



thermo scientific

Spettrofotometro NanoDrop Micro-UV

NanoDrop Lite Plus

Manuale utente

S120 NanoDrop Lite Plus UG

Data di revisione

Marzo 2022

ThermoFisher
SCIENTIFIC

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati.

Per il supporto tecnico negli Stati Uniti, contattare:

Thermo Fisher Scientific
3411 Silverside Road
Tatnall Building, Suite
100
Wilmington, DE 19810 U.S.A.

Telefono: 302 479 7707
Numero verde: 1 877 724 7690 (solo Stati Uniti e Canada) E-mail: nanodrop@thermofisher.com

Per supporto internazionale, contattare:

<http://www.thermofisher.com/NanoDropSupport>

Contattare il proprio distributore locale. Per le informazioni di contatto consultare:

<http://www.thermofisher.com/NanoDropDistributors>

Il presente documento è fornito da Thermo Fisher Scientific Inc. ai propri clienti, come guida di utilizzo, unitamente all'acquisto di uno dei propri prodotti. Il presente documento è protetto da copyright, qualsiasi riproduzione totale o parziale dello stesso è severamente vietata, salvo previa autorizzazione scritta di Thermo Fisher Scientific Inc.

I contenuti del presente documento sono soggetti a modifiche senza preavviso. Tutte le informazioni tecniche contenute nel presente documento si intendono esclusivamente a titolo informativo. Le configurazioni del sistema e le specifiche tecniche di cui al presente documento sostituiscono tutte le precedenti informazioni fornite all'acquirente.

Thermo Fisher Scientific Inc. si astiene da qualsiasi dichiarazione in merito alla completezza, accuratezza o esenzione da errori, declina inoltre qualsiasi responsabilità per eventuali errori, omissioni, danni o perdite eventualmente derivanti da qualunque utilizzo del presente documento, anche ove le informazioni ivi contenute fossero seguite correttamente.

Il presente documento non costituisce parte di alcun contratto di vendita tra Thermo Fisher Scientific Inc. e l'acquirente. Il presente documento non disciplina, né modifica in alcun modo i Termini e le Condizioni di vendita, che prevalgono sull'interpretazione delle informazioni contrastanti tra i due documenti.

Esclusivamente a fini di ricerca. Il presente strumento o accessorio non è un dispositivo medico e non è destinato all'utilizzo per la prevenzione, la diagnosi, il trattamento o la cura di malattie o patologie.



AVVERTENZA Evitare qualsiasi rischio di esplosione o incendio. Il presente strumento o accessorio non è progettato per l'utilizzo in ambienti esposti a pericoli di esplosione.

Indice

Capitolo 1 Manuale utente NanoDrop Lite Plus.....	5
Sicurezza generale.....	6
Funzionamento base NanoDrop Lite Plus.....	6
Installazione.....	6
Selezione menù.....	8
Nozioni di base sulla misurazione.....	9
Misurazioni dell'acido nucleico.....	10
Esecuzione di una misurazione.....	10
Schermata di misurazione dell'acido nucleico.....	11
Calcoli dell'acido nucleico.....	11
Misurazioni delle proteine.....	13
Esecuzione di una misurazione.....	13
Schermata di misurazione delle proteine.....	14
Calcoli delle proteine.....	14
Trasferimento di dati dallo strumento al computer.....	16
Informazioni utili per la misurazione dei campioni.....	17
Requisiti del volume del campione.....	17
Precisione e riproducibilità della misurazione del campione.....	17
Omogeneità del campione.....	18
Riporto di campioni.....	18
Rapporto A260/A280.....	19
Esecuzione di un ciclo di blanking.....	20
Effetto dell'evaporazione e dell'uso di solventi.....	21
Utilizzo di NanoDrop Lite Plus con stampante opzionale.....	21
Risoluzione dei problemi dell'alimentazione carta.....	25
Stampa di etichette.....	25
Uscita stampante.....	26
Manutenzione.....	26
Calibrazione.....	26
Verifica delle prestazioni.....	27
Pulizia.....	29
Ricondizionamento.....	30
Compatibilità dei solventi.....	31
Decontaminazione del piedistallo superiore e inferiore.....	31

Indice

Diagnostica.....	32
Risoluzione dei problemi	32
Messaggi di errore	32
Domande frequenti.....	32
Garanzia.....	36

Manuale utente di NanoDrop Lite Plus

Thermo Scientific™ NanoDrop™ Lite Plus è uno spettrofotometro UV stand-alone di piccole dimensioni, sviluppato specificamente per le misurazioni in microvolume di acidi nucleici e proteine purificate. NanoDrop Lite Plus viene fornito con un software precaricato ed è concepito per essere utilizzato senza computer. NanoDrop Lite Plus può anche essere collegato a una stampante accessoria per stampare le informazioni di misurazione sulle etichette.



Il sistema di ritenzione del campione del NanoDrop Lite Plus è identico a quello utilizzato in tutti gli strumenti NanoDrop: la tensione superficiale viene utilizzata per trattenere 1-2 μL di campione tra due piedistalli in acciaio inossidabile che contengono fibre ottiche. Il sistema brevettato di conservazione dei campioni consente di misurare campioni altamente concentrati senza la necessità di diluizioni.

NanoDrop Lite Plus misura l'assorbimento del campione a 230, 260 e 280 nm e corregge la dispersione e gli effetti di fondo nel campione con la luce proveniente da una lunghezza d'onda di riferimento a 340 nm.

Sicurezza generale



ATTENZIONE L'utilizzo dello strumento senza il coperchio espone l'operatore ai bordi metallici affilati e alle delicate fibre ottiche dello stesso. La rimozione del coperchio può anche invalidare la garanzia.

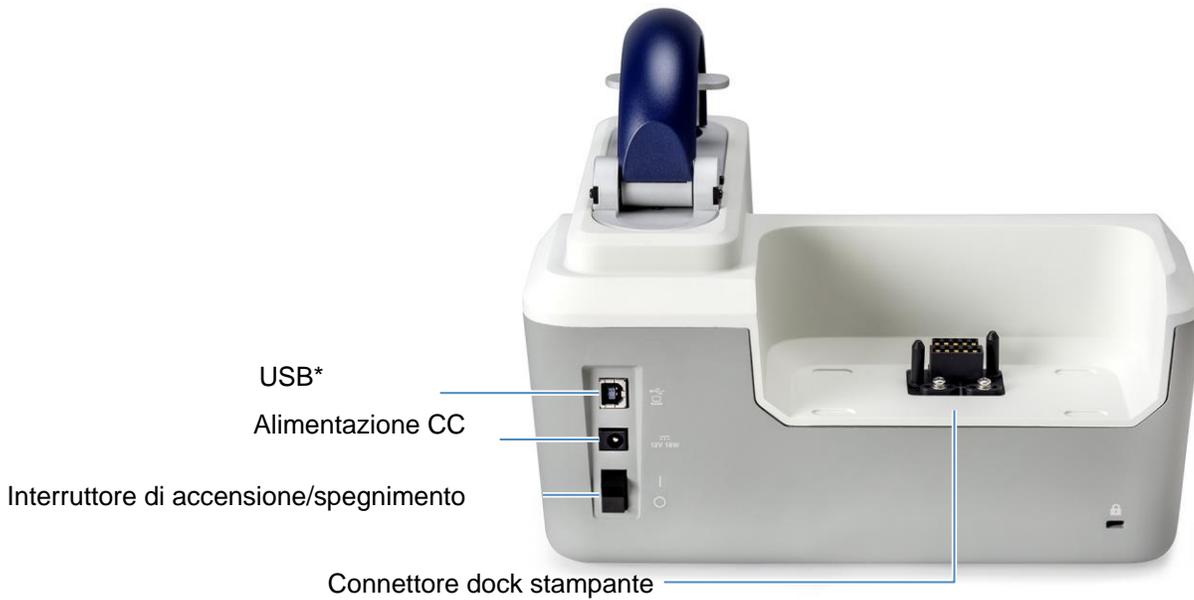
Nota NanoDrop Lite Plus viene fornito con un alimentatore da 12 V. Utilizzare solo l'alimentatore fornito con lo strumento. L'unità è inoltre dotata di un cavo di alimentazione con messa a terra. Collegare questo cavo a una presa con messa a terra adeguata. L'uso dello strumento in un modo non specificato dal produttore può compromettere la protezione fornita dal cavo di alimentazione e dall'alimentatore in dotazione.

L'alimentatore può rimanere collegato al NanoDrop Lite Plus mentre lo strumento non è in uso. Quando lo strumento è collegato ma non in uso, il consumo energetico è di ~3 W al minimo, 18 W in condizioni operative.

Funzionamento base NanoDrop Lite Plus

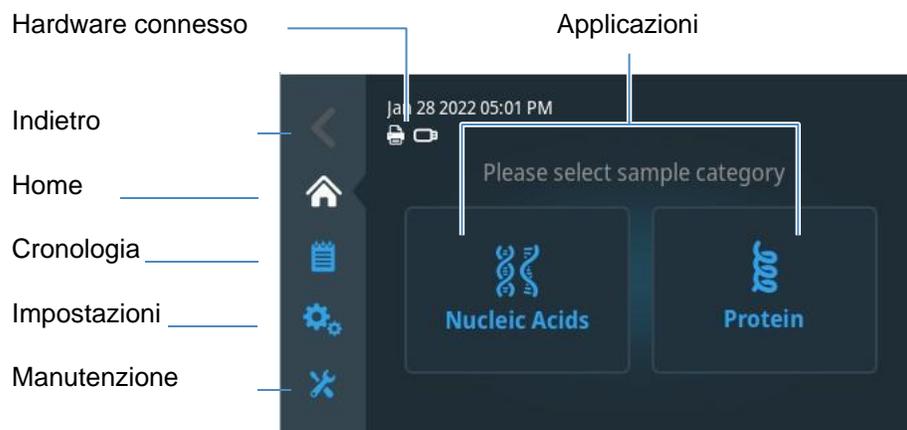
Installazione





* Solo per la calibrazione di fabbrica

Selezione menu



Schermata Home di NanoDrop Lite Plus

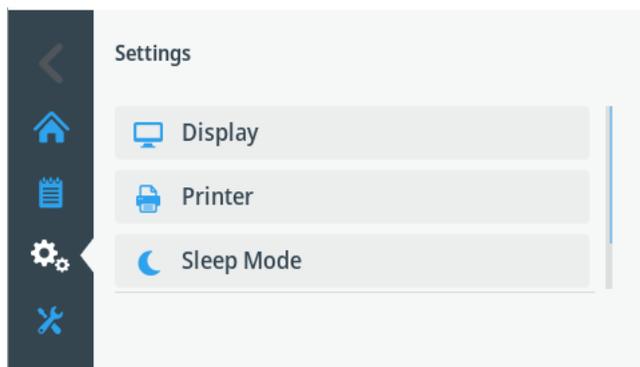
Tabella 1. Menù di navigazione

Opzione di menu	Funzione
Indietro	Tornare alla schermata precedente
Home	Tornare alla schermata Home
Cronologia	Visualizzare ed esportare cronologia campione
Impostazioni	Visualizzare e configurare i parametri dello strumento, ad esempio le impostazioni del display, le stampanti e le informazioni sullo strumento.
Manutenzione	Eseguire la verifica delle prestazioni, la diagnostica dello strumento e gli aggiornamenti software.

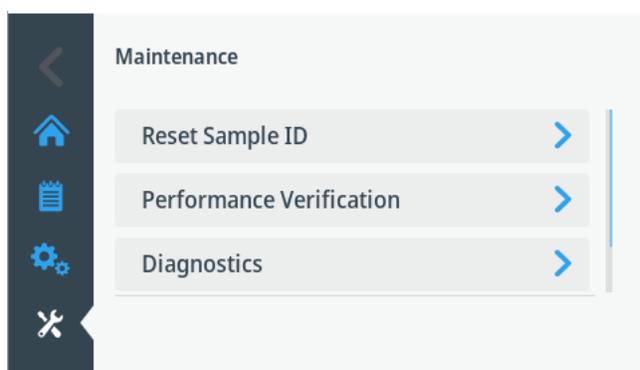
Tabella 2. Impostazioni di riferimento categoria campione

Acidi nucleici	
dsDNA	fattore = 50
ssDNA	fattore = 33
RNA	fattore = 40
Proteine	
Proteine (1 Abs= 1 mg/mL)	Impostazione di riferimento generale predefinita
Proteine (IgG)	E1%=13,7
Proteine (BSA)	E1%=6,7
Lisozima	E1%=26,4
Altre proteine (ϵ + MW)	L'utente ha inserito il coefficiente di estinzione molare e il peso molecolare
Altre proteine (ϵ 1%)	L'utente ha inserito il coefficiente di estinzione di massa

Schermata impostazioni



Schermata manutenzione



Nozioni di base sulla misurazione

Lo spettrofotometro NanoDrop Lite Plus utilizza la tensione superficiale per contenere un piccolo volume di campione tra due piedistalli. Il sistema brevettato di conservazione dei campioni consente di misurare campioni ad alta concentrazione senza la necessità di diluizioni. Un cavo in fibra ottica incorporato nel piedistallo superiore porta a una fonte di luce allo xeno. Un secondo cavo incorporato nel piedistallo inferiore porta a un rilevatore. Quando il braccio dello strumento è abbassato, il campione forma una colonna liquida, essenzialmente colmando lo spazio tra i due cavi in fibra ottica.

Alzare il braccio e pipettare il campione sul piedistallo inferiore.

1. Abbassare il braccio e avviare una misurazione.

La colonna del campione viene automaticamente trascinata tra i piedistalli superiore e inferiore e la misurazione viene eseguita.

2. Al termine della misurazione, sollevare il braccio e rimuovere il campione dal piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta e priva di lanugine.

Suggerimento La semplice pulizia con una salvietta da laboratorio asciutta è sufficiente per evitare il riporto del campione nelle misurazioni successive.

Misurazioni dell'acido nucleico

I campioni di acido nucleico possono essere facilmente controllati per verificarne la concentrazione e la purezza utilizzando lo spettrofotometro NanoDrop Lite Plus. Per misurare i campioni di acido nucleico (dsDNA, ssDNA e RNA), dalla schermata Home selezionare **Acidi nucleici** e selezionare l'applicazione Acido nucleico appropriata.

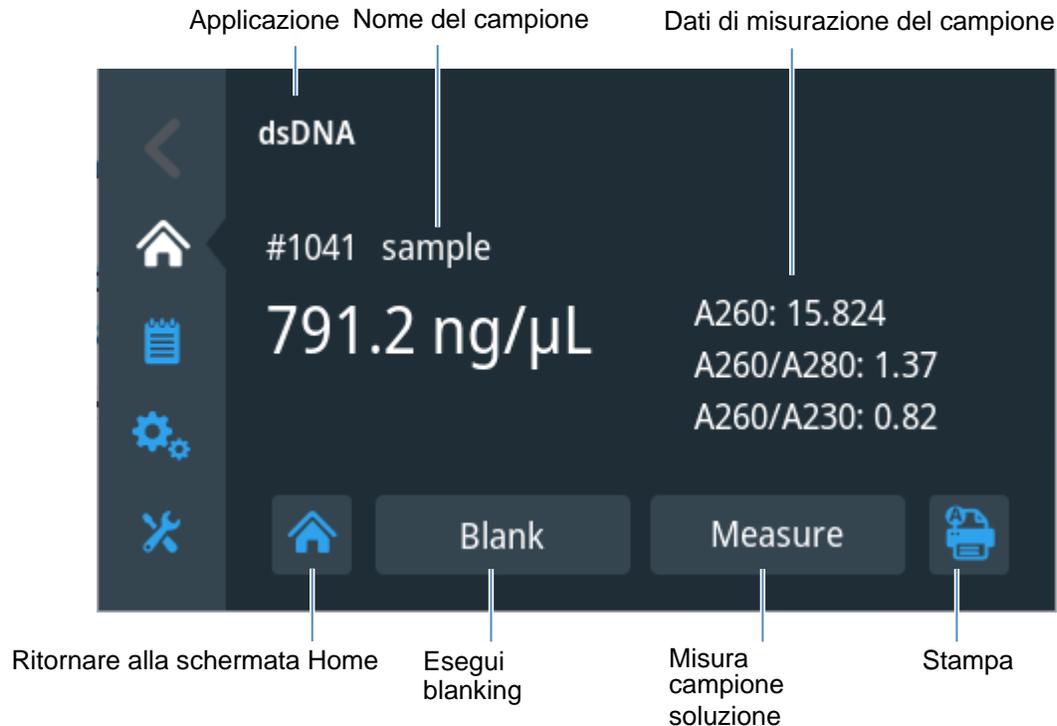
Esecuzione di una misurazione

1. Dalla schermata **Home**, selezionare **Acidi nucleici** e selezionare il tipo di campione appropriato.

Per le misurazioni del DNA, selezionare il saggio **dsDNA** o **ssDNA**.
2. Seguendo le istruzioni sullo schermo, definire un campione di bianco pipettando 1-2 μL di tampone di blanking sul piedistallo inferiore, abbassare il braccio e selezionare **Blank**.
3. Al termine della misurazione, sollevare il braccio e rimuovere il tampone dal piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta.
4. Misurare il campione pipettando 1-2 μL di campione sul piedistallo inferiore, braccio inferiore e selezionare **Misura**.
5. Pulire il piedistallo superiore e inferiore utilizzando una salvietta da laboratorio asciutta e lo strumento è pronto per misurare il campione successivo.

Nota Utilizzare una nuova aliquota di campione per ogni misurazione.

Schermata di misurazione dell'acido nucleico



Schermata di misurazione del campione

Calcoli dell'acido nucleico

NanoDrop Lite Plus deve essere utilizzato per misurare la concentrazione di campioni di acido nucleico purificati. Le misurazioni dirette della concentrazione di acido nucleico presuppongono un campione purificato poiché tutta l'assorbanza a 260 nm è inclusa nel calcolo della concentrazione di acido nucleico. Il trasferimento di nucleotidi, primer, reagenti purificanti e materiale cellulare nel campione di acido nucleico misurato sopravvaluterà la concentrazione di acido nucleico.

Per la quantificazione dell'acido nucleico, l'equazione di Beer-Lambert viene modificata per utilizzare un fattore di conversione con unità di ng-cm/μL. L'equazione modificata utilizzata per i calcoli dell'acido nucleico è la seguente:

$$c = (A$$

*CF)/b dove,

c = concentrazione di acido nucleico in ng/μL

A = l'assorbanza del campione

CF = fattore di conversione in ng-cm/μL

b = la lunghezza del percorso in cm

I fattori di conversione generalmente accettati per gli acidi nucleici sono:

- DNA a doppio filamento: 50 ng-cm/μL
- DNA a singolo filamento: 33 ng-cm/μL
- RNA: 40 ng-cm/μL

Tabella 3. Intervallo di concentrazione dell'acido nucleico

Tipo di campione	Inferiore to superiore	Rilevamen Limite	Riproducibilità tipica; basata su 10 repliche (SD = ng/μL; CV=%)
dsDNA	2,0 ng/μL	1500 ng/μL	±2,0 ng/μL per campione concentrazioni comprese tra 2,0 e 100 ng/μL campioni; ±2% per campioni >100 ng/μL
ssDNA	1,3 ng/μL	990 ng/μL	±2,0 ng/μL per campione concentrazioni comprese tra 2,0 e 100 ng/μL campioni; ±2% per campioni >100 ng/μL
RNA	1,6 ng/μL	1200 ng/μL	±2,0 ng/μL per campione concentrazioni comprese tra 2,0 e 100 ng/μL campioni; ±2% per campioni >100 ng/μL

Nota L'assorbanza riportata è normalizzata a una lunghezza del percorso di 1,0 cm (10,0 mm) per tutte le misurazioni.

Misurazioni delle proteine

I campioni di proteine purificate possono essere quantificati sullo spettrofotometro NanoDrop Lite Plus. Per misurare la concentrazione di un campione di proteine, selezionare l'applicazione **Proteine** dalla schermata Home, quindi selezionare il tipo di saggio appropriato (1 Abs= 1 mg/mL, IgG, Lisozima, BSA o Altre proteine).

Esecuzione di una misurazione

1. Selezionare **Proteine** dalla schermata Home.
2. Selezionare il tipo di saggio appropriato: 1 Abs = 1 mg/mL, IgG, lisozima, BSA o altre proteine.
3. Seguendo le istruzioni sullo schermo, definire un campione di bianco pipettando 2 µL di tampone di blanking sul piedistallo inferiore, abbassare il braccio e selezionare **Blank**.
4. Al termine della misurazione, sollevare il braccio e rimuovere il tampone dal piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta.
5. Confermare Blank pipettando una nuova aliquota di tampone di blanking sul piedistallo inferiore, abbassare il braccio e selezionare **Misura**.
L'assorbanza risultante alla lunghezza d'onda dell'analisi non deve essere superiore a 0,04 A. Se l'assorbanza non soddisfa questi criteri, stabilire un nuovo Blank con una nuova aliquota di tampone.
6. Al termine della misurazione, sollevare il braccio e rimuovere il tampone dal piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta.
7. Misurare il campione pipettando 2 µL di campione sul piedistallo inferiore, braccio inferiore e selezionare **Misura**.
8. Pulire il piedistallo superiore e inferiore utilizzando una salvietta da laboratorio asciutta e lo strumento è pronto per misurare il campione successivo.

Nota Utilizzare una nuova aliquota di campione per ogni misurazione.

Quando si lavora con campioni di proteine, si raccomanda di utilizzare un volume di campione di 2 µL per garantire la formazione di una colonna di liquido tra il piedistallo superiore e quello inferiore. Ciò è particolarmente vero per i campioni concentrati o i campioni che contengono detergenti. ["Requisiti del volume del campione" a pagina 17.](#)

Schermata di misurazione delle proteine



Schermata di misurazione del campione

Calcoli delle proteine

Le proteine, a differenza degli acidi nucleici, presentano una notevole diversità. L'applicazione della proteina A280 è indicata per le proteine purificate che contengono residui Trp, Tyr o legami di disolfuro Cys-Cys e presentano un'assorbanza a 280 nm. L'applicazione della proteina A280 misura l'assorbanza del campione a 280 nm (A280) e calcola la concentrazione (mg/mL) utilizzando il coefficiente di estinzione selezionato. L'applicazione della proteina A280 non richiede la generazione di una curva standard.

NanoDrop Lite Plus deve essere utilizzato per misurare la concentrazione di campioni di proteine purificate. Le misurazioni dirette della concentrazione proteica presuppongono un campione altamente purificato, poiché tutta l'assorbanza a 280 nm viene inclusa nel calcolo della concentrazione proteica. Il trasferimento di materiali di partenza, reagenti per la purificazione e materiale cellulare nel campione di proteine misurato darà luogo a una concentrazione proteica artificialmente elevata.

La concentrazione proteica è calcolata usando l'equazione di Beer-

Lambert: $c = A/e \cdot b$

dove,

c = la concentrazione di proteine

A = l'assorbanza del campione

e = il coefficiente di estinzione di massa specifico per proteina

b = la lunghezza del percorso in cm

Le opzioni di misurazione della concentrazione proteica specifica sono:

1 Abs= 1 mg/mL: raccomandato quando il coefficiente di estinzione è sconosciuto e la stima approssimativa della concentrazione proteica è accettabile per una soluzione senza altre sostanze interferenti. Si ipotizza che una soluzione proteica allo 0,1% (1 mg/mL) produca 1,0 A a 280 nm (dove la lunghezza del percorso è 10 mm), cioè E1% = 10.

IgG: adatto per la maggior parte degli anticorpi dei mammiferi (cioè immunoglobuline G o IgG). Calcola la concentrazione di proteine utilizzando il coefficiente di estinzione di massa (E) di 13,7 L/gm-cm a 280 nm per l'1% (cioè 10 mg/mL) di soluzione IgG. Supponendo che MW sia 150.000 Da, il coefficiente di estinzione molare a 280 nm per IgG è di circa 210.000 M⁻¹cm⁻¹.

BSA: calcola la concentrazione proteica di BSA (albumina sierica bovina) utilizzando il coefficiente di estinzione di massa (E) di 6,7 L/gm-cm a 280 nm per una soluzione di BSA all'1% (cioè 10 mg/mL). Supponendo che MW sia 66.400 dalton (Da), il coefficiente di estinzione molare a 280 nm per BSA è di circa 43.824 M⁻¹cm⁻¹

Lisozima: calcola la concentrazione di proteina lisozima utilizzando il coefficiente di estinzione di massa (E) di 26,4 L/gm-cm a 280 nm per l'1% (cioè 10 mg/mL) soluzione di lisozima. Si ipotizza che il coefficiente di estinzione molare per il lisozima dell'albume d'uovo sia compreso tra 36.000 M⁻¹cm⁻¹ e 39.000 M⁻¹cm⁻¹.

Altre proteine (E e MW): l'utente ha inserito il coefficiente di estinzione molare e il peso molecolare. Si ipotizza che la proteina abbia un coefficiente di estinzione molare (E) e un peso molecolare (MW) noti, dove:

$$(E_{\text{molare}}) \cdot 10 = (E_{\text{percentuale}}) \cdot (MW_{\text{proteina}})$$

Inserire MW in kiloDalton (kDa) e coefficiente di estinzione molare (E in M⁻¹cm⁻¹ diviso per 1000 (cioè E/1000)). Ad esempio: per proteine con coefficiente di estinzione molare di 210.000 M⁻¹cm⁻¹, inserire 210.

Altre proteine (E 1%): l'utente ha inserito il coefficiente di estinzione di massa. Si presume che le proteine abbiano un coefficiente di estinzione di massa noto (E). Inserire il coefficiente di estinzione di massa in L/gm-cm per 10 mg/mL (E1%) di soluzione proteica.

Tabella 4. Intervallo di concentrazione delle proteine

Tipo di campione	Limite inferiore di rilevamento	Limite superiore di rilevamento	Riproducibilità tipica (10 replicazioni, SD = mg/mL; CV=%)
BSA	0,06 mg/mL	45 mg/mL	$\pm 0,10$ mg/mL (per 0,10-10 mg/mL campioni); $\pm 2\%$ per campioni >10 mg/mL
IgG	0,03 mg/mL	22 mg/mL	$\pm 0,10$ mg/mL (per 0,10-10 mg/mL campioni); $\pm 2\%$ per campioni >10 mg/mL
Lisozima	0,015 mg/mL	11,4 mg/mL	$\pm 0,10$ mg/mL (per campioni da 0,10 a 10 mg/mL); $\pm 2\%$ per campioni >10 mg/mL

Nota L'assorbanza riportata è normalizzata a una lunghezza del percorso di 1,0 cm (10,0 mm) per tutte le misurazioni.

Trasferimento di dati dallo strumento al computer

NanoDrop Lite Plus memorizza automaticamente le ultime 1000 misurazioni nella memoria interna. Un dispositivo di memoria USB può essere utilizzato per trasferire queste misurazioni dal NanoDrop Lite Plus a un computer per l'archiviazione o ulteriori analisi.

Il software interno del NanoDrop Lite Plus non supporta il collegamento del NanoDrop Lite Plus a un disco rigido esterno. Per il trasferimento dei dati devono essere utilizzati solo dispositivi di memoria USB (memory stick).

I dati dei campioni vengono salvati automaticamente sullo strumento.

Per trasferire i dati dallo strumento a un dispositivo di memoria USB:

1. Inserire il dispositivo.
2. Dalla schermata Home, selezionare **Cronologia**.
3. Selezionare **Esporta**.

Questo file è in formato .csv e può essere trasferito su un computer per essere aperto in Microsoft Excel® o in un'altra applicazione compatibile.

NOTA Un massimo di 1000 misurazioni saranno salvate nello strumento e sono disponibili per essere trasferite su un dispositivo di memoria USB in qualsiasi momento. La misurazione #1001 sostituirà la #1.

Informazioni utili per la misurazione dei campioni

Requisiti del volume del campione

Il volume del campione è importante perché è essenziale che si formi una colonna di liquido adeguata e che il percorso tra il piedistallo superiore e quello inferiore sia colmato dal campione di liquido che viene tenuto in posizione dalla tensione superficiale.

Il fattore dominante che determina la tensione superficiale di una gocciolina è il legame idrogeno del reticolo delle molecole d'acqua in soluzione. In generale, tutti i soluti (tra cui proteine, DNA, RNA, sali tampone e detergenti) possono ridurre la tensione superficiale interferendo con il legame idrogeno tra le molecole d'acqua. Sebbene i volumi di 1 μL siano generalmente sufficienti per la maggior parte delle misurazioni del campione, l'aumento della dimensione del campione a 2 μL garantirà la corretta formazione della colonna per i campioni con tensione superficiale ridotta.

Ciò è particolarmente vero quando si lavora con campioni di proteine che possono contenere detergenti. Tali campioni non si "agglomerano" sul piedistallo, ma tendono a diffondersi sulla superficie di misurazione. Per garantire la formazione di una colonna di liquido nello spazio tra il piedistallo superiore e quello inferiore, per questi campioni è indicato un volume di 2 μL .

I campioni proteici, in particolare quelli contenenti detergenti, sono soggetti alla formazione di bolle. È necessaria particolare attenzione durante la pipettatura sul piedistallo per garantire che le bolle non siano presenti nel percorso luminoso dello spettrofotometro.

L'esperienza sul campo indica che i seguenti volumi sono sufficienti a garantire la riproducibilità: soluzioni acquose di acidi nucleici: 1 μL

Soluzioni acquose di proteine purificate: 2 μL

È meglio usare un pipettatore di precisione (0-2 μL) con punte di precisione per garantire che venga erogato un campione sufficiente (1-2 μL). I pipettatori di precisione inferiori (0-10 μL e superiori) non sono altrettanto in grado di fornire volumi di 1 μL al piedistallo inferiore. Se l'utente non è sicuro delle caratteristiche del campione o della precisione del pipettatore, si raccomanda un volume di campione di 2 μL .

Precisione e riproducibilità della misurazione del campione

L'eterogeneità del campione o dell'aliquota e/o la rottura della colonna liquida possono dare risultati errati o non riproducibili. Osservare le raccomandazioni seguenti per garantire risultati accurati e riproducibili:

- Assicurarsi che le superfici del piedistallo siano pulite. Un piedistallo sporco (ad esempio, un piedistallo su cui è stato essiccato il campione) può causare letture errate dell'assorbanza (anche valori negativi) e saturazione del segnale. È buona norma pulire le superfici del piedistallo con acqua deionizzata prima di iniziare una misurazione.

Nota Non utilizzare un flacone spray o a spruzzo per applicare l'acqua deionizzata.

- Utilizzare un volume di campionamento di 1,5-2 μL . Possono verificarsi risultati inattesi quando la colonna di campione liquido non è completamente formata durante la misurazione. Durante la misurazione, confermare visivamente che la colonna di liquido sia formata. Inoltre, le proteine e le soluzioni contenenti tensioattivi sono note per "non condizionare" le superfici del piedistallo in modo che la colonna liquida non si formi. In tal caso, utilizzare il composto per il ricondizionamento dei piedistalli Thermo Scientific (PR-1) per ricondizionare i piedistalli. Fare riferimento a ["Ricondizionamento" a pagina 30](#) per ulteriori dettagli.
- Riscaldare i campioni di DNA ad alto peso molecolare a 63 °C e vorticare delicatamente prima della misurazione. A causa dei piccoli volumi richiesti dal NanoDrop Lite Plus, è importante assicurarsi che il campione da misurare sia omogeneo. L'esperienza sul campo ha dimostrato che i campioni contenenti molecole di grandi dimensioni come DNA genomico o lambda sono particolarmente sensibili all'eterogeneità.
- Assicurarsi che venga utilizzata una nuova aliquota di soluzione di blanking per la conferma prima di effettuare una misurazione del campione.
- Confermare che il bianco e il tampone del campione abbiano lo stesso pH e la stessa resistenza ionica. Alcuni componenti tampone assorbono nell'intervallo UV, pertanto è fondamentale eseguire il blanking dello strumento con la stessa soluzione (tampone dello stesso flacone se possibile) in cui è sospeso il campione.
- Confermare che il campione non sia troppo diluito o troppo concentrato. L'analisi dei campioni in corrispondenza o in prossimità del limite di rilevamento comporterà misurazioni variabili. Fare riferimento a [Tabella 3](#) e [Tabella 4](#) per indicazioni sui limiti di rilevazione.
- Confermare che lo strumento funzioni secondo le specifiche con PV-1. PV-1 è uno standard fotometrico liquido disponibile presso Thermo Fisher Scientific e i suoi distributori. Si raccomanda di eseguire la verifica delle prestazioni ogni sei mesi con una fiala nuova di PV-1 per confermare che lo strumento funzioni secondo le specifiche.

Omogeneità del campione

Il campionamento da soluzioni eterogenee, in particolare quando si utilizzano piccoli volumi, può comportare una scarsa riproducibilità dei dati indipendentemente dalla tecnologia utilizzata per effettuare la misurazione. DNA genomico, DNA lambda e soluzioni viscosi di acidi nucleici o proteine altamente concentrati sono esempi comuni che richiedono un'attenta cura per garantire l'omogeneità prima del campionamento. Le proteine sono soggette a denaturazione, precipitazione e aggregazione e quindi richiedono anche una manipolazione speciale per garantire l'omogeneità prima del campionamento.

Riporto di campioni

La pulizia del piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio pulita e asciutta è sufficiente per eliminare il riporto tra campioni che differiscono in concentrazione di ben tre ordini di grandezza.

Rapporto A260/A280

Alcuni ricercatori potrebbero riscontrare un consistente cambiamento del rapporto A260/A280 quando si passa da uno spettrofotometro a cuvette standard al NanoDrop Lite Plus. Le tre cause principali sono:

Variazione dell'acidità del campione - Piccole variazioni del pH della soluzione faranno variare il rapporto A260/A280. Le soluzioni acide sottorappresentano il rapporto A260/A280 di 0,2-0,3, mentre una soluzione basica lo sovrarappresenta di 0,2-0,3. Quando si confronta il NanoDrop Lite Plus con altri spettrofotometri, è importante assicurarsi che il pH di un campione non diluito misurato sul NanoDrop Lite Plus sia allo stesso pH del campione diluito misurato sul secondo spettrofotometro.

Accuratezza della lunghezza d'onda degli spettrofotometri - Sebbene l'assorbanza di un acido nucleico a 260 nm sia generalmente su un piano, la curva di assorbanza a 280 nm è piuttosto ripida. Un leggero spostamento dell'accuratezza della lunghezza d'onda avrà un effetto notevole sui rapporti A260/A280. Ad esempio, uno spostamento di + 1 nm nell'accuratezza della lunghezza d'onda si tradurrà in una variazione +0,2 del rapporto A260/A280. Poiché molti spettrofotometri dichiarano una specifica di accuratezza di 1 nm, è possibile notare una differenza di 0,4 nel rapporto A260/A280 quando si misura lo stesso campione di acido nucleico su due spettrofotometri che rientrano entrambi nelle specifiche di accuratezza della lunghezza d'onda.

La differenza nel rapporto A260/A280 è importante quando si confrontano le misurazioni effettuate sul NanoDrop Lite Plus con le misurazioni effettuate su altri spettrofotometri.

Miscela di nucleotidi nel campione - I cinque nucleotidi che compongono il DNA e l'RNA presentano rapporti A260/A280 ampiamente variabili. I seguenti rappresentano i rapporti A260/A280 stimati per ciascun nucleotide se misurati indipendentemente:

Adenina: 4,50
Citosina: 1,51
Guanina: 1,15
Timina: 1,47
Uracil: 4,00

Il rapporto A260/A280 risultante per l'acido nucleico studiato sarà approssimativamente uguale alla media ponderata dei rapporti A260/A280 per i quattro nucleotidi presenti. È importante notare che i rapporti generalmente accettati di 1,8 e 2,0 per DNA e RNA sono "regole empiriche". Il rapporto effettivo dipenderà dalla composizione dell'acido nucleico.

Nota L'RNA avrà tipicamente un rapporto A260/A280 più elevato a causa del rapporto più elevato di Uracil rispetto a quello di Timina.

Eseguire un ciclo di blanking

Eseguire un ciclo di blanking per verificare quanto segue:

- lo strumento funziona normalmente (con linea di base piatta)
- i piedistalli sono puliti (cioè, non è presente materiale campione essiccato sui piedistalli)
- contributo di assorbanza della soluzione tampone che si prevede di utilizzare per le analisi dei campioni

Occorrente

- salviette da laboratorio prive di lanugine
- pipettatore di precisione calibrato (0–2 µL)
- soluzione tampone per la valutazione

Per eseguire un ciclo di blanking

AVVERTENZA

- Non usare flaconi a zampillo o spray sopra o vicino allo strumento, poiché i liquidi possono penetrare nello strumento e causare danni permanenti.
- Non utilizzare acido fluoridrico (HF) sui piedistalli. Gli ioni di fluoruro danneggiano irreversibilmente i cavi in fibra ottica di quarzo.

1. Dalla schermata Home, selezionare un'applicazione.
2. Sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio.
3. Misurare un blank d'acqua:
 - Pipettare esattamente 1 µL di acqua deionizzata (DIH₂O) sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.
 - Toccare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
 - Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
4. Misurare la soluzione tampone:
 - Pipettare 1-2 µL di soluzione tampone sul piedistallo, abbassare il braccio e picchiettare

Misura

 - Attendere il completamento della misurazione.

L'assorbanza risultante non deve variare più di 0,04A alla lunghezza d'onda dell'analisi.

Se lo spettro non soddisfa questi criteri, ripetere i passaggi 2–4.

Se lo spettro è ancora al di fuori delle specifiche, vedere "[Soluzioni per problemi di blanking](#)" a [pagina 21](#)

5. Al termine del ciclo di blanking, toccare **Termina esperimento**.
6. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

Soluzioni per problemi di blanking

- Pulire e/o ricondizionare accuratamente entrambi i piedistalli e quindi:
 - rieseguire il ciclo di blanking, oppure
 - misurare un nuovo campione bianco utilizzando una nuova aliquota di soluzione tampone appropriata, quindi misurare una nuova aliquota di campione sconosciuto

Per la maggior parte delle applicazioni, eseguire il blank con la stessa soluzione tampone utilizzata per risospendere l'analita di interesse. La soluzione di blanking deve avere un pH e una forza ionica simili a quelli della soluzione dell'analita. Per ulteriori dettagli, vedere [Effettuare una misurazione](#) nell'applicazione utilizzata.

Effetto dell'evaporazione e dell'uso del solvente

Per ogni misurazione deve essere utilizzata una nuova aliquota di campione. L'evaporazione del campione durante il ciclo di misurazione di solito ha un effetto minimo sulle letture dell'assorbanza e può comportare un aumento dell'1-2% della concentrazione del campione. Tuttavia, misurazioni ripetute sulla stessa aliquota di campione si tradurranno in concentrazioni crescenti e/o rottura della colonna. Solventi altamente volatili, come l'esano, provocheranno probabilmente l'evaporazione prima che la misurazione possa essere completata. Solventi meno volatili come il DMSO possono essere utilizzati con successo.

Utilizzo di NanoDrop Lite Plus con stampante opzionale



Per collegare NanoDrop Lite Plus alla stampante

1. Assicurarsi che l'alimentazione sia scollegata dal NanoDrop Lite Plus.

1 Manuale utente di NanoDrop Lite Plus

Utilizzo di NanoDrop Lite Plus con stampante opzionale

2. Rimuovere il coperchio posteriore dal NanoDrop Lite Plus.



3. Spingere con decisione la stampante sullo strumento.

La stampante si aggancerà in posizione una volta posizionata correttamente.

Collegamento di NanoDrop Lite Plus alla stampante



Per caricare carta nella stampante

4. Assicurarsi che la stampante sia completamente ancorata allo strumento.

Il gruppo stampante non funzionerà fino a quando non sarà correttamente ancorato a NanoDrop Lite Plus.

5. Collegare l'alimentatore e consentire l'inizializzazione di NanoDrop Lite Plus.
6. Aprire il coperchio della stampante premendo i due pulsanti di rilascio nella parte posteriore e contemporaneamente facendo oscillare il pannello all'indietro.
7. Svolgere il rotolo di carta, inserire la bobina e posizionare il rotolo di carta in modo corretto all'interno della stampante, secondo l'orientamento indicato dall'icona situata sui supporti della carta.

La carta dovrebbe uscire da sotto il rullo verso la fessura di alimentazione.



8. Quando si sente il meccanismo di alimentazione della carta muoversi, la stampante è pronta per caricare la carta; spingere l'estremità della carta nella fessura di alimentazione della carta.

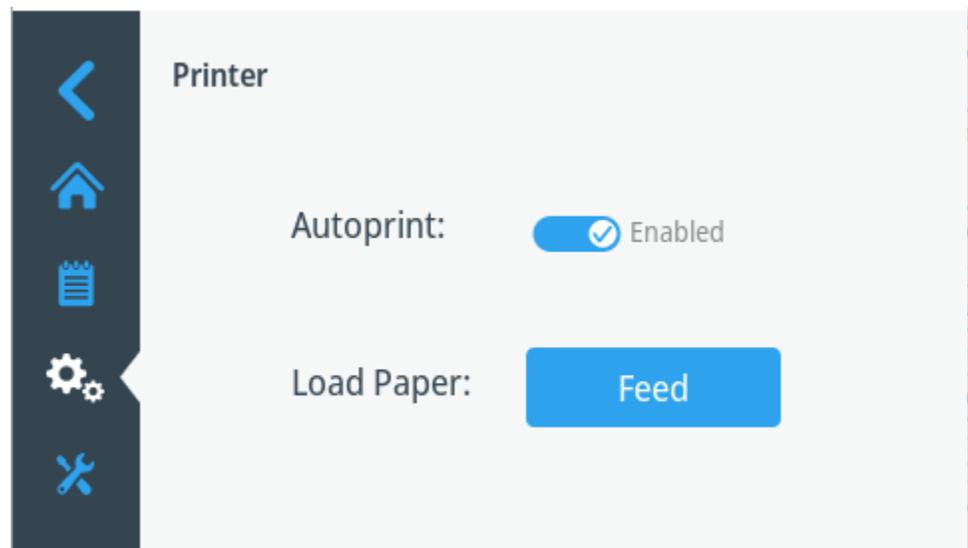
La carta viene inserita correttamente quando si innesta il meccanismo della testina di stampa ed esce dalla fessura nella parte superiore della stampante.

1 Manuale utente di NanoDrop Lite Plus

Utilizzo di NanoDrop Lite Plus con stampante opzionale



9. Inserire il rotolo di carta (con la bobina) nel supporto apposito.
10. Toccare **Alimentazione** dalle impostazioni della stampante per far avanzare la carta.



Suggerimento Suggerimenti utili per l'installazione della carta

- Mantenere la carta centrata mentre entra nella fessura sul retro della stampante.
- Quando si alimenta la stampante, afferrare la carta il più vicino possibile alla fessura di alimentazione.
- Si sentirà un rumore quando la carta si inserisce nella stampante. A questo punto, spingere saldamente la carta nella fessura per avviarla.
- Se nessuna delle soluzioni precedenti funziona, ritagliare un piccolo angolo dalle estremità della carta e reinserirla.

Risoluzione dei problemi relativi all'alimentazione carta

Se la carta non viene alimentata correttamente (la carta non fuoriesce dalla parte superiore della stampante), rimuovere la carta dalla stampante e ripetere i passaggi da [6](#) a [9](#).

Per rimuovere la carta dalla stampante

1. Scollegare l'alimentazione alla stampante.
2. Aprire il pannello dal retro della stampante premendo i due pulsanti di rilascio su entrambi i lati dei supporti della carta e contemporaneamente tirando il pannello verso l'alto.
Una volta rimosso il pannello, si vede un interruttore a bilanciere verde sul lato destro del rullo.
3. Premere l'interruttore verso il basso per rilasciare la carta (vedere "[Stampa di etichette](#)" a pagina [25](#)).
4. Estrarre delicatamente la carta dalla stampante.
Spingere l'interruttore verde verso l'alto in posizione orizzontale una volta che la carta è stata rimossa.

Nota Assicurarsi di riportare l'interruttore in posizione orizzontale prima di inserire il pannello.

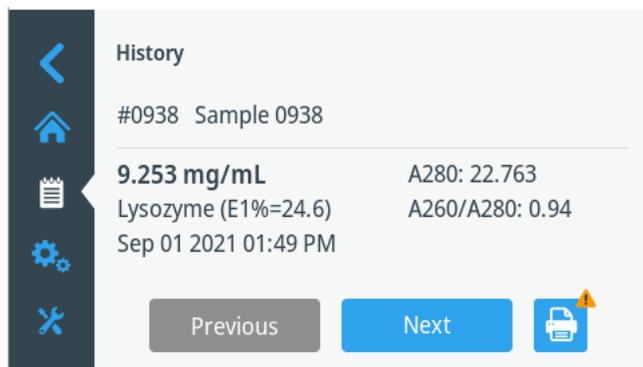
5. Inserire il pannello posteriore in posizione.
6. Per ricaricare la carta, collegare l'alimentatore alla stampante e ripetere i passaggi in "[Caricare la carta nella stampante](#)" a pagina [22](#).

Stampa di etichette

Quando lo strumento è collegato alla stampante, ci sono tre modi per stampare etichette per i campioni:

- Se la funzione di stampa automatica è attiva, un'etichetta viene stampata automaticamente dopo ogni misurazione del campione.
- Per modificare la funzione di stampa automatica, andare a Home > Impostazioni > Stampante. Attivare o disattivare la stampa automatica.
- Quando la funzione stampa automatica è disattivata, selezionare Stampa dopo aver misurato un campione.
- Se sono necessarie ulteriori etichette, selezionare di nuovo Stampa.
- Selezionare Stampa  quando si visualizzano i risultati di campioni misurati in precedenza nella schermata Cronologia campioni (Home > Cronologia).

Ciò consente di stampare etichette da campioni precedentemente misurati memorizzati nella memoria dello strumento. Utilizzare **Precedente** e **Successivo** per visualizzare i dati del campione da stampare.



Nota Le etichette della stampante sono criogeniche e, secondo le specifiche di produzione, funzionano bene in un ampio intervallo di temperature: da 70° C a -196° C.

Uscita stampante

L'etichetta stamperà il nome del campione inserito sullo strumento.

```
#0011 sample  
dsDNA 185.3 ng/µL  
260/280:1.87 260/230:2.37 #0011  
Feb 23 2022 11:07 AM
```

Le etichette possono essere utilizzate su una provetta da 1,5 ml o in un quaderno di laboratorio.

L'adesivo rotondo accanto all'etichetta si adatta alla parte superiore di una provetta da 1,5 mL ed è fornito per l'uso come necessario per l'identificazione del campione.

Manutenzione

Calibrazione

Tutti gli strumenti NanoDrop Lite Plus sono calibrati al momento della produzione e includono un rapporto di prova in fabbrica. Qualora si rendesse necessaria una ricalibrazione, questa procedura deve essere eseguita da Thermo Fisher Scientific o dai fornitori di servizi autorizzati presso i nostri rivenditori. La ricalibrazione è estremamente rara e deve essere eseguita solo quando l'unità non supera la verifica delle prestazioni o quando i componenti ottici critici vengono riparati o sostituiti.

Verifica delle prestazioni

Tutti gli strumenti NanoDrop Lite Plus sono calibrati al momento della produzione e includono un rapporto di prova in fabbrica. Si raccomanda di eseguire una verifica delle prestazioni ogni sei mesi per verificare che lo strumento funzioni secondo le specifiche.

Per eseguire la verifica delle prestazioni è necessaria una fiala della soluzione di verifica delle prestazioni Thermo Scientific PV-1. Il PV-1 viene utilizzato per confermare l'accuratezza della lunghezza di percorso degli spettrofotometri NanoDrop Lite Plus.

1. Assicurarsi che i piedistalli siano puliti e che un campione d'acqua da 1 μL "si depositi" sul piedistallo inferiore, quindi asciugare entrambi i piedistalli.

Se l'acqua non si deposita, ricondizionare i piedistalli. Vedere ["Ricondizionamento" a pagina 30](#).

2. Dalla schermata Home, selezionare Manutenzione .
3. Scegliere **Verifica prestazioni**.
4. Immettere l'assorbanza target #2 che si trova sulla fiala PV-1: toccare il campo del valore di assorbanza, utilizzare la tastiera a sfioramento per immettere il valore e toccare **Invio**.

Assicurarsi che il valore di destinazione immesso corrisponda a NanoDrop Lite Plus. L'assorbanza target dovrebbe essere di circa 1,0.
5. Selezionare **Esegui**.
6. Sollevare il braccio e pipettare 1 μL di acqua deionizzata sul piedistallo.
7. Chiudere il braccio e selezionare **Blank**.
8. Eliminare l'acqua dal piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio.

Nota La soluzione PV-1 viene fornita in una fiala monouso. Prima di aprire la fiala, agitarla vigorosamente e quindi lasciare che il liquido si raccolga nella parte inferiore della fiala. Dopo l'apertura della fiala, il suo contenuto deve essere utilizzato entro un'ora. Pipettare direttamente dalla fiala; non trasferire la soluzione.

9. Rompere con cautela il collo della fiala per aprire il PV-1.
10. Pipettare 1 μL di PV-1 sul piedistallo inferiore, chiudere il braccio e selezionare **Misura**.

Sullo schermo apparirà il risultato della prima misurazione.
11. Eliminare il campione da entrambi i piedistalli superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio e pipettare 1 μL di PV-1 sul piedistallo inferiore, chiudere il braccio e selezionare **Misura**.

Sullo schermo apparirà il risultato della seconda misurazione.

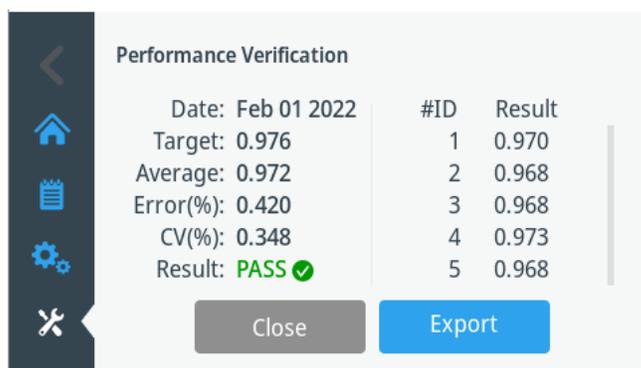
12. Ripetere i passaggi 10 e 11 fino a quando non sono state raccolte 10 misurazioni.

Suggerimento Per garantire risultati accurati, assicurarsi di pulire la parte superiore e inferiore del piedistallo con una salvietta da laboratorio asciutta e priva di lanugine tra una misurazione e l'altra. Utilizzare una nuova aliquota di PV-1 e un nuovo puntale per ogni misurazione.

Dopo aver misurato tutte e 10 le replicazioni, i risultati verranno visualizzati come Pass/Fail. Se i risultati della verifica delle prestazioni indicano un errore, pulire accuratamente il piedistallo seguendo le istruzioni riportate nel documento "Pulizia e ricondizionamento del piedistallo" o nelle sezioni [Pulizia](#) e [Ricondizionamento](#) nella Guida per l'utente, quindi ripetere l'intero controllo di calibrazione. Se i risultati del controllo di calibrazione indicano Pass, procedere con [il passaggio 13](#).

13. Inserire il dispositivo di memoria USB.

14. Selezionare **Esporta**.



Sullo schermo apparirà il seguente messaggio: Esportazione in corso. Non rimuovere l'unità USB fino al completamento dell'esportazione. Quando questo messaggio scompare, è sicuro rimuovere il dispositivo di memoria USB dal NanoDrop Lite Plus.

Dopo che i dati sono stati salvati sul dispositivo di memoria USB, è possibile trasferirli su un computer per archivarli o stamparli. La verifica delle prestazioni è ora completata.

Il rapporto di verifica non può essere stampato sulle etichette utilizzando la stampante opzionale NanoDrop Lite Plus. Solo i nuovi rapporti di verifica delle prestazioni possono essere salvati su un dispositivo di memoria USB e trasferiti su un computer per la stampa o l'archiviazione.

Solo la più recente verifica delle prestazioni viene salvata sullo strumento. La cronologia delle verifiche delle prestazioni precedenti viene sovrascritta ogni volta che viene eseguita una verifica. È impossibile recuperare la cronologia precedente.

Per visualizzare la verifica delle prestazioni precedente

1. Andare alla schermata Home, selezionare Manutenzione.

2. Selezionare **Verifica delle prestazioni**.
3. Selezionare **Visualizza precedente**.
4. Per esportare su USB, selezionare **Esporta**.

Risoluzione dei problemi

- Se lo strumento non supera il controllo di calibrazione utilizzando aliquote da 1 μL di PV-1, ripetere subito la procedura nuovamente utilizzando aliquote da 2 μL di PV-1.
- Se la procedura fallisce con volumi da 1 μL ma passa con volumi da 2 μL , ciò indica che le lunghezze di percorso rientrano nelle specifiche, ma i piedistalli potrebbero non essere condizionati correttamente. Pulire i piedistalli con PR-1 e ripetere il controllo di calibrazione.
- Se lo strumento continua a non superare la verifica delle prestazioni utilizzando volumi di 2 μL , è necessaria la ricalibrazione. Contattare l'assistenza tecnica. Al di fuori degli Stati Uniti e del Canada, contattare il distributore NanoDrop locale.

Pulizia

La manutenzione primaria per il NanoDrop Lite Plus è quella di mantenere pulite le superfici del piedistallo.

1. Pipettare 3 μL di acqua deionizzata (dH_2O) sul piedistallo inferiore.
2. Non utilizzare un flacone a spruzzo per applicare dH_2O o qualsiasi altro liquido sulla superficie dello strumento.
3. Abbassare il braccio per formare una colonna di liquido; lasciarlo riposare per circa 2-3 minuti.

Eliminare l'acqua dai piedistalli superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta e priva di lanugine.

Suggerimento Tra una misurazione e l'altra: eliminare il campione dai piedistalli superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio pulita, asciutta e priva di lanugine, per prevenire il riporto del campione ed evitare l'accumulo di residui.

Suggerimento Tra un utente e l'altro: si consiglia una pulizia finale di entrambi i piedistalli con dH_2O dopo aver raccolto l'ultima misurazione del campione.

Pulizia aggiuntiva: quando è richiesto un protocollo di pulizia più rigoroso (cioè proteine essiccate) sostituire 0,5 M HCl per il dH_2O nella procedura sopra. Seguire con μL di dH_2O .

Ricondizionamento

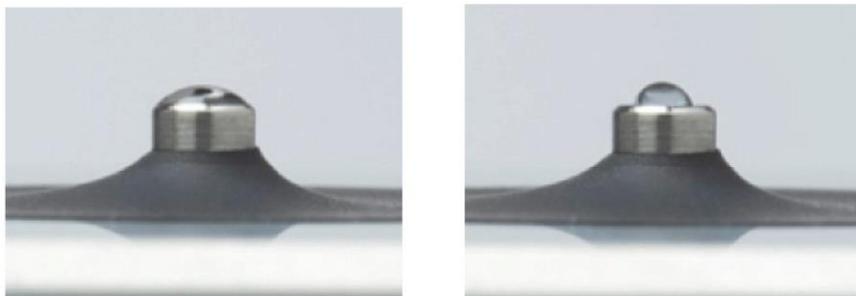
Con il passare del tempo la superficie del piedistallo può diventare insensibile, soprattutto quando si misurano proteine o campioni che contengono tensioattivi o detergenti. Se le proprietà della superficie sono state compromesse, i campioni potrebbero non "aggregarsi" sul piedistallo o la colonna di liquido potrebbe rompersi durante la misurazione. Utilizzare il kit di ricondizionamento del piedistallo dello strumento, PR-1, come mezzo rapido per ricondizionare il piedistallo in una condizione ottimale per la formazione di colonne liquide.

1. Aprire la fiala contenente PR-1 e utilizzare l'applicatore fornito nel kit per prelevare una quantità di preparato della grandezza di una capocchia di spillo.
2. Applicare uno strato molto sottile e uniforme di PR-1 sulla superficie dei piedistalli superiore e inferiore e attendere 30 secondi affinché il PR-1 si asciughi.
3. Piegare una salvietta da laboratorio pulita e asciutta in quarti e rimuovere il PR-1 strofinando aggressivamente la superficie dei piedistalli superiore e inferiore fino a rimuovere tutti i residui di composto.

La comparsa di un residuo nero sulla salvietta di laboratorio è normale. Continuare a pulire i piedistalli con una salvietta da laboratorio pulita fino a quando la salvietta non mostra residui neri.

4. Utilizzare aria compressa per rimuovere la lanugine in eccesso dal diaframma che circonda la base del piedistallo inferiore.

Testare l'efficacia del ricondizionamento pipettando un campione da 1 μL di dH_2O (utilizzando un pipettatore calibrato da 2 μL) sul piedistallo inferiore per verificare visivamente che il dH_2O si aggrega.



La figura a sinistra mostra come un campione acquoso si distribuisce su un piedistallo non condizionato. La figura a destra mostra come 1 μL di dH_2O dovrebbe aggregarsi su un piedistallo correttamente condizionato.

Eventuali tamponi contenenti tensioattivi o detersivi possono "decondizionare" le superfici del piedistallo di misurazione in modo che la colonna di liquido non si formi bene con i campioni da 1 µL. Utilizzare il composto per il ricondizionamento dei piedistalli NanoDrop (PR-1) come mezzo rapido per ricondizionare i piedistalli quando le proprietà della superficie sono state compromesse e le colonne di liquido si spezzano durante la misurazione. In questo modo si "ri-condizionano" le superfici permettendo la formazione della colonna del campione liquido.

Compatibilità del solvente

I piedistalli dello spettrofotometro NanoDrop Lite Plus sono compatibili con la maggior parte dei solventi tipicamente utilizzati nei laboratori di scienze biologiche. Tra questi rientrano:

• acetone	• HNO ₃ diluito	• isopropanolo
• acetonitrile	• acido acetico diluito	• metanolo
• benzene	• DMF	• n-propanolo
• butanolo	• DMSO	• idrossido di sodio
• tetracloruro di carbonio	• etanolo	• ipoclorito di sodio (candeggina)
• cloroformio	• etere	• THF
• HCl diluito	• esano	• toluene

AVVERTENZA

- Tutte le forme di acido fluoridrico (HF) sono incompatibili, poiché lo ione fluoruro dissolverà il cavo in fibra ottica al quarzo.
- Non lasciare che alcool, candeggina, acetone o altri solventi rimangano sul diaframma che circonda il piedistallo per più di un minuto, poiché l'adesivo che mantiene la guarnizione in posizione potrebbe essere compromesso. Se la guarnizione si allenta, contattare l'assistenza tecnica.

Decontaminazione del piedistallo superiore e inferiore

Qualora fosse necessaria la decontaminazione, è possibile utilizzare una soluzione igienizzante, ad esempio una soluzione allo 0,5% di ipoclorito di sodio (diluizione 1:10 di comuni soluzioni commerciali di candeggina, preparate al momento), per garantire l'assenza di materiale biologicamente attivo sul piedistallo superiore e inferiore.

Nota Non utilizzare un flacone spray o a spruzzo per applicare la candeggina diluita. Inumidire sempre una salvietta da laboratorio con la candeggina per pulire le superfici del piedistallo superiore e inferiore e l'esterno dello strumento. Eliminare la soluzione di candeggina con un panno da laboratorio inumidito con acqua.

Diagnostica

Il modulo Diagnostica viene utilizzato per confermare il corretto funzionamento delle sorgenti luminose e dei rilevatori.

Per eseguire un controllo diagnostico:

1. Selezionare **Diagnostica** dalla schermata Home.
2. Sollevare il braccio, assicurarsi che i piedistalli siano puliti e abbassare il braccio.
3. Selezionare **Esegui**.

Al termine della verifica diagnostica verranno visualizzati i valori dei parametri di seguito elencati. Viene visualizzato un segno di spunta verde per i parametri PASS e un'icona x rossa indicherà eventuali risultati FAIL.

- Tempo d'integrazione
- Distorsione del rivelatore
- Spostamento della lunghezza d'onda
- Massimo offset singolo

Risoluzione dei problemi

Messaggi di errore

Alcuni messaggi di errore vengono attivati quando la luce raggiunge il rilevatore in misura ridotta o nulla durante una misurazione. Se si verificano questi errori, assicurarsi che le superfici del piedistallo siano pulite. Vedere ["Pulizia" a pagina 29](#)

In genere il dH₂O è sufficiente per rimuovere i campioni che si sono essiccati sui piedistalli della fibra ottica. Ci sono alcuni casi (ad esempio, proteine essiccate) che possono richiedere un protocollo di pulizia più rigoroso. Per questi casi, si consiglia di sostituire 0,5 M di HCl con 3 µL di dH₂O deionizzato. Proseguire con 3-5 µL di dH₂O per rimuovere eventuali residui di HCl.

Domande frequenti

D: Quali sono i requisiti delle dimensioni del campione per NanoDrop Lite Plus?

R: Un minimo di 1 µL è di solito sufficiente per la maggior parte delle applicazioni. Generalmente tutti gli additivi tra cui proteine, DNA, RNA, sali tampone e molecole simili a detergenti riducono la tensione superficiale interferendo con il legame idrogeno tra le molecole d'acqua. Sebbene i volumi di 1 µL siano generalmente sufficienti per la maggior parte delle misurazioni del campione, l'aumento della dimensione del campione a 2 µL garantirà la corretta formazione della colonna per i campioni con proprietà di tensione superficiale ridotte. Una dimensione del campione < 1 µL non è raccomandata. Vedere ["Requisiti del volume del campione" a pagina 17](#)

D: Che tipo di riproducibilità e gamma dinamica per gli acidi nucleici devo prevedere con il NanoDrop Lite Plus?

R: La gamma dinamica dipende dal tipo di analisi. Fare riferimento alla [Tabella 3](#)

per maggiori dettagli. D: Quali biomolecole possono essere analizzate con NanoDrop Lite Plus?

R: Il NanoDrop Lite Plus è progettato per determinare le concentrazioni di dsDNA purificato, RNA, ssDNA e proteine, che assorbono a 260 nm o 280 nm.

D: Gli acidi nucleici richiedono purificazione prima della misurazione?

R: Sì. Le misurazioni dell'assorbanza non sono specifiche per un particolare acido nucleico. Qualsiasi biomolecola che si assorbe a 260 nm (DNA, RNA o nucleotidi liberi) contribuirà all'assorbanza totale del campione.

D: Cosa succede ai dati di campionamento se non vengono trasferiti su un dispositivo USB al momento della misurazione?

R: I dati di ogni misurazione vengono salvati automaticamente nella memoria dello strumento e possono essere trasferiti su un dispositivo di memoria in un secondo momento. I campioni sono identificati dal momento esatto in cui è stata effettuata la misurazione. I dati provenienti da un massimo di 1000 misurazioni vengono memorizzati in NanoDrop Lite Plus e possono essere trasferiti su un PC utilizzando il dispositivo USB fornito con lo strumento o un altro dispositivo USB compatibile. Una volta che 1000 misurazioni sono state memorizzate in memoria, la misura #1001 verrà eliminata e sostituita con #1.

D: Posso quantificare le proteine utilizzando NanoDrop Lite Plus?

R: Sì. L'applicazione della proteina A280 può essere utilizzata per proteine purificate. NanoDrop Lite Plus non supporta saggi colorimetrici.

D: Come si visualizzano le misurazioni precedenti memorizzate nello strumento?

R: Utilizzare Cronologia campione per visualizzare o stampare le misurazioni precedenti. Vedere "[Stampa di etichette](#)" a pagina 25.

D: Qual è la gamma dinamica (concentrazione) e la riproducibilità per le proteine sul NanoDrop Lite Plus?

R: L'intervallo dinamico dipende dal tipo di saggio selezionato (1 Abs= 1 mg/mL, IgG, BSA o altre proteine). Vedere la [Tabella 4](#) per maggiori dettagli.

D: Sto usando un metodo colorimetrico (ad esempio, Bradford, BCA, ecc.) per determinare la concentrazione proteica dei miei estratti cellulari. Posso misurare i campioni utilizzando il metodo A280 su NanoDrop Lite Plus?

R: No. L'applicazione della proteina A280 nel NanoDrop Lite Plus è applicabile soltanto alle proteine purificate. I saggi colorimetrici come BCA, Pierce 660 nm, Bradford e Lowry sono generalmente utilizzati per campioni di proteine complesse come i lisati cellulari e richiedono una curva standard. Se si sta attualmente utilizzando un saggio colorimetrico per misurare le proteine, si consiglia di utilizzare uno dei metodi colorimetrici preprogrammati disponibili su NanoDrop One/OneC.

D: La semplice pulizia della superficie del piedistallo è sufficiente a prevenire il riporto di campioni?

R: Sì. Le superfici in acciaio inossidabile al quarzo lucidato del sistema di ritenzione del campione sono resistenti all'aderenza del campione. Le salviette da laboratorio prive di lanugine rimuovono il campione in modo molto efficace. Tuttavia, se un campione viene lasciato essiccare sul piedistallo, è necessaria una pulizia più approfondita con acqua. Vedere "[Ricondizionamento](#)" a pagina 30.

D: Come posso verificare l'accuratezza di NanoDrop Lite Plus?

R: Utilizzando la soluzione di verifica delle prestazioni NanoDrop per completare una verifica delle prestazioni.

D: La dimensione del campione influenzerà i risultati di concentrazione?

R: No. Tutti i calcoli sono indipendenti dal volume. Le concentrazioni dei campioni per tutte le applicazioni vengono calcolate utilizzando l'equazione di Beer-Lambert, che mette in relazione la concentrazione con l'assorbanza utilizzando coefficienti di estinzione specifici dell'analita e della lunghezza d'onda o fattori di conversione.

D: Quali lunghezze del percorso della luce vengono utilizzate per effettuare misurazioni e l'utente è tenuto a effettuare calcoli relativi alla lunghezza del percorso?

R: NanoDrop Lite Plus utilizza percorsi di regolazione automatica da 1,0 mm e 0,2 mm e tutti i risultati di concentrazione riportati hanno tenuto conto della lunghezza del percorso della luce. L'assorbanza riportata per tutte le misurazioni è normalizzata in una lunghezza del percorso di 10 mm.

R: Qual è una soluzione di blanking appropriata?

R: La soluzione di blanking deve sempre essere il solvente o il tampone utilizzato per sciogliere il campione (dallo stesso lotto o flacone, se possibile), allo stesso pH e alla stessa resistenza ionica.

D: Perché ho valori di assorbanza negativi?

R: È stata effettuata una misurazione di blank utilizzando una soluzione con maggiore assorbanza rispetto al tampone del campione o su un piedistallo sporco. Pulire il piedistallo ed effettuare una nuova misurazione di blank con una nuova aliquota del tampone appropriato.

D: Come faccio a impedire al mio campione di disperdersi sul piedistallo?

R: Molti reagenti e tamponi per proteine contengono tensioattivi che possono interferire con la natura idrofobica dei piedistalli, causando la dispersione dei campioni. Utilizzare il composto di ricondizionamento NanoDrop PR-1 come mezzo rapido per ricondizionare i piedistalli quando le proprietà superficiali sono state compromesse e le colonne di liquido si spezzano durante la misurazione. I kit PR-1 sono disponibili tramite Thermo Fisher Scientific o il distributore locale.

D: Dov'è lo spettro della mia misurazione?

R: NanoDrop Lite Plus non raccoglie dati dello spettro. Misura l'assorbanza a quattro lunghezze d'onda: 230 nm, 260 nm, 280 nm e 340 nm per la lunghezza d'onda di riferimento.

D. Come pulisco i piedistalli?

R: Vedere "[Pulizia](#)" a pagina 29 Non utilizzare detersivi o isopropanolo per la pulizia, in quanto l'uso di tali sostanze potrebbe causare il mancato condizionamento dei piedistalli. Quando il piedistallo non è condizionato, le gocce di campione non si aggregano correttamente sul piedistallo inferiore.

D: Con quale frequenza devo eseguire la verifica delle prestazioni?

R: Si consiglia di verificare che lo strumento funzioni secondo le specifiche ogni 6 mesi circa. Per eseguire la procedura di verifica delle prestazioni è necessario Thermo Scientific Performance Verification (PV-1). PV-1 è disponibile presso Thermo Fisher Scientific o uno dei suoi distributori autorizzati.

D: NanoDrop Lite Plus richiede un computer per funzionare?

R: No, lo strumento NanoDrop Lite Plus è un'unità autonoma con Local control. I dati possono essere salvati su un dispositivo di memoria e trasferiti su un computer.

D: Dopo quanto tempo è necessario sostituire la sorgente luminosa di NanoDrop Lite

Plus? R: La lampada flash allo xeno dovrebbe durare per tutta la vita dello strumento.

D: La lampada flash allo xeno è continuamente accesa o accesa solo quando si esegue una misurazione?

A: La lampada flash allo xeno è accesa solo durante le misurazioni. D: Posso

collegare il mio computer al NanoDrop Lite Plus?

R: No. NanoDrop Lite Plus non può essere collegato a un PC. NanoDrop Lite Plus è uno strumento di controllo locale che esegue software autonomo.

D: Esistono solventi che possono danneggiare le superfici di misurazione del piedistallo?

R: I piedistalli di misurazione NanoDrop Lite Plus sono compatibili con la maggior parte dei solventi tipicamente utilizzati nei laboratori di scienze biologiche, compresi gli acidi diluiti, purché vengano immediatamente rimossi dai piedistalli al termine della misurazione. L'acido fluoridrico (HF), in qualsiasi forma, danneggerà il piedistallo sciogliendo il cavo in fibra ottica al quarzo. Non utilizzare acido fluoridrico sul piedistallo. Vedere "[Compatibilità dei solventi](#)" a [pagina 31](#).

Garanzia

Tutti gli spettrofotometri NanoDrop e gli accessori prodotti da Thermo Scientific sono garantiti per un anno contro i difetti di fabbricazione di componenti e manodopera. Sono disponibili la manutenzione preventiva e ulteriori estensioni di garanzia di uno, due e tre anni. Maggiori informazioni sui vari piani sono disponibili sul nostro sito web.