



(19)  
**Bundesrepublik Deutschland**  
**Deutsches Patent- und Markenamt**

(10) **DE 20 2004 016 349 U1 2005.02.24**

(12)

## Gebrauchsmusterschrift

(21) Aktenzeichen: **20 2004 016 349.7**

(22) Anmeldetag: **22.10.2004**

(47) Eintragungstag: **20.01.2005**

(43) Bekanntmachung im Patentblatt: **24.02.2005**

(51) Int Cl.7: **G01N 35/10**

**G01N 35/00, G01N 33/00, G01N 33/48,**

**G01N 1/28, B01L 11/00, G01N 27/447**

(73) Name und Wohnsitz des Inhabers:  
**Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 24118**  
**Kiel, DE**

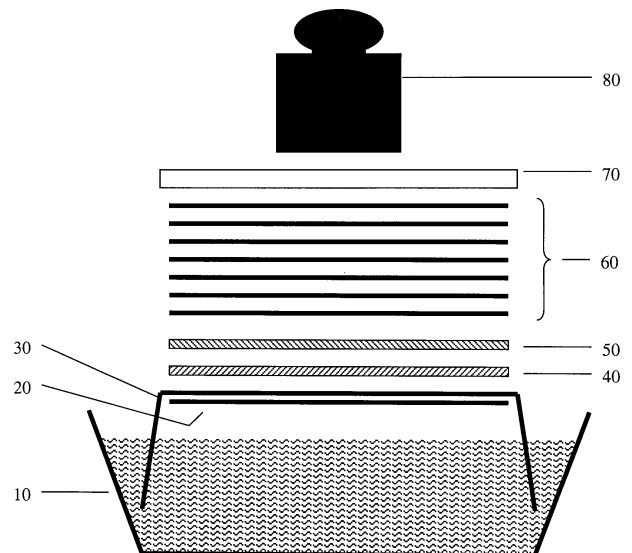
(74) Name und Wohnsitz des Vertreters:  
**BOEHMERT & BOEHMERT, 24105 Kiel**

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren**

(57) Hauptanspruch: Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren aus einem Gel (40) auf eine Transfermembran (50), mit

- einem Vorratsgefäß (10) zum Befüllen mit einer Flüssigkeit,
  - einer über dem Vorratsgefäß (10) angeordneten Ablage (20) mit einem die Ablage (20) bedeckenden, sich in das Vorratsgefäß (10) erstreckenden saugfähigen Papier (30),
  - einem auf dem Papier (30) angeordneten, die zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren enthaltenden Gel (40),
  - einer über dem Gel (40) angeordneten Transfermembran (50) zum Aufnehmen der zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren,
  - wenigstens einer auf der Transfermembran (50) angeordneten Lage saugfähigen Stoff (60) und
  - einem darüber angeordneten Gewicht (100),
  - wobei die Fläche der Transfermembran (50) und des saugfähigen Stoffs (60) der Fläche des Gels (40) entsprechen, dadurch gekennzeichnet, dass
- das Gewicht (100) mit wenigstens einer Leiteinrichtung (110) verbunden ist, die mit wenigstens einer Führungseinrichtung (120) zum senkrechten Führen des...



**Beschreibung**

**[0001]** Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren in einem Gel auf eine Transfermembran, mit einem Vorratsgefäß, einer über dem Vorratsgefäß angeordneten Ablage mit einem die Ablage bedeckenden, sich in das Vorratsgefäß erstreckenden saugfähigen Papier zum Ablegen des Gels, wenigstens einer Lage saugfähigen Stoffs und einem darüber angeordneten Gewicht, wobei die Fläche der Transfermembran und die Fläche des saugfähigen Stoffs der Fläche des Gels entsprechen. Derartige Vorrichtungen werden beim Kapillarblotting von Proteinen und/oder Nukleinsäuren angewendet, wobei dieses Verfahren je nach Art der zu transferierenden Moleküle als Southern-, Northern- oder Westernblotting bezeichnet wird.

**[0002]** Üblicherweise besteht eine Vorrichtung zur Durchführung des Kapillarblotting aus einer Wanne, die mit Puffer gefüllt wird, einer über der Wanne angeordneten Ablagefläche, auf der ein saugfähiges Papier abgelegt ist, das sich in die mit Puffer zu füllende Wanne erstreckt und auf dem das Gel abgelegt wird, einer darüber angeordneten Transfermembran, bevorzugt aus Nitrocellulose oder Nylon, und mehrerer darüber angeordneten Lagen eines saugfähigen Stoffs. Dieser Aufbau hat zur Folge, dass der Puffer mit Hilfe der Kapillarkräfte über das saugfähige Papier durch das Gel und die Transfermembran in den saugfähigen Stoff gesaugt wird. Die Proteine und/oder Nukleinsäuren werden von diesem Flüssigkeitsstrom erfasst und aus dem Gel in Richtung der Transfermembran gespült, an der sie adsorbieren.

**[0003]** Um einen optimalen und gleichmäßigen Transfer der Proteine und/oder Nukleinsäuren zu gewährleisten, wird der saugfähige Stoff oftmals zusätzlich mit einer Glasplatte abgedeckt und mit einem Gewicht beschwert. Der Nachteil dieser Vorrichtung ist, dass es während des Blottingprozesses oftmals zu Veränderungen im Aufbau kommt: Zum einen wird das Gel häufig bis auf 1/10 seiner ursprünglichen Dicke zusammengedrückt, zum anderen sackt der saugfähige Stoff in Folge der Flüssigkeitsaufnahme in sich zusammen. Das führt dazu, dass der gesamte Aufbau langsamen Bewegungen unterworfen ist, die sich insbesondere bei Gelen kleiner Fläche stark auswirken können. Da die Höhe der Vorrichtung in der Regel die Breite des zu blottenden Gels um ein Mehrfaches übersteigt, kann sich die Vorrichtung neigen und zu ungleichmäßigen Transferergebnissen oder im Extremfall sogar kippen und zu einem Totalverlust der Proteine und/oder Nukleinsäuren führen.

**[0004]** Aufgabe der Erfindung ist es deshalb, eine Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren in einem Gel auf eine Transfermembran zu schaffen, die mit einfachen Mitteln bei

einem kippstabilen Aufbau einen gleichmäßigen Transfer der Proteine und/oder Nukleinsäuren auf die Transfermembran ermöglicht und dadurch auch die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen verbessert.

**[0005]** Die Aufgabe wird gelöst durch eine Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren aus einem Gel auf eine Transfermembran, mit einem Vorratsgefäß zum Befüllen mit einer Flüssigkeit, einer über dem Vorratsgefäß angeordneten Ablage mit einem die Ablage bedeckenden, sich in das Vorratsgefäß erstreckenden saugfähigen Papier, einem auf dem Papier angeordneten, die zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren enthaltenden Gel, einer über dem Gel angeordneten Transfermembran zum Aufnehmen der zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren, wenigstens einer auf der Transfermembran angeordneten Lage saugfähigen Stoffs und einem darüber angeordneten Gewicht, wobei die Fläche der Transfermembran und des saugfähigen Stoffs der Fläche des Gels entsprechen, wobei das Gewicht mit wenigstens einer Leiteinrichtung verbunden ist, die mit wenigstens einer Führungseinrichtung zum senkrechten Führen des Gewichts lösbar verbunden ist, wobei das Gewicht eine Fläche besitzt, die mindestens der Fläche des Gels entspricht, und die Masse des Gewichts gleichmäßig über seine Fläche verteilt ist.

**[0006]** Die Unteransprüche geben bevorzugte Ausgestaltungen der erfindungsgemäßen Vorrichtung an.

**[0007]** Der Vorteil der Erfindung liegt darin, dass aufgrund der flächigen Ausdehnung des Gewichts ein gleichmäßiger Druck auf das Gel ausgeübt wird, der zu einem optimalen Transferergebnis führt. Gleichzeitig wird durch die wenigstens eine Führungseinrichtung, die zum senkrechten Führen des Gewichts mit der wenigstens einen Leiteinrichtung lösbar verbunden ist, sichergestellt, dass das Gewicht keine horizontalen Bewegungen ausführen kann und damit eine ungleichmäßige Belastung des Gels vermieden. Die erfindungsgemäße Vorrichtung verhindert auch ein Kippen der Vorrichtung.

**[0008]** Die Erfindung soll im Folgenden anhand eines bevorzugten Ausgestaltungsbeispiels mit Hilfe von Zeichnungen erläutert. Es zeigen

**[0009]** Fig. 1 eine schematische Zeichnung des prinzipiellen Aufbaus einer Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren mit dem Kapillarblotting-Verfahren nach dem Stand der Technik,

**[0010]** Fig. 2 eine schematische Seitenansicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung, Fig. 3 eine Draufsicht auf die erfindungsgemäße Vorrichtung und

**[0011]** Fig. 4 das Ergebnis eines Transfers ohne und mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

**[0012]** Fig. 1 zeigt eine aus dem Stand der Technik bekannte Vorrichtung zur Durchführung des Kapillarblottings. Diese besteht aus einem Vorratsgefäß **10**, das, wie angedeutet, zur Benutzung mit Puffer gefüllt ist. In das Vorratsgefäß **10** ragt ein über dem Vorratsgefäß **10** angeordnete Ablage **20** bedeckendes, saugfähiges Papier **30**, das sich durch die Kapillarkräfte mit Pufferlösung voll saugt und einen Flüssigkeitsstrom entgegen der Schwerkraft entwickelt. Durch diese Sogkraft wird die Oberfläche der Ablage **20** solange befeuchtet wie Puffer im Vorratsgefäß **10** vorhanden ist. Über dem saugfähigen Papier wird das Proteine und/oder Nukleinsäuren enthaltende Gel **40** angeordnet. Darüber wird die auf die Größe des Gels **40** zugeschnittene Transfermembran **50** passgenau aufgelegt. Über der Transfermembran **50** werden nun mehrere Lagen eines saugfähigen Stoffs **60** angeordnet, die, um einen gleichmäßigen Transfer zu gewährleisten, in ihren Abmessungen in etwa den Abmessungen des Gels **40** entsprechen und mit einem auf einer Glasplatte **70** abgesetzten Gewicht **80** beschwert sind. Der Nachteil der so aufgebauten Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren zeigt sich dadurch, dass der Stapel **40, 50, 60, 70, 80** bei einer Schiefelage zu unbefriedigenden Transferergebnissen führt.

**[0013]** Fig. 2 zeigt eine schematische Seitenansicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Der prinzipielle Aufbau der Vorrichtung orientiert sich an der aus dem Stand der Technik bekannten Vorrichtung aus Fig. 1. Gegenüber dem Stand der Technik ist das Gewicht **100** flächig und bevorzugt biegesteif ausgebildet, wobei die Auflagefläche des Gewichts **100** wenigstens der Fläche des Gels **40** entspricht bzw. die Außenmaße des Gewichts **100** den Außenmaßen des Gels **40** entsprechen oder diese übersteigen und die Masse des Gewichts **100** gleichmäßig über seine Fläche verteilt ist. Dadurch wird erreicht, dass ein gleichmäßiger Druck auf das gesamte Gel ausgeübt wird, der zu besseren Blottingergebnissen führt.

**[0014]** Weiterhin ist bevorzugt auf der Oberseite des Gewichts **100** eine Leiteinrichtung **110** angeordnet, die mit einer Führungseinrichtung **120** lösbar verbunden ist. Die Führungseinrichtung **120**, die bevorzugt mit dem Vorratsgefäß **10** verbunden ist und mit diesem eine Einheit bildet, verhindert ein seitliches Verkippen des Gewichts **100** und ermöglicht so, auch bei sich während des Blottvorgangs veränderndem Aufbau der Vorrichtung, einen gleichmäßigen Druck auf das Gel **40** aufrecht zu erhalten und damit das Blottingergebnis zu verbessern. Statt einer Leiteinrichtung **110** und einer Führungseinrichtung **120** können auch mehrere miteinander korrespondierende Leit- und Führungseinrichtungen **110, 120** vorgesehen sein.

**[0015]** In einer bevorzugten Ausgestaltung ist die Leiteinrichtung **110** zur Aufnahme von wenigstens einem weiteren Gewicht eingerichtet. Dieses kann dadurch erfolgen, dass die Leiteinrichtung **110** als Stab ausgebildet ist und lochscheibenförmige Gewichte ohne oder bevorzugt mit seitlicher Öffnung um die Leiteinrichtung **110** angeordnet sein können. Da sich die Leiteinrichtung **110** selbst im Schwerpunkt des Gewichts **100** befindet, wird sich das Gewicht der zusätzlichen lochscheibenförmigen Gewichte gleichmäßig auf die Fläche des Gewichts **100** und damit auf die Fläche des Gels **40** verteilen. Durch die Verwendung zusätzlicher Gewichte kann das Gesamtgewicht so variiert werden, dass es für die jeweilige Größe des Gels **40** optimal ist. Ohne Zusatzgewichte sollte die Einheit aus Leiteinrichtung **110** und Gewicht **100** daher nicht 1 kg übersteigen. Dies ist für kleine Gele **40** geeignet und kann durch weitere Zusatzgewichte bei größeren Gelen **40** aufgestockt werden.

**[0016]** Fig. 3 zeigt eine Draufsicht auf ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Zu erkennen ist das Vorratsgefäß **10**, das Gewicht **100** mit der auf seiner Oberseite bevorzugt als Stab ausgebildeten Leiteinrichtung **110**, die, um ein Verkippen des Gewichts **100** zu vermeiden, bevorzugt im Schwerpunkt des Gewichts angeordnet ist, und die Führungseinrichtung **120**. Die Führungseinrichtung **120** besteht in diesem Beispiel aus einem Arm und einem die Leiteinrichtung **110** umfassenden rohrförmigen Abschnitt. Dadurch werden horizontale Bewegungen auf ein Minimum reduziert, wobei aber in der vertikalen Richtung die Bewegungsfreiheit des Gewichts **100** vollständig aufrecht erhalten wird.

**[0017]** Fig. 4 zeigt zwei Southern-Blots, die anschließend mit einer radioaktiv markierten Probe hybridisiert wurden. Aliquots der selben drei Proben wurden in identischer Weise behandelt, mit dem Unterschied, dass der Southern-Blot in Fig. 4a mit dem herkömmlichen Aufbau nach dem Stand der Technik und in Fig. 4b mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung durchgeführt wurde. Man kann deutlich erkennen, dass man mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung, aufgrund geringerer Diffusionswege und gleichmäßigem Druck, schärfere Banden erhält als mit der im Stand der Technik verwendeten Vorrichtung.

### Schutzansprüche

1. Vorrichtung zum Transferieren von Proteinen und/oder Nukleinsäuren aus einem Gel (**40**) auf eine Transfermembran (**50**), mit

- einem Vorratsgefäß (**10**) zum Befüllen mit einer Flüssigkeit,
- einer über dem Vorratsgefäß (**10**) angeordneten Ablage (**20**) mit einem die Ablage (**20**) bedeckenden, sich in das Vorratsgefäß (**10**) erstreckenden saugfähigen Papier (**30**),

– einem auf dem Papier (30) angeordneten, die zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren enthaltenden Gel (40),  
– einer über dem Gel (40) angeordneten Transfermembran (50) zum Aufnehmen der zu transferierenden Proteine und/oder Nukleinsäuren,  
– wenigstens einer auf der Transfermembran (50) angeordneten Lage saugfähigen Stoff (60) und  
– einem darüber angeordneten Gewicht (100),  
– wobei die Fläche der Transfermembran (50) und des saugfähigen Stoffs (60) der Fläche des Gels (40) entsprechen, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Gewicht (100) mit wenigstens einer Leiteinrichtung (110) verbunden ist, die mit wenigstens einer Führungseinrichtung (120) zum senkrechten Führen des Gewichts (100) lösbar verbunden ist, wobei das Gewicht (100) eine Fläche besitzt, die mindestens der Fläche des Gels (40) entspricht, und die Masse des Gewichts (100) gleichmäßig über seine Fläche verteilt ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewicht (100) biegesteif ist.

3. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die wenigstens eine Leiteinrichtung (110) auf der Oberseite des Gewichts (100) im Schwerpunkt des Gewichts (100) angeordnet ist.

4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Leiteinrichtung (110) zur Aufnahme von wenigstens einem zusätzlichen Gewicht eingerichtet ist.

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Führungseinrichtung (120) mit dem Vorratsgefäß (10) verbunden ist.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

STAND DER TECHNIK

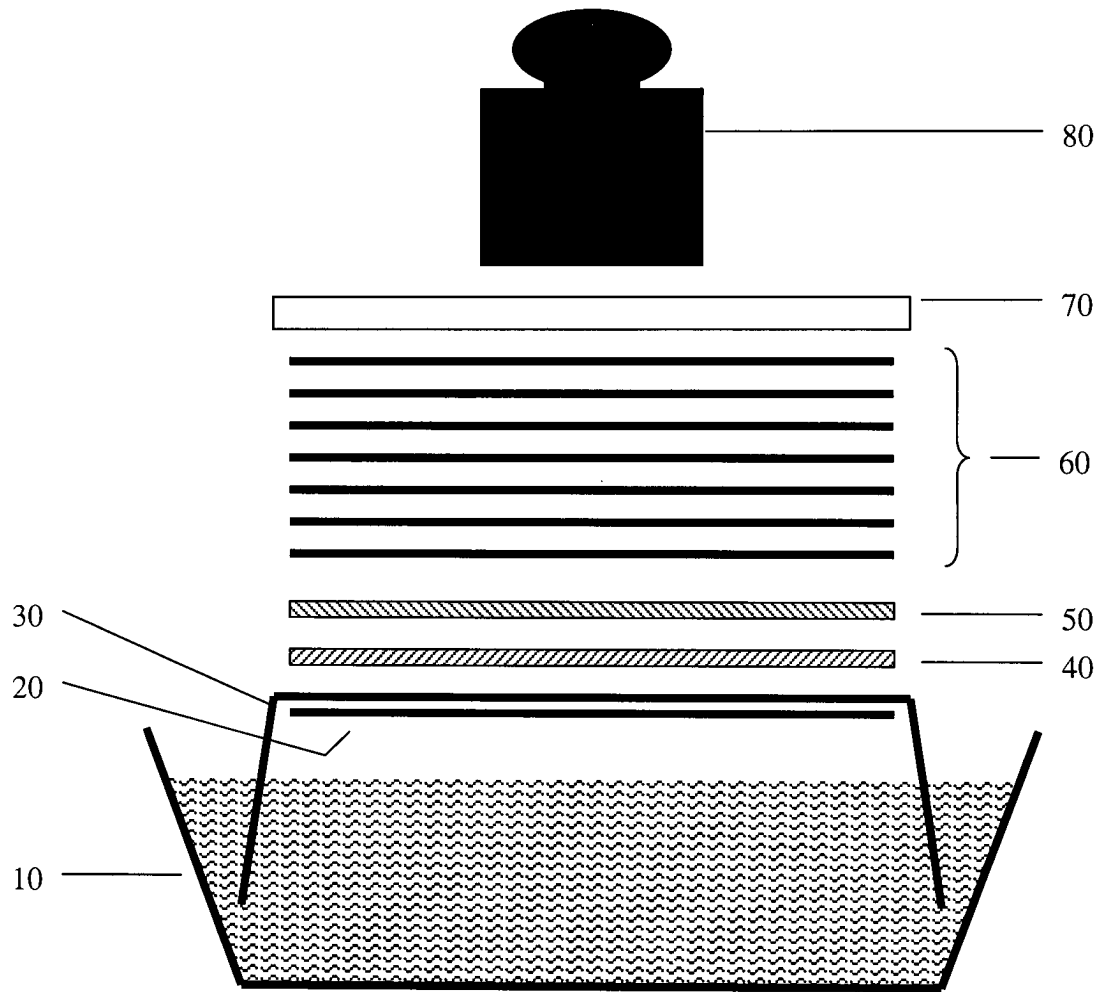


FIG. 1

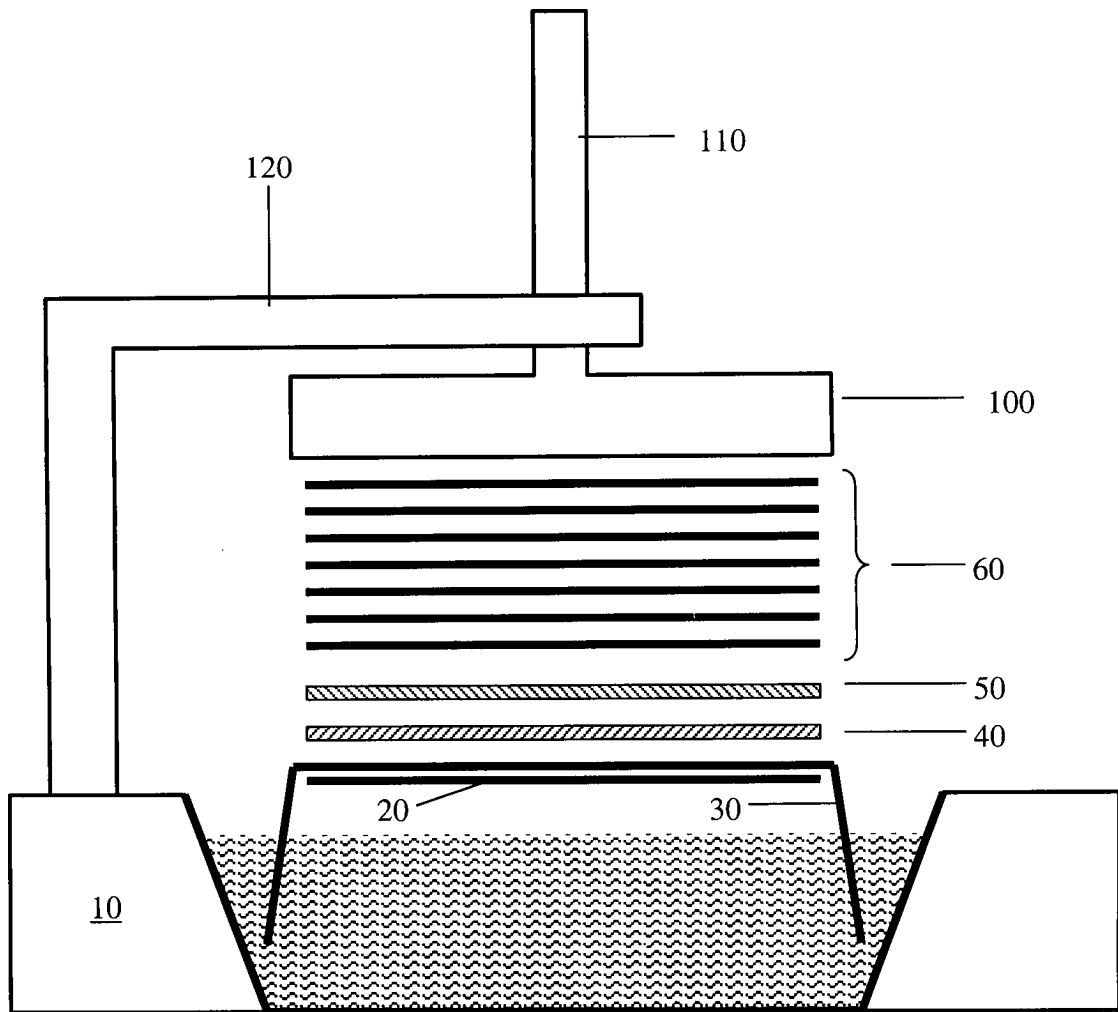
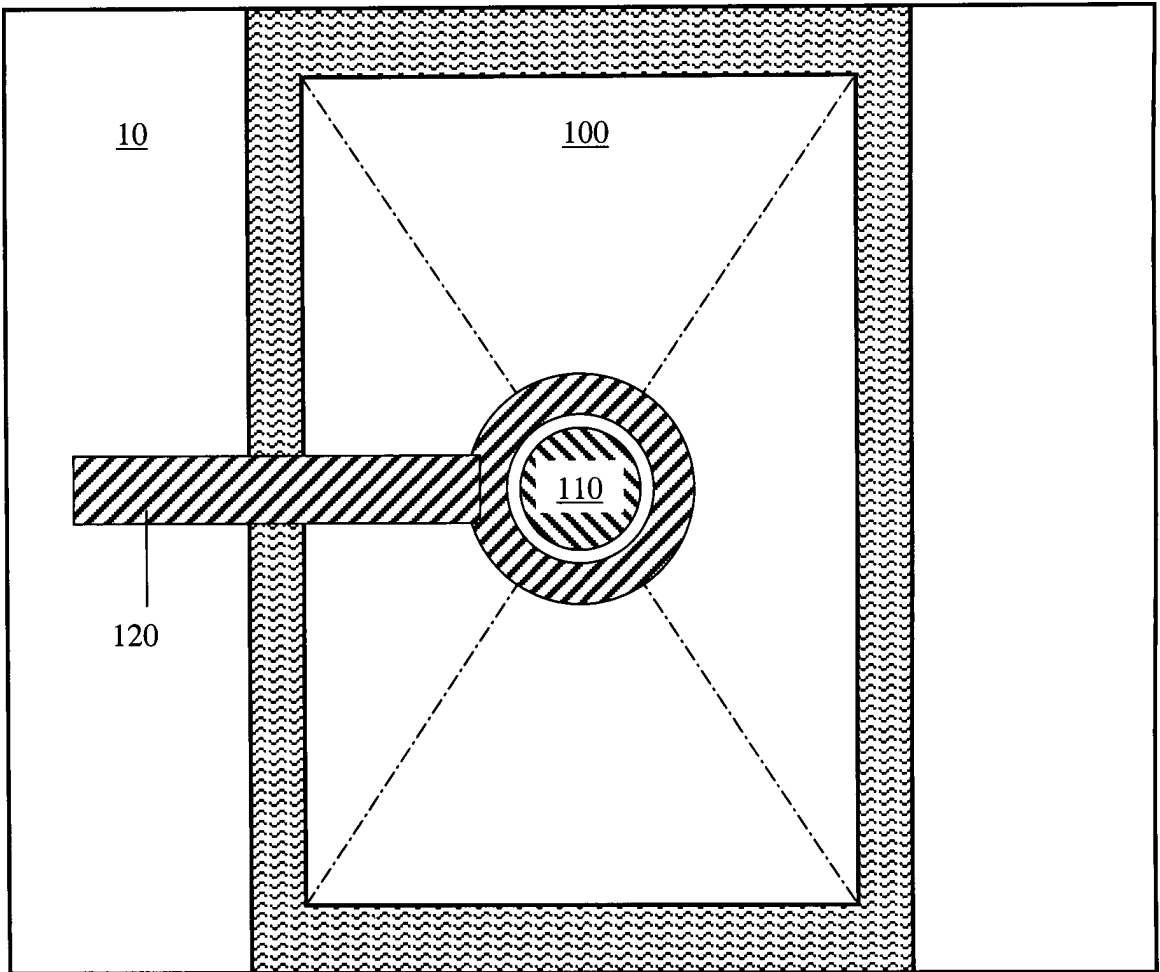
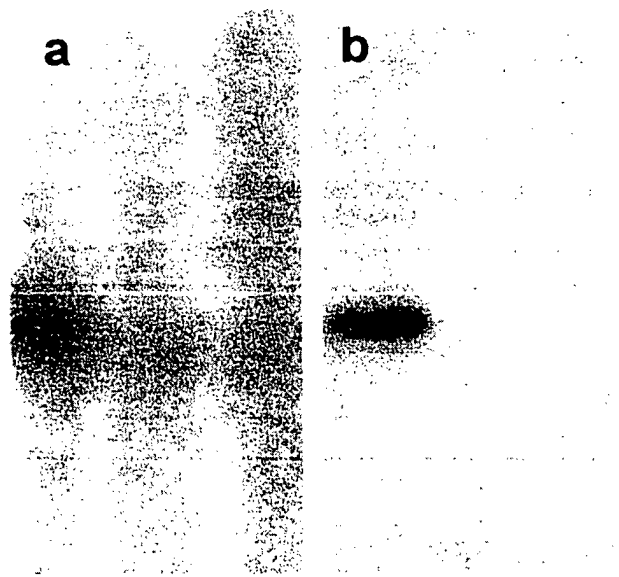


FIG. 2



**FIG. 3**



**FIG. 4**