

# Hoefer SE400/SE410

Die Sterdier senkrechten Platte  
Gelelektrophorese Einheiten



# Inhalt

Wichtige Informationen .....	ii
Elektro- und Elektronikgerätegesetz (ElektroG) .....	vii
1. Einheit Funktion und Beschreibung .....	1
Kommentierte Bestandsaufnahme .....	4
Technische Daten .....	6
2. Bedienungsanleitung .....	7
3. Pflege und Wartung .....	24
4. Fehlerbehebung .....	25
Anhang A. Laemmli-System Gele .....	29
Gel Rezepte .....	36
Anhang B. Bibliographie .....	37
Bestellinformationen .....	39

## Wichtige Informationen – Deutsch

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

## Důležité Informace – Czech

- Pokud by toto zařízení je použito způsobem, který není podle Hoefer, Inc. ochrana poskytována na základě zařízení může být narušena.
- Tento nástroj je určen pro vnitřní použití v laboratoři pouze.
- Pouze příslušenství a části schválen, nebo

poskytnutých Hoefer, Inc. mohou být použity pro provoz, údržbu, a údržbě tohoto výrobku.

- zdroj napájení používají jen že je opatřen označením CE osvědčena nebo bezpečnost vnitrostátně uznanými zkušebními laboratoři.
- Bezpečnosti lid musí být zavedena před připojením napájecí zdroj napájení vede k.
- Turn veškeré napájení kontroly vypnuto a odpojit před odběrem energie vede bezpečnostní viko.
- Rozeslat pouze voda nebo 50/50 voda/ ethylenglykolu prostřednictvím výměník tepla je li to vybavena. Nemají připojení výměník tepla s vodními setřepná nebo jakékoli chladicí kapaliny zdroje, kde tlak vody je 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 godkendte 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 forbinding strømforsyningsblyet til en strømforsyning.
- Drejer alle strømforsyningskontroller af og afbryder kraftblyet før fjerning sikkerhedslåget.
- Cirkulerer bare vand eller 50/50 vand/ethylene glykol gennem varmeveksleren i så fald udrustet. Forbind ikke varmeveksleren til en vandhane eller nogen kølemiddelkilde hvor vandtrykket er 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 specificerde technische specificaties. Oververhittend zal onherstelbare schade aan de eenheid veroorzaken!

## Important Information – English

- If this equipment is used in a manner not specified by Hoefer, Inc. the protection provided by the equipment may be impaired.
- This instrument is designed for indoor laboratory use only.
- Only accessories and parts approved or supplied by Hoefer, Inc. may be used for operating, maintaining, and servicing this product.
- Only use a power supply that is CE marked or safety certified by a nationally recognized testing laboratory.
- The safety lid must be in place before connecting the power supply leads to a power supply.
- Turn all power supply controls off and disconnect the power leads before removing the safety lid.
- Circulate only water or 50/50 water/ethylene glycol through the heat exchanger if so equipped. Do not connect the heat exchanger to a water tap or any coolant source where the water pressure is unregulated.
- Never introduce antifreeze or any organic solvent into any part of the instrument. Organic solvents will cause irreparable damage to the unit!
- Do not operate with buffer temperatures above the maximum specified technical specifications. Overheating will cause irreparable damage to the unit!

## Tärkeää Tietoa – Finnish

- Jos tätä varusteita käytetään tavassa ei määritetty Hoefer, Inc. suojele ehkäisty varusteille saattaa olla avuton.
- Tämä väline suunnitellaan sisälaboratoriokäyttölle vain.
- Vain lisävarusteet ja osat hyväksyivät tai toimitti Hoefer, Inc. oheen ää voi käyttää käyttämiselle, valvoalle, ja servicing tämä tuote.
- Vain käyttää käyttöjännitettä joka on CE merkitsi tai turvallisuus joka on todistanut aidoksi ohi joka on kansallisesti tunnustettanut testaaminen laboriatoriota.
- Turvallisuuskansi täytyy olla paikallaan ennen yhdistäminen käyttöjännitelyijyjä käyttöjännitteeseen.

- Kiertää kaikki käyttöjännitevalvonnat ja irrottaa valtalijyijyt ennen poistaminen turvallisuuskanta.
- Kiertää vain vesi tai 50/50 vesi/ethyleneä glycol siinä tapauksessa varustetun lämmönvaihtimen läpi. Älä yhdistä lämmönvaihdinta vesinäpautukseen eikä jäähdystynestelähteeseen, 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 spécifique 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.
- Utilisez Seulement une alimentation qui est CET a marqué ou la sécurité certifié par un nationalement reconnu essayant le laboratoire.
- Le couvercle de sécurité doit être à sa place avant connecter l'alimentation mène à une alimentation.
- Tourner tous contrôles d'alimentation de et débrancher les avances de pouvoir avant enlever le couvercle de sécurité.
- Circuler seulement de l'eau ou 50/50 glycol d'eau/éthylène par l'échangeur de chaleur si si équipé. Ne pas connecter l'échangeur de chaleur à un robinet d'eau ou à la source d'agent de refroidissement où la pression d'eau est non régulée.
- Ne Jamais introduire d'antigel ou du dissolvant organique dans n'importe quelle partie de l'instrument. Les dissolvants organiques causeront des dommages irréparables à l'unité!
- Ne pas fonctionner avec les températures de tampon au-dessus du maximum a spécifié des spécifications techniques. La surchauffe causera des dommages irréparables à l'unité !

## 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 gitt av utstyret kan bli svekket.
- Dette instrumentet er utformet for innendørs laboratoriumbruk bare.
- Bare tilbehør og deler godkjente eller forsynte ved Hoefer, Inc. kan bli brukt for drive, vedlikeholde, og betjene dette produktet.
- bruker Bare en kraftforsyning som er CE merket eller sikkerhet som ha blitt sertifisert av et som

nasjonalt ha blitt anerkjent prøver laboratorium.

- Sikkerheten lokket må være på plass før forbindelse kraftforsyningene blyene til en kraftforsyning.
- Vender all kraftforsyningsstyring av og frakopler kreftene blyene før fjerning sikkerheten lokket.
- Sirkulerer bare vann eller 50/50 vann/ethylene glykol gjennom oppvarmingen veksleren i så fall utstyrer. Ikke forbind oppvarmingen veksleren til en vann tapp eller noe kjølemiddelkilde hvor vannet trykket er unregulated.
- Introducerer Aldri antifreeze eller noe organisk løsemiddel inn i noe del av instrumentet. Organiske løsemiddler vil forårsake irreparabel skade på enheten !
- Driver med buffertemperaturer over maksimum ikke spesifiserte teknisk spesifikasjoner. Å overoppheting vil forårsake irreparabel skade på enheten !

## Wazne Informacje – Polish

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

- Nigdy nie wprowadzać rozpuszczalnika organicznego przeciw zamarzaniu lub jakichkolwiek na dowolną część dokumentu. Rozpuszczalniki organiczne spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!
- Nie działają w buforze temperatury powyżej maksymalnego określone specyfikacje techniczne. Przegrzania spowoduje nieodwracalne szkody dla jednostki!

## Informações Importantes – Portuguese

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

---

## Información Importante – Spanish

- Si este equipo es utilizado en una manera no especificado por 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 irreparable skada till enheten!
- Använd inte med buffert temperaturer över det högsta angivna tekniska specifikationerna. Överhettning skulle orsaka irreparabla skador på enheten!

## Elektro- und Elektronikgerätegesetz (ElektroG)

Deutsch



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.

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.

Italian



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

Spanish



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

Swedish



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



---

## 1. Einheit Funktion und Beschreibung

Die Hoefer® SE400 und SE410 Sturdier™ Vertical Slab-Gel-Elektrophorese Einheiten werden für die elektrophoretische Trennung von Proteinen und Nukleinsäuren sowohl unter denaturierenden und nativen Bedingungen bestimmt. Bis zu 28 Proben können auf einer einzigen Platte Gel verglichen werden. Ein Gel (oder zwei Gele, wenn mit der Trennplatte, separat zu bestellen) wird in der Casting-Stand Seite des Gerätes werfen. Die Größe des Gels beträgt 14 × 15 cm, wenn mit dem SE400, und 14 × 23 cm, wenn mit dem SE410. Nach dem Gießen wird das Sandwich in die untere Kammer für die Elektrophorese-Puffer übertragen.

Die Basiseinheit enthält einen Satz von Glasplatten (18 × 16 cm für die SE400, und 18 × 24 cm für die SE410), zwei Halterungen (SE400: zwei 16 cm Klammern; SE410: zwei 16 cm Klemmen und zwei 8 cm Klemmen ), und zwei Nocken. Das komplette Gerät verfügt über ein gut 15-Kamm und zwei Abstandshalter, 1,5 mm dick, neben dem Grundgerät.

## Auspacken und Demontage

Packen Sie alle Pakete sorgfältig und vergleichen Inhalt mit der Packliste, so dass sich alle angekommen. Wenn ein Teil fehlt, wenden Sie an Ihr regionales Vertriebsbüro. Überprüfen Sie alle Teile auf Beschädigungen, die aufgetreten sind, während das Gerät war auf der Durchreise haben mag. Sollte eines der Teile beschädigt ist, setzen sofort den Spediteur. Achten Sie darauf, das gesamte Verpackungsmaterial für Schadensersatzansprüche zu halten oder zu bedienen sollte es notwendig, das Gerät zurückgeben zu werden.

Diese Einheit wird teilweise zusammengebaut, um Komponenten während des Transports zu schützen. Zur Demontage

**1**

---

Positionieren Sie das Gerät so, dass die elektrischen Anschlüsse zu Ihnen zeigen.

**2**

---

Beachten Sie die Löcher an jeder Seite an der oberen Pufferkammer. Gönnen Sie Ihren Daumen in diese Löcher und verwenden Sie Ihre Zeigefinger auf die Seiten der Sicherheits-Deckel leicht anheben, bis die Elektrode Stecker ziehen. Zunächst heben Sie den Deckel gerade nach oben, so dass die obere Elektrode Schild die obere Kammer löscht und dann heben Sie den Deckel heraus (zu sich), um sie vollständig zu entfernen.

**3**

---

Heben Sie die obere Pufferkammer und dann die Glasplatte Montage.

**4**

---

Entfernen Sie die Klemmen durch Lösen der Flügelschrauben.

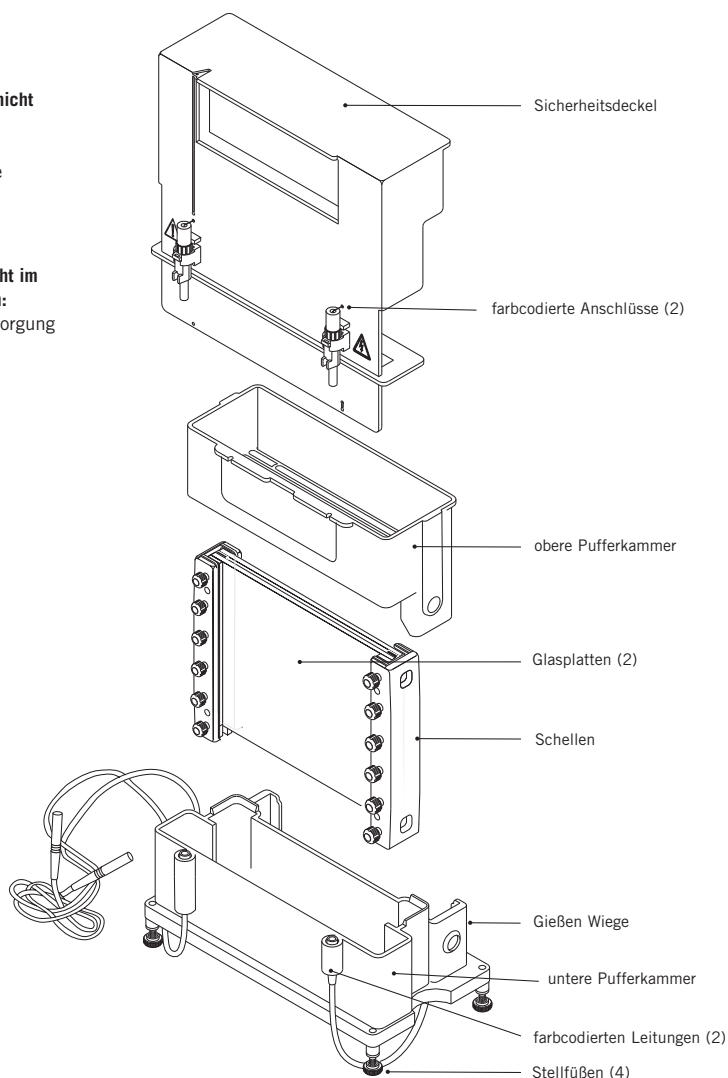
**Abb. 1.** SE400-Serie  
Hauptkomponenten.

**Eingeschlossen, aber nicht  
abgebildet:**

Cams  
GelSeal Fett, ¼ Unze  
Spacer-Mate  
Wunderkeil  
Ebene

**Erforderliche, aber nicht im  
Lieferumfang enthalten:**

Genehmigt Stromversorgung



---

## Kommentierte Bestandsaufnahme

**Pufferkammern.** Beide Pufferkammern sind chemisch resistent gegen übliche elektrophoretischen Puffer, aber nicht gegen organische Lösungsmittel oder starke Säuren und Laugen.

**Sicherheitsdeckel.** Der Deckel enthält sowohl die beiden Elektroden und Elektroden-Anschlüsse. Die Elektroden-Anschlüsse Stecker in den Blei-Anschlüsse auf der unteren Pufferkammer. Die farbcodierten Leitungen Stecker in farbcodierte Buchsen an der Stromversorgung.

**Glasplatten.** Zwei 18-cm breite Glasplatten sind enthalten. Platten für den SE400 sind 16 cm lang, und Platten für den SE410 sind 24 cm lang. (A gekerbt Teilerplatte, separat zu bestellen, können zwei Gele gleichzeitig ausgeführt werden.)

**Schellen.** Zwei 16-cm Schellen werden benötigt, um die 16 cm langen Sandwich zu sichern. Diese und ein zusätzliches Paar von 8-cm-Klemmen sind erforderlich, um eine 24 cm lange Sandwich zu sichern.

**Casting-Stand.** Die Rolle kann mit der Nivellierfüße auf der Unterseite des Geräts ausgeglichen werden. Ein laminierte Dichtung dichtet den Boden des Glases Plattenanordnung wenn sie in den Stand gesperrt ist.

**Cams.** Cams werden zweimal verwendet; erste, der die versammelten Sandwich in der Casting-Stand zu sichern und wieder auf das Sandwich und die obere Pufferkammer miteinander zu verriegeln.

---

**Gummidichtungen.** Es gibt zwei Dichtungen. Die laminierte Dichtung passt in die Unterseite des Gußteils Stand und die Abdichtung für den Boden des Gels Sandwich. Die geschlitzte Dichtung passt unter der oberen Kammer und die Abdichtung zwischen dem Sandwich und der oberen Kammer. Zwei Stege helfen diese Dichtung zu positionieren.

**Spacer-Mate Montageschablone.** Richtet Abstandshalter für Sandwich-Montage.

**Wunder Keilplatte Separator Tool.** Verwenden Sie zur Gel-Sandwiches zu zerlegen und Spacer und Kamm Dicke zu messen.

**Abstandhalter.** (Können separat bestellt werden.) Abstandhalter bestimmen die Dicke des Gels. Sie sind 2 cm breit und sind in drei Stärken: 0,75, 1,0 und 1,5 mm.

**Combs.** (Können separat bestellt werden.) Kämme sind in den Größen, die 10 zu bilden, 12, 15, 20, oder 28 Brunnen zur Verfügung. Präparative Kämme umfassen 1 oder 2 Bezug Vertiefungen neben einer präparativen gut. Die meisten Kämme sind in allen drei Dicken: 0,75, 1,0 und 1,5 mm.

Alle präparativen Kämme und Kämme mit weniger als 28 Brunnen Brunnen bilden, die 25 mm tief sind. Die 28-Well-Kamm Formen Brunnen, die nur 15 mm tief sind, so dass Brunnen nicht zusammenbrechen, wenn der Kamm entfernt wird. Das Probenvolumen von jedem gut gehalten hängt von dem Gel dick und gut Tiefe und der Anzahl der Vertiefungen pro Kamm. Tabelle 2 auf Seite 15 Listen Volumen pro 1 mm Tiefe für Brunnen von jedem Kamm Größe erstellt. Siehe Bestellinformationen für zusätzliche Kamm Spezifikationen.

---

## Technische Daten

Glasplatte Größe	SE400: 18 × 16 cm SE410: 18 × 24 cm
Gelgröße	SE400: 14 × 15 cm SE410: 14 × 23 cm
Max. Wattleistung	20 W
Max. Spannung	500 V at 40 mA
Max. Stromstärke	30 mA/gel (60 mA total at 325 V)
Max. Temperatur	45 °C
Umgebungsbedingungen für den Betrieb:	
Verwendung im Innenbereich 4–40 °C	
Luftfeuchtigkeit bis zu	80%
Höhe bis zu	2000 m
Überspannungskategorie	II
Verschmutzungsgrad	II
Abmessungen (B × H × T)	SE400: 24 × 28 × 15cm SE410: 24 × 36 × 15cm
Produkt-Zertifizierungen	EN61010–1, UL3101–1, CSA, C22.2 1010.1, CE

### Diese Konformitätserklärung gilt nur für das Instrument, wenn es:

- in Labor-Standorten eingesetzt werden,
- verwendet wie geliefert von Hoefer, Inc.  
mit Ausnahme von Änderungen in der  
Bedienungsanleitung beschrieben, und
- verbunden zu anderen CE-markierte Instrumente  
oder Produkte zu empfehlen oder von Hoefer, Inc.  
genehmigt.

---

## 2. Bedienungsanleitung

Verfahren zum Gießen von Gelen und elektro-phoretische Trennung folgen. Enthalten sind Anweisungen für beide einheitlicher Prozentsatz (homogen) und Gradient Polyacrylamidgelen. Anhang A aufgeführt Rezepte und Anhang B gibt eine Bibliographie.

### 2.1 Gel Casting Vorbereitung

#### 2.1.1 Optionen: Fertiggele und Selbst-Besetzung Gele

Der SE400 Einheit akzeptiert Standard Fertiggele von kommerziellen Anbietern sowie Self-Cast Gele gekauft, die unter Verwendung der eingebauten Gießen Stand werden können. (Um mehrere 14 × 16 cm Gele, die Multiple Gel Caster-Kit, mit Platz für bis zu 10 Brote, und das Gel Caster-Kit, mit Platz für bis zu vier Sandwiches, werfen können separat bestellt werden.) Gele für den SE410 muss selbsttragend sein gegossen.

Glasplatten, die Distanzstücke und Spannanzsätze sind so bemessen, dass die zusammengebaute Sandwich leicht ausgerichtet werden kann, um die erforderliche Abdichtung zu erzeugen. Bei der Montage von Sandwiches, seien Sie besonders vorsichtig, um alle Komponenten für die besten Ergebnisse auszurichten.

## 2.1.2 Vorläufige Casting Schritte

①

### Bereiten Sie den Zaubernden

Legen Sie die Wasserwaage in die untere Pufferkammer und passen Sie die Stellfüße.

②

### Bereiten Sie die Klemmen

Lösen Sie alle Klemmschrauben und machen Platz für die Sandwich, indem Sie die Druckplatten auf den Schrauben.

③

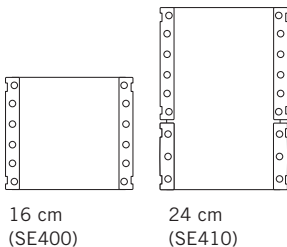
### Konstruieren Sie jedes Sandwich-Gel

Für jedes Sandwich, wählen Sie zwei perfekt sauber unchipped Glasplatten und zwei Abstandshalter. Legen Sie eine Platte auf einer ebenen Fläche, lag die Spacer-Mate Montageschablone auf die Platte (breite Seite an der Spitze), Ort ein Spacer entlang jeder Kante legen und die zweite Glasplatte auf der Oberseite.

④

### Sichern Sie das Sandwich mit Schellen

Schieben Sie eine Klammer zu einem Zeitpunkt an den Sandwich-Seiten. Handfest anziehen einer Schraube auf jeder Klemme, stellen Sie den Sandwich aufrecht auf eine ebene Fläche, und lösen Sie die Schraube, um den Stapel ausrichten. Seien Sie besonders vorsichtig bei der Angleichung, um eine Abdichtung zu gewährleisten. Ziehen Sie alle Schrauben fest. Entfernen Sie den Spacer-Mate.



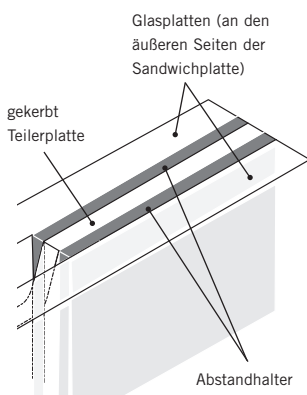
**Abb. 2.** Ein 24-cm Sandwich erfordert zwei 16-cm und zwei 8-cm-Klemmen.

### 24-cm-Sandwich (SE410)

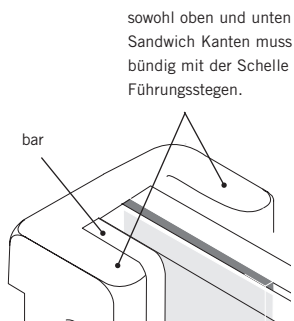
Ein 24-cm-Sandwich erfordert zwei Klemmanordnungen auf jeder Seite. Richten Sie die Enden getrennt. Das heißt, richten Sie ein Ende, Finger-Schrauben anziehen, drehen Sie den Sandwich-180°, und richten Sie das andere Ende. In jedem Fall können die Klemme nach unten gleiten und perfekt auszurichten mit der oberen (oder unteren) Rand der Glasplatten.

Für 24 cm langen Platten, positionieren Sie den 8-cm-Klemme an der Unterseite (siehe Abb. 2).





**Abb. 3.** 2-Gel-Sandwich-Aufbau: 2-Gel-Sandwiches sind mit dünneren Gelen begrenzt; keine Spacer dicker als 1,5 mm verwendet werden kann.



**Abb. 4.** Sandwich-Montage: Untersuchen Glasplatten für nicht erwähnenswert sind. Verwenden Sie nur unchipped Platten auslaufen.

**Tipp:** Entfernen Sie das laminierte Dichtung von der Wiege und verwenden Sie das Gießen der Wiege bis das Sandwich für die Ausrichtung zu halten.

## 2-Gel-Sandwich

Ein 16- oder 24-cm lang gekerbt Teilerplatte (separat bestellen) verdoppelt die Anzahl der Gele, die gegossen und ausgeführt werden (siehe Abb. 3) kann.

Die Montage erfolgt in der gleichen Weise wie einem Gel-Sandwich, außer, bevor die obere Glasplatte, lag die Trennplatte über den ersten Satz von Abstandshaltern und einen zweiten Satz von Abstandshaltern Spitze der Trennplatte. Platzieren Sie die Kerbe so daß es an der Spitze der Gele werden. Wie bei einer normalen Sandwich, ist es wichtig, daß die Abstandshalter und die Platten perfekt ausrichten, um eine Abdichtung zu erzeugen.

### 5

Untersuchen Sie den unteren Rand des Sandwich um sicherzustellen, dass Kanten bündig sind, um eine vollständige Abdichtung zu gewährleisten ausgerichtet. Passen Sie bei Bedarf (siehe Abb. 4).

**Optional:** Tragen Sie eine dünne Schicht GelSeal nur auf der unteren äußeren Ecken, wenn Ihr Sandwiches leicht auslaufen. Verwenden Sie kein Silikonfett oder Vaseline auf das Sandwich zu versiegeln, da diese Substanzen nur schwer zu entfernen sind und letztlich kann zu Artefakten im Gel führen.

### 6

Legen Sie die Dichtung in das laminierte Gießen Wiege mit dem Schaum nach unten ein. Legen Sie die Glasplatte Montage in der Casting Wiege, schrauben Seite nach außen (siehe Abb. 5).

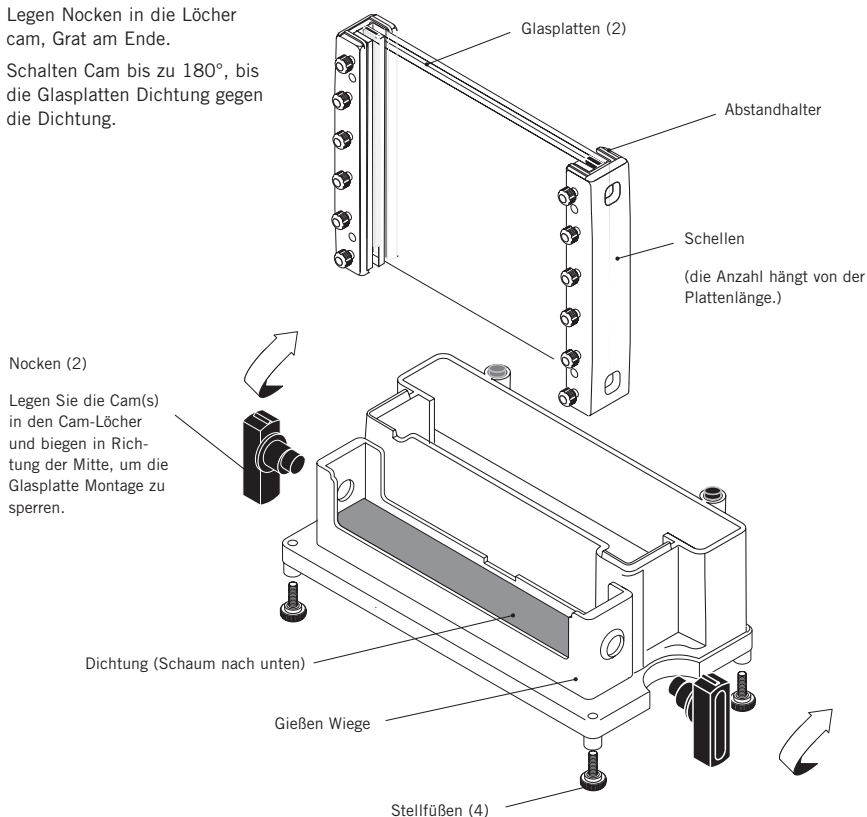
**24-cm-Platten:** Legen Sie das Sandwich so dass die kurze Klemmen an der Unterseite sind.

### 7

Legen Sie eine Nocke in das Loch auf jeder Seite des Gelträger mit dem Kamm (kurzes Ende) nach oben zeigt. Verschließen Sie die Gel-Sandwich durch Drehen der beiden Nocken soweit erforderlich, in der Regel 90° bis 150°, bis zu 180°. Die Nockenwirkung drückt die Platten in die Dichtung zum Abdichten des Boden des Sandwich. Die Dichtung ist erledigt, wenn die Glaskante erscheint dunkler und fast transparent gegen die Dichtung. Nicht anziehen, die Nocke über diesen Punkt.

\_\_\_\_\_

1. Senken Sie den versammelten Sandwich in die Wiege Gießen.
2. Legen Nocken in die Löcher cam, Grat am Ende.
3. Schalten Cam bis zu 180°, bis die Glasplatten Dichtung gegen die Dichtung.



**Hinweis:** Es ist einfacher zu halten der Zaubernde ausgewogene, wenn Sie beide Nocken drehen in Richtung der Mitte des Zaubernden.

**Hinweis:** Anhang A auf Seite 29, listet Rezepte für die Laemmli-Gel-System.

## 2.2 Acrylamidgel Vorbereitungen

**Tabelle 1. Ungefähre Monomerlösung Lautstärke für einen einzelnen Gel erforderlich**

Modell	Geldicke (mm)		
	0,75	1,00	1,5
SE400	15 ml	23 ml	30 ml
SE410	23 ml	34 ml	45 ml

### 2.2.1 Trenngele

**1**

Bereiten Sie die Monomerlösung und gießen Sie das Gel. Bereiten Sie die benötigte Menge an Monomer-Lösung, entlüften, und fügen Sie den Initiator und Katalysator unmittelbar vor dem Gießen des Gels.

**2**

Pipettieren Sie die Lösung in einer Ecke des Sandwich, wobei darauf geachtet, dass keine Luftblasen einzuführen. Weiter unten finden Sie die passende Lösung Ebene:

**Nein Sammelgel** (Continuous System). Füllen Lösung bis knapp unterhalb der Oberkante der oberen Plattenkante. Wenn Blasen gefangen sind, mit einer Pipette oder Spritze entfernen. Einführung eines Kamms (in einem leichten Winkel) in jedem Sandwich, dabei nicht um Luftblasen unter den Zähnen zu fangen.

**2-Gel-Sandwich.** Pipettieren die Lösung in beiden Sandwiches, Füllen jeder auf das gleiche Niveau unterhalb des gezahnten Randes.

**Stacking Gel.** Füllen Lösung zu 3-4 cm unterhalb der Oberkante der Glasplatte. Diese Höhe ermöglicht einen 1 cm Sammelgel unter dem Brunnen. Gießen Sie das Gel ein und bringen ein Overlay (siehe Schritt 3). Nachdem das Gel gesetzt wird, bereiten Sie das Stacking-Gel, wie im nächsten Abschnitt beschrieben.

**2-D Elektrophorese** (diskontinuierliche System). Für die zweite Dimension Trenngel, füllen Lösung ~1,0 cm unterhalb des Kopfes der Glasplatte (lassen zusätzlichen Platz für eine Stacking-Gel, falls erforderlich). Einem Zentimeter ermöglicht ausreichend Platz für die erste Dimension IPG Bandes oder des Schlauches und einer Agarose-Gel-Dichtung. (Während der Übertragung, kümmern uns um Lufteinschlüsse zwischen der Röhre und Slab-Gel Gel zu vermeiden; das Rohr abzudichten Gel in Ort mit Agarose in Elektrophoresepuffer.)

---

**3**

Wenn Käbme an Ort und Stelle sind, fahren Sie mit Schritt 4 fort. Wenn keine Käbme in aufgeföhrt sind, überlagern die Trenngel mit einer dünnen Schicht von Wasser-gesättigtem n-Butanol, Wasser oder verdünnten Gel-Puffer, um die Exposition der oberen Oberfläche des Gel-Lösung, um Luftsauerstoff verhindern. Langsam liefern die Overlay-Lösung aus einer Glas-Spritze mit einer 22-Gauge-Nadel ausgestattet. Tragen Sie die Lösung in der Nähe der Abstandhalter und lassen Sie es über die Oberfläche fließen, ohne fremde Hilfe.

---

**4**

Lassen Sie das Gel für mindestens eine Stunde polymerisiert.

### **2.2.2 Sammelgel**

Gießen Sie die Stacking-Gel, bevor Sie das Sandwich aus dem Gel Zaubern den. Stacking Gel Auflösung ist optimal, wenn kurz vor der Elektrophorese vorbereitet.

---

**1**

Entfernen Sie das Overlay durch Spülen der Spitze des Gel mehrmals mit destilliertem Wasser. Kehren Sie die Caster zu entwässern. Um einen reibungslosen Kontakt zwischen der Lösung und Stapeln von Gelen zu gewährleisten, entfernen Restflüssigkeit durch Abtupfen einer Ecke mit einem fusselfreien Tuch.

---

**2**

Berechnen Sie die Sammelgel Monomerlösung Volumen.

---

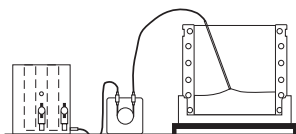
**3**

Bereiten Sie das Sammelgel Monomerlösung, entlüften, und fügen Katalysator und Initiator. Gießen Sie das Sammelgel auf das Trenngel mit einem Einweg-oder Pasteur-Pipette auf ein Niveau von etwa 2 mm von der Oberseite der Glasplatte.

---

**4**

Einführung eines Kamms (in einem leichten Winkel) in die Sandwichstruktur, wobei darauf geachtet, keine Luft zwischen den Zähnen zu fangen. Lassen Sie mindestens 1 Stunde für das Gel zu polymerisieren.



**Abb. 6.** Gießen eines Gradienten-Gel.

### 2.2.3 Gradientengele

Lineare Gradienten Gele können im Gel Caster gegossen werden. Für leichte Steigung Mischen, empfehlen wir die Verwendung einer der SG-Serie Hoefer Gradienten Entscheidungsträger. Gradientengele werden von der Oberseite des Zaubernnden mit einer Kanüle, wenn über das mitgelieferte Gel-Caster oder von unten, wenn in einem Hoefer mehrere Gel-Caster (siehe beiliegende Anleitung den Zaubernnden) gegossen. Wenn der Gradient Gel polymerisiert wird ein Stacking-Gel gegossen.

**1**

Montieren Sie die Glasplatte Assembly in den Zaubernnden, wie in Abschnitt 2.1.2 beschrieben.

**2**

Richten Sie die Monomerlösung Strömungsweg. Führen Sie eine Länge von klaren Vinyl-Schlauch durch eine Schlauchpumpe. Ein Ende des Schlauchs an der Steigung Maker Auslaßöffnung und dem anderen Ende mit einem 20 cm Kanüle. (Der Außendurchmesser der Kanüle muss kleiner sein als der Abstandshalterdicke.) Platzieren der Kanüle, so dass es an der Unterseite des Sandwich liegt, auf halbem Weg zwischen den Abstandshaltern.

**3**

Bereiten Sie die Monomerlösung. Berechnen Sie das Gesamtvolumen benötigt. Bereiten Sie die eine Hälfte dieses Volumens von höheren und die andere Hälfte des unteren% Acrylamid-Lösung. (Optional: Fügen Sie 15% Saccharose oder 25% Glycerin [Endkonzentration], um den höheren%-Lösung zur Schichtung zu verbessern.)

**Hinweis:** Mit Coomassie Blau™, ist es möglich, 1 µg in einem einzigen Band zu erfassen. Mit den empfindlicheren Silber Flecken, ist es möglich, weniger als 10 ng erfassen.

---

**4**

Gießen der "kleine" Lösung in die Vorratskammer (die Kammer am weitesten von dem Einlass). Öffnen Sie den Wasserhahn lange genug, um Luft zwischen den Kammern und schließen Sie dann zu verdrängen. Gießen Sie den "schweren"-Lösung in die Mischkammer und legen Sie einen Rührstab in diese Kammer. Setzen Sie den Gradienten Maker auf einem Magnetrührer gerührt und beginnen mit einer Rate, führt keine Luftblasen in der Lösung.

**5**

Mischen Sie den Gradienten. Während die Lösung wird unter Rühren, Pumpen beginnen (5-10 ml / min) aus der Mischkammer und sofort öffnen Sie den Hahn auf die Vorratskammer. Heben Sie die Kanüle als Flüssigkeit in den Sandwich, halten Sie die Spitze an der Gel-Oberfläche.

**6**

Überlagern jedes Gel mit einer dünnen Schicht von Wasser-gesättigtem n-Butanol, Wasser oder verdünnten Gel Puffer Gel Einwirkung von Sauerstoff zu verhindern. Langsam liefern die Overlay-Lösung aus einer Glas-Spritze mit einer 22-Gauge-Nadel ausgestattet. Tragen Sie die Lösung in der Nähe der Abstandhalter und lassen Sie es über die Oberfläche fließen, ohne fremde Hilfe.

**7**

Lassen Sie das Gel (en) für mindestens eine Stunde polymerisiert. Nach der Polymerisation, gießen Sie die integrierte numerische Tastatur und spülen Sie das Gel Oberfläche mehrmals mit destilliertem Wasser.

**8**

Bereiten Sie die Stacking-Gel Monomerlösung, gießen Das Sammelgel und stellen einen Kamm (in einem leichten Winkel) in die Sandwichstruktur, wobei darauf geachtet, keine Luft zwischen den Zähnen zu fangen. Lassen Sie mindestens 1 Stunde für das Gel zu polymerisieren.

## 2.3 Probenvorbereitung

Die Menge der Probe geladen wird, hängt von der Dicke des Gels, der Empfindlichkeit des Nachweisverfahrens verwendet, und der Menge der Probe in jedem Band zu erwarten. In einem kontinuierlichen Puffer-System, sollte das Protein Probe relativ konzentriert werden, da keine Stacking-Gel verwendet wird. In einer diskontinuierlichen Puffersystem, die Zone, in die jede molekulare Spezies wandert durch die Stacking-Gel ist zugespitzt, so daß die Probe braucht nicht so konzentriert werden.

**Tabelle 2. Nun Volumen (µl)  
pro 1 mm Tiefe für jeden  
Kamm Größe**

Anzahl der Vertiefungen	Kamm Dicke (mm)		
	0,75	1,0	1,5
10	6,2	8,3	12,4
12	5,8	7,7	11,5
15	4,3	5,7	8,6
20	3,1	4,1	6,2
28	2,1	2,7	4,1

### 1

Bereiten Sie die Wells. Nehmen Sie den Kamm durch sanftes Schütteln es einer Seite zur anderen und dann gerade nach oben, um eine Beschädigung der Wände gut. Spülen Sie die Vertiefungen mit Elektrophoresepuffer zu unpolymerisierten Acrylamid zu entfernen und dann abtropfen durch Invertieren des Gel-Sandwich (oder Nachlauf). Füllen Sie jede gut mit Elektrophorese-Puffer.

### 2

Probe vorbereiten. Erhöhen flüssigen Probe Dichte mit 10% Glycerin oder Saccharose. Hinzufügen eines Tracking-Farbstoff, wie Phenolrot, Bromphenolblau, Pyronin oder Y.

Für die SDS-Protein-Gele verwenden 2X Behandlung Puffer sowohl flüssige als auch trockene Proben in einem Reagenzglas zu denaturieren

Um flüssigen Protein-Proben, fügen Sie einen identischen Volumen von 2X Behandlung Puffer.

Um Protein-Proben trocknen, fügen gleichen Volumina von 2X Behandlung Puffer und destilliertem Wasser auf die gewünschte Konzentration.

Wärme das Rohr in kochendem Wasser für 90 Sekunden, dann erlauben, auf Raumtemperatur abkühlen gelassen. Behandelte Proben können bei -40 bis -80 °C für zukünftige Auflagen gelagert werden.

Wärme Membranproteine bis 60 °C für 20 Minuten. Nicht verwendete Probe bei 4 °C

**Hinweis:** Vor dem ersten Gebrauch, Zerlegen Sie das Gerät und waschen mit einer verdünnten Lösung eines Labor-Waschmittels und gut nachspülen, zunächst mit Wasser und dann mit destilliertem Wasser.

**Hinweis:** Um zu helfen halten Sie die Dichtung gegen die obere Pufferkammer, DAB eine kleine Menge von GelSeal an jedem Ende der Dichtung nur dann zu installieren.

**Wichtig!** Eine glatte Passung zwischen dem Sandwich-Dichtung und ist essentiell für eine gute Abdichtung.

## 2.4 Die Endmontage

**1**

Spülen Sie beide Puffer Kammern mit Wasser und destilliertem Wasser gründlich vor jedem Gebrauch.

**2**

Installieren Sie die Gel-Sandwich in der unteren Pufferkammer.

Lassen Sie die Sandwich vom Zaubern durch Entfernen der beiden Cams. Entfernen Sie alles Gel außen anhaftende des Gels Sandwich. Installieren Sie das Sandwich in der unteren Pufferkammer, klemmen Schrauben zugewandten führt.

**3**

Füllen Sie vorsichtig Jede Probe sorgfältig mit Elektrophorese-Puffer, dann Unterlage Probe in die Vertiefungen mit einem spitzen oder Mikrospritze Gelbeladung Pipettenspitze vorbereitet.

**4**

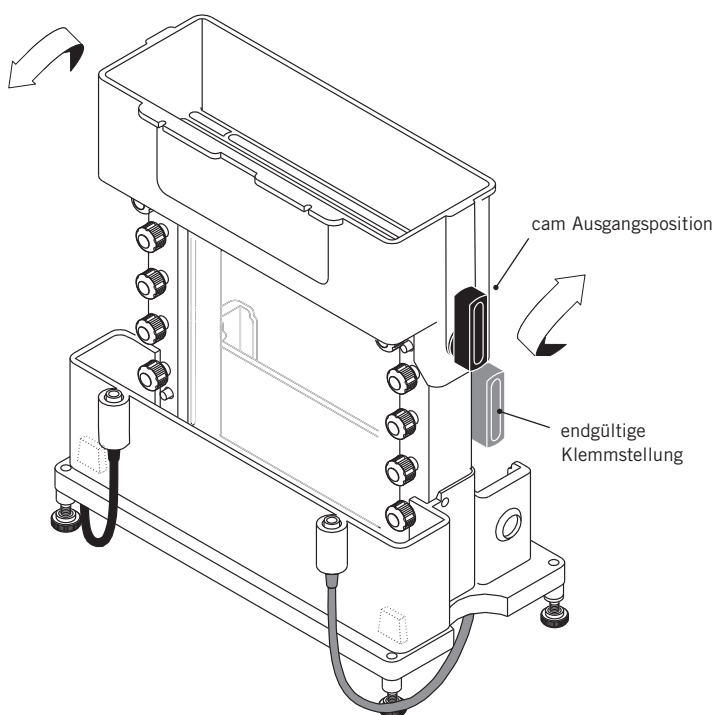
Hängen Sie die obere Pufferkammer zu dem Gel-Sandwich.

Kehren Sie die obere Kammer und drücken Sie die geschlitzte Dichtung in die Nuten für eine genaue Passform.

Mit Vorsicht vorgehen, damit die Proben nicht gestört werden: Senken Sie die obere Kammer auf das Gel-Sandwich. Installieren Sie den Nocken, Grat der Spitze nach unten in die cam Löcher wie auf Seite 17 dargestellt. Gleichzeitig drehen eine Nocke im Uhrzeigersinn und der andere gegen den Uhrzeigersinn eine volle 180° um die Montage zu sichern.



**Abb. 7. Obere Pufferkammer**  
 Montage: Den ersten Platz die obere Kammer auf den Sandwich-Montage, und setzen Sie die Nocken in die Löcher cam, Grat (kurzes Ende) nach unten zeigt. Um die Anordnung zu sichern, schalten die Nocken bis 180°, so dass die Rippe nach oben zeigt (nicht gezeigt).



**Hinweis:** Nicht mit Gewalt die Nocken. Wenn ungewöhnliche Begegnung mit Widerstand, Zerlegen Sie das Gerät und überprüfen Klemme und Glas Ausrichtung entlang der Oberseite des Sandwich. Richten Sie und installieren Sie die obere Kammer.

**Hinweis:** Wenn die Montage Undichtigkeiten, nehmen Sie die Montage zu einem Waschbecken und teilweise freizugeben, damit die Nocken-Puffer zu leeren.

Entfernen Sie die obere Kammer, überprüfen Ausrichtung aller Sandwich-Bauteile und ggf. einstellen.

**5**

Gießen Sie ~100 ml Elektrophoresepuffer in die obere Kammer, die Leitung der Puffer-Stream an die Wand zu verhindern, daß die Proben. Überprüfen Sie die Installation auf Dichtheit prüfen. Füllen Sie beide Kammern (der letzte Band für jede Kammer ist ~350 ml).

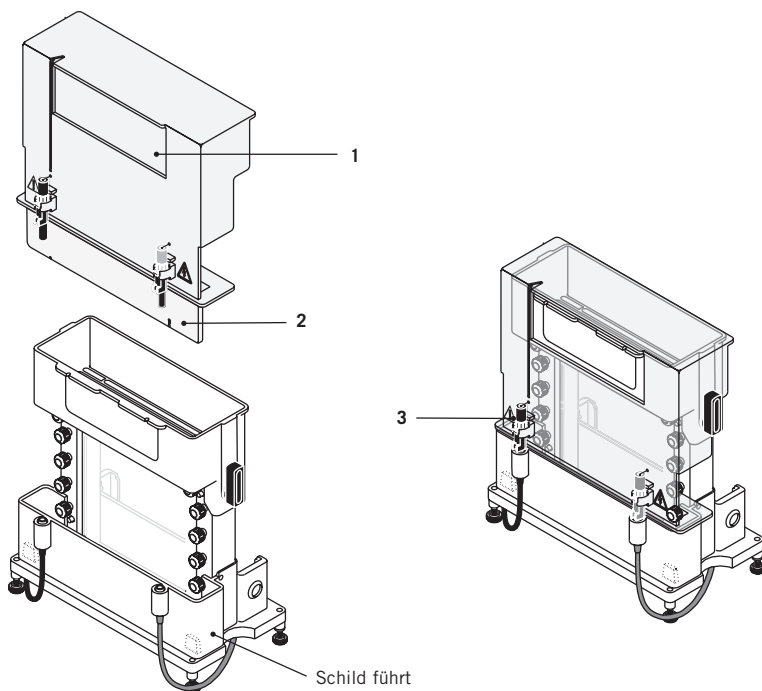
**6**

Sicherheitsdeckel Installation.

Integrierte Sicherheits-Features erfordern, dass alle drei Führungen ordnungsgemäß angebracht sind (siehe Abb. 8).

**7**

Schließen Sie die farbcodierten Leitungen in die Buchsen von einem zugelassenen Netzteil (min. 50 mA, 300 V). Stecken Sie das rote Kabel in den roten Ausgang und das schwarze Kabel in die schwarze Ausgangsbuchse. In den meisten Systemen, die rote Leitung, die mit der unteren Elektrode verbunden ist, wobei die Anode (+), und die schwarze Leitung ist, die mit der oberen Elektrode, die Kathode (-).



**Abb. 8.** Sicherheitsdeckel Installation.

Die Sicherheits-Deckel Sitze mühelos, wenn alle drei Funktionen richtig ausgerichtet sind:

1. Der ausgesparte obere Elektrode Schild gleitet in die obere Pufferkammer.
2. Die untere Elektrode Abschirmung paßt in die untere Pufferkammer und liegt vor der Abschirmung Führungen.
3. Die Elektrode Anschlüsse ausrichten und Sitzplatz.

**Falls Sie nicht mit der Installation sind, beachten Sie bitte:**

Die obere Elektrode wird durch einen ausgesparten Schild, der in der oberen Pufferkammer beruht, sobald der Deckel installiert ist geschützt. Am einfachsten ist es, den Deckel durch erste Annäherung an die obere Pufferkammer von vorne, und dann schieben die Sicherheit Deckel nach unten gerade nach unten auf die Anschlüsse zu installieren. Wenn der Deckel nicht richtig sitzt, überprüfen Sie die Position der unteren Elektrode Schild, das müssen die Anschlüsse und die Erholung in der unteren Pufferkammer zu löschen, vor den Führern der Schild. Sobald alle Führungen an ihrem Platz sind, drücken Sie vorsichtig, um die Stecker zu verbinden.

## 2.5 Auflösen der Probe

### Elektrophorese-Parameter für den diskontinuierlichen Polyacrylamidgelen

Gele können entweder bei konstantem Strom oder konstanter Spannung Einstellungen ausgeführt werden. Ein konstanter Strom Einstellung wird traditionell mit einem diskontinuierlichen Puffersystem verwendet, so dass die Rate der elektrophoretischen Wanderung bleibt während der Laufzeit. Unter konstanten Bedingungen Strom, die Spannung steigt, als der Lauf fortgesetzt. Eine niedrigere aktuelle Einstellung wird für höhere Auflösung empfohlen. Die optimale aktuellen Niveau muss empirisch ermittelt werden; die Hauptfaktoren, die ausgeglichen werden müssen, sind die Gel-Konzentration und Geschwindigkeit der Migration und die daraus resultierende Joulesche Erwärmung und Band Verzerrung. In Tabelle 3 sind Ausgangspunkt Richtlinien und Anpassungen für Geldicke, Anzahl der Gele, der und Migration.

**Tabelle 3. Laemmli-Puffer-System Ausgangspunkt Richtlinien**

Geldicke\* 1,5 mm  
Strom pro gel<sup>†</sup> 25 mA Konstantstromquelle  
Anlaufspannung 80–90 V

Gel (cm)	Modell	Endspannung (V)
16	SE400	200–250
24	SE410	275–325

\*Dicker oder dünner Gele benötigen sie proportional mehr oder weniger Strom. Zum Beispiel erfordert eine 0,75 mm Gel, das halb so dick wie ein 1,5 mm-Gel ist, halb so viel Strom, oder 12,5 mA.

<sup>†</sup>Der Strom muss durch die Anzahl der Gele zu multiplizieren. Zum Beispiel, wenn ein 1 mm 2-Gelsandwich installiert ist, wird doppelt so viel Strom als für eine 1-mm-Gel mit der gleichen Spannung erforderlich.

**Hinweis:** Der Querschnitt (und Strombedarf) wird durch Gel-Dicke bestimmt. Die Laufzeit wird durch die Länge der Platte bestimmt.

**Hinweis:** Passive Kühlung, wie Laufen Sie das Gerät in einem kalten Raum, kann verlangt werden, die Auswirkungen der Jouleschen Erwärmung zu reduzieren.

## **Strom**

Üblicherweise wirkt auf den gesamten Querschnittsfläche aller Gele und in einer Schaltung, werden die Gele als parallel ausgeführt werden. Deshalb muss jede aktuelle Einstellung für ein Gel durch die Anzahl der Gele laufen multipliziert werden. Für ein Gel 1,5 mm dick, empfehlen wir einen Ausgangspunkt aktuelle Einstellung von 25 mA. (Zwei 1,5 mm Gele = 50 mA.)

## **Spannung**

Die Ausgangsspannung für eine 1,5 mm Slab-Gel mit einem Netzteil, auf 25 mA ist in der Regel 80 bis 90 V (für die SE400-Modell und einem Laemmli diskontinuierlichen Puffersystems). Die endgültige Spannung beträgt typischerweise 200 bis 325 V, je nach der Länge des Gels. (Siehe Tabelle 3 auf Seite 20).

## **Zeit**

**Wichtig!** Nach anfänglichen Überwachung, nicht verlassen, das Gerät unbeaufsichtigt für mehr als 1 Stunde ohne Prüfung der Fortschritte bei den Bands und dem Puffer Ebene.

Ein Lauf ist abgeschlossen, wenn die Markerfarbstoff erreicht den Boden des Gels. Ein 16-cm lang, 1,5 mm dick Laemmli SDS-Gel bei 25 mA / Gel ohne Kühlung laufen, erfordert in der Regel 5 Stunden. Ein 24-cm Gel benötigt etwa 8 Stunden.

---

### **Zeichne jeden Lauf**

Halten Sie eine Aufzeichnung des Strom-oder Spannungs-Einstellung, Anzahl und Dicke der Gele, Puffer-System und den Ausgangs-und abschließende Strom oder Spannung Lesungen für jeden Lauf, so dass Ergebnisse verglichen werden können. Widersprüchliche Ergebnisse für das gleiche System und Einstellungen lassen sich Hinweise auf mögliche Probleme wie beispielsweise die aktuellen Lecks, fehlerhafte Puffer-Konzentrationen, hohe Salzkonzentrationen oder inkonsistent chemische Qualität.

Überprüfen Band Fortschritt nach 5 Minuten, und wieder nach einer Stunde, in Anbetracht der Wanderungsgeschwindigkeit des Tracking-Farbstoff. Die Strecke ist abgeschlossen, wenn die Markerfarbstoff erreicht den Boden des Gels. Sehen Sie sich das Puffer-Ebene und, wenn nötig, ergänzen es als erforderlich, um die obere Elektrode unter Wasser zu halten. (Ein kleines Volumen von Puffer kann an einer Platte eingekerbt oder Dichtung oder Puffer auslaufen kann durch das Gel passieren.)

**Tipp:** Um Spritzen zu vermeiden, fügen Färbung oder Fixierlösung mit der Schale nach wird das Gel übertragen.

**Hinweis:** Verwenden Sie nur flexible Kunststoff neugierigen Werkzeuge zur Vermeidung von Splintern der Glasplatten.

## 2.6 Nach der Elektrophorese

**1**

Sobald die Tracking-Farbstoff erreicht den Boden des Gels, schalten Sie die Stromversorgung aus und trennen Sie die Leitungen. Entfernen Sie den Sicherheitsdeckel, mit dem Finger Hebel - ruhen Sie Ihre Daumen auf der Oberseite der Nocken und ziehen Sie vorsichtig den Deckel mit den Zeigefingern. Einmal locker, heben Sie den Deckel gerade nach oben und dann auf die Leiste am oberen Pufferkammer zu löschen.

**2**

Gießen Sie den Puffer durch Umdrehen des Geräts über ein Waschbecken. Lösen Sie die obere Pufferkammer durch Entfernen der Nocken. Heben Sie die Kammer ab und heben Sie das Sandwich aus der unteren Kammer.

**3**

Lösen Sie die Klammern aus den Sandwiches und zu entfernen. Vorsichtig lockern und schieben Sie dann beide weg Abstandshalter. Verwenden Sie die Wunderkeil Tellerseparator Werkzeug, um die Platten zu trennen.

**4**

Vorsichtig abheben einer Glasplatte. Behandeln Sie das Gel mit Sorgfalt um Beschädigungen zu vermeiden. Über einen leeren Fleck Tray entweder Platte umdrehen Halten des Gels in der Nähe der Unterseite der Schale und an einer Ecke anheben, so dass das Gel in das Fach fällt, oder, wenn das Gel ist dick genug zu handhaben, anheben und Stelle in das Fach . Fügen Sie genug Fixativ oder Flecken vollständig zu versenken das Gel.

---

## 3. Pflege und Wartung

### Reinigung

- Mit Wasser abspülen sofort nach Gebrauch.
- Nicht autoklavieren oder heizen irgendeinen Teil des Instruments über 45 °C.
- Verwenden Sie keine organischen Lösungsmittel, Scheuermittel, starke Reinigungslösungen oder starke Säuren oder Basen, jede Kunststoffteil zu reinigen.
- Nicht einweichen die Dichtungen. Reinigen Sie mit einem milden Reinigungsmittel und an der Luft trocknen.
- Behandeln Sie den Sicherheitsdeckel mit Sorgfalt zu Schäden an den Steckern Elektrode zu verhindern.

Saubere Glas-Platten und Abstandshalter mit einer verdünnten Lösung eines Labor-Reiniger wie RBS-35™, dann gründlich mit Leitungswasser und destilliertem Wasser. Glasplatten können auch mit (aber nicht in gespeichert) Säure Reinigungslösungen behandelt werden.



# 4. Fehlerbehebung

problem	verursachen	abhilfe
<b>Gel-Sandwich Lecks beim Wirken</b>	Verschmutzte oder beschädigte Komponenten	Platten, Abstandshalter, und die Dichtung muss vollständig sauber. Waschen Sie, wenn nötig.  Ersetzen gechipt Platten (vor allem, wenn in der Nähe der Abstandshalter gechipt).  Überprüfen Sie den Zaubern den Dichtung für Schnitte oder Risse und ersetzen Sie sie gegebenenfalls.
	Teile falsch ausgerichtet	Überprüfen Platte und Spacer Ausrichtung, gegebenenfalls korrigieren.
	Over-Klemmung	Drehen Nocken nur so weit wie nötig, um eine Dichtung (gewöhnlich 90 bis 150 °, aber bis zu 180 °) zu schaffen. Auf jeder Abstandhalter einen dünnen Film von Gel Seal Verbindung zum unteren äußeren Ecke nur. Verwenden Sie kein Silikonfett.
<b>Probenbehälter beschädigten oder unregelmäßige</b>	Luftblasen	Luftblasen entfernen, bevor Sie Kämme. Schieben Kamm in Lösung in einem Winkel. Wenn Kamm entfernt werden muss, fügen Sie mehr Monomerlösung vor dem Wiedereinsetzen des Kammes.
	Unvollständige oder verspätete Polymerisation	Erlauben Sie Acrylamidgelen für mindestens 1 h eingestellt.
	Debris in Brunnen	Spülen Sie nicht polymerisierte Gel mit Probenpuffer.
	Comb Entfernung	Nehmen Sie den Kamm in einem leichten Winkel und ganz langsam, um eine Beschädigung des Gels.  Agarosegele: Senken Sie den Kamm nicht mehr als 1 cm in das Gel.
<b>Unvollständige Gelpolymerisation</b>	Chemicals	Verwenden Sie nur den letzten Bestände der hochwertigsten Reagenzien.  Wenn das trockene Ammoniumpersulfat nicht bei Zugabe zu Wasser knistern, mit frischen Lager zu ersetzen.  Steigern TEMED oder APS-Konzentration, oder beides.
	pH-Wert	Lösungen mit extremen pH-Werten (insbesondere sauer) dürfen nicht polymerisieren.
	Sauerstoff	Entfernen von Sauerstoff aus dem Gel-Umgebung: Degas die Monomerlösung 5–10 min vor dem Gießen und dann überlagern das Gel Oberfläche mit Wasser gesättigtem n-Butanol.
	Temperature	Adjust the gel solution temperature to a minimum of 20 °C, especially for low %T gels.

problem	verursachen	abhilfe
<b>Obere Pufferkammer Lecks</b>	Teile falsch ausgerichtet	Prüfen, dass die Glasplatten, Abstandshalter, und Schellen ausgerichtet sind und sich harmonisch in die obere Kammer Dichtung passen.  Überprüfen Sie, dass beide Dichtungen zentriert sind und dass die Positionierung Grate passen in den Rillen.
	Verschmutzte oder beschädigte Komponenten	Überprüfen Sie, dass die Dichtung nicht beschädigt oder gequetscht werden. Bei Bedarf austauschen. Prüfen Sie, ob die obere Pufferkammer nicht verzogen ist aus früheren Exposition gegenüber übermäßiger Hitze.
<b>Dye vor Kurven nach oben (grinst) an Kanten</b>	übermäßige Hitze	Verringern Sie die Strom-oder Spannungs-Einstellung. Kühlen Sie das Puffer. Führen Sie das Gel in den Kühlraum.
<b>Protein-Streifen vertikal</b>	Partikel in der Probe	Zentrifuge oder Filter-Probe vor dem Laden, um Partikel zu entfernen.
	Überlastung	Legen Sie weniger Probe.
	Degradierung	Protease-Inhibitor, wie PMSF.
<b>Tracking-Farbstoff nicht in eine konzentrierte Zone schärfen dem Stacking-Gel</b>	Schlechte Stapeln	Gießen Sie ein größer Sammelgel. (Für beste Ergebnisse ermöglichen eine Stacking-Gel Höhe des 2,5-fachen der Höhe der Probe in den Brunnen.)
	Reagenz-Qualität	Entsorgen veralteter Acrylamid-Lösungen und verwenden Sie nur den höchsten Grad von Acrylamid.
	Probenvorbereitung	Bei der Herstellung von Proben, vermeiden den Einsatz von Lösungen mit hohen Salzkonzentrationen.

problem	verursachen	abhilfe
<b>Ungewöhnlich langsam (oder schnell) laufen</b>	Aktuelle Leckage um Gel	Auf Lecks überprüfen, alle Platten und Abstandshalter müssen fluchten und frei von Fett und Risse.
	Probe oder die Aufbereitung des Reagenz	Wenn die erforderliche pH-Wert einer Lösung ist überschritten, nicht zurück-titriert. Entsorgen Sie und bereiten frischen Puffer.  Prüfen Rezepte, Gel-Konzentrationen und Puffer verdünnt. (Zum Beispiel, verwenden Sie nicht Tris-HCl anstelle von Tris-Puffer für Laemmli Tank.)  Verringern Sie die Salzkonzentration von Proben.
	Reagenz-Qualität	Entsorgen älteren Acrylamid-Lösungen und verwenden Sie nur Aktien von höchster Qualität. Verwenden Sie nur frisch deionisiert Harnstoff.
	Spannung oder Strom-Einstellungen	So erhöhen oder verringern Sie die Geschwindigkeit der Migration, Anpassung der Spannung oder Strom um 25-50%.
<b>Bands sind schief oder verzerrt</b>	Unvollständige Gelzubereitung und Polymerisation	Degas das Stacking-Gel-Lösung und Vermeidung von Luftblasen unter der Kammzähne.
	Unregelmäßige Schnittstelle zwischen Stapeln und läuft Gele	Überlagern der Trenngel mit wassergesättigtem Butanol vor Beginn der Polymerisation, zur Vermeidung der Bildung einer unebenen Oberfläche Gel.
	Probenvorbereitung	Dialysieren oder Entsalzung der Probe.
<b>Stained Probe sammelt:</b>		
<i>In der Nähe der Puffer vor</i>	Gel-Konzentration	Moleküle werden nicht ausreichend durch das Trenngel Porengröße eingeschränkt: Erhöhung der% T.
	Degradierung	Proteine abgebaut werden kann durch endogene Proteasen: benutzen Protease-Inhibitoren bei der Isolierung Schritt.
<i>Im oberen Bereich des Gels, wenn der Puffer vor hat die Talsohle erreicht</i>	Gel-Konzentration	Das Gel Porengröße ist zu klein:% verringern Sie den T des Auflösungsvermögens (oder Stapeln) Gel.
	Niederschlag	Das Protein wurde ausgefällt. Erhitzen Sie die Probe bei einer niedrigeren Temperatur (70 °C oder weniger) für 1-2 min.
<i>Auf der Oberseite und Unterseite des Gels</i>	Gel-Konzentration	Der Molekulargewichtsbereich der Probe erfordert eine Acrylamid-Konzentrationsgradienten, die gesamte Palette von Größen-Protein zu lösen.

problem	verursachen	abhilfe
<b>Schlechte Band-Auflösung</b>	Laufbedingungen	<p>Elektrophorese starten, sobald die Probe geladen wird, um Spezies mit niedrigem Molekulargewicht diffundieren zu verhindern.</p> <p>Führen Sie den Abstand zu einem niedrigeren Strom-oder Spannungs-Einstellung, um Joulesche Erwärmung zu reduzieren.</p>
	Reagenz-Qualität	Verwenden Sie nur die hochwertigsten Reagenzien.
	Schlechte Stapeln	<p>Verwenden Sie nur Gele, die vor kurzem hergestellt wurden.</p> <p>Fügen Sie eine Stacking-Gel oder erhöhen Höhe des Stacking-Gel. Bereiten Sie das Auflösungsvermögen-Gel-Oberfläche, die durch erste Spülung mit Stacking-Gel-Monomer vor dem Gießen des Stacking-Gel, um die Kontinuität zwischen den Gelen zu gewährleisten.</p> <p>Überprüfen Sie pH-Werte der Lösung-und Stapel-Gel-Lösungen. Nicht zurück-titriert Puffer.</p>
	Unvollständige Gelpolymerisation	Erlauben Gel vollständig zu polymerisieren.
	Probenvorbereitung	<p>Bewahren Probe auf Eis, bevor es denaturiert ist.</p> <p>Dialysieren oder Entsalzung der Probe.</p> <p>Wärme Proben in SDS-Probenpuffer für nicht mehr als 1–2 min bei 100 °C, um die Dissoziation von Untereinheiten zu verbessern. Bewahren Sie nach dem Erhitzen auf Eis.</p> <p>Passen Sie das Probenvolumen oder Konzentration.</p> <p>Fügen Sie weitere Mercaptoethanol oder Dithiothreitol; überprüfen Probe Behandlung.</p> <p>Protease-Inhibitoren, wie zB PMSF ggf. proteolytischen Abbau der Probe zu verhindern.</p> <p>Steigern Glycerin oder Saccharose zu Probe-Dichte zu erhöhen.</p> <p>Shop Proben in Aliquots eingefroren werden, um zu vermeiden, wiederholtes Einfrieren und Auftauen. Bewahren Sie bei -40 bis -80 °C</p>

## Anhang A. Laemmli-System Gele

**Tabelle 4. Laemmli Gelen - Endkonzentrationen**

	Trenngel	Sammelgel	Elektrophorese-Puffer
Acrylamid end.	10% T*, 2,6% C	4% T, 2,6% C	
Tris-Cl	0,375 M	0,125 M	
Tris-Glycine			0,025 M Tris base 0,192 M glycine
pH	8,8	6,8	~8,3
SDS	0,1%	0,1%	0,1%
APS <sup>†</sup>	0,05% w/v	0,05–0,1% w/v	
TEMED <sup>‡</sup>	0,05% v/v	0,05–0,1% v/v	

\*Um jede andere gewünschte Endkonzentration zu erzielen, passen Sie die Acrylamid-Lager und Wassermengen. Datenträger für verschiedene Konzentrationen sind in Tabelle 5 aufgeführt.

<sup>†</sup>Ammoniumpersulfat.

<sup>‡</sup>Tetramethylethylenediamin

Die Laemmli-System ist die häufigste Elektrophorese-Protokoll für die SDS-denaturierte Proteine. Die führenden Ionen in dieser diskontinuierlichen Puffersystems Chlorid ist und das hintere Ionen Glycin ist. Dementsprechend enthalten die Trenngel und die Stacking-Gel Tris-Cl-Puffer (unterschiedlicher Konzentration und pH), und die Elektrophorese-Puffer enthält Tris-Glycin ist. Alle Puffer enthalten 0,1% SDS.

Polyacrylamid-Gel-Zusammensetzung wird durch zwei verschiedene Prozentsätze angegeben:

$$\%T = \frac{g(\text{acrylamide} + \text{bisacrylamide})}{100 \text{ ml}} \times 100$$

$$\%C = \frac{g(\text{bisacrylamide})}{g(\text{acrylamide} + \text{bisacrylamide})} \times 100$$

Die gesamte Prozent Acrylamid (% T) in der Trenngelzusammensetzung, die von 4 bis 20% liegen kann, bestimmt die Porengröße. Üblicherweise verwendete Menge an Vernetzungsmittel (% C) beträgt 2,6%. Im folgenden Beispiel-System ist das Auflösungsvermögen Gel-Zusammensetzung 10% T, 2,6% C, die in einer mittleren Porengröße ergibt. Das Stapeln Gelzusammensetzung beträgt 4% T, 2,6% C. Das T% im Sammelgel niedriger ist, weil eine größere Porengröße ist nicht erforderlich.

**Achtung!** Acrylamid ist ein Nervengift. Tragen Sie immer Handschuhe beim Umgang mit in welcher Form und tragen eine Maske beim Wiegen das Pulver. Nie Mund pipettieren die Lösung.

**Hinweis:** Filter-Lösungen  
1-4 durch ein 0,45 µm-Filter.

**Wichtig!** Finden Sie im  
Sicherheitsdatenblatt (SDB)  
begleiten jede Chemikalie  
für detaillierte Informationen  
Handhabung und Sicherheit.

## Lösungen

### 1. Acrylamid-Stammlösung

(30,8% T 2,6% C Bis, 200 ml)

Acrylamid (FW 71,08)	30% w/v	60,0 g
Bis* (FW 154,2)	0,8% w/v	1,6 g
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 200 ml

Lagerung bei 4 °C und vor Licht.

\*N,N' Methylenebisacrylamid

### 2. 4X Trenngelpuffer

(1,5 M TrisCl, pH 8,8, 1 liter)

Tris-Base (FW 121,1)	1,5 M	181,5 g
HCl		zu pH 8,8
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 1000 ml

Speichern Sie bis zu 3 Monate bei 4 °C im Dunkeln.

### 3. 4X-Stacking-Gel-Puffer

(0,5 M TrisCl, pH 6,8, 500 ml)

Tris base (FW 121,1)	0,5 M	30,3 g
HCl		zu pH 6,8
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 500 ml

Speichern Sie bis zu 3 Monate bei 4 °C im Dunkeln.

### 4. 10% SDS-Lösung

(100 ml)

SDS* (FW 288,4)	0,35 M	10,0 g
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 100 ml

Speichern Sie bis zu 6 Monate bei Raumtemperatur.

\*Natriumdodecylsulfat

### 5. 10% APS (Initiator)

(1 ml)

APS* (FW 228,2)	0,44 mm	0,1 g
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 1,0 ml

Frische APS "knistert", wenn Wasser hinzugefügt wird. Wenn  
Ihnen nicht der Fall, ersetzen Sie es mit frischen Lager.

Planen unmittelbar vor dem Gebrauch.

\*Ammoniumpersulfat

## 6. Trenngel Overlay

*(0,375 M TrisCl, 0,1% SDS, pH 8,8, 100 ml)*

1,5 M Tris-Cl, pH 8,8 (Lösung #2)	0,375 M	25,0 ml
10% SDS (Lösung #4)	3,5 mm	1,0 ml
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 100,0 ml

Speichern Sie bis zu 3 Monate bei 4 °C im Dunkeln.

—oder—

## Wasser gesättigtem n-Butanol

Shake n-Butanol und entionisiertes in einem Scheidetrichter H<sub>2</sub>O. Entfernen Sie die wässrige (untere) Phase. Wiederholen Sie diesen Vorgang mehrmals. Verwenden Sie die obere Phase.

—oder—

Wenn eine Überlagerung stört das bevorzugte Protokoll, isolieren des Gels von Luftsauerstoff, indem eine präparative Kamm oder die Lösung Gelbildners auf dem Gel.

## 7. 2X Probenbehandlung Puffer

*(0,125 M TrisCl, 4% SDS, 20% Glycerin, 0,2 mM DTT\*, pH 6,8, 10 ml)*

0,5 M Tris Cl, pH 6,8 (Lösung #3)	0,125 M	2,5 ml
10% SDS, 0,35 M (Lösung #4)	0,14 M	4,0 ml
Glycerin (FW 92,09)	20% v/v	2,0 ml
Dithiothreitol (DTT) (FW 154,2)	0,2 mM	0,31 g
Bromphenolblau(FW 691,9)	0,3 mM	2,0 mg
Deionisiertes H <sub>2</sub> O		zu 10,0 ml

\*oder 2-mercaptoethanol (FW 78,13) 2% v/v 0,2 ml

Teilen Sie sich in 1,0 ml Aliquots und lagern bei -40 °C bis -80 °C für bis zu 6 Monaten.

—oder—

## 6X Probenbehandlung Puffer

*(0,35 M TrisCl, 10% SDS, 30% Glycerin, 9,3% DTT, pH 6,8, ~10 ml)*

0,5 M TrisCl, pH 6,8 (Lösung #3)	0,35 M	7,0 ml
SDS (FW 288,4)	0,35 M	1,0 g
Glycerin (FW 92,09)	30% v/v	3,0 ml
DTT (FW 154,2)	0,6 M	0,93 g
Bromphenolblau (FW 691,9)	0,175 mm	1,2 mg

Teilen Sie sich in 1,0 ml Aliquots und lagern bei -70 °C.

## 8. Elektrophorese-Puffer

(0,025 M Tris, 0,192 M glycérol, 0,1% SDS, pH 8,3, 5,0 liters)

Tris (FW 121,1)	0,025 M	15,1 g
Glycérol (FW 75,07)	0,192 M	72,1 g
SDS (FW 288,4)	3,5 mm	5,0 g
Désionisée H <sub>2</sub> O		zu 5,0 liters

Der pH dieser Puffer ist etwa 8,3. Nicht einstellen pH-Wert. Bis zu 20 Liter können hergestellt und für bis zu 2 Monate gelagert werden.

## 9. Coomassie-Färbelösung

(0,025% Coomassie-Blau R-250, 40% Methanol, 7% Essigsäure, 2 liters)

Coomassie-Blau R-250 (FW 826)	0,3 mm	0,5 g
Methanol (rühren bis gelöst)	40% v/v	800,0 ml
Essigsäure	7% v/v	140,0 ml
Désionisée H <sub>2</sub> O		zu 2,0 liters

## 10. Entfärber-Lösung I

(40% methanol, 7% Essigsäure, 1 liter)

Methanol	40% v/v	400,0 ml
Essigsäure	7% v/v	70,0 ml
Désionisée H <sub>2</sub> O		zu 1,0 liter

## 11. Entfärber-Lösung II

(7% Essigsäure, 5% methanol)

Methanol	5% v/v	50,0 ml
Essigsäure	7% v/v	70,0 ml
Désionisée H <sub>2</sub> O		zu 1,0 liter

## 12. Vernetzungslösung

(10% Glutaraldehyd)

20 ml 50% Glutaraldehyd Lager

Destilliertem Wasser auf 100 ml auffüllen.

## 13. DTT (Dithiothreitol)-Lösung

(5 µg/ml)

5 mg DTT

Bringen Sie auf 1 l mit ddH<sub>2</sub>O.

**Achtung!** Glutaraldehyd sollte nur im Abzug gehandhabt werden.



---

#### **14. Silbernitrat-Lösung**

---

*(0,1% w/v Silbernitrat)*

---

1 g Silbernitrat

---

Destilliertes Wasser 1 bis L

---

#### **15. 3% iger Sodalösung**

---

*(3% w/v)*

---

60 g Natriumcarbonat

---

Bringen Sie zu 2 L mit destilliertem Wasser, Füllale in Glasbehälter.

---

#### **16. Entwicklerlösung**

---

*(3% Natriumcarbonat, 0,019% Formaldehyd)*

---

200 ml 3% Natriumcarbonat

---

100 µl 37% Formaldehyd

---

Planen unmittelbar vor der Verwendung.

---

#### **17. Stopplösung**

---

*(2,3 M Natriumcitrat)*

---

67,64 Natriumcitrat, Dihydrat (FW 294,1)

---

Bringen Sie zu einem Endvolumen von 100 ml mit VE-Wasser.

---

**Hinweis:** Da es sich um ein hochsensibles Färbemethode, ist es wichtig, Handschuhe beim Umgang mit Gelen zu tragen und saubere Behälter verwenden. Um den Hintergrund zu reduzieren, verwenden Sie nur hochreine Reagenzien und entfernen Sie alle Puffer aus den Gelen bei der Fixierung und Entfärben Schritte.

## Coomassie Stain-Protokoll

- A. Beize Gel in Coomassie-Fleck-Lösung bei Raumtemperatur über Nacht. Gele können auch sehr schnell, indem man sie bei 55 °C in einem Schüttel-Wasserbad für 30-45 min gefärbt werden.
  - B. Ort Gel in Entfärber Lösung, die ich bei Raumtemperatur. Ändern Sie den entfärben Lösung, wenn es eine tiefblaue Farbe reicht bis zum klaren Hintergrund Ergebnisse.
  - C. Lagern Sie das Gel in Entfärber II Lösung.
- Für eine empfindliche Methode ist Silberfärbung Protokoll empfohlen.

## Silver Stain-Protokoll

(Adaptiert von Morrissey, 1981)

Vorsichtiges Schütteln wird im Rahmen dieses Verfahrens empfohlen.

- A. Stain das Gel wie gewohnt mit Coomassie Blue. Entfärben Sie das Gel mit mehreren Änderungen der Lösung entfärben II.

### -Oder-

Befestigen Sie das Gel in 100 ml Lösung entfärben ich für 30 Minuten, dann legen Sie das Gel in 100-200 ml Lösung entfärben II für 30 Minuten. Entsorgen Sie die Lösung, Nachfüllung und Wäsche mit Entfärber-Lösung II eine zweite 30 Minuten.

- B. Übertragen des Gels auf 100 ml Vernetzung Lösung für 30 Minuten.
- C. Dekantieren Sie die Glutaraldehyd und spülen Sie das Gel mehrmals mit VE-Wasser über einen Zeitraum von zwei Stunden.

### -Oder-

**Hinweis:** Einige Bleichmittel kann bei Verwendung von entfärben Lösung II als einer Stopp-Lösung auftreten.

Weichen Sie das Gel in 500 ml deionisiertem Wasser über Nacht. Am nächsten Tag, spülen Sie das Gel mehrmals mit VE-Wasser über 30-60 Minuten.

D. Legen Sie das Gel in 100-200 ml 5 pg / ml DTT in deionisiertem Wasser für 30 Minuten.

E. abgießen DTT-Lösung nicht abspülen das Gel. 100 ml Silbernitrat-Lösung direkt auf das Gel. Vorsichtig schütteln für 30 Minuten und dann spülen Sie das Gel für 1-2 Sekunden mit VE-Wasser.

F. 50 ml Entwicklerlösung, schnell wirbeln das Gel, abgießen und Entwickler. Wiederholen Sie noch einmal.

100 ml Entwickler und agitieren, bis die Banden sichtbar sind. Achten Sie darauf, um die Entwicklung zu stoppen, bevor der Hintergrund signifikant wird durch Neutralisieren der Lösung mit 5 ml Stop-Lösung. Alternativ Entwickler abgießen und 100 ml Lösung II entfärben.

G. Waschen Sie das Gel in 2-3 Änderungen VE-Wasser. Halten Sie das Gel in Entfärber-Lösung II oder trocknen Sie es zur dauerhaften Speicherung.

# Gel Rezepte

Die Laemmli-Gel Rezepte sind für 30 ml einer einzigen Konzentration Lösung (genug für eine 1,5-mm-18 x 16 cm Gel). Tabellarische sind Zutaten und Mengen für die relativ großen Poren Gele (7,5 bis 10% T-Bereich) sowie kleineren Poren Gele (12,5 bis 15% T-Bereich). Eine 4% Sammelgel ist weit verbreitet. Die linearen Gradienten Rezept ist für 100 ml Lösung. Das Gesamtvolumen ist abhängig von der Anzahl der Gele Besetzung und Geldicke allmählich nach Bedarf. Alle Gele werden mit 2,6% C vernetzt

**Tabelle 5. Laemmli-Gel Rezepte (pro 30 ml Trenngele Lösung, 5 ml Sammelgel-Lösung)**

	Trenngel				Sammelgel
	7,5%	10%	12,5%	15%	4%
Acrylamid Lager (Lösung #1)	7,5 ml	10 ml	12,5 ml	15 ml	0,67 ml
1,5 M TrisCl, pH 8,8 (Lösung #2)	7,5 ml	7,5 ml	7,5 ml	7,5 ml	
0,5 M TrisCl, pH 6,8 (Lösung #3)					1,25 ml
10% SDS (Lösung #4)	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,05 ml
Deionisiertes H <sub>2</sub> O	14,6 ml	12,1 ml	9,6 ml	7,1 ml	3,00 ml
10% APS (Lösung #5)	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	25 µl
TEMED	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	2,5 µl
Endgültiges Volumen	30,0	30,0 ml	30,0 ml	30,0 ml	5,0 ml

Für lineare Gradientengele, verwenden Sie gleiche Volumina von niedrigen und hohen%% Acrylamid-Lösungen. Weniger APS zugegeben, um die Polymerisation zu verlängern, und noch weniger auf den höheren%-T-Lösung hinzugefügt, um die Polymerisation von oben nach unten auftreten. Nach unseren Erfahrungen mit den Konzentrationen in der 10-20% Steigung Beispiel unten, können zehn Gel-Sandwiches in einer Mehrfach-Gel Zauberden mit einer Flussrate von 5-10 ml / min gegossen werden.

**Tabelle 6. Lineare Gradienten-Gel-Rezepte (pro 100 ml Lösung)**

	10% T	20% T
Acrylamid Lager (Lösung #1)	33,30 ml	66,70 ml
Saccharose	—	15,00 g
1,5 M TrisCl, pH 8,8 (Lösung #2)	25,00 ml	25,00 ml
10% SDS (Lösung #4)	1,00 ml	1,00 ml
Deionisiertes H <sub>2</sub> O	to 100,00 ml	to 100,00 ml
10% APS (Lösung #5)	0,300 ml	0,060 ml
TEMED	0,036 ml	0,036 ml

---

## Anhang B. Bibliographie

### General

- Gallagher, S.R., and J.A. Smith., Electrophoretic separation of proteins. In *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, et. al, eds.) 10.2.1–10.2.21 (1991).
- Hames, B. D. and Rickwood, D., Gel Electrophoresis of Proteins, A Practical Approach. Second edition, IRL Press (1990).
- Sambrook, J, Fritsch, E.F. and Maniatis, T., Standard Formaldehyde Protocol. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1990).
- Sasse, J., and Gallagher, S.R., Staining proteins in gels. *Current Protocols in Molecular Biology*. (F.A. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, eds.) 10.6.1–10.6.8 (1991).

### Denaturierenden Gel-Systeme

- Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. *Nature*. **227**, 680–685 (1970).
- Matsudaira, P.T. and Burgess, D.R., SDS microslab linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.* **87**, 386–396 (1978).
- Schreier, M.H., Erni, B. and Staehelin, T., SDS gels, pH 8.8. *J. Mol. Biol.* **116**, 727–752 (1977).
- Shapiro, A.L. and Maizel, J.V. Jr., Molecular weight estimation for polypeptides. *Anal. Biochem.* **29**, 505–514 (1969).
- Schaeffer, H. and Von Jagow, G., Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem.* **166**, 368–379 (1987).
- Weber, K., and Osborn, M., The reliability of molecular weight determinators by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **224**, 4406–4412 (1969).

---

## Nativen Gel-Systeme

Reisfeld, R.A., *et al.*, Acidic buffer system for resolution of cationic proteins. *Nature*. **195**, 281 (1962).

McLellan, T. Electrophoresis buffers for polyacrylamide gels at various pH values. *Anal. Biochem.* **126**, 94 (1982).

Hedrick, J.L. and Smith, A.J., Size and charge isomer separation and estimation of molecular weights of proteins by discontinuous gel electrophoresis. *Arch. Biochem. Biophys.* **126**, 155 (1968).

## Zweidimensionalen Elektrophorese

Adams, L.D. and Gallagher, S.R., Two-Dimensional Gel Electrophoresis Using the O'Farrell System. *Current Protocols in Molecular Biology*, pp. 10.4.1–10.4.13 (1992).

Anderson, N.G., Anderson, N.L., and Tollaksen, S.L., *Clin. Chem.* **25**, 1199–1210 (1979).

Anderson, N.L. and Anderson, N.G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **74**, 5421–5425 (1977).

Bravo, R., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **79**, 2281–2285 (1982).

Hurkman, W.J. and Tanaka L.K., *Plant Physiology*. **81**, 802–906 (1986).

Mets, L.J. and Bogorad. *Anal. Biochem.* **57**, 200–210 (1974).

O'Farrell, P.H. *J. Biol. Chem.* **250**, 4007–4021 (1975).

## Bestellinformationen

<b>für 18 × 16 cm Gele</b>	<b>Menge</b>	<b>Kennziffer</b>
SE400 Sturdier Vertical, komplett. Lieferumfang: ein Satz von Glasplatten 18 × 16 cm, 2 Klemmzangen, 2 Nocken und 15-Well-Kamm und 2 Abstandshalter, 1,5-mm dick. (Andere Größen Kämmen und Spacer separat bestellt werden.)	1	SE400-15-1,5
SE400 Sturdier Vertical Unit Basic. Lieferumfang: ein Satz von Glasplatten 18 × 16 cm, 2 Klemmzangen, 2 Cams. (Bestell-Kamm und Abstandshalter getrennt.)	1	SE400
<b>für 18 × 24 cm Gele</b>		
SE410 Sturdier Vertical Slab-Elektrophorese, komplett. Lieferumfang: ein Satz von Glasplatten 18 × 24 cm, zwei 16 cm und zwei 8 cm Klemmzangen, 2 Nocken, 15-Well-Kamm und 2 Abstandshalter, 1,5 mm dick. (Andere Größen Kämmen und Spacer separat bestellt werden.)	1	SE410-15-1,5
SE410 Sturdier Vertical Slab Electrophoresis Unit, Basic. Lieferumfang: ein Satz von Glasplatten 18 × 24 cm, zwei 16 cm und zwei 8 cm Klemmzangen und 2 Nocken. (Bestell-Kamm und Abstandshalter getrennt.)	1	SE410
<b>Ersatzteile</b>		
Silikon-Kautschuk-Dichtung (für obere Pufferkammer)	1	SE4008B
Silikon-Gummi-Dichtung (für Guss-Ständer)	1	SE4009
Deckel mit Elektroden für SE400, 16 cm	1	SE4156
Deckel mit Elektroden für SE410, 24 cm	1	SE416
Niedrigere Pufferkammer / Gießen Stand	1	SE4151
Obere Pufferkammer mit Dichtung	1	SE4154
Hochspannung Sicherheit Kabelsatz	1	SE6056-HV
Wonder Wedge Gelplatte Trennwerkzeug	1	SE1514
GelSeal, ¼ Unze Rohr	1	SE6070
<b>Klemmen und Nocken</b>		
Klammer-und CAM-Kit, vier 16-cm Klemmen und 8 schwarzen Nocken	1	SE6003UK
Ersatz Daumenschrauben für Schellen	12	SE6003U-2
Nocken, schwarz, für new-style-Cam-Klemmen mit Löchern	4	SE6005L
Klemmzangen, 8 cm	2	SE6403U
Klemmzangen, 16 cm	2	SE6003U
<b>Glasplatten 18 × 16 cm</b>		
Glasplatten	2	SE6102
Glasplatte, Club-Sandwich Teiler, gekerbt	1	SE6102D
<b>Glasplatten 18 × 24 cm</b>		
Glasplatten	2	SE6602
Glasplatte, Club-Sandwich Teiler, gekerbt	1	SE6602D

## Kämme

Anzahl der Vertiefungen	Dicke (mm)	Breite (mm)	Menge	Kennziffer
10	0,75	8,3	1	SE511-10-,75
10	1,00	8,3	1	SE511-10-1,0
10	1,50	8,3	1	SE511-10-1,5
12	0,75	7,6	1	SE511-12-,75
12	1,00	7,6	1	SE511-12-1,0
12	1,50	7,6	1	SE511-12-1,5
15	0,75	5,7	1	SE511-15-,75
15	1,00	5,7	1	SE511-15-1,0
15	1,50	5,7	1	SE511-15-1,5
20	0,75	4,1	1	SE511-20-,75
20	1,00	4,1	1	SE511-20-1,0
20	1,50	4,1	1	SE511-20-1,5
28 <sup>a</sup>	0,75	2,7	1	SE511-28-,75
28 <sup>a</sup>	1,00	2,7	1	SE511-28-1,0
28 <sup>a</sup>	1,50	2,7	1	SE511-28-1,5

<sup>a</sup>Kämme Tiefe 15 mm, alle anderen 25 mm.

## Präparative Kämme

Diese Kämme sind 25 mm tief, einstellbar auf 10 oder 15 mm.

Anzahl der Vertiefungen prep/ref	Dicke (mm)	Breite (mm) prep/ref	Menge	Kennziffer
1/1	0,75	121/6	1	SE511-R-,75
1/1	1,00	121/6	1	SE511-R-1,0
1/1	1,50	121/6	1	SE511-R-1,5
1/2	0,75	113/6	1	SE511-DR-,75
1/2	1,00	113/6	1	SE511-DR-1,0
1/2	1,50	113/6	1	SE511-DR-1,5

### Einstellbare Kammrücken

1

SE511-BKA

Verpflichtet, eine 25-mm tief Kamm auf 10 oder 15 mm Tiefe zu konvertieren.



## Abstandhalter

Dicke (mm)	Länge (cm)	Breite (cm)	Menge	Kennziffer
0,75	16	2	2	SE6119-2-,75
1,0	16	2	2	SE6119-2-1,0
1,5	16	2	2	SE6119-2-1,5
1,0	16	1	2	SE6118-2-1,0
1,5	16	1	2	SE6118-2-1,5
0,75	24	2	2	SE6619-2-,75
1,00	24	2	2	SE6619-2-1,0
1,50	24	2	2	SE6619-2-1,5

## Gel-Rollen

*Bestellen Käbme und Abstandhalter getrennt.*

### Für bis zu 4 Gele

Gel Caster-Kit, 4 Gele, 18 × 16 cm.	1	SE675
Bestehend aus: 8 Glasplatten, 3 Platzsparer Platten, 5 Füllstoff Blatt, 100 Blatt Wachspapier, Spacer-Mate-Schablone, und Blindstopfen.		

### Für bis zu 10 Gele

Multiple Gel Caster-Kit, 10-Gele, 18 × 16	1	SE615
Enthält: 20 Glasplatten, Platzsparer Platte, 5 Füllstoff Blatt, 100 Blatt Wachspapier und Spacer-Mate-Schablone.		

### Empfohlene

Hoefer SE100 Plate Mate Wasch-und Speichereinheit	1	SE100
Hoefer PS300B Power Supply	1	PS300B

---

**Hoefer, Inc.**

84 October Hill Road  
Holliston, MA 01746

Toll Free: 1-800-227-4750

Telefon: 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 ist ein eingetragenes  
Warenzeichen von Hoefer, Inc. ist  
ein eingetragenes Warenzeichen  
von Coomassie ICI plc. RBS-35 ist  
ein eingetragenes Warenzeichen  
von Pierce Chemical Co.

© 2012 Hoefer, Inc.

Alle Rechte vorbehalten.

Gedruckt in den USA.

---

