

Hoefer TE42 et TE62

Transfert des unités d'électrophorèse

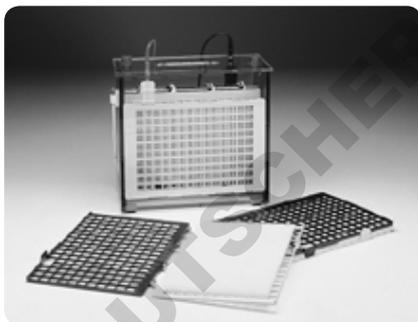


Table des matières

Information Importante	ii
Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE)	vii
Fonction de l'unité de transfert d'électrophorèse et la description.....	1
Spécifications	2
Mode d'emploi	4
Entretien et maintenance	12
Module d'alimentation secteur.....	13
Dépannage.....	15
Notes électrotransfert.....	17
Bibliographie.....	24
Informations pour la commande.....	26

Information Importante – Français

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifique par Hoefel, 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 Hoefel, 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 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 !

Důležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefel, 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 Hoefel, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.
- zdroj napájení používají jen že je opatření označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoři.
- 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/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. Rozpuštěním 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 Hoefel, 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 Hoefel, 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 for forbindelse strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedslåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylen glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er unreguleret.
- 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 specifikationer. Overhedning vil forårsage uboelig skade til enheden!

Belangrijke Informatie – Dutch

- Indien deze uitrusting in een manier wordt gebruikt die niet door Hoefler, Inc. is gecertificeerd 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 Hoefler, 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 specificieerde technische specificaties. Oververhittend zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefler, 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 Hoefler, 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 Hoefler, Inc. suojele ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäyttöä vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyvät tai toimitti Hoefler, 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 laboratorioti.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalijyyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethylene glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähditysnelälhteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Organiset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään

määrityksillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefler, 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 Hoefler, 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 unreguliert 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 Hoefler, 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 Hoefler, 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 Hoefler, 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 Hoefler, 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 vann tapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykkes 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.
- korzystając 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.
- Krają 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 proteção 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 controles 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!

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 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!
 - Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

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!

Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE)

Français



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.

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.

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.

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.

Fonction de l'unité de transfert d'électrophorèse et la description

Le Hoefer® TE42 TE62 et des unités de transfert de transférer rapidement les protéines, ADN ou ARN à partir de quatre ou de polyacrylamide gels d'agarose sur une membrane. Gels et des membranes sont assemblés dans une cassette et immergée dans un réservoir rempli avec du tampon de transfert. Les électrodes dans le réservoir sont reliées à une alimentation externe.

Le TE62 contient un échangeur de chaleur dans la base. Tampon est séparée de l'agent de refroidissement par une plaque conductrice de la chaleur alumine. Le TE42 n'est pas équipé d'un système de refroidissement tampon. Si le refroidissement est nécessaire, un échangeur de chaleur immergé peut être commandé séparément.

Modèles et les caractéristiques Transphor

	intégré échangeur de chaleur pour refroidir	compatible avec alimentation externe
TE42		✓
TE62	✓	✓

Déballage

Déballer tous les paquets soigneusement et de comparer le contenu avec la liste de colisage ou de l'information de commande, s'assurer que tous les articles sont arrivés. Si une pièce est manquante, contactez Hoefer, Inc Inspecter tous les composants pour les dommages qui ont eu lieu alors que l'appareil était en transit. Si une partie quelconque semble être endommagé, contactez immédiatement le transporteur. Soyez sûr de garder tous les matériaux d'emballage pour dommages et intérêts ou le reconditionnement si elle s'avère nécessaire de retourner l'appareil.

Spécifications

Tous les modèles de la citerne: TE42 TE62 et

Gel taille	Jusqu'à quatre 15×21 cm ou des gels jusqu'à seize 7×10 cm mini-gels
Max. puissance	200 W
Max. tension	100 V
Max. ampérage	2 A
Max. température	45 °C
Tampon requise	4–5 litres, selon le nombre de cassettes en place
Écologique les conditions de fonctionnement:	
Utilisation à l'intérieur	4-40 °C
Humidité à	80%
Altitude jusqu'à	2000 m
Catégorie d'installation	II
Le degré de pollution	2
Dimensions (L×P×H)	TE42: 28×13×30,5 cm TE62: 28×16,5×32 cm
Certifications des produits	EN61010–1, UL3101–1, CSA C22.2 1010.1, CE

Cette déclaration de conformité n'est valable que pour l'instrument lorsqu'il est:

- utilisés dans des endroits de laboratoire,
- utilisé comme délivré de Hoefler, Inc sauf pour des modifications décrites dans le manuel de l'utilisateur, et
- connecté à d'autres le label CE des instruments ou des produits recommandés ou approuvés par Hoefler, Inc.

Fig 1. Composants principaux
Transphor

Inclus mais non affiché:

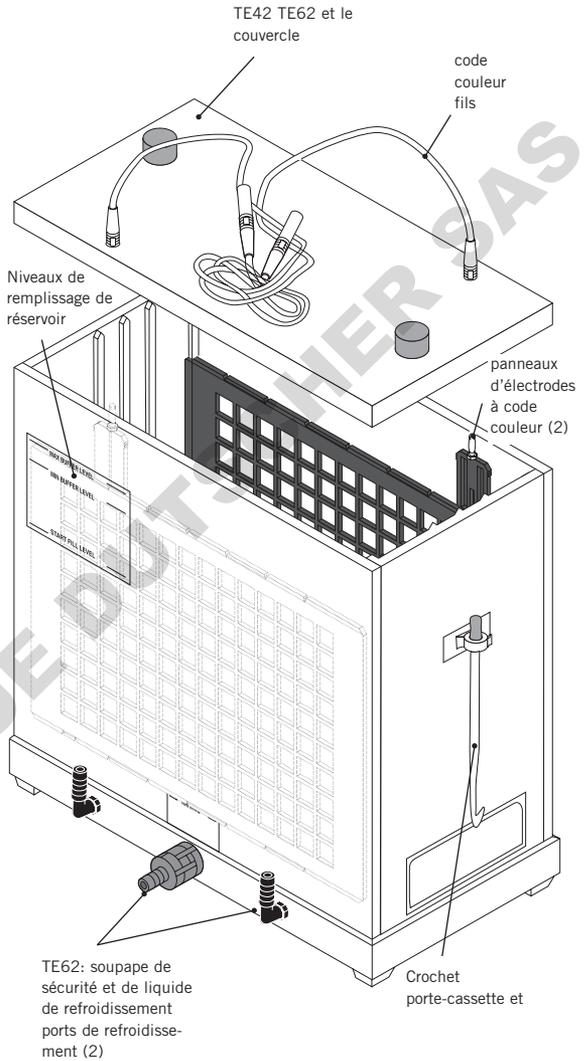
TE42:

- Cassettes de gel (2)
- Éponges en mousse, 6 mm d'épaisseur (2)
- Éponges en mousse, 3 mm d'épaisseur (4)
- Papier buvard, feuilles (25)

TE62:

- Cassettes de gel (4)
- Éponges en mousse, 6 mm d'épaisseur (4)
- Éponges en mousse, 3 mm d'épaisseur (8)
- Papier buvard, feuilles (25)

Remarque: Un échangeur de chaleur immergé (Code ne TE47) peuvent être commandés séparément pour le TE42.



Mode d'emploi

Effectuer le transfert dès que possible après l'électrophorèse pour minimiser la diffusion de bande. Chaque étape est décrite ci-dessous.

Remarque: Reportez-vous à la section électrotransfert Notes pour une discussion des membranes et des tampons.

Préparer le tampon

Préparer un minimum de 5 litres de la mémoire tampon de transfert approprié. Réfrigérer la mémoire tampon avant d'utiliser si possible.

Préparez l'appareil

①

Rincer le réservoir de transfert et de cassettes avec de l'eau distillée.

②

Le refroidissement actif est facultative mais fortement recommandée. Si aucun système de refroidissement actif sera utilisé, passez à l'étape 3.

Remarque: Connectez l'échangeur de chaleur à une salle de bain circulateur comme le RCB20-PLUS.

Faites circuler l'eau seule ou 50/50 eau/éthylène glycol pour éviter d'endommager l'appareil.

Le circulateur ne doit pas générer une pression supérieure à 0,7 bar (10 psi) supérieure à la pression atmosphérique.

Réglez la température à 10 °C ou plus, si une circulation d'eau seulement. Si vous utilisez glycol 50/50 d'éthylène/eau, la température peut être réglée plus bas.

Premier le bain, en même temps que le transfert.

Remarque: La soupape de décharge s'ouvre si la pression dans l'échangeur de chaleur dépasse 0,7 bar (10 psi) supérieure à la pression atmosphérique.

Remarque: Pour les connexions rapides et faciles, installez-Les raccords à démontage rapide avec vannes.

Remarque: Même si aucun système de refroidissement est nécessaire pour votre système, le tampon doit être distribué avec un agitateur pour éviter l'épuisement de tampon au niveau des électrodes.

TE42

Abaisser l'échangeur de chaleur (à commander séparément, ou utiliser l'échangeur de chaleur fournie avec le Hoefer SE600 Unité électrophorèse en gel si vous en avez un) dans la chambre inférieure, mise en place des ports dans les encoches de la jante. Préparez deux longueurs de 10-12 mm I.D. de vinyle ou le tube de silicone pour le circuit de refroidissement et passez à «Attacher le tube» ci-dessous.

TE62

Fixez d'abord tuyau à la soupape de surpression rouge entre l'entrée d'eau et les ports de sortie et insérer l'extrémité libre dans le bain ou autre récipient ou la vidange d'attraper tout débordement de surpression. Préparez deux longueurs de 9 mm de vinyle ou le tube de silicone et de voir «Attacher le tube» ci-dessous pour obtenir des instructions sur sa mise en place dans les ports de l'échangeur de chaleur dans la base de l'unité.

Attacher le tube

Faites glisser les colliers de serrage (4 au total) à chaque extrémité de deux longueurs de tube. Attacher une extrémité de chaque longueur de tuyau à un port échangeur de chaleur. Fixer les extrémités libres de chaque longueur de tuyau à des ports de bain de circulateur, l'une à l'entrée et l'autre à la sortie. Sécuriser les connexions avec les colliers de serrage.

3

Lieu (ne pas tomber) un agitateur magnétique dans le réservoir tampon. (Faire tomber des objets sur la plaque d'alumine dans le TE62 peut causer la plaque à se fissurer.) Réglez l'appareil sur un agitateur magnétique. Remplissez le transfert tampon à la «Démarrer le niveau de remplissage» en ligne. (Cela nécessite environ 3,8 litres.) Régler l'agitateur à faible et moyen, ce qui crée circulation du tampon sans forcer tampon à travers des cassettes assemblés.

Remarque: Toujours porter des gants lorsque vous manipulez des membranes pour éviter d'avoir des empreintes digitales sur eux.

Important! Prenez grand soin de retirer toutes les bulles d'air à chaque étape car la présence de bulles d'air, en particulier entre la membrane et le gel, le transfert de blocs.

Monter la cassette de transfert

1

Pré-humide nitrocellulose ou des membranes de nylon avec de l'eau distillée. Pré-humide PVDF ou d'autres membranes hydrophobes dans le méthanol. Puis tremper tous les types de membranes dans un tampon de transfert pendant 2-5 minutes.

2

Ouvrir la cassette en libérant les deux languettes de verrouillage le long du bord opposé des charnières. Placez la cassette ouvert dans un bac rempli d'au moins 3 cm de tampon de transfert.

3

Assembler la pile de transfert afin que les molécules vont migrer vers la membrane. Pour macromolécules chargées négativement (comme les acides nucléiques et la plupart des protéines), la construction de la pile sur la moitié de gris de la cassette (puis plus tard, positionner le couvercle de sorte que le côté gris fait face le fil rouge, ou anode (+).

Placez une éponge en mousse 3 mm d'épaisseur sur la cassette ouverte immergée et appuyez doucement jusqu'à ce que tout l'air est expulsé. Placez une feuille de papier buvard sur l'éponge, puis placer la membrane sur le papier buvard. Placer le gel qui contient un échantillon qui a été séparé par électrophorèse et on équilibre (si nécessaire) avec transfert de tampon sur la membrane. Doucement rouler une pipette de verre ou de tube à essai sur le gel pour éliminer l'air emprisonné entre la membrane et le gel. Couvrir le gel avec une feuille de papier buvard, puis placez une éponge de la bonne épaisseur (voir le schéma ci-dessous), à nouveau en appuyant légèrement pour expulser l'air emprisonné.

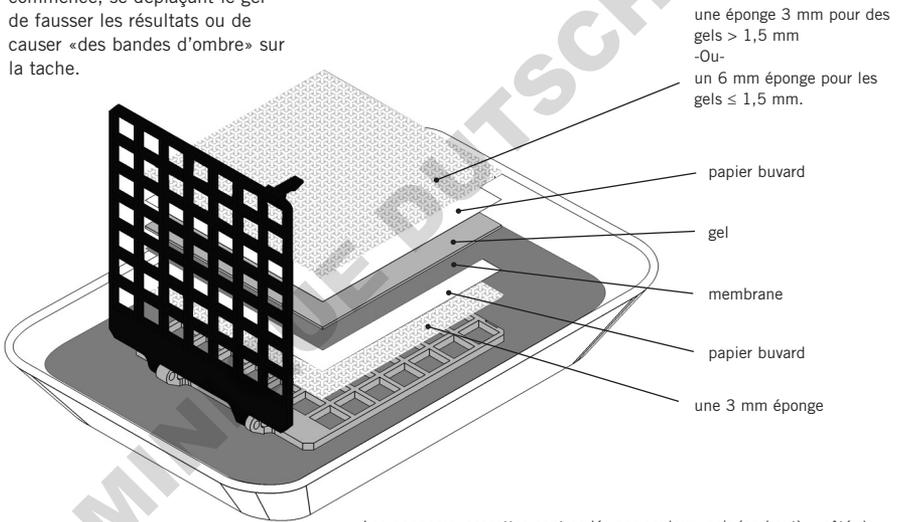
4

Fig 2. Transfert assemblage de la pile. La pile est orienté de telle sorte que les molécules chargées négativement migrent vers l'anode gris (+).

Important! Ne surchargez pas la cassette.

Remarque: Essayez de placer le gel correctement la première fois parce que les protéines peuvent commencer à transférer immédiatement, une fois le transfert a commencé, se déplaçant le gel de fausser les résultats ou de causer «des bandes d'ombre» sur la tache.

Fermez la cassette et appuyer légèrement pour verrouiller les onglets. La cassette assemblé devrait tenir le gel en contact ferme avec la membrane sans presser le gel. Si la pile semble lâche, ajouter des feuilles de papier buvard, si la pile semble serré, remplacer l'éponge dessus (sur le gel) avec une feuille de papier buvard. Si la suppression de l'éponge de fond (ci-après le gel), substituer au moins deux feuilles de papier buvard de créer un espace entre la membrane et le panneau de cassette.



Les panneaux cassettes sont codés par couleur: noir (en haut) = côté de la cathode gris (en bas) = côté de l'anode.

Monter la cassette dans un bac contenant du tampon de transfert d'environ 3 cm de profondeur.

Installez la cassette(s)

①

Le réservoir peut contenir jusqu'à quatre cassettes, si le transfert de seulement un ou deux gels, utiliser les positions les plus proches du centre de cassettes. (Échangeur de chaleur immergés, si elle est utilisée dans le TE42, remplit les fentes centrales deux, de sorte que deux cassettes peuvent être placés dans les fentes externes.)

Les cassettes doit être orienté de telle sorte que les charnières face et de telle sorte que le côté noir de chaque cassette faces du panneau de cathode noir.

Travaillez rapidement lors du déplacement de la cassette(s) monté dans le réservoir pour éviter de vider les éponges: Placez le plateau de maintien de la cassette(s) à proximité du réservoir, sortir une cassette à un moment, et glissez-le dans un ensemble de fentes verticales. Ne jetez pas la mémoire tampon dans le bac.

②

Une fois en place, appuyez sur chaque cassette légèrement jusqu'à ce que la plupart des bulles d'air sont délogés. (Quelques petites bulles dans les éponges sont peu susceptibles d'interférer avec le transfert.)

③

Vérifiez le niveau du tampon. Ajouter ou supprimer un tampon tel que requis afin que le niveau se situe entre les lignes de niveau minimum et maximum de mémoire tampon. (Tampon au-dessus du niveau de la ligne maximale de tampon peut provoquer la corrosion des contacts électriques.)

Transférer

Prenez soin dans l'orientation de tous les composants du système de sorte que le champ électrique appliqué provoque toutes les espèces à migrer vers la membrane. La direction de migration dépend à la fois les caractéristiques de l'échantillon et le pH du tampon de transfert. Si les espèces d'intérêt chargée négativement

Important! Ne jamais laisser la température du tampon dépasser 45 °C. La chaleur excessive entraîne l'unité de se déformer.

est dans le tampon de transfert et la pile est assemblée de sorte que la membrane est plus proche du côté de gris de la cassette, puis ce côté fait face à l'anode (+). La plupart des protéines migrent vers l'anode dans le Towbin Tris/glycine système tampon/méthanol (indépendant de la présence de SDS), et dans la plupart des conditions acides nucléiques sont chargés négativement et migrent également vers l'anode.

Le refroidissement est fortement recommandé.

Tout paramètre que les résultats dans l'enseignement supérieur de 5 W de puissance va générer assez de chaleur pour exiger le contrôle de la chaleur active. Un bain circulateur réfrigéré devrait être mis à refroidir jusqu'à environ 10 °C. (Si vous utilisez glycol 50/50 d'éthylène/eau, la température peut être réglée plus bas.) Tampon Réfrigérer avant utilisation si possible.

Les paramètres d'alimentation recommandées.

La plupart des transferts ont été effectués dans l'heure, mais de plus grandes molécules ou plus épaisses gels peuvent nécessiter des temps de transfert plus, le temps de transfert optimale pour chaque système doit être déterminé de manière empirique. Transferts restant à courir de nuit devrait être réglée sur un réglage de courant constant ne dépasse pas 0,1 A.

Paramètres de transfert typiques

Paramètres de votre échantillon et le système tampon doit être déterminé de manière empirique.

	protéine	acides nucléiques
Tampon	Towbin	1X TBE ou TAE 1X
Courant (A)	0,8-1,0	0,9-1,0
Tension (V)	70-80	50
Le temps de transfert	~1 heure	~1 heure
La température du liquide de refroidissement	10 °C	10 °C ou moins

TE42 TE62 et

①

Installez le couvercle de sécurité

Les cassettes et les panneaux d'électrodes sont codés par couleur pour correspondre à des fils dans le couvercle: le couvercle Orient de sorte que la moitié grise des cassettes et le visage gris anode panneau de l'anode (+), ou fil rouge, et la moitié noire des cassettes et la face cathodique panneau noir à la cathode (-), ou de plomb noir.

②

Utilisez uniquement une alimentation électrique approuvée comme le Hoefer PS2A200, PS200HC, ou PS300B. Assurez-vous que l'alimentation est coupée et tous les contrôles sont mis à zéro. Branchez le cordon rouge dans la prise rouge de sortie et le cordon noir dans la prise de sortie noir. Dans la plupart des systèmes, le fil rouge est l'anode (+), et le fil noir est la cathode (-).

③

Régler l'alimentation électrique

Mode courant constant est recommandé. Si le mode de tension constante est sélectionnée, surveiller attentivement le courant (augmentation de courant de chauffage par effet Joule augmente). Si le courant dépasse une A, diminuer la tension. Si possible, réglez la minuterie d'alimentation pour pas plus de deux heures.

Remarque: Les deux bonnets rouges sur le couvercle accueillir les fiches bananes sur l'échangeur de chaleur immergé SE600 modèle (indépendamment de l'orientation).

Remarque: Il est une bonne idée de colorer le gel afin de déterminer l'exhaustivité de la cession.

Remarque: Ne pas stocker tampon utilisé avec un réservoir de transfert. Tampon refroidissement à 10 °C avant de les réutiliser.

Après le transfert est terminé

1

Tournez les réglages de tension et de courant à zéro et éteindre l'alimentation. Débranchez les fils des prises d'alimentation électrique.

2

Soulevez le couvercle. Utilisez le crochet en plastique (stockés dans le support sur le côté de l'appareil) pour lever une cassette juste assez loin pour être en mesure de saisir et de le placer dans un bac.

3

Ouvrez chaque cassette avec précaution et retirer les gels et les membranes. Étiquetez chaque membrane et indiquer le côté de l'échantillon. Soulevez la membrane(s) avec le forceps émoussé et sécher à l'air, ou suivez les instructions qui accompagnent votre protocole.

4

Jeter le papier buvard, mais réutiliser les éponges.

5

Rincer l'appareil immédiatement après utilisation.
(Voir la section Entretien et maintenance sur la page suivante.)

Entretien et maintenance

Nettoyage

- Ne pas autoclaver ou chauffer une partie supérieure à 45 °C.
- Ne pas exposer à des alcools ou des solvants organiques!*
- Ne jamais utiliser de détergents abrasifs.
- Si l'aide de réactifs radioactifs, décontaminer l'appareil avec un agent de nettoyage tels que Contrad 70™ ou Decon 90™.

Rincer le réservoir, cassettes, et les éponges avec de l'eau distillée immédiatement après chaque utilisation. Laissez l'appareil sécher complètement. Périodiquement laver avec une solution diluée d'un détergent doux.

Lors du nettoyage de l'appareil, laissez les panneaux d'électrodes en place. Si elles doivent être sous tension (non recommandé), prenez grand soin de ne pas étirer ou de rompre le fil de platine: tirez doucement le panneau avant suffisamment loin pour effacer la lèvre de retenue (<5 mm). Avec une main attraper l'appui fiche banane (pas la fiche banane) et avec l'autre main attraper le panneau à un endroit bien loin du fil. Soulevez le panneau dehors.

*Utiliser du méthanol ≤ 20% (alcool méthylique) dans des tampons de transfert est la seule exception.

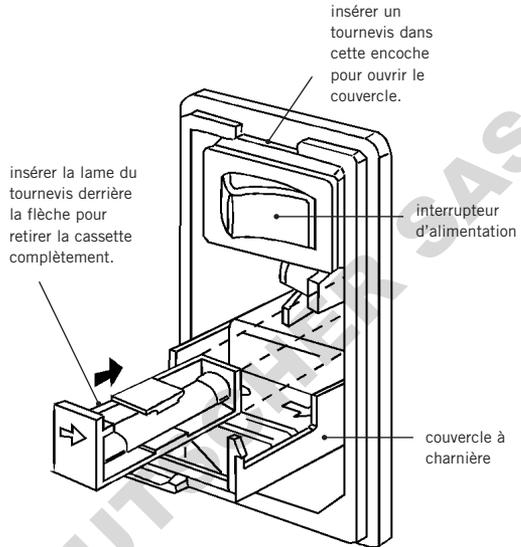
Module d'alimentation secteur

Fig 3. Le module de puissance d'alimentation est situé sur le panneau arrière.

Important! Fusibles de protéger l'équipement en débranchant les charges trop importantes pour la conception de circuits de l'instrument, il est donc impératif que les fusibles sont remplacés uniquement par des fusibles de calibres identiques. Le module de puissance électrique, situé à l'arrière du couvercle d'alimentation, contient deux fusibles d'entrée:

115 V~ modèle:
T 3A 250 V, 5 × 20 mm

230 V~ modèle:
T 1,6A 250 V, 5 × 20 mm



①

Attention: Coupez l'alimentation électrique hors tension et détacher le cordon d'alimentation avant de remplacer les fusibles d'entrée!

②

Ouvrez le compartiment fusible en insérant un petit tournevis à lame plate dans la fente en haut du module de puissance. Tournez le tournevis 1/8 tour pour libérer le couvercle, puis retirez le compartiment à charnière, qui s'ouvre.

③

Insérez le tournevis dessus de la flèche sur une cassette fusible, attraper la fin de cassette, et lentement glisser complètement hors du module.

4

Retirer le fusible de sa cassette et l'inspecter. Si l'élément fusible est brûlé ou brisé, remplacez le fusible par un type identique. Si le fusible semble intacte, le vérifier avec un multimètre. (Une lecture de 1Ω ou moins indique que le fusible est encore utilisable.)

5

Après avoir placé un fusible bonne dans la cassette, faites-le glisser dans le module d'alimentation, en s'assurant que la flèche sur les points de cassettes vers la droite (dans le même sens que les flèches de guidage à l'intérieur de la porte du compartiment).

6

Répétez les étapes 3 à 5 pour la deuxième cassette.

7

Fermer le couvercle du compartiment fusible et doucement l'enfoncer dans le module d'alimentation jusqu'au déclic.

8

Branchez le cordon d'alimentation dans l'unité et tourner l'interrupteur d'alimentation sur.

Dépannage

problème

solution

Transfert incomplet

Des zones blanches sur la membrane

Retirez toutes les poches d'air emprisonnées dans l'assemblage pile transfert: assembler la pile alors qu'il est immergé dans un tampon de transfert, appuyez doucement sur chaque éponge car il est ajouté à la pile, et rouler une pipette en verre ou en tube à essai sur la membrane et le gel pour éliminer toutes les bulles d'air.

Réduire la vitesse d'agitation pour éviter toute turbulence.

Processus seulement une bande ou d'une membrane dans chaque bac ou cassette pour éviter les chevauchements.

Utilisation d'un tampon de force ionique inférieure.

La continuité électrode Check. Pendant le transfert, un flux continu de gaz est libéré sur toute la longueur des électrodes. Si bulles ne forment pas sur toute la longueur de l'électrode, l'électrode remplacer.

Si cassettes sont frottées à vide, la remplacer. Suremballage la cassette provoque-il de courber, voir les instructions de montage recommandées sur la page 6.

Motif de grille sur la membrane

Ajouter des feuilles supplémentaires de papier buvard pour augmenter l'espace entre le panneau de cassette et le gel. Prenez soin de ne pas surcharger la cassette, le gel doit être tenue fermement et uniformément entre les éponges, mais pas si bien qu'il est pressé.

Molécules ne migrent pas de gel

Augmenter l'intensité du champ.

Augmenter la période de transfert. (Essayez de le doubler.)

Ne pas utiliser la coloration ou la fixation des agents sur le gel avant le transfert.

Utilisez un diluant de gel.

Réduire la concentration d'acrylamide gel.

Arrivée ce que le pH du tampon est proche du pH voulu. La plupart des tampons ne devrait pas être ajustée; faire tampon frais.

Utilisez 3,5 mM SDS (0,1%) dans le tampon de transfert.

Évitez y compris le méthanol dans le tampon de transfert ou de réduire le montant à un minimum absolu.

Utilisez la qualité de réactifs chimiques.

Augmenter la durée de Southern blots sont dépuriné.

Augmenter la charge nette sur la protéine en changeant d'un tampon de transfert avec un pH différent. Abaisser le pH (<6-7) augmente la charge positive sur les protéines; pH plus élevé (>6-7) augmente la charge négative sur les protéines.

problème**solution**

Les patrons de bandes diffuses

Transfert immédiatement après la séparation électrophorétique. Si l'équilibrage avant le transfert, de raccourcir ou d'éliminer le temps d'équilibrage ou de déplacer le gel de la chambre froide pendant l'équilibrage.

Si tampon de transfert contient du méthanol ($\geq 10\%$), à équilibrer le gel dans un tampon de transfert pendant 30 minutes pour lui permettre de reculer devant l'assemblage de la pile. Remarque: Parce que le méthanol provoque le gel de diminuer légèrement, de grosses molécules peuvent migrer plus lentement.

Veillez à ce que le gel est maintenu fermement contre la membrane et qu'il ne se déplace pas une fois le contact est fait.

Si chauffage excédentaire se produit pendant le transfert, d'abaisser la température du fluide de refroidissement dans l'échangeur de chaleur.

Vérifiez que la surface préférée de liaison de la membrane (le cas échéant) en contact avec le gel.

Contraignant inefficace à la membrane*Les paramètres chimiques*

Fixer ou réticuler la molécule sur la membrane selon l'une des exigences de l'acide nucléique, une protéine, ou du type à membrane.

Préparer un tampon de transfert de protéines sans SDS.

Vérifiez que la quantité optimale de méthanol nécessaire pour le type de membrane et de vérifier la solution tampon. Ajouter méthanol 10-20% dans le tampon de transfert afin d'améliorer la liaison à la nitrocellulose.

Paramètres membranaires

Porter des gants lors de la manipulation des membranes.

Membranes magasin à la température ambiante à l'abri du soleil afin de garder les membranes activé.

Utilisez une membrane avec une taille de pores plus petite (0,10-0,20 μm) si les protéines traversent la membrane, ou d'utiliser un type de membrane différente.

Placez une membrane à la fois sur et sous le gel, si vous soupçonnez une protéine se déplace dans la direction opposée à la majorité des protéines. Vérifiez les deux membranes de protéine(s).

Vérifiez si l'échantillon trop est disponible pour la surface de liaison en appliquant deux membranes au lieu d'un. Si «souffler à travers» se produit, réduire la charge de l'échantillon.

Pour d'autres conseils de dépannage, reportez-vous à Bjerrum, O.J. *et al.* (1988).

Notes électrotransfert

Avantages transfert électrophorétique

Transfert électrophorétique des protéines et des acides nucléiques est beaucoup plus rapide que les méthodes buvard d'abord décrit par Southern de l'ADN, Alwine et al. Pour l'ARN, ou Renart et al. pour des protéines. Procédé de transfert réservoir utilise courant à haute pour réduire le temps de transfert de la plupart des échantillons à 45-60 minutes.

Transfert électrophorétique peut améliorer l'efficacité de transfert par rapport aux non-électrophorétique buvard, en particulier pour les protéines, mais pas de technique de transfert quantitative n'a encore été développé en raison de la complexité des réactions. La récupération quantitative n'est actuellement pas nécessaire pour la plupart des objectifs, car macromolécules contraignantes à une membrane augmente la sensibilité des méthodes de détection telles que l'autoradiographie et permet la détection de protéines spécifiques par des anticorps ou des étiquettes d'affinité, et d'acides nucléiques spécifiques par hybridation avec des brins complémentaires de l'ARN ou d'ADN.

Le tampon peut être choisi à entraîner un transfert vers soit la cathode ou l'anode. Le pH du tampon doit être telle que toutes les espèces d'intérêt sont facturés et migrent dans le même sens. La force ionique ne devrait pas être trop élevé, car cela va produire un courant excessif et de la chaleur. Pour cette raison, les conditions élevées de sel utilisées par Southern blot pour le capillaire de l'ADN ne peut pas être utilisé. Les systèmes tampons les plus couramment utilisés sont ceux de Towbin et al. pour transférer des protéines, et de Bittner et al. pour le transfert d'acides nucléiques. Systèmes de stockage pour le transfert de chaque type d'échantillon sont indiqués plus loin dans cette section.

Facteurs influant sur le transfert

Des paramètres tels que caractéristiques de l'échantillon, le type de membrane, de la taille des pores du gel, et le tampon de transfert utilisé tous contribuent à la transférabilité des macromolécules, et doit être gardé à l'esprit lors de l'élaboration d'un protocole. Très petites espèces moléculaires, par exemple, migrent rapidement, mais souvent ne se lie pas aussi bien que des molécules plus grosses; grosses molécules se lient de manière plus efficace, mais ne éluent à partir du gel le plus rapidement. La vitesse d'éluion est également affecté par la taille des pores du gel et l'orientation des molécules.

En outre, la mesure dans laquelle les molécules se lient à la membrane est influencée par les caractéristiques membranaires tels que la taille des pores et le type et les caractéristiques tampons tels que le pH, le sel type et la concentration, et la présence de détergents tels que le dodécylsulfate de sodium (SDS). Conditions requises pour l'éluion efficace peut ne pas coïncider avec des conditions optimales pour la liaison. Pour trouver les conditions optimales pour le transfert de votre échantillon, un équilibre entre ces effets: Si le taux d'éluion de l'échantillon est lente, une plus longue période de transfert peut être nécessaire. (Dans notre expérience, de faibles transferts de tension pour des périodes plus longues n'offrent pas beaucoup d'amélioration.) Si la liaison de l'échantillon est insuffisante, essayez les conditions de tampon différents. Pour un examen complet, voir Gershoni et Palade (1983).

Si le système de tampon de transfert est différent du système de tampon d'électrophorèse, le gel soit équilibrée avec du tampon de transfert avant le transfert pour assurer le gonflement ou le rétrécissement se produit avant les contacts de gel de la membrane de transfert. Si cette étape

est sautée, la distorsion de bande ou de la perte de la résolution pourrait en résulter.

Les lignes directrices d'instruments

Refroidissement

Considérable de chaleur par effet Joule est généré lors de tout transfert à cause du courant haute employés, de refroidissement de manière active est recommandée, surtout pour les transferts nécessitant plus d'une heure, les transferts de protéines où l'activité biologique doivent être conservés, ou le transfert d'acides nucléiques. (La haute conductivité du tampon phosphate utilisé par Bittner et al. (1980) conduit à une élévation de température relativement rapide.) La température du tampon ne doit pas dépasser 45 °C parce que les cassettes et les supports d'électrodes peuvent se déformer. Utilisez un bain circulateur réglé à 10 °C si vous utilisez de l'eau comme fluide caloporteur. (Vous pouvez utiliser un réglage plus bas si le liquide de refroidissement est 50/50 d'éthylène glycol/eau.) Ne laissez jamais l'appareil sans surveillance pendant plus d'une heure dans des conditions de forte puissance (>0.5 A).

Réglage de la puissance

Si vous utilisez une alimentation qui peut être réglé soit en mode de tension constante ou courant constant, nous recommandons qu'il soit configuré pour fonctionner en mode courant constant. Tampon de conductivité augmente avec la température. Au cours de buvard dans une chambre non refroidi, le chauffage par effet Joule et de la conductivité à la hausse peut provoquer une surchauffe dangereuse si l'alimentation est réglé pour maintenir une tension constante. Si une alimentation à tension constante doit être utilisé, contrôler et ajuster la tension pour maintenir un courant égal ou inférieur à 1 A.

Transferts de protéines

Des résumés d'études

Gershoni et Palade (1982) ont analysé les facteurs qui affectent la récupération des protéines à partir des gels de SDS à la nitrocellulose ou de papier DBM. Selon leurs conclusions, le méthanol dans le système tampon Towbin est nécessaire pour atteindre une fixation efficace sur de la nitrocellulose. Le méthanol améliore obligatoirement dans le cadre en supprimant lié à une protéine SDS. En l'absence de méthanol, marqué albumine de sérum bovin (BSA) passe à travers au moins cinq couches de membranes. Le méthanol peut entraîner un gel à se rétrécir, cependant, de sorte que le taux d'élution diminue. En utilisant une membrane cationique (comme le nylon), qui lie les protéines plus efficacement, et en omettant de méthanol à partir du tampon de transfert, Gershoni et Palade a obtenu un transfert beaucoup plus quantitative. L'inconvénient de la membrane cationique, c'est que les taches de protéines se lient également bien, de sorte que l'arrière-plan coloration a tendance à être très élevé. Correctement éteint, cependant, ce document peut être utilisé pour la détection des anticorps ou des méthodes de recouvrement autres moyens d'identification des protéines. Un résumé de type membrane et la concentration de méthanol recommandée suit:

Le type de membrane	Méthanol %
Nylon chargé	0
Nitrocellulose	≤ 20
PVDF	≤ 15

Certains travailleurs nous ont signalé qu'une faible concentration de SDS (0,1%) améliore le transfert de la protéine à partir d'un gel de SDS. Burnette (1981) et Symington et al. (1981) ont étudié l'effet du poids moléculaire de la protéine. Gibson (1981) décrit une méthode pour augmenter le taux de transfert des protéines de grande taille par clivage limitée à la pronase pendant le transfert.

Tampons de transfert de protéines

Utilisation d'un tampon de faible force ionique, tels que les deux ci-dessous, pour empêcher la surchauffe. Utilisez le tampon alternatif CAPS quand Tris ne peut pas être utilisé, comme dans le séquençage peptidique. CAPS peut améliorer le transfert en raison de son effet sur la charge de la protéine (voir Matsudaira, 1987). Pour les protéines natives, nous vous suggérons d'utiliser le tampon d'électrophorèse pour le transfert ainsi. Utilisation du tampon Towbin pour transférer SDS-dénaturées protéines vers l'anode.

Towbin tampon

(Tris 25 mM, 192 mM de glycine, 20% v/v de méthanol, pH 8,3, 2 litres)

Tris (FW 121,1)	25 mM	6,0 g
Glycine (FW 75,07)	192 mM	28,8 g
SDS ^a (FW 288,4)	0,1% (3,5 mM)	2,0 g

Dissoudre dans 1,5 litres d'eau distillée. Ajouter du méthanol comme l'exige^b. Porter à 2 litres avec de l'eau distillée. Ne pas ajuster le pH, ce qui devrait se situer entre 8,2 et 8,4. En option: Réfrigérer avant utilisation.

^aEn option: Ajout SDS peut améliorer l'efficacité du transfert.

^bSelon le type de membrane choisie, addition de méthanol peut améliorer les résultats de transfert (voir la discussion et le tableau ci-dessus). Parce que les tampons contenant du méthanol peut se détériorer si elles sont conservées pendant de longues périodes, ajouter du méthanol comme l'exige juste avant le transfert.

CAPS tampon, 1X

(CAPS 10 mM, pH 11,0, 5 litres)

CAPS (FW 221,3)	10 mM	11,1 g
[3-(cyclohexylamino)-1-propanesulfonic acid]		

Dissoudre dans 4,5 litres d'eau distillée, ajuster le pH à 11,0 avec conc. NaOH. Réglez le volume à 5,0 litres.

Transferts d'acides nucléiques

Les acides nucléiques doit normalement être transféré sous forme dénaturée de la liaison la plus efficace. L'ARN est normalement dénaturé avec du glyoxal avant la séparation ou séparés dans des gels dénaturants contenant du formaldéhyde ou du mercure de méthyle. Toutefois, ADN double brin est généralement dénaturé dans le gel avec du NaOH. L'alcali doit être neutralisé et le gel équilibrée dans le tampon de transfert avant électrotransfert. Pour les deux ADN et l'ARN gels, toute SDS doit également être supprimé pour assurer une liaison efficace. Bittner et al. (1980) de lavage gélifie trois fois, 20 minutes chacun, d'assurer l'élimination complète de dénaturants et détergents.

Voir Bittner et al. pour une étude de l'efficacité du transfert d'ADN de tailles différentes. Le tampon de transfert Bittner contient 25 mM phosphate de sodium, pH 6,5. Aussi décrit est une méthode pour l'introduction d'entailles par nucléase limitée d'action en vue de faciliter le transfert de fragments d'ADN plus grandes.

Tampons d'ADN recommandés comprennent le tampon phosphate de sodium Bittner (voir référence) et l'encéphalite à tiques. Pour l'ARN, TAE est recommandé. TBE et TAE recettes d'achat d'actions sont listées ci-dessous. Ces tampons sont le plus souvent diluée à 1X, mais la concentration peut aller jusqu'à 0,1X. Le refroidissement est fortement recommandé pour ces tampons, en particulier à des concentrations plus élevées.

EDTA solution^a

(0,5 M EDTA, pH 8,0, 100 ml)

Na ₂ EDTA·2H ₂ O (FW 372,2)	0,5 M	18,6 g
---	-------	--------

Dissoudre dans 70 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 8,0 avec NaOH 10 M (environ 5 ml), puis ajouter l'eau distillée à 100 ml.

Tampon de transfert d'ADN, 10X

(10X Tris-borate-EDTA (TBE)^a, pH ~8,2, 1 litre)

Tris (FW 121,1)	900 mM	109,0 g
-----------------	--------	---------

L'acide borique (FW 61,83)	900 mM	55,6 g
----------------------------	--------	--------

EDTA solution (0,5 M, pH 8,0)	20 mM	40,0 ml
-------------------------------	-------	---------

L'eau distillée à 1,0 litre. Ne pas ajuster le pH.

Diluer jusqu'à 1X avant utilisation pour obtenir 90 mM Tris, 90 mM d'acide borique, et 2 mM d'EDTA.

Cette dilution est couramment utilisée, mais des dilutions en baisse de 0,1X à peut être utilisée si cela s'avère nécessaire pour diminuer la quantité de courant dans le système afin de contrôler la surchauffe.

ARN de transfert tampon, 10X

(10X Tris-acétate-EDTA (TAE)^b, pH ~8,4, 1 litre)

Tris (FW 121,1)	400 mM	48,4 g
-----------------	--------	--------

Acide acétique, glacial (~17,4 M)	~200 mM	11,4 ml
-----------------------------------	---------	---------

EDTA solution (0,5 M, pH 8,0)	10 mM	20,0 ml
-------------------------------	-------	---------

L'eau distillée à 1,0 litre. Ne pas ajuster le pH.

Diluer jusqu'à 1X avant utilisation pour obtenir 40 mM Tris, ~20 mM d'acétate, et 1 mM d'EDTA.

Cette dilution est couramment utilisée, mais des dilutions en baisse de 0,1X à peut être utilisée si cela s'avère nécessaire pour diminuer la quantité de courant dans le système afin de contrôler la surchauffe.

^aCurrent Protocols in Molecular Biology (1993), A.2.1.

^bSambrook, J., and Russell, D.W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, A1.17.

Bibliographie

Alwine, J.C., Kemp, D.J., and Stark G.R., Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to DBM paper and hybridization with DNA probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **74**, 5350–5354 (1977).

Bittner, M., Kupferer, P., and Morris, C.F., Electrophoretic transfer of proteins and nucleic acids from slab gels to diazobenzyloxymethyl cellulose or nitrocellulose sheets. *Anal. Biochem.* **102**, 459–471 (1980).

Bjerrum, O.J., Larsen, K., and Heegaard, N., *CRC Handbook of Immunoblotting of Proteins* Vol. 1, Section 7. CRC Press (1988).

Burnette, W.N., Western blotting electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal. Biochem.* **112**, 195 (1981).

Gallagher, S., Winston, S.E., Fuller, S.A. and Hurrell, J.G.R., Immunoblotting and Immunodetection. In *Current Protocols in Molecular Biology*. 10.8.1–10.8.17. Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY (1993).

Gershoni, J.M., Davis, F.E. and Palade, G.E. Protein blotting in uniform or gradient electric fields. *Anal. Biochem.* **144**, 32–40 (1985).

Gershoni, J.M., and Palade, G.E. Electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to a positively charged membrane filter. *Anal. Biochem.* **124**, 396–405 (1982).

Gershoni, J.M., and Palade, G.E. Protein Blotting: Principles and Applications. *Anal. Biochem.* **131**, 1–15 (1983).

Gibson, W. Protease-facilitated transfer of high molecular weight proteins during electrotransfer to nitrocellulose. *Anal. Biochem.* **118**, 1 (1981).

-
- Lin, W., and Kasamatsu, H., On the electrotransfer of polypeptides from gels to nitrocellulose membranes. *Anal. Biochem.* **128**, 302–311 (1983).
- Matsudaira, P. Sequence from Picomole Quantities of Proteins Electroblotted onto Polyvinylidene Difluoride Membranes. *J. Biol Chem.* **262**, 10035 (1987).
- Ohmsted, J.B., Affinity purification of antibodies from diazotized paper blots of heterogeneous protein samples. *J. Biol. Chem.* **256**, 11955 (1981).
- Renart, Reiser, J. and Stark, G.R. Transfer of proteins from gels to DBM paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 3116 (1979).
- Sambrook, J., and Russell, D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, A1.17 (2001).
- Southern, E.M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Molec. Biol.* **98** (3):503–517 (1975).
- Stellway, E.J., and Dahlberg, A.E. Electrophoretic transfer of DNA, RNA, and protein onto DBM paper. *Nucleic Acids Res.* **8**, 299 (1980).
- Symington, J., Green, M., and Brackmann, K., Immunological detection of proteins after electrophoretic transfer from gels to diazo paper: analysis of adenovirus encoded proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 177–181 (1981).
- Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J., Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 4350–4354 (1979).
-

Informations pour la commande

produit	quantité	code
TE42 unité d'électrophorèse de transfert. Comprend un couvercle de sécurité avec des câbles électriques, 2 cassettes de gel, 4 éponges en mousse de 3 mm d'épaisseur, 2 éponges en mousse de 6 mm d'épaisseur, 25 feuilles de papier buvard.	1	TE42
TE62 refroidi unité d'électrophorèse de transfert. Comprend un couvercle de sécurité avec des câbles électriques, 4 cassettes de gel, 8 éponges en mousse de 3 mm d'épaisseur, 4 éponges en mousse de 6 mm d'épaisseur, 25 feuilles de papier buvard.	1	TE62

Accessoires et pièces de rechange

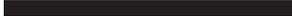
Echangeur de chaleur en verre pour TE42	1	TE47
Panneau d'électrodes, noir	1	TE43BK
Panneau d'électrodes, gris	1	TE43GY
Gel de cassette, 2 éponges en mousse de 3 mm d'épaisseur, 1 éponge en mousse de 6 mm d'épaisseur.	1	TE44H
Réservoir tampon pour Basse TE42	1	TE56
Réservoir de Basse-tampon avec échangeur de chaleur pour TE62	1	TE67
Eponges, Dacron, 6-mm d'épaisseur	2	TE45
Éponges, mousse, 6-mm d'épaisseur	4	TE45F
Éponges, mousse, 3-mm d'épaisseur	4	TE45F-1/8
Couvercle avec des câbles pour TE42 TE62 ou	1	TE49
Haute tension conduit	paire	SE6056-HV
Corps du coupleur Quick-Fit, femelle, pour s'adapter à 9.5 mm tube ID	2	QF3/8
Corps du coupleur Quick-Fit, de sexe masculin, pour s'adapter à 9.5 mm tube ID	2	QFX3/8

Papier buvard

Papier buvard, feuilles, 9×10,5 cm	50	TE26
Papier buvard, feuilles, 14,5×21,5 cm	50	TE46

Produits associés

Alimentation électrique Hoefer PS2A200, 200 V, 2A	1	PS2A200
Alimentation électrique Hoefer PS200HC, 200 V, 2A	1	PS200HC
Alimentation électrique Hoefer PS300B, 300 V, 0.5A	1	PS300B



TECHNIQUE DUTSCHER SAS



Hoefler, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Sans frais: 1-800-227-4750
Téléphone: 1-508-893-8999
Fax: 1-508-893-0176
E-mail: support@hoeferinc.com
Web: www.hoeferinc.com

Hoefler est une marque déposée
de Hoefler, Inc. Contrad 70 et
Decon 90 sont des marques de
Decon Lab.

© 2012 Hoefler, Inc.
Tous droits réservés.

Imprimé dans le USA.

