

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）。

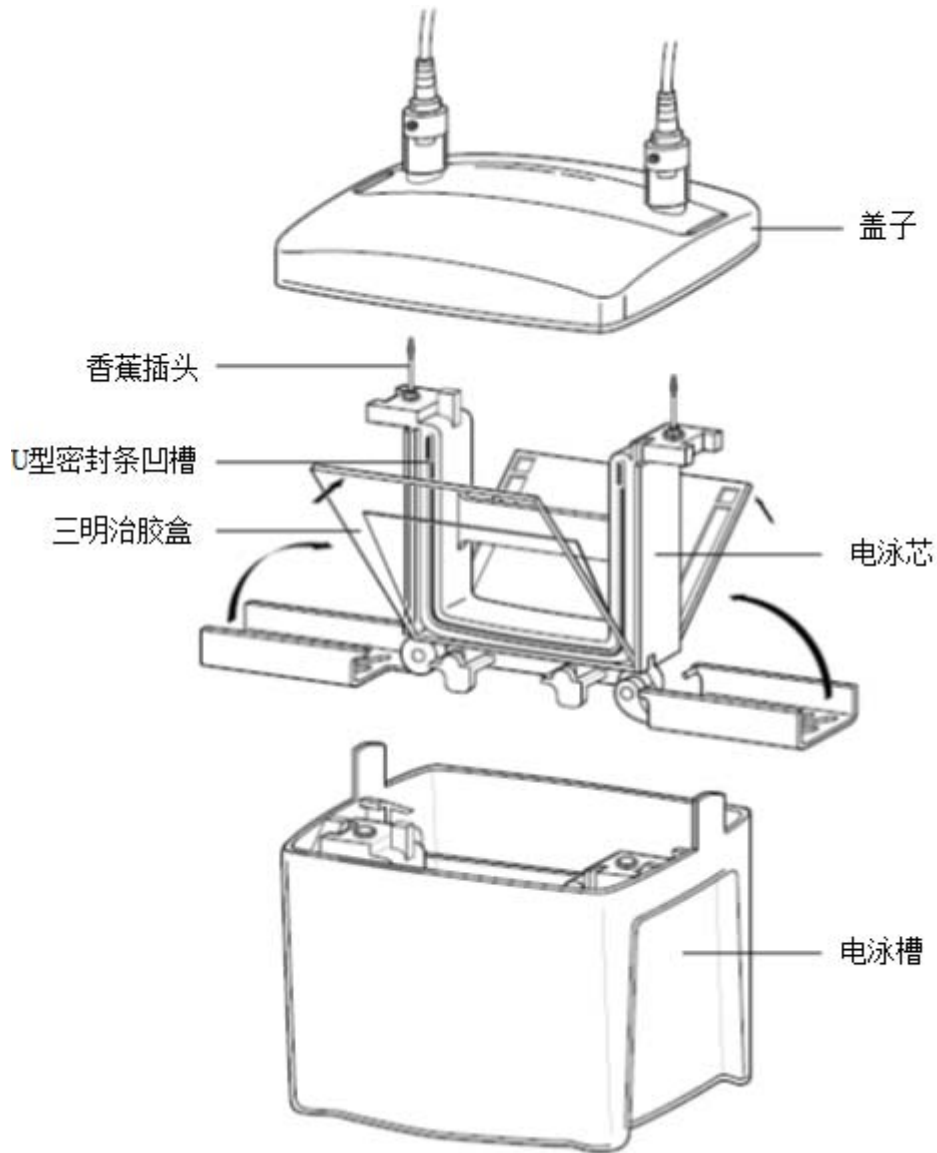


图1. 安装 Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽

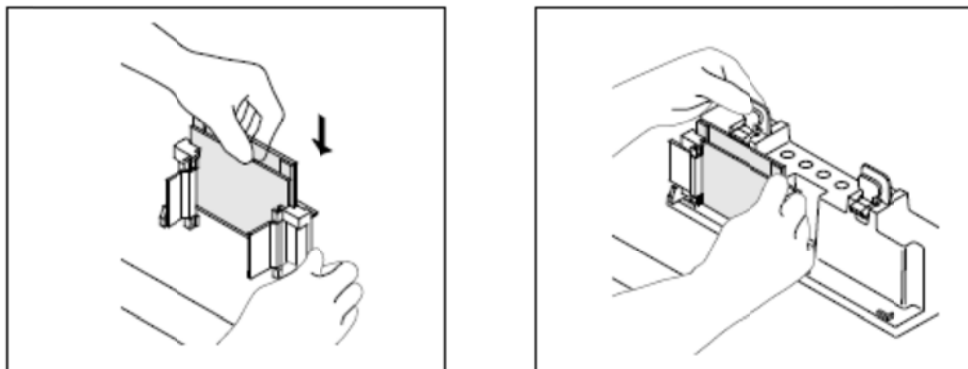


图2. 安装 Mini-PROTEAN Tetra cell 制胶框和灌胶架

电泳梳的每孔最大上样体积

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 μ l	105 μ l	160 μ l
9	5.08	33 μ l	44 μ l	66 μ l
10	5.08	33 μ l	44 μ l	66 μ l
15	3.35	20 μ l	26 μ l	40 μ l
IPG	6.20	—	420 μ l	730 μ l
制备型/双向				
参照孔	3.10	13 μ l	17 μ l	30 μ l
样品孔	71.70	310 μ l	400 μ l	680 μ 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, 短玻璃板冲前 (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。

- d. 锁紧凸轮卡锁，夹紧玻璃板夹心，做成灌胶模块（图3c）。注意玻璃板底部要齐平
- 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璃板（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

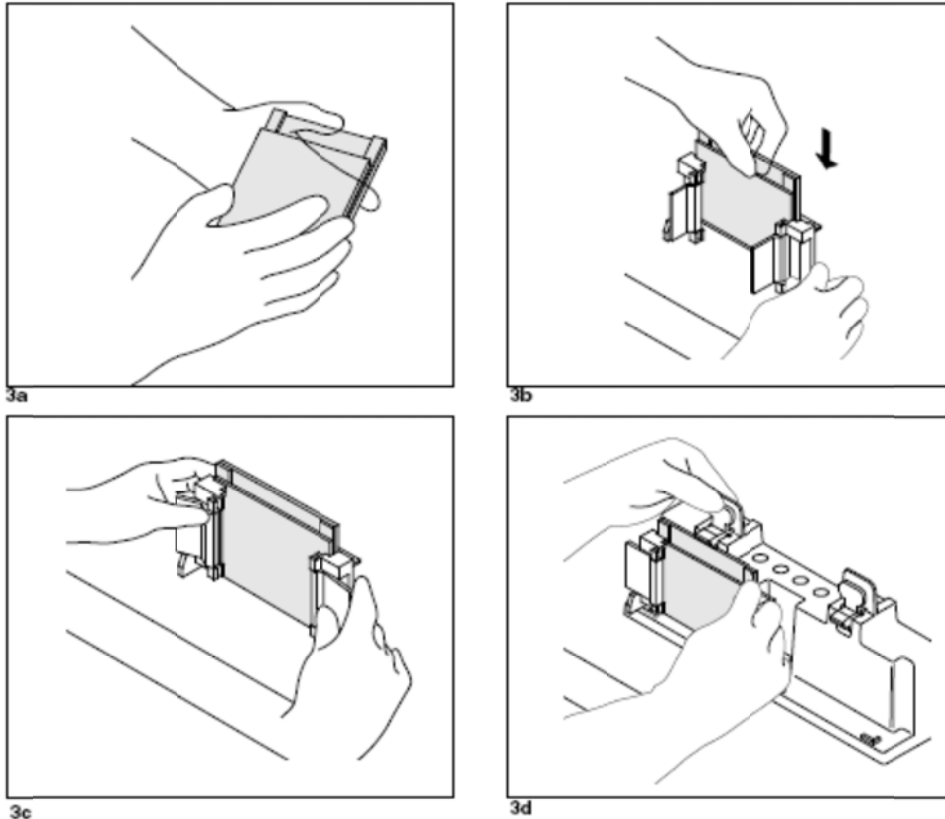


图3. 安装 Mini-PROTEAN Tetra cell 制胶框和灌胶架

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：若使用水密封胶，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密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) 密封胶。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璃板顶端，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

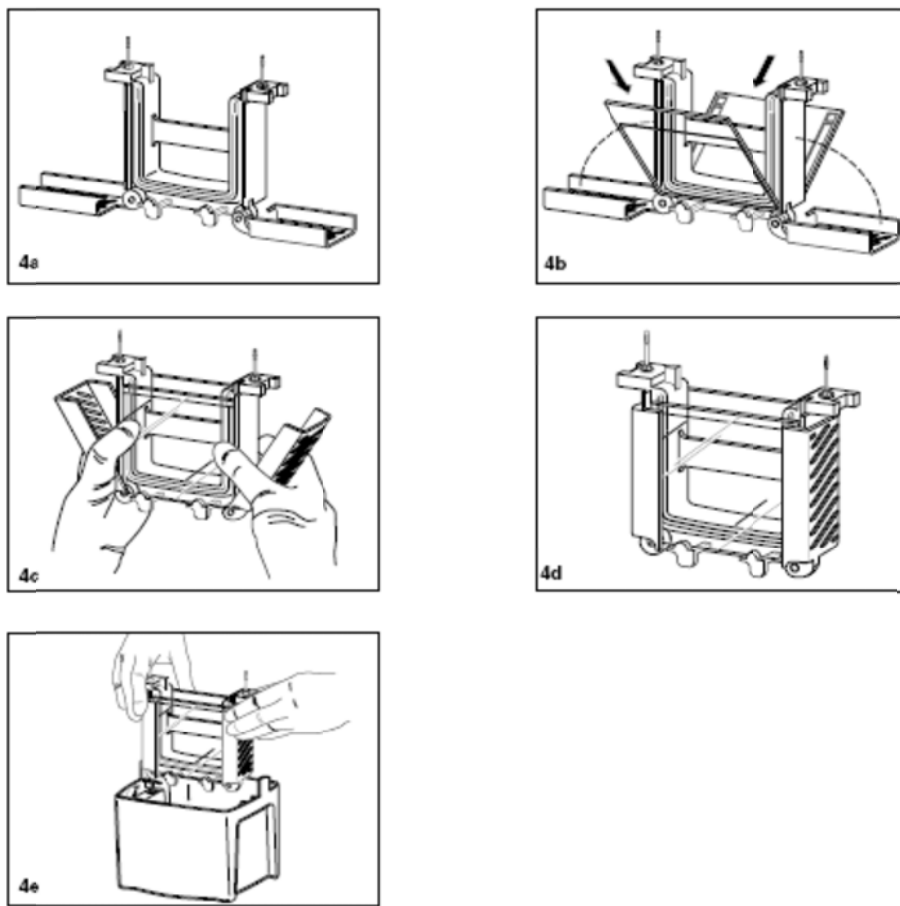


图4. 安装 Mini-PROTEAN Tetra Cell电泳芯.

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

- 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
- 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
- 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

- 在电泳芯位于电泳槽外时加样，将电泳芯放在平面上
- 使用Hamilton注射器或移液器加样
- 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
- 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	a. 凸轮卡锁的轴承有粉末	a. 每次使用前将卡锁冲洗或

闭合或关闭时有噪音	等杂物	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).

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

Total volume

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

$\text{g acrylamide} + \text{g bis-acrylamide}$

第八部分 订货信息及配件

Mini PROTEAN Tetra Systems

165-8000 **Mini-PROTEAN Tetra Cell**, 10 well, 0.75 mm thickness, complete system includes 5 combs, 5 sets of glass plates, 2 casting stands, casting clamp assembly, sample loading guide, electrode assembly, companion running module, tank, lid with power cables, mini cell buffer dam

165-8001 **Mini-PROTEAN Tetra Cell**, 10 well, 1.0 mm thickness, complete system, includes 5 combs, 5 sets of glass plates, 2 casting stands, casting clamp assembly, sample loading guide, electrode assembly, companion running module, tank, lid with power cables, mini cell buffer dam

165-8002 **Mini-PROTEAN Tetra Cell**, 10 well, 0.75 mm thickness; 2-gel system, complete system includes 5 combs, 5 sets of glass plates, casting stand, casting clamp assembly, sample loading guide, electrode assembly, companion running module, tank, lid with power cables, mini cell buffer dam

165-8003 **Mini-PROTEAN Tetra Cell**, 10 well, 1.0 mm thickness; 2-gel system, complete system, includes 5 combs, 5 sets of glass plates, casting stand, casting clamp assembly, sample loading guide, electrode assembly, companion running module, tank, lid with power cables, mini cell buffer dam

165-8004 **Mini-PROTEAN Tetra Cell** for Ready Gel precast gels, electrode assembly, companion running module, clamping frame, tank, lid with power cables, mini cell buffer dam

165-8025 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and PowerPac Basic Power Supply**, includes 165-8001 and 164-5050

165-8026 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and PowerPac Universal Power Supply**, includes 165-8001 and 164-5070

165-8027 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and PowerPac HC Power Supply**, includes 165-8001 and 164-5052

165-8028 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and PowerPac HV Power Supply**, includes 165-8001 and 164-5056

165-8029 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and Mini Trans-Blot Module**, includes 165-8001 and 170-3935

165-8030 **Mini-PROTEAN Tetra Cell (for Ready Gel Precast Gels) and Mini Trans-Blot Module**, includes 165-8004 and 170-3935

165-8031 **Mini-PROTEAN Tetra Cell and Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell**,

includes 165-8001 and 170-3930

165-8032 **Mini-PROTEAN Tetra Cell (for Ready Gel Precast Gels) and Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell**, includes 165-8004 and 170-3930

165-8033 **Mini-PROTEAN Tetra Cell, Mini Trans-Blot Module, and PowerPac Basic Power Supply**, includes 165-8001, 170-3935, and 164-5050

165-8034 **Mini-PROTEAN Tetra Cell (for Ready Gel Precast Gels), Mini Trans-Blot Module, and PowerPac Basic Power Supply**, includes 165-8004, 170-3935, and 164-5050

165-8035 **Mini-PROTEAN Tetra Cell, Mini Trans-Blot Module, and PowerPac HC Power Supply**, includes 165-8001, 170-3935, and 164-5052

165-8036 **Mini-PROTEAN Tetra Cell (for Ready Gel precast gels), Mini Trans-Blot Module, and PowerPac HC Power Supply**, includes 165-8004, 170-3935, and 164-5052

Casting Modules

Each casting module includes 2 combs, 5 sets of glass plates, 2 casting stands, 4 casting frames, and the appropriate Sample Loading Guide

	0.75 mm Spacer	1.0 mm Spacer	1.5 mm Spacer
5-well	165-8008	165-8013	165-8019
9-well	165-8009	165-8014	165-8020
10-well	165-8010	165-8015	165-8021
15-well	165-8011	165-8016	165-8022
Prep/2-D well	165-8012	165-8017	165-8023
IPG well	N/A	165-8018	165-8024

Hand Cast Gel Accessories and Replacement Parts

165-3303 **Mini-PROTEAN Casting Stand**

165-3304 **Mini-PROTEAN Casting Frame**

165-3305 **Mini-PROTEAN Casting Stand Gaskets (2)**

165-3308 **Short Plates, 5**

165-3309 **Spacer Plates With 0.5 mm Internal Spacers, 5**

165-3310 **Spacer Plates With 0.75 mm Internal Spacers, 5**

165-3311 **Spacer Plates With 1.0 mm Internal Spacers, 5**

165-3312 **Spacer Plates With 1.5 mm Internal Spacers, 5**

Other Replacement Parts

165-8037 **Mini-PROTEAN Tetra Electrode Assembly**

165-8038 **Mini-PROTEAN Tetra Companion Running Module**

165-8039 **Buffer Tank, replacement**

165-8040 **Buffer Tank and Lid, replacement**

165-8041 **Cell Lid with Power Cables**

165-3201 **Sample Loading Guide, 9 well (red)**

165-3146 **Sample Loading Guide, 10 well (yellow)**

165-3103 **Sample Loading Guide, 12 well (green)**

165-3132 **Sample Loading Guide, 15 well (blue)**

165-3130 **Mini Cell Buffer Dams, 2**

165-3149 **Replacement Gaskets for Electrophoresis Assembly, green, 2**

161-0990 **Empty Ready Gel Cassettes, 10**

Combs

Combs	0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
5-well	165-3352	165-3357	165-3363
9-well	165-3353	165-3358	165-3364
10-well	165-3354	165-3359	165-3365
15-well	165-3355	165-3360	165-3366
Prep/2-D well	165-3356	165-3361	165-3367
IPG well	—	165-3362	165-3368