

CUBETA DE ELECTROFORESIS HORIZONTAL HORIZONTAL ELECTROPHORESIS CELL CUVETTE D'ÉLECTROPHORÈSE HORIZONTALE

Referencias | Codes | Références ZFD013, ZFD020, ZFD021, ZFD022, ZFD023



Este manual es parte inseparable del aparato por lo que debe estar disponible a todos los usuarios del equipo. Le recomendamos leer atentamente el presente manual y seguir rigurosamente los procedimientos de uso para obtener las máximas prestaciones y una mayor duración del mismo.

This manual should be available for all users of these equipments. To get the best results and a higher duration of this equipment it is advisable to read carefully this manual and follow the processes of use.

Ce manuel est une partie indissociable de l'appareil et doit être mis à la disposition de tous les utilisateurs de l'équipement. Nous vous recommandons de lire attentivement ce manuel et de suivre scrupuleusement les procédures d'utilisation afin d'obtenir des performances maximales et une plus longue durée de vie de l'appareil.

ÍNDICE DE IDIOMAS

Castellano	1-7
Inglés	8-13
Francés	14-19

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Precaución de seguridad	2
Mantenimiento	3
<i>Limpieza de las unidades horizontales</i>	3
<i>Descontaminación de RNasa</i>	3
Montaje de las cubetas de gel horizontales	3
<i>Instrucciones de montaje de los cables de electrodos</i>	3
<i>Preparación del gel</i>	4
Vertido del gel	4

PRECAUCIÓN DE SEGURIDAD



CUANDO SE UTILIZAN CORRECTAMENTE, ESTAS UNIDADES NO SUPONEN NINGÚN RIESGO PARA LA SALUD. NO OBSTANTE, LAS MISMAS PUEDEN SUMINISTRAR NIVELES PELIGROSOS DE ELECTRICIDAD Y SÓLO DEBEN SER UTILIZADAS POR PERSONAL CUALIFICADO SIGUIENDO LAS DIRECTRICES ESTABLECIDAS EN ESTE MANUAL DE INSTRUCCIONES.

TODA PERSONA QUE VAYA A UTILIZAR ESTE EQUIPO DEBE LEER DETENIDAMENTE EL MANUAL COMPLETO.

EL APARATO NO DEBE UTILIZARSE NUNCA SIN LA TAPA DE SEGURIDAD CORRECTAMENTE COLOCADA.

LA UNIDAD NO DEBE UTILIZARSE SI HAY ALGUNA SEÑAL DE DAÑO EN EL DEPÓSITO EXTERNO O EN LA TAPA.

MANTENIMIENTO

Limpieza de las unidades horizontales

Las unidades se limpian mejor con agua tibia y un detergente suave. El **agua a temperaturas superiores a 60 °C puede dañar la unidad y sus componentes.**

El depósito debe enjuagarse a fondo con agua caliente o agua destilada para evitar la acumulación de sales, pero hay que tener cuidado de no dañar el electrodo adjunto y no es necesario ni aconsejable una limpieza enérgica.

Es preferible secarlo al aire antes de utilizarlo.

Las unidades sólo deben limpiarse con lo siguiente:

Agua tibia con una concentración suave de jabón u otro detergente suave. Los detergentes compatibles son el líquido lavavajillas, el hexano y los hidrocarburos alifáticos.

Las unidades no deben dejarse en detergentes durante más de 30 minutos.

La unidad nunca debe entrar en contacto con los siguientes agentes de limpieza, ya que causarán daños irreversibles y acumulativos: Acetona, Fenol, Cloroformo, Tetracloruro de carbono, Metanol, Etanol, Alcohol isopropílico.

Descontaminación de RNasa

Esto puede realizarse utilizando el siguiente protocolo:

Limpie las unidades con un detergente suave como se ha descrito anteriormente.

Lavar con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3% durante 10 minutos.

Aclarar con agua destilada tratada con DEPC (pirocarbonato de dietilo) al 0,1%.

Precaución: El DEPC es un presunto carcinógeno. Tome siempre las precauciones necesarias al utilizarlo.

También puede utilizarse RNaseZAPTTM (Ambion). Consulte las instrucciones de uso con cubetas de gel acrílico.

MONTAJE DE LAS CUBETAS DE GEL HORIZONTALES

Instrucciones de montaje de los cables de electrodos

1. Observe la posición de la tapa en la unidad. Esto muestra la polaridad correcta y la orientación correcta de los cables, negro es negativo y rojo positivo.
2. Retire la tapa de la unidad, Tenga en cuenta que, si no se retira la tapa, la colocación de los cables puede provocar que se suelte el tapón dorado y se dañe el electrodo.
3. Atornille los cables en los orificios roscados tan a fondo como sea posible para que no quede ningún hueco entre la tapa y el borde anterior del pasacables.
4. Vuelva a colocar la tapa.

Preparación del gel

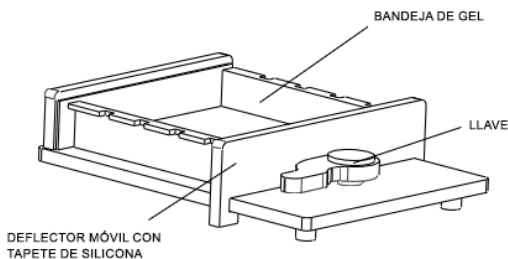
1. Para un gel de agarosa estándar al 0,7%, añada 0,7 gramos de agarosa a 100 mL de solución 1x TAE o TBE. La misma solución 1x debe utilizarse en la solución tampón del depósito.
2. Añadir la agarosa a un matraz Erlenmeyer.
3. Añadir la cantidad adecuada de solución 1x TAE o TBE. Para evitar la evaporación durante los pasos de disolución siguientes, el matraz Erlenmeyer debe cubrirse con parafilm.
4. Disolver la agarosa calentándola en una placa magnética con barra agitadora o en un horno microondas. Si se utiliza el método de microondas, debe ajustarse a **400 vatios o a temperatura media y el matraz debe agitarse cada minuto. La solución debe calentarse hasta que se disuelvan todos los cristales. La mejor forma de ver esto es con un fondo claro. Los cristales aparecen como cristales translúcidos. Si no se disuelven completamente, interferirán con la migración de la muestra. El gel debe enfriarse entre 50°C y 60°C grados antes de verterlo.**

VERTIDO DEL GEL

Usando la caja de gel:

1. Coloque la caja de gel en una superficie nivelada y coloque una bandeja de gel adecuada. Para evitar fugas de gel, ambos extremos de la bandeja de gel deben estar bien pegados a la caja de gel.
2. Coloque el peine o peines en la bandeja.
3. Vierta la agarosa con cuidado para no generar burbujas.
4. Deje el gel solo y espere a que se concrete.
5. Extraiga el peine o peines con cuidado y traslade la bandeja con gel al depósito principal.

Utilizando el molde de gel:



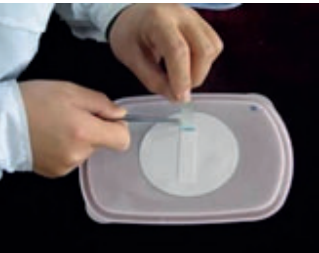
1. Coloque el molde de gel sobre una superficie plana.
2. Coloque una bandeja de ajuste en el molde de gel y mantenga ambos extremos de la bandeja pegados al tapete de silicona del molde de gel.
3. Inserte la llave en un orificio adecuado al tamaño de la bandeja.
4. Gire la llave para fijar la bandeja de gel.
5. Coloque el peine o peines en la bandeja.
6. Vierta la agarosa con cuidado para no generar burbujas. Las burbujas producidas pueden alisarse y dispersarse con una punta de pipeta.
7. Deje el gel solo y espere a que se concrete.
8. Extraiga el peine o peines con cuidado y traslade la bandeja con gel al depósito principal.

Utilización de la membrana de acetato de celulosa:

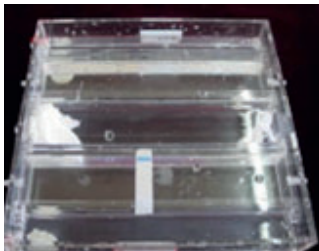
1. Coloque la membrana en el tampón, completamente sumergida.



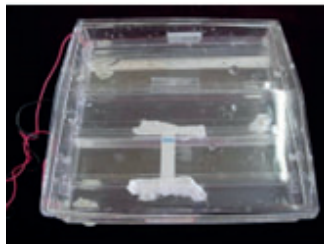
2. Si sólo hay una muestra, corte una tira de la membrana para utilizarla.



3. Sumergir la muestra líquida y estamparla en la membrana.



4. Coloque la membrana en las dos barras móviles que cruzan el puente.



5. Mantenga dos bordes de la membrana sumergidos en el tampón en el depósito.



6. La barra móvil puede ajustarse en función del tamaño de la membrana de acetato de celulosa.

Corrida del gel:

1. Mezcle la muestra con la solución tampón (véanse más abajo las soluciones tampón habituales).
2. Vierta tampón en el tanque hasta que el gel esté sumergido, casi 1 mm más arriba. De este modo, se completará el experimento en menos tiempo y se obtendrá una mejor calidad de resolución de la muestra.
3. Cargue las muestras en los pocillos con pipetas. Pueden utilizarse pipetas multicanal con peines compatibles MC para cargar las muestras.

Carga de muestras para electroforesis en membrana de acetato de celulosa: Sumergir la muestra líquida y estampada en la membrana de acetato de celulosa.

4. Cubra cuidadosamente el depósito con la tapa y conéctelo a una fuente de alimentación.
5. Por lo general, los geles funcionan entre 90V y 50V. Tenga en cuenta que, por lo general, un voltaje más alto permite una electroforesis más rápida, pero una peor calidad de resolución de la muestra.
6. Realice la electroforesis.

Tinción y visualización de geles:

1. Coloque el gel con el volumen adecuado de bromuro de etidio 0,5ug/ml en una caja de tinción y tiña durante 15~30 minutos; consulte más abajo las soluciones para conocer la concentración de tinción madre y ajústela al volumen utilizado según corresponda. La caja de tinción debe estar cubierta.

NOTA: Se sospecha que el bromuro de etidio es cancerígeno, por lo que deben tomarse las precauciones de seguridad necesarias.

2. Desteñir el gel durante 10~30 minutos en agua destilada de nuevo asegurándose de que el gel está completamente sumergido.
3. Enjuague el gel dos veces durante un par de segundos con agua destilada.
4. Colocar el gel en un transiluminador UV.

5. Las muestras aparecerán a menudo como bandas más brillantes y claras cuando se fotografíen o visualicen utilizando un sistema de documentación de geles. Sin embargo, si las bandas del gel son demasiado tenues, deberá ajustarse el procedimiento de tinción para que haya menos decoloración. Si hay demasiado fondo, el procedimiento de tinción debe ajustarse para que haya más decoloración.

Soluciones:

1x TAE 40mM tris (pH 7,6), 20mM ácido acético, 1mM EDTA.

50x (1L) disolver en 750 mL de agua destilada:

242 g de tris base (FW=121)

57,1 mL de ácido acético glacial

100 mL de EDTA 0,5M (pH 8,0)

Llenar hasta 1 litro con agua destilada.

1x TBE 89mM tris (pH 7,6), 89mM ácido bórico, 2mM EDTA.

10x (1L) disolver en 750 mL de agua destilada:

108 g de tris base (FW=121)

55 g de ácido bórico (FW=61,8)

40 mL de EDTA 0,5M (pH 8,0)

Llenar hasta 1 litro con agua destilada.

Colorante de carga de la muestra

El tampón de carga 10x está compuesto por 50% de glicerol, 0,25% de azul de bromofenol y 0,25% de xilenocianol FF en tampón TAE 1x. Sólo deben prepararse de 1 a 10 mL del colorante de carga 10x.

Solución de bromuro de etidio

Añadir 10 mg de bromuro de etidio a 1 mL de agua destilada.