

Sistema de eletroforese vertical

Vert-i10

Manual de Instruções



 loccus

INDICE

1	INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA	5
2	INTRODUÇÃO	6
	2.1 Aviso	6
3	APRESENTAÇÃO	7
	3.1 Composição do sistema	7
	3.2 tabela de especificações	8
4	OPERAÇÃO	9
	4.1 Montagem da unidade.....	9
	4.2 Aplicação do gel.....	13
	4.3 Colocar o módulo de corrida no tanque	15
	4.4 Correr o gel	16
	4.5 Retirar o gel.....	17
	4.6 Processamento e visualização dos resultados	18
5	CUIDADOS E MANUTENÇÃO	19
6	SOLUÇÃO DE PROBLEMAS.....	20



1 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA

- **O Sistema de Eletroforese Vertical Eletroforese Vertical Vert-i10 é um equipamento destinado exclusivamente às práticas de laboratório. Seu uso indevido ou estranho à finalidade é de total responsabilidade do usuário.**
- Este manual contém informações importantes sobre operação e segurança. Para melhor proveito dos recursos deste equipamento, leia atentamente seu conteúdo antes de utilizá-lo.
- Para evitar o risco de choques, sempre desconecte a cuba da fonte de energia. Além disso, certifique-se de que a fonte é equipada com um circuito de desligamento ao desconectar.
- As condições de uso para esta unidade não devem exceder as informações descritas na tabela de especificações (ver página 08 deste manual).
- O sistema possui acessórios frágeis. Evite quedas de locais altos e colisões durante o manuseio.
- Não mova a unidade a não ser que a fonte de energia esteja desconectada.
- Não use este produto se os cabos de conexão estiverem danificados ou se alguma superfície estiver com fissuras.

Este sistema foi projetado de acordo com padrões internacionais de segurança de eletricidade para instrumentos de laboratório (IEC 1010-1 e 1020-1).

2 INTRODUÇÃO

A **Loccus** agradece a sua escolha pelo Sistema de **Eletroforese Vertical Eletroforese Vertical Vert-i10**.

Este manual descreve os passos de operação para uso correto e funcional do nosso equipamento. Entretanto, caso necessite alguma informação extra, consulte o suporte técnico.

O Sistema de **Eletroforese Vertical Eletroforese Vertical Vert-i10** é um equipamento composto de tanque, módulo de corrida e base para fixação de casting.

O sistema permite ensaios com até 2 géis simultâneos e é indicado para eletroforese vertical, incluindo SDS-PAGE, IEF, e a segunda etapa de eletroforese 2D.

A base de fixação de casting (represamento) do sistema é de fácil montagem e à prova de vazamentos.

Os eletrodos são fabricados em platina pura (o quociente de pureza desse metal nobre é superior a 99,95%), com características de resistência à corrosão e às altas temperaturas de eletroanálises.

2.1 Aviso

No ato do recebimento, desembale o equipamento e verifique a presença de algum tipo de avaria. Se for constatado qualquer problema, comunique imediatamente ao seu representante local.

Verifique o conteúdo da embalagem:

- 1 tanque;
- 1 módulo de corrida;
- 1 base para casting;
- 1 tampa com cabos de conexão;
- 3 placas de vidro lisas com espaçador de 0,75mm, 1,0mm ou 1,5mm;
- 3 placas de vidro entalhadas;
- 2 pentes de 10 amostras com espessura de 0,75mm, 1,0mm ou 1,5mm;
- 2 pentes de 15 amostras com espessura de 0,75mm, 1,0mm ou 1,5mm;
- 1 placa de bloqueio;
- 1 bloco de gelo reutilizável;
- 1 espátula para gel;

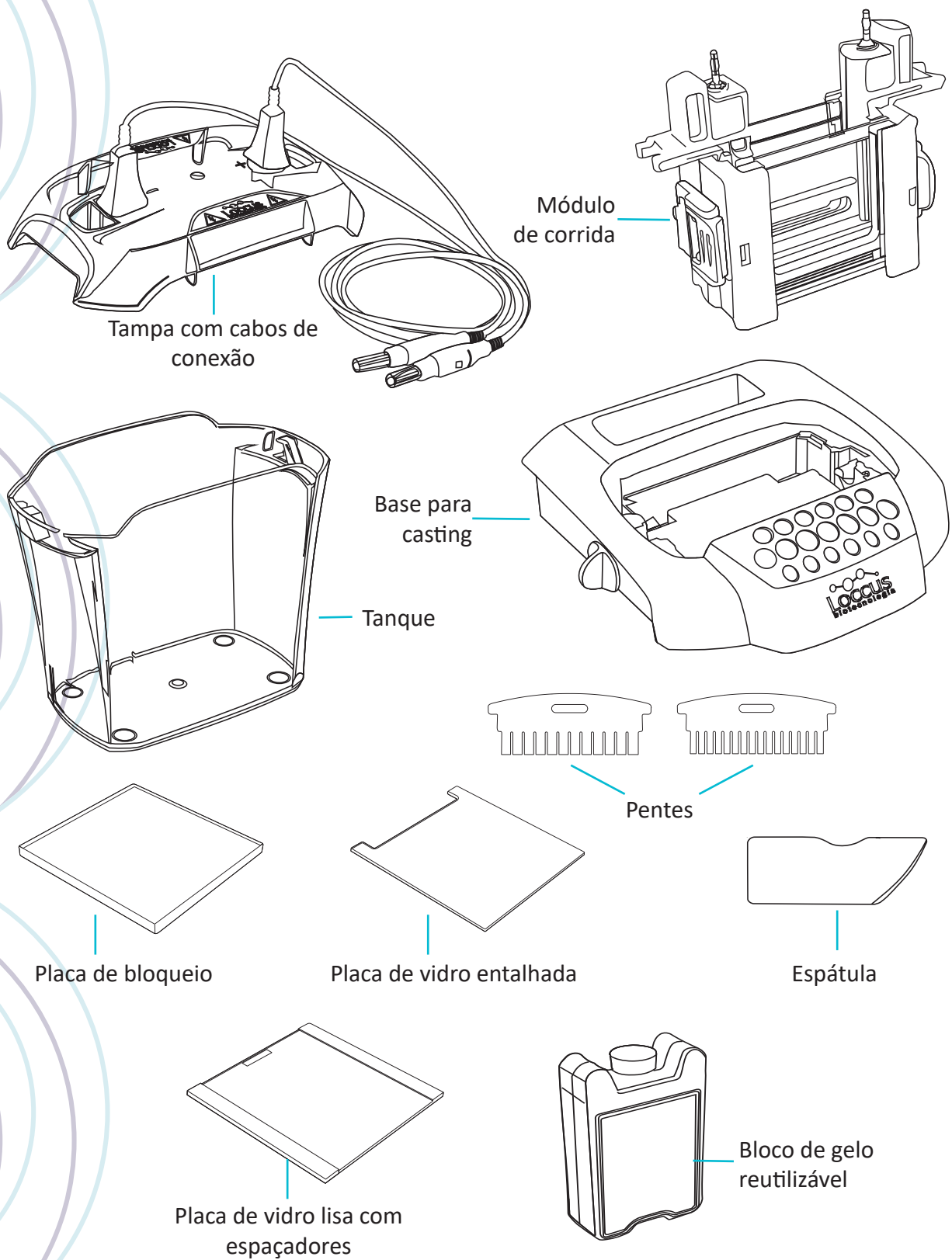
Itens opcionais (vendidos separadamente):

- Módulo de transferência West-i10 - para Western blotting.
- lacas de vidro ou pentes extras:

Número de dentes	Espessura dos dentes (mm)	Largura dos dentes (mm)	Volume de amostra recomendado (µL)
10	0,75	5	37
10	1,0	5	50
10	1,5	5	75
15	0,75	3	22,5
15	1,0	3	30
15	1,5	3	45

3 APRESENTAÇÃO

3.1 Composição do sistema



3.2 tabela de especificações

Modelo		Eletroforese Vertical Vert-i10
Dimensões (C x L x A)		22cm x 21cm x 26cm
Peso total		1,4kg
Quantidade de géis por corrida eletroforética		1 ou 2 géis (handcast) ou 2 géis pré-moldados (precast).
Volume de tampão de corrida	Reservatório superior	160mL
	Reservatório inferior	Mínimo: 460mL Máximo: 1280mL
Limite de tensão / Temperatura		600V, 1A, 150W / 4°C a 55°C
limites de temperatura		4°C a 55°C
Placas de vidro	Dimensões	10cm x 10cm
	Espessura do espaçador	0,75mm / 1,0mm / 1,5mm
	Tamanho do gel (largura x altura)	8cm x 9cm
número máximo de amostras		30
Pentes		10 e 15 dentes

4 OPERAÇÃO

4.1 Montagem da unidade

1. Antes de iniciar o procedimento, separe todos os itens que serão utilizados. Todos os componentes devem estar completamente secos e limpos durante a montagem. Componentes molhados são mais propensos a perda de alinhamento e a causar vazamentos. Para realizar essa etapa serão necessários os itens:

- Placa de vidro lisa;
- Placa de vidro entalhada;
- Base para casting;
- Módulo de corrida.

NOTA: Caso seja necessário resfriamento durante a corrida, coloque o bloco de gelo reutilizável à temperatura de -20°C por pelo menos uma hora antes de iniciar a corrida.

2. Abra a tampa pressionando as partes brancas e puxe-a para cima segurando pelas abas laterais, conforme figura 1.



Figura 1: Abertura da tampa

3. Retire o módulo interno do tanque inclinando-o pelas estruturas superiores, conforme figura 2. Puxe-o para cima (Figura 3). Solte as travas laterais do módulo e afaste as estruturas laterais brancas puxando as travas para a frente, conforme figura 4.



Figura 2: Inclinação do módulo

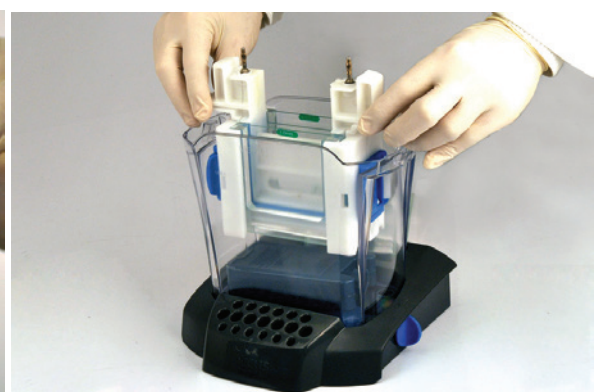


Figura 3: Retirada do módulo

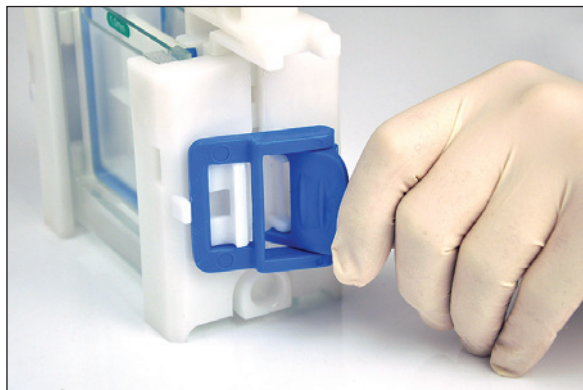


Figura 4: Abertura das travas do módulo.

4. Retire o tanque de sua base (Figura 5).



Figura 5: Retirada do tanque da base.

5. Em uma superfície plana, coloque a placa de vidro lisa em pé e em sua frente coloque a placa de vidro entalhada (figura 6). Os espaçadores da placa de vidro lisa deverão ficar voltados para a placa de vidro entalhada, em contato com a mesma.



Figura 6: Montagem do conjunto de placas de vidro.

6. Cuidadosamente, coloque o conjunto montado no módulo de corrida com as travas soltas (Figuras 7 e 8). A placa de vidro entalhada deverá ficar voltada para o lado interno do módulo.

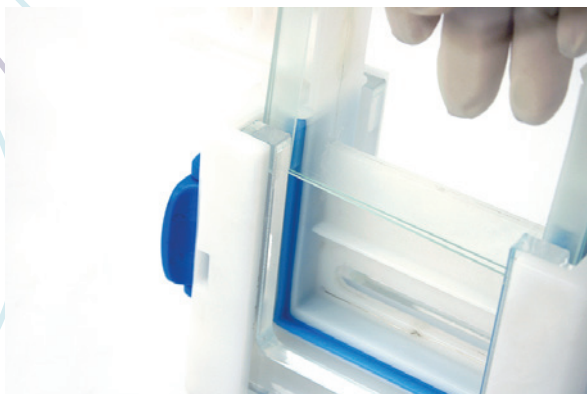


Figura 7: Encaixe das placas de vidro no módulo. Detalhe: travas soltas.

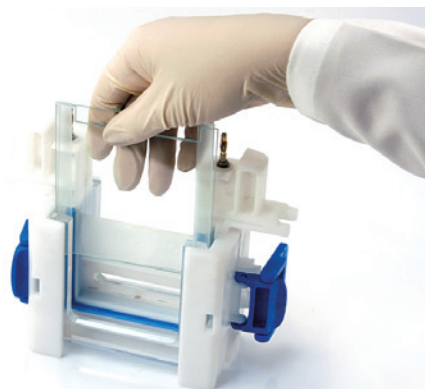
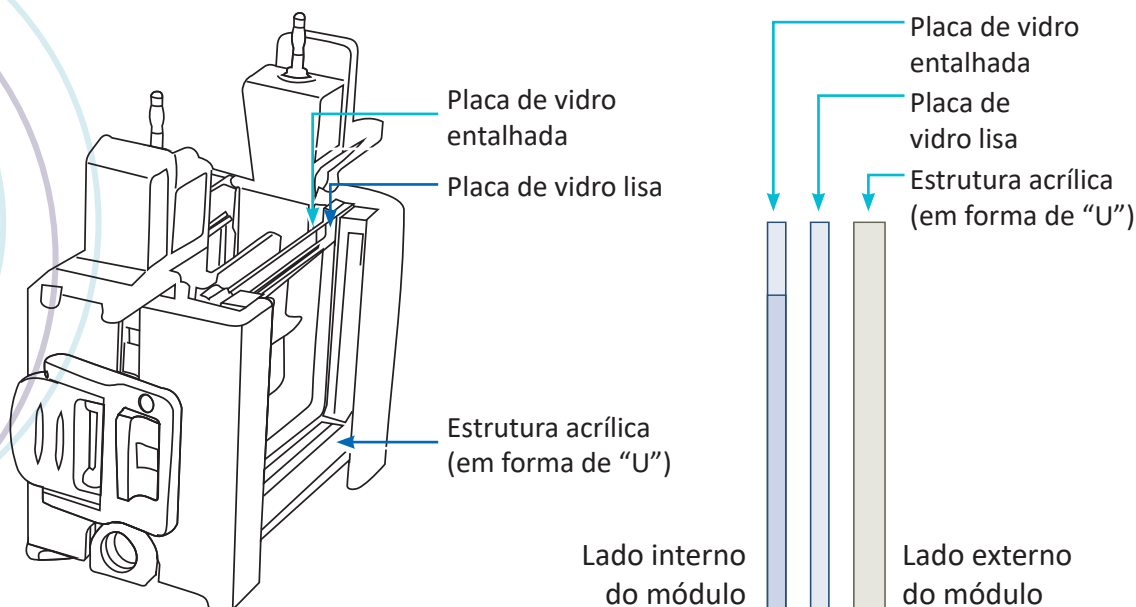


Figura 8: Encaixe das placas de vidro no módulo.

NOTA: A montagem da unidade sempre deverá ser conforme a ilustração abaixo. Se a posição dos vidros estiver invertida, o experimento não será desenvolvido corretamente e será necessário montar o módulo novamente.



7. **Para correr 1 gel:** Introduza a placa de bloqueio no compartimento oposto do módulo. **Para correr 2 géis simultaneamente:** Repita os passos 5 e 6 e introduza outro conjunto de placas no compartimento de lado oposto do módulo.
8. Feche as travas laterais do módulo (Figuras 9 e 10). Ajuste a trava de acordo com a quantidade de géis que estiver utilizando. Verifique o alinhamento das placas de vidro com a superfície plana (Figuras 12 e 13). Esse alinhamento é fundamental para evitar vazamento de gel durante a aplicação ou polimerização. Caso as placas não estejam alinhadas, solte as travas e tente encaixá-las novamente até que o alinhamento esteja perfeito. Feche as travas laterais do módulo novamente.

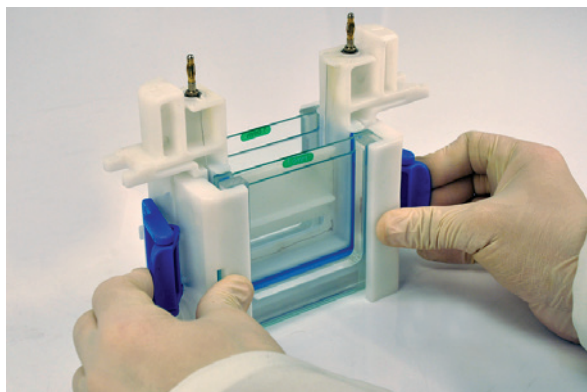


Figura 9: Fechamento das travas do módulo.

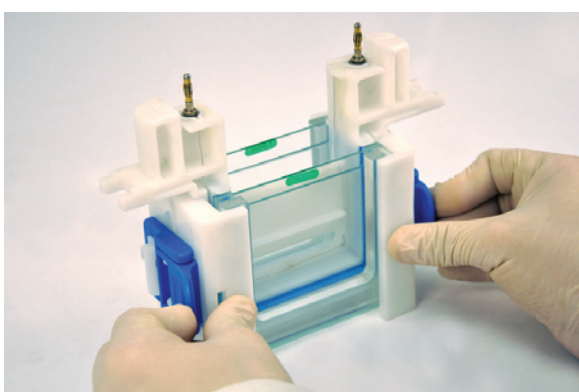


Figura 10: Fechamento das travas do módulo.

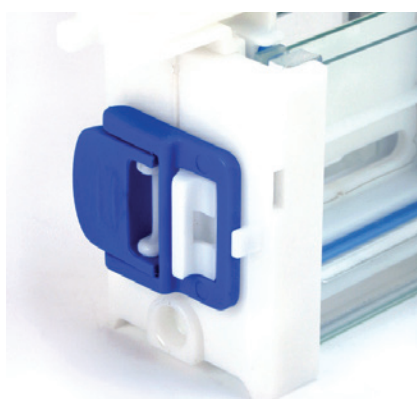


Figura 11: Posição da trava para 1 ou 2 géis.



Figura 12: Posição incorreta, vidros desalinhados.

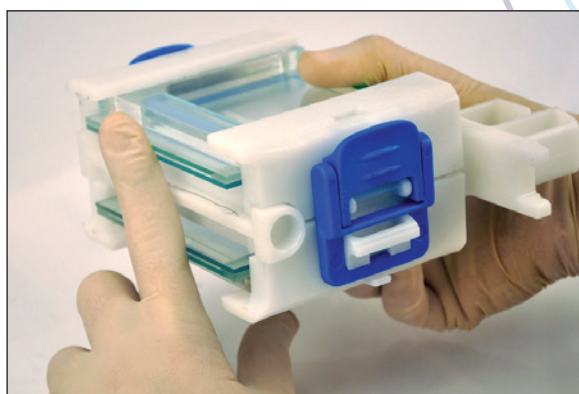


Figura 13: Posição correta, vidros alinhados.

9. Puxe para fora os knobs da base para casting (Figura 14). Coloque o módulo de corrida nessa base (Figura 15).



Figura 14: Abertura dos knobs.

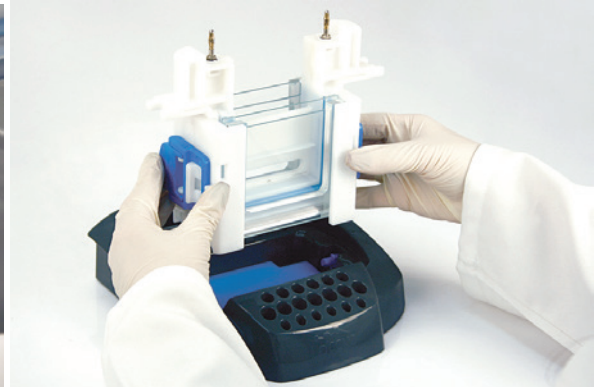


Figura 15: Colocação do módulo de corrida na base

10. Empurre e gire 180° os knobs das laterais da base para promover a fixação do módulo (Figura 19). O sistema será levemente pressionado sobre a borracha.

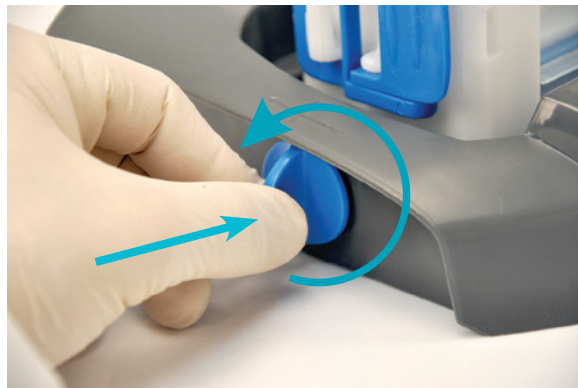


Figura 16: Travamento dos knobs.

NOTA: As travas e os knobs devem estar completamente encaixados antes da aplicação do gel, caso contrário poderá ocorrer vazamento.

4.2 Aplicação do gel

1. Aplique o gel por entre as placas de vidro (Figura 20). A aplicação deverá ser feita de modo contínuo e rápido, de modo a evitar formação de bolhas de ar. Caso necessite fazer gel de empilhamento, coloque o pente entre os vidros e marque com uma caneta permanente 1cm abaixo da posição dos dentes. Retire o pente. Preencha com gel de corrida até o ponto marcado da placa de vidro lisa. Espere o gel de corrida polimerizar. Em seguida, aplique sobre o gel de corrida o gel de empilhamento, até que seja preenchido completamente o espaço restante. Se o gel de empilhamento não for necessário, preencha todo o espaço entre as placas, até o limite da placa entalhada, com o gel de corrida.



Figura 17: Aplicação do gel.

2. Coloque os pentes imediatamente após o término da aplicação do gel, certificando-se de que nenhuma bolha de ar fique presa nas pontas dos dentes do pente, pois isso inibirá a mobilidade da amostra (Figura 21).



Figura 18: Colocação dos pentes.

3. Aguarde a polimerização do gel.

NOTA: A polimerização do gel deve ocorrer em torno de 15 minutos, porém esse tempo pode variar devido aos reagentes utilizados.

4. Retire os pentes cuidadosamente puxando-os para cima (Figura 19).



Figura 19: Retirada dos pentes.

4.3 Colocar o módulo de corrida no tanque

1. Após a polimerização total do gel e retirada dos pentes, o módulo de corrida deverá ser retirado da base para casting e colocado no tanque (Figura 21). Para separar o módulo de corrida da base para casting é necessário puxar e girar os knobs (Figura 20).

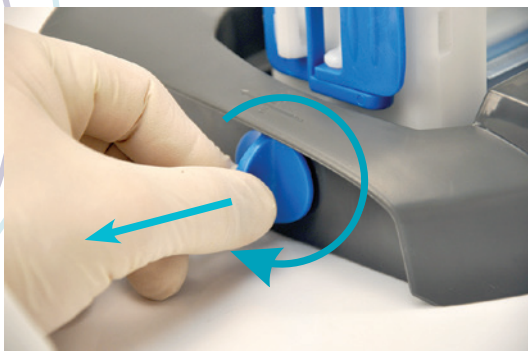


Figura 20: Destravamento dos knobs.



Figura 21: Retirada do módulo de corrida.

2. Caso seja necessário resfriamento durante a corrida, coloque o bloco de gelo reutilizável (congelado a -20°C) na região inferior do tanque (Figura 22). Coloque o módulo de corrida no interior do tanque, de modo que encaixem suas estruturas superiores. O módulo ficará acima do gelo (Figura 23). Coloque o tanque em cima da base.



Figura 22: Colocação do gelo reutilizável no tanque.

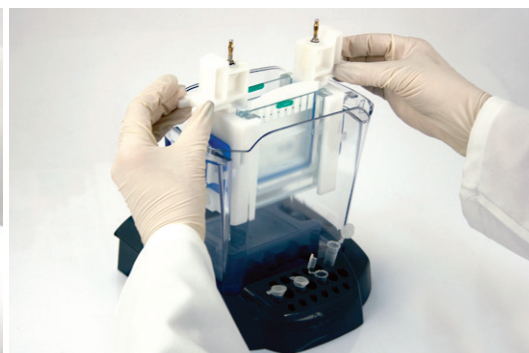


Figura 23: Encaixe do módulo de corrida no tanque.

3. Preencha com tampão de corrida a parte superior (interna) do módulo (Figura 24) até transbordar. Adicione tampão também na parte inferior do tanque. Para corridas de 1 ou 2 géis, preencha com tampão até que estejam submersos os eletrodos inferiores do módulo (marcação mínima no tanque). Para mais géis, preencha até a marcação máxima existente na parede do tanque. Se for ensaio que necessite de resfriamento, preencha com tampão até a marcação máxima do tanque, independentemente do número de géis.



Figura 24: Preenchimento com tampão de corrida.

NOTA: O objetivo de aplicar o tampão de corrida previamente na parte superior do módulo é evitar a formação de bolhas durante a aplicação das amostras.

4. Utilize uma pipeta para aplicar as amostras nos poços (Figura 25). A aplicação deve ser feita de forma lenta e cuidadosa, permitindo que as amostras se acomodem uniformemente no fundo dos poços.



Figura 25: Aplicação das amostras.

4.4 Correr o gel

1. Coloque a tampa sobre o tanque, fechando-a completamente (Figuras 26 e 27). A orientação correta é feita pelos sinalizadores nas cores vermelho (+) e preto (-), evitando assim erros de conexão de cabos (Figuras 28 e 29).



Figura 26: Colocação da tampa.



Figura 27: Colocação da tampa.



Figura 28: Encaixe da polaridade positiva.



Figura 29: Encaixe da polaridade negativa.

NOTA: Não é possível colocar a tampa com as polaridades invertidas. Ao tentar fechá-la dessa forma não haverá encaixe (Figura 30).

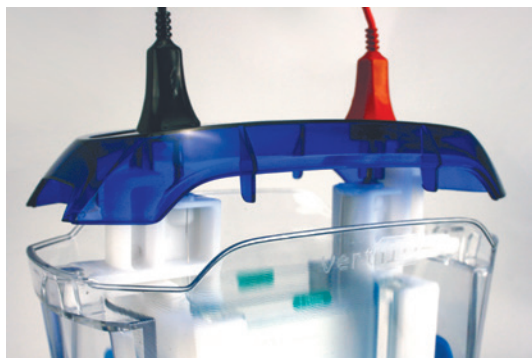


Figura 30: Posição incorreta da tampa.

2. Conecte a **Eletroforese Vertical Vert-i10** a uma fonte de eletroforese. Recomendamos o modelo LPS-300V da **Loccus** (Figura 31).



Figura 31: Conexão dos cabos à fonte.

3. Escolha os parâmetros conforme seu protocolo e inicie a corrida.

4.5 Retirar o gel

1. Após finalizar a corrida, desligue a fonte de eletroforese e desconecte os cabos.
2. Abra a tampa pressionando as partes brancas e puxe-a para cima segurando pelas abas laterais, conforme a figura 32.



Figura 32: Abertura da tampa.

3. Retire o módulo de corrida cuidadosamente do interior do tanque, inclinándolo levemente e levantando-o (Figura 33). Despeje na parte inferior do tanque o tampão que está no módulo (Figura 34).



Figura 33: Retirada do módulo de corrida.



Figura 34: Retirada do tampão do módulo de corrida.

4. Solte as travas laterais do módulo (Figura 35), remova a placa de bloqueio e/ou os conjuntos de placas de vidro (Figura 36). Reserve-os para a etapa de processamento dos resultados.



Figura 35: Módulo de corrida com travas soltas.

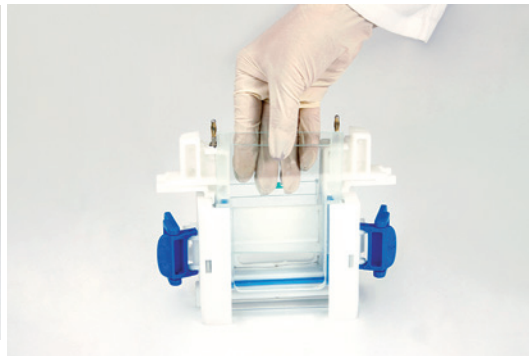


Figura 36: Retirada das placas de vidro.

5. Reserve o tampão de corrida que se encontra dentro do tanque e inicie os procedimentos de limpeza.

4.6 Processamento e visualização dos resultados

1. Separe as placas de vidro para a remoção do gel utilizando a espátula para géis como alavanca. Deslize a espátula pelas bordas laterais das placas para soltar as laterais do gel do espaçador.
2. Se houver dificuldade em remover o gel de uma das placas, mergulhe-a em um recipiente com solução de tampão e faça movimentos circulares até que o gel se desprenda da placa de vidro.
3. Utilize o gel conforme o protocolo desejado. Caso seja necessário realizar Western Blot, é recomendável utilizar o módulo de transferência para a **Eletroforese Vertical Vert-i10** (West-i10, acessório opcional), que pode ser utilizado no mesmo tanque em que se fez a corrida eletroforética.
4. Após processamento adequado do gel ou transferência para uma membrana, utilize um equipamento destinado à visualização dos resultados. Consulte a linha completa de transiluminadores e fotodocumentadores da **Loccus: www.loccus.com.br**.

5 CUIDADOS E MANUTENÇÃO

- O produto deverá ser armazenado à temperatura ambiente e em locais sem presença de gases corrosivos e / ou correntes de ar.
- A melhor forma de limpar o Sistema de **Eletroforese Vertical Eletroforese Vertical Vert-i10** é utilizar água morna e detergente suave. O tanque deve ser enxaguado para prevenir a formação de blocos de sais. Limpeza vigorosa não é necessária nem aconselhada.
- Água à temperatura acima de 60°C pode causar danos ao aparelho e componentes.
- Os aparelhos não devem ser deixados em detergente por mais de 30 minutos.
- As unidades nunca devem entrar em contato com os seguintes agentes de limpeza: cetona, fenol, clorofórmio, tetracloreto de carbono, metanol, etanol e bases alcalinas, pois podem causar danos irreversíveis e cumulativos.
- Recomenda-se secar antes de usar.

6 SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

PROBLEMA	PROVÁVEL CAUSA	SUGESTÃO
AUSÊNCIA DE BANDAS	Polaridade reversa.	Verifique a polaridade dos cabos na fonte.
	Baixa concentração da amostra.	Aumente a concentração da amostra.
	Corrida muito rápida ou muito lenta.	Verifique a concentração do tampão de corrida. Verifique se a corrente elétrica é adequada ao desenvolvimento do ensaio.
INCLINAÇÃO OU DISTORÇÃO DE BANDAS	O gel não polimerizou adequadamente.	Agite a solução de gel antes de aplicar por entre as placas de vidro e aumente as concentrações de APS e TEMED para melhorar a polimerização.
	Alta concentração de sal na amostra.	Dessalinize a amostra ou use uma coluna de dessalinização.
VAZAMENTO DE GEL DURANTE CASTING	Encaixe incorreto entre o módulo de corrida e a base para casting.	Verifique se o módulo de corrida está encaixado perfeitamente na base de fixação de casting.
	Não aderência da poliacrilamida à placa.	Manuseie o gel cuidadosamente e mantenha-o em repouso durante a polimerização.
	A borracha da base está danificada, impossibilitando uma boa vedação.	Lave a borracha após cada uso para remover sais. Se a borracha estiver danificada será necessário substituí-la.
	Desalinhamento dos vidros.	Solte as travas e encaixe os vidros novamente, até que se consiga o perfeito alinhamento.
BANDAS COM RASTRO	A amostra foi precipitada.	Centrifugue a amostra antes de adicionar tampão de amostra ou use uma porcentagem menor de gel acrilamida.
	Degradação de amostras.	Determine se a degradação ocorre antes ou durante a eletroforese, use inibidores de protease, DNase e/ou RNase.
BANDAS DUPLAS	Devido a reoxidação ou redução insuficiente da amostra.	Prepare um novo tampão de amostra, se armazenado por mais de 30 dias.
	Espessura inadequada para o volume da amostra.	Use vidros na espessura apropriada para o desenvolvimento do seu ensaio.

PROBLEMA	PROVÁVEL CAUSA	SUGESTÃO
TEMPO DE CORRIDA EXCESSIVO*	A solução do tampão de corrida está muito diluída.	Verifique se a fórmula do tampão de corrida está de acordo. Realize uma nova corrida.
	Ensaio desenvolvido a uma baixa corrente.	Aumente o valor da corrente elétrica.
TEMPO DE CORRIDA BREVE*	A solução do tampão de corrida está muito concentrada.	Verifique a fórmula do tampão de corrida, refaça-a e tente novamente. Se a voltagem estiver abaixo do normal ao fazer a corrida a uma corrente constante, o tampão provavelmente está muito diluído.
	Voltagem ou corrente elétrica alta.	Diminua a corrente elétrica.
SMILING (“EFEITO SORRISO”)	Amostras do centro do gel estão correndo mais do que as das extremidades.	Use resfriamento com gelo reutilizável. Diminua a corrente elétrica.
BANDAS ESPALHADAS PARA FORA DOS POÇOS	Difusão da amostra ao aplicar.	Certifique-se de que as amostras sejam aplicadas rapidamente. Aplique tensão ao sistema assim que finalizar a aplicação das amostras.
	Difusão da amostra durante a corrida no gel.	Aumente a concentração do gel. Aumente a corrente elétrica.
AS BANDAS SÃO MAIS ESPESSAS DO QUE OS POÇOS	Força iônica da amostra é maior do que a do gel.	Retire o sal da amostra ou use tampão de amostras.

*Fique atento ao deslocamento de suas amostras durante a eletroforese. Interrompa a corrida antes que suas amostras ultrapassem o limite inferior do gel.

ANOTAÇÕES

