

VWR shiroGEL

Mini Vertical Electrophoresis Gel Boxes

INSTRUCTION MANUAL

European Catalogue Number(s):

PAGE - 700-0292

PAGE and Blotter - 700-0293

Blotter - 700-0290

Versione: 2

Issued: 01/11/2016



Legal Address of Manufacturer

United States

VWR International
Bldg. One, Suite 200
100 Matsonford Road
Radnor PA 19087
800-932-5000
<http://www.vwr.com>

Europe

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011
<http://be.vwr.com>

Country of origin

UK

Table of Contents

	Page
Safety Precautions	1
Packing Lists	2
Setting Up	4
Intended Use	4
Gel Casting	6
Gel Preparation	9
Gel Selection	10
Gel Pouring	11
Sample Preparation and Loading	12
Gel Running	13
Blotting Insert Setup	15
Blot Running	15
Troubleshooting	17
Care and Maintenance	18
Warranty	18
Appendix	20
Accessories List	23

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.

Water at temperatures above 60°C will cause damage to the acrylic tanks, trays and other parts.

The tanks should be thoroughly rinsed with warm or distilled water but vigorous cleaning is not necessary or advised. Air drying is recommended before use.

Cleaning Products and Accessories

Products are best cleaned using warm water and a mild detergent.

The units should only be cleaned with the following:

Warm water with a low concentration of soap or other compatible mild detergent.

Compatible detergents include dishwashing liquid, Hexane and Aliphatic hydrocarbons.

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

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.

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

Caution: DEPC is a suspected carcinogen. **Always wear gloves and safety glasses.**

RNaseZAP™ (Ambion) can also be used. Please consult the instructions for use with acrylic gel tanks.

Package Contents

VWR ShiroGEL PAGE

Units include tank, lid and electrodes and include the following accessories:-

	Glass Plates	Combs	Casting base	Cooling Pack	Cables
Mini PAGE	Glass Plates, Notched, Pk/2 Glass Plates, Plain with bonded 1mm spacers, Pk/2 Dummy Plate	2, 1mm thick, 12 sample combs	Base with Silicone Mat	Included	Red Black

VWR ShiroGEL PAGE and Blotter

Units include tank, lid and electrodes and include the following accessories:-

	Glass Plates	Combs	Casting base	Cooling Pack	Cables
Mini PAGE with Blotting Insert	Glass Plates, Notched, Pk/2 Glass Plates, Plain with bonded 1mm spacers, Pk/2 Dummy Plate	2, 1mm thick, 12 sample combs	Base with Silicone Mat	Included	Red Black
Blotting Insert	4 Cassettes, Pack of 8 Fiber pads				

Unpacking

These product descriptions and included component information 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.

Installation

Usage Guidance and restrictions:

- Maximum altitude 2,000m.
- Temperature range between 4°C and 60°C.
- Maximum relative humidity 80% for temperatures up to 31°C decreasing linearly to 50% relative humidity at 40°C.
- Not for outdoor use.

This apparatus is rated POLLUTION DEGREE 2 in accordance with IEC 664. POLLUTION DEGREE 2, states that: "Normally only non-conductive pollution occurs. Occasionally, however, a temporary conductivity caused by condensation must be expected."

Setting up the shiroGEL mini vertical system :-

Instructions for attaching Electrode Leads

1. Note the position of the lid on the unit. This shows the correct polarity and the correct orientation of the cables, black is negative and red positive.
2. Remove the lid from the unit. Note if the lid is not removed, fitting the cables may result in un-tightening of the gold plug and damage to the electrode.
3. Screw the cables into the tapped holes as fully as possible so that there is no gap between the lid and the leading edge of the cable fitting.
4. Refit the lid.

The unit is now ready for use.

Intended use

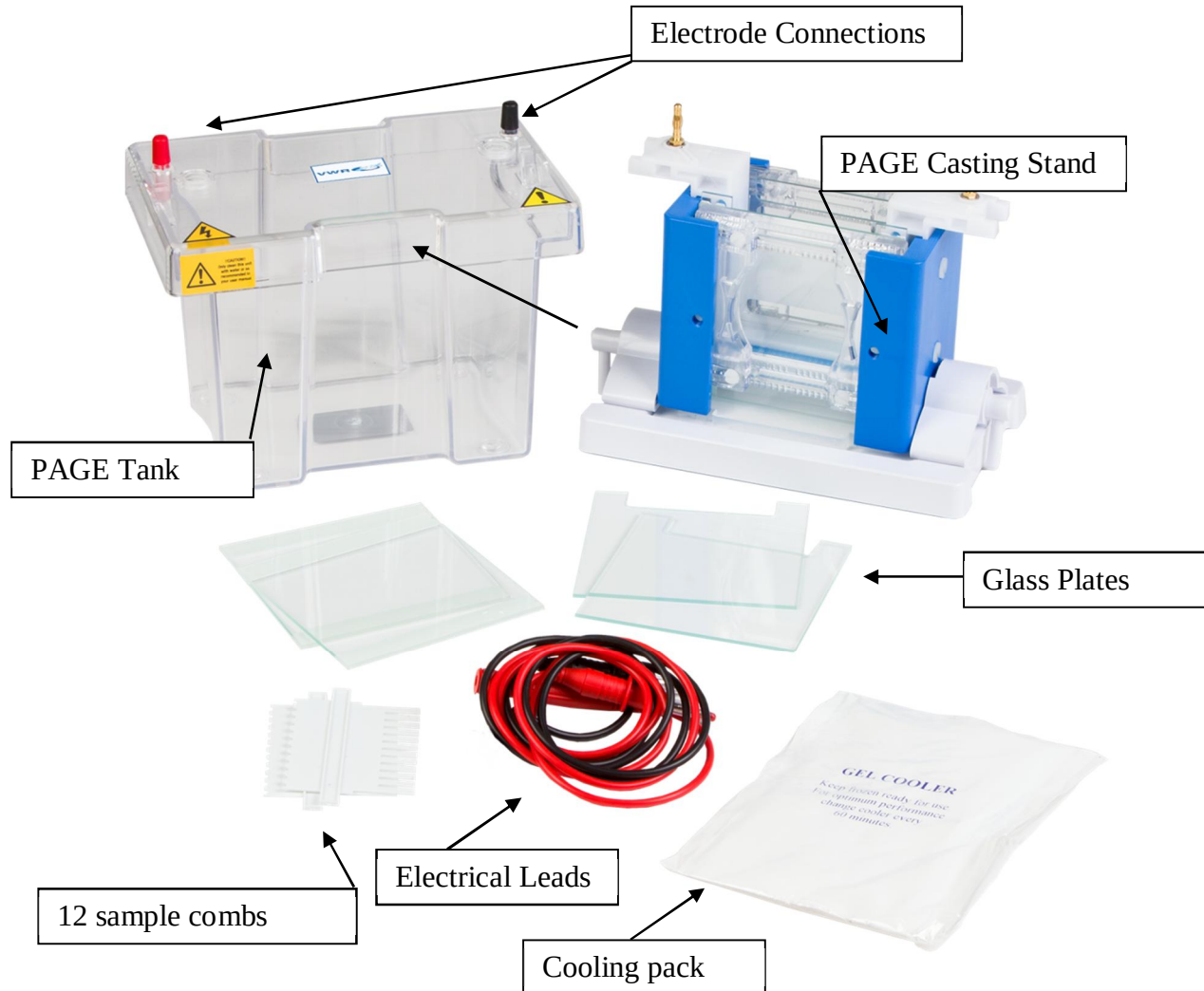
For research use only. Not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

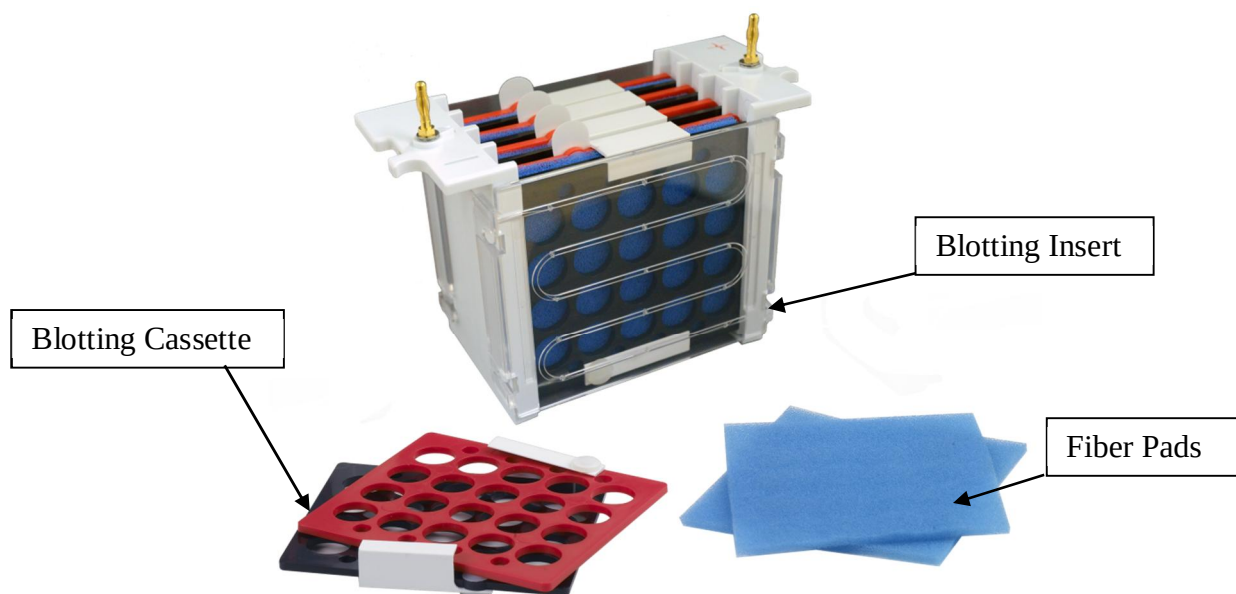
Symbols and conventions

The following chart is an illustrated glossary of the symbols that are used in this manual.

	CAUTION This symbol indicates a potential risk and alerts you to proceed with caution
	CAUTION This symbol indicates the presence of high voltage and warns the user to proceed with caution

Description of Components

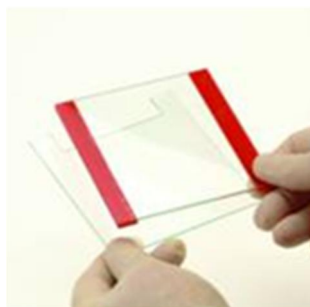




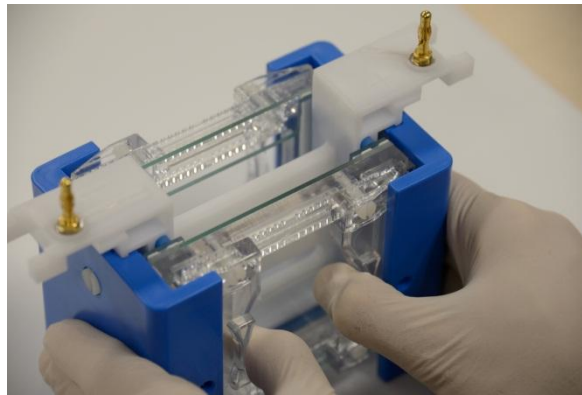
Getting Started

Gel Casting Using the shiroGEL Casting System:-

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 triple glass plate sandwich, two notched glass plates are required, one set of free spacers and a set of plain glass plates with bonded spacers. The plain glass plate is positioned outermost, then a notched glass plate, free spacers and second notched glass plate. Alternatively, accessory notch glass plates with bonded spacers are available. **All glass plates, modules and casting base accessories must be completely dry during setup. Wet components are more likely to misalign and cause leaks.**

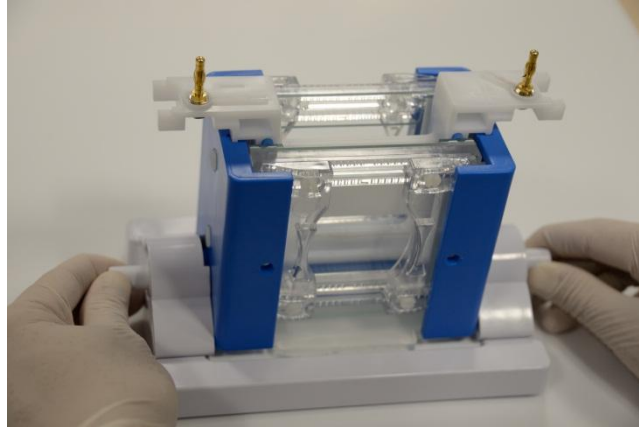


2. Assemble the glass plates so that the bottom of the glass plates and the spacers are perfectly aligned. For triple plate sandwiches, the free spacers need to be perfectly aligned which is best performed using a small spacer or comb to push the spacers apart. Notched glass plates with bonded spacers do not need manual alignment. **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.**
3. The PAGE gel insert contains pressure bars which impart even pressure onto the edge of the glass plate. Ensure that the pressure bars are adequately open for the thickness of spacer used. The bar can be opened by sliding open clamps. When using a triple glass plate sandwich, the pressure bars will need to be in the completely open position.



4. Position the PAGE Gel Insert on a flat surface. **Do not insert the PAGE gel Insert into the casting base at this point.**
5. Place the glass plate/spacer assembly into the Vertical Gel Insert between the pressure bar and the blue gasket. Check that the bottoms of the glass plates are touching the bench and fully tighten the sliding clamps. When only one gel is being run, the dummy plate must be used in the second position and fully tightened. **Note, check that the bottom edges of the spacers and glass plates are aligned and that they are all touching the counter.**

6. Open the cam handle and position the pin so they face the counter. downwards. Position the PAGE gel insert on the gasket of the casting base so the insert holes are facing the cams. The top of the gel insert will need to be pushed down very slightly to locate the cam pins.

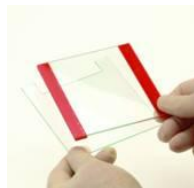


7. With the cam pin handles facing directly downwards, turn the cam pins fully in the opposite direction 180° or until the insert has tightened onto the silicone mat.. **Do not overturn as this will cause the glass plates to push upwards and the assembly will be more likely to leak.**

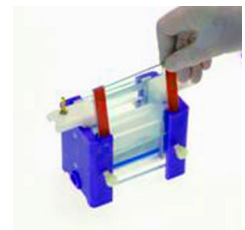
NOTE: Always reverse the silicone mat after casting to avoid indentations from persisting. Never leave the casting up-stand with glass plates tightened into the casting base for long periods of time as this can cause permanent indentations in the silicone mat. The unit is now ready for gel preparation.

Vertical Gel Casting:

- 1) Put together bonded spacer plain glass plate with notched plate

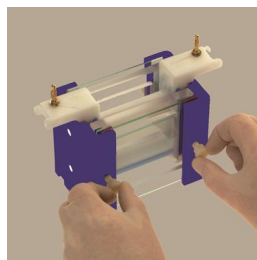


- 2) Insert **inside** pressure bar with notched plate innermost touching the gasket and module on a flat surface **away from the casting base**



A) Screw Version

- 3A) Fully tighten screws ensuring not to wobble unit.

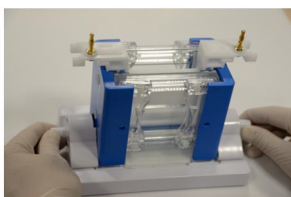


B) Sliding clamp version

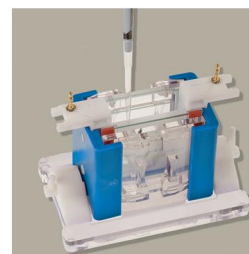
- 3B) Fully slide clamps tight ensuring not to wobble unit.



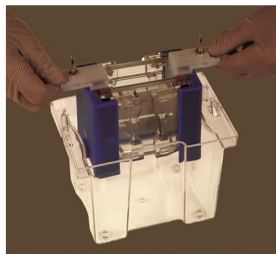
4) Insert into casting base. Push the cams into the holes in the insert. Turn cams about 90° or until tight. Do not over tighten.



5) Pour resolving gel and allow to set. Then stacking gel solution and insert comb.



6) Once set, transfer to tank and fill inner and outer chambers with buffer.



Gel Preparation:-

1. Stock solutions for SDS PAGE gels should be prepared prior to use and chilled. For native gel formulas and running conditions, please consult the appendix. The protocol below is given for use of the standard stock solutions.
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. If gels of other thickness are to be run adjustments will need to be made.

Table 1.

ShiroGEL PAGE	
	Total Gel volume for a 1mm thick gel.
<i>For different thicknesses of gel, multiple the below amounts by the spacer thickness.</i>	
Single – one gel, one dummy plate	7.5ml
Double – two gels	15ml
Using a Triple Plate sandwich – four gels	30ml

Gel Selection:-

Care should be taken when selecting the pore size of the gel to be used. These formulas are for Tris- glycine-SDS gels

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 %	60.0 - 220 KD
7.5 %	45.0 - 120 KD
10 %	25.0 - 75 KD
12%	14.4 - 65 KD
15 %	6.5 - 45 KD
17.5%	5.5 - 30 KD

- Using the stock solution provided in the index prepare gel solutions as per tables below by first mixing the ddi Water, 30% Acrylamide solution and the 4x TRIS-SDS solutions. After mixing degas for 5 minutes, to remove free oxygen which will inhibit polymerization by removing free radicals.
- To the above solution add the ammonium persulfate and TEMED and mix gently to avoid air bubbles.

Table 3: Preparation of the separating gel solution for two 10 x 10cm gels using 1 mm spacers.

Solution	5 %	7.5%	10 %	12%	15 %	17.5%
Distilled Water	8.7ml	7.5ml	6.3ml	5.25ml	3.75ml	2.5ml
30 % Stock Acrylamide Solution	2.5ml	3.75ml	5ml	6ml	7.5ml	8.75ml
4 X Tris-SDS Solution pH 8.8	3.75ml	3.75ml	3.75ml	3.75ml	3.75ml	3.75ml
10 % Ammonium Persulphate	150µl	150µl	150µl	150µl	150µl	150µl

Gel Pouring:-

For discontinuous gels:-

1. Insert the comb into the glass plates and mark a point on the glass plates 1cm below where the comb teeth finish. This is the level for the resolving gel to.
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. Overlay the gel extremely carefully with 1 ml of 1% Isobutanol, Isopropanol or distilled water. When using distilled water extra care must be taken to ensure there is no mixing with the gel solution.
4. Let the resolving gel polymerize. Usually this takes around 15 to 30 minutes but this can vary due to gel concentration. If polymerization is taken a lot longer than this, use fresh stock solutions of APS.
5. Prepare the stacking gel using Table 5 below as a guide. Stock solutions are in the appendix.

Table 5.

Solution	ShiroGEL PAGE
Distilled Water	4.2ml
30 % Stock Acrylamide Solution	0.65ml
4 X Stacking Gel Tris-SDS Solution pH 6.6	1.6ml
10 % Ammonium Persulfate	67µl

6. Carefully mix the ddi water, acrylamide and Tris-SDS solution, degasses for 5 minutes.
7. Add the ammonium persulfate and the TEMED and mix..
8. Pour off the overlay liquid and rinse the gel with distilled water.
9. 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 continuous gels:-

1. Follow the instructions for mixing the acrylamide solution, see section for discontinuous gels
2. Fill the glass plates to 1 cm below top of notched plate, 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, this usually takes around 15 to 30 minutes but this can vary due to the concentration of the gel or freshness of the reagents used. If polymerization takes longer than this, use fresh stock solutions of APS.

Preparation of denatured protein samples for loading:

The instructions given below are for denatured samples. For Native samples, please see index.

1. Prepare the protein samples for loading. The volume of sample depends on the capacity of the wells. See well chart on page 23
2. Using a 0.5 ml micro-centrifuge tube or other convenient receptacle, combine equal volumes of the loading dye and the protein sample and 2X sample buffer. It is always advisable to use protein ladders in one of the end lanes to indicate sizes of bands. These should be prepared according to the manufacturers instructions.
3. Heat the samples in a water bath or heating block for 2 minutes to denature the samples. NOTE heating should be done under a fume hood 2-mercaptoethanol.
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. If desired, fit the cooling pack(s) into the end of the tank. These should be fitted with the longest side positioned sideways with the end(s) of the tank and pressed into the recess. Note one pack is supplied as standard. Additional packs can be purchased.
2. Remove the combs with a gentle rocking motion; rinse the well out with ddi H₂O to eliminate any residue.

- Transfer the Inner gel module containing cast gels into the main tank in the correct orientation as indicated - +ve on the module aligned with +ve on the tank, -ve on the module aligned with -ve on the tank.
- Fill the outer tank with 1 x reservoir buffer. See page 19 for recommended running buffer solution. Table 6. Shows the volume of buffer required.

Table 6.

Buffer Volume	ShiroGEL PAGE
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.	250ml
Maximum – Inner tank is filled to above the wells. Outer Tank is filled to the maximum fill line. Cooling is high offering good resolution of samples.	1200ml
Using the cooling packs – Inner tank is filled to above the wells. Cooling packs are inserted behind the gels. Outer Tank is filled to the maximum fill line. Cooling is at a maximum.	1000ml

- Load the samples into the wells using a pipette tip taking care not to damage the wells or induce any air bubbles.
- Fill any unused wells with 1X sample buffer.
- Note the orientation and order the samples were loaded in. This can be done by noting which samples were loaded adjacent to each electrode.

Gel Running:

- Fit the lid and connect to a power supply.
- Consult Table 7 for details on recommended power supply voltage settings.
- Run times vary with concentration and protein size, when the dye front reaches the bottom 1 cm, turn the power supply off or sooner if your proteins are below 4Kd in size.
- Always unplug the power cord from the unit prior to removing the lid.
- Remove the gel running module, first emptying the inner buffer into the main tank..

6. 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 running buffer and then gently lifting with a spatula.
7. The gel is now ready for further analysis.

Table 7.

Recommended Voltage and Current settings for 1mm thick, 12% gels.	ShiroGEL PAGE
One gel	90-225V, 20-45mA
Two gels	90-225V, 40-90mA
Three gels	90-225V, 60-135mA
Four gels	90-225V, 80-180mA

The recommended power condition for optimal resolution with minimal thermal band distortion is 150 volts, constant voltage setting. No adjustment of the setting is necessary for thickness or number of gels. The usual run time is approximately 40-45 minutes. Current should be approximately 50mA per gel (120mA for two gels) at the beginning of the run. During the 45 minute run, the current will slowly drop to about 20mA per gel. This drop is caused by the change in buffer ions in the gel, causing a slow rise in the resistance in the gel. As one would expect from the Ohms law ($V=I \cdot R$), at constant voltage (V) a rise in the resistance (R) results in a drop in the current (I).

Protein Blotting using the VWR ShiroGEL Blotting Insert

Setting up the cassette sandwich: The most commonly used buffer solutions are listed in the Appendix.

1. Each blot sandwich should be set up as follows:-

- a. Cassette clamp -ve (black) side placed in a tray or other suitable surface.
- b. Pre-soaked fiber pad.
- c. Two pieces of .45um filter paper, pre-soaked in buffer.
- d. Gel. Cut the left hand corner for indexing,
- e. Transfer membrane. Most manufactures require pre-soaking but consult their instructions for the type of membrane you are using. This should be smoothed so that no air bubbles have been trapped.
- f. Two pieces of filter paper, pre-soaked in buffer.
- g. Pre-soaked fibre pad.
- h. Cassette clamp +ve (red) side slotted into the groove in the bottom of the black cassette.

Note: do not handle the membrane without gloves.

2. Assemble the fiber pads, filter papers, gel transfer membrane in the above order and roll with a pipette to remove any trapped air. Place on the black and red cassette with the membrane facing the anode (red) side, close the hinge carefully so as to not disturb the sandwich.

3. Fill the tank with buffer solution up to the **maximum fill line** indicated on the side of each unit. See the Appendix page 20 for recommended buffer solutions. Improved transfer can be obtained by using chilled buffer.

Table 8. shows the volume of buffer required.

Buffer Volume	ShiroGEL Blotter
One Cassette	1380ml
Two Cassettes	1290ml
Three Cassettes	1380ml
<i>Each cooling pack takes the place of 100mL of buffer.</i>	

Blot Running Conditions:

1. Insert the cassettes into the slots in the module with the black side of each adjacent to the negative electrode. It is a good idea to note the orientation and order the blot sandwiches were loaded in. This can be done by noting which samples were loaded adjacent to each electrode.

2. Use of a magnetic stirring bar and plate is recommended to mix the buffer to give consistency of transfer. A 4mm diameter stirring bar should be placed underneath the module, in the centre of the tank. The Cooling pack provided, pre-frozen, can be inserted at the side or front of the tank for extended blots. Additional cooling packs can be purchased as accessories to further aid cooling.
3. Insert the module, attach the lid and connect to a power supply.
4. Consult Table 9 for details on recommended power supply voltage settings and blot times. Please note voltages and current will vary according to the amount of cassettes, type and temperature of buffer and thickness and percentage of gel. This will also affect quality of transfer so adjust the time of the blot to your particular samples and conditions.
5. When the blot time is completed, turn the power supply off and remove the lid of the unit.
6. Remove the cassettes from the main tank.
7. Lift the hinge of each cassette and gently pry apart the blot sandwich and remove the membrane from the gel.
8. The membrane can now be further processed. Remember to save the filter paper behind the gel to check for blow through of smaller proteins.

Table 9. Recommended voltage and current settings.

Duration of Blot	ShiroGEL Blotter
One Hours	100V, 400mA
Three Hours	50V, 200mA

Troubleshooting

Review the information in the table below to troubleshoot operating problems.

Problem	Cause	Solution
Poor resolution	Sample volume too large	Concentrate samples.
Run taking unusually long time	Buffers too concentrated.	Check buffer protocol; dilute buffer if necessary.
	Current too low.	Increase voltage by 25-50%.
Run too fast, poor resolution	Buffers too dilute.	Check buffer protocol; concentrate buffer if necessary.
	Current too high.	Decrease voltage by 25-50%.
Skewed or distorted bands	Poor polymerization around sample wells.	Increase ammonium persulfate and TEMED concentrations by 25%.
	Excessive pressure applied to the gel plates when the gel is placed into the clamp assembly.	Do not overtighten the screws on the clamp assembly.
	Uneven heating of the gel.	Either use a cooled apparatus or reduce the current at which electrophoresis is performed.
Lateral band spreading	Diffusion of sample out of the wells before the power was turned on.	Minimize the time between sample application and power start-up.
	Diffusion during migration through the stacking gel.	Increase voltage by 25% during stacking gel or increase %T of stacking gel by 1%.
Protein band curves upward at both sides of the gel. "Smile effect"	Center of the gel running hotter than either ends.	Decrease power setting. Check buffer protocol to ensure it is properly formulated.
Gel does not polymerize	Temperature too low.	Cast at room temperature.
	Too little ammonium persulfate or TEMED.	Increase both by 50%.
	Ammonium persulfate or TEMED are old.	Use fresh ammonium persulfate and new TEMED.

Repair and maintenance of ShiroGEL units

Cleaning ShiroGEL Units

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 tank should be thoroughly rinsed with warm water and distilled water to prevent build up of salts but care should be taken not to damage the enclosed electrode. Vigorous cleaning is not necessary or advised. Air drying is recommended before use.

The units should only be cleaned with the following:-

Warm water with a low concentration of soap or other mild detergent. Compatible detergents include dishwashing liquid. The units should not be left in detergents for more than 30 minutes.

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 handling 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 of 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

APPENDIX

Solutions

Appendix

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 pH 6.8, 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

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
Add Distilled Water to a final volume of 200ml

10 % AP (ammonium persulphate solution)

0.1 g ammonium persulphate
1ml Distilled Water

Note ammonium persulfate degrades quickly in solution for best results discard after 1 week.

Stock 2 X Sample Buffer

2ml 50% glycerol
.5 ml 2-mercaptoethanol
4 ml 10% SDS
2.5ml .5 M Tris -HCL
1 ml 1% Bromophenol blue
Ddi H₂O to 10 ml
Aliquot into 1.5ml microcentrifuge tubes. Store at -20°C.

Membrane Selection**Nitrocellulose**

Good binding capacity proteins bind by hydrophobic interactions
Pore Size: .45µm .22µm
Western Transfer
Amino acid analysis

Nylon

Microporous membrane modified with strongly basic charged groups
Binds negatively charged macromolecules DNA or RNA with Low background
Pore Size .45µm
Can Re-probe
Southern Transfer
Northern Transfer
Solid phase immobilization
Enzyme immobilization
Gene probe assays

PVDF

High binding capacity
High hydrophobic binding solvent resistant
Compatible with Protein stains and immunodetection Techniques
Pore Size 45µm .22µm
Can Re-probe
Western Transfer
Protein Sequencing
Amino Acid Analysis
Solid Phase Assay Systems

Buffer Preparation Proteins

Towbin Buffers

Native Gels

Towbin Buffer pH 8.3

25 mM TRIS, 192 mM glycine, 20% Methanol,

3.0 gm TRIS

14.4 gm glycine

200 ml Methanol

add dd H₂O to 1 liter

Denatured Gels

Towbin Buffer pH 8.3, No Methanol

25 mM TRIS, 192 mM glycine Methanol,

3.0 gm TRIS

14.4 gm glycine

add dd H₂O to 1 liter

shiroGEL Accessories

700-0290	Module blot shiroGEL includes 3 cassettes
700-0294	Base casting for PAGE system shiroGEL
700-0295	Module PAGE only (no accessories) shiroGEL
700-0296	Spacer gel 0,75mm for PAGE system shiroGEL
700-0297	Spacer gel 1,5mm for PAGE system shiroGEL
700-0298	Comb 10 sample wells 0,75mm for PAGE system shiroGEL
700-0299	Comb 10 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0300	Comb 10 sample wells 1,5mm for PAGE system shiroGEL
700-0301	Comb 12 sample wells 0,75mm for PAGE system shiroGEL
700-0302	Comb 12 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0303	Comb 12 sample wells 1,5mm for PAGE system shiroGEL
700-0304	Comb 12 sample wells 2,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0305	Comb MC 16 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0306	Spacer gel 1mm for PAGE system shiroGEL
700-0307	Comb 20 sample wells 0,75mm for PAGE system shiroGEL
700-0308	Comb 20 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0309	Comb 20 sample wells 1,5mm for PAGE system shiroGEL
700-0310	Spacer gel 2mm for PAGE system shiroGEL
700-0311	Comb 5 sample wells 0,75mm for PAGE system shiroGEL
700-0312	Comb 5 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0313	Comb 5 sample wells 1,5mm for PAGE system shiroGEL
700-0314	Comb MC 8 sample wells 1,0mm for PAGE system shiroGEL
700-0315	Pad fiber blotting shiroGEL
700-0316	Cassette blotting shiroGEL
700-0317	Cooling pack mini for PAGE system shiroGEL
700-0318	Plate dummy 10x10cm for PAGE system shiroGEL
700-0319	Plate glass notched with 0,75 spacers shiroGEL
700-0320	Plate glass notched with 1,5 spacers shiroGEL
700-0321	Plate glass notched with 1,0 spacers shiroGEL
700-0322	Plate glass notched 10x10cm shiroGEL
700-0323	Plate glass notched with 2,0 spacers shiroGEL
700-0324	Plate glass with 0,75 spacers shiroGEL
700-0325	Plate glass with 1,5 spacers shiroGEL
700-0326	Plate glass with 1,0 spacers shiroGEL
700-0327	Plate glass 10x10cm shiroGEL
700-0328	Plate glass with 2,0 spacers shiroGEL

Your Distributor

Australia

VWR International Pty. LTD
Level 1, Unit 1a/60 Enterprise Place
Tingalpa
QLD 4173 Australia
Tel.: 1300 727 696
Email: sales.au@vwr.com

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Vienna
Tel.: +43 1 97 002 0
Email: info.at@vwr.com

Belgium

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

China

VWR International China Co., Ltd
Shanghai Branch
Room 256, No. 3058 Pusan Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Email: info_china@vwr.com

Czech Republic

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

Denmark

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

Finland

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Email: 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 (0,18 EUR TTC/min)
Email: info@fr.vwr.com

Germany

VWR International GmbH
Hilpertstraße 20a
D - 64295 Darmstadt
Freecall: 0800 702 00 07
Email: info.de@vwr.com

Hungary

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

India

VWR Lab Products Private Limited
No.139. BDA Industrial Suburb,
6th Main, Tumkur Road, Peenya Post,
Bangalore, India – 560058
Tel.: +91-80-28078400
Email: vwr_india@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
Email sales.ie@vwr.com

Italy

VWR International S.r.l.
Via San Giusto 85
20153 Milano (MI)
Tel.: 02-3320311
Email: info.it@vwr.com

The Netherlands

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

New Zealand

VWR International LP
241 Bush Road
Albany 0632, Auckland
Tel.: 0800 734 100
Email: sales@globalscience.co.nz

Norway

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 02290
Email: info.no@vwr.com

Poland

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200
Email: 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
Email: info.pt@vwr.com

Singapore

VWR Singapore Pte Ltd
18 Gul Drive
Singapore 629468
Tel: +65 6505 0760
Email: sales.sg@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
Email: info.es@vwr.com

Sweden

VWR International AB
Fagerstagatan 18a
163 94 Stockholm
Tel.: 08 621 34 00
Email: info.se@vwr.com

Switzerland

VWR International AG
Lerzenstrasse 16/18
8953 Dietikon
Tel.: 044 745 13 13
Email: info.ch@vwr.com

Turkey

VWR International Laboratuvar
Teknolojileri Ltd.Şti.
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Istanbul
Tel.: +90 216 598 2900
Email: info.tr@vwr.com

UK

VWR International Ltd
Customer Service Centre
Hunter Boulevard
Magna Park
Lutterworth
Leicestershire
LE17 4XN
Tel.: 0800 22 33 44
Email: uksales@vwr.com

VWR shiroGEL

Mini Vertical Gel-Elektrophorese-Boxen

BEDIENUNGSANLEITUNG

Europ^aische Katalognummer(n):

PAGE - 700-0292

PAGE and Blotter - 700-0293

Blotter - 700-0290

Versione: 2

Ausgabe: 01/11/2016



Offizielle Anschrift des Herstellers

USA

VWR International
Bldg. One, Suite 200
100 Matsonford Road
Radnor, PA 19087
800-932-5000
<http://www.vwr.com>

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011
<http://be.vwr.com>

Herkunftsland

UK

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Sicherheitsmaßnahmen	1
Packlisten	2
Einstellungen	4
Beabsichtigte Nutzung	4
Gel-Gießtechnik	6
Gel-Vorbereitung	9
Gel-Auswahl	10
Gel-Gießen	11
Probenvorbereitung und Ladung	12
Gel-Lauf	13
Blotting-Einsatz-Setup	15
Blot-Lauf	15
Fehlersuche	17
Pflege und Wartung	18
Garantie	18
Anhang	20
Zubehörliste	23

Warnung

Wenn richtig eingesetzt, stellen diese Geräte kein Gesundheitsrisiko dar. Allerdings können diese Einheiten gefährliche Mengen an Strom liefern und sind nur durch qualifiziertes Personal in Übereinstimmung mit den in dieser Bedienungsanleitung enthaltenen Vorgaben zu bedienen.

Jeder, der diese Ausrüstung verwenden möchte, sollte die komplette Bedienungsanleitung gründlich lesen.

Sicherheitshinweise



Um einen elektrischen Schlag zu vermeiden:

Das Gerät darf niemals ohne richtig montierten Sicherheitsdeckel verwendet werden.



Um einen elektrischen Schlag zu vermeiden:

Das Gerät sollte nicht verwendet werden, wenn irgendein Anzeichen von Beschädigung des äußeren Tanks oder des Deckels festgestellt wurde.

Diese Geräte stimmen mit den gesetzlichen CE-Sicherheitsrichtlinien überein:

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



Vermeiden von Schäden am Gerät

Die Geräte sollten nie in Kontakt mit den folgenden Reinigungsmitteln Hilfe kommen, weil diese zu irreversiblen und kumulativen Schäden führen: -

Aceton, Phenol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Methanol, Ethanol, Isopropylalkohol, Alkalien.

Wasser bei Temperaturen über 60 °C führt zu Schäden an den Acrylbehältern, Schalen und anderen Teilen.

Die Tanks sollten gründlich mit warmem oder destilliertem Wasser gespült werden. Kräftige Reinigung ist jedoch nicht notwendig oder empfohlen. Vor der Verwendung wird eine Lufttrocknung empfohlen.

Reinigungsprodukte und Zubehör

Es wird empfohlen, die Produkte mit warmem Wasser und einem milden Reinigungsmittel zu reinigen.

Die Geräte sollten nur mit Hilfe der folgenden Mittel gereinigt werden:

Warmes Wasser mit einer niedrigen Konzentration von Seife oder anderes mildes und kompatibles Reinigungsmittel.

Kompatible Reinigungsmittel sind Spülmittel, Hexan und aliphatische Kohlenwasserstoffe.

Die Geräte sollten nicht in Reinigungsmitteln für mehr als 30 Minuten belassen werden.

RNase-Dekontamination

Dies kann mit der Hilfe des folgenden Protokolls durchgeführt werden: -

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

10 Minuten mit 3-prozentigem Wasserstoffperoxid (H₂O₂) waschen.

Spülen mit destilliertem Wasser, das mit 0,1% DEPC-(Diethylpyrocarbonat) behandelt wurde.

Vorsicht: Bei DEPC besteht ein Verdacht auf krebserregende Wirkung. **Tragen Sie immer Schutzhandschuhe und Schutzbrille.**

RNaseZAP™ (Ambion) kann ebenfalls verwendet werden. Bitte beachten Sie die Anweisungen für die Verwendung mit Acryl-Gel-Tanks.

Verpackungsinhalt

VWR ShiroGEL PAGE

Die Geräte umfassen Tank, Deckel und Elektroden sowie folgendes Zubehör: -

	Glasplatten	Kämme	Gießbasis	Kühlpaket	Kabel
Mini PAGE	Glasplatten, gekerbt, Pk-2 Glasplatten, flach mit verstärktem Spacer 1 mm, Pk-2 Blindplatte	2, 1mm dick, 12 Probenkämme	Basis mit Silikonmatte	Beigefügt	Rot Schwarz

VWR ShiroGEL PAGE und Blotter

Die Geräte umfassen Tank, Deckel und Elektroden sowie folgendes Zubehör: -

	Glasplatten	Kämme	Gießbasis	Kühlpaket	Kabel
Mini PAGE mit Blotting-Einsatz	Glasplatten, gekerbt, Pk-2 Glasplatten, flach mit verstärktem Spacer 1 mm, Pk-2 Blindplatte	2, 1mm dick, 12 Probenkämme	Basis mit Silikonmatte	Beigefügt	Rot Schwarz
Blotting-Einsatz	4 Kassetten, Paket von 8 Faser-Pads				

Auspacken

Mit diesen Produktbeschreibungen und den beigefügten Informationen über Komponenten sollten Sie sich gleich nach der Anlieferung der Geräte bekannt machen, um sicherzustellen, dass alle Komponenten enthalten sind. Das Gerät soll nach Empfang auf Beschädigungen überprüft werden. Bei Problemen oder fehlenden Einzelteilen kontaktieren Sie bitte Ihren Lieferanten.

Installation

Gebrauchsanweisung und Einschränkungen:

- Maximale Höhe 2.000 m.
- Temperaturbereich zwischen 4 °C und 60 °C.
- Maximale relative Luftfeuchtigkeit 80% für Temperaturen bis 31 °C, linear abnehmend auf 50% rel. Luftfeuchte bei 40 °C.
- Nicht für den Außenbereich.

Dieses Gerät ist mit VERSCHMUTZUNGSGRAD 2 nach IEC 664 bewertet. Der VERSCHMUTZUNGSGRAD 2 bedeutet Folgendes: "Normalerweise tritt nicht leitfähige Verschmutzung auf. Gelegentlich muss jedoch mit vorübergehender Leitfähigkeit durch Kondensation gerechnet werden."

Rüsten von shiroGEL mini vertical system :-

Anleitung zum Anbringen von Elektrodenleitungen

1. Auf die Position des Deckels auf dem Gerät achten. Dies zeigt die richtige Polarität und die richtige Ausrichtung der Kabel, schwarz ist negativ, rot ist positiv.
2. Deckel von dem Gerät entfernen. Beachten Sie, wenn der Deckel nicht entfernt wird, kann die Montage der Kabel April das Lösen der Gold-Stecker und Schäden an der Elektrode zur Folge haben.
3. Schrauben Sie die Kabel in den Gewindebohrungen vollständig wie möglich, so dass es keine Lücke zwischen dem Deckel und der Vorderkante der Kabelverschraubung gibt.
4. Deckel wieder anbringen.

Das Gerät ist jetzt betriebsbereit.

Beabsichtigte Nutzung

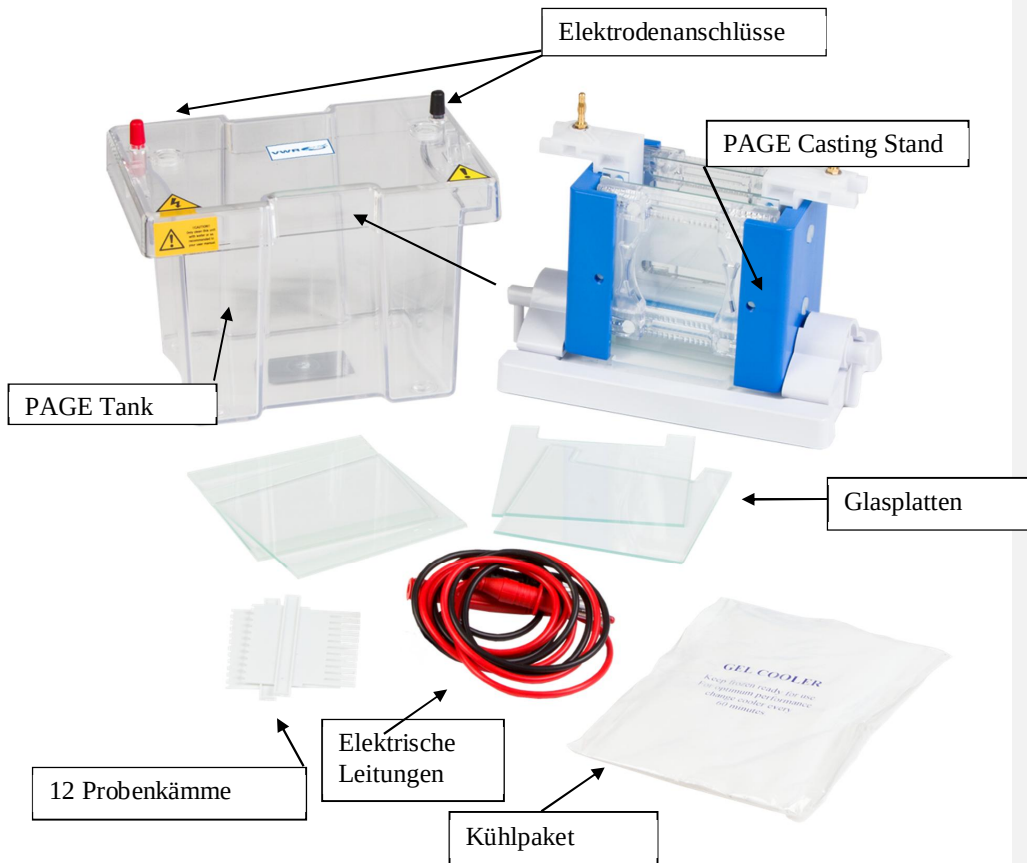
Nur für Forschungszwecke. Nicht für irgendeinen tierischen oder menschlichen therapeutischen oder diagnostischen Gebrauch bestimmt.

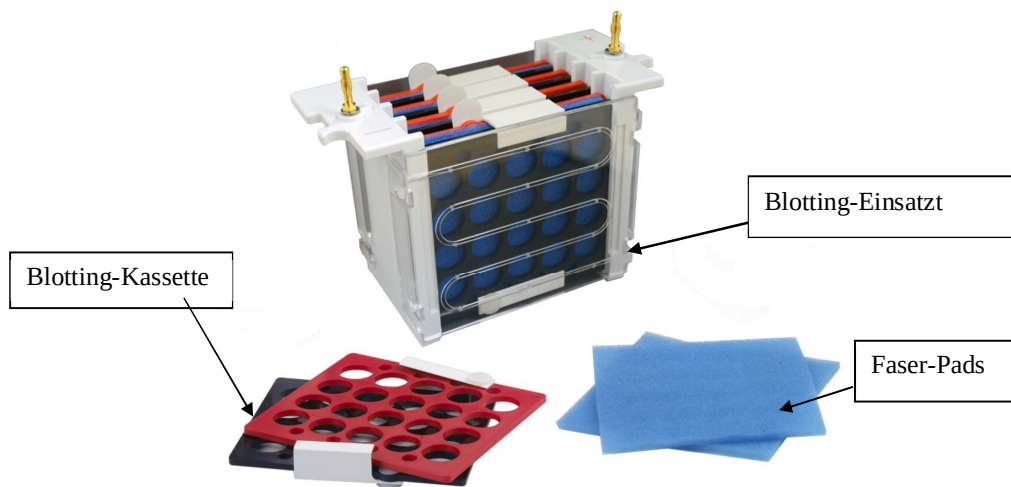
Symbole und Zeichen

Die folgende Grafik stellt ein illustriertes Glossar der Symbole dar, die in diesem Handbuch verwendet werden.

	VORSICHT Dieses Symbol weist auf eine potenzielle Gefahr und vorsichtiges Umgehen hin.
	VORSICHT Dieses Symbol weist auf Hochspannung hin und warnt den Benutzer, mit Vorsicht umzugehen.

Beschreibung der Komponenten

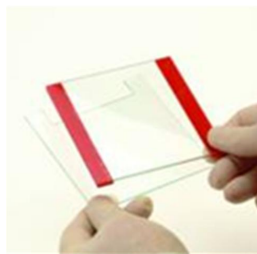




Erste Schritte

Gel-Gießen unter Einsatz des Systems shiroGEL Casting:-

1. Ein Satz von Glasplatten für jedes Gel zunächst mit destilliertem Wasser und dann mit 70%-Ethanol reinigen. Ein Satz von Glasplatten stellt sie gekerbte Glasplatte und ein anderer Satz die flache Glasplatte verbundenem Spacer dar. Bei Verwendung eines dreifachen Glasplatten-Sandwich sind zwei gekerbte Glasplatten erforderlich, ein Set von freien Abstandshaltern (Spacer) und ein Set von flachen Glasplatten mit verbundenem Abstandshaltern (Spacer). Die flache Glasplatte wird in äußerster Randlage platziert, dann eine gekerbte Glasplatte, freie Abstandshalter und die zweite gekerbte Glasplatte. Alternativ sind zusätzliche gekerbte Glasplatten mit Abstandshaltern erhältlich. **Alle Glasplatten, Module und Gießbasis-Accessoires müssen während der Installation komplett trocken sein. Bei feuchten Komponenten kann zur falschen Ausrichtung und Undichtigkeiten kommen.**

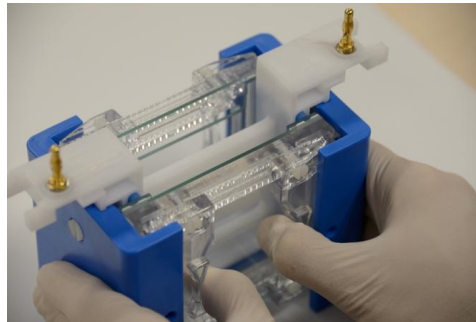


2. Montieren Sie die Glasplatten, so dass der Boden der Glasplatten und die Abstandshalter perfekt angepasst sind. Für die dreifachen Platten-Sandwiches müssen die freien Abstandshalter (Spacer) Distanzstücke perfekt angepasst sein, was am besten mit einem kleinen Spacer oder Kamm erfolgt, um die Spacer auseinander zu drücken. Gekerbte Glasplatten mit verbundenem Abstandshalter brauchen keine manuelle Ausrichtung.

HINWEIS: 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.

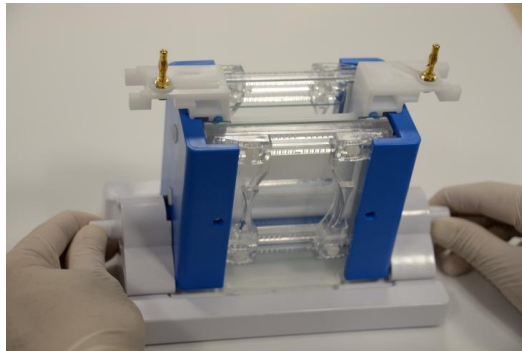
3. PAGE-Gel-Insert enthält Druckstangen, die auch einen Druck auf den Rand der Glasplatte vermitteln. Sicherstellen, dass die Druckstangen für die Dicke der verwendeten Abstandshalter (Spacer) ausreichend geöffnet sind. Die Stange kann durch Schieben der geöffneten Schellen geöffnet werden. Bei Verwendung eines dreifachen Glasplatten-Sandwich müssen die Druckstangen in vollständig geöffneten Position sein.

Comment [T1]: co do tego zdania nie mam pewności, chodzi mi o końcówkę, prosiłbym o konsultację z anglistą



4. Positionieren Sie PAGE-Gel-Insert auf einer ebenen Fläche. **PAGE-Gel-Insert nicht in die Gieß-Basis an dieser Stelle stecken.**
 5. Legen Sie die Glasplatte / Abstandhalter-Baugruppe in Vertical-Gel-Insert zwischen der Druckstange und der blauen Dichtung. Überprüfen Sie, dass die Unterseiten der Glasplatten die Arbeitsfläche berühren und ziehen Sie die Gleitschellen vollständig an. Wenn nur ein Gel läuft, muss die Blindplatte in der zweiten Position verwendet und festgezogen werden.
- Hinweis: Prüfen Sie, ob die unteren Kanten der Abstandhalter und der Glasplatten angepasst sind und ob sie alle den Zähler berühren.**

6. Öffnen Sie den Nockengriff und positionieren Sie den Stift, so dass sie dem Zähler gegenüberstehen, nach unten. Positionieren Sie PAGE-Gel-Insert an der Dichtung der Gieß-Basis so, dass die Einsatzlöcher den Nocken gegenüberstehen. Die Oberseite von Gel-Insert muss nach unten ganz leicht geschoben werden, um die Nockenstifte zu platzieren.



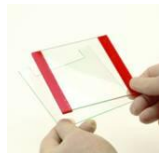
7. Mit den direkt nach unten weisenden Nockenstift-Griffen drehen Sie die Nockenstifte vollständig in die entgegengesetzte Richtung 180° oder bis der Einsatz auf der Silikonmatte festgemacht wird. **Nicht umkippen, da dies dazu führt, dass die Glasplatten nach oben drücken und an der Einheit können Undichtigkeiten auftreten.**

HINWEIS: Die Silikonmatte immer nach dem Gießen umkehren, um zu Vertiefungen zu vermeiden.

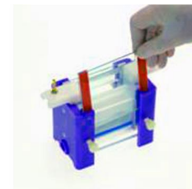
Lassen Sie niemals das Up-stand mit festgemachten Glasplatten in der Gieß-Basis für lange Zeit, da dies zu dauerhaften Vertiefungen in der Silikonmatte führen kann. Das Gerät ist nun bereit für die Gel-Vorbereitung.

Vertikale Gel-Gießtechnik:

- 1) Flache Glasplatte mit verbundenem Spacer zusammen mit der gekerbten Platte verbinden

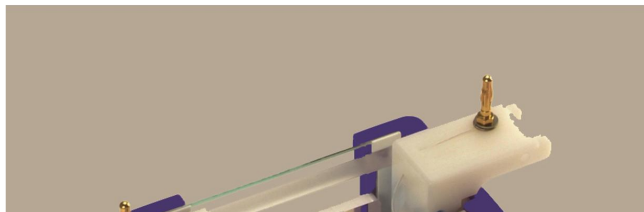


- 2) **Innerhalb** der Druckstange mit der gekerbten Platte für die innerste Berührung die Dichtung und das Modul auf der flachen Oberfläche abseits der Gießbasis

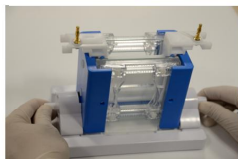


A) Schraubversion

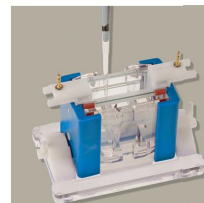
- 3A) Schrauben festziehen, um sicherzustellen, dass die Einheit nicht wackelt



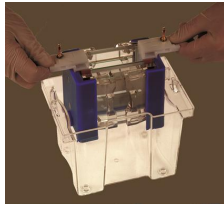
- 4) In die Gießbasis legen. Die Nocken in die Öffnungen im Einsatz (Insert) drücken. Nocken 90° drehen oder bis sie festgemacht sind. Nicht übermäßig anziehen.



- 5) Gel-Lösung gießen und setzen lassen. Anschließend die Gel-Lösung ablegen und Kamm einsetzen.



6) Nach dem Setzen zum Behälter übertragen und die inneren und äußeren Kammern mit Puffer füllen.



Gel-Vorbereitung:-

1. Die Stammlösungen für SDS PAGE-Gele sollten vor der Verwendung vorbereitet und gekühlt werden. Informationen über die nativen Gel-Formeln und Laufbedingungen entnehmen Sie bitte dem Anhang. Das folgende Protokoll gilt für die Verwendung der Standard-Stammlösungen.
2. Die Tabelle 1 unten zeigt das Gesamtvolumen der benötigten Gel-Lösung. In den folgenden Tabellen werden die Mengen von Gel und Lösungen für zwei 1 mm dicke Gele angegeben. Wenn Gele mit einer anderen Dicke ausgeführt werden sollen, müssen Anpassungen vorgenommen werden.

Tabelle 1.

ShiroGEL PAGE	
	Gesamtvolumen von Gel für 1 mm dickes Gel.
<i>Für unterschiedliche Gel-Dicken sind die nachstehenden Mengen mit der Dicke der Abstandhalter zu multiplizieren.</i>	
Einfach – ein Gel, eine Blindplatte	7,5 ml
Zweifach – zwei Gele	15 ml
Dreifach-Platten-Sandwich – vier Gele	30 ml

Gel-Auswahl:-

Es soll auf die Auswahl der Porengröße des zu verwendenden Gels zu achten. Diese Formeln sind für Tris-Glycin-SDS-Gele.

Die Porengröße oder % von Gel bestimmt das Auflösungsvermögen bei unterschiedlichen Protein-Größen. Siehe Tabelle 2 unten mit Details, welche Prozentsätze des Gels zu verwenden sind, um die angegebenen Protein-Größen zu trennen.

Tabelle 2.

Acrylamid-Anteil	Trennauflösung
5 %	60.0 - 220 KD
7.5 %	45.0 - 120 KD
10 %	25.0 - 75 KD
12%	14.4 - 65 KD
15 %	6.5 - 45 KD
17.5%	5.5 - 30 KD

3. Unter Verwendung der im Index vorgesehenen Stammlösung bereiten Sie Gel-Lösungen nach folgenden Tabellen vor, indem zuerst DDI-Wasser, 30% Acrylamid-Lösung und 4x Tris-SDS-Lösungen gemischt werden. Nach dem Mischen für 5 Minuten entgasen lassen, um den freien Sauerstoff zu beseitigen, der die Polymerisation durch die Beseitigung von freien Radikalen hemmt.
4. Zu der obigen Lösung Ammoniumpersulfat und TEMED geben, und vorsichtig mischen, um Luftblasen zu vermeiden.

Tabelle 3: Herstellung der Trenngel-Lösung für zwei 10 x 10 cm Gele unter Einsatz von 1 mm Abstandhaltern.

Lösung	5 %	7.5%	10 %	12%	15 %	17.5%
Destilliertes Wasser	8,7ml	7,5ml	6,3ml	5,25ml	3,75ml	2,5ml
30% Acrylamid-Stammlösung	2,5ml	3,75ml	5ml	6ml	7,5ml	8,75ml
4 X Tris-SDS Lösung pH 8.8	3,75ml	3,75ml	3,75ml	3,75ml	3,75ml	3,75ml
10 % Ammonium-Persulphat	150µl	150µl	150µl	150µl	150µl	150µl

Gel-Gießen:-

Für diskontinuierliche Gele:-

1. Setzen Sie den Kamm in die Glasplatten und markieren Sie einen Punkt auf den Glasplatten 1cm unterhalb des Bereiches, in dem die Kammzähne enden. Dies ist die Ebene für das Auflösungs-Gel.
2. Füllen Sie die Glasplatten wieder und dabei vermeiden Sie Luftblasen. Das Auffüllen muss schnell durchgeführt werden, bevor die TEMED dazu führt, dass das Gel zu zähflüssig wird.
3. Auf das Gel äußerst vorsichtig mit 1 ml 1%-Isobutanol, Isopropanol oder destilliertem Wasser auftragen. Bei Verwendung von destilliertem Wasser muss äußerst darauf geachtet werden, um eine Vermischung mit der Gel-Lösung zu vermeiden.
4. Lassen Sie das Trenngel polymerisieren. Normalerweise dauert dies etwa 15 bis 30 Minuten, aber das kann aufgrund der Gel-Konzentration variieren. Wenn die Polymerisation viel länger dauert, frische Stammlösungen von APS verwenden.
5. Bereiten Sie Sammelgel auf Basis der folgenden Tabelle 5 als Leitfaden vor. Die Stammlösungen sind im Anhang angegeben.

Tabelle 5.

Lösung	ShiroGEL PAGE
Destilliertes Wasser	4,2ml
30% Acrylamid-Stammlösung	0,65ml
4 X Sammelgel Tris-SDS Lösung pH 6.6	1,6ml
10% Ammonium-Persulphat	67µl

6. DDI Wasser, Acrylamid und Tris-SDS-Lösung vorsichtig mischen, für 5 Minuten entgasen lassen.
7. Ammonium-Persulfat und TEMED geben, und mischen.
8. Overlay-Liquid abgießen und das Gel mit destilliertem Wasser spülen.
9. Pasteur-Pipette verwenden, um die Glasplatten bis zu der Spitze mit Sammelgel-Lösung zu füllen.
10. Den Kamm vorsichtig einsetzen und darauf achten, dass keine Luftblasen unter den Enden der Kammzähne entstehen, weil sie die Probenentwicklung hemmen.
11. Sammelgel für 30 Minuten polymerisieren lassen.

Für kontinuierliche Gele:-

1. Befolgen Sie die Anweisungen für das Mischen der Acrylamid-Lösung - siehe Abschnitt für diskontinuierliche Gele.
2. Füllen Sie die Glasplatten bis 1 cm unter der Oberseite der Kerbplatte wieder und dabei vermeiden Sie Luftblasen. Das Auffüllen muss schnell durchgeführt werden, bevor die TEMED dazu führt, dass das Gel zu zähflüssig wird.
3. Den Kamm vorsichtig einsetzen und darauf achten, dass keine Luftblasen unter den Enden der Kammzähne entstehen, weil sie die Probenentwicklung hemmen.
4. Lassen Sie das Gel polymerisieren. Normalerweise dauert dies etwa 15 bis 30 Minuten, aber das kann aufgrund der Gel-Konzentration oder der Frische der verwendeten Reagenzien variieren. Wenn die Polymerisation länger dauert, frische Stammlösungen von APS verwenden.

Vorbereitung von denaturierten Proteinproben für die Beladung:

Die unten angegebenen Anweisungen gelten für denaturierte Proben. Für native Proben siehe Index.

1. Proteinproben für die Beladung vorbereiten. Das Volumen der Probe hängt von der Kapazität der Wells ab. Siehe Tabelle auf Seite 23.
2. Durch die Verwendung eines 0,5 ml-Mikrozentrifugenröhrchen oder eines anderen geeigneten Gefäßes gleiche Volumina von Ladepuffer, Proteinprobe und 2X Probenpuffer kombinieren. Es ist immer ratsam, die Proteinleiten in einer der Gassen zu verwenden, um die Größe von Bands anzugeben. Diese sollten nach den Anweisungen des Herstellers hergestellt werden.
3. Proben in einem Wasserbad oder Heizblock für 2 Minuten erhitzen, um die Proben zu denaturieren. HINWEIS: Die Heizung sollte unter einem Abzug 2-Mercaptoethanol durchgeführt werden.
4. Die Proben in einer Mikrozentrifuge für 20 Sekunden bei 12.000 Upm zentrifugieren. Die Proteinproben sind nun für die Beladung bereit.

Probenbeladung:

1. Falls gewünscht, montieren Sie das (die) Kühlpaket(e) in das Ende des Behälters. Diese sollten mit der längsten Seite positioniert seitlich mit dem (den) Ende(n) des Behälters montiert und in der Vertiefung gedrückt werden. Ein Paket ist im Lieferumfang standardmäßig enthalten. Zusätzliche Pakete können erworben werden.
2. Beseitigen Sie die Kämmen mit einer sanften Schaukelbewegung, spülen Sie den Well mit DDI H₂O gut aus, um alle Rückstände zu beseitigen.
3. Übertragen Sie das Gel-Innenmodul mit Gelinhalt in den Haupttank in der korrekten Orientierung als angezeigt: + auf dem Modul angepasst an +ve auf dem Tank, - auf dem Modul angepasst an - auf dem Tank.

4. Füllen Sie den Außentank mit 1 x Reservoir-Puffer. Siehe Seite 19 für empfohlene Pufferlösung. Tabelle 6 zeigt das erforderliche Puffervolumen.

Tabelle 6.

Puffervolumen	ShiroGEL PAGE
Minimum – Der Innentank ist bis über die Wells gefüllt. Der Außentank ist nur so gefüllt, dass die Unterseite der Glasplatten überflutet ist. Das Kühlpotenzial ist auf dem Minimum, was die Auflösung beeinflussen kann.	250ml
Maximum – Der Innentank ist bis über die Wells gefüllt. Der Außentank ist bis zum max. Füllstandsanzeige gefüllt. Die Kühlung erfolgt mit einer guten hohen Auflösung von Proben.	1200ml
Nutzung der Kühlpakete – Der Innentank ist bis über die Wells gefüllt. Die Kühlpakete sind hinter den Gelen eingesetzt. Der Außentank ist bis zum max. Füllstandsanzeige gefüllt. Die Kühlung ist auf Maximum.	1000ml

5. Laden Sie die Proben in die Wells mit einer Pipettenspitze und darauf achten, dass die Wells nicht beschädigt werden oder keine Luftblasen entstehen.
6. Nicht genutzte Wells mit 1X Probenpuffer füllen.
7. Beachten Sie die Ausrichtung und die Reihenfolge der beladenen Proben. Dies kann durch Feststellung erfolgen, welche Proben neben jeder Elektrode geladen wurden.

Gel-Lauf:

1. Deckel montieren und ans Stromnetz anschließen.
2. Für Details über empfohlene Einstellungen der Versorgungsspannung - siehe Tabelle 7.
3. Die Laufzeiten variieren je nach Konzentration und Proteingröße. Wenn die Pufferfront den Boden 1 cm erreicht, schalten Sie die Stromversorgung aus oder früher, wenn Ihre Proteine unter 4 kD groß sind.
4. Ziehen Sie das Netzkabel vom Gerät immer vor dem Entfernen des Deckels.
5. Entfernen Sie das Gel-Laufmodul, zuerst den Innenpuffer in den Haupttank entleeren.
6. Schrauben Sie die Glasplatten ab und brechen vorsichtig die Glasplatten auseinander auf. Das Gel wird in der Regel auf einer der Platten kleben und kann durch Einweichen im laufenden Puffer entfernt werden. Anschließend mit einer Spachtel vorsichtig heben.
7. Das Gel ist jetzt bereit für die weitere Analyse.

Tabelle 7.

Empfohlene Spannungs- und Stromeinstellungen für 1 mm dicke 12%-Gele	ShiroGEL PAGE
Ein Gel	90-225V, 20-45mA
Zwei Gele	90-225V, 40-90mA
Drei Gele	90-225V, 60-135mA
Vier Gele	90-225V, 80-180mA

Die empfohlene Leistung für die optimale Auflösung bei minimaler Wärme-Bandverzerrung ist 150 Volt, Konstantspannungseinstellung. Keine Anpassung der Einstellung ist notwendig für die Dicke oder die Anzahl der Gele. Die übliche Laufzeit beträgt ca. 40-45 Minuten. Der Strom sollte etwa 50 mA pro Gel (120 mA für zwei Gele) zu Beginn des Durchlaufs betragen. Während des 45-Minuten-Laufs sinkt der Strom langsam auf ca. 20 mA pro Gel. Dieser Abfall wird durch die Änderung der Pufferionen im Gel verursacht, was zu einem langsamen Anstieg des Widerstands im Gel führt. Wie von dem Ohmschen Gesetz erwartet ($V = I \cdot R$), bei einer konstanten Spannung (V) führt ein Anstieg des Widerstands (R) zu einem Stromabfall (I).

Protein-Blotting unter Einsatz von VWR ShiroGEL Blotting Insert

Einrichten von Kassetten-Sandwich: Die am häufigsten verwendeten Pufferlösungen sind in der Anlage aufgeführt.

1. Jedes Blot-Sandwich soll wie folgt eingestellt werden:-

- a. Kassettenklammer -ve (schwarz) Seite in einem Fach oder auf einer anderen geeigneten Oberfläche platziert.
 - b. Vorgetränktes Faser-Pad.
 - c. Zwei Stücke Filterpapier 45um, vorgetränkt im Puffer.
 - d. Gel. Schneiden Sie die linke Ecke für die Indizierung.
 - e. Membran übertragen. Die meisten Hersteller verlangen Einweichen. Prüfen Sie es jedoch in ihren Anweisungen in Bezug auf den von Ihnen genutzten Membrantyp. Dies sollte geglättet, so dass keine Luftblasen eingefangen werden.
 - f. Zwei Stücke Filterpapier, vorgetränkt im Puffer.
 - g. Vorgetränktes Faser-Pad.
 - h. Kassettenklammer + ve (rot) seitlich in die Nut in der Unterseite der schwarzen Kasette geschlitzt.
- Bemerkung: Membran nicht ohne Handschuhe bedienen.

2. Montieren Sie die Faser-Pads, Filterpapiere, Gel-Transfermembran in der obigen Reihenfolge und rollen sie mit einer Pipette, um die eingeschlossene Luft zu entfernen. Platzieren Sie auf der schwarzen und roten Kasette mit der der Anodenseite (rot) zugewandten Membran, schließen Sie das Scharnier sorgfältig, um das Sandwich nicht zu stören.

3. Füllen Sie den Tank mit Pufferlösung bis zur maximalen Füllmengen-Anzeige, die seitlich an der jeweiligen Einheit steht. Siehe Anhang Seite 20 für empfohlene Pufferlösungen. Mit einem gekühlten Puffer kann man eine bessere Übertragung erhalten.

Tabelle 8 zeigt das erforderliche Puffervolumen.

Puffervolumen	ShiroGEL Blotter
Eine Kasette	1380ml
Zwei Kassetten	1290ml
Drei Kassetten	1380ml
<i>Jedes Kühlpaket löst 100 ml Puffer ab.</i>	

Bedingungen für Blot-Lauf:

1. Setzen Sie die Kassetten in die Schlitze in dem Modul mit der schwarzen Seite eines jeden benachbarten zu der negativen Elektrode ein. Es ist angezeigt, sich die Ausrichtung und die Reihenfolge der beladenen Proben zu merken. Dies kann durch Feststellung erfolgen, welche Proben neben jeder Elektrode geladen wurden.

2. Die Verwendung eines magnetischen Rührstabs und Platte wird empfohlen, den Puffer zu mischen, um die Konsistenz des Transfers zu geben. Ein Rührstab mit 4 mm Durchmesser sollte unter dem Modul, in der Mitte des Behälters, platziert werden. Das gelieferte und vorgefrorene Kühlpaket kann an der Seite oder an der Front des Tanks für längere Blots eingesetzt werden. Zusätzliche Kühlpakete können als Zubehör für die weitere Hilfskühlung erworben werden.
3. Modul einsetzen, Deckel montieren und ans Stromnetz anschließen.
4. Für Details über empfohlene Einstellungen der Versorgungsspannung und Blot-Zeiten siehe Tabelle 9. Bitte beachten Sie, dass die Spannungen und Strom je nach der Anzahl der Kassetten, Art und Temperatur des Puffers sowie der Dicke und Anteil des Gels variieren werden. Dies wird auch Auswirkungen auf die Transferqualität haben. Deshalb passen Sie die Blot-Zeit an Ihre speziellen Proben und Konditionen an.
5. Wenn die Blot-Zeit abgeschlossen ist, schalten Sie die Stromversorgung aus und entfernen Sie den Deckel der Einheit.
6. Kassetten vom Haupttank entfernen.
7. Heben Sie das Scharnier jeder Kassette und hebeln Sie auseinander Blot-Sandwich und entfernen Sie die Membran aus dem Gel.
8. Die Membran kann nun weiter bearbeitet werden. Denken Sie daran, das Filterpapier hinter dem Gel zu schützen, um für Durchblasen kleinere Proteine zu überprüfen.

Tabelle 9. Empfohlene Spannungs- und Stromeinstellungen.

Blot-Laufzeit	ShiroGEL Blotter
Eine Stunde	100V, 400mA
Drei Stunden	50V, 200mA

Fehlersuche

Überprüfen Sie die Informationen in der Tabelle unten, um Betriebsprobleme zu beheben.

Problem	Ursache	Lösung
Schlechte Auflösung	Probenvolumen zu groß	Proben verdichten.
Der Lauf nimmt ungewöhnlich viel Zeit in Anspruch	Puffer übermäßig verdichtet.	Puffer-Protokoll prüfen; Bei Bedarf Puffer verdünnen.
	Strom zu niedrig.	Spannung um 25-50% erhöhen.
Der Lauf ist zu schnell, schlechte Auflösung	Puffer übermäßig verdünnt.	Puffer-Protokoll prüfen; Bei Bedarf Puffer verdichten.
	Strom zu hoch.	Spannung um 25-50% reduzieren.
Schiefe oder verzerrte Bänder (bands)	Schlechte Polymerisierung um Proben-Wells herum.	Ammonium-Persulfat- und TEMED-Konzentrationen um 25% erhöhen.
	Übermäßiger Druck auf die Gel-Platten aufgebracht, wenn das Gel in der Klemmvorrichtung platziert ist.	Schrauben an der Klemmvorrichtung nicht übermäßig anziehen.
	Ungleichmäßige Erhitzung von Gel.	Verwenden Sie entweder eine gekühlte Vorrichtung oder reduzieren Sie den Strom, bei dem die Elektrophorese durchgeführt wird.
Seitliche Bandspreizung	Diffusion von Proben aus den Wells vor dem Einschalten des Stroms.	Die Zeit zwischen der Probenanwendung und dem Stromeinschalten minimieren.
	Diffusion bei der Migration durch Sammelgel.	Spannung um 25% während Gelsammlung erhöhen oder %T des Sammelgels um 1% erhöhen.
Proteinband an beiden Seiten des Gels aufwärts gebogen. "Smile effect"	Gelmitte heißer als die beiden Enden.	Stromeinstellungen reduzieren. Pufferprotokoll prüfen, um sicherzustellen, dass es korrekt formuliert ist.
Gel polymerisiert nicht	Temperatur zu niedrig.	Bei Raumtemperatur gießen.
	Zu wenig Ammonium- Persulfat oder TEMED.	Beides um 50% erhöhen.
	Ammonium-Persulfat oder TEMED ist alt.	Frisches Ammonium-Persulfat und neues TEMED verwenden.

Instandsetzung und Wartung der ShiroGEL-Geräte

Reinigung der ShiroGEL-Geräte

Es wird empfohlen, die Geräte mit warmem Wasser und einem milden Reinigungsmittel zu reinigen. **Wasser mit Temperaturen von über 60°C kann das Gerät und die Komponenten beschädigen.** Der Tank sollte gründlich mit warmem und destilliertem Wasser abgespült werden, um den Aufbau von Salzen zu verhindern. Besonders darauf achten, dass die beiliegende Elektrode nicht beschädigt wird. Kräftige Reinigung ist nicht notwendig oder empfohlen. Vor der Verwendung wird eine Lufttrocknung empfohlen.

Die Geräte sollten nur mit Hilfe der folgenden Mittel gereinigt werden:-

Warmes Wasser mit einer niedrigen Konzentration von Seife oder ein anderes mildes Reinigungsmittel. Kompatible Reinigungsmittel enthalten Spülmittel.
Die Geräte sollten nicht in Reinigungsmitteln für mehr als 30 Minuten belassen werden.

Technischer Kundendienst

Web-Ressourcen

Auf der VWR Website unter www.vwr.com finden Sie die folgenden Informationen:

- Alle Kontaktdaten des technischen Kundendienstes
- VWR Online-Katalog sowie Informationen über Zubehör und zugehörige Produkte
- Weiterführende Produktinformationen und Sonderangebote

Kontakt Wenn Sie Informationen oder technische Unterstützung benötigen, wenden Sie sich an Ihr VWR Vertriebszentrum oder besuchen Sie unsere Website unter www.vwr.com

Gewährleistung

VWR International gewährleistet, dass dieses Produkt ab Lieferung zwei (2) Jahre frei von Material- und Herstellungsfehlern ist. Liegt ein Fehler vor, entscheidet VWR nach eigenem Ermessen, das Produkt kostenlos zu reparieren oder auszutauschen oder dem Kunden den Kaufpreis des Produkts zu erstatten, sofern es innerhalb des Gewährleistungszeitraums zurückgesendet wird. Diese Gewährleistung erlischt, wenn das Produkt, versehentlich oder absichtlich, durch unsachgemäßen Gebrauch oder durch normalen Verschleiß beschädigt wurde. Sofern die erforderlichen Wartungsarbeiten und Inspektionen nicht entsprechend der Bedienungsanleitung und den lokalen Erfordernissen durchgeführt werden, erlischt die Gewährleistung, es sei denn, dieses Unterlassen ist nicht ursächlich für den auftretenden Fehler des Produktes.

Zurückgesendete Artikel müssen vom Kunden gegen Schäden und Verlust versichert werden.

Diese Gewährleistung ist auf die zuvor genannten Rechte beschränkt. ES WIRD AUSDRÜCKLICH VEREINBART, DASS DIESE GEWÄHRLEISTUNG ANSTELLE JEDLICHER GEWÄHRLEISTUNG DER EIGNUNG UND ANSTELLE DER GEWÄHRLEISTUNG DER ALLGEMEINEN GEBRAUCHSTAUGLICHKEIT GILT.

Befolgung lokaler Gesetze und anderer Rechtsvorschriften

Der Kunde ist dafür verantwortlich, die notwendigen behördlichen Genehmigungen und anderen Bewilligungen zu beantragen und zu erhalten, die erforderlich sind, das erworbene Produkt an seinem Standort zu betreiben und zu nutzen. VWR kann nicht haftbar gemacht werden, wenn der Kunde es unterlässt, die hierzu erforderlichen Handlungen vorzunehmen, oder dafür, dass die notwendigen Genehmigungen oder Bewilligungen nicht erteilt werden, es sei denn, eine entsprechende Ablehnung ist auf einen Mangel des Produktes zurückzuführen.

Altgeräteentsorgung



Dieses Gerät ist mit der durchgestrichenen Mülltonne gekennzeichnet, um anzuzeigen, dass das Gerät nicht mit dem unsortierten Hausmüll entsorgt werden darf.

Stattdessen liegt es in Ihrer Verantwortung, Ihr Gerät am Ende des Lebenszyklus zur Entsorgung an den autorisierten Entsorger für die getrennte Sammlung und das Recycling zu übergeben. Es liegt auch in Ihrer Verantwortung, das Gerät im Falle von biologischen, chemischen und / oder radiologischen Kontamination zu dekontaminieren, um Personen, die an Geräteentsorgungs- und Verwertungsprozessen teilnehmen, von gesundheitlichen Gefahren zu schützen.

Für weitere Informationen darüber, wo Sie Ihre Abfallprodukte der Ausrüstung entsorgen können, wenden Sie sich bitte an Ihren Händler, von dem Sie dieses Gerät erworben haben.

Auf diese Weise helfen Sie, die natürlichen Ressourcen zu schonen und die Umwelt zu schützen und stellen Sie sicher, dass Ihr Gerät in einer für die menschliche Gesundheit unbedenklichen Weise recycelt wird.

Vielen Dank

ANHANG

Lösungen

Anhang

Stammlösungen für SDS PAGE-Gele:-

Stamm 30% Acrylamid-Gel-Lösung:-

30,0 g Acrylamid
0,8 g Methylenbisacrylamid
Destilliertes Wasser zu 100 ml

Stamm 4 X Auflösungsgel Tris (1,5 M Tris HCl pH8,8, 0,4% SDS)

Zu 110 ml destilliertem Wasser 36.4 g Tris base geben
8ml of 10% SDS geben
pH zu 8,8 mit 1N HCl anpassen
Endvolumen zu 200 ml mit destilliertem Wasser anpassen.

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

Zu 110 ml destilliertem Wasser 12,12 g Tris base geben
8ml of 10% SDS geben
pH zu 6,8 mit 1N HCl anpassen

Stamm 4 X Tris-glycine Tank Puffer - SDS

36 g Tris base
172,8 g Glycine
Destilliertes Wasser zu 3 l

1 x Tris-glycine Tank Puffer - SDS

750ml von 4 X Tris-glycine Reservoir Puffer - SDS
30ml von 10 % SDS
Destilliertes Wasser zu 3 l
Destilliertes Wasser zum Endvolumen von 200ml geben

10% AP (Ammonium-Persulphat-Lösung)

0,1 g Ammonium-Persulphat
1 ml destilliertes Wasser

Hinweis: Ammonium-Persulfat wird schnell in Lösung degradiert. Für beste Ergebnisse nach 1 Woche aussondern.

Stamm 2 X Probenpuffer

2 ml 50% Glycerol
.5 ml 2-Mercaptoethanol
4 ml 10% SDS
2,5ml .5 M Tris -HCL
1 ml 1% Bromophenol blau
Ddi H₂O zu 10 ml

Aliquot in 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen. Bei -20 °C lagern.

Membranauswahl

Nitrocellulose

Gut bindungsfähige Proteine binden durch hydrophobe Wechselwirkungen

Porengröße: .45µm .22µm

West-Transfer

Aminosäureanalyse

Nylon

Mikroporöse Membran modifiziert mit stark basisch geladenen Gruppen

Bindet negativ geladene DNA- oder RNA-Makromoleküle mit Low-Background

Porengröße: .45µm

Can Re-probe

Süd-Transfer

Nord-Transfer

Festphasen-Immobilisierung

Enzymimmobilisierung

Genproben-Analysen

PVDF

Hohe Bindungsfähigkeit

Hohe hydrophobe Bindung resistent gegen Lösungsmittel

Kompatibel mit Proteinflecken und Immundetektionstechniken

Porengröße: 45µm .22µm

Can Re-probe

West-Transfer

Proteinsequenzierung

Aminosäureanalyse

Festphasen-Testsysteme

Puffer Vorbereitung Proteine

Towbin-Puffer

Native Gele

Towbin-Puffer pH 8,3

25 mM TRIS, 192 mM Glycine, 20% Methanol,

3,0 gm TRIS

14,4 gm Glycine

200 ml Methanol

dd H₂O zu 1 Liter geben

Denaturierte Gele

Towbin Puffer pH 8,3, Kein Methanol
25 mM TRIS, 192 mM glycine Methanol,
3,0 gm TRIS
14,4 gm Glycine
dd H₂O zu 1 Liter geben

shiroGEL-Accessoires:

700-0290	Modul Blot shiroGEL enthält 3 Kassetten
700-0294	Gießbasis für PAGE system shiroGEL
700-0295	Modul PAGE nur (keine Accessoires) shiroGEL
700-0296	Spacer gel 0,75mm für PAGE system shiroGEL
700-0297	Spacer gel 1,5mm für PAGE system shiroGEL
700-0298	Comb 10 Proben-Wells 0,75 mm für PAGE system shiroGEL
700-0299	Comb 10 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0300	Comb 10 Proben-Wells 1,5mm für PAGE system shiroGEL
700-0301	Comb 12 Proben-Wells 0,75 mm für PAGE system shiroGEL
700-0302	Comb 12 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0303	Comb 12 Proben-Wells 1,5mm für PAGE system shiroGEL
700-0304	Comb 12 Proben-Wells 2,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0305	Comb MC 16 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0306	Spacer gel 1mm für PAGE system shiroGEL
700-0307	Comb 20 Proben-Wells 0,75 mm für PAGE system shiroGEL
700-0308	Comb 20 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0309	Comb 20 Proben-Wells 1,5mm für PAGE system shiroGEL
700-0310	Spacer gel 2mm für PAGE system shiroGEL
700-0311	Comb 5 Proben-Wells 0,75 mm für PAGE system shiroGEL
700-0312	Comb 5 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0313	Comb 5 Proben-Wells 1,5mm für PAGE system shiroGEL
700-0314	Comb MC 8 Proben-Wells 1,0mm für PAGE system shiroGEL
700-0315	Pad-Faser Blotting shiroGEL
700-0316	Kassette Blotting shiroGEL
700-0317	Kühlpaket mini für PAGE system shiroGEL
700-0318	Blindplatte 10x10cm für PAGE system shiroGEL
700-0319	Gekerbte Glasplatte mit 0,75 Spacers shiroGEL
700-0320	Gekerbte Glasplatte mit 1,5 Spacers shiroGEL
700-0321	Gekerbte Glasplatte mit 1,0 Spacers shiroGEL
700-0322	Gekerbte Glasplatte 10x10cm shiroGEL
700-0323	Gekerbte Glasplatte mit 2,0 Spacers shiroGEL
700-0324	Glasplatte mit 0,75 Spacers shiroGEL
700-0325	Glasplatte mit 1,5 Spacers shiroGEL
700-0326	Glasplatte mit 1,0 Spacers shiroGEL
700-0327	Glasplatte 10x10cm shiroGEL
700-0328	Glasplatte mit 2,0 Spacers shiroGEL

Ihre Vertriebspartner

Belgien

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

Dänemark

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2860 Søborg
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
Email: info.dk@vwr.com

Deutschland

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

Finnland

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

Frankreich

VWR International S.A.S.
Le Périgares – Bâtiment B
201, rue Carnot
94126 Fontenay-sous-Bois cedex
Tel.: 0 825 02 30 30 (0,18 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,18 € TTC/min)
Email: info@fr.vwr.com

Irland / Nordirland

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
Email: sales.ie@vwr.com

Italien

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

Niederlande

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

Norwegen

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 30
0978 Oslo
Tel.: 0 2290
Fax: 815 00 940
Email: info.no@vwr.com

Österreich

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Wien
Tel.: 01 97 002 0
Fax: 01 97 002 600
Email: info.at@vwr.com

Polen

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200
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
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
Email: info.pt@vwr.com

Schweden

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

Schweiz

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

Spanien

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
Email: info.es@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
Email: info.cz@vwr.com

Türkei

VWR International Laboratuvar
Teknolojileri Ltd.Şti.
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Istanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Email: info.tr@vwr.com

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
Email: uksales@vwr.com

Ungarn

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

Australia

VWR International Pty.LTD
Level 1, Unit 1a/60 Enterprise Place
Tingalpa
QLD 4173 Australia
Tel.: 1300 727 696
Email: sales.au@vwr.com

China

VWR International China Co., Ltd
Shanghai Branch
Room 256, No. 3058 Pusan Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Email: info_china@vwr.com

Indien

VWR Lab Products Private Limited
No.139, BDA Industrial Suburb,
6th Main, Tumkur Road, Peenya Post,
Bangalore, India – 560058
Tel.: +91-80-28078400
Email: vwr_india@vwr.com

Neuseeland

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

Singapur

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

VWR shiroGEL

Mini cuves d'électrophorèse verticales

NOTICE D'UTILISATION

Références du catalogue européen:

Cuves d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide PAGE¹	- 700-0292
PAGE et module de migration - cuves de transfert Blotter	- 700-0293
Module de migration - cuves de transfert Blotter -	- 700-0290

Versione: 2

Édition: 01/11/2016

¹ L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE - acronyme de l'anglais poly-acrylamide gel electrophoresis).



Adresse légale de fabricant

États-Unis

VWR International
Bldg. One, Suite 200
100 Matsonford Rd.
Radnor, PA 19087
800-932-5000
<http://www.vwr.com>

Europe

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011
<http://be.vwr.com>

Pays d'origine

Grande Bretagne

Table des matières

	Page
Consignes de sécurité	1
Liste d'emballage	2
Mise en service	4
Utilisation prévue	4
Coulage du gel	6
Préparation du gel	9
Sélection du gel	10
Versement du gel	11
Préparation des échantillons et leur chargement	12
Procédé d'électrophorèse sur gel	13
Installation de l'insert (module) de migration	15
Procédé de migration	15
Dépannage	17
Entretien et maintenance	18
Garantie	18
Annexe	20
Liste des accessoires	23

Avertissement

Lorsqu'elles sont utilisées correctement, ces unités ne posent aucun risque pour la santé. Cependant, ces unités peuvent fournir des niveaux dangereux de l'électricité et peuvent être actionnées uniquement par le personnel qualifié en respectant les règles décrites dans la présente notice d'instruction.

Toute personne voulant utiliser cet équipement doit lire attentivement toute la présente notice.

Informations de sécurité



Pour éviter les chocs électriques:

L'unité ne doit jamais être utilisée sans le couvercle de sécurité correctement installé.



Pour éviter les chocs électriques:

L'unité ne doit jamais être utilisée avec réservoir externe ou couvercle présentant les traces d'endommagement.

Ces unités sont conformes aux directives statutaires de la CE relatives à la sécurité:

Directive Basse Tension 2006/95/CE	Directive RoHS 2011/65/EU sur la restriction de l'usage de certaines substances dangereuses dans l'équipement électrique et électronique, dite directive RoHS
Directive 2004/108/EC Compatibilité électromagnétique, dite directive EMC	Directive relative aux déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) 2012/19/EU, dite directive WEEE
IEC 61010-1:2010 (Third Edition)	IEC 61326-1:2005



Éviter tout endommagement de l'instrument

Les unités ne doivent jamais entrer en contact avec les agents de nettoyage suivants, car ceux-ci peuvent causer des dommages irréversibles et cumulatifs:

acétone, phénol, chloroforme, tétrachlorure de carbone, méthanol, éthanol, alcool isopropylique, alcalis.

L'eau à des températures supérieures à 60°C peut provoquer des dommages aux réservoirs et plateaux acryliques, ainsi qu'aux autres parties.

Les réservoirs doivent être rincés à l'eau chaude ou distillée, mais nettoyage vigoureux n'est pas nécessaire ou conseillé. Le séchage à l'air est recommandé avant l'utilisation.

Produits et accessoires de nettoyage

Les produits doivent être nettoyés de préférence à l'eau chaude et avec un détergent doux.

Les unités doivent être nettoyées en respectant les règles suivantes:

- eau chaude avec une faible concentration de savon ou autre détergent doux compatible ;
- détergents compatibles comprennent liquide de vaisselle, hexane et hydrocarbures aliphatiques.

Les unités ne doivent pas être laissées dans les détergents pendant plus de 30 minutes.

Décontamination à la RNase

Ce produit peut être utilisé sous réserve du respect de la procédure suivante:

- nettoyer les unités avec un détergent doux, tel que décrit ci-dessus ;
- laver avec 3% de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pendant 10 minutes ;
- rincer à 0,1% de depc (diéthylpyrocarbonate) de l'eau distillée traitée.

Attention: DEPC est soupçonné d'être cancérigène. **Toujours porter des gants et des lunettes de sécurité.**

Le RNaseZAP™ (Ambion®) peut être également utilisé. Veuillez consulter les instructions pour l'utilisation avec réservoirs de gel acrylique.

Contenu de l'emballage

VWR ShiroGEL PAGE

Les dispositifs comprennent le réservoir, le couvercle et les électrodes ainsi que les accessoires suivants:

	Plaques de verre	Peignes	Support de coulage de gels	Paquet de refroidissement	Câbles
Mini PAGE	Plaques de verre, à encoches, kit de 2 Plaques de verre, pleines avec des séparateurs de 1 mm intégrés, kit de 2 Plaque factice – paroi d'obturation pour migration d'un seul gel	2, épaisseur 1 mm, 12 peignes pour échantillons	Support de coulage avec tapis de silicone (ou base de coulage de gels)	Inclut dans le kit	Rouge Noir

VWR ShiroGEL PAGE et module de migration - cuves de transfert Blotter

Les dispositifs comprennent le réservoir, le couvercle et les électrodes ainsi que les accessoires suivants:

	Plaques de verre	Peignes	Support de coulage de gels	Paquet de refroidissement	Câbles
Mini PAGE avec insert - module d'électrotransfert	Plaques de verre, à encoches, kit de 2 Plaques de verre, pleines avec des séparateurs de 1 mm intégrés, kit de 2 Plaque factice – paroi d'obturation pour migration d'un seul gel	2, épaisseur 1 mm, 12 peignes pour échantillons	Support de coulage avec tapis de silicone (ou base de coulage de gels)	Inclut dans le kit	Rouge Noir
Insert - module d'électrotransfert	4 cassettes, kit de 8 papiers de fibres				

Déballage

La présente description de produits et les informations sur les composants inclus devraient être consultées dès que les dispositifs sont reçus pour s'assurer que tous les éléments ont été fournis. Chaque unité doit être vérifiée lors de sa réception pour contrôler l'absence des dommages. Veuillez contacter votre fournisseur s'il y a des problèmes ou éléments manquants.

Installation

Règles d'usage et des restrictions:

- altitude maximale 2,000 m,
- plage de température entre 4°C et 60°C,
- humidité relative maximale 80% pour une température jusqu'à 31°C diminuant linéairement jusqu'à 50% de l'humidité relative à 40°C,
- non prévu pour l'usage à l'extérieur.

Cet appareil est classé au 2 DEGRÉ DE POLLUTION selon CEI 664. Le degré de pollution 2, stipule: « Il ne se produit qu'une pollution non conductrice. Cependant, on doit s'attendre de temps en temps à une conductivité temporaire provoquée par de la condensation ».

La mise en service du mini système de la cuve d'électrophorèse verticale

shiroGEL:

Instructions pour la fixation des conduits d'électrodes

1. Prenez note de la position du couvercle du dispositif. Elle montre la polarité et l'orientation correcte des câbles, noir est négatif et rouge positif.
2. Enlevez le couvercle de l'appareil. Prenez note que si le couvercle n'est pas retiré, le connecteur doré non serré peut provoquer lors de la pose des câbles l'endommagement de l'électrode.
3. Vissez les câbles dans les trous taraudés aussi fortement que possible pour qu'il n'y ait pas d'écart entre le couvercle et le bord du câble approprié.
4. Remettez le couvercle.

Le dispositif est prêt à être utilisé.

Utilisation prévue

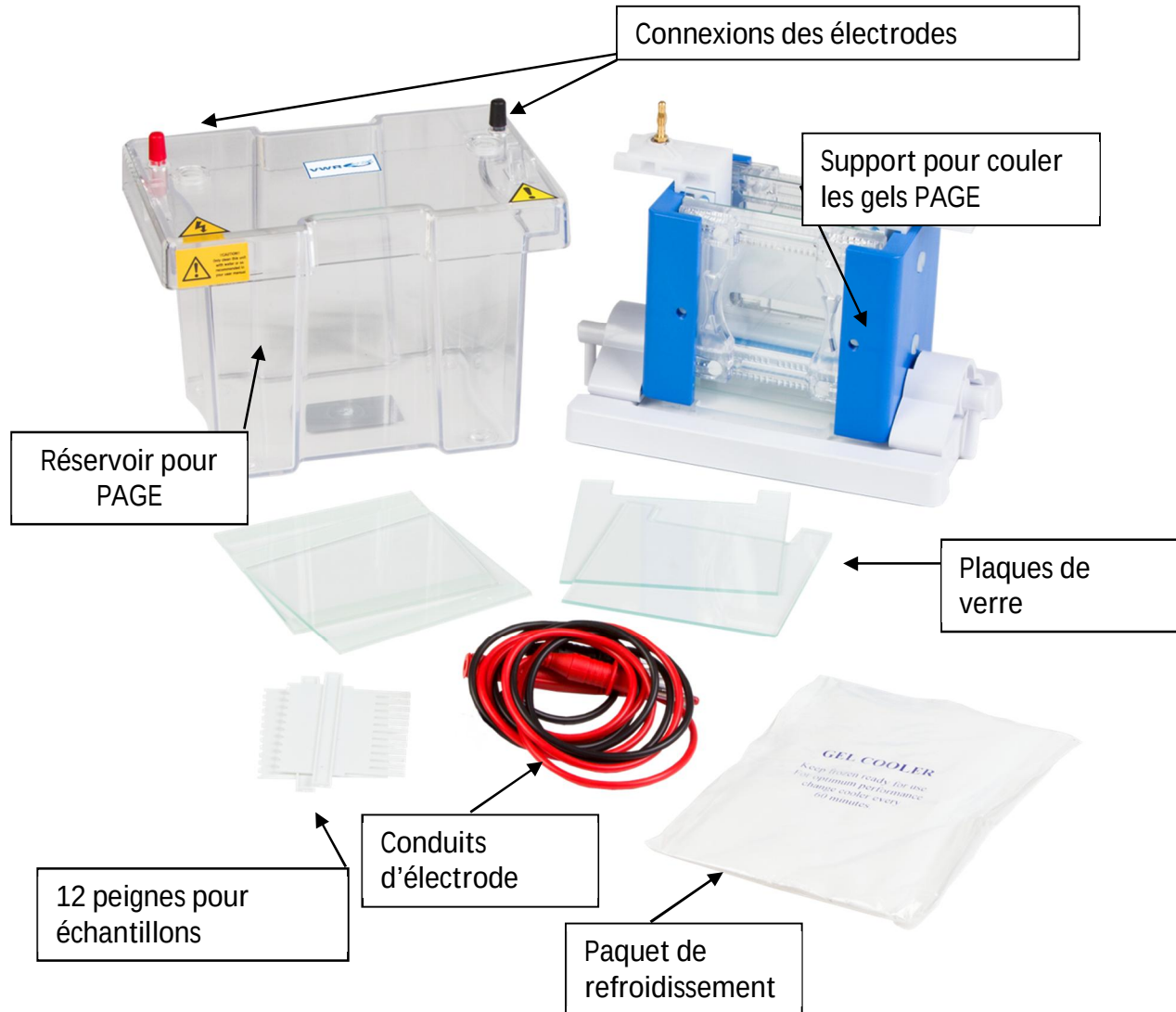
Produit prévu uniquement pour l'usage dans le cadre des recherches. Non destiné à l'usage chez les animaux ou l'usage thérapeutique ou diagnostique chez l'homme.

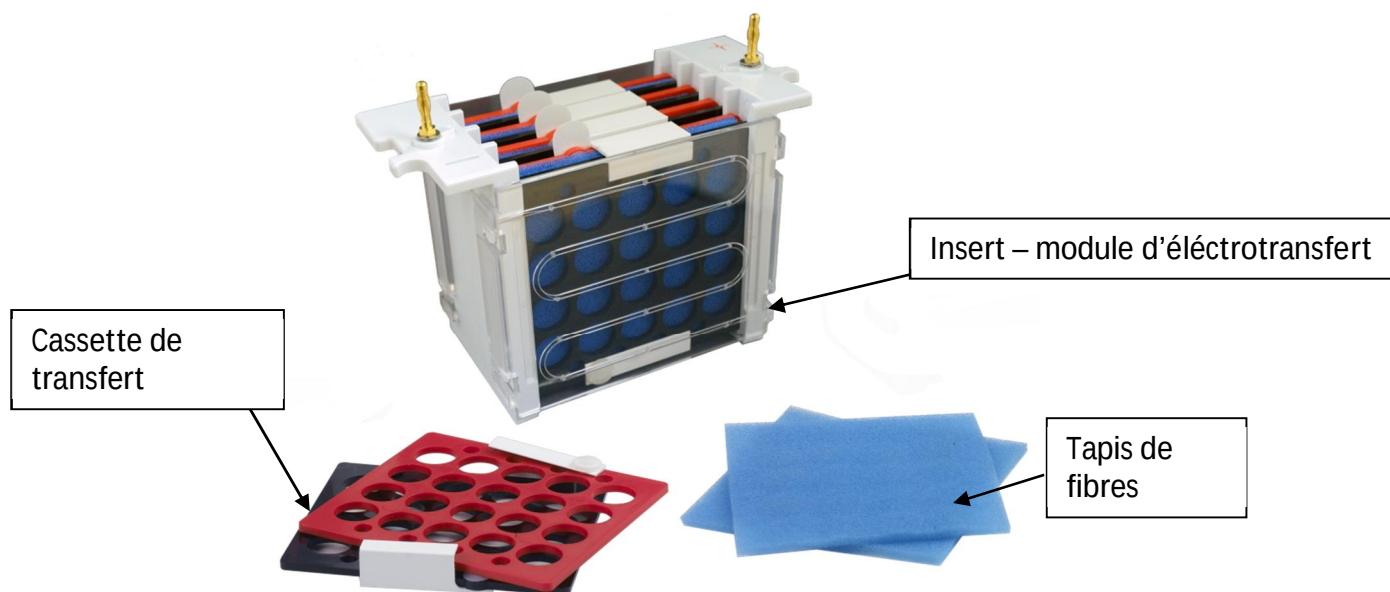
Symboles et conventions

Le tableau suivant présente les pictogrammes utilisés dans la présente notice.

	ATTENTION Ce symbole indique un risque potentiel et alerte à procéder avec prudence
	ATTENTION Ce symbole indique la présence de haute tension et avertit l'utilisateur de procéder avec prudence

Description des éléments composants

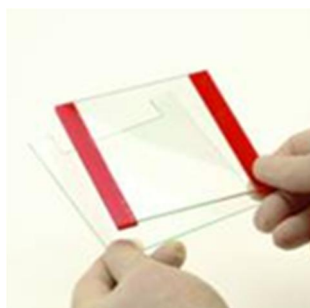




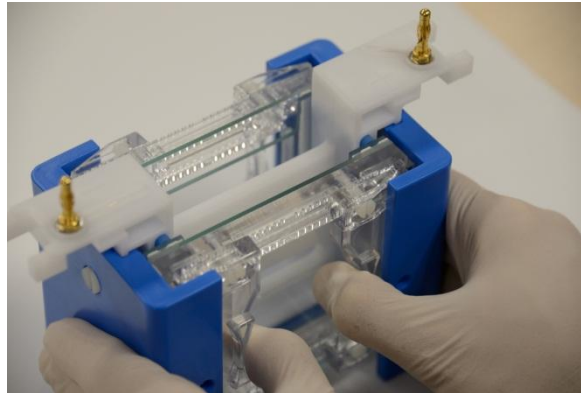
Démarrage

Coulage de gel en utilisant le système de shiroGEL:

1. Nettoyez tout d'abord l'ensemble de plaques de verre pour l'application de chaque gel avec de l'eau distillée, puis avec 70% d'éthanol. Un lot de plaques de verre est constitué d'une plaque de verre à encoches et d'une plaque de verre simple, pleine, avec des séparateurs intégrés. Lorsque vous utilisez une couche de trois plaques de verre, il est nécessaire d'utiliser deux plaques de verre, un jeu de cales libres et un ensemble de plaques de verre simples avec des séparateurs intégrés. La plaque de verre pleine doit être placée à l'extérieur, puis une plaque de verre à encoches, le séparateur et une deuxième plaque de verre à encoches. Optionnellement, les plaques de verres à encoches accessoires avec des séparateurs intégrés sont disponibles. **Toutes les plaques de verre, tous les modules et accessoires de la cuve doivent être complètement secs lors de l'installation. Les composants humides sont plus susceptibles de désalignement et de fuites.**

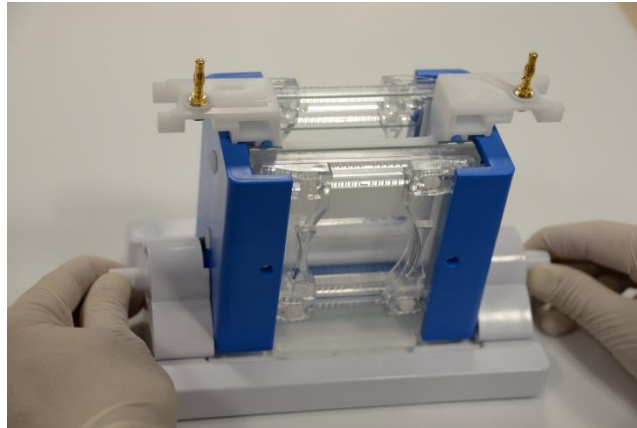


2. Assemblez des plaques de verre de telle sorte que la partie inférieure des plaques de verre et les séparateurs soient parfaitement alignés. Pour les plaques à trois couches, les séparateurs doivent être parfaitement alignés ce qui peut être réalisé le mieux à l'aide d'un petit séparateur ou d'un peigne pour écarter les séparateurs. Les plaques de verre à encoches reliées avec les séparateurs ne nécessitent pas de l'alignement manuel. **NOTE: Les plaques de verre avec des séparateurs intégrés disposent d'une flèche dans la partie supérieure du séparateur qui est légèrement plus longue que la plaque de verre pour indiquer la partie haute.**
3. L'insert - module de gel PAGE contient des lames de pression qui repartissent la pression uniforme sur les bords de la plaque de verre. Assurez-vous que les lames de pression sont ouvertes de manière adéquate pour l'épaisseur du séparateur utilisée. La lame peut être ouverte à l'aide des pinces/clamps. Lors de l'utilisation d'une plaque de verre à trois couches, les lames de pression devront être dans la position complètement ouverte.



4. Placez l'insert - module de gel PAGE sur une surface plane. **À ce point ne pas insérez le module de gel PAGE dans le support de coulage.**
5. Placez l'ensemble plaque de verre/séparateurs dans le module vertical de gel entre la lame de pression et le joint bleu. Vérifiez que les fonds des plaques de verre sont en contact avec le banc et entièrement serrez les pinces coulissantes – les clamps. Lorsqu'un seul gel est utilisé, il convient d'utiliser la plaque factice – paroi d'obturation – dans la deuxième position et serrer à fond. **Remarque: vérifiez que les bords inférieurs des séparateurs et les plaques de verre sont alignés et qu'ils touchent le compteur.**

6. Ouvrez la poignée à came et positionnez la goupille de sorte qu'elle soit en face du compteur, vers le bas. Placez l'insert – module de gel PAGE sur le joint du support de sorte que les trous d'insertion soient en face de came. La partie supérieure de l'insert – module de gel devra être poussée vers le bas très légèrement afin de situer les repères de la came.

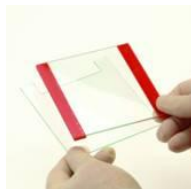


7. Quand la tige de came est placée directement vers le bas, tournez les goupilles de came entièrement dans la direction opposée 180° ou jusqu'à ce que l'insert - module soit bien bloqué sur le tapis de silicone. **Ne tournez pas trop, car cela peut provoquer le déplacement des plaques de verre vers le haut et l'ensemble sera plus susceptible de fuites.**

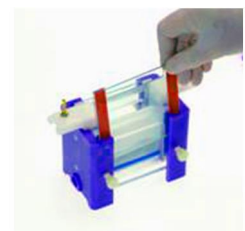
REMARQUE: Inversez toujours le tapis de silicone après le coulage pour éviter des empreintes persistantes. Ne jamais laisser le support en position debout avec les plaques de verre serrées dans le support pour de longues périodes de temps car cela peut laisser des traces permanentes sur le tapis de silicone. L'appareil est maintenant prêt pour la préparation de gel.

Coulée de gel verticale:

- 1) Mettez ensemble la plaque de verre pleine à séparateurs avec la plaque à encoches.

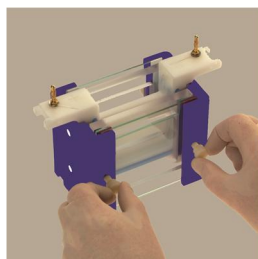


- 2) Insérez à l'intérieur la lame de pression avec la plaque à encoches de façon, à ce que la plus basse touche le joint et placer le module sur la surface plane à distance du support de coulage de gels.

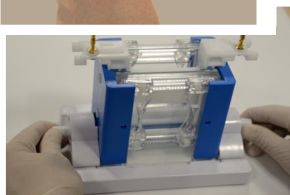


A) Version visée

- 3A) Serrez entièrement les vis pour éliminer les vibrations du module.



- 4) Insérez dans le support de coulage de gels. Poussez les cames à l'intérieur des trous dans l'insert. Tournez les cames d'environ 90° ou jusqu'à leur blocage. Ne pas trop serrer.

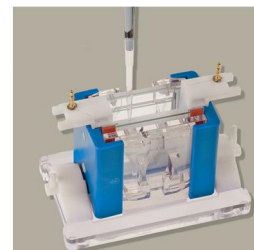


B) Version avec clamps glissants

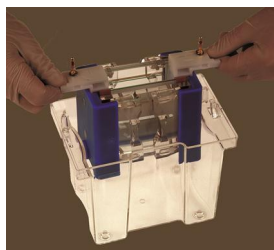
- 3B) Glissez et serrez entièrement les pinces - clamps pour éliminer les vibrations du dispositif.



- 5) Versez le gel de résolution et le laisser reposer. Ensuite, mettez la solution de gel de concentration (*stacking gel*) et insérez délicatement le peigne.



6) Une fois reposé, transférez le gel au réservoir et remplissez le compartiment inférieur et supérieur avec la solution tampon



Préparation de gel:

1. Les solutions stock de gels pour gels de SDS PAGE doivent être préparées et refroidies à l'avance, avant leur utilisation. Pour les formules de gel originales et des conditions de fonctionnement, veuillez bien consulter l'annexe. Le procédé ci-dessous décrit l'utilisation des solutions stock standards.
2. Le tableau 1 ci-dessous montre le volume total de solution de gel requis. Dans les tableaux suivants, les quantités de gel et les solutions sont donnés pour deux gels de 1 mm d'épaisseur. Si les gels ayant une autre épaisseur doivent être utilisés, il sera nécessaire de procéder à des ajustements.

Tableau 1.

ShiroGEL PAGE	
	Volume total de gel pour un gel de 1 mm d'épaisseur.
<i>Pour des épaisseurs différentes de gel, multipliez les valeurs ci-dessous par l'épaisseur du séparateur.</i>	
Simple – un gel, une plaque factice – paroi d'obturation pour migration d'un seul gel	7,5 ml
Double – deux gels	15 ml
Usage de la plaque à trois couches – quatre gels	30 ml

Choix de gel:

Des précautions doivent être prises lors de la sélection de taille des pores du gel devant être utilisée. Ces formules sont prévues pour gels Tris-glycine-SDS.

La taille des pores ou % du gel détermine la capacité de résolution pour de différentes tailles de la protéine. Consultez le tableau 2 ci-dessous qui détaille quel pourcentage du gel doit être utilisé pour séparer les dimensions des protéines indiquées.

Tableau 2.

Pourcentage d'acrylamide	Résolution de séparation
5%	60,0 - 220 KD
7,5%	45,0 - 120 KD
10%	25,0 - 75 KD
12%	14,4 - 65 KD
15%	6,5 - 45 KD
17,5%	5,5 - 30 KD

3. En utilisant les solutions stock indiquées dans l'annexe, préparez la solution de gel suivant les tableaux ci-dessous en mélangeant d'abord de l'eau distillée, la solution d'acrylamide à 30% et les solutions TRIS-SDS 4X. Après avoir mélangé, dégazez-les pendant 5 minutes pour éliminer l'oxygène libre qui va inhiber la polymérisation en éliminant les radicaux libres.
4. Pour la solution ci-dessus ajoutez le persulfate d'ammonium et le TMEDA et les mélangez doucement en évitant la formation de bulles d'air.

Tableau 3: Préparation de la solution de gel de séparation pour deux gels 10 x 10 cm à l'aide des séparateurs de 1 mm.

Solution	5%	7,5%	10%	12%	15%	17,5%
Eau distillée	8,7 ml	7,5 ml	6,3 ml	5,25 ml	3,75 ml	2,5 ml
Solution stock d'acrylamide à 30%	2,5 ml	3,75 ml	5 ml	6 ml	7,5 ml	8,75 ml
Solution Tris-SDS 4X pH 8,8	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml
Persulfate d'ammonium à 10%	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl

Versement de gel:

Pour les gels discontinus (systèmes de gel à empilement discontinu):

1. Insérez le peigne entre les plaques de verre et marquez un point sur les plaques de verre à 1 cm en dessous de la ligne de fin des dents de peigne. C'est le niveau du gel de résolution.
2. Remplissez de nouveau les plaques de verre en évitant de générer des bulles d'air. Le remplissage doit être effectué rapidement avant que le TMEDA (tétraméthyléthylène-diamine) provoque que le gel devienne trop visqueux.
3. Versez sur le gel avec une prudence extrême 1 ml de 1% de l'isobutanol, de l'isopropanol ou de l'eau distillée. Lors de l'utilisation de l'eau distillée des précautions supplémentaires doivent être prises pour ne pas la mélanger avec la solution de gel.
4. Laissez le gel de résolution polymériser. Habituellement, cela prend environ 15 à 30 minutes, mais cela peut varier en fonction de la concentration du gel. Si la polymérisation dure beaucoup plus longtemps que prévu, utilisez des solutions stock d'APS fraîches.
5. Préparez le gel de concentration (*stacking gel*) en utilisant le Tableau 5 ci-dessous à titre indicatif. Les solutions stock sont présentées à l'annexe.

Tableau 5.

Solution	ShiroGEL PAGE
Eau distillée	4,2 ml
Solution stock d'acrylamide à 30%	0,65 ml
Solution gel de concentration (<i>stacking gel</i>) Tris-SDS 4X Solution pH 6,6	1,6 ml
Persulfate d'ammonium à 10%	67 µl

6. Mélangez soigneusement l'eau distillée, l'acrylamide et la solution Tris-SDS, dégazez pendant 5 minutes.
7. Ajoutez le persulfate d'ammonium et le TMEDA, mélangez-les.
8. Versez le liquide de concentration et rincez le gel avec de l'eau distillée.
9. Utilisez la pipette Pasteur pour remplir les plaques de verre jusqu'au sommet de l'empilement des solutions de gel.
10. Insérez délicatement le peigne en s'assurant que les bulles d'air ne soient pas piégées dans les extrémités des dents de peigne car cela entraînera l'inhibition de la progression de l'échantillon.

11. Laisser le gel de concentration polymériser pendant 30 minutes.

Pour les gels continus (systèmes de gel à empilement continu):

1. Suivez les instructions concernant le mélange des solutions d'acrylamide, voire la section concernant les gels discontinus.
2. Remplissez les plaques à 1 cm au-dessous de la plaque à encoches, en évitant de générer des bulles d'air. Le remplissage doit être effectué rapidement avant que le TMEDA provoque que le gel devienne trop visqueux.
3. Insérez délicatement le peigne en s'assurant que les bulles d'air ne soient pas piégées dans les extrémités des dents de peigne car cela entraînera l'inhibition de la progression de l'échantillon.
4. Laissez le gel polymériser. Habituellement, cela prend environ de 15 à 30 minutes, mais cela peut varier en fonction de la concentration du gel. Si la polymérisation dure beaucoup plus longtemps que prévu, utiliser des solutions stock d'APS fraîches.

Préparation des échantillons de protéines dénaturées pour le chargement:

Les instructions ci-après se réfèrent aux échantillons dénaturés. Pour les échantillons natifs, consultez l'index.

1. Préparez les échantillons de protéines pour le chargement. Le volume de l'échantillon dépend de la capacité des puits. Consultez attentivement le tableau à la page 23.
2. En utilisant le tube micro-centrifugeuse (ependorf) de 0,5 ml ou un autre récipient convenable, mélangez des volumes égaux du colorant de chargement et de l'échantillon de protéine et le tampon d'échantillon 2X. Il est toujours conseillé d'utiliser des échelles de protéines, autrement dit marqueurs ou "ladders", de longueur en paires de base de fragments dans l'une des d'extrémités pour indiquer la taille des bandes. Celles-ci doivent être préparées selon les instructions du fabricant.
3. Réchauffez les échantillons dans un bain d'eau/bain marie ou un bloc de chauffage pendant 2 minutes pour dénaturer les échantillons. NOTE: le réchauffement doit se faire sous une hotte de 2-mercaptoéthanol.
4. Centrifugez les échantillons dans une micro-centrifugeuse pendant 20 secondes à la vitesse de 12 000 tours par minute. Les échantillons de protéines sont maintenant prêts à être chargés.

Chargement des échantillons:

1. Si demandé, montez le paquet/les paquets de refroidissement dans l'extrémité du réservoir. Ceux-ci doivent être montés avec le côté long placé horizontalement par rapport au réservoir et enfoncés dans la fente. Remarque: un paquet est fourni en standard. Les paquets supplémentaires peuvent être achetés.

2. Retirez les peignes avec un mouvement de balancement doux, rincez bien avec de l'eau distillé pour éliminer tout résidu.
3. Transférez le module de gel interne contenant des gels coulés dans le réservoir principal en le plaçant dans le sens correct comme indiqué à l'aide des - +ve sur le module aligné avec +ve sur le réservoir, -ve sur le module aligné avec -ve sur le réservoir.
4. Remplissez le réservoir externe avec une solution tampon 1X. Voir page 19 pour les solutions tampon recommandées. Le tableau 6. indique le volume de la solution tampon de migration nécessaire.

Tableau 6.

Solution tampon de migration	ShiroGEL PAGE
Minimum – réservoir intérieur est rempli à au-dessus des puits. Le réservoir extérieur réservoir est rempli de façon pour juste recouvrir le fond des plaques de verre. Le potentiel de refroidissement est au minimum ce qui peut affecter la résolution.	250 ml
Maximum – le réservoir intérieur est rempli au-dessus des puits. Le réservoir extérieur est rempli à la ligne de remplissage maximale. Le refroidissement est élevé et offre une bonne résolution d'échantillons.	1200 ml
Usage des paquets de refroidissement – Le réservoir intérieur est rempli au-dessus des puits. Les paquets de refroidissement sont insérés derrière les gels. Le réservoir extérieur est rempli jusqu'à la ligne de remplissage maximale. Le refroidissement maximal.	1000 ml

5. Chargez les échantillons dans les puits à l'aide d'une pointe de pipette en prenant soin de ne pas endommager les puits ou de ne pas créer les bulles d'air.
6. Remplissez tous les puits non utilisés avec la solution tampon 1X.
7. Notez l'orientation et l'ordre de chargement des échantillons. Cela peut être fait en notant lequel des échantillons a été chargé à côté de chaque électrode.

Procédé d'électrophorèse sur gel:

1. Installez le couvercle et connectez le dispositif à une source d'alimentation.
2. Consultez le tableau 7 pour plus de détails sur les réglages de tension d'alimentation recommandés.
3. Les temps d'exécution varie en fonction de la concentration et de la taille des protéines, lorsque le front de colorant atteint le fond 1 cm, mettez l'appareil hors tension ou plus tôt si vos protéines sont inférieures à la taille de 4 Kd.

4. Toujours débranchez le câble d'alimentation de l'appareil avant de retirer le couvercle.
5. Retirer le module du gel en fonction, en vidant en premier la solution tampon de migration interne dans le réservoir principal.
6. Dévissez les plaques de verre et détachez à part délicatement les plaques de verre. Le gel généralement restera collé à l'une des plaques et peut être enlevé par trempage d'abord dans la solution tampon et puis en l'enlevant délicatement avec une spatule.
7. Le gel est alors prêt pour des analyses.

Tableau 7.

Réglages de tension d'alimentation recommandée pour le gel 12%, 1 mm d'épaisseur.	PAGE ShiroGEL
un gel	90-225 V, 20-45 mA
deux gels	90-225 V, 40-90 mA
trois gels	90-225 V, 60-135 mA
quatre gels	90-225 V, 80-180 mA

La tension recommandée pour une résolution optimale avec un minimum de distorsion thermique de la bande est de 150 volts, réglage de tension constante. Aucun ajustement du réglage n'est nécessaire pour l'épaisseur ou le nombre de gels. Le temps de travail habituel est d'environ 40-45 minutes. Le courant doit être à environ 50 mA par gel (120 mA pour deux gels) au début du fonctionnement. Pendant les 45 minutes du travail, le courant va lentement descendre à environ 20 mA par gel. Cette baisse est due à la variation des ions de la solution tampon dans le gel, ce qui provoque une montée lente de la résistance dans le gel. Comme on pouvait s'y attendre suivant la loi d'Ohm ($V = I * R$), à une tension constante (V), une augmentation de la résistance (R) résulte en diminution du courant (I).

Transfert - migration des protéines à l'aide de l'insert de marquage ShiroGEL VWR

Mise en place de la cassette à plusieurs couches (sandwich): les solutions tampons les plus couramment utilisés sont indiquées à l'annexe.

1. Chaque sandwich de marquage doit être mise en place comme suit:
 - a. le côté de la pince (clamp) de cassette -ve (noir) placé dans un bac ou autre surface appropriée ;
 - b. un matelas de fibres prétrempé ;
 - c. deux morceaux de 0,45 µm de papier filtrant, prétrempés dans la solution tampon ;
 - d. le gel ; coupez le coin gauche pour l'indexation ;
 - e. la membrane de transfert ; la plupart des fabricants exigent le pré-trempage, mais consultez leurs instructions pour le type de membrane à utiliser ; la membrane doit être lissée de sorte que les bulles d'air ne soient pas enfermées sous la membrane.
 - f. deux morceaux de papier filtrant, prétrempés dans la solution tampon ;
 - g. un matelas de fibres prétrempé ;
 - h. la pince de cassette +ve (rouge) fendue dans la rainure dans le fond de la cassette noire.

Remarque: ne pas manipulez la membrane sans gants de protection.

2. Installez les tapis en fibre, le papier filtrant, la membrane de transfert de gel dans l'ordre décrit ci-avant et roulez avec une pipette pour en chasser l'air. Placez les cassettes noir et rouge avec la membrane orientée du côté de l'anode (rouge), fermez la charnière avec précaution afin de ne pas perturber le sandwich.

3. Remplissez le réservoir avec la solution tampon jusqu'à la **ligne de remplissage maximal** indiquée sur le côté de chaque unité. Consultez la page 20 de l'annexe pour les solutions tampons recommandées. Le transfert amélioré peut être obtenue à l'aide de la solution tampon refroidie.

Tableau 8. Indique le volume de la solution tampon demandé.

Volume de la solution tampon	Module de transfert ShiroGEL
une cassette	1380 ml
deux cassettes	1290 ml
trois cassettes	1380 ml
<i>Chaque paquet refroidissant prend place de 100 ml de la solution tampon.</i>	

Conditions de l'exécution du transfert:

1. Introduisez les cassettes dans les fentes du module avec la partie noire de chaque côté adjacent à l'électrode négative. Il est bien de noter l'orientation et l'ordre du chargement des sandwiches. Cela peut être fait en notant lesquels des échantillons ont été chargés à côté de chaque électrode.

2. L'utilisation de la barre d'agitation magnétique et de la plaque est recommandée pour mélanger la solution tampon afin de lui donner la consistance de transfert. La barre d'agitation de 4 mm de diamètre doit être placée sous le module, dans le centre du réservoir. Le paquet de refroidissement fourni, pré-congelé, peut être inséré sur le côté ou à l'avant du réservoir. Les paquets de refroidissement supplémentaires peuvent être achetés en tant que les accessoires assurant le support pour le refroidissement supplémentaire.
3. Insérez le module, fixez le couvercle et connectez à une source d'alimentation.
4. Consultez le tableau 9 pour plus de détails sur les paramètres de tension d'alimentation recommandés et les temps de transfert. Veuillez noter que la tension et l'intensité varient en fonction de quantité de cassettes, de type, de température, d'épaisseur de la solution tampon et de pourcentage de gel. Cela peut également affecter la qualité de transfert, donc il est conseillé d'ajuster le temps du transfert de vos échantillons et des conditions particulières.
5. Retirez les cassettes du réservoir principal.
6. Soulevez la charnière de chaque cassette et soulevez doucement au sandwich de transfert et retirez la membrane du gel.
7. La membrane peut maintenant être soumise à un traitement. N'oubliez pas de laisser le papier filtrant derrière le gel pour contrôler le rejet de petites protéines.

Tableau 9. Réglages de tension d'alimentation recommandée et les réglages courants.

Durée de marquage	Module de transfert ShiroGEL
Une heure	100 V, 400 mA
Trois heures	50 V, 200 mA

Dépannage

Consultez les informations dans le tableau ci-dessous pour résoudre les problèmes de fonctionnement.

Problème	Cause	Solution
Résolution faible	Volume d'échantillon trop grand	Faire concentrer les échantillons.
Fonctionnement dure trop longtemps	Solutions tampon trop concentrées.	Contrôler la procédure de préparation de la solution tampon ; diluez si nécessaire.
	Courant trop bas.	Augmentez la tension de 25-50%.
Fonctionnement trop rapide, résolution faible	Solutions tampon trop diluées.	Contrôler la procédure de préparation de la solution tampon ; faire concentrer si nécessaire.
	Courant trop élevé.	Diminuez la tension de 25-50%.
Bandes inclinées ou déformées	Faible polymérisation autour des puits d'échantillons.	Augmentez la concentration de persulfate d'ammonium et de TMEDA de 25%.
	Pression excessive appliquée sur les plaques de gel lorsque le gel est placé dans l'ensemble de serrage.	Ne pas trop serrer les vis sur l'ensemble de serrage.
	Réchauffement inégal du gel.	Utilisez un appareil refroidi ou réduisez le courant à laquelle l'électrophorèse est effectuée.
Bande s'étale latéralement	Diffusion de l'échantillon des puits avant la mise sous tension.	Réduire le temps entre l'application de l'échantillon et le démarrage de l'alimentation.
	Diffusion lors de la migration dans le gel de concentration.	Augmenter la tension de 25% lors de la concentration du gel ou augmentez % T de gel de concentration de 1%.
Bande de protéine se courbe vers le haut sur les côtés du gel « Effet de sourire »	Centre du gel en fonction plus chaude que les extrémités.	Diminuez la puissance. Vérifiez la procédure de préparation de la solution tampon afin d'assurer qu'elle soit correctement formulée.
Gel ne polymérise pas	Température trop basse.	Effectuez le marquage en température ambiante.
	Pas assez de persulfate d'ammonium ou de TMEDA.	Augmentez les deux de 50%.
	Persulfate d'ammonium ou TMEDA trop vieux.	Utilisez le persulfate d'ammonium et TMEDA frais.

Réparation et conservation de dispositifs ShiroGEL

Nettoyage de l'unité ShiroGEL

Il est recommandé de nettoyer les unités à l'eau chaude et avec détergent doux. **De l'eau à des températures supérieures à 60°C peut entraîner des dommages à l'appareil et ses composants.** Le réservoir doit être rincé à l'eau chaude et à l'eau distillée pour éviter l'accumulation de sels, mais il faut prendre soin de ne pas endommager l'électrode clos. Le nettoyage vigoureux n'est pas nécessaire ou conseillé. Avant chaque usage, il est conseillé de sécher le dispositif à l'air.

Les dispositifs doivent être nettoyés uniquement avec:

- eau chaude avec faible concentration de savon ou autre détergent doux. Détergents compatibles comprennent la liquide vaisselle. Les dispositifs ne doivent pas être laissés dans les détergents pour plus de 30 minutes.

Service technique

Ressources sur le Web

Visitez le site Web de VWR à l'adresse www.vwr.com pour :

- Coordonnées complètes du service technique.
- Accès au catalogue en ligne de VWR et à des informations sur les accessoires et produits connexes.
- Informations supplémentaires sur les produits et les offres spéciales.

Contactez-nous Pour plus d'informations ou une assistance technique, contactez votre représentant VWR local ou visitez le site www.vwr.com

Garantie

VWR International garantit ce produit pièces et main-d'œuvre pour une durée de deux (2) ans à compter de la date de livraison. En cas de vice, VWR pourra, à sa discrétion et à ses frais, réparer, remplacer ou rembourser au client le prix d'achat du produit, à condition qu'il lui soit retourné au cours de la période de garantie. Cette garantie n'est pas applicable si le dommage provient d'un accident, d'une utilisation abusive ou incorrecte, d'une mauvaise application ou de l'usure normale du produit. Cette garantie deviendrait non valide dans le cas où les services de maintenance et de vérification requis ne seraient pas exécutés conformément aux manuels et réglementations locales, sauf exception si le défaut du produit n'est pas imputable à cette non exécution.

Il est recommandé au client d'assurer les éléments retournés contre les risques éventuels d'endommagement ou de perte. Cette garantie se limite aux réparations susmentionnées. **IL EST EXPRESSÉMENT CONVENU QUE LA PRÉSENTE GARANTIE SE SUBSTITUE À TOUTES LES GARANTIES DE CONFORMITÉ ET DE VALEUR MARCHANDE.**

Conformité à la législation et aux réglementations locales

Le client est chargé de la demande et de l'obtention des approbations réglementaires et autres autorisations nécessaires à l'utilisation ou à l'exploitation du Produit dans l'environnement local. VWR ne saura être tenu responsable de toute omission ou non obtention des approbations ou autorisations requises, sauf exception si le refus est dû à un défaut du produit.

Traitement de l'équipement

Cet équipement comporte le symbole de la poubelle barrée qui indique que cet équipement ne doit pas être jeté avec les déchets non triés. Au contraire, il est de votre responsabilité d'éliminer correctement votre équipement à la fin du cycle de vie en le transmettant à une institution agréée pour la collecte et le recyclage. Il est également de votre responsabilité de décontaminer l'équipement en cas de contamination biologique, chimique et/ou radiologique, de manière à protéger contre les risques pour la santé des personnes impliquées dans l'élimination et le recyclage de l'équipement.

Pour plus d'informations sur les endroits où vous pouvez déposer vos déchets d'équipements, contactez votre revendeur local auprès duquel vous avez acheté cet appareil.



En respectant les instructions précitées, vous contribuerez à la conservation des ressources naturelles et de l'environnement et vous vous assurerez que votre équipement est recyclé de manière assurant la protection de la santé humaine.

Merci !

ANNEXE

Solutions

Annexe

Solutions stock pour les gels SDS PAGE:

Solution stock de gel acrylamide à 30%:

30,0 g d'acrylamide
0,8 g de méthylène bisacrylamide
Eau distillée jusqu'à 100 ml

Gel stock de résolution Tris 4X (Tris-HCl pH 8,8, 1,5 M, SDS 0,4 %)

À 110 ml de l'eau distillée ajouter 36,4 g de Tris
Ajouter 8 ml de dodécylsulfate de sodium (SDS) à 10%
Ajuster le pH jusqu'à 8,8 avec 1N HCl
Ajuster le volume final jusqu'à 200 ml avec de l'eau distillée.

Gel stock de concentration (*stacking gel*) Tris 4X (Tris-HCl pH 6,8, 0,5 M, SDS 0,4 %)

A 110 ml de l'eau distillé ajouter 12,12 g de Tris
Ajouter 8 ml de dodécylsulfate de sodium (SDS) à 10%
Ajuster le pH à 6,8 avec de 1N HCl

Solution stock tampon de migration Tris-Glycine-SDS (tampon TGS) 4X

36 g de Tris
172,8 g de glycine
Eau distillée jusqu'à 3 l

Solution tampon de migration Tris-Glycine-SDS (tampon TGS) 1X

750 ml de solution tampon de migration Tris-Glycine-SDS (tampon TGS) 4X
30 ml de dodécylsulfate de sodium (SDS) à 10%
Eau distillée jusqu'à 3 l
Ajouter de l'eau distillée pour le volume final jusqu'à 200 ml

APS 10% (solution de persulfate d'ammonium)

0,1 g de persulfate d'ammonium
1 ml d'eau distillée

Remarque: le persulfate d'ammonium se dégrade rapidement dans la solution, pour obtenir des meilleurs résultats il faut le jeter après 1 semaine.

Solution stock tampon d'échantillon 2X (*sample buffer*)

2 ml de glycérol à 50%

0,5 ml de 2-mercaptoethanol

4 ml de dodécylsulfate de sodium (SDS) à 10%

2,5 ml de 0,5 M Tris-HCl

1 ml de bleu de bromophénol à 1%

Eau distillée jusqu'à 10 ml

Aliquoter dans des microtubes de 1,5 ml. Conserver en température -20°C.

Choix de la membrane

Nitrocellulose

Bonne capacité de liaison de protéines qui se lient par des interactions hydrophobes

Taille des pores: 0,45 µm 0,22 µm

Transfert de protéines ou transfert de western (dit *western blot*)

Analyse des amino-acides

Nylon

Membrane microporeuse modifiée par des groupes basiques chargés fortement

Lie les macromolécules ADN ou ARN chargées négativement avec le fond bas

Taille des pores: 0,45 µm

Peut re-sonder

Transfert de Southern (technique dite *Southern blot*)

Transfert de northern (technique dite *northern blot*)

Immobilisation de phase solide

Immobilisation d'enzymes

Essais d'analyse de gène

PVDF (Polyfluorure de vinylidène)

Capacité de liaison élevée

Résistant aux solvants de liaison hydrophobe élevés

Compatible avec les taches de protéines et techniques d'immunodétection

Taille des pores 0,45 µm 0,22 µm

Peut re-sonder

Transfert de protéines ou transfert de western (technique dite *western blot* ou immunobuvardage)

Séquençage de protéines

Analyse des acides aminés

Systèmes analytique en phase solide

Préparation de la solution tampon de migration (dite *running buffer*) pour les protéines

Formulation de la solution tampon de migration (dite *running buffer*) de type Towbin

Gels natifs (en conditions natives)

Solution tampon de migration Towbin pH 8,3

25 mM de Tris, 192 mM de glycine, méthanol 20%,

3,0 g de Tris

14,4 g de glycine

200 ml de méthanol

Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 1 litre

Gels dénaturés (en conditions dénaturantes)

Solution tampon de migration Towbin pH 8,3, sans méthanol

25 mM de Tris, 192 M de glycine, méthanol,

3,0 g de Tris

14,4 g de glycine

Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 1 litre

Accessoires shiroGEL

700-0290	Module de transfert shiroGEL inclue 3 cassettes
700-0294	Support de coulage de gels pour le système shiroGEL de PAGE
700-0295	Module PAGE shiroGEL seulement (sans accessoires)
700-0296	Gel de séparation 0,75 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0297	Gel de séparation 1,5 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0298	Peigne à 10 puits d'échantillon 0,75 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0299	Peigne à 10 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0300	Peigne à 10 puits d'échantillon 1,5 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0301	Peigne à 12 puits d'échantillon 0,75 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0302	Peigne à 12 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0303	Peigne à 12 puits d'échantillon 1,5 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0304	Peigne à 12 puits d'échantillon 2,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0305	Peigne MC à 16 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0306	Gel de séparation 1 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0307	Peigne à 20 puits d'échantillon 0,75 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0308	Peigne à 20 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0309	Peigne à 20 puits d'échantillon 1,5 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0310	Gel de séparation 2 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0311	Peigne à 5 puits d'échantillon 0,75 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0312	Peigne à 5 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0313	Peigne à 5 puits d'échantillon 1,5 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0314	Peigne MC à 8 puits d'échantillon 1,0 mm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0315	Matelas en fibres de transfert shiroGEL
700-0316	Cassette de transfert shiroGEL
700-0317	Paquet de refroidissement mini pour le système shiroGEL de PAGE
700-0318	Plaque factice – paroi d'obturation pour migration d'un seul gel 10 x 10 cm pour le système shiroGEL de PAGE
700-0319	Plaque de verre à encoches avec 0,75 séparateurs shiroGEL
700-0320	Plaque de verre à encoches avec 1,5 séparateurs shiroGEL
700-0321	Plaque de verre à encoches avec 1,0 séparateurs shiroGEL
700-0322	Plaque de verre à encoches 10 x 10 cm shiroGEL
700-0323	Plaque de verre à encoches avec 2,0 séparateurs shiroGEL
700-0324	Plaque de verre avec 0,75 séparateurs shiroGEL
700-0325	Plaque de verre avec 1,5 séparateurs shiroGEL
700-0326	Plaque de verre avec 1,0 séparateurs shiroGEL
700-0327	Plaque de verre 10 x 10 cm shiroGEL
700-0328	Plaque de verre avec 2,0 séparateurs shiroGEL

Votre distributeur

Allemagne

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

Autriche

VWR International GmbH
Graumanngasse 7
1150 Wien
Tel.: 01 97 002 0
Fax: 01 97 002 600
Email: info.at@vwr.com

Belgique

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

Danemark

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2860 Søborg
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
Email: info.dk@vwr.com

Espagne

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
Email: info@es.vwr.com

Finlande

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 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
Tel.: 0 825 02 30 30 (0,18 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,18 € TTC/min)
Email: info@fr.vwr.com

Hongrie

VWR International Kft.
Simon László u. 4.
4034 Debrecen
Tel.: (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
Tel.: 01 88 22 222
Fax: 01 88 22 333
Email: sales.ie@vwr.com

Italie

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

Norvège

VWR International AS
Haavard Martinsens vei 50
0978 Oslo
Tel.: 0 2290
Fax: 815 00 940
Email: info.no@vwr.com

Pays-Bas

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

Pologne

VWR International Sp. z o.o.
Limbowia 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200
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
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
Email: info.pt@vwr.com

République Tchèque

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

Royaume-Uni

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

Suisse

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

Turquie

VWR International Laboratuvar
Teknolojileri Ltd. Şti.
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Istanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Email: info.tr@vwr.com

Australie

VWR International Pty. LTD
Level 1, Unit 1a/60 Enterprise Place
Tingalpa
QLD 4173 Australia
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123
Email: sales.au@vwr.com

Chine

VWR International China Co., Ltd
Shanghai Branch
Room 256, No. 3058 Pusan Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Email: info_china@vwr.com

Inde

VWR Lab Products Private Limited
No.139. BDA Industrial Suburb,
6th Main, Tumkur Road, Peenya Post,
Bangalore, India – 560058
Tel.: +91-80-28078400
Fax: +91-80-41117120
Email: vwr_india@vwr.com

Nouvelle-Zélande

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

Singapour

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

VWR shiroGEL

Mini cubetas de electroforesis en gel verticales

MANUAL DE INSTRUCCIONES

Numero(s) del catalogo europeoú:

PAGE¹-	700-0292
PAGE y sistema de electrotransferencia-	700-0293
Sistema de electrotransferencia-	700-0290

Versión: 2

Fecha de publicación: 01.11/2016

¹ Acrónimo en inglés de *polyacrylamide gel electrophoresis* (electroforesis en gel de poliacrilamida)



Dirección legal del fabricante

Estados Unidos

VWR International
1310 Goshen Parkway
West Chester, PA 19380
800-932-5000
<http://www.vwr.com>

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011
<http://be.vwr.com>

País de origen

Reino Unido

Índice

	Página
Precauciones de seguridad	1
Listas de envío	2
Configuración	4
Uso previsto	4
Formación de gel	6
Preparación de gel	9
Selección de gel	10
Vertimiento de gel	11
Preparación y carga de muestras	12
Procedimiento de electroforesis en gel	13
Configuración del inserto (módulo) de transferencia	15
Procedimiento de transferencia	15
Resolución de problemas	17
Cuidado y mantenimiento	18
Garantía	18
Apéndice	20
Lista de accesorios	23

Advertencia

Los dispositivos no plantean ningún riesgo para la salud a reserva de que se usen correctamente. No obstante, la intensidad de corriente producida por los dispositivos puede alcanzar niveles peligrosos y por lo tanto los deben utilizar sólo los operarios capacitados siguiendo las directrices establecidas en el presente manual de instrucciones.

Cada persona que intente utilizar este equipo debe leer su manual entero con mucho cuidado.

Información de seguridad



Para evitar un accidente eléctrico:

Nunca utilice el dispositivo sin la tapa de seguridad colocada en la posición correcta.



Para evitar un accidente eléctrico:

El dispositivo no debe utilizarse si muestra signos de daños en el tanque externo o la tapa.

Los dispositivos cumplen con los requisitos de las directivas aplicables en materia de seguridad y la marca CE:

Directiva Bajo Voltaje 2006/95/CE	Directiva RoHS 2011/65/EU relativa a la limitación del uso de ciertas sustancias peligrosas en equipos eléctricos y electrónicos
Directiva CEM 2004/108/EC de compatibilidad electromagnética	Directiva sobre residuos de equipos eléctricos y electrónicos - WEEE 2012/19/EU
IEC 61010-1:2010 (Third Edition)	IEC 61326-1:2005



Recomendaciones para evitar daños al instrumento

Los dispositivos nunca deben entrar en contacto con los siguientes productos de limpieza que pueden causarles daños irreversibles y acumulativos: -

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

El agua a temperaturas superiores a 60°C puede causar daño a tanques acrílicos, bandejas acrílicas y otros componentes.

Los tanques deben enjuagarse bien con agua tibia o destilada pero la limpieza vigorosa no es necesaria ni aconsejada. Se recomienda secarlos al aire antes de usar.

Productos de limpieza y accesorios

Los productos se limpian mejor usando agua tibia y detergente suave.

Los dispositivos deben limpiarse usando sólo los siguientes productos:

- solución de agua tibia y jabón de concentración baja u otro detergente suave compatible;
- detergentes compatibles incluyen líquidos lavaplatos, hexano e hidrocarburos alifáticos.

Los dispositivos no deben dejarse en detergentes por más de 30 minutos.

Descontaminación de la RNasa

La descontaminación puede realizarse siguiendo las instrucciones del siguiente protocolo:-

- limpie los dispositivos con detergente suave como se acaba de describir arriba;
- lávense con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3% durante 10 minutos;
- enjuague con agua destilada tratada con solución del DEPC (pirocarbonato de dietilo) al 0,1%.

Precaución: El DEPC es un posible carcinógeno. **Siempre utilice guantes y gafas de seguridad.**

También puede utilizarse RNaseZAP™ (Ambion®) para este fin. Consulte las instrucciones de su uso con los tanques de gel acrílicos.

Contenido del paquete

VWR ShiroGEL PAGE

Los dispositivos incluyen: tanque, tapa, electrodos y siguientes accesorios: -

	Cristales	Peines	Base para formación de geles	Paquete de refrigeración	Cables
Mini PAGE	Cristales formateados, juego de 2; Cristales planos con espaciadores fijos de 1 mm, juego de 2; Cristal simulado	12 peines para muestras de 2,1 mm de grosor	Base con almohadilla de silicona	Incluido	Rojo Negro

VWR ShiroGEL PAGE y sistema de electrotransferencia

Los dispositivos incluyen: tanque, tapa, electrodos y los siguientes accesorios: -

	Cristales	Peines	Base para formación de geles	Paquete de refrigeración	Cables
Mini PAGE con inserto (módulo) de electrotransferencia	Cristales formateados, juego de 2; Cristales planos con espaciadores fijos de 1 mm, juego de 2; Cristal simulado	12 peines para muestras de 2,1 mm de grosor	Base con almohadilla de silicona	Incluido	Rojo Negro
Inserto (módulo) de electrotransferencia	4 casetes, juego de 8 almohadillas de fibra				

Desempaque

Estas descripciones del producto e información sobre los componentes incluidos deben leerse inmediatamente al recibir los dispositivos para comprobar que todos los componentes se han incluido. En el momento de la recepción debe comprobar que el dispositivo no esté deteriorado. En caso de problemas o si encuentra piezas que faltan, póngase en contacto con su proveedor.

Instalación

Directrices y restricciones del uso:

- altitud máxima 2 000 m;
- rango de temperaturas entre 4°C y 60°C;
- humedad relativa máxima del 80% para las temperaturas de hasta 31°C disminuyendo linealmente hasta el 50% de humedad relativa a 40°C;
- no utilice el dispositivo en el exterior.

Este dispositivo está clasificado como GRADO DE CONTAMINACIÓN 2 según la norma IEC 664. GRADO DE CONTAMINACIÓN 2 establece que: “Normalmente ocurre sólo una contaminación no conductiva. Sin embargo, ocasionalmente, puede esperarse conductividad temporal causada por la condensación.”

Configuración del sistema vertical mini de shiroGEL:-

Instrucciones para conectar los electrodos

1. Fíjese en la posición de la tapa sobre el dispositivo. Esta posición indica la polaridad y la orientación correctas de los cables; el negro es negativo y el rojo positivo.
2. Retire la tapa del dispositivo. Tenga presente que el conector de dorado puede quedar suelto y deteriorar el electrodo si los cables se fijan sin retirar la tapa.
3. Atornille los cables en los agujeros roscados lo más fuerte posible para no dejar ningún intervalo entre la tapa y el borde principal de la guarnición del cable.
4. Reajuste la tapa.

Ahora el dispositivo está listo para usarse.

Uso previsto

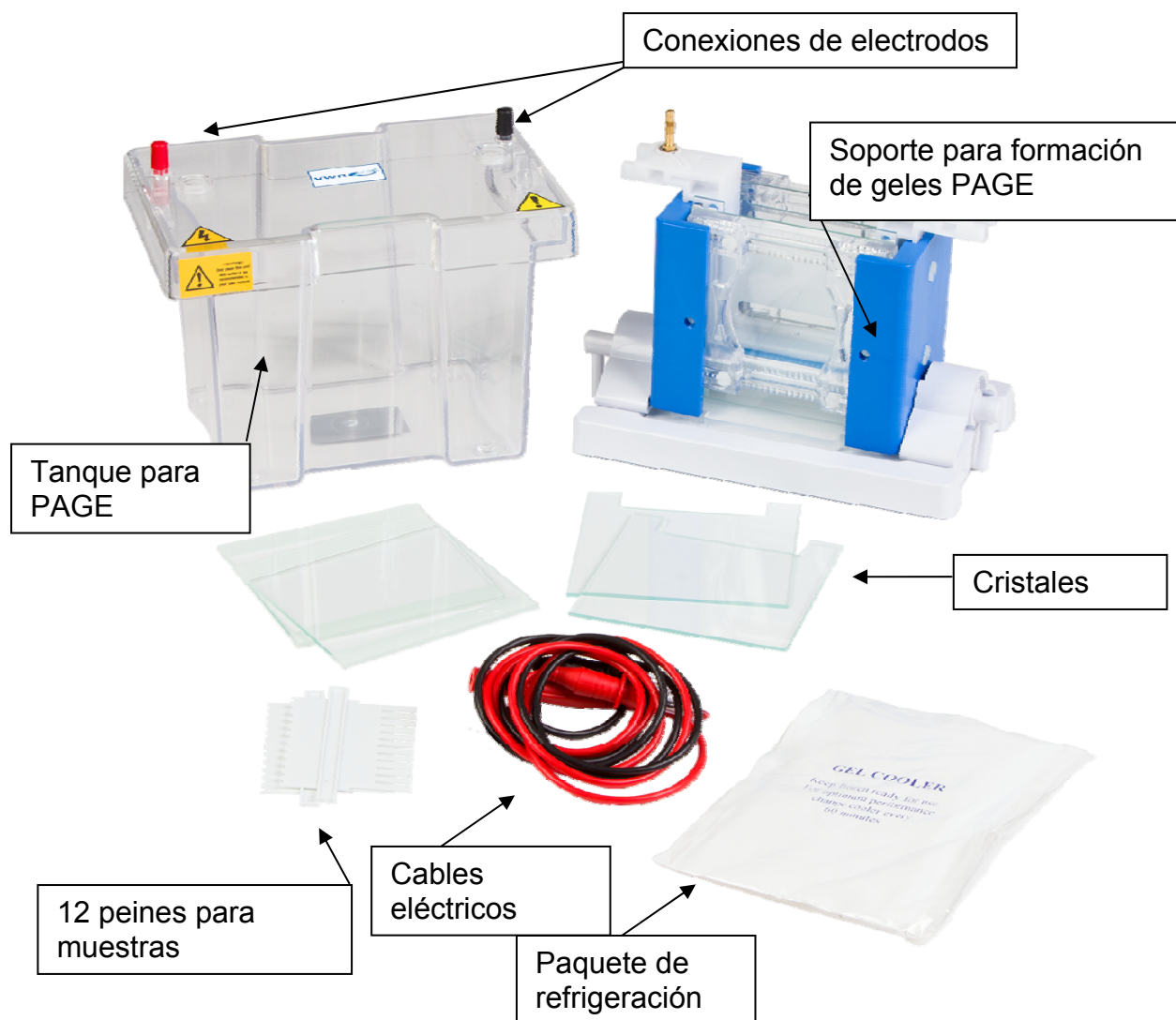
Este producto está diseñado exclusivamente para su uso en la investigación científica. No está diseñado para usos terapéuticos o diagnósticos en animales o seres humanos.

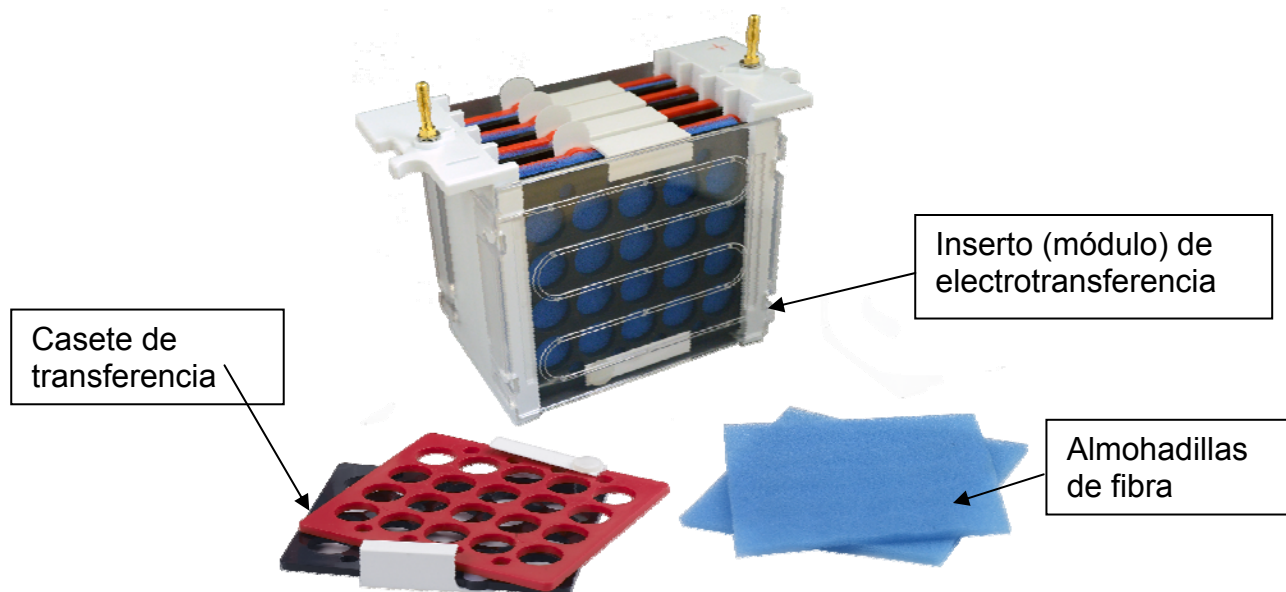
Símbolos y convenciones

La tabla a continuación es un glosario ilustrado de los símbolos que se usan en el presente manual.

	PRECAUCIÓN Este símbolo indica un riesgo potencial y le avisa al usuario de proceder con precaución
	PRECAUCIÓN Este símbolo indica la presencia de alta tensión eléctrica y advierte al usuario que proceda con precaución

Descripción de componentes

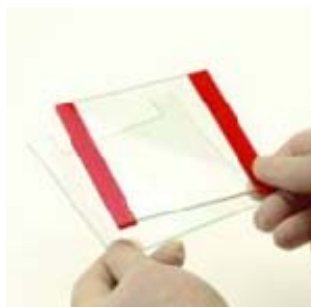




Guía de inicio

Formación de gel usando el sistema de shiroGEL: -

1. Limpie un juego de cristales para cada gel primero con agua destilada y luego con etanol al 70%. Un juego de cristales consiste de uno formateado y otro plano con espaciadores fijos. Cuando se usa la configuración tipo sándwich de tres cristales, se necesitan dos cristales formateados, un juego de espaciadores libres y un juego de cristales planos con espaciadores fijos. El cristal plano se coloca en la posición más externa, luego viene el formateado, espaciadores libres y el segundo cristal formateado. También se pueden ordenar cristales formateados adicionales. **Todos los cristales, módulos y accesorios de la base para formación de geles deben estar completamente secos durante su instalación. Los componentes húmedos estarán más propensos a desalinearse y causar fugas.**

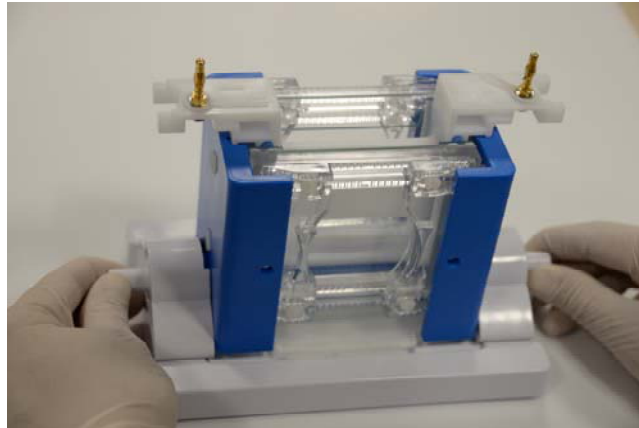


2. Arme los cristales de tal manera que su borde inferior y los espaciadores estén perfectamente alineados. En la configuración tipo sándwich, los espaciadores libres deben alinearse perfectamente lo cual se hace mejor utilizando un pequeño espaciador o un peine para apartarlos. Los cristales con espaciadores fijos no requieren de alineación manual.
NOTA: Los cristales con espaciadores fijos llevan una flecha encima de los espaciadores que son un poco más largos que los cristales mismos para indicar el borde superior.
3. El módulo de gel PAGE contiene unos listones de presión que distribuyen una presión uniforme sobre el borde de los cristales. Asegúrese de que los listones de presión estén abiertos suficientemente para el grosor del espaciador utilizado. El listón puede abrirse deslizando las abrazaderas abiertas. Al usar la configuración tipo sándwich de tres cristales, los listones de presión deben estar plenamente abiertos.



4. Ponga el módulo PAGE en una superficie plana. **De momento no ponga el módulo PAGE dentro de la base de formación.**
5. Coloque el montaje de cristales/espaciadores en el módulo vertical entre el listón de presión y la junta azul. Asegúrese de que los bordes inferiores de los cristales estén tocando el soporte y apriete bien las abrazaderas deslizantes. Para la corrida con un sólo gel, debe usarse un cristal simulado apretándolo bien en la posición prevista para el segundo cristal.
Nota: asegúrese de que los bordes inferiores de espaciadores y cristales estén alineados y que todos estos componentes toquen el contador.

6. Abra el asa de leva y coloque el perno de tal manera que estén orientados hacia abajo al contador. Coloque el inserto (módulo) de gel PAGE sobre la junta de la base para formación de geles de manera que los orificios en el módulo estén orientados hacia las levas. Tendrá que empujar muy ligeramente el borde superior del inserto de gel hacia abajo para localizar los pernos de la leva.

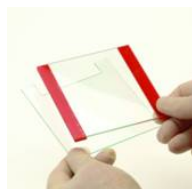


7. Con las asas de leva orientadas directamente hacia abajo, gire los pernos de leva 180° en la dirección opuesta o hasta que el inserto esté apretado sobre la almohadilla de silicona. Procure no girar demasiado ya que esto empujará los cristales hacia arriba y hará todo el juego más propenso a las fugas.

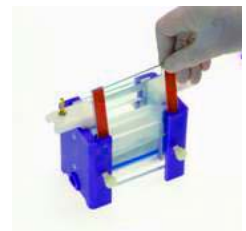
NOTA: Siempre invierta la almohadilla de silicona después de echar el gel para evitar la formación de hendiduras permanentes. Nunca deje el soporte vertical de formación con los cristales apretados a la base para formación de geles por períodos de tiempo prolongados lo cual puede dejar hendiduras permanentes en la almohadilla de silicona. El dispositivo está listo para la preparación de gel.

Formación vertical de gel:

- 1) Arme el cristal plano con espaciador fijo con el formateado.

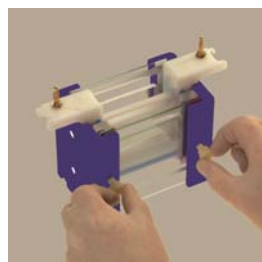


- 2) Póngalos **dentro** del listón de presión así que el cristal formateado más central toque la junta y coloque el módulo en una superficie plana **lejos de la base para formación de geles.**



A) Versión a tornillos

- 3A) Apriete los tornillos por completo para eliminar las vibraciones del módulo.



B) Versión con abrazaderas deslizantes

- 3B) Deslice las abrazaderas bien apretadas para eliminar las vibraciones.



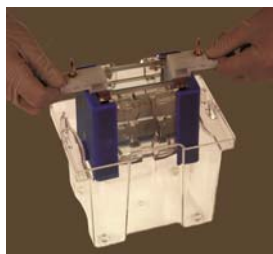
4) Sitúelo dentro de la base para formación. Empuje las levas en los agujeros del inserto. Gire las levas cerca de 90° o hasta que estén ajustadas por completo. No apriete demasiado.



5) Vierta el gel resolutive y permita que se fije. Luego añada la solución del gel apelmazador (*stacking*) y coloque el peine.



6) Una vez fijado el gel, transfíralo al tanque y llene los compartimientos interno y externo de tampón.



Preparación de gel:-

1. Las soluciones stock para geles SDS PAGE deben prepararse y enfriar antes de uso. Véase el apéndice para las fórmulas de geles nativos y condiciones de su uso. El protocolo a continuación se proporciona para el uso con las soluciones stock estándar.
2. La Tabla 1 a continuación muestra el volumen total de solución de gel requerido. En las tablas siguientes se muestran las cantidades de gel y soluciones para dos geles de 1 mm de grosor. Si se van a formar geles de otro grosor será necesario hacer ajustes.

Tabla 1.

ShiroGEL PAGE	
	Volumen total de gel para obtener gel con un grosor de 1 mm.
<i>Para obtener grosores diferentes de gel, multiplique las cantidades a continuación por el espesor del espaciador.</i>	
Un sólo gel - un gel, un cristal simulado	7,5 ml
Doble - dos geles	15 ml
La configuración tipo sándwich de tres cristales - cuatro geles	30 ml

Selección de gel:-

Seleccione con cuidado la porosidad del gel que quiere usar. Las presentes fórmulas son para geles de Tris-glicina-SDS.

La porosidad o el % de gel determina su poder resolutivo con las proteínas de diversos tamaños. Véase la Tabla 2 a continuación que detalla qué porcentaje de gel usar para separar las proteínas de tamaños indicados.

Tabla 2.

Porcentaje de acrilamida	Resolución de separación
5%	60,0 - 220 KD
7,5%	45,0 - 120 KD
10%	25,0 - 75 KD
12%	14,4 - 65 KD
15%	6,5 - 45 KD
17,5%	5,5 - 30 KD

3. Usando la solución stock proporcionada en el índice, prepare las soluciones de geles como sugieren las tablas a continuación mezclando primero el agua destilada desionizada (ddi), solución de acrilamida al 30% y las soluciones de TRIS-SDS 4x. Después de mezclar desgasifique por 5 minutos para eliminar el oxígeno libre que inhibiría la polimerización eliminando los radicales libres.
4. Añada el persulfato amónico y el TEMED a la solución anterior y mezcle suavemente para evitar la formación de burbujas de aire.

Tabla 3: Preparación de la solución de gel separador para dos geles 10 x 10 cm usando espaciadores de 1 milímetro.

Solución	5%	7,5%	10%	12%	15%	17,5%
Agua destilada	8,7 ml	7,5 ml	6,3 ml	5,25 ml	3,75 ml	2,5 ml
Solución stock de acrilamida al 30%	2,5 ml	3,75 ml	5 ml	6 ml	7,5 ml	8,75 ml
Solución Tris-SDS 4 x (pH 8,8)	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml
Persulfato amónico al 10%	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl

Vertimiento de gel:-

Para geles discontinuos (sistema tampón discontinuo):-

1. Ponga el peine entre los cristales y marque un punto en ellos 1 cm por debajo del extremo de los dientes del peine. Éste es también el nivel límite para el gel resolutivo.
2. Llene los cristales de nuevo evitando la formación de burbujas de aire. El llenado debe realizarse aprisa antes de que el TEMED² vuelva el gel demasiado viscoso.
3. Cubra el gel muy cuidadosamente con 1 ml de isobutanol al 1%, isopropanol o agua destilada. Cuando utiliza agua destilada tenga cuidado especial para evitar su mezcla con la solución de gel.
4. Deje que el gel resolutivo polimerice. Por lo general, la polimerización dura alrededor de 15 a 30 minutos pero su duración puede variar dependiendo de la concentración del gel. Si la polimerización dura mucho más que el tiempo indicado, use soluciones stock de persulfato amónico (APS) frescas.
5. Prepare el gel apelmazador usando la Tabla 5 a continuación como una guía. Las soluciones stock se encuentran en el apéndice.

Tabla 5.

Solución	ShiroGEL PAGE
Agua destilada	4,2 ml
Solución stock de acrilamida al 30%	0,65 ml
Solución Tris-SDS 4 X de gel apelmazador, pH 6,6	1,6 ml
Persulfato amónico al 10%	67 µl

6. Mezcle cuidadosamente el agua ddi, acrilamida y la solución Tris-SDS y desgasifique por 5 minutos.
7. Añada el persulfato amónico y el TEMED y los mezcle.
8. Escurra el líquido encubridor y enjuague el gel con agua destilada.
9. Con una pipeta Pasteur llene los cristales con la solución de gel apelmazador hasta la cima.

² N,N,N,N'-tetrametilnediamina, catalizador.

10. Coloque el peine con cuidado asegurándose de que ninguna burbuja de aire haya quedado atrapada debajo de los extremos de los dientes del peine lo cual inhibiría la progresión de la muestra.
11. Deje que el gel apelmazador polimerice por 30 minutos.

Para los geles continuos (sistema de tampón continuo):-

1. Siga las instrucciones para mezclar la solución de acrilamida, véase la sección para los geles discontinuos.
2. Llene cristales hasta 1 cm por debajo del extremo superior del cristal formateado evitando la formación de burbujas de aire. El llenado debe realizarse aprisa antes de que el TEMED vuelva el gel demasiado viscoso.
3. Coloque el peine con cuidado asegurándose de que ninguna burbuja de aire haya quedado atrapada debajo de los extremos de los dientes del peine lo cual inhibiría la progresión de la muestra.
4. Deje que el gel polimerice lo cual por lo general, toma alrededor de 15 a 30 minutos pero este tiempo puede variar según la concentración del gel o la frescura de los reactivos usados. Si la polimerización dura más que el tiempo indicado, use soluciones stock de persulfato amónico (APS) frescas.

Preparación de muestras de proteínas desnaturalizadas para la carga:

Las instrucciones a continuación se refieren a muestras de proteínas desnaturalizadas. Véase el índice de las muestras nativas.

1. Prepare las muestras de proteínas para la carga cuyo volumen dependerá de la capacidad de los pocillos. Véase la lista en la página 23.
2. Con un tubo de microcentrífuga (eppendorf) de 0,5 ml u otro recipiente conveniente, mezcle volúmenes iguales del colorante de carga, muestra de proteína y tampón de muestra 2X. Se aconseja usar siempre los patrones de proteínas en un extremo de las calles para indicar los tamaños de las bandas. Los patrones deben prepararse según las instrucciones del fabricante.
3. Caliente las muestras en un baño maría o termoblok durante 2 minutos para desnaturalizarlas. NOTA: Las muestras debe calentarse bajo una campana extractora de humos ya que 2-mercaptoetanol [usado en el proceso] es muy tóxico.
4. Centrifugue las muestras en una microcentrífuga durante 20 segundos con una velocidad de 12 000 rpm. Ahora las muestras de proteína están listas para cargarse.

Carga de muestras:

1. Si lo desea, coloque un paquete/unos paquetes de refrigeración en el extremo del tanque. Estos paquetes deben ajustarse de manera que su lado más largo sea colocado lateralmente respecto al extremo/a los extremos del tanque y deben empujarse adentro

de la hendidura. Nota: normalmente se suministra un paquete de refrigeración con el dispositivo. Pueden comprarse paquetes adicionales.

2. Retire los peines con un movimiento oscilante suave; enjuague bien el pocillo con el agua ddi para eliminar todo el residuo.
3. Transfiera el módulo interno que contiene los geles formados al tanque principal orientándolo correctamente como se indica - +ve en el módulo alineado con +ve del tanque y -ve en el módulo alineado con -ve del tanque.
4. Llene el tanque externo con el tampón de reserva 1x. Véase la página 19 para la solución de tampón electroforética recomendada. Tabla 6. muestra el volumen del tampón requerido.

Tabla 6.

Volumen de tampón	ShiroGEL PAGE
Mínimo – El tanque interno se llena hasta por encima de los pocillos. El tanque externo se llena sólo para inundar el extremo inferior de los cristales. La capacidad de refrigeración es mínima lo cual puede afectar la resolución.	250 ml
Máximo – El tanque interno se llena hasta por encima de los pocillos. El tanque externo se llena a la línea límite de llenado. La refrigeración es alta ofreciendo una buena resolución de las muestras.	1200 ml
Usando paquetes de refrigeración – El tanque interno se llena hasta por encima de los pocillos. Los paquetes de refrigeración se sitúan detrás de los geles. El tanque externo se llena a la línea límite de llenado. La refrigeración está al máximo.	1000 ml

5. Cargue las muestras en los pocillos con una punta de pipeta con cuidado de no dañar los pocillos o inducir burbujas de aire.
6. Llene los pocillos no utilizados con el tampón de muestra 1X.
7. Anote la orientación y el orden en que se han cargado las muestras. Puede hacerlo anotando cuáles muestras se han cargado junto a cada electrodo.

Procedimiento de electroforesis en gel:

1. Coloque la tapa y conéctela a una fuente de alimentación.
2. Véase la Tabla 7 para obtener los detalles de la tensión de alimentación recomendada y cómo ajustarla.
3. Los tiempos de corrida varían con la concentración y el tamaño de las proteínas; cuando el frente del colorante alcance el nivel de 1 cm inferior, apague el dispositivo (o antes, si sus proteínas son de tamaño menor de 4 Kd).

4. Siempre desenchufe el cable de alimentación del dispositivo antes de abrir la tapa.
5. Retire el módulo de gel electroforético vaciando primero el tampón interno al tanque principal.
6. Destornille los cristales y apártelos suavemente. Por lo general, el gel se adhiere a uno de los cristales y puede retirarse remojándolo primero en el tampón electroforético y luego levantándolo suavemente con una espátula.
7. Ahora el gel está listo para analizarse.

Tabla 7.

Ajustes de tensión y corriente recomendados para geles del 12% y con un grosor de 1 mm.	ShiroGEL PAGE
Un gel	90-225 V, 20-45 mA
Dos geles	90-225 V, 40-90 mA
Tres geles	90-225 V, 60-135 mA
Cuatro geles	90-225 V, 80-180 mA

La tensión recomendada para obtener una resolución óptima con una distorsión térmica de banda mínima es de 150 voltios, con voltaje constante. No es necesario ajustar la tensión por el grosor o el número de geles. El tiempo normal de la corrida es aproximadamente 40-45 minutos. La intensidad de corriente debe ser aproximadamente 50 mA para un gel (120 mA para dos geles) al principio de la corrida. Durante la corrida de 45 minutos, la corriente disminuirá lentamente a alrededor de 20 mA con un gel. Este descenso se debe al cambio en iones del tampón en el gel lo cual produce un crecimiento lento en la resistencia en el gel. Como era de esperar de la Ley de Ohm ($V=I \cdot R$), a la tensión (voltaje) constante (V) el aumento de la resistencia (R) resulta en un descenso de la intensidad de corriente (amperaje) (I).

Transferencia de proteínas con el dispositivo de electrotransferencia VWR ShiroGEL

Montaje del casete tipo sándwich: las soluciones de tampón más comúnmente utilizadas se enumeran en el apéndice.

1. Cada sándwich de transferencia debe montarse como sigue: -
 - a. El lado -ve (negro) de la abrazadera del casete se pone encima de una bandeja u otra superficie adecuada.
 - b. Almohadilla de fibra preremojada.
 - c. Dos tiras de papel del filtro de 0,45 µm preremojadas en el tampón.
 - d. Gel. Corte la esquina izquierda para la indexación.
 - e. Membrana de transferencia. La mayoría de los fabricantes requieren un remojo previo pero consulte sus instrucciones para el tipo de membrana utilizada. Se debe alisarlo para asegurarse de que ningunas burbujas de aire hayan sido atrapadas.
 - f. Dos tiras de papel del filtro preremojadas en el tampón.
 - g. Almohadilla de fibra preremojada.
 - h. El lado (rojo) +ve de la abrazadera del casete se debe empujar en una ranura que se encuentra en el extremo inferior del casete negro.

Nota: no maneje la membrana sin guantes.
2. Monte las almohadillas de fibra, tiras de papel del filtro y la membrana de transferencia del gel en el orden antedicho y rodee una pipeta por encima del montaje para eliminar todo aire atrapado. Coloque los casetes negro y rojo con la membrana orientada hacia el ánodo (lado rojo), cierre la bisagra con cuidado de no romper el sándwich.
3. Llene el tanque de la solución de tampón hasta la **línea límite** indicada en el lado de cada dispositivo. Véase el apéndice en la página 20 para las soluciones de tampón recomendadas. La calidad de transferencia será mejor si usa el tampón enfriado.

Tabla 8 indica el volumen de tampón requerido.

Volumen de tampón	Dispositivo de electrotransferencia ShiroGEL
Un casete	1380 ml
Dos casetes	1290 ml
Tres casetes	1380 ml
<i>Cada paquete de refrigeración ocupa un espacio de 100 ml de tampón.</i>	

Condiciones de transferencia (blotting):

1. Coloque los casetes en las ranuras en el módulo con sus lados negros adyacentes al electrodo negativo. Es una buena idea de anotar la orientación y el orden en que se han cargado los sándwiches de transferencia. Puede hacerlo anotando cuáles muestras se han cargado junto a cada electrodo.

2. Se recomienda mezclar el tampón con una barra de agitación y una placa magnéticas para asegurar una transferencia consistente. Una barra de agitación de 4 mm de diámetro debe colocarse debajo del módulo, en el centro del tanque. Se puede poner el paquete de refrigeración proporcionado, precongelado, al lado o en el frente del tanque en caso de unas transferencias prolongadas. Pueden adquirirse paquetes de refrigeración adicionales como accesorios para mejorar la refrigeración.
3. Coloque el módulo, ponga la tapa y conéctela a una fuente de alimentación.
4. Véase la Tabla 9 para obtener los detalles de la tensión de alimentación y tiempos de transferencia recomendados y cómo ajustarlos. Tenga en cuenta que las tensiones y corriente pueden variar según número de casetes, tipo y temperatura de tampón, grosor y porcentaje de gel. Lo anterior afectará también la calidad de transferencia así que debe ajustar el tiempo de transferencia a sus muestras y condiciones particulares.
5. Pasado el tiempo de transferencia, apague el dispositivo y retire la tapa.
6. Retire los casetes del tanque principal.
7. Levante la bisagra de cada casete y aparte el sándwich de transferencia suavemente y retire la membrana con el gel.
8. Ahora la membrana está lista para procesarse. No se olvide de guardar una tira papel del filtro detrás del gel para comprobar la migración de proteínas más pequeñas a través del medio.

Tabla 9: Ajustes de la tensión y corriente recomendados.

Duración de la transferencia	Dispositivo de electrotransferencia ShiroGEL
Una hora	100 V, 400 mA
Tres horas	50 V, 200 mA

Resolución de problemas

Lea la información contenida en la tabla a continuación para resolver los problemas de funcionamiento.

Problema	Causa	Solución
Mala resolución	Volumen de la muestra demasiado grande	Aumente la concentración de la solución de muestra.
Recorrido excepcionalmente largo	Los tampones están demasiado concentrados.	Véase el protocolo de tampón; diluya el tampón si es necesario.
	Corriente (amperaje) demasiado débil.	Aumente la tensión por un 25-50%.
Recorrido demasiado rápido, mala resolución	Tampones demasiado diluidos.	Véase el protocolo de tampón; aumente la concentración del tampón si es necesario.
	Corriente (amperaje) demasiado alta.	Disminuya la tensión por un 25-50%.
Bandas son torcidas o distorsionadas	Mala polimerización alrededor de los pocillos.	Aumente las concentraciones de persulfato amónico y TEMED por un 25%.
	Presión excesiva ejercida sobre los cristales al poner el gel en el montaje.	No apriete los tornillos demasiado en el montaje.
	Calentamiento del gel no era uniforme.	Utilice un dispositivo enfriado o bien reduzca la corriente de electroforesis.
Bandas extendidas lateralmente	Difusión de la muestra fuera de los pocillos antes de encender el dispositivo.	Reduzca al mínimo el tiempo entre la colocación de la muestra y la activación de la fuente de alimentación.
	Difusión durante la migración a través del gel apelmazador.	Aumente la tensión por 25% durante la fase de gel apelmazador o la concentración de acrilamida (%T) en el gel apelmazador por 1%.
Las curvas de la banda de proteína dirigidas hacia arriba en ambos extremos del gel. "Efecto sonrisa"	Centro del gel está más caliente que sus extremos.	Disminuya la corriente alimentada. Véase el protocolo de tampón para asegurarse de que esté formulado correctamente.
El gel no polimeriza	Temperatura demasiado baja.	Forme el gel a temperatura ambiente.
	Demasiado poco persulfato amónico o TEMED.	Aumente ambos por un 50%.
	El persulfato amónico o el TEMED son viejos.	Utilice el persulfato amónico fresco y el TEMED nuevo.

Reparación y mantenimiento de dispositivos ShiroGEL

Limpieza de dispositivos ShiroGEL

Los productos se limpian mejor con agua tibia y un detergente suave. **El agua a temperaturas superiores a 60° C puede causar daño al dispositivo y sus componentes.** El tanque debe enjuagarse bien con agua tibia y también destilada para prevenir la acumulación de sales pero hágalo con cuidado de no dañar el electrodo incluido. La limpieza vigorosa no es necesaria ni aconsejada. Se recomienda secarle al aire antes de usar.

Los dispositivos deben limpiarse usando sólo los siguientes productos:-

Agua tibia con baja concentración de jabón u otro detergente suave. Detergentes compatibles incluyen líquidos lavaplatos. Los dispositivos no deben dejarse en detergentes por más de 30 minutos.

Servicio técnico

Recursos en Internet

Visite la página de VWR en www.vwr.com para:

- Obtener los contactos del servicio técnico
- Acceder al Catálogo en línea de VWR y obtener información acerca de accesorios y productos relacionados
- Información adicional sobre productos y ofertas especiales

Contacto Para obtener más información o asistencia técnica póngase en contacto con su representante local de VWR o visite. www.vwr.com

Garantía

VWR International garantiza que este producto estará libre de defectos de material y fabricación durante un periodo de dos (2) años a partir de la fecha de entrega. En el caso de que exista algún defecto, VWR elegirá, a su elección y corriendo con los gastos, reparar, cambiar o rembolsar el importe de este producto al cliente, siempre y cuando se devuelva durante el periodo de la garantía. Esta garantía no se aplica si el producto ha sufrido daños a causa de un accidente, abuso, uso indebido o incorrecto o del desgaste por el uso normal. Si los servicios de inspección y mantenimiento precisos no se efectúan de acuerdo con las indicaciones de los manuales o las normativas locales aplicables, la garantía no será válida, salvo si el defecto del producto no se debe a dicho incumplimiento.

El cliente debe asegurar los productos devueltos contra posibles daños o pérdida. Esta garantía se limita a los recursos anteriormente mencionados. **SE ACUERDA EXPRESAMENTE QUE ESTA GARANTÍA SUSTITUYE A TODAS LAS GARANTÍAS DE IDONEIDAD Y COMERCIALIDAD.**

Cumplimiento de leyes y normativas locales

El cliente tiene la responsabilidad de solicitar y conseguir las autorizaciones reglamentarias necesarias o cualquier otro tipo de autorización necesaria para utilizar el producto en su entorno local. VWR no se responsabiliza de cualquier omisión relacionada o de la no obtención de la autorización necesaria, a menos que la desestimación se deba a un defecto del producto.

Desecho del equipo



El equipo está marcado con el símbolo del contenedor tachado indicando que el equipo no debe tirarse con los residuos domésticos mezclados.

Es su responsabilidad desechar su equipo correctamente al final de su ciclo de vida entregándolo a un centro autorizado para la recogida selectiva y el reciclaje. Es también su responsabilidad descontaminarlo en caso de su contaminación biológica, química y/o radiológica a fin de proteger contra los riesgos para la salud a todas personas involucradas en su eliminación y reciclaje.

Para obtener más información cómo puede desechar los dispositivos gastados, póngase en contacto con su distribuidor local de quien adquirió el equipo.

Así ayudará a conservar los recursos naturales y ambientales y se asegurará de que su equipo se recicle de una forma que proteja la salud humana.

Gracias

APÉNDICE

Soluciones

Apéndice

Soluciones stock para geles de SDS PAGE:-

Solución stock de acrilamida 30% para geles:-

- 30,0 g de acrilamida
- 0,8 g de metileno-bis-acrilamida
- Agua destilada a 100 ml

Solución stock para gel resolutivo (gel de resolución) Tris 4 X (Tris-HCl pH 8,8, 1,5 M, SDS al 0,4%)

- A 110 ml del agua destilada añada 36,4 g de la base Tris
- Añada 8 ml del SDS 10%
- Ajuste el pH a 8,8 con 1N HCl
- Ajuste el agua destilada hasta el volumen final de 200 ml

Solución stock para gel apelmazador Tris 4 X (Tris-HCl pH 6,8, 0,5 M, SDS al 0,4%)

- Al agua destilada 110 ml añada 12,12 g de la base Tris
- Añada 8 ml del SDS 10%
- Ajuste el pH a 6,8 con 1N HCl

Solución stock para tampón de migración (buffer del tanque) Tris-glicina-SDS 4 X

- 36 g de base Tris
- 172,8 g de glicina
- Agua destilada a 3 l de volumen

Solución stock para tampón de migración (buffer del tanque) Tris-glicina-SDS 1 x

- 750 ml de Tris-glicina-SDS 4 X para tampón de migración
- 30 ml de SDS 10%
- Agua destilada hasta 3 litros
- Complete con agua destilada hasta el volumen final de 200 ml

APS al 10% (solución de persulfato amónico)

- 0,1 g de persulfato amónico
- 1 ml de agua destilada

Tenga en cuenta que el persulfato amónico se degrada rápidamente en una solución; para mejores resultados deséchelo al pasar 1 semana.

Solución stock tampón de muestra 2 X

2 ml de glicerol al 50%

0,5 ml de 2-mercaptoetanol

4 ml de SDS al 10%

2,5 ml de 0,5 M Tris-HCL

1 ml de azul de bromofenol al 1%

Agua ddi hasta 10 ml

Alícuote en tubos eppendorf de 1,5 ml. Almacene a -20°C.

Selección de membrana

Nitrocelulosa

Las proteínas con buena capacidad para unirse se adhieren en efecto de interacciones hidrofóbicas

Porosidad: 0,45 μ m 0,22 μ m

Transferencia western

Análisis de aminoácidos

Nilón

Membrana microporosa modificada con grupos básicos fuertemente cargados

Fija macromoléculas del ADN o ARN negativamente cargadas con un fondo bajo

Porosidad (tamaño de poro) 0,45 μ m

Puede ser resondeada

Transferencia Southern

Transferencia northern

Inmovilización de la fase sólida

Inmovilización de enzimas

Ensayos con sondas de genes

PVDF

Alta capacidad de fijación

Alta capacidad de fijación hidrofóbica, resistente a solventes

Compatible con las técnicas de manchas diferenciales de proteínas e inmunodetección

Porosidad (tamaño de poro) 0,45 μ m 0,22 μ m

Puede ser resondeada

Transferencia western

Secuenciación de proteínas

Análisis de aminoácidos

Sistemas de ensayos con la fase sólida

Proteínas para la preparación de tampones

Tampones de carga (Towbin)

Geles nativos

Tampón de carga del pH 8,3

25 mM de TRIS, 192 mM de glicina, metanol al 20%,

3,0 g de TRIS

14,4 g de glicina

200 ml de metanol

completa con agua ddi hasta 1 litro

Geles desnaturalizados

Tampón de carga del pH 8,3, sin metanol

25 mM de TRIS, 192 mM de glicina, metanol,

3,0 g de TRIS

14,4 g de glicina

completa con agua ddi hasta 1 litro

Accesorios del dispositivo shiroGEL

700-0290	Módulo de transferencia shiroGEL consiste de 3 casetes
700-0294	Base de formación shiroGEL para el sistema PAGE
700-0295	Sólo módulo PAGE shiroGEL (sin accesorios)
700-0296	Gel espaciador de 0,75 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0297	Gel espaciador de 1,5 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0298	Peine 10 con pocillos para muestras de 0,75 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0299	Peine 10 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0300	Peine 10 con pocillos para muestras de 1,5 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0301	Peine 12 con pocillos para muestras de 0,75 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0302	Peine 12 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0303	Peine 12 con pocillos para muestras de 1,5 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0304	Peine 12 con pocillos para muestras de 2,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0305	Peine MC 16 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0306	Gel espaciador de 1 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0307	Peine 20 con pocillos para muestras de 0,75 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0308	Peine 20 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0309	Peine 20 con pocillos para muestras de 1,5 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0310	Gel espaciador de 2 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0311	Peine 5 con pocillos para muestras de 0,75 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0312	Peine 5 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0313	Peine 5 con pocillos para muestras de 1,5 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0314	Peine MC 8 con pocillos para muestras de 1,0 mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0315	Almohadilla de fibra para transferencia shiroGEL
700-0316	Casete de transferencia de shiroGEL
700-0317	Paquete de refrigeración mini para el sistema PAGE shiroGEL
700-0318	Cristal simulado 10 x 10 cm mm para el sistema PAGE de shiroGEL
700-0319	Cristal formateado con espaciadores shiroGEL 0,75
700-0320	Cristal formateado con espaciadores shiroGEL 1,5
700-0321	Cristal formateado con espaciadores shiroGEL 1,0
700-0322	Cristal formateado con espaciadores shiroGEL 10 x 10 cm
700-0323	Cristal formateado con espaciadores shiroGEL 2,0
700-0324	Cristal con espaciadores shiroGEL 0,75
700-0325	Cristal con espaciadores shiroGEL 1,5
700-0326	Cristal con espaciadores shiroGEL 1,0
700-0327	Cristal shiroGEL, de 10 x 10 cm
700-0328	Cristal con espaciadores shiroGEL 2,0

Su Distribuidor Europeo

Alemania

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

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Wien
Tel.: 01 97 002 0
Fax: 01 97 002 600
Email: info.at@vwr.com

Bélgica

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

Dinamarca

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2860 Søborg
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
Email: info.dk@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
Email: info.es@vwr.com

Finlandia

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Fax: 09 80 45 52 00
Email: 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 (0,18 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,18 € TTC/min)
Email: info@fr.vwr.com

Holanda

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

Hungría

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

Irlanda / Irlanda del Norte

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
Email: sales.ie@vwr.com

Italia

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

Noruega

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

Polonia

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200
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
Tel.: 21 3600 770
Fax: 21 3600 798/9
Email: info.pt@vwr.com

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
Email: uksales@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
Email: info.cz@vwr.com

Suecia

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

Suiza

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

Turquía

VWR International Laboratuvar
Teknolojileri Ltd.Şti.
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Istanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Email: info.tr@vwr.com

Australia

VWR International Pty.LTD
Level 1, Unit 1a/60 Enterprise Place
Tingalpa
QLD 4173 Australia
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123
Email: sales.au@vwr.com

China

VWR International China Co., Ltd
Shanghai Branch
Room 256, No. 3058 Pusan Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Email: info_china@vwr.com

India

VWR Lab Products Private Limited
No.139, BDA Industrial Suburb,
6th Main, Tumkur Road, Peenya Post,
Bangalore, India - 560058
Tel.: +91-80-28078400
Email: 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
Email: sales@globalscience.co.nz

Singapur

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

VWR shiroGEL

Mini camera per elettroforesi verticale

MANUALE D'ISTRUZIONI

Numero o numeri nel catalogo europeo:

Dispositivo PAGE¹-	700-0292
PAGE e Blotter-	700-0293
Dispositivo di trasferimento Blotter-	700-0290

Versione: 2

Emessa: 01.11/2016

¹ 1 Elettroforesi su gel di poliacrilammide l'acronimo inglese PAGE di *poly-acrylamide gel electrophoresis*



Sede legale del produttore

Stati Uniti

VWR International
Bldg. One Suite 200
100 Matsonford Road
Radnor, PA 19087
800-932-5000
<http://www.vwr.com>

Europa

VWR International bvba
Researchpark Haasrode 2020
Geldenaaksebaan 464
B-3001 Leuven
+ 32 16 385011
<http://be.vwr.com>

Paese di origine

GB - GRAN BRETAGNA

Tabella di contenuti

	Pagina
Precauzioni di sicurezza	1
Distinta del contenuto	2
Impostazioni	4
Uso previsto	4
Colaggio del gel	6
Preparazione del gel	9
Selezione del gel	10
Versamento del gel	11
Preparazione e carico dei campioni	12
Corsa del gel	13
Impostazione dell'inserto di electroblotting	15
Corsa elettroforetica del blot	15
Soluzione dei problemi	17
Cura e manutenzione	18
Garanzia	18
Appendice	20
Lista accessori	23

Avvertenza

Se usati correttamente, questi strumenti non pongono il rischio alla salute. Comunque sono fonte delle tensioni pericolose, perciò devono essere usati esclusivamente dal personale qualificato e rispettando le raccomandazioni contenute nel presente manuale d'istruzioni.

Chiunque intende utilizzare questo strumento, deve prima leggere con attenzione il presente manuale.

Informazioni di sicurezza



Pericolo di scossa elettrica:

Lo strumento non deve essere mai usato senza il coperchio di sicurezza in posizione.



Pericolo di scossa elettrica:

Lo strumento non deve essere mai usato nel caso di segnalazione di un guasto alla vasca esterna o al coperchio.

Questi strumenti sono conformi alle direttive di sicurezza CE previste dalla legge:

Direttiva di bassa tensione 2006/95/CE	Direttiva RoHS 2011/65/EU
Direttiva EMC 2004/108/EC	Direttiva WEEE 2012/19/EU
IEC 61010-1:2010 (Third Edition)	IEC 61326-1:2005



Pericolo di danneggiamento dello strumento

Questo strumento non deve mai andare in contatto con i seguenti agenti che causano i danni cumulativi e irreversibili:

acetone, fenolo, cloroformio, tetraclorometano, metanolo, etanolo, alcol isopropilico, alcali.

Acqua alla temperatura superiore ai 60°C può danneggiare le vasche acriliche, vassoi ed altri componenti.

I serbatoi devono essere sciacquati con acqua calda o acqua distillata, ma il lavaggio energico non è necessario né consigliato.

Prodotti di pulizia ed accessori

Gli strumenti vengono puliti meglio utilizzando acqua calda e detersivo dolce.

Questi strumenti devono essere puliti utilizzando solo:

- acqua calda con bassa concentrazione di sapone o altro detersivo dolce compatibile.
- detersivi compatibili includono il detersivo lavapiatti, esano e idrocarburi alifatici.

Questi strumenti non devono essere lasciati nel detergente per più di 30 minuti.

RNase disinfezione

Può essere eseguita utilizzando il seguente protocollo:-

Pulire i dispositivi con un detersivo dolce come descritto sopra.

Lavare con acqua ossigenata 3% (H₂O₂) per 10 minuti.

Sciacquare con acqua distillata trattata con DEPC - (pirocarbonato di dietile) 0,1%,

Precauzione: il DEPC è sospetto cancerogeno. **Indossare sempre i guanti e gli occhiali protettivi.**

Può essere inoltre usato RNaseZAP™ (Ambion). Leggere le istruzioni per uso con serbatoi di gel acrilico.

Contenuti del pacco

VWR ShiroGEL PAGE

Gli strumenti includono la vasca, il coperchio ed elettrodi, nonché i seguenti accessori:-

	Lastrine di vetro	Pettini	Base di colata	Base di raffreddamento	Cavi
Mini PAGE	Lastrine di vetro, intagliate, (conf. da 2) Lastrine di vetro, semplici con spaziatori 1 mm integrati, (conf. da 2) Falsa piastra	2, spessore 1 mm, 12 pettini per campioni	Base con tappeto di silicone (o base di colaggio)	integrata	Rosso Nero

VWR ShiroGEL PAGE e Blotter

Gli strumenti includono il serbatoio, coperchio ed elettrodi ed inoltre i seguenti accessori:-

	Lastrine di vetro	Pettini	Base di colata	Base di raffreddamento	Cavi
Mini PAGE con inserto di blotting	Lastrine di vetro, intagliate, (conf. da 2) Lastrine di vetro, semplici con spaziatori 1 mm integrati, (conf. da 2) Falsa piastra	2, spessore 1 mm, 12 pettini per campioni	Base con tappeto di silicone (o base di collaggio)	integrata	Rosso Nero
Inserto di blotting	4 cassette, pacco di 8 inserti di fibra				

Disimballo

È necessario leggere la descrizione di questo prodotto e l'informazione sui componenti inclusi non appena questi siano ricevuti per assicurarsi della completezza della fornitura. Alla consegna bisogna controllare se lo strumento non ha subito i danni. Per un qualsiasi problema o elemento mancante si prega di contattare il fornitore.

Installazione

Guida all'uso e restrizioni:

- altitudine massima 2,000 m;
- campo di temperature da 4°C a 60°C;
- umidità relativa max 80% per la temperatura fino a 31°C decrescente in modo lineare fino a 50% di umidità relativa a 40°C;
- non adatti per uso esterno.

L'apparato è classificato come GRADO DI INQUINAMENTO 2 in accordo con la norma CEI 664. GRADO DI INQUINAMENTO 2, afferma che: "Normalmente si presenta solo inquinamento non conduttivo. Occasionalmente può verificarsi una temporanea conduttività dovuta all'eventuale condensa."

Impostazione del sistema verticale mini shiroGEL:-

Istruzioni di collegamento dei cavi di elettrodo

1. Memorizzare la posizione del coperchio sullo strumento. Questo indica la corretta polarità e il corretto orientamento dei cavi, nero è negativo e rosso è positivo (+).
2. Togliere il coperchio dallo strumento. Se il coperchio non è rimosso, il fissaggio dei cavi può causare allentamento del tappo d'oro e danneggiamento dell'elettrodo.
3. Avvitare i cavi nei fori filettati fino in fondo in modo che non ci sia la fessura tra il coperchio e l'estremità piombata del cavo.
4. Riposizionare il coperchio.

Lo strumento è ora pronto per l'uso.

Uso previsto

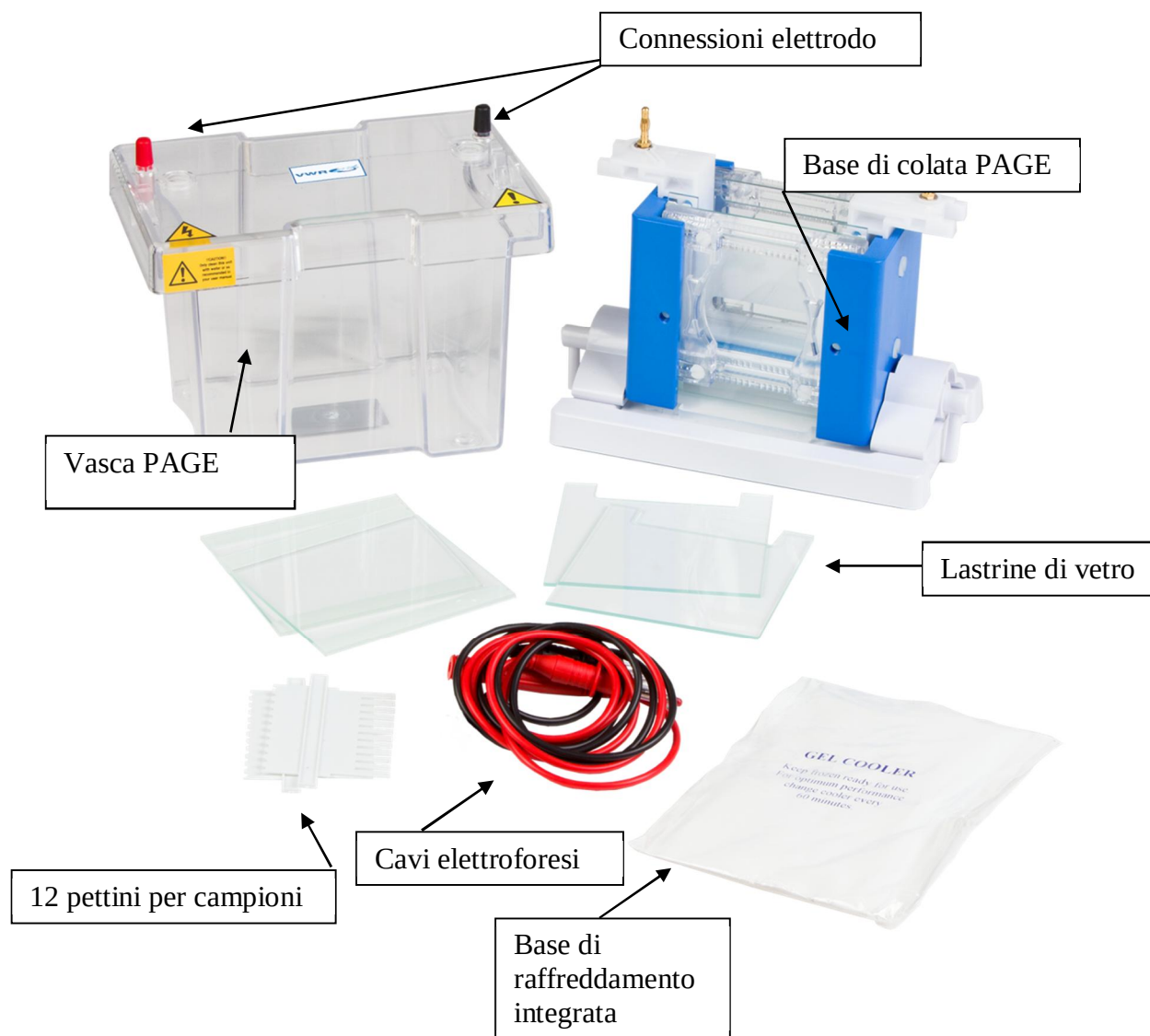
Solo per scopi di ricerca. Non è destinato ad uso terapeutico o diagnostico degli animali o persone.

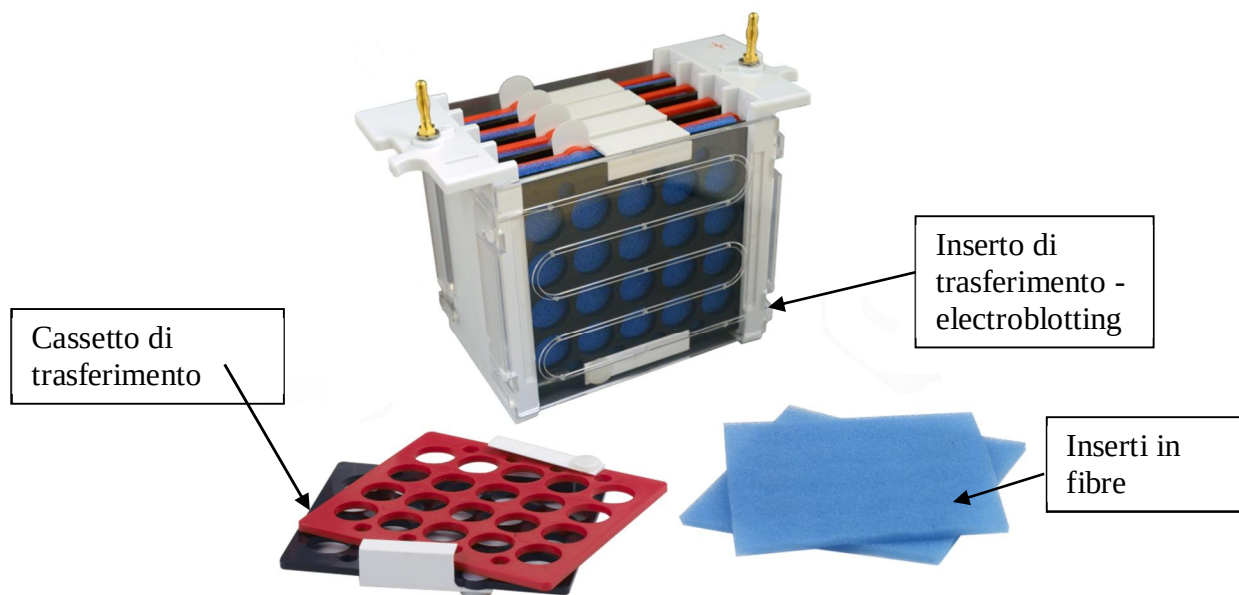
Simboli e convenzioni

Nella tabella sottostante sono presentati i simboli usati nel presente manuale.

	AVVERTENZA Questo simbolo indica il potenziale rischio e avverte di procedere con cautela.
	AVVERTENZA Questo simbolo indica la presenza di tensione pericolosa e avverte l'utilizzatore di procedere con cautela.

Descrizione dei componenti

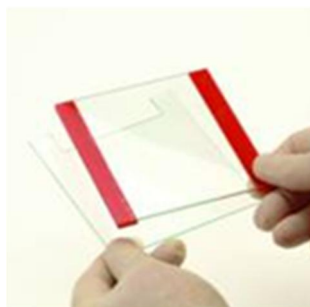




Processo

Colata del gel con il sistema di colaggio shiroGEL:-

1. Pulire il set dei vetri per ogni gel, prima con acqua distillata, poi con etanolo al 70%. Un set di vetri è composto da una lastrina di vetro intagliata e una lastrina di vetro semplice con spaziatori integrati. Nel caso di un sandwich costituito da tre lastre di vetro, sono richieste due piastrelle di vetro intagliate, una serie di spaziatori liberi e una serie di lastre di vetro semplici con spaziatori integrati. La lastra di vetro semplice è posizionata più all'esterno, successivamente la lastra di vetro intagliata, spaziatori liberi e la seconda lastra di vetro intagliata. Alternativamente, sono disponibili le lastre di vetro intagliate accessorie con dei spaziatori integrati. **Tutte le lastre di vetro, moduli ed accessori della base di colaggio devono essere completamente asciutti durante l'impostazione. I componenti umidi aumentano la probabilità di disallineamento e possono essere causa delle perdite.**

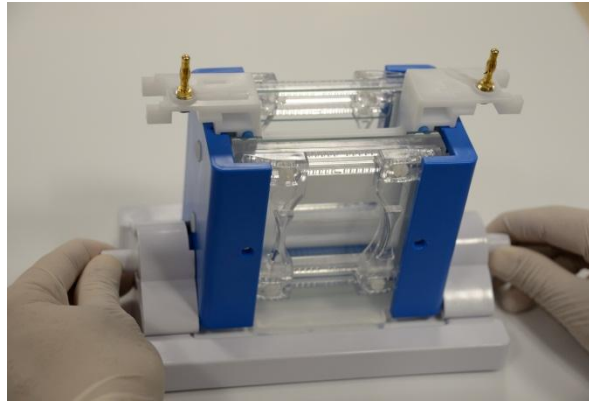


2. Assemblare le lastrine di vetro in modo che la parte inferiore delle lastrine di vetro e i spaziatori siano perfettamente allineati. Nel caso dei sandwich composti da tre piastre, i spaziatori liberi devono essere allineati perfettamente, il che si ottiene in miglior modo usando un distanziatore piccolo o un pettine per spingere fuori i spaziatori. Le lastrine di vetro intagliate con spaziatori integrati non richiedono allineamento manuale. **NOTA: Le lastrine di vetro con spaziatori integrati hanno una freccia nella parte superiore dei spaziatori che sono leggermente più lunghi della lastrina di vetro per indicare il vertice.**
3. L'inserto di gel PAGE contiene le barre di pressione che esercitano la pressione uniforme sul bordo della lastrina di vetro. Assicurarsi che le barre di pressione sono adeguatamente aperte per lo spessore dei spaziatori usati. La barra può essere aperta tramite i morsetti aperti scorrevoli. Quando si usa il sandwich composto da tre vetri, le barre di pressione devono essere nella posizione completamente aperta.



4. Posizionare l'inserto di gel PAGE sulla superficie piana. **Non inserire l'inserto di gel PAGE nella base di collaggio in questa fase.**
5. Mettere l'assieme della lastrina di vetro/distanziatore nell'inserto verticale di gel tra la barra di pressione e la guarnizione blu. Controllare che i fondi delle lastrine di vetro toccano il banco e che le morse scorrevoli sono completamente chiuse. Quando viene processato solo un gel, nella seconda posizione deve essere usata una falsa piastra che deve essere completamente fissata. **Nota: verificare che i bordi inferiori dei spaziatori e le lastrine di vetro sono allineati e che tutti toccano il contatore.**

6. Aprire la maniglia della camma e posizionare il perno in modo che siano rivolti verso il contatore, verso il basso. Posizionare l'inserto di gel PAGE sulla guarnizione della base di colaggio in modo che i fori dell'inserto siano rivolti verso le camme. La parte superiore dell'inserto di gel dovrà essere spinta leggermente verso il basso per mettere in posizione i perni delle camme.

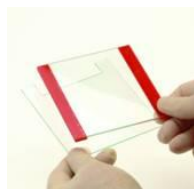


7. Con le maniglie dei perni delle came rivolte verso il basso, girare i perni delle came del tutto nella direzione opposta di 180° o fino a quando l'inserto non va a toccare il tappeto di silicone. **Non capovolgere lo strumento in quanto questo potrebbe spingere verso l'alto le lastrine di vetro e nell'insieme potrebbero verificarsi le perdite.**

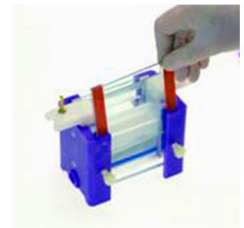
NOTA: Rivoltare sempre la stuoia di silicone dopo il colaggio per evitare le impronte nel tempo. Non lasciare mai la camera di colaggio con le lastrine di vetro spinte contro la base di colaggio per il lungo tempo, in quanto questo potrebbe causare le impronte permanenti nella stuoia di silicone. Lo strumento è ora pronto per la preparazione gel.

Colaggio verticale del gel:

- 1) Mettere insieme la piastra semplice con i distanziatori integrati con la piastra intagliata.

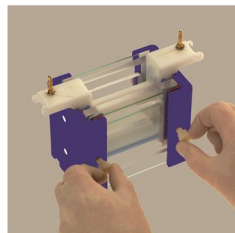


- 2) Inserire la barra di pressione interna in modo che la piastra intagliata tocchi la guarnizione e il modulo sia sulla superficie piana, **fuori dalla base di colaggio.**

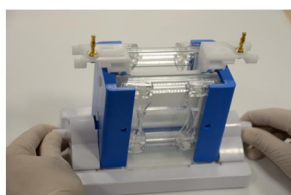


A) Versione con le viti

- 3A) Stringere fino in fondo le viti facendo attenzione a non agitare lo strumento.

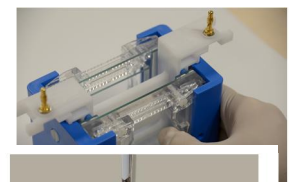


- 4) Inserire nella base di colaggio. Spingere le camme nei fori nell'inserto. Girare le camme di circa 90° o finché non siano fissate bene.

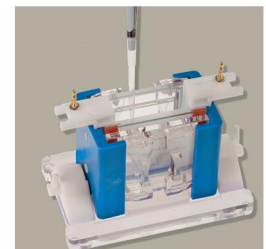


B) Versione con morsetti scorrevoli

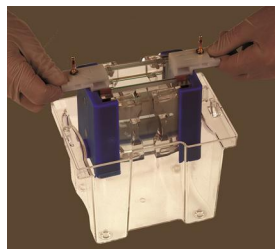
- 3B) Far scorrere le morse fino a fissarle, facendo attenzione a non agitare lo strumento.



- 5) Versare il gel di risoluzione e lasciar settare. Di seguito netterre la soluzione del gel di impacchamento (*stacking gel*) e inserire il pettine.



6) Una volta impostato, trasferire alla vasca e riempire la camera interna ed esterna con la soluzione tampone.



Preparazione gel:-

1. Soluzioni di base per gel SDS PAGE devono essere preparate e raffreddate prima dell'uso. Per le formule gel nativi e condizioni di lavoro si prega di consultare l'appendice. La procedura sottostante si riferisce all'uso delle soluzioni stock standard.
2. La sottostante Tabella 1 mostra il volume totale richiesto della soluzione gel. Nelle tabelle precedenti le quantità di gel e soluzioni sono date per due gel di 1 mm di spessore. Per altri spessori di gel da processare è necessario fare degli adeguamenti.

Tabella 1.

ShiroGEL PAGE	
	Volume totale gel per il gel di 1 mm di spessore
<i>Per gli spessori diversi di gel, moltiplicare i valori sottostanti per lo spessore del distanziatore.</i>	
Singolo – un gel, una falsa piastra	7,5 ml
Doppio – due gel	15 ml
Usando la piastra tripla tipo sandwich – quattro gel	30 ml

Selezione Gel:-

Bisogna fare molta attenzione alla selezione della dimensione dei pori del gel da applicare. Queste formule sono per i gel Tris-glicine-SDS.

La dimensione dei pori o la percentuale di gel determina la capacità di risoluzione - separazione a seconda delle varie dimensioni di proteine. La tabella 2 sottostante specifica in dettaglio quale percentuale di gel usare per separare le dimensioni di proteine indicate.

Tabella 2.

Percentuale di acrilammide	Risoluzione di separazione
5%	60.0 - 220 KD
7,5%	45.0 - 120 KD
10 %	25.0 - 75 KD
12%	14.4 - 65 KD
15%	6.5 - 45 KD
17,5%	5.5 - 30 KD

- Usando la soluzione base fornita all'indice, preparare le soluzioni gel come da tabelle sotto riportate, mescolando prima acqua distillata, di soluzione base di acrilammide al 30% e soluzioni TRIS-SDS 4X. Mescolato tutto, degassare per 5 minuti per eliminare ossigeno libero che inibisce la polimerizzazione rimuovendo radicali liberi.
- Aggiungere alla soluzione sopradescritta il persolfato di ammonio e il TEMED, mescolare dolcemente per evitare la formazione delle bolle d'aria.

Tabella 3: Preparazione delle soluzioni gel di impaccamento (*stacking gel*) per due gel 10 x 10 cm usando spaziatori di 1 mm.

Soluzione	5%	7,5%	10%	12%	15%	17,5%
Acqua distillata	8,7 ml	7,5 ml	6,3 ml	5,25 ml	3,75 ml	2,5 ml
Soluzione base di acrilammide al 30%	2,5 ml	3,75 ml	5 ml	6 ml	7,5 ml	8,75 ml
Soluzione Tris-SDS 4X pH 8,8	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml	3,75 ml
Persolfato di ammonio al 10%	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl

Colaggio gel:-

Per gel discontinui:-

1. Inserire il pettine nelle lastrine di vetro e fare la tacca sulle lastrine di vetro 1 cm sotto il punto, dove finiscono i denti del pettine. Questo è il livello del gel di separazione.
2. Riempire di nuovo le lastrine di vetro evitando la formazione delle bolle d'aria. Il riempimento deve essere fatto rapidamente, prima che il TEMED faccia diventare il gel troppo viscoso.
3. Ricoprire il gel, ponendo molta attenzione, con 1 ml di isobutanolo 1%, isopropanolo o acqua distillata. Nel caso di usare l'acqua distillata, bisogna porre la massima attenzione per non permettere la mescolazione con la soluzione gel.
4. Lasciar polimerizzare il gel di separazione. Normalmente questo dura da 15 a 30 minuti, ma può variare a seconda della concentrazione del gel. Se la polimerizzazione dovesse durare più del tempo prescritto, usare la nuova soluzione base di APS.
5. Preparare il gel di impaccamento usando la Tabella 5 sottostante come guida. Soluzioni di base sono descritte nell'appendice.

Tabella 5.

Soluzione	ShiroGEL PAGE
Acqua distillata	4,2 ml
Soluzione stock di acrilamide al 30%	0,65 ml
Soluzione gel di impaccamento Tris-SDS 4X, pH 6,6	1,6 ml
Persolfato di ammonio al 10%	67 µl

6. Mescolare attentamente l'acqua distillata, l'acrilammide e la soluzione Tris-SDS, degassandoli per 5 minuti.
7. Aggiungere il persolfato di ammonio ed il TEMED ((tetrametiletildiammina) e mescolare.
8. Versare via il liquido sovrannatante e lavare il gel con acqua distillata.
9. Usare la pipetta Pasteur per riempire le piastre completamente con la soluzione di gel di impaccamento.
10. Inserire con cautela il pettine assicurandosi che sotto le estremità dei denti del pettine non siano intrappolate le bolle d'aria, in quanto queste inibiscono il progresso del campione.
11. Lasciar polimerizzare il gel di impaccamento per 30 minuti.

Per gel continui:-

1. Seguire le istruzioni per la mescolazione di soluzione di acrilammide, vedi sezione di gel discontinui.
2. Riempire le lastre di vetro fino a 1 cm al di sotto della parte superiore della piastra intagliata, anche questa volta evitando la formazione delle bolle d'aria. Il riempimento deve essere fatto rapidamente, prima che il TEMED faccia diventare il gel troppo viscoso.
3. Inserire con cautela il pettine assicurandosi che sotto le estremità dei denti del pettine non siano intrappolate le bolle d'aria, in quanto queste inibiscono il progresso del campione.
4. Lasciar polimerizzare il gel. Normalmente questo dura da 15 a 30 minuti, ma può variare a dipendentemente dalla concentrazione del gel o dalla freschezza dei reagenti usati. Se la polimerizzazione dovesse durare più del tempo prescritto, usare la nuova soluzione base di APS.

Preparazione campioni di proteine denaturate per il carico:

Le istruzioni sotto si riferiscono ai campioni denaturati. Per i campioni nativi, vedere l'indice.

1. Preparare i campioni di proteine per il carico. Il volume dei campioni dipende dalla capacità dei pozzetti. Vedere la tavola del pozzetto sulla pagina 23.
2. Usando un micro tubo centrifughe (Eppendorf) 0,5 ml ed altro recipiente conveniente, unire i volumi uguali di colorante di carico, campioni di proteine, e tampone per campioni 2X. È sempre consigliabile usare la scala di proteine nell'estremità Una striscia è usualmente riservata per un marcatore o scala, una miscela commerciale di proteine con peso molecolare definito, tipicamente colorate così da formare bande colorate visibili. Queste devono essere preparate secondo le istruzioni del produttore.
3. Riscaldare i campioni a bagnomaria o nel blocco riscaldante per 2 minuti, per denaturarli. NOTA: il riscaldamento deve essere fatto sotto la cappa fumaria di 2-mercaptoetanolo.
4. Centrifugare i campioni nella micro centrifuga per 20 secondi alla velocità di 12,000 rpm. I campioni di proteine sono ora pronti per caricare.

Carico dei campioni:

1. Se richiesto, sistemare il pacco/i pacchi di raffreddamento alla fine della vasca. Questi devono essere sistemati con il lato più lungo posizionato lungo la/le estremità della vasca e spinti nell'incavo. Nota: un pacco viene fornito in dotazione. I successivi pacchi devono essere acquistati.

2. Rimuovere con cura i pettini con il movimento oscillante; lavare il pozzetto con acqua distillata per eliminare ogni residuo.
3. Trasferire il modulo interno gel contenente il gel colato alla vasca principale, facendo attenzione al corretto orientamento come indicato – +ve sul modulo deve essere in corrispondenza della sigla +ve sulla vasca, e -ve sul modulo deve essere in corrispondenza di -ve sulla vasca.
4. Riempire la vasca esterna con tampone di serbatoio 1X. Vedi pagina 19 per le soluzioni tampone di separazione raccomandate. La tabella 6 mostra il volume di tampone richiesto.

Tabella 6.

Volume della soluzione tampone	ShiroGEL PAGE
Minimum – la vasca interna è riempita fin oltre ai pozzetti. La vasca esterna è riempita fino a coprire il fondo delle lastrine di vetro. Potenza di raffreddamento è al minimo, il che può influire la risoluzione - separazione.	250 ml
Maximum – la vasca interna è riempita fin oltre ai pozzetti. La vasca esterna è riempita fino alla linea di riempimento max. Raffreddamento è forte offrendo la buona risoluzione - separazione dei campioni.	1200 ml
Uso dei pacchi di raffreddamento – la vasca interna è riempita fin oltre ai pozzetti. Pacchi di raffreddamento sono inseriti dietro i gel. La vasca esterna è riempita fino alla linea di riempimento max. Raffreddamento è al massimo.	1000 ml

5. Caricare i campioni nei pozzetti usando la pipetta, facendo attenzione a non danneggiare pozzetti e a non introdurre le bolle d'aria.
6. Riempire un pozzetto non utilizzato con soluzione tampone per campioni 1X.
7. Annotare l'orientamento e l'ordine dei campioni caricati. Questo può essere fatto annotando quali campioni erano caricati adiacenti a ogni elettrodo.

Corsa del gel:

1. Chiudere il coperchio e collegare lo strumento sotto alimentazione elettrica.
2. Consultare la tabella 7 per i dettagli delle impostazioni raccomandate della tensione di alimentazione.
3. La durata di corsa cambia con il variare della concentrazione e dimensioni delle proteine. Quando il fronte di colorante raggiunge 1 cm di fondo, bisogna staccare l'alimentazione, o ancora prima, se la dimensione delle proteine è al di sotto di 4 Kd.

4. Scollegare sempre lo strumento dall'alimentazione elettrica prima di togliere il coperchio.
5. Rimuovere il modulo della corsa del gel, svuotando prima il tampone interno nella vasca principale.
6. Svitare le lastrine di vetro e fare delicatamente la leva alle piastre. Il gel normalmente attacca a una delle piastre e può essere rimosso bagnandolo prima nella soluzione tampone di corsa e in seguito alzandolo con la spatola.
7. Ora il gel è pronto per successive analisi.

Tabella 7.

Le impostazioni di tensione e corrente raccomandate per i gel di spessore 1 mm, 12%	ShiroGEL PAGE
Un gel	90-225 V, 20-45 mA
Due gel	90-225 V, 40-90 mA
Tre gel	90-225 V, 60-135 mA
Quattro gel	90-225 V, 80-180 mA

Le condizioni di potenza raccomandate per l'ottimale risoluzione con la minima distorsione termica della banda sono di 150 volt, con impostazione di voltaggio continuo. Non sono richiesti nuovi aggiustamenti per altri spessori o per un numero diverso dei gel. Di solito il tempo di corsa va da 40 a 45 minuti. La corrente dovrebbe avere approssimativamente il valore di 50 mA per gel (120 mA per due gel) all'inizio della corsa. Durante i 45 minuti di corsa la corrente si abbasserà pian piano fino a circa 20 mA per gel. Questo calo è dovuto dai cambiamenti che avvengono nei ioni del tampone nel gel, causando una lenta crescita della resistenza nel gel. Come uno potrebbe aspettarsi dalla legge di Ohm ($V=I \cdot R$), alla tensione costante (V) un aumento di resistenza (R) risulta nel calo della corrente (I).

Blotting di proteine con l'uso dell'inserto per blotting VWR ShiroGEL

Impostazione del sandwich dei cassette: le soluzioni tampone usate più comunemente sono elencate nell'appendice.

1. Ogni sandwich deve essere composto come descritto di seguito:-

- a. La morsa del cassetto -ve (nero) posizionato a fianco nel vassoio o altra superficie apposita.
- b. L'inserto di fibre prebagnato.
- c. Due pezzi della carta filtrante 45 µm, prebagnati nella soluzione tampone.
- d. Gel. Tagliare l'angolo sinistro in basso sotto al primo campione, per riconoscere in seguito univocamente la disposizione dei campioni.
- e. Transfer membrane. La maggioranza dei produttori richiede il prelavaggio ma vanno consultate le loro istruzioni che riguardano il tipo di membrana che si sta utilizzando. Questa deve essere liscia per togliere le eventuali bolle d'aria intrappolate.
- f. Due pezzi della carta filtrante, prebagnati nella soluzione tampone.
- g. L'inserto di fibre prebagnato.
- h. La morsa del cassetto +ve (rosso) posizionata a fianco, nell'incavo nel fondo del cassetto nero.

Nota: non maneggiare la membrana senza i guanti protettivi.

2. Assemblare gli inserti di fibra, carta filtrante, membrana di trasferimento gel nell'ordine sopradescritto e rullare con una pipetta per rimuovere l'aria imprigionata. Posizionare sul cassetto nero e rosso, con la membrana rivolta verso il lato di anodo (rosso), chiudere con cautela la cerniera in modo da non disturbare il sandwich.

3. Riempire la vasca con la soluzione tampone fino al **livello massimo** indicato al fianco di ogni unità. Vedi Appendice a pagina 20 per le soluzioni tampone raccomandate. Il trasferimento può essere migliorato con utilizzo della soluzione tampone raffreddata.

Tabella 8. Volumi tampone richiesti

Volume tampone	ShiroGEL Blotter
Un cassetto	1380 ml
Due cassette	1290 ml
Tre cassette	1380 ml
<i>Ogni pacco di raffreddamento occupa lo spazio di 100 ml di tampone.</i>	

Condizioni della corsa di blot:

1. Inserire i cassettei negli slot nel modulo con i lati neri adiacenti all'elettrodo negativo. È una buona idea annotare l'orientamento e l'ordine nel quale i sandwich sono stati caricati. Questo può essere fatto annotando quali campioni erano caricati adiacenti a ogni elettrodo.
2. Si raccomanda l'uso dell'agitatore magnetico per mescolare la soluzione tampone, per dare la consistenza del trasferimento. La barra dell'agitatore avente il diametro di 4 mm, deve essere posizionata sotto il modulo, al centro della vasca. Il pacco di raffreddamento in dotazione, pre-gelato può essere inserito nella parte frontale o laterale della vasca per i blot estesi. I successivi pacchi raffreddanti possono essere acquistati come accessori per il futuro raffreddamento.
3. Inserire il modulo, attaccare il coperchio e collegare all'alimentazione elettrica.
4. Consultare la tabella 9 per i dettagli riguardanti impostazioni di tensione di alimentazione e tempi blot raccomandati. Va ricordato che i valori di tensione e corrente cambiano a seconda del numero dei cassettei, tipo e temperatura della soluzione tampone, e inoltre dello spessore e della percentuale del gel. Questo influisce anche la qualità di trasferimento, perciò è necessario adeguare il tempo di blot agli specifici campioni e condizioni.
5. Terminato il tempo di blot, staccare l'alimentazione e togliere il coperchio dello strumento.
6. Rimuovere i cassettei dalla vasca principale.
7. Alzare la cerniera di ogni cassette, fare delicatamente la leva al sandwich e rimuovere la membrana dal gel.
8. Ora la membrana è pronta per successive elaborazioni. Ricordarsi di conservare la carta filtrante dietro il gel per le successive verifiche della presenza delle proteine più piccole.

Tabella 9. Impostazioni di tensione e corrente raccomandate.

Durata di trasferimento (Blot)	ShiroGEL Blotter
Un'ora	100 V, 400 mA
Tre ore	50 V, 200 mA

Soluzione dei problemi

Riferirsi alle informazioni riportate nella tabella sotto per risolvere i problemi operativi.

Problema	Causa	Soluzione
Risoluzione debole	Volume campioni troppo grande.	Concentrare campioni.
Durata di corsa estremamente lunga	Soluzioni tampone troppo concentrate.	Controllare procedura di tampone; diluire il tampone se necessario.
	Corrente troppo bassa.	Aumentare il voltaggio di 25-50%.
Corsa troppo veloce, risoluzione debole	Soluzioni tampone troppo diluite.	Controllare procedura di tampone; concentrare il tampone se necessario.
	Corrente troppo alta.	Diminuire il voltaggio di 25-50%.
Bande oblique o distorte	Debole polimerizzazione attorno ai pozzetti dei campioni.	Aumentare la concentrazione di persolfato di ammonio e il TEMED del 25%.
	La pressione eccessiva applicata alle piastre di gel quando il gel viene messo nell'assieme morsa.	Non stringere troppo le viti sull'assieme morsa.
	Riscaldamento gel non uniforme.	Usare l'apparato raffreddato o ridurre la corrente con la quale avviene l'elettroforesi.
Dilatazione laterale banda	Diffusione dei campioni fuori dei pozzetti prima che l'alimentazione sia stata collegata.	Minimizzare il tempo tra l'applicazione del campione ed il collegamento di potenza.
	Diffusione durante la migrazione tramite il gel di impaccamento.	Aumentare il voltaggio del 25% durante il gel di impaccamento o aumentare il %T (concentrazione totale dei monomeri) del gel di impaccamento di 1%.
La banda proteica s'incurva in su da entrambi i lati del gel. "Effetto sorriso"	La fase centrale della corsa gel più calda rispetto qualunque estremità.	Diminuire l'impostazione di potenza. Controllare procedura di tampone per assicurarsi che sia formulata correttamente.
Gel non polimerizza	Temperatura troppo bassa.	Colare alla temperatura ambiente.
	Troppo poco di persolfato di ammonio o TEMED.	Aumentare entrambi di 50%.
	Persolfato di ammonio o TEMED sono vecchi.	Usare il persolfato di ammonio fresco e il TEMED nuovo.

Riparazione e manutenzione degli strumenti ShiroGEL

Pulizia strumenti ShiroGEL

Gli strumenti si puliscono meglio con acqua tiepida e detersivo dolce. **L'acqua alla temperatura superiore di 60°C può danneggiare lo strumento ed i suoi componenti.** La vasca deve essere accuratamente lavata con acqua calda e dopo con acqua distillata per prevenire la formazione dei sali, ma bisogna fare attenzione a non danneggiare l'elettrodo integrato. La pulizia impetuosa non è necessaria né raccomandata. Prima di riutilizzo si raccomanda di asciugare lo strumento con aria.

Gli strumenti devono essere puliti in seguente modo:-

Usando l'acqua tiepida con bassa concentrazione di sapone o altro detergente dolce. I detergenti compatibili includono il detersivo lavapiatti. Gli strumenti non possono essere lasciati a bagno con i detersivi per più di 30 minuti.

Assistenza tecnica

Risorse sul web

Visitare il sito web VWR all'indirizzo www.vwr.com per:

- Informazioni complete sui contatti dell'Assistenza tecnica
- Accesso al catalogo on-line VWR e ad ogni altra informazione relativa agli accessori e ai prodotti collegati
- Ulteriori informazioni sui prodotti e sulle promozioni

Contatti Per informazioni o assistenza tecnica, contattare i nostri uffici VWR o visitare il sito. www.vwr.com

Garanzia

VWR International garantisce per questo prodotto l'assenza da difetti nei materiali e di fabbricazione per un periodo di due (2) anni dalla data di consegna. In caso contrario, VWR provvederà, a sua discrezione e a proprie spese, alla riparazione, sostituzione o al rimborso del prezzo di acquisto del prodotto al cliente, purché venga restituito durante il periodo di garanzia. La presente garanzia non copre eventuali danni accidentali o causati da abuso, uso o applicazione impropri o dal normale logorio dell'apparecchio. Qualora i servizi di ispezione e manutenzione necessari non vengano eseguiti secondo i manuali e le eventuali normative locali, tale garanzia risulta non valida, salvo nella misura in cui il difetto del prodotto non sia causato dalla mancata prestazione dei suddetti servizi.

Il cliente dovrà assicurare le parti da restituire contro eventuali danni o perdite. La presente garanzia è limitata ai suddetti rimedi. SI CONCORDA ESPRESSAMENTE CHE LA PRESENTE GARANZIA SOSTITUISCE TUTTE LE GARANZIE DI IDONEITÀ E LA GARANZIA DI COMMERCIALIZZABILITÀ.

Conformità a leggi e normative locali

Il cliente è responsabile della richiesta e dell'ottenimento delle approvazioni normative necessarie o di altre autorizzazioni necessarie per eseguire o utilizzare il prodotto nel suo ambiente locale. VWR non sarà ritenuta responsabile delle relative omissioni o del mancato ottenimento dell'approvazione o autorizzazione necessaria, a meno che l'eventuale rifiuto non sia dovuto a un difetto del prodotto.

Smaltimento del prodotto



Questo prodotto porta il simbolo del contenitore di spazzatura su ruote barrato, che indica che questo apparecchio non può essere gettato insieme agli altri rifiuti indifferenziati.

É invece la responsabilità dell'utilizzatore provvedere allo smaltimento corretto al termine del ciclo di vita del prodotto consegnandolo all'impresa autorizzata alla raccolta differenziata e riciclaggio. É inoltre la responsabilità dell'utilizzatore decontaminare il prodotto nel caso della contaminazione biologica, chimica e/o radiologica, in modo da proteggere dai rischi alla salute le persone coinvolte allo smaltimento e riciclaggio del prodotto.

Per altre informazioni su dove si può depositare il prodotto utilizzato, contattare il rivenditore locale dal quale è stato originariamente acquistato questo prodotto.

Così facendo aiutate a conservare le risorse naturali ed ambientali, e siete inoltre sicuri che il vostro prodotto sia stato riciclato in un modo che tutela la salute umana.

Grazie

APPENDICE

Soluzioni

Appendice

Soluzioni stock per i gel SDS PAGE:-

Soluzione di gel di acrilammide al 30%:-

30,0 g di acrilammide
0,8 g di metilene bisacrilammide
Acqua distillata fino a 100 ml

Soluzioni stock di gel di separazione Tris 4X (Tris-HCl, 1,5 M, pH 8,8, SDS al 0,4%)

Ai 110 ml di acqua distillata aggiungere 36,4 g di Tris base
Aggiungere 8 ml di sodio dodecil solfato (SDS) al 10%
Aggiustare pH fino a 8,8 con 1N HCl
Aggiustare il volume finale fino a 200 ml con acqua distillata.

Soluzione stock di gel di impaccamento Tris 4X (0,5 M Tris-HCl, 0,5 M, pH 6,8, SDS al 0,4%)

Ai 110 ml di acqua distillata aggiungere 12,12 g di Tris base
Aggiungere 8 ml di sodio dodecil solfato (SDS) al 10%
Aggiustare pH to 6,8 con 1N HCl

Soluzione stock di tampone Tris-glicine-SDS 4X

36 g di Tris base
172,8 g di glicina
Acqua distillata fino a 3 l

Soluzione tampone di Tris-glicine-SDS 1X

750 ml di soluzione tampone Tris-glicine-SDS 4X
30 ml di sodio dodecil solfato (SDS) al 10%
Acqua distillata fino a 3 l
Aggiungere acqua distillata fino al volume finale di 200 ml

APS al 10 % (soluzione di persolfato di ammonio)

0,1 g di persolfato di ammonio
1 ml di acqua distillata

Nota: il persolfato di ammonio degrada velocemente, perciò per ottenere i risultati migliori buttarlo via dopo una settimana.

Soluzione stock tampone dei campioni 2X

2 ml di glicerolo al 50%
0,5 ml di 2-mercaptoetanololo
4 ml di sodio dodecil solfato (SDS) al 10%
2,5 ml di 0,5 M Tris-HCl
1 ml di blu di bromofenolo al 1%
Acqua distillata fino a 10 ml
Aliquotare in tubi centrifughi 1,5 ml. Conservare a -20°C.

Selezione membrana

Nitrocellulosa

Buone capacità leganti, unione delle proteine tramite interazioni idrofobiche.
Dimensione pori: 0,45 μm 0,22 μm
Trasferimento tipo western blotting
Analisi amminoacidica

Nailon

Membrana microporosa modificata con gruppi con forte carica basica.
Lega macromolecole DNA o RNA caricate negativamente con letto debole.
Dimensione pori: 0,45 μm
Può essere reutilizzata
Trasferimento tipo Southern blotting
Trasferimento tipo northern blotting
Immobilizzazione di fase solida
Immobilizzazione enzimatica
Determinazione campioni geni

PVDF (polivinilidenfluoruro)

Buona capacità legante
Alta capacità legante, elevata resistenza
Compatibile con coloranti proteici e tecniche di immunodetezione
Dimensione pori: 0,45 μm 0,22 μm
Può essere reutilizzata
Trasferimento de proteine tipo western blotting
Sequenziamento proteico
Analisi amminoacidica
Sistema analisi della fase solida

Preparazione soluzione tampone proteine

Soluzioni tampone

Gel nativi

Soluzione tampone pH 8,3
25 mM de Tris, 192 mM di glicine, 20% metanolo,
3,0 g di Tris
14,4 g di glicina
200 ml di metanolo
Aggiungere acqua distillata fino a 1 litro

Gel denaturati

Soluzione tampone pH 8,3, niente metanolo
25 mM de Tris, 192 mM di glicine metanolo,
3,0 g di Tris
14,4 g di glicina
Aggiungere acqua distillata fino a 1 litro

Accessori shiroGEL

700-0290	Modulo di trasferimento shiroGEL inclusi 3 cassette
700-0294	Base di collaggio per il sistema PAGE shiroGEL
700-0295	Modulo PAGE solo (senza accessori) shiroGEL
700-0296	Gel di separazione 0,75 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0297	Gel di separazione 1,5 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0298	Pettine 10 pozzetti dei campioni 0,75 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0299	Pettine 10 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0300	Pettine 10 pozzetti dei campioni 1,5 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0301	Pettine 12 pozzetti dei campioni 0,75 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0302	Pettine 12 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0303	Pettine 12 pozzetti dei campioni 1,5 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0304	Pettine 12 pozzetti dei campioni 2,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0305	Pettine MC 16 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0306	Gel di separazione 1 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0307	Pettine 20 pozzetti dei campioni 0,75 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0308	Pettine 20 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0309	Pettine 20 pozzetti dei campioni 1,5 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0310	Gel di separazione 2 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0311	Pettine 5 pozzetti dei campioni 0,75 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0312	Pettine 5 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0313	Pettine 5 pozzetti dei campioni 1,5 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0314	Pettine MC 8 pozzetti dei campioni 1,0 mm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0315	Inserto in fibra per trasferimento shiroGEL
700-0316	Cassetto di trasferimento shiroGEL
700-0317	Pacco di raffreddamento per il sistema PAGE shiroGEL
700-0318	Falsa piastra 10 x 10 cm per il sistema PAGE shiroGEL
700-0319	Lastrina di vetro intagliata con spaziatori 0,75 shiroGEL
700-0320	Lastrina di vetro intagliata con spaziatori 1,5 shiroGEL
700-0321	Lastrina di vetro intagliata con spaziatori 1,0 shiroGEL
700-0322	Lastrina di vetro intagliata 10 x 10 cm shiroGEL
700-0323	Lastrina di vetro intagliata con spaziatori 2,0 shiroGEL
700-0324	Lastrina di vetro con spaziatori 0,75 shiroGEL
700-0325	Lastrina di vetro con spaziatori 1,5 shiroGEL
700-0326	Lastrina di vetro con spaziatori 1,0 shiroGEL
700-0327	Lastrina di vetro 10 x 10 cm shiroGEL
700-0328	Lastrina di vetro con spaziatori 2,0 shiroGEL

Il vostro distributore Europeo

Germania

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

Austria

VWR International GmbH
Graumannsgasse 7
1150 Wien
Tel.: 01 97 002 0
Fax: 01 97 002 600
Email: info.at@vwr.com

Belgio

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

Danimarca

VWR - Bie & Berntsen
Transformervej 8
2860 Søborg
Tel.: 43 86 87 88
Fax: 43 86 87 90
Email: info.dk@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
Email: info.es@vwr.com

Finlandia

VWR International Oy
Valimotie 9
00380 Helsinki
Tel.: 09 80 45 51
Fax: 09 80 45 52 00
Email: 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 (0,18 € TTC/min)
Fax: 0 825 02 30 35 (0,18 € TTC/min)
Email: info@fr.vwr.com

Paesi Bassi

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

Ungheria

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

Italia

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

Norvegia

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

Polonia

VWR International Sp. z o.o.
Limbowa 5
80-175 Gdansk
Tel.: 058 32 38 200
Fax: 058 32 38 205
Email: 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
Email: info.pt@vwr.com

Regno Unito

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

Svezia

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

Svizzera

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

Turchia

VWR International Laboratuar
Teknolojileri Ltd.Şti.
Orta Mah. Cemal Gürsel Caddesi
Ördekcioglu İşmerkezi No.32/1
34896 Pendik - Istanbul
Tel.: +90216 598 2900
Fax: +90216 598 2907
Email: info.tr@vwr.com

Australia

VWR International Pty.LTD
Level 1, Unit 1a/60 Enterprise Place
Tingalpa
QLD 4173 Australia
Tel.: 1300 727 696
Fax: 1300 135 123
Email: sales.au@vwr.com

Cina

VWR International China Co., Ltd
Shanghai Branch
Room 256, No. 3058 Pusan Road
Pudong New District
Shanghai 200123
Tel.: +86-21-5898 6888
Fax: +86-21-5855 8801
Email: info_china@vwr.com

India

VWR Lab Products Private Limited
No. 139. BDA Industrial Suburb,
6th Main, Tumkur Road, Peenya Post,
Bangalore, India - 560058
Tel.: +91-80-28078400
Email: 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
Email: sales@globalscience.co.nz

Singapore

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