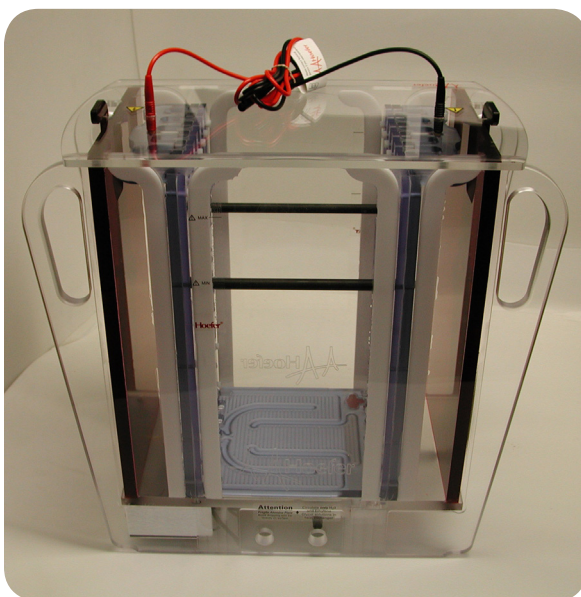


Hoefer SE900

Sistema de Eletroforese segunda dimensão



Conteúdos

Informações Importantes.....	ii
Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE).....	v
Função e Descrição	1
Especificações.....	2
Desembalar e Inventário.....	3
Instruções de operação	10
Usando o Caster Gel múltipla	11
IPG Equilíbrio Faixa.....	14
Separação de Páginas	16
Cuidados e Manutenção	19
Serviço de Assistência Técnica e Reparação	19
Solução de problemas.....	20
Informações sobre pedidos	23
Apêndice A: Teoria e Receitas.....	24
Soluções.....	25
Receitas gel	28
Apêndice B: Referências	30

Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefer, Inc. the protection provided by the equipment may be impaired.
- This instrument is designed for indoor laboratory use only.
- Only accessories and parts approved or supplied by Hoefer, Inc. may be used for operating, maintaining, and servicing this product.
- Only use a power supply that is CE marked or safety certified by a nationally recognized testing laboratory.
- The safety lid must be in place before connecting the power supply leads to a power supply.
- Turn all power supply controls off and disconnect the power leads before removing the safety lid.
- Circulate only water or 50/50 water/ethylene glycol through the heat exchanger if so equipped. Do not connect the heat exchanger to a water tap or any coolant source where the water pressure is unregulated.
- Never introduce antifreeze or any organic solvent into any part of the instrument. Organic solvents will cause irreparable damage to the unit!
- Do not operate with buffer temperatures above the maximum specified technical specifications. Overheating will cause irreparable damage to the unit!

Důležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytovaná na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboratoři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo poskytnutých Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.
- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoři.
- Bezpečnosti lid musí být zavedena před připojením napájecí zdroj napájení vede k.
- Turn veškeré napájení kontroly vypnuto a odpojit před odběrem energie vede bezpečnostní viko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulováno.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpuštěním způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufu teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefer, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.
- Bare tilbehør og del godkendede eller forsynede ved Hoefer, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.

- bruger Bare en strømforsyning, der er CE markerede eller sikkerhed, som er blevet attesteret af en, som nationalt er blevet anerkendt prøve laboratorium.
- Sikkerhedslåget må være på plads før forbindelse strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedslåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylene glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er unregulated.
- Introducerer Aldrig antifreeze eller noget organisk opløsningsmiddel ind i nogen del af instrumentet. Organiske opløsningsmidler vil forårsage uboelig skade til enheden!
- Driver ikke med stødpudetemperaturer over maksimummet specificerede tekniske specifications. Overhedning vil forårsage uboelig skade til enheden!

Belangrijke Informatie – Dutch

- Indien deze uitrusting in een manier wordt gebruikt die niet door Hoefer, Inc. is gespecificeerd de bescherming die door de uitrusting is verzorgd kan worden geschaad.
- Dit instrument is voor binnenlaboratoriumgebruik enkel ontworpen.
- Enkel onderdelen en delen keurden goed of leverden door Hoefer, Inc. kan voor het bedienen worden gebruikt, handhavend en onderhouden van dit product.
- gebruik Enkel een netvoeding die CE is markeerde of veiligheid die door een is gecertificeerd die nationaal is herkend testene laboratorium.
- Het veiligheidsdeksel moet in plaats voor het verbinden van de netvoeding leidt tot een netvoeding zijn.
- Doe alle netvoedingscontroles Uit en koppel los de machtleiding voor het verwijderen van het veiligheidsdeksel.
- Circuleer enkel water of 50/50 water/ethyleenglycol door de hitte exchanger zo ja uitrust. Verbind de hitte exchanger naar een waterkraan of koelmiddelbron niet waar de waterdruk niet geregulariseerd is.
- Stel Nooit antivriesmiddel of organische oplosmiddelen in deel van het instrument voor. Organische oplosmiddelen zullen onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!
- Bedien niet met buffertemperaturen boven het maximum specificeerde technische specificaties. Oververhitting zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojelu ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäyttöön vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettanut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen

käyttäjännitelyijä käyttäjännitteeseen.

- Kiertää kaikki käyttäjännitevalvonnat ja irrottaa valtalijyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethylene glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Information Importante – French

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifié par Hoefer, Inc. la protection fourni par l'équipement pourrait être diminuée.
- Cet instrument est conçu pour l'usage de laboratoire intérieur seulement.
- Seulement les accessoires et les parties ont approuvé ou ont fourni par Hoefer, Inc. pourrait être utilisé pour fonctionner, maintenir, et entretenir ce produit.
- utilise Seulement une alimentation qui est CET a marqué ou la sécurité certifié par un nationalement reconnu essayant le laboratoire.
- Le couvercle de sécurité doit être à sa place avant connecter l'alimentation mene à une alimentation.
- Tourner tous contrôles d'alimentation de et débrancher les avances de pouvoir avant enlever le couvercle de sécurité.
- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par l'échangeur de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'échangeur de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.
- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité !

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefer, Inc. verwendet wird, kann der durch die Ausrüstung zur Verfügung gestellte Schutz verschlechtert werden.
- Dieses Instrument wird für den Innenlaborgebrauch nur dafür entworfen.
- Nur Zusätze und Teile genehmigten oder lieferten durch Hoefer, Inc. kann für das Funktionieren, das Aufrechterhalten, und die Wartung dieses Produktes verwendet werden.
- Verwenden Sie nur eine Energieversorgung, die CE gekennzeichnet oder durch ein national anerkanntes Probelaboratorium bescheinigte Sicherheit ist.
- Der Sicherheitsdeckel muss im Platz vor dem Anschließen der Energieversorgung sein führt zu einer Energieversorgung.

- Alle Energieversorgungssteuerungen abdrehen und die Macht trennen führt vor dem Entfernen des Sicherheitsdeckels.
- Nur Wasser oder 50/50 Glykol des Wassers/Äthylens durch den Wärmeaustauscher, wenn so ausgestattet, in Umlauf setzen. Verbinden Sie den Wärmeaustauscher mit einem Wasserklaps oder jeder Kühlmittel-Quelle nicht, wo der Wasserdruck ungeregelt wird.
- Führen Sie nie Frostschutzmittel oder jedes organische Lösungsmittel in jeden Teil des Instrumentes ein. Organische Lösungsmittel werden nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!
- Mit Puffertemperaturen über angegebenen technischen Spezifizierungen des Maximums nicht funktionieren. Die Überhitzung wird nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!

Informazioni Importanti – Italian

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefer, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è disegnato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefer, Inc. potrebbe essere usato per operare, per mantenere, e per revisionare questo prodotto.
- usa Solo un alimentatore che è CE ha marcato o la sicurezza certificato da un nazionalmente riconosciuto testando il laboratorio.
- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spegne tutto i controlli di alimentatore e disinserisce i piombi di potere prima di togliere il coperchio di sicurezza.
- Circola solo l'acqua o 50/50 glicole di acqua/etilene attraverso lo scambiatore di calore se così equipaggiato. Non collegare lo scambiatore di calore a un rubinetto di acqua o qualunque fonte di refrigerante dove la pressione di acqua è sregolata.
- Non introduce mai l'antigelo o qualunque solvente organico in qualunque parte dello strumento. I solventi organici causeranno il danno irreparabile all'unità!
- Non opera con le temperature di tampone al di sopra del massimo ha specificato le descrizioni tecniche. Il surriscaldamento causerà il danno irreparabile all'unità!

Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefer, Inc. beskyttelsen som ha blitt git av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.
- Sikkerheten lokket må være på plass før forbinding kraftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
- Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyrer. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vanntapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet

trykket er unregulated.

- Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemidler vil forårsake irreparabel skade på enheten !
- Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overoppheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

Wazne Informacje – Polish

- Jeżeli ten sprzęt jest wykorzystywany w sposób nie określone przez Hoefer, Inc. do ochrony przewidzianej przez urządzenie może zostać obniżony.
- Instrument ten jest przeznaczony do użytku w laboratoriach kryty tylko.
- Tylko akcesoriów i części zatwierdzone lub dostarczone przez Hoefer, Inc. mogą być wykorzystane do eksploatacji, utrzymania i obsługi tego produktu.
- korzystać jedynie zasilacza że jest noszące oznakowanie CE lub bezpieczeństwa uwierzytelnione przez uznane na poziomie krajowym laboratorium badawcze.
- Bezpieczeństwo lid musi być w miejsce przed podłączeniem zasilania prowadzi do zasilania.
- Zaś wszystkie źródła zasilania urządzenia sterujące off i odłączyć moc prowadzi przed odbiorem bezpieczeństwa lid.
- Krążą tylko wody lub wody 50/50/ethylene glycol wymiennik ciepła poprzez jeśli tak wyposażone. Nie należy połączyć wymiennik ciepła woda z kranu lub jakimkolwiek chłodziwo źródła, jeżeli ciśnienie wody jest nieuregulowanych.
- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamarzaniu lub jakichkolwiek na dowolną część dokumentu. Rozpuszczalniki organiczne spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!
- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

Informações Importantes – Portuguese

- Se este equipamento é usado numa maneira não especificada por Hoefer, Inc. que a protecção fornecida pelo equipamento pode ser comprometida.
- Este instrumento é projectado para uso de interior de laboratório só.
- Só acessórios e partes aprovaram ou forneceu por Hoefer, Inc. pode ser usada para operar, manter, e servicing este produto.
- Só usa um estoque de poder que é CE marcou ou segurança registrada por um nacionalmente reconhecido testando laboratório.
- A tampa de segurança deve estar em lugar antes de ligar o estoque de poder leva a um estoque de poder.
- Desliga todos controles de estoque de poder e desconecta os chumbos de poder antes de retirar a tampa de segurança.
- Circulam só água ou 50/50 glicol de água/ethylene pelo exchanger de calor se for assim equiparam. Não ligue o exchanger de calor a uma torneira de água nem qualquer fonte de refrigerante onde a pressão de água é não regulado.

- Nunca introduz anticongelante nem qualquer orgânico solvente em qualquer parte do instrumento. Orgânico solvente causará agressão irreparável à unidade!
- Não opera com temperaturas de buffer acima do máximo especificou especificações técnicas. Superaquecer causará agressão irreparável à unidade!

Información Importante – Spanish

- Si este equipo es utilizado en una manera no especificado por Hoefer, Inc. la protección proporcionado por el equipo puede ser dañada.
- Este instrumento es diseñado para el uso interior del laboratorio sólo.
- Sólo accesorios y partes aprobaron o suministraron por Hoefer, Inc. puede ser utilizado para operar, para mantener, y para atender a este producto.
- Sólo utiliza una alimentación que es CE marcó o la seguridad certificada por un nacionalmente reconocido probando el laboratorio.
- La tapa de la seguridad debe estar en el lugar antes de conectar la alimentación lleva a una alimentación.
- Apaga todos controles de alimentación y desconecta los plomos del poder antes de quitar la tapa de la seguridad.
- Circula sólo agua o 50/50 glicol de agua/etileno por el intercambiador de calor si ése es el caso equiparon. No conecte el intercambiador de calor a un toque de la agua ni cualquier fuente del líquido refrigerante donde la presión del agua está libre.
- Nunca introduce anticongelante ni algún solvente orgánico en cualquier parte del instrumento. Los solventes orgánicos causarán daño irreparable a la unidad!
- No opera con temperaturas de búfer encima del máximo específico especificaciones técnicas. Recalentar causará daño irreparable a la unidad!

Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefer, Inc. skyddet tillhandahöll vid utrustningen kan skadas.
- Detta instrument formges för inomhuslaboratorium användning bara.
- Bara medhjälpare och delar godkände eller levererade vid Hoefer, Inc. kan användas för fungera, underhålla, och servicing denna produkt.
- använder bara en kraft tillgång som är CE markerade eller säkerhet intygade vid en nationellt erkänd testande laboratorium.
- Säkerheten locket måste vara på platsen före koppla kraften tillgången blyen till en kraft tillgång.
- Vänder sig alla kraft tillgång kontroller av och kopplar bort kraften blyen före flytta säkerheten locket.
- Cirkulerar bara vatten eller 50/50 vatten/ethylene glycol genom värmen exchanger i så utrustad fall. Inte kopplar värmen exchanger till en vatten kran eller något kylmedel källa där vattnet trycket är unregulated.
- Inför aldrig kylvätska eller något organiska lösningsmedel in i någon del av instrumentet. Organiskt lösningsmedel ska orsaka irreparable skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE)

English



This symbol indicates that the waste of electrical and electronic equipment must not be disposed as unsorted municipal waste and must be collected separately. Please contact an authorized representative of the manufacturer for information concerning the decommissioning of your equipment.

French



Ce symbole indique que les déchets relatifs à l'équipement électrique et électronique ne doivent pas être jetés comme les ordures ménagères non-triées et doivent être collectés séparément. Contactez un représentant agréé du fabricant pour obtenir des informations sur la mise au rebut de votre équipement.

German



Dieses Symbol kennzeichnet elektrische und elektronische Geräte, die nicht mit dem gewöhnlichen, unsortierten Hausmüll entsorgt werden dürfen, sondern separat behandelt werden müssen. Bitte nehmen Sie Kontakt mit einem autorisierten Beauftragten des Herstellers auf, um Informationen hinsichtlich der Entsorgung Ihres Gerätes zu erhalten.

Italian



Questo simbolo indica che i rifiuti derivanti da apparecchiature elettriche ed elettroniche non devono essere smaltiti come rifiuti municipali indifferenziati e devono invece essere raccolti separatamente. Per informazioni relative alle modalità di smantellamento delle apparecchiature fuori uso, contattare un rappresentante autorizzato del fabbricante.

Spanish



Este símbolo indica que el equipo eléctrico y electrónico no debe tirarse con los desechos domésticos y debe tratarse por separado. Contacte con el representante local del fabricante para obtener más información sobre la forma de desechar el equipo.

Swedish



Denna symbol anger att elektriska och elektroniska utrustningar inte får avyttras som osorterat hushållsavfall och måste samlas in separat. Var god kontakta en auktoriserad tillverkarrepresentant för information angående avyttring av utrustningen.

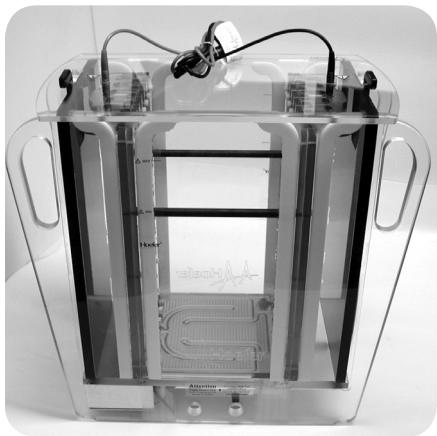


Fig 1. O Hoefer SE900.

Função e Descrição

O Hoefer® SE900 unidade eletroforese vertical laje gel destina-se a segunda dimensão da eletroforese 2D. Foi concebido para os sistemas de gel que utilizam um único buffer dentro do tanque de gel, tais como os descritos por Laemmli. Ambos os tampões utilizados nas câmaras anódicas e catódicas deve ser a mesma. Até 6 separações de gel segunda dimensão podem ser realizadas simultaneamente.

A separação primeira dimensão de 2-D electroforese proteína deve ser realizada em géis de gradiente de pH imobilizadas, referido como IPG tiras neste manual. O IEF100 Hoefer pode ser usado para gerar separações primeira dimensão na qual as proteínas são separadas por p_i . As tiras concentradas são transferidos para o gel SE900 segunda dimensão-laje para a separação de tamanho.

O SE900 é oferecido como um sistema de gel auto-cast. Os SE900 cassetes de vidro são 28 cm de largura e 21 cm de comprimento produzir géis de 25 cm x gama de até 20 cm de altura, e 1 mm de espessura. O SE900 também irá realizar placas de vidro e gel de outros fornecedores.

O SE900 é o tanque de separação como uma unidade autónoma. O SE900-1.0 compreende o tanque de separação, um rodízio de gel múltipla, e seis cassetes de vidro.

Esta declaração de conformidade é válida apenas para o instrumento quando ele é:

- Usado em locais de laboratório,
- Usado como entregues a partir de Hoefer, Inc., exceto para alterações descritas no manual do usuário, e
- Ligado a outros CE-rotulados instrumentos ou produtos recomendados ou aprovados por Hoefer, Inc.

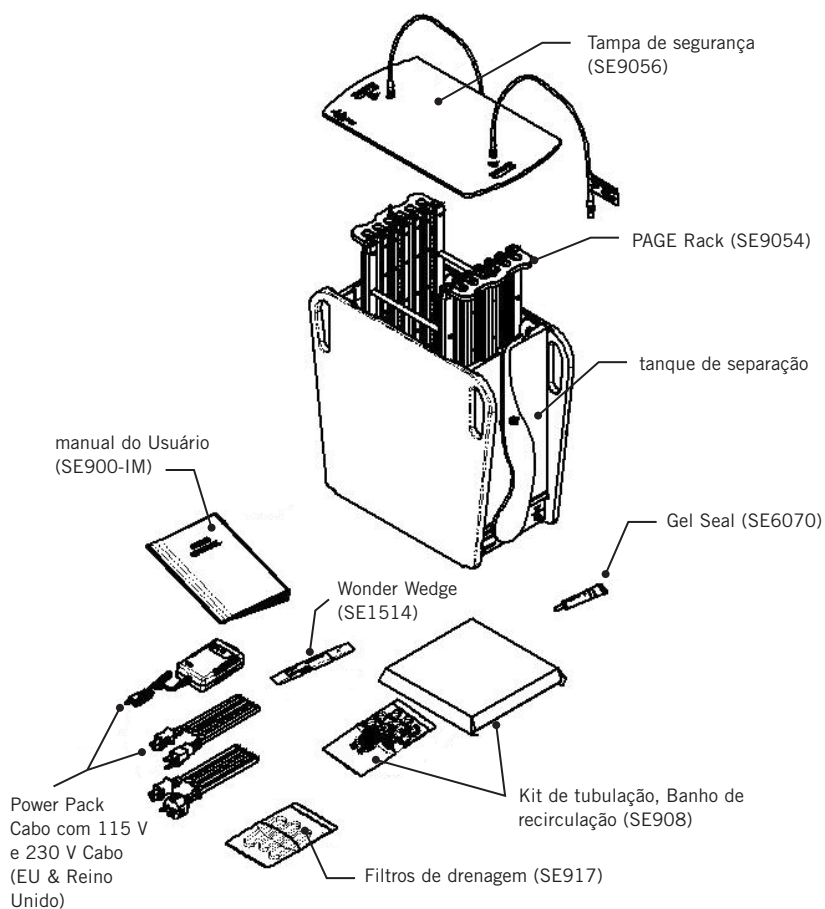
Especificações

Gel tamanho da placa (L x A):	28 x 21 cm
Tamanho de gel:	25 x 20 cm
Watt máximo:	100 W
Máximo volt:	600 V
Máximo ampères:	1000 mA
Temperatura máxima:	45 °C
As condições ambientais de operação:	Uso interior: 4 - 40 °C Humidade: até 80% Altitude: até 2000 m Categoria Instalação: II Grau de poluição: 2
Pressão máxima da água de recirculação:	12 psi
Dimensões (L x A x P):	43 x 43 x 20 cm
Peso:	10,1 kg
Taxa de entrada:	100-240 V 50-60 2A Hz
Certificações do produto:	EN61010-1: 2001, CE

Desembalar e Inventário

Desembrulhe todos os pacotes com cuidado e comparar o conteúdo com a lista de embalagem, certificando-se todos os itens já chegaram. Se qualquer parte estiver faltando, entre em contato com seu escritório de vendas local. Inspeção todos os componentes de danos que possam ter ocorrido quando o aparelho estava em trânsito. Se qualquer parte estiver danificado, contate imediatamente a transportadora. Certifique-se de manter todo o material de embalagem para pedidos de indenização ou de usar caso seja necessário para devolver a unidade.

Fig 2. O SE900. O tanque de separação, rack PAGE, e tampa de segurança.



O SE900-1.0. O sistema, incluindo o SE900 acima rodízio gel, múltipla, (6) cassetes de vidro.





Cuidado! Nunca utilizar água / álcool ou misturas anticongelante comercial como o fluido de arrefecimento no banho de água em recirculação. Isto irá causar danos irreparáveis ao tanque de separação.

Nota: O tanque de separação é quimicamente resistente a comuns buffers electroforéticos, mas não a solventes orgânicos ou de ácidos fortes e álcalis.

Temperaturas acima de 45 °C pode causar acrílico para deformar.

Nota: Não há necessidade de uma barra de agitação magnética. As bombas circular o tampão uniformemente.

Tanque de separação

O tanque de separação é transparente para permitir a visualização dos corantes de acompanhamento durante a electroforese.

A base da câmara de contém uma superfície de refrigeração de cerâmica, que ajuda a refrigerar eficientemente o tampão no interior do tanque. Cuidados devem ser tomados para não deixar cair nada diretamente sobre a placa cerâmica. Uma bomba de sistema tampão forças através da superfície de arrefecimento e circula o tampão através da região central do tanque, mantendo uma temperatura constante nas cassetes de gel. Portas de arrefecimento pode ser ligado a uma temperatura regulada de recirculação banho de água para arrefecimento activo do tanque de separação.

O banho de água em recirculação deve ter uma pressão de saída máxima de 12 psi. Em água ou uma mistura até 50% de etileno glicol em água no banho de recirculação.

Nunca ligar a uma fonte de desregulada da água, tais como uma água da torneira.

Fig 3. Tanque de separação.

Nota: A camada de luz de vedação gel foi aplicado no interior dos canais guia no tanque de separação para permitir que a cremalheira PAGE para deslizar para dentro do tanque facilmente. Não lavar. Reaplique quando necessário, ver as instruções na página 9, Seal Gel.





Fig 4. Key alinha-se com uma característica de acasalamento na cremalheira PAGE para assegurar orientação apropriada.

Segurança Travas

Fechos de segurança são montados sobre os lados do tanque. Um é vermelho eo outro é preto para ajudar a orientar os géis com correctamente no interior do tanque de gel. Por razões de segurança, a parte superior do bloqueio de segurança fixa a tampa durante a electroforese, e na parte inferior impede o acesso à porta de escoamento. Isso evita risco elétrico de drenagem tampão eletrificada. Uma chave na parte inferior do tanque de separação (Fig. 4) se alinha com uma característica de acasalamento na cremalheira PAGE (Fig. 6) para assegurar orientação apropriada.

A porta de drenagem está incluído no fundo preto atrás do intertravamento de segurança. O dreno é protegido por um filtro removível que vai bloquear partes de géis de entupimento da porta de escoamento. Este filtro deve ser removido e lavado periodicamente.

PAGE Rack

O rack serve para três propósitos:

1. Ele divide o tanque em câmaras anódica e catódica e suportes e sela as cassetes de gel verticalmente dentro do tanque de separação com juntas de borracha.
2. Ele mantém os eletrodos de platina fios que conduzem a corrente durante a eletroforese.
3. Características na base de criar o padrão de circulação para manter a temperatura constante, e proporcionar um arrefecimento eficiente se o SE900 está ligado a um banho de água em recirculação.

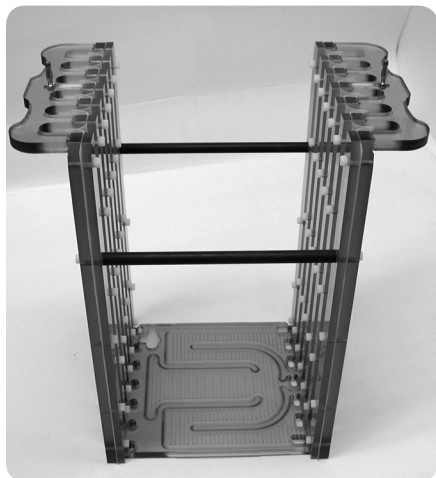


Fig 5. PAGE rack.

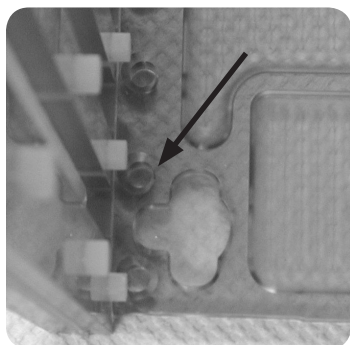


Fig 6. Recurso de orientação.



Fig 7. Plug Banana.

Os PAGE localiza cremalheira em quatro canais nos lados claros do tanque. O rack PAGE tem apenas uma orientação adequada. Um entalhe na base (Fig. 6) alinha-se com uma chave no tanque de separação. Se o rack PAGE é inserido incorretamente, a circulação do buffer não irá funcionar corretamente, ea tampa de segurança não vai caber.

Os eletrodos terminar em fichas de banana que se conectam a tampa de segurança (Fig. 7).

Slots com juntas de borracha aceitar as cassetes de gel e mantê-los verticalmente no tanque de separação. Se uma das seis posições está vazio, os vedantes de borracha eliminar fugas eléctricas sem a necessidade de cassetes em branco ou enchimentos de espaço.



Cuidado! Sempre instale a tampa de segurança antes de usar!



Fig 8. Tampa de segurança.

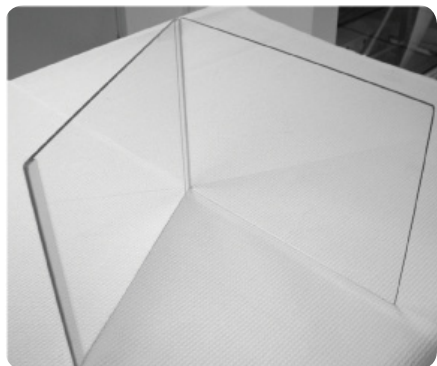


Fig 9. SE9102-1-1.0 cassete de vidro.

Tampa de segurança

A tampa de segurança mantém os fios de alta tensão que se conectam a uma fonte de alimentação externa (não fornecida). A tampa é mantida no lugar por os fechos de segurança durante a electroforese (Fig. 8).

Os códigos de cores leads de alta tensão têm seguros 4 velas mm que interagem diretamente com fontes de alimentação Hoefer. Adaptadores podem ser necessários para conectar o SE900 para outras fontes de alimentação. Verifique a conexão antes de usar o SE900.

Cassetes de vidro

As placas de vidro são 28 cm de largura × 21 cm de comprimento. As cassetes de ter de 1 mm de espessura espaçadores de vidro coladas no lugar e são articuladas para a montagem fácil (Fig. 9). Seis fitas de vidro são incluídas com cada SE900-1.0. Cassetes adicionais podem ser pedidos separadamente como SE9102-1-1.0.

É importante que as cassetes de ser posicionado com o lado da dobradiça para baixo no tanque de separação durante a electroforese.



Fig 10. Rodízio gel múltipla.

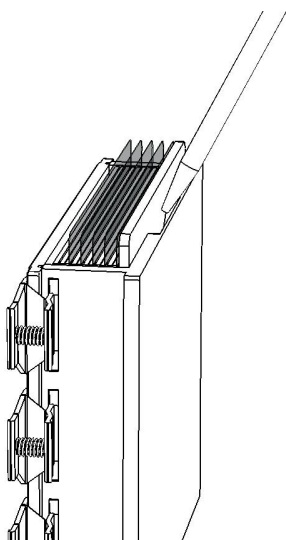


Fig 11. Multicaster linha de enchimento.

Rodízio Gel múltipla

O rodízio de gel múltipla é incluído com o SE900-1.0 (Fig. 10), e podem ser ordenados separadamente como o SE915.

O rodízio de gel múltipla é utilizado para converter até sete 1 mm géis espessos, ao mesmo tempo. Folhas separadoras são colocadas entre as cassetes de vidro antes de vaziar para manter as cassetes se colem umas às outras depois de polimerização.

Na conversão de géis percentagem única mão, verter a solução de gel para baixo o canal na parede traseira do lançador (Fig. 11). As cassetes vai encher a partir do fundo a produção de géis de melhor qualidade, e reduzir as chances de bolhas de ar armadilhas.

Na conversão de géis de gradiente, a solução de gel deve ser lentamente bombeado através da porta na parte inferior. O bujão triangular na parte inferior deve ser removido. A região triangular constitui um espaço para o gel gradiente para se espalhar e entrar as cassetes de vidro uniformemente.

Ao usar sobreposições butanol, tente minimizar o contato de butanol com o multicaster plástico. O contato prolongado com butanol pode mania do plástico do multicaster.

Space Saver

O Space Saver é usado para encher o espaço dentro do rodízio gel múltipla, e reduzir a quantidade de solução de gel. Um espaço poupador é equivalente em espessura para uma cassete de vidro de 1,0 mm.

Na conversão de seis 1,0 mm géis espessos, utilizar uma poupança de espaço na parte de trás do rodízio gel múltipla.

Um espaço saver está incluído no rodízio gel múltipla. Espaço adicional savers (SE912) podem ser encomendados em separado, se inferior a 6 géis são rotineiramente elenco.

Folhas separadoras

As folhas têm uma película protectora em ambos os lados, que devem ser removidos antes da utilização.

Wonder Wedge

O Wonder Wedge é útil para erguer além das placas de vidro após eletroforese.

Gel Seal

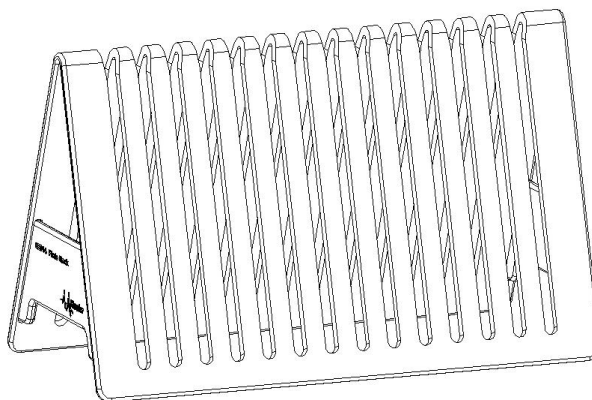
GelSeal é usado no tanque de separação para lubrificar os canais para a cremalheira PAGE, e ajudar a deslizar no lugar. Se a cremalheira PAGE começa a furar medida que é inserido para dentro do tanque, aplicar uma camada fina de gel de vedação para o interior dos quatro canais com um dedo enluvado.

Gel Seal é também usado na junta no rodízio gel múltipla.

Plate Rack

O Plate Rack (SE914) podem ser adquiridas separadamente. É muito conveniente para manter as cassetes de vidro durante a montagem do rodízio gel múltipla, e quando se aplica tiras IPG para o início dos géis segunda dimensão.

Fig 12. Plate rack, SE914.



Instruções de operação

Nota: Não remova a camada de gel de vedação do interior dos canais brancos que a posição do rack de PAGE.

Nota: Não execute as bombas seco.



Fig 13. Painel localizado no lado inferior direito do SE900. O fornecimento de energia se conecta à entrada de fornecimento de energia à direita. O interruptor de ON / OFF alternância está do lado esquerdo.

Configuração do tanque de separação

- 1 Posição do SE900 com o negro de segurança de encravamento sobre a esquerda, como mostrado na Fig. 20 na página 17.
- 2 Coloque o tanque de separação perto de uma pia para buffer de fácil drenagem e eliminação.
- 3 Antes de usar, pela primeira vez, desmontar a unidade e lava-se com uma solução diluída de um detergente de laboratório. Lavar cuidadosamente primeiro com água e depois com água destilada.
Placas de vidro devem ser bem lavados e secou-se completamente, antes de fundição géis.
- 4 Conecte uma extremidade do bloco de poder na entrada de alimentação na parte inferior do lado direito do SE900. Conecte a outra extremidade a uma tomada aterrada apropriada.
As bombas de circulação são ligados com um interruptor na parte inferior do lado direito do SE900 (Fig. 13).
- 5 Ligue as portas de refrigeração para um banho de água externo de recirculação, se arrefecimento activo é desejada.

Nota: Se desejado, as etiquetas impressas em papel de filtro pode ser incluído na cassete. Folhas de papel de filtro # 1 Whatman pode ser usado para imprimir números de ID de gel, cortados em pedaços pequenos e posicionado nos cantos inferiores da cassete. Quando as soluções de gel são adicionados os números irá ser polimerizado na matriz de gel permitindo a fácil identificação de géis de segunda dimensão.



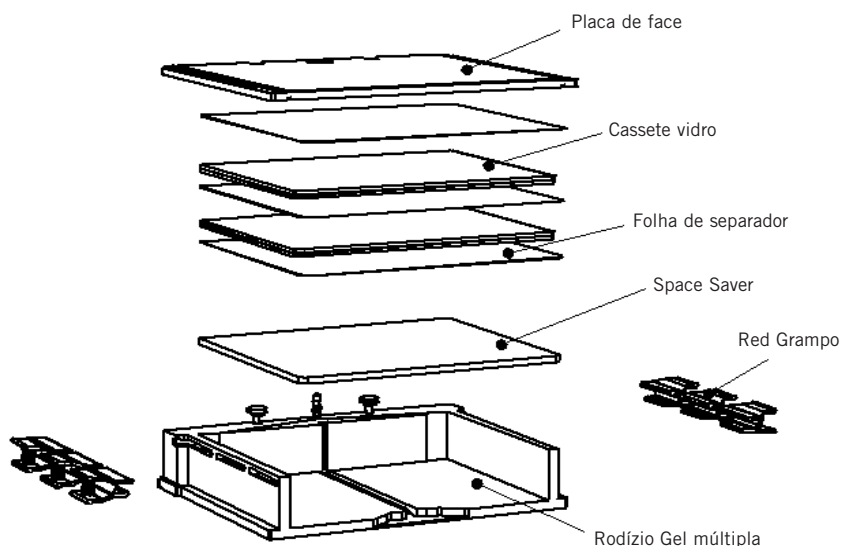
Cuidado! Bordas de vidro pode ser afiada para lidar com cassetes de vidro com cuidado.

Usando o Caster Gel múltipla

Fundição Géis Homogêneos

- 1 Certifique-se o rodízio e as cassetes de vidro estão limpas e secas.
- 2 Feche cada uma das fitas de vidro certificando-se de alinhar as bordas flush.
- 3 Desmonte o rodízio gel limpa múltipla, e estabelecer a volta do rodízio plana no banco.
- 4 Os dois parafusos do frontal deve ser solto, mas pode permanecer no lugar.
- 5 A junta triangular deve ser colocado no lugar.
- 6 Coloque o protetor de espaço na parte de trás do rodízio.
- 7 Coloque uma folha de separação sobre a proteção do espaço.
- 8 Colocar uma cassete de vidro na parte superior da folha separadora primeiro.
- 9 Coloque uma folha de separação sobre o chassi do vidro.
- 10 Continue a empilhar alternando cassetes de vidro e folhas de separação para cada elenco gel estar.
- 11 Termine a montagem, adicionando folhas separadoras suficientes para preencher o rodízio logo acima flush.
- 12 Unte levemente a junta no painel frontal com selo gel para garantir um elenco sem vazamento. Substitua a junta no painel frontal, sem ajuntar ou esticar a junta.
- 13 Termine a montagem com uma folha de separação.
- 14 Deslize o painel frontal no lugar sob os dois parafusos e aperte os parafusos.
- 15 Coloque os 6 grampos vermelhas, 3 de cada lado, ao longo dos lados do rodízio.
- 16 Certifique-se a tampa está na porta inferior do rodízio antes de derramar géis à mão.
- 17 Coloque o rodízio montado na posição vertical sobre uma superfície plana.

Fig 14. Multicaster montagem.





Cuidado! A acrilamida é uma neurotoxina. Extremo cuidado deve ser utilizado no manuseamento e preparação de soluções de acrilamida.

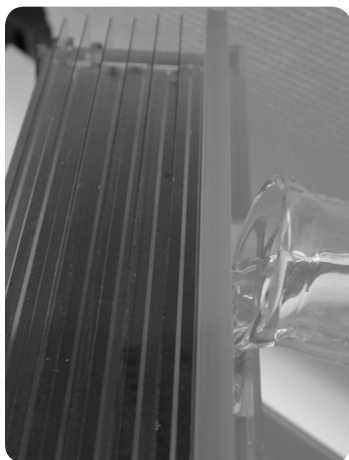


Fig 15. Verter a solução numa corrente lenta e contínua.

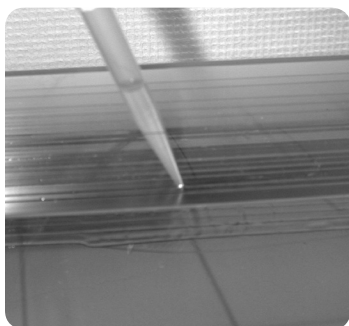


Fig 16. Aplicando sobreposição.

Nota: Um gel de empilhamento pode ser usado, se desejado, mas não é necessário.

Nota: É necessário para remover quaisquer sobreposições de butanol antes de armazenar os géis no refinado. Deixando butanol no refinado pode levar a branqueamento e fragilidade do acrílico.

Preparar a solução de acrilamida

- 1 Veja o Apêndice A para SDS-PAGE receitas. Para moldar seis SE9102-1-1.0 géis, 400 ml é necessário.
- 2 De-aerjar a solução de gel, durante 5 minutos. Adicionar o (iniciador) 10% w/v APS e do (catalisador) 10% v/v TEMED* imediatamente antes da fundição dos géis. Verter a solução de gel dentro do canal na parte de trás do rodízio. A solução irá fluir para baixo no canal e encher os cassettes a partir do fundo (Fig. 15).

*O TEMED é diluída a 10% para uma melhor distribuição durante a mistura das soluções de gel.
- 3 Despeje a solução como um fluxo lento e contínuo. Tentar minimizar a introdução de bolhas de ar no fluxo.
- 4 Encha solução para 0,5-1 cm abaixo do topo da placa de vidro para permitir espaço para a tira de IPG e um selo de agarose.
- 5 Sobrepor cada gel com uma fina camada de água saturada de n-butanol ou tampão de gel de diluídos para obter a melhor superfície no topo do gel. Lentamente aplicar a sobreposição perto da superfície do gel a partir de um lado, tendo o cuidado de evitar a mistura. Permitir que a sobreposição para fluir ao longo da superfície nu (Fig. 16).
- 6 Permitir que o gel para polimerizar aproximadamente uma hora.
- 7 Remover a sobreposição por lavagem da superfície do gel, por várias vezes com água destilada. Utilize uma solução tampão gel diluído como um enxágüe final.

- 8 **Opcional de armazenamento:** Os géis segunda dimensão podem ser temporariamente armazenados no rodízio.

Os géis segunda dimensão também pode ser removido do rodízio e armazenadas de 1-2 dias submersas em tampão de gel antes da utilização. Existe o risco de que, com um armazenamento prolongado, os géis de água absorvem, ea cassete parcialmente aberta, levando a distorcidas frentes de corantes.

Géis de gradiente

Géis de gradiente linear pode ser convertido usando um acessório opcional, o Criador Hoefer Gradiente SG500. A mistura SG500 percentagem baixa e soluções gel de alta percentuais que são bombeados para a porta na parte inferior do rodízio gel múltipla usando uma bomba peristáltica.

Nota: É uma boa idéia para praticar com a água ea bomba peristáltica para determinar empiricamente os volumes e as taxas de fluxo para lançar géis de gradiente boas.

Nota: Evite bolhas de ar na tubulação da bomba, as bolhas de ar irá interferir com a formação de gradiente adequado.

Nota: A solução de deslocamento é necessária. O gradiente não irá formar corretamente sem deslocar a acrilamida por dentro das cassetes. É também ajuda a manter a partir de acrilamida a polimerização na tubagem e no fundo do rodízio, simplificando-se limpa. A solução de deslocamento não devem entrar na parte inferior das cassetes.

Derramando uma Gel Gradiente Linear

- 1 Monte o rodízio gel múltipla como descrito na página 11, com as seguintes exceções:
 - Não inserir a junta de borracha triangular na parte inferior do rodízio de gel.
 - Retire a tampa da porta de entrada inferior.
- 2 Conecte uma extremidade do tubo de laboratório grau à porta de saída SG500. Inserir o tubo através de uma bomba peristáltica, e fixar a outra extremidade para a porta de entrada do painel frontal rodízio SE915 múltipla gel.
- 3 Calcular o volume de solução de monômero necessário. Dividir o volume total em meia e preparar este volume de ambas as soluções de maior e menor percentagem de acrilamida.
- 4 **Opcional:** Ajustar a solução de acrilamida percentagem mais elevada para 15% (w/v) de sacarose ou de até 25% (v/v) de glicerol para melhorar camadas.
- 5 Verter a percentagem mais elevada, ou solução de acrilamida pesada, para dentro da câmara SG500 mais afastado da saída. Abra a torneira apenas o suficiente para deslocar o ar entre as câmaras e em Fechar.
- 6 Verter a percentagem inferior, ou solução de isqueiro acrilamida, para dentro da câmara de mistura, a câmara com a saída SG500.
- 7 Local barra de agitação para dentro da câmara de mistura. Coloque o fabricante de gradiente para um agitador magnético, e começam a agitação a uma taxa que se mistura bem mas não introduz bolhas na solução.
- 8 Ligue a bomba peristáltica para um nível baixo, e abra a torneira entre as duas câmaras SG500.
- 9 A solução de gel deve lentamente camada na região triangular na parte inferior do rodízio gel múltipla, e encher as cassetes uniformemente a partir do fundo para o topo.
- 10 Uma vez que quase toda a solução saiu da pausa fabricante de gradiente a bomba temporariamente, e encher a máquina de gradiente com ~200 ml da solução de deslocamento. Reiniciar a bomba e bombear a solução através do tubo, forçando as soluções de acrilamida-se para as cassetes de gel até que a altura desejada é alcançada. Parar a bomba.
- 11 Sobrepor cada gel com 1 ml de água saturada de n-butanol ou tampão de gel de diluídos para obter o melhor superfície de gel de topo. Lentamente fornecer a solução de sobreposição de um lado, minimizando a mistura, e permitir que a sobreposição de fluir através da superfície de topo nu.
- 12 Permitir que os géis para polimerizar durante um mínimo de uma hora. Após a polimerização, deitar fora a sobreposição e lavar a superfície do gel várias vezes com água destilada.
- 13 Preparar a solução de monômero de empilhamento de gel. Verter o gel de empilhamento na parte superior do gel de resolução. Permitir um mínimo de uma hora para o gel de empilhamento para polimerizar.

Nota: O Rack Plate, SE914, é um acessório muito útil para manter as cassetes de gel quando desmontar o rodízio gel múltipla.

Desmontagem do Caster Gel múltipla

- 1 Coloque o rodízio para baixo em sua parte traseira em uma bandeja ou pia.
- 2 Remova as braçadeiras vermelhas e parafusos de fixação do espelho, para quem a usa.
- 3 Deslize o painel frontal.
- 4 Remover cassetes de gel e folhas de enchimento. Enxaguar fora das cassetes de gel para remover o excesso de acrilamida polimerizada.
- 5 Limpar os componentes múltiplos rodízio de gel com um detergente de laboratório. Enxágüe e deixe secar ao ar.

IPG Equilíbrio Faixa

Antes de tiras IPG são colocadas no topo do gel segunda dimensão, o buffer nas tiras precisa de ser substituído com um tampão apropriado para PAGE.

Equilibrar IPG tiras em buffers de equilíbrio adequados. Tipicamente, uma equilibrção de dois passos (primeiro com DTT e um segundo com iodoacetamida) dá melhores resultados do que um único passo DTT equilíbrio. O procedimento seguinte é recomendada.

Procedimento de equilíbrio

- 1 Descongelar duas alíquotas da solução de equilíbrio.
- 2 Adicionar 10 mg / ml de DTT uma solução.
- 3 Colocar as tiras IPG na bandeja de reidratação / atingir o equilíbrio, ou um tubo de vidro.
- 4 Adicionar 6,5 ml de solução a cada slot contendo uma tira de IPG.
- 5 Coloque em roqueiro durante 10-15 minutos.

Após atingir o equilíbrio, descarte a solução de equilíbrio primeiro de um modo adequado.

- 6 Adicionar 25 mg / ml iodoacetamida (IAA) para a segunda alíquota de solução de equilíbrio.
- 7 Adicionar 6,5 ml de solução a cada slot contendo uma tira de IPG.
- 8 Coloque em roqueiro durante 10-15 minutos.
Após atingir o equilíbrio, descarte a solução de equilíbrio segundo em uma forma apropriada.

Equilibrção seguinte, as tiras IPG são colocados no topo do gel segunda dimensão, e selado em posição com a sobreposição de agarose.

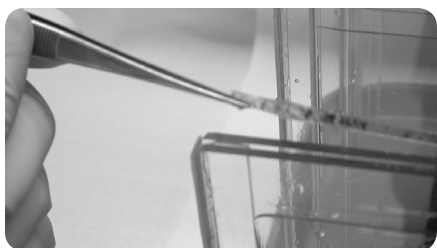


Fig 17. Aplicando tira IPG para gel segunda dimensão.



Fig 18. Adicionando agarose overlay.

Vedação da IPG ao Gel Segunda Dimensão

- 1 Remover o líquido residual a partir do topo do gel segunda dimensão inclinando a cassete e blotting um canto com um tecido macio.
- 2 Aplicar a tira IPG equilibrada para a superfície do gel (Fig. 17). Uma tira de plástico fino é útil para suavemente assento do IPG directamente contra a superfície do gel, segunda dimensão. Não pressione a faixa em que o gel ou os resultados podem ser distorcidos. Evitar aprisionando bolhas de ar entre a tira eo gel segunda dimensão.
- 3 Selar a tira IPG no lugar através da aplicação de calor, agarose fundida sobre a tira de IPG (Fig. 18). Veja o Apêndice A para a receita sugerida. Evitar a introdução de bolhas de ar durante a aplicação do revestimento.
- 4 Permitir que a agarose solidificar antes de colocar os géis para o tanque de separação.



Cuidado! Não execute as bombas de circulação sem tampão no tanque de separação.

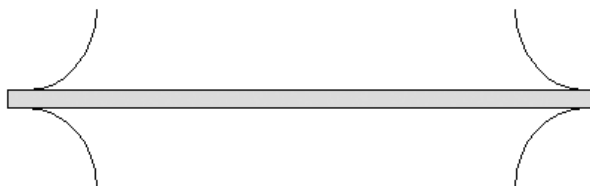
Cuidado! Cassetes de vidro não deslizar facilmente em um tanque seco. Preencha com o primeiro buffer e usar água ou tampão para ajudar a lubrificar as cassetes de vidro e protetores de borracha.

Separação de Páginas

- 1 Remover a tampa de segurança.
- 2 Encha o tanque com 12 litros de tampão de eletroforese 1X. Isto pode ser preparado no tanque de separação por adição de estoque de 10X e água. Suavemente levantar e baixar a cremalheira PAGE para ajudar na mistura em tampão.
- 3 Ligue as bombas de circulação. O interruptor está localizado na parte inferior do lado direito do SE900.
- 4 Inserir totalmente a cremalheira PAGE para o fundo do tanque de separação, certificando-se as características de codificação estão alinhados.
- 5 Insira géis nos slots do rack PAGE. Existe uma orientação específica para as cassetes de gel. A dobradiça de borracha deve estar no fundo do tanque de separação. A tira de IPG selado deve ser à esquerda, o lado com o preto intertravamento de segurança, o chumbo preto de alta tensão na tampa de segurança (Fig. 18).
- 6 Verificar que as duas extremidades do gel são expostos ao tampão. As placas de vidro deve ser centrado (Fig. 19).

Fig 19. Orientação gel.

Bom posicionamento, centrado entre abas.



Mau posicionamento, selos aba fechada no final do gel, a corrente não pode chegar ao gel.

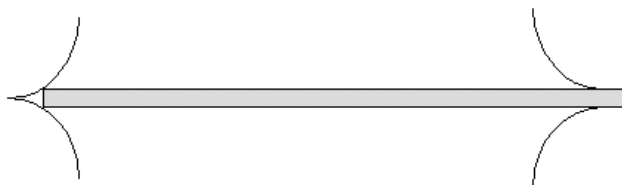


Fig. 20. Orientação gel.

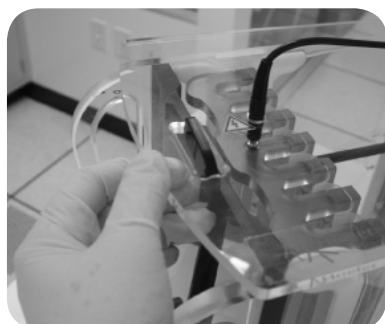
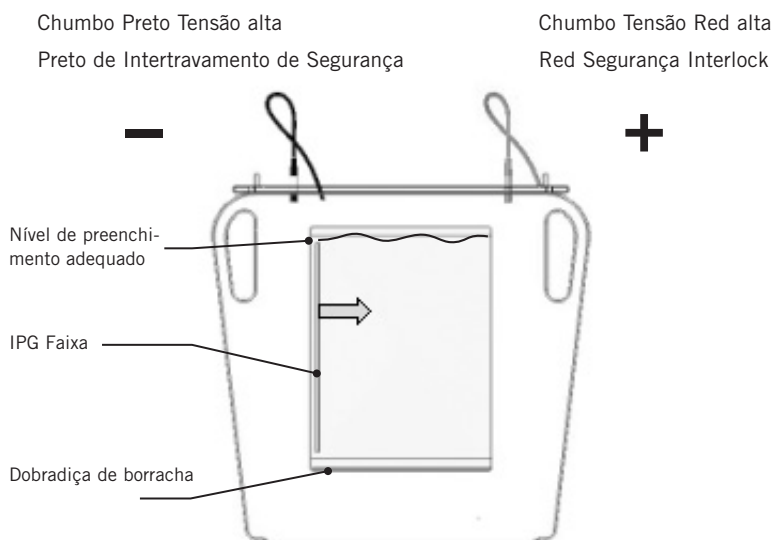


Fig. 21. Deslize a tampa de segurança no lugar.

Nota: O chumbo tensão preto elevado deve estar no mesmo lado que a tira de IPG.

- 7 Depois de todos os géis são colocados no tanque, verificar o nível de tampão no tanque de separação. **O nível adequado é de cerca de meia altura do espaçador na extremidade superior da cassette gel.** O nível de buffer também deve estar abaixo da linha de preenchimento máximo.
- 8 Colocar a tampa de segurança para o tanque de separação na orientação correcta, movendo e ajustando o topo dos fechos de segurança através das ranhuras sobre a tampa, e ligando a alta tensão conduz às fichas de banana. A trava de segurança vai garantir a tampa no lugar (Fig. 21).
- 9 Ligar a alta tensão conduz a uma fonte de alimentação capaz de fornecer pelo menos 300 V, 500 mA, 90 W, tal como o Hoefer PS300-B. Adaptadores podem ser necessários se utilizar outras fontes de alimentação.
- 10 Definir a fonte de alimentação para os valores desejados e iniciar a execução.

Nota: Para o dia corre definir a fonte de alimentação para 80 mA / gel. Ao executar um tanque cheio de 6 géis definir a fonte de alimentação para 480 mA. Funcionamentos deve estar completa em cerca de 6 horas. A tensão e potência deve ser definido como dos seus valores máximos, 600 V e 100 W, respectivamente, de modo a não limitar a corrente.

Para corridas durante a noite (18 horas), definir a fonte de alimentação para 80 V constante. A corrente e potência deve ser definido não superior a 500 mA e 100 W.

- 11 A execução está completa quando o corante de rastreio atingiu o lado oposto dos géis.
- 12 Desligar a fonte de alimentação, as bombas de circulação, eo banho de água externo de recirculação, se a ser utilizado.

Nota: NÃO use as bombas de circulação de buffer para ajudar o dreno do tanque mais rápido.

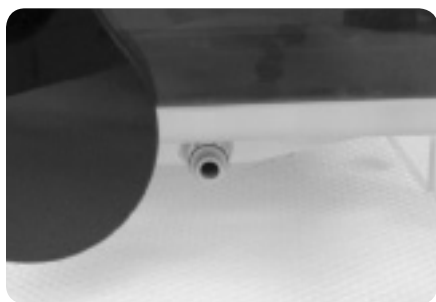


Fig 22. Escorra porta.

Após a electroforese

- 1 Desligue os fios para o fornecimento de energia.
- 2 Retire a tampa, movendo as travas de segurança ao levantar a tampa.
- 3 Levante cuidadosamente a cada gel. As cassetes estão escorregadias. Não utilizar a cremalheira PAGE como um gel de realização cremalheira como as placas podem deslizar para fora das juntas de borracha quando depositados ou movido.
- 4 Coloque a cassette de vidro sobre uma superfície plana e limpa.
- 5 Use o Wonder Wedge abrir suavemente o lado nonhinged da cassette gel.
- 6 Utilizar a Wonder Wedge suavemente para cortar o gel de distância dos espaçadores laterais.
- 7 Cuidadosamente remover o gel a partir da cassette e colocar em soluções de coloração desejados.
- 8 Anexar um comprimento de tubagem de tempo suficiente para alcançar uma pia para o conector de drenagem (Fig. 22). Insira o conector para o dreno na parte inferior do lado esquerdo da SE900, atrás da trava de segurança preto.
- 9 Permitir que o tanque para drenar por gravidade. O tanque será melhor drenagem por ter a linha de drenagem, pelo menos, 18 polegadas (50 cm) abaixo do tanque.
- 10 Uma vez drenada, re-inserir rack de página vazia. Encha o tanque com água deionizada, ligue bombas e circule por 5-10 minutos.
- 11 Desligue bombas e escorra novamente.
- 12 Remover a cremalheira PAGE e permitir que os componentes a secar ao ar.
- 13 Remover e lavar qualquer acrilamida residual a partir do filtro de drenagem no fundo do tanque de separação. Substituir o filtro de escoamento de modo que é abaixo de descarga.

Cuidados e Manutenção

- Manuseie o rack PAGE com cuidado para evitar danos aos plugues banana e fios dos eletrodos.
- Não soltar itens para o prato de cerâmica, na parte inferior do tanque de separação.
- Se necessário, limpe o tanque com detergente neutro e enxaguar com água destilada. Deixar secar ao ar.
- Limpar placas de vidro e espaçadores com uma solução diluída de um limpador de laboratório, tais como RBS-35™.
- Lavar cuidadosamente com torneira e água destilada. Lidar com as placas com cuidado para evitar estilhaçamento e não puxe ou salientar a dobradiça de borracha.
- Não autoclave quaisquer componentes do sistema.
- Não aqueça qualquer parte acima de 45 °C.
- Não utilize solventes orgânicos, abrasivos, soluções de limpeza fortes ou ácidos fortes ou bases fortes para limpar as câmaras.

Se a cremalheira PAGE começa a furar medida que é inserido para dentro do tanque, aplicar uma camada fina de gel de vedação para o interior dos quatro canais com um dedo enluvado.

Serviço de Assistência Técnica e Reparação

Hoefer, Inc. oferece suporte técnico completo para todos os nossos produtos. Se você tem alguma dúvida sobre como usar este produto, ou gostaria de mandar consertá-lo, por favor ligue ou envie por fax seu Hoefer local, Inc. representante.

Solução de problemas

Problema	Solução
Problemas de qualidade: Rodízio vazamentos Gel	Se a pilha é demasiado alto, a placa frontal pode não assento firmemente contra a junta. Remover placas de preenchimento ou cassetes, até os selos de vedação. Aplicar uma fina película de vedação gel para a junta de espuma cada vez que o aparelho é utilizado. Verifique a junta de espuma para rachaduras ou cortes e substitua se necessário. Placa de face Caster não devidamente alinhados. Verifique se o painel estiver uniformemente posicionadas em rodízio.
Polimerização gel pobre ou incompleto	Use apenas o estoque recente dos reagentes de alta qualidade. APS reagentes ou soluções são antigos e perdem a sua actividade quando expostos à humidade. Maquiagem APS diariamente. Se o persulfato de amónio seco não crepitação quando a água é adicionado a ela, substituir o produto com estoque fresco. Reagente loja bem fechado e em um dessecador para evitar a absorção de umidade. Remover o oxigénio a partir do ambiente de gel. Desgaseificar a solução de monómero de 5 minutos antes de verter e depois sobrepor a superfície do gel com água saturada de n-butanol. Permitir que as soluções de gel de vir até à temperatura ambiente antes de fundição (um mínimo de 20 °C, especialmente para géis de baixa% T). Aumentar a APS e Temed por 30-50%. Soluções com valores extremos de pH ácido (especialmente) não pode polimerizar. Verificar o pH dos tampões de gel. Polimerização pobre com os espaçadores. Assegure-se para limpar as placas bem nas bordas espaçadoras, que os lados são livres de sujidade ou gordura, e que o gel é totalmente polimerizado antes da remoção do rodízio.
Gel é muito mole, demasiado frágil ou brancas listras verticais proteína	Ajustar a concentração reticulador. Reticulador deve estar em C 2,6% para géis de SDS-padrão onde $C = (g \text{ bis} \times 100) \div (g + g \text{ de monómero bis})$
Gel contém redemoinhos	Indica correntes de convecção durante a polimerização, geralmente a partir de polimerização muito rápido. Se gel polimerizado em <10 min, o catalisador muito. Reduzir a concentração de persulfato de amónio e TEMED em 25%. Se gel polimerizado em > 50 min, não catalisador suficiente. Aumentar a concentração de persulfato de amónio e TEMED de 50%. Certifique-se de soluções de gel estão perto de temperatura ambiente quando fundição.
Géis lançados simultaneamente são de tamanhos diferentes	Esperar um minuto antes sobrepondo cada gel para que a solução "resolve". Utilizar a mesma quantidade de sobreposição em cada gel de separação. Adicionar a sobreposição uniformemente em toda a superfície do gel.

Problema	Solução
Camadas Gradiente géis-desigual	Adicionar sacarose (15% de concentração final) ou de glicerol (25% de concentração final) à solução de monómero por cento de alta. Soluções bombeado muito rápido. Adicionar uma pequena quantidade de azul de bromofenol para a solução pesado para controlar a formação de gradiente. Viabilizar soluções para calçar sem misturar em excesso. Cuidado! Quantidades excessivas de azul de bromofenol inibir a polimerização.
Run Problemas Eletroforese:	
Dye curvas da frente para cima (risos) nas bordas	Isto indica a corrente de fuga com os espaçadores. Assegure-se para limpar as placas bem nas bordas espaçadoras, que os lados são livres de sujidade ou gordura, e que o gel é totalmente polimerizado antes da remoção do rodízio. Os géis foram executados com o lado da dobradiça para o topo do tanque. A dobradiça também sela a aresta inferior do gel a partir de fugas eléctricas. É melhor colocar cassetes lado da dobradiça para baixo para obter as retas frentes de corantes. Tampão inadequada no topo. Assegure-se o buffer é preenchido maneira ½ através do espaçador superior para fazer o campo mais ainda eléctrico através do gel e evitar que o gel de secar. Demasiada tampão no topo do gel. Assegure-se o buffer é preenchido maneira ½ através do espaçador superior para fazer o campo mais ainda eléctrico através do gel e evitar a corrente de contornando sobre o gel na parte superior. Verifique recirculação tampão está ligado e funcionando corretamente. Utilizar um banho de água refrigerada para manter mesmo tampão temperatura no interior do tanque. Diminua a configuração da corrente ou tensão.
Dye curvas da frente para baixo (carrancas) nas bordas	Polimerização pobre com os espaçadores. Assegure-se para limpar as placas bem nas bordas espaçadoras, que os lados são livres de sujidade ou gordura, e que o gel é totalmente polimerizado antes da remoção do rodízio.
Fonte de alimentação detecta vazamento de corrente	Rachado ou quebrado placa de alumina na base do tanque de separação. Fale Hoefer ou seu distribuidor.
Pobre de drenagem do tanque	Dreno montagem tornou-se obstruídas por escombros. Gentilmente água de volta-flush através da linha de drenagem.
Vezes invulgarmente longo prazo	Demasiada tampão no topo do gel. Assegure-se o buffer é preenchido maneira ½ através do espaçador superior para fazer o campo mais ainda eléctrico através do gel e evitar a corrente de contornando sobre o gel na parte superior. Qualidade do reagente Pobres. Soluções de acrilamida podem acumular-se ácido acrílico ao longo do tempo. Não manter as soluções de acrilamida estoque mais de ~3 meses e acrilamida loja a 4 °C. Buffer incorretamente preparado. Utilizar a forma básica de Tris. Não ajustar o pH do tampão após a preparação. Verifique as configurações de energia e ajustar se necessário.

Problema	Solução
Problemas Instrumento:	
Sem tensão ou corrente no início da corrida	Instrumento não conectado corretamente à fonte de alimentação. Certifique-se de cabos de alta tensão são ligados em correta (+ / -) terminais e é segura. Em alguns casos adaptadores pode ser necessária. Eletrodo quebrado. Verificar a continuidade de arame com um medidor de voltagem. A tampa não prender adequadamente para plugues banana. Reposicionar e verificar tampa é encaixar firmemente no lugar. Quebra de linha de ligação HV. Verificar a continuidade de arame com um medidor de voltagem.
2D Problemas Resultados:	
Estrias verticais da amostra para baixo a partir do topo do gel para o fundo do gel	Faixa de IPG não devidamente posicionada sobre a superfície do gel. Evite gel gouging separando durante o carregamento de tiras. Realizar tratamento iodoacetamida. Assegure-se tira IPG uniformemente contacta com a superfície do gel ao longo de todo o comprimento da tira. A sobrecarga de proteína.
Listras horizontais de proteínas	Preparação de amostras pobres. Focalização inadequados. O contato inadequado entre a tira eo IPG gel segunda dimensão.
Spots são enviesadas ou distorcidas	Géis correr muito rápido migração irregular. Sobrepôr o gel de resolução com água saturada de n-butanol, antes da polimerização começa a evitar formando uma superfície de gel desigual. Polimerização gel irregular ou formação de gradiente. Veja lançando problemas para obter mais suporte. Tira IPG não devidamente posicionada sobre a superfície do gel. Evite gel gouging separando durante o carregamento de tiras. Entrada da amostra no gel segunda dimensão é executado muito alto em poder de definição. Executar géis em condições de execução recomendados. Bubbles presentes no gel segunda dimensão irá distorcer a migração local.
Sem proteínas visíveis sobre gel de segunda dimensão após coloração	Quantidade carregado muito pouco para o método de detecção. Aumentar a carga de proteína ou tente um método de coloração mais sensíveis. Amostra muito pequena de gel aplicado a primeira dimensão. Verificar concentração de proteína de amostra. Equilíbrio passos muito curto ou muito longo. Executar cada passo de equilíbrio durante 10-15 minutos.
Regiões em branco no gel segunda dimensão	Tris, sais, e SDS pode causar alterações na posição de focagem de proteínas na primeira dimensão. Reduzir ou eliminar estes compostos a partir da primeira dimensão. Bolhas entre a tira eo gel segunda dimensão.

Informações sobre pedidos

Produto	Quantidade	Código
PAGE Grande Formato	1	SE900
PAGE Grande Formato Completo	1	SE900-1.0
Kit Tubulação para recirculação Chiller	1	SE908
Multicaster	1	SE915
Space Saver Plate, Caster Gel múltipla	1	SE912
Cassete de vidro Dobradiça 25 × 20, 1 mm	1	SE9102-1-1,0
Plate Rack	1	SE914
Escorra Filtro	3	SE917
Gel Seal	1	SE6070

Produtos relacionados

Unidade de focalização isoeletrica	1	IEF100
Recirculação Chiller	1	RCB20
PS300B Alimentação	1	PS300B
Acrilamida	1 kg	GR141-1
Agarose	500 g	GR140-500
Persulfato de amônio	10 g	GR152-10
Brilliant Blue G	25 g	GR134-25
Brilliant Blue R	25 g	GR135-25
Azul de Bromofenol	10 g	GR120-10
Ditiotreitol (DTT)	5 g	GR122-5
Glicerina	1 L	GR124-1
Glycine	1 kg	GR125-1
N, N'-metileno-bis-acrilamida	100 g	GR142-100
Dodecil sulfato de sódio	500 g	GR126-500
Temed	25 g	GR151-25
Tris	1 kg	GR132-1
Tris-Glicina-tampão SDS, 10X	1 L	GR149-1
Uréia	1 kg	GR143-1

Apêndice A: Teoria e Receitas

Laemmli Sistema Gels

O sistema é o protocolo de Laemmli electroforese mais comum para SDS-desnaturados proteínas.

O ião principal neste sistema de tampão descontínuo é cloreto eo ião de fuga é a glicina.

Por conseguinte, o gel de resolução de (e do gel de empilhamento opcional) contém Tris-Cl (buffers de concentração diferente e pH), e do tampão de electroforese contém Tris-glicina. Todos os tampões contém 0,1% de SDS.

Composição de gel de poliacrilamida é indicado por duas percentagens diferentes:

$$\% T = \text{total acrylamide} = \frac{[g (\text{acryl} + \text{bis})]}{100} \times 100$$

$$\% C = \text{crosslinker} = \frac{g (\text{bis})}{g (\text{acryl} + \text{bis})} \times 100$$

A percentagem total de acrilamida (% T) no gel de resolução, que pode variar de 5 a 20%, determina o tamanho dos poros. Comumente, a quantidade de agente reticulante utilizado (% C) é de 2,6%.



Cuidado! A acrilamida é uma neurotoxina. Extremo cuidado deve ser utilizado no manuseamento e preparação de soluções de acrilamida.

Soluções

1. Solução stock de acrilamida

(30,8% T 2,6% C Bis, 1000 ml)

Acrilamida	(FW 71,08)	30% w/v	300 g
Bis*N,N' Methylenebisacrylamide	(FW 154,2)	0,8% w/v	8 g

Desionizada H₂O até 1000 ml.

Armazenar a 4 °C ao abrigo da luz.

2. 1,5 M TrisCl, pH 8,8

(Tampão gel 4X resolver, 2 litros)

Tris	(FW 121,1)	1,5 M	363,3 g
------	------------	-------	---------

Disolve em ~ 1.5 litros deionizada H₂O.

4 N HCl (4N de ácido clorídrico) a pH 8,8.

Desionizada H₂O até 2000 ml.

Armazenar a 4 °C.

3. 10% w/v Solução de SDS

(100 ml)

Dodecilsulfato de sódio (SDS)	(FW 288,4)	0,35 M	10 g
-------------------------------	------------	--------	------

Desionizada H₂O a 100 ml.

Armazene à temperatura ambiente.

4. 10% w/v APS

(Iniciador, 1 ml)

Persulfato de amônio (APS)	(FW 228,2)	0,44 mM	5 g
----------------------------	------------	---------	-----

Desionizada H₂O a 5 ml.

Preparar imediatamente antes da utilização.

APS Fresh "estalos" quando a água é adicionada. Se o seu não, substitua-o com estoque fresco.

5. 10% v/v TEMED

(Catalisador, 5 ml)

N, N, N', N'-Tetramethylethylene-diamina (TEMED)	(FW116.2)	~0,65 M	0,5 ml
--	-----------	---------	--------

Desionizada H₂O a 5 ml.

Preparar imediatamente antes da utilização.

Armazene em uma garrafa de vidro escuro e à temperatura ambiente longe da luz.

TEMED é inflamável e deve ser dispensado em uma coifa.

6. 0,375 M de Tris-Cl, 0,1% de SDS, pH 8,8

(Resolvendo gel de sobreposição, 100 ml)

1,5 M Tris-Cl, pH 8,8	(Solução #2)	0,375 M	25 ml
SDS a 10%	(Solução #4)	3,5 mM	1 ml

Desionizada H₂O a 100 ml.

Armazene à temperatura ambiente.

-Ou-

Água saturada de n-butanol

Agitar n-butanol e desionizada H₂O em um funil de separação. Remover a fase (inferior) aquoso. Repetir este procedimento várias vezes. Utilizar a fase superior.

Armazene à temperatura ambiente.

7. Tampão de electroforese 10X

0,25 M Tris, 1,92 M de glicina, 1,0% SDS

(Tampão de electroforese 10X, 5,0 litros)

Adicionar lentamente a pós ~4 litros de água desionizada enquanto se agitava.

Tris	(FW 121,1)	0,25 M	151,2 g
Glycine	(FW 75,07)	1,92 M	720,6 g
SDS	(FW 288,4)	35 mM	50,0 g

Desionizada H₂O a 5,0 litros.

O pH desta tampão é de cerca de 8,3. Não ajustar o pH.

Armazene à temperatura ambiente por até 2 meses.

8. 1X tampão de electroforese

0,025 M de Tris, 0,192 M de glicina, SDS 0,1%

(1X tampão de electroforese, 12,0 litros)

Tampão de Electroforese 10X (Solução #7)	1200 ml
Deionizada H ₂ O	10,8 l

Isto pode ser preparado no tanque de separação. Adicionar 10X estoque de água, então o rack PAGE. Suavemente levantar e baixar a cremalheira PAGE para ajudar na mistura, em seguida, permitir que o sistema de recirculação para misturar o buffer bem antes do uso.



Cuidado! SDS pode causar a solução para ferver assim tenha cuidado ao aquecimento e evitar a ferver.

Nota: tiras IPG deve ser equilibrada imediatamente antes da PAGE dimensin segundo. Não equilibrar as tiras IPG antes de armazenar a -20 °C.

9. 1% de agarose em 1X tampão de electroforese

(100 ml)

Em um balão de 500 ml adicionar:

Agarose	1 g
10X tampão de electroforese (Solução #8)	10 ml
Deionizada H ₂ O	90 ml
Azul de Bromofenol	3 mg

Agite suavemente para suspender agarose.

Aquece-se a baixa potência num forno de microondas até agarose é totalmente dissolvido.

Divida em ~1,5 ml tubos de parafuso de plástico de topo.

Armazenar em alíquotas a 4 °C.

10. Gel Gradiente Fundição Solução Deslocamento

(Glicerol a 50% em 0,375 mM TrisCl 8,8, SDS a 0,1%, 200 ml)

Glicerol	100 ml
1,5 M pH TrisCl 8,8 (Solução #2)	50 ml
Desionizada H ₂ O	50 ml
Azul de Bromofenol	3 mg

Misture bem.

11. SDS Solução Tampão de Equilíbrio

Esta solução é utilizada após IEF, e antes de PAGE segunda dimensão. As tiras IPG são imersos em solução em excesso para elevar o pH do tampão de tira de modo que é apropriado para PAGE, e para revestir as proteínas em SDS uniformemente de modo que migram adequadamente no gel segunda dimensão.

Prepara 200 ml

(6 M ureia, 75 mM Tris-HCl pH 8,8, glicerol 29,3%, SDS a 2%, 0,002% de azul de bromofenol)

	Concentração Final	Quantidade
Uréia (FW 60,06)	6 M	72,1 g
1,5 M Tris-HCl, pH 8,8 solução stock	75 mM	10,0 ml
Glicerol (87% w/w)	29,3% (v/v)	69 ml
SDS (FW 288,38)	2% (w/v)	4,0 g
Azul de Bromofenol	0,002% (w/v)	4 mg
Desionizada H ₂ O		para 200 ml

Alíquota em 30 alíquotas ml e armazenar congeladas a -20 °C ou abaixo.

24 centímetros IPG requerem 5-10 ml por tira por etapa de equilíbrio.

Faixas mais curtos pode usar o volume proporcionalmente menos por passo equilibrations.

Receitas gel

As receitas de gel Laemmli são para 400 ml de uma solução única concentração (suficiente para seis 1,0 mm, 25 × 20 cm de gel). Tabulados são volumes para géis de poros relativamente grande (10% gama T), bem como pequenas géis dos poros (12,5-20% intervalo T). 5% e 7,5% géis são difíceis de manusear em géis de grandes formatos, mas pode ser misturado em géis de gradiente para uma melhor resolução e uma manipulação mais fácil. As receitas aqui apresentadas são para orientação quando se molda géis de gradiente. Uso ½ do volume total necessário de cada solução quando lançando géis de gradiente. Usando as soluções dadas no Apêndice A, todos os géis são reticulados com 2,6% C.

Laemmli Gel (por 400 ml solução de gel)

Resolvendo Solution Gel 400 ml

	10,0%	12,5%	15,0%	17,5%	20%
Acrilamida estoque (Sol, #1)	133,3	166,7	200,0	233,3	266,7
1,5 M TrisCl, pH 8,8 (Sol, #2)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
10% SDS (Sol, #3)	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Deionizada H ₂ O	158,0	124,8	91,5	58,3	25,0
10% APS (Sol, #4)	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
10% TEMED (Sol, #5)	0,68	0,55	0,45	0,40	0,34
O volume final	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0

Laemmli Gel (por 200 ml solução de gel)

Gradiente Solution Gel

200 ml LUZ

	5,0%	7,5%	10,0%	12,5%	15,0%	17,5%
Acrylamide estoque (Sol,#1)	33,3	50,0	66,7	83,3	100,0	116,7
1,5 M TrisCl, pH 8,8 (Sol, #2)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
10% SDS (Sol, #3)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Deionizada H ₂ O	112,2	95,5	79,0	62,4	45,8	29,1
10% APS (Sol, #4)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
10% TEMED (Sol, #5)	0,50	0,46	0,34	0,27	0,23	0,20
O volume final	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0

200 ml PESADA

	7,5%	10,0%	12,5%	15,0%	17,5%	20%
Acrylamide estoque (Sol,#1)	50,0	66,7	83,3	100,0	116,7	133,3
1,5 M TrisCl, pH 8,8 (Sol, #2)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
10% SDS (Sol, #3)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Deionizada H ₂ O	83,0	66,5	49,9	33,3	16,6	0,0
10% APS (Sol, #4)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
10% TEMED (Sol, #5)	0,46	0,34	0,27	0,23	0,20	0,17
Glicerina	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
O volume final	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0	200,0

Apêndice B: Referências

Desnaturação Sistemas Gel

Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. *Nature*. **227**, 680–685 (1970).

Two-dimensional Electrophoresis

Anderson, Leigh and Anderson, Norman G., High resolution two-dimensional electrophoresis of human plasma proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **74**:5421–5425 (1977). Anderson, L. *Two-Dimensional Electrophoresis, Operation of the ISO-DALT® System*, Second Edition. Large Scale Biology Press (1991).

O'Farrell, P. H., High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* May 25; **250**(10):4007– 4021 (1975).

Bjellqvist, B., *et al.*, Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *J. Biochem. Biophys. Methods* **6**, 317–339 (1982).

Görg, A, *et al.*, The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **9**, 531–546 (1988).

Görg, A. Two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients: current state. *Biochem. Soc. Trans.* **21**, 130–132 (1993).

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Toll Free: 1-800-227-4750

Telephone: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer é uma marca registrada da
Hoefer, Inc.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos os direitos reservados.

Impresso nos EUA.

