

ENDURO™ GEL XL

Benutzerhandbuch



HORIZONTALE GELELEKTROPHORESE-EINHEIT

E0160
E0160-230V
E0160-230V-UK
E160-CAN



Labnet

Über dieses Handbuch

Dieses Handbuch soll Ihnen bei der optimalen Verwendung Ihres Enduro GelXL behilflich sein. Das Handbuch ist auf Englisch, Französisch, Deutsch, Italienisch, Portugiesisch und Spanisch auf unserer Website unter www.labnetinternational.com verfügbar

INHALT

I. WARTUNG.....	1
II. OPTIONEN UND SPEZIFIKATIONEN.....	2
A. Komponenten und Zubehör	2
B. Technische Daten.....	2
III. BEDIENUNGSANWEISUNGEN.....	3
A. Herstellung des Agarosegels und des Elektrophoresepuffers - DNA.....	3
B. Herstellung des Agarosegels und des Elektrophoresepuffers - RNA.....	5
C. Gießen des Gels.....	6
D. Entfernen des Kamms	7
E. Die Proben auf das Gel laden.....	8
F. Elektrische Verbindungen zum Sicherheitsdeckel	8
G. Proben-Elektrophorese.....	10
H. Nachweis und Dokumentation von aufgetrennten Fragmenten	10
IV. ANHÄNGE.....	12
A. Elektrophoresepuffer	12
B. Physikalische Eigenschaften von elektrophoretischen Kunststoffen.....	13
V. REFERENZEN.....	13
 KONFORMITÄTSERKLÄRUNG	 17
 GARANTIE	 18

I. WARTUNG

Bitte die Einheit mit Vorsicht handhaben:

Die Einheit oder deren Zubehör **nicht** Temperaturen über 60 °C aussetzen.

Die Einheit **nicht** organischen Lösungsmitteln aussetzen.

Die Einheit **nicht** mit Scheuermitteln oder Reinigungshilfsmitteln säubern.

In den meisten Fällen wird die Einheit durch Spülung mit entionisiertem Wasser ausreichend gereinigt. Bei stärkerer Verschmutzung verwenden Sie eine milde Reinigungslösung wie z. B. Tellerseife (alkalische Reiniger werden **nicht** empfohlen). Per Hand waschen und mit einem weichen Tuch trocknen. Um restliches Ethidiumbromid zu entfernen, weichen Sie die Einheit gelegentlich für 16 Stunden in 1%iger kommerzieller Bleichlösung ein. Gut spülen.

BITTE BEACHTEN: Der Abbau von Acryl aufgrund von Lösungsmitteln kann zu deutlicher Verfärbung, Rissen, Verzug oder Ätzung der Elektrophoreseeinheit führen.

Wenden Sie die folgenden Lösungsmittel **nicht** an: Benzen, Xylen, Toluol, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohole, Phenole, Ketone oder Ester.

Setzen Sie die mit dieser Einheit gelieferten ABS-Kämme **nicht** für längere Zeiträume Formaldehyd aus. Wenn formaldehydhaltige Gele gegossen werden, entfernen Sie die Kämmen sofort nach Aushärten des Gels und spülen Sie vollständig mit entionisiertem Wasser.

Eliminieren einer RNase-Kontaminierung

Falls die Einheit behandelt werden soll, um eine RNase-Kontaminierung zu eliminieren, reinigen Sie die Einheit mit einem milden Reinigungsmittel wie oben beschrieben, danach weichen Sie sie für 10 Minuten in einer Lösung von 3%igem Wasserstoffperoxyd ein, dann für 1 Stunde in 0,1% DEPC (Diethyl-Pyrocyanat). Die letzte Spülung ausschütten und die Einheit an der Luft trocknen lassen.

VORSICHT: DEPC steht im Verdacht, krebserregend zu sein; mit Vorsicht handhaben.

Alternativ weichen Sie die Einheit und das Zubehör in frisch hergestelltem, mit 2,2 mM Essigsäureanhydrid behandeltem Wasser (200 µl/Liter) für mindestens 5 Minuten ein. Lösungen für RNA-Untersuchungen (Elektrophoresepuffer usw.) können aus demselben mit Essigsäureanhydrid behandelten Wasser hergestellt werden.

WARNHINWEISE:

VORSICHT: Bei Verwendung auf eine nicht vom Hersteller angegebene Weise kann es zu Verletzungen, Beschädigungen der Ausrüstung oder von Gegenständen kommen.

VORSICHT: Zwischen dem Kunststoffgehäuse und dem Schüttelaufsatz besteht Quetschungsgefahr.

VORSICHT: **NICHT** zur Verwendung mit brennbaren Flüssigkeiten.

II. OPTIONEN UND SPEZIFIKATIONEN

A. Komponenten und Zubehör

<u>Katalognummer</u>	<u>Beschreibung</u>
E0160	ENDURO Gel XL Vollständiges Elektrophoresesystem <i>Wird vollständig geliefert mit 1) 12,5 x 12 cm, 2) 12,5 x 6 cm UV-durchlässigen Gießschalen, Gießstand mit Abtrennung, und vier 1,0 mm dicke 28/14 Wendezinkenkämmen, Netzkabel und Handbuch.</i>

Zubehör

Katalognummer	Beschreibung
E0161	(1) 12,5 x 12 cm UV-durchlässige Gießschale
E0162	(2) 12,5 x 6 cm UV-durchlässige Gießschale
E0163	(4) 6 x 6 cm UV-durchlässige Gießschale
E0164	(2) 1 mm x 14/28 Wendezinkenkamm
E0165	(2) 1 mm 5/8 Wendezinkenkamm
E0166	Mikro-Gießset – (4) 6 x 6 cm UV-durchlässige Gießschale, (2) 1 mm 5/8 Wendezinkenkämmen, Gießstand mit Abtrennung
E0167	Gießstand mit Abtrennung
E0168	Standard-Gießset – (1) 12,5 x 12 cm Schale, (2) 12,5 x 6 cm Schalen, (4) 14/28 mehrkanalkompatible Zinkenkämmen, Gießstand mit Abtrennung
R1000-100BP	Molekulargewichtsmarker 100 bp
R1000-1KB	Molekulargewichtsmarker 1 Kb

B. Technische Daten

Abmessungen der Einheit	24,5 x 17,0 x 6,2 cm
Abmessungen des Gels	12,5 x 12,0 cm
Maximale Probenkapazität:	112 Proben (4 Kämmen, je 26 Proben)
Pufferkapazität:	300 ml
Distanz zwischen den Elektroden:	13,5 cm
Elektrophoresebehälter	
Gesamte Ausdehnung	18,3 x 16,4 x 5,6 cm
Merkmale des Materials	UV-durchlässig (50 % bei 254 nm, 80 % bei 312 nm)
Volumen der Lösung	300 ml (einschließlich Puffer und

Sicherheitsdeckel	Gele)
Gesamte Ausdehnung	19,7 × 16,9 × 3,8 cm
Merkmale des Materials	Nicht UV-durchlässiges Polycarbonat
Netzteil	
Gesamte Ausdehnung	7,5 × 17,0 × 6,2 cm
Gewicht	410 g
Eingangsspannung	100 – 240 V AC, 50/60 Hz
Ausgangsspannung	10 bis 150 Volt; konstante Spitzenspannung von 150 V
Ausgangsleistung	10 bis 400 mA
Maximale Wattzahl	45 W
Zeitregler	99 Stunden 59 Min., und kontinuierliches Modell
Sicherheitsschalter	Mikrosensor (Hall) im Netzteil. Kein Output ohne Sicherheitsdeckel,
Erinnerungsfunktion	Automatische Erinnerung (die zuletzt verwendeten V und T)

III. BEDIENUNGSANWEISUNGEN

A. Herstellung des Agarosegels und des Elektrophoresepuffers - DNA

1. Wählen Sie den prozentualen Gelanteil, der erforderlich ist, um Ihre Probe effektiv zu lösen, und verwenden Sie dabei Tabelle 1 als Leitlinie.

Tabelle 1: Gelkonzentrationen und Lösungsbereiche

Agarosekonzentration im Gel (% w/V)	Effizienter Bereich der Auftrennung linearer DNA (Kb)
0,3 %	5–60
0,6 %	1–20
0,7 %	0,8–10
0,9 %	0,5–7
1,2 %	0,4–6
1,5 %	0,2–3
2,0 %	0,1–2

Tabelle entnommen aus Sambrook, J., Fritsch, E.F., & Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 1, 6.8 613.

2. Wiegen Sie eine angemessene Menge Agarose (0,3 % bedeutet 0,3 g Agarose pro 100 ml Gelvolumen) ab und geben Sie sie in eine 250-ml-Flasche. Beachten Sie, dass für ein 4 mm-Gel 100 ml Agaroselösung erforderlich sind.

3. Stellen Sie 500 ml 1X TAE- oder 1X TBE-Elektrophoresepuffer (siehe unten).

Elektrophoresepuffer

Die beiden am häufigsten verwendeten Puffer für die horizontale Elektrophorese von Doppelstrang-DNA in Agarose sind Tris-Acetat-EDTA (TAE) und Tris-Borat-EDTA (TBE). Während das Auflösungsvermögen dieser Puffer sehr ähnlich ist, ist die relative Pufferkapazität sehr unterschiedlich und verleiht ihnen verschiedene Laufattribute, die nachfolgend zusammengefasst werden:

TAE: Tris-Acetat war traditionell der häufiger verwendete Puffer. Seine relativ geringe Pufferkapazität erschöpft sich jedoch während einer verlängerten Elektrophorese, wodurch bei Läufen über 140 mA-Stunden ein Rezirkulieren des Puffers erforderlich wird. Potentielle Vorteile der Verwendung von TAE-Puffer gegenüber TBE-Puffer umfassen die überlegene Auflösung von superspiralisierter DNA, und die ca. 10 % schnellere Wanderung von linearen Doppelstrang-DNA-Fragmenten ⁽¹⁾.

TBE: Die signifikant größere Pufferkapazität und der relativ geringe Stromverbrauch beseitigen die Notwendigkeit des Rezirkulierens bei allen außer den ausgedehntesten Läufen (> 300 mA-Läufe). TBE-Puffersysteme werden nicht empfohlen, wenn aus dem Gel nach der Elektrophorese Fragmente zurückgewonnen werden sollen.

4. Fügen Sie dem verdünnten Elektrophoresepuffer Ethidiumbromid bis zu einer Endkonzentration von 0,5 µg/ml zu.

HINWEIS: Die Zugabe von Ethidiumbromid zum Gel und zum Laufpuffer führt durch einen hohen Grad an Probenfluoreszenz mit einem gleichmäßig niedrigen Hintergrundgrad zu maximalen Nachweisgraden.

5. Geben Sie pro mm gewünschter Geldicke 6,6 ml des in Schritt 4 hergestellten, ethidiumhaltigen 1X Elektrophoresepuffers in die Flasche mit Agarose, maximal 100 ml. Eine 100-ml-Gellösung ergibt ein 7,6 mm dickes Gel. Dünnere Gele können hergestellt werden, es muss jedoch darauf geachtet werden, dass die Vertiefungen tief genug sind, um das gewünschte Probenvolumen aufzunehmen.

Katalognummer	Kammbeschreibung	Breite der Vertiefung	Probenvolumen 1 mm
E0167	1 mm, 14 Zinken	5 mm	5 ul
E0167	1 mm, 28 Zinken	2,5 mm	2,5 ul
E0168	1 mm, 5 Zinken	8 mm	8 ul
E0168	1 mm, 8 Zinken	4 mm	4 ul

6. Notieren Sie das Gesamtvolumen der Lösung, sodass der Verdunstungsgrad bestimmt und entsprechend korrigiert werden kann.
7. Erhitzen Sie den Agarosebrei für 90 Sekunden in einer Mikrowelle. Wirbeln Sie die Flasche, um sicherzustellen, dass alle an den Wänden klebenden Körner in die Lösung gelangen. Nicht aufgelöste Agarose erscheint in der Lösung als kleine „Linsen“. Erhitzen Sie weitere 30 bis 60 Sekunden. Überprüfen Sie die Lösung erneut und wiederholen Sie den Erhitzungsvorgang, bis die Agarose sich ganz auflöst.
8. Geben Sie entionisiertes Wasser hinzu, um das während des Erhitzungsvorgangs entwichene Volumen zu ersetzen.

Fahren Sie mit Abschnitt C, Schritt 1, „Gießen des Gels“ auf Seite 12 fort.

B. Herstellung des Agarosegels und des Elektrophoresepuffers - RNA

RNA-Moleküle werden vor der Analyse mittels Northern-Blot-Hybridisierung durch Elektrophorese über denaturierende Gele getrennt. Formaldehydhaltige Agarosegele^(1, 2, 3) werden häufig zur RNA-Elektrophorese verwendet. Nachfolgend ist ein allgemeines Protokoll zur RNA-Elektrophorese mit Formaldehydgelen dargestellt.

VORSICHT: Alle Geräte und Lösungen, die im folgenden Protokoll verwendet werden, sollten vor der Verwendung zur Inhibierung der RNase-Aktivität mit DEPC (Diethyl-Pyrocyanat) oder Essigsäureanhydrid behandelt werden (Protokoll siehe Abschnitt II, Seite 4). Es wird empfohlen, die zugehörigen Lösungen nur zur RNA-Analyse herzustellen, um das Risiko eines Probenzerfalls wegen der RNase-Aktivität zu minimieren.

HINWEIS: Es wurde berichtet, dass das Färben von RNA-Proben mit Ethidiumbromid die Blot-Wirksamkeit der Proben vermindert. Wenn Proben nach Elektrophorese durch Northern-Blot-Hybridisierung analysiert werden sollen, lassen Sie deshalb eine duplizierte Strecke zur Färbung mitlaufen, oder minimieren Sie die Exposition der RNA-Proben mit

Ethidiumbromid, indem Sie das Protokoll zur Färbung nach Elektrophorese auf Seite 12 befolgen.

Mit dem folgenden Protokoll werden 50 ml eines 1,5 %-Agarosegels mit 1X MOPS [3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure]-Acetat-EDTA (MAE)-Puffer und 2,2 M Formaldehyd hergestellt, und es entsteht ein 7,5 mm dickes Gel:

1. Wiegen Sie 0,5 g Agarose ab und geben Sie sie in eine 125-ml-Flasche.
2. Geben Sie 43,5 ml mit DEPC (oder Essigsäureanhydrid) behandeltes Wasser hinzu.
3. Notieren Sie das Gesamtvolumen der Lösung, sodass der Verdunstungsgrad bestimmt und entsprechend korrigiert werden kann.
4. Erhitzen Sie den Agarosebrei für 60 Sekunden in einer Mikrowelle. Wirbeln Sie die Flasche, um sicherzustellen, dass alle an den Wänden klebenden Körner in die Lösung gelangen. Nicht aufgelöste Agarose erscheint in der Lösung als kleine „Linsen“. Erhitzen Sie weitere 30 bis 60 Sekunden. Überprüfen Sie die Lösung erneut und wiederholen Sie den Erhitzungsvorgang, bis die Agarose sich ganz auflöst.
5. Geben Sie entionisiertes Wasser hinzu, um das während des Erhitzungsvorgangs entwichene Volumen zu ersetzen.
6. Lassen Sie die Lösung auf 60°C abkühlen. Stellen Sie die Flasche unter einen Abzug und fügen Sie 5 ml 10X MAE-Puffer (Rezept siehe Anhang A) und 1,5 ml 37 % Formaldehyd hinzu.



VORSICHT: Formaldehyddämpfe sind toxisch. Die Gelherstellung sollte unter einem Abzug stattfinden, und formaldehydhaltige Lösungen und Gele sollten wenn möglich abgedeckt bleiben.

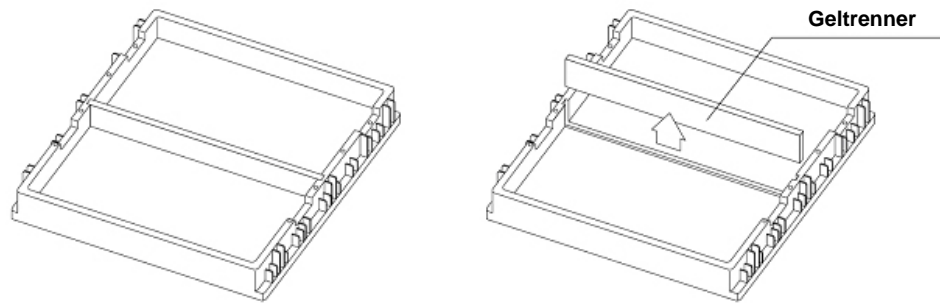
Fahren Sie mit Abschnitt C, Schritt 1, „Gießen des Gels“ auf Seite 12 fort.

C. Gießen des Gels

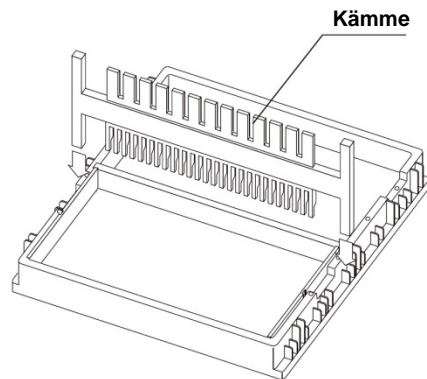
1. Stellen Sie den Gelgießstand auf einen Labortisch.

VORSICHT: Gießen Sie formaldehydhaltige Agarosegele unter einem Abzug.

2. Schieben Sie die Gelgießschale in den Gelgießstand. Wenn Sie die 12 x 6 cm-Gele verwenden, bringen Sie den Spacer in die Mitte des Gießstands, dann schieben Sie die beiden querformatigen 12 x 6 cm-Gelschalen ein (siehe Anweisung 2 unten).



3. Wenn die Gellösung auf ungefähr 55°C abgekühlt ist, gießen Sie diese langsam in die Gelschale. Wenn regelmäßig heißere Gellösungen gegossen werden, kann sich die Schale mit der Zeit verformen.



4. Wenn sich beim Gießen Blasen auf der Oberfläche des Gels bilden, verwenden Sie den Kamm, um sie entweder zum Platzen zu bringen oder vorsichtig auf die Seite des Gels zu bürsten. Wenn im Gel große Blasen aushärten, kann es dadurch zu Artefakten während der Elektrophorese kommen.
5. Stecken Sie einen oder mehr Kämme in die Schlitze im Gießstand. Um optimale Ergebnisse zu erhalten, stecken Sie den Kamm in den Schlitz, der der Gießhalterung am nächsten ist. Falls zwei Kämme gewünscht sind, stecken Sie den zweiten Kamm in den mittleren Schlitz.
6. Lassen Sie das Gel für mindestens 30 Minuten ungestört aushärten.

D. Entfernen des Kamms

1. Wenn das Gel fest und ganz undurchsichtig geworden ist, entfernen Sie den Kamm vorsichtig mit einer leichten wackelnden Aufwärtsbewegung. Wenn der Kamm schwer zu entfernen ist, oder wenn ein niedrigprozentiges Gel verwendet wird, überdecken Sie den Kammbereich mit einem geringen Volumen

1X Elektrophoresepuffer, damit die Vertiefungen unversehrt bleiben. Kontrollieren Sie die Vertiefungen, und vergewissern Sie sich, dass die Basis jeweils intakt ist.

VORSICHT: Wenn die Kämme längere Zeit formaldehydhaltigen Gelen ausgesetzt werden, zerfallen sie. Achten Sie darauf, die Kämme aus den Formaldehydgelen zu nehmen, sobald die Aushärtung des Gels abgeschlossen ist, und spülen Sie sie vor der Lagerung gründlich ab.

Wenn ein Gel nicht sofort nach der Herstellung verwendet werden soll, entfernen Sie es aus der Gießvorrichtung, legen Sie es in einem Plastikbeutel oder -behälter und tauchen Sie es in 1X Elektrophoresepuffer mit 1 mM NaN₃. Bei +4°C lagern.

E. Die Proben auf das Gel laden

1. Entfernen Sie die Gießschale mit dem ausgehärteten Agarosegel aus der Gießvorrichtung, indem Sie die Enden anheben. Bringen Sie die Schale und das Gel so in die Haupteinheit, dass sich die Probenvertiefungen am selben Ende wie die negative (schwarze) Elektrode befinden.
2. Füllen Sie die Einheit mit dem restlichen ethidiumbromidhaltigen 1X Elektrophoresepuffer, den Sie zuvor hergestellt haben (oder 1X MAE-Puffer für RNA-Gele), und bedecken Sie das Gel bis zu einer Tiefe von 1 bis 5 mm. Es werden ungefähr 300 ml Puffer benötigt.

HINWEIS: Es ist wichtig, dieselbe Charge Elektrophoresepuffer sowohl für das Gel als auch für den Laufpuffer zu verwenden. Leichte Variationen der Pufferzusammensetzung zwischen dem Gel- und Laufpuffer können zu ionischen oder pH-Gradienten führen, die die Mobilität der Proben signifikant beeinflussen kann.

3. Lassen Sie die RNA-Gele bei 100 V für 5 Minuten vorlaufen, bevor Sie sie mit den Proben beladen.
4. Laden Sie die Proben mit einer Mikropipette oder einer ähnlichen Vorrichtung in die Vertiefungen und achten Sie darauf, nicht den Boden der Vertiefungen zu berühren oder die Probe oben auf das Gel zu laden.

F. Elektrische Verbindungen zum Sicherheitsdeckel

Der ENDURO Gel XL kann nur mit Sicherheitsdeckel betrieben werden. Elektrischer Strom wird über die Elektroden des Behälters

am Netzteil geliefert, indem der Deckel auf den Behälter gelegt und der Kreis geschlossen wird. Ein einfacher Schwerkraft-Anschluss in der Abdeckung stellt einen vollständigen Strompfad sicher, der Deckel kann aber noch von der Einheit genommen werden, ohne die geladenen Proben zu stören.

1. Vergewissern Sie sich, dass das Netzteil ausgeschaltet ist
2. Stecken Sie die männlichen Enden der schwarzen (-) und roten (+) Elektrode in die Anschlüsse auf der Seite des Netzteils.
3. Nachdem die Proben in das Gel geladen wurden, platzieren Sie den Deckel auf der Einheit, so dass die Abdeckungen des Deckels am Behälter ausgerichtet sind.
4. Drücken Sie den Deckel gerade herunter, so dass der Deckel direkt auf dem Behälter liegt und der Anschluss sich am inneren Ende des Deckels befindet, wo das Netzteil einklinkt.
5. Stecken Sie das Netzteil in eine Wandsteckdose ein. Achten Sie darauf, ein zugelassenes Netzkabel zu verwenden, das Ihrem regionalen Stromstandard entspricht. Die Eingangsspannung wird automatisch vom System erkannt. In Europa und allen anderen Regionen, in denen die Standardspannung über 100 V liegt, ist ein Transformator nicht erforderlich.
6. Stellen Sie den Zeitregler ein. Erhöhen oder reduzieren Sie den Wert mit den Hoch- und Runter-Tasten. Der Zeitregler kann auf 1 Minute bis 99 Stunden eingestellt werden. Stellen Sie „--:--“ für den kontinuierlichen Betrieb ein.
7. Wählen Sie die erforderliche Ausgangsspannung von bis zu 150 Volt oder 400 mA.
8. Drücken Sie den Start/Stopp-Knopf, um den Lauf zu starten.

Pausieren eines Laufs und Ändern der Parameter.

1. Um den Lauf zu pausieren, drücken Sie ein Mal den Lauf/Pause-Knopf. Während des Pausenmodus können Spannung, Strom oder Zeit verändert werden, indem Sie die Funktion markieren und die Pfeiltasten verwenden, danach drücken Sie die Betriebsart-Taste. Nachdem die Änderungen vorgenommen wurden, kann der Startknopf gedrückt werden, um den Lauf wieder zu starten.
2. Um den Lauf zu stoppen, drücken Sie für 3 Sekunden den Lauf/Pause-Knopf. Auf dem Display erscheint Stopp.

VORSICHT: Wenn der Deckel platziert wurde, nicht gegen die Gelbox schlagen oder an ihr ruckeln. Der Sicherheitsschalter wird von einem Hall-Effekt-Sensor bedient, der auf einem am Deckel montierten Magneten ruht. Wird die Gelbox bewegt, kann es zu Bewegungen des Deckels kommen, was wiederum dazu führen kann, dass die Einheit pausiert, bis der Deckel wieder in seine Position gebracht wird.

G. Proben-Elektrophorese

Die maximal vorgeschlagene angelegte Spannung für die Elektrophorese von DNY in Agarosegelen bei Verwendung des Gel XL beträgt **150 Volt**. In einem 1 % TBE-Gel überträgt sich dies auf eine Laufzeit von ungefähr 1 Stunde. Natürlich können niedrigere Spannungen verwendet werden, und als allgemeine Regel gilt, dass ein 70-Volt-Lauf doppelt so lang dauert wie ein 140-Volt-Lauf. Höhere Spannungen können verwendet werden, um die Laufzeit zu reduzieren, allerdings kann, wenn die Einheit bei Spannungen über 140 Volt betrieben wird, die während der Elektrophorese generierte Hitze die Auflösung der Probe reduzieren. Derartige Artefakte können vermieden werden, indem die Einheit in einem kalten Raum läuft oder unter Zugabe von 1X Elektrophoresepuffer-„Eiswürfeln“, um die Einheit entsprechend kühl zu halten.

VORSICHT: ÜBERSCHREITEN SIE NICHT DIE MAXIMALE BETRIEBSSPANNUNG VON 150 VOLT.

Die vorgeschlagenen Laufparameter für die Elektrophorese von RNA in formaldehydhaltigen Agarosegelen betragen 60 bis 80 Volt.

VORSICHT: Formaldehyddämpfe sind toxisch. Die Elektrophorese von RNA in formaldehydhaltigen Gelen sollte unter einem Dunstabzug erfolgen.

Folgen Sie der Probenwanderung in das Gel, indem Sie den Ladepuffer als Indikator verwenden. (Rezept für den Probe-Ladepuffer siehe Anhang A). Lassen Sie die Proben wandern, bis die Fragmente sich aufgetrennt haben, normalerweise bis die blaue Bromophenolfarbstoff-Front 3/4 des Gels gewandert ist.

HINWEIS: Wenn das Gel Ethidiumbromid enthält, kann der Fortschritt der Elektrophorese während des Laufs überwacht werden, indem das Netzteil ausgeschaltet, der Deckel entfernt und ein mittelwelliges UV-Licht auf das Gel gerichtet wird. Die aufgelösten Banden werden als orangefarbene Banden vor einem dunkelvioletten Hintergrund erscheinen.

H. Nachweis und Dokumentation von aufgetrennten Fragmenten

1. Nach Abschluss des Laufs schalten Sie das Netzteil aus und stecken Sie das Netzkabel aus. Entfernen Sie den Deckel und entfernen Sie die Gelschale. Alternativ kann der gesamte Behälter auf einen Transilluminator platziert werden
2. Um formaldehydhaltige RNA-Gele nach der Elektrophorese zu färben, tauchen Sie das Gel über Nacht bei Raumtemperatur in

1 Liter DEPC-behandeltes Wasser. Transferieren Sie das Gel in eine Lösung von 20X SSC mit 0,5 µg/ml Ethidiumbromid und färben Sie es für 5 bis 10 Minuten.

3. Mit Ethidiumbromid gefärbte Proben werden sichtbar gemacht, indem sie mittelwelligem (312 nm) UV-Licht ausgesetzt werden. Da die Gelgießschale UV-durchlässig ist, muss das Gel vor dem Betrachten nicht aus der Schale genommen werden. Stellen Sie die Gelgießschale mit dem Gel auf die Filteroberfläche eines UV-Transilluminators, um es gut zu betrachten.
4. Die Bandenmuster der Probe können durch Autoradiographie dokumentiert werden

I. Anleitung zur Fehlerbehebung

Problem	Ursache	Lösung
Der LCD-Bildschirm ist leer	AC-Netzkabel ist nicht angeschlossen	Überprüfen Sie das AC-Netzkabel an beiden Enden. Verwenden Sie die richtigen Kabel.
	Der Netzschalter ist nicht eingeschaltet	Schalten Sie den Netzschalter ein
Der Betrieb stoppt mit einem Alarm: Der Bildschirm zeigt „LADEN“ an	Der Elektrophoresebehälter ist nicht an das Netzteil angeschlossen, oder in der Elektrophoresezelle ist ein Stromkreis unterbrochen	Überprüfen Sie die Verbindungen zum Netzteil und in Ihrer Elektrophoresezelle, und vergewissern Sie sich, dass die Verbindung intakt ist; überprüfen Sie den Zustand der Drähte in der Elektrophoreseeinheit. Schließen Sie den Kreis, indem Sie die Kabel wieder anschließen. Drücken Sie LAUF/PAUSE , um den Lauf wieder zu starten.
	Pufferkonzentration nicht korrekt	Ersetzen Sie den Puffer
Der Betrieb stoppt mit einem Alarm: Die Anzeige zeigt „Deckel“ an	Der Deckel wurde während eines Laufs entfernt	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrollieren Sie, ob der Deckel korrekt sitzt • Kontrollieren Sie, ob alle Verbindungen korrekt angebracht sind • Drücken Sie LAUF/PAUSE, um wieder zu starten
Sonstiger Fehler		<ul style="list-style-type: none"> • Schalten Sie den Strom aus, ziehen Sie das Netzkabel aus der Steckdose und kontaktieren Sie den technischen Dienst

IV. ANHÄNGE

A. Elektrophoresepuffer

Tris-Acetat-EDTA-Puffer (TAE):

1X Arbeitskonzentration:

40 mM Tris-Base
20 mM Eisessig (NaOAc)
2,0 mM EDTA pH 8,3

10X Stammlösung:

48,4g Tris-Base
16,4 g oder 11,42 ml NaOAc
7,4 g EDTA oder 20 ml 0,5 M
EDTA (pH 8,0)
H₂O zu 1 Liter

Tris-Borat-EDTA-Puffer (TBE):

1X Arbeitskonzentration:

89 mM Tris-Base
89 mM Borsäure
2,0 mM EDTA pH 8,0

10X Stammlösung:

108 g Tris-Base
55 g Borsäure
6,72 g EDTA oder 40 ml 0,5 M
EDTA (pH 8,0)
H₂O zu 1 Liter

RNA-Elektrophorese-Laufpuffer

MOPS-Acetat-EDTA (MAE):

MOPS-haltige Lösungen sollten in Aluminiumfolie gewickelt und bei Raumtemperatur gelagert werden. Der Puffer wird mit der Zeit tendenziell gelb. Hellgelber Puffer kann verwendet werden, dunkelgelbe Lösungen sollten jedoch entsorgt werden.

1X Arbeitskonzentration:

20 mM MOPS (pH 7,0)
8 mM NaOAc
1 mM EDTA (pH 8,0)

10X Stammlösung:

41,8 g MOPS
800 ml DEPC-behandeltes H₂O
pH mit NaOH auf 7 adjustieren und
hinzugeben: 16,6 ml 3 M DEPC-
behandeltes NaOAc 20,0 ml 0,5 M
DEPC-behandeltes EDTA, pH 8
auf 1,0 Liter bringen und filtern

MOPS-haltige Lösungen sollten in Aluminiumfolie gewickelt und bei Raumtemperatur gelagert werden. Der Puffer wird mit der Zeit tendenziell gelb. Hellgelber Puffer kann verwendet werden, dunkelgelbe Lösungen sollten jedoch entsorgt werden.

Probe-Ladepuffer, DNA

Probe-Ladepuffer, RNA

10X Stammlösung:

50 % Glycerol
100 mM Na₃EDTA
1 % SDS
0,1 % Bromophenolblau
pH 8,0

5X Stammlösung:

1 mM EDTA, pH 8,0
0,25 % Bromophenolblau
0,25 % Xylencyanol
50 % Glycerol

B. Physikalische Eigenschaften von elektrophoretischen Kunststoffen

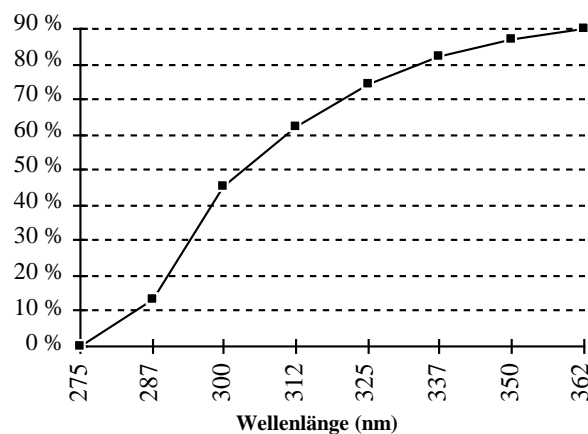


Abbildung A: UV-Übertragungseigenschaften der UV-Gelschale

Die UV-durchlässige Schale ist ideal, um den Fortschritt der Elektrophorese zu überwachen, ohne das Gel aus der Schale zu nehmen. Die obige Abbildung A zeigt eindeutig die Absorptionsspezifikationen der UV-durchlässigen Gel-Plastikschale. Unten sieht man eine minimale Übertragung

V. REFERENZEN

1. Lehrach, H. et al. 1977. *Biochemistry* **16**:4743.
2. Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Vol 1. Cold Spring Harbor Press, New York.
3. Selden, R.F. (1988) Analysis of RNA by Northern Hybridization,," in *Current Protocols in Molecular Biology*, F.M. Ausubel et. al, Herausgeber, Ausgabe 1, p.4.9.1. Green Publishing Associates and Wiley-Interscience.

Technischer Support und Informationsdienste:





Unsere Mitarbeiter stehen zur Verfügung, um Ihnen alle Fragen zu unseren Produkten oder deren spezifischer Anwendung zu beantworten.

Für technischen Support und Informationen in den USA:

Labnet International
31 Mayfield Ave.
Edison, NJ 08837
Tel.: +1-732-417-0700
www.labnetinternational.com

Symbole und Konventionen

Die folgende Grafik ist ein illustriertes Glossar der Symbole, die in diesem Handbuch oder auf dem Produkt verwendet werden können.

	Das elektrische Warnzeichen bedeutet das Vorliegen einer potenziellen Gefahr, die zu einem Stromschlag führen könnte.
	VORSICHT Dieses Symbol verweist Sie auf wichtige Bedien- und Wartungsanweisungen (Service) in der Gebrauchsanweisung des Produkts. Wenn diese Informationen nicht beachtet werden, kann dies ein Risiko für Personenschäden oder Schäden an der Ausrüstung darstellen.
	Dieses Symbol macht einen Schutzleiteranschluss kenntlich, der für den Anschluss des Versorgungsnetz-Schutzleiters (grün oder grün/gelb) geliefert wird.
	Dieses Symbol zeigt eine doppelte Isolierung an - nicht durch den Anwender zu warten.

ENTSORGUNG DER GERÄTE – EUROPÄISCHE VORSCHRIFTEN



Gemäß Richtlinie 2012/19/EU des Europäischen Parlaments und des Europäischen Rates vom 4. Juli 2012 zur Entsorgung elektrischer und elektronischer Geräte (WEEE) ist Enduro GelXL mit dem Symbol einer durchgestrichenen Abfalltonne auf Rädern gekennzeichnet und darf nicht mit dem Hausmüll entsorgt werden.

Folglich muss der Käufer die Anweisungen zur Wiederverwendung und Wiederverwertung von elektrischen und elektronischen Geräten (WEEE) befolgen, die mit den Produkten geliefert werden und unter dem folgenden Link zur Verfügung stehen: www.corning.com/weee

HINWEISE



31 Mayfield Ave.
Edison, NJ 08837 USA

9300130000