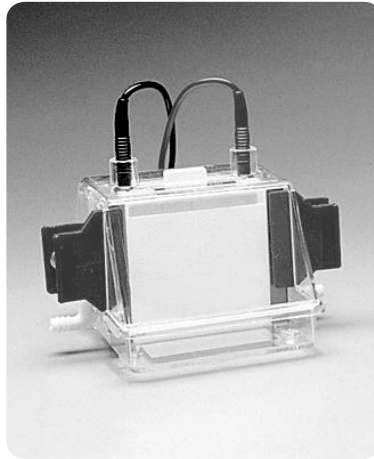


# Hoefer SE250

Mini-verticale gel per l'elettroforesi





## Indice

Informazioni Importanti.....	ii
Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE) .....	vii
1. Gel elettroforesi unità funzionale e Descrizione ....	1
2. Specificazioni.....	2
3. Istruzioni per l'uso.....	4
4. Cura e manutenzione .....	14
5. Risoluzione dei problemi.....	15
Appendice .....	17
Bibliografia .....	19
Informazioni per l'ordine .....	20

## Informazioni Importanti – Italiano

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefel, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è designato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefel, 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.
- Spenge 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!

## Důležitá Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefel, Inc. ochrana poskytována na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboratoři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo poskytnutých Hoefel, 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 víko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setířná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulo.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpuštělým způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufru teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

## Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefel, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.
- Bare tilbehør og del godkendte eller forsynede ved Hoefel, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.
- bruger Bare en strømforsyning, der er CE markerede eller sikkerhed, som er blevet attereret af en, som nationalt er blevet anerkendt prøve laboratorium.
- Sikkerhedslåget må være på plads før forbinding 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 unreguleret.
- 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 specificerde technische specificaties. Oververhittend zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

## 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!

## Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojele ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäyttöle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyvät 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 ohii joka on kansallisesti tunnustettanut testaaminen laboratorioti.
- Turvallisuuskansia täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijijä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalijijyt ennen poistaminen turvallisuuskansitta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethylene glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta

vesinapautukseen eikä jäähdytystynestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.

- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Organiset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumentaminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

## Information Importante – French

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifique par Hoefel, 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 Hoefel, 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 mène 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 Hoefel, 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 Hoefel, 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!

## Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefel, Inc. beskyttelsen som har 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 forbindelse 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 nieregulowanych.

- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamrażaniu 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 proteção 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 Hoefel, 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 Hoefel, 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 especificó especificaciones técnicas. Recalentar causará daño irreparable a la unidad!

## Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefel, Inc. skyddet tillhandahöll vid utrustningen kan skadas.
- Detta instrument formges för inomhuslaboratorium användning bara.
- Bara medhjälpare och delar godkände eller levererade vid Hoefel, 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 irreparable skador på enheten!

---

## Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)

Italiano



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.

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.

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.



---

## 1. Gel elettroforesi unità funzionale e Descrizione

Il Hoefer™ SE250 piccola unità di formato verticale lastra di gel è indicato per elettroforesi rapida di proteine o di campioni di acidi nucleici. La maggior parte dei campioni può essere eseguito in appena 45 minuti, e solo una minima quantità di campione è necessario.

Il SE250 ospita uno o due panini da 10 × 8 cm di gel. La camera tampone superiore è formata quando la parte dentata di un sandwich gel è sigillata contro la guarnizione di gomma siliconica. La camera superiore nucleo buffer funge da scambiatore di calore, se è richiesto il raffreddamento. Il nucleo è cavo e dotato di porte su entrambi i lati per la circolazione del liquido di raffreddamento.

### Disimballaggio

Scartare tutti i pacchetti con attenzione e comparare i contenuti con la packing list, assicurandosi che tutti gli elementi arrivati. Se una parte manca, rivolgersi all'ufficio vendite locale. Controllare tutti i componenti per i danni che possono essersi verificati mentre l'unità era in transito. Se una parte risulta danneggiata, contattate immediatamente. Essere sicuri di mantenere tutto il materiale di imballaggio per richieste di risarcimento danni o per utilizzare qualora risultasse necessario restituire l'unità.

## 2. Specificazioni

Gel dimensioni tavola	10 × 8 cm
Gel dimensioni approssimative	8 × 7 cm
Max. potenza	12 W
Max. tensione di	500 V
Max. amperaggio di	500 mA
Max. temperatura	45 °C
Condizioni operative ambientali:	
Usò interno	4–40 °C
Umidità fino a	80%
Altitudine fino a	2000 m
Categoria di installazione	II
Grado di inquinamento	II
Dimensioni (L × A × P)	16,5 × 16 × 16 cm
Certificazioni di prodotto	EN 61010-1, UL 61010A-1, CSA C22.2 1010,1, Certificazione CE

**Questa dichiarazione di conformità è valida solo per lo strumento quando è:**

- utilizzato in ambienti di laboratorio,
- utilizzati così come forniti dal Hoeser, Inc. salvo alterazioni descritte nel manuale d'uso, e
- collegato ad altri marchi CE strumenti o prodotti raccomandati o approvati da Hoeser, Inc.

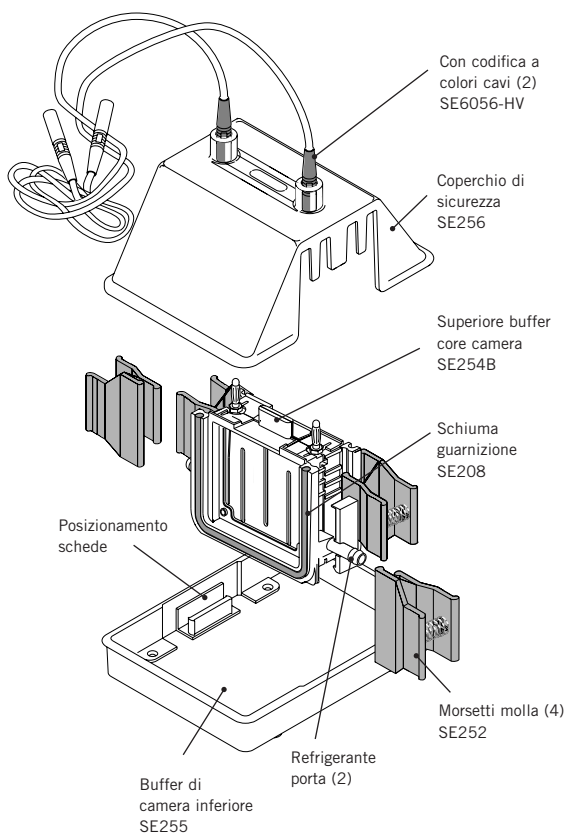
**Fig 1.** Componenti principali  
SE260 elettroforesi unità.

**Inclusi ma non mostrato:**

- Lastre di vetro
- Intagliati piastre di allumina
- Gel tenuta, 1/4 oz.
- Well-localizzazione decal

**Necessario ma non inclusi:**

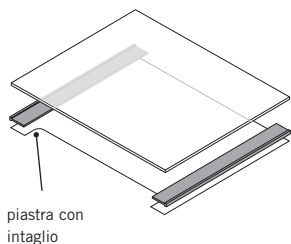
Alimentazione con un rating  
minimo: 250 V, 50 mA,  
tensione costante o corrente  
costante.



---

**Nota:** Tutti gli accessori e kit di elettroforesi sono elencati nella sezione di ordinazione.

**Nota:** Controllare lastre di vetro per i bordi scheggiati. Utilizzare solo le piastre unchipped per evitare perdite.



## 3. Istruzioni per l'uso

### 3.1 Preparazione del sandwich gel

Entrambi i gel prefabbricati e di auto-cast può essere eseguito nei SE250 unità. Questa unità accetta gel a 10 × 8 cm piatti, che possono essere espressi in un Hoefer SE215, SE245, SE275 caster o gel.

Ogni unità comprende piastre di allumina intagliate e lastre di vetro rettangolari. Se lanciare i propri gel di poliacrilammide, è consigliabile utilizzare un intaglio piatto in ceramica di allumina indietro perché trasferisce il calore 40 volte più rapidamente rispetto al vetro. Per le applicazioni che non sono sensibili al calore, una lastra di vetro intagliato è disponibile.

Prima di caricare nell'unità gel elettroforesi, il gel di separazione dovrebbe essere già completamente polimerizzati. Pulite via qualsiasi gel aderisce alla piastra dentata posteriore allumina. Il gel di impilamento (se applicabile) può essere gettato in luogo dell'unità di elettroforesi. Caricare campioni liquidi dopo il sandwich gel viene installato.

## 3.2 Preparare l'unità

①

**Per smontare unità completamente assemblata:** rimuovere il coperchio di sicurezza premendo sulla maniglia nella parte superiore del nucleo camera superiore buffer durante il sollevamento del coperchio dai bordi inferiori. Svuotare tutte le Camere di buffer e rimuovere eventuali panini gel. Quindi premere entrambe le linguette di rilascio e sollevare la parte superiore della camera nucleo buffer.

②

**Sciacquare lo strumento prima di ogni utilizzo.** Prima di usare la prima volta, l'unità di smontare completamente e lavare con una soluzione diluita di un detergente laboratorio e sciacquare con acqua e acqua distillata.

③

**Controllare la guarnizione.** Rimuovere periodicamente il grigio guarnizione di gomma siliconica dal nucleo. Controllare i nick e l'usura. Se la guarnizione sembra essere intatto, applicare un leggero strato di tenuta Gel, e sostituirlo nella scanalatura. Evitare di allungamento della guarnizione posa sulla gola e premendo in posizione.

④

**Raffreddamento opzionale:** Circolazione pressione non deve superare i 0,8 bar (12 psi) superiore alla pressione ambiente. Non collegare il nucleo di raffreddamento ad una sorgente di refrigerante non regolata come un rubinetto.

Collegare il conduttore di raffreddamento ad un bagno di circolatore come il RCB20-PLUS. Far scorrere le fascette (4 in totale) su ogni estremità di due lunghezze di 8 mm in vinile o silicone tubo. Collegare una estremità di ogni tratto di tubo a una porta centrale di raffreddamento. Fissare le estremità libere di ciascuna lunghezza del tubo alle porte di circolazione da bagno; Fissare uno all'ingresso e l'altro alla presa i collegamenti con le fascette.

**Importante:** Utilizzare solo acqua o acqua e glicole etilenico  $\leq 50\%$  come refrigerante.

Non utilizzare un antigelo commerciale o qualsiasi miscela a base di alcool.

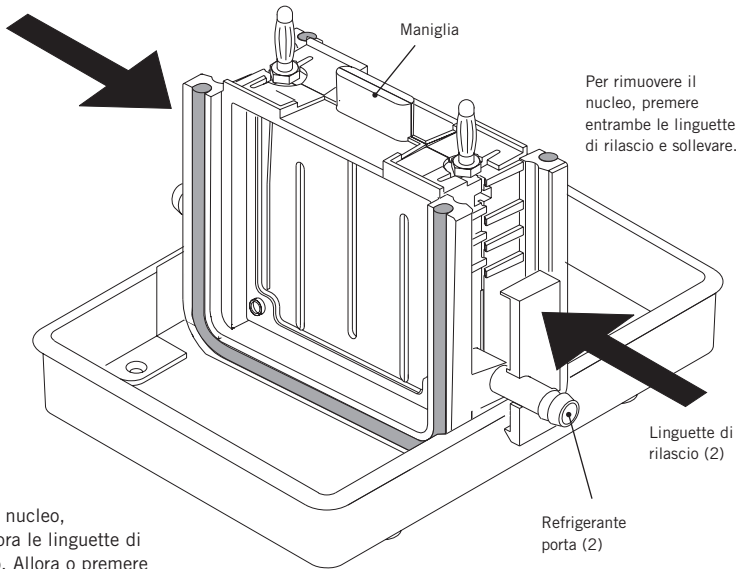
**Nota:** Se l'opzione di raffreddamento viene utilizzato frequentemente, è conveniente collegare i connettori QuickFit al tubo.

Le valvole di questi raccordi evitare la fuoriuscita del refrigerante.

5

**Installare il nucleo superiore camera di buffer.** Prima ferma la camera bassa con una mano e quindi tenere il nucleo con l'altra mano, posizionarlo sulle linguette di posizionamento, e premere verso il basso, ascoltando per il nucleo per scattare in posizione. (In alternativa, premere entrambe le linguette di rilascio su entrambi i lati, posizionare il nucleo nelle schede di posizionamento in posizione, premere e rilasciare le schede. Verificare che la centrale è sicura.)

**Fig 2.** Nucleo installazione e la rimozione.



Per installare il nucleo, posizionarla sopra le linguette di posizionamento. Allora o premere verso il basso, ascoltando per il nucleo di scattare in posizione

0

Premere entrambe le linguette di rilascio, impostare il nucleo in posizione e rilasciare.

### 3.3 Posizionare il panino gel

①

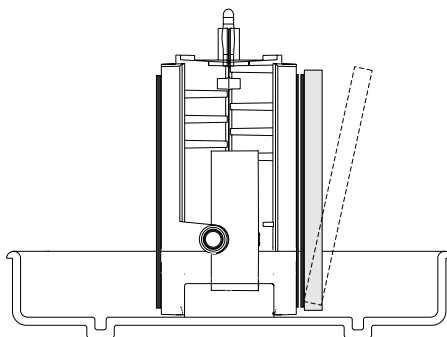
Sciacquare la sovrapposizione con acqua distillata e drenare l'acqua in eccesso.

②

Se l'installazione di un auto-cast o prefabbricati 10 × 8 sandwich di gel cm, orientare il sandwich modo che la piastra dentata facce, delle tacche guarnizione in alto. Impostare la parte inferiore del sandwich sulle sporgenze di supporto nella parte inferiore della camera inferiore e centro la piastra in modo che le guarnizioni di tenuta entrambi i lati (Fig 3).

**Fig 3.** Gel panino installazione.

A 10 × 8 centimetri sandwich di gel aderisce al fondo del nucleo superiore camera di transito.



## Bloccare il sandwich in luogo

1

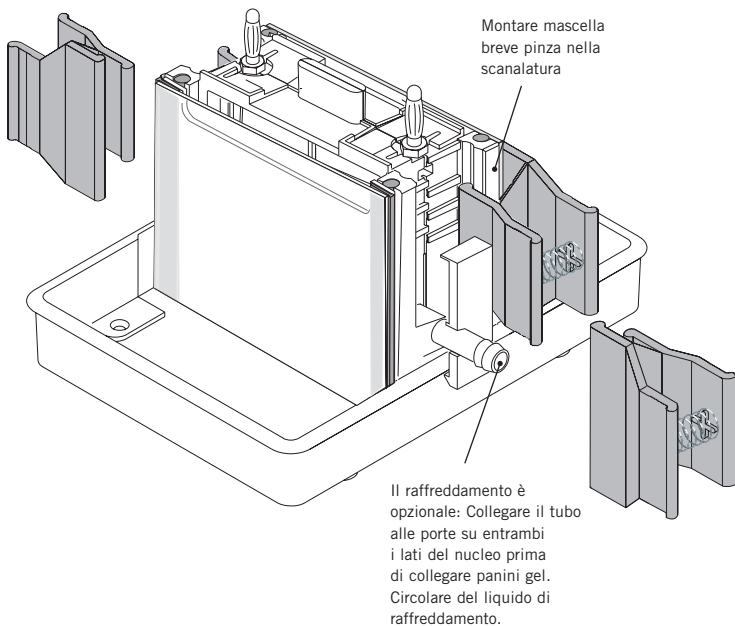
Premere leggermente il panino contro la guarnizione e fissarlo alla base con un morsetto a molla su ogni lato. Posizionare la ganascia in modo che il bordo più corto ganascia arrotondato si inserisce nella scanalatura nucleo e il bordo più lungo si siede sulla lastra di vetro. (Posizionamento corretto è importante per ottenere una tenuta e ridurre al minimo rottura del vetro.) Far scorrere le fascette fino allo stop.

**Fig 4.** Garantire il panino gel sul nucleo camera superiore buffer.

Ogni panino richiede due morsetti. Il bordo arrotondato della ganascia breve sul morsetto si inserisce nella scanalatura dietro la guarnizione, e le presse mascella lunga sulla lastra di vetro sul distanziatore.

2

Ripetere passaggio 1 per il secondo panino, o, se si esegue una sola gel, serrare una lastra piana di vetro sul lato non utilizzato del nucleo per prevenire eventuale cortocircuito con l'elettrodo inutilizzato. (Non riempire questa sala con un tampone se non sandwich di gel è a posto.)





### 3.4 Preparazione dei campioni e di carico

#### 1

Se fonti sono già in atto, passare al punto 2.

#### **Se del caso, il cast del gel di sovrapposizione nel gruppo.**

**Nota:** Stacking gel risoluzione è ottimale quando versato poco prima elettroforesi.

Calcolare il volume di gel di impilamento monomero soluzione: misurare la distanza, in cm, dalla sommità del gel risolvere alla tacca nella piastrina di allumina. (Questo dovrebbe essere di almeno 2 cm di più se la profondità del campione nel bene è insolitamente alto.) Moltiplicare questa distanza dalla larghezza gel (8,3 cm) e lo spessore gel (cm). Questo prodotto è il volume richiesto in ml.

Disaerare l'impilamento soluzione di monomero gel, aggiungere catalizzatore e promotore e poi versate. Usare una pipetta per offrire la soluzione in un angolo del piatto, facendo attenzione a non intrappolare bolle. Inserire un pettine (con una leggera angolazione per evitare che l'aria trapping) nel panino, permettendo ai lati pettine per riposare sui distanziali.

Sovrapposizione ciascun gel con un sottile strato di acqua satura n-butanolo, acqua, o tampone gel diluito per evitare l'esposizione all'ossigeno gel. Lentamente fornire la soluzione overlay da una siringa di vetro dotato di 22-gauge. Applicare la soluzione in prossimità del distanziatore a lato del sandwich e consentono di fluire attraverso la superficie nudo. Lasciare un minimo di un'ora per polimerizzare il gel per.

#### 2

Preparare il campione. Aumentare la densità del liquido campione con il 10% glicerolo o saccarosio. Aggiungi un colorante di monitoraggio quale il fenolo rosso o blu bromofenolo.

Per gel SDS proteici, 2X tampone di utilizzare un trattamento per denaturare entrambi i campioni secco e liquido in una provetta. Per soluzioni proteiche liquide, aggiungere un volume uguale di 2X tampone.

**Nota:** I pozzi laterali per gli standard di un pettine preparativa corrispondono alle outer-la maggior parte dei pozzi formati dai 10 e pettine.

**Nota:** La quantità di campione proteina aggiunte a ciascun pozzetto dipende sia dalla sensibilità del metodo di colorazione e la distribuzione di proteina tra bande separate. Con Coomassie Blu™, è possibile rilevare 1 µg in una banda singola, con le macchie d'argento più sensibili, è possibile rilevare un minimo di 10 ng.

Per asciugare campioni proteici, aggiungere volumi uguali di tampone e ddH<sub>2</sub>O per ottenere la concentrazione desiderata. Riscaldare il tubo in acqua bollente per 90 secondi, poi raffreddare in ghiaccio fino al momento dell'uso. Campioni trattati possono essere conservati congelati per le corse successive. (Conservare a -40 °C a -80 °C.)

**3**

Per facilitare il caricamento dei campioni, bagnare ben localizzazione decalcomania e applicarlo alla parte anteriore della lastra di vetro in modo che il bordo appropriato delinea dei pozzetti campione.

**4**

Riempire il campione pozzetti e ciascuna camera tampone superiore che verrà utilizzato con tampone di corsa. Una camera tampone superiore contiene circa 75 mL.

**5**

Underlay il campione nei pozzetti utilizzando una punta fine microsiringa. La larghezza dei pozzetti dipende dal numero di pozzetti per pettine. Se il pettine ha un minor numero di pozzi, sono più larghe, e richiedono più volume di aumentare il livello di 1 millimetro, come mostrato nella tabella seguente.

#### Volume del campione (µL) per 1 mm di profondità

numero di pozzi	spessore pettine (mm)		
	0,75	1,0	1,5
5	9,5	12,7	19,1
9		5,8	
10	3,6	4,8	7,2
15	2,2	2,9	4,4
18		2,9	

**Nota:** Se si utilizza gel prefabbricati, verificare che abbassano il gel / tampone superficie di contatto è esposto.

**Importante:** Non usare antigelo o qualsiasi miscela a base di alcool, in quanto danneggia irreparabilmente il nucleo.

## 3.5 Assemblaggio finale

①

Riempire la camera di transito inferiore con tampone di corsa.

Il SE250 contiene circa 150 ml. Verificare che l'elettrodo inferiore (che corre lungo la parte inferiore della tomaia nucleo tampone della camera) è completamente sommerso.

②

Mettere il coperchio di sicurezza sull'unità.

③

Collegare i cavi colorati ai jack di un alimentatore approvato come PS300B. Il cavo rosso si inserisce nel jack di uscita rosso, e le spine di piombo nero nel jack di uscita nero.

④

**Di raffreddamento opzionale:** Inizia circolazione di acqua fredda o una refrigeranti 50/50 acqua / glicole etilenico.

---

### 3.6 Esecuzione del gel

I gel possono essere lanciati in tensione o corrente costante o costante. Una impostazione corrente costante è tradizionalmente utilizzato con un sistema tampone discontinuo modo che la velocità di migrazione elettroforetica rimane invariato per tutta la corsa. In queste condizioni, all'aumentare della tensione man mano che procede di esecuzione. Un valore minore di corrente è raccomandata per una maggiore risoluzione. Gel prefabbricati vengono eseguiti alle stesse condizioni di corrente e tensione come auto-cast gel.

**Importante:** dopo il controllo iniziale, non lasciare incustodito l'apparecchio per più di 45 minuti prima di controllare il progresso delle fasce e il livello del buffer.

Ci vuole circa un'ora per eseguire due 7 cm × 0,75 mm gel Laemmli a 40 mA (20 mA per gel, corrente costante). Verificare i progressi band dopo 5 minuti, e di nuovo dopo una mezz'ora, tenendo d'occhio la posizione del colorante inseguimento. La pista è completa quando il colorante inseguimento raggiunge il fondo del gel. Vedere il livello del buffer nella camera tampone superiore e, se necessario, prima di riempire scende sotto il livello della piastra dentata. (Un piccolo volume di tampone può fuoriuscire oltre una piastra scheggiate o guarnizione intaccate, o può stoppino attraverso il gel.)

**Importante!** Sempre scollegare i cavi ad alta tensione dalla rete di alimentazione prima di rimuovere il coperchio dall'unità.

## Dopo la corsa

**1**

Una volta il colorante inseguimento raggiunge il fondo del gel, spegnere l'alimentazione, scollegare i cavi, e rimuovere il coperchio di sicurezza.

**2**

Se il liquido refrigerante circola, fermare il flusso e scollegare i raccordi o tubi.

**3**

Rimuovere il gruppo del nucleo con gel attaccati premendo le linguette di rilascio ed estrarre il gruppo del nucleo.

**4**

Versare il buffer capovolgendo il gruppo del nucleo, quindi rimuovere entrambi i blocchi, e sollevare via sandwich di gel (es) dal nucleo camera superiore buffer.

**5**

Delicatamente allentare e poi scivolare via entrambi i distanziali. Infilare un distanziatore supplementare o un cuneo Wonder Hoefler nel bordo inferiore (per evitarne la rottura le orecchie delle piastre intagliate) e separare le piastre. Il gel solitamente aderisce alla piastra di allumina. Sollevare delicatamente il gel dalla piastra e laici in un vassoio di macchia o di fissativo.

---

## 4. Cura e manutenzione

- Non sterilizzare in autoclave o riscaldare qualsiasi parte superiore a 45 °C.
- Non usare solventi organici, abrasivi, soluzioni di pulizia forti, o acidi o basi forti per pulire le camere.
- Immediatamente dopo ogni utilizzo, risciacquare l'unità con acqua e poi sciacquare abbondantemente con acqua distillata. Maneggiare il nucleo superiore camera di compensazione con cura per evitare di danneggiare i connettori a banana. Lasciare asciugare all'aria.
- Pulire le lastre di vetro e allumina e distanziali con una soluzione diluita di un detergente laboratorio come RBS-35™, quindi risciacquare abbondantemente con rubinetto e acqua distillata. Lastre di vetro possono anche essere trattati con soluzioni di acido (ma non memorizzato in) di pulizia.

## 5. Risoluzione dei problemi

<b>problema</b>	<b>soluzione</b>
<b>Effetto sorriso sul fronte del buffer</b>	<p><i>Per ridurre la temperatura di funzionamento:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Circolare refrigerante attraverso il nucleo camera superiore buffer.</li><li>• Prechill il buffer.</li><li>• Diminuire l'impostazione corrente o tensione. (10 mA per gel di 0,75 mm, 15 mA per gel 1,5 mm.)</li><li>• Eseguire il gel in cella.</li></ul>
<b>Proteine striature in verticale</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Centrifugare o filtrare campione prima di caricare per rimuovere particelle.</li><li>• Dializzare o desalificare del campione.</li></ul>
<b>Insolitamente lenta (o veloce) run</b>	<p><i>Regolare le soluzioni:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Controllare le ricette, le concentrazioni di gel, soluzioni e diluizioni. (Per esempio, non utilizzare Tris-HCl invece di Tris.)</li><li>• Se il pH richiesto di una soluzione viene superato, non titolare di ritorno. Preparare tampone fresco.</li><li>• Smaltire le soluzioni di acrilammide anziani e utilizzare solo stock di altissima qualità.</li><li>• Utilizzare solo urea appena deionizzata.</li></ul> <p><i>Regolare le impostazioni di tensione o corrente:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Per aumentare o diminuire la velocità di migrazione, regolare la tensione o corrente del 25–50%.</li></ul>
<b>Bands sono inclinate o distorte</b>	<p><i>Controllare preparazione gel e polimerizzazione:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Degassare la soluzione gel di impilamento e di evitare bolle d'aria sotto i denti del pettine.</li><li>• Sovrapporre il gel esecuzione con acqua satura di n-butanolo prima della polimerizzazione inizia ad evitare la formazione di una superficie irregolare gel.</li></ul> <p><i>Controllare la preparazione del campione:</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Dializzare o desalificare del campione.</li><li>• Centrifugare o filtrare campione prima di caricare per rimuovere particelle.</li></ul>

---

**problema****soluzione**

---

**Campione Stained raccoglie:**

*Vicino alla parte anteriore del buffer:*

- Proteine non è sufficientemente limitato dal gel risolvere; aumentare la% T.

*Nella parte superiore del gel quando il fronte di buffer ha raggiunto il fondo:*

- La dimensione dei pori gel è troppo piccola. Diminuire il T% del gel risolvere.
- La proteina è precipitata. Riscaldare il campione ad una temperatura più bassa (70 °C o meno) per 1–2 minuti.

---

**Fascia bassa risoluzione**

- Utilizzare solo i reagenti di altissima qualità.
- Effettuare la separazione ad un valore inferiore di corrente o tensione.
- Dializzare o desalificare del campione.
- Ridurre il volume del campione o la concentrazione.
- Utilizzare solo urea appena deionizzata.
- Migliorare la dissociazione della subunità dal riscaldamento del campione in tampone campione SDS 1–2 minuti a 100 °C.
- Aggiungere più mercaptoetanolo o ditiotreitolo; controllare trattamento del campione.
- Utilizzare solo gel che sono stati recentemente preparati.
- PH valori di controllo della separazione e soluzioni di stacking gel. Non titolare di ritorno buffer.

*Preparazione del campione:*

- Campioni di calore per non più di 1–2 minuti a 100 °C. Conservare sul ghiaccio dopo il riscaldamento.
- Conservare campione sul ghiaccio prima che sia denaturato.
- Aggiungere inibitori della proteasi, se necessario, per impedire la degradazione proteolitica di campione.
- Conservare i campioni devono essere congelati in aliquote per evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti. (Conservare a -40 °C a -80 °C.)

---

**Blu bromofenolo non affilare in una zona concentrata nel gel di impilamento**

- Versare un gel più alto impilamento. (Per ottenere risultati ottimali, permettono una altezza gel di impilamento di 2,5 volte l'altezza del campione nel pozzo.)
- Smaltire le soluzioni obsolete di acrilammide e usare solo il più alto grado di acrilammide.
- Quando la preparazione dei campioni, evitare di utilizzare le soluzioni con un elevato di sodio o di concentrazione di potassio.



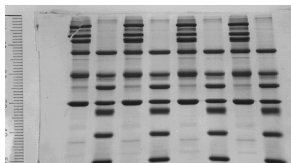
## Appendice

Il seguente sistema Laemmli è leggermente modificata per l'uso con i mini-unità verticali. Il sistema Laemmli è il protocollo più comune per elettroforesi SDS-proteine denaturate. Lo ione leader in questo sistema tampone è discontinuo e lo ione cloruro finale è glicina. Di conseguenza, il gel e risolvendo il gel di impilamento contengono Tris-Cl (buffer di diversa concentrazione e pH), e il tampone di elettroforesi contiene Tris-glicina. Tutti i buffer contengono 0,1% SDS.

Gel poliacrilammide composizione è indicata da due diverse percentuali:

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

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



### SE250 risultati:

Lane 1: SDS-6H, alta MW miscela standard, Sigma™

Lane 2: SDS-7 Dalton Mark VII-L™, Sigma (10 microlitri per corsia)

### Gel

12% SDS PAGE macchiato con Coomassie blu

### Condizioni di funzionamento

20 mA, un'ora

La percentuale totale di acrilammide (% T) nel gel di separazione, che può variare da 5 a 20%, determina la dimensione dei pori. Comunemente, la quantità di reticolante usato (% C) è 2,6%. Nel sistema seguente esempio, la composizione gel risolvere è 10% T, 2,6% C, che si traduce in una dimensione di pori media. La composizione gel di impilamento al 4% T, 2,6% C. La T% in gel di impilamento è inferiore in quanto una dimensione dei pori maggiore è richiesto.

## Le concentrazioni finali

	gel di separazione	stacking gel	tampone per elettroforesi
Concentrazione di acrilamide al	10% T*, 2,6% C	4% T, 2,6% C	
Tris-Cl	0,375 M	0,125 M	
Tris-glycina			0,025 M Tris base 0,192 M glycina
pH	8,8	6,8	~8,3
SDS	0,1%	0,1%	0,1%
Ammonium persulfate (APS)	0,05% w/v	0,05–0,1% w/v	
TEMED†	0,05% v/v	0,05–0,1% v/v	

\*Per ottenere qualsiasi altra operazione di concentrazione finale desiderata, regolare i volumi di acrilamide magazzino e acqua.

†Tetrametiletilendiammina

---

## Bibliografia

- Adams, L.D. and Gallagher, S.R., Two-Dimensional Gel Electrophoresis Using the O'Farrell System. *Current Protocols in Molecular Biology*, 10.4.1–10.4.13 (1992).
- Gallagher, S.R., and Smith, J.A., Electrophoretic separation of proteins. *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, eds.) 10.2.1–10.2.21 (1991).
- Laemmli, U.K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. *Nature*. 227, 680–685 (1970).
- Matsudaira, P.T. and Burgess, D.R., SDS microslab linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.* 87, 386–396 (1978).
- Reisfeld, R.A., *et al.* Acidic buffer system for resolution of cationic proteins. *Nature*. 195, 281 (1962).
- Sasse, J., and Gallagher, S.R., Staining proteins in gels. *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, eds.) 10.6.1–10.6.8 (1991).
- Towbin, H., *et al.* Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76, 4350–4353 (1979).
- Weber, K., and Osborn, M., The reliability of molecular weight determinators by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 224, 4406–4412 (1969).

## Informazioni per l'ordine

prodotto	quantità	numero di codice
Hoefer SE250 Mini-Gel System Mini-Vertical Unità per 2 gel lastra, completa comprende: unità di base, 10 lastre di vetro (10 × 8 cm), 2 piastre di allumina dentellati, ben localizzazione decalcomania, SE245 Caster Gel Dual, 2 per ogni 0,75 mm di spessore e 10-pettini e 0,75 mm di spessore set di distanziali.	1	SE250-10A-,75

### Elettroforesi Unità Parti di ricambio

Schiuma guarnizione, 4,5 mm × 61 cm	1	SE208
Buffer di camera superiore per SE250	1	SE254B
Buffer di camera inferiore per uno SE250	1	SE255
Coperchio con cavi per SE250	1	SE256
Wonder piastra di separazione Wedge utensile	1	SE1514
Alta tensione di sicurezza di piombo fissato al	1	SE6056-HV
Gel Seal (0,25 oz.)	1	SE6070
Morsetti a molla, per SE250 e ruote gel	1	SE252
Beh localizzare etichetta	2	SE212

### Lastre di vetro e allumina

10 × 8 cm		
piatti intaglio allumina	10	SE202N-10
lastre di vetro rettangolari	10	SE202P-10

## Distanziali

spessore (mm)	lunghezza (cm)	quantità	codice
0,75	8	2	SE2119T-2-,75
1,00	8	2	SE2119T-2-1,0
1,50	8	2	SE2119T-2-1,5

## Pettini

pozzi	spessore (mm)	lunghezza (cm)	quantità	codice
5	0,75	13,0	1	SE211A-5-,75
5	1,00	13,0	1	SE211A-5-1,0
5	1,50	13,0	1	SE211A-5-1,5
9 <sup>a</sup>	1,00	5,8	1	SE211A-9-1,0
10	0,75	4,8	1	SE211A-10-,75
10	1,00	4,8	1	SE211A-10-1,0
10	1,50	4,8	1	SE211A-10-1,5
12	1,00	4,75	1	SE211A-12-1,0
15	0,75	2,9	1	SE211A-15-,75
15	1,00	2,9	1	SE211A-15-1,0
15	1,50	2,9	1	SE211A-15-1,5
18 <sup>a</sup>	1,00	2,9	1	SE211A-18-1,0
1/1 <sup>b</sup>	0,75	68/5	1	SE211A-R-,75
1/1 <sup>b</sup>	1,00	68/5	1	SE211A-R-1,0
1/1 <sup>b</sup>	1,50	68/5	1	SE211A-R-1,5

<sup>a</sup>Microtitolazione distanza

<sup>b</sup>Preparativa / e di riferimento

prodotto	quantità	codice
----------	----------	--------

## Gel Ruote

### Per 1 o 2 gel, 10 x 8, 10,5

Hoefer SE245 Caster Gel Dual	1	SE245
------------------------------	---	-------

### Per 5 a 10 gel, 10 x 8 cm

Hoefer SE215 Caster Gel multipla, completa Include: 20 lastre di vetro rettangolari, 10 piatti allumina dentellati, 100 fogli di carta oleata, lo spazio-saver piastra, 5 fogli di copertura, Spacer-Mate e tappi di carico. (Ordine pettini e distanziali separatamente.)	1	SE215
--	---	-------

### Da 2 a 4 gel, 10 x 8 cm

Hoefer SE275 4-Gel Caster, completa Include: 10 lastre di vetro rettangolari, 4 piatti dentellati allumina, 100 fogli di carta oleata, lo spazio-saver piastra, 5 fogli di copertura, Spacer-Mate e tappi di carico. (Ordine pettini e distanziali separatamente.)	1	SE275
--	---	-------

## Alimentatori

Hoefer PS300B-300V, 500 mA, 90 W	1	PS300B
----------------------------------	---	--------

## Miscelaneo

Hoefer SE100 PlateMate lavaggio e unità di memorizzazione	1	SE100
TE22 Transphor serbatoio Unità	1	TE22
QuickFit connettore maschio, 3/8"	1	QFX3/8



**Hoefler, Inc.**

84 October Hill Road  
Holliston, MA 01746

Numero verde: 1-800-227-4750

Telefono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: [support@hoeflerinc.com](mailto:support@hoeflerinc.com)

Web: [www.hoeflerinc.com](http://www.hoeflerinc.com)

Hoefler è un marchio registrato di Hoefler, Inc. Coomassie e Tris sono marchi registrati di ICI plc. Dalton Mark VII-L e Sigma sono marchi di Sigma Chemical Co. RBS-35 è un marchio di Pierce Chemical Co.

© 2012 Hoefler, Inc.

Tutti i diritti riservati.

Stampato negli Stati Uniti.

