

## Mini PROTEAN Tetra 简单操作介绍

### 第一部分 组成

为更好的使用 Mini-PROTEAN Tetra 电泳仪器，请在使用前熟悉各组件的安装和拆卸（参见图 1、2）。

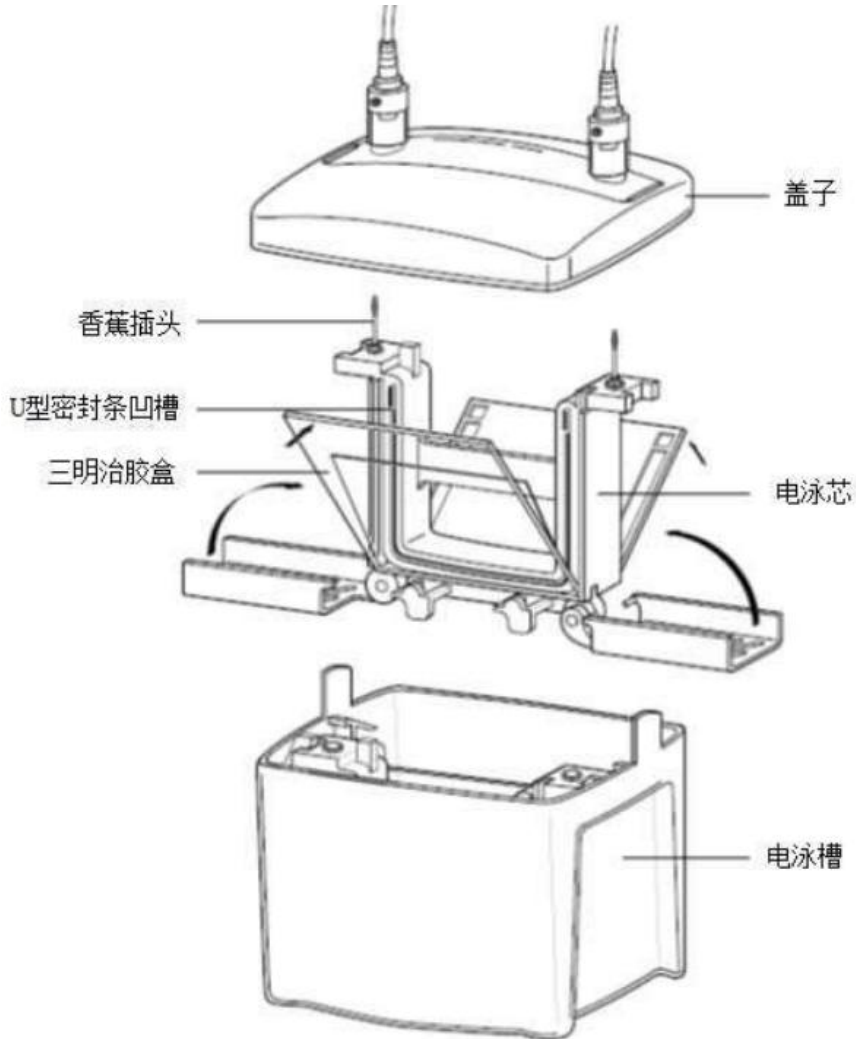


图 1. 安装 Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽

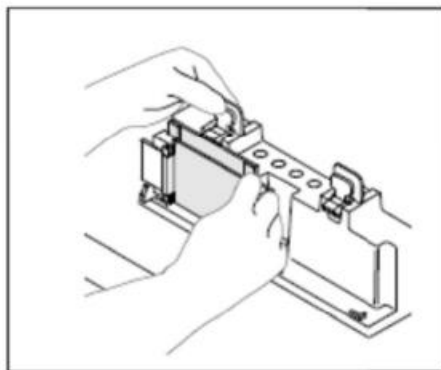
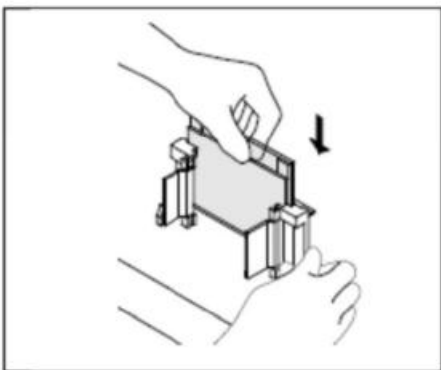


图 2. 安装 Mini-PROTEAN Tetra cell 制胶框和灌胶架电

孔数或孔类型	孔宽度(mm)	0.75 mm 厚	1.0 mm 厚	1.5 mm 厚
5	12.70	70 $\mu$ l	105 $\mu$ l	160 $\mu$ l
9	5.08	33 $\mu$ l	44 $\mu$ l	66 $\mu$ l
10	5.08	33 $\mu$ l	44 $\mu$ l	66 $\mu$ l
15	3.35	20 $\mu$ l	26 $\mu$ l	40 $\mu$ l
IPG	6.20	—	420 $\mu$ l	730 $\mu$ l
制备型/双向				
参照孔	3.10	13 $\mu$ l	17 $\mu$ l	30 $\mu$ l
样品孔	71.70	310 $\mu$ l	400 $\mu$ l	680 $\mu$ l

外部尺寸: 16 cm (L) x 12 cm (W) x 18 cm (H) 预制胶兼容性:  
Ready Gel 预制胶电压限制: 600 V DC and 30 w 毛重: 2.0 kg

## 第二部分 制胶

### 手灌胶

#### 1. 玻板三明治胶盒和灌胶架 注:

所有的玻板都必须洁净干燥

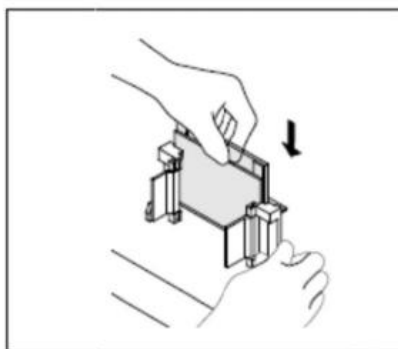
- 制胶框垂直放置在水平桌面上, 打开压力凸轮卡锁, 卡锁面向前
- 选择垫片厚度合适的长玻板, 将短玻板放于其上 (图 3a)
- 抬起长玻板使标记为 "up", 将 2 块玻板轻轻滑入制胶框, 短玻板冲前 (凸轮卡锁侧) (图 3b)

注: 保证 2 块玻板底部齐平, 长玻板上的标记导向正确。若玻板装配不正确或方向错误, 可能会发生漏胶。

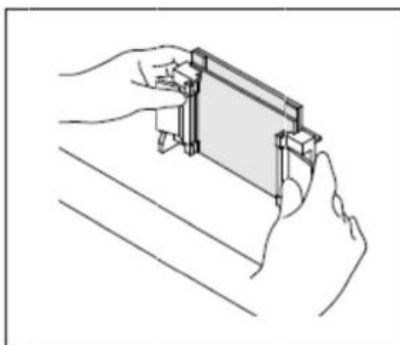
- 锁紧凸轮卡锁, 夹紧玻璃板夹心, 做成灌胶模块 (图 3c)。注意玻板底部要齐平 e. 将锁紧的制胶框放入灌胶架中 (凸轮卡锁冲外), 位于密封胶垫上, 用灌胶架的弹性架子夹住长玻板 (图 3d) 注: 灰色的密封胶垫要保持洁净 f. 若有其它胶, 重复步骤 a-e



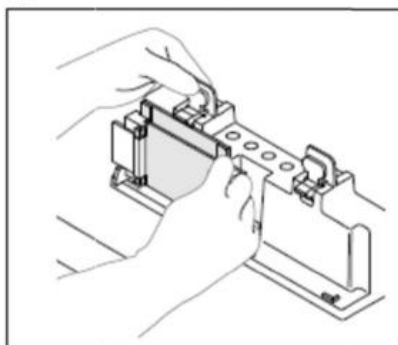
3a



3b



3c



3d

图 3. 安装 Mini-PROTEAN Tetra cell 制胶框和灌胶架

## 2. 灌胶

a. 不连续聚丙烯酰胺胶 i. 将电泳梳子完全嵌入安装好的胶盒中。在梳齿下方 1cm 处做个标记，此为灌注的分离胶的位置，取下梳子

ii. 制备分离胶单体溶液（不加 AP 及 TEMED）（参见第 4 章制胶公式），真空除气泡约 15min iii.

在处理后的胶液中加入 AP 及 TEMED，用玻管或一次性塑料吸管缓缓加入制胶框中至标记处，注意不要产生气泡

iv. 立刻用水或异戊乙醇覆盖 注：若使用水封胶，应缓慢平稳的加入，以免与胶液混合。不要使用丁醇或异丁醇覆盖

v. 胶聚合 45-60min。用蒸馏水冲洗胶表面。应避免长时间用乙醇封胶以免胶顶部脱水注：可用下述方法室温过夜储存分离胶。加 5ml 1: 4 稀释的 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8 buffer (for

Laemmli system)封胶。如果使用其它的缓冲体系，可加 5ml 1x 分离胶缓冲液来储存 vi. 制备浓缩胶溶液（不加 AP 及 TEMED）真空除气泡约 15min vii. 用滤纸将分离胶顶部水洗干

viii. 在处理后的胶液中加入 AP 及 TEMED，用玻管或一次性塑料吸管缓缓加入制胶框中至短玻板顶端，注意不要产生气泡

ix. 迅速在玻板中间插入合适的电泳梳。注意梳子两端位于垫片之间，梳脊与短板顶端齐平

x. 浓缩胶聚合 30-45min

xi. 小心移出电泳梳，用蒸馏水或电泳缓冲液冲洗梳孔 xii. 用毕，用去离子水或蒸馏水冲洗灌胶架和制胶框

## b. 连续聚丙烯酰胺胶

i. 制备胶单体溶液（不加 AP 及 TEMED）（参见第 4 章制胶公式），真空除气泡约 15min

ii. 在处理后的胶液中加入 AP 及 TEMED，用玻管或一次性塑料吸管缓缓加入玻板间至短玻板顶端，注意不要产生气泡

iii. 将合适的电泳梳插入玻板中间。注意梳子两端位于垫片之间，梳脊与短板顶端齐平 iv. 胶聚合 45-60min

v. 小心移出电泳梳，用蒸馏水或电泳缓冲液冲洗梳孔

vi. 用毕，用去离子水或蒸馏水冲洗灌胶架和制胶框

## 第三部分 电泳芯安装与上样

### 1. 安装

注：当只运行 2 块胶时，使用电泳芯（带香蕉插头），不要使用辅助电泳芯（不带香蕉插头）；当跑 4 块胶时，电泳芯和辅助电泳芯都要使用

a. 在干净的平面上打开制胶框（图 4a） b. 把三明治胶放入胶架，短玻璃板面冲里。胶架位于夹胶架底部，每侧有一个。注意三明治胶与夹角架保持 30° 倾角。轻轻放入第一块胶，注意保持夹胶架平衡，不要过度倾斜。然后在夹胶架另一侧放入第二块胶。此时夹胶架的每一侧都有一块胶，2 胶同时保持一定的倾角

（图 4b）

Note: 注意将胶盒放入夹胶架中，并且短板冲里。这样，夹胶架和 2 块胶共同组成了电泳芯。

如果要跑奇数的胶（1 或 3），那么必须使用挡板和胶、夹胶架共同组成电泳芯（图 4b） c. 将 2 块三明治胶板轻轻的推在一起，保证胶板四个角都稳固的靠在夹胶架上的绿色垫条上，保证短板顶部位于绿色垫条顶部凹槽的下方

d. 用一只手轻轻的把三明治胶和绿色垫条挤在一起（要保持胶压力均匀并且不要移位），合上夹胶架的绿色架子。或者，也可以双手抬起整个夹胶架系统，保证胶不要移动，同时合上夹胶架的绿色架子（图 4c）夹胶架的绿色架子将三明治胶的短板与垫条密封，再此确认短板位于垫条顶部凹槽的下方。

在此处，加样孔被缓冲液冲洗，并上样（图 4d）

e. 将电泳芯放入 Mini-PROTEAN Tetra Cell 电泳槽内（图 4e）

Note: 如果跑 3-4 块胶，用辅助电泳芯. 重复步骤 1a - e

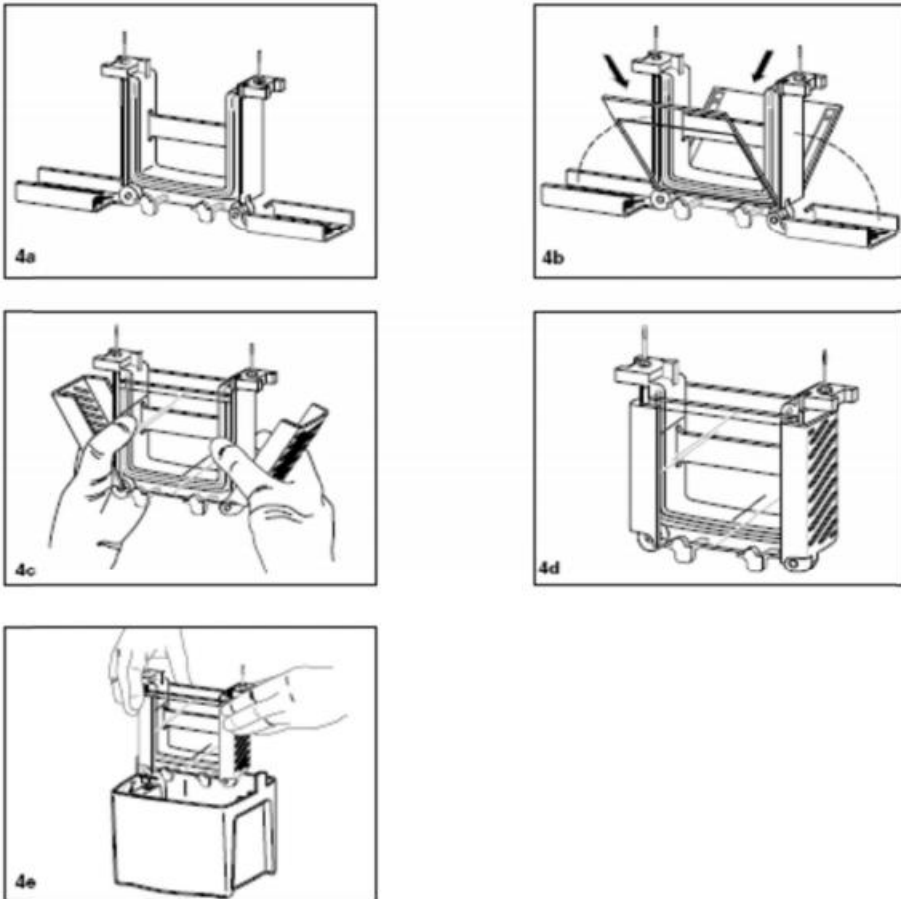


图 4. 安装 Mini-PROTEAN Tetra Cell 电泳芯.

## 2. 将电泳芯放入 Mini-PROTEAN Tetra Cell 电泳槽内

Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽有 2 个放电泳装置的位置：电泳芯位于后面，辅助电泳芯位于前面 a. 将电泳槽放在一个平面上，面朝前（前面有 2 胶和 4 胶的标记）；若方向正确，电泳槽内部顶端的红色标记应位于你的右边，而黑色标记位于左边 b. 如果只跑 2 块胶，你应使用电泳芯装置，因此，将电泳芯放在电泳槽后方的位置，注意红色的电极插孔(+)要对应电泳槽内部顶端的红色标记 c. 如果跑 4 块胶，将电泳芯放在后面，辅助电泳芯（无香蕉插头）放在前面注意每个电泳装置的红色的电极插孔(+)要对应电泳槽内部顶端的红色标记。不正确的装配会导致电泳槽盖不上

## 3. 上样

- a. 在电泳芯位于电泳槽外时加样，将电泳芯放在平面上
- b. 使用 Hamilton 注射器或移液器加样 c. 如果使用 Bio-Rad 专利的上样器，可将其放在电泳芯 2 块胶的中间，可适合 9、10、12、15 孔的上样 d. 用 Hamilton 注射器或移液器从上样器的狭槽处注入样品，并上满相应的加样孔

Note: 注意：缓慢加样，使样品平稳的流入梳孔底部。注意注射器针头或移液器头不要戳破梳孔底部。加样后，将电泳装置放入电泳槽内适当的位置

## 4. Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽安装

- a. 盖上盖子。注意香蕉插头的颜色和插孔一致，盖子上插孔与电泳芯的香蕉插头可防止不正确的装配。注意电泳槽侧边的突起要与盖子上对应的狭缝嵌合。轻轻的均匀用力，使盖子和电泳槽嵌合紧密

## 第四部分 电压状况

- a. 插入电源线，注意电极方向
- b. 打开电源开始电泳，SDS-PAGE 和多数天然凝胶电泳推荐使用 200 V 恒压，时间约为 35min\*

\* 电泳时间按胶浓度不同，约为 35-45min (Tris-HCl 系统)

## 第五部分 Gel Removal

- a. 电泳完成后，关闭电源，拔出电极线
- b. 打开电泳槽盖，小心取出电泳芯，倒掉缓冲液

Note: 请在打开电泳芯前倒掉缓冲液，避免溅洒

- c. 打开电泳芯夹子，取出胶合
- d. 小心的打开 2 块玻璃板
- e. 反转玻板和胶，使胶漂在固定液或转移液上，轻轻晃动，使胶与玻板脱离
- f. 使用后用蒸馏水冲洗电泳槽、盖子、电泳芯、辅助电泳芯、灌胶架、制胶框等

## 第六部分 日常维护

Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽、盖子、电泳芯、辅助电泳芯、灌胶架、制胶框：每次使用后用蒸馏水冲洗干净玻璃板及电泳梳：用实验室去污剂洗涤，蒸馏水彻底冲洗，将长玻板在强碱性溶液中（如 100 mM NaOH）浸泡，不要超过 24hrs。硫酸三铬洗液浸泡 2-3hrs。因避免长时间浸泡，以免损坏封边垫条的粘合性

## 第七部分 疑难解答

问题	原因	解决方案
1. “笑脸” - 胶的两边翘起	a. 胶中央比两端热	a. Buffer 没混匀或上电泳槽浓度高。重新配缓冲液
	b. 工作电压过高	b. 电压设为 150-200v，下电泳槽液加满至高于短板顶部1 cm
2. 纵拖尾	a. 上样量过高.	a. 稀释样品，去除高丰度蛋白或降低电压 25%左右
	b. 样品沉淀	b. 加入 SDS 上样缓冲液前离心样品或降低胶%T 浓度
		c. SDS 应充分覆盖蛋白分子，一般为 1.4: 1。对某些膜蛋白需更高比例的 SDS
3. 横拖尾	a. 在电泳前样品扩散	a. 缩短加样和开始电泳的时间
	b. 样品的离子强度低	b. 使用与胶相同的 buffer
4. 条带扭曲和歪斜	a. 加样孔附近胶聚合不好	a. 制胶前浓缩胶排气；增加 AP 和 TEMED 浓度约 25%；或 AP 浓度不变，TEMED 加倍
	b. 样品含盐过高	b. 样品除盐，透析、脱盐柱或 Micro Bio-Spin™ columns, etc.
	c. 胶面不平	c. 降低聚合速度，小心封胶
5. 胶底部条带变窄	a. 样品的离子强度高	a. 样品除盐.
6. 电泳时间过长	a. 电泳缓冲液浓度高	a. 检查缓冲液浓度，必要时稀释
	b. 样品含盐量过高	b. 样品除盐.
7. 电泳时间过短	a. 电泳缓冲液浓度低	a. 检查缓冲液浓度，必要时浓缩
	b. 电压过高.	b. 减低电压约 25 - 58%.

8. 在SDS-PAGE 凝胶电泳中可观测到单个蛋白的重复点	a. 电泳中蛋白单体再氧化, 或未充分还原	a. 制备新鲜的样品缓冲液; 增加上样 buffer 中 2-巯基乙醇浓度; 用 DTT 取代 BME
9. 条带过少且染料前沿有高浓度条带	a. 蛋白迁移	a. 增加分离胶浓度*
	b. 蛋白降解	b. 加入蛋白酶抑制剂, 如PMSF
10. 上槽泄漏	a. 上槽液过满	a. 上槽缓冲液位于长玻板顶部以下
	b. 装配错误	b. 确保 U 型封条洁净, 无缺口, 并用 buffer 浸润。确保短玻板位于封条刻痕以下
11. 制胶过程中泄漏	a. 玻板有缺口	a. 检查玻板下沿, 不要有缺口
	b. 玻板未放平	b. 恰当的放置玻板
	c. 封胶条脏, 有裂纹或破裂	c. 清洗封胶条, 如有损坏, 更换封胶条
12. 加样孔底部不平	a. 催化剂浓度错误.	a. 制备新鲜的催化剂或将浓缩胶中浓度增加至0.06%APS 和 0.12% TEMED.
	b. 胶溶液没有排气, 氧气催化聚合过程	b. 制胶前排气
13. 电泳梳后方凝胶过厚	a. 催化剂浓度错误	a. 制备新鲜的催化剂或将浓缩胶中浓度增加至0.06%APS 和 0.12% TEMED.
14. 制胶框的凸轮卡锁难以闭合或关闭时有噪音	a. 凸轮卡锁的轴承有粉末等杂物	a. 每次使用前将卡锁冲洗或擦拭干净

\*聚丙烯酰胺凝胶按下列 2 种方式分类 :

- 1) 总单体浓度 (%T)    2) 聚合单体浓度 (%C).

$$g \text{ acrylamide} + g \text{ bis-acrylamide} \times 100\% \text{ Total volume}$$

$$g \text{ bis-acrylamide} \times 100\% g \text{ acrylamide} + g \text{ bis-acrylamide}$$