

## Nanophotometer®超微量分光光度计单一纯净蛋白标准操作规程

### 1, 测试前准备

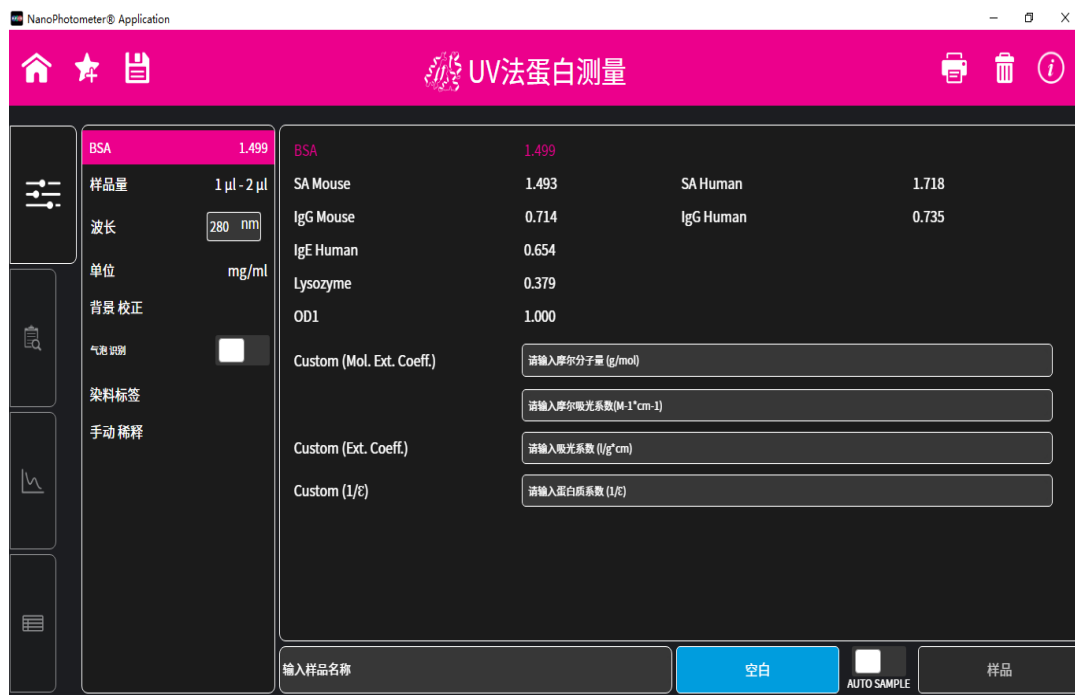
#### (1) 开机

打开设备电源, 等待约 30 秒后, 设备进入操作界面, 当正中出现绿色对话框显示“初始化通过”, 表示自检通过, 方可正常使用 如显示红色对话框, 请进行相应操作或联系厂家工程师, 不可直接使用

#### (2) 选择相应的应用程序模块, 点击进入 (以下内容以核酸测量为例)

### 2, 参数设定

(1) 界面介绍: 界面左侧具有 4 个功能区图标, 分别对应参数设定、当前测量结果、光谱曲线、结果表格, 点击功能区图标可显示或隐藏对应功能区



(2) 选择样品对应的消光系数, 如果不是默认蛋白可以在 Custom 中输入摩尔分子量和摩尔吸光系数或者直接输入吸光系数。

已知氨基酸序列的蛋白质吸光系数可以在下面网站中查到:

<https://web.expasy.org/protparam/>


(3) 确认样品量、单位、背景校正等参数设定正确

(4) 输入样品名称 (如不输入, 默认样品名为 Sample1、Sample2, 可后期更改)

### 3, 样品测量

- (1) 以适当方式混匀样品 (使用涡旋混匀器, 少量样品请手动混匀)
- (2) 使用移液器吸取 1-2µl 空白溶液, 加载在点样台中心位置 (红色灯光定位区域)
- (3) 较快速的盖上样品盖
- (4) 点击“空白”按钮, 仪器进行空白测量, 显示检测基线
- (5) 抬起样品盖, 使用无尘纸同向擦拭样品台及上盖镜面 2-3 次
- (6) 使用移液器吸取 1-2µl 样品溶液, 加载在点样台中心位置 (红色灯光定位区域)
- (7) 较快速的盖上样品盖
- (8) 点击“样品”按钮, 仪器进行样品测量, 显示测量数据

#### 4, 测量数据的保存

- (1) 点击  保存按钮
- (2) 右侧选择所需保存的数据（默认为本次实验数据全部保存）
- (3) 左侧选择保存的格式
- (4) 选择保存路径（默认为系统存储器根目录，可添加子文件夹）
- (5) 点击“保存”按钮：所保存数据可在桌面应用程序界面，点击“结果文件保存”按钮进入查看及导出

5, 样品台的清洁：绝大多数情况下，擦拭样品台可确保有效的清洁，这取决于样品的种类、浓度，以及测量数据误差范围阈值的要求，如需使用水或酒精清洁，则遵循以下流程

- (1) 移取 1-2 $\mu$ l 新鲜制备的超纯水，加载在点样台中心位置
- (2) 反复扣盖样品盖两次，并点击“空白”按钮
- (3) 抬起样品盖，使用无尘纸同向擦拭样品台及上盖镜面 2-3 次 个别较粘稠样品，或不易清洁的样品可使用 70-75%乙醇进行清洁，在测量任务结束之后，应确保清洁样品台

6, 如需使用比色皿进行测量：（仅限于 NP80 系列型号）

- (1) 点击下方“切换到常规比色皿模式”，比色皿池电动防尘罩将自动打开
- (2) 按正确方向放置比色皿，并在设置中选择比色皿对应的光程规格
- (3) 进行空白及样品测量
- (4) 如切换至微量模式或退出程序，将提示将比色皿取出，否则电动门会夹住比色皿

注意事项： 样品上样前：

- 1, 确保样品台及反射镜充分清洁，使用无尘纸正确擦拭。特别是针对于低浓度的样品测试。在测试前使用纯水校验清洁度是理想的方法。
- 2, 使用清洁的样品容器，对于低浓度样品，建议使用低吸附的容器，以减小由于容器吸附 导致的误差。
- 3, 样品应充分混匀，建议试用涡旋混匀器，建议混匀时间 5-10s。对于极少量样品，无法涡旋混匀的，适当拍打样品管进行混合。
- 4, 使用清洁的移液器吸头，低浓度样品可使用低吸附吸头，减小由于吸头吸附导致的误差。
- 5, 吸取样品时，建议用移液器的第一档润洗吸头 2-3 次，再吸取液体，这是由于干燥的吸头和湿润的吸头对样品的吸附有差异。特别是对于低浓度样品，建议润洗后再吸取样品。
- 6, 吸取样品时，移液器应伸入到液面以下约 3mm 处，缓慢吸取，请勿伸入到最底部，底部的样品更容易积累沉淀和发生凝聚等现象，这将导致吸光度的变化。

样品上样：

- 1, 一般上样量为 1-2 $\mu$ l，但考虑到吸头中可能的少量残留，建议使用 1.2 $\mu$ l 以上的上样量。
- 2, 由于液体的表面张力问题，低表面张力的样品容易平铺在样品台上，而非形成液滴状，这将导致样品测量时，实际参与测量的样品不满足最小样品量的要求，从而造成样品台与盖子反射镜面之间有空气。因此低表面张力样品，建议增加上样量。例如：在我们的 Cognito-1D™（液体指纹鉴定）软件中，使用 5 $\mu$ l 的样品量，因为一些酒类的表面张力较低。而核酸溶液，即使用 1 $\mu$ l 的样品量，也完全可以满足要求。这取决于样品的具体情况，建议经过测试确定。
- 3, 建议的移液方式为：将移液器吸头 45°角接触样品台，后将液体推出。不建议悬滴。这将更有利于样品的附着和位于中心位置。
- 4, 应较快速的盖上盖子，请勿缓慢的盖盖子。这是因为盖子的铰链一端位于样品台的后部，盖盖子的时候，盖子的镜面与样品台的有角度，这将导致毛细现象的发生。如缓慢的盖盖子，液体会由于毛细现象向后方移动和附着。快速盖盖子时，这个影响则完全可以忽略。