



# Gebrauchsanweisung

## ROTIPHORESE® PROfessional IEF (1Y9Y.1)

### Warnhinweis:

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

Die horizontalen Elektrophorese-Einheiten von Roth sind für langen Gebrauch und reproduzierbare Ergebnisse in Ihrem Labor konzipiert. Das Gerät darf niemals ohne korrekt aufgesetzte Sicherheitsabdeckung verwendet werden. Das Gerät darf nicht verwendet werden, wenn Anzeichen für eine Beschädigung des externen Tanks oder des Deckels vorhanden sind. Nehmen Sie sich bitte einen kurzen Moment Zeit um diese Anleitung zu lesen.

Diese Geräte entsprechen den folgenden europäischen Richtlinien:

2014/35/EU Niederspannungsrichtlinie und 2014/30/UE (offizieller Titel 2004/108/EG) EMV Elektromagnetische Verträglichkeit

Gemäß den folgenden standardisierten Normen:

BS EN IEC 61010-1: 2010 Sicherheitsprüfung von Laborgeräten

BS EN IEC 61326-1:2013 EMV Elektromagnetische Verträglichkeit

ROHS-RICHTLINIE 2011/65/EU

BS EN 50581:2012 Beschränkung der Verwendung gefährlicher Stoffe

### Lieferumfang

- 1 Elektrophoresekammer → Basis und Sicherheitsdeckel
- 1 Kühlplatte
- 2 Kathodenelektroden
- 2 Anodenelektroden
- 1 Glaselektrodenrahmen
- 2 Stromkabel
- 1 IPG-Streifen Fokussierschale
- 1 IPG-Streifen Rehydratisierungsschale

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 Garantifrist auf.**

### Spezifikation:

Für diese Kammer für die isoelektrische Fokussierung gilt eine Garantie gegen Herstellungs- und Materialfehler von 12 Monaten ab dem Datum des Erhalts durch den Kunden. Diese Garantie erstreckt sich nicht auf Defekte, die durch Unfall oder Missbrauch entstanden sind, oder auf Defekte, die durch unsachgemäße Bedienung verursacht wurden.

<b>Kapazität</b>	1 bis 12 IPG-Streifen	7 bis 24 cm lang
	IEF-Gel	Bis zu 24 cm x 22 cm
<b>Maße der Plattform</b>	25 cm x 23 cm	
<b>Betriebsbedingungen</b>	Maximale Spannung	3000 V
	Maximaler Strom	300 mA
	Leistung	300 W
<b>Temperatur der Plattform</b>	7-30 °C	
<b>Maße des Geräts</b>	58 cm x 45 cm x 13 cm	
<b>Gewicht</b>	8,5 kg	
<b>Umgebungsbedingungen für den Betrieb</b>	Maximale Höhenlage	2000 m
	Temperatur Bereich	4 °C – 65 °C
	Luftfeuchtigkeit	Bis zu 80 %
	Nicht für den Außenbereich geeignet	

## Pflege und Wartung

### Reinigung der Kammer

Das Gerät sollte gründlich mit warmem oder destilliertem Wasser gespült werden, um die Ansammlung von Salzen zu verhindern. Dabei ist darauf zu achten, dass die Plattenelektroden nicht beschädigt werden. Eine gründliche Reinigung ist weder notwendig noch ratsam. Vor der Verwendung sollte das Gerät vollständig luftgetrocknet sein. Die Geräte werden am besten mit warmem Wasser und einer milden Seifenlösung oder einem anderen milden Reinigungsmittel gereinigt.

- Wasser mit einer Temperatur von über 60 °C kann das Gerät und seine Komponenten beschädigen.
- Zu den verträglichen Reinigungsmitteln gehören Geschirrspülmittel, Hexan und aliphatische Kohlenwasserstoffe.

### **Hinweis: Das Gerät sollte nicht länger als 30 Minuten in Reinigungsmittel eingelegt werden.**

- Das Gerät darf niemals mit Reinigungsmitteln wie Aceton, Phenol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Methanol, Ethanol, Isopropylalkohol und Alkalien in Kontakt kommen. Diese verursachen irreversible und schwerwiegende Schäden.

### RNase-Dekontamination:

Die RNase-Dekontamination kann nach folgendem Protokoll durchgeführt werden:

Reinigen Sie das Gerät wie oben beschrieben mit einem milden Reinigungsmittel. Dann mit 3%igem Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 10 Minuten lang waschen und schließlich mit 0,1%igem DEPC- (Diethylpyrocarbonat) behandeltem destilliertem Wasser (z.B. Art. Nr. T143.1) spülen.

(Achtung! DEPC steht im Verdacht, krebserregend zu sein. Treffen Sie bei der Verwendung stets die erforderlichen Sicherheitsmaßnahmen).

## Bedienung des IEF-Systems

### Aufbau der Kühlplatte:

Das Gerät ist mit einer Kühlplatte ausgestattet, die als Plattform für den Betrieb mit IPG-Streifen dient und eine Überhitzung der Streifen verhindert, wenn ein Umlaufkühler daran angeschlossen ist. Die Kühlplatte verfügt über zwei Dichtungsöffnungen, die die Kühlplatte abdichten, wenn sie entfernt werden. Vor dem Anschluss an den Umlaufkühler sollten diese entfernt werden, indem Sie auf den Metallknopf an der Oberseite jeder Öffnung drücken.

### Anschließen des Umlaufkühlers an die Kühlplatte:

Verbinden Sie die Schläuche des Kühlers mit den beiden Anschlussdichtungen. Stecken Sie die Anschlussdichtungen auf die Anschlüsse; dadurch werden diese in die offene Position gebracht.

**Hinweis:** Der Kühler muss für die Nutzung mit IPG-Streifen auf 16-17 °C, und für Fertiggele für die isoelektrische Fokussierung auf 2-4 °C, eingestellt werden. Schalten Sie das Kühlgerät mindestens 10 Minuten vor der Elektrophorese ein, damit die Kühlplatte die gewünschte Temperatur erreichen kann.

### Isoelektrische-Fokussierung mit Elektrodenstreifen

#### **IPG-Streifen Probenrehydratation**

1. Legen Sie die einzelne IPG-Streifen in die Rehydrationskanäle in der Rehydratationsschale
2. IPG-Streifen über Nacht in Puffer (8M Harnstoff, 1% CHAPS, 13mM DTT und 0.5% SERVALYT™ 3-10, entsprechend dem pH-Gradienten des IPG-Streifens) mit SERVA Proteom-Markern inkubieren. Mindestens 5 und 50 µg Protein reichen für 7 bzw. 18 cm lange IPG-Streifen.
3. Überschichten Sie jeden Streifen mit Silikonöl, um ein Austrocknen während der Inkubationszeit über Nacht zu verhindern.

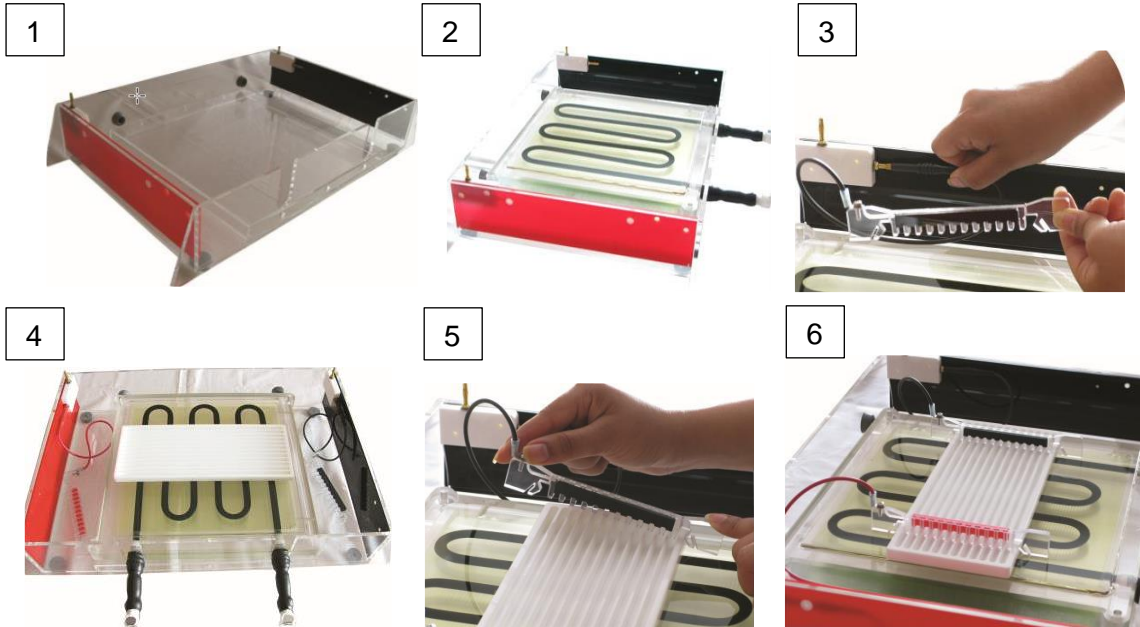
#### **Elektrophorese**

1. Stellen Sie das Gerät an einer geeigneten Stelle auf den Labortisch.
2. Setzen Sie die Kühlplatte in das Basisgerät ein. Achten Sie darauf, dass die Rohre aus den Aussparungen in der Seitenwand herausragen. Stellen Sie die gewünschte Temperatur des Kühlers ein und schalten Sie ihn mindestens 10 Minuten vor der Elektrophorese ein, damit die Kühlplatte die gewünschte Temperatur erreichen kann.
3. Verbinden Sie jede verstellbare Elektrode mit den im Tank befestigten Goldsteckern. Die Elektroden sind zur korrekten Ausrichtung der Polarität farblich gekennzeichnet.
4. Legen Sie die Fokussierschale für die IPG-Streifen direkt auf die Kühlplatte.
5. Legen Sie die IPG-Streifen mit einer Pinzette mit der Gelseite nach oben in die Laufwanne. Bedecken Sie dann die Anoden- und Kathodenenden der IPG-Streifen mit Elektrodendochten, die mit deionisiertem Wasser getränkt sind. Bedecken Sie die IPG-Streifen vor Beginn des Laufs mit ausreichend Silikonöl.
6. Klemmen Sie die beiden Fokussierschalen-Elektroden vorsichtig über das Anoden- bzw. Kathodenende des IPG-Streifens.

Schrauben Sie die Stromkabel in den Deckel, bevor Sie ihn auf den Geltank setzen. Schließen Sie dann die Stromkabel an die Stromversorgung an. Das Gerät ist nun bereit für die isoelektrische Fokussierung.

### Empfohlene Laufbedingungen für IPG-Streifen

Empfohlene Laufbedingungen für IEF von 7cm SERVA IPG Streifen	Spannungsstufe	1	2	3	4	5	6 Ende
	Spannung (V)	150	300	600	1500	3000	330
	Zeit (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	2.5	<20
	Volt-Stunden	75	150	300	750	7500	-
Empfohlene Laufbedingungen für IEF von 18cm SERVA IPG-Streifen	Spannungsstufe	1	2	3	4	5 Ende des Laufs	
	Spannung (V)	300	600	1500	3000	330	
	Zeit (h)	1	1	1	12.5	<20	
	Volt-Stunden	300	600	1500	37500	-	



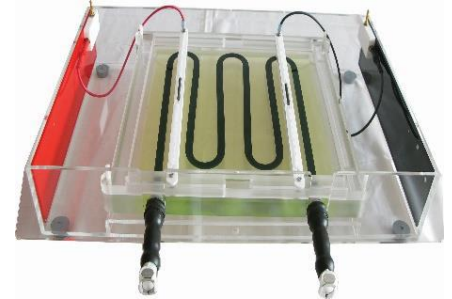
### Elektrophorese / Elektrofokussierung mit Benutzung eines vorgefertigten Gels

Die Zusammensetzung und der Betrieb von IEF-Gelen variiert erheblich, je nach dem erforderlichen pH-Bereich, der Anwendung (nativ oder denaturierend) und dem Format der Gele. Bei den folgenden Anweisungen handelt es sich um allgemeine Anweisungen für Anwendungen der isoelektrischen Fokussierung, bei denen die Gele von Hand gegossen oder in einem horizontalen Format auf einem Gelträger (nicht im Lieferumfang enthalten) vorgeformt werden. Für Gelzusammensetzungen, empfohlene Temperaturen, Spannungen und Laufzeiten empfehlen wir Ihnen geeignete Fachliteratur zu lesen.

1. Stellen Sie das Gerät an einer geeigneten Stelle auf den Labortisch.
2. Setzen Sie die Kühlplatte in das Basisgerät ein. Achten Sie darauf, dass die Rohre aus den Aussparungen in der Seitenwand herausragen. Stellen Sie die gewünschte Temperatur des Kühlers ein und schalten Sie ihn mindestens 10 Minuten vor der Elektrophorese ein, damit die Kühlplatte die gewünschte Temperatur erreichen kann.
3. Für den Lauf von horizontalen Fertiggelen den Elektrodenrahmen (1Y47.1) direkt über der Kühlplatte anbringen und dabei sicherstellen, dass die Stifte im Rahmen mit den Löchern der Kühlplatte ausgerichtet sind.
4. Geben Sie 1-5 ml des nichtionischen Detergens Triton X100 (oder Kerosin) auf die Oberfläche der Kühlplatte. Dies dient als Wärmeübertragungsmittel zwischen der Kühlplatte und dem Gel während des Laufs. Legen Sie das Gel auf seiner Unterlage in der gewünschten Position auf die Kühlplatte, so dass es am unteren Rand mit dem aufgetragenen Triton X100 in Berührung kommt. Senken Sie das Gel langsam ab, so dass sich das Triton unter der Gelträgerplatte ausbreitet, die Luft herausgedrückt wird und ein guter Kontakt mit der Oberfläche der Kühlplatte gewährleistet ist. Entfernen Sie alles überschüssige Triton von der Kühlplatte.
5. Bereiten Sie zwei Elektrodenstreifen vor, einen Kathoden- und einen Anodenstreifen, indem Sie aus Filterpapier Streifen schneiden, die etwas kürzer als die Gelbreite sind. Befeuchten Sie die Elektrodenstreifen mit den entsprechenden Elektrodenlösungen und entwässern Sie die Streifen bei Bedarf.
6. Platzieren Sie die Elektrodenstreifen 2 mm von den Kathoden- und Anodenrändern des Gels entfernt. Die markierten Positionen helfen bei der Positionierung. Achten Sie darauf, dass die Elektrodenstreifen etwas kürzer sind als das Gel, auf dem sie angebracht werden. Dadurch wird ein elektrischer Kontakt entlang der

Ränder des Gels vermieden. Bei Verwendung eines vorgefertigten IEF-Gels können die Proben mit Pipetten in die Vertiefungen eines Probenapplikatorstreifens (nicht mitgeliefert) geladen werden, der in der Mitte über die Breite des Gels gelegt wird. Bei Verwendung eines vorgefertigten Agarosegels geben Sie die Proben einfach in die durch den Kamm gebildeten Vertiefungen.

7. Bringen Sie die Proben auf und fahren Sie mit den Schritten 9 bis 13 fort, wenn eine Vorfokussierung nicht erforderlich ist. Wenn eine Vorfokussierung erforderlich ist, fahren Sie mit den Schritten 9 bis 13 fort, bevor Sie die Proben auflegen und diese Schritte wiederholen. Die Vorfokussierung erfolgt in der Regel bei niedrigerer Spannung als der folgende Trennschritt.
8. Richten Sie die Elektroden anhand der Markierungen auf dem Elektrodenhalter, die mit den Positionen der Elektroden auf der Kühlplatte übereinstimmen, in der richtigen Position aus. Lösen Sie dazu die Schrauben an der Elektrode, schieben Sie sie in den Kanal des Plattenhalters und ziehen Sie die Befestigungsschrauben wieder an.
9. Setzen Sie die Elektrode in das Gerät ein und senken Sie sie vorsichtig ab, so dass der Platindraht der Elektroden mit den Filterpapierdochten auf dem Gel in Kontakt kommt.
10. Schließen Sie die Elektroden an die entsprechenden Buchsen im Basisgerät an. Setzen Sie dann den Sicherheitsdeckel auf und schließen Sie das Gerät an eine geeignete Stromquelle an.
11. Das Gerät ist nun bereit, für den Lauf eingeschaltet zu werden.



### **Beendigung des Laufs:**

1. Trennen Sie nach Beendigung des Laufs die Stromversorgung und schalten Sie den Umlaufkühler aus. Der Kühler sollte durch Drücken des Metallknopfes an den Dichtungsanschlüssen abgetrennt werden. Wenn diese nicht verwendet werden, kann Flüssigkeit aus dem Kühler und der Kühlplatte austreten.
2. Schrauben Sie die Stromkabel ab und entfernen Sie den Sicherheitsdeckel.
3. Entfernen Sie dann vorsichtig die Elektrodendochte, ohne die Streifen zu beschädigen.
4. Die IPG-Streifen sind nun bereit für die Fixierung und Färbung oder die SDS-PAGE für die 2D-Elektrophorese.

### **Fixierung und Färbung von IPG-Streifen:**

1. SERVA Blue R (35051) wird für die Proteinfärbung gemäss dem untenstehenden Protokoll empfohlen.
2. Die IPG-Streifen in 100 ml Fixierlösung (40 ml Ethanol, 10 ml Eisessig und 50 ml Wasser) eintauchen und 30 Minuten lang auf einer Plattform mit 50 bis 100 Umdrehungen pro Minute vorsichtig schütteln.
3. Stammlösung I (0,2 % SERVA Blue R, 90 % Ethanol (P075.1)) und Stammlösung II (20 % Essigsäure) werden gemischt, bevor die IPG-Streifen zugegeben und weitere 20 Minuten auf der Schaukelplatte inkubiert werden.
4. Beginnen Sie mit der Entfärbung der IPG-Streifen, indem Sie sie 30 Sekunden lang in Fixierlösung spülen.
5. Mischen Sie 20 ml Ethanol mit 10 ml Eisessig und 70 ml destilliertem Wasser, während sich die IPG-Streifen noch in der Fixierlösung befinden. Überführen Sie die IPG-Streifen in die Entfärbelösung und inkubieren Sie die IPG-Streifen, bis einzelne Proteinbanden auf einem klaren Hintergrund sichtbar sind.
6. Spülen Sie die IPG-Streifen 5 Minuten lang in destilliertem Wasser. Wiederholen Sie den Vorgang. Die IPG-Streifen sollten nun für die Visualisierung bereit sein.

### **Vorbereitung der Streifen für die zweite Dimension, der SDS-PAGE:**

IPG-Streifen werden häufig in der ersten Dimension der 2D-Elektrophorese verwendet, bei der Proteine zunächst nach ihrem isoelektrischen Punkt aufgetrennt werden. In der zweiten Dimension der 2D-Elektrophorese können sie dann, durch die SDS-PAGE, nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt werden. Bevor jedoch die SDS-PAGE in der zweiten Dimension durchgeführt werden kann, müssen die Streifen nach der IEF in der ersten Dimension äquilibriert werden.

1. Überführen Sie die IPG-Streifen aus dem PROfessional IEF-Gerät in eine saubere Rehydrationschale (1YA3.1). Mit einer Pinzette oder Zange jeden Streifen mit der Gelseite nach oben vorsichtig in den Boden jedes Kanals in der Rehydrierungsschale senken. Bedecken Sie jeden 7 bzw. 18 cm langen Streifen mit 3 bzw. 7 ml Äquilibriumspuffer I (50 mM Tris-HCl, pH 8,8; 6 mM Harnstoff; 30 % Glycerin; 2 % SDS; 0,01 % Bromphenolblau und 1 % (w/v) DTT). 10 Minuten lang vorsichtig auf einer Schüttelplatte inkubieren.
2. Entfernen Sie vorsichtig den Äquilibriumspuffer I aus der Rehydrierungsschale und achten Sie darauf, dass die IPG-Streifen nicht aus der Schale fallen. Geben Sie die gleichen Volumina des Äquilibriumspuffers II (50 mM Tris-HCl, pH 8,8; 6 M Harnstoff; 30 % Glycerin; 2 % SDS; 0,01 % Bromphenolblau und 5 % Iodacetamid) in jeden Kanal, wie in Schritt 1 beschrieben.
3. 10 Minuten lang inkubieren.
4. Nehmen Sie die einzelnen IPG-Streifen aus der Schale und tauchen Sie sie kurz in 1 x Laemmli-Puffer, bevor Sie die Streifen mit einer Pinzette über die Oberseite eines vorgefertigten Acrylamidgels legen. Dabei sollten Sie sicherstellen, dass sich keine Luftblasen zwischen den einzelnen Streifen und dem Gel

befinden. Beachten Sie bitte, dass nur der 1 mm dicke Rand des IPG-Streifens den Rand des Gels berühren sollte, da sonst die Auflösung beeinträchtigt wird.

5. Bedecken Sie den Streifen mit geschmolzener 0,5%iger (w/v) Agarose, um ihn auf dem Gel in Position zu halten. Sobald die Agarose ausgehärtet ist, ist das Gel bereit für die Elektrophorese in der zweiten Dimension.

**Allgemeine Instandhaltung nach der IEF:**

1. Nach Gebrauch die Elektroden aus dem Glaselektrodenrahmen entfernen und sorgfältig mit destilliertem Wasser abspülen, um Korrosion durch starke saure und basische Lösungen zu vermeiden. Tauchen Sie den Buchsenstecker **NICHT** ein.
2. Die Pufferkammern werden mit destilliertem Wasser gespült, wobei darauf zu achten ist, dass der Steckverbinder nicht eingetaucht wird. Trocknen Sie die Kammern mit Hilfe einer Absaugvorrichtung, um eine Beschädigung der Platinelektroden zu vermeiden.

**Empfohlene Produkte und Ersatzteile für die isoelektrische Fokussierung**

<b>Keramikkühlplatte PROfessional IEF</b>	<b>1YA0.1</b>
<b>Fokussierschale PROfessional IEF</b>	<b>1YA6.1</b>
<b>Rehydrationschale PROfessional IEF</b>	<b>1YA3.1</b>
<b>Elektrodenrahmen PROfessional IEF</b>	<b>1YA7.1</b>
<b>Glasplattform PROfessional IEF</b>	<b>CP55.1</b>
<b>Anodenelektrode PROfessional IEF</b>	<b>CP52.1</b>
<b>Kathodenelektrode PROfessional IEF</b>	<b>CP53.1</b>
<b>Anoden-Federelektrode PROfessional IEF</b>	<b>1YA5.1</b>
<b>Kathoden-Federelektrode PROfessional IEF</b>	<b>1YA4.1</b>
<b>Anodenelektrode Fokussierschale PROfessional IEF</b>	<b>1YA2.1</b>
<b>Kathodenelektrode Fokussierschale PROfessional IEF</b>	<b>1YA1.1</b>

**ROTIPHORESE® PROfessional IEF**

**1Y9Y.1**

**Carl Roth GmbH + Co. KG**

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe  
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

iha 11/2022

