

	文件名称：宁波新芝 GJ-1000 基因枪操作规程		版本号：GGPT-SOP-203	
	编制	刘丽萍 ·	发布实施日期	2016-4-1

### 一、目的

为规范宁波新芝 GJ-1000 基因枪的基本操作、维护保养、异常处理程序，防止人为操作失误，确保宁波新芝 GJ-1000 基因枪的正常和有效使用，特制定本规程。

### 二、适用范围

本公共实验平台宁波新芝 GJ-1000 基因枪（设备编号：）的使用。

所在实验室：接种室[709]

### 三、职责

本程序的实施者为宁波新芝 GJ-1000 基因枪操作者，公共实验平台技术管理员负责对本程序的实施情况进行监督。日常运行及维护、定期维护、定期点检及保养由公共实验平台技术管理员负责。

### 四、开机前准备

4.1 使用本仪器前，操作人员须接受过相关培训并仔细阅读说明书。

4.2 检查实验室电源、温度和湿度等环境条件，实验室温度保持在 15~30℃ 之间，湿度小于 80%。

4.3 检查钢瓶中其他的压力

### 五、操作程序

#### 5.1 材料准备

在 9cm<sup>2</sup> 培养皿上铺一薄层培养基，把材料（一般用未成熟胚、成熟胚、小愈伤组织、悬浮细胞、原生质体等）平铺于培养皿中心，直径在 3cm 范围内。

#### 5.2 金粉的处理

取 60mg 金粉或钨粉置于离心管中，加入 1ml 无水乙醇，充分振荡 3min，以 9615g 离心 1rain，去上清，再加入 1ml 无菌水充分混匀后，以 9615g 离心，重复上述步骤 3 次。最后，将金粉悬浮于 1ml 无菌蒸馏水中，置 4℃ 或室温下储存。

#### 5.3 DNA 的处理

取 50tA 金粉悬浮液，依次加入 5rd 的质粒 DNA（1.0 / lg~1）溶液、50

//10. 1mol/L 亚精胺（所用的溶液经无菌消毒），振荡 3rain 后，在室温下放置 10min，以 9615g 离心 10s，弃去上清液；加入 250~1 无水乙醇，振荡后以 9615g 离心 10s，弃上清液。沉淀重新悬浮于 60 / 11 无水乙醇中，可供 5 枪（每枪 10~1）使用。

5.4 基因枪的操作基因枪的所有操作均在无菌条件下进行，具体步骤如下：

- 1) 先用 70%乙醇对基因枪表面及样品室进行消毒。同时，用 70%乙醇将阻挡网和可裂圆片，微弹载体及其固定器、固定工具浸泡 15min 后，放在超净台上晾干。可裂膜片、固定盖、微弹载体发射装置可用 70%乙醇进行表面灭菌，吹干。
- 2) 将微粒载片嵌入固定环中，取 DNA 及金粉的混合物加于微粒载片中心，干燥 1min 左右。
- 3) 安装可裂膜于其托座上，顺时针拧到气体加速器上。
- 4) 将空间环、阻挡网、阻挡网托座、微粒载片及固定环（带有微粒的面朝下）安装好，旋紧盖子，插入枪中。
- 5) 把样品放在轰击室中，关好门。
- 6) 打开氦气瓶的总阀，顺时针转氦气调节阀，使氦压表指针的示数高于可裂膜压力 200Psi（=1. 379MPa）。
- 7) 打开基因枪及变压器开关。
- 8) 按动真空键，待真空度至 26—28in Hg（=88. 05~94. 82kPa）时，迅速按下 Hold 键，接着按住发射键，并保持不动，直到激发为止。
- 9) 按通气键待真空表归零后，取出样品。
- 10) 把氦气瓶的总开关旋紧，打一次空枪，把氦压表指针归零后，再逆时针旋转氦压表调节阀；关闭基因枪的总开关及变压器开关。

5.5 使用完毕后，关闭主机，做好使用记录和清理工作。

## 六、技术支持

联系人：刘丽萍 18367121691