

PEP-mini 迷你垂直电泳仪

使用说明



目录

一、 基本资料	3
1. 产品简介	3
2. 产品组成	3
3. 化学兼容性	4
4. 安全须知	4
二、 组装及基本操作	5
1. 制备凝胶三明治	5
(1) 组装三明治灌胶槽	5
(2) 灌胶	5
2. 组装电泳模块与上样电泳	6
(1) 组装电泳模块	6
(2) 将电极装置装入缓冲液槽	6
(3) 上样	7
(4) 装配电泳槽	8
(5) 设置电源参数	8
(6) 取出凝胶	8
三、 疑难解答	9
四、 质量保证	11

一、基本资料

1. 产品简介

本产品由迷你垂直电泳槽和制胶装置两部分组成。电泳槽能够容纳 1~4 块手灌胶或预制胶，使用者可根据科研需求灵活地进行选择。制胶装置中特制的制胶架和具有固定边条的玻璃板，可以极大简化制胶流程，并有效防止漏胶的发生。缓冲液槽和上盖也可兼容其它电极组件，用于湿式转印，双向电泳以及电泳洗脱等。

2. 产品组成

为获得最佳效果，在正式使用前，请先熟悉各部件及其组装与分解操作。（参照图 1、图 2）

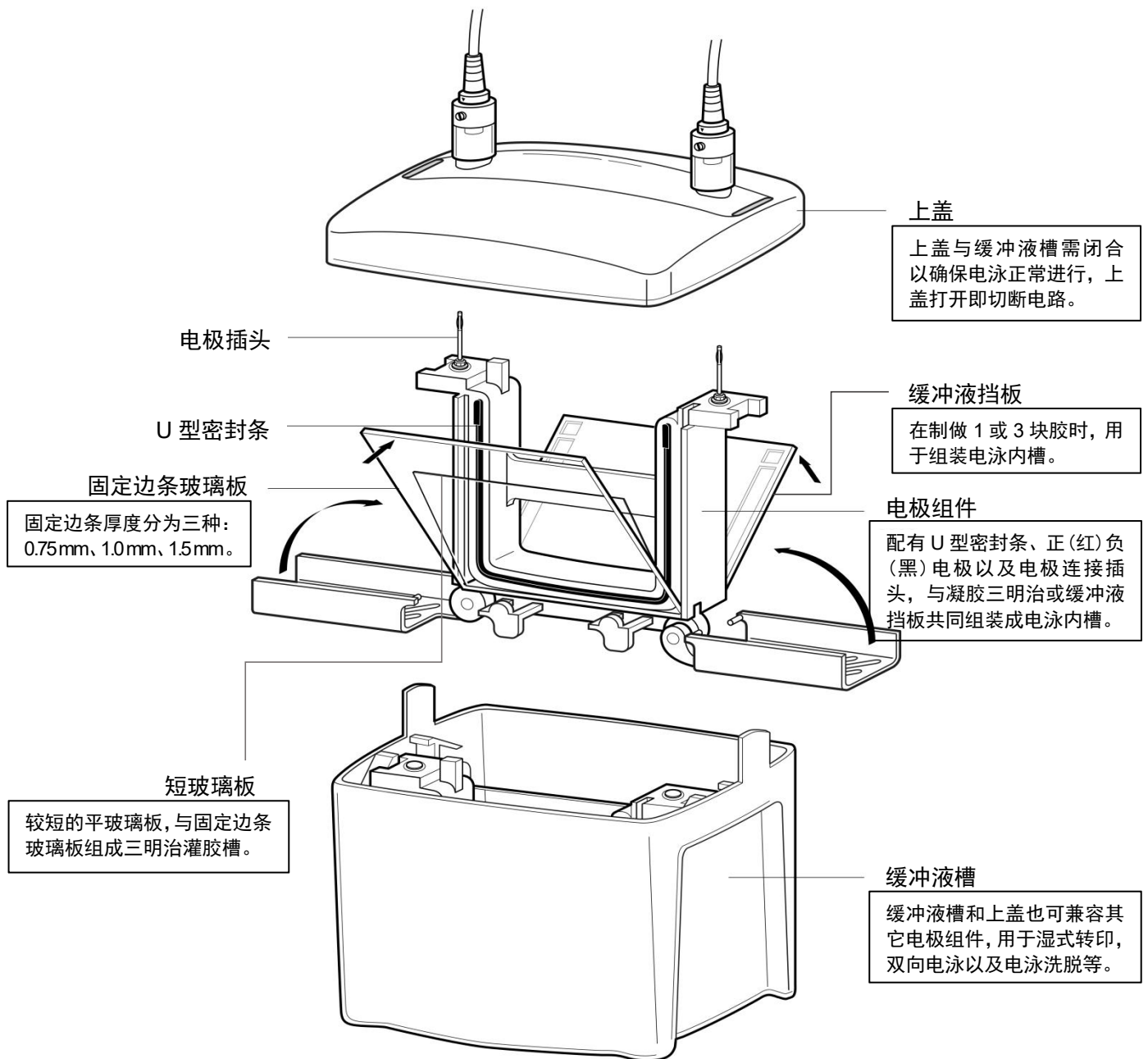


图 1 PEP-mini 电泳槽组装示意图

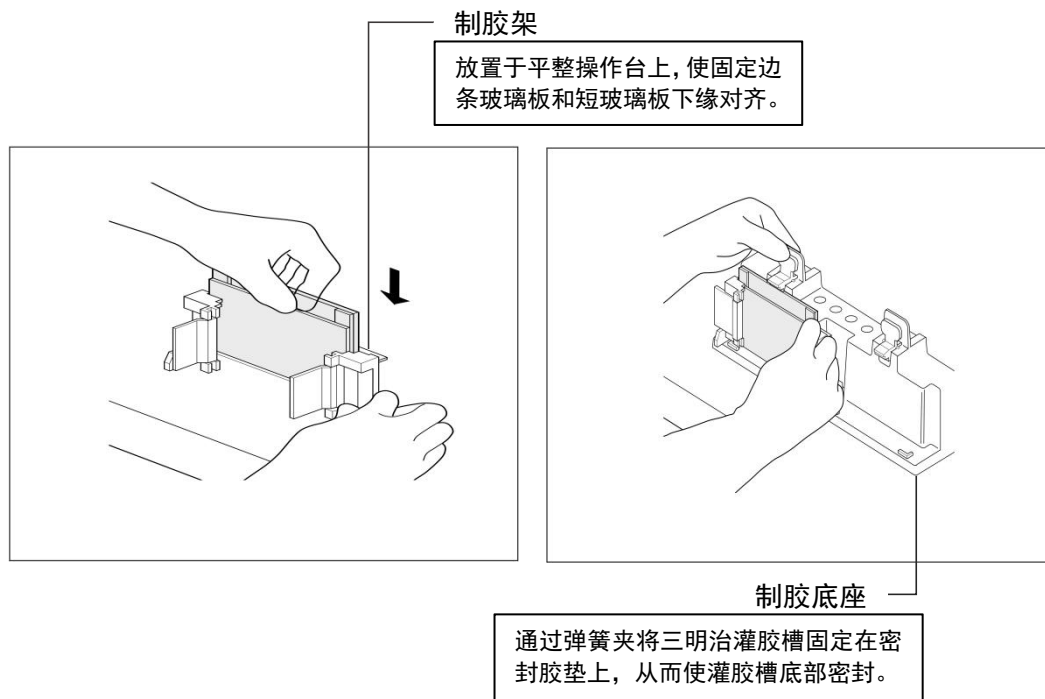


图 2 制胶架和制胶底座组装示意图

3. 化学兼容性

PEP-mini 电泳槽的所有组件均不可接触丙酮或乙醇,使用有机溶剂造成的损坏均不在保修范围之内。

各组件不能反复接触 100% TEMED (四甲基乙二胺)。制胶前用 TEMED 摩擦制胶梳,长期会导致梳子结构完整性的损坏。

4. 安全须知

当上盖被打开时电流即被切断,请勿尝试在没有上盖的情况下使用本设备。

注意: 雅酶产品从设计到生产均符合认定的安全标准,严格按照使用说明进行的操作均是安全的。该设备不可以任何方式进行改造,否则可能会对人身安全造成危害。任何不按照说明书操作导致的意外损害,本公司不承担相关责任。

二、组装及基本操作

1. 制备凝胶三明治

(1) 组装三明治灌胶槽

- 将制胶架垂直放置于水平操作台上，并使其合页处于开放状态；
- 按所需凝胶厚度选择相应的固定边条玻璃板，并将短玻璃板放置其上(见图 3a)；
- 使固定边条玻璃板的标记端向上，将两块玻璃板滑入制胶架中，短玻璃板一面朝向前方(见图 3b)；
注意：确认两块玻璃板平齐处于水平面上，且标记端方向正确。玻璃板未对齐或方向错误会导致漏胶的发生。
- 玻璃板安装到位后关闭制胶架合页，将玻璃板夹紧在制胶架中(见图 3c)。检查两块玻璃板底部是否平齐；
- 保持制胶架合页关闭，将制胶架放置于制胶底座的密封垫上，同时将弹簧夹压在固定边条玻璃板上(见图 3d)，即组装完成三明治灌胶槽；
- 重复步骤 a~e 可组装完成另一块三明治灌胶槽。

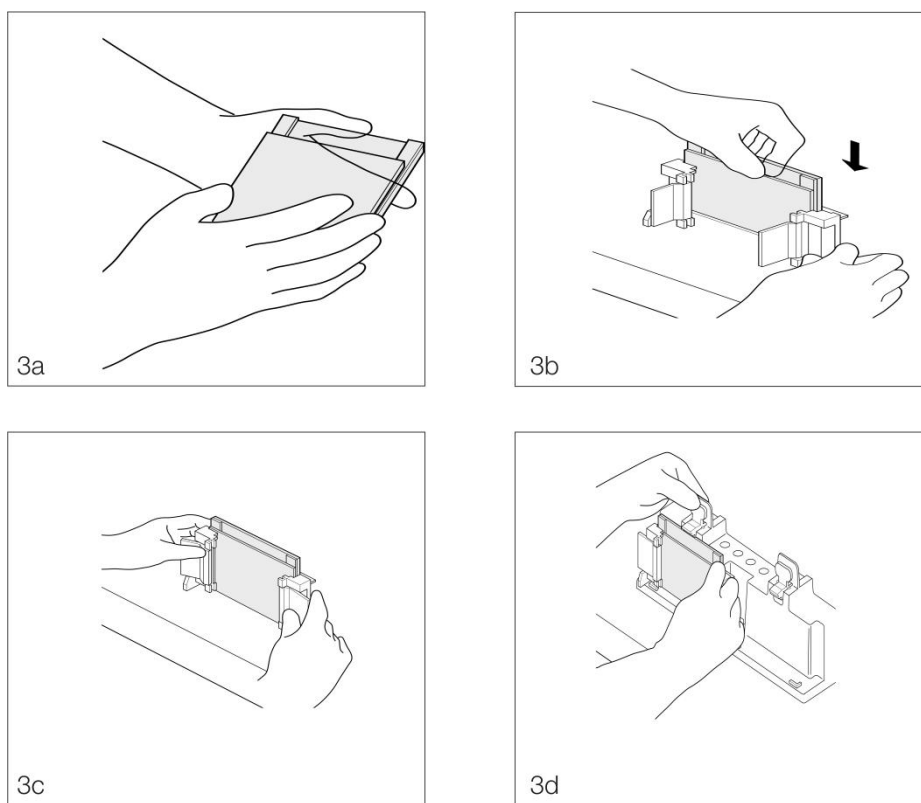


图 3 三明治灌胶槽组装示意图

(2) 灌胶

◆ 不连续聚丙烯酰胺凝胶

- 将制胶梳完全插入组合好的三明治灌胶槽中，在梳齿下端 1 cm 处作标记，此标记即为分离胶高度；
- 根据相应配方，混合所有试剂制作分离胶溶液。将溶液注入两玻璃板之间的灌胶槽中，直至标记处。立即加入适量水或醇(如异丙醇、正丁醇等)覆盖于胶溶液之上；

注意：① 请轻缓注入胶溶液，以防止混入空气；

- ② 如用水覆盖分离胶，须缓慢平稳加入以防水与胶溶液混合。
- c. 放置 45~60 min 使凝胶聚合(或根据不同品牌配胶试剂盒的要求，来判断凝胶情况)，倒去上层水或醇。可用蒸馏水彻底清洗凝胶表面，以去除醇类物质；
注意：请勿使醇类物质停留在凝胶上超过 1 h，以防上部凝胶脱水。
 - d. 配制浓缩胶溶液，并注入灌胶槽中直至与短玻璃板平齐。在边条之间，从上部将制胶梳缓慢插入灌胶槽内的胶溶液中，必须确保梳子两端的突起位于边条之间，完全插入直至梳子背脊与短玻璃板对齐；
注意：注入浓缩胶溶液前，可用滤纸吸干分离胶表面液体。
 - e. 放置 30~45 min 使浓缩胶聚合(或根据不同品牌配胶试剂盒的要求，来判断凝胶情况)；
 - f. 轻轻取出制胶梳，并用蒸馏水或缓冲液彻底清洗凝胶表面；
 - g. 用蒸馏水或去离子水清洗用过的制胶架和制胶底座。
- ◆ 连续聚丙烯酰胺凝胶
- a. 根据相应配方，混合所有试剂制作分离胶溶液。将溶液注入玻璃板之间直至与短玻璃板平齐；
 - b. 在边条之间，从上部将制胶梳缓慢插入灌胶槽内的胶溶液中，必须确保梳子两端的突起位于边条之间，完全插入直至梳子背脊与短玻璃板对齐；
 - c. 放置 45~60 min 使凝胶聚合(或根据不同品牌配胶试剂盒的要求，来判断凝胶情况)；
 - d. 轻轻取出制胶梳，并用蒸馏水或缓冲液彻底清洗凝胶表面；
 - e. 用蒸馏水或去离子水清洗用过的制胶架和制胶底座。

2. 组装电泳模块与上样电泳

所需材料：

洁净干燥的缓冲液槽；

电极组件(1 个电极组件只能用于 1 或 2 块胶电泳，做 3 或 4 块胶电泳则需要 2 个电极组件)；

电泳缓冲液(1 或 2 块胶需 700 mL，3 或 4 块胶需 1000 mL)；

(1) 组装电泳模块

注意：只运行 1 或 2 块胶电泳时只需使用电极头电极组件。运行 3 或 4 块胶时，电极头和蘑菇头电极组件均要使用，每个组件可运行 2 块胶的电泳。

- a. 将电极组件呈打开状态放置于干净平整操作台上(见图 4a)；
- b. 从制胶架上取下制备好的凝胶三明治，并将第一块凝胶三明治以短玻璃板向内的方式，小心放置于电极组件的凝胶支撑架上(位于组件底部且每侧均有两个)。用同样的方法，在另一侧凝胶支撑架上放置第二块凝胶三明治(见图 4b)；
注意：① 凝胶三明治必须以短玻璃板向内的方式放置于电极组件两侧；
② 电极组件需要同 2 块凝胶三明治组合才能形成功能模块。如只需运行 1 或 3 块胶电泳，可使用缓冲液挡板代替一块凝胶三明治。
- c. 同时将 2 块凝胶三明治推向中心靠紧 U 型密封条，并确保短玻璃板上沿顶住密封条上端的台阶(见图 4c)；接着双手同时向内合拢电极组件两侧的卡扣，使其锁定到位，卡扣会推动胶板使短玻璃板紧贴 U 型密封条，以防止漏液(请确认短玻璃板没有压住密封条台阶)(见图 4d)。
注意：① 凝胶三明治压住密封条台阶时，请勿合拢电极组件卡扣；
② 运行 1 或 2 块胶电泳时，请勿将蘑菇头电极组件装入电泳仪中，否则会产生额外的热量，影响电泳分离效果。

(2) 将电泳模块装入缓冲液槽

注意：缓冲液槽具有两个位置可放置两个电泳模块：电极头电泳模块在后，蘑菇头电泳模块在前。

- a. 将缓冲液槽放置于平整工作台上，使正面(具有 2-Gels 和 4-Gels 标记的一面)朝前。如方向正确，槽边缘的红色标记应在右侧，黑色标记在左侧；
- b. 如运行 1 或 2 块凝胶电泳，则只需使用电极头电泳模块，将其置于缓冲液槽的后部位置，使红色(+)电极与槽右侧的红色标记相对应(见图 4e)；
- c. 如运行 3 或 4 块凝胶电泳，那么除在缓冲液槽后部位置放入电极头电泳模块外，还要将蘑菇头电泳模块放入前部位置。确认两者的红色(+)电极与槽右侧的红色标记相对应。如放入位置和方向发生错误，则上盖无法盖合。

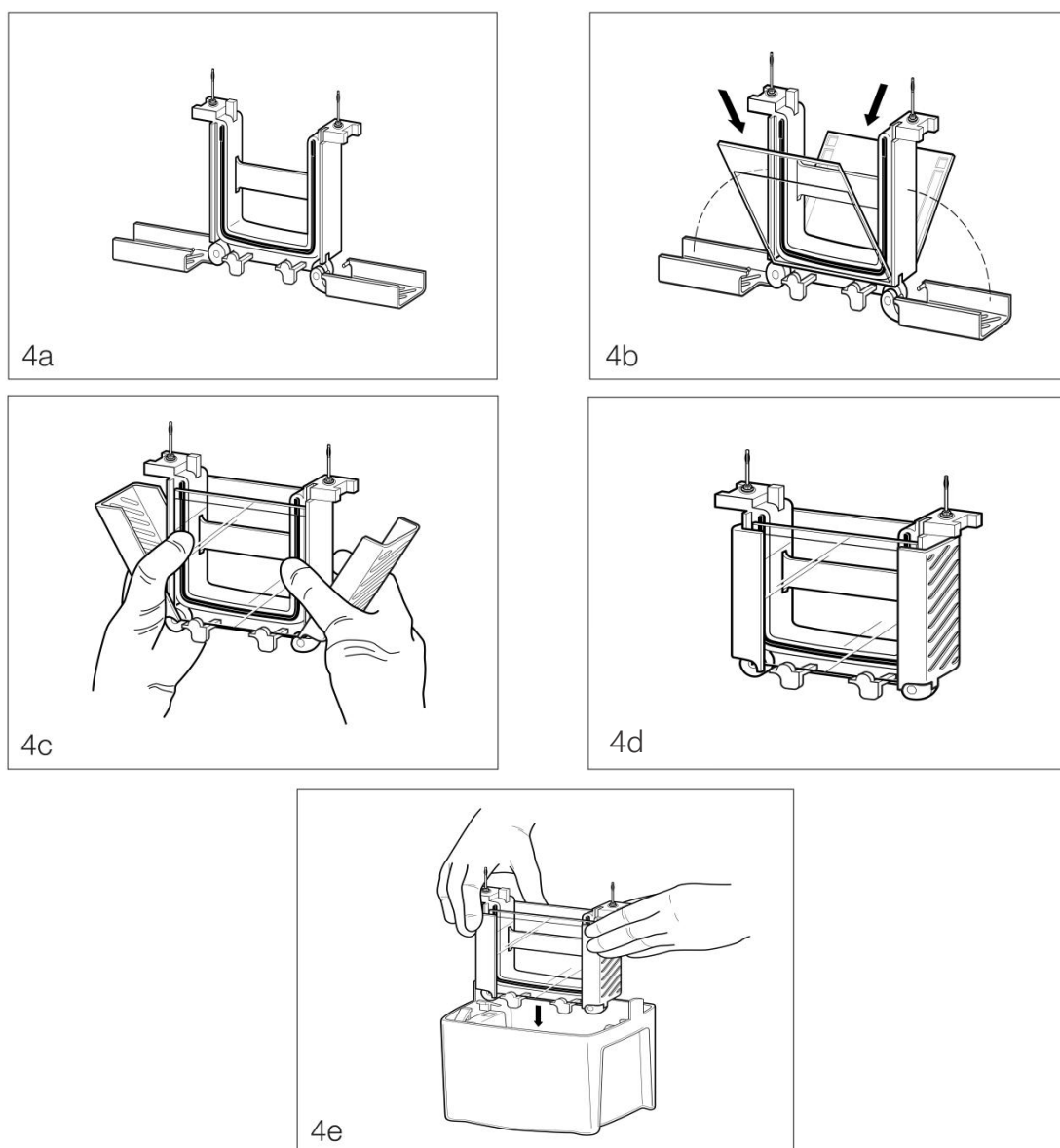


图 4 电泳模块组装示意图

(3) 上样

- a. 向电泳槽中注入电泳缓冲液，内槽加满，外槽至外玻璃板上沿之下，请务必确保内外槽电泳缓冲液不发生联通；
- b. 使用注射器或移液器将样品加入点样孔中(点样孔体积可参考表 1)；

- 注意:** ① 如使用加样架辅助点样, 可将其置于电泳模块的两块凝胶三明治之间, 即可标记出点样孔的位置;
- ② 加样时应使样品缓慢均匀沉降于点样孔底部, 请勿用针头或移液器吸头刺破胶孔底部。

孔数	每孔宽度	0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
5	12.7 mm	70 μ L	105 μ L	160 μ L
9	5.08 mm	33 μ L	44 μ L	66 μ L
10	5.08 mm	33 μ L	44 μ L	66 μ L
15	3.35 mm	20 μ L	26 μ L	40 μ L

表 1 凝胶每点样孔最大上样量

(4) 装配电泳槽

将上盖盖在缓冲液槽上。确认插头与插孔的颜色标记相对应, 上盖附带的障碍物也可防止匹配错误。

注意: 缓冲液槽两侧的突出部分应从上盖的狭缝中穿出, 以保证上盖的正确闭合。此时需持续用力按压上盖, 直到压紧在缓冲液槽上。

(5) 设置电源参数

- 将电源线插头插入电泳仪电源相应正负极插孔中;
- 给 PEP-mini 垂直电泳仪通电开始电泳。不同应用其优化的电压条件不尽不同, 恒压 200V 是 SDS-PAGE 和多数 native PAGE 电泳的推荐条件, 同时适用于 2 块胶和 4 块胶的电泳。在 200V 电压条件下运行 SDS-PAGE, 大约需要 35 min 即可完成。

(6) 取出凝胶

- 电泳完成后, 关断电源, 拔出电源线插头;
- 移开上盖, 小心取出电泳模块, 倒出内槽电泳缓冲液。为防止缓冲液漏洒, 请在打开卡扣前倒掉缓冲液;
- 打开电极组件卡扣, 取出凝胶三明治;
- 轻轻分离两块玻璃板, 从凝胶三明治中取出凝胶。可保持胶面向下, 将胶与玻璃板浸泡在缓冲液中, 使凝胶与玻璃板分离;
- 用蒸馏水或去离子水清洗 PEP-mini 垂直电泳槽的电泳组件、缓冲液槽等。

三、疑难解答

问题	原因	解决方案
条带呈“微笑表情”——胶两端条带向上弯曲	胶中央温度高于两端 电源功率过大	电泳缓冲液没有混合均匀或内槽中的缓冲液浓度过高。重新配制电泳缓冲液，特别当稀释 5× 或 10× 储液时，要确保混合均匀 将设定电压从 200V 调为 150 V；或将外槽缓冲液添加至短玻璃板上沿以下 1 cm 之内
条带垂直拖尾	上样量过大 样品中有沉淀	稀释样品，选择性清除有影响的蛋白，或者将电压减小 25% 以弱化拖尾 在加入上样缓冲液前，将样品离心，或减小凝胶的浓度 上样缓冲液中要加入足量 SDS，以确保蛋白表面被 SDS 覆盖完全。SDS 对蛋白的比例一般为 1.4 : 1，但某些膜蛋白可能需要更多的 SDS
条带横向散布	电泳未开始前，样品已发生扩散 样品离子强度低于凝胶	尽量缩短从上样到开始电泳之间的时间 在样品中使用与凝胶相同的缓冲液
条带扭曲或歪斜	点样孔聚合状况不佳 样品含有盐分 浓缩胶和分离胶接触面不平	将 APS 和 TEMED 的用量提高 25%；对于浓缩胶和低浓度分离胶，也可以维持 APS 用量不变，将 TEMED 用量加倍 透析除盐或用脱盐柱除盐 液封时，须轻柔缓和加入水或醇，避免其冲入浓缩胶溶液中
泳道中的蛋白条带在胶底部收缩	样品离子强度高于周围凝胶	对样品及邻近点样孔的样品进行脱盐
电泳时间明显延长	电泳缓冲液浓度过高 样品所含盐分过多	检查电泳缓冲液配方，根据需求将其稀释或重新配制 对样品进行脱盐处理

问题	原因	解决方案
电泳速度过快	电泳缓冲液浓度过低 电压设定过高	检查电泳缓冲液配方，根据需求将其浓缩或重新配制 将电源电压适当调低
单一蛋白却出现两条蛋白条带 (SDS-PAGE)	部分该蛋白可能在电泳过程中被再氧化；或在电泳前未被完全还原。	重新配制上样缓冲液，增加缓冲液中还原剂 (β -me、DTT 等) 的浓度；或把 DTT 换成 β -me
条带比预期的少，且示踪染料前沿有颜色很深的带	蛋白质迁移到示踪染料前沿 样品蛋白发生降解	提高分离胶的浓度 使用蛋白酶抑制剂
内槽漏液	电泳模块组装不当	确保 U 型密封条干净无缺口，并且短玻璃板上沿须在 U 型密封条顶端的台阶之下
手工灌胶时发生漏液	玻璃板有缺口 固定边条玻璃板和短玻璃板底部没有对齐 制胶底座的密封垫有污渍或者有裂纹、磨损等	确保玻璃板完好无缺 确保玻璃板排列正确 清洗干净制胶密封垫；更换破损的密封垫
点样孔底部成型差	催化剂使用量不当	配制新鲜催化剂溶液；或提高浓缩胶中催化剂浓度至 0.06% APS 和 0.12% TEMED
制胶架合页很难闭合或有杂音	制胶架合页的轴有粉末残留	每次使用前必须清洗或擦去粉末残留物

四、质量保证

雅酶 PEP-mini 垂直电泳仪为用户提供为期三年的质量保证。其间凡由产品的原料及制作工艺造成的产品缺陷，本公司均负责免费维修或更换。

如有下列情况发生，则产品不在质量保证范围之内：

1. 操作不当引起的损坏；
2. 由非本公司指定维修人员维修改造引起的损坏；
3. 一般性易损部件的损坏，如：铂金丝、玻璃板、制胶密封垫、电源线等；
4. 使用有机溶剂造成的损坏。

单位：上海雅酶生物医药科技有限公司

地址：上海市闵行区立跃路 2995 号 1 号楼 5 楼

邮编：201114

电话：400 058 8030

网站：www.epizyme.cn

电子邮件：info@epizyme.cn