

SHIME 操作指南

1、对仪器上的泵、pH 计及各类实验容器贴上一次性标签并做好标记。若涉及到的实验存在致病性，需额外粘贴生物危害标签。

2、将热塑性软管（12.5 厘米，标有 3.2 字样）安装到泵上，随后静置过夜进行预灌注。

*替代方案：预灌注 4 小时时，12 转/分钟泵使用的软管需先在 30 转/分钟泵上预灌注，标记极端位置后小心转移至 12 转/分钟泵，确保仅预灌注区域接触泵轮。

3、将恒温水浴锅置于实验台，建议靠近双层容器热水入口侧。

*注：水流方向为从水浴锅到最后一个结肠容器的底部接口，再从第一个胃容器的上部接口返回水浴锅。

4、放置搅拌器于实验台。

*注：搅拌器应位于液体进出该容器的泵之间（具体位置参考硬件手册中的示意图）。

5、将饲料（FEED）和胰液（PJ）的搅拌器放入冰箱。

6、将反应容器置于搅拌器上方。

7、在玻璃反应器上安装带有白色倒钩适配器的红色接头用于循环热水软管。

8、连接水浴锅与反应容器（使用硬硅胶管和紧固件）。

9、容器间相互连接（使用 42.5 厘米硬硅胶管和紧固件）。

10、开启恒温水浴。

11、每个容器加入小磁力搅拌子。

12、组装盖子（组装方式参考硬件手册第 38 页示意图）。

13、在容器中放置黑色 O 型圈，盖上盖子并调整容器夹。

*注：确保橡胶密封圈完全卡入槽位，盖子居中放置后牢固固定金属夹，仅能手

动开合。

14、连接冲洗系统（远距离连接时需将软管穿过柜体支架）。使用 500mL 或 1L 的试剂瓶收集冷凝液（长软管不可接触瓶底），入口处和试剂瓶出口处需安装通气过滤器（注意气流方向）。

*注：冲洗时长参考 Excel 表格"SHIME 3-F7（Flush Setting）。

15、连接酸碱系统。

16、在容器底部（或最低位）设置液体流出管。

17、连接 SHIME 系统的液体流通管路。

18、检测 pH 电极性能并记录于表格"SHIME 3-F10（pH Electrodes Performance）"。

***重要提示：后续步骤（至连接饲料和胰液前）必须当日完成！**

19、向结肠容器加入蒸馏水（实验指定体积），需称重确定精确水量。

*注：使用载体珠时需额外加水补偿体积（30 颗 \approx 16 mL 水）。

20、开启搅拌器（300 转/分钟）。

21、将 pH 电极插入反应器，位置不得过低，否则磁力搅拌棒会打碎 pH 计感应器部位。

22、用胶带标记电极插入高度并标注反应器名称。

23、M-SHIME 操作：向容器添加空袋，用夹子固定连接线。

24、设置液体流出管高度（关键步骤）。

*注：ST/SI 特殊要求：流出管不得接触容器底部（留 1mm 间隙）以防真空。可用硅胶管包裹管口避免真空。

25、向结肠容器加入定量水（20-30mL），泵出多余水后计算容器内体积（允许 3%理论值误差）。

26、用胶带标记液体流出管高度。

27、取出 pH 电极并储存于保存液中。

28、连接 FEED/PJ 泵与冰箱中的瓶子（使用 TPE 软管）。

*注：(1)瓶子容积需满足无人时运行需求 (2)使用专用瓶盖 (3)泵与瓶子间尽量直线短接 (4)靠近接口处安装 T 型接头用于流量检查。

29、在采样管顶部安装带采样阀和安全夹的短软管（16 厘米）。

30、编写 SHIME 实验软件程序。

31、准备 FEED 和 PJ。

32、M-SHIME 操作：制备粘蛋白包被载体和外置袋。

33、泵校准（表格 SHIME 3-F8）。

*注：检查 FEED/PJ 泵的输送体积。

34、清空容器。

35、用温度探头验证循环热水温度，校准温度传感器。

36、校准 pH 电极。填写表格"SHIME 3-F10"，通过 BNC 线连接电极至仪器。

*注：(1)新电极需在蒸馏水中浸泡 30 分钟 (2)校准失败时先检查电缆。

37、连接酸碱箱（需佩戴护目镜）。

*注：确保酸碱箱液位充足。

38、酸碱系统预灌注。

39、FEED/PJ 预灌注。

*注：可编程备份时设置备份路径。

40、向容器加入未酸化饲料。

*注：(1) 确保混合均匀 (2) 同组容器使用同批次饲料。

41、M-SHIME 操作：加入粘蛋白包被载体。

- 42、用金属夹封闭反应器。
- 43、检查气密性（冲洗后关闭排气口，涂抹蒸馏水并干燥盖子）。
- 44、冲洗 10 分钟。
- 45、制备接种物（按 1:5 比例用厌氧缓冲液稀释，参见硬件手册）。
- 46、按反应器体积 5%接种 SHIME。
- 47、冲洗 20 分钟。
- 48、启动接种程序。

*注：程序中需包含最终程序启动前的结肠容器体积调整步骤。

- 49、次日开始营养液/胰液输送（最终程序）。需在 SHIME 3-F2 表格中记录接种日的酸碱消耗量。

维护与关机

- 50、操作过程中需佩戴安全眼镜和手套。
- 51、停止 SHIME 系统程序运行。
- 52、为避免管道过压导致酸碱液泄漏，需先启动废液泵进行预排压，通过废液容器和出口过滤器释放压力。
- 53、关闭酸碱溶液盒。
- 54、打开泵头并拔下连接酸碱盒的管道，使系统管道中的残留液体排入反应器。
- 55、关闭搅拌器。

电极处理部分

- 56、断开 pH 电极与 SHIME 机柜的 BNC 连接线，清除胶带残留，用 70%乙醇湿润的纸巾清洁线缆。
- 57、为 SHIME 机柜的 pH 接口安装保护帽。
- 58、为 pH 电极顶端安装保护帽。

- 59、从容器中取出 pH 电极。
- 60、用蒸馏水清洗电极去除可见污垢。
- 61、用 70%乙醇冲洗电极。
- 62、再次用蒸馏水冲洗电极。
- 63、仅在进行强污染基质的长期实验（或 pH 性能显著下降时），需执行电极再生程序：
 - 将电极浸入 0.5M NaOH 溶液 10 分钟
 - 蒸馏水冲洗
 - 浸入 0.5M HCl 溶液 10 分钟
 - 蒸馏水冲洗
- 64、将电极放入注有新鲜 3M KCl 溶液的清洁保护帽中。

废液处理部分

- 65、清空 SHIME 容器：
 - 按当地规范处理废液（以比利时为例）：
 - 常规废液应收集至 SHIME 废液容器
 - 含抗生素废液需使用密闭容器收集
- 66、清空废液容器：
 - 按当地规范处理（以比利时为例）：
 - 常规废液可从排水口排放
 - 无法高温灭菌的含抗生素废液应按医疗废物处理

后续清洁步骤

- 67、向每个 SHIME 容器注入 0.5% Umonium 溶液
- 68、重新启动搅拌器
- 69、将所有管道和连接器丢弃至医疗废物箱
- 70、清除 SHIME 机柜所有标签
- 71、将盖子、采样管和反应器夹具放入水槽，用 0.5% Umonium 溶液浸泡至少 10 分钟：

- 对于管架：需拆卸螺母、小管件和内嵌 O 型圈，收集于塑料容器并用 0.5% Umonium 溶液搅拌 1 小时，后经自来水→蒸馏水冲洗并晾干

72、刷洗盖子和采样管的所有接口：

- 采样管：将一端浸入 0.5% Umonium 溶液，用注射器从另一端冲洗，并使用小刷子清洁内壁

技巧：用镊子夹住小刷尾部可轻松实现从后向前的贯穿式清洁

73、清洗反应器夹具，自来水冲洗后置于实验用纸上晾干

74、关闭搅拌器

75、用刷子清洁容器内壁

76、排空容器（此时可转移至专用容器）

77、关闭温水浴

78、断开容器与温水浴的连接：

- 先断开容器上部连接
- 再移除下部连接，使夹套层中的水排入废液容器

79、为容器接口安装红色保护帽

80、用自来水冲洗 SHIME 容器、黑色 O 型圈和磁力搅拌子

81、将上述物品送入洗碗机：

- 注意容器接口必须佩戴红色保护帽
- 病原体或抗生素实验的容器需先高压灭菌

82、排空温水浴

83、取出气体捕集器的 Schott 瓶和专用帽进行清洁

84、移除系统通风过滤器：

- 用铝箔包裹
- 标记高压灭菌标识
- 放入专用盒进行灭菌

85、从冰箱取出搅拌器，用 Umonium 溶液清洁

86、清洁浴槽中的搅拌器并移出工作台

87、用氨基溶液清洁工作台

88、再用肥皂清洁工作台

89、关闭 SHIME 机柜：

- 先关闭 Windows 系统
- 待电脑完全关机后关闭机柜电源开关