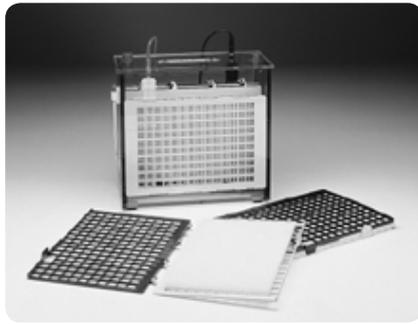


# Hoefer TE42 e TE62

Unità di trasferimento di elettroforesi





## Indice

Informazioni Importanti.....	ii
Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE).....	vii
Transfer Unit funzione di elettroforesi e la descrizione .....	1
Specificazioni.....	2
Istruzioni per l'uso.....	4
Cura e manutenzione .....	12
Accensione del modulo .....	13
Risoluzione dei problemi .....	15
Electrotransfer note .....	17
Bibliografia .....	24
Informazioni per l'ordine .....	26

## Informazioni Importanti – Italiano

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefel, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è disegnato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefel, Inc. potrebbe essere usato per operare, per mantenere, e per revisionare questo prodotto.
- usa Solo un alimentatore che è CE ha marcato o la sicurezza certificato da un nazionalmente riconosciuto testando il laboratorio.
- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spegne tutto i controlli di alimentatore e disinserisce i piombi di potere prima di togliere il coperchio di sicurezza.
- Circola solo l'acqua o 50/50 glicole di acqua/etilene attraverso lo scambiatore di calore se così equipaggiato. Non collegare lo scambiatore di calore a un rubinetto di acqua o qualunque fonte di refrigerante dove la pressione di acqua è sregolata.
- Non introduce mai l'antigel o qualunque solvente organico in qualunque parte dello strumento. I solventi organici causeranno il danno irreparabile all'unità!
- Non opera con le temperature di tampone al di sopra del massimo ha specificato le descrizioni tecniche. Il surriscaldamento causerà il danno irreparabile all'unità!

## Důležité Informace – Czech

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

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

## Vigtig Information – Danish

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

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

## Belangrijke Informatie – Dutch

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

## Important Information – English

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

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

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

## Tärkeää Tietoa – Finnish

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

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

## Information Importante – French

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

## Wichtige Informationen – German

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

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

## Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefer, Inc. beskyttelsen som ha blitt gitt av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.
- Sikkerheten lokket må være på plass før forbindelse

- kræftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
  - Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyret. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vanntapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulert.
  - Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemidler vil forårsake irreparabel skade på enheten !
  - Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overoppheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

## Wazne Informacje – Polish

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

- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

## Informações Importantes – Portuguese

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

## Información Importante – Spanish

- Si este equipo es utilizado en una manera no especificado por Hoesfer, Inc. la protección proporcionado por el equipo puede ser dañada.
- Este instrumento es diseñado para el uso interior del laboratorio sólo.
- Sólo accesorios y partes aprobaron o suministraron

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

## Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefel, Inc. skyddet tillhandahåll vid utrustningen kan skadas.
- Detta instrument formges för inomhuslaboratorium användning bara.
- Bara medhjälpare och delar godkände eller levererade vid Hoefel, Inc. kan användas för fungera, underhålla, och servicing denna produkt.
- använder bara en kraft tillgång som är CE markerade eller säkerhet intygade vid en nationellt erkänd testande laboratorium.
- Säkerheten locket måste vara på platsen före koppla kraften tillgången blyen till en kraft tillgång.
- Vänder sig alla kraft tillgång kontroller av och kopplar bort kraften blyen före flytta säkerheten locket.
- Cirkulerar bara vatten eller 50/50 vatten/ethylene glycol genom värmen exchanger i så utrustad fall. Inte kopplar värmen exchanger till en vatten kran eller något kylmedel källa där vattnet trycket är

unregulated.

- Inför aldrig kylvätska eller något organiska lösningsmedel in i någon del av instrumentet. Organiskt lösningsmedel ska orsaka irreparable skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

---

## Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)

Italiano



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

English



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

French



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

German



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

Spanish



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

Swedish



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

## Transfer Unit funzione di elettroforesi e la descrizione

Il Hoefer® TE42 e TE62 unità di trasferimento di trasferire rapidamente proteine, DNA, RNA o fino a quattro poliacrilammide o gel di agarosio su una membrana. Gel e membrane sono assemblati in una cassetta e sommersa in una vasca riempita con tampone di trasferimento. Gli elettrodi nel serbatoio sono collegati ad una alimentazione esterna.

Il TE62 contiene uno scambiatore di calore nella base. Buffer è separato dal refrigerante da un conducibilità termica piastrina di allumina. Il TE42 non è dotato di un sistema di raffreddamento tampone. Se il raffreddamento è necessario, uno scambiatore di calore immergibile possono essere ordinati separatamente.

### Transphor modelli e caratteristiche

	built-in scambiatore di calore per raffreddare	compatibile con alimentazione esterna
TE42		✓
TE62	✓	✓

### Disimballaggio

Scartare tutti i pacchetti con attenzione e comparare i contenuti con le informazioni packing list o ordinare, assicurandosi che tutti gli elementi arrivato. Se una parte è presente, rivolgersi Hoefer, Inc. Controllare tutti i componenti per i danni che possono essersi verificati mentre l'unità era in transito. Se una parte risulta danneggiata, contattate immediatamente. Essere sicuri di mantenere tutto il materiale di imballaggio per richieste di risarcimento danni o per reimballaggio che si renderanno necessarie per restituire l'unità.

# Specificazioni

## Tutti i modelli vasca: TE42 e TE62

Gel taglia	fino a quattro gel 15×21 cm o fino a sedici 7×10 cm mini-gel
Max. potenza	200 W
Max. tensione	100 V
Max. amperage	2 A
Max. temperatura	45 °C
Buffer necessaria	4-5 litri, a seconda del numero di cassette in luogo
Condizioni operative ambientali:	
Usò interno	4-40 °C
Umidità fino a	80%
Altitudine fino a	2000 m
Categoria di installazione	II
Grado di inquinamento	2
Dimensioni (L×P×A)	TE42: 28×13×30,5 cm TE62: 28×16,5×32 cm
Certificazioni di prodotto	EN61010-1, UL3101-1, CSA C22.2 1010.1, CE

### Questa dichiarazione di conformità è valida solo per lo strumento quando è:

- utilizzato in ambienti di laboratorio,
- utilizzati così come forniti dal Hoefer, Inc. salvo alterazioni descritte nel manuale d'uso, e
- collegato ad altri marchi CE strumenti o prodotti raccomandati o approvati da Hoefer, Inc.

**Fig 1.** Transphor componenti principali.

**Inclusi ma non mostrato:**

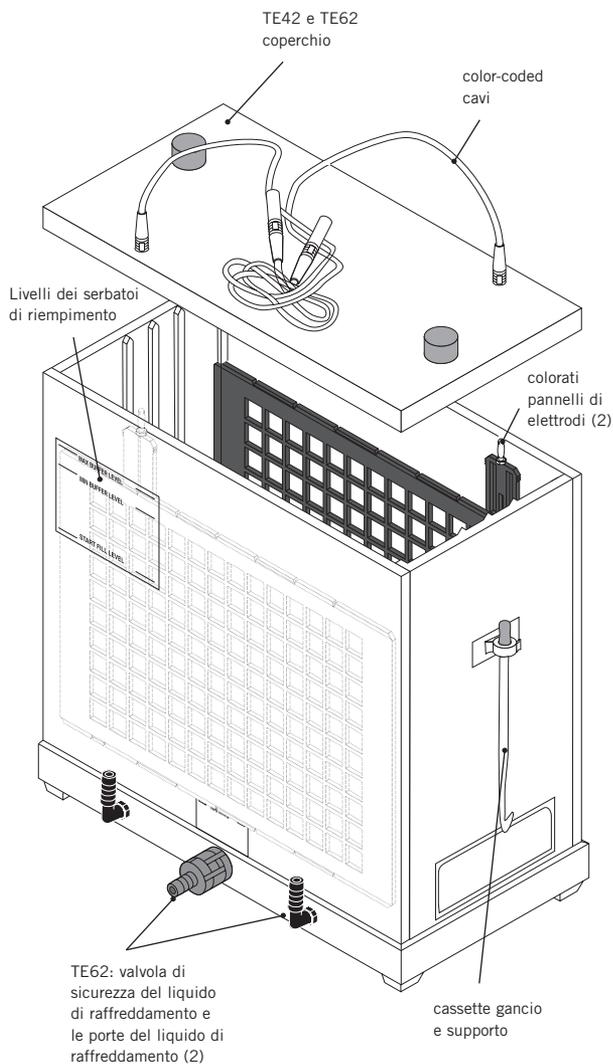
**TE42:**

- Cassette Gel (2)
- Spugne schiuma, 6 mm di spessore (2)
- Spugne schiuma, 3 mm di spessore (4)
- Carta assorbente, fogli (25)

**TE62:**

- Cassette Gel (4)
- Spugne schiuma, 6 mm di spessore (4)
- Spugne schiuma, 3 mm di spessore (8)
- Carta assorbente, fogli (25)

**Nota:** Uno scambiatore di calore immergibile (Cifra nr TE47) possono essere ordinati separatamente per la TE42.



## Istruzioni per l'uso

Eseguire il trasferimento appena possibile dopo elettroforesi per minimizzare la diffusione banda. Ogni passaggio è descritto di seguito.

### Preparare il tampone di

Preparare un minimo di 5 litri di tampone di trasferimento adeguato. Raffreddare il buffer prima dell'uso, se possibile.

### Preparare l'unità

①

---

Sciacquare il serbatoio di trasferimento e cassette con acqua distillata.

②

---

Raffreddamento attivo è facoltativa, ma fortemente raccomandato. Se nessun raffreddamento attivo sarà utilizzato, passare al punto 3.

**Nota:** Collegare lo scambiatore di calore ad un bagno di circolatore come il RCB20-PLUS.

Circolare solo acqua o 50/50 di acqua/glicole etilenico per evitare di danneggiare l'unità.

Il circolatore non deve generare una pressione maggiore di 0,7 bar (10 psi) sopra della pressione atmosferica.

Impostare la temperatura a 10 °C o superiore, se solo acqua circolante. Se si utilizza 50/50 etilene glicole/acqua, la temperatura può essere inferiore.

Avviare il bagno circolatore al tempo stesso il trasferimento.

**Nota:** Fare riferimento alla sezione Electrotransfer Note per una discussione di membrane e tamponi.

**Nota:** Per le connessioni facili e veloci, installare Quick-fit accoppiamento con valvole in linea.

**Nota:** La valvola si apre quando la pressione nello scambiatore di calore superiore a 0,7 bar (10 psi) sopra della pressione atmosferica.

**Nota:** Per le connessioni facili e veloci, installare raccordi a sgancio rapido con valvole.

**Nota:** Anche se non è richiesto di raffreddamento per il vostro sistema, il buffer deve essere fatto circolare con un agitatore per evitare l'esaurimento del buffer in corrispondenza degli elettrodi.

## TE42

Abbassare lo scambiatore di calore (da ordinare separatamente, oppure utilizzare lo scambiatore di calore fornito con l'unità Gel Electrophoresis Hoefer SE600 se ne avete uno) nella camera inferiore, di montare le porte nelle tacche del cerchio. Preparare due lunghezze di 10-12 mm i.d. vinile o un tubo di silicone per il circuito di raffreddamento e passare a "Collegare il tubo" di seguito.

## TE62

Prima Collegare il tubo alla valvola rossa riduzione della pressione tra l'ingresso dell'acqua e le porte di uscita e inserire l'estremità libera nella vasca da bagno o in altri contenitori o scarico di troppo pieno per catturare qualsiasi pressione. Preparare due lunghezze di vinile 9 mm o tubo in silicone e vedere "Collegare il tubo" di seguito per le istruzioni sul montaggio per i porti dello scambiatore di calore nella base dell'unità.

## Collegare il tubo

Far scorrere le fascette (4 in totale) su ogni estremità di due lunghezze di tubo. Attaccare un'estremità di ciascun tratto di tubo a una porta scambiatore di calore. Fissare le estremità libere di ciascun tratto di tubazione per porte bagno i circolatori, uno per l'ingresso e l'altra alla presa. Fissare i collegamenti con le fascette.

### 3

Luogo (non cadere) un agitatore magnetico nel serbatoio tampone. (Eliminazione di oggetti sulla piastra di allumina nella TE62 può causare la piastra per rompere.) Impostare l'unità su un agitatore magnetico. Riempire il trasferimento del buffer per la linea "Start livello di riempimento". (Questo richiede circa 3,8 litri). Impostare l'agitatore alla medio-bassa, che crea la circolazione del buffer senza forzare tampone attraverso cassette assemblate.

**Nota:** Indossare sempre guanti quando si maneggiano le membrane per evitare di lasciare impronte su di loro.

**Importante!** Fare molta attenzione a rimuovere le bolle d'aria ad ogni passo perché la presenza di bolle d'aria, in particolare tra la membrana e il gel, il trasferimento blocchi.

## Montare la cassetta di trasferimento

**1**

Pre-wet nitrocellulosa o membrane di nylon con acqua distillata. Prelavaggio PVDF o altre membrane idrofobe in metanolo. Poi assorbire tutti i tipi di membrane in buffer di trasferimento per 2-5 minuti.

**2**

Aprire la cassetta rilasciando entrambe le linguette aggancio lungo il bordo opposto alle cerniere. Posizionare la cassetta aperta in un vassoio pieno di almeno 3 cm di tampone di trasferimento.

**3**

Montare la pila di trasferimento in modo che le molecole migreranno verso la membrana. Per macromolecole cariche negativamente (come gli acidi nucleici e la maggior parte delle proteine), costruire la pila sulla metà grigio della cassetta (e poi posizionare il coperchio in modo che il lato grigio affronta il cavo rosso, o anodo (+).

Mettere una 3 mm di spessore spugna schiuma sulla cassetta aperto sommersa e premere delicatamente fino a tutta l'aria viene espulsa. Mettere un foglio di carta assorbente sulla spugna, e quindi posizionare la membrana sulla carta assorbente. Porre il gel che contiene un campione che è stato separato elettroforeticamente e equilibrata (se richiesto) con tampone di trasferimento, sulla membrana. Delicatamente rotolare una pipetta di vetro o provetta sul gel di espellere aria intrappolata tra la membrana e il gel. Coprire il gel con un foglio di carta assorbente e quindi posizionare una spugna dello spessore adeguato (vedi schema sottostante), ancora una volta una leggera pressione per espellere l'aria intrappolata.

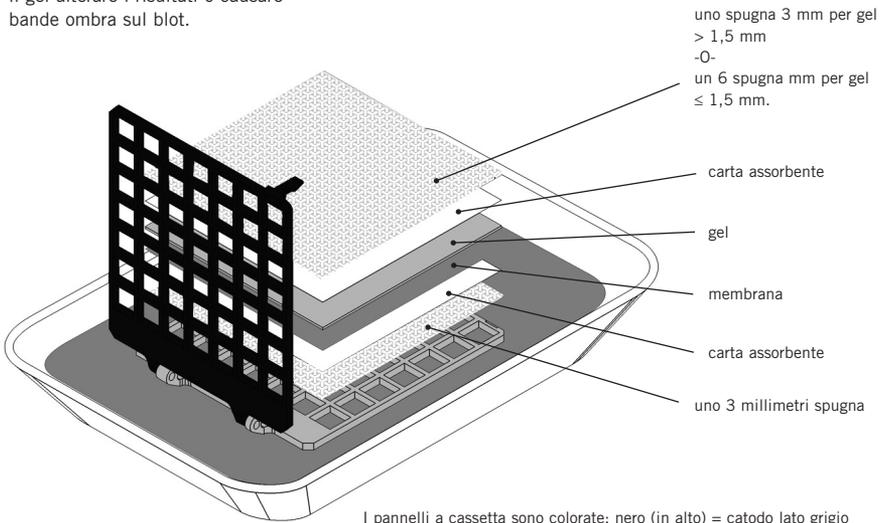
4

**Fig 2.** Trasferire gruppo impilato. Lo stack è orientato in modo che le molecole caricate negativamente migrare verso l'anodo grigio (+).

**Importante!** Non overstuff la cassetta.

**Nota:** Prova a mettere il gel correttamente la prima volta perché le proteine può iniziare a trasferire immediatamente; volta che il trasferimento è iniziato, spostando il gel alterare i risultati o causare bande ombra sul blot.

Chiudere la cassetta e premere leggermente per bloccare le schede. La cassetta raccolta, deve tenere il gel a stretto contatto con la membrana senza comprimere il gel. Se la pila sembra allentata, aggiungere fogli di carta assorbente, se lo stack sembra stretto, sostituire la spugna superiore (sul gel) con un foglio di carta assorbente. Se si rimuove la spugna basso (sotto il gel), sostituire almeno due fogli di carta assorbente per creare spazio tra la membrana e il pannello cassetta.



I pannelli a cassetta sono colorate: nero (in alto) = catodo lato grigio (in basso) = lato anodo.

Montare la cassetta in un vassoio contenente buffer di trasferimento di circa 3 cm di profondità.

## Installare la cassetta(s)

### 1

Il serbatoio contiene fino a quattro cassette, se il trasferimento solo uno o due gel, utilizzare le posizioni più vicine al centro della cassetta. (Lo scambiatore di calore sommergibile, se utilizzato in TE42, riempie i due slot centrali, quindi solo due cassette possono essere collocati nelle scanalature esterne.)

Le cassette devono essere orientati in modo che le cerniere affrontare e in modo che il lato nero di ciascuna cassetta affronta il pannello nero catodo.

Lavorate rapidamente quando si sposta la cassetta(s) assemblato al serbatoio di drenaggio per evitare le spugne: Posizionare il vassoio con la cassetta(s) in prossimità del serbatoio, estrarre una cassetta alla volta, e farlo scivolare in una serie di feritoie verticali. Non gettare il buffer nel vassoio.

### 2

Una volta sul posto, toccare ogni cassetta leggermente fino a quando la maggior parte delle bolle d'aria sono sloggiato. (Piccole bolle nelle spugne è improbabile che interferisca con il trasferimento.)

### 3

Controllare il livello del buffer. Aggiungere o rimuovere tampone come richiesto in modo che il livello scende tra le linee di buffer minimo e massimo livello. (Buffer sopra la linea di massimo livello del buffer possono causare corrosione dei contatti elettrici.)

## Trasferire

Fare attenzione a orientare tutte le componenti del sistema in modo che il campo elettrico applicato fa sì che tutte le specie a migrare verso la membrana. La direzione di migrazione dipende sia dalle caratteristiche del campione e il pH del tampone di trasferimento. Se le specie di interesse è caricato negativamente in tampone di trasferimento e la pila viene montata in modo che la membrana è più vicino al lato grigio della

**Importante!** Non permettere mai che la temperatura del tampone superare i 45 °C. Il calore eccessivo provoca l'unità a deformarsi.

cassetta, allora questo lato si affaccia l'anodo (+). La maggior parte delle proteine migrare verso l'anodo nella Tris/glicina sistema tampone Towbin/metanolo (indipendente dalla presenza di SDS), e nella maggior parte delle condizioni di acidi nucleici sono caricate negativamente e anche migrare verso l'anodo.

**Il raffreddamento è fortemente raccomandato.** Qualsiasi impostazione che si traduce in superiori a 5 W di potenza genera calore sufficiente a richiedere il controllo attivo di calore. Un bagno circolatore refrigerato deve essere impostato raffreddare fino a circa 10 °C. (Se si utilizza 50/50 etilene glicole/acqua, la temperatura può essere inferiore.) Tampone gelido prima dell'uso, se possibile.

**Impostazioni di potenza consigliate.** La maggior parte dei trasferimenti sono state completate nel giro di un'ora, ma molecole più grandi o più spessi gel possono richiedere i tempi di trasferimento più lunghi, il tempo di trasferimento ottimale per ogni sistema deve essere determinato empiricamente. Trasferimenti lasciato correre durante la notte dovrebbe essere impostata su un valore di corrente costante non superiore a 0,1 A.

### Parametri di trasferimento tipici

Parametri per il vostro campione e sistema tampone deve essere determinato empiricamente.

	proteina	acidi nucleici
Buffer	Towbin	1X TBE o TAE 1X
Corrente (A)	0,8-1,0	0,9-1,0
Tensione (V)	70-80	50
Tempo di trasferimento	~1 ora	~1 ora
Temperatura liquido di raffreddamento	10 °C	10 °C o meno

## TE42 e TE62

①

### Installare il coperchio di sicurezza

Le cassette e pannelli di elettrodi sono colorati per abbinare i cavi del coperchio: Orientare il coperchio in modo che la metà delle cassette grigio e il grigio volto pannello anodo l'anodo (+), o piombo rosso, nero, e la metà delle cassette e il nero volto pannello catodo il catodo (-), o piombo nero.

②

Utilizzare solo un alimentatore approvato come Hoefer PS2A200, PS200HC o PS300B. Assicurarsi che l'alimentazione è spento e tutti i controlli sono impostati a zero. Collegare il cavo rosso nel jack di uscita rosso e il filo nero nel jack di uscita nero. Nella maggior parte dei sistemi, il cavo rosso è l'anodo (+), e il cavo nero è il catodo (-).

③

### Impostare l'alimentatore

Modalità di corrente costante è raccomandato. Se la modalità di tensione costante è selezionata, monitorare attentamente la corrente (aumento della corrente di riscaldamento Joule aumenta). Se la corrente supera 1 A, diminuire la tensione. Se disponibile, impostare il timer alimentazione per non più di due ore.

**Nota:** Le due calotte rosse sul coperchio ospitare i connettori a banana sullo scambiatore di calore SE600 modello immergibile (a prescindere dall'orientamento).

**Nota:** è una buona idea per colorare il gel per determinare la completezza del trasferimento.

**Nota:** Non conservare buffer utilizzato con serbatoio di trasferimento. Freddo del tampone a 10 °C prima di riutilizzarli.

## Dopo il trasferimento è stato completato

**1**

Girare le impostazioni di tensione e corrente a zero e spegnere l'alimentazione. Scollegare i cavi dalle prese di alimentazione.

**2**

Solleverare il coperchio. Utilizzare il gancio di plastica (memorizzato nel supporto a lato della macchina) per sollevare una cassetta quanto basta per poter afferrare e posizionarlo in un vassoio.

**3**

Aprire ogni cassetta con attenzione e rimuovere i gel e le membrane. Contrassegnare ciascuna membrana e indicano il lato campione. Sollevare membrana(s) con pinze smussate e aria secca, o seguire le istruzioni che accompagnano il protocollo.

**4**

Eliminare la carta assorbente, ma riutilizzare le spugne.

**5**

**Sciacquare immediatamente l'apparecchio dopo l'uso.** (Vedi il capitolo Manutenzione e manutenzione della pagina successiva.)

---

## Cura e manutenzione

### Pulizia

- Non sterilizzare in autoclave o riscaldare qualsiasi parte superiore a 45 °C.
- Non esporre ad alcoli o solventi organici!\*
- Non utilizzare detergenti abrasivi.
- Se si utilizza reagenti radioattivi, decontaminare l'unità con un detergente come Contrad 70™ o Decon 90™.

Sciacquare il serbatoio, cassette, e spugne con acqua distillata immediatamente dopo ogni utilizzo. Attendere che l'unità di asciugare completamente. Periodicamente lavare con una soluzione diluita di un detergente delicato.

Quando si pulisce l'unità, lasciare i pannelli di elettrodi in posizione. Se deve essere acceso (non raccomandato), fare molta attenzione per non allungare o rompere il filo di platino: tirare con cautela il pannello in avanti quanto basta per cancellare il labbro di tenuta (<5 mm). Con una mano afferrare il supporto spina a banana (non la banana) e con l'altra mano afferrare il pannello in un punto ben lontano dal filo. Sollevare il pannello fuori.

\*Utilizzare ≤ 20% di metanolo (alcol metilico) in buffer di trasferimento è l'unica eccezione.

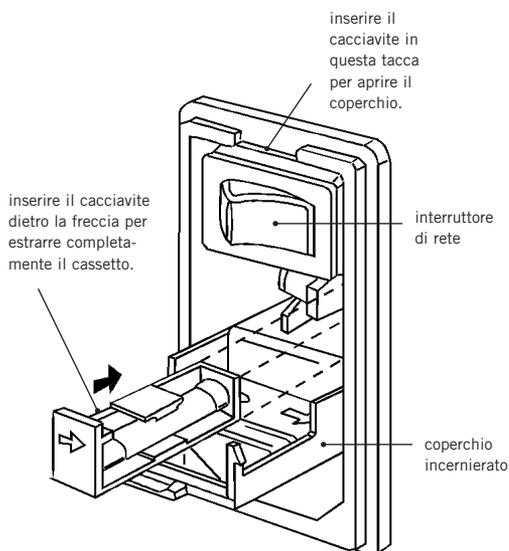
## Accensione del modulo

**Fig 3.** Il modulo di alimentazione si trova sul pannello posteriore.

**Importante!** Fusibili proteggere le attrezzature scollegando carichi troppo grandi per la progettazione del circuito dello strumento, per cui è imperativo che i fusibili vengono sostituiti solo con fusibili di identico punteggio. Il modulo di alimentazione di rete, situata nella parte posteriore del coperchio potenza, contiene due fusibili di ingresso:

115 V~ modello:  
T 3A 250 V, 5 × 20 mm

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



**1**

**Attenzione:** Spegnerne l'alimentazione di rete spegnere e staccare il cavo di alimentazione prima di sostituire i fusibili di ingresso!

**2**

Aprire il vano fusibili inserendo un piccolo cacciavite a lama piatta nella fessura nella parte superiore del modulo di potenza. Ruotare il cacciavite 1/8 di giro per sbloccare il coperchio, quindi estrarre il vano cerniera, che si apre.

**3**

Inserire il cacciavite sopra la freccia su una cassetta dei fusibili, vedere la fine cassetta, e lentamente scivolare completamente al di fuori del modulo.

---

**4**

Estrarre il fusibile dalla sua cassetta e controllare. Se l'elemento fusibile è bruciato o rotto, sostituire il fusibile con un tipo identico. Se il fusibile sembra essere intatto, controllare con un multimetro. (Una lettura di  $1 \Omega$  o inferiore indica il fusibile è ancora utilizzabile.)

**5**

Dopo aver posizionato un fusibile buona nel cassetto, far scorrere il modulo di potenza, assicurandosi che la freccia sulla cassetta a destra (nella stessa direzione delle frecce guida sulla parte interna della porta della cella).

**6**

Ripetere i passaggi da 3 a 5 per la seconda cassetta.

**7**

Chiudere il coperchio del vano fusibili e premere delicatamente nel modulo di potenza finché non siblocca.

**8**

Collegare il cavo di alimentazione all'unità e accendere l'alimentazione di rete interruttore.

## Risoluzione dei problemi

### problema

### soluzione

#### Trasferimento incompleto

*Aree vuote sulla membrana*

Rimuovere tutte le sacche d'aria intrappolate nel gruppo impilato trasferimento: assemblare lo stack mentre è immerso in tampone di trasferimento, premere delicatamente su ogni spugna come è aggiunto alla pila, e rotolare una pipetta di vetro o provetta sulla membrana e gel di eliminare tutte le bolle d'aria.

Ridurre la velocità di agitazione per evitare turbolenze.

Process una sola striscia o la membrana in ciascun vassoio o cassetta per evitare sovrapposizioni.

Utilizzare tampone con una forza inferiore ionica.

Continuità elettrodo Check. Durante il trasferimento, un flusso continuo di gas viene rilasciato lungo l'intera lunghezza degli elettrodi. Se non si formano bolle tutta la lunghezza dell'elettrodo, sostituire l'elettrodo.

Se cassette sono piegato quando è vuoto, sostituire. Riempendo eccessivamente la cassetta la fa a piegarsi, vedi le istruzioni di montaggio raccomandate a pagina 6.

*Griglia su membrana*

Aggiungere altri fogli di carta assorbente per aumentare la distanza tra il pannello cassetta e il gel. Fare attenzione a non overstuff la cassetta, il gel deve essere tenuto saldamente e in modo uniforme tra le spugne, ma non così strettamente che si è spremuto.

*Molecole non migrano di gel*

Aumentare l'intensità del campo.

Aumentare periodo di trasferimento. (Prova raddoppio.)

Non utilizzare la colorazione o il fissaggio agenti sul gel prima del trasferimento.

Utilizzare un gel sottile.

Ridurre la concentrazione di acrilamide gel.

Verificare che il pH tampone è vicino al pH desiderato. La maggior parte dei buffer non deve essere titolato; fare tampone fresco.

Utilizzare 3,5 mM SDS (0,1%) nel tampone di trasferimento.

Evitare di inserire metanolo nel buffer di trasferimento o ridurre la quantità al minimo assoluto.

Utilizzare il reagente di grado sostanze chimiche.

Aumentare la durata del tempo sono depurinated Southern blot.

Aumentare la carica netta sulla proteina modificando ad un buffer di trasferimento con un pH diverso. PH inferiore (<6-7) aumenta la carica positiva di proteine, pH superiore (>6-7) aumenta la carica negativa sulle proteine.

---

**problema****soluzione**

---

**Modelli di banda diffusa**

Transfer immediatamente dopo la separazione elettroforetica. Se equilibrante prima del trasferimento, ridurre o eliminare il tempo di equilibrio o spostare il gel alla sala freddo durante equilibrio.

Se buffer di trasferimento contiene metanolo ( $\geq 10\%$ ), equilibrare il gel in tampone di trasferimento per 30 minuti per consentire a compattare prima di assemblare la pila. Nota: Poiché il metanolo provoca il gel a ridursi leggermente, molecole di grandi dimensioni possono migrare più lentamente.

Prelevare il gel viene tenuto fermamente contro la membrana e che esso non si sposti quando avviene il contatto.

Se riscaldamento eccesso si verifica durante il trasferimento, abbassare la temperatura del fluido di raffreddamento nello scambiatore di calore.

Verificare che la superficie preferita legame della membrana (eventuale) contatti il gel.

---

**Binding inefficiente alla membrana***Parametri chimico*

Fissare o reticolare la molecola sulla membrana secondo le esigenze dei acidi nucleici, proteine, o di tipo a membrana.

Preparare il trasferimento tampone proteica senza SDS.

Verificare che la quantità ottimale di metanolo richiesto per il tipo di membrana e controllare la soluzione tampone. Aggiungere 10-20% metanolo al buffer di trasferimento per migliorare legame nitrocellulosa.

*Membrana parametri*

Indossare i guanti quando si maneggiano le membrane.

Membrane Conservare a temperatura ambiente dalla luce solare diretta per mantenere le membrane attivato.

Utilizzare una membrana con dimensione dei pori inferiore (0,10-0,20  $\mu\text{m}$ ) se le proteine passano attraverso la membrana, o utilizzare un diverso tipo di membrana.

Inserire una membrana sia sopra che sotto il gel se si sospetta una proteina si muove nella direzione opposta dalla maggior parte delle proteine. Controllare entrambe le membrane per la proteina(s).

Verificare campione troppo è disponibile per la superficie legame applicando due membrane invece di uno. Se "soffiare" si verifica, ridurre il carico campione.

Per ulteriori suggerimenti di risoluzione dei problemi, fare riferimento alla Bjerrum, O.J. *et al.* (1988).

---

## Electrotransfer note

### Vantaggi trasferimento elettroforetico

Trasferimento elettroforetico di proteine e acidi nucleici è molto più veloce rispetto ai metodi blotting prima descritti da Southern per il DNA, Alwine et al. Per l'RNA, o Renart et al. per le proteine.

Il metodo di trasferimento serbatoio utilizza corrente elevata per ridurre il tempo di trasferimento della maggior parte dei campioni per 45-60 minuti.

Trasferimento elettroforetico può migliorare l'efficienza di trasferimento elettroforetico su non-blotting, specialmente per le proteine, ma non tecnica di trasferimento quantitativa è stata ancora sviluppata a causa della complessità delle reazioni. Recupero quantitativo non è effettivamente necessario per la maggior parte degli scopi perché macromolecole associazione ad una membrana aumenta la sensibilità dei metodi di rilevazione come autoradiografia e consente il rilevamento di proteine specifiche mediante anticorpi o etichette affinità, e di specifici acidi nucleici mediante ibridazione con filamenti complementari di RNA o DNA.

Il tampone può essere scelto per determinare un trasferimento o verso il catodo e l'anodo. Il pH deve essere tale che tutte le specie di interesse sono cariche e migrano nella stessa direzione. La forza ionica non dovrebbe essere troppo alto, poiché ciò provocherebbe una corrente eccessiva e calore. Per questo motivo, le condizioni di sale utilizzate da Southern blotting per capillare di DNA non può essere utilizzato. I sistemi tampone più utilizzati sono quelli di Towbin et al. per il trasferimento di proteine, e di Bittner et al. per il trasferimento di acidi nucleici. Sistemi tampone per il trasferimento di ogni tipo di campione sono elencati più avanti in questa sezione.

---

---

## Fattori che influenzano il trasferimento

Parametri quali le caratteristiche del campione, il tipo di membrana, dimensione dei pori gel e il buffer di trasferimento utilizzati tutti contribuiscono alla trasferibilità delle macromolecole, e dovrebbe essere tenuto in considerazione durante lo sviluppo di un protocollo. Specie molecolari molto piccole, per esempio, passano rapidamente ma spesso non si legano come pure molecole di dimensioni maggiori; grandi molecole impegnano in modo più efficiente, ma non eluire dal gel più rapidamente. La velocità di eluizione è anche influenzata dalla dimensione dei pori del gel e l'orientamento delle molecole.

Inoltre, il grado in cui molecole si legano alla membrana è influenzato dalle caratteristiche della membrana come dimensione dei pori e il tipo e le caratteristiche tampone come tipo di sale di pH, e la concentrazione, e la presenza di detergenti quali sodio dodecil solfato (SDS). Le condizioni necessarie per eluizione efficace può non coincidere con le condizioni ottimali per il legame. Per trovare le condizioni ottimali per il trasferimento del campione, bilanciare questi effetti: se la frequenza di campionamento di eluizione è lento, un periodo più lungo di trasferimento può essere richiesto. (Nella nostra esperienza, i trasferimenti a bassa tensione per lunghi periodi non offrono molto miglioramento.) Se il binding del campione è inadeguato, provare diverse condizioni del tampone. Per una rassegna completa, vedere Gershoni e Palade (1983).

Se il sistema tampone di trasferimento è diverso dal sistema tampone per elettroforesi, il gel deve essere equilibrato con tampone di trasferimento prima del trasferimento a garantire gonfiore o contrazione si verifica prima che i contatti del gel alla membrana di trasferimento. Se questo passaggio viene saltato, distorsione della banda o la perdita di risoluzione potrebbe causare.

---

## Strumento linee guida

### Raffreddamento

Notevole il calore Joule è generato durante il trasferimento a causa della alta corrente impiegata, il raffreddamento in modo attivo si raccomanda, soprattutto per i trasferimenti che richiedono più di un'ora, i trasferimenti in cui l'attività biologica delle proteine devono essere conservati o il trasferimento degli acidi nucleici. (L'alta conducibilità del tampone fosfato usato da Bittner et al. (1980) porta ad un aumento di temperatura relativamente rapido.) Buffer temperatura non deve superare i 45 °C perché le cassette e dei supporti elettrodi possono deformarsi. Utilizzare un bagno circolatore impostato a 10 °C se si utilizza l'acqua come refrigerante. (È possibile utilizzare un valore inferiore se il liquido di raffreddamento è 50/50 glicole etilico/acqua.) Non lasciare mai l'apparecchio incustodito per più di un'ora in condizioni di alta potenza (>0.5 A).

### Regolazione della potenza

Se si utilizza un alimentatore che può essere impostato sia in modalità a tensione costante o corrente costante, si raccomanda di essere impostato per operare in modalità di corrente costante. Conducibilità tampone aumenta con la temperatura. Durante blotting in una camera non raffreddato, il riscaldamento Joule e conducibilità aumento può provocare un surriscaldamento pericoloso se l'alimentazione è destinata a mantenere tensione costante. Se una tensione di alimentazione costante deve essere utilizzato, controllare e regolare la tensione di mantenere una corrente pari o inferiore a 1 A.

## Proteine trasferimenti

### Sommari

Gershoni e Palade (1982) hanno studiato i fattori che influenzano il recupero delle proteine da gel SDS su nitrocellulosa o carta DBM. Secondo i loro risultati, metanolo nel sistema tampone Towbin è necessario per conseguire legame efficienti per nitrocellulosa. Metanolo migliora obbligatorio in parte, eliminando legato alle proteine SDS. In assenza di metanolo, etichettati albumina di siero bovino (BSA) passa attraverso almeno cinque strati di membrane. Il metanolo può causare un gel a ridursi, comunque, così il tasso di eluizione diminuisce. Utilizzando una membrana cationico (ad esempio nylon), che lega le proteine più efficiente, e omettendo metanolo dal buffer di trasferimento, e Gershoni Palade ottenuto un trasferimento più quantitativa. Lo svantaggio di membrana cationico è che macchie proteiche anche legano bene, in modo che la colorazione di fondo tende ad essere molto elevato. Correttamente spenta, tuttavia, questo documento può essere utilizzata per la rilevazione di anticorpi o altri metodi di sovrapposizione di identificazione proteina. Una sintesi di tipo a membrana e la concentrazione di metanolo raccomandato segue:

Tipo di membrana	Metanolo %
Nylon caricato	0
Nitrocellulosa	≤ 20
PVDF	≤ 15

Alcuni lavoratori hanno riferito che ci una bassa concentrazione di SDS (0,1%) migliora il trasferimento della proteina da un gel di SDS. Burnette (1981) e Symington et al. (1981) hanno studiato l'effetto del peso molecolare della proteina. Gibson (1981) descrive un metodo per aumentare il grado di trasferimento di proteine grandi mediante clivaggio con pronasi limitata durante il trasferimento.

## Proteina di trasferimento buffer

Utilizzare un tampone con bassa resistenza ionica, ad esempio i due indicati di seguito, per evitare il surriscaldamento. Utilizzare il tampone CAPS alternativo quando Tris non possono essere utilizzati, come in sequenziamento peptide. CAPS può migliorare il trasferimento a causa del suo effetto sulla carica della proteina (vedi Matsudaira, 1987). Per le proteine native, suggeriamo di utilizzare il buffer di elettroforesi per il trasferimento pure. Utilizzare il buffer Towbin di trasferire SDS-denaturate le proteine verso l'anodo.

### Towbin tampone

---

*(25 mM Tris, 192 mM glicina, 20% v/v di metanolo, pH 8,3, 2 litri)*

Tris (FW 121,1)	25 mM	6,0 g
Glicina (FW 75,07)	192 mM	28,8 g
SDS <sup>a</sup> (FW 288,4)	0,1% (3,5 mM)	2,0 g

Sciogliere in 1,5 litri di acqua distillata. Aggiungere metanolo come richiesto<sup>b</sup>. Portare a 2 litri con acqua distillata. Non regolare il pH, che deve essere compresa tra 8,2 e 8,4. Optional: Chill prima dell'uso.

<sup>a</sup>Optional: Aggiunta di SDS può migliorare l'efficienza di trasferimento.

<sup>b</sup>A seconda del tipo di membrana selezionato, l'aggiunta di metanolo può migliorare i risultati di trasferimento (si veda la discussione e tabella sopra). Perché tamponi contenenti metanolo può deteriorarsi se conservata per lunghi periodi, aggiungere metanolo come richiesto appena prima del trasferimento.

### Tampone CAPS, 1X

---

*(10 CAPS mM, pH 11,0, 5 litri)*

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

Sciogliere in 4,5 litri di acqua distillata, regolare a pH 11,0 con conc. NaOH. Regolare il volume di 5,0 litri.

---

## Trasferimenti di acido nucleico

Gli acidi nucleici devono di norma essere trasferiti in forma denaturata per l'associazione più efficiente. RNA è normalmente denaturato con gliossale prima della separazione o separati in denaturazione gel contenenti formaldeide o mercurio metile. Tuttavia, DNA a doppio filamento è denaturata solitamente in gel con NaOH. L'alcali deve essere neutralizzata e il gel equilibrata in tampone di trasferimento prima electrotransfer. Sia per DNA e RNA gel, ogni SDS deve anche essere rimosso per assicurare vincolante efficiente. Bittner et al. (1980) wash gel tre volte, 20 minuti ciascuna, per assicurare la completa rimozione dei denaturanti e detergenti.

Vedi Bittner et al. per uno studio l'efficienza di trasferimento di DNA di dimensioni diverse. Il buffer di trasferimento Bittner contiene 25 mM sodio fosfato, pH 6,5. Inoltre descritto è un metodo per l'introduzione di nick per azione limitato nucleasi per facilitare il trasferimento di frammenti di DNA più grandi.

Buffer di DNA consigliati includono il tampone fosfato di sodio Bittner (vedi riferimento) e TBE. Per RNA, TAE è raccomandato. TBE e TAE ricette magazzino sono elencati di seguito. Questi tamponi sono più spesso diluiti a 1X, ma la concentrazione può variare fino a 0,1X. Il raffreddamento è fortemente raccomandato per questi buffer, specialmente alle alte concentrazioni.

### EDTA solutiona<sup>a</sup>

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

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

Sciogliere in 70 ml di acqua distillata. Portare a pH 8,0 con NaOH 10 M (circa 5 ml), quindi aggiungere acqua distillata a 100 ml.

### DNA buffer di trasferimento, 10X

(10X Tris-borato-EDTA (TBE)<sup>b</sup>, pH ~8,2, 1 litro)

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

Acido borico (FW 61,83)	900 mM	55,6 g
-------------------------	--------	--------

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

Acqua distillata a 1,0 litri. Non regolare il pH.

**Diluire a 1X prima dell'uso per dare 90 mM Tris, 90 mM di acido borico, e 2 mM EDTA.**

Questa diluizione viene comunemente usato, ma diluizioni giù da 0,1X. può essere utilizzato qualora sia necessario diminuire la quantità di corrente nel sistema per controllare il surriscaldamento.

### RNA di trasferimento del buffer, 10X

(10X Tris-acetato-EDTA (TAE)<sup>b</sup>, pH ~8,4, 1 litro)

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

Acido acetico glaciale (~17,4 M)	~200 mM	11,4 ml
----------------------------------	---------	---------

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

Acqua distillata a 1,0 litri. Non regolare il pH.

**Diluire a 1X prima dell'uso per dare 40 mM Tris, ~20 mM acetato, e 1 mM EDTA.**

Questa diluizione viene comunemente usato, ma diluizioni giù da 0,1X. può essere utilizzato qualora sia necessario diminuire la quantità di corrente nel sistema per controllare il surriscaldamento.

<sup>a</sup>Current Protocols in Molecular Biology (1993), A.2.1.

<sup>b</sup>Sambrook, J., and Russell, D.W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, A1.17.

---

## Bibliografia

- Alwine, J.C., Kemp, D.J., and Stark G.R., Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to DBM paper and hybridization with DNA probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **74**, 5350–5354 (1977).
- Bittner, M., Kupferer, P., and Morris, C.F., Electrophoretic transfer of proteins and nucleic acids from slab gels to diazobenzyloxymethyl cellulose or nitrocellulose sheets. *Anal. Biochem.* **102**, 459–471 (1980).
- Bjerrum, O.J., Larsen, K., and Heegaard, N., *CRC Handbook of Immunoblotting of Proteins* Vol. 1, Section 7. CRC Press (1988).
- Burnette, W.N., Western blotting electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal. Biochem.* **112**, 195 (1981).
- Gallagher, S., Winston, S.E., Fuller, S.A. and Hurrell, J.G.R., Immunoblotting and Immunodetection. In *Current Protocols in Molecular Biology*. 10.8.1–10.8.17. Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY (1993).
- Gershoni, J.M., Davis, F.E. and Palade, G.E. Protein blotting in uniform or gradient electric fields. *Anal. Biochem.* **144**, 32–40 (1985).
- Gershoni, J.M., and Palade, G.E. Electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to a positively charged membrane filter. *Anal. Biochem.* **124**, 396–405 (1982).
- Gershoni, J.M., and Palade, G.E. Protein Blotting: Principles and Applications. *Anal. Biochem.* **131**, 1–15 (1983).
- Gibson, W. Protease-facilitated transfer of high molecular weight proteins during electrotransfer to nitrocellulose. *Anal. Biochem.* **118**, 1 (1981).

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

## Informazioni per l'ordine

prodotto	quantità	codice
TE42 Transfer Unit elettroforesi. Include coperchio di sicurezza con i cavi di alimentazione, 2 cassette di gel, 4 spugne schiuma di 3 mm di spessore, 2 spugne schiuma di 6 mm di spessore, 25 fogli di carta assorbente.	1	TE42
TE62 raffreddato Elettroforesi Transfer Unit. Include coperchio di sicurezza con i cavi di alimentazione, 4 cassette gel, 8 spugne schiuma di 3 mm di spessore, 4 spugne schiuma di 6 mm di spessore, 25 fogli di carta assorbente.	1	TE62

### Accessori e pezzi di ricambio

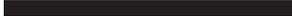
Glass scambiatore di calore per TE42	1	TE47
Elettrodo pannello, nero	1	TE43BK
Elettrodo pannello, grigio	1	TE43GY
Gel cassetta, 2 spugne schiuma di 3 mm di spessore, 1 spugna di schiuma di 6 mm di spessore	1	TE44H
Serbatoio di accumulo inferiore per TE42	1	TE56
Serbatoio di accumulo inferiore con scambiatore di calore per TE62	1	TE67
Spugne, Dacron, 6 mm di spessore	2	TE45
Spugne, schiuma, 6 mm di spessore	4	TE45F
Spugne, schiuma, 3 mm di spessore	4	TE45F-1/8
Coperchio con cavi per TE42 e TE62	1	TE49
Alta tensione porta	coppia	SE6056-HV
Quick-fit corpo accoppiatore, femmina, per adattarsi 9,5 mm tubo ID	2	QF3/8
Quick-fit corpo accoppiatore, maschio, per adattarsi 9,5 mm tubo ID	2	QFX3/8

### Blotter di carta

Blotter carta, fogli, 9×10,5 cm	50	TE26
Blotter carta, fogli, 14,5×21,5 cm	50	TE46

### Companion prodotti

Hoefler PS2A200 Power Supply, 200 V, 2A	1	PS2A200
Hoefler PS200HC Power Supply, 200 V, 2A	1	PS200HC
Hoefler PS300B Power Supply, 300 V, 0.5A	1	PS300B



**Hoefer, Inc.**

84 October Hill Road  
Holliston, MA 01746

Numero verde: 1-800-227-4750

Telefono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: [support@hoeferinc.com](mailto:support@hoeferinc.com)

Web: [www.hoeferinc.com](http://www.hoeferinc.com)

Hoefer è un marchio registrato di  
Hoefer, Inc. Contrad Decon 70 e  
90 sono marchi registrati di  
Decon Lab.

© 2012 Hoefer, Inc.

Tutti i diritti riservati.

Stampato negli USA.

