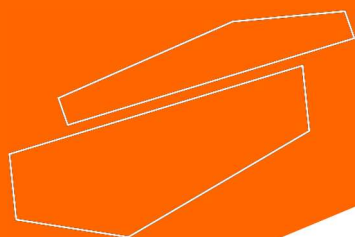




LBX Sistema per elettroforesi orizzontale

Prima dell'uso, leggere attentamente il manuale d'uso e seguire tutte le istruzioni operative e di sicurezza!



Manuale d'uso
italiano

Manuale d'uso



LBX Sistema per elettroforesi orizzontale

Introduzione

Gli utenti sono tenuti a leggere attentamente il presente manuale, a seguire le istruzioni e le procedure in esso indicate e a conoscere tutte le precauzioni da adottare prima di utilizzare l'apparecchiatura.

Assistenza

Se si necessita di assistenza, è possibile contattare il proprio distributore oppure Labbox attraverso il sito www.labbox.com

Si prega di fornire al personale dell'Assistenza Clienti le seguenti informazioni:

- Numero di serie dell'apparecchiatura (situato nel pannello posteriore o sul fondo dell'apparecchiatura)
- Descrizione del problema
- I propri dati di contatto

Garanzia

Questa apparecchiatura è coperta da una garanzia di 12 mesi dalla data di fatturazione per difetti dei materiali e di fabbrica, in condizioni di uso normali. La garanzia si estende esclusivamente all'acquirente originario. La garanzia non si applica ad apparecchiature o componenti danneggiati a seguito di un'errata installazione, collegamenti impropri, uso improprio, incidente o condizioni di utilizzo non conformi.

Per i reclami in garanzia, si prega di contattare il proprio fornitore.

PRECAUZIONI DI SICUREZZA



QUESTA UNITÀ NON COMPORTA ALCUN RISCHIO PER LA SALUTE SE UTILIZZATA CORRETTAMENTE.

CIÒ NONDIMENO, QUESTE UNITÀ POSSONO EROGARE SCARICHE ELETTRICHE ELEVATE. DEVONO ESSERE UTILIZZATE ESCLUSIVAMENTE DA PERSONALE QUALIFICATO E NEL RISPETTO DELLE ISTRUZIONI ESPOSTE NEL PRESENTE MANUALE.

PRIMA DI UTILIZZARE L'APPARECCHIO, LEGGERE ATTENTAMENTE IL MANUALE DI ISTRUZIONI.

È VIETATO UTILIZZARE L'UNITÀ SENZA IL COPERCHIO DI SICUREZZA ADEGUATAMENTE POSIZIONATO.

È VIETATO UTILIZZARE L'UNITÀ QUALORA SI RILEVINO SEGNI DI DANNEGGIAMENTO AL COPERCHIO O ALLA STRUTTURA ESTERNA.

Pulizia e manutenzione

UNITÀ ORIZZONTALI

- Utilizzare acqua calda ma non oltre 60°C, in quanto potrebbe danneggiare l'unità e i componenti.
- Usare un prodotto detergente delicato oppure dell'acqua con una bassa concentrazione di sapone.
- Non lasciare le unità nel detergente per oltre 30 minuti.
- I detersivi compatibili includono detersivo per i piatti, esano e idrocarburi alifatici.
- **Non lasciare mai che i seguenti agenti di pulizia entrino a contatto con l'unità:**
 - Acetone
 - Fenolo
 - Cloroformio
 - Tetracloruro di carbonio
 - Metanolo
 - Etanolo
 - Alcool isopropilico

DECONTAMINAZIONE DA RNasi

Per eseguire la decontaminazione da RNasi, seguire le istruzioni esposte di seguito:

- Pulire le unità con un detergente delicato, come descritto sopra.
- Pulirle con perossido di idrogeno 3% (H₂O₂) per 10 minuti.
- Sciacquarle con DEPC 0,1% (dietilpirocarbonato) trattato con acqua distillata.



PRECAUZIONE: Il DEPC è un potenziale cancerogeno. Adottare sempre le precauzioni adeguate durante il suo utilizzo.

Istruzioni di funzionamento

MONTAGGIO DEI VASSOI PER GEL ORIZZONTALI

Istruzioni per posizionare i cavi degli elettrodi:

1. Controllare la posizione del coperchio sull'unità. Questo indica la polarità e l'orientamento corretto dei cavi: il nero è negativo e il rosso è positivo.
2. Rimuovere il coperchio dell'unità. Tenere presente che, se non si rimuove il coperchio, il posizionamento dei cavi può far sì che il cappuccio dorato si allenti e danneggi l'elettrodo.
3. Avvitare i cavi nei fori il più saldamente possibile in modo che non rimanga spazio tra il coperchio e il bordo di serraggio del cavo.
4. Riposizionare il coperchio.

PREPARAZIONE DEL GEL

Per un gel di agarosio standard allo 0,7% - aggiungere 0,7g di agarosio a 100ml di soluzione 1xTAE o TBE. Utilizzare la stessa soluzione 1x per il contenitore.

1. Aggiungere la polvere di agarosio in un Erlenmeyer
2. Aggiungere la quantità adeguata di soluzione 1xTAE o TBE (vedere la tabella più avanti). Coprire l'Erlenmeyer con parafilm per evitare l'evaporazione durante i passaggi successivi di dissoluzione.
3. Sciogliere la polvere di agarosio riscaldando l'agarosio su una piastra calda magnetica con una barra di agitazione o in un forno a microonde.
Se si utilizza il microonde, regolarlo a circa 400 W o a potenza media e mescolare ogni minuto. Riscaldare fino a quando tutti i cristalli si sono sciolti. Questo è meglio visibile su uno sfondo chiaro. Se non si dissolvono completamente, i cristalli interferiranno con la migrazione del campione.

APPLICAZIONE DEL GEL

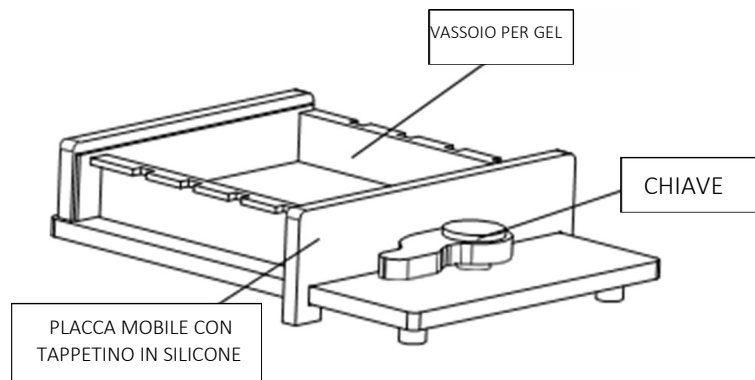
Prima di applicare il gel, lasciarlo raffreddare a 50-

60°C. USANDO LA VASCA PER GEL

1. Collocare la vasca su una superficie piana e metterci dentro un vassoio di dimensioni corrispondenti.
Per evitare perdite, entrambe le estremità del vassoio devono poggiare sulla vasca.
2. Posizionare il pettine sul vassoio.
3. Far colare l'agarosio con attenzione, così da evitare la formazione di bolle.
4. Lasciare riposare il gel fino a farlo solidificare.
5. Estrarre il pettine con cautela e trasferire il vassoio con il gel nel contenitore principale.

USANDO IL VASSOIO DI COLATA DEL GEL

1. Collocare il vassoio di colata su una superficie piana e metterci dentro un vassoio. Accertarsi che entrambe le estremità siano ben poggiate sulla banda in silicone.
2. Usare la chiave per stringere il vassoio per gel.
3. Posizionare il pettine sul vassoio.
4. Far colare l'agarosio con attenzione, così da evitare la formazione di bolle. Se dovessero formarsi delle bolle d'aria, è possibile eliminarle con il puntale di una pipetta.
5. Lasciare riposare il gel fino a farlo solidificare.
6. Estrarre il pettine con cautela e trasferire il vassoio con il gel nel contenitore principale.



ESECUZIONE DELL'ELETTROFORESI

1. Mescolare il campione con la soluzione tampone.
2. Versare la soluzione tampone nel recipiente fino a sommergere completamente il gel. Questo farà sì che l'esperimento sia più veloce e dia risultati migliori.
3. Servendosi di pipette, caricare i campioni nei pozzetti. È possibile usare pipette multicanale con pettini compatibili.
4. Coprire la vasca con il coperchio e collegarlo al generatore di tensione.
5. Eseguire l'elettroforesi. Tenere presente che i gel, di norma, funzionano con tensioni al di sotto dei 90-150 V. La tensione massima viene indicata in ciascuna unità. Una tensione superiore consente di eseguire un'elettroforesi più veloce, ma con risultati peggiori.

COLORAZIONE DEL GEL E VISUALIZZAZIONE

1. Mettere il gel in un vassoio per la colorazione
2. Aggiungere la quantità adeguata di bromuro di etidio 0,5 µg/ml. Vedere la concentrazione adeguata alla fine del manuale.



ATTENZIONE: Il bromuro di etidio è un possibile agente cancerogeno. Assicurati sempre di prendere le precauzioni necessarie quando lo si utilizza..

3. Copri la vaschetta per la colorazione per circa 15-30 minuti.
4. Per decolorare, immergere il gel in acqua distillata per circa 10-30 minuti. Assicurati nuovamente che il gel sia completamente immerso.
5. Sciacquare il gel con acqua distillata per alcuni secondi. Ripetere l'operazione due volte.
6. Posizionare il gel su un transilluminatore a luce UV. Le campioni verranno visualizzati come bande chiare e definite.
Se le bande sono troppo sfocate, c'è stata troppa decolorazione.
Se lo sfondo è troppo chiaro, non c'è stata abbastanza decolorazione.

SOLUZIONI

1x TAE

40mM tris (pH 7.6), 20mM acido acetico, 1mM EDTA.
50 x (1L) sciogliere in 750 ml di acqua distillata:
-242 g di tris base (FW=121)
-57,1 ml di acido acetico glaciale
-100 ml di 0,5 M EDTA (pH 8,0)
Completare con acqua distillata fino a raggiungere 1 L.

Colorante di carica di campione

Il tampone di carico 10x consiste in:
-50% di glicerolo
-0,25% di blu bromofenolo
-0,25% di xilene cianol FF in tampone 1Xtae.
Preparare solo 1-10 del colorante di Carico 10x.

1xTBE

89mM tris (pH 7.6), 89mM acido boricco, 2mM EDTA.
10 x (1L) sciogliere in 750 ml di acqua distillata:
-108 g di tris base (FW=121)
-55 g di acido boricco (FW=61.8)
-40 ml di 0,5 M EDTA (pH 8,0)
Completare con acqua distillata fino a raggiungere 1 L.

Soluzione di bromuro di etidio

Aggiungere 10 mg di bromuro di etidio a 1 ml di acqua distillata.