



*...going one step further*



**1012852**  
(W19925)



## Scope of Supply

The model 'Mini' contains the following items:

- Electrophoresis chamber with corrosion resistant platinum electrodes and high-quality connections for plus and minus pole
- Safety lid with attached power cords
- 2 combs, 1.5mm thick, 12 teeth each
- Instruction manual

## Safety Instructions

- Please read the instruction manual carefully before using the electrophoresis system.
- Use only CE marked power supplies.
- Always disconnect the electrophoresis chamber from the power supply before removing the safety lid.
- Do not put the safety lid down on wet surfaces.
- Always disconnect the electrophoresis chamber from the power supply when not in use.
- The chamber is provided for a max. current and voltage. Do not exceed 150 mA, 120 V.
- Please mind the maximum filling level for the electrophoresis buffer.

## Technical Properties

The horizontal electrophoresis system 'Mini' has been designed in such a way that allows the user to cast and run the gel directly in a single chamber. No additional casting equipment, such as grease or seal is required to prepare the gel tray for casting the gel.

The chamber's bottom is UV-permeable, thus the gel run can easily be documented in case of using DNA-fluorescent dyes. Self evidently, the gel can also be removed from the chamber for staining and documentation after the gel run.

**Please use only UV light with a wave length of 300nm or higher for all applications, as hard UV light (<300 nm) damages the gel chamber and the nucleic acids.**

If you need only short runs are needed, you can use both combs which then gives twice as many slots for samples.

## Warranty

The manufacturer guarantees that the electrophoresis chamber was completely tested before delivery and that it complies with the applicable safety regulations.

Please check the delivery immediately upon receipt for completeness and possible damage in transit. If anything is faulty or damaged, please contact 3B Scientific immediately.

The manufacturer gives a 24-month warranty on the product conditional on the chamber being used according to the instruction manual. Claims for replacement or repair are not valid if physical abuse is the reason for the damage. Any liability for consequential damages resulting from the use of the electrophoresis chamber is hereby excluded. The manufacturer's liability for intent and gross negligence or for damages resulting from injury to life, body or health is unaffected by that.

Our experience shows the two platinum electrodes last for many years if the product is used properly. Any Damage occurring is usually due to mechanical errors (e. g. by washing-up brushes) or contact with so-called "platinum poisons" such as phosphorus, boron and heavy metals (lead, zinc, etc.). For this reason, the platinum electrodes are excluded from the manufacturer's warranty.

In order to introduce developments promptly, the manufacturer reserves the right to change specifications and small visual details without prior notice.

## General Instructions

### Casting of agarose gels

1. Please wear protective clothing, goggles and gloves for heating the agarose solution.
2. Remove the safety lid of the electrophoresis chamber carefully.
3. For the preparation of the gel solution, only suitable agaroses and electrophoresis buffers should be used. For preparing the agarose solution, weigh a suitable amount of agarose in a small Erlenmeyer flask, add an appropriate amount of electrophoresis buffer and a stir bar (if heating with heating stirrers). Note the weight of the filled flask so that any loss during heating can be compensated for by the addition of distilled H<sub>2</sub>O. Thus, the gel solution will have the agarose concentration

that you need. To dissolve the agarose, heat the Erlenmeyer flask either in a microwave or with a heating stirrer. For the latter, use medium heating power and stir constantly. Heating in a microwave should only be for short periods of time, on medium heating level, repeated multiple times. When heating in a microwave, remove the Erlenmeyer flask from time to time (remember to wear gloves, goggles and be careful to avoid boiling!) and gently swirl the gel solution in a circle. Put it back in the microwave afterwards and repeat the entire process 3-4 times, until the agarose is completely dissolved.

4. Before the casting of the gel, allow the gel solution to cool down to 60°C. Cast the gel solution without any air bubbles in the gap between the two white plastic stripes on the chamber's ground (its capacity is about 40 ml). Then insert the comb (or both combs respectively). Make sure that there are no air bubbles on the edges of the slots. Gels made of standard agarose solidify within 20 minutes at room temperature.
5. After the solidification of the agarose gel, add some of the electrophoresis buffer in 3-mm layers in the chamber over the gel to prevent it from drying out. After carefully removing the comb(s), the gel can now be loaded. The coated gel can be stored for a few days at 4°C. For best results leave the comb inserted and cover the gel with wrapping film to protect it from drying out.

### **Loading of gels and electrophoresis**

1. After the solidification of the agarose gel, cover the gel with the electrophoresis buffer. Please note the maximum filling level for the electrophoresis buffer.
2. Remove the comb(s) from the agarose gel by gently moving back and forth and then carefully pulling out upright.
3. In the next step, the slots in the gel can be loaded with the samples. Preparing the samples with an appropriate gel loading buffer which increases the specific weight of the samples makes it easier to pour them into the slots with a micropipette (see section "gel loading buffer").
4. When loading the gel slots, dip the tip of the micropipette carefully into the slot and then slowly press out the sample. Make sure not to damage the bottom of the slot.  
Beginners should practise this with „practice samples“ consisting of H<sub>2</sub>O and gel loading buffer only.
5. At least one size standard should be applied on each gel so that the size of the various DNA fragments can be determined.
6. Now place the safety lid on the electrophoresis chamber and connect the chamber to a suitable power supply. Please note the correct polarity. In an alkaline up to a neutral medium, nucleic acids are charged negatively and migrate to the anode (red pole).
7. Turn on the power supply and run the electrophoresis at a voltage in the range 80 - 120 V. The process of the electrophoresis can be observed with the help of the dye, which is inside the gel loading buffer.
8. Bromophenol blue and xylene cyanol are frequently used dyes for the gel loading buffer. These dyes are also negatively charged and migrate to the anode. This process, the so-called co-migration with the double-stranded DNA fragments, depends on different factors, such as agarose type, electrophoresis buffer and gel strength.  
For a rough estimation: bromophenol blue migrates in 1xTAE electrophoresis buffer and 1%-standard agarose gel in the same way as a DNA fragment of 650 base pairs. Under the same conditions, xylene cyanol migrates like a fragment with 5 000 base pairs.

### **Staining of nucleic acids**

Since there are different methods of staining nucleic acids, we refer at this point to the corresponding technical literature (Sambrook et. al., 1989).

### **Evaluation / documentation**

Size determinations of nucleic acid fragments can be carried out by comparison with the fragments of a length standard. A detailed description of this procedure can be found, for example, in Molecular Genetics by R. Knippers (2008).

## Cleaning and Maintenance

**Attention:** Disconnect the electrophoresis chamber from power supply before cleaning.

The gel chamber and the combs should be cleaned with warm water immediately after each use. If necessary, a few drops of a washing-up liquid can be added. Please do not use dishwashing brushes or the like, as this can damage the platinum electrodes. Rinse the electrophoresis chamber after cleaning with distilled or demineralised water to prevent the formation of limescale.

Never leave the chamber uncleaned for hours or even overnight as residues from gel or buffer can cause stains which are difficult to remove completely.

**Attention:** Please avoid the electrical connections being in contact with water. If however this does occur, please carefully wipe dry with a soft cloth and allow to air-dry. Please do not use paper because it is often too rough and causes small scratches. Do not use a hair dryer either, as the hot air can damage connectors, fittings and the acrylic material.

**Attention:** Do not use ethanol nor other organic solvents for cleaning. It can cause cracks, scratches or other unwanted material changes (blindness etc.).

## Required Material and Processes

### Electrophoresis buffer

The electrophoresis buffer provides the necessary ions for the electrophoresis process. Its addition provides a constant pH value so that nucleic acids have the desired net charge. Nucleic acids are negatively charged in an alkaline up to neutral medium. Normally, electrophoresis buffer contains components that protect nucleic acids from degradation, e.g. EDTA, which complexes divalent cations and therefore inhibits DNases.

At this point, the frequently used TAE electrophoresis buffer for electrophoresis of DNA is described for non-denaturing conditions. TAE stands for Tris-acetate-EDTA. You can either produce the buffer yourself or order it from 3B Scientific as a buffer concentrate

### Agarose, gel volumes and gel concentrations

Even though various agaroses are offered, the so called standard agarose is certainly of prime importance. For the casting of an agarose gel in this chamber about 40 ml of gel solution is needed. Please prepare a little extra gel solution to allow for the fact that small residues always remain in the vessel.

Optimal separation of molecules of different sizes will be achieved by varying the concentration of the gel according to the information in the chart below.

### Optimal separation ranges of the following DNA length (double-stranded DNA) corresponding to various concentrations of agarose (standard agarose)

concentration of agarose (%)	agarose (g)	buffer (ml)	optimal separation range (kbp)
0,5	0,25	50	1 – 15
0,7	0,35	50	0,8 – 10
1,0	0,5	50	0,5 – 7
1,2	0,6	50	0,3 – 6
1,5	0,75	50	0,2 – 4
2,0	1,0	50	0,1 – 3

### Gel loading buffer

The samples which are to be analyzed need to be mixed with a suitable gel loading buffer before applying them to the gel. Gel loading buffer contains dye(s) for tracking the run of the electrophoresis as well as glycerin, saccharose and the like. Therefore, the prepared samples are heavier than the electrophoresis buffer and will decrease slightly into the gel slots during the sample application. Bromophenol blue and xylene cyanol are frequently used dyes for gel loading buffers. The patterns of their run (or the so called co-migration to double-stranded DNA fragments) depend on the type of agarose, gel strength and the type of electrophoresis buffer.

For a rough estimation: bromophenol blue migrates in 1xTAE electrophoresis buffer and 1%-standard agarose gel in the same way as a DNA fragment of 650 base pairs. Under the same conditions, xylene cyanol migrates like a fragment with 5 000 base pairs.

### **DNA length standard**

For the sizing of the samples, apply one DNA size standard on each gel at least to one lane. DNA size markers are made of DNA fragments of familiar sizes.

### **Staining of nucleic acids**

Since there are different methods of staining nucleic acids, we refer at this point to the corresponding technical literature (Sambrook et. al., 1989).

### **Declaration of Conformity**

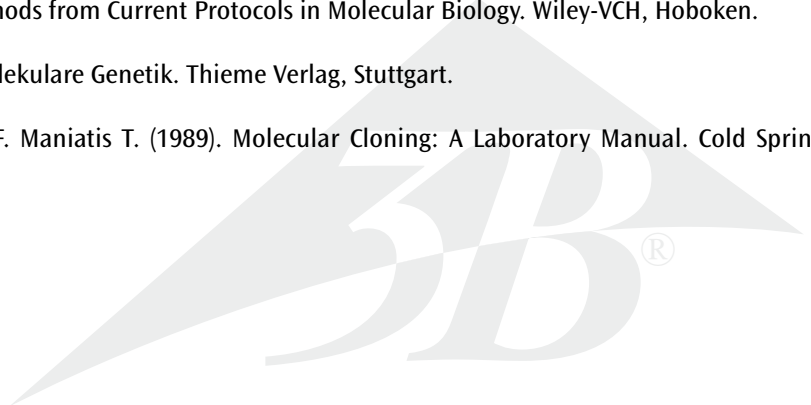
The electrophoresis chamber 'Mini' complies with the applicable security requirements according to EN: 50081-1 (1992) and EN: 50082-1 (1992).

### **Literature**

Ausubel, Frederik M. et al. (Ed.), (2005). Short Protocols in Molecular Biology, A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology. Wiley-VCH, Hoboken.

Knippers, R. (2008). Molekulare Genetik. Thieme Verlag, Stuttgart.

Sambrook J, Fritsch E.F. Maniatis T. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.



## Lieferumfang

Das Modell „Mini“ wird in folgender Ausstattung geliefert:

- Elektrophoresekammer mit korrosionsschutzten Platinelektroden und hochwertigen Anschlüssen für den Plus- und Minuspol.
- Sicherheitsdeckel mit verschraubten Kabeln.
- Zwei Gelkämme, 1,5 mm dick, je 12 Zähne.
- Bedienungsanleitung.

## Sicherheitshinweise

- Vor Inbetriebnahme die Bedienungsanleitung bitte sorgfältig durchlesen.
- Zur Stromversorgung ausschließlich CE-konforme Gleichstrom-Netzgeräte verwenden.
- Vor dem Abheben des Sicherheitsdeckels ist die Elektrophoresekammer unbedingt vom Netzgerät zu trennen.
- Den Deckel nie auf nassen Oberflächen ablegen.
- Bei Nichtgebrauch der Elektrophoresekammer diese immer vom Netzgerät trennen.
- Die für die Kammer vorgesehene max. Stromstärke und Spannung nicht überschreiten (150 mA, 120 V).
- Die max. Füllhöhe des Elektrophoresepuffers beachten.

## Technische Merkmale

Bei der Elektrophoresekammer „Mini“ handelt es sich um ein Modell, bei dem das Gel direkt in der Kammer gegossen wird; und zwar in den Raum, der durch die weißen Kunststoffstäbe auf dem Kammerboden eingefasst ist.

Die Gelkammer verfügt über einen UV-durchlässigen Boden, so kann der Verlauf der Elektrophorese durch Bestrahlung mittels UV-Licht von unten leicht verfolgt werden, sofern fluoreszierende Farbstoffe bereits während des Gellaufs eingesetzt werden. Das Gel kann selbstverständlich auch herausgenommen werden, um die Dokumentation durchzuführen bzw. um Anfärbungen nach dem Lauf durchzuführen.

**Bitte verwenden Sie bei allen o.g. Handhabungen nur UV-Licht mit einer Wellenlänge oberhalb von 300 nm.**

Hartes UV-Licht (<300 nm Wellenlänge) schädigt sowohl die Gelkammer als auch die Nukleinsäuren.

Wenn Sie nur kurze Trennstrecken benötigen, so können Sie beide Kammpositionen nutzen. Dann stehen Ihnen doppelt so viele Probestaschen zur Verfügung.

## Garantie

Der Hersteller garantiert, dass die Elektrophoresekammer vor der Auslieferung genau geprüft wurde und den geltenden Sicherheitsstandards entspricht.

Bitte überprüfen Sie die Lieferung sofort nach Erhalt auf Vollständigkeit und evtl. Transportschäden. Sollte die Lieferung fehlerhaft oder beschädigt sein, wenden Sie sich umgehend an 3B Scientific.

Auf die Elektrophoresekammer gewährt der Hersteller 24 Monate Garantie, sofern die Kammer gemäß der Bedienungsanleitung eingesetzt wurde. Ansprüche auf kostenlosen Ersatz oder Reparatur bestehen nicht, falls eine falsche Handhabung vorliegt. Eine Haftung für Folgeschäden, die aus einer grob fahrlässigen oder vorsätzlich falschen Verwendung der Elektrophoresekammer entstehen, wird hiermit ausgeschlossen.

Die Haftung des Herstellers für Vorsatz und grobe Fahrlässigkeit, sowie für Schäden aus der Verletzung des Lebens, des Körpers oder der Gesundheit bleibt hiervon unberührt.

Die zwei Platinelektroden halten bei sachgerechter Behandlung erfahrungsgemäß viele Jahre. Schäden treten meistens durch mechanische Zerstörung (Spülbürste o.ä.) auf oder durch den Kontakt mit sog. „Platingiften“ wie Phosphor, Bor oder Schwermetallen (Blei, Zink etc.) auf. Daher sind die Platinelektroden von der Garantie ausgenommen.

Um Weiterentwicklungen zeitnah einführen zu können, behält sich der Hersteller vor, technische und kleine optische Details ohne Vorankündigung ändern zu dürfen.

## Allgemeine Bedienungshinweise

### Gießen von Agarosegelen

1. Bitte Schutzkleidung anziehen, Schutzbrille aufsetzen und Handschuhe für das Erhitzen der Agarosegellösung bereit legen.
2. Entfernen Sie den Sicherheitsdeckel der Elektrophoresekammer vorsichtig.

3. Für das Ansetzen der Gellösung dürfen nur geeignete Agarosen und entsprechende Elektrophoresepuffer eingesetzt werden. Für die Herstellung der Agarosegellösung wird eine entsprechende Menge Agarose in einem kleinen Erlenmeyerkolben abgewogen, eine geeignete Menge Elektrophoresepuffer dazugegossen und ein Rührfisch (Erhitzen mit Heizrührer) hinzugegeben. Das Gewicht des befüllten Erlenmeyerkolbens wird festgehalten, so dass auftretende Kochverluste durch Verdampfen durch Zugabe von destilliertem H<sub>2</sub>O ausgeglichen werden können. So hat die Gellösung tatsächlich die vorgesehene Agarosekonzentration. Zum Lösen der Agarose wird der Erlenmeyerkolben entweder in die Mikrowelle gestellt oder der Erlenmeyerkolben auf einer Heizplatte unter Rühren und bei mittlerer Heizleistung erhitzt. Die Erhitzung in der Mikrowelle sollte kurz bei mittlerer Hitze erfolgen und mehrfach wiederholt werden. Zwischendurch nimmt man den Erlenmeyerkolben heraus (Achtung: Handschuhe, Schutzbrille tragen und ggf. auf Siedeverzug achten!) und schwenkt vorsichtig die Gellösung kreisförmig. Dann erneut in die Mikrowelle geben und den gesamten Vorgang 3-4 Mal wiederholen bis die Agarose vollständig gelöst ist.
4. Vor dem Gießen des Gels die Gellösung auf 60°C abkühlen. Die Gellösung wird dann luftblasenfrei in die Aussparung zwischen die beiden weißen Kunststoffstreifen des Kammerbodens gegossen (Fassungsvermögen beträgt ca. 40 ml). Dann den Kamm (oder 2 Kämmen) einsetzen. Darauf achten, dass sich keine Luftblasen an den Taschenrändern bilden. Gele aus Standardagarose sind bei Raumtemperatur in ca. 20 Minuten verfestigt.
5. Nach Verfestigung des Agarosegels mit Elektrophoresepuffer ca. 3 mm überschichten, damit das Gel nicht austrocknet. Das Gel kann nun nach vorsichtigem Entfernen des Kamms sofort beladen werden. Das überschichtete Gel kann auch für ein paar Tage aufbewahrt werden, am günstigsten sogar mit eingesetztem Kamm. Das Gel muss lediglich vor Austrocknung geschützt werden (Abdecken mit Haushaltsfolie).

### Beladung von Agarosegelen und Elektrophorese

1. Sobald das Agarosegel vollständig verfestigt ist, wird das Gel mit Elektrophoresepuffer überschichtet bis die max. Füllhöhe des Puffer („Fill Line“) erreicht ist.
2. Entfernen Sie den Kamm (Kämme) vorsichtig aus dem Agarosegel, indem Sie diese vorsichtig wippend hin- und herbewegen und dann gerade nach oben herausziehen.
3. Nun können die Taschen des Gels mit den vorbereiteten Proben beladen werden. Die Proben müssen vorab mit einem entsprechenden Gelladepuffer versetzt werden, der das spezifische Gewicht der Proben erhöht und somit die Proben beim Auftragen mit der Mikropipette in die Taschen absinken lässt (vgl. Abschnitt Gelladepuffer).
4. Beim Beladen der Geltaschen die Spitze der Mikropipette vorsichtig leicht in die Tasche tauchen und die Probe langsam herausdrücken. Dabei bitte nicht den Taschenboden beschädigen.  
Dieser Vorgang sollte von Anfängern mit „Übungsproben“, die nur aus H<sub>2</sub>O und Gelladepuffer bestehen, eingeübt werden.
5. Auf jedem Gel sollte mindestens ein Längenstandard mit aufgetragen werden, damit eine Größenbestimmung der aufgetrennten DNA-Fragmente erfolgen kann.
6. Setzen Sie nun den Sicherheitsdeckel auf die Elektrophoresekammer und schließen Sie die Kammer an ein geeignetes Netzgerät an.  
Bitte beachten Sie die richtige Polung. Nukleinsäuren sind im alkalischen bis neutralen Milieu negativ geladen und wandern zur Anode (rote Pol).
7. Schalten Sie die Spannungsquelle ein und führen Sie die Elektrophorese bei einer angemessenen Spannung durch (80 - 120 V). Der Verlauf der Elektrophorese kann anhand der Wanderung des Farbstoffs, der sich im Gelladepuffer befindet, verfolgt werden.  
Häufig werden Bromphenolblau bzw. Xylencyanol als Farbstoffe im Gelladepuffer eingesetzt. Das Laufverhalten bzw. die sog. Comigration zu doppelsträngigen DNA-Fragmenten ist vom Agarosetyp, von der Gelstärke und vom Elektrophoresepuffer abhängig.  
Zur Groborientierung: Bromphenolblau läuft in 1xTAE-Elektrophoresepuffer und Standardagarosegel von 1% in etwa wie ein DNA-Fragment mit 650 Basenpaaren. Unter gleichen Bedingungen läuft Xylencyanol wie ein Fragment mit 5000 Basenpaaren.

### Anfärbung von Nukleinsäuren

Da es verschiedene Möglichkeiten der Anfärbung von Nukleinsäuren gibt, wird an dieser Stelle auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Sambrook et. al., 1989).

### Auswertung / Dokumentation

Größenbestimmungen von Nukleinsäure-Fragmenten können durch Vergleich mit den Fragmenten eines Längenstandards durchgeführt werden. Eine genaue Beschreibung des Verfahrens findet man z.B. im Fachbuch „Molekulare Genetik“ von R. Knippers (2006).



## Reinigung und Pflege

**Achtung:** Die Elektrophoresekammer vor der Reinigung vom Netzgerät trennen.

Die Elektrophoresekammer und Kämme sollten nach jeder Verwendung mit lauwarmem Wasser gereinigt werden. Falls nötig, kann zusätzlich etwas Spülmittel verwendet werden. Bitte verwenden Sie keine Spülbürsten oder ähnliches, da damit die Platinelektroden beschädigt werden können. Ein Abspülen der Elektrophoresekammer nach der Reinigung mit entkalktem oder destilliertem Wasser verhindert das Entstehen von Kalkflecken.

Bitte die Elektrophoresekammer nie stundenlang oder gar über Nacht ungereinigt stehen lassen, da sich Schmutzränder bilden können durch angetrocknete Gelreste oder Puffer, die sich dann nur schwer oder gar nicht mehr vollständig entfernen lassen.

**Achtung:** Die elektrischen Anschlüsse bitte möglichst vom Wasser fernhalten. Sollten diese dennoch einmal etwas Wasser abbekommen haben, bitte mit einem weichen Küchentuch / Geschirrtuch sorgsam trockenputzen bzw. an der Luft trocknen lassen. Bitte hierfür kein Papier verwenden, da dies häufig zu grob ist und kleine Kratzer verursacht. Bitte auch nicht trocken föhnen, die heiße Fönluft kann zu Schäden an Anschlüssen, Verschraubungen und dem Acrylmaterial führen.

**Achtung:** Zur Reinigung weder Ethanol noch sonstige organische Lösungsmittel verwenden. Es können Risse, Sprünge oder andere unerwünschte Materialveränderungen (Blindwerden etc.) auftreten.

## Benötigte Materialien und Rezepte

### Elektrophoresepuffer

Der Elektrophoresepuffer stellt die für die Elektrophorese benötigten Ionen bereit und sorgt für einen konstanten pH-Wert, damit die Nukleinsäuren die gewünschte Nettoladung aufweisen. Nukleinsäuren sind im alkalischen bis neutralen Milieu negativ geladen. In der Regel beinhalten Elektrophoresepuffer auch Komponenten, die die Nukleinsäuren vor Degradierung schützen, z.B. EDTA, welches zweiwertige Kationen komplexiert und dadurch DNasen inhibiert.

An dieser Stelle wird der gängige Elektrophoresepuffer TAE für Elektrophorese von DNA unter nicht-denaturierenden Bedingungen beschrieben. TAE steht für Tris-Acetat-EDTA.

Den Puffer können Sie entweder selbst herstellen oder aber z.B. bei 3B Scientific als Fertig-Pufferkonzentrat beziehen.

### Agarose, Gelvolumen und Gelkonzentrationen

Obgleich verschiedene Agarosen angeboten werden, hat die sog. Standard-Agarose sicherlich die größte Bedeutung. Für das Gießen eines Agarosegels in der vorliegenden Kammer wird ca. 40 ml Gellösung benötigt. Bitte etwas mehr Gellösung herstellen, da immer ein Rest im Ansatzgefäß verbleibt.

Je nach Agarosegehalt des Gels werden Moleküle unterschiedlicher Größenbereiche optimal aufgetrennt, die in der unten stehenden Tabelle aufgeführt sind.

## Optimale Auftrennungsbereiche doppelsträngiger DNA bei verschiedenen Agarosegehalten (Standardagarose)

Agarosegehalt (%)	Agarose (g)	Puffer (ml)	Optimaler Trennbereich (kbp)
0,5	0,25	50	1 – 15
0,7	0,35	50	0,8 – 10
1,0	0,5	50	0,5 – 7
1,2	0,6	50	0,3 – 6
1,5	0,75	50	0,2 – 4
2,0	1,0	50	0,1 – 3

### Gelladepuffer

Die zu analysierenden Proben werden vor dem Auftragen auf das Gel mit einem geeigneten Gelladepuffer vermischt. Gelladepuffer enthalten Farbstoffe zur Sichtbarmachung des Trennvorgangs sowie Glycerin, Saccharose o.ä., damit die Proben schwerer als der Elektrophoresepuffer werden und bei der Probenauftragung leicht in die Geltaschen sinken. Häufig werden Bromphenolblau bzw. Xylencyanol als Farbstoffe im Gelladepuffer eingesetzt. Das Laufverhalten bzw. die sog. Comigration zu doppelsträngigen DNA-Fragmenten ist vom Agarosetyp, von der Gelstärke und vom Elektrophoresepuffer abhängig.

Zur Groborientierung: Bromphenolblau läuft in 1xTAE-Puffer (vgl. Elektrophoresepuffer) und Standard-Agarosegel von 1% in etwa wie ein DNA-Fragment mit 650 Basenpaaren. Unter gleichen Bedingungen läuft Xylencyanol wie ein Fragment mit 5000 Basenpaaren.

### **DNA-Längenstandard**

Ein DNA-Längenstandard wird auf jedem Gel mindestens in eine Spur aufgetragen, um eine Größenbestimmung der Proben vernehmen zu können. DNA-Längenmarker bestehen aus DNA-Fragmenten bekannter Größe.

### **Anfärbung von Nukleinsäuren**

Da es verschiedene Möglichkeiten der Anfärbung von Nukleinsäuren gibt, wird an dieser Stelle auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Sambrock et. al., 1989).

### **Konformitätserklärung**

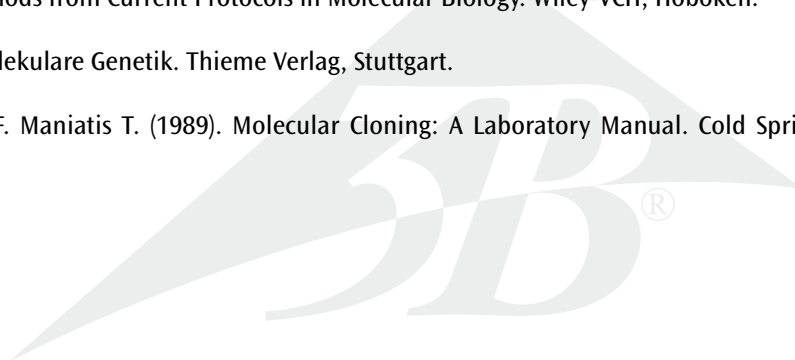
Die Elektrophoresekammer „Mini“ entspricht den grundlegenden Sicherheitsanforderungen gemäß EN: 50081-1 (1992) und EN: 50082-1 (1992).

### **Literatur**

Ausubel, Frederik M. et al. (Ed.), (2005). Short Protocols in Molecular Biology, A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology. Wiley-VCH, Hoboken.

Knippers, R. (2008). Molekulare Genetik. Thieme Verlag, Stuttgart.

Sambrook J, Fritsch E.F. Maniatis T. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.



## Contenu de la livraison

Le modèle „mini“ est livré avec l'équipement suivant:

- Cuve d'électrophorèse avec électrodes de platine anticorrosives et connexions de haute qualité pour les pôles positif et négatif.
- Bouchon de sécurité aux câbles boulonnés.
- Deux peignes de gel de 1,5 mm d'épaisseur, comportant 12 dents.
- Mode d'emploi.

## Avis de sécurité

- Avant de mettre en service, lire soigneusement le mode d'emploi.
- N'utiliser que pour l'alimentation des adaptateurs de courant continu conformes à la CE.
- Avant d'enlever le bouchon de sécurité, il faut impérativement déconnecter la cuve d'électrophorèse de l'adaptateur.
- Ne jamais placer le bouchon de sécurité sur des surfaces humides.
- A l'arrêt, la cuve d'électrophorèse doit être déconnectée de l'adaptateur.
- Ne pas dépasser l'ampérage et le voltage maximal prévus pour la cuve (150 mA, 120 V).
- Respecter la hauteur de remplissage maximale du tampon d'électrophorèse.

## Facilités techniques

Dans le cas de la cuve d'électrophorèse „mini“, il s'agit d'un modèle „mini“, dans lequel le gel est directement coulé dans la cuve; dans l'espace encadré par les bâtons plastifiés blancs au fond de la cuve.

La cuve de gel dispose d'un fond perméable aux UV, ce qui permet de suivre facilement le déroulement de l'électrophorèse par le biais du rayonnement UV du dessous, pourvu que des colorants fluorescents soient déjà employés pendant le courant du gel.

Bien entendu, il est possible d'enlever le gel pour documenter des colorations après le courant.

**Pour toutes manipulations précitées, veillez à ne pas utiliser un rayonnement UV d'une longueur d'onde supérieure à 300 nm.** Un rayonnement UV dur (<300 nm de longueur d'onde) porte atteinte à la cuve, au gel et aux acides nucléiques. S'il s'agit uniquement de distances d'isolement courtes, il est possible d'utiliser les deux positions des peignes.

Il y aura deux fois plus de poches d'essai à votre disposition.

## Garantie

Le fabricant garantit le recollage fidèle de la cuve d'électrophorèse avant la livraison et l'adéquation aux standards de sécurité en vigueur. Lors la réception, veuillez vérifier l'intégralité et l'intégrité de la livraison. Dans le cas d'une livraison défectueuse ou endommagée, veuillez contacter immédiatement le service de réclamation de 3B Scientific.

Le fabricant accorde une garantie de 24 mois pour la cuve à électrophorèse, dans la mesure où la cuve est utilisée conformément au mode d'emploi. Le produit ne sera pas remplacé ou réparé gratuitement s'il fait l'objet d'une utilisation non-conforme. Le fabricant ne pourra en aucun être tenu pour responsable des éventuels dommages résultant d'une utilisation non-conforme de la cuve à électrophorèse.

La responsabilité du fabricant ne pourra être engagée ni en cas de négligence grave ou intentionnelle, ni pour des dommages résultant d'une atteinte à la vie, au corps ou à la santé.

Selon un retour d'expérience, les deux électrodes de platine tiennent durant plusieurs années lors d'une manipulation adéquate. Les dommages apparaissent d'ordinaire par le truchement de destruction mécanique (brosse à vaisselle) ou de „poisons de platine“ comme le phosphore, bore ou les métaux lourds (plomb, zinc etc.). Par conséquent, les électrodes de platine sont exclues de toute garantie. Pour pouvoir inaugurer sans délai majeur des développements éventuels, le producteur se réserve le droit de changer de petits détails techniques et optiques sans annonce préalable.

## Indications d'emploi générales

### Couler le gel d'agarose

1. Revêtir le vêtement protecteur, mettre les lunettes protectrices et préparer les gants de protection pour l'échauffement de la dissolution du gel d'agarose.

2. Enlever avec précaution le bouchon de sécurité de la cuve d'électrophorèse.
3. Pour la préparation de la dissolution de gel, seule l'utilisation d'agaroses appropriés et de tampons d'électrophorèse conformes est recommandée. Pour la production de la dissolution de gel d'agarose, peser la quantité d'agarose correspondante dans une petite fiole Erlenmeyer, ajouter suffisamment du tampon d'électrophorèse et un agitateur chauffant. Noter le poids de la fiole Erlenmeyer remplie, pour que des pertes, dues à l'ébullition, puissent être compensées par l'ajout de H<sub>2</sub>O (distillé). De cette façon, la dissolution du gel comporte la concentration d'agarose prévue. Pour dissoudre complètement l'agarose, placer l'Erlenmeyer au four à micro-ondes ou alternativement faire chauffer l'Erlenmeyer sur une plaque chauffante à chaleur moyenne, en agitant de temps en temps. L'échauffement dans le four à micro-ondes devrait être d'une courte durée, mais doit être refait plusieurs fois. Entre temps, puiser l'Erlenmeyer (Attention: porter des gants de sécurité, des lunettes protectrices et faire attention au retard à l'ébullition éventuelle) et agiter circulairement la dissolution de gel. Puis remettre dans le four à micro-ondes et refaire tout le processus 3-4 fois jusqu'à que l'agarose soit totalement dissout.
4. Avant de couler le gel, laisser refroidir la dissolution de gel en dessous de 60°C. Puis couler la dissolution de gel dans la niche se trouvant entre les deux bâtons plastifiés blancs sur le fond de la cuve, sans produire de bulles (capacité: environ 40 ml). Puis, utiliser le peigne (ou les deux peignes). Faire attention qu'il n'y ait pas de bulles aux marges de la niche. Les gels d'agarose standard figent à température ambiante dans un temps de 20 minutes environ.
5. Recouvrir le gel d'agarose figé de 3mm du tampon d'électrophorèse, pour qu'il ne s'assèche pas. Retirer soigneusement le peigne, puis charger le gel. Le gel emballé dans du tampon peut être conservé pendant plusieurs jours, au mieux avec le peigne placé, avant qu'il ne perde trop d'eau par évaporation (couvrir de film alimentaire).

### Chargement des gels d'agarose et de l'électrophorèse

1. Le gel d'agarose complètement figé est à recouvrir avec du tampon d'électrophorèse jusqu'à ce que la hauteur de remplissage maximale du tampon („Fill Line“) soit atteinte.
2. Retirer soigneusement le peigne en l'agitant avec précaution puis le dégager en le tenant droit vers le haut.
3. Maintenant, les poches de gel peuvent être chargées des échantillons préparés. Ces échantillons sont à additionner au tampon de charge du gel, qui fait augmenter le poids spécifique des échantillons et fait alors baisser les échantillons, étalés par une pipette micro, dans les poches. (partie tampon de charge du gel / tampon d'échantillon).
4. Au chargement des poches de gel, immerger avec précaution le bec de la pipette micro dans la poche et faire sortir doucement l'échantillon. Ne pas endommager le fond de la poche.
5. Il est raisonnable que des débutants étudient cette étape en utilisant des „échantillons d'entraînement“ qui se composent uniquement d'H<sub>2</sub>O et du tampon de charge de gel.
6. Pour la détermination de taille des fragments d'ADN séparés, il faut appliquer sur chaque gel au moins un standard de taille.
7. Poser maintenant le bouchon de sécurité sur la cuve d'électrophorèse et brancher la cuve sur une unité de courant appropriée. Prendre en considération la polarisation correcte. Dans un milieu basique jusqu'à neutre, les acides nucléiques sont chargés négativement et vont se déplacer à l'anode (pôle rouge).
8. Allumer la source de tension et procéder à l'électrophorèse sur un voltage approprié (80 – 120 V). Il est maintenant possible d'observer le déroulement de l'électrophorèse à l'aide du colorant se trouvant dans le tampon de charge du gel. Il est récurrent de faire intervenir dans ce tampon les colorants bleu de bromophénol ou de xylène cyanole. Le comportement lors de la course, aussi appelée comigration par rapport aux fragments d'ADN dépend du type d'agarose et du tampon d'électrophorèse. Pour une première orientation: le bleu de bromophénol se comporte dans 1x de tampon d'électrophorèse TAE et un gel d'agarose standard de 1% comme un fragment d'ADN d'une taille de 650 paires de bases. Dans des conditions égales, le xylène cyanole se comporte comme un fragment d'une taille de 5000 paires de bases.

### Coloration des acides nucléiques

Comme il existe plusieurs possibilités pour colorer des acides nucléiques, nous attirons votre attention sur la littérature spécialisée correspondante (Sambrook et. al., 1989).

### Evaluation / Documentation

Des déterminations de taille des fragments d'acides nucléiques peuvent être effectuées par la comparaison avec des fragments du marqueur de taille. Une description détaillée de cette procédure se trouve par exemple dans le livre spécialisé „Molekulare Genetik“ R. Knippers (2008).

## Nettoyage et soin

**Attention:** Déconnecter la cuve d'électrophorèse de l'unité de courant avant le nettoyage.

Il convient de nettoyer la cuve d'électrophorèse et les peignes après chaque utilisation avec de l'eau tiède. Si nécessaire, y ajouter un peu de liquide vaisselle. Ne pas utiliser des brosses à vaisselle, pour éviter l'endommagement des électrodes de platine. Le lavage de la cuve d'électrophorèse peut se faire avec de l'eau distillée ou décalcifiée afin d'éviter la formation de calcaire).

Ne jamais laisser la cuve d'électrophorèse crasseuse pendant des heures, voire pendant toute une nuit. Il peut se former des traces de saleté résultant des restes du gel ou du tampon séché, qui seront difficiles à enlever.

**Attention:** Si possible, tenir les connexions électriques à l'écart de l'eau. En cas de contact avec de l'eau, les essuyer soigneusement avec un torchon doux ou les laisser sécher à l'air. Ne pas utiliser de papier, qui se révèle souvent être trop dur et pourrait alors causer des égratignures. Ne pas non plus sécher au sèche-cheveux; l'air chaud peut détériorer les connexions, les visages et le matériel acrylique.

**Attention:** N'utiliser pour le nettoyage ni de l'éthanol, ni d'autres solvants organiques. Ceux-ci peuvent créer des fissures, des brisures ou d'autres transformations du matériel indésirables.

## Matériaux nécessaires et recettes

### Tampon de l'électrophorèse

Le tampon d'électrophorèse mobilise les ions nécessaires pour le processus de l'électrophorèse et provoque un pH constant, pour que les acides nucléiques comportent la charge nette voulue. Les acides nucléiques sont chargés négativement dans un milieu basique à neutre. Normalement, les tampons d'électrophorèse contiennent des composantes qui préservent les acides nucléiques de dégradation, par exemple l'EDTA qui complexe les cations divalents et inhibite les ADNases.

Ici, il est question du tampon TAE courant pour l'électrophorèse d'ADN sous des conditions non-dénaturantes.

TAE désigne Tris, Acétate, EDTA.

Le tampon peut être préparé indépendamment ou bien être commandé auprès de 3B Scientific comme concentré de tampon.

### Agarose, volume et concentration de gel

Bien qu'il existe des agaroses différents, la plus grande importance est mise sur le compte de l'agarose standard. Pour couler le gel d'agarose dans la cuve présente, 40 ml de dissolution de gel sont nécessaires. Il est recommandable de préparer un petit peu plus de dissolution de gel, parce qu'il y a toujours un dépôt restant dans la cuve de préparation. Cela dépend de la concentration d'agarose dans le gel, les molécules de taille différentes sont séparées de façon optimale, comme exposé dans le tableau ci-dessous.

## Pouvoir de séparation optimal d'ADN linéaire, double brin, selon la concentration d'agarose du gel.

Concentration d'agarose (%)	Agarose (g)	Tampon (ml)	Gamme de tailles idéales (kbp)
0,5	0,25	50	1 – 15
0,7	0,35	50	0,8 – 10
1,0	0,5	50	0,5 – 7
1,2	0,6	50	0,3 – 6
1,5	0,75	50	0,2 – 4
2,0	1,0	50	0,1 – 3

### Tampon de charge du gel

Les échantillons à analyser sont mélangés avec un tampon de charge du gel approprié avant l'application du gel. Ces tampons de charge du gel contiennent non seulement des colorants pour rendre perceptible à la vue le processus de la séparation, mais aussi de la glycérine, saccharose et d'autres éléments semblables pour que les échantillons deviennent plus lourds que le tampon d'électrophorèse et baissent facilement dans les poches de gel pendant l'application des échantillons. Souvent, le bleu de bromophénol ou xylène cyanole en qualité de colorants sont employés dans les tampons de charge du gel. Les facteurs affectant la migration des fragments d'ADN double brin sont le type d'agarose, la concentration du gel et le tampon d'électrophorèse.

### **L'échelle de marqueur de taille moléculaire**

Une échelle de marqueur de taille d'ADN est appliquée sur chaque gel au moins sur une trace, pour pouvoir mesurer les échantillons. Ces marqueurs de taille d'ADN consistent en fragments d'ADN de taille connue.

### **Coloration des acides nucléiques**

Da es verschiedene Möglichkeiten der Anfärbung von Nucleinsäuren gibt, wird an dieser Stelle auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen (Sambrock et. al., 1989).

### **Konformitätserklärung**

Comme il y a des méthodes différentes de coloration des acides nucléiques, nous attirons votre attention sur la littérature spécialisée correspondante (Sambrock et. al., 1989).

### **Littérature**

Ausubel, Frederik M. et al. (Ed.), (2005). Short Protocols in Molecular Biology, A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology. Wiley-VCH.

Knippers, R. (2008). Molekulare Genetik, Thieme Verlag, Stuttgart.

Sambrock, J, Fritsc, E.F., Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

