

# 核酸制备电泳仪 Sage Science Pippin

## 一、样品前处理准备

- (1) 样品处理：DNA 样品必须是去蛋白的，用 TE 缓冲液或 ddH<sub>2</sub>O 溶解
- (2) 30ulDNA 样品+10ul 上样缓冲液，震荡离心，混合均匀
- (3) 确认 DNA 片段大小及回收范围
- (4) 缓冲液要提前放到室温下，以免影响电流的连续性

## 二、仪器控制软件界面

### (1) Main 主界面

- ①泳道从下之上 1-5 个，在 Sample ID 填写每个泳道中加入样品的名称
- ②Protocol Name 运行程序名称，可调用已编写好的运行程序
- ③Progress 程序运行进度
- ④Voltage 电压设置，默认值为 1.2V
- ⑤Clock 系统日期和时间，可在 System Options 界面进行更改和设置
- ⑥“TEST”按钮，将预制胶板放置在卡槽内，检查连续性
- ⑦点击“START”按钮，开始运行程序，点击“PAUSE”按钮，暂时中止运行的程序
- ⑧光学校正板放置在卡槽内，点击“CALIBRATE”按钮，进行光学矫正
- ⑨点击“INFO”，仪器信息及仪器使用说明书
- ⑩点击“SHUTDOWN”，关闭显示器及仪器

### (2) Protocol Editor 程序编写界面

- ①Cassette 设置，根据所使用的预制胶类型选择，本机配备的预制胶为 2% DF Marker V1
- ②“Run time”，运行时间设置
- ③鼠标点击“Tight”后，Target 框可进行手动填写，例如填写 300bp 表示回收的 DNA 片段为 300bp 左右，“Start”和“End”框自动出现数值，例如 270bp，330bp，表示回收的 DNA 片段范围 270~330bp。鼠标点击“Range”框，“Start”和“End”框可手动填写数值，表示回收 DNA 片段范围，Target 框自动出现数值。Sample ID Template 填写泳道加入样品的名称。  
“Range Flag”显示 tight/narrow/broad 3 种，表示 DNA 片段回收范围大小。
- ④Reference lane 回收较大的 DNA 片段（600bp 以上），需要选择 1-5 任一个泳道作为参考泳道，加入 40ul Marker，同时需要点击“APPLY REFERENCE TO ALL LANES”按钮

⑤回收较小片段时（100~600bp），Reference lane 设置为 off，同时点击“USE INTERNAL STANDARDS”按钮，选择使用内标

⑥“NEW”新建运行程序，“LOAD”调用已编写好的程序

⑦设置完成，点击“SAVE AS”按钮，给程序命名，将编写好的程序存储在指定的路径下，以备下次调用

### （3）Log Review 查看已运行程序信息

①点击“LAST”旁边的文件夹图标，选择需要查询程序的名称，点击“OK”按钮，在 Log Review 界面出现已运行程序信息

②Log File 文件路径及名称，Instrument ID 仪器名称，Protocol Name 程序名称，Cassette Name 所使用的预制胶规格，Run time 运行时间，End Run when elution is completed 勾选上：洗脱完成结束程序运行。Ref lane 参考泳道。Target/Start/End 分离 DNA 片段范围信息。Range Flag 分离 DNA 片段范围状态，波形图：泳道运行时间（X 轴）~光信号或泳道电流信号（Y 轴）

### （4）File manager 文件管理界面

①点击“Go To LOGS”，查看以日期命名的文件下的文件

②点击“Go To PROTOCOLS”，查看已运行的文件

③点击“Go To CASSETTES”查看各种预制胶规格

### （5）System Options 系统设置界面，可对仪器进行命名，对系统的日期和时间进行设置

## 三、编程

①根据所需目的片段大小选择预制胶种类，例如，100-600bp 用 2% agarose+V1

②小片段（100~600bp）选择内标 internal standards，不需要设置参考泳道；大片段选择外标 Marker，需要设置一个参考泳道

③设置回收方式和片段区域大小，设置运行时间，默认选择“洗提完成后终止”。

## 四、光学校正 CALIBRATE（Pippin Prep 是 0.8，blue pippin 是 0.6）

①将光学校正板黑色一面朝下，放到泳道卡槽内，点击“CALIBRATION”。

②每次更换预制胶种类时都要校正。

## 五、准备预制胶

### 1 检查预制胶

- a 检查预制胶中缓冲液量，不足加满
  - b 检查凝胶柱是否断裂，若断裂该泳道不能用
  - c 检查是否有气泡
- 2 准备上样
- a 排除洗提孔后面的气泡
  - b 把预制胶放到检测平台上，左侧向下倾斜，防止洗提孔后面的气泡回流
  - c 撕掉上样孔和洗提孔的密封条
  - d 清空洗提孔中的缓冲液 65ul, 加入 40ul 的新鲜缓冲液
  - e 用胶带封闭洗提孔，防止回收过程中样品溢出
  - f 检查样品孔的缓冲液水平（不足时，加满）70ul
- 3 连续性检查 TEST（测试电流，连续性跟温度有关系，所以缓冲液要提前从冰箱中拿出放置在室温下

## 六、上样

1. 检查样品孔的缓冲液水平，不足时加满，共 70ul
2. 吸掉 40ul 缓冲液，加入 40ul 样品，合上盖。

内标：样品 30ul DNA 加 10ul loading solution (无参考泳道)，单次可做 5 个样品

外标：样品 30ul DNA 加 10ul loading solution，参考泳道为 marker: 40ul(参考泳道)，单次只能做 4 个样品

## 七、运行：点击 **START**

## 八、回收：撕掉胶带，用移液枪从洗提孔内吸取回收样品

## 九、关机 **SHUTDOWN**，两个电源插头拔掉

## 十、Blue pippin 注意事项

1. DNA marker 和 Loading solution 需要提前从冰箱中拿出，放到室温下
2. 样品准备：a DNA 样品的离子强度要比缓冲液的低，TE 或水溶解；  
b DNA 样品是去蛋白的；c 确认 DNA 片段大小及回收范围

3. 每次实验前，需要进行光学校正 Pippin Prep 是 0.8, blue pippin 是 0.6
4. 程序编辑时，选择合适的预制胶和回收程序，不能出现 warning。若出现，需要修改相关参数，否则程序无法运行
5. 预制胶需要检查有无断裂，气泡要全部赶走
6. 电流连续性检查，若分离泳道失败，该泳道不能用了；若洗提泳道失败，可以 a 重新加 40ul 新鲜缓冲液到洗提孔，再 test； b 该泳道可以用来跑外标 marker
7. 30ul DNA+10ul loading solution 混匀震荡离心。若为外标 marker，需要单独占一个泳道，即加 40ul marker
8. 加样时枪头在液面以下，不要用枪头划到预制胶

## 十一、日常维护

1. 仪器需要放到平整的桌面上运行，避免剧烈震动
2. 环境温度 17-25℃，湿度 10-80%
3. 每次实验结束后，需要清洗电极。把rinse cassette 灌满去离子水，放到仪器预制胶槽内，合上盖子，5分钟后拿出即可，无需运行任何程序
4. 结束时盖上盖子，防止灰尘落到光学模块上