

Vitrobot 用户操作指南

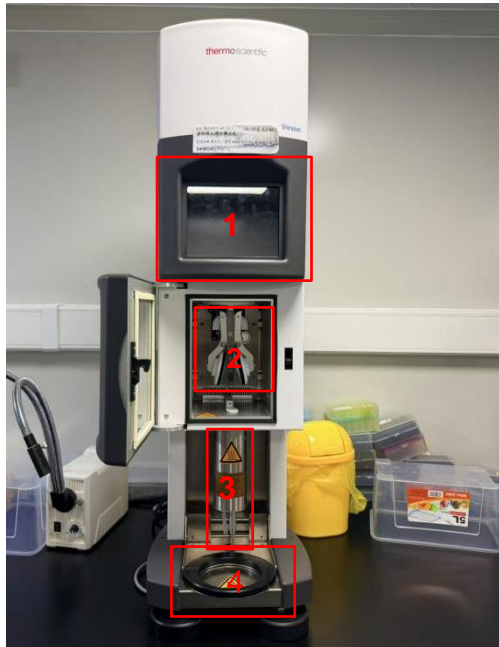
安全事项

1. 未经培训的用户严禁擅自使用此仪器，如有发现，将根据冷冻电镜中心管理规定办法做出相应处罚。
2. 请先检查仪器、工具有无损坏/异常，如有损坏/异常请及时告知管理员，请勿私自处理。
3. 打液氮时注意安全防护，以免冻伤。
4. 实验过程中请小心使用镊子，以免损伤。**（如有损伤，照价赔偿）**

准备工作

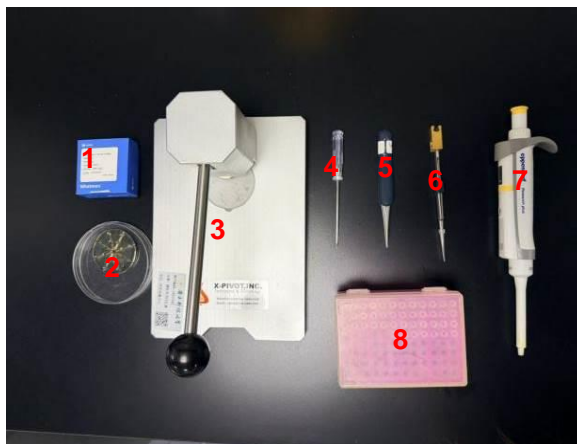
1. 实验前请提前准备好液氮、纯水、样品、载网、box。

2. 仪器结构



1. 显示屏
2. 样品blot夹
3. 加湿器
4. 泡沫碗放置台

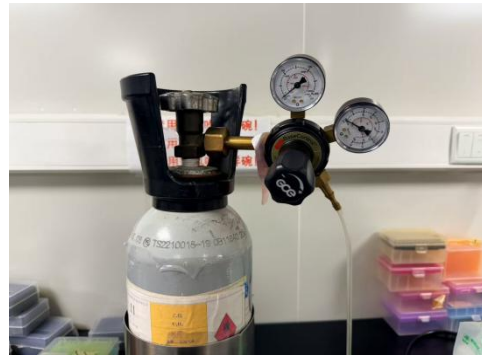
3. 所需耗材及工具



1. 滤纸
2. 载网放置铜盘
3. 打孔器
4. 螺丝刀
5. 尖头镊子
6. vitrobot专用镊子
7. 移液枪
8. 枪头



Vitrobot制样泡沫碗



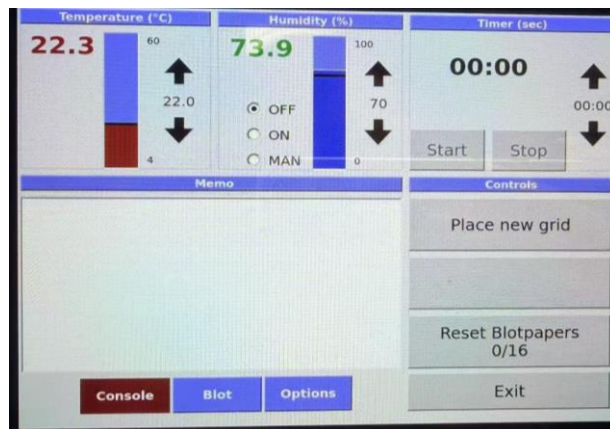
乙烷



1. 泡沫碗
2. 泡沫O圈
3. 导热架
4. box放置架
5. 乙烷杯

开机操作

1. 打开仪器背后的开关按钮，让仪器进行运转，开机后显示器页面如下显示。



2. 添加纯水，当屏幕中出现“Empty”提示时仪器缺水需进行加水（20ml），将准备好的纯水用注射器通过加湿器下方连接管加入到加湿器中。仪器不用每次使用都要加水，只需缺水时加即可。**（注意不要加太满，否则加湿器不工作）**

3. 冷冻泡沫碗。组装好泡沫碗，将液氮加入泡沫碗中进行冷却（1-2分钟，确保乙烷杯冷却到位）。确保乙烷杯中无液体且保持干燥，加乙烷进行液化，打开乙烷阀门，先逆时针打开乙烷罐一级阀门，再按照 + - 指示打开二级阀门，小气流将气头放入乙烷杯；当乙烷开始液化将气流变大加满，加满后将气流变小并拔出；关闭二级阀，关闭一级阀；再打开二级阀将管道中气体放出并关闭。**（注意一定记得放出管道中残留气体，避免下一个用户使用出现危险）**

乙烷冷却到固液共存状态时将导热架取出，泡沫O圈根据习惯可取可不取，放入空box。

注意：

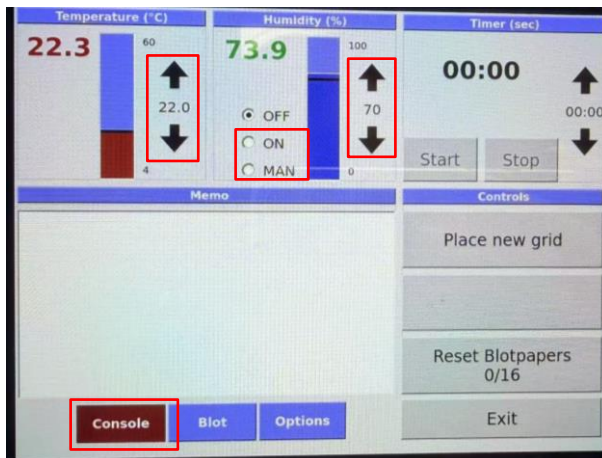
- 金属部分不要用手接触，手上有油脂汗液会造成污染，需戴无粉手套或使用镊子。
- 泡沫O环操作时可取可不取，加O环可以更好的维持乙烷附近的低温环境，但也会减少操作空间，不便操作。
- 上仪器操作前，一定要取下导热架，避免乙烷固化，撞坏载网和专用镊子。
- 不操作时，用塑料罩子盖住冷冻泡沫碗，隔绝空气，防止污染。（不隔绝空气会有冰霜形成，冻样时污染样品）。

设置参数操作

1. 打开观察窗的门，取两片滤纸，用打孔器进行打孔，放进机器blot样品位置。

2. 参数设置

2.1 环境参数设置



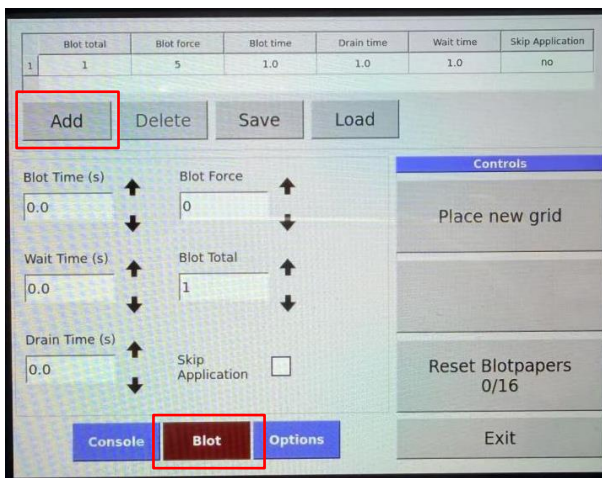
点击Temperature中上下箭头调至制样所需温度；

点击Humidity中上下箭头调至制样所需湿度；

点击ON，加湿器到达所设置湿度会停止加湿；

点击MAN，快速加湿，且不管湿度多少会一直进行加湿。

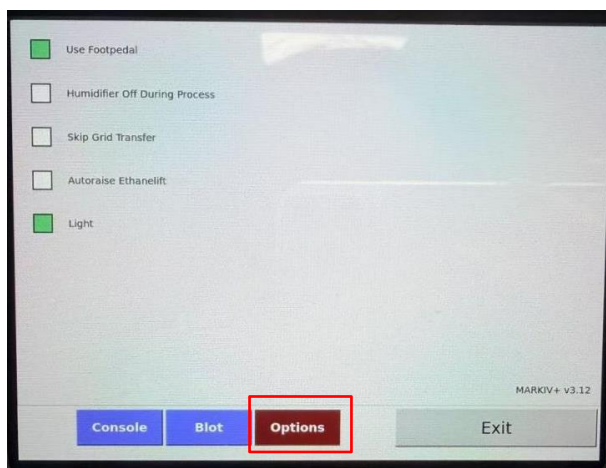
2.2 加样参数设置



根据自己制样条件去改参数，Blot Time、Blot Force、Blot Time为常改参数；Blot Total建议为1；Drain Time建议为0。

参数设置完成后，点击Add添加到上方的setting列表中，在setting列表中点击你的setting变成蓝色证明load成功。

2.3 其他设置



- Use Footpedal勾选时表示使用脚踏板。中心未安装脚踏板，不用勾选。
- Humidifier Off During Process勾选时表示湿度达到设定值后，实验过程中不加湿（以免水汽污染载网），建议勾选。
- Skip Grid Transfer勾选时表示跳过载网半自动传输，载网半自动传输是指载网投入液态乙烷并一起下降到初始位置附近后，点击continue泡沫碗继续向下向前移动（此位置不准，移动后，载网不在box上方），建议勾选。
- Autoraise Ethanelift勾选时表示加样前镊子上升时，泡沫碗紧随其后上升（不利于及时补充液氮），建议不勾选。
- Light选勾时表示观察窗灯亮起（有利于加样），建议勾选。若样品需避光可取消选勾。

样品制备

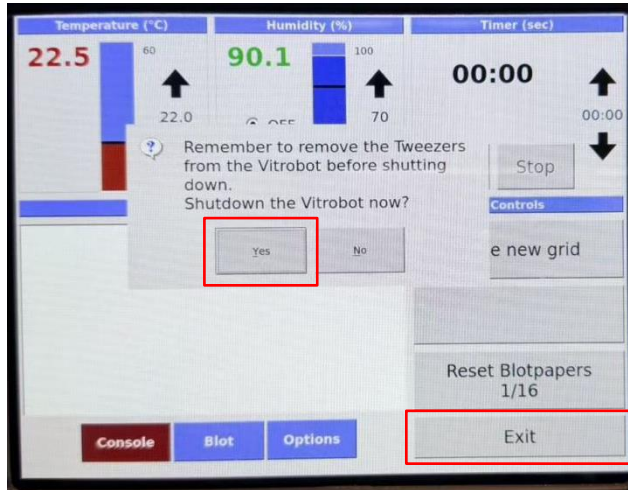
载网提前用载网放置铜盘进行辉光放电，亲水化处理。将准备的载网用尖头镊子放置到铜盘上（**正面朝上放置**）。

在开始制样前，让仪器空走一轮，不放泡沫碗和专用镊子，查看仪器是否正常运行。**若仪器不能正常运行及时联系管理员处理。**

将冷冻泡沫碗放到放置槽中，点击Place new grid，安装夹好载网的镊子，**注意载网正反面**；接着点击Continue，再点击Place ethane container（冷冻泡沫碗上升）；点击Start Process，选择合适的移液枪与枪头，吸取样品，打开加样仓门（左右两侧均有加样仓门，一般为右侧加样）滴加样品在载网正面上；点击Continue，进行样品blot，镊子快速插入乙烷杯后和泡沫碗同时下降，小心取下镊子并快速转移至液氮box中（**注意不要造成镊子损伤，如有损伤，照价赔偿**）。重复以上操作直至制完样品（注意泡沫碗液氮量，及时进行添加）。

显示屏Reset Blotpapers0/16，每吸附一次，计数加一（1/16）；若制够16个样品（16/16）证明滤纸吸附次数已用完，请及时更换滤纸，并点击Reset Blotpapers进行归零。

关机操作



点击Exit，屏幕出现提示框，点击Yes，等待屏幕关闭并等待机器停止运行后（一分钟左右），关闭仪器后面的开关按钮。

冷冻制样结束后注意事项

- 废液处理：**将实验剩余乙烷和液氮倒入制样间地上的白色矩形泡沫盒内，若还剩余很多干净液氮，将液氮倒回液氮罐中。
- 清洁台面：**将实验台面收拾打扫干净。实验完成后将所用中心的工具整理好放回原处；实验过程中产生的垃圾丢入黄色专用垃圾桶中。
- 登记：**在logbook上对本次实验进行登记，登记时注意logbook上印字是否为vitrobot，确认为vitrobot后再进行登记。
- 归还检查中心vitrobot专用镊子：**若需借用中心专用镊子，请找管理员借用。实验结束后归还到管理员手中，管理员检查后镊子无损坏即完成本次借还。**如有损坏照价赔偿。**
- 系统账单结算：**实验结束后登录预约系统进行账单提交，按实际时间结算，其中按照实验中所使用耗材进行耗材费用结算（如载网、box、液氮）。（**注意每使用一次都要提交1 L /20元的液氮耗材费用**）