

Bedienungsanleitung

Biometra Fastblot B43 & B44
Semi-Dry-Blotter



Hersteller Analytik Jena GmbH+Co. KG
Konrad-Zuse-Straße 1
07745 Jena
Telefon +49 3641 77 70
Fax +49 3641 77 92 79
E-Mail: info@analytik-jena.com

Technischer Service Analytik Jena GmbH+Co. KG
Konrad-Zuse-Straße 1
07745 Jena / Deutschland
Telefon: +49 3641 77 7407
Fax: +49 3641 77 9279
E-Mail: service@analytik-jena.com



Für einen ordnungsgemäßen und sicheren Gebrauch diesen Anleitungen folgen. Für späteres Nachschlagen aufbewahren.

Allgemeine Informationen <http://www.analytik-jena.com>

Dokumentationsnummer 34-2201-103-23

Ausgabe A (10/2023)

Technische Dokumentation Analytik Jena GmbH+Co. KG

© Copyright 2023, Analytik Jena GmbH+Co. KG

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Hinweise zur Bedienungsanleitung | 5 |
| 2 Bestimmungsgemäße Verwendung | 6 |
| 3 Sicherheit | 7 |
| 3.1 Sicherheitskennzeichnung am Gerät | 7 |
| 3.2 Anforderungen an das Bedienpersonal | 7 |
| 3.3 Sicherheitshinweise Transport und Inbetriebnahme | 8 |
| 3.4 Sicherheitshinweise Betrieb | 8 |
| 3.5 Sicherheitshinweise Wartung und Reinigung | 9 |
| 4 Aufbau | 10 |
| 5 Installation und Inbetriebnahme | 12 |
| 5.1 Platzbedarf | 12 |
| 5.2 Energieversorgung | 12 |
| 5.3 Installation | 12 |
| 6 Bedienung | 13 |
| 6.1 Tipps für die Blotting-Effizienz | 13 |
| 6.2 Tipps für das Nukleinsäure-Blotting | 14 |
| 6.3 Blottingvorgang | 15 |
| 6.3.1 Puffer herstellen | 15 |
| 6.3.2 Blottingsandwich zusammensetzen | 16 |
| 6.3.3 Kühlzufluss anschließen | 18 |
| 6.3.4 Blottingvorgang starten und beenden | 19 |
| 6.4 Visualisierung | 20 |
| 7 Wartung und Pflege | 21 |
| 7.1 Reinigung | 21 |
| 7.2 Wartung | 21 |
| 8 Rücksendung | 22 |
| 9 Entsorgung | 23 |
| 10 Spezifikationen | 24 |
| 10.1 Technische Daten | 24 |
| 10.2 Umgebungsbedingungen | 24 |
| 10.3 Normen und Richtlinien | 25 |
| 11 Revisionsübersicht | 26 |

1 Hinweise zur Bedienungsanleitung

Inhalt

Die Bedienungsanleitung beschreibt die folgenden Gerätemodelle:

- Biometra Fastblot B43
- Biometra Fastblot B44

Im weiteren Text werden diese Modelle zusammenfassend als **Gerät** bezeichnet. Unterschiede werden an entsprechender Stelle erläutert.

Das Gerät ist für den Betrieb durch qualifiziertes Fachpersonal unter Beachtung dieser Bedienungsanleitung vorgesehen.

Die Bedienungsanleitung informiert über Aufbau und Funktion des Gerätes und vermittelt dem Bedienpersonal die notwendigen Kenntnisse zur sicheren Handhabung des Gerätes und seiner Komponenten. Die Bedienungsanleitung gibt weiterhin Hinweise zur Wartung und Pflege des Gerätes sowie Hinweise auf mögliche Ursachen von Störungen und deren Beseitigung.

Konventionen

Handlungsanweisungen mit zeitlicher Abfolge sind zu Handlungseinheiten zusammengefasst.

Warnhinweise sind mit einem Warndreieck und Signalwort gekennzeichnet. Es werden Art und Quelle sowie die Folgen der Gefahr benannt und Hinweise zur Gefahrenabwehr gegeben.

Elemente des Steuer- und Auswerteprogramms sind wie folgt gekennzeichnet:

- Programmbegriffe werden fett ausgezeichnet (z.B. Menü **System**).
- Menüpunkte sind durch senkrechte Striche getrennt (z.B. **System | Device**).

Verwendete Symbole und Signalwörter

In der Bedienungsanleitung werden zur Kennzeichnung von Gefahren bzw. Hinweisen die folgenden Symbole und Signalwörter benutzt. Die Warnhinweise stehen jeweils vor einer Handlung.



WARNUNG

Bezeichnet eine möglicherweise gefährliche Situation, die den Tod oder schwerste Verletzungen (Verkrüppelungen) zur Folge haben kann



VORSICHT

Bezeichnet eine möglicherweise gefährliche Situation, die geringfügige oder mäßige Verletzungen zur Folge haben kann.



HINWEIS

Gibt Hinweise zu möglichen Sach- und Umweltschäden

2 Bestimmungsgemäße Verwendung

Das Biometra Fastblot ist ein Elektroblottinggerät zum Transfer von Proteinen aus Polyacrylamidgelen auf eine Trägermembran.

Das Gerät erlaubt wahlweise die Verwendung diskontinuierlicher Puffersysteme zum schonenden Blotten von kleineren Proteinen oder zum gleichmäßigen Transfer unterschiedlichster Proteine.

Die Kühlwasseranschlüsse an der Anode des Modells Fastblot B43 ermöglichen das Ableiten entstehender Wärme beim Blottingvorgang.

Das Gerät ermöglicht ebenfalls das Blotten von Nukleinsäuren. Es empfiehlt sich jedoch, für Nukleinsäuren den Transfer mit der Vakuumtechnik vorzunehmen.

Das Gerät ist geeignet für eine maximale Gelgröße von 15,5 cm x 19,5 cm.

3 Sicherheit

Lesen Sie dieses Kapitel zu Ihrer eigenen Sicherheit vor Inbetriebnahme und zum störungsfreien und sicheren Betrieb des Gerätes sorgsam durch.




Befolgen Sie alle Sicherheitshinweise, die in dieser Anleitung aufgeführt sind.

3.1 Sicherheitskennzeichnung am Gerät

Am Gerät sind Warn- und Gebotszeichen angebracht, deren Bedeutung unbedingt zu beachten ist. Beschädigte oder fehlende Warn- und Gebotszeichen können zu Fehlhandlungen mit Personen- und Sachschäden führen.

- Die Warn- und Gebotszeichen nicht entfernen.
- Beschädigte Zeichen ersetzen.

Folgende Warn- und Gebotszeichen werden verwendet:

| Warn-/Gebotszeichen | Bedeutung |
|---|---|
|  | Allgemeines Warnungsschild, Betriebsanleitung beachten! |
|  | Fragile Geräteteile! |
|  | Gefahr des Stromschlags! |

3.2 Anforderungen an das Bedienpersonal

Das Gerät darf nur von qualifiziertem und im Umgang mit dem Gerät unterwiesenen Fachpersonal betrieben werden. Folgende Anforderungen werden an das Bedienpersonal gestellt:

- Das Gerät erst nach dem Lesen der Bedienungsanleitung bedienen.
- Gefahren bei der Arbeit mit dem Gerät kennen und vermeiden.
- Persönliche Schutzausrüstung wie Schutzhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille tragen.
- Eine Schulung durch die Analytik Jena wird empfohlen.

Der Betreiber des Gerätes ist für die Einhaltung der Sicherheits- und Arbeitsschutzbestimmungen zuständig. Folgende Anforderungen werden an den Betreiber gestellt:

- Über nationale Vorschriften zu Arbeitssicherheit und Unfallverhütung informieren und beim Betrieb des Gerätes beachten.
- Das Bedienpersonal in der sicheren Bedienung des Gerätes unterweisen. Dabei auch die Inhalte der Anleitungen des Gerätesystems vermitteln.

3.3 Sicherheitshinweise Transport und Inbetriebnahme

| | |
|---|--|
| Transport | <p>Beim Heben und Tragen besteht Verletzungsgefahr, insbesondere durch ungesicherte Teile.</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Das Gerät entleeren, den Deckel schließen und bei Modell Biometra Fastblot B43 mögliche angeschlossene Schläuche entfernen. Alle losen Teile sichern, z.B. mit Klebebändern.▪ Das Gerät nur in der Originalverpackung transportieren. Alle Transportsicherungen einsetzen. |
| Umgebungsbedingungen bei Inbetriebnahme | <p>Von dem Gerät gehen Gefahren aus, wenn es in ungeeigneter Umgebung aufgestellt wird.</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Das Gerät auf einer ebenen, trockenen Oberfläche aufstellen. |
| Elektrische Bedingungen | <p>Von dem Gerät gehen Gefahren aus, wenn die Bedingungen an den elektrischen Anschluss nicht beachtet werden.</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Als Stromversorgungsgeräte für die Blotting-Systeme sind ausschließlich Geräte, die der Schutzklasse 2 entsprechen, zugelassen. Beachten Sie die Spezifikationen in der Bedienungsanleitung des verwendeten Stromversorgungsgerätes!▪ Vor dem Anschluss an ein Stromversorgungsgerät die elektrischen Anforderungen des Gerätes prüfen.▪ Das Gerät nie auf einem Stromversorgungsgerät aufstellen.▪ Nur die mitgelieferten Kabel für den Anschluss an ein Stromversorgungsgerät nutzen.▪ Die Kabelverbindung zwischen Gerät und Stromversorgungsgerät trennen, bevor diese gelagert werden. |

3.4 Sicherheitshinweise Betrieb

| | |
|-----------------------------|--|
| Elektrische Gefährdung | <p>Im Gerät treten lebensgefährliche Spannungen auf.</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Vor jeder Inbetriebnahme vom ordnungsgemäßen Zustand des Gerätes und seiner Sicherheitseinrichtungen überzeugen.▪ Bei Störungen an elektrischen Komponenten sofort das Stromversorgungsgerät ausschalten, vom elektrischen Strom trennen und die Verbindung zwischen Gerät und Stromversorgungsgerät trennen.▪ Keine Schutzeinrichtungen wie das Gehäuse entfernen oder überbrücken.▪ Vor dem Öffnen des Deckels das Stromversorgungsgerät ausschalten und die Stromverbindung zum Gerät trennen.▪ Das Gerät nicht bei extremer Luftfeuchtigkeit (> 95 %) oder an Orten betreiben, an denen Kondensation auftritt. |
| Gefährdung durch Substanzen | <p>Mit dem Gerät können Gefahrstoffe gehandhabt werden. Der Betreiber trägt die Verantwortung für den sicheren Umgang mit diesen Stoffen.</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Das Gerät dekontaminieren, wenn es mit Gefahrstoffen verunreinigt wurde, wie in der Betriebsanleitung beschrieben. Andere Verfahren nur nach Rücksprache mit Analytik Jena verwenden. |

3.5 Sicherheitshinweise Wartung und Reinigung

Der Kontakt mit spannungsführenden Komponenten kann einen elektrischen Schlag verursachen, der zu schweren Verletzungen führen kann.

Durch eigenmächtige Wartungsarbeiten können das Gerät beschädigt und seine Systemkomponenten dejustiert oder beschädigt werden.

- Nur die in der Betriebsanleitung aufgeführten Wartungsmaßnahmen durchführen.
- Vor der Wartung und Reinigung das Stromversorgungsgerät ausschalten und die Stromverbindung zwischen Gerät und Stromversorgungsgerät trennen. Nur am stromführenden Gerät arbeiten, wenn es die Betriebsanleitung ausdrücklich fordert.
- Nur originale Ersatzteile verwenden. Diese sind geprüft und gewährleisten einen sicheren Betrieb.
- Nach der Wartung sicherstellen, dass alle Sicherheitseinrichtungen wieder voll funktionsfähig sind.
- Das Gerät mit einem feuchten, nicht tropfenden Tuch reinigen. Keine Alkohole mit einer Konzentration $\geq 10\%$ verwenden. Keine organischen Lösungsmittel, Scheuermittel oder Bleiche verwenden.

4 Aufbau

Gerätebestandteile

Das Gerät besitzt folgende Elemente:

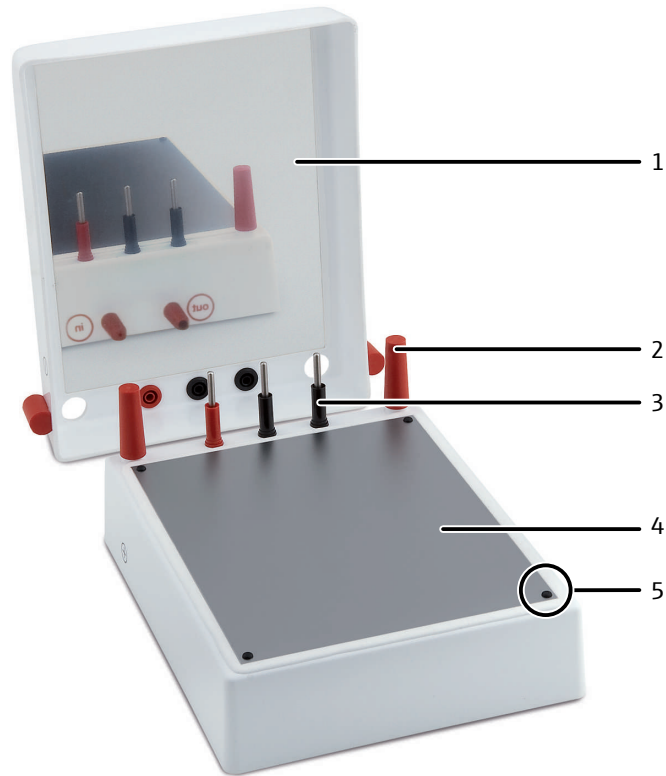


Abb. 1 Bestandteile des Gerätes

- | | |
|--|---|
| 1 Kathode (rostfreier Spezialstahl) | 2 Führungstifte für die Deckelplatzierung |
| 3 Sicherheitsanschlüsse für den Deckel | 4 Anode (platinumhülltes Titan) |
| 5 Abstandhalter | |

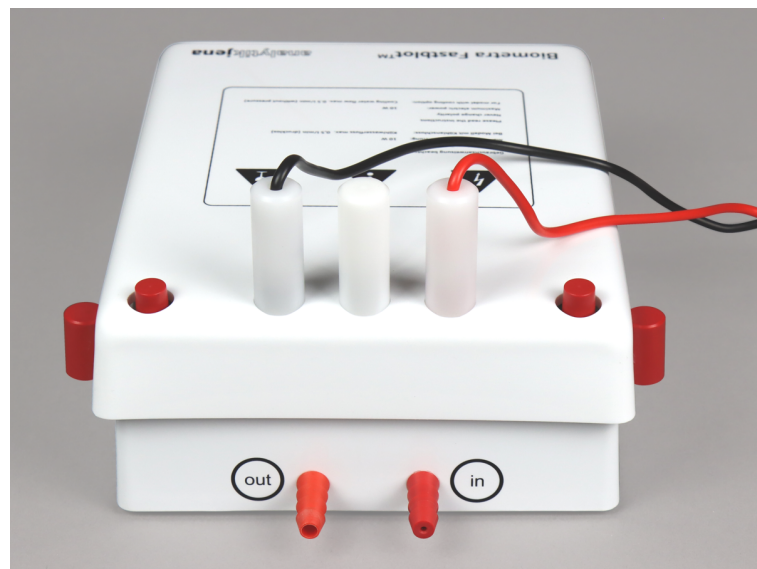


Abb. 2 Anschlüsse für Durchflusskühlung auf der Rückseite des Fastblot B43

Typenschild

Das Typenschild befindet sich auf der Unterseite des Gerätes und enthält folgende Informationen:

- Hersteller mit Adresse
- Gerätetyp und -modell
- Herstellungsjahr
- Herstellungsland
- Elektrische Anschlussdaten
- Seriennummer
- Konformitäts- und Prüfzeichen
- Entsorgungshinweis (Nicht im Hausmüll entsorgen!)

5 Installation und Inbetriebnahme

5.1 Platzbedarf

Der Platzbedarf der Modelle ist in der nachfolgenden Tabelle gelistet.

Neben dem Gerät wird noch Platz für das Stromversorgungsgerät benötigt.

| Modell | Maße |
|-----------------------|-------------------------------|
| Biometra Fastblot B43 | 26 cm x 22 cm x 11 cm (LxBxH) |
| Biometra Fastblot B44 | 24 cm x 22 cm x 11 cm (LxBxH) |

⚠ VORSICHT! Stellen Sie niemals das Blottinggerät auf das Stromversorgungsgerät! Herauslaufende Pufferflüssigkeit kann in das Stromversorgungsgerät eindringen und zu einem Stromschlag führen.

5.2 Energieversorgung

Unabhängig von Spezifikationen des verwendeten Stromversorgungsgerätes gelten folgende maximale Grenzwerte für die Nutzung des Gerätes:

| | |
|--|--|
| Max. Spannung | 50 V |
| Max. Stromstärke pro cm ² Gel | 5 mA |
| Max. Leistung | 10 W Bis max. 30 min Betriebsdauer: 20 W Biometra Fastblot B43: Bis max. 30 min Betriebsdauer und mit Kühlung bei 12 °C: 30 W |

5.3 Installation



HINWEIS

Originalverpackung aufbewahren

Nur bei einem Transport in der Originalverpackung können Transportschäden vermieden werden.

- Originalverpackung für einen Transport, z. B. im Falle einer Reparatur zurück zum Hersteller, aufbewahren.
-
- ▶ Das Gerät aus der Transportverpackung entnehmen.
 - ▶ Die Lieferung auf Vollständigkeit prüfen. Alle Gerätebestandteile sowie das Zubehör auf Transportschäden untersuchen.
 - Im Falle einer unvollständigen Lieferung oder eines Transportschadens an die Analytik Jena wenden.
 - Im Falle einer Rücksendung die Hinweise im entsprechenden Kapitel dieser Bedienungsanleitung beachten.
 - ▶ Das Gerät auf einer ebenen trockenen Oberfläche aufstellen.
 - ✓ Das Gerät ist aufgestellt.

6 Bedienung



VORSICHT

Gefahr der Hautverletzung

Tragen Sie geeignete Schutzkleidung während der Bedienung des Gerätes und der Handhabung der verwendeten Chemikalien.

6.1 Tipps für die Blotting-Effizienz

Die nachfolgenden Abschnitte zeigen Optimierungsmöglichkeiten für das Blotting von Proteinen mit den Gerätemodellen Biometra Fastblot B43 und Biometra Fastblot B44 auf.

i HINWEIS! Für das Blotting von Nukleinsäuren sind Hinweise in einem separaten Kapitel gegeben.

Überprüfung der Transfereffizienz

Sie können die Effizienz des Transfers durch die Verwendung von Standardproteinen, an welche kovalent Coomassie Brilliant Blau gebunden ist, überprüfen.

Nach dem Blottingvorgang können Sie das Gel mit Coomassie Brilliant Blau färben, um die Vollständigkeit des Transfers zu kontrollieren.

Transferbedingungen

Die Übertragungsbedingungen (Zeit, Stromstärke) sollten für jedes Protein optimiert werden. In der nachfolgenden Abbildung sind die Übertragungszeiten und -raten einiger Proteine zusammengefasst. Mit Hilfe dieser Abbildung sind grobe Abschätzungen der Transferzeiten möglich.

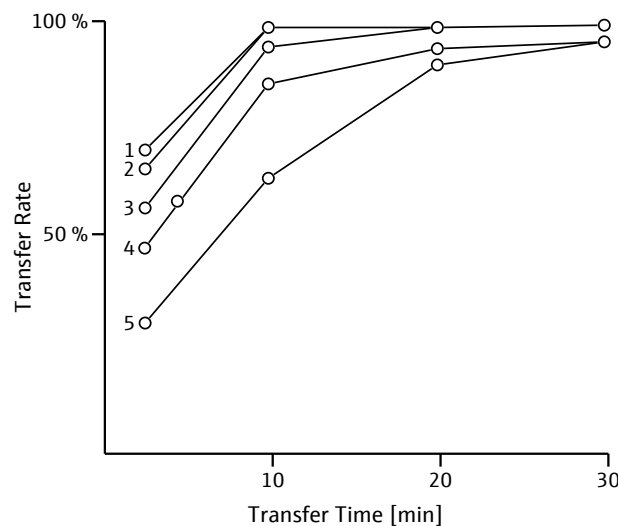


Abb. 3 Elektrophoretischer Transfer von Proteinen. SDS-PAGE, Acrylamidkonzentration: 10 %; Nitrocellulose-Blottingmembran, Porengröße: 0,45 µm; Stromstärke: 5 mA/cm² Gelfläche; Geldicke: 1,0 mm; Transferpuffer: Tris/Glycin/SDS

- | | |
|--|--|
| 1 Carboanhydrase (Molekulargewicht: 29 kDa) | 2 Albumin (Molekulargewicht: 40 kDa) |
| 3 Bovines Serumalbumin (Molekulargewicht: 67 kDa) | 4 β-Galactosidase (Molekulargewicht: 116 kDa) |
| 5 Myosin (Molekulargewicht: 205 kDa) | |

Die Transferzeit wird auch von der Geldicke und der Acrylamidkonzentration beeinflusst. Ist die gewählte Transferzeit zu lang, ist es möglich, dass das Protein die Membran passiert und verloren geht. Dies kann mit Hilfe einer zweiten Membran unter der eigentlichen Blottingmembran überprüft werden, welche ebenfalls nach dem Transfer auf das Vorhandensein von Proteinen getestet wird.

- Verwendung einer Durchflusskühlung
In folgenden Fällen wird die Verwendung des Modelles Fastblot B43 mit Kühlsystem empfohlen:
 - Übertragung von Proteinen mit einem hohen Molekulargewicht von > 100 kDa
Der Blottingvorgang kann bei großem Molekulargewicht bis zu 30 Minuten dauern. Ein langer Blottingvorgang erhöht die Gefahr der Überhitzung des Gerätes, was zu Beschädigung des Gerätes und der Proben führen kann.
 - Übertragung nativer Proteine oder Enzyme

- Einfluss von Methanol
Der Einsatz von Methanol hat folgende Einflüsse auf den Blottingvorgang:
 - verbesserte Bindung von Proteinen an Nitrocellulose
 - Hemmung der Quellung des Gels
 - potenziell schlechteres Blotting der Proteine (Senkung der Löslichkeit von Proteinen)

- Einfluss von SDS
Der Einsatz von SDS hat folgende Einflüsse auf den Blottingvorgang:
 - Hemmung der Bindung von Proteinen an die Membran
 - Gleichmäßige Ladung der Proteine
 - potentiell Veränderung der antigenen Eigenschaften eines Proteines

6.2 Tipps für das Nukleinsäure-Blotting

Sie können das Blotting-Gerät ebenfalls für den Elektrotransfer von Nukleinsäuren auf Agarose-Gelen auf eine Membran einsetzen.

Das Gerät ist vorrangig für das Proteinblotting vorgesehen. Beachten Sie deshalb beim Blotting von Nukleinsäuren die Tipps und Hinweise in diesem Kapitel.

i HINWEIS! Besser geeignet für den Transfer von Nukleinsäuren ist der Einsatz der Vakuumblotting-Technik (DNA/RNA) bzw. der Kapillarblotting-Technik (RNA).

- Vorbehandlung
Zur Steigerung der Blot-Effizienz sollten Proben mit Nukleinsäuren vor dem Transfer vorbehandelt werden:

| Arbeitsschritt | Substanz | Zeitintervall |
|-----------------|----------------------|---------------|
| Depurinierung | 0,25 M HCl | 7 min |
| Denaturierung | 0,50 M NaOH | 15 min |
| | 1,50 M NaCl | |
| Neutralisierung | 3,00 M NaCl | 15 min |
| | 0,50 M Tris (pH 7,4) | |

Das Blotting-Sandwich wird entsprechend dem Vorgehen für das Protein-Blotting aufgebaut. Nehmen Sie folgende Änderungen am Vorgehen vor:

- Puffer
 - Transferpuffer: 1 x TAE oder 1 x TBE

- Blottingsandwich
 - Blottingpapier: je 10 Blatt Whatmann 3MM (getränkt mit Transferpuffer) Oberhalb und unterhalb des Blot-Sandwiches

- Membran: Keine Nitrocellulosemembran für das Nukleinsäure-Blotting verwenden! Nitrocellulose ist in basischen Lösungen nicht stabil. Sie können z. B. Nylonmembran verwenden.
- Membranposition: Membran auf der Anoden-Seite des Gels auflegen.
- Transferzeit: nicht länger als 30 Minuten

Blottingvorgang

6.3 Blottingvorgang



HINWEIS

Das Gerät ist vorrangig für das Proteinblotting vorgesehen. Beachten Sie deshalb beim Blotting von Nukleinsäuren die Tipps und Hinweise im Kapitel „Tipps für das Nukleinsäureblotting“.

6.3.1 Puffer herstellen



HINWEIS

Verwenden Sie keine Puffer mit pH < 3 und pH > 10!

Lösungen für kontinuierliche Transferpuffersysteme

| | |
|---------------------------------------|---|
| Transferpuffer, pH 8,3 | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 25 mM Tris-Base ▪ 150 mM Glycin ▪ 10 % Methanol <p>Optional: Verdünnen Sie den Transferpuffer mit destilliertem Wasser (einfaches oder doppeltes Volumen).</p> |
| Laufpuffer (Laemmli-System) | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 25 mM Tris-Base ▪ 192 mM Glycin ▪ 0,1 % SDS (Natriumdodecylsulfat) <p>Verdünnen Sie den Laufpuffer für das Blotting mit einem oder zwei Teilen destilliertem Wasser und fügen Sie 10 ... 20 % Methanol hinzu.</p> |
| Towbin-Puffer | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 50 mM Tris ▪ 9 mM Glycin ▪ pH 7,8 ... 8,4 |

Lösungen für diskontinuierliche Transferpuffersysteme

Das diskontinuierliche Puffersystem ist geeignet für native PAGE-, SDS-PAGE- und IEF-Gele. Das Vorgehen ist angelehnt an Kyhse-Andersen, 1984 (Kyse-Andersen, J. (1984); J. Biochem. Biophys. Meth. 10, 203 – 209).

Durch die geringe Konzentration des SDS im Kathoden-Puffer (0,01 %) kommt es nicht zur Denaturierung der Proteine während der kurzen Kontaktphase.

Beachten Sie folgende Hinweise bei der Nutzung diskontinuierlicher Transferpuffersysteme:

- Proteine über 80 kD: vor dem Blottingvorgang für 5 ... 10 Minuten im Kathoden-Puffer äquilibrieren
- Urea-IEF Gele: vor dem Blottingvorgang in Kathoden Puffer äquilibrieren, um Urea auszuspülen

i HINWEIS! Bei zu langen Äquilibrierzeiten können die Proteine aus dem Gel heraus diffundieren.

| | |
|-------------------------------------|---|
| Anoden-Puffer I | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 300 mM Tris/HCl, pH 10,4 ▪ 20 % (v/v) Methanol |
| Anoden-Puffer II | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 25 mM Tris/HCl, pH = 10,4 ▪ 20 % (v/v) Methanol |
| Kathoden-Puffer | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 25 mM Tris/HCl, pH = 9,4 ▪ 40 mM Capronsäure ▪ 20 % (v/v) Methanol ▪ 0,01 % SDS |
| Alternativer Kathoden-Puffer | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 40 mM D, L-Norleucin ▪ (Norleucin unter Erwärmung auflösen. Stammlösung können auf Grund der limitierten Löslichkeit nicht hergestellt werden!) ▪ 25 mM Tris/HCl, pH = 9,4 ▪ 25 % (v/v) Methanol |

6.3.2 Blottingsandwich zusammensetzen



VORSICHT

Gefahr der Hautverletzung und Risiko für schlechte Blottingergebnisse

Hautkontakt mit den Chemikalien und der Membran kann zu Hautverletzungen führen. Hautkontakt mit der Membran kann zum Hinterlassen von Fingerabdrücken und folglich zu schlechten Blottingergebnissen führen.

- Tragen Sie Handschuhe beim Zusammensetzen des Blottingsandwiches und der Handhabung der Membran!



HINWEIS

Vermeiden Sie den Einschluss von Luftblasen zwischen Membran, Blottingpapier und Gel. Luftblasen können zu weißen Flecken auf der Membran führen.

Am Ende dieses Arbeitsschrittes sollte das für den Blottingvorgang vorbereitete Blotting-Sandwich die Anordnung besitzen, wie sie in den nachfolgenden Abbildungen gezeigt wird. Die Anordnung ist abhängig davon, ob ein kontinuierliches oder diskontinuierliches Puffersystem zum Einsatz kommt.

Blottingsandwich für ein kontinuierliches Puffersystem

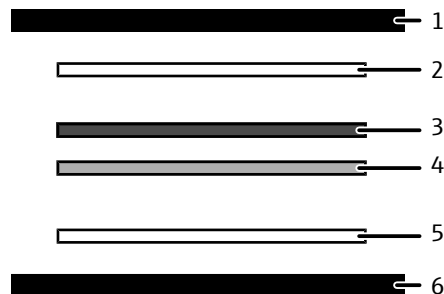


Abb. 4 Blottingsandwich für ein kontinuierliches Puffersystem

- | | |
|---|-------------------------|
| 1 Kathode im Deckel des Blottinggerätes | 2 Filterpapier |
| 3 Gel | 4 Membran |
| 5 Filterpapier | 6 Anode im Gerätekorpus |

Blottingsandwich für ein diskontinuierliches Puffersystem

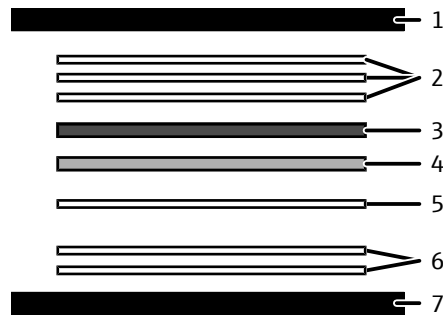


Abb. 5 Blottingsandwich für ein diskontinuierliches Puffersystem

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1 Kathode im Deckel des Blottinggerätes | 2 Filterpapier mit Kathodenpuffer |
| 3 Gel | 4 Membran |
| 5 Filterpapier mit Anodenpuffer II | 6 Filterpapier mit Anodenpuffer I |
| 7 Anode im Gerätekorpus | |

Materialien für Blottingsandwich vorbereiten

⚠ VORSICHT! Tragen Sie Handschuhe für das Zusammensetzen des Blottingsandwiches!

Gehen Sie für die Vorbereitung des Blottingsandwiches wie folgt vor:

- ▶ Das Gel aus eventuell noch vorhandenen Glasplatten trennen.
- ▶ Den Teil des Gels ausschneiden, der geblottet werden soll.
- ▶ Eine ausreichende Menge Blottingpapier auf die Größe des Geles zuschneiden.
 - Blottingpapier mit 0,34 mm Dicke: 5 Lagen (z. B. Whatman 3MM Chr)
 - Blottingpapier mit 0,92 mm Dicke: 3 Lagen (z. B. Whatman 17Chr)
 - Blottingpapier mit 1,20 mm Dicke: 2 Lagen (z. B. Whatman GB005)
- ▶ Die Blottingpapiere in Transferpuffer tränken.

Blottingsandwich zusammensetzen

⚠ VORSICHT! Tragen Sie Handschuhe für das Zusammensetzen des Blottingsandwiches!

Gehen Sie für den Zusammenbau des Blottingsandwiches wie folgt vor:

- ▶ Die getränkten **Blottingpapiere** auf die Anode (+) legen. Die Anode ist die Elektrode am Gerätekorpus.
- ▶ Eine **Membran** vorsichtig auf die Größe des Gels zuschneiden. Die Standardmembran ist Nitrocellulose.

⚠ VORSICHT! Berühren Sie die Membran nur mit Handschuhen!

- ▶ Membran aus PVDF: vor dem Tränken in Transferpuffer kurz für 1 bis 2 Sekunden in Methanol inkubieren. Anschließend für 5 Minuten in destilliertem Wasser tränken.
- ▶ Die Membran für 5 Minuten in Transferpuffer tränken.
- ▶ Die getränkte Membran auf die Blottingpapiere (Anodenseite) legen. Darauf achten, dass keine Luftblasen zwischen Membran und Blottingpapier eingeschlossen werden.
- ▶ Das **Gel** für 5 Minuten in Transferpuffer äquilibrieren. Bei Verwendung diskontinuierlicher Puffersysteme: das Gel in Kathodenpuffer äquilibrieren.

i HINWEIS! Kürzere oder längere Inkubationszeiten des Geles im Puffer beeinflussen die Transfereffizienz. Halten Sie die Zeiten für die Äquilibration konstant.

- ▶ Das Gel auf die Membran legen. Darauf achten, dass keine Luftblasen zwischen Membran und Gel eingeschlossen werden.

- ▶ Erneut eine ausreichende Menge **Blottingpapier** auf die Größe des Geles zuschneiden.
 - Blottingpapier mit 0,34 mm Dicke: 5 Lagen (z. B. Whatman 3MM Chr)
 - Blottingpapier mit 0,92 mm Dicke: 3 Lagen (z. B. Whatman 17Chr)
 - Blottingpapier mit 1,20 mm Dicke: 2 Lagen (z. B. Whatman GB005)
- ▶ Die Blottingpapiere in Transferpuffer tränken.
- ▶ Die getränkten Blottingpapiere auf das Gel legen.
- ▶ Eventuell vorhandene Luftblasen vorsichtig entfernen. Zum Entfernen ein sauberes Reagenzglas oder eine Pipette vorsichtig über das Blottingsandwich rollen.
 - ✓ Das Blottingsandwich ist hergestellt.
- ▶ Den Deckel auf den Gerätekorpus aufsetzen. Beim Aufsetzen darauf achten, dass der Deckel genau parallel zum Gerätekorpus aufliegt.
- ▶ Bei Verwendung dickerer Gele: ein Gewicht von 1 bis 2 kg auf den Deckel legen. Ein Becherglas mit kaltem Wasser kann zum Beschweren genutzt werden.
 - ✓ Das Gerät ist bereit für den Blottingvorgang.

6.3.3 Kühlauffluss anschließen

Das Modell Biometra Fastblot B43 verfügt über Anschlüsse für eine Durchflusskühlung.

i HINWEIS! Verwechseln Sie niemals den Zu- und Abfluss der Durchflusskühlung! Die Anschlüsse für die Durchflusskühlung unterscheiden sich in ihrem Innendurchmesser: Der Zufluss verfügt über einen schmaleren Durchmesser als der Wasserabfluss.

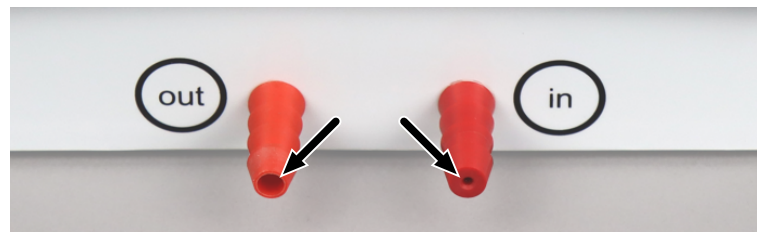


Abb. 6 Anschlüsse für die Durchflusskühlung auf der Rückseite des Fastblot B43

Anforderungen an die Durchflusskühlung

Beachten Sie folgende Anforderungen:

| | |
|-----------------|---|
| Flußrate | 0,5 ... 1,0 l/min (drucklos) |
| Durchflußmittel | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Wasser ▪ Kein Alkohol ▪ Keine organischen Lösungsmittel |

Empfohlene Temperatur für die Durchflusskühlung

Daneben wird für die beste Kühlung nachfolgende Temperatur empfohlen:

| | |
|------------|---------------------------------------|
| Temperatur | 5 °C (bei Nutzung eines Thermostaten) |
|------------|---------------------------------------|

6.3.4 Blottingvorgang starten und beenden



WARNUNG

Gefahr des elektrischen Schlags

Im Geräteinneren treten hohe Spannungen auf, die bei Berührung zu einem elektrischen Schlag führen können.

- Nehmen Sie nicht den Deckel vom Blottinggerät ab, während der Blottingvorgang läuft und das Stromversorgungsgerät angeschlossen ist!



HINWEIS

Lassen Sie das Gerät nie unbeaufsichtigt und zu lange laufen (Laufzeit > 2 h). Die im Betrieb entstehende Wärme kann das Gerät beschädigen.

Blottingvorgang starten

⇒ Das Gerät mit Blottingsandwich ist für den Blottingvorgang vorbereitet.

- ▶ Die Stromkabel des Stromversorgungsgerätes an das Blottinggerät anschließen.

i HINWEIS! Achten Sie auf den korrekten Anschluss der Elektroden! Das Vertauschen der Elektroden kann zu Geräteschäden führen. Die Anode (+) befindet sich am Gerätekorpus, die Kathode (-) im Deckel des Gerätes.

- ▶ Das Stromversorgungsgerät einschalten und so einstellen, dass folgende Werte gewährleistet sind:
 - konstante Stromstärke von $\leq 5 \text{ mA/cm}^2$ Gelfäche
 - maximale Leistung von 10 W
- ✓ Der Blottingvorgang ist gestartet.

Während des Blottingvorgangs

Erwärmt sich der Deckel während des Blottingvorgangs, so reduzieren Sie die Stromstärke oder legen Sie ein vorgekühltes Kühlkissen auf.

Die maximale Betriebstemperatur darf 50 °C nicht überschreiten!

Blottingvorgang beenden

- ▶ Stromversorgungsgerät ausschalten.
- ▶ Stromkabel vom Blottinggerät trennen.
- ▶ Falls eine Durchflusskühlung angeschlossen ist: Die Durchflusskühlung abschalten.
- ▶ Den Deckel vom Blottinggerät abnehmen.
- ▶ Das Blottingsandwich vorsichtig entfernen.
- ▶ Die Membran vorsichtig aus den Lagen des Blottingsandwiches entnehmen.
 - ✓ Die Membran kann für die Anfärbung der Immunoessays verwendet werden.

i HINWEIS! Reinigen Sie die Elektrodenplatten nach jedem Blottingvorgang mit destilliertem Wasser. Verwenden Sie niemals organische Lösungsmittel! Die Elektroden können mit Hilfe eines Papiertuches getrocknet werden.

6.4 Visualisierung

Für die Visualisierung geblotteter Proben existieren in der Fachliteratur eine Reihe an Methoden, so beispielsweise:

- Anfärbung, z.B. mit Coomassie Brilliant Blau
- Markierung mit radioaktiven Sonden
- Spezifische Markierung mit Hybridisierungssonden

Sie können die Membran einer Visualisierungsmethode unterziehen, sobald der Blottingvorgang beendet ist.

i HINWEIS! Beachten Sie, dass einige Visualisierungsmethoden Vorbereitungszeit benötigen. So muss beispielsweise die Färbelösung für Coomassie Brilliant Blau spätestens am Tag vor der Nutzung angesetzt werden, da diese über Nacht rühren muss.

7 Wartung und Pflege

7.1 Reinigung

Das Gerät enthält empfindliche Komponenten. Beachten Sie folgende Hinweise bei der Reinigung des Gerätes, um es nicht zu beschädigen:

- Tauchen Sie das Gerät niemals in Wasser ein!
- Autoklavieren Sie das Gerät niemals!
- Benutzen Sie das Gerät niemals in einer Mikrowelle!
- Reinigen Sie die Elektroden nach jedem Transfer mit einem weichen Tuch. Das Tuch kann mit destilliertem Wasser angefeuchtet werden.
- Die Anodenplatte ist mit Platin beschichtet und sehr empfindlich. Gehen Sie bei der Reinigung der Anodenplatte besonders vorsichtig vor. Verwenden Sie keine Scheuermittel oder starke Detergenzien.
- Die Kathodenplatte ist aus rostfreiem Spezialstahl. Sie können die Kathodenplatte bei Bedarf mit leichten Scheuermitteln, z. B. Ceranfeld-Reiniger, säubern.
- Salzreste können sich am Gerät absetzen. Reinigen Sie das komplette Gerät in regelmäßigen Abständen mit leicht warmem Wasser, um Salzreste zu entfernen.
- Verwenden Sie niemals Alkohol > 10 % (z.B. Methanol, Ethanol) oder organische Lösungsmittel (z.B. Aceton, Chloroform, Toluol, Benzol) zur Reinigung des Gehäuses oder der Elektroden. Die Komponenten des Gerätes sind nicht beständig gegenüber diesen Substanzen.

7.2 Wartung

Eine regelmäßige Wartung des Blottinggerätes ist nicht notwendig.

Sollten die Elektroden nach häufigem Gebrauch zugesetzt sein, so dass der Transfer inhomogen oder vermindert ist, kontaktieren Sie den Service der Analytik Jena.

8 Rücksendung



HINWEIS

Gefahr von Geräteschäden durch ungeeignetes Verpackungsmaterial

- Das Gerät und seine Komponenten nur in der Originalverpackung transportieren.
 - Das Gerät vor dem Transport vollständig entleeren und alle Transportsicherungen anbringen.
-
- ▶ Alle Geräteteile von biologisch gefährlichen, chemischen oder radioaktiven Kontaminationen reinigen.
 - ▶ Sie erhalten eine Dekontaminationserklärung vom Service bei Anmeldung der Rücksendung. Die Erklärung ausfüllen und die unterschriebene Dekontaminationserklärung an der Außenseite der Warensendung befestigen.
 - ▶ Für den Versand ausschließlich die Originalverpackung benutzen und die Transportsicherung einsetzen. Steht die Originalverpackung nicht mehr zur Verfügung, bitte an die Analytik Jena oder Ihren Händler vor Ort wenden.
 - ▶ Die Verpackung mit dem Warnhinweis versehen:
"VORSICHT! EMPFINDLICHES ELEKTRONISCHES GERÄT!".
 - ▶ Ein Blatt mit folgenden Daten beilegen:
 - Name und Adresse des Absenders
 - Name und Telefonnummer einer Kontaktperson für eventuelle Rückfragen
 - Eine detaillierte Fehlerbeschreibung, unter welchen Umständen und in welchen Situationen der Fehler auftritt.

9 Entsorgung

Das Gerät und seine elektronischen Komponenten sind nach Ablauf der Lebensdauer nach den geltenden Bestimmungen als Elektronikschrott zu entsorgen.

10 Spezifikationen

10.1 Technische Daten

| | | |
|------------------------|--|--|
| Allgemeine Gerätedaten | Material des Gehäuses | PMMA |
| | Material der Anode | Platin-umhülltes Titan |
| | Material der Kathode | Rostfreier Spezialstahl |
| | Maße | |
| | <ul style="list-style-type: none"> ■ Fastblot B43 ■ Fastblot B44 | <ul style="list-style-type: none"> ■ 26 cm x 22 cm x 11 cm (LxBxH) ■ 24 cm x 22 cm x 11 cm (LxBxH) |
| | Gewicht | ca. 2,5 kg |
| | Maximale Gelgröße | 15,5 cm x 19,5 cm |
| Betriebsbedingungen | Max. Spannung | 50 V |
| | Max. Stromstärke pro cm ² Gel | 5 mA |
| | Max. Leistung | 10 W Bis max. 30 min Betriebsdauer: 20 W Biometra Fastblot B43: Bis max. 30 min und mit Kühlung bei 12 °C: 30 W |
| | Max. Temperatur | 50 °C |
| | pH Bereich (Elektroden) | pH 3 ... 10 |
| | Max. Flussrate Kühlflüssigkeit | 0,5 ... 1,0 l/min (drucklos) |
| | Max. Transferzeit | 2 h |

10.2 Umgebungsbedingungen

| | |
|---------------------------|---|
| Arbeitsumgebung | Nur für den Gebrauch in Innenräumen vorgesehen. |
| Umgebungstemperatur | + 5 °C ... + 40 °C |
| Relative Luftfeuchtigkeit | max. 80 % (≤ 31 °C), linear abnehmend auf bis zu 50 (bei 40 °C) |
| Maximale Einsatzhöhe | 2000 m über NN |

10.3 Normen und Richtlinien

| | |
|-----------------------|--|
| Schutzart | Das Gehäuse hat die Schutzart IP 20. |
| Gerätesicherheit | Das Gerät erfüllt die Sicherheitsnorm <ul style="list-style-type: none">■ EN 61010-1 |
| Richtlinien für China | Das Gerät enthält reglementierte Substanzen (nach Richtlinie GB/T 26572-2011). Die Analytik Jena garantiert, dass diese Stoffe bei bestimmungsgemäßer Verwendung in den nächsten 25 Jahren nicht austreten und damit innerhalb dieser Periode keine Gefahr für Umwelt und Gesundheit darstellen. |
| EU-Richtlinien | Das Gerät erfüllt die Anforderungen nach Richtlinie 2011/65/EU. Das Gerät wird nach Normen gebaut und geprüft, die die Anforderungen der EU-Richtlinie 2014/35/EU einhalten. Das Gerät verlässt das Werk in sicherheitstechnisch einwandfreiem Zustand. Um diesen Zustand zu erhalten und einen gefahrlosen Betrieb sicherzustellen, muss der Anwender die Sicherheitshinweise und Arbeitshinweise beachten, die in der Benutzeranleitung enthalten sind. Für mitgeliefertes Zubehör und Systemkomponenten anderer Hersteller sind deren Benutzeranleitungen maßgebend. |

11 Revisionsübersicht

| Version | Inkrafttreten | Änderungen |
|---------|---------------|---------------|
| A | 10/2023 | Erste Version |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|--------|---|----|
| Abb. 1 | Bestandteile des Gerätes | 10 |
| Abb. 2 | Anschlüsse für Durchflusskühlung auf der Rückseite des Fastblot B43 | 10 |
| Abb. 3 | Elektrophoretischer Transfer von Proteinen. SDS-PAGE, Acrylamidkonzentration: 10 %; Nitrocellulose-Blottingmembran, Porengröße: 0,45 µm; Stromstärke: 5 mA/cm ² Gelfläche; Geldicke: 1,0 mm; Transferpuffer: Tris/Glycin/SDS..... | 13 |
| Abb. 4 | Blottingsandwich für ein kontinuierliches Puffersystem | 16 |
| Abb. 5 | Blottingsandwich für ein diskontinuierliches Puffersystem | 17 |
| Abb. 6 | Anschlüsse für die Durchflusskühlung auf der Rückseite des Fastblot B43 | 18 |