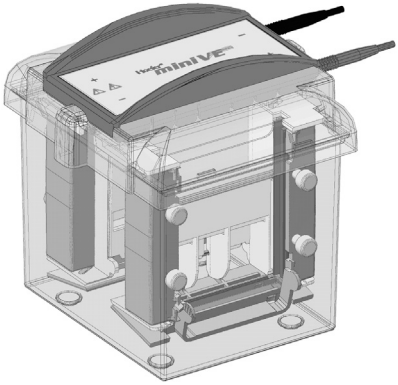
manual del usuario
Español

Hoefer SE300 miniVE

Mini-vertical de gel de unidad de electroforesis



m SE300-IM/Spanish/Rev.C0/06-12

Hoefer®

Tabla de contenidos

Información Importante ii
Residuos de Aparatos
Eléctricos y Electrónicos (RAEE) vii
Introducción 1
Desembalaje 2
Especificaciones 3
El módulo de electroforesis 4
Electroforesis 14
Cuidado y mantenimiento 15
La electroforesis de solución de problemas 16
El módulo de transferencia 18
Secante para el cuidado y mantenimiento 23
Secante de solución de problemas 24
Bibliografía 26
Orden información 27

Información Importante – Español

- 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 ése 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!

Duležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytovaná 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 víko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulo.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpustidlům 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 godkendede 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.
- Sikkerhedlåget må være på plads før forbinding strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedlåget.
- 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. Overheding 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/ethyleenglycol 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 specificeerde technische specificaties. Oververhittend 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. suojelu ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäytölle 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 tunnustettnut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalyijyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethyleneä 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 spécifié 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.
- utilise 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 mene 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'exchanger de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'exchanger 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 disin-

serisce 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 forbinding 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 vanntapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulated.
- Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemiddler 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!

Informações Importantes – Portuguese

- 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!

Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefer, Inc. skyddet tillhandahöll 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 irreparabla skador på enheten!

Residuos de Aparatos Eléctricos y Electrónicos (RAEE)

Español

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.

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.

Swedish

Denna symbol anger att elektriska och elektroniska utrustningar inte får avyttras som osorterat hushållsavfall och måste samlas in separat. Var god kontakta en auktoriserad tillverkarrepresentant för information angående avyttring av utrustningen.

Introducción

Nota: Mínimo calificaciones de suministro de energía: 50 mA, 250 V de tensión constante de corriente o constante.

El Hoefer® SE300 sistema miniVE electroforesis vertical realiza la electroforesis en gel vertical en geles de formato mini. La unidad básica incluye dos módulos de electroforesis. Cada módulo tiene un emparedado de gel, 10 cm de ancho y hasta 10,5 cm. Un gel se puede convertir en su lugar en cada módulo de electroforesis. Una amplia gama de accesorios, pedir por separado (ver página 27), presta el miniVE un alto grado de versatilidad. Estos incluyen:

- Una gran variedad de peines y separadores
- Un módulo de transferencia, para convertir el miniVE en una unidad de mini Blot. (Ver página 18 para obtener instrucciones.)

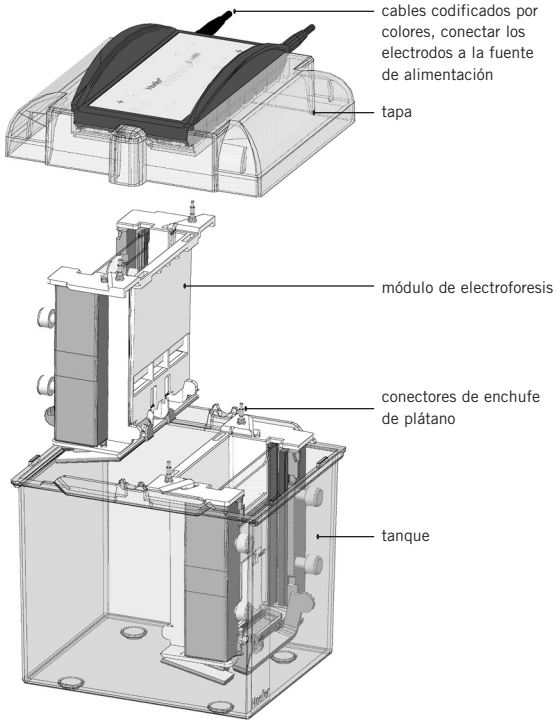


Fig. 1. Principales componentes de la miniVE Hoefer SE300.

Desembalaje

- Quite el envoltorio de los paquetes cuidadosamente y comparar el contenido con la lista de empaque, asegurándose de que todos los elementos llegaron.
- Si falta alguna pieza, comuníquese con su oficina local de ventas. Inspeccione todos los componentes de los daños que puedan haber ocurrido mientras la unidad estaba en tránsito. Si alguna parte está dañada, póngase en contacto de inmediato al transportista.
- Asegúrese de guardar todo el material de embalaje para las reclamaciones por daños o para reenvasado en caso de ser necesario devolver la unidad.
- Antes de usar, lavar el tanque y el módulo con una solución diluida de detergente de laboratorio no abrasivo. Enjuagar primero con agua y luego con agua destilada.

Especificaciones

Electroforesis

Gel de tamaño sándwich	10,0 cm de ancho × 8 a 10,5 cm de largo
Max. tanque de volumen	1,6 litros con un módulo en su lugar 1,4 litros con dos módulos en su lugar
Max. tensión	600 V~
Max. potencia	25 W por módulo de electroforesis

Electrotransferencia

Max. volumen (módulo de transferencia)	350 ml por módulo
Max. volumen del tanque (para refrigeración pasiva)	1,7 litros con un módulo en su lugar 1,2 litros con dos módulos en su lugar
Max. potencia	15 W por transferencia módulo
Max. corriente	400 mA

SE300 especificaciones miniVE

Max. Temperatura de funcionamiento	75 °C
La compatibilidad química	Para uso solamente con soluciones acuosas diluidas entre pH 2 y pH 12. No es compatible con disolventes orgánicos o alcoholes concentrados, ácidos, bases y agentes oxidantes.
Las condiciones ambientales de funcionamiento	Humedad hasta: 80% Uso en interior: 4-40 °C Altitud hasta: 2000 m Categoría de instalación: II Grado de contaminación: II
Dimensiones (A × P × A)	19,2 × 17,2 × 18,8 cm
Peso (tanque, la tapa, y dos módulos de gel)	1,2 kg
Las certificaciones de producto	EN61010–1, UL61010A-1, CSA C22.2 1010.1, Certificación CE

Esta declaración de conformidad es válida solamente cuando el instrumento es la siguiente:

- utilizarse en lugares de laboratorio,
- usado como liberado de Hoefer, Inc. a excepción de las alteraciones descritas en el manual del usuario, y
- conectado a otros instrumentos de marcado CE o productos recomendados o aprobados por Hoefer, Inc.

El módulo de electroforesis

Esta sección describe el uso del módulo de electroforesis. Para obtener instrucciones sobre cómo utilizar el módulo de transferencia, consulte la página 18.

El módulo de electroforesis acepta tanto la autoreparto y geles prefabricados 8 cm de ancho, de 8-10.5 cm de largo y 0,75 a 1,5 mm de espesor. Para obtener instrucciones sobre cómo utilizar el módulo con geles prefabricados, consulte la página 10.

Nota: La placa de cierre tiene tres posiciones: cerrado, o sellados para la fundición, la mitad abierta, por electroforesis, y completamente abierto, para la colocación del emparedado de gel.

Preparación del módulo

Para posicionar el módulo para aceptar el emparedado de gel, cada uno de los tres elementos de sellado con bisagras debe ser abierto.

❶

Soltar la placa de sellado mediante la aplicación de presión hacia el interior suave para ambas pestañas, como se indica por las flechas (Fig 2).

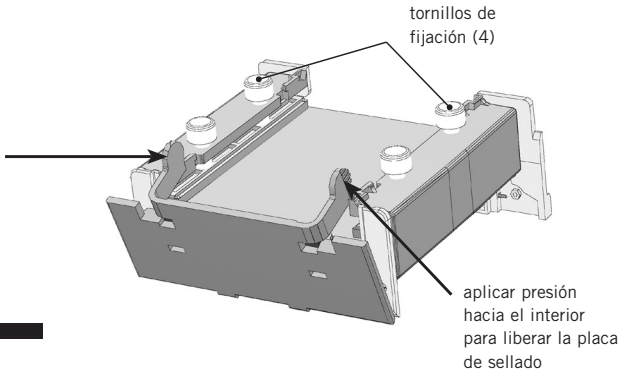
❷

Con las pestañas, mover la placa en la posición totalmente abierta.

❸

Afloje los cuatro tornillos de 4-5 vueltas en el sentido contrario a las agujas del reloj. No trate de quitar los tornillos de las abrazaderas.

Fig 2. Módulo en la posición cerrada.



❹

Para abrir el módulo, gire las pinzas hacia el exterior.

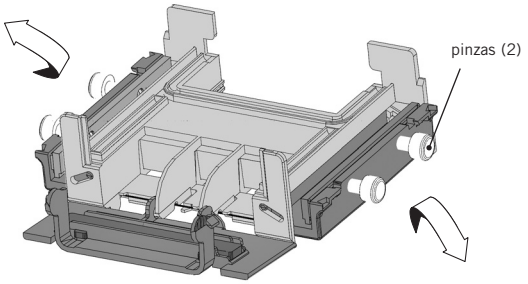


Fig 3. Módulo en la posición abierta.

❺

Coloque el módulo sobre la plana superficie de trabajo.

La preparación del elenco de auto-geles

La preparación del elenco de auto-geles Un único gel se puede convertir en el módulo. Para emitir varios geles, utilice una máquina de colada 4-gel, tal como el Hoefer SE235 lanzador (Ver información en página 27).

Montar el emparedado de gel

❶

Preparar el módulo, como se describe en la página 4.

❷

Elija un plato dentado, una placa de vidrio rectangular y dos separadores. Utilice únicamente las placas unchipped para evitar fugas.

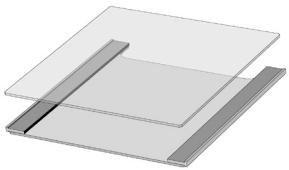


Fig 4. Gel de montaje sandwich.

❸

Montar el emparedado de gel con la muesca en la parte superior del emparedado y las crestas espaciadoras alinean a lo largo de los bordes de la placa de vidrio en los lados del sandwich (Fig 4).

Colocar y sellar el bocadillo en el módulo

¡Importante! La alineación apropiada es esencial para evitar fugas.

Nota: Una vez que el sándwich se alinean cuidadosamente, mantenga las caras planas con firmeza entre su pulgar y los dedos, cerca de la muesca.

❶

Tenga cuidado de “cuadrado” de los tres lados de sellado del sandwich. Mantenga el sándwich como una baraja de cartas y golpee suavemente la parte inferior sobre una superficie plana.

❷

Lado de la placa cortada hacia abajo, estaba el sándwich en el módulo (Fig 5). Montar el emparedado de gel dentro de las guías a ambos lados (a) y contra los pies de guía en la parte inferior (b).

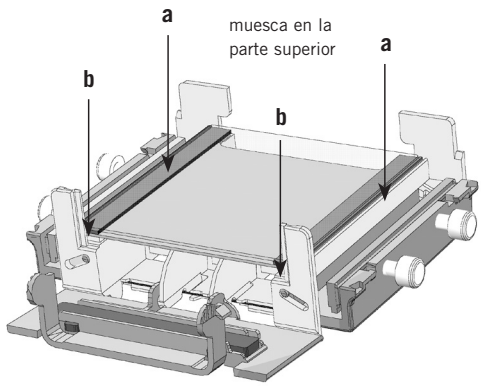


Fig 5. Colocar el sándwich en el módulo.

❸

Sujete ligeramente el sándwich contra el módulo, gire una abrazadera en su posición sobre el separador, teniendo cuidado de no golpear el bocadillo fuera de la alineación (Fig 6).

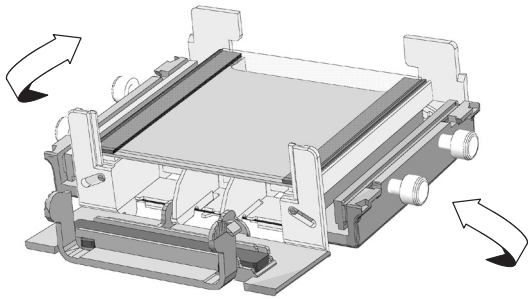


Fig 6. Colocación de las abrazaderas.

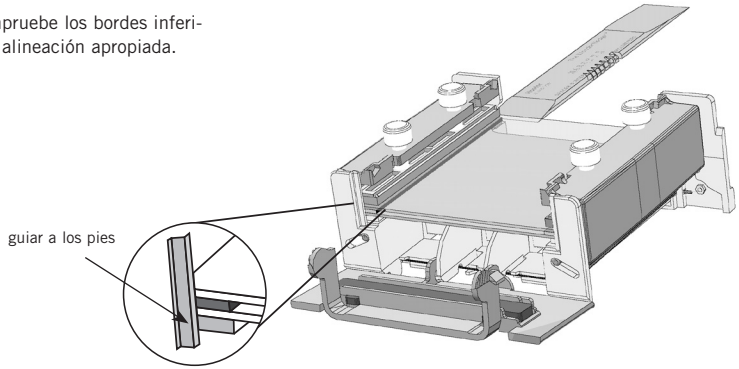
¡Importante! Ver la alineación del borde inferior del sandwich contra los pies de guía (Fig 7).

4

Girar cada tornillo (alterna para mantener la presión incluso) hasta que las mordazas están débilmente asegurada y permitirá que los espaciadores que debe ajustarse, si es necesario. Repetir en el otro lado.

Si los espaciadores y placas de vidrio no están perfectamente alineados contra los topes, use el extremo rígido de la cuña Maravilla Hoefer para presionar contra los bordes del separador y placas de vidrio y la posición ras contra el pie guía.

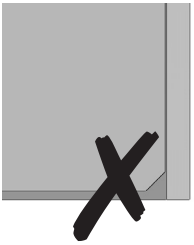
Fig 7. Compruebe los bordes inferiores de la alineación apropiada.



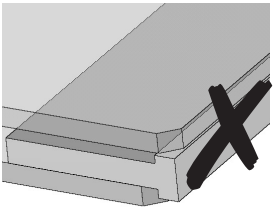
5

Completa sujeción apretando los tornillos con firmeza, la mano con fuerza. No apriete demasiado, ya que las placas pueden romperse. Compruebe la alineación del espaciador.

Fig 8. Desajustes causar fugas.



El separador no debe sobresalir del sandwich (o estar empotrados en él).

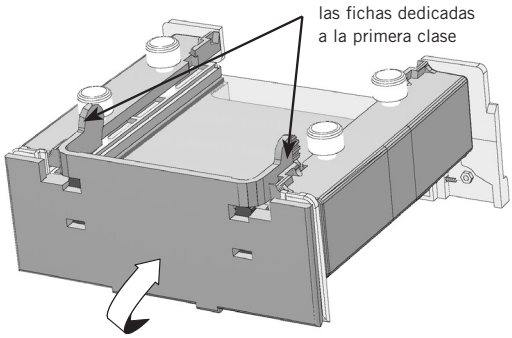


La placa de cristal no debe ser apoyada en la cabeza del espaciador en “T”.

6

Bloqueo de la placa de cierre en la posición cerrada mediante la participación de cada pestaña en su primera clase superior (Fig 9).

Fig 9. Reunidos módulo, con fichas dedicadas a la primera clase.



7

Cuelgue el módulo desde el lado estrecho de la cisterna o de pie en la mesa de trabajo para echar el gel (Fig 10).

Al colgar el módulo en el depósito, o bien llenar el tanque o colgar el segundo módulo en el otro lado como un contrapeso.

Nota: Para probar la alineación, pasar una esquina de la Wonder Wedge a través del borde inferior de los separadores y placas de vidrio. Si una ventaja "capturas", realinear. Revise ambos lados.

Verter el gel de resolución

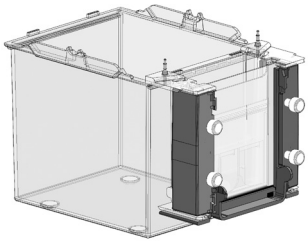
1

Preparar la solución de monómero.

2

Pipetear la solución en el sándwich lentamente para que fluya a lo largo de un espaciador, teniendo cuidado de no atrapar las bolsas de aire.

Fig 10. Cuelgue el módulo en el lado estrecho de la cisterna para verter el gel.



No gel de apilamiento

Completa la solución al nivel deseado y luego insertar un peine, con un ligero ángulo, en el emparedado, teniendo cuidado de no atrapar el aire bajo los dientes.

A 1cm de gel de apilamiento por debajo de los pozos

Llenar a 3 cm por debajo de la parte superior de la placa de vidrio rectangular. Superponer cada gel con una delgada capa de agua saturada de n-butanol, agua o tampón de gel diluido para evitar la exposición de la solución de monómero al oxígeno. Utilizar una jeringa de vidrio equipado con una aguja de calibre 22 para aplicar 100 µl de la solución de superposición lentamente a un lado del sandwich, cerca del espaciador. Dejar que la solución a fluir a través de la superficie sin ayuda.

Después de la polimerización

❶

Permita un mínimo de una hora para que el gel se polimeriza.

❷

Si es un peine en su lugar, retire con cuidado tirando del peine mientras suavemente meciéndose hacia adelante y hacia atrás para romper el vacío. Lavar los pocillos con tampón de electroforesis para eliminar cualquier acrilamida no polimerizada.

Si una superposición se aplicó, enjuagar el sándwich varias veces con agua doblemente destilada para retirarlo. Invertir el módulo a la fuga.

Para garantizar un contacto perfecto entre la resolución y apilamiento geles, eliminar el líquido residual por borrar una de las esquinas del gel con un paño libre de pelusa.

¡Advertencia! La acrilamida es una neurotoxina. Siempre use guantes y observar todos los procedimientos de seguridad en el laboratorio.

Nota: Aproximadamente 10 ml de solución de monómero se requiere para emitir un gel espeso 1 mm.

Lanzando el gel de apilamiento

❶

Prepare la solución de gel monómero de apilamiento.

❷

Purgar la solución de gel de apilamiento monómero, añadir catalizador e iniciador y luego verter. Utilizar una pipeta para entregar la solución en una esquina de la placa, teniendo cuidado de no atrapar las burbujas.

Nota: Si el gel tiene pozos, vaya a "montaje final" en la página 11.

Consejo: Para calcular el volumen, medir la distancia en centímetros, desde la parte superior del gel de resolución de la muesca de la placa de vidrio. Esto debe ser de al menos 2 cm. Multiplicar esta distancia por el ancho de gel (8 cm) y el espesor de gel (cm) para el volumen requerido (ml).

3

Insertar un peine (con un ligero ángulo para evitar el atrapamiento de aire) en el emparedado, permitiendo a los lados de peine para descansar sobre los espaciadores.

4

Permita un mínimo de una hora para que el gel se polimeriza.

Trabajar con elementos prefabricados geles

1

Preparar el módulo de electroforesis como se describe en "Preparación del módulo" en la página 4. Siga las instrucciones del fabricante para preparar el gel de electroforesis. Esto puede implicar la eliminación de cinta o rompiendo el borde de sellado de la parte inferior de la casete.

2

Retirar el peine y enjuague los pozos con tampón de electroforesis, para eliminar cualquier acrilamida no polimerizada.

3

Si el gel está listo para la electroforesis, mover la placa de cierre en el "medio abierto" posición. Aplique una leve presión a ambas pestañas y encerrarlos en la ranura inferior.

4

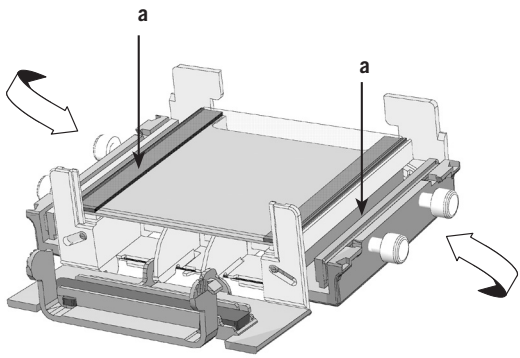
Nota: Para facilitar la carga de la muestra, marque las ubicaciones y con una pluma de laboratorio marca.

Coloque la bandeja en el módulo. Oriente la casete de manera que el lado dentado está en contra de la junta, y los pocillos se encuentran en la parte superior del módulo. Centro de la casete dentro del guiderail en ambos lados del módulo (a) (Fig 11).

5

Asegure la cinta. Mueva cada abrazadera en su posición sobre los lados de la casete. Apriete cada tornillo, alternando para aplicar una presión uniforme hasta que el cassette está seguro. La junta alrededor de la cámara de amortiguación superior debería estar totalmente comprimida para proporcionar un sello, pero los tornillos no deben apretarse hasta el punto de que la presión hace hincapié en la casete.

Fig 11. Fijación de la cinta.



❻

Compruebe que las dos superficies de gel pondrá en contacto con tampón. Comprobar que la parte inferior de gel contacto ranura está expuesta.

❼

Mueva la placa de cierre en el "medio abierta" para prepararse para la electroforesis. Aplique presión hacia el interior suave para ambas pestañas y encerrarlos en la ranura inferior.

El montaje final

❶

Asegúrese de que la placa de cierre está en el "medio abierto". La flecha en la Fig 12 indica la posición correcta.

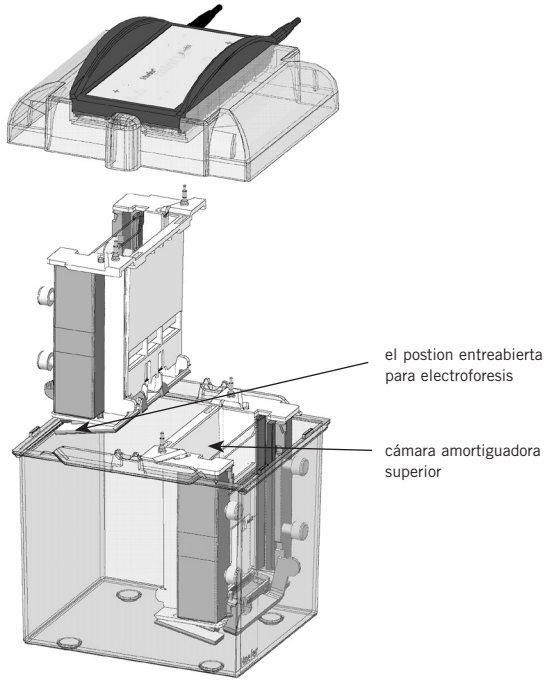
❷

Bajo cada módulo en el tanque, ajustándolo en las ranuras de fijación.

Los asientos módulo correctamente en sólo una orientación con los enchufes de plátano hacia el centro del tanque y el gel hacia afuera.

Fig 12. Preparación para la electroforesis.

Consejo: Como una ayuda en las muestras de carga, marque la ubicación del pozo con una pluma de marca de laboratorio o utilizar la localización de calcomanía. La calcomanía localizar sólo funciona con miniVE peines y no prefabricados de geles.



❸

Añadir la cantidad apropiada de tampón de electroforesis en el tanque.

Añadir 1,2-1,6 litros de tampón para el depósito cuando sólo un módulo está en su lugar, y litros 1,1-1,4 cuando dos módulos están en su lugar.

Los niveles mínimos y máximos están marcados. Compruebe que el electrodo inferior, que es de aproximadamente 2 cm de la parte inferior del módulo, está completamente sumergida. Para evitar tampón de entrar en la cámara de amortiguación superior, verificar que el nivel de amortiguación no está por encima del nivel máximo.

❹

Añadir la cantidad apropiada de tampón de electroforesis a la cámara de amortiguación superior.

Llenar la cámara de amortiguación superior a un nivel de 3 a 5 mm por encima de la placa dentada. Esto requiere aproximadamente 100 ml.

Nota: La cantidad de muestra de proteína añadida a cada pocillo depende tanto de la sensibilidad del método de tinción y la distribución de proteínas entre bandas separadas. Con Coomassie Blue™, es posible detectar 1 µg en una sola banda, con las manchas de plata más sensibles, es posible detectar tan poco como 10 ng.

5

Elaborar y aplicar la muestra.

Aumentar la densidad de líquido de muestra con 10% de glicerol o sacarosa. Añadir un colorante de rastreo, tal como azul de bromofenol.

Sirvieron de base al de la muestra en los pocillos utilizando una pipeta de micro o microjeringa de punta fina. La Tabla 1 muestra el volumen de muestra necesaria para diferentes números de pozos y peine espesores.

Tabla 1: capacidades Bueno: el volumen de la muestra (µl) por la profundidad de 1 mm

	espesor peine (mm)		
número de pozos	**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	—

Las conexiones eléctricas

1

Coloque la tapa de seguridad sobre la unidad y el asiento de la tapa para los enchufes de plátano participar en las tomas de la tapa. La tapa es simétrica y encaja en cualquier orientación (Fig 13).

2

Conecte los cables codificados por color en las tomas de una fuente de alimentación aprobada (rojo con rojo, negro con negro). La potencia nominal de suministro mínimo es de 250 V, 50 mA, el voltaje de corriente constante o constante. (Fuente de alimentación recomendada: PS300B).

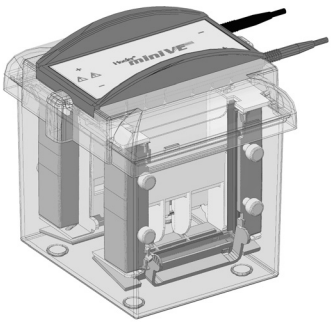


Fig 13. Totalmente montado miniVE con el módulo de la electroforesis.

Electroforesis

Para una resolución óptima, comenzará inmediatamente después de electroforesis en carga de la muestra.

Los geles se pueden ejecutar en cualquiera de voltaje de corriente constante o constante. Para separaciones Laemmli SDS, el rango de tensión recomendada es de 100-250 V y no debe exceder de 300 V. Si se ejecuta geles a corriente constante, la corriente debe ser 10-20 mA por gel, dependiendo del grosor de gel (10 mA durante 0,75 mm, 15 mA durante 1,5 mm).

Revise el progreso después de 5 minutos, y de nuevo después de media hora, el control de la posición del medio de contraste de seguimiento. La carrera se completa cuando el colorante de rastreo alcanza la parte inferior del gel.

Después de la electroforesis

❶

Apague la fuente de alimentación y desconecte los cables.

❷

Retire la tapa de seguridad y levante el módulo(s).

❸

Soltar cada emparedado de gel o cassette del módulo.

Mover la placa de cierre a la posición totalmente abierta pulsando hacia dentro en ambas pestañas y guiar la placa para abrir hacia fuera. A continuación, afloje los cuatro tornillos de 4-5 vueltas en sentido antihorario. Mueva las pinzas hacia el exterior.

❹

Retirar el gel del emparedado o casete. Afloje suavemente y luego deslice lejos ambos espaciadores. Deslice un espaciador extra o la Wonder Wedge Hoefer en el borde inferior para evitar romper las “orejas” de las placas con muescas y se separan las placas.

Si se utiliza geles prefabricados, siga las instrucciones del fabricante del gel.

❺

Levante con cuidado el gel de la placa y ponerla en una bandeja que contenía tampón de tinción, el fijador, o transferencia.

❻

Limpie la unidad como se describe en “Cuidado y mantenimiento” a continuación.

Cuidado y mantenimiento

- No esterilizar en autoclave o calentar cualquier parte por encima de 75 ºC.
- No sumerja la tapa de seguridad en ningún líquido.
- No utilice solventes orgánicos, soluciones de limpieza fuertes u oxidantes, abrasivos o ácidos o bases fuertes en cualquier parte del instrumento.

❶

Inmediatamente después de cada uso, enjuague el tanque y los módulos con agua y luego enjuague bien con agua destilada. Manéjese con cuidado para evitar daños a las bananas. Deje secar al aire.

❷

Limpie la tapa con un paño húmedo. Si es necesario, brevemente enjuague la parte inferior de la tapa con agua.

❸

Limpiar las placas de vidrio y los separadores con una solución diluida de un detergente de laboratorio tales como RBS-35™, luego enjuague bien con agua del grifo y agua destilada. Las placas de vidrio se puede tratar con, pero no se almacenan en las soluciones de limpieza ácidos.

❹

Limpiar placas con isopropanol para eliminar cualquier residuo sello gel.

La electroforesis de solución de problemas

problema	solución
Sonrisa efecto en la parte frontal de amortiguación	*Para reducir la temperatura de funcionamiento:*
	• Llene el tanque hasta el nivel máximo de almacenamiento intermedio (marcado).
	• Llevar a cabo la electroforesis en la cámara frigorífica.
	• Enfriamiento previo del búfer.
	• Disminuya el valor de corriente o voltaje. (10 mA por gel de 0,75 mm, 15 mA por gel de 1,5 mm de espesor).
Rayas verticales de proteínas	• Centrifugar o filtrar la muestra antes de la carga para eliminar las partículas.
	• Dializar o desalar la muestra.
Inusualmente lento (o rápido) de ejecución	*Ajuste de las soluciones:*
	• Compruebe recetas, las concentraciones de gel, soluciones y diluciones. (Por ejemplo, no utilice Tris-HCl en vez de Tris.)
	• Si el pH de una solución requerida se excede, no valorar en retroceso. Preparar tampón nuevo.
	• Deshágase de las soluciones de acrilamida mayores y utilizar sólo acciones de la más alta calidad.
	• Utilice sólo la urea recién desionizada.
	Ajuste los valores de voltaje o corriente:
	• Para aumentar o disminuir la tasa de migración, ajustar el voltaje o corriente por 25–50%.
Las bandas están sesgados o distorsionados	*Ver preparación de gel y polimerización:*
	• Desgasificar el gel de apilamiento solución y evitar burbujas de aire bajo los dientes del peine.
	• Superponer el gel de funcionamiento con agua saturada de n-butanol antes de la polimerización comienza a evitar la formación de un gel de superficie desigual.
	Compruebe la preparación de la muestra:
	• Dializar o desalar la muestra.
	• Centrifugar o filtrar la muestra antes de la carga para eliminar las partículas.

problema	solución
Muestra teñida recoge:	*Cerca de la parte delantera tampón*
	• La proteína no está suficientemente limitado por el gel de resolución; aumentar el% T.
	Cerca de la parte superior del gel cuando el frente tampón ha alcanzado la parte inferior
	• El tamaño de los poros del gel es demasiado pequeño. Disminuir la T% del gel de resolución.
	• La proteína ha precipitado. Se calienta la muestra a una temperatura más baja (70 °C o menos) para 1-2 minutos.
Resolución de la banda pobre	• Use sólo los reactivos de alta calidad.
	• Realizar la separación en una posición más baja de corriente o voltaje.
	• Dializar o desalar la muestra.
	• Reducir el volumen de muestra o de la concentración.
	• Utilice sólo la urea recién desionizada.
	• Mejorar la disociación de las subunidades de la muestra de calefacción en tampón de muestra SDS 1-2 minutos a 100 °C.
	• Añadir más mercaptoetanol o ditiotreitol, revisar el tratamiento de la muestra.
	• Sólo usar geles que se prepararon recientemente.
	• Ver valores de pH de la separación y apilamiento soluciones de gel. No valorar en retroceso tampones.
	Preparación de la muestra
	• Muestras de calor para no más de 1-2 minutos a 100 °C. Almacenar en hielo después del calentamiento.
	• Almacenar la muestra en hielo antes de que sea desnaturalizada.
	• Añadir inhibidores de la proteasa, si es necesario para evitar la degradación proteolítica de la muestra.
	• Almacene las muestras que se congeló en alícuotas para evitar la congelación y descongelación repetida. (Conservar a -40 °C a -80 °C)
Bromphenolblau nicht in einer konzentrierten Zone schärfen dem Stacking-Gel	• Vierta un gel más alto de apilamiento. (Para obtener los mejores resultados, permita una altura de gel de apilamiento de 2,5 veces la altura de la muestra en el pozo.)
	• Deshágase de las soluciones de acrilamida obsoletas y usar sólo el grado más alto de la acrilamida.
	• Al preparar las muestras, evitar el uso de soluciones con una concentración alta de sodio o potasio.

El módulo de transferencia

El Hoefer miniVE Módulo Blot, que se puede pedir por separado, realiza electrotransfers en geles de formato mini. Cada módulo tiene capacidad para dos geles, 8,2 cm de ancho y largo de hasta 10,4 cm. Uno o dos módulos se pueden ejecutar al mismo tiempo.

Asamblea

❶

Antes de usar, lavar el tanque y el módulo de transferencia con una solución diluida de detergente de laboratorio no abrasivo. Enjuague bien con agua y agua destilada.

❷

Separar a dos de los cuatro capítulos de juntas que se incluyen con cada módulo.

❸

Abra el módulo mediante la liberación de ambas fichas.

❹

Coloque una junta a lo largo del surco completo alrededor de tres lados de cada media taza. Evite estirar o torcer la junta, el largo solo debe encajar. Presione suavemente en su lugar.

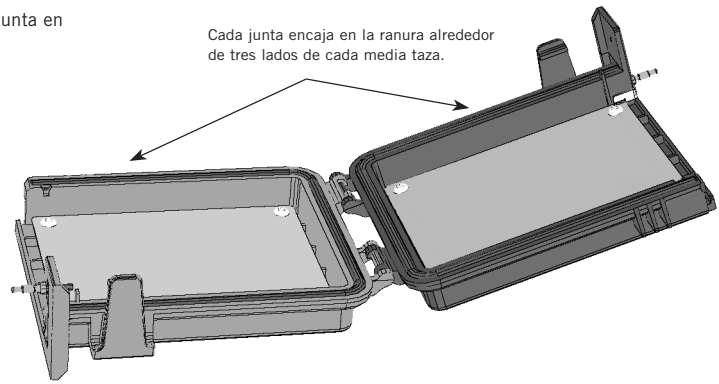


Fig 14. Instale una junta en cada media taza.

Preparación

Opcional: refrigeración pasiva

Enfriar aproximadamente 2 litros de agua desionizada a 4 °C. (Llenar el tanque con agua fría sirve como un disipador de calor durante la electrotransferencia.)

Prepare el tampón de transferencia

Montaje de la pila requiere aproximadamente 250 ml de tampón de transferencia y una adicional 300-350 ml de tampón es requerido para llenar cada módulo. La receta para el buffer de Towbin se enumeran a continuación. La bibliografía en la página 26 se enumeran las fuentes de otros tampones.

Towbin tampón

(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)	hasta 0.1% (3.5 mM)	1.0 g

* Opcional: agregar SDS puede mejorar la eficiencia de transferencia.

❶

Disolver en 750 ml de agua destilada.

❷

Añadir metanol según sea necesario.

Dependiendo del tipo de membrana seleccionada, añadiendo metanol puede mejorar los resultados de transferencia. Debido a tampones que contengan metanol puede deteriorarse si se almacena por largos períodos, con metanol, justo antes de la transferencia.

❸

Llevar a 1 litro con agua destilada. No ajustar el pH, el cual debe estar entre 8,2 y 8,4.

Opcional: Chill antes de su uso.

Prepare la pila de la transferencia

Transferir la muestra tan pronto como sea posible después de la electroforesis para minimizar la difusión de la muestra dentro del gel. Transferencia electroforética puede realizarse en un máximo de cuatro mini-geles en un tiempo, si dos geles se colocan en cada uno de dos módulos.

La pila de transferencia consiste en el gel y la membrana, papel de filtro, y tres esponjas de embalaje. El gel determina el tamaño de la membrana y papel de filtro.

❶

Para cada gel, corte de la membrana y dos piezas de papel de filtro del mismo tamaño que el gel, pero no mayor que 8,5 × 10,5 cm.

❷

Equilibrar el gel en tampón de transferencia durante 10 minutos.

Equilibrio permite que el gel se hinche o reducir antes de que haga contacto con la membrana de transferencia y elimina el exceso de sales tampón y detergentes del gel. Mayor equilibrio puede resultar en bandas difusas.

❸

Pre-húmedas las membranas de nitrocelulosa o nylon en agua destilada, teniendo cuidado de no atrapar burbujas de aire.

Sumergir un extremo de la membrana en el buffer y lentamente se sumergen, permitiendo que se moje por acción capilar.

Pre-húmedo PVDF o otras membranas hidrófobas en metanol.

Después de pre-remojo, remojo todos los tipos de membrana en tampón de transferencia durante 2-5 minutos.

❹

Moje las dos piezas de papel de filtro en tampón de transferencia.

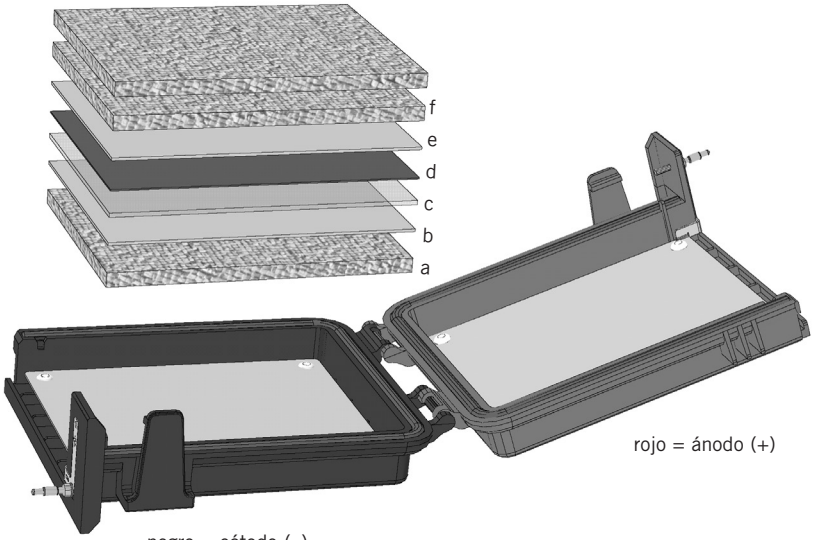
¡Importante! Trate de colocar el gel correctamente la primera vez. Las proteínas pueden comenzar a transferir de inmediato. Una vez que la transferencia se inicia, moviendo el gel distorsionar los resultados o hacer que “las bandas de sombra” en la mancha.

❺

Montar la pila de transferencia de manera que las moléculas migrarán a la membrana (Fig 15).

Para macromoléculas cargadas negativamente (tales como las proteínas se ejecutan en un gel de SDS y ácidos nucleicos) ensamblar la pila de transferencia en el negro (cátodo) lateral. Las proteínas se transferirá hacia el rojo (ánodo) lado.

Fig 15. Montaje de la pila de la transferencia.



Nota: Para obtener los mejores resultados, evitar atrapar burbujas de aire, ya que cada capa se aplica. Siempre establecer contacto completo a lo largo de un lado y mantener el contacto como la capa se reduce en su posición.

a. Centro de una esponja de embalaje en el lado del cátodo negro.

b. Coloque un pedazo de papel filtro húmedo en la esponja.

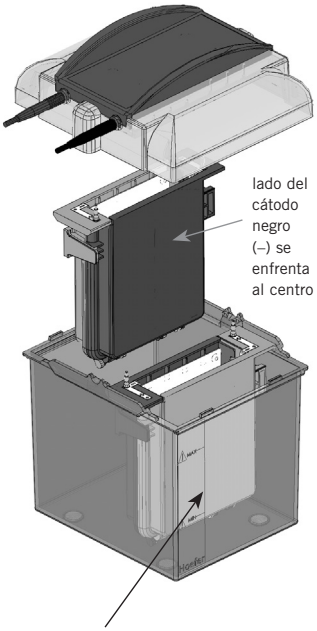
c. Coloque el gel de equilibrio en el papel de filtro. Humedezca la superficie del gel con unas pocas gotas de tampón de transferencia.

d. Colocar la membrana sobre el gel. No cambiar la posición de la membrana, una vez entra en contacto con el gel. Utilice una varilla de vidrio para lanzar las burbujas de aire.

e. Coloque un pedazo de papel filtro húmedo en la membrana.

f. Coloque dos esponjas de embalaje en el papel de filtro. Una pila de transferencia en segundo lugar, si se añaden, se coloca entre estas dos esponjas. Repita los pasos b-e.

Fig 16. El montaje final.



❻

Ver la posición de la pila de transferencia. La pila de transferencia debe estar centrada en la placa de electrodos. Ninguna capa debe ser aplastado cuando el módulo está cerrado.

❼

Doblar la mitad vacía del vaso a la pila y presione las mitades para ajustar el módulo cerrado.

La transferencia de acciones debe sostenerse firmemente en su lugar cuando la taza está cerrado. Sustituir esponjas viejas y comprimido, si es necesario, para llenar la taza.

El montaje final

❶

Verter lentamente 300-350 ml de tampón de transferencia en la parte superior del módulo, para permitir que el aire se desplaza por el tampón medida que se llena la copa. Toque en la taza de secante ligeramente para eliminar burbujas de aire en las esponjas de embalaje.

❷

Coloque el módulo (s) en el tanque con los enchufes de plátano hacia el centro, el lado rojo hacia afuera.

❸

Añadir agua desionizada para el depósito, 1,7 litros de un módulo y 1,2 litros por dos módulos.

Para evitar la rápida evaporación, temperatura del tampón no debe exceder de 75 °C. Refrigeración pasiva se recomienda si la transferencia será más de una hora, si la actividad biológica debe ser retenida, o si la transferencia de los ácidos nucleicos. Térmica de agua desionizada a ~4 °C antes de añadir al depósito.

❹

Coloque la tapa de seguridad en el tanque. Cualquiera de los ajustes y la orientación es correcta.

Conecte los cables codificados por color en las tomas de una fuente de alimentación aprobada, como el PS300B o PS200HC: rojo con rojo, negro con negro.

¡Importante! Tampón conductividad aumenta al aumentar la temperatura, proporcionando una retroalimentación positiva que da como resultado un rápido calentamiento. Se recomienda la programación de la fuente de alimentación para mantener el ajuste de corriente constante para evitar el sobrecalentamiento posible, especialmente si no hay refrigeración pasiva está en su lugar. Si la opción de programación sólo es llevar a cabo el ajuste de voltaje constante, controlar y ajustar el voltaje para mantener la corriente en o por debajo de 400 mA.

Electrotransferencia

Condiciones electroforéticas de transferencia para secar las proteínas en tampón de Towbin: 25 V durante 1-2 horas, 300-400 mA.

Después de electrotransferencia

❶

Apague la fuente de alimentación y desconecte los cables.

❷

Retire la tapa de seguridad.

❸

Saque cada módulo y drenarlo por ella invirtiendo más de un fregadero. Evite mojar los enchufes de plátano con tampón.

❹

Abra el módulo. Retire los geles y membranas. Guardar las esponjas de embalaje. Deseche el papel secante.

❺

Marca cada uno de membrana e indicar el lado de la muestra. Levante la membrana (s) con unas pinzas romas y dejar secar al aire.

❻

Enjuague la unidad inmediatamente después de su uso.

Secante para el cuidado y mantenimiento

- No esterilizar en autoclave o calentar cualquier parte por encima de 75 °C.
- No utilice disolventes orgánicos, soluciones de limpieza fuertes u oxidantes, abrasivos o ácidos o bases fuertes en cualquier parte del instrumento.
- Inmediatamente después de cada uso, lave la unidad con agua y luego enjuague bien con agua destilada. Manéjese con cuidado para evitar daños a los enchufes de electrodo. Deje secar al aire.

Secante de solución de problemas

problema	solución
Transferencia incompleta	
Áreas en blanco en la membrana	• Quite todas las burbujas de aire atrapadas en la pila de la transferencia, teniendo cuidado especialmente grande durante el montaje de la pila para evitar que las burbujas de aire que se formen ya que cada capa se coloca.
	• Compruebe la continuidad de los electrodos.
	• Utilice un pulidor de baja fuerza iónica.
Las moléculas no migran fuera del gel	• Aumentar la intensidad de campo.
	• Aumentar el período de transferencia. (Trate de duplicar la misma.)
	• No exponer el gel a las manchas o la fijación de los agentes antes de la transferencia.
	• Utilizar un gel más delgada.
	• Reducir la concentración de gel de acrilamida.
	• Para las proteínas, utilizar 3,5 mM de SDS (0,1%) en el tampón de transferencia.
	• Disminuye el metanol en el tampón de transferencia de proteínas o reducir la cantidad a un mínimo. Típicamente 10% de metanol se requiere para la buena unión a membranas de nitrocelulosa.
	• Aumentar la longitud de los borrones de ADN de tiempo se depurinado. Compruebe el pH. La mayoría de los tampones, no se debe ajustar, hacer tampón nuevo.
	• Para geles nativos, aumentar la carga neta de la proteína mediante el cambio a un tampón de transferencia con un pH diferente. Un pH más bajo (<6-7) aumenta la carga positiva sobre las proteínas; un pH más alto (>6-7) aumenta la carga negativa de las proteínas.

problema	solución
Ineficiente vinculante	
Los parámetros químicos	• Fijar o reticular el topo a los requisitos del ácido nucleico, el tipo de proteína, o de la membrana.
	• Preparar buffer de proteína de transferencia sin SDS. SDS puede mejorar la eficiencia de transferencia, pero reduce la unión.
	• Verificar la cantidad óptima de metanol necesario para el tipo de membrana y comprobar la solución tampón. Añadir 10-20% de metanol para el tampón de transferencia para mejorar la unión a nitrocelulosa.
Parámetros de membrana	• Use guantes para manipular las membranas.
	• Almacenar membranas correctamente. Protegerlos de las temperaturas extremas y luz solar directa.
	• Si las proteínas pasan a través de la membrana seleccionada, trate de un tipo diferente o una con un tamaño de poro más pequeño (0,10-0,20 µm).
	• Si las proteínas diferentes pueden migrar en direcciones opuestas, colocar una membrana en ambos lados del gel.
	• Si la carga de la muestra puede ser superior a la capacidad de la superficie de unión, se aplican dos membranas. Si “soplar a través de” ocurre, reducir la carga de la muestra.
Patrones difusos de la bandas	• Llevar a cabo la electrotransferencia inmediatamente después de la separación electroforética.
	• Reducir o eliminar el paso de equilibrio antes de electrotransferencia, o el equilibrio conducta en el cuarto frío.
	• Si el tampón de transferencia contiene metanol (≥10%), equilibrar el gel durante 30 minutos para permitir que se contraiga completamente. *Nota: Gel de contracción puede retardar la migración de moléculas de gran tamaño del gel.*
	• Tenga cuidado de que el gel no se desplaza, una vez entra en contacto con la membrana.
	• Compruebe que cualquier superficie preferida de unión de la membrana se enfrenta el gel.

Bibliografía

Electroforesis en 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.

Secante

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.

Orden información

producto	cantidad	código
Hoefer SE300 miniVE, completa Incluye la unidad básica, 3 placas rectangulares de vidrio, 3 placas con muescas, 2 cada 1,0 mm de espesor, 10 y los peines y los conjuntos de 1,0 mm de espesor del espaciador.	1	SE300-10A-1,0
Módulo Blot Incluye 3 esponjas de empaque Dacron™ (0,635 cm de espesor), 25 hojas de papel secante.	1	SE302

Accesorios

Las placas de vidrio, 10 × 10,5 cm	5	SE262P-5
Placas de vidrio con muescas, 10 × 10,5 cm	5	SE262GN-5
Separadores, 0,75 mm espesor	par	SE2619T-2-,75
Separadores, 1,0 mm espesor	par	SE2619T-2-1,0
Separadores, 1,5 mm espesor	par	SE2619T-2-1,5
Peine; 5 bien, 0,75 mm espesor	1	SE211A-5-,75
Peine; 5 bien, 1,0 mm espesor	1	SE211A-5-1,0
Peine; 5 bien, 1,5 mm espesor	1	SE211A-5-1,5
Peine; 9 bien, 1,0 mm espesor (microtiter)	1	SE211A-9-1,0
Peine; 10 bien, 0,75 mm espesor	1	SE211A-10-,75
Peine; 10 bien, 1,0 mm espesor	1	SE211A-10-1,0
Peine; 10 bien, 1,5 mm espesor	1	SE211A-10-1,5
Peine; 12 bien, 1,0 mm espesor	1	SE211A-12-1,0
Peine; 15 bien, 0,75 mm espesor	1	SE211A-15-,75
Peine; 15 bien, 1,0 mm espesor	1	SE211A-15-1,0
Peine; 15 bien, 1,5 mm espesor	1	SE211A-15-1,5
Peine; 18 bien, 1,0 mm espesor (microtiter)	1	SE211A-18-1,0
Peine; prep/ref, 0,75 mm espesor	1	SE211A-R-,75
Peine; prep/ref, 1,0 mm espesor	1	SE211A-R-1,0
Peine; prep/ref, 1,5 mm espesor	1	SE211A-R-1,5
Junta de cable de	100 cm	FH2208

producto	cantidad	código
Accesorios blotting		
Esponja, empaque de Dacron	3/pk	SE3005
El papel secante, 9–10,5 cm	50/pk	TE26
Ruedas de gel		
Hoefer SE235 ruedas 4-gel, de 2 a 4 geles, 10 × 10,5 cm	1	SE235
Las fuentes de alimentación		
PS200HC fuente de alimentación, 200 V, 2000 mA, 200 W	1	PS200HC
PS300B fuente de alimentación, 300 V, 500 mA, 90 W	1	PS300B
Gel de sistema de secado		
Hoefer Easy Breeze™ Secador de aire Gel, 115 V	1	SE1200-115V
Hoefer Easy Breeze Secador de aire Gel, 230 V	1	SE1200-230V

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. Coomassie es una marca comercial de ICI PLC. Dacron es una marca registrada de El DuPont de Nemours y Co. RBS-35 es una marca comercial de Pierce Chemical Company.

© 2012 Hoefer, Inc.
Todos los derechos reservados.

Impreso en el USA.

Hoefer®