

Гелевая система MICRO SSP™

Catalogue # MGS-108

Руководство пользователя

One Lambda, Inc.

© OneLambda, Inc.,

© ЗАО «Лабораторная Диагностика».

US & CANADA: 800-822-8824 (except greater Los Angeles area) INTERNATIONAL: Contact your local distributor. 21001 Kiltridge Street, Canoga Park. CA 91303-2801

Telephone: +1 818-702-0042 Fax: +1818-702-6904 Fax: www.onelambda.com

'Covered under United States Patent #5,785,835 For research use only.

Содержание

| | |
|---------------------------------------|----|
| Свойства и преимущества | 3 |
| Компоненты Micro SSP™ Гелевой системы | 3 |
| Подготовка Гелевой системы Micro SSP™ | 5 |
| Процедура электрофореза | 7 |
| Устранение неисправностей | 8 |
| Очистка и меры безопасности | 11 |
| Рекомендованные реагенты | 12 |
| Заменяемые части | 12 |

MICRO SSP™ Гелевая система

Catalog # MGS-108


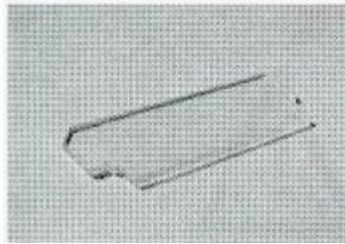
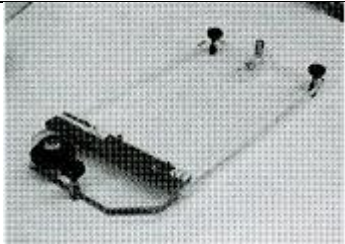
Свойства и преимущества

Micro SSP™ Gel System - это простая, эффективная и компактная гелевая камера для электрофореза. Она может быть использована вместе с тест-системой One Lambda's Micro SSP™ DNA и для ряда других процедур, при которых необходим электрофорез.

Основные свойства:

- 96-луночный формат микропланшета, плюс дополнительная линия (всего 108 лунок)
- Расположение лунок такое же, как и у 96-луночного планшета
- малая потребность в реагентах
- 3 минуты для выполнения электрофореза (для тест-системы Micro SSP™ typing kit)
- наличие системы контроля уровня установки и винтов для коррекции уровня
- простой в обращении набор гребенок
- Флуоресцентно меченые позиции ПЦР-лунок
- УФ-проницаемая камера для облегчения фотографирования
- Составная гелевая камера

Компоненты Гелевой системы *Micro SSP™*

| Компонент | Количество | Описание | Каталожный номер |
|---|------------|-----------|------------------|
|  | 12 | Гребенки | MGS -WC9 |
|  | 2 | Электроды | MGS -EC9 |
|  | 1 | Основание | MGS-B |

| Компонент | Количество | Описание | Каталожный номер |
|--|------------|-----------------------|------------------|
|  | 1 | Гелевая камера | MGS -GB9 |
|  | 1 | Держатель гребенок | MGS -CH9 |
|  | 1 | Крышка гелевой камеры | MGS-C |

Символ



ISO символ "ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ".
Относится к информации по безопасности

Если гелевая система Micro SSP™ Gel System используется не по назначению, защита, предусмотренная производителем, может стать недостаточной.

Подготовка *Micro SSP™ гелевой системы к работе*

1. Выдвиньте блокирующую шпильку на основании в позицию "Открыто".
2. Поставьте гелевую камеру на основание, совмещая цветовую кодировку на сторонах для обеспечения правильной ориентации. Вставьте два металлических штифта в соответствующие отверстия в красном держателе камеры в основе.



Рисунок 1. *Блокирующая шпилька*

3. Прикрепите гелевую камеру к основанию, передвигая блокирующую шпильку в позицию "Закртыо". Закрепите шпильку.
4. Настройте высоту трех ножек на основании для выравнивания пузырька воздуха; тем самым устанавливается горизонтальный уровень поверхности. Основание нельзя перемещать после того как оно было выровнено.



Рисунок 2. *Пузырек уровня*

5. Сориентируйте и полностью вставьте 14 гелевых гребней (2 электрода и 12 гребенок для лунок) в держатель. Если для Вашей задачи нужно менее 12 рядов лунок, Вы можете вставить менее 12 луночных гребенок при желании. Однако две электродные гребенки необходимо ставить всегда.

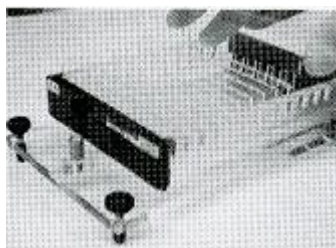


Рисунок 3. *Установка гелевых гребней*

6. Для анализа образцов объемом 10 мкл, налейте минимум 30 мл разогртой агарозы, растворенной в соответствующем буфере (2.5% w/v агарозы в 1x Tris-Borate-EDTA для Micro SSP™ наборов) в гелевую камеру. Убедитесь, что агароза покрывает равномерно всю поверхность. Этого можно достигнуть, слегка перемещая вперед-назад гелевую камеру для того чтобы горячая агароза равномерно заполнила камеру.

Важно: Агароза должна быть достаточно горячей для равномерного распределения.

Быстро поместите держатель с гребенками в заполненную камеру, соблюдая цветовую кодировку. Убедитесь, что гребенки полностью вставлены и основание выровнено. Позвольте гелю устояться в течение 15 минут.

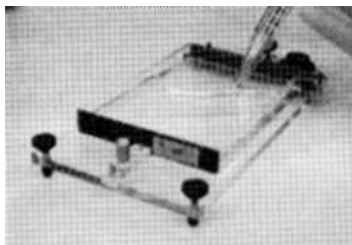


Рисунок 4. *Внесение агарозы в гелевую камеру*

7. Удалите гелевые гребенки, поднимая держатель гребенок и удерживая основание. Не ждите более 15 минут для удаления гребенок.



Рисунок 5. *Удаление гелевых гребенок*

8. Добавьте 10 мл соответствующего буфера для электрофореза (1x Tris Borate EDTA для Micro SSP™ наборов) для заполнения каждой лунки геля. Гель готов к загрузке образцов.

Важно: В связи с тем, что в *Micro SSP™ гелевой системе используется малое количество буфера, образцы необходимо загрузить как можно скорее.*

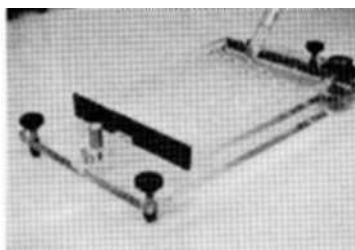


Рисунок 6. *Внесение буфера в лунки*

Процедура электрофореза

1. Для загрузки образцов рекомендуется стандартный мультиканальный дозатор. Убедитесь, что наконечники плотно надеты и выровнены. (Неавтоклавируемые наконечники служат лучше.) Загрузите образцы ДНК в лунки (от А до Н).* (Для Micro SSP™ DNA наборов убедитесь в сохранении ориентации лунок до загрузки образцов. Загрузите ряды, 1-12, в соответствующие лунки, отмеченные в гелевой камере.)

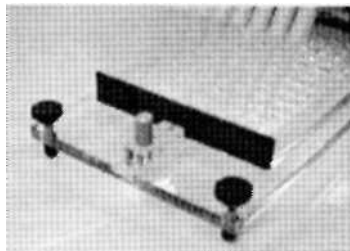


Рисунок 7. Загрузка образцов ДНК в лунки

После загрузки образцов поместите крышку на гелевую камеру, соблюдая цветовую кодировку.

Присоедините электрические контакты на крышке к стандартному блоку питания. Присоедините красный контакт к положительному выходу, а черный контакт - к отрицательному. Убедитесь, что устройство выровнено.

ВНИМАНИЕ: Убедитесь что на платиновых электродах нет отложений; отложения на электродах могут заблокировать электрический ток.

2. Включите постоянное напряжение 150 В на время, пока розовые полоски ДНК не продвигнутся примерно на 0,5 см в гель (для Micro SSP™ kit), или на желаемое время для других приложений.



Рисунок 8. Установка крышки на гелевую камеру

3. Снимите гелевую камеру с основания и сфотографируйте гель, используя стандартный коротковолновый УФ-транслюминатор и соответствующий фотоаппарат. Нет необходимости снимать гель с камеры, т.к. основание гелевой камеры прозрачно для УФ лучей.



Рисунок 9. Фотографирование

Маркеры размера можно загружать в лунки линии "I."

Устранение неисправностей

Это руководство по неисправностям описывает только проблемы, связанные с электрофорезом при использовании Micro SSP™ гелевой системы. Проблемы, связанные с интенсивностью и качеством сигнала, могут быть вызваны количеством/качеством образцов. Пожалуйста, обращайтесь к соответствующим руководствам или свяжитесь с представителем One Lambda если проблема остается.

| Проблема | Возможная причина | Решение |
|---|---|--|
| Нет напряжения или нет движения фронта краски | Питание не включено | Включите источник тока. Проверьте формирование пузырьков на электроде. |
| | Неправильно настроено напряжение | Установите напряжение на выходе 150В . |
| | Электрические контакты подсоединены неплотно к источнику питания. | Убедитесь, что электрические контакты плотно соединены. |
| | Выключатель безопасности на крышке гелевой камеры не включен | <ul style="list-style-type: none"> Поставьте крышку гелевой камеры плотно на место, нажав на нее до слышимого щелчка (так включается выключатель безопасности). |
| | | <ul style="list-style-type: none"> Проверьте правильность ориентации выключателя безопасности. Металлический винт должен присутствовать на основании и должен быть правильно настроен для активации выключателя безопасности. |
| | Недостаточно буфера | Убедитесь, что буфера достаточно для заполнения всех лунок в геле (10 мл) |
| | Грязные электроды | Убедитесь, что на платиновых электродах нет солевых отложений, пыли или жира. (Выключите питание перед обслуживанием электродов!) |
| Разрыв электрической цепи | Проверьте целостность проводов и электродов. Если найдены повреждения, немедленно обратитесь в службу поддержки | |
| Отсутствие полос ДНК | Неправильная концентрация или некачественная агароза | Используйте 2,5% (w/v) агарозу. Всегда проверяйте качество новой партии агарозы. |
| | Некачественный буфер | Используйте 1x Tris-borate EDTA буфер с этидия бромидом для приготовления геля и для электрофореза одной партии. |
| | Неправильная концентрация этидия бромида | Используйте 0,5 мкг/мл этидия бромида и в геле и в буфере. Берегите все реагенты, содержащие этидия бромид от света. |
| | Старые реагенты | Приготовьте свежий раствор 1x TBE с 0,5 мкг/мл этидия бромидом. Храните его в защищенном от света месте. Готовьте раствор агарозы только на 1-2 рабочих дня. |
| | Слишком долго длился электрофорез | Убедитесь, что электрофорез останавливается в нужное время. Для 2,5% агарозного геля электрофорез обычно останавливают, когда краска проникнет в гель примерно на 0,5 см. (Только для наборов Micro SSP™ DNA Typing kit) |
| | Недостаточная флюоресценция | Используйте коротковолновый источник УФ света. Убедитесь, что все УФ лампы работают правильно. |

| | | |
|--|---|--|
| | Неправильные настройки фотоаппарата | Используйте надлежащий светофильтр для фотографирования |
| | | Скорректируйте настройки фотографирования |
| Тусклые полосы ДНК (см. Также раздел «Отсутствие полос ДНК») | Недостаточно этидия бромида в геле или буфере | Используйте свежий буфер с этидия бромидом |
| | Образец вытек из-за тонкого слоя геля | Используйте минимум 30 мл агарозы |
| | Образец вытек из-за неравномерной толщины геля | При приготовлении геля всегда следите за уровнем основания камеры. Обращайте внимание на пузырек воздуха в уровне. |
| | Недостаток буфера | Используйте минимум 10 мл буфера. Перед загрузкой образцов в гель убедитесь, что все лунки и электроды покрыты буфером. |
| | Загружено недостаточное количество образцов | При использовании Micro SSP™ DNA Typing kit загружайте в гель всю полученную ДНК |
| | Образец потерян во время загрузки в гель | Используйте качественные одноканальные или многоканальные дозаторы с достаточным объемом (50 мкл). Следите за тем, чтобы все наконечники были плотно надеты и выровнены. При использовании многоканальных дозаторов проверяйте каждый наконечник по очереди. |
| | Полоски расплылись | После завершения электрофореза снятие результатов и фотографирование следует выполнять как можно быстрее |
| | Недостаточно УФ-освещения из-за неработающей лампы в трансиллюминаторе | Проверьте и при необходимости замените УФ лампу, следуя инструкции производителя |
| Тусклые полосы ДНК в 12-м ряду (рядом с красной стороной камеры). см. Также раздел «Тусклые полосы ДНК») | Недостаточно агарозы | Используйте минимум 30 мл агарозы |
| | Недостаточно буфера | Используйте 10 мл буфера |
| | Образец потерян во время электрофореза из-за тонкого или неравномерного слоя геля | При приготовлении геля всегда следите за уровнем основания камеры. Обращайте внимание на пузырек воздуха в уровне. |
| | Образец потерян из-за чрезмерного долгого проведения электрофореза | Останавливайте процесс когда краска проникла в гель на 5 мм |
| | Работают не все УФ-лампы в трансиллюминаторе или работают слабо | Проверьте и при необходимости замените УФ лампу, следуя инструкции производителя |
| Волнообразные полосы или другие их дефекты | Деформация лунок из-за пересушивания | Используйте гель через 15 минут после застывания |
| | Деформация лунок геля | Гель должен застыть в течение 15 минут до удаления гребенок Убедитесь в том, что все гребенки полностью вставлены в держатель |
| | Гелевая камера не была выровнена во время электрофореза | Уравнивайте камеру |
| | Не равномерное напряжение | Проверьте оба электрода на наличие солевых отложений. Удаляйте все отложения перед каждым проведением электрофореза Используйте свежий буфер объемом 10 мл Используйте 30 мл агарозы |

| | | |
|---|--|---|
| | Воздушные пузырьки в геле | Удаляйте пузырьки воздуха дозатором или другим соответствующим устройством немедленно после разливания геля. Если агароза размешивалась на шейкере, позвольте ей осесть и не аспирируйте пузырьки |
| | Грязные гребенки | Регулярно очищайте гребенки. Визуально проверяйте гребенки перед использованием |
| | Сломанные гребенки | Осмотрите все зубья гребенки. Замените при необходимости. |
| | Неразведенная агароза | Убедитесь, что агароза полностью расплавилась |
| | Слишком быстро проведен электрофорез | Не превышайте напряжение в 150 В |
| | Испарение буфера | Используйте гель как можно быстрее после внесения буфера |
| Агароза застывает во время разливания | Агароза слишком холодная | Разливайте агарозу, пока она горячая. Обращайтесь с горячей агарозой очень осторожно. Используйте средства персональной защиты. Разливайте горячую агарозу после завершения процесса образования пузырьков. Проще заливать агарозу в слегка наклоненную камеру. После того как она заполнит всю поверхность камеры, нужно вставить гребенки (а не во время наливания агарозы). Следите за уровнем камеры при застывании. |
| Гребенки удаляются с трудом | Гребенки не удалены немедленно после застывания геля | Удаляйте гребенки после застывания геля в течение 15 минут. Удаление гребенок позже может привести к прилипанию геля к гребенкам и попаданию воздуха в гель. |
| Плохо видны полосы | Плохо подобран цвет фона | Используйте серый или черный фон |
| Чрезмерно вытекание образцов при использовании многоканальных дозаторов | Наконечники плохо надеты или не выровнены | Убедитесь в том, что все наконечники плотно одеты, проверяя их один за другим и слегка поворачивая. Выровняйте наконечники перед использованием. Используйте неавтоклавируемые наконечники, потому что автоклавируемые приводит к деформации их поверхности. |

Очистка и меры безопасности

Очистка

- Для очистки акриловых гребенок, электродов, основания, гелевой камеры и держателя гребенок используйте обильное количество неабразивного моющего средства или детергента и воду. Используйте мягкую безворсовую ткань или губку. Не применяйте, твердую грубую ткань, которая может поцарапать акрил. Вытрите насухо чистой тканью.
- Крышку протирайте сухой чистой тканью. Затем протрите поверхности влажной хлопковой тканью.

Внимание: Не погружайте камеру в воду

Меры безопасности при очистке гелевой камеры

- Не используйте растворители, такие как ацетон бензол, четыреххлористый углерод, жидкость для сухой химчистки, лаки, в связи с тем, что они повреждают акрил.
- Не используйте средства для очистки стекол или для очистки поверхностей на кухне.

Напряжение

Micro SSP™ гелевая система рассчитана на применение с напряжением максимум 5,25 VA: (150V @ 35 mA).

Меры безопасности при работе с электричеством

- Прочитайте Руководство пользователя к источнику питания перед применением.
- Располагайте источник тока рядом с камерой для электрофореза. Устанавливайте источник тока в безопасном, сухом месте, обеспечивающем доступ к элементам управления.
- Сначала присоединяйте крышку камеры для электрофореза к источнику тока, а затем включайте источник.
- При отключении соблюдайте обратную последовательность.

Меры безопасности при работе с реагентами

- Прочитайте Material Safety Data Sheets (MSDS) для всех реагентов, используемых в гелевой системе.

Внимание: В One Lambda's Micro SSP™ DNA Typing Kits применяется агароза и буфер, содержащие этидия бромид, который может нанести вред при вдыхании, проглатывании или попадании на кожу.

- Всегда используйте индивидуальные защитные средства.
- Обращайтесь осторожно со всеми компонентами гелевой системы после того как они соприкасались с опасными веществами.

Рекомендованные реагенты

FMC Bio Products (800-341-1574)

5X TBE (Tris Borate EDTA) Buffer with Ethidium Bromide. 100 ml bottle

(OLI Cat.#5XTBE100) Agarose Powder, 125 grams (OLI Cat.# AGA125)

Заменяемые части

Описание

Номер в каталоге

Гребенки, 3-раск

MGS-WC9-3

Электроды, 2 раск

MGS-EC9-2

Гелевая камера

MGS-GB9

For Research Use Only

Disclaimer: Nothing in this publication should be construed as an authorization or an implicit license to practice PCR under any patents held by II-LR Inc.