

电泳凝胶成像系统

一、仪器照片



二、仪器设备概况

1. 仪器简介:

系统包括 PROTEAN 等电聚焦槽, IPG 预制胶条和凝胶成像仪, 用于双向电泳的一向和两向分离, 简单, 高效重复性好, 电泳槽和电源一体化设计, 工作电势为 10kV, 电流为 2.4mA, 采用 Peltier 制冷, 10-25°C 间精确的温度控制, 高容量的操作平台, 可容纳 24 个 7cm 胶条, 12 个 11cm 或 12 个 17cm 胶条, 增加了产率和效率, 一次性的水化盘设计使得水化后的胶条转移到聚焦盘上变得非常简便, 这样, 残留的样品缓冲液不会影响电流通过胶条。胶条在托盘上的安放是对号入座, 简化实验操作, 可以进行实验方法的编程和实验步骤的及时增添, 具有 RS-232 串口, 可外接打印机, 打印实验方法和数据。

2. 性能参数:

CCD 分辨率(H × V): 1,392 × 1,040

像素密度: 12 位(4,096 灰度)

像素大小: 6.7 × 6.7

动态范围: >3 个数量级

摄像头冷却系统: Peliter

摄像头冷却温度: -45°C

照明模式: 透射紫外光, 透射白光、反射白光

激发光源: 254, 302, 365 nm 和 白光

动态平场扫描技术: 有, $<5\%$ CV

大小(W x D x H): $60 \times 36 \times 96$ cm

3. 应用范围:

适用于多种检测方法如 Immuno-Star HRP, AP 化学发光, SYPRO RUBY, Cy3, GFP, Hoechst, 银染, 考染等。ChemiDoc XRS 适于要求高分辨率(双向凝胶电泳) 和高灵敏度(化学发光 western 杂交) 的广泛应用, 如 Western 杂交, 核酸检测, 2-D 电泳胶等。

4. 面向学科

生物工程、制药工程

5. 联系人

蔡志强

6. 联系电话

62862

三、 仪器设备使用说明和操作规程

1. 等电聚焦:

- 1) 从冰箱中取出冷冻保存的蛋白溶液, 室温下充分融解;
- 2) 按表 2 所列取一定量的蛋白样品, 并用样品水化液补足体积至 450ul;
- 3) 取出低温保存的胶条 (GE Healthcare), 室温下放置 10min;
- 4) 在聚焦槽中缓慢加入蛋白样品;
- 5) 去除胶条保护膜, 分清胶条正负极, 胶面朝下缓慢倒压在蛋白溶液中, 放置过程中如有气泡产生, 则可以缓慢拖动胶条以赶走气泡;
- 6) 在胶条支持膜面缓慢加入 2ml 左右覆盖油并盖好聚焦槽盖;
- 7) 准备完毕后开始按如下参数设置等电聚焦程序。

温度: 20°C

最大电流: $50 \mu\text{A}/\text{strip}$

等电聚焦程序: $50\text{V} \times 12 \text{ h}$ (step)、 $500\text{V} \times 1 \text{ h}$ (step)、 $1000\text{V} \times 1 \text{ h}$ (step)、 $1000-10000 \text{ V} \times 1 \text{ h}$ (gradient)、 $10000\text{V} \times \text{nh}$ (step)、 $500\text{V} \times \text{nh}$ (step)

2. 胶条平衡及 SDS-PAGE 电泳:

- 1) 等电聚焦完成后, 取出胶条, 用半湿滤纸小心吸去胶条表面覆盖油及多余蛋白溶液;
- 2) 将胶条放入 10ml 平衡缓冲液 1 中, 室温缓慢水平摇晃平衡 15min;

- 3) 将经过平衡缓冲液1平衡过的胶条转移至10ml平衡缓冲液2中缓慢水平摇晃平衡15min;
- 4) 将平衡好的胶条浸入SDS-PAGE电泳缓冲液中半分钟,以利于胶条内的蛋白充分进入第二向凝胶;
- 5) 在SDS-PAGE凝胶上表面加入处于融解状态的低熔点琼脂糖;
- 6) 将胶条放到第二向SDS-PAGE凝胶上表面,并用镊子轻推胶条,使胶条与SDS-PAGE凝胶上表面充分接触;
- 7) 待低熔点琼脂糖完全冷凝后,将凝胶转移至电泳槽中进行电泳;

采用Ettan-DALT-Six系统;水浴循环仪设定温度为:15℃;电泳初始设置为100V×1h,然后换成200V电压电泳至溴酚兰前沿刚好跑出凝胶;

- 8) 电泳结束后,轻撬玻璃板,小心取出凝胶转入染色槽进行染色。

3. 凝胶染色:

(一) 考马斯亮兰染色:

- 1) 固定:采用固定液对凝胶内蛋白进行固定,时间为2小时;
- 2) 染色:采用考马斯亮兰染色液染色24小时;
- 3) 漂洗1:采用考染漂洗液1对染色后的凝胶进行漂洗,时间为2分钟;
- 4) 漂洗2:采用考染漂洗液2漂洗1分钟;
- 5) 稳定:采用考染稳定液对漂洗后的凝胶进行稳定,时间为12小时;
- 6) 采用超纯水漂洗凝胶1天左右至背景清晰。

(二) 硝酸银染色:

- 1) 超纯水洗凝胶1分钟;
- 2) 固定:固定液固定30分钟,重复一次;
- 3) 增敏:敏化液敏化30min;
- 4) 清洗:纯水,5min,3次;
- 5) 银染:银染液染色30分钟;
- 6) 清洗:纯水,1分钟,2次;
- 7) 显影:显影液显影至满意;
- 8) 终止:停显液停显,10分钟;
- 9) 纯水清洗三次,每次5min;
- 10) 保存:1%乙酸。

4. 凝胶扫描以及图像分析:

- 1) 染色后的凝胶应用ImageScanner扫描仪进行扫描,扫描模式为灰度模式,光密度值为300dpi;
- 2) 使用ImageMaster 2D Platinum 7.0软件对图像进行分析,主要操作包括凝胶蛋白点检测、图像背景扣除、蛋白点灰度值标准化、不同凝胶间蛋白点匹配,并根据匹配结果计算差异表

达倍数，选择差异表达的蛋白点用于质谱分析。

四、仪器设备测试项目

免疫表型分析，细胞 DNA、RNA 检测及细胞周期分析以及定量分析。

五、仪器设备收费标准

设备仅对院内免费开放，送样使用，耗材自备。