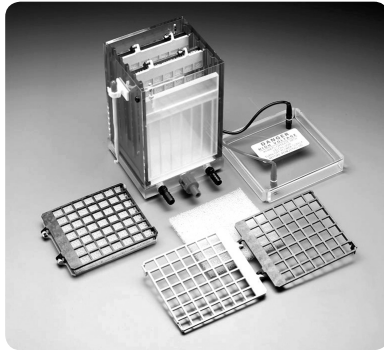


# Hofer TE22

Behälter Transfereinheit





# Inhalt

Wichtige Informationen .....	ii
Elektro-und Elektronikgerätegesetz (ElektroG) .....	vii
Transfer-Elektrophorese-Einheit Funktion und Beschreibung .....	1
Technische Daten .....	2
Bedienungsanleitung .....	4
Pflege und Wartung .....	10
Fehlerbehebung.....	11
Elektrotransfer Noten .....	13
Bibliographie.....	20
Bestellinformationen.....	22

## Wichtige Informationen – Deutsch

- 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!

## Důležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytnutá na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboroři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo poskyt-

nutých Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.

- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními 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. Rozpustidlům způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufru teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

## Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefer, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.
- Bare tilbehør og del godkendede eller forsynede ved Hoefer, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfej, 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 oplosmid-delen in deel van het instrument voor. Organische oplosmiddelen zullen onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!
- Bedien niet met buffertemperaturen boven het maximum specificerde technische specificaties. 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 sisälaboratoriokäytölle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustetnut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.

- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalijiyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethyleneä glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumentaminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

## Information Importante – French

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

## Informazioni Importanti – Italian

- 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 nacionalmente riconosciuto testando il laboratorio.
- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spagne 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!

## Viktig Informasjon – Norwegian

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

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

## Wazne Informacje – Polish

- Jeżeli ten sprzęt jest wykorzystywany w sposób nie określone przez Hoefel, 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 Hoefel, 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 nieregulowanych.
- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamarzaniu lub jakikolwiek 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 Hoefel, 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 Hoefel, 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 Hoefel, 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 tillhåll 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!

---

## Elektro-und Elektronikgerätegesetz (ElektroG)

Deutsch



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.

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.

Italian



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

Spanish



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

Swedish



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



---

## **Transfer-Elektrophorese-Einheit Funktion und Beschreibung**

Die Hoefer® TE22 Behälter Transfereinheit schnell überträgt Proteine, DNA, RNA oder von bis zu vier kleinformatischen Polyacrylamid oder Agarose-Gelen auf eine Membran. Gele und Membranen sind durch eine Kassette, die in den Transportbehälter eingetaucht gehalten wird. Moleküle unter einem elektrischen Feld wandern zur Membran, wo sie gebunden werden.

Die Transfer-Puffer Temperatur kann durch Zirkulieren gekühlte Flüssigkeit durch den Wärmetauscher in der Basis gesteuert werden. Der Puffer wird dem Kühlmittel von einem wärmeleitenden Aluminiumoxidplatte getrennt.

### **Auspacken**

Packen Sie alle Pakete sorgfältig und vergleichen Inhalt mit der Packliste, so dass sich alle angekommen. Wenn ein Teil fehlt, wenden Hoefer, Inc.. Überprüfen Sie alle Teile auf Beschädigungen, die aufgetreten sind, während das Gerät war auf der Durchreise haben mag. Sollte eines der Teile beschädigt ist, setzen sofort den Spediteur. Achten Sie darauf, das gesamte Verpackungsmaterial für Schadensersatzansprüche zu halten oder zu bedienen sollte es notwendig, das Gerät zurückgeben zu werden.

## Technische Daten

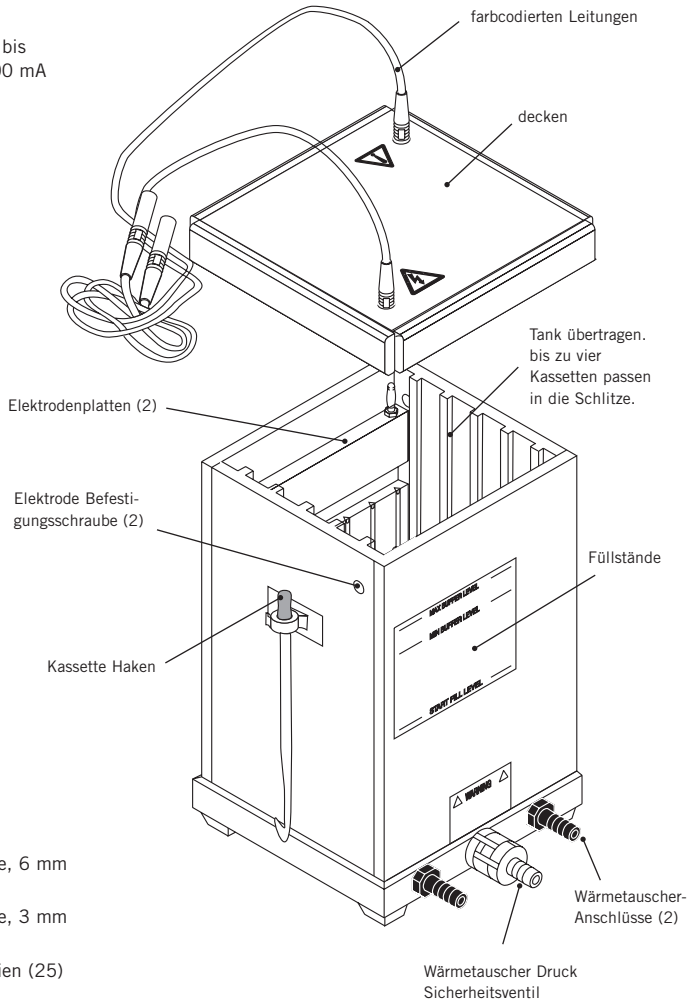
Gelgröße	bis zu vier 9 × 10 cm Gele
Max. Wattleistung	50 W
Max. Spannung	100 V
Max. Stromstärke	500 mA
Max. Temperatur	45 °C
Puffer erforderlich	1,5 Liter, abhängig von der Anzahl von Kassetten anstelle
Umgebungsbedingungen für den Betrieb:	
Verwendung im Innenbereich	4–40 °C
Luftfeuchtigkeit bis zu	80%
Höhe bis zu	2000 m
Installationskategorie	II
Verschmutzungsgrad	2
Abmessungen (B × H × T)	14 × 24 × 16,5 cm
Produkt-Zertifizierungen	EN 61010-1, UL 61010A-1, CSA C22.2 1010,1, CE-zertifiziert

**Diese Konformitätserklärung gilt nur für das Instrument, wenn es:**

- in Labor-Standorten eingesetzt werden,
- verwendet wie geliefert von Hoefler, Inc. mit Ausnahme von Änderungen in der Bedienungsanleitung beschrieben, und
- verbunden zu anderen CE-markierte Instrumente oder Produkte zu empfehlen oder von Hoefler, Inc. genehmigt.

**Abb. 1.** Behälter Übertragungseinheit Hauptkomponenten.

Ein Netzteil, welches von bis zu 100 V und 400 bis 500 mA erforderlich.



**Eingeschlossen, aber nicht abgebildet:**

- Gel-Kassetten (4)
- Schaumstoff Schwämme, 6 mm dick (4)
- Schaumstoff Schwämme, 3 mm dick (8)
- Saugfähiges Papier, Folien (25)

## Bedienungsanleitung

Durchführen der Übertragung so bald wie möglich nach der Elektrophorese auf Band Diffusion zu minimieren. Jeder Schritt wird nachstehend beschrieben.

### Bereiten Sie den Puffer

Bereiten Sie ein Minimum von 1,5 Liter des entsprechenden Transfer-Puffer. Kühlen Sie den Puffer vor der Verwendung, wenn möglich.

### Bereiten Sie die Einheit

①

Spülen Sie den Tank Transfer und Kassetten mit destilliertem Wasser.

②

Aktive Kühlung ist optional, aber dringend empfohlen. Wenn keine aktive Kühlung verwendet werden soll, mit Schritt 3 fortfahren.

**Hinweis:** Schließen Sie den Wärmetauscher an ein Thermostatenbad wie die RCB20-PLUS.

Circulate nur Wasser oder 50/50 Wasser/Ethylenglykol, um Schäden am Gerät zu verhindern.

Die Umwälzpumpe darf nicht erzeugen einen Druck von mehr als 0,7 bar (10 psi) über dem atmosphärischen Druck.

Stellen Sie die Temperatur auf 10 °C oder höher, wenn nur Wasser zirkuliert. Bei Verwendung von 50/50 Ethylenglykol/Wasser kann die Temperatur niedriger eingestellt werden.

Starten Sie den Thermostatenbad zur gleichen Zeit wie die Übertragung.

Zuerst befestigen Sie das Rohr mit dem roten Überdruckventil zwischen dem Wasser-Einlass- und Auslasskanäle und legen Sie das freie Ende in der Badewanne oder einem anderen Behälter ablassen oder jede Druckentlastung Überlauf zu fangen. Das Entlastungsventil öffnet wenn der Druck in dem Wärmetauscher mehr als 10 psi.

**Hinweis:** Lesen Sie den Abschnitt Hinweise Elektrotransfer für eine Diskussion über Membranen und Puffer.

**Hinweis:** Für die schnelle und einfache Verbindungen, installieren Quick-fit-Koppler mit Ventile Armaturen in der Leitung.

**Hinweis:** Auch wenn keine Kühlung für Ihr System erforderlich ist, sollte der Puffer mit einem Rührer, um Puffer Verarmung an den Elektroden zu vermeiden weiterverbreitet werden.

**Hinweis:** Tragen Sie immer Handschuhe beim Umgang mit Membranen zu vermeiden Sie Fingerabdrücke auf ihnen.

**Wichtig!** Seien Sie besonders vorsichtig bei der Entfernung aller Luftblasen bei jedem Schritt, weil das Vorhandensein von Luftblasen, vor allem zwischen der Membran und Gel, Blöcke übertragen.

Bereiten Sie zwei Längen von 9 mm Vinyl-oder Silikonschlauch. Slide Schlauchklemmen (4 insgesamt) auf jedem Ende zwei Längen von Schläuchen. Befestigen Sie ein Ende jedes Stück Schlauch mit einem Wärmetauscher-Port. Schließen Sie das freie Enden jedes der Schlauchstrecke auf den Thermostatenbad Ports; man dem Einlass und der andere mit dem Ausgang Sichern Verbindungen mit den Schlauchschellen.

**3**

Ort (nicht fallen) ein Magnetrührstab im Puffer-speicher. (Ablegen von Objekten in den Tank kann die Aluminiumoxidplatte knacken.) Stellen Sie das Gerät auf einen Magnetrührer und füllen Transfer-Puffer auf die "Start Füllstand"-Zeile auf der Vorderseite des Tanks. (Dies erfordert etwa 0,7 Liter.)

**4**

Stellen Sie den Rührer auf niedrig-mittel, die Puffer Umlauf vollbringt, ohne dass Puffer durch den Kassetten.

## Bauen Sie die Übertragung Kassette

**1**

Vornässen Nitrocellulose oder Nylon-Membranen mit destilliertem Wasser. Vornässen PVDF oder andere hydrophobe Membranen in Methanol. Dann genießen alle Arten Membran in Transferpuffer für 2-5 Minuten.

**2**

Öffnen Sie die Kassette durch die Freigabe sowohl Latch Register an der Kante gegenüber den Scharnieren. Legen Sie die Kassette geöffnet in eine Schale mit mindestens 3 cm von Transfer-Puffer gefüllt.

**3**

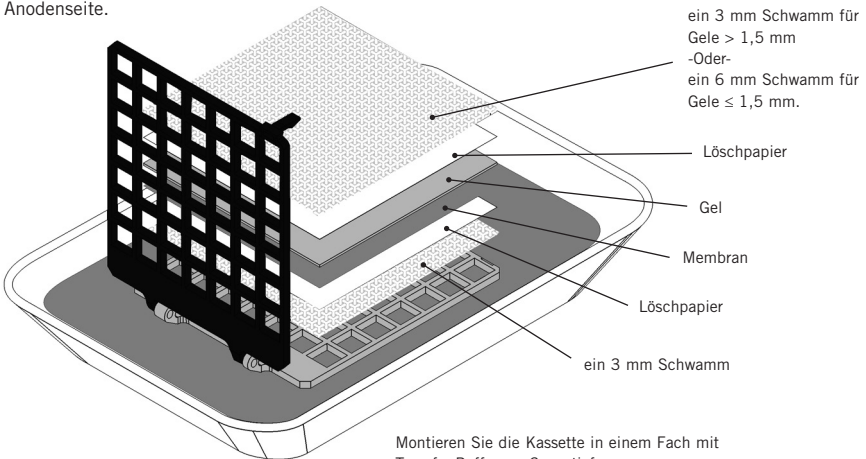
Montieren Sie den Transfer-Stack, so dass Moleküle in Richtung der Membran wandern wird. Für negativ geladene Makromoleküle (z. B. Nukleinsäuren und die meisten Proteine), Aufbau der Stapel auf dem grauen Hälfte der Kassette (und später den Deckel zu positionieren, damit der graue Seitenflächen die rote Leitung oder Anode (+).

**Abb. 2.** Übertragen Stack Montage. Der Stapel ist so ausgerichtet, dass negativ geladene Moleküle in Richtung der grauen Anode (+) migrieren.

**Wichtig!** Nicht overstuff die Kassette.

**Hinweis:** Versuchen Sie, das Gel richtig zum ersten Mal statt, weil Proteine können sofort anfangen, zu übertragen; einmal Übertragung begonnen hat, bewegt sich das Gel werden die Ergebnisse verfälschen oder zu "fliegenden Schatten" auf dem Blot.

Die Kassette Platten sind farblich markiert: schwarz (oben) = Kathodenseite grau (unten) = Anodenseite.



Setzen Sie eine 3 mm dicken Schaumstoff Schwamm auf der Kassette geöffnet getaucht und leicht andrücken, bis die Luft ausgestoßen wird. Legen Sie ein Blatt Löschpapier auf den Schwamm, und legen Sie dann die Membran auf dem Löschpapier. Platzieren Sie das Gel-welche enthält ein Beispiel, wurde elektrophoretisch getrennt hat und ins Gleichgewicht gebracht (falls erforderlich) mit Transfer-Puffer-auf der Membran. Sanft rollen eine Glaspipette oder Reagenzglas über das Gel, um eingeschlossene Luft zwischen der Membran und Gel zu vertreiben. Decken Sie das Gel mit einem Blatt Löschpapier und legen Sie dann einen Schwamm von der richtigen Dicke (siehe Diagramm unten), wieder mit leichtem Druck, um eingeschlossene Luft zu vertreiben.

#### 4

Schließen Sie das Kassettenfach und drücken Sie leicht auf die Tabs zu sperren. Die zusammengebauten Kassette sollte das Gel in festem Kontakt mit der Membran ohne Quetschen des Gels zu halten. Wenn der Stapel loser scheint, fügen Blatt Löschpapier, wenn der Stack scheint eng, ersetzen Sie die Top-Schwamm (über das Gel) mit einem Blatt Löschpapier. Wenn Sie die untere Schwamm (unterhalb der Gel) zu entfernen, ersetzen Sie mindestens zwei Blätter Löschpapier auf Raum zwischen der Membran und der Kassette Panel zu erstellen.



## Installieren Sie die Kassette(n)

### 1

---

Wenn die Übertragung nur ein oder zwei Gels, wählen Sie die Kassette Positionen am nächsten zum Zentrum. Die Kassetten müssen so ausgerichtet sein, dass das Scharnier nach oben zeigt und alle schwarzen Platten der Kassetten stehen vor der gleichen Seite der Transfereinheit.

Arbeiten Sie schnell beim Bewegen der montierten Kassette(n) in den Tank zu vermeiden, Trockenlegung der Schwämme: Zeigen Sie das Fach hält die Kassette(n) in der Nähe des Tanks, heben Sie eine Kassette in einer Zeit, und schieben Sie sie in eine Reihe von vertikalen Schlitzten. Bewahren Sie die Puffer.

### 2

---

Einmal vorhanden, tippen Sie auf die Kassette leicht gedrückt, bis die meisten Luftblasen verdrängt werden. (Ein paar kleine Blasen in den Schwämmen es unwahrscheinlich, dass mit der Übertragung stören.)

### 3

---

Untersuchen Sie den Puffer Ebene. Hinzufügen oder Entfernen-Puffer nach Bedarf, so dass die Ebene zwischen den minimalen und maximalen Puffer-Ebene Linien fällt. (Puffer über dem maximalen Niveau Puffer Linie kann zu Korrosion der elektrischen Kontakte.)

## Die Endmontage und die Übertragung

### 1

**Hinweis:** Achten Sie bei der Ausrichtung des Deckels, so dass alle Arten auf der Membran, wenn das elektrische Feld angelegt wird migrieren. Die Migration Richtung hängt sowohl von den Eigenschaften der Probe und der pH-Wert von dem Übertragungspuffer. Wenn die Spezies von Interesse negativ in dem Übertragungspuffer berechnet und der Stapel zusammengebaut, so dass die Membran am nächsten der grauen Seite der Kassette ist, dann ist diese Seitenflächen die Anode (+). Die meisten Proteine in Richtung der Anode in der Towbin Tris/Glycin/Methanol-Puffer-System (unabhängig von der Anwesenheit von SDS) zu migrieren, und unter den meisten Bedingungen, Nukleinsäuren sind negativ geladen und wandern in Richtung der Anode.

**Wichtig!** Erlauben Sie niemals die Puffer Temperatur auf 45 °C überschreiten. Übermäßige Hitze führt dazu, das Gerät zu verziehen.

### Installieren Sie den Deckel

Die Kassetten sind farblich gekennzeichnet, um die Leitungen im Deckel passen. Um in Richtung der Anode zu übertragen, orientiert sich der Deckel, so dass die graue Hälfte der Kassette steht vor der Anode (+) oder Männige, und die schwarze Hälfte der Kassette steht vor der Kathode (-), oder schwarze Leitung. Sicherstellen, dass die Bananenstecker Sitz in die Anschlüsse im Deckel.

### 2

Benutzen Sie nur zugelassene Netzteile, wie die Hofer PS2A200, PS200HC oder PS300B. Sicherstellen, dass die Stromversorgung ausgeschaltet ist und alle Bedienelemente sind auf Null gesetzt. Schließen Sie die farbcodierten Leitungen von dem Deckel der Transfereinheit in das Netzteil-das rote Kabel in den roten Ausgang, und das schwarze Kabel in die schwarze Ausgangsbuchse. In den meisten Systemen ist die rote Leitung die Anode (+) und das schwarze Kabel ist die Kathode (-).

### 3

### Die Kühlung wird dringend empfohlen

Jede Einstellung dazu führt, dass mehr als 5 W Leistung wird genug Wärme, um aktiv Wärme erzeugen Steuerung erfordern. Ein Kältethermostat Bad mit Wasser auf etwa 10 °C eingestellt werden (Bei Verwendung von 50/50 Ethylenglykol/Wasser kann die Temperatur niedriger eingestellt werden.) Gefühlt der Puffer vor der Verwendung, wenn möglich.

### Typische Übergabeparameter

Parameter für Ihre Probe und Puffer-System muss empirisch ermittelt werden.

	Protein	Nukleinsäuren
Puffer	Towbin	1X TBE oder 1X TAE
Strom (A)	0,4	0,3
Spannung (V)	~100	50
Transferzeit	~1 Stunde	~1 Stunde
Kühlmitteltemp.	10 °C	10 °C oder weniger



**Hinweis:** Es ist eine gute Idee, um das Gel färben, um die Vollständigkeit der Übertragung zu bestimmen.

**Hinweis:** Bewahren Sie keine Puffer verwendet, mit Transfer Tank. Chill-Puffer auf 10 °C vor der Wiederverwendung.

---

**4**

#### **Stellen Sie die Stromversorgung**

Konstantstrom-Modus wird empfohlen. Bei konstanter Spannung ausgewählt wird, sorgfältig überwachen den Strom (erhöhter Strom erhöht Joulesche Erwärmung). Überschreitet der Strom 0,4 A, verringern Sie die Spannung.

---

**5**

#### **Falls vorhanden, stellen Sie die Stromversorgung Timer**

Die meisten Überweisungen sind innerhalb einer Stunde abgeschlossen, aber größere Moleküle oder dickere Gele können längere Umsteigezeiten erfordern; die optimale Transferzeit für jedes System muss empirisch ermittelt werden.

### **Nachdem die Übertragung abgeschlossen ist**

---

**1**

Drehen Sie die Spannung und die aktuellen Einstellungen auf Null und schalten Sie die Stromversorgung. Klemmen Sie die Leitungen von den Netzteil-Buchsen.

---

**2**

Heben Sie den Deckel. Verwenden Sie den Kunststoff-Haken (gespeichert in der Halterung an der Seite des Gerätes) zu erheben, eine Kassette gerade weit genug, um in der Lage, es zu packen und legen Sie sie in eine Schale.

---

**3**

Öffnen Sie jede Kassette vorsichtig und entfernen Sie die Gele und Membranen. Beschriften Sie jede Membran und geben Sie die Probe Seite. Heben Membran(en) mit stumpfen Pinzette und an der Luft trocknen, oder folgen Sie den Anweisungen begleiten Ihr Protokoll.

---

**4**

Entsorgen Sie das Löschpapier, aber Wiederverwendung der Schwämme.

---

**5**

**Spülen Sie das Gerät sofort nach Gebrauch.** (Siehe den Abschnitt Pflege und Wartung auf der nächsten Seite.)

## Pflege und Wartung

### Reinigung

- Nicht autoklavieren oder zu erwärmen irgendeinen Teil über 45 °C
- Nicht zu Alkoholen oder organischen Lösungsmitteln ausgesetzt werden!\*
- Benutzen Sie niemals Scheuermittel.
- Bei der Verwendung von radioaktiven Reagenzien, dekontaminieren Sie das Gerät mit einem Reinigungsmittel wie contrad 70™ oder Decon™ 90.

Spülen Sie den Tank, Kassetten, Schwämme und mit destilliertem Wasser nach jedem Gebrauch sofort. Lassen Sie das Gerät an der Luft vollständig trocknen. In regelmäßigen Abständen mit einer verdünnten Lösung von einem milden Reinigungsmittel waschen.

### Ausbau der Elektrode Platte(n)

Für eine gründlichere Reinigung oder beschädigte Elektroden ersetzen, entfernen Sie jede Elektrode Panel durch Lösen Sie die Befestigungsschraube weit genug, um das Panel zu herausrutschen. Verwenden Sie den Haken an der Seitenwand, um die Elektrode Panel nach oben ziehen (nicht ziehen das Panel von der Bananen-Stecker). Achten Sie darauf, nicht dehnen oder brechen den Platindraht beim Umgang mit dem Bedienfeld.

\*Verwenden Sie  $\leq 20\%$  Methanol (Methylalkohol) in Transfer-Puffer ist die einzige Ausnahme.

# Fehlerbehebung

## Problem

## Lösung

### Unvollständige Übertragung

*Leere Bereiche auf Membran*

Entfernen Sie alle Luftschlüsse im Transfer-Stack Montage: Montage des Stapels, während es in Transferpuffer getaucht ist, vorsichtig auf beide Schwamm drücken, wie es auf den Stapel hinzugefügt wird, und rollen eine Glaspipette oder Reagenzglas über der Membran und Gel zu beseitigen alle Luftblasen.

Reduzieren Sie die Rührgeschwindigkeit, um Turbulenzen zu verhindern.

Prozess nur ein Streifen oder eine Membran in den einzelnen Fächern oder Kassette zu Überschneidungen zu vermeiden.

Verwenden Sie den Puffer mit einer geringeren Ionenstärke.

Prüfen Elektrode Kontinuität. Während der Übertragung wird ein steter Strom von Gas entlang der gesamten Länge der Elektroden freigesetzt. Wenn sich Blasen nicht entlang der gesamten Länge der Elektrode bilden kann, die Elektrode ersetzen.

Wenn Kassetten gebeugt, wenn sie leer sind, zu ersetzen. Überspritzen die Kassette bewirkt, dass es zu beugen; sehen die empfohlenen Montageanleitung auf Seite 6.

*Gittermuster auf Membran*

Weitere Blätter Löschpapier auf den Abstand zwischen der Platte und Kassette des Gels erhöhen. Achten Sie darauf, um die Kassette overstuffed, sollte das Gel fest und gleichmäßig zwischen den Schwämmen gehalten werden, aber nicht so dicht, dass sie gequetscht wird.

*Moleküle wandern nicht Gel*

Erhöhen Sie die Feldstärke.

Steigern Transferperiode. (Versuchen Sie, zu verdoppeln.)

Verwenden Sie keine Färbung oder Fixiermittel auf das Gel vor dem Transfer.

Verwenden Sie eine dünnere Gel.

Reduzieren Sie die Gel-Acrylamid-Konzentration.

Prüfen, dass der pH in der Nähe der pH-Wert bestimmt ist. Die meisten Puffer sollten nicht titriert werden, machen frischem Puffer.

Verwenden 3,5 mM SDS (0,1%) in den Übertragungspuffer.

Vermeiden einschließlich Methanol im Transferpuffer oder reduzieren Sie die Menge auf das absolute Minimum.

Verwenden Sie analysenreine Reagenzien.

Erhöhen Sie die Länge der Zeit Southern-Blots sind depurinated.

Erhöhung der Nettoladung auf dem Protein durch den Wechsel zu einer Transfer-Puffer mit einem anderen pH-Wert. Niedrigeren pH-Wert (<6-7) erhöht die positive Ladung auf Proteine, höheren pH (>6-7) erhöht die negative Ladung auf Proteine.

---

**Problem****Lösung**

---

**Diffuse Bandenmuster**

Übertragung sofort nach elektrophoretischer Trennung. Wenn Äquilibrierung vor der Übertragung, zu verkürzen oder zu beseitigen Gleichgewichtszeit oder bewegen Sie das Gel auf den kalten Raum während der Äquilibrierung.

Wenn Transferpuffer enthält Methanol ( $\geq 10\%$ ), äquilibrieren Sie das Gel in Transferpuffer für 30 Minuten, damit sie vor der Montage des Stack schrumpfen. Hinweis: Da Methanol bewirkt, dass das Gel etwas einlaufen, große Moleküle möglicherweise langsamer zu migrieren.

Achten Sie darauf, dass das Gel fest an der Membran gehalten und dass es nicht verrutscht einmal Kontakt hergestellt ist.

Wenn eine übermäßige Erwärmung tritt während der Übertragung, senken die Temperatur der Kühlflüssigkeit im Wärmeaustauscher.

Prüfen, dass die bevorzugte Bindung Oberfläche der Membran (sofern vorhanden) in Kontakt mit dem Gel.

---

**Ineffiziente Bindung an Membran***Chemische Parameter*

Fix oder Vernetzung des Moleküls auf die Membran nach den Anforderungen der Nukleinsäure, ein Protein oder Membrantyp.

Bereiten Protein Transfer-Puffer ohne SDS.

Überprüfen Sie die optimale Menge Methanol für die Membran-Typ benötigt und überprüfen Sie die Pufferlösung. Zugabe von 10-20% Methanol zu dem Übertragungspuffer zu verbessern Bindung an Nitrocellulose.

*Membranparameter*

Tragen Sie Handschuhe beim Umgang mit Membranen.

Shop Membranen bei Raumtemperatur ohne direkte Sonneneinstrahlung zu halten, die Membranen aktiviert.

Verwenden Sie eine Membran mit einer kleineren Porengröße (0,10 bis 0,20  $\mu\text{m}$ ), wenn Proteine durch die Membran passieren, oder verwenden Sie eine andere Art Membran.

Platz eine Membran sowohl über als auch unter dem Gel wenn der Verdacht besteht ein Protein in der entgegengesetzten Richtung als in der Mehrzahl der Proteine. Überprüfen Sie beide Membranen für Protein(e).

Überprüfen Sie, ob zu viel Probe vorhanden ist für die Bindung Oberfläche, die durch die Anwendung von zwei Membranen anstelle von einem. Beim Auftreten von "bis zu blasen", reduzieren Sie die Probe Last.

Weitere Hinweise zur Fehlerbehebung, zu beziehen  
Bjerrum, O.J. *et al.* (1988).

---

## Elektrotransfer Noten

### Elektrophoretischen Transfer Vorteile

Elektrophoretischen Transfer von Proteinen und Nukleinsäuren ist viel schneller als die Blotting-Verfahren erstmals von Southern für DNA, Alwine et al. Für die RNA oder Renart et al. für Proteine.

Der Tank Transfer-Methode verwendet, um die hohen Strom Umsteigezeit von den meisten Proben auf 45-60 Minuten zu reduzieren.

Elektrophoretischen Transfer kann Transfereffizienz gegenüber nicht-elektrophoretische Blotting, insbesondere für Proteine, aber keine quantitative Transfer-Technik wurde noch nicht aufgrund der Komplexität der Reaktionen entwickelt zu verbessern. Die quantitative Wiederherstellung der Praxis nicht für die meisten Zwecke erforderlich, da Bindung Makromoleküle auf eine Membran erhöht die Empfindlichkeit der Nachweisverfahren wie Autoradiographie und erlaubt den Nachweis spezifischer Proteine durch Antikörper oder Affinitätsmarkierungen und spezifischer Nukleinsäuren durch Hybridisierung mit komplementären Strängen von RNA oder DNA.

Der Puffer kann so gewählt werden zu einer Übertragung in Richtung entweder die Kathode oder der Anode führt. Der pH muss so beschaffen sein, dass alle Arten von Zinsen berechnet werden und wandern in die gleiche Richtung. Die Ionenstärke sollte nicht zu hoch sein, da dies zu hohen Strom und Wärme produzieren wird. Aus diesem Grund können die hohen Salzkonzentrationen durch Southern-Blotting für die Kapillar-DNA verwendet werden, nicht verwendet werden. Die am häufigsten verwendeten Puffersysteme sind solche von Towbin et al. zum Übertragen von Proteinen und von Bittner et

---

---

al. für den Transfer von Nukleinsäuren. Buffer-Systeme für die Übertragung jeder Art von Probe werden später in diesem Abschnitt aufgeführt.

### **Faktoren, die die Übertragung**

Parameter wie Samplefrequenz Eigenschaften, Membrantyp, Gel Porengröße und den Transfer-Puffer verwendet, um all die Übertragbarkeit der Makromoleküle beitragen und sollte im Auge behalten werden, wenn die Entwicklung eines Protokolls. Sehr kleine molekulare Spezies, zum Beispiel, schnell migrieren, aber oft nicht wie größere Moleküle binden, große Moleküle binden effizienter, aber nicht aus dem Gel so schnell eluieren. Die Elutionsgeschwindigkeit wird auch durch die Porengröße des Gels und der Orientierung der Moleküle beeinflusst.

Ferner ist das Ausmaß, in dem die Moleküle binden an die Membran durch Membraneigenschaften wie Porengröße und-typ, und Puffer, wie pH-, Salz Art und Konzentration, und die Gegenwart von Detergenzien, wie Natriumdocylsulfat (SDS) beeinflusst. Voraussetzungen für eine effiziente Elution erforderlich möglicherweise nicht mit optimalen Bedingungen für die Bindung überein. Um die optimalen Bedingungen für die Übertragung Ihrer Probe zu finden, diese Effekte auszugleichen: Wenn die Probe Elutionsrate langsam ist, eine längere Übertragung Zeitraum erforderlich sein. (Nach unserer Erfahrung wissen Kleinspannung Transfers für längere Zeit nicht bieten viel Verbesserung.) Wenn Probe binden unzureichend ist, versuchen verschiedene Pufferbedingungen. Für eine umfassende Übersicht siehe Gershoni und Palade (1983).

Wenn der Transfer-Puffer-System unterscheidet sich von dem Elektrophorese-Puffer-System, sollte das Gel, äquilibriert mit dem Übertragungspuffer vor der Übertragung zu gewährleisten

ten, Quellen oder Schrumpfen auftritt, bevor das Gel in Kontakt mit der Transfermembran. Wenn dieser Schritt übersprungen, könnte Band Verzerrung oder Verlust der Auflösung zur Folge haben.

## **Instrument Richtlinien**

### **Kühlung**

Erhebliche Joulesche Wärme wird während einer Übertragung wegen der hohen Strom angestellt erzeugt, so aktive Kühlung wird empfohlen, vor allem für Überweisungen, die mehr als eine Stunde, Protein-Transfers, bei denen biologische Aktivität beibehalten werden muss, oder Transfer von Nukleinsäuren. (Die hohe Leitfähigkeit des Phosphat-Puffer von Bittner et al. Verwendet (1980) führt zu einer relativ schnellen Temperaturanstieg.) Buffer Temperatur sollte nicht über 45 °C, weil die Kassetten und Elektrode Träger können verziehen. Verwenden Sie einen Thermostatenbad auf 10 °C bei Verwendung von Wasser als Kühlmittel. (Sie können eine niedrigere Einstellung verwenden, wenn das Kühlmittel ist 50/50 Ethylenglykol/Wasser.) Lassen Sie niemals das Gerät unbeaufsichtigt seit mehr als einer Stunde unter Bedingungen hoher Leistung (> 250 mA).

### **Leistungseinstellung**

Wenn Sie ein Netzteil, das entweder auf konstantem Strom oder konstanter Spannung eingestellt werden kann, empfehlen wir, es soll im Konstantstrom-Modus betrieben werden. Puffer Leitfähigkeit mit der Temperatur zunimmt. Während Blotting in einem ungekühlten Kammer, Joulesche Erwärmung und steigende Leitfähigkeit kann eine gefährliche Überhitzung führen, wenn die Stromversorgung ist auf konstante Spannung aufrecht zu erhalten. Wenn eine konstante Spannungsversorgung verwendet werden, zu überwachen und die Spannung, einen Strom auf oder unter 400 mA zu halten.

## Protein-Transfers

### Studienzusammenfassungen

Gershoni und Palade (1982) untersucht Faktoren, die Protein Erholung von SDS-Gelen auf Nitrocellulose oder DBM-Papier. Nach ihren Erkenntnissen ist Methanol in der Towbin Puffer-System notwendig, um effiziente Bindung an Nitrocellulose zu erreichen. Methanol verbessert Bindung zum Teil durch das Entfernen Protein-gebundenen SDS. In Abwesenheit von Methanol, gekennzeichnet Rinderserumalbumin (BSA) durch mindestens fünf Schichten von Membranen. Methanol ist ein Gel zu schrumpfen, aber so die Elution abnimmt. Durch die Verwendung einer kationischen Membran (wie Nylon), die die Proteine bindet, effizienter, und das Weglassen von Methanol aus dem Übertragungspuffer, erhalten Gershoni und Palade eine viel quantitative Überführung. Der Nachteil ist, dass kationische Membran Proteinfärbungen binden auch gut, so dass die Färbung Hintergrund sehr hoch sein neigt. Richtig abgeschreckt, jedoch kann dieses Papier für den Antikörpernachweis oder andere Overlay-Methoden der Identifizierung von Proteinen verwendet werden. Eine Zusammenfassung der Membran Typ und empfohlene Methanolkonzentration folgt:

Membran-Typ	Methanol %
Geladene Nylonmembran	0
Nitrocellulose	≤ 20
PVDF	≤ 15

Einige Arbeiter haben uns berichtet, dass eine niedrige Konzentration von SDS (0,1%) den Transfer von Proteinen aus einem SDS-Gel verbessert. Burnette (1981) und Symington et al. (1981) untersuchten die Wirkung von dem Molekulargewicht des Proteins. Gibson (1981) beschreibt ein Verfahren, um das Ausmaß der Übertragung großer Proteine durch limitierte Spaltung zu erhöhen mit Pronase während der Übertragung.



## Protein-Transfer-Puffer

Verwenden Sie einen Puffer mit niedriger Ionenstärke, wie die beiden unten aufgeführten, um Überhitzung zu vermeiden. Verwenden des alternativen CAPS-Puffer, wenn Tris nicht verwendet werden kann, wie in Peptidsequenzierung. CAPS können Transfer wegen seiner Wirkung auf die Ladung des Proteins (siehe Matsudaira, 1987) zu verbessern. Für native Proteine, empfehlen wir mit dem Elektrophorese-Puffer für die Übertragung als auch. Verwenden Sie die Towbin Puffer SDS-denaturierte Proteine in Richtung der Anode zu übertragen.

### Towbin Puffer

*(25 mM Tris, 192 mM Glycin, 20% v/v Methanol, pH 8,3, 2 Liter)*

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

Man löst in 1,5 Liter destilliertem Wasser. In Methanol als erforderlich<sup>b</sup>. Bringt bis 2 Liter mit destilliertem Wasser. Verstellen Sie nicht den pH-Wert, der zwischen 8,2 und 8,4 sein sollte. Optional: Chill vor dem Gebrauch.

<sup>a</sup>Optional: Zugabe von SDS können Transfer Effizienz zu verbessern.

<sup>b</sup>Abhängig von der Membran-Typ ausgewählt, Zugabe von Methanol können die Übertragung Ergebnisse zu verbessern (siehe Diskussion und Tabelle oben). Weil Puffern, die Methanol kann sich verschlechtern, wenn über längere Zeit gelagert, fügen Methanol nach Bedarf kurz vor der Übertragung.

### CAPS-Puffer, 1X

*(10 mM CAPS, pH 11,0, 2 Liter)*

CAPS (FW 221,3) [3-(cyclohexylamino)-1-propanesulfonic acid]	10 mM	4,44 g
---	-------	--------

Man löst in 1,5 Liter destilliertem Wasser auf pH 11,0 einstellen mit NaOH-Konzentration. Anpassen der Lautstärke bis 2,0 Liter.

---

## Nucleinsäure Transfers

Nucleinsäuren müssen in der Regel in denaturierter Form für die meisten eine effiziente Bindung übertragen werden. RNA ist in der Regel mit Glyoxal denaturiert vor der Trennung oder getrennt in denaturierenden Gelen, die Formaldehyd oder Methylquecksilber. Jedoch ist das doppelsträngige DNA-Gele in dem Gel mit NaOH denaturiert. Die Alkali müssen neutralisiert und das Gel in Transferpuffer äquilibriert, bevor Elektrotransfer. Sowohl für die DNA- und RNA-Gele, muss jede SDS auch entfernt werden, um eine effiziente Bindung zu gewährleisten. Bittner et al. (1980) Waschen geliert dreimal je 20 Minuten, um die vollständige Entfernung der Vergällungsmittel und Reinigungsmittel zu gewährleisten.

Siehe Bittner et al. für eine Untersuchung der Transfereffizienz DNA in verschiedenen Größen. Die Bittner Übertragungspuffer enthält 25 mM Natriumphosphat, pH 6,5. Ebenfalls beschrieben wird ein Verfahren für die Einführung von Kerben durch begrenzte Nuklease Maßnahmen, um eine Übertragung von größeren DNA-Fragmente zu erleichtern.

Empfohlen DNA-Puffer sind die Bittner Natriumphosphatpuffer (siehe Referenz) und FSME. Für die RNA wird TAE empfohlen. TBE und TAE Lager Rezepte sind unten aufgeführt. Diese Puffer sind am häufigsten auf 1X verdünnt, aber die Konzentration kann bis hinunter zu 0,1X. Die Kühlung wird stark für diese Puffer empfohlen, besonders bei höheren Konzentrationen.

### EDTA solution<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
---	-------	--------

Man löst in 70 ml destilliertem Wasser. Passen Sie auf pH 8,0 mit 10 M NaOH (ca. 5 ml), dann mit destilliertem Wasser auf 100 ml auffüllen.

### DNA-Transfer-Puffer, 10X

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

Tris (FW 121,1)	900 mM	109,0 g
Borsäure (FW 61,83)	900 mM	55,6 g
EDTA Lösung (0,5 M, pH 8,0)	20 mM	40,0 ml

Destilliertem Wasser auf 1,0 Liter. Nicht einstellen pH-Wert.

**Verdünnen Vor Gebrauch auf 1X 90 mM Tris, 90 mM Borsäure, 2 mM EDTA und nachgeben.**

Diese Verdünnung wird im Allgemeinen verwendet, Verdünnungen bis 0,1X verwendet sollte es notwendig sein, die Menge des Stroms in dem System zu verringern, um Überhitzung zu steuern.

### RNA-Transfer-Puffer, 10X

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

Tris (FW 121,1)	400 mM	48,4 g
Eisessig (~17,4 M)	~200 mM	11,4 ml
EDTA Lösung (0,5 M, pH 8,0)	10 mM	20,0 ml

Destilliertem Wasser auf 1,0 Liter. Nicht einstellen pH-Wert.

**1X verdünnen vor der Verwendung 40 mM Tris zu ergeben, ~20 mM acetat und 1 mM EDTA.**

Diese Verdünnung wird im Allgemeinen verwendet, Verdünnungen bis 0,1X verwendet sollte es notwendig sein, die Menge des Stroms in dem System zu verringern, um Überhitzung zu steuern.

<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.

---

## Bibliographie

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

- Lin, W., and Kasamatsu, H., On the electrotransfer of polypeptides from gels to nitrocellulose membranes. *Anal. Biochem.* **128**, 302–311 (1983).
- Matsudaira, P. Sequence from Picomole Quantities of Proteins Electrobotted 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).

## Bestellinformationen

Produkt	Menge	Code
Hoefer TE22 Tank-Transfer Unit. Lieferumfang: 4 Gel-Kassetten, 8 Schaumstoff Schwämme, 3-mm dick, 4 Schaumstoff Schwämme, 6-mm dick, 25 Blatt Löschpapier.	1	TE22

### Zubehör und Ersatzteile

Gel-Kassette, 2 Schaumstoff Schwämme, 3-mm dick, und ein Schaum Schwamm, 6-mm dick	1	TE24
Schaumstoff-Schwämme, 9 × 10,5 cm, 6-mm dick	4	TE25
Schaumstoff-Schwämme, 9 × 10,5 cm, 3-mm dick	4	TE25F-1/8
Elektroden-Panel	1	TE23
Sicherheitsdeckel mit Kabel	1	TE29
Hohe Spannung führt	paar	SE6056-HV
Schnellmontage-Koppler Körper, weiblich, bis 9,5 mm ID Schlauch passen	2	QF3/8
Schnellmontage-Koppler Körper, männlich, bis 9,5 mm ID Schlauch passen	2	QFX3/8

### Löschpapier

Löschpapier, Bleche, 9 × 10,5 cm	50	TE26
----------------------------------	----	------

### Companion-Produkte

Hoefer PS2A200 Stromversorgung, 200 V, 2A	1	PS2A200
Hoefer PS200HC Stromversorgung, 200 V, 2A	1	PS200HC
Hoefer PS300B Stromversorgung, 300 V, 0,5A	1	PS300B



**Hoefer, Inc.**

84 October Hill Road  
Holliston, MA 01746

Toll Free: 1-800-227-4750

Telefon: 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 ist ein eingetragenes  
Warenzeichen von Hoefer, Inc.  
Contrad 70 und Decon 90 sind  
eingetragene Warenzeichen der  
Decon Lab.

© 2012 Hoefer, Inc.

Alle Rechte vorbehalten.

Gedruckt in den USA.

