

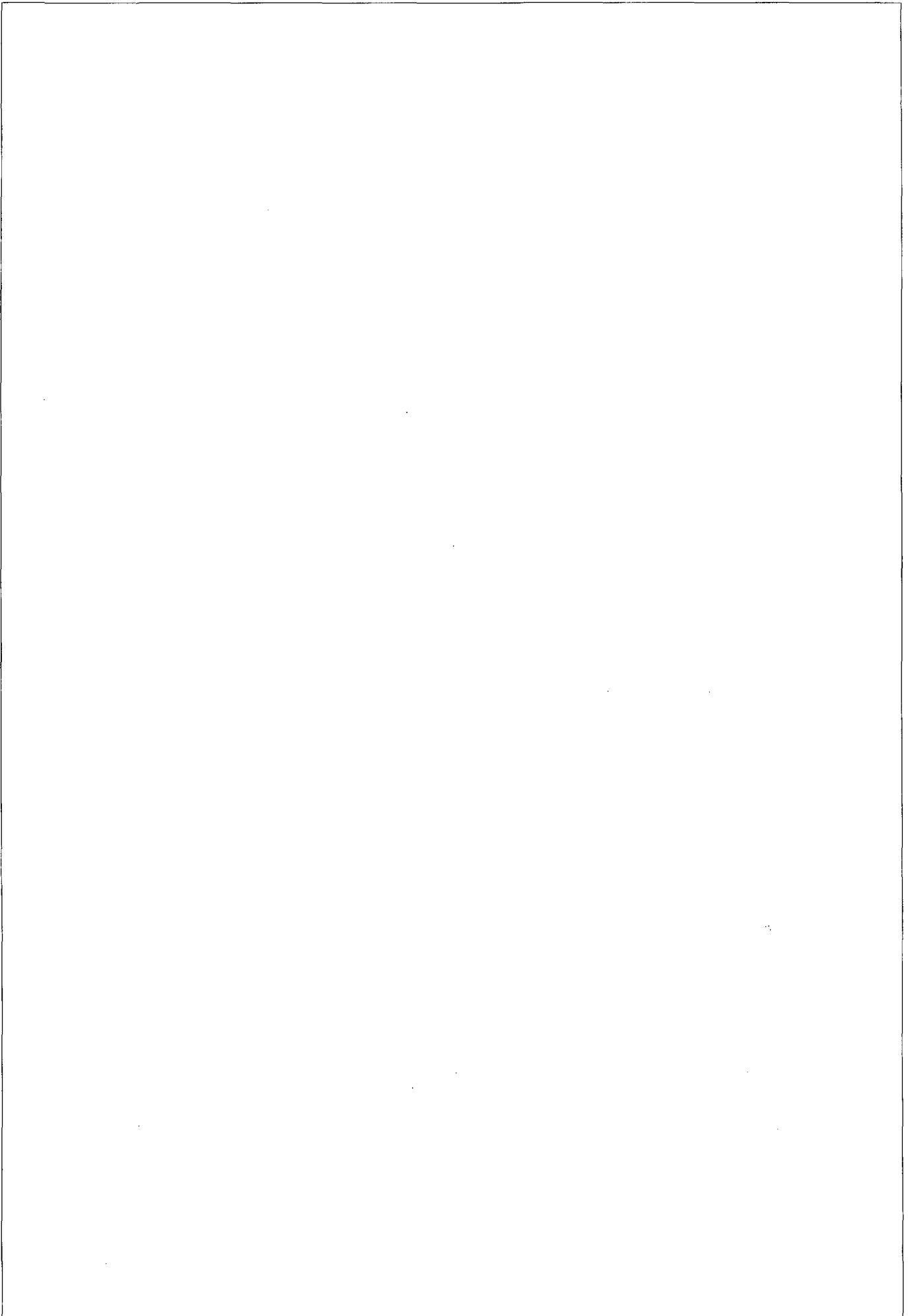
BioPhotometer

Bedienungsanleitung Operating Manual Mode d'emploi

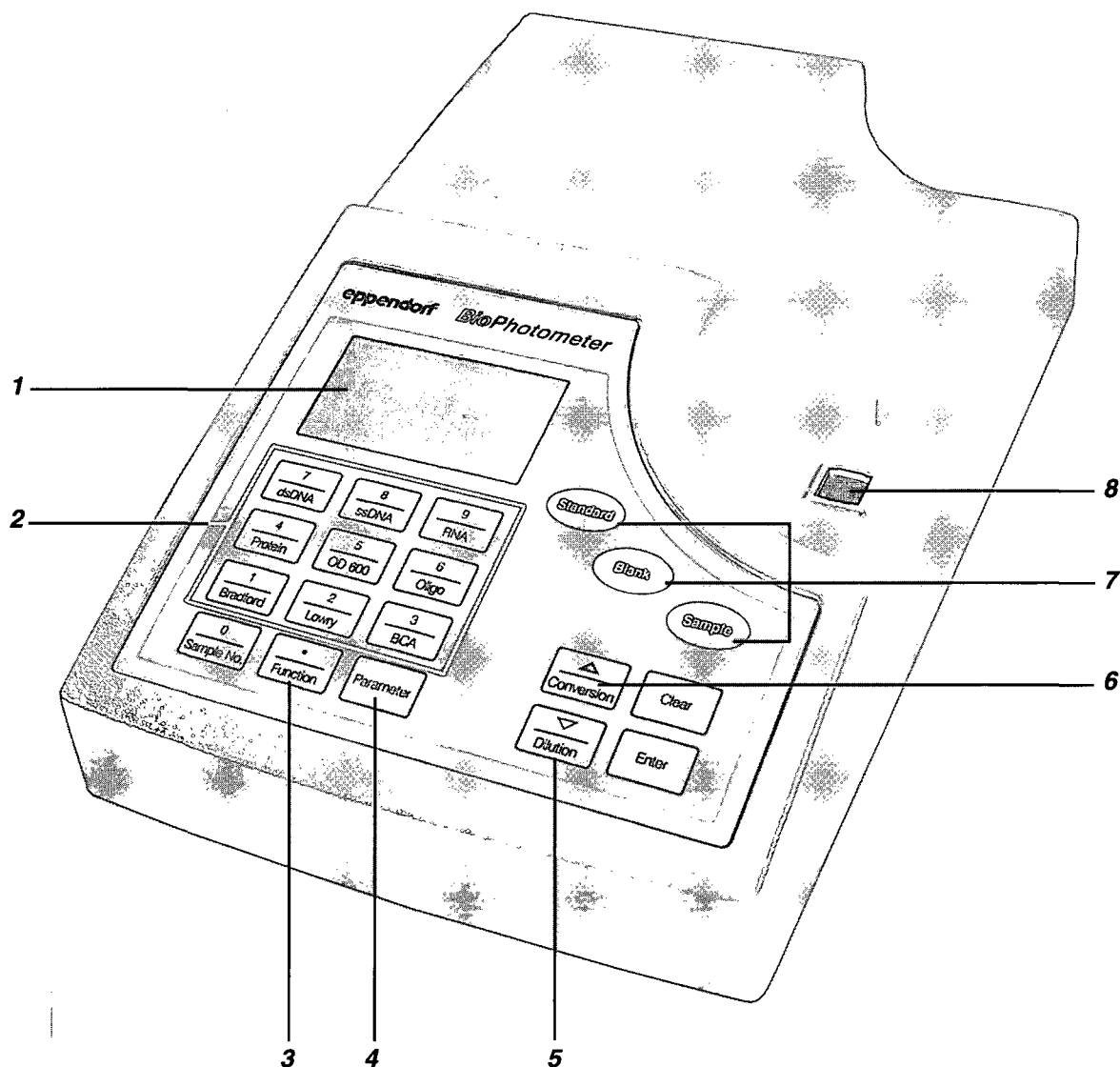


Sommaire

1	Présentation de l'appareil	95
2	Spécifications techniques	97
3	Consignes de sécurité et mise en garde contre certains risques	99
4	Installation	100
4.1	BioPhotometer	100
4.2	Imprimante	101
4.3	Cuves optiques	102
5	Mode d'emploi	103
5.1	Clavier	103
5.2	Détermination des acides nucléiques	105
5.3	Détermination photométrique directe des protéines	107
5.4	Détermination de protéines après ajout de réactif (Bradford, BCA, Lowry)	109
5.5	Détermination des OD 600	112
5.6	Détermination d'échantillons dilués	113
5.7	Modification du numéro d'échantillon	114
6	Programmation	115
6.1	Principes de la programmation	115
6.2	Tableau des paramètres	117
6.3	Explication des paramètres	118
6.4	Tableau des valeurs programmées d'origine	120
7	Fonctions	121
8	Messages d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires	123
9	Nettoyage et maintenance	126
10	Mode d'emploi succinct	127
11	Nomenclature	131
12	Exploitation des résultats et conversions	132
12.1	Acides nucléiques (ADNs, ADNss, ARN, Oligo)	132
12.2	Protéines directes par photométrie	133
12.3	Protéines par ajout de réactif	134
12.4	OD 600	135
13	Contrôle du photomètre	136
	Certificat de conformité du BioPhotometer 6131	138



1 Présentation de l'appareil



- | | | | |
|---|--|---|--------------------------|
| 1 | Cadran-afficheur | 5 | Touche dilution |
| 2 | 9 touches de méthodologie | 6 | Touche conversion |
| 3 | Touche fonction (paramètres du système) | 7 | Touches de lecture |
| 4 | Touches paramètres (touches de programmation) | 8 | Puits porte-cuve |

Le commutateur secteur, la prise d'alimentation et le connecteur pour imprimante sont situés à l'arrière de l'appareil (voir chapitre 4 "Installation").

Le BioPhotometer Eppendorf est destiné à la détermination rapide, simple et confortable des principales méthodes pratiquées en laboratoire de biochimie moléculaire et de recherche.

Cuves

Le puits porte-cuve est compatible avec les cuves rectangulaires en verre ou en matière de synthèse, selon leur transparence optique aux différentes longueurs d'ondes. La cuve UVette® Eppendorf est la première cuve en matière de synthèse qui permet la détermination des acides nucléiques.

Il convient de tenir compte de la hauteur de la fenêtre du faisceau optique qui est de 8,5 mm. Pour obtenir des résultats justes et reproductibles, les faces optiques des cuves doivent toujours être très propres et la solution soumise à mesure exempte de particules en suspension. L'appareil est livré avec un capuchon de protection pour le porte-cuve pour éviter les dépôts de poussière en période d'immobilisation.

1 Présentation de l'appareil

Méthodes

L'appareil est livré d'origine avec 12 méthodes préprogrammées qu'il suffit d'appeler par simple sollicitation d'une touche spécifique:

Acides nucléiques

dsDNA	ADN double brin
ssDNA	ADN simple brin
RNA	ARN
Oligo	Oligonucléotides


Protéines

Protéines	par détermination photométrique
Bradford	Méthode de Bradford
Bradford micro	Méthode de Bradford dans le domaine des faibles concentrations
Lowry	Méthode de Lowry
Lowry micro	Méthode de Lowry dans le domaine des faibles concentrations
BCA	Méthode BCA
BCA micro	Méthode BCA micro

Densité des suspensions bactériennes

OD 600	Mesure de la turbidité
---------------	------------------------

Programme des méthodes

Chaque méthode comporte un programme installé d'origine en usine. Ce programme inclut un ensemble de paramètres tel que l'expression des unités de concentration ainsi que la méthode d'exploitation des données de mesure. Cependant les programmes peuvent être modifiés. Il suffit de taper la touche  pour accéder aux modifications. Lors de la première utilisation d'une méthode, il convient de rappeler son programme pour examiner les paramètres et le cas échéant de les modifier pour les adapter aux applications propres. Pour les méthodes comportant une série étalon, il conviendra d'adapter la concentration des étalons.

Détermination



Pour effectuer une détermination, il suffit de taper la touche correspondant à la méthode envisagée. Les méthodes Bradford, Lowry et BCA comportent une particularité: chacune de ces méthodes est programmée pour deux gammes de concentration et d'exploitation. Pour passer d'une méthode à l'autre, il suffit de solliciter alternativement la même touche pour basculer de l'une à l'autre. ("BCA" et "BCA micro").

Pour démarrer la lecture, appuyer sur l'une des trois touches ovales selon le cas.

L'appareil ne nécessite pas de préchauffage, il est prêt instantanément. Pour connaître laquelle des trois touches de mesure est disponible, se reporter à la partie inférieure du cadran afficheur (voir descriptif de la procédure de mesure, chapitre 5, mode d'emploi).


Exploitation des données

Pour que le résultat soit automatique, chaque méthode comporte dans sa programmation une procédure d'exploitation (facteur, calibrage, formule de Warburg ou encore une sortie directe en absorbance). L'appareil fournit directement le résultat, mais affiche également la valeur des absorbances, et pour les acides nucléiques, les rapports d'absorbances usuelles.

Les dilutions des échantillons peuvent également être prises en considération (touche ). En tapant la touche , l'appareil convertit les concentrations massiques en concentrations molaires. Par ailleurs, cette touche permet de calculer le rendement total dans le tube d'échantillon.

Sortie de résultats

Les résultats peuvent être lus sur le cadran-afficheur ou peuvent être imprimés sur une imprimante le cas échéant. Pour exploiter les valeurs des lectures avec les formules de calcul d'un logiciel tableur installé sur votre ordinateur PC, utiliser le programme de transfert de données Eppendorf qui est disponible sur commande (voir chapitre 11 "Nomenclature").

Les échantillons et les résultats des calibrages sont stockés en mémoire; les données en mémoire peuvent être consultées par sollicitation de la touche .

2 Spécifications techniques

Photomètre

Système optique:	Photomètre d'absorption monofaisceau, avec faisceau de référence et longueurs d'ondes fixes
Lampe source:	Lampe flash xénon
Diffraction spectrale:	Réseau holographique concave
Longueurs d'ondes de lecture:	Xe 230; 260; 280; 320; 562; 595 nm
Sélecteur de longueur d'ondes:	Fonction de la méthode, pilotée par le programme
Bande passante:	5 nm de 230 à 320 nm 7 nm de 562 à 595 nm
Justesse spectrale:	± 1 nm de 230 à 280 nm ± 2 nm de 320 à 595 nm
Gamme photométrique:	Cuve quartz: 0,000 à 3,000 A UVette® (Eppendorf): 2,5 A à 230 nm 2,6 A à 260 nm 2,8 A à 280 nm 2,9 A à 320 nm
Justesse photométrique:	$\leq 0,002$ A à 0 A $\leq 0,005$ A à 1 A
Défaut de justesse photométrique :	± 1 % à 1 A
Lumière parasite:	< 0,05 %

Méthode de lecture

Méthode de mesure:	Point final contre blanc
Traitement des données en fonction de la méthode:	Absorbance Concentration par facteur Concentration par la formule de Warburg Concentration par un calibrage utilisant entre 1 et 10 standards Calibrage à un point (un étalon) Régression linéaire (de 2 à 10 standards) Régression non linéaire (polynôme du 3 ^è degré; 4 ou 5 à 10 standards (voir chap. 12, exploitation des données); détermination 1x; 2x; 3x Pour acides nucléiques: Ratio 260/280 Ratio 260/230 Concentration molaire Rendement total

Capacité mémoire

Mémoire méthode:	12 programmes pour méthodes, préprogrammées, accessibles à la modification
Mémoire de calibrage:	Pour toutes les procédures de calibrage
Mémoire pour résultats:	Pour 100 résultats avec absorbance, valeur des ratios, numéro d'échantillon, dilution d'échantillon, Date et heure (calendrier jusqu'en 2090)

2 Spécifications techniques

Éléments d'utilisation

Nature des cuves:	ADNds, ADNss, ARN, Oligo, Protéines:	Nature des cuves: mesure en cuve Quartz ou plastique (UVette® Eppendorf)
	OD 600, Bradford, Lowry, BCA:	cuve verre ou plastique
Porte-cuve:	12,5 mm x 12,5 mm, non thermostaté	
Hauteur de cuve:	Min. 36 mm	
Hauteur du faisceau optique dans la cuve:	8,5 mm	
Dimension du faisceau optique dans la cuve:	Largeur: 1 mm Hauteur: 1,5 mm	
Clavier:	19 touches cloquées	
Cadran-afficheur:	Ecran graphique éclairé 33 mm x 60 mm	
Assistance menu:	Allemand, anglais	
Sortie des résultats:	Cadran-afficheur et imprimante; absorbance; concentration, ratio	

Spécifications générales de l'appareil

Alimentation:	100 – 240 V \pm 10 %; 50 – 60 Hz \pm 5 %	
Catégorie surtension:	II (IEC 61010-1)	
Degré de pollution:	2 (IEC 664)	
Puissance absorbée, restituée:	Env. 20 W en fonctionnement, 10 W en veille	
Courant absorbé:	< 0,3 A	
Microcoupure de tension admissible:	Env. 10 ms à 90 V Env. 200 ms à 220 V	
Fusibles:	T 1 A / 250 V, 5 mm x 20 mm (2 fusibles)	
Ambiante admissible:	15 à 35 °C avec justesse et répétabilité définie –25 à 70 °C hors service, entreposage 15 à 70 % humidité relative Non tropicalisé Eviter l'incidence solaire directe	
Connexion imprimante:	RS 232 C, sériele L'imprimante connectée doit être conforme aux directives EN 60950 et UL 1950.	
Conformité aux normes:	Conforme VDE, CE, IEC 1010-1	
Dimensions:	Largeur: 20 cm (emballé: 29 cm) Profondeur: 32 cm (emballé: 43 cm) Hauteur: 10 cm (emballé: 20 cm)	
Poids:	3 kg (emballé: 4,8 kg)	

Toutes modifications réservées!

3 Consignes de sécurité et mise en garde contre certains risques

Consignes à caractère technique

- Ne pas ouvrir l'appareil.
- Ne pas laisser entrer de liquide à l'intérieur de l'appareil.
- Avant toute intervention sur l'appareil ou changement de fusible, retirer le cordon d'alimentation;
les tensions électriques à l'intérieur de l'appareil sont susceptibles de produire des chocs létaux.
- L'appareil ne doit pas être utilisé dans des locaux à risque explosif.
- Ne pas utiliser un appareil présentant un dommage, en particulier lorsque le cordon d'alimentation électrique est endommagé.
- Toute réparation ou intervention technique est strictement réservée au service après – vente de la Société Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH ou à un service après-vente contractuellement accrédité.
- Le raccordement au secteur doit comporter une prise de terre.
- Toute utilisation non conforme de l'appareil est susceptible d'entraver la protection interne.

Consignes concernant l'utilisation de matériaux biologiques et de produits chimiques

- Certains réactifs ou tampons de dilution sont susceptibles de produire des brûlures ou d'autres atteintes à la santé.
- Les échantillons (acides nucléiques, protéines, cultures bactériennes) peuvent être de nature infectieuse ou constituer des risques pour la santé.
- Lors de la préparation des échantillons, au cours de la mesure, ainsi que lors du nettoyage de l'appareil ou des opérations de maintenance, il convient de respecter les directives de sécurité du laboratoire (porter des vêtements de protection, des gants, désinfecter). Toujours rester prudent en manipulant les échantillons.
- Respecter les consignes et règles de sécurité concernant l'élimination des déchets, des solutions ayant servi aux mesures, au nettoyage ou à la désinfection, des ustensiles.

4 Installation

4.2 Imprimante

Imprimante DPU 414

L'interface série RS 232 C du BioPhotometer permet de raccorder la thermo-imprimante Eppendorf DPU 414 (Imprimante et cordon pour imprimante, voir chapitre 11 "Nomenclature").

- Enficher le cordon de l'imprimante dans la douille de connexion du BioPhotometer (voir figure) et serrer les vis de sécurité.
- Enficher le cordon d'imprimante dans l'imprimante et serrer les vis de sécurité.
- Effectuer le raccordement au secteur 115 V ou 230 V.

Paramétrage de l'imprimante

BioPhotometer

- Sélectionner la fonction "imprimante DPU 414" dans la liste des fonctions et valider.

Imprimante DPU 414

- Vérifier le paramétrage de l'imprimante et effectuer au besoin les modifications pour assurer la compatibilité avec le BioPhotometer conformément aux instructions de la fiche de l'imprimante.

Instructions de paramétrage de l'imprimante pour la connexion avec le BioPhotometer:

Dip SW-1

- 1 (OFF) : Input = Serial
- 2 (ON) : Printing Speed = High
- 3 (ON) : Auto Loading = ON
- 4 (ON) : Auto LF = ON
- 5 (ON) : Setting Command = Enable
- 6 (OFF) : Printing
- 7 (ON) : Density
- 8 (ON) : = 100 %

Dip SW-2

Les paramétrages du groupe "Dip SW-2" ne sont pas importants pour l'utilisateur, car le BioPhotometer les modifie automatiquement en fonction de la langue choisie par l'utilisateur.

Dip SW-3

- 1 (ON) : Data Length = 8 bits
- 2 (ON) : Parity Settings = No
- 3 (ON) : Parity Conditions = Odd
- 4 (OFF) : Busy Control = XON/XOFF
- 5 (OFF) : Baud
- 6 (ON) : Rate
- 7 (ON) : Select
- 8 (ON) : =9600 bps

4 Installation

Autres imprimantes La connexion série du BioPhotometer admet d'autres imprimantes sérieelles en dehors du modèle DPU 414. La connexion d'imprimantes parallèles nécessite un câble d'adaptation.

BioPhotometer

– Sélectionner la fonction "imprimante sérieelle" dans la liste des fonctions et valider.

Imprimante

Conditions nécessaires pour l'imprimante sérieelle:

Busy Control : XON/XOFF
Baud Rate(ON) : 9600 bps
Data Bit Length : 8 bits
Parity Permission : Without
Parity Conditions : Odd

Les imprimantes parallèles peuvent être connectées avec un câble-adaptateur répondant aux conditions ci-dessus.

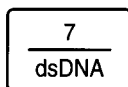
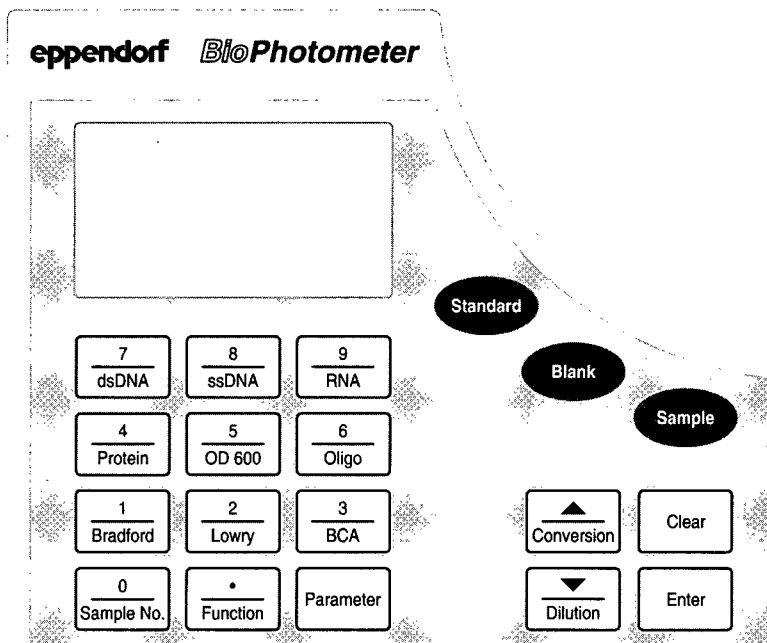
4.3 Cuves optiques

Le puits porte-cuve est compatible avec toutes les cuves rectangulaires usuelles dont la hauteur de la fenêtre de mesure est de 8,5 mm par rapport au fond et dont la hauteur totale est au minimum de 36 mm (voir schéma du mode d'emploi succinct). Les dimensions du faisceau dans la cuve sont de 1,0 mm de large et de 1,5 mm de haut.

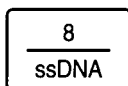
Les cuves de verre et en plastique sont utilisables pour la lecture dans la mesure où leur transparence aux longueurs d'ondes envisagées est compatible. Eppendorf propose sa cuve plastique UVette® qui est transparente aux UV jusqu'à 220 nm et convient, par conséquent aux déterminations des acides nucléiques.

5 Mode d'emploi

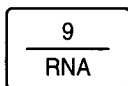
5.1 Clavier



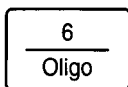
- Appel de la méthode pour "ADN double brin"
- Touche du chiffre 7



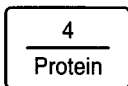
- Appel de la méthode pour "ADN simple brin"
- Touche du chiffre 8



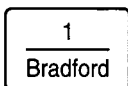
- Appel de la méthode pour "ARN "
- Touche du chiffre 9



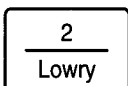
- Appel de la méthode pour "Oligonucléotides"
- Touche du chiffre 6



- Appel de la méthode pour "Protéines " (méthode photométrique directe)"
- Touche du chiffre 4

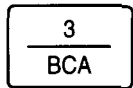


- Appel de la méthode "Bradford " et "Bradford micro"
- Méthodes alternantes entre "Bradford " et "Bradford micro"
- Touche du chiffre 1

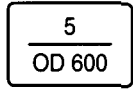


- Appel de la méthode "Lowry" et "Lowry micro"
- Méthodes alternantes entre "Lowry" et "Lowry micro"
- Touche du chiffre 2

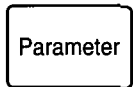
5 Mode d'emploi



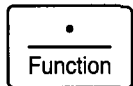
- Appel de la méthode "BCA" et "BCA micro"
- Méthodes alternantes entre "BCA" et "BCA micro"
- Touche du chiffre 3



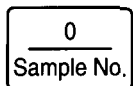
- Appel de la méthode "OD 600 (mesure de la densité bactérienne)"
- Touche du chiffre 5



- Appel du fichier de programmation
- quitter le fichier de programmation



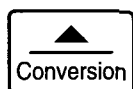
- Appel des fichiers fonctions
- Quitter les fichiers fonctions
- Touche du point



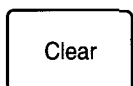
- Modification du numéro d'échantillon
- Touche du chiffre 0



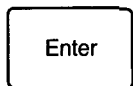
- Programmation de la dilution
- Déplacement du curseur vers la ligne suivante (liste des paramètres ou des fonctions)



- Calcul des concentrations molaires et de la quantité totale d'échantillon (rendement)
- Déplacement du curseur vers la ligne précédente (liste des paramètres ou des fonctions)



- Annuler une saisie



- Validation d'une saisie



- Détermination d'un étalon



- Détermination d'un blanc



- Détermination d'un échantillon

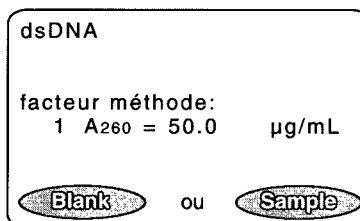
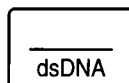
5 Mode d'emploi

5.2 Détermination des acides nucléiques

Descriptif valable pour les méthodes

- ADNds
- ADNss
- ARN
- Oligo

Rappeler la méthode



Traitement des données

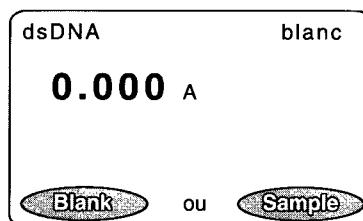
L'appareil est livré d'origine avec les méthodes préprogrammées. Pour les méthodes des acides nucléiques, le programme comporte les facteurs de conversion habituellement utilisés pour passer de l'absorbance en concentration (dans l'exemple: 50). Cependant, les facteurs peuvent être modifiés en tapant la touche Parameter (voir chapitre "programmation"). Le nombre de décimales du facteur programmé détermine le nombre de décimales du résultat.

En cas d'utilisation d'unités de concentration différentes de µg/ml (µg/µL par ex.), le BioPhotometer effectue de lui-même la conversion du facteur en mémoire pour fournir la bonne valeur.

Processus de lecture

Les valeurs de blancs restent conservées jusqu'au changement de date. En cas de détermination d'un blanc existant dans une journée, le BioPhotometer propose de ce fait dans la dernière ligne lors de l'appel d'une méthode soit de repasser un nouveau blanc, soit de procéder directement à la lecture de l'échantillon. En cas d'absence de valeur de blanc au fichier, le système propose de passer d'abord un blanc.

Détermination d'un blanc



5 Mode d'emploi

Détermination de l'échantillon



dsDNA	échant 001
70.0	µg/mL
	0.694 A230
	1.408 A260
1.97 260/280	0.715 A280
2.03 260/230	0.002 A320

Affichage du résultat

L'appareil affiche le résultat exprimé en concentration et en absorbance à 260 nm pour les acides nucléiques. De plus, il donne des indications concernant la pureté de l'acide nucléique en indiquant l'absorbance à trois longueurs d'onde supplémentaires (230, 280 et 320 nm) ainsi que les quotients A260/A280 und A260/A230. L'absorbance à 320nm des échantillons devrait être proche de 0 pour des échantillons purs.

Détermination de l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, appuyer à nouveau sur la touche

Dilution de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être saisie par la touche avant la lecture. Le système en tient alors compte pour le calcul du résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

Touche conversion



Le dernier résultat déterminé en concentration peut être exprimé soit et / ou quantité d'acide nucléique (unités de masse ou unité molaire):

quantité calcul:	
échant.total	---- µL
molarité calculée:	
paires bases	----
masse mol	---- kDa

Programmation "échantillon total"

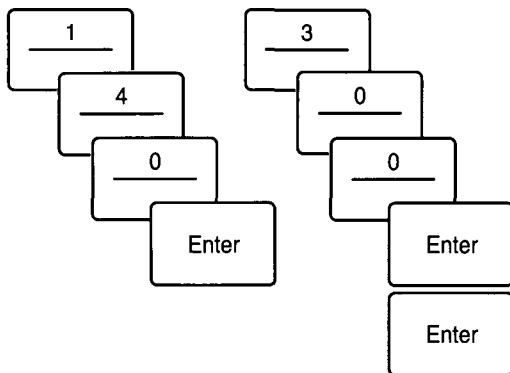
La valeur programmée sera calculée par rapport à la concentration mesurée. Le résultat est alors exprimé en quantité d'acide nucléique présent dans l'échantillon.

Programmation "paires de bases" ou "masse molaire"

Une seule saisie sur les deux lignes est suffisante. A l'aide de la valeur programmée et de la concentration, le système détermine la concentration molaire.


Pour passer sur les fenêtres de programmation non souhaitées, taper

5 Mode d'emploi



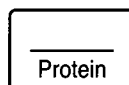
Affichage après programmation de "140 µl d'échantillon" et "300 paires de bases":



dsDNA échant 001
70.0 µg/mL
353.5 pmol/mL
9.8 µg
49.5 pmol

L'unité de concentration molaire (ici "pmol/mL") est préprogrammée, mais elle peut être modifiée par la touche .


5.3 Détermination photométrique directe des protéines

Rappeler la méthode

 Protein

PROTEIN
absorbance
 ou 

Exploitation

En programmation d'origine, la méthode "protéines" est en mode "Absorbance", c'est à dire que le système fournit les résultats en absorbance. pour accéder à d'autres méthodes de conversion, passer par la touche  et programmer d'autres formules de calcul (voir chapitre 6 "Programmation")

- facteur
- standard (calibrage en point final)
- formule de Warburg

Le nombre de décimales programmées avec le facteur ou la concentration de départ conditionne le nombre de décimales du résultat final.

Lors de la programmation du facteur, il convient de l'aligner sur l'unité de concentration choisie.

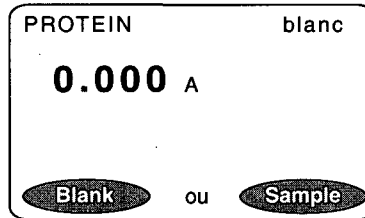
5 Mode d'emploi

Déroulement de la lecture

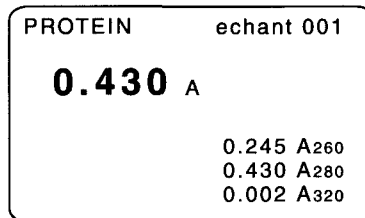
L'exemple ci-après illustre le déroulement d'une lecture en mode d'exploitation "Absorbance". Pour un déroulement d'une lecture avec exploitation par un standard, voir le chapitre "détermination de protéines après ajout de réactif".

La valeur des blancs reste conservée en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

Détermination du blanc



Détermination de l'échantillon



Affichage du résultat

En plus du résultat exprimé en concentration et en absorbance à 280 nm, le système indique l'absorbance A260 et A320 comme point de repère pour la pureté de l'échantillon mesuré. L'absorbance d'échantillons purs devrait être proche de 0 à 320 nm.

Détermination de l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche

Dilution de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

5 Mode d'emploi

5.4 Détermination de protéines après ajout de réactif (Bradford, BCA, Lowry)

Rappeler
la méthode

Bradford

BRADFORD
domaine calibrase
XXX - XXX µg/mL
Blank ou Standard

Si le système a déjà effectué précédemment un calibrage validé, il le possède en mémoire et l'afficheur indique l'heure et la date de la saisie en mémoire. Dans ce cas, on peut effectuer la détermination du blanc et procéder au recalibrage, ou passer directement à la détermination de l'échantillon en utilisant les données en mémoire pour le calcul du résultat.

Méthodes "micro"

Les méthodes Bradford, Lowry et BCA comportent une particularité: elles peuvent être programmées en deux domaines de concentration différents. Pour accéder à l'une ou à l'autre des deux méthodes, il suffit de solliciter la même touche successivement pour basculer de l'une à l'autre.

Exploitation des données

Les méthodes Bradford, Lowry et BCA ainsi que les méthodes micro associées, sont programmées d'origine sur un mode d'exploitation des résultats qui passe par une courbe de calibrage stockée par le biais d'une régression non linéaire. La touche Parameter permet cependant de programmer d'autres méthodes d'exploitation en variante (voir chapitre 6 "Programmation"):

- Méthode par facteur (calcul de la concentration par l'intermédiaire d'un facteur).
- Absorbance (les résultats sont fournis bruts, sans transformation par un calcul).

La procédure d'exploitation préprogrammée d'origine par un standard accepte la modification des paramètres suivants (voir chapitre 6 "Programmation"):

- Nombre de standards (de 1 à 10).
- Nombre de lectures répétitives par standard (1 à 3).
- Procédure d'exploitation par calibrage multipoints (calibrage linéaire ou non linéaire).
- Valeur de concentration des standards.

Le nombre de décimales programmées avec le facteur ou la concentration de départ du premier standard conditionne le nombre de décimales du résultat final.

Lors de la programmation du facteur, il convient de l'aligner sur l'unité de concentration choisie.

5 Mode d'emploi

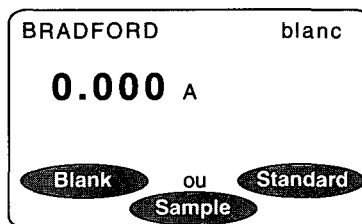
Déroulement de la lecture

Les valeurs des blancs restent conservées en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

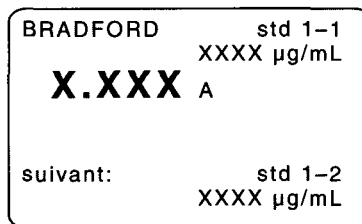
Les valeurs des standards restent conservées en mémoire de façon illimitée. Elles sont écrasées par de nouvelles valeurs lors de la détermination d'une nouvelle série de standards. Les résultats d'une série de déterminations d'échantillons sont toujours calculés sur la base de la série standard la plus récente. Mise en mémoire.

Dans l'exemple ci-après, la programmation de la méthode Bradford utilise une procédure d'exploitation par une série standard multipoints avec 5 valeurs en détermination double et calcul par une régression non linéaire:

Détermination du blanc

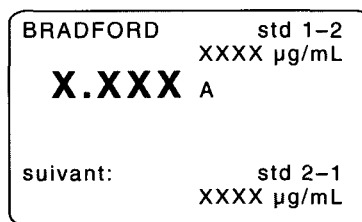


Détermination des standards



Standard 1 / 1^{ère} lecture

Sur les deux premières lignes on lit les valeurs du standard qu'on vient de passer. Sur les deux dernières lignes, on lit les valeurs du standard suivant avec la valeur de sa concentration.



Standard 1 / 2^{ème} lecture

5 Mode d'emploi

Affichage du système après passage de la série de standards:

BRADFORD std 5-2
 XXXX µg/mL
X.XXX A

cv: 2.8%
calibrase mémorisé

Le cv (coefficient de variation) donne une indication de la dispersion des valeurs de standards autour de la courbe de régression. Si le cv est inférieur à 10 % la courbe est mémorisée automatiquement. Si le cv est supérieur à 10 %, le système demande sa validation par la question "mémoriser? ENT/CLR". Cette procédure permet d'accepter le calibrage ou de le refuser auquel cas il est effacé. Les séries de détermination des échantillons sont toujours exploitées sur la base des calibrages validés les plus récents.

**Détermination
de l'échantillon**




BRADFORD échant 001
X.XXX µg/mL

 X.XXX A595


Affichage du résultat

En plus du résultat exprimé en concentration, le système indique l'absorbance à la longueur d'onde de lecture (595 nm en méthode Bradford).

**Détermination de
l'échantillon suivant**

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche .

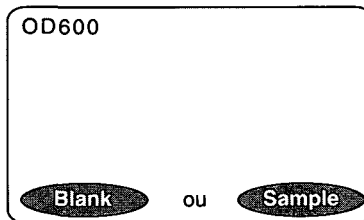
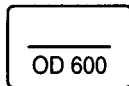
**Dilution
de l'échantillon**

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche  avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

5 Mode d'emploi

5.5 Détermination des OD 600

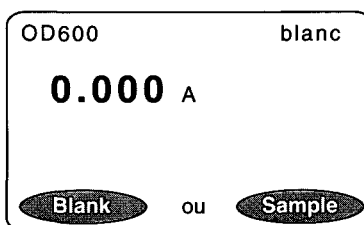
Rappeler
la méthode



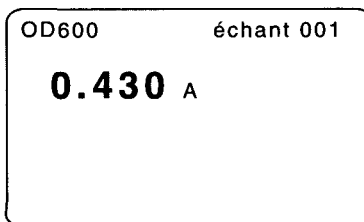
Déroulement de la lecture

Les valeurs des blancs restent conservées en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

Détermination
du blanc




Détermination
de l'échantillon



Détermination de
l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche .


Dilution
de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche  avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

La détermination de l'OD 600 est une mesure de dispersion de lumière; le résultat d'une telle lecture dépend fortement de la géométrie du faisceau optique. Or celle-ci dépend directement du photomètre utilisé.

5 Mode d'emploi



5.6 Détermination d'échantillons dilués

Les dilutions d'échantillons sont programmées par la touche  avant la lecture. Le système intègre cette donnée pour le calcul et la communication du résultat.

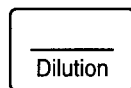
Les valeurs de blanc ont déjà été lues dans l'exemple suivant:

dsDNA blanc

0.000 A

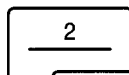
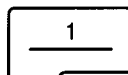
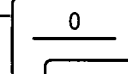
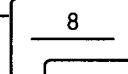
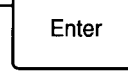
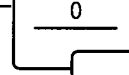
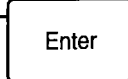
 ou 

Programmer la dilution





dsDNA échant 001

échant.+diluant
--- + --- μL

dsDNA échant 001

20+180μL

 ou 

Détermination de l'échantillon dilué





dsDNA échant 001

700.0 μg/mL

20+180μL 0.694 A₂₃₀
 1.408 A₂₆₀
 1.97 _{260/280} 0.715 A₂₈₀
 2.03 _{260/230} 0.002 A₃₂₀

Le système a intégré la dilution pour l'élaboration de son résultat. Le facteur de dilution reste en machine et il est utilisé pour le calcul du résultat d'autres échantillons jusqu'à ce qu'il soit écrasé par une nouvelle valeur.

Effacer la donnée relative à la dilution

Pour effacer le facteur de dilution, solliciter la touche  puis effacer les valeurs figurant sous "Sample" et "Diluent" avec la touche , ou écraser les valeurs en tapant "zéro".

5 Mode d'emploi

5.7 Modification du numéro d'échantillon

Le numéro courant d'échantillon est indiqué sur le cadran-afficheur en haut à droite. Ce numéro courant est incrémenté séparément pour chaque méthode et se remet sur "1" au changement de date.

Il est possible d'intervenir sur ce numéro courant et de le modifier pour repasser le même échantillon par exemple:

**Modification
du numéro
d'échantillon**

0
Sample No.

3

Enter

dsDNA	échant 005
70.0 µg/mL	
2+180µL	0.694 A230
	1.408 A260
1.97 260/280	0.715 A280
2.03 260/230	0.002 A320


dsDNA	échant 005
-------	------------

dsDNA	échant 003	
Blank	ou	Sample

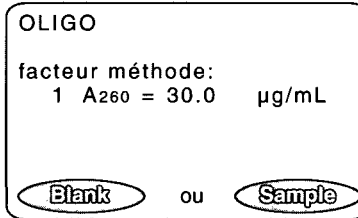
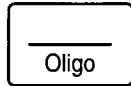
Pour la détermination du numéro d'échantillon suivant, le numéro a été ramené sur "3". Les numéros d'échantillons suivants seront incrémentés ensuite à partir de ce nouveau numéro.

6 Programmation

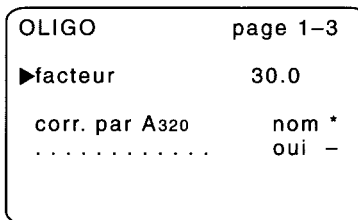
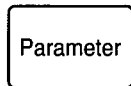
6.1 Principes de la programmation

Chaque méthode est préprogrammée d'origine et comporte en mémoire les paramètres tels que la formule de calcul du résultat ou les unités de concentration. Les méthodes programmées d'origine peuvent être modifiées par l'accès aux paramètres par la touche .

Rappeler la méthode



Rappeler la liste des paramètres

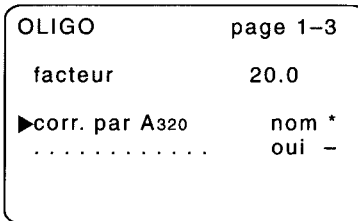
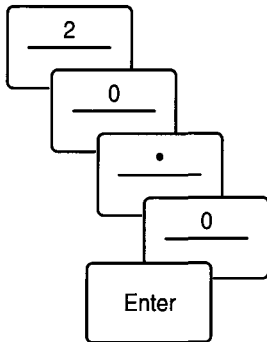


Il existe différentes listes de paramètres pouvant être modifiées pour les méthodes (voir tableau au chapitre suivant). Les paramètres pour la méthode "Oligo" s'étendent sur trois pages d'afficheur du système.

Exemple: modification du facteur

Les saisies de chiffres sont validées en mémoire par  :

Saisir le facteur et le mémoriser



Après la validation en mémoire du facteur, le curseur a sauté sur le bloc paramétrique suivant ("correction par A₃₂₀").

6 Programmation

Exemple: modification des unités

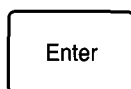
Les paramètres sélectionnés sont pointés à l'aide du curseur puis sont validés par . La sélection validée en mémoire est marquée d'un astérisque "*":

Sélectionner le paramètre souhaité



OLIGO	page 2-3
unité	µg/mL *
.....	ng/µL -
▶.....	µg/µL -
unité m.	pmol/µL *
.....	µmol/L -

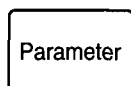
Valider en mémoire le paramètre



OLIGO	page 2-3
unité	µg/mL -
.....	ng/µL -
.....	µg/µL *
▶unité m.	pmol/µL *
.....	µmol/L -

Après validation de l'unité de concentration "µg/µL" le curseur a sauté vers le bloc paramétrique suivant (unité molaire).

Quitter le fichier des paramètres



Pour quitter le fichier des paramètres, on peut sélectionner la ligne "fin paramètre" et valider par ou simplement taper la touche à n'importe quel moment.

OLIGO
facteur méthode:
1 A ₂₆₀ = 20.0 µg/mL
<input type="button" value="Blank"/> ou <input type="button" value="Sample"/>

6 Programmation

6.2 Tableau des paramètres

	ADNds ADNss ARN	Oligo	Protéines	Bradford Brad.micro Lowry Low.micro BCA BCA micro	OD 600
Calcul	(Observation 1)	(Observation 1)	Absorbance Standard Facteur Formule de Warburg	Absorbance Standard Facteur	(Observation 1)
Correction par A320	Inactif Actif	Inactif Actif	Inactif Actif		
Unités	µg/mL ng/µL µg/µL	µg/mL ng/µL µg/µL	mg/mL µg/mL	mg/mL µg/mL µg	(Observation 2)
Unité molaire	pmol/µL µmol/L pmol/mL	pmol/µL µmol/L			
Cuve	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm

(pour les seules méthodes à calcul par facteur)

Facteur	Chiffres	Chiffres	Chiffres	Chiffres	Chiffres
----------------	----------	----------	----------	----------	----------

(pour les seules méthodes à calcul par standard)

Nombre de standards			(Observation 3)	Chiffres	
Détermination des standards			1x 2x 3x	1x 2x 3x	
Régression (observation 4)				Linéaire Non linéaire	
Standard			Chiffres	Chiffres	

Observation 1: Aucun choix possible; la procédure de calcul par facteur est figée au programme.

Observation 2: Aucun choix possible; l'unité "absorbance" est figée au programme.


Observation 3: Aucun choix possible; le nombre de standards "1" est figé au programme.

Observation 4: Il existe une possibilité de choix uniquement si la programmation au paramètre "Nombre de standards" a été au moins "4" (ou en détermination simple du standard, au moins "5").

6 Programmation

6.3 Explication des paramètres

Les paramètres sont classés en deux catégories: les paramètres de "sélection" et les paramètres nécessitant la saisie de "chiffres". Concernant les paramètres de sélection, ceux-ci dépendent de variantes méthodologiques (voir tableau de ces paramètres au chapitre précédent).

Paramètre	Saisie	Observations
Calcul	Sélection	Permet la sélection parmi les procédures de calcul du résultat: absorbance, facteur, standard, et formule de Warburg. Pour un calcul utilisant la formule de Warburg, la valeur mesurée A ₂₆₀ au cadran et à l'impression est repérée avec le signe "◀".
Facteur	Chiffres (5 rangs)	(uniquement en cas de sélection de la procédure de calcul "facteur") Saisie d'un facteur: le nombre de décimales du facteur détermine le nombre de décimales du résultat
Correction par E ₃₂₀	Sélection	(uniquement pour les méthodes pour acides nucléiques et protéines) Possibilité de sélectionner entre "Corr. par A ₃₂₀ inactif" et "Corr. par A ₃₂₀ actif"; Corr; par A ₃₂₀ actif signifie que pour des absorbances mesurées à 260, 280 et 230 nm, celle mesurée à 320 nm sera déduite. Cette procédure peut s'utiliser pour des corrections de turbidité. Une correction active pour A ₃₂₀ sera signalée à l'aide du signe "◀" face aux résultats de l'afficheur et du protocole d'imprimante.
Unités	Sélection	Sélection des unités de concentrations en fonction des méthodes.
Unité molaire	Sélection	Sélection des unités selon la méthode (uniquement pour les méthodes des acides nucléiques); Cette fonction est nécessaire pour convertir les concentrations pondérales en concentrations molaires (touche ).
Cuve optique	Sélection	Sélection du parcours optique des cuves: 10, 5, 2 et 1 mm. Le résultat est toujours rapporté à un p.o. = 10 mm (voir chapitre 12 "Exploitation des résultats et conversions").

6 Programmation

Les paramètres suivants ne sont proposés que dans le cadre de la programmation du mode de calcul "standard":

Paramètre	Saisie	Observations
Nombre de standards	Chiffres (1 à 10)	Nombres de standards de concentration différente.
Détermination du standard	Sélection	Sélection parmi 1x, 2x, 3x, représentant le nombre de fois que la lecture du standard est répétée. La valeur moyenne de l'ensemble des déterminations des standards est utilisée pour les calculs ultérieurs.
Régression	Sélection	(uniquement avec un nombre minimum de standards de 4 ou, pour une détermination simple de standards, d'au moins 5) Sélection d'une procédure de calcul parmi une régression linéaire et non linéaire. Pour un nombre des standards supérieur à 1 et inférieur à 4 / 5 l'exploitation s'effectue toujours selon une régression linéaire (voir chapitre 12, exploitation des données).
Std. 1 à Std. 10	Chiffres (5 rangs)	Programme de la valeur de concentration du standard. Le nombre de décimales de la concentration du 1 ^{er} standard détermine le nombre de décimales du résultat.

6.4 Tableau des valeurs programmées d'origine

	ADNds	ssADN	ARN	Oligo	Protéines	Bradford	Bradford micro	Lowry	Lowry micro	BCA	BCA micro	OD 600
Calcul					Absorbance	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	
Facteur	50.0	37.0	40.0	30.0	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	1.000
Corr. par A320	inactif	inactif	inactif	inactif	inactif							
Nombre de standards						6	6	6	6	8	5	
Détermination standard					1x ²⁾	1x	1x	1x	1x	1x	1x	
Régression						Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	
Unités pondérales	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/µL	µg/mL ³⁾	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	
Unités molaires	pmol/mL	pmol/mL	pmol/mL	pmol/µL								
Standard 1					----- 4)	100	1.00	100	1.00	25	0.50	
Standard 2						250	2.5	250	2.5	125	2	
Standard 3						500	5	500	5	250	5	
Standard 4						750	10	750	10	500	10	
Standard 5						1000	15	1000	15	750	20	
Standard 6						1500	25	1500	25	1000		
Standard 7										1500		
Standard 8										2000		
Cuve	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm

Observations: 1) Calcul par facteur, nécessite une programmation de la valeur par l'utilisateur
 2) Avec calcul standard
 3) Avec calcul standard ou facteur
 4) Calcul par standard, nécessite une programmation de la valeur par l'utilisateur

7 Fonctions

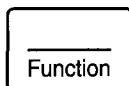
Liste des fonctions

Fonction	Saisie	Observations
Affichage des résultats	Rappel par <input type="button" value="Enter"/>	Permet de visualiser les 100 derniers résultats (le dernier résultat déterminé est affiché en premier) <input type="button" value="▲"/> <input type="button" value="▼"/> : Sélection des résultats <input type="button" value="Enter"/> : Impression des résultats affichés <input type="button" value="Function"/> : Retour à la liste des fonctions
Rapport de calibrage	Rappel par <input type="button" value="Enter"/>	Impression du rapport de calibrage; <input type="button" value="▲"/> <input type="button" value="▼"/> : Sélection de la méthode <input type="button" value="Enter"/> : Impression du rapport de calibrage <input type="button" value="Function"/> : Retour à la liste de fonctions
Date	Saisie de chiffres	<input type="button" value="Enter"/> : Mise en mémoire
Heure	Saisie de chiffres	<input type="button" value="Enter"/> : Mise en mémoire
Absorbance en mémoire	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Impression des dernières absorbances mesurées (100 lectures max.). Pour les valeurs de la méthode mesurée en dernier, calcul et impression de la valeur moyenne, de l'écart standard et du cv.
Lecture de répétabilité	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Lecture et calcul de répétabilité sur une série de 10 lectures successives sur un échantillon. Pour l'exploitation des données, la machine utilisera les programmes de la dernière méthode appelée.
Test photométrique	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Contrôle de la justesse photométrique ainsi que de la justesse de la longueur d'onde (voir chapitre 13 "Contrôle du photomètre").
Sprache Deutsch Language English Language U.S.English langue française	Sélection	Permet la sélection de la langue de son choix; "english" et "U.S. english" ne se distinguent que par le format de la date.
Imprimante DPU 414 Imprimante série	Sélection	DPU 414: connexion de la thermoimprimante Eppendorf DPU 414 (voir chapitre 4.2 "Imprimante"). Sérielle: Connexion d'une imprimante autre (voir chapitre 4.2 "Imprimante").
Service		Fonction uniquement accessible pour le technicien de service après-vente.

7 Fonctions

Exemple: modifier la version linguistique

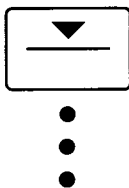
Rappel de la liste
des fonctions



```
FUNKTION   SEITE 1-4
▶ERGESNISSE ANZEIGEN
  KALIBRATIONS REPORT

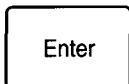
DATUM       27.06.1998
UHRZEIT     20:44
```

Sélectionner la
fonction souhaitée





```
FUNKTION   SEITE 3-4
  SPRACHE  DEUTSCH  *
  LANGUAGE ENGLISH -
  LANGUAGE U.S.ENGL -
▶langue française -
```

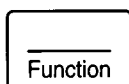
Entrer la fonction
en mémoire



```
fonction   page 4-4
▶imprimante DPU 414  *
  série     -
  service   - - - -
  fin fonction
```

Pour quitter le fichier des fonctions on peut soit sélectionner la ligne "fonction fin", soit taper , ou encore taper la touche  à partir de n'importe quelle ligne. Le système retourne ensuite dans la méthode préalablement programmée.

Quitter le fichier
des fonctions



```
OLIGO
facteur méthode:
  1 A260 = 20.0   µg/mL

(Blank) ou (Sample)
```

8 Messages d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

Repérage des résultats

Repère	Observations
1.586 A260 ◀	Le repère à côté de A260 sur l'afficheur et sur le protocole d'imprimante (uniquement sur méthode "protéines direct") signifie que le résultat a été obtenu par la formule de Warburg.
0.015 A320 ◀	Le repère à côté de A320 sur l'afficheur et sur le protocole d'imprimante (uniquement sur méthode "protéines direct" et méthode pour acide nucléiques) signifie que les absorbances à 260, 280 et 230 nm sont corrigées par l'absorbance à 320 nm. (voir chapitre 6, "Programmation").

Messages d'erreurs accompagnant les résultats


Message d'erreur	Observation / cause	Remède
+++++	L'absorbance mesurée est supérieure à $A = 3.0$.	<ul style="list-style-type: none">- Diluer l'échantillon.- Vérifier la cuve (hauteur du faisceau optique).- Nettoyer le puits porte-cuve (voir chap. 9).- Placer la cuve dans le bon sens (face optique dans le faisceau optique).- Utiliser une cuve transparente à la longueur d'onde utilisée (cuve quartz ou UVette® Eppendorf pour les lectures sur acides nucléiques).
!!!!	Résultat calculé non représentable (valeur trop élevée).	Vérifier les paramètres (facteur trop élevé?)
-----	(à la place d'une valeur pour un ratio): Le ratio n'a pas pu être déterminé, l'une des valeurs du ratio ayant une valeur d'absorbance $A = 0$ ou $A > 3.0$.	Répéter la lecture, au besoin avec un échantillon dilué.

8 Message d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

Messages d'erreur dans le déroulement de la lecture

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
lire d'abord blanc	La méthode sélectionnée ne comporte pas encore de blanc.	Effectuer un blanc.
lire d'abord standard	La méthode sélectionnée ne comporte pas encore de calibrage validé.	<ul style="list-style-type: none">– Lire les standards.– Programmer un autre mode de calcul (facteur fixe ou absorbance en direct).
en dehors calibrage	(uniquement sur exploitation en régression non linéaire): Le résultat de l'échantillon est situé en dehors du domaine calibré.	Répéter la lecture, le cas échéant avec un échantillon dilué.
err. module lecture 1 err. module lecture 2 err. module lecture 3	Différentes anomalies dans le module mesure.	Faire appel au service après-vente.

Message d'erreur dans le processus de calibrage

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
méthode std absente	La touche  a été sollicitée, mais la méthode appelée est programmée sans standard dans son mode d'exploitation.	<ul style="list-style-type: none">– Effectuer une nouvelle lecture sans passer par standard.– Programmer un mode d'exploitation "standard".
valeurs lues non plausibles	(en calibrage en point final) L'absorbance lue est de 0 A	Refaire une lecture du standard, le cas échéant, préparer un nouveau standard.
valeurs lues non monotones	(en calibrage multipoints) La série lue n'est pas régulière ni en croissance, ni en décroissance.	Vérifier la série de standards et représenter les valeurs dans l'ordre correct de concentration croissante.
courbe calibrage non monotone	(en régression non linéaire:) La courbe calculée n'est pas régulière.	Vérifier les standards et les représenter dans un ordre de concentration croissante.

8 Message d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
CV supérieur à 10 %	(en fin de la série standard) La dispersion autour de la droite de calibrage ou de la courbe est trop importante (voir chapitre 12, "Exploitation").	Vérifier les résultats du calibrage. – <input type="button" value="Enter"/> : Mémorisation du calibrage. – <input type="button" value="Clear"/> : Annuler le calibrage, refaire un nouveau calibrage, ou rappeler un calibrage en mémoire.

Messages d'erreur dans le déroulement de la programmation

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
anomalie, vérifier paramètre méthode	Le paramètre de la méthode a été programmé de façon incorrecte.	Vérifier le paramètre, au besoin, le reprogrammer.
programmer standards par ordre croissant	(calibrage multipoints): Les valeurs des concentrations des standards n'ont pas été programmées en ordre croissant.	Vérifier la programmation et effectuer la saisie en ordre croissant.

Autres messages d'erreur

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
saisie invalide	(lors de la saisie des numéros courants des échantillons par la touche <input type="button" value="Sample No."/>) La saisie comporte un chiffre hors limites compatibles de 1 à 999.	Refaire la saisie en respectant les limites.

Textes d'aide

Texte d'aide	Observation / cause	Remède
programmer standards	(apparaît à l'afficheur après appel de la méthode) La méthode comporte bien des standards, mais aucune série de concentration standard n'a été saisie.	– Programmer les valeurs de concentration de la série de standards (touche <input type="button" value="Parameter"/>). – Programmer une autre méthode sans standard.
programmer facteur	(apparaît à l'afficheur après appel de la méthode) La méthode comporte bien un facteur, mais aucune valeur n'a été saisie.	– Programmer la valeur du facteur (touche <input type="button" value="Parameter"/>). – Programmer une autre méthode sans facteur.

9 Nettoyage et maintenance

Photomètre

- Retirer le cordon secteur avant de procéder aux opérations de maintenance ou changement de fusible.
Les tensions présentes à l'intérieur de l'appareil peuvent causer des chocs électriques dangereux.
- Essuyer tout l'appareil à l'aide d'un chiffon humide et d'un détergent doux.
- Pour désinfecter, essuyer avec un chiffon légèrement imprégné d'un mélange eau / éthanol à 70 %.
- En aucun cas des liquides ne devront pénétrer à l'intérieur de l'appareil.

Puits porte-cuve

- Nettoyer le puits porte-cuve à l'aide d'un coton-tige légèrement humide, jamais à grande eau comme avec une pissette.
- Lorsque l'appareil est hors service, poser l'obturateur livré avec l'appareil sur le porte-cuve pour éviter les dépôts de poussière.
Toute présence de poussière ou de résidus de réactifs sur le parcours optique peut être source d'erreur de lecture.

Changement de fusible

- Retirer le cordon secteur.
- Au-dessus du raccordement secteur se trouve le porte-fusible (voir fig. au chapitre 4.1). La position du support est sécurisée par un petit verrou se trouvant au bas du support.
- Pousser le levier de verrouillage vers le haut et extraire le support.
- Remplacer les fusibles
(voir spécifications au chapitre 2 "Spécifications techniques").
- Réinsérer le support dans sa logette et le pousser jusqu'à l'encliquetage du verrou.
- Raccorder à nouveau au secteur.

10 Mode d'emploi succinct

Préparation

L'appareil est directement opérationnel après mise sous tension.

Méthodes

7 dsDNA	8 ssDNA	9 RNA
4 Protein	5 OD 600	6 Oligo
1 Bradford	2 Lowry	3 BCA

7 dsDNA	8 ssDNA	9 RNA
6 Oligo		

5 OD 600

4 Protein

1 Bradford	2 Lowry	3 BCA
---------------	------------	----------

ADNs ADNss ARN Oligo

- Lecture directe des acides nucléiques à 260 nm.
- Quotients A_{260}/A_{280} et A_{260}/A_{230} .
- Correction de la lecture de l'absorbance par l'absorbance à A_{320} .
- Lecture en cuve quartz ou en UVette® Eppendorf.

OD 600

- Lecture directe de la suspension bactérienne à 600 nm (par turbidimétrie).
- Lecture avec cuve en verre ou en plastique.

Protéines

- Lecture directe des protéines à 280 nm.
- Lecture directe de l'absorbance ou conversion par facteur, standard ou formule de Warburg.
- Correction de la lecture de l'absorbance par l'absorbance à A_{320} .
- Lecture en cuve quartz ou en UVette® Eppendorf.

Bradford Lowry BCA Bradford micro Lowry micro BCA micro

- Lecture directe des protéines avec les réactifs de Bradford, Lowry, BCA.
- Lecture directe de l'absorbance ou conversion par facteur ou calibrage à standard (calibrage à un point, régression linéaire ou non linéaire).
- Nombres et valeurs des éléments calibrants programmables.
- Méthodes pour protéines disponibles également en micro-méthodes (taper deux fois la touche).
- Lecture avec cuve en verre ou en plastique.

Cuves

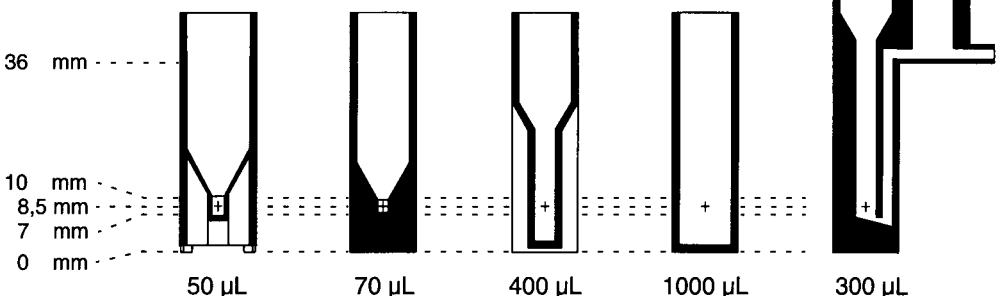
Base
12,5 mm x 12,5 mm

Hauteur totale mini. 36 mm

Niveau de remplissage mini. 10 mm
Faisceau lumineux 8,5 mm
Epaisseur max. de la base 7 mm

Volume mini. 0 mm

UVette® Ultra-micro semi-micro macro à vidange



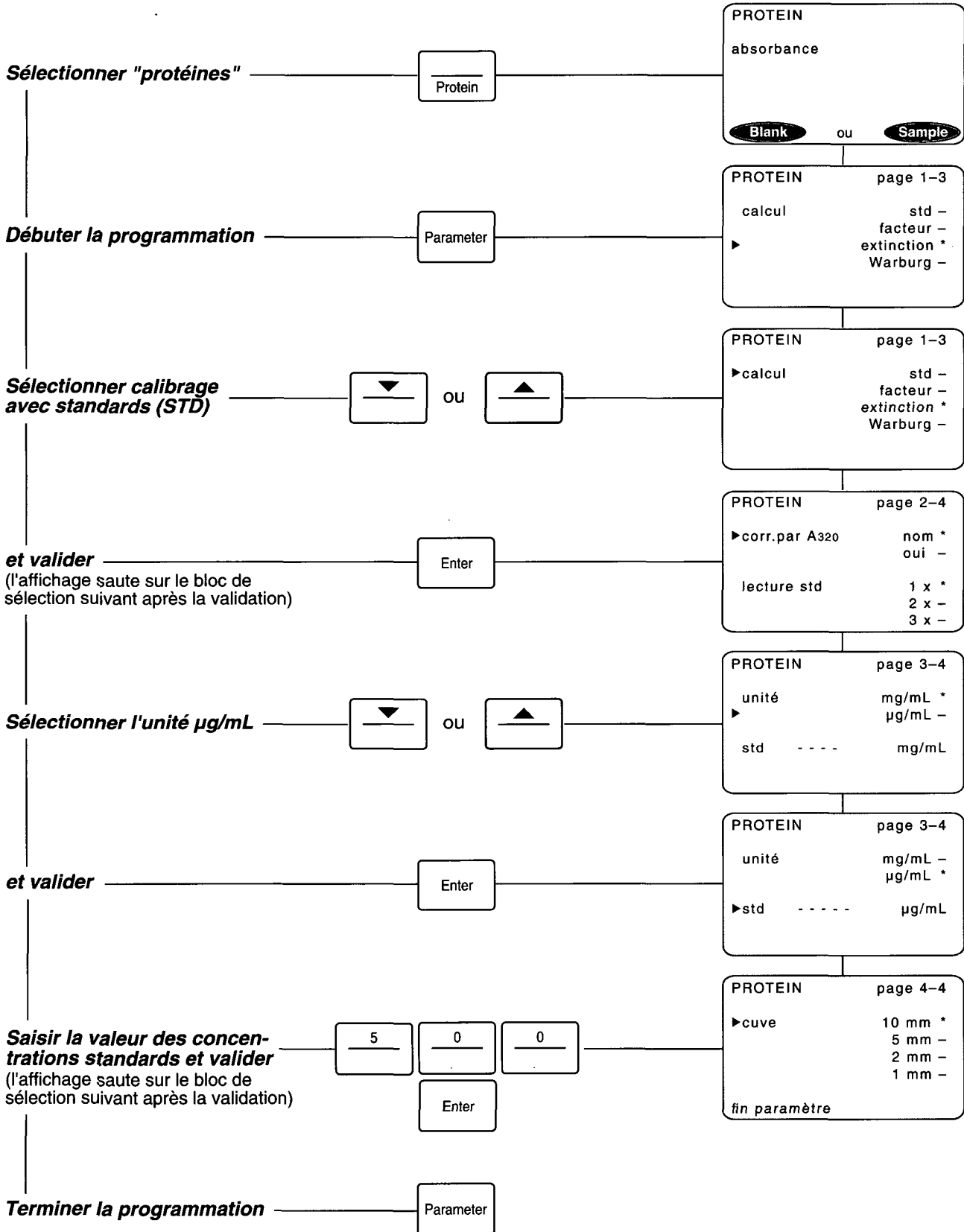
10 Mode d'emploi succinct

Programmation

Les méthodes installées d'origine en mémoire méthode peuvent être modifiées.

Exemple:

Programmation de l'unité "µg/mL" et méthode de conversion par standard (500 µg/mL) pour la méthode "protéines".



10. Mode d'emploi succinct

Déroulement de la lecture ADNds

Sélectionner la méthode ADNds

dsDNA

dsDNA
facteur méthode
1 A260 = 50.0 µg/mL

Blank ou Sample

Lire le blanc

Blank

dsDNA blanc
0.000 A

Blank ou Sample

Si l'échantillon est dilué:
Exemple: 20 + 200 µL

Dilution

Enter

Enter

dsDNA échant 001
20+200 µL

Blank ou Sample

Lecture de l'échantillon

Sample

dsDNA échant 001
563.20 µg/mL

20+200 µL 0.694 A230
1.408 A260
1.97 260/280 0.715 A280
2.03 260/230 0.002 A320

Si le résultat de la lecture
doit être converti:

Conversion

Enter

Enter

Enter

quantité calcul:
échant.total 140 µL

molarité calculée:
paires bases 300
masse mol 198 kDa

dsDNA échant 001
563.20 µg/mL

20+200 µL
79 µg
2843 pmol/mL
398 pmol

Lire l'échantillon suivant

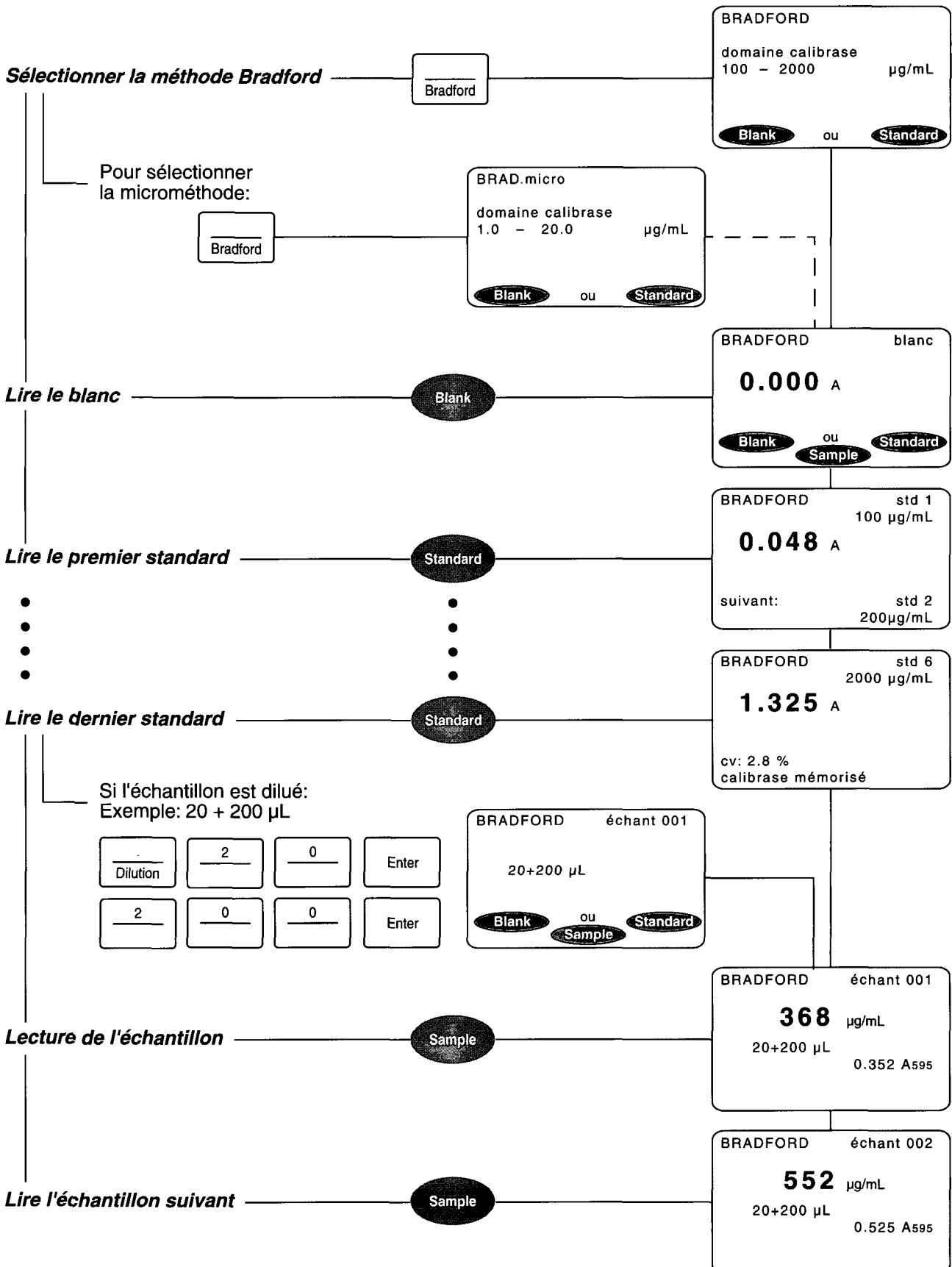
Sample

dsDNA échant 002
249.70 µg/mL

20+200 µL 0.689 A230
0.788 A260
1.85 260/280 0.623 A280
2.19 260/230 0.003 A320

10 Mode d'emploi succinct

Déroulement de la lecture Bradford



11 Nomenclature

Code commande

Photomètre

6131 000.012	BioPhotometer
6131 900.102	Mode d'emploi
6131 810.006	BioPhotometer Software Package, Logiciel de transfert de données depuis le BioPhotometer vers un logiciel de calcul sous tableur tels que Excel sous Windows
6131 928.007	Filtre UV-VIS secondaire, le lot, pour contrôle du BioPhotometer

Imprimante

0013 608.148	Thermo-imprimante DPU 414
0013 608.164	Bloc secteur 115 V pour imprimante DPU 414
0013 608.172	Bloc secteur 230 V pour imprimante DPU 414
0013 610.517	Cordon imprimante VGA I, 9 broches, mâle / fem
6547 001.018	Papier pour thermo-imprimante, les 10 rouleaux

UVette®

(Cuve à usage unique pour UV/VIS de 220 à 1 600 nm)

0030 106.300	UVette®, en conditionnement individuel sous blister, les 80
4308 078.006	Porte-cuves pour 16 cuves

12 Exploitation des résultats et conversions

12.1 Acides nucléiques (ADNs, ADNss, ARN, Oligo))

Conversion par facteur

$$C = A_{260} \times F$$

C = Concentration calculée

A₂₆₀ = Absorbance lue à 260 nm

F = Facteur (à programmer au cas par cas selon la méthode par la touche)

Particularité de la méthode pour acides nucléiques: le facteur programmé se rapporte toujours à l'unité de concentration "µg/mL". Si on sélectionne l'unité de concentration µg/µL, le facteur sera automatiquement réévalué en interne:

$$F' = F / 1000$$

F' = Facteur interne converti; est utilisé pour le calcul de la concentration.

Dilution de l'échantillon

$$C_{\text{dil, corr}} = C \times (V_P + V_{\text{dil}}) / V_P$$

C_{dil, corr} = Résultat calculé avec un facteur de dilution

V_P = Volume de l'échantillon de la solution lue (saisie par la touche)

V_{dil} = Volume du diluant dans la solution de lecture (saisie par la touche)

Parcours optique de la cuve

Application: utilisation de cuves de p.o. = 1, 2 ou 5 mm.

Le parcours optique de la cuve est programmé spécifiquement à chaque méthode par la touche .

$$A_{\text{cuve, corr}} = A \times 2 \text{ (pour un p.o. de 5 mm)}$$

$$A_{\text{cuve, corr}} = A \times 5 \text{ (pour un p.o. de 2 mm)}$$

$$A_{\text{cuve, corr}} = A \times 10 \text{ (pour un p.o. de 1 mm)}$$

A_{cuve, corr} = Absorbance rapportée à un parcours optique d'une cuve de 10 mm

Correction A₃₂₀

Application: correction partielle pour l'interférence de la turbidité d'une solution lue sur une lecture.

La procédure de conversion avec ou sans correction pour le trouble E₃₂₀ est programmée spécifiquement selon la méthode par la touche .

$$A_{x, \text{corr}} = A_x - A_{320}$$

A_{x, corr} = Absorbance corrigée mathématiquement par les absorbances aux longueurs d'onde 230, 260 et 280 nm

A_x = Absorbance lue aux longueurs d'onde 230, 260 et 280 nm

A₃₂₀ = Absorbance lue aux longueurs d'onde 320 nm

L'absorbance corrigée est ensuite utilisée pour le calcul final du résultat.

Touche "Conversion": calcul des concentrations massiques

Application: détermination de la quantité totale d'acide nucléique dans le volume total d'échantillon

$$M = C \times V_{p, \text{tot}}$$

M = Masse totale d'acide nucléique dans le tube d'échantillon

C = Concentration calculée

V_{p, tot} = Volume de l'échantillon dans le tube (saisie par la touche)

12 Exploitation des résultats et conversions

Touche "Conversion": calcul de la concentration molaire

Application: calcul des concentrations molaires à partir des concentrations massiques et de la masse molaire relative. La masse molaire relative sera saisie directement ou sera calculée par le système à partir du nombre de bases ou paires de bases par molécule.

$$C_{\text{mol}} = C / N$$

C_{mol} = concentration molaire calculée

N = masse molaire relative en kDa (saisie par la touche)

Si le nombre de base ou de paires de base est programmé à la place de la masse molaire relative, N sera calculé à partir du nombre de bases (-paires):

$$\text{ADNs: } N = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

$$\text{ADNss, ARN, Oligo: } N = b \times 330 \times 10^{-3}$$

N = Masse molaire relative calculée exprimée en kDa

bp = Nombre de paires de bases programmées par molécule (ADNs)

b = Nombre de bases programmées par molécule (ADNss, ARN, Oligo)

L'unité de concentration molaire est programmée au cas par cas pour chaque méthode par la touche .

12.2 Protéines directes par photométrie

Sélection de l'expression des résultats:

- Absorbance
- Calcul de la concentration par un facteur
- Calcul de la concentration par calibrage à un point
- Calcul de la concentration par la formule de Warburg

Calcul de la concentration par un facteur

Voir chapitre 12.1; longueur d'onde de lecture: 280 nm

Lors de la programmation du facteur par la touche , il convient de tenir compte de l'unité de concentration.

Calcul de la concentration par un standard (calibrage à un point)

$$F = C_s / A_s$$

F = Facteur calculé

C_s = Concentration donnée du standard (programmation au cas par cas par la touche selon la méthode)

A_s = Absorbance lue pour la standard

Si la lecture multiple du standard a été programmée (2x, 3x), le calcul du résultat se fera à partir des absorbances lues par régression linéaire avec intégration de la valeur zéro. Après calcul de la régression un CV (coefficient de variation en %) sera formé pour évaluer la dispersion des lectures. Si le CV est supérieur à 10 %, il sera affiché. Dans ce cas, le calibrage ne sera mis en mémoire qu'après validation. (voir chap. 12.3).

Le calcul de la concentration de l'échantillon s'effectuera à l'aide du facteur calculé:

$$C = A_{280} \times F$$

Calcul de la concentration par la formule de Warburg

$$C = 1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260} \text{ pour l'unité de concentration "mg/mL"}$$

$$C = (1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260}) \times 1000 \text{ pour l'unité de concentration "µg/mL"}$$

12 Exploitation des résultats et conversions

Dilution de l'échantillon, parcours optique de la cuve et correction A320

Voir chapitre 12.1.

12.3 Protéines par ajout de réactif

Méthodes: Bradford, Bradford micro, BCA, BCA micro, Lowry, Lowry micro

Sélection de l'expression du résultat:

- Absorbance
- Calcul de la concentration par un facteur
- Calcul de la concentration par standards

Sélection des modes de calcul à partir de standards:

- Calibrage à un point
- Calibrage multi-points (droite d'étalonnage)
- Calibrage multi-points (courbe d'étalonnage)

Calcul des concentrations par un facteur et calcul de la concentration par un standard (calibrage à un point)

Voir chapitre 12.2; longueur d'onde: 595 nm (Bradford; Lowry) ou 562 nm (BCA)

Calcul de la concentration par standards (calibrage multi-points; droite d'étalonnage)

La droite d'étalonnage sera établie à partir d'une série de standards de 2 à 10 valeurs, avec détermination simple, double ou triple (concentration en fonction de l'absorbance). L'équation de la droite sera calculée par une régression linéaire.

$$C = a_0 + a_1A$$

a_1 = Pente de la droite d'étalonnage (facteur)

a_0 = Point d'intersection de la droite d'étalonnage avec l'axe des concentrations (concentration d'un échantillon à l'absorbance "0" [décalage])

Après calcul du calibrage un CV (coefficient de variation %) sera formé pour évaluer la dispersion des lectures. (exception: calibrage deux points avec détermination simple des deux standards) Si le CV est supérieur à 10 % il sera affiché. Dans ce cas, le calibrage ne sera mis en mémoire qu'après validation. Avec plus de deux standards, la valeur du cv sera toujours affichée, même si sa valeur est < 10 %).

Les paramètres calculés " a_0 " et " a_1 " de la droite d'étalonnage pourront être imprimés à l'aide de la touche



Calcul de la concentration par une série standard (calibrage multi-points, courbe d'étalonnage)

Une courbe d'étalonnage (concentration en fonction de l'absorbance) sera établie à partir d'une série de 5 à 10 standards en détermination simple, de 4 à 10 standards en détermination double ou triple. La régression non linéaire sera calculée à partir d'un polynôme du 3^è degré.

$$C = a_0 + a_1A + a_2A^2 + a_3A^3 + \dots$$

a = Coefficient (les coefficients sont déterminés à partir de la méthode des moindres carrés)

Valeur du CV: voir ci-dessus (régression linéaire)

Les différents paramètres calculés pour la courbe d'étalonnage mémorisée peuvent être imprimés à l'aide de la touche



12 Exploitation des résultats et conversions

ProDilution des échantillons et p.o. des cuves

Voir chapitre 12.1.

12.4 OD 600

Les valeurs sont exprimées comme étant les absorbances lues à la longueur d'onde de 595 nm.

Dilution des échantillons et p.o. des cuves

Voir chapitre 12.1.

13 Contrôle du photomètre

Eppendorf propose un jeu de filtres (filtre UV-VIS secondaire, code commande # 6131 928.007) pour contrôler la justesse photométrique et celle des longueurs d'onde. Cet ensemble de filtres est composé de trois filtres de contrôle de la justesse photométrique ("Sample A1, Sample A2, Sample A3") et de deux filtres pour le contrôle de la justesse spectrale des longueurs d'onde ("Sample 260 nm, Sample 280 nm"). L'absorbance de ces filtres est lue contre un filtre de blanc ("Blank A0").

Pour le contrôle, les filtres représentant le blanc et l'échantillon de contrôle sont introduits dans le porte cuve comme s'il s'agissait de cuves. Pour l'orientation, le filtre sera tourné de telle sorte que l'autocollant d'identification soit positionné vers l'avant, côté utilisateur. Les absorbances lues pour le filtre représentant l'échantillon de contrôle sont ensuite comparées avec la fourchette des valeurs de tolérance. Les tolérances pour chaque filtre sont données dans un tableau de valeurs livré avec chaque filtre et collé à l'intérieur du couvercle du coffret des filtres. (voir tableau: "X.XXX – X.XXX A").

eppendorf				BioPhotometer		
Secondary -UV - VIS - Filter				Order No./Best.Nr.:6131 928.007		
		Limits Grenzwerte		measured against Blank A0 at approx. 20 °C gemessen gegen Blank A0 bei ca. 20 °C		
		Photometric accuracy Photometrische Richtigkeit			Wavelength accuracy Wellenlängenrichtigkeit	
Filter Type	Blank A0	Sample A1	Sample A2	Sample A3	Sample 260 nm	Sample 280 nm
230nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
260nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	
280nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		X.XXX - X.XXX A
320nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
562nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
595nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
Code	914 XXX	921 XXX	922 XXX	923 XXX	916 XXX	917 XXX
Please protect against dust, heat and liquid Bitte vor Staub, Hitze und Flüssigkeiten schützen The limits are valid for max. 2 years as of the date on the right. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre ab Datum.				Date/Datum		Signature/Unterschrift

Tableau:
Reproduction du document se trouvant collé à l'intérieur du couvercle du coffret de filtres # 6131 928.007

13 Contrôle du photomètre

Environnement du contrôle du photomètre

- Réaliser le contrôle à env. 20 °C.
- N'extraire le filtre de son coffret que pendant le temps strictement nécessaire à la lecture et le préserver de tout dommage et de toute souillure.
- Préserver les filtres de la poussière, de la chaleur, des liquides et des vapeurs agressives.
- Installer le filtre dans le porte-cuve avec l'autocollant orienté vers l'utilisateur.
- Sélectionner la fonction "test photométrique".
Cette fonction est installée sur les appareils comportant la version logicielle à partir de V 1.20.
Pour une utilisation des filtres de contrôle sur des appareils avec des logiciels plus anciens, s'adresser à Eppendorf.
- Sélectionner les filtres-test
 - "A1", "A2", "A3" pour la lecture de justesse photométrique à 230, 260, 280, 320, 562, et 595 nm.
 - "A260" ou "A280" pour la lecture de la justesse de longueur d'onde à 260 nm ou 280 nm.
 - "A??" est prévu pour une utilisation exclusivement réservée au service après-vente Eppendorf.
- Suivre les instructions de l'afficheur du photomètre pour les lectures du "blanc" et de "l'échantillon".
L'appareil effectue 10 cycles de lecture et imprime par la suite la valeur moyenne des absorbances déterminées aux différentes longueurs d'onde.
- Comparer les valeurs des absorbances à la fourchette des valeurs tolérée pour cette longueur d'onde.
- En plus de l'information concernant la justesse, le protocole imprimé comporte des informations sur la répétabilité; l'appareil détermine chaque fois les écarts standards et les coefficients de variation à partir d'une série de 10 lectures par filtre.

Si les absorbances lues avec les filtres de contrôle ne correspondent pas aux fourchettes de tolérance, il convient de contacter le service après – vente Eppendorf. Les filtres eux-mêmes doivent être recalibrés en usine après deux ans.

Certificat de conformité du BioPhotometer 6131

Conforme à l'annexe 15 de la directive d'étalonnage

Descriptif métrologique

Nature: Photomètre monofaisceau avec faisceau de référence et longueurs d'onde fixes
Type: BioPhotometer 6131
Fabriquant / distributeur: Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH, Hambourg
Instructions d'emploi: Mode d'emploi

1. Système de mesure

Trajet du faisceau: Lampe > diaphragme > lentille > diaphragme > cuve > diaphragme
> grille de renvoi > diaphragmes > photodiodes
Emetteur source: Lampe flash Xénon, domaine spectral continu de 220 nm à 2000 nm
Système spectral: Grille polychromateur
Récepteur spectral: Photodiodes silicium, domaine spectral de 200 à 1100 nm
Cuves optiques: Quartz, verre optique spécial, matière plastique, selon longueur d'onde
Types de cuves: 10 mm macro; volume mini. 1000 µl
10 mm semi-micro; volume mini. 400 µl
10 mm à vidange; volume mini. 300 µl
10 mm ultra-micro; volume mini. 70 µl

Thermostatisation de cuve: Absente

Cadran-afficheur: Eclairé, type graphique LCD 33 x 66 mm²
Grandeurs affichées: Absorbance, concentrations massique et molaire

2. Procédure de mesure

Détermination de la valeur
du blanc de la cuve: Lecture individuelle de chaque cuve en fonction de la longueur d'onde
Détermination
de la concentration: Selon la loi de Beer-Lambert-Bourguer
: Mesure relative par rapport
au matériau de référence: Contrôle par étalons secondaires calibrés

3. Domaine spectral de la mesure d'absorbance

Domaine: 0,000 à 3,000 A
Les limites d'erreur citées peuvent être dépassées en dehors des gammes de mesure ainsi qu'en cas d'utilisation autre que les utilisations nominales.

4. Conditions d'utilisation nominales

Blanc cuve: Selon le type de cuve utilisé
Longueur d'onde de lecture: Xénon 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm
Temps de préchauffage: Aucun
Tension d'alimentation : 100 à 240 V ± 10 %, 50 – 60 Hz ± 5 %
Ambiante admissible: 15 à 35 °C
Humidité relative de l'air: 15 à 70 %

5. Limites d'erreur et autres limites

Incertitude photométrique relative de la mesure d'absorbance spectrale sur toutes les longueurs d'onde pour une mesure individuelle: ± 1,5 % à A = 1

Ecart standard
photométrique court terme: ≤ 0,5 % à A = 1
Défaut de justesse
de la longueur d'onde: ± 1 nm de 230 à 280 nm, ± 2 nm de 320 à 595 nm
Demi-valeur spectrale: ≤ 5 nm de 230 à 320 nm, ≤ 7 nm de 562 et 595 nm
Taux de lumière parasite: ≤ 0,03 % à 260 nm avec GG 375-3 (Schott)

Date: 25.09.1997

Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH
– Service Qualité et normes –

EG-Konformitätserklärung EC Conformity Declaration

Eppendorf - Netheler - Hinz GmbH • Barkhausenweg 1 • 22339 Hamburg • Germany

Das bezeichnete Gerät entspricht den einschlägigen grundlegenden Anforderungen der aufgeführten EG-Richtlinien und Normen. Bei einer nicht mit uns abgestimmten Änderung des Gerätes verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

The device named below fulfills the relevant fundamental requirements of the EC directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the device, this declaration becomes invalid.

Gerätebezeichnung, Device name:

BioPhotometer 6131

Gerätetyp, Device type:

Photometer

Einschlägige EG-Richtlinien/Normen, Relevant EC directives/standards:

89/336/EWG, EN 50082-1, EN 55011, EN 61000-3-2, EN 61000-3-3

△ CISPR 11, IEC 1000-4-2/3/4, IEC 1000-3-2, IEC 1000-3-3

73/23/EWG, EN 61010-1

△ IEC 1010-1

29.09.1998

Hamburg, Date:

Geschäftsführung, Managing Director:

Projektmanagement, Project Management:

Eppendorf –
Netheler – Hinz GmbH
22331 Hamburg • Germany
Phone +49 40-5 38 01-0
Fax +49 40-5 38 01-556
e-mail: eppendorf@eppendorf.com
eppendorf home page:
<http://www.eppendorf.com>
Life Science Application Hotline:
Phone +49 180-3 66 67 89
e-mail: application-hotline@eppendorf.com

Eppendorf Scientific, Inc.
One Cantiague Road,
P.O.Box 1019,
Westbury,
New York 11590-0207 (USA)
Phone 800-421-9988
Fax 516-876-8599
e-mail: eppendorf@eppendorfsi.com

eppendorf

**Eppendorf Certificate
BioPhotometer 6131**

1. Wavelength accuracy / Wellenlängenrichtigkeit

Filter-code	Test-filter	Lower limit-upper limit Untergrenze-Obergrenze	Actual value Istwert	
916-110	Sample 260nm	±1nm: 1.140-1.400 A	1.297 A	O.K.
917-110	Sample 280nm	±1nm: 1.580-1.840 A	1.725 A	O.K.
920-110	Sample 595nm	±2nm: 0.800-1.300 A	1.219 A	O.K.

2. Photometric accuracy at / Photometrische Richtigkeit bei 260nm

Filter-code	Test-filter	Lower limit-upper limit Untergrenze-Obergrenze	Actual value Istwert	
921-110	Sample A1	0.106-0.126 A	0.117 A	O.K.
922-110	Sample A2	0.760-0.784 A	0.771 A	O.K.
923-110	Sample A3	1.454-1.482 A	1.470 A	O.K.

3. Photometric precision at / Photometrische Präzision bei 260nm

Filter-code	Test-filter	Limiting value Grenzwert	Actual value Istwert	
921-110	Sample A1	S ≤ 0.003 A	0.0007 A	O.K.
922-110	Sample A2	CV/Vk ≤ 1 %	0.07 %	O.K.

Measuring value against Blank A0

Meßwerte gegen Blank A0

All limits applicable for use of the test filters in the BioPhotometer
Alle Grenzen gelten für den Gebrauch der Testfilter im BioPhotometer

4. Security check / Sicherheitsüberprüfung IEC 1010-1

6.5.1.2 Bonding impedance/Schutzleiterimpedanz	< 0.1 Ohm	O.K.
6.3.2.2 Leakage current/Ableitstrom	< 0.0035 A	O.K.
D4 High voltage test/Hochspannungstest	≥ 1350 V	O.K.

Instrument/Geräte No. 02139	tested by/geprüft durch <u>S. Malin</u>
--------------------------------	--

6131 912.160-02

eppendorf