



thermo scientific

NanoDropEight

Manuale utente

M020 NanoDropEight UG

Data di revisione

ottobre 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 Informazioni sullo spettrofotometro	7
Caratteristiche	8
Porta USB-B.....	8
Accessori	9
Kit Ricondizionamento Piedistallo PR-1	9
Kit di verifica delle prestazioni PV-8	9
Limiti di rilevamento dello strumento	10
Capitolo 2 Configurazione dello strumento	11
Registrazione dello strumento	11
Requisiti del PC	11
Aggiornamento del software	12
Supporto tecnico	12
Per il supporto tecnico negli Stati Uniti/Canada, contattare:	12
Per il supporto internazionale, contattare:.....	12
Capitolo 3 Intervalli di misurazione dell'applicazione.....	13
Limiti di rilevamento per tutte le applicazioni	13
Limiti di rilevamento per coloranti predefiniti	15
Capitolo 4 Applicazioni per misurare l'acido nucleico	17
Misurazione di dsDNA, ssDNA o RNA.....	17
Misurazione di dsDNA, ssDNA o RNA	17
Procedure ottimali per le misurazioni dell'acido nucleico.....	19
Report risultati per l'acido nucleico	21
Impostazioni per le misurazioni dell'acido nucleico.....	22
Calcoli per le misurazioni dell'acido nucleico	23
Misurazione Microarray.....	27
Misurazione dei campioni di microarray	27
Risultati riportati dei microarray	30
Impostazioni per le misurazioni dei microarray	31
Calcoli per le misurazioni dei microarray	35

Misurazione mediante un fattore personalizzato	39
Misurazione dell'acido nucleico mediante un fattore personalizzato	39
Risultati riportati dal fattore personalizzato	41
Impostazioni per le misurazioni dell'acido nucleico mediante un fattore personalizzato	42
Limiti di rilevamento per le misurazioni degli acidi nucleici mediante un fattore personalizzato	43
Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA	45
Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA	45
Risultati riportati degli Oligonucleotidi	47
Impostazioni per le misurazioni di oligo DNA e oligo RNA	49
Limiti di rilevamento per le misurazioni di Oligo DNA e Oligo RNA	50
Calcoli per le misurazioni di Oligo DNA e Oligo RNA	51
Capitolo 5 Applicazioni per misurazione delle proteine	55
Misurazione Protein A280	55
Misurazione della concentrazione proteica a A280	55
Procedure ottimali per la misurazione delle proteine	57
Report risultati misurazione Protein A280	59
Impostazioni per le misurazioni Protein A280	60
Editor di proteine	63
Limiti di rilevamento per le misurazioni Protein A280	65
Calcoli per le misurazioni Protein A280	65
Misurazione Protein A205	69
Misurazione la concentrazione proteica a A205	69
Report risultati Protein A205	71
Impostazioni per le misurazioni Protein A205	72
Calcoli per le misurazioni Protein A205	73
Misurazione delle proteine ed etichette	75
Misurazione dei campioni di proteine etichettati	75
Report risultati Proteine ed Etichette	77
Impostazioni per le misurazioni di Proteine ed Etichette	78
Limiti di rilevamento per le misurazioni di Proteine ed Etichette	80
Calcoli per le misurazioni di Proteine ed Etichette	81
Misurazione Protein BCA	83
Misurazione della concentrazione proteica totale	83
Report risultati misurazione Protein BCA	90
Impostazioni per le misurazioni Protein BCA	92
Misurazione Protein Bradford	95
Misurazione della concentrazione proteica totale	95
Report risultati Protein Bradford	98
Impostazioni Misurazioni Protein Bradford	100

Misurazione Protein Lowry.....	103
Misurazione della concentrazione proteica totale	103
Standard e campioni per la misurazione Protein Lowry.....	104
Report risultati Protein Lowry	106
Impostazioni per le misurazioni Protein Lowry	108
Misurazione Protein Pierce 660	111
Misurazione della concentrazione proteica totale	111
Misurazione degli standard e dei campioni dell'applicazione Protein Pierce 660	112
Report risultati Protein Pierce 660	114
Impostazioni Misurazioni Protein Pierce 660	116
Capitolo 6 Misurazione OD600	119
Misurazione OD600	119
Misurazione dei campioni OD600	121
Report risultati OD600	123
Impostazioni per misurazioni OD600	125
Calcoli per misurazioni OD600.....	127
Capitolo 7 Applicazioni personalizzate	129
Misurazione UV-Vis 130	
Misurazione UV-Vis 130	
Procedure ottimali per le misurazioni UV-Vis.....	131
Risultati riportati UV-Vis	132
Impostazioni per le misurazioni UV-Vis.....	134
Misurazione Custom	135
Misurazione utilizzando un metodo personalizzato	135
Eliminazione del metodo personalizzato.....	136
Report risultati Metodo personalizzato.....	137
Gestione dei metodi personalizzati	138
Capitolo 8 Learning Center.....	149
Campionamento per microvolumi: funzionamento.....	150
Impostazione dello strumento	152
Collegamento dell'alimentazione	152
Connessione a un PC	152
Specifiche operative.....	153
Misurazione di un campione di microvolume	154
Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche.	154
Volumi campione consigliati	155
Modalità di campionamento	158
Avvio del modulo.....	158
Mappa piastra di campionamento	158
Preparazione di campioni e blank.....	158
Preparazione dei campioni.....	159
Esecuzione di un ciclo di blanking	162

Operazioni di base dello strumento	164
Schermata iniziale NanoDropEight	164
Schermate di misurazione NanoDropEight	167
Opzioni di visualizzazione della schermata di misurazione	168
Operazioni Generali NanoDropEight.....	181
Acclaro Sample Intelligence.....	189
Attivazione rilevamento	189
Visualizzazione informazioni Acclaro Sample Intelligence.....	189
Analisi dei contaminanti	191
Supporto tecnico On-Demand.....	194
Impostazioni dello strumento	195
Impostazioni di sistema.....	195
Preferenze.....	196
Protein Editor	196
Opzioni di visualizzazione della Schermata di misurazione.....	196
Capitolo 9 Manutenzione	199
Piano di manutenzione	200
Manutenzione giornaliera.....	200
Manutenzione periodica	200
Ogni 6 mesi	200
Manutenzione dei piedistalli	201
Pulizia dei piedistalli	201
Ricondizionamento dei piedistalli	203
Decontaminazione dello strumento.....	205
Diagnostica dello strumento.....	207
Controllo dell'Intensità	208
Verifica delle prestazioni	210
Capitolo 10 Precauzioni Operative e di	Sicurezza
.....	215
Precauzioni operative	216
Informazioni sulla sicurezza	217
Sicurezza e avvisi speciali	217
Operazioni alla consegna	219
Sollevamento o spostamento dello strumento	219
Requisiti elettrici e sicurezza.....	220
Cavi di alimentazione	220
Sicurezza antincendio e rischio di ustioni	221
Sicurezza ottica.....	222
Materiali pericolosi	222

Informazioni sullo spettrofotometro



Nota Collocare lo strumento lontano da prese d'aria e ventole di estrazione per ridurre al minimo il rischio di evaporazione

Il Thermo Scientific™ NanoDrop™ Eight è uno spettrofotometro UV-Visibile sviluppato per l'analisi di microvolumi di un'ampia varietà di analiti. Il [sistema brevettato di conservazione dei campioni](#) consente di misurare campioni altamente concentrati senza la necessità di diluizioni. Lo strumento misura con precisione fino a un massimo di 8 campioni individuali da 1 µl in un ciclo di misurazione. Il software consente all'utente di misurare i campioni utilizzando la modalità completa a 8 canali o una comoda modalità monocampione.

Il software NanoDropEight va installato su un PC locale utilizzato per controllare lo strumento e visualizzare i dati.

NB: Prima di utilizzare uno strumento NanoDrop Eight, leggere le [precauzioni operative e di sicurezza](#), seguendone le raccomandazioni durante l'utilizzo dello strumento.

Caratteristiche

Lo spettrofotometro NanoDropEight è dotato del [sistema brevettato di ritenzione dei campioni in microvolumi](#).

Porta USB B

Collegare il dispositivo NanoDropEight al PC tramite USB per utilizzare lo strumento attraverso il software del PC.

Accessori

Questa sezione elenca gli accessori inclusi per l'utilizzo con NanoDropEight.

Kit Ricondizionamento Piedistallo PR-1



Composto condizionante appositamente formulato che può essere applicato ai piedistalli per riportarli allo stato idrofobico (necessario per ottenere un'adeguata tensione superficiale per misurazioni accurate del campione). Il kit include il composto condizionante corredato da applicatori. Per ulteriori informazioni, cfr. [Ricondizionamento dei piedistalli](#).

Kit di verifica delle prestazioni PV-8

Kit contenente materiali di consumo in plastica e standard fotometrico liquido utilizzato per controllare le prestazioni dello strumento. Per ulteriori informazioni, cfr. [Verifica delle prestazioni](#).

Limiti di rilevamento dello strumento



Lunghezza del percorso (mm)	Limite superiore di rilevamento (Assorbanza equivalente 10 mm)
1,0	12.5
0,2	90
0,1	200

Impostazioni dello strumento

Registrazione dello strumento

Registrare lo strumento per ricevere aggiornamenti via e-mail su software e accessori per NanoDropEight. Per la registrazione è necessaria una connessione a Internet.

Registrazione dello strumento

Da qualsiasi PC connesso a Internet, utilizzare qualsiasi browser Web per accedere a www.thermofisher.com/nanodropsw.

Sul sito web, individuare il pulsante Registrazione dello Strumento e seguire le istruzioni per registrare lo strumento.

Requisiti del PC

Sistema operativo Windows richiesto

- Windows 10 Enterprise o Professional, build 1607 o superiore

Configurazione ottimale e requisiti minimi

- Processore dual-core 2.0 GHz abilitato
- 4 GB di RAM con memoria gestita dal sistema abilitata
- 5 GB disponibili sull'unità C
- Risoluzione dello schermo 1366 x 768

Configurazione hardware consigliata

- Processore a 4 core da 2,33 GHz abilitato (o superiore)
- 8 GB di RAM con memoria gestita dal sistema abilitata (o superiore)
- 200 GB disponibili sull'unità C (o superiore)

Aggiornamento software

Scaricare e installare rapidamente e facilmente l'ultimo software NanoDropEight e le note di rilascio dal sito web del produttore. Seguire i passaggi per aggiornare il software NanoDropEight su un personal computer (PC). Per scaricare il software è necessaria una connessione a Internet. Visitare il [sito](http://www.thermofisher.com/nanodropsw) www.thermofisher.com/nanodropsw e cliccare sulla scheda del software NanoDropEight. Seguire le istruzioni per il download del software dello strumento.

Installare o aggiornare il software NanoDropEight su un PC

1. Inserire l'unità flash USB contenente il software di installazione in una porta USB disponibile sul PC, oppure aprire la cartella di installazione scaricata da Internet.
2. Avviare **Start.exe** e cliccare sul pulsante **Software**. Verrà eseguito il programma di installazione del software.

Supporto tecnico

Per il supporto tecnico negli Stati Uniti/Canada, contattare: 12

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)
Fax: 302 792 7155
E-mail: nanodrop@thermofisher.com Sito web:
www.thermofisher.com/nanodrop

Per supporto internazionale, contattare:

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

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

In caso di problemi con il sistema, fare riferimento alle informazioni relative alla risoluzione dei problemi. Se il problema persiste, contattare il produttore. Gli utenti situati fuori dal territorio di Stati Uniti e Canada devono contattare il proprio distributore locale.

Ove lo strumento richiedesse manutenzione o riparazione, contattare direttamente il produttore o il proprio distributore locale.

Intervalli di misurazione dell'applicazione

Limiti di rilevamento per tutte le applicazioni



Nota I limiti di rilevamento forniti nelle tabelle seguenti sono approssimativi e si applicano solo alle misurazioni micro-volumetriche; si basano su un intervallo di assorbanza fotometrica dello strumento (equivalente a 10 mm) di 0,04–200 A.

Tipo di campione	Rilevamento inferiore riproducibilità tipico	Rilevamento superiore	Rinoducibilità Limite di
DNA a doppia elica	2,0 ng/μl	10.000 ng/μl	±2,0 ng/μl per le concentrazioni del campione tra 2,0 e 100 ng/μl di campioni; ±2% per campioni >100 ng/μl
RNA	1,6 ng/μl	8.000 ng/μl	±2,0 ng/μl per le concentrazioni del campione tra 2,0 e 100 ng/μl di campioni; ±2% per campioni >100 ng/μl
Array di oligonucleotidi DNA a singola elica	1,3 ng/μl	495 ng/μL	±2,0 ng/μl per le concentrazioni del campione tra 2,0 e 100 ng/μl di campioni; ±2% per campioni >100 ng/μl

3 Intervalli di misurazione dell'applicazione

Limiti di rilevamento per tutte le applicazioni

Tipo di campione	Limite inferiore di rilevamento	Limite superiore di rilevamento	Riproducibilità tipica
BSA purificato per Protein A280	0,06 mg/mL	300 mg/mL	± 0,10 mg/mL (per campioni da 0,10 a 10 mg/mL); ± 2% per campioni > 10 mg/mL
IgG per Protein A280	0,03 mg/mL	145 mg/mL	
BSA purificato per proteine ed etichette	0,06 mg/mL	19 mg/mL	±0,10 mg/mL per 0,10-10 mg/mL campioni
Protein BCA	0,2 mg/mL (20:1 reagente/volume del campione); 0,01 mg/mL (1:1 reagente/volume del campione)	8,0 mg/mL	2% sull'intero intervallo 0,01 mg/mL sull'intero intervallo
Proteina Lowry	0,2 mg/mL (pedistallo)	4,0 mg/ml (pedistallo)	2% sull'intero intervallo
Proteina Bradford	100 µg/mL (50:1 reagente/volume del campione) 15 mg/mL (1:1 reagente/volume del campione)	8000 µg/mL 100 µg/µL	±25 µg/mL per campioni da 100–500 µg/mL ± 5% per campioni da 500–8000 µg/mL ±4 µg/mL per campioni da 15–50 µg/mL ± 5% per campioni da 50-125 µg/mL
Proteina Pierce	660 50 µg/mL (15:1 reagente/volume del campione) 25 µg/mL (7,5:1 reagente/volume del campione)	2000 µg/mL 1000 µg/mL	±3 µg/mL per campioni da 50–125 µg/mL ±2% per campioni > 125 µg/mL ±3 µg/mL per campioni da 25–125 µg/mL ±2% per campioni > 125 µg/mL

^a Basato su cinque replicati (SD = ng/µL; CV = %)

Limiti di rilevazione per colorazioni predefinite

Tipo di campione	Limite inferiore di rilevamento	Rilevamento superiore	Limite ^{di} Riproducibilità tipica
Cy3, Cy3,5, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 660	0,2 pmol/μl	100 pmol/μl	±0,20 pmol/μl per campione concentrazioni comprese tra 0,20 e 4,0 pmol/μl; ±2% per campioni >4,0 pmol/μL
Cy5, Cy5,5, Alexa Fluor 647	0,12 pmol/μl	60 pmol/μl	±0,12 pmol/μl per campione concentrazioni comprese tra 0,12 e 2,4 pmol/μl; ±2% per campioni >2,4 pmol/μL
Fluoro Alexa 488, Alexa Fluoro 594	0,4 pmol/μl;	215 pmol/μl	±0,40 pmol/μl per campione concentrazioni tra 0,40 e 8,0 pmol/μl; ±2% per campioni >8,0 pmol/μL
Fluoro Alexa 546	0,3 pmol/μl	145 pmol/μL	±0,30 pmol/μl per campione concentrazioni comprese tra 0,30 e 6,0 pmol/μl; ±2% per campioni >6,0 pmol/μL

^a I valori sono approssimativi

^a Basato su cinque replicati (SD = ng/μL; CV =%)

3 Intervalli di misurazione dell'applicazione

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Misurare la concentrazione di campioni purificati di dsDNA, ssDNA o RNA che assorbono a 260 nm.

[Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Utilizzare le applicazioni dsDNA, ssDNA e RNA per quantificare campioni di DNA o RNA purificati a doppio filamento (ds) o a singolo filamento (ss). Queste applicazioni riportano la concentrazione di acido nucleico e due rapporti di assorbanza (A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230}). È inoltre possibile utilizzare una correzione del valore basale a punto singolo.

Per misurare campioni di dsDNA, ssDNA o RNA

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.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia deipiedistalli](#).

Per misurare l'acido nucleico

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda Acidi Nucleici, selezionare la modalità di campionatura e selezionare **dsDNA, ssDNA o RNA**, a seconda dei campioni da misurare.
2. Specificare una [correzione del valore basale](#), se necessario.
3. Pipettare 1–2 µL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Selezionare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.

6. Pipettare 1-2 µL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.

7. Avviare la misurazione del campione: se [Auto-Measure](#) è attivo: abbassare il braccio; in caso contrario abbassare il braccio e selezionare **Misura**

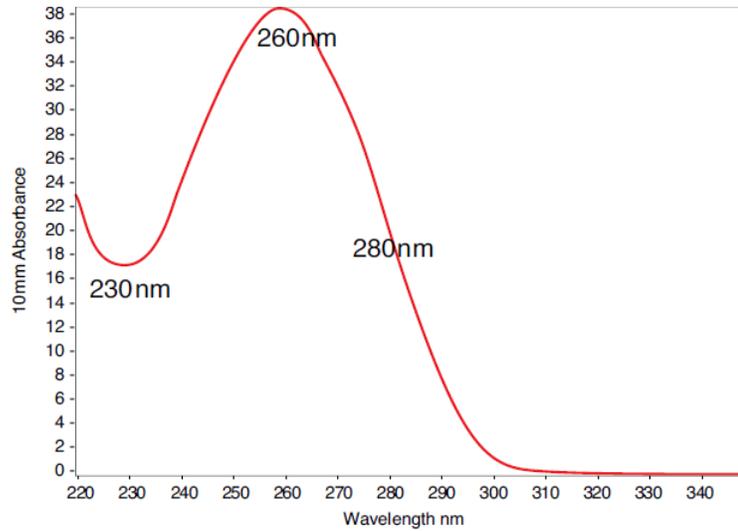


Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

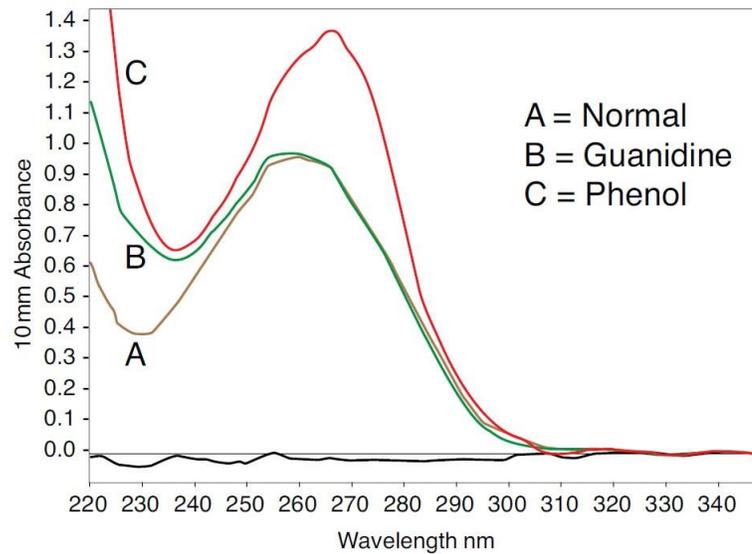
8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento.**



9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Spettro tipico dell'acido nucleico



Confronto di spettri di acido nucleico con e senza due contaminanti comuni

Procedure ottimali per le misurazioni dell'acido nucleico

- Isolare e purificare i campioni di acido nucleico prima della misurazione per rimuovere le impurità. A seconda del campione, le impurità potrebbero includere DNA, RNA, nucleotidi liberi, proteine, alcuni componenti tampone e coloranti. Per ulteriori informazioni, consultare [Preparazione dei campioni](#).

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Nota I reagenti di estrazione come guanidina, fenolo ed EDTA contribuiscono all'assorbanza tra 230 nm e 280 nm e influenzano i risultati della misurazione, qualora fossero presenti nei campioni (anche in quantità residue).

- Assicurarsi che l'assorbanza del campione rientri nei limiti di [rilevamento dell'assorbanza](#) dello strumento.
- 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.
- Eseguire un [ciclo di blanking](#) per valutare il contributo di assorbanza della soluzione tampone. Se il tampone presenta una forte assorbanza della o vicino alla lunghezza d'onda dell'analisi (in genere 260 nm), potrebbe essere necessario scegliere un tampone o un'applicazione diversi. Consultare [Scelta e misurazione di un blank](#) per ulteriori informazioni.
- Per misurazioni micro-volumetriche:
 - Assicurarsi che le superfici dei piedistalli siano adeguatamente [pulite e condizionate](#).
 - Se possibile, riscaldare campioni ad alta concentrazione o a grandi molecole, come DNA genomico o lambda, a 63 °C (145 °F) e centrifugare delicatamente (ma accuratamente) prima di effettuare una misurazione. Evitare di introdurre bolle durante la miscelazione e il pipettaggio.
 - Seguire le [procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#).
 - Utilizzare un volume di campionamento di 1-2 µL. Consultare [Volumi di campionamento consigliati](#) per ulteriori informazioni.

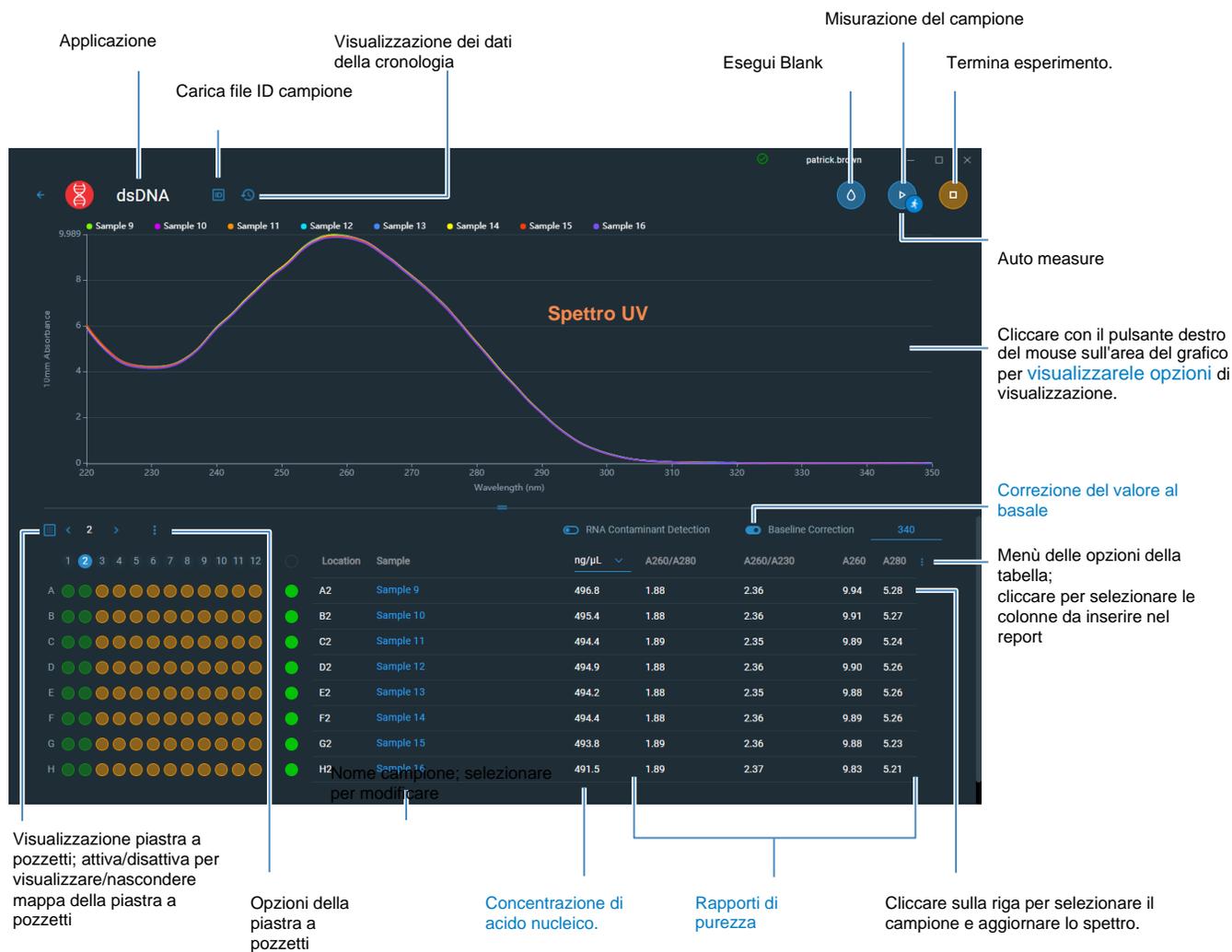
Argomenti correlati

- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Risultati riportati dell'acido nucleico

Schermata di misurazione dsDNA

Per ogni campione misurato, le applicazioni dsDNA, ssDNA e RNA mostrano lo spettro di assorbanza UV e un riepilogo dei risultati. Di seguito è riportato un esempio della schermata di misurazione del software dello strumento:



Nota Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Valori riportati di dsDNA, ssDNA e RNA

- nome del campione
- creato il (data di esecuzione della misurazione del campione)
- concentrazione di acido nucleico.
- Specie
- A260/A280
- A260/A230
- A260
- A280
- fattore
- Correzione del valore al basale
- lunghezza d'onda del monitor
- lunghezza di percorso utilizzata
- contaminante
- corretto

Impostazioni per le misurazioni dell'acido nucleico

Correzione del valore al basale

Per il dsDNA, ssDNA o RNA, inserire la lunghezza d'onda di correzione del valore al basale in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)

Correzione del valore al basale facoltativa definita dall'utente. Si può utilizzare per correggere eventuali scostamenti causati da particelle di dispersione della luce sottraendo l'assorbanza misurata alla lunghezza d'onda di correzione del valore al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro di campionamento. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata.

Calcoli per le misurazioni dell'acido nucleico

Le applicazioni di acido nucleico usano una modifica dell'equazione di Beer-Lambert (illustrata a destra) per calcolare la concentrazione del campione, in cui il coefficiente di estinzione e la lunghezza del percorso sono combinati e indicati come un "fattore".

Coefficienti di estinzione vs fattori

Usando i termini nell'equazione di Beer-Lambert, il fattore (f) è definito come:

$$\text{fattore (f)} = 1/(\epsilon * b)$$

dove:

= coefficiente di estinzione molare dipendente dalla lunghezza d'onda in ng-cm/ μ L

b = **lunghezza del percorso del campione** in cm

Di conseguenza, la concentrazione dell'analita (c) viene calcolata come:

$$c = A * [1/(\epsilon * b)]$$

o

$$c = A * f$$

dove:

c = concentrazione dell'analita in ng/ μ L

A = assorbanza in unità di assorbanza (A)

f = fattore in ng-cm/ μ L (vedasi di seguito)

Fattori utilizzati

- **dsDNA**(fattore = 50 ng-cm/ μ L)
- **ssDNA**(fattore = 33 ng-cm/ μ L)
- **RNA** (fattore = 40 ng-cm/ μ L)
- **Fattore personalizzato** (fattore inserito dall'utente compreso tra 15 ng-cm/ μ L e 150 ng-cm/ μ L)

Per le applicazioni dsDNA, ssDNA e RNA, i fattori generalmente accettati per gli acidi nucleici sono usati in combinazione con la Legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione. Per l'applicazione Fattore personalizzato, viene utilizzato il fattore specificato dall'utente.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione dsDNA, ssDNA o RNA

Le concentrazioni di acido nucleico calcolate si basano sul valore di assorbanza a 260 nm, sul fattore utilizzato e sulla lunghezza del percorso del campione. È inoltre possibile applicare una correzione del valore al basale a punto singolo (o correzione dell'analisi).

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

Valori di assorbanza a 260 nm, 280 nm e talvolta 230 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti di purezza per i campioni di acido nucleico misurati. I rapporti di purezza sono sensibili alla presenza di contaminanti nel campione, come solventi residui e reagenti tipicamente utilizzati durante la purificazione del campione.

Valori misurati

Nota Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Assorbanza A260

- I valori di assorbanza dell'acido nucleico sono misurati a 260 nm usando lo spettro normalizzato. Questo è il valore A260 riportato se la [Correzione del valore al basale](#) non è selezionata.
- Se si seleziona [Correzione del valore al basale](#), il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione viene sottratto dall'assorbanza a 260 nm. L'assorbanza corretta a 260 nm viene riportata e utilizzata per calcolare la concentrazione di acido nucleico.

Assorbanza A230 e A280

- I valori di assorbanza normalizzati e corretti al basale (se selezionati) a 230 nm e 280 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti A260/A230 e A260/A280.

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

Valori riportati

- **Concentrazione di acido nucleico.** Riportato nell'unità selezionata (ovvero, ng/ μ l, μ g/ μ l o μ g/mL). I calcoli si basano sull'equazione della Legge di Beer modificata utilizzando il valore di assorbanza dell'acido nucleico corretto.
- **Rapporto di purezza A260/A280.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 280 nm. Un rapporto di purezza A260/A280 di ~ 1,8 è generalmente accettato come "puro" per il DNA (~ 2,0 per RNA). Le soluzioni acide possono sotto-rappresentare il valore riportato di 0,2-0,3; è vero il contrario per le soluzioni basiche.
- **Rapporto di purezza A260/A230.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 230 nm. Un rapporto di purezza A260/A230 tra 1,8 e 2,2 è generalmente accettato come "puro" per DNA e RNA.

NB: Sebbene i rapporti di purezza siano indicatori importanti della qualità del campione, il migliore indicatore di qualità è la funzionalità nell'applicazione di interesse a valle (ad es. PCR in tempo reale).

- **Fattore** Utilizzato in combinazione con la legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione
- **Contaminante** - Se un contaminante è stato identificato dal software Acclaro, il contaminante verrà visualizzato in questa colonna.
- **Specie** - La specie di contaminante dell'acido nucleico rilevata dalla tecnologia di intelligenza del campione Acclaro
- **Assorbanza A260**
- **Assorbanza A280**
- **Correzione della linea di base.**
- **Monitor della lunghezza d'onda** - Inserire una lunghezza d'onda aggiuntiva di cui si desidera includere il valore di assorbanza nel rapporto.
- **Corretta** - Visualizza la concentrazione dell'analita corretta determinata utilizzando il software Acclaro, se disponibile.

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misura microarray

Misura la concentrazione di acidi nucleici purificati contrassegnati con un massimo di due coloranti fluorescenti per l'utilizzo in applicazioni di microarray a valle.

[Misurazione dei campioni microarray](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misura campioni microarray

Utilizzare l'applicazione Microarray per quantificare gli acidi nucleici contrassegnati con un massimo di due coloranti fluorescenti. L'applicazione riporta la concentrazione di acido nucleico, un rapporto A260/A280 oltre alle concentrazioni e ai valori di assorbanza misurati del/i colorante/i, consentendo il rilevamento di concentrazioni di colorante a partire da 0,2 picomoli per microlitro.

Misurazione dei campioni microarray

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.

Considerazioni preliminari

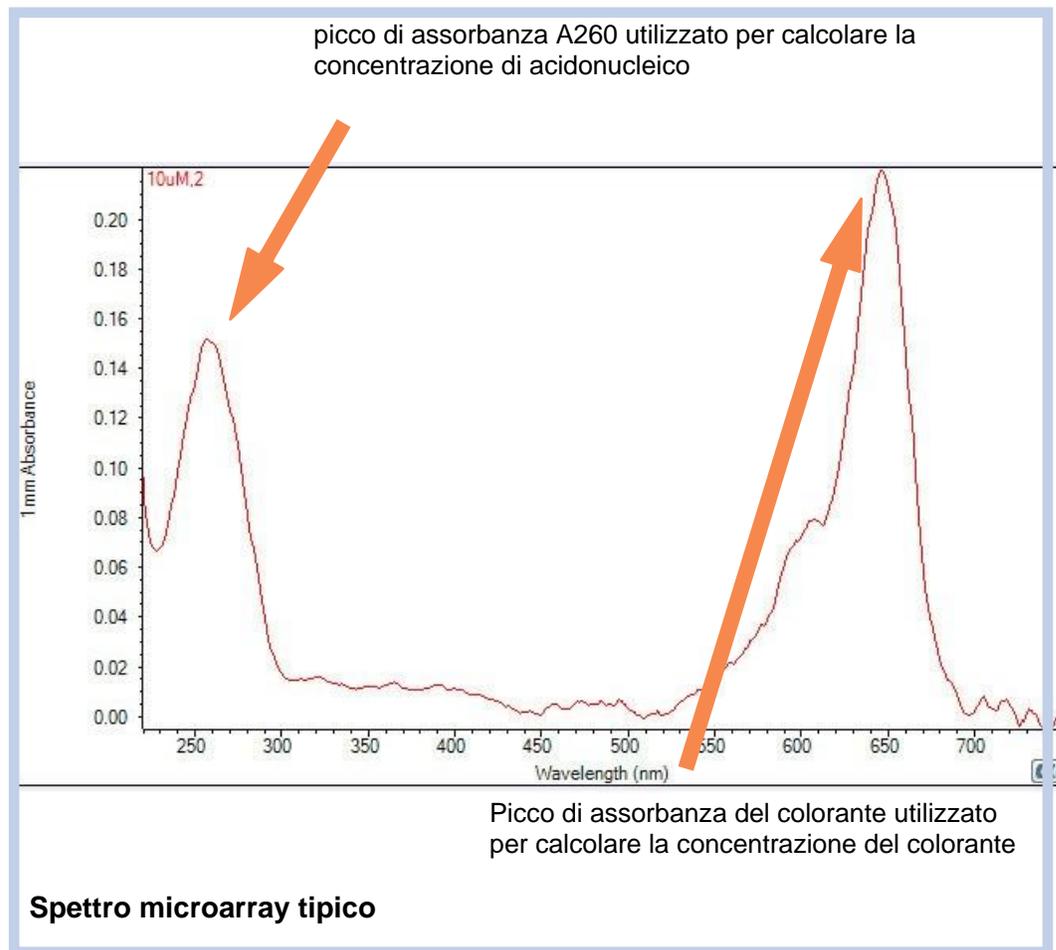
Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray

Misurazione di un campione di microarray

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Acidi nucleici** e selezionare **Microarray**.
2. Specificare il [tipo](#) e il [fattore del campione](#) e il [tipo](#) o i [tipi di coloranti](#) utilizzati.
Suggerimento: selezionare un colorante dall'elenco predefinito o aggiungere un colorante personalizzato utilizzando l' [Editor Colorante/Cromoforo](#).
3. Pipettare 1–2 µL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.
4. Selezionare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.
5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
6. Pipettare 1-2 µL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
7. Avviare la misurazione del campione: se [Auto-Measure](#) è attivo; abbassare il braccio; in caso contrario abbassare il braccio e selezionare **Misura**.
Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).
8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**.
9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Argomenti correlati

- [Procedure ottimali per le misurazioni dell'acido nucleico](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

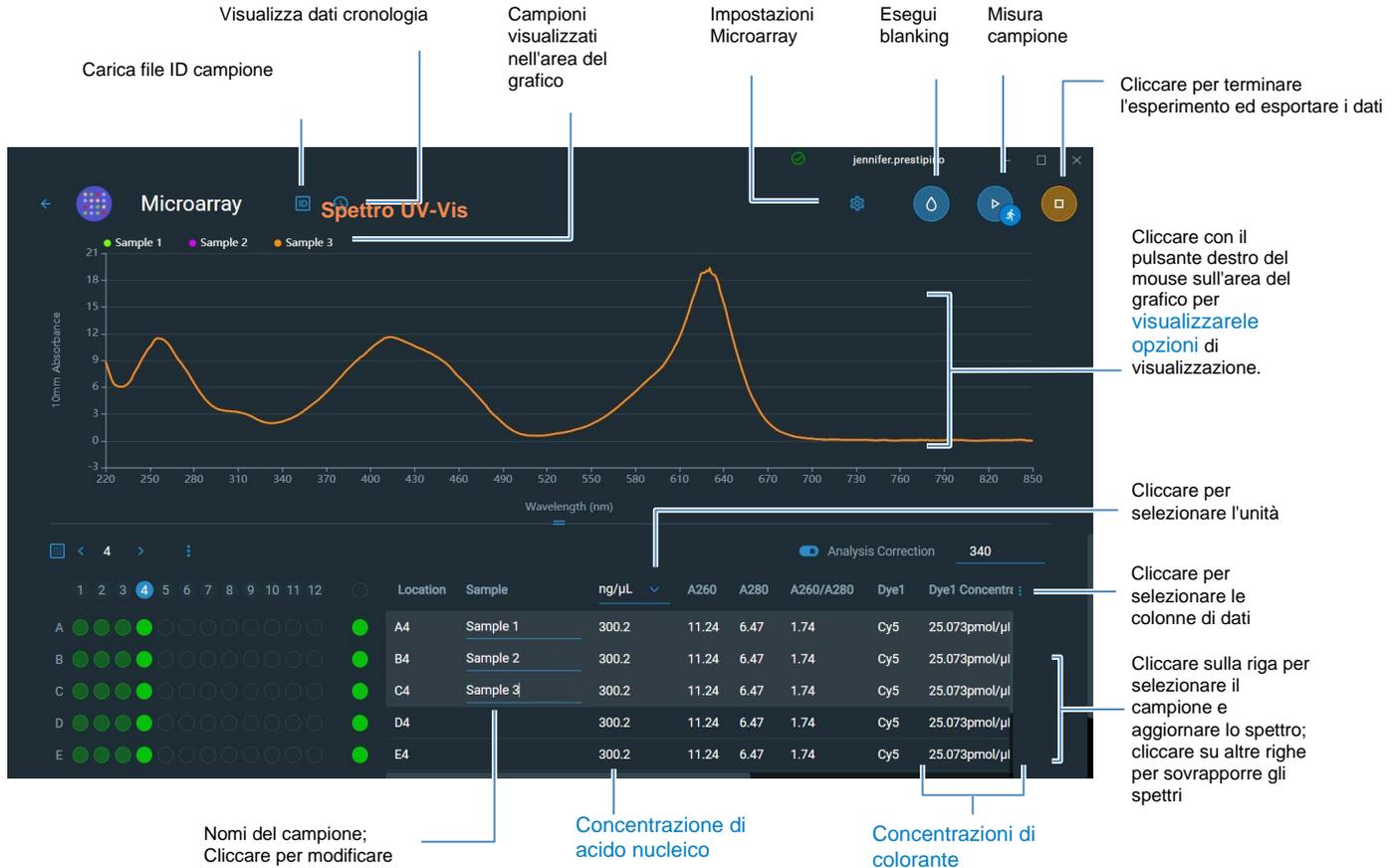
4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray

Report risultati Microarray

Schermata di misurazione microarray

Per ciascun campione misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza e un riepilogo dei risultati. Di seguito si riporta un esempio:



Nota

- Una correzione del valore al basale viene eseguita a 340 nm (il valore di assorbanza a 340 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Valori riportati dei microarray

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

- nome del campione
- creato il (data di esecuzione della misurazione del campione)
- concentrazione di acido nucleico.
- A260
- A260/A280
- concentrazione colorante 1/colorante 2
- Tipo di campione
- correzione dell'analisi
- fattore

Impostazioni per le misurazioni di microarray

Impostazioni Microarray

La schermata Impostazioni Microarray viene visualizzata dopo aver selezionato l'applicazione Microarray dalla scheda Acidi nucleici nella schermata Home. Per visualizzare le impostazioni Microarray dall'apposita schermata di misurazione, selezionare Impostazioni Microarray.



Impostazioni	Opzioni disponibili	Descrizione
Tipo di campione e Fattore	dsDNA (con fattore non modificabile di 50 ng-cm/μl)	Valore ampiamente accettato per il doppio filamento DNA
	ssDNA (con fattore non modificabile di 33 ng-cm/μl)	Valore ampiamente accettato per il DNA a singolo filamento
	RNA (con fattore non modificabile di 40 ng-cm/μl)	Valore ampiamente accettato per RNA
	Oligo DNA con fattore calcolato non modificabile espresso in ng-cm/μl)	Fattore calcolato a partire dalla sequenza di base del DNA definita dall'utente. Se selezionate, le unità di base del DNA disponibili (cioè G, A, T, C) appaiono sotto forma di chiavi. Definire la sequenza selezionando i tasti appropriati. Il fattore viene calcolato automaticamente in base al valore ampiamente accettato per ciascuna unità di base.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray

Impostazioni	Opzioni disponibili	Descrizione
	Oligo RNA con fattore calcolato non modificabile in ng-cm/μl	Fattore calcolato a partire dalla sequenza di base del RNA definita dall'utente. Se selezionate, le unità di base di RNA disponibili (cioè G, A, U, C) compaiono sotto forma di chiavi. Definire la sequenza selezionando i tasti appropriati. Il fattore viene calcolato automaticamente in base al valore ampiamente accettato per ciascuna unità di base.
	Personalizzato (con fattore specificato dall'utente in ng-cm/μL)	Inserire un fattore compreso tra 15 ng-cm/μl e 150 ng-cm/μl
Colorante 1/Colorante 2	Cy3, 5, 3.5 o 5.5,	Selezionare il/i colorante/i predefinito/i utilizzato/i per marcare il campione
Typo ^a	Fluoro Alexa 488, 546, 555, 594, 647, o 660	materiale, o uno precedentemente aggiunto utilizzando l'Editor di Colorante.
Unità Colorante 1/Colorante 2	picomoli/microlitri (pmol/μL), micromoli (uM) o millimoli (mM)	Selezionare l'unità per la relazione sulle concentrazioni di colorante
Correzione dell'analisi ^b	On o Off Inserire la lunghezza d'onda di correzione dell'analisi in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)	Corregge la misurazione dell'assorbanza del campione per qualsiasi discrepanza causata da particelle di dispersione della luce sottraendo il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione dell'analisi specificata dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda dell'analisi eseguita. Il valore corretto viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione. Suggerimento: se il campione presenta una modifica che assorbe la luce a 340 nm, selezionare una lunghezza d'onda di correzione diversa o disattivare la funzione Correzione analisi.

^a Per aggiungere un colorante personalizzato o modificare l'elenco dei coloranti disponibili, utilizzare l'Editor Colorante/Cromoforo.

^b La correzione dell'analisi influisce sul calcolo solo per la concentrazione di acido nucleico.

Editor Colorante/Cromoforo

Utilizzare l'Editor Colorante/Cromoforo per aggiungere un colorante personalizzato all'elenco dei coloranti disponibili in [Impostazioni Microarray](#) o [Impostazioni Proteine ed Etichette](#). È inoltre possibile specificare quali coloranti sono disponibili in tale elenco.

Per accedere all'Editor colorante/cromoforo, dalla schermata Home, selezionare **Impostazioni > Editor colorante**.

Editor Colorante

Colorante bloccato (predefinito; non può essere modificato o eliminato)

Selezionare per aggiungere un colorante personalizzato

Dye	Unit	Ext.Coeff.E1%/gm-cm	Wavelength(nm)	260nm correction	280nm correction
Alexa Fluor...	µM	150000	555	0.04	0.08
Alexa Fluor...	µM	73000	590	0.43	0.56
Alexa Fluor...	µM	239000	650	0.00	0.03
Alexa Fluor...	µM	132000	663	0.00	0.1
Cy3.5	µM	150000	581	0.08	0.24
Cy5.5	µM	250000	675	0.05	0.18
NewDye	µM	70000	590	0.04	0.05

Colorante personalizzato (definito dall'utente; può essere modificato o eliminato)

Selezionare per modificare il colorante personalizzato selezionato

Selezionare per eliminare il colorante personalizzato selezionato

Queste operazioni sono disponibili dall'Editor Colorante/Cromoforo:

Aggiungere colorante personalizzato

- toccare  per visualizzare la casella Crea colorante
- inserire un **nome** univoco per il nuovo colorante
- selezionare l'**unità** predefinita che verrà utilizzata per visualizzare la concentrazione di colorante
- inserire il **coefficiente di estinzione** del colorante (o costante di assorbimento molare) in L/mole-cm (tipicamente fornito dal produttore del colorante)
- specificare la **lunghezza d'onda** in nm (tra 350 nm e 840 nm) che verrà utilizzata per misurare l'assorbanza del colorante
- specificare i valori di correzione del colorante a 260 nm e 280 nm
- Selezionare **salva**

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray

Nota Per determinare i valori di correzione del colorante (se non disponibili presso il produttore del colorante):

- utilizzare lo strumento per misurare il colorante puro e l'assorbanza a 260 nm, 280 nm, nonché alla lunghezza d'onda di analisi per il colorante (cfr. sopra)
- calcolare il rapporto $A_{260}/A_{\text{lunghezza d'onda colorante}}$ e inserire tale valore per la Correzione a 260 nm
- calcolare il rapporto $A_{280}/A_{\text{lunghezza d'onda colorante}}$ e inserire tale valore per la Correzione a 280 nm

Selezionando un colorante personalizzato prima di una misurazione, vengono riportati i valori di assorbanza e concentrazione del colorante e le correzioni vengono applicate ai valori di assorbanza del campione misurati, nonché alle concentrazioni di campione e ai rapporti di purezza risultanti.

Modificare colorante personalizzato

Suggerimento I coloranti predefiniti nel software non possono essere modificati.

- selezionare colorante personalizzato
- selezionare modifica 
- per modificare eventuali voci o impostazioni
- Cliccare su **Salva**.

Eliminare colorante personalizzato

Suggerimento I coloranti predefiniti nel software non possono essere modificati.

- selezionare colorante personalizzato
- cliccare 

AVVISO L'eliminazione di un colorante personalizzato rimuove dal software in modo permanente il colorante e tutte le informazioni associate.

Calcoli per le misurazioni dei microarray

Come per le altre applicazioni di acido nucleico l'applicazione Microarray utilizza una [modifica dell'equazione di Beer-Lambert per calcolare la concentrazione del campione, in cui il coefficiente di estinzione e la lunghezza del percorso sono combinati e indicati come un "fattore"](#). L'applicazione Microarray dispone di sei opzioni (riportate a destra) per selezionare un fattore appropriato per ciascun campione misurato, da utilizzare in combinazione con la legge di Beer per calcolarne la concentrazione.

Se il fattore è noto, selezionare l'opzione Fattore personalizzato e inserire il fattore in 40 ng-cm/ μ L. In caso contrario, selezionare l'opzione che corrisponde maggiormente alla soluzione campione.

Suggerimento: idealmente, il fattore o coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione dell'acido nucleico oggetto di studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone.

Opzioni disponibili per i fattori

- **dsDNA** (fattore = 50 ng-cm/ μ L)
- **ssDNA** (fattore = 33 ng-cm/ μ L)
- **RNA** (fattore = 40 ng-cm/ μ L)
- **Oligo DNA** (calcolato a partire dalla sequenza nucleotidica del DNA inserita dall'utente)
- **Oligo RNA** (calcolato a partire dalla sequenza nucleotidica di RNA inserita dall'utente)
- **Fattore personalizzato** (fattore inserito dall'utente compreso tra 15 ng-cm/ μ L e 150 ng-cm/ μ L)

Nota: per ulteriori informazioni, consultare [Tipo di campione](#).

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray

Le concentrazioni di acido nucleico calcolate si basano sul valore di assorbanza a 260 nm, sul fattore utilizzato e sulla lunghezza del percorso del campione. È inoltre possibile applicare una correzione del valore al basale a punto singolo (o correzione dell'analisi).

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

Valori di assorbanza a 260 nm, 280 nm e talvolta 230 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti di purezza per i campioni di acido nucleico misurati. I rapporti di purezza sono sensibili alla presenza di contaminanti nel campione, come solventi residui e reagenti tipicamente utilizzati durante la purificazione del campione.

Valori misurati

Assorbanza A260

Nota: Il valore di assorbanza a 850 nm viene sottratto da tutte le lunghezze d'onda nello spettro. Di conseguenza, l'assorbanza a 850 nm è pari a zero negli spettri visualizzati. Inoltre, per le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza dell'acido nucleico per tutti i [tipi di campioni](#) di Microarray sono misurati a 260 nm utilizzando lo spettro a 850 nm corretto e normalizzato.
- Selezionando [Correzione dell'analisi](#), il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione viene sottratto dall'assorbanza a 260 nm.
- Selezionando uno o più coloranti, anche i [valori di correzione del colorante](#) a 260 nm vengono sottratti dall'assorbanza a 260 nm.
- L'assorbanza corretta finale a 260 nm viene riportata e utilizzata per calcolare la concentrazione del campione.

Assorbanza A280

- Per calcolare un rapporto A260/A280 si utilizza un valore di assorbanza 850-correcto per analisi e normalizzato a 280 nm (meno la correzione del colorante A280).

Le concentrazioni di colorante sono calcolate in base al valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di analisi del colorante, al coefficiente di estinzione del colorante e alla lunghezza del percorso del campione. Si può anche utilizzare una correzione del colorante in pendenza.

Assorbanza del colorante

- I valori di assorbanza del colorante sono misurati a specifiche lunghezze d'onda. Vedere [Editor Colorante/cromoforo](#) per le lunghezze d'onda di analisi utilizzate.
- Se si seleziona la correzione del colorante in pendenza, verrà tracciata una linea di base lineare tra 400 nm e 850 nm e, per ciascun colorante, il valore di assorbanza della linea di base in pendenza verrà sottratto dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di analisi di ciascun colorante. I valori di assorbanza del colorante corretti al basale sono riportati e utilizzati per calcolare le concentrazioni di colorante.

Correzione del colorante

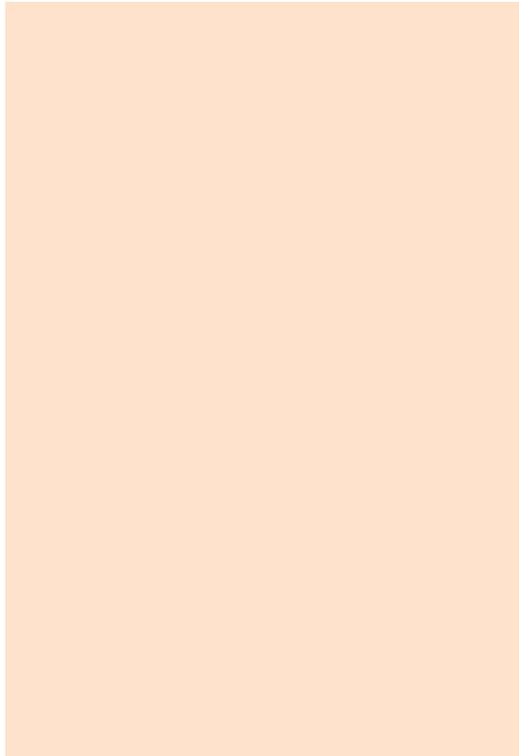
- I coloranti predefiniti hanno valori di correzione noti per A260 e A280. Vedere [Editor Colorante/Cromoforo](#) per i valori di correzione utilizzati.
- Le correzioni del colorante A260 vengono sottratte dal valore di assorbanza [A260](#) utilizzato per calcolare la concentrazione di acido nucleico e dal valore di assorbanza A260 utilizzato per calcolare il [rapporto di purezza A260/A280](#).

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misura microarray



Valori riportati

- **Concentrazione di acido nucleico.** Riportato nell'unità selezionata (ovvero, ng/ μ l, μ g/ μ l o μ g/mL). I calcoli si basano sull'equazione della Legge di Beer modificata utilizzando il valore di assorbanza dell'acido nucleico corretto.
- **Rapporto di purezza A260/A280.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 280 nm. Un rapporto di purezza A260/A280 di ~ 1,8 è generalmente accettato come "puro" per il DNA (~ 2,0 per RNA). Le soluzioni acide possono sotto-rappresentare il valore riportato di 0,2-0,3; è vero il contrario per le soluzioni basiche.
- **Concentrazione colorante 1/colorante 2.** Riportato in pmol/ μ L. I calcoli si basano sull'equazione della legge di Beer utilizzando i valori di assorbanza del colorante corretti per la linea di base (in pendenza).

Nota: sebbene i rapporti di purezza siano importanti indicatori della qualità del campione, il miglior indicatore della qualità del DNA o dell'RNA è la funzionalità nell'applicazione a valle di interesse (ad esempio, microarray).

azioni dell'acido nucleico

Misurazione mediante un fattore personalizzato

Misura la concentrazione di acidi nucleici purificati utilizzando un fattore personalizzato per i calcoli.

[Misurazione fattore personalizzato](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione dell'acido nucleico mediante un fattore personalizzato

Utilizzare l'applicazione Fattore personalizzato per quantificare campioni di DNA o RNA purificati che assorbono a 260 nm con un coefficiente di estinzione o fattore definito dall'utente. L'applicazione riporta la concentrazione di acido nucleico e due rapporti di assorbanza (A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230}). È inoltre possibile utilizzare una correzione del valore basale a punto singolo.

Per misurare i campioni di acido nucleico mediante un fattore personalizzato

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDrop Eight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

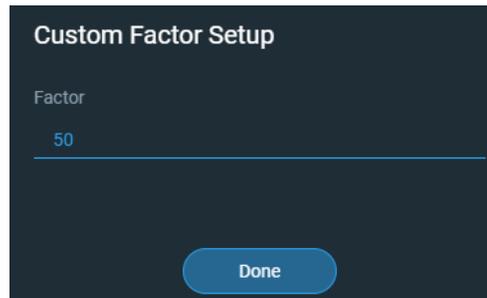
Per misurare mediante un fattore personalizzato

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Acidi nucleici** e selezionare **Fattore personalizzato**.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione mediante un fattore personalizzato

2. Inserire il **fattore** da utilizzare per i calcoli e specificare una **correzione del valore basale**, se lo si desidera.



3. Pipettare 1–2 μL di soluzione blank sui piedistalli inferiori e abbassare il braccio.

4. Selezionare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se **Auto-Blank** è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.

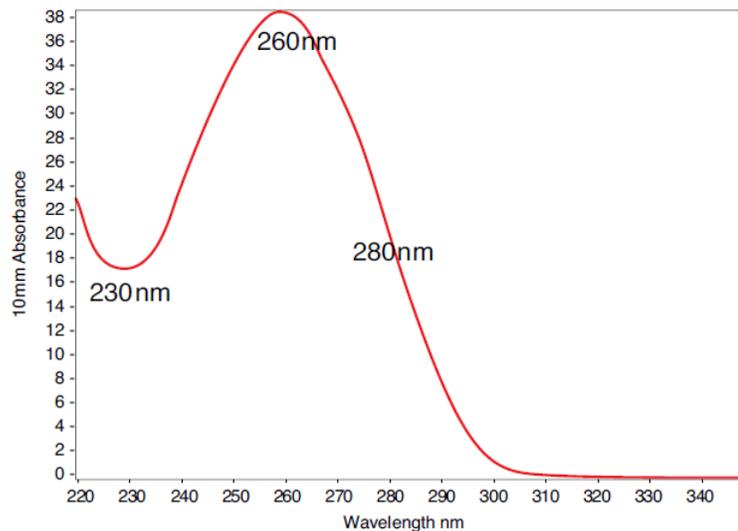
6. Pipettare 1-2 μL di soluzione campione sui piedistalli e abbassare il braccio.

7. Avviare la misurazione del campione: se **Auto-Measure** è attivo: abbassare il braccio; in caso contrario abbassare il braccio e selezionare **Misura** .

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare  **Termina esperimento**.

9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Spettro tipico dell'acido nucleico

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

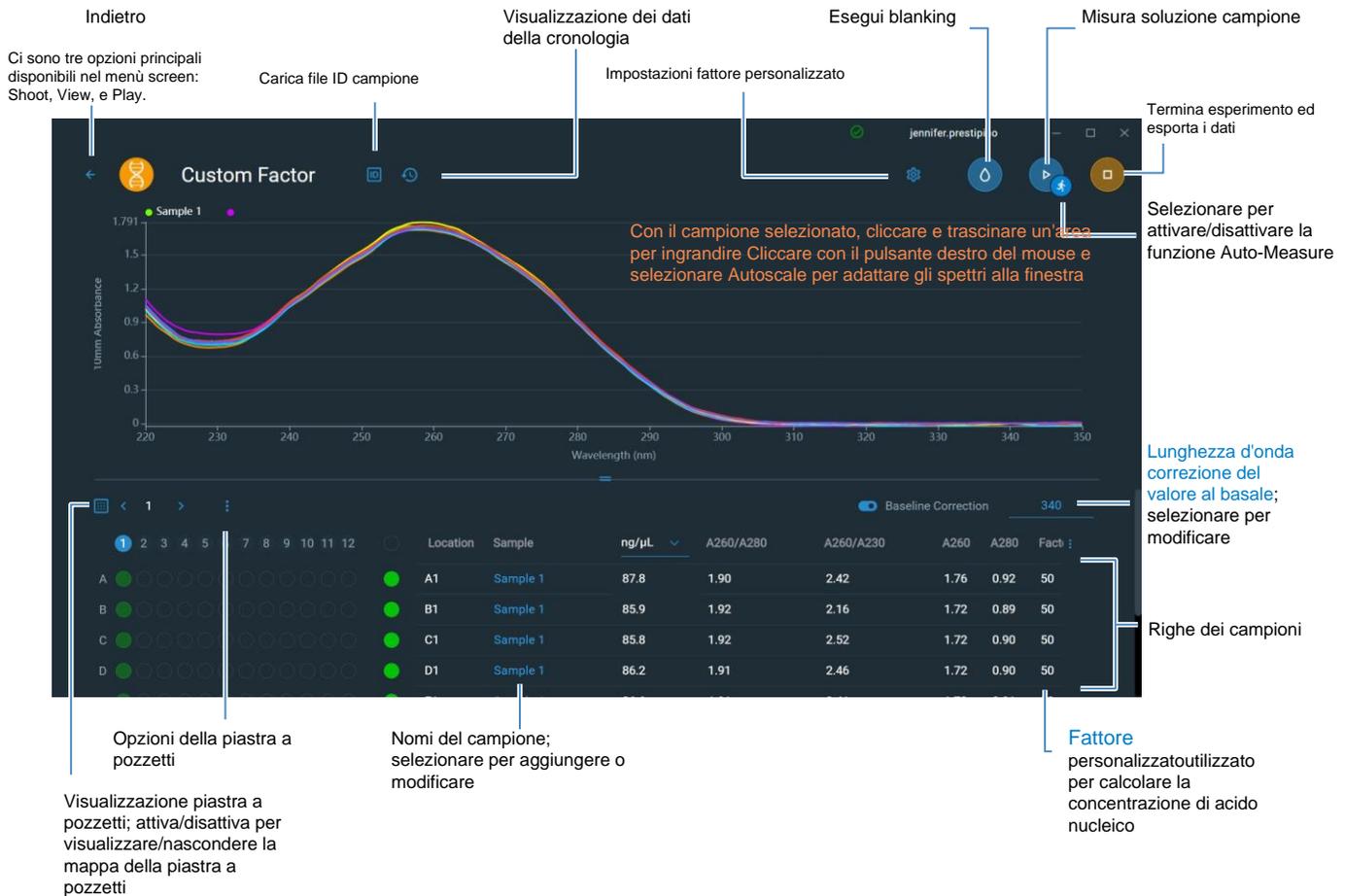
Misurazione mediante un fattore personalizzato

Argomenti correlati

- Misurare un campione micro-volumetrico
- Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche
- Preparare campioni e blank
- Operazioni di base dello strumento

Risultati riportati per il fattore personalizzato

Per ciascun campione misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza e un riepilogo dei risultati. Di seguito si riporta un esempio:



Consigli utili:

Cliccare sulla riga del campione per selezionare il campione e aggiornare lo spettro

Cliccare su più righe dei campioni per sovrapporre gli spettri

Cliccare su un campione e posizionare il puntatore sugli spettri per visualizzare i valori della misurazione

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione mediante un fattore personalizzato

Argomenti correlati

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Risultati riportati per l'acido nucleico](#)
- [Calcoli dell'acido nucleico](#)

Impostazioni per le misurazioni dell'acido nucleico mediante un fattore personalizzato

Per visualizzare le impostazioni del fattore personalizzato, dall'apposita schermata di misurazione, selezionare l'icona delle impostazioni  per visualizzare **Impostazioni Fattore personalizzato**.

Impostazioni	Opzioni disponibili	Descrizione
Fattore personalizzato	Inserire un valore intero compreso tra 15 ng-cm/ μ L e 150 ng-cm/ μ l	Costante utilizzata per calcolare la concentrazione di acido nucleico nell' equazione della legge di Beer modificata . In base al coefficiente di estinzione e alla lunghezza del percorso: $f = 1/(\epsilon_{260} * b)$ dove: f = fattore ϵ = coefficiente di estinzione molare a 260 nm in ng-cm/ μ L b = lunghezza del percorso del campione in cm (1 cm per gli acidi nucleici misurati con gli strumenti NanoDropEight)
Correzione del valore al basale	On o Off Inserire la lunghezza d'onda della correzione dell'analisi al basale in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)	Correzione del valore al basale facoltativa definita dall'utente. Può essere utilizzato per correggere qualsiasi offset causato da particelle di dispersione luminosa sottraendo l'assorbanza misurata alla lunghezza d'onda di correzione al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata. NOTA: la correzione del valore basale viene selezionata dalla schermata di misurazione del software dello strumento e non viene visualizzata nelle Impostazioni del fattore personalizzato.

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

Limiti di rilevamento per le misurazioni dell'acido nucleico mediante un fattore personalizzato

I limiti di rilevamento inferiori e le specifiche di riproducibilità per gli acidi nucleici sono riportati [qui](#). I limiti di rilevamento superiori dipendono dal [limite di assorbanza superiore](#) dello strumento e dai coefficienti di estinzione definiti dall'utente.

Per calcolare i limiti superiori di rilevamento per i campioni di acido nucleico

Per calcolare i limiti di rilevamento superiori in ng/μL, utilizzare la seguente equazione:

$$(\text{limite superiore di assorbanza}_{\text{strumento}} * \text{coefficienti di estinzione}_{\text{campione}})$$

Ad esempio, per una misurazione del campione utilizzando un coefficiente di estinzione di 31, l'equazione è simile alla seguente:

$$(200 \text{ AU} * 31 \text{ ng-cm}/\mu\text{L}) = 6,200 \text{ ng}/\mu\text{L}$$

Argomenti correlati

- [Limiti di rilevamento per tutte le applicazioni](#)

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

Misura la concentrazione di oligonucleotidi ssDNA o RNA purificati che assorbono a 260 nm.

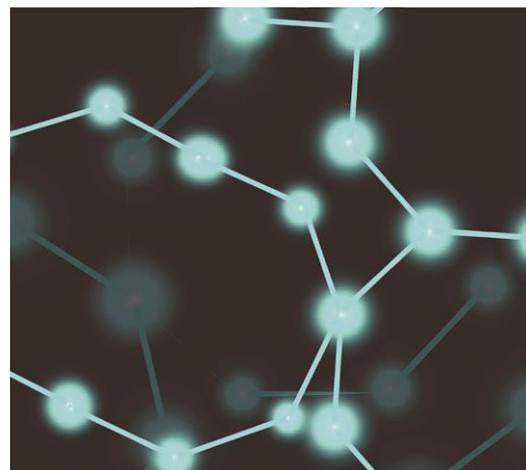
[Misurazione OligoDNA o RNA](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

Utilizzare le applicazioni Oligo DNA e Oligo RNA per quantificare gli oligonucleotidi che si assorbono a 260 nm. I coefficienti di estinzione molare vengono calcolati automaticamente in base alla sequenza di base definita dall'utente del campione. Queste applicazioni riportano la concentrazione di acido nucleico e due rapporti di assorbanza (A260/A280 e A260/A230). È inoltre possibile utilizzare una correzione del valore basale a punto singolo.

Per misurare campioni Oligo DNA o Oligo RNA

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione di oligonucleotide

1. Dalla schermata iniziale, selezionare la scheda **Acidi nucleici** e scegliere **Oligo DNA** o **Oligo RNA**, a seconda delle necessità.
2. Specificare la [sequenza di base Oligo](#) e una [correzione del valore basale](#) se lo si desidera.

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

3. Pipettare 1–2 μL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Selezionare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se **Auto-Blank** è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.

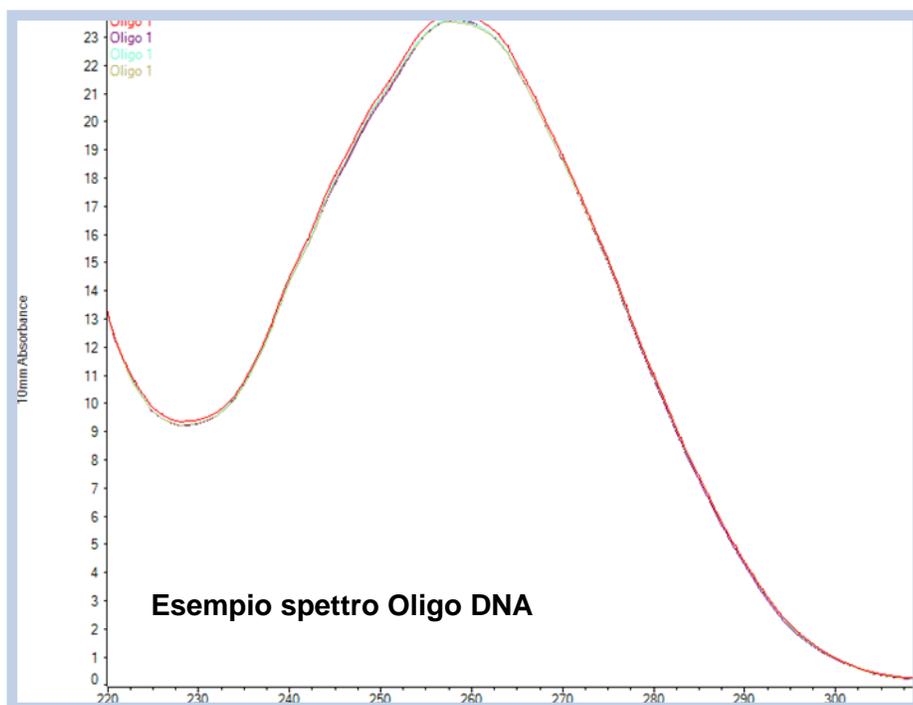
6. Pipettare 1-2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.

7. Avviare la misurazione del campione: se **Auto-Measure** è attivo; abbassare il braccio; in caso contrario abbassare il braccio e selezionare  **Misura**.

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

8. Al termine della misurazione dei campioni, toccare **Termina esperimento** .

9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Argomenti correlati

- [Procedure ottimali per le misurazioni dell'acido nucleico](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#)

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

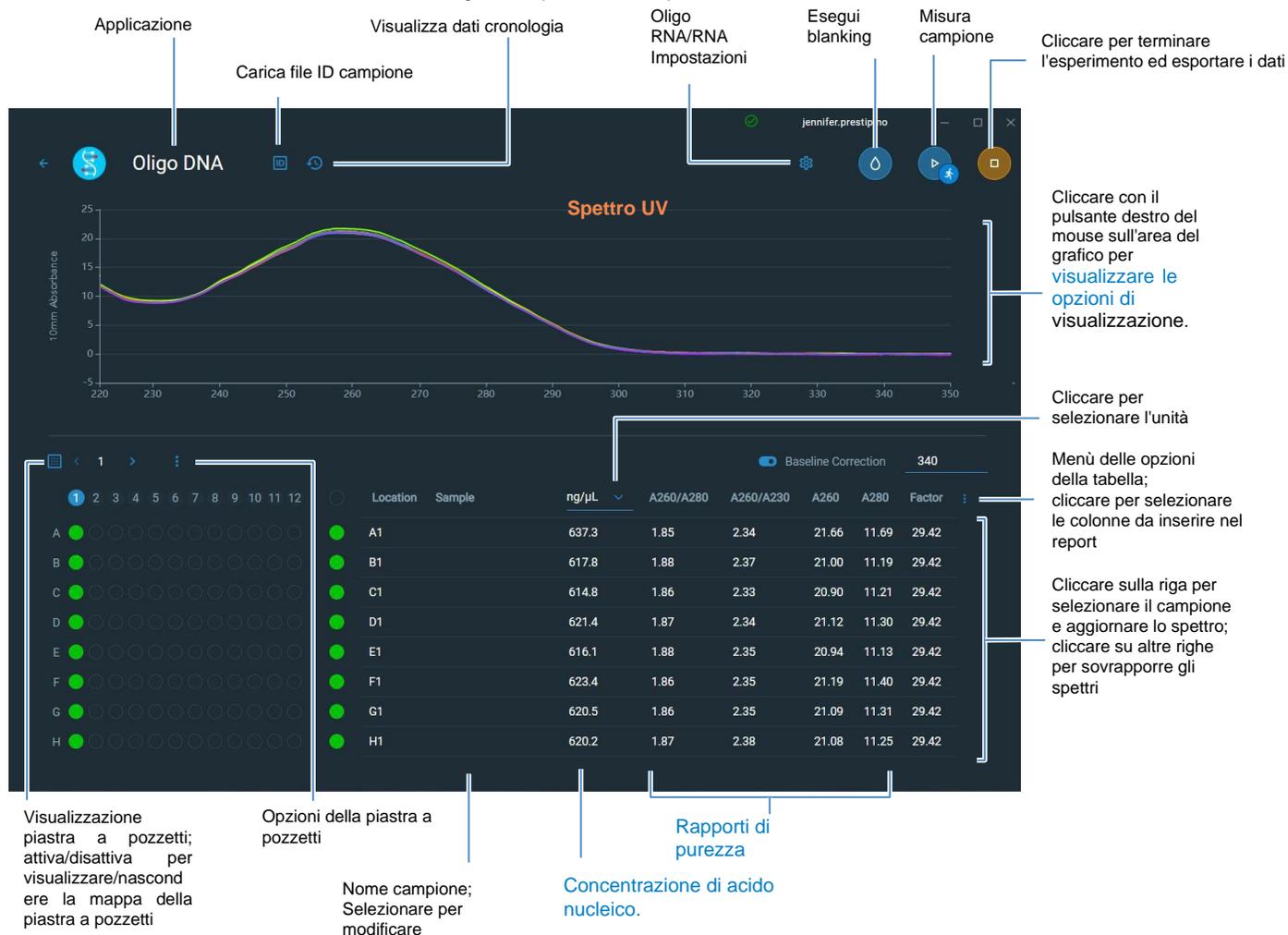
Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

- Preparare campioni e blank
- Operazioni di base dello strumento

Risultati riportati Oligo

Schermata di misurazione Oligo DNA e RNA

Per ogni campione misurato, le applicazioni Oligo DNA e Oligo RNA mostrano i risultati riportati dello spettro di assorbanza UV. Di seguito si riporta un esempio:



Valori riportati di OligoDNA o Oligo RNA

- nome del campione

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

- creato il (data di esecuzione della misurazione del campione)
- [concentrazione di acido nucleico.](#)
- [A260/A280](#)
- [A260/A230](#)
- [A260](#)
- [A280](#)
- [fattore](#)
- [sequenza oligo](#)
- [Correzione del valore al basale](#)

Nota I cinque nucleotidi che compongono il DNA e l'RNA presentano rapporti A260/A280 ampiamente variabili. Per ulteriori informazioni, consultare [Rapporti di purezza Oligo](#).

Argomenti correlati

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli Oligo](#)

Impostazioni per le misurazioni di Oligo DNA e Oligo RNA

La schermata di impostazione Oligo viene visualizzata dopo aver selezionato l'applicazione Oligo DNA o Oligo RNA dalla scheda Acidi nucleici della schermata principale. Dalla schermata di misurazione Oligo DNA o RNA, selezionare l'icona delle impostazioni

Impostazioni Oligo DNA o Impostazioni Oligo RNA.



per visualizzare

Impostazione	Opzioni disponibili	Descrizione
--------------	---------------------	-------------

Sequenza base Oligo

per DNA: utilizzare i tasti G, A, T e C per specificare la sequenza di base DNA

per RNA: utilizzare i tasti G, A, U e C per specificare la sequenza di base RNA

Specificare la sequenza di base di DNA o RNA. Cliccare sui tasti corrispondenti:



Sequenza base

È inoltre possibile inserire la sequenza di base utilizzando la tastiera o copiando e incollando una sequenza da un'altra applicazione.

Ogni volta che viene aggiunta una base alla sequenza, il software esegue i seguenti calcoli:

- **Fattore** Costante utilizzata per calcolare la concentrazione di oligonucleotidi nell'[equazione della legge di Beer modificata](#). In base al coefficiente di estinzione e alla lunghezza del percorso:

$$f = 1/(\epsilon_{260} * b)$$

dove:

f = fattore

ϵ = coefficiente di estinzione molare a 260 nm in ng-cm/ μ L b = [percorso del campione](#) in cm (0,1 cm per gli acidi nucleici misurati con lo strumento NanoDropEight)

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

Impostazione	Opzioni disponibili	Descrizione
		<ul style="list-style-type: none">• Peso molecolare dell'oligo calcolato dalla sequenza di base definita dall'utente.• Numero di basi inserite.• Coefficiente di estinzione molare (260 nm). Coefficiente di estinzione molare di oligo (in ng-cm/μL) a 260 nm calcolato dalla sequenza di base inserita.• %GC. Percentuale di residui di guanina e citosina nel numero totale di basi immesse.
Correzione del valore al basale	On o Off Inserire la lunghezza d'onda della correzione del valore al basale in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)	Corregge eventuali scostamenti causati da particelle di dispersione della luce sottraendo l'assorbanza misurata alla lunghezza d'onda di correzione del valore al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro di campionamento. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata. Suggerimento: se il campione presenta una modifica che assorbe la luce a 340 nm, selezionare una lunghezza d'onda di correzione diversa o disattivare la funzione Correzione valore basale.

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

Limiti di rilevamento per le misurazioni di Oligo DNA e Oligo RNA

I limiti di rilevamento inferiori e le specifiche di riproducibilità per i tipi di campioni oligonucleotidici (ssDNA e RNA) sono forniti [qui](#). I limiti di rilevamento superiori dipendono dal [limite di assorbanza superiore](#) dello strumento e dai coefficienti di estinzione per le sequenze di base definite dall'utente.

Per calcolare i limiti superiori di rilevamento per i campioni di acido nucleico

Per calcolare i limiti di rilevamento superiori in ng/ μ L, utilizzare la seguente equazione:

$$(\text{limite superiore di assorbanza}_{\text{strumento}} * \text{coefficienti di estinzione}_{\text{campione}})$$

Ad esempio, per una misurazione del campione utilizzando un coefficiente di estinzione di 55, l'equazione è simile alla seguente:

$$(200 \text{ AU} * 55 \text{ ng-cm}/\mu\text{L}) = 11,000 \text{ ng}/\mu\text{L}$$

Calcoli per le misurazioni di Oligo DNA e Oligo RNA

Come con le altre applicazioni dell'acido nucleico, le applicazioni di Oligo usano l'equazione di Beer-Lambert per correlare l'assorbanza con la concentrazione basata sul coefficiente di estinzione e sulla lunghezza del percorso del campione. Poiché gli oligonucleotidi sono molecole corte a singolo filamento (o molecole più lunghe di sequenze ripetute),

il loro spettro e il coefficiente di estinzione (ϵ) sono strettamente dipendenti dalla composizione e dalla sequenza della base.

(I coefficienti di estinzione e i fattori di estinzione generalmente accettati per DNA e RNA a singolo filamento forniscono una stima ragionevole per sequenze naturali, essenzialmente randomizzate, ma non per brevi sequenze oligo sintetiche). Per garantire

risultati più accurati, usiamo il valore esatto di ϵ_{260} per calcolare la concentrazione di oligonucleotidi.

Il software NanoDrop consente di specificare la sequenza di base di un oligonucleotide prima che venga misurato. Per ogni sequenza di base inserita, il software utilizza l'equazione a destra per calcolare il coefficiente di estinzione.

Suggerimento: il coefficiente di estinzione è la lunghezza d'onda specifica per ciascun oligonucleotide e può essere influenzato dal tipo di tampone, dalla forza ionica e dal pH.

Coefficienti di estinzione per oligonucleotidi

Il software utilizza il metodo di prossimità e la seguente formula per calcolare i coefficienti di estinzione molare per specifiche sequenze di basi oligonucleotidiche:

$$\epsilon_{260} = \sum_{i=1}^{N-1} \epsilon_1 - \sum_{i=2}^{N-1} \epsilon_2 + \sum_{i=1}^N \epsilon_3$$

dove:

ϵ = coefficiente di estinzione molare in L/mole-cm
 ϵ_1 = ϵ vicino più prossimo
 ϵ_2 = ϵ singole basi
 ϵ_3 = ϵ modifiche, come coloranti fluorescenti

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

Misurazione di Oligo DNA o Oligo RNA

Le concentrazioni di acido nucleico calcolate si basano sul valore di assorbanza a 260 nm, sul fattore utilizzato e sulla lunghezza del percorso del campione. È inoltre possibile applicare una correzione del valore al basale a punto singolo (o correzione dell'analisi).

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

Valori di assorbanza a 260 nm, 280 nm e talvolta 230 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti di purezza per i campioni di acido nucleico misurati. I rapporti di purezza sono sensibili alla presenza di contaminanti nel campione, come solventi residui e reagenti tipicamente utilizzati durante la purificazione del campione.

Valori misurati Assorbanza A260

Nota: per le misurazioni dell'assorbanza di micro-volumi, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza dell'acido nucleico sono misurati a 260 nm usando lo spettro normalizzato. Questo è il valore A260 riportato se la Correzione del valore al basale non è selezionata.
- Se si seleziona [Correzione del valore al basale](#), il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione viene sottratto dall'assorbanza del campione a 260 nm. L'assorbanza corretta a 260 nm viene riportata e utilizzata per calcolare la concentrazione di acido nucleico.

Assorbanza A230, A280

- I valori di assorbanza normalizzati a 230 nm, 260 nm e 280 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti A260/A230 e A260/A280.

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

I cinque nucleotidi che compongono il DNA e l'RNA presentano rapporti A260/A280 ampiamente variabili. Di seguito sono riportati i rapporti A260/A280 stimati per ciascun nucleotide misurato indipendentemente:

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

Il rapporto A260/A280 per una specifica sequenza di acido nucleico è approssimativamente uguale alla media ponderata dei rapporti A260/A280 per i quattro nucleotidi presenti.

Nota: l'RNA avrà tipicamente un rapporto 260/280 più elevato a causa del rapporto più elevato di Uracil rispetto a quello di Timina.

Valori riportati

- **Concentrazione di acido nucleico.** Riportato nell'unità selezionata (ovvero, ng/μl, μg/μl o μg/mL). I calcoli si basano sull'equazione della Legge di Beer modificata utilizzando il valore di assorbanza dell'acido nucleico corretto.
- **Rapporto di purezza A260/A280.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 280 nm.
- **Rapporto di purezza A260/A230.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 230 nm.

Nota: i tradizionali rapporti di purezza (A260/A280 e A260/A230), utilizzati come indicatori della presenza di vari contaminanti nei campioni di acido nucleico, non si applicano agli oligonucleotidi perché le forme dei loro spettri dipendono fortemente dalla composizione delle basi. Vedere la barra laterale per ulteriori informazioni.

Argomenti correlati

- [Calcoli per le misurazioni dell'acido nucleico](#)

4 Applicazioni di misurazione dell'acido nucleico

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Applicazioni Protein

Misurazione Protein A280

Misura la concentrazione di campioni di proteine purificate che assorbono a 280 nm.

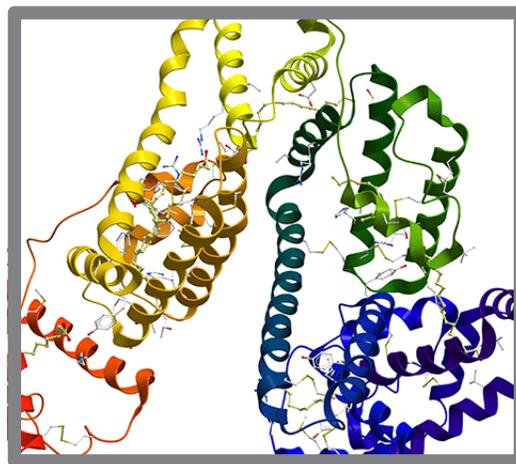
[Misurazione Protein A280](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione della concentrazione proteica a A280

Utilizzare l'applicazione Protein A280 per quantificare campioni di proteine purificate che contengono aminoacidi come triptofano o tirosina, o legami disolfuro di tipo cys-cys, che presentano un'assorbanza a 280 nm. Questa applicazione riporta la concentrazione proteica misurata a 280 nm e un rapporto di assorbanza (A260/A280). È inoltre possibile utilizzare una correzione del valore basale a punto singolo. Questa applicazione non richiede alcuna curva standard.

Per misurare i campioni con Protein A280

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.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione con Protein A280

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine** e selezionare **Protein A280**.
2. Specificare un [tipo di campione](#) e una [correzione del valore al basale](#), se necessario.
3. Pipettare 1–2 μL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Cliccare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
6. Pipettare 2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
7. Iniziare la misurazione del campione:

– Se [Auto-Measure](#) è [attivata](#), abbassare il braccio

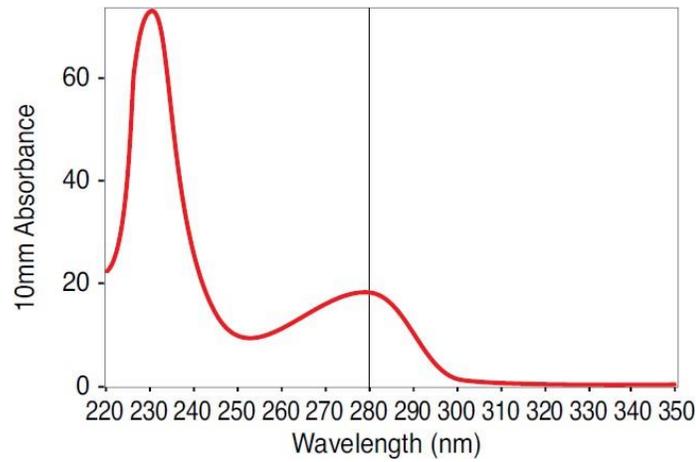
– se [Auto-Measure](#) è disattivata, abbassare il braccio e toccare



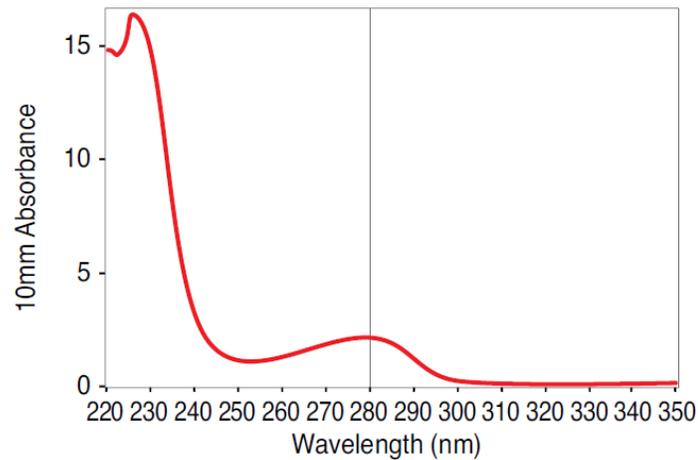
Misura

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare  **Termina esperimento**.
9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Campione BSA ad alta concentrazione



Campione BSA a bassa concentrazione

Procedure ottimali per la misurazione delle proteine

- Isolare e purificare i campioni di proteine prima della misurazione per rimuovere le impurità. A seconda del campione, le impurità potrebbero includere DNA, RNA e alcuni componenti tampone. Per ulteriori informazioni, consultare [Preparazione dei campioni](#).

Nota I reagenti di estrazione che contribuiscono all'assorbanza tra 200 nm e 280 nm influenzeranno i risultati della misurazione se presenti nei campioni (anche quantità residue).

- Assicurarsi che l'assorbanza del campione rientri nei [limiti di rilevamento dell'assorbanza](#) dello strumento.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

- Selezionare un blank:
 - Per l'applicazione Protein A280, lasciare in bianco 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.
- Eseguire un [ciclo di blanking](#) per valutare il contributo di assorbanza della soluzione tampone. Se il tampone presenta una forte assorbanza della o vicino alla lunghezza d'onda dell'analisi (in genere 280 nm o 205 nm), potrebbe essere necessario scegliere un tampone o un'applicazione diversi. Consultare [Scelta e misurazione di un blank](#) per ulteriori informazioni.

Nota I tamponi come Triton X, RIPA e NDSB contribuiscono in modo significativo all'assorbanza e non sono compatibili con le misurazioni dirette A280 o A205.

- Per misurazioni micro-volumetriche:
 - Assicurarsi che le superfici dei piedistalli siano adeguatamente [pulite](#) e [condizionate](#). (Le proteine tendono ad attaccarsi alle superfici del piedistallo.)
 - Prelevare delicatamente (ma accuratamente) i campioni dalla centrifuga prima di effettuare una misurazione. Evitare di introdurre bolle durante la miscelazione e il pipettaggio.
 - Seguire le [procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#).
 - Utilizzare un volume di campionamento di 1-2 μ L. Consultare [Volumi di campionamento consigliati](#) per ulteriori informazioni.

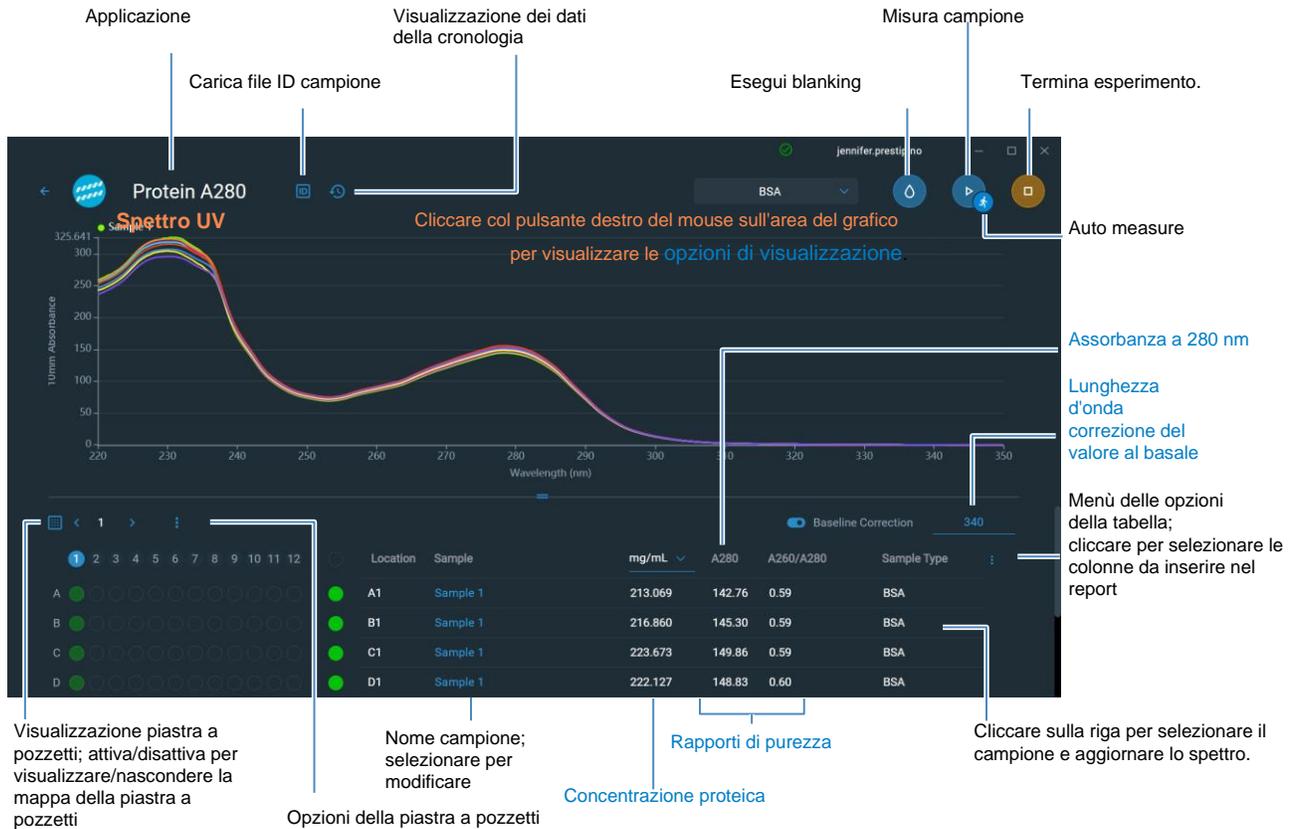
Argomenti correlati

- [Procedure ottimali per la misurazione delle proteine](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Report risultati Protein A280

Schermata di misurazione Protein A280

Per ogni campione misurato, questa applicazione mostra lo spettro di assorbanza e i risultati riportati. Di seguito si riporta un esempio:



Nota Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Valori riportati Protein A280

- Concentrazione proteica
- Assorbanza a 280 nm
- Rapporto di purezza
- Tipo di campione
- Lunghezza d'onda correzione del valore al basale

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

- Assorbanza correzione del valore al basale
- creato il (data di esecuzione della misurazione del campione)
- monitorare la lunghezza del percorso della
- lunghezza di percorso utilizzata
- coefficiente d'estinzione
- contaminante
- corretto

Argomenti correlati

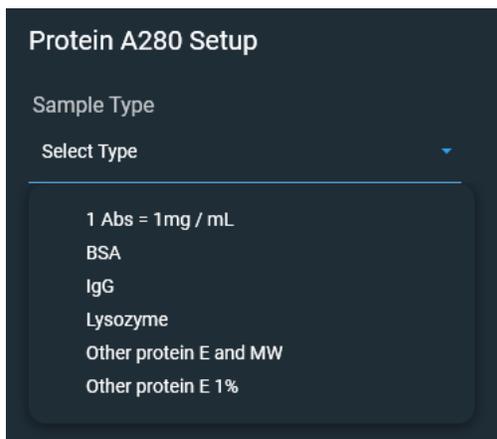
- Operazioni di base dello strumento
- Calcoli Protein A280

Impostazioni per le misurazioni Protein A280

Per visualizzare le impostazioni Protein A280, dall'apposita schermata di misurazione, selezionare l'icona delle impostazioni  per visualizzare le **Impostazioni Protein A280**.

Impostazioni Protein A280

L'applicazione Protein A280 fornisce una varietà di opzioni per il tipo di campione per l'analisi delle proteine purificate.



Ciascun tipo di campione applica un coefficiente di estinzione univoco ai calcoli delle proteine. Se il coefficiente di estinzione del campione è noto, scegliere + MW (molare) o 1% (massa) e inserire il valore. In caso contrario, calcolare il coefficiente di estinzione o selezionare l'opzione che meglio si adatta alla soluzione campione. Se è necessaria solo una stima approssimativa della concentrazione di proteine e il coefficiente di estinzione del campione non è noto, selezionare l'opzione 1 Abs=1 mg/mL tipo di campione.

Suggerimento Idealmente, il coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione della proteina in studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone.

Impost	Opzioni disponibili	Coefficiente Est. massa (L/gm-cm)	Descrizione
Tipo di campione ^a	1 Abs = 1 mg/mL	Riferimento generale	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 1% = 10.
	BSA	6.7	Calcola la concentrazione proteica di BSA (albumina sierica bovina) utilizzando il coefficiente di estinzione di massa (ϵ) di 6,7 L/gm-cm a 280 nm per 1% (cioè 10 mg/mL) di soluzione di BSA. Supponendo che MW sia 66.400 dalton (Da), il coefficiente di estinzione molare a 280 nm per BSA è approssimativamente $43.824 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.
	IgG	13.7	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 (ϵ) di 6,7 L/gm-cm a 280 nm per 1% (cioè 10 mg/mL) di soluzione di IgG. Supponendo che MW sia 150.000 Da, il coefficiente di estinzione molare a 280 nm per IgG è approssimativamente $210.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.
	Lisozima	26.4	Calcola la concentrazione di proteina lisozima utilizzando il coefficiente di estinzione di massa (ϵ) di 26,4 L/gm-cm a 280 nm per 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 $36.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e $39.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

Impost	Opzioni disponibili	Coefficiente Est. massa (L/gm-cm)	Descrizione
	Altre proteine (ϵ + MW)	L'utente ha inserito il coefficiente di estinzione molare e il peso molecolare	<p>Si ipotizza che la proteina abbia un coefficiente di estinzione molare (ϵ) e un peso molecolare (MW) noti, dove: $(\text{molare}) * 10 = (\text{percentuale}) * (\text{MW}_{\text{proteina}})$</p> <p>Inserire MW in kiloDalton (kDa) e coefficiente di estinzione molare (ϵ) in $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ diviso per 1000 (cioè/1000). Ad esempio, per le proteine con coefficiente di estinzione molare di $210.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, inserire 210.</p>
	Altre proteine (<input type="checkbox"/> 1%)	coefficiente di estinzione di massa inserito dall'utente	Si presume che le proteine abbiano un coefficiente di estinzione di massa noto (ϵ). Inserire il coefficiente di estinzione di massa in L/gm-cm per 10 mg/mL (ϵ 1%) soluzione proteica.

^a Per aggiungere o modificare una proteina personalizzata, utilizzare l'Editor proteine.

Impost	Opzioni disponibili	Coefficiente Est. massa (L/gm-cm)	Descrizione
Correzione del valore al basale	<p>On o Off</p> <p>Inserire la lunghezza d'onda della correzione del valore al basale in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)</p>	N/A	<p>Corregge eventuali scostamenti causati da particelle di dispersione della luce sottraendo l'assorbanza misurata alla lunghezza d'onda di correzione del valore al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro di campionamento. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata.</p> <p>Suggerimento: se il campione presenta una modifica che assorbe la luce a 340 nm, selezionare una lunghezza d'onda di correzione diversa o disattivare la funzione Correzione valore basale.</p>

Editor proteine

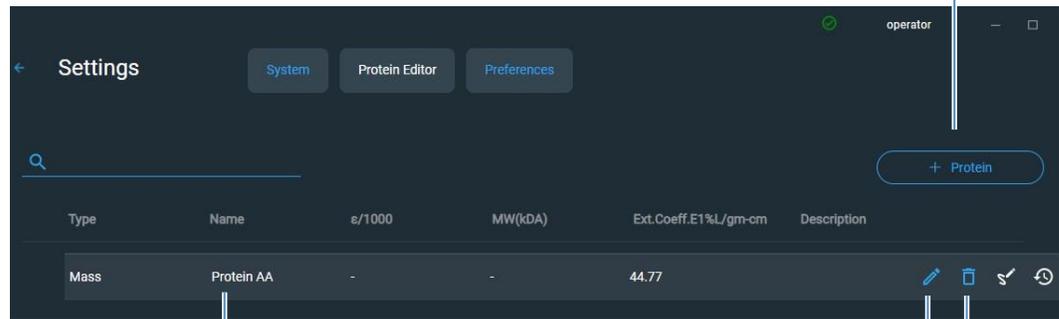
Utilizzare l'Editor proteine per aggiungere una proteina personalizzata all'elenco dei tipi di campioni proteici disponibili in Impostazioni [Protein A280](#).

Per accedere all'Editor Proteine:

- Dalla schermata Home del software PC Control, selezionare **Settings** **Impostazioni > Editor proteine.**

Editor proteine

Cliccare per aggiungere proteine personalizzate



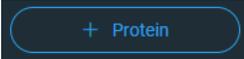
Proteine personalizzate
(appariranno nell'elenco Tipo di campione
in Impostazioni Protein A280 e
Impostazioni proteine ed etichette)

Cliccare per modificare la proteina personalizzata selezionata

Cliccare per eliminare la proteina personalizzata selezionata

Queste operazioni sono disponibili dall'Editor proteine:

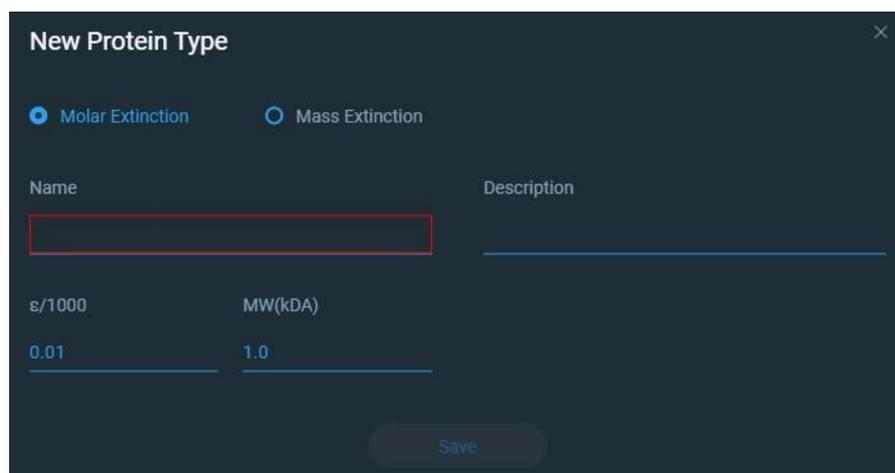
Aggiungere proteine personalizzate

- In Editor proteine, selezionare  per visualizzare la casella **Nuovo tipo di proteina**.
- Inserire un **Nome** univoco per la nuova proteina.
- Inserire una **Descrizione** per la nuova proteina.
- Specificare se inserire Coefficiente di **Estinzione molare** o **Estinzione di massa** coefficiente per proteine personalizzate.
 - Se è selezionato il coefficiente di **estinzione** di massa, inserire il coefficiente di estinzione di massa in L/gm-cm per 10 mg/mL (ε1%) di soluzione proteica.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

- se si seleziona **Estinzione molare**,



New Protein Type

Molar Extinction Mass Extinction

Name _____ Description _____

ε/1000 MW(kDa)

0.01 1.0

Save

- inserire il coefficiente di estinzione molare (ϵ) in $M^{-1}cm^{-1}$ diviso 1000 (cioè $\epsilon/1000$). Ad esempio, per le proteine con coefficiente di estinzione molare di $210.000 M^{-1}cm^{-1}$, inserire 210.
- Inserire il peso molecolare (MW) in kiloDalton (kDa)

5. Selezionare **Salva** per chiudere la casella **Nuovo tipo di proteina**.

La nuova proteina personalizzata viene visualizzata nell'elenco **Tipo** in Impostazioni Protein A280 e Impostazioni proteine ed etichette.

Modificare proteina personalizzata

1. In Editor proteine, cliccare per selezionare proteine personalizzate
2. Cliccare  per visualizzare la casella **Modifica tipo di proteina**
3. Modificare eventuali voci o impostazioni
4. Cliccare su **OK**

Eliminare proteina personalizzata

1. In Editor proteine, cliccare per selezionare una proteina personalizzata da eliminare
2. 

Nota L'eliminazione di una proteina personalizzata rimuove in modo permanente la proteina e tutte le informazioni associate dal software.

Limiti di rilevamento per le misurazioni Protein A280

I limiti di rilevamento e le specifiche di riproducibilità per le proteine BSA purificate sono forniti [qui](#). Il limite inferiore di rilevamento BSA e i valori di riproducibilità si applicano a qualsiasi tipo di campione proteico. I limiti superiori di rilevamento dipendono dal limite [superiore di assorbanza](#) dello strumento e dal coefficiente di estinzione del campione.

Per calcolare i limiti superiori di rilevamento per altri tipi di campioni proteici (non BSA)

Per calcolare i limiti di rilevamento superiori in mg/μL per le proteine, utilizzare la seguente equazione:

$$\left(\text{limite superiore di assorbanza dello strumento} / \text{coefficienti di estinzione di massa del campione} \right) * 10$$

Ad esempio, se il coefficiente di estinzione di massa del campione a 280 nm è 6,7 per una soluzione all'1% (10 mg/mL), l'equazione è simile alla seguente:

$$(200 / 6,7) * 10 = 298,5 \text{ (o } \sim 300)$$

Calcoli per le misurazioni Protein A280

L'applicazione Protein A280 utilizza l'[equazione di Beer-Lambert](#) per correlare l'assorbanza alla concentrazione. La risoluzione della legge di Beer per la concentrazione produce l'equazione a destra.

Equazione di Beer-Lambert (risolta per concentrazione)

$$c = A / (\epsilon * b)$$

dove:

A = assorbanza UV in unità di assorbanza (AU)

ϵ = coefficiente di assorbimento molare dipendente dalla lunghezza d'onda (o coefficiente di estinzione) in litri/mol-cm

b = lunghezza del percorso in cm

c = concentrazione dell'analita in moli/litro o molarità (M)

Nota: dividendo l'assorbanza misurata di una soluzione campione per il suo coefficiente di estinzione molare si ottiene la concentrazione molare del campione. Consultare [Coefficienti di estinzione](#) pubblicati per ulteriori informazioni sui valori di concentrazione molare vs. massa.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

Il coefficiente di estinzione di un peptide o di una proteina è correlato alla sua composizione di triptofano (W), tirosina (Y) e amminoacidi cisteina (C).

Suggerimento: il coefficiente di estinzione è specifico per ciascuna proteina e può essere influenzato dal tipo di tampone, dalla forza ionica e dal pH.

Questa applicazione offre sei opzioni (mostrate a destra) per selezionare un coefficiente di estinzione appropriato per ciascun campione misurato, da utilizzare in combinazione con la legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione.

Se il coefficiente di estinzione del campione è noto, scegliere l'opzione ϵ + MW (molare) o 1% (massa) e inserire il valore. In caso contrario, calcolare il coefficiente di estinzione o scegliere l'opzione che meglio si adatta alla soluzione campione.

Suggerimento: idealmente, il coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione della proteina in studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone.

Coefficienti di estinzione per proteine

A 280 nm, il coefficiente di estinzione è approssimato dalla somma ponderata dei coefficienti di estinzione molare di 280 nm dei tre amminoacidi costituenti, come descritto in questa equazione:

$$\epsilon = (nW * 5500) + (nY * 1490) + (nC * 125)$$

dove:

ϵ = coefficiente di estinzione molare

n = numero di ciascun residuo amminoacidico

5500, 1490 e 125 = assorbività molare amminoacidica a 280 nm

Opzioni disponibili per il coefficiente di estinzione

- **1 Abs = 1 mg/mL**, dove il tipo di campione e/o il coefficiente est. è sconosciuto (produce una stima approssimativa della concentrazione proteica)
- **BSA** (Albumina sierica bovina, 6,7 L/gm-cm)
- **IgG** (qualsiasi anticorpo di mammiferi, 13,7 L/gm-cm)
- **Lisozima** (lisozima di albume d'uovo, 26,4 L/gm-cm)
- **Altre proteine** (ϵ + MW), coefficiente est. molare specificato dall'utente
- **Altre proteine** (ϵ 1%), coefficiente est. di massa specificato dall'utente
-

Nota: vedere [Tipo di campione](#) per i dettagli.

La maggior parte delle fonti riporta coefficienti di estinzione per proteine misurate a o vicino a 280 nm in fosfato o altro tampone fisiologico. Questi valori forniscono un'accuratezza sufficiente per le valutazioni di routine della concentrazione proteica.

L'equazione a destra mostra la relazione tra il coefficiente di estinzione molare (ϵ_{molare}) e il coefficiente di estinzione percentuale (ϵ 1%).

Per determinare la concentrazione (c) di un campione in mg/mL, utilizzare l'equazione a destra e un fattore di conversione di 10.

Suggerimento: il software NanoDropEight include il fattore di conversione quando si riportano le concentrazioni proteiche.

Coefficienti di estinzione pubblicati

I coefficienti di estinzione pubblicati per le proteine possono essere riportati come segue:

- coefficiente di assorbimento molare dipendente dalla lunghezza d'onda (o estinzione)(ϵ) con unità di $M^{-1}cm^{-1}$
- percentuale di coefficiente di estinzione della soluzione (ϵ 1%) con unità di $(g/100 mL)^{-1}cm^{-1}$ (cioè 1% o 1 g/100 mL di soluzione misurata in una cuvetta da 1 cm)
- valori di assorbanza proteica per soluzioni allo 0,1% (cioè 1 mg/mL)

Suggerimento: valutare attentamente i valori pubblicati per garantire che l'unità di misura sia applicata correttamente.

Conversioni tra ϵ_{molare} e ϵ 1%

$$(\epsilon_{\text{molare}}) * 10 = (\epsilon 1\%) * (MW_{\text{proteina}})$$

Esempio: per determinare il coefficiente di estinzione della soluzione percentuale (ϵ 1%) per una proteina che ha un coefficiente di estinzione molare di $43.824 M^{-1}cm^{-1}$ e un peso molecolare (MW) di 66.400 dalton (Da), riorganizzare e risolvere l'equazione di cui sopra come segue:

$$\epsilon 1\% = (\epsilon_{\text{molare}} * 10) / (MW_{\text{proteina}})$$

$$\epsilon 1\% = (43.824 * 10) / 66.400 \text{ Da}$$

$$\epsilon 1\% = 6,6 \text{ g/100 mL}$$

Conversioni tra g/100 mL e mg/mL

$$C_{\text{proteina}} \text{ in mg/mL} = (A / \epsilon 1\%) * 10$$

Esempio: se l'assorbanza misurata per un campione di proteina a 280 nm rispetto al riferimento è 5,8 A, la concentrazione di proteina può essere calcolata come segue:

$$C_{\text{proteina}} = (A / \epsilon 1\%) * 10$$

$$C_{\text{proteina}} = (5,8 / 6,6 \text{ g/100 mL}) * 10 \quad C_{\text{proteina}} = 8,79$$

mg/mL

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein A280

Le concentrazioni proteiche calcolate si basano sul valore di assorbanza a 280 nm, sul coefficiente di estinzione selezionato (o inserito) e sulla lunghezza del percorso del campione. È possibile applicare una correzione del valore al basale a punto singolo (o correzione dell'analisi).

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

I valori di assorbanza a 260 nm e 280 nm vengono utilizzati per calcolare i rapporti di purezza per i campioni di proteine misurati.

I rapporti di purezza sono sensibili alla presenza di contaminanti nel campione, come solventi residui e reagenti tipicamente utilizzati durante la purificazione del campione.

Valori misurati Assorbanza A280

Nota: Per le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza delle proteine sono misurati a 280 nm utilizzando lo spettro normalizzato. Se la **Correzione al valore basale** non è selezionata, questo è il valore A280 riportato e il valore utilizzato per calcolare la concentrazione di proteine.
- Se si seleziona **Correzione al basale**, il valore di assorbanza normalizzato e corretto al basale a 280 nm viene riportato e utilizzato per calcolare la concentrazione proteica.

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

Valori riportati

- **Concentrazione proteica.** Riportato in unità selezionata (mg/mL o µg/mL). I calcoli si basano sull'Equazione di Beer-Lambert utilizzando il valore di assorbanza proteica corretto.
- **Rapporto di purezza A260/A280.** Rapporto tra assorbanza corretta a 260 nm e assorbanza corretta a 280 nm. Un rapporto di purezza A260/A280 di ~0,57 è generalmente accettato come "puro" per le proteine.

Nota: sebbene i rapporti di purezza siano importanti indicatori della qualità del campione, il miglior indicatore della qualità della proteina è la funzionalità nell'applicazione a valle di interesse (ad esempio, la PCR in tempo reale).

- **Contaminante** - Visualizza il contaminante identificato dal software Acclaro, se disponibile.
- **Corretta** - Visualizza la concentrazione dell'analita corretta determinata utilizzando il software Acclaro, se disponibile.

Misurazione Protein A205

Misura la concentrazione di popolazioni proteiche purificate che assorbono a 205 nm.

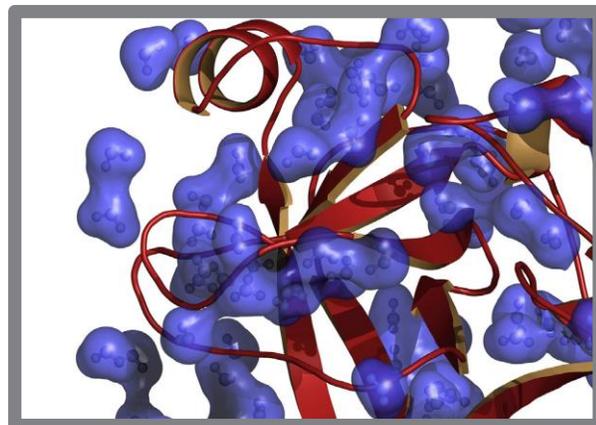
[Misurazione Protein A205](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione della concentrazione proteica a A205

Utilizzare l'applicazione Protein A205 per quantificare i peptidi purificati e altre proteine che contengono legami peptidici, che presentano assorbanza a 205 nm. Questa applicazione riporta la concentrazione proteica e due valori di assorbanza (A205 e A280). È inoltre possibile utilizzare una correzione del valore basale a punto singolo. Questa applicazione non richiede alcuna curva standard.

Nota: se i campioni contengono principalmente aminoacidi come triptofano o tirosina o legamidisolfuro di cys-cys, utilizzare l'applicazione [Protein A280](#) anziché Protein A205.

Per misurare i campioni con Protein A205

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione con Protein A205

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi selezionare **Protein A205**.
2. Specificare un [tipo di campione](#) e una [correzione del valore al basale](#), se necessario.
3. Pipettare 1–2 μL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Cliccare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
6. Pipettare 2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
7. Iniziare la misurazione del campione:

– Se [Auto-Measure](#) è attivata, abbassare il braccio

– se [Auto-Measure](#) è disattivata, abbassare il braccio e toccare  **Misura**

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare  **Termina esperimento**.
9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

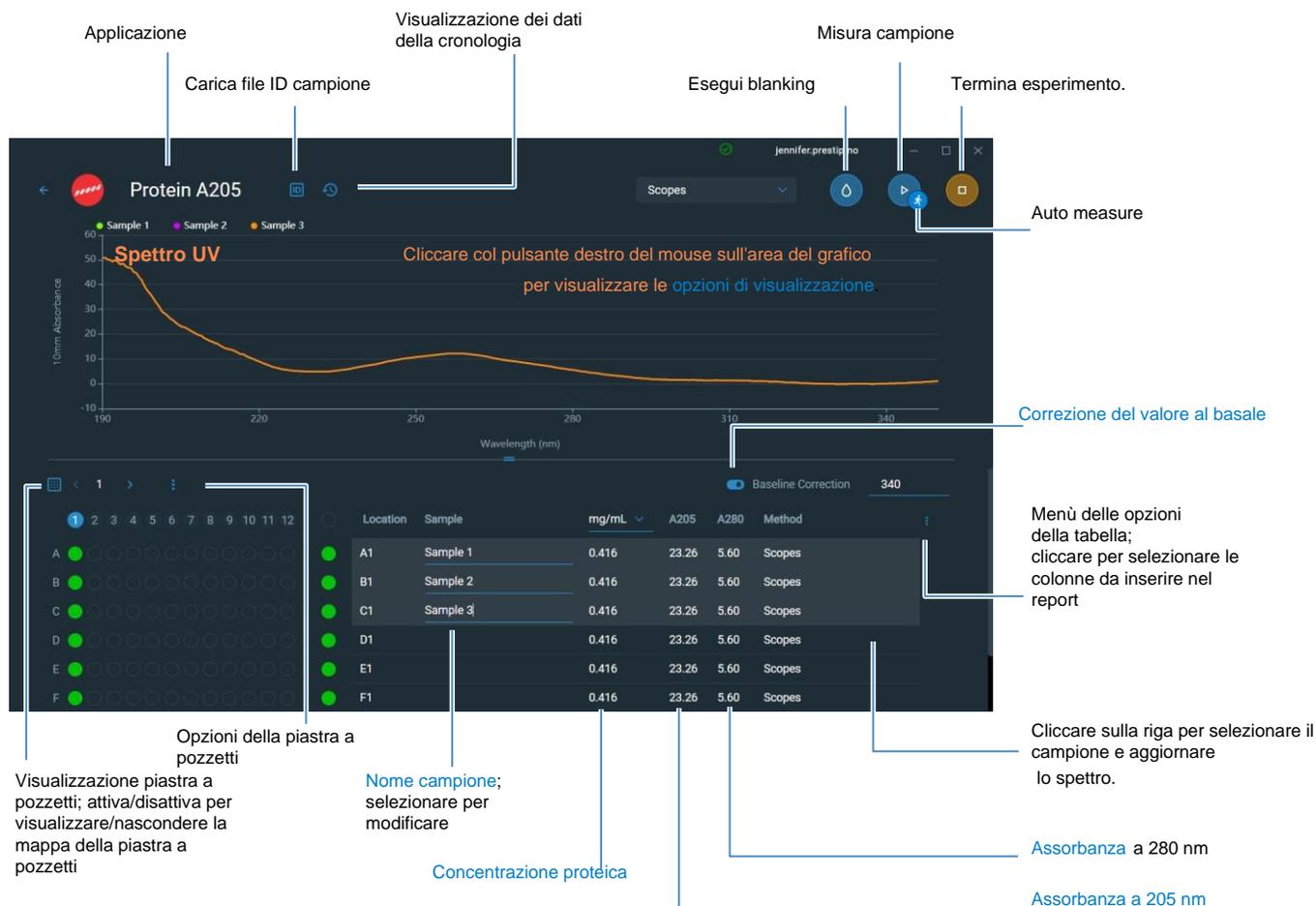
Argomenti correlati

- [Procedure ottimali per la misurazione delle proteine](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Report risultati Protein A205

Schermata di misurazione Protein A205

Per ciascun campione misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza e un riepilogo dei risultati. Di seguito si riporta un esempio:



Valori riportati Protein A205

- Concentrazione proteica
- Assorbanza a 205 nm
- Assorbanza a 280 nm
- Tipo di campione
- Correzione del valore al basale

5 Applicazioni proteine

Misurazione Protein A205

- creato il (data di esecuzione della misurazione del campione)
- monitorare la lunghezza del percorso della
- [lunghezza d'onda utilizzata](#)
- Coefficiente d'estinzione

Argomenti correlati

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli Protein A205](#)

Impostazioni per le misurazioni Protein A205

Per visualizzare le impostazioni di Protein A205, dall'apposita schermata di misurazione, selezionare Impostazioni Protein A205.



Impostazione	Opzioni disponibili	Coefficiente est. di massa (L/gm-cm)	Descrizione
Tipo di campione 31		31 Ipotizza ϵ 0,1% (1 mg/mL) a 205 nm = 31	
	Ambiti	$27 + 120 * (A280/A205)$	Ipotizza ϵ 0,1% (1 mg/mL) a 205 nm = $27 + 120 * (A280/A205)$
	Altre proteine (ϵ 1%)	Coefficiente di estinzione di massa definito dall'utente	Ipotizza che le proteine abbiano un coefficiente di estinzione di massa noto (). Inserire il coefficiente di estinzione di massa in L/gm-cm per 1 mg/mL (0,1%) di soluzione proteica.
Correzione del valore al basale	On o Off Inserire la lunghezza d'onda della correzione del valore al basale in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)	N/A	Corregge eventuali scostamenti causati da particelle di dispersione della luce sottraendo l'assorbanza misurata alla lunghezza d'onda di correzione del valore al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro di campionamento. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata. Suggerimento: se il campione presenta una modifica che assorbe la luce a 340 nm, selezionare una lunghezza d'onda di correzione diversa o disattivare la funzione Correzione valore basale.

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

Calcoli per le misurazioni Protein A205

Come con le altre applicazioni della proteina, le proteine A205 usa l' [equazione di Beer-Lambert](#) per correlare l'assorbanza con la concentrazione basata sul coefficiente e sulla lunghezza del percorso dell'estinzione del campione.

Questa applicazione offre tre opzioni (mostrate a destra) per selezionare un coefficiente di estinzione appropriato per ciascun campione misurato, da utilizzare in combinazione con la legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione.

Se il coefficiente di estinzione del campione è noto, scegliere l'opzione ϵ 1% (massa) e inserire il valore. In caso contrario, calcolare il coefficiente di estinzione o scegliere l'opzione che meglio si adatta alla soluzione campione.

Suggerimento: idealmente, il coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione della proteina in studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone.

Le concentrazioni proteiche calcolate si basano sul valore di assorbanza a 205 nm, sul coefficiente di estinzione selezionato (o inserito) e sulla lunghezza del percorso del campione. Può anche essere applicata una correzione di base a punto singolo.

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

Opzioni disponibili per il coefficiente di estinzione

- **31**, ipotizza ϵ 0,1% (1 mg/mL) a 205 nm = 31
- **Ambiti**, ipotizza ϵ 0,1% (1 mg/mL) a 205 nm = $27 + 120 * (A280/A205)$
- **Altre proteine**, inserire il coefficiente di estinzione di massa in L/gm-cm per 1 mg/mL (ϵ ,1%) di soluzione proteica

Nota: vedere [Tipo di campione](#) per i dettagli.

Valori misurati assorbanza A205

Nota: Per le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza delle proteine sono misurati a 205 nm utilizzando lo spettro normalizzato. Se la [Correzione al valore basale](#) non è selezionata, questo è il valore A205 riportato e il valore utilizzato per calcolare la concentrazione di proteine.
- Se si seleziona [Correzione al basale](#), il valore di assorbanza normalizzato e corretto al basale a 205 nm viene riportato e utilizzato per calcolare la concentrazione proteica.

Assorbanza A280

- È riportato anche il valore di assorbanza normalizzato e corretto al basale (se selezionato) a 280 nm.

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

Valori riportati

- **Concentrazione proteica.** Riportato in unità selezionata (mg/mL o $\mu\text{g/mL}$). I calcoli si basano sull'Equazione di Beer-Lambert utilizzando il valore di assorbanza proteica corretto.

Argomenti correlati

- [Equazione di Beer-Lambert](#)
- [Calcoli Protein A280](#)

Misurazione di Proteine ed Etichette

Misura la concentrazione di proteine purificate precedentemente etichettate con un massimo di due coloranti fluorescenti.

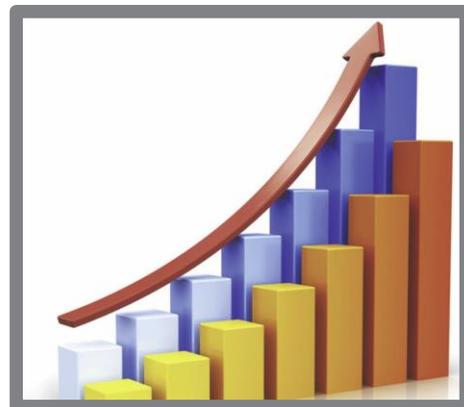
[Misurazione Proteine etichettate](#)

[Report Risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)

[Calcoli](#)



Misurazione dei campioni di proteine etichettati

Utilizzare l'applicazione Proteine ed Etichette per quantificare proteine e coloranti fluorescenti per coniugati di matrice proteica, nonché metalloproteine come l'emoglobina, utilizzando rapporti di lunghezza d'onda. Questa applicazione riporta la concentrazione proteica misurata a 280 nm, un rapporto di assorbanza A260/A280 e le concentrazioni e i valori di assorbanza misurati dei coloranti, consentendo il rilevamento di concentrazioni di colorante a partire da 0,2 picomole per microlitro. Queste informazioni sono utili ai fini della valutazione della coniugazione proteina/colorante (grado di etichettatura) per l'uso in applicazioni a valle.

Misurazione dei campioni di proteine etichettati

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione di proteina etichettato

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi selezionare **Proteine ed Etichette**.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione di Proteine ed Etichette

2. Specificare il [tipo di campione](#) e il [tipo o i tipi di coloranti](#) utilizzati.

Suggerimento: selezionare un colorante dall'elenco predefinito o aggiungere un colorante personalizzato utilizzando l' [Editor Colorante/Cromoforo](#).

3. Pipettare 1–2 μL di soluzione di blanking sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Toccare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.

Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.

6. Pipettare 2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.

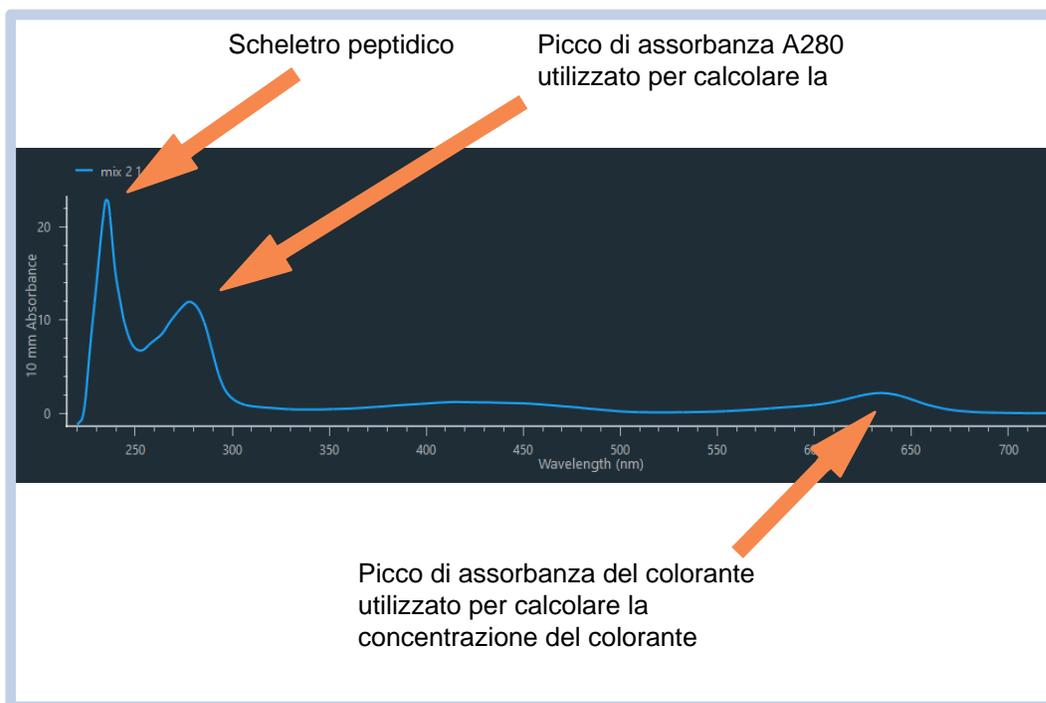
7. Iniziare la misurazione del campione:

- Se [Auto-Measure](#) è attivata, abbassare il braccio
- se [Auto-Measure](#) è disattivata, abbassare il braccio e toccare **Misura**

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).

8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**.

9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Argomenti correlati

- Procedure ottimali per la misurazione delle proteine
- Misurare un campione micro-volumetrico
- Preparare campioni e blank
- Operazioni di base dello strumento

Risultati riportati di Proteine ed Etichette

Schermata di misurazione Proteine ed Etichette

Per ciascun campione misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza e un riepilogo dei risultati. Di seguito si riporta un esempio della schermata di misurazione:

Applicazione

Visualizzazione dei dati della cronologia

Carica file ID campione

Campioni visualizzati in area del grafico

Esegui blanking

Impostazioni Proteine ed Etichette

Misura campione

Termina esperimento.

Spettro UV

10nm Absorbance

Wavelength (nm)

Correzione dell'analisi

Menù delle opzioni della tabella; cliccare per selezionare le colonne da inserire nel report

Cliccare sulla riga per selezionare il campione e aggiornare lo spettro.

Correzione Colorante

Nome campione; selezionare per modificare

Concentrazione proteica

Concentrazioni di colorante

Location	Sample	mg/mL	A280	A260/A280	Dye1	Dye1 Concentration
A1	Sample 1	5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL
B1	Sample 2	5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL
C1	Sample 3	5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL
D1		5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL
E1		5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL
F1		5.986	6.47	1.74	Cy5	25.073pmol/μL

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione di Proteine ed Etichette

Nota

- Viene eseguita una correzione del valore al basale a 340 nm (il valore di assorbanza a 340 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Valori riportati di Proteine ed Etichette

La schermata iniziale che appare dopo ogni misurazione (consultare l'immagine precedente) mostra un riepilogo dei valori riportati. Per visualizzare tutti i valori riportati, tenere premuta la riga del campione. Di seguito si riporta un esempio:

Valori riportati per l'applicazione Proteine ed Etichette

- [nome del campione](#)
- Data di creazione
- [Proteine](#)
- [A280](#)
- [Tipo di campione](#)
- [Colorante 1/Colorante 2](#)
- [Correzione Colorante](#)
- [Correzione dell'analisi](#)

Argomenti correlati

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli per Proteine ed Etichette](#)

Impostazioni per le misurazioni di Proteine ed Etichette

Per visualizzare le impostazioni di Proteine ed Etichette, dall'apposita schermata di misurazione, selezionare



Impostazioni Proteine ed Etichette.

Impostazioni	Opzioni disponibili	Coefficiente di est. di massa	Descrizione
Tipo di campione ^a	1 Abs = 1 mg/mL BSA	generale	Seleziona il tipo di campione per una descrizione dettagliata di ciascuna impostazione disponibile.
	BSA	6,7	
	Lisozima IgG	13,7	Ciascun tipo di campione applica un coefficiente di estinzione univoco ai calcoli delle proteine. Se il coefficiente di estinzione del campione è noto,
	Altre proteine (ε+ MW)	26,4	scegliere il ε+ MW (molare) o ε1% (massa) (massa) e inserire il valore. In caso contrario, calcolare il coefficiente di estinzione o selezionare l'opzione che meglio si adatta alla soluzione campione. Se è necessaria solo una stima approssimativa della concentrazione di proteine e il coefficiente di estinzione del campione non è noto, selezionare l'opzione 1 Abs=1 mg/mL tipo di campione.
	Altre proteine (ε1%) Riferimento	coefficiente di estinzione molare/peso molecolare inserito dall'utente coefficiente di estinzione di massa inserito dall'utente	
Correzione dell'analisi ^b	On o Off	N/D	Suggerimento: idealmente, il coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione della proteina in studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone. Corregge la misurazione dell'assorbanza del campione per qualsiasi discrepanza causata da particelle di dispersione della luce sottraendo il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione dell'analisi specificata dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda dell'analisi eseguita. Il valore corretto viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione.
	Inserire la lunghezza d'onda della correzione dell'analisi in nm o utilizzare il valore predefinito (340 nm)		Suggerimento: se il campione presenta una modifica che assorbe la luce a 340 nm, selezionare una lunghezza d'onda di correzione diversa o disattivare la funzione Correzione analisi.
Colorante 1/Colorante 2 Tipo ^c	Cy3, 5, 3,5, o 5,5, Fluoro-Alexa 546 555, 594, 647 o 660	Consultare EditorColorante/Cromoforo per valori specifici per ciascun colorante	Selezionare il colorante predefinito utilizzato per etichettare il materiale campione oppure il colorante aggiunto utilizzando Editor Colorante/Cromoforo.
Unità Colorante 1/Colorante 2	picomoli/microlitri (pmol/μL), micromoli (μM) o millimoli (mM)	non applicabile concentrazioni di colorante.	Selezionare l'unità per la generazione del report sulle

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione di Proteine ed Etichette

Impostazioni	Opzioni disponibili	Coefficiente di est. di massa	Descrizione
Correzione Colorante	On o off		Corregge le misurazioni dell'assorbanza del colorante per qualsiasi discrepanza causata da particelle di dispersione della luce sottraendo il valore di assorbanza di un valore al basale inclinato da 400 nm a 850 nm a partire dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di analisi del colorante.

^a Per aggiungere o modificare una proteina personalizzata, utilizzare l'[Editor proteine](#).

^b La correzione dell'analisi influisce sul calcolo solo per la concentrazione di proteine.

^c Per aggiungere un colorante personalizzato o modificare l'elenco dei coloranti disponibili, utilizzare l'[Editor Colorante/Cromoforo](#).

^d La correzione inclinata del colorante inclinato influisce sui calcoli solo per la concentrazione del colorante.

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)
- [Editor proteine](#)
- [Editor Colorante/Cromoforo](#)

Limiti di rilevamento per le misurazioni di Proteine ed Etichette

I limiti di rilevamento e le specifiche di riproducibilità per le proteine BSA purificate e i coloranti predefiniti nel software sono forniti [qui](#). Il limite inferiore di rilevamento BSA e i valori di riproducibilità si applicano a qualsiasi tipo di campione proteico. I limiti superiori di rilevamento dipendono dal limite [superiore di assorbanza](#) dello strumento e dal coefficiente di estinzione del campione.

Per calcolare i limiti superiori di rilevamento per altri tipi di campioni proteici (non BSA)

Per calcolare i limiti superiori di rilevazione in mg/mL per le proteine, utilizzare la seguente equazione: (limite superiore di assorbanza dello strumento / coefficienti di estinzione di massa del campione) * 10

Ad esempio, se il coefficiente di estinzione di massa del campione a 280 nm è 6,7 per una soluzione all'1% (10 mg/mL), l'equazione è simile alla seguente:

$$(200 / 6,7) * 10 = 298,5 \text{ (o } \sim 300)$$

Argomenti correlati

- [Limiti di rilevamento per tutte le applicazioni](#)

Calcoli per l'applicazione Misurazioni Proteine ed Etichette

Come con le altre applicazioni di misurazione delle proteine, Proteine ed Etichette usa l'[equazione](#) di Beer-Lambert per correlare l'assorbanza con la concentrazione basata sul coefficiente e sulla lunghezza del percorso dell'estinzione del campione.

Questa applicazione offre sei opzioni (mostrate a destra) per selezionare un coefficiente di estinzione appropriato per ciascun campione misurato, da utilizzare in combinazione con la legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione.

Se il coefficiente di estinzione del campione è noto, scegliere l'opzione ϵ + MW (molare) o 1% (massa) e inserire il valore. In caso contrario, calcolare il coefficiente di estinzione o scegliere l'opzione che meglio si adatta alla soluzione campione.

Suggerimento: idealmente, il coefficiente di estinzione dovrebbe essere determinato empiricamente utilizzando una soluzione della proteina in studio a una concentrazione nota utilizzando lo stesso tampone.

Le concentrazioni proteiche calcolate si basano sul valore di assorbanza a 280 nm, sul coefficiente di estinzione selezionato (o inserito) e sulla lunghezza del percorso del campione. È possibile applicare una correzione del valore al basale a punto singolo (o correzione dell'analisi).

La concentrazione è riportata in unità di massa. Su Internet sono disponibili i calcolatori per convertire la concentrazione da unità di massa a unità molari in base alla sequenza di campionamento.

Opzioni disponibili per il coefficiente di estinzione

- **1 Abs = 1 mg/mL**, dove il tipo di campione e/o il coefficiente est. è sconosciuto (produce una stima approssimativa della concentrazione proteica)
- **BSA** (Albumina sierica bovina, 6,7 L/gm-cm)
- **IgG** (qualsiasi anticorpo di mammiferi, 13,7 L/gm-cm)
- **Lisozima** (lisozima di albume d'uovo, 26,4 L/gm-cm)
- **Altre proteine** (ϵ + MW), coefficiente est. molare specificato dall'utente
- **Altre proteine** (ϵ 1%), coefficiente est. di massa specificato dall'utente

Nota: vedere [Tipo di campione](#) per i dettagli.

Valori misurati

Assorbanza A280

Nota: il valore di assorbanza a 850 nm viene sottratto da tutte le lunghezze d'onda nello spettro. Di conseguenza, l'assorbanza a 850 nm è pari a zero negli spettri visualizzati. Inoltre, per

Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza delle proteine sono misurati a 280 nm utilizzando lo spettro normalizzato corretto e normalizzato in base all'analisi. Se le voci [Correzione analisi](#) e [Correzione colorante](#) non sono selezionate, questo è il valore A280 riportato, nonché il valore utilizzato per calcolare la concentrazione di proteine.
- Selezionando [Correzione dell'Analisi](#), il valore di assorbanza normalizzato e corretto in base all'analisi a 280 nm viene riportato e utilizzato per calcolare la concentrazione proteica.
- Se si utilizza un Colorante, il valore di assorbanza corretto in base all'[analisi](#) e in base al colorante a 280 nm viene riportato e utilizzato per calcolare la concentrazione proteica.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione di Proteine ed Etichette

Le concentrazioni di colorante sono calcolate in base al valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di analisi del colorante, al coefficiente di estinzione del colorante e alla lunghezza del percorso del campione. Si può anche utilizzare una correzione del colorante in pendenza.

Assorbanza del colorante

- I valori di assorbanza del colorante sono misurati a specifiche lunghezze d'onda. Vedere [Editor Colorante/cromoforo](#) per le lunghezze d'onda di analisi utilizzate.
- Se si seleziona la correzione del colorante in pendenza, verrà tracciata una linea di base lineare tra 400 nm e 850 nm e, per ciascun colorante, il valore di assorbanza della linea di base in pendenza verrà sottratto dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di analisi di ciascun colorante. I valori di assorbanza del colorante corretti al basale sono riportati e utilizzati per calcolare le concentrazioni di colorante.

Correzione del colorante

- I coloranti predefiniti hanno valori di correzione noti per A260 e A280. Vedere [Editor Colorante/Cromoforo](#) per i valori di correzione utilizzati.
- La correzione del colorante A280 viene sottratta dal [valore di assorbanza A280](#) utilizzato per calcolare la concentrazione di proteine.

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

Valori riportati

- **Concentrazione proteica.** Riportato in unità selezionata (mg/mL o µg/mL). I calcoli si basano sull'Equazione di Beer-Lambert utilizzando il valore di assorbanza proteica corretto.
- **Concentrazione colorante 1/colorante 2.** Riportato in pmol/µL. I calcoli si basano sull'equazione della legge di Beer utilizzando i valori di assorbanza del colorante corretti per la linea di base (in pendenza).

Argomenti correlati

- [Equazione di Beer-Lambert](#)
- [Calcoli Protein A280](#)

Misurazione Protein BCA

Misura la concentrazione proteica totale di campioni di proteine non purificati utilizzando un reagente colorimetrico di rilevamento dell'acido bicianconico.

[Misurazione proteine totali](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)



Misurazione della concentrazione totale di proteine

Il saggio Protein BCA utilizza acido bicianconico come reagente di rilevamento colorimetrico per determinare la concentrazione proteica totale in campioni di proteine non purificati. Questa applicazione è utile per misurare soluzioni proteiche diluite o le proteine in presenza di componenti che presentano un'assorbanza significativa tra 200 nm e 280 nm, il che esclude misurazioni dirette delle proteine a 280 nm o 205 nm. Questa applicazione misura l'assorbanza a 562 nm e utilizza una curva standard per calcolare la concentrazione di proteine. Viene applicata una correzione del valore al basale a punto singolo.

Teoria del saggio Protein BCA

Il saggio Protein BCA utilizza acido bicianconico (BCA) come reagente di rilevamento per Cu^{+1} , che si forma quando Cu^{+2} viene ridotto da alcune proteine in un ambiente alcalino. Un prodotto di reazione viola è formato dalla chelazione di due molecole di BCA con uno ione rameoso (Cu^{+1}). Il chelato di Cu-BCA risultante che si forma in presenza di proteine viene misurato a 562 nm e corretto al basale utilizzando il valore di assorbanza a 750 nm. I kit preformulati di reagente BCA e CuSO_4 sono disponibili presso il produttore o presso un distributore locale.

Kit e protocolli per il saggio delle proteine

Si prega di fare riferimento al sito web NanoDrop per kit e protocolli aggiornati per gli strumenti NanoDropEight. Seguire le raccomandazioni del produttore del kit di analisi per tutti gli standard e i campioni (sconosciuti). Assicurarsi che ciascuno sia sottoposto alla stessa tempistica e temperatura per tutta la durata del saggio.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein BCA

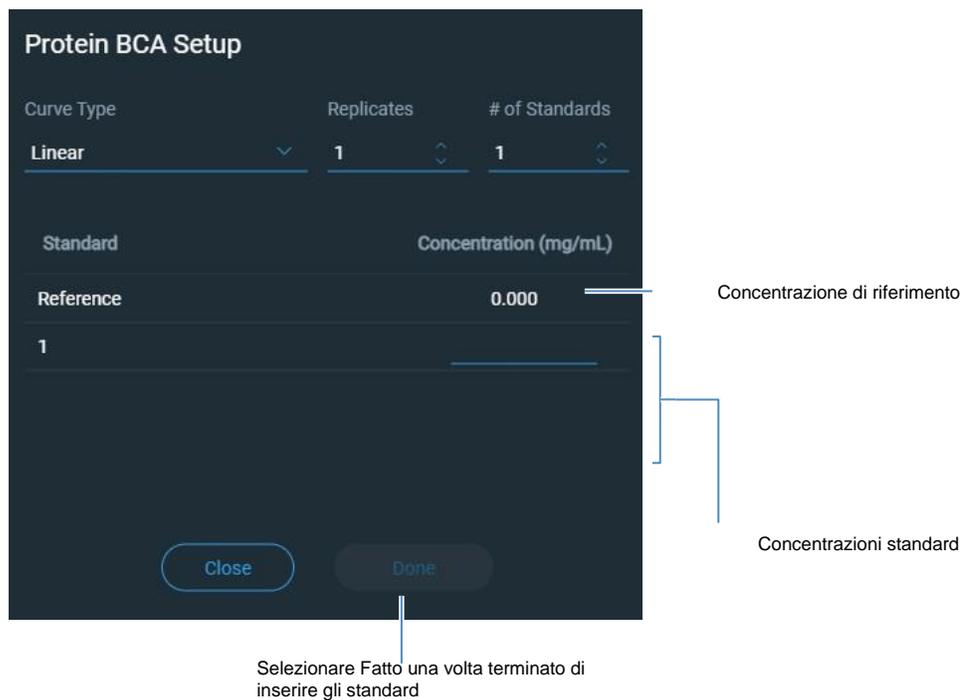
Gli standard di proteine per la generazione di una curva standard possono inoltre essere forniti dal produttore del kit. Poiché i piedistalli NanoDropEight possono misurare concentrazioni proteiche più elevate rispetto agli spettrofotometri tradizionali a cuvette, potrebbe essere necessario fornire i propri standard proteici a concentrazioni più elevate rispetto a quelle fornite dal produttore. Ad esempio, possono essere richiesti standard aggiuntivi per garantire che la curva standard copra l'intervallo dinamico del saggio e l'intervallo previsto dei campioni sconosciuti.

Lavorare con curvestandard

Per l'analisi colorimetrica delle proteine è necessaria una curva standard.

- Ogni esperimento richiede una curva standard. È possibile eseguire una nuova curva standard, o importarne una da un esperimento eseguito in precedenza.
- Per importare una curva Standard da un esperimento precedente, selezionare l'icona Carica standard, selezionare uno standard e cliccare su Carica. 
- Ripetere la procedura per preparare campioni standard e sconosciuti. Consultare le linee guida e le raccomandazioni del produttore del kit.
 - **Tutte le soluzioni di riferimento e standard** devono coincidere con il tampone utilizzato per risospendere i campioni oltre allo stesso volume di reagente aggiunto ai campioni.
 - **Il primo standard** costituisce una misura di riferimento. La soluzione di riferimento non deve contenere nessuno degli analiti di interesse. (La misura di riferimento non coincide con una misurazione blank Questa applicazione richiede entrambe.)
 - **L'intervallo di concentrazione degli standard** deve coprire l'intervallo dinamico del saggio e l'intervallo previsto dei campioni sconosciuti. Le concentrazioni dell'analita campione non vengono estrapolate oltre la concentrazione dello standard più elevato.

- Utilizzare le impostazioni dell'applicazione per inserire i valori di concentrazione per gli standard e per specificare la modalità di misurazione degli standard e i campioni (numero di replicati, ecc.).



- A seconda dell'impostazione del **tipo di curva**, è possibile generare una curva standard utilizzando due o più standard.
- Il software **richiede una misurazione di riferimento** e ammette **fino a 7 standard**.
- **I valori di concentrazione per gli standard** possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti; tuttavia, le procedure ottimali impongono che gli standard siano misurati dalla concentrazione più bassa a quella più alta dello stock di analita standard.
- Per tutti i saggi colorimetrici eccetto Protein Pierce 660, eseguire un blanking **dello strumento** con DI_{H2O}(acqua deionizzata). Per Protein Pierce 660, eseguire un blanking con la soluzione di riferimento.
- **Misurare il riferimento e tutti gli standard** prima di iniziare ad analizzare i campioni. (Una volta misurato il primo campione, non sono consentite ulteriori modifiche alla curva standard.)

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

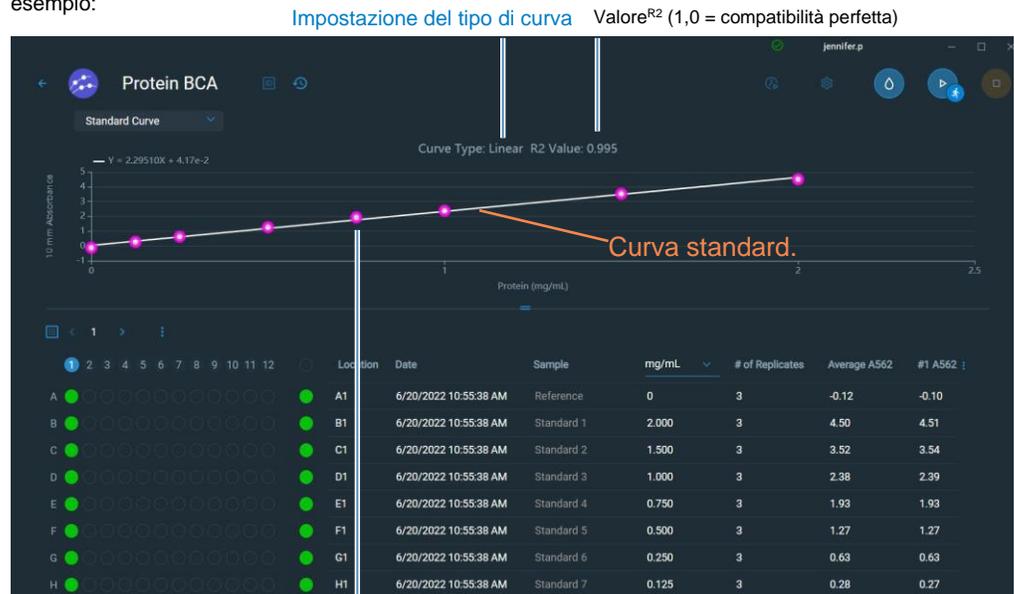
Misurazione Protein BCA

Durante la misurazione degli standard, viene visualizzata una schermata di misurazione, simile a quelle relative ai campioni.

Selezionare **Curva standard** per visualizzare la curva standard creata.



Di seguito si riporta un esempio:



I cerchi rosa indicano i punti di dati per gli standard

Il valore^{R2} indica il grado con cui la curva standard si adatta ai punti di dati standard (1,0 è una misura perfetta; tutti i punti si trovano esattamente sulla curva).

Gli standard sono elencati nella metà inferiore dello schermo, nella tabella dei dati.

	Location	Date	Sample	mg/mL	# of Replicates	Average A562	#1 A562
A	A1	6/20/2022 10:55:38 AM	Reference	0	3	-0.12	-0.10
B	B1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 1	2.000	3	4.50	4.51
C	C1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 2	1.500	3	3.52	3.54
D	D1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 3	1.000	3	2.38	2.39
E	E1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 4	0.750	3	1.93	1.93
F	F1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 5	0.500	3	1.27	1.27
G	G1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 6	0.250	3	0.63	0.63
H	H1	6/20/2022 10:55:38 AM	Standard 7	0.125	3	0.28	0.27

Una volta misurato il numero minimo di standard per il tipo di curva selezionato, viene visualizzato un messaggio simile al seguente:



Standard di rimisurazione : selezionare per rimisurare qualsiasi standard misurato. Cliccare con il pulsante destro del mouse sugli standard esistenti e selezionare **Rimisurazione**.

Location	Date	Sample	mg/mL	# of R
A1	6/17/2022 12:43:50 PM	Reference	0	2
B1	6/17/2022 12:43:50 PM	Standard 1	0.235	2
C1	6/17/2022 12:43:50 PM	Standard 2	Remeasure	2

Carica altri standard: ritorna alla schermata delle impostazioni dove è possibile aggiungere o modificare il valore di concentrazione per qualsiasi standard e quindi misurarlo.

Carica file ID campione: consente di selezionare le informazioni sull'ID campione da un file ID campione importato.

Proseguì alla misurazione: continua alla schermata di misurazione del campione, successivamente, gli standard non possono più essere modificati.

- È possibile aggiungere, modificare o eliminare uno standard in qualsiasi momento precedentemente la prima misurazione del campione.

Aggiungi standard:

- dalla schermata di misurazione degli standard, selezionare **Impostazioni BCA** 
- Incrementare il **Nr. di standard mediante** il menù a tendina e inserire il valore di concentrazione per il nuovo standard
- selezionare **Fatto**

Modifica standard:

- dalla schermata di misurazione degli standard, selezionare  **Impostazioni BCA**

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein BCA

- selezionare il campo Concentrazione e modificare il valore di concentrazione
- Cliccare su **Fatto**

Elimina standard:

- dalla tabella dei dati degli standard, cliccare con il pulsante destro del mouse sullo standard e selezionare **Elimina**.

Lo standard non viene più visualizzato nella tabella sullo schermo di misurazione, analogamente, il suo valore di concentrazione non viene più visualizzato sulla schermata delle impostazioni.

Nota È possibile utilizzare questo metodo per eliminare la misura di riferimento; tuttavia, è necessario misurare un nuovo riferimento subito dopo.

- Dopo aver misurato il numero minimo di standard per il tipo di curva selezionato, il messaggio "Curva non valida" cambia in "Curva valida". (Ciò si verifica anche quando sono stati definiti standard aggiuntivi ma non ancora misurati). Nel caso in cui il messaggio "Curva non valida" resti invariato dopo aver misurato tutti gli standard inseriti, provare:
 - a selezionare un tipo di curva diverso
 - a eseguire nuovamente la misurazione degli standard utilizzando il materiale standard corretto

Indicatore di curva valido: ciò indica esclusivamente che il numero minimo richiesto di punti è stato stabilito per il tipo di curva selezionato. Non convalida l'integrità della curva. Ad esempio, possono essere richiesti standard aggiuntivi per coprire l'intervallo di concentrazione del saggio previsto.

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein BCA

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein BCA

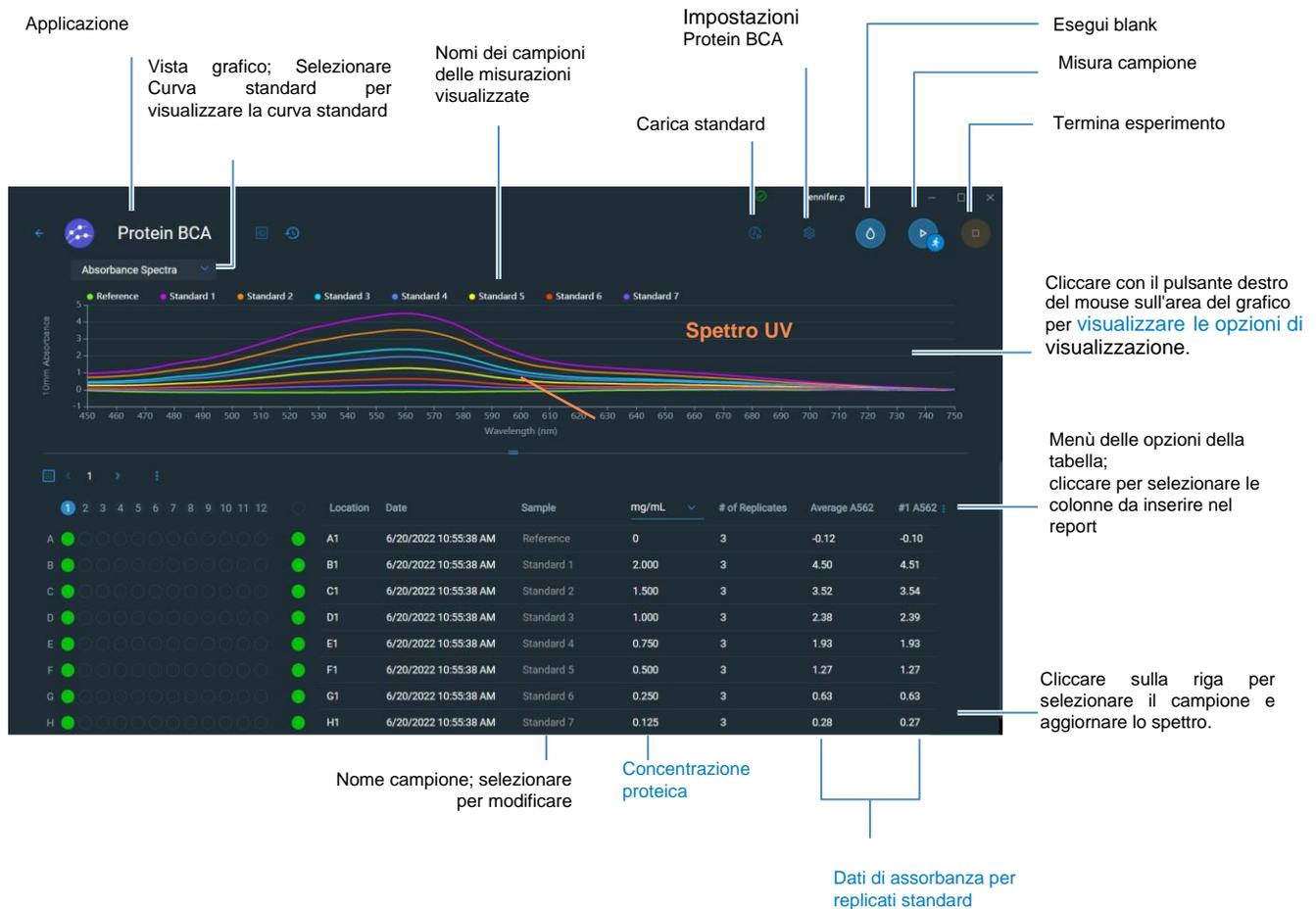
1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi selezionare **Protein BCA**.
2. Specificare un [tipo di curva](#) e il numero di [replicati per ogni standard](#), quindi inserire la [concentrazione di ciascuno standard](#).
Suggerimento: per questo saggio, si consiglia di impostare il **tipo di curva** su "Lineare".
3. Misurare un blank:
 - pipettare 2 µL DI H₂O sui piedistalli inferiori e sul braccio inferiore.
 - selezionare **Blanke** attendere il completamento della misurazione.
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
4. Standard di riferimento della misurazione:
 - pipettare 2 µL di soluzione di riferimento sul piedistallo. La soluzione di riferimento non deve contenere alcuno stock di proteine standard, consultare [Utilizzo delle curve](#) standard per i dettagli.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.
5. Misurare gli standard rimanenti:
 - pipettare 2 µL standard 1 sul piedistallo.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.
 - ripetere i passaggi secondari di cui sopra per ciascuno standard aggiuntivo (una volta misurato il numero specificato di standard e replicati, comparirà un messaggio con la richiesta di caricamento di altri standard o di avvio della misurazione dei campioni)
 - se gli standard di misurazione sono stati completati, selezionare **Carica file ID campione** o **Prosegui con le misurazioni** (selezionare **Curva standard** dal menù a tendina della schermata per visualizzare la curva standard).
6. Misurazione dei campioni:
 - pipettare 2 µL di campione 1 sul piedistallo.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
7. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**. 
8. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine
 Misurazione Protein BCA

Report risultati Protein BCA

Schermata di misurazione Protein BCA

Per ciascun campione e standard misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza visibile e un riepilogo dei risultati. Selezionare "Curva standard" per visualizzare la curva Standard. Di seguito si riporta un esempio della schermata di misurazione:



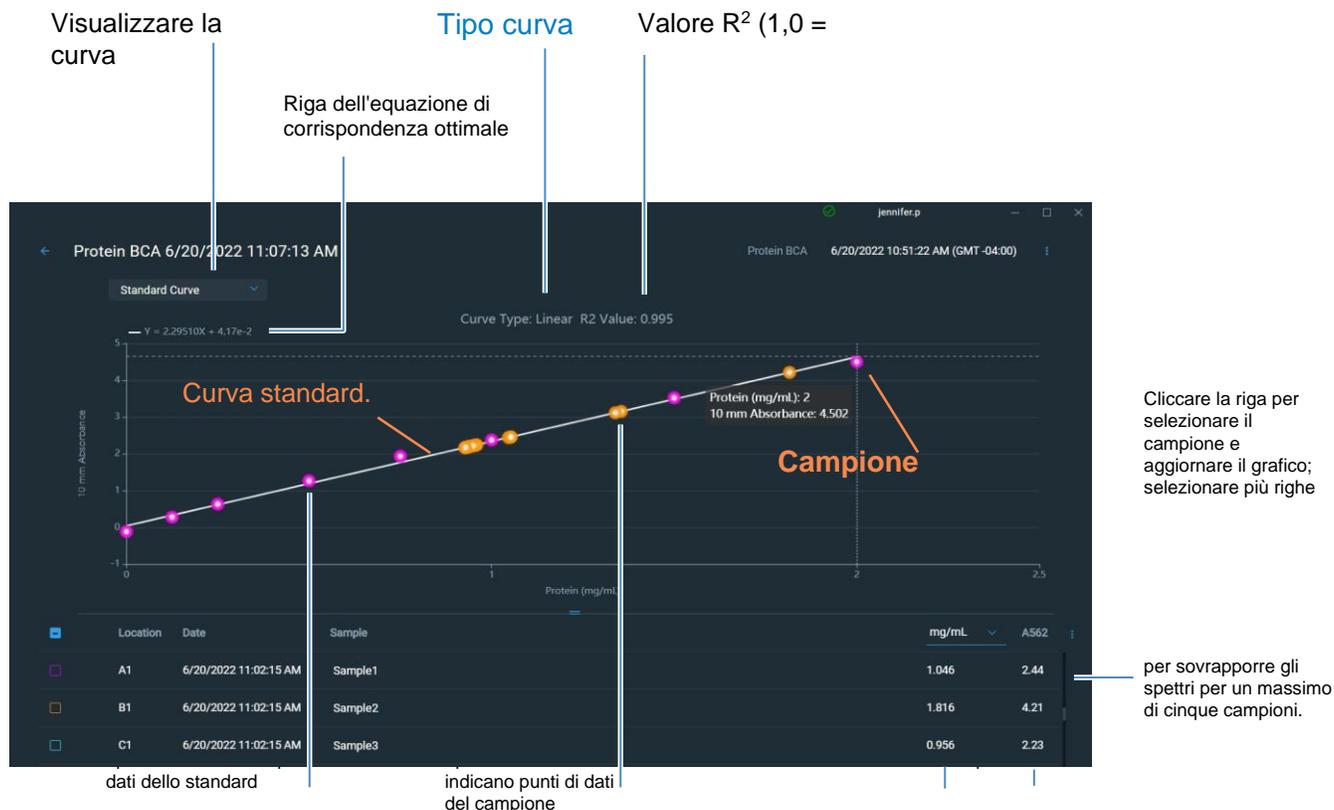
Nota

- Una correzione del valore al basale viene eseguita a 750 nm (il valore di assorbanza a 750 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Schermata curva standard dell'applicazione Protein BCA

La schermata della curva standard mostra graficamente la relazione tra gli standard misurati, la curva standard calcolata e l'assorbanza misurata, nonché la concentrazione calcolata per un campione selezionato. Una linea orizzontale collega il valore di assorbanza del campione sull'asse Y alla curva standard. Una linea verticale collega quel punto al valore di concentrazione del campione sull'asse X.

Il valore R^2 indica il grado con cui la curva standard si adatta ai punti di dati standard (1,0 è una misura perfetta; ossia, tutti i punti si trovano esattamente sulla curva).



Visualizzazione Curva standard

Assorbanza
a 562 nm

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein BCA

Report Valori Protein BCA

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

<input type="checkbox"/> Select All	
<input checked="" type="checkbox"/> Location	
<input checked="" type="checkbox"/> Date	Data/ora misurazione
<input checked="" type="checkbox"/> Sample Name	
<input checked="" type="checkbox"/> Concentration	Concentrazione proteica
<input checked="" type="checkbox"/> # of Replicates	Numero di replicati standard
<input type="checkbox"/> A562	Assorbanza a 562 nm
<input checked="" type="checkbox"/> Average A562	Assorbanza media a 562 nm per misurazioni standard del replicato
<input type="checkbox"/> Baseline Correction	Assorbanza correzione del valore al basale
<input checked="" type="checkbox"/> Equation	Equazione della curva standard Lunghezza
<input type="checkbox"/> Monitor Wavelength	d'onda aggiuntiva monitorata

Argomenti correlati

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli Protein A280](#)

Impostazioni per le misurazioni Protein BCA

Per visualizzare le impostazioni di Protein BCA, cliccare sull'**apposita** icona.



Nota È possibile modificare l'impostazione Tipo curva durante la misurazione degli standard modificando la casella di riepilogo nella parte superiore della schermata di misurazione dell'applicazione. È possibile modificare il valore di concentrazione per un dato standard dalla schermata di impostazione dell'applicazione.

Dopo la prima misurazione del campione, queste impostazioni non possono essere modificate.

Impostazione	Descrizione
Tipo di curva	<p>Consente di specificare il tipo di equazione utilizzata per creare una curva standard a partire da valori di concentrazione standard. Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none">– Lineare: disegna la retta lineare dei minimi quadrati attraverso tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Interpolazione: disegna una serie di linee rette per collegare tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Polinomio di 2° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 2° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno due standard)– Polinomio di 3° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 3° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno tre standard)
Replicati	<p>Inserire il numero di misurazioni del riferimento o dello stesso standard per cui viene calcolata la media per ottenere il valore di concentrazione associato.</p> <p>Nota: l'impostazione dei replicati non può essere modificata una volta effettuata la misurazione del primo standard.</p>
Standard	<p>Inserire il valore di concentrazione effettivo di ciascuno standard.</p> <p>Nota: i valori di concentrazione possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti.</p>

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misurazione Protein Bradford

Misura la concentrazione proteica totale di campioni di proteine non purificati utilizzando un reagente colorimetrico di rilevamento Coomassie Blue.

[Misurazione proteine totali](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)



Misurazione della concentrazione totale di proteine

Il saggio Protein Bradford della proteina utilizza il colorante Coomassie Blue come reagente di rilevamento colorimetrico per determinare la concentrazione proteica totale in campioni di proteine non purificati. Questa applicazione è utile per misurare soluzioni proteiche diluite che richiedono una minore sensibilità di rilevamento o le proteine in presenza di componenti che presentano un'assorbanza significativa tra 200 nm e 280 nm, il che esclude misurazioni dirette delle proteine a 280 nm o 205 nm. Questa applicazione misura l'assorbanza a 595 nm e utilizza una curva standard per calcolare la concentrazione di proteine. Per ulteriori informazioni, consultare [Utilizzo delle curve standard](#). Viene applicata una correzione del valore al basale a punto singolo.

Teoria del saggio Protein Bradford

Il saggio Protein Bradford utilizza lo spostamento di assorbanza indotto da proteine del colorante Coomassie Blue per determinare la concentrazione proteica totale. Il complesso proteina-colorante legato viene misurato a 595 nm e corretto al basale utilizzando il valore di assorbanza a 750 nm. Kit preformulati di miscela di reagenti stabilizzati contenente colorante Coomassie Blue, alcol e tensioattivo sono disponibili presso il produttore o presso un distributore locale.

Per massimizzare l'affidabilità con il saggio Protein Bradford:

- **Lavorare rapidamente e non lasciare che gli standard o i campioni preparati restino in sede più a lungo del necessario.** Il colorante Coomassie e gli aggregati di proteina colorante Coomassie possono formare particelle con un tempo di sviluppo crescente, con conseguenti fluttuazioni significative nelle letture dell'assorbanza.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Bradford

- **Misurare gli standard e i campioni tre volte** utilizzando una nuova aliquota per ciascuna misurazione. Per le misurazioni del piedistallo, il segnale totale dell'analita (colorante proteico) a 595 nm è limitato a ~0-0,150A a causa della lunghezza della relativa corsa pari a 1,0 mm, della concentrazione del colorante Coomassie e del pH acido.

Kit e protocolli per il saggio delle proteine

Si prega di fare riferimento al sito web NanoDrop per kit e protocolli aggiornati per gli strumenti NanoDropEight. Seguire le raccomandazioni del produttore del kit di analisi per tutti gli standard e i campioni (sconosciuti). Assicurarsi che ciascuno sia sottoposto alla stessa tempistica e temperatura per tutta la durata del saggio.

Gli standard di proteine per la generazione di una curva standard possono inoltre essere forniti dal produttore del kit. Poiché i piedistalli NanoDropEight possono misurare concentrazioni proteiche più elevate rispetto agli spettrofotometri tradizionali a cuvette, potrebbe essere necessario fornire i propri standard proteici a concentrazioni più elevate rispetto a quelle fornite dal produttore. Ad esempio, possono essere richiesti standard aggiuntivi per garantire che la curva standard copra l'intervallo dinamico del saggio e l'intervallo previsto dei campioni sconosciuti.

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Bradford

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Bradford

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi selezionare **Protein Bradford**.
2. Specificare un [tipo di curva](#) e il numero di [replicati per ogni standard](#), quindi inserire la [concentrazione di ciascuno standard](#).

Suggerimento: per questo saggio, impostare il **tipo di curva** su "Polinomio di secondo grado" e **Replicati** a 3.

3. Misurare un blank:

- pipettare 2 µL DI H₂O sui piedistalli inferiori e sul braccio inferiore.
- selezionare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
- sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.

4. Standard di riferimento della misurazione:

- pipettare 2 µL di soluzione di riferimento sul piedistallo. La soluzione di riferimento non deve contenere alcuno stock di proteine standard, consultare [Utilizzodelle curve](#) standard per i dettagli.
- abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
- sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
- se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.

5. Misurare gli standard rimanenti:

- pipettare 2 µL standard 1 sul piedistallo.
- abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
- sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
- se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.
- ripetere i passaggi secondari di cui sopra per ciascuno standard aggiuntivo (una volta misurato il numero specificato di standard e replicati, comparirà un messaggio con la richiesta di caricamento di altri standard o di avvio della misurazione dei campioni)
- se gli standard di misurazione sono stati completati, selezionare **Carica file ID campione** o **Prosegui con le misurazioni** (selezionare **Curva standard** dal menù a tendina della schermata per visualizzare la curva standard).

6. Misurazione dei campioni:

- pipettare 2 µL di campione 1 sul piedistallo.
- abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
- sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
- se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione.

7. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**.



8. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

Argomenti correlati

- [Utilizzo delle curve standard](#)
- [Procedure ottimali per la misurazione delle proteine](#)

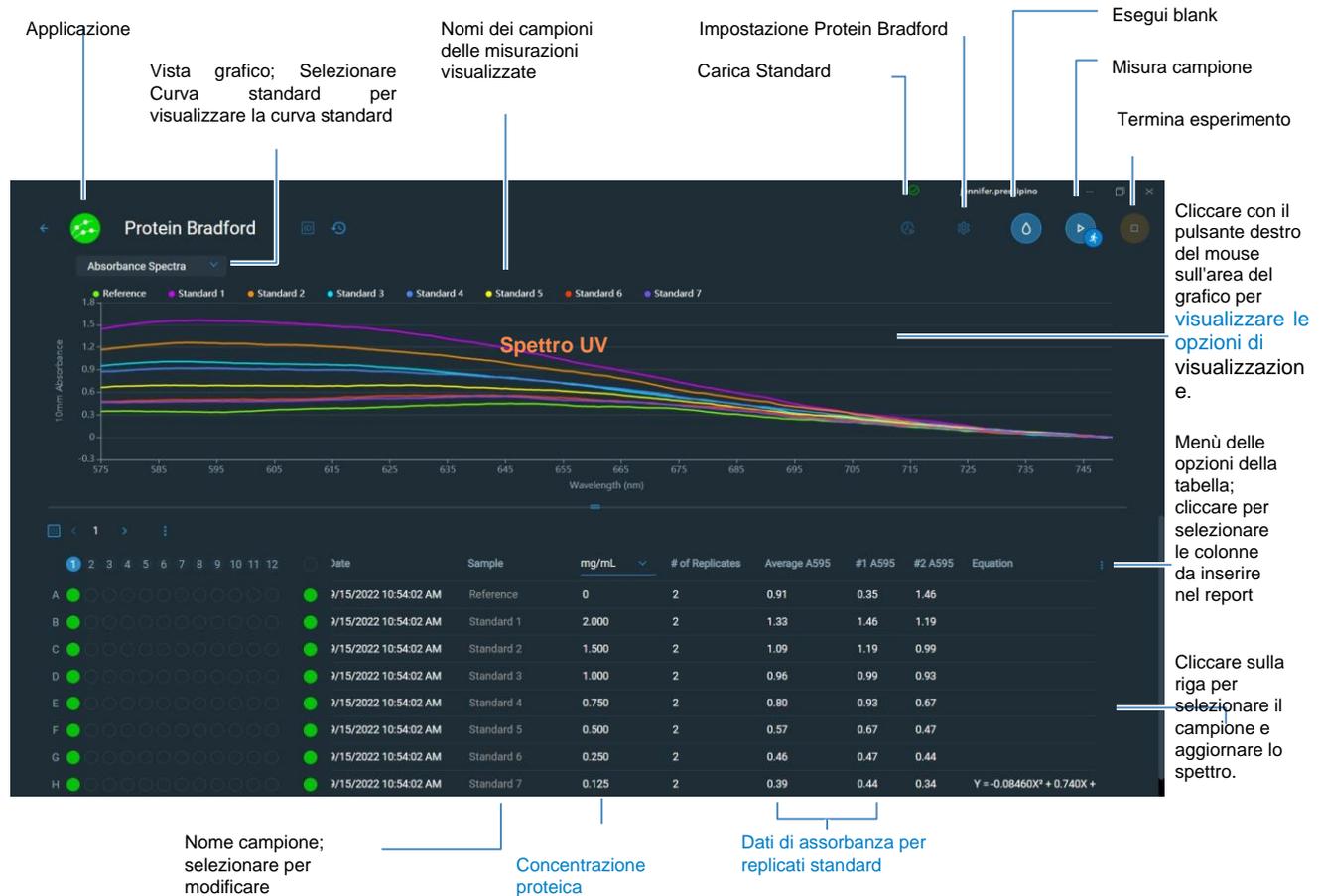
5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Bradford

Risultati riportati per la misurazione Protein Bradford

Schermata di misurazione Protein Bradford

Per ciascun campione e standard misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza visibile e un riepilogo dei risultati. Selezionare "Curva standard" per visualizzare la curva Standard. Di seguito si riporta un esempio della schermata di misurazione:



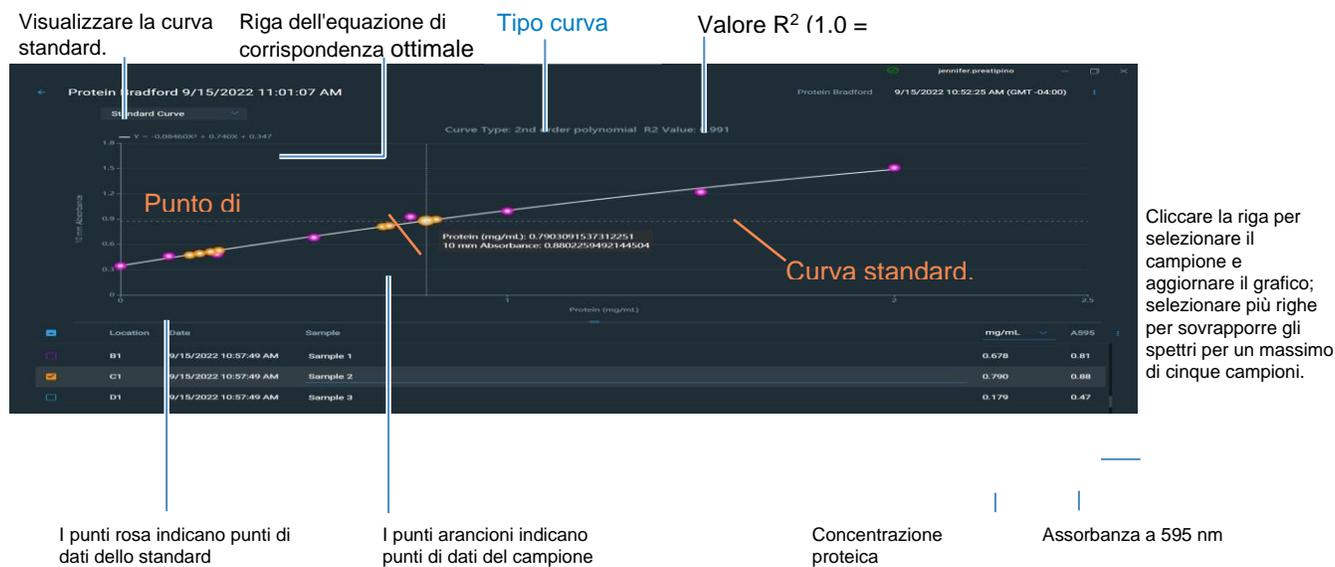
Nota

- Viene eseguita una correzione del valore al basale a 750 nm (il valore di assorbanza a 750 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Schermata curva standard Protein Bradford

La schermata della curva standard mostra graficamente la relazione tra gli standard misurati, la curva standard calcolata e l'assorbanza misurata, nonché la concentrazione calcolata per un campione selezionato. Una linea orizzontale collega il valore di assorbanza del campione sull'asse Y alla curva standard. Una linea verticale collega quel punto al valore di concentrazione del campione sull'asse X.

Il valore R^2 indica il grado con cui la curva standard si adatta ai punti di dati standard (1,0 è una misura perfetta; ossia, tutti i punti si trovano esattamente sulla curva).



Visualizzazione Curva standard

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Bradford

Valori riportati per la misurazione Protein Bradford

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

<input type="checkbox"/> Select All	
<input checked="" type="checkbox"/> Location	
<input checked="" type="checkbox"/> Date	Data/ora misurazione
<input checked="" type="checkbox"/> Sample Name	
<input checked="" type="checkbox"/> Concentration	Concentrazione proteica
<input checked="" type="checkbox"/> # of Replicates	Numero di replicati standard
<input type="checkbox"/> A595	Assorbanza a 595 nm
<input checked="" type="checkbox"/> Average A595	Assorbanza media a 595 nm per misurazioni standard dei replicati
<input type="checkbox"/> Baseline Correction	Assorbanza correzione del valore al basale
<input checked="" type="checkbox"/> Equation	Equazione della curva standard
<input type="checkbox"/> Monitor Wavelength	Lunghezza d'onda aggiuntiva monitorata

Argomenti correlati

- [Esempio di curva standard](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli Protein A280](#)

Impostazioni per le misurazioni Protein Bradford

Per visualizzare le impostazioni di Protein Bradford, cliccare su



Impostazioni Protein Bradford

Nota È possibile modificare l'impostazione Tipo curva durante la misurazione degli standard modificando la casella di riepilogo nella parte superiore della schermata di misurazione dell'applicazione. È possibile modificare il valore di concentrazione per un dato standard dalla schermata di impostazione dell'applicazione. Dopo la prima misurazione del campione, queste impostazioni non possono essere modificate.

Impostazione	Descrizione
Tipo di curva	<p>Consente di specificare il tipo di equazione utilizzata per creare una curva standard a partire da valori di concentrazione standard. Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none">– Lineare: disegna la retta lineare dei minimi quadrati attraverso tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Interpolazione: disegna una serie di linee rette per collegare tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Polinomio di 2° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 2° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno due standard)– Polinomio di 3° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 3° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno tre standard)
Replicati	<p>Inserire il numero di misurazioni del riferimento o dello stesso campione o standard per cui viene calcolata la media per ottenere il valore di concentrazione associato.</p> <p>Nota: l'impostazione dei replicati non può essere modificata una volta effettuata la misurazione del primo standard.</p>
Standard	<p>Inserire il valore di concentrazione effettivo di ciascuno standard.</p> <p>Nota: i valori di concentrazione possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti.</p>

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misurazione Protein Lowry

Misura la concentrazione proteica totale di campioni di proteine non purificati utilizzando un reagente colorimetrico di rilevamento di Folin-Ciocalteu

[Misurazione proteine totali](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)



Misurazione della concentrazione totale di proteine

Il saggio Protein Lowry utilizza un reagente colorimetrico di rilevamento di Folin-Ciocalteu per determinare la concentrazione proteica totale in campioni di proteine non purificate. Questa applicazione è un'alternativa alle altre applicazioni colorimetriche per la misurazione di soluzioni proteiche diluite o le proteine in presenza di componenti che presentano un'assorbanza significativa tra 200 nm e 280 nm. Questa applicazione misura l'assorbanza a 650 nm e utilizza una curva standard per calcolare la concentrazione di proteine. Per ulteriori informazioni, consultare [Utilizzo delle curve standard](#). Viene applicata una correzione del valore al basale a punto singolo.

Teoria del saggio Protein Lowry

Il saggio Protein Lowry comprende la reazione della proteina con il solfato rameico in soluzione alcalina, con conseguente formazione dei complessi della rame-proteina del tetradentato. Il reagente di Folin-Ciocalteu è efficacemente ridotto in proporzione al chelato complessi di rame. Il prodotto di reazione blu, solubile in acqua, viene misurato a 650 nm e corretto al basale utilizzando il valore di assorbanza a 405 nm. I kit preformati di reagente di Folin-Ciocalteu e CuSO_4 sono disponibili presso il produttore o presso un distributore locale.

Kit e protocolli per il saggio delle proteine

Si prega di fare riferimento al sito web NanoDrop per kit e protocolli aggiornati per gli strumenti NanoDropEight. Seguire le raccomandazioni del produttore del kit di analisi per tutti gli standard e i campioni (sconosciuti). Assicurarsi che ciascuno sia sottoposto alla stessa tempistica e temperatura per tutta la durata del saggio.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Lowry

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Lowry

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Lowry

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi selezionare **Protein Lowry**.
2. Specificare un [tipo di curva](#) e il numero di [replicati per ogni standard](#), quindi inserire la [concentrazione di ciascuno standard](#).
Suggerimento: per questo saggio, si consiglia di impostare il **tipo di curva** su "Polinomio di secondo grado".
3. Misurare un blank:
 - pipettare 2 µL DI H₂O sul piedistallo e sul braccio inferiore.
 - selezionare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
4. Standard di riferimento della misurazione:
 - pipettare 2 µL di soluzione di riferimento sul piedistallo. La soluzione di riferimento non deve contenere alcuno stock di proteine standard, consultare [Utilizzo delle curve](#) standard per i dettagli.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.
5. Misurare gli standard rimanenti:
 - pipettare 2 µL standard 1 sul piedistallo.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

- se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione con una nuova aliquota di campione.
- ripetere i passaggi secondari di cui sopra per ciascuno standard aggiuntivo (una volta misurato il numero specificato di standard e replicati, comparirà un messaggio con la richiesta di caricamento di altri standard o di avvio della misurazione dei campioni).
- se gli standard di misurazione sono stati completati, selezionare **Carica file ID campione** o **Prosegui con le misurazioni** (selezionare **Curva standard** dal menù a tendina della schermata per visualizzare la curva standard).

6. Misurazione dei campioni:

- pipettare 2 μ L di campione 1 sul piedistallo.
- abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
- sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
- se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione.

7. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**



8. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

Argomenti correlati

- [Utilizzo delle curve standard](#)
- [Procedure ottimali per la misurazione delle proteine](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Preparare campioni e blank](#)

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Lowry

Report risultati applicazione Protein Lowry

Schermata di misurazione Protein Lowry

Per ciascun campione e standard misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza visibile e un riepilogo dei risultati. Selezionare "Curva standard" per visualizzare la curva Standard. Di seguito si riporta un esempio della schermata di misurazione:



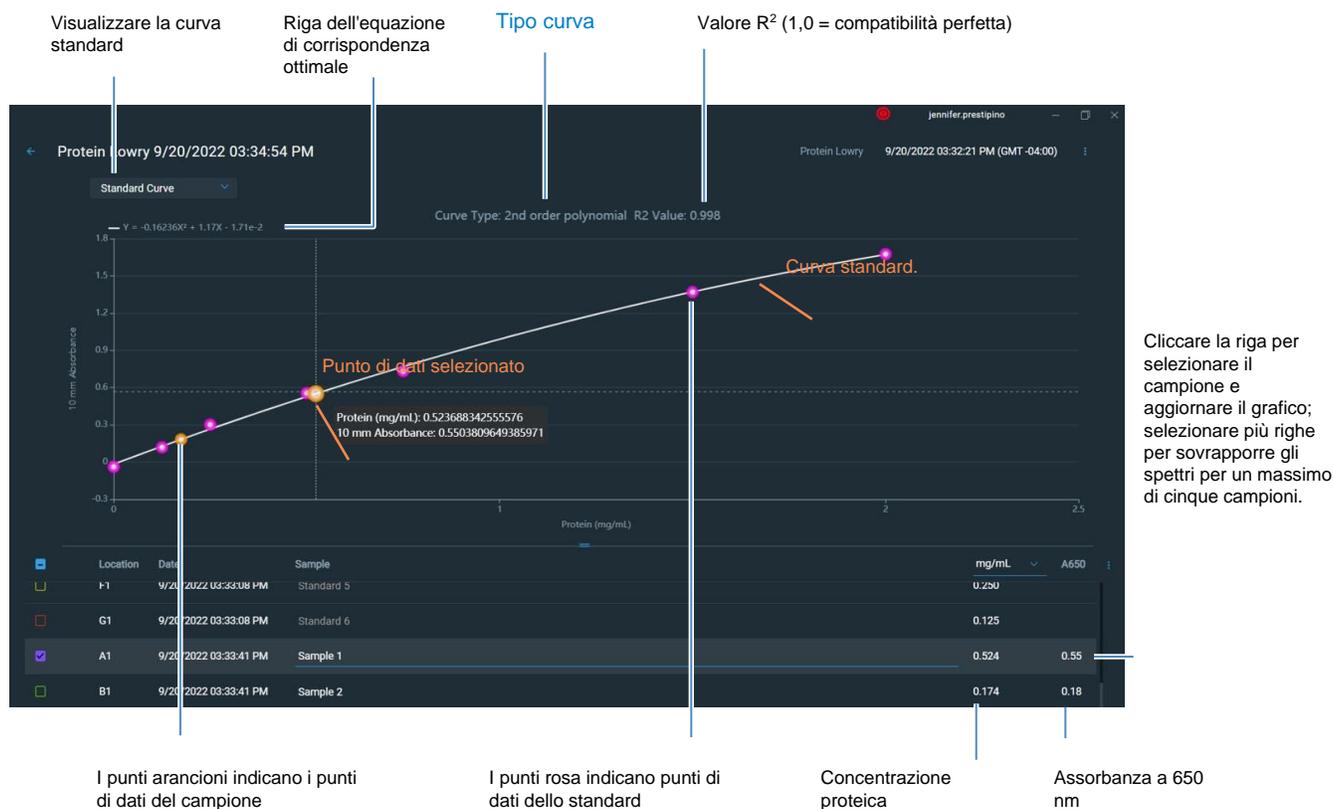
Nota

- Viene eseguita una correzione del valore al basale a 405 nm (il valore di assorbanza a 405 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Schermata curva standard dell'applicazione Protein Lowry

La schermata della curva standard mostra graficamente la relazione tra gli standard misurati, la curva standard calcolata e l'assorbanza misurata, nonché la concentrazione calcolata per un campione selezionato. Una linea orizzontale collega il valore di assorbanza del campione sull'asse Y alla curva standard. Una linea verticale collega quel punto al valore di concentrazione del campione sull'asse X.

Il valore R^2 indica il grado con cui la curva standard si adatta ai punti di dati standard (1,0 è una misura perfetta; ossia, tutti i punti si trovano esattamente sulla curva).



Visualizzazione Curva standard

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Lowry

Report valori di Protein Lowry

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

<input type="checkbox"/> Select All	
<input checked="" type="checkbox"/> Location	
<input checked="" type="checkbox"/> Date	Data/ora misurazione
<input checked="" type="checkbox"/> Sample Name	
<input checked="" type="checkbox"/> Concentration	Concentrazione proteica
<input checked="" type="checkbox"/> # of Replicates	Numero di replicati standard
<input type="checkbox"/> A650	Assorbanza a 650 nm
<input checked="" type="checkbox"/> Average A650	Assorbanza media a 650 nm per misurazioni standard del replicato
<input type="checkbox"/> Baseline Correction	Assorbanza correzione del valore al basale
<input checked="" type="checkbox"/> Equation	Equazione della curva standard
<input type="checkbox"/> Monitor Wavelength	Lunghezza d'onda aggiuntiva monitorata

Argomenti correlati

- [Esempio di curva standard](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Impostazioni per le misurazioni Protein Lowry

Per visualizzare le impostazioni di Protein Lowry, cliccare sull'icona



Impostazioni Protein Lowry.

Nota È possibile modificare l'impostazione Tipo curva durante la misurazione degli standard modificando la casella di riepilogo nella parte superiore della schermata di misurazione dell'applicazione. È possibile modificare il valore di concentrazione per un dato standard dalla schermata di impostazione dell'applicazione.

Dopo la prima misurazione del campione, queste impostazioni non possono essere modificate.

Impostazione	Descrizione
Tipo di curva	<p>Consente di specificare il tipo di equazione utilizzata per creare una curva standard a partire da valori di concentrazione standard. Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none">– Lineare: disegna la retta lineare dei minimi quadrati attraverso tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Interpolazione: disegna una serie di linee rette per collegare tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Polinomio di 2° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 2° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno due standard)– Polinomio di 3° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 3° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno tre standard)
Replicati	<p>Inserire il numero di misurazioni del riferimento o dello stesso campione o standard per cui viene calcolata la media per ottenere il valore di concentrazione associato.</p> <p>Nota: l'impostazione dei replicati non può essere modificata una volta effettuata la misurazione del primo standard.</p>
Standard	<p>Inserire il valore di concentrazione effettivo di ciascuno standard.</p> <p>Nota: i valori di concentrazione possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti.</p>

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

5 Applicazioni proteine

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misurazione Protein Pierce 660

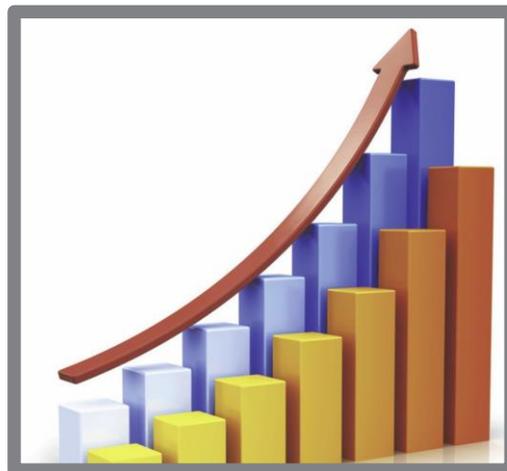
Misura la concentrazione proteica totale di campioni di proteine non purificati utilizzando un reagente colorimetrico di rilevamento proprietario.

[Misurazione proteine totali](#)

[Report risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di rilevamento](#)



Misurazione della concentrazione totale di proteine

Il saggio Protein Pierce 660 utilizza un materiale di legame proteico proprietario come reagente di rilevamento colorimetrico per determinare la concentrazione proteica totale in campioni proteici non purificati. Questa applicazione è adatta per soluzioni proteiche che contengono alte concentrazioni di detergenti, agenti riducenti e altri reagenti comunemente usati. L'applicazione Pierce 660 misura l'assorbanza a 660 nm e utilizza una curva standard per calcolare la concentrazione di proteine (vedere [Utilizzo delle curve standard](#) per ulteriori informazioni). Viene applicata una correzione del valore al basale a punto singolo.

Saggio Protein Pierce 660

Il saggio Protein Pierce 660 si basa sul legame di un complesso proprietario di colorante-metallo con le proteine in condizioni acide che provoca uno spostamento del massimo di assorbimento del colorante, che viene misurato a 660 nm. Il complesso colorante-metallo è bruno-rossastro e cambia in verde dopo il legame con le proteine. Il cambiamento di colore è prodotto dalla deprotonazione del colorante a basso pH facilitata dalle interazioni con gruppi di amminoacidi caricati positivamente nelle proteine. Il colorante interagisce principalmente con residui basici in proteine come istidina, arginina e lisina e, in misura minore, tirosina, triptofano e fenilalanina. Il prodotto di reazione viene misurato a 660 nm e corretto al basale utilizzando il valore di assorbanza a 750 nm.

Il colore prodotto nel saggio è stabile e aumenta in proporzione a un'ampia gamma di concentrazioni proteiche crescenti. È possibile aggiungere un reagente di compatibilità con detergente ionico opzionale (IDCR) al reagente del saggio per aumentare la compatibilità con elevate quantità di detergenti ionici, tra cui tampone campione Laemmli SDS con blu di bromofenolo. L'IDCR si dissolve completamente mediante miscelazione accurata e non ha alcun effetto sul saggio. I kit preformulati del materiale legante le proteine sono disponibili presso il produttore o presso un distributore locale. Per informazioni su IDCR, fare riferimento al produttore del kit.

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Pierce 660

Kit e protocolli per il saggio delle proteine

Si prega di fare riferimento al sito web NanoDrop per kit e protocolli aggiornati per gli strumenti NanoDropEight. Seguire le raccomandazioni del produttore del kit di analisi per tutti gli standard e i campioni (sconosciuti). Assicurarsi che ciascuno sia sottoposto alla stessa tempistica e temperatura per tutta la durata del saggio.

Gli standard di proteine per la generazione di una curva standard possono inoltre essere forniti dal produttore del kit. Poiché i piedistalli NanoDropEight possono misurare concentrazioni proteiche più elevate rispetto agli spettrofotometri tradizionali a cuvette, potrebbe essere necessario fornire i propri standard proteici a concentrazioni più elevate rispetto a quelle fornite dal produttore. Ad esempio, possono essere richiesti standard aggiuntivi per garantire che la curva standard copra l'intervallo dinamico del saggio e l'intervallo previsto dei campioni sconosciuti.

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Pierce 660

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare gli standard e i campioni dell'applicazione Protein Pierce 660

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Proteine**, quindi toccare **Protein Pierce 660**.
2. Specificare un [tipo di curvae](#) il numero di [replicati per ogni standard](#), quindi inserire la [concentrazione di ciascuno standard](#).

Suggerimento: per questo saggio, si consiglia di impostare il **tipo di curva** su "Lineare".

3. Misurare un blank:
 - Pipettare la soluzione di riferimento da 2 µL sul piedistallo e sul braccio inferiore, la soluzione di riferimento non deve contenere proteine standard; consultare [Utilizzo delle curve standard](#) per i dettagli.
 - selezionare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio,

- Standard di riferimento della misurazione:
 - pipettare 2 µL di soluzione di riferimento sul piedistallo. La soluzione di riferimento non deve contenere alcuno stock di proteine standard, consultare [Utilizzo delle curve standard](#) per i dettagli.
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione.
4. Misurare gli standard rimanenti:
- pipettare 2 µL standard 1 sul piedistallo,
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta,
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione.
 - ripetere i passaggi secondari di cui sopra per ciascuno standard aggiuntivo (una volta misurato il numero specificato di standard e replicati, comparirà un messaggio con la richiesta di caricamento di altri standard o di avvio della misurazione dei campioni)
 - se gli standard di misurazione sono stati completati, selezionare **Carica file ID campione** o **Prosegui con le misurazioni** (selezionare **Curva standard** dal menù a tendina della schermata per visualizzare la curva standard).
5. Misurazione dei campioni:
- pipettare 2 µL di campione 1 sul piedistallo,
 - abbassare il braccio per avviare la misurazione (o selezionare **Misura** se Auto-Measure è disattivata)
 - sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
 - se l'impostazione Replicati è maggiore di 1, ripetere la misurazione.
6. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento** 
7. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

Argomenti correlati

- [Utilizzo delle curve standard](#)
- [Procedure ottimali per la misurazione delle proteine](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

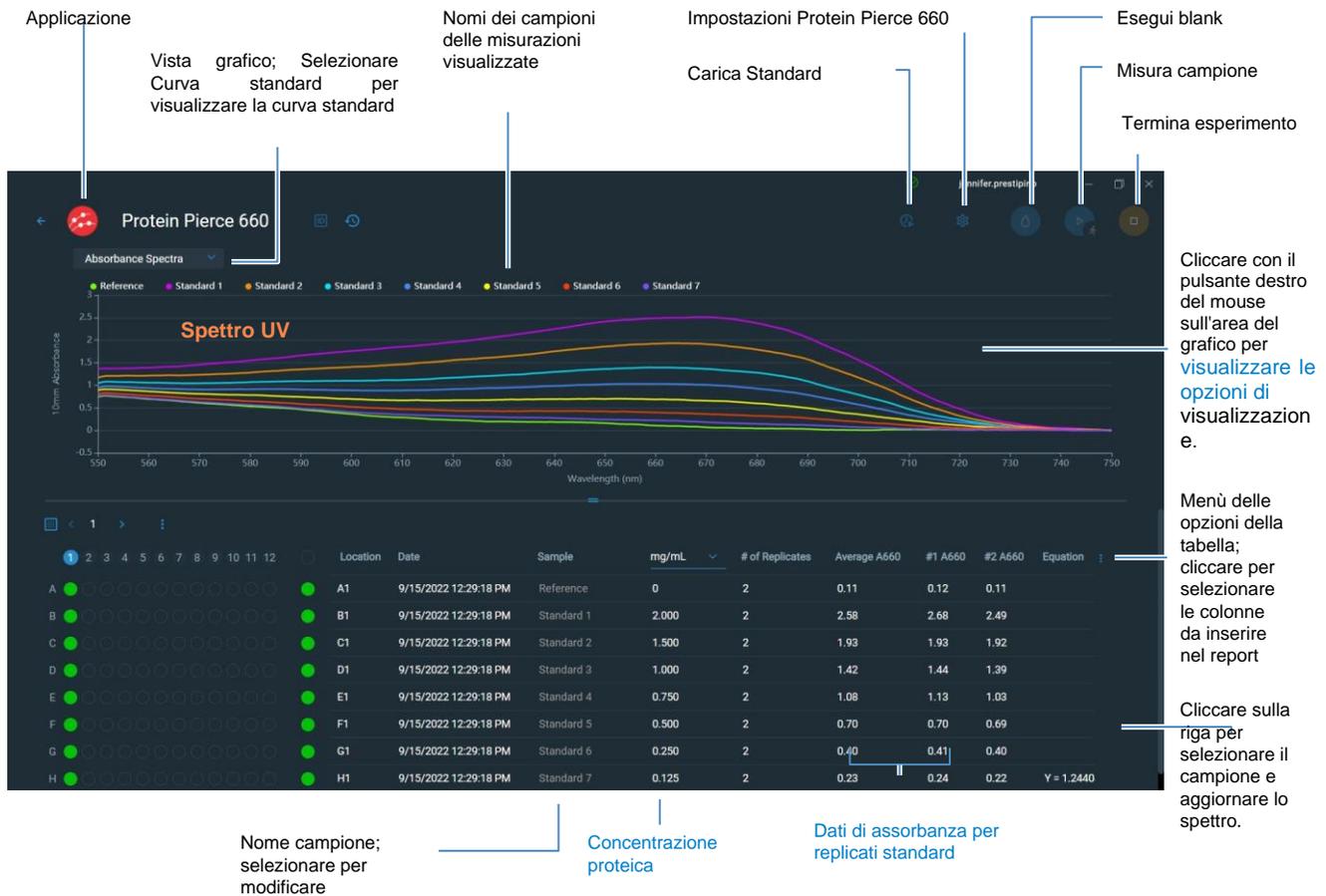
5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Pierce 660

Report risultati Protein Pierce 660

Schermata di misurazione di Protein Pierce 660

Per ciascun campione e standard misurato, questa applicazione visualizza lo spettro di assorbanza visibile e un riepilogo dei risultati. Selezionare "Curva standard" per visualizzare la curva Standard. Di seguito si riporta un esempio della schermata di misurazione:



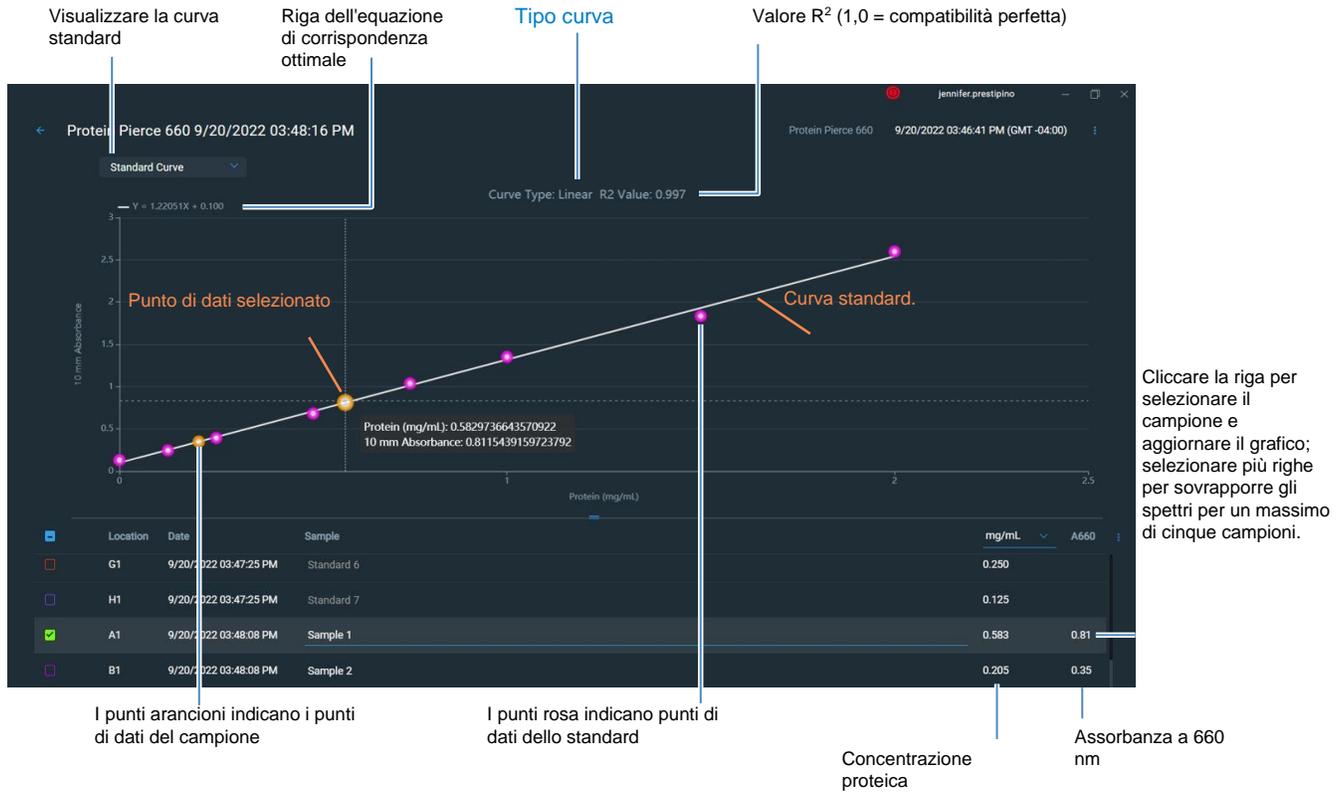
Nota

- Viene eseguita una correzione del valore al basale a 750 nm (il valore di assorbanza a 750 nm viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione).
- Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Schermata curva standard dell'applicazione Protein Pierce 660

La schermata della curva standard mostra graficamente la relazione tra gli standard misurati, la curva standard calcolata e l'assorbanza misurata, nonché la concentrazione calcolata per un campione selezionato. Una linea orizzontale collega il valore di assorbanza del campione sull'asse Y alla curva standard. Una linea verticale collega quel punto al valore di concentrazione del campione sull'asse X.

Il valore R^2 indica il grado con cui la curva standard si adatta ai punti di dati standard (1,0 è una misura perfetta; ossia, tutti i punti si trovano esattamente sulla curva).



Visualizzazione Curva standard

5 Applicazioni per la misurazione delle proteine

Misurazione Protein Pierce 660

Report valori Protein Pierce 660

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

<input type="checkbox"/> Select All	
<input checked="" type="checkbox"/> Location	
<input checked="" type="checkbox"/> Date	Data/ora misurazione
<input checked="" type="checkbox"/> Sample Name	
<input checked="" type="checkbox"/> Concentration	Concentrazione proteica
<input checked="" type="checkbox"/> # of Replicates	Numero di replicati standard
<input type="checkbox"/> A660	Assorbanza a 660 nm
<input checked="" type="checkbox"/> Average A660	Assorbanza media a 660 nm per misurazioni standard del replicato
<input type="checkbox"/> Baseline Correction	Assorbanza correzione del valore al basale
<input checked="" type="checkbox"/> Equation	Equazione della curva standard
<input type="checkbox"/> Monitor Wavelength	Lunghezza d'onda aggiuntiva monitorata

Argomenti correlati

- [Esempio di curva standard](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Impostazioni per le misurazioni Protein Pierce 660

Per visualizzare le impostazioni di Protein Pierce 660, cliccare sull'icona



Impostazioni Protein Pierce

Nota È possibile modificare l'impostazione Tipo curva durante la misurazione degli standard modificando la casella di riepilogo nella parte superiore della schermata di misurazione dell'applicazione. È possibile modificare il valore di concentrazione per un dato standard dalla schermata di impostazione dell'applicazione.

Dopo la prima misurazione del campione, queste impostazioni non possono essere modificate.

Impostazione	Descrizione
Tipo di curva	<p>Consente di specificare il tipo di equazione utilizzata per creare una curva standard a partire da valori di concentrazione standard. Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none">– Lineare: disegna la retta lineare dei minimi quadrati attraverso tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Interpolazione: disegna una serie di linee rette per collegare tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard)– Polinomio di 2° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 2° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno due standard)– Polinomio di 3° grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 3° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno tre standard)
Replicati	<p>Inserire il numero di misurazioni del riferimento o dello stesso campione o standard per cui viene calcolata la media per ottenere il valore di concentrazione associato.</p> <p>Nota: l'impostazione dei replicati non può essere modificata una volta effettuata la misurazione del primo standard.</p>
Standard	<p>Inserire il valore di concentrazione effettivo di ciascuno standard.</p> <p>Nota: i valori di concentrazione possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti.</p>

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Misurazione OD600

Misura la concentrazione di colture cellulari microbiche in soluzione misurando la luce diffusa a 600 nm.

[Misurazione OD600](#)

[Report Risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Calcoli](#)



Misurazione OD600

Utilizzare l'applicazione OD600 per monitorare il tasso di crescita di colture cellulari batteriche o di altri microbi misurando la densità ottica (assorbanza) della coltura in supporti di crescita a 600 nm. Per correlare l'assorbanza con la concentrazione vengono utilizzati l'equazione di Beer-Lambert e un fattore di conversione inserito dall'utente. I valori di concentrazione riportati possono essere usati per identificare la fase di popolazioni cellulari coltivate, ad esempio logaritmica o esponenziale e stazionaria.

L'applicazione OD600 riporta la concentrazione cellulare in cellule/mL. È possibile utilizzare una correzione dell'assorbanza a punto singolo. Questa applicazione non richiede alcuna curva standard.

Nota A causa della quantità di luce diffusa presente in questo saggio, le letture dell'assorbanza sono in genere molto basse.

Teoria dell'applicazione OD600

L'applicazione OD600 misura la trasmissione della luce e utilizza tale valore per calcolare l'assorbanza. In spettroscopia, la luce trasmessa è definita come qualsiasi luce non assorbita, riflessa e diffusa da un campione.

Nel caso delle cellule viventi, la maggior parte della luce incidente viene trasmessa attraverso il campione piuttosto che dispersa, riflessa o assorbita. La quantità di luce diffusa è bassa e può variare da strumento a strumento. Di conseguenza, le letture dell'assorbanza calcolata sono in genere molto basse.

I valori di assorbanza calcolati vengono utilizzati per determinare la densità delle cellule in soluzione, espressa in cellule/mL. I concetti fisici e le formule che mettono in relazione le proprietà ottiche delle cellule viventi alla concentrazione includono:

- Le cellule, che hanno un diverso indice di rifrazione rispetto al mezzo circostante, riflettono e disperdono casualmente la luce fuori dal percorso della luce incidente. La quantità di dispersione è proporzionale alla densità delle cellule presenti nel campione.
- L'equazione della legge di Beer viene utilizzata per correlare l'assorbanza alla concentrazione. Consultare [Calcoli per le misurazioni OD600](#) per i dettagli.
- Tutte le misurazioni devono essere effettuate con lo stesso tipo di spettrofotometro e metodo (ad esempio, piedistallo vs. cuvetta) poiché la quantità di luce diffusa catturata varia in base alla configurazione ottica. Quando si utilizza uno spettrofotometro o un metodo diverso, calcolare e applicare un fattore di conversione ai risultati riportati. Ad esempio, per confrontare le letture OD utilizzando il piedistallo rispetto a una cuvetta, un esempio di calcolo del fattore di conversione può essere:

$$\text{Fattore di conversione} = \text{OD cuvetta} / \text{OD piedistallo}$$

Procedure ottimali per le misurazioni OD600

- Assicurarsi che l'assorbanza del campione rientri nei [limiti di rilevamento dell'assorbanza dello strumento](#).
- Eseguire il blanking con i supporti di crescita o di coltura in cui sono sospese le cellule di interesse.
- Eseguire un [ciclo di blanking](#) per valutare il contributo di assorbanza della soluzione di supporto. Se la soluzione di supporto presenta una forte assorbanza in corrispondenza o in prossimità della lunghezza d'onda di analisi (600 nm), potrebbe essere necessario scegliere una soluzione o un'applicazione di supporto diversa. Consultare [Scelta e misurazione di un blank](#) per ulteriori informazioni.
- Effettuare le diluizioni necessarie per garantire che le colture campione non superino l'intervallo dinamico lineare del saggio prima che la coltura raggiunga la fase stazionaria. L'intervallo lineare dipende in gran parte dalla configurazione ottica. Per determinare l'intervallo lineare:
 - Misurare una serie di diluizioni utilizzando una giovane coltura durante la notte (~16 ore) del ceppo microbico
 - Grafico delle misurazioni OD600 rispetto al fattore di diluizione

Il limite superiore di rilevamento corrisponde al valore OD600 misurato al quale cessa di esistere una correlazione lineare tra i fattori di diluizione e le letture OD600.

- Mescolare i campioni delicatamente ma accuratamente immediatamente prima di prelevare un'aliquota per la misurazione.
- Per misurazioni micro-volumetriche:
 - Assicurarsi che le superfici dei piedistalli siano adeguatamente [pulite](#) e [condizionate](#).
 - Evitare di introdurre bolle durante la miscelazione e il pipettaggio.
 - Avviare prontamente la misurazione per evitare la sedimentazione o l'evaporazione.
 - Seguire le [procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#).
 - Utilizzare un volume di campionamento di 2 µL. Consultare [Volumi di campionamento consigliati](#) per ulteriori informazioni.
 - Per i campioni diluiti che presentano una bassa assorbanza a 600 nm, utilizzare una lunghezza d'onda alternativa come 400 nm per misurare l'assorbanza.

Per misurare i campioni OD600

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione OD600

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **OD600** e selezionare **OD600**.
2. Specificare il [fattore di conversione del numero di cella](#) e una [seconda](#) correzione della [lunghezza d'onda](#) monitorata o [della correzione dell'assorbanza](#), se necessario.
3. Pipettare 2 µL di soluzione di blanking (cioè la soluzione di supporto in cui le cellule di interesse sono sospese) sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.
5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
6. Pipettare 2 µL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
7. Iniziare la misurazione del campione:
 - Se [Auto-Measure è attivata](#), abbassare il braccio
 - se Auto-Measure è disattivata, abbassare il braccio e toccare **Misura**

Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).
8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento**.
9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

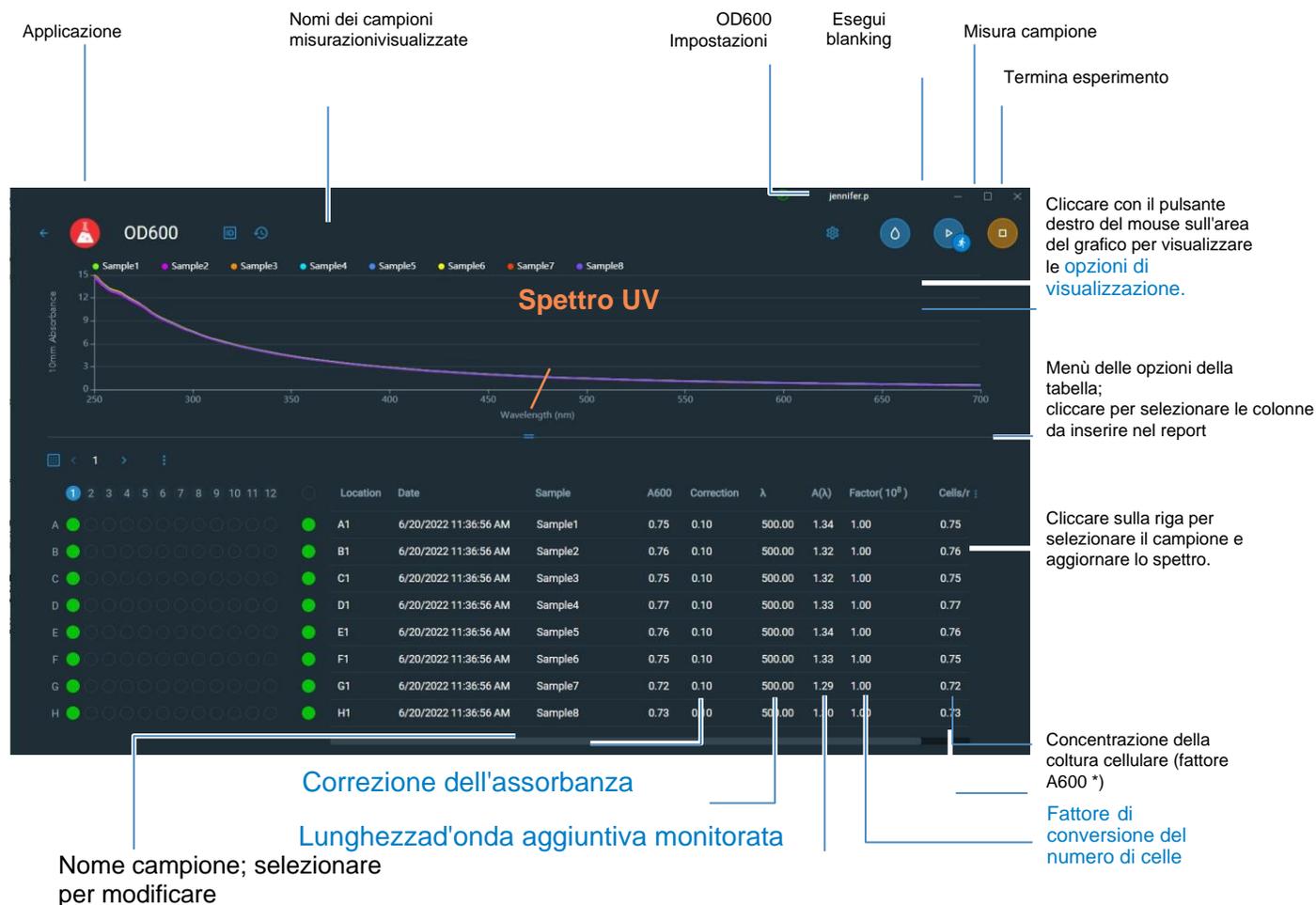
Argomenti correlati

- [Misurare un campione micro-volumetrico](#)
- [Preparare campioni e blank](#)
- [Operazioni di base dello strumento](#)

Report dei risultati OD600

Schermata di misurazione OD600

La schermata di misurazione visualizza lo spettro UV e tutti i valori riportati selezionati:



Schermata di misurazione

Nota Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Valori riportati OD600

I valori riportati sono mostrati nella tabella Dati. Selezionare quale dei risultati riportati viene visualizzato nella tabella dei dati selezionando dal relativo menù delle opzioni. Di seguito i valori disponibili riportati:

6 Misurazione OD600

<input type="checkbox"/> Select All	
<input checked="" type="checkbox"/> Location	
<input checked="" type="checkbox"/> Date	Data/ora misurazione
<input checked="" type="checkbox"/> Sample Name	
<input checked="" type="checkbox"/> A600	Ass. corretta a 600 nm
<input checked="" type="checkbox"/> Correction	Correzione dell'assorbanza
<input checked="" type="checkbox"/> λ	Lunghezza d'onda aggiuntiva
<input checked="" type="checkbox"/> A(λ)	Assorbanza corretta alla lunghezza d'onda aggiuntiva
<input checked="" type="checkbox"/> Factor	Fattore
<input checked="" type="checkbox"/> Cells/mL	Concentrazione della coltura cellulare (fattore A600 *)
<input type="checkbox"/> Pathlength Used	
<input type="checkbox"/> Monitor Wavelength	

Argomenti correlate

- [Operazioni di base dello strumento](#)
- [Calcoli OD600](#)

Impostazioni per misurazioni OD600

Per visualizzare le impostazioni OD600, cliccare sull'icona Impostazioni OD600.



Impostazione	Opzioni disponibili	Descrizione
Correzione dell'assorbanza	Valore di assorbanza compreso tra 0 e 300 A	<p>Correzione dell'assorbanza definita dall'utente. Inserire la correzione dell'assorbanza per lo spettro visualizzato. Ciò può essere utile, ad esempio, per correggere la discrepanza del valore al basale causata da qualsiasi differenza tra la soluzione di supporto utilizzata per azzerare lo strumento e il supporto utilizzato per sospendere il campione di coltura cellulare e perché la luce diffusa generalmente produce una discrepanza.</p> <p>Il valore di correzione dell'assorbanza viene sottratto dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione. (Tutti i valori di assorbanza visualizzati sono valori corretti.)</p>

Impostazione	Opzioni disponibili	Descrizione
Lunghezza d'onda aggiuntiva monitorata (λ)	Qualsiasi lunghezza d'onda compresa tra 250 nm e 700 nm	<p>Lunghezza d'onda definita dall'utente. Inserire una lunghezza d'onda aggiuntiva da misurare se lo si desidera (utile per campioni diluiti che presentano una bassa assorbanza a 600 nm).</p> <p>Se viene specificata una lunghezza d'onda alternativa, utilizzare questa equazione per calcolare la concentrazione cellulare:</p> $c = A(\lambda) * \text{fattore}(\lambda)$ <p>dove:</p> <p>c = concentrazione dell'analita espressa in cellule/mL</p> <p>$A(\lambda)$ = assorbanza visibile ai raggi UV alla lunghezza d'onda specificata in unità di assorbanza (A)</p> <p>$\text{fattore}(\lambda) = 1/(\epsilon(\lambda) * b)$ in mL/cell-cm dove:</p> <p>$\epsilon(\lambda)$ = coefficiente di assorbimento molare (o estinzione di estinzione) alla lunghezza d'onda specificata</p> <p>b = lunghezza del percorso in cm (1,0 cm per gli strumenti NanoDropEight)</p>
Fattore di conversione del numero di celle (10^8)	Qualsiasi numero	<p>Fattore definito dall'utente. Fattore generalmente accettato per tipo di cellula misurata, o uno derivato empiricamente usando una soluzione di cellule in studio a concentrazione nota usando lo stesso supporto.</p> <p>Il valore predefinito è 1×10^8, ossia il fattore generalmente accettato per la maggior parte delle sospensioni cellulari batteriche come E. coli.</p> <p>Suggerimento: il fattore corrisponde alla lunghezza d'onda specifica per ciascun tipo di cellula e può essere influenzato dal tipo di supporto utilizzato per le misurazioni. Idealmente, il fattore dovrebbe essere determinato empiricamente usando una soluzione delle cellule dello studio a una concentrazione nota usando lo stesso strumento.</p>

Argomenti correlati

- [Impostazioni dello strumento](#)

Calcoli per misurazioni OD600

Come per le altre applicazioni di acido nucleico l'applicazione Microarray utilizza una [modifica dell'equazione di Beer-Lambert](#) per calcolare la concentrazione del campione, in cui il coefficiente di estinzione e la lunghezza del percorso sono combinati e indicati come un "fattore".

L'applicazione OD600 offre un fattore specificato dall'utente, da utilizzare in combinazione con la legge di Beer per calcolare la concentrazione del campione. Se il fattore è noto, inserirlo. Altrimenti, utilizzare 1×10^8 , ossia il fattore generalmente accettato per la maggior parte delle sospensioni cellulari batteriche come E. coli.

Le concentrazioni cellulari calcolate si basano sul valore di assorbanza a 600 nm, sul fattore inserito e sulla lunghezza del percorso del campione. È possibile applicare una correzione dell'assorbanza a punto singolo.

Valori misurati assorbanza A280

Nota: Per le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.

- I valori di assorbanza della coltura cellulare sono misurati a 600 nm utilizzando lo spettro normalizzato. Se non viene specificata alcuna correzione dell'assorbanza, vale a dire il valore A600 riportato e il valore utilizzato per calcolare la concentrazione cellulare.
- Se viene specificata una [correzione dell'assorbanza](#), il valore di assorbanza normalizzato e (assorbanza) corretto a 600 nm viene riportato e utilizzato per calcolare la concentrazione cellulare.

A(λ) assorbanza

- Viene inoltre riportato il valore di assorbanza normalizzato e (assorbanza) corretto (se utilizzato) a qualsiasi lunghezza d'onda. Viene anche riportata la [lunghezza d'onda monitorata](#)(λ).

Lunghezza del percorso del campione

- Per le misurazioni micro-volumetriche, il software seleziona la lunghezza ottimale del percorso (tra 1,0 mm e 0,03 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi.
- Gli spettri e i valori di assorbanza visualizzati sono normalizzati a un equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm.

Valori riportati

Concentrazione cellulare. Riportato in cellule/mL. I calcoli si basano sull'equazione di Beer-Lambert utilizzando il valore di assorbanza A600 corretto.

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Applicazioni personalizzate

Utilizzare NanoDropEight per eseguire misurazioni UV-Vis.

L'applicazione UV-Vis consente allo strumento di funzionare come uno spettrofotometro convenzionale. È possibile monitorare e riportare fino a 40 lunghezze d'onda da 190 nm a 850 nm.

- [Misurazione UV-Vis..... pagina 130](#)
- [Misurazione personalizzata.. 135](#)

7 Applicazioni personalizzate

Misurazione UV-Vis

Misurazione UV-Vis

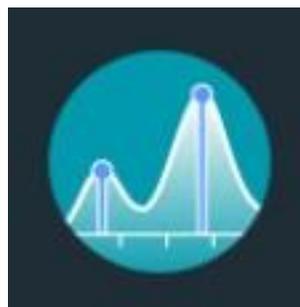
Misura l'assorbanza di qualsiasi campione fino a un massimo di 40 lunghezze d'onda attraverso le regioni ultraviolette (UV) e visibili dello spettro.

[Misurazione UV-Vis](#)

[Report Risultati](#)

[Impostazioni](#)

[Limiti di Rilevamento](#)



Misurazione UV-Vis

L'applicazione UV-Vis consente allo strumento di funzionare come uno spettrofotometro convenzionale. L'assorbanza del campione viene visualizzata sullo schermo in un intervallo compreso tra 190 nm e 850 nm. Possono essere designate fino a 40 lunghezze d'onda da includere nel monitoraggio dell'assorbanza e nel report. È inoltre possibile utilizzare la regolazione automatica della lunghezza del percorso e una correzione del valore al basale a punto singolo.

Per effettuare misurazioni UV-Vis

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni del piedistallo con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

Per misurare un campione utilizzando l'applicazione UV-Vis

1. Dalla Schermata iniziale, dalla scheda **Custom**, selezionare **UV-Vis**.
2. Specificare fino a **40 lunghezze d'onda da monitorare** (oppure è possibile specificarle in seguito ove desiderato) e l'eventuale utilizzo della regolazione automatica della lunghezza del percorso, della lunghezza d'onda dell'analisi e della correzione del valore al basale.
3. Pipettare 1–2 µL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.

4. Toccare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
Se [Auto-Blank](#) è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.
5. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio,
6. Pipettare 1-2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
7. Avviare la misurazione del campione: se [Auto-Measure](#) è attivo; abbassare il braccio; in caso contrario abbassare il braccio e selezionare **Misura** .
Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzato lo spettro e i valori riportati (consultare la sezione successiva).
8. Al termine della misurazione dei campioni, selezionare **Termina esperimento** .
9. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

Procedure ottimali per le misurazioni UV-Vis

- Assicurarsi che l'assorbanza del campione rientri nei [limiti di rilevamento dell'assorbanza](#) dello strumento.
- Eseguire un blanking 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.
- Eseguire un [ciclo di blanking](#) per valutare il contributo di assorbanza della soluzione tampone. Se il tampone presenta una forte assorbanza della o vicino alla lunghezza d'onda di una delle analisi, potrebbe essere necessario scegliere un tampone o un'applicazione diversi. Consultare [Scelta e misurazione di un blank](#) per ulteriori informazioni.
- Per misurazioni micro-volumetriche:
 - Assicurarsi che le superfici dei piedistalli siano adeguatamente [pulite e condizionate](#).
 - Assicurarsi che i campioni siano omogenei prima di effettuare una misurazione. Evitare di introdurre bolle durante la miscelazione e il pipettaggio.
 - Seguire le [procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche](#).
 - Utilizzare un volume di campionamento di 1-2 μL . Consultare [Volumi di campionamento consigliati](#) per ulteriori informazioni.

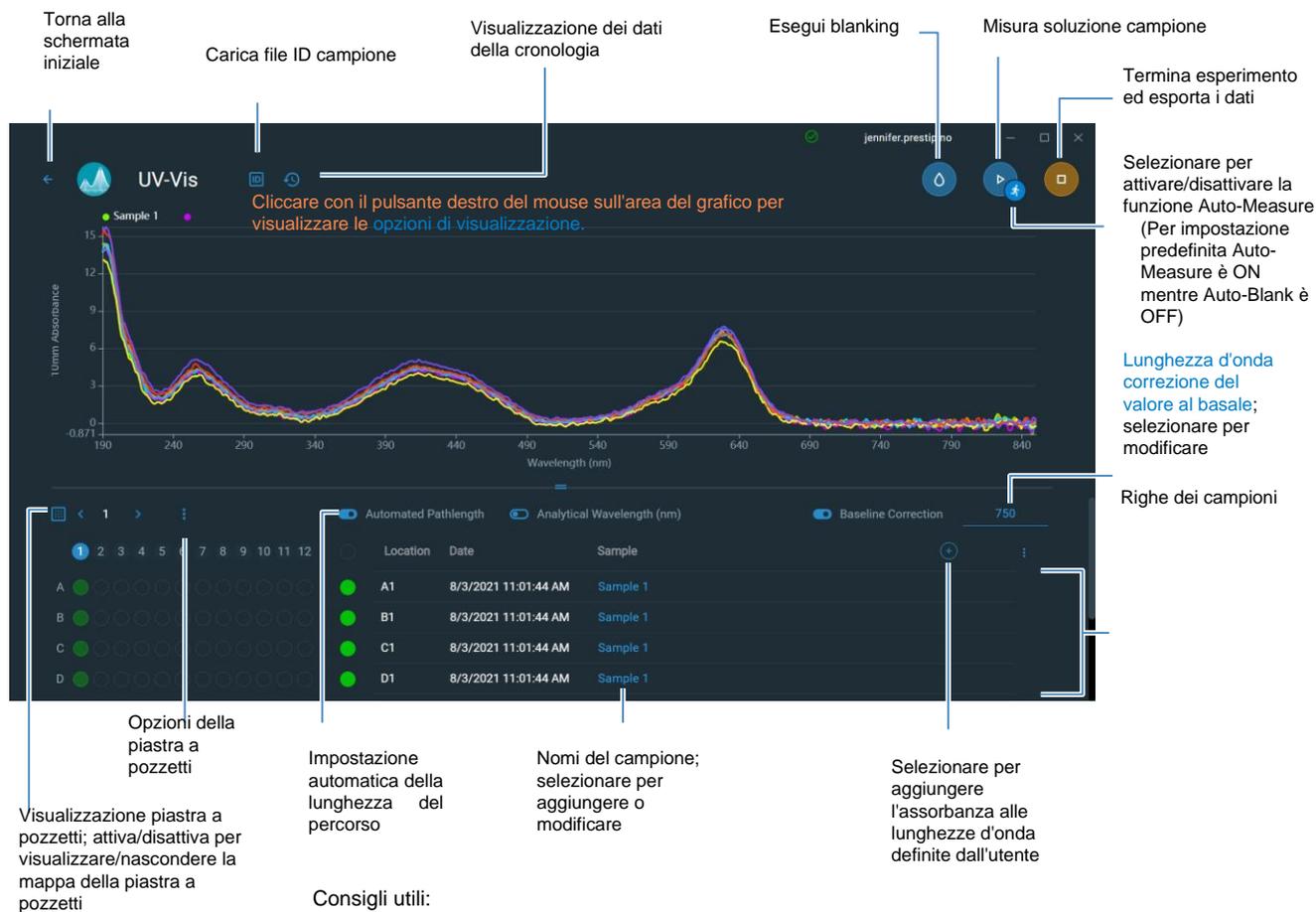
7 Applicazioni personalizzate

Misurazione UV-Vis

Report risultati UV-Vis

Schermata di misurazione UV-Vis

Per ciascun campione misurato, vengono visualizzati lo spettro di assorbanza e i risultati:



Consigli utili:

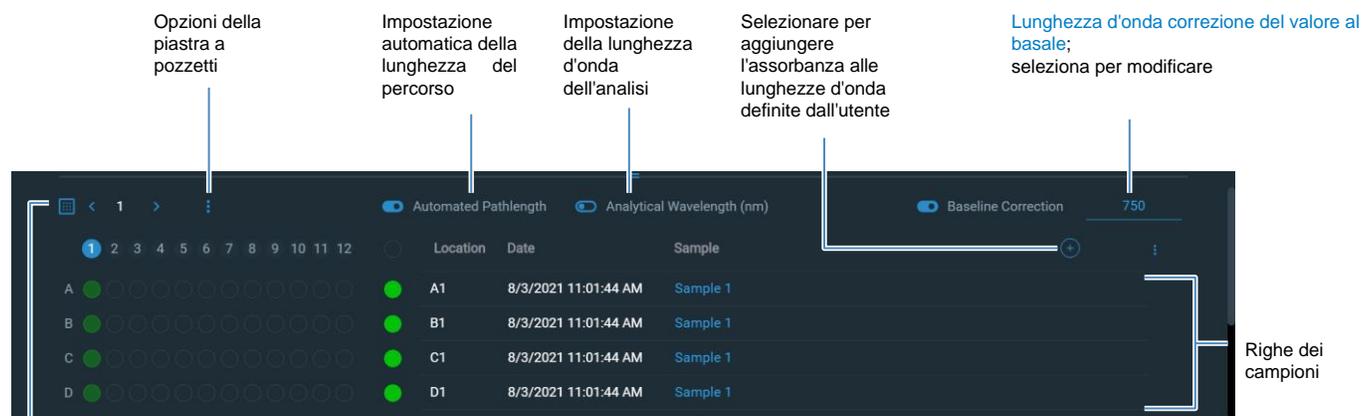
Cliccare sulla riga del campione per selezionare il campione e aggiornare lo spettro. Cliccare su più righe dei campioni per sovrapporre gli spettri.

Cliccare su un campione e posizionare il puntatore sugli spettri per visualizzare i valori della misurazione.

Nota Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Report valori UV-Vis

La metà inferiore della schermata di misurazione visualizza i valori riportati:



Visualizzazione piastra a pozzetti; attiva/disattiva per visualizzare/nascondere la mappa della piastra a pozzetti

Nomi del campione; selezionare per aggiungere o modificare

Consigli utili:

Cliccare sulla riga del campione per selezionare il campione e aggiornare lo spettro
Cliccare su più righe dei campioni per sovrapporre gli spettri

Cliccare su un campione e posizionare il puntatore sugli spettri per visualizzare i valori della misurazione

Impostazioni per misurazioni UV-Vis

Per visualizzare le impostazioni UV-Vis, dalla schermata Home, dalla scheda **Custom**, selezionare UV-Vis.

Impostazioni	Opzioni disponibili	Descrizione
Monitorato lunghezze d'onda	Inserire un massimo di 40 lunghezze d'onda comprese tra 190 nm e 850 nm	lunghezze d'onda definite dall'utente da misurare e riportato in fase di esecuzione. I valori di assorbanza per le prime tre lunghezze d'onda inserite vengono visualizzati nella schermata di misurazione . Per visualizzare i valori di assorbanza per 8 lunghezze d'onda monitorate, scorrere verso sinistra nella schermata di misurazione per visualizzare la tabella Dati . Per visualizzare tutte le lunghezze d'onda monitorate, tenere premuta una riga di campionamento per visualizzare la schermata Dettagli campione (scorrere verso l'alto per visualizzare i valori di assorbanza per eventuali lunghezze d'onda aggiuntive definite dall'utente).
		Nota: se si seleziona Correzione al valore basale, tutti i valori di assorbanza visualizzati saranno i valori corretti.
Analitico Lunghezza d'onda	Qualsiasi lunghezza d'onda tra 190 nm e 850 nm	Questa è la lunghezza d'onda che il software utilizzerà per determinare la selezione della lunghezza del percorso.
Automatizzato Lunghezza del percorso	On o Off (influisce solo sulle misurazioni mediante piedistallo)	Selezione automatica facoltativa della lunghezza del percorso. Consente al software di utilizzare la lunghezza ottimale (più breve) del percorso del piedistallo per campioni ad alta concentrazione per aiutare a prevenire la saturazione del rivelatore (consultare i Limiti di rilevamento per i dettagli). <ul style="list-style-type: none"> • Se selezionata, la lunghezza del percorso più breve viene utilizzata quando qualsiasi lunghezza d'onda ha un valore di assorbanza equivalente di 10 mm pari o superiore a 12,5. • Se deselezionata, la lunghezza del percorso del piedistallo è limitata a 10 mm su tutte le lunghezze d'onda.
		Nota: In entrambi i casi, i valori di assorbanza visualizzati sono stati normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.
Correzione del valore al basale	On o Off Inserire correzione del valore al basale lunghezza d'onda della correzione dell'analisi in nm o utilizzare il valore predefinito (750 nm)	Correzione del valore al basale facoltativa definita dall'utente. Può essere utilizzato per correggere qualsiasi offset causato da particelle di dispersione luminosa sottraendo l'assorbanza misurata a lunghezza d'onda di correzione al basale specificata dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro del campione è pari a zero alla lunghezza d'onda correzione del valore al basale specificata

Misurazione personalizzata

Esegue un metodo di misurazione personalizzato creato utilizzando il software NanoDropEight.

[Misura Metodo personalizzato](#)

[Elimina metodo personalizzato](#)

[Report risultati](#)



Misura utilizzando un metodo personalizzato

Utilizzare l'applicazione Custom per eseguire un metodo definito dall'utente creato utilizzando il software NanoDropEight. Per ulteriori informazioni, consultare ["Creazione di un metodo personalizzato" apagina 138](#).

I metodi personalizzati possono essere creati esclusivamente su un personal computer che esegue il software NanoDropEight.

Misurazione mediante un metodo personalizzato

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.

Considerazioni preliminari

Prima di eseguire misurazioni con lo strumento NanoDropEight, sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore. Pulire i piedistalli almeno con una nuova salvietta da laboratorio. Per ulteriori informazioni, consultare [Pulizia dei piedistalli](#).

7 Applicazioni personalizzate

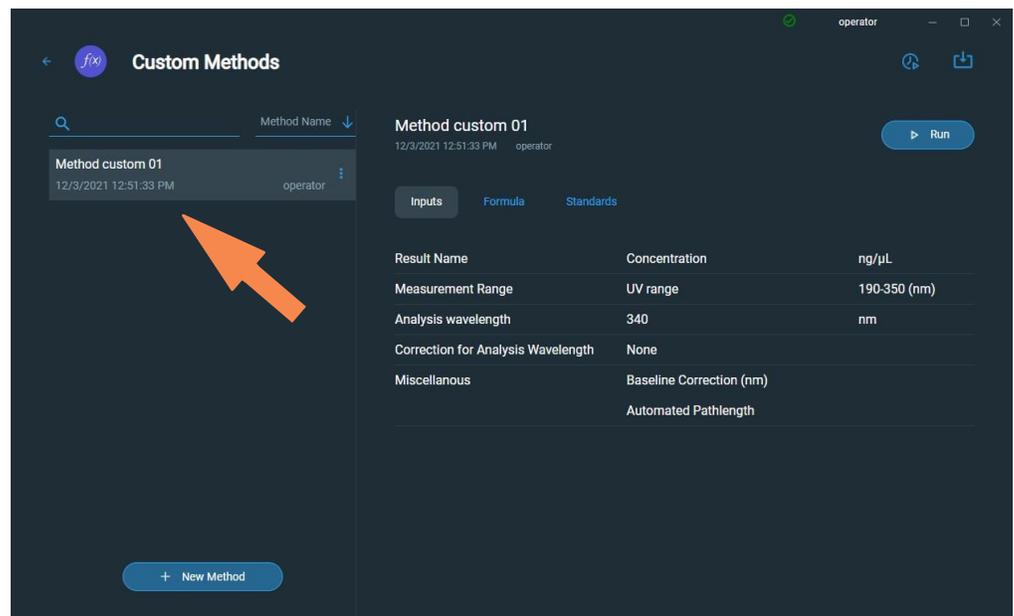
Misurazione personalizzata

Misurazione di un campione mediante un metodo personalizzato

1. Dalla schermata Home, selezionare la scheda **Custom** e selezionare **Metodi personalizzati**.



2. Nel riquadro di selezione del metodo, selezionare il metodo da eseguire.



Le informazioni sul metodo selezionato vengono visualizzate nella casella dettagli metodo.

3. Seleziona .
4. Seguire le istruzioni sullo schermo per misurare un campione.

Elimina metodo personalizzato

- Dalla Schermata iniziale, selezionare la scheda **Custom** e selezionare **Metodi personalizzati**.
- Nella casella Seleziona metodo selezionare un metodo da eliminare.

– Dal menù a tendina



selezionare **Elimina**

Report risultati Metodo personalizzato

Schermata di misurazione del metodo personalizzato

Per ogni campione misurato, questa applicazione mostra lo spettro di assorbanza e i dettagli dei risultati. Di seguito si riporta un esempio:

Misurazione del campione

Nome metodo

Carica file ID campione

Visualizzazione dei dati della cronologia

Esegui blanking

Termina esperimento.

Auto measure

Cliccare con il pulsante destro del mouse sull'area del grafico per **visualizzare le opzioni** di visualizzazione.

Concentrazione analita

Menù delle opzioni della tabella; cliccare per selezionare le colonne da inserire nel report

Cliccare sulla riga per selezionare il campione e aggiornare lo spettro.

Visualizzazione piastra a pozzetti; attiva/disattiva per visualizzare/nascondere la mappa della piastra a pozzetti

Opzioni della piastra a pozzetti

Data/ora misurazione

Nome campione; selezionare per modificare

Risultati della formula

Visualizzazione dei dati della cronologia

Spettro UV

10mm Absorbance

Wavelength

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Location	Date	Sample	Concentration (ng/µL)	A(260)
A	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	A1	11/29/2021 11:38:10 AM		396.314	39.631
B	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	B1	11/29/2021 11:38:10 AM		398.043	39.804
C	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	C1	11/29/2021 11:38:10 AM		405.886	40.589
D	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	D1	11/29/2021 11:38:10 AM		407.844	40.784
E	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	E1	11/29/2021 11:38:10 AM		405.011	40.501
F	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	F1	11/29/2021 11:38:10 AM		414.466	41.447
G	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	G1	11/29/2021 11:38:10 AM		401.676	40.168
H	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	H1	11/29/2021 11:38:10 AM		412.055	41.205

Valori riportati Metodo personalizzato

- Nome dei risultati
- Intervallo di misurazione
- Correzione della lunghezza d'onda dell'analisi

7 Applicazioni personalizzate

Misurazione personalizzata

- Fattore o Coefficiente di estinzione
- Standard (solo metodi a curva standard)
- Correzione del valore al basale

Gestisci metodi personalizzati

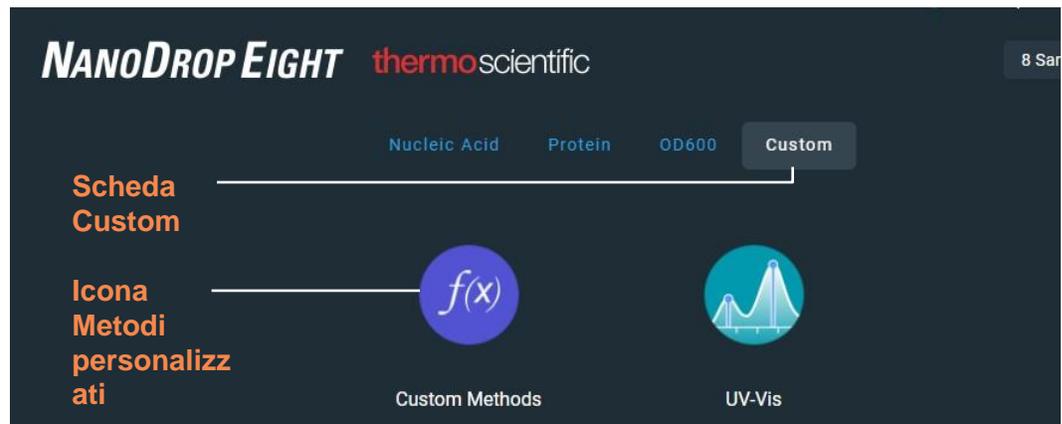
Il software NanoDropEight è lo strumento per creare e gestire metodi personalizzati, che contengono impostazioni definite dall'utente che possono essere utilizzate per acquisire dati con lo strumento. I metodi personalizzati possono essere realizzati con o senza standard.

Crea metodo personalizzato

Creare il metodo da utilizzare per le misurazioni dei campioni con impostazioni definite dall'utente.

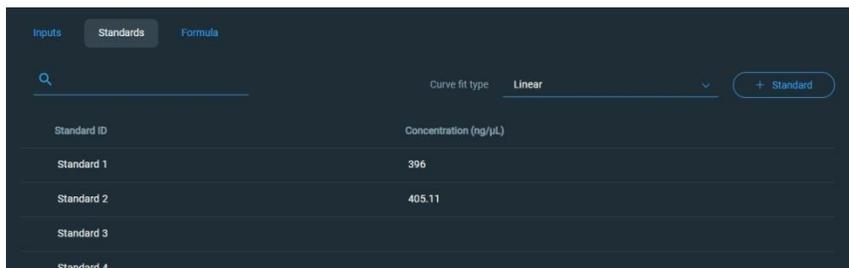
Crea nuovo metodo personalizzato

- Dalla schermata Home di NanoDrop, selezionare la scheda **Custom** e selezionare **Metodi personalizzati**



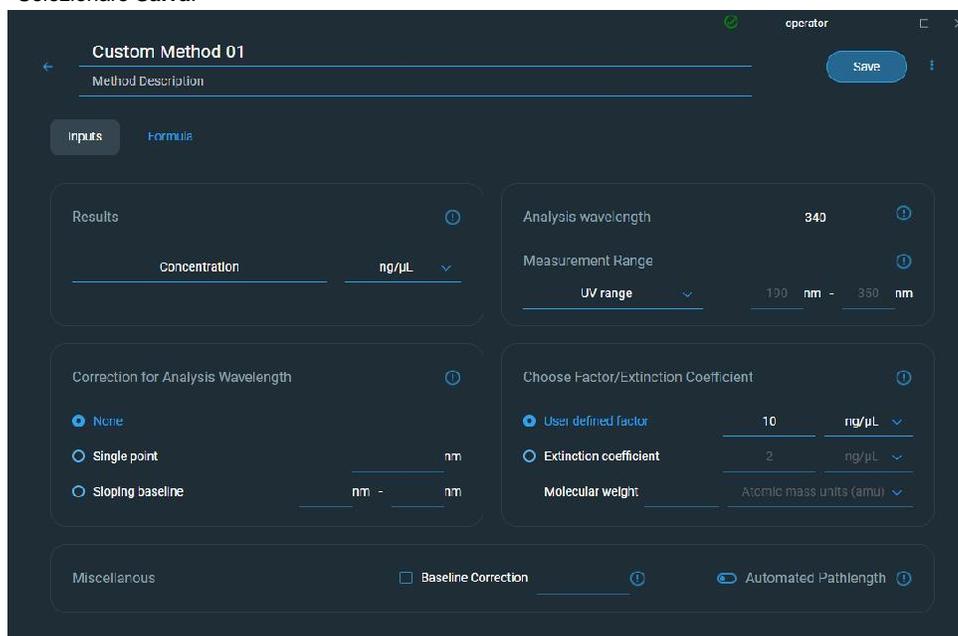
- Nella schermata Gestisci metodi personalizzati, selezionare  e scegliere una delle opzioni seguenti:
 - **Formula** (se non è previsto alcuno standard per il metodo)
 - **Curva standard** (se sono previsti standard per il metodo)
- Nella finestra di impostazione, inserire **Nome metodo**
- Inserire una **descrizione** dettagliata del metodo, ove desiderato
- Specificare come calcolare e riportare i risultati del metodo:
 - se non è presente alcuno standard per il metodo, specificare il **fattore o il coefficiente di estinzione dell'analita** (inserire "1" solo per riportare le misurazioni dell'assorbanza)

- se sono presenti alcuni standard per il metodo, inserire il nome e la concentrazione di ciascuno **standard** e selezionare il tipo di adattamento della curva



In alternativa, [caricare una curva standard](#).

- Inserire o scegliere [le impostazioni personalizzate](#) rimanenti in base alle esigenze
- Selezionare **Salva**.



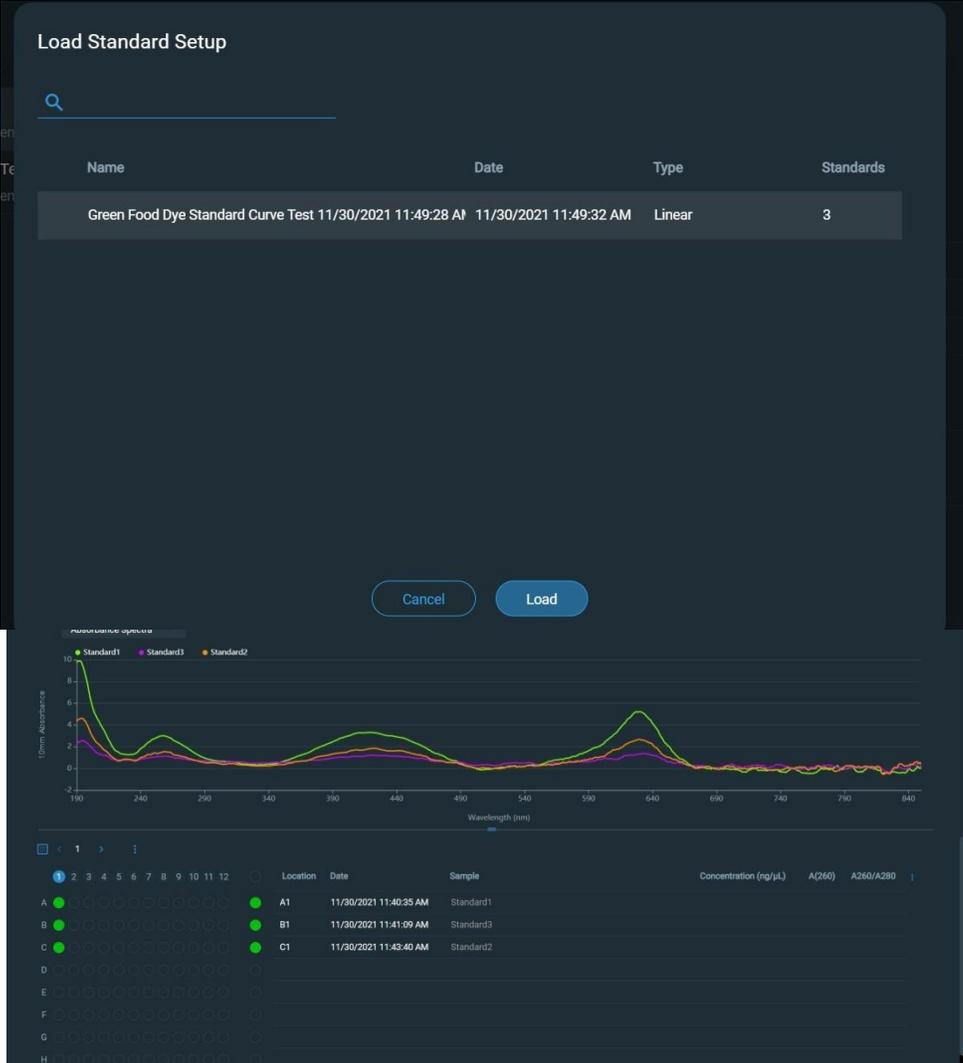
Nota Eventuali errori nel metodo verranno elencati mediante testo in rosso nella parte inferiore della schermata dell'editor del metodo. Prima che il metodo possa essere salvato è necessario risolvere gli errori.

7 Applicazioni personalizzate

Misurazione personalizzata

Carica Curva standard.

- Selezionare  per aprire la finestra **Impostazioni Carica standard**.



Name	Date	Type	Standards
Green Food Dye Standard Curve Test	11/30/2021 11:49:28 AM 11/30/2021 11:49:32 AM	Linear	3

Uvm Absorbance

Wavelength (nm)

Location	Date	Sample	Concentration (ng/µL)	A(260)	A260/A280
A1	11/30/2021 11:40:35 AM	Standard1			
B1	11/30/2021 11:41:09 AM	Standard3			
C1	11/30/2021 11:43:40 AM	Standard2			
D					
E					
F					
G					
H					

Visualizzare o modificare un metodo personalizzato

- Selezionare **metodo personalizzato** (i metodi esistenti sono elencati nella casella Seleziona metodo insieme al rispettivo tipo (formula o standard) e alla descrizione
- Dalla schermata Gestione metodo personalizzato, selezionare il metodo che si desidera modificare dall'elenco dei metodi caricati.
- Dal menù a tendina  selezionare **Modifica**

- Visualizzare e regolare le impostazioni del metodo come desiderato
- Selezionare **salva**

Impostazioni metodo personalizzato

Queste impostazioni sono disponibili per la creazione di metodi personalizzati.

Impostazione	Opzioni disponibili
Nome risultato	Inserire un nome descrittivo per il risultato della concentrazione calcolata (ad esempio, "Analisi MTT") e utilizzare il menù a tendina adiacente per selezionare l'unità appropriata. Il nome del risultato viene visualizzato come intestazione di colonna per il valore della concentrazione riportato.
Intervallo di misurazione	<p>Selezionare l'intervallo dello spettro in cui il metodo acquisirà i dati.</p> <p>Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solo ultravioletto (190 nm - 350 nm) • Solo visibile (350 nm - 850 nm) • Ultravioletto e visibile (190 nm - 850 nm) • Personalizzato (specificare il punto iniziale e finale in nanometri) <p>Note:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se si utilizza una correzione a valore basale e/o una correzione della lunghezza d'onda di analisi, assicurarsi che l'intervallo dello spettro selezionato includa la correzione del valore al basale specificata e/o la lunghezza d'onda di correzione dell'analisi. • Per le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume, gli spettri sono normalizzati a una lunghezza del percorso equivalente a 10 mm.
Correzione della lunghezza d'onda dell'analisi	<p>Utilizzare questa opzione per specificare la correzione dell'assorbanza solo alla lunghezza d'onda dell'analisi.</p> <p>Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nessuna. Nessuna correzione alla lunghezza d'onda dell'analisi. • Singolo punto. Inserire la lunghezza d'onda per la correzione dell'analisi. (Il valore dell'assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione dell'analisi specificata viene sottratto dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda dell'analisi. Il valore corretto viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione.) • Valore al basale inclinato. Inserire due lunghezze d'onda che definiscono il valore al basale inclinato per la correzione dell'analisi. (Il valore di assorbanza del basale inclinato alla lunghezza d'onda dell'analisi viene sottratto dal valore di assorbanza alla lunghezza d'onda dell'analisi. Il valore corretto viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione.)

Impostazioni	Opzioni disponibili
Fattore o coefficiente di estinzione a 1 cm di lunghezza del percorso (solo metodi di formula)	<p>Specificare se utilizzare il fattore o il coefficiente di estinzione per calcolare il risultato della concentrazione:</p> <ul style="list-style-type: none">• Fattore definito dall'utente. Inserire il fattore per la lunghezza del percorso di 1 cm e utilizzare il menù a tendina adiacente per selezionare l'unità appropriata. L'equazione seguente mostra il modo in cui il fattore viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione: $c = (A * f) / b$ dove: c= concentrazione dell'analita A = assorbanza in unità di assorbanza (A) f = fattore (tipicamente 1/ε, dove ε= molare dipendente dalla lunghezza d'onda coefficiente di assorbimento, o coefficiente di estinzione) b = lunghezza del percorso in cm (determinata al momento della misurazione, quindi normalizzata a 10 mm (1 cm) di lunghezza del percorso equivalente)• Coefficiente di estinzione e peso molecolare. Inserire il coefficiente di estinzione per la lunghezza del percorso di 1 cm e utilizzare il menù a tendina adiacente per selezionare l'unità appropriata. L'equazione seguente mostra il modo in cui il coefficiente di estinzione viene utilizzato per calcolare la concentrazione del campione: $c = A / (\epsilon * b)$ dove: c= concentrazione dell'analita A = assorbanza in unità di assorbanza (A) ε= coefficiente di assorbimento molare (o coefficiente di estinzione) dipendente dalla lunghezza d'onda b = lunghezza del percorso in cm (determinata al momento della misurazione, quindi normalizzata a 10 mm (1 cm) di lunghezza del percorso equivalente)
Note:	
<ul style="list-style-type: none">• Fare riferimento alla letteratura sul prodotto per informazioni sui fattori e sui coefficienti di estinzione per materiali specifici.• Per impostare un metodo che riporti solo le misurazioni dell'assorbanza, selezionare Fattore o Coefficiente di estinzione con il fattore o il coefficiente di estinzione impostato su "1".• Se l'unità specificata per il fattore o il coefficiente di estinzione si basa sulla massa (come mg/mL) e l'unità specificata per il risultato calcolato si basa sulla molarità (come pmol/μL) o viceversa, inserire il peso molecolare e utilizzare il menù a discesa adiacente per selezionare l'unità appropriata.	

Impostazione	Opzioni disponibili
Standard (solo metodi a curva standard)	<p>Definire gli standard:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inserire il nome e la concentrazione dell'analita di ogni standard e un riferimento, ove desiderato: <ul style="list-style-type: none"> – A seconda dell'impostazione del tipo di curva, è possibile generare una curva standard utilizzando due o più standard. (Il software consente un riferimento e fino a un massimo di 7 standard.) – Tutte le soluzioni di riferimento e standard devono coincidere con il tampone utilizzato per rispendere i campioni oltre allo stesso volume di reagente aggiunto ai campioni. – Il primo standard costituisce una misura di riferimento. La soluzione di riferimento non deve contenere nessuno degli analiti di interesse. (La misura di riferimento non coincide con una misurazione blank.) – I valori di concentrazione per gli standard possono essere inseriti in qualsiasi ordine, tuttavia gli standard devono essere misurati nell'ordine in cui sono stati inseriti; tuttavia, le procedure ottimali impongono che gli standard siano misurati dalla concentrazione più bassa a quella più alta dello stock di analita standard. – L'intervallo di concentrazione degli standard deve coprire l'intervallo dinamico del saggio e l'intervallo previsto dei campioni sconosciuti. Le concentrazioni dell'analita campione non vengono estrapolate oltre la concentrazione dello standard più elevato. • Selezionare il tipo di adattamento della curva.
	<p>Specificare il tipo di equazione utilizzata per creare una curva standard a partire da valori di concentrazione standard. Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Lineare: disegna la retta lineare dei minimi quadrati attraverso tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard) – Interpolazione: disegna una serie di linee rette per collegare tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno uno standard) – Polinomio di 2°grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 2°grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno due standard) – Polinomio di 3°grado: disegna il polinomio dei minimi quadrati di 3° grado utilizzando tutti gli standard misurati (richiede la misurazione di riferimento e almeno tre standard)

Impostazioni	Opzioni disponibili
Lunghezza d'onda dell'analisi (solo metodi a curva standard)	<p>Monitorare l'assorbanza alla lunghezza d'onda specificata (inserire la lunghezza d'onda in nanometri).</p> <p>Nota: la lunghezza d'onda specificata deve rientrare nell' intervallo di misurazione selezionato.</p> <p>I risultati della misurazione o la concentrazione saranno calcolati automaticamente utilizzando il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda specificata e applicando il tipo di metodo selezionato (fattore o curva standard).</p>
Correzione del valore al basale	<p>Selezionare questa opzione per correggere la discrepanza causata dalle particelle di dispersione della luce sottraendo l'assorbanza in un punto del valore al basale specificato. Quindi specificare la lunghezza d'onda per la correzione del valore al basale.</p> <p>Nota: il software sottrae il valore di assorbanza alla lunghezza d'onda di correzione del valore al basale specificato dai valori di assorbanza a tutte le lunghezze d'onda nello spettro del campione. Di conseguenza, l'assorbanza dello spettro di campionamento è zero alla lunghezza d'onda della correzione del valore al basale specificata.</p>
Lunghezza del percorso automatizzata	<p>influisce solo sulle misurazioni dei microvolumi.</p> <ul style="list-style-type: none">Quando viene selezionata la funzione Lunghezza del percorso automatizzata, il software seleziona la lunghezza del percorso ottimale (tra 1,0 mm e 0,1 mm) in base all'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi. Ad esempio, quando l'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda dell'analisi è inferiore o uguale a 12,5 (equivalente di lunghezza del percorso di 10 mm), viene utilizzata la lunghezza del percorso ottimale più lungo. Quando l'assorbanza del campione è superiore a 12,5, viene utilizzata la lunghezza del percorso ottimale più breve. Consigliato per campioni che sono altamente assorbenti alla lunghezza d'onda dell'analisi. (Questa opzione può causare una sensibilità ridotta quando gli spettri del campione presentano un ampio picco di assorbanza differente dalla lunghezza d'onda dell'analisi.) <p>Nota: quando la lunghezza d'onda dell'analisi è compresa tra 190 nm e 219 nm, viene utilizzata la lunghezza del percorso ottimale più lungo quando l'assorbanza del campione è pari o inferiore a 10 (lunghezza del percorso equivalente a 10 mm) e la lunghezza del percorso ottimale più breve quando l'assorbanza del campione è maggiore di 10.</p> <ul style="list-style-type: none">Se la funzione AutomatedPathlength è deselezionata, il software utilizza una lunghezza del percorso pari a 1 mm indipendentemente dall'assorbanza del campione. Ciò può causare la saturazione del rilevatore (con conseguenti picchi frastagliati) per campioni altamente assorbenti (ad esempio, ~15 A alla lunghezza del percorso equivalente a 10 mm).

Impostazione	Opzioni disponibili
Tabella delle formule (facoltativa)	<p>Utilizzare la tabella delle formule per specificare ulteriori risultati riportati, ad esempio un rapporto di purezza, per ciascun campione.</p> <p>Opzioni disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Predefinito. Selezionare da un elenco di formule predefinite, che possono essere utilizzate invariate o essere modificate, e selezionare Aggiungi. La formula predefinita è elencata nella tabella delle formule. • Aggiungi Creare la formula per il metodo corrente. Opzioni disponibili: <ul style="list-style-type: none"> • Nome formula. Consente di inserire un nome per la formula. Dopo una misurazione, il nome viene riportato nelle schermate Tabella dati e Dettagli campione. • Formula. Consente di inserire una formula valida (cfr. sotto per regole ed esempi). Dopo una misurazione, il valore misurato o calcolato viene riportato nelle schermate Tabella dati e Dettagli campione. • Unità. Consente di inserire l'unità per il risultato riportato. Dopo una misurazione, l'unità viene riportata nelle schermate Tabella dati e Dettagli campione. • Modifica. Consente di modificare la formula selezionata per il metodo corrente. • Elimina. Elimina la formula selezionata dal metodo corrente.
Regole per le formule	<p>Le formule personalizzate possono includere i seguenti operatori e le seguenti funzioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Percorso(). Restituisce la lunghezza del percorso del campione in cm. • A(nm). Restituisce l'assorbanza del campione alla lunghezza d'onda specificata (ad esempio, inserire A(650) per aggiungere l'assorbanza misurata a 650 nm all'equazione). • Operatori: + (somma), - (differenza), * (prodotto), / (quoziente). • Funzioni: Log(x), Pow(x,y). <p>Note: seguire queste regole aggiuntive per tutte le lingue:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Utilizzare il punto "." come separatore decimale per i numeri in virgola mobile singoli e doppi • Utilizzare la virgola "," come separatore per i decimali (ad esempio, "Pow(2,8)"). • Non utilizzare la virgola "," come separatore per le migliaia (ad esempio, inserire 1000 anziché 1.000).

7 Applicazioni personalizzate

Copia Metodo personalizzato

Per creare un metodo personalizzato simile a uno esistente, aprire il metodo esistente, apportare le modifiche, quindi selezionare **Salva con nome** e inserire un nuovo nome.

Copia Metodo personalizzato

- Dalla schermata Metodi personalizzati, selezionare un metodo personalizzato
- Dal menù a tendina  selezionare **Modifica**
- Inserire un nuovo **Nome del Metodo** e una nuova **Descrizione**
- Selezionare **Salva con nome**
- Inserire un nome file per il metodo e cliccare su **Salva**

A questo punto è possibile selezionare il metodo salvato e modificare la **Descrizione** e le impostazioni.

Esegui Metodo personalizzato

Per eseguire un metodo personalizzato, [crearne](#) o [importarne](#) uno personalizzato.

Esegui Metodo personalizzato

- Dalla schermata Metodi personalizzati, selezionare un metodo personalizzato
- Selezionare .
- Seguire le istruzioni sullo schermo per misurare un campione.

Esporta Metodo personalizzato

Esportare un metodo personalizzato per eseguirlo e memorizzare i risultati della misurazione su un altro PC per l'utilizzo con un altro strumento NanoDropEight.

- Dalla schermata Metodi personalizzati, selezionare un metodo personalizzato
- Dal menù a tendina , selezionare **Esporta** (se il metodo non è valido, viene visualizzato un messaggio di errore, gli errori devono essere corretti prima che il metodo possa essere esportato)
- Scegli **Salva** (il metodo viene esportato nel file di metodo (estensione del nome file *.method) in formato proprietario)

Importare metodo personalizzato

È possibile importare un file di metodo personalizzato esistente per modificarne le impostazioni.

- Nella schermata Metodi personalizzati, selezionare **Importa** 
- Individuare e selezionare il file “.method”
- Selezionare **Apri** (il metodo importato viene aggiunto alla fine dell'elenco Seleziona metodo)

Modificare Metodo personalizzato

Modificare un metodo personalizzato per modificare le impostazioni del metodo.

- Dalla schermata Metodi personalizzati, selezionare un metodo personalizzato dall'elenco dei metodi disponibili
- Dal menù a tendina , selezionare **Modifica**
- Modificare le impostazioni del metodo secondo le proprie preferenze
- Selezionare **Salva**.

Eliminare Metodo personalizzato

- Dalla schermata Metodi personalizzati, selezionare un metodo personalizzato dall'elenco dei metodi disponibili
- Dal menù a discesa , selezionare **Elimina**
- Dopo il messaggio di conferma, selezionare **Sì**

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Come acquistare

Indice

- [Campionamento micro-volumetrico — Come funziona 150](#)
- [Impostazione dello strumento 152](#)
- [Misurare un campione micro-volumetrico 154](#)
- [Modalità campione 158](#)
- [Preparare campioni e blank 158](#)
- [Operazioni di base dello strumento 164](#)
- [Acclaro Sample Intelligence 189](#)
- [Impostazioni dello strumento 195](#)
- [Opzioni di visualizzazione della schermata di misurazione 196](#)

8 Centro di apprendimento

Campionamento micro-volumetrico — Come funziona

Campionamento micro-volumetrico — Come funziona

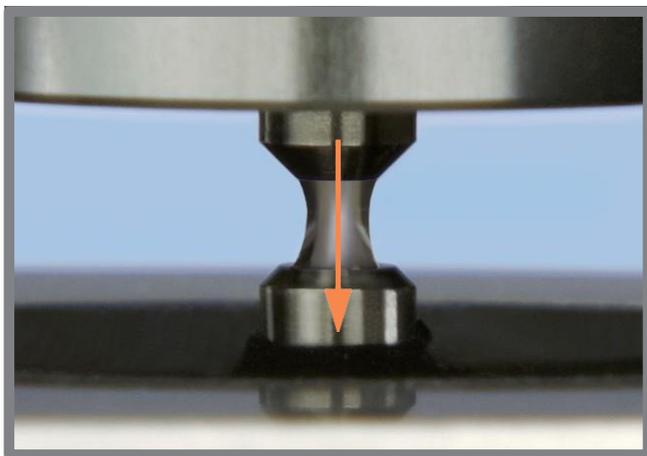
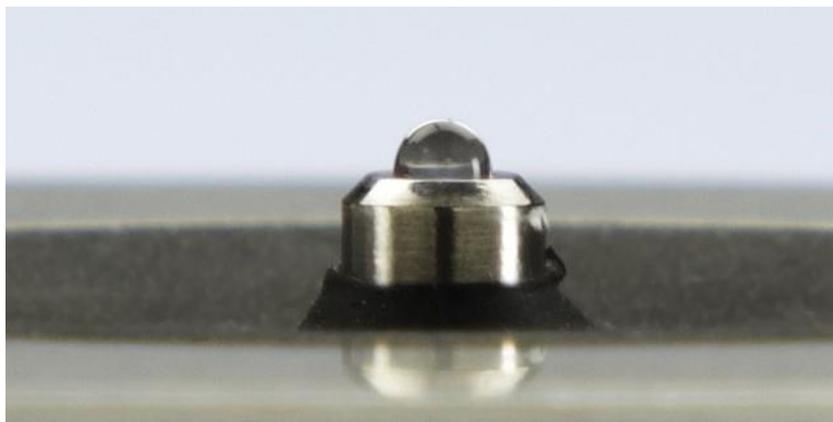
Tensione superficiale

Spettro di assorbanza

Assorbanza del campione

Concentrazione del campione

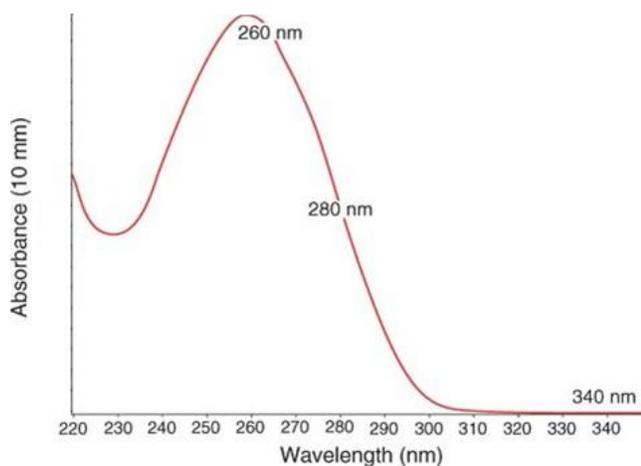
Correzione del valore al basale



Tensione superficiale

Lo spettrofotometro NanoDropEight utilizza la tensione superficiale per contenere un piccolo volume di campione tra due piedistalli (superiore e inferiore). 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.



$$\text{Assorbanza} = -\log \left[\frac{\text{intensità}}{\text{intensità blank}} \right]$$

Equazione di Beer-Lambert

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

dove:

A = assorbanza in unità di assorbanza (A)

ϵ = coefficiente di assorbimento molare dipendente dalla lunghezza d'onda (o coefficiente di estinzione) in litri/mol-cm

b = lunghezza del percorso in cm

c = concentrazione dell'analita in moli/litro o molarità (M)

Spettro di assorbanza

La luce passa attraverso la colonna di liquido al rivelatore, che genera uno spettro di assorbanza rispetto alla lunghezza d'onda. Lo spettro mostra la quantità di luce assorbita dalle molecole del campione ad ogni lunghezza d'onda misurata.

Nota: per evitare l'evaporazione, che influisce sulla precisione della misurazione, chiudere rapidamente il braccio dopo aver terminato di caricare un campione o un blank.

L'esempio a sinistra mostra un tipico spettro di assorbanza preso da un campione di acido nucleico. Lo spettro viene misurato in un intervallo compreso tra 190 nm e 850 nm. L'intervallo visualizzato può variare per ciascuna applicazione.

Assorbanza del campione

Quando lo strumento viene azzerato, viene preso uno spettro di riferimento della soluzione di blanking e memorizzato. Per ciascuna misurazione del campione, le intensità del campione insieme alle intensità del blank vengono utilizzate per calcolare l'assorbanza totale del campione secondo l'equazione a sinistra.

Concentrazione del campione

L'equazione di Beer-Lambert (legge di Beer) mostrata a sinistra viene utilizzata per correlare l'assorbanza del campione con la concentrazione.

La lunghezza del percorso è la distanza tra i due piedistalli, che varia in tempo reale durante ciascuna misurazione. Questa tecnica di lunghezza del percorso auto-ranging produce risultati di concentrazione accurati su un ampio intervallo dinamico.

Correzione del valore al basale

Per alcune applicazioni, lo strumento può essere impostato per applicare una correzione al basale a ciascuna misurazione al fine di ridurre al minimo qualsiasi discrepanza causata da particelle di dispersione della luce negli spettri del campione. La correzione sottrae il valore di assorbanza a una lunghezza d'onda di riferimento prossima allo zero, dal valore di assorbanza a ciascuna lunghezza d'onda attraverso lo spettro, essenzialmente "ancorando" lo spettro alle unità di assorbanza zero alla lunghezza d'onda di riferimento.

Impostazione dello strumento



USB-B

Alimentazione

Accensione/spengnimento

Collegamento dell'alimentazione



ATTENZIONE Evitare il rischio di elettrocuzione. Ciascuna presa a muro utilizzata deve essere dotata di messa a terra. La messa a terra deve essere un cavo non conduttore di corrente collegato alla messa a terra nella scatola di derivazione principale.

Collegare il cavo di alimentazione fornito a una presa a muro con messa a terra. Consultare "[Cavi di alimentazione](#)"; a [pagina 220](#) per ulteriori informazioni.

Connessione a un PC

Collegare il cavo USB al NanoDropEight e a una porta USB disponibile sul PC.

Specifiche operative

Lo strumento funziona in modo affidabile in locali che soddisfano le seguenti specifiche:

- temperature di esercizio: 5 °C - 35 °C (41 °F - 95 °F)
- umidità relativa (in assenza di condensa): 20-80%

Collocare lo strumento lontano da prese d'aria e ventole di estrazione per ridurre al minimo il rischio di evaporazione

Nota Se si utilizza lo strumento al valore minimo dell'intervallo di umidità raccomandato, utilizzare un volume di campione adeguato per evitare l'evaporazione.

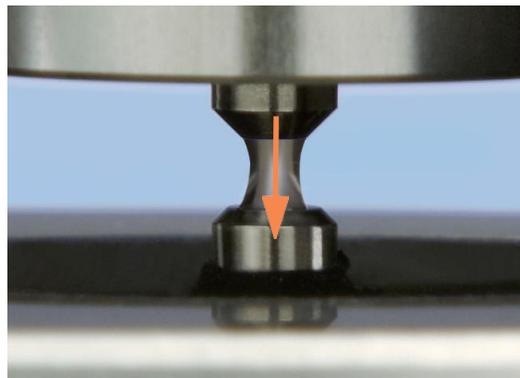
Una volta installato lo strumento, è possibile lasciarlo acceso.

8 Centro di apprendimento

Misurare un campione micro-volumetrico

Misurazione di un campione micro-volumetrico

Lo spettrofotometro NanoDropEight 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. Consultare ["Campionamento Micro-volumetrico — Come funziona"](#) a pagina 150 per i dettagli.



Occorrente

- Spettrofotometro NanoDropEight
- salviette da laboratorio prive di lanugine
- pipettatore di precisione calibrato
- materiale campione risospeso in soluzione tampone appropriata (consultare [Preparazione dei campioni](#))
- soluzione tampone pura per il blanking dello strumento (consultare [Scelta e misurazione di un blank](#)).

Procedure ottimali per misurazioni micro-volumetriche

Pulizia dei piedistalli per le operazioni quotidiane

- Prima della misurazione iniziale, pulire tutti i piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
- [Eseguire un ciclo di blanking per verificare che i piedistalli siano puliti.](#)
- Dopo ogni misurazione, pulire tutti i piedistalli con una nuova salvietta per evitare il riporto.
- Dopo ogni serie di misurazioni, pulire i piedistalli con DI H₂O (consultare [Pulizia dei piedistalli tra gli utenti](#))
- [Ricondizionare i piedistalli periodicamente per conservare la proprietà idrofobica.](#)

Pipettaggio di campioni

- Posizionare lo strumento a una certa angolazione per un uso ottimale della guida della pipetta.
- Utilizzare un pipettatore di precisione calibrato (intervallo di volume 0–2 μ L) con punte di precisione ben adattate e a bassa ritenzione per applicare il materiale del campione allo strumento per la misurazione. Se si utilizza un pipettatore a bassa precisione (0-10 μ L), utilizzare volumi di campione di 2 μ L.

- Le punte filtranti sono sconsigliate in quanto il loro particolato potrebbe influire sulle misurazioni dell'assorbanza a 230 nm.
- Utilizzare i **volumi di campione raccomandati** per garantire la corretta formazione di colonne liquide.
- Utilizzare una nuova punta per ogni aliquota di blank e di campione.
- Utilizzare una nuova aliquota di campione per ciascuna misurazione.
- Al termine della misurazione, aprire il braccio di campionamento e pulire i campioni dai piedistalli superiore e inferiore utilizzando una salvietta da laboratorio morbida.

Se si utilizzano solventi, assicurarsi che siano compatibili con i piedistalli. (consultare "Solventi compatibili" in [Materiali pericolosi](#)).

Volumi di campionamento consigliati

Volume di campionamento dell'applicazione	
Acido nucleico (soluzione acquosa)	1 μL ^a
Proteine purificate	2 μL
Altre applicazioni proteiche come Bradford o BCA	2 μL
Sospensioni di cellule microbiche	2 μL

^a Utilizzare 2 μL per campioni contenenti materiali che possono ridurre la tensione superficiale, ad esempio un tensioattivo.

Per misurare un campione micro-volumetrico

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 da una delle categorie di applicazione, ad **esempio** UV-Vis o Metodi **Personalizzati**.



8 Centro di apprendimento

Misurare un campione micro-volumetrico



2. Sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una nuova salvietta da laboratorio.

3. Misurare un blank:

– Pipettare 1–2 μL di soluzione blank sul piedistallo inferiore e abbassare rapidamente il braccio

– Cliccare  **Blank** e attendere il completamento della misurazione

Suggerimento Se **Auto-Blank** è attivata, la misurazione del blank inizia automaticamente una volta abbassato il braccio.

– Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio

4. Misurare il primo campione:

– Pipettare 1-2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare rapidamente il braccio (consultare [Volumi campione consigliati](#) per ulteriori informazioni).

– Iniziare la misurazione del campione:

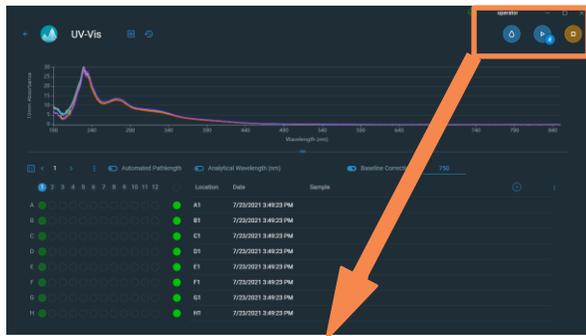
– se **Auto-Measure** è attivata, abbassare il braccio

– se la **Auto-Measure** è disattivata, abbassare il braccio e cliccare

 **Misura**

– Al termine della misurazione del campione, vengono visualizzati gli spettri e i valori riportati.

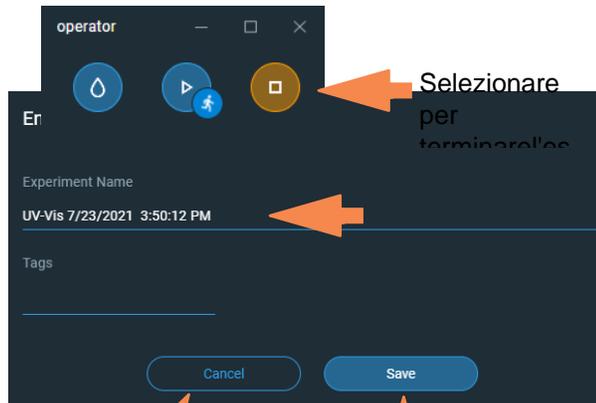
8 Come acquistare Misurare un campione micro-volumetrico



5. Per misurare un altro campione:

- Sollevare il braccio
- Pulire tutti i piedistalli con una nuova salvietta
- Caricare il/i campione/i successivo/i e abbassare rapidamente il braccio
- Avviare la misurazione del campione
- Attendere il completamento della misurazione

Il nuovo spettro sostituisce quello precedente sul display spettrale e i nuovi valori riportati sostituiscono quelli precedenti nella tabella.



6. Al termine della misurazione dei campioni:

- Selezionare l'icona Termina esperimento (cfr. immagine precedente)
- Inserire il nome di un esperimento o lasciare il nome dell'esperimento predefinito
- Selezionare Salva
- Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta

Se le operazioni sullo strumento sono terminate per la giornata, pulire i piedistalli con DI H₂O (consultare [Pulizia dei piedistalli tra gli utenti](#)).

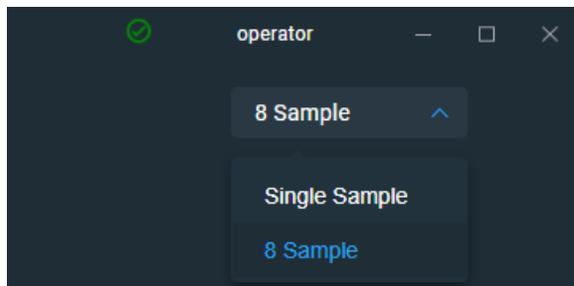
Annullare per misurare altri campioni terminare

Selezionare Salva per e salvare l'esperimento

I dati acquisiti vengono salvati automaticamente in un esperimento con il nome inserito. Nella configurazione predefinita, gli esperimenti sono memorizzati in un database in base alla data di acquisizione, al nome dell'esperimento, [all'applicazione utilizzata](#) e alle eventuali etichette assegnate (consultare [Gestione degli identificatori](#)).

Modalità di campionamento

Lo strumento NanoDropEight può essere utilizzato in modalità Campionamento singolo o Modalità a Otto campioni. Selezionare la modalità desiderata dal menù a tendina nella schermata Home. In modalità Campione singolo, le misurazioni saranno effettuate solo utilizzando il canale A.



Avvio del modulo

L'autotest e la preparazione dello strumento iniziano una volta selezionata un'applicazione in seguito al primo avvio del software. Verrà visualizzato il messaggio "Attendere - Inizializzazione dello spettrometro". Alla scomparsa del messaggio, lo strumento sarà pronto per l'uso e sarà possibile preparare i blank. Tutti i dati acquisiti verranno registrati automaticamente nell'apposito file di archivio.

Mappa della piastra di campionamento

Durante l'esperimento in modalità Otto campioni, nell'area del campione verrà visualizzata una mappa della piastra. Questa piastra di campionamento sullo schermo verrà popolata con le informazioni sull'ID campione da un file ID campione importato. È inoltre possibile inserire manualmente l'ID campione o altre informazioni di identificazione. Il codice colore dello stato del campione visualizzato sulla mappa della piastra è determinato dalla configurazione della piastra al momento dell'impostazione. Consultare "[Illuminatore della posizione del campione](#)" a pagina 174 per i dettagli.

Preparazione dei campioni e dei blank

Prima di effettuare una misurazione del campione, è necessario misurare e conservare un blank. Tutti gli otto canali vengono azzerati con ciascun comando di blanking quando si utilizza la modalità di campionamento 8. Solo il canale A è vuoto per la modalità posizione singola.

Nota: quando si utilizza la modalità 8 Campioni, il software avvia ogni ciclo di blanking e di misurazione sulla prima posizione da leggere. L'utente sentirà quindi un incremento di posizione in meno rispetto a quanto previsto. Dopo aver effettuato un'iniziale misurazione di blanking, sui singoli grafici comparirà una linea retta. I blank successivi cancelleranno qualsiasi spettro del campione e visualizzeranno di nuovo le linee di base dritte.

Preparazione dei campioni

- Isolare e purificare i campioni prima di misurarli con lo strumento. Per questi scopi sono disponibili kit di isolamento di campioni commerciali o utilizzare un protocollo interno. Dopo la purificazione, l'analita di interesse viene tipicamente sciolto in soluzione tampone acquosa prima di essere misurato.

Suggerimento: qualsiasi molecola che assorbe la luce alla lunghezza d'onda dell'analisi contribuirà al valore di assorbanza totale utilizzato per calcolare la concentrazione del campione.

- Assicurarsi che la concentrazione finale dell'analita rientri nei **limiti di rilevamento dell'assorbanza** dello strumento.
- Per le misurazioni micro-volumetriche, centrifugare delicatamente (ma accuratamente) ciascun campione prima di effettuare una misurazione.

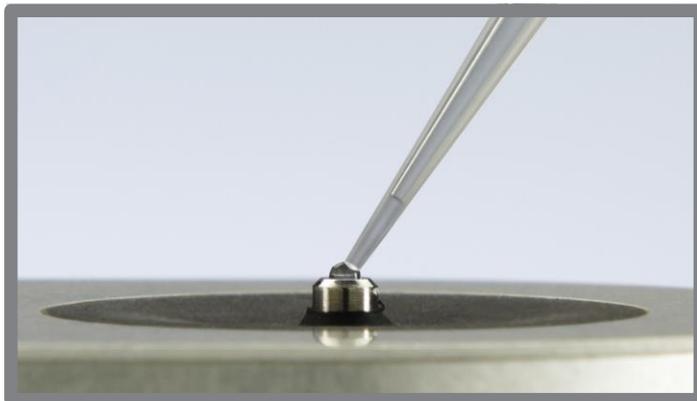
Evitare di introdurre bolle durante la miscelazione e il pipettaggio.

Selezione e misurazione di un blank

Il tampone utilizzato per risospendere un analita campione può contribuire all'assorbanza. Il blanking riduce al minimo qualsiasi contributo di assorbanza dovuto ai componenti tampone della misurazione del campione. Lo spettro del campione risultante rappresenta l'assorbanza del solo analita di interesse.

Per risultati ottimali:

- 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 i dettagli, consultare "Misurazione dei campioni" nell'applicazione utilizzata.
- Misurare il nuovo blank prima di ciascuna serie di campioni. Non è necessario azzerare lo strumento prima di ciascuna misurazione del campione a meno che i campioni non siano disciolti in diverse soluzioni tampone.
- Si consiglia di misurare un nuovo blank ogni 30 minuti.



8 Centro di apprendimento

Preparare campioni e blank

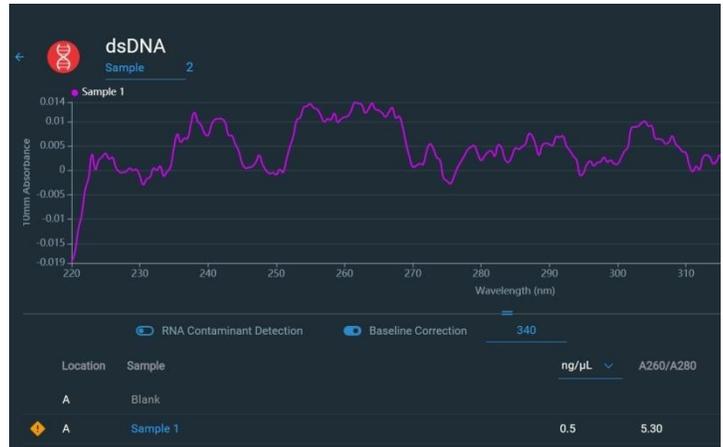
- Eseguire un **ciclo di blanking** per determinare l'idoneità della soluzione di blanking prima di utilizzarla per eseguire misurazioni del campione. Per una rapida dimostrazione, visionare la formazione multimediale [Come scegliere la soluzione di blanking più idonea](#).

Lo spettro risultante non dovrebbe variare più di 0,04 A (equivalente a 10 mm) attraverso lo spettro, specialmente alla lunghezza d'onda dell'analisi come nell'esempio a destra.

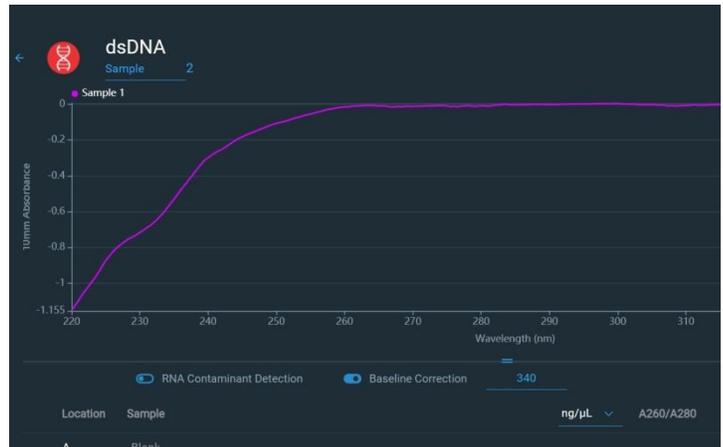
Se lo spettro risultante è maggiore di 0,04 A attorno alla lunghezza d'onda di analisi, quella soluzione tampone potrebbe interferire con le analisi del campione, specialmente per campioni a bassa concentrazione. Per i dettagli cfr. sotto.

Problemi associati al blanking

- Il campione residuo è stato lasciato sul piedistallo prima di eseguire la misurazione del blank. (Gli spettri del campione risultanti possono presentare valori di assorbanza negativi, a indicare che l'assorbanza del blank era maggiore rispetto a quella del campione in quella regione dello spettro.)
- La misurazione del blank presenta un'assorbanza superiore rispetto al campione sconosciuto alla lunghezza d'onda dell'analisi. (Se il tampone utilizzato come blank differisce nella composizione da quello utilizzato per risospendere il campione, i risultati della misurazione saranno errati.)
- Il campione è stato inavvertitamente utilizzato per azzerare lo strumento. (Gli spettri campione risultanti possono presentare valori di assorbanza negativi o, in alcuni casi, assomigliare a un'immagine speculare di un tipico acido nucleico puro o di uno spettro proteico)



Tampone di blanking ottimale (assorbanza misurata < 0,04)



Soluzione salina utilizzata per azzerare i risultati dello strumento nello spettro "immagine speculare"

Soluzioni per problemi di blanking

- **Pulire** e/o **ricondizionare accuratamente entrambi i piedistalli** 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 i dettagli, consultare "Misurazione dei campioni" nell'applicazione utilizzata.

8 Centro di apprendimento

Preparare campioni e blank

Eeguire un ciclo di blanking

Eeguire 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

Per una rapida dimostrazione, visionare la formazione multimediale [Come scegliere la soluzione di blanking più idonea](#).

AVVERTENZA

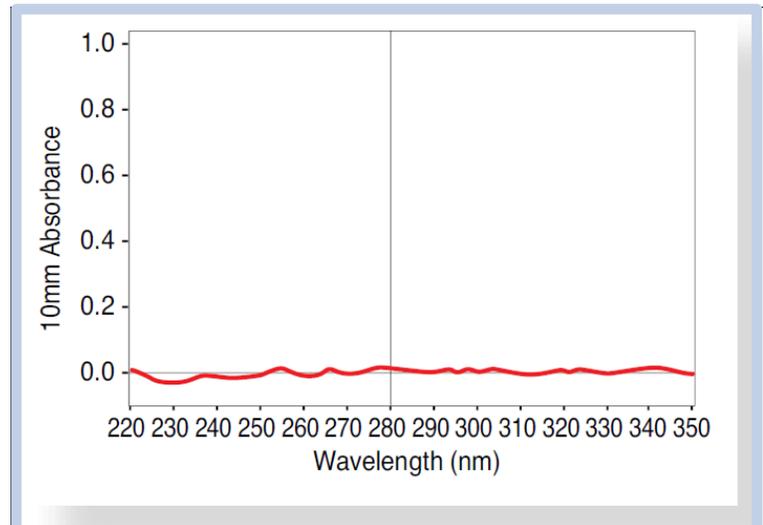
- Non usare flaconi a zampillo o spray sopra o vicino allo strumento, poiché i liquidi possono penetrare nello strumento e causare danni permanenti.
- Non utilizzare acido fluoridrico (HF) sui piedistalli. Gli ioni di fluoruro danneggiano irreversibilmente i cavi in fibra ottica di quarzo.

1. Dalla schermata iniziale, selezionare il nome di un'applicazione.
2. Sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una nuova salvietta da laboratorio.
3. Misurare un blank d'acqua:
 - Pipettare esattamente 1 μL di acqua deionizzata (DIH_2O) sul piedistallo inferiore e abbassare il braccio.
 - Selezionare **Blank** e attendere il completamento della misurazione.
 - Sollevare il braccio e pulire tutti i piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
4. Misurare la soluzione tampone:
 - Pipettare 1-2 μL di soluzione campione sul piedistallo e abbassare il braccio.
 - Iniziare la misurazione del campione:
 - se **Auto-Measure** è attivata, abbassare il braccio
 - se **Auto-Measure** è disattivata, abbassare il braccio e toccare **Misura**
 - Attendere il completamento della misurazione.

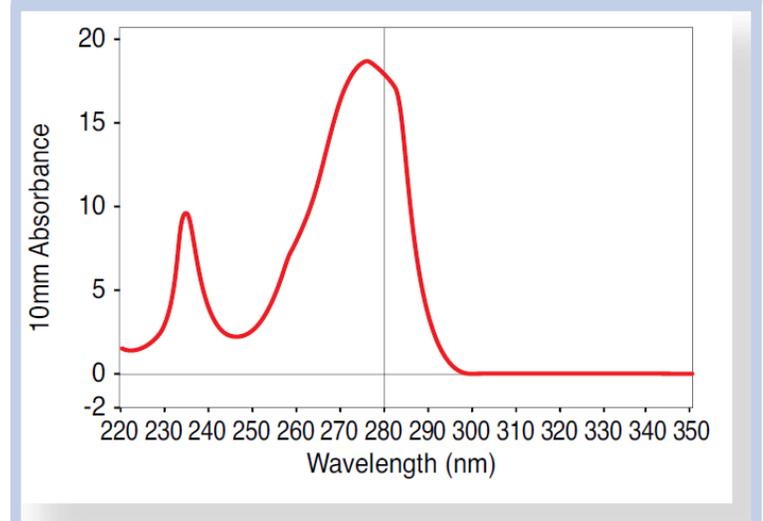
Lo spettro risultante non dovrebbe variare più di 0,04 A dal valore al basale alla lunghezza d'onda dell'analisi.

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](#)".
5. Al termine del ciclo di blanking, selezionare **Termina esperimento**.
6. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Esempio di spettro di tampone adatto per la quantificazione di Protein A280



Esempio di spettro di tampone non adatto per la quantificazione di Protein A280

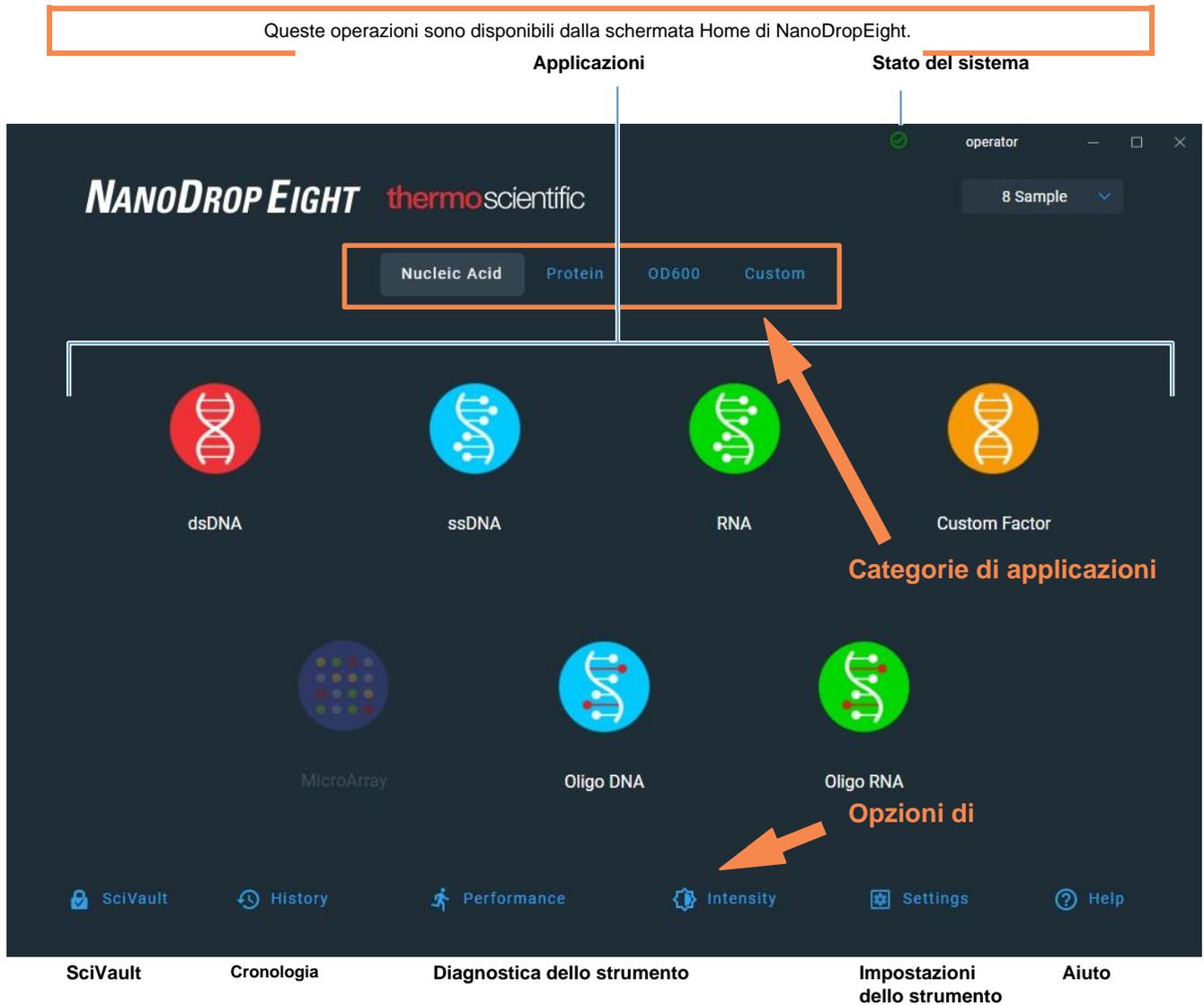
8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Operazioni di base dello strumento

- Schermata iniziale NanoDropEight
- Schermate di misurazione NanoDropEight
- Visualizza cronologia
- Operazioni generali su NanoDropEight

Schermata iniziale NanoDropEight

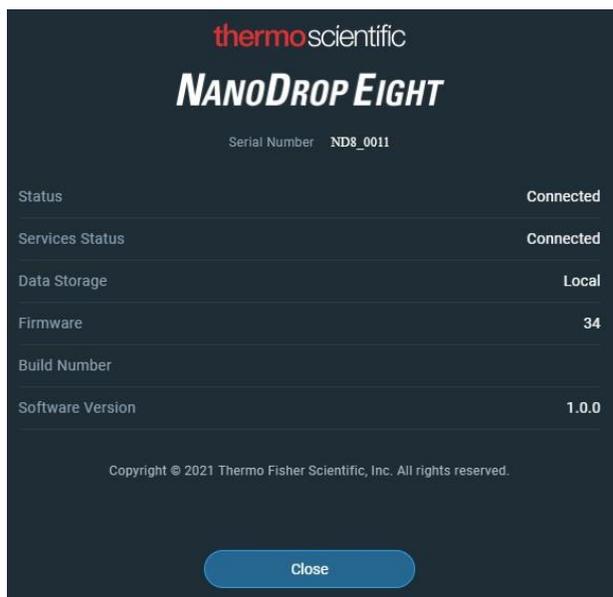


Applicazioni

Il software NanoDropEight offre diverse applicazioni configurabili, che offre agli utenti il pieno controllo della misurazione. Consultare "[Applicazioni personalizzate](#)" a [pagina 129](#) per informazioni dettagliate su ciascuna applicazione disponibile.

Stato del Sistema

Selezionare l' icona nella schermata Home per aprire la casella di stato del sistema.



Le informazioni disponibili sono descritte di seguito.

Numero di serie	Numero di serie dello Strumento
Stato	Stato corrente dello strumento
Memorizzazione dei dati	Indica la posizione del set di database in cui lo strumento memorizza attualmente i dati.
Firmware	Versione del firmware dello strumento installato
Numero build	Attuale build del software
Versione software	Versione del software operativo installato sullo strumento

Opzioni di controllo

Cronologia: visualizza i dati memorizzati localmente. Filtra per data o applicazione.

Prestazioni: processo di verifica delle prestazioni mediante la soluzione PV-1.

Consultare "[Verifica delle prestazioni](#)" a [pagina 210](#)

Intensità: Eseguire un controllo di intensità per il piedistallo.

Consultare "[Controllo dell'intensità](#)" a [pagina 208](#).

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Impostazioni: ove desiderato, impostare la posizione e il percorso del server di protezione.
Aiuto: Visualizza aiuto

Cronologia

Selezionare  la Schermata iniziale per visualizzare i dati precedentemente acquisiti in data odierna, nell'ultima settimana, nell'ultimo mese, negli ultimi sei mesi, nell'ultimo anno o in un intervallo di date specifico. Consultare "[Visualizza cronologia](#)" a [pagina 176](#) per ulteriori informazioni sulla funzione Cronologia presente sullo strumento.

Impostazioni dello strumento

Selezionare  nella schermata Home per accedere alle impostazioni dello strumento per gli aggiornamenti software, l'editor delle proteine e altro ancora. Consultare "[Impostazioni dello strumento](#)" a [pagina 195](#) per informazioni dettagliate su tutte le impostazioni dello strumento disponibili.

Diagnostica dello strumento

La diagnostica dello strumento (controllo delle prestazioni e dell'intensità) deve essere eseguita periodicamente secondo il [piano di manutenzione raccomandato](#). Consultare "[Diagnostica dello strumento](#)" a [pagina 207](#) per informazioni su come eseguire la diagnostica dello strumento.

Software SciVault

Il software Thermo Scientific™ SciVault™ è disponibile come componente aggiuntivo opzionale. Questo software complementare consente agli utenti di utilizzare il proprio strumento NanoDropEight in modo conforme allo standard FDA 21 cfr Parte 11 degli Stati Uniti. Al momento dell'acquisto, il software SciVault viene fornito su una chiavetta USB e si integra direttamente nell'interfaccia utente del software NanoDropEight. Per maggiori informazioni visitare thermofisher.com/nanodrop.

Aiuto

Selezionare  per avviare la guida utente, inviare una domanda via e-mail al supporto tecnico o trovare i registri del software.



Schermate di misurazione NanoDropEight

Queste operazioni sono disponibili da qualsiasi schermata di misurazione all'interno di un'Applicazione.

Visualizza la cronologia delle misurazioni

Misurare soluzione di blanking

Termina esperimento ed esporta i dati

Misurazione automatica

Spettro di assorbanza UV per campioni selezionati

Opzioni di visualizzazione tabella

Cliccare sulla riga per selezionare il campione e aggiornare lo spettro; selezionare su altre righe per sovrapporre gli spettri

Visualizzazione piastra a pozzetti; attiva/disattiva per visualizzare/nascondere la mappa della piastra a pozzetti

Punto di prelievo dei campioni

Nomi del campione; cliccare per modificare

Risultati della misurazione; consultare Applicazioni per i dettagli

	Location	Sample	ng/µL	A260/A280	A260/A230	A260	A280
A	A2	Sample 9	496.8	1.88	2.36	9.94	5.28
B	B2	Sample 10	495.4	1.88	2.36	9.91	5.27
C	C2	Sample 11	494.4	1.89	2.35	9.89	5.24
D	D2	Sample 12	494.9	1.88	2.36	9.90	5.26
E	E2	Sample 13	494.2	1.88	2.35	9.88	5.26
F	F2	Sample 14	494.4	1.88	2.36	9.89	5.26
G	G2	Sample 15	493.8	1.89	2.36	9.88	5.23
H	H2	Sample 16	491.5	1.89	2.37	9.83	5.21

Opzioni di visualizzazione della schermata di misurazione

Quando si eseguono misurazioni, cliccare con il pulsante destro del mouse sul grafico nella schermata di misurazione per visualizzare le seguenti opzioni di visualizzazione:

Overlay Mode	Visualizza più campioni in sovrapposizione.
✓ Show CrossHairs	Passare il mouse sullo spettro per visualizzare i dati del grafico
✓ Show Legend	Visualizza legenda del grafico
Find Peaks	Calcolare i picchi per l'intervallo specificato
Autoscale	Scala gli assi per adattarsi alla misura degli spettri
Format X-axis	Seleziona per inserire manualmente l'intervallo dell'asse x
Format Y-axis	Seleziona per inserire manualmente l'intervallo dell'asse y

Opzioni di visualizzazione - Cliccare con il pulsante destro del mouse sul grafico per visualizzare

Trova picchi

Selezionare **Trova picchi** per visualizzare i picchi calcolati per l'intervallo specificato. È possibile inserire l'intervallo trascinando le linee limite codificate in base al colore oppure inserendo i valori nei campi nella parte superiore dello spettro. I picchi trovati per l'intervallo definito sono elencati nella tabella sottostante lo spettro.



Nome campione

Cliccare sul campo Nome campione in qualsiasi schermata di misurazione per modificare il nome del campione.

In modalità Campione singolo, a ciascun campione viene assegnato un nome di base predefinito "campione" seguito dal campione numerico nella sequenza. In questo esempio, il primo campione verrebbe denominato "Campione 1" seguito da "Campione 2", ecc. È possibile modificare il nome di base predefinito e sovrascrivere qualsiasi nome campione.

In modalità 8 Campioni, ciascun campione viene automaticamente etichettato in base alla rispettiva posizione. Aggiungere nomi campione cliccando sul campo del nome del Campione o importando il file Sample ID.

Nota Se si modifica il nome di base del campione durante un esperimento quando è selezionata la funzione Denominazione automatica, i numeri ID campione assegnati ripartono dall'inizio.

Modificare il nome del campione

Dopo aver eseguito una misurazione di blanking e prima che venga misurato il primo campione:

- cliccare sul campo **Nome campione**
- Inserire un nuovo nome
- Premere il tasto **Invio**

Modificare il nome del campione

- dalla schermata Home, cliccare  **History** per aprire la Cronologia
- selezionare l'esperimento
- selezionare il campo nome del campione
- inserire il nuovo nome del campione
- Premere il tasto **Invio**

Risultati della misurazione

I tipi di risultati visualizzati nelle schermate di misurazione dipendono dall'applicazione selezionata. Per i dettagli, vedere il paragrafo relativo al report dei risultati di una determinata applicazione nel presente manuale:

Applicazioni > [gruppo applicazioni] > Misura [nome applicazione] > Report risultati

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Spettro di assorbanza

Per ciascun campione misurato, ogni applicazione visualizza l'UV o lo spettro di assorbanza UV-Visibile unitamente alla sintesi dei risultati. L'asse verticale visualizza l'assorbanza in unità di assorbanza (A). L'asse orizzontale visualizza la lunghezza d'onda in nm. Di seguito si riporta un esempio per un metodo UV-Vis.



Lunghezza del percorso del campione

Tutte le applicazioni visualizzano la lunghezza del percorso del campione lungo l'asse verticale dello spettro. Le misurazioni dell'assorbanza del micro-volume sono normalizzate a una lunghezza del percorso equivalente a 10,0 mm.

Avvisi di misurazione

La [tecnologia Acclaro Sample Intelligence](#) integrata nello strumento NanoDropEight fornisce importanti funzionalità per agevolare la valutazione dell'integrità del campione. Cliccare su un'icona Sample Intelligence nel software per visualizzare le informazioni associate.



è disponibile [l'analisi dei contaminanti](#) per agevolare le operazioni di qualificazione di un campione prima dell'uso nelle applicazioni a valle



è disponibile un [supporto tecnico on-demand](#) per misurazioni atipiche o a concentrazioni molto basse

Pulsante Blank

Selezionare **Blank** per misurare un blank per l'esperimento selezionato.



È necessario misurare un blank prima di ogni gruppo di campioni simili. La soluzione di blanking è in genere il tampone puro utilizzato per risospendere il campione. Per ulteriori informazioni, consultare [Scelta e misurazione di un blank](#).

Pulsante di
misurazione

Selezionare **Misura** per misurare un campione per l'esperimento selezionato.



I campioni devono essere adeguatamente isolati e preparati prima di poter essere misurati con lo strumento, la concentrazione deve inoltre rientrare nei limiti di rilevamento dell'assorbanza dello strumento. Per ulteriori informazioni, consultare [Preparazione dei campioni](#), [Misurare un Campione microvolumetrico](#) e [Limiti di Rilevamento dell'Assorbanza](#).

Nota Il pulsante **Misura** viene abilitato una volta completata validamente la misurazione di un blank.

Opzioni Auto-Measure e Auto-Blank

È possibile velocizzare l'analisi dei campioni con le funzioni NanoDropEight Auto-Measure e Auto-Blank, che consentono allo strumento di avviare la misurazione immediatamente dopo aver abbassato il braccio. Queste opzioni eliminano la necessità di ripetere le operazioni di misurazione o blanking per grandi lotti di campioni.

Nota: le funzioni Auto-Measure e Auto-Blank sono disponibili solo per le misurazioni di microvolumi.

Auto-Measure

Per selezionare o deselezionare Auto-Measure, da qualsiasi schermata di misurazione del campione, cliccare sul pulsante

On o **Off** a destra del pulsante Misura.



Auto-Blank

Per selezionare o deselezionare Auto-Blank, da qualsiasi schermata di misurazione del blank, cliccare sul pulsante **On**

o il pulsante **Off** a destra del pulsante Blank.



8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

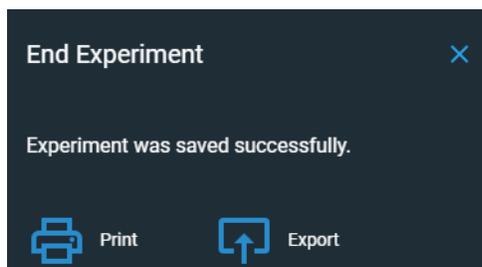
Pulsante Termina esperimento



Selezionare **Termina esperimento** una volta pronti per assegnare un nome e salvare l'esperimento, aggiungere un'etichetta per individuare l'esperimento in un secondo momento o esportare i dati. A seconda delle impostazioni di amministratore, potrebbe essere richiesto di firmare l'esperimento al termine.

Nota Il pulsante **Termina esperimento** viene abilitato una volta completata la prima misurazione del campione.

Dopo aver selezionato Termina esperimento, viene visualizzata la casella di dialogo Termina esperimento:



Cliccare su Salva, sarà possibile stampare o esportare i dati dell'esperimento. Opzioni disponibili:

Nome esperimento	Inserire un nome per questo gruppo di misurazioni. I risultati della misurazione vengono salvati nella posizione del database selezionata utilizzando il nome dell'esperimento inserito.
Etichetta	Inserire un'etichetta descrittiva per trovare l'esperimento in un secondo momento o per associarlo a un altro esperimento (consultare Gestione degli identificatori sullo strumento per i dettagli).

Esporta	<p>Selezionare una posizione disponibile per l'esportazione delle misurazioni effettuate in questo esperimento. Gli esperimenti possono essere esportati in un dispositivo USB collegato al PC, a qualsiasi porta USB o in una posizione di rete.</p> <p>Formati file di esportazione disponibili:</p> <ul style="list-style-type: none">• file di foglio elettronico con valori separati da virgola (.csv)• file di foglio di calcolo con valori separati da tabulazioni (.tsv)• File software NanoDropEight(.n8db) <p>Il nome del file corrisponde al nome dell'esperimento inserito (vedi sopra). Il file viene salvato in una cartella denominata "NanodropEight" seguita dal numero di serie dello strumento. (Utilizzare Stato del sistema per visualizzare il numero di serie dello strumento.)</p>
---------	--

Annulla (Torna all'esperimento)	Chiudere la casella Termina esperimento e visualizzare i risultati della misurazione più recente. Da lì è possibile aggiungere misurazioni all'esperimento corrente e salvarlo in un secondo momento.
Pulsante Stampa	Stampa i risultati della misurazione per l'esperimento corrente
Salva (Termina esperimento)	Termina l'esperimento e salva i risultati della misurazione utilizzando il nome dell'esperimento digitato. L'esperimento viene salvato nel percorso del database selezionato.

Dettagli del campione

I dettagli del campione sono visualizzati nella **riga del campione** in qualsiasi [schermata di misurazione](#) o nella [Cronologia](#). Tali informazioni includono tutti i risultati di misurazione disponibili e i dettagli associati per il campione selezionato. Per aggiungere o rimuovere i risultati visualizzati nella riga del campione, cliccare sul menù nell'angolo superiore destro della tabella dati. Le informazioni sui valori misurati visualizzati in Dettagli campione sono fornite in questo sistema di Aiuto, sotto l'[applicazione](#) utilizzata per acquisire i dati.

Nota È inoltre possibile [modificare il nome del campione](#) cliccando nell'apposito campo.

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Tabelladati

La tabella dei dati per l'esperimento corrente è mostrata sotto il grafico dello spettro. La tabella dei dati contiene i risultati della misurazione per tutti i campioni dell'esperimento. L'immagine in basso evidenzia le funzionalità disponibili.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Location	Sample	ng/μL	A260/A280	A260/A230	A260	A280
A	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	A2	Sample 9	496.8	1.88	2.36	9.94	5.28
B	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	B2	Sample 10	495.4	1.88	2.36	9.91	5.27
C	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	C2	Sample 11	494.4	1.89	2.35	9.89	5.24
D	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	D2	Sample 12	494.9	1.88	2.36	9.90	5.26
E	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	E2	Sample 13	494.2	1.88	2.35	9.88	5.26
F	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	F2	Sample 14	494.4	1.88	2.36	9.89	5.26
G	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	G2	Sample 15	493.8	1.89	2.36	9.88	5.23
H	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	H2	Sample 16	491.5	1.89	2.37	9.83	5.21

Mappe della piastra a pozzetti

Indicatore di canale attivo; cliccare per attivare o disattivare le posizioni dei campioni da aggiungere alla misurazione

Nome campione; cliccare per modificare

cliccare sulla riga per selezionare il campione

Risultati della misurazione; consultare Applicazioni per i dettagli

Menù delle opzioni; cliccare per aprire;

La tabella dei dati è riportata nella metà inferiore della [schermata di misurazione](#)

Illuminatore della posizione del campione

L'illuminatore della posizione a otto campioni NanoDrop e l'interfaccia utente del software di accompagnamento sono progettati per aiutare gli utenti a tenere traccia dei campioni già stati misurati e di quelli da misurare successivamente. Esistono tre diversi modelli progettati per diversi formati di conservazione dei campioni. È possibile scegliere tra piastre a 96 pozzetti, provette da 1,5 mL e provette da 0,5 mL cliccando sul menu a 3 punti sopra l'interfaccia utente della matrice delle piastre in basso a sinistra nella schermata di acquisizione delle misurazioni.

- Piastra da 96 pozzetti: consente agli utenti di tenere traccia delle misurazioni dei campioni per i campioni memorizzati in una piastra da microtitolazione standard da 96 pozzetti
- Provette da 1,5 mL: consente agli utenti di tenere traccia delle misurazioni dei campioni per i campioni conservati negli spazi di dimensioni di 1,5 mL nell'accessorio rack per provette NanoDropEight
- Provette da 0,5 mL: consente agli utenti di tenere traccia delle misurazioni dei campioni per i campioni conservati negli spazi di dimensioni 0,5 mL nell'accessorio rack per provette NanoDropEight

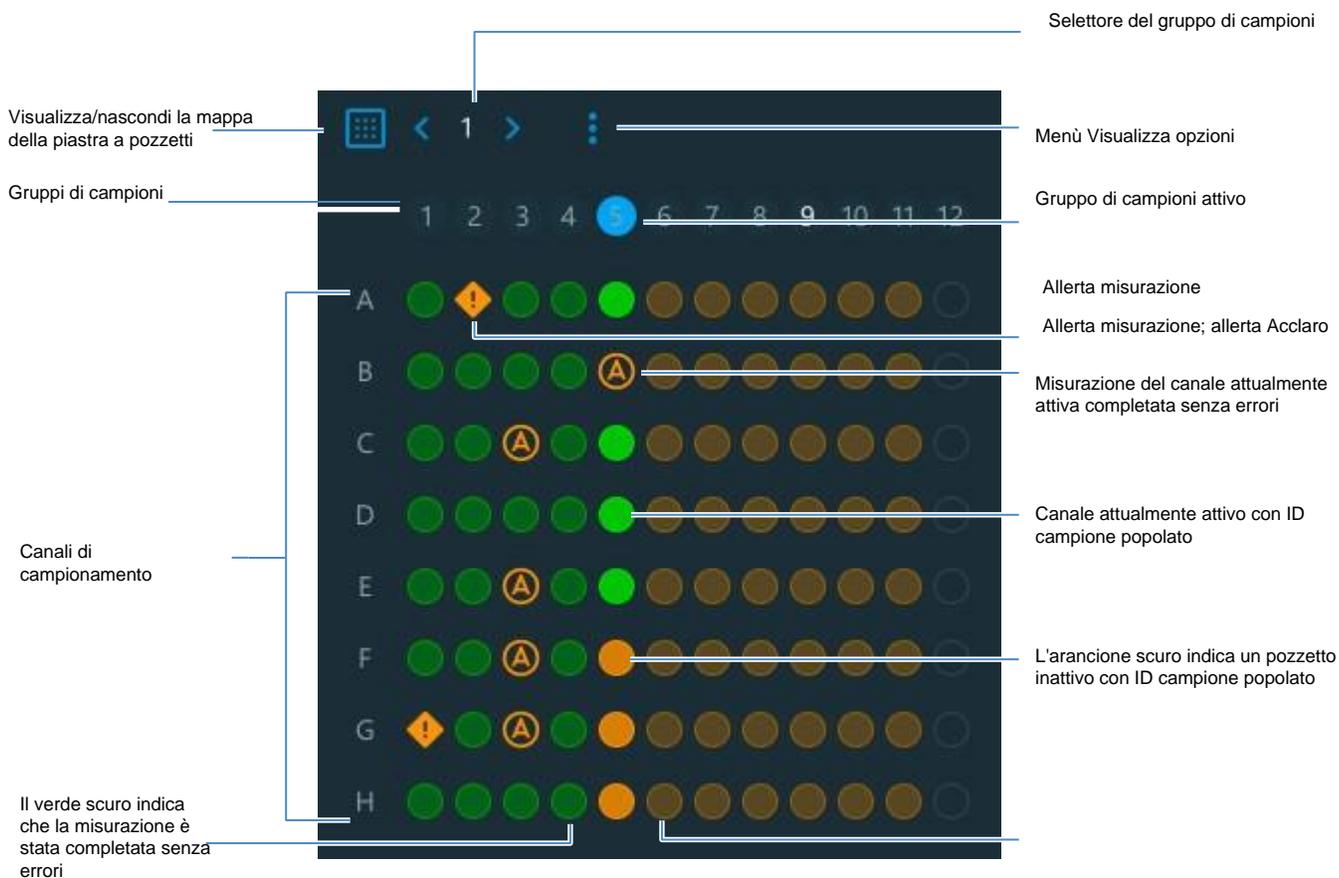
NOTA: Questa opzione funziona in modo più efficiente quando un utente importa nomi dei campioni da un file.

8 Come acquistare Operazioni di base dello strumento



Accessorio rack per provette NanoDropEight

I pozzetti/le provette da misurare successivamente sono evidenziati/e in arancione brillante nell'interfaccia utente del software. Corrispondono ai pozzetti/alle provette illuminati/e dai LED verdi sulla parte superiore dello strumento. I pozzetti/le provette con ID campione precompilato sono evidenziati/e in arancione chiaro. I pozzetti/le provette già stati misurati/e sono evidenziati/e in verde brillante (a indicare l'assenza di allerta campione) o con una A inscritta in un cerchio (a indicare un allerta Acclaro per quel campione).



Mapa della piastra a pozzetti visualizzata nella [schermata di misurazione](#)

8 Centro di apprendimento

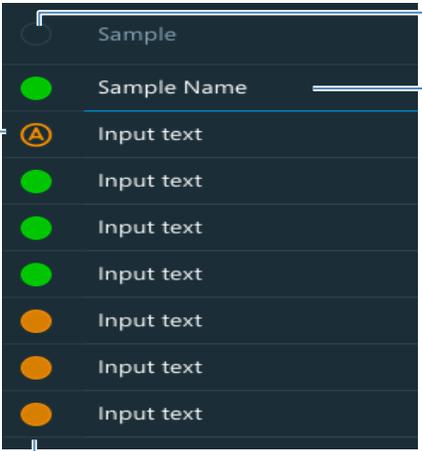
Operazioni di base dello strumento

Dopo aver completato una serie di misurazioni, è possibile avanzare manualmente i nomi dei campioni e l'illuminazione del pozzo cliccando sulle frecce  e  sopra la mappa della piastra a pozzetti in basso a sinistra. Ciò preparerà il software dello strumento per la serie di misurazioni successiva. In alternativa, è possibile cliccare sul menù a 3 puntini  sopra la mappa della piastra a pozzetti e abilitare Auto Advance. Auto Advance imposta il software per far avanzare automaticamente le colonne pochi secondi dopo l'ultima misurazione.

L'intera interfaccia della mappa della piastra a pozzetti può essere nascosta cliccando sull'icona della piastra .

Inserimento manuale ID campione

È possibile inserire manualmente i nomi dei campioni utilizzando una tastiera o uno scanner di codici a barre. Quando i nomi dei campioni vengono inseriti manualmente, è necessario attivare ogni canale che desidera misurare. Per attivare/disattivare tutti i canali contemporaneamente, cliccare sul cerchio nell'area dell'intestazione della colonna accanto a Campione. In alternativa, è possibile attivare/disattivare i singoli canali cliccando sui cerchi all'interno di ciascuna riga.



Avviso di misurazione; cliccare per maggiori informazioni

Intestazione colonna campioni; cliccare per attivare/disattivare tutti i canali

Nome campione; cliccare per modificare

Cliccare sulle righe per selezionare i singoli canali e visualizzare gli spettri

Stato del canale; cliccare per attivare/disattivare i singoli canali per la misurazione

Indicatore di canale attivo della [schermata di misurazione](#)

The screenshot shows a dark-themed interface with a 'Sample' header. Below it is a 'Sample Name' field. There are seven rows, each with a colored circle on the left and 'Input text' on the right. The circles are green for the first three rows and orange for the last four. A blue arrow points to the first green circle from the left. Another blue arrow points to the 'Sample Name' field from the right. A third blue arrow points to the first row from the right. A fourth blue arrow points to the first row from the right. A fifth blue arrow points to the first row from the right. A sixth blue arrow points to the first row from the right. A seventh blue arrow points to the first row from the right. A eighth blue arrow points to the first row from the right.

Visualizza cronologia

Sia che vengano raccolti un solo campione o più campioni in una riga, dopo aver selezionato Termina esperimento, i dati acquisiti vengono salvati automaticamente in un esperimento rinominato. Nella configurazione predefinita, gli esperimenti vengono memorizzati nel database NanoDropEight in base alla data di acquisizione, al nome dell'esperimento, [all'applicazione utilizzata](#) e alle eventuali etichette assegnate.

Utilizzare la funzione Cronologia per aprire il database per visualizzare gli spettri acquisiti e i dati associati da qualsiasi esperimento in qualsiasi momento.

Aprire database strumenti dei risultati delle misurazioni

- per aprire il database NanoDropEight, dalla schermata Home, selezionare Cronologia.

Menù Cronologia

Opzioni disponibili:

Home	Torna alla schermata Home di NanoDropEight
Importa	Importa dati da un'unità memoria flash USB o da una cartella del computer o del disco rigido di rete
Esporta	Esporta l'esperimento

Menù Misurazione

Quando si visualizzano i dati di misurazione dalla Cronologia, clicca sul menù in alto a destra della schermata di misurazione per accedere alle opzioni del menù disponibili.

Esporta	Esporta l'esperimento
Stampa	Stampa i risultati della misurazione selezionata
Etichette	Gestisci le etichette dell'esperimento
Dettagli	Dettagli dell'esperimento come nome, tipo di applicazione, data di creazione e numero di misurazioni

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Ricerca nel database degli esperimenti

Utilizzare la funzione di ricerca nella cronologia per cercare un esperimento nel [database selezionato](#) o per modificare l'intervallo di tempo o altri filtri di ricerca. Il database viene filtrato utilizzando le impostazioni correnti nella casella Cerca. I filtri includono l'intervallo di tempo, il tipo di applicazione e qualsiasi etichetta definita dall'utente (vedere [Gestire gli identificatori](#) per informazioni sull'aggiunta e l'eliminazione delle etichette). Di seguito si riporta un esempio:

Modificare un filtro per visualizzare l'elenco aggiornato degli esperimenti

Modifica filtro applicazione

Modifica intervallo di date

History

Cerca

All Applications

All time

	Date	Name	Application	Last Modified	Samples
<input checked="" type="checkbox"/>	6/11/2021 5:03:09 PM	proteinA280 6/11/2021 5:04:34 PM	ProteinA280	operator	16
<input type="checkbox"/>	6/11/2021 4:57:54 PM	dsDNA 6/11/2021 5:00:51 PM	dsDNA	operator	8
<input type="checkbox"/>	6/11/2021 4:56:16 PM	dsDNA 6/11/2021 4:56:26 PM	dsDNA	operator	2
<input type="checkbox"/>	6/11/2021 4:49:57 PM	dsDNA 6/11/2021 4:55:02 PM	dsDNA	operator	6

Esportare esperimenti selezionati

Utilizzare **Seleziona** nella cronologia per selezionare gli esperimenti da esportare.

Esportare gli esperimenti selezionati

- Aprire Cronologia. È possibile filtrare o utilizzare la funzione di [ricerca](#) per trovare l'esperimento

History

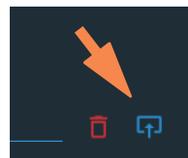
Cerca

All Applications

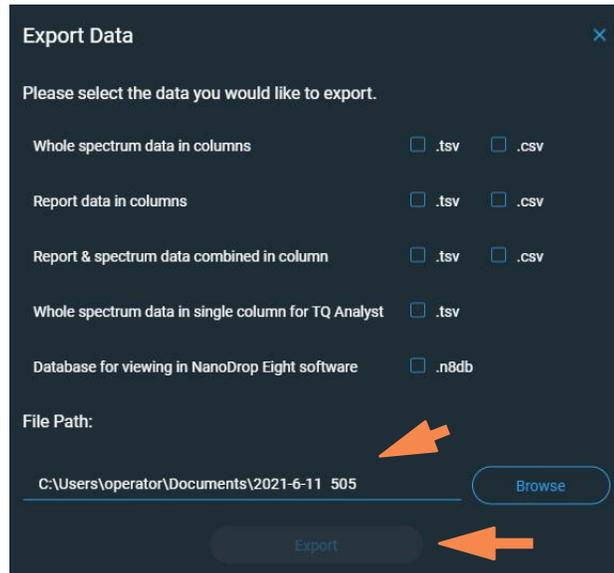
All time

	Date	Name	Application	Last Modified	Samples
<input checked="" type="checkbox"/>	6/11/2021 5:03:09 PM	proteinA280 6/11/2021 5:04:34 PM	ProteinA280	operator	16
<input type="checkbox"/>	6/11/2021 4:57:54 PM	dsDNA 6/11/2021 5:00:51 PM	dsDNA	operator	8

- cliccare sulla casella di controllo per selezionare la riga o le righe da esportare
- cliccare su **Esporta**



- selezionare uno o più formati in cui esportare (consultare "Esportare esperimenti selezionati")



- inserire o sfogliare un percorso di esportazione disponibile (unità USB, archiviazione PC o [percorso di rete](#)) e selezionare **Esporta**
- una volta comparso il messaggio "Esportazione riuscita", selezionare **OK**

Eliminare esperimenti selezionati

Selezionare gli esperimenti da eliminare.

Eliminare gli esperimenti selezionati

- Filtrare gli esperimenti secondo necessità, usare la funzione di [ricerca](#) per trovare l'esperimento desiderato
- Cliccare sulla casella di controllo della **riga** o delle righe per selezionare uno o più esperimenti da eliminare (cliccare nuovamente per deselezionare un esperimento)
- Cliccare su **Elimina** e **OK**

Nota I dati eliminati non possono essere recuperati.

Aprire l'esperimento e visualizzare i dati associati

Utilizzare Cronologia per individuare e aprire qualsiasi esperimento per visualizzare i dati di misurazione in esso contenuti.

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

Aprire un esperimento

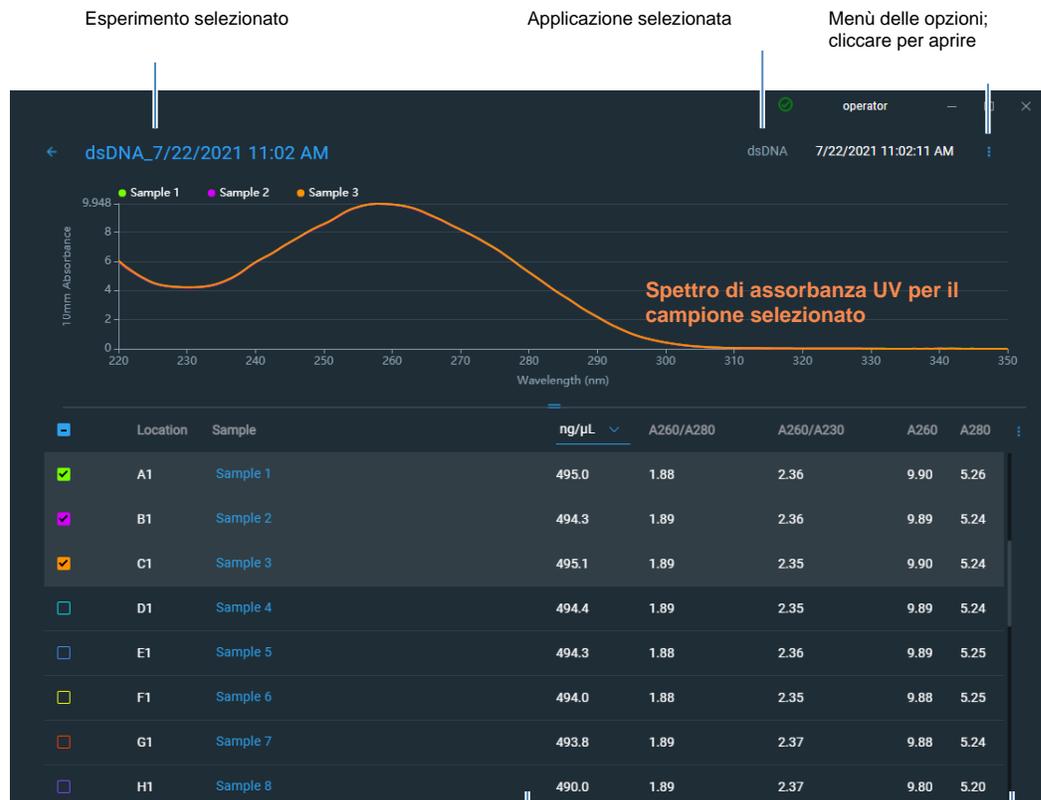
- Nella Cronologia, nel caso in cui l'esperimento che si desidera aprire non venga visualizzato, è possibile utilizzare la funzione [Cerca](#) per trovare l'esperimento desiderato
- cliccare sul **nome dell'esperimento** per aprirlo

La cronologia fornisce dati sulla misurazione come [dati dello spettro](#) nonché [tabelle di dati](#), simili a quelle che compaiono al completamento di una misurazione.

Nota I dati mostrati dipendono dall'applicazione utilizzata per misurare i campioni (acidi nucleici in questi esempi). Per ulteriori informazioni, consultare i dettagli [dell'applicazione](#).

Dati dello spettro—

Dopo aver aperto un esperimento, il software visualizza lo spettro di assorbanza UV o UV-visibile e i dati associati per l'esperimento selezionato, proprio come appare durante una misurazione. L'immagine seguente descrive le funzionalità disponibili.



Cliccare sulla riga per selezionare il campione e visualizzare lo spettro. Selezionare più righe per sovrapporre gli spettri

Risultati della misurazione; consultare Applicazioni per i dettagli

Tabella dei dati—

L'area inferiore della schermata della cronologia delle misurazioni (mostrata sopra) visualizza la tabella dei dati per l'esperimento corrente. La tabella dei dati contiene i risultati della misurazione per tutti i campioni dell'esperimento. L'immagine seguente descrive le funzionalità disponibili.

Menù

Selezionare il menù nell'angolo in alto a destra da qualsiasi schermata Dati spettrali o Tabella dati per visualizzare le opzioni di menù disponibili.

Home	Torna alla schermata Home di NanoDropEight
Gestisci Identificatori	Aggiungere o eliminare etichette per l'esperimento selezionato per agevolarne l'identificazione (consultare Gestione degli identificatori sullo strumento)
Esporta	Esporta esperimenti selezionati
Stampa	Stampa il grafico o la tabella dati per i risultati di misurazione selezionati; se non viene selezionato alcun risultato, stampa tutti i risultati nella tabella dei dati
Impostazioni	Visualizza o modifica le impostazioni dello strumento

Operazioni generali su NanoDropEight

Queste operazioni sono disponibili da qualsiasi schermata di misurazione o dalla [Cronologia](#).

Gestione degli identificatori

È possibile aggiungere una o più "etichette" (ad esempio etichette o tag di metadati) a un esperimento per agevolarne l'identificazione.

Utilizzare la Cronologia per aggiungere etichette agli esperimenti, assegnare etichette esistenti, visualizzare le etichette assegnate e rimuovere o eliminare etichette sullo strumento. È possibile filtrare l'elenco degli esperimenti nella Cronologia in base a una o più etichette definite dall'utente.

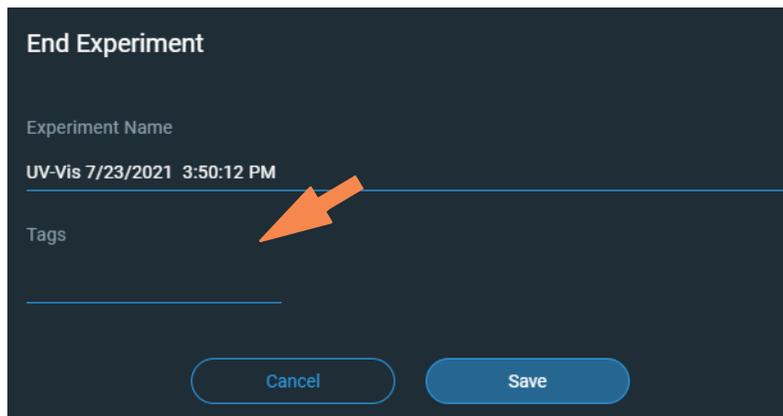
Etichettare un nuovo esperimento durante il salvataggio dei dati

- dopo aver misurato l'ultimo campione, selezionare  Termina esperimento.

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

- nella casella Termina esperimento inserire le etichette definite dall'utente nell'apposito campo



- Cliccare su **Salva**.

Etichettare l'esperimento nella Cronologia

- dalla schermata Home, selezionare **Cronologia**.
- Cliccare sul menù della riga dell'esperimento e selezionare **Etichette**
- nella casella Gestione etichette, inserire un'etichetta come **identificatore**
- Fare clic su Salva per aggiungere l'etichetta. Aggiungere ulteriori etichette se necessario.
- Cliccare su **OK**

Rimuovere un'etichetta

- dalla schermata Home, selezionare **Cronologia**
- Cliccare sul menù della riga dell'esperimento e selezionare **Etichette**
- nella casella Gestione etichette, cliccare sulla **X** per eliminare qualsiasi etichetta desiderata
- Cliccare su **OK**.

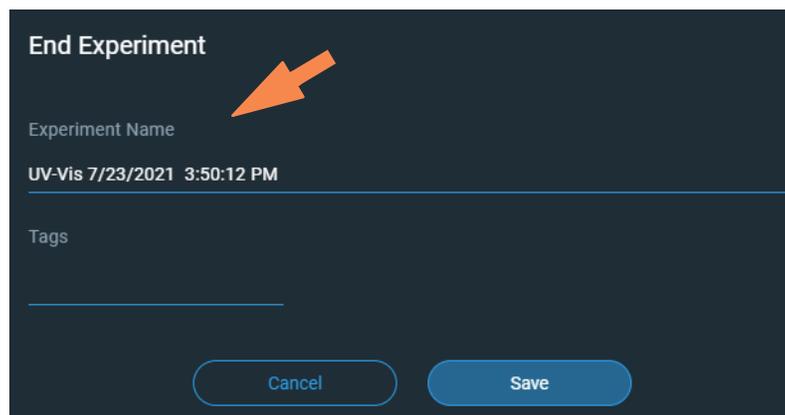
Modificare il Nome dell'esperimento

È possibile modificare il nome dell'esperimento durante il salvataggio dei dati o successivamente accedendo alla [Cronologia](#).

Modificare il nome dell'esperimento alla termine dell'esperimento

- Al termine della misurazione dei campioni, selezionare Termina esperimento.

- inserire un nome per questo gruppo di misurazioni nella casella Nome Esperimento



- Cliccare su **Salva**.

Modificare il nome dell'esperimento accedendo alla cronologia

- dalla schermata Home, aprire la Cronologia
- usare la funzione [Cerca](#) per trovare l'esperimento
- Cliccare due volte per aprire l'esperimento
- Cliccare sul campo **Nome esperimento**
- inserire il nome del nuovo esperimento
- il nuovo nome viene salvato automaticamente

Esportare esperimenti selezionati

È possibile esportare i dati di misurazione quando si salva l'esperimento o successivamente accedendo alla [Cronologia](#)

Nota I dati esportati durante un salvataggio vengono comunque salvati in un database (locale o remoto, a seconda dell'impostazione Memorizzazione dati; per ulteriori informazioni.

I dati di misurazione possono essere esportati in tre formati:

- come file con valori separati da virgola (.csv) contenenti:
 - dati dell'intero spettro disposti in colonne
 - dati del report disposti in colonne
 - sia i dati del report che quelli dello spettro combinati in colonne.
- come file con valori separati da tabulazione (.tsv) contenenti:
 - dati dell'intero spettro disposti in colonne
 - dati del report disposti in colonne
 - sia i dati del report che quelli dello spettro combinati in colonne.

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

- dati dell'intero spettro in una singola colonna per TQ Analyst.
- come file software NanoDropEight (.sql) contenenti spettri e risultati di misura per ciascun esperimento esportato

Utilizzare qualsiasi foglio di calcolo o applicazione di elaborazione testi per aprire un file CSV o TSV. Di seguito si riporta un esempio dei diversi risultati di misurazione del campione in formato CSV:

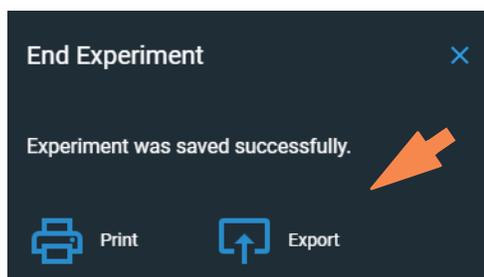
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Application:	dsDNA								
2	Serial Number:	ND8_0014								
3	User Name:	p.brown								
4	Sample Id	Sample Name	Date & Time	Location	ng/ μ L	A260/A280	A260/A230	A260	A280	
5	ef545555-6982-4cf1-	Sample 1	7/22/2021 11:03	A1	494.9728	1.8826	2.3554	9.8995	5.2584	
6	175af623-c7b2-4e94-	Sample 2	7/22/2021 11:03	B1	494.3488	1.8854	2.3578	9.887	5.2441	
7	ef763938-31ba-4eb5-	Sample 3	7/22/2021 11:03	C1	495.1052	1.8885	2.3474	9.9021	5.2432	
8	16031e24-e1d6-4628-	Sample 4	7/22/2021 11:03	D1	494.3507	1.8852	2.349	9.887	5.2446	
9	a08fc6f9-bd2e-4f28-	Sample 5	7/22/2021 11:03	E1	494.3455	1.8823	2.3554	9.8869	5.2525	
10	0c88c4ce-0fdd-489e-	Sample 6	7/22/2021 11:03	F1	493.9864	1.8827	2.3517	9.8797	5.2476	
11	69e3aac4-50da-4244-	Sample 7	7/22/2021 11:03	G1	493.788	1.8861	2.3715	9.8758	5.2361	

Nota I tipi di dati esportati dipendono dall'applicazione utilizzata per misurare i campioni (acidi nucleici in questo esempio). Per ulteriori informazioni, consultare i dettagli [dell'applicazione](#).

I dati possono essere esportati in qualsiasi percorso di file collegato al PC o in un percorso di rete. Se si selezionano più esperimenti per l'esportazione, ciascun esperimento esportato dispone di un file corrispondente. I nomi dei file coincidono con i [nomi degli esperimenti](#). I file vengono salvati in una cartella denominata "NanodropEight" seguita dal numero di serie dello strumento. (Utilizzare [Stato del sistema](#) per visualizzare il numero di serie dello strumento.)

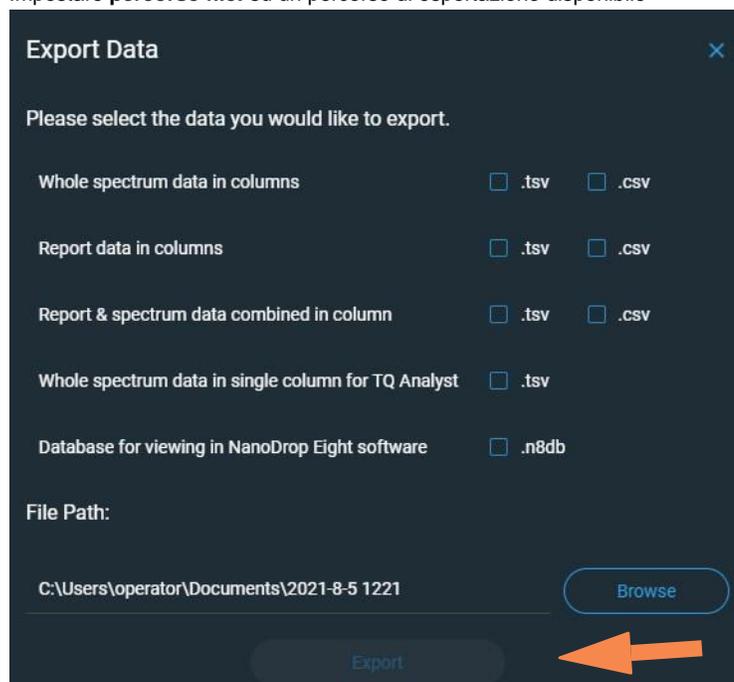
Esportare i dati al termine dell'esperimento

- al termine della misurazione dei campioni, cliccare su  Termina esperimento
- dalla casella Termina esperimento, inserire le Etichette e modificare il nome dell'esperimento, se lo si desidera, e cliccare Salva
- Una volta salvato l'esperimento, è possibile cliccare su **Esporta**



- selezionare uno o più formati in cui esportare (cfr. sopra per i dettagli)

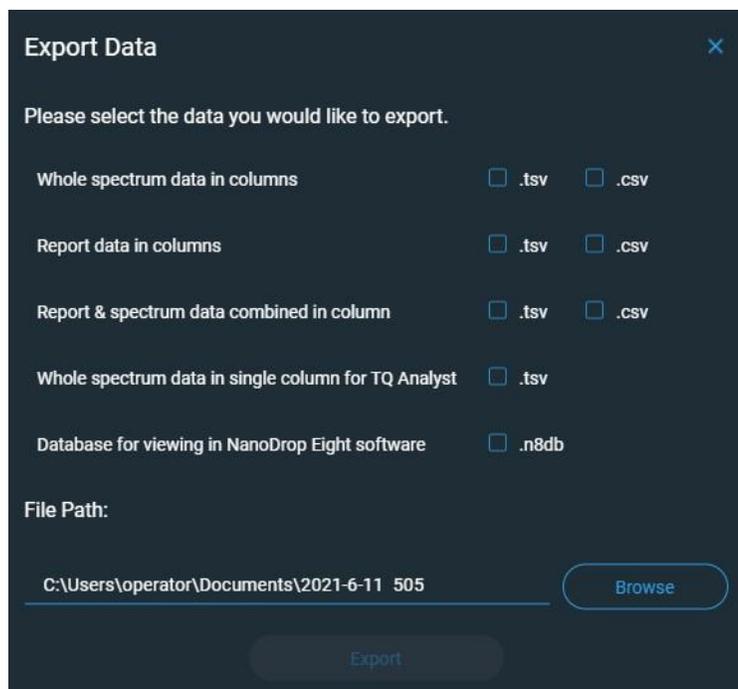
- Impostare **percorso file**: su un percorso di esportazione disponibile



- cliccare su **Esporta**

Esportare dati dalla cronologia

- Dalla schermata Home, aprire la Cronologia
- Cliccare sulla casella di spunta relativa agli esperimenti che si desidera esportare. È possibile utilizzare la funzione di [ricerca](#) per trovare l'esperimento
- Cliccare su **Esporta**
- Selezionare uno o più formati in cui esportare (cfr. sopra per i dettagli)
- Impostare **percorso file**: su un percorso di esportazione disponibile e cliccare su **Esporta**



- una volta comparso il messaggio "Esportazione riuscita", cliccare **OK**

Eliminare misurazioni selezionate

È possibile eliminare le misurazioni dei campioni selezionati da qualsiasi esperimento, oppure tutte le misurazioni nel database.

Nota I dati eliminati non possono essere recuperati.

Eliminare i dati da qualsiasi schermata di misurazione

- cliccare su una riga di misurazione campione
- cliccare 

Eliminare i dati dalla cronologia

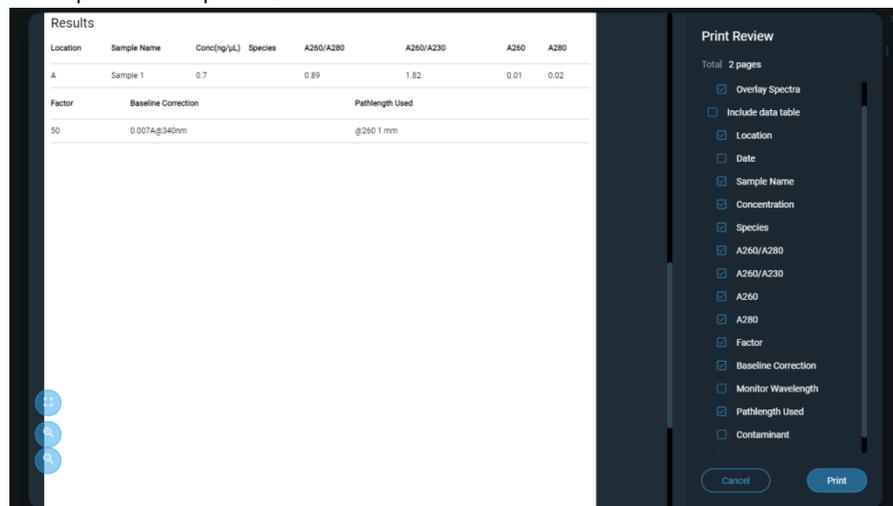
- dalla schermata Home, aprire la Cronologia
- selezionare **la riga** nella Cronologia. È possibile filtrare gli esperimenti per data o tipo oppure utilizzare la funzione **Cerca** per trovare l'esperimento desiderato.
- cliccare per selezionare uno o più esperimenti da esportare
- Cliccare su **Elimina**.

Stampare misurazioni selezionate

Collegare una stampante compatibile al PC per stampare rapidamente i risultati delle misurazioni, inclusi dati dello spettro, le curve standard, le tabelle di dati, i dettagli dei campioni e i risultati diagnostici.

Stampare i dati da qualsiasi schermata di misurazione

- dopo aver misurato un campione, visualizzare i risultati della misurazione da stampare come i dati dello spettro, la curva standard, la tabella dei dati o i dettagli del campione (cfr. [Schermate di misurazione NanoDropEight](#))
- dal menù delle opzioni, selezionare **Stampa**
- In Anteprima di stampa selezionare i dati che si desidera includere nelle tabelle dati.



- selezionare **Stampa** per confermare
- nella finestra Anteprima di stampa, assicurarsi che sia selezionata la stampante corretta e impostare altre opzioni di stampa a seconda delle esigenze, ad esempio il formato e l'orientamento della carta (si consiglia l'impostazione "Auto"), il margine e l'allineamento per regolare l'immagine nella finestra

Nota Il software salva le impostazioni di stampa ogni volta che viene avviata una stampa.
di anteprima

- selezionare **Stampa**

La schermata di misurazione selezionata viene stampata per ogni misurazione selezionata.

Stampa dei dati dalla cronologia

- dalla schermata Home, aprire la Cronologia
- cliccare su una **riga** in Cronologia o utilizzare la funzione [Cerca](#) per trovare l'esperimento desiderato
- cliccare sul **nome dell'esperimento** per aprirlo
- cliccare sul menù nell'angolo in alto a destra dello schermo e selezionare **Stampa**

8 Centro di apprendimento

Operazioni di base dello strumento

- In Anteprima di stampa selezionare i dati che si desidera includere nelle tabelle dati.

The screenshot displays the software interface for printing results. On the left, a 'Results' table is visible, and on the right, a 'Print Review' panel allows for selecting which data to include in the printout.

Location	Sample Name	Conc(ng/ μ L)	Species	A260/A280	A260/A230	A260	A280
A	Sample 1	0.7		0.89	1.82	0.01	0.02

Factor	Baseline Correction	Pathlength Used
50	0.007A@340nm	@260 1 mm

The 'Print Review' panel on the right shows a list of items to be printed, with checkboxes for each. The 'Total' is 2 pages. The 'Print' button is highlighted in blue.

- selezionare **Stampa** per confermare
- nella finestra Anteprima di stampa, assicurarsi che sia selezionata la stampante corretta e impostare altre opzioni di stampa a seconda delle esigenze, ad esempio il formato e l'orientamento della carta (si consiglia l'impostazione "Auto"), il margine e l'allineamento per regolare l'immagine nella finestra di anteprima

Nota Il software salva le impostazioni di stampa ogni volta che viene avviata una stampa.

- selezionare **Stampa**

La schermata di misurazione selezionata viene stampata per ogni misurazione selezionata.

Acclaro Sample Intelligence

La tecnologia Thermo Scientific™ Acclaro™ Sample Intelligence integrata negli strumenti NanoDropEight offre queste caratteristiche esclusive per aiutare l'utente a valutare l'integrità del campione:



analisi dei contaminanti per agevolare le operazioni di qualificazione di un campione prima dell'uso nelle applicazioni a valle



supporto tecnico on-demand per misurazioni atipiche o a concentrazioni molto basse



Utilizzare queste risorse integrate per risolvere rapidamente possibili misurazioni dei problemi e prendere decisioni informate sull'opportunità di utilizzare, ripulire o intraprendere altre azioni con un risultato del campione atipico. La funzione Sample Intelligence funge inoltre da risorsa per ulteriori studi e da strumento di apprendimento per utenti nuovi o principianti.

Attivazione rilevamento

Dalla schermata di misurazione, cliccare sull'opzione attiva rilevamento contaminanti.



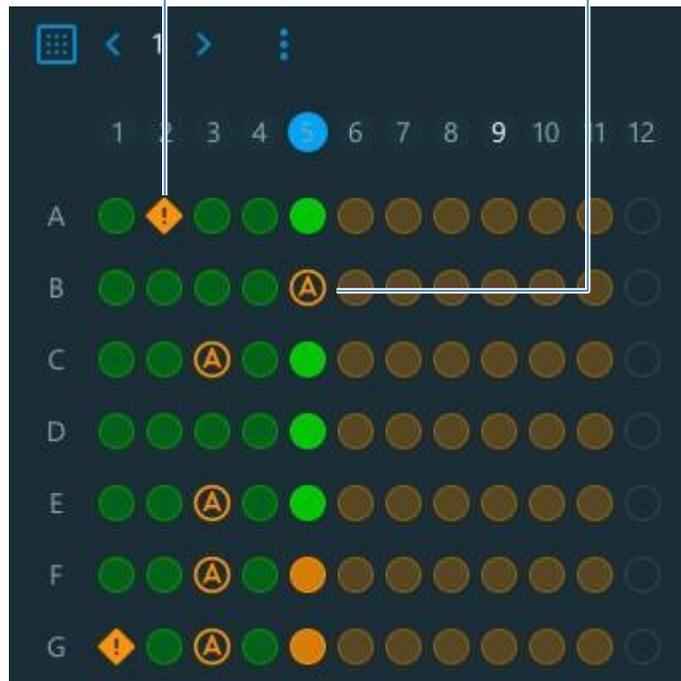
Quando abilitato, RNA Contaminant Detection/DNA Contaminant detection applicherà modelli matematici per prevedere la quantità di contaminante RNA in dsDNA o dsDNA in RNA. Questi modelli sono specifici per la fonte dell'acido nucleico. L'icona del topo è rappresentativa di tutte le fonti di acido nucleico nei mammiferi. In caso di misurazione dell'acido nucleico da una fonte per la quale non è presente alcun modello matematico, lasciare vuote le caselle di spunta

Visualizzazione delle informazioni di Acclaro Sample Intelligence

Le misurazioni che includono un'analisi dei contaminanti o informazioni tecniche vengono contrassegnate automaticamente (cfr. esempi di seguito). Selezionare l'icona per esaminare i dati o le informazioni associate.

Sono disponibili informazioni di allerta campione per questa misurazione

L'analisi dei contaminanti è disponibile per questa misurazione



Le icone vengono visualizzate nella [mappa della piastra campione](#), nella [tabella dei dati](#) e nella [Cronologia](#) (vedere di seguito).

<input type="checkbox"/>	Location	Sample	ng/μL
<input type="checkbox"/>	G	Blank	
<input type="checkbox"/>	H	Blank	
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> A1	1000 ng/μl	-0.0
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> B1	500 ng/μl	-0.2
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> C1	250 ng/μl	-0.5
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> D1	125 ng/μl	-0.6

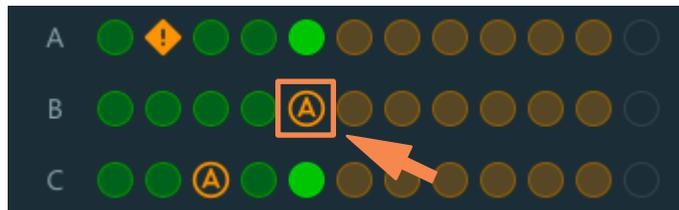
Le icone sono attive in tutti e tre i luoghi; le informazioni rimangono con i dati a tempo indeterminato, anche in seguito all'esportazione.

Analisi dei contaminanti

Per le applicazioni dsDNA, RNA e Protein A280, il software NanoDropEight avvia automaticamente un'analisi dello spettro per diversi contaminanti noti durante la misurazione. Esempi di contaminanti noti includono:

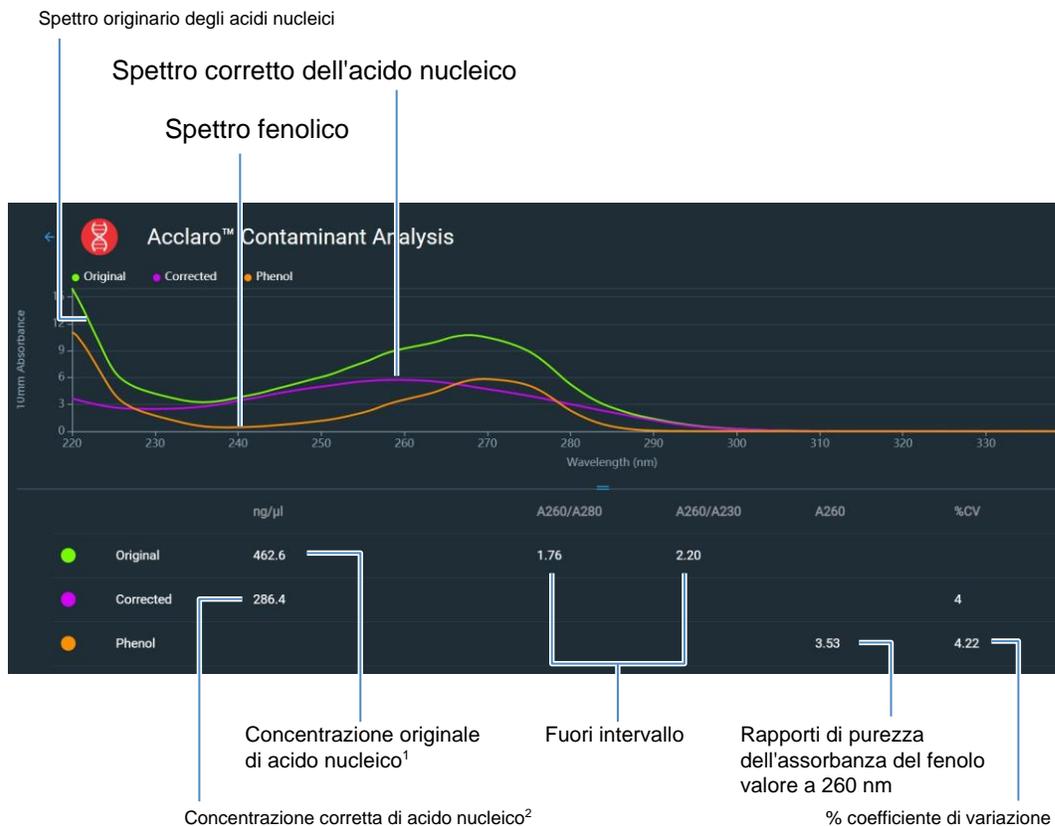
- per le misurazioni di dsDNA e RNA:
 - nella regione dell'analisi: proteine e fenolo
 - rileva la presenza di guanidina HCl e guanidinioisotiocianato
 - rileva la contaminazione da dsDNA specie-specifico nell'applicazione RNA, nonché la contaminazione da RNA specie-specifico nell'applicazione dsDNA
- per le misurazioni delle proteine:
 - nella regione dell'analisi: acidi nucleici e fenolo

Se i contaminanti vengono identificati in un campione, l'icona "Analisi dei contaminanti" compare a sinistra dei risultati della misurazione.



Cliccare sull'icona per visualizzare l'analisi dei contaminanti e le informazioni associate.

Di seguito si riporta un esempio di risultati di un'analisi di contaminante di acido nucleico che contiene un contaminante proteico sufficiente a influenzare i risultati della misurazione.



¹In base all'assorbanza totale del campione (campione più contaminante)

²In base all'assorbanza corretta del campione (campione meno contaminante)

Poiché i fenoli assorbono la luce intorno alle lunghezze d'onda dell'analisi per l'acido nucleico (230 nm, 260 nm e 280 nm), la presenza di fenoli nel campione di acido nucleico mostrato sopra ha spinto i rapporti A260/A280 e A260/A230 fuori intervallo e ha causato una concentrazione di acido nucleico riportata superiore al valore reale. Il software identifica l'impurità (fenolo), e riporta le seguenti informazioni:

- assorbanza corretta al basale dovuta al fenolo (2,53) alla lunghezza d'onda dell'analisi (260 nm)
- % coefficiente di variazione per il risultato della misurazione (incertezza x 100/risultato della misurazione = 4,22%; una %CV elevata indica che il risultato della misurazione è vicino al limite di rilevamento dello strumento o la presenza di un componente interferente)
- concentrazione originale di acido nucleico (462,6 ng/μl), che si basa sull'assorbanza totale corretta al basale (campione più contaminante) alla lunghezza d'onda dell'analisi
- concentrazione corretta di acido nucleico (286,4 ng/μL), che si basa sull'assorbanza corretta (campione meno contaminante) alla lunghezza d'onda dell'analisi

Teoria alla base dell'analisi dei contaminanti

Le misurazioni dell'assorbanza UV e UV-visibile vengono utilizzate per quantificare campioni di acido nucleico e proteine rispettivamente a 260 nm e 280 nm. L'analisi si basa sul fatto che l'assorbanza totale di una soluzione di miscela ad una data lunghezza d'onda corrisponde alla somma dei valori di assorbanza di ciascun componente della miscela.

Una delle sfide più frequenti di questo metodo è data dal fatto che un certo numero di materiali utilizzati nel processo di estrazione può assorbire in varie regioni in tutto lo spettro. Quando questi contaminanti sono presenti in un campione, possono interferire con l'analisi gonfiando artificialmente l'assorbanza alla lunghezza d'onda di interesse, il che fa sì che la concentrazione dell'analita sia sovrastimata.

Tradizionalmente, i rapporti di purezza vengono utilizzati per rilevare la presenza di contaminanti che potrebbero influenzare le applicazioni a valle. Tuttavia, i rapporti di purezza non sempre forniscono un quadro completo di possibili contaminazioni. Quando un rapporto di purezza non rientra nell'intervallo previsto, il profilo dello spettro viene spesso esaminato qualitativamente.

La nostra tecnologia Acclaro applica un approccio quantitativo all'analisi dei contaminanti. Attraverso sofisticati algoritmi matematici, Acclaro analizza i dati dello spettro per identificare probabili contaminanti in un campione e rimuove dal relativo risultato qualsiasi contributo dovuto al contaminante. Ciò si traduce in un valore di concentrazione più accurato dell'analita di interesse e in un'analisi maggiormente quantitativa del livello di contaminazione.

Poiché lo spettro di un composto puro è univoco, uno spettro di miscela di materiali per lo più noti che hanno poche interazioni può essere matematicamente suddiviso nei suoi sotto-spettri e nei componenti identificati. L'algoritmo di analisi dei contaminanti utilizza una stretta regione dello spettro (220-285 nm) intorno alla lunghezza d'onda dell'analisi (260 nm per gli acidi nucleici, 280 nm per le proteine) per determinare qualsiasi contributo di assorbanza proveniente da possibili contaminanti noti (proteine o acido nucleico e fenolo) che assorbono in quella regione. L'intero spettro viene analizzato per determinare la presenza di altri possibili contaminanti come la guanidina HCl e/o l'isotiocianato di guanidinio, ossia i comuni reagenti utilizzati per la purificazione dell'acido nucleico.

Nota L'ottenimento di risultati di analisi dei contaminanti coerenti e di alta qualità dipende dalla qualità degli spettri del campione misurati, che dipende dallo stato di manutenzione dello strumento. Per ulteriori informazioni, consultare [Programma di manutenzione](#).

Supporto tecnico on-demand

Per le applicazioni dsDNA e Protein A280, il software NanoDropEight monitora tutte le misurazioni del campione per la presenza di contaminanti o altre anomalie che possono influire sulla misurazione. Esempi di caratteristiche monitorate includono:

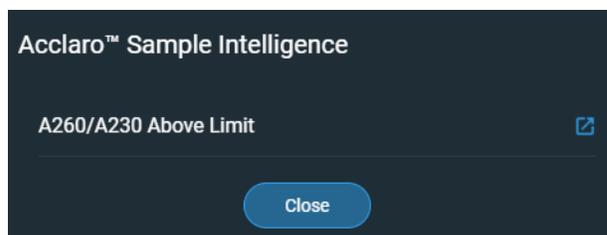
- rapporti di assorbanza, che indicano la presenza di composti suscettibili di interferire con le misurazioni del campione (denominati anche "rapporti di purezza"). Per ulteriori informazioni, visionare la formazione multimediale [Che cos' è un rapporto di purezza?](#).

Se sono disponibili informazioni di allerta campione,  vengono visualizzate a sinistra dei risultati della misurazione.



Cliccare per visualizzare le informazioni.

Di seguito si riportano i risultati di un'analisi dell'acido nucleico per la quale i rapporti di purezza misurati sono superiori al valore atteso



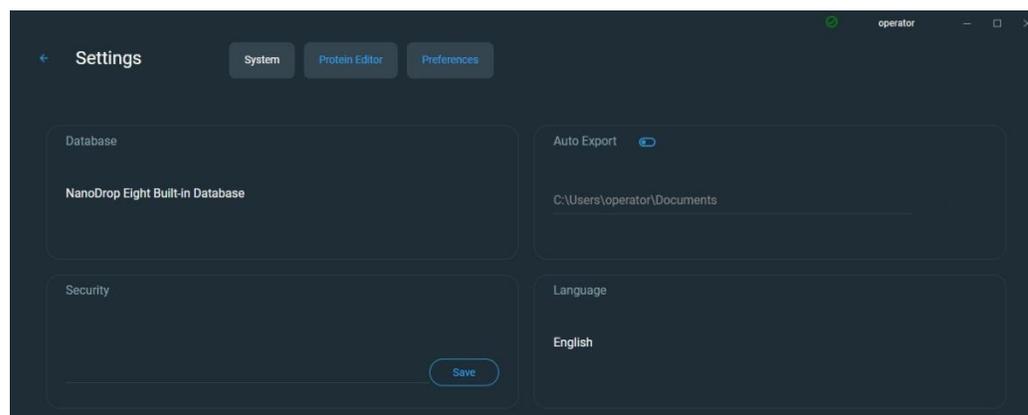
Fare clic sull'icona  **Ulteriori informazioni** per il livello successivo di informazioni

Impostazioni dello strumento

Dalla schermata Home, selezionare (Impostazioni). Le opzioni disponibili includono Impostazioni di sistema, Editor proteine e Preferenze.

Impostazioni di sistema

Sono disponibili le seguenti opzioni:

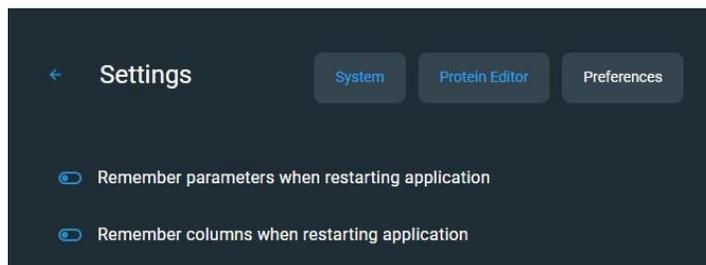


Lingua	Selezione della lingua di visualizzazione del software NanoDropEight
Database	Avviso: la modifica della lingua richiede il riavvio del software. NanoDropEight utilizza un database incorporato
Sicurezza	Utilizzato quando il software opzionale Thermo Scientific™ SciVault™ è installato. Il percorso del server viene popolato automaticamente per le installazioni dei singoli computer, ma deve essere Copiato e Incollato per installazioni di computer diverse.
Esportazione automatica	Selezionare un percorso file per i file esportati e abilitare/disabilitare Esportazione automatica al termine degli esperimenti
Supporto integrazione LIMS	Abilita durante l'importazione dei dati nel software LIMS. Incorpora un checksum nel file esportato.

8 Centro di apprendimento

Opzioni di visualizzazione della schermata di misurazione

Preferenze



Impostare le preferenze per la memorizzazione di determinate impostazioni al riavvio dell'applicazione

Editor proteine

Consultare ["Editor di proteine"](#) a pagina 63 per informazioni sull'utilizzo dell'editor di proteine.

Opzioni di visualizzazione della schermata di misurazione

Quando si eseguono misurazioni utilizzando il software PC Control, cliccare con il pulsante destro del mouse sul grafico nella schermata di misurazione per visualizzare le seguenti opzioni di visualizzazione:

Overlay Mode	Visualizza più campioni in sovrapposizione.
✓ Show CrossHairs	Passare il mouse sullo spettro per visualizzare i dati del grafico
✓ Show Legend	Visualizza legenda del grafico
Find Peaks	Calcolare i picchi per l'intervallo specificato
Autoscale	Scala gli assi per adattarsi alla misura degli spettri
Format X-axis	Seleziona per inserire manualmente l'intervallo dell'asse x
Format Y-axis	Seleziona per inserire manualmente l'intervallo dell'asse y

Opzioni di visualizzazione - Cliccare con il pulsante destro del mouse sul grafico per visualizzare

Trova picchi

Selezionare **Trova picchi** per visualizzare i picchi calcolati per l'intervallo specificato. È possibile inserire l'intervallo trascinando le linee limite codificate in base al colore oppure inserendo i valori nei campi nella parte superiore dello spettro. I picchi trovati per l'intervallo definito sono elencati nella tabella sottostante lo spettro.



(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Manutenzione

- [Piano di Manutenzione 200](#)
- [Manutenzione dei piedistalli 201](#)
- [Decontaminazione dello strumento 205](#)
- [Diagnostica dello strumento 207](#)

Piano di manutenzione

Manutenzione giornaliera

- Pulizia dei piedistalli con acqua deionizzata

Manutenzione periodica

- Pulizia e ricondizionamento dei piedistalli

Ogni 6 mesi

- Pulizia e ricondizionamento dei piedistalli
- Eseguire [controllo intensità](#)
- Eseguire [verifica prestazioni](#)

In caso di problemi con il sistema, fare riferimento alle informazioni relative alla risoluzione dei problemi. Se il problema persiste, contattare il produttore. Gli utenti situati fuori dal territorio di Stati Uniti e Canada devono contattare il proprio distributore locale.

Ove lo strumento richiedesse manutenzione o riparazione, [contattare direttamente il produttore](#) o il proprio distributore locale.



Manutenzione dei piedistalli

I piedistalli richiedono una manutenzione periodica per mantenere l'integrità della misurazione. Di seguito sono riportate le tempistiche e le procedure per la pulizia e il ricondizionamento dei piedistalli.

Pulizia dei piedistalli

Per evitare residui e contaminazioni incrociate, pulire i piedistalli prima della prima misurazione del blank o del campione e alla fine di ogni misurazione. Per la manutenzione periodica potrebbe essere necessaria una pulizia aggiuntiva (cfr. sotto) o un [ricondizionamento](#).

Nota

- Non utilizzare acido fluoridrico (HF) sui piedistalli. Gli ioni di fluoruro danneggiano irreversibilmente i cavi in fibra ottica di quarzo.
- Per evitare danni dovuti a fuoriuscite, tenere i contenitori di liquidi lontano dallo strumento.
- Non usare flaconi a zampillo o spray sopra o vicino allo strumento, poiché i liquidi potrebbero penetrare nello strumento e causare danni permanenti.
- Non tentare di rimuovere il diaframma attorno ai piedistalli inferiori poiché è fissato in modo permanente allo strumento.
- Evitare che HCl, alcool, candeggina, acetone o qualsiasi altro solvente rimangano sul diaframma per più di un minuto, ciò potrebbe compromettere la tenuta delle guarnizioni. Se il diaframma si allenta, [contattare il produttore](#).

Nota Le soluzioni contenenti detergente o alcool isopropilico possono alterare il condizionamento dei piedistalli. Ove essi fossero necessari per le analisi del campione, seguire immediatamente con 3– 5 µL DI H₂O.

9 Manutenzione

Manutenzione dei piedistalli

Forniture necessarie

- salviette da laboratorio prive di lanugine
- acqua deionizzata (DI H₂O)
- per una pulizia accurata: [kit PR-1](#)

Per pulire i piedistalli tra le misurazioni

Solleverare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una nuova salvietta da laboratorio.

Per pulire i piedistalli tra gli utenti

1. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
2. Pipettare 3 μ L DI H₂O sul piedistallo inferiore.
3. Abbassare il braccio e attendere 2–3 minuti.
4. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

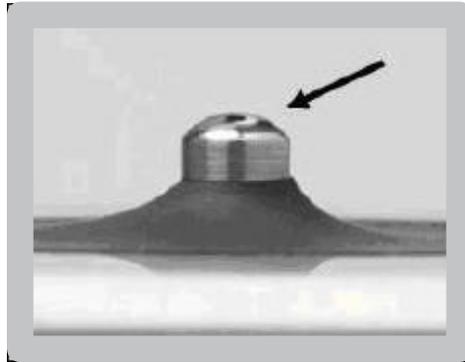
Suggerimento: laddove sia necessaria una pulizia accurata (ad esempio, per rimuovere il campione secco lasciato sui piedistalli), [pulire e ricondizionare i piedistalli](#) utilizzando la miscela PR-1. Se non si dispone di miscela PR-1, è inoltre possibile sostituire il DI H₂O con 0,5 M HCl nella procedura di cui sopra e seguire con 3 μ L DI H₂O.



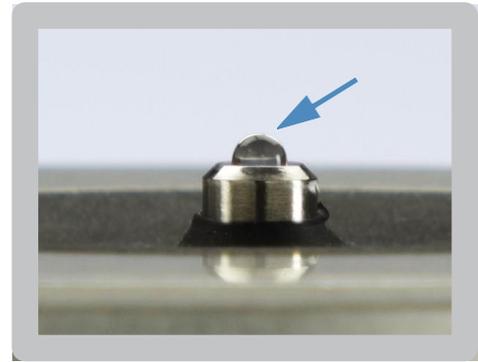
Ricondizionamento dei piedistalli

Le superfici del piedistallo possono perdere le loro proprietà "condizionate" nel tempo, specialmente dopo misurazioni con alcol isopropilico o soluzioni che contengono tensioattivi o detersivi come il reagente Bradford. Un piedistallo non condizionato comporta l'"appiattimento" delle goccioline sul piedistallo inferiore, impedendo la corretta formazione della colonna di liquido quando il braccio viene abbassato. Lo spettro risultante può sembrare "ruvido" o "frastagliato".

Se i campioni si appiattiscono sul piedistallo (piuttosto che "produrre bolle" o formare una gocciolina arrotondata) o la colonna di liquido si rompe durante una misurazione, ricondizionare i piedistalli.



Piedistallo non condizionato
(gocciolina si appiattisce)



Piedistallo adeguatamente condizionato
(gocciolina si gonfia)

Occorrente

- salviette da laboratorio prive di lanugine
- [Kit di ricondizionamento del piedistallo PR-1](#) (disponibile presso il produttore o presso un distributore locale)
- pipettatore di precisione calibrato (0–2 µL)
- aria compressa

9 Manutenzione

Manutenzione dei piedistalli

Per ricondizionare i piedistalli



1. Aprire la fiala contenente del composto PR-1 e utilizzare l'applicatore fornito per prelevare una quantità di preparato della grandezza di una capocchia di spillo.
2. Applicare uno strato sottile e uniforme di composto di ricondizionamento sulla superficie del piedistallo superiore e inferiore.

Attendere 30 secondi affinché il composto PR-1 si asciughi.

3. Piegare una salvietta da laboratorio pulita in quarti e usarla per lucidare vigorosamente la superficie di ciascun piedistallo.

Nota: Sostenere il braccio dello strumento con una mano durante la pulizia del piedistallo superiore per evitare di danneggiare il braccio.

Suggerimento: il residuo nero sulla salvietta è normale.

4. Ripetere il passaggio 3 con una nuova salvietta piegata fino a rimuovere tutti i residui per una corretta pulizia dei piedistalli.
5. Utilizzare aria compressa per rimuovere eventuali residui di carta dai piedistalli.
6. Pipettare 1 μL DI H_2O sui piedistalli inferiori.

Il DI H_2O dovrebbe "produrre bolle" o formare una gocciolina arrotondata.



Suggerimento Il composto di ricondizionamento del piedistallo PR-1 costituisce il modo più semplice per ricondizionare i piedistalli. Se non si dispone di un kit PR-1, seguire i passaggi indicati di seguito:

1. Sollevare il braccio dello strumento e pipettare 3 µL 0,5M HCl sui piedistalli inferiori.
2. Abbassare il braccio e attendere 2–3 minuti.
3. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta da laboratorio.
4. Pipettare 1 µL DI H₂O sui piedistalli inferiori.
5. Abbassare il braccio e attendere 2–3 minuti.
6. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.

NOTA: Sostenere il braccio dello strumento con una mano durante la pulizia del piedistallo superiore per evitare di danneggiare il braccio.

7. Piegare una salvietta da laboratorio pulita in quarti e usarla per strofinare vigorosamente la superficie di ciascun piedistallo almeno 50 volte.
8. Utilizzare aria compressa per rimuovere eventuali residui di carta dai piedistalli.

Decontaminazione dello strumento

Decontaminare lo strumento dopo le misurazioni con campioni contenenti [materiali pericolosi](#) e prima di effettuare il reso dello strumento per la manutenzione o la riparazione.

Ove lo strumento richiedesse manutenzione o riparazione, [contattare direttamente il produttore](#) o il proprio distributore locale.

Nota

- Non utilizzare acido fluoridrico (HF) sui piedistalli. Gli ioni di fluoruro danneggiano irreversibilmente i cavi in fibra ottica di quarzo.
- Per evitare danni dovuti a fuoriuscite, tenere i contenitori di liquidi lontano dallo strumento.
- Non usare flaconi a zampillo o spray sopra o vicino allo strumento, poiché i liquidi potrebbero penetrare nello strumento e causare danni permanenti.
- Non tentare di rimuovere il diaframma attorno ai piedistalli inferiori poiché è fissato in modo permanente allo strumento.
- Evitare che HCl, alcool, candeggina, acetone o qualsiasi altro solvente rimangano sul diaframma per più di un minuto, ciò potrebbe compromettere la tenuta delle guarnizioni. Se il diaframma si allenta, [contattare il produttore](#).
-

Occorrente

- salviette da laboratorio prive di lanugine
- acqua deionizzata (DI H₂O)
- Soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% (diluizione 1:10 di candeggina commerciale, preparata al momento)
- pipettatore

Per decontaminare i piedistalli

1. Sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una nuova salvietta da laboratorio.
2. Pipettare 2–3 µL di soluzione di candeggina diluita (vedere [Forniture necessarie](#)) sul piedistallo inferiore.
3. Abbassare il braccio e attendere 2–3 minuti.
4. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.
5. Pipettare 3–5 µL DI H₂O sul piedistallo inferiore.
6. Abbassare il braccio e attendere 2–3 minuti.
7. Sollevare il braccio e pulire i due piedistalli con una nuova salvietta.



Per decontaminare le superfici

1. Inumidire un panno pulito e morbido o un panno di laboratorio con la soluzione di candeggina diluita (consultare [Forniture necessarie](#)) e usarlo per pulire delicatamente le superfici esterne dello strumento.
2. Utilizzare un panno pulito o un panno inumidito con DI H₂O per rimuovere la soluzione di candeggina.



Diagnostica dello strumento

Ogni 6 mesi, eseguire i seguenti controlli di prestazione e qualità per verificare il funzionamento dello strumento.

[Controllo Intensità208](#)

[Verifica delle prestazioni210](#)

9 Manutenzione

Diagnostica dello strumento

La diagnostica può essere eseguita utilizzando il software NanoDropEight. Il **controllo dell'intensità**, la **verifica delle prestazioni** sono tutti accessibili dalla schermata Home:



Figura 1 . Opzioni di controllo

Cronologia:	visualizza i dati memorizzati localmente. Filtra per data o applicazione.
Prestazioni:	Processo di verifica delle prestazioni utilizzando la soluzione PV-1
Intensità:	Eeguire un controllo di intensità per il piedistallo
Impostazioni:	impostare la posizione e il percorso del server di protezione, se necessario.
Aiuto:	visualizzare la Guida di aiuto.

Controllo intensità

Eeguire il controllo di intensità ogni 6 mesi per verificare il funzionamento dei componenti interni dello strumento. Il test misura l'intensità della luce proveniente dalla sorgente allo xeno attraverso lo strumento per verificare che la velocità effettiva, la precisione della lunghezza d'onda e la polarizzazione rientrino nelle specifiche. Il test viene eseguito automaticamente utilizzando i percorsi del piedistallo.

Occorrente

- salviette da laboratorio prive di lanugine

Per eseguire il controllo intensità

1. Dalla schermata Home, selezionare **Intensità**.
2. Sollevare il braccio dello strumento e pulire i piedistalli superiore e inferiore con una nuova salvietta da laboratorio.
3. Cliccare su **Pronto** e abbassare il braccio.
4. Se **la funzione Auto-Measure** è DISATTIVATA, cliccare su **Misura** per iniziare la misurazione. Se **la funzione Auto-Measure** è attivata, la misurazione inizierà automaticamente dopo aver abbassato il braccio.

Di seguito si fornisce un esempio di una tipica schermata dei risultati del controllo dell'intensità.

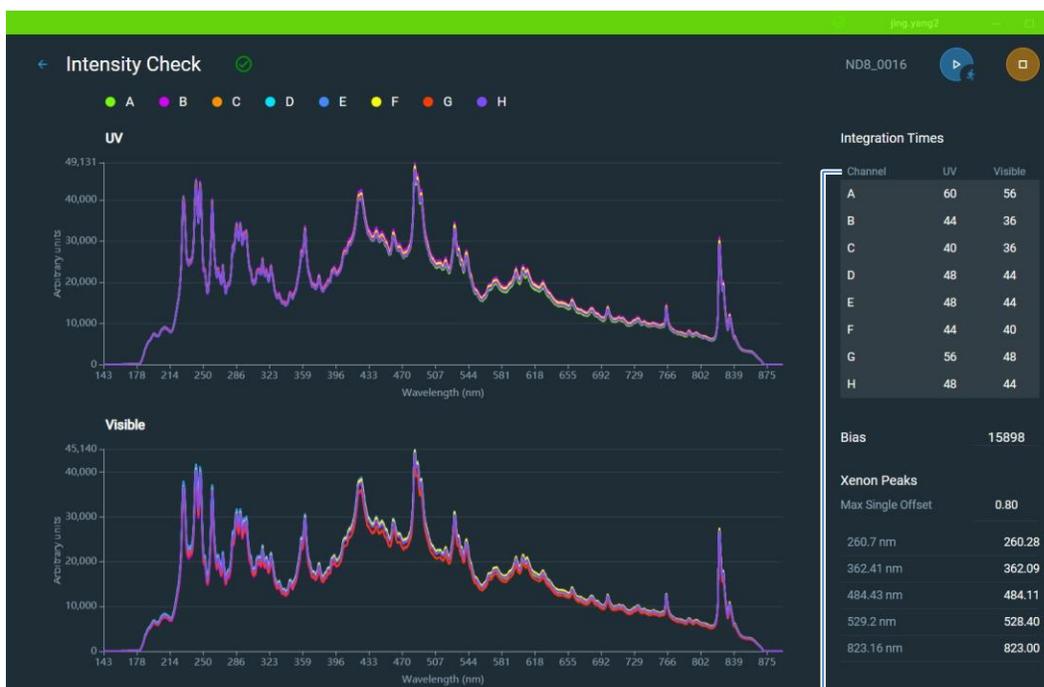


Tabella dei canali

- Per rieseguire il controllo dell'intensità, selezionare **Esegui**.
- Al termine, selezionare **Termina esperimento**.

Una volta completato il test, i risultati sono disponibili nella Cronologia. Consultare [Gestire gli identificatori sullo strumento](#) per i dettagli.

Per interpretare l'intensità controllare i risultati

I risultati mostreranno l'intensità della lampada utilizzando i tempi di integrazione UV e Visibile in due grafici separati (cfr immagine sopra).

Gli utenti possono visualizzare i grafici dell'intensità di un singolo canale cliccando su una singola riga dalla tabella Canale o su Maiusc + Clic per evidenziare più righe (cfr. l'immagine a destra).

Un segno di spunta verde e un banner verranno visualizzati nella parte superiore se l'intensità UV, l'intensità visibile, il bias e l'offset singolo massimo sono tutti all'interno delle specifiche. Se uno o più parametri non rientrano nelle specifiche, nella parte superiore verrà visualizzato un messaggio che indica i parametri errati. In caso di presenza di parametri errati, [pulire i piedistalli con acqua](#) deionizzata, quindi ripetere il controllo di intensità.

Se accanto all'indicatore di polarizzazione viene visualizzato un triangolo giallo, assicurarsi che la temperatura ambiente rientri nelle specifiche di temperatura dello strumento.

In caso di nuovo esito negativo del Controllo di Intensità, [contattare il produttore](#).

Verifica delle prestazioni

Eseguire la verifica delle prestazioni ogni 6 mesi per verificare che la precisione della lunghezza del percorso rientri nelle specifiche.

Per verificare le prestazioni dello spettrofotometro UV-Vis a otto microvolumi Thermo Scientific™ NanoDrop™ è necessario un kit CHEM-PV-8 contenente due fialoncini di acido nicotinico acquoso PV-1 (C₆H₅NO₂), nitrato di potassio (KNO₃).

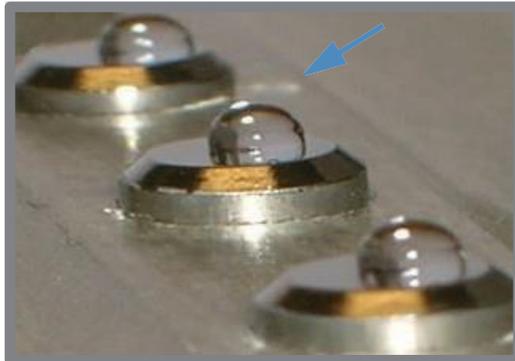
Occorrente

- salviette da laboratorio prive di lanugine
- acqua deionizzata (DI H₂O)
- Pipettatore di precisione calibrato a 8 canali (0,5 - 10 µL)
- **Kit CHEM-PV-8** contenente due fiale di PV-1, due provette a striscia PCR da 8 pozzetti e pipette di trasferimento
- guanti da laboratorio

Nota La soluzione PV-1 viene fornita in una fiala monouso. Prima di aprire la fiala, agitarla vigorosamente, 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.

Considerazioni preliminari

Innanzitutto assicurarsi che i piedistalli siano adeguatamente condizionati. Per testare il condizionamento del piedistallo, pulire le superfici superiore e inferiore del piedistallo con una salvietta da laboratorio asciutta e priva di lanugine, quindi pipettare 1,5 µL DIH₂O sulle otto superfici inferiori del piedistallo. Le goccioline devono essere "rigonfie" come mostrato di seguito. In caso contrario, [ricondizionare entrambi i piedistalli](#). Rimuovere il campione di acqua dalle superfici del piedistallo superiore e inferiore con una salvietta da laboratorio asciutta.



Le goccioline "formano una bolla" su piedistalli adeguatamente condizionati

Suggerimenti per il caricamento dei campioni

- Assicurarsi che lo strumento NanoDropEight non si trovi vicino a una presa d'aria o a una ventola di scarico di uno strumento nelle vicinanze.
- Utilizzare un pipettatore a 8 canali a piccolo volume (0,5 - 10 µL) per caricare le aliquote di H₂O e PV-1.

Pratica del Metodo di Erogazione del Campione tramite Tocco e Discarico

È fondamentale consegnare le aliquote PV-1 a tutti gli otto piedistalli in un unico movimento utilizzando un pipettatore multicanale. Si consiglia vivamente di eseguire i passaggi seguenti utilizzando acqua prima di iniziare la procedura di controllo della calibrazione.

1. Quando le punte della pipetta sono vicine ai piedistalli di misurazione, scaricare il fluido e lasciare che le gocce pendano dall'estremità delle punte.
2. Far toccare delicatamente le goccioline sui piedistalli e consentire loro di essere tirate fuori le punte e sui piedistalli dalla tensione superficiale.

Suggerimento: è importante utilizzare punte con una struttura rigida per garantire che esse non si allarghino o si inclinino durante la consegna dei campioni.

Suggerimento: si consiglia di praticare questa tecnica fino a consentire un'erogazione uniforme, rapida e standardizzata a tutte e otto le posizioni.

Per eseguire verifica prestazioni

1. Cliccare su **Prestazioni** nella parte inferiore dello schermo.
2. Inserire il numero di lotto PV-1 (riportato sull'etichetta della fiala **PV-1**) nell'apposita casella corrispondente.
3. Inserire il valore di assorbanza di riferimento nr. 1 (riportato sull'etichetta della fiala PV-1) nella casella di inserimento **Ass. di riferimento nr. 1** corrispondente.
4. Ripetere il passaggio 2 per la casella di inserimento Ass. di **riferimento nr. 2**, utilizzando il valore di assorbanza di riferimento nr. 2 presente sull'etichetta della fiala PV-1.

Nota I valori Ass. di riferimento. sono specifici del lotto e devono essere inseriti nella casella di immissione corretta e corrispondente.

5. Una volta inseriti i valori di destinazione, cliccare su **Continua**.
6. Aggiungere 55 µL di di H₂O a ciascun pozzetto di una delle strisce da 8 pozzetti fornite. **NON** aliquotare il PV-1 in questo momento.
7. Utilizzare un pipettatore a 8 canali per pipettare un'aliquota di 1,5 µL di di H₂O su ciascuno dei piedistalli inferiori, abbassare il braccio e cliccare su **Blank**.

Suggerimento: è importante utilizzare punte con una struttura rigida per garantire che esse non si allarghino o si inclinino durante la consegna dei campioni.

8. Rimuovere l'acqua dalle superfici del piedistallo superiore e inferiore utilizzando una salvietta da laboratorio pulita e asciutta.
9. Assicurarsi che la soluzione di PV-1 sia accuratamente miscelata agitando vigorosamente entrambe le fiale. Lasciare che la soluzione si raccolga nella parte inferiore della fiala, se necessario picchiare delicatamente la fiala.
10. Rimuovere con cautela la parte superiore di ciascuna fiala utilizzando un cracker per fiale, gettare la parte superiore insieme al cracker per fiale (utilizzare le adeguate precauzioni di sicurezza per lo smaltimento).
11. Utilizzare la pipetta di trasferimento fornita per erogare il contenuto di entrambe le fiale PV-1 in ciascun pozzetto della striscia per provette PCR a 8 pozzetti.
12. Utilizzando un pipettatore a 8 canali, prelevare 1,5 µL di soluzione di PV-1 da ciascuno degli 8 pozzetti della striscia per provette PCR e pipettare su ciascuno degli 8 piedistalli inferiori. Abbassare il braccio

Se la funzione Auto-Measure è **DISATTIVATA**, cliccare su Misura per iniziare la misurazione. Se la funzione Auto-Measure è **ATTIVATA**, la misurazione inizierà automaticamente dopo aver abbassato il braccio.

13. Al termine della misurazione, rimuovere il campione dai piedistalli superiore e inferiore utilizzando una salvietta da laboratorio asciutta.
14. Ripetere i passaggi 11 e 12 per misurare ulteriori cinque replicati singoli della soluzione PV-1.
 - a. Utilizzare sempre punte di pipetta nuove per rimuovere ciascuna aliquota e utilizzarne una nuova di PV-1 per ogni misurazione.
 - b. Tra una misurazione e l'altra, rimuovere la soluzione PV-1 da tutti i 16 piedistalli, superiore e inferiore, utilizzando una salvietta da laboratorio pulita e asciutta.
15. Al termine di ogni misurazione, i singoli risultati verranno visualizzati sullo schermo e successivamente aggiunti ai risultati esistenti.
16. Dopo aver misurato sei replicati, le colonne di **Stato** per ciascuna lunghezza del percorso indicheranno l'esito positivo o negativo della verifica delle prestazioni per il canale.

Per interpretare i risultati della verifica delle prestazioni

1. I risultati verranno visualizzati  per Positivo,  per Positivo con riserva e  per Negativo.
 - a. Se i risultati non rientrano nelle specifiche, ripetere la procedura utilizzando aliquote da 2 µL di PV-1.
 - b. Se i risultati non soddisfano le specifiche utilizzando aliquote da 2 µL, contattare l'assistenza o il distributore locale per assistenza.
2. Al termine, cliccare su **Termina esperimento**.
 - a. A questo punto sarà possibile esportare e stampare i risultati in questo oppure sarà possibile farlo successivamente dalla Cronologia.

- b. A questo punto sarà possibile modificare il nome dell'esperimento e aggiungere gli identificatori.
3. Al termine, cliccare su **Termina esperimento**.
4. Per esaminare i risultati di un precedente controllo di verifica delle prestazioni, selezionare **Cronologia** dalla schermata Home e individuare i risultati del controllo di verifica delle prestazioni dall'elenco degli esperimenti.

(Questa pagina è intenzionalmente vuota)

Precauzioni di sicurezza e operative

Indice

- [Precauzioni operative](#)216
- [Informazioni sulla sicurezza](#)217



Nota Assicurarsi che tutti gli operatori dello strumento leggano prima il manuale di sicurezza.

Precauzioni operative



ATTENZIONE Non rimuovere il coperchio dello strumento. La rimozione del coperchio espone l'operatore a spigoli vivi e delicati cavi in fibra ottica. La garanzia dello strumento decade in caso di rimozione del coperchio.

Gli spettrofotometri NanoDropEight sono progettati per funzionare al chiuso in un ambiente che soddisfa le specifiche imposte dal produttore. Per i dettagli, consultare la guida alla preparazione del sito per il proprio strumento.

Seguire queste precauzioni per evitare di danneggiare lo spettrofotometro NanoDrop durante l'utilizzo:

- Utilizzare un cavo di alimentazione con messa a terra appropriato per la rete elettrica in uso nel laboratorio. Se il cavo di alimentazione in dotazione è incompatibile o danneggiato, [contattare il produttore](#).
- Non rimuovere il coperchio dello strumento.
- Utilizzare solventi compatibili con lo strumento (cfr. [Materiali pericolosi](#))
- Non utilizzare acido fluoridrico (HF) sui piedistalli. Gli ioni di fluoruro danneggiano irreversibilmente i cavi in fibra ottica di quarzo.
- Per evitare danni dovuti a fuoriuscite, tenere i contenitori di liquidi lontano dallo strumento.
- Non usare flaconi a zampillo o spray sopra o vicino allo strumento, poiché i liquidi potrebbero penetrare nello strumento e causare danni permanenti.
- Non tentare di rimuovere il diaframma attorno ai piedistalli inferiori poiché è fissato in modo permanente allo strumento.
- Evitare che HCl, alcool, candeggina, acetone o qualsiasi altro solvente rimangano sul diaframma per più di un minuto, ciò potrebbe compromettere la tenuta delle guarnizioni. Se il diaframma si allenta, [contattare il produttore](#).

Informazioni di sicurezza

Prima di utilizzare uno strumento NanoDropEight, leggere le informazioni di sicurezza e seguire le raccomandazioni per il sistema.

Avvertenze speciali e di sicurezza

In molti casi, le informazioni sulla sicurezza vengono visualizzate sullo strumento stesso. Il simbolo indica la presenza di ulteriori informazioni sulla sicurezza nella documentazione e informa dei rischi di lesioni inerenti alla mancata osservanza delle precauzioni di sicurezza.



AVVERTENZA Indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare lesioni gravi o decesso.



CAUTELA Indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare lesioni di lieve o moderata entità.

Nota Seguire le istruzioni riportate su questa etichetta per evitare di danneggiare l'hardware del sistema o la perdita di dati.

Nota Contiene informazioni supplementari utili.

10 Precauzioni operative e di sicurezza

Informazioni di sicurezza

La seguente tabella elenca alcuni dei simboli di sicurezza e le relative indicazioni che possono comparire nella documentazione per l'utente.

Simboli	Indicazione
	Questo simbolo indica un'azione obbligatoria. È usato per indicare la necessità di intraprendere un'azione al fine di evitare un pericolo.
	Questo è un simbolo di divieto. L'icona in questo simbolo viene utilizzata per avvisare l'utente in merito ad azioni da non intraprendere o da interrompere.
	Si tratta di un segnale di avvertimento generale. La mancata osservanza delle precauzioni di sicurezza potrebbe causare lesioni personali.
 	Evitare il rischio di elettrocuzione. La presenza di uno di questi simboli, indica il rischio di elettrocuzione nelle vicinanze. Le relative procedure vanno eseguite esclusivamente da personale qualificato.
	Evitare il pericolo di incendio. Evitare di testare campioni infiammabili o esplosivi. Leggere e seguire attentamente le istruzioni associate.
 	Evitare lesioni agli occhi. La presenza di questi simboli indica il rischio di esposizione alla luce ultravioletta, che potrebbe danneggiare gli occhi se non si indossano occhiali di sicurezza.
	Evitare il rischio biologico. Questa icona segnala un pericolo biologico nella zona. Leggere e seguire attentamente le istruzioni associate.
	Evitare ustioni chimiche. La presenza di questo simbolo indica possibili irritazioni cutanee. Indossare guanti quando si maneggiano sostanze chimiche tossiche, cancerogene, mutagene, corrosive o irritanti. Utilizzare contenitori approvati e procedure adeguate per lo smaltimento dei rifiuti.

Simbolo	Descrizione
	Corrente alternata
	Morsetto di terra o massa
	corrente continua
	Terminale del conduttore di protezione
	Telaio o terminale del telaio
	Fusibile
	Accensione
	Spegnimento

Operazioni alla consegna



AVVERTENZA Evitare lesioni personali. Se l'apparecchiatura viene utilizzata in modo diverso da quello specificato nella documentazione di trasporto, la protezione fornita dall'apparecchio stesso può risultare compromessa.



ATTENZIONE Evitare lesioni personali. Eseguire *esclusivamente* le procedure descritte nella documentazione. In caso di ulteriori problemi, contattare il produttore. Qualsiasi altra operazione di manutenzione deve essere eseguita da personale qualificato



ATTENZIONE Evitare il rischio di elettrocuzione. Non rimuovere il coperchio dello strumento. Tutte le operazioni di manutenzione e allestimento sullo strumento devono essere eseguite da personale qualificato.

Alla consegna dello strumento, controllare l'esterno del collo di spedizione in cerca di eventuali segni di danneggiamento. In caso di danni evidenti, contattare il produttore o il proprio distributore locale per le istruzioni.

- Spostare il collo di spedizione nella posizione di installazione almeno 24 ore prima della stessa.

Nota

- All'interno del collo di spedizione, lo strumento è sigillato in un sacchetto di plastica per mantenere l'unità asciutta.
- Attendere 24 ore affinché lo strumento raggiunga la temperatura ambiente prima di aprire il sacchetto. In caso di apertura del sacchetto prima che lo strumento raggiunga la temperatura ambiente, l'umidità potrebbe condensare sui componenti ottici e causare danni permanenti.

- Tenere lo strumento costantemente in posizione

verticale. La garanzia non copre:

- danni dovuti a tecniche di movimentazione improprie;
- danni dovuti alla rimozione del sacchetto di plastica sigillato prima che lo strumento abbia raggiunto la temperatura ambiente;

Nota È importante far installare tutti gli impianti prima dell'arrivo dello strumento. La realizzazione di tutti gli impianti deve rispettare tutti i codici di costruzione e di sicurezza locali.

Sollevare o spostare lo strumento

Al fine di evitare il rischio di lesioni, utilizzare tecniche di sollevamento adeguate durante il sollevamento o la movimentazione dello strumento o di altri componenti del sistema.

10 Precauzioni operative e di sicurezza

Informazioni di sicurezza

Requisiti elettrici e Sicurezza

L'alimentazione fornita al sistema deve provenire da fonti dedicate e ininterrotte. L'alimentazione deve essere priva di interruzioni di tensione, picchi di transienti, variazioni di frequenza e altri disturbi della linea che compromettono l'affidabilità delle prestazioni.

Ove si sospettassero problemi di qualità dell'alimentazione nel proprio sito o nel caso in cui sia prevista l'installazione del sistema in un ambiente industriale pesante, si consiglia di eseguire un controllo della qualità dell'alimentazione prima dell'installazione. Contattare il produttore o la propria autorità locale per l'energia elettrica per ulteriori informazioni.



ATTENZIONE Evitare il rischio di elettrocuzione.

- La tensione, la corrente e la frequenza di rete devono essere verificate esclusivamente da personale qualificato dotato di apposito strumento di misurazione.
- Qualsiasi componente recante questo simbolo dovrà essere riparato esclusivamente da personale di servizio addestrato e qualificato del produttore.
- Se un coperchio di protezione su un componente del sistema appare danneggiato, spegnere il sistema e assicurarlo contro qualsiasi operazione involontaria. Esaminare sempre il coperchio di protezione in cerca di sollecitazioni di trasporto dopo la spedizione.
- Anche una volta scollegato lo strumento da tutte le fonti di tensione, i condensatori potrebbero rimanere carichi fino a 30 secondi e quindi costituire pericolo di elettrocuzione.
- Evitare a qualsiasi superficie soggetta a infiltrazioni di venire a contatto con liquidi.
- Non tentare di rimuovere il coperchio dello strumento.

Messa a terra



ATTENZIONE Evitare il rischio di elettrocuzione. Ciascuna presa a muro utilizzata deve essere dotata di messa a terra. La messa a terra deve essere un cavo non conduttore di corrente collegato alla messa a terra nella scatola di derivazione principale.

Cavi di alimentazione

Assicurarsi di utilizzare un cavo di alimentazione con messa a terra appropriato per la rete elettrica in uso nel laboratorio. Se il cavo di alimentazione ricevuto è incompatibile con la rete elettrica in uso presso la propria località, o nel caso in cui il cavo di alimentazione sia danneggiato, [contattare il produttore](#).

Accessori per il condizionamento della linea elettrica

Un UPS riduce la probabilità di un arresto del sistema in caso di interruzione della rete elettrica in altre aree dell'edificio. I condizionatori della linea di alimentazione (che proteggono da interruzioni di corrente, sovratensioni o altri disturbi della linea) sono disponibili anche negli Stati Uniti presso il produttore per il funzionamento a 120 volt. I condizionatori di linea per il funzionamento a 220 volt possono essere acquistati localmente. Contattare il supporto tecnico per informazioni su condizionatori di potenza e UPS.

Specifiche della rete elettrica

La tabella seguente elenca le specifiche per la rete elettrica. Contattare il servizio di assistenza del produttore nella propria zona in caso di domande in merito ai requisiti.

Requisiti	Specifiche tecniche
Corrente di ingresso	5,0 A (max.)
Tensione di ingresso	100-240 VAC
Frequenza di rete	50-60 Hz
Disturbi di rete	I cali di tensione, le sovratensioni o altri disturbi della rete devono non eccedere il 10% della tensione di ingresso (anche per un mezzo ciclo).
Rumore	< 2 V (modalità comune) < 20 V (modalità normale)

Potenza assorbita

Generalmente, dovrebbe essere disponibile il 50% in più di potenza rispetto all'intero impianto (inclusi gli accessori) in genere utilizzati. Di seguito sono riportate le specifiche relative al massimo assorbimento di potenza e alla dissipazione del calore per lo spettrometro e gli accessori. I valori si intendono approssimativi.

Voce	Potenza assorbita	Max. Dissipazione di calore
strumento	60 W	205 Btu/ora

Sicurezza antincendio e rischi di ustioni

Nota Non posizionare lo strumento in modo tale da impedire di azionare agevolmente l'interruttore di alimentazione o di accedere all'alimentatore e al cavo di alimentazione.

Per evitare lesioni da ustione e il rischio di incendio o esplosione:

- prestare attenzione quando si testano campioni infiammabili o esplosivi (consultare la sezione "Materiali pericolosi")
- Non bloccare mai nessuna delle prese d'aria sullo strumento o sulla relativa alimentazione
- Utilizzare esclusivamente alimentatori di ricambio forniti dal produttore

10 Precauzioni operative e di sicurezza

Informazioni di sicurezza

Sicurezza ottica

Questo strumento è stato progettato con un vano di protezione per prevenire l'esposizione dell'utente alla luce ultravioletta.



AVVERTENZA Evitare lesioni personali. Non guardare mai la lampada mentre è accesa.

Materiali pericolosi

Molti metodi di spettroscopia standard si basano sull'utilizzo di solventi. Altri coinvolgono campioni corrosivi o campioni pressurizzati allo stato gassoso.

Solventi volatili e campioni infiammabili



ATTENZIONE Evitare lesioni personali. Non lasciare solventi o campioni infiammabili vicino allo strumento. Assicurarsi che l'area di lavoro sia adeguatamente ventilata.

Solventi compatibili

La maggior parte dei solventi tipicamente utilizzati nei laboratori di scienze biologiche sono compatibili con i piedistalli in fibra ottica di tutti gli spettrofotometri NanoDrop. Tuttavia, le proprietà ad alta pressione di vapore di alcuni solventi potrebbero non favorire misurazioni di piccoli volumi quando si utilizza il piedistallo per le misurazioni su uno qualsiasi degli strumenti NanoDrop. Se si stanno misurando campioni con alte pressioni di vapore, utilizzare uno strumento dotato di sistema per misurare campioni in cuvette.

I seguenti solventi sono compatibili per l'uso sui piedistalli di tutti gli strumenti NanoDrop.

Nota La fuoriuscita di questi solventi su superfici diverse dai piedistalli potrebbe danneggiare lo strumento.

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

Si raccomanda di rimuovere tutti i solventi corrosivi dal piedistallo immediatamente dopo il completamento di una misurazione. Si raccomanda inoltre all'utilizzatore di terminare una serie di misurazioni con un campione di dH_2O per garantire che i solventi non vengano inavvertitamente lasciati sul piedistallo.

Il diaframma attorno al piedistallo del NanoDropEight è fissato in modo permanente allo strumento. Non tentare di rimuovere il diaframma o rompere la guarnizione. Evitare l'esposizione prolungata del diaframma a HCl, alcol, candeggina, acetone o altri solventi poiché ciò potrebbe influire sull'adesivo che fissa la guarnizione. Se la guarnizione si allenta, contattare il produttore.

Nota Tutte le forme di acido fluoridrico (HF) sono incompatibili, poiché lo ione fluoruro corroderà il cavo in fibra ottica al quarzo.

Materiali a rischio biologico o radioattivi e agenti infettivi

Campioni biologici come tessuti, fluidi corporei, agenti infettivi e sangue di esseri umani e altri animali hanno il potenziale di trasmettere malattie infettive. Indossare i dispositivi di protezione personale. Gli individui devono essere formati in base ai requisiti normativi e organizzativi applicabili prima di lavorare con materiali potenzialmente infettivi. Seguire i protocolli del programma di biosicurezza della propria azienda per lavorare con e/o maneggiare materiali potenzialmente infettivi.

10 Precauzioni operative e di sicurezza

Informazioni di sicurezza



ATTENZIONE Ridurre il rischio associato a campioni potenzialmente infettivi:

- non versare campioni su nessuno dei componenti dello strumento.
- In caso di fuoriuscita, disinfettare le superfici esterne immediatamente seguendo i protocolli di laboratorio.

Strumenti, accessori, componenti o altri materiali associati non devono essere smaltiti, né possono essere restituiti al produttore o ad altri produttori di accessori se sono contaminati da materiali a rischio biologico o radioattivi, agenti infettivi o altri materiali e/o condizioni che potrebbero costituire un rischio per la salute o lesioni per i dipendenti. Contattare il produttore in caso di domande sui requisiti di decontaminazione.