**单颗粒纳米生物检测仪简明操作规程**

# 样品检测前准备：

# 为了更好地实现样品检测，我们建议您在开机后准备样品的同时，准备下列物品：

 150 L 洗液和 150 L ddH2O 若干管，用于样品检测管路清洗和毛细管头清洁;

 以下样品均用 0.6 mL Ep 管准备，实际样品体积不超过 100 L。

* S16M-Exo ( Silica Nanospheres Cocktail 68-155 nm, 100 times dilution) 用于 EVs 检测，如外泌体及其他折射率相近的纳米粒子。
* Counting standard beads ( 250 nm SiNPs, 100 times dilution ) 作为浓度标准品用于浓度定量。

# 样品检测步骤（以外泌体检测为例）

# 一、浓度标准品检测

1. **上样：**Load 浓度标准品（250 nm SiNPs，100 L），**Sample**——**Boosting**，时间 1 min。
2. **参数设置**：在 Samp.Inf 中选择“**250 nm Std FL SiNPs**”，默认参数为 Laser power: 20 mW, SS Decay: 0.2%。同时，输入稀释倍数 100。样品名称可手动修改。
3. **采样**：**Sample**——**Sampling**，点击工具栏  并选择 **Large signal**，自动设置阈值； 点击 **Auto Sampling** 并在 **Sampling SET** 右侧框中输入 1.0，固定 **Sampling** 压力为 1.0 kPa；等待 **Sampling** 压力稳定在 1.0 kPa 后，点击 **Time to Record** 采集数据；数据采集 完成后采集模式自动跳到 **Buffer**，点击弹框中的 **Save** 按钮，保存数据为 **Nfa File；**将样品 **Unload。**
4. **毛细管清洗**：Load 洗液（150 L），**Sample**——**Boosting** 时间 1 min，**Unload**。用超

纯水（150 L）清除毛细管头残留的洗液。

# 二、粒径标准品检测

**1. 上样：**Load 粒径标准品（Silica Nanospheres 68~155 nm，100 L），**Sample**——**Boosting**， 时间 1 min。

**2. 参数设置**：在 Samp.Inf 中选择“**68-155 S16M-Exo**”。样品名称可手动修改。

1. **采样**：**Sample**——**Sampling**，点击工具栏  并选择 **Small signal**，自动设置阈值； 固定 **Sampling** 压力 1.0 kPa；点击 **Time to Record** 采集数据；点击弹框中的 **Save** 按钮， 保存数据为 **Nfa File；**将样品 **Unload。**
2. **毛细管清洗**：Load 洗液（150 L），**Sample**——**Boosting** 时间 1 min，**Unload**。用超纯水（150 L）清除毛细管头残留的洗液。

# 三、空白对照检测：参照步骤二。

# 四、样品检测：参照步骤二。

# 浓度检测

 稀释浓度标准品和样品使检测粒子数在 4000-8000 particles/min（最佳范围），最高颗粒数不要超过 12000 particles/min。

 250 nm SiNPs 浓度标准品建议稀释100 倍。

# 粒径检测

粒径标准品、空白对照和待测样品均需要在**相同**激光功率和散射通道衰减系数下采样。

 若待测样品粒径偏小，需要提高激光功率，则 68-155 nm 粒径标准品和空白对照也在修 改后的条件下进行检测。

# 荧光样品检测（去除游离的染料分子\*）

1. 确认选用的荧光染料的激发光谱和发射光谱与仪器相匹配。

2. 根据**“检测条件设置”**设定初始检测条件，再根据各个通道的信号强度调整激光检测参 数使荧光通道的信号能与背景良好区分，且散射通道的信号不饱和，即提高激光功率， 增大散射通道信号衰减倍数。

3. 去除游离的染料或优化抗体标记量

 免疫荧光染色时，请确认游离的抗体已被除去或者优化抗体标记量使荧光背景水平降低 到合适的水平；

 做磷脂染色时，要注意磷脂分子自身团聚的问题；

 一般核酸染料本身不发荧光，无需处理。