

ROTIPHORESE® PROclamp Tank Blotting

3513.1 / 3517.1

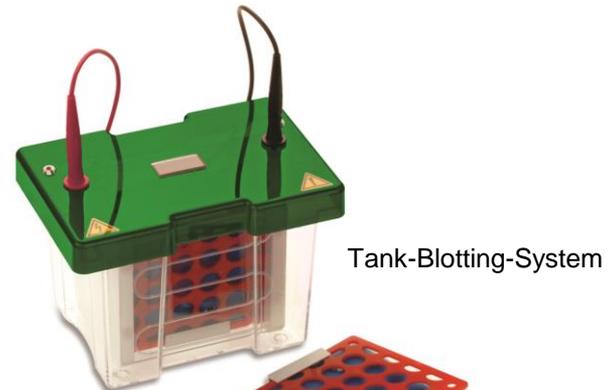
ROTIPHORESE® PROclamp MINI
Tank-Blotting-System / -Modul

3697.1 / 3699.1

ROTIPHORESE® PROclamp MINI Wide
Tank-Blotting-System / -Modul

5814.1 / 5816.1

ROTIPHORESE® PROclamp MAXI
Tank-Blotting-System / -Modul



Tank-Blotting-System



Tank-Blotting-Modul

WICHTIGER HINWEIS:

Bitte lesen Sie die Bedienungsanleitung ausführlich vor Inbetriebnahme.

Warnhinweis:

Wie bei allen elektrischen Geräten besteht auch bei diesen Einheiten die Gefahr von tödlichen Spannungen, wenn sie an eine Stromversorgung angeschlossen werden. Die Blotting-Systeme dürfen nur von qualifiziertem, technisch geschultem Personal bedient werden.

Die Tank Blotting-Systeme von Roth sind für langen Gebrauch und reproduzierbare Ergebnisse in Ihrem Labor konzipiert. Nehmen Sie sich bitte einen kurzen Moment Zeit um diese Anleitung zu lesen.

Diese Einheiten entsprechen den gesetzlichen CE Sicherheitsbestimmungen:
73/23/EEC: Niederspannungsvorschrift: IEC 1010-1:1990 mit Amendment 1:1992
EN 61010-1:1993/BS EN 61010-1:1993

Überprüfen Sie bitte, ob Sie das Gerät vollständig und unbeschädigt erhalten haben. Fehler oder Verluste müssen Roth sofort mitgeteilt werden. Roth kann für Waren, die ohne Mitteilung zurückgeschickt werden, keine Verantwortung übernehmen.

Sehen Sie sich die Packliste durch und überprüfen Sie, ob alle Komponenten und Zubehörteile vorhanden sind.

**Bitte bewahren Sie die gesamte Verpackung bis zum Ende der Garantifrist auf.
Bei Fragen wenden Sie sich bitte an uns, Telefonnr.: 0721/5606-0.**

SPEZIFIKATION:

Technische Daten:

- Anwenderfreundliche Konstruktion im Spritzgussverfahren – 100 % dicht und nicht-leckend.
- Doppelt isolierte Kabel, die bis 1000 Volt sicher sind.
- Mit Gold beschichtete, korrosionsfreie, elektrische Verbindungen, die bis 1000 Volt sicher sind.
- Eingesenkte, im Sicherheitsdeckel integrierte Stromverbindungen.
- 0,2 mm dicke Platin-Elektroden von 99,99 % iger Reinheit.
- Platin-Elektroden, die vom Benutzer selbst ausgetauscht werden können.

TYP	MINI	MINI Wide	MAXI
Außenmaß (B x L x H)	19 x 13 x 15 cm	26 x 16 x 16 cm	30 x 18 x 27 cm
Gesamt-Puffervolumen	1,2 Liter	2,8 Liter	5,3 Liter
Elektrodenabstand	6 cm	6 cm	6 cm
Anzahl der Kassetten	4	4	4
Maximale Gelgrößen	10 x 10 cm	20 x 10 cm	20 x 20 cm
Maximale Spannung	200 V	250 V	350 V
Maximale Stromstärke	1000 mA	1500 mA	2000 mA
Elektrische Kontakte	4 mm Stecker, völlig ummantelt	4 mm Stecker, völlig ummantelt	4 mm Stecker, völlig ummantelt

Umgebungsbedingungen

- Das Gerät darf nur in Innenräumen verwendet werden.
- Das Gerät kann ohne Sicherheitsverlust in bis zu einer Höhe von 2000 m über N. verwendet werden.
- Die normale Arbeitstemperatur liegt zwischen 4 °C und 65 °C.
- Die maximal mögliche relative Luftfeuchtigkeit von 80 % bei Temperaturen von 31 °C nimmt bei Temperaturen von 40 °C linear auf 50 % ab.

Alle Roth Produkte, die ausgeliefert werden, haben eine strenge Qualitätskontrolle durchlaufen.

PACKLISTEN:

TYP	MINI		MINI Wide		MAXI	
Gerät	<u>3513.1</u> System	<u>3517.1</u> Modul	<u>3697.1</u> System	<u>3699.1</u> Modul	<u>5814.1</u> System	<u>5816.1</u> Modul
Tank inkl. Deckel+2 Kabel	1	-	1	-	1	-
Kühlung	Kühlpad	-	Kühlpad	-	Kühlschlange	-
Blottingmodul	1	1	1	1	1	1
Blotting-Kassetten	4	4	4	4	4	4
Blotting-Matten	16	16	16	16	18	18

ZUBEHÖR:

(Das Zubehör kann unter den angegebenen Bestellnummern bei Carl Roth GmbH + Co. KG bezogen werden. Weitere Reagenzien und Zubehör zum Blotten finden Sie im Anhang.)

TYP	MINI	MINI Wide	MAXI
Tank (ohne Deckel)	3509.1	1396.1	5807.1
Ersatzdeckel	3511.1	1400.1	5809.1
Kühlschlange / Kühlpad	3512.1	1429.1	5812.1
Blotting-Kassette (inkl. 2 Matten)	3518.1	3702.1	5827.1
Blotting-Matten	3519.1 (8 Stück)	3654.1 (8 Stück)	5829.1 (6 Stück)

BENUTZUNG DER VERTIKALEN GELELEKTROPHORESE-EINHEITEN

A. Sicherheitsvorkehrungen

Lesen Sie die Gebrauchsanweisung bitte vollständig durch, bevor Sie die Kammer in Betrieb nehmen.

Trennen Sie in jedem Fall die Elektrophoreseeinheit vom Netzgerät, bevor Sie den Schutzdeckel abnehmen. Trennen Sie zuerst das Netzgerät von der Stromversorgung, bevor Sie die Kabel entfernen.

Überschreiten Sie nicht die maximal zulässige Arbeitsspannung oder Stromstärke (siehe Tabelle 1).

Acrylamid ist ein flüchtiges, sich anreicherndes Neurotoxin und vermutlich krebserregend. Tragen Sie bei der Arbeit mit Acrylamid immer Schutzkleidung und befolgen Sie genau die Arbeitsanleitung sowie die Vorschriften zur Entsorgung. Polymerisierte Gele enthalten Reste von unpolymerisiertem Monomer. Arbeiten Sie ausschließlich mit Schutzhandschuhen.

Füllen Sie das Gerät nicht über die maximale Füllhöhe mit Laufpuffer auf.

Bewegen Sie das Gerät während des Laufs nicht.

ACHTUNG:

Während der Elektrophorese werden an den Elektroden sehr kleine Mengen verschiedener Gase gebildet. Die Art des gebildeten Gases ist abhängig von der Zusammensetzung des verwendeten Puffers. Damit sich diese Gase verflüchtigen können, muß sichergestellt sein, dass das Gerät in einem gut belüfteten Raum verwendet wird.

B. Allgemeine Pflege und Wartung

Reinigen Sie das Gerät regelmäßig mit handwarmem Wasser und einer milden Seifenlösung. Häufig ist ein Spülen mit destilliertem Wasser völlig ausreichend. Trocknen Sie vor Gebrauch die Einzelteile mit sauberen Tüchern z.B. Roth Tissue-Tücher (Best.-Nr. 0087.1)

Wichtig: Acrylglas ist unbeständig gegenüber aromatischen und halogenierten Kohlenwasserstoffen, Ketonen, Estern, Alkoholen (>25 %) und Säuren (>25 %); sie sind besonders für das UV-transparente Plastik ungeeignete Reinigungsmittel und dürfen nicht verwendet werden. Verwenden Sie keine Scheuermittel. Die Kammern dürfen nicht mit folgenden Reinigungsmitteln in Kontakt kommen, da diese einen irreversiblen und zunehmenden Schaden verursachen: Aceton, Phenol, Chloroform, Tetrachlormethan, Methanol, Ethanol, Isopropanol, Alkali.

Vor Gebrauch und danach monatlich müssen die Klebeverbindungen des Geräts auf Undichtigkeit geprüft werden. Sie können das Gerät auf ein Blatt saugfähiges Papier stellen und mit destilliertem Wasser bis zur maximalen Füllhöhe auffüllen. Mögliche Undichtigkeiten werden Sie auf dem Papier sehen. Entdecken Sie eine Undichtigkeit, versuchen Sie bitte nicht, das Gerät zu reparieren oder es in Betrieb zu nehmen, sondern benachrichtigen Sie umgehend die Firma Carl Roth GmbH+Co. KG (0721/5606 – 172).

Die Platinelektroden sind aus Sicherheitsgründen teilweise ummantelt. Wenn Sie den Haupttank reinigen, verwenden Sie im Elektrodenbereich bitte trotzdem keine Reinigungsbürsten.

Stellen Sie bitte sicher, dass die elektrischen Verbindungen vor Gebrauch oder Lagerung trocken und sauber sind.

C. RNAse Dekontamination

Kann mit dem folgenden Protokoll durchgeführt werden:

Reinigen Sie das Gerät mit einem milden Detergens wie vorgegeben.

Waschen Sie 10 min mit 3 % Wasserstoffperoxid (H₂O₂).

Spülen Sie mit 0,1 % DEPC-behandeltem, destilliertem Wasser.

Vorsicht: DEPC ist möglicherweise krebserregend. Treffen Sie immer die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen beim Gebrauch.

ROTI®Nukleinsäurefrei (Best. Nr. HP69) und RNAse AWAY^(TM) (Best. Nr. A998) können ebenfalls verwendet werden. Bitte lesen Sie die Verwendung in der jeweiligen Bedienungsanleitung nach.

D. Anbringen der Elektrodenkabel

1. Bitte beachten Sie die Position des Deckels auf dem Gerät. Die Farben zeigen die korrekte Polarität und Orientierung der Kabel an – schwarz für negativ und rot für positiv.
2. Nehmen Sie den Deckel vom Gerät ab. Bitte beachten: Beim Versuch, die Kabel in den Deckel zu schrauben, während dieser auf der Kammer aufsitzt, können Sie die Goldbeschichtung der Elektroden beschädigen.
3. Ziehen Sie die Kabel in den Gewindelöchern so fest wie möglich an, damit keine Lücke zwischen Deckel und Kante der Kabelverschraubung entsteht.
4. Legen Sie den Deckel wieder auf.

E. Vorbereitungen

Die benötigte Menge an Puffer für die PROclamp Tank-Blot Apparaturen ist abhängig von der Anzahl der verwendeten Kassetten (siehe Tabelle unten). Der Puffer sollte vor dem Zusetzen gekühlt und vor der Zugabe von SDS entgast werden, da sich ansonsten zwischen Gel und Membran Bläschen bilden können, die den Transfer stören.

	TYP	Anzahl der Kassetten			
		1	2	3	4
Puffervolumen in ml (ca.)	MINI	1380	1290	1200	1110
	MINI Wide	2800	2620	2440	2260
	MAXI	5600	5240	4880	4520

Der am häufigsten verwendete Puffer ist:

- 25 mM Tris, 192 mM Glycin, 20 % Methanol, pH 8,3.
Dieser Puffer kann mit oder ohne 0,05-0,1 % SDS verwendet werden
(nach Towbin et al., 1997).

Andere Puffer sind wie folgt zusammengesetzt:

- 48 mM Tris, 39 mM Glycin, 20 % Methanol, pH 9,2 (nach Bjerrum und Schaefer-Nielsen (1986).
- 10 mM NaHCO₃, 3 mM Na₂CO₃, 20 % Methanol, pH 9,9 (nach Dunn, 1986).

Bitte beachten: Die Transferparameter sind abhängig vom verwendeten Puffesystem (s. Tabelle, ca.-Werte)

Transferpuffer	über Nacht	1 Std.	3 Std.
Puffer nach Towbin	25-40 V	50-100 V	25-50 V
	40-80 mA	200-400 mA	100-200 mA
Puffer nach Bjerrum	25-40 V	50-100 V	25-50 V
	40-80 mA	200-400 mA	100-200 mA
Puffer nach Dunn	10 V	40-80 V	20-40 V
	40-80 mA	200-500 mA	100-250 mA

1. Füllen Sie die Laufkammer zur Hälfte mit Puffer.
2. Äquilibrieren Sie das Gel ca. 30 Minuten in gekühltem Transferpuffer, um SDS und Salze zu entfernen. Dies verhindert, dass das Gel während des Transfers die Größe verändert.
3. Schneiden Sie pro Gel 2 Blotpapiere (A125.1) und die gewünschte Transfermembran (ROTI®PVDF T830.1, ROTI®Fluoro-PVDF 2803.1, ROTI®NC HP40.1) auf die Größe des Gels zu.
4. Tränken Sie die Blotpapiere in Transferpuffer.
5. Falls Sie eine PVDF-Membran verwenden, tauchen Sie diese bitte in 100 % Methanol, bis keine weißen Bereiche mehr sichtbar sind. Bei der Verwendung von Nitrocellulose äquilibrieren Sie diese bitte in Transferpuffer.
6. Tränken Sie die Matten in Transferpuffer.

F. Zusammenfügen der Blot-Stapel

Bauen Sie die Transfereinheit wie im Folgenden beschrieben auf.

Achten Sie beim Aufbau darauf, dass die Blottpapiere, die Membran und das Gel bündig aufeinander liegen und keine Luftblasen eingeschlossen sind. Hierbei gibt es zwei mögliche Techniken

A.) Füllen Sie eine Schale, die etwas größer ist als die Kompressionskassette, mit Transferpuffer. Der Aufbau erfolgt vollständig unterhalb der Pufferlinie.

B.) Bauen Sie die Transfereinheit gut feucht auf einem Tablett auf. Um Luftblasen zu entfernen, rollen Sie an jeder Lage mit einem Glasstab oder einer Pipette vorsichtig über die Oberfläche

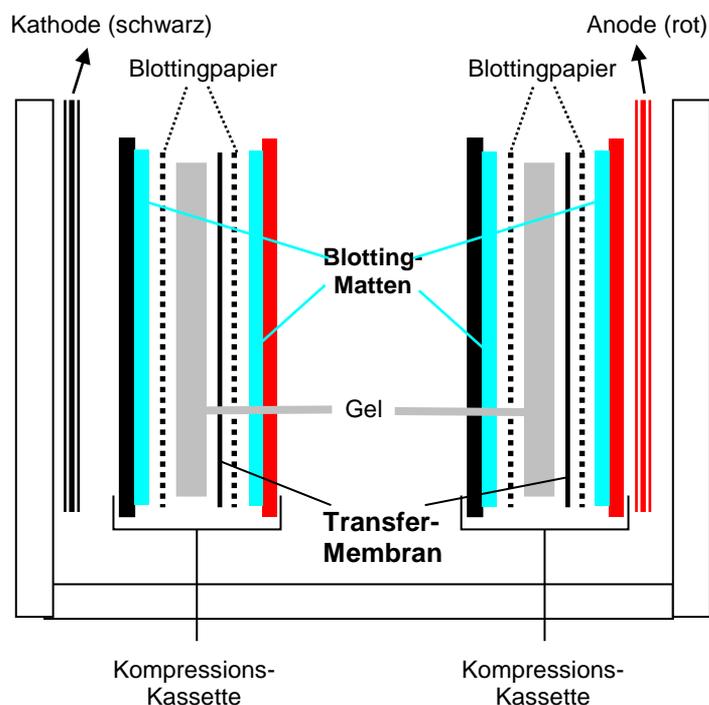
Bitte beachten: Vermeiden Sie ein Verschieben des Gels auf der Membran, da schon beim ersten Kontakt ein Transfer stattfinden kann.

Reihenfolge des Aufbaus:

1. Schwarze Seite der Kompressionskassette.
2. 1 **angefeuchtete** Blotting-Matte
3. Einige Blätter **angefeuchtetes** Blottpapier (insgesamt 2 mm dick)
4. Gel
5. Membran
6. Einige Blätter **angefeuchtetes** Blottpapier (insgesamt 2 mm dick)
7. 1 **angefeuchtete** Blotting-Matte
8. Rote Seite der Kompressionskassette.

Sehr dünne Gele können mit je 2 Matten aufgebaut werden.

Schließen Sie den Verschluss sorgfältig und vorsichtig, um den Blotstapel nicht zu verrutschen.



G. Durchführung des Blots

1. Legen Sie die Kassette in das Transfermodul ein. Die rote Seite der Kompressionskassette muss sich auf der Seite der Anode (+) befinden.
2. Optional: Notieren Sie die Orientierung und Reihenfolge, in der die Blotstapel eingesetzt wurden.
3. Wir empfehlen die Verwendung eines Magnetrührers und Rührstäbchens (4 mm), um den Puffer während des Blots zu mischen. Legen Sie das Rührstäbchen in die Mitte auf den Tankboden.
4. Setzen Sie das Blottingmodul in den Tank ein. Die roten Seiten der Kompressionskassette müssen sich auf der Seite der Anode (+) befinden.
5. Füllen Sie die Kammer mit Transferpuffer bis zu den Maximale-Füllung-Linien auf jeder Seite des Tanks. Die oberen Platinelektroden sollten nun gerade vollständig mit Puffer bedeckt sein.

6. Schließen Sie den Tank mit dem Sicherheitsdeckel und stellen Sie den Magnetrührer auf eine niedrigere Stufe ein, um den Puffer leicht in Bewegung zu halten.
7. Schließen Sie die Blottingeinheit an ein Spannungsgerät an. Wählen Sie die Elektrophoresebedingungen anhand der oben aufgeführten Tabelle aus. Die Elektrophorese kann entweder bei konstanter Stromstärke oder bei konstanter Spannung durchgeführt werden. Faktoren, welche die Transfereffizienz beeinflussen, sind Gelporosität, Pufferzusammensetzung und pH, Transferzeit, elektrische Feldstärke, Größe der zu transferierenden Moleküle, Temperatur des Puffers und Art der Transfermembran. Restliches Salz im Gel kann dazu führen, dass das System sich erhitzt. Daher ist es essentiell, das Gel vor dem Transfer in Transferpuffer zu äquilibrieren.
8. Kontrollieren Sie während des Transfers immer wieder die Temperatur. Der Transfer kann verbessert werden, indem vorgekühlter Puffer verwendet wird. Weiterhin können für das MINI-System auf beiden Seiten des Tanks gefrorene Kühlpacks eingesetzt werden (3512.1, Zubehör der ROTIPHORESE® PROclamp Vertikal Elektrophorese Einheiten), um den Puffer während des Blots zu kühlen. Für das MAXI-System verwenden Sie bitte die mitgelieferte Kühlschlange.
9. Nach Beendigung des Blots schalten Sie das Spannungsgerät ab und trennen Sie die Verbindung zum Blotting-Gerät.
10. Entnehmen Sie die Kassetten aus dem Tank.
11. Öffnen Sie die Kassetten und heben Sie vorsichtig die Papiere und das Gel von der Membran ab. Das Gel sollte zur Blotkontrolle nochmal gefärbt werden.
12. Die Membran ist nun fertig für den Nachweis.

H. Literatur:

1. **Molecular Cloning A Laboratory Manual**, Sambrook, Fritsch, and Maniatis, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.
3. **Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications**, Towbin, J., Staehelin, T., and Gordon, J. (1979). Proc. Natl., Acad. Sci. USA, 76, 4350-4354.
4. **Blotting Techniques Ch.1, 7.10, p. 85-97. In: Gel Electrophoresis of Proteins, A Practical Approach**, B.D. Hames and D. Rickwood, eds., IRL Press. (1990),

I. Weitere Produkte

Alle benötigten Chemikalien und Laborhilfsmittel finden Sie in unserem Katalog oder im Internet unter www.carlroth.de

ROTILABO® Blottingpapier 0,36 mm	CL67.1
ROTILABO® Blottingpapier 1 mm	CL74.1
ROTILABO® Blottingpapier 1,5 mm	CL75.1
ROTI®Fluoro PVDF Membran (Rolle)	2803.1
ROTI®PVDF Membran (Rolle)	T830.1
ROTI®NC Membran (Rolle)	HP40.1
Coomassie-Färbelösung ROTI®Blue	A152.1
Ponceau S Proteinfarbstoff (C.I. 27195)	5938.1

ROTIPHORESE® PROclamp MINI Tank-Blot-System 3513.1

ROTIPHORESE® PROclamp MINI Tank-Blot-Modul 3517.1

ROTIPHORESE® PROclamp MINI Wide Tank-Blot-Syst. 3697.1

ROTIPHORESE® PROclamp MINI Wide Tank-Blot-Modul 3699.1

ROTIPHORESE® PROclamp MAXI Tank-Blot-System 5814.1

ROTIPHORESE® PROclamp MAXI Tank-Blot-Modul 5816.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe

Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe

Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0

Fax: +49 (0) 721/ 5606-149

info@carlroth.de • www.carlroth.de

sse 06/2021

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428.
Geschäftsführer: André Houdelet

