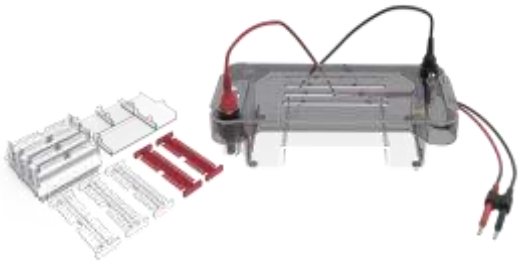
ELITEX



SISTEMA DI ELETTROFORESI ORIZZONTALE, VOLT H70, VOLT H120 E VOLT H130

Si prega di leggere attentamente il manuale d'uso prima dell'utilizzo e di seguire tutte le istruzioni operative e di sicurezza.

Manuale utente
Italiano

Manuale utente

SISTEMA DI ELETTROFORESI ORIZZONTALE, VOLT H70, VOLT H120 E VOLT H130

Prefazione

Grazie per aver acquistato il nostro prodotto. Gli utenti sono tenuti a leggere attentamente questo manuale, a seguire le istruzioni e le procedure e a essere consapevoli di tutte le misure preventive durante l'utilizzo di questo strumento.

Servizio

Se hai bisogno di aiuto, puoi sempre contattare il tuo rivenditore o Labbox tramite**www.labbox.com**.

Si prega di fornire al rappresentante del servizio clienti le seguenti informazioni:

- Numero di serie
- Descrizione del problema
- Le tue informazioni di contatto

Garanzia

Questo strumento è garantito contro difetti di materiali e di fabbricazione in condizioni di normale utilizzo e manutenzione per un periodo di 24 mesi dalla data della fattura. La garanzia è estesa solo all'acquirente originale e non si applica a prodotti o parti danneggiati a causa di installazione impropria, collegamenti errati, uso improprio, incidenti o condizioni operative anomale.

Per le richieste di assistenza in garanzia, si prega di contattare il fornitore.

Il capitolo 1 fornisce una panoramica di **4**
1.1 Introduzione 4
1.2 Sicurezza 4
1.3 Requisiti ambientali 5
1.4 Component 5
1.5 Specifiche 7
Capitolo 2 Istruzioni per l'uso **8**
2.1 Preparazione del gel di DNA 8
2.2 Piastra di gel di agarosio colato 10
2.3 Operazione di elettroforesi 11
2.4 Colorazione e osservazione degli acidi nucleici 12
2.5 Istruzioni per l'applicazione di tamponi 13
Capitolo 3 Gel e preparazione dei reagenti per l'elettroforesi **14**
Capitolo 4 Cura e manutenzione di **15**
4.1 Componente pulito 15
4.2 Mantenere 16
4.3 Tempo di manutenzione 17
4.4 Decontaminazione da ribonucleasi (RNasi) 17
Capitolo 5 Risoluzione dei problemi **18**
Capitolo 6 Riferimenti **18**
Capitolo 7 Garanzia della qualità **19**

1. Informazioni di base

1.1 Introduzione al prodotto

Gli strumenti della serie Volt H (Volt H70, Volt H120 e Volt H130) sono sistemi di elettroforesi su gel completi e flessibili, progettati per un'efficace separazione degli acidi nucleici mediante gel di agarosio in ambiente acquoso. Questi gel sono facili da dispensare e offrono un'eccellente conduttività termica. Consentono il posizionamento stratificato dei campioni, prevenendo al contempo discontinuità del campo elettrico causate dalla disidratazione dello stoppino o del pozzetto del campione. Ideali per i prodotti di digestione del DNA con enzimi di restrizione, frammenti di amplificazione PCR e isolamento genomico/RNA per analisi Southern o Northern blotting, i gel di agarosio in ambiente acquoso, se utilizzati correttamente, possono separare efficacemente acidi nucleici di lunghezza compresa tra 20 e 20 kilobasi.

La serie Volt H è progettata per fornire risultati sperimentali ripetibili in condizioni rigorose per anni. Questi sistemi robusti presentano molteplici caratteristiche che semplificano e migliorano le operazioni di preparazione ed elettroforesi dei gel di agarosio. Il dispositivo di preparazione del gel consente la colatura del gel senza nastro adesivo nei vassoi. La cartuccia dell'elettrodo sostituibile offre un metodo pratico per la sostituzione del filo dell'elettrodo. Sono disponibili diverse configurazioni di base e vassoio, comprese varie tipologie di preparazione.

Le caratteristiche analitiche e la compatibilità con la pipetta multicanale rendono questi sistemi adatti a qualsiasi esperimento su gel di agarosio.

1.2 Sicurezza

Il sistema di elettroforesi Volt H è progettato per massimizzare la sicurezza dell'utente. La vasca tampone è realizzata in acrilico stampato a iniezione per prevenire scosse elettriche.

Prima dell'uso, ispezionare la base per verificare la presenza di crepe o fessure che potrebbero consentire la fuoriuscita del liquido tampone, con conseguenti potenziali rischi elettrici. Inoltre, controllare tutti i cavi, i connettori a banana e i connettori standard per individuare eventuali connessioni allentate, crepe, rotture o corrosione. Non utilizzare mai componenti con crepe, parti bruciate o corrosione, poiché anche questi possono comportare rischi elettrici.

Durante l'elettroforesi, verificare la presenza di perdite di tampone nella base e nel piano di lavoro. Se si rileva una perdita di tampone, interrompere immediatamente l'alimentazione elettrica della vasca per elettroforesi.

L'alimentazione del sistema Volt H è fornita da una sorgente di tensione continua esterna. L'alimentatore deve essere messo a terra e isolato per consentire la trasmissione della tensione continua.

L'output si trova in uno stato relativamente sospeso.

1.3 Requisiti ambientali

I sistemi Volt H70, Volt H120 e Volt H130 sono progettati per funzionare in sicurezza nelle condizioni ambientali elencate nella Tabella 1.

Tabella 1. Requisiti ambientali

Parametro	Specifiche
ambiente	Solo per uso interno.
altitudine operativa	L'altitudine può raggiungere oltre 2000 metri
temperatura di lavoro	4-40°C
Temperatura di trasporto e di stoccaggio	20°Ca 60°C
umidità relativa	50-80% (non condensabile,
Fluttuazione della tensione dell'alimentazione principale	0,5% (salvo diversa indicazione)
Categoria di sovratensione	II

- L'utilizzo dello strumento al di fuori di questo intervallo di temperatura potrebbe non soddisfare le specifiche di prestazione. La temperatura ambiente di 4-40°C(39-104°F) è considerato sicuro.
- Conservare e trasportare lo strumento nella sua custodia di spedizione per rispettare queste condizioni di temperatura.

La corrente proveniente da fonti di alimentazione esterne entra nel gruppo batteria attraverso il coperchio, che funge da meccanismo di sicurezza. Quando il coperchio viene rimosso, il flusso di corrente verso il gruppo batteria viene interrotto. Non tentare di aggirare questo meccanismo di sicurezza. Spegnere sempre l'alimentazione prima di rimuovere il coperchio o di eseguire qualsiasi operazione sul gruppo batteria.

1.4 Composizione dei componenti

Ogni sistema della serie Volt H è dotato dei componenti elencati nella Tabella 2. Si

prega di verificare che lo strumento sia completo di tutti gli elementi. Prestare attenzione a eventuali danni allo strumento subiti durante il trasporto. In caso di componenti mancanti o danneggiati, si prega di avvisare Labbox Labware, SL.

Tabella 2. Componenti del sistema

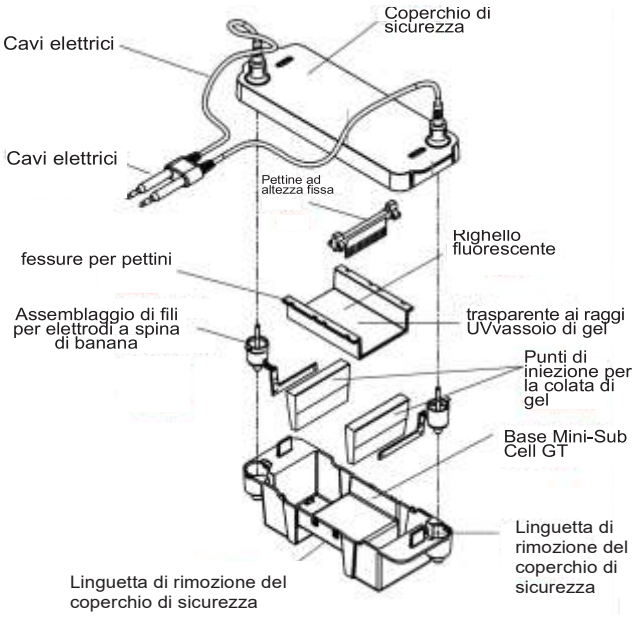
Nome dell'accessorio	**Volt H70**	**Volt H120**	**Volt H130**
	Quantità		
Coperchio dello slot principale (cavi inclusi)	Uno	Uno	Uno
Fessura del corpo principale rivolta verso il basso (elettrodo incluso)	Uno	Uno	Uno
		Quattro	Due
vassoi per gel	Uno	Vassoio in gomma di grandi dimensioni (120*120)	Vassoio in gomma di grandi dimensioni (130*200)
		Vassoio in gomma largo (120*60)	Vassoio in gomma piccolo (130*150)
		Vassoio lungo in gomma (60*120)	
		Vassoio in gomma piccolo (60*60)	
Un applicatore di colla	Uno	Uno	Uno
	Otto	7	Otto
Pettine per i denti	Pettine di campionamento da 1,0 mm con 6 denti (2)	Pettine di campionamento da 2,0 mm (2+3 denti)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (14 denti) (2 pezzi)
	Pettine di campionamento da 1,0 mm con 11 denti (2)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (6+13 denti)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (18 denti) (2 pezzi)
	Pettine di campionamento da 1,5 mm con 6 denti (2)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (8+18 denti)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (26 denti) (2 pezzi)
	Pettine di campionamento da 1,5 mm con 11 denti (2)	Pettine di campionamento da 1,0 mm (11+25 denti) (4 pezzi)	Pettine di campionamento da 1,5 mm (18 denti) (2 pezzi)

La collaborazione con un colorante blu consente di monitorare tempestivamente il processo di elettroforesi; dopo 5 minuti la luce blu si spegne automaticamente, lasciandola accesa a lungo si può ridurre la durata dei chip LED.

Figura 1. Componenti del sistema. Questo diagramma mostra i componenti dei sistemi Volt H70, Volt H120 e Volt H130. I componenti sono simili, ma non identici.

1.5 Specifiche tecniche

Tabella 3. Specifiche



Progetto	Volt H70	Volt H120	Volt H130
	Parametro		
Area del gel (larghezza × lunghezza)	75×60 mm	Grande adesivo 120 × 120 mm	Grande adesivo 130×150mm
		Adesivo largo 120×60 mm	Piccola colla 130×200mm
		Gomma lunga 60×120 mm	
		Piccola colla 60×60 mm	
Numero di denti nel campione	6 o 11 fori (opzionale)	2, 3, 6, 8, 11, 13, 18, 25 (sì seleziona)	1,0 mm (14, 18, 26 denti), 1,5 mm (18 denti)

dimensionalità del contorno	220100100mm	330160120mm	340170130mm
Volume del buffer	300 ml	700 ml	800 ml
Carico di tensione massimo	500V	500V	500V
Intervallo di concentrazione del gel applicabile	Gel di agarosio allo 0,8%–2,0%	Gel di agarosio allo 0,8%–2,0%	Gel di agarosio allo 0,8%–2,0%
Materiali degli elettrodi	Filo di platino ad altissima purezza (99,99%), con eccellente conduttività elettrica.	Filo di platino ad altissima purezza (99,99%), con eccellente conduttività elettrica.	Filo di platino ad altissima purezza (99,99%), con eccellente conduttività elettrica.
Intervallo di temperatura di funzionamento	≤30℃(operativo)	30℃(in fase di esecuzione)	30℃(in fase di esecuzione)

- Il volume del tampone di base in una vasca per elettroforesi di tipo Sub varia a seconda delle dimensioni e dello spessore del gel utilizzato.

2. Come funziona

Nota: Per informazioni sulla preparazione del gel di RNA, consultare la sezione 3 "Preparazione del gel e reagenti per l'elettroforesi". Per ulteriori informazioni sull'elettroforesi del DNA e dell'RNA, consultare la sezione 6 "Riferimenti".

2.1 Fase di preparazione del gel di DNA

I gel di agarosio per il DNA possono essere utilizzati per separare e osservare il DNA di varie dimensioni. Prima di preparare il gel di agarosio, consultare la Tabella 4 e determinare la percentuale appropriata di gel di agarosio in base alle dimensioni del DNA da separare.

fare un passo

1. Determinare la quantità di agarosio necessaria (g) per la preparazione del gel di agarosio con la concentrazione e il volume richiesti. Le tabelle 4 e 5 sono utilizzate come riferimento per i requisiti di concentrazione di agarosio e volume del gel.

Tabella 4. Concentrazioni del gel necessarie per l'isolamento del DNA

Resistenza del gel (%)	DNA grande o piccolo
0,5	1—30kb
0,75	800 bp—10 kb
1	500 bp—10 kb
1,25	400 bp—7 kb
1.5	200 bp—3 kb
2	100 bp—2,5 kb
3	400 bp—2 kb
4	4—400 bp

- Si prega di consultare i riferimenti per ulteriori informazioni.

Tabella 5. Requisiti di volume del gel

Dimensione del gel (spessore)	0,25 cm	0,5 ml	0,75 ml	1,0 ml
candelabro				
7×7 cm	10 ml	20 ml	30 ml	40 ml
15×7 cm	20 ml	40 ml	60 ml	80 ml
5×15 cm	50 ml	100 ml	150 ml	200 ml
pallet				
7×7 cm	10 ml	20 ml	30 ml	40 ml
7×10 cm	15 ml	30 ml	45 ml	60 ml
15×7 cm	20 ml	40 ml	60 ml	80 ml
15×10 cm	30 ml	60 ml	90 ml	120 ml
15×15 cm	50 ml	100 ml	150 ml	200 ml
15×20 cm	70 ml	140 ml	210 ml	280 ml
15×25 cm	90 ml	180 ml	270 ml	360 ml

2. Aggiungere l'agarosio in un contenitore adatto (ad esempio, una beuta da 250 mL o una bottiglia di Wheaton). Aggiungere una quantità appropriata di tampone per elettroforesi 1x (vedere la Sezione 3: Preparazione del gel e reagenti per elettroforesi per la preparazione del tampone) e ruotare per sospendere la polvere di agarosio nel tampone. Se si utilizza una beuta, capovolgere la beuta da 25 mL contenente l'agarosio sull'estremità aperta della beuta da 250 mL. Una piccola beuta funge da camera di

riflusso, consentendo un'ebollizione prolungata o intensa senza eccessiva evaporazione.

Nota:*È possibile segnare lo stesso livello del liquido sul matraccio inferiore. In caso di evaporazione, è possibile aggiungere acqua per riportare il liquido al suo livello iniziale.*

3. L'agarosio può essere fuso facendolo bollire su una piastra magnetica (fase 4a) o in un forno a microonde (fase 4b).

Nota:*Indossare sempre guanti protettivi, occhiali di sicurezza e camice da laboratorio durante la preparazione e la perfusione dei gel di agarosio. Il contatto della pelle con i vasi sanguigni contenenti agarosio caldo può causare gravi ustioni. Inoltre, l'agarosio fuso bolle se agitato con un vortice.*

Metodo con piastra a levitazione magnetica 4a. Aggiungere un'ancoretta magnetica alla soluzione di agarosio non disciolto. Riscaldare la soluzione fino all'ebollizione mescolando su una piastra riscaldante magnetica. Le bolle o la schiuma dovrebbero rompersi prima di risalire verso il collo della fiasca di coltura.

Metodo del forno a microonde 4b. Mettere la soluzione di gel in un forno a microonde. Impostare il timer ad almeno 5 minuti utilizzando una potenza da bassa a media e mettere in pausa il microonde ogni 30 secondi. Ruotare delicatamente la fiasca di coltura per sospendere l'agarosio non disciolto. Questa tecnica è il metodo più rapido e sicuro per sciogliere l'agarosio.

5. Far bollire la soluzione e ruotare fino a quando tutte le particelle di agarosio traslucide si saranno sciolte. Mantenere la piccola fiasca di coltura nella sua posizione originale e versarla dopo averla raffreddata a 60℃.

2.2 Inoculazione di piastre di gel di agarosio

Utilizzare il gel di perfusione del vassoio

1. Mantenere livellata la vaschetta per elettroforesi in dotazione.

2. Posizionare la piastra sul supporto del gel.

3. Far scorrere la piastra per gel nell'apposito alloggiamento sulla piattaforma per gel. Assicurarsi che la piastra sia posizionata uniformemente nell'alloggiamento e che tutti i bordi siano a contatto con il vassoio. Il peso della piastra può creare una tenuta ermetica per evitare perdite durante la preparazione del gel.

Nota:*Se si verifica una perdita durante il versamento del gel sul supporto, riporre il beccuccio in frigorifero per 2-3 minuti. Prima di versare il gel, inserire il beccuccio nell'apposita fessura. Il*

beccuccio raffreddato impedirà alla soluzione di gel di fuoriuscire dal supporto e di entrare nella camera.

4. Posizionare il pettine nell'apposito alloggiamento sul vassoio in modo che il pozzetto del campione sia vicino al catodo (nero). Durante l'elettroforesi, il campione di DNA si sposterà verso l'anodo (rosso).

5. Preparare la concentrazione e la quantità di agarosio richieste in tampone di elettroforesi 1X (vedere la Sezione 2.1, Preparazione del gel di DNA). Quando la soluzione di agarosio si è raffreddata a 50-60°C, versare l'agarosio fuso tra i pettini della vaschetta del gel.

Avvertimento!Agarosio caldo (>60°CCiò può causare deformazioni o crepe nella piastra e ridurne la durata. La deformazione può anche comportare una profondità non uniforme dei fori di campionamento.

6. Lasciare solidificare il gel a temperatura ambiente per 20-40 minuti.

7. Rimuovere con cautela il pettine dal gel solidificato. Rimuovere la piastra del gel.

8. Immergere il gel nella soluzione tampone per elettroforesi 1x a una profondità di 2-6 mm (vedere la Sezione 3, Preparazione del gel e dei reagenti per elettroforesi). Man mano che la tensione aumenta, incrementare la profondità di immersione (utilizzando più soluzione tampone) per prevenire effetti dovuti al pH e alla temperatura.

2.3 Elettroforesi

La vasca per elettroforesi Volt VX80 supporta sia la preparazione manuale del gel che l'utilizzo di soluzioni di gel pre-preparate. Il sistema è dotato di un supporto per la preparazione del gel con piastre di vetro dotate di distanziatori per gel con adesivo permanente, che semplificano i processi di preparazione manuale ed eliminano il rischio di perdite. La vasca può contenere da 1 a 4 strati di gel ed è compatibile con i moduli per elettrodi MiniLab per applicazioni di trasferimento elettroforetico in vasca ed elettroforesi bidimensionale.

Dopo la solidificazione del gel di agarosio, è possibile procedere con il caricamento del campione e l'elettroforesi. Il gel di agarosio può essere utilizzato in diversi tamponi per elettroforesi. Per l'elettroforesi su gel di agarosio degli acidi nucleici, si utilizza in genere il tampone Tris-acido acetico-EDTA (TAE) o Tris-acido borico-EDTA.

(TBE) tampone. Sebbene il tampone TAE possa rendere più rapida la migrazione

elettroforetica del DNA lineare e migliorare la risoluzione del DNA superavvolto, il tampone TBE ha una maggiore capacità tampone nelle operazioni di elettroforesi con tempi più lunghi o tensioni più elevate.

1. Preparare i campioni da caricare sul gel. Il volume di caricamento dipende dal tipo di pettine utilizzato (spessore e lunghezza dei fori) e dallo spessore del gel.
2. Dopo aver determinato il volume di caricamento, aggiungere il colorante di caricamento standard per acidi nucleici fino a una concentrazione finale di 1X per aumentare la densità del campione e facilitarne il caricamento nel pozzetto (la preparazione del colorante di caricamento è descritta nella Parte 3 "Preparazione del gel e dei reagenti per l'elettroforesi").
3. Caricare il campione nel pozzetto utilizzando una pipetta standard. Nota: i fori per il campione sono spesso difficili da osservare. È possibile posizionare della carta nera o del nastro adesivo sotto la base o il vassoio dove viene posizionato il pettine e dove viene formato il foro per migliorarne la visibilità.
4. Coprire con cura con il coperchio di sicurezza. Allineare i connettori a banana rossi e neri con i connettori a banana rossi e neri sulla base.
5. Il fabbisogno energetico varia a seconda dello spessore del gel, della lunghezza, del tipo di agarosio e della sua concentrazione, nonché del tipo di tampone di elettroforesi utilizzato. Per i tassi di migrazione relativi dei campioni nei diversi sistemi Volt H e per la migrazione del DNA in base alle dimensioni quando si utilizzano coloranti di caricamento, si prega di fare riferimento alle Tabelle 6 e 7.

Nota:*Nella maggior parte dei casi, l'elettroforesi standard su gel di agarosio per DNA e RNA non richiede la circolazione del tampone. Qualora fosse necessaria, è sufficiente spegnere l'alimentatore, rimuovere il coperchio di sicurezza e preparare il tampone di elettroforesi secondo necessità. Dopo aver preparato il tampone, richiudere il coperchio di sicurezza e proseguire con l'elettroforesi.*

Tabella 6. Tassi di migrazione relativi dei campioni*

Tipo di cellula blu del bromofenolo	Voltaggio	Mobilità
15×15cmgel	75V	3,0 cm/h
15×10cmgel	75V	4,5 cm/h
7×10cmgel	75V	4,5 cm/h

* Le velocità di migrazione di questi campioni sono state misurate su gel di agarosio all'1,0% di spessore pari a 0,5 cm. Le velocità di migrazione possono variare a seconda della tensione, della corrente e del tipo di agarosio o tampone utilizzati.

Tabella 7. Migrazione delle dimensioni del DNA in presenza di colorante additivo

Concentrazione di gelatina, %	Xilene cianolo	Blu di bromofenolo
0,5–1,5	4–5 kb	400–500 bp
2.0–3.0	750 bp	100 bp
> 3.0	125 bp	25 bp

* Agarosio per reticolazione, come l'agarosio PCR certificato.** Agarosio per reticolazione, come il superagarosio a basso range certificato.

2.4 Colorazione e osservazione degli acidi nucleici

Il gel può essere rimosso dalla base Volt H o dal vassoio per gel per la colorazione degli acidi nucleici. Il gel può anche essere lasciato sul vassoio per la colorazione.

Fase di colorazione con bromoetidio (EtBr)

1. Immergere il gel in una quantità adeguata di colorante al bromuro di etidio a una concentrazione di 0,5 μg/mL e lasciare in posa per 15-30 minuti. Ricoprire completamente il gel con una quantità sufficiente di colorante.

Nota:*Il bromuro di etidio (EtBr) è sospettato di essere cancerogeno e deve essere maneggiato con estrema cautela. Indossare guanti, occhiali di sicurezza e camice da laboratorio. Smaltire correttamente le soluzioni e i gel di bromuro di etidio usati (consultare la scheda di sicurezza del bromuro di etidio [MSDS] per le istruzioni sulla corretta manipolazione).*

2. Decolorare il gel nello stesso volume di acqua distillata utilizzato per la colorazione per 10-30 minuti.

Nota:*Il bromuro di etidio (EtBr) può essere rimosso dal DNA mediante una decolorazione prolungata, che tuttavia comporta una riduzione della sensibilità di rilevamento. Una decolorazione insufficiente, invece, produce una fluorescenza di fondo più elevata.*

3. Risciacquare brevemente il gel con acqua distillata per rimuovere eventuali residui di soluzione colorante.
4. Posizionare il gel su un transilluminatore UV per la visualizzazione e l'analisi degli acidi nucleici. Il complesso DNA-bromuro di etidio (EB) può essere irradiato con luce ultravioletta a 254 nm, 302 nm o 366 nm. Lunghezze d'onda

più elevate comportano una ridotta sensibilità durante l'irradiazione, mentre al di sotto di 302 nm la scissione del DNA diventa più pronunciata. La Tabella 8 riporta le percentuali di trasmittanza UV attraverso una lastra di plastica trasparente ai raggi UV (UVTP) di 0,64 cm (1/4 di pollice).

Nota:*L'acido nucleico nel gel può essere osservato attraverso il vassoio. Se non si utilizza un vassoio, interporre della pellicola trasparente per alimenti tra il sensore UV e il gel per evitare la contaminazione del sensore con acido nucleico o bromuro di etidio.*

Tabella 8. Percentuale di trasmissione UV attraverso plastica trasparente ai raggi UV da 1/4 di pollice (0,64 cm).

Lunghezza d'onda approssimativa, nm	Trasmissibilità %
254	0
302	80
366	90

2.5 Descrizione del metodo di tracciamento

Gli acidi nucleici presenti nel gel possono essere trasferiti sulla membrana mediante Southern blotting e Northern blotting. Questo manuale non descrive le fasi dell'operazione di blotting, che esulano dal suo scopo. Per informazioni sulla tecnica di blotting, si prega di consultare i riferimenti bibliografici.

3. Preparazione del gel e del reagente per l'elettroforesi

<u>Gel di agarosio-formaldeide per RNA</u>

Per preparare un gel di agarosio-formaldeide all'1% da 100 ml, procedere come segue: • 62 ml di agarosio fuso all'1,6% • 20 ml di tampone per elettroforesi MOPS a concentrazione 5× (concentrazione finale 1X) • 18 ml di formaldeide 12,3 M/L (37,5%) (concentrazione finale 2,2 M/L)

Nota:*La soluzione di formaldeide e i vapori di formaldeide sono tossici.*Quando si maneggiano soluzioni o gel contenenti formaldeide, utilizzare una cappa aspirante. Indossare sempre guanti, occhiali di sicurezza e indumenti da laboratorio quando si utilizza la formaldeide. Per informazioni sulla sicurezza, consultare la scheda di sicurezza della formaldeide.

<u>Tampone per elettroforesi degli acidi nucleici (vedere riferimenti)</u>

L'elettroforesi del DNA su gel di agarosio utilizza tipicamente il tampone Tris-acido acetico-acido etilendiamminotetraacetico (TAE) o Tris-borato-acido etilendiamminotetraacetico (TBE). Il tampone TAE aumenta la velocità di migrazione elettroforetica del DNA lineare e migliora la risoluzione per il DNA superavvolto.
Il tampone TBE mostra una maggiore capacità tampone durante l'elettroforesi prolungata o ad alta tensione. I gel di RNA formaldeide richiedono il tampone per elettroforesi MOPS [acido 3-(N-morfolino)propansolfonico].
1× Tris-acido acetico-EDTA (TAE): 40 mM Tris (pH 7,6), 20 mM acido acetico e 1 mM EDTA. Per una soluzione madre concentrata 50× (1 L), sciogliere le seguenti sostanze in 600 mL di acqua distillata: • 242 g di Tris base (PF = 121) • 57,1 ml di acido acetico glaciale • 100 ml di EDTA 0,5 M, pH 8,0. Agitare energicamente con acqua distillata fino a raggiungere un volume finale di 1 L.
1× tri(idrossimetil)amminometano-acido boronico-acido etilendiamminotetraacetico (TBE): 89 mM tri(idrossimetil)amminometano (pH 7,6), 89 mL di acido borico, 2 mL di acido etilendiamminotetraacetico
Per ottenere il concentrato 10x (1 L), sciogliere la seguente sostanza in 600 mL di acqua distillata:
• 108 g (PF=121)• 55 g di acido borico (PF = 61,8)• 40 ml di EDTA 0,5 M, pH 8,0 Agitare energicamente con acqua distillata fino a raggiungere un volume finale di 1 L
Tampone MOPS 1× (gel di RNA):0,02 M MOPS (pH 7,0), 8 mM acetato di sodio, 1 mM EDTA 5× concentrato (1 L) disciolto in 600 mL di acqua distillata trattata con dietilpirocarbonato (DEPC): • 20,6 g di acido 3-(N-morfolino)propansolfonico • 13,3 mL di acetato di sodio 3 M (trattato con dietilpirocarbonato), pH 7,4 • 10 mL di acido etilendiamminotetraacetico 0,5 M (trattato con tetrabenzoilpiroato), valore di pH 8,0
L'acqua vaporizzata trattata con dietilpirocarbonato (DEPC) è stata portata a un volume finale di 1 L
Nota:*Il DEPC è un sospetto cancerogeno. Indossare sempre guanti, occhiali di sicurezza e camice da laboratorio. Maneggiare con cura le soluzioni contenenti DEPC. Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza del dietilpirocarbonato.*
Coloranti per la colorazione del DNA e dell'RNA (vedi riferimenti)
Preparare ciascun campione di RNA come segue prima di caricare l'RNA sul gel di

agarosio-formaldeide: • 6 µl di RNA (disciolto in acqua trattata con DEPC) • 10 µl di tampone MOPS a concentrazione 5× (concentrazione finale 1,67 volte) • 9 µl di formaldeide 12,3 M (concentrazione finale 3,7 M) • 25 µl di formammide (concentrazione finale 50% V/V)

Nota:*La formammide è teratogena. Indossare sempre guanti, occhiali di sicurezza e indumenti da laboratorio. Maneggiare la formammide con cura. Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza della formammide.*

Soluzione di bromoetidio: aggiungere 10 mg di bromuro di etidio a 1 ml di acqua distillata.

4. Manutenzione e cura

4.1 Componenti del sistema Clean Volt H

1. Tutte le parti della Volt H devono essere pulite con acqua tiepida e una soluzione di sapone neutro o detergente.

Nota:*Durante la pulizia, fare attenzione a non impigliare o rompere i fili degli elettrodi nella base.*

2. Risciacquare accuratamente tutte le parti con acqua tiepida (possibilmente distillata) e poi lasciarle asciugare all'aria.

4.2 Detergenti compatibili

Per garantire una lunga durata dei componenti, è necessario utilizzare detergenti chimicamente compatibili. Tra questi detergenti si annoverano:

- Una soluzione di sapone o detergente delicato
- solvente organico:
    - esano
    - idrocarburo grasso

Non immergere le parti in plastica nel detersivo per più di 30 minuti. Di solito è sufficiente sciacquarle con il detersivo.

Nota:*Non utilizzare i seguenti prodotti chimici per pulire i componenti del Volt H. Il contatto con tali prodotti chimici può causare crepe, striature argentate, corrosione o deformazione delle parti in plastica.*

- idrocarburi clorurati

    - tetracloruro di carbonio
    - cloroformio
- idrocarburo aromatico
    - benzene
    - fenolo
    - metilbenzene
    - metil etil chetone
    - acetone
- alcoli
    - carbinolo
    - alcol
    - isopropanolo

Non utilizzare detergenti abrasivi o fortemente alcalini per la pulizia dei componenti del Volt H.

Non esporre i componenti della sottocella a temperature (>60°CNon utilizzare l'autoclave o il calore secco per sterilizzare i componenti della sottocella.

4.3 Tempo di manutenzione

Per le istruzioni sulla manutenzione del sistema Volt H, consultare la Tabella 9.

Tabella 9. Manutenzione del sistema

Progetto	Domanda	Frequenza	Operare
Tutte le parti	Sale secco, agarosio, olio e terra	scopo concreto	Pulire i componenti come descritto nella Sezione 4.1
Fili elettrici	Rottura o usura	Usalo ogni volta	ri-incordatura
pallet	Scheggiatura o crepa	scopo concreto	Cambiare il vassoio
elettrodo a filo	interruttore automatico	scopo concreto	Vedere la sezione 4.4
Collegamenti dei cavi (spine e connettori a banana)	diventare meno affollato	settimanale	Sostituire la spina o la presa a banana

4.4 Decontaminazione da RNasi

Prima di eseguire l'elettroforesi su gel di RNA utilizzando qualsiasi sistema Volt H, i componenti devono essere puliti con un detergente delicato e trattati con perossido di idrogeno (H2O2) al 3% per 10 minuti. I componenti devono quindi essere risciacquati con acqua distillata trattata con dietilpirocarbonato (DEPC) allo 0,1% per rimuovere gli enzimi dell'RNA. Per ulteriori raccomandazioni sull'uso del DEPC nella decontaminazione degli enzimi dell'RNA, si prega di consultare il materiale di riferimento.

Nota:*Il DEPC è un sospetto cancerogeno. Indossare sempre guanti, occhiali di sicurezza e indumenti da laboratorio. Maneggiare con cura le soluzioni contenenti DEPC. Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza del dietilpirocarbonato.*

Non tentare di rimuovere la contaminazione da ribonucleasi dai componenti di Sub-Cell GT utilizzando il metodo del calore estremamente secco.

5. Risoluzione dei problemi

Tabella 10. Risoluzione dei problemi

Domanda	Possibili cause	Ricetta
La striscia è sfocata o strisciante	Il gel non è uniforme e la tensione è troppo alta	Verificare il livello di preparazione della colla e ridurre la tensione a 5V/cm
La porta aggiuntiva è rotta	Modo scorretto di strappare	Tira delicatamente un lato del pettine, evitando di esercitare una forza verticale.
Perdita del buffer	Il vassoio non è sigillato o la base non è fissata	Richiudere entrambe le estremità del vassoio
Corrosione degli elettrodi	Il buffer non è stato sostituito in tempo	Cambiare regolarmente il tampone e pulire l'elettrodo.
Contaminazione incrociata di campioni ad alta produttività	L'intervallo di campionamento è troppo denso	Utilizzare una pistola di campionamento standard per evitare la formazione di bolle.

Il gel si è crepato	I gradienti di tensione sono troppo elevati, soprattutto quando si utilizza agarosio con un punto di fusione più basso o un gel di minore resistenza.	Abbassare la tensione e far funzionare il gel a una temperatura inferiore.

6. Riferimenti

1. Sambrook J et al. (1989). Clonazione molecolare, un manuale di laboratorio, seconda edizione (Cold Spring Harbor Laboratory Press,
2. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates e Wiley-Interscience 1989, lettura di recupero.
3. Kopchick, JJ, Cullen, BR e Stacey, D., Anal Biochevn., 115, 419 (1981).
4. Southern, E., Metodi in Enzyol., 68, 152 (1979).
5. Colorante all'argento Bio-Rad - Bollettino 1089, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA.
6. Bittner, M., Kuemer, P., e Morris, CF, Anal Biochem., 102, 459 (1980).
7. Istruzioni operative per il sistema Trans-Blot Cell di Bio-Rad, Bollettino 1082, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA.
8. Winberg, G. e Hammarskjold, M., Nucleic Acids Res., 8. 253 (1980).
9. vyatakeze, I. v. Axelrod, VD Gorbulev, VG Belzhelarskaya, SN e Vartikyav, P.....Anal. Biochimica. 100.129 (1979).
10. Dretzen, G, Blerd, M., Sassone-Corsi, P, e Chambon, P, Anal. Biocharn, 112, 295 (1981)

7. Garanzia di qualità

Il prodotto è conforme agli standard per le apparecchiature di elettroforesi da laboratorio e offre una garanzia di 2 anni (esclusi i danni causati da uso improprio). Si prega di leggere attentamente il manuale d'uso prima dell'utilizzo per garantirne il corretto funzionamento.

Per informazioni o richieste di assistenza, si prega di contattare il personale di Labbox Labware.

Nota importante para los aparatos electrónicos vendidos en España

Instrucciones sobre la protección del medio ambiente y la eliminación de aparatos electrónicos:

Los aparatos eléctricos y electrónicos marcados con este símbolo no pueden ser eliminados en forma de residuos urbanos.

De conformidad con la Directiva 2012/19/UE, los usuarios de la Unión Europea de aparatos eléctricos y electrónicos, tienen la posibilidad de devolver sus RAEE para su eliminación al distribuidor o fabricante del equipo después de la compra de uno nuevo. La eliminación ilegal de aparatos eléctricos y electrónicos es castigada con multa administrativa.

Remarque importante pour les appareils électroniques vendus en France

Informations sur la protection du milieu environnemental et élimination des déchets électroniques :

Les appareils électriques et électroniques portant ce symbole ne peuvent pas être jetés dans les décharges.
En réponse à la règlementation, Labbox remplit ses obligations relatives à la fin de vie des équipements électriques de laboratoire qu'il met sur le marché en finançant la filière de recyclage de ecosystem dédiée aux DEEE Pro qui les reprend gratuitement (plus d'informations sur www.ecosystem.eco).
L'élimination illégale d'appareils électriques et électroniques est punie d'amende administrative.

Nota importante per le apparecchiature elettroniche vendute in Italia

Istruzioni sulla protezione ambientale e sullo smaltimento dei dispositivi elettronici:

Le apparecchiature elettriche ed elettroniche contrassegnate con questo simbolo non possono essere smaltite come rifiuti urbani.
In conformità con la Direttiva 2012/19 / UE, gli utenti dell'Unione Europea di apparecchiature elettriche ed elettroniche hanno la possibilità di restituire i propri RAEE per lo smaltimento al distributore o al produttore di apparecchiature dopo averne acquistato uno nuovo. La rimozione illegale di apparecchiature elettriche ed elettroniche è punibile con una sanzione amministrativa.

www.labbox.com