

SigmaAldrich.com

# Quick Start Guide Auto2D® Mode (original)

BM-100



English							. 2	
Français (French)							. 7	
Español (Spanish) .							13	
Nederlands (Dutch)							19	
Deutsch (German) .							25	

Italiano (Italian)								30
日本語(Japanese)								36
中文(Chinese)								41
한국어 (Korean)								46
Product Ordering								51



# **Intended Use**

The Auto2D<sup>®</sup> Electrophoresis Device fully automates the process of 2D electrophoresis, separating proteins first by isoelectric point and second by molecular weight. Complete protein separation is achieved in just two hours.

#### Contents

- Auto2D<sup>®</sup> Electrophoresis Device
- Electrical Power Cables:
  - Power cable for JP and North America
  - 3P-2P Conversion Plua for JP and North America
  - Power cable for Europe
  - Power cable for China
  - Power cable for UK

#### Also Needed (not included) See Product Ordering on p. 51 for

catalogue numbers.

- Auto2D<sup>®</sup> Electrode Chip
- Auto2D<sup>®</sup> PAGE Chip
- Auto2D<sup>®</sup> IEF Chip
- Auto2D<sup>®</sup> Solution Chip
- Auto2D<sup>®</sup> Tris-Glycine or Tris-Tricine Reagent Kit
- Ampholyte (choose appropriate ampholyte based on IEF Chip pH range)
- Distilled water

### **User Guide Online**

The complete User Guide includes detailed instructions and recipes. It can be downloaded from the Auto2D<sup>®</sup> Device product page at SigmaAldrich.com.

# Storage and Stability

The Auto2D® device should be used/stored indoors only. See each component's product label for storage requirements.

# **Precautions**

#### For research use only.

Please read the Safety Sheet (enclosed) and the complete User Guide at SigmaAldrich.com carefully before using this product.

### Auto2D<sup>®</sup> Workflow





# Preparation

#### Reagents

- 1. Prepare and store Reagent Kits as directed in the literature provided with the kits, or the complete User Guide (online).
- 2. Allow the following products stored at low temperatures to equilibrate to room temperature (20–25 °C approximately 10 minutes).
  - IEF Chip
  - PAGE Chip
  - Rehydration Solution
  - DTT Solution
  - Ampholvte
- 3. Prepare Working Rehydration Solution for rehydration of IEF Chip and extraction/dilution of protein sample:

Reagents	Volume	Final Concentration
Rehydration Solution	189 µL	
DTT Solution (1M)	10 µL	50 mM
Ampholyte*	1-2 µL	0.5-1% v/v
Total	200 uL	

\* Select ampholyte according to the range of IEF Chip used. For ampholytes at 40% w/v stock concentration, add 1  $\mu$ L. For ampholytes at 100X, add 2 µL.

4. Prepare Working Equilibration Buffer for equilibration of focused proteins before SDS-PAGE.

		Final
Reagents	Volume	Concentration
Equilibration buffer premix	760 μL	
DTT Solution (1M)	40 µL	50 mM
Total	800 µL	

#### Sample Preparation

Dissolve the protein sample in the Working Rehydration Solution, prepared according to step 3. Sample may be diluted 2-fold or more with Working Rehydration Solution to reach desired protein concentration and decrease salt concentration.

A high salt concentration can affect protein separation during isoelectric focusing and cause the current to exceed 100 uA. Samples with a high salt concentration should be desalted by either:

TCA/acetone precipitation and resuspension of proteins in Working Rehydration Solution

OR

Buffer exchange using a spin column

**NOTE:** During protein resuspension, avoid heating proteins over 37 °C.

Quantify proteins. Between 0.1–25 µg of protein can be loaded for 2D electrophoresis. The optimum amount of protein will depend on detection method and sample complexity. The following protein amounts should be used as a starting point, users may need to optimize the loading amount for their particular sample.

- Coomassie Brilliant Blue staining: 25 µg
- Fluorescent staining: 10 µg
- Silver staining: 5 µg
- Fluorescent pre-labeling: 3 µg

The sample volume applied to the device is 10–12  $\mu$ L. Sample can be diluted with Working Rehydration Solution as necessary.

#### Power the Auto2D<sup>®</sup> Device

Select the appropriate power cord (provided with the device) that is compatible with the power outlets in your country. Firmly push the matching end into the back of the Auto2D® Device, and the other end into the power outlet.

The power switch is located next to the AC plug port on the back of the Auto2D<sup>®</sup> Device. Press the switch up to turn on.

The application will be automatically launched. From the screen, select Auto2D® mode (original).

2

oading nydration	30 Minutes 5 Minutes	
ension: focusing	30 Minutes	
bration	5 Minutes	
nension: AGE	30 Minutes	

#### Load a Recipe

Choose SETTING > RECIPE. Touch the Recipe Information screen. Recipe select dialog box will appear.

Recipe Selection Dialog	Tanana I	Markets In 1	
[ 1/1]	< <prev< th=""><th>Next&gt;&gt;</th><th>CANCEL</th></prev<>	Next>>	CANCEL
1 : DEFAULT			
2 : RECEIPE 1			
3 : RECEIPE 2			

Select "RECIPE NAME" > LOAD > OK > EXIT.

**Note:** Confirm the desired Recipe name is displayed on upper right of the screen.

# **Chip Assembly**

#### **PAGE Chip**



- 1. Remove the white tape on the anode side of the Chip.
- 2. Carefully remove the plastic cover on the cathode side of the chip.
- Gently rinse anode and cathode buffer wells with distilled water. Using a paper cleaning wipe, carefully wipe any liquid from the top of the Chip making sure not to damage the thin strip of gel located on the cathode side of the Chip.

### Insert the Chips Into the Tray



On the Auto2D® Device touch screen, choose OPEN > OK. Once tray is open, place the PAGE Chip (light blue line) with the anode side in front. Place the Solution Chip (dark blue lines) on top of the PAGE Chip with the cut-off corners in the front.

#### Apply the Solutions



- 1. Cathode Buffer, 4500  $\mu L$
- 2. Anode Buffer, 4000  $\mu L$
- 3. Distilled Water, 4000 µL
- 4. Working Equilibration Buffer a. 700 µL
- b. 700 µL (optional)
- c. 700 µL (optional)
- 5. Working Rehydration Solution, 100  $\mu L$
- 6. Sample Solution, 10–12  $\mu L$
- 7. Molecular Weight Marker\* 0.5–0.7 μL
  - \* Cannot include SDS or Bromophenol Blue

### Place the Electrode Chip



- 1. IEF Electrode portion of Electrode Chip and IEF Chip groove of Solution Chip.
- Set the Electrode Chip onto the assembled gel and solution chip so the ▼ marking faces front.

#### **IEF Chip**



Remove the IEF Chip protective film.



Insert the IEF Chip into the slot in the Electrode Chip.

Before the Starting Eletrophoresis step, verify the following:

- Electrode Chip is not wet except for anode and cathode chamber.
- The clear cover on the cathode side of the PAGE Chip is removed.
- Solution has been added where required.

### **Start Electrophoresis**

Choose CLOSE > OK > START > OK.

Electrophoresis will begin.

5

### **After Electrophoresis**

#### **Remove the Gel**

Choose OK > OPEN > OK.

- 1. Remove and dispose of the IEF Chip and remaining solutions in the Solution Chip. See Disposal section.
- 2. Remove the PAGE Chip and rinse with distilled water.



- 3. Open the cassette with spatula.
- Mark the orientation of the gel by making an small cut in one of the corners. This will help you to locate the alkaline and acidic sides and high-low molecular weight in your gel (see below).



### **Clean Up**

Clean the Electrode Chip with distilled water immediately and let it air dry after use.

### Power Off

Choose MENU > EXIT APPLICATION > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN > OK

Turn off switch on the back of the Auto2D Device.

**NOTE:** If condensation is observed inside the device, leave the tray open for a while before turning off the power, to allow the inside to dry.

### Disposal

Components exposed to samples should be disposed of with biological waste. Other materials should be disposed of according to all applicable international, federal, state, and local regulations. Refer to the components' Safety Data Sheet for hazard information.

# Notice

We provide information and advice to our customers on application technologies and regulatory matters to the best of our knowledge and ability, but without obligation or liability. Existing laws and regulations are to be observed in all cases by our customers. This also applies in respect to any rights of third parties. Our information and advice do not relieve our customers of their own responsibility for checking the suitability of our products for the envisaged purpose.

The information in this document is subject to change without notice and should not be construed as a commitment by the manufacturing or selling entity, or an affiliate. We assume no responsibility for any errors that may appear in this document.

# **Contact Information**

For the location of the office nearest you, go to <u>SigmaAldrich.com/offices</u>.

### **Technical Assistance**

Visit the tech service page at <u>SigmaAldrich.com/techservice</u>.

### Standard Warranty

The applicable warranty for the products listed in this publication may be found at SigmaAldrich.com/terms.

### Français (French)

# **Utilisation prévue**

L'appareil d'électrophorèse Auto2D® permet d'automatiser intégralement la procédure d'électrophorèse 2D, en séparant d'abord les protéines selon leur point isoélectrique, puis selon leur poids moléculaire. La séparation complète des protéines est obtenue en deux heures seulement.

#### Sommaire

- Appareil d'électrophorèse Auto2D®
- Cordons d'alimentation électrique:
  - Cordons d'alimentation pour le Japon et l'Amérique du Nord
- Fiche de conversion 3P-2P pour le Japon et l'Amérique du Nord
- Cordon d'alimentation pour l'Europe
- Cordon d'alimentation pour la Chine
- Cordon d'alimentation pour le Royaume-Uni

### Également requis (non inclus)

Voir la section Guide d'achat, p. 51, pour connaître les références.

- Puce Électrodes Auto2D<sup>®</sup>
- Puce PAGE Auto2D®
- Puce IEF Auto2D<sup>®</sup>
- Puce Solutions Auto2D®
- Kit de réactifs Tris-glycine ou Tris-Tricine Auto2D<sup>®</sup>
- Ampholyte (choisir l'ampholyte approprié selon la plage de pH de la Puce IEF)
- Eau distillée

### Manuel d'utilisation en ligne

Le manuel d'utilisation complet inclut des instructions détaillées et les recettes. Il peut être téléchargé depuis la page produit de l'appareil Auto2D<sup>®</sup> sur <u>SigmaAldrich.com</u>.

### Stockage et stabilité

L'appareil Auto2<sup>®</sup> ne doit être utilisé et stocké qu'à l'intérieur. Voir l'étiquette produit de chaque composant pour les conditions de stockage.

# **▲** Précautions

# Pour une utilisation en recherche uniquement.

Veuillez lire attentivement la fiche de données de sécurité (ci-jointe) et le manuel d'utilisation complet disponible sur le site <u>SigmaAldrich.com</u> avant d'utiliser ce produit.

# Déroulement du travail Auto2D<sup>®</sup>

Durée totale de la procédure: 100–155 minutes (selon la recette)



# **Préparation**

#### Réactifs

- 1. Préparer et conserver les kits de réactifs comme indiqué dans la documentation fournie avec les kits ou dans le manuel d'utilisation complet (en ligne).
- Les produits suivants, conservés à basse température, doivent reposer à température ambiante (20-25 °C) pendant environ 10 minutes.
  - Puce IEF
  - Puce PAGE
  - Solution de réhydratation
  - Solution de DTT
  - Ampholyte
- Préparer la solution de réhydratation de travail, qui sera utilisée pour réhydrater la Puce IEF et extraire/diluer l'échantillon protéique:

Réactifs	Volume	Concentration finale
Solution de réhydratation	189 µL	
Solution de DTT (1 M)	10 µL	50 mM
Ampholyte*	1-2 µL	0,5-1 % v/v
Total	200 µL	

- \* Sélectionner l'ampholyte selon la plage de pH de la Puce IEF utilisée. Dans le cas des ampholytes à une concentration mère de 40 % p/v, ajouter 1 µL. Dans le cas des ampholytes concentrés 100X, ajouter 2 µL.
- Préparer le tampon d'équilibration de travail, qui sera utilisé pour équilibrer les protéines lors de l'IEF avant l'analyse SDS-PAGE.

Réactifs	Volume	Concentration finale
Pré-mélange de tampon d'équilibration	760 μL	
Solution de DTT (1 M)	40 µL	50 mM
Total	800 µL	

### Préparation de l'échantillon

Dissoudre l'échantillon protéique dans la solution de réhydratation de travail préparée suivant l'étape 3. L'échantillon peut être dilué d'un facteur 2 ou plus avec la solution de réhydratation de travail pour obtenir la concentration souhaitée en protéines et réduire la concentration en sels.

Une concentration élevée en sels peut perturber la séparation des protéines lors de la focalisation isoélectrique et entraîner une hausse du courant au-delà de 100 µA. Les échantillons présentant une concentration élevée en sels peuvent être dessalés par l'une des méthodes suivantes:

Précipitation à l'acide trichloracétique (TCA)/acétone et remise en suspension des protéines dans la solution de réhydratation de travail

OU

Échange de tampons à l'aide d'une colonne à centrifuger

**REMARQUE:** Lors de la remise en suspension des protéines, éviter de les chauffer à une température supérieure à 37 °C.

Quantifier les protéines. Charger entre 0,1 et 25 µg de protéines pour l'électrophorèse 2D. La quantité optimale de protéines dépend de la méthode de détection et de la complexité de l'échantillon. Les quantités suivantes de protéines doivent être utilisées comme point de départ. Il est possible que les utilisateurs doivent optimiser la quantité de protéines chargées pour leur échantillon particulier.

- Coloration au bleu brillant de Coomassie: 25  $\mu g$
- Marquage fluorescent : 10 µg
- Coloration à l'argent: 5 µg
- Pré-marquage fluorescent: 3 µg

Le volume d'échantillon appliqué à l'appareil est compris entre 10 et 12 µL. L'échantillon peut être dilué avec la solution de réhydratation de travail, si nécessaire.

# Mise en marche de l'appareil Auto2D®

Sélectionner le cordon d'alimentation (fourni avec le dispositif) compatible avec les prises secteur de votre pays. Brancher fermement une extrémité du cordon à la prise correspondante à l'arrière de l'appareil Auto2D<sup>®</sup> et l'autre extrémité à une prise secteur.

L'interrupteur de mise en marche se trouve près de la prise du cordon d'alimentation, à l'arrière de l'appareil Auto2D<sup>®</sup>. Appuyer sur l'interrupteur vers le haut pour mettre l'appareil en marche.

L'application sera automatiquement lancée. Sur l'écran, sélectionner le mode Auto2D<sup>®</sup> (original).

### Chargement d'une recette

Sélectionner SETTING (Réglages) > RECIPE (Recette). Toucher l'écran Recipe Information (Informations sur les recettes). Une boîte de dialogue pour sélectionner la recette s'affiche.

Recipe Selection Dialog	Towners I	and so in a	-
[ 1/1]	< <prev< td=""><td>Next&gt;&gt;</td><td>CANCEL</td></prev<>	Next>>	CANCEL
1 : DEFAULT			
2 : RECEIPE 1			
3 : RECEIPE 2			

Sélectionner RECIPE NAME (Nom de la recette) > LOAD (Charger) > OK > EXIT (Quitter).

**REMARQUE:** vérifier que le nom de la recette souhaitée est affiché en haut à droite de l'écran.

# Mise en place des Puces

#### Puce PAGE



- 1. Retirer la bande adhésive blanche côté anode de la Puce.
- 2. Retirer la cache en plastique côté cathode de la Puce.
- 3. Rincer délicatement les puits de tampon d'anode et de cathode avec de l'eau distillée. À l'aide d'une lingette en papier, essuyer avec précaution tout liquide présent sur la face supérieure de la Puce, en veillant à ne pas endommager la fine bande de gel située côté cathode.

### Insertion des Puces dans le plateau



Sur l'écran tactile de l'appareil Auto2D<sup>®</sup>, sélectionner OPEN (Ouvrir) > OK. Une fois le plateau ouvert, placer la Puce PAGE (ligne bleu clair) en orientant le côté anode vers l'avant. Placer la Puce Solutions (lignes bleu foncé) audessus de la Puce PAGE en orientant les angles coupés vers l'avant.

Chargement des solutions



- 1. Tampon de cathode, 4500  $\mu L$
- 2. Tampon d'anode, 4000 µL
- 3. Eau distillée, 4000 µL
- 4. Tampon d'équilibration de travail:
  - a. 700 µL
  - b. 700  $\mu L$  (facultatif)
  - c. 700  $\mu L$  (facultatif)
- 5. Solution de réhydratation de travail, 100  $\mu L$
- 6. Échantillon, 10-12 μL
- Marqueurs de poids moléculaire\*
   0,5 à 0,7 μL
  - \* Ne peuvent pas contenir de SDS ou de bleu de bromophénol

### Mise en place de la Puce Électrodes



- 8. Partie électrode IEF de la Puce Électrodes et fente de Puce IEF de la Puce Solutions.
- Placer la Puce Électrodes sur l'ensemble gel-Puce Solutions de façon à ce que le symbole ▼ soit orienté vers l'avant.

#### Puce IEF



Enlever le film protecteur de la Puce IEF.



Insérer la Puce IEF dans la fente de la Puce Électrodes.

Avant l'étape de démarrage de l'électrophorèse, vérifier ce qui suit:

- La Puce Électrodes n'est pas humide, sauf au niveau des compartiments d'anode et de cathode.
- La cache transparente côté cathode de la Puce PAGE est retirée.
- Les solutions ont été ajoutées aux emplacements prévus.

# Démarrage de l'électrophorèse

Sélectionner CLOSE (Fermer) > OK > START (Démarrer) > OK.

L'électrophorèse commencera alors.

# Après l'électrophorèse

#### Retirer le gel

Sélectionner OK > OPEN (Ouvrir) > OK.

- 1. Retirer et éliminer la Puce IEF et les solutions restantes dans la Puce Solutions. Voir la section Élimination.
- 2. Retirer la Puce PAGE et la rincer avec de l'eau distillée.



- 3. Ouvrir la cassette avec une spatule.
- Marquer l'orientation du gel en faisant une petite incision dans l'un des angles. Cela vous permettra de situer les côtés acide et alcalin et les zones de poids moléculaire élevé à faible du gel (voir ci-dessous).



#### Nettoyage

Nettoyer immédiatement la Puce Électrodes à l'eau distillée et la laisser sécher à l'air après utilisation.

#### **Mise hors tension**

Sélectionner MENU > EXIT APPLICATION (Quitter l'application) > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN (Éteindre le système/SE) > OK

Éteindre l'appareil Auto2D à l'aide de l'interrupteur situé à l'arrière.

**REMARQUE:** si une condensation est visible dans l'appareil, laisser le plateau ouvert pendant un moment avant d'éteindre l'appareil pour lui permettre de sécher.

# Élimination

Les composants exposés aux échantillons doivent être éliminés dans les déchets biologiques. Le reste du matériel doit être éliminé conformément à toutes les réglementations internationales, nationales, régionales et locales. Se reporter à la fiche de données de sécurité des composants pour des informations concernant les risques.

#### Avis

Nous fournissons à nos clients des informations et des conseils relatifs aux technologies et aux questions réglementaires en lien avec leurs applications au mieux de nos connaissances et compétences, mais sans obligation ni responsabilité. Les lois et réglementations existantes doivent dans tous les cas être respectées par nos clients. Cela s'applique également au respect des droits de tiers. Nos informations et nos conseils ne dispensent pas nos clients de leur propre responsabilité de vérifier l'adéquation de nos produits avec l'utilisation envisagée.

Les informations figurant dans le présent document sont sujettes à modifications sans préavis et n'impliquent aucun engagement de la part de la production, de l'entité commerciale ou d'une filiale. Nous déclinons toute responsabilité quant aux erreurs susceptibles de figurer dans ce document.

### Coordonnées

Pour contacter la filiale la plus proche, rendez-vous sur <u>SigmaAldrich.com/offices</u>.

# Assistance technique

Consulter la page de notre Service technique à l'adresse <u>SigmaAldrich.com/techservice</u>.

### Garantie

La garantie applicable aux produits figurant dans cette publication est disponible sur <u>SigmaAldrich.com/terms</u>.

### Indicaciones de uso

La unidad de electroforesis Auto2D® automatiza por completo el proceso de electroforesis bidimensional separando las proteínas primero por el punto isoeléctrico y luego por el peso molecular. La separación completa de la proteína se consigue en poco más de dos horas.

#### Contenido

- Dispositivo de electroforesis Auto2D®
- Cables de alimentación eléctrica:
  - Cables de potencia para JP
     y Norteamérica
  - Enchufe de conversión 3P-2P para JP y Norteamérica
  - Cable de alimentación para Europa
  - Cable de alimentación para China
  - Cable de alimentación para el Reino Unido

#### También necesarios (no incluidos)

Véanse los números de referencia en la pág. 51 de la orden de pedido.

- Chip de electrodo Auto2D<sup>®</sup>
- Chip de PAGE Auto2D<sup>®</sup>
- Chip de IEF Auto2D®
- Chip de disolución Auto2D®
- Kit de reactivo Tris-glicina o Tris-tricina Auto2D^ ${\ensuremath{\mathbb R}}$
- Anfolito (elija el anfolito apropiado en función del intervalo de pH del chip IEF)
- Agua destilada

### Manual del usuario virtual

El manual del usuario completo contiene las instrucciones detalladas y las recetas. Puede descargarse de la página del dispositivo Auto2D<sup>®</sup> en <u>SigmaAldrich.com</u>.

### Almacenamiento y estabilidad

El dispositivo Auto2D<sup>®</sup> debe utilizarse y conservarse únicamente en interiores. En la etiqueta de producto de cada componente encontrará los requisitos de conservación.

# **▲** Precauciones

#### Para uso exclusivo en investigación.

Antes de utilizar este producto lea detenidamente la ficha de seguridad (adjunta) y el manual del usuario completo en <u>SigmaAldrich.com</u>.

### Secuencia de trabajo Auto2D®

Proceso total: 100–155 minutos (dependiendo de la receta)



# Preparación

### Reactivos

- Prepare y conserve los kits de reactivos como se indica en el prospecto suministrado con los kits o en el manual del usuario completo (virtual).
- Deje que los siguientes productos conservados a bajas temperaturas se equilibren a temperatura ambiente (20-25 °C aproximadamente 10 minutos).
  - Chip de IEF
  - Chip de PAGE
  - Disolución de rehidratación
  - Disolución de DTT
  - Anfolito
- Prepare la disolución de rehidratación de trabajo para la rehidratación del chip IEF y la extracción o dilución de la muestra proteica:

Reactivos	Volu- men	Concentración final
Disolución de rehidratación	189 µL	
Disolución de DTT (1M)	10 µL	50 mM
Anfolito*	1-2 µL	0,5-1 % v/v
Total	200 µL	

- \* Seleccione el anfolito de acuerdo con el intervalo de pH del chip de IEF que vaya a utilizar. Para anfolitos a una concentración madre del 40 %, añada 1 µL. Para anfolitos a 100X, añada 2 µL.
- Prepare el tampón de equilibrio de trabajo para equilibrar las proteínas separadas por IEF antes de la separación por SDS-PAGE.

Reactivos	Volu- men	Concentración final
Premezcla del tampón de equilibrio	760 µL	
Disolución de DTT (1M)	40 µL	50 mM
Total	800 µL	

#### Preparación de las muestras

Disuelva la muestra de proteínas en la disolución de rehidratación de trabajo preparada según el paso 3. La muestra puede diluirse dos veces o más con disolución de rehidratación de trabajo hasta alcanzar la concentración de proteínas deseada y disminuir la concentración de sal.

Una concentración elevada de sal puede afectar a la separación de proteínas durante el enfoque isoeléctrico y hacer que la corriente supere los 100  $\mu$ A. Las muestras con una elevada concentración de sal deben ser desaladas mediante:

Precipitación con ácido tricloroacético (TCA) o acetona y resuspensión de las proteínas en disolución de rehidratación de trabajo

0

Cambio de tampón utilizando una columna de centrifugación

**NOTA:** Durante la resuspensión de las proteínas, evite el calentamiento de las proteínas por encima de 37 °C.

Cuantificación de proteínas. Para la electroforesis en 2D, pueden cargarse entre 0,1 y 25 µg de proteína. La cantidad óptima de proteína dependerá del método de detección y de la complejidad de la muestra. Como punto de partida deberán utilizarse las siguientes cantidades de proteínas; los usuarios quizá tengan que optimizar la cantidad cargada en función de su muestra concreta.

- Tinción con azul brillante Coomassie: 25 μg
- Tinción fluorescente: 10 µg
- Tinción con plata: 5 μg
- Premarcaje fluorescente: 3 µg

El volumen de muestra aplicado al dispositivo es  $10-12 \mu$ L. La muestra puede diluirse con disolución de rehidratación de trabajo según necesidad.

#### Encendido del dispositivo Auto2D®

Seleccione el cable de alimentación apropiado (suministrado con el dispositivo) que sea compatible con los enchufes de su país. Encaje firmemente el extremo correspondiente del cable en la parte trasera del dispositivo Auto2D<sup>®</sup> y el otro extremo en el enchufe de la luz.

El interruptor de alimentación está situado cerca del puerto del enchufe de corriente alterna en la parte posterior del dispositivo Auto2D<sup>®</sup>. Presione el interruptor hacia arriba para encenderlo.

La aplicación se lanzará automáticamente. Desde la pantalla, seleccione el modo Auto $2D^{\otimes}$  (original).

#### Carga de una receta

Elija SETTING > RECIPE (CONFIGURACIÓN > RECETA). Toque la pantalla de información de recetas. Aparecerá el cuadro de diálogo de selección de recetas.



Seleccione "RECIPE NAME" > LOAD > OK > EXIT («NOMBRE DE LA RECETA» > CARGAR > OK > SALIR).

**Nota:** confirme que en la parte superior derecha de la pantalla aparece el nombre de la receta deseada.

# Montaje de los chips

#### Chip de PAGE



- 1. Retire la cinta blanca del lado del ánodo del chip.
- 2. Retire con cuidado la tapa de plástico del lado del cátodo del chip.
- Enjuague suavemente con agua destilada los pocillos para tampón del ánodo y del cátodo. Utilizando una toallita de papel, seque con cuidado cualquier líquido que pueda haber en la parte superior del chip asegurándose de no dañar la fina tira de gel localizada en el lado del cátodo del chip.

### Introducción de los chips en la bandeja



En la pantalla táctil del dispositivo Auto2D<sup>®</sup>, elija OPEN > OK (ABRIR > OK). Una vez abierta la bandeja, coloque el chip de PAGE (línea azul clara) con el lado del ánodo hacia delante. Coloque el chip de disolución (líneas azul oscuro) en la parte superior del chip de PAGE con las esquinas recortadas hacia delantera.

#### Aplicación de las disoluciones



- 1. Tampón del cátodo, 4500 µL
- 2. Tampón del ánodo, 4000 µL
- 3. Agua destilada, 4000 µL
- 4. Tampón de equilibrio de trabajo:
  - a. 700 µL
  - b. 700 µL (opcional)
  - c. 700 µL (opcional)
- 5. Disolución de rehidratación de trabajo, 100 μL
- 6. Disolución de muestra,  $10-12 \mu L$
- 7. Marcador del peso molecular\* 0,5–0,7  $\mu L$ 
  - \* No puede incluir SDS o azul de bromofenol

#### Colocación del Chip electrodo



- 1. Parte del electrodo IEF del chip de electrodo y ranura del chip de IEF del chip de disoluciones
- Coloque el chip de electrodo en el gel montado y el chip de disoluciones de modo que la marca ▼ mire hacia delante.

### Chip de IEF



Retire la película protectora del chip de IEF.



Introduzca el chip de IEF en la hendidura en el chip electrodo.

Antes de empezar la etapa de electroforesis, verifique lo siguiente:

- El chip de electrodo no está húmedo excepto en las cámaras del ánodo y del cátodo.
- Está retirada la tapa transparente del lado del cátodo del chip de PAGE.
- Se ha añadido la disolución donde es necesaria.

### Inicio de la electroforesis

Elija CLOSE > OK > START > OK (CERRAR > OK > INICIAR > OK).

La electroforesis empezará.

# Después de la electroforesis

#### Retirada del gel

Elija OK > OPEN > OK (OK > ABRIR > OK).

- 1. Retire y deseche el chip de IEF y las disoluciones que queden en el chip de disolución. Véase el apartado Eliminación.
- 2. Retire el chip de PAGE y enjuague con agua destilada.



- 3. Abra la cajita con una espátula.
- Marque la orientación del gel haciendo un pequeño corte en una de las esquinas. Esto le ayudará a localizar los lados alcalino y ácido y el peso molecular alto-bajo en el gel (vea a continuación).



### Limpieza

Limpie el chip electrodo con agua destilada inmediatamente y déjelo secar al aire después de su uso.

#### Apagado

Elija MENU > EXIT APPLICATION > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN > OK (MENÚ > SALIR DE LA APLICACIÓN > OK > SISTEMA/ APAGAR SO > OK)

Apague el interruptor de la parte trasera del dispositivo.

**NOTA:** Si observa condensación en el interior del dispositivo, deje abierta la bandeja durante un rato antes de apagarlo para permitir que se seque el interior.

### Eliminación

Los componentes expuestos a las muestras deben desecharse como residuos biológicos. El resto de materiales deben desecharse según todas las normativas internacionales, federales, estatales y locales pertinentes. Encontrará información sobre peligros en la ficha de datos de seguridad de los componentes.

#### Aviso

Ofrecemos información y soporte a nuestros clientes sobre las tecnologías de las aplicaciones y temas normativos según nuestro conocimiento y experiencia, pero sin obligación ni responsabilidad alguna. Nuestros clientes deben respetar en todos los casos las normativas y leyes vigentes. Esto también se aplica con respecto a los derechos de terceros. Nuestra información y asesoramiento no exime a nuestros clientes de su responsabilidad de comprobar la idoneidad de nuestros productos para el propósito contemplado.

La información contenida en este documento está sujeta a cambios sin previo aviso y no debe interpretarse como un compromiso por parte de la entidad fabricante o vendedora, ni filial. No aceptamos responsabilidad alguna por cualquier error que pudiera aparecer en este documento.

### Información de contacto

Encontrará la ubicación de la oficina más próxima en <u>www.sigmaaldrich.com/offices</u>.

### Asistencia técnica

Visite la página de servicio técnico en <u>SigmaAldrich.com/techservice</u>.

### Garantía estándar

La garantía aplicable a los productos indicados en esta publicación puede encontrarse en www.sigmaaldrich.com/terms.

#### Nederlands (Dutch)

### **Bedoeld gebruik**

Het Auto2D<sup>®</sup> Electrophoresis Device automatiseert het proces van 2D elektroforese volledig, en scheidt de eiwitten eerst per isolektrisch punt en als tweede per moleculair gewicht. Volledige eiwitscheiding wordt in iets langer dan een uur bereikt.

#### Inhoud

- Auto2D<sup>®</sup> Electrophoresis Device
- Stroomkabels:
  - Stroomkabel voor JP en Noord Amerika
  - 3P-2P conversieplug voor JP en Noord Amerika
  - Stroomkabel voor Europa
  - Stroomkabel voor China
  - Stroomkabel voor het Verenigd Koninkrijk

#### Tevens benodigd (niet meegeleverd)

Zie Bestellen Product 51 voor catalogusnummers

- Auto2D® Electrode Chip
- Auto2D<sup>®</sup> PAGE Chip
- Auto2D® IEF Chip
- Auto2D® Solution Chip
- Auto2D<sup>®</sup> Tris-Glycine of Tris-Tricine Reagent Kit
- Amfolyt (kies de geschikte amfolyt op basis van IEF chip pH-bereik)
- Gedestilleerd water

### **Online Gebruikershandleiding**

De complete Gebruikershandleiding omvat gedetailleerde instructies en procedures. Het kan worden gedownload via de productpagina van Auto2D® Device op <u>SigmaAldrich.com</u>.

# **Opslag en Stabiliteit**

Het Auto2D® apparaat dient uitsluitend binnenshuis te worden gebruikt en opgeslagen. Zie het productlabel voor elk onderdeel voor opslagvereisten.

# $\triangle$ Voorzorgsmaatregelen

#### Uitsluitend voor onderzoeksdoeleinden.

Raadpleeg het Veiligheidsblad (bijgesloten) en de volledige Gebruikershandleiding zorgvuldig op <u>SigmaAldrich.com</u> voordat u dit product gebruikt.

# **Auto2D® Workflow**

Totale proces: 100–155 minuten (afhankelijk van de procedure)



# Preparatie

#### Reagentia

- Prepareer en bewaar Reagent Kits zoals aangegeven in de bij de kits meegeleverde literatuur, of de volledige Gebruikershandleiding (online).
- Laat de volgende producten die op een lage temperatuur zijn opgeslagen, op kamertemperatuur komen (20–25 °C ongeveer 10 minuten).
  - IEF Chip
  - PAGE Chip
  - Rehydration Solution
  - DTT Solution
  - Amfolyt
- Prepareer de Working Rehydration Solution voor rehydratatie van IEF Chip en extractie/verdunning van eiwitmonster:

Reagentia	Volume	Definitieve concentratie
Rehydration Solution	189 µL	
DTT Solution (1 M)	10 µL	50 mM
Amfolyt*	1-2 µL	0,5-1% v/v
<b>T</b> - 4 1	2001	

#### Totaal 200 µL

- \* Selecteer amfolyt op basis van IEF chip. Voeg voor amfolyten met 40% stockconcentratie, 1 µL toe. Voeg voor amfolyten met 100X, 2 µL toe.
- 4. Prepareer Working Equilibration Buffer voor equilibratie van geconcentreerde eiwitten voor SDS-PAGE.

Reagentia	Volume	Definitieve concentratie
Equilibration buffer premix	760 µL	
DTT Solution (1 M)	40 µL	50 mM
Totaal	800 µL	

#### Monsterpreparatie

Los het eiwitmonster op in de Working Rehydration Solution, geprepareerd volgens stap 3. Het monster mag 2 maal of meer verdund worden met Working Rehydration Solution om de gewenste eiwitconcentratie te bereiken en de zoutconcentratie te verlagen.

Een hoge zoutconcentratie kan eiwitscheiding beïnvloeden tijdens isoelektrische concentratie en de stroom 100 µA doen overschrijden. Monsters met een hoge zoutconcentratie dienen ontzout te worden door middel van:

TCA/aceton precipitatie en resuspensie van eiwitten in Working Rehydration Solution

OF

Buffer uitwisseling door middel van een spinkolom

**LET OP:** Tijdens eiwitresuspensie dient u de eiwitten niet boven de 37 °C te verhitten.

Eiwitten kwantificeren. Tussen 0,1–25 µg eiwit kan worden geladen voor 2D elektroforese. De optimale hoeveelheid eiwit is afhankelijk van de detectiemethode en monstercomplexiteit. De volgende eiwit hoeveelheden dienen als startpunt te worden gebruikt, de gebruiker kan de laadhoeveelheid optimaliseren voor hun eigen monster.

- Coomassie Brilliant Blue staining: 25 µg
- Fluorescent staining: 10 µg
- Silver staining: 5 µg
- Fluorescent pre-labeling: 3 μg

Het geappliceerde monstervolume op het apparaat is 10–12 µL. Het monster kan worden verdund met Working Rehydration Solution, indien noodzakelijk.

#### Inschakelen van Auto2D® Device

Selecteer het geschikte stroomsnoer (meegeleverd met het apparaat) dat compatibel is met de stopcontacten in uw land. Duw het juiste uiteinde stevig in de achterkant van het Auto2D<sup>®</sup> Device, en het andere uiteinde in het stopcontact.

De stroomschakelaar bevindt zich naast de AC plugpoort achterop het Auto2D<sup>®</sup> Device. Druk de schakelaar omhoog om in te schakelen.

De applicatie wordt automatisch gestart. Selecteer op het scherm de Auto2D<sup>®</sup> modus (origineel)

#### Laad een procedure

Kies SETTING (instelling) > RECIPE (recept). Raak het Recipe Information scherm aan. Selectie dialoogvak voor procedure verschijnt.

Recipe Selection Dialog	T manual I	-	-
[ 1/1]	< <prev< td=""><td>Next&gt;&gt;</td><td>CANCEL</td></prev<>	Next>>	CANCEL
1 : DEFAULT			
2 : RECEIPE 1			
3 : RECEIPE 2			

Selecteer "RECIPE NAME" (procedure naam) > LOAD (laden) > OK > EXIT (afsluiten).

Let op: Bevestig dat de gewenste Procedurenaam rechtsbovenin het scherm wordt getoond.

# **Chip montage**

#### **PAGE Chip**



- 1. Verwijder de witte tape op de anodezijde van de Chip.
- 2. Verwijder voorzichtig de plastic folie op de kathodezijde van de Chip.
- Spoel de anode en kathodebuffer zachtjes af met gedestilleerd water. Veeg met een papieren reinigingsdoekje eventuele vloeistof van de bovenkant van de Chip af, waarbij u erop let de dunne strip op de kathodezijde van de Chip niet te beschadigen.

#### Plaats de Chips in de bak



Op het Auto2D<sup>®</sup> Device touch screen, kiest u OPEN > OK. Zodra de bak is geopend, plaatst u de PAGE Chip (lichtblauwe streep) met de anodezijde naar voren. Plaats de Solution Chip (donkerblauwe strepen) bovenop de PAGE Chip met de cut-off hoekjes naar voren.

#### Breng de Solutions aan



- 1. Kathode buffer, 4500 µL
- 2. Anode buffer, 4000  $\mu$ L
- 3. Gedestilleerd water, 4000 µL
- 4. Working Equilibration Buffer
  - a. 700 μL
  - b. 700 μL (optioneel)
     c. 700 μL (optioneel)
- 5. Working Rehydration Solution, 100 µL
- 6. Monster, 10–12 μL
- 7. Moleculair gewicht marker\*  $0,5-0,7 \mu L$ 
  - \* zonder SDS of Bromophenol Blue

### Plaats de Electrode Chip



- 1. IEF Electrode onderdeel van Electrode Chip en IEF Chip groef van Solution Chip.
- Plaats de Electrode Chip op het aangebrachte gel en solution chip zodat de ▼ marker naar voren wijst.

#### **IEF Chip**



Verwijder de beschermfilm van de IEF Chip



Plaats de IEF Chip in het slot in de Electrode Chip.

Verifieer alvorens de elektroforese te starten het volgende:

- De Electrode Chip is niet nat behalve de anode en kathodekamer.
- De doorzichtige folie op de kathodezijde van de PAGE Chip is verwijderd.
- De oplossing is zoals vereist toegevoegd.

### **Start Elektroforese**

Kies CLOSE (sluiten) > OK > START > OK.

De elektroforese gaat beginnen.

### **Na Elektroforese**

#### Verwijder de gel

Kies OK > OPEN > OK.

- 1. Verwijder de IEF Chip en gooi deze samen met resterende oplossingen in de Solution Chip weg. Zie rubriek Afvoeren.
- 2. Verwijder de PAGE Chip en spoel af met gedestilleerd water.



- 3. Open de cassette met spatel.
- Markeer de oriëntatie van de gel door een kleine inkeping te maken in een van de hoeken. Hiermee kunt u de alkalische en zure zijden lokaliseren en hoog-laag moleculair gewicht in uw gel (zie hieronder).



### Reinigen

Reinig de Electrode Chip onmiddellijk met gedestilleerd water en laat na gebruik aan de lucht drogen.

### Uitschakelen

Kies MENU > EXIT APPLICATION (toepassing sluiten) > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN (systeem/os afsluiten) > OK

Zet de schakelaar achterop het Auto $2D^{(\! R\!)}$  Device uit.

**LET OP:** Indien er condensatie wordt waargenomen binnen in het apparaat, laat u de bak een tijdje open staan voordat u de stroom uitschakelt, zodat de binnenkant kan drogen.

### Afvoeren

De onderdelen die aan monsters zijn blootgesteld dienen te worden afgevoerd met biologisch afval. Deze stof en/of de verpakking als gevaarlijk afval afvoeren. Alle andere materialen dienen afgevoerd te worden volgens toepasselijke internationale, nationale en lokale bepalingen. Raadpleeg het Veiligheidsblad van de onderdelen voor informatie over gevaren.

# Kennisgeving

Wij bieden naar ons beste weten en vermogen informatie en advies aan onze klanten over applicatietechnologieën en bepalingen, echter zonder enige verplichting of aansprakelijkheid. Bestaande wet- en regelgeving dient in alle gevallen door onze klanten te worden nageleefd. Dit is tevens van toepassing wat betreft eventuele rechten van derde partijen. Onze informatie en adviezen ontheffen klanten niet van hun eigen verantwoordelijkheid om de geschiktheid van onze producten voor het beoogde doel te controleren.

De informatie in dit document is onderhevig aan wijzigingen zonder voorafgaande kennisgeving en dient niet te worden opgevat als een toezegging door de producerende of verkopende entiteit, of een partner. Wij aanvaarden geen verantwoordelijkheid voor fouten die in dit document kunnen voorkomen.

# Contactinformatie

voor de locatie van het dichtstbijzijnde kantoor, ga naar <u>SigmaAldrich.com/offices</u>.

### **Technische assistentie**

Bezoek de tech service pagina op SigmaAldrich.com/techservice.

### **Standaard garantie**

De toepasselijke garantie voor de producten die in deze publicatie worden genoemd vindt u op <u>www.sigmaaldrich.com/terms</u>.

#### Deutsch (German)

### Verwendungszweck

Das Auto2D® Elektrophoresegerät vollautomatisiert den Prozess der 2D-Elektrophorese und trennt Proteine zuerst nach isoelektrischem Punkt und dann nach Molekulargewicht. Eine komplette Proteintrennung wird in nur zwei Stunden erzielt.

#### Inhalt

- Auto2D® Elektrophoresegerät
- Netzkabel:
- Netzkabel für Japan und Nordamerika
- 3P-2P-Konversionsstecker f
  ür Japan und Nordamerika
- Netzkabel für Europa
- Netzkabel für China
- Netzkabel für das Vereinigte Königreich

#### Ebenfalls erforderlich (nicht im

Lieferumfang enthalten) Bestellnummern finden Sie auf Seite 51.

- Auto2D<sup>®</sup> Elektrodenchip
- Auto2D<sup>®</sup> PAGE-Chip
- Auto2D® IEF-Chip
- Auto2D<sup>®</sup> Lösungschip
- Auto2D<sup>®</sup> Tris-Glycin- oder Tris-Tricin-Reagenzienkit
- Ampholyt (wählen Sie den Ampholyten nach dem pH-Bereich des IEF-Chips)
- Destilliertes Wasser

### **Bedienungsanleitung online**

Die ausführliche Bedienungsanleitung enthält detaillierte Anleitungen und Rezepturen. Sie kann auf der Produktseite des Auto2D<sup>®</sup> Geräts unter <u>SigmaAldrich.com</u> heruntergeladen werden.

# Lagerung und Haltbarkeit

Das Auto2D® Gerät sollte nur in Innenräumen verwendet/aufbewahrt werden. Beachten Sie bitte die Lagerungsbedingungen auf dem Produktetikett jeder Komponente.

# **▲** Sicherheitshinweise

#### Nur für Forschungszwecke.

Lesen Sie bitte das Sicherheitsblatt (beiliegend) und die ausführliche Bedienungsanleitung auf <u>SigmaAldrich.com</u> sorgfältig durch, bevor Sie dieses Produkt verwenden.

### **Auto2D® Arbeitsablauf**

Gesamter Prozess: 100–155 Minuten (je nach Rezeptur)



# Vorbereitung

### Reagenzien

- 1. Zur Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzienkits beachten Sie bitte die Anweisungen in der mit den Kits gelieferten Literatur oder in der ausführlichen Bedienungsanleitung (online).
- Lassen Sie die folgenden Produkte, die bei niedrigen Temperaturen aufbewahrt werden, etwa 10 Minuten auf Raumtemperatur (20–25 °C) aufwärmen.
  - IEF-Chip
  - PAGE-Chip
  - Rehydrierlösung
  - DTT-Lösung
  - Ampholyt
- Bereiten Sie die Rehydrier-Arbeitslösung zur Rehydrierung des IEF-Chips und Extraktion/Verdünnung der Proteinprobe vor:

Reagenzien	Volu- men	Endkonzen- tration
Rehydrierlö- sung	189 µL	
DTT-Lösung (1 M)	10 µL	50 mM
Ampholyt*	1-2 µL	0,5-1 % v/v

200 µL

#### Gesamtvolumen

- \* Wählen Sie den Ampholyten nach dem pH-Bereich des IEF-Chips.
   Für Ampholyten in 40 % w/v Stammkonzentration, geben Sie
   1 µL zu. Für Ampholyten in einer
   100X-Konzentration geben Sie 2 µL zu.
- Bereiten Sie den Äquilibrier-Arbeitspuffer zur Äquilibrierung fokussierter Proteine vor der SDS-PAGE vor.

Reagenzien	Volu- men	Endkonzen- tration
Äquilibrier- puffer-Vormi- schung	760 µL	
DTT-Lösung (1 M)	40 µL	50 mM
Gesamtvolu- men	800 µL	

#### Probenvorbereitung

Lösen Sie die Proteinprobe in der gemäß Schritt 3 zubereiteten Rehydrier-Arbeitslösung. Die Probe kann 2-fach oder stärker mit Rehydrier-Arbeitslösung verdünnt werden, um die gewünschte Proteinkonzentration zu erhalten und die Salzkonzentration zu verringern.

Eine hohe Salzkonzentration kann die Proteintrennung während der isoelektrischen Fokussierung beeinträchtigen und die Stromstärke auf über 100 µA erhöhen. Proben mit hoher Salzkonzentration sollten entsalzt werden durch:

TCA/Acetonausfällung und Resuspendierung der Proteine in Rehydrier-Arbeitslösung

ODER

Pufferaustausch unter Anwendung einer Spinsäule

**HINWEIS:** Vermeiden Sie bei der Protein-Resuspendierung eine Erwärmung der Proteine über 37 °C.

Quantifizieren Sie die Proteine. Für die 2D-Elektrophorese können zwischen 0,1 und 25 µg Protein geladen werden. Die optimale Proteinmenge hängt von der Detektionsmethode und der Probenkomplexität ab. Die folgenden Proteinmengen sind als Ansatzpunkt zu verwenden. Die Anwender müssen die Lademenge ggf. für ihre bestimmte Probe optimieren.

- Coomassie Brillantblau-Färbung: 25 µg
- Fluoreszenzfärbung: 10 µg
- Silberfärbung: 5 µg
- Fluoreszenz-Vormarkierung: 3 µg

Das in das Gerät gegebene Probenvolumen beträgt 10–12  $\mu L.$  Die Probe kann bei Bedarf mit Rehydrier-Arbeitslösung verdünnt werden.

#### Schalten Sie das Auto2D® Gerät ein

Wählen Sie das Netzkabel (im Lieferumfang enthalten), das mit den Steckdosen in Ihrem Land kompatibel ist. Stecken Sie das Geräteende des Kabels fest auf der Rückseite des Auto2D<sup>®</sup> Geräts und das andere Ende in die Wandsteckdose ein.

Der Netzschalter befindet sich neben dem Wechselstromeingang auf der Rückseite des Auto2D<sup>®</sup> Geräts. Drücken Sie den Netzschalter, um das Gerät einzuschalten.

Die Anwendung wird automatisch gestartet. Wählen Sie auf dem Bildschirm den Auto2D<sup>®</sup> Modus (Originalmodus).

#### Laden Sie eine Rezeptur

Wählen Sie SETTING > RECIPE [EINSTELLUNG > REZEPTUR]. Berühren Sie den Rezeptur-Informationsbildschirm. Das Dialogfenster zur Auswahl einer Rezeptur wird eingeblendet.



Wählen Sie den Rezepturnamen > LOAD > OK > EXIT [LADEN > OK > VERLASSEN].

**Hinweis:** Bestätigen Sie, dass der gewünschte Rezepturname oben rechts am Bildschirm angezeigt wird.

# **Chip-Vorbereitung**

#### PAGE-Chip



- 1. Entfernen Sie das weiße Klebeband auf der Anodenseite des Chips.
- Entfernen Sie vorsichtig die Kunststoffabdeckung auf der Kathodenseite des Chips.
- Spülen Sie die Anoden- und Kathodenpufferkanäle behutsam mit destilliertem Wasser. Wischen Sie jegliche Flüssigkeit mit einem Papierhandtuch vorsichtig von der Oberseite des Chips und achten Sie dabei darauf, dass der dünne Gelstreifen auf der Kathodenseite des Chips nicht beschädigt wird.

### Legen Sie die Chips in die Schublade ein



Wählen Sie auf dem Touchscreen des Auto2D<sup>®</sup> Geräts OPEN > OK [ÖFFNEN > OK]. Wenn die Schublade geöffnet ist, legen Sie den PAGE-Chip (hellblaue Kontur) mit der Anodenseite nach vorn ein. Legen Sie den Lösungschip (dunkelblaue Kontur) mit den abgeschnittenen Ecken nach vorn auf den PAGE-Chip.

#### Geben Sie die Lösungen zu

**IEF-Chip** 



- 1. Kathodenpuffer, 4500 µL
- Anodenpuffer, 4000 uL 2.
- 3. Destilliertes Wasser, 4000 µL
- Äquilibrier-Arbeitspuffer: 4.
  - a. 700 µL
  - b. 700 µL (optional)
  - c. 700 µL (optional)
- 5. Rehydrier-Arbeitslösung, 100 µL
- Probenlösung, 10–12 µL 6.
- 7. Molekulargewichtsmarker\* 0,5-0,7 µL
  - \* Kann kein SDS oder Bromphenolblau enthalten

### Legen Sie den Elektrodenchip ein



- 1. IEF-Elektrodenteil des Elektrodenchips und IEF-Chipkanal des Lösungschips.
- 2. Setzen Sie den Elektrodenchip auf den Gel- und Lösungschip, so dass der Pfeil ▼ nach vorn weist.



Entfernen Sie die Schutzfolie des IEF-Chips.



Setzen Sie den IEF-Chip in seinen Steckplatz im Elektrodenchip ein.

Bestätigen Sie vor dem Start der Elektrophorese, dass:

- der Elektrodenchip (außer der Anoden- und Kathodenkammer) nicht nass ist,
- die durchsichtige Abdeckung auf der Kathodenseite des PAGE-Chips entfernt wurde,
- alle erforderlichen Lösungen zugegeben wurden.

# Starten Sie die Elektrophorese

Wählen Sie CLOSE > OK > START > OK [SCHLIESSEN > OK > STARTEN > OK].

Die Elektrophorese beginnt.

### Nach der Elektrophorese

#### **Entfernen Sie das Gel**

Wählen Sie OK > OPEN > OK [OK > ÖFFNEN > OK].

- 1. Entfernen und entsorgen Sie den IEF-Chip und die Restlösungen im Lösungschip. Siehe Abschnitt zur Entsorgung.
- 2. Entfernen Sie den PAGE-Chip und spülen Sie ihn mit destilliertem Wasser ab.



- 3. Öffnen Sie die Kassette mit einem Spatel.
- 4. Markieren Sie die Orientierung des Gels durch einen kleinen Schnitt in einer Ecke. Dies erleichtert Ihnen die Lokalisierung der alkalischen und sauren Seiten sowie hoher und niedriger Molekulargewichte in Ihrem Gel (siehe unten).



Alkalisch

### Reinigung

Reinigen Sie den Elektrodenchip unverzüglich mit destilliertem Wasser und lassen Sie ihn an der Luft trocknen.

### Schalten Sie das Gerät ab

Wählen Sie MENU > EXIT APPLICATION > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN > OK [MENÜ > ANWENDUNG VERLASSEN > OK > SYSTEM/OS HERUNTERFAHREN > OK]

Schalten Sie den Netzschalter auf der Rückseite des Auto2D® Geräts aus.

HINWEIS: Falls Kondensation im Geräteinneren vorliegt, lassen Sie die Schublade einige Zeit offen, bevor Sie das Gerät ausschalten, damit es trocknen kann.

### Entsorgung

Probenberührte Komponenten sind zusammen mit biologischem Abfall zu entsorgen. Andere Materialien sollten in Übereinstimmung mit allen internationalen, landesweiten oder lokalen Vorschriften entsorgt werden. Gefahreninformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt der Komponenten.

### Hinweis

Wir informieren und beraten unsere Kunden in Bezug auf Anwendungstechnologien und regulatorische Angelegenheiten nach bestem Wissen und Gewissen, jedoch unverbindlich und ohne Haftungsübernahme. Bestehende Gesetze und andere Vorschriften sind in iedem Fall von unseren Kunden zu beachten. Das Gleiche gilt für Rechte Dritter. Unsere Informationen und Beratung entbinden unsere Kunden nicht von der Verantwortung, unsere Produkte auf die Eignung für die vorgesehenen Zwecke zu prüfen.

Die Informationen in diesem Dokument können jederzeit ohne Vorankündigung geändert werden und stellen keine Verpflichtung seitens des Herstellers oder Verkäufers bzw. eines Tochterunternehmens dar. Wir übernehmen keine Verantwortung für etwaige Fehler in diesem Dokument.

### Kontaktinformationen

Ihre nächstgelegene Niederlassung finden Sie online unter SigmaAldrich.com/offices.

### Technische Unterstützung

Unser technischer Kundendienst ist auf folgender Webseite erreichbar SigmaAldrich.com/techservice.

### Allgemeine Gewährleistung

Die allgemeinen Gewährleistungen für die Produkte in diesem Dokument finden Sie online unter SigmaAldrich.com/terms.

#### Italiano (Italian)

### **Uso previsto**

Il dispositivo per elettroforesi Auto2D® automatizza completamente il processo di elettroforesi 2D, separando le proteineprima in base al punto isoelettrico e poi in base al peso molecolare. E possibile ottenere la completa separazione delle proteine in circa due ore.

#### Contenuto

- Dispositivo per elettroforesi Auto2D®
- Cavi di alimentazione elettrica:
- cavo di alimentazione per Giappone e Nord America
- adattatore 3P-2P per Giappone e Nord America
- cavo di alimentazione per l'Europa
- cavo di alimentazione per la Cina
- cavo di alimentazione per il Regno Unito

**Altri componenti necessari** (non inclusi) Per i numeri di catalogo, vedere la sezione Ordine dei prodotti a pag. 51.

- Chip Elettrodo per Auto2D®
- Chip PAGE per Auto2D®
- Chip IEF per Auto2D®
- Chip Soluzioni per Auto2D®
- Kit di reagenti con tris glicina o Tris-Tricina per Auto2D<sup>®</sup>
- Anfolita (scegliere l'anfolita appropriato in base all'intervallo di pH del chip IEF)
- Acqua distillata

### Manuale d'uso online

Il manuale d'uso completo include le istruzioni dettagliate e i metodi. Può essere scaricato dalla pagina relativa al dispositivo Auto2D<sup>®</sup> su <u>SigmaAldrich.com</u>.

# Conservazione e stabilità

Il dispositivo Auto2D<sup>®</sup> deve essere utilizzato/conservato solo in ambienti chiusi. Per le informazioni sulla conservazione, si rimanda all'etichetta apposta su ciascun componente.

### A Precauzioni

#### Soltanto per scopi di ricerca.

Prima di utilizzare questo prodotto leggere attentamente la scheda di sicurezza (allegata) e il manuale d'uso completo nel sito SigmaAldrich.com.

### Flusso di lavoro dell'Auto2D®

Tempo richiesto: 100–155 minuti (a seconda del metodo)



# Preparazione

#### Reagenti

- 1. Preparare e conservare i kit di reagenti come indicato nella documentazione fornita o nel manuale d'uso completo (online).
- Lasciare che i seguenti prodotti, conservati a basse temperature, raggiungano la temperatura ambiente (tenere a 20–25 °C per circa 10 minuti).
  - Chip IEF
  - Chip PAGE
  - Soluzione di reidratazione
  - Soluzione di DTT
  - Anfolita
- Preparare la soluzione di reidratazione alla concentrazione di lavoro per la reidratazione del chip IEF e per l'estrazione/diluizione del campione di proteine:

Reagenti	Volume	Concentrazione finale
Soluzione di reidratazione	189 µL	
Soluzione di DTT (1M)	10 µL	50 mM
Anfolita*	1-2 µL	0,5-1% v/v
Totale	200 µL	

\*scegliere l'anfolita appropriato in base all'intervallo di pH del chip IEF Per gli anfoliti alla concentrazione stock del 40%, aggiungere 1  $\mu$ L. Per gli anfoliti alla concentrazione 100X, aggiungere 2  $\mu$ L.

 Preparare il tampone di equilibrazione alla concentrazione di lavoro per equilibrare le proteine separate mediante IEF, prima dell'SDS-PAGE.

Reagenti	Volume	Concentrazione finale
Premix di tampone di equilibrazione	760 µL	
Soluzione di DTT (1M)	40 µL	50 mM
Totale	800 µL	

#### Preparazione dei campioni

Aggiungere il campione di proteine alla soluzione di reidratazione alla concentrazione di lavoro preparata come descritto al punto 3. Il campione può essere diluito 2 volte o più con tale soluzione, fino a raggiungere la concentrazione proteica desiderata e la concentrazione salina adeguata.

Un'eccessiva concentrazione di sale potrebbe compromettere la separazione delle proteine durante la focalizzazione isoelettrica o causare un aumento della corrente a valori superiori ai 100 µA. I campioni con un'elevata concentrazione salina devono essere desalinizzati mediante una delle seguenti metodiche:

Precipitazione con TCA/acetone seguita da risospensione nella soluzione di reidratazione alla concentrazione di lavoro

OPPURE

Scambio di tampone su colonnina da centrifuga

**Nota:** Durante la risospensione delle proteine, evitare di riscaldarleoltre i 37 °C.

Quantificare le proteine. Nell'elettroforesi 2D è possibile caricare  $0,1-25 \ \mu g$  di proteine. La quantità ottimale dipende dal metodo di rilevamento e dalla complessità del campione. Come punto di partenza si consiglia di usare le seguenti quantità di proteine; gli utenti potrebbero dover ottimizzare la quantità da caricare in relazione al loro campione specifico.

- Colorazione con blu di Coomassie: 25 µg
- Colorazione fluorescente: 10 µg
- Colorazione argentica: 5 µg
- Pre-marcatura fluorescente 3 µg

Il volume di campione da caricare nel dispositivo è di 10–12 µL. Se necessario, il campione può essere diluito con la soluzione di reidratazione alla concentrazione di lavoro.

# Alimentazione del dispositivo Auto2D®

Scegliere il cavo di alimentazione (fornito con il dispositivo) compatibile con le prese di corrente del proprio paese. Inserire nella parte posteriore del dispositivo Auto2D® la spina corrispondente del cavo e l'altra nella presa di corrente.

L'interruttore si trova accanto alla presa per la spina CA posta sul retro del dispositivo Auto2D® Premere l'interruttore verso l'alto per accendere.

L'applicazione si avvierà in automatico. Sullo schermo, selezionare la modalità Auto2D® (original)

#### Impostare il metodo

Selezionare SETTING > RECIPE. Toccare la schermata Recipe Information. Apparirà la finestra di dialogo per la selezione del metodo.

Recipe Selection Dialog	Taxana I	and the local division of the	×
[ 1/1]	< <prev< td=""><td>Next&gt;&gt;</td><td>CANCEL</td></prev<>	Next>>	CANCEL
1 : DEFAULT			
2 : RECEIPE 1			
3 : RECEIPE 2			
			2

Selezionare il nome del metodo > LOAD > OK > EXIT.

**Nota:** Verificare che il nome del metodo desiderato compaia nella parte superiore destra dello schermo.

# Assemblaggio del chip

#### Chip PAGE



- 1. Rimuovere il nastro bianco sul lato dell'anodo del chip.
- 2. Rimuovere con attenzione la copertura di plastica sul lato del catodo del chip.
- Sciacquare delicatamente con acqua distillata i pozzetti per il tampone dell'anodo e del catodo. Utilizzando una salviettina di carta, asciugare la parte superiore del chip stando attenti a non danneggiare la sottile striscia di gel situata sul lato del catodo.

#### Inserire i chip nel vassoio



Sul touchscreen del dispositivo Auto2D<sup>®</sup> selezionare OPEN > OK. Apertosi il vassoio, posizionare il chip PAGE (linea azzurra) con la parte dell'anodo posta anteriormente. Posizionare il chip Soluzioni (linee blu scuro) sopra al chip PAGE, orientandolo con gli angoli tagliati in posizione anteriore.

#### Aggiungere le soluzioni



- 1. Tampone per il catodo 4500 µL
- 2. Tampone per l'anodo, 4000  $\mu$ L
- 3. Acqua distillata, 4000  $\mu L$
- Tampone di equilibrazione alla concentrazione di lavoro a. 700 μL
  - b. 700 µL (opzionale)
  - c. 700 µL (opzionale)
- 5. Soluzione di reidratazione, 100 µL
- 6. Soluzione contenente il campione, 10–12  $\mu L$
- 7. Marcatore di peso molecolare\* 0,5–0,7  $\mu\text{L}$ 
  - \* Non deve contenere SDS o blu di bromofenolo

#### Posizionare il chip Elettrodo



- 1. Porzione del chip Elettrodo destinata al chip IEF e alloggiamento per il chip IEF del chip Soluzioni.
- Posizionare il chip Elettrodo su gel e chip Soluzioni assemblati in modo che il segno ▼ sia rivolto in avanti.

#### **Chip IEF**



Rimuovere la pellicola protettiva del chip IEF.



Inserire il chip IEF nell'alloggiamento indicato dal punto bianco posto sul chip Elettrodo.

Prima di iniziare la corsa elettroforetica, verificare quanto segue:

- il chip Elettrodo non deve essere bagnato tranne che a livello della camera dell'anodo e del catodo
- la copertura trasparente sul lato catodico del chip PAGE deve essere stata rimossa
- le soluzioni richieste devono essere state aggiunte.

### **Avviare l'elettroforesi**

Selezionare CLOSE > OK > START > OK.

L'elettroforesi avrà inizio.

### Dopo l'elettroforesi

#### Rimuovere il gel

Selezionare OK > OPEN > OK.

- 1. Rimuovere e smaltire il chip IEF e le soluzioni rimaste nel chip Soluzioni Vedere la sezione smaltimento.
- 2. Rimuovere il chip PAGE e sciacquare con acqua distillata.



- 3. Aprire la cassetta con la spatola.
- Segnare l'orientamento del gel facendo un piccolo taglio su uno degli angoli. Questo consentirà di distinguere nel gel tra lato alcalino e acido e tra quello dei pesi molecolari alti e bassi (vedere sotto).



#### Pulizia

Dopo l'uso, pulire immediatamente il chip Elettrodo con acqua distillata e lasciarlo asciugare all'aria.

#### Spegnimento

Selezionare MENU > EXIT APPLICATION > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN > OK

Spegnere l'interruttore sul retro del dispositivo Auto2D.

**Nota:** Se all'interno del dispositivo fosse presente della condensa, prima di spegnere l'alimentazione lasciare aperto il vassoio per farlo asciugare.

### **Smaltimento**

I componenti entrati in contatto con i campioni devono essere smaltiti come rifiuti biologici. Gli altri materiali vanno smaltiti nel rispetto delle normative vigenti internazionali, statali, regionali e locali. Fare riferimento alla scheda di sicurezza dei componenti per informazioni sui potenziali pericoli.

#### Avvertenza

Ai nostri Clienti forniamo informazioni e consigli su tecnologie applicative e questioni legislative al meglio delle nostre conoscenze e capacità, senza che ciò comporti alcun obbligo o responsabilità da parte nostra. In ogni caso i Clienti sono tenuti all'osservanza delle leggi e delle norme in vigore, anche in relazione a eventuali diritti di terzi. Le informazioni e gli avvisi forniti non sollevano i Clienti dalla responsabilità di verificare l'idoneità dei nostri prodotti per lo scopo perseguito.

Le informazioni contenute in questo documento possono essere modificate senza preavviso e non devono, quindi, essere interpretate come una dichiarazione d'impegno da parte del produttore, del venditore o di loro affiliate. Decliniamo qualsiasi responsabilità per eventuali errori presenti.

# Per contattarci

Per l'indirizzo della sede più vicina, consultare <u>SigmaAldrich.com/offices</u>.

### Assistenza tecnica

Visitare la pagina del Servizio Tecnico SigmaAldrich.com/techservice

# Condizioni generali di garanzia

Le condizioni di garanzia applicabili ai prodotti citati nella presente pubblicazione possono essere consultate alla pagina <u>SigmaAldrich.com/terms</u>.

### 用途

Auto2D<sup>®</sup>電気泳動デバイスは2D電気泳動のプロセスを 完全に自動化し、タンパク質分離をまず等電点で、次い で分子量で分離します。わずか2時間でタンパク質の分離 が完了します。

#### 梱包内容

- Auto2D<sup>®</sup>電気泳動装置
- 電源ケーブル:
- 日本、北米用電源ケーブル
- 日本、北米用3P→2P変換プラグ
- 欧州用電源ケーブル
- 中国用電源ケーブル
- 英国用電源ケーブル

#### 他にご用意いただくもの(同梱されていません)

#### カタログ番号は51ページの「製品注文」をご覧ください。

- Auto2D° Electrode Chip
- Auto2D° PAGE Chip
- Auto2D° IEF Chip
- Auto2D° Solution Chip
- Auto2D<sup>®</sup> Tris-Glycineまたは Tris-Tricine Reagent Kit
- アンフォライト (IEF ChipのpH範囲に応じて適切 なアンフォライトを選んでください)
- 蒸留水

# オンラインユーザーガイド

完全版のユーザーガイドには、詳細な手順とレシピが含 まれています。<u>SigmaAldrich.com</u>のAuto2D<sup>®</sup>装置製品 ページからダウンロードしてください。

### 保管および安定性

Auto2D<sup>\*</sup>装置は屋内でのみ使用、保管してください。保管 に関する要件については、各コンポーネントの製品ラベ ルをご覧ください。

# ▲ 注意事項

### 本製品は研究用です。

本製品使用前にはSafety Sheet (同梱) と <u>SigmaAldrich.com</u>のユーザーガイド完全

版をお読みください。

### Auto2D<sup>®</sup>のワークフロー

全プロセス: 100~155分(レシピによる)

試料の調製と不純物の除去



試薬のアプライ

Ť

検出







### 試薬

- 試薬キットの調製を、キット同梱の文書または完 全版のユーザーガイド(オンライン)に従って行い ます。
- 低温で保管されている下記の製品を室温になじま せます(20~25°C、約10分間)。
  - IEF Chip
  - PAGE Chip
  - Rehydration Solution
  - DTT Solution
  - アンフォライト
- IEF Chipの膨潤およびタンパク質試料の抽出/希 釈のためのワーキングRehydration solutionを 調製します。

試薬	体積	最終濃度
Rehydration Solution	189 μL	
DTT Solution (1M)	10 µL	50 mM
アンフォライト両 性電解質*	1~2 μL	0.5~1% v/v
合計	200 µL	

#### \* アンフォライトはIEF ChipのpH範囲に合わせ て選んでください。40%原液のアンフォライトに

- て選んでください。40%原液のアンフォライトは 1µLを加えてください。100倍濃度のアンフォライ トは2µLを加えてください。
- SDS-PAGE前のタンパク質の平衡化用にワーキン グEquilibration Bufferを調製してください。

試薬	体積	最終濃度
Equilibration Buffer Premix	760 μL	
DTT Solution (1M)	40 µL	50 mM
合計	800 μL	

### 試料の調製

タンパク質試料を、ステップ3に従って調製したワーキン グRehydration solutionに溶解させます。液体の試料は ワーキングRehydration solutionで2倍以上に希釈して、 目的のタンパク質濃度にし、塩濃度を出来るだけ減少さ せるようにしてください。

塩濃度が高いと等電点電気泳動中に電流が100μAを 超え、タンパク質分離に影響することがあります。高塩 濃度の試料は次の内何れかの方法で脱塩を実施してく ださい。

TCA/アセトン沈殿処理からのワーキング Rehydration solutionによる再懸濁

または

スピンカラムを用いたワーキング Rehydration solutionへの交換

注:タンパク質の再懸濁中、タンパク質を37 ℃以上に加熱しないでください。

試料中のタンパク質を定量してください。Auto2Dには0.1 ~25μgのタンパク質を導入できます。タンパク質の適量 は検出方法と試料の複雑さによって異なります。次のタン パク質量をまず試してから、個々の試料に応じた最適な 導入量を決定してください。

- CBB染色液による検出: 25 μg
- 蛍光染色液による検出: 10 µg
- 銀染色:5μg
- 蛍光pre-labeling: 3 µg

デバイスにアプライ出来る試料の体積は10~12 μLです。 試料は必要に応じてワーキングRehydration solutionで 希釈してください。

### Auto2D°装置の電源を入れる

各国の電源コンセントに適切な電源コード(同梱)を選

択します。コードの片端をAuto2D<sup>®</sup>装置のインレットにしっ

かりと差し込み、プラグをコンセントに差し込みます。

電源スイッチはAuto2D<sup>®</sup>装置背面のACプラグポートの隣 にあります。スイッチを上に押し上げて電源を入れます。

アプリケーションは自動的に起動します。画面から Auto2D°モード(オリジナル)を選択します。

#### レシピの読み込み

SETTING  $\rightarrow$  RECIPE を選択します。Recipe Information (レシピ情報) 画面をタッチします。Recipe Selectionダ イアログボックスが表示されます。

Recipe Selection Dialog	×
[ 1/1] < <prev next="">&gt;</prev>	CANCEL
1 : DEFAULT	
2 : RECEIPE 1	
3 : RECEIPE 2	

"RECIPE NAME" → LOAD → OK → EXIT を選択します。

**注:**使いたいレシピ名が画面右上に表示されていること を確認します。

# チップの準備

#### **PAGE Chip**



- 1. チップの陽極側にある白いテープをはがします。
- チップの陰極側にあるプラスチックのカバーを慎 重に取り外します。
- 陽極と陰極のバッファー溝を蒸留水で優しくすすぎ ます。紙ワイパーを用いてチップ外側の液体を拭き 去ります。この際チップの陰極側に露出している細 長いゲルに傷をつけないように気をつけます。

### チップをトレイにセットする



Auto2D<sup>\*</sup>装置のタッチスクリーンで OPEN → OK を選択します。トレイが開いたら、PAGE Chip (水色の ライン)を陽極側を手前にして置きます。Solution Chip (濃青色のライン)をPAGE Chipの上に、角の取れた 側を手前にして置きます。

#### 溶液の注入



- 1. Cathode Buffer、4500 μL
- 2. Anode Buffer、4000 μL
- 3. 蒸留水、4000 μL
- 4. ワーキングEquilibration Buffer
- a. 700 μL b. 700 μL(オプション) c. 700 μL(オプション)
- 5. ワーキングRehydration solution、100 μL
- 6. 試料、10~12 μL
- 7. 分子量マーカー\* 0.5~0.7 µL

\*SDSまたはブロモフェノールブルーを含 有するものは使えません

### Electrode Chipをセットする



- 1. Electrode ChipのIEF電極部分とSolution Chipの IEF溝を合わせる
- ▼が手前になるように、組み上がったPAGE Chip とSolution Chipの上にElectrode Chipをセット します。

**IEF** Chip



IEF Chipの保護フィルムを取り除きます。



Electrode ChipのスロットにIEF Chipを挿入します。

「電気泳動の開始」前に次を確認します。

- Electrode Chipの陰極、陽極チェンバー以外の部分 は濡れていない。
- PAGE Chipの陰極側にある透明なカバーは取り外 してある。
- 必要な溶液が全てアプライされている。

### 電気泳動の開始

 $CLOSE \rightarrow OK \rightarrow START \rightarrow OK を選択します。$ 電気泳動が始まります。

# 電気泳動の後

### ゲルの取り出し

 $OK \rightarrow OPEN \rightarrow OK$ を選択します。

- Solution ChipとIEF Chipを外し、残っている溶 液も含め、廃棄します。「廃棄」セクションをご覧く ださい。
- 2. PAGE Chipを取り外し、蒸留水で洗浄します。



- 3. スパチュラでPAGE Chipを開けます。
- ゲルの角のひとつに小さい切り込みを入れてゲル の向きに印をつけます。こうすることで塩基性側と 酸性側、高分子量側と低分子量側を見分けやすく なります(下図参照)。



### クリーンアップ

使用後、Electrode Chipを蒸留水で直ちに洗浄し、自然 乾燥します。

### 電源オフ

MENU  $\rightarrow$  EXIT APPLICATION  $\rightarrow$  OK  $\rightarrow$  SYSTEM/ OS SHUT DOWN  $\rightarrow$  OK を選択します。

装置背面のスイッチをオフにします。

注:装置内部に結露が見える場合は、電源をオフにする 前にトレイをしばらく開放しておき、内部を乾燥させてく ださい。

# 廃棄

試料に触れた消耗品のコンポーネントは、生物廃棄物と して廃棄してください。その他の資材は、該当する国際、 国、地方自治体の規制に従って廃棄してください。コン ポーネントの有害性については安全データシートをご覧 ください。

### 注意事項

お客様に提供される技術情報および法規情報の内容に つきましては可能な限り最善を尽くしておりますが、何ら の義務または責任を負うものではありません。お客様は 法律と規制を遵守してください。これは第三者の権利に 関しても同様です。当社提供の情報と助言は、当社製品 の想定使用目的に対する適切性をお客様自身が確認す る責任を解くものではありません。

本文書の情報は、予告なしに変更されることがあり、製造 または販売会社、またはその関連会社による言質として 解釈されるべきものではありません。弊社は、本書内にい かなる誤りがあってもこれに責任を負いません。

# お問い合わせ先

お近くのオフィスの所在地は次でご覧下さい SigmaAldrich.com/offices。

# 技術サポート

弊社ウェブサイトの技術サービスのページはこちらです SigmaAldrich.com/techservice。

### 標準保証

本文書記載の製品に適用される保証については、 SigmaAldrich.com/termsをご覧ください。

### 中文 (Chinese)

### 预期用途

Auto2D<sup>®</sup>电泳设备使2D电泳过程完全自动化,基于等电点 和分子量来分离蛋白质。它只需两个小时即可完成蛋 白质的完全分离。

### 目录

- Auto2D<sup>®</sup> 电泳设备
- 电源线:
  - 适用于日本和北美的电源线
  - 适用于日本和北美的3P-2P转换插头
  - 适用于欧洲的电源线
  - 适用于中国的电源线
  - 适用于英国的电源线

### 还需要(未包含)

有关产品货号,请参见第51页的"产品订购"部分。

- Auto2D<sup>®</sup>电极芯片
- Auto2D<sup>®</sup> PAGE芯片
- Auto2D° IEF芯片
- Auto2D<sup>®</sup>溶液芯片
- Auto2D°三-甘氨酸 (Tris-Glycine) 或三-三羟甲基 甘氨酸 (Tris-Tricine) 试剂盒
- 两性电解质(根据IEF芯片的pH范围选择合适的两 性电解质)
- 蒸馏水

# 网上用户指南

「ユーザーズガイド」の完全版包括的な詳細説明とレシ ピ。可以从<u>SigmaAldrich.com</u>的Auto2D<sup>®</sup>设备产品页 面下载。

# 储存和稳定性

Auto2D<sup>°</sup>设备应仅在室内使用/存放。有关存放要求, 请参见每个部件的产品标签。

# ▲ 注意事项

### 仅供研究使用。

在使用本产品之前,请仔细阅读《安全表》(随附)以及 <u>SigmaAldrich.com</u>上的完整版《用户指南》。

# Auto2D<sup>®</sup>工作流程

整个过程:100-155分钟(取决于配方)



# 制备

### 试剂

- 按照试剂盒随附的文件或完整版《用户指南》 (网上)中的说明制备和存放试剂盒。
- 2. 让以下低温储存的产品平衡至室温 (20-25℃约10分钟)。
  - IEF芯片
  - PAGE芯片
  - 复水溶液
  - DTT溶液
  - 两性电解质
- 制备用于IEF芯片复水以及蛋白质样品提取/
   稀释的工作复水溶液:

试剂	体积	<b>最终</b> 浓度
复水溶液	189 µL	
DTT溶液 (1M)	10 µL	50 mM
两性电解质*	1–2 μL	0.5–1% v/v
总计	200 uL	

根据所使用的IEF芯片的范围选择两性电解质。 对于原液浓度为40% w/v的两性电解质,添加 1 μL。对于100X的两性电解质,添加2 μL。

4. 在SDS-PAGE之前,制备工作平衡缓冲液以平衡 聚焦蛋白质。

试剂	体积	<b>最终</b> 浓度
 平衡缓冲液预 混液	760 μL	
DTT溶液 (1M)	40 µL	50 mM
总计	800 μL	

### 制备样品

将蛋白质样品溶解于按照步骤3制备的工作复水溶液中。 可以用工作复水溶液将样品稀释2倍或更多倍,以达到想 要的蛋白质浓度,并降低盐浓度。

盐浓度过高会影响等电聚焦过程中的蛋白质分离,并造 成电流超过100μA。高盐浓度的样品应通过以下方法 之一脱盐:

TCA/丙酮沉淀,然后将蛋白质在工作复水溶液 中重悬

- 或者
- 使用旋转柱进行缓冲液交换

说明:在蛋白质重悬过程中,避免将蛋白质加热到37℃ 以上。

量化蛋白质。可以加载0.1-25 µg的蛋白质进行2D电泳。 最佳蛋白质量取决于检测方法和样品复杂性。应将以 下蛋白质量作为起点,用户可能需要优化其特定样品的 上样量。

- 考马斯亮蓝染色:25 µg
- 荧光染色:10 µg
- 银染:5µg
- 荧光预标记:3μg

应用于设备的样品量为10-12 μL。必要时,可用工作复水溶液稀释样品。

### 接通Auto2D<sup>®</sup>设备的电源

选择与您所在国家/地区的电源插座兼容的适当电源线 (设备随附)。将匹配的一端牢固地插入Auto2D<sup>\*</sup>设备的 背面,将另一端牢固地插入电源插座。

电源开关位于Auto2D<sup>®</sup>设备背面的交流插口旁边。 向上按开关打开电源。

应用程序将自动启动。在屏幕上,选择Auto2D<sup>®</sup>型 (原始型)。

### 加载配方

选择"SETTING(设置)>RECIPE(配方)"。 按"配方信息"屏幕。这时将出现配方选择对话框。



选择"RECIPE NAME (配方名称) > LOAD (加载) > OK (确定) > EXIT (退出)。

说明:确认所需的配方名称显示在屏幕的右上方。

### 芯片组装

#### PAGE芯片



- 1. 撕下芯片阳极侧的白色胶带。
- 2. 小心地取下芯片阴极侧的塑料盖。
- 用蒸馏水轻轻冲洗阳极和阴极缓冲液孔。使用纸 巾小心擦掉芯片顶部的所有液体,确保不要损坏 芯片阴极侧的薄凝胶条。

### 将芯片插入托盘



在Auto2D<sup>°</sup>设备触摸屏上,选择"OPEN(打开)>OK (确定)"。托盘打开后,放入PAGE芯片(图中以浅蓝色 线条表示),让阳极侧朝前。将溶液芯片(图中以深蓝色 线条表示)放在PAGE芯片的顶部,切角朝前。

#### 涂抹溶液



- 1. 阴极缓冲液,4500 μL
- 2. 阳极缓冲液,4000 μL
- 3. 蒸馏水,4000 µL
- 4. 工作复水溶液
  - a. 700 μL
  - b. 700 μL (可选)
  - c. 700 μL (可选)
- 5. 工作复水溶液,100 μL
- 6. 样品溶液,10-12 μL
- 7. 分子量标记<sup>\*</sup> 0.5–0.7 μL
  - \*不能含有SDS或溴苯酚蓝

### 放置电极芯片



- 1. 电极芯片的IEF电极部分以及溶液芯片的IEF芯 片凹槽。
- 将电极芯片放在组装好的凝胶和溶液芯片上, 使▼标记朝前。

### IEF芯片



撕掉IEF芯片的保护膜。



将IEF芯片插入电极芯片上的插槽中。

在开始电泳步骤之前,请检查并确认以下内容:

- 除了阳极腔和阴极腔外,电极芯片不是湿的。
- 已经取掉PAGE芯片阴极侧的透明盖。
- 已在需要的地方添加了溶液。

# 开始电泳

选择"CLOSE (关闭) > OK (确定) > START (开始) > OK (确定) "。

电泳将开始。

### 电泳之后

### 去除凝胶

选择"OK(确定) > OPEN(打开) > OK(确定)"。

- 1. 取出并丢弃IEF芯片以及溶液芯片中的剩余溶液。 请参见"弃置"部分。
- 2. 取出PAGE芯片,并用蒸馏水冲洗。



- 3. 用刮刀打开匣子。
- 在凝胶其中一个角上切一个小切口,以标记凝胶 的方向。这将有助于您在凝胶中找到碱性和酸性 侧以及高-低分子量侧(见下图)。



**清理** 使用后,立即用蒸馏水清洁电极芯片并晾干。 关闭电源

选择"菜单 > 退出应用 > 确定 > 关闭系统/操作系统 > 确定"。

关闭Auto2D设备背面的开关。

<u>说明</u>:如果在设备内部观察到冷凝水,请在关闭电源 之前,先将托盘打开一段时间,以使内部干燥。

# 弃置

接触过样品的部件应作为生物废物加以处置。其他材料应根据适用的国际、联邦、州和地方法规进行处置。 有关危害信息,请参阅部件的《安全数据表》。

# 声明

我们尽我们的所知与所能,向客户提供关于应用技术与 法规问题的信息和建议,但恕不承担任何责任和义务。 我们的客户在任何情况下都须遵守现行法律和法规。 这也同样适用于任何第三方权利。我们的信息和咨询意 见并不能减少我们客户对于检查我们的产品是否符合 他们自己需求的责任。

本文件中的信息可能会有所变更,恕不另行通知。不得 将这些信息诠释为生产或销售实体或者其附属机构的 承诺。对于本文件中可能出现的任何错误,我们不承担 任何责任。

# 联系信息

如想查找离您最近的办公地点,请浏览 SigmaAldrich.com/offices。

# 技术支持

请浏览我们网站上的技术服务页 SigmaAldrich.com/techservice。

### 保修

可在<u>SigmaAldrich.com/terms</u>上找到本出版物所列产 品的现行保修条款。



한국어 (Korean)

### 사용 용도

Auto2D° 전기영동 기기는 2D 전기영동 과정을 완전히 자동화하여, 일차로 등전점 그리고 이차로 분자량으로 단백질을 분리합니다. 완전한 단백질 분리는 2시간 정도 소요됩니다.

### 내용물

- Auto2D<sup>®</sup> 전기영동 기기
- 전기 전원 케이블:
  - 일본 및 북미용 전원 케이블
  - 일본 및 북미용 3P-2P 전환 플러그
  - 유럽용 전원 케이블
  - 중국용 전원 케이블
  - 영국용 전원 케이블

### 필요품(미포함)

카탈로그 번호는 51페이지의 제품 주문을 참조하십시오.

- Auto2D° 전극 칩
- Auto2D° PAGE 칩
- Auto2D° IEF 칩
- Auto2D°용액 칩
- Auto2D° Tris-Glycine 또는 Tris-Tricine 시약 키트
- 양성전해질(IEF 칩 pH 범위를 근거로 적절한 양성전해질 선택)
- 증류수

### 사용자 지침서 온라인

전체 사용자 설명서에는 자세한 지침과 레시피가 포함되어 있습니다. 이는 SigmaAldrich.com에서 Auto2D° 기기 제품 페이지에서 다운로드할 수 있습니다.

# 저장 및 안정성

Auto2D° 기기는 실내에서만 사용/저장되어야 합니다. 저장 요건은 각 구성품의 제품 라벨을 보십시오.

# ▲ 주의사항

### 연구용으로만 사용.

본 제품 사용 이전에 안전성 자료(포함) 및 SigmaAldrich.com에서 완전한 사용자 지침서를 열람하십시오.

### Auto2D<sup>®</sup> 작업공정

총 과정: 100-155분(제조법에 따름)





검출

### 준비

#### 시약

- 1. 해당 키트와 함께 제공된 문헌 또는 완전한 사용자 지침서(온라인)에 지시된 대로 시약 키트를 준비 및 저장합니다.
- 2. 저온에 저장된 다음 제품이 실온에서 평형이 되도록 허용하십시오.
  - IEF 칩
  - PAGE 칩
  - 재수화 용액
  - DTT 용액
  - 양성전해질
- 3. IEF 칩 그리고 단백질 시료의 추출/희석을 위해 작업용 재수화 용액을 준비합니다.

시약	용적	최종 농도	
재수화 용액	189 µL		
DTT 용액(1M)	10 µL	50 mM	
양성전해질*	1–2 μL	0.5–1% v/v	
총	200 µL		
* 나이티나트트 컨이 바이에 편기 아너지케지 너희			

\* 사용될 IEF 칩의 범위에 따라 양성전해질 선택. 40% w/v 저장 농도의 양성전해질은, 1 uL 추가. 100X의 양성전해질은. 2 uL 추가.

4. SDS-PAGE 이전에 집중화된 단백질의 평형을 위한 작업 평형 완충액 준비합니다.

시약	용적	최종 농도	
평형 완충액 프리믹스	760 μL		
DTT 용액(1M)	40 µL	50 mM	
총	800 μL		

### 시료 준비

단계 3에 따라서, 작업용 재수화 용액에 단백질 시료를 용해하십시오. 작업용 재수화 용액으로 시료를 2배 이상 희석하여 원하는 단백질 농도를 얻어 염 농도를 감소할 수 있습니다.

높은 염 농도는 등전 집중화 중에 단백질 분리에 영향을 주어 전류가 100 μA를 초과하도록 유발할 수 있습니다. 고농도 염을 가진 시료는 다음 중 하나로 탈염되어야 합니다.

작업용 재수화 용액에서 단백질의 TCA/ 아세톤 침전 및 재부유

또는

스핀 컬럼을 이용한 완충액 교환

참고사항: 단백질 재부유 중, 37 ℃를 초과하여 단백질을 가열하지 말 것.

단백질 정량. 0.1-25 μg 사이의 단백질을 2D 전기영동을 위해 적재할 수 있습니다. 단백질의 최적 용량은 검출법 및 시료 복잡성에 달려 있습니다. 다음 단백질 용량은 시작점일 뿐이며, 사용자는 특정 시료에 대한 적재량을 최적화해야 합니다.

- Coomassie Brilliant Blue 염색: 25 µg
- 형광 염색: 10 μg
- 실버 염색: 5 μg
- 형광 사전표지법: 3 μg

기기에 적용되는 시료 용적은 10-12 µL입니다. 시료는 필요에 따라서 작업 재수화 용액으로 희석될 수 있습니다.

#### Auto2D° 기기 전원 공급

귀하 국가의 전원 콘센트와 호환되는 적절한 전원 코드(해당 기기와 함께 제공됨)를 선택하십시오. Auto2D°기기 후면에 상응하는 끝을 단단히 밀어 넣고 다른 끝부분을 전원 콘센트 끼우십시오.

전원 스위치는 Auto2D° 기기의 후면 AC 플러그 포트 옆에 위치합니다. 스위치를 눌러 전원을 켜십시오.

애플리케이션이 자동으로 시작됩니다. 스크린에서. Auto2D°모드(오리지널)를 선택하십시오.

47

시약의 추가	
¥	
시료 적재 및 젤 재수화	30· 5분
¥	
이 + ! 이 .	)

### 제조법 불러오기

SETTING > RECIPE를 선택합니다. 제조법 정보 스크린을 터치하십시오. 제조법 선택 대화 상자가 나타납니다.

Recipe Selection Dialog	T manual 1	-	-
[ 1/1]	< <prev< td=""><td>Next&gt;&gt;</td><td>CANCEL</td></prev<>	Next>>	CANCEL
1 : DEFAULT			
2 : RECEIPE 1			
3 : RECEIPE 2			

"RECIPE NAME" > LOAD > OK > EXIT를 선택하십시오.

**참**고사항: 원하는 제조법 이름이 스크린의 상단 우측에 표시되는지 확인합니다.

# 칩 어셈블리

#### PAGE 칩



- 해당 칩의 양극 면에 있는 백색 테이프를 제거하십시오.
- 해당 칩의 음극면에 있는 플라스틱 커버를 조심스럽게 제거합니다.
- 양극 및 음극 완충액 웰을 증류수로 부드럽게 세정합니다. 종이 세척 티슈를 이용하여, 칩의 음극면에 위치한 젤의 얇은 스트립을 손상하지 않고 칩의 상단에서 액체를 조심스럽게 닦습니다.

### 칩을 트레이에 삽입



Auto2D<sup>\*</sup> 기기 터치스크린에서, OPEN > OK를 선택합니다. 트레이가 열린 후, PAGE 칩(연청색 선) 을 양극 면이 전면에 가도록 배치합니다. 용액 칩 (진한 청색 선)을 절단된 모서리가 전면으로 가도록 PAGE 칩 상단에 놓습니다.

# 용액 적용



- 1. 음극 완충액, 4500 μL
- 2. 양극 완충액, 4000 μL
- 3. 증류수, 4000 μL
- 4. 작업용 평형 완충액
- a. 700 μL
- b. 700 μL(선택사항) c. 700 μL(선택사항)
- 5. 작업용 재수화 용액, 100 μL
- 6. 시료 용액, 10-12 μL
- 7. 분자량 표지자\* 0.5–0.7 μL
- \* SDS 또는 Bromophenol Blue를 포함 못 함

### 전극 칩 배치



- 1. 전극 침의 IEF 전극 부분 그리고 용액 칩의 IEF 칩 홈
- ▼ 표식이 전면에 오도록 전극 칩을 조립된 젤과 용액 칩에 고정합니다.

### IEF 칩



IEF 칩 보호 필름을 제거합니다.



전극 칩 슬롯에 IEF 칩을 삽입하십시오.

전기영동 단계를 시작하기 이전에, 다음 확인하십시오.

- 양극 및 음극 챔버를 제외하고 전극 칩은 젖지 않습니다.
- PAGE 칩 음극면의 투명한 커버가 제거되었습니다.
- 용액을 필요한 곳에 추가했습니다.

# 전기영동법 시작

CLOSE > OK > START > OK를 선택하십시오. 전기영동이 시작됩니다.

# 전기영동법 이후

### 젤 제거

OK > OPEN > OK를 선택합니다.

- IEF 칩 그리고 용액 칩의 남아 있는 용액을 제거하여 폐기하십시오. 폐기 섹션을 참고합니다.
- 2. PAGE 칩을 제거하고 증류수로 세정하십시오.



- 3. 주걱으로 카세트를 개방합니다.
- 한 곳의 모서리를 소량 절단하여 젤의 방향을 표시합니다. 이렇게 하면 젤에서 알칼리와 산성 쪽 그리고 높고 낮은 분자량의 위치 파악을 돕습니다(아래 참조).



### 세척

사용 후 즉시 증류수로 전극 칩을 세척하고 공기로 건조하십시오.

### 전원 끄기

MENU > EXIT APPLICATION > OK > SYSTEM/OS SHUT DOWN > OK를 선택합니다.

Auto2D 기기 후면의 스위치를 끄십시오.

**참**고사항: 기기 내부에서 결로현상을 관찰하는 경우, 전원을 끄기 이전에 한 동안 트레이를 개방하여 내부가 건조하도록 합니다.

# 폐기

시료에 노출된 구성품은 생물학적 폐기물과 함께 폐기합니다. 다른 재료는 적용되는 모든 국제적, 연방, 주 및 지역 규정에 따라서 폐기하십시오. 위해성 정보를 위해 해당 구성품의 안전보건자료를 참조합니다.

# 공지사항

자사는 최선의 지식과 능력에 따라서 애플리케이션 기술과 규제 사안에 관한 정보 및 권고사항을 자사의 고객에게 제공하지만, 의무 또는 책무를 보장하지 않습니다. 자사의 고객은 모든 경우에 기존의 법규를 지켜야 합니다. 이는 제삼자의 모든 권리에 대해서도 또한 적용됩니다. 자사의 정보 및 권고사항은 예상된 목적을 위해 자사 제품의 적합성을 확인해야 하는 자사 고객 자신의 책임을 면제하지는 않습니다.

본 문서에 실린 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있으며, 제조사 또는 판매사, 또는 자회사에서 본 정보를 보장하는 것으로 해석될 수 없습니다. 자사는 본 문서에 나타날 수 있는 일체의 오류에 대해 책임지지 않습니다.

### 연락 정보

귀하 부근의 사무실 위치를 위해, SigmaAldrich.com/offices를 방문하십시오.

### 기술적 지원

<u>SigmaAldrich.com/techservice</u>에서 기술 서비스를 방문하십시오.

### 기본 보증

본 출판물에 수록된 해당 제품에 적용되는 보증 내용은 SigmaAldrich.com/terms에 실려 있습니다.

# **Product Ordering**

Purchase online at SigmaAldrich.com/products.

Description	Qty	Catalogue Number	Description	Qty	Catalogue Number
Auto2D <sup>®</sup> Device	1	BM-100	Solution Chip		
Reagent Kits			Solution Chip (Original)	10	BM-1S
Tris-Glycine Reagent Kit	1	BM-1RYSJ1	IEF Chip pH Range		
Tris-Tricine Reagent Kit	1	BM-1RYTJ1	3-10	10	BM-113010
PAGE Chip Gel Concentration	(T%)		3-10 (non-linear)	10	BM-113010NL
6.5%	10	BM-12065	4-7	10	BM-114070
7.5%	10	BM-12075	4-5.5	10	BM-114055
10.0%	10	BM-12100	5-6.5	10	BM-115065
12.5%	10	BM-12125	6-10	10	BM-116010
			7-10	10	BM-117010

### Electrode Chip

Electrode Chip 1 (Original)	BM-1E
--------------------------------	-------

Merck, Millipore, Auto2D and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. © 2021 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

