

Hoefer IEF100

Unità di focalizzazione isoelettrica



Indice

Informazioni Importanti.....	ii
Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)	v
Funzione e descrizione.....	1
Specificazioni.....	2
Componenti del sistema	3
Descrizioni dei componenti.....	5
Programmazione del IEF100	10
Operazione IEF100.....	20
Connessioni dati opzionali	35
Cura e manutenzione	42
Risoluzione dei problemi	43
Informazioni per l'ordine	45
Appendice A: Protocolli preprogrammati	46
Appendice B: Reagenti e soluzioni	51
Ricette	53
Appendice C: Riferimenti IEF100	57

Informazioni Importanti – Italiano

- 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!

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 vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoři.
- Bezpečnosti lid musí být zavedena před připojením napájecí zdroj napájení vede k.
- Turn veškeré napájení kontroly vypnuto a odpojit před odběrem energie vede bezpečnostní víko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ethylenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je neregulováno.
- Nikdy zavést prostředek proti zamrznutí nebo jakákoli organická rozpouštědla do jakékoli části z tohoto nástroje. Rozpuštěním způsobí nenapravitelné poškození jednotka!
- Nejsou provozována s pufu teplotách nad maximální stanovenou technickými specifikacemi. Přehřátí způsobí nenapravitelné poškození jednotka!

Vigtig Information – Danish

- Hvis dette udstyr bruges i en måde ikke specificeret ved Hoefer, Inc. den beskyttelse, som er blevet forsynet af udstyret kan måske svækkes.
- Dette instrument er designet for indendørs laboratoriumbrug bare.

- Bare tilbehør og del godkendede eller forsynede ved Hoefer, Inc. kan måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.
- bruger Bare en strømforsyning, der er CE markerede eller sikkerhed, som er blevet attesteret af en, som nationalt er blevet anerkendt prøve laboratorium.
- Sikkerhedslåget må være på plads før forbindelse strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedslåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylene glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er unregulated.
- Introducerer Aldrig antifreeze eller noget organisk opløsningsmiddel ind i nogen del af instrumentet. Organiske opløsningsmidler vil forårsage uboelig skade til enheden!
- Driver ikke med stødpudetemperaturer over maksimummet specificerede tekniske 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 specificerde technische specificaties. Oververhittend zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefer, Inc. the protection provided by the equipment may be impaired.
- This instrument is designed for indoor laboratory use only.
- Only accessories and parts approved or supplied by Hoefer, Inc. may be used for operating, maintaining, and servicing this product.
- Only use a power supply that is CE marked or safety certified by a nationally recognized testing laboratory.

- The safety lid must be in place before connecting the power supply leads to a power supply.
- Turn all power supply controls off and disconnect the power leads before removing the safety lid.
- Circulate only water or 50/50 water/ethylene glycol through the heat exchanger if so equipped. Do not connect the heat exchanger to a water tap or any coolant source where the water pressure is unregulated.
- Never introduce antifreeze or any organic solvent into any part of the instrument. Organic solvents will cause irreparable damage to the unit!
- Do not operate with buffer temperatures above the maximum specified technical specifications. Overheating will cause irreparable damage to the unit!

Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojelu ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäytölle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettanut testaaminen laboratoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen 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 lämmönvaihdinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

Information Importante – French

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

- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par l'échangeur de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'échangeur de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.
- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité !

Wichtige Informationen – German

- Wenn diese Ausrüstung gewissermaßen nicht angegeben durch Hoefer, Inc. verwendet wird, kann der durch die Ausrüstung zur Verfügung gestellte Schutz verschlechtert werden.
- Dieses Instrument wird für den Innenlaborgebrauch nur dafür entworfen.
- Nur Zusätze und Teile genehmigten oder lieferten durch Hoefer, Inc. kann für das Funktionieren, das Aufrechterhalten, und die Wartung dieses Produktes verwendet werden.
- Verwenden Sie nur eine Energieversorgung, die CE gekennzeichnet oder durch ein national anerkanntes Probelaboratorium bescheinigte Sicherheit ist.
- Der Sicherheitsdeckel muss im Platz vor dem Anschließen der Energieversorgung sein führt zu einer Energieversorgung.
- Alle Energieversorgungssteuerungen abdrehen und die Macht trennen führt vor dem Entfernen des Sicherheitsdeckels.
- Nur Wasser oder 50/50 Glykol des Wassers/Äthylens durch den Wärmeaustauscher, wenn so ausgestattet, in Umlauf setzen. Verbinden Sie den Wärmeaustauscher mit einem Wasserklaps oder jeder Kühlmittel-Quelle nicht, wo der Wasserdruck ungeregelt wird.
- Führen Sie nie Frostschutzmittel oder jedes organische Lösungsmittel in jeden Teil des Instrumentes ein. Organische Lösungsmittel werden nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!
- Mit Puffertemperaturen über angegebenen technischen Spezifizierungen des Maximums nicht funktionieren. Die Überhitzung wird nicht wiedergutzumachenden Schaden der Einheit verursachen!

Viktig Informasjon – Norwegian

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

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

Wazne Informacje – Polish

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

Informações Importantes – Portuguese

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

irreparável à unidade!

- Não opera com temperaturas de buffer acima do máximo especificou especificações técnicas. Superaquecer causará agressão irreparável à unidade!

Información Importante – Spanish

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

Viktig Information – Swedish

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

Rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)

Italiano



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

English



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

French



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

German



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

Spanish



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

Swedish



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

Nota: Gli Stati legge di Ohm che il 10 mA di uscita è disponibile a 1000 V e meno.



Fig. 1. La Hoefer IEF100.

Funzione e descrizione

La Hoefer IEF100 strumento isoelettrofocalizzazione è progettato per eseguire focalizzazione isoelettrica delle proteine in gradiente di pH immobilizzati (IPG) strisce. Si tratta di un sistema integrato con un built-in piattaforma temperatura Peltier raffreddato, e 12.000 V, W 10 di alimentazione in grado di erogare fino a 10 mA. Ci sono 30 protocolli completamente modificabili, nove dei quali sono pre-programmati con i protocolli consigliati IEF. Un vassoio di esecuzione conterrà tutti strisce attualmente disponibili IPG, 3,0–3,5 mm di larghezza. Le strisce IPG sono gestiti lato gel up, utilizzando elettrodi stoppini per aiutare a rimuovere le impurità che si accumulano alla fine dei gradienti di pH. I campioni possono essere caricati nei strisce IPG durante la reidratazione, o con tazzine.

Il IEF100 è completamente testato e certificato a tutti gli standard internazionali applicabili.

Caratteristiche del IEF100 sono i seguenti:

- Un vassoio di 6 canali che si concentra:
Fino a 6, 7–24 cm IPG strisce con l'insieme unico elettrodo.
Fino a 12, 7 cm IPG strip utilizzando l'accessorio doppio elettrodo (incluso).
- Caricamento del campione durante la reidratazione o con coppa campione.
- Rilevatori di corrente in ogni strip IPG.
- Integrato 12.000 volt in corrente continua, con capacità di 10 mA, la capacità più tensione e della corrente disponibile.
- Una grande blu/bianco display LCD per una facile visualizzazione che supporta un display grafico di tensione e corrente.
- La capacità di programmare, modificare e memorizzare fino a 30 protocolli, ognuno con 9 punti.
- Modalità di alimentazione costante.
- Un orologio in tempo reale, impostabile ai fusi orari locali.
- Piattaforma di temperatura controllata.
- Ethernet e porte RS232 a segnalare i dati o protocolli di carico.

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

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

Specificazioni

Capacità utilizzando il set di singolo elettrodo	1–6 strisce IPG	7 a 24 cm lunghezza
Capacità utilizzando l'accessorio doppio elettrodo	2–12 strisce IPG	7 cm di lunghezza
Produzione	Volt Corrente Potenza	12,000 V 10 mA 10 W
Potenza in	100–240 V 50–60 Hz 100 W	
Interfaccia utente	Grande blu/bianco display grafico Manopola 7 Pulsante tastiera	
Piattaforma temperatura	15–25 °C	
Protocollo di capacità	30 programmi con 9 punti ciascuno	
Input/output 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	

Componenti del sistema

Disimballaggio

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

Necessario ma non forniti:

- Gradiente di pH immobilizzato (IPG strisce).
- I reagenti necessari per la preparazione del campione e reidratazione striscia.
- Olio minerale.

Fig. 2. L'unità IEF100.

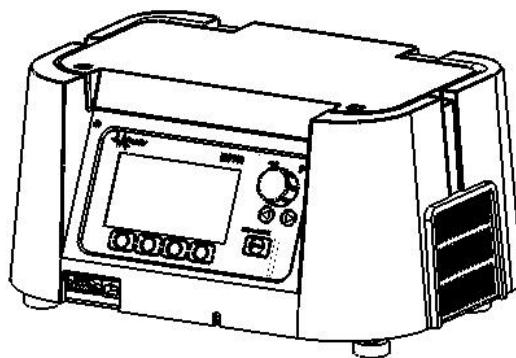
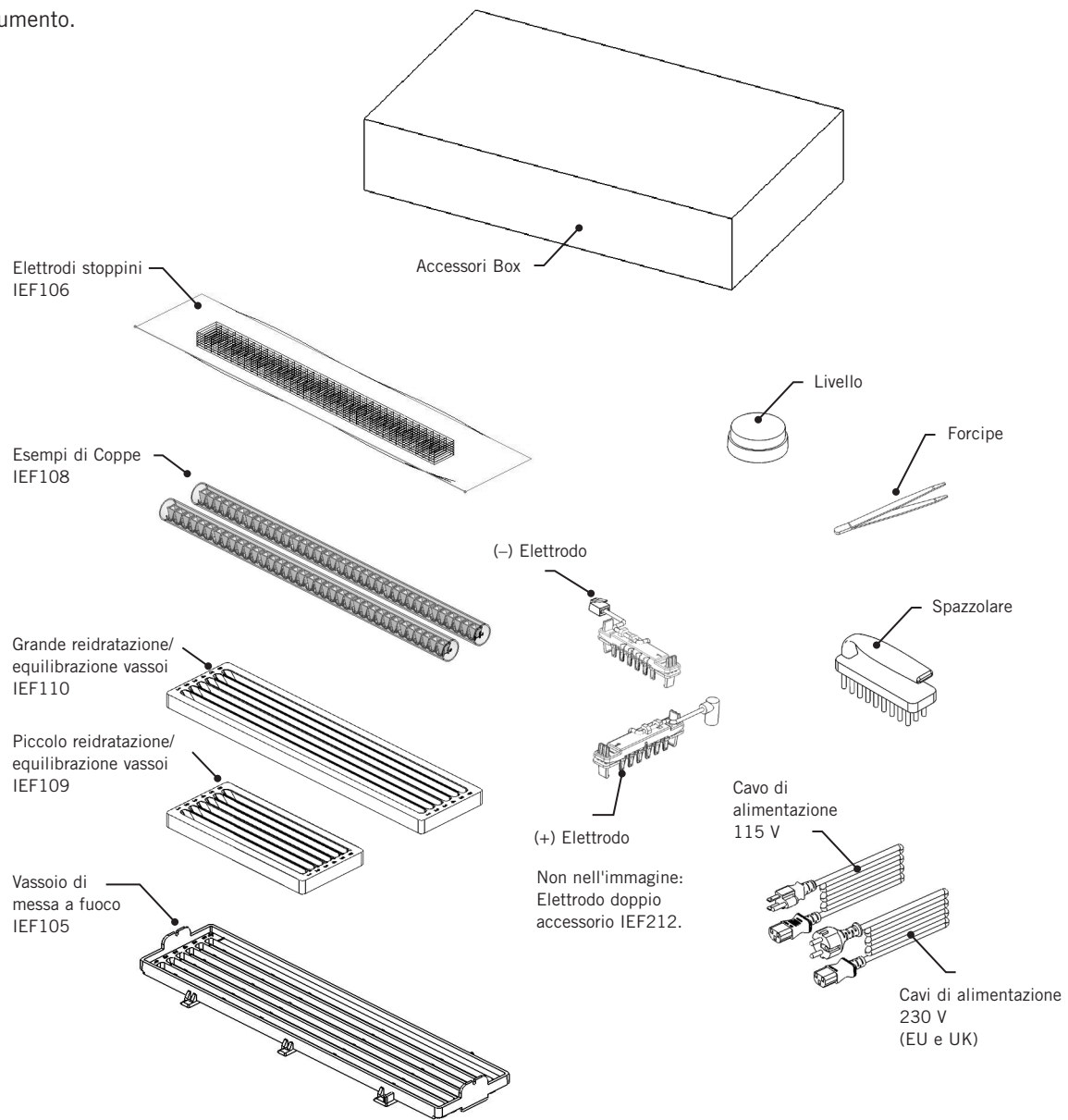


Fig. 3. Parti dello strumento.



Descrizioni dei componenti

Coperchio di sicurezza

Il coperchio trasparente di sicurezza deve essere chiuso affinché tensione da applicare agli elettrodi. Interblocchi sono usati per fermare la tensione di uscita del coperchio deve essere aperto durante l'elettroforesi.

Manopola

La manopola sposta il cursore o modifica i valori di un determinato campo. La pressione verso l'interno della manopola a "fare clic su" switch tra queste due funzioni. Un LED indica quale funzione è attiva, "MOVE" o "SET".

Tasti freccia orizzontale

Le frecce orizzontali vengono utilizzati quando si impostano i nomi di protocollo, ed i campi data e ora.

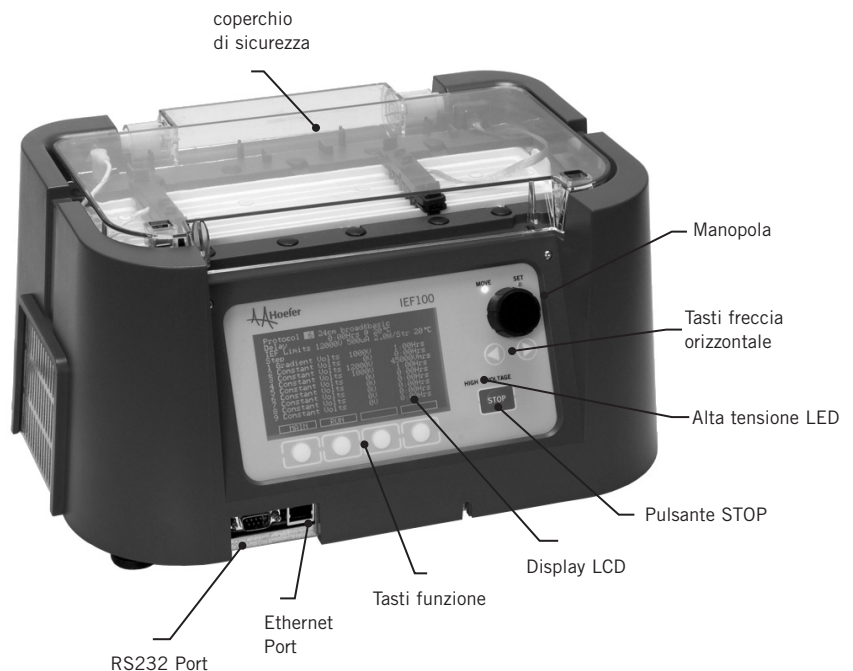
Indicatore LED ad alta Volt

Questo LED si accende quando la tensione viene applicata agli elettrodi.

Nota: Girare la manopola lentamente per ottenere il movimento desiderato sullo schermo. Ruotando la manopola troppo in fretta fa sì che il cursore a lampeggiare, e rimanere sul posto. Se questo accade, ruotare la manopola più lento fino a quando la si osserva un comportamento corretto.

Nota: L'azione scatto della manopola è quello di spingere velocemente e rilasciare, come un clic del mouse. Non tenere la manopola dentro.

Fig. 4. Anteriore dello strumento.



Pulsante STOP

Interrompe immediatamente IEF, e termina il protocollo.

Display LCD

Il grande blu/bianco Display semplifica l'interfaccia, e visualizza i risultati IEF grafici.

Tasti funzione

La funzione di questi tasti è visualizzato sul display direttamente sopra il tasto. La funzione varia a seconda che lo schermo è attivo.

Ethernet Port/RS232 Port

Questi due porte possono essere utilizzate per scaricare i dati IEF dai protocolli strumento e trasferimento.

Flusso d'aria

Fans spingere l'aria attraverso le prese d'aria laterali, e soffiare l'aria fuori le aperture posteriori. L'aria si raffredda i componenti elettronici, e aiuta i moduli Peltier mantenere la temperatura costante.

Alimentazione di rete

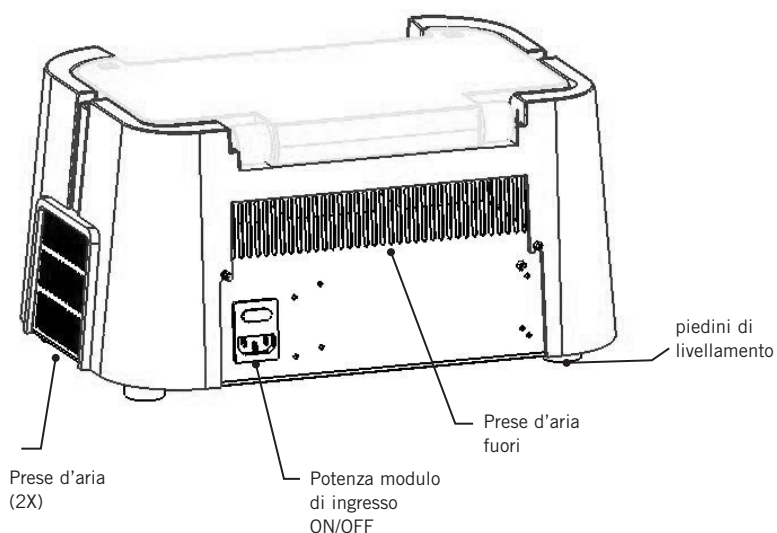
Il modulo di ingresso alimentazione funziona a tutti i volt e le frequenze.

Piedi di livellamento/livella a bolla

I piedini di livellamento e la bolla può essere utilizzato per livellare la piattaforma IEF. Uno strumento di livello contribuirà a garantire l'olio copra completamente le strisce IPG.

Fig. 5. Sul pannello posteriore.

Nota: I fori non devono essere bloccate.



Vassoio di messa a fuoco

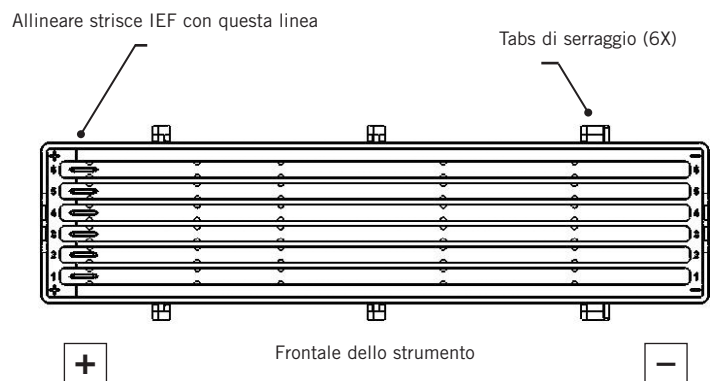
Il vassoio 6 canali di messa a fuoco può ospitare IPG strisce fino a 24 cm di lunghezza. Piccole scanalature nel vassoio di consentire la più agevole rimozione della striscia di IPG dopo messa a fuoco. Particolare di queste caratteristiche può essere visto a pagina 24.

I canali nel vassoio sono numerati da 1–6, da davanti a dietro la IEF100.

Il vassoio si inserisce nello strumento in un unico orientamento. Si trova in posizione sul lato destro della piattaforma, e spostato lateralmente verso sinistra, il vassoio di serraggio contro la piastra fredda. Il meccanismo di bloccaggio migliora il trasferimento di calore per le vaschette di plastica.

Esistono (+) e (–) segni sul vassoio e lo strumento per aiutare con corretto orientamento.

Fig. 6. Inizio dello strumento



Elettrodi

Elettrodo Positivo (anodo)

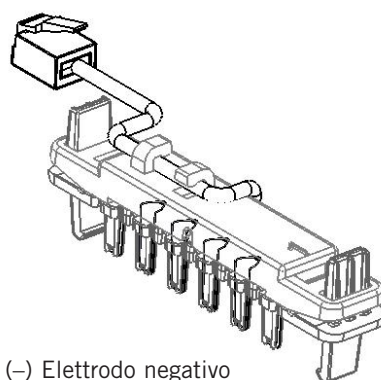
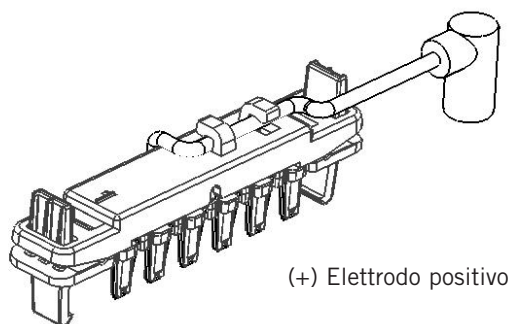
Un connettore ad alta tensione attribuisce il positivo (+) elettrodo(s) per il terminale di alta tensione. L'anodo è un singolo filo bianco e connettore, e individua sul lato sinistro del cassetto.

Elettrodo negativo (catodo)

A sei fili (LAN) collega il negativo (-) elettrodo(s) al terminale di massa, monitorando la corrente in ogni corsia. Individua catodo sul lato destro del vassoio.

Elettrodi deve essere posto nel vassoio con il numero "1" verso la parte anteriore del vassoio, e gli elettrodi di platino filo di fronte al centro delle strisce IPG.

Fig. 7. Elettrodo positivo elettrodo (alto), e negativo (inferiore).



Nota: Gli elettrodi non farà contatto con le strisce IPG senza gli stoppini di elettrodi in posizione.

Nota: Le coppe campioni possono essere tagliato in coppe individuali, se desiderato.

Fig. 8. Esempi di coppe.

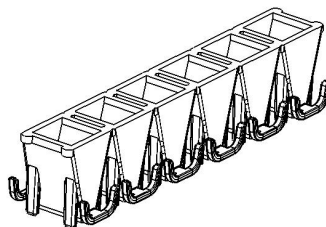
Elettrodi stoppini

Gli stoppini elettrodi sono piccoli fogli rettangolari filtri che sono posti sulla estremità delle strisce IPG. Gli elettrodi in contatto con la parte superiore gli stoppini. Gli stoppini elettrodi aiutare a rimuovere le impurità che raccolgono al termine delle strisce IPG, e in generale migliorare il contatto dell'elettrodo.

Gli stoppini elettrodi vengono in lunghe strisce, e deve essere tagliato in parte singoli rettangoli in cui sono utilizzati. Gli stoppini elettrodi devono essere inumidito con una leggera tamponando con acqua prima dell'uso.

Esempi di Coppe

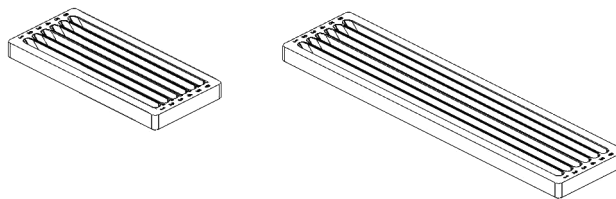
Il carico di proteine del campione tazze nella striscia di IPG. Tazze può contenere fino a 240 µl di campione. Le ventose possono essere applicati in molti punti lungo la lunghezza della striscia IPG, e vengono normalmente applicati in corrispondenza dell'anodo (+) end.



Reidratazione/equilibrio vassoi

La reidratazione/equilibrio vassoi possono essere utilizzati per entrambe le funzioni. Le corsie sono strette abbastanza corretta reidratazione, ma abbastanza in profondità per contenere il volume di reagente necessario per l'equilibrio. Un piccolo vassoio è incluso per l'utilizzo con 7 cm IPG strisce. Il vassoio può essere utilizzato con IPG strisce fino a 24 cm di lunghezza.

Fig. 9. Reidratazione/equilibrio vassoi.



Spazzolare

Il pennello di pulizia viene utilizzato per pulire il vassoio di messa a fuoco.

Forcipe

Pinze per facilitare la gestione delle strisce IPG.

Programmazione del IEF100

Schermata principale

Quando è impostato su “ON”, la schermata principale viene visualizzata (Fig. 10). La schermata principale contiene i seguenti campi.

Data e ora

La data e l'ora sono istituito presso Pacific Standard Time. Utilizzare il tasto “OPTION” per impostare la data e l'ora per la vostra posizione. (Vedi schermata delle opzioni pagina 17).

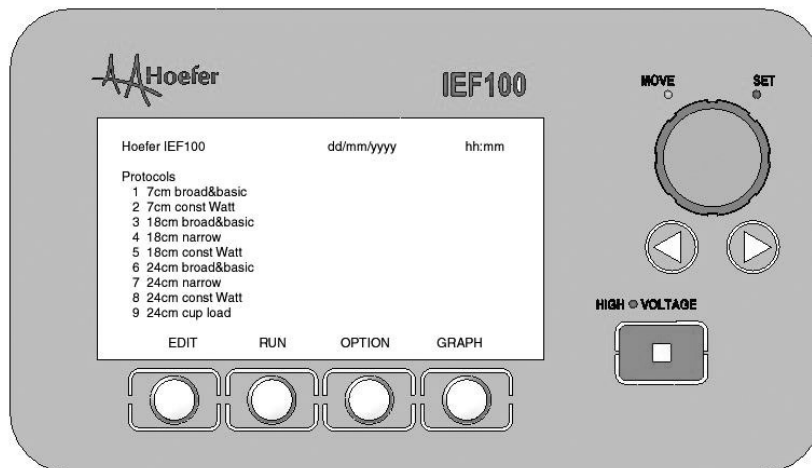
Elenco dei 30 protocolli

I primi nove protocolli vengono visualizzati sul display. Uno dei protocolli è sempre evidenziata. Usare la manopola per scorrere gli altri protocolli.

Lo strumento è precaricato con 9 protocolli per la messa a fuoco 7, 18 o 24 centimetri IPG. Queste sono le linee guida generali per la messa a fuoco. Produttori di strip IPG normalmente danno raccomandate tempi di messa a fuoco per un totale di volt ore (volt moltiplicato per ore). Sia sotto e sopra di focalizzazione può essere problematico. Ottimali tempi di messa a fuoco deve essere determinato dall'utente finale considerando la striscia IPG, il tipo di campione e proteina carico del campione. Tutti i protocolli possono essere sovrascritti, se lo si desidera.

Oltre a questi protocolli 9, vi sono 21 protocolli aggiuntivi innominati senza passi preprogrammati, permettendo all'utente ampio spazio per creare protocolli personalizzati.

Fig. 10. Schermata principale.



I quattro pulsanti: EDIT, RUN, OPTION e GRAPH

EDIT

Modifica il protocollo evidenziato.

RUN

Avvia il protocollo evidenziato.

OPTION

Consente l'accesso alle impostazioni della porta e la data e l'ora.

GRAPH

Visualizza le correnti volt e misurata graficamente. Usare la manopola per scorrere la tensione ed i profili μA in canali da 1–6. La corsa attiva verrà visualizzato.

Se non attivamente in esecuzione di un protocollo, il pulsante grafico visualizza i dati della corsa ultimi.

Nota: I dati ultima corsa viene mantenuta in memoria fino a una nuova corsa è iniziata. Una volta che un nuovo percorso è iniziato, gli ultimi dati della corsa non è più disponibile.

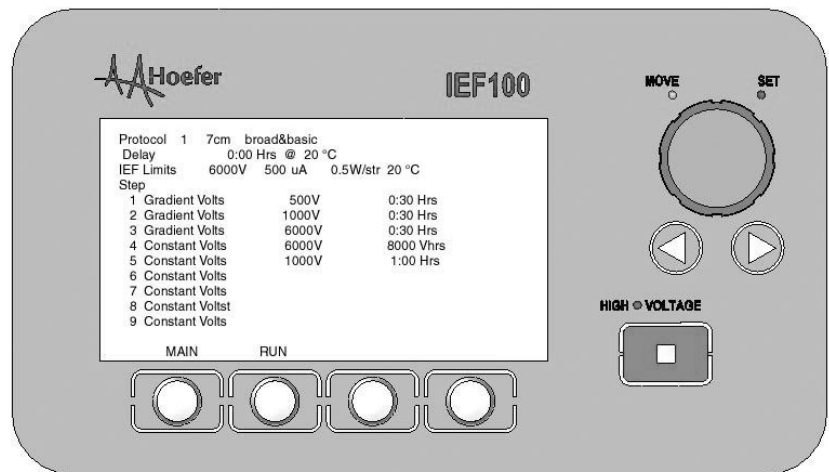
Nota: I grafici volt e la corrente non può essere stampato direttamente dal IEF100. Se l'uscita dati vengono inviati ad un computer, i dati possono essere trasferiti a un programma come Excel per creare il grafico.

Edit Protocol schermo

Dal menu principale, utilizzare la manopola per selezionare il protocollo desiderato. Premere il pulsante sotto EDIT sullo schermo. Il IEF100 mostrerà il protocollo di modifica dello schermo (Fig. 11).

IEF Tutti i parametri sono visualizzati su uno schermo. Ogni protocollo può essere programmato con un massimo di nove gradini. Il protocollo termina con il primo passo che ha un tempo di passo di zero.

Fig. 11. Modifica dello schermo protocollo. Tutti i parametri per un intero protocollo sono visualizzabili su uno schermo.



Usare la manopola per spostarsi tra i seguenti campi modificabili. Una volta evidenziato, scegliere la manopola per modificare il valore del campo.

Numero di protocollo

Fare clic sulla manopola. La manopola passa ora attraverso i 30 protocolli, consentendo una rapida rassegna di ciascun protocollo.

Nome del protocollo

Nomi di protocollo può avere fino a 16 simboli alfanumerici.

I simboli disponibili sono i seguenti:

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

Evidenziare il campo nome del protocollo, e fare clic sulla manopola.

Un cursore farà sì che il primo carattere a lampeggiare. Ruotare la manopola per scorrere i simboli di cui sopra. Una volta che il simbolo desiderato è raggiunto, utilizzare le frecce orizzontali (le chiavi direttamente sotto la manopola) per spostare il cursore nella posizione successiva. Ripetere fino a quando il nome del protocollo è corretto.

Lo “spazio bianco” è tra la minuscola “n” e “0” simboli.

La minuscola “m”, “u”, e “n” può essere utilizzato per designare milli, micro, nano e, se lo si desidera.

Quando il nome è corretto, fare clic sulla manopola per inserire il nome e passare al campo successivo.

Ritardare

La linea di ritardo è un passo opzionale. Sia un tempo e una temperatura può essere inserito. Messa a fuoco si avvia dopo il tempo di ritardo è trascorso. Ciò può essere utile per le corse notturne in cui l'utente può desiderare di avere di messa a fuoco fine a un certo momento specifico la mattina successiva. I moduli Peltier manterrà la piastra di raffreddamento alla temperatura impostata.

Nota: I tempi per l'incremento minuto più vicino può essere caricato a protocolli da un computer.

Parametro	Unità	Gamma	Incrementa
Time	(hour:min)	0:00 – 99:59	0:15
Temperature	(°C)	15 – 25	1

IEF Limiti

Massima volt, corrente per strip e strip per watt vengono applicate al protocollo. Queste impostazioni verranno ignorati i valori dei singoli passaggi. Questi limiti complessivi possono essere utilizzati al fine di evitare alcune condizioni di messa a fuoco che causano danni o problemi con le strisce IPG.

Nota: Si raccomanda di non superare i 6000 V o superiori allo 0,5 W/strip per un IPG 7 cm. Si prega di seguire le istruzioni del produttore strip IPG per limiti raccomandati.

La temperatura per la messa a fuoco è anche impostato. Poiché i punti isoelettrici di proteine dipendono dalla temperatura, IEF è tipicamente ad una temperatura unico, solitamente 20 °C. Si raccomanda di non utilizzare temperature inferiori a 20 °C in quanto può causare problemi di cristallizzazione urea nella striscia di IPG.

Parameter	Unità	Gamma	Incrementi manopola impostabili	Incrementi computer impostabili
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

Passi

Per modificare qualsiasi parametro passo, ruotare la manopola per evidenziare il parametro. Premere la manopola, e ruotare la manopola per impostare il valore desiderato. Premere nuovamente la manopola per inserire il valore e passare al campo successivo.

Ogni passo ha quattro campi che possono essere modificati: il tipo di passaggio, un valore di passo, un tempo passo, e le unità step:

Step Type	Volt costante, pendenza volt, watt costante.
Step Value	Imposta il valore massimo di volt o watt a seconda del tipo di passaggio.
Step Time	Tempo in ore o volt-ore.
Step Units	Ore (h) o volt-ore (Vhrs).

Nota: Non si consiglia di impostare una serie di passi discreti volt. Le discontinuità tra le fasi causare picchi nei livelli di potere che tendono ad aumentare le possibilità di strisce di masterizzazione.

Nota: In alcuni casi, le impostazioni volt non può essere raggiunto.

Nota: Se un passaggio watt costante è seguita da una fase gradiente volt, il passo gradiente volt inizia da 0, e aumentano linearmente alla tensione impostata.

Passo tipo e valore Passo

Ogni passo può essere programmato in una delle tre modalità diverse, volt costante, pendenza volt o watt costante.

- In volt costante, la tensione rimane costante throughout la lunghezza del passo.
- In gradiente volt, la tensione inizierà alla tensione termine della fase precedente e aumentare (o diminuire) linearmente nel tempo alla tensione immesso nel passaggio di corrente. Se il primo passo del protocollo è un passo gradiente volt, la tensione aumenta da 0.
- Gradiente volt passaggi aumentare gradualmente la potenza applicata alle strisce IPG, con conseguente riscaldamento più uniforme della striscia nel tempo.
- Passi Watt costanti appiani la generazione di calore quanto più possibile nel corso della separazione IEF. Ci saranno ancora riscaldamento localizzato dovuto a concentrazioni di ioni diversi lungo la lunghezza delle strisce IPG.
- Quando si utilizza il passo costante watt, le unità per il valore del passo cambia automaticamente per watt.
- In watt passi costanti, la IEF100 calcola la resistenza, e regola la tensione per mantenere la regolazione costante watt.

Nota: Quando si passa tra le unità di tempo, il IEF100 convertirà tra ore e Vhrs automaticamente. Può essere utile per impostare le unità di passo (ore o Vhrs) prima che l'endpoint numerico viene inserito.

Passo il tempo

Passi può essere programmato per funzionare per un certo lasso di tempo, ore 00:00 (in ore: minuti), o per un certo lasso di volt-ora, Vhrs (volt moltiplicato per il numero di ore). La maggior parte dei produttori di nastri IEF consigliamo di eseguire le strisce IPG ad uno specifico volt ore endpoint.

Il ricercatore dovrebbe determinare l'endpoint per il loro specifico campione. Il primo passo con il valore 0 entrati nel tempo passo è trattato come la fine del protocollo.

Step Type	Gamma	Step Value	
		Incrementi manopola impostabili	Incrementi computer impostabili
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: Lo strumento IEF100 controlla la corrente e potenza in ogni singola striscia. Se necessario, le condizioni possono essere regolati e/o strisce problematici può essere rimosso.

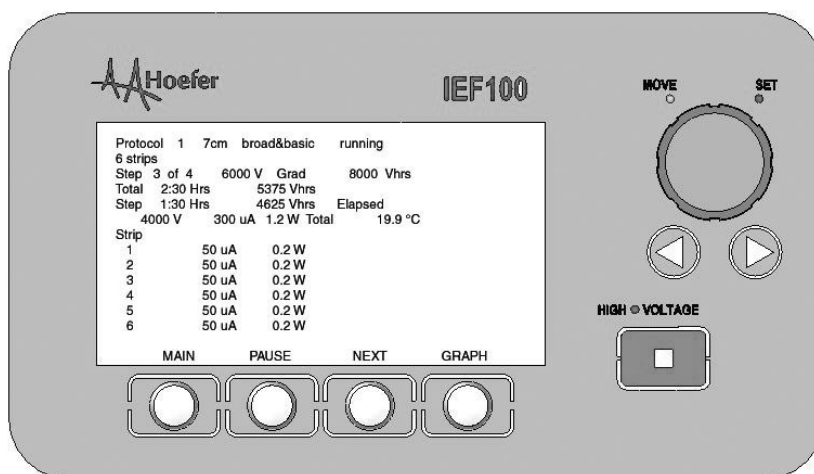
Fig. 12. Esegui schermo.

Nota: Il IEF100 emette un segnale acustico tra un cambio di passo.

Esegui schermo

Le informazioni sullo schermo corsa viene descritta in dettaglio nella sezione operativa IEF.

Lo schermo run non ha campi modificabili. Lo fa avere le seguenti quattro tasti morbidi, MAIN, PAUSE, NEXT e GRAPH (Fig. 12).



MAIN

Consente all'utente di rivedere e modificare tutti i protocolli mentre IEF attuale è ancora in esecuzione.

PAUSE

I PAUSE interrompe il pulsante ad alta tensione per le strisce IPG, permettendo all'utente di interfacciarsi in modo sicuro con le strisce.

Dopo una pausa, RUN continuerà da dove si era interrotto, o ABORT terminerà la corsa.

NEXT

Il pulsante NEXT permette all'utente di saltare la parte restante della fase attiva, e avviare il passo successivo nel protocollo.

GRAPH

Il tasto GRAPH visualizzerà i risultati in corso di esecuzione graficamente. Usare la manopola per scorrere il profilo di tensione, ed i profili μA in canali da 1-6.

Premere EXIT per tornare alla schermata di esecuzione.

Alla fine della corsa del IEF100 emette un segnale acustico, e spegnere l'alimentatore ad alta tensione. Uno schermo viene visualizzato il numero di protocollo, la data di fine e l'ora, e le condizioni IEF finali in ogni striscia IPG.

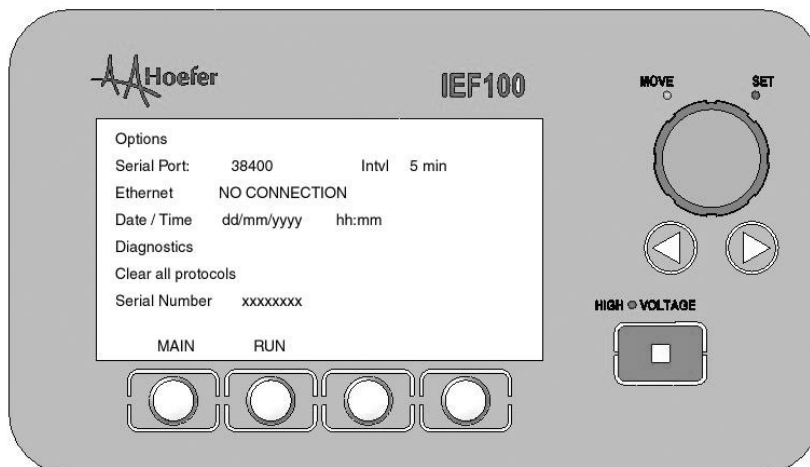
Nota: Quando la schermata delle opzioni si accede, il IEF100 in primo luogo verificare se vi è una connessione ethernet. Il IEF100 è inaccessibile fino a quando il controllo viene completata (circa 10 secondi). Le parole “CHECKING ETHERNET” lampeggia fino a quando il controllo è completato.

Fig. 13. Opzioni dello schermo.

Schermata Opzioni

Dal menu principale, premendo il tasto “OPTION” consentirà l’accesso alle seguenti opzioni (Fig. 13).

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



Serial Port

La porta seriale imposta la velocità alla quale i dati vengono inviati o ricevuti da un dispositivo esterno. La velocità di trasmissione può essere impostata a 9600, 38400 o 57600, con 38400 è il default. La velocità di trasmissione deve corrispondere al tasso di segnalazione dei dati del dispositivo esterno (porta computer o una stampante seriale).

Intvl

L'intervallo di tempo tra punti di dati inviati ad un dispositivo esterno di ricezione. Il IEF100 registra internamente punti dati ogni minuto. Quando si scaricano i dati, l'intervallo tra i punti di dati può essere cambiata da 1 a 15 minuti. L'intervallo predefinito è 5 minuti. Per corse lunghe, può essere desiderabile avere un minor numero di punti di dati, e quindi utilizzare elevati valori per l'intervallo.

Ethernet

La connessione ethernet è determinato automaticamente. “NO CONNECTION” verrà visualizzato fino a quando un cavo ethernet è collegato alla porta. Una volta che una connessione LAN attiva è stabilita, il server locale assegna un indirizzo IP che verrà visualizzato nel formato XXX.XXX.XXX.XXX. Questo processo richiede in genere circa 10 secondi.

Per impostare la data

Il campo data è di tre diversi campi di "DAY/MONTH/YEAR".

- 1 Usare la manopola per evidenziare il campo data. Fare clic sulla manopola per impostare la data.
- 2 Ruotare la manopola per cambiare la data. Usa le frecce orizzontali (le chiavi direttamente sotto la manopola) per accedere al "MONTH" e "YEAR" campi, se necessario.
- 3 Quando tutti e tre i campi sono corrette, premere la manopola per inserire la nuova data.

Per impostare l'ora

Il campo ora è di due campi separati, "HOUR:MINUTE". Il campo "HOUR" usa il range 0–24 a indicare l'ora del giorno.

- 1 Usare la manopola per evidenziare il campo del tempo. Fare clic sulla manopola per impostare il tempo.
- 2 Ruotare la manopola per cambiare "HOUR". Usa le frecce orizzontali (le chiavi direttamente sotto la manopola) per accedere al campo "MINUTE", se necessario.
- 3 Quando entrambi i campi sono corrette, fare clic la manopola per inserire il nuovo orario.

Diagnostica

- 1 Evidenziare la diagnostica, e fare clic sulla manopola. Il tasto funzione "RUN" appare sullo schermo. Premere il tasto "RUN" per visualizzare una schermata popup con tre opzioni:

Run Diags

Manual Vout

Cancel

- 2 Utilizzare la manopola per selezionare l'opzione e premere il tasto funzione "OK".

Run Diags

Il funzione diagnostica ha go IEF100 attraverso una serie di prove interne per confermare la funzione. I test includono la tensione di uscita e la corrente di alimentazione interna ad alta tensione, l'eprom, e l'orologio. Se le prove tutto OK, il messaggio "ALL OK" viene visualizzato brevemente sullo schermo.

Se uno dei test fallisce, contattare il rappresentante Hoefer, Inc. organizzare un servizio per lo strumento.

Manual Vout

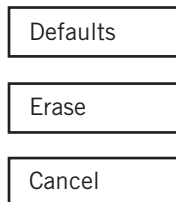
Premere OK per visualizzare una schermata di corsa. Fare clic sulla manopola in modalità "SET", e la tensione di uscita è regolabile in incrementi di 250 V. La corsa manuale prosegue finché non interrotta dall'utente, o fino a 4 ore.

Esce da questa schermata sarà tornare al menu principale.

Nota: Non è possibile recuperare i protocolli programmati dall'utente, una volta che sono stati azzerati, o cancellati.

Clear All Protocols

Questa opzione viene utilizzata per sovrascrivere i protocolli esistenti in memoria. Viene visualizzata una schermata popup mostra tre opzioni:



The diagram shows a vertical stack of three rectangular buttons. The top button is labeled 'Defaults', the middle button is labeled 'Erase', and the bottom button is labeled 'Cancel'. Each button has a thin black border and a light gray background.

- Evidenziare l'opzione appropriata e premere "OK".
- "DEFAULTS" reimposta tutti i 30 protocolli alle impostazioni predefinite, cioè, i nove protocolli pre-programmati e 21 protocolli di vuoti.
- "ERASE" cancella tutti i dati in tutti e 30 i protocolli in memoria. Protocolli di vuoti non hanno limiti predefiniti di 12.000 V, 500 μ A/strip, 2 W/strip e 20 °C.

Serial Number

Visualizza il numero di serie del IEF100. Questo non è modificabile.

Operazione IEF100

Nota: Spingere all'interno della manopola, e rilasciare rapidamente "click". C'è un feedback tattile e sonoro. A cambia click di successo tra "MOVE" e "SET" modi.

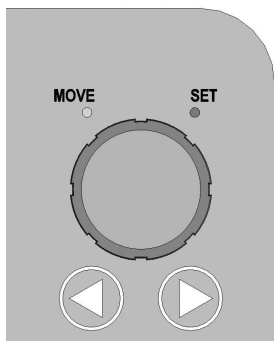


Fig. 14. La manopola.



Fig. 15. ON/OFF.

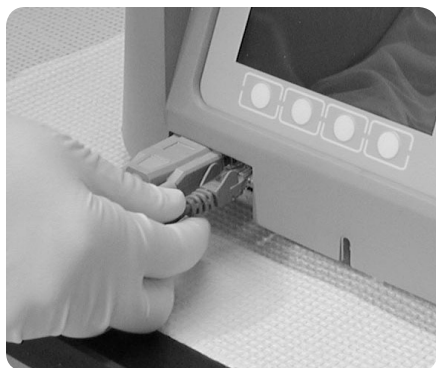


Fig. 16. Connessione Ethernet.

Usando la manopola

La manopola ha due azioni, si trasforma, e spinge per "click" (Fig. 14).

Turn: spostarsi attraverso i campi, di regolare i valori.

Fare clic su: Cambiamenti tra "MOVE" e "SET" modalità, come indicato dal LED.

- 1 In modalità "MOVE", evidenziare il campo che si desidera modificare.
- 2 Clicca la manopola per cambiare "SET" mode.
- 3 Ruotando la manopola ora regolare il valore del campo. Quando il valore corretto viene visualizzato, cliccare nuovamente la manopola per inserire il valore e tornare alla modalità "MOVE". Ruotando la manopola si sposterà al campo successivo.

IEF100 configurazione

- 1 Inserire il IEF100 in una presa di corrente utilizzando il cavo appropriato. Un adattatore può essere necessario in alcuni paesi. Il modulo di ingresso alimentazione si trova sul pannello posteriore. L'interruttore ON/OFF si trova sul modulo di ingresso dell'alimentazione (Fig. 15).
- 2 Assicurarsi che la distanza intorno strumento e abbastanza spazio sopra per consentire l'apertura del coperchio. I fori non devono essere bloccate. Non permettere di entrare nei fluidi prese laterali.
- 3 Lavare il vassoio elettrodo, sciacquare bene con acqua deionizzata e lasciare asciugare all'aria.
- 4 Pulire delicatamente elettrodo di platino punti di contatto a filo e lasciare asciugare all'aria.
- 5 Quando l'unità è inattivo per un periodo di tempo un salvaschermo sarà visualizzato per prolungare la vita del display. Premere un tasto qualsiasi per uscire dal salvaschermo.

Stampante e il computer Connections

Collegare e configurare una stampante o un computer prima di concentrarsi, e la IEF100 invia automaticamente i dati di uscita in tempo reale (Fig. 16).

Vedi opzionali connessioni dati, pagina 35.

Preparazione strisce IPG

Gel di pH immobilizzato (IPG) sono ultra gel di poliacrilammide su film sottili di supporto in plastica. I gel sono realizzati con un gradiente di pH legato covalentemente alla matrice gel. I gel sono stabili e riproducibili. I gel sono forniti disidratati e devono essere conservati a temperature di -20 °C o inferiore.

Le strisce IPG hanno uno (+) acida e una estremità di base (-) end. Immagini 2D gel sono tipicamente indicati con il lato acida a sinistra, e che è l'orientamento delle strisce IPG nel IEF100. L'elettrodo corretta deve essere applicato a ciascuna estremità: anodica (+) elettrodo all'estremità acido (sinistra) e catodica (-) alla fine elettrodo di base (a destra).

Le strisce secche richiedono reidratazione prima della corsa. Tipicamente, vari reagenti differenti sono inclusi nella soluzione di reidratazione per solubilizzare le proteine, e consentire successo focalizzazione isoelettrica. La reidratazione è in genere fatto a temperatura ambiente, o 20 °C, e ha bisogno di un minimo di 8 ore per un buon assorbimento della soluzione reswelling. È spesso più conveniente per consentire di reidratazione verificarsi durante la notte. Durante la reidratazione, le strisce IPG sono coperti in olio minerale per impedire la perdita di umidità, e prevenire cristallizzazione urea.

Le strisce sono IPG reidratate usando uno dei reidratazione/equilibrio vassoi forniti con il IEF100. Proteina campione può essere aggiunto alla striscia IPG in questa fase. Le strisce IPG sono trasferiti al IEF100 per la messa a fuoco.

Nota: Il IEF100 è un posto comodo per reidratare strisce. Il piatto freddo mantenere una temperatura costante, e la copertura aiuterà a proteggere le strisce IPG dalla polvere.

Nota: L'utilizzo di più rispetto ai volumi raccomandati può contribuire alla perdita di proteine o di risultati IEF sfocate.

Nota: Le soluzioni reidratazione tipicamente contengono elevate concentrazioni di urea che tendono a cristallizzare a temperature più basse. Per questo motivo, reidratazione non deve essere fatto in celle frigorifere o in ambienti freddi significativamente superiore a 20 °C.

Nota: Le strisce scorrevole nel buffer di reidratazione, bagnando tutta la lunghezza della striscia, e aiuta a prevenire attaccare. Strisce collocati direttamente contro il fondo del vassoio di plastica reidratazione può aderire, e non reidratare correttamente.

Reidratazione di strisce IPG

Una breve discussione di ingredienti di reidratazione e la loro funzione è inclusa in Appendice B, insieme ad alcune soluzioni consigliate. I reagenti possono essere personalizzate per i campioni specifici.

Il volume di soluzione dipende dalla lunghezza della striscia da utilizzare. Hoefer consiglia di seguire le raccomandazioni del produttore strip IPG.

Una tabella dei volumi tipici è riportato qui di seguito.

Striscia di lunghezza (cm)	Volume per Striscia (µl)
7	130
18	340
24	450

Applicare soluzione reidratazione in un canale del vassoio reidratazione opportunamente dimensionato in una linea leggermente più corta la striscia da reidratati.

Molti produttori strip IPG coprono le strisce con un coperchio di protezione. Se presente, rimuovere lo strato protettivo.

Posizionare la striscia, gel lato basso, sul liquido nel canale. Far scorrere delicatamente la striscia avanti e indietro per bagnare tutta la lunghezza del gel IPG con la soluzione di reidratazione. Talvolta, il sollevamento e la striscia IPG può aiutare a ottenere il corretto contatto della soluzione su tutta la lunghezza della striscia gel IPG.

Coprire le strip con olio minerale, numero d'ordine Hoefer GR138-1.

Lasciare reidratare un minimo di 8 ore. Meglio reidratazione si verifica se consente strisce per reidratare durante la notte.

Focalizzazione isoelettrica (usando il kit singolo elettrodo)

1

Aprire il coperchio di sicurezza premendo sull'etichetta bianca spinta al centro della parte anteriore del coperchio (Fig. 17).

2

Inserire il vassoio IEF105 concentrandosi sul lato destro del piatto freddo. Il vassoio ha solo orientamento. Ci sono (+) e (–) segni sul vassoio che si allineano con i segni corrispondenti sulla IEF100.

Il vassoio non si adatta correttamente nel IEF100 in qualsiasi altro orientamento.

3

Far scorrere il vassoio di messa a fuoco a sinistra, sotto le linguette di bloccaggio (Fig. 18). Queste schede migliorare il contatto, e il trasferimento di calore, tra il vassoio e la piastra fredda.

4

Utilizzare pinze per caricare le strisce IPG reidratati nel lato del vassoio di messa a fuoco gel up. Il (+) fine anodica delle strisce dovrebbe essere a sinistra, corrispondente al (+) sul vassoio e la IEF100 (Fig. 19).

I canali striscia sono numerati in modo che il canale 1 è più vicino alla parte anteriore e il canale 6 è sul retro del IEF100.

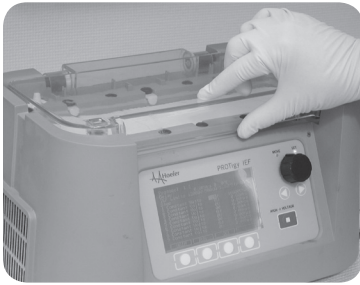


Fig. 17. Aprire il coperchio di sicurezza.



Fig. 18. Far scorrere il vassoio di messa a fuoco.

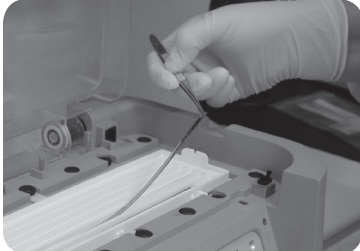


Fig. 19. Caricare le strisce IPG.

Nota: In un unico viaggio, tutte le strisce IPG dovrebbe essere la stessa lunghezza per gli elettrodi di un buon contatto.

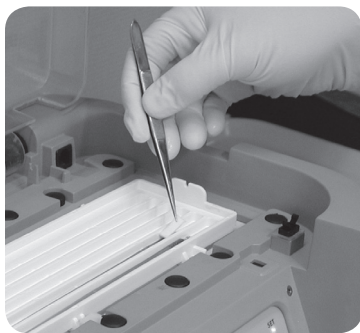


Fig. 20. Allinea strisce.

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

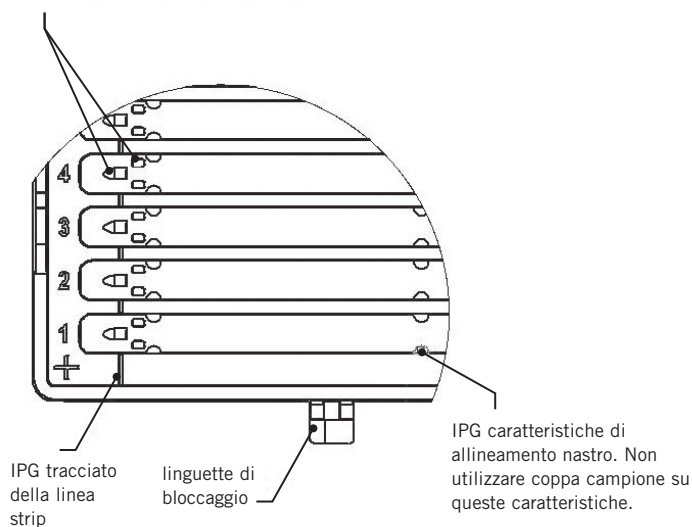
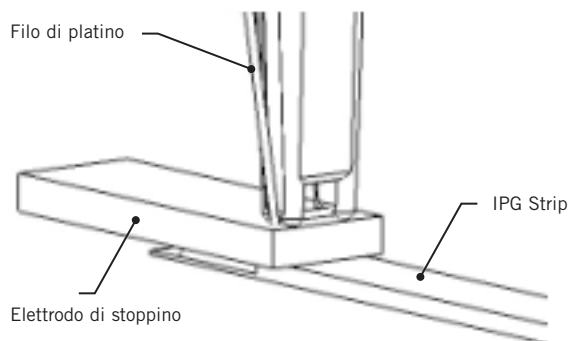


Fig. 22. Stoppino di collocamento.



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

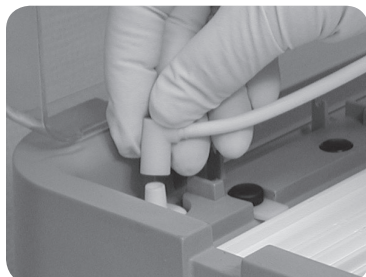


Fig. 23. Collegare (+) elettrodo.



Fig. 24. Bloccare (+) 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. Collegare (-) elettrodi.

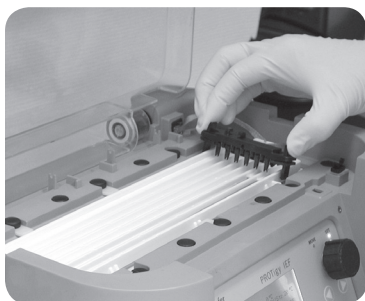


Fig. 26. Bloccare (-) elettrodo in posizione.



Fig. 27. Coprire con olio minerale.

9

Collegare il (-) elettrodi al terminale (-) (Fig. 25).

1

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. 26).

L'elettrodo dovrebbe leggermente bloccarlo in posizione.

11

Coprire le strisce e gli eventuali canali vuoti con 60 ml di olio minerale. Utilizzando meno petrolio si rischia che le strisce IPG non sarà completamente coperto e può seccare durante la corsa (Fig. 27).

Focalizzazione isoelettrica (utilizzando l'accessorio doppio elettrodo)

L'accessorio a doppio elettrodo aumenta la capacità di Hoefer IEF100, consentendo fino a dodici, 7 cm IPG strisce da eseguire contemporaneamente. Ciò si ottiene eseguendo fino a sei coppie di IPG strisce in parallelo. Ognuno dei sei canali comunicherà la somma della corrente e potenza delle strisce accoppiati, quindi, i limiti di corrente e la potenza dovrebbe essere fissato al doppio del valore normale utilizzato durante l'esecuzione di singole strisce e, come sempre, le strisce IPG in esecuzione contemporaneamente devono essere dello stesso pH e conducibilità.

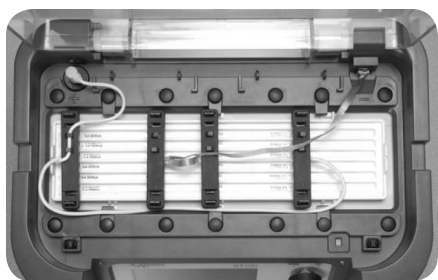


Fig. 28. IEF100 impostato utilizzando l'accessorio doppio elettrodo.

1

Aprire il coperchio di sicurezza premendo sull'etichetta spinta al centro della parte anteriore del coperchio.

2

Inserire il vassoio IEF105 concentrandosi sul lato destro del piatto freddo. Il vassoio ha solo orientamento. Ci sono (+) e (–) segni sul vassoio che siano allineati con i segni corrispondenti sul IEF100.

Il vassoio non si adatta correttamente nel IEF100 in qualsiasi altro orientamento.

3

Far scorrere il vassoio di messa a fuoco a sinistra, sotto le linguette di bloccaggio. Queste schede migliorare il contatto, e il trasferimento di calore, tra il vassoio e la piastra fredda.

4

Utilizzare pinze per caricare i reidratati 7 cm IPG strisce nel vassoio di messa a fuoco con il lato gel delle strisce rivolti verso l'alto.

5

Il primo gruppo di strisce IPG deve essere caricato sul lato sinistro del vassoio con la anodica (+) estremità delle strisce a sinistra corrispondenti della (+) sul vassoio e la IEF100.

6

Il secondo gruppo di strisce IPG vengono caricati a destra della prima serie nel senso opposto, con l'estremità anodica (+) delle strisce corrispondenti della (-) sul vassoio e la IEF100. L'estremità catodica (-) di ciascuna serie di strisce devono essere di fronte all'altro nel centro del vassoio focalizzazione, circa 4 cm di distanza (Fig. 29).

7

Parallele strisce IPG deve essere allineato il più possibile con il (+) o (-) impresso sulla striscia per guidare l'allineamento.

8

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.

9

Collegare gli elettrodi (anodo +) al polo positivo (+) del terminale sul lato sinistro del IEF100.

1

Gli elettrodi anodici sono posti alle due estremità del vassoio focalizzazione, il lato sinistro della prima serie di strisce IPG e il lato destro del secondo gruppo di strisce IPG. Gli elettrodi devono essere centrato sulla parte superiore della zona in cui si sovrappone stoppino il gel della striscia IPG.

11

Collegare gli elettrodi catodo (-) al polo negativo (-) del terminale sul lato destro della IEF100.

12

Gli elettrodi catodici sono collocati al centro del vassoio focalizzazione, sul lato destro del primo gruppo di strisce IPG e il lato sinistro del secondo gruppo di strisce IPG. Gli elettrodi devono essere centrato sulla parte superiore della zona in cui si sovrappone stoppino il gel della striscia IPG.

Fig. 29. IPG posizionamento Strip.



Nota: Ci sono piccoli elementi semicircolari sul fondo dei canali vassoio che aiutano allineare la striscia IPG al centro della corsia. Le gambe della coppa del campione non deve colpire queste caratteristiche altrimenti la coppa campione perderà. Vedi Fig. 21 a pagina 24.

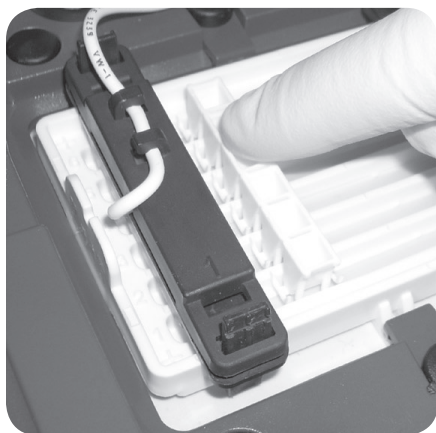


Fig. 30. Posizionare tazzine.



Fig. 31. Applicare il campione.



Fig. 32. Chiudere il coperchio di sicurezza.

Esempi di Coppe

Tazze di esempio può essere utilizzato per applicare il campione di proteina IPG strisce se non è stato incluso nel buffer reidratazione. Le coppe campioni sono forniti in strisce di sei tazze. Le coppe campioni possono essere utilizzati tutti insieme, o tagliare staccata e utilizzata separatamente.

1

Premere i tazzine giù in cima delle strisce IPG. Le coppe campioni devono fermarsi sulla parte inferiore del canale e tenuta sulle strisce IPG (Fig. 30).

In generale, carico più coppa viene effettuata sull'estremità anodica della striscia IPG. Ciascun campione è differente. In alcune situazioni, i campioni possono concentrarsi meglio caricata altrove su una striscia. Questo può essere determinato solo sperimentalmente per diversi tipi di campioni.

2

Fino a 240 μ l del campione può essere applicato alle coppe campioni (Fig. 31).

3

Una volta caricato, confermare le impostazioni del protocollo.

4

Chiudere il coperchio (Fig. 32).

Nota: limiti globali del Protocollo di corrente/strip e watt/strip potrebbe non funzionare correttamente senza inserire il numero corretto di canali contenenti strisce.

Nota: Le IEF100 controlla la corrente e watt in ciascun canale. Se necessario, le condizioni possono essere regolati e/o strisce problematici può essere rimosso dalla pista.

Avviare IEF

①

Evidenziare il protocollo desiderato e premere “RUN”.

②

Confermare il numero di canali di messa a fuoco vassoio contenente le strisce di IPG. Usare la manopola per cambiare il valore.

③

Premere il tasto “RUN” per avviare la IEF.

④

Il IEF100 emette un segnale acustico per indicare l'inizio di un percorso. L'alta tensione LED si accende, e “RUNNING” lampeggia nell'angolo in alto a destra del display.

Lo schermo run visualizza le condizioni di esecuzione corrente.

Esegui schermo

Lo schermo run visualizza tutte le informazioni sulla pista attuale (Fig. 33). Non ci sono campi modificabili. Le informazioni sullo schermo di esecuzione viene descritto di seguito.

Nota: IEF100 può controllare le condizioni di un canale vassoio focalizzazione alla volta. I limiti IEF100 il canale con la più alta corrente, o watt. Strisce IPG preparate in condizioni identiche mostrerà variazioni dovute alle differenze geometriche nel gel IPG e le differenze di contatto sotto gli elettrodi. IPG strisce con diversi campioni può mostrare grandi differenze dovute corrente e potenza di conducibilità dei campioni differenti.

Linea 1

Il numero di protocollo e il nome vengono visualizzati. L'angolo in alto a destra indica lo stato di esecuzione sia come esecuzione (lampeggiante), in pausa o finiti.

Linea 2

Visualizza il numero di strisce IPG essere attivato (o numero di canali se si utilizza l'accessorio doppio elettrodo).

Linea 3

Descrive la fase attiva, il numero di passo, il valore del passo (volt o watt/strip) e il punto finale step (Hrs o Vhrs).

Linea 4

Visualizza il tempo totale trascorso e il totale volt ore di messa a fuoco fino al momento.

Linea 5

Visualizza il tempo totale trascorso e il totale volt-ore del passo attivo.

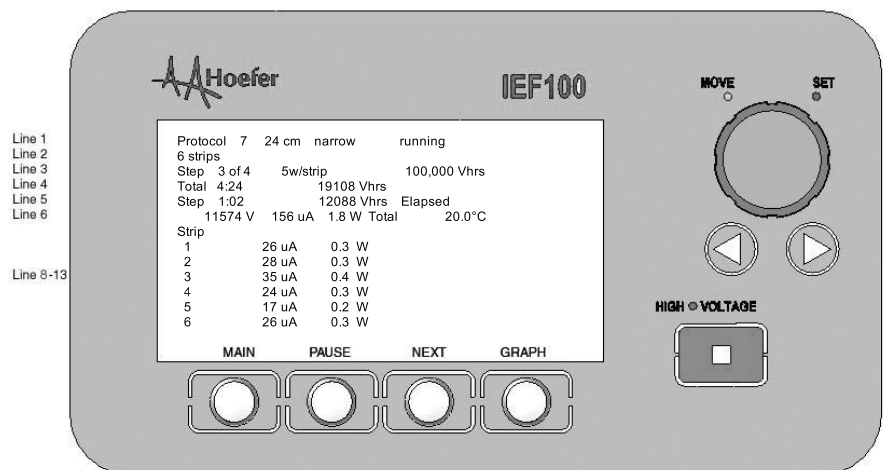
Linea 6

Consente di visualizzare le reali condizioni in tempo di uscita di tutte le strisce, compresi i volt di corrente, la corrente totale, i watt totali e la temperatura piattaforma.

Linea 8-13

Visualizzare l'attuale singolo striscia e watt.

Fig. 33. Esegui schermo.



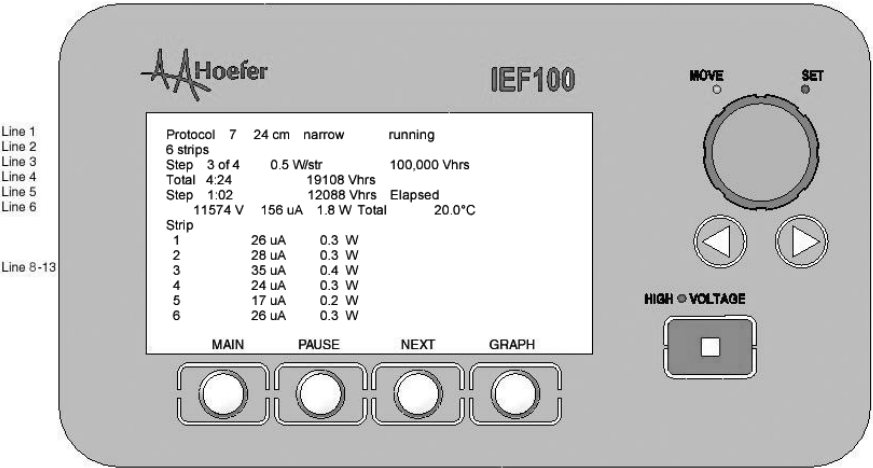
Nell'esempio riportato di seguito sei strisce IPG sono stati focalizzati in base al protocollo 7, un massimo di 0,5 W/strip e 100.000 volt ore endpoint (Fig. 34).

Il protocollo è nel terzo passo. Il protocollo è attivo da 4 ore e 24 minuti, o 19.108 volt di ore. Attualmente, il protocollo è 1 ora e 2 minuti e 12.088 volt di ore, al passo 3.

L'alimentazione interna è fornire 11.574 volt, per un totale di 156 µA e 1,8 watt in sei strisce IPG.

Durante alcune strisce eseguire diversi possono controllare la tensione complessiva come la resistenza delle modifiche strisce durante la corsa.

Fig. 34. Esegui schermo.



Nota: il sale Extra del campione tende ad appiattire i grafici (in orizzontale) e richiedere più tempo per il campione di concentrarsi.

Nota: Se ci sono problemi con la masterizzazione strisce IPG, impostare il limite di corrente a 50 $\mu\text{A}/\text{strip}$ per garantire sicure condizioni di messa a fuoco per la separazione intero.

Nota: la Volt e μA vengono scalati automaticamente e rappresentati graficamente.

Tipici focalizzazione isoelettrica

Il primo passo è in genere impostata a bassa tensione per limitare la corrente e lasciare gli ioni spostarsi alla fine delle strisce IPG senza correnti eccessive. Se si carica campione con una tazza campione, un ulteriore passaggio lento può essere aggiunto per consentire al campione di inserire la striscia IPG in condizioni delicate.

Nei passaggi centrali, le rampe di tensione verso l'alto ad un plateau, e questo è dove la maggior parte della messa a fuoco si verifica. La corrente diminuisce fino ad un valore minimo. I grafici che seguono mostrano volt tipica e profili μA (Fig. 35).

Un passo finale è stato aggiunto ai protocolli pre-programmati per tenere il volt a 1000 V per un'ora. Ciò manterrà le bande concentrati nel IEF100 fino al passaggio successivo. Estendere la durata di questa fase, se necessario.

Fig. 35. Volt tipici e profili μA .

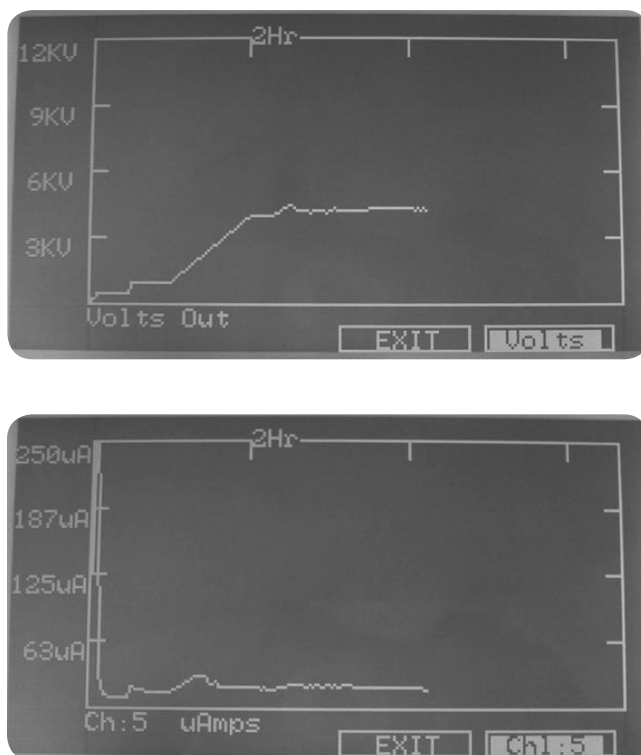
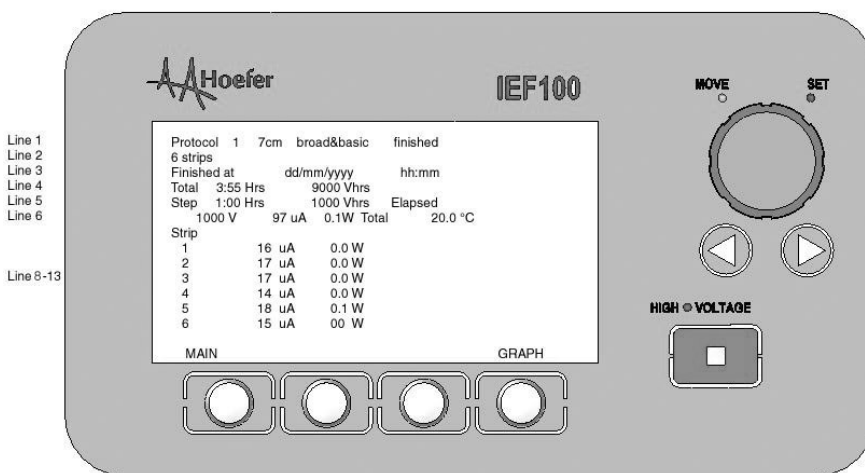


Fig. 36. Fine corsa schermo.



Quando messa a fuoco è completo, il IEF100 emette un segnale acustico, e uno schermo di fine corsa viene visualizzata (Fig. 36).

Linea 1

Il numero di protocollo e il nome. La parola “FINISHED” viene visualizzato in alto a destra.

Linea 2

Il numero di strisce di eseguire (o il numero di canali, se si utilizza l'accessorio doppio elettrodo).

Linea 3

La data e l'ora di messa a fuoco terminato.

Linea 4

Il tempo totale e tensione di ore di messa a fuoco.

Linea 5

Il tempo ultimo passo e volt ore.

Linea 6

Le volt, e la corrente totale e watt di tutte le strisce IPG alla fine della corsa.

Linea 8-13

Le condizioni di ciascuna striscia a fine corsa.

Nota: Ogni volta che un IEF nuovo è iniziato, i dati IEF precedenti verranno definitivamente persi.

Nota: Non equilibrare le strisce IPG prima di riporre a -20 °C.

I risultati possono essere visualizzati graficamente premendo il tasto “GRAPH” funzione. I dati saranno conservati in memoria fino a quando un nuovo percorso viene avviato.

A questo punto, le strisce IPG possono essere conservati a -20 °C.

Oppure, se la seconda dimensione è quella di procedere immediatamente, il buffer deve essere scambiate in un processo a due step prima di equilibrare PAGE seconda dimensione.

Connessioni dati opzionali

Collegamento della stampante seriale

Utilizzare la porta RS232 per collegarsi direttamente a una stampante seriale. La stampante e il cavo non sono in dotazione. La stampante di serie dovrebbe avere le seguenti impostazioni.

Baud Rate	9600, 38400 o 57600 (deve corrispondere IEF100 impostazione della velocità di trasmissione)
Data Bits	8
Parity	None
Stop Bit	1
Flow Control	None

La sezione seguente descrive il collegamento seriale del computer o una connessione ethernet al IEF100.

Connessione HyperTerminal

HyperTerminal è un programma Windows™ in grado di comunicare con dispositivi esterni. Con la creazione di una connessione tra un computer e il IEF100, l'utente può:

- Protocolli di importazione e di esportazione dalla IEF100.
- Acquisizione dati emessi dal IEF100.
- Controllare il IEF100.

La descrizione e le schermate riportate di seguito sono schermi HyperTerminal. Altri programmi emulatore di terminale funziona anche utilizzando le stesse impostazioni.

Configurazione della porta di comunicazione

- 1 Avviare HyperTerminal in Windows.
- 2 Fare clic su comando di Windows "START".
- 3 Lancio Tutti i Programmi-Accessories-Communications-HyperTerminal.
- 4 Assegnare un nome alla nuova connessione (Fig. 37).

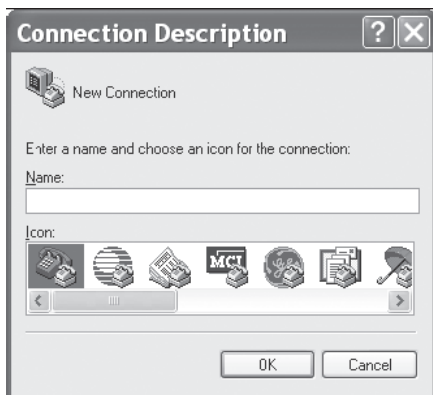
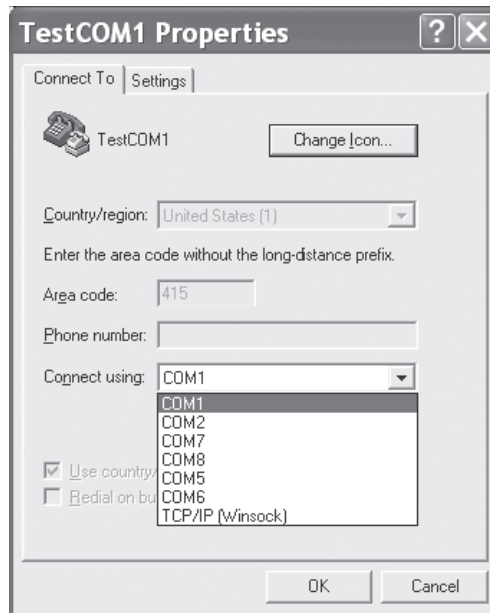


Fig. 37. Assegnare il nome alle nuove connessioni.

Configurazione porta seriale

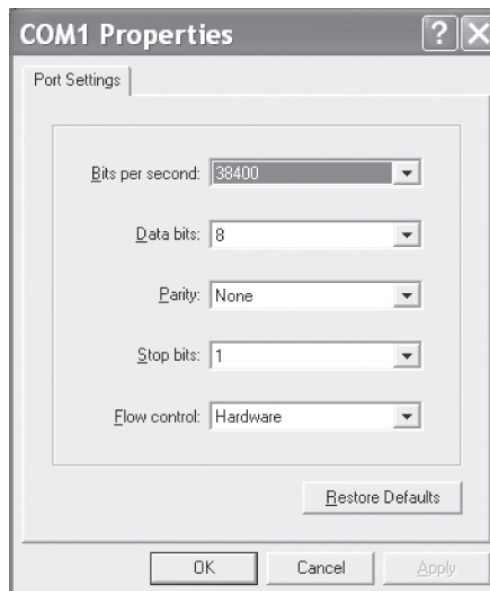
- 1 Selezionare una COM Port (Fig. 38). Questa è la porta del computer per comunicare direttamente con il IEF100. Scegliere TCP/IP se si collega tramite la connessione ethernet.

Fig. 38. Selezionare una COM Port.



- 2 Impostare la baud rate allo stesso come i bit di dati IEF100, 9600, 38400 o 57600 and 8 data bits, no parity, 1 stop bit, hardware flow control (Fig. 39).

Fig. 39. Impostare il baud rate.



TCP/IP di connessione tramite la porta Ethernet

Utilizzare il IEF100 porta Ethernet per la connessione a una rete locale (LAN).

Collegare un cavo ethernet dal vivo nella porta. La LAN assegna automaticamente un indirizzo internet al IEF100. L'indirizzo internet è visualizzato sullo schermo IEF100 opzioni.

Configurazione porta Ethernet

- 1 Dalla schermata HyperTerminal proprietà, selezionare il protocollo TCP/IP (Winsock) opzione la porta di comunicazione proprietà finestre (Fig. 40).
- 2 Premere il tasto "OPTION" dalla schermata principale del IEF100. Il server locale dovrebbe automaticamente assegnare un indirizzo internet nel formato XXX.XXX.XXX.XXX.

Inserire l'indirizzo IP al IEF100 in "HOST ADDRESS" line in formato XXX.XXX.XXX.XXX (Fig. 41).

- 3 Impostare il "PORT NUMBER" a 10001 (Fig. 41).

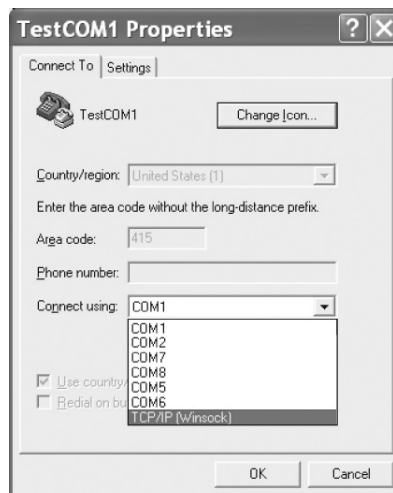


Fig. 40. Selezionare l'opzione TCP/IP.

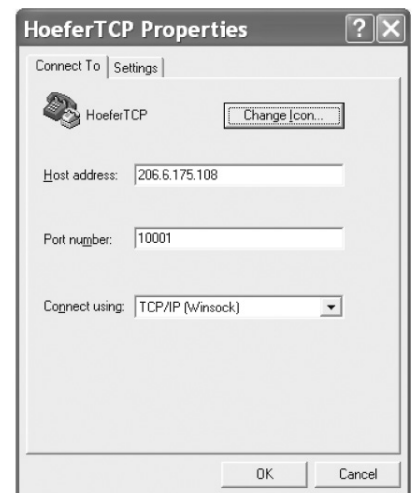
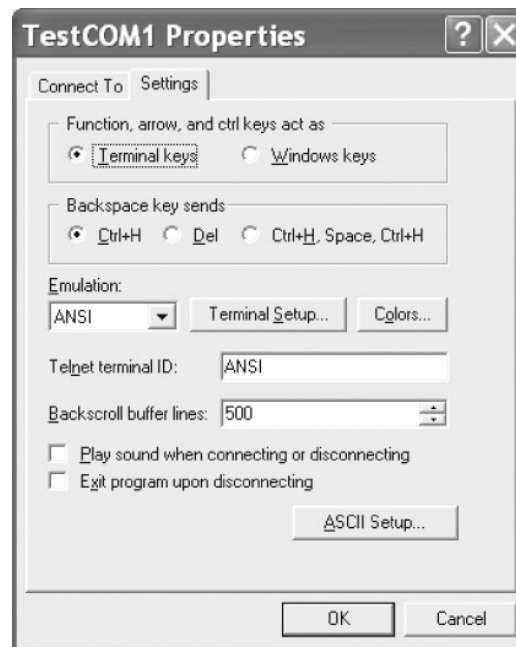


Fig. 41. Inserire l'indirizzo IP e numero di porta.

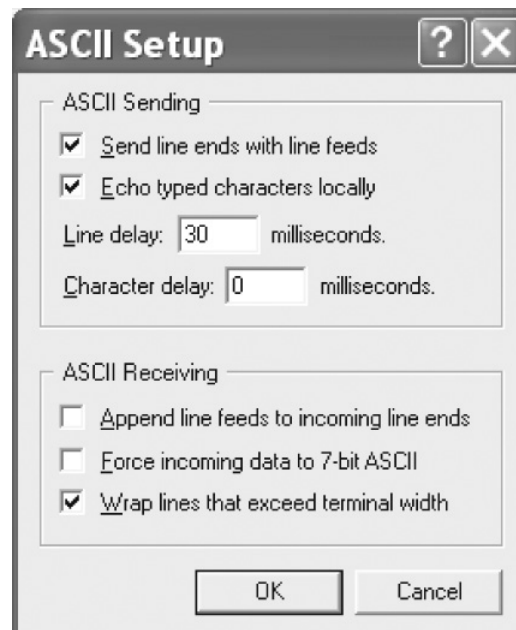
- 4 Fare clic sulla scheda “Settings” e la “ASCII Setup” pulsante (Fig. 42).

Fig. 42.



- 5 Nella sezione “ASCII setup section”, selezionare le caselle “Send line ends with line feeds”
“Echo typed characters locally” (Fig. 43).
- 6 Impostare la “Line delay to 30 milliseconds”
- 7 Impostare la “Character delay to 0 milliseconds”
- 8 Nella sezione “ASCII receiving section”, selezionare la casella “Wrap lines that exceed terminal width”

Fig. 43.



Nota: I dati del IEF100 è una serie di campi di testo separati da virgole. Un metodo per trasferire i dati ad altri programmi è quello di utilizzare la funzione “Windows clipboard” per copiare e incollare i dati.

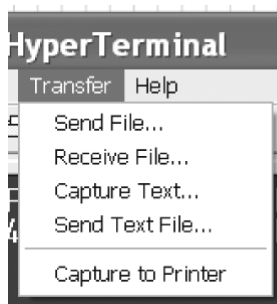


Fig. 44.

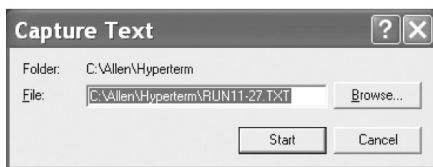


Fig. 45.

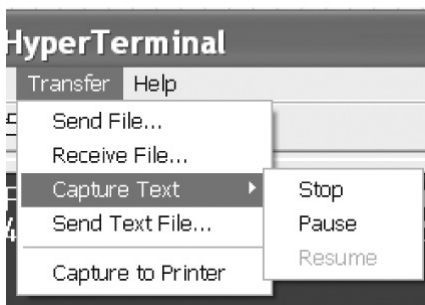


Fig. 46.

Nota: Copiare e incollare i dati, per impostazione predefinita, mettere tutti i dati in una colonna in un foglio di calcolo Excel. Utilizzare i menu di Excel “Data/Text to columns command”, impostare il delimitatore come le virgole, ei dati vengono ordinati in colonne per la rappresentazione grafica.

Acquisizione dei dati IEF100

- 1 Assicurarsi una buona connessione esiste tra HyperTerminal e il IEF100.
- 2 Aprire HyperTerminal. Digitare “AT” e premere “ENTER”. “OK” dovrebbe apparire nella finestra di HyperTerminal.
- 3 Ci sono due modi per scaricare i dati dal IEF100. I dati possono essere raccolti in tempo reale, o come un file di registro di dati dopo messa a fuoco.

Raccogliere in tempo reale

- 1 Con il programma HyperTerminal aprire, utilizzare i menu HyperTerminal l'accesso al testo “Transfer/Capture” (Fig. 44).
- 2 Assegnare un nome al file e directory che raccolgono i dati. Utilizzare il tasto “Browse”, se necessario (Fig. 45).

I dati del IEF100 viene inviato automaticamente alle porte di uscita ogni 5 minuti. Una volta che una corsa è iniziata, i dati verranno automaticamente iniziano ad apparire nella finestra di HyperTerminal.
- 3 Dopo la messa a fuoco, per interrompere l'acquisizione dati, utilizzare “Transfer/Capture Text/Stop”, i menu o “Pause” (Fig. 46).
- 4 I dati vengono memorizzati nel file chiamato.

Trasferimento dati di log dopo IEF

- 1 Tipo “XDATALOG” in una finestra attiva HyperTerminal.
- 2 I dati della ultima esecuzione saranno trasferiti alla finestra HyperTerminal.

Comandi HyperTerminal

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

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

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

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

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

Sottoinsieme di comandi HyperTerminal

Comando	Comando Descrizione	Espandere la Descrizione	Risultato del Comando	Formato del Comando
AT	Controllare il collegamento	Verificare se la connessione tra HyperTerminal e il IEF100 è buono e configurato correttamente.	“OK” ritorna con una buona connessione.	AT
XDATALOG	Trasferimento dei dati	Trasferire i dati dalla memoria IEF100 di HyperTerminal.	I dati di log si presenta in HyperTerminal.	XDATALOG
	Formato dati di uscita Line 1 Header Line 2 datapoints End Line	prot#,protname,startdate,starttime,#datapoints minute,volt,μAC1,μAC2,μAC3,μAC4,μAC5,μAC6,temp END,enddate,endtime <i>Dove μAC1 è la corrente in microampere nel canale 1.</i>		
IPROT	Import protocollo	Importazione e sovrascrive uno degli slot di protocollo 30: protocollo di trasferimento da computer a IEF100.	Protocollo di Upload in IEF100 memoria.	2 formati di linea a seconda del tipo di passaggio
	Formato dei dati di ingresso Delay step – IPROT,prot#,protname,step#,delaytime,delaytemp,runtemp,maxμA,maxA,maxVolt,maxWatt IPROT,5,18cm const Watt,D,0:00,20,20,500,12000,1.5 Step – IPROT,prot#,protname,step#,steptype,stepvalue,timeunits,timeunits,time IPROT,5,18cm const Watt,2,W,1.5,V,25000			
EPROT,#	Export protocollo	Copie numero di protocollo # da IEF100 a HyperTerminal.	Protocollo appare nella finestra di HyperTerminal.	EPROT,# (# è 1–30)
EPROT,	Esporta tutti i protocolli	Copia tutti i 30 protocolli da IEF100 a HyperTerminal.	Protocollo appare nella finestra di HyperTerminal.	EPROT,
PrnRate,#	Dati intervallo di impostazione	Modifiche intervallo tra i punti dati (1–15 minuti).	INTVL in IEF100 aggiorna.	PrnRate,# (# è 1–15)
Start,#1,#2	Avviare il protocollo	Avvia il protocollo #1 #2 con strisce IPG.	IEF100 inizierà fuoco.	Start,#1,#2 (#1 è 1–30) (#2 è 1–6)
Start	Riprende il protocollo	Riavvia un protocollo in uno stato di pausa.	IEF100 riprenderà messa a fuoco.	START
Stop	Fermare il protocollo	Interrompe un protocollo in corso.	IEF100 terminerà messa a fuoco.	STOP
Pause	Pausa protocollo	Mette in pausa un protocollo in corso.	IEF100 sarà una pausa di messa a fuoco.	PAUSE
Report		Invia stato attuale.	Invia i dati di esecuzione corrente, se attivamente la messa a fuoco, invia i dati di esecuzione corrente, se in pausa, invia un messaggio “PAUSE”, se non in esecuzione, stampa “IDLE”.	REPORT
ID?		Invia numero di serie.	Trasferimenti IEF100 numero seriale al computer	ID?

Cura e manutenzione

Spegnere l'interruttore di rete e scollegare il cavo di alimentazione prima della pulizia.

Strumento e coperchio

- Usare un panno morbido inumidito con acqua o una soluzione detergente delicato per pulire il mobile e display.
- Se i liquidi fuoriusciti contatto con i circuiti, scollegare il IEF100 e lasciare asciugare completamente. Chiama Hoefer, Inc. per un consiglio prima di usare.

Pulizia del vassoio ed Elettrodi

- Un detergente studiato per rimuovere l'olio è raccomandato, seguita da miti, i reagenti di laboratorio per la pulizia non ionici. Sciacquare bene con vassoio di acqua deionizzata e asciugare completamente prima dell'uso.
- Il filo di platino sugli elettrodi è fragile e deve essere pulito molto delicatamente. Gli elettrodi non devono essere immersi in soluzione.

Assistenza tecnica e riparazione

Hoefer, Inc. offre un completo supporto tecnico per tutti i nostri prodotti. Se avete domande su come utilizzare questo prodotto, o volete organizzare per ripararlo, si prega di chiamare o inviare un fax il Hoefer, Inc. rappresentante.

Risoluzione dei problemi

Problema	Soluzione
Lo strumento non si accende	Controllare il cavo di alimentazione è inserito nella presa a terra e interruttore ON/OFF viene rivolta al su (I) la posizione.
Coperchio è aperto	L'unità non funziona se il coperchio di sicurezza è completamente chiusa. Premere su entrambi i lati di impegnarsi fermi.
Unità di legge μA 0, 0 W per tutte le strisce	<p>Assicurarsi che gli stoppini elettrodi sono in contatto con le strisce IPG.</p> <p>Gli elettrodi devono essere a contatto gli stoppini elettrodi, e centrato nella zona di sovrapposizione tra stoppino e le strisce IPG.</p> <p>Verificare che le strisce IPG sono stati completamente idratato prima dell'uso.</p> <p>Assicurarsi che gli elettrodi sono collegati ai corrispondenti sedi.</p> <p>Bassa tensione iniziale di passaggi gradiente non può produrre abbastanza corrente per registrare all'inizio della fase. Controllare la corrente nelle strisce nuovamente in pochi minuti.</p> <p>Eeguire la diagnostica per controllare l'alimentazione interna.</p>
Unità di legge μA 0, 0 W per una sola strip	<p>Povero reidratazione striscia IPG: ispezionare lo spessore (altezza) della striscia IPG sulla sua intera lunghezza.</p> <p>Verificare la presenza di arco o bruciore che potrebbe rompere il circuito elettrico.</p> <p>Filo rotto nel (–) elettrodo. Sostituire l'elettrodo.</p>
Nessuna uscita di tensione	<p>Eeguire la diagnostica dal menu opzioni.</p> <p>Contattare il locale Hoefer, Inc. rappresentante.</p>
Display vuoto	<p>Spegnere l'unità e via.</p> <p>Contattare il locale Hoefer, Inc. rappresentante.</p>
Schermo congelati	<p>Spegnere l'unità e via.</p> <p>Contattare il locale Hoefer, Inc. rappresentante.</p>
Non riesce diagnostica	Il programma di diagnostica controlla la tensione di uscita e la corrente di alimentazione interna, l'eprom e l'orologio di sistema. Contattate il vostro Hoefer, rappresentante Inc. se uno di questi test risultano negativi.

Problema	Soluzione
Impostare la tensione non raggiunto	Continuare con la IEF.
	Strip IPG è stato limitato da μA o W.
	Conducibilità della striscia è troppo alto.
	Uno strip IPG si concentrerà al suo max μA o W, e limitare la tensione di tutte le strisce. Questa striscia può essere rimossa, e le strisce rimanenti saranno incentrate, a tensioni più elevate.
	7 strisce cm non dovrebbero essere incentrate sul volt superiori a 6000 V e watt superiore a 0,5 W per striscia.
Browning, la combustione di archi strisce, letture μA irregolari	Strisce hanno alta conducibilità a causa di sali o altri composti ionici.
	Ridurre la forza ionica limitando la concentrazione del sale di 10 mM o inferiore.
	Ridurre le concentrazioni mM Tris al 50 o al di sotto.
	Questo indica la, volt o corrente fornita al nastro è troppo elevato. Limitare la corrente nelle strisce IPG a 50 μA .
	Troppo poco olio e/o strip non completamente coperti di olio.
	Livellare lo strumento. Assicurarsi che l'olio minerale copre completamente le strisce ed i canali vuoti. Se le strisce non sono completamente coperti urea si cristallizzano e causano il riscaldamento locale/masterizzazione.
	Il surriscaldamento del vassoio. Controllare vassoio è sciolto in modo sicuro e bloccato in posizione per garantire il miglior contatto tra la base del vassoio e la superficie della piattaforma.
Reidratazione/equilibrio vassoio ha liquido residuo dopo la reidratazione di strisce IPG	Volume in eccesso utilizzato. Non superare i volumi raccomandate dal produttore strip IPG.
	Strip accidentalmente reidratato con il lato in alto o in gel striscia copertina non è stato rimosso.
	Prolungare il tempo di reidratazione. 8–10 ore minimo richiesto per la migliore assorbimento di soluzione di reidratazione.
Non ci sono proteine presenti nel gel, dopo la 2 dimensione completato	Carico di proteine è troppo poco per il metodo di rilevazione. Caricare più proteine o provare un metodo più sensibile di rilevazione.
	IPG strip non è stato adeguatamente idratato.

Informazioni per l'ordine

Prodotto	Quantità	Codice
IEF100	1	IEF100
Esecuzione di Tray	1	IEF105
elettrodi Wicks	504	IEF106
Esempi Coppe carico (10 strisce di 6)	60	IEF108
Piccolo reidratazione/equilibrio Tray	1	IEF109
Media reidratazione/equilibrio Tray	1	IEF111
Grande reidratazione/equilibrio Tray	1	IEF110
Cavo di alimentazione degli Stati Uniti, 115 V	1	PSCORD-115V
Cavo di alimentazione Euro, 230 V	1	PSCORD-230V

Unità di seconda dimensione

Mighty Piccolo II Deluxe Mini unità verticale	SE260-10A-1.5
Deluxe a doppio raffreddamento Unità Standard verticale	SE600X-15-1.5
Formato grande unità Vertical	SE900-1.0

Reagenti

Agarosio	500 g	GR140-500
Blu di bromofenolo, sale di sodio	10 g	GR120-10
CHAPS	10 g	GR121-10
Ditiotreitolo (DTT)	5 g	GR122-5
Glicerina	1 L	GR124-1
Olio minerale	1 L	GR138-1
Sodio dodecil solfato	500 g	GR126-500
Thiourea	500 g	GR130-500
Tris	1 kg	GR132-1
Urea	1 kg	GR143-1

Appendice A: Protocolli preprogrammati

I seguenti 9 protocolli sono preprogrammati. Essi devono essere utilizzati come linee guida.

Ogni protocollo dispone di un 1 ora, 1000 V tenere passo per mantenere vivi bande, una volta messa a fuoco è completa. Tale passaggio non è necessario e può essere rimosso. Può anche essere esteso come desiderato.

Program 1

Messa a fuoco di più di 7 centimetri IPG limitando i parametri volt.

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

Messa a fuoco di 7 IPG CM watt in condizioni costanti.

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

Messa a fuoco di un ampio e medie di 18 anni IPG centimetri, limitando i parametri volt.

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

Messa a fuoco di 18 cm di stretta IPG pH gamma limitando i parametri volt.

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

Messa a fuoco di 18 IPG CM watt in condizioni costanti.

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

Messa a fuoco di un ampio e medio raggio di 24 centimetri IPG limitando i parametri volt.

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

Messa a fuoco di 24 cm di stretta IPG pH gamma limitando i parametri volt.

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

Messa a fuoco del 24 IPG CM watt in condizioni costanti.

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

Slow, messa a fuoco di 24 IPG CM con il campione caricato in una tazza.

Aumenta delicatamente volt nel corso del tempo. Fase di rientro del campione è prolungata e progettato per essere una corsa durante la notte.

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

Protocolli pre-programmati in formato Codice Macchina

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

Classi comuni di additivi

Denaturanti

Aprire le proteine per esporre le cariche interne native.

Detergenti non ionici

Campioni di più solubile senza alterare la carica proteica.

Riducenti

Guida rompere i legami disolfuro interni a svilupparsi ulteriormente le proteine, e contribuire a ridurre gli effetti negativi di ossidazione delle proteine durante la reidratazione e la IEF.

Altro

Amphoytes Carrier, proteasi, DNasi e RNasi.

Appendice B: Reagenti e soluzioni

Preparazione del campione

I campioni preparati per il 2D dovrebbe essere pienamente denaturati, priva di materiale insolubile, e in generale bassa forza ionica.

Alcuni campioni di proteine prontamente solubilizzare, mentre altri sono più difficili, che richiedono reagenti aggiuntivi, quali tiourea, detergenti speciali, ecc) per favorire la solubilizzazione. Le classi di additivi comuni sono elencati di seguito.

Denaturanti

L'urea è il reagente più comune utilizzato in IEF per interrompere il legame interno della proteina, permettendo a svolgersi. I campioni vengono preparati usando concentrazioni di urea 8–9,5 M. In generale, maggiore è la concentrazione di urea meglio un campione può essere solubilizzato. Urea raggiunge il suo punto di saturazione in prossimità 10 M a temperatura ambiente.

Tiourea viene anche utilizzato per solubilizzare meglio alcuni campioni. Spesso, 2 M tiourea è combinata con 5–7 M urea come reagente per la preparazione del campione e reidratazione IPG.

Detersivi

Diversi tipi di detergenti non ionici o zwitterionici possono essere usati per solubilizzare campioni (CHAPS, Triton X100 e Nonidet NP-40, e detergenti alkylamidossulfobetaine). CHAPS è il detersivo più ampiamente usato per elettroforesi 2D. È stabile in soluzione. Detersivi come la SDS non sono compatibili con IEF perché si legano alle proteine e mascherare carica nativa delle proteine.

Riducenti

Ditiotreitolo (DTT) è comunemente utilizzato per ridurre le proteine in IEF. DTT rompe in soluzione, quindi vengono normalmente preparati e aggiunto appena prima dell'uso. Altri riducenti come 2-mercaptoetanol, Dithioerythritol (DTE) e tributilfosfina (TBP) può essere utilizzato.

Altro

Anfoliti Carrier o tamponi IPG possono essere aggiunti per facilitare la solubilità delle proteine e aiutano a prevenire la precipitazione delle proteine durante la messa. Le concentrazioni di 0,5%–2% (v/v), sono tipicamente utilizzati. Anfoliti Carrier può interferire con alcuni esperimenti di marcatura. In questi casi, i reagenti devono quindi essere omesso dalla fase di estrazione del campione.

Nota: I sali sono forse il contaminante più comune causa dei risultati IEF poveri.

Linee guida generali

- Procedure di preparazione dei campioni sono perfezionata e standardizzata. Si consiglia di consultare la letteratura per determinare se un particolare buffer di preparazione del campione è raccomandato per il tipo di campione.
- IEF funziona meglio con i campioni di proteine pure che sono solubilizzati e denaturati, e privo di molecole interferenti.
- Rimuovere il materiale insolubile con centrifugazione.
- Tenere il contenuto di sale più basso possibile.
- Usare reagenti freschi preparati di alta qualità, o soluzioni reagenti che sono stati conservati congelati.
- Non lasciare soluzioni di urea a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.
- Non Riscaldare campioni di proteine nelle soluzioni di urea. Riscaldamento carbamylation causa di proteine e altererà la carica delle proteine native.
- Conservare i campioni in ghiaccio per prevenire il degrado.
- Aggiungi inibitori della proteasi per evitare che l'attività della proteasi. Gli inibitori della proteasi, quali PMSF Pefabloc o può essere aggiunto per inibire l'attività di serina proteasi mentre pepstatina può inibire proteasi aspartiche.
- Alcuni protocolli anfoliti utilizzare supporti di base o tris per ottenere un pH elevato nel buffer campione. Questo aiuta a solubilizzare alcune proteine e riduce l'attività enzimatica che attaccano le proteine.
- DNA e RNA possono spesso essere rimosso mediante ultracentrifugazione. Il campione può anche essere trattato con DNasi RNase e la soluzione per abbattere gli agenti inquinanti.
- Tieni presente che alcuni inibitori della proteasi, DNase e RNase sono proteine se stessi e può mostrare su una mappa 2D.
- L'acqua utilizzata per fare i reagenti devono essere della migliore qualità disponibile. Acqua con una resistività di >5 megaohm-cm è la cosa migliore. Acqua purificata per osmosi inversa o acqua deionizzata è accettabile.

Ricette

IEF Tampone di estrazione del campione per il 2D

1A. Esempio di soluzione tampone Urea

Prepara 25 ml

9,5 M urea, 4% CHAPS

	Concentrazione finale	Quantità
Urea (FW 60,06)	9,5 M	14,26 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
Acqua deionizzata		a 25 ml

Conservare in aliquote da 1 ml a -20 °C o inferiore.

Prima dell'uso, aggiungere 6 mg/ml di DTT per ottenere una composizione finale tampone campione di 40 mM DTT.

Opzionale: anfoliti portanti aggiuntivi, quali SERVALYTS, ad una concentrazione del 2% v/v (20 µl per soluzione tampone campione ml).

-O-

1B. Thiourea + Urea Solution Preparazione del campione

Prepara 25 ml

7 M urea, tiourea 2 M, 4% CHAPS, 40 mM DTT

	Concentrazione finale	Quantità
Urea (FW 60,06)	7 M	10,51 g
Thiourea (FW 76,12)	2 M	3,8 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
Acqua deionizzata		a 25 ml

Conservare in aliquote da 1 ml a -20 °C o inferiore.

Prima dell'uso, aggiungere 6 mg/ml di DTT per ottenere una composizione finale tampone campione di 40 mM DTT.

Opzionale: anfoliti portanti aggiuntivi, quali SERVALYTS, ad una concentrazione del 2% v/v (20 µl per soluzione tampone campione ml).

IPG Strip soluzione di reidratazione

2A. Urea reidratazione soluzione stock

Prepara 50 ml

8 M urea, 2% CHAPS, 0.002% blu di bromofenolo

	Concentrazione finale	Quantità
Urea (FW 60,06)	8 M	24 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Blu di bromofenolo	0,002%	1 mg
Acqua deionizzata		a 50 ml

Conservare in 3 ml aliquote a -20 °C o inferiore. 3 ml è sufficiente per reidratare sei IPG strisce di 24 cm.

Poco prima da utilizzare per la reidratazione IPG strip:

- Aggiungere 0,5–2,0% (v/v) anfoliti portanti (SERVALYTS).
- Aggiungere 9 mg per 3 DTT aliquota ml di soluzione di reidratazione magazzino DTT 20 mM.
- Proteine campione può anche essere aggiunto al 3 ml di soluzione di reidratazione.

2B. Thiourea reidratazione soluzione stock

Prepara 50 ml

7 M urea, 2 M tiourea, 2% CHAPS, 0.002% blu di bromofenolo

	Concentrazione finale	Quantità
Urea (FW 60,06)	7 M	21 g
Thiourea (FW 76,12)	2 M	7,6 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Blu di bromofenolo	0,002%	1 mg
Acqua deionizzata		a 50 ml

Conservare in 3 ml aliquote a -20 °C o inferiore. 3 ml è sufficiente per reidratare sei IPG strisce di 24 cm.

Poco prima da utilizzare per la reidratazione IPG strip:

- Aggiungere 0,5–2,0% (v/v) anfoliti portanti (SERVALYTS).
- Aggiungere 9 mg per 3 DTT aliquota ml di soluzione di reidratazione magazzino DTT 20 mM.
- Proteine campione può anche essere aggiunto al 3 ml di soluzione di reidratazione.

Nota: le strisce IPG devono essere equilibrati poco prima PAGE dimensin secondo. Non equilibrare le strisce IPG prima della conservazione a -20 °C.

3. SDS equilibrazione soluzione tampone

Questa soluzione viene utilizzata dopo IEF, prima e seconda dimensione PAGE. Le strisce IPG vengono immersi in soluzione in eccesso per aumentare il pH del tampone striscia in modo che sia adatta per PAGE, e per rivestire le proteine in SDS uniformemente in modo che la loro migrazione correttamente nel gel seconda dimensione.

Prepara 200 ml
6 M urea, 75 mM Tris-HCl pH 8,8, 29,3% glicerolo, 2% SDS, 0,002% blu di bromofenolo

	Concentrazione finale	Quantità
Urea (FW 60,06)	6 M	72,1 g
1.5M Tris-HCl, pH 8,8 soluzione di riserva	75 mM	10,0 ml
Glicerolo (87% w/w)	29,3% (v/v)	69 ml
SDS (FW 288,38)	2% (w/v)	4,0 g
Blu di bromofenolo	0,002% (w/v)	4 mg
Acqua deionizzata	a 200 ml	

Aliquotare in aliquote da 30 ml e congelare a -20 °C o inferiore.

24 centimetri IPG richiedono 5–10 ml per strip per passo equilibrio. Più brevi strisce possibile utilizzare il volume proporzionalmente meno per passo equilibrio.

Procedura di equilibrazione

- 1 Scongela due aliquote della soluzione di equilibrazione.
- 2 Aggiungere 10 mg/ml DTT ad una soluzione.
- 3 Posizionare le strisce IPG nella reidratazione/equilibrio vassoio.
- 4 Aggiungere 6,5 ml di soluzione per ciascuno slot contenente una striscia di IPG.
- 5 Posizionare il rocker per 10–15 minuti.

Dopo l'equilibrio, scartare la prima soluzione di equilibrio in modo appropriato.

- 6 Aggiungere 25 mg/ml Iodoacetamide (IAA) alla seconda aliquota di soluzione di equilibrazione.
- 7 Aggiungere 6,5 ml di soluzione per ciascuno slot contenente una striscia di IPG.
- 8 Inserire il rocker per 10–15 minuti.

Dopo l'equilibrio, scartare la seconda soluzione di equilibrio in modo appropriato.

Equilibrato seguito, le strisce IPG sono posizionati sulla sommità del gel seconda dimensione, e sigillato in posizione con la sovrapposizione agarosio.

Attenzione! SDS può causare la soluzione a bollire quindi attenzione durante il riscaldamento ed evitare trabocchi.

Agarose Overlay

1% agarosio in 1X tampone di elettroforesi

Prepara 100 ml

1% agarosio, 25 mM Tris, 192 mM glicina, 0,1% SDS

Preparare in un pallone da 500 ml per lasciare spazio per la formazione di schiuma.

	Concentrazione finale	Quantità
Agarosio	1%	1 g
Elettroforesi 10X Buffer (250 mM Tris, 1,92 glicina, 1% SDS)	1X	10 ml
Blu di bromofenolo		3 mg
Acqua deionizzata		a 100 ml

Mescolare delicatamente la sospensione di agarosio.

Riscaldare a bassa potenza in un forno a microonde fino agarosio è completamente disciolto.

Conservare in aliquote da 1,5 ml a 4 °C in tubi di plastica a vite migliori.

Riscaldare aliquote in blocco di riscaldamento.

Appendice C: Riferimenti 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

Numero verde: 1-800-227-4750

Telefono: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

E-mail: support@hoeferinc.com

Web: www.hoeferinc.com

Hoefer è un marchio registrato di
Hoefer, Inc.

Windows ed Excel sono marchi registrati
di Microsoft Corporation.

© 2012 Hoefer, Inc.

Tutti i diritti riservati.

Stampato negli Stati Uniti.

