

## **ROTIPHORESE® PROclamp MINI Wide Vertikales Elektrophorese System**

1395.1

**ROTIPHORESE® Kammer  
PROclamp MINI Wide  
20 x 10 cm**

Mit Zubehör und Gelgießmodul.

Zum Lauf von bis zu 4 Gelen  
gleichzeitig.



**WICHTIGER HINWEIS:**  
**Bitte lesen Sie die Bedienungsanleitung ausführlich vor Inbetriebnahme.**

### **Warnhinweis:**

Wie bei allen elektrischen Geräten besteht auch bei diesen Einheiten die Gefahr von tödlichen Spannungen, wenn sie an eine Stromversorgung angeschlossen werden. Die Elektrophorese-Kammern dürfen nur von qualifiziertem, technisch geschultem Personal bedient werden.

Die vertikalen Elektrophoreseeinheiten von Roth sind für langen Gebrauch und reproduzierbare Ergebnisse in Ihrem Labor konzipiert. Nehmen Sie sich bitte einen kurzen Moment Zeit um diese Anleitung zu lesen.

Überprüfen Sie bitte, ob Sie das Gerät vollständig und unbeschädigt erhalten haben. Fehler oder Verluste müssen Roth sofort mitgeteilt werden. Roth kann für Waren, die ohne Mitteilung zurückgeschickt werden, keine Verantwortung übernehmen.

Sehen Sie sich die Packliste durch und überprüfen Sie, ob alle Komponenten und Zubehörteile vorhanden sind.

**Bitte bewahren Sie die gesamte Verpackung bis zum Ende der Garantiefrist auf.  
Bei Fragen wenden Sie sich bitte an uns, Tel.: 0721/5606-0.**

## SPEZIFIKATION

### Technische Daten

- Anwenderfreundliche Konstruktion im Spritzgussverfahren – 100 % dicht und nicht-leckend.
- Doppelt isolierte Kabel, die bis 1000 Volt sicher sind.
- Mit Gold beschichtete, korrosionsfreie, elektrische Verbindungen, die bis 1000 Volt sicher sind.
- Eingesenkte, im Sicherheitsdeckel integrierte Stromverbindungen.
- 0,2 mm dicke Platin-Elektroden von 99,99 % iger Reinheit.
- Platin-Elektroden, die vom Benutzer selbst ausgetauscht werden können.
- Die Silikongummi-Dichtung bildet eine leckfreie Abdichtung und ist einfach zu reinigen oder auszutauschen.
- Benutzerfreundliches Schraubstift-Technik
- Breites Spektrum an Zubehör

### Umgebungsbedingungen

- Das Gerät darf nur in Innenräumen verwendet werden.
- Das Gerät kann ohne Sicherheitsverlust in bis zu einer Höhe von 2000 m über N. verwendet werden.
- Die normale Arbeitstemperatur liegt zwischen 4 °C und 65 °C.
- Die maximal mögliche relative Luftfeuchtigkeit von 80 % bei Temperaturen von 31 °C nimmt bei Temperaturen von 40 °C linear auf 50 % ab.

**Alle Roth Produkte, die ausgeliefert werden, haben eine strenge Qualitätskontrolle durchlaufen.**

## PACKLISTE

Inhalt	VE
Tank mit Deckel und 2 Kabeln	1
Laufmodul	1
Dummyplatte (für den Lauf mit 1 Gel)	1
Gelbe Wellen-Klammern (für den Lauf mit 3-4 Gelen)	4
4,0 mm Ohrenglasplatten (20 x 10 cm)	2
4,0 mm Standard-Glasplatten (20 x 10 cm) mit 1 mm fixierten Spacern	2
1 mm Kämmen mit 24 Zähnen	2
Kühlpad	1
Gelgießmodul	1

## Module und Zubehör

(Das Zubehör kann unter den angegebenen Bestellnummern bei Carl Roth GmbH + Co. KG bezogen werden. Weitere Reagenzien und Zubehör für die PAGE finden Sie im Anhang, Absatz L)

	VE	Best.-Nr.
Tank (ohne Deckel)	<b>1396.1</b>	1
Ersatzdeckel für Tank (ohne Kabel)	<b>1400.1</b>	1
Kabel	<b>6848.1</b>	2
Laufmodul	<b>1401.1</b>	1
Gelgießmodul	<b>5792.1</b>	1
Ersatzgummimatte für Gelgießmodul	<b>5793.1</b>	1
Kühlpad	<b>3512.1</b>	1
Ersatzplatinelektrode (Ø 0,2 mm, 650 mm lang)	<b>T794.1</b>	1
Ersatzplatinelektrode (Ø 0,2 mm, 500 mm lang)	<b>1428.1</b>	1



## Glasplatten und Spacer

	Dicke (mm)		VE	Best.-Nr.
Standard-Glasplatten (20 x 10 cm)	4,0		2	<b>1404.1</b>
Ohrenglasplatten (20 x 10 cm)	4,0		2	<b>1405.1</b>
Dummyplatte (20 x 10 cm)	10,0		1	<b>1421.1</b>
Glasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (0,75 mm)	4,0		2	<b>1422.1</b>
Glasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (1,0 mm)	4,0		2	<b>1423.1</b>
Glasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (1,5 mm)	4,0		2	<b>1424.1</b>
Glasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (2,0 mm)	4,0		2	<b>1425.1</b>
Spacer (1,2 x 10,1 cm)	0,75	schwarz	2	<b>3573.1</b>
Spacer (1,2 x 10,1 cm)	1,0	weiß	2	<b>3578.1</b>
Spacer (1,2 x 10,1 cm)	1,5	rot	2	<b>3579.1</b>
Spacer (1,2 x 10,1 cm)	2,0	blau	2	<b>3584.1</b>

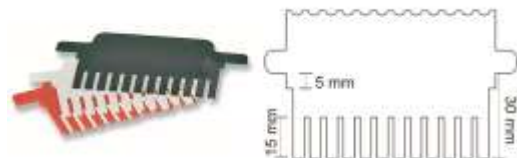
## Zum Gießen von Doppelgelen:



	Dicke (mm)	VE	Best.-Nr.
Ohrenglasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (0,75 mm)	4,0	1 Paar	<b>1426.1</b>
Ohrenglasplatten (20 x 10 cm) mit Spacern (1,0 mm)	4,0	1 Paar	<b>1427.1</b>

## Kämme

Jeweils 1 Kamm / VE



Taschen	1 + 1**	5	10	18*	24	30	36*	48
Dicke	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.	Best.-Nr.
0,75 mm	<b>5925.1**</b>	<b>5928.1</b>	<b>5934.1</b>	<b>5936.1*</b>	<b>5940.1</b>	<b>5941.1</b>	<b>5944.1*</b>	<b>5947.1</b>
1,0 mm	<b>5949.1**</b>	<b>5952.1</b>	<b>5953.1</b>	<b>5955.1*</b>	<b>5957.1</b>	<b>5959.1</b>	<b>5960.1*</b>	<b>5961.1</b>
1,5 mm	<b>5962.1**</b>	<b>5964.1</b>	<b>5967.1</b>	<b>5968.1*</b>	<b>5969.1</b>	<b>5970.1</b>	<b>5971.1*</b>	<b>5972.1</b>
2,0 mm	<b>5974.1**</b>	<b>5977.1</b>	<b>5981.1</b>	<b>5983.1*</b>	<b>5984.1</b>	<b>5999.1</b>	<b>6005.1*</b>	<b>6007.1</b>

\*Kompatibel mit Multi-Pipetten

\*\*Kämme für präparative Gele

max. Probenvolumen pro Tasche								
Taschen	1 + 1**	5	10	18*	24	30	36*	48
0,75 mm	1100 µl	160 µl	80 µl	40 µl	30 µl	25 µl	20 µl	15 µl
1,0 mm	1500 µl	200 µl	100 µl	50 µl	40 µl	35 µl	25 µl	20 µl
1,5 mm	2200 µl	320 µl	160 µl	80 µl	60 µl	50 µl	40 µl	30 µl
2,0 mm	3000 µl	400 µl	200 µl	100 µl	80 µl	70 µl	50 µl	40 µl

# **BENUTZUNG DER VERTIKALEN GELELEKTROPHORESE-EINHEITEN**

## **A. Sicherheitsvorkehrungen**

Lesen Sie die Gebrauchsanweisung bitte vollständig durch, bevor Sie die Kammer in Betrieb nehmen.

Trennen Sie in jedem Fall die Elektrophoreseeinheit vom Netzgerät, bevor Sie den Schutzdeckel abnehmen. Trennen Sie zuerst das Netzgerät von der Stromversorgung, bevor Sie die Kabel entfernen.

Überschreiten Sie nicht die maximal zulässige Arbeitsspannung oder Stromstärke (siehe Tabelle 1).

Acrylamid ist ein flüchtiges, sich anreicherndes Neurotoxin und vermutlich krebserregend. Tragen Sie bei der Arbeit mit Acrylamid immer Schutzkleidung und befolgen Sie genau die Arbeitsanleitung sowie die Vorschriften zur Entsorgung. Polymerisierte Gele enthalten Reste von unpolymersiertem Monomer. Arbeiten Sie ausschließlich mit Schutzhandschuhen.

Füllen Sie das Gerät nicht über die maximale Füllhöhe mit Laufpuffer auf.

Bewegen Sie das Gerät während des Laufs nicht.

### **ACHTUNG:**

Während der Elektrophorese werden an den Elektroden sehr kleine Mengen verschiedener Gase gebildet. Die Art des gebildeten Gases ist abhängig von der Zusammensetzung des verwendeten Puffers. Damit sich diese Gase verflüchtigen können, muß sichergestellt sein, dass das Gerät in einem gut belüfteten Raum verwendet wird.

## **B. Allgemeine Pflege und Wartung**

Reinigen Sie das Gerät regelmäßig mit handwarmem Wasser und einer milden Seifenlösung. Häufig ist ein Spülen mit destilliertem Wasser völlig ausreichend. Trocknen Sie vor Gebrauch die Einzelteile mit sauberen Tüchern z.B. Roth Tissue-Tücher (Best.-Nr. 0087.2)

**Wichtig:** Acrylglas ist unbeständig gegenüber aromatischen und halogenierten Kohlenwasserstoffen, Ketonen, Estern, Alkoholen (>25 %) und Säuren (>25 %); sie sind besonders für das UV-transparente Plastik ungeeignete Reinigungsmittel und dürfen nicht verwendet werden. Verwenden Sie keine Scheuermittel. Die Kammern dürfen nicht mit folgenden Reinigungsmitteln in Kontakt kommen, da diese einen irreversiblen und zunehmenden Schaden verursachen: Aceton, Phenol, Chloroform, Tetrachlormethan, Methanol, Ethanol, Isopropanol, Alkali.

Vor Gebrauch und danach monatlich muss das Gerät auf Undichtigkeit geprüft werden. Sie können das Gerät auf ein Blatt saugfähiges Papier stellen und mit destilliertem Wasser bis zur maximalen Füllhöhe auffüllen. Mögliche Undichtigkeiten werden Sie auf dem Papier sehen. Entdecken Sie eine Undichtigkeit, versuchen Sie bitte nicht, das Gerät zu reparieren oder es in Betrieb zu nehmen, sondern benachrichtigen Sie umgehend die Firma Carl Roth GmbH + Co. KG (0721/5606-0).

Die Platinelektroden sind aus Sicherheitsgründen teilweise ummantelt. Wenn Sie den Haupttank reinigen, verwenden Sie im Elektrodenbereich bitte trotzdem keine Reinigungsbürsten.

Stellen Sie bitte sicher, dass die elektrischen Verbindungen vor Gebrauch oder Lagerung trocken und sauber sind.

## **C. RNase Dekontamination**

Kann mit dem folgenden Protokoll durchgeführt werden:

Reinigen Sie das Gerät mit einem milden Detergens wie vorgegeben.

Waschen Sie 10 min mit 3 % Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

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

**Vorsicht:** DEPC ist möglicherweise krebserregend. Treffen Sie immer die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen beim Gebrauch.

ROTI®Nukleinsäurefrei (Best. Nr. HP69) und RNase AWAY<sup>(TM)</sup> (Best. Nr. A998) können ebenfalls verwendet werden. Bitte lesen Sie die Verwendung in der jeweiligen Bedienungsanleitung nach.

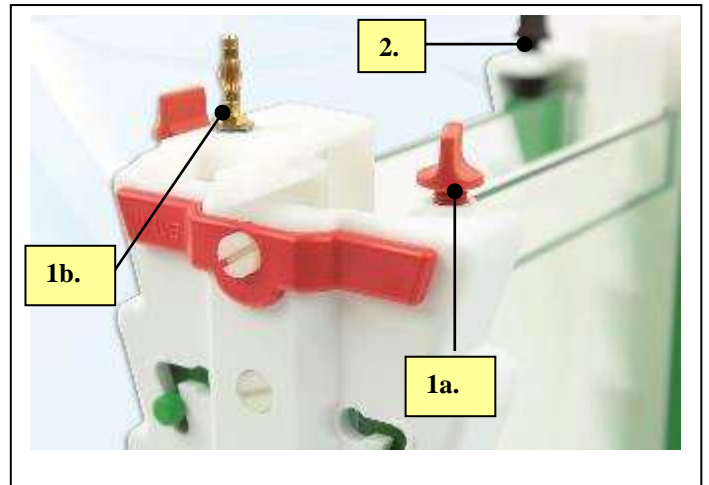
## **D. Anbringen der Elektrodenkabel**

1. Bitte beachten Sie die Position des Deckels auf dem Gerät. Die Farben zeigen die korrekte Polarität und Orientierung der Kabel an – schwarz für negativ und rot für positiv.
2. Nehmen Sie den Deckel vom Gerät ab. Bitte beachten: Beim Versuch, die Kabel in den Deckel zu schrauben, während dieser auf der Kammer aufsitzt, können Sie die Goldbeschichtung der Elektroden beschädigen.

3. Ziehen Sie die Kabel in den Gewindelöchern so fest wie möglich an, damit keine Lücke zwischen Deckel und Kante der Kabelverschraubung entsteht.

#### Farbkodierte Schraubstifte verhindern eine Verwechslung der Pole

1. Roter vertikaler Schraubstift (1a.), markiert den positiven Elektrodenstecker (1b.), und ist farblich abgestimmt auf das **positive** Stromkabel
2. Schwarzer vertikaler Schraubstift (2.), markiert den negativen Elektrodenstecker (nicht abgebildet) und ist farblich abgestimmt auf das **negative** Stromkabel



#### E. Vorbereitung der Glasplatten

1. Reinigen Sie die Glasplatten, Abstandhalter (Spacer) und Kämme mit einem milden Detergenz (z.B. Spülmittel). Verwenden Sie keinesfalls Scheuermittel. Für Gele, die eine besonders saubere Oberfläche benötigen (z.B. große oder sehr dünne Gele, Silberfärbung), können Sie die Glasplatten anschließend noch mit Ethanol, Aceton und wieder mit Ethanol reinigen.
2. Die Glasplatten können durch Bedampfen mit Dimethyldichlorsilan silanisiert werden, wenn dies zur leichteren Trennung der Platte vom Gel nach dem Gellauf benötigt wird.
3. Wir empfehlen, die Glasplatten nur mit Handschuhen anzufassen (Fingerabdrücke können mit Aceton entfernt werden).

**HINWEIS:** Alle Glasplatten, Module und Zubehörteile für die Gelgießstation müssen beim Aufbau vollständig trocken sein. Bei nassen Komponenten ist die Wahrscheinlichkeit größer, dass sie Lecks verursachen.

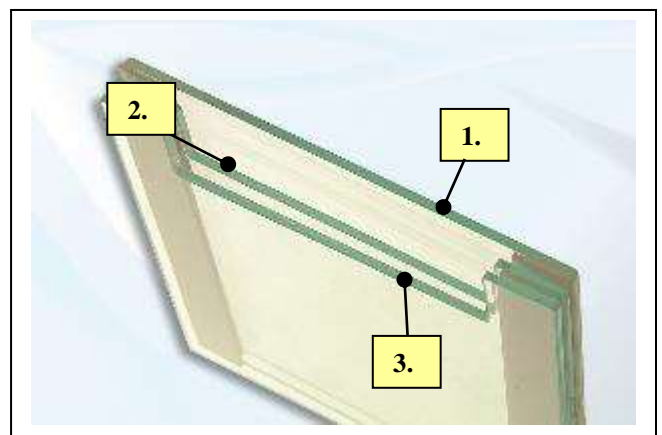
#### F. Zusammenfügen der Glasplatten

Legen Sie die gesäuberten Glasplatten mit den fixierten Spacern nach oben auf eine ebene, saubere Unterlage und legen Sie die ebenfalls gesäuberten, eingebuchteten Glasplatten (Ohrenplatten) passgerecht darauf. Sollten Sie Standard-Glasplatten ohne fixierte Spacer verwenden, legen Sie die Spacer längs außen an die kurzen Seiten der Platten und legen Sie die Ohrenplatte darauf. Achten Sie darauf, dass die matt geschliffene Seite der Glasplatten später die untere Kante bildet.

**HINWEIS:** Die Glasplatten mit fixierten Spacern tragen an der Oberkante der Spacer einen Pfeil als Markierung, um die obere Seite der Platten zu markieren.

#### Glasplattensandwich für Doppelgele unter Verwendung der gelben Wellenklammern (siehe Seite 10):

- Glasplatte mit fixierten Spacern (1.)
- Ohrenglasplatte mit fixierten Spacern (2.)
- Ohrenglasplatte (3.)



## G. Gießen des Gels

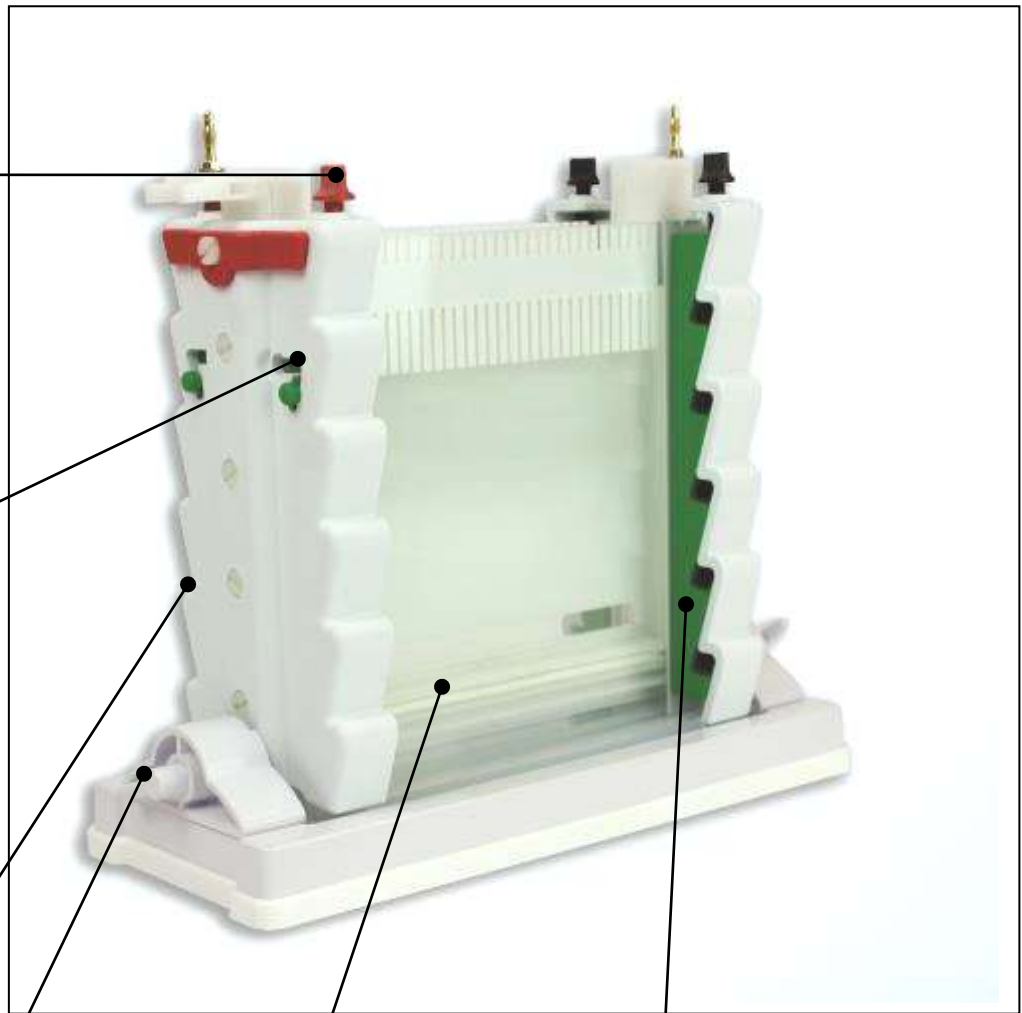
### Leckfreies Gelgießen durch Vertikale Schraubstift Technik

Vertikale Schraubstifte, schieben die Wellenklammern nach unten und verankern die Glasplatten so fest im Laufmodul. Die Stifte sind farblich gekennzeichnet, um eine Verwechslung der Pole zu verhindern.

Die Klammern lassen sich in die wellenförmigen Ausbuchtungen im Laufmodul schieben, sodass man die Glasplatten-Sandwiches ohne Behinderung in das Laufmodul einsetzen und wieder herausnehmen kann.

Das ergonomische "Wellendesign" des Laufmoduls bietet den Fingern guten Halt und ermöglicht so eine einfache Handhabung.

Nockenstifte drücken das Laufmodul fest gegen die weiche Silikonmatte im Gelgießmodul und sorgen so für eine leckfreie Abdichtung.



Eine flache, horizontale Dichtung verhindert das Austreten von Strom aus der inneren Pufferkammer.

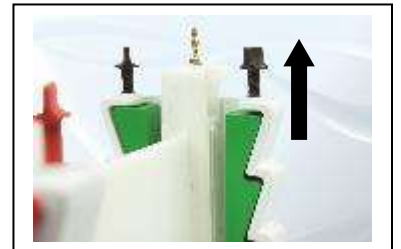
Die verschiebbaren Wellenklammern sind in zwei Stärken und Farben erhältlich - für einfache (**grün**) und doppelte (**gelb**) Glasplatten-Sandwiches.

## Detallierte Einrichtung des Systems:

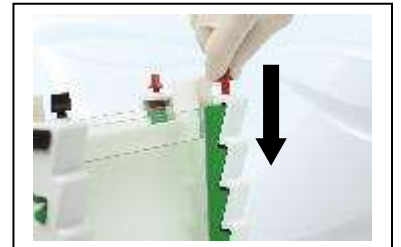
1. Setzen Sie jedes Glasplatten-Sandwich auf einer ebenen Unterlage zusammen – legen Sie zunächst die Standard-Glasplatte mit den Spacern nach oben auf die Unterlage und platzieren Sie dann die Ohren-Glasplatte darauf.



2. Lösen Sie die vertikalen Schraubstifte im Laufmodul, sodass die Klammern in die wellenförmigen Ausbuchtungen des Laufmoduls gleiten können.



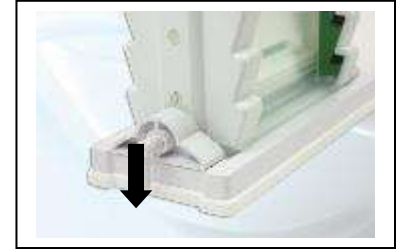
3. Setzen Sie auf jeder Seite der inneren Pufferkammer des Laufmoduls ein Gel-Sandwich ein und beginnen Sie, die vertikalen Schraubstifte festzuziehen.



4. Ziehen Sie die Schraubstifte weiter an, bis die Gelklammern aus den Ausbuchtungen gleiten, sich fest an die Glasplatten legen und diese so nach oben drücken.



5. Überprüfen Sie die Unterseite der Glasplatten, um sicherzustellen, dass sie bündig ausgerichtet sind. Setzen Sie dann das Laufmodul in das Gelgießmodul. Achten Sie darauf, dass die Nocken nach unten zeigen.



6. Schieben Sie die Nocken nach innen und drehen Sie sie zur Seite, bis sie fest angezogen sind. Dabei wird das Laufmodul auf die Matte des Gelgießmoduls gedrückt und so abgedichtet.



7. Gießen Sie die Gele aus und setzen Sie die Käbme ein. Lassen Sie die Gele auspolymerisieren. Das Einfüllen der Gellösung erfolgt am besten mit einer 25-ml- oder 50-ml-Pipette.



8. Setzen Sie das Laufmodul in den Geltank ein. Befüllen Sie die innere und äußere Pufferkammer mit Pufferlösung, bevor Sie die Proben laden.



9. Setzen Sie den Deckel wieder auf, schließen Sie das Gerät an das Stromnetz an und starten Sie es.



## Umstellung des Systems von 2- auf 4-Gel-Konfiguration

Die dickeren grünen Gelklammern werden zur Befestigung von bis zu 2 Gelen (d. h. 1 Gel auf jeder Seite des Laufmoduls) mit einer maximalen Dicke von 2 mm verwendet. Für 4 Gele (d. h. 2 Gele auf jeder Seite des Laufmoduls) **müssen** die dünneren GELBEN Gelklammern verwendet werden. Das Gel-Sandwich setzt sich in diesem Fall zusammen aus 1 Standard-Glasplatte und 1 Ohren-Glasplatte, beide mit aufgeklebten Spacern, und 1 weiteren Ohren-Glasplatte ohne Spacer.

Um das System von einer 2- auf eine 4-Gel-Konfiguration umzustellen, gehen Sie bitte nach der folgenden Anleitung vor:

1. Um die grünen Gelklammern zu ersetzen, lösen Sie zunächst die farblich gekennzeichneten vertikalen Schraubstifte. Auf der betreffenden Seite darf sich keine Glasplatte im Laufmodul befinden. Sobald die Schraubstifte ausreichend herausgeschraubt sind, sollte die grüne Klammer wie abgebildet in der wellenförmigen Ausbuchtung des Laufmoduls sitzen.



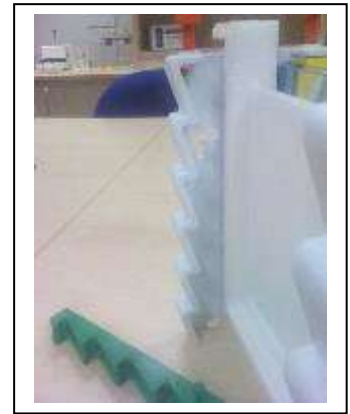
2. Schieben Sie die grüne Klammer jetzt vorsichtig horizontal soweit in Richtung Mittelteil des Laufmoduls, bis sie sich nicht weiter bewegen lässt.



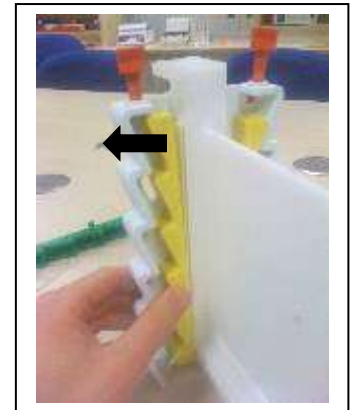
3. Schieben Sie die grüne Klammer aus dem Laufmodul heraus, indem Sie leicht auf den hervorstehenden Stift drücken (siehe Abbildung).



4. Sobald die grünen Gelklammern entfernt sind, können die dünneren gelben Gelklammern für 2-Gel-Sandwiches auf beiden Seiten des Laufmoduls eingefügt werden, um das System in eine 4-Gel-Konfiguration umzuwandeln.



5. Drücken Sie den Stift an der gelben Gelklammer in das Loch oben an der wellenförmigen Ausbuchtung des Laufmoduls. Ziehen Sie die Klammer dann vorsichtig nach außen, wie gezeigt.



6. Ziehen Sie die Gelklammer soweit zurück, bis sie wie abgebildet in der wellenförmigen Ausbuchtung sitzt. Wiederholen Sie die Schritte 1-6, um die verbleibenden grünen Gelklammern zu ersetzen. Nach Fertigstellung ist das Laufmodul bereit für die Aufnahme von 4 Gelen.

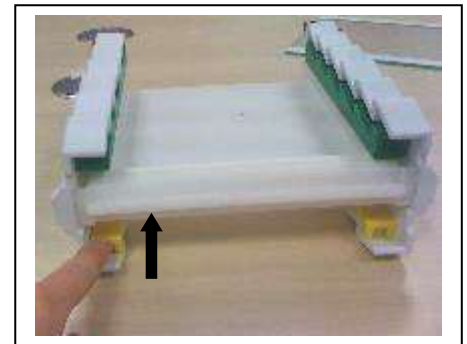


## Laufmodul mit 4 Gelen

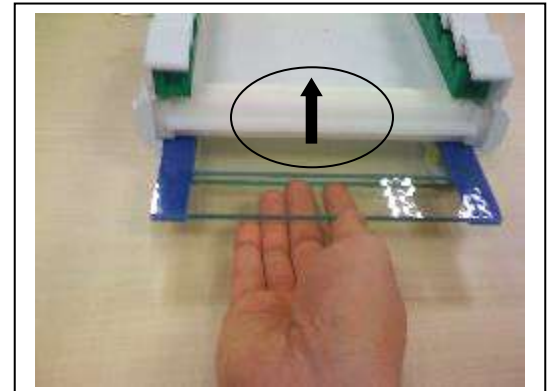
Nach dem Umbau in die 4-Gel-Konfiguration mit Hilfe der gelben Gelklammern ist das System bereit, maximal vier Gele mit einer Dicke von 1 mm bis 2 mm aufzunehmen.

- **1-mm-dicke 2-Gel-Sandwiches** können von oben in das Laufmodul geschoben werden, wie in den Abbildungen 1-9 im Abschnitt "Detaillierte Einrichtung des Systems" auf den Seiten 7-8 gezeigt.
- Zum Einschieben von **1,5- und 2-mm-dicken 2-Gel-Sandwiches** kann es jedoch erforderlich sein, das Laufmodul zunächst auf die Seite zu legen, um einen eventuellen Widerstand der Dichtung zu überwinden. Die **nachstehende Anleitung** zeigt, wie dies am besten zu bewerkstelligen ist:

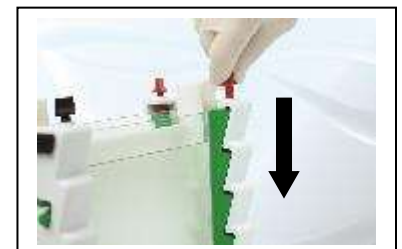
1. Lösen Sie bei aufrecht stehendem Laufmodul die Schraubstifte so weit, dass die Gelklammern in die wellenförmigen Ausbuchtungen gleiten. Legen Sie dann das Laufmodul auf die Seite und schieben Sie die Klammern, bis sie vollständig flach im Laufmodul und parallel zur Tischoberfläche liegen.



2. Setzen Sie auf einer ebenen Arbeitsfläche ein 2-Gel-Sandwich zusammen, wie auf Seite 5 beschrieben. Schieben Sie das 2-Gel-Sandwich mit der Ohren-Glasplatte nach oben in das Laufmodul. Diese Ohren-Glasplatte befindet sich in aufrechter Position am nächsten zum Mittelteil des Laufmoduls und kann auf einen eventuellen Widerstand der Dichtung stoßen. Um das zu vermeiden, schieben Sie unter der Ohren-Glasplatte zunächst die beiden anderen Glasplatten in das Modul (**eingekreist**).



3. Sobald der Widerstand überwunden ist, schieben Sie die oberste Ohren-Glasplatte in das Laufmodul. Bringen Sie das Modul wieder in seine normale aufrechte Position und beginnen Sie mit der Befestigung der Glasplatten für die vertikale Elektrophorese, wie unter **Detaillierte Einrichtung des Systems**, Schritte 3-9, auf den Seiten 7-8 beschrieben.



## H. Gelvorbereitung

1. Für reproduzierbare Ergebnisse und für Ihre Sicherheit empfehlen wir die Verwendung von Acrylamid-Stammlösungen z.B. ROTIPHORESE □ Gel 30 oder ROTIPHORESE □ Gel 40; weitere Acrylamid-Stammlösungen für Ihre Anwendungen finden Sie im Roth-Gesamtkatalog). Acrylamid-Lösungen sollten an einem kühlen, dunklen Ort (Kühlschrank) gelagert werden. Zum Gießen des Gels sollten die Lösungen Raumtemperatur haben, aber bringen Sie nur das für das Gel / die Gele benötigte Aliquot auf Raumtemperatur. Vermeiden Sie Hitze- und Sonnenexposition.
2. Trennung von Proteinen: Für ein 12 %iges Gel der Größe 20 x 10 cm setzen Sie insgesamt 60 ml in einem sauberen Glasgefäß an: 24 ml 30 % Acrylamid-Stammlösung, 15 ml Tris (1,5 M, pH 8,8), 600 µl SDS (10 %), destilliertes Wasser ad 60 ml. Direkt vor dem Gießen zugeben: 600 µl frisch angesetztes Ammoniumpersulfat (10 %), 24 µl TEMED.  
Trennung von DNA: für ein 12 %iges Gel der Größe 20 x 10 cm setzen Sie insgesamt 60 ml in einem sauberen Glasgefäß an: 24 ml 30 % Acrylamid-Stammlösung, 12 ml 5 x TBE, destilliertes Wasser ad 60 ml. Direkt vor dem Gießen zugeben: 420 µl frisch angesetztes Ammoniumpersulfat (10 %), 24 µl TEMED. Mischen ohne Luftblasen zu erzeugen.
3. Testen Sie ein kleines Volumen in einem separaten Gefäß, bevor Sie das Gel gießen. Die Polymerisation sollte innerhalb von 5-10 Minuten stattfinden. Ist das nicht der Fall, adaptieren Sie die Bedingungen, indem Sie die zugegebene TEMED-Menge entsprechend erhöhen oder erniedrigen. Gießen Sie das Gel nicht im direkten Sonnenlicht.
4. Wenn Sie nur mit einem Gel arbeiten, setzen Sie bitte eine Ausgleichsplatte auf der anderen Seite des Laufmoduls ein.
5. Das Gelgießen kann direkt in der Gelgießeinheit durchgeführt werden. Füllen Sie das Gemisch langsam zwischen die Glasplatten ein. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen.
6. Wenn Sie ein Zweiphasengel (Sammelgel und Trenngel) gießen wollen, gießen Sie zuerst das Trenngel (s. oben) bis etwa 2 cm unter den Rand der Einbuchtung der Ohrenplatte. Achten Sie darauf, dass sich keine Luftblasen im Gel befinden und überschichten Sie das Trenngel vorsichtig 3-5 mm hoch mit Isopropanol. Durch den Luftabschluss erzielen Sie eine bessere Polymerisation.
7. Nach der Polymerisation des Trenngels gießen Sie das überschichtete Isopropanol weg. Saugen Sie Restmengen Isopropanol mit einem Filterpapier ab, vermeiden Sie dabei jeden Kontakt zur Geloberfläche. Spülen Sie den oberen Rand des Trenngels einmal destilliertem Wasser und saugen Sie die Flüssigkeitsreste wieder ab.
8. Setzen Sie jetzt das Sammelgel frisch an und gießen Sie es. Stellen Sie beim Einfüllen der Kammer sicher, dass keine Luftblasen eingeschlossen werden. Sammelgele bestehen i. d. R. aus 5 % igem Acrylamid. Setzen Sie insgesamt 10 ml in einem sauberen Glasgefäß an: 1,6 ml 30 % Acrylamid-Stammlösung, 1,2 ml Tris (1 M, pH 6,8), 100 µl SDS (10%), destilliertes Wasser ad 10 ml. Direkt vor dem Gießen zugeben: 100 µl frisch angesetztes Ammoniumpersulfat (10 %), 10 µl TEMED.
9. Schieben Sie sofort vorsichtig einen Kamm zwischen die Gelplatten und lassen Sie die Acrylamidlösung auspolymerisieren.  
**Vorsicht:** Schieben Sie den Kamm langsam ein! Vermeiden Sie ein Spritzen des Acrylamids! Wir empfehlen, für diesen Schritt einen Augenschutz zu tragen.
10. Sobald das Sammelgel polymerisiert ist, können Sie das Gel verwenden. Entfernen Sie die Halter des Gelgießstandes und entnehmen Sie das Laufmodul mit den gegossenen Gelen.

**Für den Lauf:** Öffnen Sie **nicht** die Klammern am Laufmodul, sondern setzen Sie es mit den Gelen in den Tank ein.

**Für eine Lagerung:** Öffnen Sie vorsichtig die Klammern. Schlagen Sie das Gel leicht feucht in Klarsichtfolie ein und lagern Sie es bei 4 °C für maximal 2 Tage.

## I. Gel- und Puffervolumina / Bedingungen für den Gellauf / Kühlung

### Gelvolumen insgesamt

1 mm dicke Gele:

Einfach – ein Gel, eine Ausgleichsplatte	17.5 ml
Doppelt – zwei Gele	35.0 ml
Vierfach – vier Gele, Verwendung von 3-Platten-Sandwiches	70.0 ml

Bei Gelen mit anderer Dicke multiplizieren Sie die oben genannten Mengen mit der Dicke des Spacers.

### Puffervolumen - Füllstand

	Innerer Tank	Äußerer Tank	Kühlpotential	Puffervolumen
<b>Minimum</b>	bis über die Geltaschen	bis knapp über den Boden der Glasplatten	Minimal – kann Auftrennung beeinträchtigen	Innerer Tank: 300 ml Äußerer Tank: 500 ml
<b>Maximum</b>	bis über die Geltaschen	bis zur max. Fülllinie	Hoch – gute Auftrennung	Innerer Tank: 300 ml Äußerer Tank: 2800 ml (2 Gele) Äußerer Tank: 2300 ml (4 Gele)
<b>Bei Verwendung des Kühlpads</b>	bis über die Geltaschen	bis zur max. Fülllinie	Maximal – weitere verbesserte Auftrennung	Innerer Tank: 300 ml Äußerer Tank: 2300 ml (2 Gele) Äußerer Tank: 1800 ml (4 Gele)

Laufpuffer für Proteingele: Tris-Glycin-Puffer: 25 mM Tris-base, 250 mM Glycin (pH 8,3), 0,1 % SDS

Laufpuffer für DNA-Gele: 1 x TBE

Einige Richtlinien für die Arbeitsbedingungen sind in den Tabellen oben und in Absatz J dargestellt, jedoch variieren die Bedingungen in Abhängigkeit von der Gelanzahl, ihrer Zusammensetzung und dem Vernetzungsgrad Polyacrylamids. Der benötigte Strom nimmt proportional zur Gelanzahl oder Geldicke zu, vorausgesetzt die Spannung erweist sich nicht als begrenzend. Zum Beispiel benötigen 2 Gele eine doppelt so hohe Stromstärke wie ein Gel, bei gleicher Spannung. Durch Erhöhung der Gelkonzentration erhöht sich der elektrische Widerstand und dadurch verringert sich die Wanderungsgeschwindigkeit. Es können höhere Spannungen angelegt werden, achten Sie jedoch bitte darauf, dass das Gel nicht überhitzt wird. Die Leitfähigkeit von Gelen mit nicht dissoziierenden Puffersystemen variiert enorm und die Bedingungen müssen empirisch bestimmt werden.

Falls gewünscht, legen Sie die vorgekühlten Kühlakkus in das Ende des Tanks. Die Akkus sollten mit der kurzen Seite nach unten am Ende des Tanks positioniert und in die Vertiefung gedrückt sein. Die Akkus können auch entlang der Vorderseite des Tanks angebracht werden. Wird das Kühlset verwendet, muss das niedrigere Puffervolumen auf mindestens 1000 ml erhöht werden.

**Bitte beachten:** Bringen Sie die Akkus nie unter dem Modul im Boden des Tankes an. Dies verhindert nur den Stromfluss durch das Gel und führt dazu, dass das Gel langsam läuft und das Gerät überhitzt wird.

Die Angaben zu den Laufbedingungen dienen nur als Richtlinien und gelten für SDS-Tris-Glycin-Gele. Sollten die Platten heiß werden, erhöhen Sie die Wasserflussraten innerhalb der empfohlenen Grenzen oder reduzieren Sie die Stromstärke.

## J. Probenauftrag

1. Entfernen Sie vorsichtig den Probenkamm und spülen Sie sofort die Vertiefungen mit einer Spritze oder Plastikpasteurpipette mit Laufpuffer aus. Bei Verwendung von denaturierenden SDS-Gelen ist kein Vorlauf nötig. Bei nativen Proteingelen oder bei DNA-Gelen lassen Sie diese bitte ca. 30 Min. im Gerät vorlaufen, bevor sie die Proben auftragen. Der Tabelle unten können die Proteinmengen entnommen werden, die erfolgreich auf ein Gel aufgetragen werden können.
2. Versetzen Sie Ihre Proteinproben mit 1/3 Volumen ROTI®Load 4fach (SDS-Laufpuffer) oder nehmen Sie das Pellet in ca. 20 µl 1 x ROTI®Load auf. Erhitzen Sie die Probe für 3 Min. auf 100 °C oder für 5 Min. auf 80 °C. Zentrifugieren Sie sie für 5 Min. bei 12000 g. DNA wird mit 1/5 Volumen 6 x Probenpuffer versetzt (z. B. 6 x ROTI®Load DNA) oder pelletierte DNA in 1 x Laufpuffer aufgenommen (z. B. 1 x ROTI®Load DNA).

Geltaschen	Einzelne Bande	Mehrere Banden	Probenvolumen
1 mm x 4 mm	1-6 µg	30-60 µg	<40 µl
1.5 mm x 4 mm	1-10 µg	50-100 µg	<60 µl

- Tragen Sie die Proben mit einer Pipette mit Gelladespitze auf. Vermeiden Sie dabei, Probe aus der Sedimentregion am Boden des Reaktionsgefäßes zu entnehmen. Die Pipettenspitze sollte während des Probenauftrags 1-2 mm über dem Boden der Auftragungsvertiefung gehalten werden, um die Verdünnung der Probe zu minimieren und um die Probe als dichte Schicht aufzutragen. Füllen Sie die unbenutzten Taschen mit gleichen Volumina 1 x Probenpuffer, um einen gleichmäßigen elektrischen Widerstand über das gesamte Gel zu erhalten. Schließen Sie den Sicherheitsdeckel fest, um sicherzustellen, dass die elektrischen Verbindungen guten Kontakt haben.
- Verbinden Sie die Elektrophoresekammer mit dem Netzgerät und schließen Sie dieses an die Stromversorgung an. Stellen Sie an Ihrem Netzgerät die für das jeweilige Gel erforderlichen Werte ein.

Empfohlene Werte für 1 mm dicke, 12 %ige Gele:

	Spannung (V)	Stromstärke (mA)
2-4 Gele	90 – 225 V	20 – 45 mA

### **K. Das Ende des Gellaufs**

- Stellen Sie die Schalter des Netzgerätes auf Null, schalten Sie die Stromversorgung ab und **entfernen Sie die Kabel**.
- Entfernen Sie den Sicherheitsdeckel, indem Sie von oben gegen den Tank drücken und den Deckel herunternehmen.
- Entnehmen Sie das Laufmodul aus dem Tank und gießen Sie den Puffer aus der oberen Pufferkammer aus. Nun können Sie vorsichtig die Klammern lösen und das Gel / die Gele entnehmen.
- Nachdem Sie das Gel aus der Halterung entfernt haben, trennen Sie die Platten mit einer festen breiten Klinge. Beginnen Sie dabei das Trennen der Platten nicht an den Ausbuchtungen. Verteilen Sie die Kraftwirkung über eine große Fläche.
- Überführen Sie das Gel vorsichtig in eine Färbekammer und färben Sie es mit Giemsa (z.B. ROTI®-Blue A152) oder durch Silberfärbung. Oder übertragen Sie es zum Blotten auf eine Membran. DNA-Gele können mit Ethidiumbromid gefärbt werden.
- Nachdem das Gel entfernt wurde, reinigen Sie die Platten sorgfältig und spülen sie mit destilliertem Wasser.
- Leeren Sie die Pufferkammer mit einer Vakuumpumpe und einer angeschlossenen Fangflasche oder gießen Sie vorsichtig den Puffer ab.
- Spülen Sie die Kammer mit destilliertem Wasser, trocknen Sie danach die elektrischen Verbindungen mit einem Tuch entsprechend den Angaben in B. Stellen Sie vor erneutem Gebrauch oder Lagerung sicher, dass die Verbindungen sauber und trocken sind

### **L. Zusätzliche Reagenzien und Hilfsmittel**

ROTIPHORESE®-Gel 30 or 40	3029 oder 3030
ROTIPHORESE® 10x SDS PAGE <i>ready-to-use</i> Laufpuffer	3060
Ammoniumpersulfat (APS)	9592
TEMED	2367
ROTI®Load 1, 4x (reduzierend)	K929
ROTI®Load 2, 4x (nicht-reduzierend)	K930
ROTI®Load 3 (LDS), 4x (nicht-reduzierend)	3359
ROTI®Load DNA 1x (mit Glycerin)	0100
ROTI®Load DNA 6x (mit Glycerin / Ficoll)	X904 / X905
ROTI®Load DNASTAIN SYBR®Green 1-3, 6x (mit Fluoreszenzfarbstoff SYBR®Green)	1CN5, 1CN6, 1CN7
ROTI®Mark SMALL-KOMBI <i>ready-to-use</i> (nicht vorgefärbt)	1LCN
ROTI®Mark ALL BLUE (vorgefärbt)	2242
ROTI®Mark TRICOLOR (vorgefärbt)	8271
ROTI®Mark TRICOLOR XTRA (vorgefärbt)	2244

ROTI®Blue, 5x Kolloidale Coomassie-Färbung	A152
ROTI®Blue quick, Schnellfärbelösung	4829
Silberfärbung ROTI®Black P (Protein)	L533
Silberfärbung ROTI®Black N (DNA)	N769
Ethidiumbromid	7870
Ethidiumbromidlösung 1%	2218
ROTI®GelStain (Ersatz für Ethidiumbromid)	3865
ROTI®GelStain Red (Ersatz für Ethidiumbromid)	0984
Aceton, >99,5 %, zur Synthese	5025
Isopropanol	6752
Ethanol 70%, DAB	7301
Natriumazid	K305
Nivelliertisch	N854
Filterpapier für Gel-Blotting	4926

## **M. Trouble Shooting und Tipps**

### **Gel läuft während des Gießens aus**

- Achten Sie darauf, dass die Glasplatten und Spacer sauber sind und keine Schmutzpartikel anhaften.
- Achten Sie darauf, dass die Gelplatten nach dem Einspannen gerade mit der Unterkante des Laufmoduls abschließen.
- Achten Sie darauf, dass alle Schrauben gleichmäßig und fest angezogen sind.
- Schmieren Sie ein wenig Vaseline auf die Spacer, bevor Sie die Gelplatten zusammenbauen.
- Dichten Sie nach dem Einspannen der Gelplatten in Laufmodul und Gelgießstand die Unterkante des Gels mit Agarose ab. Hierzu wird 1 %ige Agarose in 375 mM Tris, pH 8,8 (Proteingele) oder 1 x TBE (DNA-Gele) durch Schmelzen angesetzt bis keine Schlieren mehr sichtbar sind. Halten Sie den Gelgießstand incl. Platten etwas schräg und lassen Sie etwas Agarose recht heiß an einer Seite des Gels innen hineinlaufen. Stellen Sie die Gelgießeinrichtung gerade, so dass die Agarose sich unten verteilt und eine Abdichtung bildet. Sie können Agarose einfüllen bis zu einer Höhe von etwa 5 mm und nach wenigen Minuten das Polyacrylamidgel gießen. Die Agarose muss vor dem Lauf nicht entfernt werden, sondern bleibt während des Laufes zwischen den Platten.
- Vor dem Einspannen der Gelplatten kann das untere Ende mit Packband abgeklebt werden. Heften Sie hierzu die Platten nach dem Zusammenbau mit kräftigen Klammern zusammen und kleben Sie einen Streifen breites Packband längs an den unteren Rand der Glasplatten, so dass er den Spalt abschließt und an beiden Seiten einige Zentimeter übersteht. Nach Umschlagen und Festkleben an den Glasplatten wird das Packband fest angedrückt. Die Glasplatten können nun zum Gießen des Gels in das Laufmodul und den Gelgießstand eingespannt werden. Nach dem Auspolymerisieren des Gels muss das Packband allerdings entfernt werden, bevor das Gel erneut eingespannt und für den Lauf vorbereitet wird.

### **Luftblasen im Gel beim Gießen**

- Sofort entfernen mit einem dünnen Spacer oder das Gel etwas schräg halten und die Luftblasen an den Rand klopfen.

### **Das Gel polymerisiert nicht vollständig aus**

- Kann verursacht werden durch niedere Temperaturen, zu geringe Mengen an TEMED, zu altes (degradiertes) TEMED, zu altes APS oder zu niedrige Acrylamidkonzentrationen. Verwenden Sie frische Lösungen, v.a. frisch angesetztes APS. Bewahren Sie alle anderen Lösungen im Kühlschrank auf. Entgasen Sie die Gellösung vor dem Ansetzen.

### **Gel läuft nicht / keine Luftblasen an den Elektroden**

- Kontrollieren Sie alle Anschlüsse, Stecker und Schalter. Achten Sie darauf, dass der Spiegel des oberen Puffers über die Ausbuchtung der Ohrenplatte reicht.

### **Glasplatten haben nach dem Lauf Sprünge oder brechen während des Laufes**

- Das Gel war zu großer Spannung ausgesetzt. Ziehen Sie die Schrauben etwas weniger fest an. Achten Sie beim Festziehen darauf, dass der Druck auf alle Schrauben in kleinen Schritten gleichmäßig erhöht wird! Erniedrigen Sie die Voltzahl während des Laufes. Hierdurch wird das Gel weniger heiß.

### **Nach oben gezogene Ränder des Gels - „Smiling“**

- Die Temperatur im Gel war nicht gleichmäßig verteilt. Reduzieren Sie die Voltzahl während des Laufs, verstärken Sie die Kühlung. Achten Sie darauf, leere Taschen mit Probenpuffer zu befüllen.

### **Vertikale Schlieren in den Banden**

- Möglicherweise befanden sich Schmutzpartikel im Gelansatz. Verwenden Sie Roth-Acrylamid Stammlösungen, achten Sie darauf, dass die Gellösung in sauberen Glasbehältern angesetzt wird. Vor dem Zusatz von APS und TEMED kann die Lösung filtriert und entgast werden.
- Die Probe wurde vor dem Auftragen nicht zentrifugiert oder Sediment wurde mit aufgetragen.
- Es wurde zuviel Protein aufgetragen. Verdünnen Sie die Probe.
- Reduzieren Sie die Spannung (Volt) während des Laufes.

### **Banden sind horizontal verwischt**

- Wird durch Diffusion der Probe vor dem Lauf verursacht. Tragen Sie rascher auf und lassen Sie das Gel nach dem Auftragen sofort laufen.

### **Banden sind diffus**

- Zu große Proteinmenge für zu kleine Taschen bzw. zu dünnes Gel. Tragen Sie weniger Protein auf.
- Zu hohe Spannung reduziert zwar die Laufzeit, ergibt aber eine schlechtere Trennung der Proteine. Reduzieren Sie die Spannung während des Laufes.
- Bei DNA Gelen: Verwenden Sie den gleichen Ansatz 5 x TBE, um das Gel und den Laufpuffer herzustellen. Kleine Unterschiede in der Ionenkonzentration können die Trennung empfindlich stören.

#### **Carl Roth GmbH + Co. KG**

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe  
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carloth.de • www.carloth.de

ed 10/2021

