

NanoDrop mikro-UV/Vis spektrofotometrie

NanoDrop One Uživatelská p íru ka

269-309101 Revize A b ezen 2016

Revize CZ erven 2017



©2015-2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.

DYMO a LabelWriter jsou ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami spole nosti Newell Rubbermaid v USA a/nebo v jiných zemích. Wi-Fi je ochrannou nebo registrovanou ochrannou známkou sdružení Wi-Fi Alliance v USA a/nebo v jiných zemích. Bluetooth je ochrannou nebo registrovanou ochrannou známkou spole nosti Bluetooth Special Interest Group. Windows je ochrannou nebo registrovanou ochrannou známkou spole nosti Microsoft Corporation v USA a/nebo v jiných zemích. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím spole nosti Thermo Fisher Scientific inc. a jejich dce inných spole ností.

Kontakt na technickou podporu v USA:

Kontakt na mezinárodní technickou podporu :

Unity Lab Services Part of Thermo Fisher Scientific 5225 Verona Road Madison WI 53711-4495 U.S.A. Telephone: 1 800 532 4752 E-mail: us.techsupport.analyze@thermofisher.com Thermo Fisher Scientific Telephone: +1 608 273 5017 E-mail: support.madison@thermofisher.com

Spole nost Thermo Fisher Scientific Inc. poskytuje tento dokument svým zákazník m p i zakoupení p ístroje. Tento dokument je chrán n autorskými právy a nesmí být kopírován jako celek ani jako ásti bez souhlasu spole nosti Thermo Fisher Scientific Inc.

Zm na textu dokumentu vyhrazena bez oznámení. Všechny technické informace uvedené v tomto dokumentu slouží pouze pro referen ní ú ely. Konfigurace systému a specifikace uvedené v dokumentu nahrazují veškeré p edchozí informace obdržené kupujícím.

Tento dokument není sou ástí žádné obchodní smlouvy mezi spole ností Thermo Fisher Scientific Inc. a kupujícím. Tento dokument nesmí v žádném p ípad ídit i m nit podmínky prodeje.

Pouze pro výzkumné ú ely. Tento p ístroj a jeho sou ásti nejsou léka ským p ístrojem a nejsou vyvinuty pro používání na prevenci, diagnostiku i lé bu nemocí.



UPOZORN NÍ Zamezte explozi nebo kontaktu s ohn m. Tento p ístroj není vyvinut pro použití v explozivním prost edí.

Obsah

Kapitola 1	Základní informace o spektrofotometru NanoDrop One1Modelové ady a charakteristiky p ístroje2Volitelné p íslušenství5Registrace zakoupeného p ístroje6Aktualizace softwaru7
Kapitola 2	Aplikace
·	Meze detekce pro všechny aplikace
	M ení dsDNA, ssDNA nebo RNA13
	M ení vzork dsDNA, ssDNA nebo RNA
	Záznam výsledk m ení nukleových kyselin 16
	Nastavení m ení nukleových kyselin 17
	Výpo ty pro stanovení nukleových kyselin 18
	Kvantifikace mikro ipu 23
	M ení vzork mikro ipu
	Záznam výsledk m ení mikro ipu 27
	Nastavení m ení mikro ipu
	Výpo ty pro m ení mikro ipu
	Kvantifikace použitím uživatelského faktoru (custom factor)
	Stanovení nukleové kyseliny použitím uživatelského faktoru
	Výsledky m ení p i použití uživatelského faktoru
	Nastavení m ení p i použití uživatelského faktoru
	Meze detekce pro m eni p i použiti uživatelského faktoru
	Kvantifikace Oligo DNA nebo Oligo RNA
	M ení Oligo DNA or Oligo RNA41
	Zaznam vysledk m eni oligo nukleovych kyselin
	Nastaveni mileni oligo DNA a oligo KNA
	Wieze detekce m eni oligo Diva a oligo Riva
	יאט און און און אין אין אין אין אין אין אין אין אין אי

Kvantifikace proteinu metodou A280 53	3
M ení koncentrace proteinu metodouA280 53	3
Výsledky m ení proteinu metodou A280 57	1
Nastavení m ení proteinu metodou A280 59)
Meze detekce m ení proteinu metodou A280 64	ļ
Výpo ty m ení proteinu metodou A280 65	5
Kvantifikace protein a zna ení)
Stanovení zna ených protein 69)
Výsledky m ení zna ených protein)
Nastavení m ení zna ených protein	ļ
Meze detekce m ení zna ených protein	Ś
Výpo ty pro mení protein a zna ených protein	1
Kvantifikace proteinu metodou A205)
M ení koncentrace proteinu metodou A205)
Výsledky m ení proteinu metodou A205	
Nastavení m ení proteinu metodou A205	3
Výpo ty m ení proteinu metodou A205	ŀ
Kvanfikace proteinu metodou BCA	1
M ení celkové koncentrace proteinu	1
Výsledky m ení proteinu metodou BCA	5
Nastavení m ení proteinu metodou BCA 99)
Kvanfikace proteinu metodou Bradford101	
M ení celkové koncentrace proteinu 101	
Výsledky m ení proteinu metodou Bradford 105	5
Nastavení m ení metodou Bradford 109)
Kvanfikace proteinu metodou Lowry111	
M ení celkové koncentrace proteinu111	
Výsledky m ení proteinu metodou Lowry	ļ
Nastavení m ení pro Protein Lowry 117	1
Kvanfikace proteinu metodou Pierce 660119)
M ení celkové koncentrace proteinu)
Výsledky m ení proteinu metodou Pierce 660	3
Nastavení m ení proteinu metodou Pierce 660 na metodou 126)
Kvanfikace OD600 129)
M ení OD600)
Výsledky m ení OD600133	3
Nastavení m ení OD600134	ŀ
Výpo ty m ení OD600137	/
Kvantifikace uživatelskou metodou139)
M ení pomocí uživatelské metody139)
Vymazání uživatelské metody143	3
Výsledky m ení s uživatelskou metodou144	ŀ

	 M ení UV-Vis M ení UV-Vis Výsledky m ení UV-Vis Nastavení parametr m ení UV-Vis M ení kinetiky M ení kinetiky Vytvo ení kinetické metody Editace kinetické metody 	
	Výsledky m eni kinetiky Nastavení m ení kinetiky	161
Kapitola 3	Školící st edisko	171
Rupitola o	Princip mikroobiemového vzorkování	172
		180
		106
	P inrava vzork a blank	200
	7ákladní ovládání n ístroje	206
	NanoDron One Home Screen (základní obrazovka)	200
	NanoDrop One Measurement Screens (obrazyka m. ení)	210
	NanoDron One Data Viewer (problíže dat)	210 218
	NanoDrop One General Operations (základní ovládání)	225
	Nastavení n ístrole	
	Acclaro Sample Intelligence	236
	NanoDron One Viewer Software	2/1
	Viewer Home Screen (základní obrazovka problíže e dat)	2/15 2/15
		24J 2/17
	ízení identifikátor na PC	,
	ížení uživatelské metody	250 261
	Multimódia	
Kapitola 4	Údržba p ístroje	275
	Plán údržby	276
	išt ní obrazovky Touchscreen	277
	Údržba podstavc	278
	išt ní podstavc	
	Obnova povrchu podstavc	281
	Dekontaminace p ístroje	
	Údržba vzorkovacího systému kyvet y	286
	Diagnostika p ístroje	287
	Kontrola intenzity zdroje sv tla	287
	Kontrola výkonu	289
	Obrazová kontrola podstavce	294

Kapitola 5	Bezpe nost a provozní opat ení Provozní opat ení Bezpe nostní informace	297 298 299
Kapitola 6	O systému nápov dy v tomto návodu	307
Kapitola 7	Kontaktujte technickou podporu	309

Základní informace o spektrofotometru NanoDrop One



NanoDrop[™] One od firmy Thermo Scientific[™] p edstavuje kompaktní samostatný UV-spektrofotometr vyvinutý pro mikroanalýzu vzork nukleových kyselin a široké škály protein.

P ístroj využívá patentovaný sytém nanášení vzorku umož ující m it vysoce koncentrované vzorky bez ed ní.

NanoDrop One je dodáván se softwarem a ovládacím dotykovým displejem. P ístroj lze p ipojit k tiskárn pomocí USB kabelu.

POZNÁMKA P ed spušt ním p ístroje NanoDrop One si prosím p e t te návod k obsluze a dodržujte bezpe nostní upozorn ní a uvedené postupy p i manipulaci s p ístrojem.



Modelové ady a charakteristiky pístroje

Vyráb jí se dv modelové ady spektrofotometru NanoDrop One...



Volitelné p íslušenství

Je dostupné rozli né p ístušenství pro p ístroje NanoDrop One...



Registrace p ístroje

Zaregistrujte zakoupený p ístroj aby jste mohli být informováni e-mailem o aktualizacích softwaru a...



Aktualizace Software

Jednoduše a rychle si stáhn te aktuální software pro p ístroj NanoDrop One...

Modelové ady a charakteristiky p ístroje

Vyráb jí se dv modelové ady spektrofotometru NanoDrop One -NanoDrop One a NanoDrop One^c. Oba p ístroje disponují patentovaným systémem nanášení mikro-vzorku a základními funkcemi. P ístroj NanoDrop^c disponuje držákem kyvety pro analýzu z ed ných vzork pro použití standardní UV-vis kyvety.

Oba p ístroje jsou dodávány se zabudovaným 7-palcovým vysoce kvalitním dotykovým displejem (touchscreen) s p edinstalovaným ovládacím software.

Software p ístroje NanoDrop One disponuje integrovanými funkcemi pro zjednodušení pracovních postup.



¹P ístroj umís ujte mimo ventila ní za ízení a bezpe nostní boxy (flow-boxy) z d vodu minimalizace odpa ování.



Dotykový displej (touchscreen)

¹Další konektory USB-A jsou umíst ny na zadním panelu p ístroje

NanoDrop One Software s inteligentní technologií Acclaro[™] Sample Intelligence



NanoDrop One ^C model s dopl ujícími funkcemi

Inteligentní technologie Acclaro[™] Sample Intelligence zabudovaná v p ístroji NanoDrop One zahrnuje následující prvky umož ující zachování integrity analyzovaného vzorku:

- kontamina ní analýzu pro zhodnocení vzorku p ed použitím v navazujících aplikacích
- technická podpora na požádání pro netypické nebo nízké koncetrace
- výstražná hlášení chybných výsledk (senzor monitoruje vznik bublin nebo reflexních ástic, které mohou znehodnotit získaná m ení)



Model NanoDrop One^c zahrnuje v sob držák kyvety pro analýzu z ed ných vzork , kolorimetrických médií, bun ných kultur a pro kinetické studie. Kyvetový systém disponuje navíc t mito funkcemi:

- rozší ený dolní interval detekce
- oh íva na 37 °C pro teplotn citlivé vzorky a analýzy
- mikrosystém míchání pro zajišt ní homogenity a podporu kinetických studií

Detailn ji viz M ení vzorku pomocí kyvety.

Volitelné píslušenství

K p ístroj m NanoDrop One existuje rozli né p íslušenství, které m žete objednat prost ednictvím místního distributora nebo navštivte webovou stránku.

Tískárna štítk DYMO[™] LabelWriter[™] 450 USB

Za ízení umož uje tisknout samolepící štítky velikosti 5/16" x 4" (0,79 x 10,16 cm) se záznamy o vzorcích, které lze umístit p ímo do laboratorního zápisníku nebo na nást nku. Pomocí dodávaného software lze tisknout štítek každého analyzovaného vzorku nebo skupiny analyzovaných vzork .

Tiskárnu štítk lze p ipojit k p ední nebo zadní stran p ístroje pomocí USB kabelu (sou ást dodávky).

Sada na išt ní podstavce PR-1 (Pedestal Reconditioning Kit)



Speciální substance která se používá k ošet ení podstavce pro zajišt ní hydrofóbních vlastností povrchu (d ležité pro dosažení optimálního povrchového nap tí pro p esné m ení). Sada obsahuje ošet ující látku a aplikátory. Další informace viz Rekondice p ístroje a podstavce.

Roztok pro ov ení výkonu p ístroje PV-1 (Performance Verification Solution)

Kapalná standardizovaná látka používaná k ov ení výkonu p ístroje. Další informace viz Ov ení výkonnosti

Registrace zakoupeného pístroje



Zaregistrujte zakoupený p ístroj, abyste mohli být informováni e-mailem o aktualizacích software a p íslušenství pro p ístroje NanoDrop One. Pro tento ú el je nutné mít p ipojení k internetu.

Zaregistrování pístroje

- 1. Prove te n kterou z následujících operací:
 - Z programu NanoDrop One Viewer instalovaném na PC, který je p ipojen k internetu otev ete menu Help a zvolte NanoDrop One Website
 - Z jiného PC, který je p ipojen k internetu, použijte webový prohlíže k vyhledání našich www stránek
- 2. Na webové stránce, zvolte NanoDrop One Registration a následujte instrukce pot ebné k registraci p ístroje.

Aktualizace Softwaru



Jednoduše si stáhn te a nainstalujte aktuální verzi softwaru NanoDrop One a poznámky k vydání softwaru (release notes). P i aktualizaci nebo upgradu softwaru postupujte podle instrukcí na vašem p ístroji a/nebo nainstalujte program NanoDrop One Viewer na váš PC. Pro stažení softwaru je nutné p ípojení k internetu.

Instalace nebo aktualizace programu NanoDrop One Viewer

1. Prove te n kterou z následujících operací:

- Pro první instalaci programu do PC otev ete webový prohlíže a vyhledejte www stránky výrobce NanoDrop.
- Pro aktualizaci nebo upgrade programu, zvolte položku "Help" v základním menu programu a vyberte NanoDrop One Website pro otev ení webových stránek výrobce.
- 2. Na webové stránce NanoDrop p ejd te do sekce pro stažení softwaru (Download Software)
- 3. Stáhn te program NanoDrop One (PC) Viewer (anglická verze) a následujte instrukce pro stažení a spus te instalaci. Po ukon ení instalace je nutné PC restartovat.
- 4. Pro p idání dalšího jazyka, který bude zahrnut do programu a nápov dy, stáhn te instalátor jazyk (language pack instaler) - anglická verze musí být nainstalována jako první. Po p idání jazykové sady není pot eba restartovat PC.

Aktualizace nebo upgrade softwaru NanoDrop One v p ístroji

1. Prove te n kterou z následujících operací:

- V programu NanoDrop One Viewer zvolte položku "Help" a vyberte NanoDrop One Website pro otev ení webových stránek.
- Na jiném PC, který je p ipojen k internetu, vyhledejte webové stránky NanoDrop.
- 2. P es USB rozhraní PC p ipojte pam ovou kartu..
- Na webové stránce NanoDrop p ejd te do sekce pro stažení softwaru, zvolte aktualizovat nebo upgradovat olvádací program NanoDrop One (anglická verze) a následujte instrukce pro stažení instalátoru do za ízení p ipojeném k USB.
- 4. Pro p idání dalšího jazyka, který bude zahrnut do programu a nápov dy, stáhn te instalátor jazyk (language pack instaler) do za ízení p ipojeném k USB.
- 5. P ipojte USB za ízení do n kterého USB portu p ístroje.
- 6. Z hlavní obrazovky p ístroje zvolte 💽 (Settings) > System > Update Software.

Pokud USB za ízení obsahuje více verzí instalátoru, zobrazí se vám zpráva. Vyberte verzi, kterou chcete nainstalovat (primárn musí být nainstalován anglický instalátor) a klikn te na Update. (P ístroj se musí restartovat po dokon ení anglického instalátoru)

Po dokon ení instalace se na obrazovce p ístroje zobrazí vedle menu Update Software obdobná zpráva:

Version: 1.2.0 (currently installed version of instrument operating software) Database version: 1 (version of NanoDrop One database on this instrument)

7. Pro p idání dalšího jazyka, který bude zahrnut do programu a nápov dy, klikn te znovu na Update Software, zvolte jazyk a verzi kterou chcete nainstalovat a klikn te na Update. (Po dokon ení instalace jazyka není pot eba restartovat p ístroj).

Poznámka: Zm na jazyka zobrazení se provede kliknutím na Language, zvolením p íslušného jazyka a kliknutím na OK. Po provedení zm ny jazyka zobrazení je nutné PC restartovat.

2

Aplikace

Meze detekce pro všechny aplikace



Poznámka: V níže sestavené tabulce jsou uvedeny p ibližné hodnoty mezí detekce aplikovatelné pouze na mikro-objemová m ení, tyto hodnoty vychází z fotometrického rozsahu 0-550 A (ekvivalent 10 mm). Pro m ení s tlouš kou kyvety 10 mm iní fotometrický rozsah 0-1,5 A.

Meze detekce pro b žné aplikace

Typ vzorku	Dolní mez detekce	Horní mez detekce	Charakteristická opakovatelnost*	
dsDNA	2,0 ng/µL (podstavec)	27500 ng/µL (podstavec)	±2,0 ng/µL pro vzorky s koncentrací	
	0,20 ng/µL (kyveta)	75 ng/μL (kyveta)	±2% pro vzorky >100 ng/µL	
ssDNA	1,3 ng/µL (podstavec)	18150 ng/µL (podstavec)	±2,0 ng/µL pro vzorky s koncentrací	
	0,13 ng/µL (kyveta)	49,5 ng/µL (kyveta)	±2% pro vzorky >100 ng/μL	
RNA	1,6 ng/µL (podstavec)	22000 ng/µL (podstavec)	±2,0 ng/µL pro vzorky s koncentrací	
	0,16 ng/µL (kyveta)	60 ng/μL (kyveta)	mezi 2,0 a 100 ng/μL vzorku; ±2% pro vzorky >100 ng/μL	

Thermo Scientific

Typ vzorku	Dolní mez detekce	Horní mez detekce	Charakteristická opakovatelnost*	
DNA ip	1,3 ng/µL (podstavec)	495 ng/µL (podstavec)	±2,0 ng/μL pro vzorky s koncentrací mezi 2,0 a 100 ng/μL vzorku; ±2% pro vzorky >100 ng/μL	
(SSDNA)	0,13 ng/µL (kyveta)	49,5 ng/µL (kyveta)		
Purifikovaný BSA proteinem A280	0,06 mg/mL (podstavec) 0,006 mg/mL (kyveta)	825 mg/mL (podstavec)	±0,10 mg/mL (pro 0.10–10 mg/mL vzorky); ±2% pro vzorky >10 mg/mL	
IPG proteinem A280	0,03 mg/mL (podstavec) 0,003 mg/mL (kyveta)	402 mg/mL (podstavec)		
Purifikovaný BSA	0,06 mg/mL (podstavec)	19 mg/mL (pedestal)	±0,10 mg/mL pro 0,10–10 mg/mL vzorky	
proteinem & zna kou	0,006 mg/mL (kyveta)			
Protein BCA	0,2 mg/mL (20:1	8,0 mg/mL (podstavec)	2% v celém rozsahu	
		0,20 mg/mL (kyveta)	0,01 mg/mL v celém rozsahu	
	0,01 mg/mL (1:1 inidlo/objem vzorku)			
Protein Lowry	0,2 mg/mL (podstavec)	4,0 mg/mL (podstavec)	2% v celém rozsahu	
Protein Bradford	100 µg/mL (50:1 inidlo/objem vzorku)	8000 µg/mL	±25 μg/mL pro 100–500 μg/mL vzorky ±5% pro 500–8000 μg/mL vzorky	
	15 µg/mL (1:1 inidlo/objem vzorku)	100 µg/µL	±4 μg/mL pro 15–50 μg/mL vzorky ±5% pro 50–125 μg/mL vzorky	
Protein Pierce 660	50 µg/mL (15:1 inidlo/objem vzorku)	2000 µg/mL	±3 μg/mL pro 50–125 μg/mL vzorky ±2% pro vzorky > 125 μg/mL	
	25 µg/mL (7.5:1 inidlo/objem vzorkue)	1000 µg/mL	±3 μg/mL pro 25–125 μg/mL vzorky ±2% pro vzorky >125 μg/mL	

*Na základ p ti opakovaných m ení (sm rodatná odchylka = $ng/\mu L$; koeficient variace=%)

Poznámka: Pro minimalizaci chybného m ení p ístroje s vysoce koncentrovanými vzorky, prove te jejich na ed ní aby byla spln na podmínka m ení v rámci t chto mezích absorbance:

- Pro mikroobjemová m ení s absorp ním maximem 260 nm (platí pro nukleové kyseliny) nebo 280 nm (platí pro proteiny) by m la hodnota být menší než 62,5 A
- Pro m ení s tlouš kou kyvety 10 mm s absorp ním maximem 260 nm (resp. 280 nm pro proteiny) by m la být hodnota menší než 1,5 A, což p ibližn odpovídá 75 ng/µL dsDNA.

Typ vzorku	Dolní mez detekce	Horní mez detekce*	Charakteristická opakovatelnost**
Cy3, Cy3.5, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 660	0,2 pmol/µL (podstavec)	100 pmol/µL (podstavec)	±0,20 pmol/µL pro vzorky s koncentrací mezi 0,20 a 4,0 pmol/µL; ±2% pro vzorky >4,0 pmol/µL
Cy5, Cy5.5, Alexa Fluor 647	0,12 pmol/µL (podstavec)	60 pmol/µL (podstavec)	±0,12 pmol/µL pro vzorky s koncentrací mezi 0,12 a 2,4 pmol/µL; ±2% pro vzorky >2,4 pmol/µL
Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 594	0,4 pmol/µL (podstavec)	215 pmol/µL (podstavec)	±0,40 pmol/µL pro vzorky s koncentrací mezi 0,40 a 8,0 pmol/µL; ±2% pro vzorky >8,0 pmol/µL
Alexa Fluor 546	0,3 pmol/µL (podstavec)	145 pmol/µL (podstavec)	±0,30 pmol/µL pro vzorky s koncentrací mezi 0,30 a 6,0 pmol/µL; ±2% pro vzorky >6,0 pmol/µL

Meze detekce pro p eddefinová barviva

*Jedná se o p ibližné hodnoty

**Na základ p ti opakováných m ení (sm rodatná odchylka = ng/µL; koeficient variace=%)

3

Kvantifikace dsDNA, ssDNA nabo RNA

M í se koncentrace purifikované dsDNA, ssDNA nebo RNA ve vzorku, které absorbují vlnové délky 260 nm.

M ení dsDNA, ssDNA nebo RNA

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



M ení dsDNA, ssDNA nebo RNA

Aplikace dsDNA, ssDNA and RNA slouží pro kvatifikaci purifikované jedno et zcové (ss) DNA nebo RNA ve vzorcích. Analýzy umož ují stanovit koncetraci nukleové kyseliny a hodnoty dvou pom r absorbance (A260/A280 a A260/230). Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

M ení vzork dsDNA, ssDNA nebo RNA

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

- M ení vzorku nukleové kyseliny
- Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Nucleic Acids, zvolte podle požadavku dsDNA, ssDNA nebo RNA.
- 2. Podle pot eby specifikujte korekci základní linie (baseline correction).
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Zvolte Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno p ístroje, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno p ístroje a klikn te na Measure
 - Kyveta: klikn te na Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment.
- Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.





Porovnání spekter nekontaminované nukleové kyseliny a kontaminované dv mi nej ast jšími látkami

Osv d ené postupy pro kvantifikaci nukleových kyselin

 P ed m ením vyizolujte a promyjte vzorky nukleových kyselin pro zamezení kontaminace ne istotami. Podle druhu vzorku se jedná o ne istoty obsahující DNA, RNA, volné nukleotidy, proteiny, složky pufrovacícho roztoku a barviva. Další informace viz P (prava vzork).

Pozn.: Extrak ní inidla jako guanidin, fenol a EDTA p ispívají k absorbanci mezi 230 nm a 280 nm a mohou ovlivnit výsledky m ení pokud jsou p ítomny ve vzorcích by i ve stopovém množství.

- Zkontrolujte jestli absorbance vzorku leží v rozsahu mezí detekce absorbance.
- Prove te blank pomocí stejného roztoku pufru pro resuspendování sledovaného analytu. Roztok blanku by m l mít obdobné pH a iontovou sílu jako roztok analytu.
- Spus te blankovací cyklus (blanking cycle) pro stanovení ovlivn ní absorbance vaším roztokem pufru. Pokud roztok pufru vykazuje silnou absorbanci v blízkosti vlnové délky analyzovaného média (nej ast ji 260 nm), zvolte jiný roztok pufru nebo jinou aplikaci. Podrobn ji viz Volba a m ení blank.
- Provád ní mikroobjemových m ení:
 - Ujist te se, zda jsou podstavce náležit isté a udržované.
 - V optimálním p ípad zah ejte na 63 °C (145 °F) vysoce koncentrovaný p ípadn vysokomolekuální roztok genomické DNA nebo lamda DNA a jemn ale d kladn vortexujte vzorky p ed zahájením m ení. Zabra te vzniku bublin p i míchání a pipetování.
 - Dodržujte doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
 - Používejte objem vzorku o objemu 1-2 mL, Blíže viz Doporu ený objem vzork .
- Pro m ení v kyvet (pouze u modelu p ístroje NanoDrop One^c) použijte kompatibilní kyvetu a dodržujte pokyny správného m ení v kyvet .

Související témata:

- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- · M ení vzork v kyvet
- · Doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
- Doporu ené pokyny pro m ení vlastností kyvety
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Záznam výsledk m ení nukleových kyselin

Obrazovka m ení dsDNA

Pro každý m $\,$ ený vzorek dsDNA, ssDNA a RNA se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk $\,$. Vzorový p íklad:



Výsledky m ení vzork dsDNA, ssDNA a RNA

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:

- popis vzorku (druh aplikace, analýza na podstavci nebo v kyvet)
- ozna ení vzorku
- datum provád ní analýzy
- koncentrace nukleové kyseliny
- A260/A280
- A260/A230
- A260
- A280
- faktor
- korekce (baseline correction)

Související témata

- · Základní ovládání p ístroje
- · Výpo ty nukleových kyselin

Nastavení m ení nukleových kyselin

Pro zobrazení parametr m ení dsDNA, ssDNA nebo RNA, klikn te na obrazovce m ení dsDNA, ssDNA nebo RNA na tla ítko => Nucleic Acid Setup

Nastavení	Dostupné funkce	Popis
Baseline Correction	On / off (zapnout nebo vypnout) Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)	Volitelné nastavení procesu baseline correction. Slouží ke kompenzaci rozptylu sv tla zp sobené rozptylujícími ásticemi ode tením spektra absorbance m eného vzorku se specifickou vlnovou délkou stanovenou procesem baseline correction od všech vlnových délek spektra analyzovaného vzorku. Tímto je docílena nulová absorbance spektra vzorku p i specifické vlnové délce procesu baseline correction.

Související témata

Nastavení p ístroje

Výpo ty pro stanovení nukleových kyselin

Stanovení nukleových kyselin vychází z Lambert-Beerova zákona, který vyjád uje vztah mezi koncentrací látky v roztoku a její absorbancí. Stanovení koncentrace podle tohoto zákona se ídí vpravo uvedenou rovnicí. Lambert-Beer v zákon (rovnice pro stanovení koncentrace)

$$c = A / (e * b)$$

kde:

- A = absorbance (v UV oblasti spektra) v jednotkách absorbance (AU)
 - = molární absorp ní (d ív extink ní) koeficient v l/mol-cm
- b = optická dráha v cm
- c = koncentrace analytu v mol/l nebo molarita (M)

Pozn.: Pom r absorbace m eného vzorku roztoku a molárního absorp ního koeficientu je p ímo úm rný molární koncentraci vzorku. Více informací viz Publikované extink ní koeficienty vztažené k molární resp. objemové koncentraci. Aplikace pro stanovení koncentrace nukleových kyselin vychází z modifikace Lambert-Beerova zákona (viz vpravo), kde extink ní koeficient a vlnová délka jsou zahrnuty do jednoho spole ného parametru - "faktoru".

Pro aplikace dsDNA, ssDNA a RNA se používají hodnoty obecn p ijímaných faktor které se podle Labert-Beerova zákona využívají ke stanovení koncentrace vzorku. Pro uživatelské aplikace se používá uživatelsky zvolená hodnota faktoru. Extink ní koeficienty vs. faktory

Faktor (f) je podle definice Lambert-Beetora zákona definován jako:

faktor (f) = 1/(e * b)

kde:

= extink ní koeficient (závislý na vlnové délce) v ng-cm/µL

b = délka vzorku v cm

Jako výsledek, analytická koncentrace (c) je po ítán takto:

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

nebo

$$C = A * f$$

kde:

c = koncentrace analytu v ng/µL

A = absorbance v jednotkách absorbance (A)

f = faktor v ng-cm/µL (viz níže)

Používané faktory:

- dsDNA (faktor = 50 ng-cm/µL)
- ssDNA (faktor = 33 ng-cm/µL)
- RNA (faktor = 40 ng-cm/µL)
- Uživatelský faktor (volitelná hodnota faktoru mezi 15 ng-cm/µL a 150 ng-cm/µL)

Výpo et koncentrace nukleových kyselin je stanoven p i absorbanci na vlnové délce 260 nm, zvoleného faktoru a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

P ístrojem stanovená koncentrace se uvádí v jednotkách objemových koncentrací, kterou lze vhodným kalkulátorem p epo ítat na molární koncentraci.

Absrobance p i 260 nm, 280 nm a n kdy i 230 nm se n kdy využívají ke stanovení pom r istoty (purity ratios). Hodnota pom ru istoty je citlivá na p ítomnost kontaminant ve vzorku jako jsou zbytková rozpoušt dla a inidla užívaná k purifikaci vzorku.

M ené parametry

Pozn.: U mikroobjemových m ení absorbance a m ení s nestandardní kyvetou (s jinou než 10 mm optickou dráhou - tlouš kou) je provád na normalizace obrazových spekter na ekvivalent optické dráhy (tlouš ky) 10 mm.

A260 - absorbace p i 260 nm

- Absorbance nukleové kyseliny se m í p i 260 nm pomocí normalizovaného spektra. Výstupem je hodnota parametru A260 pokud není zadána korekce (baseline correction).
- Je-li zvolena korekce (baseline correction), ode ítá se hodnota absorbance p i p íslušné vlnové délce od absorbance p i 260 nm. V tomto p ípad se výpo et koncnetrace nukleové kyseliny provede na základ stanovené korigované hodnota absorbance p i 260 nm.

A230 a A280 - absorbance p i 230 nm resp. 280 nm

 Normalizované a na základní linii korigované hodnoty absorbance (pokud zvoleno) jsou použity k výpo tu pom r A260/A230 a A260/A280.

Optická dráha vzorku

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Výstupní parametry

- Koncentrace nukleové kyseliny. Výstupní hodnota v p íslušných jednotkách (ng/mL, mg/uL nebo mg/mL). Výpo ty se provád jí podle modifikovaného Lambert-Beerova zákona pomocí korigované hodnoty absorbance nukleové kyseliny.
- Pom r istoty A260/A280. Pom r korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 280 nm. Vzorek s hodnotou pom ru ~1,8 pom ru istoty A260/A280 je považován za " istý" (platí pro vzorky DNA) resp. ~2,0 pro vzorky RNA. Kyselé roztoky vykazují hodnotu pom ru nižší o 0,2-0,3, opak platí pro zásadité roztoky.
- Pom r istoty A260/A230. Pom r korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 230 nm. Vzorek s hodnotou pom ru mezi 1,8-2,2 je považován za "istý" (platí pro vzorky DNA i RNA).

Pozn.: P estože hodnoty pom r istoty jsou ukazatelem kvality vzork , z stává nejlepším indikátorem kvality fungování v navazující aplikaci t.j. PCR v reálném ase.

4

Kvantifikace mikro ipu

M ení koncentrace purifikovaných nukleových kyselin, ozna ených jedním až dv mi fluorescen ními barvivy pro následné mikro ipové aplikace.

M ení vzork mikro ipu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



M ení vzork mikro ipu

Použití p i analýzu mikro ipu pro kvantifikaci nukleových kyselin ozna ených jedním nebo dv mi fluorescen ními barvivy. Výstupem aplikace je koncentrace nukleové kyseliny, pom r A260/A280, koncentrace barviv a jejich nam ená absorbance, umož ující stanovení množství barviva o koncentraci menší než 0,2 pikomol /mikrolitr.

M ení vzork mikro ipu

Poznámka

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku mikro ipu:

- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Nucleic Acids, zvolte Microarray.
- 2. Specifikujte typ vzorku a faktor dále druh použitých barviv(-a).

Tip : Zvolte druh barviva s p eddefinované tabulky nebo zadejte barvivo pomocí editoru Dye/Chromophore Editor.

 Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno a zvolte Measure
 - Kyveta: Zvolte Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork zvolte End Experiment.
- 9. Zvedn te rameno a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.



Maximum absorbance barviva využívané k výpo tu koncentrace barviva

Charakteristické spektrum mikro ipu

Související témata

- Doporu ené pokyny pro m ení nukleové kyseliny
- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- Doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
- Doporu ené pokyny pro m ení vlastností kyvety
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Záznam výsledk m ení mikro ipu

Obrazovka m ení mikro ipu

P i m ení každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk . Vzorový p íklad:



Výsledky analýzy mikro ipu

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:

- popis vzorku (druh aplikace, analýza na podstavci nebo v kyvet)
- ozna ení vzorku
- · datum provád ní analýzy
- koncentrace nukleové kyseliny
- A260
- A260/A280
- koncentrace barviva 1 / barviva 2
- druh vzorku
- korekce (baseline correction)
- faktor

Související témata

- · Základní ovládání p ístroje
- Výpo ty mikro ipu

Nastavení m ení mikro ipu

Nastavení mikro ipu

Obrazovka pro nastavení mikro ipu se zobrazí po zvolení analýzy mikro ipu na úvodní obrazovce s tabulkou Nucleic Acids. Pro zobrazení parametr m ení mikro ipu klikn te na obrazovce m ení mikro ipu na tla ítko => Nucleic Acid Setup

Nastavení	Dostupné volby	Popis		
Sample type and Factor (typ vzorku a faktor)	dsDNA (s needitovatelným faktorem 50 ng-cm/µL)	Obecn používaná hodnota pro dvojitou šroubovici DNA		
	ssDNA (s needitovatelným faktorem 33 ng-cm/µL)	Obecn používaná hodnota pro jednoduchou šroubovici DNA		
	RNA (s needitovatelným faktorem 40 ng-cm/µL)	Obecn používaná hodnota pro RNA		
	Oligo DNA s needitovatelným vypo ítaným faktorem v ng-cm/µL	Faktor vypo ítaný ze sekvence nukleové báze DNA. Volba umož uje zvolit nukleové báze t.j. G, A, T, C. Vyberte sekvenci kliknutím na p íslušnou klávesu. Faktor se vypo ítává automaticky na základ obecn používaných hodnot p íslušných pro každou nukleovou bázi.		
	Oligo RNA s needitovatelným vypo ítaným faktorem v ng-cm/µL	Faktor vypo ítaný ze sekvence nukleové báze RNA. Volba umož uje zvolit nukleové báze t.j. G, A, U, C. Vyberte sekvenci kliknutím na p íslušnou klávesu. Faktor se vypo ítává automaticky na základ obecn používaných hodnot p íslušných pro každou nukleovou bázi.		
	Custom (s uživatelsky zvoleným faktorem ng-cm/µL)	Zadejte hodnotu faktoru mezi 15 ng-cm/µL a 150 ng-cm/µL		
Dye 1/Dye 2 Type * (typ barviva 1 / barviva 2)	Cy3, 5, 3.5, nebo 5.5, Alexa Fluor 488, 546, 555, 594, 647, nebo 660	Zvolte p ednastavený druh barviv(a) pro zna ení vzorku nebo zvolte druh barviva, který jste nadefinovali pomocí editoru Dye/Chrom Editor.		
Dye 1/Dye 2 Unit (jednotky barviva 1 / barviva 2)	picomoly/microlitr (pmol/mL), micromoly (mM) nebo millimoly (mM)	Zvolte jednotky výsledných hodnot koncentrace barviva		
Analysis Correction ** (korekce analýzy)	On / off (zapnout / vypnout) Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo	Funkce pro korekci nem ené absorbance vzorku pro kompenzaci sv tla rozptylujícími ásticemi založená na ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korek ní vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy.		
	pouzijte výchozi nodnotu (340 nm)	Tip : Pokud vzorek obsahuje modifikaci absorbující sv tlo vlnové délky 340 nm, zvolte jinou kompenza ní vlnovou délku nebo korekci (baseline correction) vypn te.		

* Pokud chcete p idat jiný typ barviva nebo editovat dostupný typ p ejd te do editoru Dye/Chromophore Editor. **Korekce analýzy (Analysis Correction) ovliv uje pouze m ení koncentrace nukleové kyseliny.

Dye/chromophore editor (editor barviva/chromoforu)

Použijte Dye/Chromophore Editor pokud chcete p idat uživatelský typ barviva do modulu Microarray Setup nebo do modulu Proteins & Labels Setup. Lze rovn ž specifikovat barviva, která jsou dostupná v p íslušném seznamu.

Spušt ní modulu Dye/Chromophore Editor:

- Ze základní obrazovky (Home screen) klikn te na tla ítko Kor > Dye/Chrom. Editor
- V menu Microarray or Proteins & Labels klikn te na tla ítka
 > Dye/Chrom. Editor

P edd nelze	lefinované barvi editovat ani sm	Dye/Cł ivo - azat	hromopho	ore Editor	Klikr p idá uživa – barvi	nutím ite atelské ivo	Kliknutím editujte uživatelsky p idané — barvivo
	Settings		_				—Kliknutím
S	ystem	Gener	al	Dye/Chrom. I	Editor	Micro Arra	odstra te
Id	Dye	Unit	Coefficient (l/mole-cm)	Wavelength (nm)	260nm Correction	280nm Correction	uživatelsky p idané
7 🔒 🗹	Alexa Fluor 594	μΜ	73000	590	0.43	0.56	barvivo ze seznamu
8 🔒 🗹	Alexa Fluor 647	μΜ	239000	650	0.00	0.03	
9 🔒 📝	Alexa Fluor 660	μΜ	132000	653	0.00	0.10	
10 🔒 🗹	Cy3.5	μΜ	150000	581	0.08	0.24	
11 🔒 🗹	Cy5.5	μΜ	250000	675	0.05	0.18	
12 🔔 🗹	New1	pmol/µL	143000	470	0.10	0.20	
			Done			2015-5-28 13:44:10	
Zvolená barviva (která se zobrazí Uživatelský zadané barvivo (lze odstranit nebo editovat) Zvolená barviva (která se zobrazí v seznamu Dye1 / Dye 2 v modulu Microarray Setup nebo v modulu Proteins & Labels Setup) Kliknutím ukon ete modul Dye/Chrom. Edito				kon ete Chrom. Editor			

Tyto funkce jsou dostupné v modulu Dye/Chromophore Editor:
P idání nebo odstran ní barviva

P idání nebo odstran ní barviva ze seznamu Dye1 / Dye2 v modulu Microarray Setup nebo v modulu Proteins & Labels Setup :

zaškrtn te nebo zrušte odpovídající polí ko

2 🔒 🗹 Cy3	μΜ	150000	550	0.04

P idání uživatelského barviva

- klikn te na tla ítko (pro zobrazení menu New Dye box
- zadejte jedine ný název (Name) nového barviva (kliknutím do pole se zobrazí klávesnice, kliknutím na Done klávesnici vypnete
- zvolte výchozí jednotky (Unit) pro uvád ní koncetrace barviva
- zadejte extink ní koeficient barviva (Extinction Coefficient) nebo konstantu molární absoptivity v L/mol-cm poskytované výrobcem barviva
- specifikujte vlnovou délku (Wavelegth) v nm (v intervalu 450 -700 nm), p i které bude stanovena absorbance barviva
- specifikujte korekci barviva v intervalu hodnot 260 280 nm
- klikn t na Add Dye

Poznámka Stanovení korekce barviva (pokud není uvedena výrobcem barviva):

- zm te p ístrojem absorbanci vlastního barviva p i vlnových délkách 260 nm,
 280 nm a p i analýze vlnové délky barviva (viz výše v textu)
- vypo ítejte pom r A₂₆₀ / A_{vlnová délka barviva} a zadejte tuho hodnotu pro korekci 260 nm
- vypo ítejte pom r A₂₈₀ / A_{vlnová délka barviva} a zadejte tuho hodnotu pro korekci 280 nm

Pokud p ed m ením zvolíte uživatelský typ barviva, zobrazí se výsledcích absorbance barviva a hodnoty koncentrace a korekce se provedou na hodnotách absorbance m eného vzorku, výsledných koncentracích vzorku a pom r istoty.

Editace uživatelského barviva

Tip P eddefinovaná barviva v softwaru p ístroje nelze editovat.

- kliknutím vyberete uživatelské barvivo
- klikn te na tla ítko 🌠

- editujte údaje nebo nastavení
- klikn te na Save Dye

Smazání uživatelsky definovaného barviva

Tip P eddefinovaná barviva v softwaru p ístroje nelze editovat.

- klikn te na uživatelsky definované barvivo
- klikn te na tla ítko 🎹

POZNÁMKA Po smazání uživatelsky definovaného proteinu dojde k jeho trvalému smazání ze v etn souvisejících asociací softwaru p ístroje.

Související témata:

Nastavení p ístroje

Výpo ty pro m ení mikro ipu

Aplikace pro m ení mikro ipu jsou obdobn jako aplikace m ení nukleových kyselin, založeny na modifikovaném Lambert-Beerov zákonu pro stanovení koncentrace vzorku kde jsou extink ní koeficient a optická dráha slou eny do jednoho spole ného parametru - "faktoru". Aplikace pro m ení mikro ipu disponuje šesti volbami (uvedenými vpravo) s p íslušnou hodnotou faktoru analyzovaného vzorku k stanovení koncentrace vzorku podle Labert-Beerova zákona.

Je-li známa hodnota faktoru, zvolte položku Custom Factor a zadejte tuto hodnotu v jednotkách ng-cm/mL.V opa ném p ípad zvolte dostupnou volbu nejlépe odpovídající charakteru roztoku vzorku.

Tip : V optimálním p ípad stanovte extink ní koeficient empiricky pomocí roztoku zkoumané nukleové kyseliny o známé koncentraci p i použití stejného pufru. Dostupné funkce a faktory

- dsDNA (faktor = 50 ng-cm/µL)
- ssDNA (faktor = 33 ng-cm/µL)
- RNA (faktor = 40 ng-cm/µL)
- Oligo DNA (vypo ítaný z uživatelem zadanésekvence nukleotid DNA)
- Oligo RNA (vypo ítaný z uživatelem zadanésekvence nukleotid RNA)
- Custom Factor (uživatelsky definvaný faktor v intervalu 15 ng-cm/µL a 150 ng-cm/µL)

Poznámka : Podrobn ji viz Druh vzorku.

Výpo et koncentrace nukleových kyselin je stanoven p i absorbanci na vlnové délce 260 nm, zvoleného faktoru a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

P ístrojem stanovená koncentrace se uvádí v jednotkách objemových koncentrací, kterou lze vhodným kalkulátorem p epo ítat na molární koncentraci.

Absrobance p i 260 nm, 280 nm a n kdy i 230 nm se n kdy využívají ke stanovení pom r istoty (purity ratios). Hodnota pom ru istoty je citlivá na p ítomnost kontaminant ve vzorku jako jsou zbytková rozpoušt dla a inidla užívaná k purifikaci vzorku.

Koncentrace barviv se stanovují na základ hodnoty absorbance p íslušné vlnové délky barviva, extink ního koeficientu barviva a optické dráhy vzorku. Je možné aplikovat též korek ní proces.

M ené parametry

Absorbace p i vlnové délce 260 nm (A260)

Pozn : Abrobance p i vlnové délce 750 nm se ode ítá od všech vlnových délek spektra. Z tohoto d vodu je zobrazená hodnota absorbance p i 750 nm nulová. M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10,0 mm.

- Hodnoty absorbance nukleových kyselin pro všechny typy vzork mikro ipu jsou stanoveny p i vlnové délce 260 nm s korekcí a normalizací spektra vlnové délky 750 nm.
- Pokud je zvolena funkce Analysis Correction, jsou hodnoty absorbance kompenzované vlnové délky ode teny do absorbance p i 260 nm.
- Je-li vybráno jedno více barviv, ode ítají se hodnoty kompenzace barviva p i 260 nm od absorbance p i 260 nm.
- Z výsledné hodnoty kompenzované absorbance p i 260 nm se stanovuje koncentrace vzorku.

Absorbace p i vlnové délce 280 nm (A280)

 Kompenzovaná absorbance p i 750 nm a normalizovaná hodnota absorbance p i 260 nm (mínus kompenzace barviva p i A280) se používá pro výpo et pom ru A260/A280.

Absorbance barviva

- Hodnoty absorbance barviva se stanovují p i specifických vlnových délkách. Viz modul Dye/Chromophore Editor pro analýzu vlnových délek.
- Je-li zvolena funkce Sloping Dye Correction, zobrazí se p ímková základní liniie (baseline) mezi 400 nm a 750 nm pro každé barvivo, hodnota absorbance na p ímkové základní linii se ode te od absorbance p i vlnové délce každého barviva. Výsledkem jsou kompenzované hodnoty absorbance barviva na základ kterých se stanovuje koncentrace barviva.

Kompenzace barviva

- U p eddefinovaná barviva jsou známé hodnoty A260 a A280. Viz modul Dye/Chromophore Editor pro znázorn ní používaných hodnot.
- Korekce barviva p i A260 se ode ítá od hodnoty absorbance A260, používané k výpo tu koncentrace nukleové kyseliny, a od hodnoty absorbance A260 používané ke stanovení pom ru istoty A260/280.

Optická dráha vzorku

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Výstupní parametry

- Koncentrace nukleové kyseliny. Výstupní hodnota v p íslušných jednotkách (ng/mL, mg/uL nebo mg/mL). Výpo ty se provád jí podle modifikovaného Lambert-Beerova zákona pomocí korigované hodnoty absorbance nukleové kyseliny.
- Pom r istoty A260/A280. Pom r korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 280 nm. Vzorek s hodnotou ~1,8 pom ru A260/A280 je považován za "istý" (platí pro vzorky DNA) resp. ~2,0 pro vzorky RNA. Kyselé roztoky vykazují hodnotu pom ru nižší o 0,2-0,3; opak platí pro zásadité roztoky.
- Koncentrace barviva 1/barviva 2. Hodnota uvád ná v jendotkách pmol/mL. Výpo et založen na Lambert-Beerov zákon p i použití korigované hodnoty absorbance barvivai.

Pozn.: P estože je tento pom r ukazatelem istoty vzorku, z stává nejlepším indikátorem kvality DNA nebo RNA navazující ešení aplikace (m ení mikro ipu).

Související témata

• Výpo ty z m ení nukleových kyselin

Kvantifikace použitím uživatelského faktoru (custom factor)

M í se koncentrace purufikované nukleové kyseliny na základ uživatelsky definovaného faktoru

M ení s uživatelským faktorem

Výstupní parametry

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



Stanovení nukleové kyseliny použitím uživatelského faktoru

Použijte uživatelský faktor (custom factor) pro aplikace na m ení purifikovaných vzork DNA nebo RNA, které absorbují p i vlnové délce 260 nm s uživatelsky definovaným extink ím koeficientem nebo faktorem. Výstupem je koncentrace nukleové kyseliny a hodnoty dvou pom r A260/A280 a A260/A230. Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Stanovení nukleové kyseliny použitím uživatelského faktoru

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

- M ení p i použití uživatelského faktoru (custom faktor)
- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Nucleic Acids a zvolte Custom Factor.
- Zdejte hodnotu faktoru pro výpo ty a dle požadavku specifikujte korekci na korekci na základní linii (baseline correction).
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno p ístroje, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno p ístroje a klikn te na Measure
 - Kyveta: klikn te na Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment.
- Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.



Související témata

- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- · Doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
- Doporu ené pokyny pro m ení vlastností kyvety
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení p i použití uživatelského faktoru

P i m ení každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk . Nap íklad:

Poznámka Obrazovka m ení (measurement screen) p i použití uživatelského faktoru je identická jako v p ípad obrazovky m ení (measurement screen) pro ostatní aplikace stanovení nukleových kyselin s výjimkou dopln ní o hodnotu parametru Custom Factor v dolním rohu obrazovky (viz obrázek na další stránce).



Hodnota uživatelského faktoru použitá pro výpo et koncentrace nukleové kyseliny

Související témata

- Základní funkce p ístroje
- Výsledky analýzy nukleové kyseliny
- Výpo ty nukleové kyseliny

Nap íklad pro m ení vzorku s extink ním koeficientem 55, bude zápis rovnice následující:

(550 AU * 55 ng-cm/µL) = 30250 ng/µL

Poznámka Pro m ení kyvet s optickou dráhou 10 nm bude horní mez detekce 1,5 AU což je p ibližn 75 ng/mL pro sDNA

Související témata

Meze detekce pro všechny aplikace

Custom Factor Setup

Nastavení m ení p i použití uživatelského faktoru

Pro zobrazení nast	avení parametru Custom Fac	tor klikn te na 📃 Custom Factor Setup.
Nastavení	Dostupné volby	Popis
Custom Factor (uživatelský faktor)	Zadejte celo íselnou hodnotu v intervalu 15 ng-cm/µL a 150 ng- cm/µL	Konstanta používaná pro výpo et koncetrace nukleové kyseliny pomocí modifikovaného Lambert-Beerova zákona, vychází z extink ního koeficientu a optické dráhy:
		$f = 1/(e_{260} * b))$
		kde: f= faktor θ = molární extink ní koeficient p i 260 nm v ng-cm/μL b = optická dráha (délka) vzorku v cm (1 cm pro m ení nukleových kyselin v p ístrojích NanoDrop One
Baseline Correction (korekce na základní linii)	On / off (zapnout / vypnout)	Uživatelsky volitelná korekce (baseline correction). Používá se pro kompenzaci sv tla rozptylujícími ásticemi, je založena na
	Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)	ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korek ní vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy. V d sledku této kompenzace je absorbance vzorku nulová p i specifikované vlnové délce korekce.

Související témata

Nastavení p ístroje

Meze detekce pro m ení p i použití uživatelského faktoru

Dolní meze detekce a reprodukovatelnost analýzy nukleových kyselin jsou uvedeny zde. Horní meze detekce závisí na horní mezi absorbance p ístroje a uživatelsky definované hodnoty extink ního koeficientu.

Stanovení horní meze detekce vzork nukleových kyselin

Na výpo et horní meze detekce použijte následující vzorec (v jednotkách ng/µL) :

(hodní mez absorbance_{p ístroje} * objemový extink ní koeficient _{vzorku}) * 10

Kvantifikace oligo DNA nebo oligo RNA

M í se koncentrace purifikované ssDNA nebo RNA oligonukleotid které absorbují vlnové délky 260 nm.

M ení oligo DNA nebo RNA

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



M ení oligo DNA nebo oligo RNA

Aplikace oligo DNA a oligo RNA slouží pro stanovení oligonukleotid které absorbují p i 260 nm. Výpo et molárních extink ních koeficient se provádí automaticky na základ uživatelsky definované základní sekvence. Analýzy umož ují stanovit koncentraci nukleové kyseliny a dva pom ry absorbancí (A260/A280 a A260/230). Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Poznámka Pokud došlo k modifikaci oligonukleotid, nap íklad flouroforovým barvivem, ov te u výrobce oligonukleotidu zda se tato modifikace podílí na absorbanci p i 260 nm. Pokud ano, doporu ujeme koncentraci nukleové kyseliny stanovit v aplikaci mikro ipu. Aplikace mikro ipu zahrnuje korekci, která v analýze eliminuje p ísp vek absorbance vlivem barviva.

M ení vzork oligo DNA nebo oligo RNA

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku nukleové kyseliny

- Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Nucleic Acids, zvolte podle požadavku Oligo DNA nebo Oligo RNA.
- 2. Dle pot eby specifikujte sekvenci oligo báze a korekci na základní linii (baseline correction).
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Zvolte Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno p ístroje, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno p ístroje a klikn te na Measure
 - Kyveta: klikn te na Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment.
- Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata:

Doporu ené pokyny pro m ení nukleových kyselin



- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- Doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
- Doporu ené pokyny pro m ení vlastností kyvety
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Záznam výsledk m ení oligo nukleových kyselin

Obrazovka m ení oligo DNA

Pro každý m $\,$ ený vzorek oligo DNA a oligo RNA se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk $\,$. Vzorový p íklad:



Výsledky analýzy m ení oligo DNA a oligo RNA

Základní obrazovka, která se znázorní po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:

- popis vzorku (druh aplikace, analýza na podstavci nebo v kyvet)
- ozna ení vzorku
- datum provád ní analýzy
- koncentrace nukleové kyseliny
- A260/A280
- A260/A230
- A260
- A280
- faktor
- oligo sekvence
- korekce (baseline correction)
- stav míchadla

Poznámka P t nukleotid , které jsou základními stavebními kameny DNA a RNA vykazují zna n variabilní pom ry A260/A280. Více informací viz Pom ry istoty oligo nukleových kyselin.

Související témata

- Základní ovládání p ístroje
- · Výpo ty oligo analýzy

Nastavení m ení oligo DNA a oligo RNA

Obrazovka m ení oligo nukleových kyselin se zobrazí po spušt ní aplikace Oligo DNA nebo Oligo RNA, která je dostupná na základní obrazovce (home sceen) pro aplikace nukeových kyselin. Zobrazení nastavení analýzy oligo nukleových kyselin klikn te na COIgo DNA Setup resp. na Oligo RNA Setup).

Nastavení	Dostupné volby	Popis
Oligo Base Sequence (sekvence oligo báze)	Specifikace báze sekvence DNA: zvolte klávesy G, A, T a C Specifikaci báze sekvence RNA: zvolte klávesy G, A, U a C	Specifikujte bázi DNA nebo RNA kliknutím na p íslušnou klávesu p idat guanin p idat adenin g idat adenin p idat thymine (DNA) nebo uracil (RNA)
		 Po každém p idání báze sekvence, provede software p ístroje následující výpo et: Faktor. Konstanta pro stanovení koncentrace oligonukleotiodu z definice modifikovaného Lambert-Beerova zákona. Odvozená z extink ního koeficientu a optické dráhy: f = 1/(e₂₆₀* b) kde: f = faktor e = molární absorp ní koeficient p i 260 nm v ng-cm/µL b = optická dráha (délka) vzorku v cm (0,1 cm pro m ení nukleových kyselin v p ístrojích NanoDrop One

Nactavoní	Doctupná volby	Donic
Nastaveni	Dostuprie volby	Popis
		 Molekulová hmotnost vypo ítané uživatelsky zadané oligo báze.
		Po et zadaných bází.
		 Molární extink ní koeficient (260 nm). Molární extink ní koeficient oligo sekvence (v ng-cm/µL) p i 260 nm vypo ítaný pro zadanou bázi sekvence.
		 %GC. Procentuální podíl reziduí guaninu a cytosinu v celkovém po tu bázi sekvence.
Baseline Correction	On / off (zapputo pebo vypputo)	Uživatelsky volitelná korekce (baseline correction). Používá se pro kompenzaci
(korekce)	Zadejte vlnovou délku korekce analýzy v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)	specifikované korek ní vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy. V d sledku této kompenzace je absorbance vzorku nulová p i specifikované vlnové délce korekce.
		Tip : Pokud vzorek obsahuje modifikaci absorbující sv tlo vlnové délky 340 nm, zvolte jinou kompenza ní vlnovou délku nebo korekci (baseline correction) vypn te.
	Související témata • Nastavení p ístroje	%GC. Procentuální podíl reziduí guaninu a cytosinu v celkovém po tu bázi sekvence.

Meze detekce m ení oligo DNA a oligo RNA

Dolní meze detekce a reprodukovatelnost vzork oligonukleotid nukleových kyselin (ssDNA a RNA) jsou uvedeny zde. Horní meze detekce závisí na horní mezi absorbance p ístroje a uživatelsky definované hodnoty extink ního koeficientu sekvence báze.

Stanovení horní meze detekce vzork nukleových kyselin

Na výpo et horní meze detekce použijte následující vzorec (v jednotkách ng/µL) :

```
(hodní mez absorbance<sub>p ístroje</sub> * extink ní koeficient vzorku)
```

Nap íklad pro m ení vzorku s extink ním koeficientem 55, bude zápis rovnice následující:

(550 AU * 55 ng-cm/µL) = 30250 ng/µL

Poznámka Prom ení kyvet s optickou dráhou 10 nm bude horní mez detekce 1,5 AU což je p ibližn 75 ng/mL pro sDNA

_48 ___ NanoDrop One - Uživatelská p íru ka __

Související témata

Meze detekce pro všechny aplikace

Výpo ty m ení oligo DNA a oligo RNA

Aplikace pro m ení oligo nuleových kyselin jsou obdobn jako ostatní aplikace m ení nukleových kyselin, založeny na modifikovaném Lambert-Beerov zákonu pro stanovení koncentrace vzorku na základ extink ního koeficientu a optické dráhy vzorku. Vzhledem ke skute nosti, že oligonukleotidy mají krátký et žec, jedno et zcové molekuly (nebo velké molekuly opakující se sekvence), je jejich spektrum a extink ní koeficient úzce závislé na složení báze a sekvenci.

(Obecn p ijímané hodnoty extink ních koeficient a faktor pro jedno et zcové DNA a RNA poskytují p im ený odhad p irozen nahodile uspo ádaných sekvencí, avšak ne pro syntetické oligo sekvence). Dostate n v tší p esnost m ení výpo tu koncetrace oligonukleotidu je zajišt na stanovením p esné hodnoty parametru e_{260} .

Software p ístroje NanoDrop umož uje zadat specifickou bázi oligonukleotidu ješt p ed jeho m ením. Pro každou sekven n specifickou bázi oligonukleotidu vypo ítává software hodnotu extink ního koeficientu na základ vpravo uvedené rovnice.

Tip : Hodnota extink ního koeficientu je specifická pro konkrétní vlnovou délku u každého oligonukleotidu a mlže být ovlivn na pufrem, iontovou sílou nebo pH vzorku. Extink ní koeficienty oligonukelotid

Molárního extink ní koeficient pro sekven n specifickou bázi oligonukleotidu se v softwaru p ístroje po ítá pomocí interpola ní metody nearest neighbor a následujícího vzorce:

$$e_{260} = \sum_{1}^{N-1} e_1 - \sum_{2}^{N-1} e_2 + \sum_{1}^{N} e_3$$

kde:

e = molární extink ní koeficient v l/mol-cm

 $e_1 = e_{nearest neighbor}$

 $e_2 = e$ individuální báze

e3 = e modifikace, nap . fluorescen ní barivo

Výpo et koncentrace nukleových kyselin je stanoven p i absorbanci na vlnové délce 260 nm, zvoleného faktoru a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodovou korekci.

P ístrojem stanovená koncentrace se uvádí v jednotkách objemových koncentrací, kterou lze vhodným kalkulátorem p epo ítat na molární koncentraci.

Absrobance p i 260 nm, 280 nm a n kdy i 230 nm se n kdy využívají ke stanovení pom r istoty (purity ratios). Hodnota pom ru istoty je citlivá na p ítomnost kontaminant ve vzorku jako jsou zbytková rozpoušt dla a inidla užívaná k purifikaci vzorku.

M ené parametry

Absorbace p i vlnové délce 260 nm (A260)

Pozn.: U mikroobjemových m ení absorbance a m ení s nestandardní kyvetou (s jinou než 10 mm optickou dráhou - tlouš kou) je provád na normalizace obrazových spekter na ekvivalent optické dráhy (tlouš ky) 10 mm.

A260 - absorbace p i 260 nm

- Absorbance nukleové kyseliny se m í p i 260 nm pomocí normalizovaného spektra. Výstupem je hodnota parametru A260 pokud není zadána korekce (baseline correction).
- Je-li zvolena korekce (baseline correction), ode ítá se hodnota absorbance p i p íslušné vlnové délce od absorbance p i 260 nm. V tomto p ípad se výpo et koncnetrace nukleové kyseliny provede na základ stanovené korigované hodnota absorbance p i 260 nm.

A230 a A280 - absorbance p i 230 nm resp. 280 nm

• Normalizované hodnoty absorbance p i 230 nm, 260 nm a 280 nm jsou použity pro výpo et pom r A260/A230 a A260/A280.

Optická dráha vzorku

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

P t nukleotid budující DNA a RNA vykazují vysoce variabilní pom ry A260/A280. Níže jsou uvedeny p ibližné hodnoty pom ru A260/A280 pro každý m ený nukleotid:

Guanin: 1,15 Adenin: 4,50 Cytosin: 1,51 Uracil: 4,00 Thymin: 1,47

P ibližn platí, že pom r A260/A280 specifické sekvence nukleové kyseliny se rovná váženému pr m ru pom r A260/A280 p íslušných ty nukleotid .

Pozn.: RNA vykazuje typicky vyšší hodnotu pom ru A260/A280 v d sledku vyššího obsahu uracilu než thyminu.

Související témata

Výpo ty nukleové kyseliny

Výstupní parametry

- Nucleic acid concentration (koncentrace nukleové kyseliny).
 Výstupní hodnota v p íslušných jednotkách (ng/mL, mg/uL nebo mg/mL). Výpo ty se provád jí podle modifikovaného Lambert-Beerova zákona pomocí korigované hodnoty absorbance nukleové kyseliny.
- A260/A280 purity ratio (pom r istoty). Pom r korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 280 nm.
- Pom r istoty A260/A230. Pom r korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 230 nm.

Pozn.: Konven ní hodnoty pom ru istoty - purity ratios (A260/A280 a A260/A230) jsou ukazatelem p ítomnosti rozli ných kontaminant ve vzorcích nukleových kyselin. Nepoužívejte je pro oligonukleotidy nebo tvar jejich spektra je vysoce citlivý na složení jejich bází. Více informací viz postranní lišta.

Kvantifikace proteinu metodou A280

M í se koncentrace purifikované skupiny proteinu, která absorbuje vlnové délky 280 nm.

M ení proteinu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



M ení koncentrace proteinu metodou A280

Použijte aplikaci Protein A280 na kvantifikaci purifikované skupiny proteinu obsahující aminokyseliny jako nap . tryptofan, tyrosin nebo cys-cys disulfidické aminokyseliny, které vykazují absorbanci p i 280 nm. Výstupem této aplikace je koncentrace proteinu nam eného p i 280 nm s jedním pom rem absorbance (A260/A280). Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction). Tato aplikace nevyžaduje standardní k ivku.

Poznámka Pokud ve vzorcích p evažují peptidové vazby a žádné nebo minimální množství aminokyselin, použijte namísto aplikace Protein A280 aplikaci Protein A250.

M ení vzork proteinu metodou A280

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku proteinu metodou A280

- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Proteins a zvolte Protein A280.
- 2. Specifikujte typ vzorku a dle pot eby korekci (baseline correction).
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno a zvolte Measure
 - Kyveta: Zvolte Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork zvolte End Experiment.
- 9. Zvedn te rameno a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.





Pro aplikaci na protein A280, protein A205 a aplikaci Proteins & Labels prove te blank pomocí stejného roztoku pufru pro resuspendování sledovaného analytu. Roztok blanku by m l mít obdobné pH a iontovou sílu jako roztok analytu.

Osv d ené postupy pro m ení proteinu

P ed m ením vyizolujte a purifikujte vzorky s proteiny kv li odstran ní ne istot. Podle druhu vzorku se m že jednat o ne istoty DNA, RNA, nebo složek pufru. Další informace viz P (prava vzork).

Poznámka: Extrak ní inidla, která p ispívají k absorbanci mezi 200 nm a 280 nm, pokud jsou p ítomny ve vzorcích (by jenom ve stopovém množství), mohou ovlivnit výsledky m ení.

- Zkontrolujte jestli absorbance vzorku leží v rozsahu mezí detekce absorbance.
- Volba blanku:
 - Pro aplikace Protein A280, Protein A205 a Proteins & Labels prove te blank pomocí stejného roztoku pufru pro resuspendování sledovaného analytu. Roztok blanku by m 1 mít obdobné pH a iontovou sílu jako roztok analytu.
 - Pro aplikace Protein BCA, protein Bradford a Protein Lowry prove te blank s deionizovanou vodou.
 - Pro aplikaci Protein Pierce 660, prove te blank s referen ním roztokem pro vytvo ení standardní k ivky (referen ní roztok nemá obsahovat žádný z b žných protein). Více informací viz Práce se standardními k ivkami.
- Spus te blankovací cyklus pro stanovení ovlivn ní absorbance roztokem pufru. Pokud roztok pufru vykazuje silnou absorbanci na vlnové délce nebo v blízkosti vlnové vlastní délky analýzy (nej ast ji 280 nm nebo 205 nm), je možné použít jiný pufr nebo aplikaci jako kolorimetrický ip (nap . BCA nebo Pierce 660). Podrobn ji viz Volba a m ení blank .

Poznámka Pufry jako Triton X, RIPA a NDSB intenzívn p ispívají k absorbanci a nejsou kompatibilní s p ímým m ením A280 nebo A205

Provád ní mikroobjemových m ení:

- Ujist te se, zda jsou podstavce náležit isté a udržované. (Proteiny snadno ulpívají na povrchu podstavc).
- Jemn, ale d kladn vortexujte vzorky p ed zahájením m ení. Zabra te vzniku bublin p i míchání a pipetování.
- Dodržujte doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
- Používejte vzorek o objemu 2 mL, Blíže viz doporu ený objem vzork .
- Pro m ení v kyvet (pouze s modelem NanoDrop One^c) použijte kompatibilní kyvetu a dodržujte pokyny správného m ení v kyvet .

•

Související témata

- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou A280

Obrazovka m ení proteinu metodou A280

 ${\sf P}$ i m ${\sf enf}$ každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk ${\sf .}$ Vzorový p íklad:



Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



· Výpo ty proteinu A280

Nastavení m ení proteinu metodou A280

Pro zobrazení nastavení aplikace Protein A280 klikn te z hlavní obrazovky m ení na so Protein A280 setup

Nastavení proteinu A280

Aplikace Protein A280 poskytuje široký výb r druh vzork pro provád ní analýz s purifikovanými proteiny.

Ke každému typ vzorku se vztahuje jedine ná hodnota extink ního koeficientu pro výpo et koncentrace proteinu. Pokud je známá hodnota extink ního koeficientu vzorku, zvolte volbu \mathbf{C}_+ MW (molární) nebo \mathbf{C}_1 % (objemový) a zadejte hodnotu. V opa ném p ípad vypo ítejte extink ní koeficient nebo zvolte pro vzorek nejlépe odpovídající volbu. Pro hrubý odhad koncentrace proteinu p i neznámé hodnot extink ního koeficientu vzorku, vyberte volbu 1 Abs = 1 mg/mL.

Tip V optimálním p ípad stanovte empiricky hodnotu extink ního koeficientu pomocí roztoku se sledovaným proteinem o známé koncentraci s použitím stejného pufru.

Nastavení	Dostupné volby	Objemový extink ní koeficient (L/gm-cm)	Popis
Sample type * (typ vzorku)	1 Abs = 1 mg/mL	Obecná p edvolba	Doporu uje se použít pokud není známa hodnota extink ného koeficientu a je akceptovatelný hrubý odhad stanovení koncentrace roztoku neobsahující žádné další interferující látky. P edpokládá se, že proteinový roztok s koncentrací 0,1% (1 mg/mL) zp sobuje 1,0A p i 280 nm (p i optické dráze 10 mm) t.j. e1% = 10.
	BSA	6,67	Stanoví se koncentrace proteinu BSA (Bovine Serum Albumin) na základ extink ního koeficientu (e) s hodnotou 6,67 L/gm-cm p i 280nm pro 1% roztok BSA (t.j. 10 mg/mL). P edpokladá se hodnota MW 66400 dalton (Da) a molární exktink ní koeficient p i 280 nm pro protein BSA p ibližn 43824 M ⁻¹ cm ⁻¹ .
	lgG	13,7	Vhodné pro v tšinu sav ích protilátek (nap . immunoglobin G nebo IgG). Stanovuje se koncentrace proteinu na základ extink ního koeficientu (e) s hodnotou 13,7 L/gm-cm p i 280nm pro 1% roztok IgG (t.j. 10 mg/mL). P edpokladá se MW 150000 dalton (Da) a molární exktink ní koeficient p i 280 nm pro IgG p ibližn 210000 M ⁻¹ cm ⁻¹ .
	Lysozyme (lysozym)	26,4	Stanovuje se koncentrace enzymu (proteinu) lysozym na základ extink ního koeficientu (e) s hodnotou 26,4 L/gm- cm p i 280nm pro 1% roztok lysozymu (t.j. 10 mg/mL). P edpokladá se hodnota molárního exktink ního koeficientu pro lysozym vaje ného bílku intervalu hodnot 36000 M ⁻¹ cm ⁻¹ a 39000 M ⁻¹ cm ⁻¹ .

Nastavení	Dostupné volby	Objemový extink ní koeficient (L/gm-cm)	Popis
Other protein (e + MW)	Other protein (C + MW)	Zadejte hodnotu molárního extink ního koeficientu a	P edpokládá se, že je známá hodnota molárního extink ního koeficientu (e) a molekulové hmotnosti (MW), kde:
	(Jiny protein)	molekulovou hmotnost	(e molarní)*10=(e percentuální)*(MW proteinu)
			Zadejte hodnotu MW v kilodaltonech (kDa) a molární extink ní koeficient (e) v M ⁻¹ cm ⁻¹ vyd lený íslem 1000 (t.j. e/1000). Nap . pro protein s molárním extink ním koeficientem 210000 M ⁻¹ cm ⁻¹ , zadejte 210.
	Other protein (e1%) (jiný protein)	Zadejte hodnotu extink ního koeficientu	P edpokládá se, že je známá hodnota objemového extink ního koeficientu (e). Zadejte hodnotu objemového extink ního koeficientu v l/gm-cm pro roztok proteinu o koncentraci 10 mg/ml (e1%).
Baseline Correction (korekce)	On / off (zapnout / vypnout) Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)	neaplikovatelné	Uživatelsky volitelná korekce (baseline correction). Používá se pro kompenzaci sv tla rozptylujícími ásticemi, je založena na ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korek ní vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy. V d sledku této kompenzace je absorbance vzorku nulová p i specifikované vlnové délce korekce.
	(0+0 1111)		Tip : Pokud vzorek obsahuje modifikaci absorbující sv tlo vlnové délky 340 nm, zvolte jinou kompenza ní vlnovou délku nebo korekci (baseline correction) vypn te.

* Uživatelský protein lze p idat pomocí modulu Protein Editor.

Protein editor (editor proteinu)

Použijte Protein Editor pokud chcete p idat uživatelský typ proteinu do modulu Protein A280 Setup a modulu Proteins & Labels Setup.

Spušt ní modulu Protein Editor:

- Ze základní obrazovky (Home screen) klikn te na tla ítko Kome screen) klikn te na tla ítko
- V menu Protein A280 nebo v menu Proteins & Labels klikn te na
 >
 > Settings > Protein Editor



Kliknutím ukon ete Protein Editor

Tyto funkce jsou dostupné v modulu Protein Editor:

Add custom protein

- v modulu Protein Editor klikn te na (+) zobrazení zadávacího pole New Protein Type box
- zadejte jedine ný název (Name) nového proteinu (kliknutím do pole se zobrazí klávesnice, kliknutím na Done klávesnici vypnete
- zadejte popis (Description) nového proteinu
- specifikujte jestli chcete použít molární extink ní koeficient (Molar Extinction coefficient) nebo koeficient pro uživatelský protein
 - pokud zvolíte Mass Extinction
 - zadejte hodnotu objemového extink ního koeficientu v l/gm-cm pro roztok proteinu o koncentraci (e 1%)

Kliknutím do pole zobrazíte klávesnici; ukon íte kliknutím na Done

New Protein Type	
Molar Extinction (Mass Extinction
Ext. Coeff. E 1% L/gm- cm	44.77
Name	Protein AA
Description	unknown
Cancel	ок

- pokud zvolíte Mass Extinction
 - Zadejte hodnotu molárního extink ního koeficientu (e) v M⁻¹cm⁻¹vyd lenou íslem 1000 (t.j. e /1000). Nap íklad pro protein s molárním extink ním koeficientem 210000 M⁻¹cm⁻¹zadejte hodnotu 210
 - enter molecular weight (MW) in kiloDaltons (kDa)
- kliknutím na OK zav ete modul New Protein Type box

Po zav ení modulu kliknutím na OK se uživatelsky p idaný protein zobrazí v seznamu Type list v položce Protein A280 Setup a v položce Proteins & Labels Setup

Editace uživatelsky definovaného proteinu

- v modulu Protein Editor klikn te na uživatelsky definovaný protein
- klikn te na pro zobrazení pole Edit Protein Type box
- zadejte hodnoty nebo parametry
- klikn te na OK

Smazání uživatelsky definovaného proteinu

- v modulu Protein Editor klikn te na uživatelsky definovaný protein

-	klikn t	e na 👖									
POZNA smazái	ÁMKA ní ze v	Po sm etn so	azáním uvisejíc	i uživate cích aso	elsky def ciací sof	inované twaru p	ho prot ístroje	einu d	lojde	k jeho	trval
Souvis	ející té	emata									

Stanovení detek ních mezí pro aplikaci Protein A280

Detek ní meze reprodukovatelnost analýzy purifikovaných protein BSA jsou uvedeny zde. Hodnoty dolní meze detekce reprodukovatelnosti pro BSA se vztahují na všechny analyzované typy protein . Horní mez detekce závisí horní mezi absorbance p ístroje a na hodnot extink ního koeficientu vzorku.

Stanovení horní meze detekce vzork pro jiné typy protein (mimo BSA)

Na výpo et horní meze detekce použijte následující vzorec (v jednotkách ng/µL) :

```
(hodní mez absorbance<sub>p ístroje</sub> * objemový extink ní koeficient <sub>vzorku</sub>) * 10
```

Nap íklad pro m ení vzorku s objemovým extink ním koeficientem 6,67 pro 1% (10 mg/ml) roztok, bude zápis rovnice následující:

(550 / 6,67) * 10 = 824,6 (nebo ~825)

Související témata

Meze detekce pro všechny aplikace

Výpo ty pro m ení proteinu metodou A280

Stanovení koncentrace proteinu v aplikaci Protein A280 vychází z Lambert-Beerova zákona, který vyjád uje vztah mezi koncentrací látky v roztoku a její absorbancí. Stanovení koncentrace podle tohoto zákona se ídí vpravo uvedenou rovnicí.

Extink ní koeficient peptidu nebo proteinu souvisí s jeho aminokyselinovými komponentami: tryptofan (W), tyrosin (Y) a cystein (C).

Tip : Hodnota extink ního koeficientu je specifická pro konkrétní vlnovou délku u každého oligonukleotidu a mlže být ovlivn na pufrem, iontovou sílou nebo pH vzorku. Lambert-Beer v zákon (rovnice pro stanovení koncentrace)

$$c = A / (e * b)$$

kde:

A = absorbance (v UV oblasti spektra) v jednotkách absorbance (AU)

= molární absorp ní (d ív extink ní) koeficient v l/mol-cm

b = optická dráha v cm

c = koncentrace analytu v mol/l nebo molarita (M)

Pozn.: Pom r absorbace m eného vzorku roztoku a molárního absorp ního koeficientu je p ímo úm rný molární koncentraci vzorku. Více informací viz Publikované extink ní koeficienty vztažené k molární resp. objemové koncentraci.

Extink ní koeficienty proterin

Hodnota extink ního koeficientu p i A280 se p ibližn rovná váženému sou tu molárních koeficient (p i 280 nm) t ech sou ástí aminokyselin, podle následující rovnice:

where:

e molarní extink ní koeficient
n = po et všech reziduií aminokyselin
5500, 1490 and 125 = molární absorptivita aminokyslin p i 280 nm

Tato aplikace nabízí šest možností (uvedených vpravo) pro volbu p íslušného koeficientu extinkce každého m eného vzorku, na základ Lambert-Beerova zákona pro výpo et koncentrace vzorku.

Pokud je známá hodnota extink ního koeficientu zvolte e + MW (molární) nebo e1% (objemový). V opa ném p ípad extink ní koeficient vypo ítejte nebo zvolte možnost nejlépe odpovídající roztoku zkoumaného vzorku.

Tip : V optimálním p ípad stanovte empiricky hodnotu extink ního koeficientu pomocí roztoku se sledovaným proteinem o známé koncentraci s použitím stejného pufru.

Ve v deckých pracích se v tšinou uvádí m ení extink ních koeficient na / nebo v blízkosti vlnové délce 280 nm ve fosfátu nebo jiném fyziologickém roztoku (pufru). Takto stanovené hodnoty lze považovat jako dostate n p esné pro rutinní hodnocení koncentrace proteinu ve vzorku.

Rovnice uvedená vpravo vyjad uje vztah mezi molárním extink ním koeficientem ($e_{molarni}$) a procentuálním extink ním koeficientem ($e_{1\%}$).

Dostupné funkce pro extink ní koeficient

- 1 Abs = 1 mg/ml, kde je druh vzorku a/nebo extink ní koeficient neznámý (pro hrubý odhad koncentrace proteinu)
- BSA (Bovine Serum Albumin, 6,67 l/gm-cm)
- IgG (jakákoliv sav í protilátka, 13,7 l/gm-cm)
- · Lysozyme (lysozom vaje ného bílku, 26,4 l/gm-cm)
- Other protein (e + MW), uživatelsky definovaná hodnota molárního (jiný protein) extink ního koeficientu
- Other protein (C1%), uživatelsky definovaná hodnota objemového _(jiný protein) extink ního koeficientu

Poznámka : Detailn ji viz Druh vzorku

Publikované extink ní koeficienty

Publikované extink ní koeficienty protein Ize uvád t n kolika zp soby:

- koeficientem absorptivity /nebo extinkce/ (e) závislým na vlnové délce v jednotkách M⁻¹cm⁻¹
- procentuální hodnotou extink ního koeficientu (e) v jednotkách (g/100 ml)⁻¹cm⁻¹t.j. 1% pro 1g/100 ml roztok m ený v kyvet délky 1 cm
- hodnotou absorbance proteinu pro roztok o koncentraci 0,1% (t.j. 1 mg/ml)

Tip : D kladn zhodno te publikované hodnoty zda jsou správn uvedeny jednotky

P epo et mezi parametry e molární a e 1%

$$(e_{molární}) * 10 = (e1\%) * (MW_{proteinu})$$

P íklad: Pro stanovení extink ního koeficientu (e1%) proteinu s molárním extink ním koeficientem 43824 M⁻¹cm⁻¹ a molekulovou hmotností (MW) 66400 dalton (Da), dostaneme úpravou výše uvedené rovnice následující ešení:

 $e1\% = (e_{molar} * 10) / (MW_{proteinu})$ e1% = (43824 * 10) / 66400 Da)e1% = 6,6 q/100 mL
Koncentrace (c) vzorku v mg/ml se stanovuje na základ rovnice uvedené vpravo a konverzního faktoru 10.

Tip : Výstupní hodota koncentrace, kterou stanoví software p ístroje NanoDrop One zahrnuje konverzní faktor.

Výpo et koncentrace proteinu je stanoven p i absorbanci vlnové délky 260 nm, zvolené nebo zadané hodnoty extink ního koeficientu a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodovou korekci (single-point baseline correction).

P ístrojem stanovená koncentrace se uvádí v jednotkách objemových koncentrací, kterou lze vhodným kalkulátorem p epo ítat na molární koncentraci sekvence vzorku.

Absobance p i 260 nm a 280 nm se využívají ke stanovení istoty vzorku (purity ratios) s m eným proteinem.

Ukazatele istoty vzorku (purity ratios) jsou citlivé na p ítomnost kontaminant ve vzorku jako jsou zbytková rozpoušt dla a inidla užívaná k purifikaci vzorku. P epo et mezi jednotkami g/100 ml a mg/ml

$$C_{\text{proteinu}} v \text{ mg/mI} = (A / e1\%) * 10$$

P íklad: Pokud je hodnota m ené absorbance vzorku proteinu 5.8 A p i 280 nm, vypo ítá se koncentrace proteinu následovn :

 $C_{proteinu} = (A / e1\%) * 10$ $C_{proteinu} = (5,8/6,6 g/100 ml) * 10$ $C_{proteinu} = 8,79 mg/ml$

M ené parametry

A280 absorbance (absorbance p i 280 nm)

Pozn : M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10.0 mm.

- Hodnoty absorbance proteinu se míp i 280 nm normalizovaného spektra. Pokud není zapnuta korekce (Baseline Correction) stanovuje se koncentrace proteinu na základ této hodnoty.
- Pokud je zapnuta korekce (Baseline Correction) program vypo ítá hodnotu normalizované a korigované absorbance p i 280 nm a na základ této hodnoty se stanovuje koncentrace proteinu.

A260 absorbance (absorbance p i 260 nm)

• Rovn ž jsou dostupné údaje normalizované a korigované (baselinecorrected) hodnoty absorbance p i 260 nm.

Sample Pathlength (optická dráha)

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Výstupní parametry

- Protein concentration (koncentrace proteinu) výstupní hodnota v p íslušných jednotkách (mg/ml nebo mg/ml). Výpo ty se provád jí podle modifikovaného Lambert-Beerova zákona pomocí korigované hodnoty absorbance proteinu.
- A260/A280 purity ratio (istota vzorku). Pom r hodnoty korigované absorbance p i 260 nm a korigované absorbance p i 280 nm. Vzorek s hodnotou ~0,57 pom ru A260/A280 je považován za "istý" (platí pro proteiny).

Pozn.: P estože je tento pom r ukazatelem istoty vzorku, z stává nejlepším indikátorem kvality DNA nebo RNA navazující ešení aplikace t.j. PCR v reálném ase.

Kvantifikace protein a zna ení

M í se koncentrace purifikovaných protein ozna ených maximáln dv mi barvivy.

M ení ozna ených protein

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



Stanovení zna ených protein ve vzorcích

Pro aplikace Proteins & Labels se používá ke stanovení koncentrace protein a flurescen ních barviv ..protein array conjugates... a rovn ž metaloprotein jako je hemoglobin, využívající pom ry vlnových délek. Výstupem aplikace je koncentrace proteinu m ená p i 280 nm, pom r absorbancí A269/280, koncentrace a nam ené hodnoty absorbance barviv, umož ující stanovení koncentrace barviv p ítomných v množství menším než 0,2 pikomol/ml. Znalost koncentrace barviv je užite ná pro vyhodnocení konjugovaného proteinu s barvivem v návazných aplikacích.

Stanovení zna ených protein

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

- M ení vzorku nukleové kyseliny
- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku s tabulkou Proteins potom klikn te na Protein & Labels.
- 2. Specifikujte typ vzorku a typ použitého barviv(a)."

Tip : Zvolte typ barviva s p eddefinovaného seznamu nebo p idejte uživatelský typ barviva pomocí modulu Dye/Chromophore Editor.

 Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Zvolte Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 2 ml na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno p ístroje, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno p ístroje a klikn te na Measure
 - Kyveta: klikn te na Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment.
- Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.



Maximum absorbance barviva se používá ke stanovení koncentrace barviva

Charakteristické spektrum z aplikace Proteins & Labels application

Související témata

- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení protein a zna ení

Obrazovka m ení proteinu a zna ení

 ${\sf P}$ i m ${\sf enf}$ každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk ${\sf .}$ Vzorový p íklad:



Výsledky analýzy protein a zna ení

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:

- popis vzorku (druh aplikace, analýza na podstavci nebo v kyvet)
- ozna ení vzorku
- datum provád ní analýzy
- protein
- A280
- typ vzorku
- koncentrace barviva 1 / barviva 2
- druh vzorku
- korekce zak ivení barvivem
- korekce (baseline correction)

Související témata

- Základní ovládání p ístroje
- · Výpo ty protein a zna ení

Nastavení m ení zna ených protein

Modul Proteins & Labels settings se zobrazí po kliknutí na 📃 > na obrazovce m ení (Proteins & Labels measurement screen).

Nastavení	Dostupné volby	Objemový extink ní koeficient (l/gm-cm)	Popis
Sample type * (typ vzorku)	1 Abs = 1 mg/mL	Obecná p edvolba	Kliknete zde pro detailní popis nastavitelných parametr .
	BSA protein BSA	6,67	Ke každému typ vzorku se vztahuje jedine ná hodnota evtink ního koeficientu pro výpo, et koncentrace proteinu
	IgG imunoglobin	13,7	Pokud je známá hodnota extink ního koeficientu vzorku, zvolto volbu $e_{\rm L}$ MW (molární) poho $e_{\rm L}$ % (obiomoví) a
	Lysozyme Iysozom	26,4	zadejte hodnotu. V opa ném p ípad vypo ítejte extink ní
	Other protein (e + MW) (jiný protein)	Zadejte molární extink ní koeficient / nebo molekulovou hmotnost	volbu. Pro hrubý odhad koncentrace proteinu p i neznámé hodnot extink ního koeficientu vzorku, vyberte volbu 1 Abs = 1 mg/mL.
	Other protein (e1%) (jiný protein)	Zadejte objemový extink ní koeficient	Tip : V optimálním p ípad stanovte empiricky hodnotu extink ního koeficientu pomocí roztoku se sledovaným proteinem o známé koncentraci s použitím stejného pufru.
Analysis Correction ** (korekce analýzy)	On or off (zapnout / vypnout)	neaplikovatelné	Provede se korekce m ení vzorku - používá se pro kompenzaci sv tla rozptylujícími ásticemi, je založená na ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korigované vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy. Korigovaná hodnota se používá pro výpo et koncentrace vzorku.
	Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)		
			Tip : Pokud vzorek obsahuje modifikaci absorbující sv tlo vlnové délky 340 nm, zvolte jinou kompenza ní vlnovou délku nebo korekci (Analysis Correction) vypn te.
Dye 1/Dye 2 Type (typ barviva 1 / barviva	Cy3, 5, 3.5, or 5.5, Alexa Fluor 488, 546, ²⁾ 555, 594, 647, or 660	Viz modul Dye/Chromophore Editor pro specifické hodnoty barviv	Zvolte p eddefinovaný typ barviva pro ozna ený materiál vzorku nebo uživatelsky zadaný typ barviva p idaný modulem Dye/Chrom. Editor.
Dye 1/Dye 2 Unit (jednotky barviva 1 / barviva 2)	picomoles/microliter (pmol/ml), micromoles (mM), or millimoles (mM)	neaplikovatelné	Zadejte výstupní jednotky koncentrace barviva.
Sloping Dye Correction (korekce barviva)	On or off (zapnout / vypnout)		Korekce nam ené absorbance barviva zp sobené rozptylujícími ásticemi, je založena na ode tení hodnoty absorbance uklon ne základní linie (sloping baseline) mezi 400 nm a 750 nm od hodnoty absorbance barviva vlnové délky analýzy.

* Uživatelský definovaný protein lze p idat pomocí modulu Protein Editor.

** Korekce analýzy má dopad pouze na stanovení koncentrace proteinu.

*** Uživatelský definované barvivo lze p idat pomocí modulu Dye/Chromophore Editor.

Korekce barviva (Sloping Dye Correction) ovliv uje pouze výpo ty koncentace barviva

Související témata

- Nastavení p ístroje
- Editor protein
- Editor bariv/chromoforu

Meze detekce m ení zna ených protein

Detek ní meze reprodukovatelnost analýzy purifikovaných protein BSA jsou uvedeny zde. Hodnoty dolní meze detekce reprodukovatelnosti pro BSA se vztahují na všechny analyzované typy protein . Horní mez detekce závisí horní mezi absorbance p ístroje a na hodnot extink ního koeficientu vzorku.

Stanovení horní meze detekce vzork pro jiné typy protein (mimo BSA)

Na výpo et horní meze detekce použijte následující vzorec (v jednotkách ng/µL) :

```
(hodní mez absorbance<sub>p ístroje</sub> * objemový extink ní koeficient <sub>vzorku</sub>) * 10
```

Nap íklad pro m ení vzorku s objemovým extink ním koeficientem 6,67 pro 1% (10 mg/ml) roztok, bude zápis rovnice následující:

(550 / 6,67) * 10 = 824,6 (nebo ~825)

Související témata

Meze detekce pro všechny aplikace

Výpo ty pro m ení protein a zna ených protein

Stanovení koncentrace proteinu v modulu Proteins & Labels vychází z Lambert-Beerova zákona, který vyjad uje vztah mezi koncentrací látky v roztoku a její absorbancí založený na extink ním koeficientu a optické dráhy.

Tato aplikace nabízí šest možností (uvedených vpravo) pro volbu p íslušného koeficientu extinkce každého m eného vzorku, na základ Lambert-Beerova zákona pro výpo et koncentrace vzorku.

Pokud je známá koncentrace vzorku zvolte e + MW(molární) nebo e1% (objemový). V opa ném p ípad extink ní koeficient vypo ítejte nebo zvolte možnost nejlépe odpovídající roztoku zkoumaného vzorku.

Tip : V optimálním p ípad stanovte empiricky hodnotu extink ního koeficientu pomocí roztoku se sledovaným proteinem o známé koncentraci s použitím stejného pufru.

Výpo et koncentrace proteinu je stanoven p i absorbanci vlnové délky 260 nm, zvolené nebo zadané hodnoty extink ního koeficientu a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodovou korekci (single-point baseline correction).

Koncentrace se uvádí v objemových jednotkách, lze ji pomocí vhodného kalkulátoru p epo ítat na molární koncentraci sekvence vzorku.

Dostupné funkce pro extink ní koeficient

- 1 Abs = 1 mg/ml, kde je druh vzorku a/nebo extink ní koeficient neznámý (pro hrubý odhad koncentrace proteinu)
- BSA (Bovine Serum Albumin, 6,67 l/gm-cm)
- IgG (jakákoliv sav í protilátka, 13,7 l/gm-cm)
- Lysozyme (lysozom vaje ného bílku, 26,4 l/gm-cm)
- Other protein (e + MW), uživatelsky definovaná hodnota molárního (jiný protein) extink ního koeficientu
- Other protein (e1%), uživatelsky definovaná hodnota objemového (jiný protein) extink ního koeficientu

Poznámka : Detailn ji viz Druh vzorku

M ené parametry

A280 absorbance (absorbance p i 280 nm)

Pozn : Hodnota absorbance p i 750 nm se ode ítá od všech vlnových délek spektra. Výsledkem je nulová absorbance p i 750 nm zobrazeného spektra. M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10,0 mm.

- Hodnoty absorbance proteinu se m í p i 280 nm pomocí korigované a normalizovaného spektra pro na 750 nm. Pokud nejsou zvoleny moduly Analysis Correction a Dye Correction, je tato uvedená hodnota A280 hodnotou používanou ke stanovení koncentrace proteinu.
- Pokud je zapnuta korekce (Analysis Correction), program vypo ítá hodnotu normalizované (750 nm) a korigované absorbance p i 280 nm a na základ této hodnoty se stanovuje koncentrace proteinu.
- Pokud je použito barvivo, program vypo ítá hodnotu normalizované (750 nm) a korigované absorbance p i 280 nm a na základ této hodnoty se stanovuje koncentrace proteinu.

Koncentrace barviva se stanovuje na základ hodnoty absorbance p i vlnové délce analýzy, extink ního koeficientu barviva a optické dráhy. Je možné použít korekci sloped-line correction barviva.

Absorbance barviva

- Absorbance barviva se m í pro specifickou vlnovou délku. Analýza použitých vlnových délek viz modul Dye/Chromophore Editor.
- Pokud je zvolena funkce Sloping Dye Correction, zobrazí se linie mezi vlnovými délkami 400 a 750 nm, a pro každé barvivo se hodnota absorbace ode ítá od absorbance barviva p i vlnové délce každé analýzy. Výstupem programu jsou korigované (baseline corrected) hodnoty absorbance, na základ kterých se stanovuje koncentrace barviva.

Korekce barviva

- U p eddefinovaných barviv jsou známé hodnoty korekce pro A260 a A280. Použité korigované vlnové délky viz modul Dye/Chromophore Editor.
- Z korekce barviva pro A280 ode tená od hodnoty absorbance A280 se stanovuje koncentrace proteinu.

Optická dráha vzorku

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Výstupní parametry

- Koncentrace proteinu. Výstupní hodnota ve zvolených jednotkách (mg/mL or µg/mL). Výpo ty vycházejí z Lambert-Beerova zákona p i použití korigované absorbance proteinu.
- Koncentrace barviva 1/barviva 2. Výstupní hodnota v jednotkách pmol/µL. Výpo ty vycházejí z Lambert-Beerova zákona p i použití korigované hodnoty absorbance (sloping baseline corrected) proteinu.

Související témata

- Lambert-Beer v zákon
- Výpo ty v modulu Protein A280

Kvantifikace proteinu metodou A280

M í se koncentrace purifikované skupiny proteinu, která absorbuje vlnové délky 205 nm.

M ení proteinu A205

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce

Výpo ty



M ení koncentrace proteinu metodou A205

Použijte aplikaci Protein A205 na kvantifikaci purifikované skupiny proteinu obsahující aminokyseliny jako nap. tryptofan, tyrosin nebo cys-cys disulfidické aminokyseliny, které vykazují absorbanci p i 205 nm. Výstupem aplikace je koncentrace proteinu a dv hodnoty absorbance (A205 a A280). Alternativn je možné použít jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction). Tato aplikace nevyžaduje standardní k ivku.

Poznámka Pokud ve vašich vzorkách p evažuje podíl aminokyselin jako tryptofan nebo tyrozin, nebo cys-cys disulfidické vazby, použijte namísto aplikace Protein A205 aplikaci Protein A280.

M ení vzork proteinu metodou A205

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku proteinu A205

- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte tabulku Poteins a zvolte Protein A205.
- 2. Specifikujte typ vzorku a dle pot eby korekci (baseline correction).
- 3. Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- 5. Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno a zvolte Measure
 - Kyveta: Zvolte Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork zvolte End Experiment.
- Zvedn te rameno a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata

- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- · M ení vzork v kyvet

- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou A205

Obrazovka m ení metodou A280

 P i m $\,$ ení každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk $\,$. Vzorový p $\,$ íklad:



Výsledky m ení proteinu metodou A205

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



• Výpo ty proteinu A280

Nastavení m ení proteinu metodou A205

```
Pro zobrazení nastavení aplikace Protein A205 klikn te z hlavní obrazovky m ení na sover protein A205 setup
```

Nastavení	Dostupné volby	Objemový extink ní koeficient (L/gm-cm)	Popis
Sample type	31	31	P edpokládá hodnotu 0,1% (1 mg/mL) p i 205 nm = 31
	Scopes	27 + 120 * (A280/A205)	P edpokládá hodnotu 0,1% (1 mg/mL) at 205 nm = 27 + 120 * (A280/A205)

Nastavení	Dostupné volby	Objemový extink ní koeficient (L/gm-cm)	Popis
	Other protein (C1%) (jiný protein)	Zadejte hodnotu molárního extink ního koeficientu	P edpokládá se, že je známá hodnota objemového extink ního koeficientu (e) proteinu. Zadejte hodnotu objemového extink ního koeficientu v l/gm-cm pro roztok proteinu o koncentraci 10 mg/ml (e1%).
Baseline Correction	On or off (zapnout / vypnout)	neaplikovatelné	Uživatelsky volitelná korekce (baseline correction). Používá se pro kompenzaci sv tla rozptylujícími ásticemi, je
	Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (340 nm)		založena na ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korek ní vlnové délce od hodnoty absorbance vlnové délky analýzy. V d sledku této kompenzace je absorbance vzorku nulová p i specifikované vlnové délce korekce.
			Tip : Pokud vzorek obsahuje modifikaci absorbující sv tlo vlnové délky 340 nm, zvolte jinou kompenza ní vlnovou délku nebo korekci (baseline correction) vypn te.

Související témata

Nastavení p ístroje

Výpo ty pro m ení proteinu metodou A205

Stanovení koncentrace proteinu v aplikaci Protein A205 vychází z Lambert-Beerova zákona, který vyjad uje vztah mezi koncentrací látky v roztoku a její absorbancí na základ extink ního koeficientu vzorku a optické dráhy.

Tato aplikace nabízí t i funkce (uvedené vpravo) pro volbu p íslušného koeficientu extinkce každého m eného vzorku, na základ Lambert-Beerova zákona pro výpo et koncentrace vzorku.

Pokud je známá hodnota extink ního koeficientu zvolte e+ MW (molární) nebo e1% (objemový). V opa ném p ípad extink ní koeficient vypo ítejte nebo zvolte možnost nejlépe odpovídající roztoku zkoumaného vzorku.

Tip : V optimálním p ípad stanovte empiricky hodnotu extink ního koeficientu pomocí roztoku se sledovaným proteinem o známé koncentraci s použitím stejného pufru. Dostupné funkce pro extink ní koeficient

- 31, p edpokládá e0,1% (1 mg/mL) p i 205 nm = 31
- Scopes, p edpokládá e0,1% (1 mg/mL) p i 205 nm = 27 + 120 * (A280/A205)
- Other protein, Zadejte hodnotu objemového extink ního koeficientu v L/gm-cm pro roztok proteinu o koncentraci 1 mg/mL (e0,1%)

Poznámka : Detailn ji viz Typ vzorku.

Výpo et koncentrace proteinu je stanoven p i absorbanci vlnové délky 205 nm, zvolené nebo zadané hodnoty extink ního koeficientu a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodovou korekci (single-point baseline correction).

Koncentrace se uvádí v objemových jednotkách, lze ji pomocí vhodného kalkulátoru p epo ítat na molární koncentraci sekvence vzorku.

M ené parametry

A205 absorbance (absorbance p i 205 nm)

Pozn : M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10,0 mm.

- Hodnoty absorbance proteinu se m í p i 205 nm normalizovaného spektra. Pokud není zapnuta korekce (Baseline Correction) stanovuje se koncentrace proteinu na základ této hodnoty.
- Pokud je zapnuta korekce (Baseline Correction) program vypo ítá hodnotu normalizované a korigované absorbance p i 280 nm a na základ této hodnoty se stanovuje koncentrace proteinu.

A280 absorbance (absorbance p i 280 nm)

• Rovn ž jsou dostupné údaje normalizované a korigované (baselinecorrected) hodnoty absorbance p i 280 nm.

Sample Pathlength (optická dráha)

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Výstupní parametry

 Koncentrace proteinu. Výstupní hodnota ve zvolených jednotkách (mg/mL or µg/mL). Výpo ty vycházejí z Lambert-Beerova zákona p i použití korigované absorbance proteinu.

Související témata

- Lambert-Beer v zákon
- · Výpo ty v modulu Protein A280



Kvantifikace proteinu metodou BCA

M í se celková koncentrace nepurifikovaného proteinu ve vzorku použitím bicinchoninové kyseliny jako kolorimetrického inidla.

M ení celkové koncentrace proteinu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení celkové koncentrace proteinu

Aplikace Protein BCA využívá jako kolorimetrické inidlo kyselinu bicinchoninovou pro stanovení celkové koncentrace proteinu v nepurifikovaném vzorku. Tato aplikace se využívá pro m ení z ed ných vzork nebo proteiny obsahujících látek, které vykazují výraznou absorbanci v intervalu 200-280 nm (proto nelze použít p ímé m ení koncentrace proteinu p i vlnových délkách 280 nm a 205 nm). Pro výpo et koncentrace proteinu aplikace využívá m ení absorbance p i 562 nm s použitím standardní kyvety. Je aplikován jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Teorie analýzy proteinu metodou BCA

Proteinový kit BCA využívá bicinchoninovou kyselinu (BCA) jako detek ního inidla pro Cu⁺¹, které se vytvá ejí redukcí Cu⁺² ur itým proteinem v alkalickém prost edí. P i tomto procesu vznikne chelací dvou molekul BCA a jednoho iontu m di (Cu⁺¹) fialov zbarvená látka. P i vytvo ení chelátu Cu-BSA vznikne protein, jehož koncentrace se m í p i 562 nm (korigovaná - baseline corrected) a absorbanci na vlnové délce 750 nm. Firma Thermo Scientific nabízí sady kit BCA inidel a CuSO₄, lze je objednat prost ednictvím lokálního obchodního zástupce.

Proteinové kity a protokoly

Aktuální nabídku kit a protokol naleznete na webových stránkách NanoDropu. Dodržujte postupy doporu ené výrobci kit pro všechny standardy a vzorky (unknowns). Zajist te správné asování a teplotu celého ipu.

N kte í výrobci kit poskytují zárove proteinové standardy. P estože m ením na podstavci p ístroje NanoDrop One je možné analyzovat vysokokoncentrované vzorky protein , na rozdíl od klasických spektrofotometr s kyvetou, m žete pro vaši analýzu p ipravit proteinový standard s vyšší koncentrací než poskytuje výrobce.

Práce se standardizovanými k ivkami

Standardizovaná k ivka se využívá pro kolorimetrickou analýzu proterinu.

- · Každý pokus vyžaduje novou standardizovanou k ivku.
- P ipravte standardy a vzorky pro analýzu stejným postupem. Viz výrobcem doporu ené pokyny a postupy.
 - Všechny referen ní vzorky a standardy roztok musí používat stejný purf pro resuspendování vzorku a musí obsahovat stejný objem p idaného inidla.
 - Prvním standard je referen ní m ení. Referen ní roztok nemá obsahovat zkoumaný analyt. (Referen ní m ení není totožné s m ením blanku. Tato aplikace vyžaduje oba procesy.
 - Rozsah koncentrací standard musí pokrývat dynamický rozsah ipu (pole) a arrayjí p edpokládaný rozsah analyzovaného (neznámého) vzorku. Koncentrace zkoumaného analytu nejsou extrapolovány mimo rozsah nejvyšších standard.
- Použijte nastavení v aplikaci pro zadání koncentrace standard a specifikujte zp sob m ení standard a vzork (po et opakování a pod.)
 - V závislosti na nastaveni typu k ivky, je možné vygenerovat standardní k ivku p i použití dvou a více standard .
 - Software p ístroje vyžaduje jedno referen ní m ení a umož uje až 7 standard .
 - Koncentraci standard lze zadat v libovolném po adí avšak standardy je nutné zm it v po adí jakém byli zadány. Nicmén se doporu uje provést m ení v po adí od nejmén koncetrovaného po nejvýše koncentrovaný standard.

- Pro kolorimetrické ipy krom proteinu Pierce 660, prove te blakování p ístroje s deionizovanou vodou. V p ípad proteinu Pierce 660 prove te blank s referen ním roztokem (viz dále v textu).
- Zm te referen ní roztok a všechny standardy než za nete s m ením vzork . (Po zm ení prvního vzorku již nelze zm nit nastavení standardních k ivek).

Když m íte standardy, zobrazí se obdobná obrazovka m ení jako p i m ení zkoumaných vzork .





Posunutím prstem doleva zobrazit standardní k ivku



Posunutím prstem doleva zobrazit sestavenou standardní k ivku. Vzorový p íklad:

Parametr R² je ukazatelem kvality korelace mezi standardní k ivkou a standardními daty (hodnota 1,0 odpovídá nejlepší korelaci).

	Sample 1	Load #1		Valid Curve 😴
#	# of Replicates	Standard Name	Protein (mg/mL)	A562
Ref	1	Reference	0.000	-0.637
1	1	Standard	2.050	0.385
2	1	Standard	4.690	0.950
Zmá kn te a podržte zvolenou adu pro zobrazení podrobností				
Protein BCA	<u> </u>	••		
В	lank	Measure	DFF End E	Experiment

Posunutím prstem doleva zobrazit sestavenou standardní k ivku. Vzorový p íklad:

Zmá kn te a podržte zvolenou adu v kterékoliv p edchozí obrazovce pro zobrazení podrobností jednotlivých standard . Vzorový p íklad:

Standard Details	Protein BCA Pedestal	
Standard Name	Standard	
Created on	9/30/2015 6:58:37 PM	
Protein (mg/mL):	4.690	
A562:	0.950	Kliknutím
R2 Value:	0.945	smažete p íslušné m ení
	ок	İ

Po zm ení minimálního po tu standard se pro zvolený typ k ivky zobrazí podobná zpráva:

Prote	in BCA
St	andards Complete!
٢	Load more standards
۲	Run samples
	Done

Load more standards (nahrát další standardy): návrat do obrazovky pro nastavení kde m žete p idat nebo editovat hodnoty koncentrace standard a následn tyto standardy m it.

Run samples (spustit m ení vzork): pokra ování do obrazovky m ení, poté již nelze standardy editovat.

• M žete p idat, editovat nebo smazat standardy kdykoliv p ed zahájením prvního m ení.

Add standard (všechny standardy)

- z obrazovky pro m ení standard klikn te na = > [application name] Setup
- klikn te na prázdnou položku Concentration field a zadejte hodnotu nového standardu
- klikn te na Done

Edit standard (editace standardu)

- z obrazovky pro m ení standard klikn te na
 > [application name] Setup
- klikn te na položku Concentration field a editujte hodnotu koncetrace
- klikn te na Done

Delete standard (smazaní standardu)

- z obrazovky m ení standard , obrazovky standardních k ivek nebo obrazovky dat standard zmá kn te a podržte zvolenou adu pro zobrazení položky Standard Details box
- klikn te na 🔟

P íslušný standard se již dále nebude zobrazovat na obrazovce m ení ani hodnota jeho koncentrace na obrazovce pro nastavení.

Poznámka Tímto postupem je možné smazat referen ní m ení je však nutné ihned zadat novou referenci.

- Po zm ení minimálního po tu standard se pro zvolený typ k ivky se zobrazená zpráva "Invalid Curve" zm ní na "Valid Curve" (Zobrazí se i když definujete další standardy, které ješt nebyly zm eny). Pokud po zadání všech standard na obrazovce z stane zpráva"Invalid Curve", zkuste následující:
 - vyberte jiný typ k ivky
 - p em te standardy pomocí správných standardních materiál

Valid Curve indicator: Je indikátorem nedostate ného minimálního po tu bod pro sestavení vybrané k ivky. Tento indikátor nezajiš uje integritu k ivky. Nap íklad bude nutné doplnit další standardy pro pokrytí p edpokládaného rozsahu koncentrací test .

M ení standard a vzork proteinu metodou BCA

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení standard BCA a vzork

- 1. Na základní obrazovce vyberte položku Proteins a zvolte Protein BCA. .
- 2. Specifikujte typ k ivky a po et replikací pro každý standard a zadejte koncentraci každého standardu.

Tip: Pro tuto analýzu doporu ujeme nastavit parametr Curve Type na "Linear"

- 3. M ení blanku:
 - Napipetujte 2 mL deionizované vody na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s deionizovanou vodou do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

- klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení
- zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu
- 4. M ení referen ních standard :
 - napipetujte 2 mL referen ního roztoku na podstavec p ístroje, nebo vložte kyvetu (referen ní vzorek nesmí obsahovat proteinový standard), viz Práce se standardními k ivkami.
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 5. M ení zbytkových standard :
 - napipetujte 2 mL standardu 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se standardem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
 - zopakujte výše uvedené kroky pro každý další standard (po zm ení všech specifikovaných standard a replikát se zobrazí zpráva pro možnost nahrání dalšího standardu nebo pro možnost zahájení m ení vzork)
 - po ukon ení m ení standard klikn te na Done (posunutím prstem doleva zobrazíte standardní k ivku)
- 6. M ení vzork :
 - napipetujte 2 mL vzorku 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se vzorkem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 7. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment
- 8. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata

- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet

- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou BCA

Obrazovka m ení proteinu metodou BCA (pístupná z modulu Data Viewer)

P i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Standardní k ivku lze rovn ž zobrazit posunutím prstem doleva z obrazovky m ení (nebo z modulu Data Viewer viz další obrázek).



 Wieni absorbance mikroobjemových vzork a analyzy provad ne s nestar kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.

Obrazovka m ení proteinu metodou BCA pro standardní k ivku

Standardní obrazovka k ivek graficky znázor uje vztah mezi m enými standardy a vypo ítanými standardními k ivkami, m enou absorbancí a stnovenými koncentracemi vybraného vzorku. Vodorovná linie spojuje hodnoty absorbance vzorku na ose Y se standardní k ivkou. Svislá linie spojuje tento bod s hodnotou koncentrace vzorku na ose X.

Parametr R² je ukazatelem kvality korelace mezi standardní k ivkou a standardními daty (hodnota 1.0 odpovídá nejlepší korelaci).



Výsledky m ení metodou BCA

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



Výpo ty proteinu A280

Nastavení m ení proteinu metodou BCA

Pro zobrazení nastavení aplikace Protein BCA klikn te z hlavní obrazovky m ení na sovetne protein BCA setup

Poznámka M žete editovat v modulu Curve Type settings p i m ení standard volbou p íslušného seznamu v horní ásti obrazovky m ení. M žete editovat hodnotu koncentrace standardním zp sobem v obrazovce pro nastavení. Po prvním m ení vzorku parametry již nelze m nit.

Nastavení	Popis			
Curve Type (typ k ivky)	Specifikujte typ rovnice standardní k ivky na základ standardních hodnot koncentrace. Dostupné funkce:			
	 Linear : Zobrazí se p ímka sestrojená lineární interpolace metodou nejmenších tverc využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 Interpolation: Zobrazí se skupina p ímek spojující všechny m ené standardy (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 2nd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem druhého stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo dvou standard) 3rd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem t etího stupn využitím všec m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo t ech standard) 			
Replicates (replikáty)	Zadejte po et m ení referencí nebo stejných standard nebo vzork které jsou zpr m rovány.			
	Poznámka : Nastavení replikát již nelze m nit po prvním zm ení standardu.			
Standards	Zadejte hodnotu koncentrace každého standardu.			
	Poznámka : Hodnoty koncentrace lze zadat v libovolném po adí avšak standardy se musí m it v po adím v jakém byly zadány.			

Související témata

• Nastavení p ístroje

Kvantifikace proteinu metodou Bradford

M í se celková koncentrace nepurifikovaného proteinu ve vzorku použitím barviva Coomassie Blue jako kolorimetrického inidla.

M ení celkové koncentrace proteinu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení celkové koncentrace proteinu

Aplikace Protein Bradford využívá jako kolorimetrické inidlo barvivo Coomasive Blue pro stanovení celkové koncentrace proteinu v nepurifikovaném vzorku. Tato aplikace se využívá pro m ení z ed ných vzork s nízkou mezí detekce nebo pro m ení protein p ítomných jako komponenty, které vykazují výraznou absorbanci v intervalu 200-280 nm (proto nelze použít p ímé m ení koncentrace proteinu p i vlnových délkách 280 nm a 205 nm). Pro výpo et koncentrace proteinu aplikace využívá m ení absorbance p i 562 nm s použitím standardní kyvety. Více informací viz Postup se standardní kyvetou. Je aplikován jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Teorie analýzy metody Bradford

Proteinová analýza Bradford využívá proteinem vyvolaný posun absorbace barvivem Coomassie Blue pro stanovení celkové koncentrace proteinu. Vzniknutý komplex proteinu a barviva se m í p i 595 nm (korigovaná - baseline corrected) a absorbanci na vlnové délce 750 nm. Firma Thermo Scientific nabízí kity stabilizovaných sm sí obsahujcí barvivo Coomassie Blue, alkohol a aktivní látkou - tyto kity lze objednat prost ednictvím lokálního obchodního zástupce. Pro zvýšení spolehlivosti analýzy proteinu metodou Bradford:

- Pracujte rychle a nenechávejte zbyte n dlouho p ipravené standardy a vzorky. S nar stajícím asem se vytvá ejí agregované ástice v barvivu Coomassie a vazby mezi barvivem a proteinem, které zp sobují výrazné fluktuace v hodnotách zaznamenané absorbace.
- M te standardy a vzorky v trojím vyhotovení použitím nových alikvot pro každé m ení. Pro m ení na podstavci, je jeho odezva (signál vazby protein-barvivo) p i 595 nm limitovaná hodnotou ~0-0,150A kv li délce optické dráhy podstavce, která iní 1,0 mm, koncentraci barviva Commassie Blue a kyselému pH.

Poznámka Pokud používáte p ístroj NanoDrop One^c je možné docílit siln jší signál absorbance pokud se použije m ení v kyvet .

Analýzy s proteinovými kity a protokoly

Aktuální nabídku kit a protokol naleznete na webových stránkách NanoDropu. Dodržujte postupy doporu ené výrobcemi kit pro všechny standardy a vzorky. Zajist te stejné asování a teplotu v pr b hu analýz.

N kte í výrobci kit poskytují zárove proteinové standardy pro standardní k ivku. P estože m ením na podstavci p ístroje NanoDrop One je možné analyzovat vysokokoncentrované vzorky protein , na rozdíl od klasických spektrofotometr s kyvetou, m žete pro vaši analýzu p ipravit proteinový standard s vyšší koncentrací než poskytuje výrobce.

M ení standard a vzork metodou Bradford

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.
Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení s kitem BCA a vzorku

- 1. Na základní obrazovce vyberte položku Proteins a zvolte Protein Bradford.
- 2. Specifikujte typ k ivky a po et replikací pro každý standard a zadejte koncentraci každého standardu.

Tip: Pro tuto analýzu doporu ujeme nastavit parametr Curve Type na "2nd Order Polynomial" a zadat hodnotu parametru Replicates = 3.

- 3. M ení blanku:
 - Napipetujte 2 mL deionizované vody na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s deionizovanou vodou do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

- klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení
- zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu
- 4. M ení referen ních standard :
 - napipetujte 2 mL referen ního roztoku na podstavec p ístroje, nebo vložte kyvetu (referen ní vzorek nesmí obsahovat proteinovýstandard), viz Práce se standardními k ivkami.
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 5. M ení zbytkových standard :
 - napipetujte 2 mL standardu 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se standardem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
 - zopakujte výše uvedené kroky pro každý další standard (po zm ení všech specifikovaných standard a replikát se zobrazí zpráva pro možnost nahrání dalšího standardu nebo pro možnost zahájení m ení vzork)
 - po ukon ení m ení standard klikn te na Done (posunutím prstem doleva zobrazíte standardní k ivku)
- 6. M ení vzork :
 - napipetujte 2 mL vzorku 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se vzorkem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 7. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment
- 8. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata

- Práce se standardními k ivkami
- · Doporu ené pokyny pro m ení protein
- M ení mikroobjemových vzork

- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou Bradford

Obrazovka m ení metodou Bradford (pístupná z modulu Data Viewer)

P i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Standardní k ivku lze rovn ž zobrazit posunutím prstem doleva z obrazovky m ení (nebo z modulu Data Viewer viz další obrázek).



Obrazovka m ení proteinu metodou Bradford

Standardní obrazovka k ivek graficky znázor uje vztah mezi m enými standardy a vypo ítanými standardními k ivkami, m enou absorbancí a stnovenými koncentracemi vybraného vzorku. Vodorovná linie spojuje hodnoty absorbance vzorku na ose Y se standardní k ivkou. Svislá linie spojuje tento bod s hodnotou koncentrace vzorku na ose X.

Parametr R² je ukazatelem kvality korelace mezi standardní k ivkou a standardními daty (hodnota 1,0 odpovídá nejlepší korelaci).



Poznámka

- Korekce (baseline correction) se provádí na vlnové délce 750 nm (hodnota absorbance 750 nm se ode ítá od hodnot absorbance p i všech vlnových délkách spektra vzorku).
- M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.

Výsledky m ení proteinu metodou Bradford

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



Nastavení m ení proteinu metodou Bradford

Pro zobrazení nastavení aplikace Protein BCA klikn te z hlavní obrazovky m ení na sover protein Bradford Setup

Poznámka M žete editovat v modulu Curve Type settings p i m ení standard volbou p íslušného seznamu v horní ásti obrazovky m ení. M žete editovat hodnotu koncentrace standardním zp sobem v obrazovce pro nastavení. Po prvním m ení vzorku parametry již nelze m nit.

Nastavení	Popis			
Curve Type (typ k ivky)	Specifikujte typ rovnice standardní k ivky na základ standardních hodnot koncentrace. Dostupné funkce:			
	 Linear : Zobrazí se p ímka sestrojená lineární interpolace metodou nejmenších tverc využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 Interpolation: Zobrazí se skupina p ímek spojující všechny m ené standardy (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 2nd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem druhého stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo dvou standard) 			
	 31° order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem t etího stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo t ech standard) 			
Replicates (replikáty)	Zadejte po et m ení referencí nebo stejných standard nebo vzork které jsou zpr m rovány.			
	Poznámka : Nastavení replikát již nelze m nit po prvním zm ení standardu.			
Standards (standardy)	Zadejte hodnotu koncentrace každého standardu.			
	Poznámka : Hodnoty koncentrace lze zadat v libovolném po adí avšak standardy se musí m it v po adím v jakém byly zadány.			

Související témata

• Nastavení p ístroje



Kvantifikace proteinu metodou Lowry

M í se celková koncentrace nepurifikovaného proteinu ve vzorku použitím barviva Folin-Coicalteu jako kolorimetrického inidla.

M ení celkové koncentrace proteinu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení celkové koncentrace proteinu

Aplikace Protein Lowry využívá jako kolorimetrické inidlo barvivo Folin-Coicalteu pro stanovení celkové koncentrace proteinu v nepurifikovaném vzorku. Tato aplikace se alternativn využívá pro m ení z ed ných vzork s nízkou mezí detekce nebo pro m ení protein p ítomných jako komponenty, které vykazují výraznou absorbanci v intervalu 200-280 nm. Pro výpo et koncentrace proteinu aplikace využívá m ení absorbance p i 650 nm s použitím standardní kyvety. Více informací viz Postup se standardní kyvetou. Je aplikován jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Teorie analýzy metody Lowry

Analýza Protein Lowry je založena na reakci proteinu se síranem m natým v alkalickém roztoku, za vzniku tetradentatového komplexu m di a proteinu. inidlo Folin-Coicalteu je efektivn redukováno úm rn množství chelátového komplexu m di. Roztok barviva je vod (modré barvy) se m í p i 650 nm (korigovaná - baseline corrected) a absorbanci na vlnové délce 405 nm. Firma Thermo Scientific nabízí kit s barvivem Folin-Coicalteu a CuSO₄ - tyto produkty Ize objednat prost ednictvím lokálního obchodního zástupce.

Analýzy s proteinovými kity a protokoly

Dodržujte postupy doporu ené výrobcem kit pro všechny standardy a vzorky. Zajist te stejné asová a teplotu v pr b hu analýz.

M ení proteinu metodou Lowry

Poznámka

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení s kitem Protein Lowry a vzorku

- 1. Na základní obrazovce vyberte položku Proteins a zvolte Protein Lowry.
- 2. Specifikujte typ k ivky a po et replikací pro každý standard a zadejte koncentraci každého standardu.

Tip: Pro tuto analýzu doporu ujeme nastavit parametr Curve Type na "2nd Order Polynomial" a zadat hodnotu parametru Replicates = 3.

- 3. M ení blanku:
 - Napipetujte 2 mL deionizované vody na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s deionizovanou vodou do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

- klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení
- zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu
- 4. M ení referen ních standard :
 - napipetujte 2 mL referen ního roztoku na podstavec p ístroje, nebo vložte kyvetu (referen ní vzorek nesmí obsahovat proteinový standard), viz Práce se standardními k ivkami.
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 5. M ení zbytkových standard :
 - napipetujte 2 mL standardu 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se standardem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
 - zopakujte výše uvedené kroky pro každý další standard (po zm ení všech specifikovaných standard a replikát se zobrazí zpráva pro možnost nahrání dalšího standardu nebo pro možnost zahájení m ení vzork)
 - po ukon ení m ení standard klikn te na Done (posunutím prstem doleva zobrazíte standardní k ivku)
- 6. M ení vzork :
 - napipetujte 2 mL vzorku 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se vzorkem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 7. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment
- 8. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata

- Práce se standardními k ivkami
- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- M ení mikroobjemových vzork

- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou Lowry

Obrazovka m ení metodou Lowry (pístupná z modulu Data Viewer)

P i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Standardní k ivku lze rovn ž zobrazit posunutím prstem doleva z obrazovky m ení (nebo z modulu Data Viewer viz další obrázek).



Poznámka

- Korekce (baseline correction) se provádí na vlnové délce 405 nm (hodnota absorbance 750 nm se ode ítá od hodnot absorbance p i všech vlnových délkách spektra vzorku).
- M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.

Obrazovka m ení proteinu metodou Lowry

Standardní obrazovka k ivek graficky znázor uje vztah mezi m enými standardy a vypo ítanými standardními k ivkami, m enou absorbancí a stnovenými koncentracemi vybraného vzorku. Vodorovná linie spojuje hodnoty absorbance vzorku na ose Y se standardní k ivkou. Svislá linie spojuje tento bod s hodnotou koncentrace vzorku na ose X.

Parametr R² je ukazatelem kvality korelace mezi standardní k ivkou a standardními daty (hodnota 1,0 odpovídá nejlepší korelaci).



Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



Základní ovládání p ístroje

Nastavení m ení proteinu metodou Lowry

Pro zobrazení nastavení aplikace Protein Lowry klikn te z hlavní obrazovky m ení na rotein Lowry Setup

Poznámka M žete editovat v modulu Curve Type settings p i m ení standard volbou p íslušného seznamu v horní ásti obrazovky m ení. M žete editovat hodnotu koncentrace standardním zp sobem v obrazovce pro nastavení. Po prvním m ení vzorku parametry již nelze m nit.

12 Kvantifikace proteinu metodou Lowry

Nastavení	Popis			
Curve Type (typ k ivky)	Specifikujte typ rovnice standardní k ivky na základ standardních hodnot koncentrace. Dostupné funkce:			
	 Linear : Zobrazí se p ímka sestrojená lineární interpolace metodou nejmenších tverc využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 Interpolation: Zobrazí se skupina p ímek spojující všechny m ené standardy (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 			
	 2nd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem druhého stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo dvou standard) 3rd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem t etího stupn využitím vše m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo t ech standard) 			
Replicates (replikáty)	Zadejte po et m ení referencí nebo stejných standard nebo vzork které jsou zpr m rovány.			
	Poznámka : Nastavení replikát již nelze m nit po prvním zm ení standardu.			
Standards (standardy)	Zadejte hodnotu koncentrace každého standardu.			
	Poznámka : Hodnoty koncentrace lze zadat v libovolném po adí avšak standardy se musí m it v po adím v jakém byly zadány.			

Související témata

• Nastavení p ístroje

Kvantifikace proteinu metodou Pierce 660

M í se celková koncentrace nepurifikovaného proteinu ve vzorku použitím p íslušného barviva jako kolorimetrického inidla.

M ení celkové koncentrace proteinu

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení celkové koncentrace proteinu

Aplikace Protein Pierce 660 využívá jako kolorimetrické inidlo patentované barvivo pro stanovení celkové koncentrace proteinu v nepurifikovaném vzorku. Tato aplikace je vhodná pro m ení vzork protein obsahujících vysoké množství detergent, reduk ních inidel p ípadn jiných b žn používaných rozpoušt del. Pro výpo et koncentrace proteinu aplikace využívá m ení absorbance p i 660 nm s použitím standardní kyvety. Více informací viz Postup se standardní kyvetou. Je aplikován jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).

Teorie analýzy metody Pierce 660

Analýza Protein Pierce 660 je založena na reakci na vazb patentovaného komplexu metalického barviva v kyselém prost edí, která zp sobuje posun absorb ního maxima m eného p i 660 nm. Tento komplex metalického barviva má erveno hn dou barvu, která se po navázaní na protein zm ní na zelenou. Zm na barvy je zp sobena odevzdáním protonu barviva p i nízkém pH urychlovaného interakcí s pozitivn nabitými vazbami aminokyselin v proteinech. Barvivo reaguje p evážn se základními aminokyselinami protein jako jsou histidin, arginin a lyzin a mén asto tyrozin, tryptofan a fenylalanin. Výsledný produkt se m í p i 660 nm (baseline-corrected) p i absorbanci 750 nm.

Barva která vznikne p i této analýze je stálá a její intenzita se úm rn zvyšuje s nár stem koncentrace proteinu. Pro zvýšení kompatilbility je možné p idat inidlo IDCR (Detergent Compatibility Reagent), které obsahuje vysoký podíl iontových inidel v etn pufru Leammli SDS s barvivem bromofenolová mod . inidlo IDCR se dokonale rozpouští p i míchání a neovliv uje analýzu. Fy. Thermo Scientific nabízí kity pro anlýzy protein - tyto kity lze objednat prost ednictvím lokálního obchodního zástupce. Pro informace k produktu IDCR kontaktujte prosím výrobce.

Analýzy s proteinovými kity a protokoly

Aktuální nabídku kit a protokol naleznete na webových stránkách NanoDropu. Dodržujte postupy doporu ené výrobcemi kit pro všechny standardy a vzorky (unknowns). Zajist te stejné asová a teplotu v pr b hu analýz.

N kte í výrobci kit poskytují zárove proteinové standardy (pro standardní k ivku). P estože m ením na podstavci p ístroje NanoDrop One je možné analyzovat vysokokoncentrované vzorky protein , na rozdíl od klasických spketrofotometr s kyvetou, m žete pro vaši analýzu p ipravit proteinový standard s vyšší koncentrací než poskytuje výrobce.

M ení standard a vzork metodou Pierce 660

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

- M ení standard a vzork metodou BCA
- 1. Na základní obrazovce vyberte položku Proteins a zvolte Protein Pierce.660.
- 2. Specifikujte typ k ivky a po et replikací pro každý standard a zadejte koncentraci každého standardu.

Tip: Pro tuto analýzu doporu ujeme nastavit parametr Curve Type na "Linear"

- 3. M ení blanku:
 - Napipetujte 2 mL referen ního roztoku na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s deionizovanou vodou do držáku kyvety (referen ní vzorek nesmí obsahovat proteinový standard, více informací viz M ení se standardními k ivkami

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

- klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení
- zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu
- 4. M ení referen ních standard :
 - napipetujte 2 mL referen ního roztoku na podstavec p ístroje, nebo vložte kyvetu (referen ní vzorek nesmí obsahovat proteinový standard), viz Práce se standardními k ivkami.
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 5. M ení zbytkových standard :
 - napipetujte 2 mL standardu 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se standardem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
 - zopakujte výše uvedené kroky pro každý další standard (po zm ení všech specifikovaných standard a replikát se zobrazí zpráva pro možnost nahrání dalšího standardu nebo pro možnost zahájení m ení vzork)
 - po ukon ení m ení standard klikn te na Done (posunutím prstem doleva zobrazíte standardní k ivku)
- 6. M ení vzork :
 - napipetujte 2 mL vzorku 1 na podstavec, nebo vložte kyvetu se vzorkem 1
 - sklopte rameno p ístroje pro zahájení m ení (nebo klikn te na Measure pokud je funkce Auto-Measure vypnutá)
 - zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu
 - pokud je parametr Replicates setting v tší než 1, m ení zopakujte
- 7. Po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment
- 8. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem, nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Related Topics

- Práce se standardními k ivkami
- Doporu ené pokyny pro m ení protein
- M ení mikroobjemových vzork

- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení proteinu metodou Pierce 660

Obrazovka m ení metodou Pierce 660 (pístupná z modulu Data Viewer)

P i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Standardní k ivku lze rovn ž zobrazit posunutím prstem doleva z obrazovky m ení (nebo z modulu Data Viewer viz další obrázek).



Poznámka

- Korekce (baseline correction) se provádí na vlnové délce 405 nm (hodnota absorbance 750 nm se ode ítá od hodnot absorbance p i všech vlnových délkách spektra vzorku).
- M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.

Obrazovka m ení proteinu metodou Pierce 660

Standardní obrazovka k ivek graficky znázor uje vztah mezi m enými standardy a vypo ítanými standardními k ivkami, m enou absorbancí a stnovenými koncentracemi vybraného vzorku. Vodorovná linie spojuje hodnoty absorbance vzorku na ose Y se standardní k ivkou. Svislá linie spojuje tento bod s hodnotou koncentrace vzorku na ose X.

Parametr R² je ukazatelem kvality korelace mezi standardní k ivkou a standardními daty (hodnota 1,0 odpovídá nejlepší korelaci).





Nastavení m ení proteinu metodou Pierce 660

Pro zobrazení nastavení aplikace Protein Pierce 660 klikn te z hlavní obrazovky m ení na ení na retrevence 660 Setup

Poznámka M žete editovat v modulu Curve Type settings p i m ení standard volbou p íslušného seznamu v horní ásti obrazovky m ení. M žete editovat hodnotu koncentrace standardním zp sobem v obrazovce pro nastavení. Po prvním m ení vzorku parametry již nelze m nit.

Nastavení	Popis				
Curve Type (typ k ivky)	Specifikujte typ rovnice standardní k ivky na základ standardních hodnot koncentrace. Dostupné funkce:				
	 Linear : Zobrazí se p ímka sestrojená lineární interpolace metodou nejmenších tverc využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 				
	 Interpolation: Zobrazí se skupina p ímek spojující všechny m ené standardy (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 				
	 2nd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem druhého stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo dvou standard) 3rd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem t etího stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo t ech standard) 				
Replicates (replikáty)	Zadejte po et m ení referencí nebo stejných standard nebo vzork které jsou zpr m rovány.				
	Poznámka : Nastavení replikát již nelze m nit po prvním zm ení standardu.				
Standards (standardy)	Zadejte hodnotu koncentrace každého standardu.				
	Poznámka : Hodnoty koncentrace lze zadat v libovolném po adí avšak standardy se musí m it v po adím v jakém byly zadány.				
	Pokud pot ebujete zadat p edešlé nam ené hodnoty absorbance standard , zvolte toto zaškrtávají polí ko:				
	Absorbance data for standards can be either measured or entered manually. Uncheck this box to measure absorbance data. Check the box to manually enter the absorbance values.				
	a následn zadejte hodnoty absorbance všech standard .				

Související témata

• Nastavení p ístroje



M ení hustoty metodou OD600

M í se koncentrace bun né kultury v roztoku na základ rozptýleného sv tla p i 600 nm.

M ení metodou OD600

Záznam výsledk

Nastavení

Výpo ty



M ení hustoty metodou OD600

Aplikace OD600 se používá na sledování rychlosti r stu bakteriálních nebo mikrobiálních bun ných kultur na základ m ení optické hustoty (absorbance) kultury v r stovém médiu p i vlnové délce 600 nm. Metoda je založena na Lambert-Beerov zákonu a uživatelsky definovaného konverzního faktoru a vyjad ující závislost mezi absorbancí a koncentrací. Výsledkem analýzy je záznam r stu bun né kulturyt tj. zda se jedná o logaritmický, exponenciální r st i stacionární stav.

Výstupem aplikace OD600 je koncentrace bun k v jednotkách po et bun k/ml. kyvety. Je možné aplikovat jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction). Tato aplikace nevyžaduje standardní k ivku.

Poznámka V d sledku velkého množství rozptýleného sv tla v analýzách, má absorbance typicky nízké hodnoty.

Teorie analýzy metodou OD600

Aplikace OD600 je založena na m ení odraženého (transmitovaného) sv tla, kterou používá k výpo tu absorbace. Ve spektrofotometrii je transmitované sv tlo definováno jako sv tlo, které není absorbováno látkou ale je odraženo a rozptýleno vzorkem.

V p ípad vzorku se živými bu kami p evažuje pr chod (transmise) sv tla nad rozptylem, odrazem i absorbcí. Množství rozptýleného sv tla závisí na charakteru p ístroje. Vypo ítané hodnoty absorbance jsou proto typicky velmi nízké

Vypo ítaná hodnota absorbance se používá ke stanovení hustoty bun k v roztoku v jednotkách po et bun k/ml. Fyzikální zákonitosti a vzorce, které vztahují optické vlastnosti živých bun k ke koncentraci zahrnují:

- Bu ky, které mají odlišný index lomu sv tla od okolního média náhodn odrazují a rozptylují sv tlo dopadajícího sv telného paprsku. Míra rozptylu sv tla je ukazatelem hustoty bun k ve vzorku.
- Labert-Beer v zákon vyjad uje vztah mezi absorbancí a koncentrací. Detailn ji viz Výpo ty pro m ení metodou OD600.
- Pro m ení v kyvet s p ístrojem NanoDrop One, jsou p esné hodnoty absorbance typicky v rozmezí 0,04 A až 1,5 A. Sériové ed ní vzork nej ast ji pot ebné pro získání absorbance v tomto intervalu.
- Všechna m ení se mají provád t se stejným typem spektrofotometru a stejnou metodou (m ení na podstavci vs. m ení v kyvet) jelikož rozptýlené sv tlo závisí na optických charakteristikách. Pokud použijete jiný spektrofotometr nebo metodu, je pot ebné výsledky p epo ítat pomocí konverzního faktoru. Nap. pro porovnání výsledk OD analýzy m ením na podstavci vs. v kyvet, se konverzní faktor stanoví následovn:

Konverzní faktor = Hodnota z metody OD m . v kyvet / Hodnota z metody OD m . na podstavci

Osv d ené postupy pro m ení hustoty metodou OD600

- Zkontrolujte jestli absorbance vzorku leží v rozsahu mezí detekce absorbance.
- Prove te blanky v pr b hu r stu kultury nebo kultiva ního média s bu kami
- Spus te blankovací cyklus pro stanovení ovlivn ní absorbance sledovaného roztoku média. Pokud roztok média ykazuje silnou absorbanci na vlnové délce nebo v blízkosti vlnové vlastní délky analýzy (nej ast ji 600 nm), je možné použít jiný pufr nebo aplikaci jako kolorimetrický ip (nap. BCA nebo Pierce 660). Podrobn ji viz Volba a m ení blanku.
- Prove te ed ní podle pot eby aby nedošlo k p ekro ení dynamického rozsahu analýzy než zkoumaná kultura dosáhne stacionární fázi. Lineární rozsah úzce závisí na optické konfiguraci soustavy a proto se liší pro m ení na podstavci a na kyvet . Stanovení lineárního rozsahu:
 - Vytvo te soustavu z ed ných vzork s erstv (~16 hod) kultivovaného mikrobiálního kmene
 - Sestavte graf závislosti hodnot z analýzy OD600 a faktoru ed ní

Horní mez detekce je metodou OD600 nam ená hodnota p ibližující se lineární závislosti mezi faktorem ed ní a ode tenou hodnotou z OD600

- · Jemn ale d kladn promíchejte vzorky t sn p ed rozd lením (aliquot).
- Provád ní mikroobjemových m ení:
 - Ujist te se, zda jsou podstavce náležit isté a udržované. (Proteiny snadno ulpívají na povrchu podstavc).
 - Zabra te vzniku bublin p i míchání a pipetování.
 - Bezprost edn spus te m ení aby jste vylou ili sedání a odpar
 - Dodržujte doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
 - Používejte vzorkek o objemu 2 mL, Blíže viz doporu ený objem vzork .
 - Pro z ed né roztoky, které vykazují absorbanci p i 600 nm, použijte k m ení absorbance jinou vlnovou délku nap . 400 nm, nebo namísto mokroobjemového m ení prove te m ení v kyvet .
- Pro m ení v kyvet (pouze v p ístroji NanoDrop One^C):
 - Použijte istou plastovou, sklen nou nebo k emíkovou kyvetu
 - Dodržujte doporu ení pro m ení v kyvet .
 - Pro tuto analýzu nepoužívejte automatické míchání.

M ení vzork metodou OD600

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku proteinu metodou OD600

- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte tabulku OD600 a zvolte OD600.
- 2. Specifikujte konverzní faktor po tu bun k a dle pot eby druhou sledovanou vlnovou délku nebo korekci absorbance
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno a zvolte Measure
 - Kyveta: Zvolte Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork zvolte End Experiment.
- 9. Zvedn te rameno a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Související témata

- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní ovládání p ístroje

Výsledky m ení metodou OD600

Obrazovka m ení metodou OD600 (dostupná z modulu Data Viewer)

 ${\sf P}$ i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Vzorový p íklad:



Výsledky m ení hustoty metodou OD600

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



Související témata

- Základní ovládání p ístroje
- Výpo ty OD600

Nastavení m ení metodou OD600

Pro zobrazení nastavení aplikace OD600 klikn te z hlavní obrazovky m ení na so OD600 setup

Nastavení	Dostupné volby	Popis
Absorbance correction (korekce absorbance)	Hodnota absorbance mezi 0 a 300 A	Uživatelsky definovaná korekce absorbance. Hodnota korekce absorbance zobrazeného spektra. Tato funkce je vhodná nap íklad pro korenk ní k ivku zp sobený jakýmkoliv rozdílem mezi roztokem média pro blank a média použitého pro sepenzní kultury, protože rozptýlené sv tlo obvykle vytvá í offset. Hodnota korekce absorbance se ode ítá od hodnot absorbance
		hodnoty absorbance reprezentují korigované hodnoty.)

Dostupné volby	Popis
Any wavelength between 250 nm and 700 nm	Uživatelsky definovaná vlnová délka. Zadejte hodnotu dopln né vlnové délky pro m ení (vhodné pro z ed né vzorky vykazující nízkou absorbanci p i 600 nm).
	Pokud použijete alternativní (dopln nou) vlnovou délku, koncentraci bun k se stanoví podle vzorce:
	c = A(I) * faktor(I)
	kde:
	c = koncentrace analytu v jednotkách po et bun k/ml
	A() = absorbance UV-viditelného sv tla p i specifické vlnové délce jendotkách absorbance (A)
	faktor($ $) = 1/($e($) * b) v jendotkách mL/po et bun k-cm
	kde:
	(e) = molární absorb ní (nebo extink ní) koeficient p i specifické vlnové délce
	b = optická dráha v cm (1,0 cm p ístroje NanoDrop One)
Libovolná hodnota	Uživatelsky definovaný faktor: b žn p ijímaná hodnota faktroru pro typ m ených bun k, nebo hodnota stanovená empiricky pomocí roztoku se sledovanými bu kami p i známe koncentraci použitím stejného média. Standardní hodnota 1x10 ⁸ se b žn používá pro faktor v tšiny
	suspenzí s bakteriálními bu kami jako nap . E.coli.
	Tip : Vlnová délka faktoru specifikovaná pro každý druh bun km že být ovlivn ná typem použitého média p i m ení. V optimálním p ípad stanovte faktor empirticky pomocí známé koncentace roztoku ze studovaných bun k p i použití stejného média.
	Dostupné volby Any wavelength between 250 nm and 700 nm

Související témata

• Nastavení p ístroje

Výpo ty m ení pro analýzu metodou OD600

Aplikace pro m ení oligo nuleových kyselin jsou obdobn jako ostatní aplikace m ení nukleových kyselin, založeny na modifikovaném Lambert-Beerov zákonu pro stanovení koncentrace vzorku na základ extink ního koeficientu a optické dráhy vzorku, které jsou spole n nahrazeny jedním parametrem "faktorem".

V aplikaci OD600 je možné volit uživatelsky definovaný faktor pro výpo et koncentrace vzorku na základ Lambert-Beerova zákona. Pokud je hodnota faktoru známá, zadejte ji. V opa ném p ípad použijte hodnotu 1x10⁸, která dob e charakterizuje v tšinu bakteriálních bun ných suspenzí jako nap. E.coli.

Výsledné hodnoty koncentrací bun k jsou vypo ítány na základ absorbance p i 600 nm, zadaného faktoru a optické dráhy vzorku. Alternativn je možné použít jednobodovou korekci.

M ené parametry

Absorbace p i vlnové délce 600 nm (A600)

Pozn.: U mikroobjemových m ení absorbance a m ení s nestandardní kyvetou (s jinou než 10 mm optickou dráhou - tlouš kou) je provád na normalizace obrazových spekter na ekvivalent optické dráhy (tlouš ky) 10 mm.

- Hodnoty absorbance bun né kultury se m í p i 600 nm normalizovaného spektra. Pokud není specifikována hodnota absorbance korekce, je touto hodnotou hodnota A600, která se používá k výpo tu koncentrace bun k.
- Je-li zvolena korekce absorbance, zobrazí se hodnota korigované absorbance p i 600 nm a tato hodnota se používá k výpo tu koncentrace bun k.

A(e) absorbance

 Stanoví se hodnoty normalizované absorbance (pokud je zadáno) pro kteroukoliv Dol ující sledovanou vlnovou délku ().

Optická dráha vzorku

- U mikroobjemových m ení zvolí software p ístroje optimální hodnotu optické dráhy vzorku (mezi 1,0 - 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i dané vlnové délce.
- Pro m ení v kyvet je optická dráha vzorku stanovována a základ nastavení optické dráhy kyvety v softwaru p ístroje. (Viz Základní nastavení).
- Zobrazená spektra a hodnoty absorbance jsou normalizovány na ekvivalent optické dráhy 10 mm.

Zobrazené hodnoty

Cell concentration (koncentrace bun k). Uvedeno v jednotkách po et bun k/mL. Výpo ty jsou založeny na Lambert-Beerov zákonu p i použití korigované hodnoty absorbance A600.


Uživatelské m ení

Spustí metodu uživatelského m ení použitím modulu Viewer, který je sou ástí p ístroje NanoDrop One.

Metoda uživatelského m ení

Smazání metody uživ. m ení

Záznam výsledk



Metoda uživatelského m ení

Použijte tuto aplikaci na spušt ní uživatelsky definové metody kterou jste vytvo ili v softwaru p ístroje NanoDrop One na PC. Více informací viz Vytvo ení uživatelské metody.

Nahrání uživatelské metody

Uživatelskou metodu m ení lze vytvo it na PC pouze s modulem Viewev v softwaru NanoDrop One. Pokud chcete spustit uživatelskou metodu a uložit výsledky do p ístroje, je nutné tuto metodu nahrát do p ístroje. (Je to jediný zp sob jak spustit uživatelskou metodu pokud p ístroj není p ipojen k PC se sí ovým kabelem nebo p es wifi.)

Poznámka Pokud je PC p ipojen k p ístroji pomocí sí ového kabelu nebo p es wifi, uživatelská metoda z stane uložena v PC a nam ená data se uloží do databáze PC. Více informací viz položky "Set Up Ethernet Connection" nebo "Set Up Wi-Fi Connections" v menu Nastavení p ístroje.

Nahrání uživatelské metody do pístroje

1. Vyexportujte metodu z PC - zkopírujte p íslušný soubor s parametry metody p es USB na p enosný flashdisk.

Soubor s parametry metody má p íponu ".method"

- 2. P ipojte flashdisk na n který USB port p ístroje.
- 3. Na základní obrazovce (Home screen) zvolte tabulku Custom a klikn te na Custom.
- 4. Použijte rozbalovací pole v horní ásti obrazovky, který ukazuje použitý USB port.

٢	Custom Setup	Select USB drive	Front USB	
		*	l	Load Method

5. Klikn te na Load Method.

Zobrazí se pole s dostupnými metodami pro p ístroj NanoDrop One uloženými na pam ovém USB za ízení.

neen bye beneral bae les	st - 2.method
Green Dye General Use tes	st.method

- 6. Klikn te na jednu nebo více dostupných metod v poli Load Method box pro volbu metody, kterou chcete nahrát.
- 7. Klikn te na Load.

M ení vzork uživatelskou metodou

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

M ení vzorku uživatelskou metodou

- 1. Ov te za je metoda uložena na stejném míst jako databáze kam chcete ukládat výsledky m ení (Více informací viz Nahrání uživatelské metody).
- 2. Na základní obrazovce p ístroje tabulku Custom a klikn te na Custom.

Pokud má p ístroj sí ovou kartu nebo wifi p ipojení k PC, zobrazí se okno zpráv.

🚺 Data Sto	rage				
Current connecti Local	on:				
Please select	a locatior	n to stor	e your o	data.	
Local					
		ОК			

- Spušt ní uživatelské metody nahrané do p ístroje a uložení všech získaných výsledk m ení do databáze p ístroje provedete v okn Data Storage volbou Local (viz obrázek naho e).
- Spušt ní uživatelské metody nahrané v PC p ipojeném k p ístroji pomocí sí ového kabelu a uložení všech získaných výsledk m ení do databáze p íslušného PC, provedete v okn Data Storage volbou Direct-ConnectPC (více informací viz "Set Up Ethernet Connection" v Nastavení p ístroje).
- Spušt ní uživatelské metody nahrané v PC p ipojeném k p ístroji pomocí wifi a uložení všech získaných výsledk m ení do databáze p íslušného PC, provedete v okn Data Storage volbou po íta em p id leného názvu (více informací viz "Set Up Wi-Fi Connection" v Nastavení p ístroje).

Po kliknutí na OK se zobrazí menu Custom Setup box (lokální nebo vzdálený).

E Custom Setup	Select USB drive	Front USB
		Load Method
Select method	Method details	
Green Dye General Use test	Method name	Green Dye General Use test
	Description	Measure wavelengths 260nm 416nm 627nm
	Measurment	Visible range 190 nm - 840 nm
	Analysis wavelength	627 nm
	Dece It was a	Operation in the second s

- Pokud je v okn Data Storage nastaveno Local (viz p edchozí krok), potom se v okn Custom Setup zobrazí pouze metody uložené v p ístroji (podrobn ji viz Nahrání uživatelské metody.)
- Pokud je v okn Data Storage nastaveno Direct-Connect PC (Ethernet) nebo název p íslušného PC, potom se v okn Custom Setup zobrazí pouze metody uložené v p íslušném PC p ipojeném prost ednictvím sít (ethernet) nebo wifi (podrobn ji viz Nahrání uživatelské metody.)
- 3. V okn Select Method box, klikn te na metodu kterou chcete spustit.

E Custom Setup	Select USB drive	Front USB
		Load Method
Select method	Method details	
Green Dye General Use test	Method name	Green Dye General Use test
	Description	Measure wavelengths 260nm 416nm 627nm
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Measurment	Visible range 190 nm - 840 nm
	Analysis wavelength	627 nm
	Result name	Concentration IU
	Baseline correction	750 nm
	Automated pathlength	OFF
	User defined factor	1 IU
	Molecular weight	0 Atomic mass units (amu)
	Correction for analysis	Nono
	Bun Method	â
	Run Method	Û

Informace o vybrané metod se zobrazí v okn Method Details.

- 4. Klikn te na Run Method.
- 5. Pro m ení vzorku následujte pokyny na obrazovce.

Související témata

- Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- Vytvo ení uživatelské metody
- Základní nastavení p ístroje
- Export uživatelské metody

Smazání uživatelské metody

- Na základní obrazovce (Home screen) vyberte tabulku Custom a klikn te na Custom.
- V okn Select Method klikn te na metodu kterou chcete smazat
- klikn te na ikonu 🎹

Výsledky m ení uživatelskou metodou

Obrazovka m ení uživatelské metody (pístupná z modulu Data Viewer)

P i m ení každého vzorku a standardu zobrazí aplikace absorbanci viditelného spektra a souhrn výsledk . Vzorový p íklad:



Výsledky m ení uživatelskou metodou

Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:

	Název metody	Vzorkovací metoda	Ozna ení vzorku; kliknutím editovat
Sample Details Green Dye	General Use test	Pedestal	
Sample Name	Sample 2		Datum/ as
Created on	9/22/2015 6:41:2	24 PM	m ení
Concentration	4.5208 IU		Koncentrace
Analysis wavelength	627 nm	7	analytu
Factor	1 IU		J
Baseline correction	750 nm 0.00 ab	sorbance	Detaily
Formula results	A627 4.521 OD A260 2.927 OD A416 2.977 OD	0.647	metody
	ок	Ô	ī

Související témata

• Základní ovládání p ístroje



M ení UV-Vis

M ení absorbance vzorku až p i 40 vlnových délkách nap í utrafialovým (UV) spektrem a viditelné oblasti spektra.

M ení UV-Vis

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení UV-Vis

Aplikace UV-Vis umož uje p ístroji fungovat jako klasický spektrofotometr. Absorbance vzorku se na obrazovce zobrazuje od 190 nm do 850 nm. Je možné ur it až 40 vlnových délek pro sledování absorbance a zahrnutí do výsledk . Je možné aplikovat automatické p izp sobení optické dráhy a jednobodovou korekci (single-point baseline correction).

M ení UV-Vis

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

Než za nete...

P ed zahájením m ení na podstavci p ístroje NanoDrop One, zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní ást podstavce. išt ní podstavc prove te alespo novým laboratorním ubrouskem. Detailn ji viz išt ní podstavc .

- M ení vzorku pomocí aplikace UV-Vis
- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte tabulku Custom a zvolte Protein A205.
- Specifikujte maximáln 40 sledovaných vlnových délek (nebo je m žete specifikovat pozd ji) a zda bude aplikováno automatické p izp sobení optické dráhy a jednobodový korek ní proces (single-point baseline correction).
- Napipetujte blankovací roztok o objemu 1-2 mL na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety.

Tip: Pokud použijete kyvetu, musíte zarovnat optickou dráhu kyvety s optickou dráhou p ístroje.

4. Klikn te na Blank a po kejte na ukon ení m ení.

Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení dolního ramene. (Tato funkce není dostupná pro m ení s kyvetou).

- Zvedn te rameno a o ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem, nebo odstra te kyvetu s blankem.
- Napipetujte roztok vzorku o objemu 1-2 mL na podstavec a sklopte rameno p ístroje nebo vložte kyvetu do držáku kyvety.
- 7. Spus te m ení vzorku:
 - Podstavec: Je-li zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno, Pokud je tato funkce vypnutá, sklopte rameno a zvolte Measure
 - Kyveta: Zvolte Measure

Po ukon ení m ení vzork se zobrazí spektra a výsledky m ení (dále viz text níže).

- 8. Po ukon ení m ení vzork zvolte End Experiment.
- Zvedn te rameno a vy ist te oba podstavce s novým laboratorním ubrouskem nebo vyjm te kyvetu se vzorkem.

Osv d ené postupy pro m ení UV-Vis

• Zkontrolujte jestli absorbance vzorku leží v rozsahu mezí detekce absorbance.

- Prove te m ení blanku pomocí stejného roztoku pufru pro resuspendování sledovaného analytu. Roztok blanku by m l mít obdobné pH a iontovou sílu jako roztok analytu.
- Spus te blankovací cyklus pro stanovení ovlivn ní absorbance roztokem pufru. Pokud roztok pufru vykazuje silnou absorbanci na vlnové délce nebo v blízkosti vlnové vlastní délky analýzy, je možné použít jiný pufr nebo zvolit jinou aplikaci. Podrobn ji viz Volba a m ení blank.
- · Provád ní mikroobjemových m ení:
 - Ujist te se, zda jsou podstavce náležit isté a udržované. (Proteiny snadno ulpívají na povrchu podstavc).
 - Jemn ale d kladn vortexujte vzorky p ed zahájením m ení. Zabra te vzniku bublin p i míchání a pipetování.
 - Dodržujte doporu ené pokyny pro provád ní mikroobjemových m ení
 - Používejte vzorek o objemu 1-2 mL, Blíže viz doporu ený objem vzork .
- Pro m ení v kyvet (pouze s modelem NanoDrop One^c) použijte kompatibilní kyvetu a dodržujte pokyny správného m ení v kyvet .

Související témata

- · Kvantifikace mikroobjemových vzork
- M ení vzork v kyvet
- · Doporu ené pokyny pro mikroobjemová m ení
- · Doporu ené pokyny pro m ení v kyvet
- P íprava vzork a blank
- Základní funkce p ístroje

Výsledky m ení UV-Vis

Obrazovka m ení v aplikaci UV-Vis

P i m ení každého vzorku se zobrazí absorbance spektra a souhrn výsledk . Vzorový p íklad:



Úvodní obrazovka objevující se po každém m ení (viz p edchozí obrázek) zobrazí sumární výsledky m ení. Pro zobrazení všech nam ených hodnot, zmá kn te a podržte zvolenou adu. Vzorový p íklad:



Poznámka Skrolováním nahoru zobrazíte hodnoty absorbace pro kteroukoliv uživatelsky definovanou vlnovou délku.

Související témata

• Základní ovládání p ístroje

Nastavení m ení UV-Vis

Pro zobrazení nastavení aplikace UV-Vis klikn te z hlavní obrazovky m ení na ikonu 📄 > UV-Vis Setup

Nastavení	Dostupné volby	Popis
Monitored wavelengths (sledované vlnové délky)	Zadejte až 40 vlnových délek mezi 190 nm a 850 nm	Uživatelsky definované vlnové délky pro m ení a výstupy v pr b hu analýzy. Hodnoty absorbance pro první t i vlnové délky se zobrazují na obrazovce m ení. Po zobrazení absorbance 8 sledovaných vlnových délek, posu te prstem doleva na obrazovce m ení - zobrazí se okno Data table. Po zobrazení všech sledovaných vlnových délek, zmá kn te a podržte zvolenou adu - objeví se okno Sample Details (skrolováním nahoru zobrazíte hodnoty absorbance všech uživatelsky definovaných vlnových délek). Poznámka : Pokud je zapnuta korekce (Baseline Correction), všechny zobrazené hodnoty p edstavují korigované hodnoty.
Automated Pathlength (automatická optická dráha)	On / Off (zapnout / vypnout) (ovliv uje pouze m ení na podstavci)	Volitelná automatická optická dráha. Pomocí této funkce software použije optimální (kratší) optickou dráhu na podstavci pro vysoce koncentrované vzorky pro zabrán ní saturace detektoru (podrobn ji viz Meze detekce).
		 Pokud je funkce zapnuta, použije se p i analýze kratší optická délka pokud n která vlnová délka mezi 220 nm a 850 nm má hodnotu ekvivalentní absorbance 12,5 nebo vyšší. Pro vlnové délky mezi 190 nm a 219 nm zm na na kratší vlnovou délku nastane pokud n která z vlnových délek v tomto rozsahu má hodnotu ekvivalentní absorbance 10 mm nebo 10 a vyšší.
		 Pokud je funkce vypnuta z stane optická dráha podstavce 10 mm nap í všemi vlnovými délkami.
		Poznámka : Ve všech p ípadech jsou zobrazené hodnoty absorbance normalizovanými hodnotami na ekvivalent optické dráhy 10 mm.
Baseline Correction (korekce)	On / off (zapnout / vypnout) Zadejte vlnovou délku korekce (baseline correction) v nm nebo použijte výchozí hodnotu (750 nm)	Volitelná uživatelsky definovaná korekce (baseline correction). Tuto funkci lze použít pro kompenzaci rozptylujícími ásticemi založenou na ode tení hodnoty absorbance p i specifikované korigované vlnové délce o hodnoty absorbance vlnové délky spektra vzorku. Výsledkem je nulová absorbance p i specifické vlnové délce korekce (baseline correction).

Související témata

• Nastavení p ístroje



M ení kinetiky

Provád ní asov kinetických m ení v držáku kyvety (dostupné pouze v modelu NanoDrop One^c)

M ení kinetiky

Vytvo ení kynetické metody

Editace kynetické metody

Záznam výsledk

Nastavení

Meze detekce



M ení kinetiky

P ístroj NanoDrop One^c Ize použít k provád ní asových kinetických m ení na vzorcích v kyvet . Analýza umož uje nastavit až 3 sledované vlnové délky mezi 190 nm a 850 nm pro sledování kontinuální absorbance v uživatelsky definovaných intervalech až v 5 fázích. M ení v kyvet poskytuje rozší enou dolní mez detekce, oh ev na 37 °C a mikro-míchadlo.

Poznámka Rameno p ístroje m že z stat zvednuté v pr b hu m ení v kyvet , umožní vám to p idávat inidla do roztoku vzorku dle pot eby.

Provád ní kinetických m ení

Poznámka

- Pro zabrán ní poškození p ístroje úkapy, ponechávejte obaly s kapalinami v dostate né vzdálenosti od p ístroje.
- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.

- M ení vzorku pomocí aplikace Kinetics
- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte tabulku Kinetics a klikn te na ikonu Kinetics.

Zobrazí se obrazovka Kinetics Setup screen. Pokud bylo vytvo eno více kinetických metod, které jsou uloženy na zvoleném úložišti (Data Storage Location), zobrazí se tyto v seznamu Selected Method box. Popis zvolené metody se zobrazí v seznamu Method Details.

elect method	Method details				
Test1	Method nan	ne	Test3		
Test2	Description				
Test3	Measureme	Measurement range		e 190 nm -	350 nm
	Wavelength monitor	s to	250 nm	260 nm	325 nm
	Number of s	stages	2		
	Time unit		Time (se	conds)	
		Delay	Interval time	# Intervals	Duration
	Stage 1	0.00	2.00	2	4.00
	Stane 2	5.00	3.00	2	11.00

- 2. Volba metrody :
 - vyberte p íslušnou metodu kliknutím na method name v seznamu Select Method
 - vytvo te novou metodu kliknutím na Create Method, specifikujte nastavení metody a zvolte Save Method
 - editujte stávající metodu kliknutím na method name a volbou Edit Method.
- Zadejte n kterou funkci pro kyvetu (oh ev nebo promíchání) kliknutím na ikonu
 Settings (detailn ji viz Obecná nastavení).

Poznámka : Pokud optická dráha (délka) kyvety není 10 mm, specifikujte skute nou hodnotu optické dráhy v menu General Settings.

- 4. Klikn te na Run Method.
- 5. M ení blanku:
 - Napl te kyvetu dostate ným množstvím blanku pro pokrytí optické dráhy p ístroje
 - Zvedn te rameno p ístroje a vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety, zajišt te aby byla zarovnána optická dráha kyvety s optickou dráhou vzorku.
 - Klikn te na Blank.

Pokud je zvoleno Heat Cuvette to 37 °C v menu General Settings, zobrazí se zpráva s hodnotou aktuální teploty než oh íva dosáhne požadovanou cílovou teplotu p ed zahájením m ení:

Cuvette Heater Status	
Heating in progres	S
Current temperature 3	Pokud chcete
Target temperature	bezprost edn klikn te
Blank now	na Blank Now.

- Po kejte na ukon ení m ení blanku a poté vyjm te kyvetu.

Poznámka : Cílová teplota oh evu není nastavitelná.

- 6. M ení vzorku:
 - Napl te kyvetu dostate ným množstvím vzorku pro pokrytí optické dráhy p ístroje
 - Vložte kyvetu se vzorkem do držáku kyvety, zajist te zarovnání optických dráh
 - Klikn te na Measure

Pokud je zvoleno Heat Cuvette to 37 °C v menu General Settings, zobrazí se zpráva s hodnotou aktuální teploty než oh íva dosáhne požadovanou cílovou teplotu p ed zahájením m ení:

Poznámka : M žete p idat inidla do vzorku kdykoliv v pr b hu m ení

Experiment lze pozastavit kliknutím na Pause v dolní ásti obratovky m ení (pokud pot ebujete p ed asn ukon it experiment, klikn te na Stop)



- Vy kejte na ukon ení všech fází m ení
- Vyjm te kyvetu a vy ist te ji podle doporu ení výrobce

Výsledky každého m ení v každé asovém intervalu se zobrazuji v reálném ase. Po ukon ení všech fází m ení se zobrazí spektra a výsledky celého experimentu.

7. Po posouzení nam ených dat zvolte End Experiment. Každý uložený experiment obsahuje jeden kompletní soubor kinetického m ení podle zvolené metody.

Související témata

• M ení vzorku v kyvet

- · Doporu ené postupy pro m ení s kyvetou
- P íprava vzork a bank
- Základní nastavení p ístroje

Vytvo ení kinetické metody

Kinetické metody lze sestavit a spustit pouze v p ístroji NanoDrop One. Nicmén pokud takovou metodu vytvo íte lze ji uložit do databáze p ístroje NanoDrop One, nebo do modulu NanoDrop Viewer database na p ipojeném PC. Postup pro vytvo ení nové kinetické metod:

- na základní obrazovce klikn te na tabulku Kinetics > Kinetics application.
- klikn te na Create Method (nastavení metod se provede v tabulce Name and Range,

Name and Range					Stages and Intervals		
lethod name	Гest						
escription							
asurement range					Wavelengths to	monitor	
UV range (190 nr	n - 350 nm)				Item	Wavelength (nm)	
 Visible range (35 	0 nm - 840 nm))			1	250	
_	0 nm - 840 nm))			2	260	
 UV-Vis range (19 				nm	3	325	
 UV-Vis range (19 Custom range 	190 n	im to					

 podle pot eby zadejte položky Method Name a Description, zvolte Measurement range (rozsah m ení) a specifikujte parametr Wavelengths to monitor (sledované vlnové délky - limitn 3).

	Kinetics	Setup							
Name and Range					Stages and Intervals				
Number of	stages	3		Time u	nit	Seconds			
	Delay	Interval time	# Intervals	Duration					
Stage 1	0	3	3	9	0			9	
Stage 2	0	2	3	6	9			15	
Stage 3	5	5	2	15	15			30	
Save M	ethod						Run Metho	bd	

- klikn te na tabulku Stages and Intervals (zobrazeny jsou fáze a nastavené intervaly)

- zvolte Number of stages (po et fází) a Time unit (jednotky asu minuty nebo sekundy)
- pro každou fázi specifikujte # intervals (po et interval), Interval times (asové intervaly) a Delays (zpožd ní - libovolná hodnota mezi fázemi)

Zobrazené barevné ady a obdélníky p edstavují vizuální zobrazení specifikovaných fázi. Barevné ady vyjad ují za átek a konec každé fáze; barevné obdélníky odpovídají specifikovanému zpožd ní a po tu intervalu jednotlivých fází.

pro uložení metody a návrat do položky Kinetics menu klikn te na Save Method

Poznámka Metoda se uloží na aktuáln vybrané úložišt (Data Storage Location) t.j. do p ístroje nebo p ipojeného PC

- metodu spustíte kliknutím na Run Method

Související témata

Editování kinetické metody

Editace kinetické metody

Kinetické metody lze editovat pouze v p ístroji NanoDrop One. Editace stávající kinetické metody:

 Pokud je k p ístroji p ipojen k PC (Ethernet nebo wifi), zkontrolujte zda je správn nastavena cesta k úložišti (Data Storage) pro kinetickou metodu, kterou pot ebujete editovat

- na základní obrazovce klikn te na tabulku Kinetics > Kinetics application
- zvolte metodu kliknutím na jméno píslušné metody v okn Select Method
- klikn te na Edit Method
- prove te editaci nastavení metody dle pot eby
- klikn te na Save Method pro uložení vašich zm n
- klikn te na Run Method pro spušt ní aktualizované metody

Související témata

• Vytvo ení kynetické metody

Výsledky m ení kinetiky

Obrazovka m ení absorbance

Standardní obrazovka m ení absorbance se zobrazí bezprost edn po kliknutí na Measure v kinetické analýze. Obrazovka zárove ukazuje spektrum absorbance pro každé m ení s vlnovou délkou na ose X a absorbancí na ose Y. Svislé liniie spojují specifikované, sledované délky. Seznam vpravo zobrazuje asový záznam m ení v každé specifikované fázi (uchopením tabulky dol zobrazíte další záznamy). Každé položce v popisovaném seznamu odpovídá p íslušná absorbance spektra, která je uvedena vlevo. Níže uvedený obrázek zobrazuje charakteristické výsledky analýzy.



Obrazovka pulzního m ení (Rate measurement screen)

Obrazovku Rate measurement screen zobrazíte posunutím prstem vlevo z obrazovky mení absorbance (viz pedchozí obrázek). Obrazovka Rate measurement screen znázor uje menou absobanci vzorku pikaždé uživatelsky definované vlnové délce prbhu asu; na ose X vynesenen as a na ose Y absorbance. Každý soubor mení pro specifickou vlnovou délku je zobrazen jinou barvou - legenda grafu je zobrazena v levém horním rohu obrazovky.

Uživatelsky definované vlnové délky



Klikn te na Show Delta Absorbance Vs Time pro zobrazení zm ny nam ených hodnot absorbance v ase kde každá hodnota reprezentuje zm nu absorbance v i p edchozí hodnot.

R Test3 Kliknutím Show delta Absorbance vs Time 260 nm 🔵 340 nm 🛑 660 nm zaktualizujete graf nam ené absorbance v pr b hu asu (viz další Absorbance obrázek) 200 300 400 500 600 0 Time (seconds) Kinetics 🗐 End Experiment

Uživatelsky definované vlnové délky

Posunutím prstem doleva zobrazit tabulku dat; Posunutím prstem doprava návrat do obrazovky m ení absorbance Kliknutím ukon íte experiment a vyexportujete data

Tabulka dat

Tabulka dat se zobrazí posunutím prstem vlevo z obrazovky pulzního mení. V každém ádku je uvedena hodnota absorbace pi všech uživatelsky defibnovaných vlnových délkách prodanou fázi a as. Skrolujte dol pro zobrazení informací které nejsou vid t. Níže uvedený obrázek zobrazuje charakteristické výsledky analýzy.

Po add	ové		Doba m ení <mark>(klinut</mark> í	m Hodnota	absorbance pro každ	lou
íslo n	n ení	Fáze	specifikujete jednotk	y) uživatels	sky definovanou vlnov	ou délku
	🌆 Те	est3	Measure	Done		
#	Stage	ime (seconds)	A260	A340	A660	
10	1	90.01	0.032	-0.008	0.282	Zmá kn te a
11	1	100.01	0.032	0.059	0.288	adu pro zobrazení
12	1	110.01	0.031	-0.067	0.290	podrobností m ení
13	1	120.01	0.032	-0.016	0.297	
14	1	130.00	0.032	-0.009	0.296	
15	1	140.00	0.026	-0.014	0.297	
16	1	150.01	0.032	0.026	0.297	
Kinetics 🗐			•••			
			ļ		End Experiment	
	Posi	unutím prs	tem doprava návral	t do	Kliknutím ukon íte	
	obra	zovky Rate	measurement scree	en	experiment a	
		-			vyexportujete data	

Podrobnosti m ení

Detaily m ení je možné zobrazit z obrazovky zmá knutím a podržením p íslušného ádku s nam enými hodnotami na obrazovce m ení absorbance. Vzorový p íklad:



· Základní ovládání p ístroje

Nastavení m ení kinetiky

Pro zobrazení nastavení kinetického m ení klikn te z hlavní obrazovky p ístroje na tabulku Kinetics > Kinetics (Method), a klikn te na Create Method nebo vyberte metodu a klikn te na Edit Method. Obrazovku nastavení je možné rovn ž zobrazit z libovolné obrazovky kinetického m ení kliknutím na ikonu s > Kinetics Setup.

Poznámka Pokud je k p ístroji p ipojen k PC (Ethernet nebo wifi), je možné nahrát kinetickou metodu z databáze p ístroje NanoDrop One nebo z databáze NanoDrop Viewer na p ipojeném PC. Použijte pole Data Storage box pro výb r aktivní databáze a pokra ujte postupem pro zobrazení kinetických metod, které jsou uloženy na p íslušném úložišti v etn souvisejících nastavení.

Nastavení se zobrazí ve dvou tabulkách: "Names and Range" a "Stages and intervals", detailn ji viz tabulka níže.

Tabulka	Nastavení	Popis
Name and Range (název a rozsah)	Method name (název metody)	Zadejte název metody (tento název se objeví v poli Nastavení kinetiky po uložení metody).
	Description (popis)	Uve te podrobný popis metody - dle pot eby nap . typ vzork , p idaná inidla a pod.
	Measurement range (rozsah m ení)	Zvolte rozsah spektra ve kterém budou získávána data. Dostupné možnosti:
		 pouze ultrafialové (190 nm - 350 nm)
		pouze viditelné (350 nm - 850 nm)
		 ultrafialové a viditelné (190 nm - 850 nm)
		 uživatelské (zadejte po áte ní a kone nou
		Poznámka Analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.
	Monitored wavelengths (sledované vlnové délky)	Zadejte limitn 3 vlnové délky které budou m eny a jejichž výsledky zobrazeny v pr b hu analýzy.
		Poznámka : Všechny specifikované vlnové délky musí ležet v m eném intervalu.
Stages and Intervals (fáze a intervaly)	Number of Stages (po et fází)	Specifikujte limitn 5 fází pro kinetická m ení. Každá fáze m že mít jedine nou hodnotu nastavených parametr Delay (zpožd ní), Interval Time (asový interval) a # Intervals (po et interval).
		Mnoho kinetických m ení sestává pouze z jedné fáze. Další fáze jsou pot ebné jenom v p ípad zjišt ní variací v intervalech jednotlivých fází nebo délce jejich trvání.

Tabulka	Nastavení	Popis
	Time Unit (jednotky asu)	Zvolte jednotky (v sekundách nebo minutách) pro asov závislá m ení

Tabulka	Nastavení	Popis
	Stage 1, 2, etc. (fáze 1, 2 atd.)	Specifikujte dostupná nastavení pro každou fázi:
		Delay. Zadejte hodnotu zpožd ní p ed startem fáze.
		 Interval Time. Zadejte dobu mezi m eními, která se provádí v pr b hu této fáze (minimální hodnota jsou 2 sekundy). První m ení se zobrazí po startu fáze (nebo po uplynutá doby zpožd ní definované parametrem Delay pokud je zadán).
		Poznámka : Pokud jsou zadány dv a více fází s parametrem Delay nastaveným na hodnotu 0, zobrazí se dv m ení sou asn (m ení na za átku nové fáze p ímo navazuje na m ením na konci p edcházející fáze).
		 # Intervals. Zadejte po et m ení hodnot absorbance, která se budou m it v této fázi.
		Poznámka : I když se první m ení provede po startu fáze, po et zaznamenaných m ení pro každou fázi bude mít hodnotu nastavenou parametrem # Intervals plus 1.
		 Duration. Zobrazení ukazuje celkovou dobu pot ebnou pro pr b h této fáze, v etn zpožd ní a všech specifikovaných asových interval.

Tabulka	Nastavení	Popis
		Zobrazené barevné ady vpravo (viz obrázek níže) zobrazují as za átku a konce každé fáze; barevné obdélníky vpravo odpovídají specifikované dob zpožd ní a po tu interval každé fáze.
		Delay Interval time # Intervals Duration Stage 1 0.00 3.00 3 9.00 0 0 9.0 9.0 9.0 9.0 9.0 17.0
		Pokud není zadána hodnota zpožd ní (delay), vykoná se m ení basorbance na za átku a konci každé fáze a na konci každého specifikovaného asového intervalu. V p ípad , že je hodnota zpožd ní (delay) zadána, jako nap . pro fázi 3 navýše uvedeném obrázku, provede se první m ení na za átku prvního intervalu. Pokud jsou zvoleny jako jednotky sekundy (jako v popisovaném p íkladu naho e), vykoná se celkem 11 m ení v pr b hu následujících dob trvajících 32 sekund:
		• Fáze 1: 0, 3, 6 a 9 sekund
		• Fáze 2: 9, 11, 13, 15 a 17 sekund
		• Fáze 3: 22, 27 a 32 sekund
		Poznámka : Kinetické experimenty jsou limitovány po et 1000 m ení. Tato limitní hodnota znamená, že celkový po et m ení ve všech intervalech a všech fázích musí být menší než 1000. Ov te dostupnou pam ovou kapacitu p ístroje nebo disku PC pro dlouho trvající experimenty.

Související témata

• Nastavení p ístroje

3

Školící st edisko (Learning Center)



Jak pracuje p ístroj



Nastavení p ístroje



M ení mikroobjemového vzorku



M ení v kyvet



P íprava vzork a blank



Základní funkce p ístroje



Technologie Acclaro Sample Intelligence



Nastavení p ístroje



NanoDrop One Viewer (prohlíže)



Multimédia

Princip mikroobjemového vzorkování

Povrchové nap tí Absorb ní spektrum Absorbance vzorku Koncentrace vzorku Korekce (Baseline Correction)





Povrchové nap tí

Spektrofotometr NanoDrop One využívá efektu povrchového nap tí p i kterém se udrží malý objemu vzorku mezi ob ma podstavci p ístroje. Patentovaný systém nabírání vzorku umož uje provád t m ení vysoce koncentrovaných vzork bez nutnosti ed ní.

Vestav ný kabel z optických vláken v horním podstavci vede ke xenonovému zdroji sv tla. Druhý kabel zabudovaný v dolním podstavci vede k detektoru. Pokud je rameno p ístroje sklopené, vytvo í se ze vzorku kapalinový sloupec, který propojí mezeru mezi ob ma optickými kabely.



Absorbance =
$$-\log\left[\frac{\text{intensita}_{vzorku}}{\text{intensita}_{blanku}}\right]$$

Lambert-Beer v vzorec

$$A = e \cdot b \cdot c$$

kde:

- A = absorbance v jednotkách absorbance (A)
- e = molární koeficient absorbtivity (též extink ní koeficient) závislý na vlnové dílce, v jednotách l/mol-cm

b = otická dráha v cm

c = koncentrace analytu v jednotách mol/l nebo molarita (M)

Absorb ní spektrum

Sv tlo prochází sloupcem kapalinového vzorku sm rem k detektoru, který následn vygeneruje absorb ní spektrum v i vlnové délce. Zaznamenané spektrum zobrazuje množství sv tla absorbovaného molekulami ve vzorku pro každou m enou vlnovou délku.

Poznámka : Pro zbrán ní vysychání, které má dopad na p esnost m ení, rychle zav ete rameno p ístroje poté co nahrajete vzorek nebo blank.

P íklad na obrázku vlevo znázor uje typické absorb ní spektrum ze vzorku nukleové kyseliny. Spektum se m í p i vlnových délkách od 190 nm do 850 nm. Zobrazený rozsah závisí na dané aplikaci.

Absorbance vzorku

Po provedení blanku v p ístroji, vytvo í se referen ní spektrum roztoku blanku a uloží se do pam ti p ístroje. Pro každé m ení vzorku s intenzitou p esahující intenzitu blanku se vypo ítává celková absorbance vzorku na základ vlevo uvedeného vzorce.

Koncentrace vzorku

Lambert-Beerr v zákon zobrazený vlevo je založen na korelaci mezi absorbancí vzorku a koncentrací.

Optická dráha je délka mezi ob ma podstavci, která je prom nlivá v reálném ase v pr b hu každého m ení. Tento automatický postup úpravy rozsahu poskytuje p esné výsledné hodnoty koncentrace v široké škále dynamického rozsahu.

Korekce (Baseline Correction)

Pro n které aplikace m že p ístroj využívat korekci (baseline correction) pro každé m ení, aby se minimalizovala velikost posunu (offset) zp sobeného ásticemi rozptylujícími sv tlo spektra vzorku. P i korekci se ode ítá hodnota absorbance p i referen ní vlnové délce, která se blíží nule, od hodnoty absorbance p i všech vlnových délkách nap í spektra - spektrum je podstatn "ukotveno" (sníženo) k nulové hodnot absorbance p i referen ní vlnové délce.

Související témata

- Instrument Models and Features
- Measure a Micro-Volume Sample

- Výpo ty pro m ení nukleových kyselin
- Výpo ty pro m ení metodou Protein A280

Nastavení p ístroje



P ipojení je zdroji napájení



UPOZORN NÍ Zamezte úrazu elektrickým proudem. Každá elektrická sí musí být uzemn na. Zemn ní musí být provedeno nevodivým kabelem ke zemnícímu bodu u hlavního jisti e elekt iny.

P ipojte dodávaný napájecí kabel k uzemn né elektrické síti. Pro více informací klikn te zde.

P ipojení p íslušenství

P ipojení kompatibilní tiskárny nebo jiného kompatibilního p íslušenství jako USB klávesnice a/nebo myši k p ístroji, je možné provést p es port USB p ístroje (p ední a dva zadní - levý nebo pravý). Více informací o kompatibilních za ízeních k p ístroji NanoDrop One viz P íslušenství.
Nastavení p ipojení p es rozhraní Bluetooth

Použijte rozhraní Bluetooth™ pro p ipojení p ístroje k jednomu nebo více vstupních za ízení jako nap. Bluetooth klávesnici, myši nebo skeneru árového kódu.

Poznámka Ujist te se zda za ízení disponuje rozhraním Bluetooth (nejen "bezdrátovým" rozhraním). Všechna za ízení Bluetooth fungují bezdrátov ale ne všechna za ízení bude možné p ipojit p es Bluetooth.

Nastavení p ipojení k p ístroji p es Bluetooth

- na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu 💽 (Settings)
- klikn te na tabulku System
- klikn te na Bluetooth (pokud je rozhraní Bluetooth nep ístupné zobrazuje se v horním pravém rohu tla ítko "OFF" a neukáže se seznam za ízení Bluetooth

Dluetooth		OFF		:
			, ,	

 klikn te na Off pro umožn ní spojení p es Bluetooth (tla ítko se zm ní na oranžovou barvu, ukáže se "ON" a software automaticky vyhledá dostupná vstupní za ízení Bluetooth

Bluetooth		ION SEARCHING.
	VAR_SOM_MX6 Not visible to other Bluetooth devices	
	AVAILABLE DEVICES	

pokud nejsou nalezena za ízení Bluetooth, zobrazí se po n kolika sekundách zpráva "No nearby Bluetooth devices were found".

 pro p idání za ízení p es Bluetooth se i te instrukcemi výrobce pro spárování za ízení (nap íklad bude nutné podržet tla ítko) a kliknout na Search For Devices na p ístroji



pro spárování p ístroje klikn te na jeho název v seznamu dostupných za ízení (Available Devices) - zobrazí se podobná zpráva s požadavkem pro spárování

název za ízení by se m lo zobrazit v seznamu dostupných za ízení (Available Devices)

Dluetooth		ONE	SEARCH FOR DEVICES	1
	VAR_SOM_MX6 Not visible to other Bluetooth devices			
ہ 	OC:FC:83:7B:5D:8B			
	•••			

 pro spárování p ístroje klikn te na jeho název v seznamu dostupných za ízení (Available Devices) - zobrazí se podobná zpráva s požadavkem pro spárování

i Bluetooth pairing request
To pair with: Bluetooth Keyboard
Type on it: 624901 , then press Return or Enter.
Cancel

pro spárování dokon ete postup dle pokyn

Bluetooth		ON	SEARCH FOR DEVICES	:
	VAR_SOM_MX6 Only visible to paired devices PAIRED DEVICES			
	Bluetooth Keyboard		<u>1</u> +	
	•••			

Poznámka Pokud nedojde ke spárování vašeho Bluetooth za ízení, prove te restart a zopakujte výše uvedený postup pro spárování s p ístrojem (m žete také zkusit vypnout a následn zapnout Bluetooth). Po spárování se za ízením, z stane spárování funk ní i když p ístroj restartujte.

📃 🏟 Settings			
System	General	Dye/Chrom. Editor	Protein Editor
Wi-Fi	Enabled but not connected	Brig	htness
Bluetooth	Enabled Connected to Bluetooth Keyboard	Sound	d Volume
Language	English	Update Software	Version: 1.2.0 DB Version: 1
Date and Time	January 27, 2016 1:49 AM		
	Do	ine	

- klikn te na Back (zobrazí se indikátor Bluetooth vpravo od tla ítka Bluetooth

 zopakujte výše popsané kroky pro p ipojení dalšího za ízení Bluetooth nebo klikn te na Done pro ukon ení nastavení

Zrušení p ipojeného za ízení p es Bluetooth

M žete zastavit Bluetooth za ízení bez jeho odpojení nebo ukon ení spárování. Toto umož uje jednoduše znovu zvolit a použít vstupní za ízení. Nap íklad pokud máte více p ipojených a spárovaných vstupních za ízení Bleetoooth jako nap . klávesnici a skener árového kódu, následujte tento postup pro aktivaci za ízení která chcete použít nebo deaktivaci za ízení které již nepot ebujete použít:

- na domovské obrazovce (Home screen) klikn te na 100
- klikn te na System
- klikn te na Bluetooth
- pro odstran ní spárovaného Bluetooth za ízení, jako je klávesnice, klikn te na Profiles tla ítko

対 Bluetooth			ON	SEARCH FOR DEVICES	:
		VAR_SOM_MX6 Only visible to paired devices			
	PAINEL	DEALORS			
		Bluetooth Keyboard		랴	

– pro odzna ní klikn te na Use For Input pro vy išt ní jejich p idružených zaškrtávacích okének

〈 🄯 Paired Bluetooth	device		
	Rename Bluetooth Keyboard		
	Unpair		
PROFI	ILES		
· <u>···</u> ·	Input device Use for input		

- klikn te na Paired Bluetooth Device v levém horním rohu p i návrat na p edchozí obrazovku
- klikn te na Back pro návrat do nastavení systému (System settings)
- klikn te na Done pro zav ení nasatvení (Settings)

Poznámka

- Pokud nezvolíte žádné vstupní za ízení Bluetooth, p ístroj se spolehá na zadání p es integrovanou dotykovou klávesnici (touchscreen)
- Pro op tovný výb r za ízení prove te výše popsaný postup a zvolte za ízení uvedená v okn Input checkbox.

Odpojení Bluetooth za ízení

- 🛛 na základní obrazovce klikn te na ikonu [💽
- klikn te na tabulku System
- klikn te na Bluetooth
- pro odpojení za ízení spárovaného p es Bluetooth klikn te na ikonu profil



긒

- klikn te na Unpair

(🔯 Paired Blueto	oth device		
	Rename Bluetooth Keyboard		
Р			
	Input device Use for input		

za ízení již není uvedeno v seznamu "Paired Deveices" ale z stává v seznamu dostupných za ízení (Available Devices list)

Bluetooth		ON SEA	RCH FOR DEVICES
	VAR_SOM_MX6 Only visible to paired devices PAIRED DEVICES		
	Hicrosoft Sculpt Comfort Mouse	ī.	
	AVAILABLE DEVICES		
	Anker Bluetooth Keyboard		
	X		

- klikn te na Back pro návrat do nastavení systému (System settings)
- klikn te na Done pro ukon ení nastavení (Settings)

Nastavení ethernetového (sí ového) p ipojení

Sí ový port p ístroje lze použít pro nastavení kabelového p ipojení mezi p ístrojem a PC. P ipojený po íta se využívá pro ukládání nebo prohlížení dat získaných p ístrojem NanoDrop One. (Na PC musí být nainstalován software NanoDrop One Viewer.)

Pot ebná výbava:

• Standardní (straight-through) ethernetový kabel kategorie 5 (Cat 5) a nov jší

Poznámka Pokud máte starší typ po íta e, pot ebujte Crossover ethernetový kabel. V tšina nov jších model po íta umí detekovat oba typy kabel a pracovat s nimi. Nicmén straight-through ethernetový kabel bude poskytovat nejlepší výkon.

Nastavení ethernetového p ipojení

p ipojte ethernetový kabel mezi Ethernetový port p ístroje na jeho zadní stran (viz obrázek výše,) a ethernetový port PC

Nastavení bezdrátového (wireless) p ipojení

Použijte rozhraní Wi-Fi[™] pro p ipojení ke vzdálenému PC prst ednictvím bezdrátové lokální sít (WLAN). Vzdálený po íta lze použít pro ukládání nebo prohlížení dat získaných v p ístrojem NanoDro Opne.

Poznámka Pro ukládání nebo prohlížení nashromážd ných dat na po íta i p ipojeném p es Wi-Fi, musí být na vzdáleném PC nainstalován sofware NanoDrop One Viewer a po íta musí být nakonfigurován tak aby umož oval ukládání údaj pomocí Wi-Fi. P ístroj musí být rovn ž p ipojen k dané Wi-Fi síti.

Volba Wi-Fi sít v pístroji

– na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu



- klikn te na tabulku System
- klikn te na Wi-Fi (pokud je p ípojení p es Wi-Fi deaktivováno, zobrazí se "OFF"v horním pravém rohu obrazovky a není vid t žádný seznam bezdrátových sítí

🔯 Wi-Fi	OFF	s	+	ŧ

klikn te na tla ítko pro aktivování Wi-Fi a zobrazení dostupných wifi sítí



- vyberte wifi sí p íslušného vzdáleného po íta e a kliln te na Connect (viz vzorový obrázek)

visitors.tfs.w	ireless	
Signal strength Security	Excellent None	
Cancel	Forget	Connect

 klikn te na Back pro ukon ení nastavení Wi-Fi (po úsp šném p ipojení získá p ístroj IP (Inernet Protocol) adresu, která se zobrazí vpravo od tla ítka Wi-Fi jak je uvedeno na vzorovém obrázku níže

Poznámka N které Wi-Fi sít vyžadují jméno a heslo p ípadn další informace pro umožn ní jejich p ipojení, nebo mohou být anonymní (musí se vyhledat podle jména). Více informací získáte od správce vaší sít.



- poznamenejte si IP adresu (budete ji pot ebovat pro nastavení vzdáleného po íta e popisované v následující ásti návodu
- klikn te na Done pro ukon ení nastavení (Settings)

Prove te nastavení v modulu Wi-Fi data storage na vzdáleném PC

- ze vzdáleného po íta e spust software NanoDrop One Viewer
- zvolte File (menu) > Set Up Wi-Fi Data Storage (zobrazí se následující obrazovka)

et Up Wi-Fi Data Storage			
Instrument IP Address	Instrument Name	Status	Enabled
Namo			OK
	Add	Date	UK

- zadejte následující informace:
 - IP adresu p ístroje (zobrazíte ji na p ístroji v menu Settings > System, viz p edchozí text; pokud je IP adresa platná, zobrazí se ve stavovém okne zpráva "Valid IP Address"
 - název p íslušného p ístroje (pro p ípad když v laborato i používáte n kolik za ízení p ipojených ke stejné síti)
 - název PC (po íta em nebo uživatelem p i azené jméno po íta e název se zobrazí v okn "select a data storage location" na p ístroji (viz následující popis)



– ujist te se že je na p ístroji vybráno tla ítko Enabled (vzorový p íklad viz níže)

- pro odstran ní položky ze seznamu vyberte píslušnou adu a poté klikn te na Delete
- po ukon ení, zvolte OK a zav ete okno Wi-Fi Data Storage setup

Volba místa pro ukládání nashromážd ných dat

na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu Connectivity Status



Poznámka Indikátor p ipojení (Connectivity Status) je aktivní t.j. má modrou barvu, pouze pokud je p ístroj p ipojen k PC pomocí ethernetového (sí ového) kabelu nebo prost ednictvím správn nakonfigurované bezdrátové sít, jako na následujícím vzorovém obrázku.



zobrazí se okno Data Storage message box jako na následujícím vzorovém obrázku

Data Stora	age	
Current connectior Local	n:	
Please select a	location to store your da	ata.
	•	
Local		

- zvolte tyto dostupné funkce:
 - pro uložení všech následn získaných výsledk m ení pouze do databáze v p ístroji NanoDrop One, nastavte v okn Data Storage na Local (viz vzorový obrázek naho e)
 - pro uložení všech následn získaných výsledk m ení do databáze programu NanoDrop One Viewer umíst ném na PC, který je p ipojen ethernetovým (sí ovým) kabelem, nastavte v okn Data Storage na Direct-Connect PC* (více informací viz Nastavení ethernetového (sí ového) p ipojení.
 - pro uložení všech následn získaných výsledk m ení pouze do databáze programu NanoDrop One Viewer umíst ném na PC, který je p ipojen bezdrátovou sítí, nastavte v okn Data Storage na p i azený název po íta e* (více informací viz Nastavení Wi-Fi p ipojení.

* p i ethernetovém (sí ovém) nebo bezdrátovém p ipojení, které jsou výše popsány, dojde rovn ž k zálohování dat do p ístroje.

Níže je uveden p íklad nastavené bezdrátové sít vybraného úložišt PC



 klikn te na Connect (nebo na OK pokud bylo spojení již navázáno) pro zav ení zobrazené zprávy (nové úložišt dat se zobrazí u p ilehlé ikony s ukazatelem p ipojení (Connectivity Status icon)

Win 7 test station #1 (IP	:192.168.1.166) 🌒	 Umíst ní datového úložišt (bezdrátový PC)
ment Custom	Kinetics	— IP adresa po íta e

všechny následn získané výsledky m ení se ukládají do databáze programu NanoDrop Viewer na zvoleném PC a do databáze p ístroje NanoDrop One

NanoDrop One - Uživatelská píru ka 185

Poznámka

- Program NanoDrop One Viewer nemusíte spoušt t pro práci s daty uloženými v p ístroji.
- Pokud dojde v pr b hu m ení k p erušení bezdrátového nebo sí ového p ipojení, ukládání se p epne zpátky do p ístroje bez ztráty dat.
- Uživatelské m ení (Custom methods) a kinetické m ení (Kinetics methods) musí být umíst no na PC pokud nastavujete parametry pro vzdálený p ístup.
- Pokud je p ístroj p ipojen k PC sí ovým (ethernetovým) kabelem nebo pomocí bezdrátové sít, nezobrazí se na základní obrazovce p ístroje ikona prohlíže e dat (Data Viewer). (P ístrojem nelze zobrazit NanoDrop One databázi uloženou na p ipojeném PC).

Ov ení konektivity pístroje

Pro ov ení konektivity p ístroje pomocí Bluetooth, sí ového kabelu (Ethernet) a Wi-Fi použijte systémovou stavovou ikonu v pravé horní ásti základní obrazovky p ístroje:



Klikn te pro zobrazení stavu p ipojení

Zobrazení stavu konektivity

– na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu 🛃 pro otev ení okna System Status box

Místo kam p ístroj ukládá data: "Local" - do p ístroje nebo "Connnected PC" - do p ipojeného PC

System Status		
Instrument type	NanoDrop One C	
Serial number	AZY1400392	
Instrument status	Instrument initialization complete	
Data storage location	Local	
Wi-Fi status	Connected to "E900_" IP: 192.168.1.158	stav WI-FI sit
Bluetooth status	Enabled No paired devices	_ stav p ipojení
Software product version	1.2.0.358 Build 01/28/16 09:53 AM	p es Bluetooth
Platform release	1.2.0.194 Build 01/28/16 09:26 AM	I
Firmware version	145	
Android release	36.	
Licenses	ОК	

- klikn te na OK pro ukon ení okna System Status

P ístroj funguje spolehliv pokud jsou okolní podmínky spl ují následují parametry:

Provozní specifikace

P ístroj funguje spolehliv pokud jsou okolní podmínky následující:

- provozní teplota: 5 °C 35 °C (41 °F 95 °F)
- relativní vlhkost (bez kondenzace): 20-80%

Z d vodu minimalizace odpa ování umíst te p ístroj mimo ventila ní za ízení a bezpe nostní boxy (flow-boxy).

Poznámka: Pokud s p ístrojem pracujete za podmínek p i dolní hranici doporu eného rozsahu vzdušné vlhkosti, použijte dostate né množství vzorku z d vodu odpa ování.

Po instalaci p ístroje ho m žete nechat zapnutý.

Související témata

- Bezpe nostní a provozní opat ení
- Modelové ady p ístroje a charakteristiky

- Volitelné p íslušenství
- Nastavení p ístroje

M ení mikroobjemových vzork

Spektrofotometr NanoDrop One využívá efektu povrchového nap tí p i kterém se udrží malý objemu vzorku mezi ob ma podstavci p ístroje. Patentovaný systém nanášení vzorku umož uje provád t m ení vysoce koncentrovaných vzork bez nutnosti ed ní. Pro více informací klikn te zde.

Pot ebné vybavení

- spektrofotometr NanoDrop One neboNanoDrop One^C
- · laboratorní ubrousky (nebavln né)
- kalibrovaná p esná pipeta (0–2 µL)
- vzorkovací materiál resuspendovaný ve vhodném pufru (viz P íprava vzork).
- roztok pufru pro provedení blanku (viz Volba a m ení blanku nebo sledujte multimediální vzd lávání Co je to blank?).



Doporu ené postupy pro mikro-objemová m ení

Každodenní išt ní podstavc

- P ed m ením vy ist te oba podstavce p ístroje novým laboratorním ubrouskem.
- Spust blankovací cyklus pro ov ení istoty podstavc .
- Po každém m ení vy ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem pro zamezení p enosu mezi vzorky.
- Po každém souboru m ení vy ist te podstavce s deionizovanou vodou (viz ist ní podstavc mezi uživateli).
- Pravideln provád jte rekondici podstavc pro zajišt ní hydrofobních vlastností.



Pipetování vzork

- Používejte doporu ené objemy vzork pro zajišt ní tvorby optimálního kapalinového sloupce.
- Používejte kalibrovanou p esnou pipetu (objemového rozsahu 0–2 μL) s nízkoobjemovými p esnými špi kami pro nabírání vzork do p ístroje.

Pokud používáte mén $\,p$ esnou pipetu (objemového rozsahu 0–10 μL), použijte 2 μL vzorku.

- Používejte novou špi ku pro každý alikvotní blank a vzorek.
- Pro každé m ení používejte alikvotní ást vzorku.
- Pokud použijete rozpoušt dlo ov te p edem zda je kompatibilní s podstavci. (viz "Kompatibilní rozpoušt dla" v kapitole Nebezpe né materiály).



Doporu ené objemy vzork

Aplikace	Objem vzorku
Nukleová kyselina (vodní roztok)	1 μL ¹
Purifikovaný protein	2 µL
Jiná aplikace - metoda Bradford nebo BCA	2 µL
Mikrobiální bun né suspenze	2 µL

¹ Použijte 2 µL pro vzorky obsahující látky, které mohou snížit povrchové nap tí jako t eba povrchov aktivní látka.

M ení mikroobjemových vzork

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.



 Pokud je aktivní sí ové nebo bezdrátové p ipojení p ístroje k PC, stavovaná ikona má modrou barvu a ukazuje zvolené místo pro úložišt a prohlížení dat nam ených p ístrojem.





Pokud je stavová ikona modrá, klikn te na ní a zvolte v okn Data Storage položku Local, viz obrázek vlevo.

 Na základní obrazovce p ístroje vyberte aplikaci Nucleic Acids a zvolte volbu dsDNA nebo RNA.









3. Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te horní a dolní podstavec novým laboratorním ubrouskem.

- 4. M ení blanku:
 - Napipetujte 1-2 mL roztoku blanku na dolní podstavec a rychle sklopte rameno p ístroje.
 - Klikn te na Blank a vy kejte na ukon ení m ení.
 - Tip: Je-li zapnutá funkce Auto-Blank, m ení blanku se spustí automaticky po sklopení ramene p ístroje.
 - Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- 5. M ení prvního vzorku:
 - Napipetujte 1-2 mL roztoku vzorku na podstavce a rychle sklopte rameno p ístroje (více informací viz Doporu ené objemy vzork).
 - Spust m ení vzorku:
 - Pokud je zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno
 - Pokud je vypnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno a klikn te na Measure.
 - Po ukon ení m ení vzorku se zobrazí spektra a výslledky m ení.





Kliknutím ukon íte experiment

Pokud se vedle ID vzorku objeví n která z následujích ikon, kliknutím na ni se zobrazí výstražné a dopl ující informace k provedené analýze:



6. M ení dalšího vzorku:

- Zvedn te rameno.
- O ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- Aplikujte vzorek a rychle sklopte rameno.
- Spus te m ení vzorku
- Po kejte na ukon ení m ení.

Nové spektrum na obrazovce spekter nahradí p edcházející spektrum a nové výsledky se v dalším ádku tabulky. Posunutím dol zobrazíte oba nam ené soubory.



Související témata

- Mikroobjemové m ení Jak funguje?
- Meze detekce absorbance
- P íprava vzork a blank
- Funkce Auto-Measure a Auto-Blank
- Acclaro Sample Intelligence
- išt ní podstavc
- Vyhledání databáze experimentu
- Export dat
- M ení vzork s použitím kyvety

- 7. Když skon íte m ení vzork :
 - Klikn te na End Experiment.
 - Zadejte název experimentu (klikn te na pole Experiment Name, název zadejte pomocí zobrazené klávesnice, klikn te na Done), nebo zvolte imlicitní název experimentu.
 - Klikn te na End Experiment
 - Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.

Když skon íte denní práci s p ístrojem, o ist te podstavce deionizovanou vodou (viz ist ní podstavc mezi uživateli).

Získaná data se automaticky ukládají do experimentu se zadaným názvem. P i implicitním nastavení se experimenty ukládají do databáze daného p ístroje v po adí podle data získání vašich dat, názvu experimentu, použité aplikace a ostatních atribut (viz Nastavení identifikátor v p ístroji).

M ení vzorku s použitím kyvety

Spektrofotometr NanoDrop One^C disponuje držákem kyvety pro m ení ed ných vzork , kolorimetrické testy, bun né kultury a kinetické studie. Kyvetový systém umož uje rozší enou dolní mez detekce, oh ev na 37 °C a mikro-míchadlo.



Pot ebné vybavení

- spektrofotometr NanoDrop One neboNanoDrop One^C
- nebavln né laboratorní ubrousky
- kalibrovaná p esná pipeta (0–2 µL)
- vzorkovací materiál resuspendovaný ve vhodném pufru (viz P íprava vzork).
- roztok pufru pro provedení blanku (viz Volba a m ení blanku nebo sledujte multimediální vzd lávání Co je to blank?).

Doporu ené postupy pro m ení s kyvetou

- Rameno p ístroje m že být vyklopené nebo sklopené pro m ení s kyvetou.
- Používejte kyvetu délky 10 mm, 5 mm, 2 mm nebo 1 mm s výškou do 48 mm.
- Vy ist te a vysušte kyvetu po každém m ení.
- Používejte kyvetu bez škrábanc a zamezte vzniku otisk prst, které mohou ovlivnit výsledky.
- Používejte k emi itou kyvetu nebo kyvetu odolnou proti UV (UV-grade) pro m ení vzork p i analýzách s vlnovou délkou v rozsahu UV (< 340 nm)
- Mikro, semi-mikro a ultra-mikro kyvety se doporu uje maskovat.
- Vypl ujte kyvety dostate ným množstvím blanku nebo roztokem vzorku aby byla pokryta optická délka p ístroje (2 mm vzorek je vzdálen 8,5 mm od spodku kyvety).
- Zvedn te rameno p ístroje a ujist te se, že v držáku kyvety nejsou zbytky.
- P i vkládání k emi ité nebo maskované plastové kyvety, zarovnejte její optickou dráhu s optickou dráhou p ístroje.



M ení vzorku s použitím kyvety

POZNÁMKA

- Pro zabrán ní poškození p ístroje úkapy, ponechávejte obaly s kapalinami v dostate né vzdálenosti od p ístroje.
- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.

JanoDrop One			
		New Experin	nent
Nucleic Acids	Proteins	OD600	Custom
dsDNA	ssDN	A	RNA
🔳 🧔 Setting	IS		
General		Nucleic	Acids
Auto naming			
Use cuvette			
PathLength	10 mm		
Stir speed	3		
Heat	cuvette to 37°C		



 Na základní obrazovce p ístroje vyberte položku Nucleic Acids a klikn te na n kterou s aplikací dsDNA nebo RNA.

- 2. Definujte nastavení parametr kyvety:
 - Na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu nastavení
 - klikn te na General
 - zvolte Use Cuvette
 - nastavte parametr Pathlength optickou délku (ší ku) kyvety (viz specifikace výrobce kyvety)
 - dle požadavku nastavte míchadlo nebo oh íva
 - klikn te na Done

Detailn ji viz Obecná nastavení.

- 3. M ení blanku:
 - Vypl te istou a suchou kyvetu dostate ným množstvím roztoku blanku aby byla pokryta optická délká p ístroje.
 - Zvedn te rameno p ístroje a vložte kyvetu s blankem do držáku kyvety, ujist te se aby byla zarovnána optická dráha kyvety s optickou dráhou p ístroje.
 - Klikn te na Blank a vy kejte na dokon ení m ení.



- 4. M ení vzorku:
 - istou kyvetu vypl te do stejné výšky roztokem vzorku.
 - Vym te kyvetu s blankem za kyvetu se vzorkem, zkontrolujte zarovnání optické dráhy p ístoje a kyvety.
 - Klikn te na Measure.
 - Vy kejte na dokon ení m ení.
 - Vyjm te kyvetu.
 - Vy ist te kyvetu podle pokyn výrobce kyvety.

Související témata

- Modelové ady p ístroje a charakteristiky
- Meze detekce absorbance
- P íprava vzork a blank
- Acclaro Sample Intelligence
- Nastavení p ístroje
- Vyhledání databáze experimentu
- Export dat
- M ení mikro-objemových vzork

P íprava vzork a blank

P íprava vzork

 Vyizolujte a purifikujte vzorky p ed m ením v p ístroji. Pro tyto ú ely jsou dostupné komer ní kity pro izolaci, nebo použijte váš interní postup. Po purifikaci je zkoumaný analyt obvykle ve kapalném roztoku než se provede jeho analýza (m ení).

Tip: Molekuly které absorbují sv tlo p i vlnové délce analýzy p ispívají k hodnot celkové absorbance, ze které se vypo ítává concentrace vzorku.

- Ujist te se aby koncentrace analytu byla v rozsahu mezí detekce absorbance.
- Pro mikroobjemová m ení, jemn ale d kladn vortexujte každý vzorek p ed zahájením m ení.

Tip: Vysoce koncentrované nebo vysokomolekulové nukleové kyseliny jako je nap . genomická DNA, zah ejte p ed vortexováním na 63 °C (145 °F).

 Zabra te vzniku bublin p i míchání a pipetování. Pro více informací sledujte multimediální vzd lávání Vliv bublin ve vzorcích.



Poznámka Vzorky rozpušt né v extrémn t kavých rozpoušt dlech jako je nap . hexan optimáln analyzujte za pomocí kyvety (pouze v p ístrojích NanoDrop One^c)

Výb ram ení blanku

Pufr používaný k resuspedování vzorku m že p ispívat k absorbanci. Blankováním se tento p ísp vek absorbance vlivem komponent pufru minimalizuje. Výsledné spektrum vzorku reprezentuje pouze absorbanci zkoumaného analytu. Více informací, viz multimediální vzd lávání Co je to blank?).

Pro dosažení nejlepších výsledk :

- Pro v tšinu aplikací, blankujte stejným pufrem kterým resuspendujte zkoumaný analyt. Blakovací roztok by m I mít podobné pH a iontovou sílu jako analyt. Více podrobností viz "M ení vzork " v rámci dané aplikace.
- Zm te nový blank p ed každým souborem vzork . Není nutné blankovat p ístroj p ed m ením každého vzorku pokud jsou byly p ipraveny ve stejném rozpoušt dle.
- Provedt m ení nového blanku každých 30 minut.
- Spus te blankovací cyklus pro ov ení vhodností vašeho blankovacího roztoku p ed m ením vlastního vzorku. Pro rychlý p ehled viz multimediální trénink Vyhodnocení vhodnosti blankovacího roztoku.

Výsledné spektrum by se nem lo lišit o více než 0,04 A (ekvivalent 10 mm) nap í spektrem, p edevším p i vlnové délce analýzy jak je uvedeno p íkladem na obrázku vpravo.

Pokud je výsledné spektrum v tší než 0,04 A p i hodnotách vlnové délky analýzy, m že dojít k interferenci pufru s analyzovaným vzorkem zejména v p ípad nízko koncentrovaných vzork . Další podrobnosti viz text níže.

Problémy související s blankováním

- Zbytek vzorku byl ponechán na podstavci nebo v kyvet p ed tím než se provedlo m ení. (Výsledné spektrum m že vykazovat záporné hodnoty absorbance, blank indikuje vyšší absorbanci než vzorek v rámci spektra).
- M ení blanku vykazuje vyšší absorbanci než analyzovaný vzorek p i dané vlnové délce. (Pokud se pufr použitý jako blank liší složením od pufru použitého na resuspendování vzorku budou výsledky m ení nesprávné.
- Vzorek byl omylem použit na blankování p ístroje. (Výsledné spektrum vzorku vykazuje záporné hodnoty absorbance, nebo v n kterých p ípadech má charakter zrcadlov obraceného spektra ité nukleové kyseliny nebo proteinu podobn jako na obrázeku vpravo.





Vhodný blankovací pufr (m ená abs < 0.04)



Vzorek proteinu použitý k blankování p ístroje má za následek "zrcadlov obrácené" spektrum

ešení problému p i blankování

- Prove te d kladnou o istu a/nebo rekondici obou podstavc a následn
 - zopakujte blankovací cyklus nebo
 - zm te nový blank s novou alikvotní ástí vhodného pufru, potom zm te alikvotní ást neznámého vzorku
- Pro v tšinu aplikací, blankujte stejným pufrem kterým resuspendujte zkoumaný analyt. Blakovací roztok by m l mít podobné pH a iontovou sílu jako analyt. Více podrobností viz "M ení vzork " v rámci dané aplikace.
- Pokud budou p etrvávat problémy s blankováním doporu ujeme použít vhodn jší aplikaci jako nap . analýzu flurescence pomocí p ístroje NanoDrop 3300 nebo kolorimentrickou analýzu pokud stanovujete protein.

Spušt ní blankovacího cyklu

Spus te blankovací cyklus aby jste ov ili:

- správnou funk nost p ístroje (s rovnou základní linii)
- istotu podstavc (t.j. zda neobsahují zaschnuté zbytky vzork)
- p ísp vek absorbance pufrovacím roztokem, který plánujete použít p i analýze

Pot ebné vybavení

- nebavln né laboratorní ubrousky
- kalibrovaná p esná pipeta (0–2 µL)
- · roztok pufru pro vyhodnocení

Jak spustit blankovací cyklus

Pro rychlý p ehled sledujte multimediální výuku vhodnnosti blanku - "Evaluating a Blanking Solution for Suitability"

POZNÁMKA

- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.

- 1. Na základní obrazovce p ístroje vyberte aplikaci Nucleic Acids a zvolte volbu dsDNA nebo RNA.
- 2. Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te horní a dolní podstavec novým laboratorním ubrouskem.
- 3. M ení vodního blanku:
- Napipetujte 1 mL deionizované vody na dolní podstavec a sklopte rameno p ístroje.
- Klikn te na Blank a vy kejte na ukon ení m ení.
- Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- 4. M ení roztoku pufru:
 - Napipetujte 1-2 mL roztoku pufru na podstavce a sklopte rameno p ístroje.
 - Spust m ení vzorku:
 - Pokud je zapnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno.
 - Pokud je vypnutá funkce Auto-Measure sklopte rameno a klikn te na Measure.
- Po kejte na ukon ení m ení

Výsledné spektrum by se nem lo lišit o více než 0,04 A (ekvivalent 10 mm) nap í spektrem, p edevším p i vlnové délce analýzy jak je uvedeno p íkladem na obrázku vpravo.

Pokud tato podmínka není spln na opakujte kroky 2-4.

Pokud je p esto výsledné spektrum mimo uvedenou specifikaci viz ešení problém p i blakování.

- 5. Po ukon ení blakovacího cyklu klikn te na End Experiment.
- 6. Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.

Související témata

Meze detekce absorbance







P íklad spektra nevhodného pufru pro analýzu proteinu Protein A280

- Vliv bublin ve vzorcích
- Co je to blank?
- Zhodnocení vhodnosti blank
- Pé e o podstavce
- M ení mikro-objemových vzork
- M ení vzork s kyvetou

Základní ovládání pístroje





Základní obrazovka (Home Screen)

Obrazovky m ení





Základní ovládání

Základní obrazovka p ístroje NanoDrop One



Tyto funkce jsou dostupné na základní obrazovce p ístroje NanoDrop One.

Aplikace

P ístroj NanoDrop One nabízí širokou škálu aplikací pro m ení vzork . Výb r aplikace provedete kliknutím na pole Application volbou nap . Nucleic Acids), následn kliknout na application name a volit nap . dsDNA.

Klikn te zde pro více informací k jednotlivým aplikacím.

207

Stavový indikátor

Na základní obrazovce p ístroje klikn te na pro zobrazení stavového okna. Zobrazí se obdobné okno:

System Status	
Instrument type	NanoDrop One C
Serial number	AZY1400392
Instrument status	Instrument initialization complete
Data storage location	Local
Wi-Fi status	Connected to "E900_" IP: 192.168.1.158
Bluetooth status	Enabled No paired devices
Software product version	1.2.0.358 Build 01/28/16 09:53 AM
Platform release	1.2.0.194 Build 01/28/16 09:26 AM
Firmware version	145
Android release	3.6 .
Licenses	ОК

Níže je uveden popis zobrazených informací.

Instrument type	Modelová ada p ídtoje (NanoDrop One nebo NanoDrop One ^c)
Serial number	Výriobní íslo pístroje
Instrument status	Aktuální stav p ístroje
Data storage location	 Zobrazuje umíst ní databáze kam p ístroj ukládá data. Dostupné možnosti: Local (p ístroj) Connected PC * (PC p ipojený pomocí sí ového kabelu Ethernet nebo pomocí bezdrátové sít)
	 Výše uvedené volby (sí ová a bezdrátová) rovn ž zálohují data do p ístroje
Wi-Fi status	Stav Wi-Fi p ipojení p ístroje ("Connected to", "Enabled and not connected" nebo "Disabled")
Bluetooth status	Stav Bluetooth p ipojení p ístroje ("Connected to", "Enabled- [seznam spárovaných za ízení] nebo "Disabled")
Software product version	Aktuální verze nainstalovaného softwaru p ístroje NanoDrop One
Platform release	Vývojová platforma pro podporu pístroj NanoDrop One

Firmware version	Instalovaná verze firmware p ístroje
Android release	Kód verze instalovaného opera ního systému Android
Android version	Aktuální verze instalovaného opera ního systému Android

Prohlíže dat (Data Viewer)

Na základní obrazovce p ístroje klikn te na ikonu dob (v daném dni, týdnu, m síci, posledních šesti m sících, poslední rok nebo ve specifikovaném asovém intervalu. Klikn te zde pro zobrazení více informací o prohlížení dat na p ístroji.

Poznámka P ístroj Vám umožní zobrazit pouze data z lokální NanoDrop One databáze. Pokud je p ístroj p ipojen pomocí sí ového kabelu (Ethernet) nebo pomocí bezdrátové sít nebude ikona prohlíže e dat dostupná.

Nastavení p ístroje (Instrument Settings)

Na základní obrazovce klikn te na ikonu pro p ístup do nastavení funkcí p ístroje jako je WiFi a použití kyvety. Klikn te zde pro zobrazení dalších možností nastavení p ístroje.

Diagnostika p ístroje (Instrument Diagnostics)

Na základní obrazovce klikn te na ikonu pro ov ení ovládání p ístroje. Diagnostika p ístroje by se m la spoušt t pravideln na základ plánu údržby. Klikn te zde pro zobrazení informací o spušt ní dalších možností diagnostiky p ístroje.

209

Školení a nápov da

Na základní obrazovce klikn te na ikonu pro p ístup do systému nápov dy. Sowtware p ístroje NanoDrop One disponuje komplexním školením a podporou. Klikn te zde pro vyhledávání dalších informací v nápov d.

Související témata

- Aplikace
- Nastavení p ístroje
- Prohlíže dat NanoDrop One Data Viewer
- · Nastavení p ístroje
- Diagnostika p ístroje
- · Informace o systému návov dy
- M ení mikroobjemových vzork
- M ení vzork s kyvetou

NanoDrop One - obrazovka m ení

Tyto funkce jsou dostupné ze všech obrazovek m ení v rámci dané aplikace.


Název vzorku

Editaci názvu vzorku provedete kliknutím na pole Sample Name na obrazovce m ení.

Pokud je zapnutá funkce Auto-Naming (nastavená na ON) (viz Obecné nastavení), každému vzorku se p i adí automatický ko enový název následovaný po adovým íslem za ínajícím od hodnoty "1". Poprvé se toto zobrazí po zm ení prvního blanku a p ed m ením prvního vzorku v každém experimentu jak je zobrazeno níže.

Defaultní název vzorku; kliknutím editovat



Na uvedeném p íkladu bude název prvního vzorku "Sample 1" následující "Sample 2" atd. Je možné editovat defaultní název a p ejmenovat ho.

Poznámka Pokud editujete název vzorku v pr b hu experimentu a funkce Auto-Naming je zapnutá, identifikátor vzorku (ID) se restartuje.

Editace dafaultního kmenového názvu vzorku

Než spustíte m ení blanku a m ení prvního vzorku prove te následující:

- klikn te na pole Sample Name pro zobrazení klávesnice
- zadejte nový kmenový název
- klikn te na Done

Editace názvu vzorku

- na základní obrazovce klikn te na ikonu 🔤 pro otev ení prohlíže e dat
- vyberte experiment
- posunutím prstem doleva zobrazíte tabulku dat
- zmá knutím a podržením názvu vzorku zobrazíte detailní informace o vzorku
- kliknutím na pole Sample Name zobrazíte klávesnici

Sample Details	Pedestal	A280	
Sample Name	Sample 2	0.98	
Created on	9/10/2015 1:55:47 PM	00.47	

- zadejte nový název vzorku
- klikn te na Done

Výsledky m ení

Typ výsledk , které se zobrazí na obrazovce m ení závisí na zvolené aplikaci. Detailn ji viz:

Aplikace > [skupina aplikace] > M ení [název aplikace] > Výsledky m ení

Zde je uveden p íklad pro dsDNA.

Spektrum absorbance

Pro každý zm ený vzorek se v rámci dané aplikace zobrazí UV a UV-VIS spektrum absorbance a souhrn výsledk . Svislá osa zobrazuje hodnoty absorbance (A). Vodorovná osa zobrazuje vlnovou délku v nm.

Optická dráha vzorku

Všechny aplikace zobrazují stejnou dráhu vzorku podél svislé osy spektra. Absorbance mikoobjemových m ení a m ení s nestandardní kyvetou jsou normalizovány na ekvivalent 10,0 nm optické dráhy.

Výstrahy m ení

Technologie Acclaro Sample Intelligence zabudovaná v p ístroji NanoDrop One zahrnuje podstatné prvky umož ující zachování integrity analyzovaného vzorku. Klikn te na ikonu Acclaro Sample Intelligence v programu p ístroje pro zobrazení souvisejících informací. Další informace klikn te na link uvedený níže.



analýza kontaminant umož uje kvalifikovat vzorek p ed následnou analýzou



technická podpora na požádání je dostupná pro atypická m ení nebo m ení nízko koncentrovaných vzork



výstraha chybných výsledk

Blank

Klikn te na Blank pro m ení blanku ve zvoleném experimentu.

Blank musí být zm en p ed každou skupinou podobných vzork . Typický roztok blanku je istý pufr který byl použit na resuspendování vzorku. Více informací viz Výber a m ení blanku.

M ení

Klikn te na Measure pro m ení vzorku ve zvoleném experimentu.

Vzorky musí být ádn izolovány a p ipraveny p ed vlastním m ením v p ístroji a koncentrace se musí pohybovat v mezích detekce absorbance p ístroje. Více informací, viz P íprava vzork a M ení mikroobjemových vzork nebo M ení vzork s kyvetou a Meze detekce absorbance.

Poznámka Tla ítko Measure se stane dostupné po ukon ení platného m ení blanku.

Funkce Auto-Measure a Auto-Blank

Urychlete analýzu na p ístroji NanoDrop One pomocí funkcí Auto-Measure a Auto-Blank, které spustí m ení bezprost edn po sklopení ramene p ístroje. Tato možnost eliminuje pot ebu opakovaného m ení nebo blankování p i analýze v tšího souboru vzork .

Poznámka Funkce Auto-Measure a Auto-Blank jsou dostupné pouze pro mikroobjemová m ení.

Auto-Measure

Zapnutí nebo vypnutí funkce Auto-Measure, na každé obrazovce m ení vzorku, provedete kliknutím na tla ítko On nebo Off vpravo od tla ítka Measure.



Auto-Blank

Zapnutí nebo vypnutí funkce Auto-Blank, na každé obrazovce m ení blanku, provedete kliknutím na tla ítko On nebo Off vpravo od tla ítka Blank



Ukon ení experimentu

Klikn te na End Experiment pokud jste p ipraveni pojmenovat váš projekt a uložit ho, p id Ite ozna ení, které vám pom že pozd ji lokalizovat experiment (viz Správa identifikátor na p ístroji), nebo exportovat data.

Poznámka Funkce End Experiment je dostupná po ukon ení prvního m ení vzorku.

215

Detailní informace o vzorku

Zmá kn te a podržte vybranou datovou adu vzorku na obrazovce m ení nebo datovou tabulku pro zobrazení detailních informací o vzorku, která zahrnuje všechny dostupné výsledky m ení a související údaje zvoleného vzorku. Níže je uveden p íklad:

	Sample 3	Load #3	
#	Sample Details	Pedestal	A280
1 6	Sample Name	Sample 2	0.98
2	Created on	9/10/2015 1:55:47 PM	33.47
	Nucleic Acid	3005.4 ng/µL	
	A260/A280	1.80	
	A260/A230	2.20	
	A260	60.11	
	A280	33.47	
	Factor	50.00	
dsDNA 🔔		ок	Î
Bla	nk	Measure ON	End Experiment

Poznámka M žete též editovat jméno vzorku z okna Sample Datails.

Datová tabulka

Posunutím prstem doleva na každé obrazovce m ení zobrazíte datovou tabulku aktuálního experimentu. Datová tabulka obsahuje výsledky m ení všech vzork daného experimentu. Na obrázku níže jsou zobrazeny dostupné funkce.



aplikace

Ovládání stránek; posunutím prstem doprava návrat na obrazovku m ení

Související témata

- Kvantifikace nukleových kyselin
- Kvantifikace protein
- Nastavení p ístroje
- Tisk dat
- Acclaro Sample Intelligence

- P íprava vzork a blank
- Vyhledávání databáze experimentu
- · Export dat
- M ení mikrobjemových vzork
- M ení vzork s použitím kyvety

NanoDrop One Data Viewer (Prohlíže dat)

Prohlíže dat (Data Viewer) otevírá databázi s uloženými daty vzork , které byly nam eny p ístrojem. Data se ukládají podle datumu jejich vytvo ení, názvu experimentu, použité aplikace p ípadn jiného ozna ení (viz Správa identifikátor).

V prohlíže i dat (Data Viewer) m žete vyhledávat a vybírat experiment s nam enými daty, nebo exportovat vybraný experiment na r zná úložišt a do r zných formát soubor .

Tyto funkce jsou dostupné z prohlíže e dat (Data Viewer).

Menu s možnostmi;	Aktuální as	Vyhledat ex	xperiment nebo	Vybrat o	experimenty	
	intervalu	Zm nit litt	asoveno rozsanu	pro exp		
📃 🖳 Data Viewer	18 experir	nents found	Search	Select		
Last week						
Tuesday, Septemb	er 8, 2015		4 experim	nents found	Kliknutím na	
Monday, September 7, 2015 1 experiment found experiment						
Sunday, Septembe	provedených v p íslušný dan; kliknutím na					
Saturday, Septemb						
Friday, September 4, 2015 1 experiment found					otev ít	
Thursday, Septeml	ber 3, 2015		2 experim	nents found	experiment	
Wednesday, Septe	mber 2, 2015		6 experim	nents found		
		•				

Otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)

Jestli shromáždíte jeden nebo více vzork v ad , poté co zmá knete End Experiment, p íslušná dat se automaticky uloží do experimentu podle názvu experimentu. P i defaultním nastavení se experimenty ukládají do databáze p íslušného p ístroje NanoDrop One podle datumu vytvo ení dat, názvu experimentu, použité aplikace p ípadn jiného ozna ení.

Použijte prohlíže dat (Data Viewer) na otev ení databáze uložené na p ístroji pro zobrazení spekter a souvisejících dat libovolného experimentu v kterémkoliv ase.

Otev ení databáze pístroje a výsledk m ení

Poznámka Prohlíže dat (Data Viewer), není dostupný na základní obrazovce p ístroje pokud je p ístroj p ipojen k PC prost ednictvím sí ového kabelu (Ethernet) nebo bezdrátov (více podrobností viz Nastavení p ístroje).

Menu

Klikn te na ikonu 📃	Data Viewer pro zobrazení dostupných funkcí.
Home	Návrat do základní obrazovky p ístroje NanoDrop One
Settings	Zobrazení nebo zm na nastavení pístroje
Import	Import dat z USB flash za ízení
Disk Status	Zobrazení zbývající kapacity pam ti pístroje pro ukládání mených da

Vyhledávání databáze experimentu

V prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na Search pro vyhledávání vybrané databáze experimentu nebo zm nu asové ady p ípadn jiný vyhledávácí filtr. Podle aktuálního nastavení bude filtrována databáze ve vyhledávacím okn (Search box). Filtry zahrnují asový rozsah, typ aplikace a jiné uživatelsky definované ozna ení (viz Správa identifikátor pro informace jak p idat nebo smazat ozna ení). Níže je uveden p íklad:

Kliknutím zm nit filtr asové rozsahu		Zm te filtr a klikn te na OK pro zobrazení aktualizovaného seznamu experiment				
	Jund Data Viewer	No experiment found Search Select				
Today	Search					
	Sele :t time range:					
	Last six months					
	Application type filtering (# of types found: 4)					
	User identifier filtering (#	of identifiers found: 1)				
5	# of experiments foun	d: 21				
		Cancel OK				

Kliknutím vybrat nebo zrušit uživatelský definovaná

Kliknutím vybrat nebo zrušit filtry aplikace

ozna ení

Export vybraných experiment

V prohlíže i dat (Data Viewer) zvolte Select pro zobrazení seznamu získaných experiment, které plánujete exportovat.

Export vybraných experiment

- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na seznam experiment získaných v p íslušný den _ nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- vložte USB pam ové za ízení do volného USB portu p ístroje (p edního, zadního levého _ nebo zadního pravého))
- klikn te na Select _

- kliknutím vyberte jeden nebo více experiment na export (znovu kliknutím experiment odzna íte)
- klikn te na Export
- zvolte jeden nebo více formát do kterých se exportuje soubor (podrobnosti viz "Exportování dat" v kapitole Základní ovládání)

Export
You can export your data in three formats:
Spreadsheet measurement data (.csv file)
Spectrum data (.tsv file)
NanoDrop One Data Viewer file (.sql file)
Cancel Export

- klikn te na Export
- po zobrazení zprávy "Export Success" klikn te na OK

Smazání vybraných experiment

Zvolte Select v prohlíže i dat (Data Viewer) pro výb r experiment , které chcete smazat.

Smazání vybraných experiment

- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na adu pro zobrazení seznamu získaných v p íslušný den nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- klikn te na Select
- kliknutím vyberte jeden nebo více experiment ur ených ke smazání (op tovným kliknutím odzna íte experiment)
- klikn te na Delete potom na OK

POZNÁMKA Smazaná data nelze obnovit.

Otev ení experimentu a prohlížení souvisejících dat

Použijte prohlíže dat (Data Viewer) pro lokalizaci a otev ení experimentu a zobrazení obsahujících dat.

Otev ení experimentu

- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na adu pro zobrazení seznamu získaných v p íslušný den nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- klikn te na experiment name pro otev ení experimentu

Níže je uveden p íklad:

Dev t experiment nam ených v tento datum

	2 Data Viewer	35 experiments loaded	Search Select
Last month			
- Frida	y, September 4, 2015		8 experiments found
Thur	sday, September 3, 20	015	9 experiments found
8	dsDNA_09/03/2015 15:3	7:19	8 measurements
*	Microarray		7 measurements
8	Oligo DNA_09/03/2015 1	5:03:34	7 measurements
8	RNA_09/03/2015 14:57:	18	7 measurements
*	Microarray_09/03/2015	4:41:48	9 measurements
8	dsDNA_09/03/2015 06:4	4:38	2 measurements
aller .	Protein A280_09/02/201	5 19:4 5:07	3 measurements

Kliknutím otev ít experiment; zmá knutím a podržením zobrazit detailní informace o projektu v etn p idružených ozna ení

Pohlíže dat (Data Viewer) poskytuje nam ená data jako jsou spektralní data a datové tabulky, v obdobném schématu jako když ukon íte m ení.

Poznámka Zobrazená data závisí na typu použité aplikace která byla zvolena pro m ení vzork (v uvedeném p íkladu vzork nukleových kyselin. Více informací viz podrobnosti aplikací.

Spektrální data -

Po otev ení experimentu, software zobrazí UV a UV-Vis spektrum absorbance a souhrn souvisejících dat pro první zm ený vzorek, velmi podobn jako v pr b hu m ení. Na obrázku níže jsou popsány dostupné funkce.



Datová tabulka —

Posunutím prstem doleva na obrazovce se spektry se zobrazí datová tabulka p íslušného experimentu. Datová tabulka obsahuje výsledky m ení všech vzork experimentu. Na obrázku níže jsou popsány dostupné funkce.

Menus	s možnostmi;	Vybranný	_Kliknutín	n Výsle	dkym en	í; více infor	mací
kliknut	tím otev ít	experiment	vybrat jed	lnotky viz Ap	olikace		
	네. Data Viewer	dsDNA_0 <mark>7/03/2011</mark>	15:37:19				Upozorn ni m ení; kliknutím
#	Sample Nan	ne▼ ng/µL ▼	A260/A280	A260/A230	A260	A280	_ zobrazit více
1	1 Sample 1	-0.4	2.06	0.77	-0.01	0.00 —	- Kliknutím na
2	Sample 2	1544.2	1.86	2.28	30.88	16.60	adu výb r
3	Sample 3	3011.3	1.85	2.25	60.23	32.51	kliknutím na
4	Sample 4	3023.1	1.86	2.26	60.46	32.46	adu podržením
5	Sample 5	3119.4	1.85	2.25	62.39	33.64	zobrazit
6	Sample 6	3030.9	1.86	2.26	60.62	32.61	podrobnosti o vzorku.
7	1 Sample 7	0.2	0.38	1.73	0.00	0.01	
8	1 Sample 8	-0.2	0.43	-5.09	0.00	-0.01	

dsDNA

Zvolená aplikace

Ovládání stránek; posunutím prstem doprava zobrazit p edcházející obrazovku (2)

Menu

Klikn te na ikonu 🔲 z kterékoliv obrazovky spektrálních dat nebo datové tabulky pro zobrazení dostupných funkcí.						
Home	Návrat na domovskou stránku p ístroje NanoDrop One					
Manage Identifiers	P idat nebo smazat ozna ení vybraných experiment pro usnadn ní vyhledávání (viz Správa identifikátor na p ístroji).					
Export	Export vybraného experimentu na USB za ízení					
Print	Tisk vybraných výsledk m ení (možnost tisku se zobrazí pouze pokud je vybrán jeden nebo více výsledk m ení v tabulce dat)					

Settings	Prohlížení nebo zm na nastavení p ístroje.
Disk Status	Zobrazení zbývající kapacity pam ti p ístroje pro ukládání m ených dat

Související témata

- Nastavení p ístroje
- Vyhledávání databáze experimentu
- · Export dat
- Tisk dat

Hlavní menu pístroje NanoDrop One

Tyto funkce ovládání jsou dostupné z kterékoliv obrazovky m ení nebo z prohlíže e dat (Data Viewer).

Správa identifikátor (na pístroji)

M žete p idat jeden nebo více "identifikátor " (t.j. ozna ení nebo metadatové štítky) k experimentu aby ho bylo možné snadn ji vyhledat. Ozna ení je možné p idat v softwaru nainstalovaného na p ístroji NanoDrop One nebo ze softwaru prohlíže e (NanoDrop One Viewer) nainstalovaném na PC. (viz Správa identifikátor na PC).

Použijte prohlíže dat (Data Viewer) pro p idání ozna ení experiment , p i azení existujících ozna ení, prohlížení p i azených ozna ení a odstran ní ozna ení na p ístroji. Je možné filtrovat seznam experiment v prohlíže i dat (Data Viewer) na základ uživatelsky definovaných ozna ení.

Ozna ení nového experimentu když ho ukládáte

- po nam ení posledního vzorku klikn te na
- v položce End Experiment klikn te na pole Add Identifier
- použijte zobrazenou klávesnici pro zadání ozna ení a klikn te na (🕂
- klikn te na Done
- klikn te na End Experiment



Ozna ení experimentu v prohlíže i dat (Data Viewer)

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🖳 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- kliknutím otev ete experiment
- klikn te na ikonu **e** a zvolte Manage Identifiers
- v poli Manage Identifiers box klikn te na pole Add Identifier
- použijte zobrazenou klávesnici pro zadání ozna ení a klikn te na (+)
- klikn te na Done
- klikn te na OK

Zobrazení p i azených ozna ení experimentu

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🖳 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- zmá kn te a podržte vybraný experiment pro pohlížení podrobností o experiment

Vyhledání ozna ených experiment

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🖳 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- klikn te na Search
- ve vyhledávacím poli zadejte asový rozsah, vyberte aplikaci (zobrazují se pouze aplikace s p i azenými daty), vyberte jedno nebo více ozna ení ze skrolovatelného seznamu a klikn te na OK

Smazání ozna ení

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🖳 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- kliknutím otev ete experiment
- klikn te na ikonu 🔳 a zvolte Manage Identifiers
- v poli správy indentifikátor vyberte ozna ení a klikn te na ikonu
- klikn te na OK

Export vybraných m ení

Je možné exportovat nam ená data z jednoho nebo více experiment když experiment ukládáte nebo pozd ji z prohlíže e dat (Data Viewer).

Poznámka Data exportovaná v pr b hu ukládání jsou po ád ukládána do databáze (lokání nebo vzdálené, v závislosti na nastavení ukládání dat; více informací viz Volba místa pro uložení nebo prohlížení nasbíraných dat.

Nam ená data mohou být uložena do t ech typ formátu:

- · jako hodnoty odd lené árkami (souborový formát .csv), obsahující nam ené výsledky a podrobnosti
- jako hodnoty odd lené tabulátory (souborový formát .tsv), obsahující x, y sou adnice pro každý bod spektra
- do souborového formátu prohlíže e NanoDrop One (souborový formát .sql), obsahující spektra a výsledky m ení, které lze importovat do programu NanoDrop One Viewer nainstalovaném na PC.

Názvy soubor jsou totožné s názvem experimentu. Soubory se ukládají do složky s názvem "NanoDropOne" následované výrobním íslem p ístroje. (Výrobní íslo lze zobrazit pomocí Stavu systému).

Pokud vyberete n kolik experiment pro export do formát CSV a TSV, každý exportovaný experiment bude mít samostatný CSV a TSV soubor. Pokud je rovn ž zvolena volba SQL, exportovaný SQL soubor bude obsahovat všechny uložené experimenty.

Použijte tabulkový procesor (spreadsheet) nebo textový editor pro otev ení soubor CSV a TSV. Níže je uveden p íklad výsledk m ení uložených do formátu CSV:

	A	В	С	D	E	F	G	Н	1	J
1	Date	Sample Name	Nucleic Acid	A260/A280	A260/A230	A260	A280	Nucleic Acid Factor	Baseline	(nm)
2	4/21/2015 15:37	Sample 1	0.3	0.7	0.56	0.01	0.01	33	340	
3	4/21/2015 15:42	Sample 2	0.37	0.94	0.86	0.01	0.01	33	340	
4	4/21/2015 15:44	Sample 3	0.43	0.98	0.74	0.01	0.01	33	340	
5	4/21/2015 15:44	Sample 4	0.18	2.1	0.83	0.01	0	33	340	
6	4/21/2015 15:45	Sample 5	0	0.07	0.02	0	0	33	340	
7	4/22/2015 8:57	Sample 6	-0.52	2.11	0.66	-0.02	-0	33	340	
8										

Poznámka Zobrazená data závisí na typu použité aplikace která byla zvolena pro m ení vzork (v uvedeném p íkladu vzork nukleových kyselin. Více informací viz podrobnosti aplikací.

Soubor typu SQL je možné otev ít v programu NanoDrop One Viewer a to pouze po importování dat.

Data je možné exportovat na USB za ízení p ipojené k USB portu p ístroje (p ednímu, zadnímu levému nebo zadnímu pravému USB portu), a následn je p esunout do PC, který disponuje tabulkovým procesorem nebo textovým editorem (platí pro soubory CSV a TSV) nebo do programu NanoDrop One Viewer (platí pro soubory SQL).

Export dat na konci experimentu

p ipojte USB pam ové za ízení do volného USB portu p ístroje (p edního, zadního levého nebo zadního pravého)

227

_

po ukon ení m ení vzork klikn te na End Experiment
z okna End Experiment klikn te na Export
vyberte jeden nebo více formát pro export (detailn ji viz výše v textu)
Export
You can export your data in three formats:
Spreadsheet measurement data (.csv file)
Spectrum data (.tsv file)
NanoDrop One Data Viewer file (.sql file)
Cancel Export
klikn te na Export

- po zobrazení zprávy "Export Success" klikn te na OK
- odpojte USB za ízení
- klikn te na End Experiment

Export dat z prohlíže e dat - programu Data Viewer

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🖳 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na adu pro zobrazení seznamu získaných v p íslušný den nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- vložte USB pam ové za ízení do volného USB portu p ístroje (p edního, zadního levého nebo zadního pravého)
- klikn te na Select
- kliknutím vyberte jeden nebo více experiment pro export (znovu kliknutím odzna te experiment)
- klikn te na Export

zvolte jeden nebo více formátu pro export (viz výše v textu)



- klikn te na Export
- po zobrazení zprávy "Export Success" klikn te na OK

Smazání vybraných m ení

Je možné smazat nam ený vzorek z kteréhokoliv experimentu.



Smazání dat na obrazovce m ení

- zmá kn te a podržte adu pro otev ení okna Sample Details
- klikn te na ikonu III

Smazání dat v prohlíže i dat - programu Data Viewer

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu **Leg** pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na adu pro zobrazení seznamu získaných v p íslušný den nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- zmá kn te a podržte adu pro otev ení okna Sample Details
- klikn te na ikonu m

229

Tisk vybraných m ení

P ipojte k p ístroji kompatibilní tiskárnu pro rychlý tisk nam ených výsledk zahrnující spektrální data a podrobnosti o vzorcích - m žete poté umístit do laboratorního zápisníku nebo na laboratorní nást nku.

Tisk dat z obrazovky m ení

- po nam ení vzorku, zobrazte výsledky m ení ur ené k tisku jako jsou spektrální data nebo tabulky dat (viz Obrazovky m ení p ístroje NanoDrop One).
- kliknutím vyberete jednu nebo více ad ur ených k tisku (znovu klinutím adu odzna íte)
- klikn te na ikonu 📃 a zvolte Print 📑
- v poli Print information klikn te na OK

Jedno ozna ení se vytiskne pro každý vybraný experiment.

Tisk dat z prohlíže e dat - programu Data Viewer

- na domovské obrazovce klikn te na ikonu 🔤 pro otev ení prohlíže e dat (Data Viewer)
- v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na adu pro zobrazení seznamu získaných v p íslušný den nebo použijte funkci Search pro vyhledání experimentu
- klikn te na experiment name pro otev ení experimentu
- z obrazovky m ení se spektrálními daty nebo tabulky dat nebo z prohlíže e dat (Data Viewer) kliknutím vyberte jednu nebo více ad ur ených k tisku (znovu kliknutím odzna íte adu)
- 🛛 klikn te na ikonu 📃 a zvolte Print 🖃
- v poli Print information klikn te na OK

Jedno ozna ení se vytiskne pro každý vybraný experiment.

Tisk podrobností vzorku

 z obrazovky m ení se spektrálními daty nebo tabulky dat nebo z prohlíže e dat (Data Viewer) zmá knutím a podržením ady vzorku otev ete pole Sample box.

Sample Name	Sample 3	
Created on	9/3/2015 3:34:32 PM	
Nucleic Acid	3011.3 ng/µL	
A260/A280	1.85	
A260/A230	2.25	
A260	60.23	
A280	32.51	
Factor	50.00	

- klikn te na ikonu 📑
- v poli Print Information zvolte OK

Jedno ozna ení se vytiskne pro každý vybraný experiment.

Související témata

- Nastavení p ístroje
- Prohlíže dat NanoDrop One Viewe
- Vyhledávání databáze experimentu
- · Výb r experimentu pro export nebo smazání
- Otev ení experimentu

Nastavení pístroje

Prohlížení nebo zm na nastavení p ístroje

- na domovské stránce klikn te na nebo
- na kterékoliv obrazovce m ení nebo v prohlíže i dat (Data Viewer) klikn te na ikonu a zvolte Settings



Dostupné možnosti nastavení p ístroje:

Systémové nastavení

Dostupné možnosti nastavení:

Wi-Fi	Nastavení p ipojení k p ístroji pomocí lokální bezdrátové sít (WLAN)
Bluetooth	Nastavení p ipojení prost ednictvím Bluetooth bezdrátových za ízení jako je nap . klávesnice, myš nebo te ka árových kód .
Language	Nastavení ovládacího jazyka softwaru NanoDrop nebo ostatních p ipojených vstupních za ízení jako e nap . klávesnice, myš nebo te ka árových kód .
	Poznámka: Zm na ovládacího jazyka vyžaduje restart softwaru.

Date and Time	Automatic date & time : synchronizuje datum a as p ístroje s dostupnou sítí
	Automatic time zone : synchronizuje asové pásmo p ístroje s dostupnou sítí
	Set date : ru ní nastavení data v p ístroji (tato funkce je nedostupná pokud je aktivována položka Automatic Date & Time)
	Set time : ru ní nastavení asu v p ístroji (tato funkce je nedostupná pokud je aktivována položka Automatic Date & Time)
	Set time zone : ru ní nastavení asového pásma v p ístroji (tato funkce je nedostupná pokud je aktivována položka Automatic Date Time Zone)
	Use 24-hour format : použít 24-hodinový formát
	Choose date format : vybrat dostupný formát data
Brightness	P izp sobení jasu obrazovky p ístroje
Sound Volume	Nastavení velikosti obrazovky pístroje
Update Software	Prove te akutalizaci softwaru p ístroje NanoDrop One pomocí p ipojeného USB za ízení; pokud p ipojené USB za ízení obsahuje r zné aktualiza ní soubory vyberte který chcete použít (více informací viz Aktualizace Softwaru)
	Version : verze nainstalovaného opera ního softwaru v p ístroji NanoDrop One
	Database version : verze databáze v p ístroji NanoDrop One

Obecná nastavení

Dostupné jsou následující funkce:

Auto-naming

Automatické p i azování názvu vzork na základe kmenového názvu následovaného po adovým íslem za ínajícím od "1". Použije se defaultní název ("Sample") nebo uživatelsky definovaný název. Více podrobností viz Název vzorku. Use cuvette Zvolte metodu analýzy vzorku v kyvet (dostupné pouze s p ístrojem NanoDrop One^c). Pokud je zvolena zobrazí se další dostupné volby:

> Pathlength: Zadejte optickou délku (ší ku) kyvety než zahájíte blankování nebo m ení vzorku v kyvet (viz pokyny a specifikace výrobce kyvety)

Stir Speed: Pokud je zvoleno automatické míchání, vložte micro-stir bead do vzorkovací kyvety a nastavte rychlost míchání (Stir Speed) (stupn 1 až 9 odpovídají rozsahu 10 až 850 otá ek za minutu s kontrolním rampováním od nuly)

Zah átí kyvety na 37 °C: Zvolte tuto funkci pokud je pot eba oh át kyvetu. Oh íva kyvety zvyšuje teplotu od pokojové teploty do hodnoty 37 °C rychlostí 5 °C za minutu.

Dye/Chrom. Editor

Program Dye/Chromophore Editor slouží k p idání nebo smazání barviv dostupných v Nastavení mikro ipu nebo v Nastavení protein a zna ení. Je možné též specifikovat které barvivo bude v tomto seznamu dostupné.

Protein Editor

Program Protein Editor slouží k p idání uživatelského proteinu do seznamu dostupných protein v aplikaci Protein A280.

Související témata

- Nastavení p ístroje
- Update softwaru
- M ení vzork s použitím kyvety
- Nastavení sí ového p ipojení (Ethernet)
- Dye/Chromophore Editor
- Protein Editor



Acclaro Sample Intelligence

Technologie Acclaro Sample Intellligence zabudovaná v p ístroji NanoDrop One zahrnuje následující prvky umož ující zachování integrity analyzovaného vzorku:

analýza kontaminant umož uje kvalifikovat vzorek p ed následnou analýzou

technická podpora na požádání je dostupná pro atypická m ení nebo m ení nízko koncentrovaných vzork

výstraha chybných výsledk (sloupcový senzor monitoruje p ítomnost bublin nebo reflektujících ástic, které mohou znehodnotit výsledky m ení



Prostudujte tyto informace, které vám pomohou odstranit problémy p i analýzách a pomohou rozhodnout zda p i atypických výsledcích tyto výsledky použit nebo repurifikovat vzorek nebo p ijmout jiná opat ení. Technologie Sample Intelligence rovn ž slouží pro další studium a jako vyúková pom cka pro nové studenty.

Zobrazení informací o technologii Acclaro Sample Intelligence

M ení zahrnující analýzu kontaminantu nebo technické informace jsou automaticky ukládány (viz p íklad níže). Klikn te na ikonu pro prozkoumání souvisejících informací.



Ikony se zobrazí vedle výsledk m ení (viz obrázek výše), v tabulce dat a rovn ž v prohlíže i dat (Data Viewer) (viz obrázek níže).

E		면접 Data Viewer dsDN					
	#	Sample Name *	ng/µL ▼	A260/A280	A260/A230	A260	A280
	1	i Sample 1	632.8	1.57	0.70	12.66	8.05
	2	i Sample 2	633.7	1.57	0.70	12.67	8.06
	3	Sample 3	518.2	1.56	0.69	10.36	6.63
	4	Sample 4	519.3	1.56	0.70	10.39	6.64
	5	Sample 5	516.4	1.56	0.69	10.33	6.63
	6	Sample 6	876.3	1.80	2.24	17.53	9.71

Ikony jsou aktivní na všech t ech místech; tato informace z stane aktivní na neur itou dobu i když data exportujete.

Analýza kontaminant

Pro aplikace dsDNA, RNA a Protein A280 p ístroj NanoDrop One provede automaticky spektrální analýzu n kolika známých kontaminant v pr b hu m ení. P íklady známých kontaminant zahrnují:

- pro kvantifikaci dsDNA a RNA:
 - v oblasti analýzy: protein a fenol
 - rovn ž detekuje p ítomnost guanidinu HCI a guanidium thiokyanátu
- pro kvantifikaci protein :
 - v oblasti analýzy: nukleové kyseliny a fenol

Pokud jsou ve vzorku detekovány kontaminanty, zobrazí se vlevo vedle m ení ikona A contaminant Analysis"



Klikn te na tuto ikonu pro zobrazení analýzy kontaminantu a souvisejících informací.

Zde je uveden p íklad výsledk analýzy kontaminantu p i kvantifikaci nukleové kyseliny, která obsahuje zna né množství kontaminantu jenž ovliv uje výsledky m ení.



¹Stanoveno z celkové absorbance vzorku (vzorek plus kontaminant)

² Stanoveno z korigované absorbance vzorku (vzorek mínus kontaminant)

Protože proteiny absorbují sv tlo v oblasti vlnových délek nukleových kyselin (230 nm, 260 nm a 280 nm), p ítomnosti protein ve výše uvedeném vzorku nukleové kyseliny posunula hodnoty pom r istoty A260/A280 a A260/A230 mimo rozsah a zp sobila, že uvedená koncentrace nukleové kyseliny je vyšší než reálná hodnota. Software identifikuje ne istotu (protein) a oznámí následují:

- korigovaná hodnota absorbance v d sledku p ítomnosti proteinu (2,83) p i vlnové délce analýzy (260 nm)
- % koeficient variace výsledk m ení (nejistota x 100/nam ený výsledek = 5,3 %; vysoká hodnota tohoto koeficientu indikuje, že výsledky m ení se blíží mezím detekce p ístroje nebo ukazuje na p ítomnost interferující látky)

- p vodní koncentrace nukleové kyseliny (451,2 ng/ml), která je odvozena z celkové korigované absorbance (vzorek plus kontaminant) p i vlnové délce analýzy
- korigovaná koncentrace nukleové kyseliny (311,9 ng/ml), která je odvozena z korigované absorbance (vzorek mínus kontaminant) p i vlnové délce analýzy

Teorie analýzy kontaminant

M ení absorbance UV a UV-VIS se používá ke kvantifikaci vzork nukleových kyselin a protein p i 260 nm reps. 280 nm. Analýza je založena na skute nosti, že celková absorbance vzorku p i dané vlnové délce se rovná sou tu hodnot absorbancí jednotlivých komponent roztoku.

Pokud jsou tyto kontaminanty p ítomné ve vzorku, mohou interferovat s analýzou zvyšováním absorbance p i zkoumané vlnové délce. D sledkem je nadhodnocení koncentrace analytu.

Pom ry istoty se tradi n používají ke stanovení p ítomnosti kontaminant které by mohli ovlivnit následující analýzy. Pom ry istoty však nemusí být posta ující pro zjišt ní možné kontaminace vzorku. Pokud pom ry istoty dosáhnou hodnotu mimo o ekávaný interval, tak se spektrální profil hodnotí kvalitativn.

Naše technologie Acclaro aplikuje kvanitativní p ístpup v analýze kontaminant. Pomocí sofistikovaného matematického algoritmu technologie Acclaro analyzuje spektrální data aby se stanovili pravd podobné kontaminanty ve vzorku a eliminoval jejich p ísp vek od výsledk analýzy. Výsledkem je p esn jší hodnota koncentrace zkoumaného analytu a kvalitativn jší analýza stupn kontaminace.

Zatímco spektrum isté látky (složky) je jedine né, spole né spektrum v tšiny známých látek s malými interferencemi, je možné matematicky odd lit na díl í ásti spektra a tyto komponenty identifikovat. Algoritmus analýzy kontaminantu využívá úzkou ást spektra (220-285 nm) v blízkosti vlnové délky analýzy (260 nm pro nukleové kyseliny, 280 pro proteiny), ke stanovení každého p ísp vku absorbace vlivem potenciálního kontaminantu (proteinu nebo nukleové kyseliny a fenolu) které jsou absorbovány v dané oblasti spektra. Celé spektrum je analyzováno aby se stanovila p ítomnost p ípadných kontaminant jako jsou nap . guanidin HCl a/nebo guanidin izothiokyanát, které jsou b žn používány na ed ní nukleových kyseliny p i purifikaci.

Poznámka Získání konzistentní a vysoce kvalitní analýzy kontaminant závisí na kvalit m eného spektra vzorku, které je závislé na kvalit údržby p ístroje, viz Plán údržby.

Technická podpora na požádání

V aplikacích dsDNA a Protein A280 monitoruje p ístroj NanoDropOne všechna m ení na p ítomnost kontaminant nebo jiných anomálií, které mohou ovlivnit výsledky m ení. P íklady monitorovaných charakteristik:

- pom ry absorbance, který indikuje p ítomnost komponent, které mohou interferovat s m ením vzorku (ozna ované též jako "pom ry istoty"). Pro více informací sledujte multimediální trénink Co je to pom r istoty?
- kontrola p ítomnosti bublin, kterou jsou vyhledávány bubliny nebo jiné reflexní látky ve vzorcích nebo blanku. Pro více informací sledujte multimediální trénink Vliv bublin ve vzorcích.

Pokud jsou dostupné technické informace, zobrazí se "informa ní" ikona 🕕 vlevo od výsledk m ení.



Klikn te na ikonu pro zobrazení informací.

Zde jsou uvedeny výsledky analýzy nukleové kyseliny, u které jsou hodnoty dvou nam ených pom r istoty pod úrovní o ekávaných hodnot a vzorek obsahoval množství bublin, které mohli ovlivnit výsledky m ení.



241

Kliknutím na informa ní tla ítko zobrazíte více informací. Zde je uvedeny informace o chybách vlivem p ítomnosti bublin:

<	() A	cclaro Sar	nple Intellig	jence								Done
	-	â							•	•	۹ 🗆	
🗶 Bu	bbles De	tected										
0	.earn n	nore										
These m	easureme	nt results n	nay be invali	d.								
Possible	causes:											
 Bubbl reprocession 	es in samp ducibility.	ole or blank	, which can	cause poor	liquid co	olumn fo	ormation a	and diffra	ct UV	light. B	oth issue	s will impact
· Partic	ulates in s	ample or b	lank, which (can diffract	UV light	t and affe	ect reproc	ducibility.				
Possible	solutions:											
· To rer	 To remove bubbles, briefly centrifuge sample and/or blank at low speed. 											

Klikn te na Learn More pro zobrazení další úrovn informací, která nap . zahrnuje link na multimediální trénink.

<	() Ac	claro San	ple Intelligence			
≣	-	â		4	•	٩
X Lea	orn More	n of Sar	nple with Bubbles			
Image: wideo Effects of Bubbles in Sample						

Výstrahy chybných výsledk

Software p ístroje NanoDrop One používá zabudovaný obrazový senzor pro monitoring podmínek všech m ení (jako nap . održení kapalinového sloupce), které mohou vést k chybným výsledk m m ení.

P i výstraze chybných výsledk se zobrazí ikona chybných výsledk <u>a</u> a m ení se zastaví. Více informací viz <u>ešení problém</u>.



Související témata

- Obrazokvy m ení p ístroje NanoDrop One
- Prohlíže dat NanoDrop One Data Viewer
- Plán údržby
- Údržba podstavc
- ešení problém •

Program NanoDrop One Viewer

Program NanoDrop One Viewer vám poskytuje flexibilní práci s daty získanými p ístrojem NanoDrop One na vašem pracovišti. Program použijte na:

- prohlížení nebo tisk dat získaných p ístrojem NanoDrop One na jakémkoliv PC
- tvorbu, editaci, import a vymazaní uživatelsky definovaných metod
- jednoduché vyhledávání informací v systému nápov dy p ístroje NanoDrop One

Data mohou být importována z p ístroje kdykoliv (dále viz Import dat z p ístroje), nebo je lze rovnou uložit do p ipojeného PC po skon ení každého m ení (více informací viz "Set Up Ethernet Connections" a "Set Up Wi-Fi Connections" v kapitole Nastavení p ístroje).

Instalace prohlíže e - softwaru Viewer

Prohlíže - software Viewer Ize nainstalovat na PC s opera ním systémem Windows™. Sledujte náš web pro informace o kompatibilit softwaru.

Stažení a instalace softwaru Viewer

- 1. Na kompatibilním PC, který je p ipojen k internetu, použijte webový prohlíže pro zobrazení naší webové stránky.
- 2. Na naší webové stránce p ejd te do sekce pro download, zvolte stáhnout software NanoDrop One Viewer a následujte pokyny pro uložení a spušt ní instalátoru.



Domovská obrazovka programu Viewer

Po nainstalování programu Viewer se otev e prázdná obrazovka pokud neexistují žádné uživatelské metody nebo uložená i importovaná data v databázi. Tyto funkce jsou dostupné z domovské obrazovky prohlíže e.



Menu souboru (File Menu)

Menu voleb:

Import Data	Import experiment z p ístroje.
Set Up Wi-Fi Data Storage	Nastavení po íta e jako potenciálního úložišt pro p ístrojem nam ená data vzork (více informací viz "Nastavení Wi-Fi p ipojení" v sekci Nastavení p ístroje).
Exit	Ukon ení prohlíže e

Menu uživatelských metod (Custom Methods Menu)

Menu voleb:

Manage Custom Methods	Tvorba, import, editaci a smazání uživatelských metod,
-	které mohou být použity pro získání dat p ístrojem p i
	dostupném uživatelském nastavení

Menu nápov dy (Help Menu)

Menu voleb:

NanoDrop One Website	Otev ení webového prohlíže e, pokud je dostupný, a navigace na webovou stránku výrobce NanoDrop One
Help	Zobrazení kompletního systému nápov dy p ístroje NanoDrop One v etn detailních informací o p ístroji, softwaru p ístroje a programu Viewer
About	Zobrazení verzí softwaru NanoDrop One Viewer

Filtry vyhledávání dat (Data Search Filters)

Filtry pro vyhledávání v databázi prohlíže e (Viewer) na PC, dle použité aplikace nebo uživatelsky definovaných identifikátorech. Vypnutí filtr pro vyhledávání dat zkontrolujte tak, že žádné tla ítko není zvolené. Více informací viz Vyhledávání v databázi programu Viewer.

Time Range Search Filter

Filtry pro vyhledávání v databázi prohlíže e (Viewer) podle datumu vytvo ení experimentu (nap . posledních šest m síc nebo ve specifikovaném asovém intervalu). Vypnutí filtr pro vyhledávání dle asové ady provedete volbou AII. Více informací viz Vyhledávání v databázi programu Viewer.



Obnoví seznam experiment a výsledk m ení v programu Viewer po importování nových dat.
Menu po kliknutí vpravo (Right-Click Menu)

Kliknutím vpravo na experiment zobrazíte tyto další volby:

Export Experiment	Export spekter a výsledk zvolených m ení v n kolika formátech
Manage Identifiers	P i adit experiment m uživatelsky definovaná ozna ení, prohlížení p i azených ozna ení, zrušení a smazání ozna ení
Experiment Details	Zobrazit informace o otev eném experimentu v etn typu aplikace, datumu a asu m ení, po tu m ení, výrobního ísla p ístroje, verzí softwaru a firmwaru a dalších p i azených ozna ení
Delete Experiment	Smazat vybraný experiment
	Poznámka : Smazaná data nelze obnovit.

Manage Experiments and Associated Data

Použijte program Viewer pro otev ení a prohlížení uložených spekter a p i azených dat z kteréhokoliv experimentu, které jste exportovali z p ístroje a následn importovali na PC, nebo který jste p ímo uložili do databáze PC bezprost edn po m ení. Experimenty se ukládají do databáze na PC podle data vytvo ení, názvu experimentu, použité aplikace a jiného p i azeného ozna ení.

Import experiment

Data po ízená p ístrojem NanoDrop One je možné importovat do programu NanoDrop One Viewer, který je nainstalovaný na PC, to vám umožní prohlížet nebo tisknout data z vašeho pracovního prost edí.

Poznámka

- Data je nutné nejd íve exportovat z p ístroje do souborovém formátu (SQL) databáze na p enosné USB pam ové za ízení (více informací viz "Export Dat" v kapitole Hlavní operace).
- Chcete-li zjistit jako uložit data p ímo na PC po ukon ení každého m ení, prostudujte sekci "Nastavení sí ového p ipojení (Ethernet)" nebo kapitolu "Nastavení p ipojení Wi-Fi" v kapitole Nastavení p ístroje.

Import experiments to Viewer software

 p enosné USB za ízení s vyexportovaným SQL souborem p ipojte k PC na kterém je nainstalovaný software NanoDrop One Viewer

- z programu Viewer zvolte File > Import Data
- p ejd te na p enosné USB za ízení vyberte exportovaný SQL soubor a zvolte Open

Poznámka P i defaultním nastavení budou exportované SQL soubory ukládány na USB pam ové za ízení do adresá e s názvem "NanodropOne" následovaném výrobním íslem p ístroje.

 Experimenty po ízené p ístrojem NanoDrop One uložené v SQL souboru se p idají do programu Viewer. Níže je uveden p íklad:

🗴 NanoDro	op One Viewer	
File He	чр	- º ^
App ication typ	e filter	
💿 L ser identifie	er filter	
		Time range: 🗾 All 🔹 🕻
O Thursd	ay, October 15, 2015	
4	OD600 10/15/2015 8:40:52 PM	7 Measurements
💿 Tuesda	ıy, October 13, 2015	
8	dsDNA 10/13/2015 10:51:02 PM	1 Measurements
💿 Sunday	/, October 04, 2015	
**	Microarray 10/4/2015 6:14:33 PM	1 Measurements
💿 Monda	ıy, September 21, 2015	
8	dsDNA_09/21/2015 00:22:35	1 Measurements

Importované experimenty

Т

Vyhledávání v databázi programem Viewer

Experimenty které vyhovují nastaveným parametr m filtrování se zobrazí v seznamu domovské obrazovky programu Viewer. Filtry zahrnují asovou adu, typ aplikace a jiné uživatelsky definované ozna ení (viz Správa identifikátor na PC pro informace jak p idat nebo smazat ozna ení).

Seznam vyhledaných experiment

Pro vyhledávání v seznamu experiment, zm te nastavení filtru na domovské stránce programu Viewer. Seznam se obnoví automaticky. Jsou dostupné tyto filtry:

Application type. Budou dostupné pouze aplikace s p i azenými (asociovanými) experimenty v databázi programu Viewer. Pokud chcete nap . zobrazit experimenty zpracované metodou OD600 zvolte OD600 v aplika ním typu filtru (ozna ená tla ítka filtr mají modrou barvu). Vypn te aplika ní typ filtru odzna ením p íslušných tla ítek.

- User identifier. Budou dostupná pouze ozna ení experiment v databázi programu Viewer. Nap. pro zobrazení experiment obsahujících ozna ení "Good" zadejte Good v aplika ním typu filtru (ozna ená tla ítka filtr mají modrou barvu). Vypn te aplika ní typ filtru odzna ením p íslušných tla ítek.
- Time range. Budou zobrazeny pouze experimenty vytvo ené ve specifikovaném asovém období (nap. za období šesti m síc), zvolením asové ady v rozbalovacím seznamu. Vypnutí filtru pro asovou adu provedete nastavením na All.

Zde je uveden p íklad filtrování databáze:

Kliknutím vyberte nebo odzna te aplika ní filtry	Zm te filtr pro aktualizovanél experiment	o zobrazení no seznamu	Kliknutím filtry pro a	otev ít a vybrat sovou adu
NanoDrop One /iewer File Help				_ @ X
Application type filter				
User identifier filter				
user A good Zvolený f	iltr			
		Time r	range: Last six	months 🔹 🖒
📀 Tuesday, October 13, 2015				
dsDNA 10/13/2015 10:51:02 P	M		1 N	leasurements
📀 Monday, September 21, 2015				
dsDNA_09/21/2015 00:22:35			1 N	leasurements
	E.IT.			
KIIKNUUM Vyberte nebo	FIItr	ovany seznam		
definovaných ozna ení	exp	enneni		

Otev ení experimentu a prohlížení asociovaných dat

Použijte program Viewer pro otev ení experiment uložených v databázi programu, ze kterých m žete prohlížet, tisknout nebo exportovat spektra a asociovaná dat. Na domovské obrazovce prohlíže e (Viewer) je zobrazen seznam experiment , které vyhovují aktuálnímu nastavení filtru.

Otev ení experimentu

- použijte dostupné filtry pro nalezení experimentu (více podrobností viz Vyhledávání v databázi prpgramu Viewer)
- dvojklikn te na název experimentu ve filtrovaném seznamu experiment (experiment se otev e a software zobrazí obrazovku m ení



Tisk dat

M žete vytisknout vybraná m ení analýzy pomocí standardních funkcí pro tisk v prost edí OS Windows

Tisk vybraných m ení

- otev ete analýzu
- kliknutím vyberte m ení pro tisk (zmá kn te Shift+kliknout myší, nebo klinknout a táhnout pro výb r sekven ního m ení; (zmá kn te klávesu Ctl+kliknout myší pro výb r sekven ního m ení)
- klikn te na ikonu

Zobrazí se okno Print Report s náhledem první stránky spole n s následujícími funkcemi



Další standardní funkce tisku dostupné v OS Windows:

- Page Setup (volba velikosti tiskové stránky, p izp sobení okraje a orientace stránky)
- Print Preview (náhled stránek p ed tiskem)
- klikn te na Print
- zvolte tiskárnu
- klikn te na Print

Exportování dat

Spektra a výsledky m ení je možné exportovat do n kterého z následujících formát :

- · pouze výsledky m ení jako hodnoty odd lené árkami do souboru formátu .csv
- pouze spektra (hodnoty absorbance s p íslušnou vlnovou délkou) jako hodnoty odd lené tabulátory do souboru formátu .tsv
- spektrální data do souboru formátu .tsv a nema ené výsledky do souborového formátu .csv
- spektra a výsledky m ení do souboru formátu .sql databáze p ístroje NanoDrop One, které lze otev ít na p ístroji nebo v programu NanoDrop One Viewer
- spektrální data do souboru formátu .xml

Názvy soubor odpovídají názv m experiment . Použijte tabulkový procesor (spreadsheet) nebo textový editor pro otev ení soubor CSV, TSV nebo XML. Soubory SQL je možné otev ít v programu NanoDrop One až po jeho importování. Soubor XML je možné otev ít pouze v p íslušné aplikaci, která umož uje tení toho souborového formátu.

Export vybraných m ení

- otev ete experiment
- kliknutím vybrat m ení ur ené pro export (zmá kn te klávesu Shift+klikn te na vybraná m ení sekvence; zmá kn te klávesu Ctr+klikn te pro výb r nesekven ních m ení)
- klikn te na ikonu
- v poli Export Experiments:
 - p ejd te na místo kam se budou ukládat exportovaná data
 - nastavte Save As Type na požadovaný formát (viz výše v textu)
- zvolte Save

Poznámka Funkce export dat není v programu NanoDrop One Viewer dostupná pokud bude PC p ipojen k p ístroji pomocí sí ového kabelu (Ethernet).

Smazání dat

Je možné vymazat experiment z databáze programu Viewer

Smazání vybraného experimentu

- použijte dostupné filtry pro vyhledání experimentu (více informací viz Vyhledávání v databázi programu Viewer)
- klikn te pravým tla ítkem na název experimentu ve filtrovaném seznamu experiment
- zvolte Delete Experiment

POZNÁMKA Smazaná data nelze obnovit.

Hledání hodnoty absorbance ve spektru

Je možné jednoduše prohlížet hodnoty absorbance odpovídající p íslušné vlnové délce v zobrazeném spektru.

Vyhledání hodnoty absorbance ve spektru

- otev ete experiment
- vyberte m ení
- klikn te a p idržte bod na zobrazeném spektru

Zobrazí se vlnová délka a odpovídající hodnota absorbance ve "vyskakovacím" okn :



Poznámka Alternativn je možné p esouvat kurzor myši podél osy X spektra pro sekven ní zobrazení hodnot absorbance.

Proložení spekter

Pokud pot ebujte zobrazit spektra všech m ení z experimentu (jako na sob uložené vrstvy spekter na spektrální rovin), otev ete experiment, klikn te pravým tla ítkem na spektrální rovinu a zvolte Overlay Mode. Spektra se zobrazí v r zných barvách.



Poznámka Zobrazení více spekter proložených na sob ve vrstvách lze krom volbou Overlay Mode provést též výb rem m ení v otev eném experimentu.

Thermo Scientific

Rozší ení nebo zúžení zobrazeného spektra

Po otev ení experimentu je možné skrolovat myší pro rozší ení nebo zúžení zobrazeného spektra nebo spektra podél osy X a osy Y.

Pro resetování obou os dvojklikn te na spektrální rovinu.

Zm na jednotek koncentrace

ada aplikací umož uje zm nit jednotky koncentrace.

Zm na jednotek koncentrace ve zvoleném experimentu

- otev ete experiment
- použijte rozbalovací menu, pokud je dostupné, v tabulce m ení pro zm nu zobrazených jednotek



Po zm n jednotek dojte k p epo ítání všech výsledk m ení koncentrace podle nov nastavených jednotek.

Zobrazní podrobností experimentu

Je možné zobrazit informace o otev eném experimentu, které zahrnují typ aplikace, datum a as m ení, po et m ení, výrobní íslo p ístroje a další p i azená ozna ení.

Zobrazení podrobností experimentu

- otev ete experiment
- klikn te na ikonu

Zde je uveden p íklad:

OD600 10/	(15/2015 8:40:52 PM
Application Type:	OD600
Created on:	Thursday, October 15, 2015 8:40:51 PM
Number of measurements:	7
Serial number:	AZY1400369
Identifiers:	user A good Bad
	ОК

Správa identifikátor na PC

M žete p idat jeden nebo více "identifikátor" (t.j. ozna ení nebo metadatové štítky) k experimentu aby ho bylo možné snadn ji vyhledat. Ozna ení je možné p idat v softwaru nainstalovaného na p ístroji NanoDrop One nebo ze softwaru prohlíže e (NanoDrop One Viewer) nainstalovaném na PC. (viz Správa identifikátor na PC).

Použijte prohlíže dat (Data Viewer) pro p idání ozna ení experiment , p i azení existujících ozna ení, prohlížení p i azených ozna ení a odstran ní ozna ení na p ístroji. Je možné filtrovat seznam experiment v prohlíže i dat (Data Viewer) na základ uživatelsky definovaných ozna ení.

Zobrazení nebo skrytí tla ítek uživatelsky definovaných filtr

Uživatelsky definované filtry lze zobrazit nebo skrýt (pokud jich máte více) aby jste m li prostor pro zobrazení seznamu experiment .

Zobrazení tla ítek uživatelsky definovaných filtr

– klikn te na šipku aby sm ovala šipkou nahoru



Skrytí tla ítek uživatelsky definovaných filtr

- klikn te šipku aby sm ovala špi kou dol

Ozna ení experimentu v programu Viewer

M žete použít program Viewer pro p idání uživatelsky definovaných ozna ení experiment . Seznam experiment lze následn filtrovat na základ t chto ozna ení (více podrobností viz Vyhledávání ozna ených experiment).

P idání nového ozna ení experimentu

- Na domovské obrazovce programu Viewer pravým kliknutím na experiment v seznamu experiment vyberte položku Manage Identifiers
- V poli Manage Identifiers zadejte ozna ení, klikn te na ikonu a zmá kn te klávesu Enter (nové ozna ení se zobrazí pod zadávacím oknem).



 zvolte OK (nové ozna ení se zobrazí v položce User Identifier Filter group na domovské obrazovce programu Viewer



P i azení existujícího ozna ení k experimentu

- na domovské obrazovce programu Viewer pravým kliknutím na experiment v seznamu experiment vyberte položku Manage Identifiers
- v poli Manage Identifiers za n te zadávat název ozna ení (aktuální název existujícího ozna ení se zobrazí pod zadávacím oknem).

Manage Identifiers
Oligo RNA 10/20/2015 11:33:36 PM
go m
Good
No identifiers defined in this experiment
OK Cancel

zvolte automaticky vyhledaný existující název ozna ení a zvolte OK (existující ozna ení se p i adí k vybranému experimentu)

Zobrazení ozna ení p i azených k experimentu

M žete použít program Viewer pro zobrazení všech uživatelsky definovaných ozna ení, které jsou p i azeny k experiment m.

Zobrazení p i azených ozna ení

 na domovské obrazovce programu Viewer pravým kliknutím na experiment v seznamu experiment vyberte položku Experiment Details

OD600 10	0/15/2015 8:40:52 PM
Application Type:	OD600
Created on:	Thursday, October 15, 2015 8:40:51 PM
Number of measurements:	7
Serial number:	AZY1400369
Identifiers:	user A good Bad — Ozna ení p i azené k tomuto ок experimentu

- zvlote OK

Vyhledání ozna ených experiment

V programu Viewer je možné vyhledávat experimenty s p i azenými uživatelsky definovanými ozna eními. Databáze se automaticky filtruje podle aktuálního nastavení filtrování.

Vyhledání experiment s konkrétním uživatelsky definovaným ozna ením

na domovské obrazovce programu Viewer nastavte vyhledávací filtry:

- odzna te každý typ filtru (Application Type filters) podle pot eby, aby se zobrazil seznam vytvo ených experiment všech aplikací
- nastavte filtr asové ady (Time Range filter) podle pot eby (zobrazí se odpovídající filtrovaný seznam experiment)
- kliknutím vyberte každé tla ítko uživatelsky definovaného filtru (User Identifier filter) (vybraná tla ítka mají modrou barvu)

(pokud se tla ítka nezobrazují, klikn te na p ilehlou šipku aby se zobrazila)



Seznam experiment se filtruje a automaticky aktualizuje takže v seznamu z stanou uvedeny pouze experimenty odpovídající zvolenému filtrování.

Odstran ní ozna ení

M žete použít program Viewer pro snadné smazání uživatelsky definovaných ozna ení experiment . Odstran né ozna ení z stane v seznamu filtr (User Identifier list) pokud je ješt p i azeno k jinému experimentu.

Odstran ní experimentu

- na domovské obrazovce programu Viewer pravým kliknutím na experiment v seznamu experiment vyberte položku Manage Identifiers
- v poli Manage Identifiers zvolte jedno nebo více tla ítek (vybraná tla ítka ozna ení mají modrou barvu)
- klikn te na ikonu IIII (vybrané(á) ozna ení se v zadávacím poli již nezobrazí)
- zvolte OK

Poznámka Pokud chcete z programu vymazat uživatelsky definované ozna ení, musíte ho odstranit ze všech experiment ke kterým je p i azeno.

Správa uživatelské metody

Program Viewer je nástrojem pro tvorbu a správu uživatelských metod zahrnující uživatelsky definované parametry, které lze využít p i tvorb dat pomocí p ístroje. Uživatelské metody lze vytvo it ze standard nebo bez nich.

Vytvo ení uživatelské metody

Vytvo te metodu s uživatelsky definovanými paramertry, která bude aplikována na m ení vzork .

Vytvožení nové uživatelské metody

 na domovské obrazovce programu Viewer zvolte menu Custom Methods > Manage Custom Methods

Manage Custom Methods			
Select method		Create Formula Method	Create Standard Curve Method
Method Name	Туре		Description
Import Export		Edit	Delete

- v poli Manage Custom Methods zvolte jednu z následujících možností:
 - Create Formula Method (pokud vaše metoda nebude mít standardy)
 - Create Standard Curve Method (pokud vaše metoda bude mít standardy)

 v nastavovacím okn zadejte název metody (Method Name) (tento název se objeví v poli Uživatelského nastavení na p ístroji poté co do n j tuto metodu p esunete)

NanoDrop One Viewer File Help		_ @ X
Sack to Experiments	Save * Save As	Export
Method name Description (optional) Measurement range UV range (190 nm - 350 nm) Visible range (350 nm - 840 nm) UV-Vis range (190 nm - 840 nm) UV-Vis range (190 nm - 840 nm) Custom range 190 nm 350 nm Choose factor / extinction coefficient at 1 cm pathlength User defined factor 10 ng/µl Extinction coefficient 10 ng/µl	Analysis wavelength 340 nm Result Name Concentration Correction for analysis wavelength None Single point nm Sloping baseline nm Baseline correction nm Automated pathlength	ng/µl •
Formula table (optional) Name Equation	Units	Predefined Add Edit Delete

Nastavení uživatelské metody pro formulaci výb ru metody

- zadejte detailní popis (Description) dle pot eby
- specifikujte jak se budou stanovovat a prezentovat výsledky metody
 - pokud metoda nemá standardy specifikujte faktor nebo extink ní koeficient analytu (zadejte "1" pro zobrazování pouze výsledk m ení absorbance)

Choose factor / extinction coefficient at 1 cm pathlength \neg			
User defined factor	10	ng/µl	-
Extinction coefficient		ng/µl	
Molecular weight		Atomic ma	ass ur

 pokud metoda má standardy zadejte název a koncentraci každého standardu a zvolte typ typ kalibra ní k ivky

Standard table	
Curve fit type	Linear
Standard ID	Concentration (ng/µl
Reference	0.00
Standard 1	
Standard 2	
Standard 3	
Standard 4	
Standard 5	

- zadejte nebo vyberte zbývající uživatelská nastavení dle pot eby (viz níže)
- zvolte Save

Poznámka Pokud se namísto zelené zna ky vedle tla ítka Save zobrazí ikona 🚺, bude metoda je neplatná protože obsahuje chybu. Pohybujte myší nad ikonou aby se vám zobrazili možnosti ešení.

pokud se nad metodou zobrazí zelená zna ka, klikn te na Close pro opušt ní nastavování metody

Prohlížení nebo editace uživatelské metody

 zvolte menu Custom Methods > Manage Custom Methods (stávající metody jsou uvedeny v seznamu pole Select Method spole n s typem metody (formulace nebo standardy) a popisem

Manage Custom Methods			x
Select method	Cre	ate Formula Method	Create Standard Curve Method
Method Name	Туре		Description
🛕 Custom Method 1	Method with formula	OD600 @ 550 nm	n
A Custom Method 2	Method with standards	BSA Protein	
Import Export		Edit	Delete

Nastavení uživatelské metody

Tato nastavení jsou dostupná pro vytvo ení uživatelské metody.

Nastavení	Dostupné volby
Measurement range	Zadejte rozsah spektra ve kterém se budou získávat data. Dostupné volby:
	 Pouze ultrafialové (190 nm - 350 nm)
	Pouze viditelné (350 nm - 850 nm)
	Ultrafialové a viditelné (190 nm - 850 nm)
	Uživatelsky definované (zadejte dolní a horní hodnotu intervalu v nanometrech)
	Poznámky:
	 Pokud je použita korekce (Baseline correction) a/nebo korekce vlnové délky (Analysis wavelength correction) ujist te se aby zadaný interval spektra zahrnoval vlnovou délku specifikované korekce a/nebo vlnovou délku korekce analýzy.
	 M ení absorbance mikroobjemových vzork a analýzy provád né s nestandardními kyvetami jsou normalizovány na optickou délku 10,0 mm.
Analysis wavelength	Sledování absorbance p i specifikované vlnové délce (zadejte vlnovou délku v nanometrech)
	Poznámka : Specifikovaná vlnová délka musí být v intervalu rozsahu m ení.
	Výsledky m ení resp. koncentrace budou automaticky spo ítány na základ hodnoty absorbance p i specifikované vlnové délce a aplikovaném typu metody.
Result name	Zadejte slovní název pro výsledek vypo ítané koncentrace (nap . "Nucleic Acid" a zvolte p íslušné jednotky v p ilehlém rozbalovacím seznamu. Zadaný název se zobrazí ve sloupci pro p íslušnou hodnotu koncentrace.

Nastavení Dostupné volby Factor or Extinction Zadejte zda bude pro výpo et koncentrace použit faktor nebo extink ní coefficient at 1 cm koeficient: pathlength (Formula Choose factor / extinction coefficient at 1 cm pathlength methods only) User defined factor 10 na/ul Extinction coefficient ng/µl Molecular weight Atomic mass ur

 User-defined factor. Zadejte faktor pro kyvetu tlouš ky 1 cm a v p ilehlém rozbalovacím seznamu zvolte p íslušnou jednotku. P i použití faktoru se hodnota koncentrace po ítá podle níže uvedené rovnice:

$$c = (A * f) / b$$

kde:

c = koncentrace analytu

A = absorbance v jednotkách absorbance (A)

f = faktor (nej ast ji 1/e , kde e = koeficient molární absorptovity závislý na vlnové délce nebo extink ní koeficient

b = optické délka v cm (stanovená v ase m ení, a následn normalizovaná na ekvivalent vlnové délky 10 mm (1 cm)

• Extinction coefficient and molecular weight. Zadejte hodnotu extink ního koeficientu pro optickou délku 1 cm a v p ilehlém rozbalovacím seznamu zvolte p íslušnou jednotku. P i použití extink ního koeficientu se hodnota koncentrace po ítá podle níže uvedené rovnice:

c = A / (e * b)

kde:

c = koncentrace analytu

- A = absorbance v jednotkách absorbance (A)
 - = koeficient molární absorptovity závislý na vlnové délce (nebo extink ní koeficient)

b = optické délka v cm (stanovená v ase m ení, a následn normalizovaná na ekvivalent vlnové délky 10 mm (1 cm)

Nastavení	Dostupné volby			
	Poznámky			
	 Prostudujte literaturu týkající faktor a extink ních koeficient vybraných materiál . Pro zvolení metody pouze s výstupem m ení absorbance, nastavte Factor 			
	nebo Extinction Coefficient na hodnotu "1".			
	 Pokud je specifický faktor nebo extink ní koeficient závislý na hmotnosti (mg/mL) a specifické jednotky pro výpo et na molarit (pmol/µL) a naopak, zadejte molecular weight a v p ilehlém rozbalovacím okn zvolte p íslušnou jednotku (unit). 			
Standards (Standard curve	Definování standard:			
methods only)	Standard table			
	Curve fit type Linear			
	Reference 0.00			
	Standard 1			
	Standard 2			
	Standard 3			
	Standard 4			
	 Pokud je t eba zadejte název a koncentraci analytu pro každý standard a referenci: 			
	 V závislosti na nastavení typu k ivky a standardní k ivky mohou být generovány dva nebo více standard (Software umož uje definovat až 7 standard) 			
	 Všechny reference a standardní roztoky by m li být p ipraveny stejným pufrem a stejným objemem reagent na p ipravu vzorku 			
	 První standard m že být referen ní m ení. Referen ní roztok by nem l obsahovat zkoumaný analyt. (Referen ní m ení není to samé jako m ení blankem). 			
	 Hodnoty koncentrace pro standardy mohou být zadávány v libovolném po adí ale standardy musí být m eny v po adí v jakém byly zadány; ukazuje se že optimální je m it vzorky v po adí od nejnižší koncentrace po koncentraci nejvyšší. 			
	 Meze koncentrace standard musí pokrývat dynamický rozsah pole a o ekávaný rozsah neznámého vzorku. Koncentrace vzorku analytu nejsou extrapolovány nad hodnotu koncentrace nejvyššího standardu (standardu s nejvyšší koncentrací). 			
	Pro více informací viz Práce se standardními k ivkami.			

Nastavení	Dostupné volby				
	 Volba regresní k ivky. 				
	Specifikujte typ rovnice standardní k ivky na základ standardních hodnot koncentrace. Dostupné funkce:				
	 Linear : Zobrazí se p ímka sestrojená lineární interpolace metodou nejmenších tverc využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 				
	 Interpolation: Zobrazí se skupina p ímek spojující všechny m ené standardy (vyžaduje referen ní m ení alespo jednoho standardu) 				
	 2nd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem druhého stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo dvou standard) 3rd order polynomial : Zobrazí se k ivka sestrojená polynomiální regresí s polynomem t etího stupn využitím všech m ených standard (vyžaduje referen ní m ení alespo t ech standard) 				
Baseline correction	Zvolte tuto možnost pro korekci offsetu zp sobeného rozptylujícími ásticemi ode tením hodnoty absorbance pro specifický bod korek ní (baseline) k ivky.				
	Poznámka: Software ode te hodnoty absorbance p i specifikované korigované vlnové délce od hodnoty absorbance p i vlnové délce spektra vzorku. Výsledkem je nulová absorbance p i specifické vlnové délce korekce (baseline correction).				
Analysis wavelength correction	Zvolte tuto možnost pro specifikaci korekce absorbance p i vlnové délce analýzy. Dotupné volby:				
	None. Žádná korekce pro analýzu p i dané vlnové délce.				
	 Single point. Zadejte vlnovou délku pro korekci analýzy. (Hodnoty absorbance p i specifikované korigované vlnové délce se ode tou od hodnoty absorbance p i vlnové délce spektra vzorku. Korigovaná hodnota se použije k výpo tu koncentrace vzorku. 				
	 Sloping baseline. Zadejte dv vlnové délky, které definují sklon nou korek ní k ivky. (Hodnoty absorbance p i specifikované sklon né korek ní k ivce se ode tou od hodnoty absorbance p i vlnové délce spektra vzorku. Korigovaná hodnota se použije k výpo tu koncentrace vzorku. 				

Nastavení	Dostupné volby		
Automated pathlength	 Má vliv pouze na mokrobjemová m ení Pokud je nastavena funkce Automated Pathlength zvolí software optimální vlnové délku (mezi 1,0 mm a 0,03 mm) na základ absorbance vzorku p i vlnové délce analýzy. Nap . pokud je absorbance vzorku menší nebo rovna 12,5 (ekvivalent optické dráhy 10 mm) nastaví se optimální delší hodnota optické dráhy. Pokud je absorbance vzorku v tší než 12,5 tak program vlnovou délku automaticky zkrátí. 		
	Doporu uje se aplikovat pro vzorky s vysokou absorbanci. (Tato funkce m že zp sobit menší citlivost pokud spektra vzork mají vysoký vrchol absorbance která není p i vlnové délce analýzy). Poznámka: Pokud je vlnová délka analýzy mezi 190 nm až 219 nm, program zvolí optimální delší optická drába když má vzorek absorbanci menší nebo rovnou 10		
	(ekvivalent optické dráhy 10 mm) resp. program zvolí optimální kratší optickou délku pokud absorbance je v tší než 10.		
	 Pokud není zvolena funkce Automated Pathlength, software použije optickou dráhu 1 mm bez ohledu na absorbanci vzorku. Toto m že zp sobit saturaci detektoru (projevující se zubatými vrcholy) u vzork s vysokou absorbancí (nap . ~15 A p i ekvivalentu optické dráhy 10 mm) 		

Nastavení	Dostupné volby	Dostupné volby					
Formula table (volitené)	Použijte tabulku pro vzorce istoty (purity ratio) pro kaž	Použijte tabulku pro vzorce na specifikaci dopl ujících výstupných informací jako nap . pom r istoty (purity ratio) pro každý vzorek.					
	Formula table (optional)						
	Name	Equation	Units	Predefined Add Edit Delete			
	Dostupné funkce:						
	 Predefined. Zvolte ze seznamu p eddefinovaných vzorc , které mají být použity nebo editovány, a zmá kn te Add. P eddefinovaná formulace se zobrazí v seznamu Formula Table 						
	Add. Vytvo ení formu	Add. Vytvo ení formulace pro uživatelskou metodu. Dostupné funkce:					
	 Formula Name. obrazí na obrazo 	 Formula Name. Zadání názvu vzorce. Po zm ení vzorku se tento název se obrazí na obrazovce v tabulce Data table a na obrazovce Sample Datails 					
	 Formula. Vytvo ení platného vzorce (pro tvorbu viz níže pro pravidla a p íklady). Po zm ení vzorku se nam ená nebo vypo ítaná hodnota se obrazí na obrazovce v tabulce Data table a na obrazovce Sample Datails 						
	 Unit. Zadání jednotek zobrazovaných výsledk . Po zm ení vzorku se jednotky zobrazí na obrazovce v tabulce Data table a na obrazovce Sample Datails 						
	Edit. Editace vybraného vzorce uživatelské metody.						
	Delete. Smazání vybraného vzorce uživatelské metody.						
Formula rules	Custom formulas can include the following operators and functions:						
	Path(). Ukáže hodnotu optické délky vzorku v cm.						
	 A(nm). Ukáže hodnotu absorbance p i specifické vlnové délce (nap . zadejte A(650) pro zobrazení absorbance pro vlnové délce 650 nm). 						
	 Operators: + (s ítání), - (od ítání), * (násobení), / (d lení). 						
	 Functions: Log(x), Pow(x,y). 						
	Poznámky: Pro každý nastavený jazyk programu používejte tyto zna ky:						
	Používat znak "." jako odd lova desetinných míst pro v tší ísla						
	 Používat znak "," jako odd lova (nap . "POW(2,8)"). 						
	 Nepoužívat znak "," jako decimální odd lova u v tších ísel (nap . namísto 1.000 zadejte 1000). 						

Zkopírování uživatelné metody (Custom Method)

Vytvo ení uživatelské metody, která je podobná již vytvo ené metod , uložení stávající metody pod novým názvem a její editace

Zkopírování uživatelské metody

- V poli Manage Custom Methods zvolte konkrétní uživatelskou metodu
- zvolte Edit
- zvolte Save As
- zadejte nový název metody (Method name) a její popis (Description) volitelná položka

Spušt ní uživatelské metody (Custom Method)

Pokud chcete spustit uživatelskou metodu a uložit výsledky m ení do p ístroje, je nutné aby uživatelská metoda byla rovn ž uložena v p ístroji (více informací viz Nahrání uživatelské metody). (Je to jediná možnost jak spustit uživatelskou metodu pokud váš p ístroj není p ipojen k síti Ethernet nebo wifi.)

Poznámka Pokud je PC p ipojen k p ístroji pomocí sí ového kabelu nebo p es rozhraní wifi, uživatelská metoda z stane uložena v PC a nam ená data se uloží do databáze programu NanoDrop One Viewer na p íslušném PC. Více informací viz položky "Set Up Ethernet Connection" nebo "Set Up Wi-Fi Connections" v menu Nastavení p ístroje.

Export uživatelské metody (Custom Method)

Exportujte uživatelskou metodu aby mohla být spušt na a uložena nam ená data v p ístroji NanoDrop One.

- Ze seznamu Manage Custom Methods zvolte p íslušnou uživatelskou metodu

Poznámka Pokud se v seznamu Manage Custom Methods vedle názvu v metody zobrazí ikona \bigwedge , znamená to, že tato metoda je obsahuje chyby. Pohybem myší nad ikonou se zobrazí doporu ené ešení pro další postup.

- zvolte Export (pokud je metoda chybná, zobrazí se chybové hlášení a je nutné chybu odstranit/opravit p ed jejím exportováním)
- V poli Export Custom Method zvolte Save (metoda se uloží exportuje do souboru v p íslušném typu souboru; defaultní adresá je "C:\[uživ. název]\My Documents\Thermo\NanoDrop One")

Pro export uživatelské metody do p ístroje NanoDrop One, zkopírujte soubor metody do pam ového USB za ízení a poté jej nahrajte (viz informací viz Nahrání uživatelské metody)

Import uživatelské metody (Custom Method)

Importujte uživatelskou metodu zp t do PC spušt ním programu NanoDrop One Viewer za ú elem možnosti editace nastavení metody.

- v poli Manage Custom Methods zvolte Import
- najd te a zvolte soubor metody typu ".method"
- zvolte Open (importovaná metoda se p idá na konec seznamu Select Method)

Editace uživatelské metody (custom method)

Editace uživatelské metody pro zm nu nastavení metody.

- v poli Manage Custom Methods zvolte p íslušnou uživatelskou metodu
- zvolte Edit
- editujte nastavení metody dle pot eby
- zvolte Save

Smazání uživatelské metody (custom method)

- v poli Manage Custom Methods zvolte p íslušnou uživatelskou metodu
- zvolte Delete
- po potvrzující zpráv zvolte Yes

Multimédia



Co znamená pom r istoty (Purity Ratio)?



Vyhodnocení vhodnosti blankovacího roztoku



Co je to blank?



Vliv p ítomnosti bublin ve vzorku



išt ní a obnova povrchu podstavce

Údržba vašeho pístroje



Plán údržby



Dekontaminace



išt ní touchscreenu



Kyvetové za ízení



Údržba podstavc



Diagnostika pístroje

4 Údržba vašeho p ístroje Plán údržby

Plán údržby

Denní údržba

• O ist te podstavce deionizovanou vodou

Pravidelná údržba

- O ist te touchscreen
- O ist te podstavce roztokem 0,5M HCI
- Obnova povrchu podstavce



Údržba každých 6 m síc

- Obnova povrchu podstavce
- Spušt ní kontroly intenzity (Intensity Check)
- Spušt ní kontroly výkonnosti (Performance Verification)
- Spušt ní obrazové kontroly podstavce (Pedestral Image Check)

Pokud se vyskytnou problémy s Vaším systémem, prostudujte si odstra ování závad. V p ípad , že chyby p etrvají, kontaktujte nás. Zákazníci mimo USA a Kanadu prosím vašeho lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

Pokud váš p ístroj vyžaduje údržbu nebo opravu, kontaktujte nás nebo lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

išt ní Touchscreenu

POZNÁMKA Pro zamezení poškození touchsreenu:

- nepoužívejte k išt ní abrazivní meteriály jako jsou papírové ubrousky
- netla te nadm rnou silou
- nest íkejte istící sprej p ímo na touchscreen
- nepoužívejte lubrikant na touchscreen

Vy išt nítouchscreenu

Lehce ot ete touchscreen pomocí jemné nebavln né tkaniny nap . na bázi mikrovlákna.

Dle pot eby použijte istidlo vhodné na LCD displeje a dodržujte návod výrobce.

Související témata

- išt ní podstavc
- Obnova povrchu podstavc
- Dekontaminace p ístroje



Údržba podstavc

Podstavce vyžadují pravidelnou údržbu pro zachování integrity m ení. Frekvence a zp sob išt ní a obnova povrchu podstavc jsou uvedeny v této kapitole.





išt ní podstavc

Obnova povrchu podstavc

ist ní podstavc

Pro zamezení p etrvávající a k ížové kontaminaci, je pot eba vy istit podstavce p ed prvním blankem nebo m ením vzorku a taky po ukon ení každého m ení. Dle pot eby se v rámci pravidelné údržby se provede dopl ující išt ní (viz text níže) nebo obnova povrchu podstavce.

POZNÁMKA

- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích fluorové ionty trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.
- Pro zabrán ní poškození p ístroje úkapy, ponechávejte obaly s kapalinami v dostate né vzdálenosti od p ístroje.
- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nesnažte se odstranit membránu z dolního podstavce nebo je trvale p ipevn na k p ístroji.
- Na membrán nesmí z stat HCl, alkoholy, b lidla, aceton nebo jiná rozpoušt dla po dobu delší než 1 minuta jinak hrozí oslabení membrány. V p ípad že je mambrána již oslabená, kontaktujte nás.

Poznámka Roztoky obsahující detergenty nebo isopropylalkohol mohou zne istit podstavce. Pokud je pot eba tyto látky používat pro analýzu, okamžit vy ist te podstavec roztokem 3-5 µL deionizované vody.

Pot ebné vybavení

- nebavln né laboratorní ubrousky
- · deionizovaná voda
- pro d kladné o ist ní: kit PR-1 nebo 0,5M HCI

išt ní podstavc mezi m ením

Zvedn te rameno p ístroje a o ist te dolní a horní podstavec novým laboratorním ubrouskem.



išt ní podstavc mezi analýzami jednotlivých uživatel

- 1. Zvedn te rameno p ístroje a o ist t dolní a horní podstavec novým laboratorním ubrouskem.
- 2. Napipetujte roztok 3-5 mL deionizované vody na dolní podstavec.
- 3. Sklopte rameno p ístroje a ekejte 2-3 minuty.
- 4. Vyklopte rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.

Tip: Pokud je t eba provést d kladné ist ní (nap . na odstran ní zaschlých vzork z podstavc) nahra te deionizovanou vodu 0,5M roztokem HCl postupujte dle výše uvedené procedury a následn aplikujte 3-5 μL roztok deionizované vody. Je možné provést rekondici podstavc za pomocí kitu PR-1.

Související témata

- Obnova povrchu podstavc
- išt ní touchscreenu
- Dekontaminace p ístroje

Obnova povrchu podstavc

Je možné, že asem bude znehodnocený povrch podstavce zejména pokud se p i analýzách používá isopropylalkohol obsahující povrchov aktivní látky a rozpoušt dla jako je napr. Bradford reagent. Znehodnocený povrch podstavce zp sobuje zploš ování kapek, které zp sobuje chybné informace o kapalinovém sloupci když se sklopí rameno p ístroje. V tomto p ípad má výsledné spektrumum "drsný" až "zubatý" charakter.

Pokud na podstavci dochází ke zploš ování kapek (namísto tvorby dokonale kulaté kapky) nebo k rozlití kapaliny je nutné provést rekondici podstavc .



Znehodnocený povrch podstavce (kapka se rozlije - rozpadne)



Správn udržovaný podstavec (kapka se zformuje do kulatého tvaru)

Pot ebné vybavení

- nebavln né laboratorní ubrousky
- kit PR-1 na rekondici podstavce (dostupný u fy. Thermo Scientific nebo u lokálního distributora)
- kalibrovaná p esná pipeta (0-2 mL)
- stla ený vzduch

Obnova povrchu podstavc





- 1. Otev ete balení obsahující kitem PR-1 a použijte dodaný aplikátor na otev ení uzáv ru istící látky.
- 2. Naneste tenkou souvislou vrstvu istící látky na povrch horního a dolního podstavce.

ekejte 30 sekund než látka PR-1 zaschne.

3. P eložte istý laboratorní ubrousek na tvrtinu a intenzivním pohybem vylešt te povrch každého podstavce.

Poznámka: Aby nedošlo k poškození ramena p ístroje podržte jej jednou rukou zatímco druhou rukou istíte dolní podstavec.

Tip: P ípadný erný povlak, který z stane na ubrousku není na závadu.

- Zopakujte 3. krok s novým ubrouskem až do odstran ní o o išt ní od veškerých zbytk z podstavce.
- 5. Použijte stla ený vzduch pro odstran ní zbytk ubrousk z podstavc
- Napipetujte 1 mL roztok deionizované vody na dolní podstavec.
 Deionizovaná vody by m la vytvo it dokonale kulatou kapku.


Tip istící kit PR1 je ideální látkou pro udržování podstavc p ístroje v dobré kondici. Pokud nemáte k dispozici tento kit postupujte následovn :

- 1. Zvedn te rameno p ístroje a napipetujte 3 mL 0,5M roztoku na dolní podstavec.
- 2. Sklopte rameno p ístroje a ekejte 2-3 minuty.
- 3. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- 4. Napipetujte 3 mL dionizované vody na dolní podstavec.
- 5. Sklopte rameno p ístroje a ekejte 2-3 minuty.
- 6. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.

Poznámka: Aby nedošlo k poškození ramena p ístroje podržte jej jednou rukou zatímco druhou rukou istíte dolní podstavec.

- 7. P eložte istý laboratorní ubrousek na tvrtinu a intenzivním pohybem vylešt te povrch každého podstavce, prove te alespo 50-krát.
- 8. Použijte stla ený vzduch pro odstran ní zbytk ubrousk z podstavc

Související témata

- kit PR-1 na rekondici podstavce
- išt ní podstavc
- išt ní touchscreenu
- dekontaminace p ístroje

Dekontaminace p ístroje

Dekontaminujete p ístroj po m ení vzork obsahujících nebezpe né materiály a taky p ed zasláním p ístroje k údržb nebo oprav .

Poznámka Pokud váš p ístroj vyžaduje údržbu nebo opravu, kontaktujte nás nebo lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

POZNÁMKA

- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech.
- Pro zabrán ní poškození p ístroje úkapy, ponechávejte obaly s kapalinami v dostate né vzdálenosti od p ístroje.
- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nesnažte se odstranit membránu z dolního podstavce nebo je trvale p ipevn na k p ístroji.
- Na membrán nesmí z stat HCl, alkoholy, b lidla, aceton nebo jiná rozpoušt dla po dobu delší než 1 minuta jinak hrozí oslabení membrány. V p ípad že je mambrána již oslabená, kontaktujte nás.

Pot ebné vybavení

- nebavln né laboratorní ubrousky
- · deionizovaná voda
- roztok chlornanu sodného o koncentraci 0,5% (erstv p ipravený)
- pipeta

Dekontaminace podstavc

- 1. Zvedn te rameno p ístroje a vy ist te dolní a horní podstavec novým laboratorním ubrouskem.
- 2. Napipetujte 2-3 mL istícího roztoku na dolní podstavec (viz Pot ebné vybavení).
- 3. Sklopte rameno p ístroje a ekejte 2-3 minuty.
- 4. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- 5. Napipetujte 3-5 mL dionizované vody na dolní podstavec.
- 6. Sklopte rameno p ístroje a ekejte 2-3 minuty.
- 7. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.



Dekontaminace povrch p ístroje

- Navlh ete nový laboratorní ubrousek istícím roztokem (viz Pot ebné vybavení), kterým jemn o ist te povrchy p ístroje.
- 2. Pomocí istícího tkaniny (had íku) navlh eného v dionizované vod odstra te istící roztok.



Související témata

- išt ní podstavc
- rekondice podstavc
- išt ní touchscreenu

Údržba vzorkovacího systému kyvety

Vzorkovací systém kyvety se dodává k p ístroji NanoDropOne^c. Pro informace o kopatibilních kyvetách viz m ení vzork pomocí kyvety.

Poznámka Vy ist te a osušte kyvety po každém m ení. Používejte nepoškrábané kyvety a zamezte vzniku otisk prst, které mohou negativn ovlivnit výsledky m ení.

Poznámka Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji - vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.

Údržba vzorkovacího systému kyvety

- Nechávejte rameno p ístroje sklopené pokud p ístroj nepoužíváte.
- Použijte stla ený vzduch pro odstran ní ne istot (prachu) z držáku kyvety.
- Pomocí nového laboratorního ubrousku odstra te veškeré úkapy z vnit ku držku kyvety.

išt ní a údržba kyvet viz doporu ení výrobc .

Související témata

- M ení vzork kyvety
- · Doporu ené postupy pro m ení pomocí kyvety



Diagnostika pístroje

Kontrola intenzity Kontrola výkonu Obrazová kontrola podstavce zdroje sv tla

Každých 6 m síc prove te následující kontrolu výkonnosti a funk nosti p ístroje

Kontrola intenzity zdroje sv tla

Spus te kontrolu intenzity (Intensity Check) každých 6 m síc pro kontrolu funk nosti p ístroje. Testovací procedura zahrnuje kontrolu intenzity a pr chodu sv tla ze zdroje xenonového sv tla, kontrolu p esnosti vlnové délky, systematické chyby podle uvedené specifikace. Pokud Váš p ístroj disponuje držákem kyvety (pouze model NanoDrop One^c) tak se tato testovací procedura se provádí automaticky použitím optické délky kyvety.

Pot ebná výbava

nebalvn né laboratorní ubrousky

Spušt ní kontroly intenzity zdroje sv tla

- 1. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te dolní a horní rameno podstavce novým laboratorním ubrouskem.
- 2. U p ístroje NanoDrop One^c vyndejte kyvetu z držáku kyvety.
- 3. Sklopte rameno p ístroje.
- 4. Na základní obrazovce p ístroje (home sceern), klikn te na klikn te na Intensity Check.







(Diagnostics) a poté

5. Klikn te na Measure a vy kejte na ukon ení m ení.



Vzorová obrazovka s výsledky typické kontroly intenzity.

- posunutím prstem doleva zobrazit podrobnosti výsledk
- 6. Pro zopakování kontroly intenzity klikn te na Measure.
- 7. Po ukon ení klikn te na End Experiment.

Po skon ení testu je možné výsledky testu prohlížet v programu Data Viewer (viz obrázek níže). Podrobn ji viz Správa identifikátor na p ístroji.

	<u>الم</u>	Data Viewer		Search	Export	
1	Last Week					
Thursday, August 20, 2015				1 experiment found		
<	Thursday, August 13, 2015			1 experiment found		
	en ?	Intensity Check_08/13/20	15 14:24:48	1 measure	ement	

Interpretace výsledk kontroly intenzity zdroje sv tla

Pokud se u n kterého z následujících indikátor :

- UV
- viditelné spektrum
- Bias

objeví žlutý trojúhelník namísto zelené kontrolní zna ky dle obrázku na p edešlé stran, je nutné o istit podstavce deionizovanou vodou a následn test intenzity zopakovat.

Pokud se vedle indikátoru Bias objeví žlutý trojúhelník, zkontrolujte pracovní teplotu místnosti zda odpovídá specifikaci p ístroje

Pokud op t selže test intenzity, kontaktujte nás

Související témata

- Kontrola výkonu
- Obrazová kontrola podstavce

Kontrola výkonu

Spus te kontrolu výkonu každých 6 m síc pro ov ení zda se p esnost optické dráhy pohybuje v rámci specifikace p ístroje.

Pot ebné vybavení

- nebavln né laboratorní ubrousky
- · deionizovaná voda
- p esná kalibrovaná pipeta (0-2 mL)
- PV-1 performance verification solution (fotometrický roztok standard, dostupný pouze u nás nebo u lokálního distributora
- laboratorní rukavice

Poznámka Kontrolní roztok PV-1 se dodává v jednorázové ampuli. P ed otev ením nutno ampuli d kladn prot epat a následn umožnit soust ed ní roztoku v dolní ásti ampule. Po otev ení ampule je nutné její obsah použít nejpozd ji do hodiny. Roztok napipetujte p ímo z ampule, nep elévejte jej.

Než za nete

Nejd íve zkontrolujte zda jsou podstavce v dobré kondici. Pro kontrolu podstavc , o ist je novým laboratorním ubrouskem a napipetujte 1 mL deionizovnané vody na dolní podstavec. Kapka by se m la vyklenout jak na níže uvedeném obrázku. V opa ném p ípad prove te rekondici podstavc .



Spušt ní kontroly výkonu

1. Na základní obrazovce p ístroje (home sceern), klikn te na

(Diagnostics) a poté

Objeví se zpráva pro zadání hodnot absorbance.

■ NV Performance Verification Setup						
Enter the target absorbance values found on the ampoule label of your PV-1 Performance Verification Solution						
Measure your bl	Measure your blank using 1.0 µL of DI H2O					
Using individual	1.0 μ L aliquots of the PV-1 solution, measure 10 replicates					
PV-1 Performance Verification Solution						
Target #1 Abs:	Target #2 Abs:					
	Kliknutím do zadávacího pole					
	se zobrazí numerická klávesnice					

- 2. Zadejte každou specifickou hodnotu absorbance podle ozna ení na ampuli s roztokem PV-1 a poté klikn te na Done.
- 3. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te horní a dolní podstavec novým laboratorním ubrouskem.
- 4. Napipetujte 1 mL roztok deionizované vody na dolní podstavec, sklopte rameno a kikn te na Blank.
- 5. Zvedn te rameno p ístroje a o ist te oba podstavce novým laboratorním ubrouskem.

Poznámka D kladn prot epejte ampuli s roztokem PV-1, umožn te soust ed ní roztoku v dolní ásti ampule a následn otev ete ampuli standardním zp sobem.

- 6. Napipetujte 1 mL roztok PV-1 na dolní podstavec a spus te m ení vzorku.
 - Pokud je zapnuta funkce Auto-Measure, sklopte rameno p ístroje.
 - Pokud je funkce Auto-Measure vypnuta (nastavena na off), sklopte rameno p ístroje a klikn te na Measure.

Po ukon ení m ení software zobrazí výsledky. Obrázek níže zobrazuje p íklad výsledk kontroly výkonnosti.



Nam ené optické dráhy

7. Zopakujte krok 6 pro nam ení roztoku PV-1 dalších 9-krát použitím nového 1 mL alikvotu pro každé m ení a o ist te oba podstavce po každém m ení.

R Spectrum # 🗖 .2 mm 💥 .03 mm 6 PV-1 Sample 6 7 PV-1 Sample 7 Absorbance deviation 8 PV-1 Sample 8 ê 9 PV-1 Sample 9 PV-1 Sample 10 -0.05 4 End Experiment

Po každém m ení se na obrazovce obrazí výsledky m ení vzorku. Posutím vlevo zobrazíte souhrn výsledk 10 m ených vzork .

Op tovným posunutím vlevo se zobrazí dopl ující podrobnosti m ení spole n s p ehledem výsledk .

	1 mm	0.2 mm	0.1 mm	0.05 mm	0.03 mm
Farget Absorbance	0.96740	0.19348	0.09674	0.09935	0.05961
urrent Absorbance	0.983	0.194	0.092	0.113	0.071
verage Absorbance	0.982	0.194	0.092	0.109	0.068
6 Error	1.5	0.1	5.3	9.8	13.9
tandard Deviation	0.004	0.002	0.001	0.002	0.002
leasurement Wavelength (nm)	302	302	302	260	260
orrection Wavelength (nm)	600	600	600	600	600
ntegration Time (ms)	40	40	40	40	40
Integration Time (ms) ass: The instrument is working withi	40 n specifications.	40	40	40	4
rf rmance Verification 🚊		•••			
				e 16 - 1	

Výsledky kontroly výkonu

Po desátém m ení se zobrazí informace zda p ístroj prošel i neprošel kontrolou výkonnosti:

A Performance Verification				
The instrument is working within specifications.				
ОК				

- Pokud p ístroj kontrolou neprošel, okamžit opakujte krok 6 použitím deseti 2 mL alikvot roztoku PV-1.
- 9. Po ukon ení, klikn te na End Experiment a o ist te podstavce pomocí 3-5 mL deionizované vody.

Po skon ení testu jsou výsledky dostupné v programu Data Viewer (viz obrázek níže). Podrobn ji viz Správa identifikátor na p ístroji.

		ata Viewer 8 experiments found	Search	Select
L	ast six months	Performance Verification		
Thursday, August 20, 2015		2 expe	riments found	
	⊷√Ç Pe	rformance Verification_08/20/2015 12:57:38	10 meas	urements
	NY Pe	rformance Verification_08/20/2015 09:19:03	10 meas	urements

Interpretace výsledk kontroly výkonu

Pokud váš p ístroj neprošel kontrolou výkonu a zopakovali jste deset m ení pomocí 2 mL alikvot , kontaktujte nás.

Související témata

- Testovací roztok PV-1 pro kontrolu výkonu
- Kontola intenzity
- Obrazová kontrola podstavce

Obrazová kontrola podstavce

Spus te obrazovou kontrolu podstavce pro ov ení funk nosti sensoru vzorku, který monitoruje možné chyby jako nap . nep ítomnost sloupce vzorku nebo bubliny ve vzroku. Obrazovou kontrolu podstavce je možné použít pro rutinní kontrolu kvality. Tento test je rovn ž d ležitou diagnostikou v p ípad , že selže detekce komponent p ístroje.

Pot ebné vybavení

nebavln né laboratorní ubrousky

Spušt ní obrazové kontroly postavce

- 1. Vyklopte rameno p ístroje a o ist te horní a dolní podstavec novým laboratorním ubrouskem.
- 2. Sklopte rameno p ístroje.
- 3. Na základní obrazovce p ístroje (home sceern), klikn te na edestal Image Check.

(Diagnostics) a poté

4. Klikn te na Measure.

P ístroj spustí adu test pro kontrolu pozice podstavce a kontrolu kvality snímku. Po skon ení m ení se zobrazí výsledky. Zelená zna ka znamená, že p ístroj úsp šn prošel vitzální kontrolou podstavce.

5. Po skon ení klikn te na End Experiment.

Interpretace výsledk obrazové kontroly podstavce

Pokud se po obrazové kontrole podstavce ukáže žlutý trojúhelník namísto zelené zna ky, následujte pokyny, které se objeví na obrazovce pro odstran ní problému. Poté op t spus te obrazovou kontrolu podstavce. Jestli-že se kontrola znovu selže, kontaktujte nás.

Související témata

- Kontrola výkonnosti
- · Kontrola intenzity





Bezpe nost a provozní opat ení



Bezpe nostní informace



Provozní opat ení



POZNÁMKA Ujist te se zda všechny osoby manipulující s p ístrojem p edem prostudovali bezpe nostní návod.

Provozní opat ení



VÝSTRAHA Neodstra ujte kryt p ístroje. P i odkrytí budete vystaveni ostrým hranám a jemné optické kabeláži. Pokud odstraníte kryt p ístroje zaniká Vám záruka na p ístroj.

Spektrofotometry NanoDrop One jsou zkonstruovány pro práci uvnit (v laborato i) v prost edí které vyhovuje dané specifikaci. Více informací viz p íprava pracovního prostoru Vašeho p ístroje.

Dodržujte následující opat ení a zamezte poškození vašeho p ístroje NanoDrop:

- Používejte uzemn ný napájecí kabel vhodný do vaší lokální elektrické sít. Pokud zjistíte, že je napájecí kabel vašeho p ístroje poškozený - kontaktujte nás.
- Neodstra ujte kryt p ístroje.
- Deska pod podstavcem ramene p ístroje je vyrobena z tvrzeného skla. LCD display používá tepeln zporacované,chemicky tvrzené sklo. Ob skla jsou dostate n robustní aby se nemohli poškodit. Pokud p esto dojde k jejich poškození - prasknutí nebo zlomení, kontaktujte nás pro vým nu.
- Používejte pouze rozpoušt dla vhodná pro tento p ístroj viz (nebezpe né materiály.)
- Nepoužívejte kyselinu flourovodíkovou (HF) na podstavcích
 ionty fluoru trvale poškozují k emíková optická vlákna v kabelech
- Pro zabrán ní poškození p ístroje pokapáním, ponechávejte obaly s kapalinami v dostate né vzdálenosti od p ístroje.
- Nepoužívejte rozst ikova e nebo spreje v blízkosti nebo na p ístroji - vnikem kapaliny hrozí riziko trvalého poškození výrobku.
- Nesnažte se odstranit membránu z dolního podstavce nebo je trvale p ipevn na k p ístroji.
- Na membrán nesmí z stat HCl, alkoholy, b lidla, aceton nebo jiná rozpoušt dla po dobu delší než 1 minuta jinak hrozí oslabení membrány. V p ípad že je mambrána již oslabená, kontaktujte nás.



Bezpe nostní informace

P ed zahájením práce s p ístojem NanoDrop One si podrobn p e t te bezpe nostní informace a dodržujte doporu ení pro systém.

Bezpe nost a zlváštní upozorn ní

V mnoha p ípadech jsou bezpe nostní informace zobrazeny p ímo na p ístroji. Upozor ující zna ka znamená další bezpe nostní informace a nedodržení bezpe nosti m že mít za následek zranení .



VAROVÁNÍ Ozna uje nebezpe nou situaci, která, pokud se jí nevyhnete, m že vést ke smrtelnému nebo vážnému zran ní.



POZOR Znamená nebezpe nou situaci, která, pokud se ji nevyhnete, m že vést k mírnému až st edn t žkému zran ní.

UPOZORN NÍ Postupujte podle instrukcí podle tohoto štítku, aby nedošlo k poškození hardwaru p ístroje nebo ztrát dat.

POZNÁMKA Obsahuje užite né dopl ující informace.

Následující tabulka obsahuje n které bezpe nostní symboly a jejich ozna ení, které se mohou objevit v uživatelské dokumentaci.

Symbol		Popis	
		Toto je povinný symbol akce. Používá se k ozna ení akce aby se zabránilo nebezpe í.	
	\bigcirc	Toto je symbol zákazu. Grafický symbol slouží k upozorn ní takových akcí které uživatel nesmí dále provád t nebo je musí ukon it.	
		Toto je obecné varovné znamení. Nedodržení bezpe nostních opat ení m že vést ke zran ní osob.	
4	Ť	Vyhn te se nebezpe í úrazu elektrickým proudem. Pokud uvidíte n který z t chto symbol , hrozí riziko elektrického šoku. Související postupy m že provést pouze kvalifikovaná osoba.	
		Zabra te vzniku požáru. Nezkoušejte vzorky, které jsou ho lavé a výbušné. Pe liv dodržujte p íslušné pokyny.	
		Zabra te zran ní o í. Pokud uvidíte tyto symboly, hrozí riziko vystavení UV zá ení, které m že poškodit vaše o i pokud si je nechráníte ochrannými brýlemi.	
		Vyvarujte se biologickému nebezpe í. Tato ikona informuje o biologickém nebezpe í v pracovním okolí. Pozorn si p e t te p íslušné pokyny a postupujte podle nich .	
		Vyvarujte se chemickým popáleninám. Tento symbol upozor uje na možné podrážd ní pokožky. Používejte rukavice p i manipulaci s toxickými, karcinogenními, mutagenními nebo žíravými a dráždivými chemickými látkami. Používejte schválené kontejnery a p íslušné postupy pro likvidaci odpadu.	
Symbol	Popis		
\sim	St ídavý proud		
⊥	Uzemn ní		
	Stejnosm rný proud		
Ð	Ochranný vodi ový terminál		

<u> </u>	
<i>ч</i> г	Rám termínálu
-	Pojistka
I	Zapnutí
0	Vypnutí

P i p evzetí p ístroje



VAROVÁNÍ Zabra te zran ní osob. Pokud se tento p ístroj používá jinak, než je uvedeno v související dokumentaci, m že být ochranná funkce za ízení poškozena.



POZOR Zabra te zran ní osob. Provád jte pouze postupy popsané v dokumentaci. Pokud se vyskytnou jiné problémy, kontaktujte nás. Jakýkoliv jiný servis p ístroje smí provád t pouze vyškolená osoba.



POZOR Vyhn te se nebezpe í úrazu elektrickým proudem. Neodstra ujte kryt p ístroje. Veškerý servis p ístroje smí provád t pouze vyškolená osoba.

P i p evzetí p ístroje zkontrolujte zda p epravní box není poškozen. Pokud je zjevn poškozen kontaktujte nás nebo lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

• Umíst te p epravní box s p ístrojem do místa instalace nejmén 24 hodin p ed instalací.

UPOZORN NÍ

- P ístroj je uvnit p epravního boxu ut sn n v plastovém obalu proti vlhkosti.
- P ed otev ením plastového obalu jej ponechte po dobu 24 hodin aby se p ístroj vytemperoval. Pokud box otev ete d íve než p ístroj dosáhne pokojovou teplotu, m že vlhkost za ít kondenzovat a zp sobit trvalé poškození p ístroje.
- P ístroj udržujte ve vzp ímené poloze po celou dobu.

Záruka se nevztahuje na:

- Poškození zp sobené nevhodnými technikami pohybu s p ístrojem.
- Poškození zp sobené nedostate nou temperací p ístroje n ž dosáhne pokojovou teplotu.

Poznámka Než p ístroj p ijde je d ležité mít p ipravené veškeré systémové technické a systémové vybavení pracovního prostoru (budovy) provedené v souladu s místními stavebními a bezpe nostními p edpisy.

Zvedání nebo p emis ování p ístroje

Abyste zamezili nebezpe ní zran ní, používejte p i zvedání nebo p emis ování p ístroje správné techniky zvedání.

Požadavky na elektroinstalaci a bezpe nost

Sí ové napájení musí pocházet od vyhrazených a nep erušovaných zdroj . Napájení musí být bez výpadk nap tí, p echodových ostrých výkyv , frekven ních posun a dalších poruch distribu ní elektrické sít které mohou negativn ovlivnit výkon p ístroje.

Pokud máte podez ení na problémy s kvalitou distribu ní eklektické sít ve vašem míst nebo pokud bude váš p ístroj napojen elektrické sít v t žkém pr myslovém prost edí doporu ujeme p ed instalací provést elektrorevizi. Kontaktujte nás nebo p íslušnou místní instituci, kde získáte další informace.

POZOR Vyhn te se nebezpe í úrazu elektrickým proudem.

- Pouze kvalifikovaná osoba používající p íslušné m icí za ízení je oprávn na provád t kontrolu parametr elektrické sít (nap tí, proud, frekvence).
- Pouze naši vyškolení a certifikovaní servisní zástupci smí provést opravu komponent které jsou ozna eny tímto symbolem.
- Pokud ochranný kryt sou ástek p ístroje vykazuje známky poškození, p ístroj vypn te a zajist te jej proti jakékoliv další manipulaci. Vždy zkontrolujte ochranný kryt po p eprav za ízení.
- I po odpojení p ístroje od všech zdroj nap tí, mohou z stat kondenzátory nabité až po dobu 30 s a tedy m žou zp sobit úraz elektrickým proudem.
- Nedovolte, aby kapalina procházela p es jakýkoli povrch p ístroje, kde by se mohla dostat dovnit p ístroje.
- Nepokoušejte se odstranit kryt p ístroje.

Uzemn ní



POZOR Vyhn te se nebezpe í úrazu elektrickým proudem. Každá využívaná zásuvka musí být vybavena uzemn ním. Zemn ní musí být prost ednictvím bezproudého vodi e napojeného k zemnícímu uzlu distribu ní sít .



Napájecí kabely

Ujist te se, že k napájení používáte vhodný uzemn ný napájecí kabel. Pokud k p ístroji dodávaný napájecí kabel není vhodný do vaší distribu ní sít, nebo pokud se kabel poškodí, kontaktujte nás.

P íslušenství pro úpravu napájecího vedení

Záložní systém UPS snižuje pravd podobnost výpadku elektrické sít v budov . Stabiliza ní systémy pro udržování kvality elektrické sít jsou rovn ž jsou také k dispozici v USA pro napájení 120 V. Sí ové systémy pro nap tí 220 V lze zakoupit lokáln . Kontaktujte technickou podporu o záložních systémech a UPS.

Specifikace parametr elektrické sít

Následující tabulka uvádí specifikace parametr elektrické sít . Kontaktujte vašeho lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o., pokud máte otázky ohledn t chto požadavk .

Požadavky	Specifikace	
Vstupní proud	5,0 A (max.)	
Vstupní nap tí	100-240 VAC	
Frekvence sít	50-60 Hz	
Poruchy sít	Prudké poklesy a nár sty (p ep tí) nebo jiné poruchy sít p ekro it 10% vstupního nap tí (ani po dobu poloviny cykl	nesmí u).
Šum sít	< 2 V (b žný mód) < 20 V (normální mód)	

Spot eba energie

Obecn by m la být kapacita sít o 50% v tší než pot ebuje p ístroj na obvyklý provoz v etn p íslušenství. Maximální požadavky na spot ebu energie a tepelné ztráty a pro spektrometr a p íslušenství jsou uvedeny níže. Tyto hodnoty jsou p ibližné.

Za ízení	Spot eba energie	Max. teplotní ztráty
p ístroj	60 W	205 Btu/hr (= 60 W)

Požární bezpe nost a nebezpe í požáru

UPOZORN NÍ Neumis ujte p ístroj tak, aby se vypína p ístroje obtížné ovládal a zajist te snadný p ístup k napájecí síti a napájecímu kabelu.

Aby nedošlo k popálení osob a nebo nebezpe í vzniku požáru a výbuchu:

- Bu te opatrní p i testování ho lavých nebo výbušných vzork (viz kapitola "Nebezpe né materiály").
- · Nikdy neblokujte žádné otvory na p ístroji ani na jeho napájení.
- Používejte pouze námi dodávané napájecí zdroje.

Ochrana zraku



VAROVÁNÍ Vyvarujte se zran ní. Nikdy se nedívejte do sv tla lampy p ístroje, když svítí.

Nebezpe né materiály

Mnoho standardních metod spektroskopie využívá rozpoušť dla. Jiné používají korozivní vzorky nebo vzorky pod tlakem v plynném stavu.

T kavá rozpoušt dla a ho lavé vzorky



POZOR Vyvarujte se zran ní. Nenechávejte rozpoušt dla nebo ho lavé vzorky v blízkosti p ístroje. Ujist te se, že pracovní prostor je ádn v trán.

Kompatibilní rozpoušt dla

V tšina b žných typ rozpoušt del, která jsou v laborato ích používána je kompatibilní s optickými vlákny podstavc všech typ spektrofotometr NanoDrop. Nicmén vlastnosti vysokého tlaku par n kterých rozpoušt del nemusí být vhodná pro m ení malého objemu p i m ení na podstavci p ístrojích NanoDrop. Pokud m íte vzorky s vysokým tlakem par, použijte p ístroj s m ením v kyvet .

Následující rozpoušť dla jsou kompatibilní pro použití na podstavci p ístroj NanoDrop.

UPOZORN NÍ Rozlití t chto rozpoušt del na povrch p ístroje mimo podstavce m že zp sobit jeho poškození.

n-propanol

chlorid uhli itý

acetonitril

aceton

- metanol
 etanol
 - butan
 - chloroform
 - DMSO .

isopropanol

éter

• benzen

- DMF
- THF
 toluen
 hexan
 - hydroxid sodný
 chlornan sodný
- z ed ná HCl
 z ed ná HNO₃
 z ed ná kyselina octová

Doporu uje se odstranit všechna korozivní rozpoušt dla z podstavc okamžit po dokon ení m ení. Doporu uje se také, aby se ada m ení ukon ila m ením vzorku s deionizovanou vodou, aby se zajistilo, že na podstavcích nez stanou zbytky rozpoušt del.

Membrána kolem podstavce je trvale p ipevn na k p ístroji. Nezkoušejte odstranit mebránu ani porušit t sn ní. Vyhn te se prodlouženému vystavení membrány kyselin HCl, alkoholu, acetonu nebo jiných rozpoušt del, která mohou poškodit upevn ní t sn ní. Pokud se t sn ní uvolní, kontaktujte nás.

UPOZORN NÍ Všechny formy kyseliny fluorovodíkové (HF) nejsou s p ístrojem kompatibilní, protože ionty fluoru poškozují optické vlákna.

Biologické nebezpe í nebo radioaktivní materiály a infek ní látky

Biologické vzorky, jako jsou tkán, t lesné tekutiny, infek ní látky, lidská nebo zví ecí krev jsou potenciálními zdroji infek ních nemocí. Používejte vhodné ochranné prost edky. Pracovníci musí být vyškoleni podle platných p edpis a postup než zahájí práci s infek ními materiály. Postupujte podle vašich interních p edpis pro práci s potenciáln infek ními materiály.



VAROVÁNÍ Snížení rizika spojeného s potenciáln infek ními vzorky:

- Nerozlévejte vzorky na žádné sou ástí p ístroje.
- Pokud dojde k rozlití, bezprost edn vydezinfikujte p íslušný vn jší plochu p ístroje v souladu s vašimi interními p edpisy.

P ístroje, p íslušenství, komponenty nebo jiné související materiály by nem ly být zlikvidovány ani se nesmí nám (ani výrobci komponent) vracet pokud jsou kontaminovány biologicky nebezpe ným nebo radioaktivním materiálem, infek ními látkami, nebo jinými materiály a/nebo za podmínek, které by mohli p edstavovat ohrožení zdraví nebo zran ní zam stnanc . Pokud máte dotazy ohledn požadavk na dekontaminaci, kontaktujte nás.



O systému nápov dy v tomto návodu

Konven ní ozna ení

Bezpe nostní opat ení a další d ležité informace se uvád jí následujícím zp sobem:



POZOR Znamená nebezpe nou situaci, která, pokud se ji nevyhnete, m že vést k mírnému až st edn t žkému zran ní.



UPOZORN NÍ Postupujte podle instrukcí podle tohoto štítku, aby nedošlo k poškození hardwaru p ístroje nebo ztrát dat.

POZNÁMKA Obsahuje užite né dopl ující informace.

Tip Poskytuje užite né informace, které usnad ují práci.

Informace o ochranných známkách

DYMO a LabelWriter jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky spole nosti Newell Rubbermaid ve Spojených státech a/nebo jiných zemích.

Wi-Fi je ochranná známka nebo registrovaná ochranná známka spole nosti Wi-Fi Alliance ve Spojených státech a/nebo jiných zemích.

Bluetooth je ochranná známka nebo registrovaná ochranná známka spole nosti Bluetooth Special Interest Group.

Windows je ochranná známka nebo registrovaná ochranná známka spole nosti Microsoft Corporation ve Spojených státech a/nebo jiných zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem spole nosti Thermo Fisher Scientific inc. a jejích dce iných spole ností.

 $^{\odot}$ 2015-2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.

Kontaktujte technickou podporu

Kontakt na technickou podporu pro USA a Kanadu:

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

Tel: 302 479 7707 Bezplatná linka: 1 877 724 7690 (pouze pro USA a Kanad) Fax: 302 792 7155 E-mail : nanodrop@thermofisher.com webová stránka: www.thermoscientific.com/nanodrop



Kontakt na technickou podporu mimo USA/Kanadu:

Kontaktujte lokálního distributora. Kontaktní informace naleznete na adrese:

http://www.nanodrop.com/Order.aspx

Pokud ešíte chybu vaším systémem, prostudujte kapitolu s informacemi o ešení problém . Pokud chyba p etrvává, kontaktujte nás. Uživatelé mimo USA a Kanadu, prosím kontaktujte lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

Pokud Váš p ístroj vyžaduje údržbu nebo opravu, kontaktujte nás nebo lokálního distributora - M.G.P. spol. s r.o.

Váš lokální distributor:

M.G.P. spol. s r. o. Kvítková 1575 760 01 Zlín

tel: +420 577 212 140 fax: +420 577 211 724 e-mail: mgp@mgp.cz www.mgp.cz

Thermo Scientific