

Amersham™ WB system

Istruzioni di funzionamento

Tradotto dall'inglese



Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Sommarior

1	Introduzione	5
1.1	Informazioni su questo manuale	7
1.2	Importanti informazioni d'uso	8
1.3	Informazioni di carattere normativo	10
1.4	Amersham WB Documentazione system	14
2	Istruzioni di sicurezza	17
2.1	Precauzioni di sicurezza	18
2.2	Etichette	27
2.3	Procedure di emergenza	32
2.4	Informazioni sul riciclaggio	35
3	Descrizione del sistema	36
3.1	Descrizione generale dello strumento	37
3.2	Gruppo Elpho & scan	40
3.3	Gruppo Western	45
3.3.1	Generalità	46
3.3.2	Scomparti del gruppo Western	50
3.3.3	Corsie di flusso del liquido	55
3.4	Descrizione generale degli accessori e dei materiali di consumo	60
3.5	Materiali di consumo per la pre-etichettatura	65
3.6	Accessori e materiali di consumo per l'elettroforesi	67
3.6.1	Amersham WB molecular weight markers	68
3.6.2	Amersham WB gel card	70
3.6.3	Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder	73
3.6.4	Amersham WB paper comb	75
3.7	Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot	76
3.7.1	Accessori e materiali di consumo per trasferimento	77
3.7.2	Anticorpi secondari – sondaggio	82
3.7.3	Supporto di asciugatura – Asciugatura scheda PVDF	84
3.7.4	Adattatore membrana – Scansione scheda PVDF	85
3.8	Altri accessori	86
3.9	Descrizione generale del software	88
4	Installazione	92
4.1	Preparazione della sede	93
4.2	Installazione hardware	96
4.3	Installazione software	110
5	Esecuzione di un esperimento	115
5.1	Generalità	116
5.2	Avviare l'Amersham WB analyzer	120
5.3	Impostare un esperimento col software	122
5.4	Eeguire la pre-etichettatura dei campioni	126
5.5	Preparazione di Amersham WB molecular weight markers	130

5.6	Eseguire l'elettroforesi delle proteine	132
5.6.1	Prima dell'elettroforesi	133
5.6.2	Avviare l'elettroforesi	140
5.6.3	Procedure post elettroforesi e scansione delle schede di gel	142
5.7	Eseguire il trasferimento	144
5.7.1	Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento	145
5.7.2	Preparare il sandwich da trasferire	147
5.7.3	Avviare trasferimento	162
5.7.4	Procedure al termine del trasferimento	166
5.8	Eseguire il sondaggio e l'asciugatura	169
5.8.1	Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi	170
5.8.2	Eseguire il sondaggio	174
5.8.3	Procedure al termine del sondaggio	179
5.8.4	Eseguire l'asciugatura	183
5.9	Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati	185
6	Manutenzione	190
6.1	Programma di manutenzione	193
6.2	Istruzioni per la manutenzione	198
6.2.1	Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio	199
6.2.2	Procedure di sostituzione	203
6.2.3	Spostamento dei gruppi strumento	214
7	Informazioni di riferimento	215
7.1	Specifiche del sistema	216
7.2	Guida alla resistenza chimica	221
7.3	Modulo di dichiarazione di salute e sicurezza	223
7.4	Traduzioni di accessori e materiali di consumo	225
	Indice	226

1 Introduzione

L'Amersham WB system

Il Amersham WB system è un sistema integrato per SDS-PAGE e l'analisi Western blotting delle proteine in base al rilevamento a fluorescenza. Elettroforesi, scansione, trasferimento e sondaggio automatizzato sono tutte operazioni eseguite dal medesimo sistema. I reagenti usati per la pre-etichettatura e il rilevamento di anticorpi, così come i materiali di consumo come il gel e la membrana, sono tutti presenti.

Il Amersham WB system comprende lo strumento, l'Amersham WB analyzer, il Amersham WB software (software) così come gli accessori e i materiali di consumo. L'Amersham WB analyzer comprende due unità, l'unità Amersham WB elpho & scan e l'unità Amersham WB western.

Il sistema supporta molte applicazioni, dall'esame rapido della composizione di proteine o abbondanza alle analisi quantitative avanzate per le comparazioni dei livelli di proteine tra campioni. Le proteine possono essere pre-etichettate con il reagente colorante Amersham WB CyTM5 e possono perciò essere rilevate direttamente nel gel dopo l'elettroforesi. Negli esperimenti Western, i campioni di proteine non etichettate o pre-etichettate Cy5 sono trasferiti alle membrane e le proteine target possono essere rilevate tramite anticorpi secondari coniugati Cy3 e/o Cy5. Il rilevamento basato sulla fluorescenza offre un'elevata sensibilità e un'ampia gamma dinamica, consentendo analisi multiplex della stessa membrana Western blot.

L'analisi multiplex di proteine totali pre-etichettate con Cy5 e target rilevate con anticorpi secondari Cy3 etichettati permette la normalizzazione di segnali target che usano proteine totali in ciascuna corsia. L'Amersham WB software, che fa parte di serie del sistema, è estremamente semplice da usare e consente il controllo dei vari passaggi della procedura di lavoro e la valutazione automatizzata o manuale dei risultati ottenuti.

Per un elenco dei nomi tradotti di accessori e materiali di consumo, vedere *Sezione 7.4 Traduzioni di accessori e materiali di consumo, a pagina 225*.

In questo capitolo

Questo capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
1.1 Informazioni su questo manuale	7
1.2 Importanti informazioni d'uso	8

1 Introduzione

Sezione	Vedere pagina
1.3 Informazioni di carattere normativo	10
1.4 Amersham WB Documentazione system	14

1.1 Informazioni su questo manuale

Scopo del presente manuale

Le *Istruzioni di funzionamento* forniscono le istruzioni necessarie per installare, utilizzare ed eseguire la manutenzione dell'Amersham WB system in piena sicurezza.

Scopo del presente manuale

Le *Istruzioni di funzionamento* contengono le seguenti informazioni:

- informazioni sulla sicurezza e di carattere normativo
 - una descrizione del sistema, compresi gli accessori e i materiali di consumo da usare con il sistema
 - istruzioni per l'installazione
 - informazioni su come eseguire un esperimento in modo sicuro
 - istruzioni per la manutenzione da parte dell'utente
 - specifiche e informazioni di riferimento aggiuntive
-

Convenzioni tipografiche

Gli elementi software sono identificati all'interno del testo mediante caratteri in ***corsivo grassetto***. I due punti separano i livelli dei menu, quindi ***File:Open*** si riferisce al comando ***Open*** nel menu ***File***.

Gli elementi hardware sono evidenziati all'interno del testo da caratteri in **grassetto** (ad es., interruttore **Power**).

1.2 Importanti informazioni d'uso

Leggere questo manuale prima di mettere in funzione l'Amersham WB analyzer



Tutti gli utenti devono leggere interamente le *Istruzioni di funzionamento* prima di procedere all'installazione, all'uso o alla manutenzione dello strumento. Tenere sempre le *Istruzioni di funzionamento* a portata di mano quando si mette in funzione l'Amersham WB analyzer.

Utilizzare l'Amersham WB analyzer esclusivamente secondo le modalità descritte nella documentazione d'uso.

In caso contrario, si è esposti a pericoli che possono causare infortuni e provocare danni all'apparecchiatura.

Uso previsto

Amersham WB system è un sistema per elettroforesi delle proteine e di Western blot (immunorivelazione) che comprende la scansione di schede gel e schede PVDF. Le proteine possono essere pre-etichettate con Cy5 e possono pertanto essere rilevate direttamente nel gel dopo l'elettroforesi. Negli esperimenti Western, i campioni di proteine non etichettate o pre-etichettate Cy5 sono trasferiti su membrane e le proteine target possono essere rilevate tramite Cy3 e/o anticorpi secondari coniugati Cy5. Il rilevamento basato sulla fluorescenza offre un'elevata sensibilità e un'ampia gamma dinamica, consentendo analisi multiplex della stessa membrana Western blot.

Amersham WB system è inteso unicamente a scopo di ricerca e non deve essere usato nelle procedure cliniche oppure a scopi diagnostici.

Presupposti

Per far funzionare il sistema nel modo previsto, è necessario rispettare i seguenti prerequisiti:

- È necessario avere una conoscenza generale del funzionamento del PC e di Microsoft® Windows®.
- Si richiede la comprensione dei concetti di elettroforesi e di Western blot.

- Lo strumento e il software devono essere installati secondo le istruzioni descritte in *Capitolo 4 Installazione, a pagina 92*.

Suggerimento: Per maggiori informazioni sui principi e i metodi Western blot e per una guida su come eseguire il Western blot con successo, scaricare o ordinare il relativo manuale, *Western Blotting – Principles and Methods 28-9998-97*, da www.gelifesciences.com.

Avvisi di sicurezza

La presente documentazione d'uso contiene messaggi di sicurezza (AVVERTENZA, ATTENZIONE e AVVISO) riguardanti l'utilizzo sicuro del prodotto. Vedere le definizioni seguenti.



AVVERTENZA

AVVERTENZA indica una situazione pericolosa che, se non viene evitata, potrebbe causare la morte o lesioni gravi. È importante procedere soltanto quando tutte le condizioni indicate sono state soddisfatte e chiaramente comprese.



ATTENZIONE

ATTENZIONE indica una situazione pericolosa che, se non viene evitata, potrebbe causare lesioni moderate o di lieve entità. È importante procedere soltanto quando tutte le condizioni indicate sono state soddisfatte e chiaramente comprese.



AVVISO

AVVISO indica delle istruzioni che devono essere seguite al fine di evitare danni al prodotto o ad altre attrezzature.

Note e suggerimenti

Nota: Una nota viene usata per riportare informazioni importanti per un impiego del prodotto ottimale e senza problemi.

Suggerimento: Un suggerimento contiene informazioni utili che possono migliorare o ottimizzare le procedure.

1.3 Informazioni di carattere normativo

Introduzione

La presente sezione descrive le direttive e le norme che sono soddisfatte dall'Amersham WB system.

Informazioni sulla costruzione

La tabella che segue riassume le informazioni sulla produzione richieste. Per ulteriori informazioni, vedere il documento della Dichiarazione di conformità UE (DoC).

Requisito	Contenuto
Nome e indirizzo del costruttore	GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, SE 751 84 Uppsala, Sweden

Conformità con le direttive UE

Questo prodotto è conforme alle Direttive europee elencate nella tabella, adempiendo alle norme armonizzate corrispondenti.

Direttiva	Titolo
2006/42/CE	Direttiva macchine (MD)
2004/108/CE	Direttiva Compatibilità Elettromagnetica (EMC)
2006/95/CE	Direttiva bassa tensione (LVD)

Marcatura CE



Il marchio CE e la relativa dichiarazione UE di conformità è valida per lo strumento quando esso è:

- utilizzato come unità autonoma, oppure
- collegato ad altri prodotti suggeriti o descritti nella documentazione d'uso, e
- utilizzato nello stesso stato in cui è stato spedito GE, fatta eccezione per le modifiche descritte nella documentazione d'uso.

Norme internazionali

I requisiti standard soddisfatti dal presente prodotto sono riepilogati nella seguente tabella.

Norma	Descrizione	Note
EN/IEC 61010-1, UL 61010-1, CAN/CSA-C22.2 N° 1010.1	Prescrizioni di sicurezza per gli apparecchi elettrici di misurazione, controllo e uso in laboratorio.	Norma EN armonizzata con la Direttiva Europea 2006/95/CE.
EN/IEC61326-1 (Emissioni secondo CISPR 11, Gruppo 1, Classe A)	Apparecchi elettrici di misurazione, controllo e uso in laboratorio - Requisiti EMC (compatibilità elettromagnetica)	Norma EN armonizzata con la Direttiva Europea 2004/108/CE.
EN ISO 12100	Sicurezza del macchinario. Principi generali di progettazione. Valutazione e riduzione dei rischi.	Lo standard EN ISO è armonizzato con la direttiva UE 2006/42/CE.
EN/IEC 60825-1	Sicurezza dei prodotti laser.	Norma EN armonizzata con la Direttiva Europea 2006/95/CE.

Norme e regolamenti per l'uso del laser



Questa apparecchiatura è un prodotto laser di classe 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).

Questo strumento soddisfa i requisiti di sicurezza delle radiazioni laser indicati nel Codice delle Norme Federali (TITOLO 21 CFR, Capitolo 1, Sottocapitolo J, Parte 1040-10 Prodotti Laser).

Conformità FCC

Questo dispositivo è conforme alla Parte 15 delle Norme FCC. L'utilizzo è vincolato alle seguenti due condizioni: (1) Il dispositivo non deve causare interferenze nocive e (2) il dispositivo deve accettare qualsiasi interferenza ricevuta, comprese quelle che possono causare un funzionamento indesiderato.

Nota: *Si avverte l'utente che eventuali cambiamenti o modifiche non espressamente approvate da GE potrebbero annullare l'autorizzazione dell'utente all'uso dell'apparecchiatura.*

Questa apparecchiatura è stata testata e ritenuta compatibile con i limiti previsti per un dispositivo digitale di Classe A, ai sensi della Parte 15 delle Norme FCC. Questi limiti vengono stabiliti per fornire una protezione ragionevole contro le interferenze dannose quando l'apparecchiatura viene utilizzata in un ambiente commerciale. Questa apparecchiatura produce, utilizza e può irradiare frequenze radio e, se non installata e usata in base a quanto indicato nel manuale di istruzioni, può provocare interferenze dannose nelle comunicazioni radio. L'utilizzo di questa apparecchiatura in una zona residenziale può provocare interferenze dannose, nel qual caso l'utente dovrà provvedere a risolvere l'interferenza a sue spese.

Conformità ambientale

Direttiva	Titolo
2011/65/UE	Direttiva sulle restrizioni d'uso di sostanze pericolose (RoHS - Restriction of Hazardous Substances)
2012/19/EU	Direttiva sui rifiuti provenienti da apparecchiature elettriche ed elettroniche (WEEE - Waste Electrical and Electronic Equipment)
Normativa (CE) Nr. 1907/2006	Registrazione, valutazione, autorizzazione e restrizione delle sostanze chimiche (REACH - Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals)

Direttiva	Titolo
ACPEIP	Administration on the Control of Pollution Caused by Electronic Information Products (Amministrazione sul controllo dell'inquinamento proveniente da prodotti elettronici informatici), Restrizioni cinese sull'uso di sostanze pericolose (RoHS cinese)

Conformità normativa dell'attrezzatura collegata

Eventuali attrezzature collegate ad Amersham WB analyzer devono rispettare i requisiti di sicurezza della norma IEC/EN/UL/CSA 61010-1, IEC/EN/UL/CSA 60950-1, o di altre norme e regolamenti di sicurezza nazionali pertinenti.

L'apparecchiatura deve essere installata ed usata secondo le istruzioni del costruttore. Nell'ambito dell'UE, l'apparecchiatura collegata deve essere marcata CE.

1.4 Amersham WB Documentazione system

Introduzione

Questa sezione descrive la documentazione per l'utente e la documentazione associata per l'Amersham WB system.

Documentazione per l'utente

La tabella seguente fornisce un elenco della documentazione per l'utente fornita con l'Amersham WB system:

Documento	Principali contenuti	Disponibilità
Amersham WB analyzer Istruzioni per il disimballaggio	Queste istruzioni descrivono come disimballare l'Amersham WB analyzer.	All'interno della scatola di spedizione dell'Amersham WB analyzer.
Istruzioni di funzionamento Amersham WB system	Questo manuale contiene le informazioni necessarie per: • installare, maneggiare ed eseguire la manutenzione dell'Amersham WB system in piena sicurezza • eseguire un esperimento tipico in modo sicuro Esso contiene anche informazioni di carattere normativo e di sicurezza, una descrizione del sistema e informazioni di riferimento.	La versione inglese in formato cartaceo viene fornita col sistema. Le versioni tradotte sono disponibili come file PDF sul CD della Documentazione Utente.

Documento	Principali contenuti	Disponibilità
Amersham WB system User Manual	Questo manuale contiene le informazioni necessarie per: • utilizzare ed eseguire la manutenzione dell'Amersham WB system in piena sicurezza • pianificare, eseguire e valutare l'elettroforesi e gli esperimenti Western • eseguire la procedura di risoluzione dei problemi e relativi risultati Contiene anche una descrizione del sistema, informazioni di riferimento e informazioni per effettuare gli ordini.	Integrato con Amersham WB software come manuale HTML nel menu di Help. Disponibile anche come file PDF sul CD della Documentazione Utente.
Amersham WB software Help	Amersham WB software Help contiene informazioni su: • le procedure di lavoro utente per eseguire l'elettroforesi ed esperimenti Western • descrizione del software • link all'Amersham WB system User Manual per informazioni dettagliate sulla gestione dello strumento, degli accessori e dei materiali di consumo	Integrato con l'Amersham WB software (nel pannello di destra del software).

Manuale di metodo

Il manuale *Western Blotting – Principles and Methods* offre indicazioni per l'intera procedura di Western blot. Descrive aspetti teorici e pratici della tecnica, offrendo utili consigli e suggerimenti. L'obiettivo del manuale è quello di guidare ed ispirare sia i principianti che gli esperti verso una corretta procedura Western blot.

Scaricare o ordinare il manuale, *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97, da www.gelifesciences.com.

File di dati e note applicative

I file di dati e le note applicative possono essere ordinati o scaricati da www.gelifesciences.com.

2 Istruzioni di sicurezza

Informazioni sul capitolo

Questo capitolo descrive le misure di sicurezza e le procedure di arresto d'emergenza dell'Amersham WB system. Anche le etichette sugli strumenti e le informazioni relative al riciclaggio sono descritte.

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
2.1 Precauzioni di sicurezza	18
2.2 Etichette	27
2.3 Procedure di emergenza	32
2.4 Informazioni sul riciclaggio	35

2.1 Precauzioni di sicurezza

Introduzione

L'Amersham WB analyzer è alimentato con tensione di rete e utilizza liquidi che possono risultare pericolosi. Prima di procedere all'installazione, all'uso o alla manutenzione dei gruppi strumento, è necessario conoscere i rischi descritti in questo manuale.

Seguire sempre le istruzioni e le normative locali in merito al funzionamento e alla manutenzione del sistema e alla manipolazione sicura dei prodotti chimici.

Seguire le istruzioni fornite per evitare lesioni personali o danni all'attrezzatura.

Le precauzioni di sicurezza nella presente sezione sono raggruppate nelle seguenti categorie:

- Precauzioni generali
- Liquidi infiammabili
- Protezione individuale
- Installazione e spostamento
- Funzionamento del sistema
- Manutenzione
- Smantellamento

Precauzioni generali



AVVERTENZA

Non utilizzare Amersham WB analyzer in nessun altro modo se non quello descritto in Istruzioni di funzionamento.



AVVERTENZA

Non utilizzare accessori che non siano stati forniti o consigliati da GE.



AVVERTENZA

Non utilizzare Amersham WB analyzer in caso di malfunzionamento o se ha subito danni, ad esempio:

- danni al cavo di alimentazione o alla spina
- danni derivanti dalla caduta dell'attrezzatura
- danneggiamento di altre parti che possono influire sul corretto funzionamento

Liquidi infiammabili



ATTENZIONE

Rischio d'incendio.

- Se è stato versato del liquido all'esterno di Elpho & scan o dell'alloggiamento del gruppo Western, staccare la corrente e asciugare il liquido strofinando.
- Se è stato versato del liquido sui gruppi dello strumento, che è penetrato nell'alloggiamento di Elpho & scan o del gruppo Western, staccare il cavo di alimentazione dei gruppi e contattare l'assistenza.



ATTENZIONE

Rischio d'incendio. Assicurarsi che la tubazione di smaltimento del gruppo Western sia indirizzata verso un flacone di smaltimento posizionato sotto il banco e che non ci siano perdite prima di avviare un ciclo. È necessario un flacone di smaltimento vuoto da almeno 4 l.



ATTENZIONE

Rischio d'incendio. Non usare soluzioni tampone di trasferimento con più del 40% di etanolo o del 40% di metanolo. Si raccomanda di utilizzare solo il 20% di etanolo nei tamponi di trasferimento.

Protezione individuale



AVVERTENZA

Indossare sempre i guanti, indumenti e occhiali protettivi quando si maneggiano schede di gel, schede PVDF e altri materiali di consumo forniti con Amersham WB system.



AVVERTENZA

Quando si lavora con la pre-etichettatura di campioni di proteine:

- Indossare sempre guanti, indumenti e occhiali protettivi.
- Leggere la Scheda Tecnica di Sicurezza (SDS/MSDS) prima di eseguire la pre-etichettatura di campioni.



AVVERTENZA

Amersham WB analyzer è un prodotto di Classe A. In un ambiente domestico questo prodotto potrebbe provocare interferenze radio, nel qual caso l'utente deve intraprendere le misure necessarie.



ATTENZIONE

Sostanze pericolose. Quando si usano sostanze biologiche e chimiche pericolose, adottare tutte le misure protettive adeguate, per es. indossando guanti e occhiali di protezione resistenti a tali sostanze. Rispettare le normative nazionali e/o locali relative alla sicurezza di utilizzo, manutenzione e dismissione del sistema.



ATTENZIONE

Una volta eseguita la pre-etichettatura di proteine in campioni, si può sprigionare un forte odore dalle tracce di solfuro di dimetile (DMS) e di dimetilsolfossido (DMSO). Può rendersi necessaria un'aerazione locale. Seguire le istruzioni e le normative locali per un funzionamento sicuro.



ATTENZIONE

Indossare sempre i guanti, indumenti e occhiali protettivi durante l'uso e la manutenzione di Amersham WB analyzer.



ATTENZIONE

Dispositivi di protezione individuale (DPI). Durante l'imballaggio, il disimballaggio, il trasporto o lo spostamento del sistema, indossare:

- Scarpe antinfortunistiche, preferibilmente con rivestimento in acciaio
- Guanti da lavoro, per proteggersi da bordi taglienti
- Occhiali protettivi

Installazione e spostamento



AVVERTENZA

Collocare l'Amersham WB analyzer in un locale dotato di aerazione nel caso si utilizzi il metanolo o altri prodotti chimici che richiedono la ventilazione.



AVVERTENZA

Tensione di alimentazione. Accertarsi che la tensione di alimentazione della presa a muro corrisponda alla marcatura indicata sullo strumento prima di collegare il cavo di alimentazione.



AVVERTENZA

Accertarsi che il sistema venga posizionato su un banco piano e stabile, con adeguato spazio di ventilazione.



AVVERTENZA

Non bloccare l'accesso all'interruttore di alimentazione e al cavo di alimentazione. L'interruttore di alimentazione deve essere sempre facilmente accessibile. Il cavo di alimentazione e la presa devono essere sempre facili da scollegare.



AVVERTENZA

Messa a terra di protezione e cavo di alimentazione.

Amersham WB analyzer deve essere sempre collegato ad una presa di corrente collegata a terra.

Utilizzare soltanto un cavo di alimentazione omologato a 3 fili fornito o approvato da GE, oppure conforme a tutti i requisiti normativi in campo elettrico in vigore a livello locale.



ATTENZIONE

Non spostare il gruppo Western con flaconi collocati su di esso.



ATTENZIONE

Oggetto pesante. Sono necessarie due persone per sollevare i gruppi dello strumento in modo sicuro.



AVVISO

L'eventuale computer usato con l'apparecchiatura deve essere conforme a IEC/EN/UL/CSA 60950-1 o ad altre norme di sicurezza. Esso deve essere installato ed usato conformemente alle istruzioni del costruttore.



AVVISO

Scollegare i cavi. Per evitare di danneggiare l'apparecchiatura, scollegare sempre i cavi prima di spostare il gruppo strumento.

Funzionamento del sistema



AVVERTENZA

Esplosione vetro. Non mettere in funzione il sistema se il vetro del coperchio di sigillatura del gruppo Elpho & scan è graffiato o rotto. Spegnerlo lo strumento, scollegare il cavo di alimentazione e contattare un tecnico di assistenza autorizzato.



AVVERTENZA

Pericolo di scossa elettrica in seguito alla fuoriuscita di liquido durante il ciclo. Qualora ci fosse il rischio che il liquido fuoriuscito possa penetrare nell'alloggiamento dell'Amersham WB analyzer, spegnere immediatamente lo strumento, scollegare il cavo di alimentazione e contattare un tecnico di assistenza autorizzato.



AVVERTENZA

Al termine dell'elettroforesi, o dopo il trasferimento (quando il sandwich da trasferire è stato aperto e la scheda PVDF è stata posizionata nella camera di sondaggio), smaltire il gel in modo sicuro. Leggere il foglio tecnico di sicurezza della scheda gel (SDS/MSDS) per le istruzioni di sicurezza relative allo smaltimento del gel.



ATTENZIONE

Parti in movimento. Fare attenzione quando si apre/chiude il caricatore per evitare che le dita o gli indumenti restino impigliati quando il caricatore si muove.

Non mettere mai flaconi o fiale davanti al gruppo Elpho & scan. Quando si apre il caricatore possono cadere.



ATTENZIONE

Pericolo di scossa elettrica. Arrestare sempre un ciclo di trasferimento in corso prima di pulire il liquido dallo strumento o dal banco.

2 Istruzioni di sicurezza

2.1 Precauzioni di sicurezza



ATTENZIONE

Rischio di schiacciamento. Non toccare la camera di sondaggio in movimento durante un ciclo.



ATTENZIONE

Non togliere nessun coperchio del gruppo Elpho & scan. All'interno del gruppo è presente un laser di classe 3B.



ATTENZIONE

Per evitare di spruzzare liquidi pericolosi, usare filtri di ingresso pesanti collegati alle tubazioni nei flaconi.



AVVISO

Non utilizzare sostanze chimiche diverse da quelle elencate nelle informazioni sulla resistenza chimica.

Manutenzione



AVVERTENZA

Pericolo di scossa elettrica. Tutte le riparazioni devono essere eseguite da personale di assistenza autorizzato da GE. Non aprire i coperchi o sostituire i componenti salvo se specificamente indicato nella documentazione d'uso.



AVVERTENZA

Scollegare l'alimentazione. Scollegare sempre l'alimentazione del gruppo strumento prima di sostituire un suo componente, fatto salvo ove altrimenti specificato nella documentazione d'uso.



AVVERTENZA

Rimuovere eventuali flaconi dal relativo cestello prima di aprire il coperchio del vano di servizio.



AVVERTENZA

Quando si utilizzano sostanze chimiche pericolose, evitare le fuoriuscite e indossare occhiali di protezione e altri dispositivi di protezione individuale adeguati. Per esempio, l'NaOH è corrosivo e dunque pericoloso per la salute.



AVVERTENZA

Soltanto i pezzi di ricambio e gli accessori che sono approvati o forniti da GE possono essere utilizzati per l'assistenza o la manutenzione del sistema.



AVVERTENZA

Quando si sostituisce un cavo di alimentazione danneggiato, usarne uno sostitutivo dello stesso tipo e dimensioni e conforme a tutti i requisiti normativi in campo elettrico a livello locale in vigore e approvato da GE.



AVVERTENZA

Staccare sempre l'alimentazione di rete prima di sostituire il fusibile di rete. Per mantenere una protezione continua contro il rischio d'incendio, sostituire unicamente con un fusibile del tipo e della classe specificati sulle etichette del gruppo strumento.



ATTENZIONE

Adottare tutte le misure protettive del caso durante l'impiego di sostanze chimiche pericolose, indossando ad esempio guanti e occhiali di protezione resistenti a tali sostanze. Seguire le istruzioni e le normative locali in merito al funzionamento e alla manutenzione del sistema in condizioni di sicurezza.

Assistenza



AVVERTENZA

Decontaminare l'apparecchiatura prima dell'intervento di assistenza per essere sicuri che i residui pericolosi vengano eliminati.

Smantellamento



AVVERTENZA

Prima dello smantellamento finale, decontaminare l'apparecchiatura per essere sicuri che tutti i residui pericolosi vengano eliminati.

2.2 Etichette

Introduzione

Questa sezione descrive le etichette di sicurezza e quelle relative alle sostanze pericolose che sono state applicate all'Amersham WB analyzer. Per ulteriori informazioni sulla marcatura delle periferiche del computer, consultare le istruzioni del costruttore.

Posizione delle etichette
sull'Amersham WB analyzer

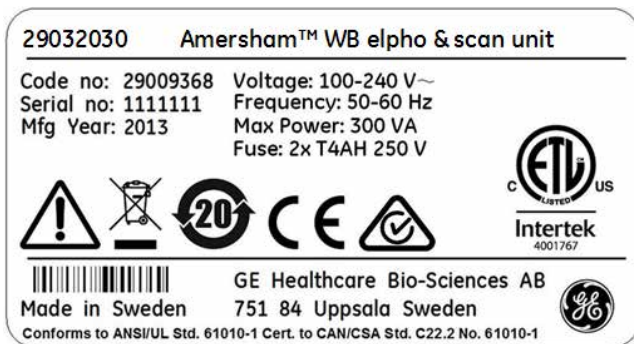
L'illustrazione seguente mostra l'ubicazione delle etichette sul gruppo Elpho & scan e sul gruppo Western.



Parte	Descrizione
1	Computer
2	Western unit
3	Etichetta prodotto gruppo Amersham WB elpho & scan
4	Etichetta di sicurezza relativa alla luce laser
5	Etichetta prodotto gruppo Amersham WB western
6	Elpho & scan unit
7	Only for service

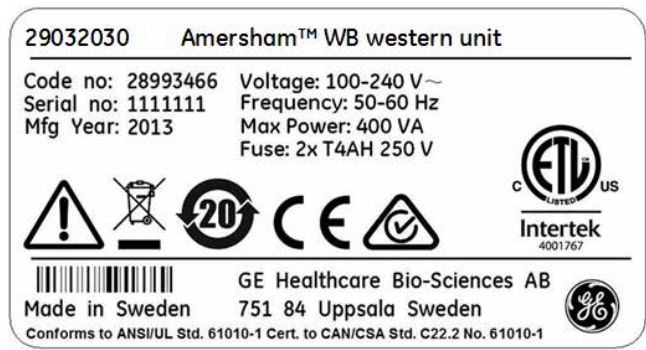
Etichetta gruppo Elpho & scan

L'immagine seguente mostra un esempio di etichetta del prodotto applicata al gruppo Elpho & scan. L'etichetta si trova sul pannello posteriore del gruppo strumento.



Etichetta gruppo Western

L'immagine seguente mostra un esempio di etichetta del prodotto applicata al gruppo Western. L'etichetta si trova sul pannello posteriore del gruppo strumento.



Simboli di sicurezza usati sulle etichette del gruppo strumento

I seguenti simboli di sicurezza sono usati sulle etichette:

Rinomina	Descrizione
	Attenzione! Prima di utilizzare il sistema, leggere la documentazione d'uso. Aprire i coperchi o sostituire i componenti solo se ciò è specificamente indicato nella documentazione d'uso.
	Il sistema rispetta le direttive europee applicabili. Fare riferimento a <i>Norme internazionali</i> , a pagina 11.
	Il sistema rispetta i requisiti applicabili per Australia e Nuova Zelanda.
	Questo simbolo indica che l'Amersham WB system è stato certificato da un Nationally Recognized Testing Laboratory (NRTL). Per NRTL si intende un'organizzazione riconosciuta dall'ente US Occupational Safety and Health Administration (OSHA) conforme ai requisiti legali della sezione 29 del Code of Federal Regulations (29 CFR), Parte 1910.7.

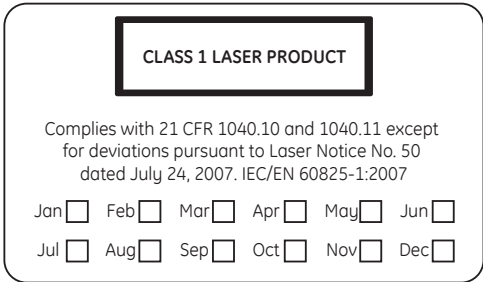
Simboli relativi alle sostanze pericolose usati sulle etichette del gruppo strumento

I seguenti simboli sulle etichette si riferiscono a sostanze pericolose:

Rinomina	Descrizione
	Questo simbolo indica che le apparecchiature elettriche ed elettroniche non devono essere smaltite come rifiuti urbani indifferenziati ma essere smaltite separatamente. Contattare un rappresentante autorizzato del fabbricante per informazioni relative allo smantellamento dell'attrezzatura.
	Questo simbolo indica che il prodotto contiene delle sostanze pericolose oltre i limiti stabiliti dalla norma cinese SJ/T11363-2006 Requisiti sui Limiti delle Concentrazioni per Certe Sostanze Pericolose negli Apparecchi Elettronici.

Etichetta di sicurezza relativa alla luce laser

La seguente etichetta è relativa alla luce laser e la prima è applicata al pannello posteriore del gruppo Elpho & scan. La seconda è applicata all'interno del caricatore Elpho & scan:

Rinomina	Descrizione
 CLASS 1 LASER PRODUCT Complies with 21 CFR 1040.10 and 1040.11 except for deviations pursuant to Laser Notice No. 50 dated July 24, 2007. IEC/EN 60825-1:2007 Jan ☐ Feb ☐ Mar ☐ Apr ☐ May ☐ Jun ☐ Jul ☐ Aug ☐ Sep ☐ Oct ☐ Nov ☐ Dec ☐	Questa apparecchiatura è un dispositivo equipaggiato con laser di classe 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007). Questo strumento soddisfa i requisiti di sicurezza delle radiazioni laser indicati nel Codice delle Norme Federali (TITOLO 21 CFR, Capitolo 1, Sottocapitolo J, Parte 1040-10 Prodotti Laser). L'etichetta riporta anche il mese di fabbricazione.
	Il simbolo è visibile quando il caricatore Elpho & scan è aperto.

2.3 Procedure di emergenza

Introduzione

La presente sezione descrive come eseguire un arresto d'emergenza dell'Amersham WB analyzer e le conseguenze in caso di interruzione dell'alimentazione.

Spegnimento in caso di emergenza



In una situazione di emergenza, scollegare i cavi d'alimentazione di rete dai **pannelli posteriori** del gruppo Elpho & scan e del gruppo Western.

Questo garantirà l'arresto immediato dell'alimentazione anche se è in uso un gruppo di continuità (UPS).

Interruzione di corrente

Le conseguenze in caso di interruzione dell'alimentazione sono le seguenti:

Mancanza di alimentazione a...	si tradurrà in...
Amersham WB analyzer	- Tutti gli esperimenti in corso vengono arrestati. Gli esperimenti in corso non verranno portati a termine una volta ristabilita la normale alimentazione. Nota: <i>Un gruppo UPS può aiutare ad eliminare il pericolo di perdita dei dati in caso di interruzione dell'alimentazione elettrica, consentendo lo spegnimento controllato dell'Amersham WB analyzer.</i> - L'orario dell'arresto viene registrato nel software dei gruppi strumento.
Computer	- Il computer collegato al gruppo Elpho & scan si spegne. - Tutti gli esperimenti in corso vengono proseguiti e portati a termine, dato che lo strumento è ancora alimentato. - Quando il computer viene riavviato e il contatto ristabilito, i risultati dell'esperimento verranno memorizzati. Se possibile, le immagini verranno scansionate.

Riavvio dopo uno spegnimento d'emergenza o un'interruzione di alimentazione dello strumento

Al ripristino della corrente, nessuno degli esperimenti in corso al momento dell'arresto d'emergenza potrà essere continuato. Procedere nel modo seguente:

Passo Operazione

- Se i cavi di alimentazione di rete sono stati scollegati, collegarli ai pannelli posteriori dei gruppi strumento.
Assicurarsi che gli interruttori di alimentazione di rete sui pannelli posteriori dei gruppi strumento siano attivati (I).
Risultato: I gruppi strumento vengono avviati.

2 Istruzioni di sicurezza

2.3 Procedure di emergenza

Passo	Operazione
2	Avviare il computer e il software (vedere <i>Avviare il software, a pagina 122</i>). Quando i gruppi strumento sono collegati, l'evento viene memorizzato nel registro degli esperimenti.
3	Se si desidera completare un ciclo che è stato interrotto, aprire il file dell'esperimento per il ciclo. Quindi aprire la finestra di dialogo Experiment Information e selezionare la scheda Experiment log . Nella scheda Experiment log , verificare a quale stadio l'esperimento è stato interrotto. Rimuovere le parti della procedura già completate quando l'esperimento è stato interrotto e riavviare l'operazione.

2.4 Informazioni sul riciclaggio

Introduzione

Questa sezione contiene informazioni relative allo smantellamento dell'Amersham WB analyzer.

Decontaminazione

L'Amersham WB analyzer deve essere decontaminato prima dello smantellamento e devono essere rispettate tutte le normative locali in materia di rottamazione dell'apparecchiatura.

Smaltimento, istruzioni generali

Quando si pone l'Amersham WB analyzer definitivamente fuori servizio, i vari materiali devono essere separati e riciclati secondo le normative ambientali locali e nazionali.

Riciclaggio delle sostanze pericolose

L'Amersham WB analyzer contiene sostanze pericolose. Informazioni dettagliate sono disponibili presso il rappresentante GE.

Smaltimento dei componenti elettrici

I rifiuti di attrezzature elettriche ed elettroniche non devono essere smaltiti come rifiuti urbani indifferenziati ma devono essere raccolti separatamente. Contattare un rappresentante autorizzato del costruttore per informazioni relative allo smantellamento dell'attrezzatura.



3 Descrizione del sistema

Informazioni sul capitolo

Questo capitolo descrive le diverse parti dell'Amersham WB system. L'Amersham WB system è costituito da:

- Amersham WB analyzer (due gruppi)
- accessori e materiali di consumo da utilizzare con lo strumento
- un computer (non compreso nella fornitura)
- Amersham WB software

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
3.1 Descrizione generale dello strumento	37
3.2 Gruppo Elpho & scan	40
3.3 Gruppo Western	45
3.4 Descrizione generale degli accessori e dei materiali di consumo	60
3.5 Materiali di consumo per la pre-etichettatura	65
3.6 Accessori e materiali di consumo per l'elettroforesi	67
3.7 Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot	76
3.8 Altri accessori	86
3.9 Descrizione generale del software	88

3.1 Descrizione generale dello strumento

Introduzione

Questa sezione fornisce una panoramica dell'Amersham WB analyzer.

L'Amersham WB analyzer è costituito da due gruppi:

- Amersham WB Gruppo elpho & scan
- Amersham WB Gruppo western

I gruppi strumento sono controllati da un PC sul quale è installato il Amersham WB software.

Nota: *I gruppi strumento devono sempre essere collegati tra loro durante un ciclo. I due gruppi devono essere accesi quando si effettua un esperimento nel gruppo Western.*

Interruttori di sicurezza

All'interno del gruppo Elpho & scan sono presenti alta tensione e due laser. Il gruppo è dotato di doppi interruttori di sicurezza che tolgono l'alimentazione al convertitore dell'alta tensione e ai laser quando il caricatore è aperto.

Nel serbatoio di trasferimento del gruppo Western è presente alta tensione. Il gruppo è dotato di interruttori di sicurezza che tolgono l'alimentazione quando il coperchio del serbatoio di trasferimento è aperto.

Immagine dell'Amersham WB analyzer

L'immagine seguente mostra l'Amersham WB analyzer, con gruppo Elpho & scan a sinistra e gruppo Western a destra.



Immagine dei pannelli strumento

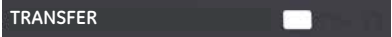
La stessa configurazione di spie luminose è disponibile per ciascuno scomparto dei gruppi strumento (elettroforesi e scansione, trasferimento, sondaggio e asciugatura). Quando i gruppi strumento sono accesi, le luci che indicano i nomi degli scomparti sono accese. Gli indicatori sono presenti sul pannello strumento di ciascun gruppo.

L'immagine seguente mostra i pannelli strumento sui due gruppi, con i nomi degli scomparti illuminati.



Indicatori dello strumento

La tabella seguente descrive i diversi indicatori. Gli indicatori (Pronto/ciclo terminato, Ciclo e Errore o avvertenza) sono identici per tutti gli scomparti dei gruppi strumento. In questo esempio vengono descritti gli indicatori **TRANSFER**.

Indicatori di stato	Stato	Descrizione
	Avvio	Il testo è illuminato quando il gruppo si sta avviando ed eseguendo i test interni.
	Pronto/ciclo terminato	La spia si accende quando: - il gruppo/scomparto è pronto per un nuovo esperimento - una fase (cioè, elettroforesi, scansione, trasferimento, sondaggio o asciugatura) è stata completata
	Messa in funzione	La luce è accesa: - quando il gruppo/scomparto è in funzione - durante la pulizia delle corsie di flusso per il trasferimento o il sondaggio Nota: Durante il funzionamento non aprire il(l) relativo(i) coperchio(i). Per esempio, aprire il coperchio del trasferimento durante tale operazione comporta l'arresto del ciclo di trasferimento con possibili ripercussioni sul risultato.
	Errore o avvertenza	La luce è accesa quando si è verificato un errore Vedere l'Amersham WB software per le informazioni riguardanti l'errore. I suggerimenti su come risolvere il problema sono forniti dal software.

3.2 Gruppo Elpho & scan

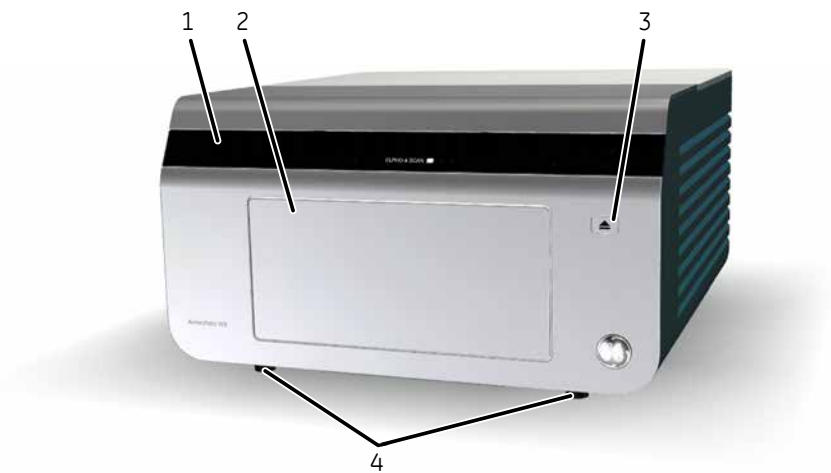
Introduzione

Il gruppo Elpho & scan è utilizzato per separare le proteine dei campioni trattati SDS in un gel di poliacrilammide. È anche utilizzato per eseguire la scansione dei gel al termine dell'elettroforesi e delle schede PVDF al termine del sondaggio e dell'asciugatura in un esperimento Western.

Questa sezione fornisce una panoramica del gruppo Elpho & scan.

Immagine del gruppo Elpho & scan

L'immagine seguente mostra i componenti principali del gruppo Elpho & scan:

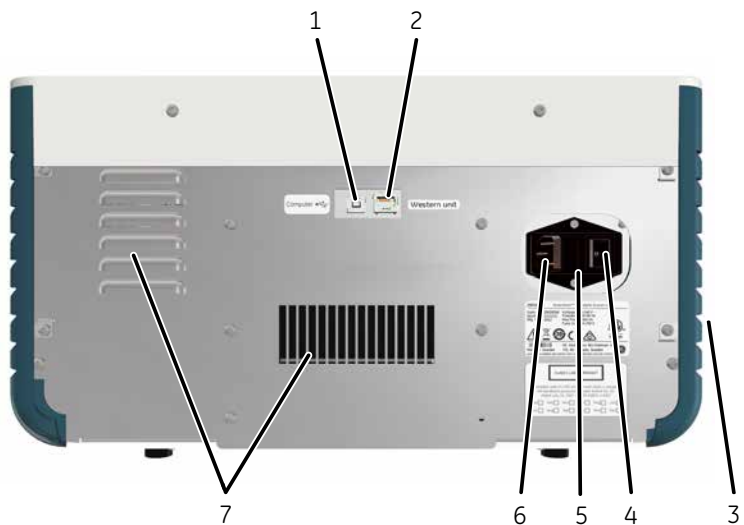


Parte	Descrizione
1	Pannello strumento (con indicatori di stato)
2	Caricatore Elpho & scan Per il caricamento di schede gel o schede PVDF.

Parte	Descrizione
3	Tasto di espulsione  Per aprire/chiusure il caricatore dell'elettroforesi e lo scomparto di scansione. Nota: <i>Il caricatore può essere aperto solo quando non è in corso nessun esperimento di elettroforesi o di scansione. Un eventuale ciclo in esecuzione deve prima essere arrestato per mezzo delle apposite istruzioni software per poter espellere il caricatore.</i>
4	Piedini regolabili (4 piedini, un piedino ad ogni angolo)

Immagine del pannello posteriore del gruppo Elpho & scan

L'illustrazione seguente mostra i componenti principali del pannello posteriore del gruppo Elpho & scan:



3 Descrizione del sistema

3.2 Gruppo Elpho & scan

Parte	Descrizione
1	Connettore cavo USB (USB tipo B) Per collegare il gruppo Elpho & scan a un computer.
2	Connessione di comunicazione del gruppo Western (usare cavo ethernet)
3	Ingresso aria
4	Interruttore di alimentazione ON=I, OFF=O
5	Estrattore fusibili (5x20 mm)
6	Connettore cavo di alimentazione (60320/C14)
7	Feritoie di ventilazione

Caricatore Elpho & scan

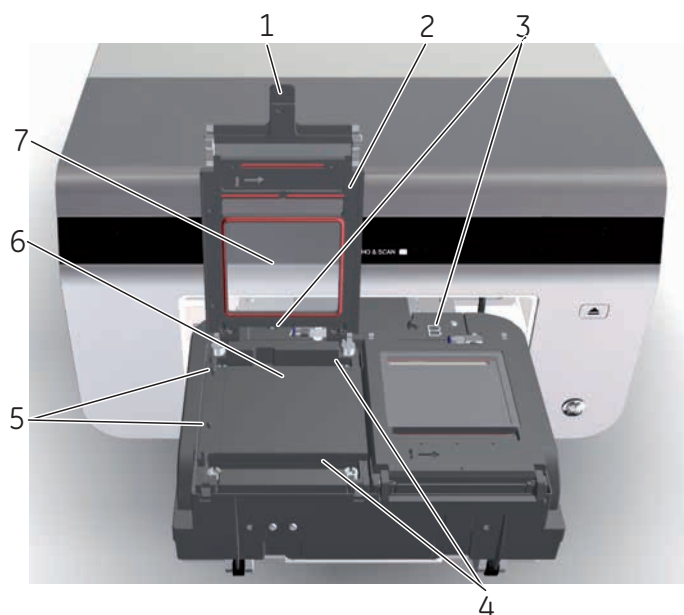
Il caricatore Elpho & scan è usato per caricare:

- le schede di gel per elettroforesi e scansione
- le schede PVDF per le scansioni. Quando si caricano schede PVDF per la scansione, bisogna prima posizionare un Amersham WB membrane adapter sulla piastra della scheda (per ulteriori informazioni, vedere *Sezione 5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati, a pagina 185*).

Il caricatore è espulso dal gruppo Elpho & scan premendo il tasto di espulsione sul pannello anteriore.

Immagine del caricatore Elpho & scan

L'immagine seguente mostra il gruppo Elpho & scan con caricatore espulso e coperchi di sigillatura della piastra portascדה sinistra aperta.



Parte	Descrizione
1	Dispositivo di chiusura Per aprire il coperchio di sigillatura.
2	Coperchio di sigillatura
3	Indicatore di posizione A e posizione B
4	Cavità Per portastrisce tampone con connettori elettrici per gli elettrodi del tampone.
5	Perni guida Per il corretto posizionamento delle schede di gel o degli adattatori membrana comprese le schede PVDF.
6	Piastra per schede Per il raffreddamento delle schede di gel e il mantenimento in piano delle schede durante la scansione.

3 Descrizione del sistema

3.2 Gruppo Elpho & scan

Parte	Descrizione
7	Vetro protettivo

3.3 Gruppo Western

Introduzione

Il gruppo Western è utilizzato per:

- trasferire le proteine separate nel gel sulla membrana
- sondare le proteine sulla membrana con anticorpi primari e poi anticorpi secondari coniugati a un CyDye™
- asciugare le schede PVDF (prima della scansione nel gruppo Elpho & scan)

Questa sezione fornisce una panoramica del gruppo Western.

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
3.3.1 Generalità	46
3.3.2 Scomparti del gruppo Western	50
3.3.3 Corsie di flusso del liquido	55

3.3.1 Generalità

Introduzione

Questa sezione fornisce una panoramica dei pannelli anteriore e posteriore del gruppo Western.

Immagine del gruppo Western

L'immagine seguente mostra i componenti principali del gruppo Western:



Parte	Descrizione
1	Coperchio vano anticorpi
2	Area da premere per aprire il coperchio del vano anticorpi
3	Pannello strumento (per gli indicatori di stato)
4	Coperchio serbatoio di trasferimento

3 Descrizione del sistema

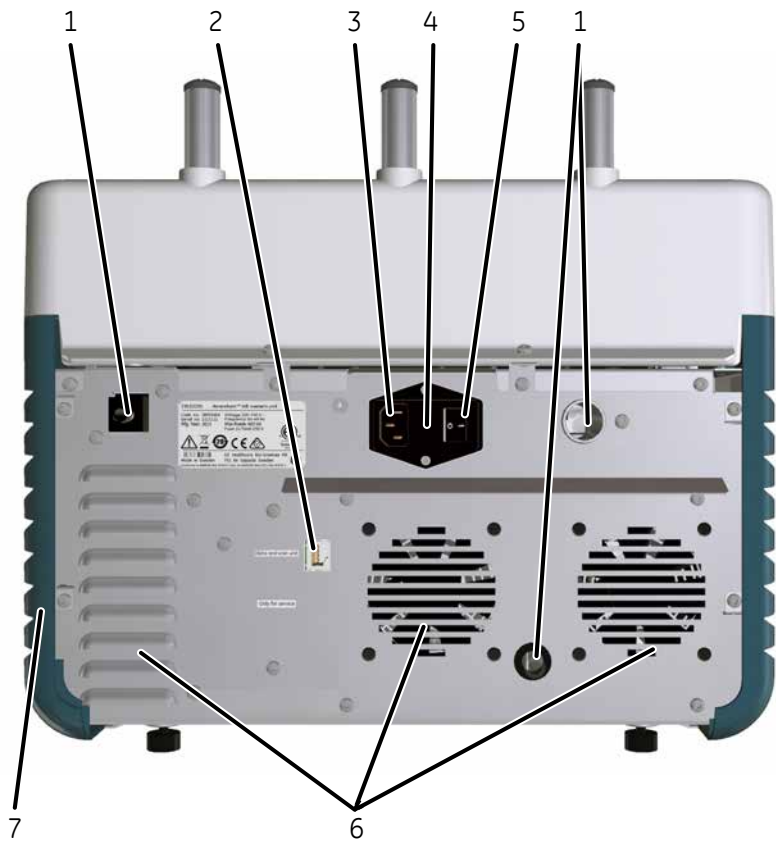
3.3 Gruppo Western

3.3.1 Generalità

Parte	Descrizione
5	Cestello per flaconi (e coperchio vano di servizio) Nota: <i>Quando si ispezionano le pompe e i tubi o quando si sostituiscono dei componenti come descritto in Capitolo 6 Manutenzione, a pagina 190, rimuovere solamente il cestello dei flaconi.</i>
6	Supporti tubazione
7	Coperchio scomparto di sondaggio
8	Coperchio dello scomparto di asciugatura

Immagine del pannello posteriore del gruppo Western

L'illustrazione seguente mostra i componenti principali del pannello posteriore del gruppo Western:



Parte	Descrizione
1	Uscite di scarico e tubazione di troppo pieno
2	Connessione di comunicazione del gruppo Elpho & scan (usare cavo ethernet)
3	Connettore cavo di alimentazione (60320/C14)
4	Estrattore fusibili (5x20 mm)
5	Interruttore di alimentazione principale (ON=I, OFF=O)
6	Feritoie di ventilazione

3 Descrizione del sistema

3.3 Gruppo Western

3.3.1 Generalità

Parte	Descrizione
7	Ingresso aria

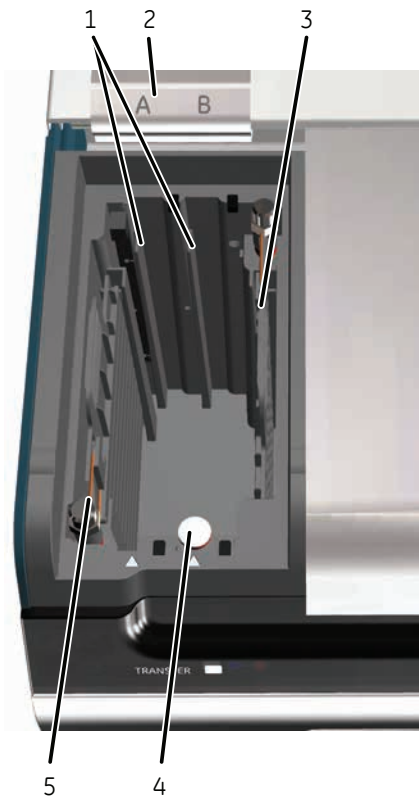
3.3.2 Scomparti del gruppo Western

Introduzione

Questa sezione descrive i diversi scomparti del gruppo Western con i coperchi aperti.

Immagine del serbatoio di trasferimento

L'immagine seguente mostra il serbatoio di trasferimento del gruppo Western.

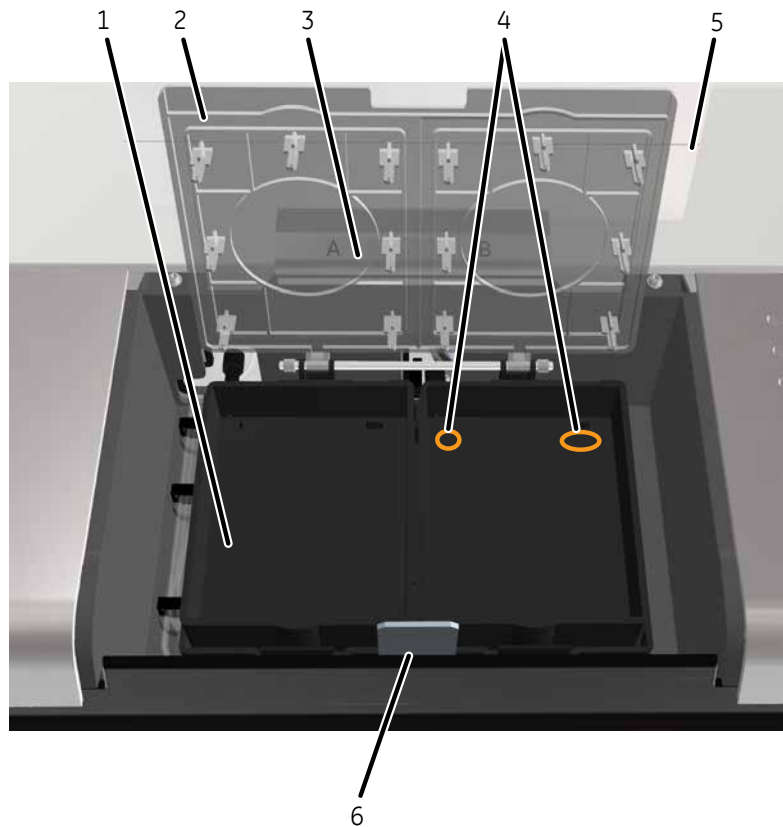


Parte	Descrizione
1	Guide del sandwich
2	Indicatore di posizione A e posizione B
3	Elettrodo di trasferimento destro

Parte	Descrizione
4	Filtro serbatoio di trasferimento
5	Elettrodo di trasferimento sinistro

Immagine dello scomparto di sondaggio

L'immagine seguente mostra lo scomparto di sondaggio del gruppo Western.

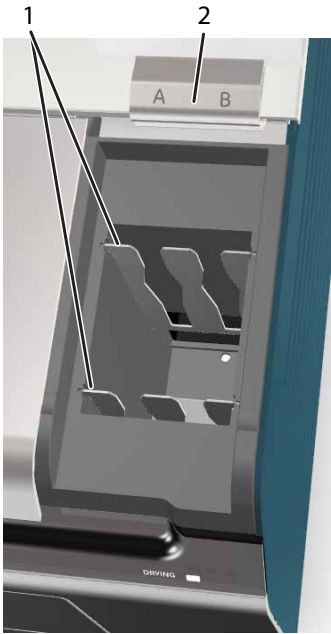


Parte	Descrizione
1	Camera di sondaggio
2	Coperchio camera di sondaggio

Parte	Descrizione
3	Indicatore di posizione A e posizione B
4	Perni di guida per la scheda PVDF (contrassegnata da cerchi arancioni)
5	Coperchio scomparto di sondaggio
6	Sportello coperchio scomparto di sondaggio

Immagine dello scomparto di asciugatura

L'immagine seguente mostra lo scomparto di asciugatura del gruppo Western.

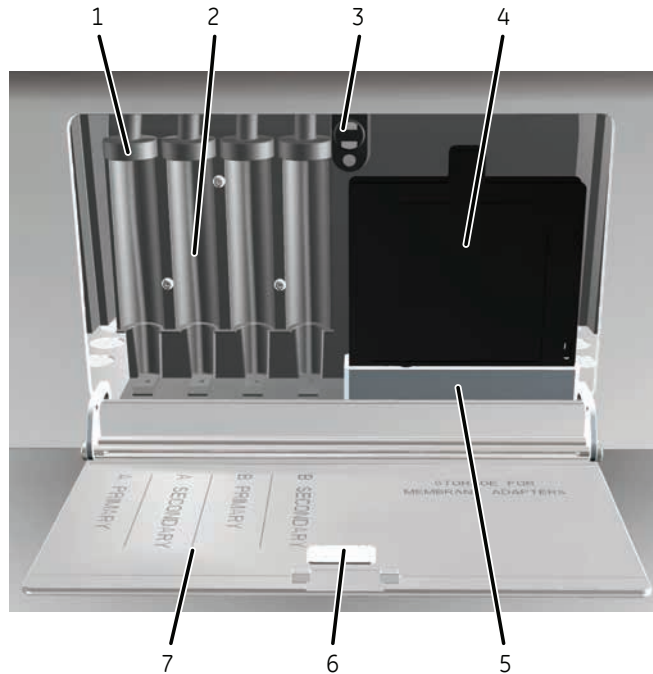


Parte	Descrizione
1	Guide di asciugatura membrana
2	Indicatore di ubicazione della posizione A e della posizione B

Immagine del vano anticorpi

L'immagine seguente mostra il vano anticorpi in cui vengono inserite provette di soluzione anticorpi da 15 ml con anticorpi primari e secondari prima del sondaggio (lato sinistro). Per ulteriori informazioni, vedere *Collegare le provette della soluzione anticorpi*, a pagina 171.

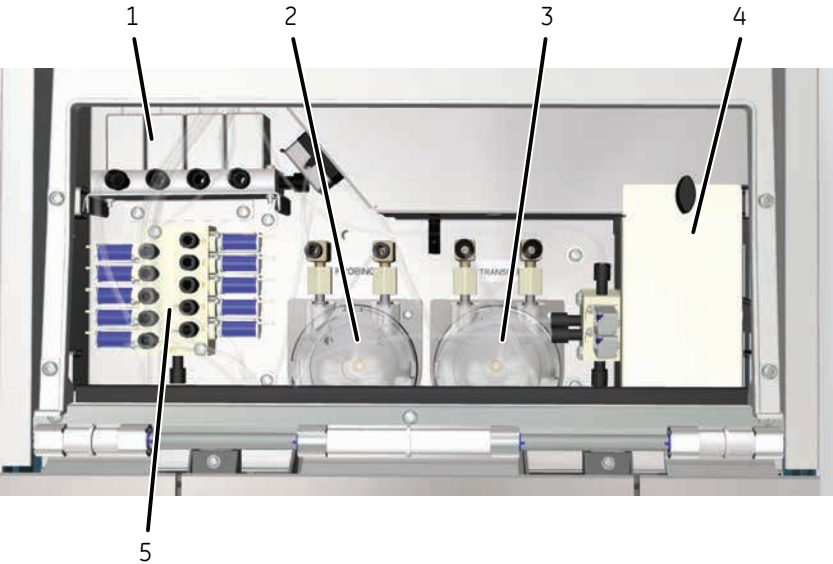
Il lato destro del vano è utilizzato per lo stoccaggio degli Amersham WB membrane adapters (adattatori membrane).



Parte	Descrizione
1	Supporto tubo
2	Tubazione
3	Serratura sportello (magnetica)
4	Adattatori membrane
5	Supporti per adattatori membrane
6	Serratura sportello
7	Indicatore di posizione della provetta con soluzione anticorpi A PRIMARY , A SECONDARY , B PRIMARY e B SECONDARY .

Immagine del vano di servizio

L'immagine seguente mostra il vano di servizio del gruppo Western.



Parte	Descrizione
1	Blocco valvola di trasferimento
2	Pompa per sondaggio
3	Pompa di trasferimento
4	Coperchio scomparto filtro aria
5	Blocco valvola di sondaggio

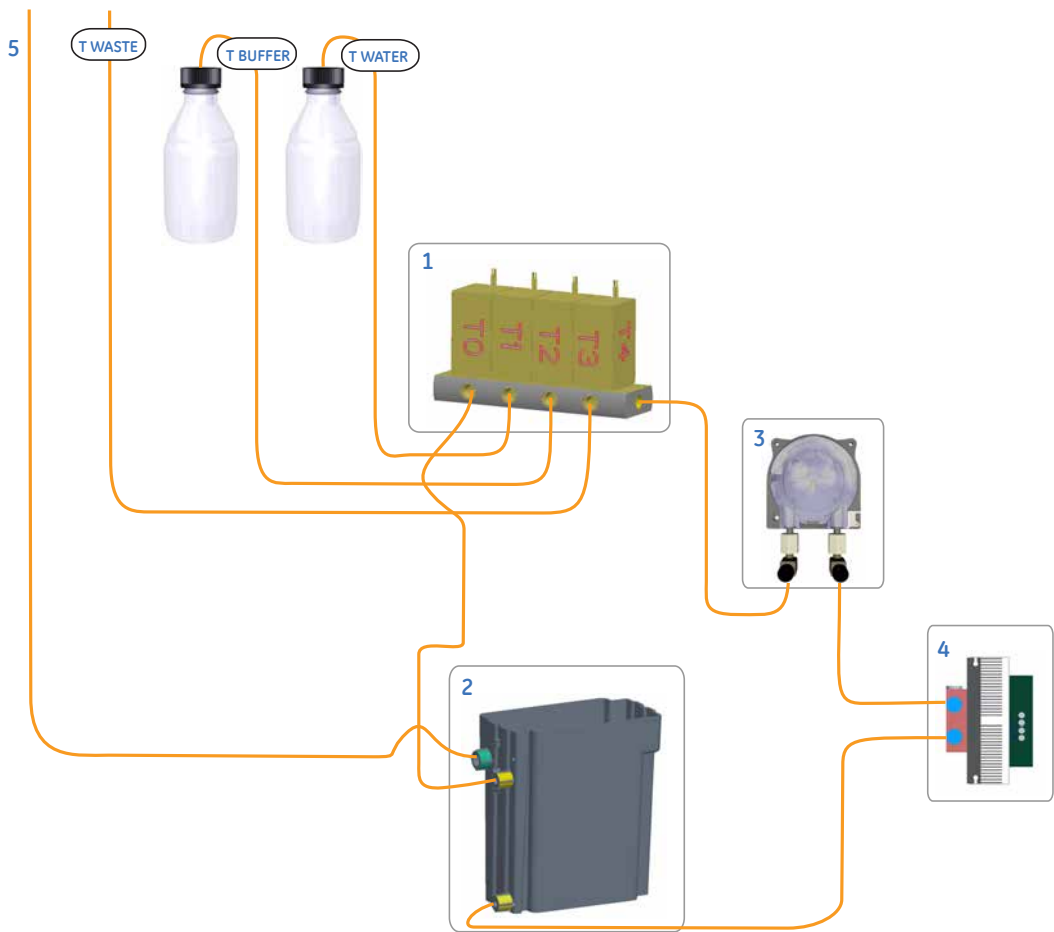
3.3.3 Corsie di flusso del liquido

Introduzione

La presente sezione si occupa delle corsie di flusso del liquido di trasferimento e sondaggio nel gruppo Western e descrive i principi basilari di funzionamento.

Immagine della corsia di flusso
del liquido di trasferimento

L'immagine seguente mostra un diagramma di flusso dettagliato del processo di trasferimento. Il diagramma di flusso mostra le interconnessioni tra i componenti dello strumento. Le etichette bianche si riferiscono a quelle delle tubazioni. I numeri blu si riferiscono ai componenti dello strumento.



La tabella sottostante descrive i componenti del diagramma di flusso:

Parte	Descrizione
1	Blocco valvola di trasferimento Per scegliere quale soluzione si deve pompare attraverso la corsia di flusso di liquido.

Parte	Descrizione
2	Serbatoio di trasferimento
3	Pompa di trasferimento Per pompare la soluzione attraverso la corsia di flusso di liquido.
4	Gruppo di raffreddamento per trasferimento Per raffreddare il tampone di trasferimento e mantenerlo a temperatura ambiente.
5	Troppo pieno serbatoio di trasferimento

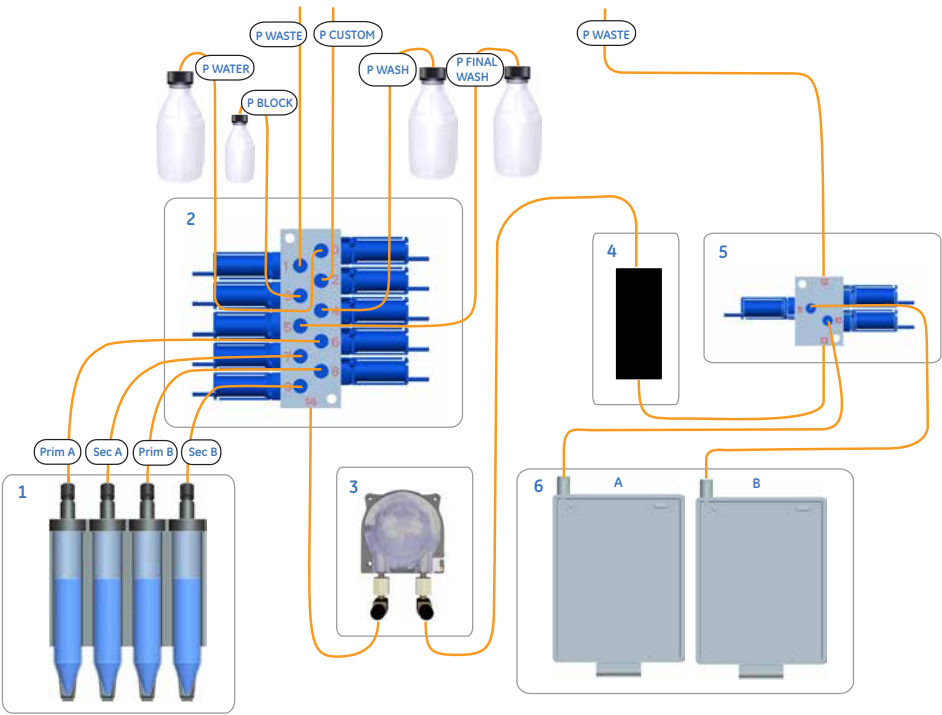
Principio di base del processo di trasferimento

Durante il trasferimento, avviene un trasferimento elettroforetico delle proteine separate nel gel sulla membrana. Il principio di base del processo di trasferimento è descritto di seguito.

Fase	Descrizione
1	Una volta che l'Amersham WB transfer holder(s) (supporto di trasferimento) è stato caricato nel serbatoio di trasferimento, quest'ultimo viene riempito con il tampone di trasferimento (la provetta contrassegnata con T Buffer).
2	In fase di trasferimento, il tampone di trasferimento viene pompato attraverso il serbatoio di trasferimento, il gruppo di raffreddamento per trasferimento, la pompa di trasferimento e il blocco valvola di trasferimento, per far circolare il tampone di trasferimento nel corso del ciclo. Il gruppo di raffreddamento per il trasferimento fa in modo che il tampone di trasferimento venga tenuto a temperatura ambiente nel corso del ciclo.
3	Al termine del ciclo e dopo aver rimosso i supporti di trasferimento, si utilizza acqua purissima per pulire la corsia del flusso di liquido (viene utilizzata la provetta contrassegnata con T Water).

Immagine della corsia del flusso
di liquido di sondaggio

L'immagine seguente mostra un diagramma di flusso dettagliato del processo di sondaggio. Il diagramma di flusso mostra le interconnessioni tra i componenti dello strumento. Le etichette bianche si riferiscono a quelle delle tubazioni. I numeri blu si riferiscono ai componenti dello strumento.



La tabella sottostante descrive i componenti del diagramma di flusso:

Parte	Descrizione
1	Vano anticorpi con le provette della soluzione anticorpi contenente anti-corpi primari e anticorpi secondari per le posizioni A e B .
2	Blocco valvola di sondaggio Usato per selezionare la soluzione da pompare attraverso la corsia di flusso.
3	Pompa per sondaggio Per pompare la soluzione attraverso la corsia di flusso di liquido.

Parte	Descrizione
4	Sensore dell'aria Per rilevare la presenza di aria nella tubazione. Quando il flacone della soluzione è vuoto, il rivelatore d'aria mette in pausa il ciclo.
5	Valvola di selezione camera di sondaggio Per scegliere se dirigere la soluzione alle camere di sondaggio o dalle camere di sondaggio all'uscita di scarico.
6	Camere di sondaggio

Principio di base del processo di sondaggio

Nel sondaggio, gli anticorpi primari sono legati alle proteine sulla membrana e poi gli anticorpi secondari coniugati a un CyDye sono legati agli anticorpi primari.

Il principio di base del processo di sondaggio è descritto di seguito.

Fase	Descrizione
1	La camera di sondaggio viene riempita preventivamente con la prima soluzione, così come riportato nel protocollo di sondaggio nel software (la soluzione di blocco viene usata in modo predefinito). Il riempimento preventivo della camera di sondaggio viene avviato dall'utente selezionando il comando software appropriato.
2	Le schede PVDF sono inserite nelle camere di sondaggio e vengono eseguite le incubazioni sequenziali (comprese la fasi di lavaggio) della membrana con la soluzione di blocco, gli anticorpi primari e quelli secondari.

3.4 Descrizione generale degli accessori e dei materiali di consumo

Introduzione

Questa sezione fornisce una panoramica degli accessori e dei materiali di consumo da utilizzare con l'Amersham WB analyzer. Contiene anche informazioni sulla conservazione dei materiali di consumo e come ordinarli.

Accessori e materiali di consumo

La tabella sottostante riporta gli accessori e i materiali di consumo da utilizzare con lo strumento in relazione all'operazione da eseguire. Gli accessori dello strumento sono forniti con il sistema mentre i materiali di consumo vanno ordinati a parte.

Gli accessori da installare sono descritti in *Sezione 4.2 Installazione hardware, a pagina 96* e gli accessori per gli interventi di manutenzione dell'utente sono descritti in *Accessori di manutenzione, a pagina 203*.

Per una descrizione dettagliata degli accessori e dei materiali di consumo, vedere le successive sezioni.

Operazione	Materiali di consumo richiesti	Accessori richiesti	Per i dettagli, vedere...
Pre-etichettatura di campioni	- Amersham WB Cy5 - Amersham WB labeling buffer (Campione da etichettare) - Amersham WB loading buffer (Tampone di caricamento) - Amersham WB MiniTrap™ kit (opzionale)	N/D	Sezione 3.5
Ciclo di elettroforesi	- Amersham WB molecular weight markers (Marker del peso molecolare) - Amersham WB gel card (Scheda gel) - Amersham WB buffer strip (Striscia tampone) - Amersham WB loading buffer - Amersham WB paper comb (opzionale) (pettine di carta)	Amersham WB buffer strip holder ¹ (Porta-strisce tampone)	Sezione 3.6

Operazione	Materiali di consumo richiesti	Accessori richiesti	Per i dettagli, vedere...
<i>Western fasi di blot</i>			
Trasferimento	- Amersham WB gel card del ciclo di elettroforesi - Amersham WB PVDF card (scheda PVDF) - Amersham WB transfer paper (carta di trasferimento) - Amersham WB sponge (Spugna) - Soluzioni di trasferimento preparate in laboratorio (per le ricette, vedere <i>Soluzioni di trasferimento ricette, a pagina 145</i>)	Amersham WB transfer holder ¹ (Supporto di trasferimento)	Sezione 3.7.1
Sondaggio	- Soluzioni di anticorpi primari preparate in laboratorio - Anticorpo secondario: Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 (capra anti-topo Cy3/Cy5) o Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5 (capra anti-coniglio Cy3/Cy5) - Scheda PVDF dalla fase di trasferimento - Soluzioni di sondaggio preparate in laboratorio (per le ricette, vedere <i>Ricette di soluzioni di sondaggio e di anticorpi, a pagina 170</i>)	Provette di soluzioni anticorpi ¹	Sezione 3.7.2
Asciugatura	Scheda PVDF dalla fase di sondaggio	Amersham WB drying holder (Supporto di asciugatura)	N/D
Scansione della scheda PVDF nel gruppo Elpho & scan	Scheda PVDF dalla fase di asciugatura	Amersham WB membrane adapter ¹ (Adattatore membrana)	Sezione 3.7.4
<i>Altro</i>			

Operazione	Materiali di consumo richiesti	Accessori richiesti	Per i dettagli, vedere...
Scansione dei tag della matrice dati sulle schede di gel e sulle confezioni singole di schede PVDF (opzionale)	N/D	Lettore di tag matrice (da ordinare a parte)	Sezione 3.8

¹ Incluso nella fornitura dell'Amersham WB analyzer.

Ordinare materiali di consumo

A seconda degli esperimenti da effettuare sono richieste diverse combinazioni di materiali di consumo. Una guida alla scelta per poter comporre un kit di materiali di consumo è disponibile all'indirizzo www.gelifesciences.com.

Per informazioni sulle ordinazioni di materiali di consumo a parte, vedere *Amersham WB system User Manual*.

Stoccaggio dei materiali di consumo

La tabella seguente riassume le condizioni di stoccaggio e quelle ambientali per i vari tipi di materiali di consumo. La data di scadenza dei materiali di consumo è stampata sulla confezione.

Materiale di consumo	Temperatura di stoccaggio	Ambiente
Materiali di consumo per la pre-etichettatura	Da -15 a -30°C	Proteggere il contenuto dalla luce diretta del sole. Evitare cicli di congelamento/scongela-mento ripetuti del reagente colorante Cy5. Il reagente colorante Cy5 dilui-to deve essere utilizzato entro 30 min e non deve essere con-gelato.

Materiale di consumo	Temperatura di stoccaggio	Ambiente
Amersham WB molecular weight markers	Da -15 a -30°C	Proteggere i marcatori del peso molecolare (MW) dalla luce diretta del sole. I marcatori MW devono essere sempre conservati nel congelatore. Ridurre al minimo il tempo passato a temperatura ambiente prima dell'uso e evitare il ricongelamento. I marker MW diluiti nel tampone di caricamento con DTT possono essere distribuiti in aliquote per singolo uso, se congelati direttamente dopo la diluizione. Le aliquote non devono essere conservate per più di una settimana.
Amersham WB gel card	Da 4°C a 8°C	Conservare in cella frigorifera o locale freddo.
Amersham WB buffer strips	Da 4°C a 8°C	Conservare in cella frigorifera o locale freddo.
Amersham WB PVDF card	Temperatura ambiente	Conservare le schede PVDF nella confezione singola all'interno della scatola con cui vengono fornite. Conservare la scatola in un luogo pulito ed asciutto, proteggendola dalla luce.
Amersham WB transfer paper	Temperatura ambiente	Conservare le carte di trasferimento in un luogo asciutto e all'interno della scatola con cui vengono fornite. Proteggere dalla polvere.
Amersham WB paper comb	Temperatura ambiente	Conservare i pettini di carta in un luogo asciutto e all'interno della scatola con cui vengono forniti. Proteggere dalla polvere.

3 Descrizione del sistema

3.4 Descrizione generale degli accessori e dei materiali di consumo

Materiale di consumo	Temperatura di stoccaggio	Ambiente
Amersham WB sponge	Temperatura ambiente	Proteggere dalla polvere e dalla luce diretta del sole.
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 o Amersham WB anti-rabbit Cy3/Cy5, liofilizzato	Da 2°C a 8°C	Proteggere gli anticorpi secondari dalla luce.
Anticorpi secondari ricostituiti (ricostituiti in acqua purissima con una concentrazione di 1 µg/µl)	Conservare le aliquote a -15°/-30°C	Proteggere gli anticorpi secondari ricostituiti dalla luce. Le aliquote non devono essere conservate per più di 6 mesi. Evitare cicli di congelamento/scongelamento ripetuti.
Anticorpi primari	Vedere le istruzioni del produttore.	Vedere le istruzioni del produttore.

3.5 Materiali di consumo per la pre-etichettatura

Introduzione

I materiali di consumo per pre-etichettatura sono usati per la pre-etichettatura di campioni di proteine con colorante fluorescente.

Pre-etichettatura fluorescente di campioni:

- consente il rilevamento delle proteine totali durante la scansione della scheda di gel,
- elimina la necessità di post-macchiatura del gel.

Quando usare la pre-etichettatura di proteine

La pre-etichettatura delle proteine viene sempre eseguita prima dell'elettroforesi quando si eseguono:

- esperimenti di elettroforesi,
- esperimenti Western con normalizzazione delle proteine totali.

Materiali di consumo per la pre-etichettatura

I materiali di consumo per la pre-etichettatura sono confezionati in appositi sacchetti separati. Ciascun sacchetto contiene reagenti in soluzione sufficienti per l'utilizzo di 10 schede di gel (in cui 14 corsie/scheda gel vengono caricate con campioni pre-etichettati), vale a dire, 140 singole reazioni di etichettatura.

La tabella che segue riassume il contenuto dei materiali di consumo per pre-etichettatura.

Materiale di consumo per pre-etichettatura	Contenuto	Quantità
Amersham WB Cy5	0,25 mg/ml (circa 250 pmol/ μ l) di Cy5 colorante in DMSO	5 fiale (cappucci blu) 35 μ l di soluzione colorante Cy5 per fiala (sufficienti per due schede di gel)

3 Descrizione del sistema

3.5 Materiali di consumo per la pre-etichettatura

Materiale di consumo per pre-etichettatura	Contenuto	Quantità
Amersham WB labeling buffer (Campione da etichettare)	Tampone tris base contenente SDS con pH 8,7 (a 25°C)	5 fiale (cappucci neri) 0,7 ml di soluzione tampone di etichettatura per fiala (sufficienti per due schede di gel)
Amersham WB loading buffer (Tampone di caricamento)	50 mM Tri-Cl, 0,25% (w/v) Arancione G, 4% SDS, 0,5 mM di lisina	5 fiale (cappucci arancione) 0,7 ml di soluzione tampone di caricamento per fiala (sufficienti per due schede di gel)

Materiale di consumo per la preparazione di campioni

La tabella seguente descrive il Amersham WB MiniTrap kit.

Materiale di consumo per la preparazione di campioni	Funzione	Quantità
Amersham WB MiniTrap kit	Il kit è studiato per la pulizia rapida e comoda dei campioni di proteine (>5000 M _r) che contengono sostanze interferenti, p.es. l'imidazolo.	• 30 colonne PD MiniTrap G-25 preconfezionate monouso contenenti il mezzo di coltura Sephadex™ G-25 • 1 flacone di 10× Amersham WB labeling buffer (14 ml di soluzione stock) • Supporto colonna integrato, vassoio di smaltimento e supporto del tubo

3.6 Accessori e materiali di consumo per l'elettroforesi

Introduzione

Per l'elettroforesi delle proteine sono necessari i seguenti accessori e materiali di consumo:

- Amersham WB buffer strip
- Amersham WB buffer strip holder
- Amersham WB molecular weight markers
- Amersham WB gel card
- Amersham WB paper comb, se viene eseguita la pulizia del pozzetto campioni
- Amersham WB loading buffer (vedere *Sezione 3.5 Materiali di consumo per la pre-etichettatura*, a pagina 65 per le informazioni relative al tampone di caricamento)

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
3.6.1 Amersham WB molecular weight markers	68
3.6.2 Amersham WB gel card	70
3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder	73
3.6.4 Amersham WB paper comb	75

3.6.1 Amersham WB molecular weight markers

Introduzione

Amersham WB Gli molecular weight markers sono una miscela di nove proteine native e ricombinanti, M_r : da 10.000 a 225.000, etichettate sia con Cy3 che con Cy5, per stabilire il peso molecolare delle proteine su schede di gel e schede PVDF scansionate.

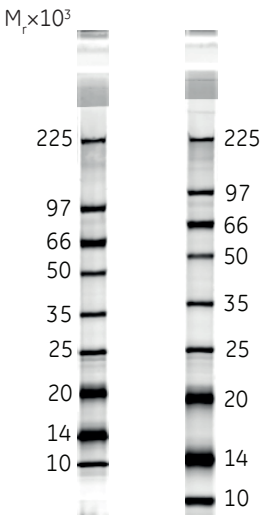
Il software calcola le curve di calibrazione del peso molecolare. Quando si utilizzano due curve di calibrazione del peso molecolare, i dati interpolati delle curve sono usati per creare curve di calibrazione specifiche per le corsie campione. Quindi vengono calcolati i pesi molecolari di tutte le bande rilevate in ogni corsia.

Contenuto

Ogni confezione di Amersham WB molecular weight markers contiene una soluzione per l'utilizzo di 10 schede di gel (dove 2 corsie/scheda gel vengono caricate con Amersham WB molecular weight markers).

Immagine dei marker MW

L'immagine che segue mostra le dimensioni degli Amersham WB molecular weight markers separati su scheda gel a gradiente (immagine a sinistra) ed una scheda gel omogenea (immagine a destra):



Proteine marker MW

La tabella seguente mostra le proteine che sono incluse:

Proteina	Peso molecolare ($M_r \times 10^3$)
Proteina ricombinante	225
Fosforilasi b, muscolo di coniglio	97
Albumina serica di bovino	66
Proteina ricombinante	50
Proteina ricombinante	35
Proteina ricombinante	25
Inibitore di tripsina, soia	20
Alfa-lattoalbumina, latte bovino	14
Proteina ricombinante	10

3.6.2 Amersham WB gel card

Introduzione

La presente sezione descrive la scheda gel in dettaglio.

Tipi di schede di gel

Vi sono due tipi di schede di gel:

- Scheda gel omogenea: Amersham WB gel card 14, 13.5%
- Scheda gel a gradiente: Amersham WB gel card 14, 8-18%

Composizione del gel

I gel sono preconfezionati nell'apposita cassetta. I gel sono in poliacrilammide/bisacrilammide e contengono un tampone tris-acetato.

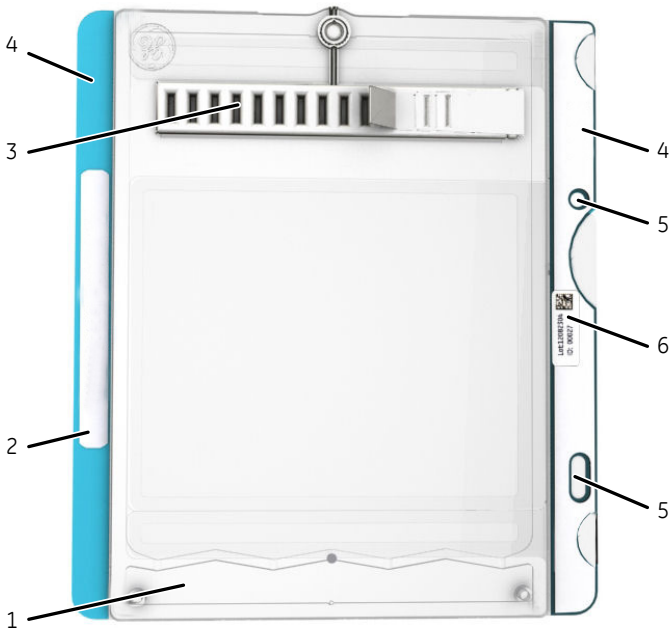
Risoluzione della separazione delle proteine

La tabella sottostante elenca la risoluzione della separazione delle proteine per i vari tipi di schede gel:

Tipo di scheda gel	Risoluzione di separazione, $M_r \times 10^3$
Amersham WB gel card 14, 13.5%, Omogenea	da 10 a 225
Amersham WB gel card 14, 8-18%, A gradiente	• da 6 a 225 (proteine pre-etichettate) • da 3,5 a 225 (esperimenti Western, rilevamento di anticorpi)

Immagine del lato anteriore di una scheda di gel

L'immagine sottostante mostra la scheda di gel con il lato anteriore rivolto verso l'alto:



Parte	Descrizione
1	Superficie di scrittura per annotazioni personali Nota: <i>Usare sempre una matita per le annotazioni.</i> L'annotazione può essere inserita anche nel software.
2	Etichetta con il tipo di scheda gel
3	Copertura del pozzetto campione che deve essere rimosso quando il coperchio di sigillatura è stato chiuso nel gruppo Elpho & scan, prima di applicare i campioni.
4	Maniglie gel per facilitare la manipolazione del gel una volta che è stato rimosso dal suo supporto per Western blot (immunorivelazione).

Parte	Descrizione
5	Fori di guida per il corretto posizionamento delle schede di gel nel caricatore Elpho & scan e nel supporto di trasferimento.
6	Etichetta con tag della matrice di dati, numero di lotto e ID

Immagine del lato inverso di una scheda gel

L'immagine sottostante mostra la scheda di gel con il lato inverso rivolto verso l'alto:



Parte	Descrizione
1	Pellicole protettive che vengono tolte prima dell'elettroforesi per consentire il contatto tra il gel e le strisce tampone.
2	Pellicola protettiva che viene tolta quando si prepara il sandwich da trasferire (solo in esperimenti Western).

3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder

Introduzione

I portastrisce tampone trattengono le strisce tampone in posizione durante il ciclo di elettroforesi. I portastrisce tampone sono dotati di elettrodi incorporati che assicurano il contatto tra l'elettrodo e la striscia tampone, consentendo quindi il passaggio di corrente elettrica per l'esecuzione del ciclo.

Le strisce tampone sono caricate nei loro supporti prima di avviare il ciclo e quindi vengono gettate al termine dello stesso. La forma del supporto guida l'utente quando colloca le strisce tampone nei supporti e quando pone i supporti nel gruppo Elpho & scan.

Per ulteriori informazioni, vedere *Preparativi prima di cominciare l'elettroforesi*, a pagina 133.

Tampone usato nelle strisce tampone

Il tampone usato nelle strisce tampone è tris-tricina.

Immagine delle strisce tampone

L'immagine seguente mostra una striscia tampone.



3 Descrizione del sistema

3.6 Accessori e materiali di consumo per l'elettroforesi

3.6.3 Amersham WB buffer strip e Amersham WB buffer strip holder

Immagine dei portastrisce tampone

L'immagine seguente mostra un portastriscia tampone.



3.6.4 Amersham WB paper comb

Introduzione

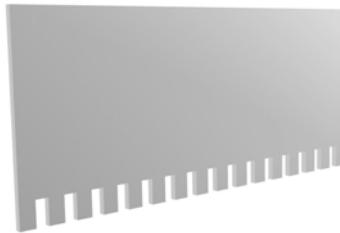
Il pettine di carta è usato per pulire i pozzetti di campione una volta che le proteine sono migrate nel gel per qualche minuto. La pulizia dei pozzetti di campione è consigliata per eliminare il colorante in eccesso quando si utilizzano campioni pre-etichettati. In tal modo si riduce il background, migliorando così il rilevamento e la quantificazione delle proteine meno abbondanti (<1 ng/striscia) e di quelle a basso peso molecolare ($M_r < 40\,000$).

La pulizia dei pozzetti di campione in genere migliora la risoluzione delle strisce, anche per i campioni non etichettati di elevate concentrazioni di proteine o di grandi quantità di campioni.

Per informazioni più dettagliate su come usare il pettine di carta, vedere *Avviare e monitorare l'elettroforesi e la scansione di gel*, a pagina 140.

Immagine del pettine di carta

L'immagine sottostante mostra un pettine di carta.



3.7 Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot

Introduzione

Questa sezione descrive gli accessori e i materiali di consumo da utilizzare per il trasferimento di proteine dal gel sulla membrana, il sondaggio della membrana con anticorpi primari e secondari e la scansione delle schede PVDF.

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
3.7.1 Accessori e materiali di consumo per trasferimento	77
3.7.2 Anticorpi secondari – sondaggio	82
3.7.3 Supporto di asciugatura – Asciugatura scheda PVDF	84
3.7.4 Adattatore membrana – Scansione scheda PVDF	85

3.7.1 Accessori e materiali di consumo per trasferimento

Introduzione

La presente sezione descrive:

- Amersham WB transfer holder (accessorio)
 - Amersham WB PVDF card (materiale di consumo)
 - Amersham WB transfer paper (materiale di consumo)
 - Amersham WB sponge (materiale di consumo)
-

Amersham WB transfer holder

Questo supporto viene usato durante il trasferimento. Contiene il sandwich da trasferire (spugna, carta di trasferimento, scheda gel, scheda PVDF, carta di trasferimento e spugna) preparato prima di cominciare il trasferimento. Le proteine separate sono trasferite dal gel sulla membrana nel corso del ciclo di trasferimento.

Appositi perni guida nel supporto di trasferimento assicurano che la scheda gel e la scheda PVDF siano posizionate correttamente quando si prepara il sandwich da trasferire.

Usando il rullo incorporato (quando si sposta il rullo sopra il sandwich sulle apposite guide), le bolle d'aria vengono eliminate e una pressione riproducibile viene applicata alla scheda gel e alla scheda PVDF a garanzia di una procedura di trasferimento uniforme.

Vedere Iniziare a realizzare il sandwich da trasferire, a pagina 154 per ulteriori informazioni su come preparare il sandwich da trasferire.

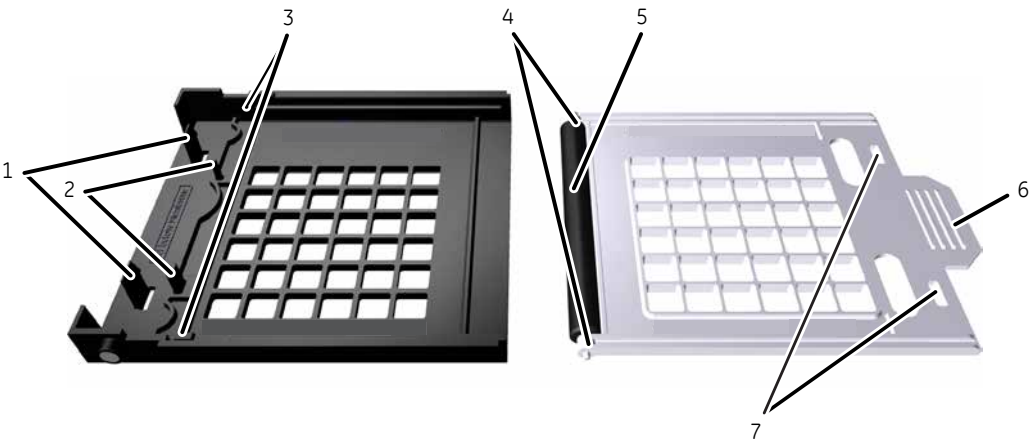
Immagine del supporto di trasferimento chiuso

L'immagine sottostante mostra il supporto di trasferimento quando è chiuso:



Immagine del supporto di trasferimento smontato

L'immagine sottostante mostra il supporto di trasferimento dopo lo smontaggio.



La tabella sottostante descrive le diverse parti del supporto di trasferimento.

Parte Funzione	
Parte inferiore (coperchio nero)	
1	Fissaggi

3 Descrizione del sistema

3.7 Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot

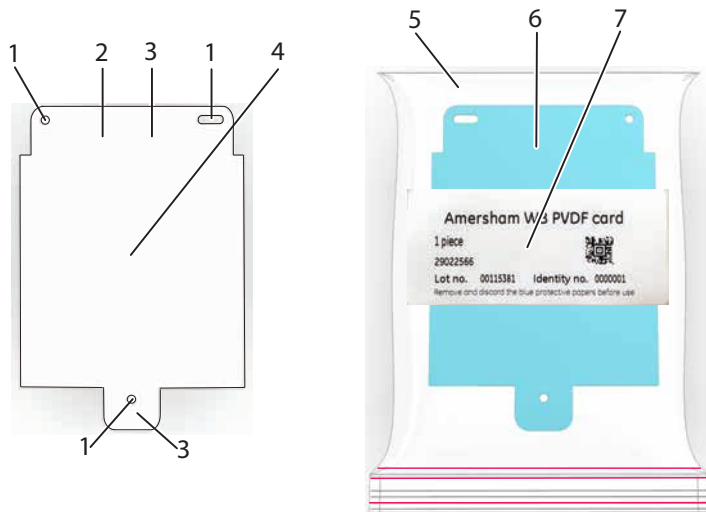
3.7.1 Accessori e materiali di consumo per trasferimento

Parte	Funzione
2	Perni guida per la scheda gel e la scheda PVDF
3	Guide del rullo (per i perni del rullo)
Parte superiore (coperchio bianco)	
4	Perni del rullo (da inserire nelle guide del rullo per montare i coperchi)
5	Rullo
6	Maniglia
7	Fori per i fissaggi

Amersham WB PVDF card

Scheda Nella fase di trasferimento, le proteine sono trasferite dal gel all'area di blotting della scheda PVDF. La scheda PVDF è una membrana PVDF a bassa fluorescenza.

L'immagine seguente mostra le diverse parti della scheda PVDF e la confezione singola della scheda PDVF.



La tabella seguente descrive le diverse parti della scheda PVDF e la confezione singola della scheda PDVF.

3 Descrizione del sistema

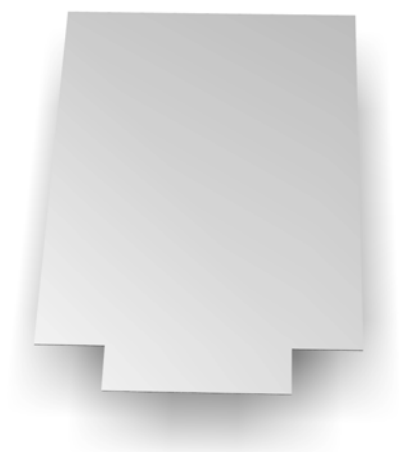
3.7 Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot

3.7.1 Accessori e materiali di consumo per trasferimento

Parte	Descrizione
1	Fori di guida Nota: <i>I fori guida servono al corretto posizionamento della scheda nel supporto di trasferimento, della camera di sondaggio, del supporto di asciugatura e del caricatore Elpho & scan.</i>
2	Superficie di scrittura per annotazioni personali Nota: <i>Usare sempre una matita per le annotazioni.</i> L'annotazione può essere inserita anche nel software.
3	Maniglie della scheda
4	Area di blotting
5	Confezione singola della scheda PDVF
6	Scheda PDVF con cartine protettive
7	Etichetta con codice prodotto, numero di lotto, codice di identificazione e tag della matrice di dati (codice prodotto, numero di lotto e numero ID)

Amersham WB transfer paper

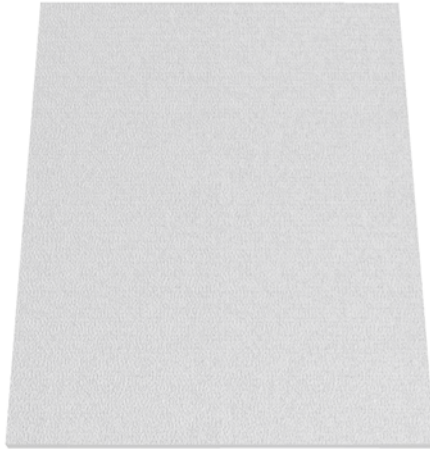
Le carte per il trasferimento sono usate quando si prepara il sandwich da trasferire.
L'immagine seguente mostra una carta di trasferimento:



Amersham WB sponge

Quando si prepara il sandwich da trasferire si utilizzano due spugne. Le spugne devono essere sostituite dopo ogni ciclo.

L'immagine seguente mostra una spugna.



3.7.2 Anticorpi secondari – sondaggio

Introduzione

Le proteine target sono identificate sondando la membrana con anticorpi primari e anticorpi secondari coniugati specifici per specie CyDye. Utilizzando due diverse specie di anticorpi primari (topo e coniglio), un anticorpo secondario coniugato Cy3 e un anticorpo secondario coniugato Cy5, è possibile eseguire un esperimento multiplex per rilevare due proteine simultaneamente sulla stessa membrana.

Sono disponibili le seguenti varianti di anticorpi secondari coniugati CyDye:

- Amersham WB goat anti-mouse Cy3 (capra anti-topo Cy3)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy3 (capra anti-coniglio Cy3)
- Amersham WB goat anti-mouse Cy5 (capra anti-topo Cy5)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy5 (capra anti-coniglio Cy5)

CyDye (coniugato ad anticorpi secondari)

I CyDye coniugati agli anticorpi secondari hanno una loro lunghezza d'onda di eccitazione e di emissione specifica negli spettri della luce visibile e sono spettralmente differenziati tra loro, generando una diafonia minima, vedere tabella seguente.

CyDye	Lunghezza d'onda eccitazione	Lunghezza d'onda di emissione
Cy3	550 nm	570 nm
Cy5	649 nm	670 nm

Al termine dell'eccitazione, i segnali ad emissione fluorescente che ne risultano vengono catturati per mezzo dello scanner fluorescente multicanale del gruppo Elpho & scan.

I CyDye hanno un'elevata fotostabilità. Il segnale sulla membrana sondata è stabile per >3 mesi se conservato nell'oscurità.

Preparazione e stoccaggio di anticorpi secondari ricostituiti

Ricostituire gli anticorpi secondari in fiala da 150 µl di acqua purissima con una concentrazione di 1 µg/µl. Agitare e centrifugare gli anticorpi secondari ricostituiti.

Si consiglia di conservare gli anticorpi secondari in aliquote a -15/-30°C proteggendoli dalla luce. Evitare cicli di congelamento/scongelamento ripetuti.

3 Descrizione del sistema

3.7 Accessori e materiali di consumo per le fasi di Western blot

3.7.3 Supporto di asciugatura – Asciugatura scheda PVDF

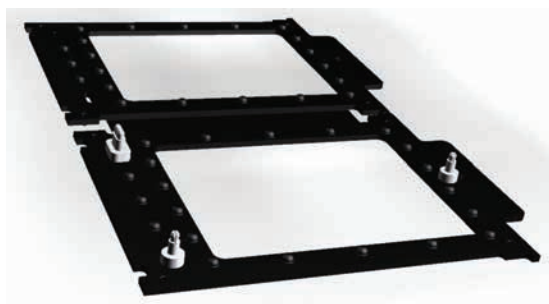
3.7.3 Supporto di asciugatura – Asciugatura scheda PVDF

Introduzione

Il Amersham WB drying holder (supporto di asciugatura) orienta e fissa la scheda PVDF nella corretta posizione per ottenere il migliore risultato di asciugatura possibile.

Immagine del supporto di asciugatura

Le illustrazioni seguenti mostrano il supporto di asciugatura quando è chiuso (sopra) e quando è aperto (sotto).



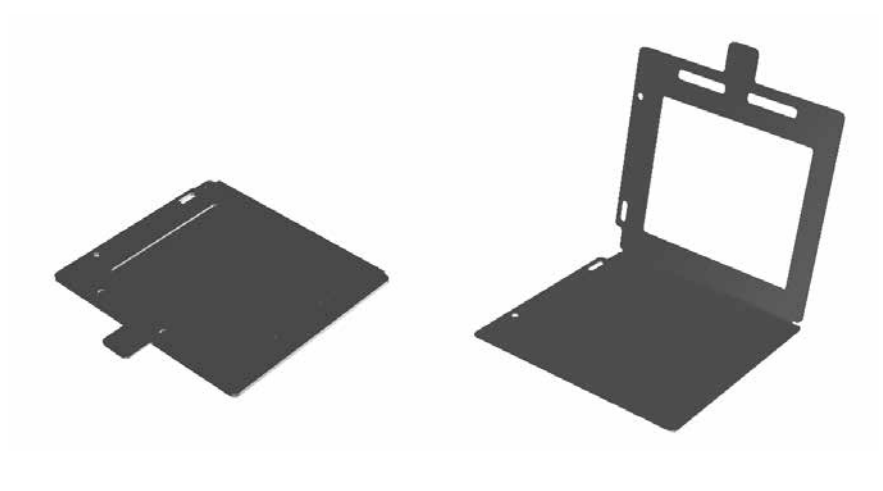
3.7.4 Adattatore membrana – Scansione scheda PVDF

Introduzione

Il Amersham WB membrane adapter (adattatore membrana) orienta e fissa la scheda PVDF nella corretta posizione per ottenere la migliore scansione e rilevamento possibili nell'unità Elpho & scan.

Immagine dell'adattatore membrana

Le illustrazioni seguenti mostrano l'adattatore membrana quando è chiuso (a sinistra) e quando è aperto (a destra):



3.8 Altri accessori

Lettore di tag matrice

Il lettore di tag della matrice viene usato per inserire informazioni della scheda gel e della scheda PVDF (codice prodotto, ID e numero di lotto) nel software eseguendo la scansione dei tag della matrice dati sulla scheda gel e sull'etichetta della confezione singola della scheda PVDF. Deve essere ordinato a parte (vedere *Informazioni su come effettuare gli ordini* in Amersham WB system User Manual).

L'immagine seguente mostra il lettore di tag della matrice.



Portafiltro d'ingresso

I portafiltro d'ingresso, con i relativi filtri d'ingresso, sono fissati alle provette di ingresso che sono inserite nei flaconi sul relativo cestello. Le particelle vengono filtrate dal filtro d'ingresso e il portafiltro d'ingresso stesso permette di tenere le tubazioni in posizione nella parte inferiore dei flaconi.

L'immagine seguente mostra un portafiltro d'ingresso con un filtro d'ingresso montato e fissato alla tubazione.



Supporti tubazione

Per compensare le tensioni che si creano quando la tubazione viene inserita nei flaconi ed evitare che questi ultimi cadano al diminuire del livello del liquido, si deve fissare un apposito supporto alla tubazione. Vedere l'immagine seguente:



Accessori aggiuntivi installabili dall'utente

Gli elettrodi di trasferimento e le guide di asciugatura membrana devono essere installate dall'utente.

Per ulteriori informazioni, vedere *Installare gli elettrodi di trasferimento, a pagina 99* e *Installare le guide di asciugatura membrana nello scomparto di asciugatura, a pagina 107*.

Accessori per la manutenzione utente

Per una descrizione degli accessori usati dall'utente per la manutenzione, vedere *Accessori di manutenzione, a pagina 203*.

3.9 Descrizione generale del software

Introduzione

Questa sezione fornisce una panoramica dell'Amersham WB software.

Immagine della schermata iniziale del software

Nella schermata iniziale del software è possibile creare nuovi esperimenti e aprire quelli salvati precedentemente. Per informazioni su come creare e impostare un esperimento, vedere *Creare e impostare un esperimento*, a pagina 123.

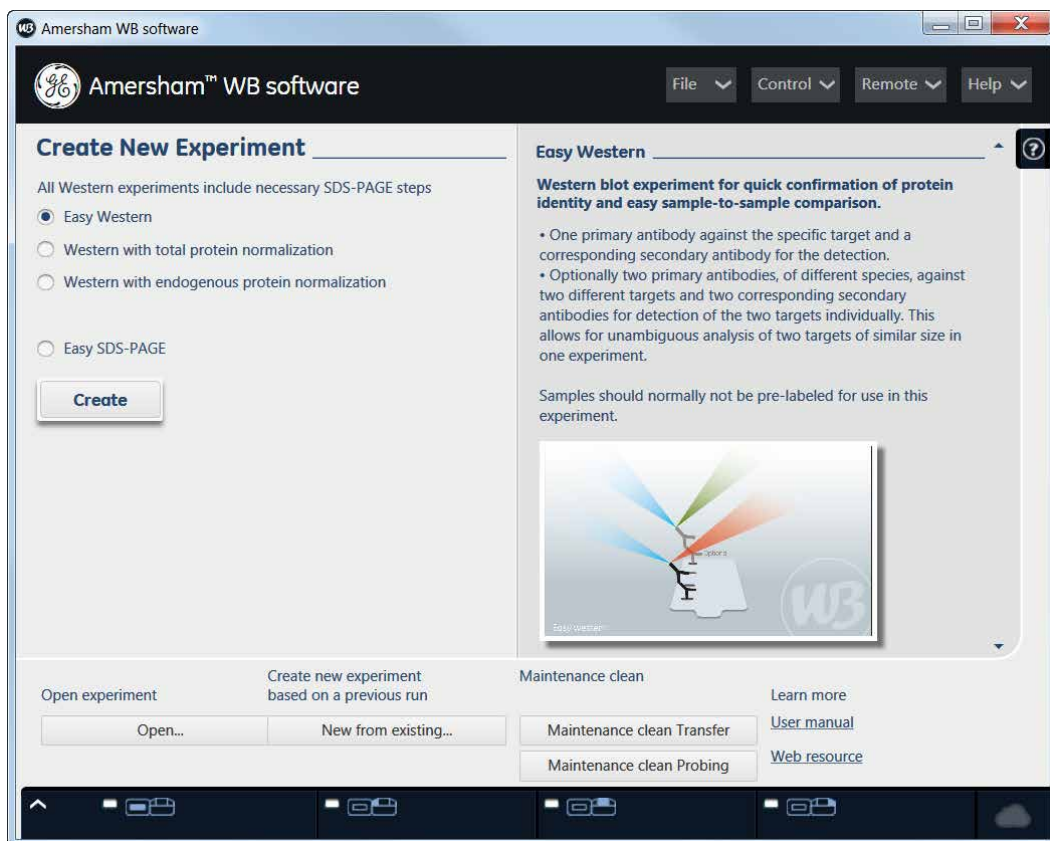
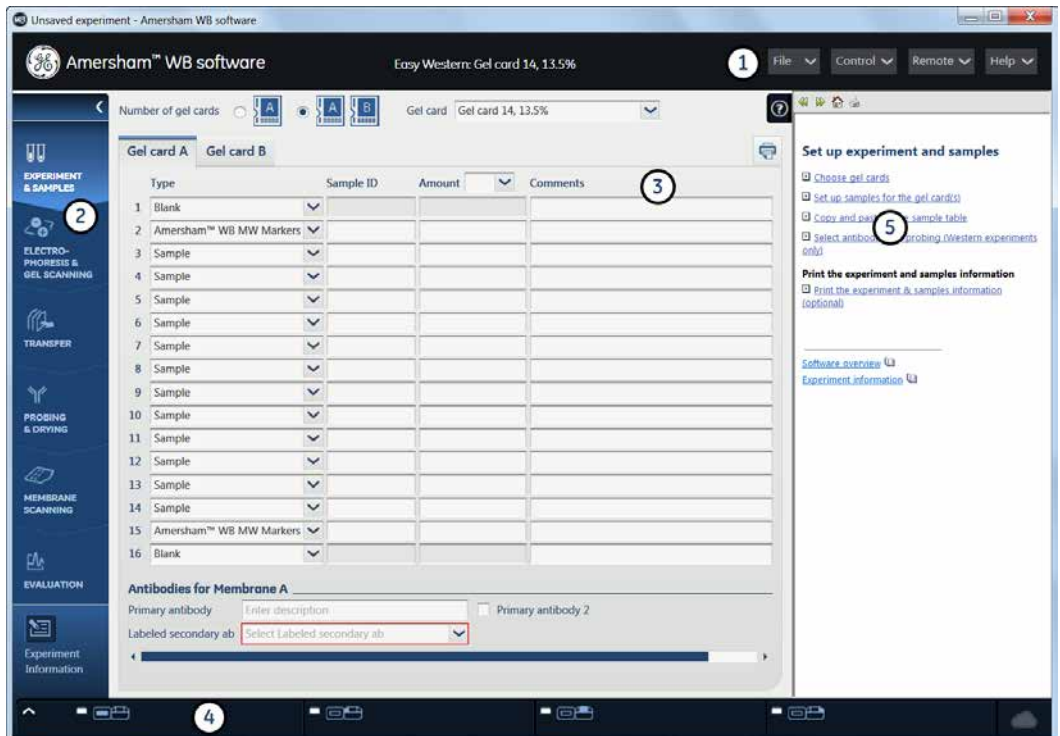


Immagine della schermata principale del software

L'immagine seguente mostra la schermata principale del software per un esperimento Western.



3 Descrizione del sistema

3.9 Descrizione generale del software

Area	Descrizione
1	Barra menu La barra dei menu è costituita da quattro menu: • File: per creare, aprire e salvare gli esperimenti. Stampare informazioni e uscire dal software. • Control: per interrompere un ciclo, svuotare la camera di trasferimento e sondaggio, iniziare la pulizia delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio. • Remote: per collegare e scollegare l'accesso remoto allo strumento. Recuperare i codici di accesso allo strumento e gestire un utente remoto. Modificare la configurazione della connessione remota. Nota: <i>Visibile solo quando uno strumento è collegato.</i> • Help: Generare rapporti di sistema. Aprire il pannello di help, il manuale d'uso e la finestra di dialogo About Amersham WB.
2	Pannello procedura di lavoro Il pannello della procedura di lavoro mostra le diverse fasi operative del software durante un esperimento. È possibile spostarsi in avanti o indietro per visualizzare e modificare le informazioni e i parametri durante le diverse fasi della lavorazione prima di avviare un ciclo (cioè, l'elettroforesi, il trasferimento, il sondaggio, l'asciugatura o la scansione della membrana). È sempre possibile tornare indietro e modificare il testo nei campi delle informazioni nelle diverse fasi della lavorazione durante e dopo un ciclo. Ad esempio, la tabella dei campioni può essere compilata ad elettroforesi in corso. Nota: <i>Per un esperimento di elettroforesi, i passaggi della procedura di lavoro TRANSFER, PROBING & DRYING e MEMBRANE SCANNING sono disattivati. Essi sono attivi solamente negli esperimenti Western.</i>
3	Area di lavoro L'area di lavoro mostra le informazioni di testo, i parametri e i controlli relativi al passaggio della procedura di lavoro attualmente visualizzato.

Area	Descrizione
4	Pannello di stato strumento Il pannello di stato strumento mostra lo stato di connessione dello strumento. Quando lo strumento è collegato, viene mostrato lo stato di ciascun modulo hardware (scomparto di elettroforesi e scansione, serbatoio di trasferimento, vano di sondaggio e vano di asciugatura) e l'andamento dei cicli nei moduli. Si possono aprire diversi esperimenti simultaneamente. Per ogni esperimento deve essere aperta una nuova istanza del software. Il pannello di stato strumento mostra lo stato dello strumento per tutti gli esperimenti in corso. Ogni modulo hardware può essere utilizzato da un esperimento per volta. Ciò significa che si possono effettuare quattro diversi passaggi della procedura di lavoro di quattro diversi esperimenti in parallelo.
5	Pannello di Help Il pannello di help mostra istruzioni di guida per la schermata correntemente visualizzata nell'area di lavoro. Quando si seleziona un nuovo passaggio della procedura di lavoro, le istruzioni di guida vengono aggiornate automaticamente al fine di visualizzare la guida per la schermata attiva. Suggerimento: Per visualizzare il manuale d'uso che contiene informazioni dettagliate sul sistema, selezionare Help:View user manual nella barra dei menu, oppure premere Ctrl+F1.

4 Installazione

Informazioni sul capitolo

Questo capitolo descrive l'installazione dell'Amersham WB system.

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
4.1 Preparazione della sede	93
4.2 Installazione hardware	96
4.3 Installazione software	110

4.1 Preparazione della sede

Perché preparare il luogo di installazione?

Il sito del laboratorio deve essere opportunamente programmato e preparato prima dell'installazione dell'Amersham WB system. Le specifiche prestazionali del sistema possono essere soddisfatte soltanto se l'ambiente del laboratorio è conforme ai requisiti indicati in questa sezione. Seguire sempre le normative locali sulla sicurezza.

Requisiti del locale



AVVERTENZA

Collocare l'Amersham WB analyzer in un locale dotato di aerazione nel caso si utilizzi il metanolo o altri prodotti chimici che richiedono la ventilazione.

I gruppi strumento non devono essere esposti alla luce diretta del sole. La polvere presente nell'atmosfera deve essere mantenuta a livelli minimi.

I limiti per gli intervalli di temperatura e umidità sono specificati nella tabella seguente.

Parametro	Intervallo ammesso
Temperatura ambiente, di esercizio	Da 15°C a 32°C Per le migliori prestazioni: da 16°C a 28°C
Temperatura ambiente, stoccaggio e trasporto	Da -25°C a +60°C
Umidità relativa, di esercizio	Da 20% a 80%, senza condensa Per le migliori prestazioni: 20% - 70%, senza condensa
Altitudine	Massimo 2000 m
Ambiente	Solo al chiuso

Requisiti di spazio

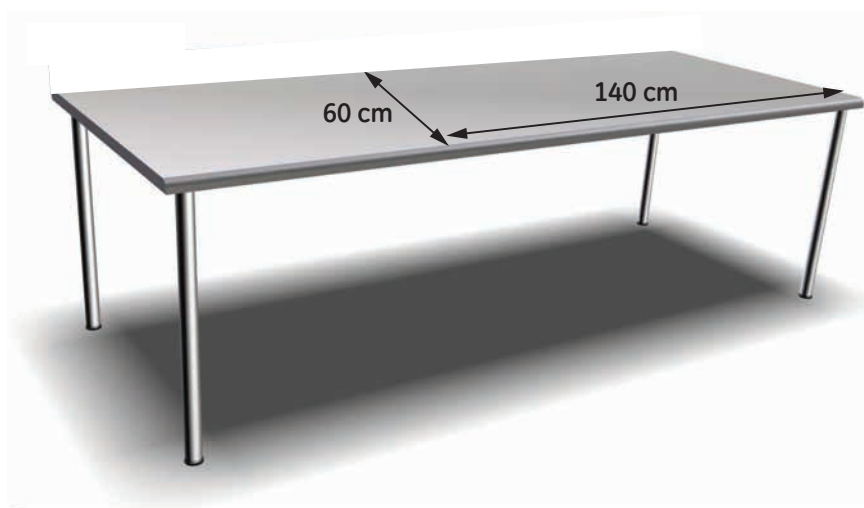


AVVERTENZA

Non bloccare l'accesso all'interruttore di alimentazione e al cavo di alimentazione. L'interruttore di alimentazione deve essere sempre facilmente accessibile. Il cavo di alimentazione e la presa devono essere sempre facili da scollegare.

I gruppi strumento devono essere sistemati su un banco da laboratorio. Il banco deve essere pulito, in piano, livellato, stabile e in grado di sostenere il peso dell'Amersham WB system (gruppi strumento: 45 kg più il peso del laptop e dei liquidi presenti nel gruppo Western).

Per i requisiti di spazio, vedere di seguito. Lasciare almeno 10 cm di spazio libero dietro i gruppi strumento per la ventilazione. Lo spazio necessario per i due gruppi è di 90 cm. Tuttavia, è consigliabile un banco da 140 cm per consentire lo spazio necessario per la preparazione del reagente, il maneggio delle schede di gel, ecc.



Requisiti di alimentazione

Vedere Sezione 7.1 *Specifiche del sistema*, a pagina 216.

Requisiti del computer

Parametro	Dati
Sistema operativo	Windows 7 Professional, 32-bit or 64-bit, versione inglese
Browser Internet	Windows Internet Explorer 8 o successivo
Risoluzione dello schermo	Risoluzione di 1280 × 800 o superiore
Prestazioni	Min.: memoria fisica di 2 GB Consigliato: memoria fisica di 4 GB

Nota: *Il computer deve essere installato, posizionato ed utilizzato seguendo le istruzioni e le specifiche fornite dal suo costruttore.*

4.2 Installazione hardware

Disimballare l'Amersham WB analyzer

Vedere *Amersham WB analyzer Istruzioni per il disimballaggio*.

Sollevare i gruppi strumento sul banco



AVVERTENZA

Accertarsi che il sistema venga posizionato su un banco piano e stabile, con adeguato spazio di ventilazione.



AVVERTENZA

Non bloccare l'accesso all'interruttore di alimentazione e al cavo di alimentazione. L'interruttore di alimentazione deve essere sempre facilmente accessibile. Il cavo di alimentazione e la presa devono essere sempre facili da scollegare.



ATTENZIONE

Dispositivi di protezione individuale (DPI). Durante l'imballaggio, il disimballaggio, il trasporto o lo spostamento del sistema, indossare:

- Scarpe antinfortunistiche, preferibilmente con rivestimento in acciaio
- Guanti da lavoro, per proteggersi da bordi taglienti
- Occhiali protettivi

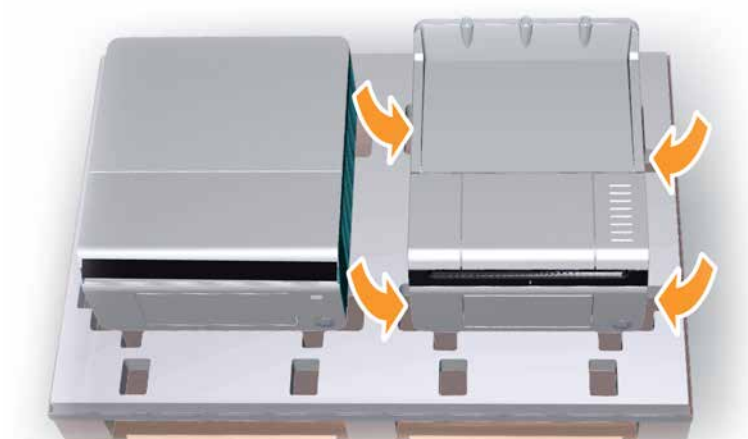


ATTENZIONE

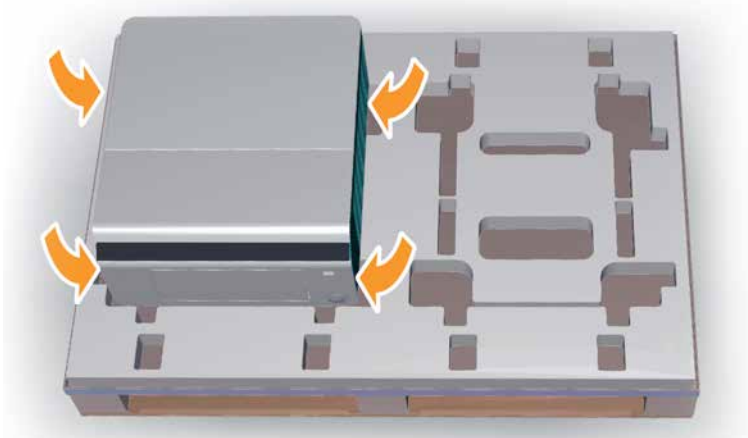
Oggetto pesante. Sono necessarie due persone per sollevare i gruppi dello strumento in modo sicuro.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Sollevare manualmente i gruppi strumento servendosi degli appositi spazi vuoti previsti accanto ad essi. Assicurarsi che i gruppi siano collocati su un banco in piano e stabile. |
| 2 | Sollevare il primo gruppo strumento. Usare l'appiglio sotto e accanto allo strumento nelle cavità del polistirolo. Procedere al posizionamento sul banco da laboratorio. |



- | | |
|---|---|
| 3 | Sollevare l'altro gruppo strumento e collocarlo sul banco da laboratorio. |
|---|---|



Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 4 | <p>Per consentire una ventilazione adeguata, il gruppo Elpho & scan deve essere posizionato a sinistra e il gruppo Western a destra. Lasciare almeno 10 cm di spazio libero dietro i gruppi strumento per la ventilazione.</p> <p>Non bloccare l'accesso all'interruttore di alimentazione e al cavo di alimentazione.</p> |
| 5 | <p>Regolare i piedini per livellare i gruppi in posizione orizzontale. Questa operazione è particolarmente importante per il gruppo Western.</p> |
| 6 | <p>Se non impedito dal costruttore e se il computer è un laptop, quest'ultimo può essere sistemato direttamente sul gruppo Elpho & scan. Vedere le specifiche del computer relative all'ambiente.</p> <p>Se si utilizza un computer da banco, il monitor e la tastiera possono essere sistemati in cima al gruppo Elpho & scan. Il resto del computer non deve essere collocato in cima al gruppo.</p> |



Rimuovere gli elementi di protezione per il trasporto del gruppo Elpho & scan

Per proteggere i fragili componenti dello scanner del gruppo Elpho & scan vengono fissati elementi di protezione per il trasporto.

Rimuovere con cura gli elementi di protezione per il trasporto prima dell'accensione.



Installare gli elettrodi di trasferimento



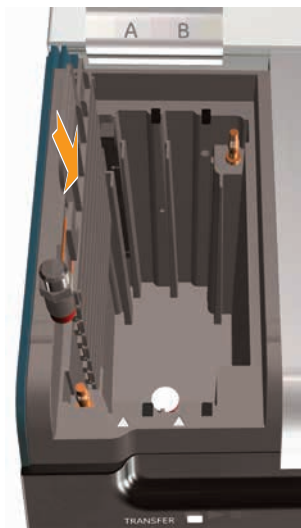
AVVERTENZA

Scollegare l'alimentazione. Scollegare sempre l'alimentazione del gruppo strumento prima di sostituire un suo componente, fatto salvo ove altrimenti specificato nella documentazione d'uso.

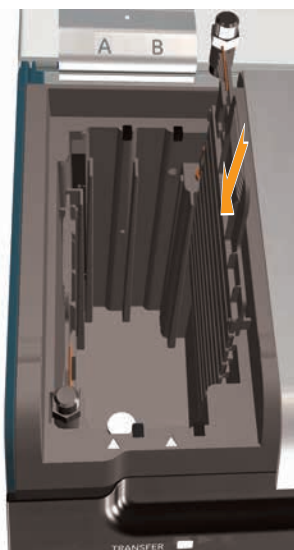
Passo	Operazione
1	Aprire il coperchio del serbatoio di trasferimento.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 2 | Inserire l'elettrodo di trasferimento sinistro all'estrema sinistra del serbatoio di trasferimento e premere verso il basso. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 3 | Inserire l'elettrodo di trasferimento destro all'estrema destra del serbatoio di trasferimento e premere verso il basso. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 4 | Chiudere il coperchio del serbatoio di trasferimento. |
|---|---|

Collegare i gruppi strumento e il computer e collegare i cavi di alimentazione



AVVERTENZA

Messa a terra di protezione e cavo di alimentazione.

Amersham WB analyzer deve essere sempre collegato ad una presa di corrente collegata a terra.

Utilizzare soltanto un cavo di alimentazione omologato a 3 fili fornito o approvato da GE, oppure conforme a tutti i requisiti normativi in campo elettrico in vigore a livello locale.



AVVERTENZA

Tensione di alimentazione. Accertarsi che la tensione di alimentazione della presa a muro corrisponda alla marcatura indicata sullo strumento prima di collegare il cavo di alimentazione.

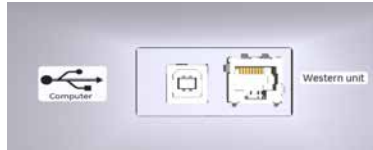


AVVISO

L'eventuale computer usato con l'apparecchiatura deve essere conforme a IEC/EN/UL/CSA 60950-1 o ad altre norme di sicurezza. Esso deve essere installato ed usato conformemente alle istruzioni del costruttore.

Passo	Operazione
-------	------------

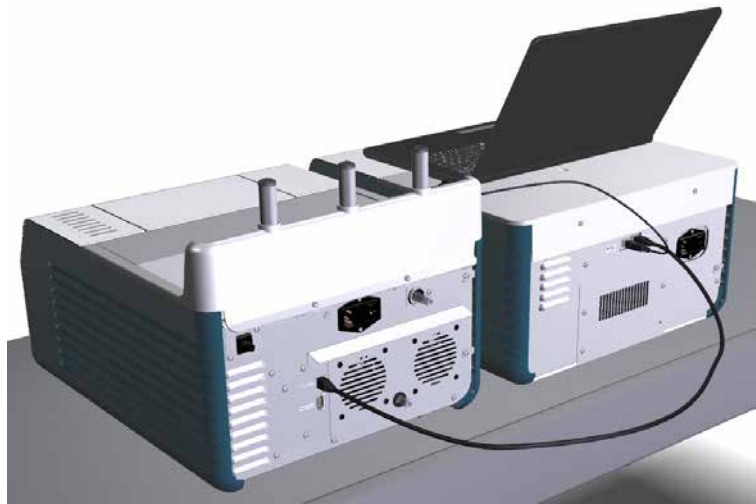
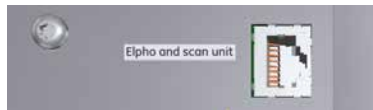
- | | |
|---|--|
| 1 | Collegare il computer al gruppo Elpho & scan (contatto: Computer) usando il cavo USB in dotazione. |
|---|--|



Nota:

Si consiglia di disattivare la funzione "sleep mode" (modalità sospensione) del computer o di impostarla su 3 ore, quando è collegato all'Amersham WB analyzer. In modalità sospensione (sleep mode) la connessione all'accesso remoto dello strumento viene interrotta; di conseguenza lo stato di esecuzione non verrà caricato finché il computer non sarà di nuovo attivo.

- | | |
|---|--|
| 2 | Collegare l'Elpho & scan unit (contact: Western unit) alla Western unit (contatto: Elpho and scan unit) per mezzo del cavo Ethernet fornito. |
|---|--|



Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 3 | Collegare i cavi di alimentazione ai relativi connettori dei gruppi. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 4 | Collegare i cavi di alimentazione ad una presa a muro collegata a terra.
Per le informazioni su tensione e frequenza, vedere <i>Sezione 7.1 Specifiche del sistema</i> , a pagina 216. |
|---|---|

Nota: *Non accendere l'interruttore di alimentazione di rete prima che tutti i collegamenti siano stati effettuati.*

Montare le torrette portatubi del gruppo Western

Le torrette portatubi per la tubazione del gruppo Western non sono preinstallate nella confezione fornita e devono pertanto essere montate dall'utente.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 1 | Aprire il sacchetto di plastica contenente le torrette e la tubazione. |
|---|--|

Passo Operazione

- 2
- Premere in basso ciascuna torretta nell'apposita sede e ruotarla in senso orario fino ad avvertire un clic di inserimento.

La tubazione deve essere installata nel modo seguente:

Posizione delle torrette (vista frontale dello strumento)	Tubazione
Sinistra	T buffer e T water
Centro	P water, P block e P wash
Destra	P Final wash e P Custom

Nota:
Quando si montano le torrette, fare attenzione a non togliere nessuna delle etichette della tubazione.



Fissare i supporti tubazione

Per compensare le tensioni che si creano quando la tubazione viene messa nei flaconi ed evitare che questi ultimi cadano al diminuire del livello del liquido, si devono fissare supporti a tutta la tubazione.

Nota: *I supporti tubazione devono essere montati su tutta la tubazione prima di fissare i filtri d'ingresso.*

Passo	Operazione
1	Inserire una tubazione nel foro del supporto.
2	Continuare ad inserire l'estremità aperta della tubazione nella fessura del supporto.

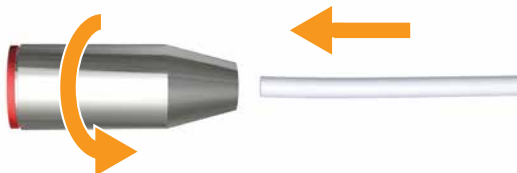
Nota:

Assicurarsi che le etichette siano ancora perfettamente applicate alla tubazione. Non è necessario che ci sia un'etichetta all'interno del supporto tubazione.



Fissare i filtri d'ingresso alla tubazione

Inserire la tubazione nel supporto tubazione con il filtro d'ingresso e ruotare il portafiltro per fissare la tubazione.



Posizionare la tubazione di scarico e di troppo pieno



ATTENZIONE

La tubazione di scarico e di troppo pieno deve essere correttamente fissata per evitare il rischio che la tubazione fuoriesca dal contenitore di smaltimento.

Posizionare la tubazione di scarico e di troppo pieno in modo tale che le uscite siano più in basso del banco sul quale l'Amersham WB analyzer è collocato. Tagliare la tubazione ad una lunghezza adeguata e fissarla per evitare il rischio che la tubazione fuoriesca dal contenitore di smaltimento.

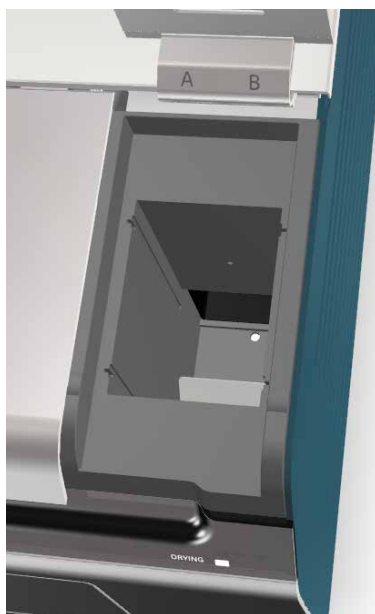


Installare le guide di asciugatura membrana nello scomparto di asciugatura

Passo	Operazione
1	Aprire il sacchetto di plastica con le due guide di asciugatura membrana.

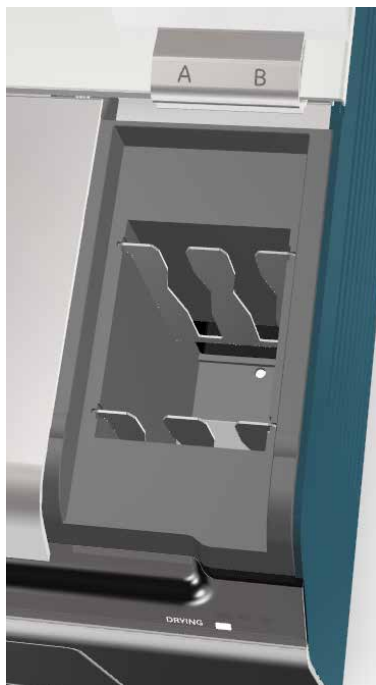


- 2 Aprire il coperchio dello scomparto di asciugatura.

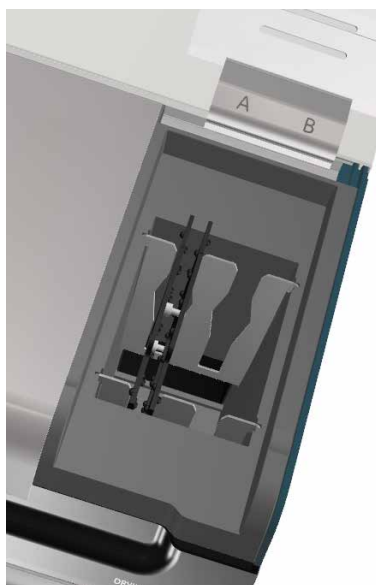


Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 3 | Inserire le guide di asciugatura membrana nelle due fessure. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 4 | Conservare i supporti di asciugatura nello scomparto di asciugatura. |
|---|--|



Installare un lettore di tag della matrice (opzionale)

Passo	Operazione
1	Collegare il cavo USB al lettore di tag della matrice.
2	Collegare il cavo USB al computer.
3	Programmare e verificare il funzionamento del lettore di tag della matrice dati come riportato nella relativa documentazione d'uso.

4.3 Installazione software

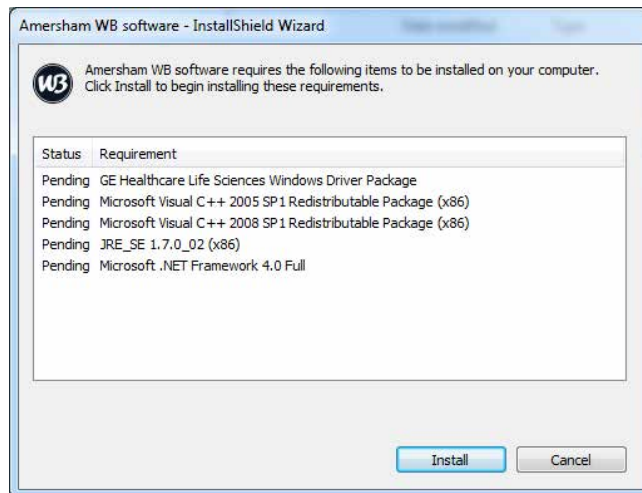
Installare l'Amersham WB software

Per installare il software sul computer con Windows 7 Professional:

Nota: *Si consiglia di installare eventuali aggiornamenti Windows in sospeso prima di installare il software e poi seguire le istruzioni dei prompt. Si raccomanda di completare l'intera procedura d'installazione (senza interruzioni) dopo aver cliccato su **Install**.*

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Inserire il DVD del software nel computer.
Quando appare la prima finestra di dialogo della procedura guidata, cliccare su Install per installare i requisiti software. |
|---|---|



Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 2 | Quando appare la finestra di dialogo Windows Security , cliccare sul pulsante Install . |
|---|---|

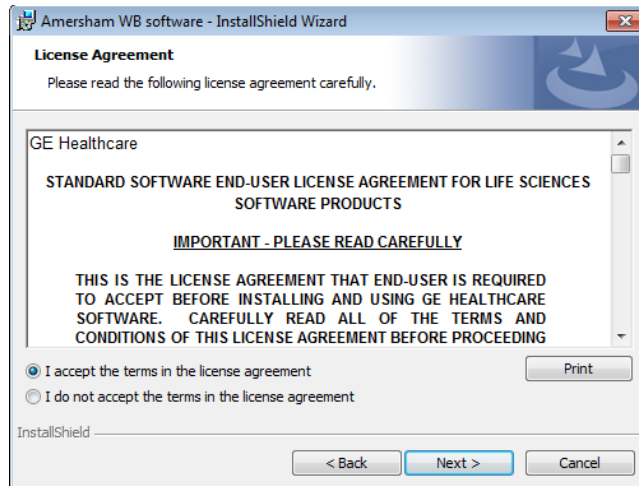


- | | |
|---|---|
| 3 | Una volta installati tutti i requisiti, avviare l'installazione del software cliccando su Next nella finestra di dialogo Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software . |
|---|---|

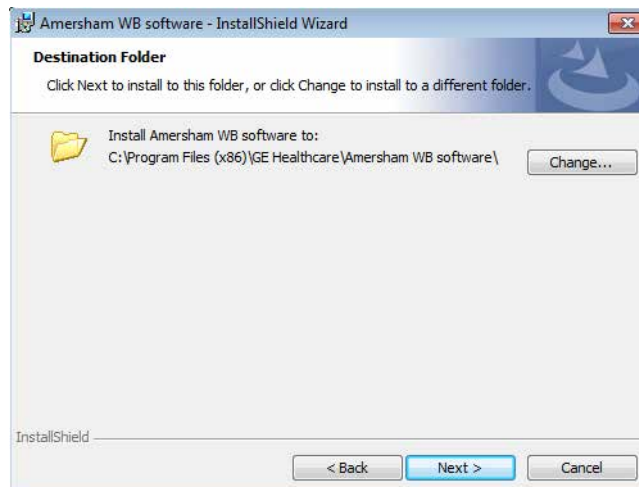


Passo Operazione

- 4 Leggere il contratto di licenza del software. Dopo aver letto ed accettato il contratto di licenza, selezionare l'opzione **I accept....** e cliccare su **Next**.

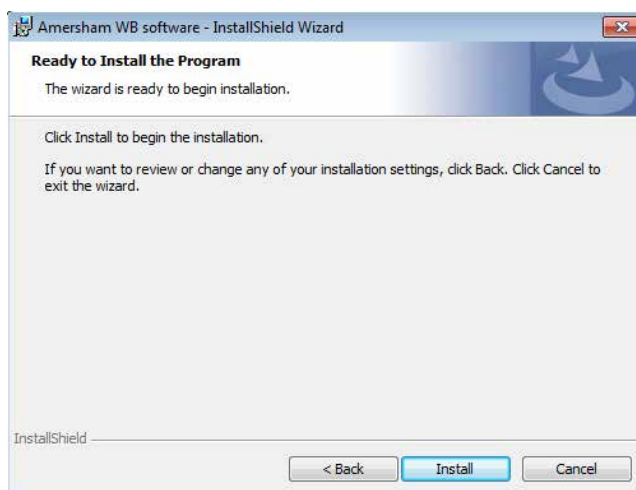


- 5
 - Per cambiare la directory di default (sconsigliata), cliccare su **Change** e portarsi nella directory desiderata.
 - Fare clic su **Next**

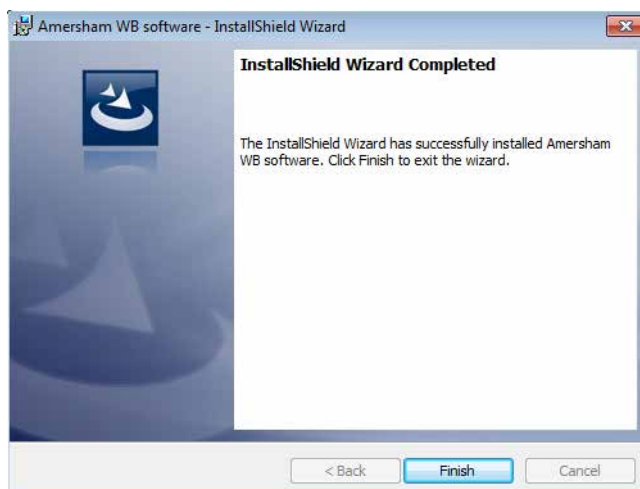


Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 6 | <ul style="list-style-type: none">• Per riesaminare o modificare le impostazioni di installazione, fare clic su Back.• Per iniziare l'installazione, fare clic su Install. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 7 | Fare clic su Finish per uscire dalla procedura guidata di installazione. |
|---|---|



Controllare la comunicazione dello strumento

Passo	Operazione
1	Accendere il computer, il gruppo Elpho & scan e il gruppo Western.
2	Avviare l'Amersham WB software. <i>Risultato:</i> il software visualizza la comunicazione stabilita con i gruppi strumento. Se la comunicazione non è stata stabilita: • I collegamenti dei cavi o del cavo di alimentazione potrebbero essere errati: Controllare tutta l'installazione dell'hardware. • La routine del driver USB potrebbe non essere corretta: Sostituire la porta USB del computer.

5 Esecuzione di un esperimento

Informazioni sul capitolo

Questo capitolo fornisce una panoramica dei due principali tipi di esperimenti che si possono eseguire tramite l'Amersham WB system. Esso descrive inoltre la procedura da seguire per l'esperimento **Western with total protein normalization**.

Precauzioni



ATTENZIONE

Indossare sempre i guanti, indumenti e occhiali protettivi durante l'uso e la manutenzione di Amersham WB analyzer.

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
5.1 Generalità	116
5.2 Avviare l'Amersham WB analyzer	120
5.3 Impostare un esperimento col software	122
5.4 Eseguire la pre-etichettatura dei campioni	126
5.5 Preparazione di Amersham WB molecular weight markers	130
5.6 Eseguire l'elettroforesi delle proteine	132
5.7 Eseguire il trasferimento	144
5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura	169
5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati	185

5.1 Generalità

Introduzione

Questa sezione fornisce una panoramica dei due tipi principali di esperimenti che si possono eseguire:

- esperimenti di elettroforesi
- esperimenti Western (comprende l'elettroforesi delle proteine)

La presente sezione descrive anche la procedura di lavoro di un tipico esperimento (descritta nelle successive sezioni), illustrato con il tipo di esperimento **Western with total protein normalization**.

Esperimenti di elettroforesi

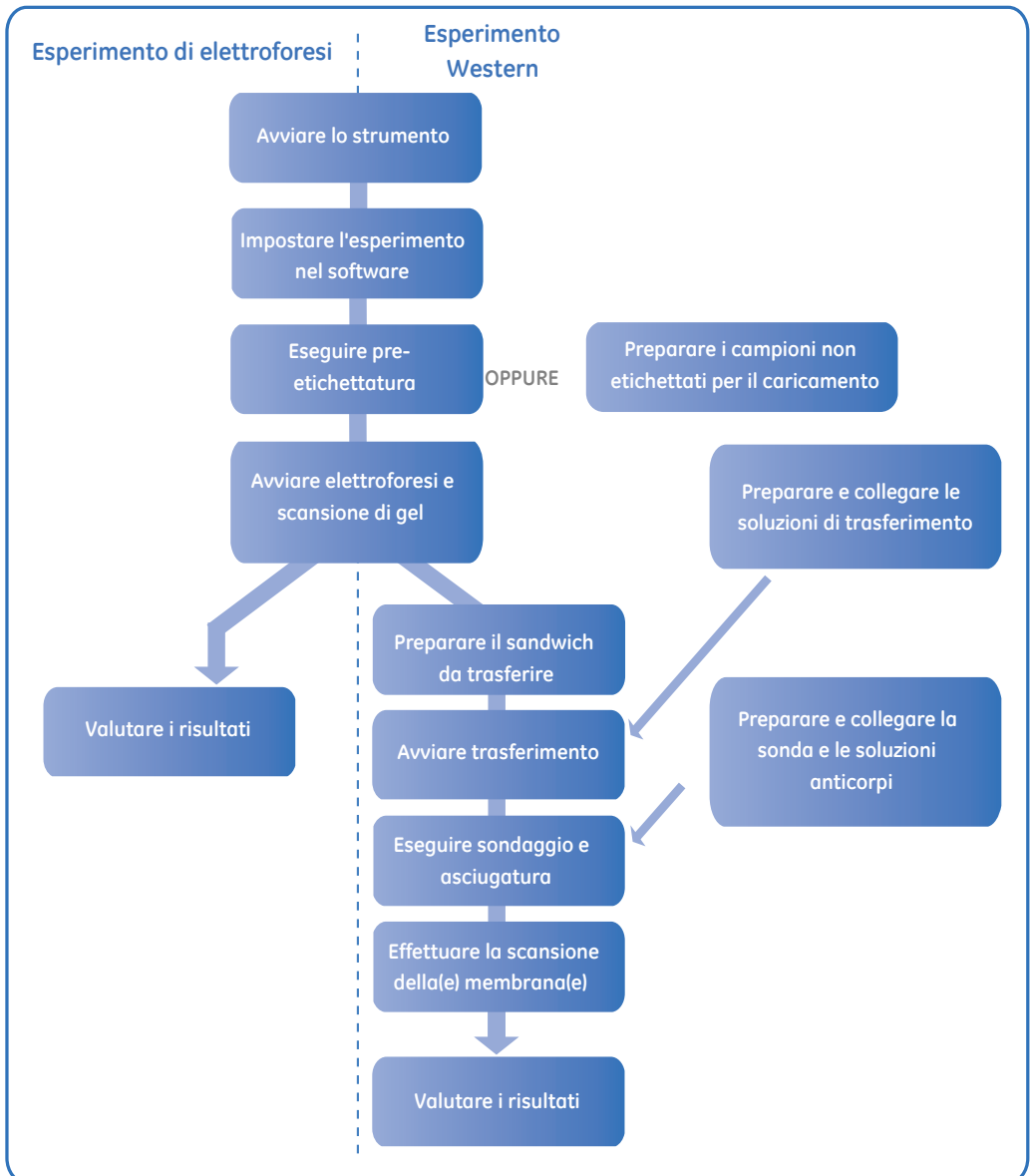
Negli esperimenti di elettroforesi, i campioni sono pre-etichettati con liquido reagente colorante Cy5 prima dell'elettroforesi stessa. Ciò consente il rilevamento diretto di proteine pre-etichettate nel campione, eliminando così la necessità di post-macchiatura del gel. In fase di Valutazione, al termine della scansione del gel, viene eseguita un'analisi automatica delle bande di proteine e i risultati sono quindi presentati nel software.

Esperimenti Western

Esperimento Negli esperimenti Western, le proteine non etichettate o pre-etichettate Cy5 sono separate nel gel durante l'elettroforesi e trasferite dal gel ad una membrana. La membrana viene sondata con anticorpi primari e poi anticorpi secondari coniugati a colorante Cy3 o Cy5 per il rilevamento di proteine target. Per il rilevamento delle proteine totali, il campione viene pre-etichettato con Cy5. Al termine del sondaggio, la membrana viene asciugata e quindi sottoposta a scansione. In fase di Valutazione, viene eseguita un'analisi automatica delle bande di proteine e i risultati sono presentati nel software.

Descrizione generale della procedura di lavoro

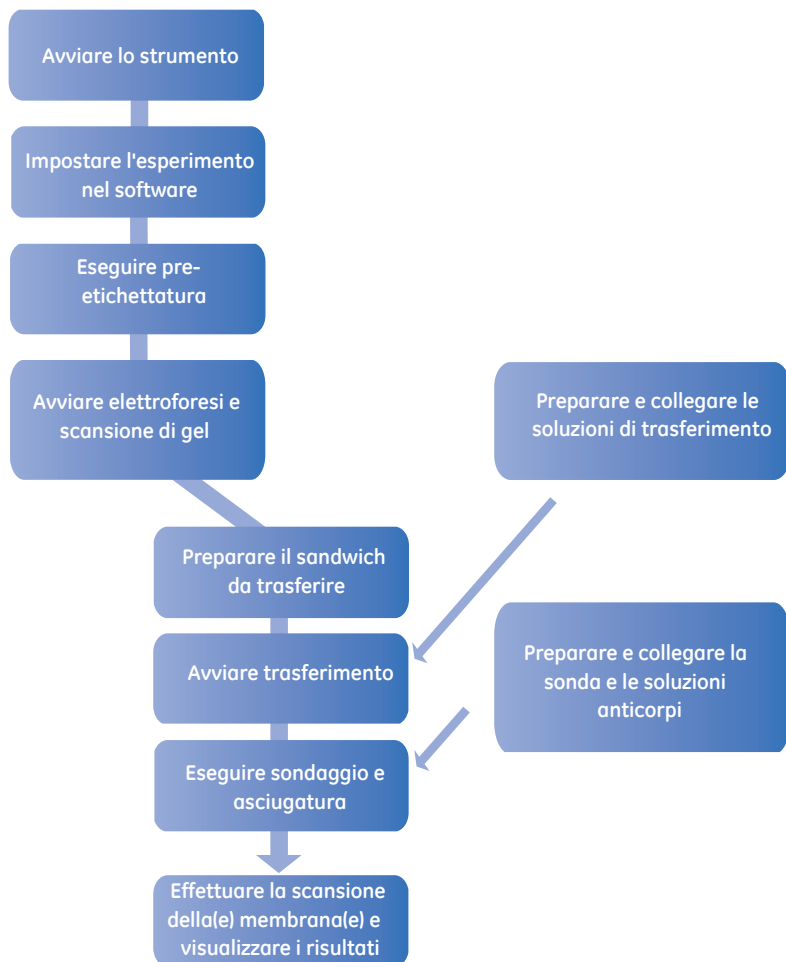
L'illustrazione seguente mostra le fasi principali per lo svolgimento dell'elettroforesi e degli esperimenti Western.



Procedura di lavoro – Western con normalizzazione delle proteine totali

L'immagine seguente mostra le fasi principali del tipo di esperimento **Western with total protein normalization**. Questa procedura è utilizzata per spiegare come eseguire un esperimento tipico e che è poi ulteriormente descritta nelle successive sezioni. Per altri tipi di esperimenti, vedere l'Amersham WB system User Manual.

Esperimento Western - Western con normalizzazione delle proteine totali



La seguente tabella elenca le sezioni nelle quali sono descritte le fasi di lavoro.

Passo	Vedere...
Avviare lo strumento	<i>Sezione 5.2 Avviare l'Amersham WB analyzer, a pagina 120</i>
Impostare un esperimento col software	<i>Sezione 5.3 Impostare un esperimento col software, a pagina 122</i>
Eseguire pre-etichettatura	<i>Sezione 5.4 Eseguire la pre-etichettatura dei campioni, a pagina 126</i>
Avviare elettroforesi e scansione	<i>Sezione 5.6 Eseguire l'elettroforesi delle proteine, a pagina 132</i>
Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento	<i>Sezione 5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento, a pagina 145</i>
• Preparare il sandwich da trasferire • Avviare trasferimento	<i>Sezione 5.7 Eseguire il trasferimento, a pagina 144</i>
Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi	<i>Sezione 5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi, a pagina 170</i>
Eseguire il sondaggio e l'asciugatura	<i>Sezione 5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura, a pagina 169</i>
Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati	<i>Sezione 5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati, a pagina 185</i>

Trovare maggiori informazioni

Per informazioni di supporto e informazioni dettagliate su come pianificare gli esperimenti, fare riferimento a *Amersham WB system User Manual*. Ad esso si può accedere dal software selezionando **Help:View user manual** nella barra dei menu.

Per informazioni dettagliate sul software, vedere *Amersham WB software help* integrata in esso (accessibile dal pannello destro del software).

5.2 Avviare l'Amersham WB analyzer

Introduzione

Questa sezione descrive come avviare i gruppi Amersham WB analyzer. È possibile impostare un esperimento in anticipo su un computer in ufficio senza nessun collegamento con lo strumento.

Nota: *I due gruppi strumento devono sempre essere accesi durante un ciclo.*

Avviare il gruppo Amersham WB elpho & scan

Passo	Operazione
1	Sul pannello posteriore del gruppo Elpho & scan, premere l'interruttore di alimentazione di rete in posizione I (ON). 
	<i>Risultato:</i> Il gruppo Elpho & scan entra in funzione.
2	Durante l'avvio, il pannello indicatori indica quanto segue: ELPHO & SCAN Quando lo strumento è pronto per l'uso viene visualizzato un rettangolo bianco. ELPHO & SCAN 

Avviare il gruppo Amersham WB western

Passo	Operazione
1	Gruppo Sul pannello posteriore del gruppo Western, premere l'interruttore di alimentazione di rete in posizione I (ON).

Nota:
Il gruppo Elpho & scan deve essere acceso prima che sia possibile avviare il gruppo Western.



Risultato: Il gruppo Western entra in funzione.

2	Durante l'avvio, il pannello indicatori indica quanto segue:
---	--



Quando gli scomparti del gruppo Western sono pronti per l'uso, viene visualizzato un rettangolo bianco per ognuno dei tre scomparti (trasferimento, sondaggio e asciugatura).



5.3 Impostare un esperimento col software

Introduzione

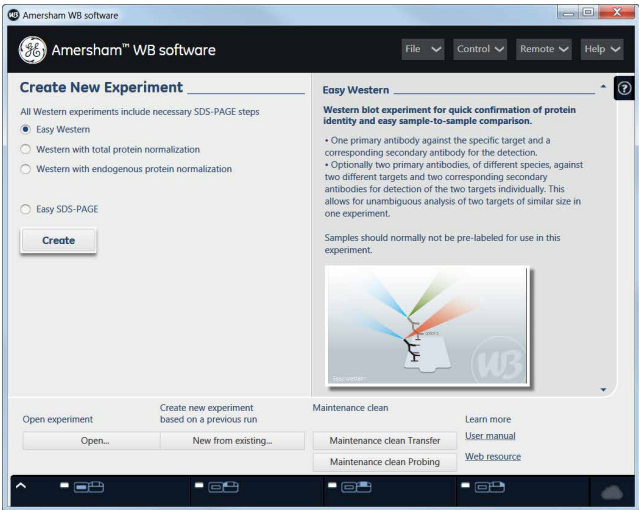
Questa sezione descrive come avviare l'Amersham WB software e impostare un esperimento Amersham WB nel software. Per ulteriori informazioni, vedere l'Amersham WB software Help nel pannello di destra del software.

Avviare il software

Passo	Operazione
1	Avviare il computer e collegarsi a Microsoft Windows.
2	Fare du volte clic sull'icona Amersham WB software presente sul desktop,



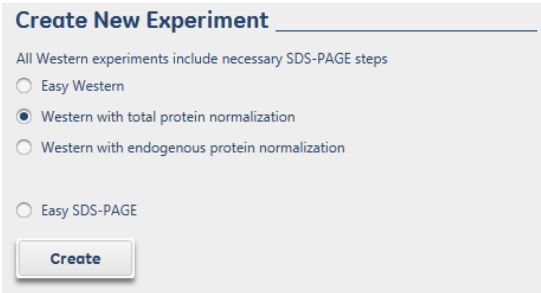
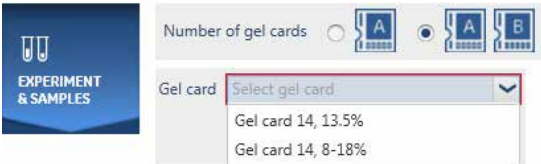
Risultato: Viene visualizzata la schermata iniziale del software.



Suggerimento: Per visualizzare il pannello di help con le istruzioni di guida per la schermata attiva, fare clic sul pulsante del pannello di help  o premere **F1**.

Per aprire il manuale d'uso, selezionare **Help:View user manual** o premere **Ctrl + F1**.

Creare e impostare un esperimento

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1	 Create New Experiment All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps ☐ Easy Western ☒ Western with total protein normalization ☐ Western with endogenous protein normalization ☐ Easy SDS-PAGE Create	Selezionare il tipo di esperimento e fare clic su Create. In questo esempio, Western with total protein normalization. <i>Risultato:</i> La schermata principale del software si apre mostrando la fase della procedura di lavoro EXPERIMENT & SAMPLES. Per informazioni generali sulla schermata principale, vedere Sezione 3.9 <i>Descrizione generale del software</i>, a pagina 88.
2	 EXPERIMENT & SAMPLES Number of gel cards: ☐ A ☒ B ☐ C Gel card: Select gel card Gel card 14, 13.5% Gel card 14, 8-18%	- Scegliere il numero di schede gel per l'esperimento. - Scegliere il tipo di scheda gel. Vedere <i>Risoluzione della separazione delle proteine</i>, a pagina 70 per le informazioni sugli intervalli di separazione delle proteine. <i>Risultato:</i> La tabella Gel card A e le opzioni nell'area Antibodies for Membrane A sono attivate.

Passo

Illustrazione della fase

Azioni dell'operatore

3

Gel card A

Gel card B

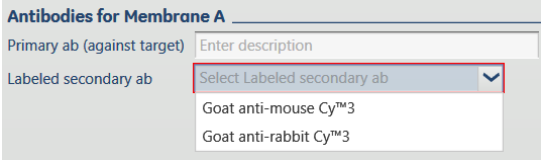
Type	Sample ID	Amount	Comments
1 Blank			
2 Amersham™ WB MW Markers			
3 Sample			
4 Sample			
5 Sample			
6 Sample			
7 Sample			
8 Sample			
9 Sample			
10 Sample			
11 Sample			
12 Sample			
13 Sample			
14 Sample			
15 Amersham™ WB MW Markers			
16 Blank			

Inserire le informazioni del campione e i commenti nella tabella **Gel card A** (opzionale).

Vedere Sezione 3.6.1 *Amersham WB molecular weight markers*, a pagina 68 per le informazioni sui marker MW ed il calcolo automatico della curva di calibrazione del peso molecolare.

Suggerimento:

Durante l'elettroforesi, la tabella dei campioni è accessibile. Pertanto è possibile compilare la tabella durante la fase di elettroforesi, dopo aver avviato il ciclo, se si ha fretta di avviarne uno.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
4		Inserire il nome/descrizione del Primary ab (against target) (opzionale) e selezionare l'appropriato Labeled secondary ab nella scheda opzione Gel card A. In questo protocollo per la pre-etichettatura è stato usato il Cy5. Scegliere un anticorpo secondario coniugato a Cy3. Ripetere le operazioni 3-4 per la scheda gel B, se compresa nell'esperimento. Suggerimento: È possibile stampare il protocollo e utilizzarlo congiuntamente alla preparazione e alla pre-etichettatura di campioni. Per stampare il protocollo fare clic sull'icona  a destra delle schede di opzione della scheda gel o premere Ctrl + P.

5.4 Eseguire la pre-etichettatura dei campioni

Introduzione

Quando si eseguono esperimenti di elettroforesi, è richiesta la pre-etichettatura dei campioni per il rilevamento. È richiesta anche negli esperimenti Western, quando si rilevano le proteine totali su una membrana.

La presente sezione descrive:

- prerequisiti per la pre-etichettatura
- materiali richiesti per la pre-etichettatura
- preparativi prima di cominciare la pre-etichettatura
- etichettatura di campioni (protocollo di pre-etichettatura)

In questo esempio, viene eseguita la pre-etichettatura di campioni di lisi di cellule/tessuti da utilizzare in un esperimento **Western with total protein normalization**. Per ulteriori informazioni sulla pre-etichettatura, vedere *Amersham WB system User Manual*.

Precauzioni



AVVERTENZA

Quando si lavora con la pre-etichettatura di campioni di proteine:

- Indossare sempre guanti, indumenti e occhiali protettivi.
- Leggere la Scheda Tecnica di Sicurezza (SDS/MSDS) prima di eseguire la pre-etichettatura di campioni.



ATTENZIONE

Una volta eseguita la pre-etichettatura di proteine in campioni, si può sprigionare un forte odore dalle tracce di solfuro di dimetile (DMS) e di dimetilsolfossido (DMSO). Può rendersi necessaria un'aerazione locale. Seguire le istruzioni e le normative locali per un funzionamento sicuro.

Nota:

Per ottenere efficienze di etichettatura comparabili, importanti parametri come pH, volume di reazione, temperatura e sali tampone devono rimanere invariati.

Le efficienze di etichettatura variano anche da proteina a proteina.

Prerequisiti per la pre-etichettatura dei campioni tramite il protocollo Western

Tamponi di lisi compatibili

I tamponi di lisi comuni a base tris, con pH da 7 a 9 e con vari detergenti e sali, sono compatibili con la pre-etichettatura di campioni di cellule/tessuti, per esempio:

- Tampone GE per estrazione di proteine di mammiferi
- Tampone RIPA

pH del campione

Il pH del campione deve essere compreso tra 7 e 9.

Il pH ottimale non è un punto critico per i lisati cellulari o gli estratti di tessuto, dato che non è richiesta un'elevata sensibilità per il segnale delle proteine totali. Il segnale delle proteine totali in un esperimento Western con normalizzazione delle proteine totali deve essere proporzionale alla quantità di proteine (e non dipendere dall'alta sensibilità).

Soluzioni e materiali richiesti

Per la pre-etichettatura delle proteine sono richieste le seguenti soluzioni e materiali:

- Materiali di consumo per la pre-etichettatura: reagente colorante Cy5, tampone di etichettatura, tampone di caricamento
 - 1 M DTT (ditiotreitolo) di soluzione stock (DTT ed acqua purissima) se viene eseguita la riduzione SDS-PAGE
 - Acqua purissima per la diluizione del reagente colorante Cy5
 - Tampone di lisi originale per regolare il volume di reazione (solo per esperimenti Western)
 - provette microfughe da 0,5 ml
 - blocco riscaldante
 - agitatore
 - centrifuga
-

Preparativi prima della pre-etichettatura

Passo	Operazione
1	• Togliere una delle seguenti fiale (sufficiente per l'utilizzo di due schede di gel) dal congelatore: - 1 fiala Amersham WB Cy5 - 1 fiala Amersham WB loading buffer • Scongellare completamente i componenti di pre-etichettatura. • Portare la fiala Cy5 a temperatura ambiente prima dell'apertura per evitare la formazione di condensa.
2	Centrifugare brevemente il liquido reagente colorante Cy5 per mezzo di una centrifuga.
3	Portare la temperatura del blocco riscaldante a 95°C.
4	Per ridurre l'SDS-PAGE, aggiungere una sostanza riducente al tampone di caricamento: • Aggiungere 29 µl 1 M DTT di soluzione stock a 0,7 ml (una fiala) di tampone di caricamento, e agitare per miscelare.

Eseguire la pre-etichettatura di campioni (protocollo Western)

Suggerimento: Il protocollo che segue può essere aumentato progressivamente.

Passo	Operazione
1	Eseguire la reazione di etichettatura in una provetta microfuga da 0,5 ml: • Aggiungere 2-19 µl di campione di lisato cellulare o estratto di tessuto (max 40 µg di proteine totali) e riempire fino ad un volume di 19 µl servendosi del tampone di lisi del campione originale. • Aggiungere 1 µl di colorante reagente Cy5 diluito nel rapporto 1:10 in acqua purissima. Nota: <i>Il colorante diluito deve essere appena preparato ed usato entro 30 minuti. Non può essere congelato e riutilizzato.</i> • Agitare brevemente fino a miscelatura completa.
2	Incubare a temperatura ambiente per 30 minuti. Nota: <i>Accertarsi che il tempo di etichettatura ed il volume siano uguali per tutti i campioni.</i> <i>Per i campioni sensibili alla temperatura, incubare su ghiaccio per 30 minuti.</i>
3	Aggiungere 20 µl di tampone di caricamento.
4	Scaldare i campioni a 95°C per 3 minuti.
5	Centrifugare i campioni. Il volume totale di campione è di 40 µl per reazione (volume di carico consigliato: 20 µl). Procedere al caricamento dei campioni, come descritto in <i>Preparativi prima di cominciare l'elettroforesi</i>, a pagina 133. Se l'esame di elettroforesi viene eseguito in un secondo momento, conservare i campioni pre-etichettati a -20°C.

5.5 Preparazione di Amersham WB molecular weight markers

Introduzione

Togliere una fiala di Amersham WB molecular weight markers (marcatori del peso molecolare) (sufficiente per l'utilizzo di due schede di gel) dal congelatore e scongelarla completamente.

Esperimenti Western

In esperimenti il Western, Amersham WB molecular weight markers deve essere diluito nel rapporto 1:20 in tampone di caricamento prima del caricamento sulla scheda gel. Prima dell'uso, il tampone di caricamento fornito deve essere diluito in acqua purissima e contenere un'aggiunta di DTT.

Passo	Operazione
1	Aggiungere 29 µl di soluzione stock 1 M DTT a 0,7 ml (una fiala) di tampone di caricamento. Agitare per miscelare.
2	Diluire il tampone di caricamento che contiene DTT con un pari quantità di acqua purissima. Agitare per miscelare.
3	Diluire i marcatori del peso molecolare nel rapporto 1:20 con il tampone di caricamento preparato.

Nota: *I marcatori del peso molecolare possono essere ulteriormente diluiti nel tampone di caricamento preparato per far corrispondere i campioni con segnali deboli. Tuttavia, è necessario selezionare l'opzione **Stop electrophoresis on time**.*

Esperimenti di elettroforesi

Negli esperimenti di elettroforesi, generalmente non è necessaria la diluizione di Amersham WB molecular weight markers. Se necessario, diluire i marcatori del peso molecolare con tampone di caricamento contenente DTT (diluito con un pari quantità di acqua purissima).

Replicati

Si consiglia di includere due piste di marcatore nel ciclo, così da ottenere i migliori risultati possibili nella calibrazione automatica del peso molecolare di proteine campione durante la fase di valutazione.

5.6 Eseguire l'elettroforesi delle proteine

Introduzione

Questa sezione descrive come realizzare l'elettroforesi delle proteine. Descrive inoltre:

- preparazioni prima di cominciare l'elettroforesi
 - esecuzione della pulizia pozzetto campione
 - avvio e monitoraggio elettroforesi e scansione delle schede di gel
 - procedure al termine dell'elettroforesi e della scansione delle schede di gel
-

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
5.6.1 Prima dell'elettroforesi	133
5.6.2 Avviare l'elettroforesi	140
5.6.3 Procedure post elettroforesi e scansione delle schede di gel	142

5.6.1 Prima dell'elettroforesi

Introduzione

La presente sezione descrive come caricare le strisce tampone, la scheda gel, gli Amersham WB molecular weight markers preparati e i campioni per il ciclo di elettroforesi.

Preparativi prima di cominciare l'elettroforesi



AVVERTENZA

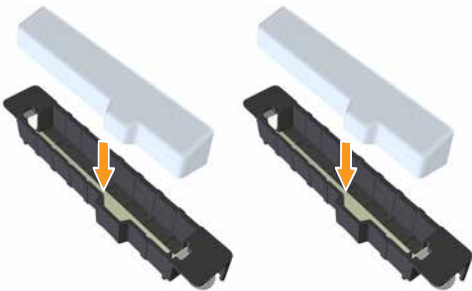
Esplosione vetro. Non mettere in funzione il sistema se il vetro del coperchio di sigillatura del gruppo Elpho & scan è graffiato o rotto. Spegnerlo lo strumento, scollegare il cavo di alimentazione e contattare un tecnico di assistenza autorizzato.



ATTENZIONE

Parti in movimento. Fare attenzione quando si apre/chiude il caricatore per evitare che le dita o gli indumenti restino impigliati quando il caricatore si muove.

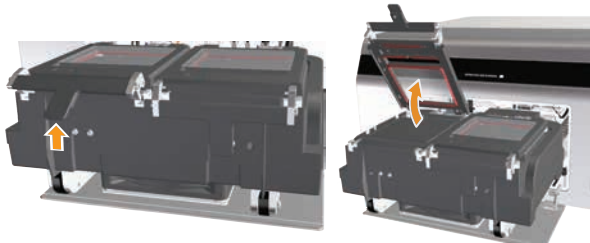
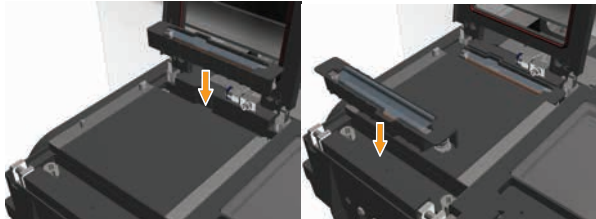
Non mettere mai flaconi o fiale davanti al gruppo Elpho & scan. Quando si apre il caricatore possono cadere.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Inserire le strisce tampone nei portastrisce tampone togliendo due strisce tampone dalla loro confezione e mettendole direttamente sui portastrisce. Nota: <i>Per evitare la contaminazione delle strisce tampone, non toccarle oppure usare guanti puliti.</i>

5 Esecuzione di un esperimento

5.6 Eseguire l'elettroforesi delle proteine

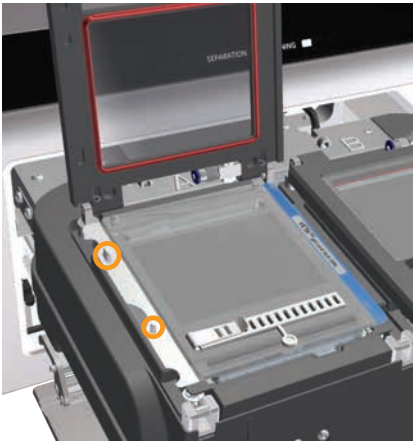
5.6.1 Prima dell'elettroforesi

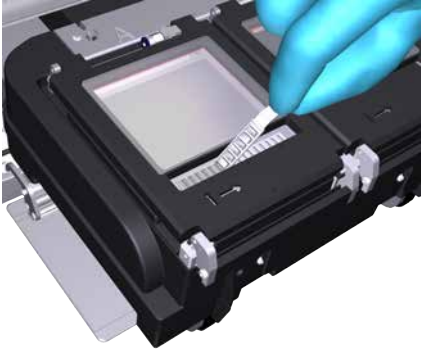
Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
2		Gruppo Premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan. <i>Risultato:</i> Il caricatore è espulso.
3		Aprire il coperchio di sigillatura usando il dispositivo di chiusura.
4		Inserire i portastrisce tampone nelle cavità della piastra portasciada del caricatore.

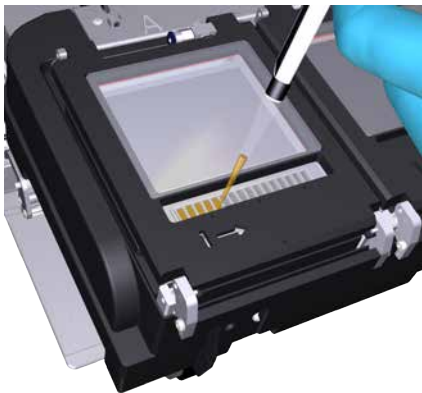
Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore									
5	 Gel Cards <table> <tr> <td>Gel card</td><td>Position A</td><td>Position B</td></tr> <tr> <td>ID</td><td> Enter ID </td><td> Enter ID </td></tr> <tr> <td>Note</td><td> Write note </td><td> Write note </td></tr> </table>	Gel card	Position A	Position B	ID	Enter ID	Enter ID	Note	Write note	Write note	- Togliere una scheda di gel dalla propria confezione (con lato anteriore rivolto verso l'alto). <i>Opzionale:</i> Posizionare il cursore nel campo ID del software in corrispondenza del passaggio della procedura di lavoro ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING del software e eseguire la scansione dei tag della matrice dati sulle schede di gel (indicato con un cerchio arancione) servendosi del lettore di tag della matrice. In alternativa, digitare le cinque cifre dell'ID (p.es., 00123).
Gel card	Position A	Position B									
ID	Enter ID	Enter ID									
Note	Write note	Write note									

5 Esecuzione di un esperimento
5.6 Eseguire l'elettroforesi delle proteine
5.6.1 Prima dell'elettroforesi

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
6		• Girare la scheda di gel di modo che il lato inverso sia rivolto verso l'alto (maniglie gel blu senza etichette rivolte in alto). • Afferrare l'estremità della pellicola protettiva nella parte inferiore della scheda gel e toglierla con cura. • Afferrare l'estremità della pellicola protettiva nella parte superiore della scheda gel e toglierla con cura. Rimuovendo le pellicole protettive, si stabilisce un contatto tra il gel e il tampone allorché si mette la scheda gel sulla piastra port scheda. Fare attenzione a non toccare le superfici di gel scoperte.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
7		- Girare la scheda di gel di modo che il lato anteriore sia rivolto verso l'alto (cioè, copertura del pozzetto campione rivolta in alto). Nota: <i>Assicurarsi che la piastra portascheda sia completamente asciutta.</i> - Mettere la scheda gel sulla piastra portascheda allineando i fori del telaio scheda gel con i perni di guida contrassegnati con cerchi arancioni. Nota: <i>Fare attenzione a non graffiare la piastra portascheda con oggetti affilati.</i>

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
8		• Chiudere il coperchio di sigillatura. • Afferrare l'estremità della copertura pozzetto campione e toglierla con cura. Suggerimento: <i>Cambiare impugnatura quando si toglie la copertura pozzetto campione per poter mantenere il più possibile la vicinanza con i pozzetti.</i> Nota: <i>Se la copertura pozzetto campione si rompe: Lasciare la scheda gel nel caricatore con il coperchio di sigillatura chiuso. Utilizzare per esempio delle pinzette per rimuovere il resto della copertura pozzetto.</i>

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
9		Caricare i campioni, il tampone di caricamento e/o i Marker del peso molecolare nei pozzetti (generalmente 20 µl/pozzetto) come indicato nella schermata EXPERIMENT & SAMPLES del software. Nota: <i>Non aprire mai il coperchio dopo aver caricato i campioni.</i> Nota: <i>Tutti i pozzetti devono essere caricati con un campione, il tampone di caricamento (diluuito con un pari quantità di acqua purissima) o Marker del peso molecolare. Si consiglia di inserire il tampone di caricamento nei pozzetti 1 e 16 e il Marker del peso molecolare nei pozzetti 2 e 15.</i>
10		Gruppo Una volta caricati tutti i campioni, premere il tasto di espulsione. Risultato: Il caricatore viene inserito nel gruppo Elpho & scan.

5.6.2 Avviare l'elettroforesi

Introduzione

Questa sezione descrive come avviare e monitorare l'elettroforesi.

Avviare e monitorare l'elettroforesi e la scansione di gel

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1	 Gel Cards Gel card Position A Position B ID Enter ID Enter ID Note Write note Write note Electrophoresis Protocol Voltage limit 600 250 - 600 V Current limit 50 20 - 50 mA ☐ Pause for sample well cleanup after 5 minutes ☒ Stop electrophoresis on front detection Estimated time: 42 minutes ☐ Stop electrophoresis on time Default Gel Scanning Protocol ☒ Scan gel automatically after electrophoresis Scanning sensitivity ☒ Automatic sensitivity ☐ Manual sensitivity Default	• Nel passaggio della procedura di lavoro ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING, utilizzare le impostazioni di default per l'elettroforesi e la scansione delle schede di gel, come mostrato nella schermata. • <i>Opzionale:</i> Selezionare <i>Pause for sample well cleanup after 5 minutes</i>, se viene usato il pettine di carta. Per ulteriori informazioni, vedere <i>Sezione 3.6 Accessori e materiali di consumo per l'elettroforesi</i>, a pagina 67. Il tempo di pausa è calcolato in base alle impostazioni di tensione e corrente. Il valore di default è di 5 minuti. • <i>Opzionale:</i> Inserire una nota sulle schede gel nei campi Note.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
2	Electrophoresis Start Ready for Electrophoresis Electrophoresis Start Electrophoresis in progress Elapsed time 37 s Voltage Current Power Temp Gel A 50 mA Gel B 50 mA	Cliccare su Start nell'area Electrophoresis. Risultato: Il ciclo di elettroforesi viene avviato. La progressione del ciclo è visualizzata dalle curve che indicano corrente, tensione, effetto o temperatura. Anche il tempo trascorso del ciclo viene visualizzato. Suggerimento: Durante l'elettroforesi, c'è tempo per preparare i tamponi e le soluzioni per le procedure Western. Per ulteriori informazioni, vedere Sezione 5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento, a pagina 145 e Sezione 5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi, a pagina 170.
3	Electrophoresis Pause for sample well clean up. 1. Open the elpho & scan loader. 2. Apply the Paper comb in the sample wells for 5 seconds. 3. Close the elpho & scan loader. Press the button below to continue the electrophoresis run. Continue run 	Se si è selezionato l'opzione Pause for sample well clean-up after 5 minutes, seguire le istruzioni indicate di seguito. 1 Aprire il caricatore. 2 Mettere il pettine nei pozzetti dei campioni e tenerlo in questa posizione per circa 5 secondi. 3 Chiudere il caricatore e continuare il ciclo.

5.6.3 Procedure post elettroforesi e scansione delle schede di gel

Introduzione

La presente sezione descrive come rimuovere la scheda di gel e pulire il gruppo Elpho & scan al termine dell'elettroforesi.

Rimuovere le schede di gel



AVVERTENZA

Al termine dell'elettroforesi, o dopo il trasferimento (quando il sandwich da trasferire è stato aperto e la scheda PVDF è stata posizionata nella camera di sondaggio), smaltire il gel in modo sicuro. Leggere il foglio tecnico di sicurezza della scheda gel (SDS/MSDS) per le istruzioni di sicurezza relative allo smaltimento del gel.

Nota: Il ciclo di trasferimento deve essere avviato entro un'ora dal completamento dell'elettroforesi.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Quando l'elettroforesi è pronta e la spia bianca che indica "pronto" è accesa sul pannello strumenti, premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan.
<i>Risultato:</i> Il caricatore è espulso. |
| 2 | Aprire il coperchio di sigillatura usando il dispositivo di chiusura. |
| 3 | Rimuovere la scheda di gel e collocarla capovolta sul banco. |
| 4 | Procedere a <i>Pulire il gruppo Elpho & scan</i> , a pagina 143. |

Nota:

Si raccomanda di pulire il gruppo Elpho & scan dopo ogni ciclo. Tuttavia se il tempo non lo consente, procedere al trasferimento e pulire il gruppo in un secondo momento nel corso dell'esperimento.

Pulire il gruppo Elpho & scan

Passo	Operazione
1	Gruppo Togliere i portastrisce tampone dal supporto e gettare le strisce tampone.
2	Asciugare il liquido strofinandolo dalla piastra port scheda con un panno senza sfilacciature, se necessario inumidirlo con 50% di etanolo.
3	Eliminare il liquido e lo sporco eventualmente presenti sul vetro protettivo con un panno senza sfilacciature, se necessario inumidirlo con 50% di etanolo. Nota: <i>È importante tenere il vetro protettivo pulito per poter ottenere buoni risultati di scansione delle schede di gel e di quelle PVDF.</i>
4	Chiudere il coperchio di sigillatura e premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan. <i>Risultato:</i> Il caricatore viene inserito.
5	Pulire i portastrisce tampone usando acqua corrente per eliminare i sali e il tampone. Lasciare asciugare i portastrisce tampone all'aria capovolti.

Continua trasferimento

Procedere in uno dei seguenti modi:

- Se le soluzioni di trasferimento sono state preparate e collegate al gruppo Western, procedere con le istruzioni riportate in *Sezione 5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire, a pagina 147.*
altrimenti
- procedere con le istruzioni riportate in *Sezione 5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento, a pagina 145.*

5.7 Eseguire il trasferimento

Introduzione

Questa sezione descrive come preparare il sandwich da trasferire, come avviare e monitorare il ciclo di trasferimento e le procedure da eseguire al termine di quest'ultimo.

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento	145
5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire	147
5.7.3 Avviare trasferimento	162
5.7.4 Procedure al termine del trasferimento	166

5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento

Introduzione

Questa sezione descrive come preparare e collegare i tamponi e le soluzioni per il trasferimento.

Le soluzioni per il trasferimento possono essere preparate durante il ciclo di elettroforesi e devono essere collegate prima di cominciare il trasferimento.

Soluzioni di trasferimento ricette



AVVERTENZA

Collocare l'Amersham WB analyzer in un locale dotato di aerazione nel caso si utilizzi il metanolo o altri prodotti chimici che richiedono la ventilazione.



ATTENZIONE

Rischio d'incendio. Non usare soluzioni tampone di trasferimento con più del 40% di etanolo o del 40% di metanolo. Si raccomanda di utilizzare solo il 20% di etanolo nei tamponi di trasferimento.

Soluzione	Ricetta	Quantità/ciclo
Tampone di trasferimento	25 mM Tris, 192 mM glicina, 20% etanolo pH 8,3 Nel tampone di trasferimento è possibile usare il metanolo invece dell'etanolo. Nota: <i>Alcuni tipi di etanolo hanno proprietà autofluorescenti che determinano un elevato background della membrana. Assicurarsi che l'etanolo usato per il trasferimento non sia autofluorescente.</i>	1.000 ml
Acqua purissima (usata per la pulizia)	Acqua purissima	1.000 ml

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

5.7.1 Preparare e collegare le soluzioni di trasferimento

Collegare la tubazione al tampone di trasferimento e all'acqua purissima sul cestello dei flaconi



ATTENZIONE

Per evitare di spruzzare liquidi pericolosi, usare filtri di ingresso pesanti collegati alle tubazioni nei flaconi.

Vedere *Sezione 3.8 Altri accessori*, a pagina 86 per le descrizioni dei filtri d'ingresso e dei supporti tubazione. Vedere *Fissare i supporti tubazione*, a pagina 105 per le istruzioni su come collegare gli accessori.

Prima di cominciare il trasferimento, collegare la tubazione al tampone di trasferimento e all'acqua purissima (usata per pulire il serbatoio di trasferimento) nel modo seguente:

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 1 | Dalla torretta della tubazione di sinistra, mettere la tubazione contrassegnata T Buffer in un flacone da 1000 ml con tampone di trasferimento. |
| 2 | Mettere la tubazione contrassegnata T Water in un flacone da 1000 ml con acqua purissima. |

5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Materiali richiesti

Quando si prepara il sandwich da trasferire sono necessari i seguenti accessori e materiali di consumo:

- 1 supporto di trasferimento
- 1 scheda gel già utilizzata
- 1 Scheda PVDF
- 2 spugne
- 2 carte di trasferimento
- 1 recipiente con tampone di trasferimento per la bagnatura delle carte di trasferimento
- 1 recipiente con almeno il 96% di etanolo per la pre-bagnatura della scheda PVDF
- 1 recipiente con il tampone di trasferimento per l'equilibratura della scheda PVDF

Nota: *Alcuni tipi di etanolo hanno proprietà autofluorescenti che determinano un elevato background della membrana. Assicurarsi che l'etanolo usato per il trasferimento non sia autofluorescente.*

Precauzioni



AVVERTENZA

Indossare sempre i guanti, indumenti e occhiali protettivi quando si maneggiano schede di gel, schede PVDF e altri materiali di consumo forniti con Amersham WB system.

Immagine d'insieme del
montaggio del sandwich da
trasferire

La seguente illustrazione mostra una vista d'insieme del montaggio del sandwich da trasferire.



La seguente tabella descrive brevemente il procedimento di preparazione di un sandwich da trasferire:

Fase	Descrizione
1	La scheda PVDF viene preventivamente bagnata nell'etanolo e poi equilibrata nel tampone di trasferimento.
2	Una spugna viene messa sul fondo del supporto di trasferimento (coperchio nero).
3	Una carta di trasferimento viene preventivamente bagnata nel tampone di trasferimento e poi collocata nel supporto di trasferimento.
4	Il telaio scheda gel, compreso il gel con le proteine separate, viene tolta dal supporto del telaio e sistemata nel supporto di trasferimento.
5	La scheda PVDF è posta nel supporto di trasferimento.
6	La seconda carta di trasferimento viene preventivamente bagnata nel tampone di trasferimento e poi collocata nel supporto di trasferimento.
7	Le bolle d'aria vengono eliminate per mezzo del rullo incorporato nel supporto di trasferimento.

Fase	Descrizione
8	Una seconda spugna viene posizionata sulla carta di trasferimento.
9	Il supporto di trasferimento viene chiuso.

Preparare la scheda PVDF

Scheda Le seguenti istruzioni descrivono come predisporre la realizzazione di un sandwich da trasferire:

Passo	Operazione
-------	------------

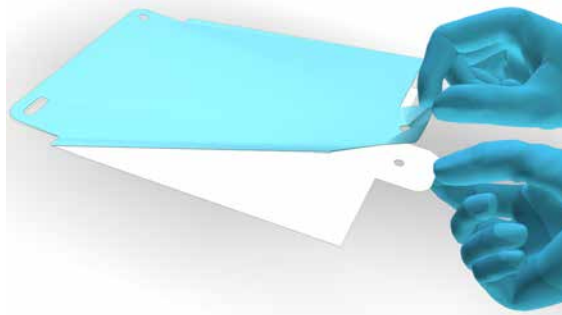
- | | |
|---|---|
| 1 | Togliere una confezione singola di scheda PVDF dalla scatola schede PVDF. |
|---|---|



Nota:

Conservare la confezione per l'ID di ogni singola scheda PVDF ed anche per una successiva conservazione.

- | | |
|---|--|
| 2 | Togliere la scheda PVDF dalla confezione e staccare la prima carta protettiva di colore blu. |
|---|--|

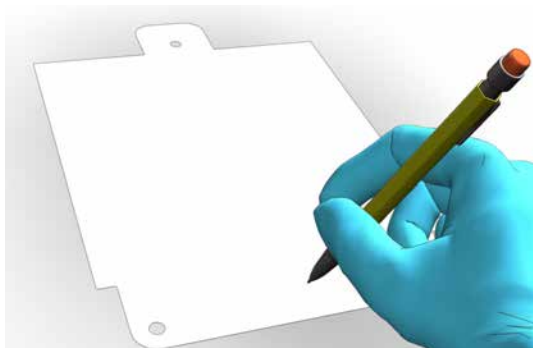


Passo Operazione**3** *Opzionale:*

- Prima di togliere la seconda carta blu, scrivere una nota (con una matita) sulla superficie di scrittura della scheda PVDF.

Suggerimento:

La superficie di scrittura può essere usata per inserire la posizione (A o B) in cui la scheda PVDF è usata.



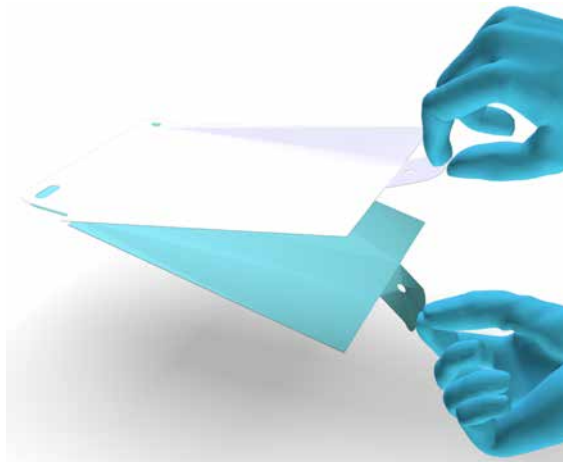
- Selezionare l'opzione **TRANSFER** nel software. Portare il cursore nell'apposito campo **Note** e digitare il testo.

Gel Cards & Membranes			
Membrane	☒ Position A	☒ Position B	
ID	Enter ID	Enter ID	
Note	Write note	Write note	

5 Esecuzione di un esperimento
5.7 Eseguire il trasferimento
5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Passo	Operazione
-------	------------

4	Togliere la seconda carta protettiva blu.
---	---



Nota:

Non toccare la zona di blotting (contrassegnata con un riquadro rosso in figura) con le dita. Tenere la scheda PVDF per le maniglie.



Passo	Operazione
-------	------------

5	<i>Opzionale:</i> Inserire le informazioni della scheda PVDF nel software.
---	---

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Selezionare la fase di lavoro TRANSFER nel software. • Nell'area Gel Cards & Membranes, portare il cursore nell'apposito campo ID. • Digitare manualmente il numero di identificazione oppure scansionare il tag della matrice dati sull'etichetta della confezione singola della scheda PVDF. |
|---|



- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Per inserire una nota sulla membrana, portare il cursore nel campo Note e digitarla. |
|---|

Suggerimento:

Digitare il numero di lotto. Non è incluso nella matrice dati ma è disponibile sull'etichetta applicata alla scatola delle schede PVDF.

Gel Cards & Membranes	
Membrane	☒ Position A ☒ Position B
ID	Enter ID Enter ID
Note	Write note Write note

6	Afferrare le manigliette della scheda PVDF e bagnare preventivamente la scheda nell'etanolo, lasciandola nel recipiente con etanolo per circa 20 secondi.
---	---

7	Spostare la scheda PVDF nel recipiente del tampone di trasferimento scheda PVDF e equilibrarla per almeno 5 minuti.
---	---

Nota:

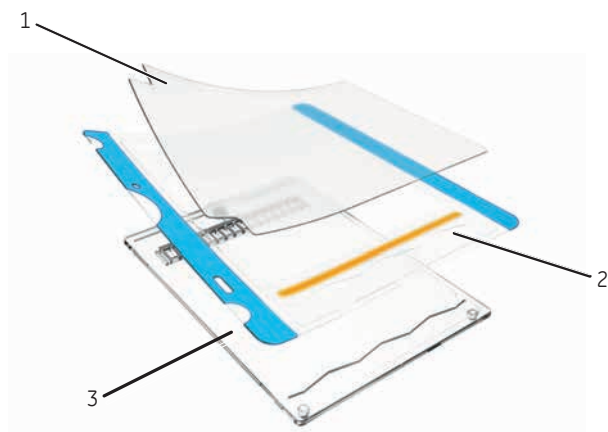
Durante tale periodo, assicurarsi che la scheda PVDF sia ricoperta di tampone di trasferimento.

Iniziare a realizzare il sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		• Posizionare il supporto di trasferimento con il lato nero rivolto verso il basso. • Aprire il supporto di trasferimento premendo i ganci di fissaggio e sollevando il coperchio bianco.
2		• Premere sul coperchio finché i perni del rullo raggiungono le due sedi (contrassegnati nell'immagine con cerchi arancioni). • Togliere il coperchio bianco sollevandolo dalle due sedi.
3		Mettere la prima spugna sul coperchio nero.
4		Bagnare preventivamente una carta di trasferimento nel tappone di trasferimento e collocarla sulla spugna sul coperchio nero (La maniglietta della carta di trasferimento deve essere posizionata tra i perni di guida).

Immagine d'insieme dello smontaggio della scheda gel

L'immagine seguente mostra una vista esplosa delle parti della scheda gel da smontare al termine del ciclo di elettroforesi.



La tabella sottostante descrive brevemente le parti della scheda gel da smontare.

Fase	Descrizione
1	Pellicola protettiva. Questa pellicola viene tolta per prima.
2	Telaio portagel I bordi del telaio portagel sono pre-allentati dal supporto del telaio portagel (3 nell'immagine) e poi rimossi con cautela.
3	Il supporto del telaio portagel si trova sul banco.

Allentare il telaio portagel dal relativo supporto e collocarlo nel supporto di trasferimento

Nota: Quando si allenta il telaio portagel, non toccare la zona del gel (contrassegnata con una X rossa).

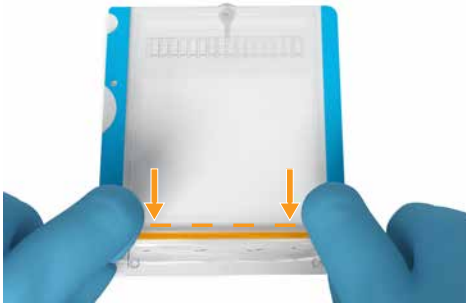


Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1	La prima illustrazione mostra una mano che tiene il telaio portagel con la pellicola protettiva ancora in parte attaccata. Una freccia arancione indica la direzione di movimento della pellicola. La seconda illustrazione mostra la mano che stacca la pellicola protettiva dal telaio, con la freccia arancione che indica la direzione diagonale di rimozione.	Tenere la scheda gel con presa ferma. Togliere la pellicola protettiva afferrando l'estremità indicata con una freccia arancione e tirandola diagonalmente nel senso della freccia.

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

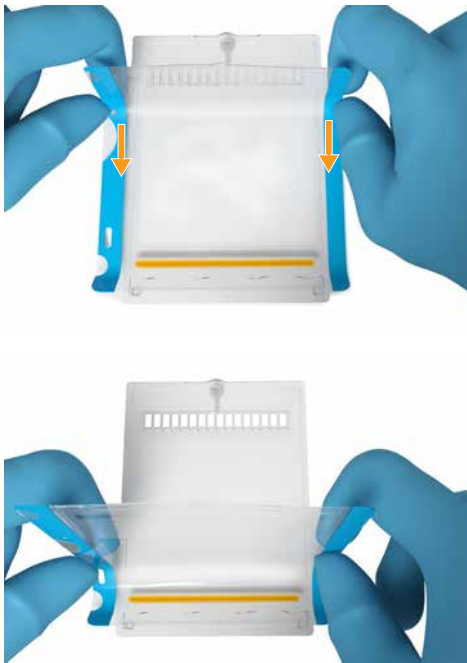
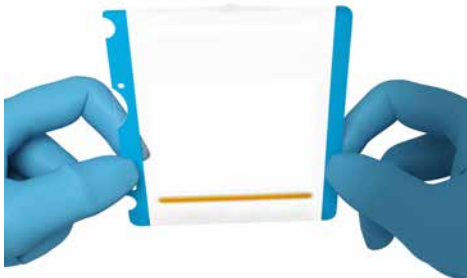
5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
2		Collocare la scheda gel sul banco (con il gel scoperto rivolto verso l'alto), come illustrato nell'immagine.
3		Afferrare gli angoli del telaio portagel inferiore e allentare il telaio portagel tra gli angoli inferiori così come indicato dalla linea tratteggiata e dalle frecce. Nota: <i>Mentre si stacca il gel, continuare a premere la scheda gel verso il banco con le dita.</i>
4		Afferrare gli angoli del telaio portagel superiore e allentare il telaio portagel come indicato dalla linea tratteggiata. Accertarsi che il telaio portagel sia completamente sganciato dal tappo di gomma bianco (indicato dalla freccia superiore arancione).

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
5		Continuare ad allentare il telaio portagel con cautela dai bordi della scheda gel in direzione dell'estremità inferiore, finché il gel non si stacca completamente. Nota: <i>Mentre si stacca il gel, continuare a premere la scheda gel verso il banco con le dita.</i> Nota: <i>Fare attenzione a non toccare il gel.</i>
6		Afferrare le maniglie del telaio portagel e sollevare con cautela il gel dal supporto del telaio.

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
7		Mettere il telaio portagel sulla carta di trasferimento facendo inserire i fori di guida nei perni guida e applicando il gel sulla carta di trasferimento.

Applicare la scheda PVDF e terminare l'assemblaggio del sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Stringere entrambe le maniglie della scheda PVDF con le dita, oppure servirsi di pinzette a punta piatta. Togliere la scheda dal vassoio del tampone di trasferimento. Nota: <i>Non toccare la zona di blotting della scheda PVDF (contrassegnata con un riquadro rosso in figura).</i>
2		Mettere la scheda PVDF sulla scheda gel facendo inserire i fori di guida della scheda PVDF nei perni guida e applicando la scheda PVDF al gel. Nota: <i>Una volta messa sulla scheda gel, non regolare più la posizione della scheda PVDF.</i>
3		Bagnare preventivamente una carta di trasferimento nel tampone di trasferimento e collocarla sulla scheda PVDF (la maniglia della carta di trasferimento deve essere posizionata tra i perni di guida).

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

5.7.2 Preparare il sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
4		Eliminare le bolle d'aria nel modo seguente: • Prendere il coperchio bianco e inserirlo nelle due sedi (immagine a sinistra). • Afferrare le maniglie della carta di trasferimento con la mano sinistra e trascinare il rullo sulle guide del supporto verso il lato opposto del supporto di trasferimento usando la mano destra.
5		Collocare la seconda spugna sulla carta di trasferimento.
6		Chiudere il supporto di trasferimento premendo il coperchio finché i ganci di fissaggio scattano in posizione.

5.7.3 Avviare trasferimento

Introduzione

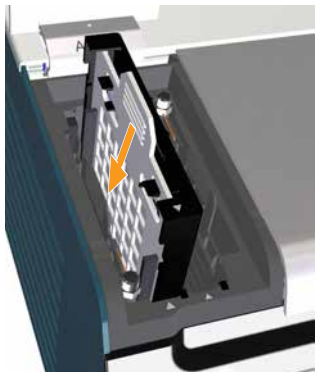
La presente sezione descrive:

- come caricare il supporto di trasferimento nel serbatoio di trasferimento
 - come avviare e monitorare il trasferimento
 - le procedure da eseguire dopo il trasferimento
-

Prima del trasferimento

Verificare che tampone di trasferimento e acqua purissima siano stati collegati per il ciclo di trasferimento. Per ulteriori informazioni, vedere *Collegare la tubazione al tampone di trasferimento e all'acqua purissima sul cestello dei flaconi*, a pagina 146.

Caricare i sandwich da trasferire

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Aprire il coperchio del serbatoio di trasferimento.
2		Inserire i supporti di trasferimento nel serbatoio. Assicurarsi che la freccia bianca sia rivolta verso la freccia sullo strumento (verso di sé).
3		Chiudere il coperchio del serbatoio di trasferimento.

5.7.3 Avviare trasferimento

Pericolo di scossa elettrica. Arrestare sempre un ciclo di trasferimento in corso prima di pulire il liquido dallo strumento o dal banco.

Amersham WB system Istruzioni di funzionamento 29-0214-77 AE

5 Esecuzione di un esperimento

5.7 Eseguire il trasferimento

5.7.3 Avviare trasferimento

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
3		Fare clic su Start nell'area Transfer. Nota: <i>Durante il ciclo di trasferimento, si consiglia di preparare e collegare le soluzioni da usare nella fase di sondaggio.</i> <i>Per ulteriori informazioni, vedere Sezione 5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi, a pagina 170.</i>

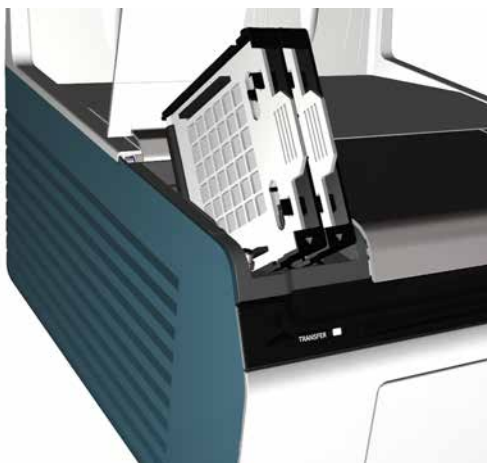
5.7.4 Procedure al termine del trasferimento

Introduzione

Questa sezione descrive le procedure di pulizia da eseguire al termine del trasferimento

Togliere il(i) supporto(i) di trasferimento

Passo	Operazione
1	Aprire il coperchio del serbatoio di trasferimento.
2	Togliere i supporti di trasferimento. Sospenderli diagonalmente nella parte anteriore interna del serbatoio di trasferimento, sopra il liquido.



Nota:

Per evitare che le membrane si secchino, in questa fase non aprire i supporti di trasferimento.

Pulire la corsia di flusso per trasferimento

Nota: Prima di procedere alla pulizia, togliere il supporto di trasferimento.

Passo	Operazione
1	Una volta completato il trasferimento, si apre la finestra di dialogo Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path. Nota: <i>Si raccomanda di pulire la corsia di flusso per trasferimento ad ogni ciclo.</i> <i>Se si sceglie di omettere la fase di pulizia della corsia di flusso per trasferimento, cliccare su Cancel e passare a Continuare il sondaggio, a pagina 168. Ad ogni modo, ricordarsi di pulire la corsia di flusso per trasferimento in una seconda fase dell'esperimento. La pulizia può essere eseguita selezionando Control:Clean Transfer flow path dalla barra dei menu.</i> <i>Se si è omesso di eseguire la pulizia, la corsia di flusso per trasferimento deve essere svuotata manualmente selezionando, Empty Transfer tank nel menu Control.</i>
2	Spostare la tubazione T Buffer in un flacone d'acqua contenente 1000 ml di acqua purissima (assieme alla tubazione T Water).
3	Fare clic su Start clean nella finestra di dialogo Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path. La pulizia è iniziata e richiederà circa 9 minuti. Nota: <i>Il sondaggio può essere avviato mentre si pulisce la corsia di flusso per trasferimento, vedere Continuare il sondaggio, a pagina 168.</i>
4	Smaltire la soluzione del flacone d'acqua e mettere le tubazione in un flacone vuoto.
5	Pulire la parte superiore dell'interno del serbatoio di trasferimento con un panno senza sfilacciature bagnato.
6	Eliminare eventuali particelle, fibre e pezzi di gel residui visibili con delle pinzette.

Pulire il supporto di trasferimento



AVVERTENZA

Al termine dell'elettroforesi, o dopo il trasferimento (quando il sandwich da trasferire è stato aperto e la scheda PVDF è stata posizionata nella camera di sondaggio), smaltire il gel in modo sicuro. Leggere il foglio tecnico di sicurezza della scheda gel (SDS/MSDS) per le istruzioni di sicurezza relative allo smaltimento del gel.

Nota: *Eseguire questa operazione quando il sandwich da trasferire è stato aperto e la scheda PVDF è stata posizionata nella camera di sondaggio.*

Passo	Operazione
1	Togliere la scheda gel dal sandwich di trasferimento. Smaltire il gel secondo le istruzioni SDS/MSDS e rispettando le procedure in vigore a livello locale per la gestione dei rifiuti.
2	Rimuovere e smaltire le spugne e carte per il trasferimento.
3	Pulire le varie parti del supporto di trasferimento in acqua corrente.
4	Lasciare asciugare all'aria il supporto di trasferimento.

Continuare il sondaggio

Procedere in uno dei seguenti modi:

- Se le soluzioni di sondaggio e anticorpi sono state preparate e collegate al gruppo Western, procedere seguendo le istruzioni riportate in *Sezione 5.8.2 Eseguire il sondaggio, a pagina 174* altrimenti
- procedere seguendo le istruzioni riportate in *Sezione 5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi, a pagina 170*

5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura

Introduzione

Questa sezione descrive come eseguire il sondaggio e l'asciugatura.

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi	170
5.8.2 Eseguire il sondaggio	174
5.8.3 Procedure al termine del sondaggio	179
5.8.4 Eseguire l'asciugatura	183

5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi

Introduzione

Questa sezione descrive come preparare e collegare i tamponi e le soluzioni per il ciclo di sondaggio.

Le soluzioni per sondaggio e di anticorpi possono essere preparate durante il ciclo di trasferimento e devono essere collegate prima di iniziare il ciclo di sondaggio.

Ricette di soluzioni di sondaggio e di anticorpi

Soluzione	Ricetta	Quantità/ciclo
Soluzione bloccante	Il sistema è compatibile con la maggior parte delle soluzioni bloccanti, per esempio l'agente 2% ECL PRIME in PBS-T (0,1% di Tween™-20 in 1×PBS) o 5% di sieroalbumina bovina (BSA, bovine serum albumin) in PBS. Utilizzare soluzioni bloccanti con bassa autofluorescenza, vedere il manuale <i>Western Blotting – Principles and Methods</i> per le raccomandazioni.	70 ml
Tampone di lavaggio	PBS-T (0,1% di Tween-20 in 1×PBS)	560 ml
Tampone di lavaggio finale	PBS pH 7.4	290 ml
Soluzione anticorpi	Anticorpi in PBS-T (0,1% di Tween-20 in 1×PBS). Vedere Amersham WB system User Manual per ulteriori informazioni su come determinare concentrazioni ottimali di anticorpi.	Da 5 a 12 ml
Acqua purissima (utilizzata per il risciacquo tra le diverse fasi di sondaggio e pulizia della corsia di flusso per sondaggio)	Acqua purissima	760 ml

Collegare la tubazione alle soluzioni di sondaggio sul cestello dei flaconi



ATTENZIONE

Per evitare di spruzzare liquidi pericolosi, usare filtri di ingresso pesanti collegati alle tubazioni nei flaconi.

Vedere *Sezione 3.8 Altri accessori, a pagina 86* per le descrizioni dei filtri d'ingresso e dei supporti tubazione. Vedere *Fissare i supporti tubazione, a pagina 105* per le istruzioni su come collegare gli accessori.

Prima di iniziare il sondaggio, collegare la tubazione dalle torrette centrale e destra alle soluzioni usate nel ciclo di sondaggio nel modo seguente:

Passo	Operazione
1	Dalla torretta della tubazione centrale, collocare la tubazione contrassegnata con: • P Water in un flacone da 1000 ml con acqua purissima • P Block in un flacone da 100 ml con soluzione bloccante
2	Dalla torretta della tubazione di estra, mettere la tubazione contrassegnata con: • P Wash in un flacone da 1.000 ml con soluzione di lavaggio (PBS-T) • P Final Wash in un flacone da 500 ml con soluzione di lavaggio finale (PBS)
3	Prima di iniziare il sondaggio, collegare le provette della soluzione anticorpi nel relativo vano (per informazioni vedere sotto).

Collegare le provette della soluzione anticorpi

Nota: *Le soluzioni anticorpi devono essere preparate e collegate a ridosso dell'inizio del sondaggio.*

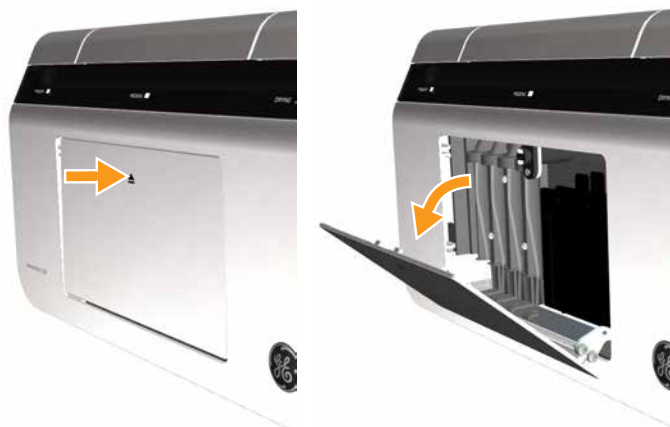
5 Esecuzione di un esperimento

5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura

5.8.1 Preparare e collegare la sonda e le soluzioni anticorpi

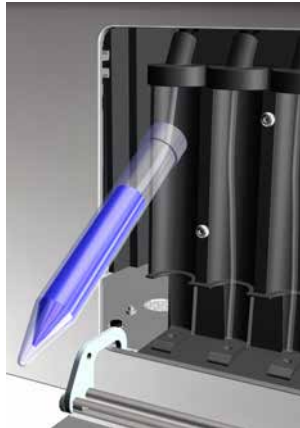
Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Aprire il vano anticorpi sul gruppo Western premendo il simbolo di espulsione sul coperchio del vano anticorpi. |
|---|---|



Passo Operazione

- 2 Inserire ciascuna provetta con soluzione anticorpi nella posizione corrispondente, collocando la tubazione nella provetta e facendo scattare la provetta in posizione.



La tabella indicata di seguito descrive quali anticorpi devono essere messi in quale posizione di provetta nel vano anticorpi.

Posizione	Descrizione
A PRIMARY	Posizione da usare per anticorpi primari diretti sulla membrana nella posizione A della camera di sondaggio.
A SECONDARY	Posizione da usare per anticorpi secondari diretti sulla membrana nella posizione A della camera di sondaggio.
B PRIMARY	Posizione da usare per anticorpi primari diretti sulla membrana nella posizione B della camera di sondaggio.
B SECONDARY	Posizione da usare per anticorpi secondari diretti sulla membrana nella posizione B della camera di sondaggio.

- 3 Chiudere il coperchio del vano anticorpi.

Nota: Per ciascuna membrana è presente una provetta per anticorpi per gli anticorpi primari e una per gli anticorpi secondari. Questo significa, per esempio, che se vengono scelti due anticorpi primari per etichettare la membrana in **Posizione A**, questi vengono mischiati tra loro nella stessa provetta per anticorpi e poi posizionati in posizione **A PRIMARY**.

5.8.2 Eseguire il sondaggio

Introduzione

Questa sezione descrive come:

- collocare le schede PVDF nelle camere di sondaggio
 - avviare e monitorare il sondaggio
-

Precauzioni



AVVERTENZA

Al termine dell'elettroforesi, o dopo il trasferimento (quando il sandwich da trasferire è stato aperto e la scheda PVDF è stata posizionata nella camera di sondaggio), smaltire il gel in modo sicuro. Leggere il foglio tecnico di sicurezza della scheda gel (SDS/MSDS) per le istruzioni di sicurezza relative allo smaltimento del gel.



ATTENZIONE

Rischio di schiacciamento. Non toccare la camera di sondaggio in movimento durante un ciclo.

Prima del sondaggio

Accertarsi che tamponi, acqua purissima, anticorpi, soluzioni bloccanti e di lavaggio siano collegate prima di iniziare il sondaggio.

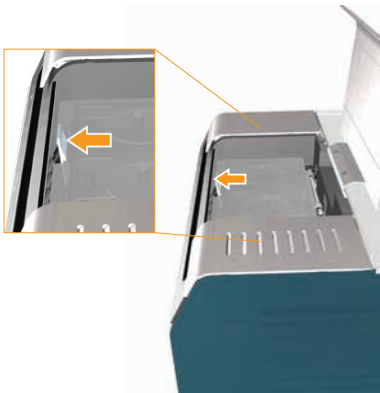
Nota:

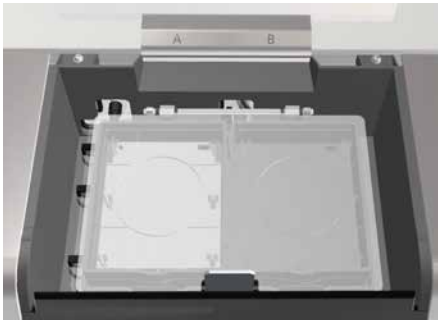
L'acqua purissima deve essere sempre collegata, perché viene usata per il risciacquo tra le fasi di sondaggio. La soluzione di lavaggio è usata per il risciacquo tra anticorpi primari in posizione A e B.

Riempire preventivamente la camera di sondaggio e caricare le schede PVDF

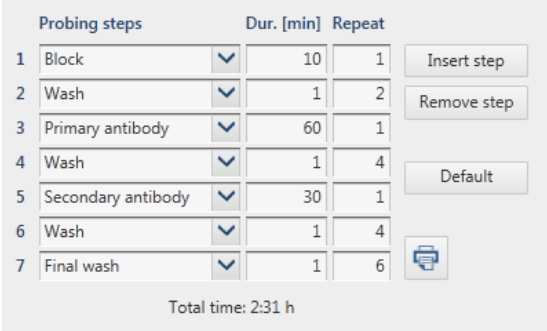
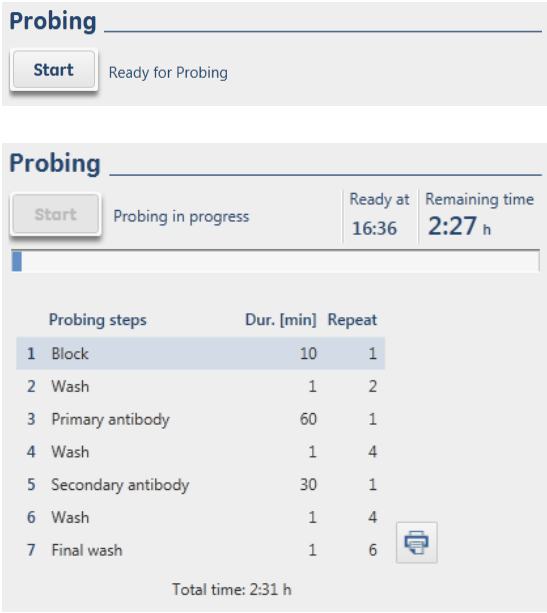
Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Riempire preventivamente la camera di sondaggio: - Fare clic sulla fase di lavoro PROBING & DRYING nel software. - Fare clic su Pre-Fill nell'area Probing. <i>Risultato:</i> La camera di sondaggio viene riempita con qualche millilitro della prima soluzione della tabella della sequenza di sondaggio (per default la soluzione bloccante). Nota: <i>Dopo aver riempito preventivamente la camera di sondaggio:</i> - Non è più possibile cambiare il tipo della prima fase nella tabella della sequenza di sondaggio. Tuttavia, Dur. [min] e Repeat possono essere modificate. - Il pulsante Pre-Fill diventa un pulsante di Start e viene visualizzato il messaggio di stato Ready for Probing.

5 Esecuzione di un esperimento
5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura
5.8.2 Eseguire il sondaggio

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
2		Aprire il coperchio scomparto di sondaggio e usare il fermo per aprire il coperchio della camera di sondaggio.
3		Aprire il supporto di trasferimento e togliere la spugna e la carta di trasferimento dalla sommità della scheda PVDF.
4		• Togliere la scheda PVDF dal supporto di trasferimento. Tenere le maniglie della scheda PVDF con le dita, oppure servirsi di pinzette a punta piatta. • Collocare la scheda PVDF nella camera di sondaggio, vedere punto 5. • Per pulire il supporto di trasferimento e gestire lo scarto, vedere <i>Pulire il supporto di trasferimento</i>, a pagina 168.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
5	 	Scheda Riporre la scheda PVDF nella camera di sondaggio precedentemente riempita inserendo i fori della scheda PVDF sopra i perni guida (contrassegnati con cerchi arancioni) e applicando la scheda PVDF nella camera di sondaggio. Nota: <i>Fare attenzione a non toccare la zona di blotting della scheda PVDF.</i>
6	 	Chiudere il coperchio della camera di sondaggio e il coperchio dello scomparto di sondaggio. Assicurarsi che il coperchio della camera di sondaggio sia bloccato dall'apposito fermo.

Avviare e monitorare il sondaggio

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Nel software, fare clic sulla fase di lavoro PROBING & DRYING .
2		Utilizzare le impostazioni di default per Probing steps nell'area Probing come mostrato nella schermata.
3		Cliccare su Start. <i>Risultato:</i> Il sondaggio viene avviato. La progressione della fase di sondaggio viene visualizzata nell'area Probing.

5.8.3 Procedure al termine del sondaggio

Introduzione

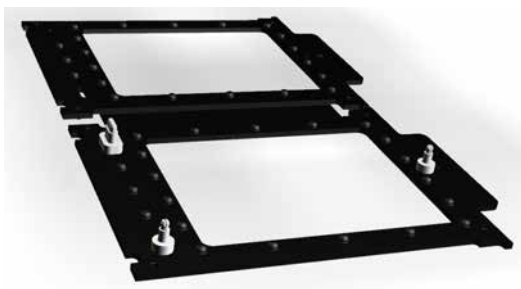
Questa sezione descrive come:

- posizionare la scheda PVDF nel supporto di asciugatura
- Mettere il supporto nello scomparto di asciugatura e iniziare la procedura
- pulire la corsia di flusso per il sondaggio

Spostare la scheda(e) PVDF nello scomparto di asciugatura

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Rimuovere un Amersham WB drying holder (supporto di asciugatura) dallo scomparto di asciugatura e aprire. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 2 | Scheda Prendere le maniglie della scheda PVDF con le dita o servirsi di pinzette a punta piatta e sollevare la scheda PVDF dalla camera di sondaggio. |
|---|---|

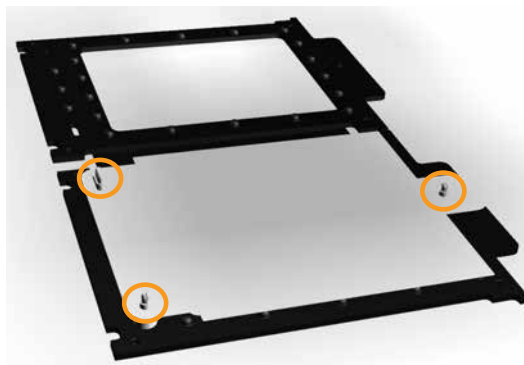
5 Esecuzione di un esperimento

5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura

5.8.3 Procedure al termine del sondaggio

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 3 | Posizionare la scheda PVDF nel supporto di asciugatura facendo passare i fori di guida della scheda PDVF sui tre perni di guida. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 4 | Chiudere il supporto di asciugatura. Assicurarsi che il supporto di asciugatura sia bloccato dall'apposito fermo. |
|---|---|



Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 5 | Mettere il(i) supporto(i) di asciugatura nella posizione adatta nello scomparto di asciugatura (cioè, scheda PVDF in posizione di sondaggio A per posizione di asciugatura A). |
|---|---|



Pulire la corsia di flusso per il sondaggio

Nota: Prima di procedere alla pulizia, spostare la(e) scheda(e) PVDF nello scomparto di asciugatura (vedi istruzioni sopra).

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Una volta completato sondaggio, si apre la finestra di dialogo Probing Completed – Clean Probing Flow Path . |
|---|---|

Nota:

Si raccomanda di pulire la corsia di flusso per il sondaggio ad ogni ciclo.

Se si sceglie di omettere la fase di pulizia della corsia di flusso per trasferimento, cliccare su **Cancel** e passare a Sezione 5.8.4 Eseguire l'asciugatura, a pagina 183. Ad ogni modo, ricordarsi di pulire la corsia di flusso per sondaggio in una seconda fase dell'esperimento. La pulizia può essere eseguita selezionando **Control:Clean Probing flow path** dalla barra dei menu.

Se si è omesso di eseguire la pulizia, la corsia di flusso per sondaggio deve essere svuotata manualmente selezionando, **Empty Probing chamber** nel menu **Control**.

5 Esecuzione di un esperimento
5.8 Eseguire il sondaggio e l'asciugatura
5.8.3 Procedure al termine del sondaggio

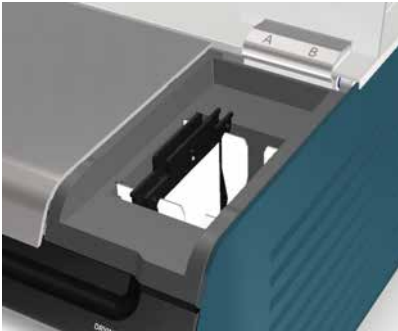
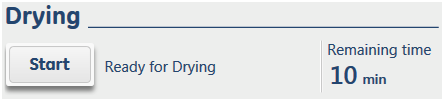
Passo	Operazione
2	Inserire provette per soluzione anticorpi nuove nel vano anticorpi. Nota: <i>Inserire sempre quattro provette vuote nuove.</i>
3	Pulire le tubazioni di sondaggio P Block, P Wash e P Final Wash con un panno umido e spostare la tubazione nel flacone con acqua purissima (contenente la tubazione P Water). Nella finestra di dialogo del software controllare la quantità di acqua purissima necessaria per la pulizia, accertarsi che il flacone contenga perlomeno quella quantità d'acqua.
4	Fare clic su Start clean nella finestra di dialogo Probing completed – clean probing system. La pulizia è iniziata e richiederà circa 13 minuti. Nota: <i>L'asciugatura delle membrane può essere iniziata mentre si pulisce la corsia di flusso per il sondaggio.</i>
5	Al termine della pulizia, smaltire la soluzione del flacone d'acqua e smaltire l'acqua di scarto delle provette della soluzione anticorpi. Mettere le tubazione in un flacone vuoto.

5.8.4 Eseguire l'asciugatura

Introduzione

Questa sezione descrive come eseguire l'asciugatura delle schede PDVF. Asciugare la scheda PVDF consente di ottenere un sottofondo uniforme e basso e segnali più forti.

Eseguire l'asciugatura

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Assicurarsi che i supporti di asciugatura con la scheda(e) PVDF sia stata inserita nello scomparto di asciugatura nella posizione corretta (cioè, scheda PVDF in posizione di sondaggio A per posizione di asciugatura A).
2	 	Nella fase di lavoro PROBING & DRYING del software, fare clic su Start nell'area Drying .

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
3		Una volta completata l'asciugatura: • Aprire il coperchio dello scomparto di asciugatura. • Togliere il(i) supporto(i) di asciugatura. • La scheda PVDF è ora pronta per la scansione. Effettuare la <i>Sezione 5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati</i>, a pagina 185. Nota: <i>Se le membrane non sono completamente asciutte, fare clic su Start nell'area Drying per eseguire un nuovo ciclo di asciugatura.</i>

5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati

Introduzione

Questa sezione descrive come:

- posizionare la scheda PVDF nell'unità Elpho & scan
- avviare e monitorare la scansione
- visualizzare i risultati della scansione

Collocare la scheda PVDF nel caricatore



ATTENZIONE

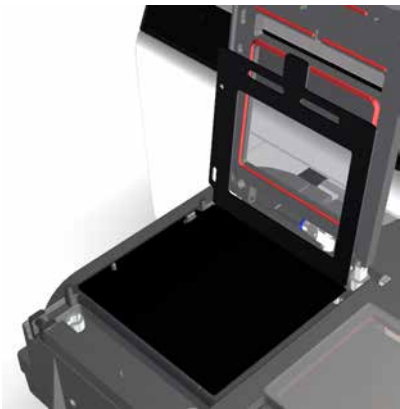
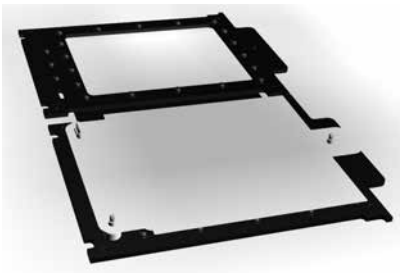
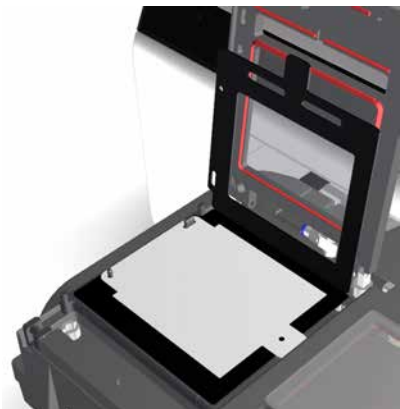
Parti in movimento. Fare attenzione quando si apre/chiude il caricatore per evitare che le dita o gli indumenti restino impigliati quando il caricatore si muove.

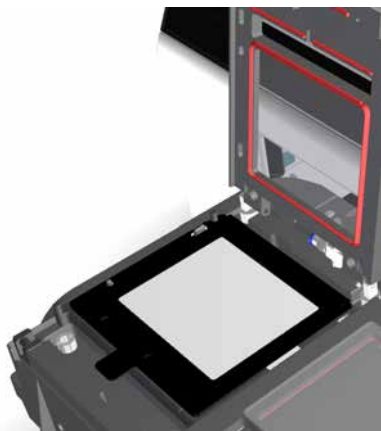
Non mettere mai flaconi o fiale davanti al gruppo Elpho & scan. Quando si apre il caricatore possono cadere.

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan.  <i>Risultato:</i> Il caricatore è espulso.
2		• Ruotare verso l'alto i ganci di fermo e aprire il coperchio di sigillatura. • Eliminare il liquido e lo sporco eventualmente presenti sul vetro protettivo della piastra portascheda con un panno senza sfilacciature.

5 Esecuzione di un esperimento

5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
3		- Togliere un adattatore membrana dal vano anticorpi del gruppo Western. Nota: <i>Assicurarsi che l'adattatore membrana sia asciutto e pulito.</i> - Aprire l'adattatore membrana e sistemarlo sulla piastra portascheda facendo passare i fori di guida dell'adattatore membrana sui perni di guida. Nota: <i>Fare attenzione a non graffiare la piastra portascheda con oggetti affilati.</i>
4		Aprire il supporto di asciugatura.
5		Togliere la scheda PVDF dal supporto di asciugatura e posizionare la scheda nell'adattatore membrana facendo passare i fori di guida sui perni di guida. Nota: <i>Fare attenzione a non toccare la zona di blotting della scheda PVDF.</i>

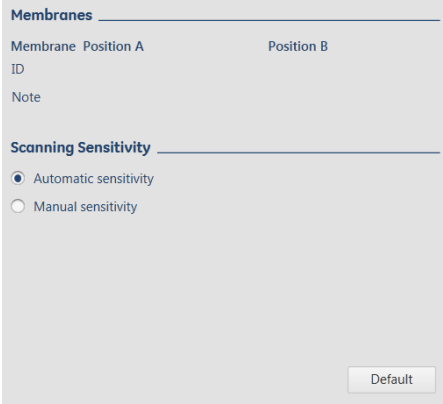
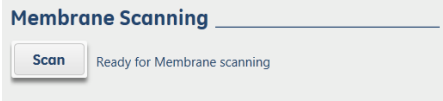
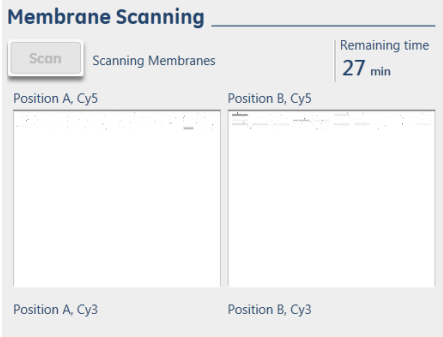
Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
6		Chiudere l'adattatore membrana.
7		Chiudere il coperchio di sigillatura.
8		Premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan. <i>Risultato:</i> Il caricatore è chiuso.

Avviare e monitorare la scansione della membrana

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
1		Nel software, fare clic sulla fase di lavoro MEMBRANE SCANNING .

5 Esecuzione di un esperimento

5.9 Effettuare la scansione della membrana e vedere i risultati

Passo	Illustrazione della fase	Azioni dell'operatore
2		Utilizzare le impostazioni di default per la scansione della membrana, come mostrato nella schermata.
3		Fare clic su Scan nell'area Membrane Scanning . <i>Risultato:</i> La scansione della membrana viene avviata.
4		La progressione delle scansioni viene visualizzata nell'area Membrane Scanning . Una volta conclusa la scansione, le immagini della membrana verranno visualizzate nell'area Membrane Scanning .

Visualizzazione dei risultati

Passo	Operazione
1	Fare clic sulla fase di lavoro EVALUATION nel software. <i>Risultato:</i> Le immagini nell'area Membrane Scanning vengono valutate. La progressione della valutazione viene visualizzata da un'apposita barra di avanzamento.

Passo	Operazione
2	Una volta conclusa la valutazione delle immagini, queste vengono visualizzate nella schermata Valutazione, che mostra i valori normalizzati per l'esperimento sulla scheda opzione Bar chart. Per ulteriori informazioni su come analizzare i risultati, vedere <i>User Manual</i> o <i>software help</i>.

Procedure successive alla scansione della membrana

Passo	Operazione
1	Premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan. <i>Risultato:</i> Il caricatore è espulso.
2	Aprire il coperchio di sigillatura.
3	Togliere l'adattatore membrana con la scheda PVDF dalla piastra portascheda.
4	Togliere la scheda PVDF dall'adattatore membrana. Suggerimento: <i>La scheda PVDF può essere conservata in condizioni di essiccazione tra due filtri di carta all'interno della confezione singola della scheda PVDF. I segnali sulla scheda PVDF asciutta sono stabili per circa 3 mesi.</i>
5	Pulire gli adattatori membrana con uno straccio non sfilacciato e riportare gli adattatori nello spazio di stoccaggio del vano anticorpi.
6	Pulire i supporti di asciugatura con un panno senza sfilacciature e riportare i supporti nello scomparto di asciugatura.
7	Pulire strofinando la piastra portascheda con un panno senza sfilacciature, se necessario inumidirlo con 50% di etanolo.
8	Pulire strofinando il vetro protettivo con un panno senza sfilacciature, se necessario inumidirlo con 50% di etanolo. Nota: <i>È importante tenere il vetro protettivo pulito su entrambi i lati per poter ottenere buoni risultati di scansione delle schede di gel e di quelle PVDF.</i>
9	Chiudere il coperchio di sigillatura e premere il tasto di espulsione sul gruppo Elpho & scan. <i>Risultato:</i> Il caricatore viene inserito.

6 Manutenzione

Informazioni sul capitolo

Questa sezione fornisce l'elenco delle attività di manutenzione periodica cui è tenuto l'utilizzatore dell'Amersham WB analyzer, e delle attività di manutenzione che devono essere effettuate quando necessario.

Precauzioni



AVVERTENZA

Non utilizzare Amersham WB analyzer in caso di malfunzionamento o se ha subito danni, ad esempio:

- danni al cavo di alimentazione o alla spina
- danni derivanti dalla caduta dell'attrezzatura
- danneggiamento di altre parti che possono influire sul corretto funzionamento



AVVERTENZA

Pericolo di scossa elettrica. Tutte le riparazioni devono essere eseguite da personale di assistenza autorizzato da GE. Non aprire i coperchi o sostituire i componenti salvo se specificamente indicato nella documentazione d'uso.



AVVERTENZA

Scollegare l'alimentazione. Scollegare sempre l'alimentazione del gruppo strumento prima di sostituire un suo componente, fatto salvo ove altrimenti specificato nella documentazione d'uso.

**AVVERTENZA**

Quando si utilizzano sostanze chimiche pericolose, evitare le fuoriuscite e indossare occhiali di protezione e altri dispositivi di protezione individuale adeguati. Per esempio, l'NaOH è corrosivo e dunque pericoloso per la salute.

**AVVERTENZA**

Soltanto i pezzi di ricambio e gli accessori che sono approvati o forniti da GE possono essere utilizzati per l'assistenza o la manutenzione del sistema.

**AVVERTENZA**

Quando si sostituisce un cavo di alimentazione danneggiato, usarne uno sostitutivo dello stesso tipo e dimensioni e conforme a tutti i requisiti normativi in campo elettrico a livello locale in vigore e approvato da GE.

**AVVERTENZA**

Staccare sempre l'alimentazione di rete prima di sostituire il fusibile di rete. Per mantenere una protezione continua contro il rischio d'incendio, sostituire unicamente con un fusibile del tipo e della classe specificati sulle etichette del gruppo strumento.

**ATTENZIONE**

Adottare tutte le misure protettive del caso durante l'impiego di sostanze chimiche pericolose, indossando ad esempio guanti e occhiali di protezione resistenti a tali sostanze. Seguire le istruzioni e le normative locali in merito al funzionamento e alla manutenzione del sistema in condizioni di sicurezza.

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
6.1 Programma di manutenzione	193
6.2 Istruzioni per la manutenzione	198

6.1 Programma di manutenzione

Introduzione

Questa sezione fornisce l'elenco delle attività di manutenzione che l'utilizzatore dell'Amersham WB analyzer deve eseguire. La manutenzione si divide in:

- Dopo ciascun ciclo
 - manutenzione settimanale
 - Manutenzione mensile
 - Manutenzione annuale
 - Manutenzione secondo necessità
-

Programma di manutenzione periodica

I seguenti interventi di manutenzione periodica devono essere eseguiti dall'utente dell'Amersham WB analyzer.

Intervallo	Intervento di manutenzione	Istruzioni
Al termine di ogni ciclo del gruppo Elpho & scan		
	- Asciugare il liquido strofinandolo dalla piastra portascheda - Eliminare il liquido e lo sporco eventualmente presenti sul vetro protettivo del coperchio di sigillatura - Controllare se il vetro del coperchio di sigillatura presenta graffi o segni e verificare che il vetro sia saldamente fissato al suo telaio - Controllare il portello del coperchio di sigillatura quando il telaio è chiuso ed eliminare l'eventuale sporco	Utilizzare un panno senza sfilacciature o carta che non graffi il vetro protettivo o la piastra portascheda. Per rimuovere le macchie, utilizzare un panno senza sfilacciature imbevuto al 50% di etanolo. Se si ha bisogno di sostituire una parte del coperchio di sigillatura, contattare il Servizio d'assistenza.
	Pulire i portastrisce tampone	Pulire i portastrisce tampone con acqua corrente per eliminare i sali e il tampone. Lasciare asciugare i portastrisce tampone capovolti all'aria.
	Pulire gli adattatori membrana	Pulire gli adattatori membrana con un panno senza sfilacciature e metterli nello spazio di stoccaggio del vano anticorpi.

Intervallo	Intervento di manutenzione	Istruzioni
Al termine di ogni ciclo del gruppo Western		
	Pulire la corsia di flusso per trasferimento	Se la corsia di flusso per il trasferimento non è stata pulita al termine del trasferimento, eseguire la procedura di pulizia cliccando su Control:Clean Transfer flow path nella barra dei menu.
	Pulire la corsia di flusso per il sondaggio	Se la corsia di flusso per il sondaggio non è stata pulita al termine del sondaggio, eseguire la procedura di pulizia cliccando su Control:Clean Probing flow path nella barra dei menu.
	Pulire il supporto di trasferimento	Vedere <i>Pulire il supporto di trasferimento</i> , a pagina 168.
	Pulire i supporti di asciugatura	Pulire i supporti di asciugatura con un panno senza sfilacciature e metterli nello scomparto di asciugatura.
	Eliminare eventuali particelle presenti nel serbatoio di trasferimento	Controllare il serbatoio ed eliminare eventuali residui di gel o fibre di carta usando delle pinzette. Verificare il filtro del serbatoio di trasferimento e sostituirlo se è sporco, vedere <i>Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento</i> , a pagina 211.
	Pulire la parte superiore del serbatoio di trasferimento	Pulire la parte superiore del serbatoio di trasferimento con un panno umido.

6 Manutenzione

6.1 Programma di manutenzione

Intervallo	Intervento di manutenzione	Istruzioni
Ogni settimana (o se lo strumento non viene utilizzato per qualche giorno)		
	Pulizia di manutenzione della corsia di flusso per il trasferimento	Vedere Sezione 6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio, a pagina 199.
	Pulizia di manutenzione della corsia di flusso per il sondaggio	Vedere Sezione 6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio, a pagina 199.
	Controllare, e se danneggiati, sostituire: • pompe • tubo • filtro dell'aria • filtro d'ingresso	Vedere Sezione 6.2.2 Procedure di sostituzione, a pagina 203 per informazioni su come sostituire le teste delle pompe, il filtro dell'aria e il filtro d'ingresso. Se si ha bisogno di sostituire una tubazione, contattare il Servizio d'assistenza.
	Controllare e serrare i connettori delle tubazioni	

Intervallo	Intervento di manutenzione	Istruzioni
Annualmente		
	Sostituire il filtro dell'aria nel modulo essiccatore Il filtro dell'aria potrebbe aver bisogno di essere sostituito più frequentemente se l'ambiente esterno è più difficile dei normali ambienti di laboratorio riguardo alla concentrazione di polveri nell'aria.	Vedere Sostituire il filtro dell'aria, a pagina 204.
	Sostituire la testa della pompa di trasferimento	Vedere Sostituire la testa della pompa di sondaggio o di trasferimento, a pagina 206.
	Sostituire la testa della pompa di sondaggio	Vedere Sostituire la testa della pompa di sondaggio o di trasferimento, a pagina 206.

Intervallo	Intervento di manutenzione	Istruzioni
Secondo necessità		
	Pulire lo scomparto di asciugatura	Pulire lo scomparto di asciugatura da polvere o particelle usando un panno senza sfilacciature inumidito in acqua purissima. Lasciare che lo scomparto si asciughi prima di usarlo.
	Sostituire gli elettrodi di trasferimento	Vedere <i>Sostituire gli elettrodi di trasferimento</i> , a pagina 209.
	Sostituire i portastrisce tampone	Vedere Amersham WB system User Manual per le informazioni sugli ordini.
	Sostituire il fusibile di rete	Vedere <i>Sostituire il fusibile di rete</i> , a pagina 212.
	Sostituire il cavo di alimentazione danneggiato	Vedere <i>Precauzioni</i> all'inizio di questo capitolo.
	Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento	Controllare il filtro e se sporco o danneggiato, sostituirlo. Vedere <i>Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento</i> , a pagina 211.
	Sostituire i filtri d'ingresso	Vedere <i>Sostituire i filtri d'ingresso</i> , a pagina 212.

6.2 Istruzioni per la manutenzione

Introduzione

La presente sezione descrive la manutenzione che si deve eseguire sull'Amersham WB analyzer.

In questa sezione

La presente sezione contiene le seguenti sottosezioni:

Sezione	Vedere pagina
6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio	199
6.2.2 Procedure di sostituzione	203
6.2.3 Spostamento dei gruppi strumento	214

6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio

Introduzione

Eseguire la pulizia di manutenzione delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio ogni settimana, oppure se il gruppo non viene usato per un paio di giorni.

Pulizia di manutenzione della corsia di flusso per il trasferimento

La procedura richiede circa 25 minuti. Il sondaggio e l'asciugatura possono essere eseguiti parallelamente.

Nota: *Verificare che non ci siano supporti di trasferimento lasciati nel serbatoio.*



AVVERTENZA

Quando si utilizzano sostanze chimiche pericolose, evitare le fuoriuscite e indossare occhiali di protezione e altri dispositivi di protezione individuale adeguati. Per esempio, l'NaOH è corrosivo e dunque pericoloso per la salute.

6 Manutenzione

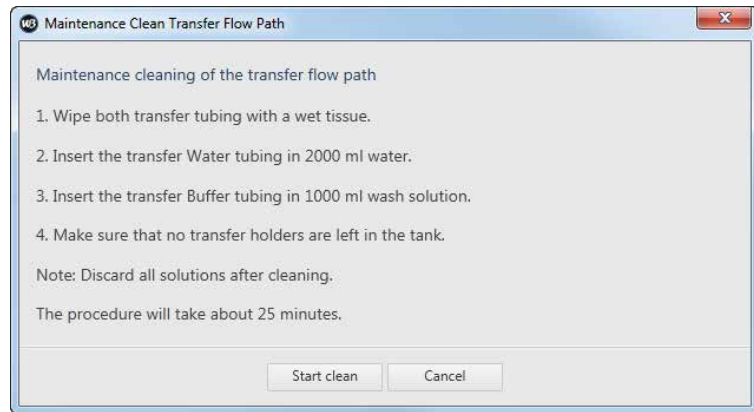
6.2 Istruzioni per la manutenzione

6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Selezionare nel software, Control: Maintenance clean Transfer flow path oppure fare clic sul pulsante Maintenance clean Transfer nella schermata iniziale del software. |
|---|---|

Risultato: Si apre la finestra di dialogo **Maintenance Clean Transfer Flow Path**.



- | | |
|---|---|
| 2 | <ul style="list-style-type: none">• Pulire la parte superiore del serbatoio di trasferimento ed entrambe le tubazioni di trasferimento con un panno umido.• Verificare che il filtro del serbatoio di trasferimento sia intatto e pulito. Se necessario, sostituire il filtro. |
| 3 | Immergere la tubazione T Water in un flacone contenente 2.000 ml di acqua purissima. |
| 4 | Immergere la tubazione T Buffer in un flacone contenente 1000 ml di 0,5 M NaOH. |
| 5 | Fare clic sul pulsante Start clean nella finestra di dialogo. |
| 6 | Al termine della pulizia spostare la tubazione in un flacone vuoto. |

Nota: *Al termine della pulizia smaltire tutte le soluzioni.*

Pulizia di manutenzione della corsia di flusso per il sondaggio

La procedura richiede circa 45 minuti. Il trasferimento e l'asciugatura possono essere eseguiti parallelamente.

Nota: *Verificare che non ci siano schede PVDF lasciate nelle camere di sondaggio.*

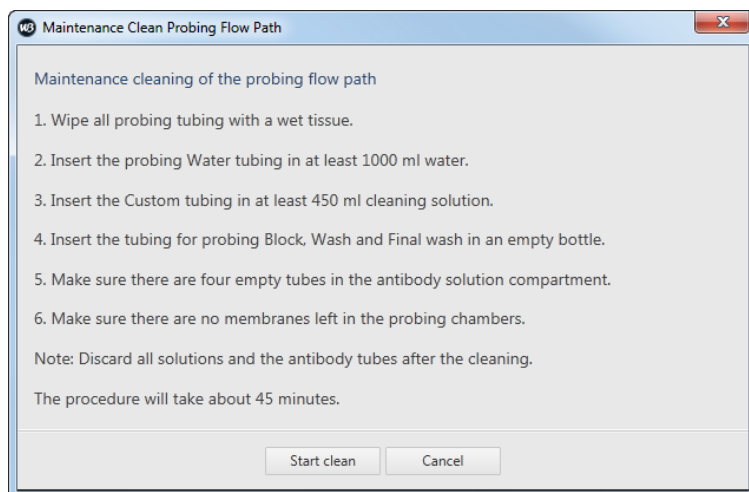
**AVVERTENZA**

Quando si utilizzano sostanze chimiche pericolose, evitare le fuoriuscite e indossare occhiali di protezione e altri dispositivi di protezione individuale adeguati. Per esempio, l'NaOH è corrosivo e dunque pericoloso per la salute.

Passo Operazione

- 1 Selezionare nel software, **Control: Maintenance clean Probing flow path** oppure fare clic sul pulsante **Maintenance clean Probing** nella schermata iniziale del software.

Risultato: Si apre la finestra di dialogo **Maintenance Clean Probing Flow Path**.



- 2 Pulire la tubazione di sondaggio, il coperchio e i bordi della camera di sondaggio con un panno umido.
- 3 Immergere la tubazione **P Water** in un flacone contenente almeno 1.000 ml di acqua purissima.
- 4 Immergere la tubazione **P Custom** in un flacone contenente almeno 450 ml di 0,5 M NaOH.
- 5 Inserire la tubazione **P Block**, **P Wash** e **P Final Wash** in un flacone di smaltimento vuoto.
- 6 Inserire e collegare **quattro** provette vuote e pulite da 15 ml nel vano anticorpi.
- 7 Fare clic su **Start clean** nella finestra di dialogo.

6 Manutenzione

6.2 Istruzioni per la manutenzione

6.2.1 Pulizia settimanale delle corsie di flusso per il trasferimento e il sondaggio

Passo	Operazione
8	Al termine della pulizia spostare la tubazione in un flacone vuoto.
Nota:	<i>Dopo la pulizia, smaltire tutte le provette con le soluzioni e gli anticorpi.</i>

6.2.2 Procedure di sostituzione

Introduzione

Questa sezione descrive come sostituire:

- filtro dell'aria
 - teste delle pompe di trasferimento e sondaggio
 - elettrodi di trasferimento
 - filtro del serbatoio di trasferimento
 - filtri d'ingresso
 - fusibile di rete
-

Accessori di manutenzione

Per la manutenzione dell'Amersham WB analyzer: sono richiesti i seguenti accessori

- testa della pompa (per pompa di trasferimento o pompa di sondaggio)
 - filtro dell'aria
 - filtro del serbatoio di trasferimento
 - elettrodi di trasferimento
 - serie di filtri d'ingresso
 - fusibile (per l'uso corretto, vedere *Sezione 7.1 Specifiche del sistema, a pagina 216*)
-

Precauzioni



AVVERTENZA

Scollegare l'alimentazione. Scollegare sempre l'alimentazione del gruppo strumento prima di sostituire un suo componente, fatto salvo ove altrimenti specificato nella documentazione d'uso.



AVVERTENZA

Rimuovere eventuali flaconi dal relativo cestello prima di aprire il coperchio del vano di servizio.

6 Manutenzione

6.2 Istruzioni per la manutenzione

6.2.2 Procedure di sostituzione

Sostituire il filtro dell'aria

Le seguenti istruzioni descrivono come sostituire il filtro dell'aria.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Aprire il coperchio del vano di servizio. |
|---|---|

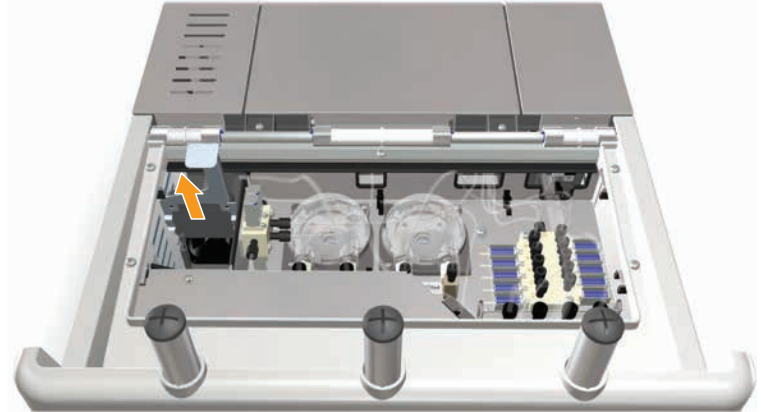


- | | |
|---|--|
| 2 | Aprire il coperchio sopra lo scomparto dove è alloggiato il filtro ruotando il dado in senso antiorario e toglierlo. |
|---|--|

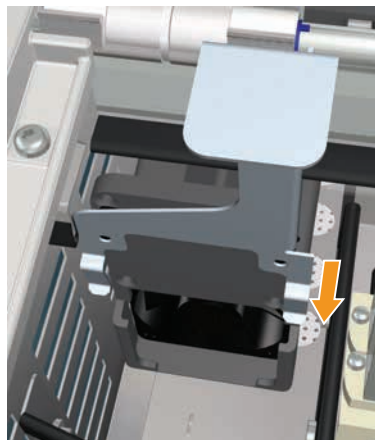


Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 3 | Togliere il filtro dal telaio tirandolo verso l'alto e usando il supporto fissato. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 4 | Togliere la parte superiore della griglia di plastica sul supporto, dove è alloggiato il filtro. |
| 5 | Sostituire il filtro con uno nuovo e fissare la parte superiore sulla griglia di plastica. |
| 6 | Inserire il supporto con filtro nuovo nelle guide del telaio. |



- | | |
|---|---|
| 7 | Rimettere il coperchio sullo scomparto filtro e stringere il dado ruotandolo in senso orario. |
| 8 | Chiudere il coperchio del vano di servizio. |

Sostituire la testa della pompa di sondaggio o di trasferimento

Le seguenti istruzioni descrivono come sostituire una testa di pompa, usando come esempio una pompa di sondaggio. La sostituzione di una testa di pompa di trasferimento è simile.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 1 | Aprire il coperchio del vano di servizio per accedere alle pompe di trasferimento e sondaggio. |
|---|--|



Nota:

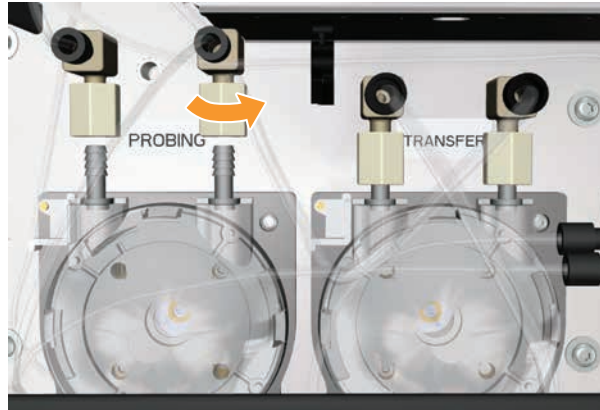
La pompa di sondaggio è posizionata a sinistra e la pompa di trasferimento a destra.

- | | |
|---|---|
| 2 | Scollegare la tubazione pompa a sinistra. |
|---|---|



Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 3 | Scollegare la tubazione pompa a destra. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 4 | Sbloccare il fermo che tiene in posizione la testa della pompa. |
|---|---|



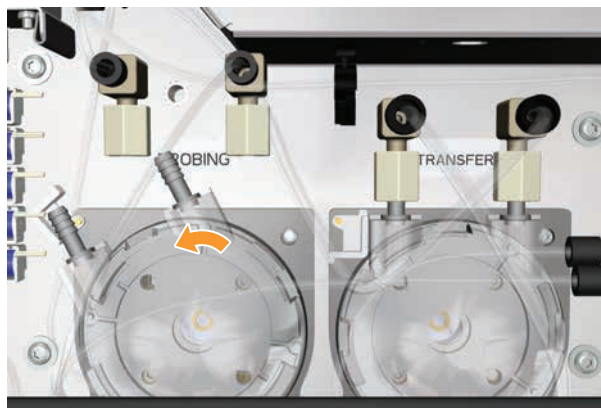
6 Manutenzione

6.2 Istruzioni per la manutenzione

6.2.2 Procedure di sostituzione

Passo	Operazione
-------	------------

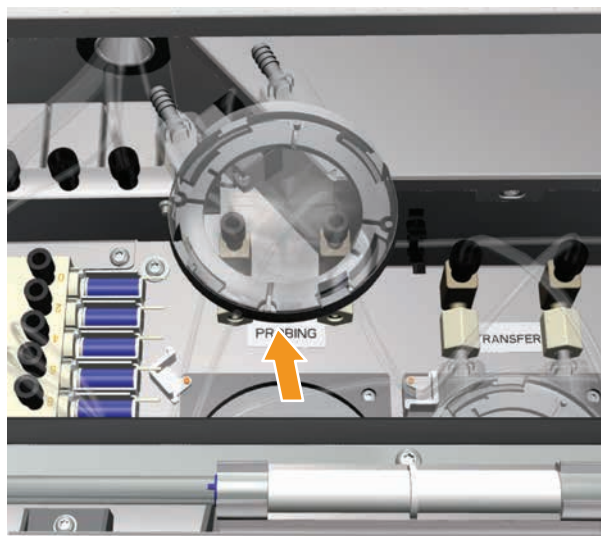
- | | |
|---|---|
| 5 | Ruotare la testa della pompa in senso antiorario. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 6 | Sollevare la testa della pompa ed estrarla dal vano di servizio. |
|---|--|

Nota:

Durante la rimozione della testa, fare attenzione a non danneggiare o piegare una delle tubazioni del gruppo Western. Se una tubazione viene danneggiata o piegata bisogna sostituirla con una nuova. Contattare il Servizio d'assistenza.



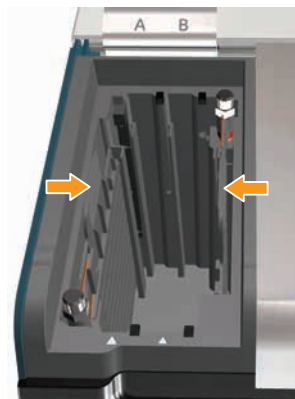
- | | |
|---|--|
| 7 | Disimballare una testa di pompa nuova. |
|---|--|

Passo	Operazione
8	Mettere la testa di pompa nuova nella corretta posizione e ruotarla in senso orario. Nota: <i>Assicurarsi che la rotella corrispondente della testa della pompa sia nella corretta posizione per poter montare l'albero di comando del motorino pompa.</i>
9	Bloccare il fermo per mantenere la testa della pompa nella corretta posizione.
10	Collegare la tubazione pompa di destra al connettore destro della testa della pompa.
11	Collegare la tubazione pompa di sinistra al connettore sinistro della testa della pompa.
12	Chiudere il coperchio del vano di servizio.

Sostituire gli elettrodi di trasferimento

Nel caso la procedura di trasferimento non riuscisse, il motivo potrebbe risiedere in un guasto degli elettrodi di trasferimento. Si raccomanda di sostituire entrambi gli elettrodi. Le seguenti istruzioni descrivono come sostituire gli elettrodi di trasferimento.

Passo	Operazione
1	Aprire il coperchio del serbatoio di trasferimento. Gli elettrodi sono posizionati su ciascun lato.



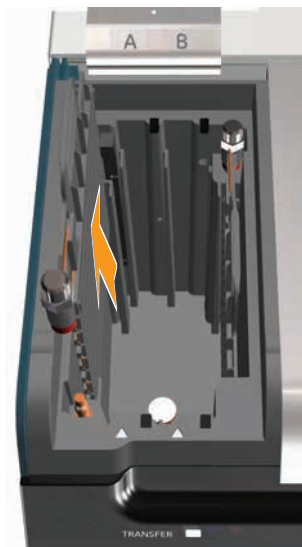
6 Manutenzione

6.2 Istruzioni per la manutenzione

6.2.2 Procedure di sostituzione

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|-----------------------|
| 2 | Estrarre l'elettrodo. |
|---|-----------------------|



- | | |
|---|--|
| 3 | Inserire un elettrodo nuovo e premerlo verso il basso. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 4 | Ripetere la procedura allo stesso modo per l'elettrodo di destra. |
| 5 | Chiudere il coperchio del serbatoio di trasferimento. |

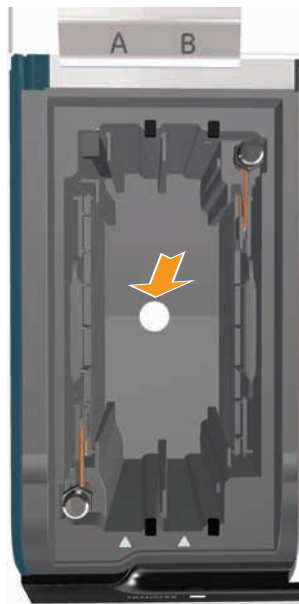
Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento

Nota: Se il filtro di trasferimento è sporco, non è possibile toglierlo, pulirlo e rimetterlo al suo posto. Il filtro deve essere sostituito.

Le seguenti istruzioni descrivono come sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 1 | Aprire il coperchio del serbatoio di trasferimento. Il filtro si trova nella parte inferiore del serbatoio di trasferimento. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 2 | Forare al centro del filtro usando delle pinzette. |
|---|--|

Nota:

Non rimuovere il filtro tenendolo per i bordi, per evitare di danneggiare la guarnizione filtro.

- | | |
|---|--|
| 3 | Usare il foro per tenere e rimuovere il filtro. |
| 4 | Inserire il filtro nuovo e spingerlo delicatamente sulla guarnizione filtro. |

Sostituire i filtri d'ingresso

Sostituire il filtro d'ingresso quando necessario, per esempio quando i filtri si intasano.

Materiale richiesto: serie di filtri d'ingresso.

Seguire le istruzioni indicate di seguito per sostituire un filtro d'ingresso ed una rete di supporto.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|---|
| 1 | Togliere la rete di supporto ed il filtro d'ingresso dall'apposito portafiltro. |
|---|---|



- | | |
|---|--|
| 2 | Montare la rete di supporto e il filtro d'ingresso nuovi e premere il filtro in posizione nel relativo supporto. |
|---|--|

Sostituire il fusibile di rete



AVVERTENZA

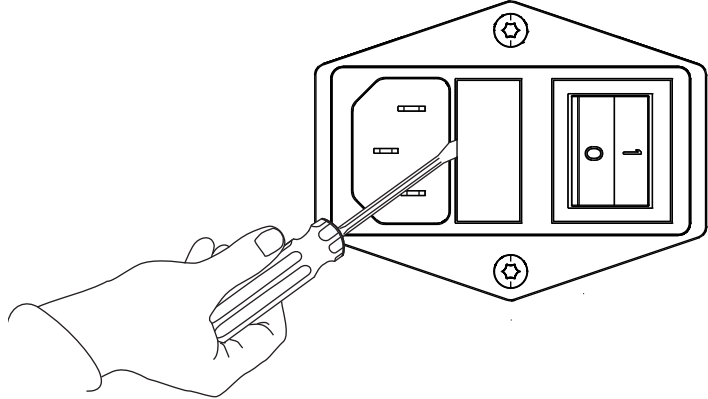
Staccare sempre l'alimentazione di rete prima di sostituire il fusibile di rete. Per mantenere una protezione continua contro il rischio d'incendio, sostituire unicamente con un fusibile del tipo e della classe specificati sulle etichette del gruppo strumento.

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 1 | Togliere l'alimentazione all'Amersham WB analyzer portando i tasti dell'alimentazione di rete sui lati posteriori dei gruppi Elpho & scan e Western in posizione di spegnimento (0). |
| 2 | Staccare i cavi di alimentazione di rete dalle relative prese sui gruppi Elpho & scan e Western. |
| 3 | Individuare l'estrattore di fusibili sul pannello dei connettori del gruppo interessato. |

Passo	Operazione
-------	------------

- | | |
|---|--|
| 4 | Inserire un piccolo cacciavite nell'incavo accanto all'estrattore di fusibili. |
|---|--|



- | | |
|---|--|
| 5 | Ruotare il cacciavite per aprire l'estrattore di fusibili. |
| 6 | Sostituire i fusibili.
Per i dati relativi ai fusibili, vedere le etichette dei gruppi strumento sui pannelli posteriori. |
| 7 | Inserire l'estrattore di fusibili nella relativa sede sul pannello dei connettori. |

6.2.3 Spostamento dei gruppi strumento

Precauzioni



ATTENZIONE

Dispositivi di protezione individuale (DPI). Durante l'imballaggio, il disimballaggio, il trasporto o lo spostamento del sistema, indossare:

- Scarpe antinfortunistiche, preferibilmente con rivestimento in acciaio
- Guanti da lavoro, per proteggersi da bordi taglienti
- Occhiali protettivi



ATTENZIONE

Oggetto pesante. Sono necessarie due persone per sollevare i gruppi dello strumento in modo sicuro.



ATTENZIONE

Non spostare il gruppo Western con flaconi collocati su di esso.



AVVISO

Scollegare i cavi. Per evitare di danneggiare l'apparecchiatura, scollegare sempre i cavi prima di spostare il gruppo strumento.

Istruzioni per il sollevamento

Passo	Operazione
1	Staccare tutti i cavi, compresi quelli di alimentazione, dai gruppi strumento e togliere i flaconi dai gruppi.
2	Sono necessarie due persone. Per sollevare un gruppo, afferrare con le mani ciascun lato e sollevare.

7 Informazioni di riferimento

Informazioni sul capitolo

Questo capitolo elenca le specifiche tecniche dell'Amersham WB analyzer. Questo capitolo comprende anche una Guida alla resistenza chimica ed un Rapporto di decontaminazione che deve essere usato per registrare i dettagli relativi alla decontaminazione prima di un intervento di assistenza.

In questo capitolo

Il presente capitolo contiene le seguenti sezioni:

Sezione	Vedere pagina
7.1 Specifiche del sistema	216
7.2 Guida alla resistenza chimica	221
7.3 Modulo di dichiarazione di salute e sicurezza	223
7.4 Traduzioni di accessori e materiali di consumo	225

7.1 Specifiche del sistema

Introduzione

In questa sezione sono elencati i dati delle specifiche del sistema Amersham WB analyzer.

Condizioni ambientali

Parametro	Dati
Gamme delle temperature di stoccaggio e trasporto	Da -25°C a +60°C
Condizioni chimiche	Vedere Sezione 7.2 Guida alla resistenza chimica, a pagina 221.

Gamma di funzionamento

Parametro	Limiti
Gamma delle temperature di esercizio	Da 15°C a 32°C Per il massimo delle prestazioni: da 16°C a 28°C
Umidità relativa	Da 20% a 80%, senza condensa Per il massimo delle prestazioni: 20% - 70%, senza condensa
Altitudine	Massimo 2000 m
Grado di inquinamento	2
Livello transitorio	Categoria sovratensione II
Ambiente	Solo al chiuso

Specifiche del sistema Amersham WB analyzer

Parametro	Dati
Configurazione del sistema	Sistema per banco da lavoro costituito da un computer esterno e da due gruppi: Gruppo Elpho & scan e gruppo Western Il computer non è compreso nella fornitura.
Controllo del sistema operativo del computer	PC con Windows 7
Software di controllo	Amersham WB software
Connessione tra gruppo Elpho & scan e gruppo Western	Cavo Ethernet
Connessione tra PC e gruppo Elpho & scan	Cavo USB (Tipo A o Tipo B)
Grado di inquinamento	2
Livello sonoro	Inferiore a 80 dB(A)

Specifiche di sistema gruppo Elpho & scan

Parametro	Dati
Dimensioni (L x P x A)	47 x 51 x 27 cm
Peso (escluso il computer)	25 kg
Alimentazione	Tensione: 100-240 V CA $\pm 10\%$ Frequenza: 50-60 Hz
Potenza assorbita	Potenza max: 300 VA
Fuse	2x T4AH 250 V

Specifiche dello scanner

Parametro	Dati
Sensore immagini	Fotodiodo al silicone
Tempo di riscaldamento	Almeno 1 minuto Nota: <i>Il tempo di riscaldamento è incluso nella modalità di sensibilità automatica.</i>
Obiettivo	F1.0/13 mm
Fonte di luce	Cy5: Modulo a diodi laser, 635 nm, 10 mW
	Cy3: Modulo a diodi laser, 532 nm, 10 mW.
Funzionamento	Completamente automatizzato (esposizione automatica, nessuna necessità di messa a fuoco o di altra regolazione o taratura)
Dimensioni massime campione	2 campioni di circa 80 x 65 mm ²
Scala di grigi	65.536 livelli (16 bit)
Gamma dinamica	4,6 ordini di grandezza
Uscita immagine	Scala di grigi a 16 bit (tif)

Specifiche di separazione

Parametro	Descrizione
Voltage	250-600 V ¹
Corrente	20-50 mA ¹

¹ La potenza massima è di 20 W/scheda gel. I valori massimi dei parametri non possono essere raggiunti contemporaneamente.

Specifiche di sistema gruppo Western

Parametro	Dati
Dimensioni (L × P × A)	43 × 53 × 39 cm
Peso	20 kg
Alimentazione	Tensione: 100-240 V~ Frequenza: 50-60 Hz
Potenza assorbita	Potenza max: 400 VA
Fuse	2x T4AH 250 V
Tubazione di trasferimento e connettori	Materiale della tubazione: FEP, ID 1/8" Ghiera blu Connettore tubazione: Dado 5/16"-24UNF 2-A
Tubazione di sondaggio e connettori	Materiale della tubazione: FEP, ID 0.063" Ghiera gialla Connettore tubazione: Dado 1/4"-28UNF 2-B

Specifiche di trasferimento

Parametro	Descrizione
Voltage	10-100 V ¹

¹ La potenza max è di 40 W. La corrente max è di 400 mA.

Specifiche di sondaggio

Parametro	Descrizione
Volumi, sondaggio anticorpi	5-12 ml

Specifiche di asciugatura

Parametro	Descrizione
Temperatura	Massimo 45°C
Tempo di asciugatura	10 minuti

7.2 Guida alla resistenza chimica

Introduzione

Questa sezione specifica la resistenza chimica dell'Amersham WB analyzer ad alcuni dei prodotti chimici più comunemente utilizzati nell'elettroforesi e nel Western blot.

Supposizioni effettuate

La classificazione si basa sulle seguenti supposizioni:

- Gli effetti sinergici delle miscele chimiche non sono stati presi in considerazione.
- Si presuppone la temperatura ambiente e una sovrappressione limitata.

Nota: *Gli influssi chimici dipendono dal tempo e dalla pressione. Se non dichiarato diversamente, tutte le concentrazioni sono al 100%.*

Elenco delle sostanze chimiche

Per un elenco dei prodotti chimici usati nelle schede gel e nelle strisce tampone, vedere la Scheda Tecnica di Sicurezza (SDS/MSDS).

Uso	Prodotto chimico	Concentrazione	CAS n. e EC n.
General	Tamponi acquosi pH 4-10 (p.es., Tris, Glicina, Fosfato)	0-0,2 M	N/D
Trasferimento	Etanolo	40%	64-17-5/200-578-6
	Metanolo	40%	67-56-1/200-659-6
Trasferimento e sondaggio	Cloruro di sodio	0,2 M	7647-14-5/231-598-3
	Cloruro di potassio	50 mM	7447-40-7/231-211-8
	Tween	1%	9005-64-5/500-018-3
Pulizia delle corsie di flusso	Idrossido di sodio	0,5 M	1310-73-2/215-185-5
	Ipoclorito di sodio	5%	7681-52-9/231-668-3
Pulizia della piastra portascheda	Etanolo	50%	64-17-5/200-578-6

Uso	Prodotto chimico	Concentrazione	CAS n. e EC n.
Pulizia delle superfici	Etanolo	96%	64-17-5/200-578-6
	Detergenti delicati	N/D	N/D

7.3 Modulo di dichiarazione di salute e sicurezza

Assistenza in situ

Un rapporto On Site Service Health & Safety Declaration Form, come quello indicato nell'esempio seguente, deve essere usato per registrare i dettagli relativi alla decontaminazione prima di un intervento di assistenza in situ.



On Site Service Health & Safety Declaration Form

Service Ticket #:	
-------------------	--

To make the mutual protection and safety of GE service personnel and our customers, all equipment and work areas must be clean and free of any hazardous contaminants before a Service Engineer starts a repair. To avoid delays in the servicing of your equipment, please complete this checklist and present it to the Service Engineer upon arrival. Equipment and/or work areas not sufficiently cleaned, accessible and safe for an engineer may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges.

Yes	No	Please review the actions below and answer "Yes" or "No". Provide explanation for any "No" answers in box below.
		Instrument has been cleaned of hazardous substances. Please rinse tubing or piping, wipe down scanner surfaces, or otherwise ensure removal of any dangerous residue. Ensure the area around the instrument is clean. If radioactivity has been used, please perform a wipe test or other suitable survey.
		Adequate space and clearance is provided to allow safe access for instrument service, repair or installation. In some cases this may require customer to move equipment from normal operating location prior to GE arrival.
		Consumables, such as columns or gels, have been removed or isolated from the instrument and from any area that may impede access to the instrument.
		All buffer / waste vessels are labeled. Excess containers have been removed from the area to provide access.
Provide explanation for any "No" answers here:		
Equipment type / Product No:		Serial No:
I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.		
Name:		Company or institution:
Position or job title:		Date (YYYY/MM/DD):
Signed:		

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149542/28-9800-26 AC 05/2014

Restituzione prodotto o assistenza

Un rapporto Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing, come quello indicato nell'esempio seguente, deve essere usato per registrare i dettagli relativi alla decontaminazione prima di restituire o prestare assistenza al prodotto.



Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing

Return authorization number:		and/or Service Ticket/Request:	
------------------------------	--	--------------------------------	--

To make sure the mutual protection and safety of GE personnel, our customers, transportation personnel and our environment, all equipment must be clean and free of any hazardous contaminants before shipping to GE. To avoid delays in the processing of your equipment, please complete this checklist and include it with your return.

1. Please note that items will NOT be accepted for servicing or return without this form
2. Equipment which is not sufficiently cleaned prior to return to GE may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges
3. Visible contamination will be assumed hazardous and additional cleaning and decontamination charges will be applied

Yes	No	Please specify if the equipment has been in contact with any of the following:	
		Radioactivity (please specify)	
		Infectious or hazardous biological substances (please specify)	
		Other Hazardous Chemicals (please specify)	

Equipment must be decontaminated prior to service / return. Please provide a telephone number where GE can contact you for additional information concerning the system / equipment.

Telephone No:			
Liquid and/or gas in equipment is:		Water	
		Ethanol	
		None, empty	
		Argon, Helium, Nitrogen	
		Liquid Nitrogen	
	Other, please specify		

Equipment type / Product No:		Serial No:	
------------------------------	--	------------	--

I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.

Name:		Company or institution:	
Position or job title:		Date (YYYY/MM/DD)	
Signed:			

To receive a return authorization number or service number, please call local technical support or customer service.

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp. 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, US
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.
DOC114954A/Z8-9880-27 AC 05/2014

7.4 Traduzioni di accessori e materiali di consumo

Nome del prodotto in inglese	Traduzione
Amersham WB labeling buffer	tampone di etichettatura
Amersham WB loading buffer	tampone di caricamento
Amersham WB molecular weight markers	Marker del peso molecolare
Amersham WB gel card 14, 8-18%	scheda gel
Amersham WB gel card 14, 13.5%	scheda gel
Amersham WB buffer strip	striscia tampone
Amersham WB PVDF card	scheda PVDF
Amersham WB transfer paper	carta di trasferimento
Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5	capra anti-coniglio Cy3/Cy5
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5	capra anti-topo Cy3/Cy5
Amersham WB paper comb	pettine di carta
Amersham WB buffer strip holder	portastrisce tampone
Amersham WB transfer holder	supporto di trasferimento
Amersham WB sponge	spugna
Amersham WB membrane adapter	adattatore membrana
Amersham WB drying holder	supporto di asciugatura

Indice

A

- Adattatore membrana
 - Descrizione, 85
 - Mettere sulla piastra porta-scheda, 186
 - Pulire, 189, 194
- Anticorpo (secondario)
 - CyDyes coniugati, 82
 - Descrizione, 82
 - Stoccaggio di anticorpi liofilizzati, 64
 - Stoccaggio di anticorpi ricostituiti, 64
- Asciugatura
 - Avviare e monitorare, 183
- Avvisi
 - di sicurezza, 9

C

- Caricare campioni, 139
 - caricatore
 - Elpho & scan caricatore, 42
 - Carta di trasferimento
 - Descrizione, 80
 - CE
 - conformità, 10
 - Composizione
 - della scheda gel, 70
 - Conformità FCC, 12
 - Controllare il collegamento dello strumento, 114
 - Convenzioni tipografiche, 7
 - Corsia di flusso del liquido di sondaggio, 58
 - trasferimento, 56
- CyDye
 - Lunghezza d'onda di eccitazione, 82
 - Lunghezza d'onda di emissione, 82

D

- Decontaminazione, 35
- Descrizione della procedura di lavoro

- Western con normalizzazione delle proteine totali, 118
- Descrizione generale del software, 88
- Documentazione
 - Documentazione per l'utente, 14
 - File di dati e note applicative, 16
 - Manuale di metodo, 15

E

- Elementi di protezione per il trasporto
 - Rimuovere, 99
- Elettrodi di trasferimento
 - Installare, 99
 - Sostituire gli elettrodi di trasferimento, 209
- Elettroforesi
 - Avviare e monitorare, 140
 - Caricare campioni, 139
 - Inserire le strisce tampone nei portastrisce tampone, 133
 - Mettere i portastrisce tampone Gruppo Elpho & scan, 134
 - Preparare, 133
 - Procedure al termine di, 142
 - Rimuovere la scheda di gel, 142
- Elpho & scan
 - Aprire, 134
 - Chiudere, 139
 - Pulire, 143
- Elpho & scan gruppo, 40
- Elpho & scan Strumento, 42
- Esperimento
 - Creare, 123
 - Esperimenti di elettroforesi, 116
 - esperimenti Western, 116
 - Inserire le informazioni degli anticorpi, 125

Inserire le informazioni del campione, 124
 Esperimento di elettroforesi
 Descrizione, 116
 Panoramica, 117
 esperimento Western
 Panoramica, 117

F

Filtro d'ingresso
 Fissare i filtri d'ingresso alla tubazione, 105
 Portafiltro d'ingresso, 86
 Sostituire il filtro d'ingresso, 212
 Filtro dell'aria
 Sostituire il filtro dell'aria, 204
 Filtro serbatoio di trasferimento
 Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento, 211
 Fusibile di rete
 Sostituire il fusibile di rete, 212

G

Gruppo
 Elpho & scan strumento, 40
 Gruppo Elpho & scan
 Avvio, 120
 Gruppo strumento
 Western , 45
 Guide di asciugatura membrana
 Installare le guide di asciugatura membrana, 107

I

Immagine degli
 Marker MW, 68
 Indicatori, 39
 Informazioni di carattere normativo, 10
 Conformità ambientale, 12
 Conformità normativa dell'attrezzatura collegata, 13
 Norme e regolamenti per l'uso del laser, 12
 Norme internazionali, 11

Informazioni su come effettuare gli ordini
 Ordinare materiali di consumo, 62
 Informazioni sulla produzione, 10
 Installazione

 Installare gli elettrodi di trasferimento, 99
 Installare il lettore di tag della matrice, 109
 Installare le guide di asciugatura membrana, 107
 Installazione del software, 110
 Montare le torrette portatubi, 103
 Requisiti del computer, 95
 Requisiti del locale, 93
 Requisiti di spazio, 94
 Interruttori di sicurezza, 37

L

Lettore di tag della matrice
 Descrizione, 86
 Installare il lettore di tag della matrice, 109

M

Manutenzione
 Accessori, 203
 Programma di manutenzione, 190
 Pulizia della corsia di flusso per il sondaggio, 200
 Pulizia della corsia di flusso per il trasferimento, 199
 Sostituire gli elettrodi di trasferimento, 209
 Sostituire il filtro d'ingresso, 212
 Sostituire il filtro dell'aria, 204
 Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento, 211
 Sostituire il fusibile di rete, 212
 Sostituire la testa della pompa di sondaggio o di trasferimento, 206

Marchio CE, 11
Modulo di dichiarazione di salute e sicurezza, 223–224

N

Norme internazionali, 11
Note e suggerimenti, 9

O

Ordinare
materiali di consumo, 62

P

Panoramica della procedura di lavoro
Generale, 117
Pettine di carta
Descrizione, 75
Procedura, 141
Portafiltro d'ingresso
Descrizione, 86
Portastrisce tampone
Descrizione, 73
Inserire il gruppo Elpho & scan , 134
Pulire, 143, 194
Precauzioni di sicurezza
Introduzione, 18
Pre-etichettatura, 126
pH del campione, 127
Preparativi, 128
protocollo di pre-etichettatura Western, 129
Soluzioni e materiali richiesti, 127
Tamponi di lisi compatibili, 127
Procedure al termine dell'elettroforesi, 142
Procedure d'emergenza
Arresto d'emergenza, 32
Interruzione dell'alimentazione, 33
Proteine
marker MW, 69
protocollo di pre-etichettatura Western , 129
Pulire
Adattatore membrana, 189, 194

Corsia di flusso per il sondaggio, 195
Corsia di flusso per trasferimento, 167, 195
Corsia di flusso sondaggio, 181
gruppo Elpho & scan , 143
Portastrisce tampone, 143, 194
Scomparto di asciugatura, 197
Serbatoio di trasferimento, 195
Supporto di trasferimento, 168

Pulizia

Supporto di asciugatura, 189, 195

PVDF

Collocare nella camera di sondaggio, 177
Descrizione, 79
Preparare, 150
Spostare nello scomparto di asciugatura, 179

PVDF scheda

Avviare e monitorare la scansione, 187

R

Requisiti del computer, 95
Requisiti del locale, 93
Requisiti di spazio, 94
Ricette
Soluzioni anticorpi, 170
Soluzioni di sondaggio, 170
Soluzioni di trasferimento, 145
Riciclaggio delle sostanze pericolose, 35

S

Sandwich da trasferire
Caricare nel serbatoio di trasferimento, 163
Materiali, 147
Preparare, 147
Vista d'insieme del montaggio, 148
Scansione

- Preparativi preliminari, 185
 - Procedure successive a, 189
 - schedaPVDF , 185
 - Scheda gel
 - Allentare il telaio portagel dal relativo supporto, 156
 - Mettere sulla piastra portaseda, 137
 - Risoluzione della separazione delle proteine, 70
 - Scegliere il tipo, 123
 - Togliere la pellicola protettiva prima dell'elettroforesi, 136
 - Vista d'insieme dello smontaggio, 155
 - Scheda PVDF
 - Posizionare nel gruppo Elpho & scan , 185
 - Scomparto di asciugatura
 - Descrizione, 52
 - Pulire, 197
 - Scomparto di sondaggio
 - Descrizione, 51
 - Serbatoio di trasferimento
 - Caricare il sandwich da trasferire, 163
 - Descrizione, 50
 - Pulire, 195
 - Smaltimento, istruzioni generali, 35
 - Smaltimento dei componenti elettrici, 35
 - Software
 - Avviare, 122
 - Installazione, 110
 - Soluzioni
 - Anticorpi, 170
 - Bloccanti, 170
 - Collegare le soluzioni anticorpi, 172
 - Collegare le soluzioni di sondaggio, 171
 - Collegare le soluzioni di trasferimento, 146
 - Sondaggio, 170
 - Trasferimento, 145
 - Sondaggio
 - Avviare e monitorare, 178
 - Collegare le soluzioni anticorpi, 172
 - Collegare le soluzioni di sondaggio, 171
 - Preparare le soluzioni di sondaggio e di anticorpi, 170
 - Principio di base del processo di sondaggio, 59
 - Pulire la corsia di flusso, 181, 195
 - Pulizia della corsia di flusso, 200
 - Riempire preventivamente la camera di sondaggio, 175
 - Sostituire la testa della pompa di sondaggio, 206
 - Spugna
 - Descrizione, 81
 - Sistemare nel supporto di trasferimento, 154
 - Stoccaggio
 - dei materiali di consumo, 62
 - Striscia tampone
 - Descrizione, 73
 - Inserire nel portastrisce tampone, 133
 - Strumento
 - Collegare al computer, 102
 - Collegare i cavi di alimentazione, 103
 - Collegare i gruppi strumento, 102
 - Controllare il collegamento dello strumento, 114
 - Indicatori, 39
 - Supporto di asciugatura, 84
 - Pulizia, 189, 195
 - Supporto di trasferimento
 - Descrizione, 77
 - Pulire, 168
 - Togliere al termine del ciclo, 166
 - Supporto tubazione
 - Descrizione, 87
 - Fissare, 105
- T**
- Tamponi
 - Tamponi di lisi, 127

Tamponi e soluzioni
Acqua purissima, pulizia, 145, 170
Soluzione anticorpi, sondaggio, 170
Soluzione bloccante, 170
Tampone di lavaggio, sondaggio, 170
Tampone di lavaggio finale, sondaggio, 170
Tampone di trasferimento, 145
Testa della pompa
Sostituire la testa della pompa di sondaggio o di trasferimento, 206
Tipi di
schede di gel, 70
Togliere la copertura del pozzetto campione, 138
Torrette portatubi
Montare, 103
Trasferimento
Avviare e monitorare, 164
Collegare le soluzioni, 146
Preparare e collegare le soluzioni, 145
Principio di base del processo di trasferimento, 57
Pulire la corsia di flusso per trasferimento, 195
Pulizia della corsia di flusso, 199

Sostituire gli elettrodi di trasferimento, 209
Sostituire il filtro del serbatoio di trasferimento, 211
Sostituire la testa della pompa di trasferimento, 206

V

Vano anticorpi
Collegare le soluzioni anticorpi, 172
Descrizione, 53
Vano di servizio
Descrizione, 54
Sostituire il filtro dell'aria, 204
Sostituire le teste delle pompe, 206
Visualizzazione risultati, 188

W

Western
Avvio, 121
Descrizione, 116
Western gruppo, 45
Western unità
Scomparto di asciugatura, 52
Scomparto di sondaggio, 51
Serbatoio di trasferimento, 50
Vano anticorpi, 53
Vano di servizio, 54

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Per contattare gli uffici locali, visitare il sito
www.gelifesciences.com/contact

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Regno Unito
www.gelifesciences.com

Il monogramma GE e GE sono marchi di fabbrica General Electric Company.

Amersham, Cy, CyDye, MiniTrap e Sephadex sono marchi di GE Healthcare o di una delle sue aziende consociate.

Microsoft e Windows sono marchi di fabbrica registrati di Microsoft Corporation.

Tween è un marchio di Uniqema Americas LLC.

CyDye: Questo prodotto è fabbricato con licenza esclusiva da Carnegie Mellon University ed è coperto da brevetto degli Stati Uniti n. 5.569.587 e 5.627.027.

L'acquisto di prodotti CyDye comprende una licenza limitata per poter utilizzare i prodotti CyDye per ricerca e sviluppo interni ma non per scopi commerciali. L'eventuale licenza per poter usare i prodotti CyDye per scopi commerciali è soggetta ad un accordo di licenza specifico con GE Healthcare.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi possessori.

© 2014-2015 General Electric Company – Tutti i diritti riservati.

Prima pubblicazione Mar. 2014

Tutte le merci e i servizi sono venduti in conformità ai termini e alle condizioni di vendita della società all'interno di GE Healthcare che li fornisce. Una copia dei presenti termini e condizioni è disponibile su richiesta. Contattare il rappresentante locale di GE Healthcare per accedere alle informazioni più aggiornate.

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Japan Corporation
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

