

VWR shiroGEL

Vertical 20

INSTRUCTION MANUAL



European Catalogue Number:

700-0353 VE 20 ShiroGel Vertical

700-0354 VE 20 Dual Casting System

Version: 1

Issued: 05.21.2014



Legal Address of Manufacturer

Europe

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011

Country of origin

UK

Contents:

	<u>Page</u>
Safety Information	1
Package Contents	2
Usage Guidance and restrictions:	3
Care and Maintenance	4
Introduction	5
Components	6
Key Features	7
Gel Casting	10
Set-up	11
Converting from 2 to 4 gel configuration	14
4 gel assembly for 1.5 and 2mm thick gels	16
Gel Preparation	17
Gel Selection	18
Gel Pouring	19
Sample Prep and Loading	20
Gel Running	23
Stock Solutions	24
References	26
Combs	27
Connecting to a Chiller Unit	28
Technical Service and Warranty	29
Equipment Disposal	30

Warning

When used correctly, these units pose no health risk. However, these units can deliver dangerous levels of electricity and are to be operated only by qualified personnel following the guidelines laid out in this instruction manual.

Anyone intending to use this equipment should read the complete manual thoroughly.

Safety Information



To avoid electrical shock:

The unit must never be used without the safety lid correctly in position.



To avoid electrical shock:

The unit should not be used if there is any sign of damage to the external tank or lid.

These units comply with the statutory CE safety directives:

Low Voltage Directive: 2006/95/EC	RoHS Directive: 2011/65/EU
EMC Directive: 2004/108/EC	WEEE 2012/19/EU
IEC 61010-1:2010 (Third Edition)	IEC 61326-1:2005



Avoiding Damage to the Instrument

The units should never come into contact with the following cleaning agents, these will cause irreversible and cumulative damage:-

Acetone, Phenol, Chloroform, Carbon tetrachloride, Methanol, Ethanol, Isopropyl alcohol, Alkalies.

Package Contents

VWR shiroGEL Vertical 20:

Units include tank, lid, internal module and electrodes and include the following accessories:

	Glass Plates	Combs	Casting base	Cooling Coil	Cables
shiroGEL Vertical 20	700-0361– Notched, Pk/2 700-0364– Plain with bonded 1mm spacers, Pk/2 700-0369 – Dummy Plate	2 of 700-0388 1mm thick, 24 sample	1 of 700-0356 (includes 1x 700-0359)	700-0358	1 set
shiroGEL Vertical 20 Complete	700-0361– Notched, Pk/2 700-0364– Plain with bonded 1mm spacers, Pk/2 700-0369 – Dummy Plate	2 of 700-0388 1mm thick, 24 sample	1 of 700-0356 (includes 1x 700-0359) + External CASTING STAND (no electrodes) 700-0355	700-0358	1 set



The packing lists should be referred to as soon as the units are received to ensure that all components have been included. The unit should be checked for damage when received.

Please contact your supplier if there are any problems or missing items.

Usage Guidance and restrictions:

- Maximum altitude 2,000m.
- Temperature range between 4°C and 65°C.
- Maximum relative humidity 80% for temperatures up to 31°C decreasing linearly to 50% relative humidity at 40°C.
- Not for outdoor Use.

Care and Maintenance:

Cleaning shiroGEL Vertical 20

Units are best cleaned using warm water and a mild detergent. **Water at temperatures above 60° C can cause damage to the unit and components.**

The unit should be thoroughly rinsed with warm water or distilled water to prevent build up of salts but care should be taken not to damage the plate electrodes and vigorous cleaning is not necessary or advised.

Air drying is preferably before use.

The units should only be cleaned with the following:

- *Warm water with a mild concentration of soap or other mild detergent.*

Compatible detergents include dishwashing liquid, Hexane and Aliphatic hydrocarbons

The units should not be left to in detergents for more than 30 minutes.

The units should never come into contact with the following cleaning agents, these will cause irreversible and accumulative damage:-

Acetone	Phenol	Chloroform	Carbon tetrachloride
Ethanol	Methanol	Isopropyl alcohol	Alkalis

RNase Decontamination

This can be performed using the following protocol:-

Clean the units with a mild detergent as described above.

Wash with 3% hydrogen peroxide (H₂O₂) for 10 minutes.

Rinsed with 0.1% DEPC- (diethyl pyrocarbonate) treated distilled water,

Caution: DEPC is a suspected carcinogen. Always take the necessary precautions when using. RNaseZAP™ (Ambion) can also be used. Please consult the instructions for use with acrylic gel tanks.

Instructions:

Introduction

The new shiroGEL VERTICAL 20 Vertical Electrophoresis System is the latest product innovation for large-format vertical gel electrophoresis. Designed to perform a variety of separations, including first- and second-dimension SDS-PAGE, native, preparative, gradient and high-resolution nucleic acid electrophoresis, plus capillary tube gel IEF and electroblotting, the shiroGEL VERTICAL 20 is one of the most versatile large-format vertical systems available.

By introducing innovative, new vertical screw-clamp technology within the PAGE insert only four screws are now necessary to secure as many 20x20cm gels. This gives the shiroGEL VERTICAL 20 the selective advantage of a much faster set up speed compared to competitor products whose traditional clamping configurations require as many as 24 screws to secure just two glass plates. In addition, the shiroGEL VERTICAL 20's vertical screw-clamp configuration distributes pressure evenly along the height of the gel rather than in the center to eliminate plate bowing and gel compression, but still maintains a leak-proof seal during casting; while the ergonomic shiroGEL VERTICAL 20 design of the PAGE insert, aids both handling and set up.

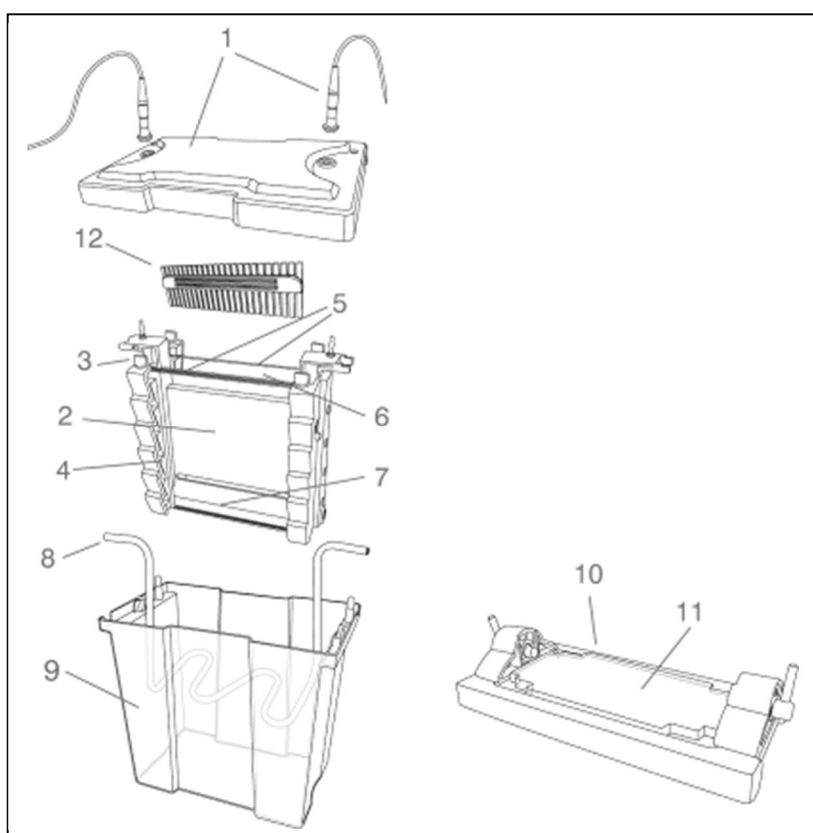
Whatever your requirements are the shiroGEL VERTICAL 20 can be made to meet them. Regardless of whether it is running 2 or 4 gels, electroblotting, and IEF using capillary tube gels or IPG strips, all of these techniques may be performed using the same versatile unit while retaining the benefits of large format electrophoresis, such as extended separation distances, greater sample throughput and superior resolution.

Before using the SHIROGEL VERTICAL 20 we recommend assembling and disassembling the unit before using it for electrophoresis, and familiarizing yourself with the component parts. Please see Figure 1 below.

Figure 1. shiroGEL VERTICAL 20

Vertical Component Parts

shiroGEL VERTICAL 20 Component Parts
1. Lid and power cables
2. PAGE insert
3. Vertical screw-pin
4. Clamping bars
5. Glass plates
6. Inner buffer chamber
7. Gasket
8. Detachable cooling coil
9. Outer tank
10. Cam-pin caster
11. Ultra-soft casting mat
12. Combs



Key Features

- **Vertical screw-clamp technology** - using only 4 screw-pins - dramatically reduces assembly time; also act in conjunction with color-coded clamping bars (see below) to distribute pressure evenly along the height of the gel to prevent plate bowing or compression (Fig.1, number 3)
- **A built-in inner buffer chamber within the PAGE insert** - allows set up to be completed without inclusion of a top tank or upper buffer chamber (Fig.1, number 6)
- **Color-coded clamping bars** – use green clamping bars to run up to two 2-mm-thick gels in the standard shiroGEL VERTICAL 20 configuration, or by using the thinner, yellow clamping bars to run up to four 2-mm-thick gels in the shiroGEL VERTICAL 20. (Fig.1, number 4; also see section on

Converting the shiroGEL VERTICAL 20 from a 2- to 4-gel Configuration)

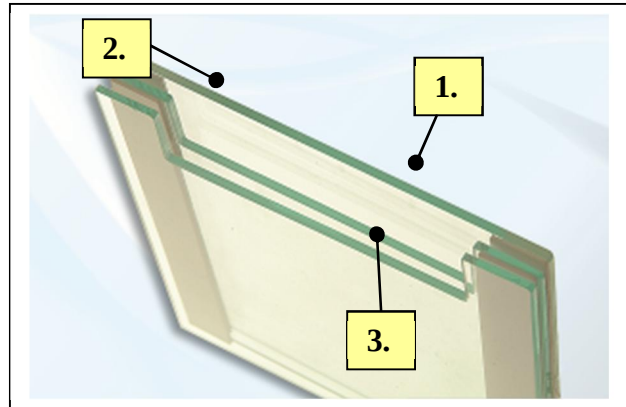
- **Glass plates** - compress gently against a flat, level gasket to prevent current leakage from the inner buffer chamber during electrophoresis (Fig.1, number 5); notched glass plate is placed innermost and compresses directly against the gasket to allow buffer to fill the upper wells within the gel, thereby facilitating electrical connectivity between the negative electrode and the top of the gel, whereas the plain glass plate with bonded spacers is outermost to prevent buffer leakage from the inner chamber
- **Detachable inner cooling coil** - connects to the laboratory water supply or a recirculating chiller to provide uniform, smile-free electrophoresis, while allowing runs to be performed at higher voltage (Fig.1, number 8)
- **Deep gel tank** - with adequate clearance beneath the glass plates to allow a magnetic stirrer to maintain buffer recirculation and uniform pH (Fig.1, number 9)
- **Cam-caster** - with very forgiving ultra-soft silicone mat compensates for glass plate misalignment to ensure leak-free casting (Fig.1, number 10 & 11)

Other Features

- Notched glass plates with bonded spacers supplied with shiroGEL VERTICAL 20 systems allow gel capacity to be doubled from 2 to 4, while dummy plate allows single gels to be run (See Fig. 2)

Fig. 2. Glass plate set-up for 2-gel sandwich using yellow spacers

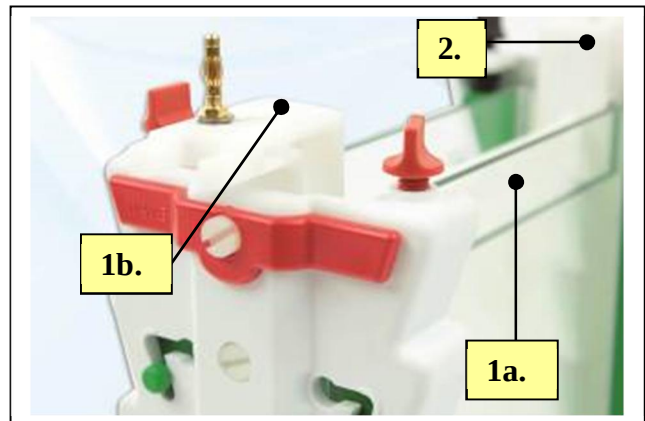
1. Plain glass plate with bonded spacer
2. Notched glass plate with bonded spacer
3. Notched glass plate



- Bonded spacers and combs color coded for thickness (not shown)
- Asymmetric lid design (Fig. 1, number 1) and color-coded screw pins in PAGE insert prevent polarity reversal (See Fig. 3)

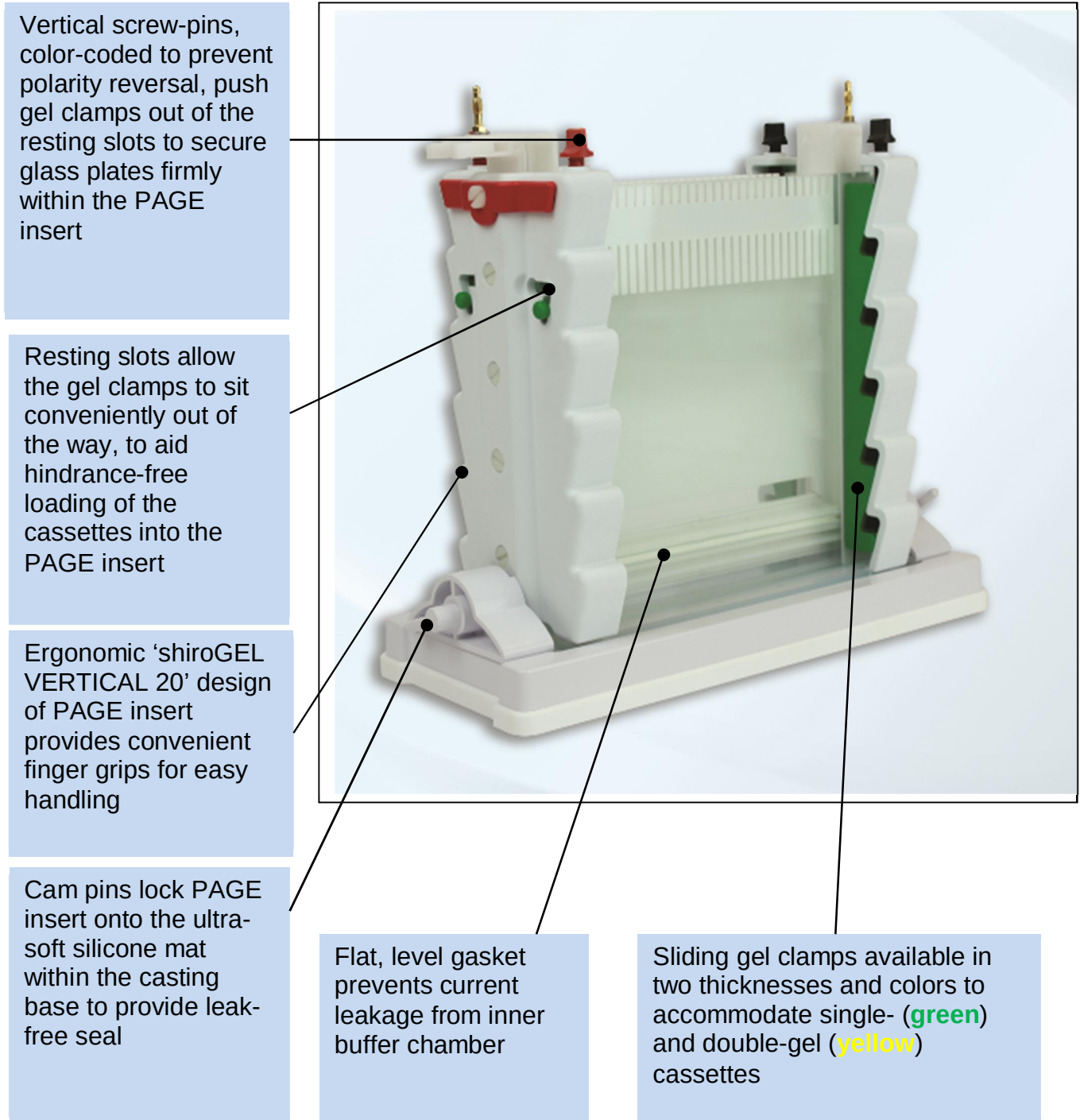
Fig. 3. Color-coded screw pins prevent polarity reversal

1. Red vertical screw pin (1a.) corresponding to positive electrode plug (1b.) color-coded with **positive** power cable
2. Black vertical screw pin corresponding to negative electrode plug color-coded with **negative** power cable



Leak-free Casting Using Vertical Screw-Pin Technology

Fig. 4. The vertical screw-clamp technology of the shiroGEL VERTICAL 20 PAGE insert facilitates fast, leak-proof gel casting.



Gel Casting for 2 Gels Using the shiroGEL VERTICAL 20

General rules

1. Clean a set of glass plates for each gel first with distilled water and then with 70 % ethanol. One set of glass plates constitutes one notched glass plate and one plain glass plate with bonded spacers. When using a 2-gel glass plate sandwich in the shiroGEL VERTICAL 20 to cast 2 gels either side of the PAGE insert, two notched glass plates are required - one with and the other without bonded spacers - as well as a set of plain glass plates with bonded spacers (Please also see section on **Converting the shiroGEL VERTICAL 20 from a 2- to 4-gel Configuration**). The plain glass plate is positioned outermost, followed by a notched glass plate with bonded spacers and then a second notched glass plate (Please see **Fig. 2. Glass plate set-up for 2-gel sandwich using yellow spacers**).

N.B. - All glass plates, modules and casting base accessories must be completely dry during set – up. Wet components are more likely to misalign and cause leaks.

2. Assemble the glass plates so that the bottom of the glass plates and the spacers are perfectly aligned; the standard glass plates supplied with the shiroGEL VERTICAL 20 or shiroGEL VERTICAL 20 systems, are supplied with bonded spacers and do not require manual alignment. However, if using free spacers, which are not included as standard, these need to be perfectly aligned. This is best performed using a small spacer or comb to push the spacers apart.

NOTE: The glass plates with bonded spacers have an arrow in the top of the spacers which are slightly longer than the glass plate to indicate the top.

Please follow the illustrations below for detailed set up of shiroGEL VERTICAL 20 system

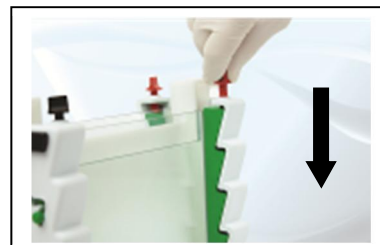
1. Assemble each gel cassette on a flat level surface, by placing the plain glass plate down with the spacers facing upwards followed by the notched glass plate.



2. Loosen the vertical screw-pins in the PAGE insert to release the locking mechanism, allowing the gel clamps to sit in the resting slots.



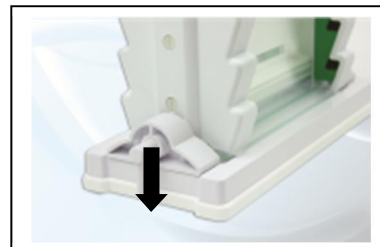
3. Insert a gel cassette into each side of the inner buffer chamber in the PAGE insert, and begin tightening the vertical screw-pins.



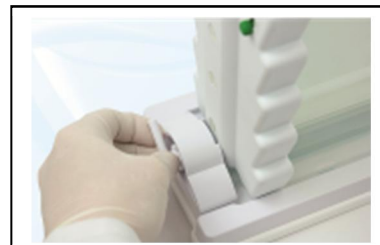
4. Continue to tighten the screw-pins until the gel clamps glide out of the resting slots and fix firmly against the glass plates pushing them upright.



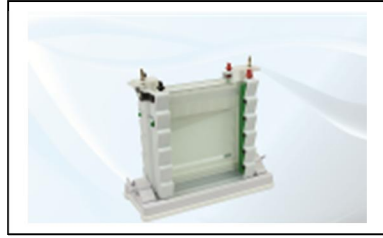
5. Check the bottom of the glass plates to ensure that they are flush together, and place the PAGE insert on the casting base; make sure that the cams are facing downwards.



6. Insert cams and turn until tightened, drawing the PAGE insert onto the casting to form a leak-proof seal.



7. Pour in the gel solution, insert the combs and allow the wells to polymerize. Gel pouring is best performed using a 25ml or 50ml pipette.



8. Transfer the PAGE insert to the gel tank. Fill the inner and outer buffer chambers before loading samples.



9. Replace the lid, connect to the power supply and run.



Converting the shiroGEL VERTICAL 20 from a 2- to 4-gel Configuration

The thicker green sliding gel clamps are recommended to secure up to 2 gels (i.e. 1 gel either side of the PAGE insert) for gels up to a maximum thickness of 2mm. For 4 gels (i.e. 2 gels either side of the PAGE insert: made using 1 plain glass plate and 1 notched glass plate, both with bonded spacers, and 1 notched plate without spacers), the thinner YELLOW sliding gel clamps **must** be used.

To convert the shiroGEL VERTICAL 20 from a 2- to 4-gel configuration please adhere to the following instructions.

1. To replace the green sliding gel clamps, begin by unscrewing the color-coded vertical screw pins. There should be no glass plates within the PAGE insert, in the side(s) being unscrewed. Once the screw pins are unscrewed sufficiently the green clamp should sit in the resting slot as shown.



2. Gently push the green sliding clamp horizontally towards the core of PAGE insert until it can move no further.



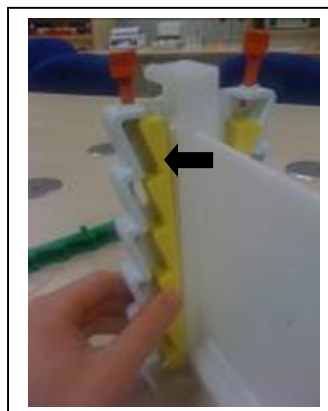
3. Push the green sliding gel clamp out of the PAGE insert by gently pressing the protruding pin as shown.



4. Once the green sliding gel clamp is removed the PAGE insert is ready to accept the thinner yellow sliding gel clamps for 2-gel sandwiches, either side of the PAGE insert, to convert the shiroGEL VERTICAL 20 to a 4-gel configuration.



5. Insert the yellow sliding gel clamp into the hole closest to the core of the PAGE insert. Once inserted gently withdraw the sliding clamp outwards away from the core of the PAGE insert as shown.



6. Withdraw the sliding gel clamps so that they sit suspended in the resting slots as shown. Repeat steps 1-6 to replace the remaining green sliding gel clamps. Once complete the PAGE insert is ready for 4-gel assembly.



4-gel Assembly for 1.5- and 2-mm-thick Gels

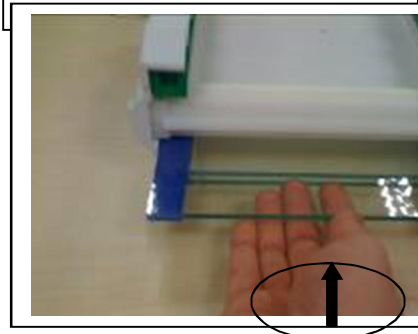
Once converted into the 4-gel configuration using the yellow sliding gel clamps the shiroGEL VERTICAL 20 is ready to accept and run a mum of four gels ranging in thickness from 1mm to 2mm.

1-mm-thick 2-gel sandwiches may be inserted into the PAGE insert from the top as shown in Figures 1-9 in the ***Detailed set up of the shiroGEL VERTICAL 20 insert*** section on pages 13-14. However, for 1.5- and 2-mm-thick 2-gel sandwiches, it may be necessary to load the shiroGEL VERTICAL 20 by positioning the PAGE insert on its side in order to overcome any resistance that may be posed by the gasket. The instructions below illustrate how best to undertake this.

1. With the PAGE insert upright in its normal position, unscrew the screw pins sufficiently so that that the sliding gel clamps sit suspended within the resting slots. Turn the PAGE insert on its side and push the sliding clamps until they lie completely flat within the PAGE insert parallel with the bench surface.



2. Form a 2-gel sandwich on an even bench surface, as described in **General Rules** on page 10 in the Vertical Gel Casting Section. Push the 2-gel sandwich with the notched plate uppermost into the PAGE insert. This notched plate will be closest to the core of the PAGE insert when it is upright. The uppermost notched glass plate may encounter some resistance from the gasket. This may be overcome by pushing the plain and notched glass beneath it into the PAGE insert (**encircled**).



3. Once the resistance is overcome push the uppermost notched glass plate into the PAGE insert. Restore the PAGE to its normal upright position and begin securing the glass plates for vertical electrophoresis, as described in Steps 3-9 of the **Detailed set up of the PAGE insert** on pages 13-14.



Gel Preparation:

1. It is always advisable to work using stock solutions which allow added convenience and save time when it comes to gel pouring. Page 22 lists stock solutions for SDS PAGE gels which should be pre-made beforehand. For native gel formula and running conditions, please consult a laboratory manual. The protocol below is given for use of the standard stock solutions advised. This should be adjusted if you are using different stock solutions or gel formulas.
2. Table 1 below shows the total volume of gel solution required. In subsequent tables, amounts of gel and solutions are given for two 1mm thick gels so adjustments are needed for when running single or more than two gels and for 0.75, 1.5 or 2mm thick spacers.

Table 1.

shiroGEL VERTICAL 20	
	Total Gel volume for a 1mm thick gel.
For different thicknesses of gel, multiply the below amounts by the spacer thickness.	
Single – one gel, one dummy plate	35ml
Double – two gels	70ml
Using a Triple Plate 2-gel sandwich – four gels	140ml

Gel Selection:

Care should be taken when selecting the pore size of the gel to be used.

The pore size or % of gel determines the resolving ability given different sizes of protein.

See Table 2 below which details which percentage of gel to use to separate the sizes of proteins indicated.

Table 2.

Acrylamide Percentage	Separating Resolution
5 %	60 - 220 KD
7.5 %	30 - 120 KD
10 %	20 - 75 KD
12%	17 – 65 KD
15 %	15 -45 KD
17.5%	12 – 30 KD

3. Prepare gel solutions as per tables below. These give the volumes of solutions from the standard stock solutions. These should be gently mixed avoiding generation of bubbles which will inhibit polymerization by removing free radicals.

Table 3: Preparation of the separating gel solution for two 20 x 20cm shiroGEL VERTICAL 20 gels using 1 mm spacers.

Solution	5 %	7.5%	10 %	12%	15 %	17.5%
Distilled Water	41ml	35.25ml	29.6ml	24.7ml	17.6ml	11.7ml
30 % Stock Acrylamide Solution	11.7ml	17.6ml	23.5ml	28.2ml	35.25ml	41.1ml
4 X Resolving Tris Solution	17.6ml	17.6ml	17.6ml	17.6ml	17.6ml	17.6ml
10 % Ammonium Persulphate	700µl	700µl	700µl	700µl	700µl	700µl

Gel Pouring:

For gels with stacking layers:

1. Insert the comb into the glass plates and mark a point on the glass plates 1cm below where the comb teeth finish. This indicates where to add the resolving gel to.
2. Add 70 μ l of TEMED to the gel solution and mix well, but avoid generating air bubbles.
3. Fill the glass plates again avoiding generating any air bubbles. Filling must be performed quickly before the TEMED causes the gel to become too viscous.
4. Overlay the gel extremely carefully with 1 ml of Isobutanol, Isopropanol or distilled water. When using distilled water extra care must be taken to ensure there is no mixing with the gel solution.
- 5 Let the resolving gel polymerize. Usually this takes around 15 minutes but this can vary due to the freshness of the reagents used. If polymerization is taken a lot longer than this, use fresher stock solutions or add more APS and TEMED.
6. Prepare the stacking gel using Table 4 below as a guide. Again stock solutions are given on pages 22 and 23.

Table 4.

Solution	shiroGEL VERTICAL 20
Distilled Water	16.8ml
30 % Stock Acrylamide Solution	2.6ml
4 X Stacking Gel Tris Solution	6.4ml
10 % Ammonium Persulphate	178 μ l

7. Carefully mix the stacking gel solution, avoiding generating air bubbles.
8. Pour off the overlay liquid and rinse the gel with distilled water.
9. For shiroGEL VERTICAL 20 gels add 26.8 μ l of TEMED. Mix well. Use a Pasteur pipette to fill the glass plates up to the top with stacking gel solution.

10. Carefully insert the comb making sure that no air bubbles get trapped under the ends of the comb teeth as these will inhibit sample progression.
11. Allow the stacking gel polymerize for 30 minutes.

For gels without stacking layers:

1. Add 70µl of TEMED for shiroGEL VERTICAL 20 gels and mix well but avoid generating air bubbles.
2. Fill the glass plates again avoiding generating any air bubbles. Filling must be performed quickly before the TEMED causes the gel to become too viscous.
3. Carefully insert the comb making sure that no air bubbles get trapped under the ends of the comb teeth as these will inhibit sample progression.
4. Let the gel polymerize. Usually this takes around 15 minutes but this can vary due to the freshness of the reagents used. If polymerization is taken a lot longer than this, use fresher stock solutions or add more APS and TEMED.

Sample Preparation & Loading

Preparation of denatured protein samples for loading:

The instructions given below are for denatured samples. For Native samples, please consult a laboratory handbook.

1. Prepare the protein samples for loading. The volume of sample depends on the capacity of the wells (See Comb specifications page 25).
2. Using a 0.5 ml micro-centrifuge tube or other convenient receptacle, combine the protein sample and 4 X sample buffer. It is always advisable to use protein markers in one of the end lanes to indicate sizes of bands. These should be prepared according to the manufacturer's instructions.
3. Heat the samples in a water bath or heating block for 2 minutes to denature the samples.
4. Centrifuge the samples in a micro-centrifuge for 20 seconds at 12,000 rpm. The protein samples are now ready to load.

Loading the samples:

1. Transfer the Inner gel module containing cast gels into the main tank in the correct orientation as indicated (+) on the module aligned with (+) on the tank, (-) on the module aligned with (-) on the tank.
2. Fill the outer tank with 1 x reservoir buffer. See page 22 for recommended running buffer solution. Table 6 shows the volume of buffer required.
3. Load the samples into the wells using a pipette tip taking care not to damage the wells or induce any air bubbles.
4. Fill any unused wells with 1 X sample buffer.
5. It is a good idea to note the orientation and order the samples were loaded in. This can be done by noting which samples were loaded adjacent to each electrode.

Buffer Volume:

Table 5.

Buffer Volume	shiroGEL VERTICAL 20
Minimum – Inner tank is filled to above the wells. Outer Tank is filled to just flood the bottom of the glass plates. Cooling potential is at a minimum which may affect resolution.	Total Inner Buffer Chamber:: 640ml Outer Tank: 1L
mum – Inner tank is filled to above the wells. Outer Tank is filled to the mum fill line. Cooling is high offering good resolution of samples. This may be further enhanced by using the cooling coil	Total Inner Buffer Chamber:: 640ml Outer Tank for 2 gels: 5.4L Outer Tank for 4 gels: 4.8L

Gel Running:

1. Fit the lid and connect to a power supply.
2. Consult Table 6, below, for details on recommended power supply voltage settings.
3. Turn the power supply off when the loading dye reaches the bottom of the gel, sooner if your proteins are below 4Kd in size.
4. Remove the gel running module, first emptying the inner buffer into the main tank. Buffer can be re-used but this may affect run quality if continued.
5. Unscrew the glass plates and gently pry apart the glass plates. The gel will usually stick to one of the plates and can be removed by first soaking in buffer and then gently lifting with a spatula.
6. The gel is now ready to be stained with Coomassie or silver stain or the proteins in the gel can be transferred to a membrane by electroblotting for specific band identification and further analysis.

Table 6.

Recommended Voltages and Resultant Current for 1mm thick, 12% gels.	shiroGEL VERTICAL 20
2-4 gels	35mA (constant); up to 350V maximum Runtime to 5h – no cooling; 4h with cooling

Stock Solutions for SDS PAGE gels:

Stock 30% Acrylamide Gel Solution:-

30.0 g acrylamide

0.8 g methylene bisacrylamide

Distilled Water to 100ml

Stock 4 X Resolving Gel Tris (1.5 M Tris HCl pH8.8, 0.4 % SDS)

To 110ml Distilled Water add 36.4 g of Tris base

Add 8ml of 10 % SDS

Adjust pH to 8.8 with 1N HCl

Adjust the final volume to 200ml with Distilled Water.

Stock 4 X Stacking Tris (0.5 M Tris HCL pH6.8, 0.4 % SDS)

To 110ml Distilled Water add 12.12 g of Tris base

Add 8ml of 10 % SDS

Adjust pH to 6.8 with 1N HCl

Add Distilled Water to a final volume of 200ml

Stock 4 X Tris-glycine tank buffer - SDS

36 g Tris base

172.8 g glycine

Distilled Water to 3 L

1 x Tris-glycine tank buffer - SDS

750ml of 4 X Tris-glycine reservoir buffer - SDS

30ml of 10 % SDS

Distilled Water to 3L

10 % AP (ammonium persulphate solution)

0.1 g ammonium persulphate

0.2 1ml Distilled Water

TEMED**Stock 4 X Sample Buffer**

4ml glycerol

2ml 2-mercaptoethanol

1.2 g SDS

5ml 4 X Stacking Tris

0.03 g Bromophenol blue

Aliquot into 1.5ml microcentrifuge tubes. Store at -20°C.

References:

1. Sambrook, Fritsch, and Maniatis, **Molecular Cloning A Laboratory Manual**, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.

Combs:

(MC denotes multi-channel pipette compatible)

shiroGEL VERTICAL 20

Code	Description	Sample Volume μ l Per Well
700-0376	Comb 1 Prep, 1 Marker, 0.75mm thick	1100
700-0377	Comb 5 sample, 0.75mm thick	160
700-0378	Comb 10 sample, 0.75mm thick	80
700-0379	Comb 18 sample MC, 0.75mm thick	40
700-0380	Comb 24 sample, 0.75mm thick	30
700-0381	Comb 30 sample, 0.75mm thick	25
700-0382	Comb 36 sample MC, 0.75mm thick	20
700-0383	Comb 48 sample, 0.75mm thick	15
700-0384	Comb 1 Prep, 1 Marker, 1mm thick	1500
700-0385	Comb 5 sample, 1mm thick	200
700-0386	Comb 10 sample, 1mm thick	100
700-0387	Comb 18 sample, 1mm thick	50
700-0388	Comb 24 sample, 1mm thick	40
700-0389	Comb 30 sample, 1mm thick	35
700-0390	Comb 36 sample MC, 1mm thick	25
700-0391	Comb 48 sample, 1mm thick	20
700-0392	Comb 1 Prep, 1 Marker, 1.5mm thick	2200
700-0393	Comb 5 sample, 1.5mm thick	320
700-0394	Comb 10 sample, 1.5mm thick	160
700-0395	Comb 18 sample, 1.5mm thick	80
700-0396	Comb 24 sample, 1.5mm thick	60
700-0397	Comb 30 sample, 1.5mm thick	50
700-0398	Comb 36 sample MC, 1.5mm thick	40
700-0399	Comb 48 sample, 1.5mm thick	30
700-0400	Comb 1 Prep, 1 Marker, 2mm thick	3000
700-0401	Comb 5 sample, 2mm thick	400
700-0402	Comb 10 sample, 2mm thick	200
700-0403	Comb 18 sample, 2mm thick	100
700-0404	Comb 24 sample, 2mm thick	80
700-0405	Comb 30 sample, 2mm thick	70
700-0406	Comb 36 sample MC, 2mm thick	50
700-0407	Comb 48 sample, 2mm thick	40

Connecting to a Chiller Unit

1. Vertical PAGE may sometimes result in high currents. High current may cause the build-up of heat which can affect sample migration and gel resolution as a result. To counteract the adverse effects of heat generation, the manufacturer recommends using an effective chiller unit, preset to 4°C.
2. For active temperature regulation attach two short lengths of hose from the inlet and outlet ports of the chiller unit to the respective outlet and inlet connectors of the cooling coil sitting within the shiroGEL VERTICAL 20 outer tank.
3. Ensure that the flow rate of the chiller unit is set at a maximum 1L/minute. Do not exceed this limit as damage to the cooling platform might occur.
4. If using a chiller unit which exceeds this limit, a T-connector may be used. The T-connector can divert some coolant volume back to the recirculating chiller reducing the pressure incident within the coil.

The unit is now ready to be used with active cooling.

Technical service

Web Resources

Visit the VWR's website at www.vwr.com for:

- Complete technical service contact information
- Access to VWR's Online Catalogue, and information about accessories and related products
- Additional product information and special offers

Contact us For information or technical assistance contact your local VWR representative or visit. www.vwr.com.

Warranty

VWR International warrants that this product will be free from defects in material and workmanship for a period of two (2) years from date of delivery. If a defect is present, VWR will, at its option and cost, repair, replace, or refund the purchase price of this product to the customer, provided it is returned during the warranty period. This warranty does not apply if the product has been damaged by accident, abuse, misuse, or misapplication, or from ordinary wear and tear. If the required maintenance and inspection services are not performed according to the manuals and any local regulations, such warranty turns invalid, except to the extent, the defect of the product is not due to such non-performance.

Items being returned must be insured by the customer against possible damage or loss. This warranty shall be limited to the aforementioned remedies. IT IS EXPRESSLY AGREED THAT THIS WARRANTY WILL BE IN LIEU OF ALL WARRANTIES OF FITNESS AND IN LIEU OF THE WARRANTY OF MERCHANTABILITY.

Compliance with local laws and regulations

The customer is responsible for applying for and obtaining the necessary regulatory approvals or other authorizations necessary to run or use the Product in its local environment. VWR will not be held liable for any related omission or for not obtaining the required approval or authorization, unless any refusal is due to a defect of the product.

EQUIPMENT DISPOSAL



This equipment is marked with the crossed out wheeled bin symbol to indicate that this equipment must not be disposed of with unsorted waste.

Instead it's your responsibility to correctly dispose of your equipment at lifecycle-end by handing it over to an authorized facility for separate collection and recycling. It's also your responsibility to decontaminate the equipment in case of biological, chemical and/or radiological contamination, so as to protect from health hazards the persons involved in the disposal and recycling of the equipment.



For more information about where you can drop off your waste equipment, please contact your local dealer from whom you originally purchased this equipment.

By doing so, you will help to conserve natural and environmental resources and you will ensure that your equipment is recycled in a manner that protects human health.

Thank you

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Vienna
Tel.: +43 1 97 002 0
Fax: +43 1 97 002 600
E-mail: info@at.vwr.com

Belgium

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
3001 Leuven
Tel.: 016 385 011
Fax: 016 385 385
E-mail: customerservice@be.vwr.com

Czech Republic

VWR International s. r. o.
Veetee Business Park
Pražská 442
CZ - 281 67 Stříbrná Skalice
Tel.: +420 321 570 321
Fax: +420 321 570 320
E-mail: info@cz.vwr.com

Denmark

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2730 Herlev
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
E-mail: info@dk.vwr.com

Finland

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Fax: 09 80 45 52 00
E-mail: info@fi.vwr.com

France

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201, rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tel.: 0 825 02 30 30 (0,15 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,15 € TTC/min)
E-mail: info@fr.vwr.com

Germany

VWR International GmbH
Hilpertstraße 20a
D - 64295 Darmstadt
Freecall: 0800 702 00 07
Fax: 0180 570 22 22*
Email: info@de.vwr.com
*0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz

Hungary

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tel.: (52) 521-130
Fax: (52) 470-069
E-mail: info@hu.vwr.com

Ireland / Northern Ireland

VWR International Ltd /
VWR International (Northern Ireland) Ltd
Orion Business Campus
Northwest Business Park
Ballycoolin
Dublin 15
Tel.: 01 88 22 222
Fax: 01 88 22 333
E-mail: sales@ie.vwr.com

Italy

VWR International PBI S.r.l.
Via San Giusto 85
20153 Milano (MI)
Tel.: 02-3320311/02-487791
Fax: 800 152999/02-40090010
E-mail: info@it.vwr.com

The Netherlands

VWR International B.V.
Postbus 8198
1005 AD Amsterdam
Tel.: 020 4808 400
Fax: 020 4808 480
E-mail: info@nl.vwr.com

Norway

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 02290
Fax: 815 00 940
E-mail: info@no.vwr.com

Poland

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200 do 204
Fax: 058 32 38 205
E-mail: info@pl.vwr.com

Portugal

VWR International -
Material de Laboratório, Lda
Edifício Neopark
Av. Tomás Ribeiro, 43-3 D
2790-221 Carnaxide
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
E-mail: info@pt.vwr.com

Spain

VWR International Eurolab S.L.
C/ Tecnología 5-17
A-7 Llinars Park
08450 - Llinars del Vallès
Barcelona
Tel.: 902 222 897
Fax: 902 430 657
E-mail: info@es.vwr.com

Sweden

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tel.: 08 621 34 00
Fax: 08 621 34 66
E-mail: kundservice@se.vwr.com

Switzerland

VWR International GmbH
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tel.: 044 745 13 13
Fax: 044 745 13 10
E-mail: info@ch.vwr.com

Turkey

Pro Lab Laboratuvar Teknolojileri Ltd.Şti.
a VWR International Company
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - İstanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Email: info@pro-lab.com.tr

UK

VWR International Ltd
Customer Service Centre
Hunter Boulevard - Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tel.: 0800 22 33 44
Fax: 01455 55 85 86
E-mail: uksales@uk.vwr.com

Australia

VWR International, Pty Ltd.
Unit 1/31 Archimedes Place
Murarrie, Queensland 4172
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123

China

VWR International China Co., Ltd
Rm.219, 2100 Dongming Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
E-mail: info_china@vwr.com

India

VWR Lab Products Private Limited
135/12, Brigade Towers, 2nd Floor
Front wing, Brigade Road,
Bengaluru, India – 560 025
Tel.: +91-80-41117125/26 (Bengaluru)
Tel.: +91-2522-647911/922 (Mumbai)
Fax: +91-80-41117120
E-mail: vwr_india@vwr.com

New Zealand

Global Science - A VWR Company
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tel.: 0800 734 100
Fax: 0800 999 002
E-mail: sales@globalscience.co.nz

Singapore

VWR Singapore Pte Ltd
18 Gul Drive
Singapore 629468
Tel.: +65 6505 0760
Fax: +65 6264 3780
E-mail: sales@sg.vwr.com

**GO TO VWR.COM FOR THE LATEST
NEWS, SPECIAL OFFERS AND
DETAILS OF YOUR LOCAL VWR
DISTRIBUTOR**

VWR shiroGEL

Vertical 20

BEDIENUNGSANLEITUNG



Europäische Katalognummer:

700-0353 VE 20 ShiroGel Vertical

700-0354 VE 20 Dual Casting System

Version: 1

Erstellt: 21.05.2014



Offizielle Anschrift des Herstellers

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+32-16-385011

Ursprungsland

Großbritannien

Inhalt:

	<u>Seite</u>
Sicherheitsinformationen	1
Lieferumfang	2
Richtlinien und Einschränkungen für die Verwendung:	3
Wartung und Pflege	4
Einführung	6
Komponenten	7
Schlüsselfunktionen	8
Gelguss	12
Aufbau	14
Konvertierung von 2 zu 4 Gelkonfigurierung	16
4-Gel-Montage für 1,5 mm und 2 mm dicke Gele	18
Gelvorbereitung	19
Gelauswahl	20
Gelgießen	21
Probenvorbereitung und -ladung	22
Blotvorgang	25
Stammlösungen	26
Referenzmaterial	28
Kämme	29
Mit einer Kühlereinheit verbinden	30
Technischer Service und Garantie	31
Entsorgung des Geräts	33

Warnhinweise

Bei richtiger Verwendung gehen von den Geräten keine Gesundheitsrisiken aus. Diese Geräte können jedoch gefährliche Stromstärken abgeben und sind nur von qualifiziertem Personal zu bedienen, das sich an die Richtlinien in dieser Bedienungsanleitung hält.

Jeder, der dieses Gerät verwenden möchte, muss das vollständige Handbuch sorgfältig durchlesen.

Sicherheitsinformationen



Zur Vermeidung von Stromschlägen:

Darf das Gerät niemals verwendet werden, wenn sich der Sicherheitsdeckel nicht in der richtigen Position befindet.



Zur Vermeidung von Stromschlägen:

Sollte das Gerät nicht verwendet werden, wenn der äußere Tank oder der Deckel Anzeichen einer Beschädigung aufweisen.

Diese Geräte entsprechen den gesetzlichen CE-Sicherheitsrichtlinien:

Niederspannungsrichtlinie: 2006/95/EG	RoHS-Richtlinie: 2011/65/EU
EMC-Richtlinie: 2004/108/EG	EEAG 2012/19/EU
IEC 61010-1:2010 (Dritte Ausgabe)	IEC 61326-1:2005



Vermeidung von Schäden am Gerät

Die Geräte dürfen niemals mit den nachfolgenden Reinigungsmitteln in Kontakt kommen, da dadurch ein irreversibler und kumulativer Schaden entsteht:-

Azeton, Phenol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Methanol, Ethanol, Isopropylalkohol, Laugen.

Lieferumfang

VWR shiroGEL Vertical 20:

Einheiten enthalten Behälter, Deckel, inneres Modul und Elektroden sowie folgendes Zubehör:

	Glasplatten	Kämme	Gussbasis	Kühlspule	Kabel
shiroGEL Vertical 20	700-0361 – eingekerbt, Pk/2 700-0364 – einfach, mit gebundenen 1 mm Abstandhaltern, Pk/2 700-0369 – Dummy-Platten	2 von 700-0388 1 mm dick, 24 Proben	1 von 700-0356 (enthält 1 x 700-0359)	700-0358	1 Satz
shiroGEL Vertical 20 Complete	700-0361 – eingekerbt, Pk/2 700-0364 – einfach, mit gebundenen 1 mm Abstandhaltern, Pk/2 700-0369 – Dummy-Platten	2 von 700-0388 1 mm dick, 24 Proben	1 von 700-0356 (enthält 1 x 700-0359) + externer Gussstand (keine Elektroden) 700-0355	700-0358	1 Satz



Die Packlisten müssen sofort nach Eintreffen der Geräte überprüft werden, um sicherzustellen, dass alle Komponenten geliefert wurden. Das Gerät muss mit Erhalt auf Schäden untersucht werden.

Bitte wenden Sie sich an Ihren Lieferanten, wenn es Probleme gibt oder wenn Teile fehlen.

Richtlinien und Einschränkungen für die Verwendung:

- Maximale Höhe 2.000 m über NN.
- Temperaturbereich zwischen 4 °C und 65 °C.
- Maximale relative Luftfeuchtigkeit 80 % bei Temperaturen bis 31 °C linear abfallend auf 50 % relative Luftfeuchtigkeit bei 40 °C.
- Nicht für den Einsatz im Freien.

Wartung und Pflege:

Reinigung shiroGEL Vertical 20

Am besten werden die Geräte mit warmem Wasser und einem milden Reinigungsmittel gereinigt. **Wasser bei Temperaturen über 60 °C kann Schäden am Gerät und an den Komponenten verursachen.**

Das Gerät sollte gründlich mit warmem oder destilliertem Wasser gewaschen werden, um das Absetzen von Salzen zu verhindern. Bitte achten Sie darauf, dass die Plattenelektroden nicht beschädigt werden. Eine intensive Reinigung ist weder notwendig noch ratsam.

Vorzugsweise vor Verwendung an der Luft trocknen.

Die Geräte sollten nur wie folgt gereinigt werden:

- *Mit warmem Wasser und einer milden Seife oder anderen milden Reinigungsmitteln.*

Verwendbare Reinigungsmittel sind Geschirrspülmittel, Hexan und aliphatische Kohlenwasserstoffe.

Die Geräte sollten nicht länger als 30 Minuten im Reinigungsmittel einweichen.

Die Geräte sollten niemals mit den nachfolgenden Reinigungsmitteln in Kontakt kommen, da dadurch ein irreversibler und kumulativer Schaden entsteht:-

Aceton	Phenol	Chloroform	Kohlentetrachlorid
Ethanol	Methanol	Isopropylalkohol	Laugen

RNase-Dekontamination

Diese kann mit dem folgenden Protokoll durchgeführt werden:-

Reinigen Sie die Geräte mit einem milden Reinigungsmittel wie oben beschrieben.

Waschen Sie sie 10 Minuten lang mit 3 % Wasserstoffperoxid (H₂O₂).

Spülen Sie mit 0,1 % DEPC-behandeltem (Diethylpyrocarbonat), destilliertem Wasser.

Vorsicht: DEPC ist möglicherweise krebserregend. Treffen Sie stets die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen beim Gebrauch. Es kann auch RNaseZAP™ (Ambion) verwendet werden. Lesen Sie die Gebrauchsanweisung für Geltanks aus Acryl.

Anweisungen:

Einführung

Das neue shiroGEL VERTICAL 20 vertikale Elektrophoresesystem ist die jüngste Produktinnovation für großformatige vertikale Gelelektrophorese. Konstruiert, um eine Vielzahl an Trennungen durchzuführen, einschließlich erst- und zweitdimensionale SDS-PAGE, native, präparative, Gradient- und hochauflösende Nukleinsäure-Elektrophorese, plus Kapillarröhrchen-Gel-IEF und Elektroblothing, ist shiroGEL VERTICAL 20 eines der vielseitigsten großformatigen Vertikalsysteme, die es gibt.

Durch die Einführung innovativer, neuer vertikaler Schraubtechnologie innerhalb des PAGE-Einsatzes, sind nun nur noch vier Schrauben notwendig, um bis zu 20 x 20 cm Gele zu sichern. Dies gibt shiroGEL VERTICAL 20 den selektiven Vorteil einer viel schnelleren Set-Up-Geschwindigkeit, verglichen mit Konkurrenzprodukten, deren traditionelle Schraubtechnologie nicht weniger als 24 Schrauben erfordert, um nur zwei Glasplatten zu sichern. Zusätzlich verteilt die vertikale Schraubzwingenkonstruktion von shiroGEL VERTICAL 20 den Druck gleichmäßig entlang der Höhe des Gels, anstelle von im Zentrum, um dadurch Plattenbiegung und Gelkomprimierung zu vermeiden, wobei gleichzeitig dennoch ein auslaufsicheres Siegel beim Gießen bewahrt wird; wobei die ergonomische Konstruktion des PAGE-Einsatzes von shiroGEL VERTICAL 20 sowohl Handhabung als auch Set-Up unterstützt.

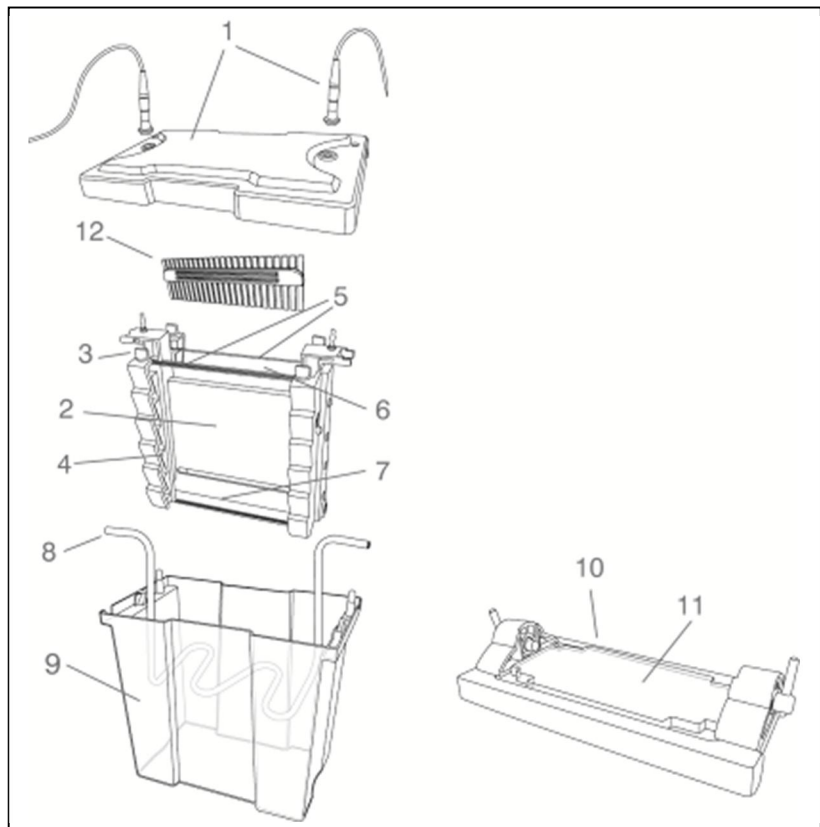
Was auch immer Ihre Voraussetzungen sind, shiroGEL VERTICAL 20 kann sie erfüllen. Unabhängig davon, ob 2 oder 4 Gele, Elektroblothing sowie IEF, das Kapillarröhrchengele oder IPG-Strips verwendet, all diese Techniken können mit demselben vielseitigen Gerät durchgeführt werden, während gleichzeitig die Vorteile der großformatigen Elektrophorese erhalten bleiben, wie etwa erweiterte Trennungsdistanzen, größere Probenverarbeitungsmengen und überlegene Resolution.

Vor Verwendung von SHIROGEL VERTICAL 20 empfehlen wir, das Gerät vor Gebrauch zur Elektrophorese zusammen- und auseinanderzubauen, um mit den einzelnen Teilen vertraut zu werden. Siehe Abbildung 1 unten.

Abbildung 1. shiroGEL VERTICAL 20

Vertikale Komponententeile

shiroGEL VERTICAL 20 vertikale Komponententeile
1. Deckel und Stromkabel
2. PAGE-Einsatz
3. Vertikale Schraube
4. Spannleisten
5. Glasplatten
6. Innere Pufferkammer
7. Dichtung
8. Lösbare Kühlspule
9. Außenbehälter
10. Nockenstiftrolle
11. Ultraweiche Gussmatte
12. Kämme



Schlüsselfunktionen

- **Vertikale Schraubzwingentechnologie** – die Verwendung von nur 4 Schrauben reduziert die Aufbauzeit dramatisch; agiert auch in Verbindung mit farbcodierten Spannleisten (siehe unten), um den Druck gleichmäßig entlang der Höhe des Gels zu verteilen und ein Biegen oder Zusammendrücken der Platte zu vermeiden (Abb. 1, Nummer 3)
- **Eine eingebaute Pufferkammer innerhalb des PAGE-Einsatzes** – erlaubt Vervollständigung der Einrichtung ohne Einfügen eines oberen Behälters oder einer oberen Pufferkammer (Abb. 1, Nummer 6)
- **Farbcodierte Spannleisten** – verwenden Sie die grünen Spannleisten, um bis zu zwei 2 mm dicke Gele in der Standardkonfiguration von shiroGEL VERTICAL 20 zu betreiben, oder bis zu vier 2 mm dicke Gele im shiroGEL VERTICAL 20, indem Sie die dünneren, gelben Spannleisten verwenden. (Abb. 1, Nummer 4; siehe auch Abschnitt zu

Konvertieren von shiroGEL VERTICAL 20 von einer 2- zu einer 4-Gelkonfigurierung)

- **Glasplatten** – sanft gegen eine flache, ebene Dichtung zusammendrücken, um zu vermeiden, dass während der Elektrophorese aus der inneren Pufferkammer Strömung ausläuft (Abb. 1, Nummer 5); die eingekerbte Glasplatte wird ganz innen angebracht und verdichtet sich direkt gegen die Dichtung, um dem Puffer zu erlauben, den oberen Schacht innerhalb des Gels zu füllen, wodurch die elektrische Verbindung zwischen der negativen Elektrode und der Oberseite des Gels erleichtert wird, wohingegen die einfache Glasplatte mit verbundenen Abstandhaltern ganz nach außen kommt, um ein Auslaufen von Puffer aus der inneren Kammer zu vermeiden
- **Lösbare innere Kühlspule** – verbunden mit dem Wasservorrat des Labors oder einem Umlenkkühler, um einheitliche, gleichmäßige Elektrophorese zu bieten und gleichzeitig Durchläufe bei höherer Spannung zuzulassen (Abb. 1, Nummer 8)

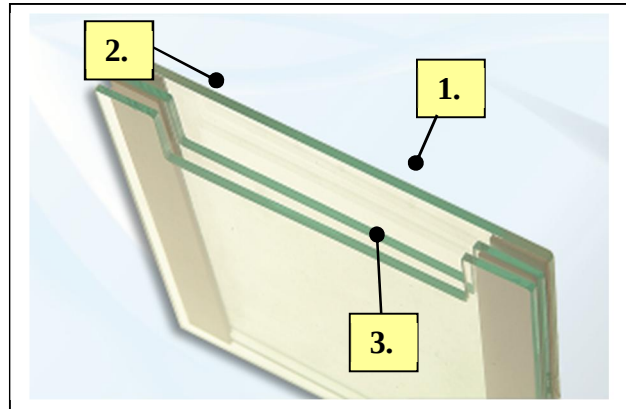
- **Tiefer Geltank** – mit angemessenem Zwischenraum unter den Glasplatten, um einem magnetischen Rührer zu erlauben, den Pufferumlauf sowie eine einheitliche pH aufrechtzuerhalten (Abb. 1, Nummer 9)
- **Nockenrolle** – mit sehr nachgiebiger ultraweicher Silikonmatte, kompensiert Glasfehlstellungen, um auslauffreies Gießen zu gewährleisten (Abb. 1, Nummern 10 & 11)

Sonstige Funktionsmerkmale

- Eingekerbte Glasplatten mit verbundenen Abstandhaltern, die zusammen mit shiroGEL VERTICAL 20 Systemen geliefert werden, erlauben die Verdoppelung der Gelkapazität von 2 auf 4, während eine Dummy-Platte es ermöglicht, ein einziges Gel zu verarbeiten (siehe Abb. 2)

Abb. 2. Glasplattenaufbau für ein 2-Gel-Sandwich unter Verwendung der gelben Abstandhalter

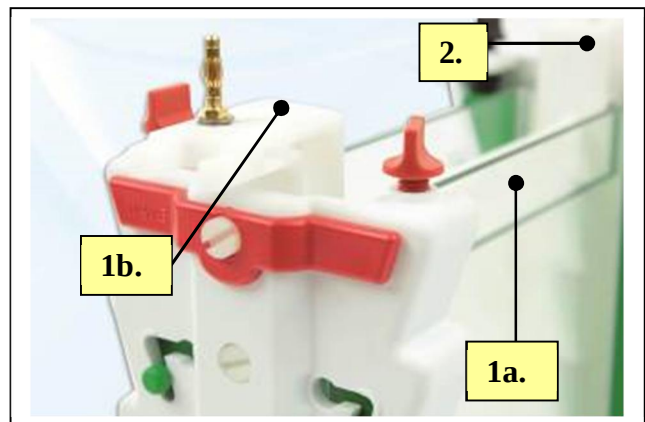
1. Einfache Glasplatte mit verbundenem Abstandhalter
2. Eingekerbte Glasplatte mit verbundenem Abstandhalter
3. Eingekerbte Glasplatte



- Verbundene Abstandhalter und für Dicke farbcodierte Kämme (nicht abgebildet)
- Asymmetrische Deckelkonstruktion (Abb. 1, Nummer 1) und farbcodierte Schraubstifte im PAGE-Einsatz verhindern Polaritätsumkehrung (siehe Abb. 3)

Abb. 3. Farbcodierte Schraubstifte verhindern Polaritätsumkehrung

1. Roter vertikaler Schraubstift (1a.) korrespondiert mit positivem Elektrodenstecker (1b.) farbcodiert mit **positivem** Stromkabel
2. Schwarzer vertikaler Schraubstift korrespondiert mit negativem Elektrodenstecker, farbcodiert mit **negativem** Stromkabel



Auslauffreies Gießen durch Verwendung der vertikalen Schraubstifttechnologie

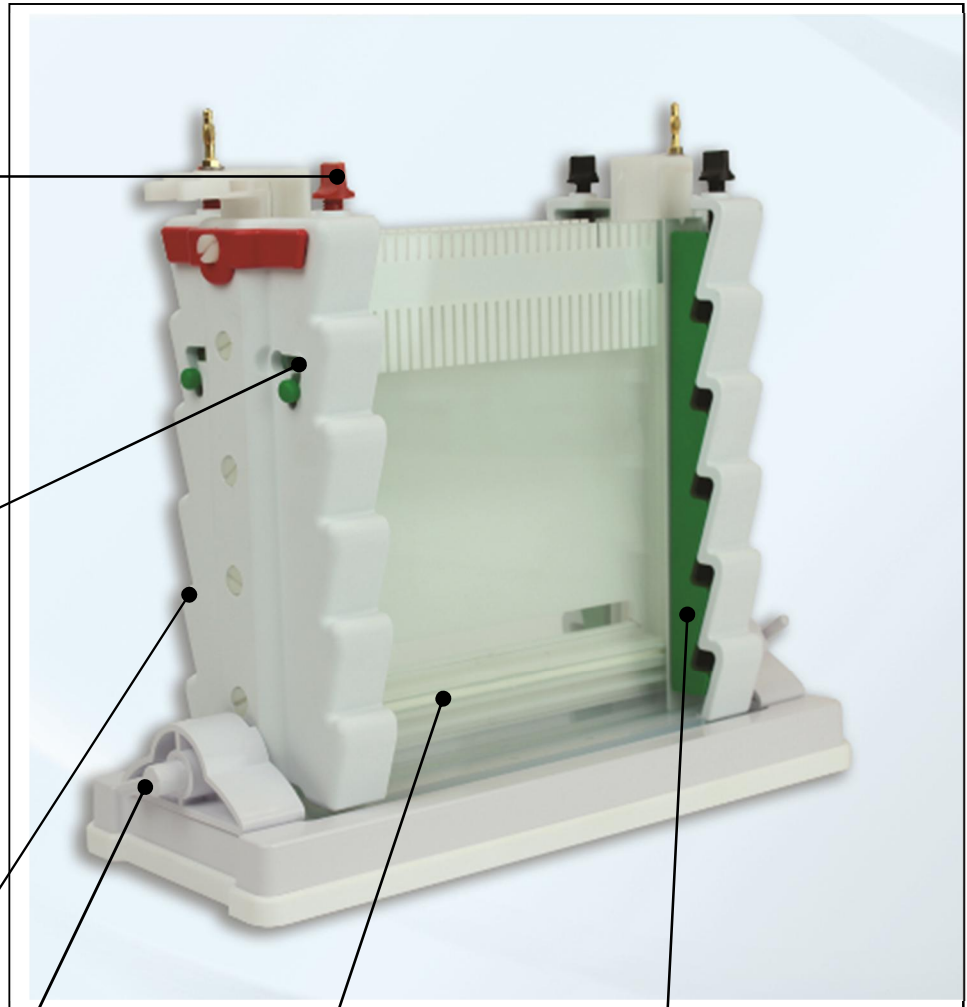
Abb. 4. Die vertikale Schraubzwingentechnologie des shiroGEL VERTICAL 20 PAGE-Einsatzes erleichtert schnelles, auslauffreies Gelgießen.

Vertikale Schraubstifte, farbcodiert, um Polaritätsumkehr zu verhindern, schieben die Gelklemmen aus den Ruheplätzen auf gesicherte Glasplatten fest innerhalb des PAGE-Einsatzes.

Ausruhsteckplätze gestatten es den Gelklemmen, bequem abseits zu liegen ohne im Weg zu sein, um ein hindernisfreies Laden der Kassetten in den PAGE-Einsatz zu unterstützen.

Ergonomisches Design des shiroGEL VERTICAL 20 PAGE-Einsatzes bietet bequeme Fingerhalter für einfache Handhabung

Nockenstifte verriegeln den PAGE-Einsatz auf der ultraweichen Silikonmatte in der Gießbasis, um leckfreies Versiegeln zu gewährleisten



Flache, ebene Dichtung verhindert Strömungsausfluss aus der inneren Pufferkammer

Gleitende Gelklemmen stehen in zwei Dicken und Farben zur Verfügung, um Single-(**grün**) und Doppel-Gel- (**gelb**) Kassetten aufzunehmen

Gelgießen für 2 Gele unter Einsatz von shiroGEL

VERTICAL 20

Allgemeine Bestimmungen

1. Reinigen Sie einen Satz Glasplatten für jedes Gel zuerst mit destilliertem Wasser und dann mit 70 % Äthanol. Ein Satz Glasplatten besteht aus einer eingekerbten Glasplatte und einer einfachen Glasplatte mit verbundenen Abstandhaltern. Wenn Sie ein 2-Gel-Glasplattensandwich im shiroGEL VERTICAL 20 verwenden möchten, um 2 Gele auf beiden Seiten des PAGE-Einsatzes zu gießen, so müssen Sie zwei eingekerbte Glasplatten verwenden – eine mit und die andere ohne verbundene Abstandhalter – sowie einen Satz einfacher Glasplatten mit verbundenen Abstandhaltern (siehe auch den Abschnitt zu **Konvertieren des shiroGEL VERTICAL 20 von einer 2- zu einer 4-Gel-Konfigurierung**). Die einfache Glasplatte wird am weitesten außen positioniert, gefolgt von einer eingekerbten Glasplatte mit verbundenen Abstandhaltern und dann einer zweiten eingekerbten Glasplatte (siehe **Abb. 2. Glasplatteneinrichtung für 2-Gel-Sandwich unter Verwendung der gelben Abstandhalter**).

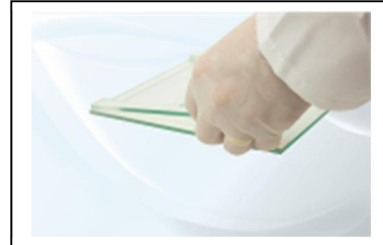
N.B. – Alles Zubehör für Glasplatten, Module und Gießbasen muss während der Einrichtung vollkommen trocken sein. Nasse Komponenten haben eine größere Wahrscheinlichkeit für Falschausrichtung und können Ausfluss verursachen.

2. Montieren Sie die Glasplatten so, dass die Unterseite der Glasplatten und die Abstandhalter perfekt aneinander ausgerichtet sind; die Standardglasplatten, die mit dem shiroGEL VERTICAL 20 oder dem shiroGEL VERTICAL 20 System geliefert werden, sind mit verbundenen Abstandhaltern ausgestattet und brauchen keine Ausrichtung von Hand. Wenn Sie jedoch freie Abstandhalter einsetzen, die normalerweise nicht in der Lieferung enthalten sind, so müssen diese perfekt ausgerichtet werden. Dies kann am besten dadurch erreicht werden, indem man mit einem kleinen Abstandhalter oder Kamm die Abstandhalter auseinander schiebt.

HINWEIS: Die Glasplatten mit verbundenen Abstandhaltern haben einen Pfeil in der Oberseite der Abstandhalter, die etwas länger als die Glasplatte sind, um die Oberseite auszuweisen.

Bitte folgen Sie den Illustrationen unten für eine detaillierte Montage des shiroGEL VERTICAL 20 Systems.

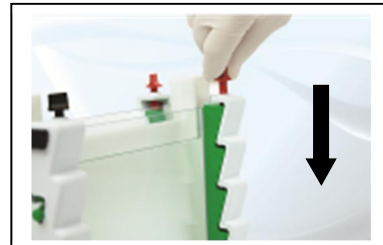
1. Montieren Sie jede Gel-Kassette auf einer ebenen Oberfläche, indem Sie die einfache Glasplatte mit den Abstandhaltern nach oben ablegen, gefolgt von der eingekerbten Glasplatte.



2. Lockern Sie die vertikalen Schraubstifte im PAGE-Einsatz, um den Verriegelungsmechanismus zu öffnen, wodurch sie den Gelklemmen gestatten, in den Ruheslots zu liegen.



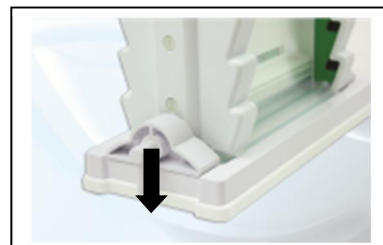
3. Geben Sie eine Gel-Kassette in jede Seite der inneren Pufferkammer des PAGE-Einsatzes und beginnen Sie, die vertikalen Schraubstifte anzuziehen.



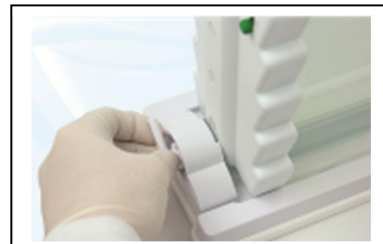
4. Fahren Sie fort damit, die Schraubstifte anzuziehen, bis die Gelklemmen aus den Ruheslots herausgleiten, und fixieren Sie sie fest gegen die Glasplatten, wobei Sie sie aufrecht stellen.



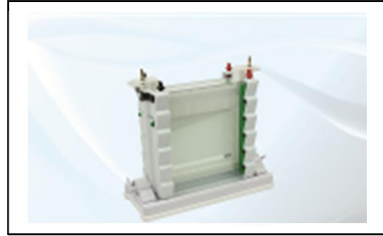
5. Überprüfen Sie die Unterseite der Glasplatten um sicherzustellen, dass sie miteinander bündig sind, und platzieren Sie den PAGE-Einsatz auf der Gießbasis; stellen Sie sicher, dass die Nocken nach unten gerichtet sind.



6. Fügen Sie die Nocken hinzu und drehen Sie sie, bis sie fest gezogen sind, dann ziehen Sie den PAGE-Einsatz auf den Guss, um eine dichte Versiegelung zu bilden.



7. Gießen Sie die Gellösung ein, fügen Sie die Kämme ein und lassen Sie die Schächte polymerisieren. Das Gießen des Gels wird am besten mit einer 25-ml oder einer 50-ml-Pipette ausgeführt.



8. Transferieren Sie den PAGE-Einsatz in den Geltank. Füllen Sie die inneren und äußeren Pufferkammern, ehe Sie die Proben laden.



9. Setzen Sie den Deckel wieder auf, verbinden Sie das Gerät mit Strom und lassen Sie das Programm laufen.



Konvertierung von shiroGEL VERTICAL 20 von einer 2- zu einer 4-Gelkonfigurierung

Die dickeren, grünen Gleitgelklemmen werden empfohlen, um bis zu 2 Gele zu sichern (z. B. 1 Gel auf jeder Seite des PAGE-Einsatzes), bei Gelen mit einer Mumdicke bis zu 2 mm. Für 4 Gele (z. B. 2 Gele auf jeder Seite des PAGE-Einsatzes: indem eine einfache Glasplatte verwendet wird sowie eine eingekerbte, beide werden mit verbundenen Abstandhaltern versehen, sowie eine eingekerbte Glasplatte ohne Abstandhalter), **müssen** die dünneren GELBEN gleitenden Gelklemmen verwendet werden.

Um shiroGEL VERTICAL 20 von einer 2- zu einer 4-Gelkonfigurierung zu konvertieren, gehen Sie bitte nach der folgenden Beschreibung vor.

1. Um die grünen gleitenden Gelklemmen zu ersetzen, beginnen Sie damit, die farbcodierten vertikalen Schraubstifte zu lösen. Es dürfen keine Glasplatten auf der (den) Seite(n) des PAGE-Einsatzes sein, die abgeschraubt wird (werden). Sobald die Schraubstifte genügend gelöst sind, muss die grüne Klemme, wie in der Darstellung gezeigt, im Ruheslot liegen.



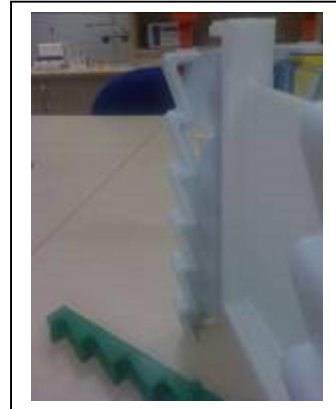
2. Schieben Sie die grüne Gleitklemme sanft nach vorne in Richtung Kern des PAGE-Einsatzes, bis es nicht mehr weiter geht.



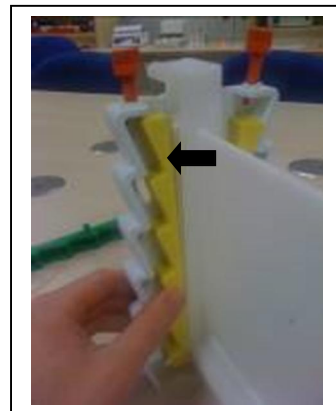
3. Schieben Sie die grüne Gleitgelklemme aus dem PAGE-Einsatz, indem Sie den vorspringenden Stift wie gezeigt sanft drücken.



4. Sobald die grüne Gleitgelklemme entfernt ist, ist der PAGE-Einsatz bereit, die dünneren gelben Gleitgelklemmen für 2-Gel-Sandwiches anzunehmen und zwar auf beiden Seiten des PAGE-Einsatzes, um shiroGEL VERTICAL 20 in eine 4-Gelkonfigurierung zu konvertieren.



5. Geben Sie die gelbe Gleitgelklemme in das Loch am nächsten zum Kern des PAGE-Einsatzes. Sobald eingefügt, ziehen Sie die Gleitgelklemme sanft nach außen und weg vom Kern des PAGE-Einsatzes, wie dargestellt.



6. Ziehen Sie die Gleitgelklemmen so, dass sie schwebend in den Ruheslots liegen, wie dargestellt. Wiederholen Sie Schritte 1–6, um die übrigen grünen Gleitgelklemmen zu ersetzen. Sobald abgeschlossen, ist der PAGE-Einsatz bereit für eine 4-Gel Montage.

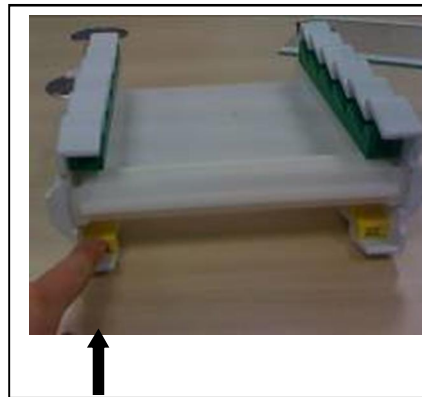


4-Gel Montage für 1,5 mm und 2 mm dicke Gele

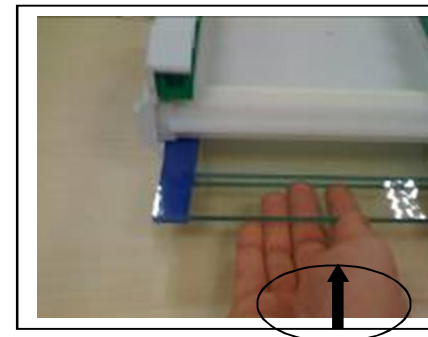
Wenn shiroGEL VERTICAL 20 durch Verwendung der gelben Gleitgelklemmen in eine 4-Gelkonfigurierung konvertiert ist, ist das Gerät bereit, ein Mum an vier Gelen in einer Dicke von 1 mm bis 2 mm laufen zu lassen.

1 mm dicke 2-Gel-Sandwiches können von oben in den PAGE-Einsatz eingefügt werden, wie auf den Abbildungen 1–9 der Seiten 13–14 im Abschnitt **Detaillierter Aufbau des shiroGEL VERTICAL 20 Einsatzes** gezeigt wird. Für 1,5 mm und 2 mm dicke 2-Gel-Sandwiches kann es jedoch notwendig sein, shiroGEL VERTICAL 20 durch Positionierung des PAGE-Einsatzes auf der Seite zu laden, um mögliche Widerstände, die auf die Dichtung treffen könnten, zu überwinden. Die Instruktionen unten stellen dar, wie dies am besten durchzuführen ist.

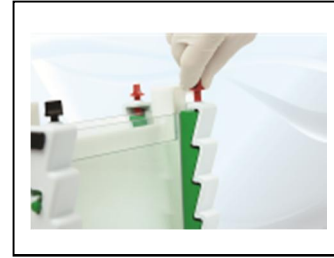
1. Wenn der PAGE-Einsatz gerade in seiner normalen Position ist, schrauben Sie die Schraubstifte so weit los, dass die Gleitgelklemmen schwebend in den Ruheslots liegen. Wenden Sie den PAGE-Einsatz auf die Seite und schieben Sie die Gleitklemmen, bis sie vollkommen flach im PAGE-Einsatz liegen und zwar parallel zur Bankoberfläche.



2. Formen Sie ein 2-Gel-Sandwich auf einer ebenen Bankoberfläche, wie beschrieben in **Allgemeine Bestimmungen** auf Seite 10 im Abschnitt „Vertikales Gelgießen“. Schieben Sie das 2-Gel-Sandwich mit der eingekerbten Platte ganz oben in den PAGE-Einsatz. Diese eingekerbte Platte wird dem Kern des PAGE-Einsatzes am nächsten sein, wenn er aufrecht steht. Die oberste eingekerbte Platte kann auf Widerstand von der Dichtung treffen. Dies kann überwunden werden, indem sowohl die einfache als auch die eingekerbte Glasplatte darunter in den PAGE-Einsatz geschoben werden (**umkreist**).



3. Sobald der Widerstand überwunden ist, schieben Sie die oberste eingekerbte Glasplatte in den PAGE-Einsatz. Bringen Sie den PAGE wieder in seine normale aufrechte Position und beginnen Sie damit, die Glasplatten für die vertikale Elektrophorese zu sichern, wie in den Schritten 3–9 im Abschnitt **Detaillierter Aufbau des PAGE-Einsatzes** auf den Seiten 13–14 beschrieben.



Gelvorbereitung

1. Es ist stets ratsam, mit Stammlösungen zu arbeiten, die zusätzliche Bequemlichkeit erlauben und dadurch Zeit sparen, wenn es um Gelgießen geht. Seite 22 listet Stammlösungen für SDS PAGE Gele auf, die im Vorfeld hergestellt werden müssen. Für native Gelformeln und Blotbedingungen, sehen Sie bitte in einem Laborhandbuch nach. Das folgende Protokoll bezieht sich auf die Standardstammlösungen, wie empfohlen. Dies muss angepasst werden, wenn Sie andere Stammlösungen oder Gelformeln verwenden.
2. Tabelle 1 zeigt das Gesamtvolumen der erforderlichen Gellösung. In weiteren Tabellen werden Anzahl an Gelen und Lösungen angezeigt für zwei 1 mm dicke Gele, so dass Anpassungen erforderlich sind, wenn ein einzelnes Gel verarbeitet wird oder mehr als zwei Gele sowie für 0,75 mm, 1,5 mm und 2 mm dicke Abstandhalter.

Tabelle 1.

shiroGEL VERTICAL 20	
	Gelgesamtvolumen für ein 1 mm dickes Gel.
Für verschiedene Geldicken, multiplizieren Sie die untenstehenden Mengen mit der Dicke des Abstandhalters.	
Einzel – ein Gel, eine	35 ml

Dummy-Platte	
Doppel – zwei Gele	70 ml
Unter Verwendung einer Dreifachplatte 2-Gel-Sandwich – vier Gele	140 ml

Gelauwahl:

Bei der Auswahl der Porengröße des zu verwendenden Gels muss achtsam vorgegangen werden.

Die Porengröße oder % des Gels bestimmen das Auflösungsvermögen bei verschiedenen Proteingrößen.

Siehe Tabelle 2 unten zu Einzelheiten bezüglich zu verwendendem Gelprozentsatz, um die Größen der bezeichneten Proteine zu trennen.

Tabelle 2.

Prozentsatz Acrylamid	Trennungslösung
5 %	60 – 220 KD
7,5 %	30 – 120 KD
10 %	20 – 75 KD
12 %	17 – 65 KD
15 %	15 – 45 KD
17,5%	12 – 30 KD

3. Bereiten Sie Gellösungen gemäß den Tabellen unten vor. Diese nennen die Volumen von Lösungen der Standardstammlösungen. Sie müssen vorsichtig gemischt werden, wobei die Generierung von Blasen zu vermeiden ist, da dies die Polymerisierung durch die Entfernung von freien Radikalen hemmt.

Tabelle 3: Vorbereitung der trennenden Gellösung für zwei 20 x 20 cm shiroGEL VERTICAL 20 Gele unter Verwendung von 1 mm Abstandhaltern.

Lösung	5 %	7,5 %	10 %	12 %	15 %	17,5%
Destilliertes Wasser	41 ml	35,25 ml	29,6 ml	24,7 ml	17,6 ml	11,7 ml

30 % Acrylamidstammlösung	11,7 ml	17,6 ml	23,5 ml	28,2 ml	35,25 ml	41,1 ml
4 x auflösende TRIS- Lösung	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml
10 % Ammoniumpersulfat	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl

Gelgießen:

Für Gele mit Stapelschichten:

1. Fügen Sie den Kamm in die Glasplatten ein und markieren Sie einen Punkt auf dem Glas 1 cm unterhalb vom Ende der Kammzähne. Dies weist darauf hin, wo das auflösende Gel hinzugefügt werden soll.
2. Fügen Sie der Gellösung 70 µl TEMED hinzu und mischen Sie gut, vermeiden Sie jedoch Blasenbildung.
3. Füllen Sie die Glasplatten, wobei Sie wieder darauf achten, keinerlei Luftblasen zu generieren. Das Füllen muss rasch vonstatten gehen, ehe das Gel durch das TEMED zu dickflüssig wird.
4. Überziehen Sie das Gel mit höchster Vorsicht mit 1 ml Isobutanol, Isoropropanol oder destilliertem Wasser. Wenn destilliertes Wasser verwendet wird, muss besonders darauf geachtet werden, dass dieses nicht mit der Gellösung vermischt wird.
5. Lassen Sie das auflösende Gel polymerisieren. Dies dauert normalerweise etwa 15 Minuten, je nach Frische der verwendeten Reagenzien kann es jedoch unterschiedlich sein. Falls die Polymerisierung sehr viel länger dauert, verwenden Sie frischere Stammlösungen oder fügen Sie mehr APS und TEMED hinzu.
6. Bereiten Sie das Stapelgel vor, wobei Sie Tabelle 4 unten als Anleitung verwenden. Stammlösungen werden wieder auf den Seiten 22 und 23 genannt.

Tabelle 4.

Lösung	shiroGEL VERTICAL 20
Destilliertes Wasser	16,8 ml
30 % Acrylamidstammlösung	2,6 ml
4 x Stapelgel TRIS-Lösung	6,4 ml
10 % Ammoniumpersulfat	178 µl

7. Mischen Sie die Stapelgellösung vorsichtig, wobei Sie die Entstehung von Luftblasen vermeiden.
8. Gießen Sie die Überziehlösung ab und spülen Sie das Gel mit destilliertem Wasser.
9. Für shiroGEL VERTICAL 20 Gele fügen Sie 26,8 µl TEMED hinzu. Gut mischen. Verwenden Sie eine Pasteur-Pipette, um die Glasplatten bis an die Oberkante mit Stapelgellösung aufzufüllen.
10. Setzen Sie den Kamm vorsichtig ein, wobei Sie sicherstellen, dass keine Luftblasen unter den Enden der Kammzähne festsitzen, da dies den Probenverlauf behindert.
11. Lassen Sie das Stapelgel 30 Minuten polymerisieren.

Für Gele ohne Stapelschichten:

1. Fügen Sie 70 µl TEMED für shiroGEL VERTICAL 20 Gele hinzu und mischen Sie gut, vermeiden jedoch die Entstehung von Luftblasen.
2. Füllen Sie die Glasplatten, wobei Sie wieder darauf achten, keinerlei Luftblasen zu generieren. Das Füllen muss rasch vonstatten gehen, ehe das Gel durch das TEMED zu dickflüssig wird.
3. Setzen Sie den Kamm vorsichtig ein, wobei Sie sicherstellen, dass keine Luftblasen unter den Enden der Kammzähne festsitzen, da dies den Probenverlauf behindert.
4. Lassen Sie das Gel polymerisieren. Dies dauert normalerweise etwa 15 Minuten, je nach Frische der verwendeten Reagenzien kann es jedoch unterschiedlich

sein. Falls die Polymerisierung sehr viel länger dauert, verwenden Sie frischere Stammlösungen oder fügen Sie mehr APS und TEMED hinzu.

Vorbereiten & Laden der Proben

Vorbereitung von denaturierten Proteinproben für Ladung:

Die folgenden Instruktionen sind für denaturierte Proben. Für native Proben konsultieren Sie bitte ein Laborhandbuch.

1. Bereiten Sie die Proben zur Ladung vor. Das Volumen der Proben hängt von der Kapazität der Schächte ab (siehe Kammspezifizierungen Seite 25).
2. Kombinieren Sie die Proteinprobe und 4 x Probenpuffer unter Verwendung eines 0,5 ml Mikrozentrifugenröhrchens oder eines anderen passenden Gefäßes. Es ist stets ratsam, Markerprotein in einer der letzten Bahnen zu verwenden, um die Größe der Banden anzuzeigen. Diese müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers zur Verwendung vorbereitet werden.
3. Erhitzen Sie die Proben im Wasserbad oder einem Heizblock 2 Minuten lang, um die Proben zu denaturieren.
4. Schleudern Sie die Proben in einer Mikrozentrifuge 20 Sekunden bei 12.000 U/min. Die Proteinproben können nun geladen werden.

Laden der Proben:

1. Transferieren Sie das innere Gelmodul mit den Gussgelen in den Haupttank und zwar mit der korrekten Orientierung, wie ausgewiesen: (+) auf dem Modul in Ausrichtung mit (+) auf dem Tank, (-) auf dem Modul in Ausrichtung mit (-) auf dem Tank.
2. Füllen Sie den äußeren Tank mit 1 x Reservoirpuffer. Siehe Seite 22 für empfohlene Blotpufferlösung. Tabelle 6 zeigt das Volumen des erforderlichen Puffers.

3. Laden Sie die Proben in die Schächte, indem Sie eine Pipettenspitze verwenden und acht geben, die Schachtwände nicht zu beschädigen und auch keine Luftblasen zu verursachen.
4. Füllen Sie ungenutzte Schächte mit 1 x Probenpuffer.
5. Es ist eine gute Idee, die Richtung zu notieren und die Proben, die geladen wurden, zu ordnen. Dies kann dadurch ausgeführt werden, in dem diejenigen Proben, die direkt bei jeder Elektrode geladen wurden, notiert werden.

Puffervolumen:

Tabelle 2.

Puffervolumen	shiroGEL VERTICAL 20
Minimum – innerer Tank ist bis über die Schächte gefüllt. Äußerer Tank ist nur soweit gefüllt, dass er die Unterseite der Glasplatten flutet. Kühlpotenzial ist minimal, was die Auflösung beeinflussen kann.	Gesamte innere Pufferkammer:: 640 ml Äußerer Tank: 1 L
Mum – innerer Tank ist bis über die Schächte gefüllt. Äußerer Tank ist bis zur Mum-Fülllinie gefüllt. Kühlung ist hoch, dadurch gute Auflösung der Proben. Dies kann durch Einsatz der Kühlspule noch verbessert werden.	Gesamte innere Pufferkammer:: 640 ml Äußerer Tank für 2 Gele: 5,4 L Äußerer Tank für 4 Gele: 4,8 L

Blotvorgang:

1. Schließen Sie den Deckel und verbinden Sie mit Strom.
2. Konsultieren Sie Tabelle 6 weiter unten für Details zur empfohlenen Stromspannung.
3. Schalten Sie die Stromversorgung ab, wenn die Ladefärbung den Grund des Gels erreicht oder eher, wenn Ihre Proteine unter 4 Kd Größe sind.
4. Entfernen Sie das Blotmodul, indem Sie zunächst den inneren Puffer in den Haupttank leeren. Der Puffer kann wiederverwendet werden, dies kann jedoch, wenn fortgesetzt, die Blotqualität beeinflussen.
5. Schrauben Sie die Glasplatten los und biegen Sie die Glasplatten sanft auseinander. Normalerweise klebt das Gel an einer der Platten und kann entfernt werden, indem es zunächst in Puffer eingeweicht und dann vorsichtig mit einem Spatel angehoben wird.
6. Das Gel ist nun bereit, mit Coomassie oder Silber gefärbt zu werden, oder die Proteine im Gel können durch Elektrophoretik für eine spezifische Bandenidentifizierung und weitere Analyse auf eine Membrane transferiert werden.

Tabelle 6.

Empfohlene Spannungen und resultierender Strom für 1 mm dicke, 12 % Gele.	shiroGEL VERTICAL 20
2–4 Gele	35 mA (konstant); bis zu maximal 350 V Laufzeit bis zu 5 h – keine Kühlung; 4 h mit Kühlung

Stammlösungen für SDS PAGE Gele:

Stamm 30 % Acrylamid Gellösung:-

30,0 g Acrylamid

0,8 g Methylen-Bisacrylamid

Destilliertes Wasser bis 100 ml

Stamm 4 x auflösendes Gel TRIS (1,5 M TRIS·HCl pH 8,8 und 0,4 % SDS)

Zu 110 ml destilliertem Wasser geben Sie 36,4 g TRIS Basis

Fügen Sie 8 ml von 10 % SDS hinzu

Korrigieren Sie pH auf 8,8 mit 1N HCl

Korrigieren Sie das Endvolumen auf 200 ml mit destilliertem Wasser.

Stamm 4 x Stapel-TRIS (0,5 M TRIS·HCl pH 6,8 und 0,4 % SDS)

Zu 110 ml destilliertem Wasser geben Sie 12,12 g TRIS Basis

Fügen Sie 8 ml von 10 % SDS hinzu

Korrigieren Sie pH auf 6,8 mit 1N HCl

Fügen Sie destilliertes Wasser zu einem Endvolumen von 200 ml hinzu.

Stamm 4 x TRIS-Glycin Tankpuffer – SDS

36 g TRIS Basis

172,8 g Glycin

Destilliertes Wasser zu 3 L

1 x TRIS-Glycin Tankpuffer – SDS

750 ml an 4 x TRIS-Glycin Reservoirpuffer – SDS

30 ml an 10 % SDS

Destilliertes Wasser zu 3 L

10 % AP (Ammoniumpersulfatlösung)

0,1 g Ammoniumpersulfat

0,21 ml destilliertes Wasser

TEMED

Stamm 4 x Probenpuffer

4 ml Glyzerin

2 ml 2-Mercaptoethanol

1,2 g SDS

5 ml 4 x Stapel-TRIS

0,03 g Bromphenolblau

Aliquotieren Sie in 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen. Lagern Sie bei -20 °C.

Referenzmaterial:

1. Sambrook, Fritsch, and Maniatis, **Molecular Cloning A Laboratory Manual**, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.

Kämme:

(MC bezeichnet Multikanalpipettenkompatibel)

shiroGEL VERTICAL 20

Code	Beschreibung	Probenvolumen µl pro Schacht
700-0376	Kamm 1 Prep, 1 Marker, 0,75 mm dick	1100
700-0377	Kamm 5 Probe, 0,75 mm dick	160
700-0378	Kamm 10 Probe, 0,75 mm dick	80
700-0379	Kamm 18 Probe MC, 0,75 mm dick	40
700-0380	Kamm 24 Probe, 0,75 mm dick	30
700-0381	Kamm 30 Probe, 0,75 mm dick	25
700-0382	Kamm 36 Probe MC, 0,75 mm dick	20
700-0383	Kamm 48 Probe, 0,75 mm dick	15
700-0384	Kamm 1 Prep, 1 Marker, 1 mm dick	1500
700-0385	Kamm 5 Probe, 1 mm dick	200
700-0386	Kamm 10 Probe, 1 mm dick	100
700-0387	Kamm 18 Probe, 1 mm dick	50
700-0388	Kamm 24 Probe, 1 mm dick	40
700-0389	Kamm 30 Probe, 1 mm dick	35
700-0390	Kamm 36 Probe MC, 1 mm dick	25
700-0391	Kamm 48 Probe, 1 mm dick	20
700-0392	Kamm 1 Prep, 1 Marker, 1,5 mm dick	2200
700-0393	Kamm 5 Probe, 1,5 mm dick	320
700-0394	Kamm 10 Probe, 1,5 mm dick	160
700-0395	Kamm 18 Probe, 1,5 mm dick	80
700-0396	Kamm 24 Probe, 1,5 mm dick	60
700-0397	Kamm 30 Probe, 1,5 mm dick	50
700-0398	Kamm 36 Probe MC, 1,5 mm dick	40
700-0399	Kamm 48 Probe, 1,5 mm dick	30
700-0400	Kamm 1 Prep, 1 Marker, 2 mm dick	3000
700-0401	Kamm 5 Probe, 2 mm dick	400
700-0402	Kamm 10 Probe, 2 mm dick	200
700-0403	Kamm 18 Probe, 2 mm dick	100
700-0404	Kamm 24 Probe, 2 mm dick	80
700-0405	Kamm 30 Probe, 2 mm dick	70
700-0406	Kamm 36 Probe MC, 2 mm dick	50
700-0407	Kamm 48 Probe, 2 mm dick	40

Mit Kühleinheit verbinden

1. Vertikales PAGE kann manchmal in Starkstrom resultieren. Starkstrom kann Hitzebildung verursachen, was als Folge die Probenmigration und Gelauföösung beeinflussen kann. Um den negativen Auswirkungen der Hitzebildung entgegenzuwirken, empfiehlt der Hersteller, eine wirksame Kühleinheit einzusetzen, die bei 4 °C voreingestellt ist.
2. Für aktive Temperaturregulierung befestigen Sie zwei kurze Schlauchlängen von den Eingangs- und Ausgangsschlitzten der Kühleinheit mit den entsprechenden Ausgangs- und Eingangsanschlüssen der Kühlspule, die im äußeren Tank des shiroGEL VERTICAL 20 liegt.
3. Stellen Sie sicher, dass die Fließrate der Kühleinheit bei 1l/Minute eingestellt ist. Übersteigen Sie diese Grenze nicht, da dies die Kühlplattform beschädigen kann.
4. Wenn Sie eine Kühleinheit verwenden, die diese Grenze übersteigt, kann ein T-Stück eingesetzt werden. Das T-Stück kann etwas Kühlmittelvolumen zurück in den Kühler umlenken, wodurch der Druck innerhalb der Spule reduziert wird.

Die Einheit kann nun mit aktiver Kühlung verwendet werden.

Technischer Service

Webressourcen

Besuchen Sie die Website von VWR unter www.vwr.com für Folgendes:

- Vollständige Kontaktinformationen des technischen Services
- Zugriff auf den Online-Katalog von VWR sowie Informationen über Zubehör und verwandte Produkte
- Zusätzliche Produktinformationen und Sonderangebote

Kontakt Für Informationen oder technische Unterstützung kontaktieren Sie Ihren VWR-Vertreter vor Ort oder besuchen Sie www.vwr.com.

Garantie

VWR International garantiert, dass dieses Produkt über einen Zeitraum von 2 Jahren ab Auslieferungsdatum frei von Material- und Verarbeitungsfehlern ist. Ist ein Mangel vorhanden, wird VWR nach eigenem Ermessen und auf eigene Kosten dieses Produkt reparieren, ersetzen oder dem Kunden den Kaufpreis dieses Produkts erstatten, vorausgesetzt es wird während der Garantiezeit zurückgegeben. Diese Garantie gilt nicht, wenn das Produkt durch Unfall, Missbrauch, Zweckentfremdung oder falsche Verwendung oder aufgrund von Mängeln, die auf normalen Verschleiß und Gebrauch zurückzuführen sind, beschädigt wurde. Werden die erforderlichen Wartungs- und Inspektionsarbeiten nicht gemäß Bedienungsanleitung und nach den örtlichen Bestimmungen ausgeführt, verliert diese Garantie ihre Gültigkeit, außer in dem Maße, in dem der Mangel des Produkts nicht auf eine solche Nichterfüllung zurückzuführen ist.

Zurückgegebene Positionen müssen vom Kunden gegen mögliche Schäden oder Verluste versichert werden. Diese Garantie ist auf die oben erwähnten Rechtsmittel beschränkt. ES WIRD AUSDRÜCKLICH VEREINBART, DASS DIESE GARANTIE ALLE GARANTIEEN DER EIGNUNG UND DIE GARANTIE DER MARKTGÄNGIGKEIT ERSETZT.

Einhaltung der örtlichen Gesetze und Bestimmungen

Der Kunde trägt die Verantwortung für den Antrag auf und den Erhalt der notwendigen regulatorischen Zustimmungen oder anderen Genehmigungen, die erforderlich sind, um das Produkt in seiner lokalen Umgebung zu betreiben oder zu verwenden. VWR wird für keine damit zusammenhängende Unterlassung oder für den Nichterhalt der erforderlichen Zustimmungen oder Genehmigungen haftbar gemacht, es sei denn, jegliche Ablehnung ist auf einen Produktmangel zurückzuführen.

ENTSORGUNG DES GERÄTS



Dieses Gerät ist mit dem Symbol der durchgekreuzten Mülltonne gekennzeichnet. Hiermit wird angegeben, dass dieses Gerät nicht zusammen mit unsortierten Abfällen entsorgt werden darf.

Stattdessen tragen Sie die Verantwortung, Ihr Gerät am Ende der Nutzungsdauer ordnungsgemäß zu entsorgen, indem Sie es an eine autorisierte Einrichtung zur separaten Sammlung und zum Recycling von ausgedienten Geräten übergeben. Sie sind auch dafür verantwortlich, das Gerät im Falle von biologischer, chemischer und/oder radiologischer Kontamination zu dekontaminieren, damit die bei der Entsorgung und dem Recycling von ausgedienten Geräten beteiligten Personen vor gesundheitlichen Gefahren geschützt sind.

Weitere Informationen darüber, wo Sie Ihr ausgedientes Gerät abliefern können, erhalten Sie bei Ihrem Vertragshändler, bei dem Sie dieses Gerät ursprünglich gekauft haben.

Damit tragen Sie zum Erhalt der natürlichen Ressourcen und der Umweltressourcen bei und stellen sicher, dass Ihr Gerät in einer Weise recycelt wird, die die menschliche Gesundheit schützt.

Vielen Dank

Österreich

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Wien
Tel.: +43-1-97-002-0
Fax: +43-1-97-002-600
E-Mail: info@at.vwr.com

Belgien

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
3001 Leuven
Tel.: 016-385-011
Fax: 016-385-385
E-Mail: customerservice@be.vwr.com

Tschechische Republik

VWR International s. r. o.
Veetee Business Park
Pražská 442
CZ – 281 67 Stříbrná Skalice
Tel.: +420-321-570-321
Fax: +420-321-570-320
E-Mail: info@cz.vwr.com

Dänemark

VWR – Bie & Berntsen
Transformervej 8
2730 Herlev
Tel.: 43-86-87-88
Fax: 43-86-87-90
E-Mail: info@dk.vwr.com

Finnland

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: +358-09-80-45-51
Fax: +358-09-80-45-52-00
E-Mail: info@fi.vwr.com

Frankreich

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201, rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tel.: +33-825-02-30-30 (0,15 € TTC/min)
Fax: +33-825-02-30-35 (0,15 € TTC/min)
E-Mail: info@fr.vwr.com

Deutschland

VWR International GmbH
Hilpertstraße 20a
D – 64295 Darmstadt
Gebührenfreier Anruf: +49-(0)800-702-00-07
Fax: +49-(0)180-570-22-22*
E-Mail: info@de.vwr.com
*0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz

Ungarn

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tel.: +36-52-521-130
Fax: +36-52-470-069
E-Mail: info@hu.vwr.com

Irland/Nordirland

VWR International Ltd/
VWR International (Northern Ireland) Ltd
Orion Business Campus
Northwest Business Park
Ballycoolin
Dublin 15
Tel.: +353-1-88-22-222
Fax: +353-1-88-22-333
E-Mail: sales@ie.vwr.com

Italien

VWR International PBI S.r.l.
Via San Giusto 85
20153 Milano (MI)
Tel.: +39-2-3320311/02-487791
Fax: +39-800-152999/02-40090010
E-Mail: info@it.vwr.com

Niederlande

VWR International B.V.
Postbus 8198
1005 AD Amsterdam
Tel.: +31-20-4808-400
Fax: +31-20-4808-480
E-Mail: info@nl.vwr.com

Norwegen

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 02290
Fax: +47-815-00-940
E-Mail: info@no.vwr.com

Polen

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: +48-58-32-38-200-do-204
Fax: +48 58 32 38 205
E-Mail: info@pl.vwr.com

Portugal

VWR International –
Material de Laboratório, Lda
Edifício Neopark
Av. Tomás Ribeiro, 43 3 D
2790-221 Carnaxide
Tel.: +351-21-3600-770
Fax: +351-21-3600-798/9
E-Mail: info@pt.vwr.com

Spanien

VWR International Eurolab S.L.
C/ Tecnología 5-17
A-7 Linars Park
08450 – Llinars del Vallès
Barcelona
Tel.: +34-902-222-897
Fax: +34-902-430-657
E-Mail: info@es.vwr.com

Schweden

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tel.: +46-08-621-34-00
Fax: +46-08-621-34-66
E-Mail: kundservice@se.vwr.com

Schweiz

VWR International GmbH
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tel.: +41-44-745-13-13
Fax: +41-44-745-13-10
E-Mail: info@ch.vwr.com

Türkei

Pro Lab Laboratuvar Teknolojileri Ltd.Şti.
ein Unternehmen der VWR International
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik – Istanbul
Tel.: +90216-598-2900
Fax: +90216-598-2907
E-Mail: info@pro-lab.com.tr

Großbritannien

VWR International Ltd
Kundenservice-Center
Hunter Boulevard – Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tel.: +44-800-22-33-44
Fax: +44-1455-55-85-86
E-Mail: uksales@uk.vwr.com

Australien

VWR International, Pty Ltd.
Unit 1/31 Archimedes Place
Murarrie, Queensland 4172
Tel.: +61-1300-727-696
Fax: +61-1300-135-123

China

VWR International China Co., Ltd
Rm. 219, 2100 Dongming Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898-6888
Fax: +86-21-5855-8801
E-Mail: info_china@vwr.com

Indien

VWR Lab Products Private Limited
135/12, Brigade Towers, 2nd Floor
Front wing, Brigade Road,
Bengaluru, India – 560 025
Tel.: +91-80-41117125/26 (Bengaluru)
Tel.: +91-2522-647911/922 (Mumbai)
Fax: +91-80-41117120
E-Mail: vwr_india@vwr.com

Neuseeland

Global Science – A VWR Company
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tel.: +64-800-734-100
Fax: +64-800-999-002
E-Mail: sales@globalscience.co.nz

Singapur

VWR Singapore Pte Ltd
18 Gul Drive
Singapore 629468
Tel.: +65-6505-0760
Fax: +65-6264-3780
E-Mail: sales@sg.vwr.com

**BESUCHEN SIE [VWR.COM](http://www.vwr.com), UM DIE
NEUESTEN NACHRICHTEN,
SONDERANGEBOTE UND DETAILS
VON IHREM VWR-LIEFERANTEN VOR
ORT ZU ERHALTEN.**

VWR shiroGEL

Vertical 20

MANUEL D'UTILISATION



Numéro au catalogue européen :

700-0353 VE 20 ShiroGel Vertical

700-0354 Système à double coulage VE 20

Version : 1

Émise le : 21/05/2014



Adresse légale du fabricant

Europe

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011

Pays d'origine

Royaume-Uni

Sommaire :

	<u>Page</u>
Consignes de sécurité	1
Contenu de l'emballage	2
Conseils d'utilisation et restrictions :	3
Entretien et maintenance	4
Préambule	5
Composants	6
Fonctionnalités clés	7
Coulage du gel	11
Préparation	13
Passage d'une configuration de 2 à 4 gels	14
Assemblage de 4 gels pour des gels de 1,5 et 2 mm d'épaisseur	16
Préparation du gel	17
Choix du gel	18
Déversement du gel	19
Préparation et dépôt des échantillons	20
Migration du gel	23
Solutions stock	25
Bibliographie	27
Peignes	28
Raccordement à un système de refroidissement	29
Service technique et garantie	31
Mise au rebut de l'équipement	32

Avertissement

Utilisés correctement, ces éléments ne présentent aucun risque pour la santé. Toutefois, ils peuvent produire des niveaux d'électricité élevés et doivent être uniquement utilisés par des personnes expérimentées respectant les instructions définies dans ce manuel.

Toute personne souhaitant utiliser cet appareil doit lire attentivement l'intégralité de ce manuel.

Informations concernant la sécurité



Pour éviter les risques d'électrocution :

Ne jamais utiliser l'appareil sans avoir d'abord correctement placé le couvercle de sécurité.



Pour éviter les risques d'électrocution :

Ne jamais utiliser l'appareil si vous constatez des signes d'endommagement de la cuve externe ou du couvercle.

Ces éléments sont conformes aux Directives légales de sécurité de la CE :

Directive relative aux basses tensions : 2006/95/EC	Directive RoHS : 2011/65/EU
Directive EMC : 2004/108/EC	WEEE 2012/19/EU
IEC 61010-1:2010 (Troisième version)	IEC 61326-1:2005



Éviter l'endommagement de l'appareil

Ne jamais mettre les éléments en contact avec l'un des produits de nettoyage suivants, sous peine de causer des dommages durables et irréversibles :

Acétone, Phénol, Chloroforme, Tétrachlorure de carbone, Méthanol, Éthanol, Alcool isopropylique, Alcalins.

Contenu de l'emballage

VWR shiroGEL Vertical 20 :

Les systèmes incluent une cuve, un couvercle, un module interne et des électrodes ainsi que les accessoires ci-dessous :

	Plaques de verre	Peignes	Base de coulage	Serpentin de refroidissement	Câbles
shiroGEL Vertical 20	700-0361– Modèle à entailles, Pk/2 700-0364– Modèle simple avec des espaceurs fixés de 1 mm, Pk/2 700-0369 – Plaque factice	2 du 700-0388 1 mm d'épaisseur, 24 échantillons	1 du 700-0356 (inclut 1x 700-0359)	700-0358	1 jeu
shiroGEL Vertical 20 complet	700-0361– Modèle à entailles, Pk/2 700-0364– Modèle simple avec des espaceurs fixés de 1 mm, Pk/2 700-0369 – Plaque factice	2 du 700-0388 1 mm d'épaisseur, 24 échantillons	1 du 700-0356 (inclut 1x 700-0359) + SUPPORT DE COULAGE externe (sans électrodes) 700-0355	700-0358	1 jeu



Veillez consulter la liste des éléments inclus dès réception du système pour vous assurer qu'il ne manque aucun composant. Vérifiez qu'aucun élément n'est endommagé à la réception.

Veillez contacter votre fournisseur si vous constatez un problème ou un composant manquant.

Conseils d'utilisation et restrictions :

- Altitude maximum 2 000 m.
- Température d'utilisation entre 4 °C et 65 °C.
- Humidité relative maximum de 80 % pour les températures allant jusqu'à 31 °C, diminuant linéairement à 50 % d'humidité relative pour 40 °C.
- Ne pas utiliser à l'extérieur.

Entretien et maintenance :

Nettoyage du shiroGEL Vertical 20

Pour nettoyer au mieux les éléments, utilisez de l'eau chaude et un détergent non abrasif. **L'eau à plus de 60 °C peut endommager les éléments ou les composants.**

Rincez soigneusement les éléments à l'eau chaude ou distillée pour éviter l'accumulation de sels, mais veillez à ne pas endommager les plaques d'électrode. Nous vous déconseillons un nettoyage énergique qui n'est pas nécessaire.

Veuillez sécher à l'air libre avant toute utilisation.

Nettoyez les éléments uniquement avec :

- *de l'eau chaude mélangée à une faible quantité de savon ou un autre détergent non abrasif.*

Les détergents compatibles incluent le liquide vaisselle, l'hexane, les hydrocarbures aliphatiques.

Ne pas laisser les éléments dans le détergent plus de 30 minutes.

Ne jamais mettre les éléments en contact avec l'un des produits suivants, sous peine de causer des dommages durables et irréversibles :

Acétone	Phénol	Chloroforme	Tétrachlorure de carbone
Éthanol	Méthanol	Alcool isopropylique	Alcalins

Décontamination RNase

Vous pouvez la réaliser en suivant ce protocole :

Nettoyez les éléments avec un détergent non abrasif comme décrit ci-dessus.

Lavez au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3 % pendant 10 minutes.

Rincez à l'eau distillée traitée au DEPC (diéthyl pyrocarbonate) à 0,1 %.

Attention : le DEPC est suspecté d'être cancérigène. Toujours prendre les précautions nécessaires pendant son utilisation. Vous pouvez aussi utiliser le RNaseZAP™ (Ambion). Veuillez consulter les instructions pour l'utilisation de réservoirs de gel en acrylique.

Instructions :

Préambule

Le nouveau système d'électrophorèse verticale shiroGEL VERTICAL 20 est la dernière innovation en matière d'électrophorèse des gels verticaux grand format. Conçu pour effectuer plusieurs types de séparations, notamment l'électrophorèse native, préparatrice, à gradient et d'acide nucléide haute résolution de première et de deuxième dimension, ainsi qu'un IEF dans un tube de gel capillaire et électrotransfert, le dispositif shiroGEL VERTICAL 20 figure parmi les systèmes verticaux grand format les plus polyvalents disponibles sur le marché.

Grâce à l'introduction d'une nouvelle technologie innovante verticale à visser dans le module PAGE à insérer, quatre vis seulement sont dorénavant requises pour sécuriser les gels de 20 x 20 cm. Le shiroGEL VERTICAL 20 bénéficie ainsi d'un délai de mise en place nettement plus court que les produits concurrents dont les configurations de fixation traditionnelle requièrent l'utilisation de 24 vis pour fixer simplement deux plaques de verre. En outre, la configuration verticale de fixation à vis du shiroGEL VERTICAL 20 répartit la pression uniformément au niveau de la hauteur du gel plutôt qu'au centre pour éviter le phénomène de courbure de la plaque et de compression du gel, tout en continuant à jouer le rôle de joint étanche pendant le coulage ; la conception ergonomique du shiroGEL VERTICAL 20 du module PAGE à insérer facilite la manipulation et la mise en place.

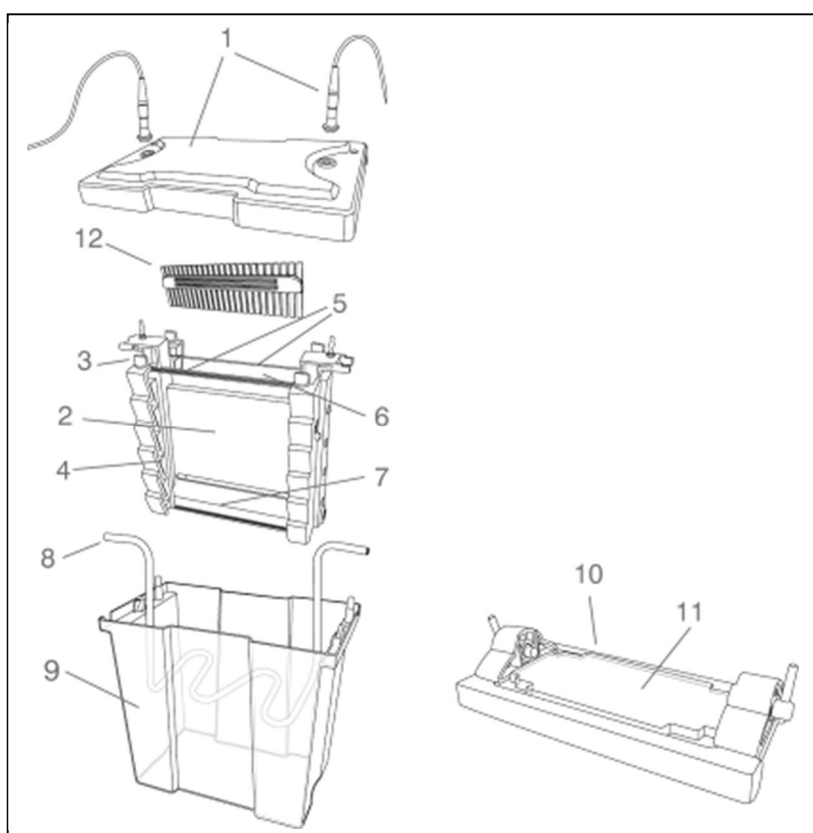
Le shiroGEL VERTICAL 20 répondra à toutes vos attentes, quelles qu'elles soient. Ce système polyvalent prend en charge les techniques de migration de 2 ou 4 gels, d'électrotransfert, d'IEF au moyen de gels en tubes capillaires ou de bandes IPG tout en conservant les avantages de l'électrophorèse grand format, comme des distances de séparation plus importantes, une production d'échantillons supérieure et une meilleure résolution.

Avant d'utiliser le SHIROGEL VERTICAL 20 pour une électrophorèse, nous vous conseillons de monter et de démonter le dispositif afin de vous familiariser avec ses différents composants. Veuillez consulter la Figure 1 ci-dessous.

Figure 1. ShiroGEL VERTICAL 20

Pièces du système vertical

Pièces du ShiroGEL VERTICAL 20
1. Couvercle et câbles d'alimentation
2. Module PAGE à insérer
3. Broche verticale à visser
4. Barres d'ancrage
5. Plaques de verre
6. Chambre de tampon intérieure
7. Joint d'étanchéité
8. Serpentin de refroidissement amovible
9. Cuve extérieure
10. Cames
11. Support de coulage ultra flexible
12. Peignes



Principales caractéristiques

- **Technologie de fixation à serrage vertical** - L'utilisation de 4 broches à visser réduit le temps de montage ; elles contribuent également, en lien avec les barres d'ancrage colorées (voir ci-dessous), à répartir la pression uniformément sur la hauteur du gel afin d'éviter le phénomène de courbure de la plaque ou de compression du gel (Fig.1, numéro 3)
- **Chambre de tampon intérieure intégrée au sein du module PAGE à insérer** - Permet d'effectuer la mise en place sans ajouter une cuve supérieure ou une chambre de tampon supérieure (Fig.1, numéro 6)
- **Barres d'ancrage colorées** - Les barres d'ancrage vertes sont destinées à être utilisées pour faire migrer des gels mesurant jusqu'à 2 mm d'épaisseur dans la configuration shiroGEL VERTICAL 20 standard. Les barres d'ancrage jaunes, plus épaisses, sont destinées à être utilisées pour faire migrer jusqu'à 4 gels mesurant jusqu'à 2 mm d'épaisseur dans le shiroGEL VERTICAL 20 (Fig.1, numéro 4 ; voir aussi la section intitulée

Passage d'une configuration du shiroGEL VERTICAL 20 de 2 à 4 gels)

- **Plaques de verre** - Elles se compriment doucement contre un joint plat et horizontal pour éviter toute fuite de courant à partir de la chambre de tampon intérieure pendant l'électrophorèse (Fig.1, numéro 5). La plaque de verre à entailles est placée en profondeur et se comprime directement contre le joint pour permettre au tampon de remplir les puits supérieurs dans le gel et faciliter ainsi la connectivité électrique entre l'électrode négative et la partie supérieure du gel, alors que la plaque de verre simple dotée d'espaceurs fixés est placée en périphérie pour éviter toute fuite du tampon à partir de la chambre intérieure
- **Serpentin de refroidissement intérieur amovible** - Il se branche au système d'alimentation en eau de laboratoire ou à un système de refroidissement par recirculation afin de fournir une électrophorèse uniforme, sans phénomène de « smiling », tout en permettant d'effectuer les migrations à une tension plus élevée (Fig.1, numéro 8)

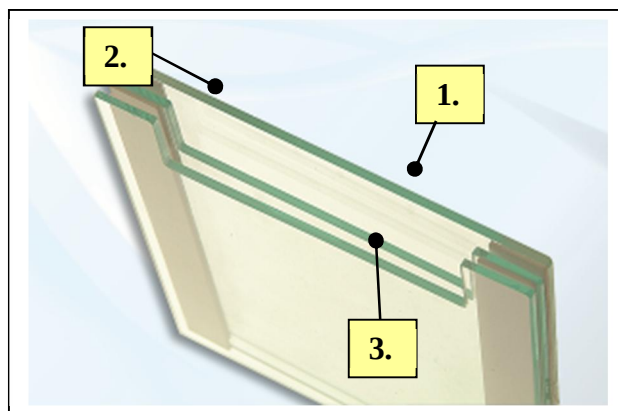
- **Cuve de gel profonde** - Elle possède un espacement suffisant sous les plaques de verre pour permettre à un agitateur magnétique de maintenir la recirculation du tampon et la stabilité du pH (Fig.1, numéro 9)
- **Cames** - Grâce à un support en silicone ultra-flexible et très résistant, elles compensent les défauts d'alignement de la plaque de verre pour garantir l'absence de fuites au niveau du coulage (Fig.1, numéros 10 et 11)

Autres fonctions

- Les plaques de verre à entailles dotées d'espaceurs fixés fournies avec les dispositifs shiroGEL VERTICAL 20 permettent de doubler la capacité de traitement des gels en passant de 2 gels à 4 gels. La plaque factice permet par ailleurs de faire migrer les gels isolés (voir la Fig. 2)

Fig. 2. Plaque de verre mise en place pour effectuer un sandwich de 2 gels au moyen des espaceurs jaunes

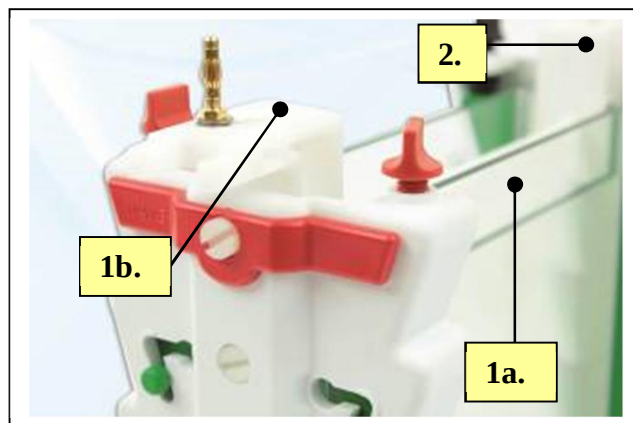
1. Plaque de verre simple dotée d'un espaceur fixé
2. Plaque de verre à entailles dotée d'un espaceur fixé
3. Plaque de verre à entailles



- Espaceurs fixés et peignes colorés selon l'épaisseur (non illustrés)
- La conception de couvercle asymétrique (Fig. 1, numéro 1) et les broches à visser colorées du module PAGE à insérer évitent tout risque d'inversion de la polarité (voir la fig. 3)

Fig. 3. Les broches à visser colorées évitent tout risque d'inversion de la polarité

1. Broche à visser verticale rouge (1a.) correspondant à la fiche de l'électrode positive (1b.) colorée avec le câble d'alimentation **positif**
2. Broche à visser verticale noire correspondant à la fiche de l'électrode négative colorée avec le câble d'alimentation **négatif**



Coulage sans fuite à l'aide de la technologie de broche à visser verticale

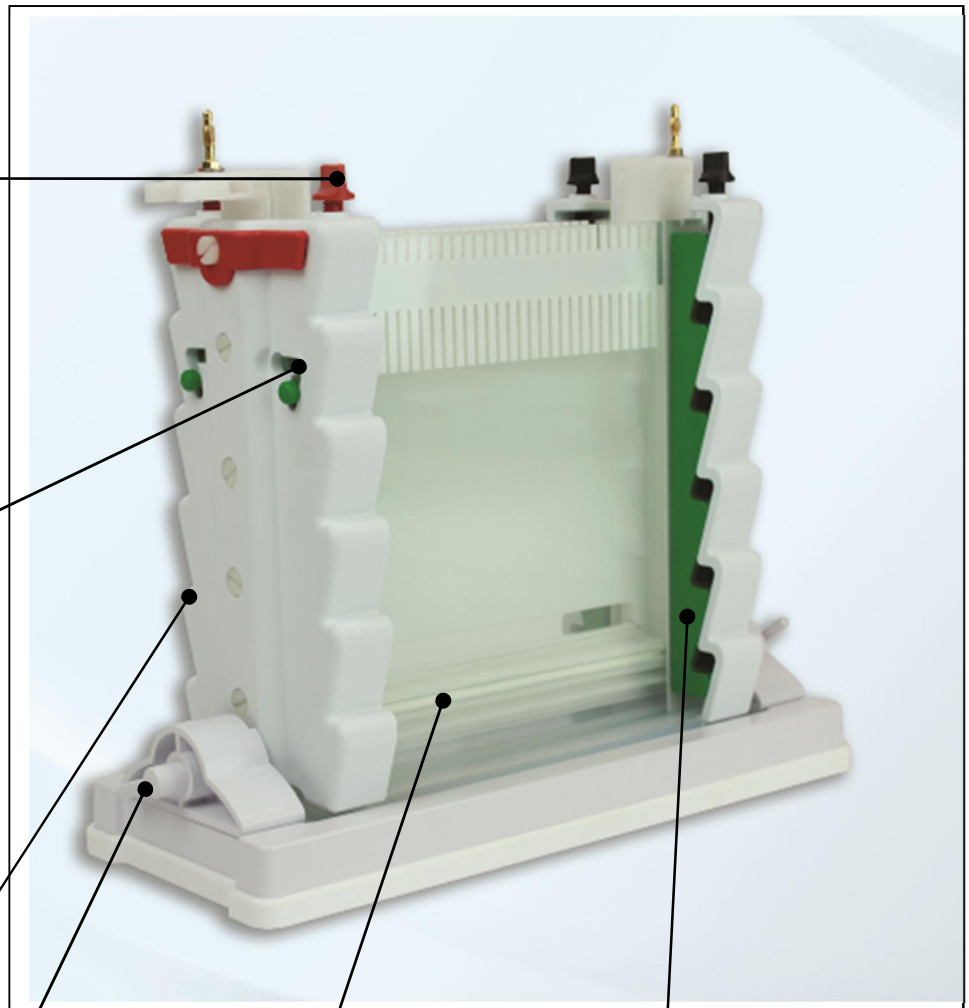
Fig. 4. La technologie de fixation à visser verticale du module PAGE à insérer du dispositif shiroGEL VERTICAL 20 facilite la réalisation d'un coulage rapide du gel sans aucune fuite.

Les broches à visser verticales colorées évitent tout risque d'inversion de la polarité, guident les clamps de gel en dehors des logements de repos afin de fixer solidement les plaques de verre dans le module PAGE à insérer

Les logements de repos permettent d'accueillir les clamps de gel au repos afin qu'ils ne gênent pas le passage et facilitent le dépôt des cassettes dans le module PAGE à insérer

La conception ergonomique du shiroGEL VERTICAL 20 du module PAGE à insérer procure des prises pour les doigts pratiques destinées à faciliter la manipulation

Les cames bloquent le module PAGE à insérer sur le support en silicone ultra-flexible au niveau de la base de coulage pour garantir une étanchéité complète



Le joint plat et horizontal évite tout risque de fuite à partir de la chambre de tampon intérieure

Les clamps de gel coulissants disponibles en deux épaisseurs et teintes différentes permettent de prendre en charge les cassettes à gel unique (**vertes**) et à deux gels (**jaunes**)

Coulage du gel pour 2 gels à l'aide du shiroGEL

VERTICAL 20

Principes de base

1. Commencez par nettoyer un jeu de plaques de verre pour chaque gel avec de l'eau distillée puis avec de l'éthanol à 70 %. Un jeu de plaques de verre est composé d'une plaque de verre à entailles et d'une plaque de verre simple avec des espaceurs fixés. Lors de l'utilisation d'un sandwich composé de 2 plaques de verre pour les 2 gels dans le dispositif shiroGEL VERTICAL 20 afin de couler 2 gels de part et d'autre du module PAGE à insérer, deux plaques de verre à entailles doivent être utilisées : une plaque avec des espaceurs fixés et une autre sans espaceurs fixés, ainsi qu'un jeu de plaques de verre simples dotées d'espaceurs fixés (voir aussi la section **Passage d'une configuration de 2 à 4 gels avec le dispositif shiroGEL VERTICAL 20**). La plaque de verre simple est placée à la périphérie, suivie d'une plaque de verre à entailles dotée d'espaceurs fixés puis d'une deuxième plaque de verre à entailles (voir la **Fig. 2.**) **Mise en place de la plaque de verre pour créer un sandwich de 2 gels à l'aide des espaceurs jaunes**).

N.B. Les plaques de verre, les modules et les accessoires de la base de coulage doivent être complètement secs lors de la mise en place. Les composants humides risquent de ne pas être correctement alignés et d'entraîner des fuites.

2. Montez les plaques de verre de sorte que le bas des plaques et les espaceurs soient parfaitement alignés. Les plaques standard fournies avec le shiroGEL VERTICAL 20 sont dotées d'espaceurs fixés et ne requièrent pas d'alignement manuel. Si toutefois vous utilisez des espaceurs libres, qui ne sont pas fournis avec le produit standard, vous devrez les aligner parfaitement. La meilleure technique consiste à utiliser un espaceur ou un peigne de petite taille pour écarter les espaceurs.

REMARQUE : Pour les plaques de verre dotées d'espaceurs fixés, une flèche est apposée sur la partie supérieure des espaceurs qui sont légèrement plus longs que la plaque de verre afin d'indiquer le dessus.

Veillez suivre les illustrations ci-dessous pour plus d'informations sur la mise en place détaillée du système shiroGEL VERTICAL 20

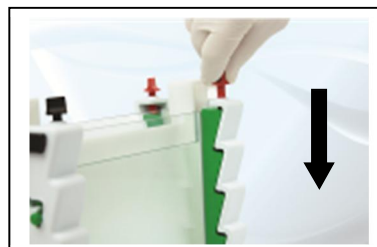
1. Montez chaque cassette de gel sur une surface plane en posant la plaque de verre simple avec les espaceurs orientés vers le haut puis en insérant ensuite la plaque de verre à entailles.



2. Dévissez les broches à visser verticales du module PAGE à insérer afin de débloquent les systèmes de verrouillage en permettant ainsi aux clamps de gel de reposer dans les logements de repos.



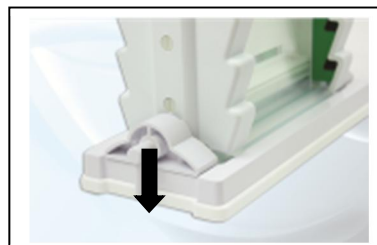
3. Insérez une cassette de gel de chaque côté de la chambre de tampon intérieure du module PAGE à insérer et commencez à visser les broches verticales.



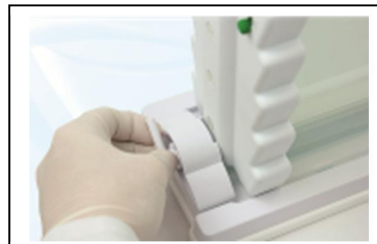
4. Continuez à serrer les broches à visser jusqu'à ce que les clamps de gel glissent à l'extérieur des logements de repos et viennent se fixer aux plaques de verre en les poussant verticalement.



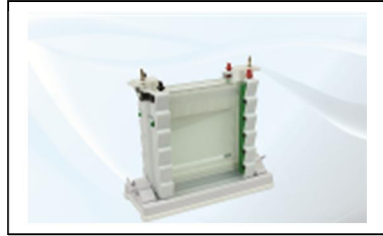
5. Vérifiez que la partie basse des plaques de verre forme un tout et mettez le module PAGE à insérer dans la base de coulage. Veillez à ce que les cames soient orientées vers le bas.



6. Insérez les cames et faites-les tourner pour les serrer en tirant le module PAGE à insérer sur la base de coulage pour former un joint étanche.



7. Versez la solution de gel, insérez les peignes et laissez les puits polymériser. Le versement du gel sera optimal si vous utilisez une pipette de 25 ml ou de 50 ml.



8. Transférez le module PAGE à insérer dans le réservoir de gel. Remplissez les chambres de tampon intérieure et extérieure avant de déposer les échantillons.



9. Remettez le couvercle en place, puis mettez l'appareil sous tension.



Passage d'une configuration shiroGEL VERTICAL 20 de 2 à 4 gels

L'utilisation des clamps de gel coulissants verts plus épais est recommandée pour fixer jusqu'à 2 gels (c'est-à-dire 1 gel de chaque côté du module PAGE à insérer) ayant une épaisseur maximum de 2 mm. Pour 4 gels (c'est-à-dire 2 gels de chaque côté du module PAGE à insérer en utilisant une plaque de verre simple et une plaque de verre à entailles, dotées d'espaceurs fixés, et d'une plaque à entailles sans espaceurs), les clamps de gel coulissants plus fin JAUNES **doivent** être utilisés.

Pour passer d'une configuration shiroGEL VERTICAL 20 de 2 à 4 gels, vous devez respecter les consignes ci-dessous.

1. Pour remplacer les clamps de gel coulissants verts, commencez par dévisser les broches à visser verticales colorées. Il ne doit y avoir aucune plaque de verre dans le module PAGE à insérer au niveau du/des côté(s) que vous dévissez. Une fois les broches à vis suffisamment dévissées, le clamp vert doit être placé dans le logement de repos comme illustré.



2. Poussez doucement le clamp coulissant vert horizontalement vers le centre du module PAGE à insérer jusqu'à ce qu'il ne puisse plus bouger.



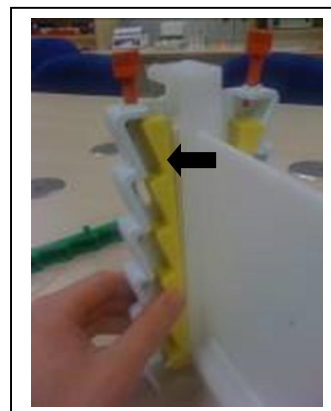
3. Dégagez le clamp de gel coulissant vert du module PAGE à insérer en appuyant doucement sur la broche en saillie comme illustré.



4. Dès que le clamp de gel coulissant vert est retiré, le module PAGE à insérer est prêt à accueillir les clamps de gel coulissants jaunes pour réaliser des sandwichs de 2 gels, de chaque côté du module PAGE à insérer, afin de passer d'une configuration de 2 à 4 gels dans le shiroGEL VERTICAL 20.



5. Insérez le clamp de gel coulissant jaune dans l'orifice le plus proche du centre du module PAGE à insérer. Une fois celui-ci inséré, tirez délicatement le clamp coulissant vers l'extérieur en l'éloignant du centre du module PAGE à insérer comme illustré.



6. Retirez les clamps de gel coulissants afin de les insérer dans les logements de repos comme illustré. Répétez les étapes 1 à 6 pour remplacer les autres clamps de gel verts. Une fois tous les clamps mis en place, le module PAGE à insérer est prêt à accueillir les 4 gels.



Assemblage à 4 gels pour des gels de 1,5 et 2 mm d'épaisseur

Une fois configuré pour 4 gels à l'aide des clamps de gel coulissants jaunes, le shiroGEL VERTICAL 20 est prêt à accueillir et à transférer jusqu'à quatre gels d'une épaisseur comprise entre 1 mm et 2 mm.

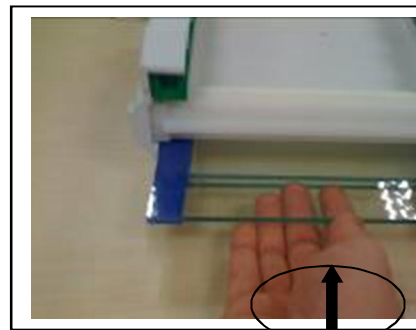
Des sandwichs de gels de 1 à 2 mm peuvent être insérés dans le module PAGE à insérer à partir du haut comme illustré sur les figures 1-9 dans la section **Mise en place détaillée du module à insérer shiroGEL VERTICAL 20** aux pages 13-14.

Toutefois, pour les sandwichs composés de 2 gels ayant une épaisseur comprise entre 1,5 et 2 mm, il peut s'avérer nécessaire de déposer le shiroGEL VERTICAL 20 en mettant le module PAGE à insérer sur le côté pour neutraliser toute résistance susceptible d'être subie par le joint. Les instructions ci-dessous illustrent la meilleure méthode à adopter pour prendre en charge ce type de problème.

1. Avec le module PAGE à insérer placé à la verticale en position normale, dévissez les broches à visser afin de placer les clamps de gel coulissants dans les logements de repos. Faites tourner le module PAGE à insérer sur le côté et poussez les clamps coulissants jusqu'à ce qu'ils reposent complètement à plat sur le module PAGE à insérer parallèlement à la surface du banc.



2. Formez un sandwich de 2 gels sur une surface de banc, tel que décrit dans le paragraphe **Principes de base** à la page 10 de la section Coulage de gel vertical. Poussez le sandwich de 2 gels à l'aide de la plaque à entailles supérieure dans le module PAGE à insérer. Cette plaque à entailles sera ainsi placée à proximité du centre du module PAGE à insérer lorsqu'il sera à la verticale. La plaque de verre à entailles supérieure pourra rencontrer une légère résistance du joint. Il suffira alors de pousser la plaque de verre simple et la plaque de verre à entailles située dessous dans le module PAGE à insérer (**encerclé**).



3. Dès que vous ne sentez plus de résistance, poussez la plaque de verre à entailles supérieure dans le module PAGE à insérer. Remettez le module PAGE à insérer dans sa position verticale normale et commencez à fixer les plaques de verre pour effectuer l'électrophorèse verticale, tel que décrit aux étapes 3 à 9 de la section **Mise en place détaillée du module PAGE à insérer** aux pages 13 et 14.



Préparation du gel :

1. Il est vivement recommandé de travailler à l'aide de solutions stock qui offrent davantage de confort et permettent de gagner du temps lors du versement du gel. La liste des solutions stock pour les gels SDS PAGE qui doivent être préparés au préalable figure à la page 22. En ce qui concerne les formules de gels natifs et les conditions de migration, veuillez consulter un manuel de laboratoire. Le protocole indiqué ci-dessous est destiné à être utilisé avec les solutions stock standard. Il devra être ajusté si vous utilisez d'autres solutions stock ou formules de gel.
2. Le tableau 1 ci-dessous indique le volume total de solution de gel requise. Dans les autres tableaux, les quantités de gel et de solution sont indiquées pour deux gels ayant une épaisseur de 1 mm. Des ajustements doivent donc être effectués lors du transfert d'un gel ou de plus de deux gels et pour des espaceurs ayant une épaisseur de 0,75, 1,5 ou 2 mm.

Tableau 1.

shiroGEL VERTICAL 20	
	Volume de gel total pour un gel de 1 mm d'épaisseur
Pour des épaisseurs de gel différentes, multipliez les quantités ci-dessous par l'écart d'épaisseur.	
Simple – un gel, une plaque factice	35 ml
Double – deux gels	70 ml

Utilisation d'un sandwich de 2 gels avec une triple plaque – quatre gels	140 ml
--	--------

Choix du gel :

Vous devez choisir avec soin la taille de pore de gel à utiliser.

La taille de pore ou le % de gel détermine la capacité de résolution en fonction des différentes tailles de protéines.

Consultez le tableau 2 ci-dessous qui détaille le pourcentage de gel à utiliser pour séparer les tailles de protéines indiquées.

Tableau 2.

Pourcentage d'acrylamide	Résolution de séparation
5 %	60 – 220 KD
7,5 %	30 – 120 KD
10 %	20 – 75 KD
12 %	17 – 65 KD
15 %	15 – 45 KD
17,5 %	12 – 30 KD

3. Préparez les solutions de gel conformément aux indications des tableaux ci-dessous. Ces tableaux indiquent les volumes des solutions à partir des solutions stock standard. Elles doivent être mélangées délicatement pour éviter la formation de bulles qui empêcheraient la polymérisation en éliminant les radicaux libres.

Tableau 3 : Préparation de la solution de gel de séparation pour deux gels de 20 x 20 cm shiroGEL VERTICAL 20 en utilisant des espaceurs de 1 mm

Solution	5 %	7,5 %	10 %	12 %	15 %	17,5 %
Eau distillée	41 ml	35,25 ml	29,6 ml	24,7 ml	17,6 ml	11,7 ml
Solution stock d'acrylamide à 30 %	11,7 ml	17,6 ml	23,5 ml	28,2 ml	35,25 ml	41,1 ml
4 X Solution Tris de	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml

résolution						
Persulfate d'ammonium à 10 %	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl

Versement du gel :

Pour les gels avec concentration :

1. Insérez le peigne dans les plaques de verre et tracez un repère sur les plaques de verre 1 cm au-dessous de la pointe des dents du peigne. Ce repère indique l'emplacement où vous devez ajouter le gel de résolution.
2. Ajoutez 70 µl de TEMED à la solution de gel et mélangez correctement en évitant la formation de bulles d'air.
3. Remplissez les plaques de verre en évitant encore une fois la formation de bulles d'air. Le remplissage doit être effectué rapidement avant que le TEMED ne rende le gel trop visqueux.
4. Superposez le gel très délicatement avec 1 ml d'isobutanol, d'isopropanol ou d'eau distillée. Lors de l'utilisation d'eau distillée, des précautions supplémentaires doivent être prises pour éviter tout mélange avec la solution de gel.
- 5 Laissez le gel de résolution polymériser. Ce processus prend généralement 15 minutes, mais ce délai peut varier en fonction du niveau de fraîcheur des réactifs utilisés. Si la polymérisation dure plus longtemps, vous devrez alors utiliser des solutions stock fraîches ou ajouter plus d'APS et de TEMED.
6. Préparez le gel de concentration en vous aidant des valeurs indiquées dans le tableau 4 ci-dessous. Les solutions stock sont indiquées aux pages 22 et 23.

Tableau 4.

Solution	shiroGEL VERTICAL 20
Eau distillée	16,8 ml
Solution stock d'acrylamide à 30 %	2,6 ml

4 X Solution tris de gel de concentration	6,4 ml
Persulfate d'ammonium à 10 %	178 µl

7. Mélangez délicatement la solution de gel de concentration en évitant la formation de bulles d'air.
8. Versez le liquide de recouvrement et rincez le gel avec de l'eau distillée.
9. Pour les gels shiroGEL VERTICAL 20, ajoutez 26,8 µl de TEMED. Mélanger soigneusement. Utilisez une pipette Pasteur pour remplir les plaques de verre jusqu'en haut avec la solution de gel de concentration.
10. Insérez délicatement le peigne en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air piégées sous les extrémités des dents du peigne et qui bloqueraient la progression de l'échantillon.
11. Laissez le gel de concentration polymériser pendant 30 minutes.

Pour les gels sans concentration :

1. Ajoutez 70 µl de TEMED pour les gels shiroGEL VERTICAL 20 et mélangez soigneusement pour éviter la formation de bulles d'air.
2. Remplissez les plaques de verre en évitant encore une fois la formation de bulles d'air. Le remplissage doit être effectué rapidement avant que le TEMED ne rende le gel trop visqueux.
3. Insérez délicatement le peigne en veillant à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air piégées sous les extrémités des dents du peigne et qui bloqueraient la progression de l'échantillon.
4. Laissez le gel polymériser. Ce processus prend généralement 15 minutes, mais ce délai peut varier en fonction du niveau de fraîcheur des réactifs utilisés. Si la polymérisation dure plus longtemps, vous devrez alors utiliser des solutions stock fraîches ou ajouter plus d'APS et de TEMED.

Préparation et dépôt de l'échantillon

Préparation des échantillons de protéines dénaturées pour le dépôt :

Les instructions fournies concernent les échantillons dénaturés. Pour les échantillons natifs, veuillez consulter un manuel de laboratoire.

1. Préparez les échantillons de protéines pour le dépôt. Le volume de l'échantillon dépend de la capacité des puits (voir les spécifications relatives au peigne à la page 25).
2. À l'aide d'un tube de micro-centrifugeuse de 0,5 ml ou d'un autre accessoire équivalent, combinez l'échantillon de protéine et le tampon d'échantillon 4 X. Il est recommandé d'utiliser des marqueurs de protéines à l'une des extrémités des couloirs pour indiquer la taille des bandes. Ils doivent être préparés conformément aux instructions du fabricant.
3. Chauffez les échantillons au bain-marie ou dans un bloc chauffant pendant 2 minutes pour dénaturer les échantillons.
4. Centrifugez les échantillons dans une micro-centrifugeuse pendant 20 secondes à 12 000 tr/min. Les échantillons de protéines peuvent à présent être déposés.

Dépôt des échantillons :

1. Transférez le module de gel intérieur contenant les gels de coulage dans la cuve principale avec l'orientation appropriée en alignant le (+) du module au (+) de la cuve et le (-) du module au (-) de la cuve.
2. Remplissez la cuve extérieure avec 1 x de tampon réservoir. Voir la page 22 pour connaître la solution tampon à migrer recommandée. Le tableau 6 indique le volume de tampon requis.
3. Déposez les échantillons dans les puits à l'aide d'une pipette en veillant à ne pas endommager les puits ni à former des bulles d'air.
4. Remplissez les puits inutilisés avec 1 X tampon d'échantillon.

5. Il peut s'avérer judicieux de noter l'orientation et l'ordre de dépôt des échantillons. Cela peut être effectué en notant les échantillons déposés à côté de chaque électrode.

Volume du tampon :

Tableau 5.

Volume du tampon	shiroGEL VERTICAL 20
Minimum – La cuve intérieure est remplie au-dessus des puits. La cuve extérieure est remplie de sorte à immerger uniquement le bas des plaques de verre. La capacité de refroidissement est au minimum de ce qui peut affecter la résolution.	Capacité totale de la chambre de tampon intérieure : 640 ml Cuve extérieure : 1 L
Maximum – La cuve intérieure est remplie au-dessus des puits. La cuve extérieure est remplie jusqu'à la ligne de remplissage maximum. La capacité de refroidissement est élevée et offre une bonne résolution des échantillons. Elle peut encore être améliorée en utilisant le serpentin de refroidissement	Capacité totale de la chambre de tampon intérieure : 640 ml Cuve extérieure pour 2 gels : 5,4 L Cuve extérieure pour 4 gels : 4,8 L

Migration du gel :

1. Mettez le couvercle en place et branchez le système à une source électrique.
2. Consultez le tableau 6 ci-dessous pour plus d'informations sur les valeurs de tension d'alimentation recommandées.
3. Coupez l'alimentation électrique lorsque le colorant de dépôt atteint le bas du gel, et plus tôt si la taille des protéines est inférieure à 4 Kd.
4. Retirez le module de migration du gel en commençant par vider le tampon intérieur dans la cuve principale. Le tampon peut être réutilisé, mais cela pourra affecter la qualité de la migration si elle est poursuivie.
5. Dévissez les plaques de verre et détachez-les délicatement. Le gel collera généralement à l'une des plaques et pourra être retiré en l'immergeant d'abord dans le tampon puis en le soulevant délicatement avec une spatule.
6. Le gel est maintenant prêt à être coloré avec du Coomassie ou un colorant à l'argent. Les protéines du gel peuvent également être transférées vers une membrane par électrotransfert pour procéder à l'identification de bande spécifique et effectuer d'autres analyses.

Tableau 6.

Tensions recommandées et courant résultant pour des gels à 12 % de 1 mm d'épaisseur.	shiroGEL VERTICAL 20
2-4 gels	35 mA (constant) ; jusqu'à 350 V maximum Durée du processus : 5 h sans refroidissement et 4 h avec refroidissement

Solutions stock pour les gels SDS PAGE :

Solution stock de gel d'acrylamide à 30 % :

30,0 g d'acrylamide

0,8 g de bisacrylamide de méthylène

Eau distillée à 100 ml

Stock 4X Tris gel de résolution (1,5 M Tris·HCl pH 8,8, 0,4 % SDS)

Dans 110 ml d'eau distillée, ajoutez 36,4 g de cette base Tris

Ajoutez 8 ml de SDS à 10 %

Ajustez le pH à 8,8 avec 1N HCl

Ajustez le volume final à 200 ml avec de l'eau distillée.

Stock 4X Concentration Tris (0,5 M Tris·HCL pH 6,8, 0,4 % SDS)

Dans 110 ml d'eau distillée, ajoutez 12,12 g de base Tris

Ajoutez 8 ml de SDS à 10 %

Ajustez le pH à 6,8 avec 1N HCl

Ajoutez l'eau distillée à un volume final de 200 ml

Stock 4X Tampon de cuve Tris-glycine - SDS

36 g de base Tris

172,8 g de glycine

Eau distillée dans 3 L

1x Tampon de cuve Tris-glycine - SDS

750 ml de 4X Tampon de cuve Tris-glycine - SDS

30 ml de SDS à 10 %

Eau distillée dans 3 L

AP à 10 % (solution de persulfate d'ammonium)

0,1 g de persulfate d'ammonium

0,21 ml d'eau distillée

TEMED

Stock tampon d'échantillon 4 X

4 ml de glycérol

2 ml 2-mercaptoéthanol

1,2 g de SDS

5 ml 4X Tris de concentration

0,03 g de bleu de bromophénol

Aliquotez dans des tubes de micro-centrifugeuse de 1,5 ml. Conservez à -20 °C.

Bibliographie :

1. Sambrook, Fritsch, and Maniatis, **Molecular Cloning A Laboratory Manual**,
Second Edition,
Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and
Wiley-Interscience, 1989.

Peignes :

(la mention MC signifie compatible avec les pipettes multicanal)

shiroGEL VERTICAL 20

Code	Description	Volume d'échantillon µl par puits
700-0376	Peigne 1 Prép, 1 Marqueur, 0,75 mm d'épaisseur	1100
700-0377	Peigne 5 échantillons, 0,75 mm d'épaisseur	160
700-0378	Peigne 10 échantillons, 0,75 mm d'épaisseur	80
700-0379	Peigne 18 échantillons MC, 0,75 mm d'épaisseur	40
700-0380	Peigne 24 échantillons, 0,75 mm d'épaisseur	30
700-0381	Peigne 30 échantillons, 0,75 mm d'épaisseur	25
700-0382	Peigne 36 échantillons MC, 0,75 mm d'épaisseur	20
700-0383	Peigne 48 échantillons, 0,75 mm d'épaisseur	15
700-0384	Peigne 1 Prép, 1 Marqueur, 1 mm d'épaisseur	1500
700-0385	Peigne 5 échantillons, 1 mm d'épaisseur	200
700-0386	Peigne 10 échantillons, 1 mm d'épaisseur	100
700-0387	Peigne 18 échantillons, 1 mm d'épaisseur	50
700-0388	Peigne 24 échantillons, 1 mm d'épaisseur	40
700-0389	Peigne 30 échantillons, 1 mm d'épaisseur	35
700-0390	Peigne 36 échantillons MC, 1 mm d'épaisseur	25
700-0391	Peigne 48 échantillons, 1 mm d'épaisseur	20
700-0392	Peigne 1 Prép, 1 Marqueur, 1,5 mm d'épaisseur	2200
700-0393	Peigne 5 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	320
700-0394	Peigne 10 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	160
700-0395	Peigne 18 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	80
700-0396	Peigne 24 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	60
700-0397	Peigne 30 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	50
700-0398	Peigne 36 échantillons MC, 1,5 mm d'épaisseur	40
700-0399	Peigne 48 échantillons, 1,5 mm d'épaisseur	30
700-0400	Peigne 1 Prép, 1 Marqueur, 2 mm d'épaisseur	3000
700-0401	Peigne 5 échantillons, 2 mm d'épaisseur	400
700-0402	Peigne 10 échantillons, 2 mm d'épaisseur	200
700-0403	Peigne 18 échantillons, 2 mm d'épaisseur	100
700-0404	Peigne 24 échantillons, 2 mm d'épaisseur	80
700-0405	Peigne 30 échantillons, 2 mm d'épaisseur	70

700-0406	Peigne 36 échantillons MC, 2 mm d'épaisseur	50
700-0407	Peigne 48 échantillons, 2 mm d'épaisseur	40

Raccordement à un système de refroidissement

1. Le dispositif vertical PAGE peut parfois délivrer un niveau de courant élevé. Les niveaux de courant élevés peuvent entraîner l'accumulation de chaleur et affecter la migration de l'échantillon et la résolution du gel. Pour contrebalancer les effets secondaires de la génération de chaleur, le fabricant recommande d'utiliser un système de refroidissement efficace, préchauffé à 4 °C.
2. Pour obtenir une régulation de la température active, fixez deux flexibles courts aux ports d'entrée et de sortie du système de refroidissement et aux connecteurs de sortie et d'entrée respectifs du serpentin de refroidissement installé dans la cuve extérieure du shiroGEL VERTICAL 20.
3. Vérifiez que le débit du système de refroidissement est réglé sur 1 L/minute maximum. Vous ne devez pas dépasser cette limite pour éviter d'endommager la plate-forme de refroidissement.
4. Si le système de refroidissement que vous utilisez dépasse cette valeur, vous devrez alors utiliser un connecteur en T. Le connecteur en T pourra détourner une partie du volume de liquide réfrigérant vers le système de refroidissement par recirculation pour réduire la pression incidente au niveau du serpentin.

Le dispositif est maintenant prêt à être utilisé avec le système de refroidissement actif.

Service technique

Ressources internet

Veillez visiter le site internet VWR à l'adresse www.vwr.com pour :

- Des coordonnées de services techniques complètes
- Un accès au catalogue en ligne de VWR ainsi qu'à des informations sur les accessoires et produits connexes
- Des informations sur les produits et des offres spéciales supplémentaires

Contactez-nous Pour des informations ou une assistance technique, veuillez contacter votre représentant VWR local ou visitez www.vwr.com.

Garantie

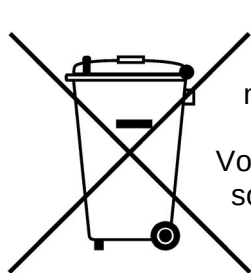
VWR International garantit que ce produit sera exempt de défauts matériels et de fabrication pour une période de deux (2) ans à compter de la date de livraison. Si un défaut est constaté, VWR procédera à son entière discrétion et à ses frais, au remplacement, à la réparation ou au remboursement de ce produit au prix payé par le client, dans la mesure où ce dernier est retourné durant la période de garantie. Cette garantie ne s'applique pas si le produit a été endommagé par accident, une mauvaise utilisation ou à la suite d'une utilisation ou d'un usage ordinaire. Si les services d'entretien et d'inspection requis ne sont pas réalisés en respectant les instructions des manuels et des législations locales, la garantie est invalide, sauf si le défaut du produit n'est pas dû à ce non-respect.

Les articles retournés doivent être assurés par le client contre de possibles dommages ou pertes. Cette garantie sera limitée aux recours ci-mentionnés. IL EST EXPRESSÉMENT RECONNU QUE LA PRÉSENTE GARANTIE REMPLACE L'ENSEMBLE DES GARANTIES DE COMPATIBILITÉ ET DE COMMERCIALISATION.

Conformité aux lois et réglementations locales

Le client doit demander et obtenir l'ensemble des autorisations réglementaires nécessaires à l'utilisation du Produit au sein de son environnement local. VWR ne pourra être tenu responsable d'aucune omission liée à, ou de la non obtention des approbations ou autorisations requises, à moins que le refus de ces dernières ne découle d'un défaut du produit.

MISE AU REBUT DE L'ÉQUIPEMENT



Cet équipement est marqué du symbole de la poubelle barrée d'une croix qui indique qu'il ne doit pas être mis au rebut avec les déchets généraux non triés.

Vous êtes responsable de la mise au rebut légale de cet équipement à la fin de son cycle de vie, et vous devez le déposer sur un site autorisé pour une collecte et un recyclage séparés. Vous êtes également responsable de la décontamination de l'équipement en cas de contamination biologique, chimique et/ou radioactive, afin de garantir une protection appropriée contre tout risque sanitaire des personnes impliquées dans l'élimination et le recyclage de cet équipement.

Pour plus d'informations sur les emplacements de prise en charge de cet équipement, veuillez contacter le revendeur local auprès duquel vous l'avez acheté.

Ce faisant, vous aiderez à la préservation des ressources naturelles et environnementales et garantirez que votre équipement est recyclé d'une manière qui protège la santé humaine.

Merci

Autriche

VWR International gmbH
Graumannsgasse 7
1150 Vienna
Tél : +43 1 97 002 0
Fax : +43 1 97 002 600
Email : info@at.vwr.com

Belgique

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
3001 Leuven
Tél : 016 385 011
Fax : 016 385 385
Email : customerservice@be.vwr.com

République tchèque

VWR International s. r. o.
Veetee Business Park
Pražská 442
CZ - 281 67 Stříbrná Skalice
Tél : +420 321 570 321
Fax : +420 321 570 320
Email : info@cz.vwr.com

Danemark

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2730 Herlev
Tél : 43 86 87 88
Fax : 43 86 87 90
Email : info@dk.vwr.com

Finlande

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tél : 09 80 45 51
Fax : 09 80 45 52 00
Email : info@fi.vwr.com

France

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201 rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tél : 0 825 02 30 30 (0,15 € TTC/min)
Fax : 0 825 02 30 35 (0,15 € TTC/min)
Email : info@fr.vwr.com

Allemagne

VWR International gmbH
Hilpertstraße 20a
D - 64295 Darmstadt
Appel gratuit : 0800 702 00 07
Fax : 0180 570 22 22*
Email : info@de.vwr.com
*0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz

Hongrie

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tél : (52) 521-130
Fax : (52) 470-069
Email : info@hu.vwr.com

Irlande / Irlande du Nord

VWR International Ltd /
VWR International (Northern Ireland) Ltd
Orion Business Campus
Northwest Business Park
Ballycoolin
Dublin 15
Tél : 01 88 22 222
Fax : 01 88 22 333
Email : sales@ie.vwr.com

Italie

VWR International PBI S.r.l.
Via San giusto 85
20153 Milano (MI)
Tél : 02-3320311/02-487791
Fax : 800 152999/02-40090010
Email : info@it.vwr.com

Pays-Bas

VWR International B.V.
Postbus 8198
1005 AD Amsterdam
Tél : 020 4808 400
Fax : 020 4808 480
Email : info@nl.vwr.com

Norvège

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tél : 02290
Fax : 815 00 940
Email : info@no.vwr.com

Pologne

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 gdansk
Tél : 058 32 38 200 do 204
Fax : 058 32 38 205
Email : info@pl.vwr.com

Portugal

VWR International -
Material de Laboratório, Lda
Edifício Neopark
Av. Tomás Ribeiro, 43-3 D
2790-221 Carnaxide
Tél : 21 3600 770
Fax : 21 3600 798/9
Email : info@pt.vwr.com

Espagne

VWR International Eurolab S.L.
C/ Tecnologia 5-17
A-7 Llinars Park
08450 - Llinars del Vallès
Barcelona
Tél : 902 222 897
Fax : 902 430 657
Email : info@es.vwr.com

Suède

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tél : 08 621 34 00
Fax : 08 621 34 66
Email : kundservice@se.vwr.com

Suisse

VWR International gmbH
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tél : 044 745 13 13
Fax : 044 745 13 10
Email : info@ch.vwr.com

Turquie

Pro Lab Laboratuvar Teknolojileri Ltd.Şti.
a VWR International Company
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - İstanbul
Tél : +90216 598 2900
Fax : +90216 598 2907
Email : info@pro-lab.com.tr

Royaume-Uni

VWR International Ltd
Customer Service Centre
Hunter Boulevard - Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tél : 0800 22 33 44
Fax : 01455 55 85 86
Email : uksales@uk.vwr.com

Australie

VWR International, Pty Ltd.
Unit 1/31 Archimedes Place
Murarrie, Queensland 4172
Tél : 1300 727 696
Fax : 1300 135 123

Chine

VWR International China Co., Ltd
Rm.219, 2100 Dongming Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tél : +86-21-5898 6888
Fax : +86-21-5855 8801
Email : info_china@vwr.com

Inde

VWR Lab Products Private Limited
135/12, Brigade Towers, 2nd Floor
Front wing, Brigade Road,
Bengaluru, Inde – 560 025
Tél : +91-80-41117125/26 (Bengaluru)
Tél : +91-2522-647911/922 (Mumbai)
Fax : +91-80-41117120
Email : vwr_india@vwr.com

Nouvelle Zélande

Global Science - A VWR Company
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tél : 0800 734 100
Fax : 0800 999 002
Email : sales@globalscience.co.nz

Singapour

VWR Singapore Pte Ltd
18 gul Drive
Singapore 629468
Tél : +65 6505 0760
Fax : +65 6264 3780
Email : sales@sg.vwr.com

**RENDEZ-VOUS SUR VWR.COM POUR
CONSULTER LES DERNIÈRES
NOUVELLES, OFFRES SPÉCIALES ET
COORDONNÉES DE VOTRE
DISTRIBUTEUR VWR LOCAL**

VWR shiroGEL

Vertical 20

MANUAL DE INSTRUCCIONES



Número del catálogo europeo:
700-0353 VE 20 ShiroGel Vertical
700-0354 VE 20 Sistema de colado doble

Versión: 1
Publicado: 21/05/2014



Dirección legal del fabricante

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011

País de origen

Reino Unido

Índice:

	<u>Página</u>
Información de seguridad	1
Contenido de la caja	2
Indicaciones de uso y limitaciones	3
Cuidados y mantenimiento	4
Introducción	6
Componentes	7
Características principales	8
Colado de gel	11
Montaje	13
Conversión de configuración de 2 a 4 geles	15
Conjunto de 4 geles para obtener geles de 1,5 y 2 mm de grosor	17
Preparación del gel	17
Selección del gel	18
Aplicación del gel	19
Preparación y carga de la muestra	22
Activación del gel	24
Soluciones madre	25
Referencias	27
Peines	28
Conexión a una unidad frigorífica	29
Servicio técnico y garantía	30
Eliminación del equipo	32

Advertencia

Cuando se usan correctamente, estas unidades no constituyen ningún riesgo para la salud. Sin embargo, estas unidades pueden emitir niveles peligrosos de electricidad y solo las debe manejar personal cualificado siguiendo las directrices que se exponen en este manual de instrucciones.

Cualquiera que pretenda utilizar este equipo debe leer el manual entero detenidamente.

Información de seguridad



Para evitar descargas eléctricas:

La unidad no se debe usar nunca sin la tapa de seguridad colocada correctamente en su sitio.



Para evitar descargas eléctricas:

La unidad no se debe utilizar si presenta algún signo de daño en el depósito externo o en la tapa.

Estas unidades cumplen con las directivas estatutarias de seguridad de la CE:

Directiva sobre baja tensión: 2006/95/CE	Directiva RoHS: 2011/65/UE
Directiva EMC: 2004/108/CE	WEEE 2012/19/UE
IEC 61010-1:2010 (tercera edición)	IEC 61326-1:2005



Evite que el instrumento sufra daños

Las unidades no deben entrar nunca en contacto con los siguientes agentes limpiadores, ya que pueden causar daños irreversibles y acumulativos:

acetona, fenol, cloroformo, tetracloruro de carbono, metanol, etanol, alcohol isopropílico, álcalis.

Contenido de la caja

VWR shiroGEL Vertical 20:

Las unidades constan de depósito, tapa, módulo interno y electrodos, e incluyen los siguientes accesorios:

	Placas de vidrio	Peines	Base de colado	Serpentín de refrigeración	Cables
shiroGEL Vertical 20	700-0361 – Pk/2 con rebaje 700-0364 – Liso con separadores de 1 mm anexados, Pk/2 700-0369 – Placa simulada	2 de 700-0388 24 muestras de 1 mm de grosor	1 de 700-0356 (incluye 1x 700-0359)	700-0358	1 juego
shiroGEL Vertical 20 Completo	700-0361 – Pk/2 con rebaje 700-0364 – Liso con separadores de 1 mm anexados, Pk/2 700-0369 – Placa simulada	2 de 700-0388 24 muestras de 1 mm de grosor	1 de 700-0356 (incluye 1x 700-0359) + SOPORTE externo del COLADOR (sin electrodos) 700-0355	700-0358	1 juego



Se deben consultar las listas de embalaje en cuanto se reciban las unidades con el fin de asegurarse de que se han incluido todos los componentes. Cuando se reciba, se debe comprobar si la unidad presenta daños.

Contacte con su proveedor si hay algún problema o le falta algún componente.

Indicaciones de uso y limitaciones:

- Altitud máxima: 2000 m.
- Rango de temperatura entre 4 °C y 65 °C.
- Humedad relativa máxima del 80 % para temperaturas de hasta 31 °C, decreciendo proporcionalmente hasta humedad relativa de 50 % a 40 °C.
- Prohibido usar en exteriores.

Cuidados y mantenimiento:

Limpieza del shiroGEL Vertical 20

Las unidades se limpian mejor utilizando agua caliente y un detergente suave. **El agua a temperaturas por encima de los 60 °C puede dañar la unidad y los componentes.**

La unidad se debe enjuagar profusamente con agua caliente o agua destilada para evitar la acumulación de sales, pero se debe tener cuidado de no dañar los electrodos de la placa y no se necesita ni se recomienda limpiarla vigorosamente.

Es preferible dejar que se deje secar al aire antes de usarla.

Las unidades solo se deben limpiar con lo siguiente:

- *Agua caliente con una concentración suave de jabón u otro detergente suave.*

Entre los detergentes compatibles están: líquido lavavajillas, hexano e hidrocarburos alifáticos.

Las unidades no se deben dejar en detergente durante más de 30 minutos.

Las unidades no deben entrar nunca en contacto con los siguientes agentes limpiadores, ya que pueden causar daños irreversibles y acumulativos:

Acetona	Fenol	Cloroformo	Tetracloruro de carbono
Etanol	Metanol	Alcohol isopropílico	Álcalis

Descontaminación de RNasa

Esta se puede realizar utilizando el siguiente protocolo:

Limpie las unidades con un detergente suave tal como se ha descrito.

Lávelas con agua oxigenada (H₂O₂) al 3 % durante 10 minutos.

Enjuagado con agua destilada tratada con DEPC (dietil pirocarbonato) al 0,1 %,

Precaución: El DEPC es un posible carcinógeno. Tome siempre las precauciones necesarias cuando lo use. También se puede usar RNaseZAP™ (Ambion). Consulte las instrucciones para el uso con depósitos de gel acrílico.

Instrucciones:

Introducción

El nuevo sistema de electroforesis vertical, shiroGEL VERTICAL 20, es la innovación más reciente del producto para la electroforesis vertical de gel en formato grande. Diseñado para realizar una diversidad de separaciones, entre las que se cuentan la SDS-PAGE de primera y segunda dimensión, las electroforesis de ácidos nucleicos nativos, preparatorias, graduales y de alta resolución, además del IEF (isoelectroenfoque) capilar en gel y tubos y la electrotransferencia, el shiroGEL VERTICAL 20 es uno de los sistemas verticales de formato grande más versátiles que hay disponibles.

Al introducir una nueva tecnología de sujeción vertical con pernos dentro del inserto de PAGE, ahora solo son necesarios cuatro pernos para asegurar geles de hasta 20 x 20 cm. Esto le da al shiroGEL VERTICAL 20 la ventaja selectiva de un montaje mucho más rápido en comparación con productos de la competencia cuyas configuraciones tradicionales de anclaje requieren hasta 24 pernos para asegurar tan solo dos placas de vidrio. Además, la configuración de anclaje mediante pernos verticales del shiroGEL VERTICAL 20 distribuye la presión de manera uniforme a lo largo de la altura del gel en vez de en el centro, lo que elimina el arqueado de la placa y proporciona compresión del gel, pero sigue manteniendo un sellado a prueba de fugas durante el colado; mientras que el diseño ergonómico del shiroGEL VERTICAL 20 para el inserto de PAGE favorece el manejo y el montaje.

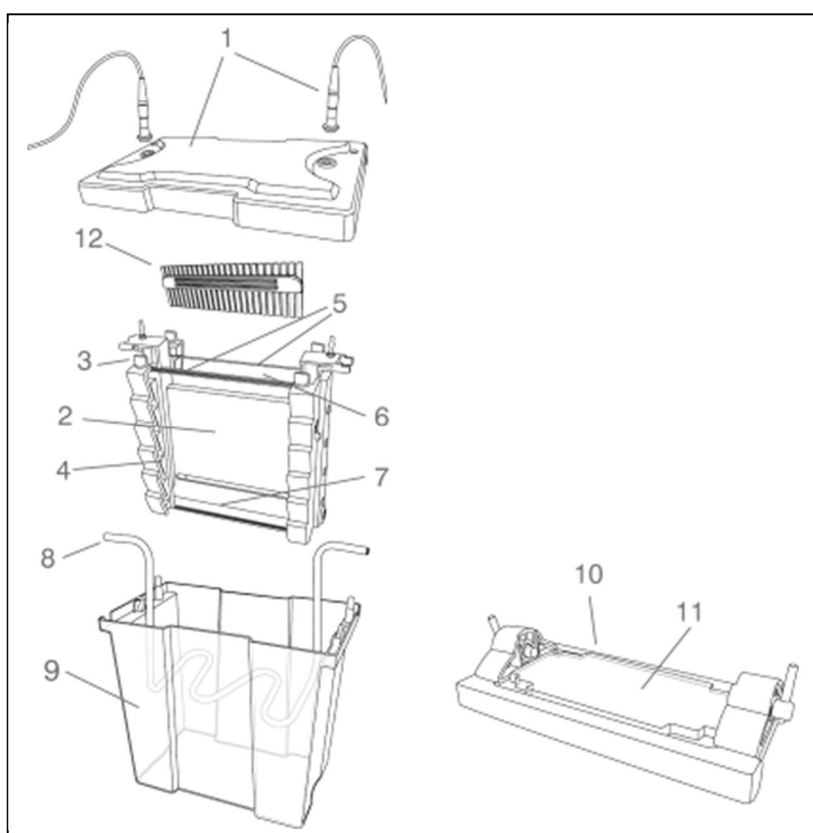
Sean cuales sean sus necesidades, se puede hacer que el shiroGEL VERTICAL 20 las satisfaga. Tanto si se trata de activar 2 o 4 geles, electrotransferencia, e IEF utilizando geles en tubos capilares o tiras de IPG, todas estas técnicas se pueden realizar usando la misma unidad versátil y reteniendo al mismo tiempo los beneficios de la electroforesis de gran formato, como son: mayores distancias de separación, mayor rendimiento de las muestras y una resolución superior.

Antes de utilizar el SHIROGEL VERTICAL 20, recomendamos montar y desmontar la unidad antes de usarla para la electroforesis, y familiarizarse con sus componentes. Véase la figura 1 a continuación.

Figura 1: shiroGEL VERTICAL 20

Componentes verticales

Componentes del shiroGEL VERTICAL 20
1. Tapa y cables de alimentación
2. Inserto de PAGE
3. Perno vertical
4. Barras de sujeción
5. Placas de vidrio
6. Cámara interna de solución tampón
7. Junta
8. Serpentín de refrigeración extraíble
9. Depósito exterior
10. Colador sujeto con clavijas
11. Alfombrilla de colado ultrasuave
12. Peines



Características destacadas

- **La tecnología de sujeción vertical con pernos** -usando solo 4 pernos- reduce considerablemente el tiempo de montaje; además, actúa conjuntamente con las barras de sujeción con código de colores (ver más abajo) para distribuir la presión de forma regular a todo lo largo de la placa para impedir que la placa se arquee o sufra compresión (Fig. 1, número 3)
- **Una cámara interna de solución tampón incorporada en el inserto de PAGE:** permite completar el montaje sin la inclusión de un depósito superior o una cámara de solución tampón en la parte superior (Fig. 1, número 6)
- **Barras de sujeción con código de colores:** use las barras de sujeción verdes para activar hasta dos geles de 2 mm de grosor en la configuración estándar del shiroGEL VERTICAL 20 o las barras de sujeción interiores amarillas más finas para activar hasta cuatro geles de 2 mm de grosor en el shiroGEL VERTICAL 20 (Fig. 1, número 4, véase también la sección sobre

Conversión de la configuración del shiroGEL VERTICAL 20 de 2 geles a 4 geles)

- **Placas de vidrio:** comprima con delicadeza contra una junta de nivel plana para impedir la fuga actual de la cámara interna de solución tampón durante la electroforesis (Fig. 1, número 5); la placa de vidrio con rebaje se coloca en la parte más interna y se comprime directamente contra la junta para permitir que la solución tampón llene los huecos superiores dentro del gel, facilitando así la conectividad eléctrica entre el electrodo negativo y la parte superior del gel, mientras que la placa de vidrio liso con separadores anexos está en la zona más exterior para impedir que haya fuga de solución tampón desde la cámara interior.
- **Serpentín de refrigeración interior extraíble:** se conecta a la toma de agua del laboratorio o a un circuito de refrigeración para proporcionar una electroforesis uniforme y sin burbujas, mientras que permite realizar las activaciones a una tensión mayor (Fig. 1, número 8)

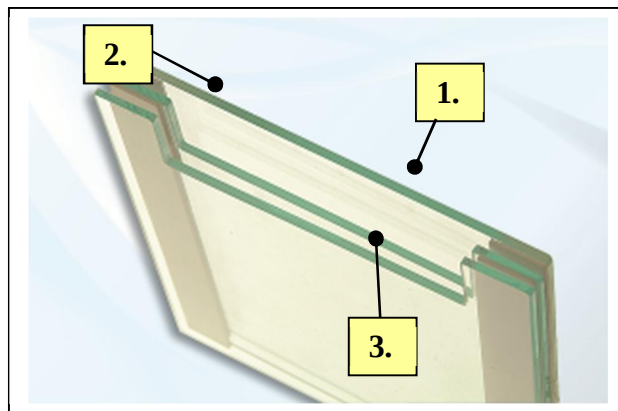
- **Depósito de gel profundo:** con suficiente distancia por debajo de las placas de vidrio para permitir que un agitador magnético mantenga la circulación de la solución tampón y un pH uniforme. (Fig. 1, número 9)
- **Colador con palancas:** con una alfombrilla de ultrasuave de silicona que compensa la falta de alineación de las placas de vidrio para garantizar un colado sin fugas (Fig. 1, números 10 y 11)

Otras características

- Las placas de vidrio con rebaje y separadores anexos que se proporcionan con los sistemas shiroGEL VERTICAL 20 permiten que se duplique la capacidad de los geles de 2 a 4, mientras que la placa de simulación solo permite activar geles individuales (véase la Fig. 2)

Fig. 2. Montaje de la placa de vidrio para un sándwich de dos geles usando separadores amarillos

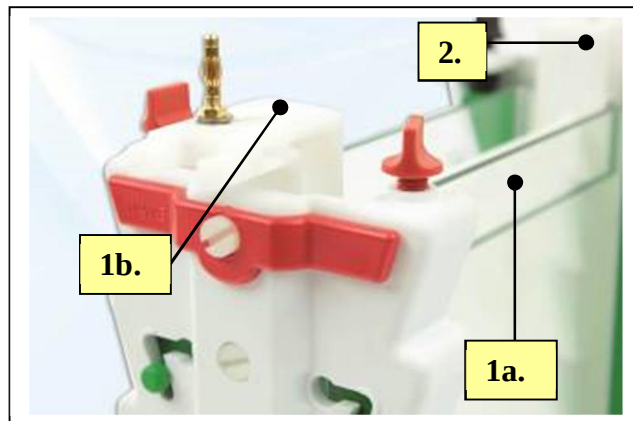
1. Placa lisa de vidrio con separador anexo
2. Placa de vidrio con rebaje y separador anexo
3. Placa de vidrio con rebaje



- Separadores anexos y peines con código de colores para el grosor (no se muestran)
- El diseño asimétrico de la tapa (Fig. 1, número 1) y los pernos con código de colores en el inserto de PAGE impiden la inversión de la polaridad (véase Fig. 3)

Fig. 3. Los pernos con código de colores impiden la inversión de la polaridad

1. Perno vertical rojo (1a.) correspondiente a un enchufe de electrodos positivos (1b.) con código de colores y **cable de alimentación positivo**
2. Perno vertical negro correspondiente al código de color de enchufe de electrodos negativos con cable de alimentación **negativo**



Colado sin fugas usando la tecnología de pernos verticales

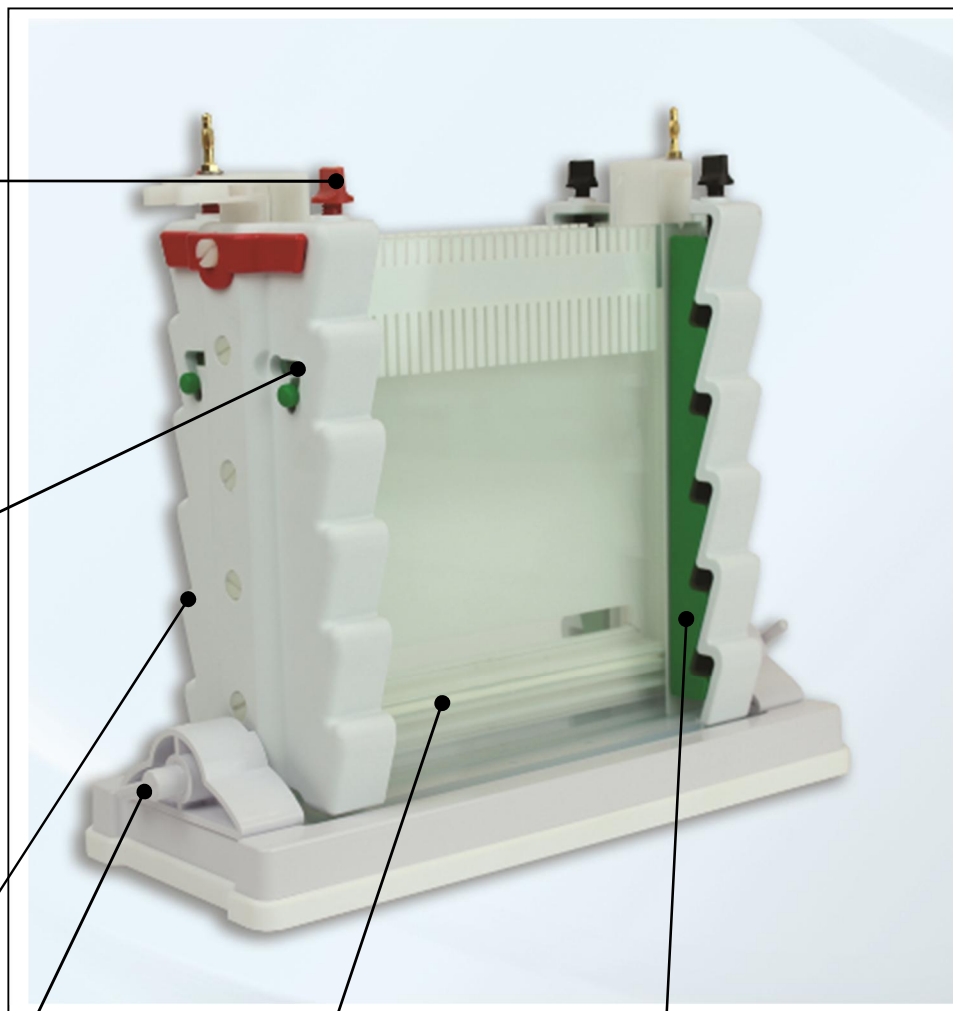
Fig. 4. La tecnología de sujeción mediante pernos verticales del inserto de PAGE en el shiroGEL VERTICAL 20 posibilita un colado con gel rápido y sin fugas.

Los pernos verticales, con código de colores para impedir la inversión de la polaridad, empujan las sujeciones del gel fuera de las ranuras de reposo para asegurar las placas de vidrio con firmeza dentro del inserto de PAGE.

Las ranuras de reposo permiten que las sujeciones del gel estén situadas de manera conveniente sin estorbar, para favorecer la carga de los cartuchos sin obstaculizaciones en el inserto de PAGE.

El diseño ergonómico del inserto de PAGE en el shiroGEL VERTICAL 20 proporciona un conveniente agarre a los dedos, para manipularlo con facilidad.

Los pernos de leva afianzan el inserto de PAGE a la alfombrilla ultrasuave de silicona dentro de la base del colador para proporcionar un sellado sin fugas.



La junta de nivel plana impide la fuga de corriente desde la cámara interna de solución tampón.

Sujeciones deslizantes para el gel disponibles en dos grosores y colores para que se puedan utilizar para cartuchos de un solo gel (**verde**) y de dos geles (**amarillo**)

Colado de 2 geles usando el shiroGEL VERTICAL 20

Normas generales

1. Primero limpie un juego de placas de vidrio para cada gel con agua destilada y luego con etanol al 70 %. Un juego de placas de vidrio está formado por una placa de vidrio con rebaje y una placa de vidrio liso con separadores anexos. Al usar un sándwich de placas de vidrio para 2 geles en el shiroGEL VERTICAL 20 para colar 2 geles en cada lado del inserto de PAGE, se requieren dos placas — una con separadores anexos y la otra sin ellos— así como un juego de placas de vidrio liso con separadores anexos (véase también la sección sobre **Conversión de la configuración del shiroGEL VERTICAL 20 de 2 geles a 4 geles**). La placa de vidrio liso está situada en la posición más exterior, seguida de una placa de vidrio con rebaje y separadores anexos y luego una segunda placa de vidrio liso con rebaje (véase **Fig. 2. Montaje de la placa de vidrio para sándwich de 2 geles usando separadores amarillos**).

Nota: Todas las placas de vidrio, módulos y accesorios de la base del colador deben estar completamente secos durante el montaje. Los componentes húmedos tienen más probabilidades de alinearse mal y provocar fugas.

2. Monte las placas de vidrio de modo que la parte inferior de estas y los separadores estén perfectamente alineados; las placas de vidrio estándar suministradas con el shiroGEL VERTICAL 20 o los sistemas shiroGEL VERTICAL 20, se suministran con separadores anexos y no necesitan alineación. Sin embargo, si se usan separadores ajenos, que no están incluidos como estándar, estos deberán estar perfectamente alineados. Como mejor se lleva a cabo es usando un separador pequeño o peine para apartar los separadores entre sí.

NOTA: Las placas de vidrio con separadores anexos tienen una flecha en la parte superior de los separadores que son ligeramente más largos que la placa de vidrio para indicar la parte superior.

Por favor, siga las instrucciones a continuación para un montaje en detalle del sistema shiroGEL VERTICAL 20.

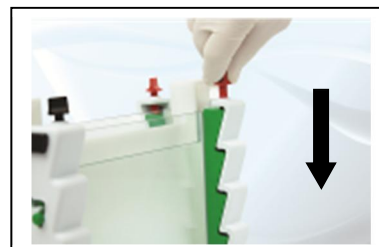
1. Monte cada cartucho de gel en una superficie lisa y plana, colocando la placa de vidrio lisa abajo con los separadores mirando hacia arriba, y luego la placa de vidrio con rebaje.



2. Afloje los pernos verticales en el inserto de PAGE para liberar el mecanismo de bloqueo, permitiendo así que las sujeciones del gel descansen sobre las ranuras de reposo.



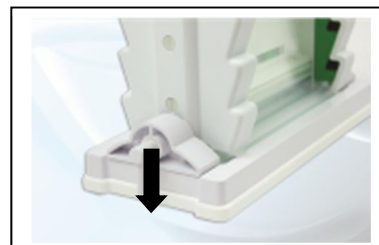
3. Inserte un cartucho de gel en cada lado de la cámara interna de fluido amortiguador en el inserto de PAGE, y empiece a ajustar los pernos verticales.



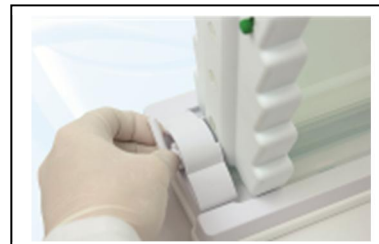
4. Siga ajustando los pernos hasta que las sujeciones del gel se desplacen hacia fuera de las ranuras de descanso y se fijen firmemente contra las placas de vidrio, empujándolas hacia arriba.



5. Compruebe el fondo de las placas de vidrio para asegurarse de que están juntas, y ponga el inserto de PAGE en la base del colador; asegúrese de que las levas están orientadas hacia abajo.



6. Inserte las levas y gírelas hasta que estén apretadas, conduciendo así el inserto de PAGE hasta el colador para formar un sellado sin fugas.



7. Vierta la solución de gel, inserte los peines y permita que los recipientes se polimericen. La mejor manera de realizar el vertido del gel es usando una pipeta de 25 ml o de 50 ml.



8. Transfiera el inserto de PAGE al depósito de geles. Rellene las cámaras interior y exterior de solución tampón antes de cargar las muestras.



9. Vuelva a poner la tapa, conecte a la fuente de alimentación y póngalo en marcha.



Conversión de la configuración del shiroGEL VERTICAL 20 de 2 geles a 4 geles

Las sujeciones deslizantes de gel que son verdes y más gruesas son las recomendadas para asegurar hasta 2 geles (es decir, 1 gel a cada lado del inserto de PAGE) para geles hasta un grosor máximo de 2 mm. Para 4 geles (es decir, 2 geles a cada lado del inserto de PAGE: se realiza usando una placa de vidrio lisa y una placa de vidrio con rebaje, ambas con separadores anexos, y una placa con rebaje sin separadores), se **deben** usar las sujeciones deslizantes de gel AMARILLAS más finas.

Para convertir la configuración del shiroGEL VERTICAL 20 de 2 geles a 4 geles, siga las instrucciones indicadas a continuación.

1. Para sustituir las sujeciones deslizantes verdes del gel, empiece por desenroscar los pernos verticales con código de colores. No debería haber placas de vidrio dentro del inserto de PAGE, en los laterales que se van a desenroscar. Una vez que los pernos estén suficientemente desenroscados, la sujeción verde debería reposar en la ranura de descanso tal y como se muestra.



2. Con delicadeza, empuje la sujeción deslizante verde de manera horizontal hacia el núcleo del inserto de PAGE hasta que no pueda avanzar más.



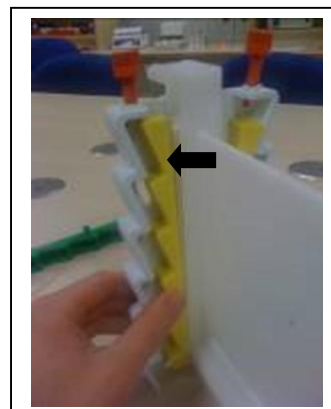
3. Empuje la sujeción deslizante verde del gel hasta que quede fuera del inserto de PAGE, presionando delicadamente la punta sobresaliente tal y como se muestra.



4. Una vez que se haya retirado la sujeción deslizante verde del gel, el inserto de PAGE está preparado para aceptar las sujeciones deslizantes amarillas del gel más finas, para sándwiches de 2 geles, a ambos lados del inserto de PAGE, para convertir la configuración del shiroGEL VERTICAL 20 en una configuración de 4 geles.



5. Inserte la sujeción amarilla deslizante de gel en el orificio más cercano al núcleo del inserto de PAGE. Una vez insertado con delicadeza, tire de la sujeción deslizante hacia fuera alejándola del núcleo del inserto de PAGE, tal y como se muestra.



6. Retire las sujeciones deslizantes de gel para que queden suspendidas en las ranuras de reposo tal y como se muestra. Repita los pasos 1-6 para sustituir el resto de las sujeciones deslizantes verdes de gel. Una vez hecho esto por completo, el inserto de PAGE está listo para un conjunto de 4 geles.

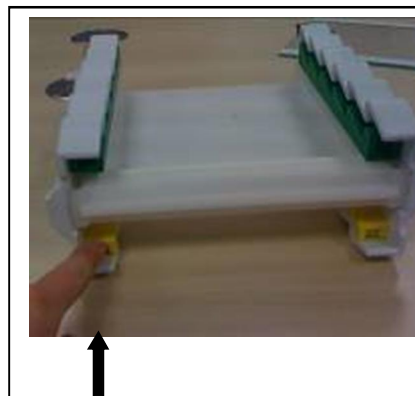


Conjunto de 4 geles para geles de 1,5 y 2 mm de grosor

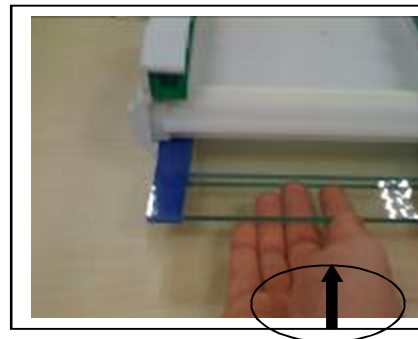
Una vez convertido en una configuración de 4 geles usando las sujeciones deslizantes amarillas de geles, el shiroGEL VERTICAL 20 está listo para aceptar un máximo de cuatro geles de entre 1 mm y 2 mm de grosor.

Se pueden insertar sándwiches de 2 geles de 1 mm de grosor en el inserto de PAGE desde la parte superior, como se muestra en las figuras 1-9 en la sección **Montaje detallado del inserto del shiroGEL VERTICAL 20** en las páginas 13-14. Sin embargo, para sándwiches de 2 geles de 1,5 y 2 mm de grosor, puede que sea necesario cargar el shiroGEL VERTICAL 20 colocando el inserto de PAGE sobre el lateral para vencer cualquier resistencia que pueda ofrecer la junta. Las siguientes instrucciones ilustran la mejor manera de realizarlo.

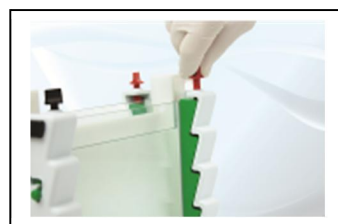
1. Con el inserto de PAGE derecho en su posición normal, desatornille los pernos lo suficiente para que las sujeciones deslizantes del gel se queden suspendidas en las ranuras de reposo. Gire el inserto de PAGE hacia un lado y empuje las sujeciones deslizantes hasta que se encuentren completamente planas dentro del inserto de PAGE en paralelo con la superficie del banco.



2. Forme un sándwich de 2 geles en la superficie uniforme de un banco, como se describe en **Reglas generales** en la página 10 en la sección Colado en gel vertical. Empuje el sándwich de 2 geles con la parte superior de la placa con rebaje al interior del inserto de PAGE. Esta placa con rebaje será la más cercana al núcleo del inserto de PAGE cuando esté en posición vertical. La placa de vidrio con rebaje que está más arriba puede encontrarse con alguna resistencia de la junta. Esta se puede vencer empujando el vidrio liso y con rebaje por debajo de él hacia el inserto de PAGE (**enmarcado**).



3. Una vez que la resistencia está vencida, empuje la placa de vidrio superior con rebaje hacia el inserto de PAGE. Vuelva a poner la PAGE en su posición vertical y empiece a asegurar las placas de vidrio para la electroforesis vertical, como se describe en los pasos 3-9 de la sección **Montaje detallado del inserto de PAGE** en las páginas 13-14.



Preparación del gel:

1. Siempre es aconsejable trabajar usando soluciones ya existentes que aportan una ventaja añadida y ahorran tiempo cuando se trata del vertido del gel. La página 22 enumera soluciones ya existentes para geles de SDS PAGE que deberían estar hechas de antemano. Respecto a la fórmula nativa del gel y las condiciones de activación, consulte un manual de laboratorio. El siguiente protocolo se da para el uso de las soluciones estándar ya existentes recomendadas. Este debería ajustarse si va a usar diferentes soluciones madre o fórmulas de gel.
2. La tabla 1 siguiente muestra el volumen total de solución de gel necesario. En las tablas siguientes, las cantidades de gel y soluciones se dan para dos geles de 1 mm de grosor, así que serán necesarios ajustes cuando se utilicen más de dos geles y para separadores de 0,75, 1,5 o 2 mm de grosor.

Tabla 1.

shiroGEL Vertical 20	
	Volumen total de gel para un gel de 1 mm de grosor.
Para diferentes grosores de gel, multiplique las cantidades siguientes por el grosor del separador.	
Sencillo: un gel, una placa de simulación	35 ml
Doble: dos geles	70 ml

Usando un sándwich de 2 geles de triple placa: cuatro geles.	140 ml
--	--------

Selección del gel:

Se debe tener cuidado al seleccionar el tamaño de los poros del gel que se va a usar.

El tamaño de los poros o porcentaje del gel determina la capacidad resolutive dados diferentes tamaños de proteína.

Véase la tabla 2 a continuación, que detalla qué porcentaje de gel usar para separar los tamaños de las proteínas indicadas.

Tabla 2.

Porcentaje de acrilamida	Resolución de separación
5 %	60-220 KD
7,5 %	30-120 KD
10 %	20-75 KD
12 %	17-65 KD
15 %	15-45 KD
17,5 %	12-30 KD

3. Prepare soluciones de gel según las tablas a continuación. Estas dan los volúmenes de las soluciones tomadas de las soluciones madre estándar. Estas deberían mezclarse con delicadeza evitando la generación de burbujas que inhibirían la polimerización al eliminar los radicales libres.

Tabla 3: Preparación de la solución del gel separador para dos geles de 20 x 20 cm del shiroGEL VERTICAL 20 usando separadores de 1 mm.

Solución	5 %	7,5 %	10 %	12 %	15 %	17,5 %
Agua destilada	41 ml	35,25 ml	29,6 ml	24,7 ml	17,6 ml	11,7 ml

Solución madre de acrilamida al 30 %	11,7 ml	17,6 ml	23,5 ml	28,2 ml	35,25 ml	41,1 ml
Solución tris 4x resolutive	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml
Persulfato de amonio al 10 %	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl

Vertido del gel:

Para geles con capas superpuestas:

1. Inserte el peine entre las placas de vidrio y marque un punto en las placas de vidrio a 1 cm por debajo de donde terminan las púas del peine. Esto indica dónde añadir el gel resolutive.
2. Añada 70µl de TEMED a la solución de gel y mezcle bien, pero evite generar burbujas de aire.
3. Llene las placas de vidrio otra vez, evitando generar burbujas de aire. El rellenado debe realizarse rápidamente antes de que el TEMED haga que el gel se vuelva demasiado viscoso.
4. Recubra el gel con mucho cuidado, con 1 ml de isobutanol, isopropanol o agua destilada. Cuando use agua destilada, deberá tener aún más cuidado para asegurarse de que no se mezcle con la solución del gel.
- 5 Deje que el gel de resolución se polimerice. Normalmente, esto lleva unos 15 minutos, pero esto puede variar debido a la frescura de los reactivos que se usen. Si la polimerización lleva mucho más tiempo que esto, use soluciones madre más recientes o añada más APS y TEMED.
6. Prepare el gel de apilamiento, usando la tabla 4 a continuación como guía. Una vez más, las soluciones madre se dan en las páginas 22 y 23.

Tabla 4.

Solución	shiroGEL Vertical 20
Agua destilada	16,8 ml
Solución madre de acrilamida al 30 %	2,6 ml
Solución Tris de gel de apilamiento de 4x	6,4 ml
Persulfato de amonio al 10 %	178 μ l

7. Mezcle con cuidado la solución del gel de apilamiento, evitando generar burbujas de aire.
8. Vierta el líquido de recubrimiento y enjuague el gel con agua destilada.
9. Para los geles del shiroGEL VERTICAL 20, añada 26,8 μ l de TEMED. Mezcle bien. Use una pipeta Pasteur para rellenar las placas de vidrio hasta arriba del todo con solución de gel de apilamiento.
10. Inserte con cuidado el peine asegurándose de que no queden atrapadas burbujas de aire bajo los extremos de las púas, pues estas inhibirán la progresión de las muestras.
11. Deje que el gel de apilamiento se polimerice durante 30 minutos.

Para geles sin capas de apilamiento:

1. Añada 70 μ l de TEMED para geles de shiroGEL VERTICAL 20 y mezcle bien pero evite generar burbujas de aire.
2. Llene las placas de vidrio otra vez, evitando generar burbujas de aire. El rellenado debe realizarse rápidamente antes de que el TEMED haga que el gel se vuelva demasiado viscoso.
3. Inserte con cuidado el peine asegurándose de que no queden atrapadas burbujas de aire bajo los extremos de las púas, pues estas inhibirán la progresión de las muestras.
4. Deje que el gel se polimerice. Normalmente, esto lleva unos 15 minutos, pero esto puede variar debido a la frescura de los reactivos que se usen. Si la

polimerización lleva mucho más tiempo que esto, use soluciones madre más recientes o añada más APS y TEMED.

Preparación y carga de la muestra

Preparación de muestras desnaturalizadas de proteína para cargar:

Las instrucciones que se dan a continuación son para muestras desnaturalizadas. Para muestras nativas, consulte un manual de laboratorio.

1. Prepare las muestras de proteínas para cargar. El volumen de la muestra depende de la capacidad de los recipientes (véanse las especificaciones de los peines en la página 25).
2. Usando un micro tubo de centrifugar de 0,5 ml u otro receptáculo apropiado, combine la muestra de proteína y una muestra de fluido amortiguador de 4x. Siempre es aconsejable usar marcadores de proteínas en una de las líneas finales para indicar tamaños de bandas. Estos deberán prepararse siguiendo las instrucciones del fabricante.
3. Caliente las muestras en un baño de agua o en un calentador durante 2 minutos para desnaturalizar las muestras.
4. Centrifugue las muestras en un microcentrifugador durante 20 segundos a 12.000 rpm. Las muestras de proteína ya están listas para cargarlas.

Carga de las muestras:

1. Transfiera el módulo interno de gel que contiene los geles colados al depósito principal en la orientación correcta según lo indicado (+) en el módulo alineado con (+) en el depósito, (-) en el módulo alineado con (-) en el depósito.
2. Rellene el depósito exterior con solución tampón del contenedor de 1x. Véase la página 22 para la solución tampón de activación recomendada. La tabla 6 muestra el volumen necesario de solución tampón.

3. Cargue las muestras en los recipientes usando la punta de una pipeta, con cuidado de no dañar los recipientes ni provocar ninguna burbuja de aire.
4. Rellene todo recipiente sin usar con muestra de solución tampón de 1x.
5. Es recomendable observar la orientación y el orden de las muestras que se cargaron. Esto se puede hacer observando qué muestras se cargaron junto a cada electrodo.

Volumen de solución tampón:

Tabla 5.

Volumen de solución tampón	shiroGEL Vertical 20
Mínimo: el depósito interior se llena por encima de los recipientes. El depósito exterior se llena hasta anegar el fondo de las placas de vidrio. El potencial de refrigeración está a un mínimo, lo cual puede afectar la resolución.	Cámara de solución tampón interna total: 640 ml Depósito exterior: 1 l
Máximo: el depósito interno se llena hasta por encima de los recipientes. El depósito exterior se llena hasta la línea de llenado máximo. La refrigeración es alta, lo que ofrece una buena resolución de las muestras. Esto puede mejorarse aún más usando el serpentín de refrigeración.	Cámara de solución tampón interna total: 640 ml Depósito exterior para 2 geles: 5,4 l Depósito exterior para 4 geles: 4,8 l

Activación del gel:

1. Encaje la tapa y conéctelo a una fuente de alimentación.
2. Consulte la Tabla 6 a continuación para conocer los detalles sobre los ajustes de tensión de la fuente de alimentación recomendados.
3. Apague la fuente de alimentación cuando el tinte que se está cargando llegue al fondo del gel; antes si sus proteínas tienen un tamaño menor de 4 Kd.
4. Retire el módulo del gel que está activo, vaciando primero la solución tampón interna en el depósito principal. La solución tampón puede volver a usarse, pero esto puede afectar la calidad del procedimiento si se le da continuidad.
5. Desatornille las placas de vidrio y separe con delicadeza las placas de vidrio. El gel normalmente se pegará a una de las placas y se puede retirar empapándolo primero en solución tampón y levantándolo luego delicadamente con una espátula.
6. Ahora el gel está listo para teñirlo con Coomassie o tintura de plata, o las proteínas que hay en el gel se pueden transferir a una membrana mediante electrotransferencia para identificación concreta de banda y análisis adicional.

Tabla 6.

Tensiones recomendadas y corriente resultante para geles de 1 mm de espesor y del 12 %.	shiroGEL Vertical 20
2-4 geles	35 mA (constante); hasta un máximo de 350 V Tiempo de funcionamiento hasta 5 h, sin refrigeración; 4 h con refrigeración

Soluciones madre para los geles SDS PAGE:

Solución madre de gel de acrilamida al 30 %:

30,0 g acrilamida

0,8 g metileno bisacrilamida

Agua destilada hasta 100 ml

Tris de gel de resolución madre de 4x (1,5 M Tris·HCl pH 8.8, 0,4 % SDS)

Hasta 110 ml de agua destilada añadir 36,4 g de Tris base

Añadir 8 ml de SDS al 10 %

Ajustar el pH a 8,8 con 1N HCl

Ajustar el volumen final hasta 200 ml con agua destilada.

Tris de apilamiento madre de 4x (0,5 M Tris·HCL pH 6,8, 0.4 % SDS)

Hasta 110 ml de agua destilada añadir 12,12 g de Tris base.

Añadir 8 ml de SDS al 10 %

Ajustar el pH a 6,8 con 1N HCl

Añadir agua destilada hasta un volumen final de 200 ml.

Madre solución tampón de 4x en el depósito de Tris glicina - SDS

36 g Tris base

172,8 g glicina

Agua destilada hasta 3 l

Fluido amortiguador de 1x en depósito de Tris glicina - SDS

750 ml de fluido amortiguador de 4x en depósito de Tris glicina - SDS

30 ml de SDS al 10 %

Agua destilada hasta 3 l

10 % AP (solución de persulfato de amonio)

0,1 g de persulfato de amonio

0,2 1 ml de agua destilada

TEMED

MadreMuestra de solución tampón de 4x

4 ml de glicerol

2 ml de 2-mercaptoetanol

1,2 g de SDS

5 ml de Tris de apilamiento 4x

0,03 g de bromofenol azul

Alícuota en tubos de microcentrifugado de 1,5 ml. Conservar a -20 °C.

Referencias:

1. Sambrook, Fritsch, and Maniatis, **Molecular Cloning A Laboratory Manual**, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.

Peines:

(MC indica pipeta multicanal compatible)

shiroGEL Vertical 20

Código	Descripción	Volumen de muestra en µl por recipiente
700-0376	Preparación 1 Peine, Marcador 1, 0,75 mm de grosor	1100
700-0377	Muestra 5 peines, 0,75 mm de grosor	160
700-0378	Muestra 10 peines, 0,75 mm de grosor	80
700-0379	Muestra 18 peines MC, 0,75 mm de grosor	40
700-0380	Muestra 24 peines, 0,75 mm de grosor	30
700-0381	Muestra 30 peines, 0,75 mm de grosor	25
700-0382	Muestra 36 peines, MC, 0,75 mm de grosor	20
700-0383	Muestra 48 peines, 0,75 mm de grosor	15
700-0384	Preparación 1 Peine, 1 Marcador, 1 mm de grosor	1500
700-0385	Muestra 5 peines, 1 mm de grosor	200
700-0386	Muestra 10 peines, 1 mm de grosor	100
700-0387	Muestra 18 peines, 1 mm de grosor	50
700-0388	Muestra 24 peines, 1 mm de grosor	40
700-0389	Muestra 30 peines, 1 mm de grosor	35
700-0390	Muestra 36 peines, MC, 1 mm de grosor	25
700-0391	Muestra 48 peines, 1 mm de grosor	20
700-0392	Preparación 1 peine, 1 marcador, 1,5 mm de grosor	2200
700-0393	Muestra 5 peines, 1,5 mm de grosor	320
700-0394	Muestra 10 peines, 1,5 mm de grosor	160
700-0395	Muestra 18 peines, 1,5 mm de grosor	80
700-0396	Muestra 24 peines, 1,5 mm de grosor	60
700-0397	Muestra 30 peines, 1,5 mm de grosor	50
700-0398	Muestra 36 peines, MC, 1,5 mm de grosor	40
700-0399	Muestra 48 peines, 1,5 mm de grosor	30
700-0400	Preparación 1 peine, 1 marcador, 2 mm de grosor	3000
700-0401	Muestra 5 peines, 2 mm de grosor	400
700-0402	Muestra 10 peines, 2 mm de grosor	200
700-0403	Muestra 18 peines, 2 mm de grosor	100
700-0404	Muestra 24 peines, 2 mm de grosor	80
700-0405	Muestra 30 peines, 2 mm de grosor	70
700-0406	Muestra 36 peines, MC, 2 mm de grosor	50
700-0407	Muestra 48 peines, 2 mm de grosor	40

Conectar a una unidad frigorífica

1. El PAGE vertical a veces puede dar como resultado corrientes elevadas. La corriente elevada puede causar la acumulación de calor que puede afectar el desplazamiento de la muestra y la resolución del gel como resultado. Para contrarrestar los efectos adversos de la generación de calor, el fabricante recomienda usar una unidad de refrigeración efectiva, preajustada a 4 °C.
2. Para una regulación activa de la temperatura, conecte dos trozos cortos de manguera desde los puertos de entrada y salida de la unidad de refrigeración a los respectivos conectores de salida y entrada del serpentín de refrigeración dentro del depósito interior del shiroGEL VERTICAL 20.
3. Asegúrese de que la velocidad del flujo de la unidad de refrigeración está establecida a un máximo de 1 litro por minuto. No supere este límite, pues la plataforma de refrigeración podría sufrir daños.
4. Si utiliza una unidad de refrigeración que supere este límite, puede usarse un conector en T. El conector en T puede desviar algo del volumen de refrigeración de vuelta al refrigerador de recirculación, reduciendo la presión que incide en el serpentín.

La unidad ya está lista para usarse con refrigeración activa.

Servicio técnico

Recursos web

Visite el sitio web de VWR en www.vwr.com para:

- Ver la información de contacto completa del servicio técnico.
- Acceder al catálogo en línea de VWR, así como a información sobre accesorios y productos relacionados.
- Ver información adicional sobre los productos y ofertas especiales.

Contacte con nosotros Para obtener información sobre asistencia técnica, póngase en contacto con el representante local de VWR o visite. www.vwr.com.

Garantía

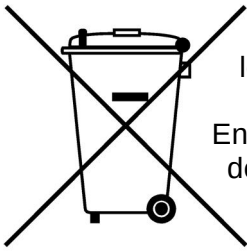
VWR International garantiza que este producto estará libre de defectos tanto en los materiales como en la mano de obra durante un período de dos (2) años desde la fecha de entrega. En caso de que hubiera algún defecto, VWR, a su discreción y por su cuenta, reparará, sustituirá o reembolsará el precio de compra de este producto al cliente, siempre y cuando se devuelva dentro del período de garantía. Esta garantía no es de aplicación si el producto ha resultado dañado por accidente, abuso, uso indebido o aplicación indebida, o como consecuencia del desgaste ordinario. Si no se realizan los servicios de mantenimiento e inspección requeridos de acuerdo con los manuales y cualquier normativa local, esta garantía dejará de ser válida, excepto en la medida en que el defecto del producto no se deba a no haber realizado estas tareas.

El cliente debe asegurar los componentes que devuelva contra posibles daños o pérdidas. Esta garantía estará limitada a las reparaciones mencionadas anteriormente. SE ACUERDA EXPRESAMENTE QUE ESTA GARANTÍA SUSTITUIRÁ TODAS LAS DEMÁS GARANTÍAS DE ADECUACIÓN Y LA GARANTÍA DE COMERCIALIZACIÓN.

Cumplimiento de leyes y normas locales

El cliente es responsable de solicitar y obtener las aprobaciones normativas necesarias u otras autorizaciones necesarias para utilizar el producto en su entorno local. VWR no será responsable de ninguna omisión relacionada o por no obtener la aprobación o autorización requerida, a menos que cualquier rechazo se deba a un defecto en el producto.

ELIMINACIÓN DEL EQUIPO



Este equipo está marcado con el símbolo de un contenedor de basura con ruedas tachado con una cruz para indicar que no se puede desechar con los residuos no clasificados.

En su lugar, es su responsabilidad desechar el equipo correctamente al final del ciclo de vida del equipo y entregarlo a una instalación autorizada para la recogida separada de los componentes y su reciclaje. También es su responsabilidad descontaminar el equipo en caso de contaminación biológica, química y/o radiológica, para proteger contra peligros sanitarios a las personas implicadas en el desecho y el reciclaje del equipo.



Para obtener información acerca de dónde deshacerse de los residuos del equipo, póngase en contacto con su distribuidor local al que originalmente compró este equipo.

Al hacerlo, ayudará a preservar los recursos naturales y medioambientales, y se asegurará de que el equipo se recicle de un modo que proteja la salud de los seres humanos.

Atentamente,

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Viena
Tel.: +43 1 97 002 0
Fax: +43 1 97 002 600
Correo electrónico: info@at.vwr.com

Bélgica

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
3001 Leuven
Tel.: 016 385 011
Fax: 016 385 385
Correo electrónico: customerservice@be.vwr.com

República Checa

VWR International s. r. o.
Veetee Business Park
Pražská 442
CZ - 281 67 Stříbrná Skalice
Tel.: +420 321 570 321
Fax: +420 321 570 320
Correo electrónico: info@cz.vwr.com

Dinamarca

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2730 Herlev
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
Correo electrónico: info@dk.vwr.com

Finlandia

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Fax: 09 80 45 52 00
Correo electrónico: info@fi.vwr.com

Francia

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201, rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tel.: 0 825 02 30 30 (0.15 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0.15 € TTC/min)
Correo electrónico: info@fr.vwr.com

Alemania

VWR International GmbH
Hilpertstraße 20a
D - 64295 Darmstadt
Número gratuito: 0800 702 00 07
Fax: 0180 570 22 22*
Correo electrónico: info@de.vwr.com
*0.14 €/Min. aus d. dt. Festnetz

Hungría

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tel.: (52) 521-130
Fax: (52) 470-069
Correo electrónico: info@hu.vwr.com

Irlanda/Irlanda del Norte

VWR International Ltd/
VWR International (Irlanda del Norte) Ltd
Orion Business Campus
Northwest Business Park
Ballycoolin
Dublin 15
Tel.: 01 88 22 222
Fax: 01 88 22 333
Correo electrónico: sales@ie.vwr.com

Italia

VWR International PBI S.r.l.
Via San Giusto 85
20153 Milano (MI)
Tel.: 02-3320311/02-487791
Fax: 800 152999/02-40090010
Correo electrónico: info@it.vwr.com

Holanda

VWR International B.V.
Postbus 8198
1005 AD Amsterdam
Tel.: 020 4808 400
Fax: 020 4808 480
Correo electrónico: info@nl.vwr.com

Noruega

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 02290
Fax: 815 00 940
Correo electrónico: info@no.vwr.com

Polonia

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200 do 204
Fax: 058 32 38 205
Correo electrónico: info@pl.vwr.com

Portugal

VWR International -
Material de Laboratório, Lda
Edifício Neopark
Av. Tomás Ribeiro, 43- 3 D
2790-221. Carnaxide
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
Correo electrónico: info@pt.vwr.com

España

VWR International Eurolab S.L.
C/ Tecnología 5-17
A-7 Llinars Park
08450 - Llinars del Vallès
Barcelona
Tel.: 902 222 897
Fax: 902 430 657
Correo electrónico: info@es.vwr.com

Suecia

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tel.: 08 621 34 00
Fax: 08 621 34 66
Correo electrónico: kundservice@se.vwr.com

Suiza

VWR International GmbH
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tel.: 044 745 13 13
Fax: 044 745 13 10
Correo electrónico: info@ch.vwr.com

Turquía

Pro Lab Laboratuvar Teknolojileri Ltd.Şti.
a VWR International Company
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Estambul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Correo electrónico: info@pro-lab.com.tr

Reino Unido

VWR International Ltd
Customer Service Centre
Hunter Boulevard - Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tel.: 0800 22 33 44
Fax: 01455 55 85 86
Correo electrónico: uksales@uk.vwr.com

Australia

VWR International, Pty Ltd.
Unit 1/31 Archimedes Place
Murarrie, Queensland 4172
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123

China

VWR International China Co., Ltd
Rm.219, 2100 Dongming Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Correo electrónico: info_china@vwr.com

India

VWR Lab Products Private Limited
135/12, Brigade Towers, 2nd Floor
Front wing, Brigade Road,
Bengaluru, India – 560 025
Tel.: +91-80-41117125/26 (Bengaluru)
Tel.: +91-2522-647911/922 (Mumbai)
Fax: +91-80-41117120
Correo electrónico: vwr_india@vwr.com

Nueva Zelanda

Global Science - A VWR Company
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tel.: 0800 734 100
Fax: 0800 999 002
Correo electrónico: sales@globalscience.co.nz

Singapur

VWR Singapore Pte Ltd
18 Gul Drive
Singapur 629468
Tel.: +65 6505 0760
Fax: +65 6264 3780
Correo electrónico: sales@sg.vwr.com

**VAYA A VWR.COM PARA VER LAS
NOTICIAS MÁS RECIENTES, LAS
OFERTAS ESPECIALES Y LOS
DETALLES DE SU DISTRIBUIDOR
LOCAL DE VWR**

VWR shiroGEL

Vertical 20

MANUALE D'ISTRUZIONI



Numero di catalogo europeo:

700-0353 VE 20 ShiroGel Vertical

700-0354 VE 20 sistema a doppia colata

Versione: 1

Data di rilascio: 21.05.2014



Indirizzo sede legale del produttore

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011

Paese di origine

Regno Unito

Indice:

	<u>Pagina</u>
Informazioni di sicurezza	1
Contenuto della confezione	2
Linee guida e restrizioni per l'uso:	3
Cura e manutenzione	4
Introduzione	6
Componenti	7
Caratteristiche principali	8
Colata del gel	10
Impostazione	11
Passare dalla configurazione a 2 gel a quella a 4 gel	15
Gruppo 4 gel per gel dello spessore di 1,5 e 2 mm	17
Preparazione del gel	18
Scelta del gel	19
Immissione del gel	20
Preparazione e caricamento dei campioni	22
Lavorazione del gel	24
Soluzioni dello stock	25
Bibliografia	27
Pettini	28
Connessione a un'unità di raffreddamento	29
Assistenza tecnica e garanzia	30
Smaltimento della strumentazione	32

Avvertenza

Se usate correttamente, queste unità non comportano nessun rischio per la salute. Tuttavia le stesse unità possono veicolare livelli pericolosi di elettricità, e devono essere adoperate esclusivamente da personale qualificato sulla base delle linee guida tracciate in questo manuale.

Si raccomanda una lettura attenta e completa del presente manuale a chiunque abbia intenzione di fare uso di questa strumentazione.

Informazioni di sicurezza



Per prevenire scosse elettriche:

Non utilizzare mai l'unità senza aver posizionato correttamente il coperchio di sicurezza.



Per prevenire scosse elettriche:

Non utilizzare mai l'unità se si rilevano segni di danneggiamento del serbatoio esterno o del coperchio.

Queste unità sono conformi alle direttive di sicurezza legale CE:

Direttiva Bassa Tensione: 2006/95/CE	Direttiva RoHS: 2011/65/UE
Direttiva EMC: 2004/108/CE	WEEE 2012/19/UE
IEC 61010-1:2010 (terza edizione)	IEC 61326-1:2005



Evitare il danneggiamento degli strumenti

Queste unità non devono mai entrare in contatto con i seguenti prodotti per la pulizia, che potrebbero provocare danni irreversibili e cumulativi: –

Acetone, Fenolo, Cloroformio, Tetracloruro di Carbonio, Metanolo, Etanolo, Alcool isopropilico, Alkali.

Contenuto della confezione

VWR shiroGEL Vertical 20:

Le unità comprendono serbatoio, coperchio, modulo interno, elettrodi e i seguenti accessori:

	Piastre di vetro	Pettini	Base di colata	Serpentina di raffreddamento	Cavi
shiroGEL Vertical 20	700-0361– Dentellato, Pk/2 700-0364– Liscio con distanziatori collegati di 1 mm, Pk/2 700-0369 – Piastra Dummy	2 di 700-0388 24 campioni, spessore 1 mm	1 di 700-0356 (comprende 1x 700-0359)	700-0358	1 set
shiroGEL Vertical 20 Completo	700-0361– Dentellato, Pk/2 700-0364– Liscio con distanziatori collegati di 1 mm, Pk/2 700-0369 – Piastra Dummy	2 di 700-0388 24 campioni, spessore 1 mm	1 di 700-0356 (comprende 1x 700-0359) + SUPPORTO DI COLATA esterno (senza elettrodi) 700-0355	700-0358	1 set



L'elenco dei contenuti della confezione deve essere consultato non appena si ricevono le unità, per accertarsi che siano presenti tutti i componenti. Si controlli allo stesso tempo l'eventuale presenza di danni. Contattare il fornitore in caso di problemi o elementi mancanti.

Linee guida e restrizioni per l'uso:

- Altitudine massima 2.000 m.
- Escursione termica tra i 4°C e i 65°C.
- Valore massimo dell'umidità relativa 80% a temperatura massima di 31°C, con riduzione lineare al 50% a 40°C.
- Non idoneo per uso esterno.

Cura e manutenzione:

Pulire lo shiroGEL Vertical 20

Il miglior metodo per la pulizia delle unità è con acqua tiepida e un detergente delicato. **L'acqua a una temperatura superiore ai 60 °C può danneggiare l'unità e i componenti.**

Risciacquare accuratamente l'unità con acqua tiepida o acqua distillata per prevenire la formazione di sali, facendo attenzione a non danneggiare gli elettrodi piatti. Non è necessaria né consigliata un'azione di pulizia energica. Prima dell'uso è consigliabile l'asciugatura tramite soffio d'aria.

Pulire le unità esclusivamente con i seguenti elementi:

- *Acqua tiepida con una lieve concentrazione di sapone o altro detergente delicato.*

I detergenti compatibili comprendono liquido per stoviglie, esano e idrocarburi alifatici.

Le unità non dovrebbero essere esposte all'azione dei detergenti per più di 30 minuti.

Le unità non devono mai entrare in contatto con i seguenti prodotti per la pulizia, che potrebbero provocare danni irreversibili e cumulativi:-

Acetone	Fenolo	Cloroformio	Tetracloruro di carbonio
Etanolo	Metanolo	Alcol isopropilico	Alcali

Decontaminazione RNase

Si può eseguire facendo uso del seguente protocollo: –

Pulire le unità con un detergente delicato come descritto sopra.

Lavare per 10 minuti con perossido di idrogeno al 3% (H₂O₂).

Risciacquo con acqua distillata trattata con 0,1% di DEPC (dietilpirocarbonato).

Attenzione: Si sospetta che DEPC possa essere cancerogeno. Prendere sempre le necessarie precauzioni durante l'uso. Può essere usato anche

RNaseZAP™ (Ambion). Consultare le istruzioni per l'uso con i serbatoi di gel acrilico.

Istruzioni:

Introduzione

Il nuovo sistema di elettroforesi shiroGEL VERTICAL 20 Vertical è l'ultima innovazione nel campo dell'elettroforesi verticale di gel a largo formato. ShiroGEL VERTICAL 20 è uno dei sistemi verticali a largo formato più versatili, progettato per eseguire un'ampia gamma di separazioni, tra cui SDS-PAGE di prima e seconda dimensione, elettroforesi dell'acido nucleico nativa, preparativa, gradiente e ad alta risoluzione più IEF ed elettroblotting del gel del tubo capillare.

Grazie all'introduzione della nuova, innovativa tecnologia a vite di blocco nell'inserito del PAGE, ora bastano 4 viti per fissare altrettanti gel 20x20 cm. Questo fornisce allo shiroGEL VERTICAL 20 il vantaggio selettivo di una velocità di impostazione molto più rapida rispetto ai prodotti della concorrenza, le cui tradizionali configurazioni di blocco richiedono addirittura 24 viti per fissare appena due piastre di vetro. Inoltre la configurazione della vite di blocco verticale dello shiroGEL VERTICAL 20 distribuisce la pressione in modo regolare lungo l'altezza del gel invece che al centro, per eliminare l'incurvamento della piastra e la compressione del gel, ma garantisce lo stesso una tenuta a prova di perdite durante la colata. In più il design ergonomico dell'inserito PAGE dello shiroGEL VERTICAL 20 aiuta sia la manipolazione sia l'impostazione.

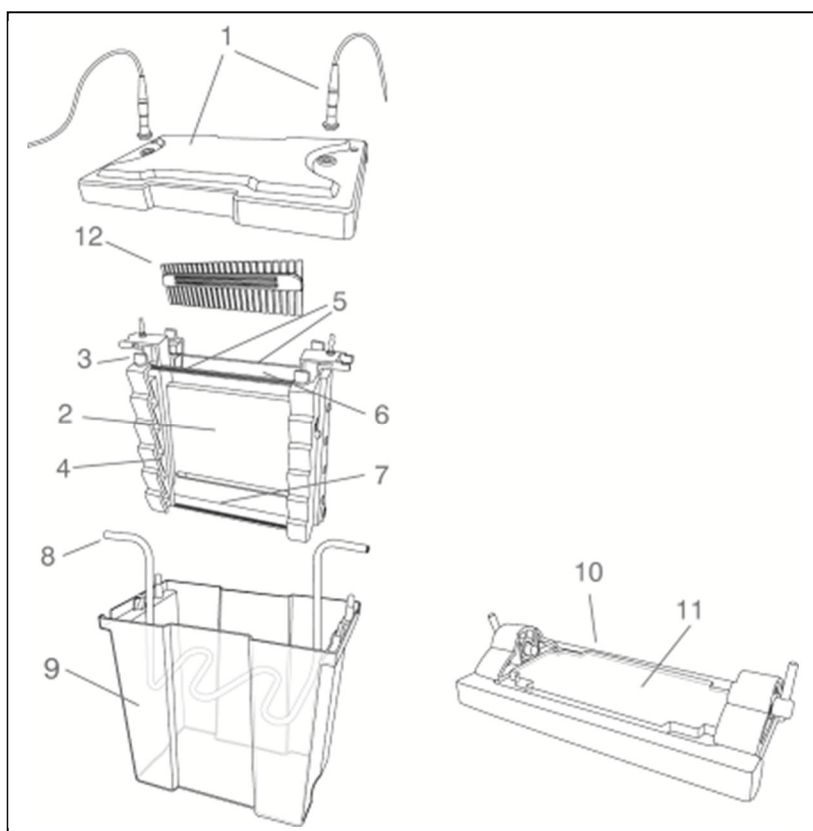
Qualsiasi requisito vi serva, shiroGEL VERTICAL 20 è in grado di soddisfarlo. Indipendentemente dal fatto che si stia lavorando su 2 o 4 gel, eseguendo l'elettroblotting, usando IEF gel tubo capillare o fasce IPG, tutte queste tecniche possono essere eseguite usando la stessa unità versatile e mantenendo al contempo i vantaggi dell'elettroforesi a largo formato, come le maggiori distanze di separazione, maggiore volume di produzione del campione e risoluzione superiore.

Prima di usare lo SHIROGEL VERTICAL 20, si raccomanda di assemblare e disassemblare l'unità prima del suo utilizzo per l'elettroforesi, e di acquisire dimestichezza con le parti che lo compongono. Vedere sotto, Figura 1.

Figura 1. shiroGEL VERTICAL 20

Componenti Verticali

Componenti shiroGEL VERTICAL 20
1. Coperchio e cavi dell'energia
2. Inserto del PAGE
3. Vite verticale
4. Barre di blocco
5. Piastre di vetro
6. Camera del tampone interna
7. Guarnizione
8. Serpentina di raffreddamento rimovibile
9. Serbatoio esterno
10. Rotella camma
11. Tappetino di colata ultra-soffice
12. Pettini



Caratteristiche principali

- **La tecnologia a vite di blocco verticale** – con l'utilizzo di sole 4 viti – riduce enormemente i tempi di assemblaggio. Agisce anche insieme alla barre di blocco codificate tramite colore (vedere sotto) per distribuire la pressione in maniera regolare lungo l'altezza del gel, per prevenire l'incurvamento o la compressione della piastra (Fig. 1, numero 3)
- **Una camera del tampone interna incorporata all'interno dell'inserto del PAGE** – permette di completare l'impostazione senza l'inclusione di un serbatoio superiore o di una camera per il tampone superiore (Fig. 1, numero 6)
- **Barre di blocco codificate tramite colore** – utilizzare le barre di blocco verdi per eseguire fino a due gel di 2 mm di spessore nella configurazione standard dello shiroGEL VERTICAL 20, o con l'utilizzo delle barre di blocco gialle, più sottili, per eseguire fino a quattro gel dello spessore di 2 mm nello shiroGEL VERTICAL 20. (Fig. 1, numero 4; vedere anche la sezione sulla

Conversione dello shiroGEL VERTICAL 20 dalla configurazione a 2 a quella a 4 gel)

- **Piastre di vetro** – comprimere delicatamente contro una guarnizione piana e di livello per prevenire la perdita corrente dalla camera del tampone interna durante l'elettroforesi (Fig. 1, numero 5); la piastra di vetro dentellata è posizionata internamente e spinge direttamente sulla guarnizione per permettere al tampone di riempire i pozzetti superiori nel gel, facilitando così la connettività elettrica tra l'elettrodo negativo e la parte superiore del gel, mentre la piastra di vetro piana con i distanziatori collegati è collocata all'esterno per evitare le perdite del tampone dalla camera interiore
- **Serpentina interiore di raffreddamento rimovibile** – si connette alla riserva d'acqua del laboratorio o a un refrigeratore a ricircolo per fornire un'elettroforesi uniforme priva di effetto “smile”, permettendo al contempo un'esecuzione a più alto voltaggio (Fig. 1, numero 8)
- **Serbatoio profondo di gel** – con una clearance adeguata sotto le piastre di vetro per permettere a un agitatore magnetico di mantenere il ricircolo del tampone e un pH uniforme (Fig. 1, numero 9)

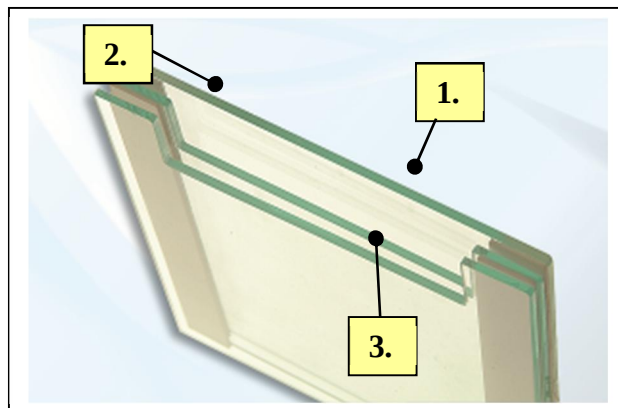
- **Rotella camma** – grazie a un tappetino ultrasoffice molto cedevole compensa il mancato allineamento della piastra di vetro per assicurare una colata priva di perdite (Fig. 1, numero 10 e 11)

Altre funzionalità

- Le piastre di vetro dentellato con i distanziatori collegati forniti con i sistemi shiroGEL VERTICAL 20 permettono di raddoppiare la capienza di gel da 2 a 4, mentre la piastra dummy consente di eseguire gel singoli (Vedere Fig. 2)

Fig. 2. Impostazione della piastra di vetro per un “sandwich” a 2 gel usando i distanziatori gialli

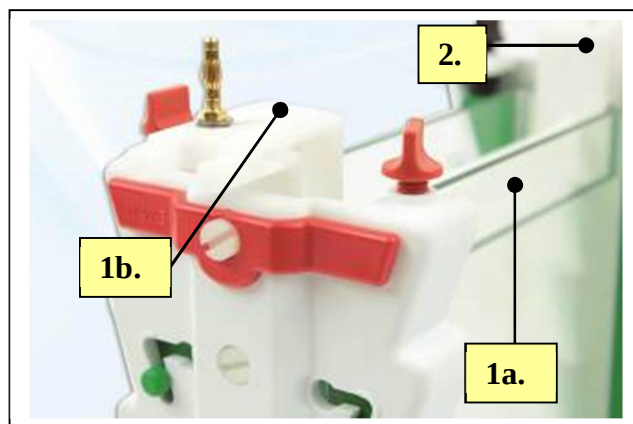
1. Piastra di vetro liscio con distanziatori collegati
2. Piastra di vetro dentellato con distanziatori collegati
3. Piastra di vetro dentellata



- Distanziatori collegati e pettini codificati tramite colore per spessore (non mostrati)
- Il design asimmetrico del coperchio (Fig. 1, numero 1) e le viti codificate tramite colore nell'insero del PAGE prevengono l'inversione di polarità (Vedere Fig. 3)

Fig. 3. Le viti codificate tramite colore prevengono l'inversione di polarità

1. Vite verticale rossa (1a.) corrispondente alla presa dell'elettrodo positivo (1b) codificata tramite colore con il cavo dell'energia **positivo**
2. Vite verticale nera corrispondente alla presa dell'elettrodo negativo codificata tramite colore con il cavo dell'energia **negativo**



Colata priva di perdite con l'uso della tecnologia a viti verticali

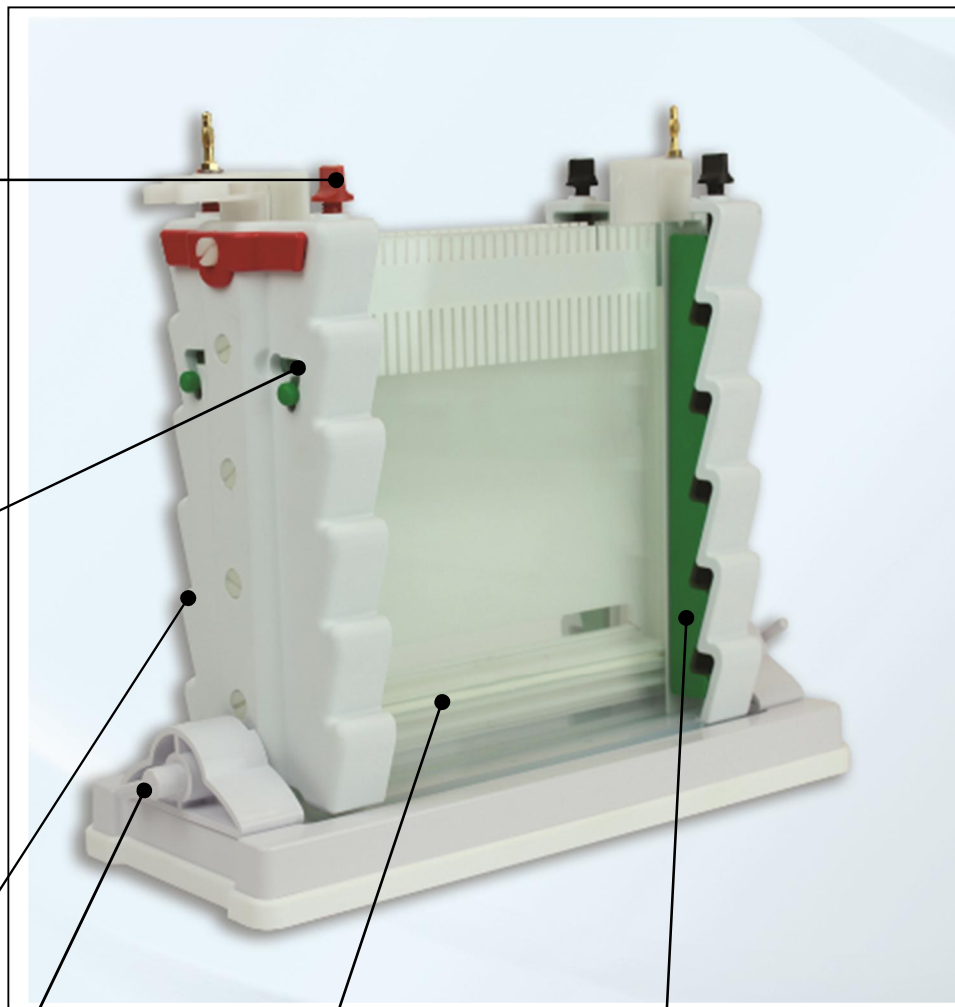
Fig. 4. La tecnologia a vite di blocco verticale dell'inserto del PAGE dello shiroGEL VERTICAL 20 facilita una colata di gel veloce e a prova di perdite.

Le viti verticali, codificate tramite colore per prevenire l'inversione di polarità, tengono i blocchi del gel lontani dagli spazi inutilizzati per assicurare saldamente le piastre di vetro all'interno dell'inserto del PAGE

Gli spazi inutilizzati permettono ai blocchi del gel di stare adeguatamente lontani, per agevolare un caricamento senza ostacoli delle cassette nell'inserto del PAGE

Il design ergonomico "shiroGEL VERTICAL 20" dell'inserto del PAGE fornisce alle dita una presa adeguata per un utilizzo semplice

Le rotelle camma chiudono l'inserto del PAGE sul tappetino ultrasoffice di silicone all'interno della base di colata per assicurare una chiusura a prova di perdite



La guarnizione piatta di livello impedisce la perdita corrente dalla camera del tampone interna

Blocchi scorrevoli del gel disponibili in due spessori e colori per l'utilizzo di cassette a gel singolo (**verdi**) e a gel doppio (**gialli**)

Colata gel per due gel con l'uso di shiroGEL VERTICAL 20

Disposizioni generali

1. Pulire un set di piastre di vetro per ogni gel, prima con acqua distillata e quindi con etanolo al 70%. Un set di piastre di vetro forma una piastra di vetro dentellata e una piastra di vetro liscia con distanziatori collegati. Quando si usa una piastra di vetro “a sandwich” con 2 gel nello shiroGEL VERTICAL 20 per colare 2 gel in entrambi i lati dell'inserito del PAGE, sono necessarie due piastre di vetro dentellate – una con i distanziatori collegati e una senza – e un set di piastre di vetro lisce con distanziatori collegati (Vedere anche la sezione sulla **Conversione dello shiroGEL VERTICAL 20 dalla configurazione a 2 a quella a 4 gel**). La piastra di vetro liscia è posizionata più esternamente, seguita da una piastra di vetro dentellata con i distanziatori collegati e poi da una seconda piastra di vetro dentellata (Vedere **Fig. 2. Impostazione della piastra di vetro per un “sandwich” a 2 gel usando i distanziatori gialli**).

N.B. – Tutte le piastre di vetro, i moduli e gli accessori della base di colata devono essere completamente asciutti durante l'impostazione. I componenti bagnati hanno maggiore probabilità di perdere l'allineamento e provocare perdite.

2. Assemblare le piastre di vetro in modo che il fondo delle piastre e i distanziatori siano perfettamente allineati. Le piastre di vetro standard fornite con shiroGEL VERTICAL 20 o con i sistemi shiroGEL VERTICAL 20 sono fornite con distanziatori collegati e non necessitano di allineamento manuale. Tuttavia se si dovessero usare distanziatori liberi, non inclusi come standard, sarà necessario provvedere al loro perfetto allineamento. Il modo migliore è l'utilizzo di un piccolo distanziatore o pettine per allontanare i distanziatori.

N.B. Le piastre di vetro con i distanziatori collegati hanno una freccia nella parte superiore dei distanziatori, che sono leggermente più lunghi della piastra di vetro, per indicare la parte superiore.

Si prega di seguire le illustrazioni che seguono per l'impostazione particolareggiata del sistema shiroGEL VERTICAL 20

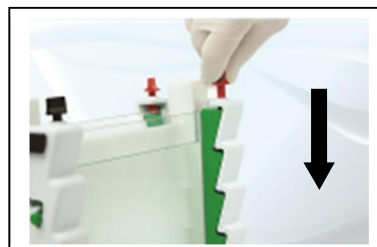
1. Assemblare ogni cassetta gel su una superficie piana poggiando la piastra di vetro liscia, con i distanziatori che guardano verso l'alto, seguita dalla piastra di vetro dentellata.



2. Allentare le viti verticali nell'inserto del PAGE per rilasciare il meccanismo di chiusura, permettendo ai blocchi del gel di allocarsi negli spazi inutilizzati.



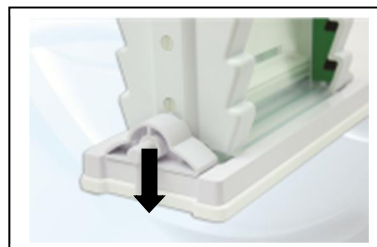
3. Inserire una cassetta di gel in ogni lato della camera interna del tampone nell'inserto del PAGE, e iniziare a stringere le viti verticali.



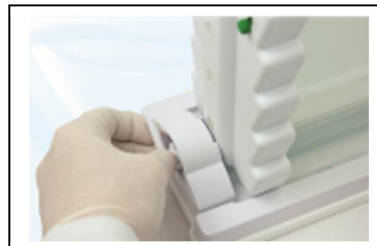
4. Continuare a stringere le viti finché i blocchi del gel non scivolano fuori dagli spazi inutilizzati e fissare saldamente contro le piastre di vetro schiacciandole in verticale.



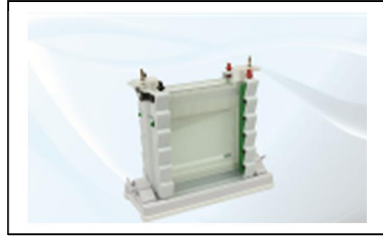
5. Controllare il fondo delle piastre di vetro per assicurarsi che siano a filo, e posizionare l'inserto del PAGE sulla base di colata; assicurarsi che le camme guardino verso il basso.



6. Inserire le camme e girare fino a che non sono ben strette, avvicinando l'inserto del PAGE sulla colata in modo da formare una chiusura a prova di perdita.



7. Versare all'interno la soluzione gel, inserire i pettini e lasciare polimerizzare i pozzetti. Il versamento del gel si realizza al meglio usando una pipetta da 25 ml o da 50 ml.



8. Trasferire l'inserto del PAGE nel serbatoio del gel. Riempire le camere del tampone interna ed esterna prima di caricare i campioni.



9. Sostituire il coperchio, collegare la fonte di energia e mettere in funzione.



Conversione dello shiroGEL VERTICAL 20 dalla configurazione a 2 a quella a 4 gel

Si consigliano i blocchi scorrevoli del gel verdi e più spessi per assicurare fino a 2 gel (per es. 1 gel su ogni lato dell'inserito del PAGE) per gel con uno spessore massimo di 2 mm. Per 4 gel (per es. 2 gel su ogni lato dell'inserimento del PAGE: realizzato usando 1 piastra di vetro liscia e 1 piastra di vetro dentellata, entrambe con distanziatori collegati, e 1 piastra dentellata senza distanziatori), si **devono** usare i più sottili blocchi GIALLI scorrevoli del gel.

Per la conversione dello shiroGEL VERTICAL 20 dalla configurazione a 2 a quella a 4 gel si prega di seguire le seguenti istruzioni.

1. Per sostituire i blocchi scorrevoli di gel verdi, iniziare svitando le viti verticali codificate tramite colore. Non ci devono essere piastre di vetro non avvitate all'interno dell'inserito del PAGE, nel lato/nei lati. Dopo che le viti sono state sufficientemente allentate, il blocco verde dovrebbe trovare posto nello spazio inutilizzato, come da immagine.



2. Spingere con delicatezza il blocco scorrevole verde in senso orizzontale verso il centro dell'inserito del PAGE fino a che non si possa più muovere.



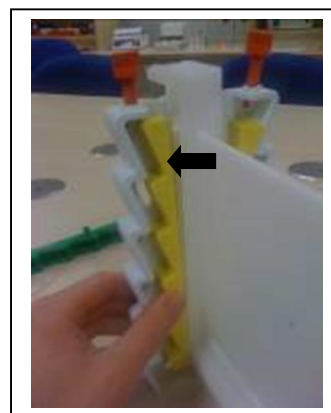
3. Spingere il blocco scorrevole verde fuori dall'inserito del PAGE utilizzando con delicatezza la vite sporgente, come da immagine.



4. Dopo la rimozione del blocco verde scorrevole, l'inserto del PAGE è pronto ad accettare i blocchi gialli più sottili scorrevoli di gel per i "sandwich" a 2 gel, su entrambi i lati dell'inserto del PAGE, per la conversione dello shiroGEL VERTICAL 20 alla configurazione a 4 gel.



5. Inserire il blocco giallo scorrevole di gel nel buco più vicino all'inserto del PAGE. Dopo averlo inserito, allontanare delicatamente il blocco scorrevole verso l'esterno, lontano dal centro dell'inserto del PAGE, come da figura.



6. Allontanare i blocchi scorrevoli di gel in modo che restino sospesi negli spazi inutilizzati, come da immagine. Ripetere le fasi da 1 a 6 per sostituire i rimanenti blocchi scorrevoli verdi di gel. Una volta completata l'operazione, l'inserto del PAGE è pronto per il gruppo di 4 gel.

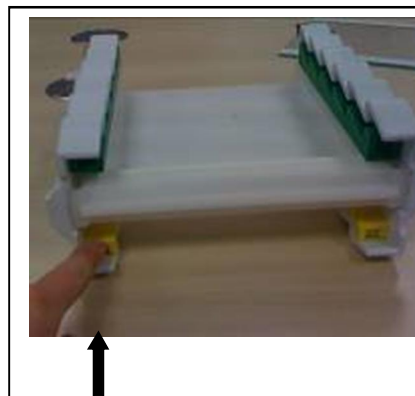


Gruppo 4 gel per gel dello spessore di 1,5 e 2 mm

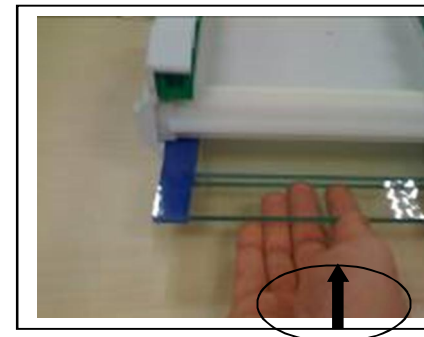
Dopo aver eseguito la conversione alla configurazione a 4 gel usando i blocchi scorrevoli gialli del gel, lo shiroGEL 20 è pronto per accettare ed eseguire un massimo di quattro gel con uno spessore da 1 a 2 mm.

Dei “sandwich” a 2 gel dello spessore di 1 mm possono essere inseriti nell'inserto del PAGE dall'alto come mostrato nelle figure 1-9 nella sezione dell'**Impostazione dettagliata dell'inserto dello shiroGEL VERTICAL 20**, pagine 13 e 14. Tuttavia, per i “sandwich” a due gel dello spessore di 1,5 e 2 mm, può essere necessario caricare lo shiroGEL VERTICAL 20 posizionando l'inserto del PAGE sul lato al fine di superare ogni resistenza che possa essere opposta dalla guarnizione. Le istruzioni che seguono illustrano come eseguirlo al meglio.

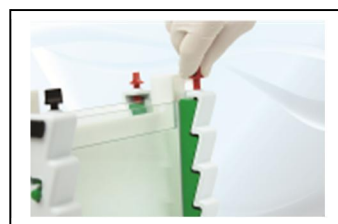
1. Con l'inserto del PAGE in verticale nella sua posizione normale, allentare le viti quanto basta affinché i blocchi scorrevoli del gel restino sospesi all'interno degli spazi inutilizzati. Girare l'inserto del PAGE sul lato e spingere i blocchi scorrevoli finché non siano completamente adagiati piatti all'interno dell'inserto del PAGE parallelamente alla superficie del banco.



2. Formare un “sandwich” a 2 gel sulla superficie regolare di un banco, come descritto nelle **Disposizioni generali** a pagina 10 nella sezione Colata verticale del gel. Spingere il “sandwich” a 2 gel con la piastra dentellata al di sopra nell'inserto del PAGE. Questa piastra dentellata sarà la più vicina al centro dell'inserto del PAGE quando è in verticale. La piastra di vetro dentellata può incontrare qualche resistenza da parte della guarnizione. L'inconveniente si può superare spingendo oltre la piastra liscia e quella dentellata nell'inserto del PAGE (**cerchiato**).



3. Superata la resistenza, spingere la piastra di vetro dentellata al di sopra nell'inserto del PAGE. Ripristinare il PAGE nella sua normale posizione in verticale e iniziare ad assicurare le piastre di vetro per l'elettroforesi verticale, come descritto nelle fasi 3-9 nell'**Impostazione dettagliata dell'inserto del PAGE**, pagine 13 e 14.



Preparazione del gel:

1. È sempre consigliabile lavorare usando soluzioni di stock che permettono maggiore comodità e risparmio di tempo nel versamento del gel. A pagina 22 si elencano le soluzioni per i gel SDS-PAGE che devono essere preparati in anticipo. Per le condizioni di lavorazione e la formula del gel nativo, si prega di consultare un manuale di laboratorio. Il protocollo che segue è fornito per l'uso delle soluzioni di stock standard consigliate. Dovrebbe essere rimodulato se si usano soluzioni di stock o formule di gel differenti.
2. La tabella 1 a seguire mostra il volume totale di soluzione di gel necessaria. Nelle tabelle seguenti, sono indicate le quantità di gel e le soluzioni per due gel dello spessore di 1 mm, di conseguenza sono necessarie delle regolazioni quando si lavora un gel singolo o più di due gel e per distanziatori dello spessore di 0,75 mm, 1,5 mm o 2 mm.

Tabella 1.

shiroGEL VERTICAL 20	
	Volume totale di gel per un gel dello spessore di 1 mm.
Per uno spessore diverso del gel, moltiplicare le quantità superiori per lo spessore del distanziatore.	
Singolo – un gel, una piastra dummy	35 ml
Doppio – due gel	70 ml

Usando un “sandwich” a due gel e tripla piastra – quattro gel	140 ml
---	--------

Scelta del gel:

Si dovrebbe porre attenzione nel selezionare la dimensione dei pori del gel da usare.

La dimensione o percentuale di pori del gel determina la capacità di separazione date le diverse dimensioni di proteina.

Vedere la Tabella 2 che spiega in dettaglio che percentuale di gel debba essere usata per separare le dimensioni di proteine indicate.

Tabella 2.

Percentuale di acrilamide	Risoluzione di separazione
5 %	60 – 220 KD
7,5 %	30 – 120 KD
10 %	20 – 75 KD
12%	17 – 65 KD
15 %	15 – 45 KD
17,5%	12 – 30 KD

3. Preparare le soluzioni di gel come indicato nelle tabelle inferiori. Queste forniscono i volumi di soluzione dalle soluzioni di stock standard. Si consiglia di mescolarle con delicatezza evitando la formazione di bolle che inibirebbero la polimerizzazione rimuovendo i radicali liberi.

Tabella 3: Preparazione della soluzione gel di separazione per due gel 20 x 20 cm shiroGEL VERTICAL 20 usando distanziatori da 1 mm.

Soluzione	5 %	7,5%	10 %	12%	15 %	17,5%
Acqua distillata	41 ml	35,25 ml	29,6 ml	24,7 ml	17,6 ml	11,7 ml

Soluzione acrilamide stock 30%	11,7 ml	17,6 ml	23,5 ml	28,2 ml	35,25 ml	41,1 ml
4 X soluzione Tris di separazione	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml	17,6 ml
Ammonio persolfato 10%	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl	700 µl

Immissione del gel:

Per gel con strati impilati:

1. Inserire il pettine nelle piastre di vetro e segnare un punto sulle piastre di vetro 1 cm al di sotto del punto in cui finiscono i denti del pettine. Questo indica dove aggiungere il gel di separazione.
2. Aggiungere 70 µl di TEMED alla soluzione gel e miscelare bene, evitando la formazione di bolle d'aria.
3. Riempire di nuovo le piastre di vetro evitando la formazione di bolle d'aria. Il riempimento deve essere eseguito velocemente prima che il TEMED faccia diventare il gel troppo viscoso.
4. Coprire con estrema attenzione il gel con 1 ml di isobutanolo, isopropanolo (alcool isopropilico) o acqua distillata. Quando si usa acqua distillata si deve fare ancora più attenzione per assicurarsi che non ci sia mescolamento con la soluzione gel.
5. Far polimerizzare il gel di separazione. Di solito ci vogliono circa 15 minuti, ma l'intervallo di tempo può variare in base alla freschezza dei reagenti in uso. Se la polimerizzazione impiega molto di più, usare soluzioni di stock più fresche o aggiungere più APS e TEMED.
6. Preparare il gel impilato usando come guida la Tabella 4 qui di seguito. Le soluzioni di stock sono fornite di nuovo alle pagine 22 e 23.

Tabella 4.

Soluzione	shiroGEL VERTICAL 20
Acqua distillata	16,8 ml
Soluzione acrilamide stock 30%	2,6 ml
4 X soluzione Tris di gel impilato	6,4 ml
Ammonio persolfato 10%	178 µl

7. Miscelare con cautela la soluzione di gel impilato, evitando la formazione di bolle d'aria.
8. Versare via il liquido superiore e sciacquare il gel con acqua distillata.
9. Per i gel shiroGEL VERTICAL 20 aggiungere 26,8 µl di TEMED. Miscelare accuratamente. Usare una pipetta Pasteur per riempire le piastre di vetro fino all'orlo con la soluzione di gel impilato.
10. Inserire il pettine con attenzione assicurandosi che non ci siano bolle d'aria intrappolate sotto le estremità dei denti del pettine, in quanto inibirebbero la progressione del campione.
11. Lasciare che il gel impilato polimerizzi per 30 minuti.

Per gel senza strati impilati:

1. Aggiungere 70 µl di TEMED per i gel shiroGEL VERTICAL 20 e miscelare bene, evitando la formazione di bolle d'aria.
2. Riempire di nuovo le piastre di vetro evitando la formazione di bolle d'aria. Il riempimento deve essere eseguito velocemente prima che il TEMED faccia diventare il gel troppo viscoso.
3. Inserire il pettine con attenzione assicurandosi che non ci siano bolle d'aria intrappolate sotto le estremità dei denti del pettine, in quanto inibirebbero la progressione del campione.
4. Far polimerizzare il gel. Di solito ci vogliono circa 15 minuti, ma l'intervallo di tempo può variare in base alla freschezza dei reagenti in uso. Se la

polimerizzazione impiega molto di più, usare soluzioni di stock più fresche o aggiungere più APS e TEMED.

Caricamento e preparazione dei campioni

Preparazione dei campioni di proteine denaturati per il caricamento:

Le istruzioni fornite di seguito sono per i campioni denaturati. Per i campioni nativi, si prega di consultare un manuale di laboratorio.

1. Preparare i campioni di proteine per il caricamento. Il volume del campione dipende dalla capacità dei pozzetti (vedere le specifiche del pettine, pag. 25).
2. Usando un tubo microcentrifuga da 0,5 ml o altro recipiente adeguato, combinare il campione di proteine e 4 tamponi campione. È sempre consigliabile usare marcatori di proteine in una delle linee finali per indicare le dimensioni delle bande. La preparazione deve avvenire secondo le istruzioni fornite dal produttore.
3. Riscaldare i campioni in un bagno d'acqua o riscaldare il blocco per 2 minuti per denaturare i campioni.
4. Centrifugare i campioni in una microcentrifuga per 20 secondi a 12.000 rpm. I campioni di proteine sono ora pronti per essere caricati.

Caricare i campioni:

1. Trasferire il modulo del gel interno contenente i gel di colata nel serbatoio principale con l'orientamento corretto, come indicato, (+) sul modulo allineato con il (+) sul serbatoio, (–) sul modulo allineato con il (–) sul serbatoio.
2. Riempire il serbatoio esterno con 1 tampone del contenitore. Vedere pagina 22 per la soluzione tampone consigliata della separazione. La tabella 6 mostra il volume di tampone necessario.

3. Caricare i campioni nei pozzetti usando la punta di una pipetta facendo attenzione a non danneggiare i pozzetti o formare bolle d'aria.
4. Riempire tutti i pozzetti inutilizzati con 1 tampone campione.
5. È una buona idea prendere nota dell'orientamento e dell'ordine in cui sono caricati i campioni. Ad esempio annotando quali campioni sono stati caricati accanto a ciascun elettrodo.

Volume del tampone:

Tabella 5.

Volume del tampone	shiroGEL VERTICAL 20
Minimo – Il serbatoio interno è riempito fino a sopra i pozzi. Il serbatoio esterno è riempito solo fino al fondo delle piastre di vetro. Il potenziale di raffreddamento è a un livello minimo che potrebbe incidere sulla risoluzione.	Totale della camera del tampone interna: 640 ml Serbatoio esterno: 1 l
Massimo – Il serbatoio interno è riempito fino a sopra i pozzi. Il serbatoio esterno è riempito fino alla linea di massima capacità. Il raffreddamento è alto e ciò offre una buona risoluzione dei campioni. Si potrebbe migliorare questo effetto usando la serpentina di raffreddamento	Totale della camera del tampone interna: 640 ml Serbatoio esterno per 2 gel: 5,4 l Serbatoio esterno per 4 gel: 4.8 l

Lavorazione del gel:

1. Inserire il coperchio e collegare a una fonte di energia.
2. Consultare la tabella 6, sotto, per i dettagli sulle impostazioni consigliate per il voltaggio della fonte di energia.
3. Spegnerne la fonte di energia quando il colore di caricamento raggiunge il fondo del gel, prima se le proteine sono di dimensioni inferiori a 4Kd.
4. Rimuovere il modulo di lavorazione del gel, svuotando prima il tampone interno nel serbatoio principale. Il tampone può essere riutilizzato ma nel tempo questo può avere un impatto negativo sulla qualità.
5. Allentare le piastre di vetro e separarle delicatamente. Il gel di solito resterà attaccato a una delle piastre e si potrà rimuovere bagnando il tampone e quindi sollevandolo delicatamente con una spatola.
6. Il gel è ora pronto a essere macchiato con Coomassie o macchia d'argento o le proteine nel gel possono essere trasferite a una membrana tramite elettroblotting per l'identificazione di una banda specifica e ulteriori analisi.

Tabella 6.

Voltaggi raccomandati e corrente risultante per gel dello spessore di 1 mm al 12%.	shiroGEL VERTICAL 20
2-4 gel	35mA (costante); fino a un massimo di 350V Durata fino a 5 ore senza raffreddamento; 4 ore con raffreddamento

Soluzioni di stock per i gel SDS-PAGE:

Soluzione gel acrilamide stock 30%:-

30,0 g acrilamide

0,8 g metilene bisacrilamide

Acqua distillata fino a 100 ml

Stock 4 Tris di gel di risoluzione (1,5 M Tris·HCl pH 8,8 0,4 % SDS)

A 110 ml di acqua distillata aggiungere 36,4 g di base Tris

Aggiungere 8 ml di SDS al 10%

Regolare il pH a 8,8 con 1N HCl

Regolare il volume finale fino a 200 ml con acqua distillata.

Stock 4 Tris di impilamento (0,5 M Tris·HCl pH 6,8 0,4 % SDS)

A 110 ml di acqua distillata aggiungere 12,12 g di base Tris

Aggiungere 8 ml di SDS al 10%

Regolare il pH a 6,8 con 1N HCl

Aggiungere acqua distillata fino a un volume finale di 200 ml

Stock 4 X tampone del serbatoio Tris-glicina - SDS

36 g Tris Base

172,8 g Glicina

Acqua distillata fino 3 l

1 X tampone del serbatoio Tris-glicina - SDS

750 ml di 4 X tampone del contenitore di Tris-glicina - SDS

30 ml di SDS al 10%

Acqua distillata fino 3 l

AP al 10% (soluzione di ammonio persolfato)

0,1 g ammonio persolfato

0,2 1 ml Acqua distillata

TEMED**Stock 4 Tamponi campione**

4 ml glicerolo

2 ml 2-mercaptoetanololo

1,2 g SDS

5 ml 4 X Tris di impilamento

0,03 g blu di bromofenolo

Aliquotare in tubi microcentrifuga da 1,5 ml. Conservare a -20 °C.

Bibliografia:

1. Sambrook, Fritsch, and Maniatis, **Molecular Cloning A Laboratory Manual**, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

2. **Current Protocols in Molecular Biology**, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 1989.

Pettini:

(MC indica pipetta multi-canale compatibile)

shiroGEL VERTICAL 20

Codice	Descrizione	Volume del campione µl per pozzetto
700-0376	Pettine 1 Prep, 1 marcatore, spessore 0,75 mm	1100
700-0377	Pettine a 5 campioni, spessore 0,75 mm	160
700-0378	Pettine a 10 campioni, spessore 0,75 mm	80
700-0379	Pettine a 18 campioni MC, spessore 0,75 mm	40
700-0380	Pettine a 24 campioni, spessore 0,75 mm	30
700-0381	Pettine a 30 campioni, spessore 0,75 mm	25
700-0382	Pettine a 36 campioni MC, spessore 0,75 mm	20
700-0383	Pettine a 48 campioni, spessore 0,75 mm	15
700-0384	Pettine 1 Prep, 1 marcatore, spessore 1 mm	1500
700-0385	Pettine a 5 campioni, spessore 1 mm	200
700-0386	Pettine a 10 campioni, spessore 1 mm	100
700-0387	Pettine a 18 campioni, spessore 1 mm	50
700-0388	Pettine a 24 campioni, spessore 1 mm	40
700-0389	Pettine a 30 campioni, spessore 1 mm	35
700-0390	Pettine a 36 campioni MC, spessore 1 mm	25
700-0391	Pettine a 48 campioni, spessore 1 mm	20
700-0392	Pettine 1 Prep, 1 marcatore, spessore 1,5 mm	2200
700-0393	Pettine a 5 campioni, spessore 1,5 mm	320
700-0394	Pettine a 10 campioni, spessore 1,5 mm	160
700-0395	Pettine a 18 campioni, spessore 1,5 mm	80
700-0396	Pettine a 24 campioni, spessore 1,5 mm	60
700-0397	Pettine a 30 campioni, spessore 1,5 mm	50
700-0398	Pettine a 36 campioni MC, spessore 1,5 mm	40
700-0399	Pettine a 48 campioni, spessore 1,5 mm	30
700-0400	Pettine 1 Prep, 1 marcatore, spessore 2 mm	3000
700-0401	Pettine a 5 campioni, spessore 2 mm	400
700-0402	Pettine a 10 campioni, spessore 2 mm	200
700-0403	Pettine a 18 campioni, spessore 2 mm	100
700-0404	Pettine a 24 campioni, spessore 2 mm	80
700-0405	Pettine a 30 campioni, spessore 2 mm	70
700-0406	Pettine a 36 campioni MC, spessore 2 mm	50
700-0407	Pettine a 48 campioni, spessore 2 mm	40

Connessione a un'unità di raffreddamento

1. Il Vertical PAGE può dar luogo talvolta ad alta corrente. L'alta corrente può causare l'accumulazione di calore che può avere un effetto negativo sulla migrazione del campione e la risoluzione del gel. Per contrastare gli effetti negativi della generazione di calore, il produttore consiglia di usare un'efficace unità di raffreddamento, preimpostata a 4 °C.
2. Per una regolazione attiva della temperatura collegare due brevi tratti di tubo dalle porte di ingresso e uscita dell'unità di raffreddamento ai rispettivi connettori di uscita e di ingresso della serpentina di raffreddamento posta all'interno del serbatoio esterno shiroGEL VERTICAL 20.
3. Assicurarsi che il flusso dell'unità di raffreddamento sia impostato a un massimo di 1 litro al minuto. Non superare questo limite in quanto potrebbe risultare in un danneggiamento della piattaforma di raffreddamento.
4. Se si utilizza un'unità di raffreddamento che supera questo limite, si può usare un connettore a T. Il connettore a T può far tornare una parte del volume refrigerante al refrigeratore in ricircolo, riducendo la pressione che incide sulla serpentina.

Ora l'unità è pronta a essere usata con il raffreddamento attivo.

Assistenza tecnica

Risorse in rete

Visitare il sito www.vwr.com per:

- Informazioni di contatto per un'assistenza tecnica completa
- Accesso al Catalogo Online di VWR, e a informazioni su accessori e prodotti relativi
- Informazioni su prodotti aggiuntivi e offerte speciali

Contattateci Per informazioni o assistenza tecnica contattate il vostro rappresentante locale VWR oppure visitate www.vwr.com.

Garanzia

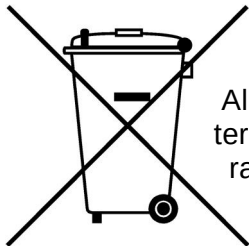
VWR International garantisce che il prodotto sarà privo di difetti nei materiali e nella produzione per un periodo di due (2) anni dalla data di consegna. Se si presentasse un difetto, VWR, a proprie spese e a propria scelta, riparerà, sostituirà, o rimborserà al cliente il prezzo di acquisto di questo prodotto, a patto che venga restituito nel periodo di garanzia. La presente garanzia non si applica nel caso in cui il prodotto sia stato danneggiato per incidente, cattivo utilizzo, uso erraneo o applicazione erranea o per normale usura. Questa garanzia deve considerarsi nulla qualora i servizi di ispezione e manutenzione necessari non siano stati eseguiti secondo quanto previsto nei manuali e secondo le leggi in vigore, eccetto nel caso in cui il difetto del prodotto sia dovuto a cause diverse da tale deficitaria esecuzione.

Gli articoli in restituzione devono essere assicurati dal cliente contro ogni possibile danno o perdita. La presente garanzia si limita ai rimedi sopra citati. SI CONVIENE ESPLICITAMENTE CHE LA PRESENTE GARANZIA SOSTITUISCE OGNI GARANZIA DI ADEGUATEZZA E COMMERCIALITÀ.

Rispetto delle leggi e delle normative locali

Il cliente è responsabile per la richiesta e il conseguimento delle approvazioni normative o di altre autorizzazioni necessarie per l'utilizzo del prodotto nel suo contesto locale. VWR non sarà ritenuta responsabile per qualsiasi omissione collegata o per il mancato conseguimento delle approvazioni o autorizzazioni necessarie, a meno che eventuali rifiuti non siano legati a un difetto del prodotto.

SMALTIMENTO DELLA STRUMENTAZIONE



In questa strumentazione è presente il simbolo del cestino sbarrato da una croce che indica che non deve essere smaltito come rifiuto indifferenziato.

Al contrario è vostra responsabilità smaltire correttamente la strumentazione al termine del suo ciclo di vita consegnandola a un impianto autorizzato alla raccolta differenziata e al riciclo. È vostra responsabilità anche la sua decontaminazione in caso di contaminazione biologica, chimica e/o radiologica, al fine di proteggere da rischi per la salute il personale coinvolto nello smaltimento e nel riciclo della strumentazione.



Per ulteriori informazioni sui siti di possibile smaltimento, si prega di contattare il rivenditore locale da cui avete acquistato la strumentazione.

In questo modo, aiuterete a preservare le risorse naturali e ambientali e vi assicurerete che la strumentazione sia riciclata in modo da salvaguardare la salute delle persone.

Grazie

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Vienna
Tel.: +43 1 97 002 0
Fax: +43 1 97 002 600
E-mail: info@at.vwr.com

Belgio

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
3001 Leuven
Tel.: 016 385 011
Fax: 016 385 385
E-mail: customerservice@be.vwr.com

Repubblica Ceca

VWR International s. r. o.
Veetee Business Park
Pražská 442
CZ - 281 67 Stříbrná Skalice
Tel.: +420 321 570 321
Fax: +420 321 570 320
E-mail: info@cz.vwr.com

Danimarca

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2730 Herlev
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
E-mail: info@dk.vwr.com

Finlandia

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Fax: 09 80 45 52 00
E-mail: info@fi.vwr.com

Francia

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201, rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tel.: 0 825 02 30 30 (0,15 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,15 € TTC/min)
E-mail: info@fr.vwr.com

Germania

VWR International GmbH
Hilpertstraße 20a
D - 64295 Darmstadt
Numero verde: 0800 702 00 07
Fax: 0180 570 22 22*
E-mail: info@de.vwr.com
*0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz

Ungheria

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tel.: (52) 521-130
Fax: (52) 470-069
E-mail: info@hu.vwr.com

Irlanda / Irlanda del Nord

VWR International Ltd /
VWR International (Northern Ireland) Ltd
Orion Business Campus
Northwest Business Park
Ballycoolin
Dublin 15
Tel.: 01 88 22 222
Fax: 01 88 22 333
E-mail: sales@ie.vwr.com

Italia

VWR International PBI S.r.l.
Via San Giusto 85
20153 Milano (MI)
Tel.: 02-3320311/02-487791
Fax: 800 152999/02-40090010
E-mail: info@it.vwr.com

Paesi Bassi

VWR International B.V.
Postbus 8198
1005 AD Amsterdam
Tel.: 020 4808 400
Fax: 020 4808 480
E-mail: info@nl.vwr.com

Norvegia

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 02290
Fax: 815 00 940
E-mail: info@no.vwr.com

Polonia

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200 do 204
Fax: 058 32 38 205
E-mail: info@pl.vwr.com

Portogallo

VWR International -
Material de Laboratório, Lda
Edifício Neopark
Av. Tomás Ribeiro, 43- 3 D
2790-221 Carnaxide
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
E-mail: info@pt.vwr.com

Spagna

VWR International Eurolab S.L.
C/ Tecnología 5-17
A-7 Llinars Park
08450 - Llinars del Vallès
Barcelona
Tel.: 902 222 897
Fax: 902 430 657
E-mail: info@es.vwr.com

Svezia

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tel.: 08 621 34 00
Fax: 08 621 34 66
E-mail: kundservice@se.vwr.com

Svizzera

VWR International GmbH
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tel.: 044 745 13 13
Fax: 044 745 13 10
E-mail: info@ch.vwr.com

Turchia

Pro Lab Laboratuvar Teknolojileri Ltd.Şti.
a VWR International Company
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - İstanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
E-mail: info@pro-lab.com.tr

Regno Unito

VWR International Ltd
Centro assistenza clienti
Hunter Boulevard - Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tel.: 0800 22 33 44
Fax: 01455 55 85 86
E-mail: uksales@uk.vwr.com

Australia

VWR International, Pty Ltd.
Unit 1/31 Archimedes Place
Murarrie, Queensland 4172
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123

Cina

VWR International China Co., Ltd
Rm.219, 2100 Dongming Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
E-mail: info_china@vwr.com

India

VWR Lab Products Private Limited
135/12, Brigade Towers, 2nd Floor
Front wing, Brigade Road,
Bengaluru, India – 560 025
Tel.: +91-80-41117125/26 (Bengaluru)
Tel.: +91-2522-647911/922 (Mumbai)
Fax: +91-80-41117120
E-mail: vwr_india@vwr.com

Nuova Zelanda

Global Science - A VWR Company
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tel.: 0800 734 100
Fax: 0800 999 002
E-mail: sales@globalscience.co.nz

Singapore

VWR Singapore Pte Ltd
18 Gul Drive
Singapore 629468
Tel.: +65 6505 0760
Fax: +65 6264 3780
E-mail: sales@sg.vwr.com

**ANDATE SU [VWR.COM](http://www.vwr.com) PER LE
ULTIME NOTIZIE, LE OFFERTE
SPECIALI E I CONTATTI DEL VOSTRO
DISTRIBUTORE LOCALE VWR**
