

# 蛋白质质量分析仪操作指南

## 1. 开机

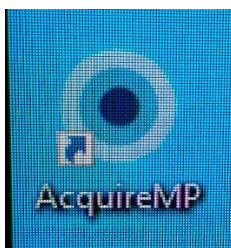
- 首先打开总开关，共两个插线板，然后打开激光器开关，最后打开电脑开关。
- 打开减震台的开关，先按下 Load Adjust 按钮，自动调节 5 s 后关闭，再打开 Isolation 按钮，此时在闪烁，说明减震台开始工作。
- 电脑有两个账户（Instrument User 和 Refeyn Ltd），选择账户 Instrument User，密码为 **cryo-EM2021**。

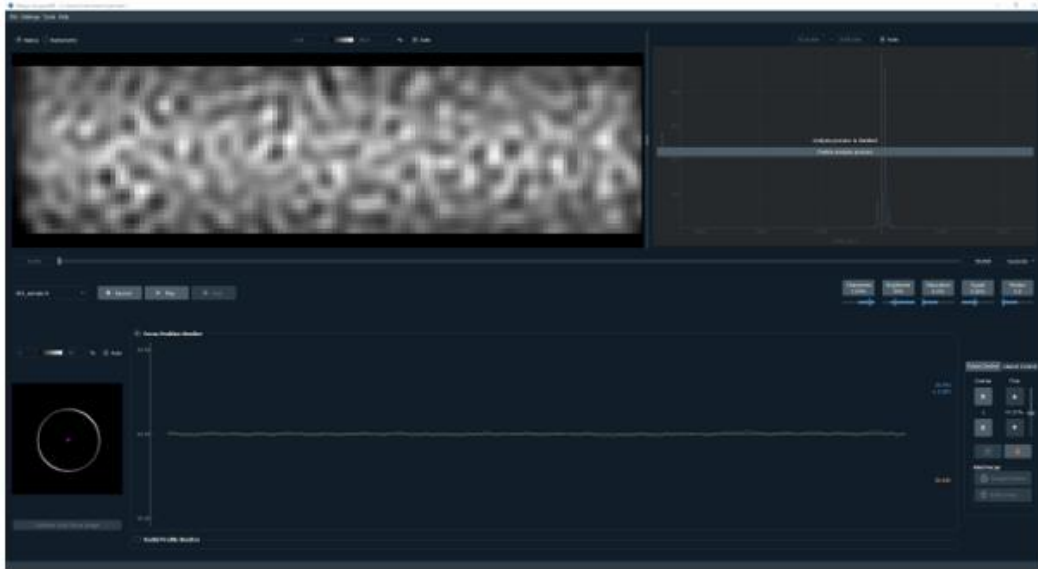


## 2. 初始化步骤

### 2.1. 检查系统设置

- 确保仪器与 AcquireMP 软件已开启 **至少 1 小时**，以保证系统达到热平衡状态。同时检查 Accurio 防震台是否已通电并完成隔离操作。
- 桌面上有两个软件，分别为 AcquireM 和 DiscoverMP，其中 AcquireMP 为数据收集软件，DiscoverMP 为数据分析软件。
- 打开 AcquireMP，会直接弹窗问是否建立新的 project，如果是之前做过的用户，可以直接点击 Load 载入之前建立的文件夹，如果是新用户，则需要点击 Create New，此时将 Location 改成到 D 盘 (**D:\refineproject\用户名**)，refineproject 文件夹下新建一个新的文件夹（最好用每个用户的姓名缩写），Project Name 可以填写当天的日期，点击 Save 即可。





## 2.2. 加入浸没油

在显微镜物镜上滴加一滴浸没油，注意先去除油滴中的气泡。



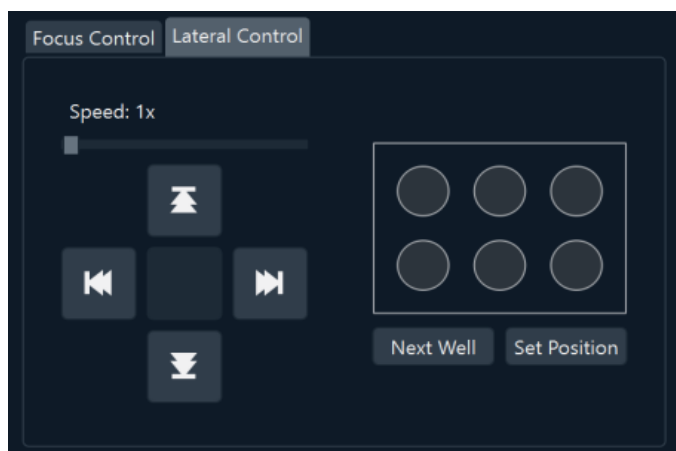
## 2.3. 安装载片组件

将准备好的干净载片组件放置在样品台上，上方为卡匣 (cassette)，确保浸没油均匀扩散，并使用磁铁固定载片。



## 2.4. 对准卡匣位置

在软件中点击欲使用的孔位 (well), 移动样品台使红光位于孔中心附近, 点击“Set Position” 以设置位置, 后续可直接点击孔位自动移动。



## 3. 对焦步骤

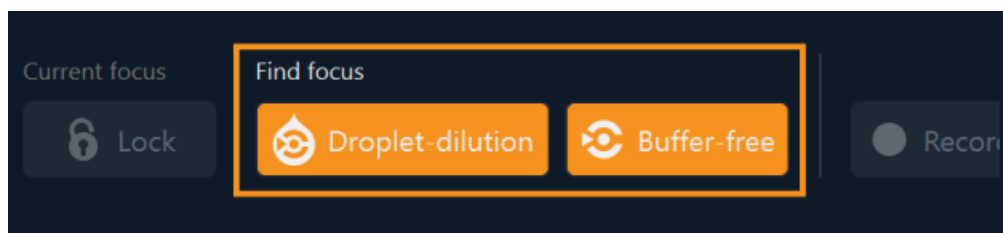
### 3.1. 加入缓冲液

若使用 Droplet-Dilution 模式, 请在选定孔中加入 10  $\mu\text{L}$  干净缓冲液; 若使用 Buffer-Free 模式, 请跳过此步骤。



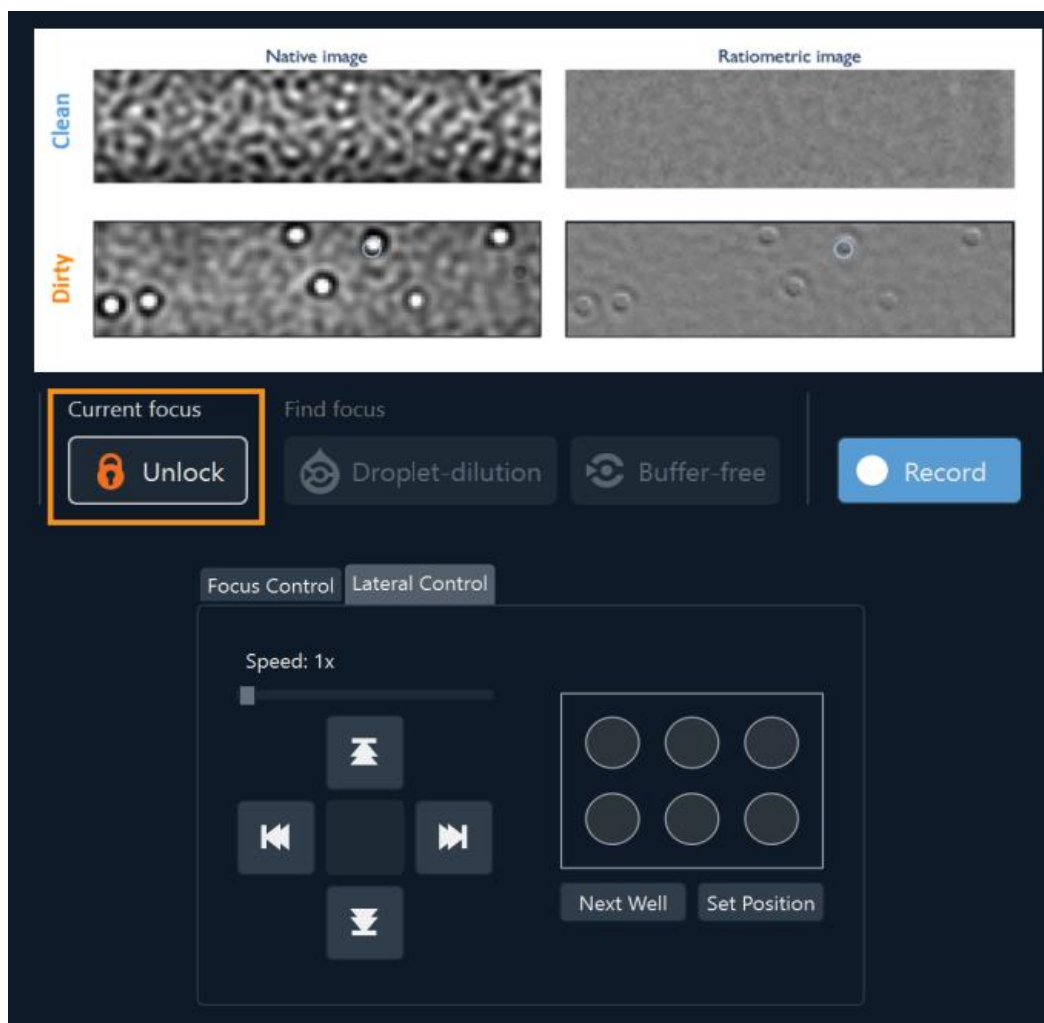
### 3.2. 执行自动对焦

在 Find Focus 区域中, 根据使用模式点击“Droplet-Dilution” (推荐模式) 或“Buffer-Free” 按钮启动自动对焦。



### 3.3. 检查焦点质量

检查原始图像中是否存在明显亮斑或暗斑。若有杂质，请解锁焦点并通过 Lateral Control 调整位置，移除杂质后重新执行对焦步骤。



## 4. 测量步骤

### 4.1. 准备样品

将样品浓度调整至  $100 \text{ pM} - 100 \text{ nM}$  范围内。若使用 Droplet-Dilution 模式，请考虑孔内的额外稀释。

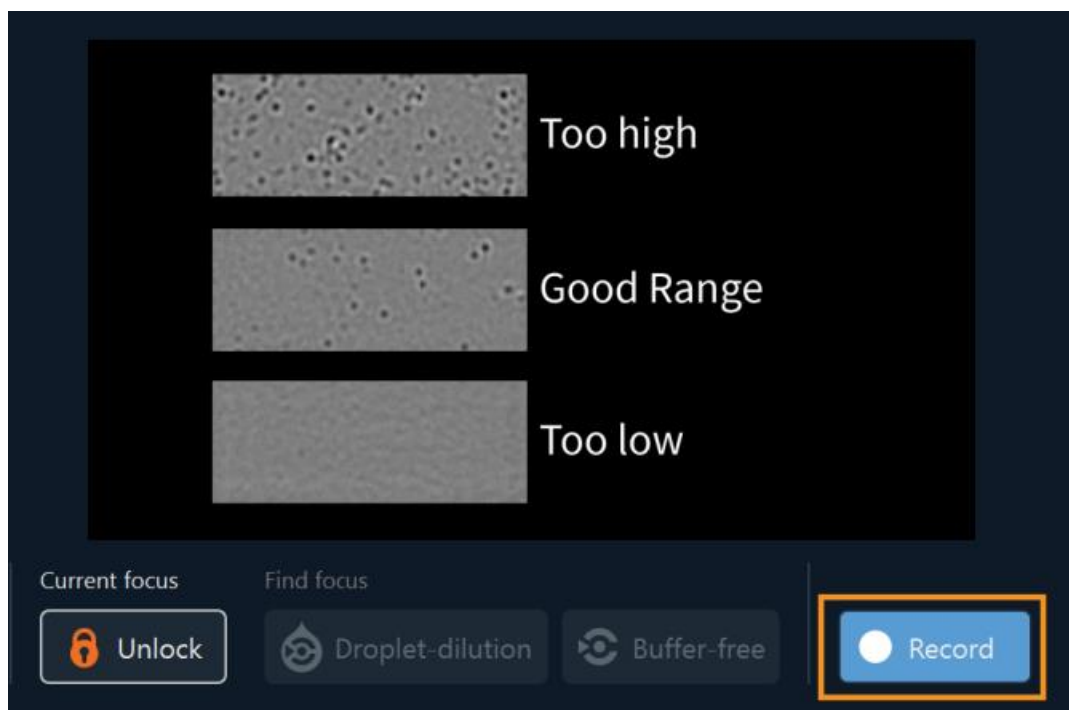
### 4.2. 加入样品

向孔内加入样品使最终体积为  $20 \text{ }\mu\text{L}$ ，用移液器轻轻吸打混匀，避免气泡，**注意不要戳到玻璃片上。**



### 4.3. 记录数据

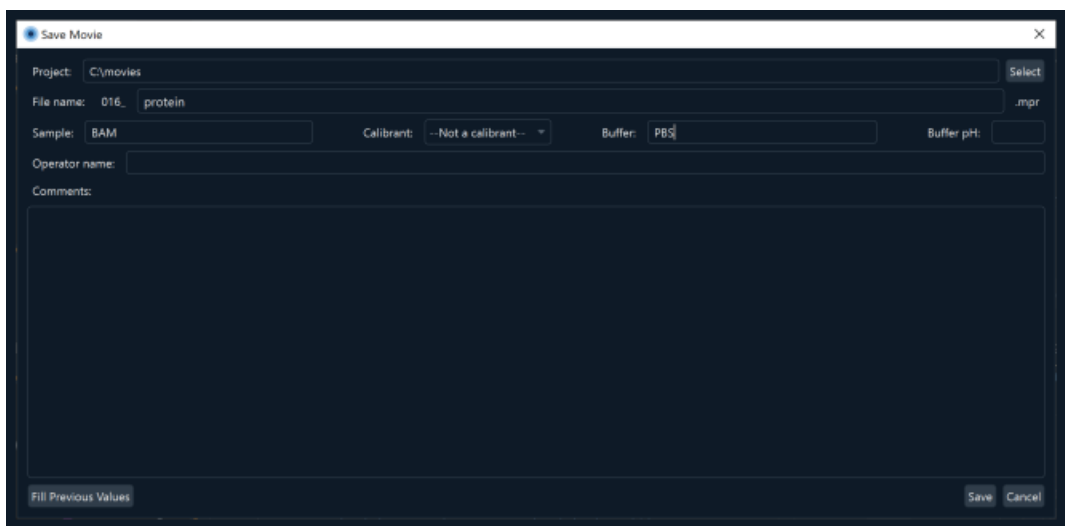
盖上盖子并观察视野中颗粒着陆事件 (landing events)，确保事件分散且不重叠，点击“Record”开始录像。



- 玻璃片是二氧化硅，本身带负电，可以吸附带正电的蛋白，当**蛋白被吸附**在玻璃表面时呈现为**黑点**；当**蛋白悬浮**在液滴中时呈现为**白点**（此时处于离焦的状态），软件只记录黑点的数量。
- 如果样品加完后，发现上方图片中的黑点数量偏少，可能是蛋白浓度不够，可以从样品孔中吸取出 2  $\mu\text{L}$  溶液，然后再往样品孔中加入 2  $\mu\text{L}$  蛋白样品，保证每个孔**总体积在 20  $\mu\text{L}$**  即可，最终要看到上方闪烁的图片中黑点足够多并且呈现分散不聚集状态。
- 当样品中的黑点分布合适，此时可以点击 Record，软件会自动记录 6000 帧图片，然后可修改命名保存，文件后缀为.mp。

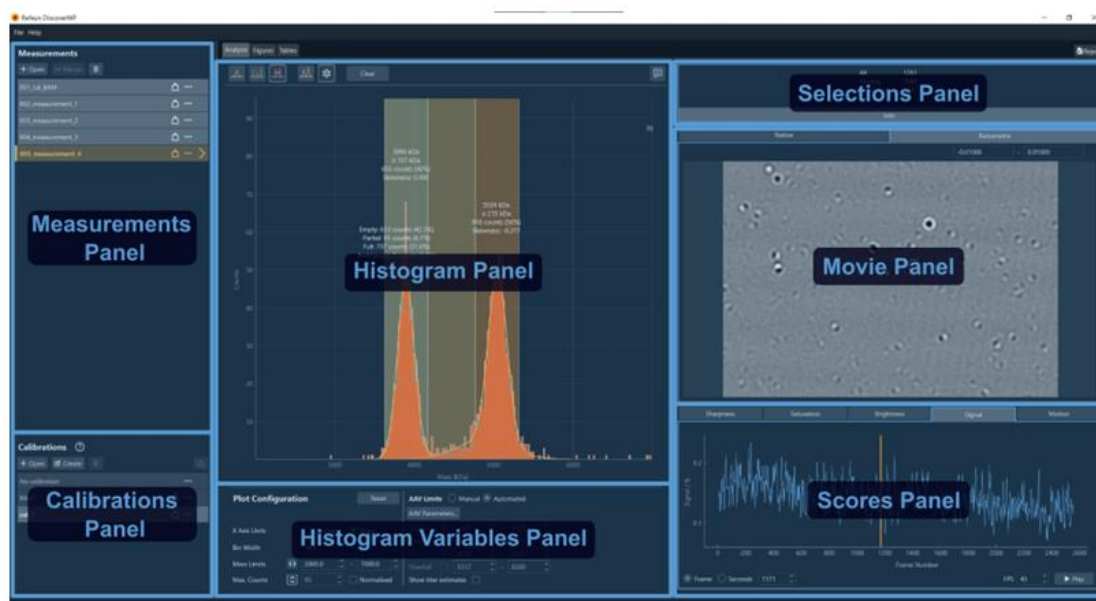
### 4.4. 命名并保存数据文件

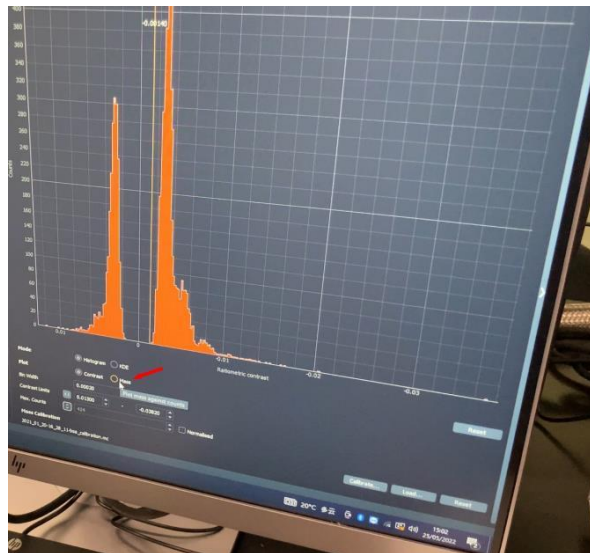
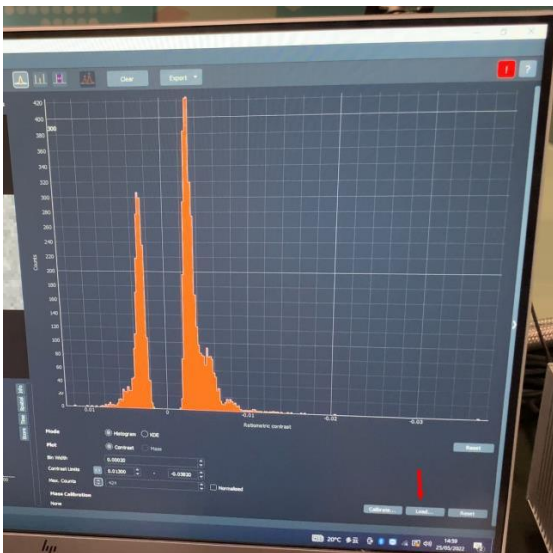
录像完成后输入文件名并填写实验详细信息，保存后的视频可使用 Refeyn DiscoverMP 软件进行分析。



## 5. 数据分析

打开 DiscoverMP 软件，打开之前保存的.mp 文件，点击最上方的 Analyse，等待分析完后点击右下角的 Load，载入之前做的标准曲线（标准曲线.mc 文件在 refineproject 文件夹下），此时右下角 Plot 中的 Mass 即可点击，选中 Mass 后可以看到横坐标显示为分子量，拖动鼠标左键选择每个峰，即可观察每个峰的分子量大小。





## 6. 结束

用干净擦镜纸蘸取少量**异丙醇**，将镜头上的油擦净，自然风干。

关闭 AcquireMP 和 DiscoverMP 软件，关闭激光发生器、减震台开关，关闭电脑，登记使用记录。

