

Manuale per Nanodrop One/OneC

Introduzione

Il Nanodrop One/OneC è uno spettrofotometro che serve a determinare l'assorbanza di microvolumi di campione e viene utilizzato per l'analisi quantitativa di campioni di proteine, RNA e DNA, viste le scarse quantità solitamente disponibili per queste biomolecole. Durante la misura il campione è trattenuto fra due superfici metalliche sfruttando la tensione superficiale del liquido, senza l'utilizzo di cuvette o capillari, permettendo così la determinazione della concentrazione di volumi di campione fino a 1-2 μ L. E' comunque possibile utilizzare anche la classica cuvetta (1cm) per le misure di assorbanza. In ogni caso la velocità della misurazione con questo metodo è superiore a quella di un comune spettrofotometro.

Principali applicazioni del Nanodrop:

- Quantificazione di campioni di Proteine purificate e di acidi nucleici
- Metodi colorimetrici (Bradford, BCA, Lowry and Pierce 660 nm)
- Monitoraggio della crescita batterica con l'applicazione OD600 (esclusivamente in cuvetta).
- Esperimenti di cinetica enzimatica.

Manuale operativo

Per accendere lo strumento è presente un pulsante sul retro. Lo strumento è dotato di un touch screen, e prevede la misura anche in cuvetta (1 cm). Per la pulizia è sufficiente asciugare le superfici del piedistallo inferiore e superiore con una comune salvietta da laboratorio ad ogni misurazione.

Il salvataggio degli spettri avviene in loco, ma è possibile l'esportazione tramite chiavetta usb.

Al termine dell'utilizzo è necessario sanificare la sede di deposizione del campione con:

- una salvietta pulita leggermente umettata con un detergente non aggressivo
- poi ripassare con una nuova salvietta umettata di acqua Mill-Q
- poi riasciugare con nuova salvietta pulita.

Misura della concentrazione di Proteina basandosi su misure di assorbanza a 280 nm:

Startup:

1. Selezionare l'applicazione *Protein* dal menù principale.
2. Le impostazioni predefinite sono raccomandate per la maggior parte dei campioni di proteina. Se si sta misurando un campione di proteina precedentemente caratterizzato selezionare il tipo di campione da misurare dal menù a tendina. Altrimenti introdurre il coefficiente di estinzione

molare e la massa molecolare del campione per calcolare la concentrazione dalla misura di assorbanza.

Misura del bianco:

1. Aggiungere con una micropipetta 1-2 μL della soluzione appropriata di bianco sul piedistallo inferiore, abbassare il braccio e cliccare sul pulsante *Blank*.
2. Asciugare la soluzione dal piedistallo superiore e inferiore usando una salvietta pulita.

Misura del campione:

L'omogeneità del campione è importante, quindi agitarlo immediatamente prima di prelevare una aliquota (1-2 μL) per la misura, evitando di introdurre bolle nel mescolare.

1. Scrivere ID del campione nel campo apposito, poi caricare 1-2 μL del campione come descritto per il bianco e cliccare sul pulsante *Measure*
2. Rimuovere il campione dal piedistallo inferiore e superiore usando una salvietta pulita.

Al termine delle misure

- Spengere lo strumento;
- ripulire il piedistallo con salvietta pulita ed umettata di appropriato detergente (chiedere ai referenti) e poi con altra salvietta pulita umettata di acqua Milli-Q. Ed infine asciugare.

E' obbligatorio compilare il registro di utilizzo utenti, posto vicino allo strumento.

Referenti Scientifici	Direttore, Ferraroni, Bazzicalupi
Referente Tecnico	Randazzo