

Hoefer IEF100

Unité de focalisation isoélectrique



Table des matières

Information Importante	ii
Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE).....	v
Fonction et description	1
Spécifications	2
Composants du système	3
Descriptions des composants.....	5
Programmation de la IEF100.....	10
Opération IEF100.....	20
Connexions de données en option	35
Entretien et maintenance	42
Dépannage.....	43
Informations de commande	45
Annexe A: Protocoles préprogrammés	46
Annexe B: Réactifs et solutions	51
Recettes	53
Annexe C: Références IEF100	57

Information Importante – Français

- 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 !

Důležitá Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, 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 Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.
- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátní 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/ethylen glykolu 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. Rozpustidlům 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 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 specifikationer. Overheding 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. Oververhitting 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. suojelu ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäytölle 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 käyttöjännitelyijä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtiyijyt 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!

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 ungeregt 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!

Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE)

Français



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.

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.

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 sorterat hushållsavfall och måste samlas in separat. Var god kontakta en auktoriserad tillverkarrepresentant för information angående avyttring av utrustningen.

Remarque: Les états loi d'Ohm que le 10 mA de la sortie est disponible à 1000 V et moins.



Fig. 1. Le Hoefer IEF100.

Fonction et description

Le Hoefer IEF100 instrument isoélectrofocalisation est conçu pour effectuer la focalisation isoélectrique des protéines dans immobilisées gradient de pH (IPG) des bandes. Il s'agit d'un système intégré avec une plate-forme intégrée Peltier température refroidi, et un 12.000 V, 10 W Alimentation capable de fournir jusqu'à 10 mA. Il ya 30 protocoles entièrement éditables, dont neuf sont pré-programmés avec les protocoles recommandés IEF. Un plateau en cours d'exécution tiendra toutes les bandes actuellement disponibles IPG, 3.0-3.5 mm de large. Les bandes IPG sont gérées côté gel de haut, en utilisant des mèches d'électrodes pour aider à éliminer les impuretés qui s'accumulent à la fin des gradients de pH. Les échantillons peuvent être chargés dans les bandes IPG pendant la réhydratation, ou avec coupelles.

Le IEF100 est entièrement testé et certifié à toutes les normes internationales applicables.

Caractéristiques de la IEF100 sont les suivants:

- Un 6 Bac canal qui met l'accent:
Jusqu'à 6, 7-24 cm IPG bandes utilisant l'ensemble d'électrode unique.
Jusqu'à 12, 7 cm IPG bandes à l'aide de l'accessoire à double électrode (inclus).
- Chargement de l'échantillon lors de la réhydratation ou avec godet-échantillon.
- Surveille le courant dans chaque bande IPG.
- Intégré 12.000 volts en courant continu, avec 10 mA de la capacité de la plupart des tension et de courant disponible.
- Un grand bleu/blanc écran LCD pour une visualisation facile qui prend en charge un affichage graphique de la tension et le courant.
- La capacité de programmer, éditer et stocker jusqu'à 30 protocoles, chacune avec 9 étapes.
- Le mode puissance constante.
- Une horloge temps réel, réglable à fuseaux horaires locaux.
- Température contrôlée plate-forme.
- Ethernet et RS232 ports pour communiquer des données ou des protocoles de charge.

**Cette déclaration de conformité
n'est valable que pour l'instrument
lorsqu'il est:**

- utilisé dans des endroits de laboratoire,
- utilisé comme délivré de Hoefer, Inc sauf pour des modifications décrites dans le manuel de l'utilisateur, et
- connecté à d'autres le label CE des instruments ou des produits recommandés ou approuvés par Hoefer, Inc.

Spécifications

Capacité en utilisant ensemble une seule électrode	1-6 bandes IPG	7 à 24 cm de long
Capacité aide de l'accessoire à double électrode	2-12 bandes IPG	7 cm de long
Sortie	Volt Courant Puissance	12,000 V 10 mA 10 W
Puissance en	100–240 V 50–60 Hz 100 W	
Interface utilisateur	Grand bleu/blanc affichage graphique Bouton 7 Clavier bouton	
Plate-forme de température	15–25 °C	
La capacité de Protocole	30 programmes avec 9 étapes chacun	
D'entrée/sortie ports	Ethernet, RS232	
Dimensions (L × P × H)	38 cm × 27 cm × 19 cm	
Poids	8 kg	
Conditions d'exploitation de l'environnement	Utilisation à l'intérieur Humidité jusqu'à Altitude jusqu'à Catégorie d'installation Degré de pollution	4–40 °C 80% 2000 m II 2
Certifications des produits	EN61010-1:2001, EN61326:1998, CE, WEEE, RoHS	

Composants du système

Déballage

Déballez tous les paquets soigneusement et comparer le contenu avec la liste de colisage, en s'assurant que tous les articles sont arrivés. Si une pièce est manquante, contactez votre Hoefer locale, Inc bureau de vente. Inspecter tous les composants pour les dommages qui ont eu lieu alors que l'appareil était en transit. Si une partie quelconque semble être endommagé, contactez immédiatement le transporteur. Soyez sûr de garder tous les matériaux d'emballage pour dommages et intérêts ou d'utiliser si elle s'avère nécessaire de retourner l'appareil.

Nécessaire mais non fourni:

- Gradient de pH immobilisé (IPG bandes).
- Réactifs nécessaires à la préparation des échantillons et à la réhydratation bande.
- Huile minérale.

Fig. 2. L'unité IEF100.

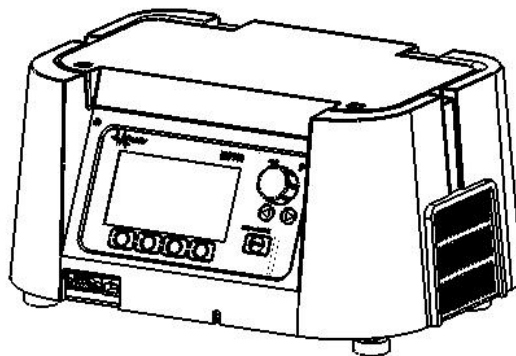
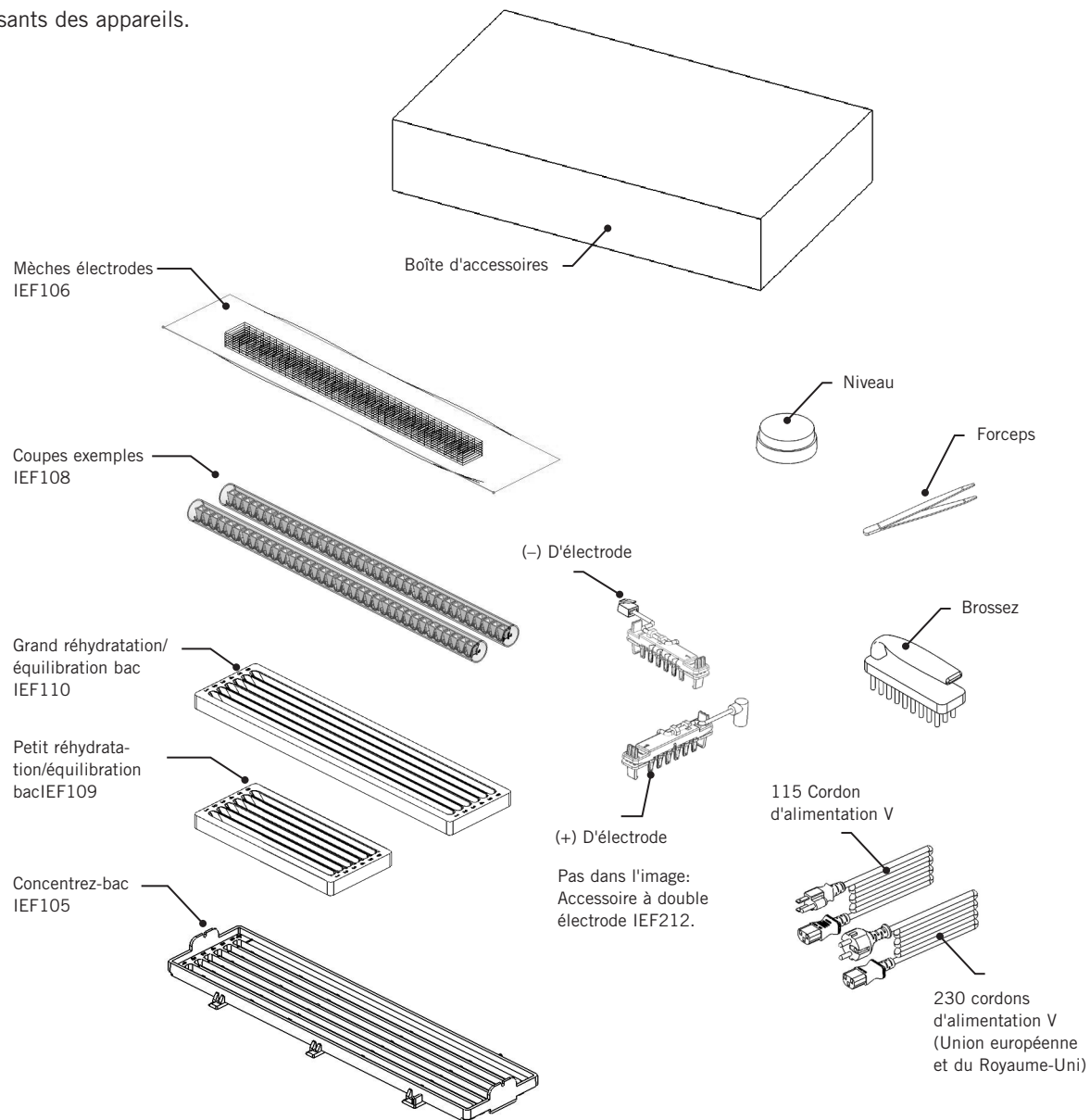


Fig. 3. Les composants des appareils.



Descriptions des composants

Couvercle de sécurité

Le couvercle de sécurité transparent doit être fermé pour que la tension à appliquer aux électrodes. Verrouillages sont utilisées pour arrêter la tension de sortie devrait être ouvert le couvercle pendant l'électrophorèse.

Bouton

Le bouton se déplace le curseur ou modifie les valeurs d'un champ donné. En appuyant sur les bouton vers l'intérieur de «cliquer» commutateurs entre ces deux fonctions. Une LED indique la fonction est active, «MOVE» ou «SET».

Touches fléchées horizontales

Les flèches horizontales sont utilisées lors de la définition des noms de protocole, et les champs de date et l'heure.

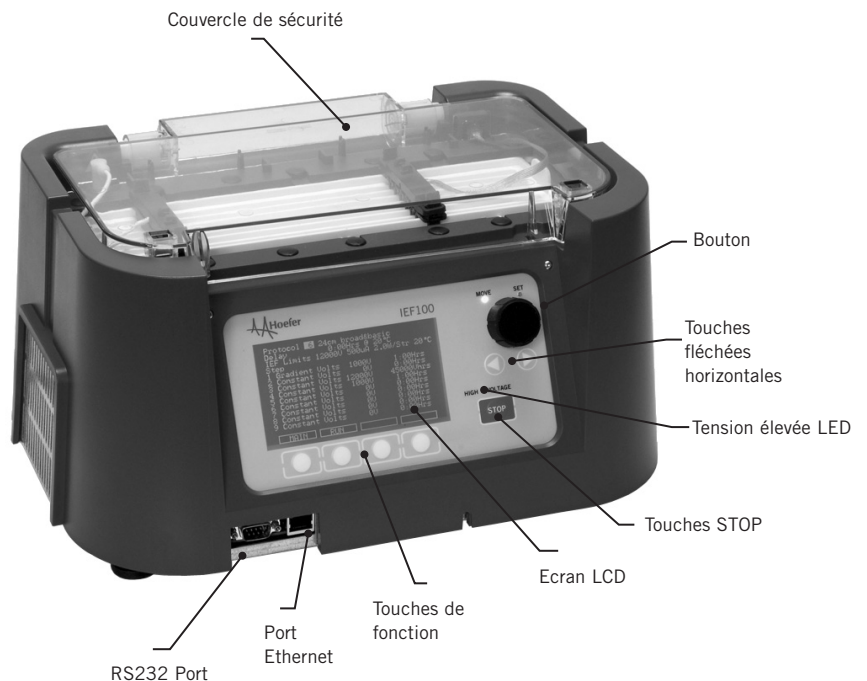
Haute Indicateur LED Volt

Ce voyant est allumé lorsque la tension est appliquée aux électrodes.

Remarque: Tournez le bouton lentement pour obtenir un mouvement désiré sur l'écran. En tournant le bouton trop vite, le curseur clignote, et rester en place. Si cela se produit, tourner le bouton lentement jusqu'à ce que le bon comportement est observé.

Remarque: Le fait de cliquer sur le bouton est de presser et relâcher rapidement, comme un clic de souris. Ne tenez pas le bouton de po

Fig. 4. Avant de l'instrument.



Touche STOP

Arrête immédiatement IEF, et se termine le protocole.

Ecran LCD

Le grand bleu/blanc écran simplifie l'interface, et affiche les résultats IEF graphiques.

Touches de fonction

La fonction de ces touches est affiché sur l'écran directement au-dessus de la touche. La fonction varie en fonction de ce que l'écran est actif.

Ethernet Port/RS232 Port

Ces deux ports peut être utilisé pour télécharger des données à partir des protocoles IEF instrument et de transfert.

Débit d'air

Les fans tirer l'air à travers les fentes latérales, et souffler de l'air sur les événements à l'arrière. L'air se refroidit les composants électroniques, et aide les modules à effet Peltier maintenir une température constante.

d'alimentation secteur

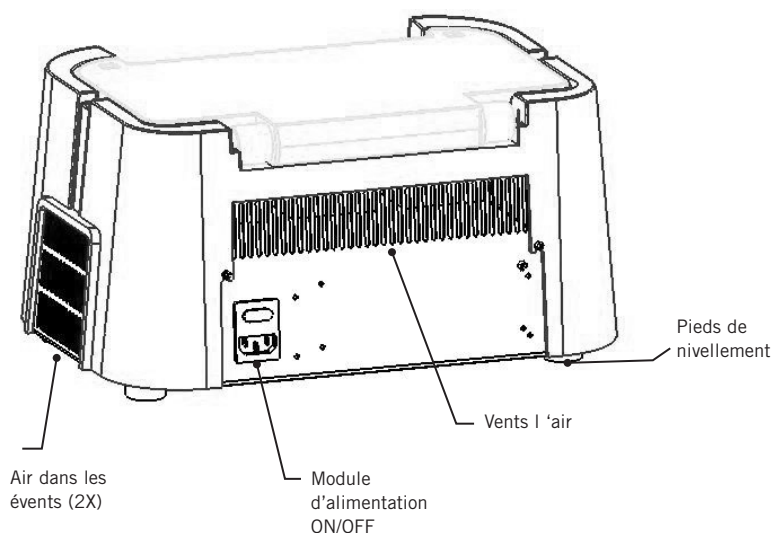
Le module d'alimentation fonctionne à tous les volts et les fréquences.

Les pieds à un niveau à bulle

Les pieds de nivellement et le niveau à bulle peut être utilisé pour niveler la plate-forme IEF. Un instrument de niveau permettra d'assurer l'huile recouvre complètement les bandes IPG.

Fig. 5. Panneau arrière.

Remarque: Les événements ne doivent pas être bloquées.



Concentrez-bac

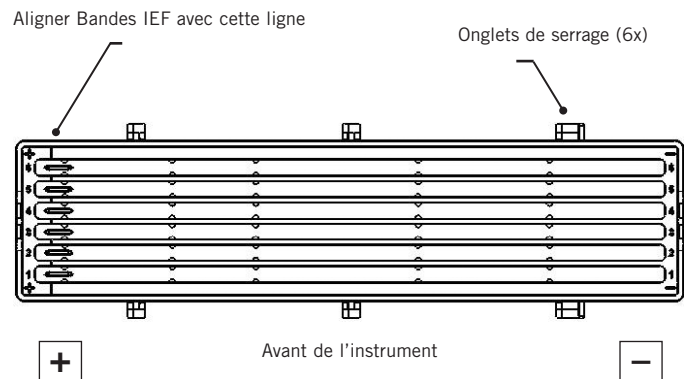
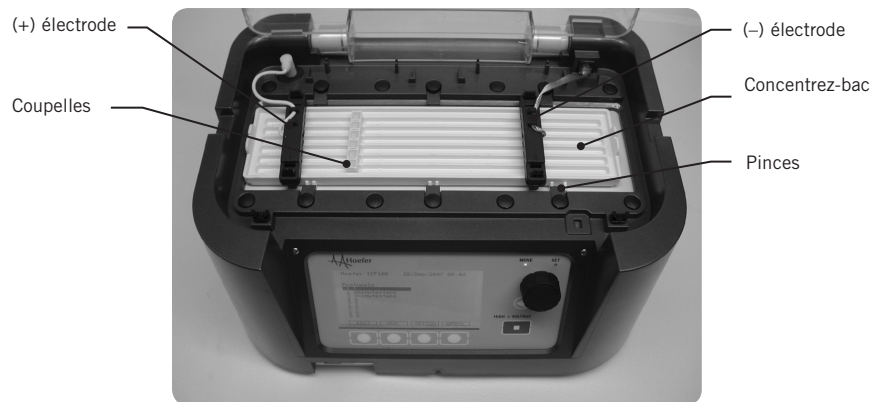
Le plateau peut accueillir 6 canaux se concentrant IPG bandes jusqu'à 24 cm de longueur. Petites rainures dans le bac pour en faciliter l'enlèvement de la bande IPG après focalisation. Détail de ces caractéristiques peut être vu sur la page 24.

Les canaux dans le bac sont numérotés de 1-6, d'avant en arrière de IEF100.

Le bac s'inscrit dans l'instrument dans une seule orientation. Il est mis en place sur le côté droit de la plate-forme, et a démenagé latéralement vers la gauche, le plateau de serrage vers le bas contre la plaque froide. Le mécanisme de serrage améliore le transfert de chaleur pour les plateaux en matière plastique.

Il ya (+) et (-) sur le plateau et l'instrument pour aider à la bonne orientation.

Fig. 6. Haut de l'instrument.



Électrodes

Électrode positive (anode)

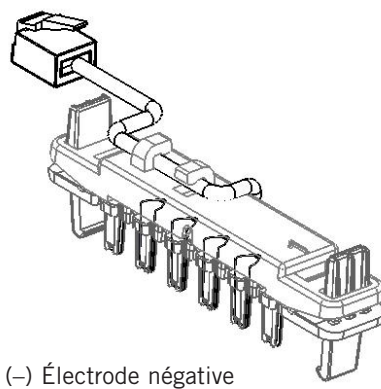
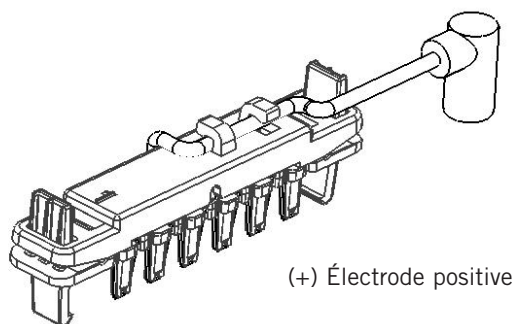
Un connecteur haute tension attache la borne positive (+) électrode(s) à la borne haute tension. L'anode comporte un seul fil blanc et le connecteur, et localise sur le côté gauche du plateau.

Électrode négative (cathode)

Un fil de six (LAN) attache la borne négative (–) électrode(s) à la borne de masse, le contrôle du courant dans chaque voie. Les localise cathode sur le côté droit du plateau.

Les électrodes doivent être placées dans le bac avec le numéro “1” vers l’avant du plateau, et les fils-électrodes de platine face au milieu des bandes IPG.

Fig. 7. L'électrode positive d'électrode (en haut), et négatif (en bas).



Remarque: Les électrodes ne fera pas de contact avec les bandes IPG sans les mèches d'électrodes en place.

Remarque: Les coupelles peuvent être coupés dans des coupes individuelles, si désiré.

Fig. 8. Coupes exemples

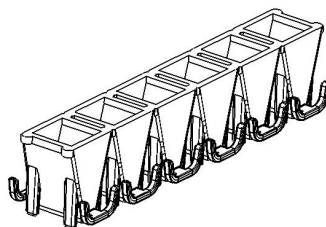
Mèches électrodes

Les mèches sont de petites électrodes rectangulaires papiers filtres qui sont placés sur l'extrémité des bandes IPG. Les électrodes en contact avec la partie supérieure de la mèche. Les mèches d'électrodes aider à éliminer les impuretés qui s'accumulent à la fin des bandes IPG, et plus généralement améliorer le contact de l'électrode.

Les mèches d'électrodes viennent en longues bandes, et doit être coupé à part en rectangles individuels tels qu'ils sont utilisés. Les mèches d'électrodes doivent être humidifié par une légère buvard avec de l'eau avant de l'utiliser.

Coupes exemples

La protéine charge échantillon tasses dans la bande IPG. Coupelles peut contenir jusqu'à 240 µl d'échantillon. Les tasses peuvent être appliquées dans la plupart des endroits le long de la longueur de la bande IPG, et sont normalement appliquées à l'anode (+) fin.



Réhydratation/équilibre Plateaux

Les plateaux de réhydratation/équilibre peut être utilisé pour les deux fonctions. Les voies sont suffisamment étroites pour la réhydratation correcte, mais assez profond pour contenir le volume de réactif nécessaire pour atteindre l'équilibre. Un petit plateau est inclus pour une utilisation avec 7 cm IPG bandes. Le grand plateau peut être utilisé avec IPG bandes jusqu'à 24 cm de longueur.

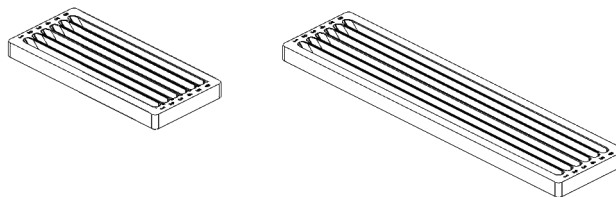


Fig. 9. Réhydratation/équilibre plateaux.

Brossez

La brosse de nettoyage est utilisé pour le nettoyage du bac de focalisation.

Forceps

Forceps faciliter la manipulation de bandes IPG.

Programmation de la IEF100

Écran principal

Lorsqu'il est sur «ON», l'écran principal est affiché (Fig. 10). L'écran principal contient les champs suivants.

Date et heure

La date et l'heure sont mis en place au Pacific Standard Time. Utilisez le bouton «OPTION» pour régler la date et l'heure de votre emplacement. (Voir page écran des options 17).

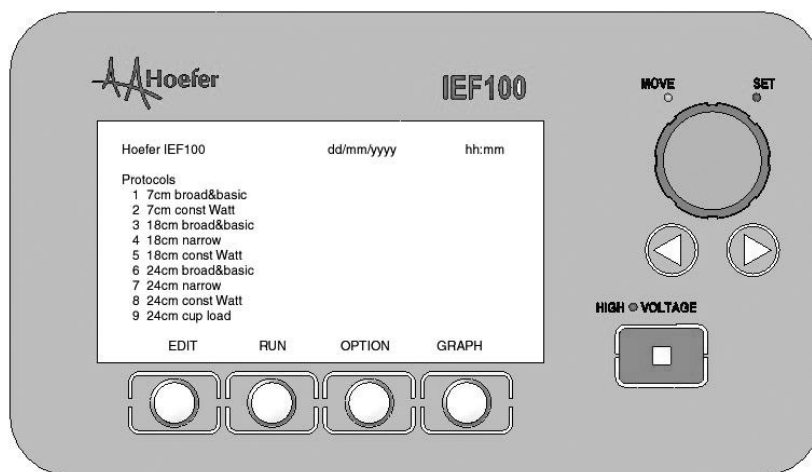
Liste des 30 protocoles

Les neuf premiers protocoles sont indiqués sur l'affichage. L'un des protocoles est toujours en surbrillance. Utilisez le bouton pour faire défiler les autres protocoles.

L'instrument est préchargé avec 9 protocoles de focalisation 7, 18 ou 24 cm IPG. Ce sont des lignes directrices générales pour la focalisation. Fabricants de bandes IPG normalement donner recommandées fois se concentrant dans le total des volt-heures (volts multiplié par les heures). Les deux sous et sur mise au point peut être problématique. Optimum fois centrés devrait être déterminée par l'utilisateur final compte tenu de la bande de IPG, le type d'échantillon et de la charge protéique de l'échantillon. Tous les protocoles peuvent être écrasés, si désiré.

En plus de ces 9 protocoles, il ya 21 autres protocoles anonymes sans étapes pré-programmés, permettant à l'espace utilisateur suffisant pour créer des protocoles personnalisés.

Fig. 10. Écran principal.



Les quatre boutons: EDIT, RUN, OPTION et GRAPH

EDIT

Modifie le protocole mis en évidence.

RUN

Démarre le protocole mis en évidence.

OPTION

Permet d'accéder à des paramètres de port et de la date et l'heure.

GRAPH

Permet d'afficher les courants volts et mesurée graphiquement. Utilisez le bouton pour faire défiler la tension et les profils μA dans les canaux 1-6. La course active sera affiché.

Si ce n'est pas en cours d'exécution d'un protocole, le bouton graphique affiche les données de la dernière exécution.

Remarque: Les données de la dernière exécution est conservé en mémoire jusqu'à ce qu'un nouveau cycle est lancé. Une fois un nouveau cycle est lancé, les données de la dernière exécution n'est plus disponible.

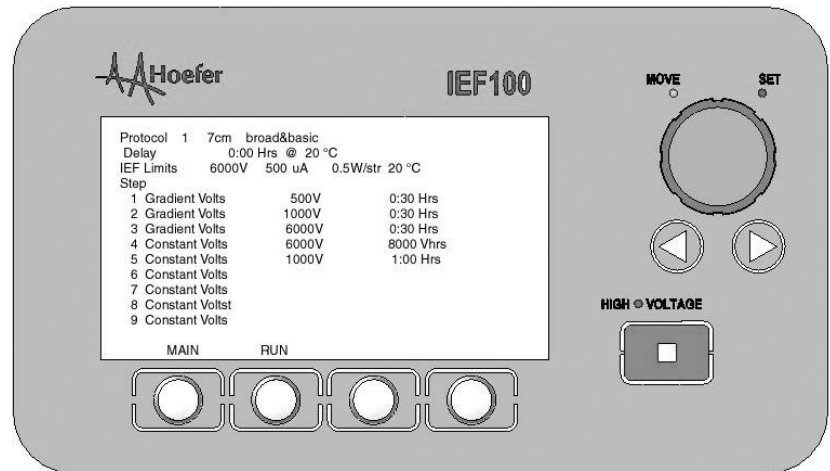
Remarque: Les graphiques volts et le courant ne peut pas être imprimés directement depuis IEF100. Si la sortie de données est envoyé à un ordinateur, les données peuvent être transférées à un programme tel que Excel pour créer le graphe.

Modifier Protocole écran

Dans le menu principal, utilisez le bouton pour mettre en évidence le protocole souhaité. Appuyez sur le bouton situé sous EDIT sur l'écran. Le IEF100 va maintenant afficher le protocole de modifier l'écran (Fig. 11).

Tous les paramètres sont IEF affichées sur un écran. Chaque protocole peut être programmé avec jusqu'à neuf étapes. Le protocole se termine par la première étape ayant une durée de l'étape de zéro.

Fig. 11. Modifier l'écran de protocole. Tous les paramètres d'un protocole ensemble sont visibles sur un écran.



Utilisez le bouton pour vous déplacer entre les champs modifiables suivants. Une fois sélectionné, cliquez sur le bouton pour changer la valeur du champ.

Numéro de protocole

Cliquez sur le bouton. Le bouton va maintenant passer en revue les 30 protocoles, ce qui permet un examen rapide de chaque protocole.

Nom du protocole

Noms de protocole peuvent avoir jusqu'à 16 caractères alphanumériques.

Les symboles suivants sont disponibles:

**ABCDEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
%./-+mun 0123456789**

Mettez en surbrillance le champ du nom de protocole, puis cliquez sur le bouton.

Un curseur fera le premier caractère à clignoter. Tournez le bouton pour faire défiler les symboles ci-dessus. Une fois que le symbole désiré est atteint, utilisez les flèches horizontales (les touches directement sous le bouton) pour déplacer le curseur à la position suivante. Répétez jusqu'à ce que le nom du protocole est correct.

L ‘«espace blanc» se situe entre la lettre minuscule «n» et le «0» symboles.

Le minuscule «m», «u», et «n» peut être utilisé pour désigner milli, micro, nano et, si désiré.

Lorsque le nom est correct, cliquez sur le bouton pour entrer le nom, et se déplacer au champ suivant.

Retarder

La ligne à retard est une étape facultative. A la fois du temps et une température peuvent être entrés. Mise au point va commencer après le délai écoulé. Cela peut être utile pour les courses de nuit où l'utilisateur peut se concentrer veulente avoir la fin à un moment précis, le lendemain matin. Les modules à effet Peltier sera de maintenir la plaque froide à la température de consigne.

Remarque: Les temps à l'incrément minute la plus proche peuvent être téléchargés à partir d'un ordinateur protocoles.

Paramètre	Unités	Gamme	Incrémenter
Time	(hour:min)	0:00 – 99:59	0:15
Temperature	(°C)	15 – 25	1

Remarque: Il est recommandé de ne pas dépasser V 6000 ou plus de 0,5 W/bande pour une IPG 7 cm. S'il vous plaît suivez les instructions du fabricant bande IPG pour les limites recommandées.

Limites IEF

Maximum volts, courant par la bande, et watt par bande sont appliquées au protocole. Ces paramètres remplaceront les valeurs dans les différentes étapes. Ces limites globales peuvent être utilisées afin d'éviter certaines conditions de focalisation qui causent des dommages ou des problèmes avec les bandes IPG.

La température de la mise au point est également définie. Étant donné que les points isoélectriques des protéines dépendent de la température, IEF est typiquement à une température unique, généralement 20 °C. Il n'est pas recommandé d'utiliser des températures inférieures à 20 °C car il peut causer des problèmes avec la cristallisation d'urée dans la bande de GPI.

Paramètre	Unités	Gamme	Incrémenter Bouton réglables	Incrémenter informatiques réglables
Volt	(V)	0 – 12,000	250	1
Current/strip	(µA)	0 – 999	25	1
Watts/strip	(W)	0 – 2,0	0,1	0,1
Temperature	(°C)	15 – 25	1	1

Mesures

Pour modifier n'importe quel paramètre étape, tournez le bouton pour mettre en évidence le paramètre. Appuyez sur le bouton, et tourner le bouton pour régler la valeur désirée. Appuyez sur le bouton de nouveau pour entrer la valeur, et passer au champ suivant.

Chaque étape comporte quatre champs qui peuvent être modifiés: le type étape, une valeur étape, un temps de l'étape, et des unités étape:

Step Type	Volts Constant, gradient volts, watts constante.
Step Value	Définit la valeur maximale de V ou W selon le type d'étape.
Step Time	Temps en heures ou en volt-heures.
Step Units	Heures (heures) ou volt-heures (Vhrs).

Remarque: Il n'est pas recommandé de mettre une série de mesures discrètes volts. Les discontinuités entre les étapes provoquer une hausse des niveaux de puissance qui ont tendance à augmenter les chances de bandes de gravure.

Remarque: Dans certains cas, les paramètres volts ne peut jamais être atteint.

Remarque: Si une étape watts constante est suivie d'une étape de gradient volts, l'étape consistant à gradient volts va commencer de 0, et augmenter linéairement à la tension de consigne.

Type d'étape et de la valeur étape

Chaque étape peut être programmée dans un des trois modes différents, V constant, gradient volts, ou Watt constant.

- Dans volts constante, la tension reste constante throughout la longueur de l'étape.
- Dans gradient volts, la tension va commencer à la tension de fin de l'étape précédente et une augmentation (ou diminution) de manière linéaire au fil du temps à la tension est entré dans l'étape actuelle. Si la première étape du protocole est une étape de gradient volts, la tension augmente de 0.
- Gradient volts étapes augmenter progressivement la puissance appliquée aux bandes IPG, résultant en plus un chauffage de la bande au cours du temps.
- Étapes watts constants seront lisser la production de chaleur autant que possible au cours de la séparation IEF. Il sera toujours en raison de chauffage localisé des concentrations en ions différents le long de la longueur des bandes IPG.
- Lorsque vous utilisez l'étape watts constants, les unités de la valeur du pas de changer automatiquement de watts.
- Dans étapes watts constants, le IEF100 calcule la résistance, et ajuste la tension pour maintenir le réglage watts constante.

Remarque: Lors de la commutation entre les unités de temps, le IEF100 vous permet de convertir entre les heures et Vhrs automatiquement. Il peut aider à définir les unités de temps (heures ou étape Vhrs) avant le point de terminaison numérique est entré.

Step Time

Des mesures peuvent être programmé pour fonctionner pendant un certain laps de temps, heures (00:00 heures: minutes), ou pour un montant fixe de volts-heures, Vhrs (volts multiplié par le nombre d'heures). La plupart des fabricants de bandes IEF recommandons d'exécuter les bandes IPG à un particulier volts heures critère.

Le chercheur doit déterminer le point de terminaison pour leur échantillon spécifique.

La première étape avec une valeur 0 dans le temps entré étape est traité comme la fin du protocole.

Step Type	Gamme	Step Value	
		Incrémenté Bouton réglables	Incrémenté informatiques réglables
Constant Volt	0 – 12,000	250	1
Gradient Volt	0 – 12,000	250	1
Constant Watt	0,1 – 2,0	0,1	0,1

Step Time			
Hrs (hours:minutes)	00:00 – 99:59	0:15	0:01
Vhrs (volt-hours)	0 – 300,000	500	1

Remarque: L'instrument IEF100 surveille le courant et la puissance dans chaque bande individuelle. Si nécessaire, des conditions peut être ajustée et/ou bandes problématiques peut être retiré.

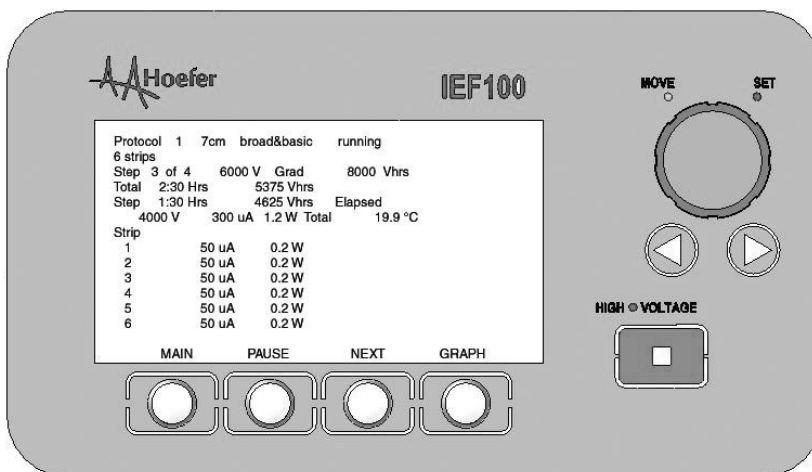
Fig. 12. Exécutez l'écran.

Remarque: Le IEF100 aussi bips entre des changements progressifs.

Exécutez l'écran

Les informations sur l'écran d'exécution est décrite en détail dans la section de fonctionnement IEF.

L'écran d'exécution n'a pas de champs modifiables. Il ne les ont quatre touches programmables, MAIN, PAUSE, NEXT et GRAPH (Fig. 12).



MAIN

Permet à l'utilisateur d'examiner et de modifier tous les protocoles alors que le courant de IEF est toujours en cours.

PAUSE

Les interruptions PAUSE bouton de la haute tension aux bandes IPG, ce qui permet à l'utilisateur de l'interface en toute sécurité avec les bandes. Après une pause, RUN reprendra là où il a été interrompu, ou ABORT mettra fin à la course.

NEXT

Le bouton NEXT permet à l'utilisateur de sauter la partie restante de l'étape active, et commencer à l'étape suivante dans le protocole.

GRAPH

Le bouton GRAPH permet d'afficher les résultats de la série en cours graphiquement. Utilisez le bouton pour faire défiler le profil de tension, et les profils uA dans les canaux 1-6.

Appuyez sur EXIT pour revenir à l'écran d'exécution.

A la fin de la course de la IEF100 émet un bip, et couper l'alimentation en haute tension. Un écran affiche le numéro de protocole, la date et heure de fin, et les conditions finales IEF dans chaque bande IPG.

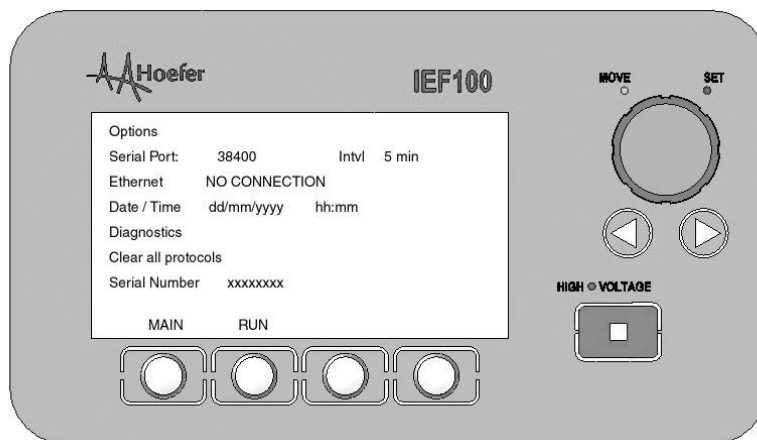
Remarque: Lorsque l'écran d'options est accessible, le IEF100 va d'abord vérifier pour voir si il ya une connexion ethernet. Le IEF100 est inaccessible jusqu'à ce que la vérification est terminée (environ 10 secondes). Les mots «CHECKING ETHERNET» clignote jusqu'à ce que la vérification est terminée.

Fig. 13. Options de l'écran.

Options de l'écran

Dans le menu principal, appuyez sur la touche «OPTION» permettra d'accéder à des options suivantes (Fig. 13).

Serial Port and Intvl
Ethernet
Date/Time
Diagnostics
Clear all protocols
Serial Number



Serial Port

Le port série définit la vitesse à laquelle les données sont envoyées ou reçues par un périphérique externe. La vitesse de transmission peut être réglée à 9600, 38400 ou 57600, à 38400 étant la valeur par défaut. La vitesse de transmission doit correspondre le taux de déclaration des données de l'appareil externe (port de l'ordinateur ou une imprimante série).

Intvl

L'intervalle de temps entre les points de données envoyés à un dispositif externe de réception. Le IEF100 enregistre en interne les points de données toutes les minutes. Lors du téléchargement des données, l'intervalle entre les points de données peut être changé de 1 à 15 minutes. L'intervalle par défaut est de 5 minutes. Pour de longs parcours, il peut être souhaitable d'avoir des points de données moins, et donc d'utiliser des valeurs plus élevées pour l'intervalle.

Ethernet

La connexion Ethernet est déterminé automatiquement. «NO CONNECTION» sera affiché jusqu'à ce qu'un câble Ethernet est branché sur le port. Une fois une connexion LAN active est établie, le serveur local attribuer une adresse IP qui sera affichée dans le format XXX.XXX.XXX.XXX. Ce processus prend habituellement environ 10 secondes.

Pour régler la date

Le champ date est trois champs distincts de «DAY/MONTH/YEAR».

- 1 Utilisez le bouton pour sélectionner le champ date. Cliquez sur le bouton pour régler la date.
- 2 Tournez le bouton pour changer la date. Utilisez les flèches horizontales (les touches directement sous le bouton) pour accéder à la «MONTH» et «YEAR» champs, si nécessaire.
- 3 Lorsque tous les trois champs sont corrects, appuyez sur le bouton pour entrer la nouvelle date.

Pour régler l'heure

Le champ est de deux champs distincts, «HOUR:MINUTE». L'«HOUR» champ utilise la gamme de 0 à 24 pour désigner le moment de la journée.

- 1 Utilisez le bouton pour sélectionner le champ du temps. Cliquez sur le bouton pour régler l'heure.
- 2 Tournez le bouton pour changer le «HOUR». Utilisez les flèches horizontales (les touches directement sous le bouton) pour accéder à la «MINUTE» terrain, si nécessaire.
- 3 Lorsque les deux champs sont corrects, cliquez sur le bouton pour entrer dans la nouvelle heure.

Diagnostics

- 1 Mettez en surbrillance le diagnostic, et cliquez sur le bouton. La touche de fonction «RUN» apparaît sur l'écran. Appuyez sur «RUN» pour afficher une fenêtre contextuelle avec trois options:

Run Diags

Manual Vout

Cancel

- 2 Utilisez le bouton pour sélectionner l'option, puis appuyez sur la fonction «OK».

Run Diags

La fonction de diagnostic a le feu IEF100 à travers une série de tests internes pour confirmer la fonction. Les tests comprennent la tension de sortie et le courant de l'alimentation interne de haute tension, l'eprom, et l'horloge. Si les tests tout est OK, le message «ALL OK» s'affiche brièvement à l'écran.

Si l'un des tests échoue, contactez le représentant Hoefer, Inc pour organiser un service de l'instrument.

Manual Vout

Appuyez sur «OK» pour afficher un écran d'exécution. Cliquez sur le bouton «SET» mode, et la tension de sortie est réglable par incréments de 250 V. La course se poursuivra jusqu'à ce manuel arrêté par l'utilisateur, ou jusqu'à 4 heures.

Quitter cet écran sera de retour au menu principal.

Remarque: Vous ne pouvez pas récupérer les protocoles programmés par l'utilisateur une fois qu'ils ont été remis à zéro, ou effacés.

Clear All Protocols

Cette option est utilisée pour remplacer les protocoles existants dans la mémoire. Un écran contextuel affiche trois options:

The diagram shows a vertical stack of three rectangular buttons. The top button is labeled 'Defaults', the middle button is labeled 'Erase', and the bottom button is labeled 'Cancel'.

- Mettez en surbrillance l'option appropriée et appuyez sur «OK».
- «DEFAULTS» réinitialise tous les 30 protocoles aux paramètres d'usine par défaut, c'est à dire, les neuf protocoles préprogrammés et 21 protocoles vides.
- «ERASE» supprime toutes les données dans tous les 30 protocoles dans la mémoire. Protocoles vides ont des limites par défaut de 12.000 V, 500 μ A/bande, 2 W/bande et 20 °C.

Serial Number

Affiche le numéro de série du IEF100. Ce n'est pas modifiable.

Remarque: Poussez vers l'intérieur du bouton, et relâchez rapidement pour «cliquer». Il y a une rétroaction tactile et sonore. Quelques changements cliquez sur fructueuses entre «MOVE» et «SET». Modes

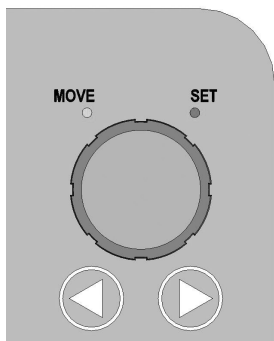


Fig. 14. Le bouton.



Fig. 15. Interrupteur ON/OFF.

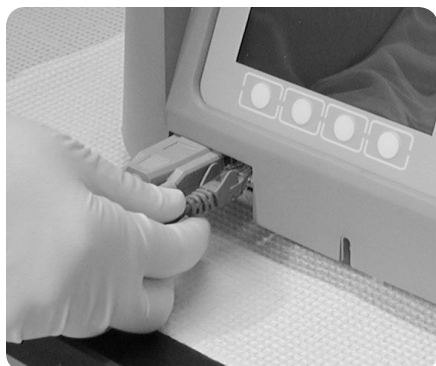


Fig. 16. Connexion Ethernet.

Opération IEF100

En utilisant le bouton

Le bouton a deux actions, il s'avère, et pousse pour «cliquer» (Fig. 14).

Tourner: Navigue à travers les champs, ajuste les valeurs.

Cliquez sur: Changements entre «MOVE» et «SET» modes, comme indiqué par la LED.

- 1 Dans «MOVE» mode, mettez en surbrillance le champ que vous souhaitez modifier.
- 2 Cliquez sur le bouton pour changer de «SET» mode.
- 3 En tournant le bouton va maintenant ajuster la valeur du champ. Lorsque la valeur correcte est affichée, cliquez sur le bouton de nouveau pour entrer la valeur, et revenir à «MOVE» mode. En tournant le bouton allons maintenant passer au champ suivant.

Configuration IEF

- 1 Branchez le IEF100 dans une prise de terre secteur à l'aide du cordon d'alimentation approprié. Un adaptateur peut être nécessaire dans certains pays. Le module d'alimentation est sur le panneau arrière. Le commutateur ON/OFF est situé sur le module d'entrée d'alimentation (Fig. 15).
- 2 Prévoyez un espace autour de l'instrument et un dégagement suffisant au-dessus pour permettre l'ouverture du couvercle. Les événements ne doivent pas être bloqués. Ne pas laisser les liquides de pénétrer dans les prises secondaires.
- 3 Lavez le plateau d'électrode, bien rincer avec de l'eau déminéralisée et laisser sécher à l'air.
- 4 Doucement propres électrodes de platine points de fil de contact et laisser sécher.
- 5 Lorsque l'appareil est inactif pendant une période de temps un économiseur d'écran sera affiché à prolonger la vie de l'écran. Appuyez sur n'importe quelle touche pour quitter l'économiseur d'écran.

Connexions imprimante et l'ordinateur

Attacher et configurer une imprimante ou un ordinateur avant de se concentrer, et le IEF100 envoie automatiquement les données de sortie en temps réel (Fig. 16).

Voir en option Connexions de données, page 35.

Préparation bandes IPG

Gels pH immobilisé (IPG) sont ultra minces sur des gels de polyacrylamide films de support en plastique. Les gels sont réalisés avec un gradient de pH lié de manière covalente dans la matrice de gel. Les gels sont stables et reproductibles. Les gels sont fournis déshydratés et doivent être conservés à des températures de -20 °C ou moins.

Les bandes IPG avoir un acide (+) et une fin de base (–) fin. Images de gel 2D sont généralement représenté avec le côté acide sur la gauche, et c'est l'orientation des bandes IPG dans le IEF100. L'électrode appropriée doit être appliquée à chaque extrémité: anodique (+) à l'extrémité d'électrode acide (gauche) et le cathodique (–) d'électrode à l'extrémité de base (à droite).

Les bandes séchées nécessitent une réhydratation avant la course. En règle générale, plusieurs réactifs différents sont inclus dans la solution de réhydratation pour aider à solubiliser les protéines, et de permettre succès isoélectrofocalisation. La réhydratation se fait généralement à la température ambiante, ou 20 °C, et a besoin d'un minimum de 8 heures pour une bonne absorption de la solution reswelling. Il est souvent plus pratique pour permettre la réhydratation de se produire du jour au lendemain. Au cours de la réhydratation, les bandes IPG sont couverts dans l'huile minérale pour prévenir la perte d'humidité, et d'éviter la cristallisation d'urée.

Les bandes IPG sont réhydratés en utilisant l'un des plateaux de réhydratation/équilibre fournies avec le IEF100. Échantillon de protéine peut être ajouté à la bande IPG dans cette étape. Les bandes IPG sont transférées à IEF100 pour focaliser.

Remarque: Le IEF100 est un endroit idéal pour réhydrater bandes. La plaque froide sera de maintenir une température constante, et le couvercle afin de protéger les bandes IPG de la poussière.

Remarque: L'utilisation de plus que les volumes recommandés peuvent contribuer à la perte de protéines ou de résultats IEF flous.

Remarque: Les solutions de réhydratation contiennent généralement des concentrations élevées d'urée qui ont tendance à cristalliser à des températures plus basses. Pour cette raison, la réhydratation ne doit pas être fait dans les chambres froides ou dans des environnements beaucoup plus froid que 20 °C.

Remarque: coulissante les bandes dans le tampon de réhydratation mouiller toute la longueur de la bande, et permet d'éviter le collage. Bandes placés directement sur le fond en plastique du bac de réhydratation peut coller, et non pas réhydrater correctement.

Réhydratation des bandelettes IPG

Une brève discussion sur les ingrédients de réhydratation et de leur fonction est incluse dans l'annexe B, avec quelques solutions recommandées. Les réactifs peuvent être personnalisés pour des échantillons spécifiques.

Le volume de solution est dépendante de la longueur de la bande à être utilisé. Hoefer recommande de suivre les recommandations du fabricant bande d'IPG.

Un tableau des volumes typiques est inclus ci-dessous.

Longueur de dénudage (cm)	Volume par bande (µl)
7	130
18	340
24	450

Appliquer la solution de réhydratation dans un canal du plateau de taille appropriée réhydratation dans une ligne légèrement plus courte en longueur que la bande à réhydrater.

Beaucoup constructeur bande IPG couvrir les bandes avec une housse de protection. S'il est présent, décoller la couche de protection.

Placer la bande, côté gel de bas, sur le liquide dans le canal. Faites glisser délicatement la bande avant et en arrière pour mouiller toute la longueur du gel IPG avec une solution de réhydratation. Parfois, de levage et d'abaissement de la bande IPG peut aider à obtenir le bon contact de la solution sur toute la longueur de la bande de gel IPG.

Couvrir les bandes avec de l'huile minérale, le numéro d'ordre Hoefer GR138-1.

Laisser réhydrater un minimum de 8 heures. Mieux réhydratation se produit si les bandes permettant de se réhydrater pendant la nuit.

La focalisation isoélectrique (en utilisant le jeu d'électrodes unique)

1

Ouvrir le couvercle de sécurité en appuyant sur l'étiquette poussoir blanc au milieu de l'avant du couvercle (Fig. 17).

2

Insérez le bac IEF105 mettant l'accent sur l'extrême droite de la plaque froide. Le plateau comporte une seule orientation. Il ya (+) et (-) sur le plateau qui s'alignent avec les marques correspondantes sur le IEF100.

Le plateau ne tient pas correctement dans le IEF100 dans toute autre orientation.

3

Faites glisser le bac se concentrant sur la gauche sous les onglets de serrage (Fig. 18). Ces pattes améliorer le contact, et le transfert de chaleur, entre le plateau et la plaque froide.

4

Utilisez une pince pour charger les bandes IPG réhydratés dans le côté gel de bac se concentrant vers le haut. Le anodique (+) des extrémités des bandes devrait être mis sur la gauche, correspondant à la (+) sur le plateau et le IEF100 (Fig. 19).

Les canaux pour bandes sont numérotées de manière que le canal 1 est la plus proche de l'avant et le canal 6 est à l'arrière de IEF100.

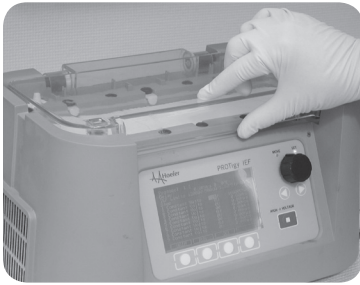


Fig. 17. Ouvrez le couvercle de sécurité.



Fig. 18. Faites glisser le bac de focalisation.

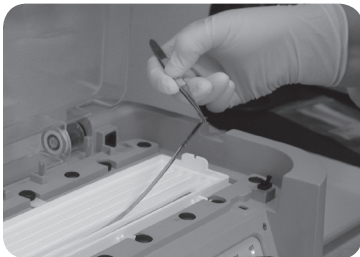


Fig. 19. Chargez les bandes IPG.

Remarque: Dans toute course d'une, toutes les bandes IPG devrait être la même longueur pour les électrodes de faire un bon contact.

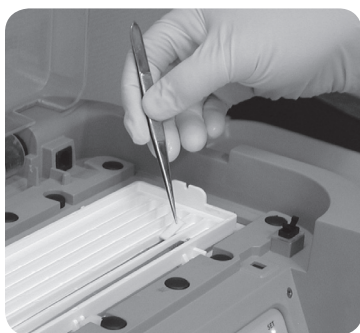


Fig. 20. Alignez les bandes.

Remarque: Les mèches électrodes absorbent les ions de collecte au niveau des extrémités des bandes IPG, et plus généralement d'améliorer les résultats IEF.

Fig. 21. Bac de mise au point élargie.

5

Aligner l'extrémité (+) des barrettes de la marque d'alignement dans le bac (Fig. 20).

Cela vous aidera de deux façons. La première, les languettes de serrage ne pas interférer avec le positionnement des électrodes. Deuxièmement, il ya de petites rainures dans le fond des canaux pour une pince pour enlever les bandes IPG après IEF.

6

Appliquer mèches électrode sur le dessus de chaque extrémité des bandes IPG, chevauchant le gel par 2-3 mm, et s'étendant de l'extrémité de la bande IPG.

- Les mèches électrodes sont fournis en longues bandes perforées. Utilisez des ciseaux pour couper le nombre souhaité de mèches.
- Humidifier les mèches IEF avec de l'eau et éponger délicatement hors tout excès d'eau.

Rainures pour une pince pour enlever les bandes IPG

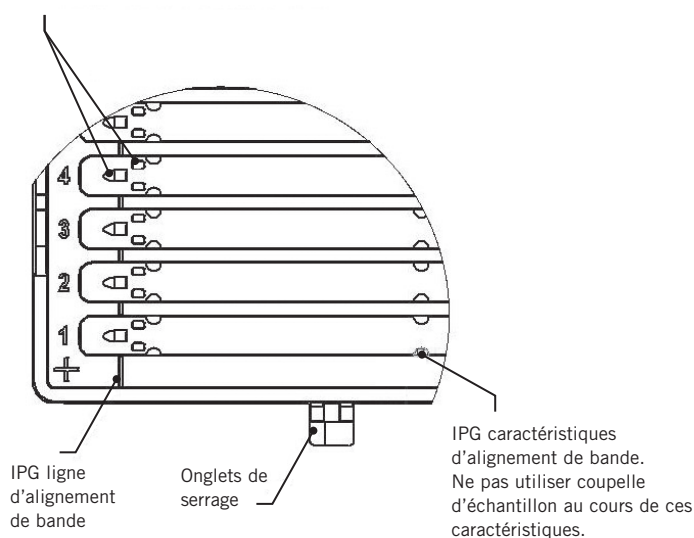
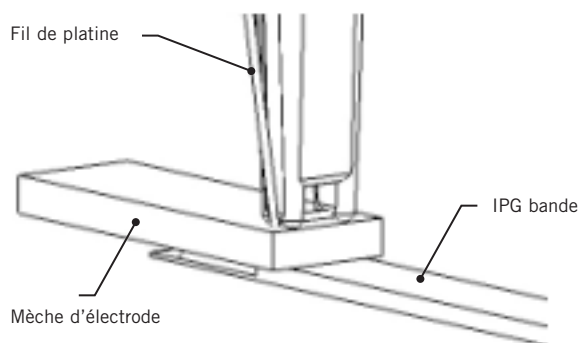


Fig. 22. Mèche de placement.



Remarque: Les électrodes ne fera pas de contact avec les bandes IPG sans la mèche électrode en place.

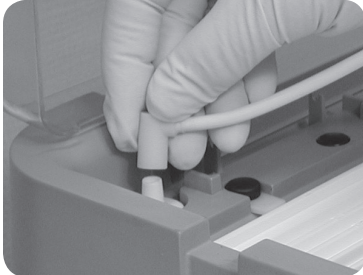


Fig. 23. Connectez-(+) de l'électrode.



Fig. 24. Bloquer (+) électrode en place.

7

Relier l'électrode (+) à la borne (+) (Fig. 23).

8

Placer l'électrode (+) au-dessus des électrodes mèches de sorte que le fil de platine est porté dans la zone de chevauchement entre les mèches et la bande IPG (Fig. 24).

L'électrode doit légèrement verrouiller en place.



Fig. 25. Connectez-vous (-) de l'électrode.

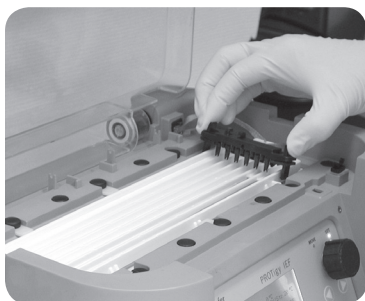


Fig. 26. Bloquer (-) électrode en place.



Fig. 27. Couvrir avec de l'huile minérale.

9

Connectez l'électrode (-) à la borne (-) (Fig. 25).

1

Placer (-) électrode sur le dessus des électrodes mèches de sorte que le fil de platine est porté dans la zone de chevauchement entre les mèches et la bande IPG (Fig. 26).

L'électrode doit légèrement verrouiller en place.

11

Couvrir les bandes et les canaux vides avec 60 ml d'huile minérale. En utilisant moins de pétrole sera risquer que les bandes IPG ne sera pas entièrement couvert et peut sécher pendant la course (Fig. 27).

La focalisation isoélectrique (en utilisant l'accessoire à double électrode)

L'accessoire à double électrode augmente la capacité de Hoefer IEF100, permettant d'obtenir jusqu'à douze ans, 7 cm IPG bandes à exécuter simultanément. Ceci est accompli en exécutant jusqu'à six paires bandes IPG en parallèle. Chacun des six canaux fera rapport à la somme du courant et la puissance des bandes appariées, par conséquent, les limites actuelles et de la puissance devrait être fixée à deux fois la valeur usuelle utilisée lors de l'exécution des bandes simples et, comme toujours, les bandes IPG en cours d'exécution simultanément doivent être du même pH et la conductivité.

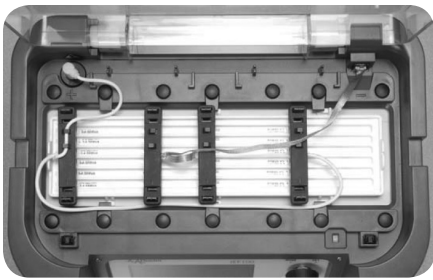


Fig. 28. IEF100 mis en place en utilisant l'accessoire à double électrode.

1

Ouvrez le couvercle de sécurité en appuyant sur l'étiquette de poussée dans le milieu de l'avant du couvercle.

2

Insérez le bac IEF105 mettant l'accent sur l'extrême droite de la plaque froide. Le plateau comporte une seule orientation. Il ya (+) et (-) sur le plateau qui s'alignent avec les marques correspondantes sur le IEF100.

Le plateau ne tient pas correctement dans le IEF100 dans toute autre orientation.

3

Faites glisser le bac se concentrant sur la gauche sous les onglets de serrage. Ces pattes améliorer le contact, et le transfert de chaleur, entre le plateau et la plaque froide.

4

Utilisez une pince pour charger les 7 cm réhydratés IPG bandes dans le bac de mise au point du côté de gel des bandes vers le haut.

5

La première série de bandes IPG doit être chargé sur le côté gauche du bac avec le anodique (+) des extrémités des bandes sur la gauche correspondant à la (+) sur le plateau et le IEF100.

6

Le second ensemble de bandes IPG sont chargés à la droite de la première série dans l'orientation opposée, avec l'extrémité anodique (+) des bandes correspondant à la (-) sur le plateau et le IEF100. L'extrémité cathodique (-) de l'ensemble chacune des bandes doit être face à face dans le centre du plateau de focalisation, d'environ 4 cm de distance (Fig. 29).

7

Bandes parallèles IPG devrait être aligné aussi étroitement que possible à l'aide de la (+) ou (-) imprimé sur la bande pour guider l'alignement.

8

Appliquer mèches électrode sur le dessus de chaque extrémité des bandes IPG, chevauchant le gel par 2-3 mm, et s'étendant de l'extrémité de la bande IPG.

- Les mèches électrodes sont fournis en longues bandes perforées. Utilisez des ciseaux pour couper le nombre souhaité de mèches.
- Humidifier les mèches IEF avec de l'eau et éponger délicatement hors tout excès d'eau.

9

Connecter les électrodes d'anode (+) pour la borne positive (+) borne sur le côté gauche de la IEF100.

1

Les électrodes d'anode sont placées à chaque extrémité du plateau de focalisation, le côté gauche de la première série de bandes IPG et le côté droit de la seconde série de bandes IPG. Les électrodes doivent être centrés sur le dessus de la zone où les chevauchements mèche le gel de la bande IPG.

11

Connecter les électrodes cathode (-) à la borne négative (-) de la sur le côté droit de la IEF100.

12

Les électrodes de cathode sont placés au centre du plateau de focalisation, sur le côté droit de la première série de bandes IPG et le côté gauche de la seconde série de bandes IPG. Les électrodes doivent être centrés sur le dessus de la zone où les chevauchements mèche le gel de la bande IPG.

Fig. 29. IPG placement bande.



Remarque: Il ya de petites fonctionnalités semi-circulaires dans le fond des canaux de plateau qui permettrait d'aligner la bande IPG dans le milieu de la voie. Les jambes de la coupelle d'échantillon ne doit pas frapper ces caractéristiques, ou bien la coupelle d'échantillon des fuites. Voir Fig. 21 à la page 24.

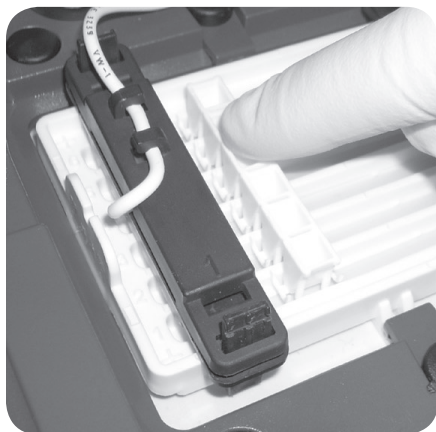


Fig. 30. Placez coupelles.



Fig. 31. Appliquer l'échantillon.



Fig. 32. Fermer le couvercle de sécurité.

Coupes exemples

Tasses exemples peuvent être utilisés pour appliquer échantillon de la protéine à des bandes IPG si elle n'a pas été inclus dans le tampon de réhydratation. Les coupelles sont fournies en bandes de six tasses. Les coupelles peuvent être utilisés ensemble ou découpés et utilisés séparément.

1

Appuyez sur les coupelles sur le dessus des bandes IPG. Les coupelles doit s'arrêter sur le bas du canal et le sceau sur les bandes IPG (Fig. 30).

En général, de chargement le plus tasse se fait sur la fin de la bande anodique IPG. Chaque échantillon est différent. Dans certaines situations, les échantillons peuvent mieux se concentrer chargée ailleurs sur une bande. Cela ne peut être déterminée expérimentalement pour différents types d'échantillons.

2

Jusqu'à 240 µl échantillon peut être appliquée à des tubes d'échantillons (Fig. 31).

3

Une fois chargé, de confirmer les paramètres du protocole.

4

Fermez le couvercle (Fig. 32).

Remarque: Les limites globales du protocole de courant/bande et watts/bande ne fonctionnent pas correctement sans entrer le bon nombre de canaux contenant des bandes.

Remarque: Les IEF100 surveille le courant et watt dans chaque canal. Si nécessaire, des conditions peut être ajustée et/ou bandes problématiques peut être retiré de la course.

Début IEF

①

Mettez en surbrillance le protocole désiré, et appuyez sur «RUN».

②

Confirmer le nombre de canaux se concentrant plateau contenant des bandes IPG. Utilisez le bouton pour changer la valeur.

③

Appuyez sur «RUN» pour démarrer IEF.

④

Le IEF100 émet un bip pour indiquer le début d'une course. La haute tension s'allume, et «RUNNING» se mettra à clignoter dans le coin en haut à droite de l'écran.

L'écran affichera terme les conditions de fonctionnement actuelles.

Remarque: Le IEF100 ne peut contrôler les conditions d'un canal bac se concentrant à la fois. Les IEF100 limites de la chaîne avec le courant le plus élevé, ou en watts. Bandes IPG préparés dans des conditions identiques montre les variations dues aux différences géométriques dans le gel IPG et les différences de contact sous les électrodes. IPG bandes avec des échantillons différents peuvent apparaître de grandes différences dans le courant dû à la puissance et de conductivités différentes des échantillons.

Exécutez l'écran

L'écran affiche l'exécution de toutes les informations sur l'exécution en cours (Fig. 33). Il n'y a pas de champs modifiables. Les informations sur l'écran d'exécution est décrit ci-dessous.

Ligne 1

Le numéro de protocole et le nom sont affichés. Le coin en haut à droite indique l'état d'exécution soit comme exécutant (clignotant), en pause ou fini.

Ligne 2

Affiche le nombre de bandes IPG étant porté (ou le nombre de canaux si vous utilisez l'accessoire à double électrode).

Ligne 3

Décrit l'étape active; le numéro d'étape, la valeur du pas (V ou W/bande) et le point final étape (heures ou Vhrs).

Ligne 4

Affiche le temps total écoulé et le total des volt-heures de mise au point jusqu'à ce moment.

Ligne 5

Affiche le temps total écoulé et le total des heures de volts-l'étape active.

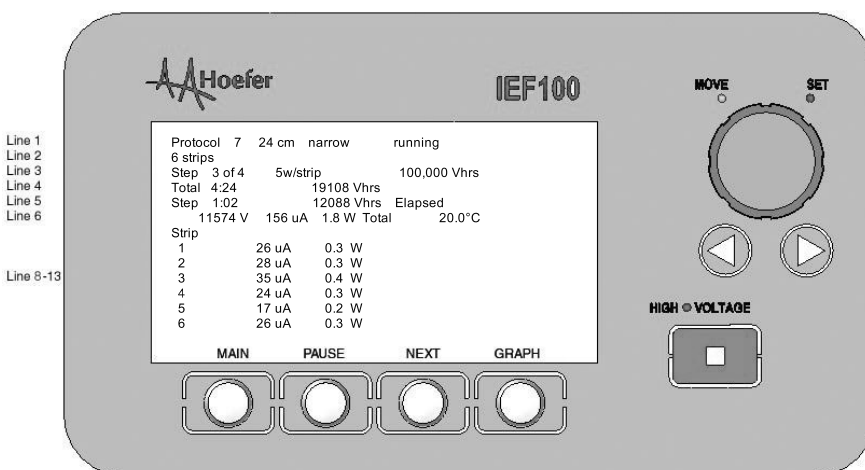
Ligne 6

Affiche les conditions réelles de sortie de temps de toutes les bandes, y compris les volts courant, le courant total, les watts totaux et la température plate-forme.

Ligne 8-13

Afficher le courant bande individuelle et watts.

Fig. 33. Exécutez l'écran.



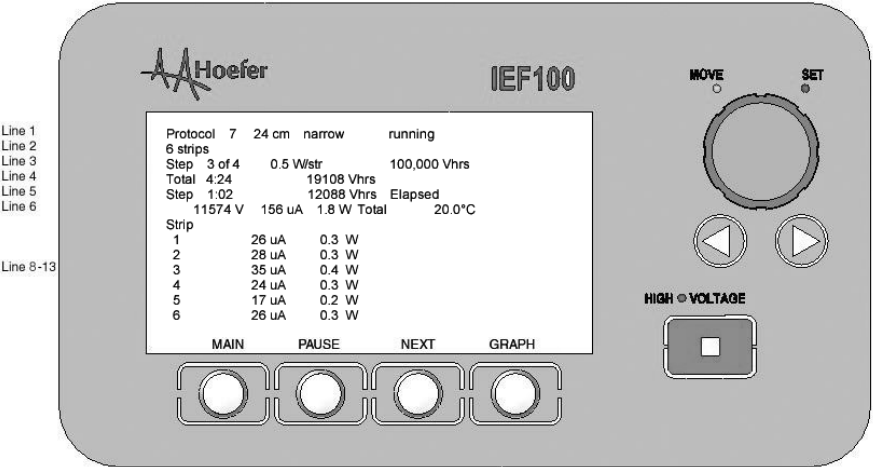
Dans l'exemple ci-dessous 6 bandes IPG sont axés selon le protocole 7, un maximum de 0,5 W/bande et 100.000 volts heures d'étude (Fig. 34).

Le protocole se trouve dans la troisième étape. Le protocole a été en marche pendant 4 heures et 24 minutes, ou 19.108 volts-heures. Actuellement, le protocole est de 1 heure et 2 minutes et 12.088 volts-heures, dans l'étape 3.

L'alimentation interne est la prestation 11.574 volts, soit un total de 156 µA et 1,8 watts à travers six bandes IPG.

Pendant quelques bandes terme différents peuvent contrôler la tension globale que la résistance des changements de bandes pendant la course.

Fig. 34. Exécutez l'écran.



Remarque: le sel supplémentaire dans l'échantillon tend à aplatir les graphiques (horizontalement) et prendre plus de temps pour l'échantillon de se concentrer.

Remarque: Si il ya des problèmes avec la combustion des bandes IPG, définir la limite actuelle de 50 μ A/bande pour assurer la sécurité des conditions de focalisation pour l'entière séparation.

Remarque: La tension et μ A sont mis à l'échelle et tracées automatiquement.

Typiques focalisation isoélectrique

La première étape est généralement réglé à basse tension pour limiter le courant et laisser les ions se déplacent à la fin des bandes IPG sans courants excessifs. Si le chargement d'échantillon avec une tasse de l'échantillon, une étape supplémentaire lente peuvent être ajoutés à l'échantillon à entrer dans la Bande IPG dans des conditions douces.

Dans les étapes intermédiaires, les rampes de tension à la hausse pour atteindre un plateau, et c'est là que les plus de la focalisation se produit. Le courant décroît jusqu'à une valeur minimale. Les graphiques ci-dessous montrent volts typique et profils μ A (Fig. 35).

Un étape finale a été ajouté aux protocoles pré-programmés pour maintenir la tension à 1000 V pendant une heure. Cela permet de garder les bandes centrées dans le IEF100 jusqu'à ce que la prochaine étape. Prolonger la durée de cette étape si nécessaire.

Fig. 35. Volts typiques et les profils μ A.

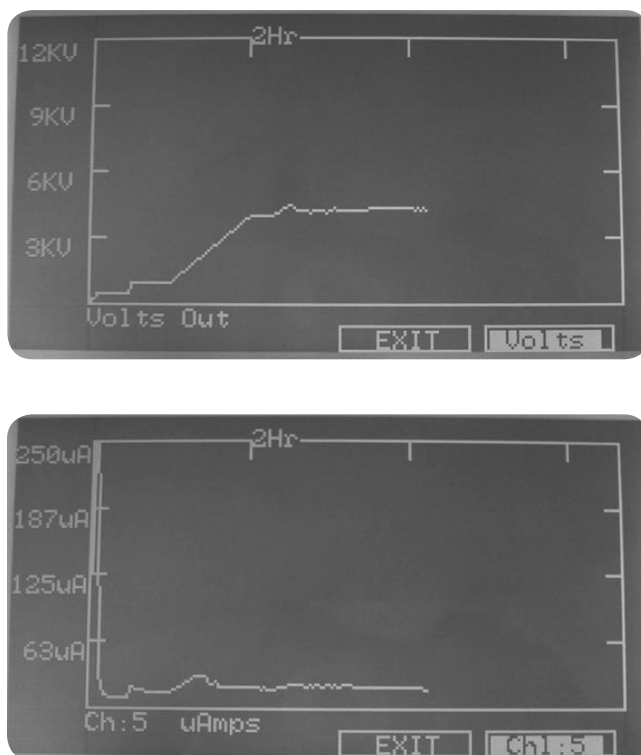
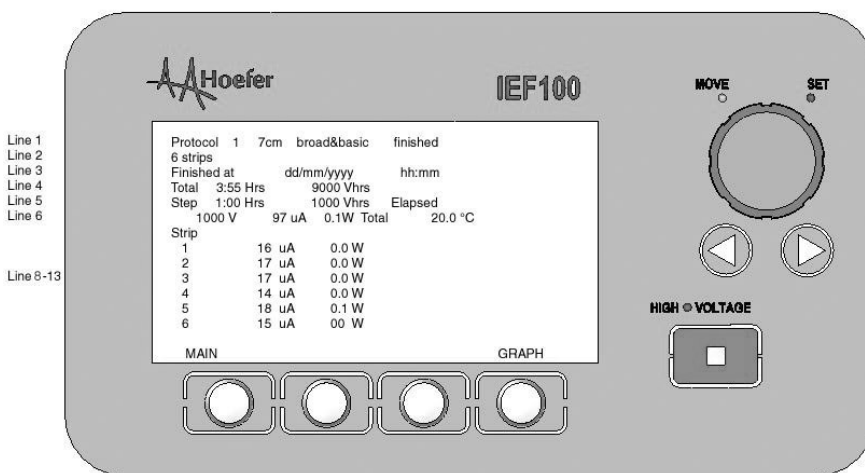


Fig. 36. Fin écran d'exécution.



Lorsque mise au point est terminée, le IEF100 émet un signal sonore, et un écran de fin de course sera affichée (Fig. 36).

Ligne 1

Le numéro de protocole et le nom. Le mot «FINISHED» est affiché dans le coin supérieur droit.

Ligne 2

Le nombre de bandes de fonctionner (ou le nombre de canaux si vous utilisez l'accessoire à double électrode).

Ligne 3

La date et l'heure que se concentrer fin.

Ligne 4

Le temps total et la tension des heures de mise au point.

Ligne 5

Le temps de la dernière étape et la tension des heures.

Ligne 6

Les volts, et le courant total et watts de toutes les bandes IPG à la fin de la course.

Ligne 8-13

Les conditions de chaque bande à l'extrémité de la course.

Remarque: Chaque fois qu'un nouveau IEF est commencé, les données précédentes IEF est définitivement perdue.

Remarque: Ne pas équilibrer les bandes IPG avant de le ranger à -20 °C.

Les résultats peuvent être visualisés sous forme graphique en appuyant sur la fonction «GRAPH». Les données seront conservées en mémoire jusqu'à ce qu'un nouveau cycle est lancé.

À ce stade, les bandes IPG peuvent être stockés à -20 °C.

Ou, si la deuxième dimension est de procéder immédiatement, le tampon doit être échangé dans un processus en deux étapes d'équilibration avant PAGE deuxième dimension.

Connexions de données en option

Connexion de l'imprimante série

Utilisez le port RS232 pour se connecter directement à une imprimante série. L'imprimante et le câble ne sont pas fournis. La série de l'imprimante doit avoir les paramètres suivants.

Baud Rate	9600, 38400 ou 57600 (doit correspondre à IEF100 débit en bauds)
Data Bits	8
Parity	None
Stop Bit	1
Flow Control	None

La section suivante décrit la connexion série de l'ordinateur ou une connexion Ethernet à IEF100.

Connexion HyperTerminal

HyperTerminal est un programme Windows™ qui peuvent communiquer avec des périphériques externes. En mettant en place une connexion entre un ordinateur et le IEF100, l'utilisateur peut:

- Les protocoles d'importation et d'exportation de la IEF100.
- Capture de données de sortie de la IEF100.
- Contrôler la IEF100.

La description et les écrans ci-dessous sont des écrans HyperTerminal. Autres programmes d'émulation de terminal fonctionnera également en utilisant les mêmes paramètres.

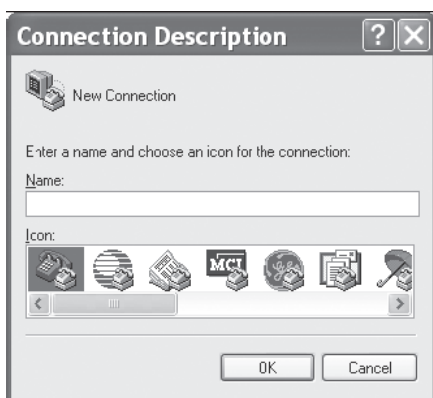


Fig. 37. Attribuer un nom aux nouvelles connexion.

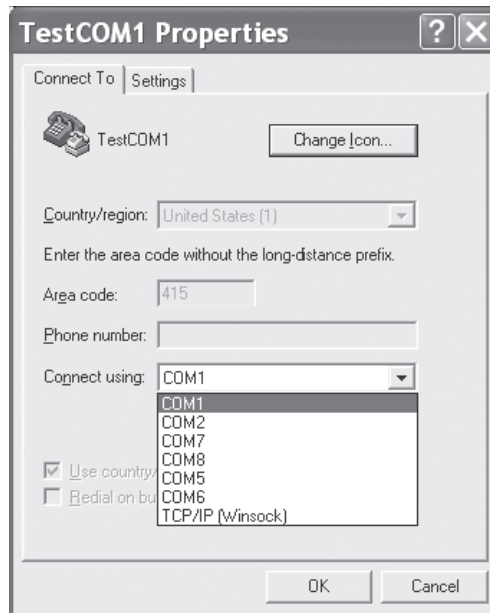
Configuration du port de communication

- 1 Démarrez HyperTerminal sous Windows.
- 2 Cliquez sur «START» de commande.
- 3 Lancez Tous les Programmes-Accessories-Communications-HyperTerminal.
- 4 Attribuez un nom à la nouvelle connexion (Fig. 37).

Configuration du port série

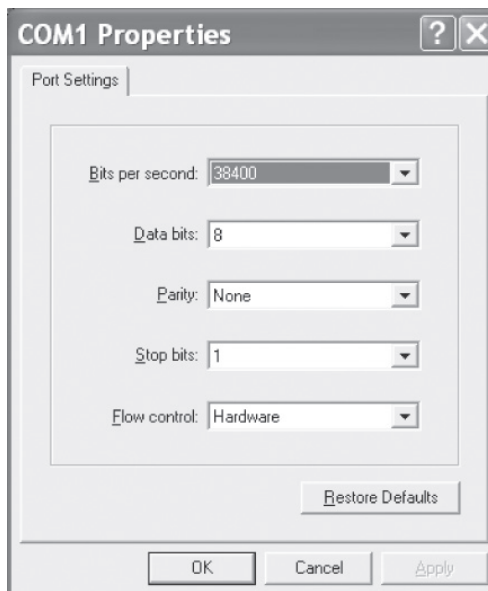
- 1 Sélectionnez un Com Port (Fig. 38). C'est le port de l'ordinateur de communiquer directement avec le IEF100. Choisissez TCP/IP si vous vous connectez via la connexion ethernet.

Fig. 38. Sélectionnez un Com Port.



- 2 Réglez le baud rate à de données le même que IEF100, 9600, 38400 ou 57600 et 8 data bits, no parity, 1 stop bit, hardware flow control (Fig. 39).

Fig. 39. Réglez le baud rate.



Connexion TCP/IP via le port Ethernet

Utilisez le IEF100 port ethernet pour se connecter à un réseau local (LAN).

Branchez un câble Ethernet direct dans le port. Le LAN attribuer automatiquement une adresse Internet à IEF100. L'adresse Internet est indiquée sur l'écran IEF100 options.

Port Ethernet Configuration

- 1 Partir de l'écran HyperTerminal propriétés, sélectionnez le protocole TCP/IP (Winsock) option au port de fenêtres de communication propriétés (Fig. 40).
- 2 Appuyez sur «OPTION» à partir de l'écran principal de IEF100. Le serveur local doit attribuer automatiquement une adresse Internet dans le format XXX.XXX.XXX.XXX.

Entrez l'adresse IP à IEF100 dans le «HOST ADDRESS» en ligne en format XXX.XXX.XXX.XXX (Fig. 41).

- 3 Réglez le «PORT NUMBER» à 10001 (Fig. 41).

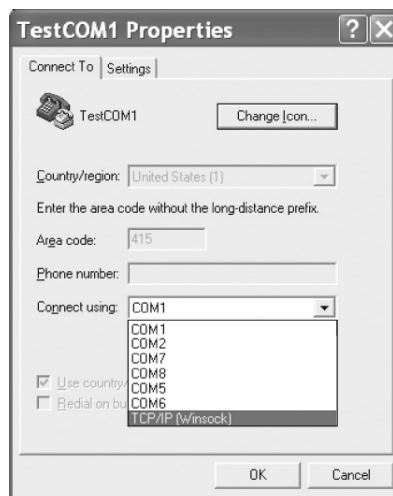


Fig. 40. Sélectionnez l'option TCP/IP.

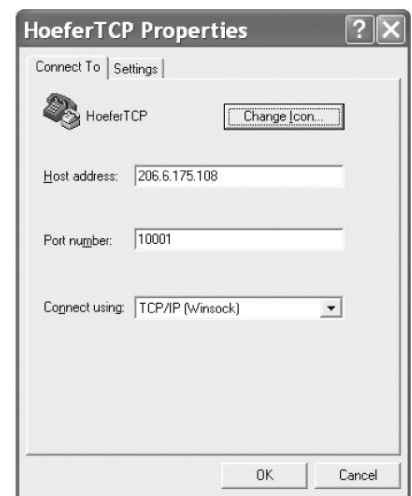
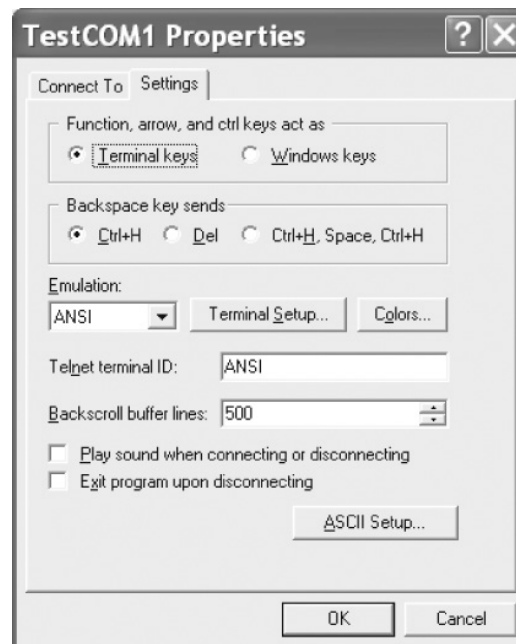


Fig. 41. Entrez l'adresse IP et le numéro de port.

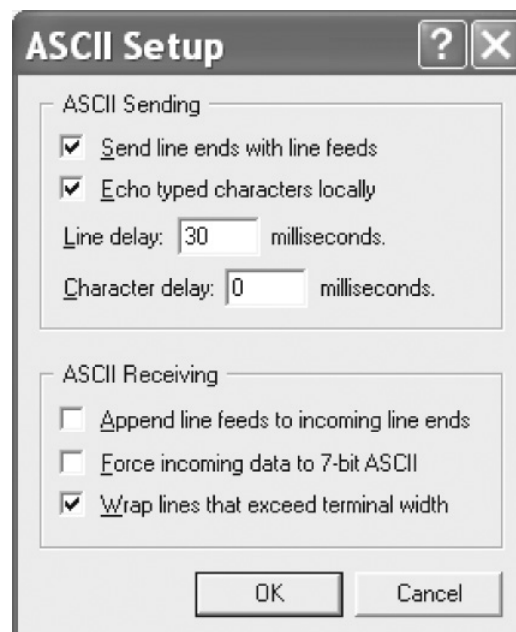
- 4 Cliquez sur le onglet «Settings» et le «ASCII Setup» bouton (Fig. 42).

Fig. 42.



- 5 Dans la rubrique «ASCII setup section», cochez les cases «Send line ends with line feeds» «Echo typed characters locally» (Fig. 43).
- 6 Réglez le «LINE DELAY» à 30 millisecondes.
- 7 Réglez le «CHARACTER DELAY» à 0 millisecondes
- 8 Dans la rubrique «ASCII receiving section», cochez la case «Wrap lines that exceed terminal width»

Fig. 43.



Remarque: Les données de IEF100 est une série de champs de texte séparées par des virgules. Une méthode pour transférer des données vers d'autres programmes est d'utiliser le «Windows clipboard» pour copier et coller les données.

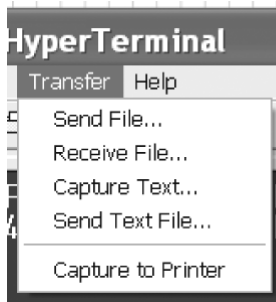


Fig. 44.

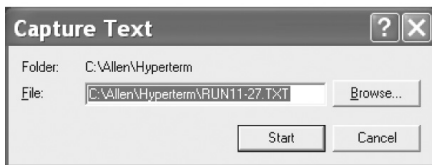


Fig. 45.

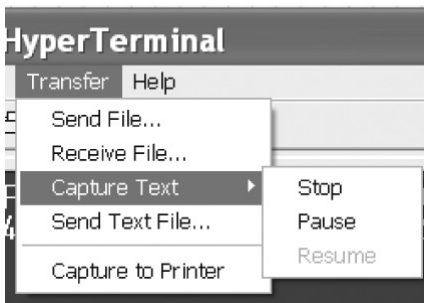


Fig. 46.

Remarque: Copier et coller les données seront, par défaut, mettre toutes les données en une seule colonne dans une feuille de calcul Excel. Utilisez les menus Excel «Data/Text to columns command», réglez le délimiteur que des virgules, et les données seront trier en colonnes pour faire le graphique.

Capture de données IEF100

- 1 Assurez-vous d'une bonne connexion existe entre HyperTerminal et le IEF100.
- 2 Ouvrez HyperTerminal. Type «AT» et appuyez sur «ENTER». «OK» devrait apparaître dans la fenêtre HyperTerminal.
- 3 Il ya deux façons de télécharger les données de IEF100. Les données peuvent être collectées en temps réel, ou envoyés dans un fichier log des données après mise au point.

Recueillir en temps réel

- 1 Avec le programme HyperTerminal ouvrir, utiliser les menus pour accéder à HyperTerminal «Transfer/Capture» texte (Fig. 44).
- 2 Nommez le fichier et le répertoire qui permettra de recueillir les données. Utilisez le bouton «Browse», si nécessaire (Fig. 45).
Les données de IEF100 est envoyé automatiquement aux ports de sortie toutes les 5 minutes. Une fois une course est lancée, les données seront automatiquement commencent à apparaître dans la fenêtre HyperTerminal.
- 3 Après mise au point, pour arrêter la saisie des données, utiliser les menus «Transfer/Capture Text/Stop» ou «Pause» (Fig. 46).
- 4 Données sont stockées dans le fichier désigné.

Transfert de données Connexion Après IEF

- 1 Type «XDATALOG» dans une fenêtre active HyperTerminal.
- 2 Les données de la dernière course sera transféré à la fenêtre HyperTerminal.

Comandi HyperTerminal

Il programma HyperTerminal comunica con il IEF100 trasmettendo una riga di dati alla volta.

Linee multiple possono essere digitati e inviati insieme. Digitare ogni riga perfettamente la prima volta, e premere invio, per il comando per essere caricato con successo nel IEF100. Tutti i comandi sono case sensitive. Correzione errori tipografici in una linea di dati tramite i tasti backspace e cancellare ciò che non si tradurrà in una comunicazione di successo.

Il primo comando da digitare in HyperTerminal dovrebbe essere «AT» e inserire. Una buona connessione viene verificata con la parola «OK» ritornando nella finestra di HyperTerminal.

Esempi di protocolli sono riportati alla fine del Appendice A. Questi possono essere tagliato e incollato per aiutare con la formattazione di linea.

Un sottoinsieme di comandi utili HyperTerminal sono riportati alla pagina seguente.

Sous-ensemble de commandes HyperTerminal

Commandement	Commande Description	Élargir la Description	Résultat de la Commande	Format de Comm.
AT	Vérifiez la connexion	Vérifiez si la connexion entre HyperTerminal et le IEF100 est bon et correctement configuré.	«OK» revient avec une bonne connexion.	AT
XDATALOG	Transfert des données	Transférer des données depuis la mémoire IEF100 à HyperTerminal.	Données journal indique dans HyperTerminal.	XDATALOG
	Sortie des données Format Line 1 Header Line 2 datapoints End Line	prot#,protname,startdate,starttime,#datapoints minute,volt,μAC1,μAC2,μAC3,μAC4,μAC5,μAC6,temp END,enddate,endtime <i>Où μAC1 est le courant dans microampères dans le canal 1.</i>		
IPROT	Protocole d'importation	Importer et écrase l'une des fentes du protocole 30: protocole de transferts d'ordinateur à IEF100.	Mises à jour du protocole en IEF100 mémoire.	2 formats en ligne selon le type de l'étape
	Format des données d'entrée Delay step – IPROT,prot#,protname,step#,delaytime,delaytemp,runtemp,maxμA,maxA,maxVolt,maxWatt IPROT,5,18cm const Watt,D,0:00,20,20,500,12000,1.5 Step – IPROT,prot#,protname,step#,steptype,stepvalue,timeunits,timeunits,time IPROT,5,18cm const Watt,2,W,1.5,V,25000			
EPROT,#	Exporter protocole	Le numéro de protocole copies # à partir de IEF100 à HyperTerminal.	Protocole apparaît dans la fenêtre HyperTerminal.	EPROT,# (# est 1–30)
EPROT,	Exporter tous les protocoles	Copie tous les 30 protocoles de IEF100 à HyperTerminal.	Protocole apparaît dans la fenêtre HyperTerminal.	EPROT,
PrnRate,#	Réglage de l'intervalle de données	Intervalle entre les changements de points de données (1–15 minutes).	INTVL dans IEF100 mettra à jour.	PrnRate,# (# est 1–15)
Start,#1,#2	Début du protocole	Démarre le protocole #1 avec #2 IPG bandes.	IEF100 sera commencer à se concentrer.	Start,#1,#2 (#1 est 1–30) (#2 est 1–6)
Start	CV protocole	Redémarre un protocole dans un état de pause.	IEF100 reprendra concentrant.	START
Stop	Arrêtez le protocole	Arrête un protocole en cours.	IEF100 prendra fin se concentrant.	STOP
Pause	Protocole de Pause	Met en pause un protocole en cours.	IEF100 fera une pause se concentrant.	PAUSE
Report		Envoie état actuel.	Envoie des données d'exécution actuels, si activement mise au point, envoie les données d'exécution actuelles, si une pause, envoie un «PAUSE» s'affiche, si ce n'est pas en cours d'exécution, affiche «IDLE».	REPORT
ID?		Envoie le numéro de série.	Transferts IEF100 le numéro de série à l'ordinateur.	ID?

Entretien et maintenance

Mettez l'interrupteur principal hors tension et débranchez le cordon d'alimentation avant de le nettoyer.

Instrument et le couvercle

- Utilisez un chiffon doux imbibé d'eau ou une solution nettoyante douce pour nettoyer le boîtier et l'affichage.
- Si les liquides déversés en contact avec les cartes de circuits imprimés, débranchez le IEF100 et laisser sécher complètement. Appelez-Hoefer, Inc pour obtenir des conseils avant d'utiliser.

Nettoyage du plateau et des électrodes

- Un détergent conçu pour éliminer l'huile est recommandée, suivie par doux, non ioniques réactifs de laboratoire de nettoyage. Rincer bac avec de l'eau déminéralisée et sécher complètement avant utilisation.
- Le fil de platine sur les électrodes est fragile et doit être nettoyé très doucement. Les électrodes ne doivent pas être trempée dans une solution.

Service technique et de réparation

Hoefer, Inc offre un support technique complet pour tous nos produits. Si vous avez des questions concernant la façon d'utiliser ce produit, ou si vous souhaitez prendre des dispositions pour réparer, s'il vous plaît appeler ou faxer votre Hoefer, Inc. représentant.

Dépannage

Problème	Solution
Instrument ne s'allume pas	Vérifiez que le cordon d'alimentation est branché dans une prise mise à la terre et interrupteur ON/OFF est tourné vers la (I) la position
Le couvercle est ouvert	Appareil ne fonctionne pas si le couvercle de sécurité est complètement fermé. Appuyez sur les deux parties à engager les verrous.
Unité indique 0 μ A, 0 W pour toutes les bandes	<p>S'assurer que les mèches d'électrodes sont en contact avec les bandes IPG.</p> <p>Les électrodes doivent être en contact avec les mèches d'électrodes, et centré dans la zone de chevauchement entre la mèche et les bandes IPG.</p> <p>Vérifiez que les bandes IPG ont été complètement hydraté avant de l'utiliser.</p> <p>En sorte que les électrodes sont reliées à des logements correspondants.</p> <p>Basse tension à partir de mesures de gradient peut ne pas produire suffisamment de courant pour enregistrer au début de l'étape. Vérifier l'état actuel dans les bandes de nouveau dans quelques minutes.</p> <p>Exécutez les diagnostics pour vérifier l'alimentation interne.</p>
Unité indique 0 μ A, 0 W pour une seule bande	<p>Pauvre réhydratation bande IPG: inspecter l'épaisseur (hauteur) de la bande IPG sur toute sa longueur.</p> <p>Vérifiez arc ou de brûlure qui pourrait casser le circuit électrique.</p> <p>Rupture de fil dans la (-) 'électrode. Remplacer l'électrode.</p>
Pas de tension de sortie	<p>Exécutez les diagnostics à partir du menu d'options.</p> <p>Contactez votre Hoefer locale, Inc représentant.</p>
Pas d'affichage	<p>Éteignez l'appareil et sur.</p> <p>Contactez votre Hoefer locale, Inc représentant.</p>
Écran gelé	<p>Éteignez l'appareil et sur.</p> <p>Contactez votre Hoefer locale, Inc représentant.</p>
Échec de diagnostic	Le programme de diagnostic va vérifier la sortie volts et le courant de l'alimentation interne, de l'EPROM et l'horloge du système. Contactez votre Hoefer locale, représentant Inc si l'un de ces tests sont révélés négatifs.

Problème	Solution
Régler la tension de pas atteint	<p>Continuer avec IEF.</p> <p>Bande IPG est limitée par μA ou W.</p> <p>La conductivité de la bande est trop élevée.</p> <p>Une bande IPG se concentrera à son maximum μA ou W, et de limiter la tension à toutes les bandes. Cette bande peut être enlevée, et les bandes restantes se concentrera à des tensions plus élevées.</p> <p>7 bandes cm ne doit pas être porté au plus de 6000 V et W supérieure à 0,5 W par bande.</p>
Browning, le brûlage des bandes arc, des lectures erratiques μA	<p>Strips have high conductivity due to salts or other ionic compounds.</p> <p>Bandes ont une conductivité élevée en raison de sels ou d'autres composés ioniques.</p> <p>Réduire la force ionique en limitant la concentration du sel à 10 mM ou moins.</p> <p>Réduire les concentrations de Tris à 50 mM ou ci-dessous.</p> <p>Ceci indique la puissance, V ou courant délivré à la bande est trop élevé. Limiter le courant dans les bandes IPG à 50 μA.</p> <p>Trop peu d'huile et/ou des bandes pas complètement couverte dans l'huile.</p> <p>Niveau de l'instrument. En sorte d'huile minérale recouvre complètement les bandes, et les canaux vides. Si les bandes ne sont pas complètement recouverte d'urée va se cristalliser et provoquer un échauffement local/combustion.</p> <p>Surchauffe du bac. Vérifier que le bac est bien glissé et verrouillé en place pour assurer le meilleur contact entre la base du plateau et la surface plate-forme.</p>
Réhydratation/équilibre bac a liquide résiduel après réhydratation des bandes IPG	<p>Volume excédentaire utilisé. Ne pas dépasser les volumes recommandés par le fabricant de bande d'IPG.</p> <p>Bande accidentellement réhydraté avec le côté de gel vers le haut ou bande de tôle de couverture n'est pas retiré.</p> <p>Prolonger le temps de réhydratation. 8-10 heures minimale est nécessaire pour une meilleure absorption de la solution de réhydratation.</p>
Pas de protéines présentes dans le gel après la 2ème dimension achevée	<p>Charge de protéines est trop petite pour la méthode de détection. Chargez plus de protéines ou d'essayer une méthode plus sensible de détection.</p> <p>IPG bande n'était pas correctement hydraté.</p>

Informations de commande

Produit	Quantité	Code commande
IEF100	1	IEF100
Exécution du bac	1	IEF105
Wicks électrodes	504	IEF106
Coupes chargement de l'échantillon (10 bandes de 6)	60	IEF108
Petit réhydratation/équilibre bac	1	IEF109
Milieu de réhydratation/équilibre bac	1	IEF111
Grand réhydratation/équilibre bac	1	IEF110
Cordon d'alimentation aux États-Unis, 115 V	1	PSCORD-115V
Euro cordon d'alimentation, 230 V	1	PSCORD-230V

Dimension Unités deuxième

Puissant Petit II Deluxe Mini Unité verticale	SE260-10A-1.5
Deluxe Double refroidi Unité standard verticale	SE600X-15-1.5
Unité Grand Format vertical	SE900-1.0

Réactifs

Agarose	500 g	GR140-500
Bromophenol Blue, sel de sodium	10 g	GR120-10
CHAPS	10 g	GR121-10
Dithiothréitol (DTT)	5 g	GR122-5
Glycérol	1 L	GR124-1
Huile minérale	1 L	GR138-1
Dodécyl sulfate de sodium	500 g	GR126-500
Thiourée	500 g	GR130-500
Tris	1 kg	GR132-1
Urée	1 kg	GR143-1

Annexe A: Protocoles préprogrammés

Les 9 protocoles suivants sont préprogrammés. Ils doivent être utilisés comme lignes directrices.

Chaque protocole a une 1 heure, 1000 V tenir étape de maintenir des bandes nettes une fois mise au point est complète. Cette étape n'est pas nécessaire et peut être enlevé. Il peut également être étendu à volonté.

Program 1

Mise au point de plus 7 cm d'IPG en limitant les paramètres volts.

Name: 7 cm broad&basic

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 6000 V, 0.5 W

Step 1, Gradient volt, 500 V, 0:30 Hrs

Step 2, Gradient volt, 1000 V, 0:30 Hrs

Step 3, Gradient volt, 6000 V, 0:30 Hrs

Step 4, Constant volt, 6000 V, 8000 Vhrs

Step 5, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 2

Mise au point du 7 IPG cm dans des conditions watts constants.

Name: 7 cm const watt

Delay 0:00, Delay temp 20° C, Run temp 20 °C, 500 µA, 6000 V, 0.5 W

Step 1, Constant watt 0.1 W, 1:00 Hrs

Step 2, Constant watt 0.5 W, 8000 Vhrs

Step 3, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 3

Mise au point de large et 18 cm à moyen IPG en limitant les paramètres volts.

Name: 18 cm broad&basic

Delay 0:00, Delay temp 20°C, Run temp 20°C, 500µA, 12000V, 1.5W

Step 1, Gradient volt, 1000V, 1:00 Hrs

Step 2, Gradient volt, 12000V, 1:00 Hrs

Step 3, Constant volt, 12000V, 25000Vhrs

Step 4, Constant volt, 1000V, 1:00 Hrs

Program 4

Mise au point de 18 cm étroite gamme de pH d'IPG en limitant les paramètres volts.

Name: 18cm narrow

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 1.5 W

Step 1, Gradient volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Step 2, Gradient volt, 12000 V, 1:00 Hrs

Step 3, Constant volt, 12000 V, 50000 Vhrs

Step 4, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 5

Mise au point de 18 cm IPG dans des conditions watts constants.

Name: 18 cm const watt

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 1.5 W

Step 1, Constant watt 0.1 W, 1:00 Hrs

Step 2, Constant watt 1.5 W, 25000 Vhrs

Step 3, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 6

Mise au point d'une large et moyenne portée 24 cm d'IPG en limitant les paramètres volts.

Name: 24 cm broad&basic

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 2.0 W

Step 1, Gradient volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Step 2, Gradient volt, 12000 V, 1:00 Hrs

Step 3, Constant volt, 12000 V, 45000 Vhrs

Step 4, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 7

Mise au point de 24 cm étroite gamme de pH d'IPG en limitant les paramètres volts.

Name: 24 cm narrow

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 2.0 W

Step 1, Gradient volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Step 2, Gradient volt, 12000 V, 1:00 Hrs

Step 3, Constant volt, 12000 V, 100000 Vhrs

Step 4, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 8

Mise au point de 24 cm IPG dans des conditions watts constants.

Name: 24 cm const watt

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 2.0 W

Step 1, Constant watt, 0.1 W, 1:00 Hrs

Step 2, Constant watt, 2.0 W, 45000 Vhrs

Step 3, Constant volt, 1000 V, 1:00 Hrs

Program 9

Lente, en se concentrant sur 24 IPG CM avec l'échantillon chargé dans une tasse. Augmente doucement volts au fil du temps. Phase d'entrée de l'échantillon est prolongée et conçu pour être une course durant la nuit.

Name: 24 cm cup load

Delay 0:00, Delay temp 20 °C, Run temp 20 °C, 500 µA, 12000 V, 2.0 W

Step 1, Gradient volt, 1000 V, 4:00 Hrs

Step 2, Gradient volt, 12000 V, 6:00 Hrs

Step 3, Constant watt, 2.0 W, 64000 Vhrs

Step 4, Constant volt, 1000 V, 10:00 Hrs

Pré-programmées protocoles sous forme de code machine

Protocol 1

IPROT,1,7cm broad&basic,D,0:00,20,20,500,6000,0.5
IPROT,1,7cm broad&basic,1,G,500,H,0:30
IPROT,1,7cm broad&basic,2,G,1000,H,0:30
IPROT,1,7cm broad&basic,3,G,6000,H,0:30
IPROT,1,7cm broad&basic,4,S,6000,V,8000
IPROT,1,7cm broad&basic,5,S,1000,H,1:00
IPROT,1,7cm broad&basic,6,S,0,H,0:00
IPROT,1,7cm broad&basic,7,S,0,H,0:00
IPROT,1,7cm broad&basic,8,S,0,H,0:00
IPROT,1,7cm broad&basic,9,S,0,H,0:00

Protocol 2

IPROT,2,7cm const Watt,D,0:00,20,20,500,6000,0.5
IPROT,2,7cm const Watt,1,W,0.1,H,1:00
IPROT,2,7cm const Watt,2,W,0.5,V,8000
IPROT,2,7cm const Watt,3,S,1000,H,1:00
IPROT,2,7cm const Watt,4,S,0,H,0:00
IPROT,2,7cm const Watt,5,S,0,H,0:00
IPROT,2,7cm const Watt,6,S,0,H,0:00
IPROT,2,7cm const Watt,7,S,0,H,0:00
IPROT,2,7cm const Watt,8,S,0,H,0:00
IPROT,2,7cm const Watt,9,S,0,H,0:00

Protocol 3

IPROT,3,18cm broad&basic,D,0:00,20,20,500,12000,1.5
IPROT,3,18cm broad&basic,1,G,1000,H,1:00
IPROT,3,18cm broad&basic,2,G,12000,H,1:00
IPROT,3,18cm broad&basic,3,S,12000,V,25000
IPROT,3,18cm broad&basic,4,S,1000,H,1:00
IPROT,3,18cm broad&basic,5,S,0,H,0:00
IPROT,3,18cm broad&basic,6,S,0,H,0:00
IPROT,3,18cm broad&basic,7,S,0,H,0:00
IPROT,3,18cm broad&basic,8,S,0,H,0:00
IPROT,3,18cm broad&basic,9,S,0,H,0:00

Protocol 4

IPROT,4,18cm narrow,D,0:00,20,20,500,12000,1.5
IPROT,4,18cm narrow,1,G,1000,H,1:00
IPROT,4,18cm narrow,2,G,12000,H,1:00
IPROT,4,18cm narrow,3,S,12000,V,50000
IPROT,4,18cm narrow,4,S,1000,H,1:00
IPROT,4,18cm narrow,5,S,0,H,0:00
IPROT,4,18cm narrow,6,S,0,H,0:00
IPROT,4,18cm narrow,7,S,0,H,0:00
IPROT,4,18cm narrow,8,S,0,H,0:00
IPROT,4,18cm narrow,9,S,0,H,0:00

Protocol 5

IPROT,5,18cm const Watt,D,0:00,20,20,500,12000,1.5
IPROT,5,18cm const Watt,1,W,0.1,H,1:00
IPROT,5,18cm const Watt,2,W,1.5,V,25000
IPROT,5,18cm const Watt,3,S,1000,H,1:00
IPROT,5,18cm const Watt,4,S,0,H,0:00
IPROT,5,18cm const Watt,5,S,0,H,0:00
IPROT,5,18cm const Watt,6,S,0,H,0:00
IPROT,5,18cm const Watt,7,S,0,H,0:00
IPROT,5,18cm const Watt,8,S,0,H,0:00
IPROT,5,18cm const Watt,9,S,0,H,0:00

Protocol 6

IPROT,6,24cm broad&basic,D,0:00,20,20,500,12000,2.0
IPROT,6,24cm broad&basic,1,G,1000,H,1:00
IPROT,6,24cm broad&basic,2,G,12000,H,1:00
IPROT,6,24cm broad&basic,3,S,12000,V,45000
IPROT,6,24cm broad&basic,4,S,1000,H,1:00
IPROT,6,24cm broad&basic,5,S,0,H,0:00
IPROT,6,24cm broad&basic,6,S,0,H,0:00
IPROT,6,24cm broad&basic,7,S,0,H,0:00
IPROT,6,24cm broad&basic,8,S,0,H,0:00
IPROT,6,24cm broad&basic,9,S,0,H,0:00

Protocol 7

IPROT,7,24cm narrow,D,0:00,20,20,500,12000,2.0
IPROT,7,24cm narrow,1,G,1000,H,1:00
IPROT,7,24cm narrow,2,G,12000,H,1:00
IPROT,7,24cm narrow,3,S,12000,V,100000
IPROT,7,24cm narrow,4,S,1000,H,1:00
IPROT,7,24cm narrow,5,S,0,H,0:00
IPROT,7,24cm narrow,6,S,0,H,0:00
IPROT,7,24cm narrow,7,S,0,H,0:00
IPROT,7,24cm narrow,8,S,0,H,0:00
IPROT,7,24cm narrow,9,S,0,H,0:00

Protocol 8

IPROT,8,24cm const Watt,D,0:00,20,20,500,12000,2.0
IPROT,8,24cm const Watt,1,W,0.1,H,1:00
IPROT,8,24cm const Watt,2,W,2.0,V,45000
IPROT,8,24cm const Watt,3,S,1000,H,1:00
IPROT,8,24cm const Watt,4,S,0,H,0:00
IPROT,8,24cm const Watt,5,S,0,H,0:00
IPROT,8,24cm const Watt,6,S,0,H,0:00
IPROT,8,24cm const Watt,7,S,0,H,0:00
IPROT,8,24cm const Watt,8,S,0,H,0:00
IPROT,8,24cm const Watt,9,S,0,H,0:00

Protocol 9

IPROT,9,24cm cup load,D,0:00,20,20,500,12000,2.0
IPROT,9,24cm cup load,1,G,1000,H,4:00
IPROT,9,24cm cup load,2,G,12000,H,6:00
IPROT,9,24cm cup load,3,W,2.0,V,64000
IPROT,9,24cm cup load,4,S,1000,H,10:00
IPROT,9,24cm cup load,5,S,0,H,0:00
IPROT,9,24cm cup load,6,S,0,H,0:00
IPROT,9,24cm cup load,7,S,0,H,0:00
IPROT,9,24cm cup load,8,S,0,H,0:00
IPROT,9,24cm cup load,9,S,0,H,0:00

Annexe B: Réactifs et solutions

Les classes ordinaires des additifs

Dénaturants

Déplier les protéines afin d'exposer les charges internes indigènes.

Des détergents non ioniques

Assurez échantillons plus soluble sans altérer la charge de protéines.

Réducteurs

Aide briser les liaisons disulfures internes afin de déplier les protéines, et aider à réduire les effets négatifs de l'oxydation des protéines au cours de la réhydratation et IEF.

Autre

Ampholytes transporteurs, des protéases, DNases, des RNases.

Préparation de l'échantillon

Les échantillons préparés pour la 2D devrait être pleinement dénaturé, exempt de matières insolubles, et faible en force ionique globale.

Certains échantillons de protéines aisément solubiliser tandis que d'autres sont plus difficiles, nécessitant des réactifs supplémentaires (tels que la thiourée, des détergents spéciaux, etc) afin d'encourager la solubilisation. Les classes communes d'additifs sont énumérés ci-dessous.

Dénaturants

L'urée est le réactif le plus couramment utilisé dans IEF pour perturber la liaison interne de la protéine, ce qui lui permet de se dérouler. Les échantillons sont préparés en utilisant des concentrations d'urée de 8 à 9,5 M. En général, plus le la concentration d'urée de la meilleure d'un échantillon peut être solubilisé. L'urée atteint son point de saturation à près de 10 M à la température ambiante.

La thiourée est également utilisé afin de mieux solubiliser certains échantillons. Fréquemment, M 2 thiourée est combiné avec de l'urée 5-7 M en tant que réactif pour la préparation d'échantillons et de la réhydratation IPG.

Détergents

Plusieurs types de détergents non ioniques ou zwitterioniques peut être utilisé pour solubiliser les échantillons (CHAPS, Triton X100, le Nonidet NP-40, et des détergents alkylamidodisulfobetaine). CHAPS est le détergent le plus largement utilisé pour l'électrophorèse 2D. Il est stable en solution. Détergents tels que le SDS ne sont pas compatibles avec IEF, car ils se lient à des protéines et des protéines de charge masquer des natale.

Réducteurs

Dithiothréitol (DTT) est couramment utilisé pour réduire les protéines dans IEF. DTT se décompose en solution, de sorte qu'il est normalement préparé et ajouté juste avant l'utilisation. Autres réducteurs comme le 2-mercaptoéthanol, dithioérythritol (DTE) et de tributylphosphine (TBP) peut être utilisé.

Autre

Ampholytes porteurs ou des tampons IPG peut être ajoutée pour faciliter la solubilité des protéines et aider à prévenir la précipitation des protéines au cours de mise au point. Des concentrations de 0,5%-2% (v/v) sont généralement utilisés. Ampholytes porteurs peuvent interférer avec certaines expériences de marquage. Dans ces cas, les réactifs doivent alors être omis de l'étape d'extraction de l'échantillon.

Remarque: Les sels sont peut-être le contaminant le plus commun qui entraîne des résultats IEF pauvres.

Lignes directrices générales

- Procédures de préparation des échantillons sont en cours de perfectionnement et standardisée. Il est préférable de consulter la littérature pour déterminer si un tampon échantillon particulier la préparation est recommandé pour le type d'échantillon.
- IEF fonctionne mieux avec des échantillons de protéines pures qui sont solubilisés et dénaturés, et libre de molécules interférant.
- Retirer le matériau insoluble avec centrifugation.
- Gardez la teneur en sel aussi bas que possible.
- Utilisez fraîchement préparés réactifs de haute qualité, ou des solutions de réactifs qui ont été stockés congelés.
- Ne laissez pas des solutions d'urée à la température ambiante pendant de longues périodes de temps.
- Ne jamais chauffer les échantillons de protéines dans les solutions d'urée. Chauffer la carbamylation cause de protéines et de modifier la charge native des protéines.
- Conserver les échantillons sur la glace pour empêcher la dégradation.
- Ajouter inhibiteurs de la protéase pour empêcher l'activité de la protéase. Inhibiteurs de la protéase tels que PMSF ou Pefabloc peut être ajouté à inhiber l'activité de sérine protéase tandis pepstatine peut inhiber protéases aspartiques.
- Certains protocoles utilisent des ampholytes porteurs de base ou tris pour obtenir un pH élevé dans le tampon d'échantillon. Cela permet de solubiliser certaines protéines et diminue l'activité enzymatique qui attaquent les protéines.
- ADN et l'ARN peuvent souvent être éliminés par ultracentrifugation. L'échantillon peut également être traités à la DNase et RNase solution pour briser les contaminants.
- Gardez à l'esprit que certains inhibiteurs de la protéase, DNase et la RNase sont des protéines elles-mêmes et peuvent apparaître sur une carte 2D.
- L'eau utilisée pour la fabrication de réactifs doivent être de la plus haute qualité disponible. D'eau avec une résistivité de $> 5 \text{ cm}$ mégohm-est le meilleur. De l'eau purifiée par osmose inverse ou de l'eau désionisée est acceptable.

Recettes

Tampon IEF Extraction des échantillons pour la 2D

1A. Solution tampon urée échantillon

Prépare 25 ml
9,5 M d'urée, CHAPS 4%

	Concentration finale	Montant
Urée (FW 60.06)	9,5 M	14,26 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
l'eau déminéralisée		à 25 ml

Entreposer dans des aliquotes de 1 ml à -20 °C ou au-dessous.

Avant d'utiliser, ajouter 6 mg/ml pour obtenir la TNT une composition finale de l'échantillon de tampon de 40 mM de DTT.

En option: des ampholytes porteurs ajouter, comme SERVLYTS, à une concentration de 2% v/v (20 pi par µl de solution tampon d'échantillon).

-Ou-

1B. Thiourée + Solution Préparation d'urée échantillon

Prépare 25 ml
7 M d'urée, 2 M thiourée, CHAPS 4%, 40 mM DTT

	Concentration finale	Montant
Urée (FW 60.06)	7 M	10,51 g
Thiourée (FW 76.12)	M 2	3,8 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
l'eau déminéralisée		à 25 ml

Entreposer dans des aliquotes de 1 ml à -20 °C ou au-dessous.

Avant d'utiliser, ajouter 6 mg/ml pour obtenir la TNT une composition finale de l'échantillon de tampon de 40 mM de DTT.

En option: des ampholytes porteurs ajouter, comme SERVLYTS, à une concentration de 2% v/v (20 pi par µl de solution tampon d'échantillon).

IPG solution de réhydratation bande

2A. Solution mère de l'urée de réhydratation

Prépare 50 ml

8 M d'urée, CHAPS 2%, 0,002% bleu de bromophénol

	Concentration finale	Montant
Urée (FW 60.06)	8 M	24 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Bleu de bromophénol	0,002%	1 mg
l'eau déminéralisée		à 50 ml

Magasin en 3 aliquotes ml à -20 °C ou au-dessous. 3 ml est suffisante pour réhydrater six bandes IPG 24 cm.

Juste avant d'utiliser pour IPG réhydratation bande:

- Ajouter 0,5-2,0% (v/v) des ampholytes porteurs (SERVALYTS).
- Ajouter à 9 mg TNT par 3 aliquote ml de solution mère de réhydratation 20 mM de DTT.
- Échantillon de protéine peut également être ajouté à la 3 ml d'une solution de réhydratation.

2B. Solution de Thio Banque de réhydratation

Prépare 50 ml

7 M d'urée, 2 M thiourée, CHAPS 2%, 0,002% bleu de bromophénol

	Concentration finale	Montant
Urée (FW 60.06)	7 M	21 g
Thiourée (FW 76.12)	M 2	7,6 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Bleu de bromophénol	0,002%	1 mg
l'eau déminéralisée		à 50 ml

Magasin en 3 aliquotes ml à -20 °C ou au-dessous. 3 ml est suffisante pour réhydrater six bandes IPG 24 cm.

Juste avant d'utiliser pour IPG réhydratation bande:

- Ajouter 0,5-2,0% (v/v) des ampholytes porteurs (SERVALYTS).
- Ajouter à 9 mg TNT par 3 aliquote ml de solution mère de réhydratation 20 mM de DTT.
- Échantillon de protéine peut également être ajouté à la 3 ml d'une solution de réhydratation.

Remarque: les bandes IPG doivent être équilibrés, juste avant PAGE dimension seconde. Ne pas équilibrer les bandes IPG avant de le ranger à -20 °C.

3. Solution SDS tampon d'équilibration

Cette solution est utilisée après IEF, et avant PAGE deuxième dimension. Les bandes IPG sont immergés dans la solution en excès pour élever le pH du tampon de bande de sorte qu'il est apte à PAGE, et à revêtir les protéines en SDS uniformément de telle sorte que leur migration correctement dans le gel de seconde dimension.

Prépare 200 ml

6 M d'urée, 75 mM Tris-HCl pH 8,8, glycérol 29,3%, 2% SDS, 0,002% bleu de bromophénol

	Concentration finale	Montant
Urée (FW 60.06)	M 6	72,1 g
1,5 M Tris-HCl, pH solution stock 8,8	75 mM	10,0 ml
Glycérol (87% w/w)	29,3% (v/v)	69 ml
SDS (FW 288.38)	2% (w/v)	4,0 g
Bleu de bromophénol	0,002% (w/v)	4 mg
l'eau déminéralisée		à 200 ml

Aliquoter en 30 aliquotes ml et conserver à -20 °C ou au-dessous.

24 cm IPG exigent 5-10 ml par bande par étape d'équilibration. Plus courtes bandes peuvent utiliser un volume proportionnellement moins par étape d'équilibration.

Procédure d'équilibration

- 1 Décongeler deux aliquotes de la solution d'équilibration.
- 2 Ajouter 10 mg/ml TNT à une solution.
- 3 Placez les bandes IPG dans le plateau de réhydratation/équilibration.
- 4 Ajouter 6,5 ml de solution à chaque emplacement contenant une bande IPG.
- 5 Place de bascule pour 10-15 minutes.

Après équilibration, jeter la solution d'équilibration d'abord dans une manière appropriée.

- 6 Ajouter 25 mg/ml iodoacétamide (AAI) à la seconde partie aliquote de la solution d'équilibration.
- 7 Ajouter 6,5 ml de solution à chaque emplacement contenant une bande IPG.
- 8 Place sur le culbuteur pour 10-15 minutes.

Après équilibration, jeter la solution d'équilibration deuxième d'une manière appropriée.

Équilibration suivant, les bandes IPG sont placés sur la surface du gel, la deuxième dimension, et scellé en place avec la superposition d'agarose.

Agarose Overlay

1% en 1X tampon d'électrophorèse d'agarose

Prépare 100 ml

1%, d'agarose Tris 25 mM, 192 mM de glycine, 0,1% SDS

Préparer dans un flacon de 500 ml pour laisser place à mousse.

Attention! SDS peut causer la solution à ébullition à feu afin preuve de prudence lors de chauffage et d'éviter de déborder.

	Concentration finale	Montant
Agarose	1%	1 g
10X tampon d'électrophorèse (250 mM Tris, 1.92m Glycine, SDS 1%)	1X	10 ml
Bleu de bromophénol		3 mg
l'eau déminéralisée		à 100 ml

Agitez doucement de suspendre agarose.

La chaleur à faible puissance dans un four à micro-ondes jusqu'à agarose est complètement dissous.

Entreposer dans 1,5 ml ont à 4 °C dans des tubes à vis en plastique de haut niveau.

Réchauffer aliquotes dans le bloc de chauffage.

Annexe C: Références IEF100

- Ames, G. F. L. and Nikaido, K. Two-dimensional gel electrophoresis of membrane proteins. *Biochemistry* **15**, 616–623 (1976).
- Bjellqvist, B., Ek, K., Righetti, P.G., Gianazza, E., Gorg, A., Westermeier, R. and Postel, W., Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications, *J Biochem Biophys Methods* **6**, 317–339 (1982).
- Bjellqvist, B., Pasquali, C., Ravier, F. Sanchez, J.C. and Hochstrasser, D. A nonlinear wide-range immobilized pH gradient for two-dimensional electrophoresis and its definition in a relevant pH scale. *Electrophoresis* **14**, 1357–1365 (1993).
- Dunn, M. J. and Corbett, J. M. 2-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Methods Enzymol.* **271**, 177–203 (1996).
- Eckerskorn, C., Jungblut, P., Mewes, W., Klose, J. and Lottspeich, F. Identification of mouse brain proteins after two-dimensional electrophoresis and electroblotting by microsequence analysis and amino acid composition analysis, *Electrophoresis* **9**, 830–838 (1988).
- Görg, A., Postel, W., Günther, S. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **9**, 531–546 (1988).
- Görg, A., Postel, W., Weser, J., Günther, S, Strahler, J.R., Hanash, S. and Somerlot, L. Elimination of point streaking on silver stained two-dimensional gels by addition of iodoacetamide to the equilibration buffer. *Electrophoresis* **8**, 122–124 (1987).
- Görg, A. Two-dimensional electrophoresis, *Nature* **349**, 545–546 (1991).
- Görg, A. Obermaier, C., Boguth, G., Harder, A., Scheibe, B., Wildgruber, R. and Weiss, W. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients, *Electrophoresis* **21**, 1037–1053 (2000).
- Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G. and Weiss, W. Recent developments in two-dimensional gel electrophoresis with immobilized pH gradients: wide pH gradients up to pH 12, longer separation distances and simplified procedures, *Electrophoresis* **20**, 712–717 (1999).
- Görg A, Postel W, Domscheit A and Günther S, Methodology of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients for the analysis of cell lysates and tissue proteins, in Endler AT and Hanash S (eds) Two-Dimensional Electrophoresis. Proceedings of the International Two-Dimensional. Electrophoresis Conference, Vienna, Nov. 1988, VCH, Weinheim FRG (1989).

- Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Posch, A. and Weiss, W. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis with immobilized pH gradients in the first dimension (IPG-Dalt): the state of the art and the controversy of vertical vs horizontal systems. *Electrophoresis* **16**, 1079–1086 (1995).
- Görg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Csordas, A., Diaz, J.J., Madjar, J.J. Very alkaline immobilized pH gradients for two dimensional electrophoresis of ribosomal and nuclear proteins. *Electrophoresis* **18**, 328–337 (1997).
- Link, A.J. (ed) 2-D Proteome Analysis Protocols, Methods in Molecular Biology 112 Humana Press (1998).
- O'Farrell, P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* **250**, 4007–4021 (1975).
- Olsson, I., Larsson, K., Palmgren, R. and Bjellqvist, B. Organic disulfides as a means to generate streak-free two-dimensional maps with narrow range basic immobilized pH gradient strips as first dimension. *Proteomics* **2**, 1630–1632 (2002).
- Rabilloud, T., Use of thiourea to increase the solubility of membrane proteins in two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis* **19**, 758–760 (1998).
- Rabilloud, T., Solubilization of proteins for electrophoretic analyses. *Electrophoresis* **17**, 813–829 (1996).
- Rabilloud, T., Valette, C. and Lawrence, J.J. Sample application by in-gel rehydration improves the resolution of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients in the first dimension. *Electrophoresis* **15**, 1552–1558 (1994).
- Righetti, P.G. Isoelectric Focusing: Theory, Methodology and Applications, Elsevier, Amsterdam (1983).
- Righetti, P.G. Immobilized pH gradients: theory and methodology. Elsevier, Amsterdam (1990).
- Sanchez, J.C., Rouge, V., Pisteur, M., Ravier, F., Tonella, L., Moosmayer, M., Wilkins, M.R. and Hochstrasser, D.F., Improved and simplified in-gel sample application using reswelling of dry immobilized pH gradients, *Electrophoresis* **18**, 324–327 (1997).
- Westermeier, R. and Naven, T. *Proteomics in Practice, A Laboratory Manual of Proteome Analysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2002).

Hoefer, Inc.

84 October Hill Road
Holliston, MA 01746

Sans frais: 1-800-227-4750

Téléphone: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer est une marque déposée de
Hoefer, Inc.

Windows et Excel sont des marques
déposées de Microsoft Corporation.

© 2012 Hoefer, Inc.

Tous droits réservés.

Imprimé dans le USA.

