



Thermo Scientific NanoDrop
Products

NanoDrop Lite

Uživatelská příručka

269-275200 Revize A

leden 2012

© 2012 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.

Ochranné známky jsou majetkem společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jejích dceřiných společností.

Thermo Fisher Scientific

Technická podpora

3411 Silverside Road
Bancroft Building, Suite 100
Wilmington, DE 19810 U.S.A.
Telephone: (302) 479-7707
Fax: (302)792-7155

E-mail: nanodrop@thermofisher.com
www.thermoscientific.com/nanodrop

Společnost Thermo Fisher Scientific Inc. poskytuje tento dokument svým zákazníkům při nákupu přístroje. Tento dokument je chráněn autorskými právy a veškerá reprodukce celého dokumentu nebo jeho části je přísně zakázána, s výjimkou písemného souhlasu společnosti Thermo Fisher Scientific Inc.

Obsah tohoto dokumentu se může změnit bez předchozího upozornění. Veškeré technické informace v tomto dokumentu slouží pouze pro referenční účely. Konfigurace a specifikace systému v tomto dokumentu nahrazují všechny předchozí informace, které kupující obdržel.

Společnost Thermo Fisher Scientific Inc. říká, že tento dokument nemusí být úplný, přesný nebo bezchybný a nepřebírá žádnou zodpovědnost a neodpovídá za žádné chyby, opomenutí, poškození nebo ztrátu, které by mohly vzniknout při použití tohoto dokumentu, i když informace v dokumentu jsou správně dodržovány.

Tento dokument není součástí žádné kupní smlouvy mezi společností Thermo Fisher Scientific Inc. a kupujícím. Tento dokument v žádném případě neupravuje ani neupravuje žádné prodejní podmínky, které se budou řídit všemi protichůdnými informacemi mezi těmito dvěma dokumenty.

Pouze pro výzkumné účely. Tento přístroj není zdravotnickým prostředkem a nemá být určen k prevenci, diagnostice, léčbě nebo léčení nemoci.

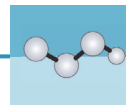


Obsah

Kapitola 1

NanoDrop Lite - Uživatelská příručka	1
Všeobecná bezpečnostní opatření	2
Základní ovládání přístroje NanoDrop	2
Instalace	2
Ovládání klávesnice	4
Menu pro volbu nabídky	4
Základy měření	7
Měření nukleových kyselin	7
Provedení měření	7
Obrazovka měření nukleových kyselin	8
Výpočty pro měření nukleových kyselin	8
Měření proteinů	9
Provedení měření	9
Obrazovka měření proteinů	10
Výpočty pro měření proteinů	10
Přenos dat z přístroje do počítače	12
Užitečné informace pro měření vzorků	13
Požadavky na objem vzorků	13
Přesnost měření vzorků a reprodukovatelnost	14
Homogenita vzorků	15
Nežádoucí přenos (kontaminace) vzorku	15
Poměr A260/A280 Ratio	15
Vliv odpařování a použití rozpouštědel	16
Použití přístroje NanoDrop Lite s doplňkovou tiskárnou	16
Odstraňování problému s podáváním papíru	19
Tisk štítků	20
Výstup tisku	21
Umístění sériového čísla tiskárny	21
Údržba	22
Kalibrace	22
Kontrola kalibrace	22
Čištění	24
Rekondice	25
Kompatibilita s rozpouštědly	26
Decontaminace horního a spodního podstavce	26
Diagnostika	26

Odstraňování problémů	27
Chybová hlášení.	27
Často kladené otázky (FAQ)	27
Záruka.	30



NanoDrop Lite - Uživatelská příručka

Přístroj Thermo Scientific NanoDrop Lite je malý, samostatný UV spektrofotometr vyvinutý speciálně pro měření mikro-objemových vzorků nukleových kyselin a purifikovaných proteinů. Přístroj NanoDrop™ Lite je dodáván s předinstalovaným softwarem a je vyvinut pro použití bez počítače. Přístroj lze připojit k doplňkové tiskárně pro tisk naměřených hodnot.



Systém nanášení vzorku v přístroji NanoDrop Lite je totožný se systémem používaným v ostatních zařízeních NanoDrop: využívá efektu povrchového napětí kapaliny držící 1-2 μl objemu vzorku mezi dvěma nerezovými podstavci, které obsahují optická vlákna. Přístroj používá technologii LED (Light Emitting Diode), NanoDrop Lite měří absorpci vzorku při vlnové délce 260 a 280 nm a koriguje rozptyl světla a účinky pozadí pomocí světla s referenční vlnovou délkou 365 nm. Hodnota A260 a A280 se vypočítá s ohledem na výchozí absorbanci při vlnové délce 365 nm. Tímto způsobem poskytuje přístroj NanoDrop Lite přesné a reprodukovatelné měření pro mikro-objemové vzorky bez potřeby kyvety.

Při měření nukleových kyselin (dsDNA, ssDNA a RNA) přístroj NanoDrop Lite poskytuje informaci o koncentraci pomocí měření absorbance při vlnové délce 260 nm (A260) a údaj o čistotě vzorku pomocí poměru A260/A280. Při měření vzorků purifikovaných proteinů poskytuje NanoDrop Lite informaci o koncentraci pomocí měření absorbance při vlnové délce 280 nm (A280).

Všeobecná bezpečnostní opatření



OZNÁMENÍ Ujistěte se, že se všechny osoby pracující s tímto přístrojem nejprve seznámí s místními postupy a prostudovali bezpečnostní příručku.



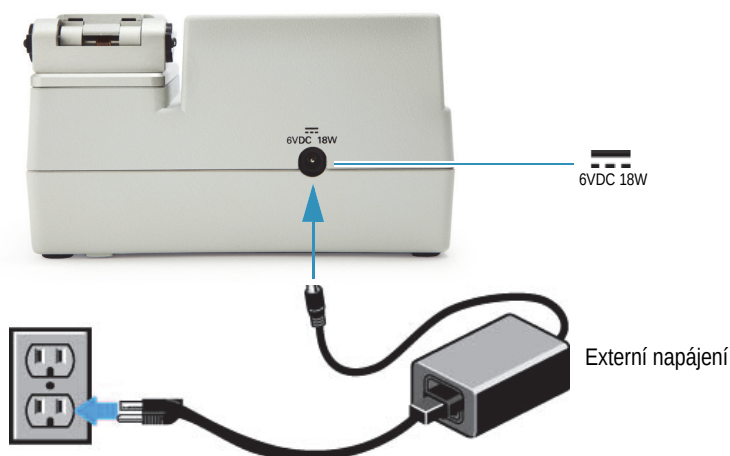
POZOR Při ovládání přístroje s vyklopeným krytem je obsluhující osoba vystavena ostrým kovovým hranám přístroje a jemným optickým vláknům. Odstraněním krytu přístroje může být důvodem pro zrušení záruky.

POZNÁMKA Přístroj NanoDrop Lite je dodáván s napájecím zdrojem 6 V. Používejte pouze napájecí zdroj dodaný s přístrojem, jeho součástí je napájecí kabel s uzemněním. Napájecí kabel připojte do správně uzemněné zásuvky. Použití přístroje způsobem, který není specifikován výrobcem může poškodit ochranou funkci dodávaného napájecího kabele a zdroje napájení.

Napájecí zdroj může zůstat připojen k přístroji NanoDrop Lite, pokud se přístroj nepoužívá. Když je přístroj do elektrické sítě zapojen, ale nepoužívá se, spotřeba energie činí cca 5 W a zdroje LED žárovek nejsou napájeny. Vzhledem k tomu, že NanoDrop Lite není vybaven vypínačem napájení, doporučuje se, aby byl umístěn v místě se snadným přístupem k napájecí zásuvce pro možnost snadného odpojení.

Základní ovládání přístroje NanoDrop

Instalace

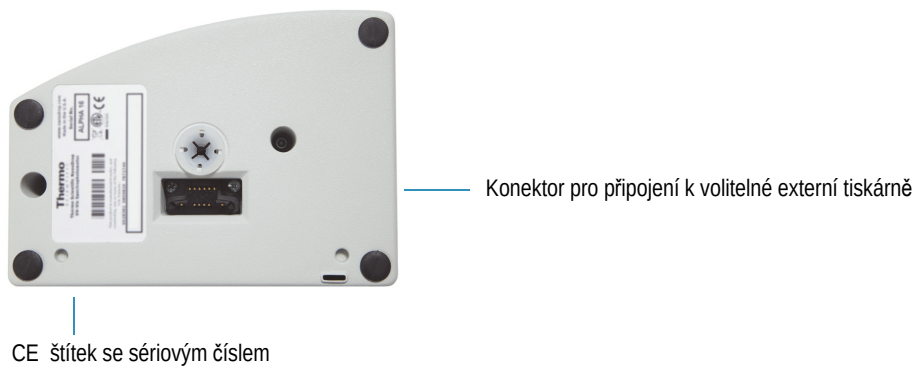


Obr. 2. Levý boční pohled



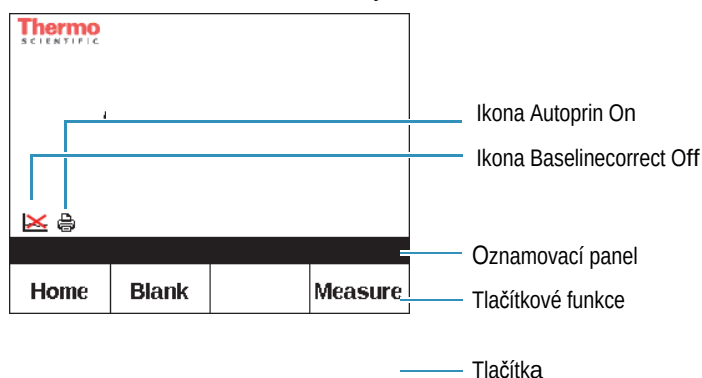
Příklad pamětového média pro uživatelská data

Obr. 3. Pohled zespoda



Ovládání klávesnice

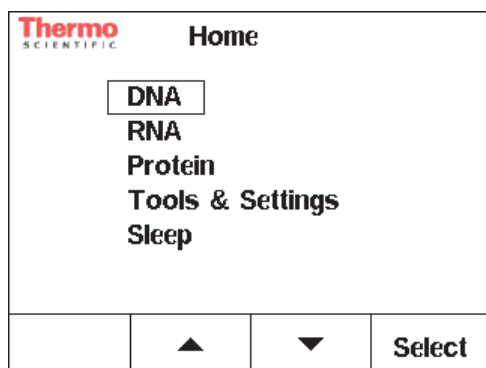
Obr. 4. Základní funkce obrazovky



Tlačítko	Funkce
	- Po stisknutí iniciuje příslušnou funkci uvedenou nad tlačítkem - Funkce se mění v závislosti na obrazovce
	Šipky řídící směr kurzoru
Select	- Přijmutí zadaných nebo vybraných hodnot - Postup k dalšímu parametru nebo na základní obrazovku /Home/
Home	Návrat do hlavního menu
Blank	Zahájení měření blanku
Measure	Zahájení měření vzorku
Change	Umožňuje uživateli změnit nastavení
Back	Návrat na předchozí obrazovku

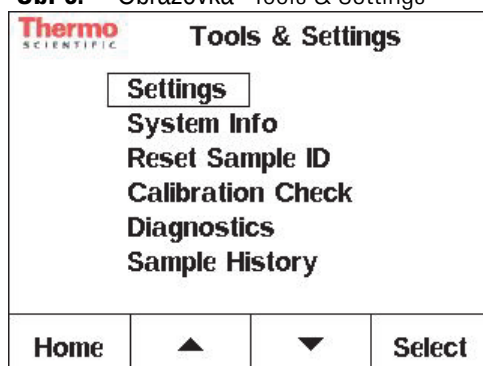
Menu pro volbu nabídky

Obr 5. Domovská obrazovka



DNA	
dsDNA	faktor = 50
ssDNA	faktor = 33
RNA	
RNA	faktor = 40
Protein	
Protein (1A/cm = 1 mg/ml)	Výchozí referenční nastavení
Protein (IgG)	E1%=13,7
Protein (BSA)	E1%=6,7
Nástroje a Nastavení	
Funkce	

Obr 6. Obrazovka "Tools & Settings"



Nastavení

Autoprint: On/Off	•Off je výchozí stav. •Pokud je vybrána funkce Autoprint On a NanoDrop Lite je připojen k tiskárně, vytiskne se štítek automaticky při každém měření. •Štítky se automaticky nevytisknou, pokud je zvoleno Autoprint Off.
Baseline correct: On/Off	•On je výchozí stav. •Doporučuje se ponechat funkci Baseline correct nastavenou na On. •Pokud je funkce Baseline correct nastavena na Off, přístroj nebude používat korekci při 365 nm.
Date & Time	• Tovární nastavení datumu a času je pro časové pásmo Eastern Standard Time používané v USA. • Při instalaci přístroje se ujistěte, že je nastaven datum a čas pro místní časové pásmo.

Nástroje a Nastavení	Funkce
Systémové informace	
Product	•NanoDrop Lite
Serial Number	•Identifikace přístroje - sériové číslo
Firmware Version	•Verze nainstalovaného firmwaru
Cal. Check Date	•Datum kdy byla provedena poslední kalibrace přístroje NanoDrop
Reset Sample ID	
Reset Sample ID? Yes/No	•Pokud je zvolena funkce Yes, přístroj obnoví číslování identifikační číslo vzorku (ID) zpět na #1.
Calibration Check	
	•Ověří zda jsou vlnové délky v rámci tolerance přístroje •Doporučuje se provádět kalibrační kontrolu podstavce každých šest měsíců, aby se ověřilo, zda přístroj pracuje v rámci specifikace
New Cal. Check	•Postupujte podle pokynů na obrazovce - proveďte novou kontrolu kalibrace pomocí kalibračního roztoku CF-1. •Pro podrobnější informace viz kontrola kalibrace přístroje
View Previous Cal. Check	•Zobrazí se data z poslední kalibrační kontroly
Diagnostics	
	•Postupujte podle pokynů na obrazovce. Diagnostika kontroluje výstup LED a zajišťuje, aby senzor ramena a podstavce fungovaly správně. •Výsledky testu budou vyhovět/nevyhovět
Sample History	
	• Zobrazí předchozí měření •Možnost tisku. •Paměť přístroje uchovává data pro 500 vzorků. Po vyčerpání paměti dojde k cyklickému přepsu dat tj. data vzorku s pořadím # 501 přepíší data vzorku s pořadím # 1

Sleep	Function
	• Pokud je vybrána funkce Sleep, zobrazí se, přístroj přejde do režimu nízké spotřeby. • Obrazovka zhasne a modrá LED pod klávesnicí začne pulzovat. • Chcete-li přístroj probudit, stiskněte libovolné tlačítko nebo zvedněte rameno přístroje.

Základy měření

Vzorek o objemu 1-2 µl se pipetuje přímo na spodní podstavec. Zdrojové (vysílající) optické vlákno je umístěno v dolním podstavci, zatímco přijímající vlákno je zabudováno v horním podstavci a rameni přístroje. Světlo vyzařované LED diodami prochází vzorkem a měření se absorpance křemíkové fotodiody.

Zvedněte rameno přístroje a napipetujte vzorek do spodního podstavce.

1. Spustíte rameno přístroje a zahajete měření.
Sloupec vzorku se automaticky natáhne mezi horní a dolní podstavec a provede se měření. Pro vizuální kontrolu vytvoření sloupce vzorku slouží otvor na boční straně ramene přístroje NanoDrop Lite.
2. Po dokončení měření zvedněte rameno přístroje a otřete vzorek z horního i spodního podstavce pomocí nevláknitého laboratorního ubrousku.

Tip Utírání suchým laboratorním ubrouskem je dostatečné k zabránění přenosu vzorku do následných měření.

Měření nukleových kyselin

Pomocí spektrofotometru NanoDrop Lite lze snadno zkontrolovat koncentraci a čistotu vzorků nukleových kyselin. Pro měření vzorků nukleových kyselin (dsDNA, ssDNA a RNA) vyberte příslušnou aplikaci ze základní obrazovky Home screen.

Provedení měření

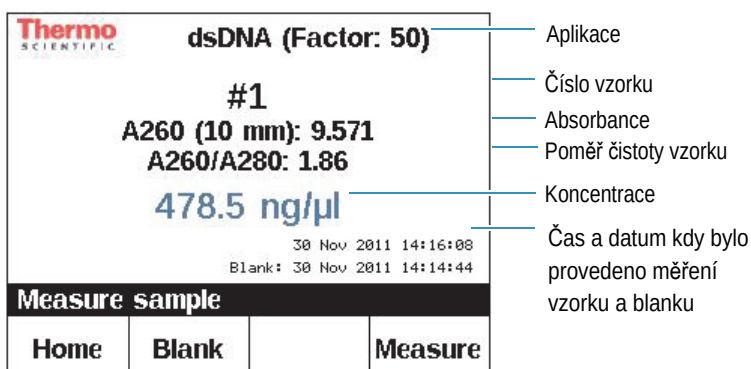
1. Vyberte příslušnou aplikaci (DNA nebo RNA) ze základní obrazovky Home screen.
Pro měření DNA zvolte dsDNA nebo ssDNA.
2. Postupem podle instrukcí na obrazovce připravte blank napipetováním 1-2 µl blankovacího roztoku na spodní podstavec přístroje, sklopte rameno přístroje a stiskněte Blank.
3. Po dokončení měření zvedněte rameno přístroje a utřete pufr z horního a spodního podstavce pomocí suchého laboratorního ubrousku.

4. Potvrďte Blank napipetováním čerstvého roztoku blankovacího pufru na spodní podstavec, spustě rameno přístroje a stiskněte Blank.
5. Po dokončení měření zvedněte rameno přístroje a utřete pufr z horního i spodního podstavce pomocí suchého laboratorního ubrousku.
6. Změřte vzorek napipetováním 1-2 μl vzorku na spodní podstavec, sklopte spodní rameno přístroje a stiskněte Measure.
7. Otřete horní a dolní podstavec suchým laboratorním ubrouskem, přístroj je poté připraven k měření dalšího vzorku.

Poznámka Pro každé měření použijte novou alikvotní část vzorku.

Obrazovka měření nukleových kyselin

Obr 7. Obrazovka měření vzorku



Výpočty pro měření nukleových kyselin

Přístroj NanoDrop Lite by se měl používat pro měření koncentrace purifikovaných vzorků nukleových kyselin. Přímé měření koncentrace nukleové kyseliny předpokládá vyčištěný vzorek, protože ve výpočtu koncentrace nukleové kyseliny je zahrnuta veškerá absorbance při 260 nm. Přenášení nukleotidů, primerů, purifikovaných činidel a buněčného materiálu do měřeného vzorku nukleové kyseliny nadhodnotí výslednou koncentraci nukleové kyseliny.

Pro kvantifikaci nukleové kyseliny se využívá modifikovaný Lambert-Beerův zákon pro použití konverzního faktoru s jednotkami ng-cm/ μl . Pro výpočty nukleových kyselin se používá následující modifikovaný Lambert-Beerův zákon:

$$c = (A \cdot CF) / l$$

kde

c = koncentrace nukleové kyseliny ng/μl

A = absorbance vzorku

CF = konverzní faktor v ng-cm/μl

l = optická délka v cm

Obecně užívané konverzní faktory pro nukleové kyseliny:

- dvojitá šroubovice DNA: 50 ng-cm/μl
- jednoduchá šroubovice DNA: 33 ng-cm/μl
- RNA: 40 ng-cm/μl

Tabulka 1. Rozsah měření koncentrace nukleových kyselin

Typ vzorku	Dolní mez detekce	Horní mez detekce	Typická reprodukovatelnost (10 opakování, SD = ng/μl; CV=%)
dsDNA	4,0 ng/μl	1500 ng/μl	4,0 - 100 ng/μl: +/- 2 ng/μl >100 ng/μl: +/- 2%
ssDNA	2,6 ng/μl	990 ng/μl	2,6 - 66 ng/μl: +/- 1,3 ng/μl >66 ng/μl: +/- 2%
RNA	3,2 ng/μl	1200 ng/μl	3,2 - 80 ng/μl: +/- 1,6 ng/μl >80 ng/μl: +/- 2%
Poznámka Uvedená absorbance je normalizována na délku dráhy 1,0 cm (10,0 mm) pro všechna měření.			

Měření proteinů

Pomocí spektrofotometru NanoDrop Lite lze měřit vzorky purifikovaných proteinů. Pro měření koncentrace vzorku s proteinem vyberte aplikaci Protein na základní obrazovce přístroje /Home screen/ a vyberte vhodný typ čipu (1A / cm = 1 mg / ml, IgG nebo BSA).

Provedení měření

1. Zvolte Protein na základní obrazovce /Home screen/.
2. Vyberte vhodný typ čipu: 1A/cm=1mg/ml, IgG, nebo BSA.
3. Postupem podle instrukcí na obrazovce připravte blank napipetováním 2 μl blankovacího roztoku na dolní podstavec, sklopte rameno přístroje a stiskněte Blank.

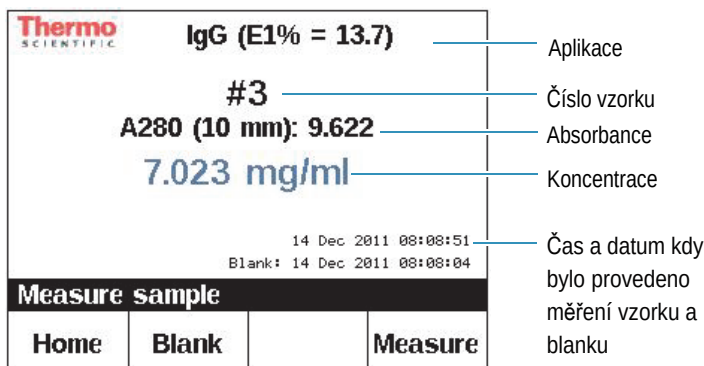
4. Po dokončení měření zvedněte rameno přístroje a utřete pufr z horního i spodního podstavce pomocí suchého laboratorního ubrousku.
5. Potvrďte Blank napipetováním čerstvého roztoku blankovacího pufru na spodní podstavec, spustě rameno přístroje a stiskněte Blank.
6. Po dokončení měření zvedněte rameno přístroje a utřete pufr z horního i spodního podstavce pomocí suchého laboratorního ubrousku.
7. Změřte vzorek napipetováním 2 µl vzorku na spodní podstavec, sklopte rameno přístroje a stiskněte Measure.
8. Otřete horní a dolní podstavec suchým laboratorním ubrouskem, přístroj je poté připraven k měření dalšího vzorku.

Poznámka Pro každé měření použijte novou alikvotní část vzorku.

Při práci se vzorky proteinů se doporučuje použít 2 µl objemu vzorku, aby se zajistilo vytvoření sloupce kapaliny mezi horním a spodním podstavcem přístroje. To platí zejména pro koncentrované vzorky nebo vzorky obsahující detergenty. Viz "[Požadavky na objem vzorku](#)" na [straně 13](#).

Obrazovka měření proteinů

Figure 8. Obrazovka měření vzorku



Výpočty pro měření proteinů

Proteiny, na rozdíl od nukleových kyselin, vykazují značnou rozmanitost. Aplikace Protein A280 je indikována pro purifikované proteiny, které obsahují zbytky Trp, Tyr nebo Cys-Cys disulfidové vazby a vykazují absorbanci při 280 nm. Aplikace Protein A280 měří absorbanci vzorku při vlnové délce 280 nm (A280) a vypočítá koncentraci (mg / ml) za použití zvoleného extinkčního koeficientu. Aplikace Protein A280 nevyžaduje vygenerování standardní křivky.

Přístroj NanoDrop Lite by se měl používat pro měření koncentrace purifikovaných vzorků proteinů. Přímé měření koncentrace proteinu předpokládá vyčištěný vzorek, protože ve výpočtu koncentrace proteinu je zahrnuta veškerá absorbance při 280 nm. Přenášení startovacích látek, purifikovaných činidel a buněčného materiálu do měřeného vzorku proteinu bude mít za následek nepřírozně vysokou výslednou koncentraci analyzovaného proteinu.

Pro kvantifikaci nukleové kyseliny se využívá Lambert-Beerův zákon:

$$c = A / \varepsilon \cdot l$$

kde

c = koncentrace proteinu

A = absorbance vzorku

ε = specifický extinkční koeficient proteinu

l = optická délka v cm

Dostupné možnosti měření specifické koncentrace proteinu:

1A/cm = 1 mg/ml: Obecné referenční nastavení založené na 0,1%-ním (1 mg/ml) roztoku proteinu, který způsobuje absorbanci při 280 nm 1,0 A (při délce dráhy je 10 mm resp. 1 cm). Toto je výchozí nastavení pro aplikaci Protein.

IgG: referenční protein Imunoglobulin G. Koncentrace proteinu ve vzorku se vypočítávají za použití extinkčního koeficientu s hodnotou 13,7 při vlnové délce 280 nm pro 1%-ní (10 mg/ml) roztok IgG.

BSA: referenční protein albumin séra skotu (BSA). Koncentrace proteinu ve vzorku se vypočítávají za použití extinkčního koeficientu s hodnotou 6,7 při vlnové délce 280 nm pro 1%-ní (10 mg/ml) roztok BSA.

Tabulka 2. Rozsah měření koncentrace proteinů

Extinkční Koeficient	Dolní mez detekce	Horní mez detekce	Typická reprodukovatelnost (10 opakování, SD = mg/ml; CV=%)
1Abs=1 mg/ml	0,08 mg/ml	30 mg/ml	0,08 - 2 mg/ml: +/- 0,04 mg/ml >2 mg/ml: +/- 2%
BSA	0,12 mg/ml	45 mg/ml	0,12 - 3 mg/ml: +/-0,06 mg/ml >3 mg/ml: +/-2%
IgG	0,06 mg/ml	21 mg/ml	0,06 - 1,4 mg/ml: +/-0,03 mg/ml >1,4 mg/ml: +/-2%
Poznámka Uvedená absorbance je normalizována na délku dráhy 1,0 cm (10,0 mm) pro všechna měření.			

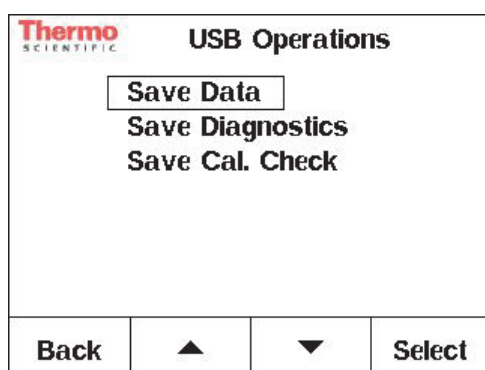
Přenos dat z přístroje do počítače

Přístroj NanoDrop Lite má kapacitu pro uložení 500 měření, které ukládá do vnitřní paměti. Měření zahrnuje vzorky, blanky a konfirmace blanků. K přenosu těchto měření z přístroje do počítače je možnou použít paměťové zařízení USB a data archivovat nebo využít pro další analýzy.

Obsažený software přístroje NanoDrop Lite nepodporuje připojení NanoDrop Lite k externímu pevnému disku. Pro přenos dat je možno použít paměťové zařízení USB (paměťové karty).

Po vložení USB zařízení se zobrazí tyto možnosti:

Obrázek 9. Funkce pro USB

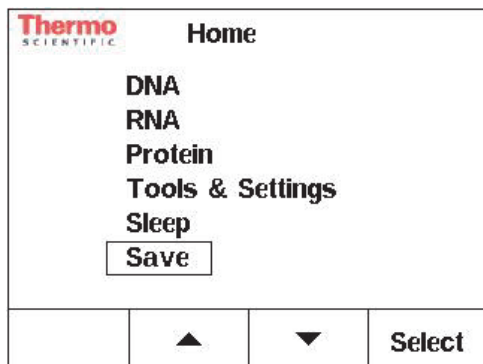


Označení funkce	Funkce
Save Data	Uloží všechna data, která jsou momentálně uložena v interní paměti přístroje do paměťového zařízení USB.
Save Diagnostics	K údajů o měření vzorků připojí diagnostická data a uloží je do paměťového zařízení USB.
Save Cal.	Uloží data poslední kalibrační kontroly do paměťového zařízení USB.

Data z analýzy vzorku se automaticky ukládají do přístroje. Pro přenos dat z přístroje, připojte paměťové zařízení USB a vyberte možnost Save Data (uložit data) z nabídky ovládání USB média. Datový soubor lze přenést do počítače a otevřít v aplikaci Microsoft Excel®. Volba Save Data se objeví pouze po vložení zařízení USB.

Je-li připojeno paměťové zařízení USB, zobrazí se na základní obrazovce přístroje možnost Save (uložit).

Obrázek 10. Funkce Save (uložit) na základní obrazovce



Pomocí funkce Save (uložit) na základní obrazovce se vrátíte do nabídky funkcí pro USB zařízení viz obrázek 9.

UPOZORNĚNÍ Do přístroje se uloží 500 měření, tato měření je možo kdykoliv přenést do paměťového zařízení USB. Po vyčerpání paměti dojde k cyklickému přepisu dat tj. data vzorku s pořadovým číslem # 501 přepíšou data s pořadovým číslem # 1.

Užitečné informace pro měření vzorků

Požadavky na objem vzorků

Objem vzorku je důležitý, protože je nezbytné, aby se vlivem povrchového napětí kapaliny vytvořil dokonalý sloupec kapalného vzorku, který utvoří přemostění mezi horním a spodním podstavcem přístroje.

Dominantním faktorem ovlivňujícím povrchové napětí nanesené kapky jsou vodíkové vazby, které se uplatňují v molekulách vody v roztoku. Obecně platí, že všechny roztoky (včetně bílkovin, DNA, RNA, pufrů a detergentů) mohou snižovat povrchové napětí interferencí s vodíkovými vazbami mezi molekulami vody. I když objem vzorku o velikosti 1 μ l je většinou pro měření vzorků dostatečný, větší objem 2 μ l zajistí správné vytvoření sloupce vzorku s nízkým povrchovým napětím.

To platí zejména při práci s proteinovými vzorky, které mohou obsahovat detergenty. Takové vzorky nevytvoří "kapku" na podstavci, ale mají tendenci rozprostřít se po měřicí ploše. Aby se zajistilo, že kapalným vzorkem dojde ke správnému propojení podstavců, je optimální použít objem 2 μ l.

Vzorky bílkovin, zejména pokud obsahují detergenty, jsou vystaveny tvorbě bublin. Při pipetování na podstavec je nutná zvýšená pozornost, aby se zamezilo vzniku bublin, které by ovlivnily světelnou dráhu spektrofotometru.

Na základě zkušeností se ukazuje, že následující objemy jsou dostatečné pro zajištění reprodukovatelnosti měření:

- vodní roztoky nukleových kyselin: 1 μ l
- vodní roztoky purifikovaného proteinu: 2 μ l

Nejllepší je použít přesnou pipetu (0-2 µl) s přesnými špičkami, aby bylo zajištěno dostatečné množství vzorku (1-2 µl). Pipety s nižší přesností (0 až 10 µl a větší) nejsou moc vhodné aby se vytvořil požadovaný objem (1 µl) na spodním podstavci přístroje. Pokud uživatel nezná charakteristiky vzorku nebo přesnost pipety, doporučuje se aplikovat objem vzorku 2 µl.

Přesnost měření vzorků a reprodukovatelnost měření

Heterogenita vzorku nebo roztoku a/nebo přetržení kapalného sloupce může vést k chybným nebo nereprodukovatelným výsledkům. Pro zajištění přesných a reprodukovatelných měření postupujte podle níže uvedených doporučení:

- Ujistěte se, aby byly povrchy podstavců čisté. Přestože druhé měření blanku je určeno k eliminaci "falešných blanků", které jsou způsobeny zbytky vysušeného vzorku na podstavcích, může špinavý podstavec (znečištěný zaschlým vzorkem) způsobit chybné hodnoty naměřené absorbance (dokonce v záporných hodnotách) a chybnou sytost signálu. Dobrou praxí je vyčistit povrchy podstavců vyčistíte deionizovanou vodou před zahájením měření.

Poznámka Nepoužívejte stříčku nebo sprejovou lahvičku s deionizovanou vodou.

- Použijte vzorku o objemu 1,5-2 µl. Pokud se nesformuje správný sloupec kapaliny vzorku, může dojít k neočekávaným výsledkům měření. Proto během měření kontrolujte vizuálně kapalnou sloupec. Také proteiny a roztoky obsahující povrchově aktivní látky jsou známy tím, že "oddělují" povrchy podstavce tak, že se nestvoří dokonalý můstek. Pokud nastane tato situace, použijte pro rekondici podstavců čisticí sadu Thermo Scientific Pedestal Reconditioning Compound (PR-1). Další podrobnosti naleznete v části "[Rekondice](#)" na [straně 25](#).
- Vzorky DNA o vysoké molekulové hmotnosti zahřejte na teplotu 55 ° C a jemně vortexujte (promíchejte) před měřením. Vzhledem k malým objemům, které k analýze využívá přístroj NanoDrop Lite, je to důležité zajistit homogenitu měřeného vzorku. Zkušenosti ukazují, že vzorky obsahující velké molekuly jako je genomová DNA nebo lambda DNA, jsou zvláště citlivé na heterogenitu.
- Ujistěte se, že jste před měření vzorku použily čerstvý kontrolní blankovací roztok (druhý blank).
- Zkontrolujte, zda má blank a roztok pufru stejnou hodnotu pH a iontovou sílu. Některé pufr absorbují v oblasti UV spektra, proto je důležité přístroj blankovat stejným roztokem (ideálně pufrům ze stejné zásobní láhve) ve kterém je vzorek rozpuštěn.
- Zkontrolujte, zda vzorek není příliš zředěný nebo příliš koncentrovaný. Analyzováním vzorků v dosahujících mezní hodnoty detekce se projeví proměnlivými výsledky měření. Detekční limity jsou definovány v [tabulce 1](#) a [tabulce 2](#).

- Potvrďte, že přístroj pracuje v rámci specifikací s CF-1. CF-1 je kalibrační standard koncentrovaného dichromanu draselného dostupný od fy. Thermo Fisher Scientific a jeho distributorů. Doporučuje se, aby se kontrola kalibrace prováděla každých šest měsíců s novou lahvičkou CF-1, která zajišťuje správnou funkci přístroje dle specifikací.

Homogenita vzorku

Vzorkování z heterogenních roztoků, zejména pokud se používají malé objemy, může mít za následek špatnou reprodukovatelnost dat bez ohledu použité technologie použité pro měření. Genomická DNA, lambda DNA a viskózní roztoky vysoce koncentrovaných nukleových kyselin nebo proteinů jsou běžnými příklady, které vyžadují pečlivou pozornost, aby se zajistila homogenita před odběrem vzorků. Proteiny jsou podrobeny denaturaci, srážení a agregaci, a proto vyžadují speciální zacházení k zajištění homogenity před odběrem vzorků.

Nežádoucí přenos (kontaminace) vzorku

Utírání horního a spodního podstavce čistou suchou laboratorní utěrkou postačuje k odstranění nežádoucího přenosu (kontaminaci) mezi vzorky lišících se koncentrací až o tři řády.

Poměr A260/A280

Někteří výzkumníci mohou zjistit shodný poměr A260/A280 pokud přejdou ze spektrofotometru se standardní kyvetou na přístroj NanoDrop Lite. Tři hlavní příčiny jsou:

Změna kyselosti vzorku - malé změny pH roztoku způsobí změnu poměru A260/A280¹. Kyselé roztoky budou podhodnocovat poměr A260/A280 o 0,2-0,3, zatímco základní roztok bude nadhodnocovat tento poměr o 0,2-0,3. Při srovnávání přístroje NanoDrop Lite s jinými spektrofotometry je důležité zajistit, aby pH nezředěného vzorku změřeno pomocní přístroje NanoDrop Lite bylo stejné pH jako zředěného vzorku změřeno na příslušném jiném spektrofotometru.

Přesnost vlnové délky spektrofotometrů - I když absorbance nukleové kyseliny při 260 nm má obecně plochý průběh, absorbanční křivka při 280 nm je poměrně strmě skloněná. Mírný posun v přesnosti vlnové délky bude mít velký vliv na poměry A260/A280. Například posun o + 1 nm v přesnosti vlnové délky bude mít za následek změnu poměru A260/A280 o hodnotu +0,2. Vzhledem k tomu, že mnoho spektrofotometrů má dle uváděné specifikace přesnost 1 nm, je možné při měření stejného vzorku nukleové kyseliny na dvou různých spektrofotometrech, které mají specifikovanou stejnou přesnost vlnové délky, zjistit rozdíl v měření až o 0,4 v poměru A260/A280.

¹ William W. Wilfinger, Karol Mackey, and Piotr Chomczynski, Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity: BioTechniques 22:474-481 (March 1997)

Rozdíl v poměru A260 / A280 je důležitý při porovnávání měření prováděných pomocí přístroje NanoDrop Lite s měřeními prováděnými na jiných spektrofotometrech. Přístroj NanoDrop Lite využívá zdroje LED světla se středem o vlnových délkách 260 a 280 nm. Výběr kvalitních LED a úzkopásmových filtrů zajišťuje nejvyšší přesnost vlnových délek. Přístroj NanoDrop Lite neobsahuje žádné pohyblivé části a nevyžaduje kalibraci vlnové délky.

Mixování nukleotidů ve vzorku - Pět nukleotidů, které obsahují DNA a RNA, vykazuje velmi rozdílné poměry A260/A280². Hodnoty poměru A260/A280 samostatně (nezávisle) měřených nukleotidů jsou následující:

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

Výsledný poměr A260/A280 pro zkoumanou nukleovou kyselinu bude přibližně stejný jako vážený průměr poměrů A260/A280 pro přítomné čtyři nukleotidy. Je důležité poznamenat, že obecně akceptované jsou hodnoty poměru 1,8 a 2,0 pro DNA a RNA. Skutečný poměr však bude záviset na složení nukleové kyseliny.

Poznámka RNA bude mít typicky vyšší poměr A260/A280 kvůli vyššímu poměru Uracilu ve srovnání Thyminem.

Vliv odpařování a použití rozpouštědel

Pro každé měření by se měla být použita nová alikvotní část zkoumaného vzorku. Odpaření vzorku v průběhu měřicího cyklu má obvykle minimální vliv hodnotu změřené absorbance a může vést k 1-2% zvýšení koncentrace vzorku. Opakované měření na stejném alikvotu vzorku však povede ke zvýšení koncentrace a/nebo přetržení kapaleného sloupce vzorku. Vysoce těkavá rozpouštědla, jako je hexan, se pravděpodobně odpaří než dojde k dokončení měření. Méně těkavá rozpouštědla, jako je DMSO, se mohou úspěšně použít.

Použití přístroje NanoDrop Lite s doplňkovou tiskárnou

❖ Připojte přístroj NanoDrop Lite k tiskárně

1. Zkontrolujte, zda je napájecí zdroj odpojen od přístroje NanoDrop™ Lite i od tiskárny.

2. Pevně zatlačte přístroj na základnu tiskárny, jak je znázorněno.

Po správném nasazení dojde k zapojení přístroje do tiskárny. Přístroj NanoDrop Lite je nyní napájen pomocí tiskárny.

² Leninger, A. L. Biochemistry, 2nd ed., Worth Publishers, New York, 1975

Obrázek 11. Připojení přístroje NanoDrop Lite k tiskárně



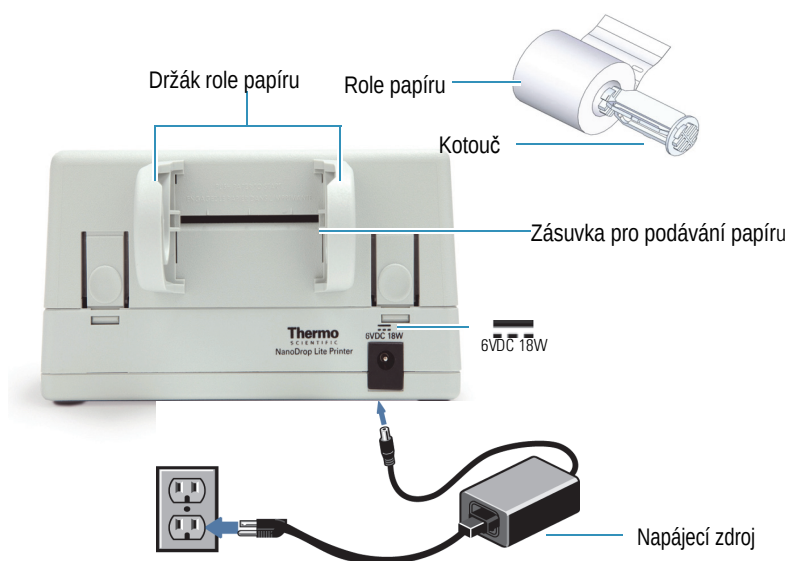
❖ Vložení papíru do tiskárny

3. Ujistěte se, že je přístroj správně ukotven (dokován) v tiskárně.

Tiskárna nebude fungovat pokud NanoDrop Lite nebude správně ukotven.

4. Zapojte napájecí kabel do tiskárny a nechte přístroj NanoDrop Lite spustit.

Obrázek 12. Zadní pohled



5. Rozbalte roli papíru, vložte kotouč a nastavte roli papíru přímo za tiskárnou dle orientaci zobrazené na ikoně, která je zobrazena na boční straně držáků papíru.

Papír by měl vycházet z válce směrem ke vstupnímu otvoru.

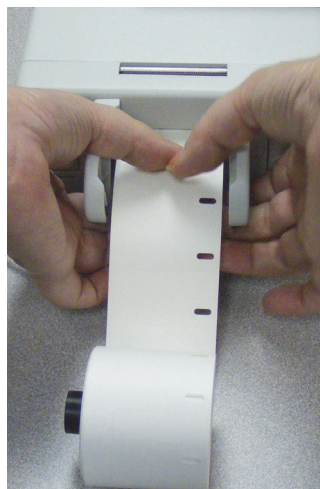
Obrázek 13. Držák papíru



6. Když uslyšíte pohyb mechanismu podávání papíru a na přístroji NanoDrop Lite se objeví základní obrazovka, tiskárna je připravena na vložení papíru; zatlačte konec papíru do slotu pro podávání papíru umístěném na zadním krytu tiskárny.

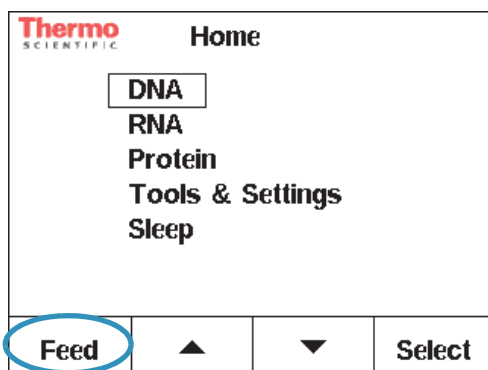
Papír je správně vložen, pokud ho zachytí mechanismus tiskové hlavy a papír vyjde ze slotu v horní části tiskárny.

Obrázek 14. Vložení papíru



7. Vložte roli papíru (na kotouči) do držáku papíru.
8. Stiskněte Feed na základní obrazovce přístroje pro posunutí papíru.

Obrázek 15. Na obrazovce se objeví volba Feed, pokud je přístroj ukotven (dokován) v tiskárně.printer



Tip Užitečné tipy pro instalaci papíru

- Papír držte vycentrovaný, když jej vkládáte do slotu na zadní straně tiskárny.
- Při zasouvání papíru jej uchopte so co nejbližší u tiskárny.
- Po správném vložení papíru uslyšíte zvuk tiskárny, v tomto momentě zatlačte na papír v podavači.
- Pokud nedojde ke správnému vložení papíru, ohněte malý kus rohů papíru a znovu se pokuste papír založit.

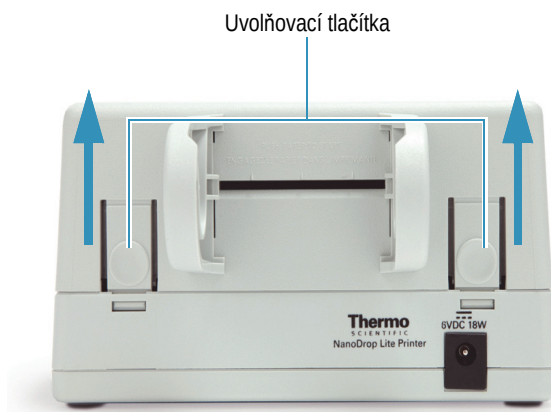
Odstraňování problémů s podáváním papíru

Pokud se papír nevsune správně (papír nevystoupí z horní části tiskárny), vyjměte papír z tiskárny a opakujte kroky 3 až 6.

❖ Odstranění papíru z tiskárny

1. Odpojte napájecí zdroj od tiskárny.
2. Odstraňte panel ze zadní části tiskárny stisknutím dvou uvolňovacích tlačítek na obou stranách držáků papíru současně s vytažením panelu směrem nahoru.

Obrázek 16. Umístění uvolňovacího tlačítka



Po odstranění panelu se na pravé straně válečku zobrazí zelený kolébkový spínač.

3. Stiskněte spínač pro uvolnění papíru (viz [Tisk obálek](#)).
4. Lehce vytáhněte papír z tiskárny.

Obrázek 17. Umístění kolébkového spínače



5. Zatlačte zelený přepínač nahoru do vodorovné polohy, jakmile je papír vyjmut.

Tip Před zaklapnutím panelu se ujistěte, zda jste spínač přepnuli do horizontální polohy.

6. Zacvakněte zadní panel na místo.

7. Chcete-li znovu vsunout zásunou papíru do napájecího zdroje tiskárny, zopakujte kroky v části "Vložení papíru do tiskárny".

Tisk štítků

Když je přístroj připojen k tiskárně, existují tři způsoby tisku štítků vzorků:

- Pokud je funkce Autoprint zapnutá (nastavená na ON), tak se po každém měření vzorků se automaticky vytiskne štítek.

Pro změnu funkce Autoprint přejděte na Home > Tools & Settings > Settings. Stiskněte Change pro zapnutí funkce Autoprint On nebo Autoprint Off.

- Pokud je funkce Autoprint vypnuta, stiskněte tlačítko Tisk po měření vzorku. Pokud požadujete další štítky, stiskněte znovu tlačítko Tisk.
- Stiskněte Print pro sledování výsledků z dříve naměřených vzorků v menu Sample History (Home > Tools & Settings > Sample History).

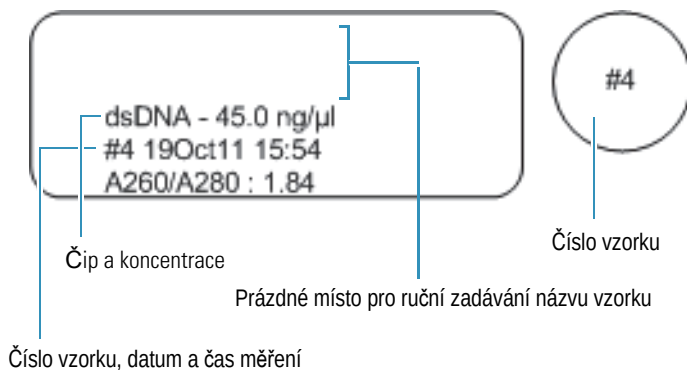
Toto umožňuje tisknout štítky z dříve naměřených vzorků uložených v paměti přístroje. Pomocí tlačítkových šipek zobrazte data vzorků, které chcete vytisknout.

Poznámka: Tištěné štítky jsou kryogenní a podle specifikace výrobce dobře fungují v širokém teplotním rozsahu: 70° C až -196° C.

Výstup tisku

Vytištěné štítky obsahují místo nad údaji pro zápis názvu vzorku.

Obrázek 18. Tisk štítků



Štítky lze použít na 1,5 ml zkumavku nebo vložit do laboratorního protokolu.

Kulatá nálepka umístěná vedle štítku je vhodná pro umístění na horní stranu 1,5 ml zkumavky k použití podle potřeby pro identifikaci vzorku.

Umístění sériového čísla tiskárny

Sériové číslo tiskárny je umístěno na štítku na spodní straně tiskárny. Toto číslo budete potřebovat k identifikaci tiskárny pro účely technické podpory a servis.

Obrázek 19. Sériové číslo



Údržba

Kalibrace

Všechny přístroje NanoDrop Lite jsou při výrobě kalibrovány a obsahují protokol o zkoušce z výroby. Pokud by byla nutná rekalibrace, smí ji provádět společnost Thermo Fisher Scientific nebo autorizovaní zástupci. Rekalibrace je velmi vzácná a měla by být provedena pouze tehdy, když selže kalibrační kontrola a nebo pokud dojde výměně či opravě optických součástí přístroje.

Kontrola kalibrace

Všechny přístroje NanoDrop™ Lite jsou při výrobě kalibrovány a obsahují hlášení o továrních zkouškách. Doporučuje se provést kalibrační kontrolu každých šest měsíců, aby se ověřilo, zda přístroj pracuje v rámci specifikací.

Pro provedení kalibrační kontroly je zapotřebí kalibrační roztok Thermo Scientific CF-1. CF-1 je vodný roztok dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$), který se používá k ověření přesnosti délky dráhy spektrofotometrů NanoDrop Lite.

1. Ujistěte se, že jsou podstavce čisté a že se vytvořila 1 µl vodní kapka na dolním podstavci, pak utřete oba podstavce dosucha.

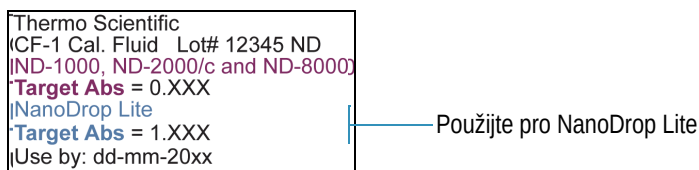
Pokud se kapka vody nevytvoří, vyčistěte podstavce pomocí čistící sady PR-1.

2. Na základní obrazovce /Home screen/, zvolte Tools & Settings a stiskněte Select.
3. Vyberte Calibration Check a stiskněte Select.
4. Zvolte New Cal. Check a stiskněte Select.

5. Zadejte cílovou hodnotu Target Abs nacházející se na obalu sady CF-1 pomocí šipek a stiskněte Next.

Ujistěte se, zda zadaná cílová hodnota odpovídá přístroji NanoDrop Lite. Cílová absorbance by měla být vždy kolem hodnoty 1,0.

Obrázek 20. Příklad štítku sady CF-1



6. Zvedněte rameno a pipetujte 1 µl deionizované vody na podstavec.
7. Sklopte rameno přístroje a stiskněte Blank.
8. Otřete vodu z horního a spodního podstavce pomocí laboratorního ubrousku.

9. Opakujte kroky 6 a 7, abyste potvrdili Blank pomocí čerstvé alikvóty deionizované vody.
10. Otřete vodu z horního a spodního podstavce pomocí laboratorního ubrousku.
11. Před otevřením ampuli s CF-1 silně protřepejte, aby se zajistilo důkladné promíchání roztoku a lehce poklepejte aby jste ověřili, že se roztok se shromažďuje v dolní části ampulky.
12. Sadu CF-1 otevřete opatrným zlomením ampule u jejího krčku.

Poznámka Sada CF-1 je dodávána v jednorázovém obalu, musí se spotřebovat do jedné hodiny po otevření lahvičky. Bude-li tato kapalina vystavena okolnímu prostředí nebo se přemísť do jiné nádoby může dojít k významné změně koncentrace.

13. Napipetujte 1 μ l roztoku CF-1 na spodní podstavec, sklopte rameno přístroje a stiskněte tlačítko Measure. Na obrazovce se zobrazí výsledek prvního měření.
14. Otřete vzorek z horního i spodního podstavce laboratorním ubrouskem a pipetujte 1 μ l roztoku CF-1 na spodní podstavec, sklopte rameno přístroje a stiskněte tlačítko Measure.
Na obrazovce se objeví druhý výsledek měření.
15. Opakujte kroky 13 a 14 dokud se provede 10 měření.

Tip Chcete-li zajistit přesné výsledky, je potřeba mezi měřeními otírat horní a dolní část podstavce suchým laboratorním nebavlněným ubrouskem. Pro každé měření použijte čerstvý alikvot roztoku CF-1 a novou špičku pipety pro každé měření.

Po ukončení všech 10-ti opakovaných měření se zobrazí výsledky formou oznámení Pass/Fail (vyhověl/nehověl). Pokud výsledky kontroly kalibrace indikují selhání /Fail/ je třeba důkladně vyčistěte podstavec podle postupu uvedeném v kapitole "Čištění a opravy podstavce" nebo v částech uživatelské příru. je kalibrační kontrola úspěšná - obje se hlášení Pass, postupujte dále podle bodu 16.

16. Vložte paměťové zařízení USB.
17. Zvolte Save Cal. Check a stiskněte Select.

Pokud bylo paměťové zařízení na začátku kalibrační kontroly, přejděte na základní obrazovku /Home screen/, zvolte Save, stiskněte Select, zvolte Save Cal. Check, a stiskněte Select.

Na obrazovce se zobrazí následující oznámení: Saving.....Do not remove media. Po zmizení této zprávy lze bezpečně odebrat paměťové zařízení USB z přístroje NanoDrop Lite.

Po uložení dat do paměťového zařízení USB je možné data přenést do počítače pro jejich archivaci nebo tisk. Kontrola kalibrace je nyní dokončena.

Kalibrační protokol nelze tisknout na štítky pomocí volitelné tiskárny NanoDrop. Na paměťovém zařízení USB lze uložit pouze nové zprávy o kalibraci a přenést je do počítače pro tisk nebo archivaci.

Do přístroje se uloží pouze poslední (nejnovější) kalibrační kontrola. Předchozí kontrola kalibrace se přepíše každou novou kalibrační kontrolou. Předchozí historii kalibračních kontrol nelze načíst.

❖ Zobrazení předchozí kontroly kalibrace

1. Přejděte na základní obrazovku /Home screen/, zvolte Tools & Settings a stiskněte Select.
2. Zvolte Calibration Check a stiskněte Select.
3. Zvolte View Previous Cal. Check a stiskněte Select.

Poznámka Poslední kalibrační kontrola je k dispozici pro zobrazení na obrazovce přístroje, ale nemůže být vytištěna nebo uložena na paměťové zařízení USB.

Odstraňování problémů

- Pokud přístroj neprojde kontrolou kalibrace pomocí 1 µl alikvotu roztoku CF-1, okamžitě zopakujte postup pomocí 2 µl alikvotu roztoku CF-1.
- Jestliže postup selže pro objem 1 µl, ale projde pro objem 2 µl, znamená to, že délky dráhy jsou v rámci specifikace, avšak podstavce patrně možná nejsou správně udržovány. Proto podstavce vyčistěte podstavce pomocí roztoku PR-1 a opakujte kontrolu kalibrace.
- Pokud přístroj neprojde ani kontrolou kalibrace při objemu 2 µl, je nutné provést recalibraci přístroje. Kontaktujte technickou podporu. Mimo USA a Kanadu kontaktujte lokálního zástupce produktů NanoDrop.

Čištění

Základní údržba přístroje NanoDrop Lite spočívá v udržování čistého povrchu podstavců.

1. Napipetujte 3 µl deionizované vody (dH₂O) na spodní podstavec.

Nepoužívejte stříčku pro nanesení dH₂O, na povrch přístroje nenanášejte ani jiné kapaliny.

2. Sklopte rameno přístroje aby se vytvořil kapalný sloupec vzorku; nechte jej v klidu po dobu cca 2-3 minuty.
3. Utřete vodu z horního i spodního podstavce suchým nebvlněným laboratorním ubrouskem.

Tip

Mezi měřeními: Vyčistěte vzorek z horního i spodního podstavce čistým a suchým, nebvlněným laboratorním ubrouskem, aby nedošlo ke kontaminaci následného vzorku a vzniku reziduí.

Mezi jednotlivými uživateli přístroje: Po naměření posledního vzorku se doporučuje se provést očištění obou podstavců deionizovanou vodou (dH₂O).

Doplňující čištění: Pokud se vyžaduje přísnější protokol čištění např. pro sušené proteiny, nahradte deionizovanou vodu 0,5 M roztokem kyseliny chlorovodíkové ve výše uvedeném postupu.

Následujte procedurou s 3-5 μ l dH₂O.

Rekondice

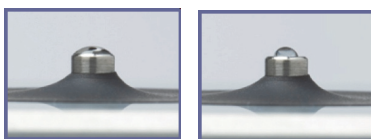
Povrch podstavce se může stát časem znečistit, zejména pokud se provádí měření proteinů nebo vzorků, které obsahují povrchově aktivní látky nebo detergenty. Pokud jsou tímto povrchové vlastnosti ohroženy, vzorky nevytvoří dokonalou kapku na podstavci nebo se může během měření sloupec kapaliny přetrhnout. Pro rekondici podstavce přístroje použijte čisticí sadu PR-1, pomocí které se bezprostředně obnoví správná funkce povrchu podstavce pro optimální tvorbu sloupce kapaliny.

1. Otevřete lahvičku obsahující pastu PR-1 a použijte dodávaný aplikátor, aby se odstranilo množství látky s velkou špičkou.
2. Na povrch horního a spodního podstavce naneste velmi tenkou rovnoměrnou vrstvu čisticí pasty PR-1 a vyčkejte 30 vteřin, než roztok uschne.
3. Složte čistý laboratorní ubrousek na čtvercín a silným třením po povrchu horního a spodního podstavce odstraňte veškeré zbytky PR-1.

Je běžné, že se na laboratorním ubrousku po čištění vytvoří černá skvrna. Pokračujte v utírání podstavců čistým laboratorním ubrouskem dokud se přestanou objevovat tyto černé zbytky.

4. Použijte konzervovaný vzduch k odstranění přebytečných vláken z membrány, která obklopuje základnu spodního podstavce.

Otestujte účinnost rekondice napipetováním 1 μ l vzorku deionizované vody (dH₂O) na spodní podstavec (pomocí kalibrované pipety o objemu 2 μ l), aby jste vizuálně mohli ověřit, že dH₂O vytvoří správnou kapku.



Obrázek vlevo jak se kapalný vzorek nesprávně rozprostře na špatně udržovaném podstavci. Obrázek vpravo zobrazuje ideální tvorbu kapky roztoku 1 μ l dH₂O, která vznikne na správně udržovaném podstavci.

Jakékoliv pufrý obsahující povrchově aktivní látky nebo detergenty mohou ovlivnit charakteristiky povrchu tak, že se nevytvoří správná kapka s 1 μ l vzorku. Použijte čisticí roztok PR-1, pokud dojde ke zhoršení vlastností povrchů a přetržení kapalného sloupce vzorku. Tímto opatřením se provede rekondice, která zajistí správné utváření sloupce nanesené kapaliny.

Kompatibilita s rozpouštědly

Podstavce spektrofotometru NanoDrop Lite jsou kompatibilní s mnoha typy rozpouštědel běžně používaných ve výzkumných biologických laboratořích. Jedná se o tyto látky:

- | | | |
|------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| • aceton | • zředěná HNO_3 | • isopropanol |
| • acetonitril | • zředěná kys. octová | • metanol |
| • benzen | • DMF | • n-propanol |
| • butanol | • DMSO | • hydroxid sodný |
| • chlorid uhličitý | • etanol | • chlornan sodný (bělicí činidlo) |
| • chloroform | • éter | • THF |
| • zředěná HCl | • hexan | • toluen |

POZNÁMKA

- Všechny formy kyseliny fluorovodíkové (HF) nejsou kompatibilní, protože fluoridové ionty rozpouštějí optické křemíkové vlákno.
- Nedovolte, aby alkohol, bělicí činidlo, aceton či jiná rozpouštědla zůstaly na membráně obklopující podstavce déle než minutu, protože by mohlo dojít k poškození těsnící funkce lepidla podstavců. Pokud se těsnění uvolní, kontaktujte technickou podporu.

Dekontaminace horního a spodního podstavce

Je-li nutná dekontaminace, je možné použít dezinfekční roztok jako např. 0,5% roztok chlornanu sodného (ředění 1:10 běžných komerčních bělicích roztoků, čerstvě připravený), aby se zajistilo, že na horní a spodním podstavci nebude přítomen žádný biologicky aktivní materiál.

Poznámka Nepoužívejte stříkací nebo sprejovou lahvičku pro nanášení zředěného bělidla. Laboratorní ubrousek navlhčete bělicím prostředkem a tím poté vyčistěte povrch horního a spodního podstavce, stejně jako vnější část přístroje. Odstraňte bělicí roztok laboratorním ubrouskem navlhčeným ve vodě.

Diagnostika

Diagnostický modul se používá k ověření správného fungce zdrojů světla a jeho detektorů.

❖ Provedení kontroly diagnostiky:

1. Zvolte Diagnostics v menu obrazovky Tools & Settings.
2. Zvedněte rameno přístroje a ujistěte se, zda jsou podstavce čisté.

3. Přidejte 1 µl deionizované vody na spodní podstavec a sklopte rameno přístroje.

Po dokončení kontroly diagnostiky se zobrazí výsledek zprávou PASS (vyhověl) nebo FAIL (nevyhověl), výsledky se zobrazá pro každou testovanou položku.

Odstraňování problémů

Chybová hlášení

Některé chybové zprávy (např. 802, 804, 806 a 808) jsou spuštěny pokud během měření dosáhne detektor jen malé množství světla. Dojde-li k těmto chybám, zkontrolujte čistotu podstavců viz kapitola "[Čištění](#)" na [straně 24](#).

Pro odstranění vzorků zaschlých na optických vláknech podstavců běžně postačuje použití deionizované vody. Někdy např. u sušených proteinů, je vyžadován přísnější čistící protokol. V těchto případech doporučujeme, nahradit 3 µl deionizované vody roztokem 0,5M HCl. Pro následné odstranění zbytků HCl použijte 3-5 µl dH₂O.

Často kladené otázky (FAQ)

[1]: Jaké jsou požadavky na velikost vzorku pro přístroj NanoDrop Lite?

Odpověď: Pro většinu aplikací obvykle postačuje 1 µl vzorku. Obecně všechny přísady, včetně proteinů, DNA, RNA, pufovacích solí a molekul podobných detergentům, snižují povrchové napětí tím, že přerušují vodíkové vazby mezi molekulami vody. I když objem 1 µl jsou většinou dostatečný pro měření většiny vzorků, doporučuje se použít 2 µl vzorku aby se zajistila správná formace kapalného sloupce pro vzorky s nízkým povrchovým napětím. Objem vzorku < 1 µl se nedoporučuje. Viz kapitola "[Požadavky na velikosti objemu vzorku](#)" na [straně 13](#).

[2]: Jaký druh reprodukovatelnosti a dynamického rozsahu mám očekávat u přístroje NanoDrop Lite?

Odpověď: Dynamický rozsah závisí na typu testu. Další podrobnosti naleznete v [tabulce 1](#).

[3]: Jaké biomolekuly lze analyzovat pomocí přístroje NanoDrop Lite??

Odpověď: Přístroj NanoDrop Lite je určen pro měření koncentrací purifikované dsDNA, RNA, ssDNA a proteinů, které absorbují při 260 nm nebo 280 nm.

[4]: Vyžadují nukleové kyseliny purifikaci před měřením?

Odpověď: Ano. Měření absorpce není specifické pro konkrétní nukleovou kyselinu. Jakákoliv biomolekula, která absorbuje při 260 nm (DNA, RNA nebo volné nukleotidy), přispívá k celkové absorbanci vzorku.

[5]: Co se stane s vzorkem dat, pokud se v okamžiku měření nepřeveďte do USB zařízení?

Odpověď: Data z každého měření se automaticky ukládají do paměti přístroje a mohou být později přenesena do paměťového zařízení. Vzorky jsou identifikovány přesným časem měření. Přístroj NanoDrop Lite disponuje interní pamětí pro uložení až 500 měření, ty lze přenést do počítače pomocí paměťového zařízení USB dodávaného s přístrojem nebo jiným kompatibilním zařízením USB. Po vyčerpání paměti dojde k cyklickému přepisu dat t.j. měření # 501 bude nahradí měření # 1.

[6]: Je možné měřit proteiny pomocí přístroje NanoDrop Lite?

Odpověď: Ano. Aplikace Protein A280 může být použita pro purifikované proteiny. Přístroj NanoDrop Lite nepodporuje kolorimetrické testy a neumožňuje měřit poměry A260/A280 pro bílkoviny.

[7]: Jak se zobrazit předchozí měření uložené v paměti přístroje?

Odpověď: Chcete-li zobrazit nebo vytisknout předchozí měření, použijte menu Sample History. Viz kapitola "[Tisk štítků](#)" na [str. 20](#).

[8]: Jaký je dynamický (koncentrační) rozsah a reprodukovatelnost proteinů přístroje NanoDrop Lite?

Odpověď: Dynamický rozsah závisí na zvoleném typu testu (1A / cm = 1 mg / ml, IgG nebo BSA). Další informace naleznete v [tabulce 2](#).

[9]: Používám kolorimetrickou metodu např. Bradford, BCA, atd. ke stanovení koncentrace bílkovin v buněčném extraktu. Mohu měřit vzorky metodou A280 v přístroji NanoDrop Lite?

Odpověď: Ne. Aplikace Protein A280 je v přístroji NanoDrop Lite aplikovatelné pouze na purifikované proteiny. Kolorimetrické testy, jako jsou BCA, Pierce 660 nm, Bradford a Lowry, se obecně používají pro komplexní vzorky proteinů, jako jsou buněčné lyzáty a vyžadují standardní křivku. Pokud v současné době používáte kolorimetrický čip pro měření bílkovin, doporučuje se použít jednu z předprogramovaných kolorimetrických metod, která jsou k dispozici v přístrojích NanoDrop 2000/2000c.

[10]: Je snadné otřít povrch podstavce tak, aby nedošlo k přenosu - kontaminace následného vzorku?

Odpověď: Ano. Precizně vyleštěné křemenné nerezové povrchy systému nanášení vzorku jsou odolné vůči adhezi vzorku. Vzorky lze velmi snadno odstranit pomocí neabsorbujících laboratorních ubrousků. Pokud je však vzorek zůstatne ponechán na podstavci a zaschne, je zapotřebí aplikovat důkladnější čištění pomocí vody Viz kapitola "[Rekondice](#)" na [straně 25](#).

[11]: Jak zjistím přesnost přístroje NanoDrop Lite?

Odpověď: Pomocí kalibrační kapaliny NanoDrop proveďte kontrolu kalibrace. Kalibrační roztok CF-1 se připravuje z dvojchromanu draselného podle standardu SRM v okyselené vodě čistého činidla.

[12]: Ovlivní objem vzorku výsledky měření koncentrace?

Odpověď: Ne. Všechny výpočty jsou nezávislé na objemu. Koncentrace vzorků pro všechny aplikace se stanovují na základě Lambert-Beerova zákona, který definuje vztah mezi koncentrací a absorpční s použitím extinkčního koeficientu nebo konverzních faktorů specifických pro roztok dané vlnové délky.

[13]: Jaké světelné délky se používají pro měření a musí uživatel provést nějaké výpočty týkající se délky optické dráhy?

Odpověď: Přístroj NanoDrop Lite využívá optickou délku dráhy světla 0,5 mm a všechny zaznamenané výsledky koncentrace zohledňují délku dráhy světla. Absorbance uvedená u všech měření je normalizována na vlnovou délku dráhy 10 mm.

[14]: Jaký je vhodný blankovací roztok?

Odpověď: Blankovací roztok by měl být vždy rozpouštědlem nebo pufrům používaným k rozpuštění vzorku (ideálně v obou případech pokud možno ze stejné šarže nebo láhve) při stejném pH a iontové síle.

[15]: Proč byly naměřeny záporné hodnoty absorbance?

Odpověď: Buď bylo provedeno slepé měření pomocní roztoku s větší absorpční než má vzorek pufru nebo byl špinavý podstavec. Vyčistěte podstavec a proveďte nové měření blanku s novou alikvotou vhodného pufru.

[16]: Jak mohu zabránit rozpadnutí vzorku na podstavci?

Odpověď: Mnoho proteinových činidel a pufrů obsahuje povrchově aktivní látky, které mohou interferovat s hydrofobními vlastnostmi povahou podstavců, což může způsobuje rozpadnutí vzorků. Použijte čisticí sadu NanoDrop PR-1 jako rychlý prostředek pro rekondici podstavců, jestliže jsou vlastnosti povrchů zhoršeny a kvapalný sloupec vzorku se během měření rozpadá. Sadu PR-1 dodává společnost Thermo Fisher Scientific nebo lokální distributor.

[17]: Kde se nachází spektrum mého měření?

Odpověď: Přístroj NanoDrop Lite neshromažďuje spektrální data. Měří absorpční při třech různých vlnových délkách: referenční vlnové délce, při 260 nm a při 280 nm.

[18]: Jak mohu vyčistit podstavce?

Odpověď: Viz "Čištění" na [straně 24](#). Nepoužívejte čisticí prostředky jako jsou detergenty nebo izopropanol, protože mohou silně znečistit podstavce. Pokud se spodní podstavec dobře neudrží, nevytvoří se správný sloupec kapaliny.

[19]: Jak často potřebuji zkontrolovat kalibraci?

Odpověď: Doporučujeme každých 6 měsíců ověřit, že přístroj pracuje v rámci specifikací. Pro kontrolu kalibrace se používá roztok Thermo Scientific (CF-1). CF-1 který dodává společnost Thermo Fisher Scientific nebo autorizovaný distributor.

[20]: Vyžaduje přístroj NanoDrop Lite počítač?

Odpověď: Ne, přístroj NanoDrop Lite je samostatné zařízení s vlastním ovládáním. Data lze uložit do paměťového zařízení a přenést do počítače.

[21]: Kdy je nutné vyměnit zdroj světla v přístroji NanoDrop Lite?

Odpověď: Předpokládá se, že LED diody vydrží po celou dobu životnosti přístroje.

[22]: Svítí LED diody stále nebo poze při měření?

Odpověď: LED diody se zapínají pouze při měření.

[23]: Mohu připojit můj počítač k přístroji NanoDrop Lite?

Odpověď: Ne. Přístroj NanoDrop Lite nelze připojit k počítači. Jedná se o samostatné zařízení s vlastním ovládáním a softwarem.

[24]: Existují rozpouštědla, která poškozuji povrchy podstavců přístroje?

Odpověď: Podstavce přístroje NanoDrop Lite jsou kompatibilní s většinou typů rozpouštědel běžně používaných v laboratořích přírodních věd a to včetně roztoků zředěných kyselin. Výjimkou je kyselina fluorovodíková (HF) v jakékoliv formě, která poškodí podstavec rozpuštěním křemkového optického kabelu. Nepoužívejte kyselinu fluorovodíkovou na podstavci. Viz "[Kompatibilita rozpouštědel](#)" na [straně 26](#).

Záruka

Všechny spektrofotometry NanoDrop a příslušenství vyrobené společností Thermo Scientific mají záruku na výrobní vady dílů a práce po dobu jednoho roku. Průběžná údržba, jakož i dodatečné jedno-, dvou- a tříleté rozšíření záruky jsou k dispozici. Více informací naleznete na našich webových stránkách.

Kontakt na technickou podporu mimo USA/Kanadu:

Kontaktujte lokálního distributora. kontaktní informace naleznete na adrese: <http://www.nanodrop.com/Order.aspx>

Pokud Váš přístroj vyžaduje údržbu nebo opravu, kontaktujte 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
e-mail: mgp@mgp.cz
[www .mgp.cz](http://www.mgp.cz)