

生物化学实验

层析技术

4.7 核酸-蛋白检测仪和记录仪的使用

北京大学王青松胡晚倩

核酸-蛋白检测仪

● 用于**连续测量层析柱出口流出液体的紫外吸收值**,是生物大分子层析分离中常用的检测仪器, 广泛应用于生物大分子的分离纯化。

开关、灵敏度调节、 调零等控制旋钮



出样口(上口): 与样品收集器连接

进样口 (下口) : 与层析柱出口的导管连接

UV-1紫外检测仪 (瑞典Amersham公司)

核酸-蛋白检测仪重要参数

- 灵敏度:根据蛋白质的含量选择合适的灵敏度(由预实验确定)。
- 基线:利用zero旋钮调整基线位置。



谷胱甘肽转硫酶 (GST) 纯化实验中,平衡、上样及洗杂蛋白灵敏度 使用2A,洗脱时使用0.2A。

记录仪

与核酸-蛋白检测仪连接,实时记录来自检测仪的吸光值变化情况。



REC 111记录仪 (瑞典Amersham公司)

记录仪的重要参数





- chart speed: 调节纸速
- mm/s or mm/min: 记录纸走纸速度控制键,弹
 起状态为mm/s,按下状态为mm/min
- record off/on:按下后,记录仪开始记录来自检测 仪的吸光值变化
- zero调零:按下zero键,用adjust旋钮调整记录笔 在记录纸上的位置(在没有检测仪信号时)
- pen up/down:按下后,记录笔落在记录纸上处于 记录状态
- range: 调节电压

紫外检测仪/记录仪的使用

1. 仪器的连接 与预热

2. 调整记录仪

3. 调整紫外检测仪

4. 检测记录 开始

5. 实验结束

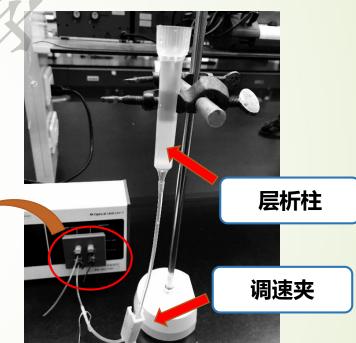
1. 仪器的连接与预热

- 用信号线将检测仪和记录仪连接
- 将紫外检测仪量程旋钮至T%档
- 打开检测仪电源开关, 预热约1小时

● 层析柱出口的导管接到检测仪的进样口(下口),检测仪

的出样口 (上口) 与样品收集装置连接。





2. 调整记录仪

- 打开记录仪开关
- 记录仪的量程设为10 mV
- 调节纸速 为0.5 mm/min
- 按下zero键,调节adjust旋钮使记录笔至记录纸的右端一大格 处后,抬起zero键

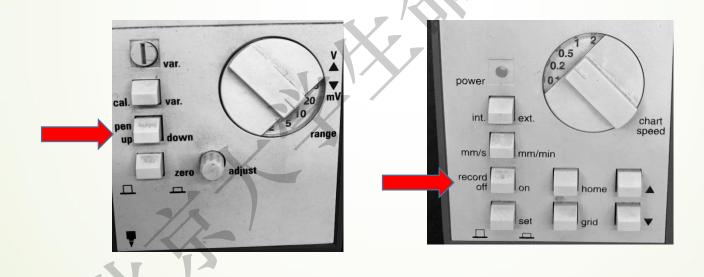
注意:记录仪在使用过程中保持zero键在弹起状态, 不能再动adjust调零旋钮。

3. 调整紫外检测仪

- 打开层析柱下方的调速夹,当缓冲液流入吸收池后,将AU/%T开关拨到AU位置
- 将灵敏度旋钮调到所需灵敏度, 如2A
- 用检测仪上的zero旋钮调整记录仪基线,使记录笔在记录纸右侧一大格处。
 - 当需要将灵敏度旋钮调到合适的灵敏度时,如从2A调至0.2A,可用zero旋钮微调记录仪基线

4. 检测记录开始

- 按下pen up/down按钮,放下记录笔
- 按下record off/on按钮,仪器开始检测记录实验结果



5. 实验结束

- 实验完毕按pen up/down按钮将记录笔抬起
- 按record off/on按钮,停止记录
- 从记录仪中小心取出层析图谱
- 关闭检测仪和记录仪
- 用95%乙醇冲洗检测仪管路及检测池