o período de transferência. (Tente dobrando-lo.)• Não exponha o gel de coloração ou de fixação agentes antes da transferência.• Utilizar um diluente gel.• Reduzir a concentração de acrilamida gel.• Para as proteínas, usar 3,5 mM de SDS (0,1%) no tampão de transferência.• Diminuir o metanol no tampão de transferência de proteína ou reduzir a quantidade a um mínimo. Tipicamente metanol a 10% é necessário para a ligação boa para membranas de nitrocelulose.• Aumentar o comprimento do blots de ADN de tempo são depurinated. Verificar o pH tampão. A maioria dos buffers não deve ser titulada; fazer tampão fresco.• Para géis nativas, aumentar a carga líquida na proteína mudando para um tampão de transferência com um pH diferente. PH mais baixo (<6-7) aumenta a carga positiva no proteínas; pH mais elevado (>6-7) aumenta a carga negativa sobre as proteínas.

problema**solução**

Ineficiente ligação

Os parâmetros químicos

- Fixar ou reticular a toupeira para os requisitos do ácido nucleico, o tipo de proteína, ou membrana.
- Prepare buffer de transferência de proteínas sem SDS. SDS pode melhorar a eficiência de transferência, mas reduz a ligação.
- Verificar a quantidade ótima de metanol requerido para o tipo de membrana e verificar a solução tampão. Adicionar metanol 10-20% para o tampão de transferência para melhorar a ligação para nitrocelulose.

Parâmetros de Membrana

- Usar luvas ao manusear membranas.
- Armazenar as membranas de forma adequada. Protegê-las de temperaturas extremas e luz direta do sol.
- Se as proteínas passam através da membrana seleccionada, tentar um tipo diferente, ou um com um menor tamanho dos poros (0,10-0,20 μm).
- Se as proteínas diferentes podem ser migrar em direcções opostas, colocar uma membrana em ambos os lados do gel.
- Se a carga da amostra pode ser superior a capacidade da área de superfície de ligação, aplicam-se duas membranas. Se “soprar através” ocorre, reduzir a carga de amostra.

Difusas padrões de bandas

- Conduzir a electrotransferência imediatamente após a separação eletroforética.
- Reduzir ou eliminar a etapa de equilíbrio antes electrotransferência, ou de equilíbrio conduta na sala fria.
- Se o tampão de transferência contém metanol ($\geq 10\%$), equilibrar o gel durante 30 minutos para permitir que ele encolher totalmente. *Nota: o encolhimento do gel pode retardar a migração de moléculas grandes para fora do gel.*
- Tome cuidado para que o gel não se desloque uma vez entra em contato com a membrana.
- Verificar que qualquer superfície preferida de ligação da membrana enfrenta o gel.

Bibliografia

Electroforese em gel de poliacrilamida

- Adams, L.D. and Gallagher, S.R. 1992. Two-Dimensional Gel Electrophoresis Using the O'Farrell System. *Current Protocols in Molecular Biology*, 10.4.1–10.4.13.
- Gallagher, S.R., and Smith, J.A. 1991. Electrophoretic separation of proteins. *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, eds.) 10.2.1–10.2.21.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 680–685.
- Matsudaira, P.T. and Burgess, D.R. 1978. SDS microslab linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.* 87:386–396.
- Reisfeld, R.A., et al. 1962. Acidic buffer system for resolution of cationic proteins. *Nature*. 195:281.
- Sasse, J., and Gallagher, S.R. 1991. Staining proteins in gels. *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, eds.) 10.6.1–10.6.8.
- Weber, K., and Osborn, M. 1969. The reliability of molecular weight determinators by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 224:4406–4412.

Blotting

- Gallagher, S., Winston, S.E., Fuller, S.A. and Hurrell, J.G.R. 1993. Immunoblotting and Immunodetection. in *Current Protocols in Molecular Biology*. 10.8.1–10.8.17. Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY.
- Gershoni, J.M., and G.E. Palade. 1983. Protein Blotting: Principles and Applications. *Anal. Biochem.* 131:1–15.
- Harlow, E. and Lane, D. 1988. *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press.
- Sambrook, J., et al. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, B.23.
- Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76:4350–4354.
-

Informações sobre pedidos

produto	quantidade	código
Hoefer SE300 miniVE, completa Inclui unidade básica, 3 placas de vidro retangulares, 3 placas entalhadas, 2 cada 1,0 milímetros de espessura, 10 bem pentes e 1,0 mm de espessura conjuntos espaçador.	1	SE300-10A-1,0
Módulo blot Inclui 3 esponjas de Dacron™ de embalagem (0,635 cm de espessura), 25 folhas de papel mata-borrão	1	SE302

Acessórios

Placas de vidro de, 10 × 10,5 cm	5	SE262P-5
Entalhadas placas de vidro, 10 × 10,5 cm	5	SE262GN-5
Espaçadores, 0,75 mm espesso	par	SE2619T-2-,75
Espaçadores, 1,0 mm espesso	par	SE2619T-2-1,0
Espaçadores, 1,5 mm espesso	par	SE2619T-2-1,5
Pente; 5 bem, 0,75 mm espesso	1	SE211A-5-,75
Pente; 5 bem, 1,0 mm espesso	1	SE211A-5-1,0
Pente; 5 bem, 1,5 mm espesso	1	SE211A-5-1,5
Pente; 9 bem, 1,0 mm espesso (microtiter)	1	SE211A-9-1,0
Pente; 10 bem, 0,75 mm espesso	1	SE211A-10-,75
Pente; 10 bem, 1,0 mm espesso	1	SE211A-10-1,0
Pente; 10 bem, 1,5 mm espesso	1	SE211A-10-1,5
Pente; 12 bem, 1,0 mm espesso	1	SE211A-12-1,0
Pente; 15 bem, 0,75 mm espesso	1	SE211A-15-,75
Pente; 15 bem, 1,0 mm espesso	1	SE211A-15-1,0
Pente; 15 bem, 1,5 mm espesso	1	SE211A-15-1,5
Pente; 18 bem, 1,0 mm espesso (microtiter)	1	SE211A-18-1,0
Pente; prep/ref, 0,75 mm espesso	1	SE211A-R-,75
Pente; prep/ref, 1,0 mm espesso	1	SE211A-R-1,0
Pente; prep/ref, 1,5 mm espesso	1	SE211A-R-1,5
Cabo de junta	100 cm	FH2208

produto	quantidade	código
Acessórios blotting		
Esponja, embalagem Dacron	3/pk	SE3005
Papel mata-borrão, 9–10,5 cm	50/pk	TE26
Rodinhas de gel		
Hoefer SE235 4-Rodinhas de gel, 2 a 4 géis, 10 × 10,5 cm	1	SE235
Fonte de alimentação		
PS200HC Alimentação, 200 V, 2000 mA, 200 W	1	PS200HC
PS300B Alimentação, 300 V, 500 mA, 90 W	1	PS300B
Sistema de gel de secagem		
Hoefer Easy Breeze™ Ar secador de gel, 115 V	1	SE1200-115V
Hoefer Easy Breeze Ar secador de gel, 230 V	1	SE1200-230V

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Toll Free: 1-800-227-4750

Telefone: 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. Coomassie é
uma marca comercial da ICI plc.
Dacron é marca registrada da
El du Pont de Nemours & Co.
RBS-35 é uma marca comercial
da Pierce Chemical Company.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos os direitos reservados.

Impresso nos EUA.

