

Гели Mini-PROTEAN® TGX™

Инструкция

по началу работы

BIO-RAD

Инструкции по использованию гелей Mini-PROTEAN®

1. Снимите гребень: поместите большой палец на выемку (середина гребня) и снимите гребень, потянув вверх одним плавным движением.

2. Снимите ленту. Аккуратно потяните за зеленую ленту, чтобы удалить ее с нижней части кассеты.

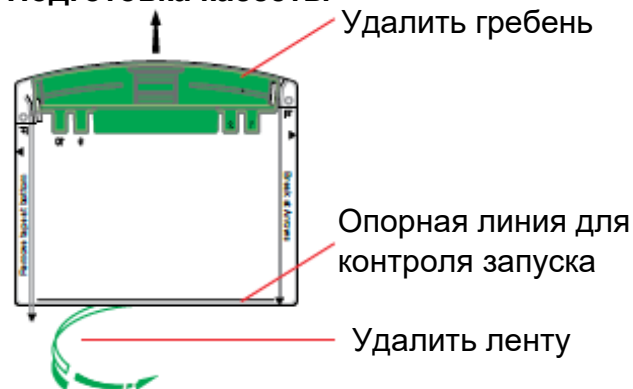
3. Соберите Mini-PROTEAN Tetra Cell: Соберите кассету в ходовой модуль системы Mini-PROTEAN Tetra. Добавьте рабочий буфер во внутреннюю и внешнюю камеры. Используйте шприц или одноразовую пипетку для переноса, чтобы промыть лунки текущим буфером.

4. Запустите гель: подготовьте образцы и загрузите их в лунки. При использовании стандартов Bio-Rad Precision Plus Protein™ загрузите 10 мкл (5 мкл для стандартов Precision Plus Protein™ WesternC™). Работайте с гелем, пока фронт красителя не достигнет контрольной линии. Обратитесь к руководству по эксплуатации (#1658100) для получения дополнительной информации об условиях эксплуатации. По завершении цикла отсоедините ячейку и снимите кассету.

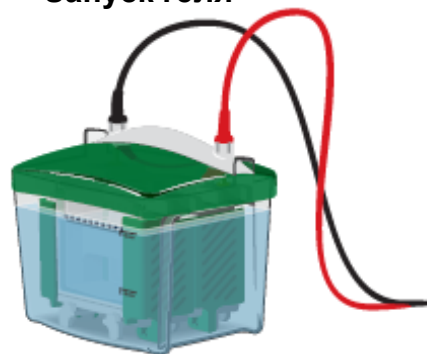
5. Откройте кассету: совместите стрелку на открывающем рычаге (номер по каталогу 456-0000) со стрелками, отмеченными на кассете. Вставьте рычаг между пластинами кассеты в указанных местах и надавите вниз, чтобы сломать уплотнение. Аккуратно раздвиньте две пластины, начиная с верхней части кассеты.

6. Удалите гель. Аккуратно удалите гель из кассеты. **Примечание.** Если вы используете гели Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™, на этом этапе гели следует активировать в сканере с функцией без красителей (Gel Doc™ EZ или ChemiDoc™ MP).

Подготовка кассеты



Запуск геля



Открытие кассеты



Примечание. Рычаг открывания на 100 % состоит из алюминия и подлежит вторичной переработке.

Пробоподготовка

Приведены инструкции по электрофорезу готовых гелей Mini-PROTEAN TGX с длительным сроком хранения с использованием системы ячеек Mini-PROTEAN Tetra.

	Реагент	Редуцированный образец	Нередуцированный образец
Подготовка образцов	Образец	5 мкл	5 мкл
	2x Буфер для образцов Лэммли (арт. #161-0737)*	4,75 мкл	5 мкл
	β-меркаптоэтанол**	0,25 мкл	–
	Общий объем	10 мкл	10 мкл
	Нагревание образцов при 90–100°C в течение 5 мин		
Подготовка рабочего буфера	Подготовьте рабочий буфер Лэммли SDS-PAGE 1x, добавив 100 мл рабочего буфера 10x TGS (номер по каталогу 161-0732) к 900 мл деионизированной воды.		
Загрузка рабочего буфера	Снимите гребенку и ленту со дна геля, как описано на странице 2, и соберите ячейку Mini-PROTEAN Tetra. Заполните верхнюю (внутреннюю) буферную камеру каждого ядра 200 мл рабочего буфера 1x TGS. Заполните нижнюю (внешнюю) буферную камеру, как указано в таблице рабочих условий.		
Загрузка образца	Загрузите соответствующий объем образца белка на гель и запустите гель.		

* Примечание. Также доступен 4-кратный буфер для образцов Лэммли (артикул 161-0747). Инструкции по использованию см. в руководстве.

** DTT также может использоваться в качестве восстановителя. Если это так, добавьте DTT до концентрации 100 мМ в 2x пробу Лэммли.

Условия работы для стандартных протоколов Mini-PROTEAN и Rapid

	100 В Низкое напряжение	200 В Стандартное	300 В Rapid 1	400 В Rapid 2
Время работы	85-95 мин	30-40 мин	15-20 мин	10-15 мин
Ожидаемый ток (за гель)				
В начале	15-20 мА	25-50 мА	55-75 мА	89-140 мА
В конце	5-10 мА	20-31 мА	45-70 мА	81-127 мА
Ожидаемая температура	25°C	25-35°C	30-45°C	40-55°C
Объем нижнего буфера (для 2 гелей)	550 мл	550 мл	800 мл	800 мл
Объем нижнего буфера (для 4 гелей)	800 мл	800 мл	800 мл	800 мл

Примечание:

1. При работе только с 1–2 гелями в ячейке Mini-PROTEAN Tetra не оставляйте сопутствующий модуль в резервуаре.
2. Не используйте одновременно разные типы гелей (химические составы) или проценты.

Подробные инструкции см. в Руководстве по эксплуатации и руководстве по применению сборных гелей Mini-PROTEAN (бюллетень 1658100), доступных на сайте www.bio-rad.com, или обратитесь в службу технической поддержки Вашего поставщика

Протокол блоттинга резервуаров

Использование ячейки Mini Trans-Blot®

- Приготовьте 1 л 1x буфера для переноса, разбавив 100 мл 10x предварительно смешанного трис/глицинового буфера (номер по каталогу 161-0734) с 700 мл воды и 200 мл метанола.
- Кратковременно промойте гели водой и уравнивайте в 1x буфере для переноса в течение 15 мин.
- Замочите 2 куса фильтровальной бумаги (того же размера, что и гель), 2 прокладки из пеноматериала и нитроцеллюлозные мембраны в буфере для переноса 1x до намокания; если используется PVDF, активируйте PVDF, ненадолго погрузив его в 100% метанол, затем перенесите в буфер для переноса.
- Откройте кассету и поместите ее в лоток, заполненный буфером для переноса; поместите поролоновую прокладку на черную сторону кассеты
- Поместите кусок фильтровальной бумаги поверх прокладки из пеноматериала, затем осторожно поместите гель поверх фильтровальной бумаги; убираем пузыри валиком
- Аккуратно поместите мембрану поверх геля; если возможно, не двигайте мембрану после ее установки и выкачивайте пузырьки воздуха.
- Поместите второй кусок фильтровальной бумаги поверх мембраны, удалите пузырьки валиком и поместите вторую прокладку из пеноматериала поверх фильтровальной бумаги.
- Закройте кассету и вставьте в бак (черная сторона кассеты должна быть обращена к черной стороне центрального сердечника)
- Вставьте охлаждающий блок для заморозки
- При переносе более одного геля повторите вышеуказанные шаги со второй кассетой.
- Добавляйте буфер для переноса в резервуар, пока уровень буфера не достигнет верхней линии заполнения.
- Установите крышку на бак, чтобы завершить сборку.

Рекомендуемые условия передачи

Метод	Стандартные условия	Rapid
Блоттинг танков	100 В, 30-60 мин	150 В, 15-30 мин*
Полусухой	15-25 В, 15-30 мин	

Дополнительную информацию см. в Руководстве по блоттингу протеинов Bio-Rad (инструкция 2895).

* Этот процесс зависит от белка.

Протокол полусухой переносной ячейки

Использование полусухой ячейки для переноса Trans-Blot® SD

- Приготовьте ~ 1 л буферного раствора для однократного переноса, разбавив 100 мл
- 10 предварительно смешанных трис/глициновых буферов (номер по каталогу 161-0734) с 700 мл воды и 200 мл метанола
- Ненадолго промойте гель водой и уравнивайте в 1х буфере для переноса в течение 15 мин.
- Замочите 2 куса предварительно нарезанной особо толстой фильтровальной бумаги (соответствует размеру геля) и нитроцеллюлозную мембрану в буфере для переноса до намокания; если используется PVDF, активируйте PVDF путем непродолжительной выдержки в 100% метаноле, затем уравнивайте буфером для переноса.
- Поместите 1 фильтровальную бумагу на анодную сторону полусухого аппарата.
- Поместите мембрану (ПВДФ или нитроцеллюлоза) поверх фильтровальной бумаги.
- Аккуратно поместите гель поверх мембраны.
- Поместите второй кусок фильтровальной бумаги поверх геля; раскатайте любые пузыри, которые могли образоваться между стопками
- Осторожно поместите узел катода на стопку переноса, а затем установите защитную крышку обратно на устройство.

Примечание. При использовании системы полусухого переноса Trans-Blot Turbo и пакетов для переноса см. инструкции 10016505 и 10019593.

Стандарты Precision Plus Protein продаются по лицензии Life Technologies Corporation, Карлсбад, Калифорния, для использования только покупателем продукта. Покупатель не имеет права продавать или перепродавать этот продукт или его компоненты.

Техническая поддержка

Поставщик в России:

ООО «Неотест»

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

www.neo-test.ru

www.shop-neotest.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



Поставщик в Беларуси:

ОДО «КомПродСервис»

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

sales@komprod.com

www.komprod.com

Техническая поддержка

support@komprod.com

+375 17 336 50 54

