

# Hoefer IEF100

Unidade de focalização isoeletrica



## Conteúdos

Informações Importantes.....	ii
Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE).....	v
Função e Descrição .....	1
Especificações.....	2
Componentes do Sistema .....	3
Descrições de componentes.....	5
Programação da IEF100.....	10
IEF100 Operação .....	20
Opcionais Conexões de Dados.....	35
Cuidados e Manutenção .....	42
Solução de problemas.....	43
Informações sobre pedidos .....	45
Apêndice A: Protocolos pré-programados .....	46
Apêndice B: Reagentes e Soluções.....	51
Receitas .....	53
Apêndice C: Referências IEF100 .....	57

## 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 controlos de estoque de poder e desconecta os chumbos de poder antes de retirar a tampa de segurança.
- Circulam só água ou 50/50 glicol de água/ethylene pelo exchanger de calor se for assim equiparam. Não ligue o exchanger de calor a uma torneira de água nem qualquer fonte de refrigerante onde a pressão de água é não regulado.
- Nunca introduz anticongelante nem qualquer orgânico solvente em qualquer parte do instrumento. Orgânico solvente causará agressão irreparável à unidade!
- Não opera com temperaturas de buffer acima do máximo especificou especificações técnicas. Superaquecer causará agressão irreparável à unidade!

## Důležitá Informace – Czech

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

## Vigtig Information – Danish

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

måske bruges for drive, funktionsfejl, og betjening dette produkt.

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

## Belangrijke Informatie – Dutch

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

## 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 tunnustettunut testaaminen laboratoriot.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.
- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtiyijyt ennen poistaminen turvallisuuskantta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethylene glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihtinta vesinapautukseen eikä jäähdytysnestelähteeseen, missä vesipaine on unregulated.
- Pakkasneste eikä orgaaninen liuotin välineen osassa ei esitele Koskaan. Orgaaniset liuottimet aiheuttavat korvaamattoman vahingon yksikköön!
- Ei käytä puskuria yllä olevia lämpötiloja enintään määritetyillä teknisillä täsmennyksillä. Ylikuumeneminen aiheuttaa korvaamattoman vahingon yksikköön!

## Information Importante – French

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

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

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

## Wichtige Informationen – German

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

## Informazioni Importanti – Italian

- Se quest'apparecchiatura è usata in un modo specificato da Hoefer, Inc. la protezione fornito dall'apparecchiatura potrebbe essere indebolita.
- Questo strumento è disegnato per l'uso di laboratorio interno solo.
- Solo gli accessori e le parti hanno approvato o hanno fornito da Hoefer, Inc. potrebbe essere usato per operare, per mantenere, e per revisionare questo prodotto.
- usa Solo un alimentatore che è CE ha marcato o la sicurezza certificato da un nazionalmente riconosciuto testando il laboratorio.
- Il coperchio di sicurezza deve essere nel luogo prima di collegare i piombi di alimentatore a un alimentatore.
- Spegne tutto i controlli di alimentatore e disinserisce i piombi di potere prima di togliere il coperchio di sicurezza.
- Circola solo l'acqua o 50/50 glicole di acqua/etilene attraverso lo scambiatore di calore se così equipaggiato. Non collegare lo scambiatore di calore a un rubinetto di acqua o qualunque fonte di refrigerante dove la pressione di acqua è sregolata.

- Non introduce mai l'antigelo o qualunque solvente organico in qualunque parte dello strumento. I solventi organici causeranno il danno irreparabile all'unità!
- Non opera con le temperature di tampone al di sopra del massimo ha specificato le descrizioni tecniche. Il surriscaldamento causerà il danno irreparabile all'unità!

## Viktig Informasjon – Norwegian

- Hvis dette utstyret blir brukt i en måte ikke spesifisert ved Hoefer, Inc. beskyttelsen som ha blitt git av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.
- Sikkerheten lokket må være på plass før forbinding kraftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
- Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyrer. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vanntapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulated.
- Introduserer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemidler vil forårsake irreparabel skade på enheten !
- Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overoppheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

## Wazne Informacje – Polish

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

jednostki!

- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

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

---

## Resíduos de Equipamentos Eléctricos e Electrónicos (REEE)

Português



Este símbolo indica que os resíduos de equipamentos eléctricos e electrónicos não devem ser eliminados como resíduos urbanos indiferenciados e devem ser recolhidos separadamente. Entre em contato com um representante autorizado do fabricante para obter informações sobre o desmantelamento do seu equipamento.

English



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

French



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

German



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

Italian



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

Spanish



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

**Nota:** Os estados da lei de Ohm que a 10 mA de saída está disponível em 1000 V e menos.



**Fig. 1.** O Hoefer IEF100.

## Função e Descrição

O Hoefer IEF100 instrumento focalização isoeétrica é projetado para executar focalização isoeétrica de proteínas em imobilizados de pH gradiente (IPG) tiras. É um sistema integrado com um embutido plataforma temperatura Peltier arrefecida, e um 12.000 V, 10 fonte de alimentação W capaz de fornecer até 10 mA. Há 30 protocolos totalmente editáveis, nove dos quais são pré-programados com protocolos IEF recomendadas. Uma bandeja de execução irá realizar todas as faixas disponíveis atualmente IPG, 3,0-3,5 mm de largura. As tiras IPG são executados lado gel cima, utilizando mechas de eléctrodos para ajudar a remover as impurezas que se acumulam no final dos gradientes de pH. As amostras podem ser carregados nas tiras IPG durante a rehidratação, ou com copos de amostras.

O IEF100 foi totalmente testado e certificado para todos os padrões internacionais aplicáveis.

### Características do IEF100 são:

- Uma bandeja de 6 canais que se concentra:
  - Até 6, 7-24 cm IPG tiras usando o conjunto de eléctrodo único.
  - Até 12, 7 cm IPG tiras usando o acessório eléctrodo duplo (incluídas).
- Carregamento da amostra durante a reidratação ou com copo de amostras.
- Monitora corrente em cada faixa IPG.
- Integrado 12.000 volts da fonte de alimentação DC, com 10 mA capacidade, a capacidade de mais tensão e corrente disponível.
- Um grande azul/branco display LCD de fácil visualização que suporta um display gráfico de tensão e corrente.
- O capacidade de programar, editar e armazenar até 30 protocolos, cada um com 9 etapas.
- O modo de potência constante.
- Um relógio de tempo real, ajustável a fusos horários locais.
- Plataforma de temperatura controlada.
- Ethernet e portas RS232 em apresentar dados ou protocolos de carga.

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

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

## Especificações

Conjunto de eletrodo único comprimento	1-6 tiras IPG	7 a 24 cm de
Capacidade de usar acessório Eletrodo duplo	2-12 tiras IPG	7 cm de comprimento
Saída	Volt Atual Poder	12,000 V 10 mA 10 W
Potência em	100–240 V 50–60 Hz 100 W	
Interface com o usuário	Tela azul/branco de grandes dimensões Botão 7 botões no teclado	
Temperatura plataforma	15–25 °C	
Capacidade de Protocolo	30 programs with 9 steps each	
Entrada/saída portos	Ethernet, RS232	
Dimensão (L × P × A)	38 cm × 27 cm × 19 cm	
Peso	8 kg	
As condições ambientais de operação	Uso interior Humidade até Altitude de até Instalação categoria Grau de poluição	4–40 °C 80% 2000 m II 2
Certificações de produtos	EN61010-1:2001, EN61326:1998, CE, WEEE, RoHS	



---

## Componentes do Sistema

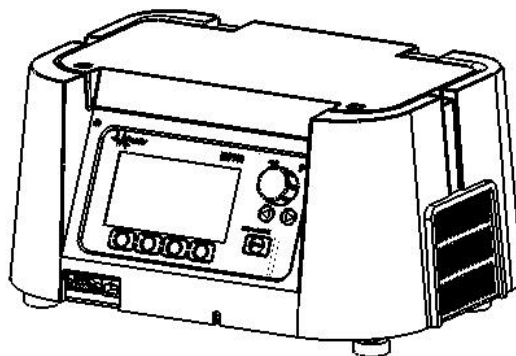
### Desempacotando

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

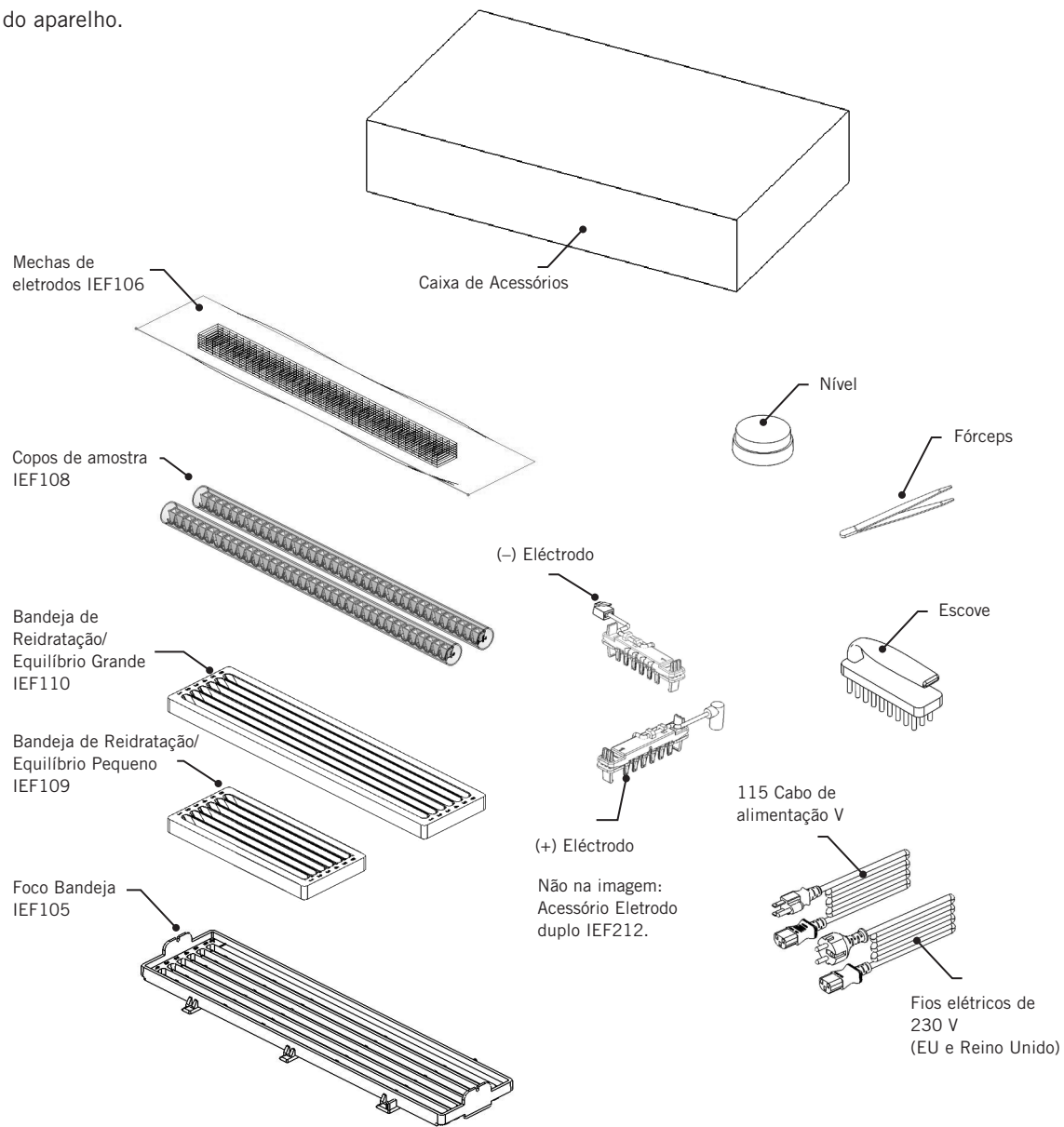
### Obrigatório, mas não fornecidos:

- Gradiente de pH imobilizado (IPG strips).
- Reagentes necessários para preparação da amostra e reidratação tira.
- Óleo Mineral.

**Fig. 2.** A unidade de IEF100.



**Fig. 3.** Componentes do aparelho.



## Descrições de componentes

### Tampa de segurança

A tampa de segurança transparente deve ser fechada, a fim de tensão a ser aplicada aos eléctrodos. Encravamentos são usados para parar a saída de tensão deve ser aberta a tampa durante a electroforese.

### Botão

O botão move o cursor ou altera os valores de um determinado campo. Pressionando o botão para dentro “clique em” alterna entre essas duas funções. Um LED indica que a função é “MOVE”, ativa ou “SET”.

### Horizontais Setas

As setas horizontais são usadas quando definir nomes de protocolo, e os campos de data e hora.

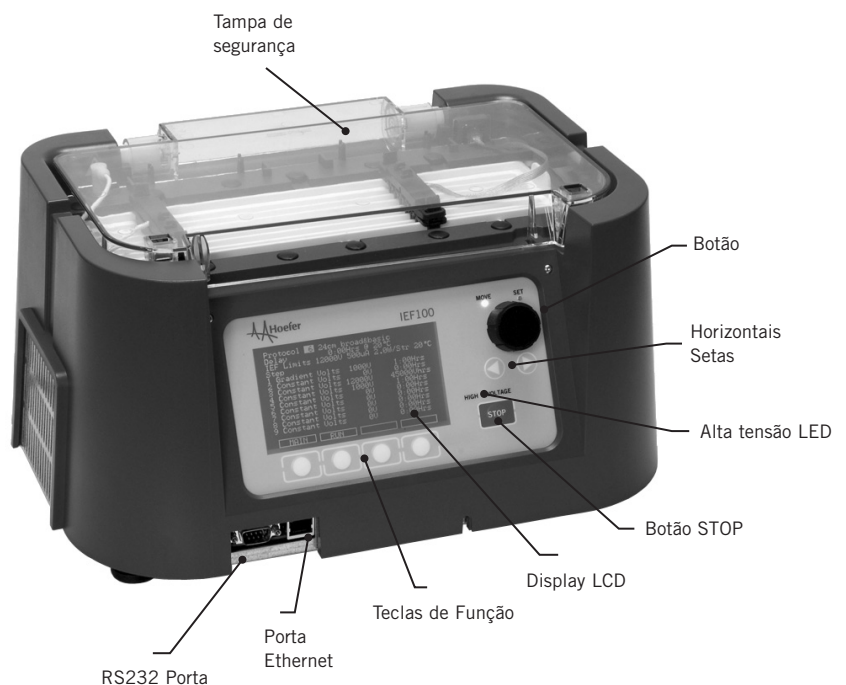
### Indicador LED de alta Volt

Este LED acende quando a tensão está sendo aplicada aos eletrodos.

**Nota:** Rode o botão lentamente para obter o movimento desejado na tela. Girando o botão muito rápido faz com que o cursor a piscar, e ficar no lugar. Se isso acontecer, gire o botão mais lento até que o bom comportamento é observado.

**Nota:** A ação de clique do botão é rapidamente pressione e solte, como um clique do mouse. Não segure o botão de dentro

Fig. 4. Frontal do instrumento.



### STOP botão

Imediatamente pára o IEF, e termina o protocolo.

### Display LCD

O display azul/branco grande simplifica a interface e exibe os resultados do IEF gráficos.

### Teclas de Função

A função destas chaves é mostrado no visor directamente acima da tecla. A função varia de acordo com o ecrã está activa.

### Ethernet Port/RS232 Port

Estas duas portas podem ser usados para transferir dados de IEF a partir dos protocolos de instrumentos e de transferência.

### Fluxo de Ar

Fãs puxar o ar através das aberturas laterais, e soprar ar para fora das aberturas traseiras. O ar esfria os componentes eletrônicos, e ajuda os módulos Peltier manter a temperatura constante.

### Ligação à rede

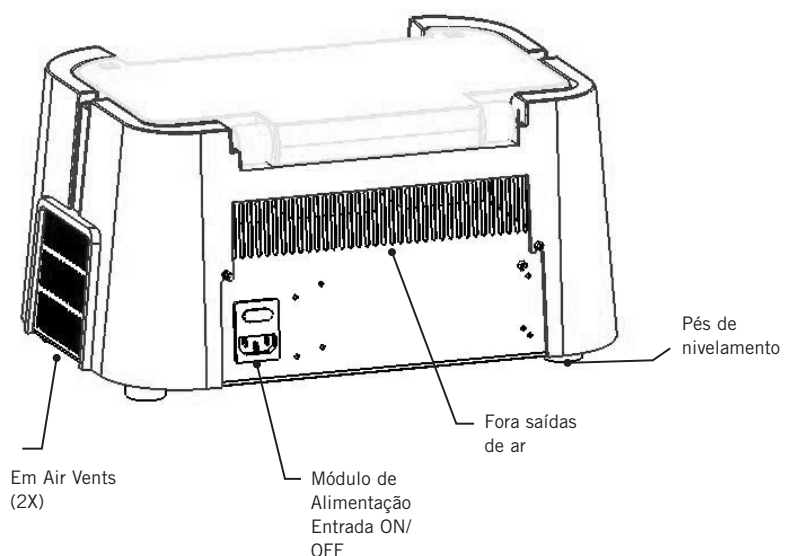
O módulo de entrada de energia opera em todos os volts e as frequências.

### Pés de nivelamento/Nível de Bolha

Os pés de nivelamento eo nível de bolha pode ser usado para nivelar a plataforma IEF. Um instrumento de nível vai ajudar a garantir o óleo cobre completamente as tiras IPG.

Fig. 5. Do painel traseiro.

**Nota:** Os orifícios de ventilação não devem ser bloqueados.



### Focando Bandeja

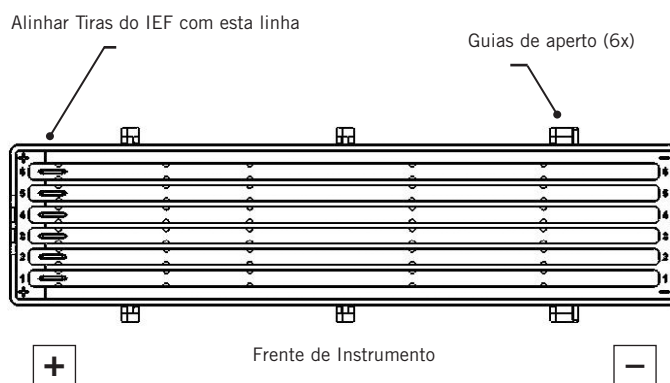
A bandeja de canal 6 concentrando acomoda IPG tiras até 24 cm de comprimento. Pequenos sulcos na bandeja permitir a fácil remoção da tira de IPG após a focagem. Detalhe destas características pode ser visto na página 24.

Os canais no tabuleiro são numeradas de 1-6, de frente para trás do IEF100.

A bandeja se encaixa no instrumento em apenas uma orientação. É fixada no lugar, no lado direito da plataforma, e movido lateralmente para a esquerda, a bandeja de aperto para baixo contra a placa fria. O mecanismo de aperto melhora a transferência de calor para os tabuleiros de plástico.

Existem (+) e (-) marcas sobre a bandeja eo instrumento para ajudar com orientação apropriada.

**Fig. 6.** Início do instrumento.



## Eléctrodos

### Eléctrodo positivo (ânodo)

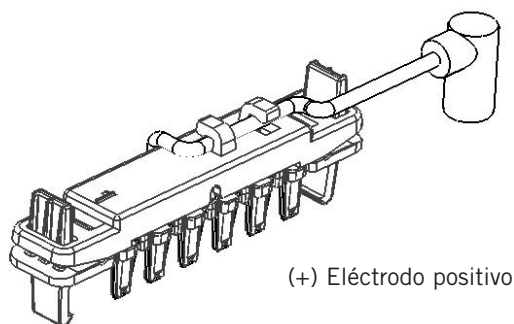
Um conector de volts de alta atribui o eléctrodo(s) positivo (+) ao terminal de alta volt. O ânodo tem um único fio branco e conector, e localiza no lado esquerdo da bandeja.

### Eléctrodo negativo (cátodo)

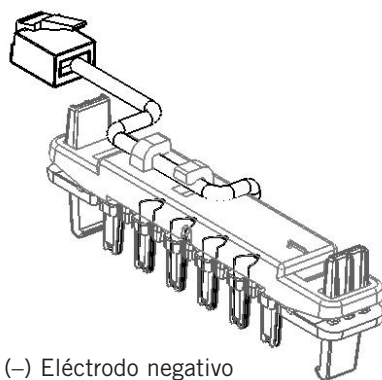
Um arame de seis conector (LAN) atribui o negativo (-) eléctrodo(s) para o terminal de terra, o controlo da corrente em cada pista. Os localiza cátodo no lado direito da bandeja.

Os eléctrodos devem ser colocados no tabuleiro com o número “1” em direcção à frente do tabuleiro, e os eléctrodos de fio de platina de frente para o meio das tiras de IPG.

**Fig. 7.** Eléctrodo positivo (superior), e negativa (abaixo).



(+) Eléctrodo positivo



(-) Eléctrodo negativo

**Nota:** Os eletrodos não fará contato com as tiras de IPG sem os pavios de eletrodos no lugar.

**Nota:** Os copos de amostras pode ser cortada em copos individuais, se desejado.

**Fig. 8.** Copos de amostras.

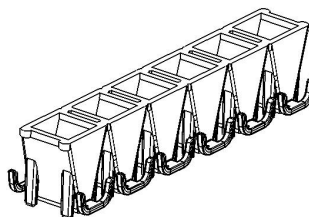
### Mechas de eletrodos

As mechas de eléctrodos são pequenas rectangulares papéis de filtro que são colocados sobre a extremidade das tiras de IPG. Os eléctrodos em contacto com o topo das mechas. As mechas de eléctrodos ajudar a remover as impurezas que se acumulam no final das tiras IPG, e geralmente melhorar o contacto do eléctrodo.

As mechas de eléctrodos de vir em tiras de comprimento, e deve ser cortado em rectângulos individuais em que sejam utilizados. As mechas de eléctrodos têm de ser humedecido por levemente blotting com água antes de usar.

### Copos de amostra

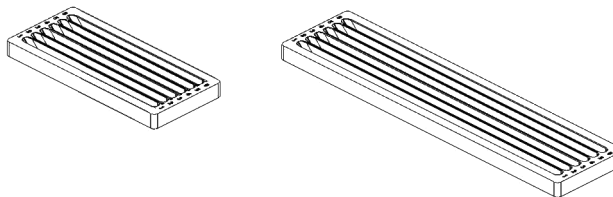
A amostra de proteína carga xícaras para a faixa IPG. Copos da amostra pode conter até 240 µl de amostra. Os copos pode ser aplicado na maioria dos locais ao longo do comprimento da tira de IPG, e são normalmente aplicados no ânodo (+) fim.



### Reidratação/Equilíbrio Bandejas

As bandejas de reidratação/equilíbrio pode ser usado para ambas as funções. As pistas são estreitas o suficiente para a reidratação adequada, mas no fundo o suficiente para manter o volume de reagente necessário para o equilíbrio. Uma pequena bandeja é incluído para uso com 7 cm IPG tiras. A bandeja de grande pode ser usado com IPG tiras até 24 cm de comprimento.

**Fig. 9.** Reidratação/equilíbrio bandejas.



### Escove

A escova de limpeza é utilizado para a limpeza da bandeja de focagem.

### Fórceps

Pinças facilitar o manuseio das tiras IPG.

# Programação da IEF100

## Tela Principal

Quando ligado “ON”, a tela principal é exibida (Fig. 10). A tela principal contém os seguintes campos.

### Data e Hora

A data e a hora são criados no horário padrão do Pacífico. Use o botão “Option” para definir a data e horário de sua localização. (Veja a página de opções de tela 17).

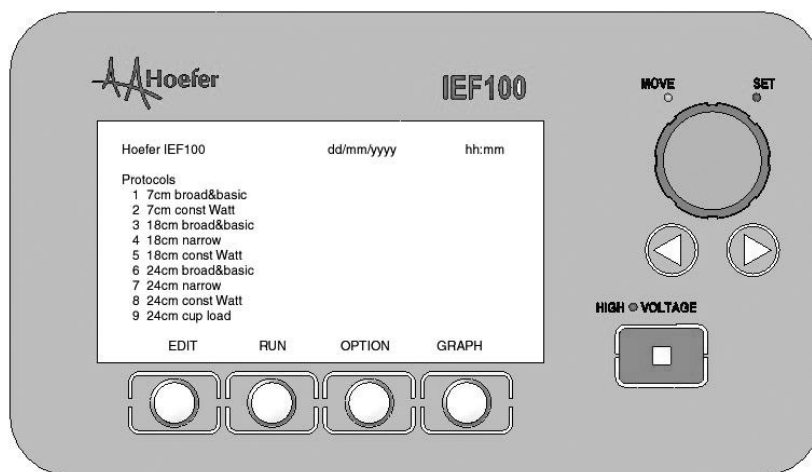
### Lista de 30 protocolos

Os primeiros nove protocolos são mostrados no mostrador. Um dos protocolos está sempre em destaque. Use o botão para percorrer os outros protocolos.

O instrumento é pré-carregado com 9 protocolos para focar 7, 18 ou 24 centímetros do IPG. Essas são as diretrizes gerais para a focagem. Fabricantes de tiras IPG normalmente dão recomendados vezes centradas no total de horas-volt (volts multiplicado por horas). Sobre a focagem pode ser problemático. Ótimas vezes centradas deve ser determinado pelo utilizador final, considerando a tira IPG, o tipo de amostra e de carga da proteína da amostra. Todos os protocolos podem ser substituídos, se desejado.

Para além destes protocolos 9, existem 21 adicionais protocolos não identificadas, sem passos pré-programadas, permitindo que o espaço do utilizador suficiente para criar protocolos personalizados.

Fig. 10. Tela principal.





## Os quatro botões: EDIT, RUN, OPTION, e GRAPH

### EDIT

Edita o protocolo de destaque.

### RUN

Inicia o protocolo de destaque.

### OPTION

Permite o acesso a configurações de porta e a data ea hora.

### GRAPH

Írá exibir as correntes volts e medido graficamente. Use o botão para percorrer a tensão e os perfis de  $\mu\text{A}$  em canais de 1-6. A corrida activa será exibida.

Se não está em execução um protocolo, o botão gráfico irá exibir os dados última corrida.

**Nota:** Os dados última corrida é retida na memória até uma nova execução é iniciado. Uma vez que uma nova corrida é iniciada, os dados de execução últimos já não está disponível.

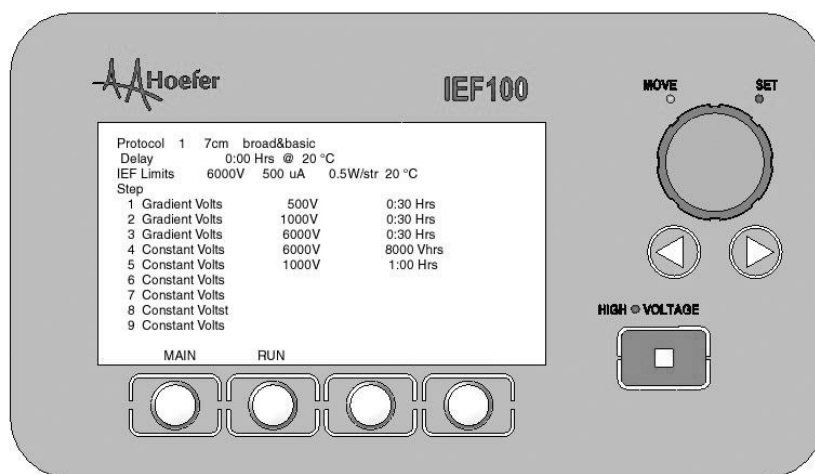
**Nota:** Os gráficos volts e corrente não pode ser impresso diretamente do IEF100. Se a saída de dados é enviada para um computador, os dados podem ser transferidos para um programa tal como Excel para criar o gráfico.

## Tela de Edição Protocolo

No menu principal, use o botão para destacar o protocolo desejado. Pressione o botão abaixo EDIT na tela. O IEF100 irá agora mostrar o Protocolo de Edição tela (Fig. 11).

Todos os parâmetros do IEF são exibidos em uma tela. Cada protocolo pode ser programado com até nove etapas. O protocolo termina com o primeiro passo que tem um tempo de passo de zero.

**Fig. 11.** Editar protocolo tela. Rastrear todos os parâmetros para um protocolo de toda são visíveis em-um.



Use o botão para mover-se entre os seguintes campos editáveis. Uma vez selecionado, clique no botão para alterar o valor do campo.

### Número de protocolo

Clique no botão. O botão vai agora percorrer os 30 protocolos, permitindo uma rápida revisão de cada protocolo.

### Nome Protocolo

Nomes Protocolo pode ter até 16 símbolos alfanuméricos.

Os símbolos a seguir estão disponíveis:

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

Destaque o campo nome do protocolo e clique no botão.

Um cursor fará com que o primeiro personagem a piscar. Gire o botão para percorrer os símbolos acima. Uma vez que o símbolo desejado seja atingido, use as setas horizontais (as teclas diretamente abaixo do botão) para mover o cursor para a próxima posição. Repita até que o nome do protocolo está correto.

O “espaço em branco” é entre a minúscula “n” e “0” símbolos.

A minúscula “m”, “u”, e “n” pode ser usado para designar mili, micro e nano, se desejado.

Quando o nome estiver correto, clique no botão para inserir o nome, e passar para o próximo campo.

### Atrasar

A linha de atraso é um passo opcional. Tanto o tempo e uma temperatura pode ser inserido. Focando terá início após o tempo de atraso tenha decorrido. Isso pode ser útil para corridas noturnas onde o usuário pode querer ter foco final em algum momento específico na manhã seguinte. Os módulos de Peltier irá manter a placa fria à temperatura de conjunto.

**Nota:** Os tempos para o incremento mais próximo minuto pode ser carregado para protocolos de um computador.

Parâmetro	Unidades	Série	Incremente
Time	(hour:min)	0:00 – 99:59	0:15
Temperature	(°C)	15 – 25	1

**Nota:** Recomenda-se não exceder 6000 V ou superior a 0,5 W/strip para um IPG 7 cm. Por favor, siga as instruções do fabricante tira IPG para os limites recomendados.

### Limites do IEF

Máxima volts, corrente por tiras e watt por tira são aplicados ao protocolo. Essas configurações irão substituir os valores nas etapas individuais. Estes limites globais, pode ser usado para evitar certas condições de focagem que causam danos ou problemas com as tiras de IPG.

A temperatura para a focagem é também definido. Uma vez que os pontos isoelétricos de proteínas são dependentes da temperatura, IEF é tipicamente a uma temperatura única, geralmente 20 °C. Não é recomendado o uso de temperaturas inferiores a 20 °C uma vez que pode causar problemas com a cristalização da ureia na tira IPG.

Parâmetro	Unidades	Série	Incrementa maçaneta definíveis	Incrementa computador definíveis
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

## Passos

Para editar qualquer parâmetro passo, gire o botão para destacar o parâmetro. Pressione o botão e gire o botão para definir o valor desejado. Pressione o botão novamente para introduzir o valor e passar para o campo seguinte.

Cada passo tem quatro campos que podem ser editados: o tipo de passo, um passo de valor, um tempo passo, e unidades de passo:

<b>Step Type</b>	Volt Constant, gradiente volts, watts constante.
<b>Step Value</b>	Define o valor máximo de volts ou watt dependendo do tipo de degrau.
<b>Step Time</b>	Tempo em horas ou volt-horas.
<b>Step Units</b>	Horas (horas) ou volt-hora (Vhrs).

### Tipo de etapa e valor do passo

Cada passo pode ser programado em um dos três modos diferentes, volts volts constante, gradiente, ou watts constante.

- Em volt constante, a tensão permanece constante throughout o comprimento do passo.
- Em gradiente volts, a voltagem irá começar no tensão final da etapa anterior e aumento (ou diminuição) linearmente ao longo do tempo para a tensão de entrada no passo actual. Se o primeiro passo do protocolo é um passo de gradiente volts, a voltagem irá aumentar de 0.
- Gradiente volt as etapas de aumentar gradualmente a poder ser aplicada às tiras de IPG, resultando em mais um aquecimento uniforme da tira ao longo do tempo.
- Passos watt constante vai suavizar a geração de calor, tanto quanto possível ao longo do curso da separação IEF. Ainda haverá um aquecimento localizado devido às concentrações de íons diferentes ao longo do comprimento das tiras de IPG.
- Ao usar o passo watt constante, as unidades para o valor do passo de mudar automaticamente para watts.
- Nos passos watt constantes, a IEF100 calcula a resistência, e ajusta a tensão para manter a configuração de watt constante.

**Nota:** Não é recomendado para definir uma série de passos discretos volts. As descontinuidades entre as etapas causar picos no nível de poder que tendem a aumentar as chances de tiras de queima.

**Nota:** Em alguns casos, as configurações volt pode nunca ser alcançado.

**Nota:** Se um passo constante watt é seguido por um passo de gradiente de voltagem, o passo de gradiente de voltagem irá começar a partir de 0, e aumentar linearmente com a tensão conjunto.

**Nota:** Quando alternar entre as unidades de tempo, o IEF100 irá converter entre horas e Vhrs automaticamente. Ela pode ajudar a definir as unidades de passo de tempo (horas ou Vhrs) antes do ponto final numérica é inserido.

## Tempo passo

Passos pode ser programado para funcionar durante um determinado período de tempo, horas (00:00 em horas: minutos), ou para uma quantidade definida de volt-hora, Vhrs (volts multiplicado pelo número de horas). A maioria dos fabricantes de strip IEF recomendo para executar as tiras IPG a um endpoint volt-hora específica.

O pesquisador deve determinar o ponto final para sua amostra específica. O primeiro passo com um valor de 0 entrou no tempo passo é tratado como o final do protocolo.

Step Type	Série	Step Value	
		Incrementa maçaneta definíveis	Incrementa computador definíveis
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:** O instrumento IEF100 monitoriza a corrente e potência em cada tira individual. Se necessário, as condições podem ser ajustadas e/ou tiras problemáticas pode ser removido.

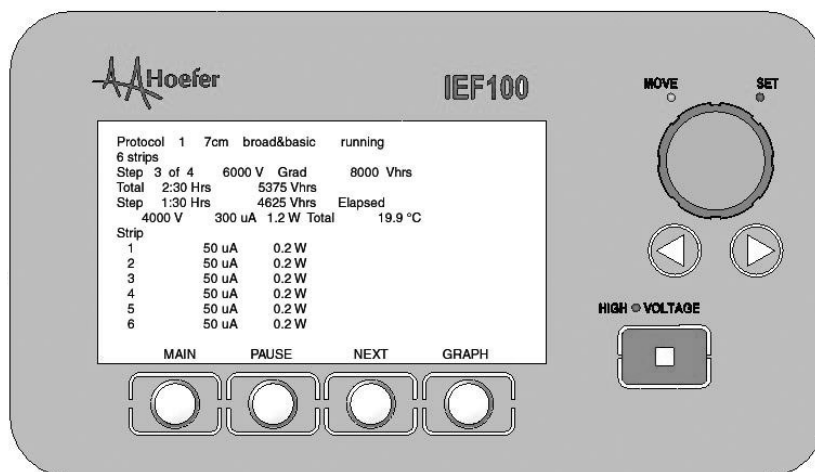
Fig. 12. Executar tela.

**Nota:** O IEF100 também emite um sinal sonoro entre mudanças graduais.

## Executar Tela

A informação sobre a tela de execução é descrito em detalhe na secção de funcionamento IEF.

A tela de gerência não tem campos editáveis. Ela tem as seguintes quatro teclas de função, MAIN, PAUSE, NEXT e GRAPH (Fig. 12).



### MAIN

Permite ao usuário rever e editar todos os protocolos, enquanto o IEF atual ainda está em execução.

### PAUSE

A PAUSE de interrupções de botão a alta tensão para as tiras de IPG, permitindo ao utilizador fazer a interface com segurança com as tiras.

Depois de uma pausa, RUN vai continuar de onde foi interrompido, ou ABORT irá encerrar a execução.

### NEXT

O botão NEXT permite ao usuário pular o resto da etapa ativa, e iniciar o próximo passo no protocolo.

### GRAPH

O botão GRAPH vai exibir os resultados de execução atual graficamente. Use o botão para percorrer o perfil de tensão, e os perfis  $iA$  nos canais de 1-6.

Pressione EXIT para retornar à tela de execução.

No final da corrida o IEF100 emite um sinal sonoro, e desligar a fonte de alimentação de alta tensão. A tela exibe o número do protocolo, a data final e hora, e as condições finais do IEF em cada faixa IPG.

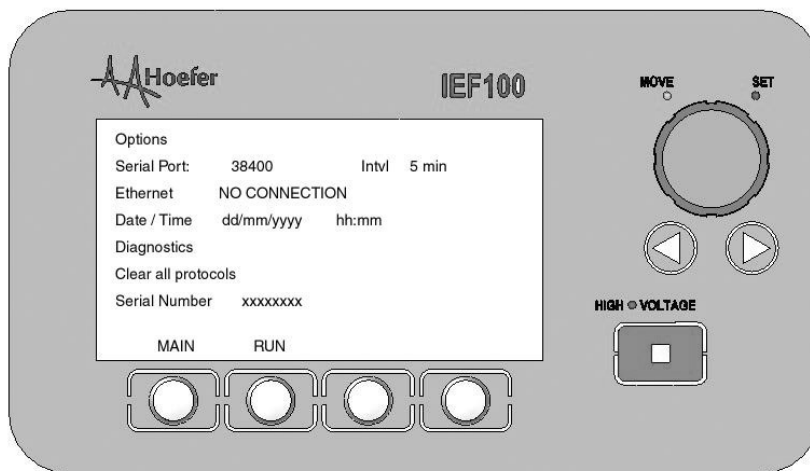
**Nota:** Quando a tela de opções é acessada, o IEF100 irá verificar primeiro para ver se há uma conexão ethernet. O IEF100 é inacessível até que a verificação for concluída (cerca de 10 segundos). As palavras “CHECKING ETHERNET” piscará até que a verificação seja concluída.

**Fig. 13.** Opções de tela.

## Tela de opções

No menu principal, pressionando a tecla “OPTION” chave permitirá o acesso às seguintes opções (Fig. 13).

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



### Serial Port

A porta serial define a velocidade à qual os dados são enviados ou recebidos a partir de um dispositivo externo. A taxa de transmissão pode ser definida como 9600, 38400 ou 57600, com 38400 sendo o padrão. A taxa de transmissão deve coincidir com a taxa de comunicação de dados do dispositivo externo (computador ou impressora com porta serial).

### Intvl

O intervalo de tempo entre os pontos de dados enviados para um dispositivo externo de recepção. O IEF100 internamente registra pontos de dados a cada minuto. Ao baixar os dados, o intervalo entre os pontos de dados pode ser mudada de 1 a 15 minutos. O intervalo padrão é 5 minutos. Para longas, pode ser desejável ter menos pontos de dados e, portanto, usar valores mais elevados para o intervalo.

### Ethernet

A conexão ethernet é determinada automaticamente. “NO CONNECTION” será exibida até que um cabo de ethernet é conectado à porta. Uma vez que uma conexão LAN ativo é estabelecida, o servidor local vai atribuir um endereço IP que será exibido no formato XXX.XXX.XXX.XXX. Este processo geralmente leva cerca de 10 segundos.

## Para definir a data

O campo data é de três campos separados do “DAY/MONTH/YEAR”.

- 1 Use o botão para destacar o campo data. Clique no botão para definir a data.
- 2 Gire o botão para mudar a data. Use as setas horizontais (as teclas diretamente abaixo do botão) para acessar o “MONTH” e “YEAR” campos, se necessário.
- 3 Quando todos os três campos estiverem corretas, pressione o botão para inserir a nova data.

## Para definir o tempo

O campo de tempo é de dois campos separados, “HOUR:MINUTE”. O campo “HOUR” usa o intervalo de 0-24 para denotar a hora do dia.

- 1 Use o botão para destacar o campo tempo. Clique no botão para definir o tempo.
- 2 Gire o botão para mudar a “HOUR”. Use as setas horizontais (as teclas diretamente abaixo do botão) para acessar o campo “MINUTE”, se necessário.
- 3 Quando ambos os campos estão corretos, clique no botão para entrar no novo horário.

## Diagnóstico

- 1 Destaque diagnósticos, e clique no botão. A função da tecla “RUN” aparece na tela. Pressione o botão “RUN” para mostrar uma tela pop-up com três opções:

Run Diags

Manual Vout

Cancel

- 2 Use o botão para selecionar a opção e pressione a função de “OK”.

### Run Diags

O diagnóstico tem a função go IEF100 através de uma série de testes internos para confirmar a função. Os testes incluem a saída de tensão e corrente da fonte de alimentação de alta tensão interna, a EPROM, eo relógio. Se os testes de tudo OK, a mensagem “ALL OK” é exibida rapidamente na tela.

Se um dos testes falhar, entre em contato com o representante da Hoefer, Inc. para organizar o serviço para o instrumento.

### Manual Vout

Pressione OK para mostrar uma tela de execução. Clique no botão para “SET”, modo e a tensão de saída é ajustável em incrementos de 250 V. O funcionamento do manual continuará até que seja parado pelo utilizador, ou até 4 horas.

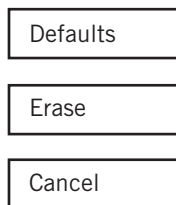
Saindo desta tela retornará ao menu principal.



**Nota:** Não é possível recuperar protocolos programados pelo usuário, uma vez que foram redefinidas, ou apagados.

### Clear All Protocols

Esta opção é usada para substituir os protocolos existentes na memória. Uma tela pop-up mostra três opções:



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'.

- Destacar a opção apropriada e pressione “OK”.
- “DEFAULTS” redefine todos os 30 protocolos para as configurações padrão de fábrica, ou seja, os nove pré-programados e 21 protocolos protocolos vazios.
- “ERASE” apaga todos os dados em todos os 30 protocolos em memória. Protocolos vazios têm limites padrão de 12.000 V, 500  $\mu$ A/strip, 2 W/strip e 20 °C.

### Serial Number

Exibe o número de série do IEF100. Isto não é editável.

# IEF100 Operação

**Nota:** Empurre para dentro maçaneta e solte rapidamente para “clicar”. Não há feedback tátil e sonora. A bem-sucedidas mudanças clique entre “MOVE” e “SET” os modos.

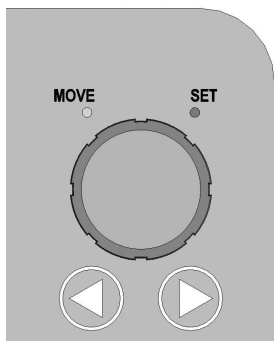


Fig. 14. O botão.



Fig. 15. ON/OFF.

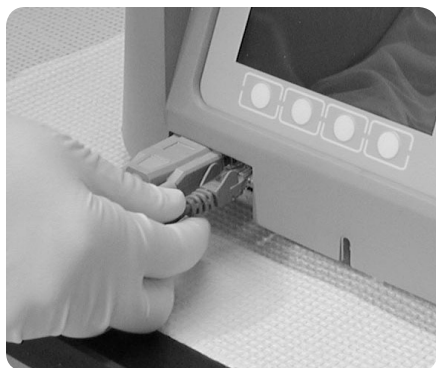


Fig. 16. Conexão Ethernet.

## Usando o botão de

O botão tem duas ações, ele se transforma, e empurra para “clicar” (Fig. 14).

**Turn:** Navega através dos campos, ajusta os valores.

**Clique:** Alterações entre “MOVE” e “set” os modos, conforme indicado pelo LED.

- 1 Em “MOVE”, destacar o campo que você deseja alterar.
- 2 Clique no botão para mudar para “SET” mode.
- 3 Ao rodar o botão será agora ajustar o valor do campo. Quando o valor correto é exibido, clique no botão novamente para introduzir o valor e mudar de volta para modo “Mover”. Girando o botão vai agora avançar para o próximo campo.

## Configuração IEF

- 1 Ligue o IEF100 a uma tomada aterrada usando o cabo de alimentação adequada. Um adaptador pode ser necessário em alguns países. O módulo de entrada de alimentação está ligada ao painel traseiro. O interruptor ON/OFF está localizado no módulo de entrada de alimentação (Fig. 15).
- 2 Permitir para a liberação em torno de instrumento e espaço suficiente acima para permitir a abertura da tampa. As aberturas não devem ser bloqueadas. Não permitir fluidos para introduzir os consumos secundários.
- 3 Lave a bandeja de eletrodo, lavar bem com água deionizada e deixar secar ao ar.
- 4 Cuidadosamente limpas eletrodo de platina pontas dos fios de contato e deixar secar ao ar.
- 5 Quando a unidade estiver inativa por um período de tempo um protetor de tela será exibida para prolongar a vida útil da tela. Pressione qualquer botão para sair do protetor de tela.

## Conexões da Impressora e Computador

Anexar e configurar uma impressora ou um computador antes de se concentrar, eo IEF100 envia automaticamente os dados de saída em tempo real (Fig. 16).

Veja Conexões opcionais de dados, página 35.

---

## Preparar Tiras IPG

Géis de pH imobilizado (IPG) são ultra-finas em géis de poliacrilamida filmes de suporte de plástico. Os géis são feitos com um gradiente de pH ligado covalentemente à matriz de gel. Os géis são estáveis e reprodutíveis. Os géis são fornecidos desidratado e deve ser armazenado a temperaturas de -20 °C ou abaixo.

As tiras IPG tem uma extremidade ácido (+) e um básico final (-). Imagens de gel 2D são tipicamente mostrado com o lado ácido, à esquerda, e que é a orientação das tiras IPG na IEF100. O eléctrodo apropriado deve ser aplicada a cada extremidade: anódica (+) do eléctrodo para o fim ácida (esquerda) eo catódica (-) eléctrodo para o fim de base (direita).

As tiras secas requerem reidratação antes da execução. Tipicamente, vários reagentes diferentes são incluídos na solução de re-hidratação para ajudar a solubilizar as proteínas, e permitir bem sucedidas focalização isoelectrica. Reidratação é tipicamente feito à temperatura ambiente, ou 20 °C, e necessita de um mínimo de 8 horas para uma boa absorção da solução reswelling. É frequentemente mais conveniente para permitir re-hidratação para ocorrer durante a noite. Durante a reidratação, as tiras IPG são cobertos em óleo mineral para evitar a perda de humidade, e evitar a cristalização ureia.

As tiras IPG são re-hidratados utilizando uma das bandejas de reidratação/equilíbrio fornecidos com o IEF100. Amostra de proteína pode ser adicionada à tira IPG neste passo. As tiras IPG são transferidos para o IEF100 para focagem.

**Nota:** O IEF100 é um lugar conveniente para reidratar tiras. A placa de frio vai manter uma temperatura constante, ea tampa irá ajudar a proteger as tiras IPG de pó.

**Nota:** O uso mais do que os volumes recomendados podem contribuir para a perda de proteínas ou resultados IEF borradas.

**Nota:** As soluções de Reidratação tipicamente contêm elevadas concentrações de ureia, que tendem a cristalizar a baixas temperaturas. Por esta razão, a reidratação não deve ser feito em câmaras frias ou em ambientes significativamente mais frias do que 20 °C.

**Nota:** deslizando das tiras no tampão de reidratação irá molhar a todo o comprimento da tira, e ajuda a impedir a colagem. Tiras colocados diretamente contra o fundo de plástico da bandeja de reidratação pode furar, e não hidratar adequadamente.

## Reidratação de tiras IPG

Uma breve discussão sobre os ingredientes de reidratação e sua função está incluída no Apêndice B, juntamente com algumas soluções recomendadas. Os reagentes podem ser personalizados para amostras específicas.

O volume da solução é dependente do comprimento da tira a ser usado. Hoefer recomenda seguir as recomendações do fabricante tira do IPG.

Uma tabela de volumes típicos é incluída abaixo.

Comprimento Faixa (cm)	Volume por Faixa (µl)
7	130
18	340
24	450

Aplicar a solução de re-hidratação em um canal do tabuleiro de reidratação apropriadamente dimensionada em uma linha ligeiramente mais curto em comprimento do que a tira para ser re-hidratados.

Fabricante tira muitos IPG cobrem as tiras com uma tampa protetora. Se houver, retire camada protetora.

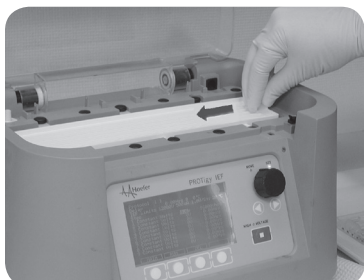
Colocar a tira, com o lado de gel para baixo, para o líquido no canal. Deslize suavemente a tira para trás e para molhar a todo o comprimento do gel IPG com solução de re-hidratação. Às vezes, levantar e baixar a tira IPG pode auxiliar na obtenção do contacto adequado da solução ao longo de todo o comprimento da tira de gel IPG.

Cobrir as tiras com óleo mineral, Hoefer número de ordem GR138-1.

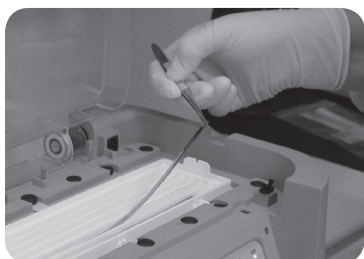
Permitir que a re-hidratação de um mínimo de 8 horas. Melhor reidratação ocorre se permitindo tiras para reidratar durante a noite.



**Fig. 17.** Abra a tampa de segurança.



**Fig. 18.** Deslize a bandeja de foco.



**Fig. 19.** Coloque as tiras de IPG.

**Nota:** Em qualquer um de execução, todas as tiras de IPG deve ser o mesmo comprimento para os eléctrodos para fazer bom contacto.

## Focalização isoeletrica (usando o conjunto de eletrodo único)

**1**

Abra a tampa de segurança, pressionando para baixo sobre o rótulo impulso branco no meio da parte da frente da tampa (Fig. 17).

**2**

Insira a bandeja IEF105 enfocando o lado direito do prato frio. O tabuleiro tem apenas uma orientação. Existem (+) e (–) marcas na bandeja que se alinham com as marcas correspondentes no IEF100.

A bandeja não vai caber corretamente no IEF100 em qualquer outra orientação.

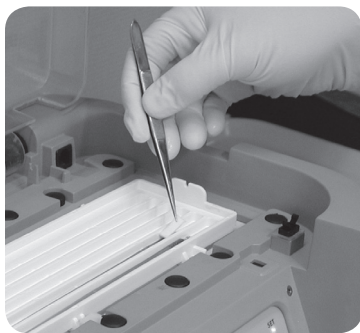
**3**

Deslize a bandeja com foco para a esquerda sob as abas de fixação (Fig. 18). Estas abas melhorar o contacto, ea transferência de calor, entre o tabuleiro ea placa fria.

**4**

Use uma pinça para carregar as tiras IPG reidratados para o lado focando bandeja de gel para cima. O anódica final (+) das tiras deve ser à esquerda, combinando o (+) sobre a bandeja eo IEF100 (Fig. 19).

Os canais de tiras são numerados de modo a que o canal 1 é mais próxima da frente e do canal 6 é a parte de trás do IEF100.



**Fig. 20.** Alinhar tiras.

**Nota:** As mechas de eléctrodos de absorver os iões recolher nas extremidades das tiras IPG, e geralmente melhorar os resultados de IEF.

**Fig. 21.** Bandeja de focagem ampliado.

**5**

Alinhar a extremidade (+) das tiras com a marca de alinhamento na bandeja (Fig. 20).

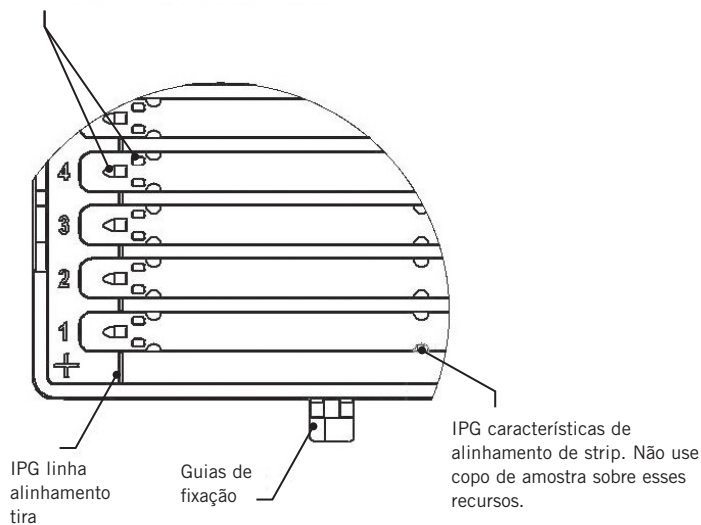
Isso ajudará de duas formas. Primeiro, as abas de fixação não irá interferir com o posicionamento dos eléctrodos. Em segundo lugar, há ranhuras pequenas no fundo dos canais para a pinça para remover tiras IPG após IEF.

**6**

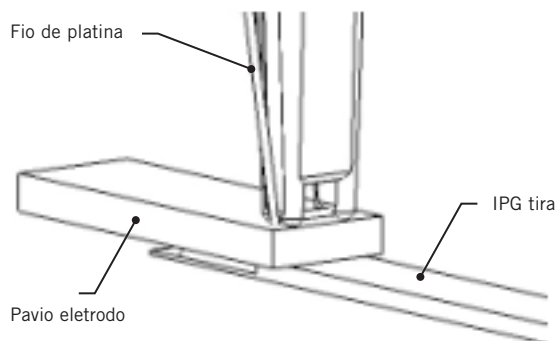
Aplicar mechas de eléctrodos no topo de cada uma das extremidades das tiras IPG, sobrepondo-se o gel por 2-a 3 mm, e estendendo fora da extremidade da tira de IPG.

- Os pavios de eletrodo são fornecidos em longas tiras perfuradas. Use a tesoura para cortar o número desejado de mechas.
- Umedeça os pavios IEF com água e seque delicadamente fora de todo o excesso de água.

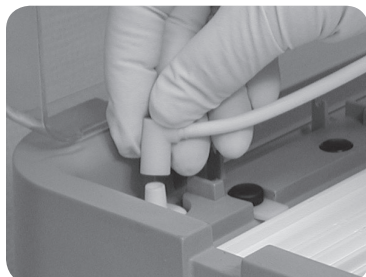
Ranhuras para fórceps para remover tiras IPG



**Fig. 22.** Pavio colocação.



**Nota:** Os eletrodos não fará contato com as tiras de IPG sem o pavio eletrodo no lugar.



**Fig. 23.** Ligue (+) do eletrodo.



**Fig. 24.** Bloqueio (+) eletrodo no lugar.

**7**

Ligue o eléctrodo de (+) para o terminal (+) (Fig. 23).

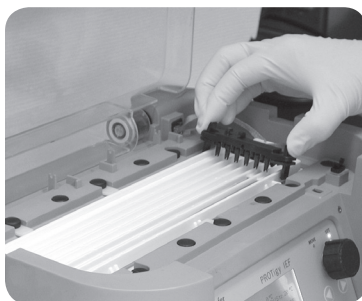
**8**

Coloque o eléctrodo (+) no topo das mechas de eléctrodos de modo a que o fio de platina é centrado na área de sobreposição entre as mechas ea tira IPG (Fig. 24).

O eletrodo deve levemente encaixado.



**Fig. 25.** Ligue (-) eletrodo.



**Fig. 26.** Bloqueio (-) eletrodo no lugar.



**Fig. 27.** Cubra com óleo mineral.

**9**

Conecte o (-) eletrodo para o (-) terminal (Fig. 25).

**1**

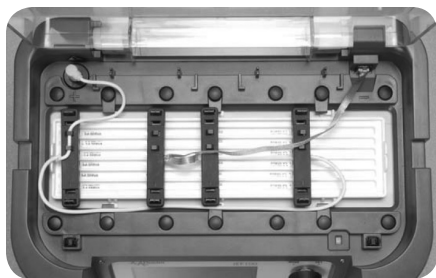
Coloque a (-) eléctrodo em cima das mechas de eléctrodos de modo a que o fio de platina é centrado na área de sobreposição entre as mechas ea tira IPG (Fig. 26).

O eletrodo deve levemente encaixado.

**11**

Cubra as tiras e os canais vazios com 60 ml de óleo mineral. Usar menos óleo correrá o risco de que as tiras IPG não será totalmente coberto e pode secar durante a execução (Fig. 27).





**Fig. 28.** IEF100 configurar usando o acessório Eletrodo duplo.

## Focalização isoelétrica (usando o acessório Eletrodo duplo)

O Acessório Eletrodo duplo aumenta a capacidade IEF100 Hoefer, permitindo que até 12, 7 cm tiras IPG para ser executado simultaneamente. Isto é conseguido através da execução até seis pares de tiras IPG em paralelo. Cada um dos seis canais irá relatar a soma da corrente e potência das tiras de pares, portanto, os limites atuais e potência deve ser fixado em duas vezes o valor normal utilizado durante a execução tiras individuais e, como sempre, as tiras de IPG sendo executados simultaneamente deve ser do mesmo pH e condutividade.

**1**

Abrir a tampa de segurança, pressionando para baixo sobre o rótulo empurrão no meio da parte da frente da tampa.

**2**

Insira a bandeja IEF105 enfocando o lado direito do prato frio. O tabuleiro tem apenas uma orientação. Existem (+) e (–) marcas na bandeja que se alinham com as marcas correspondentes no IEF100.

A bandeja não vai caber corretamente no IEF100 em qualquer outra orientação.

**3**

Deslize a bandeja com foco para a esquerda sob as abas de fixação. Estas abas melhorar o contacto, ea transferência de calor, entre o tabuleiro ea placa fria.

**4**

Utilize uma pinça para carregar os rehidratadas 7 cm IPG tiras dentro da bandeja de focagem com o lado de gel das tiras voltados para cima.

**5**

O primeiro conjunto de tiras de IPG deve ser carregado no lado esquerdo da bandeja com o anódica (+) final das tiras da esquerda que combinam com o (+) sobre a bandeja eo IEF100.

**6**

O segundo conjunto de tiras de IPG são carregados para a direita do primeiro conjunto na orientação oposta, com o fim anódica (+) das tiras que combinam com o (-) sobre a bandeja eo IEF100. A extremidade catódica (-) do conjunto de cada uma das tiras devem ser frente para o outro no centro do tabuleiro de focagem, aproximadamente 4 cm de distância (Fig. 29).

**7**

Paralelas tiras IPG deve ser alinhada tão perto quanto possível, utilizando o (+) ou (-) impressa sobre a tira de guia de alinhamento.

**8**

Aplicar mechas de eléctrodos no topo de cada uma das extremidades das tiras IPG, sobrepondo-se o gel por 2-3 mm, e estendendo fora da extremidade da tira de IPG.

- Os pavios de eletrodo são fornecidos em longas tiras perfuradas. Use a tesoura para cortar o número desejado de mechas.
- Umedeça os pavios IEF com água e seque delicadamente fora de todo o excesso de água.

**9**

Ligar os eléctrodos de ânodo (+) para o terminal positivo (+) no lado esquerdo da IEF100.

**1**

Os eléctrodos de ânodo são colocados em cada extremidade da bandeja de focagem, do lado esquerdo do primeiro conjunto de tiras de IPG eo lado direito do segundo conjunto de tiras de IPG. Os eléctrodos deve ser centrado no topo da zona onde as sobreposições de pavo gel da tira IPG.

**11**

Ligar os eléctrodos de cátodo (-) para o negativo terminal (-) no lado direito da IEF100.

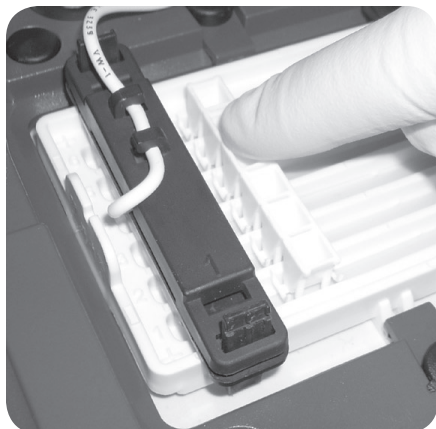
**12**

Os eléctrodos de cátodo são colocados no centro do tabuleiro de focagem, no lado direito do primeiro conjunto de tiras de IPG e do lado esquerdo do segundo conjunto de tiras de IPG. Os eléctrodos deve ser centrado no topo da zona onde as sobreposições de pavo gel da tira IPG.

**Fig. 29.** IPG colocação tira.



**Nota:** Há pequenas características semicirculares na parte inferior dos canais de bandeja que ajudam a alinhar a tira IPG no meio da faixa de rodagem. As pernas do copo de amostra não deve acertar esses recursos, ou então o copo de amostra vai vazar. Veja a Fig. 21 na página 24.



**Fig. 30.** Coloque os copos de amostras.



**Fig. 31.** Aplicar a amostra.



**Fig. 32.** Fechar a tampa de segurança.

## Copos de amostra

Copos de exemplo pode ser usada para aplicar a amostra de proteína IPG tiras se não foi incluído no tampão de re-hidratação. Os copos de exemplo são fornecidas em tiras de seis xícaras. Os copos de amostras podem ser usados todos juntos, ou cortado e usado separadamente.

**1**

Pressione os copos de amostras para baixo na parte superior das tiras de IPG. Os copos de amostras deve parar no fundo do canal e sobre as tiras de vedação IPG (Fig. 30).

Em geral, o carregamento mais copo é feito na extremidade anódica da tira IPG. Cada amostra é diferente. Em algumas situações, as amostras podem concentrar-se melhor carregado em outro lugar na tira. Isto só pode ser determinada experimentalmente para diferentes tipos de amostras.

**2**

Até 240  $\mu$ l de amostra pode ser aplicada aos copos de amostras (Fig. 31).

**3**

Uma vez carregado, confirme as configurações de protocolo.

**4**

Fechar a tampa (Fig. 32).

**Nota:** Os limites globais do protocolo de strip/corrente e watt/strip não funcionará corretamente sem entrar o número adequado de canais contendo tiras.

**Nota:** As IEF100 monitora a corrente e watt em cada canal. Se necessário, as condições podem ser ajustadas e/ou tiras problemáticos pode ser removido a partir da execução.

## Iniciar IEF

1

Realce o protocolo desejado, e pressione “RUN”.

2

Confirme o número de canais com foco bandeja contendo tiras de IPG. Use o botão para alterar o valor.

3

Pressione o botão “RUN” novamente para iniciar o IEF.

4

O IEF100 emite um sinal sonoro para indicar o início de uma corrida. A alta voltagem LED acenderá, e “RUNNING” ficará piscando no canto superior direito da tela.

A tela de execução irá exibir as condições de execução atual.

**Nota:** O IEF100 só pode controlar as condições de um canal de bandeja focagem de cada vez. Os IEF100 limites do canal com a maior corrente, ou watts. Tiras IPG preparados em condições idênticas mostrará variações devido a diferenças geométricas no gel IPG e as diferenças de contacto sob os eletrodos. IPG tiras com amostras diferentes podem mostrar grandes diferenças na devido corrente e potência para condutividades diferentes das amostras.

## Executar Tela

A tela de execução exibe todas as informações sobre a execução atual (Fig. 33). Não existem campos editáveis. A informação sobre a tela de execução é descrito abaixo.

### Linha 1

O número do protocolo eo nome são mostrados. O canto superior direito indica o estado de execução como qualquer corrida (piscando), fez uma pausa ou concluído.

### Linha 2

Exibe o número de tiras IPG sendo focalizada (ou número de canais se estiver usando o acessório Eletrodo Dual).

### Linha 3

Descreve o passo activa; o número passo, o valor do passo (volt ou watt/tira) eo ponto final passo (Hrs ou Vhrs).

### Linha 4

Exibe o tempo total eo total de volt-hora de focar até o momento.

### Linha 5

Exibe o tempo total decorrido e total volt-hora da etapa ativa.

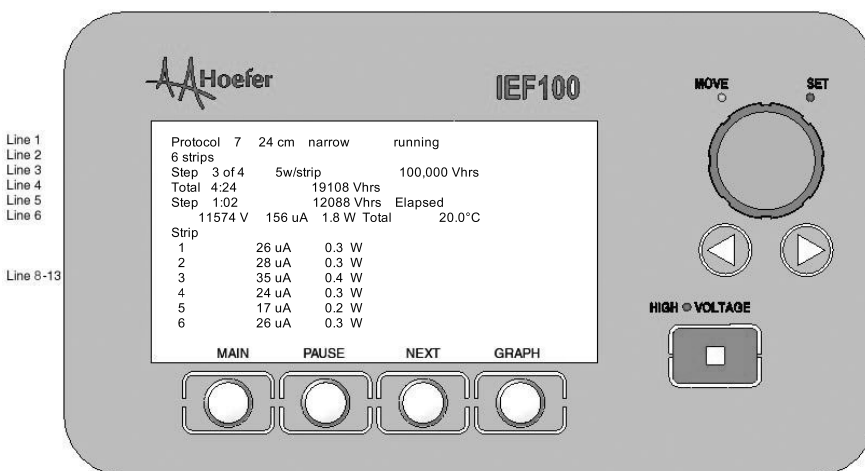
### Linha 6

Apresenta as condições de tempo real de saída de todas as tiras, incluindo os volts corrente, a corrente total, o total de watts ea temperatura da placa-forma.

### Linha 8-13

Apresentar o atual tira individuais e watts.

**Fig. 33.** Executar tela.



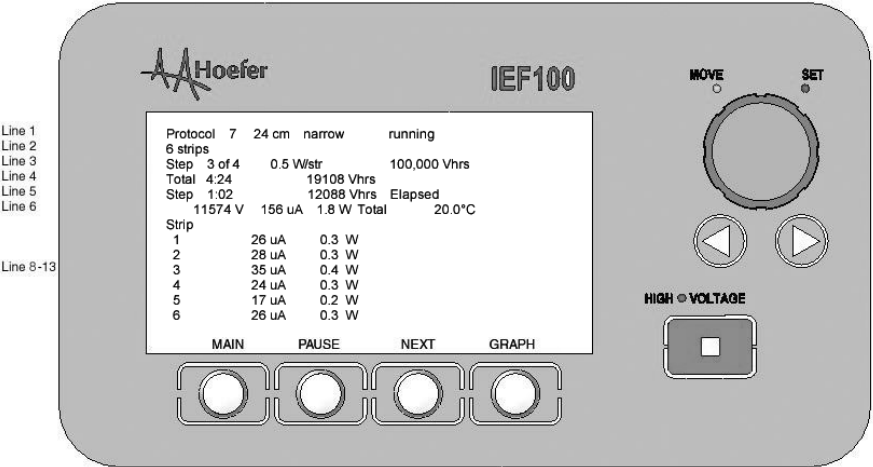
No exemplo abaixo de 6 tiras IPG estão a ser focada acordo com o protocolo 7, um máximo de 0,5 W/tira e 100.000 extremidade volt-hora (Fig. 34).

O protocolo é no terceiro passo. O protocolo foi executado por 4 horas e 24 minutos, ou 19.108 volts horas. Actualmente, o protocolo é de 1 hora e 2 minutos e 12.088 volt-hora, o passo 3.

A fonte de alimentação interna está fornecendo 11.574 volts, um total de 156 µA e 1,8 watts em seis tiras IPG.

Durante uma tiras de execução diferentes podem controlar a tensão total como a resistência das mudanças tiras durante a execução.

Fig. 34. Executar tela.



**Nota:** Sal extra na amostra tende para achatar os gráficos (horizontalmente) e levar mais tempo para a amostra de se concentrar.

**Nota:** Se houver problemas com queima de tiras IPG, defina o limite de corrente a 50  $\mu\text{A}/\text{strip}$  para garantir condições seguras de foco para a separação inteiro.

**Nota:** O volts e  $\mu\text{A}$  são escalados e gráficos automaticamente.

## Típicas Focalização isoeletrica

O primeiro passo é tipicamente ajustado para baixa tensão para limitar a corrente e deixar que os íões de se deslocar para a extremidade das tiras IPG sem correntes excessivas. Se o carregamento da amostra com um copo de amostra, um passo adicional lenta pode ser adicionado para permitir que a amostra de introduzir a tira IPG sob condições suaves.

Nos passos intermediários, as rampas de voltagem para cima para um patamar, e este é o local onde a maior parte do foco ocorre. A corrente diminui para baixo para um valor mínimo. Os gráficos abaixo mostram volt típico e perfis  $\mu\text{A}$  (Fig.ura 35).

Um passo final foi adicionado para os protocolos de pré-programadas para segurar o volt a 1000 V durante uma hora. Isto irá manter as bandas focados na IEF100 até que o próximo passo. Prolongar a duração desta etapa, conforme necessário.

**Fig. 35.** Volts típicos e perfis  $\mu\text{A}$ .

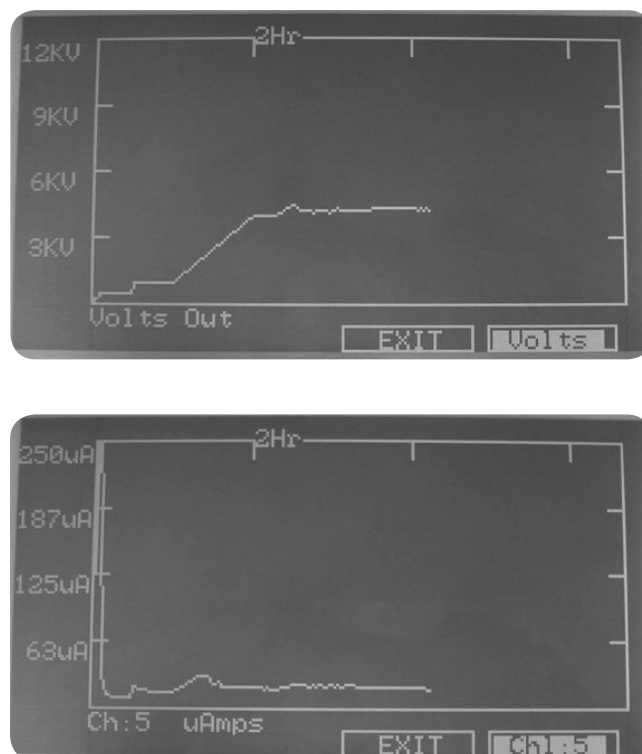
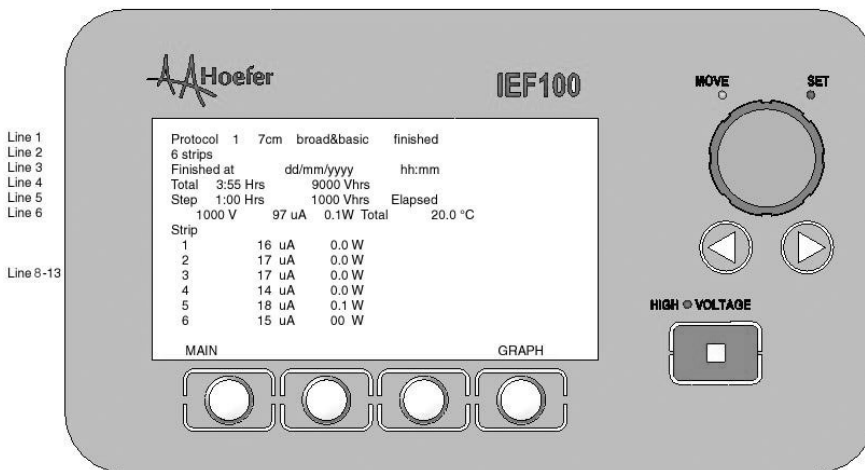


Fig. 36. Acabar com tela de execução.



Quando o foco é completo, o IEF100 emite um sinal sonoro, e uma tela de fim será exibida (Fig.ura 36).

#### Linha 1

O número do protocolo e nome. A palavra “FINISHED” é exibido no canto superior direito.

#### Linha 2

O número de tiras de executar (ou número de canais se usando o acessório Eletrodo Dual).

#### Linha 3

A data ea hora que o foco encerrado.

#### Linha 4

O tempo total e volt-hora de se concentrar.

#### Linha 5

O último passo do tempo e volt horas.

#### Linha 6

Os volts, ea corrente total e watts de todas as tiras IPG no final da execução.

#### Linha 8-13

As condições em cada tira, no final da execução.

**Nota:** Sempre que um novo IEF é iniciado, os dados do IEF anteriores serão perdidos.

**Nota:** Não equilibrar as tiras IPG antes de armazenar a -20 °C.

Os resultados podem ser visualizados graficamente, empurrando a função “GRAPH”. Os dados serão retidos na memória até uma nova execução é iniciado.

Neste ponto, as tiras IPG pode ser armazenada a -20 °C.

Ou, se a segunda dimensão é de proceder imediatamente, o tampão tem de ser trocado em um processo de equilíbrio de dois passos antes PAGE segunda dimensão.



## Opcionais Conexões de Dados

### Ligação da Impressora Serial

Use a porta RS232 para conectar diretamente a uma impressora serial. A impressora eo cabo não são fornecidos. A impressora serial deve ter as seguintes configurações.

Baud Rate	9600, 38400 ou 57600 (deve coincidir com IEF100 taxa de transmissão)
Data Bits	8
Parity	None
Stop Bit	1
Flow Control	None

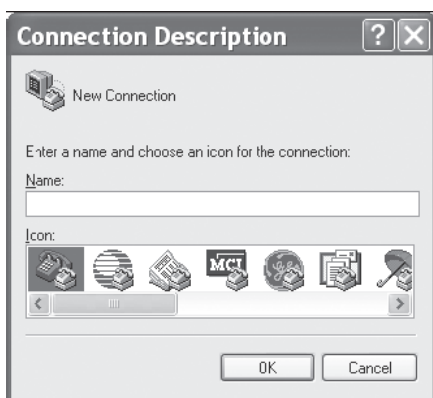
A seção seguinte descreve a conexão serial do computador ou uma conexão ethernet para o IEF100.

### Conexão HyperTerminal

O HyperTerminal é um programa do Windows™, que pode se comunicar com dispositivos externos. Ao estabelecer uma conexão entre um computador eo IEF100, o usuário pode:

- Os protocolos de importação e exportação a partir da IEF100.
- Captura de dados de saída do IEF100.
- Controlar o IEF100.

A descrição e as telas abaixo são telas HyperTerminal. Outros programas de emulador de terminal também irá trabalhar usando as mesmas configurações.



**Fig. 37.** Atribuir nome para as novas conexões.

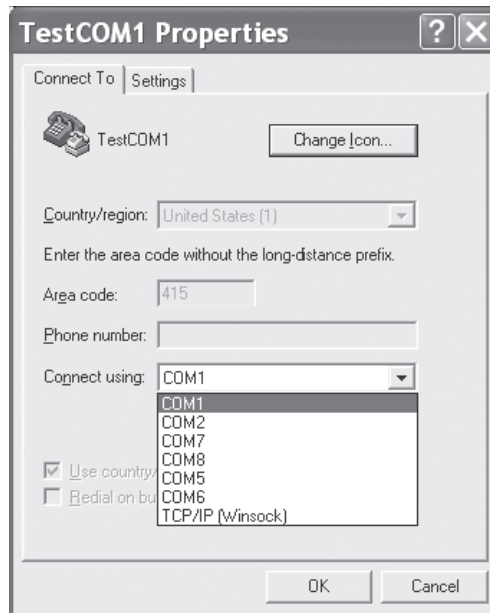
### Configurando a porta de comunicação

- 1 Inicie o HyperTerminal no Windows.
- 2 Clique em Windows "START" de comando.
- 3 Inicie Todos os Programas-Accessories-Communications-HyperTerminal.
- 4 Atribua um nome para a nova conexão (Fig. 37).

## Configuração da Porta Serial

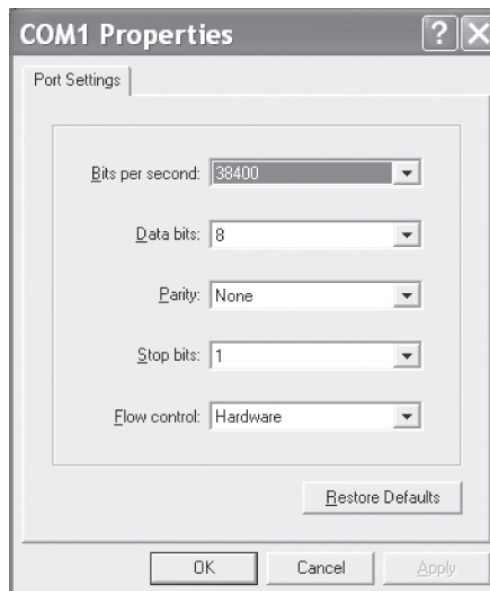
- 1 Selecione uma COM Port (Fig. 38). Esta é a porta do computador para se comunicar diretamente com o IEF100. Escolha TCP/IP se conectar através da conexão ethernet.

Fig. 38. Selecione uma COM Port.



- 2 Defina a taxa de baud para a mesma os dados IEF100, 9600, 38400 or 57600 ou 8 data bits, no parity, 1 stop bit, hardware flow control (Fig. 39).

Fig. 39. Definir o baud rate.



## TCP/IP Connection usando a porta Ethernet

Use o IEF100 porta ethernet para se conectar a uma rede de área local (LAN).

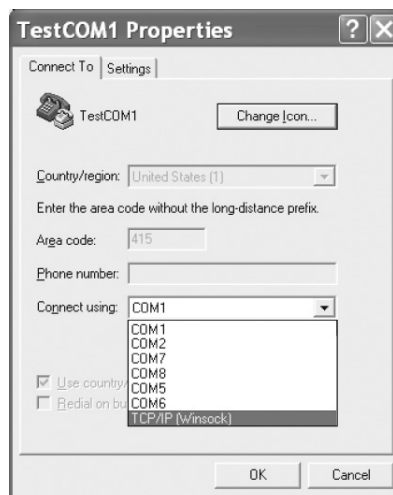
Conecte um cabo ethernet ao vivo na porta. A LAN vai atribuir automaticamente um endereço de internet para o IEF100. O endereço internet é mostrado na tela de opções IEF100.

### Ethernet Port Configuration

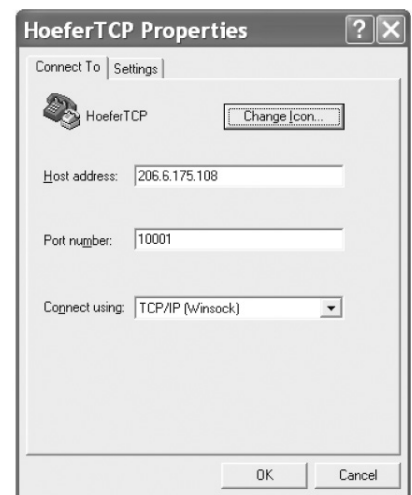
- 1 Na tela propriedades HyperTerminal, selecione a opção TCP/IP (Winsock) na porta de comunicação propriedades janelas (Fig. 40).
- 2 Imprensa "OPTION" na tela principal do IEF100. O servidor local deve atribuir automaticamente um endereço de internet no formato XXX.XXX.XXX.XXX.

Digite o endereço IP para o IEF100 no "HOST ADDRESS" linha no formato XXX.XXX.XXX.XXX (Fig. 41).

- 3 Defina o "PORT NUMBER" para 10001 (Fig. 41).



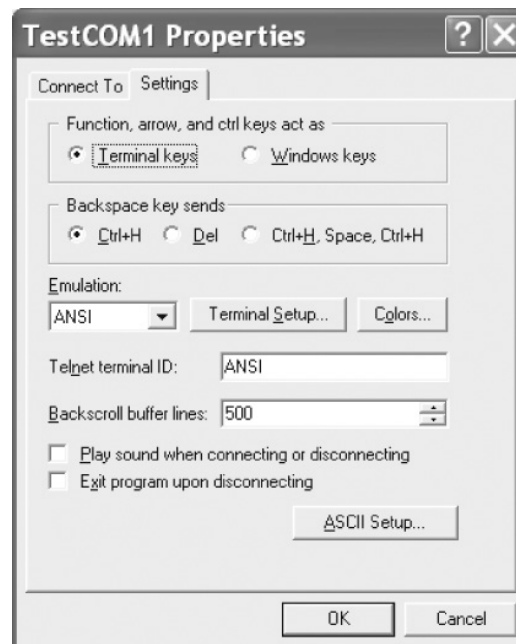
**Fig. 40.** Selecione a opção TCP/IP.



**Fig. 41.** Digite o endereço IP eo número da porta.

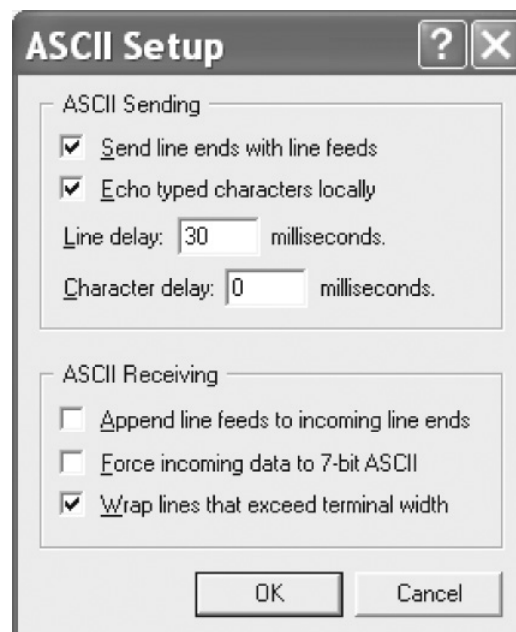
- 4 Clique na guia “Settings” e “ASCII Setup” (Fig.ura 42).

Fig. 42.



- 5 Na seção “ASCII setup section”, marque as caixas “Send line ends with line feeds” “Echo typed characters locally” (Fig. 43).
- 6 Defina o “Line delay to 30 milliseconds”
- 7 Defina o “Character delay to 0 milliseconds”
- 8 Na seção “ASCII receiving section”, marque a caixa “Wrap lines that exceed terminal width”

Fig. 43.



**Nota:** Os dados do IEF100 é uma série de campos de texto separados por vírgula. Um método para transferir dados para outros programas é usar o “Windows clipboard” para copiar e colar os dados.

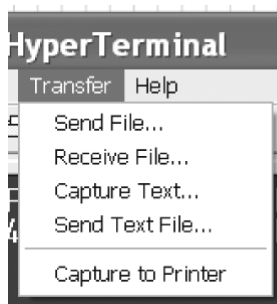


Fig. 44.

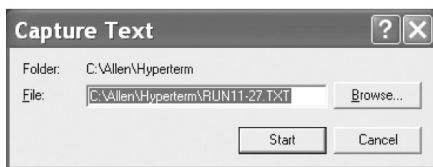


Fig. 45.

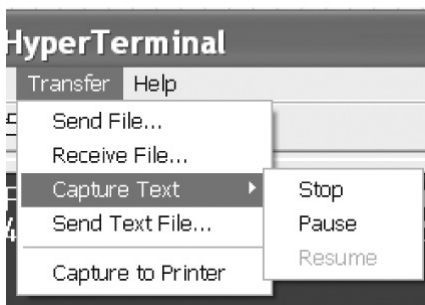


Fig. 46.

**Nota:** Copiar e colar os dados, por padrão, colocar todos os dados em uma coluna em uma planilha do Excel. Use o menu do Excel “Data/Text to columns command”, definir o delimitador como vírgulas, e os dados serão classificados em colunas para gráficos.

## Captura de Dados IEF100

- 1 Certifique-se de uma boa conexão entre HyperTerminal ea IEF100.
- 2 Abra HyperTerminal. Tipo “AT” e pressione “ENTER”. “OK” deverá aparecer na janela HyperTerminal.
- 3 Há duas maneiras de baixar dados da IEF100. Os dados podem ser coletados em tempo real, ou enviado como um arquivo de log de dados após a focagem.

### Colete em Tempo Real

- 1 Com o programa HyperTerminal abrir, use os menus para acessar HyperTerminal “Transfer/Capture” texto (Fig.ura 44).
- 2 Nomeie o arquivo e diretório que irá coletar os dados. Use o botão “Browse”, se necessário (Fig. 45).

Os dados do IEF100 é enviado automaticamente para as portas de saída a cada 5 minutos. Depois de uma corrida é iniciada, os dados serão automaticamente começam a aparecer na janela HyperTerminal.
- 3 Depois de se concentrar, para interromper a captura de dados, usar os menus “Transfer/Capture Text/Stop” ou “Pause” (Fig. 46).
- 4 Os dados são armazenados no arquivo chamado.

### Transferência de dados de log após IEF

- 1 Digite “XDATALOG” em uma janela ativa HyperTerminal.
- 2 Os dados a partir da última execução será transferida para a janela HyperTerminal.

---

## Comandos HyperTerminal

O programa HyperTerminal comunica com o IEF100 através da transmissão de uma linha de dados de cada vez.

Várias linhas podem ser digitados e enviados em conjunto. Digite cada linha perfeitamente da primeira vez, e pressione enter, para o comando a ser carregado com êxito para o IEF100. Todos os comandos são case sensitive. Corrigindo erros de digitação em uma linha de dados usando o backspace e apagar chaves não irá resultar em uma comunicação bem sucedida.

O primeiro comando para digitar no HyperTerminal deve ser “AT” e entrar. Uma boa conexão é verificada com a palavra “OK”, voltando na janela HyperTerminal.

Exemplos de protocolos são dadas no final do Apêndice A. Estes podem ser cortadas e coladas para ajudar com a formatação de linha.

Um subconjunto de comandos úteis do HyperTerminal são dadas na página seguinte.

## Subconjunto de comandos do HyperTerminal

Comando	Comando Descrição	Expandir Descrição	Resultado de Comando	Formato do Comando
AT	Verifique a conexão	Verifique se a conexão entre o HyperTerminal e IEF100 é bom e configurado corretamente.	“OK” volta com uma boa conexão.	AT
XDATALOG	Transfira dados	Transferir dados da memória IEF100 para HyperTerminal.	Dados log aparece em HyperTerminal.	XDATALOG
	Formato de dados de saída 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>Onde μAC1 é a corrente em microampères no canal 1.</i>		
IPROT	Protocolo de importação	Importar e substitui um dos slots de protocolo 30: transferências protocolo de computador para IEF100.	Uploads protocolo em IEF100 memória.	2 formatos de linha dependendo do tipo de passo.
	Formato dos dados de entrada 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,#	Exportação protocolo	Cópias número do protocolo de # IEF100 para HyperTerminal.	Protocolo aparece na janela HyperTerminal.	EPROT,# (# é 1–30)
EPROT,	Exportar todos os protocolos	Copia todos os 30 protocolos de IEF100 para HyperTerminal.	Protocolo aparece na janela HyperTerminal.	EPROT,
PrnRate,#	Dados configuração do intervalo	Alterações intervalo entre os pontos de dados (1–15 minutos).	INTVL em IEF100 atualizará.	PrnRate,# (# é 1–15)
Start,#1,#2	Iniciar protocolo	Inicia protocolo #1 #2 com tiras IPG.	IEF100 vai começar a se concentrar.	Start,#1,#2 (#1 é 1–30) (#2 é 1–6)
Start	Currículos protocolo	Reinicia um protocolo em um estado de pausa.	IEF100 continuará focando.	START
Stop	Pare de protocolo	Pára um protocolo em andamento.	IEF100 terminará com foco.	STOP
Pause	Protocolo de pausa	Pausa um protocolo em andamento.	IEF100 fará uma pausa para focar.	PAUSE
Report		Envia o status atual.	Envia os dados de execução atual, se concentrando ativamente, envia os dados de execução atual, se estiver em pausa, envia uma “PAUSE” da mensagem, se não funcionar, imprime “IDLE”.	REPORT
ID?		Envia o número de série.	Transfere IEF100 número de série para o computador.	ID?

---

## Cuidados e Manutenção

Desligue a rede desligue e desconecte o cabo de alimentação antes de limpar.

### Instrumento e Lid

- Use um pano macio umedecido com água ou uma solução de limpeza suave para limpar o gabinete e monitor.
- Se líquidos derramados entre em contato com as placas de circuito, desligue o IEF100 e deixe secar completamente. Chame Hoefer, Inc. para o conselho antes de usar.

### Limpeza da bandeja e Eletrodos

- Um detergente concebido para remover o óleo é recomendado, seguido por suaves, reagentes de limpeza não iônicos de laboratório. Enxágüe bem bandeja com água deionizada e secar completamente antes de usar.
- O fio de platina nos eletrodos é frágil e deve ser limpo com muito cuidado. Os eléctrodos não deve ser embebido em solução.

## Serviço de Assistência Técnica e Reparação

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



## Solução de problemas

Problema	Solução
Instrumento não liga	Verifique o cabo de alimentação está ligado na tomada aterrada e ON/OFF está ligado ao de (I) posição.
Tampa é aberta	Unidade não funcionará a menos que a tampa de segurança está completamente fechada. Pressione para baixo em ambos os lados se envolver travas.
Unidade lê 0 $\mu$ A, 0 W para todas as tiras	<p>Assegurar os pavios eletrodos estão em contato com as tiras de IPG.</p> <p>Os eléctrodos deverão ser contactando as mechas de eléctrodos, e centrado na área de sobreposição entre o pavio e as tiras IPG.</p> <p>Verificar que as tiras de IPG foram completamente hidratado antes de usar.</p> <p>Garantir que os eléctrodos são ligados aos recipientes correspondentes.</p> <p>Tensão de partida baixo de passos de gradiente podem não produzir corrente suficiente para registrar no início da etapa. Verifique a corrente nas tiras de novo em alguns minutos.</p> <p>Execute o diagnóstico para verificar a fonte de alimentação interna.</p>
Unidade lê 0 $\mu$ A, 0 W por apenas uma faixa	<p>Reidratação tira pobres IPG: inspecionar a espessura (altura) da tira de IPG todo o seu comprimento.</p> <p>Verifique se há faíscas ou chamas que pode quebrar o circuito elétrico.</p> <p>Fio quebrado no (–) eletrodo. Substitua o eléctrodo.</p>
Sem saída de tensão	<p>Execute o diagnóstico a partir do menu de opções.</p> <p>Contacte o seu Hoefer, Inc. representante.</p>
Tela em branco	<p>Desligue a unidade e sobre.</p> <p>Contacte o seu Hoefer, Inc. representante.</p>
Tela congelada	<p>Desligue a unidade e sobre.</p> <p>Contacte o seu Hoefer, Inc. representante.</p>
Falhar diagnóstico	O programa de diagnóstico irá verificar a saída volts e corrente da fonte de alimentação interna, o eeprom e o relógio do sistema. Contacte o seu local de Hoefer, representante Inc. se algum destes testes vêm até negativo.

Problema	Solução
Definir tensão não chegou	<p>Continue com o IEF.</p> <p>Tira IPG está sendo limitada pela <math>\mu\text{A}</math> ou W.</p> <p>Condutividade da tira é demasiado elevado.</p> <p>Uma tira de IPG vai focar em seu <math>\mu\text{A}</math> max ou W, e limitar a tensão para todas as faixas. Esta tira pode ser removido, e as restantes tiras vai concentrar-se em voltagens mais altas.</p> <p>7 cm tiras não devem ser focados em volts superiores a 6000 V e watts superior a 0,5 W por tira.</p>
Browning, queima das fitas arcos, leituras erráticas $\mu\text{A}$	<p>Tiras de ter alta condutividade, devido à adição de sais ou outros compostos iônicos.</p> <p>Reduzir a força iônica, limitando concentração de sal a 10 mM ou inferior.</p> <p>Reduzir as concentrações de Tris a 50 mM ou inferior.</p> <p>Reduzir as concentrações de Tris a 50 mM ou inferior.</p> <p>Isto indica a potência volt, ou corrente fornecida à tira é demasiado elevado. Limitar a corrente nas tiras IPG a 50 <math>\mu\text{A}</math>.</p> <p>Muito pouco de óleo e/ou tiras não completamente coberto de óleo.</p> <p>Nivelar o instrumento. Assegurar óleo mineral cobre completamente as tiras e os canais vazios. Se as tiras não estão completamente cobertas de uréia vai cristalizar e causar aquecimento local/queima.</p> <p>Superaquecimento da bandeja. Verifique bandeja esteja firmemente deslizou e travada no lugar para garantir o melhor contato entre a base ea bandeja de superfície da plataforma.</p>
Reidratação/equilíbrio bandeja tem líquido residual após a reidratação das tiras IPG	<p>O excesso de volume utilizado. Não exceder volumes recomendados pelo fabricante da tira IPG.</p> <p>Faixa acidentalmente reidratado com o lado de gel para cima ou fita de chapa de cobertura não foi removido.</p> <p>Prolongar o tempo de reidratação. 8-10 mínimo horas é necessária para a melhor absorção de solução de re-hidratação.</p>
Sem proteínas presentes no gel após dimensão segundo completado	<p>Carga de proteínas é muito pouco para o método de detecção. Coloque mais proteína ou tentar um método mais sensível de detecção</p> <p>IPG tira não foi adequadamente hidratado.</p>

## Informações sobre pedidos

Produto	Quantidade	Código ordem
IEF100	1	IEF100
Correndo Bandeja	1	IEF105
Wicks eletrodo	504	IEF106
Amostra Copas de Carregamento (10 tiras de 6)	60	IEF108
Bandeja de Reidratação/Equilíbrio Pequeno	1	IEF109
Bandeja de Reidratação/Equilíbrio Médio	1	IEF111
Bandeja de Reidratação/Equilíbrio Grande	1	IEF110
Cabo de alimentação dos EUA, 115 V	1	PSCORD-115V
Poder Euro Cord, 230 V	1	PSCORD-230V

## Segundo Unidades de Dimensão

Poderoso Pequeno II Deluxe Unidade Mini Vertical	SE260-10A-1.5
Deluxe duplo Unidade Padrão refrigerado vertical	SE600X-15-1.5
Unidade de Grande Formato Vertical	SE900-1.0

## Reagentes

Agarose	500 g	GR140-500
Azul de bromofenol, Sal de Sódio	10 g	GR120-10
CHAPS	10 g	GR121-10
Ditiotreitol (DTT)	5 g	GR122-5
Glicerina	1 L	GR124-1
óleo mineral	1 L	GR138-1
Dodecil sulfato de sódio	500 g	GR126-500
Tiouréia	500 g	GR130-500
Tris	1 kg	GR132-1
Uréia	1 kg	GR143-1

---

## Apêndice A: Protocolos pré-programados

Os seguintes 9 protocolos pré-programados. Eles são para ser usado como orientações.

Cada protocolo tem uma hora 1, 1000 V segurar passo para manter bandas nítidas uma vez focagem está completa. Este passo não é necessário e pode ser removido. Também pode ser alargado, como desejado.

### Program 1

Focalizando mais de 7 centímetros IPG ao limitar parâmetros volts.

Name: 7 cm broad&basic

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

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

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

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

Step 4, Constant volt, 6000 V, 8000 Vhrs

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

### Program 2

Focalizando, de 7 de IPG da CM em condições watts constantes.

Name: 7 cm const watt

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

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

Step 2, Constant watt 0.5 W, 8000 Vhrs

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

### Program 3

A focagem do amplo e médio 18 centímetros IPG ao limitar parâmetros volts.

Name: 18 cm broad&basic

Delay 0:00, Delay temp 20°C, Run temp 20°C, 500µA, )V, 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

Focagem de 18 cm pH estreita faixa IPG ao limitar parâmetros volts.

Name: 18cm narrow

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

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

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

Step 3, Constant volt, 12000 V, 50000 Vhrs

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

---

### Program 5

Focalizando, de 18 de IPG da CM em condições watts constantes.

Name: 18 cm const watt

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

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

Step 2, Constant watt 1.5 W, 25000 Vhrs

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

### Program 6

A focagem do amplo e de médio alcance 24 centímetros IPG ao limitar parâmetros volts.

Name: 24 cm broad&basic

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

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

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

Step 3, Constant volt, 12000 V, 45000 Vhrs

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

### Program 7

Focagem de 24 cm estreita faixa de pH IPG ao limitar parâmetros volts.

Name: 24 cm narrow

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

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

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

Step 3, Constant volt, 12000 V, 100000 Vhrs

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

### Program 8

Focalizando, de 24 de IPG da CM em condições watts constantes.

Name: 24 cm const watt

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

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

Step 2, Constant watt, 2.0 W, 45000 Vhrs

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

### Program 9

Lento, com foco de 24 de IPG da CM com a amostra carregada em um copo. Gentilmente aumenta volts ao longo do tempo. Fase de entrada da amostra é prolongada e projetado para ser uma corrida durante a noite.

Name: 24 cm cup load

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

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

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

Step 3, Constant watt, 2.0 W, 64000 Vhrs

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

---

## Protocolos pré-programados em formato de código máquina

### Protocol 1

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

### Protocol 2

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

### Protocol 3

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

---

## Protocol 4

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

## Protocol 5

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

## Protocol 6

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

---

## Protocol 7

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

## Protocol 8

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

## Protocol 9

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



---

### Classes comuns de aditivos

#### Desnaturantes

Desdobrar as proteínas para expor as cargas internas nativas.

#### Detergentes não iônicos

Faça amostras mais solúvel, sem alterar a carga protéica.

#### Redutores

Ajudar a quebrar pontes dissulfeto internas para continuar a desdobrar as proteínas, e ajudar a reduzir os efeitos negativos da oxidação de proteínas durante a reidratação e IEF.

#### Outro

Ampholytes transportadora, proteases, DNases e RNases.

---

## Apêndice B: Reagentes e Soluções

### Preparação da Amostra

As amostras preparadas para 2D deve ser totalmente desnaturada, livre de material insolúvel, e baixo em força iônica total.

Algumas amostras de proteína prontamente solubilizar enquanto outros são mais difícil, requerendo reagentes adicionais (tais como tiourea, detergentes especiais, etc) para estimular a solubilização. As classes de aditivos comuns estão listados abaixo.

#### Desnaturantes

A ureia é o reagente mais comum utilizado no IEF para interromper a ligação interna da proteína, permitindo que ele se desenrolar. As amostras são preparadas utilizando concentrações de ureia 8-9,5 M. Em geral, quanto maior a concentração de ureia a melhor uma amostra pode ser solubilizado. Ureia atinge o seu ponto de saturação perto de 10 M à temperatura ambiente.

Tiourea também é utilizado para solubilizar melhor algumas amostras. Frequentemente, 2 M tiourea é combinado com 5-7 M de ureia como um reagente para a preparação da amostra e reidratação IPG.

#### Detergentes

Vários tipos de detergentes não-iônicos ou zwitteriônicos podem ser usados para solubilizar amostras (CHAPS, Triton X100 e Nonidet NP-40, e detergentes alkylamidossulfobetaine). CHAPS é o detergente mais amplamente utilizado para a electroforese 2D. É estável em solução. Detergentes tais como SDS não são compatíveis com IEF porque eles se ligam às proteínas e mascarar carga das proteínas nativas.

#### Redutores

Ditiotreitol (DTT) é comumente utilizado para reduzir a proteínas no IEF. DTT decompõe em solução, de modo que é normalmente preparado e adicionado imediatamente antes da utilização. Outros redutores, tais como 2-mercaptoetanol, ditioeritritol (DTE) e tributilfosfina (TBP) pode ser usado.

#### Outro

Anfólitos do portador ou tampões IPG podem ser adicionados para ajudar na solubilidade da proteína e ajudar a evitar a precipitação da proteína durante a focagem. As concentrações de 0,5%-2% (v/v) são normalmente usados. Anfólitos portador podem interferir com certos experimentos de rotulagem. Nesses casos, os reagentes devem então ser omitidos do passo de extração de amostra.

---

## Diretrizes Gerais

- Procedimentos de preparação de amostras estão sendo refinada e padronizada. O melhor é consultar a literatura para determinar se um tampão de preparação especial da amostra é recomendado para o tipo de amostra.
- IEF funciona melhor com amostras de proteínas puras que são solubilizados e desnaturados, e livre de moléculas interferentes.
- Remova o material insolúvel com centrifugação.
- Manter o teor de sal tão baixo quanto possível.
- Use recém reagentes preparados de alta qualidade, ou soluções de reagentes que foram armazenados congelados.
- Não deixar soluções de ureia à temperatura ambiente por longos períodos de tempo.
- Nunca Aquecer amostras de proteínas em soluções de uréia. Aquecimento carbamilação causa de proteínas e vai alterar a carga nativa das proteínas.
- Manter as amostras em gelo para evitar a degradação.
- Adicionar os inibidores da protease para impedir a atividade da protease. Os inibidores de protease tais como PMSF ou pefabloc podem ser adicionados para inibir a actividade de protease de serina, enquanto pepstatina pode inibir proteases aspárticas.
- Alguns protocolos usar anfólitos transportadora básicos ou tris para obter um pH elevado no tampão de amostra. Isto ajuda a solubilizar algumas proteínas e reduz a actividade enzimática que atacam as proteínas.
- DNA e RNA podem frequentemente ser removido por ultracentrifugação. A amostra pode também ser tratado com DNase e RNase solução para quebrar os contaminantes.
- Tenha em mente que alguns inibidores da protease, DNase e RNase são proteínas-se e podem aparecer em um mapa 2D.
- A água utilizada para fazer os reagentes devem ser o mais alta qualidade disponível. A água com uma resistividade de >5 cm-mega-ohm é melhor. Água purificada por osmose inversa ou de água desionizada é aceitável.

**Nota:** Os sais são, talvez, o contaminante mais comum causando resultados IEF pobres.

# Receitas

## IEF tampão de extração de amostras para 2D

### 1A. Solução de ureia e Tampão de amostra

Prepara 25 ml

9,5 M de ureia, CHAPS 4%

	Concentração Final	Quantidade
Uréia (FW 60,06)	9,5 M	14,26 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
Água deionizada		para 25 ml

Armazenar em alíquotas de 1 ml a -20 °C ou abaixo.

Antes da utilização, adicionar 6 mg/ml DTT para obter uma composição final de tampão de amostra de 40 mM de DTT.

Opcional: anfólitos transportadora adicionar, como SERVLYTS, a uma concentração de 2% v/v (20 µl por ml de solução tampão de amostra).

-Ou-

### 1B. Tiouréia + solução de ureia e Preparação da Amostra

Prepara 25 ml

Ureia 7 M, 2 M tioureia, CHAPS 4%, 40 mM de DTT

	Concentração Final	Quantidade
Uréia (FW 60,06)	7 M	10,51 g
Tiouréia (FW 76,12)	2 M	3,8 g
CHAPS	4% (w/v)	1,0 g
Água deionizada		para 25 ml

Armazenar em alíquotas de 1 ml a -20 °C ou abaixo.

Antes da utilização, adicionar 6 mg/ml DTT para obter uma composição final de tampão de amostra de 40 mM de DTT.

Opcional: anfólitos transportadora adicionar, como SERVLYTS, a uma concentração de 2% v/v (20 µl por ml de solução tampão de amostra).

## Solução de Reidratação IPG Faixa

### 2A. Uréia Solução stock de Reidratação

Prepara 50 ml

8 M ureia, CHAPS a 2%, 0,002% de azul de bromofenol

	Concentração Final	Quantidade
Uréia (FW 60,06)	8 M	24 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Azul de bromofenol	0,002%	1 mg
Água desionizada		para 50 ml

Armazenar em 3 ml alíquotas a -20 °C ou abaixo. 3 ml é suficiente para re-hidratar seis 24 cm IPG tiras.

Pouco antes de usar para reidratação IPG strip:

- Adicionar 0,5-2,0% (v/v) anfólitos transportador (SERVALYTS).
- Adicionar a 9 mg TDT por alíquota de 3 ml de solução de reidratação estoque 20 mM DTT.
- Amostra de proteína também pode ser adicionado à solução de 3 ml de reidratação.

### 2B. Tiouréia Solução stock de Reidratação

Prepara 50 ml

Ureia 7 M, 2 M tioureia, CHAPS a 2%, 0,002% de azul de bromofenol

	Concentração Final	Quantidade
Uréia (FW 60,06)	7 M	21 g
Tiouréia (FW 76,12)	2 M	7,6 g
CHAPS	2% (w/v)	1,0 g
Azul de bromofenol	0,002%	1 mg
Água desionizada		para 50 ml

Armazenar em 3 ml alíquotas a -20 °C ou abaixo. 3 ml é suficiente para re-hidratar seis 24 cm IPG tiras.

Pouco antes de usar para reidratação IPG strip:

- Adicionar 0,5-2,0% (v/v) anfólitos transportador (SERVALYTS).
- Adicionar a 9 mg TDT por alíquota de 3 ml de solução de reidratação estoque 20 mM DTT.
- Amostra de proteína também pode ser adicionado à solução de 3 ml de reidratação.

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

### 3. SDS Solução Tampão de Equilíbrio

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

Prepara 200 ml

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

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

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

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

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

#### Procedimento de equilíbrio

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

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

- 6 Adicionar 25 mg/ml iodoacetamida (IAA) para a segunda alíquota de solução de equilíbrio.
- 7 Adicionar 6,5 ml de solução a cada slot contendo uma tira de IPG.
- 8 Coloque em roqueiro por 10-15 minutos.

Após o equilíbrio, descarte a solução de equilíbrio segundo em uma forma apropriada.

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

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

## Agarose Overlay

### 1% de agarose em 1X tampão de electroforese

Prepara 100 ml

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

Preparar em um balão de 500 ml para permitir espaço para a formação de espuma.

	Concentração Final	Quantidade
Agarose	1%	1 g
10X tampão de electroforese (250 mM Tris, 1,92 m Glicina, 1% SDS)	1X	10 ml
Azul de bromofenol		3 mg
Água desionizada		para 100 ml

Agite suavemente para suspender agarose.

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

Loja em 1,5 ml alíquotas a 4 °C em tubos de rosca de plástico de topo.

Reaquecimento alíquotas em bloco de aquecimento.

---

## Apêndice C: Referências 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

Toll Free: 1-800-227-4750

Telefone: 1-508-893-8999

Fax: 1-508-893-0176

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

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

Hoefer é uma marca registrada da  
Hoefer, Inc.

Windows e Excel são marcas registradas  
da Microsoft Corporation.

© 2012 Hoefer, Inc.

Todos os direitos reservados.

Impresso nos EUA.

---

