



目 录

1. 概述	1
1.1 ARTP 原理	1
1.2 ARTP 诱变育种仪	5
2. 仪器介绍	6
2.1 仪器结构	6
2.2 性能指标	7
3. 安装与调试	7
3.1 安装环境要求	7
3.2 安装流程	8
3.2.1 仪器拆箱	8
3.2.2 供气系统连接	8
3.2.3 供电系统连接	9
3.3 调试流程及指标	9
3.3.1 照明、紫外灯检测	9
3.3.2 气量波动检测	9
3.3.3 功率调节检测	9
3.3.4 放电状态测定	9
3.4 触摸屏操作说明	10
3.4.1 欢迎界面	11
3.4.2 操作界面	11
3.4.3 数字设置界面	14
3.4.4 参数设置界面	14
3.4.5 仪器说明界面	16
3.4.6 结束界面	17
4. 实验操作指南	18
4.1 处理前样品的准备	19



4.1.1 实验准备	19
4.1.2 待处理样品的制备	19
4.1.3 样品载片制备及处理	19
4.2 诱变处理过程	21
4.2.1 使用前准备工作	21
4.2.2 仪器运行及预消毒	21
4.2.3 放置处理样品	21
4.2.4 参数设置	22
4.2.5 样品处理	22
4.2.6 处理结束	22
4.3 处理后样品	23
4.4 仪器处理过程注意事项	23
5. 仪器日常维护及常见故障排除	24
5.1 注意事项和安全使用说明	24
5.2 仪器日常维护	25
5.2.1 仪器清洁	25
5.2.2 仪器气路泄漏检查	26
5.2.3 仪器气体放电状态检测	26
5.3 常见故障排除	27
6. 免责声明	29
7. 联系方式	30
附件 1 气瓶气路连接	31
附件 2 ARTP 诱变育种仪 CE 安全认证证书	33



1. 概述

品质优良的微生物菌株始终是生物产业的核心竞争力；如何利用高效的生物诱变技术实现菌株的快速改造，是生物产业的核心工作之一。常规的诱变方法普遍存在工作效率低、工作量大、盲目性大等问题，已不能适应工业化菌种开发的需要，新型高效的诱变育种技术具有良好的应用前景。

无锡源清天木生物科技有限公司一直致力于生物产业关键技术和工具的开发及应用推广。本研发团队与清华大学合作，将常压室温等离子体技术（atmospheric and room temperature plasma, ARTP）应用于微生物诱变育种^[1,2]，研发出世界上首台“常压室温等离子体（ARTP）诱变育种仪”。该仪器突变率高，并且结构紧凑、操作简便、安全性高、诱变速度快，一次诱变操作（数分钟以内）即可获得大容量突变库^[3]，极大地提高了菌种突变的强度和突变库容量；ARTP 技术结合高通量筛选技术，可实现对生物快速高效的进化育种。

1.1 ARTP 原理

等离子体（Plasma）是与物质的固态、液态和气态并存的物质第四态，是一种正离子和电子密度大致相等的电离气体，具有导电、发光、化学性质活泼以及分布广等特点^[4]。

在各种大气压辉光放电冷等离子体源中，采用裸露金属电极结构的大气压射频辉光放电（radio-frequency, atmospheric pressure glow discharge, RF APGD）等离子体源是近几年提出的一种新的大气压辉光放电冷等离子体源。它采用裸露金属电极，使击穿电压明显降低，同时去除了介质覆盖，与介质阻挡放电（dielectric barrier discharge, DBD）等其他放电方式相比，RF APGD 放电更加均匀，等离子体发生器的结构更加简单，所产生等离子体射流的温度更低，并且所伴生的臭氧

[1] Li G, et al. Genetic effects of radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharges with helium. *Applied Physics Letters*, 2008, 92: 221504.

[2] 邢新会. 食品微生物育种新技术——常压室温等离子体微生物基因组快速突变技术的开发难点和育种优势[J]. *乳品科学与技术*, 2013, (1):2-3.

[3] 金丽华. 常压室温等离子体快速诱变微藻和产油酵母及其组学分析研究[R]. 清华大学, 2011.

[4] 菅井秀朗. 等离子体电子工程学[M]. 北京:科学出版社, OHM 社, 2002.



浓度及紫外线强度也更低。

目前 RF APGD 主要用于各种材料的消毒和灭菌^[5]。清华大学的相关研究者^[1]发现 RF APGD 可造成 DNA 分子的断裂；王立言等^[6]首次将 RF APGD 应用于阿维链霉菌的诱变，成功获得了阿维菌素高产菌株，表明 RF APGD 在微生物诱变育种领域具有广阔的应用前景。无锡源清天木生物科技有限公司基于 RF APGD 放电技术，开发了常压室温等离子体（atmospheric and room temperature plasma, ARTP）诱变育种技术及其专用仪器。ARTP 放电技术具有如下特点：

（1）利用 RF APGD 技术产生的等离子体，其射流温度低（如图 1-1 所示，当操作输入功率为 90~120W 时，射流温度平均值接近于室温，低于 40℃，不会对微生物产生负面影响，从而保证了其存活率和突变率^[8]）；

（2）放电电极无介质覆盖，放电更加均匀；其作用于样品，有助于高效选育优良突变株（如图 1-2 所示，正弦形式的波形偏差很小^[7]）；

（3）等离子体射流含有种类丰富的化学活性粒子，可以直接或间接作用于细胞内的遗传物质上引起多样性突变，进而形成大容量突变库（如图 1-3 所示，化学活性粒子主要是处于激发态的 He、O、N₂、OH 等粒子^[8]）。

[5] Li HP, Wang ZB, Ge N, et al. Studies on the Physical Characteristics of the Radio-Frequency Atmospheric-Pressure Glow Discharge Plasmas for the Genome Mutation of *Methylosinus trichosporium*[J]. *Ieee Transactions on Plasma Science*, 2012, 40(11): 2853-1860.

[6] 王立言. 常压室温等离子体对微生物的作用机理及其应用基础研究[D]. 清华大学博士论文, 2009.

[7] Li HP, Sun WT, Wang HB, et al. Electrical Features of Radio-frequency, Atmospheric-pressure, Bare-metallic-electrode Glow Discharges[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2007, 27: 529-545.

[8] 李果. 射频大气压非平衡等离子体特性及微生物育种实验研究[D]. 清华大学硕士论文, 2009.

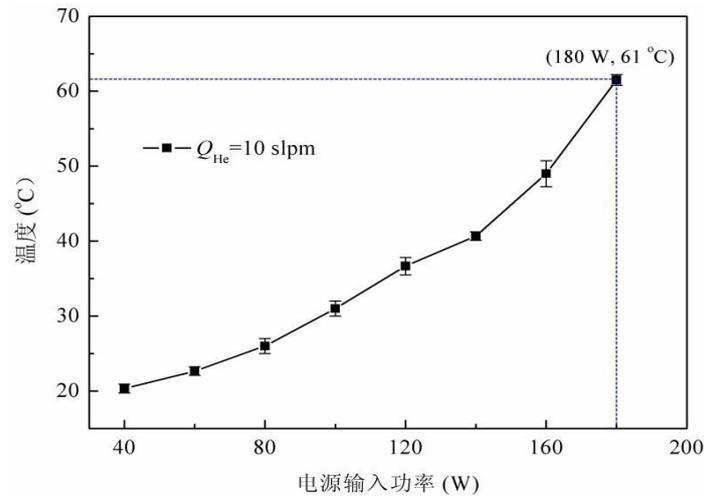


图 1-1 ARTP 温度-电源输入功率特性^[8]

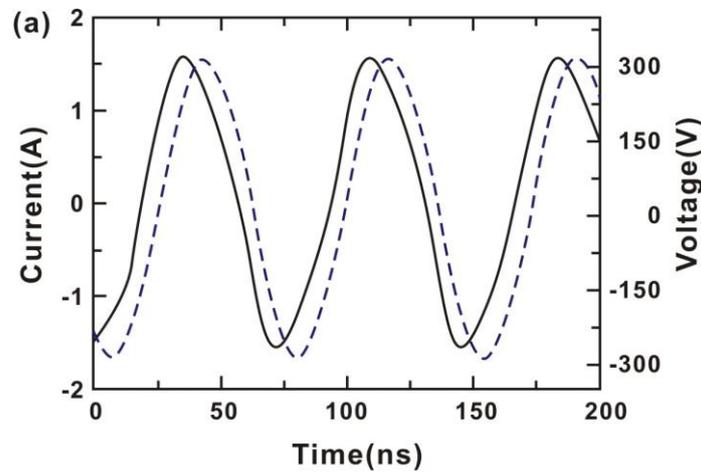


图 1-2 氦气 γ 模式放电的波形图 ($d=2.48\text{mm}$, $P_{in}=205\text{W}$)^[7]

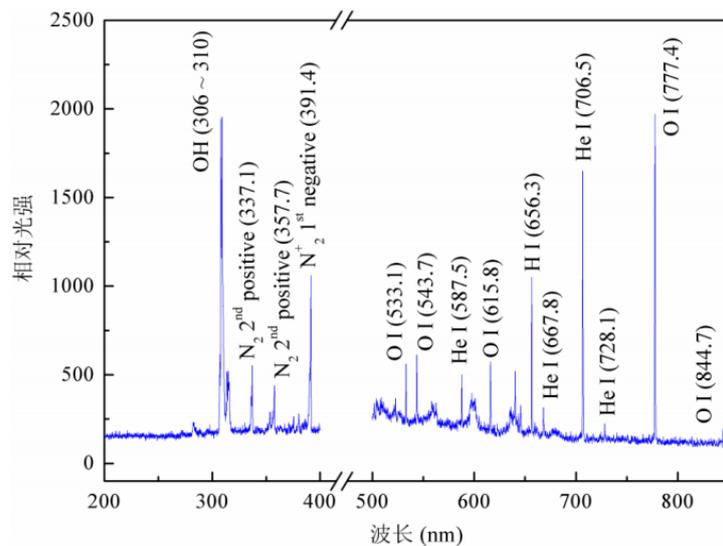


图 1-3 氦等离子体射流发射光谱 ($P_{in}=110\text{W}$, $Q_{He}=15\text{SLM}$)^[8]

ARTP 对生物的诱变原理如图 1-4 所示:



- (1) ARTP 产生的等离子体中富含各种化学活性粒子；
- (2) 活性粒子可以对菌株/植物细胞产生多重作用，如造成遗传物质的损伤、引起细胞膜通透性和蛋白结构的改变等^[9]；
- (3) 活性粒子对 DNA 物质的作用，可以引起 DNA 结构的多样性损伤；
- (4) 细胞启动 SOS 修复机制，SOS 修复为一种高容错率修复，在修复过程中会产生种类丰富的错配位点，并最终稳定遗传进而形成突变株；
- (5) 经过后期筛选可以得到性状优良的突变株；
- (6) 生产效率与经济效益大幅提高。

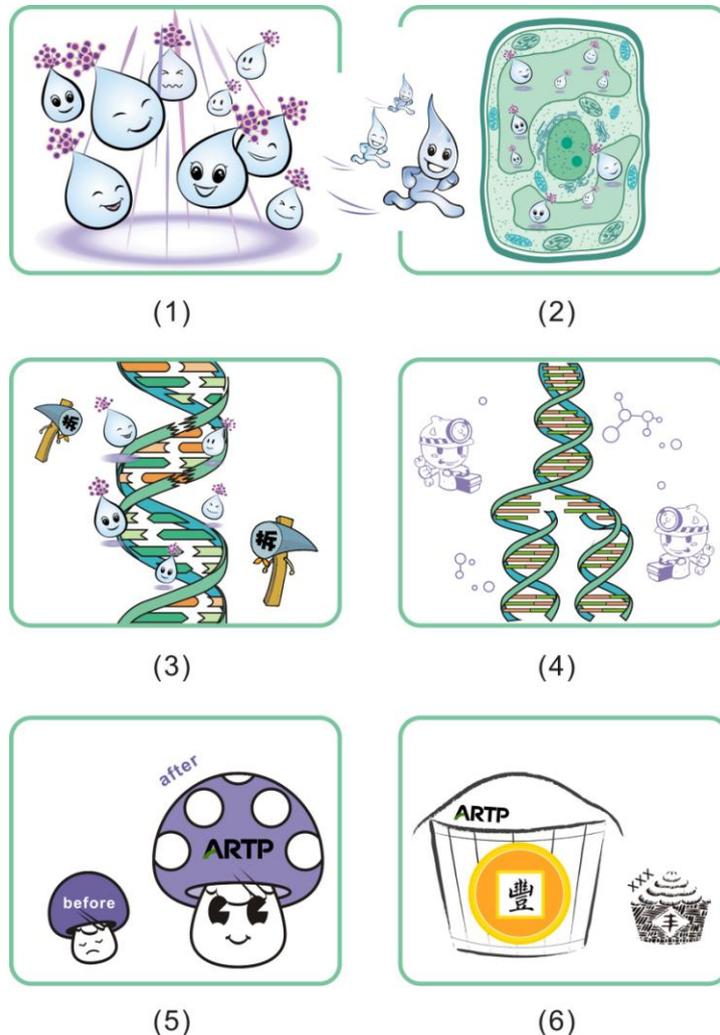


图 1-4 ARTP 诱变原理示意图

[9] Li HP, Wang LY, Li G, et al. Manipulation of lipase activity by the helium radio-frequency, atmospheric-pressure glow discharge plasma jet[J]. Plasma Processes and Polymers, 2011, 8: 224-229.



1.2 ARTP 诱变育种仪

基于 ARTP 技术，我公司联合清华大学化学工程系和工程物理系共同开发了世界上首台利用等离子体的手段对微生物进行诱变育种的专用仪器——ARTP 诱变育种仪(ARTP[®] Mutagenesis Breeding Machine)。

ARTP 诱变育种仪的主要优点包括：

(1) **突变性能优越** 均匀的等离子体射流作用于待处理的细胞群体，射流中富含的化学活性粒子作用于细胞遗传物质，可引发种类丰富的 DNA 损伤，最终获得大容量突变库，并确保获得性状稳定的正突变株；

(2) **应用范围广** 研究表明，本仪器广泛适用于原核生物（如细菌、放线菌等）、真核生物（如霉菌、酵母、藻类、高等真菌及植物幼苗、愈伤组织、种子或原生质体等）的诱变处理；

(3) **仪器使用方便易操作** 仪器结构紧凑，操作系统高度集成，普通技术人员经简单培训即可熟练操作；

(4) **样品处理快速** 射流中富含的化学活性粒子，大大缩短了样品的处理时间，每个处理条件仅需 10~300s，即可获得大容量突变库^[3]；

(5) **与其他突变方法可兼容应用** ARTP 对 DNA 具有独特的损伤机制，所诱发的突变位点异常丰富，不仅可作为高效的诱变方法单独使用，还可与常规的诱变方法，尤其是分子生物学技术结合应用，更高效地获得目标菌株；

(6) **安全环保** ARTP 诱变仪在使用过程中不排放任何化学污染物或有毒物，电磁污染远低于国际标准^[2]，对操作人员安全，无需任何特殊防护。

[注] 详见附件 2:ARTP 诱变育种仪 CE 安全认证证书。



2. 仪器介绍

2.1 仪器结构

ARTP 诱变育种仪结构如图 2-1 所示。

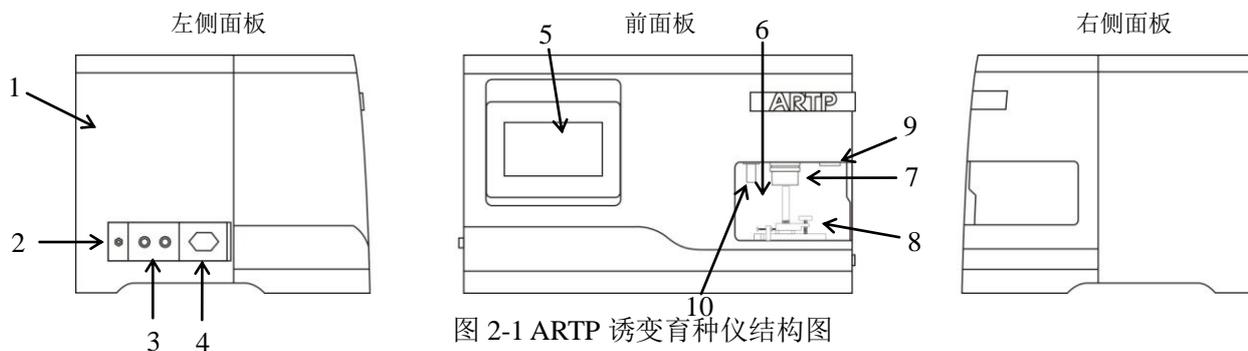


图 2-1 ARTP 诱变育种仪结构图

一、外壳部分

1. 仪器外壳 本仪器外壳为树脂材质，可用软布蘸清水进行擦拭，严禁用有机溶剂进行擦拭。

2. 进气口 放电气体接口，连接 $\Phi 6\text{mm}$ 气管，气瓶由此处向仪器内部通入 99.999% 氦气。

3. 冷却水循环机接口 用于外接冷却水循环机，通过降低冷却介质温度，进一步降低等离子体射流温度。

4. 三合一电源插座 仪器总电源接口和开关；插座中配有 10A 保险管，用于仪器过流保护；电源开关按钮工作循环为：“按下“|”（仪器上电）-再按下“0”（仪器断电）”。当按下电源开关按钮时，仪器处于上电状态。

5. 触摸屏 仪器交互式控制系统的重要组成部分，操作者可通过触摸屏完成系统控制、处理参数等的设置，并实现样品的自动化处理；其详细操作方法请参照 3.4 节所述。

二、操作室

6. 操作室 本仪器的样品处理腔室，顶端配备等离子体发生器（7），利用等离子体射流处理位于手动旋转样品载台（8）上的载片样品。操作室内安装了照明灯（9）和紫外灯（10），分别用于操作室内照明和消毒杀菌。操作室内壁可用清水或有机溶剂进行擦拭。

7. 等离子体发生器 产生等离子体射流，作用于被处理样品。



8. 手动旋转样品载台 用于放置待处理样品载片，并通过触摸屏控制实现样品的处理。

9. 照明灯 用于向操作室内提供光照，由触摸屏控制。

10. 紫外灯 用于操作室内的消毒灭菌，由触摸屏控制。

2.2 性能指标

本仪器符合产品的企业标准 Q/320211 JHX01-2015。

毛重：54kg，净重：30kg；

尺寸（W*D*H）：615*465*380mm；

供电电源：AC220V，50Hz；

整机功率：300W(MAX)；

工作气体：99.999%及以上高纯氦气；

等离子体射流温度： $\leq 37^{\circ}\text{C}$ ；

处理对象：原核生物（如细菌、放线菌等）、真核生物（如霉菌、酵母、藻类、高等真菌及植物幼苗、愈伤组织、种子或原生质体等）；

入口气体压力：0.15~0.20MPa；

有效处理间距：2~5mm；

气量控制范围：0~15SLM(标准升/分钟，Standard Liter per Minute)；

气量控制精度： $\pm 1.0\%$ F.S.（满量程）；

样品处理时间调整范围：0~600s；

仪器使用安全功率范围：0~140W。

3. 安装与调试

3.1 安装环境要求

(1) 仪器正常使用需具备良好的放置环境，放置仪器的实验室应经常保持清洁、温度和湿度适宜（室内空气相对湿度应 $\leq 60\%$ ，室内温度应控制在 $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ ），仪器放置于无菌洁净环境中间更佳；

(2) 本仪器应远离强电磁场和强热辐射源的干扰；应避免日光直射；避免腐蚀性液体和水蒸气等直接接触仪器表面；



(3) 放置仪器的试验台应水平、坚固和稳定；台面宽深高尺寸不小于 1300*600*800mm（仪器宽深高尺寸为 615*465*380mm）；试验台承重能力不低于 90kg；

(4) 仪器供电电源为：AC220V，50Hz；电源的地线必须接地良好；

(5) 需准备 99.999%氦气气瓶或带有 $\Phi 6\text{mm}$ 气管的气路作为供气系统；

(6) 与本仪器相连接、配合使用的电气设备、高压气体装置等，均需符合本国（或本地区）相关安全标准。

3.2 安装流程（注：本部分建议由专业人员操作）

3.2.1 仪器拆箱

(1) 放置 ARTP 诱变育种仪：ARTP 诱变育种仪外包装为木箱，在专业人员的指导下将锁扣打开，向上水平抬起，移走木箱顶盖，然后将仪器抬上实验台或其它水平台面；仪器仅有底面的金属板具有承重作用，除底面以外的任何面均不得作为承重面；本仪器净重 34kg，需要在搬运过程中轻拿轻放；

⚠注意：仪器外壳为强度较弱的树脂材料，因此需以仪器底面的金属板为受力点进行仪器的搬运！

(2) 核对“产品配件清单”：如发现配送配件与“产品配件清单”不一致，请及时联系专业服务人员。

3.2.2 供气系统连接

仪器提供的进气口为 $\Phi 6\text{mm}$ 标准气管插口；外接气体需要通过必要的气路转换，然后再通过仪器进气口向仪器输入气体（如气体通过钢瓶提供，则连接方法请参考附件 1）；气路压力应设定为 **0.15~0.20MPa**。

i 说明：作用到等离子体发生系统中的气体流量受到管路长度及连接方式等的影响，当管路较长或弯折较多时可适当提高气路压力，以满足大流量实验需求，但不宜超过 0.20MPa。

i 说明：仪器进气口为 $\Phi 6-\Phi 6$ 穿板卡套直通，气管连接时首先将螺母头取下，然后将气管固定在穿板卡套直通的气管插头上，最后将螺母头拧上。



3.2.3 供电系统连接

检查电源插座电压是否符合本仪器电源要求（AC220 V，50Hz），利用配送的品字电源线将本仪器和插座进行连接；电源地线必须接线良好；检查电源开关按钮在通电之前的状态。

 **注意：**如本国（或本地区）电源或接线插座不符合本仪器相关要求，需利用变压器或电源插头转换器进行相关转换。

3.3 调试流程及指标（注：本部分建议由专业人员操作）

仪器的性能检测指标参考产品的企业标准 Q/320211 JHX01-2015。启动仪器，系统自检 20s 后，出现“欢迎界面”，如图 3-2 所示。“欢迎界面”中显示本仪器名称、仪器实物图、当前时间和日期。点击“Enter”按钮，进入如图 3-3 所示“操作界面”。有关触摸屏详细操作方法请参照 3.4 节所述。

3.3.1 照明、紫外灯检测

点击“操作界面”中的“照明灯关”、“紫外灯关”按钮，照明和紫外灯应迅速亮起。

3.3.2 气量波动检测

在“操作界面”分别设置气体流量为 8SLM、10SLM、12SLM，点击“流量计关”按钮，1min 后开始记录实际气体流量，每隔 1min 检测一次，共检测 5min，此时在“气量显示” SLM 中显示实际气量值，实际值和设定值相差 ± 0.15 SLM。

3.3.3 功率调节检测

分别设置气体流量为 8SLM、10SLM、12SLM，在 100~140W 区间内调节功率数值，仪器放电正常。

等离子体射流中的活性粒子浓度和温度随加载功率增大而升高，具体的使用功率需要通过实验进行摸索和确定。

3.3.4 放电状态测定

仪器运行时，肉眼观察放电射流为白色偏紫光。

 **注意：**在气体放电过程中，请勿打开操作室门，以免发生电击危险！

 **注意：**仪器调试过程中如出现异常现象，请按照 5.3 节进行常见故障的排除。



3.4 触摸屏操作说明

ARTP诱变育种仪的主要人机界面（HMI）采用分辨率为800*480的点阵式彩色触摸屏，具有信息显示丰富、交互性强、易于操作等优点，主要分为6类操作页面：“欢迎界面”、“操作界面”、“数字设置界面”、“参数设置界面”、“仪器说明界面”、“结束界面”，ARTP诱变育种仪页面操作流程如下图3-1所示。

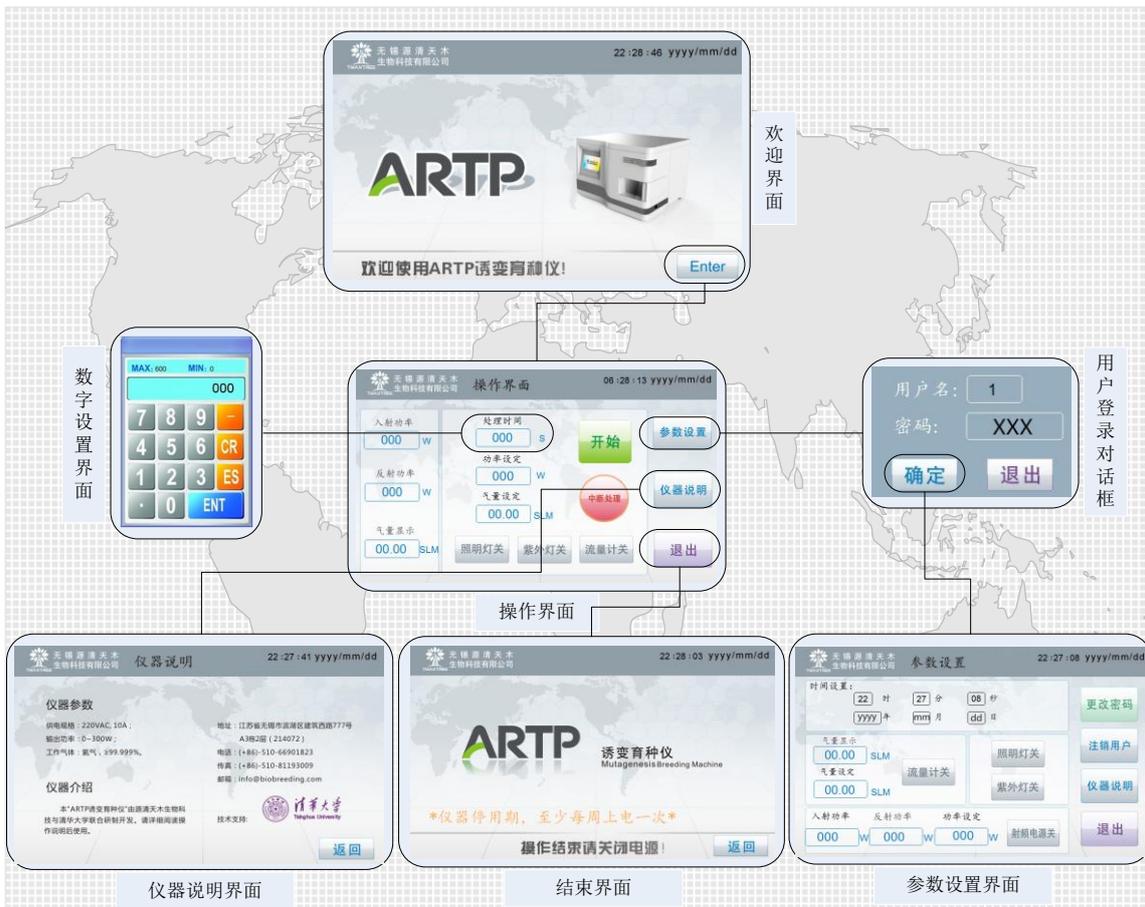


图3-1 ARTP诱变育种仪页面操作流程



3.4.1 欢迎界面



图 3-2 欢迎界面

本仪器上电后，控制系统会进行自检，约20s后，系统无故障通过自检，触摸屏显示如图3-2所示“欢迎界面”。“欢迎界面”中显示本仪器名称、仪器实物图、当前时间和日期。点击“Enter”按钮，进入如图3-3所示“操作界面”。

3.4.2 操作界面



图 3-3 操作界面

如图3-3所示为触摸屏“操作界面”，具有“功率显示及设定”、“气量显示及设定”、“处理时间设定”、“照明、紫外灯、流量计开关”、“参数设置”、“仪器说明”功能块。

“功率显示及设定”功能块能够实时监测仪器的入射功率和反射功率，并对其控制。当需要设定功率时，点击触摸屏中“功率设定”设置框 W，触



触摸屏弹出如图 3-6 所示“数字设置界面”，功率设定完毕后，设置框显示最新设定值。系统功率设定范围为 0~140W，当设定值超限时，则无法对数据进行设定，设定输入框一直显示为 0。功率由射频电源提供，当射频电源启动时，正常状态下“入射功率”显示框 W 显示的功率=功率设定值 \pm 1W，“反射功率”显示框 W 显示的功率 \leq 功率设定值的 1/10。

“气量显示及设定”功能块能够实时监测仪器的供气流量，并对其进行控制。当需要设定供气流量时，点击触摸屏中“气量设定”设置框 SLM，触摸屏弹出如图 3-6 所示“数字设置界面”，气量设定完毕后，设置框显示最新设定值。系统气量设定范围为 0~15SLM，当设定值超限时，则无法对数据进行设定，设定输入框一直显示为 0。气量由流量计控制，当流量计启动时，正常状态下“气量显示”显示框 SLM 显示的气量=气量设定值 \pm 0.15SLM。

“处理时间设定”功能块用于设定自动处理时间，点击触摸屏“处理时间”设置框 s，触摸屏弹出如图 3-6 所示“数字设置界面”，处理时间设定完毕后，设置框显示最新设定值。系统时间设定范围为 0~600s，当设定值超限时，则无法对数据进行设定，设定输入框一直显示为 0。

当处理时间设定完毕后，点击“开始”按钮，系统自动打开射频电源和流量计，产生的等离子体射流开始处理样品，同时“开始”按钮将显示为“处理中...”，触摸屏上“处理时间”设置框显示剩余时间。到达指定时间后，射频电源会自动关闭，时间显示变为 0s，之后可以打开操作室门取出样品。

当需要中断操作时，点击“中断处理”按钮，射频电源和流量计关闭，系统停止处理。

在处理过程中，时间显示不为零时，由于误操作，点到“退出”按钮时，会在当前界面弹出如图 3-4 所示对话框。



图 3-4 弹出界面



在此对话框中点击“是”，触摸屏回到“操作界面”，继续实验；点击“否”，触摸屏切换到“结束界面”，实验结束。

处理完成后，处理时间显示为零，点击“退出”按钮，触摸屏切换到如图 3-10 所示“结束界面”。

“照明、紫外灯、流量计开关”功能块用于控制照明灯、紫外灯和流量计的开关，点击“照明灯关”按钮时，按钮将变成“照明灯开”状态，表示照明灯开启；点击“紫外灯关”按钮时，按钮将变成“紫外灯开”状态，表示紫外灯开启；点击“流量计关”按钮时，按钮将变成“流量计开”状态，表示流量计开启。

“参数设置”功能块用于设置气体放电相关参数。点击“参数设置”按钮，当前界面弹出如图 3-5 所示“用户登录”对话框；输入正确的用户名和密码后，对话框显示“确定”按钮，点击“确定”按钮，触摸屏切换到如图 3-7 所示“参数设置界面”；如果用户名和密码输入不正确，“确定”按钮一直不出现，用户不能进入“参数设置界面”。



图 3-5 “用户登录”对话框

“仪器说明”功能块用于显示仪器的主要技术参数、仪器介绍和售后服务电话等信息。点击“仪器说明”按钮，触摸屏切换到如图 3-9 所示“仪器说明界面”。



3.4.3 数字设置界面



图 3-6 数字设置界面

如图3-6所示为触摸屏“数字设置界面”，当需要输入处理时间时，点击“处理时间”设置框 s，弹出该界面，键盘界面上方“MIN”和“MAX”提示了输入数据的最小值和最大值，当输入超限时，则无法对数据进行设定，设定输入框一直显示为0。每次数据输入完成后，需点击右下角“ENT”键用于确认输入值。

3.4.4 参数设置界面



图 3-7 参数设置界面

如图 3-7 所示为触摸屏“参数设置界面”，具有“时间设置”、“流量计调试”、“射频电源调试”、“手动控制”、“更改密码”、“注销用户”、“仪器说明”功能块。

“时间设置”功能块用于设置当前触摸屏内部时钟时间和日期，依次点击各



数据框，触摸屏弹出如图 3-6 所示“数字设置界面”进行数据输入，同时注意所提示的数据输入范围，超限数据输入无效。校准时间和日期时，只需点击显示错误数据所对应的数据框修改，数据输入完毕后，屏幕右上角“当前时间和日期显示”将随之变化。

注：该显示仅提供当前触摸屏内部时钟时间和日期，其准确度与仪器功能无关，不影响仪器正常工作。

“流量计调试”功能块用于测试流量计功能是否正常，在“气量设定”设置框 SLM 中设定测试值，点击“流量计关”按钮，按钮显示“流量计开”，正常状态下“气量显示”显示框 SLM 显示的气量=气量设定值 \pm 0.15SLM。

“射频电源调试”功能块用于测试射频电源功能是否正常，在“功率设定”设置框 W 中设定测试值，点击“射频电源关”按钮，按钮显示“射频电源开”，正常状态下“入射功率”显示框 W 显示的功率=功率设定值 \pm 1W，“反射功率”显示框 W 显示的功率 \leq 功率设定值的 1/10。

“手动控制”功能块用于手动控制照明灯、紫外灯的开关。

⚠注意：“参数设置界面”主要用于专业人员对仪器进行维护，客户使用仪器过程中禁止进入该页面进行相关操作。

“更改密码”功能块用于更改当前用户的密码，点击“更改密码”按钮，当前界面弹出如图3-8所示“更改密码”对话框。



图 3-8 “更改密码”对话框

点击数字框更改当前用户密码，触摸屏弹出如图 3-6 所示“数字设置界面”进行数据输入，密码最多输入 9 位。设定完成后，点击“确定”按钮，对话框自动关闭，密码更改完成。

“注销用户”功能块用于当前用户退出登录，点击“注销用户”按钮，触摸



屏切换到“操作界面”，并且当前用户退出登录状态。如果点击“参数设置”按钮再次进入“参数设置界面”时，将弹出如图3-5所示对话框，用户需要重新登录后才能进入“参数设置界面”。

如果用户没有通过点击“注销用户”按钮回到“操作界面”，此时再进入“参数设置界面”，点击“参数设置”，将弹出带有“确定”按钮的如图 3-5 所示对话框，直接点击“确定”按钮，触摸屏切换到“参数设置界面”。

“仪器说明”功能块用于显示仪器的主要技术参数、仪器介绍和售后服务电话等信息。点击“仪器说明”按钮，触摸屏切换到如图 3-9 所示“仪器说明”界面。

点击“退出”按钮，触摸屏切换到如图 3-3 所示“操作界面”。

3.4.5 仪器说明界面



图 3-9 仪器说明界面

如图3-9所示为“仪器说明界面”，用于显示仪器的主要技术参数、仪器介绍和售后服务电话等信息。点击“返回”按钮，屏幕切换到如图3-3所示“操作界面”。



3.4.6 结束界面



图 3-10 结束界面

如图 3-10 所示为“结束界面”，用于提示用户操作已结束，可以关闭本仪器电源，点击“返回”按钮，屏幕将切换到如图 3-3 所示“操作界面”。

⚠注意：为了防止相关参数数据丢失，仪器停用期，至少每周上电一次（8h）！



4. 实验操作指南

如图 4-1 为 ARTP 诱变育种仪操作流程，有关触摸屏详细操作方法请参照 3.4 节所述。

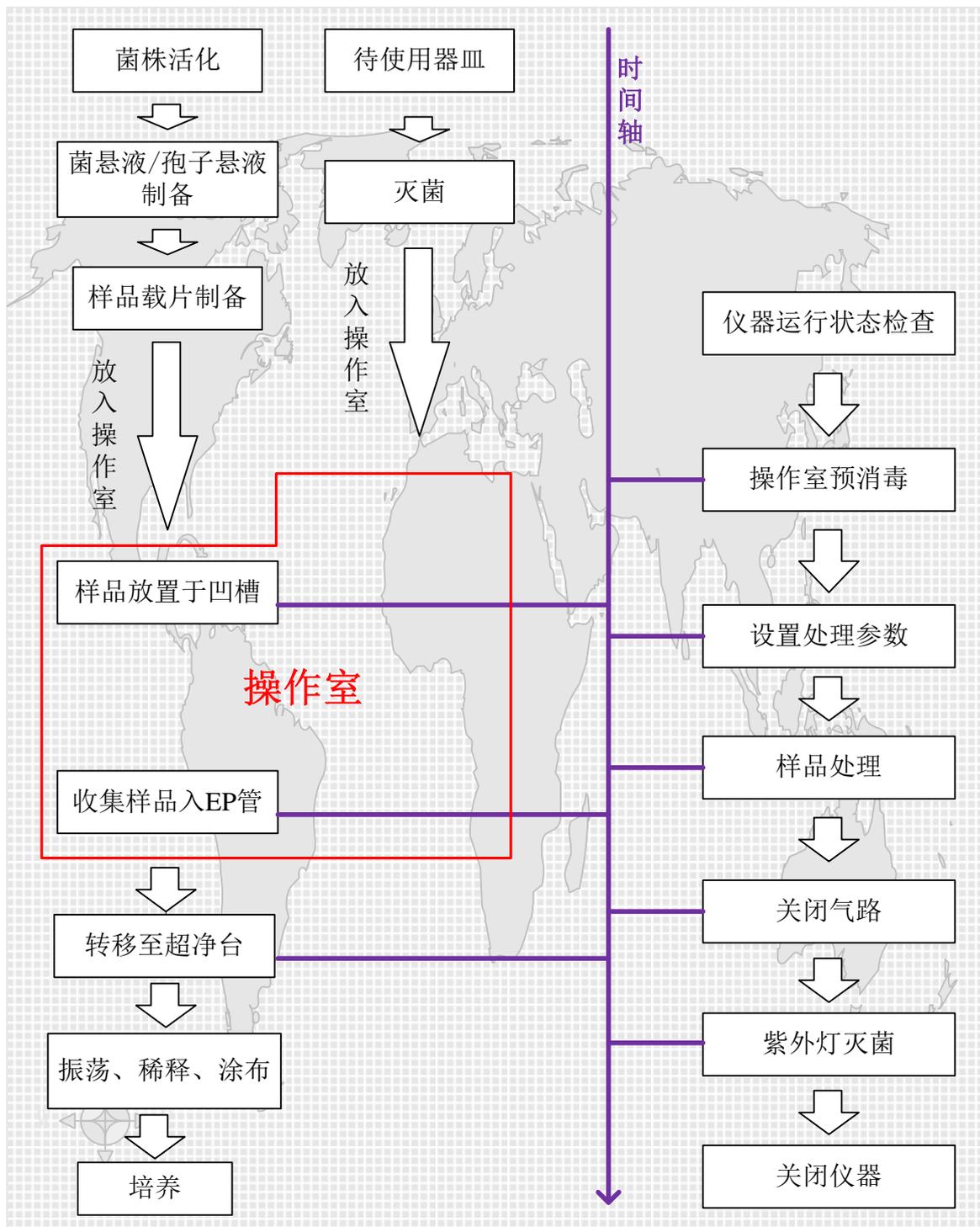


图 4-1 ARTP 诱变育种仪操作流程



4.1 处理前样品的准备

4.1.1 实验准备

将培养基、载片、枪头、EP管等实验所需材料进行灭菌。

4.1.2 待处理样品的制备

本仪器可以对菌体或者孢子进行处理，菌悬液或孢子悬液制备好之后装于2.0mL EP管备用。菌悬液和孢子悬液制备方法如下：

(1) 菌悬液制备：将培养至对数期的菌液离心收集，无菌去离子水洗涤2~3次后，用无菌去离子水适量稀释制成OD₆₀₀值在0.6~0.8或菌浓度在10⁶~10⁸cells/mL左右的菌悬液；

(2) 孢子悬液制备：刮取固体培养基上的孢子至装有适量无菌去离子水的试管中，振荡分散孢子制备孢子悬液，或者在斜面试管中加入无菌去离子水，振荡分散孢子制备孢子悬液，如有必要，可将所制得孢子悬液适量稀释，控制孢子浓度在10⁶~10⁸cells/mL左右。

4.1.3 样品载片制备及处理

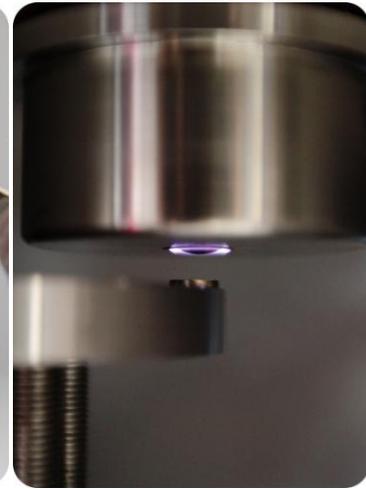
如图4-2所示，请于超净台中完成载片的制备，后将载片放置于已灭菌培养皿中，并移至已灭菌的操作室中；将手动旋转样品载台拉出并将载片放置于凹槽内；将载台恢复原位并用卡扣卡紧后点击“开始”按钮，系统开始进行诱变处理操作。



1. 在超净台内，将载片置于酒精灯外焰灼烧30s，待冷却后放到已灭菌培养皿中，取 10uL 菌液均匀涂布在载片表面。



2. 将装有样品载片的培养皿移至 ARTP 诱变育种仪操作室，用无菌镊子将载片放到对应凹槽。



3. 仪器功率、处理时间、气量设置完毕后开始处理样品。



4. 全部样品处理完毕，用无菌镊子将载片分别放至装有 1mL 无菌生理盐水的 EP 管中。



5. 将 EP 管置于振荡器上振荡 1min，把附着在载片上的微生物洗脱到无菌生理盐水中，形成新的菌悬液。



6. 对新菌悬液进行适当稀释，取 100uL 稀释液涂布培养皿，培养计数；取样过程中请注意振荡菌液以保持均匀。

4-2 生物操作流程示意图



4.2 诱变处理过程

4.2.1 使用前准备工作

(1) 仪器供电准备工作：详见 3.2.3 节所述；

(2) 仪器供气准备工作：将减压阀高压输入端连接至气瓶出口，低压输出端通过气管连接至本仪器进气口；检查气源（99.999%及以上高纯氦气）与本仪器侧板进气口之间连接可靠并且避免气管折弯；

(3) 仪器冷却准备工作：提前启动冷却水循环机对冷却介质降温。

4.2.2 仪器运行及预消毒

(1) ARTP 诱变育种仪启动：按下电源开关按钮，仪器上电；

(2) ARTP 诱变育种仪供气：打开气源供气阀门，调节压力调节阀，保证减压阀低压输出端压力在 0.15~0.20MPa；

(3) ARTP 诱变育种仪自检：详见 3.4.1 节所述；

(4) ARTP 诱变育种仪操作室预消毒：为了防止操作室内微生物对待处理样品造成影响，在利用 ARTP 诱变育种仪进行诱变之前需要对操作室进行预消毒。关上操作室门，紫外消毒灭菌 15~20min。

4.2.3 放置处理样品

预消毒完成后，打开操作室门，将手动旋转样品载台拉出，之后用弯头镊子将待处理样品载片放置到手动旋转样品载台上方载片固定圆形凹槽内。样品放置完毕后将载台恢复原位并用卡扣卡紧，关闭操作室门。

⚠注意：取放样品载片时，请确保射频电源处于关闭状态，同时手和镊子避免触碰等离子体发生器、紫外和照明灯等贴有如图 4-3 所示“有电危险”图标部件，否则易发生电击危险！

⚠注意：为了降低染菌的可能性，建议尽量采用单手方式在操作室内进行操作。



有电危险

图 4-3 “有电危险”图标



4.2.4 参数设置

(1) 气量设置

在触摸屏“操作界面”中进行气量设置，气量控制范围为0~15SLM，建议设置范围为8~12SLM，详见3.4.2节所述。

(2) 处理时间设置

在触摸屏“操作界面”中进行处理时间设置，时间控制范围为0~600s，详见3.4.2节所述。

(3) 功率设置

在触摸屏“操作界面”中进行功率设置，建议设置范围为 100~120W，详见3.3.3节所述。



说明：4.2.4 步骤仅在第一次操作以及需要改变气量和功率时才需进行，气量和功率不变时本步骤可略过不做，每次处理样品只需设置处理时间即可。

4.2.5 样品处理

待所有参数设定完毕，点击“开始”按钮开始处理样品。到达指定时间后，射频电源自动关闭，时间显示变为 0s，之后可以打开操作室门将载片放入盛有 1mL 无菌生理盐水的 EP 管内并拧好盖子、做好标记。

此后的稀释、涂布等操作，优先选择在超净台进行；转移样品到超净台中进行稀释涂布平板，或继续重复本步骤对其他样品进行处理。



说明：如需进行氦气单吹实验，可以在“操作界面”中点击“流量计关”按钮，当听到气体声音后，开始计时。计时完毕，点击“流量计开”按钮关闭气体流量计。

4.2.6 处理结束

(1) 关闭气路：所有样品处理完毕后，保持本仪器电源开启状态，先关闭气瓶顶部截止阀，然后在“操作界面”中点击“流量计关”按钮，将 ARTP 诱变育种仪内残留的气体排出，此时减压阀低压输出端和高压输入端压力值为 **0Mpa**；

(2) 为了避免处理样品会造成ARTP诱变育种仪操作室的污染，实验结束后需用**75%酒精棉球**擦拭操作室内壁、载片固定圆形凹槽，然后再次开启紫外灯消毒灭菌操作室15~20min；



⚠注意：在未关闭仪器电源的情况下，擦拭过程中严禁触碰等离子体发生器、紫外和照明灯等贴有“有电危险”图标部件，否则易发生电击危险！

(3) 关闭电源：操作室灭菌完毕，点击触摸屏“操作界面”中“退出”按钮，切换到如图 3-10 所示“结束界面”，此时按下电源开关按钮使仪器断电。如果在“结束界面”点击“返回”按钮，屏幕将切换到如图 3-3 所示触摸屏“操作界面”。

4.3 处理后样品

所有样品处理完毕后，请按照以下操作流程进行后续实验：

- (1) 样品处理完毕后，用无菌镊子将载片放置装有 1mL 无菌去离子水的 2.0mL EP 管中；
- (2) 将 EP 管置于振荡器上振荡 1min，把附着在载片上的微生物洗脱到无菌生理盐水中，形成新的菌悬液；
- (3) 对新的菌悬液进行适当的稀释，取 100uL 稀释液涂布培养皿，培养计数；取样过程中请注意震荡菌液以保持均匀。

4.4 仪器处理过程注意事项

(1) 实验可变参数有三个：功率、气量、时间，以时间为可变参数，功率、气量为固定参数，推荐功率设定在 120W，气流量设定在 10SLM，建议处理时间（针对致死率曲线检测）如表 4.1 所示。

表 4.1 样品推荐处理时间（120W，10SLM，2mm）

处理对象		建议处理时间/s
原核生物 (以细菌、放线菌为例)	细菌	15、30、45、60、90、120
	放线菌	30、60、90、120、150、180
真核生物 (以霉菌、酵母、微藻为例)	霉菌	60、120、180、240、300、360
	酵母	30、60、90、120、150、180、240
	微藻	5、10、15、20、30、40、50、60、90、150

针对部分干燥敏感、渗透压敏感的菌株，建议添加终浓度为 5% 的甘油；

(2) 样品洗脱过程中建议振荡时间不少于 1min，否则可能会造成洗脱不完全，影响实验结果；



(3) 稀释：根据菌浓度计算稀释倍数。以细菌为例，处理前菌悬液 OD₆₀₀ 在 0.6~0.8 或菌浓度在 10⁶~10⁸ cells/mL 左右，样品载片洗脱后按 10 倍梯度稀释 4 次，分别记为 10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴，取 10⁻²、10⁻³、10⁻⁴ 的稀释样品（如 100μL）涂布平板，为了减少涂布带来的误差，建议将每个稀释样品做 3~5 次平行涂布；

(4) 致死率曲线只能作为在诱变数量和工作量间的一种参考数据，可以用以提高工作效率，但不能作为本仪器的性能指标，故处理后的菌液理论上都可以用以培养并筛选突变菌株。

5. 仪器日常维护及常见故障排除

5.1 注意事项和安全使用说明

为了让您更好的使用本仪器，在提高工作效率的同时最大限度的延长仪器的使用寿命，请阅读以下内容并严格遵守：

- (1) 使用仪器前，请认真阅读仪器说明书，特别注意标注“”的部分，操作不当可能会引发仪器损坏和人身伤害；
- (2) 仪器正常使用需具备良好的放置环境，放置仪器的实验室应经常保持清洁、温度和湿度适宜（室内空气相对湿度应≤60%，室内温度应控制在 15~25℃），仪器放置于无菌洁净环境中间更佳；
- (3) 每次使用仪器前，请严格按照说明书 4.2.1 节的指导进行“供电”、“供气”以及“冷却”的检测、准备工作，确保系统正常工作；
- (4) 请确保仪器所使用电源接地良好，电源线与仪器间连接完好；
- (5) 请确保使用前气源（氦气，He）供应正常，仪器输入端入口压力在 0.15~0.20MPa，气瓶内气体充足（气瓶内气体压力≥1.00MPa）；
- (6) 在气体放电过程中，请勿打开操作室门，严禁接触等离子体发生器，以免发生电击危险；
- (7) 使用过程中，如操作不当导致菌液与发生器接触，将会放电异常，请及时终止放电；等离子体**发生器湿润时严禁放电**；以免损坏仪器并发生危险；
- (8) 为保证仪器的正常使用，请按照 5.2 节内容所述对仪器进行定期维护；
- (9) 仪器采用射频电源驱动，操作室内顶端等离子体发生装置为易损精密器



件，已经对其进行了加固和保护，切勿对其进行任何形式的拆卸或破坏操作，否则仪器将失去保修权利甚至对人身造成伤害；

(10) 如因不按照规程操作、自行拆卸仪器或其他人为原因造成的人身伤害和财产损失，本公司不承担任何责任，并有权利提前中止仪器的保修。

5.2 仪器日常维护

本仪器所有关键部件均经严格检测，确保其稳定性及使用寿命。定期对仪器进行简单日常维护即可，仪器日常维护项目维护周期如表 5.1 所示。

表 5.1 ARTP 诱变育种仪日常维护

NO.	日常维护项目	维护周期/周
1	仪器充电	1
2	仪器清洁	4
3	气体放电运行情况检查	4
4	气路泄漏检查	12
5	冷却水添加	根据实际情况

5.2.1 仪器清洁

请按照以下步骤对仪器进行清洁（仪器无需通电）：

(1) 外壳清洁：用柔软材质的干抹布对仪器外壳进行擦拭，切勿使用粗糙布料或者砂纸等，以免造成外壳损伤；

 **注意：**由于仪器外壳为树脂材质，因此严禁与坚硬物质接触或用力挤压外壳，以免造成仪器的损坏！

 **注意：**由于仪器外壳为树脂材质，可用清水进行擦拭，严禁用**有机溶剂**进行擦拭！

 **说明：**如长时间不使用 ARTP 诱变育种仪，请用防尘罩将其罩住！

(2) 操作室清洁：打开仪器操作室门，用 **75%酒精棉球** 擦拭手动旋转样品载台凹槽及操作室内壁，注意擦拭过程中尽量避开等离子体发生器、紫外和照明灯等部件。



5.2.2 仪器气路泄漏检查

请按照以下步骤对仪器进行气路泄漏检查（仪器无需通电）：

（1）在仪器不上电的情况下将气瓶截止阀打开，此时减压阀高压输入端表头显示气瓶内压力（ $\geq 1.00\text{MPa}$ ），低压输出端表头显示输入到仪器内部的压力（ $0.15\sim 0.20\text{MPa}$ ）；

（2）将气瓶截止阀关闭，约半小时以后，观察两个表头示数是否有明显降低。如压力显示没有降低，则说明气路密封性良好；如压力显示逐渐下降，则气路存在泄漏现象。

⚠注意：如气路存在泄漏现象，请及时联系专业服务人员，务必在专业技术人员的指导下进行故障的排除！

5.2.3 仪器气体放电状态检测

请按照以下步骤对仪器进行气体放电状态检测：

- （1）仪器上电后打开气瓶截止阀，通入 99.999% 的高纯氦气；
- （2）待触摸屏进入到“操作界面”后，按照表 5.2 所示参数进行气体放电。

表 5.2 ARTP 诱变育种仪气体放电运行参数

功率/W	气流量/SLM	时间/s	运行情况
80	10	120	
100	10	120	
120	10	120	

i 说明：5.2.3 节日常维护项只针对仪器长时间（ ≥ 1 个月）不使用的情况下，如您经常使用仪器，可略过本项。

⚠注意：空气会影响仪器正常放电。长时间不使用本仪器时，气路管道内的气体不再是高纯氦气，可能会造成气体放电参数的改变，进而导致放电发生异常（如射频功率表指针偏移、无白色偏紫色均匀环状射流产生或者放电颜色紫色更为明显等），因此建议进行短时间的预通气！具体操作为：在如图 3-3 所示“操作界面”中点击“流量计关”按钮，大约 5~7s 后仪器开始通气，可以听到等离子体发生器射流出口有气体流出的声音。通



气约 10s 后再次点击按钮关闭气路，预通气完成。之后即可进行正常实验！

5.3 常见故障排除

表 5.3 常见故障描述及解决方案

故障描述	可能原因及解决方案
(1) 无法开机	<ol style="list-style-type: none"> 1. 请检查本仪器是否已经可靠连接到插座； 2. 检查本仪器电源插座下方保险管是否完好，如已断路，请更换保险管； 3. 检查电源线是否损坏。
(2) 触摸屏时间显示错误	<ol style="list-style-type: none"> 1. 参照 3.4.4 节内容重新设置日期时间。
(3) 等离子体发生器未能放电	<ol style="list-style-type: none"> 1. 请按照问题描述（4）确认是否是由于气体流量达不到设定值导致异常现象的出现； 2. 检查触摸屏“操作界面”中“开始”按钮是否已经点击，即显示“处理中...”； 3. 在反射功率正常的前提下，观察入射功率是否低于 80W； 4. 观察“操作界面”中入射和反射功率示数，如果反射功率持续较大，请联系专业维修人员进行检修。
(4) 无气体流量或达不到设定值	<ol style="list-style-type: none"> 1. 请检查气源是否开启，包括气瓶截止阀、减压阀手柄和截止阀； 2. 气体是否充足（气瓶内气体压力$\geq 1.00\text{MPa}$），供气入口压力是否位于 0.15~0.20MPa 之间，气路是否通畅； 3. 如果采用的气体连接管路较长且弯折较多，则有可能是由于管路沿程压力损失太大导致流量达不到设定值，对于这种情况可适当提高供气压力，但注意不宜超过 0.20MPa； 4. 触摸屏“操作界面”中气体流量设定值是否正常。
(5) 异常放电	<p>仪器等离子体发生器在正常工作时会产生白色偏紫色的等离子体射流（从侧下方观察呈环状，如下图 5-1（a）中所示）；以下 3 种情况可能会导致电弧状异常放电（从侧下方观察等离子体射流呈点状，如下</p>



图 5-1 (b) 中所示), 并伴有“滋滋”的声音。等离子体发生器禁止在该条件下工作! 一旦出现异常放电, 请按照以下步骤逐一进行故障的排除:

1. 仪器功率建议设置范围为 100~120W, 当工作功率过大时 (通常入射功率不得超过 140W), 将会出现异常放电, 此时需立即停止放电, 并检查功率设定值是否正常。如果功率设定值异常, 将功率值设定在 100~120W 范围内并重新放电观察, 如果功率设定值在正常范围内还会出现异常放电, 请进行步骤 (2) 检查;

2. 仪器使用过程中, 如操作不当导致菌液与发生器接触, 也会导致放电异常, 此时请立即切断仪器电源并用酒精棉球轻轻擦拭发生器射流口, 并且等酒精完全挥发后再次开机进行放电。如果没有出现上述操作不当现象, 请进行步骤 (3) 检查;

3. 确认冷却水循环机是否存在缺水问题。如果存在, 请补充冷却介质。

如经过以上步骤排除后, 仪器异常放电现象仍然存在, 此时请及时联系专业服务人员。



(a) 正常放电



(b) 异常放电

图 5-1 ARTP 诱变育种仪正常/异常放电典型图像



6. 免责声明

本公司拥有对本产品外观、结构及技术参数修改的权利。

保修期间，用户请勿对其进行任何形式的拆卸、维修或破坏操作。

因仪器内有强电，所以任何情况下，非专业人员不得自行拆卸仪器。

请严格按照本说明书内容使用仪器，因违反下列操作所造成的人身伤害和财产损失，本公司不承担任何责任：

- (1) 使用仪器前，请认真阅读仪器说明书，特别注意标注“”的部分，操作不当可能会引发仪器损坏和人身伤害；
- (2) 仪器正常使用需具备良好的放置环境，放置仪器的实验室应经常保持清洁、温度和湿度适宜（室内空气相对湿度应 $\leq 60\%$ ，室内温度应控制在 $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ ），仪器放置于无菌洁净环境中更佳；
- (3) 每次使用仪器前，请严格按照说明书 4.2.1 节的指导进行“供电”、“供气”以及“冷却”的检测、准备工作，确保系统正常工作；
- (4) 请确保仪器所使用电源接地良好，电源线与仪器间连接完好；
- (5) 请确保使用前气源（氦气，He）供应正常，仪器输入端入口压力在 $0.15\sim 0.20\text{MPa}$ ，气瓶内气体充足（气瓶内气体压力 $\geq 1.00\text{MPa}$ ）；
- (6) 在气体放电过程中，请勿打开操作室门，严禁接触等离子体发生器，以免发生电击危险；
- (7) 使用过程中，如操作不当导致菌液与发生器接触，将会放电异常，请及时终止放电；等离子体发生器湿润时严禁放电；以免损坏仪器并发生危险；
- (8) 为保证仪器的正常使用，请按照 5.2 节内容所述对仪器进行定期维护；
- (9) 仪器采用射频电源驱动，操作室内顶端等离子体发生装置为易损精密器件，已经对其进行了加固和保护，切勿对其进行任何形式的拆卸或破坏操作，否则仪器将失去保修权利甚至对人身造成伤害；

特别声明：如因不按照规程操作、自行拆卸仪器或其他人为原因造成的人身伤害和财产损失，本公司不承担任何责任，并有权利提前中止仪器的保修。



7. 联系方式

本产品为无锡源清天木生物科技有限公司与清华大学工程物理系等离子体健康科技研究组、化学工程系环境生物技术实验室共同研制开发。如有任何问题，请联系：

无锡源清天木生物科技有限公司

清华大学无锡应用技术研究院生物育种研究中心

地址：江苏省无锡市滨湖区建筑西路 777 号 A3 栋

邮编：214072

电话：(+86) 510 66901819

传真：(+86) 510 81193009

邮箱：info@biobreeding.com

网址：www.biobreeding.com



附件 1 气瓶气路连接

如采用氦气气瓶作为供气源，则需遵守以下流程进行供气系统的连接：

(1) 减压阀安装：减压阀为瓶装气体的减压装置，用于将气瓶中的高压气体降压至适合仪器使用的气体压力，并保证其出口压力始终维持稳定。图 1 所示为一款常见型号减压阀实物图，表 1 为减压阀主要参数介绍。将减压阀的高压输入端接口插在气瓶出口（G5/8"），然后用活动扳手沿顺时针方向将减压阀的高压输入端接口螺母进行紧固；



图1 减压阀示意图

表1 减压阀详细信息

主要技术参数	$P_1=15.00\text{MPa}$; $P_2: 0.02\sim 0.25\text{MPa}$ 进口连接螺纹: G5/8"; 出口连接螺纹: M16*1.5mm
减压阀配件名称	1. 高压输入端接口: 连接气瓶出口; 2. 高压输入端压力表: 指示气瓶中 He 压力; 3. 低压输出端压力表: 指示输入端 He 压力; 4. 低压输出端接口: 连接仪器进气口; 5. 截止阀: 控制低压输出端气体和仪器间气路的开闭; 6. 减压阀调节手柄: 调节低压输出端压力。

(2) 气管连接：将配送配件袋内气管和快速插头取出，按照以下步骤进行连接：

1. 将 $\Phi 12$ 气管一端连接到减压阀上，用喉箍紧固，另一端连接到 $\Phi 12\text{-}\Phi 8$ 快



插的 $\Phi 12$ 端；

2. 将 $\Phi 8$ 气管一端连接到 $\Phi 12$ - $\Phi 8$ 快插的 $\Phi 8$ 端，另一端连接到 $\Phi 8$ - $\Phi 6$ 快插的

$\Phi 8$ 端；

3. 将 $\Phi 6$ 气管一端连接到 $\Phi 8$ - $\Phi 6$ 快插的 $\Phi 6$ 端，另一端连接到仪器的进气口；

(3) 调节减压阀手柄，保证减压阀低压输出端压力在 **0.15~0.20MPa**。

i 说明：步骤 (3) 仅在第一次操作以及需要改变减压阀低压输出端压力时才需进行，压力不改变的情况下可固定减压阀手柄位置，每次使用只需开闭气瓶截止阀即可。

i 说明：为了保证氦气瓶中氦气的纯度，建议高压输入端压力低于 **1.00MPa** 时联系供气商更换气瓶。安装完毕后，再次检查各个气管接口是否连接紧固。

! 注意：将气管从快插中拔出时，需要按压下快插气管接口（蓝色部分），如果强行拔出后将造成快插和气管的损坏！



附件 2 ARTP 诱变育种仪 CE 安全认证证书

如图 2 所示为 ARTP 诱变育种仪 CE 安全认证证书，CE 认证包括 LVD（低电压指令，Low Voltage Directive）检测和 EMC（电磁兼容性指令，Electromagnetic Compatibility）检测。

شهادة - 증명서 - Certificat - Сертификат - 證明書 - Certificate



Certificate of Compliance

No. 1E160418.WTBUU86

Certificate's Holder:	Wuxi Tmaxtree Biotechnology Co., Ltd. Building A3, No. 777 West Jianzhu Rd, Binhu District, Wuxi, Jiangsu, China.
Certification ECM Mark:	
Product:	ARTP (Atmospheric and Room Temperature Plasma) Mutagenesis Breeding Machine
Model(s):	ARTP-II, ARTP-IIS, ARTP-M, ARTP-IIIS
Verification to:	Standard: EN 55011:2009/A1:2010, EN 61000-3-2:2014, EN 61000-3-3:2013, EN 61000-6-1:2007, EN 61010:2010 related to CE Directive(s): 2014/35/EU (Low Voltage) 2014/30/EU (Electromagnetic Compatibility)

Remark: The product(s) has been verified on a voluntary basis. The product(s) satisfies the requirements of the Certification Mark of ECM, in reference to the above listed Standard(s). The above Compliance Mark can be affixed on the product(s) accordingly to the ECM regulation about its release and its use. The regulation can be found at www.entecerma.it. This Certificate of Compliance can be checked for validity at www.entecerma.it. This verification doesn't imply assessment of the production of the product(s).

Additional information, clarification about the CE Marking:
We attest that a TCF for the CE Marking process is in place. Whereas the Manufacturer is Responsible to start the CE Marking Certification Procedure and to perform all the necessary activities, as required by the Directive before placing the CE Mark on the product(s).



Date of issue 18 April 2016

Chief Manager
Tim Mahan



Expiry date 17 April 2021

Deputy Manager
Viola Miller



Ente Certificazione Macchine Srl
Via Ca' Bella, 243 - Loc. Castello di Serravalle - 40053 Valsamoggia (BO) - ITALY
☎ +39 051 6705141 ☎ +39 051 6705156 ✉ info@entecerma.it 🌐 www.entecerma.it

图 2 ARTP 诱变育种仪 CE 安全认证证书