

Hoefer IEF100

Unidad Isoelectroenfoque



Tabla de contenidos

Información Importante.....	ii
Residuos de Aparatos Eléctricos y Electrónicos (RAEE).....	v
Función y descripción	1
Especificaciones.....	2
Componentes del sistema.....	3
Descripciones de los componentes	5
Programación de la IEF100.....	10
IEF100 Operación	20
Conexiones de datos opcionales.....	35
Cuidado y mantenimiento.....	42
Solución de problemas.....	43
Orden información	45
Apéndice A: Protocolos pre-programados	46
Apéndice B: Reactivos y Soluciones.....	51
Recetas	53
Apéndice C: Referencias IEF100	57

Información Importante – Español

- 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!

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/ethyleenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulo.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. 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 specifikations. Overhedning vil forårsage uboelig skade til enheden!

Belangrijke Informatie – Dutch

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

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 sisälaboratoriokäyttöön vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkiksi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettunut testaaminen laboratoriot.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä 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 lämmönvaihtinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Information Importante – French

- Si cet équipement est utilisé dans une manière pas spécifié par Hoefer, Inc. la protection fourni par l'équipement pourrait être diminuée.
- Cet instrument est conçu pour l'usage de laboratoire intérieur seulement.
- Seulement les accessoires et les parties ont approuvé ou ont fourni par Hoefer, Inc. pourrait être utilisé pour fonctionner, maintenir, et entretenir ce produit.
- utilise Seulement une alimentation qui est CET a marqué ou la sécurité certifié par un nationalement reconnu essayant le laboratoire.
- Le couvercle de sécurité doit être à sa place avant connecter l'alimentation mene à une alimentation.
- Tourner tous contrôles d'alimentation de et débrancher les avances de pouvoir avant enlever le couvercle de sécurité.
- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par

l'échangeur de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'échangeur de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.

- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité !

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefer, Inc. verwendet wird, kann der durch die Ausrüstung zur Verfügung gestellte Schutz verschlechtert werden.
- Dieses Instrument wird für den Innenlaborgebrauch nur dafür entworfen.
- Nur Zusätze und Teile genehmigten oder lieferten durch Hoefer, Inc. kann für das Funktionieren, das Aufrechterhalten, und die Wartung dieses Produktes verwendet werden.
- Verwenden Sie nur eine Energieversorgung, die CE gekennzeichnet oder durch ein national anerkanntes Probeflaboratorium 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 unregelt 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 tyłko.
- 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 tyłko 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 proteção fornecida pelo equipamento pode ser comprometida.
- Este instrumento é projectado para uso de interior de laboratório só.
- Só acessórios e partes aprovaram ou forneceu por Hoefer, Inc. pode ser usada para operar, manter, e servicing este produto.
- Só usa um estoque de poder que é CE marcou ou segurança registrada por um nacionalmente reconhecido testando laboratório.
- A tampa de segurança deve estar em lugar antes de ligar o estoque de poder leva a um estoque de poder.
- Desliga todos controlos 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!

Viktig Information – Swedish

- om denna utrustning används i ett sätt som inte har specificeras av Hoefer, Inc. skyddet tillhandahåll 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 irreparabel skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

Residuos de Aparatos Eléctricos y Electrónicos (RAEE)

Español



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.

English



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

French



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

German



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

Italian



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

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.

Nota: los estados la ley de Ohm que el 10 mA de la salida está disponible en V y 1.000 menos.



Fig. 1. El Hoefer IEF100.

Función y descripción

El Hoefer IEF100 instrumento Isoelectroenfoque está diseñado para realizar el isoelectroenfoque de las proteínas en gradiente de pH inmovilizado (IPG) tiras. Se trata de un sistema integrado con una plataforma integrada de temperatura Peltier refrigerado, y un 12.000 V, 10 W de alimentación capaz de suministrar hasta 10 mA. Hay 30 protocolos totalmente editables, nueve de los cuales son pre-programados con los protocolos recomendados IEF. Una bandeja de ejecución llevará a cabo todas las tiras de IPG, disponibles en la actualidad 3.0-3.5 mm de ancho. Las tiras IPG se ejecutan lado gel de arriba, utilizando mechas de electrodos para ayudar a eliminar las impurezas que se acumulan en el extremo de los gradientes de pH. Las muestras pueden ser cargados en las tiras IPG durante la rehidratación, o con copas de muestra.

El IEF100 está completamente probado y certificado a todas las normas internacionales aplicables.

Características de la IEF100 son:

- Una bandeja de 6 canales que se centra:
Hasta 6, 7-24 cm IPG tiras utilizando el conjunto único electrodo.
Hasta 12, 7 cm IPG tiras utilizando el accesorio de doble electrodo (incluido).
- Carga de la muestra durante la rehidratación, o con la taza de la muestra.
- Monitores de corriente en cada tira IPG.
- Integrado de 12.000 voltios de corriente directa, con capacidad de 10 mA, la capacidad disponible más voltaje y corriente.
- Un gran azul/blanco de la pantalla LCD para una fácil visualización que soporta una pantalla gráfica de voltaje y corriente.
- La capacidad de programar, editar y almacenar hasta 30 protocolos, cada uno con 9 pasos.
- El modo de potencia constante.
- Un reloj de tiempo real, ajustables a las zonas horarias locales.
- La plataforma de temperatura controlada.
- Ethernet y RS232 puertos para comunicar los datos o protocolos de carga.

Esta declaración de conformidad es válida sólo para el instrumento cuando:

- se utiliza en lugares de laboratorio,
- utiliza como liberado de Hoefer, Inc., excepto para las alteraciones descritas en el manual del usuario, y
- conectado a otros instrumentos de marcado CE o productos recomendados o aprobados por Hoefer, Inc.

Especificaciones

Capacidad de uso de juego solo electrodo	1-6 tiras de IPG	7 a 24 cm de largo
Capacidad de utilizar el accesorio de doble electrodo	2-12 tiras IPG	7 cm de largo
Salida	Voltio Corriente Poder	12,000 V 10 mA 10 W
Potenza in	100–240 V 50–60 Hz 100 W	
Interfaccia utente	Grande blu/bianco display grafico Perilla 7 Pulsante tastiera	
Piattaforma di temperatura	15–25 °C	
Protocollo di capacità	30 programmi con 9 punti ciascuno	
Ingresso/uscita porte	Ethernet, RS232	
Dimensioni (L × P × A)	38 cm × 27 cm × 19 cm	
Peso	8 kg	
Condizioni operative ambientali	Per uso interno Umidità fino a Altitudine fino a Categoria di installazione Grado di inquinamento	4–40 °C 80% 2000 m II 2
Certificazioni di prodotto	EN61010-1:2001, EN61326:1998, CE, WEEE, RoHS	

Componentes del sistema

Desembalaje

Quite el envoltorio de los paquetes y compare cuidadosamente los contenidos con la lista de embalaje, asegurándose de que todos los elementos llegaron. Si falta alguna pieza, póngase en contacto con Hoefer local, Inc. oficina de ventas. Inspeccione todos los componentes de los daños que puedan haber ocurrido mientras la unidad estaba en tránsito. Si alguna parte está dañada, póngase en contacto de inmediato al transportista. Asegúrese de guardar todo el material de embalaje para las reclamaciones por daños o utilizar en caso de ser necesario devolver la unidad.

Se requiere que no se suministran:

- Gradiente de pH inmovilizado (IPG tiras).
- Reactivos necesarios para la preparación de muestras y la rehidratación tira.
- Aceite mineral.

Fig. 2. La unidad IEF100.

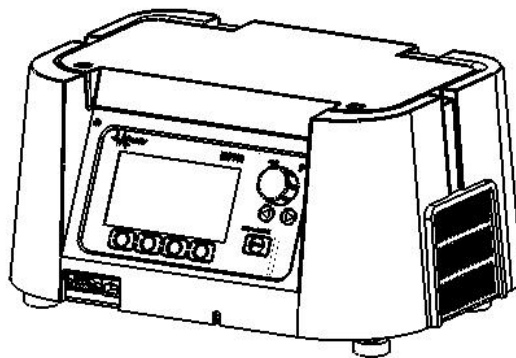
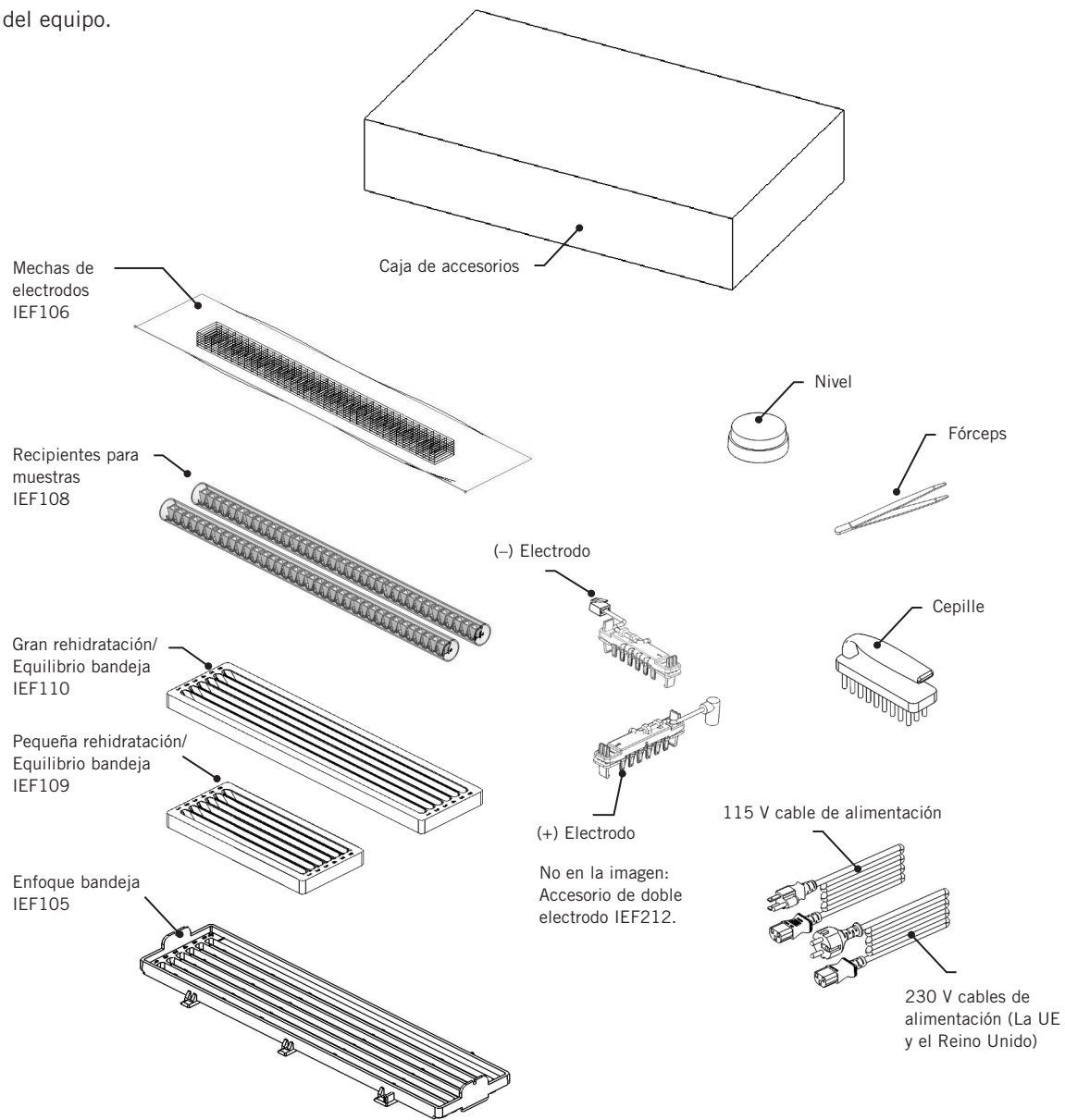


Fig. 3. Componentes del equipo.



Descripciones de los componentes

Tapa de seguridad

La tapa de seguridad transparente debe estar cerrada con el fin de voltaje que se aplica a los electrodos. Los enclavamientos se utiliza para detener la salida de tensión debe ser abierta la tapa durante la electroforesis.

Perilla

La perilla se mueve el cursor o cambia los valores de un campo determinado. Al pulsar el mando hacia el interior para hacer “clic” cambia entre estas dos funciones. Un LED indica la función activa es de “MOVE”, o “SET”.

Teclas de flecha horizontal

Las flechas horizontales se utilizan cuando la creación de nombres de protocolo, y los campos de fecha y hora.

Indicador LED de alta Volt

Este LED se ilumina cuando el voltaje se aplica a los electrodos.

Nota: Gire la perilla lentamente para conseguir el movimiento deseado en la pantalla. Al girar la perilla demasiado rápido hace que el parpadeo del cursor, y permanecer en el lugar. Si esto sucede, gire la perilla más lento hasta que el buen comportamiento que se observa.

Nota: La acción de hacer clic en el botón es presionar de forma rápida y en libertad, como un clic del ratón. No sostenga el botón de in

Fig. 4. Parte frontal del instrumento.



Botón STOP

Detiene inmediatamente el IEF, y termina el protocolo.

Pantalla LCD

El gran azul/blanco de la pantalla simplifica la interfaz, y muestra los resultados gráficos del IEF.

Teclas de función

La función de estas teclas se muestra en la pantalla directamente sobre la tecla. La función varía dependiendo de qué pantalla está activo.

Ethernet Port/RS232 Port

Estos dos puertos se puede utilizar para descargar los datos del IEF de los protocolos de los instrumentos y la transferencia.

Flujo de Aire

Los aficionados tirar de aire a través de las aberturas laterales, y expulsar el aire de las rejillas de ventilación traseras. El aire se enfría los componentes electrónicos, y ayuda a los módulos Peltier mantener una temperatura constante.

Fuente de alimentación

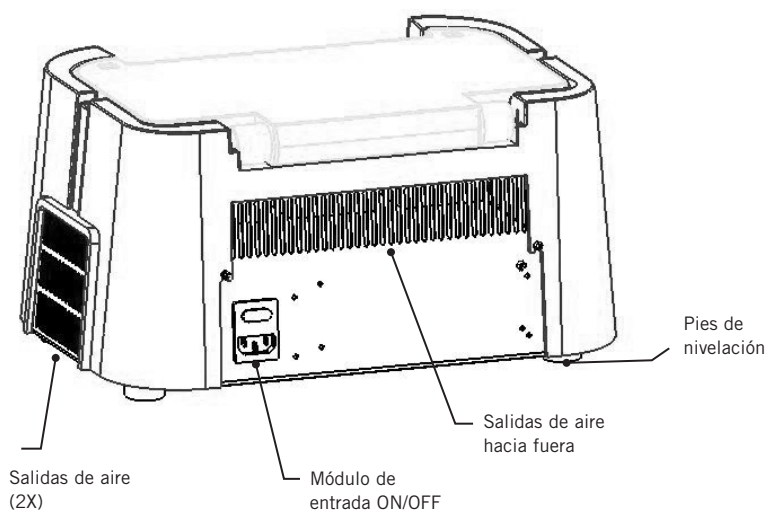
El módulo de alimentación funciona en todos los voltios y frecuencias.

Patas/nivel de burbuja

Los pies de nivelación y el nivel de burbuja puede ser utilizado para nivelar la plataforma IEF. Un instrumento de nivel le ayudará a asegurarse que el aceite cubra completamente las tiras de IPG.

Fig. 5. Panel trasero.

Nota: Los orificios de ventilación no deben ser bloqueadas.



Enfoque bandeja

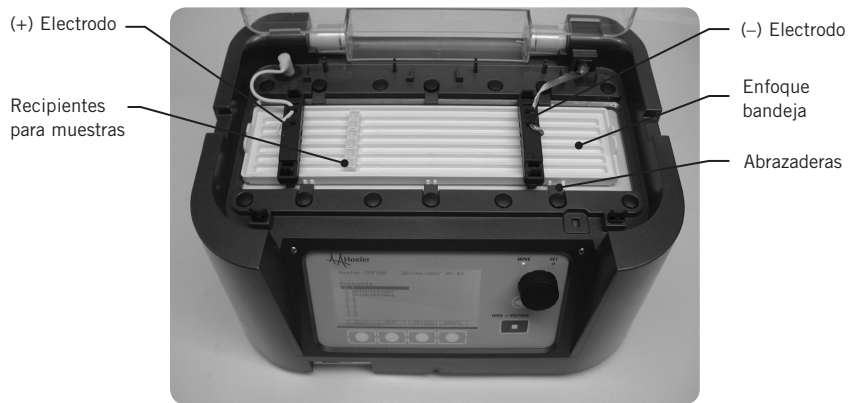
La bandeja de canal 6 centrándose acomoda IPG tiras de hasta 24 cm de longitud. Pequeñas ranuras en la bandeja permiten una fácil extracción de la tira IPG después de enfocar. Detalle de una de estas características puede verse en la página 24.

Los canales de la bandeja están numerados del 1-6, de adelante hacia atrás de la IEF100.

La bandeja se ajusta en el instrumento en una sola orientación. Se fija en su lugar en el lado derecho de la plataforma, y movido lateralmente hacia la izquierda, la bandeja de sujeción hacia abajo contra la placa fría. El mecanismo de sujeción mejora la transferencia de calor para las bandejas de plástico.

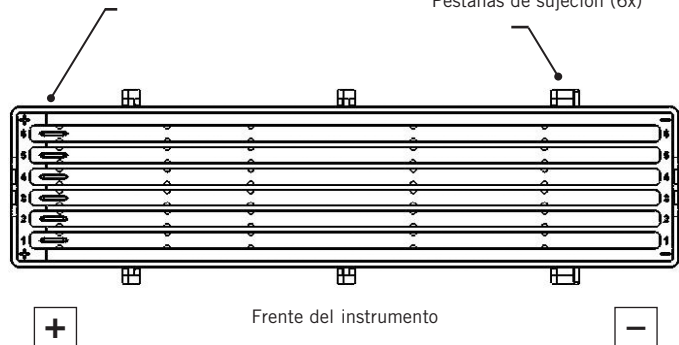
Hay (+) y (-) marcas en la bandeja y el instrumento para ayudar con la orientación adecuada.

Fig. 6. Parte superior del instrumento.



Alinear las tiras del IEF con esta línea de

Pestañas de sujeción (6x)



Electrodos

Electrodo positivo (ánodo)

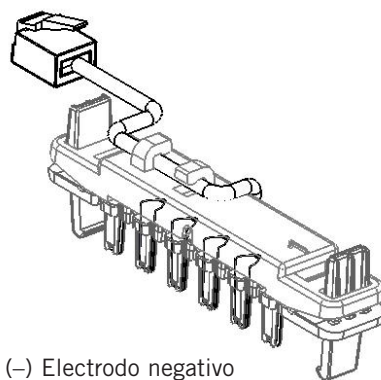
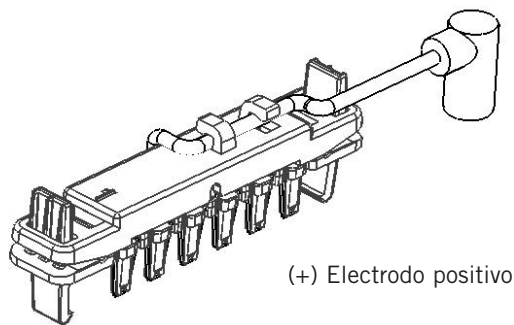
Un conector de alta tensión une el positivo (+) electrodo(s) al terminal de alta tensión. El ánodo tiene un solo hilo blanco y el conector, y localiza en el lado izquierdo de la bandeja.

Electrodo negativo (cátodo)

Un cable de seis (LAN) conecta el polo negativo (-) electrodo(s) a la terminal de tierra, el control de la corriente en cada carril. Los cátodos localiza en el lado derecho de la bandeja.

Los electrodos se colocan en la bandeja con el número "1" hacia la parte delantera de la bandeja, y los electrodos de alambre de platino frente a la media de las tiras de IPG.

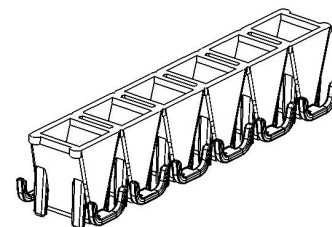
Fig. 7. Electrodo positivo del electrodo (arriba) y negativo (parte inferior).



Nota: Los electrodos no se pondrá en contacto con las tiras de IPG sin las mechas de electrodos en su lugar.

Nota: Las copas de muestra se puede cortar en tazas individuales, si se desea.

Fig. 8. Recipientes para muestras.



Mechas de electrodos

Las mechas de electrodos son pequeños papeles de filtro rectangulares que se colocan sobre el extremo de las tiras de IPG. Los electrodos hacen contacto con la parte superior de las mechas. Las mechas de electrodos de ayudar a eliminar las impurezas que se acumulan en el extremo de las tiras de IPG, y en general mejorar el contacto de los electrodos.

Las mechas de electrodos vienen en tiras largas, y se debe cortar en rectángulos aparte individuales a medida que se utilizan. Las mechas de electrodos deben ser humedecido por la ligera secante con agua antes de su uso.

Recipientes para muestras

La muestra de proteína tazas de carga en la tira IPG. Recipientes para muestras con capacidad para 240 μ l de muestra. Las copas se puede aplicar en la mayoría de los lugares a lo largo de la longitud de la tira IPG, y se aplican normalmente en el ánodo (+) final.

Rehidratación/Equilibrio bandejas

Las bandejas de rehidratación/equilibrio se puede utilizar para ambas funciones. Los carriles son lo suficientemente estrecha como para la rehidratación adecuada, pero en el fondo suficiente para mantener el volumen de reactivo necesario para el equilibrio. Una pequeña bandeja se incluye para su uso con 7 cm IPG tiras. La bandeja grande se puede utilizar con IPG tiras de hasta 24 cm de longitud.

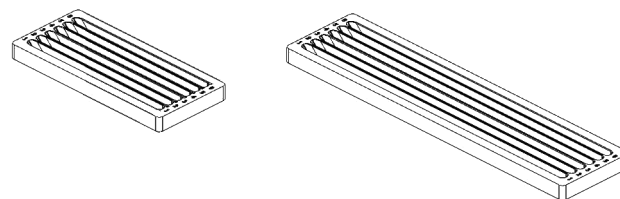


Fig. 9. Rehidratación/ equilibrio bandejas.

Cepille

El cepillo de limpieza se utiliza para la limpieza de la bandeja de enfoque.

Fórceps

Pinzas de facilitar el manejo de las tiras de IPG.

Programación de la IEF100

Pantalla Principal

Cuando se activa “ON”, la pantalla principal (Fig. 10). La pantalla principal contiene los siguientes campos.

Fecha y hora

La fecha y hora se configuran en Hora Estándar del Pacífico. Utilice el botón “OPTION” para establecer la fecha y hora para su ubicación. (Vea la página de opciones de pantalla de 17).

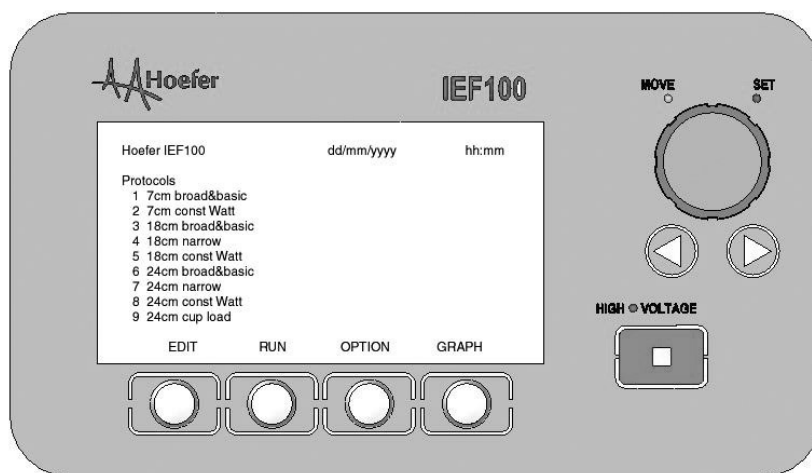
Lista de los 30 protocolos

Los primeros nueve protocolos se muestran en la pantalla. Uno de los protocolos siempre se destacó. Utilice el botón para desplazarse a través de los otros protocolos.

El instrumento se carga con los 9 protocolos para enfocar 7, 18 o 24 cm de IPG. Estas son pautas generales para el enfoque. IPG fabricantes de tiras normalmente dan los tiempos recomendados se centran en el total de voltios-hora (voltios multiplicado por hora). Tanto por debajo y sobre el enfoque puede ser problemático. Optimum veces centrados debe ser determinada por el usuario final considerando la tira IPG, el tipo de muestra y la carga de proteínas de la muestra. Todos los protocolos pueden ser sobrescritos, si lo desea.

Además de estos 9 protocolos, hay 21 protocolos adicionales sin nombre, sin medidas pre-programados, permitiendo que el espacio de usuario suficiente para crear protocolos personalizados.

Fig. 10. Pantalla principal.



Los cuatro botones: EDIT, RUN, OPTION y el GRAPH

EDIT

Edita el protocolo resaltado.

RUN

Inicia el protocolo resaltado.

OPTION

Permite el acceso a la configuración del puerto y la fecha y la hora.

GRAPH

Mostrará las corrientes voltios y medido de forma gráfica. Utilice el botón para desplazarse por la tensión y los perfiles de μA en los canales 1-6. La carrera activa se mostrará.

Si no se activa un protocolo de funcionamiento, el botón gráfico que mostrará los datos de la última ejecución.

Nota: Los datos de la última ejecución se conserva en la memoria hasta que una nueva ejecución se ha iniciado. Una vez que una nueva ejecución se ha iniciado, los datos de ejecución últimos ya no está disponible.

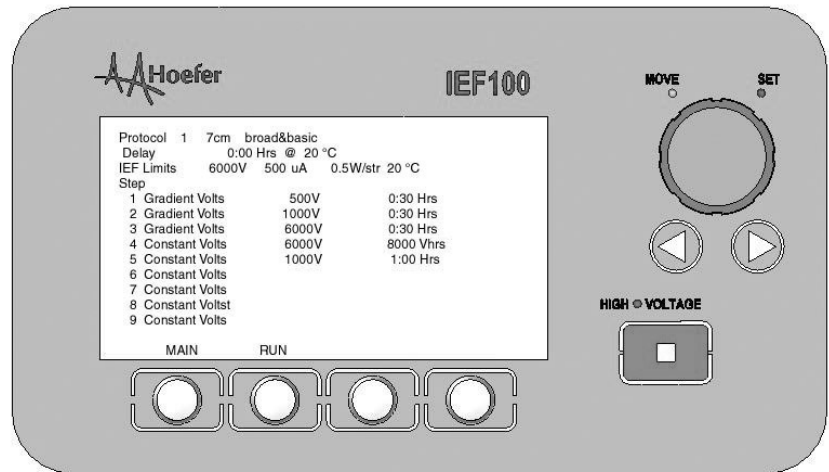
Nota: Los gráficos de voltios y la corriente no se puede imprimir directamente desde la IEF100. Si la salida de datos se envían a un ordenador, los datos pueden ser transferidos a un programa como Excel para crear el gráfico.

Editar Protocolo de pantalla

En el menú principal, utilice el botón para seleccionar el protocolo deseado. Oprima el botón debajo de la pantalla EDIT. El IEF100 se mostrará la pantalla de edición de protocolo (Fig. 11).

Todos los parámetros del IEF se muestran en una pantalla. Cada protocolo se puede programar con hasta nueve etapas. El protocolo termina con el primer paso que tiene un tiempo de paso de cero.

Fig. 11. Pantalla de edición de protocolo. Todos los parámetros para un protocolo completo que se pueden ver en una pantalla.



Utilice el mando para moverse entre los siguientes campos modificables. Una vez resaltado, haga clic en el botón para cambiar el valor del campo.

Número de protocolo

Haga clic en el botón. El mando de ahora se moverá entre los 30 protocolos, lo que permite una rápida revisión de cada protocolo.

Nombre del protocolo

Protocolo de nombres pueden tener hasta 16 símbolos alfanuméricos. Los símbolos disponibles son las siguientes:

ABCDEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ
%.@/-+mun 0123456789

Seleccione el campo del nombre del protocolo, y haga clic en el botón.

Un cursor hará que el primer carácter a parpadear. Gire el botón para desplazarse por los símbolos anteriores. Una vez que el símbolo deseado, utilizar las flechas horizontales (las teclas directamente debajo de la perilla) para mover el cursor a la siguiente posición. Repita hasta que el nombre de protocolo es correcto.

El “espacio en blanco” se encuentra entre la letra minúscula “n” y los símbolos “0”.

La minúscula “m”, “u”, y “n” puede ser utilizado para designar a mili, micro y nano, si lo desea.

Cuando el nombre es correcto, haga clic en el botón para introducir el nombre, y pasar al siguiente campo.

Retrasar

La línea de retardo es un paso opcional. Tanto el tiempo y la temperatura se puede introducir una. Enfoque se iniciará después de que el tiempo de retardo ha transcurrido. Esto puede ser útil para las carreras durante la noche en que el usuario lo desea, puede haber centrado su fin en algún momento específico del día siguiente. Los módulos Peltier mantendrá la placa fría a la temperatura establecida.

Nota: Los tiempos para el incremento minuto más cercano se pueden cargar a los protocolos de una computadora.

Parámetro	Unidades	Serie	Incremento
Time	(hour:min)	0:00 – 99:59	0:15
Temperature	(°C)	15 – 25	1

Límites del IEF

Máxima tensión, intensidad por tira, y tira de vacío por se aplican al protocolo. Estos ajustes se anulan los valores de los pasos individuales. Estos límites generales se puede utilizar para evitar que ciertas condiciones se centran que causan daño o problemas con las tiras de IPG.

La temperatura para la focalización también se establece. Dado que los puntos isoeléctricos de las proteínas son dependientes de la temperatura, IEF es típicamente a una sola temperatura, usualmente 20 °C. No se recomienda el uso de temperaturas inferiores a 20 °C, ya que puede causar problemas con la cristalización de urea en la tira IPG.

Parámetro	Unidades	Serie	Perilla incrementos ajustables	Informáticos configurables incrementos
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

Pasos

Para modificar cualquier parámetro de paso, gire la perilla para seleccionar el parámetro. Pulse el mando, y gire la perilla para ajustar el valor deseado. Pulse el botón de nuevo para entrar en el valor, y pasar al siguiente campo.

Cada paso tiene cuatro campos que se pueden editar: el tipo de paso, un valor de paso, un paso de tiempo y las unidades de paso:

Step Type	Tensión constante, el gradiente de V, W constante.
Step Value	Establece el valor máximo de voltios o vatios dependiendo del tipo de paso.
Step Time	El tiempo en horas o voltajes.
Step Units	Horario (horas) o voltios horas (Vhrs).

Paso Tipo y Valor de paso

Cada paso puede ser programada en uno de tres modos diferentes, voltios constante, un degradado o un vatio constante.

- En voltios constante, la tensión se mantiene constante throughout la longitud del paso.
- En gradiente voltios, la tensión se iniciará en el voltaje final de la etapa anterior y aumento (o disminución) linealmente con el tiempo a la tensión de entrada en el paso de corriente. Si el primer paso del protocolo es un paso voltios gradiente, la tensión se incrementará de 0.
- Degradado voltios pasos poco a poco aumentar la potencia que se aplica a las tiras de IPG, dando lugar a un calentamiento más parejo de la banda con el tiempo.
- Pasos vatios constantes se suavizar la generación de calor tanto como sea posible durante el curso de la separación IEF. Todavía habrá calentamiento localizado debido a diferentes concentraciones de iones a lo largo de la longitud de las tiras de IPG.
- Cuando utilizar el paso de vatios constantes, las unidades para el valor del paso cambia automáticamente a vatios.
- En los pasos vatios constantes, el IEF100 calcula la resistencia, y se ajusta el voltaje para mantener el ajuste vatios constante.

Nota: No se recomienda establecer una serie de pasos discretos voltios. Las discontinuidades entre los pasos causar alzas en los niveles de energía que tienden a aumentar las posibilidades de las tiras de la quema.

Nota: En algunos casos, la configuración de voltios no puede ser alcanzado.

Nota: Si un paso vatios constante es seguido por un paso gradiente voltios, el paso voltios gradiente se iniciará desde 0, y aumentan linealmente con la tensión de conjunto.

Nota: Cuando se cambia entre unidades de tiempo, el IEF100 convertirá entre las horas y Vhrs automáticamente. Puede ser útil para establecer las unidades de tiempo (horas o paso Vhrs) antes del punto final numérica se introduce.

Paso de tiempo

Los pasos pueden ser programados para funcionar durante un periodo de tiempo, Horas (00:00 en horas: minutos), o para una determinada cantidad de voltios-hora, Vhrs (voltios multiplicado por el número de horas). La mayoría de los fabricantes de tiras del IEF recomienda para ejecutar las tiras de IPG a un determinado voltios-hora del punto final.

El investigador debe determinar el punto final de la muestra específica. El primer paso con un valor 0 introducido en el paso de tiempo se trata como el final del protocolo.

Step Type	Serie	Step Value	
		Perilla incrementos ajustables	Informáticos configurables incrementos
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

Nota: El instrumento IEF100 vigila la corriente y voltaje en cada tira individual. Si es necesario, las condiciones pueden ser ajustados y/o tiras problemáticos se puede quitar.

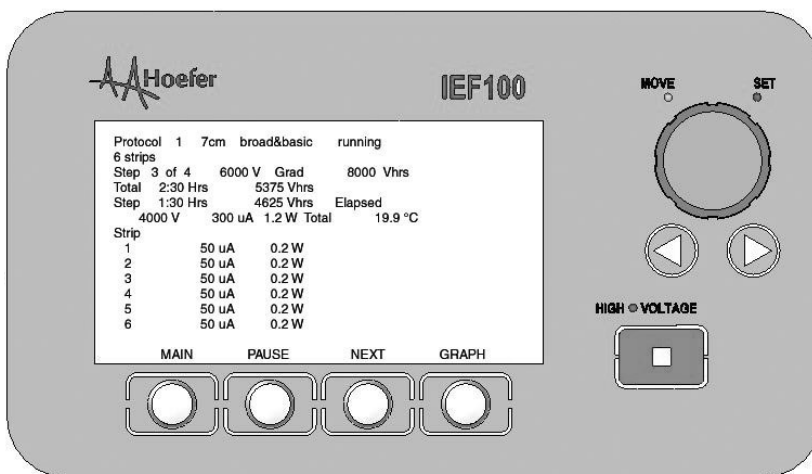
Fig. 12. Ejecutar pantalla.

Nota: IEF100 también suena entre los cambios de paso.

Ejecutar la pantalla

La información en la pantalla de ejecución se describen en detalle en la sección de operación de IEF.

La pantalla de ejecución no tiene campos editables. Se tiene los siguientes cuatro teclas de función, MAIN, PAUSE, NEXT y GRAPH (Fig. 12).



MAIN

Permite al usuario revisar y modificar todos los protocolos, mientras que el IEF actual todavía se está ejecutando.

PAUSE

La PAUSE interrumpe el botón de la alta tensión a las tiras de IPG, permitiendo al usuario a la interfaz de forma segura con las tiras.

Después de una pausa, RUN continuará desde donde fue interrumpido, o ABORT se terminará la carrera.

NEXT

El botón NEXT permite al usuario saltar la porción restante de la etapa activa, e iniciar el siguiente paso en el protocolo.

GRAPH

El botón GRAPH mostrará los resultados de la ejecución actual gráficamente. Utilice el botón para desplazarse por el perfil de tensión, y los perfiles de mA en los canales 1 a 6.

Presione EXIT para regresar a la pantalla de ejecución.

Al final de la carrera de la IEF100 emitirá un pitido, y apague la fuente de alimentación de alta tensión. Una pantalla muestra el número de protocolo, la fecha y hora de finalización, y las condiciones del IEF finales en cada tira IPG.

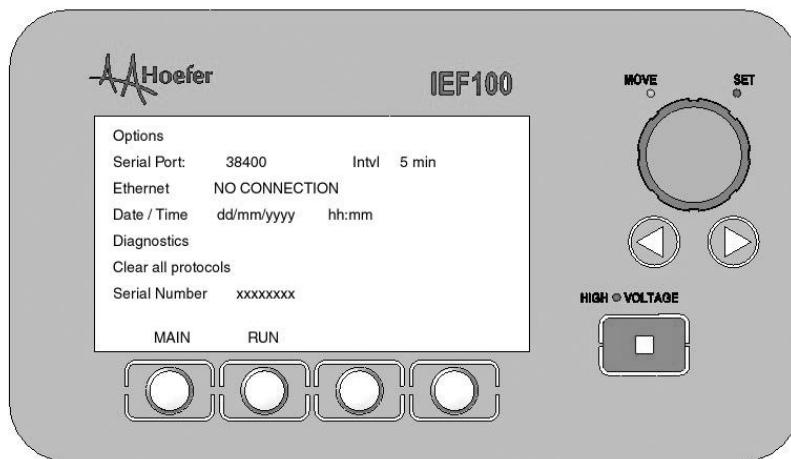
Nota: Cuando la pantalla de opciones se accede, el IEF100 primero verificará para ver si hay una conexión ethernet. El IEF100 es inaccesible hasta que el cheque se ha completado (aproximadamente 10 segundos). Las palabras “CHECKING ETHERNET” parpadeará hasta que el cheque se ha completado.

Fig. 13. Opciones de pantalla.

Opciones de pantalla

En el menú principal, pulsando la tecla “OPTION” permitirá el acceso a las siguientes opciones (Fig. 13).

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



Serial Port

El puerto serial ajusta la velocidad a la que los datos son enviados o recibidos desde un dispositivo externo. La velocidad de transmisión se puede establecer en 9600, 38400 o 57600, con 38400 es el valor por defecto. La velocidad de transmisión debe coincidir con la tasa de notificación de datos del dispositivo externo (puerto de la computadora o la impresora de serie).

Intvl

El intervalo de tiempo entre los puntos de datos enviados a un dispositivo externo de recepción. El IEF100 interna registra puntos de datos cada minuto. Cuando la descarga de los datos, el intervalo entre los puntos de datos se puede cambiar desde 1 a 15 minutos. El intervalo predeterminado es de 5 minutos. Para carreras largas, puede ser deseable tener un menor número de puntos de datos, y por lo tanto utilizar los valores más altos para el intervalo.

Ethernet

La conexión Ethernet se determina automáticamente. “NO CONNECTION” se mostrará hasta que un cable se conecta al puerto. Una vez que una conexión inalámbrica a internet activa se ha establecido, el servidor local le asignará una dirección IP que se muestra en el formato XXX.XXX.XXX.XXX. Este proceso suele tardar unos 10 segundos.

Para establecer la fecha

El campo de fecha es de tres campos separados de "DAY/MONTH/YEAR".

- 1 Con el botón para resaltar el campo de fecha. Haga clic en el botón para ajustar la fecha.
- 2 Gire la perilla para cambiar la fecha. Usa las flechas horizontales (las teclas directamente debajo de la perilla) para acceder al "MONTH" y los campos "YEAR", si es necesario.
- 3 Cuando los tres campos son correctos, pulse el botón para entrar en la nueva fecha.

Para seleccionar la hora

El campo es de dos campos separados, "HOUR:MINUTE". La "HOUR" de campo utiliza el rango de 0 a 24 para indicar la hora del día.

- 1 Utilice el mando para seleccionar el campo del tiempo. Haga clic en el botón para ajustar la hora.
- 2 Gire la perilla para cambiar la "HOUR". Usa las flechas horizontales (las teclas directamente debajo de la perilla) para acceder al "MINUTE" de campo, si es necesario.
- 3 Cuando todos los campos son correctos, haga clic en el botón para entrar en el nuevo tiempo.

Diagnóstico

- 1 Resalte Diagnósticos y pulse el botón. La tecla de función "RUN" aparece en la pantalla. Pulse el botón "RUN" para mostrar una pantalla emergente con tres opciones:

Run Diags

Manual Vout

Cancel

- 2 Utilice el botón para seleccionar la opción, y pulse la tecla de función "OK".

Run Diags

El diagnóstico de la función tiene el visto IEF100 a través de una serie de pruebas internas para confirmar la función. Las pruebas incluyen la salida de voltaje y corriente de la alimentación interna de alta tensión, la EPROM, y el reloj. Si las pruebas de todo bien, el mensaje "ALL OK" aparece brevemente en la pantalla.

Si una de las pruebas falla, póngase en contacto con el representante Hoefer, Inc. para organizar el servicio para el instrumento.

Manual Vout

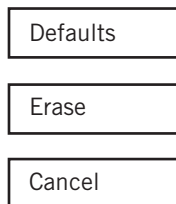
Pulse Aceptar para mostrar una pantalla de ejecución. Haga clic en el botón de modo "set", y la tensión de salida es ajustable en incrementos de 250 V. La ejecución de instrucciones continuará hasta que se detuvo por el usuario, o hasta 4 horas.

Salir de esta pantalla volverá al menú principal.

Nota: No se puede recuperar protocolos programados por el usuario una vez que se han restablecido, o borrados.

Clear All Protocols

Esta opción se utiliza para sobrescribir los protocolos existentes en la memoria. Una pantalla emergente muestra tres opciones:



Defaults

Erase

Cancel

- Seleccione la opción adecuada y pulse “OK”.
- “DEFAULTS” restablece todos los 30 protocolos de los valores predeterminados de fábrica, es decir, los protocolos de nueve pre-programados y 21 protocolos vacíos.
- “ERASE” elimina todos los datos de los 30 protocolos en la memoria. Protocolos vacíos tienen límites predeterminados de 12.000 V, 500 μ A/strip, 2 W/strip y 20 °C.

Serial Number

Muestra el número de serie de la IEF100. Esto no es editable.

IEF100 Operación

Nota: Empuje hacia adentro la perilla, y suelte rápidamente a un “clic”. No hay señales táctiles y auditivas. A los cambios haga clic en el éxito entre los “MOVE” y los modos de “SET”.

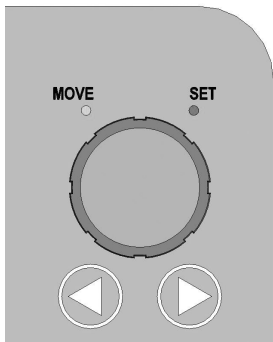


Fig. 14. La perilla.



Fig. 15. Interruptor ON/OFF.

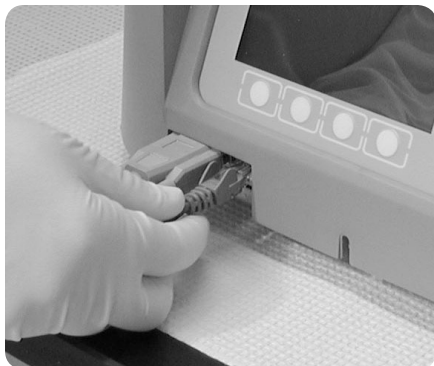


Fig. 16. Conexión Ethernet.

Usando el mando

El mando tiene dos acciones, se vuelve, y lo empuja a un “clic” (Fig. 14).

Girar: Navega a través de los campos, ajusta los valores.

Haga clic en: Cambios entre “MOVE” y “SET” modos, como se indica por el LED.

- 1 En “MOVE” el modo, seleccione el campo que desea cambiar.
- 2 Haga clic en el botón para cambiar al modo “set”.
- 3 Girar el mando ahora ajustar el valor del campo. Cuando el valor correcto se muestra, haga clic en el botón de nuevo para entrar en el valor, y cambie de nuevo para “mover” el modo. Al girar la perilla ahora pasará al siguiente campo.

IEF100 configuración

- 1 Enchufe el IEF100 a una toma de red con el cable de alimentación adecuado. Un adaptador puede ser necesario en algunos países. El módulo de entrada de alimentación está en el panel posterior. El interruptor ON/OFF se encuentra en el módulo de entrada de alimentación (Fig. 15).
- 2 Deje espacio libre alrededor del instrumento y espacio suficiente arriba para permitir la apertura de la tapa. Los orificios de ventilación no deben ser bloqueados. No permita que los líquidos para entrar en las entradas laterales.
- 3 Lave la bandeja de electrodo, enjuague bien con agua desionizada y dejar secar al aire.
- 4 Limpie con cuidado los electrodos de platino puntos de contacto de alambre y deje secar al aire.
- 5 Cuando la unidad está inactiva durante un periodo de tiempo que un protector de pantalla se mostrará a prolongar la vida útil de la pantalla. Pulse cualquier botón para salir del protector de pantalla.

Conexiones de impresora y el ordenador

Conectar y configurar una impresora o un ordenador antes de concentrarse, y el IEF100 envía automáticamente los datos de salida en tiempo real (Fig. 16).

Ver conexiones de datos opcionales, la página 35.

Preparación de las tiras de IPG

Los geles de pH inmovilizados (IPG) son ultra delgadas en geles de poliacrilamida películas de soporte de plástico. Los geles se hacen con un gradiente de pH unido covalentemente a la matriz de gel. Los geles son estables y reproducibles. Los geles se suministran deshidratado y deben almacenarse a temperaturas de -20 °C o menos.

Las tiras de IPG tienen una ácida (+) final y una base end (-). Imágenes 2D de gel son típicamente se muestra con el lado ácido de la izquierda, y que es la orientación de las tiras de IPG en la IEF100. El electrodo adecuado debe ser aplicado a cada extremo: anódico (+) del electrodo al final ácida (izquierda) y la catódica (-) del electrodo al final de base (derecha).

Las tiras secas requieren rehidratación antes de la carrera. Típicamente, varios reactivos diferentes están incluidos en la solución de rehidratación para ayudar a solubilizar las proteínas, y permitir con éxito isoelectroenfoque. La rehidratación se realiza normalmente a temperatura ambiente, o 20 °C, y necesita un mínimo de 8 horas para una buena absorción de la solución reswelling. Con frecuencia es más conveniente para permitir la rehidratación que se produzca durante la noche. Durante la rehidratación, las tiras IPG están cubiertos en aceite mineral para evitar la pérdida de humedad, y evitar la cristalización de urea.

Las tiras IPG se rehidratan con una de las bandejas de rehidratación/equilibración suministradas con el IEF100. Muestra de proteína se puede añadir a la tira IPG en este paso. Las tiras IPG se transfieren a la IEF100 para enfocar.

Nota: IEF100 es un lugar conveniente para rehidratar las tiras. La placa fría se mantenga una temperatura constante, y la cubierta ayudará a proteger las tiras IPG de polvo.

Nota: El uso más que los volúmenes recomendados pueden contribuir a la pérdida de la proteína o los resultados borrosos IEF.

Nota: Las soluciones de rehidratación típicamente contienen altas concentraciones de urea que tienden a cristalizar a temperaturas más bajas. Por esta razón, la rehidratación no debe hacerse en cámaras frigoríficas o en ambientes más fríos de manera significativa a los 20 °C.

Nota: Las tiras deslizantes en el tampón de rehidratación se moje toda la longitud de la tira, y ayuda a evitar que se pegue. Tiras colocados directamente contra la parte inferior de plástico de la bandeja de rehidratación puede adherirse, y no rehidratar correctamente.

La rehidratación de las tiras de IPG

Un breve análisis de los ingredientes de rehidratación y su función está incluida en el Apéndice B, junto con algunas de las soluciones recomendadas. Los reactivos se pueden personalizar para muestras específicas.

El volumen de la solución depende de la longitud de la tira para ser utilizado. Hoefer recomienda seguir las recomendaciones del fabricante de la tira IPG.

Una tabla de volúmenes típicos se incluye a continuación.

Longitud de la tira (cm)	Volumen por la Franja de (µl)
7	130
18	340
24	450

Aplicar una solución de rehidratación en un canal de la bandeja de rehidratación de tamaño apropiado en una línea ligeramente más corta en longitud que la tira para ser rehidratados.

Muchos fabricantes tira IPG de cubrir las tiras con una cubierta protectora. Si está presente, retire la capa protectora.

Colocar la tira, el gel hacia abajo, sobre el líquido en el canal. Deslice suavemente la tira hacia atrás y adelante para humedecer toda la longitud del gel IPG con solución de rehidratación. A veces, levantar y bajar la tira IPG puede ayudar a conseguir el contacto adecuado de la solución sobre toda la longitud de la tira de gel de IPG.

Cubra las tiras con aceite mineral, el número de Hoefer fin GR138-1.

Permitir la rehidratación de un mínimo de 8 horas. Mejor rehidratación se produce si permitiendo tiras para rehidratar durante la noche.

Isoelectroenfoque (utilizando el conjunto de electrodo)

1

Abra la tapa de seguridad presionando hacia abajo en la etiqueta de empuje blanco en el centro de la parte frontal de la tapa (Fig. 17).

2

Inserte la bandeja de IEF105 se centra en el extremo derecho de la placa fría. La bandeja tiene una única orientación. Hay (+) y (–) marcas en la bandeja que se alinean con las marcas correspondientes en el IEF100.

La bandeja no se ajustan adecuadamente en el IEF100 en cualquier otra orientación.

3

Deslice la bandeja de enfoque hacia la izquierda debajo de las pestañas de sujeción (Fig. 18). Estas pestañas mejorar el contacto y la transferencia de calor, entre la bandeja y la placa fría.

4

Use unas pinzas para cargar las tiras IPG rehidratadas en el lado de la bandeja de gel de enfoque hacia arriba. El anódica (+) final de las tiras deben ser de la izquierda, coincidiendo con el (+) en la bandeja y la IEF100 (Fig. 19).

Los canales de tira están numerados de modo que el canal 1 es la más cercana a la parte delantera y el canal 6 está en la parte posterior de la IEF100.

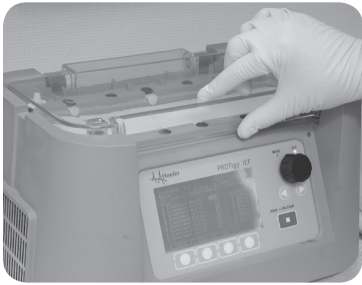


Fig. 17. Abra la tapa de seguridad.

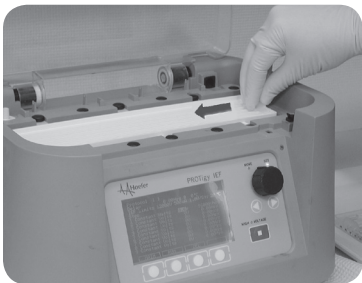


Fig. 18. Deslice la bandeja de enfoque.

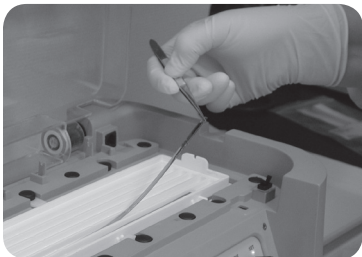


Fig. 19. Coloque las tiras de IPG.

Nota: En cualquier ejecución una, todas las tiras IPG deben tener la misma longitud de los electrodos para hacer un buen contacto.

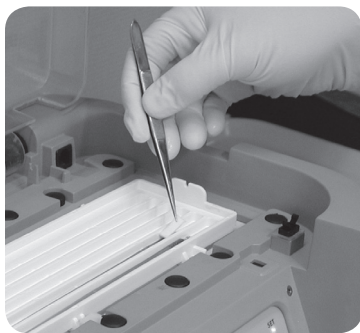


Fig. 20. Allinea strisce.

Nota: Gli stoppini elettrodi assorbono ioni raccolti in corrispondenza delle estremità delle strisce IPG, e generalmente migliorare i risultati IEF.

Fig. 21. Vassoio di messa a fuoco allargata.

5

Allineare il (+) fine delle strisce con il segno di allineamento nella barra delle applicazioni (Fig. 20).

Ciò contribuirà in due modi. In primo luogo, le linguette di bloccaggio non interferisca con il posizionamento degli elettrodi. In secondo luogo, vi sono scanalature piccoli nel fondo dei canali di pinze per rimuovere strisce IPG dopo IEF.

6

Applicare stoppini elettrodi su ciascuna estremità delle strisce IPG, sovrapposto al gel di 2-3 mm, e si estende l'estremità del nastro IPG.

- Gli stoppini elettrodi vengono forniti in lunghe strisce perforate. Usare le forbici per tagliare il numero desiderato di stoppini.
- Inumidire gli stoppini IEF con acqua e asciugare delicatamente l'acqua in eccesso.

Scanalature per il forcipe per rimuovere le strisce IPG

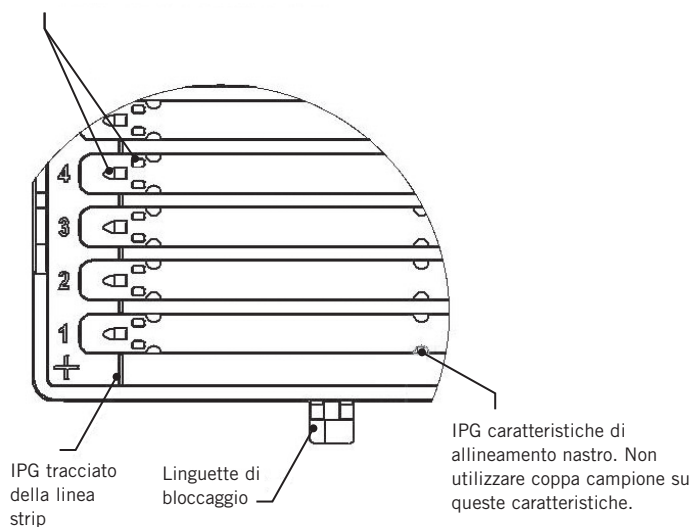
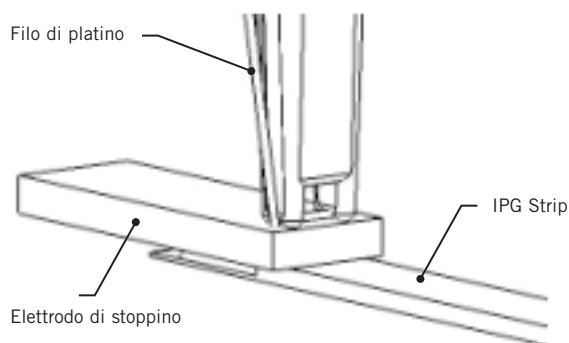


Fig. 22. Stoppino di collocamento.



Nota: Gli elettrodi non farà contatto con le strisce IPG senza lo stoppino elettrodo in posizione.

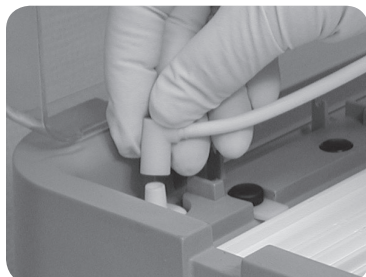


Fig. 23. Collegare (+) elettrodo.



Fig. 24. Bloqueo (+) elettrodo in posizione.

7

Collegare il (+) elettrodo al terminale (+) (Fig. 23).

8

Posizionare il (+) elettrodo sopra gli stoppini elettrodi in modo che il filo di platino è concentrata nella zona di sovrapposizione tra stoppino e la striscia IPG (Fig. 24).

L'elettrodo dovrebbe leggermente bloccarlo in posizione.



Fig. 25. Conecte (-) de los electrodos.

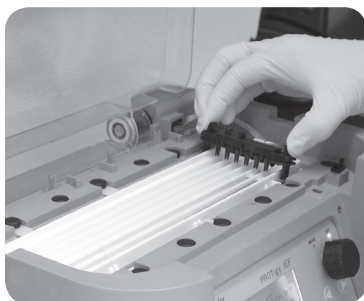


Fig. 26. Bloqueo de (-) electrodo en su lugar.



Fig. 27. Cubrir con aceite mineral.

9

Conectar el electrodo (-) para el terminal (-) (Fig. 25).

1

Colocar la (-) electrodo en la parte superior de las mechas de electrodos de manera que el alambre de platino se centra en el área de solapamiento entre las mechas y la tira IPG (Fig. 26).

El electrodo de la ligera debe bloquear en su lugar.

11

Cubra las tiras y los canales vacíos con 60 ml de aceite mineral. Usar menos el aceite correrá el riesgo de que las tiras de IPG no estará completamente cubierto y podría secarse durante la carrera (Fig. 27).

Isoelectroenfoque (utilizando el accesorio de doble electrodo)

El accesorio de doble electrodo aumenta la capacidad de Hoefer IEF100, lo que permite un máximo de doce, 7 cm IPG tiras que se ejecutan simultáneamente. Esto se logra mediante la ejecución de hasta seis pares de tiras de IPG en paralelo. Cada uno de los seis canales informará la suma de la corriente y potencia de las tiras emparejadas, por lo tanto, los límites actuales y la potencia debe fijarse en el doble del valor habitual utilizado cuando se ejecuta tiras individuales y, como siempre, las tiras IPG se ejecuta simultáneamente debe ser del mismo pH y conductividad.

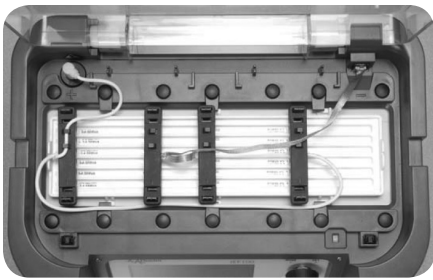


Fig. 28. IEF100 configurar utilizando el accesorio de doble electrodo.

1

Abrir la tapa de seguridad presionando hacia abajo en la etiqueta de empuje en el centro de la parte frontal de la tapa.

2

Inserte la bandeja de IEF105 se centra en el extremo derecho de la placa fría. La bandeja tiene una única orientación. Hay (+) y (-) marcas en la bandeja que se alinean con las marcas correspondientes en el IEF100.

La bandeja no se ajustan adecuadamente en el IEF100 en cualquier otra orientación.

3

Deslice la bandeja de enfoque hacia la izquierda debajo de las pestañas de sujeción. Estas pestañas mejorar el contacto y la transferencia de calor, entre la bandeja y la placa fría.

4

Use unas pinzas para cargar los rehidratados 7 cm IPG tiras en la bandeja de enfoque con la parte del gel de las tiras hacia arriba.

5

El primer conjunto de tiras IPG se deben cargar en el lado izquierdo de la bandeja con la anódica (+) final de las tiras a la izquierda que coinciden con el (+) en la bandeja y la IEF100.

6

El segundo conjunto de tiras IPG se cargan a la derecha de la primera serie en la orientación opuesta, con el extremo anódico (+) de las tiras que coinciden con el (-) en la bandeja y la IEF100. El extremo catódico (-) del conjunto de cada una de las tiras deben ser uno frente al otro en el centro de la bandeja de centrado, aproximadamente 4 cm de distancia (Fig. 29).

7

IPG tiras paralelas deben estar alineados en la mayor medida posible con el (+) o (-) impreso en la tira de guía de alineación.

8

Aplicar mechas de electrodos en la parte superior de cada extremo de las tiras de IPG, la superposición del gel por 2-3 mm, y que se extiende fuera del extremo de la tira IPG.

- Las mechas de los electrodos se suministran en tiras largas y perforadas. Utilice unas tijeras para cortar el número deseado de mechas.
- Humedecer las mechas del IEF con agua y secar suavemente el exceso de agua.

9

Conecte los electrodos del ánodo (+) al positivo (+) del terminal en el lado izquierdo de la IEF100.

1

Los electrodos de ánodo se colocan en cada extremo de la bandeja de enfoque, el lado izquierdo de la primera serie de tiras de IPG y el lado derecho de la segunda serie de tiras de IPG. Los electrodos deben estar centradas en la parte superior de la zona donde se superpone mecha el gel de la tira IPG.

11

Conecte los electrodos de cátodo (-) al negativo (-) de la parte derecha de la IEF100.

12

Los electrodos de cátodo se colocan en el centro de la bandeja de enfoque, en el lado derecho de la primera serie de tiras de IPG y el lado izquierdo de la segunda serie de tiras de IPG. Los electrodos deben estar centradas en la parte superior de la zona donde se superpone mecha el gel de la tira IPG.

Fig. 29. Colocación de la Franja de IPG.



Nota: Hay pequeñas características semicirculares en la parte inferior de los canales de la bandeja que ayudan a alinear la tira IPG en el centro del carril. Las patas de la copa de muestra no debe golpear estas características o bien la copa de muestras de fugas. Véase la Fig. 21 en la página 24.

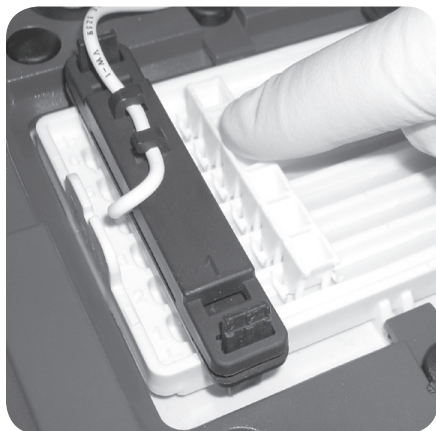


Fig. 30. Coloque recipientes para muestras.



Fig. 31. Aplique la muestra.



Fig. 32. Cierre la tapa de seguridad.

Recipientes para muestras

Tazas de ejemplo se puede utilizar para aplicar la muestra de proteína a IPG tiras si no se incluyó en el tampón de rehidratación. Las tazas de la muestra se presenta en tiras de seis tazas. Los recipientes para muestras se pueden utilizar juntos o se separan y utilizan por separado.

1

Presione hacia abajo las copas de muestra en la parte superior de las tiras de IPG. Las copas de muestra debe dejar en la parte inferior del canal y el sello en las tiras IPG (Fig. 30).

En general, la mayoría de carga taza se realiza en el extremo anódico de la tira IPG. Cada muestra es diferente. En algunas situaciones, las muestras pueden centrarse mejor cargado en otra parte de una tira. Esto sólo puede determinarse experimentalmente para diferentes tipos de muestras.

2

Hasta 240 µl de la muestra se puede aplicar a las copas de muestra (Fig. 31).

3

Una vez cargado, confirme la configuración del protocolo.

4

Cerrar la tapa (Fig. 32).

Nota: Los límites generales del protocolo de la corriente/tira y vatios/ tira no funcionará correctamente sin necesidad de introducir el número correcto de los canales que contienen tiras.

Nota: Los monitores de la IEF100 actuales y vatios en cada canal. Si es necesario, las condiciones pueden ser ajustados y/o tiras problemáticos puede ser retirado de la carrera.

Inicio IEF

1

Seleccione el protocolo que desee y pulse “RUN”.

2

Confirme el número de canales de centrarse bandeja que contiene tiras de IPG. Utilice el botón para cambiar el valor.

3

Presione “RUN” para iniciar el IEF.

4

El IEF100 emitirá un sonido para indicar el inicio de una carrera. La alta tensión se iluminará, y el “RUNNING” parpadeará en la esquina superior derecha de la pantalla.

La pantalla mostrará largo plazo las condiciones actuales.

Nota: El IEF100 sólo puede controlar las condiciones de un canal bandeja centrándose a la vez. Los IEF100 límites del canal con la más alta actual, o vatios. IPG tiras preparadas en las mismas condiciones se presentan variaciones debido a las diferencias geométricas en el gel IPG y las diferencias de contacto bajo los electrodos. IPG tiras con diferentes muestras puede mostrar grandes diferencias en corriente y potencia debido a conductividades diferentes de las muestras.

Ejecutar la pantalla

La pantalla de ejecución muestra toda la información sobre la ejecución actual (Fig. 33). No hay campos editables. La información en la pantalla de ejecución se describen a continuación.

Línea 1

El número de protocolo y el nombre se muestran. La esquina superior derecha indica el estado de ejecución como en funcionamiento (intermitente), hizo una pausa o terminado.

Línea 2

Muestra el número de tiras IPG se centran (o el número de canales si se usa el accesorio Electrodo doble).

Línea 3

Describe el paso activo, el número de paso, el valor del paso (voltios o vatios/tira) y el punto final paso (horas o Vhrs).

Línea 4

Muestra el tiempo total transcurrido y el total de voltios-hora de enfocar hasta el momento.

Línea 5

Muestra el tiempo total transcurrido y el total de voltios-hora de la etapa activa.

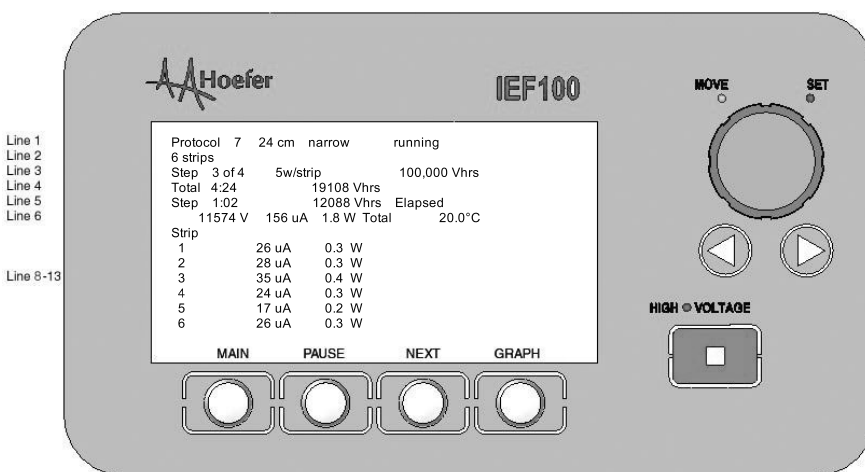
Línea 6

Muestra las condiciones de salida en tiempo real de todas las bandas, incluyendo a los voltios de corriente, la corriente total, los vatios totales y la temperatura de la plataforma.

Línea 8-13

Muestra la corriente tira individual y los vatios.

Fig. 33. Ejecutar pantalla.



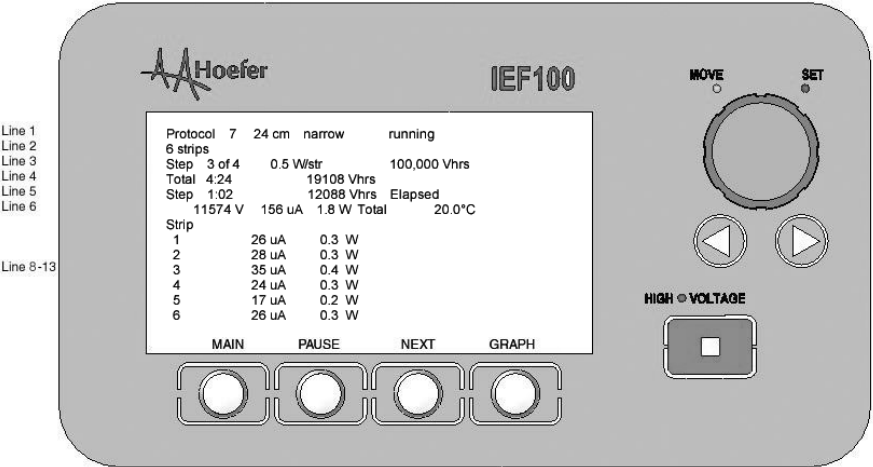
En el ejemplo debajo de 6 tiras de IPG se centra, según el protocolo 7, un máximo de 0,5 W/tira y 100.000 voltios-hora final del estudio (Fig. 34).

El protocolo es en el tercer paso. El protocolo ha estado funcionando durante 4 horas y 24 minutos, o 19.108 horas de voltios. En la actualidad, el protocolo es de 1 hora y 2 minutos y 12.088 horas de tensión, en el paso 3.

La fuente de alimentación interna está entregando 11.574 voltios, con un total de 156 µA y 1,8 vatios en seis tiras de IPG.

Durante unas tiras diferentes de ejecución puede controlar el voltaje en general como la resistencia de los cambios tiras durante la carrera.

Fig. 34. Ejecutar pantalla.



Nota: La sal adicional en la muestra tiende a aplanar las gráficas (horizontal) y tomar más tiempo para la muestra para enfocar.

Nota: Si hay problemas con la quema de tiras de IPG, establecer el límite de corriente de 50 μA /tira para garantizar condiciones seguras de enfoque para toda la separación.

Nota: La tensión y el μA se escalan y se representan de forma automática.

Típicos isoelectroenfoque

El primer paso se establece normalmente a baja tensión para limitar la corriente y dejar que los iones se mueven hasta el final de las tiras IPG sin corrientes excesivas. Si la carga de la muestra con una copa de muestra, un paso lento adicional puede ser añadido para permitir la muestra para introducir la tira IPG bajo condiciones suaves.

En los pasos intermedios, las rampas de tensión hacia arriba a una meseta, y esto es donde la mayor parte de la focalización se produce. La corriente disminuye hasta un valor mínimo. Los siguientes gráficos muestran los perfiles de tensión típica y μA (Fig. 35).

Un paso final ha sido añadido a los protocolos pre-programados para mantener el voltaje a 1000 V durante una hora. Esto evitará que las bandas se centró en el IEF100 hasta que el siguiente paso. Extender la longitud de este paso según sea necesario.

Fig. 35. Voltios y perfiles típicos μA .

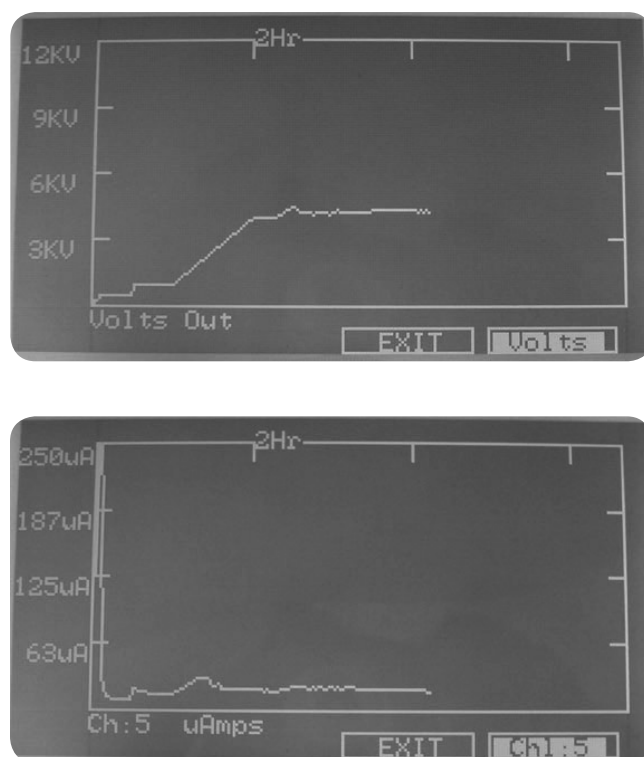
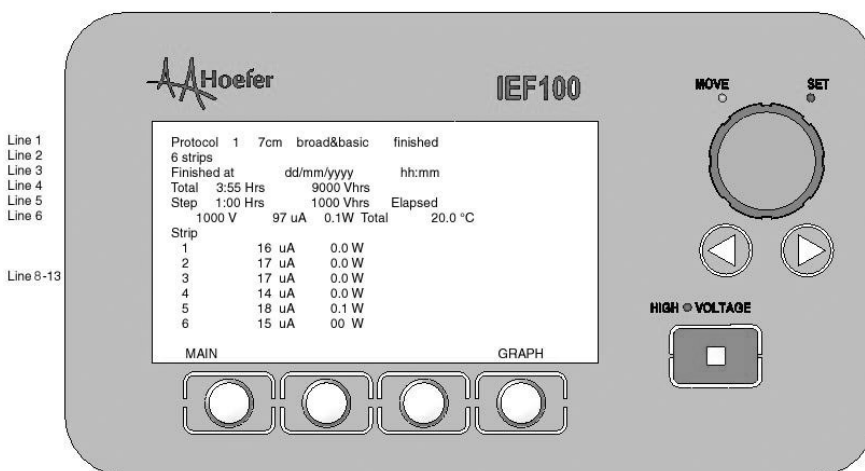


Fig. 36. Poner fin a la pantalla de ejecución.



Al finalizar el enfoque, la IEF100 emitirá un sonido y una pantalla de fin de carrera se muestra (Fig. 36).

Línea 1

El número de protocolo y el nombre. La palabra “FINISHED” se muestra en la esquina superior derecha.

Línea 2

El número de bandas de correr (o el número de canales, si utilizando el accesorio de doble electrodo).

Línea 3

La fecha y hora que se centra terminado.

Línea 4

El tiempo total y las horas de tensión de enfoque.

Línea 5

El tiempo de último paso y el horario de voltios.

Línea 6

Los voltios, y la corriente total y vatios de todas las tiras IPG al final de la carrera.

Línea 8-13

Las condiciones en cada tira al final de la carrera.

Nota: Siempre que una nueva IEF se ha iniciado, los datos anteriores IEF se pierde permanentemente.

Nota: No se equilibren las tiras IPG antes de guardar a -20 °C.

Los resultados pueden verse gráficamente empujando la función “GRAPH”. Los datos serán retenidos en la memoria hasta una nueva ejecución se ha iniciado.

En este punto, las tiras IPG se pueden almacenar a -20 °C.

O bien, si la segunda dimensión consiste en proceder de inmediato, el buffer debe ser cambiada en un proceso de dos etapas de equilibrio antes de la página segunda dimensión.

Conexiones de datos opcionales

Conexión de la impresora de serie

Use el puerto RS-232 para conectar directamente a una impresora serie. La impresora y el cable no se suministra. La serie de la impresora debe tener los siguientes valores.

Baud Rate	9600, 38400 o 57600 (deben coincidir con IEF100 velocidad en baudios)
Data Bits	8
Parity	None
Stop Bit	1
Flow Control	None

La siguiente sección describe la conexión serial de la computadora o una conexión Ethernet a la IEF100.

Conexión de HyperTerminal

HyperTerminal es un programa de Windows™ que puede comunicarse con dispositivos externos. Con la creación de una conexión entre un ordenador y IEF100, el usuario puede:

- Importar y exportar protocolos de la IEF100.
- Captura de datos de salida de la IEF100.
- Controlar la IEF100.

La descripción y las pantallas de abajo son las pantallas de HyperTerminal. Otros programas de emulación de terminal también funciona utilizando la misma configuración.

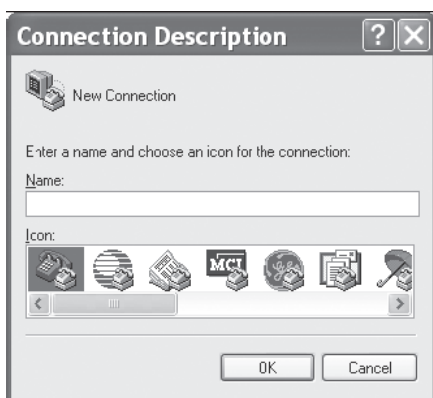


Fig. 37. Asignar nombre a las nuevas conexione.

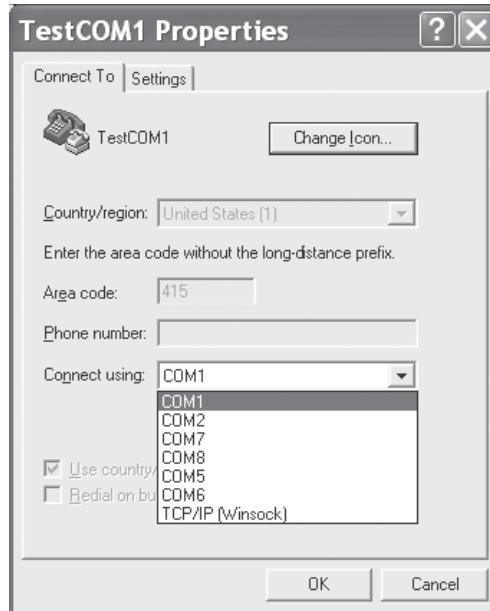
Configuración del puerto de comunicaciones

- 1 Inicie HyperTerminal en Windows.
- 2 Haga clic en Windows “START” de comandos.
- 3 Inicie Todos Programs-Accessories-Communications-HyperTerminal.
- 4 Asigne un nombre a la nueva conexión (Fig. 37).

Configuración del puerto serie

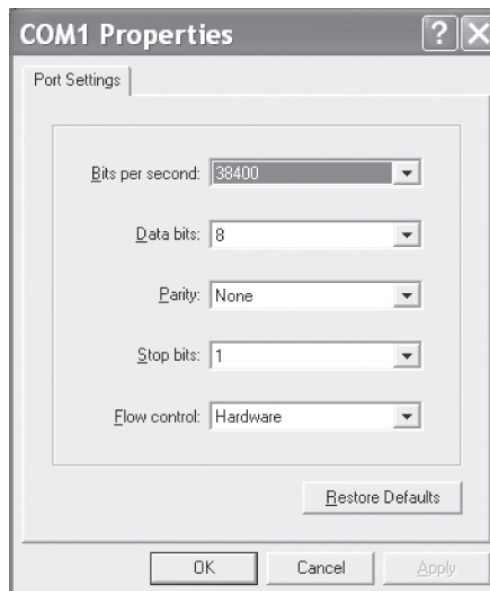
- 1 Seleccione un COM Port (Fig. 38). Este es el puerto de la computadora para comunicarse directamente con el IEF100. Seleccione TCP/IP si se conecta a través de la conexión ethernet.

Fig. 38. Seleccione un COM Port.



- 2 Ajuste el baud rate de los mismos que los datos IEF100, 9600, 38400 or 57600 o 8 data bits, no parity, 1 stop bit, hardware flow control (Fig. 39).

Fig. 39. Ajuste el baud rate.



Conexión TCP/IP usando el puerto Ethernet

Utilice el IEF100 puerto Ethernet para conectarse a una red de área local (LAN).

Conecte un cable Ethernet en vivo en el puerto. La LAN le asignará automáticamente una dirección de Internet a la IEF100. La dirección de Internet se muestra en la pantalla IEF100 opciones.

Puerto Ethernet de configuración

- 1 En la pantalla de propiedades de HyperTerminal, seleccione el protocolo TCP/IP (Winsock) opción en el puerto de comunicación ventanas de propiedades (Fig. 40).
- 2 Prensas "OPTION" desde la pantalla principal de la IEF100. El servidor local debe asignar automáticamente una dirección de Internet en el formato XXX.XXX.XXX.XXX.

Introduzca la dirección IP a la IEF100 en la "HOST ADDRESS" línea en el formato XXX.XXX.XXX.XXX (Fig. 41).

- 3 Establecer el "PORT NUMBER" a 10001 (Fig. 41).

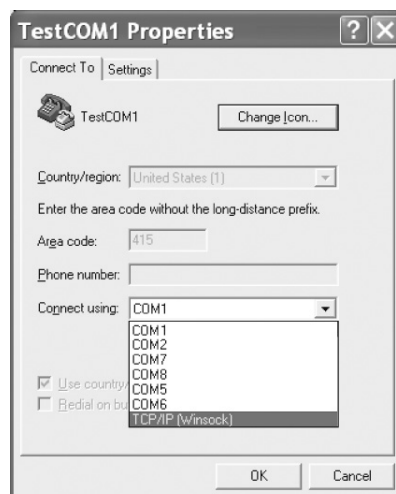


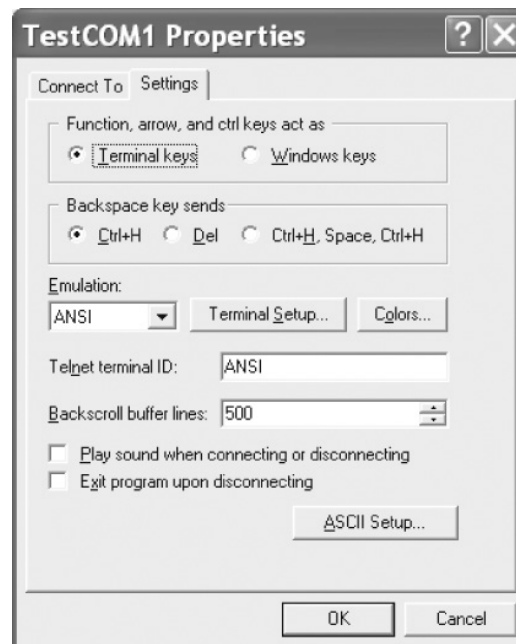
Fig. 40. Seleccione la opción TCP/IP.



Fig. 41. Introduzca la dirección IP y número de puerto.

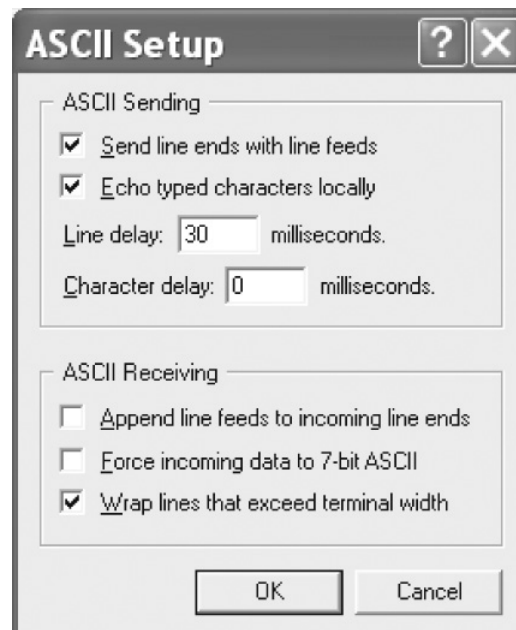
- 4 Haga clic en la pestaña “Settings” y la “ASCII Setup” botón (Fig. 42).

Fig. 42.



- 5 En la sección “ASCII setup section”, marque las casillas “Send line ends with line feeds” “Echo typed characters locally” (Fig. 43).
- 6 Ajuste el “Line delay to 30 milliseconds”
- 7 Ajuste el “Character delay to 0 milliseconds”
- 8 En la sección “ASCII receiving section”, marque la casilla “Wrap lines that exceed terminal width”

Fig. 43.



Nota: Los datos de la IEF100 es una serie de campos de texto separados por comas. Un método para transferir datos a otros programas es usar el “Windows clipboard” para copiar y pegar los datos.

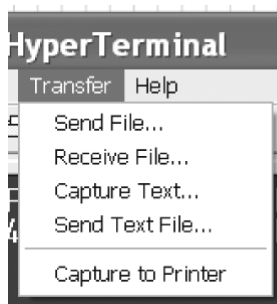


Fig. 44.

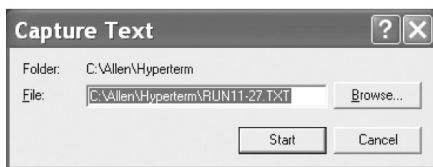


Fig. 45.

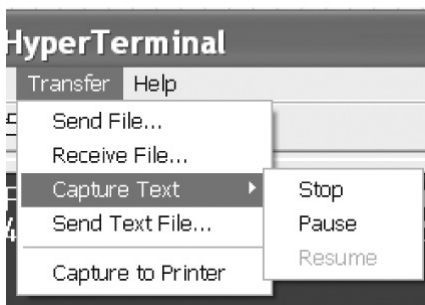


Fig. 46.

Nota: Copiar y pegar los datos, por defecto, poner todos los datos en una columna en una hoja de cálculo Excel. Utilice los menús de Excel “Data/Text to columns command”, establecer el delimitador como comas, y los datos en columnas para ordenar los gráficos.

La captura de datos IEF100

- 1 Asegúrese de que hay una buena conexión entre el HyperTerminal y el IEF100.
- 2 Abra HyperTerminal. Tipo “AT” y pulse “ENTER”. “OK” debería aparecer en la ventana de HyperTerminal.
- 3 Hay dos formas de descargar los datos de la IEF100. Los datos pueden ser recogidos en tiempo real, o enviados como un archivo de registro de datos después de enfocar.

Recoge en tiempo real

- 1 Con el programa HyperTerminal abierto, utilice los menús para acceder a HyperTerminal “Transfer/Capture” texto (Fig. 44).
- 2 Un nombre al archivo y el directorio que va a recoger los datos. Utilice el botón “Browse Button”, si es necesario (Fig. 45).
Los datos de la IEF100 se envía automáticamente a los puertos de salida cada 5 minutos. Una vez que una carrera se inicia, automáticamente los datos comenzarán a aparecer en la ventana de HyperTerminal.
- 3 Después de enfocar, para detener la captura de datos, utilizar los menús “Transfer/Capture Text/Stop” o “Pause” (Fig. 46).
- 4 Los datos se almacenan en el archivo llamado.

Después de la transferencia del registro de datos IEF

- 1 Tipo “XDATALOG” en una ventana de HyperTerminal activo.
- 2 Los datos de la última ejecución será transferido a la ventana HyperTerminal.

Comandos HyperTerminal

El programa HyperTerminal se comunica con el IEF100 mediante la transmisión de una línea de datos a la vez.

Varias líneas se pueden escribir y se envían entre sí. Escriba cada línea perfectamente la primera vez, y presione Enter, para que el comando se ha cargado correctamente en el IEF100. Todos los comandos distinguen entre mayúsculas y minúsculas. Corrección de errores tipográficos en una línea de datos utilizando la barra espaciadora y las teclas de borrado no dará lugar a una comunicación exitosa.

El primer comando para escribir en el HyperTerminal debe ser "A" y entrar. Una buena conexión se verifica con la palabra "OK", volviendo en la ventana de HyperTerminal.

Ejemplos de protocolos se dan al final del Apéndice A. Estos se pueden cortar y pegar para ayudar con el formato de línea.

Un subconjunto de comandos útiles HyperTerminal se dan en la siguiente página.

Subconjunto de comandos HyperTerminal

Comando	Comando Descripción	Expandir Descripción	Resultado de un Comando	Formato Comandos
AT	Compruebe la conexión	Compruebe si la conexión entre el HyperTerminal y IEF100 es buena y configurado correctamente.	“OK” vuelve con una buena conexión.	AT
XDATALOG	Transferencia de datos	Transferencia de datos de la memoria IEF100 de HyperTerminal.	De registro de datos se muestra en HyperTerminal.	XDATALOG
	Formato de salida de datos Line 1 Header Line 2 datapoints End Line	prot#,protname,startdate,starttime,#datapoints minute,volt, μ AC1, μ AC2, μ AC3, μ AC4, μ AC5, μ AC6,temp END,enddate,endtime <i>¿Dónde μAC1 es la corriente en microamperios en el canal 1.</i>		
IPROT	Importación de protocolo	Importar y sobrescribe una de las posiciones de protocolo 30: protocolo de transferencia de la computadora a IEF100.	Contenido de protocolo en la memoria IEF100.	2 formatos de la línea dependiendo del tipo de paso
	Introducción de datos en formato Delay step – IPROT,prot#,protname,step#,delaytime,delaytemp,runtemp,max μ A,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,#	Protocolo para exportar	Copias del número de protocolo # IEF100 de HyperTerminal.	Protocolo aparece en la ventana HyperTerminal.	EPROT,# (# es 1–30)
EPROT,	Exportación de todos los protocolos	Copia todos los protocolos de 30 de IEF100 a HyperTerminal.	Protocolo aparece en la ventana HyperTerminal.	EPROT,
PrnRate,#	Datos de ajuste del intervalo	Cambios intervalo entre los puntos de datos (1–15 minutos).	INTVL en IEF100 se actualizará.	PrnRate,# (# es 1–15)
Start,#1,#2	Iniciar el protocolo	Inicia el protocolo #1 por #2 tiras de IPG.	IEF100 comenzará a concentrarse.	Start,#1,#2 (#1 es 1–30) (#2 es 1–6)
Start	Hojas de protocolo	Reinicia un protocolo en un estado de pausa.	IEF100 se reanudará centrándose.	START
Stop	Detener el protocolo	Detiene un protocolo en curso.	IEF100 terminará centrándose.	STOP
Pause	Pausa el protocolo	Hace una pausa de un protocolo en curso.	IEF100 hará una pausa centrándose.	PAUSE
Report		Envía el estado actual.	Envía los datos de ejecución actual, si se activa el enfoque, envía los datos de ejecución actual, si está en pausa, envía una “PAUSE” del mensaje, si no se ejecuta, muestra “IDLE”.	REPORT
ID?		Envía el número de serie.	Transfiere IEF100 número de serie a la computadora.	ID?

Cuidado y mantenimiento

Gire el interruptor a la red y desconecte el cable de alimentación antes de limpiarlo.

Instrumento y la tapa

- Utilice un paño suave humedecido con agua o una solución limpiadora suave para limpiar la carcasa y la pantalla.
- Si los líquidos derramados en contacto con las placas de circuito, desconecte el IEF100 y deje que se seque por completo. Llame Hoefer, Inc. antes de utilizar.

Limpieza de la bandeja y electrodos

- Un detergente diseñado para eliminar el aceite se recomienda, seguido de los reactivos de laboratorio leves, no iónicos de limpieza. Enjuagar bandeja bien con agua desionizada y se seque por completo antes de su uso.
- El alambre de platino en los electrodos es frágil y se debe limpiar con mucho cuidado. Los electrodos no deben ser sumergidos en la solución.

Servicio Técnico y Reparaciones

Hoefer, Inc. ofrece soporte técnico completo para todos nuestros productos. Si usted tiene alguna pregunta acerca de cómo utilizar este producto, o si desea disponer lo necesario para reparar, por favor llame o envíe por fax su Hoefer, Inc. representante.

Solución de problemas

Problema	Solución
El instrumento no se enciende	Revise el cable de alimentación está enchufado a una toma de tierra y de encendido/apagado se gira a la de (I)
La puerta está abierta	La unidad no funcionará a menos que la tapa de seguridad esté completamente cerrada. Presione hacia abajo en ambos lados para realizar los cierres.
Unidad lectura 0 μA , 0 W para todas las bandas	<p>Asegurarse de que las mechas de los electrodos están en contacto con las tiras de IPG.</p> <p>Los electrodos deben ponerse en contacto con las mechas de los electrodos, y centrada en el área de superposición entre la mecha y las tiras de IPG.</p> <p>Comprobar que las tiras IPG han sido totalmente hidratado antes de su uso.</p> <p>Asegurarse de que los electrodos están conectados a los receptáculos correspondientes.</p> <p>De baja tensión de partida de pasos de gradiente puede no producir suficiente corriente para registrar al comienzo de la etapa. Ver la corriente en las tiras de nuevo en unos pocos minutos.</p> <p>Ejecute el diagnóstico para comprobar la fuente de alimentación interna.</p>
Unidad lectura 0 μA , 0 W para una sola tira de	<p>Rehidratación Pobre tira IPG: controlar el espesor (altura) de la tira IPG en toda su longitud.</p> <p>Compruebe si hay chispas o llamas que podría romper el circuito eléctrico.</p> <p>Cable roto en el (–) de los electrodos. Vuelva a colocar los electrodos.</p>
No hay salida de tensión	<p>Ejecute los diagnósticos en el menú de opciones.</p> <p>Póngase en contacto con Hoefer local, Inc. representante.</p>
Pantalla en blanco	<p>Apague la unidad y el.</p> <p>Póngase en contacto con Hoefer local, Inc. representante.</p>
Screen frozen	<p>Apague la unidad y el.</p> <p>Póngase en contacto con Hoefer local, Inc. representante.</p>
Falla el diagnóstico	<p>El programa de diagnóstico comprobará la salida voltios y la corriente de la fuente de alimentación interna, la EPROM y el reloj del sistema. Comuníquese con su representante local de Hoefer, Inc. si alguna de estas pruebas dan negativo.</p>

Problema	Solución
Ajuste de tensión no llegó a	<p>Continuar con el IEF.</p> <p>Tira IPG está siendo limitado por μA o W.</p> <p>La conductividad de la tira es demasiado alto.</p> <p>Una tira IPG se centrará en su máximo μA o W, y limitar la tensión a todas las tiras. Esta tira se puede quitar, y las tiras restantes se centrará a voltajes más altos.</p> <p>7 cm tiras no deben centrarse en mayor de 6000 voltios y vatios superiores a 0,5 W por cada tira.</p>
Browning, la quema de arco tiras, lecturas erráticas μA	<p>Tiras tiene alta conductividad debido a las sales u otros compuestos iónicos.</p> <p>Reducir la fuerza iónica, al limitar la concentración de sal a 10 mM o por debajo.</p> <p>Reducir las concentraciones de Tris a 50 mM o por debajo.</p> <p>Esto indica la potencia, voltios o corriente suministrada a la tira es demasiado alto. Limitar la corriente en las tiras de IPG a 50 μA.</p> <p>Demasiado poco de aceite y/o tiras no está completamente cubierta de aceite.</p> <p>Nivelar el instrumento. Asegurarse de aceite mineral cubre completamente las tiras y los canales vacíos. Si las tiras reactivas no están completamente cubiertos urea cristalizar y causar calentamiento local/ardor.</p> <p>El sobrecalentamiento de la bandeja. Compruebe que la bandeja esté bien se deslizó y bloqueado en su lugar para asegurar el mejor contacto entre la base de la bandeja y la superficie de la plataforma.</p>
Rehidratación/bandeja tiene el equilibrio líquido residual después de la rehidratación de las tiras de IPG	<p>El exceso de volumen utilizado. No exceda los volúmenes recomendados por el fabricante de la tira IPG.</p> <p>Franja de accidente rehidratado con la cara hacia arriba o tira de gel de portada no se elimina.</p> <p>Prolongar el tiempo de rehidratación. 8-10 horas mínimo se requiere para la mejor absorción de solución de rehidratación.</p>
No hay proteínas presentes en el gel después de la 2 dimensión completa	<p>De carga de las proteínas es demasiado poco para el método de detección. Cargue más proteínas o probar un método más sensible de detección.</p> <p>Cargue más proteínas o probar un método más sensible de detección.</p>

Orden información

Producto	Cantidad	Código
IEF100	1	IEF100
Ejecución de la bandeja	1	IEF105
Las mechas de electrodos	504	IEF106
Recipientes para muestras de carga (10 tiras de 6)	60	IEF108
Pequeña rehidratación/Equilibrio bandeja	1	IEF109
Medio de rehidratación/Equilibrio bandeja	1	IEF111
Gran rehidratación/Equilibrio bandeja	1	IEF110
Cable de alimentación EE.UU., 115 V	1	PSCORD-115V
Euro cable de alimentación, 230 V	1	PSCORD-230V

Unidades de segunda dimensión

Mighty Small II Deluxe Mini Vertical Unidad	SE260-10A-1.5
Deluxe doble refrigeración por unidad estándar vertical	SE600X-15-1.5
Unidad de formato vertical grande	SE900-1.0

Reactivos

Agarosa	500 g	GR140-500
Azul de bromofenol, sal de sodio	10 g	GR120-10
CHAPS	10 g	GR121-10
Ditiotreitol (DTT)	5 g	GR122-5
Glicerol	1 L	GR124-1
Aceite mineral	1 L	GR138-1
Dodecilsulfato sódico	500 g	GR126-500
Tiourea	500 g	GR130-500
Tris	1 kg	GR132-1
Urea	1 kg	GR143-1

Apéndice A: Protocolos pre-programados

Los siguientes 9 protocolos están preprogramados. Son para ser utilizados como guías.

Cada protocolo tiene una 1 hora, 1.000 V tienen paso para mantener las bandas de agudos, una vez el enfoque es completa. Este paso no es necesario y se puede quitar. También puede ser extendido como se desee.

Program 1

Centrándose más de 7 cm de IPG limitando parámetros voltios.

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

Enfoque de 7 cm de IPG está bajo las condiciones de vatios constantes.

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

Centrándose de ancho y medio de 18 cm de IPG limitando parámetros voltios.

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

Enfoque de 18 cm de rango estrecho de pH mediante la limitación de IPG parámetros voltios.

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

Enfoque de 18 cm de IPG está bajo las condiciones de vatios constantes.

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

Enfoque de la amplia y de mediano alcance de 24 cm IPG mediante la limitación de los parámetros de voltios.

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

Enfoque de 24 cm de rango estrecho de pH mediante la limitación de IPG parámetros voltios.

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

Enfoque de 24 cm de IPG está bajo las condiciones de vatios constantes.

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

Lento, de enfoque de 24 cm ES IPG con la muestra cargada en una taza.

Aumenta gradualmente la tensión con el tiempo. Fase de entrada de la muestra se prolonga y diseñado para ser una carrera durante la noche.

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

Protocolos pre-programados en formato de Código de Máquina

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

Apéndice B: Reactivos y Soluciones

Clases más comunes de los aditivos

Desnaturalizantes

Despliegue de las proteínas para exponer los cargos internos nativos.

Detergentes no iónicos

Realiza muestras más soluble, sin alterar la carga de proteínas.

Reductores

Ayuda romper los enlaces disulfuro internos a desarrollarse aún más las proteínas, y ayudar a reducir los efectos negativos de la oxidación de las proteínas durante la rehidratación y el IEF.

Otro

Ampholytes Carrier, proteasas, DNasas, ARNasas.

Preparación de la muestra

Las muestras preparadas para 2D debe ser totalmente desnaturalizado, libre de material insoluble, y baja en la fuerza iónica total.

Algunas muestras de proteínas fácilmente solubilizar, mientras que otros son más difíciles, lo que requiere reactivos adicionales (por ejemplo, tiourea, detergentes especiales, etc) para fomentar la solubilización. Las clases de aditivos comunes se enumeran a continuación.

Desnaturalizantes

La urea es el reactivo más común usado en IEF para interrumpir la unión interna de la proteína, permitiendo que se desarrollan. Las muestras se prepararon utilizando concentraciones de urea 8 a 9,5 M. En general, cuanto mayor sea la concentración de urea el mejor puede ser una muestra solubilizada. La urea llega a su punto de saturación cerca de 10 M a temperatura ambiente.

Tiourea también se utiliza para solubilizar mejor algunas muestras. Con frecuencia, 2 M tiourea se combina con 5 a 7 M de urea como un reactivo para la preparación de muestras y la rehidratación IPG.

Detergentes

Varios tipos de detergentes no iónicos o zwitteriónicos se puede utilizar para solubilizar las muestras (CHAPS, Triton X100, Nonidet NP-40 y detergentes alkylamidossulfobetaine). CHAPS es el detergente más ampliamente utilizado para la electroforesis 2D. Es estable en solución. Detergentes tales como SDS no son compatibles con IEF porque se unen a las proteínas y enmascarar carga de las proteínas nativas.

Reductores

Ditiotreitol (DTT) se utiliza comúnmente para reducir las proteínas de la FEI. DTT descompone en solución, por lo que se prepara normalmente y se añadió justo antes del uso. Otros agentes reductores tales como 2-mercaptoetanol, Dithioeritritol (DTE) y tributillfosfina (TBP) se puede utilizar.

Otro

Anfolitos Carrier o tampones IPG puede ser añadido para ayudar en la solubilidad de la proteína y ayudar a prevenir la precipitación de la proteína durante el enfoque. Las concentraciones de 0,5%-2% (v/v) se utilizan normalmente. Anfolitos Carrier puede interferir con ciertos experimentos de etiquetado. En esos casos, los reactivos debería entonces ser omitido de la etapa de extracción de la muestra.

Directrices Generales

- Los procedimientos de preparación de muestras están siendo refinados y estandarizados. Lo mejor es consultar la literatura para determinar si un buffer de preparación de la muestra en particular se recomienda para el tipo de muestra.
- IEF funciona mejor con muestras de proteínas puras que se solubilizan y desnaturalizado, y libre de las moléculas que interfieren.
- Retire el material insoluble con centrifugación.
- Mantener el contenido de sal tan bajo como sea posible.
- Utilice recién reactivos preparados de alta calidad, o soluciones de los reactivos que se han almacenado congelados.
- No deje soluciones de urea a cabo a temperatura ambiente durante períodos prolongados de tiempo.
- Nunca Calentar las muestras de proteínas en soluciones de urea. Calentamiento carbamilación causa de las proteínas y se altera la carga de las proteínas nativas.
- Cumpla con las muestras en hielo para evitar la degradación.
- Añadir inhibidores de la proteasa para prevenir la actividad de la proteasa. Los inhibidores de proteasa tales como PMSF o Pefabloc se puede añadir a inhibir la actividad de serina proteasa mientras pepstatina puede inhibir proteasas aspárticas.
- Algunos protocolos utilizar anfolitos básicos portadores o Tris para obtener un pH alto en el tampón de muestra. Esto ayuda a solubilizar algunas proteínas y disminuye la actividad enzimática que atacan las proteínas.
- ADN y ARN con frecuencia se pueden eliminar por ultracentrifugación. La muestra también puede ser tratada con DNasa y RNasa solución para descomponer los contaminantes.
- Tenga en cuenta que algunos inhibidores de la proteasa, DNasa y RNasa son proteínas sí mismos y pueden aparecer en un mapa 2D.
- El agua utilizada para la fabricación de los reactivos deben ser de la más alta calidad disponible. El agua con una resistividad de >5 cm megaohm es mejor. El agua purificada por ósmosis inversa o agua desionizada es aceptable.

Nota: Las sales son, quizás, el contaminante más frecuente como causa de los malos resultados del IEF.

Recetas

Muestra IEF tampón de extracción para el 2D

1A. Ejemplo de urea Solución tampón

Prepara 25 ml
9,5 M urea, CHAPS 4%

	Concentración final	Cantidad
La urea (FW 60.06)	9,5 M	14,26 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
El agua desionizada		a 25 ml

Almacenar en alícuotas de 1 ml a -20 °C o menos.

Antes de usar, añadir 6 mg/ml de DTT para obtener una composición de la muestra final de tampón 40 mM de DTT.

Opcional: Añadir anfolitos portadores, tales como SERVLYTS, a una concentración de 2% v/v (20 l por µl de solución tampón de muestra).

-O-

1B. Tiourea + Muestra preparación de la solución de urea

Prepara 25 ml
7 M urea, tiourea 2 M, CHAPS 4%, 40 mM de DTT

	Concentración final	Cantidad
La urea (FW 60.06)	7 M	10,51 g
Tiourea (FW 76.12)	2 M	3,8 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
El agua desionizada		a 25 ml

Almacenar en alícuotas de 1 ml a -20 °C o menos.

Antes de usar, añadir 6 mg/ml de DTT para obtener una composición de la muestra final de tampón 40 mM de DTT.

Opcional: Añadir anfolitos portadores, tales como SERVLYTS, a una concentración de 2% v/v (20 l por µl de solución tampón de muestra).

Tira IPG Solución de Rehidratación

2A. Rehidratación urea Solución de archivo

Prepara 50 ml

8 M urea, CHAPS 2%, 0,002% de azul de bromofenol

	Concentración final	Cantidad
La urea (FW 60.06)	8 M	24 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Azul de bromofenol	0,002%	1 mg
El agua desionizada		a 50 ml

Almacenar en alícuotas de 3 ml a -20 °C o menos. 3 ml es suficiente para rehidratar seis tiras de 24 cm IPG.

Justo antes de su uso para la rehidratación tira IPG:

- Añadir 0.5-2.0% (v/v) anfolitos portadores (SERVALYTS).
- Agregar la TDT de 9 mg por 3 ml de alícuota de la solución de rehidratación almacén 20 mM de DTT.
- Muestra La proteína también se puede añadir a la de 3 ml de solución de rehidratación.

2B. Rehidratación tiourea solución de archivo

Prepara 50 ml

7 M urea, tiourea 2 M, CHAPS 2%, 0,002% azul de bromofenol

	Concentración final	Cantidad
La urea (FW 60.06)	7 M	21 g
Tiourea (FW 76.12)	2 M	7,6 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Azul de bromofenol	0,002%	1 mg
El agua desionizada		a 50 ml

Almacenar en alícuotas de 3 ml a -20 °C o menos. 3 ml es suficiente para rehidratar seis tiras de 24 cm IPG.

Justo antes de su uso para la rehidratación tira IPG:

- Añadir 0.5-2.0% (v/v) anfolitos portadores (SERVALYTS).
- Agregar la TDT de 9 mg por 3 ml de alícuota de la solución de rehidratación almacén 20 mM de DTT.
- Muestra La proteína también se puede añadir a la de 3 ml de solución de rehidratación.

Nota: Las tiras de IPG deben equilibrarse justo antes de la segunda dimensión PÁGINA. No se equilibren las tiras IPG antes de guardar a -20 °C.

3. Equilibrio SDS Solución tampón

Esta solución se utiliza después de IEF, y antes de PAGE segunda dimensión. Las tiras IPG se sumergen en exceso de disolución para elevar el pH del tampón de tira de modo que sea adecuado para PAGE, y para recubrir las proteínas en SDS uniformemente de modo que migren correctamente en el gel de segunda dimensión.

Prepara 200 ml

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

	Concentración final	Cantidad
La urea (FW 60.06)	6 M	72,1 g
1,5 M Tris-HCl, pH 8,8 solución madre	75 mM	10,0 ml
El glicerol (87% w/w)	29,3% (v/v)	69 ml
SDS (FW 288.38)	2% (w/v)	4,0 g
Azul de bromofenol	0,002% (w/v)	4 mg
El agua desionizada		a 200 ml

Dividir en partes alícuotas en alícuotas de 30 ml y conservar congelada a -20 °C o menos.

24 cm de IPG requieren 5-10 ml por tira por el paso de equilibrio. Más cortos pueden utilizar tiras volumen proporcionalmente menos por el paso de equilibración.

Equilibrio Procedimiento

- 1 Descongelar dos alícuotas de la solución de equilibración.
- 2 Añadir 10 mg/ml de DTT a una solución.
- 3 Coloque las tiras de IPG en la bandeja de rehidratación/equilibrio.
- 4 Añadir 6,5 ml de solución a cada ranura que contiene una tira IPG.
- 5 Coloque el rockero de 10-15 minutos.

Después de la equilibración, desechar la solución de equilibración primero en una forma adecuada.

- 6 Añadir 25 mg/ml de yodoacetamida (IAA) a la segunda parte alícuota de la solución de equilibración.
- 7 Añadir 6,5 ml de solución a cada ranura que contiene una tira IPG.
- 8 Coloque el rockero de 10-15 minutos.

Después de la equilibración, desechar la solución de equilibración segundos en una manera apropiada.

Después del equilibrio, las tiras IPG se colocan en la parte superior del gel de segunda dimensión, y se sella en su lugar con la superposición de agarosa.

Superposición de agarosa

1% de agarosa en tampón de electroforesis 1X

Prepara 100 ml

1% de agarosa, 25 mM Tris, 192 mM glicina, 0,1% de SDS

Preparar en un matraz de 500 ml para dejar espacio para la formación de espuma.

¡Atención! Hoja de Seguridad puede hacer que la solución a hervir lo tome precauciones al calor y evitar que se desborde.

	Concentración final	Cantidad
Agarosa	1%	1 g
10X tampón de electroforesis (250 mM de Tris, 1,92 M glicina, 1% SDS)	1X	10 ml
Azul de bromofenol		3 mg
El agua desionizada		a 100 ml

Agite suavemente la suspensión de agarosa.

El calor a baja potencia en un horno de microondas hasta que agarosa se haya disuelto completamente.

Almacenar en alícuotas de 1,5 ml a 4 °C en tubos con tapa de rosca de plástico.

Recalentamiento alícuotas en bloque de calentamiento.

Apéndice C: Referencias 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

Llamada gratuita: 1-800-227-4750

Teléfono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer es una marca registrada de
Hoefer, Inc.

Windows y Excel son marcas registradas
de Microsoft Corporation.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos los derechos reservados.

Impreso en el USA.

