GDS-80 低压基因传递系统（基因枪）

安装与操作手册

版本：2.4

项目 #03150

<u>*本仪器仅限实验室应用</u>

目录

A. 重要声明 3
A-1. 保修 3
A-2. 技术与服务联络方式 3
A-3. 警告 4
B. 介绍 5
B-1. 产品描述 5
B-1-1 压力调节阀 5
B-1-2 输气管 6
B-1-3 主机 6
C. GDS-80 安装 7
C-1. 装箱单 7
C-2. 安装 9
D. 操作 11
D-1. 泄露测试 11
D-2. 调节气体输出 12
D-3. 分布均匀校正 14
D-4. 目标基因粒子传递 16
D-5. 使用后 16
D-6. 清洗 17
D-6-1. 不同轰击之间清洗 17
D-6-2. 使用完毕后清洗 17
E. 轰击粒子准备 18
E-1. DNA 包裹微载体 18
E-1-1. 动物细胞（打 5 发） 18
E-1-2. 对植物细胞 19
E-2. 裸 DNA 溶液 20
F. 轰击 20
F-1. 动物系统 20
F-1-1. 目标样品制备 20
F-1-2. 准备 GDS-80 20
F-1-3. 开始轰击 21
F-2. 植物系统 21
F-2-1. 准备 21
F-2-2. 安装 GDS-80 21
F-2-3. 开始轰击 21
G. 故障排除 22
H. 维护与保养 23

注意：中文说明书仅供辅助参考使用，详细准确说明请以英文原版说明书为准

A. 重要声明

在安装操作 GDS-80 前，请仔细阅读以下说明，以便熟悉产品的安装和操作过程。本说明应在操作仪器之前由训练有素个人或威泰克公司技术人员阅读。任何不当操作均可能造成损害,请参阅安全通知。本仪器不可以任意形式进行改装。任意形式的改装将令保修、认证证书失效，并导致安全隐患。对未经威泰克授权的个人擅自改装仪器所造成的任何人身伤害或仪器损坏，威泰克公司概不负责。

A-1. 保修

GDS-80 在正常使用情况下免费保修一年，自原始发票开具日期起计算。保修期间威泰克公司将无偿维修或更换损毁配件或产品，但不包括以下情形造成的损害：

1. 非正当操作仪器
2. 被未经威泰克公司授权的个人改装或维修
3. 直接或间接意外事故、疏忽或误用造成的损坏
4. 自然灾害造成的损坏
5. 不恰当的溶剂或样本造成的损坏

A-2. 技术与服务联络方式

大部分操作细节已经在说明书中进行描述。其他技术/服务问题，请联络您当地业务代表，或 Email 联络威泰克全球技术/服务专家：support@wealtec.com

A-3. 警告

Warning!

- 不要将枪口直指人类
- 除核酸与蛋白外，不要传递任何其他物质
- 确保气体钢瓶立在稳固的地面，并紧紧固定在墙、柱子或实验长椅上
- 出于安全考虑，在操作 GDS-80 时，请全程佩戴护目镜、手套、耳塞与防护服
- 确保每次使用前调整气体出气量（参见部分 D-2）
- 每次改变气压设定后，请在运行前重新调整出气量
- 每次在使用 GDS-80 前或完成操作之后，请松开压力调节把手，防止损伤到 GDS-80 内部
- 出于安全考虑，请在操作 GDS-80 前打开气体钢瓶阀，用完之后马上关掉。出于任何原因需要停止运行 GDS-80，也请先在所有其他操作之前关闭气体阀
- 任何情况不要将压力调节到 75psi 以上
- 如果压力设定超过 75psi，不要扣动扳机释放气压。先关闭气体钢瓶阀。断开橙色输气管与 GDS-80 间的快速接头，然后重新连接。重复以上连接、断开动作数次以释放干净气压直至两个压力表读数均降为 0
- 请注意在扣动扳机前，打开扳机安全装置，扣动扳机后马上关闭安全装置
- 每次打开气体钢瓶之前以及每次释放完气压到系统内以后，都要逆时针旋转压力调节把手，检查它是否松弛
- 任何情况下不要触碰枪口避免任何割伤危险

B.介绍

GDS-80 是一款用低压氦气或氮气作为动力的基因传递系统，可以选择使用或不使用金粉将生物粒子（如 DNA，RNA，蛋白质）导入目标细胞中。相比较于传统方法，由于对 DNA 与金粉的样本量需求较少，GDS-80 提供了一个在节省成本方面更高效的方案。

B-1. 产品描述

整个 GDS-80 由不锈钢制造，系统包括压力调节阀（带流量计），输气管，主机身（带枪管）。氦气或氮气包括气体钢瓶本身由用户准备。建议氦气与氮气的纯度在 99.999%。

B-1-1 压力调节阀

压力阀上有压力调节把手与两个压力表-主压力表与次压力表。主压力表连接气体钢瓶，显示钢瓶中的气压；次压力表连接流量计，另一面连接输气管，显示输出气压。气体输出气压可通过调节气压调节扳手调节，气体出气速度可由流量计针状调节阀控制。

B-1-2 输气管

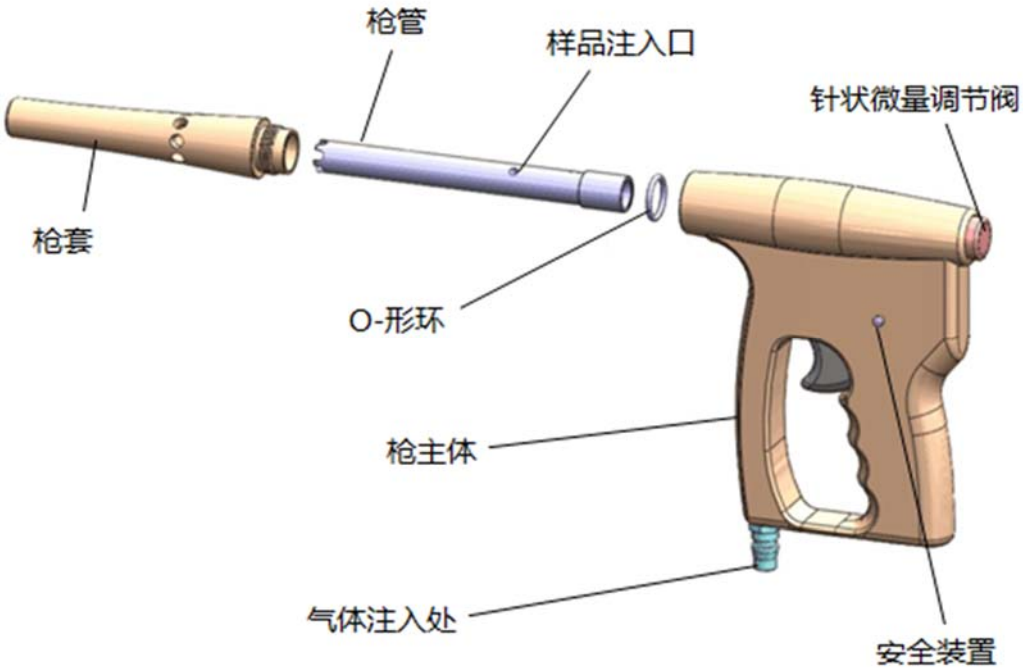
输气管负责将气流从气体钢瓶中传送至 GDS-80。快速接头设计让连接方便很多。

B-1-3 主机

GDS-80 包括枪套、枪管与主机。

枪管有两种尺寸，用作不同实验目的。4.5mm 直径枪管用作打植物细胞，10mm 直径枪管用作打动物细胞。枪套是枪管外的一个保护套，枪套上 8 个加样孔可以方便加样操作。这里所列所有装备均可以在 121˚C，1.21atm 下进行 15min 灭菌。

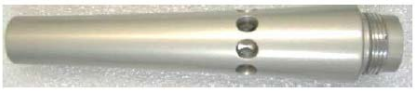
主机后部带刻度的针状微量调节阀用来控制气体输出强度。刻度的增加代表输出气流的强度增加。逆时针旋转调节阀以增加气体输出强渡，顺时针旋转减小输出强度。



C. GDS-80 安装

C-1. 装箱单

标准装

项目	数量
GDS-80 主机	1
4.5/10 mm 直径枪管	1
枪套 	1
输气管	1 （ID：8 mm, OD：12 mm；全长 4.5±0.2 m）
O 形环	1
气压调节阀与流量计	1 （Outlet: 140psi Inlet：3,500 psi）流量计：最大 15L/min（psi = lb/in^2）

CB-1 带制冷恒温金属浴（选配） 	1
安装与操作说明 	1
目标间隔盘（选配） 	1 (高：3/6 cm，直径：10 cm，用于防止污染）
金粉微载体（选配） 	1
UTS-10 通用目标间隔套件（选配） 	1 （包括 UTS 支撑架，距离量尺，中空支撑架，叶片支撑架，花粉套筒（20/35/50 mm），花粉杯，样品支撑网，转接环，样品软垫，四爪叶片夹，L 形扳手，固定栓）

C-2. 安装

重要安全提示：

在连接到 GDS-80 之前，请将装有氮气或氦气的气体钢瓶固定好以避免潜在危险。按照高压气体供货商的安全操作提示安装操作。

必要安装工具与气体

1. 可调扳手　2. 套筒扳手 3. 氦气或氮气（99.999%）瓶

- 拆开包装拿出 GDS-80。
- 将 GDS-80 放置于长椅上，将气体钢瓶紧紧固定在长椅上，以防钢瓶跌倒。
- 将压力调节阀连同流量计一同连接到气体钢瓶上。确保调节阀接头处紧密连接。调节阀细节描述参见 Fig. C-1。将调节阀连接到合适的气体钢瓶阀门。

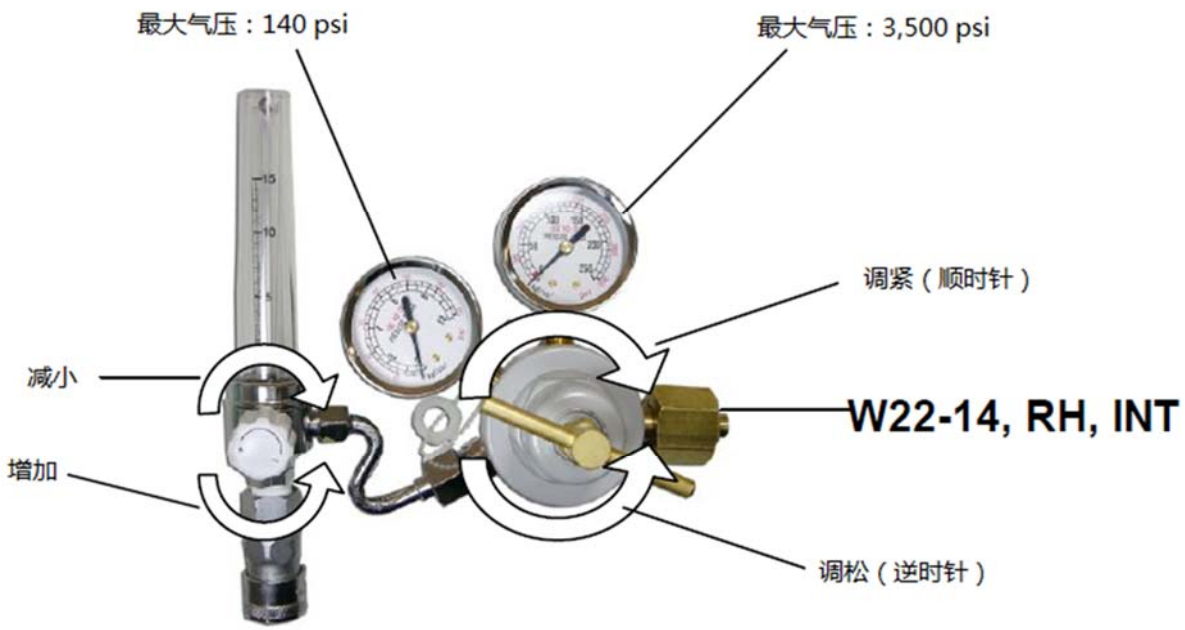


Figure C-1

- 威泰克提供的控制器接头型号为 W22-14，右螺旋、内牙，适配气体钢瓶的 JIS-W22 接头。如果气体钢瓶的接头不合适，请参阅下表找到您气体钢瓶当地合适的型号，联络当地经销商采购合适的接头。

国家	当地标准型号
日本	JIS-W22
台湾	JIS-W22
中国大陆	CGA 540
香港	BS3
英国	BS3
印度	BS3
美国	CGA 580, CGA-DISS 718 (>4000 psi)
欧盟	CGA 580, CGA-DISS 718 (>4000 psi)
德国	DIN 6(He), DIN 10(N2)
比利时	DIN 6(He), DIN 10(N2)
意大利	Uni4412(He), Uni4409(N2)
法国	AFNOR Type C

- 将输气管与流量计通过快速接头连接（Fig.C-2，C-3）。轻拉输气管以确认输气管已经连接牢固（Fig.C-4）。

Figure C-2

Figure C-3

Figure C-4

- 通过快速接头连接输气管另一头到 GDS-80 主机（Fig.C-5）。同样地，轻拉输气管以确认输气管已经连接牢固。

Figure C-5

- 为实验选择合适的枪管（植物细胞：4.5mm，动物细胞：10.0mm）确保将 O 形环连接到主机内部，不要弄丢。将枪管与枪套连接，与 GDS-80 主机用手拧紧（Fig.C-6，C-7）。用螺丝固定其到主机上之前，轻轻旋转枪管，调整样品孔方向使之对齐枪套上的加样孔（Fig.C-8）。固定到主机上之后，就不要再改变枪管与枪套间的连接了。

Figure C-6

Figure C-7

Figure C-8

D.操作

GDS-80 由低压氦气或氮气驱动，气流被压缩入主机。当扣动扳机时，气流会被加速到一个极高的速度携带生物粒子进入靶细胞。操作前需要确保整个系统内部没有任何气体泄漏。之后，按照下述校正流程校正 GDS-80 到最佳工作状态。

D-1. 泄露测试

系统完全安装好后，必须要按照如下步骤检查是否有气体泄漏：

1. 气体钢瓶与压力调节阀之间的泄露测试：

   第 1 步：将压力调节把手拧松。（**重要步骤！**）

   第 2 步：用套筒扳手将气体钢瓶阀打开，释放氮气或氦气压力直至主压力表读出一个压力值（植物实验：>1000psi，动物实验：>500psi）。

   第 3 步：关闭气体钢瓶阀门（顺时针旋转阀门）确保钢瓶不再释放气体。

   第 4 步：观察主压力表上的读数确保压力值固定无漏气（Fig. D-1）。如果压力值不稳定，并且当气体钢瓶阀门关闭时主压力表读数持续下降，说明有气体泄漏。请检查并重新拧紧调节阀，并按上述步骤重复泄露测试。或者参照部分 G 中的常用故障表解决泄露问题。

Figure D-1

2. 压力调节阀与 GDS-80 输气管间的泄露测试：
   入气口泄露测试完成之后，按照如下步骤进行出气口泄露测试：
   第 1 步：再次打开气体钢瓶阀，调紧压力调节把手调整出气压力到 45-50psi（Fig.D-2）。
   第 2 步：关闭气体调节阀观察两个压力表（Fig.D-3）。如果读数的压力值不能保持稳定而是向下下降，说明很可能有漏气情况。确保漏气不要让主压力表上的气压读数在 3 分钟之内下降超过 100psi。请重新连接输气管与压力调节阀，或者参照部分 G 中的常用故障表解决泄露问题。

   在泄露测试成功完成后，请断开输气管与 GDS-80 之间的快速接头，并重新连接。重复上述断开、连接操作数次以释放干净气体压力，直至两个压力表显示压力数值都降至 0。之后松开压力调节把手。

Figure D-2

Figure D-3

D-2. 调节气体输出

注意：确保更改压力设定之后，在使用 GDS-80 之前调节气体输出。

在泄露测试完毕后，再次打开气体钢瓶阀门检查钢瓶中是否余有足够的气体（植物实验：>1000psi，动物实验：>500psi）。根据实验需要调节压力控制阀到合适气压（Fig.D-2, D-3）。

根据以下步骤优化气体输出：

1. 逆时针旋转流量计针状调节阀让阀门完全松开。**注意**：调节针状调节阀时，每次慢慢调整数值（Fig.D-4）

Figure D-4

2. 逆时针调节 GDS-80 主机后侧的针状微量调节阀直至完全松开。当压力设定超过 40psi 时，听见气体泄漏声音属于正常现象（Fig.D-5）。

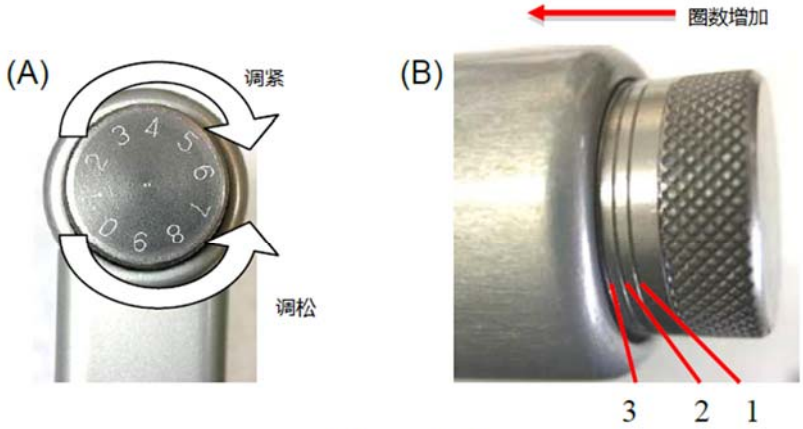


Figure D-5

3. 对于不同压力设定，气体输出强度建议通过调节针状微量调节阀调节至相应合适的设定。推荐设定如下：

表 D-1. 针状微量调节阀的推荐设定

压力设定（psi）	20	30	40	50	60	70
推荐设置（圈数*）	6.5	6	5	4	3	2
设置极限**（圈数）	<7	<6.5	<6	<5	<4	<3

* 推荐按照 Figure D-5(B)中指示设定圈数。通过调紧或调送针状微量调节阀来调整圈数。
** 设置极限是第一次使用时最大出气量设定。不要将针状微量调节阀调过极限并扣动扳机，以避免损伤 GDS-80。

4. 参照表 D-1 调紧针状微量调节阀到推荐的设置（Fig.D-5）。每次改变压力设定之后，请重新对照表 D-1 确保针状微量调节阀设置正确。当 0 刻度指向上方时，代表圈数开始。
5. 扣动 3 下扳机，确保气流速度在连续 3 次射击的情况下稳定在推荐范围 10-15 L/min。如果超出了推荐范围，微调流量计针状调节阀到希望的值（Fig.D-4）。
6. 听声音检查是否每次出气射击长度相同。如果长度不同，请参照部分 G 解决问题。
7. 当调节流量计上的针状调节阀时，请等浮球稳定后再扣动扳机。这种调节也帮助操作前清理枪管。
8. **当扣动板机时，请避免将枪头直指人类以避免任何可能的危险。**
9. 如果出气强度太弱或太强，请参照部分 G 解决问题。
10. 确认出气量稳定之后，请继续按照下列“分布均匀校正”步骤校正 GDS-80。

D-3. 分布均匀校正

确认出气量固定以后，请参照下面的说明校正分布一致性确保 GDS-80 的最佳工作状态。按照以下校正步骤操作：

1. 在调整气流后，扣动几次扳机检查气压是否固定。
2. 推荐使用样本体积 10μl，操作者也可以参照下表使用合适的样本量。

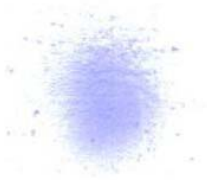
表 D-2. 样本体积

4.5mm 枪管				
压力设定（psi）	70	60	50	40
最大体积（μl)	16	14	12	12
最小体积（μl）	6	6	6	8
10.0mm 枪管				
压力设定（psi）	50	40	30	20
最大体积（μl)	12	12	14	14
最小体积（μl）	6	6	6	4

3. **竖直方向**向枪管中注入 10μl Coomassie Brilliant Blue (CBB)溶液到样本孔中。（CBB 溶液：溶解 0.05g CBB 于 50ml 100% EtOH 中）
4. 4.5mm 枪管，连接 GDS-80 枪口到目标间隔盘上，垫上 3mm 过滤纸，对过滤纸扣动一次扳机。然后更换过滤纸。
5. 10.0mm 枪管，直接将枪头放在滤纸上，在滤纸上 3 个不同的位置扣动 3 次扳机。然后更换滤纸。
6. 重复步骤 3,4 或 3,5 三次，将结果与表 D-3 比对。
7. 如果观测到的结果在滤纸上分布不均匀，并且 3 次试发没有可重现性，确保枪管先被清理干净，在设置极限下微调针状微量调节阀。重复以上校正步骤直至 CBB 溶液可以分布均匀。

   注意：在微调针状微量调节阀时，记得再次调节流量计针状调节阀确认气流速度在 10~15 L/min。不要将针状微量调节阀调过设置极限扣动扳机，以免损伤 GDS-80。

表 D-3. 分布均匀校正参考结果

4.5mm 枪管	最佳状态（均匀）	*可工作状态（小斑点）	不合格状态（不均匀）
3cm target spacer <50psi			
6cm target spacer <50psi			

*确认加样时管尖竖直对向枪管。最佳工作状态是分部非常均匀的条件。不过在可工作状态下一样可以达到可接受的转移效率。

表 D-3. 继续

10mm 枪管（20psi）*	最佳状态（均匀）	*可工作状态	不合格状态（不均匀）
第一枪			
第二枪			
第三枪			

* 以上结果代表 10 mm 枪管在 20 psi 以下时的最佳工作状态与可工作状态。

8. 校正完之后，关闭气体钢瓶阀门。
9. 扣动几次扳机释放输气管内以及 GDS-80 主机内气体。

10. 逆时针旋转至少两圈压力调节扳手。
11. 将枪套与枪管分开，并将它们浸泡于 95% EtOH 溶液中清洗。
12. 确保使用前枪管清洁、干燥。
13. **校正后不要再调节针状微量调节阀。**

D-4. 目标基因粒子传递

枪管清理干净并干燥后重新组装整个系统。打开气体钢瓶阀门，调节压力调节扳手到刚刚分布均匀校正步骤的气压。扣动几次扳机检查气压是否固定。将 GDS-80 放置于合适的位置，将样本加入到样本口（Fig.D-6(a)）。将 GDS-80 枪口安装到目标表面或目标间隔盘上。扣动扳机前按下安全保险打开保险，扣动扳机后立刻从另一端按下安全保险关闭保险（Fig.D-6(b)(c)）。平稳持有 GDS-80，扣动扳机。等待气流从枪管穿过，然后再次扣动扳机。反复扣动几次扳机。注意不同的目标对象有不同的操作方法。参见部分 F。

Figure D-6

D-5. 使用后

传递完基因粒子之后，再次空枪扣动 2 次以上扳机清理枪管，避免枪管内可能残留的污染物。之后先合上气体钢瓶的阀门（Fig.D-7），扣动几次扳机放出 GDS-80 与输气管中的气体。松开气压调节扳手（Fig.D-8，重要步骤！）。将枪套与枪管拆开，用水清洗。所有设备均可以在 121˚C、1.21atm 下消毒 15 分钟。

Figure D-7

Figure D-8

D-6. 清洗

D-6-1. 不同轰击之间清洗

相同样本轰击，只需要扣动三次扳机以清理枪管。

更换不同样本（例如：不同 DNA，RNA，或蛋白质），请按如下步骤清理枪管以防止交叉污染。

1. 在最后轰击以后，扣动三次扳机
2. 将 20μl 灭菌蒸馏水倒入样本孔
3. 扣动扳机三次
4. 将以上步骤重复 3 次
5. 将 20μl 100% EtOH 溶液倒入样本孔，扣动三次扳机
6. 将上一步动作重复三次
7. GDS-80 就续下一种样本

D-6-2. 使用完毕后清洗

使用完 GDS-80 后，请按照以下步骤清洗枪管防止交叉污染。

1. 拆卸开 GDS-80 系统
2. 用蒸馏水清洗枪管与枪套
3. 不要用试管刷清洗枪管内部
4. 为防止枪管内仍含有残留的金粉颗粒，请将整个枪管浸入烧杯的蒸馏水中
5. 将烧杯放入超声波样品震碎机中
6. 超声波裂解 30 分钟
7. 取出枪管，用蒸馏水清洗
8. 花些时间干燥枪管，为下次实验做准备

E. 轰击粒子准备

E-1. DNA 包裹微载体

不同细胞推荐条件：

目标样本	DNA 量(每枪)	样本体积	总 DNA 量	气压	距离	需要射击数
小鼠表皮细胞	1 μg DNA /1 mg 金粉	20 μl	1 μg	30~40 psi	贴在目标上	1
植物细胞	1 μg DNA /0.6 mg 金粉	10 μl	1 μg	50 psi	3 或 6 cm	1
玉米	0.5 μg DNA /0.148 mg 金粉	10 μl	0.5 μg	50 psi	3 或 6 cm	1

E-1-1. 动物细胞（打 5 发）

1. 计算需要金粉与 DNA 质粒数量
2. 将含有 5 mg 金粉的 50μl 无菌水用力震荡
3. 将 5μl DNA 质粒溶液（1μg DNA/μl 水）倒入金粉溶液
4. 在此过程中将亚精胺、$CaCl_2$、100% EtOH 置于冰上
5. 将 75μl 0.05M 亚精胺逐滴倒入试管中，用力摇晃混匀。（亚精胺主要用于凝结 DNA，将金粉充上正电，需要一滴一滴地滴入微载体试管并同时摇晃。如果 DNA 聚集，超声波振动几秒直至混匀。）**不要将亚精胺与 $CaCl_2$ 预混合。**
6. 将 75μl 2.5M $CaCl_2$ 逐滴滴入试管，剧烈摇动混匀。（$CaCl_2$ 的体积必须超过 DNA 质粒溶液的体积，并且应当缓慢逐滴加入到微量离心管中，边加边摇晃。如果 DNA 出现聚集，超声波震荡几秒直至混匀。）
7. 置于冰上 10 分钟（可以放置更久，但不要超过 4 小时）
8. 用 6000 rpm 离心 1 分钟，丢掉上清液
9. 用 200μl 100% EtOH 悬浮金粉颗粒
10. 用 6000 rpm 离心 1 分钟，丢掉上清液
11. 重复步骤 9~10，2~3 次
12. 用 100μl 100% EtOH 悬浮金粉混合物
13. 为每枪等分 20μl 溶液。每次等分与移液 gold-DNA 之前都震荡几次保证良好混匀
14. DNA 包裹金粉溶液已经就绪等待轰击
15. 将足够的金粉 DNA 溶液加入到样品孔中

E-1-2. 对植物细胞

金粉 stock：（60mg/ml）

1. 称出 30mg 金粉到 1 个 1.5ml 微量离心管
2. 加入 1ml 70% EtOH
3. 用力震荡 3~5 分钟
4. 室温下放置 15 分钟
5. 6000rpm 离心 30 秒，丢掉上清液
6. 加 1 ml 无菌水
7. 震荡 1 分钟，将将微粒置于室温下 1 分钟
8. 6000rpm 离心 30 秒，丢掉上清液
9. 重复步骤 5~7，3 次
10. 加 500μl 无菌水制作金粉 stock（60mg/ml）
11. 将金粉 stock 存于 4°C 环境

10 次轰击 DNA 包裹金粉颗粒制备：

1. 拿出 1 份 100μl 金粉 stock（60mg/ml）到一个 1.5ml 的微量离心管中，加 10μl DNA 溶液（1μg/μl）
2. 保证亚精胺，$CaCl_2$，100% EtOH 在 4°C 以下环境操作
3. 将 40μl 0.1M 亚精胺逐滴加入到试管中，充分震荡混匀。**不要将亚精胺与 $CaCl_2$ 预先混匀。**
4. 将 100μl 2.5M $CaCl_2$ 逐滴加入试管，充分震荡混匀大约 1 分钟
5. 在 6000rpm 下离心大约 30 秒，扔掉上清液
6. 加入 200μl 100% EtOH 震荡 30 秒，悬浮金粉颗粒
7. 6000rpm 离心 30 秒，撇除上清液
8. 将步骤 6~7 重复 2~3 次
9. 加入 100μl 100% EtOH 悬浮金粉颗粒
10. 为每枪等分 10μl 基因粒子溶液。每次等分前确保震荡混匀。每次等分与移液 gold-DNA 之前都震荡几次保证良好混匀
11. DNA 包裹金粉溶液已经就绪等待轰击

E-2. 裸 DNA 溶液

不同细胞类型推荐条件

目标样本	DNA 量	样本体积	总 DNA 量	气压	距离	需要射击数(每次实验)
小鼠表皮细胞	7.5~10 μg DNA /枪	20 μl	7.5~10 μg	40~50 psi	贴在目标上	1
Cultured Cell Line	>2 μg DNA /枪	10 μl	>2 μg	20 psi	1 或 2 cm	1

1. 将 DNA 质粒溶解于(例如 TE 缓冲液，PBS 缓冲液，无菌水...等)溶液中，置入 1.5ml 微量离心管中备用。
2. DNA 溶液就绪等待轰击
3. 将 1 次射击所需要的充足 DNA 溶液灌入样本孔中

F. 轰击

F-1. 动物系统

F-1-1. 目标样品制备

1. 小鼠表皮细胞：
   轰击前 2~3 个小时，将小鼠腹部毛发剃干净。实验需要 2 人，一人抓住小鼠，另一人操作 GDS-80。
2. 培养细胞(只对粘附细胞)：
   在轰击前几天用 6 或 12 井托盘继代培养实验用细胞。确保在轰击前丢弃培养液，并立刻重新装满新鲜培养液。

F-1-2. 准备 GDS-80

1. 将 GDS-80 系统安装上 10mm 枪管。
2. 按照如下推荐温度设定传输气压：
   a. 小鼠表皮细胞：DNA 包裹微载体：30~40psi
      裸 DNA 溶液：40~50psi
   b. 培养细胞(只对粘附细胞)：裸 DNA 溶液：20psi

3. 如果压力设定改变后，轰击前一定要重新将部分 D-1 到 D-3 重新操作一遍。同时确保气体钢瓶中的气压超过 500psi。

F-1-3. 开始轰击

1. 按照部分 E 的指示准备基因粒子。
2. 向样品孔中加入适当体积的溶液。
3. 将枪口置于靶细胞上合适的距离。推荐与靶细胞的距离如下：
   a. 小鼠表皮细胞：贴在小鼠腹部皮肤上
   b. 培养细胞（仅粘附细胞）：1 或 2cm
4. 扣动一次扳机（参照部分 E-2）轰击基因粒子。
5. 向空气中再射击 3 枪以清洁枪管。
6. 按照部分 D-5 与 D-6 步骤继续下一次轰击或停止操作。

F-2. 植物系统

F-2-1. 准备

因为有不同种类的植物样本，目标样本的准备工作非常不同。请依据实验需要准备样本。操作人员需要准备 UTS-10 或 3cm/6cm 目标间隔盘以完成实验。

F-2-2. 安装 GDS-80

1. 将 GDS-80 系统与 4.5mm 枪管组装
2. 将传递气压设为 50psi
3. 如果改变了气压设定，轰击前必须要重新操作一次部分 D-1 到 D-3 步骤。确定气体钢瓶中的气压>1000psi

F-2-3. 开始轰击

1. 按照部分 E 制备基因粒子
2. 将样本口中加入合适的溶液体积
3. 将枪口安装上如下推荐的配件上：
   a. 颗粒型细胞（比如胚）：
      将细胞置于培养皿中间，覆盖上 3/6cm 目标间隔盘。也可以用 UTS-10。
   b. 粉状细胞（比如花粉）：参照 UTS-10 说明

c. 活体叶片：参阅 UTS-10 使用说明

4. 扣动一次扳机传递基因粒子
5. 向空气中开 3 次空枪以清理枪管
6. 参照部分 D-5 与 D-6 的指示进行下一次轰击或者停止操作

G.故障排除

1. 漏气

   按照 D-1 部分说明用肥皂水检查整个连接线。（如部分 D-1 中阐述，用肥皂水检查连接线观察是否有气泡产生。如果有，可以确定有气体泄漏）。重复确认后，你可能会遇到如下情况。

   - 如果连接线，快速接头，或者压力控制阀有损坏并导致泄漏，请联络当地业务代表或者 Wealtec 全球技术/服务专家：support@wealtec.com 更换损坏件。
   - 如果气体钢瓶接头不合适，请给您当地经销商提供接头技术参数，获取合适适配器。
   - 如果因为连接件接触不紧，用聚四氟乙烯胶带让其加紧接触。
2. 次压力表气压超过 75 psi
   - **不要扣动扳机释放压力，否则将会对主机内阀门造成严重损害**
   - 先关闭气体钢瓶阀门，将输气管两端快速连接头拆卸。将输气管与流量计之间的快速接头断开、重连数次将两压力表的气压都释放到 0
   - 将压力调节扳手逆时针转两圈
   - 重新连接系统，继续下面步骤
3. 扣动扳机后，无气流或气流太弱
   - 检查压力调节阀是否开启，压力设定是否超过 20psi
   - 检查气体钢瓶中压力是否足够
   - 逆时针旋转针状微量调节阀微调增加气流输出强度。注意不要将微量调节阀调高过设定极限
   - 工作一段时间后，GDS-80 内部弹簧可能会变松动。这种情况下，仅在 GDS-80 内部阀门可以自动关闭的条件下，允许调节超过压力设定
   - 如果检查以上方面之后依然没有气流从系统流出，请联络当地业务代表或威泰克全球技术/服务专家：support@wealtec.com.
4. 扣动扳机后，气流不停或太强。
   - 顺时针拧紧针状微量调节阀以减少气体输出强度
   - 可能由于压力过大或气流排出。请降低气压设定
   - 调节流量计针状调节阀降低气流速度减少气体输出时间
   - 如果气流仍不停，请先关闭气体钢瓶阀门，请联络当地业务代表或威泰克全球技术/服务专家：support@wealtec.com.
5. 调节气体输出时，每枪间的气体输出声音不同
   - 微调调紧紧针状微量调节阀，降低气体输出强度
   - 顺时针微调流量计针状调节阀，同时扣动几次扳机再次检查。调节针状调节阀直至输出气流稳定
   - 如果调紧针状调节阀以后气流依然不稳定，请联络当地业务代表或威泰克全球技术

/服务专家：support@wealtec.com.

6. DNA 金粉粒子聚集
   - 确认每一步震荡步骤到位
   - 确认 DNA 样本溶解于合适的浓度内
   - 所有聚集都可以用简短的超声波震荡溶解。将微量离心管置于超声振荡器中 5 秒并取出。重复数次以解决问题
7. 金粉颗粒无法穿透皮肤或器官
   - 增强操作气压
   - 将枪管更换为较小尺寸
   - 更换较大直径金粉颗粒
8. 活体小鼠表皮细胞传递之后，腹部区域过于潮湿：
   - 增强传递气压，比如：40 到 50 psi 之间
   - 如果依然潮湿，请联络当地业务代表或威泰克全球技术/服务专家：support@wealtec.com.
9. 结果不好或者表达率不高
   - 确认 DNA 质粒可以在靶细胞内正常表达
   - 将金粉颗粒置于无菌水中，溶解 DNA 到上面确认金粉制备合适有充足的的 DNA 在上面
   - 进行 PCR 实验确保 DNA 质粒被恰当地传导入细胞中
   - DNA 质粒的表达也会受靶细胞质量影响
   - 过高气压传递也可能毁坏 DNA 结构
   - 请检查气体钢瓶中的气压，动物实验时确保有 500psi，植物实验时 1000psi
   - 逆时针微调针状微量调节阀以增强气体输出强度，增加转染效率
10. 目标细胞基因表达不均匀分布
   - 确认 GDS-80 竖直固定于靶细胞上方轰击
   - 检查内部是否干净。如果内部有污染，请将枪管浸于 95% EtOH 中，之后超声波 30 分钟清洁。不要用试管刷清理枪管内部
   - 重复部分 D-2 与 D-3
   - 如果完成以上步骤时传送分布仍然不均匀，请联络当地业务代表或威泰克全球技术/服务专家：support@wealtec.com.

H.维护与保养

1. 每次使用完后，请再打 2 至 3 次空枪，确保枪管内没有残留样本
2. 每次使用完后用清水清洗枪管
3. 不要用试管刷清理枪管内部
4. 如果有金粉附着在枪管内，将它浸入到 95% EtOH 中，之后超声波 30 分钟清洁
5. 确保使用 GDS-80 前消毒防止污染。整个主机可以在 121˚C 1.21atm 下消毒 15 分钟
6. 建议您每年联系一次当地供货商维护 GDS-80 弹簧，让 GDS-80 保持在最佳工作状态