第3章 常见实验室仪器使用指南

ուլու այլանակին իրիկան անդիան արկարարիկան այլանակին իրիկան այլիային արկան արկային ին ին արանական այլան այլան ա

第1节 多功能酶标检测仪

【仪器名称】酶标仪。

【仪器用途】MTT测定,用BCA法测定蛋白质浓度。

【仪器简介】

酶标仪(图 3-1-1)阅读速度快,软件功能强大,预装有校验规程,内置打印机,体积小巧,具有多语言界面(英文、日文、中文和俄文),能单独使用内置软件或者通过 Microplate Manager 软件和 PC 或 Mac 联机使用。iMark 酶标仪的波长范围是 400~750nm,宽波长范围适合不同的应用领域,易于操作的 8 位滤光片轮,可以满足多种应用需要,如使用显色底物的 ELISA 反应、蛋白浓度测定(Bradford 和 Lowry 法)以及 DNA 浓度定量测定等。iMark 酶标仪是电动进样门,具有速度可调的板震荡功能,在快速读板模式下,只需要 6s 就可读完全部 96 孔板或者 10s 就可完成双波长检测。



图 3-1-1 酶标仪外观

【操作规程】

- 1. MTT 测定
- (1) 打开仪器电源(图 3-1-2), 待仪器初始化后, 输入密码"0000", 按 Enter 键, 进入主界面, 仪器预热 10min。
 - (2) 选择需要的波长: 在主界面 (参数界面), 按 "Memory Recall (图 3-1-3) →程序→

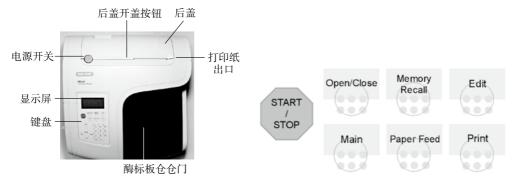


图 3-1-2 酶标仪结构说明

图 3-1-3 酶标仪面板

终点法→2(单波长 OD490)"。

- (3)选择完波长后,放入96孔板(取下96板上盖),按"START/STOP"键进行读板,数据自动打印或连接电脑即可获得。
 - (4)结束后取出96孔板,关闭仪器电源。

2. BCA 浓度测定

- (1) 打开仪器电源, 待仪器初始化后, 输入密码"0000", 按 Enter 键, 进入主界面, 仪器预热 10min。
- (2)选择需要的波长: 在主界面 (参数界面), 按 "Memory Recall →程序→终点法→ 3 (单波长 OD₅₇₀)" (BCA 检测波长为 562nm)。
- (3)选择完波长后,放入96孔板(取下96板上盖),按START/STOP键进行读板,数据自动打印或连接计算机即可获得。
 - (4)结束后取出96孔板,关闭仪器电源。

- (1)该仪器内置 4 个波长的滤光片,分别是 OD_{450} 、 OD_{490} 、 OD_{570} 、 OD_{630} 。可以根据具体需要设定单波长测定或者双波长测定。
 - (2)每次测定前要提前打开仪器电源,将仪器预热 10min 以上。
 - (3)放入96孔板时,务必将96孔板的盖子拿掉。

第2节 Western blot 垂直电泳槽

【仪器名称】迷你垂直电泳槽。

【 仪器用途】 SDS-PAGE, Western blot。

【仪器简介】

迷你垂直电泳仪(图 3-2-1)采用聚丙烯酰胺凝胶分离生物大分子,如蛋白质、核酸等。 仪器主要包括 4 个部分:凝胶模具、印迹模具、下层缓冲液槽和安全电源盖,用于 2-D 电泳。miniVE 能同时容纳 2 个凝胶模具或 2 个印迹模具,即一次可以进行 2 块凝胶或 4 块凝胶的转印。配合 10cm×10.5cm 或 10cm×8cm的玻璃板,可运行 8cm×9.5cm 或 8cm×7cm的凝胶,9.5cm 胶的分离长度比传统的 7cm 胶长 30%。电泳和转印是同一个模具,配合转印三明治夹和海绵即可进行 Western blot 实验。

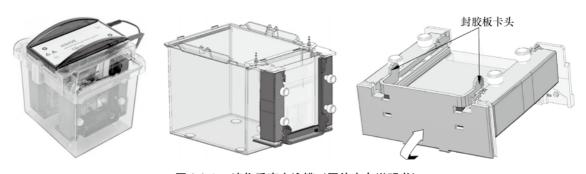


图 3-2-1 迷你垂直电泳槽(图片来自说明书)

【操作规程】

- (1) 用去污剂刷干净灌胶面玻璃。
- (2)将干净的隔条放在两个玻璃板之间[图 3-2-2(a)],带缺口的一块放在下方,缺口朝上,在平整的桌面将两块玻璃板下方对齐。
 - (3)将本体水平放置,松开本体上的螺栓,拉开左、右滑块「图 3-2-2(b)]。
- (4)放入两块玻璃组成的凝胶室,带凹口的朝向电极头一端,合上滑块,垂直放置本体,拧紧螺丝,锁紧凝胶室[图 3-2-2(b)]。
- (5)检查凝胶室的两块玻璃板底部是否对齐并紧贴本体底端。如果没有对齐或者没有紧贴本体底端,可稍微拧松锁紧的螺丝,用手向下压两块玻璃板,使其对齐(**注意**:如果不压紧对齐,有可能会出现漏胶现象)。
 - (6)将本体放入制胶架,装入底板使其玻板底部压紧,扣上底座「图 3-2-2(c)]。
 - (7)加入水放置 20min 左右,观察是否漏水。如果漏水,检查后重新安装。如果不漏

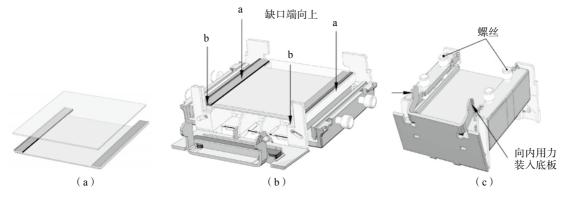


图 3-2-2 迷你垂直电泳槽安装示意图 (图片来自说明书)

水,即可进行下一步实验。

(8)制胶(非连续变性胶)。

不同浓度的分离胶和浓缩胶配制方法如表 3-2-1 和表 3-2-2 所示。

胶浓度	配胶体积/ml	ddH_2O	丙烯酰胺 (30%)	TrisHCl8.8 (1.5mol/L)	SDS (10%)	APS (10%)	TEMED
8%	6	2.74	1.63	1.5	0.06	0.06	0.0024
	12	5.48	3.26	3	0.12	0.12	0.0048
	18	8.22	4.89	4.5	0.18	0.18	0.0072
10%	6	2.4	1.98	1.5	0.06	0.06	0.0024
	12	4.8	3.96	3	0.12	0.12	0.0048
	18	7.2	5.94	4.5	0.18	0.18	0.0072
12%	6	1.92	2.4	1.5	0.06	0.06	0.0024
	12	3.84	4.8	3	0.12	0.12	0.0048
	18	5.76	7.2	4.5	0.18	0.18	0.0072
15%	6	1.38	3	1.5	0.06	0.06	0.0024
	12	2.76	6	3	0.12	0.12	0.0048
-	18	4.14	9	4.5	0.18	0.18	0.0072

表 3-2-1 分离胶的配制

表 3-2-2 浓缩胶的配制

配胶体积	ml ddH ₂ O	丙烯酰胺 (30%)	TrisHCl6.8 (1mol/L)	SDS (10%)	APS (10%)	TEMED
3	2.1	0.5	0.38	0.03	0.03	0.003
6	4.2	1	0.76	0.06	0.06	0.006
9	6.3	1.5	1.14	0.09	0.09	0.009

- 1)分离胶制备:根据蛋白质分子质量选择所需胶浓度,按表 3-2-1 配制分离胶(一对标配玻板所制凝胶需 6ml 凝胶,配制时,请多配制一些,以防不够),不加入 TEMED 和 APS。混匀后再加入所需 APS 和 TEMED,再小心混匀。然后用 1ml 加液器将凝胶液加至长、短玻璃间的缝隙内,约 8cm 高,再沿长玻璃板板壁缓慢注入少许水,高 3~4mm,进行水封。约30min 后,凝胶与水封层间出现折射率不同的界线,则表示凝胶完全聚合。倾去水封层的蒸馏水,再用滤纸条吸去多余水分(注意:滤纸不能碰到胶面)。
- 2)浓缩胶的制备:按表 3-2-2 配置 3%浓缩胶(一对标配玻板所制凝胶需 2ml 凝胶,配制时,请多配置一些,以防不够)。混匀后用 1ml 移液枪将浓缩胶加到已经聚合的分离胶上方,直至距离短玻璃板 0.5cm 处,轻轻将样品槽模板插入浓缩胶内(梳子),避免带入气泡,约 15min 后,凝胶聚合。待凝胶完全凝固后,松开凸轮,取出本体组合,放入下槽。将Running buffer 缓冲液倒入上、下贮槽中,应没过短板约 0.5cm 以上,小心拔去梳子,用移液器吹打样品孔以去除没有凝固的胶,即可准备加样。
- (9)加样:各标准蛋白及蛋白样品都用样品缓冲液溶解,使其浓度为0.5~1mg/ml(注意:样品浓度太高或太低效果都不好),将处理好的蛋白样品(沸水煮后)在室温条件下(离心1min后)放置备用,一般加样体积为10~15µl(2~10µg蛋白质),用移液器小心将样品加到样品孔底部,待所有样品孔内都加了样品,即可开始电泳(如果样品数量较少,可在剩余的样品孔内加入缓冲液,可减少边缘效应)。
- (10)电泳:加样后,安装上盖,将电泳仪导线插入电源。将直流稳压电泳仪开关打开, 开始时将电压调至140V,待样品进入分离胶后,可将电压调至160V。当蓝色燃料迁移至底 部时(根据所检测蛋白分子质量大小决定跑胶时间),关闭电源,拆掉电泳仪,取出玻璃板, 用红色取胶器轻轻将一块玻璃撬开移去,在胶板一端切除一角作为标记,对胶进行转膜或者 染色。

- (1)必须洗干净配胶用的玻璃板。
- (2)每次配胶之前一定要检测胶槽是否漏水。
- (3) 电泳时不要插错正负极。
- (4)分离胶浓度根据所要检测蛋白的分子质量确定,一般原则是蛋白分子质量越大,分 离胶浓度越小,反之亦然。
 - (5) 电泳时间也根据所要检测蛋白分子质量进行调整。

第 3 节 Western 垂直转印仪

【仪器名称】迷你垂直转印仪。

【 仪器用途 】 SDS-PAGE, Western Blot。

【仪器简介】

迷你垂直转印仪(图 3-3-1)可快速、高质量地完成小型凝胶转印,将蛋白样品转移到硝酸纤维膜、PVDF 膜等介质上。本产品与电泳仪电源组成电泳装置,对电泳后的凝胶进行蛋白质(酶)或核酸的转移。该产品可在 1h 内转印 2 块 10cm×7.5cm 凝胶,也可以进行低强度的隔夜转印。电极丝相距 4cm 以产生强电场保证高效的蛋白转印,彩色标记的转印夹和电极确保转印过程中凝胶的正确定向,蓝色致冷芯可完全置于小型转印槽内,在快速转印过程中吸收热量。



图 3-3-1 迷你垂直转印仪 (图片来自 BIO-RAD 官方网站)

【操作规程】(以蛋白质转移为例)

全程戴手套操作,以免污染转印槽!

- (1) 电泳后 SDS-PAGE 胶片浸在转印缓冲液中,洗 2~3 次,每次 10min。
- (2) 取出转印槽, 先小心放一搅拌子在底部, 再倒一半转印缓冲液。
- (3)取1张硝酸纤维素膜(7cm×8cm大小)、2张滤纸(7cm×8cm大小)及2个海绵垫,放在装有转膜缓冲液(transfer buffer)容器中浸泡10min后使用(以转一块胶为例,如果转2块胶,按比例增加用量)。
- (4)取出转印夹,打开平放,先垫一张方形海绵垫,铺上一张湿滤纸,小心平铺 SDS-PAGE 胶上去,然后小心放上已润湿的转印纸,用玻璃棒赶出气泡;转印纸再滴上数滴缓冲

- 液,加盖一层滤纸及另一张海绵,不可有气泡,即可把整个转印"三明治"卡夹装好。
- (5) 胶放到转印纸时,最好一次成功,不要重做,否则蛋白质色带可能会印上去,最后产生重叠影像。
- (6)将转印"三明治"置入已经放有一半转印缓冲液的转印槽中,注意有转印纸的那一面向正极(红色),胶片那面向负极(黑色)。
- (7)当 "三明治"都放入转印槽后,以转印缓冲液盖满所有的"三明治",小心动一动卡夹,除去附在卡夹内外的气泡,另一侧放入蓝色制冷芯。然后盖上盖子,放到一搅拌器上,打开搅拌器开始搅拌,同时接好电源,装置完成后放置 10min。
- (8)以300mA恒流进行转印,温度会渐渐上升,转印2h左右后中止转印,取出转印 "三明治",打开后依次取出转印纸及胶。此处为了避免温度升得太高导致蛋白降解,一般在4℃条件下进行转印或者在冰浴中进行转印,效果会更好。
 - (9) 具体转印条件要根据蛋白的大小进行优化,注意低温。
- (10)转印后的胶片可以继续染色,看有无蛋白质残留。若电泳时,加有预染标准蛋白质的标记(marker),则可在转印纸上看到彩色的色带,确定转印成功,并可评估转印效率。

- (1) 全程请戴手套操作, 避免污染转印器材。
- (2)转印分子质量大的蛋白质时,延长转膜时间。
- (3)平时注意保持转印仪电泳槽清洁。用完后要彻底清洗,用去离子水冲洗干净,放在 无灰尘处晾干备用。

第4节 化学发光成像仪

【仪器名称】化学发光成像仪。

【仪器用途】Western blot。

【仪器简介】

化学发光成像仪(图 3-4-1)具有专业的化学发光成像分析系统,可对 ECL 发光等直接成像,获得实验结果。该仪器采用全中文软件,操作简便,成像效果好,具有 2750×2200 高分辨率、原生 605 万像素、16bit 图像,并使用 Peltier 技术对电荷耦合元件(charge coupled device, CCD)图像传感器进行深度制冷,可以进行长时间的 ECL 发光成像,并通过像素合并,进一步提高了 ECL 成像的灵敏度。





图 3-4-1 化学发光成像仪

【操作规程】

(1) 启动电脑, 打开仪器电源开关。

单击桌面的"GelCap"图标,启动拍摄软件,进入欢迎界面。CCD开始降温,温度降至-25℃以下即可使用,降温—般需要3~5min。

(2)预览界面。

将待测样品放至样品托盘,放入仪器;可根据需要调整图像清晰度(可选步骤,一般不需要调整);单击停止预览,进入发光图像拍摄。

(3)选择拍摄模式,推荐选择序列拍摄功能。

单张拍摄功能,仅拍摄一张照片;序列拍摄功能,可拍摄一系列不同时间的图片。

(4)序列拍摄功能。

在序列拍摄中, 预设有不同的方案, 可供直接调用; 每个序列拍摄 5 张照片; 单击开始按钮, 开始拍摄。

(5)化学发光图像拍摄。

根据所选序列拍摄时间,分别拍摄化学发光图像。预览窗口显示上一张图片,灰度工具条可调整图片灰度。按"stop"键,可终止后续的图片拍摄。

(6) 拍摄结束,选择调整图像(图 3-4-2),另存为8bit或high bit图像。



图 3-4-2 与图像相关的按钮

(7)使用结束,请及时关闭软件,关闭仪器。

- (1) 打开仪器电源, 启动软件后, CCD 才开始降温!
- (2)使用完毕,请及时关闭软件并且关闭仪器,否则 CCD 将始终处于低温状态!

第5节 石蜡切片机

【仪器名称】手动轮转式石蜡切片机。

【仪器用途】制备组织切片。

【仪器简介】

手动轮转式石蜡切片机(图 3-5-1)用于生产各种不同硬度的薄标本切片,包括软石蜡标本以及硬度更高的标本。这种切片可用于生物、医药和工业领域中的常规或科研实验室。



图 3-5-1 手动轮转式石蜡切片机 (图片来自仪器说明书)

【操作程序】

- (1)取下切片机的防尘罩。
- (2) 将样品头卡紧包埋块(图 3-5-2)。
- (3)将一次性刀片放在刀片夹内夹紧(图 3-5-3)。

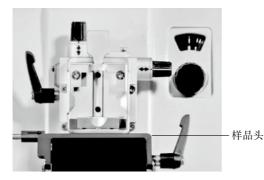


图 3-5-2 样品头

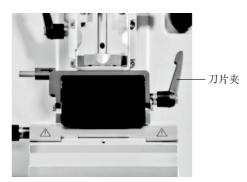


图 3-5-3 刀片夹

- (4)调整切片厚度,一般切片厚度为 5μm (图 3-5-4)。
- (5) 旋转右侧手轮开始切片(图 3-5-5)。



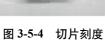




图 3-5-5 切片机手轮

- (6)实验结束后,样品头复位,锁住手轮。
- (7) 依次取下刀片、包埋块,盖上切片机防尘罩。

- (1) 刀片很锋利, 一定要小心安装。
- (2) 切片结束后将手轮放在"lock"位置。

第6节 冰冻切片机

【仪器名称】冰冻切片机。

【 仪器用途 】制备组织切片,用于免疫组织化学等实验。

【仪器简介】

冰冻切片机(图 3-6-1)主要用于制备新鲜和冷冻标本的切片,是借助低温使组织达到一定的硬度,然后再进行切片。和石蜡切片不同,它不需经过固定、包埋和切片后处理等实验步骤,所以能很好地保存组织抗原和酶的活性,因此被广泛应用于临床快速病理诊断的苏木



图 3-6-1 冰冻切片机

精 - 伊红(HE)染色、脂肪黏液染色、酶组织化学、免疫组织化学、免疫荧光、核酸原位杂交,以及原位 PCR 时的生物组织样品的制片以及常规组织样品的制片。冰冻切片机具有两套制冷系统、控制面板键盘锁、10 个冰冻标本存放台。除标本的冷冻、固定在机内操作外,大部分操作可在机外进行。该机操作简单,温度设置合理,冷冻速度快,冷冻温度可达一5~一50℃,可根据需要调整冷冻温度,满足不同组织的最佳切片温度,制备出高质量的切片;该机切片厚度可在 4~60μm 范围内自由调整,所制切片平整无皱折,厚薄均匀,组织结构完整,酶活性及免疫活性较稳定,细胞染色清晰且境界清楚,核质分明、对比度好,如果组织块较大,可做连续切片。

【操作规程】

- (1)将工作室内的温度调至需要的温度,一般为-20℃。
- (2) 将用包埋剂包裹的标本放置在标本台上,放置于工作室内冷冻台上冷冻 0.5h。
- (3)解锁(同锁定)并调节标本台夹的温度至需要温度,一般比工作室温度低 1~2℃。
- (4)将标本台放置在标本台夹中并夹紧,可按"圈"按钮,速冻标本,温度不宜过低,随后待其稳定到设置温度即可切片。
 - (5)调节切片厚度旋钮。
 - (6)将废物槽放置于工作室内指定位置(事先检查是否干燥,干燥时才可放入)。
 - (7) 用调节按键调节标本和刀片的距离,前进为步进式,后退为开关式。

- (8) 放置防卷板,小心轻放,随时保持防卷板清洁。
- (9) 修整标本至待切平面。
- (10) 均匀旋转右手侧转轮切片,不可倒转,否则厚度不均,不用时将转轮卡住,防止意外。
- (11)实验完毕,将废物槽和标本台拿出工作室,用自来水冲洗后放置在桌上晾干。
- (12)将机器调回待机状态:将工作室温度调节至-8℃;锁住标本台夹,先后按"+"和"
 和"
 "
 "按钮,数字旁边有红色闪烁小点为锁定指示。



图 3-7-1 微量离心机外观

第7节 微量离心机

【仪器名称】微量离心机。

【 仪器用途 】 适用于 2ml 以内各种微量体积的离心应用。

【仪器简介】

微量离心机(图 3-7-1)是一种紧凑、操作方便的冷冻型仪器,适用于 2ml 以内各种微量体积的离心应用,如核酸制备、蛋白质分离、细胞收集及 PCR 反应设定等,24×2ml 转头带有ClickSeal 通过 CAMR 认证的防生物污染转头,具有简洁、醒目的控制及显示面板,条件设定和操作极其方便。

【操作规程】(以收集细胞提取 RNA 为例)

- (1)接通电源,打开开关(离心机主体左下侧红色圈内,图 3-7-2),离心机显示如图所示界面(图 3-7-3)。
- (2)设定离心机温度为 4℃ (最右边白框内上下按钮 ▼▲,图 3-7-3),转速为 1000r/min (左边白框内上下按钮 ▼▲),注意转速调节按钮右侧按钮为转速/离心力转换按钮,中间白框内上下按钮为时间调节按钮 ▼▲,调好后,盖好内、外盖子,按"start"键,提前空转预冷 10min。



图 3-7-2 图示离心机开关部位



图 3-7-3 图示离心机显示屏

- (3)将欲收集的细胞转移至离心管中,称量各管重量,成对配平。
- (4)将配平好的离心管对称放入离心机,调好转速或离心力以及时间,盖好内、外盖子,按"start"键开始离心。
 - (5) 离心结束后,按 "open"键打开离心机,取出样品,盖好机器盖子。

- (1) 离心管液体一定要对称平衡放置。
- (2) 若进行低温离心,用完后应将机门打开,待腔内无冷凝水后,再将盖子关闭。

第8节 PCR 仪

【仪器名称】PCR仪。

【仪器用途】适用于 DNA 片段扩增的应用。

【仪器简介】

PCR 仪(图 3-8-1)是一款操作界面友好,可兼容 PCR 标准管、PCR 八联管和 96 孔 PCR 板的仪器。它具有以下特点:使用直观的触摸屏,可缩短编程时间;在一次运行中使用温度梯度优化 PCR 条件,从而更快地获得良好的结果;采用紧凑设计

来节省宝贵的工作台空间;通过个性化文件夹或 USB 闪存很好地保存反应程序;具有保护循环仪热电组件的稳固设计。

【操作规程】

(1) 打开仪器电源,机器进入自检界面,自检结束后显示各功能菜单(图 3-8-2)。可以在"Saved Protocols"菜单下选择运行一个已有的 PCR 程序,也可以通过"New Protocol"菜单新建立一个 PCR 程序。

(2) 建立一个 PCR 程序: 单击 "New Protocol" 菜单, 进



图 3-8-1 PCR 仪 (图片来自仪器说明书)

人建立新程序界面(图 3-8-3)。建立新程序界面(图 3-8-3)。建立新程序界面主要包括以下设定内容, PCR 反应混合液的体积设定(Volume), PCR 仪热盖温度设定(Lid), 以及 PCR 程序的温度、时间和循环数等参数设定,参数设定完成后,可以按"Save"键存储程序,也可以按"Run"键立即运行程序。



图 3-8-2 图示 PCR 仪设定界面



图 3-8-3 新程序界面设定

- (3)设定 PCR 参数
- 1)单击第一个"95℃"位置,设置第一步的 DNA 变性温度,不同 DNA 聚合酶对温度

的要求稍有差异,一般在 94~98℃之间; 然后,单击下方时针的"3:00"处,设置 DNA 变性时间,一般为 3~5min。

- 2)单击第二个"95℃"位置,设置 PCR 循环时的 DNA 变性温度,与第一步的 DNA 变性温度相同;然后,设置 DNA 变性时间,一般为 30s。
- 3)单击"55℃"位置,设置 PCR 循环时的引物与模板 DNA 之间的退火温度,具体数值由引物长度决定,一般为 $55\sim60$ ℃;然后,设置退火,一般为 30s。
- 4)单击第一个"72℃"位置,设置 PCR 延伸温度,此温度一般为 72℃,不需要更改;但延伸时间需根据待扩增的目的片段长度而定,一般 Taq 酶的扩增速度是 1min/kb。
 - 5) 单击"34×"位置,设置 PCR 循环数,一般为 25~35,具体数量要根据模板丰度而定。
- 6)单击第二个"72℃"位置,设置最后的 PCR 延伸温度,此步是将前期 PCR 循环中可能没有扩增完全的目的片段补扩增完全;时间一般设定为 5~10min。
- 7)最后,将光标移至" 12° "位置处,设置 PCR 完成后的保温温度,为了保护 PCR 仪,一般设为 16° C,时间为无穷大。在时间允许的情况下,PCR 结束后应立即结束程序,关闭 PCR 仪,以降低仪器损耗。
- 8)设定完毕后,按"Run"键运行程序,根据提示设定 PCR 体积参数(范围 10~200)(图 3-8-4),设定完毕后,单击"OK"即可运行程序。



图 3-8-4 PCR 仪器使用体积参数设定

- (1) PCR 完毕后应立即取出样品,不能及时取出时,可在设定 PCR 的保温参数时将温度设为 16%。
- (2) PCR 完毕。取出样品后立即将 PCR 仪的盖子盖好,以免灰尘进入 PCR 仪模块孔内影响机器加热精度。

第9节 凝胶成像系统

【仪器名称】凝胶成像系统。

【仪器用途】DNA、RNA 等凝胶电泳及图像分析。

【仪器简介】

凝胶成像分析系统(图 3-9-1)主要用于电泳凝胶图像的采集和分析。与传统紫外凝胶成像不同的是,该系列凝胶成像透射光源采用的是,对 DNA 和 RNA 样品、实验人员均无

损伤的蓝光,避免了核酸样品经过高能 UV 照射后导致的断裂、突变等,能够保证后续克隆的得率;同时采用蓝光也避免了 UV 照射后实验人员可能患皮肤癌和白内障等风险。本仪器主要应用包括核酸检测(包括各种荧光染料,如溴乙锭(ethidium bromide)、SYBR™Gold、SYBR™Green、SYBR™Safe、GelStar™、荧光素(fluorescein)、得克萨斯红(Texas red)标记的 DNA/RNA 检测、蛋白检测),考马斯亮蓝胶,银染胶,以及荧光染料如 Sypro™Red、Sypro™Orange、Pro-Q Diamond、Deep Purple 标 记 胶/膜/芯片等)。同时,该仪器还能进行各种杂交膜、蛋白转印膜、培养皿菌落计数、酶标板、TLC 板等应用。



图 3-9-1 凝胶成像系统 (图片来自仪器说明书)

【操作规程】

以拍摄 DNA 胶为例。

- (1) 打开仪器, 仪器进行自检。
- (2) 拉开置胶板,将跑好的 DNA 胶平整放置于中间,不带胶托。
- (3)将置胶板推进、关紧门、打开紫外光、调整胶所在位置。
- (4)可以选择自动曝光。如果自动曝光不满意,可以选择手动曝光方式调节曝光时间, 直至找到清晰条带(注意:单击自动曝光按钮即可切换至手动曝光,反之亦然)。
 - (5) 单击暂停键停止曝光、保存图片、直接保存在 U 盘中(预先插入 U 盘)。

【注意事项】

(1) 如果凝胶中含有 EB, 操作过程中应该注意区分 EB 污染区和非污染区。

第10节 琼脂糖水平电泳槽

【仪器名称】琼脂糖水平电泳槽。

【仪器用途】DNA、RNA 等凝胶电泳及图像分析。

【仪器简介】

琼脂糖水平电泳槽(品牌: HTJY)(图 3-10-1)采用进口高强度透明材料一次注塑成型,适用于快速鉴定、分离、制备 DNA,以及测定其分子质量。该电泳槽采用上盖开孔式设计,便于散热,方便观察,带有专用制胶器,简单安全快捷,电极为可拆卸电极,方便清洗和维修。采用高纯度铂金电极丝,取得最佳的导电性能。

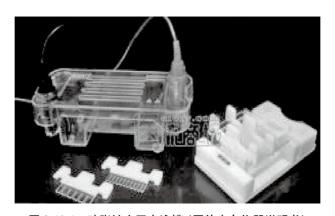


图 3-10-1 琼脂糖水平电泳槽(图片来自仪器说明书)

【操作规程】(以 DNA 琼脂糖电泳为例)

- (1) 在将水平电泳槽中注入适量缓冲液,以浸没过琼脂糖胶为宜。
- (2)将预先配好的琼脂糖胶放入电泳槽(可带胶托),点样孔置于负极(黑色端),按顺序点样。
 - (3)接通电源、盖好盖子、正负极对应(红对红、黑对黑)。
 - (4)设置好电压(120V)、时间(15min),按 "run"键开始跑胶。
 - (5) 跑胶结束后,凝胶成像仪拍照,关闭电源。

- (1)注意不要将盖子的正负极盖反。
- (2) 跑胶电压不宜过高,否则跑胶结果会不够整齐。
- (3) 跑胶的时间不能太短或者太长、需根据目的片段大小调整。

第11节 超声破碎仪

【仪器名称】超声破碎仪。

【仪器用途】用于超声破碎细胞提取蛋白样品等。

【仪器简介】

超声波细胞粉碎机(图 3-11-1),又名超声波破碎仪、超声波乳化机,是一种利用超声波在液体中产生空化效应的多功能、多用途仪器。它能用于多种动植物、病毒、细胞、细菌及组织的破碎,同时可用来乳化、分离、匀化、提取、消泡、清晰、纳米材料的植被、分散及加速化学反应等。该仪器广泛应用于微生物学、物理学、动物学、农学、制药等领域。



图 3-11-1 超声破碎仪外观和内面观

【操作程序】

- (1)打开电源,显示窗显示变幅杆选择(参见图 3-11-2),图中闪烁显示的"-02-",表示选择的变幅杆规格为 φ2,按<7.导航键>切换变幅杆规格,本次实验用的变幅杆型号为 φ2。按<4.确定键>确定变幅杆规格。
 - (2)参数设置(图 3-11-3)。



图 3-11-2 图示窗变幅杆选择 (图片来自说明书)

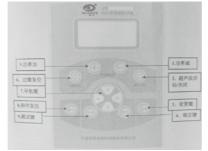




图 3-11-3 参数设置说明(图片来自说明书)

按<3. 设置键>切换参数项。

按<7. 导航键>的上/下键,加/减参数。

按<7. 导航键>的左/右键,左/右移位,如图 3-11-4 所示,设定各项参数。

符号	说明	范围	单位
Set-1	总时间	1~999	分
Set-2	超声工作时间	0.1~99.9	秒
Set-3	超声间隙时间	0.1~99.9	秒
Set-4	温度报警	0~99	$^{\circ}$
Set-5	超声功率	1~99	%

图 3-11-4 参数设置参考值(图片来自说明书)

以超声破碎细胞为例,将细胞重悬于 1.5ml 离心管中,体积为 300~500μl,总时间可设为 4min,超声工作时间为 20s,超声间隔时间为 10s,温度可设为 40℃ (大于室温即可),超声功率设为 10%。超声时需将离心管插在盛有碎冰的烧杯中保持低温环境,变幅杆悬于细胞悬液中。

- (1)变幅杆一定要悬于细胞悬液中,不能接触到离心管壁,否则,会破坏变幅杆,影响超声效果。
 - (2)超声完毕后,将变幅杆擦拭干净,关闭隔音箱门以及仪器电源。