

纳米颗粒追踪分析(NTA)

仪器介绍、检测步骤和报告解读

*本解读报告仅针对常规光散射模式下的“粒径和浓度”检测项目。

1. 仪器简介

本实验室所使用的仪器是德国Particle Metrix 公司所生产的ZetaView。ZetaView为纳米颗粒追踪分析仪，英文全称为**Nanoparticles Tracking Analysis**，简称**NTA**。NTA检测服务详情请查阅：[NTA外泌体粒径浓度检测](#)。

型号： ZetaView PMX 110
软件版本： ZetaView 8.04.02 SP2 (2018/5/21前为ZetaView 8.04.02)
检测内容： 纳米颗粒粒径分布、颗粒浓度和zeta电位，另可在荧光模式下检测（激发光波长488nm）
测量原理： 粒径（布朗运动），颗粒浓度（视频评价），zeta电位（微电泳）

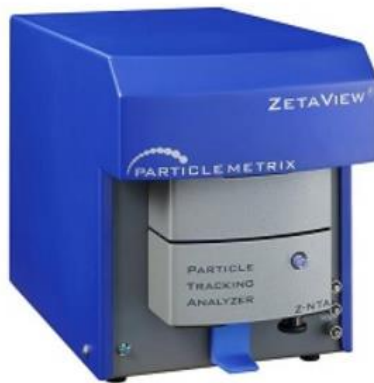


图1： ZetaView PMX 110

2. 检测步骤

（以下针对外泌体样本，检测粒径分布和浓度）：

- ① 以去离子水清洗样本池；
- ② 仪器以聚苯乙烯微球（100nm）校准；
- ③ 以1X PBS buffer ((VivaCell, Shanghai))清洗样本池；
- ④ 样本以1X PBS buffer ((VivaCell, Shanghai))稀释【稀释倍数见最终PDF报告：dilution factor】，进样检测。

英文描述可参考以下：

We measured the exosome particle size and concentration using nanoparticle tracking analysis (NTA) at VivaCell Shanghai with ZetaView PMX 110 (Particle Metrix, Meerbusch, Germany) and corresponding software **ZetaView 8.04.02**【软件版本见PDF报告左下角】. Isolated exosome samples were appropriately diluted using 1X PBS buffer (Biological Industries, Israel) to measure the particle size and concentration. NTA measurement was recorded and analyzed at 11 positions. The ZetaView system was calibrated using 110 nm polystyrene particles. Temperature was maintained around **23°C** and **30°C**【温度、pH值、电导率等信息参见PDF报告】。

红色字体部分参考实际参数，均可在PDF和其他数据包中找到。



3. 数据解读

3.1 数据说明






 20200226_0000_ps_size ①	2020-02-26 13:24	AVI 文件
 20200226_0000_ps_size ②	2020-02-26 13:25	PDF 文件
 20200226_0000_ps_size ③	2020-02-26 13:25	文本文档
 20200226_0000_ps_size_11pos ④	2020-02-26 13:25	文本文档
 20200226_0000_ps_size_1000-010-030-100.0-15-1-0_20200226-132529.fcs ⑤	2020-02-26 13:25	FCS 文件

图2: NTA Report Data

每个样本每检测一次，将得到以上5个文件；一个样本将至少检测3次，检测名称以_1、_2、_3区分，所以一个样本会有3组如上数据。

①视频档：记录颗粒的布朗运动状态

②检测报告：PDF（下文中有详细解读说明）

③原始数据：记录检测过程中仪器的温度、电导率等参数，以及原始数据

④检测说明：记录11个位点的检测情况（下文中有简略说明）

⑤原始文件：可通过ZetaView软件打开

以上①④均可选择性下载。建议全部下载。



发送结果后，对应数据我司只保留3个月，请尽快下载并妥善保存。



3.2 检测报告 (PDF) 解读

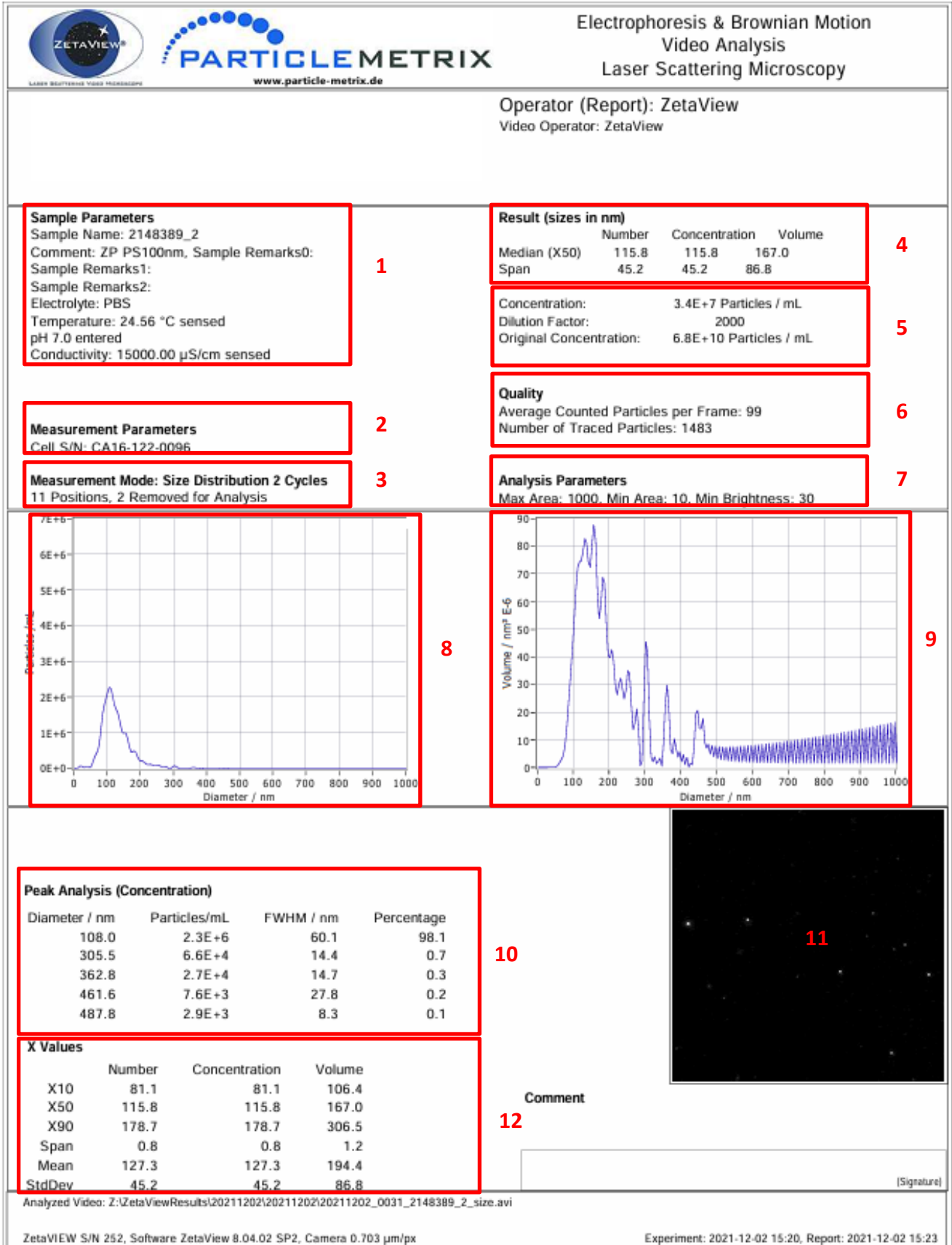


图 3: PDF Report

1. 示例参数

样本名称、稀释样本所用溶剂、检测温度、pH、电导率等。

***样本名称仅支持英文、数字、_**

2. 测量参数

检测使用的 Z-NTA 组件。

3. 测量模式

显示哪种类型的测量（尺寸分布或 zeta 电位测量）。还记录了循环次数和移除的位置（异常值）数量。

*各位点的原始数据见_size_11pos 档。

4. 粒径结果

中位数 (X50 值) 记录在以下各项中：• 数量分布，• 浓度分布 • 体积分布。

由于数量分布和浓度分布的图形相同，因此数量分布和浓度分布的值相等。

请注意，这里有一个打印错误。这里记录的**不是Span**，而是 **StdDev (标准偏差)**！

5. 浓度结果

记录测量到的颗粒浓度、稀释倍数和原始计算浓度。原始浓度由稀释倍数乘以测量浓度计算得出。

第一行：进样检测浓度

第二行：稀释倍数

第三行：原液浓度

*仪器的最佳检测区间为 10^7 particles/ml，如检测小于或者大于这个数量级，则说明进样浓度太低或者太高，检测结果仅供参考。

6. 质量

每帧平均计数粒子数是一个计算值，描述了在一个视频帧内平均检测到的粒子数。

7. 用于测量的分析参数

最大面积（统计中需要分析的粒子所包含的最大像素数）

最小面积（统计中分析粒子所含的最小像素数）

最小亮度（颗粒的灰度）描述了颗粒在统计分析中所具有的最小灰度

8. 粒径浓度分布图

*无原图，本司提供原始数据供绘图。该峰图由仪器自行导出，并进行平滑处理。

另外，该粒径-浓度分布图为样本池内样本的检测结果，如需呈现原液的数据，则**纵坐标乘以稀释倍数**

9. 体积粒径分布图volume-weight distribution

volume是颗粒体积乘以颗粒数。过去NTA主要用于材料的检测，针对外泌体这个数据目前没有已知的意义。

10. 峰值分析

图中显示了检测到的峰值直径（单位为纳米），与相应峰值相关的粒子绝对数量、FWHM（半峰宽）和百分



比。

11. 检测过程中拍摄的粒子图像

视频截图，其中的白色物体非颗粒本身，而是光散射讯号拟合出的信号。

* 完整影像见_size.avi档

12. X值

X10 = 所有分析的颗粒中有 10% 小于规定值

X50 = 所有分析的颗粒中 50% 小于规定值, 50% 大于规定值

X90 = 所分析的所有颗粒中有 90% 小于规定值

例如图中：对于粒径浓度分布图，所有分析的粒子中有 10% 小于 65.8nm。

$$Span = \frac{X90 - X10}{X50}$$

Span 描述粒径分布图的宽度。计算方式：

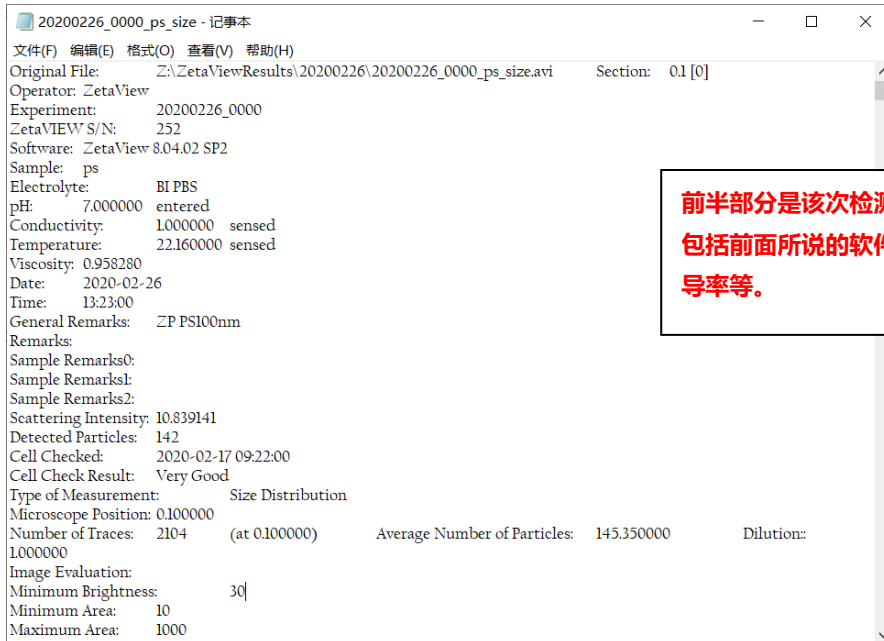
Mean 均值又称为平均数（单位为nm）

StdDev 标准偏差（单位为nm）



3.3 如何通过原始数据还原粒径-浓度分布图

首先找到原始数据：打开3.1中介绍的③号文件（txt文档），你会看到



前半部分是该次检测的一系列检测参数，包括前面所说的软件版本、检测温度、电导率等。

图4: txt Report

继续往下翻阅，你会看到四列数据，分别是：

第一列	第二列	第三列	第四列
粒径/nm	颗粒数	浓度/particles/mL E+6	体积/nm ³

* 第三列中“E+6”无意义，直接去掉。

** txt无排版，将四列数据复制到excel，即可自动分开。我们需要的数据一般为前三列。

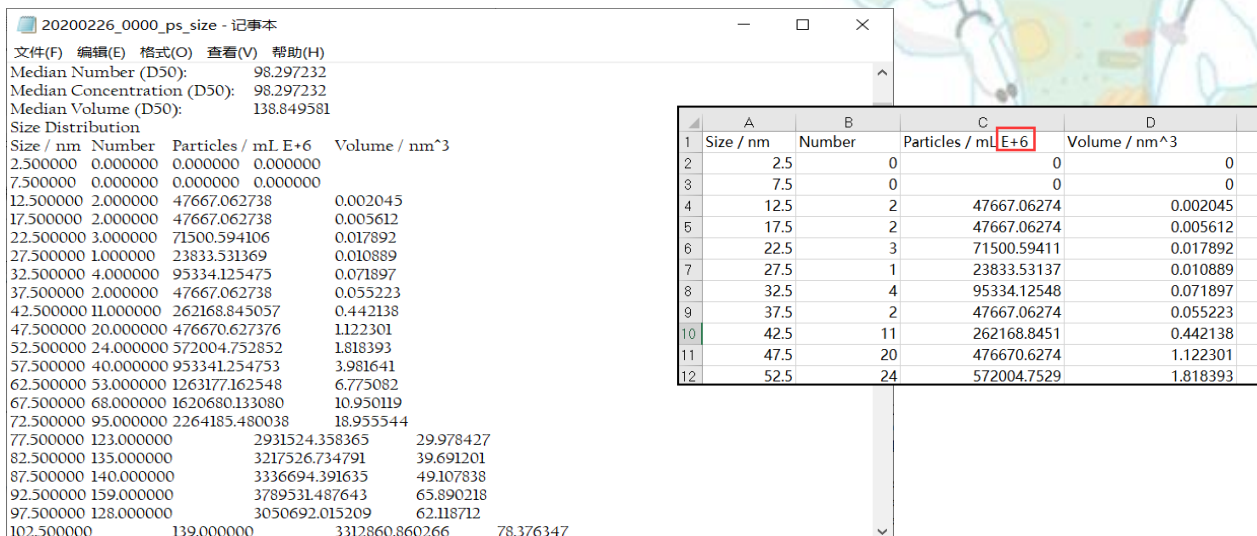


图5: txt Report

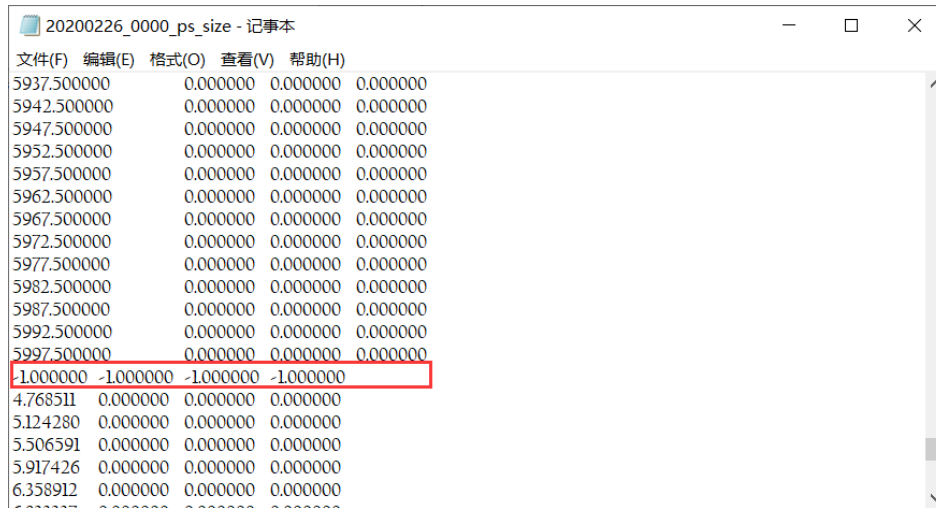
继续往下翻阅，你会看到一行数据 -1,-1,-1,-1; “-1 -1 -1 -1” ，为线性和对数关系的分界线：

“-1 -1 -1 -1” 以上为线性关系对应数据；

“-1 -1 -1 -1” 以下为对数关系对用数据。

因此，取 “-1 -1 -1 -1” 上方数据作图则为线性关系图，也对应仪器运行检测时软件输出的图。

***需要注意的是：软件输出峰图时自动做了平滑处理。**

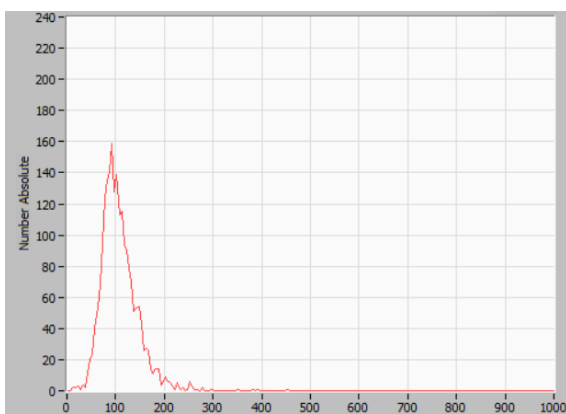


文件(F)	编辑(E)	格式(O)	查看(V)	帮助(H)
5937.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5942.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5947.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5952.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5957.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5962.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5967.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5972.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5977.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5982.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5987.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5992.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
5997.500000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
-1.000000	-1.000000	-1.000000	-1.000000	
4.768511	0.000000	0.000000	0.000000	
5.124280	0.000000	0.000000	0.000000	
5.506591	0.000000	0.000000	0.000000	
5.917426	0.000000	0.000000	0.000000	
6.358912	0.000000	0.000000	0.000000	

图6: txt Report

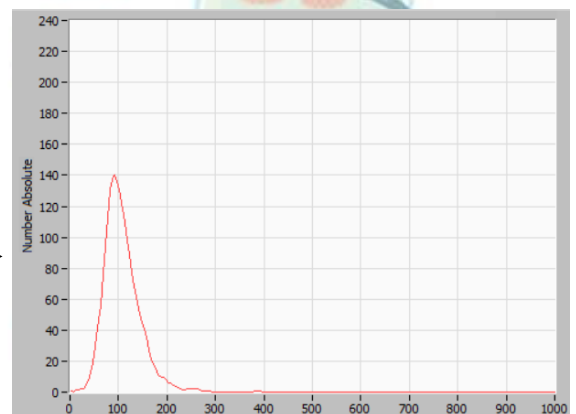
取 “-1 -1 -1 -1” 上方数据作图（此处可以用 **Origin** 或其他制图软件处理），平滑处理后（图 B）得到与 PDF 中基本吻合的峰图，当然以未平滑的峰图（图 A）作为数据展示也是准确的。另外，如选择 “-1 -1 -1 -1” 下方数据作图做数据展示也是可以的，仅仅是数理统计方式不同（此处不再做峰图绘制展示）。

***我司不提供作图服务。**



Diameter/nm 图 A

Smooth 处理后



Diameter/nm 图 B

仪器自动输出的图像格式有限，如对于横坐标、纵坐标或、图像中格子去除等其他要求，请利用绘图软件自行调整。