|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | 设备名称 | | LP层析系统 |
| 型 号 | | Biologica LP |
| 编 号 | |  |
| 生 产 商 | | 美国Bio-Rad |
| 生产日期 | | 2006 |
| 购买日期 | | 2006-11-1 |
| 启用日期 | | 2007-6-1 |
| 设备现状 | | 可用 |
| 管理人员 | 姓名 | 杨静 |
| 电话 | 0871-5227774 |
| Email | Yangjin-18@163.com |
| 技术参数 | 主要附件 | 服务领域及功能 | | 收费标准 | 设备使用相关链接 |
| 储存50个方法程序；可选择5种缓冲液；含检测蛋白和核酸的滤光片；0.5-40ml/min最大背压30psi的蠕动泵；210型组分收集器到80根13×100mm试管中 |  | 蛋白样品分离。 | | 待定 | 1. 操作说明 |

一 准备工作

在实验开始前，根据分离的目标蛋白设计分离的技术路线，选择相应的层析柱及缓冲液。而后根据不同层析柱的使用要求来确定LP系统的运行值。注意所有溶液包括样品都要通过0.45um膜过滤。

二 层析系统操作

1 系统中气泡冲洗

(1) 将进液管放入A液和B液中

(2) 打开电源，注意观察显示屏上的电导（Conductivity）和紫外光吸收值（UV absorbance values）.按pump键，然后再按purge键

(3) 按BUFFER键，用previous/next键选择B液，按OK键，用B液冲洗系统中的气泡直到电导值稳定，并记录此时B液的电导值

(4) 按BUFFER键，用previous/next键选择A液，按OK键，用A液冲洗系统中的气泡直到电导值稳定，并记录此时A液的电导值

(5) 冲洗结束，按STOP键

2 校准系统中的泵（选择不同直径的管路）

其作用是告诉层析系统你将用哪种类型的管线来连结系统，在Manual mode（手动模式）中：

（1） 按pump键

（2） 选择FLOW，然后按Calibrate

（3） 选择要用的管子直径（例如 1.6mm）

（4） 选择Nominal

泵的标定完成，已经使用符合1.6mm直径管线的流速

3 选择样品接收器

在Manual模式中：

（1） 按Collector键

（2） 选择Model

（3） 选择你所使用的接收器型号（本实验室用2110）

4 设置UV监视器中UV的波长

通常UV波长为280nm（本机已设置好）

5 设置UV监视器UV波动的范围，并将其数值归零：

在Manual模式中：

（1） 按pump键，再按FLOW键

（2） 设定Flow rate (流速)为1.5ml/minute,按OK键，再按START键

（3） 按UV instrument 键，按SET RANGE 键

（4） 用INCREASE 和DECREASE 键，设定UV监视器范围内为0.05 AUFS

（5） 按OK

（6） 按ZERO，设置此时的UV监视器数值为零

（7） 按pump instrument 键

（8） 按STOP键

6 设定电导监视器值的最小和最大范围

在Manual模式中：

（1） 按COND instrument键

（2） 选择Min/Max

（3） 在Min区域输入已冲洗系统完毕时的A液的电导值

（4） 按SETMAX键

（5） 输入已冲洗系统完毕时的B液的电导值

（6） 按OK

7 洗脱蛋白样品程序设定

按Program mode 键，选择New method

(1) 选择Time programming mode

(2) 输入冲洗程序：

① 按ADD

② Previous/Next选择A 液，按OK

③ 输入step length 3 minute,按OK

④ 输入flow rate 1.5ml/minute,按OK

⑤ B液设置

a. 梯度为0%到50%，step length 10 分钟; flow rate 1.5ml/minute

b. B buffer: step length 6 minutes

flow rate 1.5ml/minute

c．A buffer,同上

注意：该程序为本设备进行标准样品分离的程序，实际操作要根据各个实验目标蛋白相应的洗脱方式和洗脱液的成分调整参数进行操作。

8 警报的设置

（1）按Alarm键

（2）按ADD

（3）在Alarm 1 输入3minutes,Hold methods为0

（4）按OK键2次

警报声提醒加样后3分钟，将进样器阀门转到load 位置，如果仍留在injection位置，将造成洗脱不正常

8 进入样品收集器程序（可选）

（1）按Fract Coll键

（2）选择ALL

（3）输入Fraction size 为2 minutes

（4）按OK键2次，然后选择DONE

（5）按SAVE,将方法输入为“DEMO1”,按DONE

9 将蛋白样品加入到系统中

（1）将MV-6注射器阀门沿逆时针方向转动到下一个位置

（2）用注射器吸入2ml（样品量根据实验目的及不同层析方法确定以及样品池大小）蛋白溶液

（3）将蛋白溶液注射到样品管中并加满，注射器仍然留在原位不要拔出

10 系统运行前最后检查

按Manual mode 键，再按start 键启动泵的运行，确认此时进入液体为A液，检查系统连接管线有无泄露，有无气泡及是否需要冲洗按instrument键检查设置

（1）UV监视器：Range 0.05AUFS，UV数值是否为零，不是则归零（只能在有溶液流动时才能归零）

（2）电导率：是否根据系统冲洗完毕时的A液和B液电导值设定最大和最小范围

（3）样品收集器：确定样品收集器是否已经连接好，型号是否正确，样品输出管是否正对着1号接样管

11 层析开始

（7） 按Run mode 键，系统10秒后开始运行

（8） 当系统开始运行时，将进样器阀门杆左右扭动，当警报响后，再向左扭动

（9） 层析开始，观察洗脱溶液中UV峰型变化，并接样