

Register your instrument!
www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Manuel d'utilisation

Copyright © 2019 Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

Trademarks

Cy® is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

OliGreen®, PicoGreen®, RiboGreen®, NanoOrange® and Qubit® are registered trademarks of Molecular Probes, Inc., USA.

Eppendorf® and the Eppendorf Brand Design are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf SpectraZoom® and UVette® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with ® or ™ in this manual.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

Notice

The software of the BioSpectrometer fluorescence contains open source software. License information is available under *Functions > Info > Copyrights*.

Sommaire

1	Notes d'application	7
1.1	Utilisation de ce manuel	7
1.2	Symboles de danger et niveaux de danger	7
1.2.1	Symboles de danger	7
1.2.2	Niveaux de danger	7
1.3	Convention de représentation	8
1.4	Abréviations	9
2	Consignes générales de sécurité	11
2.1	Utilisation appropriée	11
2.2	Exigences s'appliquant à l'utilisateur	11
2.3	Dangers lors d'une utilisation appropriée	11
2.3.1	Dommages physiques	11
2.3.2	Dommages matériels	13
2.4	Remarques sur la responsabilité relative au produit	14
2.5	Consignes de sécurité sur l'appareil	14
3	Désignation	15
3.1	Aperçu des produits	15
3.2	Pièces incluses dans la livraison	15
3.3	Caractéristiques du produit	16
3.3.1	Méthodes	16
3.3.2	Commande	16
3.3.3	Publication du résultat	17
3.3.4	Auto-test de l'appareil	17
4	Installation	19
4.1	Préparer l'installation	19
4.2	Sélectionner un emplacement	19
4.3	Branchement de l'appareil sur le secteur	19
4.4	Relier l'appareil à un réseau	20
4.5	Raccorder l'imprimante au port USB	20
4.5.1	Thermo-imprimante DPU-S445	20
4.6	Connexion d'un PC ou d'une clé USB pour l'exportation des données	21
5	Utilisation	23
5.1	Commandes	23
5.1.1	Saisir du texte	25
5.2	Mise en place de la cuve	25
5.3	Vue d'ensemble d'un cycle de mesure	27
5.3.1	Préparation de la mesure	27
5.3.2	Cycle de mesure	27
5.3.3	Remarques importantes pour les mesures	31

6	Méthodes	33
6.1	Sélection de la méthode	33
6.2	Description des méthodes utilisées en photométrie	34
6.2.1	Groupe de méthodes Absorbance	34
6.2.2	Groupe de méthodes Routine	35
6.2.3	Groupe de méthodes Basic	36
6.2.4	Groupe de méthodes Advanced	37
6.3	Description de la méthode de la fluorimétrie	37
6.3.1	Groupe de la méthode Routine	37
6.3.2	Groupe de la méthode Basic	38
6.4	Paramètres des méthodes	39
6.5	Déroulement de la méthode	45
6.5.1	check parameters	46
6.5.2	measure standards	47
6.5.3	measure samples	48
6.5.4	mesurer les échantillons : Affichage des résultats	51
6.5.5	process results	58
6.5.6	résultats du processus Options	60
6.5.7	print & export	63
6.5.8	Clôturer la série de mesures	66
7	Fonctions	67
7.1	Fonctions du groupe principal User	67
7.1.1	Results Memory	68
7.1.2	General method parameters	70
7.1.3	Absorbance spectra library	73
7.1.4	Device settings	73
7.1.5	Device calibration	76
7.1.6	Info	76
8	Entretien	77
8.1	Nettoyer	77
8.1.1	Nettoyage du couvercle du puits de la cuve	78
8.2	Désinfection/Décontamination	79
8.3	Contrôle de l'appareil	79
8.3.1	Contrôle de l'unité de spectrométrie	79
8.3.2	Contrôle de l'unité de fluorescence	83
8.3.3	Auto-test de l'appareil	84
8.4	Changement de fusibles	85
8.5	Décontamination avant l'expédition	86
9	Résolution des problèmes	87
9.1	Pannes générales	87
9.2	Messages d'erreur	89
9.3	Repérage des résultats	93
10	Transport, stockage et mise au rebut	97
10.1	Transport	97
10.2	Stockage	97
10.3	Mise au rebut	98

11 Données techniques	99
11.1 Alimentation électrique	99
11.2 Conditions ambiantes	99
11.3 Poids/dimensions	99
11.4 Propriétés photométriques	100
11.5 Fluorimètre	100
11.6 Paramètres techniques supplémentaires	101
11.7 Paramètres d'application	102
12 Procédés d'évaluation	103
12.1 Valeurs d'absorbance	103
12.1.1 Blanc	103
12.1.2 Correction d'arrière-plan	103
12.1.3 Correction de la cuve	104
12.2 Transmission	104
12.3 Évaluation avec facteur ou standard	105
12.4 Évaluation avec courbe / droite de standards	106
12.5 Dilution	107
12.6 Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV	107
12.6.1 Correction A_{260} et correction A_{280}	107
12.6.2 Rapport A_{260}/A_{280} et rapport A_{260}/A_{230}	108
12.6.3 Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques	108
12.6.4 Calcul du facteur pour la protéine dans « General Method Parameter »	110
12.7 Procédures d'évaluation spéciales pour méthodes Dye	110
12.7.1 Calcul du facteur pour le colorant du coefficient d'extinction	110
12.7.2 Calcul de la FOI	111
12.7.3 Calcul des quantités de colorant	111
12.8 Dual wavelength	112
12.9 Fluorimétrie	113
12.9.1 Valeurs RFU	113
12.9.2 Blanc	113
12.9.3 Évaluation avec le standard et la courbe/droite standard, dilution	113
13 Nomenclature de commande	115
Certificats	117

1 Notes d'application






1.1 Utilisation de ce manuel

- ▶ Lisez intégralement le présent manuel d'utilisation avant de procéder à la première mise en service de l'appareil. Observez également les notices d'utilisation des accessoires.
- ▶ Ce manuel d'utilisation fait partie du produit. Conservez-le bien accessible.
- ▶ Lorsque vous remettez l'appareil à un tiers, pensez toujours à joindre le manuel d'utilisation.
- ▶ La version actuelle du manuel d'utilisation est disponible dans d'autres langues sur notre site Internet www.eppendorf.com/manuals.

1.2 Symboles de danger et niveaux de danger

1.2.1 Symboles de danger

Les consignes de sécurité de ce manuel contiennent les symboles de danger et niveaux de danger suivants :

	Risque d'électrocution		Substances explosibles
	Substances toxiques		Zone dangereuse
	Dommages matériels		




1.2.2 Niveaux de danger

DANGER	<i>Va entraîner des blessures graves ou la mort.</i>
AVERTISSEMENT	<i>Peut entraîner des blessures graves ou la mort.</i>
ATTENTION	<i>Peut causer des blessures de légère à moyenne gravité.</i>
AVIS	<i>Peut causer des dégâts matériels.</i>

Notes d'application

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

1.3 Convention de représentation

Représentation	Signification
1. 2.	Actions dans l'ordre indiqué
▶	Actions sans ordre indiqué
•	Liste
 ou sample	Actionnez cette touche pour procéder à la manipulation décrite.
 ou [Copy]	Actionnez cette touche programmable pour procéder à la manipulation décrite.
	Informations supplémentaires

1.4 Abréviations

A

Absorbance – Extinction

DNA

Deoxyribonucleic acid – acide désoxyribonucléique (ADN)

dsDNA

double stranded DNA – ADN à double brin

Méthodes Dye

Méthodes du groupe **Dye labels** pour la mesure de biomolécules marquées au colorant

FOI

Frequency of Incorporation, fréquence d'incorporation : Exprime la quantité de molécules de colorant par rapport au nombre de nucléotides dans les biomolécules marquées au colorant

M

mol/L (*molaire*)

OD600

Densité optique à une longueur d'onde de 600 nm

RFU

Relative Fluorescence Unit – Unité de fluorescence relative : Exprime l'intensité des mesures de la fluorescence

RNA

Ribonucleic acid – Acide ribonucléique (ARN)

ssDNA

single stranded DNA – ADN simple brin

T

Transmission : La perméabilité à la lumière appelée transmission (Test le quotient de I (lumière sortant de la cuvette) et de I_0 (lumière entrant dans la cuvette) : $T = I/I_0$)

UV

Rayon ultraviolet

Vis

Visible light – lumière visible

VK

Coefficient de variation (écart standard / valeur médiane), exprimé en pourcentage

Notes d'application

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

2 Consignes générales de sécurité

2.1 Utilisation appropriée

Le BioSpectrometer fluorescence est spécifié pour les laboratoires de recherche spécialisés en biologie moléculaire, biochimie et biologie cellulaire. Le BioSpectrometer fluorescence a été conçu uniquement pour les applications réalisées à l'intérieur. Respectez les directives nationales et locales sur la sécurité des appareils électriques utilisés en laboratoire.

Le BioSpectrometer fluorescence permet de déterminer la concentration photométrique des analytes liquides et d'enregistrer les spectres de longueurs d'onde d'absorbance des cuves. Il permet également de réaliser des mesures de la fluorescence pour la quantification biomoléculaire.

N' utilisez que des accessoires et des pièces de rechange authentiques, recommandés par Eppendorf.

2.2 Exigences s'appliquant à l'utilisateur

L'appareil et les accessoires ne doivent être utilisés que par un personnel spécialisé formé.

Avant l'utilisation, lisez soigneusement le manuel d'utilisation et la notice d'utilisation des accessoires et familiarisez-vous avec le mode de fonctionnement de l'appareil.

2.3 Dangers lors d'une utilisation appropriée

2.3.1 Dommage physique



DANGER ! Risque d'électrocution causée par l'infiltration de liquide.

- ▶ Mettez l'appareil à l'arrêt et débranchez la fiche secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
- ▶ Empêchez tout liquide de pénétrer à l'intérieur du boîtier.
- ▶ Ne nettoyez pas le boîtier avec un spray nettoyant/désinfectant.
- ▶ Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.



DANGER ! Risque d'explosion.

- ▶ N'utilisez pas l'appareil dans des pièces où des matières explosives sont manipulées.
- ▶ Ne travaillez pas avec cet appareil sur des matières explosives ou fortement réactives.
- ▶ Ne travaillez pas avec cet appareil sur des matières susceptibles de créer une atmosphère explosive.

**AVERTISSEMENT ! Risque d'électrocution pour cause d'appareil ou de câble secteur endommagé.**

- ▶ N'enclenchez l'appareil que si l'appareil et le câble secteur sont intacts.
- ▶ Mettez uniquement en service les appareils qui ont été installés dans les règles de l'art ou ont fait l'objet d'une maintenance.
- ▶ En cas de danger, mettez l'appareil hors tension. Débranchez la fiche secteur de l'appareil ou de la prise de courant avec terre. Utilisez le dispositif de sectionnement prévu (par ex. interrupteur d'arrêt d'urgence au sein du laboratoire).

**AVERTISSEMENT ! Dommages causés par un rayonnement UV.**

Les cuves en microlitres comme p.ex. Hellma® TrayCell (ou les cuves en microlitres de type similaire) dévient le rayonnement de la source lumineuse à l'intérieur de la cuve, de manière à ce que la source lumineuse puisse s'échapper par le haut lorsque le couvercle n'est pas fermé.

- ▶ Avant de démarrer une mesure, assurez-vous que le couvercle est bien placé sur la cuve en microlitres.

**AVERTISSEMENT ! Dangers pour la santé à cause de substances chimiques toxiques, radioactives ou agressives ainsi que de liquides infectieux et de germes pathogènes.**

- ▶ Observez les réglementations nationales relatives au maniement de ces substances, le niveau de sécurité biologique de votre laboratoire ainsi que les fiches de données de sécurité et les modes d'emploi des fabricants.
- ▶ Portez des équipements de protection individuelle.
- ▶ Consultez les réglementations sur la manipulation des germes ou des substances biologiques du groupe à risque II ou plus, indiquées dans le « Laboratory Biosafety Manual » (source : World Health Organisation, Laboratory Biosafety Manual, dans la version en vigueur).

**AVERTISSEMENT ! Risque pour la santé à cause d'appareil et d'accessoires contaminés.**

- ▶ Décontaminez l'appareil et les accessoires avant de les stocker ou de les retourner.

**ATTENTION ! Défaut de sécurité en raison d'accessoires et de pièces de rechange erronés.**

Les accessoires et pièces de rechange non recommandés par Eppendorf ont un effet négatif sur la sécurité, la fonction et la fidélité de l'appareil. Eppendorf décline toute responsabilité pour les dommages causés par des accessoires ou pièces de rechange non recommandés ou par une utilisation incorrecte.

- ▶ N'utilisez que des accessoires et des pièces de rechange recommandés par Eppendorf.

2.3.2 Dommages matériels



AVIS ! Dommages pour cause de substances chimiques agressives.

- ▶ Empêchez tout contact de l'appareil et des accessoires avec des produits chimiques agressifs tels que des bases faibles ou fortes, des acides faibles ou forts, l'acétone, le formaldéhyde, les hydrocarbures chlorés ou le phénol.
- ▶ Si l'appareil est contaminé par des substances chimiques agressives, nettoyez-le immédiatement avec un détergent neutre.



AVIS ! Dommage matériel suite à l'injection de gaz avec des produits chimiques agressifs.

- ▶ Ne désinfectez pas l'appareil par injection de gaz.



AVIS ! Corrosion provoquée par des détergents et des désinfectants agressifs.

- ▶ N'utilisez aucun produit d'entretien décapant ni produit de polissage abrasif ou contenant une solution agressive.
- ▶ N'incubez pas les accessoires trop longtemps dans des détergents et des désinfectants agressifs.



AVIS ! Dommages aux composants électroniques dus à la condensation.

Du condensat peut se former dans l'appareil quand ce dernier a été transporté d'un environnement frais vers un environnement plus chaud.

- ▶ Après avoir déposé l'appareil, attendez au moins 3 h. Branchez l'appareil au secteur seulement après.



AVIS ! Fonction entravée par des dommages mécaniques.

- ▶ Après un endommagement mécanique de l'appareil, assurez-vous par le biais d'un contrôle que les fonctions de mesure et d'évaluation de l'appareil fonctionnent correctement.



AVIS ! Dommages par surchauffe.

- ▶ Ne placez pas l'appareil à proximité de sources de chaleur (par ex. chauffage, étuve).
- ▶ N'exposez pas l'appareil à un rayonnement solaire direct.
- ▶ Assurez-vous que l'air circule correctement. N'encombrez pas l'espace autour des grilles d'aération à une distance minimale de 5 cm.



AVIS ! Dommages matériels suite à une application incorrecte.

- ▶ N'utilisez le produit que pour l'utilisation appropriée décrite dans le manuel d'utilisation.
- ▶ Lors de l'utilisation de substances chimiques, veillez à une résistance suffisante des matériaux.
- ▶ En cas de doute, adressez-vous au fabricant de ce produit.

Consignes générales de sécurité

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)



AVIS ! Dommages causés par un emballage inadéquat.

Eppendorf AG ne se porte pas garante d'un emballage inadéquat.

- ▶ Pour stocker et transporter l'appareil, utilisez seulement l'emballage d'origine.



AVIS ! Dommages liés à un nettoyage incorrect du puits de cuve.


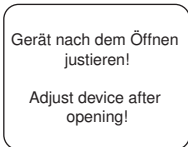
- ▶ Nettoyez le puits de cuve uniquement avec du coton imbibé. (voir *Nettoyer à la page 77*)
- ▶ Ne laissez pénétrer aucun liquide à l'intérieur du puits de cuve.
- ▶ N'introduisez pas le doigt à l'intérieur du puits de cuve.

2.4 Remarques sur la responsabilité relative au produit

Dans les cas suivants, la protection prévue de l'appareil peut être altérée. La responsabilité en matière de dommages matériels et corporels revient alors au propriétaire :

- L'appareil n'est pas utilisé de manière conforme au manuel d'utilisation.
- L'appareil n'est pas utilisé de manière conforme à l'utilisation appropriée.
- L'appareil est utilisé avec des accessoires ou des consommables qui ne sont pas recommandés par Eppendorf AG.
- L'appareil est utilisé, entretenu ou remis en état par des personnes qui ne sont pas autorisées par Eppendorf AG.
- L'utilisateur a procédé à des modifications interdites sur l'appareil.

2.5 Consignes de sécurité sur l'appareil

Représentation	Signification	Emplacement
	Zone dangereuse ▶ Respectez le manuel d'utilisation.	Verso de l'appareil
 Gerät nach dem Öffnen justieren! Adjust device after opening!	Si l'appareil est ouvert, vous devez le réajuster. ▶ Ne pas ouvrir l'appareil.	Bas de l'appareil

3 Désignation

3.1 Aperçu des produits

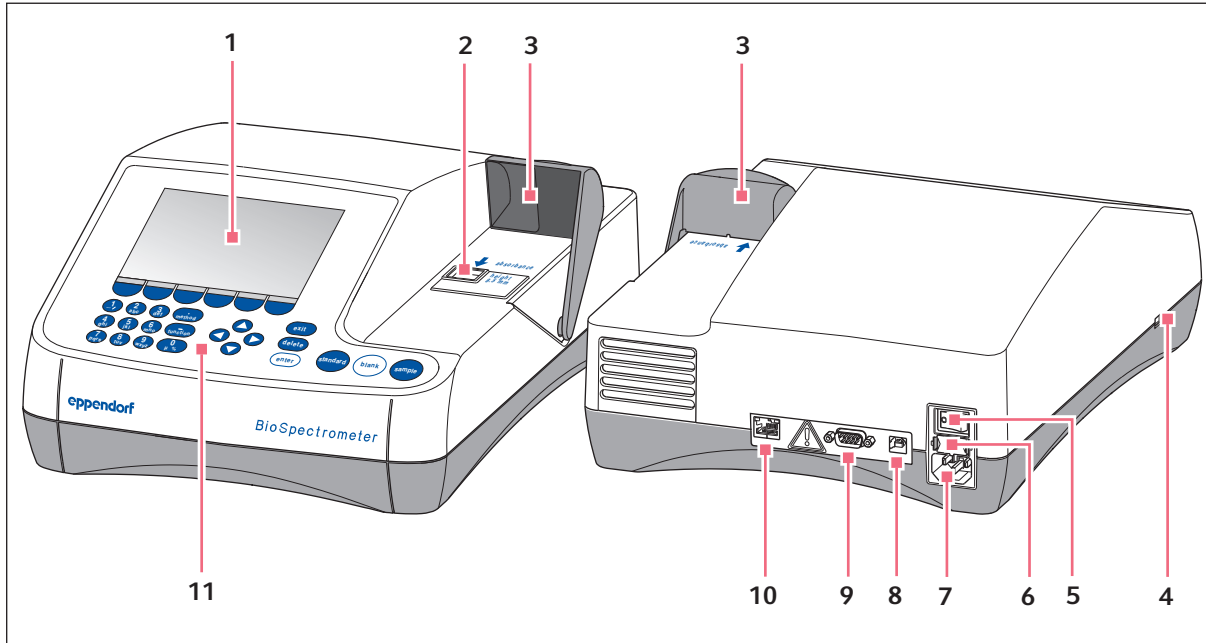


Fig. 3-1: Vue avant et arrière

- | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 1 Ecran | 7 Branchement sur le secteur |
| 2 Puits de cuve | 8 Port USB pour PC |
| 3 Cache du puits de cuve | 9 Port RS-232 de l'imprimante |
| 4 Port USB pour clé USB et imprimante | 10 Prise de raccordement Ethernet |
| 5 Interrupteur général | 11 Commandes |
| 6 Porte-fusibles | |

La plaque d'identification se trouve à l'arrière gauche, sur l'envers de l'appareil.

3.2 Pièces incluses dans la livraison

Nbre de	Description
1	BioSpectrometer fluorescence
1	Câble secteur
4	4 UVettes Cuve en plastique authentique Eppendorf, emballage individuel, PCR clean, Protein-free
1	Manuel d'utilisation, plurilingues

Désignation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

3.3 Caractéristiques du produit

Le BioSpectrometer fluorescence réunit deux procédés de mesure spectroscopiques : la spectrophotométrie et la fluorimétrie. En effet, il est capable d'effectuer des mesures spectrophotométriques dans le domaine UV-VIS de 200 nm à 830 nm, ainsi que des mesures fluorimétriques avec deux combinaisons de longueurs d'onde visibles définies (excitation à 470 nm/émission à 520 nm et excitation à 470 nm/émission à 560 nm). Conçu pour mesurer les liquides dans les domaines de la recherche et du développement effectués en biologie moléculaire, biotechnologie, biochimie et en biologie cellulaire, il peut recevoir des cuves en verre et en plastique de 1 µL à 3000 µL (photométrie) ou de 60 µL à 3000 µL (fluorimétrie).

3.3.1 Méthodes

Photométrie

De nombreuses méthodes de détermination des concentrations d'acides nucléiques, protéines, et acides nucléiques et protéines marqués par colorant ainsi que la méthode **OD 600** de détermination de la densité bactérienne par la mesure de l'opacité sont déjà préprogrammées. Des modèles de méthode pour différents procédés de mesure et d'évaluation (mesures d'une et plusieurs longueurs d'onde, enregistrements de spectres, procédés cinétiques, évaluations avec facteur, standard et courbe standard) sont également préprogrammés. Des méthodes personnalisées peuvent être créées à partir des méthodes et modèles préprogrammés. Avec les modèles du groupe de méthodes **Absorbance**, vous pouvez mesurer rapidement des extinctions ou des spectres sans évaluation supplémentaire. Dans le groupe de méthodes **Absorbance**, vous trouverez aussi une méthode qui vous permettra de déterminer le degré de transmission d'un échantillon.

Fluorimétrie

Les méthodes de détermination de la concentration d'acides nucléiques avec les réactifs PicoGreen, RiboGreen, OliGreen et Qubit, ainsi que de protéines avec NanoOrange sont préprogrammées. Les variantes abrégées des méthodes de l'acide nucléique pour une mesure rapide avec deux standard uniquement sont également contenues. Comme pour la spectrométrie spectrale, des modèles de méthodes pour différents procédés d'évaluation (par facteur, standard et courbe standard) sont préprogrammés.

3.3.2 Commande

Les méthodes et modèles préprogrammés sont clairement regroupés par groupes, vous permettant de faire une sélection rapide de la méthode souhaitée. Une fois que vous avez appelé la méthode, vous êtes clairement guidé étape par étape à travers le cycle de mesure. En cas de besoin, des conseils peuvent être affichés dans une fenêtre d'aide. Les 3 touches de mesure rondes (**standard**, **blanc**, **échantillon**) permettent un démarrage rapide et direct de la mesure.

3.3.3 Publication du résultat

Le BioSpectrometer fluorescence délivre les résultats sur l'écran ou sur une imprimante disponible auprès d'Eppendorf. Par l'intermédiaire du port USB, vous pouvez transférer les données de résultats de l'appareil sur une clé USB, une imprimante ou directement sur votre PC. Si l'appareil est relié à un réseau, il est possible d'imprimer ou d'envoyer par e-mail les résultats sur une imprimante en réseau. Il n'est pas possible d'enregistrer les résultats sur un lecteur réseau.

3.3.4 Auto-test de l'appareil

Directement après la mise en marche, l'appareil contrôle automatiquement le fonctionnement du module de spectrométrie et de fluorimétrie. Pour procéder à un contrôle complet de l'appareil, utilisez la fonction **Device calibration** (voir *Auto-test de l'appareil à la page 84*).

Désignation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

4 Installation

4.1 Préparer l'installation

- ▶ Conservez l'emballage et le matériau d'emballage en vue d'un transport ultérieur ou d'un stockage.
- ▶ A l'aide de la liste jointe à la livraison, vérifiez qu'il ne manque rien (voir *Pièces incluses dans la livraison à la page 15*).
- ▶ Vérifiez que les pièces de l'appareil n'ont pas été endommagées lors du transport.

4.2 Sélectionner un emplacement

Sélectionnez un site approprié pour le BioSpectrometer fluorescence en tenant compte des critères suivants :

- 2 prises avec terre pour le BioSpectrometer fluorescence et pour l'imprimante.
- Paillasse fixe avec plan de travail horizontal.
Dimensions de l'appareil : largeur 50 cm (avec imprimante : 75 cm), profondeur 50 cm.
- Température : de 15 °C à 35 °C.
- Évitez les écarts de température (par ex. fenêtre ouverte).
- Évitez toute exposition directe au soleil.
- Humidité de l'air : humidité relative comprise entre 25 % et 70 %.



Veillez à ne déposer aucun objet sous l'appareil (par ex. feuilles détachées, cahiers) susceptibles de gêner le flux d'air.

4.3 Branchement de l'appareil sur le secteur

1. Déposez le BioSpectrometer fluorescence sur une surface de travail adaptée.
2. Assurez-vous que la tension du courant et la fréquence du courant correspondent aux indications de la plaque signalétique.
3. Branchez l'appareil au réseau électrique et allumez-le avec l'interrupteur général.
4. Retirez le film de protection de l'affichage.

4.4 Relier l'appareil à un réseau



La connexion de l'appareil avec un réseau est optionnelle. Vous pouvez aussi exploiter l'appareil sans connexion réseau.
Informations sur les paramètres réseau. (voir *Device settings* à la page 73)

Prérequis

Câble Ethernet (RJ45)

1. Brancher le câble Ethernet sur la prise du réseau.
2. Brancher le câble Ethernet sur la prise Ethernet **10** (voir *Aperçu des produits* à la page 15)



Imprimante réseau

L'imprimante réseau est reconnue automatiquement par l'appareil dans les conditions suivantes :

- L'imprimante se trouve dans le même segment du réseau que l'appareil.
- L'imprimante applique le protocole Zeroconf.
- L'imprimante est compatible PostScript

4.5 Raccorder l'imprimante au port USB

4.5.1 Thermo-imprimante DPU-S445

Prérequis

L'appareil est équipé de la version du logiciel 3.4.4.0 ou plus.

L'imprimante thermique DPU-S445 est sélectionnée dans les paramètres d'imprimante (voir *Device settings* à la page 73).

Connectez la thermo-imprimante DPU-S445 au port USB de l'imprimante.

1. Reliez le câble de l'imprimante au port USB de l'imprimante **4** (voir *Aperçu des produits* à la page 15).
2. Reliez le câble de l'imprimante à l'imprimante.
3. Connectez l'imprimante au secteur à l'aide du bloc d'alimentation et du câble secteur fourni (accessoires de l'imprimante) et enclenchez-la.

Pour en savoir plus, veuillez consulter le manuel d'utilisation de l'imprimante.

4.6 Connexion d'un PC ou d'une clé USB pour l'exportation des données

Vous pouvez connecter une clé USB, **format FAT-32**, au port USB **4** (voir *Aperçu des produits à la page 15*).

Vous pouvez également connecter directement l'appareil à un PC au moyen d'un câble USB pour exporter les données :

Prérequis

- PC avec Windows, version XP, SP2 ou une version supérieure.
- Câbles USB avec chacun une prise de type A et une prise de type B.
- ▶ Connectez directement l'appareil à un PC au moyen d'un câble USB au niveau du port USB **8** (voir *Aperçu des produits à la page 15*).



- Vous n'avez besoin d'aucun logiciel PC particulier pour le transfert des données : les paquets de données transférés sont reconnus par le PC de la même manière qu'une clé USB, comme un support de données amovible. Pour visionner les données, il vous suffit d'ouvrir le paquet de données annoncé.
- Le transfert de données sur une clé USB ou sur le PC se fait une fois la série de mesures terminée, à l'étape de l'application **print & export** (voir *print & export à la page 63*).

Installation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

5 Utilisation

5.1 Commandes

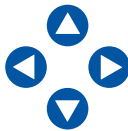










Fig. 5-1: Commandes du BioSpectrometer fluorescence

Touche	Fonction
	<p>Clavier : entrée de texte et de chiffres.</p> <p>Touches 1 à 9 et 0 : Vous pouvez entrer des chiffres, des lettres et des symboles en appuyant plusieurs fois sur la touche. Vous pouvez également faire apparaître un clavier en appuyant sur [Keyboard].</p>
 	<p>En dehors des zones d'entrée : appelez la sélection d'applications.</p> <p>En dehors des zones d'entrée : appelez la sélection de fonctions.</p>
	<p>Touche programmable : sélectionnez les fonctions.</p> <p>L'affectation des touches change avec le dialogue du logiciel. La fonction actuelle est indiquée sur l'affichage juste au-dessus de la touche.</p>

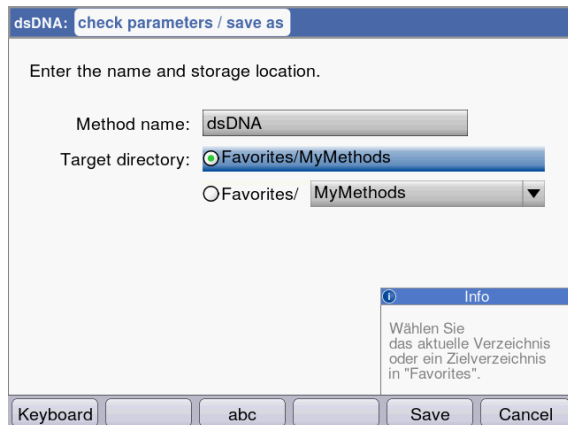
Utilisation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Touche	Fonction
	<p>Déplacer le curseur vers la gauche, la droite, le haut, le bas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Naviguer entre les champs de saisie. • Touches curseur  et  dans une zone d'entrée : naviguer dans la séquence de caractères. • Touches  et  dans l'affichage des résultats : naviguer entre les résultats de la série de mesures. • Touches  et  dans un graphique : naviguer dans l'axe X du graphique pour afficher par ex. la valeurs d'absorbance d'un balayage déterminées à partir d'une longueur d'onde définie.
	<p>Quitter la sélection actuelle pour le niveau juste au-dessus.</p> <p>Supprimer l'entrée. À l'intérieur d'une chaîne de caractères, le caractère situé à gauche du curseur est effacé</p> <ul style="list-style-type: none"> • Appeler l'application ou la fonction sélectionnée. • Ouvrir la liste de sélection. • Confirmer la saisie ou la sélection.
	<p>Démarrer la mesure standard.</p> <p>Démarrer la mesure témoin.</p> <p>Démarrage d'une mesure d'échantillon.</p>

5.1.1 Saisir du texte

Vous pouvez saisir du texte lors de l'attribution des noms d'application et des unités de mesure des résultats. Attention : Les noms des méthodes ne doivent contenir que des chiffres et des lettres, ainsi que le tiret bas "_".

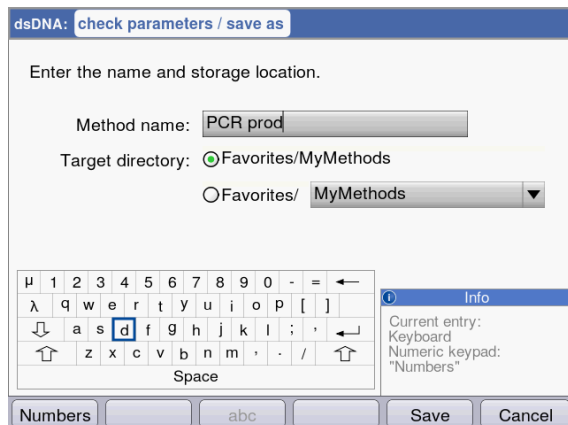


Saisie avec le bloc de touches :

Vous pouvez naviguer dans le champ de saisie et modifier des positions dans le nom avec les touches curseur et .

Touches programmables :

- [Keyboard]: afficher le clavier.
- [abc]: passer des lettres majuscules aux lettres minuscules. Ne concerne que les entrées faites sur le clavier.
- [Save]: enregistrer le texte entré.
- [Cancel]: abandonner l'entrée.



Saisie avec le clavier affiché :

Vous sélectionnez les caractères affichés avec les touches curseur, et confirmez à chaque fois avec la touche **enter**. Comme sur un clavier PC, vous pouvez choisir entre majuscule et minuscule pour votre ou vos prochaine(s) saisie(s) en appuyant sur la touche "Shift", ou la touche de blocage.

Touches programmables :

- [Numbers]: passer aux entrées effectuées sur le clavier.
- [Save]: enregistrer le texte saisi.
- [Cancel]: abandonner l'entrée.

5.2 Mise en place de la cuve

Des cuves rectangulaires usuelles en verre ou en plastique peuvent être mises en place dans le support de cuve :

- Dimensions externes : 12,5 mm × 12,5 mm
- Hauteur du trajet optique : 8,5 mm au-dessus du fond de la cuve
- Hauteur totale : au moins 36 mm

Les cuves doivent être optiquement transparentes à la longueur d'onde de mesure respective. Pour les mesures dans la plage UV, Eppendorf propose avec l'UVette une cuve en plastique transparente à partir de longueurs d'onde de 220 nm, et donc également adaptée à la mesure des acides nucléiques.

Utilisation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Cuvettes

Basic area 12.5 mm × 12.5 mm

Min. overall height 36 mm

Min. filling level

10 mm

Light path

8.5 mm

Max. height of base

7 mm

0 mm

Min. volume Photometry

See manufacturer information

See manufacturer information

50 µL

70 µL

400 µL

1000 µL

Min. volume Fluorimetry

See manufacturer information

not suitable

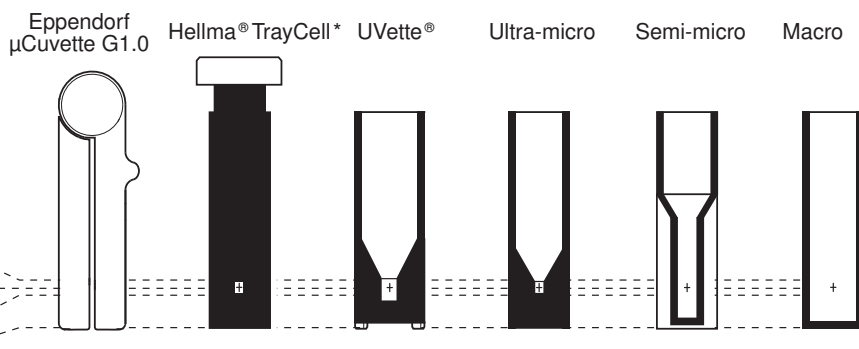
60 µL

70 µL

400 µL

1000 µL

* or similar microliter cuvette



Prérequis

- La cuve ne présente ni poussière, ni trace de doigt. Elle n'est pas rayée.
- Le puits de la cuve ne contient ni particule, ni poussière, ni liquide.
- Le volume de la cuve est suffisant. Tenir compte du volume de mesure minimum.
- La solution utilisée pour les mesures ne contient ni particule ni bulle.
- Fluorimétrie : la solution de mesure est exempte de matières présentant une fluorescence propre indésirable ou affaiblissant la fluorescence de la matière à analyser.
- La température de la cuve est supérieure à la température du point de rosée valable pour les conditions d'environnement (humidité et température).



La direction du faisceau lumineux est indiquée sur le boîtier par une flèche.

- Photométrie: la direction du faisceau lumineux de l'arrière vers l'avant est indiquée sur le boîtier : "absorbance".
- Fluorimétrie : la direction du faisceau lumineux de gauche à droite et inversement est indiquée sur le couvercle de protection du puits de la cuve : "fluorescence".

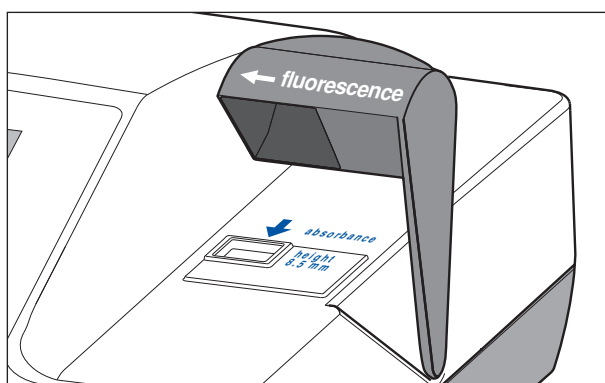


Fig. 5-2: Caractérisation des faisceaux lumineux

1. Positionnez la cuve de manière à ce que la fenêtre ouverte soit orientée dans le sens du faisceau lumineux.
2. Pour la mise en place, exercez une légère pression sur la cuve jusqu'à tout en bas.
3. Fluorimétrie : fermez le couvercle de protection du puits de la cuve avant la mesure.

5.3 Vue d'ensemble d'un cycle de mesure

5.3.1 Préparation de la mesure

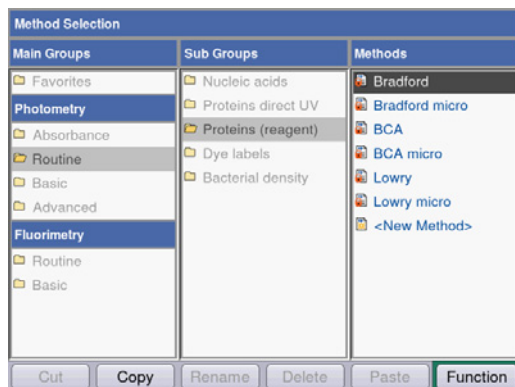
1. Allumez l'appareil et, le cas échéant, l'imprimante.
L'appareil effectue un auto-test (durée d'env. 1 minute) et affiche la sélection d'applications.
2. Mettez en place les cuves pour les mesures (voir *Mise en place de la cuve* à la page 25).
3. Préparez les solutions de mesure pour les mesures des valeurs témoins, ou des standards et des échantillons.
4. Ouvrez le couvercle de protection du puits de la cuve.



Ne pas utiliser de solutions de mesure pour les standards ni d'échantillons d'extinction inférieure à 0,05 A. Le seuil de détection de l'appareil est certes bien inférieur, mais l'influence des interférences contenues dans les solutions de mesure (particules, bulles, troubles) sur la fiabilité du résultat être très importante à ces niveaux d'extinctions faibles. Vous trouverez d'autres informations comme par exemple le guide de l'utilisateur n° 013 sur notre site www.eppendorf.com.

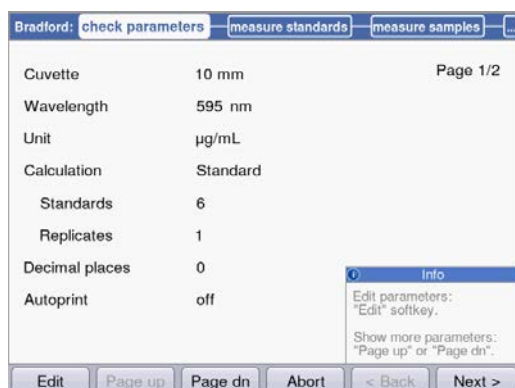
5.3.2 Cycle de mesure

5.3.2.1 Sélection de la méthode



- Sélectionnez l'application souhaitée avec les touches curseur et appelez l'application avec la touche **enter**.

Vous pourrez trouver une vue d'ensemble et une désignation détaillée des applications dans le chapitre suivant (voir *Méthodes* à la page 33).



Assistant: l'assistant placé en haut de l'affichage vous guide progressivement dans les travaux.

Fenêtre d'aide: à chaque phase du procédé, vous voyez s'afficher des textes d'aide en bas à droite de l'affichage.

Touches programmables: à l'aide des touches programmables [**<** Back] et [Next **>**], déplacez-vous au sein de l'assistant et avancez ou reculez d'un pas.

Utilisation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

5.3.2.2 Contrôler les paramètres

- ▶ Contrôlez le paramétrage. Vous appelez les pages de la liste des paramètres avec les touches programmables [Page dn] et [Page up]. Avec [Edit], vous modifiez et enregistrez les paramètres.

5.3.2.3 Mesurer le blanc et les standards



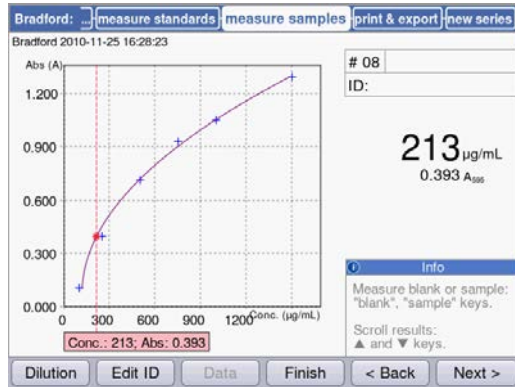
Cette étape de l'application est supprimée en cas d'évaluation sans standards (p.ex. mesures ADN).

1. Mesurez d'abord une valeur témoin (touche **blanc**).
2. Mesurez les uns après les autres tous les standards (touche **standard**).

Dans l'affichage, le prochain standard à mesurer est surligné. Avec les touches programmables [Graph] et [Table], vous pouvez changer l'affichage des résultats.

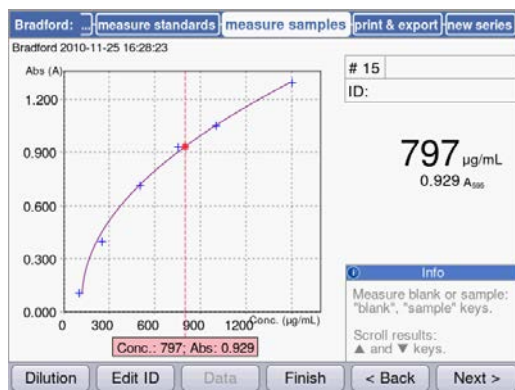
- ▶ Avec [Next], vous acceptez l'évaluation calculée à partir des résultats standards.

5.3.2.4 Mesure des échantillons



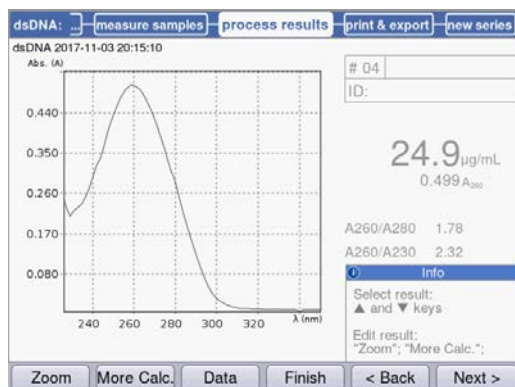
- ▶ Avec la touche **sample**, vous mesurez vos échantillons les uns après les autres. Les résultats des valeurs témoins restent enregistrés pour une série de mesures. Une nouvelle mesure de valeur témoin est possible à tout moment. (Dans l'illustration représentée ici d'un cycle de mesure avec évaluation par courbe standard, le graphique de l'évaluation standard est affiché en plus du résultat des échantillons.)

5.3.2.5 Terminer l'application



1. Appuyez sur [Finish] pour terminer la série de mesures et retourner à la sélection d'application.
2. Une fois toutes les mesures terminées, éteignez l'appareil et fermez le couvercle de protection du puits de la cuve afin de protéger le puits de la poussière.

5.3.2.6 En option : optimiser les résultats

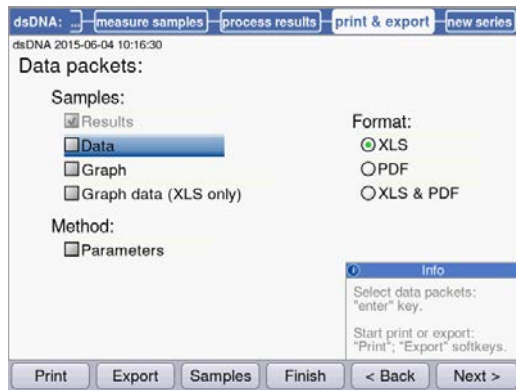


Pour certaines applications, vous pouvez corriger les résultats au cours de l'étape **process results** de l'application. Vous pouvez par exemple utiliser la fonction de zoom **SpectraZoom** dans les spectres.

- ▶ Sélectionnez les résultats de la série de mesures que vous souhaitez corriger avec les touches curseur ▲ et ▼.

Utilisation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

5.3.2.7 Imprimer et exporter

1. Compilez les paquets de données pour tous les échantillons ou pour des échantillons sélectionnés.
2. Imprimez les données, enregistrez-les sur une clé USB, transférez-les sur un PC par câble USB ou exportez-les par e-mail.

5.3.3 Remarques importantes pour les mesures



À observer lors de chaque mesure :

- Pour les cuves en plastique : Combien de mesures successives pouvez-vous faire dans la cuve avec un maximum de fiabilité ?
- Avant les mesures d'échantillons ou standards, mesurez la valeur témoin de la cuve afin de compenser la valeur témoin de la cuve en plus de la valeur témoin du réactif.
- Les résultats de la valeur témoin restent enregistrés pour une série de mesures, mais une nouvelle mesure de la valeur témoin est possible à tout moment entre les mesures des échantillons.
- Les valeurs d'absorbance et RFU affichées correspondent toujours aux valeurs directement mesurées. Le facteur de dilution ou le facteur de cuve, ainsi que les extinctions background sont pris en considération uniquement au moment du calcul final du résultat (voir *Valeurs d'absorbance à la page 103*).
- La durée moyenne entre le début d'une mesure et l'affichage de son résultat est d'environ 2 à 3 secondes. S'il n'arrive pas suffisamment de lumière sur le récepteur (en cas d'absorbance trop élevée ou des valeurs RFU basses), la durée de la mesure peut passer automatiquement à 9 secondes (photométrie) ou à 6 secondes (fluorimétrie) pour augmenter la fidélité de la mesure
- Veillez à ce que les valeurs d'absorbance ne dépassent pas la limite supérieure de la plage de mesure photométrique. Si c'est le cas, rejetez le résultat de la mesure. La limite supérieure de la plage de mesure photométrique ne dépend pas uniquement de la longueur d'onde (voir *Propriétés photométriques à la page 100*), mais également de la valeur témoin de la cuve. Les ultramicrocuves munies d'un petit diaphragme comme **TrayCell** (Hellma) peuvent avoir une valeur témoin d'env. $A = 1$. La plage de mesure photométrique disponible est réduite de cette valeur. Vous pouvez estimer la valeur témoin de la cuve en mesurant la cuve remplie d'eau déminéralisée en tant qu'échantillon contre le puits de cuve vide en tant que blanc. La valeur témoin de la cuve de la Eppendorf μ Cuvette G1.0 doit être négligée (proche de $A = 0$).
Fluorimétrie : Une fluorescence intrinsèque élevée de la cuve (cas typique des cuves en plastique) peut limiter la plage de mesures disponible.
- Après la mesure, éliminez entièrement la solution de mesure avant de verser la nouvelle solution de mesure afin de limiter le volume de liquide résiduel. Si en raison d'importantes différences de concentration, on peut s'attendre à un volume de liquide résiduel entre un échantillon et le suivant, rincez la cuve entre les mesures.
- Une dérive photométrique peut apparaître en cas de différences de température entre la lampe et l'environnement. Un appareil venant d'un environnement plus froid doit donc être d'abord ramené à température ambiante.
Évitez les brusques variations de température. Si vous avez de grandes séries de mesure ou désirez refaire les mesures après un certain temps, remesurez la valeur témoin.

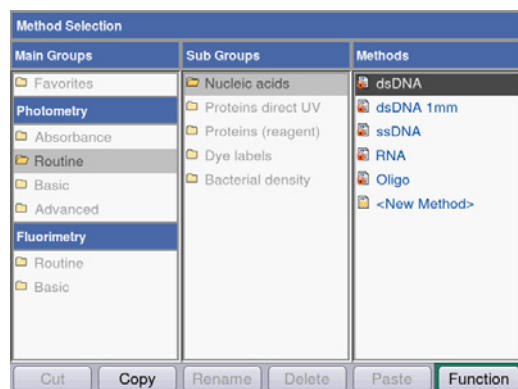
Utilisation




Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6 Méthodes

6.1 Sélection de la méthode

Les méthodes et modèles de méthodes sont pré-programmés à la livraison. Les deux groupes principaux **Photometry** et **Fluorimetry** sont répartis en sous-groupes.



Méthodes sauvegardées à l'écriture		Les principales méthodes utilisées en biologie moléculaire. Vous pouvez modifier les paramètres mais vous ne pouvez les enregistrer que sous un nouveau nom de méthode.
Méthodes non sauvegardées à l'écriture		Vous pouvez modifier les paramètres de manière quelconque et commencer la mesure directement après la sauvegarde.
Modèles de nouvelles méthodes		Chaque groupe contient un modèle qui est pré-programmé avec des kits de paramètres complets afin de simplifier la programmation de nouvelles méthodes. Les paramètres peuvent être modifiés de manière quelconque et enregistrés sous un nouveau nom.

Pour appeler une méthode, sélectionnez d'abord le groupe principal, le sous-groupe et la méthode à l'aide des touches curseur. Confirmez par **enter**.

Tab. 6-1: Méthodes photométriques

Absorbance	Méthodes pour des mesures d'extinction et de transmission rapides et simples sans autre évaluation.
Routine	Méthodes utilisées fréquemment en biologie moléculaire. Les méthodes sont pré-programmées. Les paramètres peuvent être modifiés en les sauvegardant sous un nouveau nom.
Basic	Méthodes d'évaluation des mesures de l'extinction avec facteur, standard ou courbe/droite standard.
Advanced	Méthodes utilisées pour évaluer des procédés de mesure à deux longueurs d'onde.
Favorites	Dans les Favorites , vous pouvez configurer vos propres dossiers avec <New Folder> pour y copier les méthodes utilisées fréquemment et y accéder rapidement.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Tab. 6-2: Méthodes fluorimétriques

Routine	Mesures fluorimétriques de l'acide nucléique et des protéines avec les réactifs de la société Invitrogen. (Il est possible que vous ayez besoin d'une licence de la société Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA ou d'Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA pour pouvoir réaliser ce procédé.)
Basic	<ul style="list-style-type: none"> • Méthodes nécessaires à l'évaluation des mesures de la fluorescence avec standard ou courbe/droite standard. • Méthode Raw fluorescence pour mesurer rapidement la fluorescence sans autre évaluation.

Dans tous les dossiers, vous créez de nouvelles méthodes avec **<New Method>**.

Dans **Favorites**, vous créez (par ex. pour l'affectation personnalisée), renommez et supprimez vos propres dossiers.

Tab. 6-3: Touches programmables dans la sélection de méthodes

[Cut] et [Paste]	Couper et insérer des méthodes.
[Copy] et [Paste]	Copier et coller des méthodes.
[Delete]	Supprimer des méthodes.
[Rename]	Renommer des méthodes.

Vous insérez les méthodes copiées ou coupées soit dans un autre dossier sous **Favorites** soit dans le dossier d'origine, sous un nouveau nom. À l'aide des touches curseur, naviguez dans la colonne **Methods** du dossier désiré et pressez la touche [paste] pour insérer la méthode.

6.2 Description des méthodes utilisées en photométrie

Ce chapitre est consacré aux méthodes pré-programmées et aux modèles de méthodes.

6.2.1 Groupe de méthodes **Absorbance**

Single λ

- Mesure de l'extinction à une longueur d'onde.
- Pas d'évaluation connectée en aval.
- Possibilité de déterminer la transmission d'un échantillon.

Multi λ

- Mesures de l'extinction pour deux à six longueurs d'onde.
- Pas d'évaluation connectée en aval.

Scan

- Mesure d'un spectre de longueurs d'onde d'extinction via une plage de longueurs d'onde définie.
- Affichage de la longueur d'onde et de l'extinction du spectre en naviguant avec un curseur de longueur d'onde.
- La section du spectre peut être modifiée à l'aide de 3 différentes variantes de zoom.
- Détection de pic possible.

6.2.2 Groupe de méthodes *Routine*

Les méthodes du groupe **Routine** sont préprogrammées comme méthodes fixes. Après modification des paramètres de la méthode dans les méthodes préprogrammées, il convient donc d'attribuer un nouveau nom de méthode.

Nucleic acids

- Détermination de la concentration des acides nucléiques par une mesure effectuée à 260 nm et une évaluation avec facteur.
- Différentes méthodes d'évaluation de l'acide nucléique comme dsADN ou ARN sont pré-programmées dans le système. Les paramètres se distinguent au niveau du facteur.
- Méthode préprogrammée pour les cuves de microlitre : Mesure de l'ADN dans des microlitre(s) d'échantillons avec faisceau lumineux de 1 mm (avec cuves de l'ordre du microlitre comme Eppendorf µCuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- Les informations complémentaires suivantes sur la pureté mesurée de l'acide nucléique sont affichées et peuvent si nécessaire être retirées des paramètres de mesure :
 - Rapport A260/A280, rapport A260/A230
 - Spectre de longueurs d'onde d'extinction de l'acide nucléique
 - Extinction de la longueur d'onde d'arrière-plan (préréglage : 320 nm ; l'extinction de l'acide nucléique pur doit être ici proche de zéro).
- La correction partielle des impuretés à l'aide du paramètre **Background** est paramétrée.
- Conversion des concentrations en concentrations molaires et (après la saisie du volume de l'échantillon) possibilité de conversion en quantités d'acide nucléique (étape : **process results**).

Proteins direct UV

- Détermination de la concentration des protéines par une mesure effectuée à 280 nm et évaluation avec facteur ou standard.
- Méthodes pré-définies pour l'édition directe des absorbances sous forme de résultat (*protéine A 280*) et pour l'évaluation réalisée avec des coefficients d'extinction spécifiques à l'albumine (*albumine A 280*).
- Méthode préprogrammée pour les cuves de microlitre : Mesure de protéine dans des microlitre(s) d'échantillons avec faisceau lumineux de 1 mm (avec cuves de l'ordre du microlitre comme Eppendorf µCuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- Les informations complémentaires suivantes sur la pureté des protéines mesurées sont affichées et peuvent si nécessaire être retirées des paramètres de mesure :
 - Spectre de longueurs d'onde d'extinction de la protéine
 - Extinction de la longueur d'onde d'arrière-plan (préréglage : 320 nm; l'extinction de la protéine pure doit être ici proche de zéro).
- La correction partielle des impuretés à l'aide du paramètre **Background** est paramétrée.
- Lors de la programmation de la méthode, le facteur pertinent est importé en sélectionnant la protéine dans une liste de prescriptions. Les facteurs sont définis séparément dans les fonctions du groupe **Gen. method param**. Différentes protéines sont pré-programmées dans **Gen. method param**.. Vous pouvez en ajouter d'autres.

Proteins (with reagent)

- Détermination de la concentration de protéines par mesure après réactions de coloration et évaluation au moyen d'étalons ou d'un facteur (de manière caractéristique : évaluation avec une courbe étalon).
- Les méthodes *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA* et *BCA micro* sont pré-programmées. Suivant le fabricant de réactif, il faudra éventuellement modifier la "Curve fit" (type de courbe étalon).

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Dye labels

- Pour les biomolécules marquées au colorant : détermination de la concentration de la biomolécule (acide nucléique ou protéine) par une mesure effectuée à 260 ou 280 nm et du colorant au cours d'une mesure.
- Évaluation avec facteur. Outre la biomolécule, il est possible de mesurer parallèlement jusqu'à deux colorants à deux différentes longueurs d'onde.
- Par ailleurs, évaluation de la fréquence d'incorporation du colorant (FOI). Sélection entre deux différents procédés de calcul FOI.
- Méthodes pré-programmées : *ssADN*, marqué avec *Cy 3* ou *Cy 5*.
- Il est possible de corriger l'influence du spectre de colorants sur la justesse de la mesure de la biomolécule.
- Correction partielle de la turbidité possible à l'aide du paramètre **Background**.
- Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : Ratio A260/A280 et ratio A260/A230 (valeurs de ratio), spectre de longueurs d'onde d'extinction.
- Lors de la programmation de la méthode, il suffit de sélectionner la biomolécule et le colorant dans des listes prescrites pour importer différents paramètres pertinents comme les longueurs d'onde de mesure et les facteurs d'évaluation. Ces paramètres sont définis séparément dans les fonctions du groupe **Gen. method param**. Différents acides nucléiques, protéines et colorants sont pré-programmés dans **Gen. method param**. Vous pouvez ajouter d'autres acides nucléiques, protéines et colorants.
- Seulement pour les acides nucléiques marqués : Conversion des concentrations en concentrations molaires et (après la saisie du volume de l'échantillon) possibilité de conversion en quantités d'acide nucléique et de colorant (étape : **process results**).

Bacterial density

- Mesure de la turbidité pour déterminer la densité bactérielle.
- La mesure à 600 nm est déjà pré-programmée.
- Informations complémentaires : Spectre de longueurs d'onde d'extinction.



La mesure de la densité de bactéries à 600 nm n'est pas une mesure absolue. Il y a différents facteurs qui peuvent influencer le résultat de la mesure. Vous trouverez des informations exhaustives sur notre page Internet www.eppendorf.com

6.2.3 Groupe de méthodes *Basic*

Factor, standard

- Mesure effectuée à une longueur d'onde et évaluation avec facteur ou standard.
- Les méthodes d'évaluation avec facteur ou standard sont pré-programmées.
- Affichage du spectre de longueurs d'onde d'émission
- Correction partielle de la turbidité possible à l'aide du paramètre **Background**.

Calibration curve

- Mesure effectuée à une longueur d'onde suivie de l'évaluation avec une série de 2 à 12 standards.
- Différents procédés d'évaluation ("Curve fit") comme régression linéaire, régression non linéaire sont proposés.
- Affichage sous forme de graphique et de tableau des résultats standards.
- L'utilisation de la dernière évaluation standard enregistrée est possible.
- Une méthode est pré-programmée pour l'évaluation avec courbe étalon.

6.2.4 Groupe de méthodes *Advanced*

Dual wavelength

- Mesure effectuée à deux longueurs d'onde et évaluation des valeurs d'extinction mesurées à l'aide de deux formules de base (soustraction, division)
- Il est possible de varier les formules de base.
- Le résultat peut être évalué avec un facteur, un standard ou une série standard.
- Des méthodes de calcul par soustraction ou division suivi d'une évaluation avec facteur sont pré-programmées.

6.3 Description de la méthode de la fluorimétrie

6.3.1 Groupe de la méthode *Routine*

Les méthodes du groupe *Routine* sont préprogrammées comme méthode fixe. Après modification des paramètres de la méthode dans les méthodes préprogrammées, il convient donc d'attribuer un nouveau nom de méthode.

Les méthodes préprogrammées suivantes se basent sur les directives de travail de la société Invitrogen pour le réactif correspondant. La réalisation de ces procédés pourrait requérir une licence de la société Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA ou Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA.

Nucleic acids

Détermination de la concentration fluorimétrique des acides nucléiques après réaction avec les réactifs.

- Mesure de l'ADN avec PicoGreen, évaluation avec la courbe/droite standard.
- Mesure de l'ADN avec RiboGreen, évaluation avec la courbe/droite standard.
- Mesure des oligonucléotides avec OliGreen, évaluation avec la courbe/droite standard.

Les variantes des programmes des méthodes ont été programmées comme "short methods". Dans les "short methods", vous ne pouvez effectuer les mesures qu'avec deux standards (standard nul et un autre standard). Les résultats ne sont pas aussi précis que lors de la mesure avec plusieurs standards, l'exactitude est toutefois suffisante pour de nombreux objectifs puisque la courbe standard (rapport entre le signal de mesure et la concentration) est presque linéaire.

- Mesure de l'ADN avec des réactifs Qubit, évaluation avec la courbe/droite standard.
Pas de "short method" puisque la courbe standard n'est pas linéaire.

Protéines

Détermination de la concentration fluorimétrique des protéines après réaction avec les réactifs.

- Mesure des protéines avec NanoOrange, évaluation avec la courbe/droite standard.
La méthode est basée sur la directive de travail de la société Invitrogen pour ce réactif.
Pas de "short method" puisque la courbe standard n'est pas linéaire.



Les méthodes avec les réactifs Qubit diffèrent des directives de travail de la société Invitrogen. Deux dilutions standard doivent être établies en plus.

Pour la préparation des échantillons et la réalisation, vous pouvez obtenir des informations supplémentaires d'Eppendorf. Vous trouverez les données de contact de l'Application Support au verso de ce manuel d'utilisation.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.3.2 Groupe de la méthode *Basic***Raw fluorescence**

- Mesure de la valeur RFU.
- Une méthode pour la mesure avec la longueur d'onde d'émission 520 nm est préprogrammée.

Standard

- Mesure de la valeur RFU et évaluation à l'aide du standard.
- Une méthode pour l'évaluation avec le standard est préprogrammée.

Calibration curve

- Mesure des valeurs RFU et évaluation à l'aide de 2 à 12 standards
- Différents procédés d'évaluation comme la régression linéaire ("Curve fit"), la régression non linéaire peuvent être sélectionnés.
- Affichage sous forme de graphique et de tableau des résultats standard.
- L'utilisation de la dernière évaluation standard enregistrée est possible.
- Une méthode pour l'évaluation avec la courbe de calibration est préprogrammée.

6.4 Paramètres des méthodes

Ce chapitre décrit les paramètres nécessaires à programmer les méthodes. Pour certaines méthodes, l'ordre des paramètres présenté dans l'affichage de l'appareil peut légèrement varier par rapport au tableau afin d'obtenir une présence succincte. Le tableau représente la totalité des paramètres disponibles dans les différentes méthodes. Chaque méthode ne nécessite que quelques paramètres qui apparaissent dans l'affichage.

Paramètres	Entrée	Explication
Cuve	Sélection : 10 5 2 1 0,5 0,2 0,1 mm	Larg.trajet optique de la cuve. Les valeurs d'extinction sont converties automatiquement par l'appareil en trajet optique de 10 mm d'une cuve standard (voir <i>Valeurs d'absorbance à la page 103</i>). Les facteurs comme "50" nécessaires au calcul des concentrations de dsADN restent donc inchangés lorsque vous modifiez le paramètre Cuvette .
No. of wavelengths	Valeur entrée : Plage : 2 à 6	Réservé au groupe de méthodes Multi λ . Nombre de longueurs d'onde utilisées pour la mesure.
Wavelength	Valeur entrée : Longueur d'onde de mesure en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Longueur d'onde de mesure : La concentration est calculée à partir de l'extinction mesurée à cette longueur d'onde. Entrez plus d'une longueur d'onde pour les groupes Multi λ et Dual wavelength . Les longueurs d'onde de certains groupes (par ex. Nucleic acids et Proteins direct UV) sont pré-programmées sur des valeurs fixes. Pour le groupe Dye labels , n'entrez pas de longueurs d'onde de mesure individuelles dans le déroulement de la méthode. Vous les importez en sélectionnant automatiquement la biomolécule et le colorant dans la fonction General Method Parameters .
Wavelength (em)	Sélection : 520 nm à 560 nm	Réservé au groupe fluorimétrique Basic : Longueur d'onde de mesure : La concentration est calculée à partir de la fluorescence mesurée à cette longueur d'onde (longueur d'onde d'émission). La longueur d'onde est pré-programmée sur des valeurs fixes dans les méthodes du groupe Routine .
Wavelength (ex)	Pas d'entrée possible. Longueur d'onde : 470 nm	Réservé aux groupes fluorimétriques : La longueur d'onde d'excitation 470 nm est affichée.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Paramètres	Entrée	Explication
Unit	Sélection : mg/mL µg/mL ng/ mL pg/mL µg/µL mg/dL µmol/mL nmol/mL pmol/mL pmol/µL U U/mL U/L % Abs A/min Possibilité de programmer d'autres unités dans la fonction General Method Parameters/Units. Max. 7 chiffres.	Unité du rés. de concentration. La sélection est limitée à des unités adaptées aux méthodes du groupe Routine pré-programmées sur des valeurs fixes.
Formula type	Sélection : division subtraction	Réservé au groupe Dual wavelength. Type de formule utilisé pour calculer les extinctions aux deux longueurs d'onde de mesure, avant l'évaluation avec facteur ou standard.
Formule : a	Valeur entrée : Valeur de a dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 caractères y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe Dual wavelength. Valeur de a dans les formules : $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ et $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$.
Formule : b	Valeur entrée : Valeur de b dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 caractères y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe Dual wavelength. Valeur pour b dans les formules : $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ et $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$.
Formule : C	Valeur entrée : Valeur de c dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 caractères y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe Dual wavelength. Valeur pour b dans les formules : $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ et $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$.
Formule : d	Valeur entrée : Valeur de d dans la formule d'évaluation. Limite: max. 5 caractères y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe Dual wavelength. Valeur pour d dans les formules : $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ et $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$.
Calcul	Sélection : Factor, standard	Procédé d'évaluation utilisé pour calculer la concentration d'échantillon à partir de l'extinction mesurée.

Paramètres	Entrée	Explication
Factor	Valeur entrée : Facteur. Limite : max. 6 caractères y compris séparateur décimal.	Facteur de conversion des valeurs d'extinction/RFU en concentration. Dans les groupes suivants, vous pouvez également entrer des facteurs négatifs : Dual wavelength, Factor . Pour le groupe Dye labels , n'entrez pas les facteurs séparément dans le déroulement. Vous les importez en sélectionnant automatiquement la biomolécule et le colorant dans la fonction General Method Parameters .
Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV	Sélection : Liste de types de protéines enregistrées dans la fonction General Method Parameters/Proteins .	Réservé aux groupes Dye labels et Proteins direct UV . Lors du choix de la protéine, la fonction General Method Parameters/Proteins permet également d'importer le paramètre Factor pertinent qui y est programmé.
Si vous faites les évaluations avec plus d'un standard, utilisez [Curve fit] dans l'étape mesure standards/new pour sélectionner les procédés d'évaluation suivants de la courbe/droite de standards :	Valeur entrée : Nb de standards. Plage : 1 à 12.	Nombre de concentrations standards nécessaires à l'évaluation avec standards. Dans certaines méthodes, la zone est limitée à un nombre de standards compris entre 1 et 12.
Replicates	Valeur entrée : Nombre de répliquats par standard. Plage : 1 à 3.	Nombre de mesures répétitives nécessaire aux différentes concentrations standard.
Std. Conc.	Valeur entrée : Valeurs de concentration des standards. Limite : max. 6 caractères y compris séparateur décimal.	Selon le nombre de standards, ce paramètre est proposé pour tous les standards (par ex. : Std. Conc. 1, Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Valeur entrée : Nombre de chiffres après la virgule déterminé pour le résultat. Plage : 0 à 3.	Nombre de chiffres après la virgule défini pour le résultat de la concentration calculé.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Paramètres	Entrée	Explication
Dye 1	Sélection : Liste de colorants enregistrés dans la fonction General Method Parameters/Dyes .	Réservé au groupe Dye labels . Lors du choix du colorant, les paramètres de la fonction General Method Parameters/Dyes qui s'y rattachent, sont également importés : facteur, longueur d'onde, éventuellement facteurs de correction pour la mesure effectuée à 260 ou 280 nm (voir la désignation du paramètre suivant).
Correct A260 1	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels . Correction de l'influence du spectre de colorants sur l'extinction, à la longueur d'onde de mesure de la biomolécule (260 ou 280 nm). À l'heure actuelle, les spectres de colorants ont une faible absorbance à 260 et 280 nm. Ces extinctions falsifient les calculs des acides nucléiques ou des protéines de ces méthodes. Pour réduire ce problème, on utilise des facteurs de correction des différents colorants, à condition de les connaître. Si le paramètre est activé, le facteur de correction sera importé de la fonction General Method Parameters/Dyes .
Correct A 280 1	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels . Pour en savoir plus, veuillez lire la description du paramètre proposée ci-dessus Correct A 260 1 .
Dye 2	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels . Possibilité de mesurer parallèlement un deuxième colorant. Application : marquage d'une biomolécule avec deux colorants.
Dye 2	Sélection : Liste de colorants enregistrés dans la fonction General Method Parameters/Dyes .	Réservé au groupe Dye labels lors de la mesure de 2 colorants. Sélection du deuxième colorant (voir paramètre Dye 1).
Correct A260 2	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels lors de la mesure de 2 colorants. Analogue au paramètre Correct A 260 1 .
Correct A 280 2	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels lors de la mesure de 2 colorants. Analogue au paramètre Correct A 280 1 .
Show scan	Sélection : on off	Affichage d'un balayage (graphiques de longueurs d'onde d'extinction) en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.
Start λ	Valeur entrée : Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Longueur d'onde de démarrage à l'enregistrement d'un balayage.

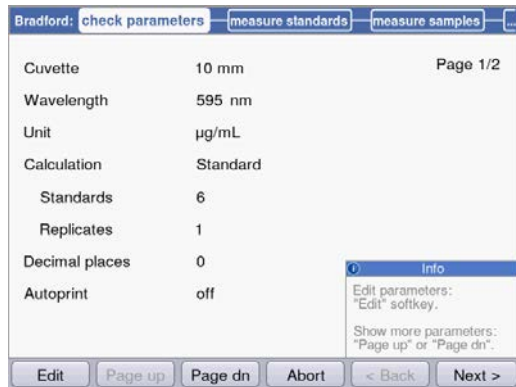
Paramètres	Entrée	Explication
Stop λ	Valeur entrée : Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm. La valeur doit être supérieure à la valeur de Start λ .	Longueur d'onde d'arrêt à l'enregistrement d'un balayage.
A260/A280	Sélection : on off	Réservé aux acides nucléiques. Affichage du rapport A260/A280 en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.
Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A230 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'extinction.	Sélection : on off	Réservé aux acides nucléiques. Affichage du rapport A260/A230 en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.
FOI	Sélection : none dye/kb pmole/ μ g	Réservé au groupe Dye labels . Affichage du FOI en complément du résultat de la mesure de l'échantillon. Le FOI (Frequency of Incorporation) est le nombre de molécules de colorants incorporées dans l'acide nucléique par molécule d'acide nucléique. Les unités sont le "dye/kb" (molécule de colorant pour 1000 bases) ou le "pmole/ μ g" (pmol de colorant par μ g d'acide nucléique). « none » pas de calcul du FOI.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Paramètres	Entrée	Explication
Avant de déterminer le résultat d'un échantillon, l'extinction d'une longueur d'onde d'arrière-plan, à laquelle l'analyte à mesurer devra avoir une extinction de zéro, sera soustraite de l'extinction obtenue à la longueur d'onde de mesure.	Sélection : on off	Avant de déterminer le résultat d'un échantillon, l'extinction d'une longueur d'onde d'arrière-plan, à laquelle l'analyte à mesurer devra avoir une extinction de zéro, sera soustraite de l'extinction obtenue à la longueur d'onde de mesure. Application fréquente : correction partielle de la turbidité lors de la mesure des acides nucléiques (longueur d'onde d'arrière-plan nécessaire : 320 nm ou 340 nm).
Wavelength	Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Longueur d'onde utilisée pour mesurer l'arrière-plan. L'analyte à mesurer devrait avoir une extinction égale à zéro dans sa forme pure.
Background for dyes	Sélection : on off	Réservé au groupe Dye labels . Application de la correction d'arrière-plan à la mesure du colorant (voir le paramètre Background).
Wavelength	Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Réservé au groupe de méthodes Dye labels . Longueur d'onde utilisée pour mesurer l'arrière-plan destiné au colorant. Le colorant à mesurer devrait avoir une extinction égale à zéro dans sa forme pure, non contaminée.
Autoprint	Sélection : on off	Impression du résultat sur thermo-imprimante, directement après la mesure. Seules les principales données du résultat sont imprimées. Pour obtenir une édition détaillée des données, vous pouvez regrouper et imprimer les paquets de données désirés après la série de mesures, dans l'étape print & export .
Transmission	Sélection : on off	Si le paramètre Calculate Transmission est sélectionné, la transmission (en %) de l'échantillon s'affiche.

6.5 Déroulement de la méthode



Le wizard qui apparaît en haut de l'affichage vous guide au travers de la méthode. L'étape activée est toujours mise en relief.

Une méthode est constituée de maximum 5 étapes. L'étape activée est mise en relief. Après la dernière étape **print & export** d'une série de mesures, le système propose de lancer une nouvelle série. Elle commencera également par la mesure d'échantillon.

Étape de la méthode	Explication
check parameters	Contrôle des paramètres de la méthode. À modifier en cas de besoin.
measure standards	Réservé aux méthodes avec évaluation standard : Mesure et évaluation des standards. Alternativement, utilisation de la dernière évaluation des standards enregistrée.
measure samples	Mesure des échantillons
process results	Seulement pour certaines méthodes : Modifier les résultats, par exemple zoomer sur les graphes de scan.
print & export	Établissement de paquets de données pour imprimer ou exporter les données.

À l'aide des touches programmables [Next >] et [< Back], naviguez entre les étapes de la méthode. Avec [Abort] et [Finish], vous pouvez abandonner ou terminer la mesure. Après la première mesure d'échantillons, le nom de cette touche programmable passe de [Abort] à [Finish].

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.5.1 check parameters

Touches programmables

- [Page dn] et [Page up]: Alternent entre les paramètres 1 à 3.
- [Edit] : Passer en mode édition pour les paramètres.

Mode édition des paramètres :

Les paramètres modifiés sont marqués d'une étoile rouge tant que la modification n'a pas été enregistrée.

Touches programmables

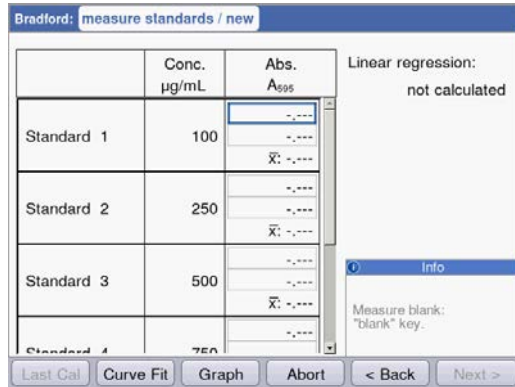
- [Save] et [Save as] : Enregistrer les modifications. L'option [Save as] vous demande d'affecter un nouveau nom à la méthode. C'est toujours le cas lorsque vous modifiez les méthodes du groupe **Routine** préprogrammées par Eppendorf.
- [Cancel] : Quitter le mode édition sans enregistrer les modifications.

Enregistrement de la méthode sous un nouveau nom :

Vous pouvez enregistrer la méthode soit dans le dossier que vous avez utilisé pour appeler la méthode, soit dans le groupe de méthodes **Favorites**, c'est-à-dire dans un dossier de votre choix. Entrez le nom (20 caractères maximum) sur un clavier qui apparaît à l'écran (touche programmable [Keyboard]) ou directement sur le pavé numérique (voir *Saisir du texte à la page 25*).

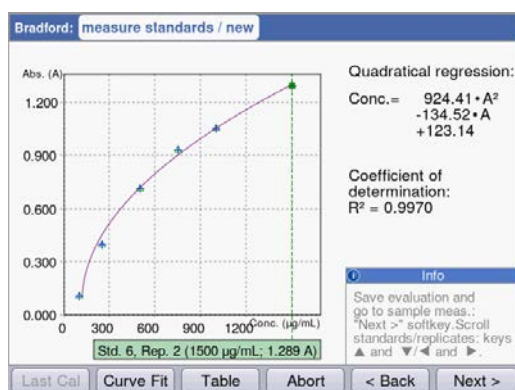
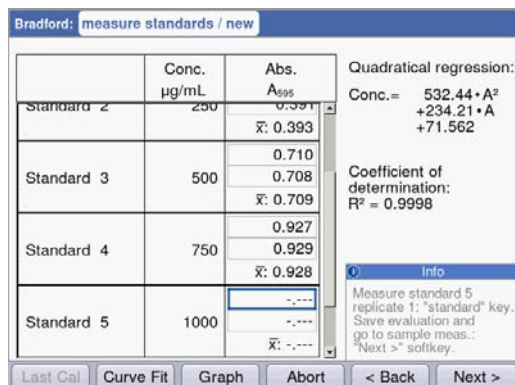
Après l'enregistrement, vous retournez à l'affichage **check parameters**.

6.5.2 mesure standards



Touches programmables

- [Last cal] : Appel de la dernière évaluation standard enregistrée pour cette méthode afin de l'utiliser pour la mesure d'échantillon.
- [Curve fit] : Sélectionner le procédé pour l'évaluation standard. Vous pouvez également modifier le procédé ultérieurement tant que le résultat n'est pas enregistré. Pour en savoir plus sur la sélection du procédé d'évaluation, allez au chapitre Procédés d'évaluation (voir *Évaluation avec courbe / droite de standards à la page 106*).
- [Graph] : Passer à l'affichage graphique des résultats standard.



Touches programmables

- [Table] : Passer à l'affichage des résultats standard sous forme de tableau.
- [Next >] : Enregistrer l'évaluation standard et passer à la mesure d'échantillon.

Le premier standard à mesure est marqué dans l'affichage. Après la valeur à blanc (touche **blank**) de la série, mesurez successivement tous les standards (touche **standard**).

Si vous mesurez plus d'un réplicat par standard, le système calcule et affiche automatiquement la valeur moyenne de chaque standard.

À l'aide des touches curseur ▲ et ▼, vous pouvez également sélectionner des standards précis pour effectuer la mesure. Ceci permet également de remesurer différents standards.

Dès que vous disposez du nombre minimum de résultats nécessaire au procédé choisi (Curve fit), le résultat de l'évaluation apparaîtra dans la partie de droite de l'affichage. Vous pourrez alors effectuer un enregistrement préalable de l'évaluation et passer à la mesure d'échantillon à l'aide de la touche [Next >].

Vue graphique de l'évaluation standard.

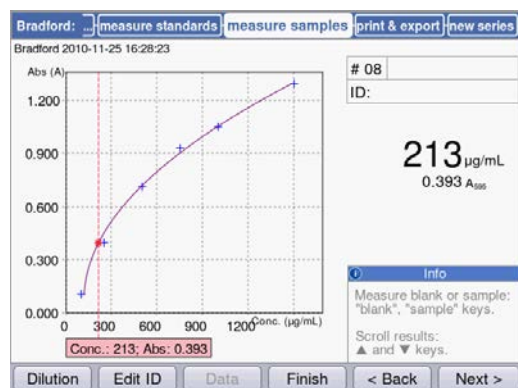
À l'aide des touches curseur ▲ et ▼, naviguez entre les standards pour afficher les résultats. Si vous avez plus d'un réplicat par standard, passez entre les résultats avec ▲ et ▼. Vous pouvez également sélectionner, mesurer ou remesurer certains standards à partir de l'affichage graphique.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.5.3 mesure samples

Avec la touche **sample**, vous mesurez vos échantillons les uns après les autres. Les résultats de la valeur à blanc restent enregistrés pendant une série. Vous pouvez cependant réitérer à tout moment la mesure de la valeur à blanc. À l'aide des touches ▲ et ▼, naviguez entre les résultats obtenus jusqu'à présent dans la série.



Affichage du résultat :

- Le résultat de la concentration (6 chiffres à virgule flottante) est nettement mis en relief.
- Avec graphique : Résultat à droite de l'affichage.
- Sans graphique : Résultat au centre de l'affichage.
- Outre le résultat, la valeur de l'extinction utilisée est également réduite à l'affichage.

Données complémentaires

- en haut à droite ; 1e ligne :
Numéro d'échantillon : Numérotation continue, remise à « 1 » au démarrage d'une nouvelle série.
Dilution de l'échantillon (si elle a été entrée)
- en haut à droite ; 2ème ligne :
Identification de l'échantillon (**ID**) (si elle a été entrée)
- en haut à gauche :
Nom du fichier utilisé pour l'exportation des données de l'étape **print and export** sous forme de fichier Excel (voir p. 63).

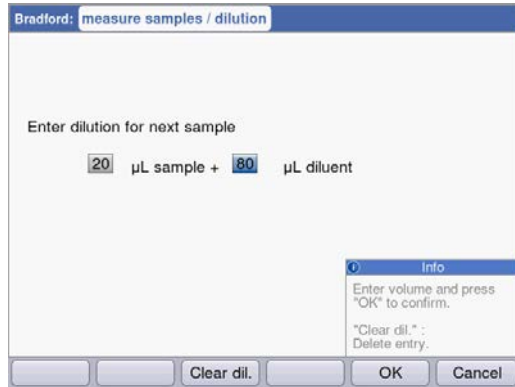
Touches programmables

- [Dilution] : Entrer le facteur de dilution.
- [Edit ID] : Entrer l'ID de l'échantillon
- [Data] : Affichage des données de résultats supplémentaires (ne s'applique pas à toutes les méthodes).
- [Finish] : Terminer la série de mesures et passer à la sélection de méthode.



Les valeurs d'extinction affichées correspondent toujours aux valeurs directement mesurées. Le facteur de dilution ou de la cuve ainsi que les absorbances d'arrière-plan ne sont pris en compte que dans le calcul du résultat effectué après (voir *Valeurs d'absorbance à la page 103*).

Entrer la dilution



La touche programmable [Dilution] est activée après avoir mesuré la valeur à blanc (touche **blank**).

1. Pressez la touche programmable [Dilution].
2. Entrez les volumes de l'échantillon (maximum 3 chiffres) et du tampon de dilution (maximum 4 chiffres).

L'appareil multiplie alors les résultats suivants par le facteur de dilution calculé.

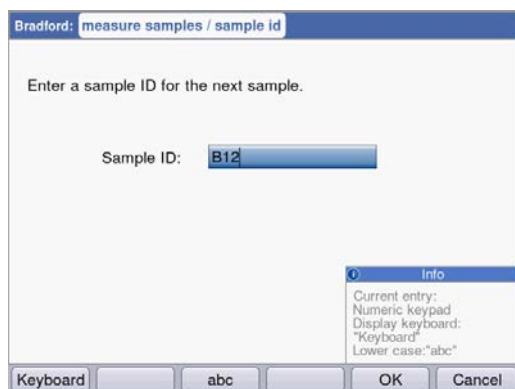
Touches programmables

- [Clear dil.] : Effacer les valeurs pour la dilution d'échantillon.
- [OK] : Confirmer la dilution et retourner à la mesure d'échantillon.
- [Cancel] : Abandonner la saisie et retourner à la mesure d'échantillon.

La dilution s'applique à tous les résultats suivants jusqu'à ce qu'elle soit modifiée.

Entrer l'ID de l'échantillon

L'ID est utilisée pour le résultat suivant. Avant de pouvoir entrer une ID, le système propose la dernière ID saisie afin d'obtenir des valeurs successives bien structurées. Il n'est pas possible d'avoir une ID double dans une même série de mesures.



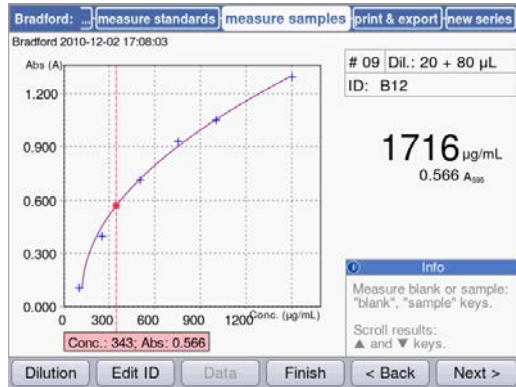
1. Pressez la touche programmable [Edit ID].
2. Entrez l'ID de l'échantillon (12 chiffres maximum).

Alternatives à la saisie du texte :

- Pavé numérique : Pressez la touche plusieurs fois pour faire apparaître les différentes options proposées avec cette touche.
- Afficher le clavier avec la touche [Keyboard]. Naviguez avec les touches curseur et confirmez avec **enter**.


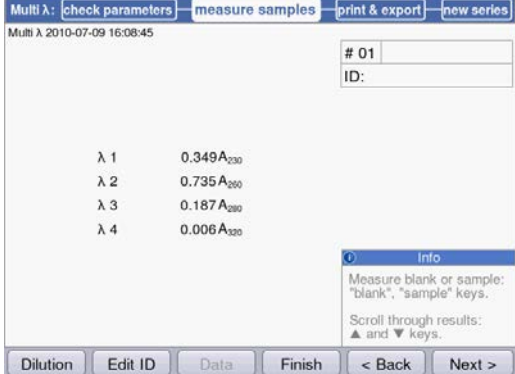
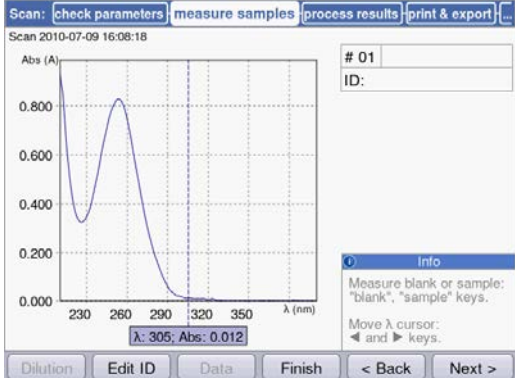
Touches programmables

- [Keyboard] : afficher le clavier.
- [abc] : passer entre les lettres majuscules et minuscules lorsque vous faites vos entrées sur le pavé numérique.
- [OK] : Confirmer l'entrée ID et retourner à la mesure d'échantillon.
- [Cancel] : Abandonner la saisie et retourner à la mesure d'échantillon.

MéthodesEppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)**Affichage du résultat avec dilution et ID**Affichage du résultat avec dilution et ID de
l'échantillon.

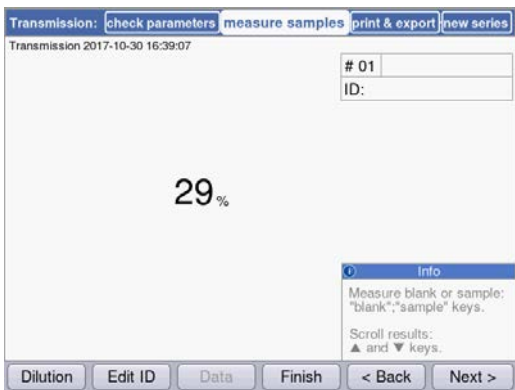
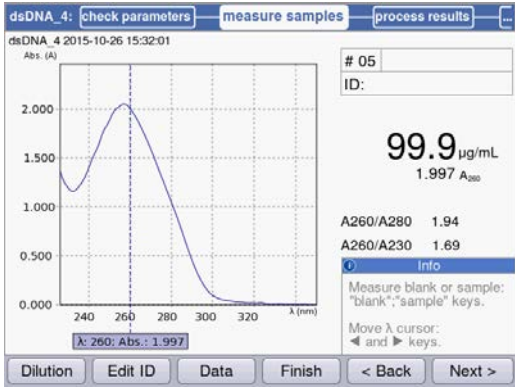
6.5.4 mesurer les échantillons : Affichage des résultats

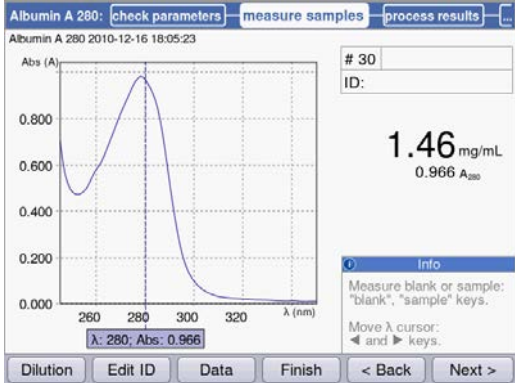


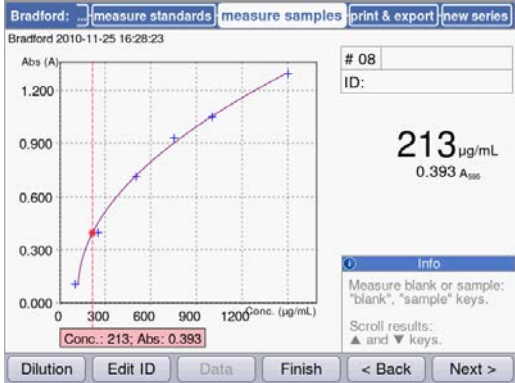
Pour tous les groupes de méthodes, cette section propose une représentation des résultats typiques et une vue d'ensemble des autres données de résultats disponibles à l'aide de la touche programmable [Data].

Groupe de méthodes Photométrie	Affichage du résultat	Explication
Groupe principal Absorbance		
Single λ		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinction à la longueur d'onde de mesure • Seulement en cas de dilution ou de cuve autre que 10 mm : Affichage supplémentaire de la valeur d'extinction avant la conversion.
Multi λ		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinctions aux longueurs d'onde de mesure <p>Données complémentaires (touche programmable [Data]) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Seulement en cas de dilution ou de cuve autre que 10 mm : Valeurs d'extinction avant le calcul.
Scan		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Balayage (graphique avec affichage de la longueur d'onde de l'extinction) • Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◀ et ▶.

Méthodes

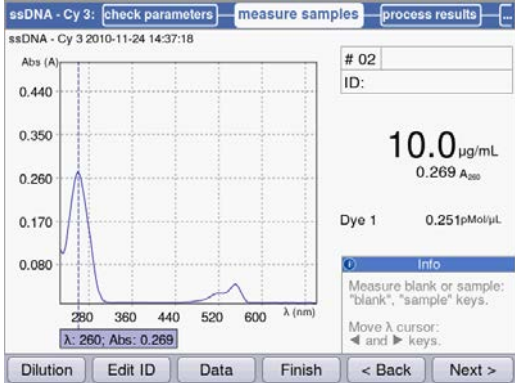
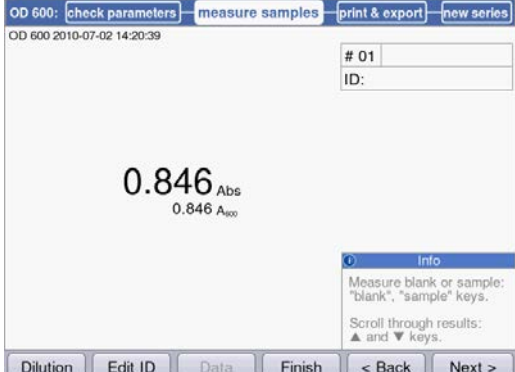
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Groupe de méthodes Photométrie	Affichage du résultat	Explication
Transmission		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Transmission de l'échantillon en [%] • Les résultats des cuves ayant une épaisseur de couche inférieure à 10 mm sont marqués dans le résultat.
Groupe principal Routine		
Nucleic acids		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec extinction à la longueur d'onde de mesure • Peut être désactivé dans les paramètres : Ratio A260/A280 • Peut être désactivé dans les paramètres : Ratio A260/A230. • Peut être désactivé dans les paramètres : Scan. <p>Naviguez entre les points de mesure du graphique pouvant servir au calcul du résultat, avec ◀ et ▶.</p> <p>Données complémentaires (touche programmable [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Valeur d'extinction à 280 nm. • Valeur d'extinction à 230 nm. • Valeur d'extinction pour la longueur d'onde d'arrière-plan.

Groupe de méthodes Photométrie	Affichage du résultat	Explication
Proteins direct UV		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec extinction à la longueur d'onde de mesure • Peut être désactivé dans les paramètres : Scan. Naviguez entre les points de mesure du graphique pouvant servir au calcul du résultat, avec  et . <p>Données complémentaires (touche programmable [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Valeur d'extinction à 260 nm. • Valeur d'extinction pour la longueur d'onde d'arrière-plan.
Proteins (with reagent)		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec l'extinction à la longueur d'onde de mesure. • Pour évaluation avec série standard : Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.

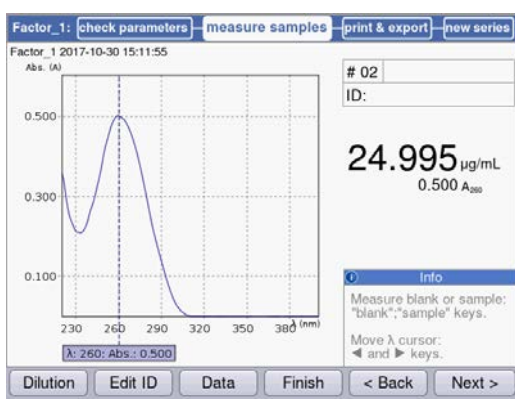
Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Groupe de méthodes Photométrie	Affichage du résultat	Explication
Dye labels		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec extinction à la longueur d'onde de mesure de la biomolécule. • À condition d'être activé dans les paramètres : Scan. <p>Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◀ et ▶.</p> <p>Données complémentaires (touche programmable [Data]).</p> <p>Si les paramètres pertinents ont été activés :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rapport A260/A280 et rapport A260/A230. • Valeurs d'extinction à 280 nm et 230 nm et pour la longueur d'onde de mesure du colorant. • Valeur FOI. • Valeurs d'extinction des longueurs d'onde d'arrière-plan. <p>Lors de la mesure des protéines marquées au colorant, les rapports et FOI ne sont pas affichés.</p>
Bacterial density		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat calculé avec l'extinction de la longueur d'onde de mesure. • À condition d'être activé dans les paramètres : Scan. <p>Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◀ et ▶.</p>

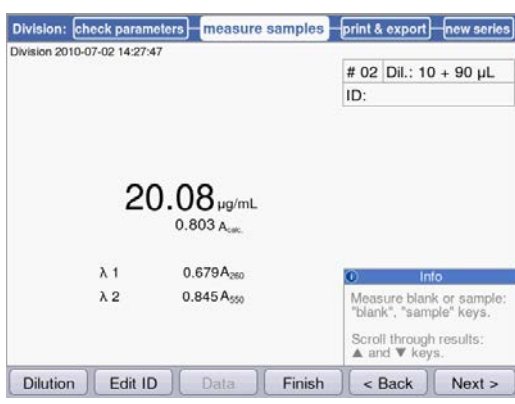
Groupe de méthodes Photométrie	Affichage du résultat	Explication
-----------------------------------	-----------------------	-------------

Groupe principal Basic

Factor, standard		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> Résultat de la concentration avec l'extinction à la longueur d'onde de mesure. À condition d'être activé dans les paramètres : Scan. Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◀ et ▶. La touche programmable [Data] permet d'afficher les valeurs d'extinction pour les longueurs d'onde d'arrière-plan.
------------------	---	--

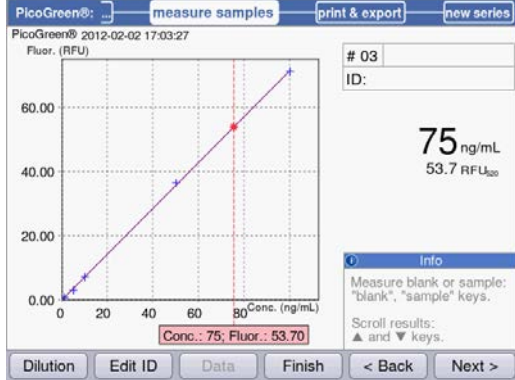
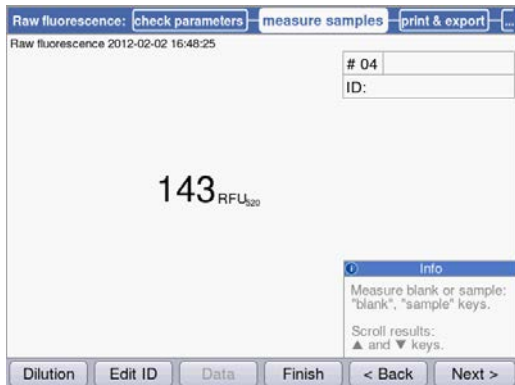
Calibration curve	<p>Similaire à <i>Proteins (with reagent)</i> (voir ci-dessus)</p>	<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> Résultat de la concentration avec l'extinction à la longueur d'onde de mesure. Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.
-------------------	--	--

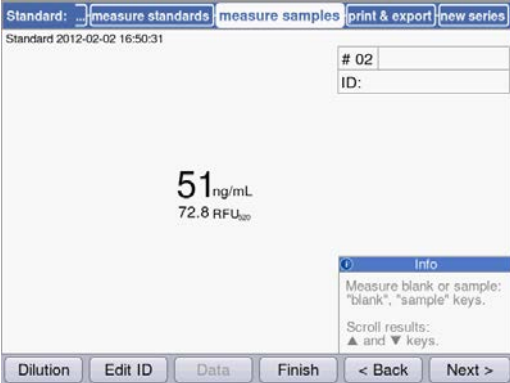
Groupe principal Advanced

Dual wavelength		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> Résultat de concentration : Calcul effectué à partir de A_{calc.} avec facteur ou évaluation standard. A_{calc.} : Calculé au moyen de la formule définie dans les paramètres à partir des extinctions mesurées pour les deux longueurs d'onde. Valeurs d'extinction mesurées pour les deux longueurs d'onde. <p>Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si les paramètres pertinents ont été activés :</p> <ul style="list-style-type: none"> Valeur d'extinction pour la longueur d'onde d'arrière-plan.
-----------------	---	--

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Groupe de méthodes Fluorimétrie	Affichage du résultat	Explication
Groupe principal Routine		
Nucleic acids	 <p>The screenshot shows the PicoGreen® software interface. It features a graph of Fluor. (RFU) vs. Conc. (ng/mL) with a linear standard curve. A red dot on the curve indicates a concentration of 75 ng/mL and a fluorescence of 53.7 RFU₃₂₀. The interface includes buttons for 'measure samples', 'print & export', and 'new series', along with an 'Info' box and navigation controls.</p>	<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec valeur RFU à la longueur d'onde de mesure • Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.
Protéines	<p>Similaire à <i>Nucleic acids</i> (voir ci-dessus).</p>	<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec valeur RFU à la longueur d'onde de mesure • Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.
Groupe principal Basic		
Raw fluorescence	 <p>The screenshot shows the Raw fluorescence software interface. It displays a large result of 143 RFU₃₂₀. The interface includes buttons for 'check parameters', 'measure samples', and 'print & export', along with an 'Info' box and navigation controls.</p>	<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Valeur RFU à la longueur d'onde de mesure • Seulement pour la dilution : Affichage supplémentaire de la valeur RFU avant la conversion.

Groupe de méthodes Fluorimétrie	Affichage du résultat	Explication
Standard		<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec valeur RFU à la longueur d'onde de mesure
Calibration curve	<p>Similaire à <i>Nucleic acids</i> (voir ci-dessus).</p>	<p>Affichage du résultat :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Résultat de la concentration avec valeur RFU à la longueur d'onde de mesure • Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.5.5 process results

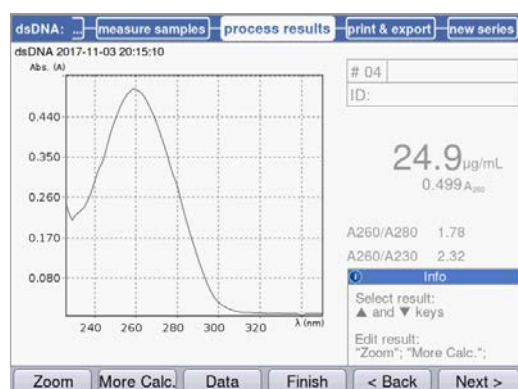
Après la mesure d'échantillon, deux étapes optionnelles suivent dans le déroulement de la méthode : **process results** et **print & export**.

Dans l'étape **process results**, vous pouvez ajuster les résultats de certaines méthodes. Exemple : Modification de l'extrait de spectre d'un scan.

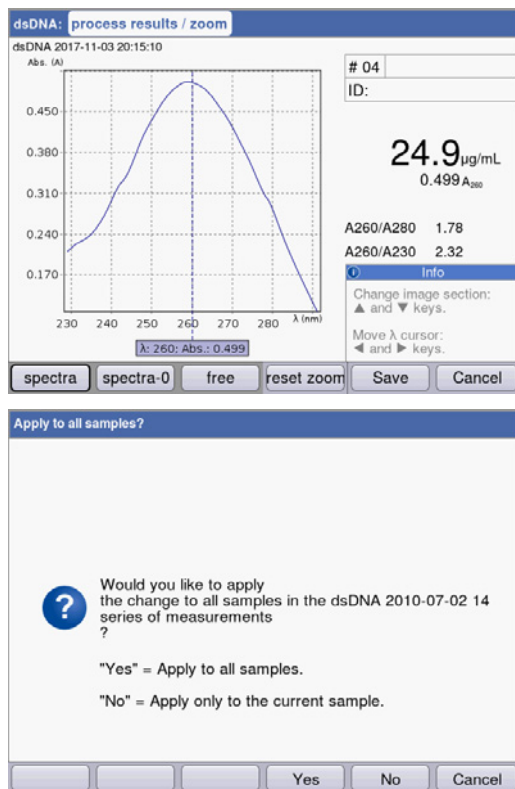
Comme dans l'affichage des résultats, vous pouvez naviguer entre les résultats de l'échantillon avec les touches curseur ▲ et ▼ pour sélectionner certains résultats à réajuster.

Tab. 6-4: Options : Vue d'ensemble

Option	Explication	Disponible dans la méthode
Zoom	Modifier la limite des axes dans les graphiques des longueurs d'onde d'extinction afin d'afficher uniquement les sections agrandies du graphique.	En règle générale, s'applique à toutes les méthodes pour lesquelles le paramètre Scana été activé. <ul style="list-style-type: none"> • Multi λ • Scan • Nucleic acids • Proteins direct UV • Dye labels
More calculations	Conversion des résultats de la concentration en concentrations molaires et (après la saisie du volume) en quantités totales.	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleic acids • Dye labels (avec acides nucléiques comme biomolécule)
Peak detection	Identification des pics dans les spectres de longueurs d'onde d'extinction.	<ul style="list-style-type: none"> • Scan



Les options d'ajustage du résultat sont proposées sur les deux touches programmables de gauche. Dans cet exemple : [Zoom] et [More Calculations].



Après les modifications, vous pouvez quitter le mode actuel avec les deux touches programmables de droite :

- [Save] : Sauvegarder la modification et retourner à l'étape **process results**.
- [Cancel] : Arrêter et retourner à l'étape **process results**.

Après l'enregistrement des modifications, faites [Yes] pour les transmettre à tous les échantillons de la série.

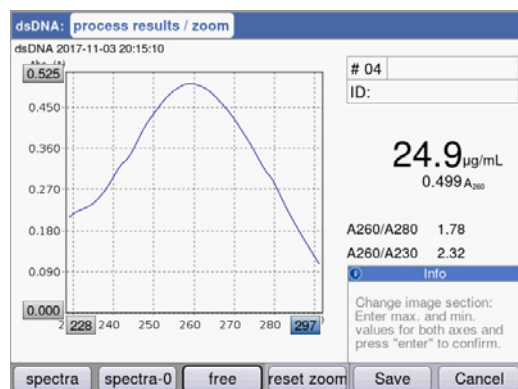
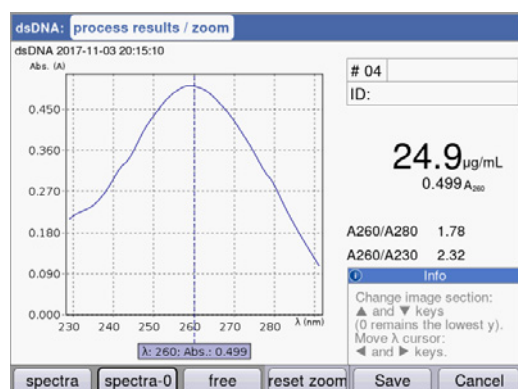
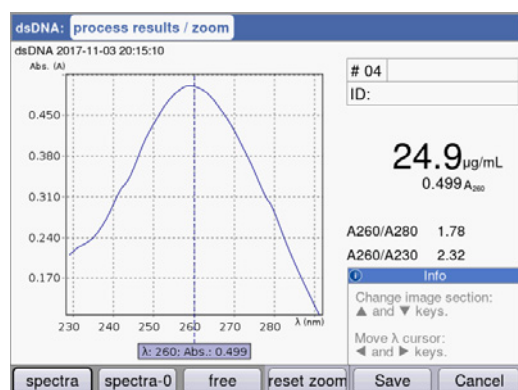
Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.5.6 résultats du processus Options

Zoom

Pressez la touche programmable [Zoom] et sélectionnez l'une des variantes suivantes.



Variante [spectra]:

- Touches de curseur \leftarrow et \rightarrow : Déplacer le curseur de longueur d'onde. Il détermine le centre du zoom appliqué à l'axe x.
- Touches de curseur \uparrow et \downarrow : Agrandir et réduire progressivement la section de l'axe x affichée en recourant au procédé SpectraZoom. La section de l'axe y affichée est adaptée automatiquement à chaque étape de manière à obtenir une exploitation optimale du maximum et du minimum des données à représenter.

Variante [spectra-0] :

Correspond à la variante [spectra] pourvue de l'exception:

La limite inférieure de la section de l'axe y représentée correspond toujours à "0 A".

Variante [free]:

Les limites d'intervalle des deux axes sont saisies librement.

Navigation entre les champs de saisie avec les touches curseur (\uparrow , \downarrow , \leftarrow , \rightarrow).

Dans ces 3 variantes, la touche programmable [reset zoom] permet de rétablir la représentation initiale du spectre.

More calculations

Pressez la touche programmable [More calc.].

Groupe de méthodes **Nucleic acids**:

- Après avoir entré la masse molaire (alternativement en bases/paires de bases ou en kDa) : Convertir le résultat de concentration en concentration molaire.
- Après avoir entré le volume d'échantillon : Calculer la quantité totale dans l'échantillon.

Groupe de méthodes **Dye labels**:

Acide nucléique:

- Après avoir entré la masse molaire (alternativement en bases/paires de bases ou en kDa) : Convertir le résultat de concentration en concentration molaire.
- Après avoir entré le volume d'échantillon : Calculer la quantité totale dans l'échantillon.

Colorant :

- Après saisie du volume de l'échantillon : Calculer la quantité totale dans l'échantillon.



- Pour **dsDNA**, la concentration molaire est calculée avec une acide nucléique à double brin. Pour les méthodes **ssDNA**, **RNA** et **Oligo**, on supposera une acide nucléique à simple brin.
- Pour les méthodes qui ont été reprogrammées dans le groupe principal **Routine**, groupe **Nucleic acids** via **<New Method>**, la concentration molaire sera toujours calculée à partir d'acides nucléiques à double brin.

Méthodes

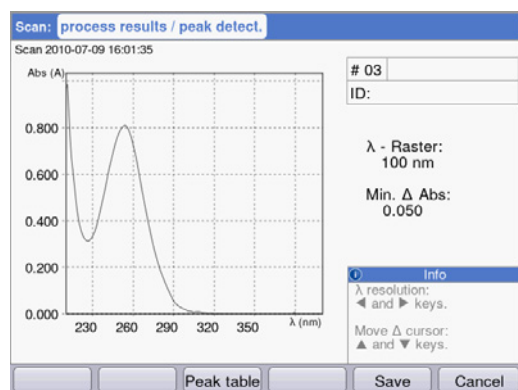
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Peak detection

Pressez la touche programmable [Peaks]. Pour la détection de pic, vous choisissez entre deux critères :

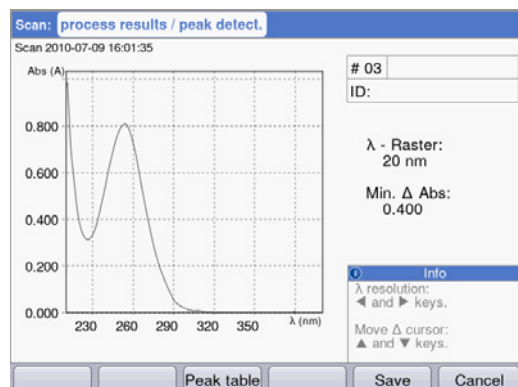
- **Trame λ** : Trame d'évaluation de la détection de pic sur l'échelle de longueurs d'onde (par ex. 10 nm).
Exemple 10 nm : L'extrait du spectre de -5 nm à +5 nm est évalué en prenant référence sur le pic à identifier.
- **Min. Δ Abs** : Différence minimum entre le pic à identifier et l'extinction la plus faible de la trame d'évaluation. Parallèlement, aucune valeur d'extinction de la trame ne doit être supérieure à la valeur du pic (par ex. : 0.5).

Exemples :



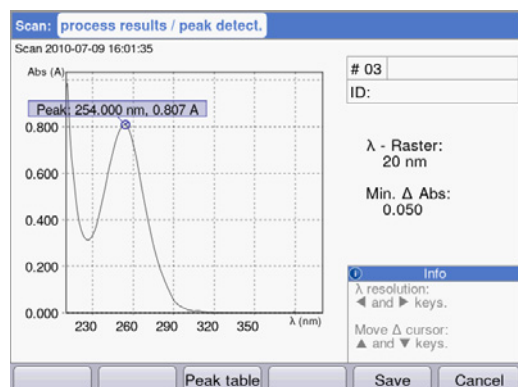
Trame λ : 100 nm, au moins Δ Abs : 0.050:

Le pic n'est pas reconnu, car la trame λ est trop élevée : Les extinctions sur le bord gauche de la trame sont plus grandes que l'extinction du pic.



Trame λ : 20 nm, au moins Δ Abs : 0.200:

Le pic n'est pas identifié car la valeur prescrite pour **Écart min Δ** est trop élevée. La différence entre l'extinction du pic et l'absorbance minimum de la trame est inférieure à 0,2 A.



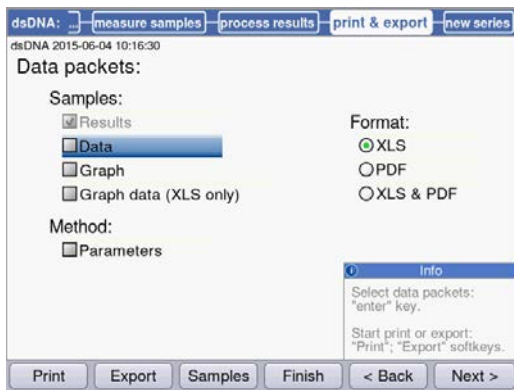
Trame λ : 20 nm, au moins Δ Abs : 0.050:

Le pic est identifié.

6.5.7 print & export

Dans la dernière étape optionnelle de la méthode, vous pouvez réunir des paquets de données pour tous les échantillons ou pour certains échantillons d'une série de mesures :

- pour l'impression sur l'imprimante
- pour l'exportation sur une clé USB
- pour l'exportation par câble USB directement sur un PC
- pour l'exportation par E-Mail



Sélection de paquets de données

- Naviguez avec les touches curseur et confirmez avec **enter**.

Sélectionner un format

- XLS : Exporter sous forme de tableau Excel.
- PDF : Exporter sous forme de PDF ou imprimer.

Touches programmables

- [Print] : Démarrer l'impression.
- [Export] : Démarrer l'exportation.
- [Sample] : Sélectionner des résultats d'échantillons.

Sélection de paquets de données

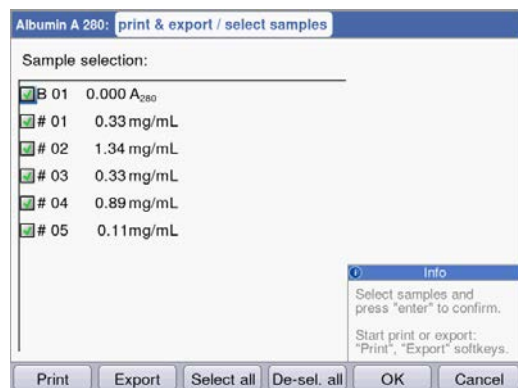
Results	Données de résultats primaires ; sans sélection car elles sont toujours transmises.
Data	Données de résultats supplémentaires qui sont affichées parmi les résultats pendant la mesure, en pressant la touche programmable [Data].
Graph	Spectre de longueurs d'onde d'extinction.
Graph data	Les données de base numériques du graphique. « export only » uniquement pour l'exportation et non pour l'impression.
Parameters	Paramètres des méthodes
Standards/Results	Données de résultats de l'évaluation standard.
Standards/Graph	(Seulement avec les évaluations standard avec plusieurs étalons :) Graphique extinction-concentration.

Suivant la méthode et le réglage des paramètres, seuls les paquets de données disponibles sont proposés.

Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Sélectionner des résultats d'échantillons



Sélection des échantillons

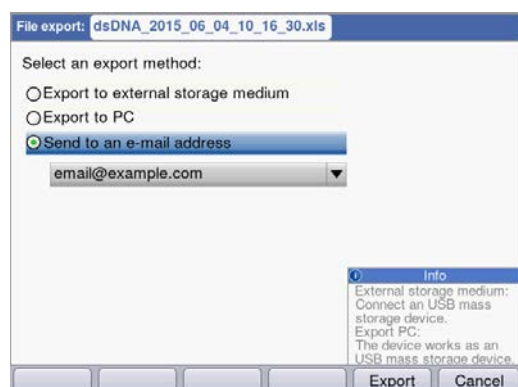
- Pressez la touche programmable [Samples] pour appeler la sélection des échantillons.
- Naviguez avec les touches curseur et confirmez avec **enter**.

Touches programmables

- [Select all] : Sélectionner tous les échantillons
- [De-Sel. all] : Remettre à zéro la sélection.

Démarrer l'exportation

Les données sont transmises sous forme de fichier Excel (.xls) ou de PDF. Les fichiers Excel sont lisibles à partir d'Excel 97. Le système crée un tableau Excel pour chacun des paquets de données sélectionnés. Le nom du fichier est constitué du nom de la méthode, de l'heure et de la date de la série de mesures.



Sélection de la variante d'exportation

- Naviguez avec les touches curseur et confirmez avec **enter**.
- Exportation vers un support de mémoire externe : Enregistrer les fichiers sur une clé USB. S'il n'y a pas de clé USB connectée, cette variante ne sera pas disponible.
- Exporter vers un PC : Enregistrer les données sur un PC.
- Exporter par e-mail : Envoyer les données à une adresse e-mail.

Exportation sur clé USB

1. Connectez une clé USB, format FAT-32, au port USB **4** (voir *Aperçu des produits à la page 15*).
2. Démarrez en faisant [Export] « Export to external storage medium ».

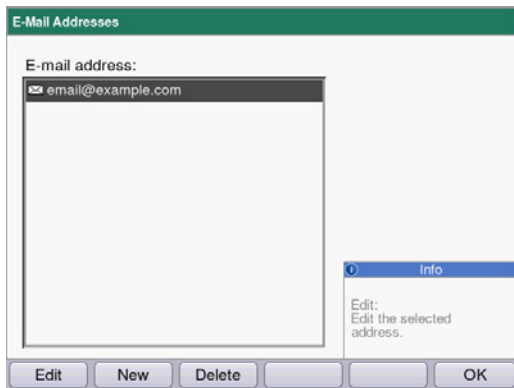
Exporter sur PC

Prérequis pour le système d'exploitation du PC : Windows XP, SP2 ou plus.

1. Connectez le câble USB de l'appareil au port USB du PC **8** (voir *Aperçu des produits à la page 15*).
2. Avant de renouveler l'exportation, vérifiez que les données auparavant exportées ont été enregistrées sur le disque dur du PC, sans quoi elles seront recouvertes.
3. Démarrez avec [Export] « Exporter vers PC ».
4. Le paquet de données exporté est affiché sur votre PC sous forme de support de données amovibles du nom "eppendorf". Ouvrez le fichier figurant sur ce lecteur et enregistrez-le sur le disque dur.

Exporter vers une adresse E-mail

1. Sélectionnez une adresse e-mail dans la liste ou sélectionnez « Edit ».
2. Démarrez avec [Export] l'« expédition à une adresse e-mail ».



Modifier les adresses e-mail

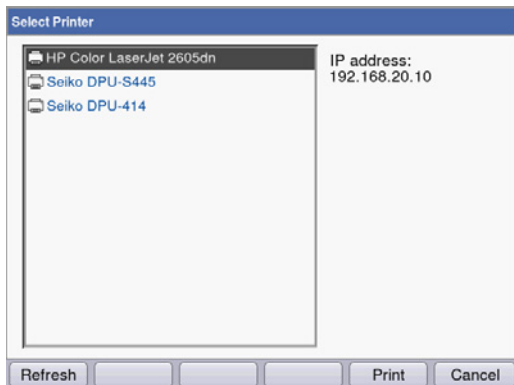
- Choisir dans la liste déroulante « Edit » et confirmer avec **enter**.
Une fenêtre s'ouvre dans laquelle vous pouvez modifier les adresses e-mail.
- [Edit] : Modifier une adresse e-mail.
- [New] : Créer une nouvelle adresse e-mail.
- [Delete] : Effacer une adresse e-mail.

Démarrer l'impression

Vous pouvez imprimer les données avec l'imprimante en réseau ou avec une imprimante connectée par USB.



Si l'appareil est connecté à un réseau, toutes les imprimantes compatibles en réseau sont automatiquement détectées et affichées. S'il n'y a pas de connexion réseau, on ne peut sélectionner qu'une imprimante USB connectée.



1. Sélectionner une imprimante.
2. Commencez avec [Print] l'impression des données.

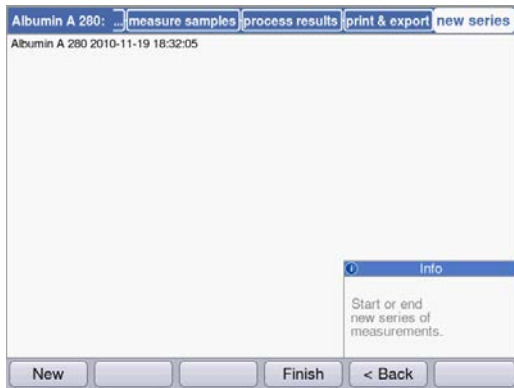
Méthodes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

6.5.8 Clôturer la série de mesures

Après la dernière étape **print & export**, vous pouvez lancer une nouvelle série de mesures avec la méthode choisie ou sélectionner une nouvelle méthode.

Clôturer une série de mesures et lancer une nouvelle série



- Touche programmable [Next >] : Appeler l'étape de méthode **new series**
- Touche programmable [New] : Appeler l'étape de méthode **échantillons de mesure** et démarrer une nouvelle série de mesures.

Clôturer la série de mesures et sélectionner une nouvelle méthode

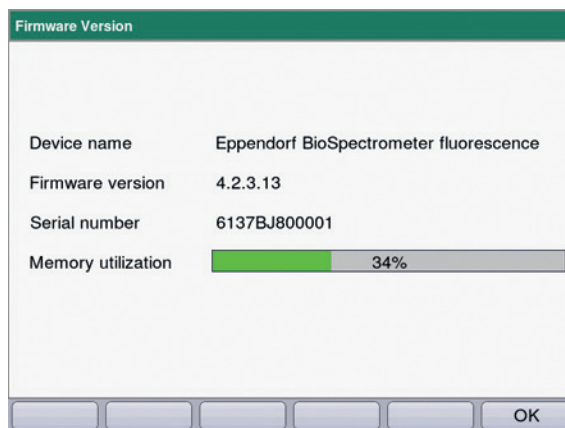
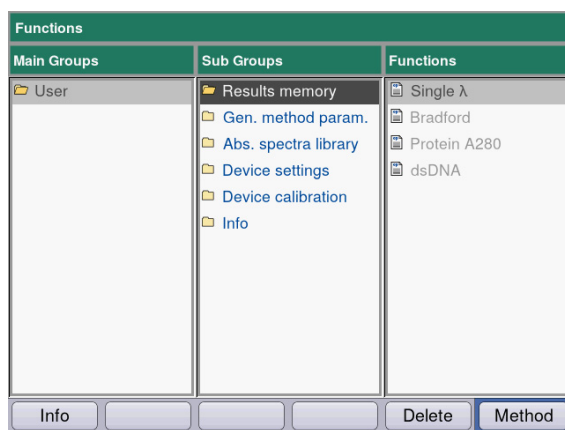
- Touche programmable [Finish] : Terminer la série de mesures et appeler la sélection de la méthode.

7 Fonctions

7.1 Fonctions du groupe principal *User*

Utilisez la touche **function** ou la touche programmable [Function] pour accéder à un menu de fonctions comme les réglages de l'appareil ou appeler les résultats enregistrés.

Les fonctions sont structurées de manière similaire à la sélection de la méthode, c'est-à-dire en 3 colonnes. Vous accédez aux fonctions dans le groupe principal *User*. Comme pour une méthode, vous naviguez à l'aide des touches curseur afin de sélectionner le sous-groupe désiré puis allez dans la colonne de droite pour y choisir la fonction demandée. Appelez la fonction avec **enter**.



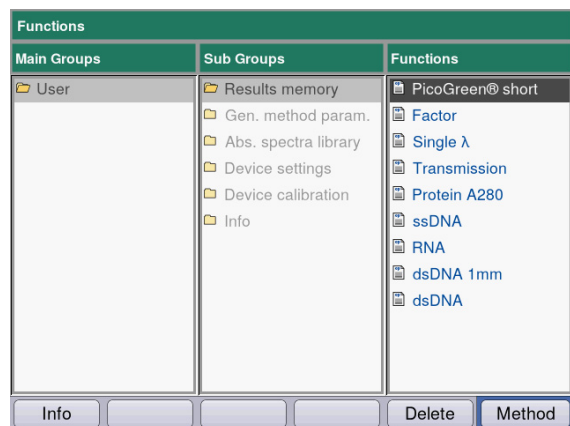
Touche programmable [Info] :

- Version du micrologiciel
- Numéro de série du BioSpectrometer fluorescence.
- Utilisation de la mémoire actuelle

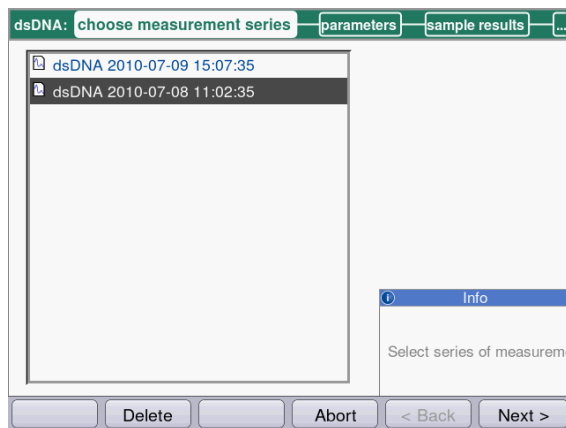
Tab. 7-1: Vue d'ensemble des fonctions

Sous-groupe	Explication
Results memory	<p>Affichage des résultats enregistrés. Les résultats sont classés et appelés d'après la méthode et la série de mesures utilisées. Ils peuvent être directement imprimés, exportés et effacés à partir de la mémoire. Il est possible d'effacer une, plusieurs ou la totalité des séries de mesures d'une méthode ou l'ensemble des résultats en mémoire.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Pour effacer la méthode et toutes les séries de mesures qui lui sont rattachées, appuyez sur la touche programmable Delete. ▶ Confirmez avec enter.
General method parameters	<p>Les paramètres généraux utilisés pour différentes méthodes sont enregistrés de manière centrale dans la partie Functions. Les paramètres ajustés en usine ne peuvent pas être effacés. Les paramètres créés sont modifiables. Dans l'étape Check parameters de la méthode, les paramètres généraux sont alors sélectionnés via les cases à cocher.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proteins, Nucleic acids, Dyes contiennent les paramètres utilisés dans les méthodes du groupe Dye labels et Proteins direct UV. • Units : Unités des résultats de la concentration, applicables à de nombreuses méthodes.
Absorbance spectra library	<p>Spectres de longueurs d'onde d'extinction de substances importantes, par ex. ADN. Les spectres contiennent des informations utiles et peuvent servir à comparer le spectre du résultat d'un échantillon.</p>
Device settings	Réglages modifiables de l'appareil, par ex. langue.
Device calibration	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité de contrôle du spectrophotomètre. Vous avez alors besoin d'un kit de filtres Eppendorf. • Possibilité de contrôle de l'unité de fluorescence.
Info	Licences Open-Source

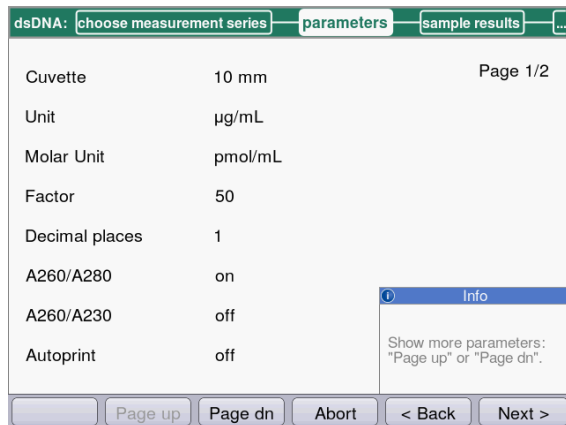
7.1.1 Results Memory



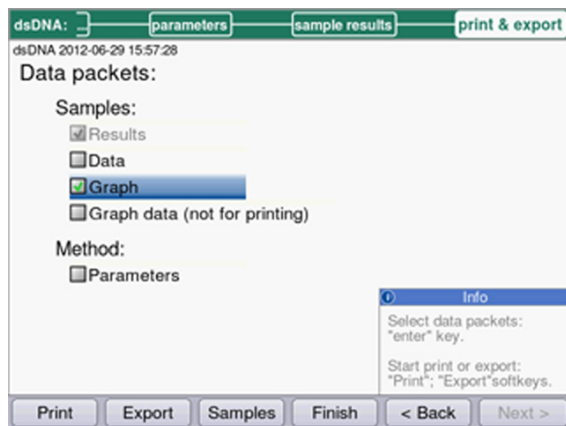
- ▶ Dans la colonne de droite, sélectionnez la méthode dont vous désirez appeler les résultats enregistrés.
- ▶ Pour effacer la méthode et toutes les séries de mesures qui lui sont rattachées, appuyez sur la touche programmable **Delete**.
- ▶ Confirmez avec **enter**.



- ▶ Sélectionnez la série de mesures désirée avec les touches curseur.
- ▶ Pour effacer la méthode et toutes les séries de mesures qui lui sont rattachées, appuyez sur la touche programmable **Delete**.
- ▶ Confirmez avec **enter**.

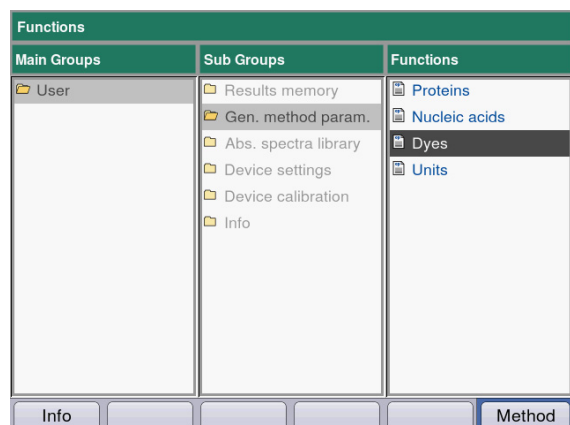


Comme dans le déroulement de la méthode, vous pouvez passer successivement dans les affichages des paramètres, des standards, des résultats et enfin des paquets de données en vue de l'impression et de l'exportation. Les touches programmables correspondent au déroulement de la méthode.

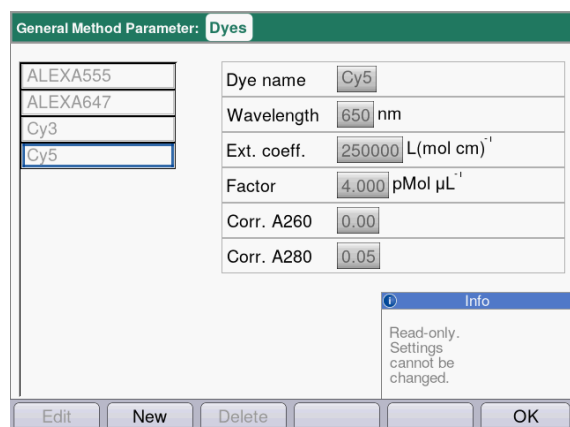


- ▶ Si vous désirez imprimer ou exporter des résultats, sélectionnez les paquets de données. Le déroulement de l'impression et de l'exportation ainsi que la signification des touches de fonction correspondent à l'étape de la méthode **print & export**.

7.1.2 General method parameters



- ▶ Dans la colonne de droite, sélectionnez le groupe de paramètres que vous désirez éditer.
- ▶ Confirmez avec **enter**.



Dans cet exemple, les groupes de paramètres sont résumés pour différents colorants (composants des méthodes Dye) et enregistrés sous un nom. Le groupe de paramètres désiré peut être importé sous ce nom dans le programme de la méthode, lors de l'édition d'une méthode Dye.

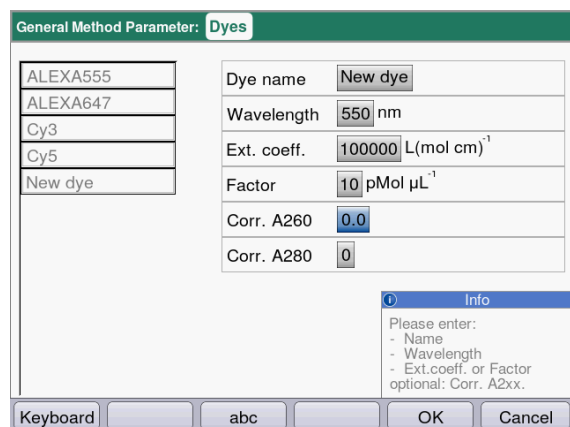
Les colorants disponibles en usine sont protégés en écriture et ne peuvent être ni modifiés ni effacés.

Affichage :

- à gauche : nom du colorant. Sélectionnez avec ▲ et ▼.
- à droite : paramètres correspondants

Touches programmables

- [Edit] : Éditer le groupe de paramètres sélectionné.
- [New] : Créer un nouveau groupe de paramètres.
- [Delete] : Effacer le groupe de paramètres sélectionné.
- [OK] : Revenir à la sélection de fonction.

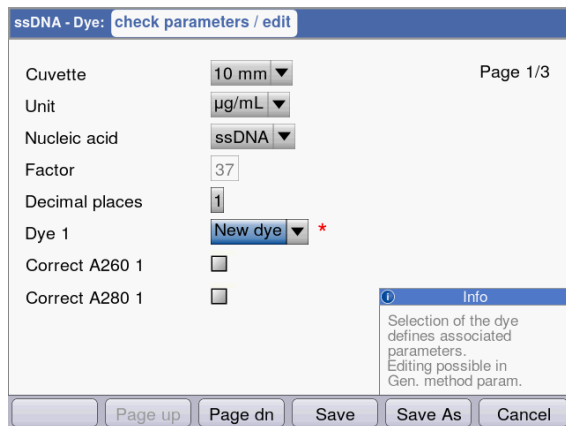


- ▶ Pour éditer un groupe de paramètres, sélectionnez le paramètre à éditer avec ▲ et ▼.
- ▶ Confirmez avec **enter**.

Touches programmables

- [OK] : Sauvegarder l'entrée et retourner à la sélection du groupe de paramètres.
- [Cancel] : Revenir à la sélection du groupe de paramètres sans modification.

Lors de la programmation d'une méthode des groupes **Dye labels** ou **Proteins direct UV**, vous pouvez accéder aux entrées dans **General Method Parameter** :



Sélectionnez le nom du colorant pour importer le groupe de paramètres pertinent dans le programme. Sélectionnez « edit » dans le paramètre « Nucleic acid » pour accéder directement à la fonction **General Method Parameter** et visualiser ou éditer les paramètres.

Tab. 7-2: Paramètres dans General Method Parameter

Paramètres	Explication
Protéines	Ces paramètres sont téléchargés dans la méthode lors de la sélection d'une protéine, avec programmation d'une méthode du groupe Dye labels et Proteins direct UV . Les paramètres disponibles en usine sont protégés en écriture et ne peuvent être ni modifiés ni effacés.
<ul style="list-style-type: none"> • Protein name • Factor • $A_{0,1\%}$ • Ext.coeff. • Molecular mass 	Outre le nom et la longueur d'onde, vous pouvez saisir les données suivantes pour définir le facteur nécessaire au calcul de la concentration à partir de l'extinction : facteur ou $A_{0,1\%}$ ou coefficient d'extinction et masse molaire.
Nucleic acids	Lors de la sélection d'un acide nucléique, ces paramètres sont téléchargés dans la méthode du groupe Dye labels . Les paramètres disponibles en usine sont protégés en écriture et ne peuvent être ni modifiés ni effacés.
<ul style="list-style-type: none"> • NA name • Factor • Double-stranded 	Le facteur est utilisé pour calculer la concentration à partir de l'extinction. Le paramètre Double-stranded influence le calcul de la concentration d'acide nucléique (voir <i>Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques</i> à la page 108)

Fonctions

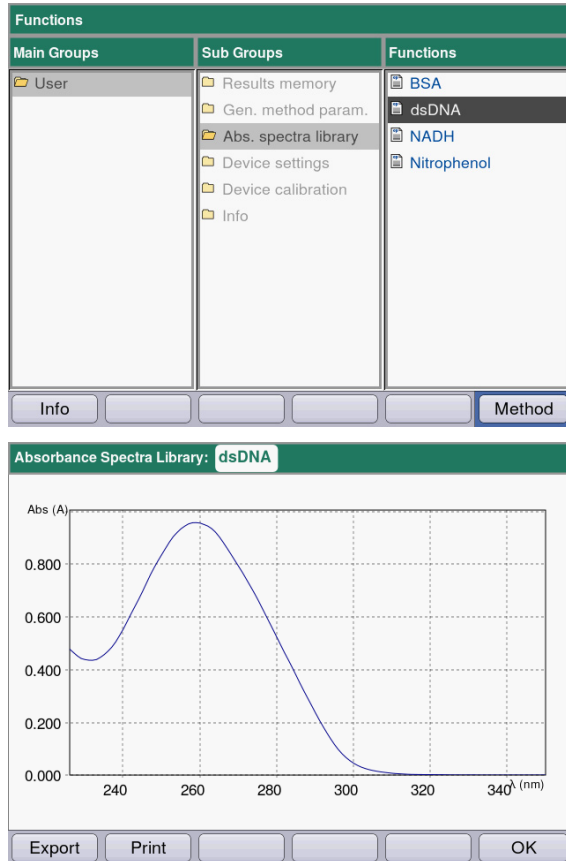
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Paramètres	Explication
Dyes	Lors de la programmation d'une méthode du groupe Dye labels , ces paramètres sont téléchargés dans la méthode en sélectionnant un colorant (Dyes). Les paramètres disponibles en usine sont protégés en écriture et ne peuvent être ni modifiés ni effacés.
<ul style="list-style-type: none"> • Dye name • Wavelength • Ext.coeff. • Factor • Corr. A260 • Corr. A280 	Outre le nom, vous définissez le facteur nécessaire au calcul de la concentration à partir de l'extinction en saisissant les données suivantes : facteur ou coefficient d'extinction. Les facteurs de correction des extinctions à 260 ou 280 nm sont utilisés lorsque la fonction de correction est activée dans les paramètres de la méthode. Pour en savoir plus, veuillez consulter le chapitre sur l'évaluation (voir <i>Correction A₂₆₀ et correction A₂₈₀ à la page 107</i>).
Units	Lors de la programmation des paramètres d'une méthode, vous pouvez sélectionner une unité parmi toutes celles qui sont disponibles. Les unités utilisées dans les méthodes préprogrammées sont sur fond gris et ne peuvent pas être effacées.
<ul style="list-style-type: none"> • Unit 	Saisissez une unité non programmée pour le résultat de la concentration.



- Il est possible de déterminer les données des protéines qui ne sont pas préprogrammées en usine dans la banque de données expasy : <http://www.expasy.org/tools/protparam.html>.
- Vous trouverez aussi un tableau avec des valeurs $A_{1\%}$ pour de nombreuses protéines dans : C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4 : 2411–2423 (tableau 5). Les valeurs $A_{1\%}$ doivent être multipliées par 0,1 pour obtenir les valeurs $A_{0,1\%}$ nécessaires.

7.1.3 Absorbance spectra library

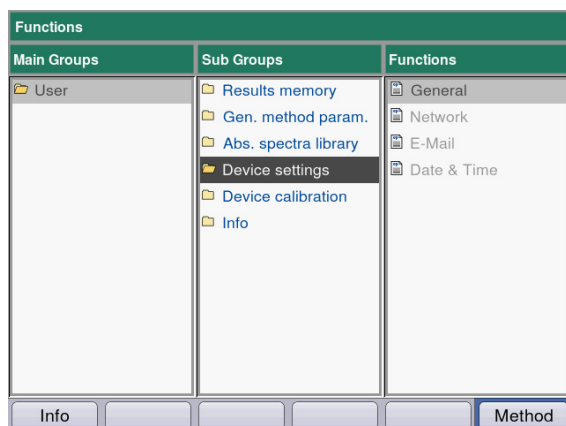


Dans la colonne de droite, sélectionnez le spectre à activer et confirmez avec **enter**.

Touches programmables

- [Export] et [Print] : Exporter sur un PC ou imprimer avec une clé ou un câble USB (voir *print & export à la page 63*).
- [OK] : Revenir à la sélection de fonction.

7.1.4 Device settings



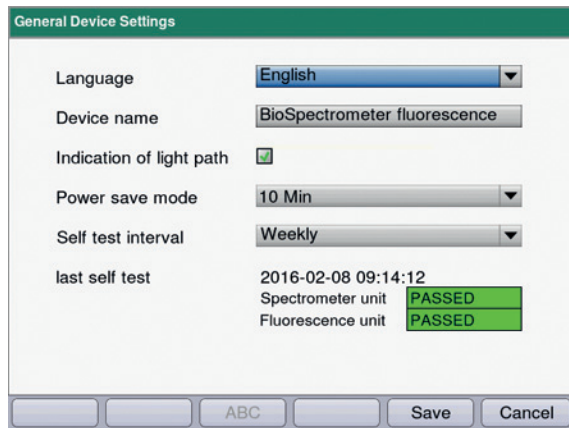
Il est possible de modifier les réglages suivants :

Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

Fonctions

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)



General Device Settings

- Sélectionner la langue : Allemand, anglais, français, espagnol, italien, japonais*).
- Nom de l'appareil
- Intervalle de temps pour l'activation du mode d'économie d'énergie.
- Régler la fréquence de l'auto-test après l'activation de l'appareil.
- Remarque sur l'affichage du faisceau lumineux.
- Les informations sur le dernier auto-test sont affichées.

*) Lorsque l'on change de langue, p.ex pour passer au japonais, la police de caractères est modifiée. Suite à cela, il est possible que certaines parties du texte ne s'affichent pas correctement.

- ▶ Mettre l'appareil hors tension puis de nouveau sous tension. Les langues s'affichent correctement après le redémarrage.

Touches programmables

- [Save] : Sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : Revenir à la sélection du groupe de paramètres sans modification.

Network Settings

Demandez à votre administrateur réseau quels réglages sont nécessaires.

- Choisir si les paramètres IP doivent être définis automatiquement par DHCP. Les paramètres IP peuvent aussi être entrés manuellement.
 - Adresse IP
 - Masque de sous-réseau
 - Gateway standard
- Sélectionner si les réglages d'ADN doivent être effectués automatiquement par DHCP (disponible seulement si les paramètres IP sont obtenus directement par DHCP). Les paramètres ADN suivants peuvent être entrés manuellement :
 - Serveur ADN primaire
 - Serveur DNS secondaire

Touches programmables

- [MAC Info] : Informations sur les paramètres réseau.
- [Save] : Sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : Revenir à la sélection du groupe de paramètres sans modification.

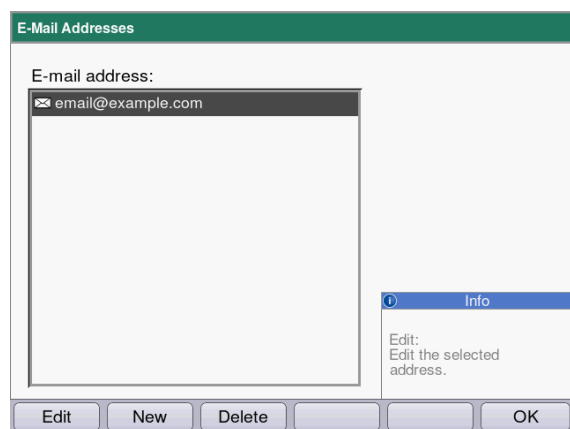
Email Settings

Demandez à votre administrateur réseau quels réglages sont nécessaires.

- Serveur SMPT : Entrer le serveur d'e-mail.
- Entrer le port.
- Expéditeur : Entrer le nom de l'appareil.
- Utiliser une authentification SMTP : Si une authentification est nécessaire, un nom d'utilisateur et un mot de passe doivent être attribués.
- Récepteur de l'adresse E-mail : Liste des adresses e-mail.

Fonctions

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

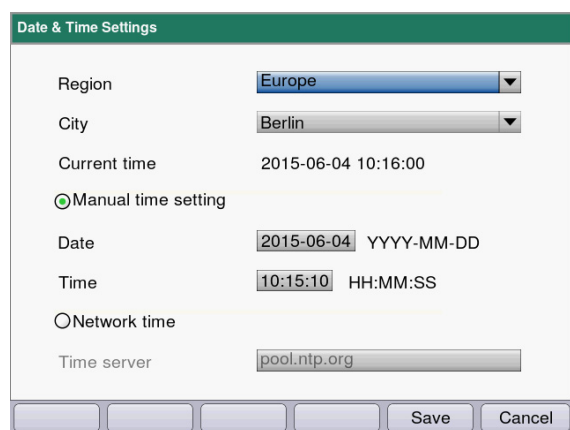


Modifier les adresses e-mail

- Choisir dans la liste déroulante « Edit » et confirmer avec **enter**.
Une fenêtre s'ouvre dans laquelle vous pouvez modifier les adresses e-mail.

Touches programmables

- [Edit] : Modifier une adresse e-mail.
- [New] : Créer une nouvelle adresse e-mail.
- [Delete] : Effacer une adresse e-mail.



Date and Time Settings

- Sélectionner une région.
- Sélectionner une ville.
- Affichage de l'heure
- Réglage manuel de l'heure : Régler la date et l'heure.
- Heure réseau
Serveur d'horloge : Entrer le serveur d'horloge voulu.

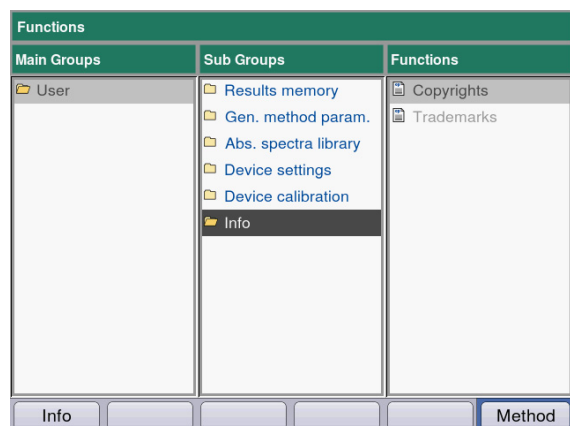
Touches programmables

- [Save] : Sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : Revenir à la sélection du groupe de paramètres sans modification.

7.1.5 Device calibration

L'étalonnage est décrit séparément (voir *Contrôle de l'appareil à la page 79*).

7.1.6 Info



Dans l'élément du menu **Copyright**, vous trouverez des informations sur la licence du logiciel Open-Source.

8 Entretien

8.1 Nettoyer



DANGER ! Risque d'électrocution causée par l'infiltration de liquide.

- ▶ Mettez l'appareil à l'arrêt et débranchez la fiche secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
 - ▶ Empêchez tout liquide de pénétrer à l'intérieur du boîtier.
 - ▶ Ne nettoyez pas le boîtier avec un spray nettoyant/désinfectant.
 - ▶ Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.
-



AVIS ! Corrosion provoquée par des détergents et des désinfectants agressifs.

- ▶ N'utilisez aucun produit d'entretien décapant ni produit de polissage abrasif ou contenant une solution agressive.
 - ▶ N'incubez pas les accessoires trop longtemps dans des détergents et des désinfectants agressifs.
-

1. Essuyez les surfaces avec un chiffon imprégné d'un détergent doux.

Nettoyage du puits de la cuve

2. Ne nettoyez le puits de la cuve qu'avec des cotons-tiges non pelucheux imprégnés d'éthanol ou d'isopropanol. Évitez les pénétrations de liquide dans le puits de cuve. S'il était nécessaire de travailler à l'eau pour éliminer les salissures, imprégnez ensuite un coton-tige d'éthanol ou d'isopropanol et frottez pour accélérer le séchage du puits de la cuve.

Un élément en verre a été mis en place dans le faisceau lumineux, sur la gauche du puits de la cuve. Nettoyez soigneusement cet élément en verre.

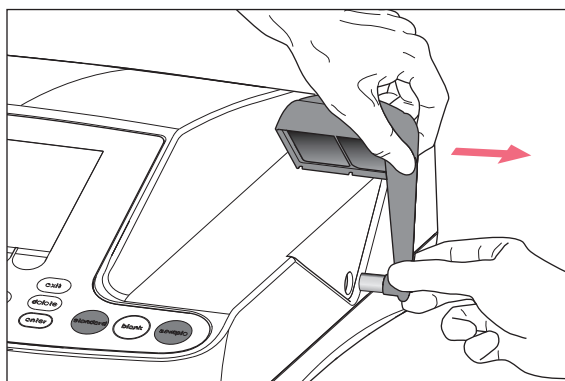
8.1.1 Nettoyage du couvercle du puits de la cuve

Si vous ne désirez pas nettoyer uniquement la surface directement accessible du couvercle de protection posé sur le puits de la cuve, vous pouvez démonter ce couvercle.



- ▶ Ne pas immerger le couvercle du puits dans du produit nettoyant.
- ▶ Nettoyez le couvercle du puits en procédant comme suit :

1. Soulevez le couvercle posé sur le puits de la cuve d'une main.
2. Posez l'autre main au niveau de la goupille de fermeture et tirez sur le côté droit du couvercle jusqu'à ce que la goupille de fermeture soit entièrement extraite.



- Tirez le couvercle vers la droite en respectant un angle de 90°.

3. Nettoyez le couvercle avec un chiffon ou un coton-tige non pelucheux que vous avez imprégné de produit nettoyant.
4. Glissez à fond la goupille de fermeture dans le boîtier.

La goupille de fermeture disparaît entièrement dans le boîtier.



Si vous n'utilisez pas le photomètre, posez le couvercle bleu sur le puits de la cuve pour le protéger de la poussière et des autres salissures.

8.2 Désinfection/Décontamination



DANGER ! Risque d'électrocution causée par l'infiltration de liquide.

- ▶ Mettez l'appareil à l'arrêt et débranchez la fiche secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
- ▶ Empêchez tout liquide de pénétrer à l'intérieur du boîtier.
- ▶ Ne nettoyez pas le boîtier avec un spray nettoyant/désinfectant.
- ▶ Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.

1. Avant de le désinfecter, nettoyez l'appareil avec un produit nettoyant non agressif (voir *Nettoyer à la page 77*).
2. Choisissez une méthode de désinfection conforme aux dispositions et directives en vigueur pour votre domaine d'application.
3. Utilisez par exemple de l'alcool (éthanol, isopropanol) ou d'autres produits désinfectants à base d'alcool.
4. Passez un chiffon imbibé de produit désinfectant sur les surfaces.
5. Si le couvercle de protection du puits de la cuve doit être démonté pour être désinfecté, procédez au démontage et au montage comme indiqué dans (*voir Nettoyage du couvercle du puits de la cuve à la page 78*).
6. Vous pouvez désinfecter le couvercle de protection du puits de la cuve avec du spray désinfectant.

8.3 Contrôle de l'appareil

Prérequis :

- Respectez les conditions d'environnement (*voir Conditions ambiantes à la page 99*).
- Réalisez le contrôle à env. 20 °C. Évitez les variations thermiques (p.ex. par l'ouverture de fenêtres).
- Retirez le filtre de la boîte de filtres juste avant usage et protégez-le de la poussière et de tout endommagement de sa surface.
- Protégez le filtre de la poussière, de la chaleur, des liquides et des vapeurs agressives.
 - Lors de la vérification de l'unité de spectromètre : l'autocollant du filtre utilisé est tourné vers l'avant.
 - Contrôle de l'unité de fluorescence. l'autocollant du filtre utilisé est tourné vers la droite.
- Le puits de la cuve ne doit pas être encrassé.

8.3.1 Contrôle de l'unité de spectrométrie

Pour contrôler l'exactitude photométrique et l'erreur systématique de longueur d'onde, Eppendorf propose un kit de filtres (kit de filtres de référence BioSpectrometer). Le kit contient un filtre témoin A0 et trois filtres A1, A2 et A3 pour contrôler l'exactitude photométrique ainsi que 3 filtres pour contrôler l'erreur systématique de longueur d'onde dans la plage de 260 nm à 800 nm. Les mesures des extinctions des filtres sont comparées à celles du filtre témoin A0. Outre l'exactitude, l'appareil contrôle également la précision des mesures : à partir des 15 mesures effectuées par longueur d'onde, il détermine non seulement la valeur moyenne mais aussi le coefficient de variation (cv).

Entretien

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Pour la mesure, commencez par positionner le filtre témoin (pour la mesure de la valeur témoin) puis le filtre de contrôle ainsi que les cuves dans le puits de cuve. Les valeurs d'extinction mesurées pour le filtre de contrôle sont comparées à la plage de valeurs autorisée. Les valeurs limites de la plage autorisée sont imprimées sur chacun des filtres dans un tableau situé dans le couvercle de la boîte de filtres.

Si vous voulez documenter les valeurs, vous pouvez imprimer ou exporter les valeurs après une mesure. 12 contrôles au maximum sont enregistrés. Quand la mémoire est pleine, les valeurs du contrôle le plus ancien sont écrasées.

**BioSpectrometer fluorescence
reference filter set****eppendorf**

Function : Device calibration/Spectrometer unit

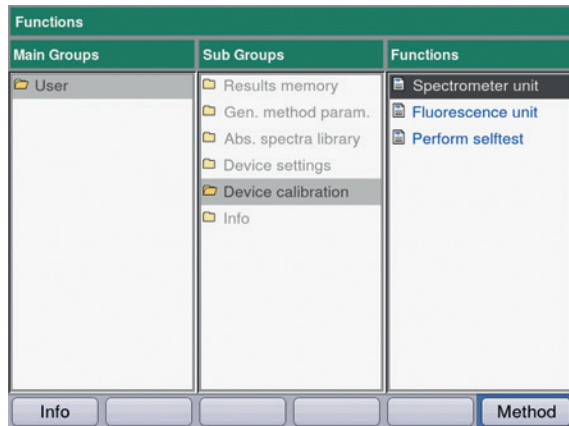
Order No./Best. Nr.: 6137 928.009

Set No./Satz Nr.: 958

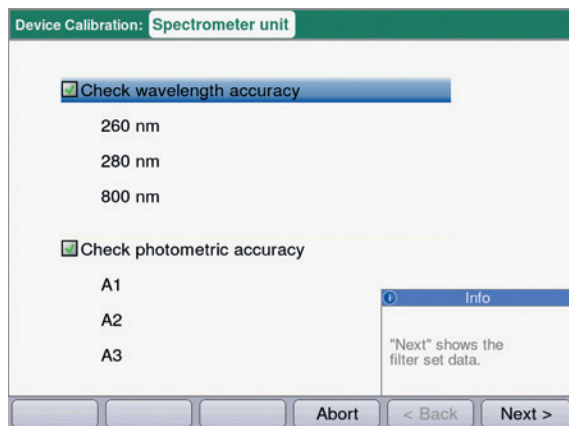
Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C							
SN: 6135	914.958	916.958	917.958	937.958	921.958	922.958	923.958
Filter Type	Blank A 0	Sample 260 nm	Sample 280 nm	Sample 800 nm	Sample A 1	Sample A 2	Sample A 3
Limiting values (A)/Grenzwerte (E)							
260 nm	0.000	1.169-1.357	--	--	0.147-0.171	0.821-0.872	1.504-1.598
280 nm	0.000	--	1.053-1.315	--	0.142-0.166	0.826-0.877	1.485-1.577
320 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.850-0.903	1.476-1.567
405 nm	0.000	--	--	--	0.135-0.159	0.905-0.961	1.463-1.553
550 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.925-0.982	1.368-1.453
562 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.924-0.981	1.360-1.444
595 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.921-0.978	1.338-1.421
700 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.911-0.967	1.281-1.361
800 nm	0.000	--	--	1.066-1.243	0.134-0.158	0.901-0.957	1.243-1.320
Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge				Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers			
Limiting values CV (%) / Grenzwerte VK (%)							
260 - 405 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %		≤ 2.0 %	≤ 1.5 %
550 - 800 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %		≤ 2.0 %	≤ 3.0 %
Fluorescence unit							
F0147							
Filter Type	Sample Fluorescence F1 520 nm / 560 nm						
Ratio	0.95-1.05						
Random error of the fluorescence measurement Zufällige Messabweichung der Fluorescenzmessung							
Limiting values CV (%) / Grenzwerte VK (%)							
520 / 560 nm		≤ 3.0 %					
Filter auf NIST® rückführbar / Filter traceable to NIST®							
<p><u>Wavelength and photometric characterization of filters:</u> All characterizations are performed on a Cary 100 Bio reference UV/Vis spectrophotometer, serial number EL 99023107. The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications.</p> <p><u>Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter:</u> Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Referenz UV/Vis Spektrophotometer, Seriennummer EL 99023107 durchgeführt. Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert.</p>							
21.12.2017				----- Signature Unterschrift			

Fig. 8-1: Face intérieure du couvercle de la boîte de filtres (modèle)

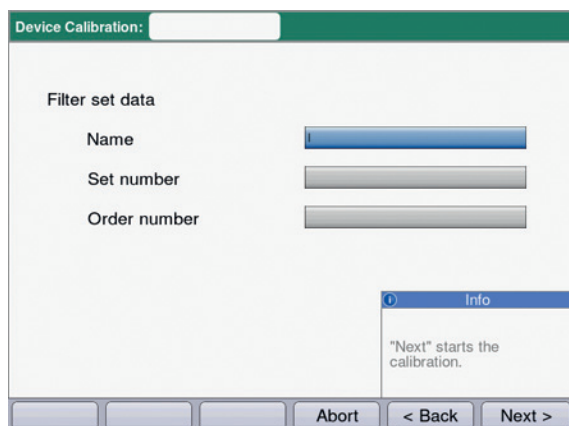
8.3.1.1 Effectuer un contrôle de l'exactitude photométrique



1. Dans le groupe **Device calibration**, sélectionnez la fonction **Spectrometer unit** et confirmez par **enter**.



2. Indiquez si vous souhaitez contrôler l'exactitude de longueur d'onde ou l'exactitude photométrique. Confirmez par **enter**.
3. Passer avec [Next >] à l'étape suivante.



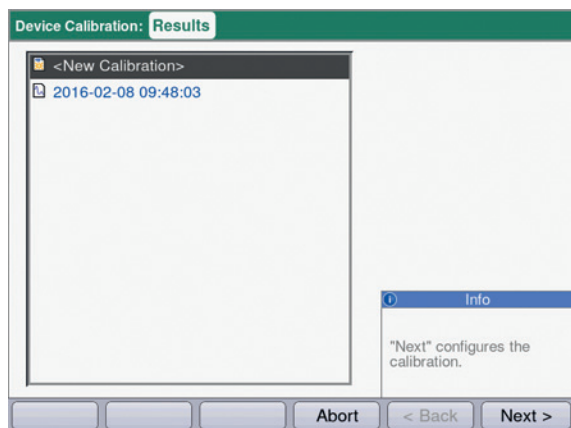
4. Remplir les champs de saisie. Les indications sont en option.
5. Passer à l'étape suivante avec [Next >].

Entretien

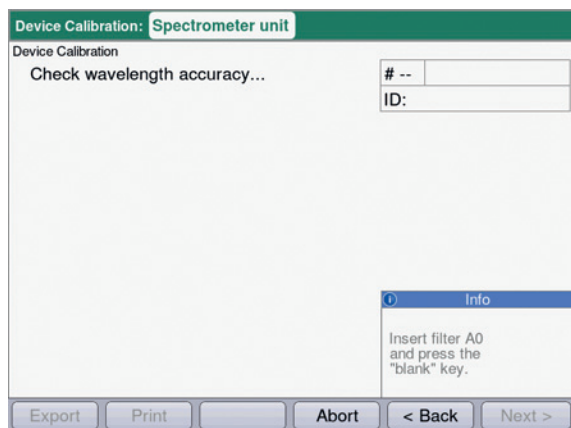
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)



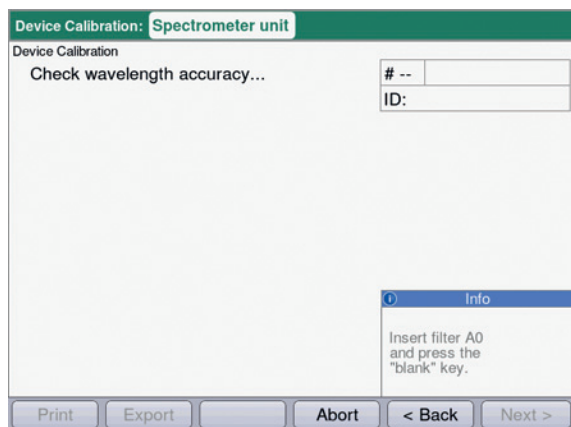
- Si l'étalonnage est effectué pour la première fois, l'étape 6 n'a pas lieu.
- Si l'étalonnage a déjà été effectué, les résultats des derniers étalonnages s'affichent.



6. Sélectionner <New Calibration> et démarrer le nouvel étalonnage avec [Next >].



7. Suivre les instructions dans la fenêtre *Info* et mesurer d'abord le filtre de valeur à blanc A0.



8. Après la valeur à blanc A0, commencer avec le premier filtre de contrôle.
Dans la fenêtre Info, le filtre de contrôle attendu est affiché (ici : SAMPLE 260).

Device Calibration: **Spectrometer unit**
Device Calibration 2016-02-08 09:48:03
Check photometric accuracy... # 06
ID: SAMPLE A3

Wavelength	Mean	CV
260 nm	1.917 A	0.2 %
280 nm	1.847 A	0.3 %
320 nm	1.751 A	0.3 %
405 nm	1.661 A	0.3 %
550 nm	1.502 A	0.3 %
562 nm	1.489 A	0.2 %
595 nm	1.456 A	0.4 %
700 nm	1.376 A	0.6 %
800 nm	1.309 A	1.1 %

Info
Select results:
▲ and ▼ keys.

Print Export Finish < Back Next >

9. Affichage du résultat après la mesure des 3 filtres de contrôle visant à tester l'exactitude photométrique.

Avec les touches ▲ et ▼, vous pouvez visualiser à nouveau les résultats des différents filtres de contrôle.

Touches programmables

- [Finish] : Terminer le contrôle.
- [Export] : Exporter les résultats sous forme de PDF.
- [Print] : imprimer les résultats.

10. Comparez les valeurs médianes et les valeurs du CV avec celles qui sont indiquées dans le tableau. Si les valeurs mesurées ne coïncident pas avec la plage de valeurs autorisée, adressez-vous à Eppendorf Service.

8.3.2 Contrôle de l'unité de fluorescence

Functions

Main Groups	Sub Groups	Functions
<ul style="list-style-type: none"> User 	<ul style="list-style-type: none"> Results memory Gen. method param. Abs. spectra library Device settings Device calibration Info 	<ul style="list-style-type: none"> Spectrometer unit Fluorescence unit Perform selftest

Info Method

1. Sélectionnez dans le groupe **Device calibration** la fonction **Fluorescence unit**. Confirmez par **enter**.

2. Placez le filtre F1 dans le puits de la cuve. Appuyez sur la touche programmable **Measure**. L'appareil mesure le filtre de contrôle 15 fois sur 2 longueurs d'onde d'émission. Après la mesure, l'écran 2 affiche des grandeurs caractéristiques : « Ratio » comme mesure pour l'ajustage correct ainsi que « CV » comme mesure du bruit.

Device Calibration: []

Filter set data

Name []

Set number []

Order number []

Info
"Next" starts the calibration.

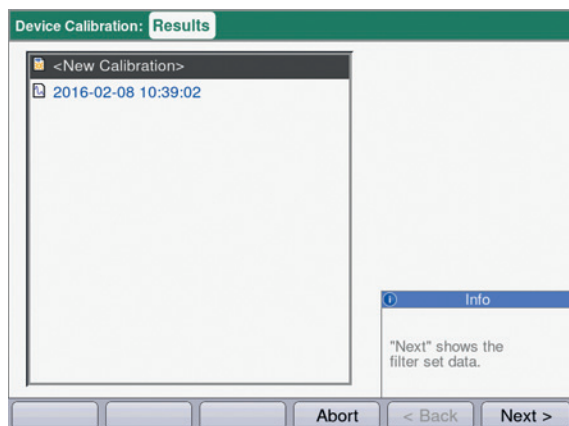
Abort < Back Next >

3. Entrer les champs de saisie. Les indications sont en option.

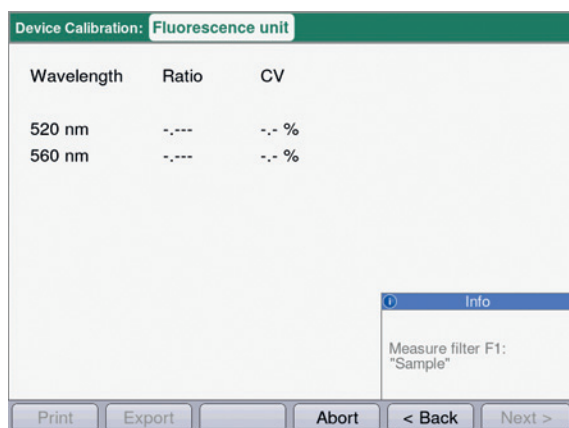
4. Passer à l'étape suivante avec [Next >].



- Si l'étalonnage est effectué pour la première fois, l'étape 5 n'a pas lieu.
- Si un étalonnage a déjà été effectué, les résultats du dernier étalonnage sont affichés.



5. Sélectionner <New Calibration> et démarrer le nouvel étalonnage avec [Next >].



6. Comparez les grandeurs caractéristiques aux valeurs dans le tableau fourni. Si les valeurs mesurées ne coïncident pas avec la plage de valeurs autorisée, adressez-vous à Eppendorf Service.

8.3.3 Auto-test de l'appareil

Vous pouvez régler la fréquence de l'auto-test (durée environ 1 minute) avec la fonction **Device settings** (voir *Device settings* à la page 73). L'**intervalle d'auto-test** est réglé en usine sur "hebdomadaire".

L'auto-test est consacré aux points suivants :

- Contrôle du détecteur
 - Détermination de l'erreur aléatoire sur tout le spectre disponible
- Contrôle de la source lumineuse
 - Contrôle de l'énergie de la source lumineuse maximum disponible et de la qualité de la transmission lumineuse dans l'appareil
 - Détermination de l'erreur aléatoire d'un signal sur le capteur de référence
 - Détermination de l'intensité du signal sur le capteur de référence
 - Détermination séparée de l'intensité lumineuse dans la plage UV

- Détermination de l'erreur aléatoire et systématique de la longueur d'onde
 - Position d'un pic d'intensité dans la plage UV du spectre
 - Précision de la position d'un pic d'intensité dans la plage UV du spectre
 - Détermination de l'erreur aléatoire de la lumière excitante
 - Détermination de l'intensité et de l'écart du signal lumineux émetteur
- ▶ Dans le groupe **Device calibration**, sélectionnez la fonction **Perform selftest** et confirmez par **enter**.
Après l'auto-test, le message **PASSED** apparaît sur l'affichage.
Si le message **FAILED** est affiché, cela signifie que l'auto-test n'a pas obtenu les résultats escomptés. Si l'erreur persiste, veuillez-vous adresser (voir *Messages d'erreur à la page 89*) au S.A.V Eppendorf.

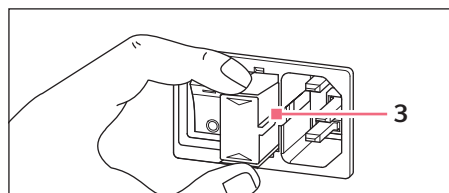
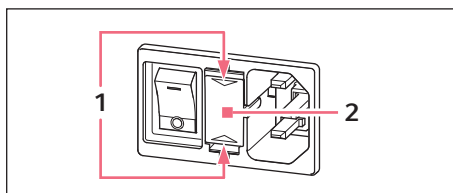
8.4 Changement de fusibles



DANGER ! Risque d'électrocution.

- ▶ Mettez l'appareil à l'arrêt et débranchez la fiche secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage

Le porte-fusibles se trouve entre la prise de branchement au secteur et l'interrupteur général.



1. Débranchez la fiche secteur.
2. Pressez les ressorts en plastique **1** situés en haut et en bas et retirez entièrement le porte-fusibles **2**.
3. Remplacez les fusibles défectueux et remplacez le porte-fusibles. Veillez à bien positionner le rail de guidage **3**.

8.5 Décontamination avant l'expédition

Veillez tenir compte des informations suivantes si vous expédiez l'appareil pour réparation au service technique autorisé ou à votre distributeur agréé pour l'éliminer :



AVERTISSEMENT ! Risque pour la santé à cause d'appareils contaminés.

1. Observez les remarques du certificat de décontamination. Vous trouverez ce dernier sous forme de document PDF sur notre site internet (www.eppendorf.com/decontamination).
 2. Décontaminez toutes les pièces que vous désirez expédier.
 3. Complétez le certificat de décontamination et joignez-le à votre colis.
-

9 Résolution des problèmes

9.1 Pannes générales

Erreur	Origine	Dépannage
Les résultats des mesures sont imprécis.	<ul style="list-style-type: none"> • La date de péremption du réactif est dépassée. • Réactif non préparé correctement. • Pipetage incorrect. • Déroulement incorrect de l'incubation avant la mesure. • Cuve sale. • Cuve pas remplie entièrement et la solution de mesure contient des bulles. • Solution de mesure troublée. • Le spectrophotomètre dérive. • Puits de cuve encrassé. • Fluorimétrie : les substances parasites renforcent ou affaiblissent le signal de fluorescence. • Fluorimétrie : le couvercle du puits de la cuve n'est pas fermé. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Vérifiez que la date de péremption du réactif n'est pas encore dépassée et qu'il est correctement préparé. ▶ Utilisez pour la préparation, le cas échéant, de l'eau déminéralisée pure et de qualité suffisante. ▶ Assurez-vous que la pipette est calibrée et fonctionne correctement. ▶ Dans la mesure où l'application nécessite une incubation avant la mesure, assurez-vous que la température et le temps d'incubation sont bien respectés. ▶ Nettoyez et rincez la cuve. En cas d'échange de cuve, veillez à préserver la propreté de la fenêtre optique et à ne pas mettre vos doigts dessus. ▶ Lorsque la fenêtre de la cuve est salie par des traces de doigt, nettoyez-la avec un chiffon non pelucheux imbibé d'éthanol ou d'isopropanol. ▶ Assurez-vous que le volume minimum requis dans la cuve pour une mesure est atteint, et que la solution de mesure est exempte de bulles. ▶ Centrifugez les solutions de mesure troubles, contenant des particules et utilisez la fraction surnageante claire. ▶ Veuillez vous adresser au S.A.V. Eppendorf. ▶ Respectez les conditions d'environnement prescrites. ▶ Évitez les variations de température. ▶ Nettoyez le puits de la cuve. ▶ Éliminez les substances parasites. Si vous ne pouvez pas éliminer les substances parasites, la technique de mesure Fluorimétrie ne peut pas être utilisée. ▶ Avant les mesures, refermez le couvercle du puits de la cuve.

Erreur	Origine	Dépannage
Les résultats de la mesure sont incorrects.	<ul style="list-style-type: none"> • Méthode mal programmée. • Solution étalon non préparée correctement. • L'absorbance du réactif dérive. • La cuve n'est pas positionnée correctement. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Vérifiez que les paramètres de la méthode ont été saisis correctement. ▶ Assurez-vous que le bon standard est utilisé et que la solution de mesure pour le standard est préparée correctement. ▶ En cas d'absorbance instable du réactif associée à des méthodes au point final : lors de la mesure d'une grande série d'échantillons, mesurez la valeur à blanc du réactif non seulement au début, mais aussi pendant la série. En cas de forte dérive de la valeur à blanc du réactif, le réactif n'est pas adapté à des mesures exemptes d'erreurs, il faut donc le remplacer par un nouveau réactif. ▶ Positionnez la cuve dans le puits de manière à orienter les fenêtres optiques dans le sens du faisceau lumineux. ▶ Faisceau lumineux photométrie : de l'arrière vers l'avant ▶ Faisceau lumineux fluorimétrie : de droite à gauche

9.2 Messages d'erreur

Vous pouvez faire disparaître les messages d'erreur s'affichant sur l'appareil avec la touche programmable [OK].

Les erreurs de système requièrent une évaluation par le service technique. Ces erreurs sont affichées en anglais (**System error ...**). Dans ce cas, veuillez vous adresser au service technique. Les autres messages d'erreur auxquels vous pouvez remédier vous-même sont listés dans le tableau suivant.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Échec de l'auto-test.	<ul style="list-style-type: none"> Le couvercle du puits de la cuve était ouvert lors de l'auto-test. Le puits de la cuve n'était pas vide lors de l'auto-test. 	<ul style="list-style-type: none"> Refaites l'auto-test avec un puits vide et un couvercle fermé.
	<ul style="list-style-type: none"> L'appareil est défectueux. 	<ul style="list-style-type: none"> Veuillez vous adresser au S.A.V. Eppendorf.
Le fichier n'a pas pu être exporté.	Lors de l'exportation des données : <ul style="list-style-type: none"> Clé USB mal formatée ou défectueuse. Clé USB retirée trop tôt de l'appareil (pendant l'exportation). 	<ul style="list-style-type: none"> Reformatez la clé USB ou la remplacez. Reconnectez la clé USB et recommencez l'exportation.
L'imprimante n'a pas pu être réinitialisée.	<ul style="list-style-type: none"> Imprimante non connectée ou éteinte. Imprimante mal configurée. 	<ul style="list-style-type: none"> Branchez l'imprimante et allumez-la. Reconfigurez l'imprimante. Les réglages requis pour une bonne configuration de l'imprimante se trouvent dans le descriptif de l'installation (voir <i>Raccorder l'imprimante au port USB à la page 20</i>).
Mesure du blanc : L'intensité d'un pixel ayant une influence sur une longueur d'onde de balayage ou sur une longueur d'onde principale ou secondaire est trop faible.	<ul style="list-style-type: none"> La solution témoin utilisée pour la mesure du blanc a une extinction trop élevée. Solution témoin erronée ou trouble. Pour les balayages : plage de longueurs d'onde trop grande, car l'échantillon absorbe beaucoup de lumière sur une partie de la plage de longueurs d'onde. 	<ul style="list-style-type: none"> Contrôlez la solution témoin, le cas échéant, refaites la mesure du blanc. Pour les balayages : adaptez la plage de longueurs d'onde au spectre de l'échantillon.
Mesure de blanc : l'émission au niveau de la longueur d'onde de mesure est trop élevée.	<ul style="list-style-type: none"> La solution témoin utilisée pour la mesure des blancs a une fluorescence trop élevée. Solution témoin erronée ou trouble. 	<ul style="list-style-type: none"> Contrôlez la solution témoin et refaites la mesure du blanc.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Le nom saisi n'est pas valable.	<ul style="list-style-type: none"> • Erreur de saisie des noms. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Voir l'information de la fenêtre d'aide.
Il existe déjà une application (ou un dossier, colorant, protéine, acide nucléique, unité) portant ce nom.	<ul style="list-style-type: none"> • Le nom sous lequel est enregistrée l'application a déjà été utilisé pour une autre application du même dossier. • Le message apparaît également lorsque des noms déjà donnés ont été édités pour un dossier ou un (sous General Method Parameter) un acide nucléique (colorant, protéine, unité de concentration). 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Modifiez les noms.
Les valeurs de paramètres suivantes ne sont pas définies dans General Method Parameter :	<ul style="list-style-type: none"> • Lors de l'ouverture d'une application dont les paramètres sont issus de General Method Parameter, on a constaté qu'au moins un paramètre (colorant, acide nucléique, protéine, unité) n'existe plus, et a donc vraisemblablement été effacé. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Sélectionnez un autre paramètre dans la liste existante. Si nécessaire, programmez dans General Method Parameter une nouvelle entrée pour pouvoir y accéder lors de la programmation d'une application.
La valeur du paramètre marqué * n'est pas défini dans Gen. Meth. méth. gén. Veuillez corriger le paramètre.	<p>Ce message d'erreur s'affiche au moment de l'édition des paramètres de l'application.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Le paramètre n'est pas défini dans General Method Parameter. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Sélectionnez un autre paramètre dans la liste existante. Si nécessaire, programmez dans General Method Parameter une nouvelle entrée pour pouvoir y accéder lors de la programmation d'une application.
Intervalle de zoom invalide.	<p>En cas de zoom avec saisie libre des limites (touche programmable [Free]) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les valeurs seuils de la plage de zoom ont été dépassées. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Entrez les valeurs de manière à ce que l'intervalle ne soit pas inférieur aux valeurs limites de 0,02 Å et 10 nm.
Les concentrations étalons entrées n'ont pas une croissance ou une décroissance monotone. Corriger les concentrations standard.	<ul style="list-style-type: none"> • Voir texte d'erreur. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Veuillez saisir les concentrations standards de telle manière à ce que le premier standard comprenne la concentration la plus faible, et que les autres concentrations standards forment une suite croissante.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Au moins deux concentrations étalons entrées sont identiques. Corriger les concentrations standard.	<ul style="list-style-type: none"> • Voir texte d'erreur. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Veuillez saisir les concentrations standards de telle manière à ce que le premier standard comprenne la concentration la plus faible, et que les autres concentrations standards forment une suite croissante.
Mesures pas strictement monotones !	<ul style="list-style-type: none"> • Erreur lors de la mesure d'une série standard : Les valeurs d'absorbance mesurées pour la série standard ne forment pas une séquence homogène de valeurs croissantes ou décroissantes. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Refaites les mesures standards ou effacez le résultat de mesure standard erroné.
L'ID ne peut pas être défini.	<ul style="list-style-type: none"> • Erreur à l'entrée de l'ID de l'échantillon. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Voir l'information de la fenêtre d'aide.
La dilution ne peut pas être définie.	<ul style="list-style-type: none"> • Erreur à l'entrée de la dilution. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Voir l'information de la fenêtre d'aide.
Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Résultat d'absorbance ou formule du paramètre "b" égaux à zéro.	<ul style="list-style-type: none"> • Lors de l'évaluation d'une application de type Division (groupe d'applications Dual wavelength), une division par un résultat d'absorbance de valeur "zéro" a dû être effectuée. C'est mathématiquement impossible. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure. ▶ N'attribuez pas la valeur "zéro" à la formule du paramètre b.
Seule une mesure peut encore être réalisée dans cette série de mesures. Le nombre maximum de mesures dans une série de mesures est atteint.	<ul style="list-style-type: none"> • Le nombre de mesures d'une série de mesures est limité à 99. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Démarrez une nouvelle série de mesures au bout de 99 mesures maximum.

Résolution des problèmes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Intervalle de zoom invalide.	<p>Erreur à l'étape process results de l'application en mode zoom.</p> <p>Plage de zoom autorisée pour l'échelle des longueurs d'onde :</p> <ul style="list-style-type: none">• Intervalle des longueurs d'onde d'au moins 10 nm• Saisie des longueurs d'onde uniquement dans la plage programmée pour l'application dans les paramètres. <p>Plage de zoom autorisée pour l'échelle d'extinction :</p> <ul style="list-style-type: none">• Intervalle minimum d'absorbance 0,02 A• Limite supérieure et inférieure pour l'intervalle d'absorbances +3 A ou -3 A	<p>► Pendant le zoom, observez les limites mentionnées.</p>

9.3 Repérage des résultats

Les avertissements et messages d'erreur concernant les résultats s'affichent dans la fenêtre d'aide en bas à droite de l'affichage. En cas d'avertissement, la ligne d'en-tête de la fenêtre d'aide a un fond jaune, et en cas de message d'erreur, le fond est rouge.

Avertissements : à partir de l'avertissement affiché, déterminez si vous pouvez exploiter le résultat.

Messages d'erreur : Aucun résultat n'est affiché; des informations sont affichées à ce sujet dans le message d'erreur.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
La courbe standard n'est pas monotone. Veuillez sélectionner un autre Curve Fit.	<ul style="list-style-type: none"> Lors de l'évaluation d'une courbe standard avec le procédé Curve Fit "rainure d'interpolation", "régression quadratique" ou "régression cubique", aucun résultat exploitable n'a été obtenu. 	<ul style="list-style-type: none"> Choisissez un autre procédé Curve Fit.
Certaines valeurs d'absorbance à des longueurs d'onde secondaire sont trop élevées et ne sont pas affichées.	<ul style="list-style-type: none"> Pour au moins une longueur d'onde secondaire, l'extinction était au-dessus de la plage de mesure. Des longueurs d'onde secondaire n'ont pas été intégrées au calcul du résultat de concentration mais utilisées à d'autres fins. Par ex. application dsDNA: absorbance à une longueur d'onde de 280 nm pour le calcul du rapport 260/280. Solution de mesure troublée. Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique. 	<ul style="list-style-type: none"> Si les valeurs d'absorbance des longueurs d'onde secondaires sont importantes pour le calcul : diluez l'échantillon ou éliminez le trouble par centrifugation et refaites la mesure.
Le résultat se trouve en dehors de la plage des concentrations standards.	<ul style="list-style-type: none"> Pour les applications avec évaluation des valeurs sur les courbes standards (procédé d'évaluation non linéaire) : le résultat de l'échantillon est de max. 5 % en dehors des plages de concentrations par défaut. 	<ul style="list-style-type: none"> Acceptez le résultat de la mesure ou remesurez l'échantillon dans des conditions dans lesquelles les concentrations standards se trouvent dans la plage (diluez l'échantillon ou modifiez les concentrations standards et remesurer).

Résolution des problèmes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Le coefficient de détermination est < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> • Pour les applications avec évaluation des séries standards d'après le procédé de régression : le coefficient de détermination de la régression signale un net écart des points de mesure par rapport à la droite de régression. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Acceptez le résultat de l'évaluation standard ou remesurez les standards. ▶ Les solutions de mesure doivent être claires.
Le coefficient de détermination nécessaire à l'évaluation de l'analyse de régression de la série étalon est < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> • Pour les applications d'évaluation des séries standards basées sur le procédé de régression : un avertissement apparaît après la mesure des échantillons si les résultats de la série standard n'étaient pas linéaires mais si l'évaluation standard a été acceptée par l'utilisateur. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Utilisez les résultats des échantillons sous la réserve mentionnée ou remesurez la série standard et les échantillons.
Balayage : certaines extinctions mesurées sont trop élevées et ne sont pas affichées.	<ul style="list-style-type: none"> • Pour au moins une longueur d'onde secondaire du balayage, l'extinction était au-dessus de la plage de mesure. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Si les parties du balayage non affichées sont importantes : diluez l'échantillon ou éliminez le trouble par centrifugation et refaites la mesure.
Extinction trop élevée à la longueur d'onde de mesure. Emission trop élevée à la longueur d'onde de mesure.	<ul style="list-style-type: none"> • Solution de mesure troublée. • Surfaces optiques de la cuve poussiéreuses. • Cuve mal positionnée dans le puits. • Photométrie : extinction trop élevée de la solution de mesure. Fluorimétrie : émission trop élevée de la solution de mesure. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Remesurez en prenant en compte les origines.
Le résultat calculé est négatif.	<ul style="list-style-type: none"> • La solution de mesure est mal positionnée. • Le facteur a été mal saisi (signe erroné). 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Remesurez en prenant en compte les origines.
Au moins un des résultats est négatif.	<ul style="list-style-type: none"> • Pour les applications avec plusieurs résultats (par ex. Dye labels). • La solution de mesure est mal positionnée. • Le facteur a été mal saisi (signe erroné). 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Remesurez en prenant en compte les origines.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Le résultat comporte 6 emplacements avant la virgule.	<ul style="list-style-type: none"> • Concentration de l'échantillon très élevée. • L'unité de concentration ne correspond pas à la plage attendue des concentrations de l'échantillon. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Diluez l'échantillon et refaire la mesure. ▶ Modifiez l'unité de concentration (paramètre Unit) et remesurez.
Le résultat se trouve à plus de 5 % en dehors de la plage des concentrations standards.	<ul style="list-style-type: none"> • Pour les applications avec évaluation des courbes standards (procédé d'évaluation non-linéaire) : Le résultat de l'échantillon se trouve à plus de 5 % en dehors de la plage des concentrations standards. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Remesurez l'échantillon dans des conditions dans lesquelles le résultat se trouve dans la plage des concentrations standards (diluez l'échantillon ou modifiez les concentrations standards et remesurer).
<ul style="list-style-type: none"> • Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Le résultat d'absorbance est égal à zéro. • Erreur lors du calcul. Division par zéro. 	<ul style="list-style-type: none"> • Lors de l'évaluation, le résultat d'absorbance a dû être divisé par "zéro". C'est mathématiquement impossible. Exemples : calcul d'un facteur pour le dosage direct à un point ; calcul d'un rapport 260/280 pour les mesures d'acide nucléique. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure.
Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Résultat d'absorbance ou formule du paramètre b égaux à zéro.	<ul style="list-style-type: none"> • Lors de l'évaluation d'une application de type Division (groupe d'applications Dual wavelength), une division par un résultat d'absorbance de valeur "zéro" a dû être effectuée. C'est mathématiquement impossible. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure. ▶ N'attribuez pas la valeur "zéro" à la formule du paramètre b.

Résolution des problèmes

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

10 Transport, stockage et mise au rebut

10.1 Transport

- ▶ Utiliser l'emballage d'origine pour le transport.

	Température de l'air	Humidité relative de l'air	Pression atmosphérique
Transport général	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Fret aérien	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

10.2 Stockage

	Température de l'air	Humidité relative de l'air	Pression atmosphérique
dans l'emballage de transport	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
sans emballage de transport	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

10.3 Mise au rebut

Si le produit doit être éliminé, observer les règles applicables dans l'Union Européenne.

Informations sur la mise au rebut des appareils électriques et électroniques :

Au sein de l'Union Européenne, l'élimination des appareils électriques est régie par les lois nationales basées sur la Directive Européenne 2012/19/EU relatives aux déchets d'équipements électriques et électroniques (WEEE).

Selon ces règles, certains appareils vendus après le 13 août 2005 en B2B seulement ne peuvent plus être éliminés avec les ordures ménagères ni ramassés avec les encombrants. Cela est indiqué par l'identifiant suivant :



Comme les règles de mise au rebut peuvent différer d'un pays à l'autre dans l'UE, veuillez contacter le cas échéant votre fournisseur.

11 Données techniques

11.1 Alimentation électrique

Tension d'alimentation	100 V à 240 V \pm 10 %, 50 Hz à 60 Hz
Catégorie de surtension	II
Degré de contamination	2
Puissance absorbée	Puissance maximum susceptible d'apparaître, selon plaque d'identification : 25 W Env. 15 W pendant l'exploitation Env. 5 W avec affichage dimmé
Coupure secteur admissible	Env. 10 ms à 90 V Env. 20 ms à 230 V
Classe de protection	I
Fusibles	T 2,5 A/250 V, 5 mm \times 20 mm (2 pcs)

11.2 Conditions ambiantes

Fonctionnement	Température ambiante : 15 °C à 35 °C Humidité rel. de l'air : 25 % à 70 % Pression atmosphérique : 86 kPa à 106 kPa
Pression atmosphérique	Peut être utilisé jusqu'à une altitude de 2000 m au-dessus du niveau de la mer

Protéger des rayons directs du soleil.

11.3 Poids/dimensions

Poids	5,4 kg
Dimensions	Largeur : 295 mm Profondeur : 400 mm Hauteur : 150 mm
Encombrement	Largeur : 500 mm (avec thermo-imprimante : 750 mm) Profondeur : 500 mm

Données techniques

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

11.4 Propriétés photométriques

Principe de la mesure	Spectrophotomètre d'absorption mono-rayon avec faisceau de référence
Source lumineuse	Lampe flash au xénon
Décomposition spectrale	Grille holographique concave avec correction des aberrations
Récepteur du rayonnement	Rangée de photodiodes CMOS
Longueurs d'onde	200 nm à 830 nm
Sélection de la longueur d'onde	Librement configurable suivant la méthode utilisée
Largeur de bande passante spectrale	≤ 4 nm
Incrément minimum	1 nm
Erreur systématique de la longueur d'onde	± 1 nm
Erreur aléatoire de la longueur d'onde	$\leq 0,5$ nm
Plage de mesure photométrique	0 A à 3,0 A pour 260 nm
Exactitude de la lecture	$\Delta A = 0,001$
Erreur aléatoire du photomètre	$\leq 0,002$ pour A = 0 $\leq 0,005$ (0,5 %) pour A = 1
Erreur systématique du photomètre	± 1 % pour A = 1
Lumière parasite	$< 0,05$ %

11.5 Fluorimètre

Principe de mesure	Fluorimètre à filtre confocal avec faisceau de référence
Source lumineuse	DEL
Décomposition spectrale	Structure du filtre avec des dichroïdes et filtre passe-haut
Réception de radiations	Photodiode
Longueur d'onde d'excitation	470 nm Largeur de bande : 25 nm
Longueur d'onde d'émission I	520 nm Largeur de bande : 15 nm
Longueur d'onde d'émission II	560 nm Largeur de bande : 40 nm
Plage de mesure	0,5 nM à 1 000 nM de fluorescéine (longueur d'onde d'émission 520 nm)
Erreur aléatoire du fluorimètre	± 2 % avec 1 nM de fluorescéine (longueur d'onde d'émission 520 nm)

11.6 Paramètres techniques supplémentaires

Matériau de la cuve	Pour les mesures UV : Verre de quartz ou plastique transparent aux UV (UVette d'Eppendorf, 220 nm à 1600 nm) Pour les mesures effectuées dans la gamme visible : Verre ou plastique
Puits de cuve	12,5 mm × 12,5 mm, sans thermostatisation
Hauteur totale des cuves	Min. 36 mm
Hauteur du faisceau lumineux dans la cuve	8,5 mm
Clavier	22 touches tactiles 6 touches tactiles programmables
Publication du résultat	Extinction, transmission, concentration, balayage (spectre de longueurs d'onde d'extinction) Données complémentaires suivant la méthode utilisée (rapport, FOI, extinctions d'arrière-plan) Fluorimétrie : RFU, concentration
Affichage	Écran TFT VGA 5,7"
Langues proposées	Anglais, français, espagnol, italien, allemand, japonais
Interfaces	USB maître : pour clé USB et imprimante thermique DPU-S445 USB esclave : pour connexion à un PC Port série RS 232 : Imprimante thermique DPU-414 Interface Ethernet RJ45 : Pour connexion secteur Les appareils connectés doivent être conformes aux exigences de sécurité de la directive CEI 60950-1.

Données techniques

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

11.7 Paramètres d'application

Méthodes	<p>Méthodes pré-programmées et méthodes programmables pour tous les procédés d'évaluation et de mesure :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mesures de l'extinction à une ou plusieurs longueurs d'onde, balayages • Mesure de la transmission à une longueur d'onde • Mesures de la fluorescence à 520 nm ou 560 nm • Acides nucléiques et protéines, OD600, méthodes avec colorant (mesure parallèle de la biomolécule et du marquage de colorant) • Méthodes d'évaluation avec facteur, standard et série standard • Procédé de mesure à deux longueurs d'onde avec évaluation par soustraction et division
Évaluation en fonction de la méthode appliquée	<p>Extinction, concentration avec facteur et standard. RFU, concentration avec standard Concentration avec série standard :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pour les procédés cinétiques évalués à l'aide du procédé "Régression linéaire", vous pouvez définir ultérieurement les débuts et les fins de l'évaluation par régression dans l'étape process results. • Régression non linéaire (polynôme de 2ème et 3ème degré) • Évaluation avec rainure d'interpolation • Interpolation linéaire (évaluation point-à-point) <p>Calculs de l'extinction via soustraction et division Données complémentaires pour acides nucléiques : rapport 260/280 et 260/230 ; concentration molaire, rendement total Données complémentaires pour méthodes Dye : FOI (Frequency of incorporation, densité de marquage) Balayages : zoom, évaluation des pics</p>
Mémoire de méthode	> 100 programmes de méthode
Mémoire des valeurs mesurées et étalonnage mémorisé	<p>Mémoire capable de contenir > 1 000 résultats avec toutes les données d'évaluation des résultats et standards, numéro d'échantillon, nom d'échantillon, date et kit de paramètres utilisé dans le programme de méthodes (Le nombre de résultats enregistrés est fonction du nombre de méthodes enregistrées.)</p>

12 Procédés d'évaluation

Ce chapitre est consacré aux procédés d'évaluation proposés dans les programmes de méthodes ainsi qu'au calcul d'une dilution, qui sera effectuée par le logiciel de l'appareil.



Lors de la comparaison des résultats obtenus ici avec ceux d'autres photomètres/spectrophotomètres, n'oubliez pas que les valeurs risquent de varier suivant la largeur de bande des appareils. Ces écarts risquent d'être particulièrement élevés dans les cas suivants :

- Le spectre d'absorbance présente un pic étroit dans la longueur d'onde de mesure.
- La mesure n'est pas réalisée au maximum mais sur le flanc d'un pic.

C'est pourquoi, vérifiez que la méthode est correcte en mesurant des étalons. En fluorimétrie, les valeurs RFU obtenues sur différents appareils ne sont pas comparables mais doivent toujours être vues en relation avec les étalons d'une fluorescence ou concentration connue.

12.1 Valeurs d'absorbance

Les valeurs de l'absorbance sont représentées comme A_{XXX} (XXX étant la longueur d'onde). Ces affichages correspondent toujours aux valeurs mesurées directement, c'est-à-dire sans correction, pour être ensuite prises en compte dans l'évaluation, comme par ex. les corrections des trajets optiques de la cuve ou les corrections d'arrière-plan.

12.1.1 Blanc

Les valeurs de l'absorbance se rapportent toujours à la dernière valeur à blanc mesurée. C'est pourquoi, la valeur à blanc sera mesurée obligatoirement au début de chaque série et à un moment quelconque de la série de mesures. Dans le cas idéal, la mesure à blanc devrait pouvoir compenser tous les effets susceptibles d'influencer l'absorbance d'une solution de mesure. C'est pourquoi, la valeur à blanc devrait être mesurée avec le tampon utilisé pour mesurer l'échantillon et dans la même cuve que celle utilisée pour déterminer la valeur de l'échantillon – sauf si les cuves utilisées pour la mesure de la valeur à blanc et de l'échantillon ont fait l'objet d'une compensation optique, c'est-à-dire si elles ont la même absorbance à la longueur d'onde de mesure.

12.1.2 Correction d'arrière-plan

Application principale : correction partielle des altérations de l'absorbance lors des mesures de l'acide nucléique, causées par des turbidités dans la solution de mesure. Par exemple, l'absorbance mesurée à 320 nm, qui devrait être de l'ordre d'env. 0 A pour les acides nucléiques purs, sera soustraite de l'absorbance mesurée à 260 nm, la longueur d'onde de mesure des acides nucléiques.

$$A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$$

$A_{XXX, corrArPlan}$ = absorbance corrigée par calcul à la longueur d'onde XXX nm.

A_{XXX} = absorbance mesurée à la longueur d'onde XXX nm.

A_{ArPlan} = absorbance mesurée à la longueur d'onde d'arrière-plan.

Procédés d'évaluation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

12.1.3 Correction de la cuve

Les valeurs de l'absorbance prises en compte dans les calculs des résultats, sont normalisées sur une cuve présentant un trajet optique de 10 mm. Si une cuve est utilisée avec un autre trajet optique, ce dernier devra être défini dans le paramètre **Cuvette**. Les absorbances mesurées seront alors corrigées avant la conversion des échantillons pour obtenir des résultats avec une cuve présentant un trajet optique de 10 mm.

Cette correction s'applique aux :

- méthodes d'évaluation avec facteur.
- méthodes du groupe **Absorbance**, avec l'édition limitée aux valeurs d'absorbance.

La correction ne s'applique pas aux :

- méthodes d'évaluation avec standards car on suppose que les standards et les échantillons sont mesurés dans des cuves présentant le même trajet optique.
- calculs avec division : méthode **Division** (groupe de méthodes **Dual wavelength**) et calcul des rapports comme A_{260}/A_{280} (pour les mesures d'acide nucléique).

$$A_{XXX,corrCuv} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

$A_{XXX,corrCuv}$ = absorbance corrigée mathématiquement à la longueur d'onde XXX nm.

A_{XXX} = absorbance mesurée à la longueur d'onde XXX nm.

Cuv = trajet optique de la cuve.

12.2 Transmission

Dans le groupe de méthodes **Absorbance**, vous pouvez outre l'extinction pure déterminer la transmission exprimée en pourcentage (T%).

$$T [\%] = 10^{-A} \times 100$$

A = extinction

T = transmission

12.3 Évaluation avec facteur ou standard

$$C = A \times F$$

C = concentration calculée.

A = absorbance.

F = facteur.

Le facteur est programmé dans la liste de paramètres et peut être modifié. Il se rapporte toujours au trajet optique de 10 mm. Si vous modifiez le paramètre **Cuvette**, l'appareil tiendra compte de la modification lors du calcul du résultat. Vous ne devez donc pas modifier le facteur pour effectuer l'évaluation.

Si vous modifiez l'unité de la concentration, vous devrez veiller à ce que le facteur soit adapté à l'unité choisie.

Le facteur est soit saisi directement comme paramètre dans le procédé d'évaluation "Factor" soit calculé dans le procédé "Standard" (évaluation avec une concentration standard) :

$$F = \frac{C_S}{A_S}$$

F = facteur calculé.

C_S = concentration du standard (saisie sous forme de paramètre).

A_S = absorbance mesurée pour le standard.

Si vous avez programmé une mesure multiple pour l'évaluation avec standard (2 ou 3 réplicats), la valeur médiane sera formée à partir des absorbances des réplicats et définie comme A_S .

12.4 Évaluation avec courbe / droite de standards

Si vous faites les évaluations avec plus d'un standard, utilisez [Curve fit] dans l'étape **measure standards/new** pour sélectionner les procédés d'évaluation suivants de la courbe/droite de standards :

Procédé d'évaluation	Description	Nombre minimum de points standards
linear interpolation	Liaison point-à-point linéaire du graphique absorbance-concentration utilisé pour l'évaluation standard.	Au moins 2 standards.
linear regression	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de premier degré.	Au moins 3 standards.
quadratical regression	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de deuxième degré.	Au moins 4 standards.
cubical regression	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de troisième degré.	Au moins 5 standards.
spline interpolation	Interpolation réalisée avec des splines cubiques naturelles.	Au moins 3 standards.

Pour le procédé de régression, vous pouvez également faire passer la droite de régression (courbe de régression) par le point zéro.



- Pour les droites de calibration, utilisez le procédé "linear regression".
- Pour les courbes, testez le procédé d'évaluation (régression carrée, régression cubique, rainure d'interpolation) qui permet d'obtenir la fonction la mieux adaptée à l'évaluation standard. La rainure d'interpolation relie les points de mesure par des polynômes cubiques alors que les procédés d'évaluation par régression placent une fonction carrée ou cubique entre les points de mesure de manière à obtenir des écarts minimum par rapport à la fonction.
- Les procédés d'évaluation par régression utilisent, outre l'équation de régression, le coefficient de détermination (coefficient of determination) afin de définir la dispersion des points de mesure autour de la fonction calculée. À une valeur < 0,8 du coefficient de détermination, le résultat est accompagné d'un avertissement.
- Si le premier standard a la concentration "0", sélectionnez le réglage permettant de faire passer la droite de régression (courbe de régression) par le point zéro.
- Si aucun des procédés recommandés pour les courbes ne donne de résultats corrects, sélectionnez le procédé "linear interpolation".

12.5 Dilution

Les dilutions indiquées dans l'étape **measure samples** sont prises en compte dans le calcul des résultats :

$$C_{Dil,korr} = C \times \frac{V_P + V_{Dil}}{V_P}$$

$C_{dil, corr}$ = résultat converti à l'aide du facteur de dilution

V_P = volume de l'échantillon contenu dans la solution de mesure

V_{dil} = volume de diluant contenu dans la solution de mesure

12.6 Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV

Ce chapitre est consacré à l'évaluation des acides nucléiques et/ou protéines contenues dans les groupes **Nucleic acids** et **Proteins direct UV** ainsi que des composants de la biomolécule correspondants du groupe **Dye labels**.

12.6.1 Correction A_{260} et correction A_{280}

Application : correction de l'influence de l'extension du colorant sur l'extinction de l'acide nucléique et/ou des protéines à 260 et 280 nm, dans les méthodes du groupe **Dye labels**.

L'application du procédé d'évaluation peut être activée dans les paramètres **Correct A260** et **Correct A280**.

$$A_{XXX,corr} = A_{XXX} - CF \times A_{YYY}$$

$A_{XXX, corr}$ = extinction corrigée par calcul, à la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm

A_{XXX} = extinction mesurée à la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm

CF = facteur de correction pour la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm (les deux facteurs de correction utilisées à 260 nm et 280 nm sont spécifiques à un colorant et sont programmés dans **General Method Parameter : Dyes** dans la partie **Functions**).

A_{YYY} = extinction mesurée à la longueur d'onde du colorant.



Les valeurs d'extinction représentées dans les affichages des résultats sont les valeurs d'extinction mesurées directement, sans correction.

Procédés d'évaluation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

12.6.2 Rapport A260/A280 et rapport A260/A230

Application : Informations sur la pureté de l'acide nucléique mesuré. L'analyse des ratios **A260/A280** et **A260/A230** est activée dans les paramètres de méthode.

"Ratio" désigne le quotient des extinctions mesurées aux longueurs d'onde désignées.

Valeurs indiquées dans la littérature pour les rapports définis avec des acides nucléiques purs :

A260/A280

- ADN : de 1,8 à 1,9
 - ARN : de 1,9 à 2,0
- (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A230 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'extinction.

Pour le rapport A260/A230, on trouve différentes valeurs d'acide nucléique purs dans la littérature :

- ADN : de 2,3 à 2,5
(The Nucleic Acids, 1955)
- ADN : 1,9
(Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Les valeurs varient fortement suivant le pH. C'est pourquoi, les acides nucléiques ne devraient pas être mesurés dans l'eau, mais dans un tampon à un pH compris entre 7 et 7,2 (par ex. tampon TE).

12.6.3 Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques

La conversion ne peut être appliquée qu'aux acides nucléiques et aux méthodes avec colorant et acides nucléiques comme composant de la biomolécule. Elle a lieu dans l'étape **process results/More calculations**.

12.6.3.1 Calcul de la quantité

Application : Calcul de la quantité (masse) d'acide nucléique dans le volume d'échantillon total.

$$M = C \times V_{P,gesamt}$$

M = quantité totale calculée (masse) d'acide nucléique dans le récipient de réaction. Unité : µg.

C = concentration d'acide nucléique calculée à partir de la mesure. Unité : µg/mL ou ng/µL.

$V_{P, total}$ = volume total d'échantillon contenu dans le récipient de réaction. Entrez cette valeur dans **More calculations**. Unité : µL.

12.6.3.2 Calcul de la concentration molaire

Application : calcul de la concentration molaire d'acide nucléique à partir de la concentration massique et la masse molaire relative. La masse molaire est entrée soit directement, soit calculée par l'appareil à partir du nombre de bases ou de paires de bases calculé par molécule d'acide nucléique.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

C_{mol} = concentration molaire d'acide nucléique calculée. Unité : pmol/mL.

C = concentration molaire d'acide nucléique calculée à partir de la mesure. Unité : µg/mL ou ng/µL.

MM = masse molaire relative. Unité : kDa

Si vous avez entré le nombre de bases ou de paires de bases par molécule d'acide nucléique au lieu de la masse molaire relative dans **More calculations**, MM est sera calculé à partir du nombre de bases ou paires de bases :

Pour **dsDNA** :

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Pour **ssDNA, RNA, Oligo** :

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = masse molaire relative calculée ; unité : kDa

bp = nombre de paires de bases saisi par molécule

b = nombre de bases saisi par molécule



- Pour **dsDNA**, la concentration molaire est calculée avec une acide nucléique à double brin. Pour les méthodes **ssDNA, RNA** et **Oligo**, on supposera une acide nucléique à simple brin.
- Pour les méthodes qui ont été reprogrammées dans le groupe principal **Routine**, groupe **Nucleic acids** via **<New Method>**, la concentration molaire sera toujours calculée à partir d'acides nucléiques à double brin.

12.6.4 Calcul du facteur pour la protéine dans « General Method Parameter »

Cette section ne s'applique qu'au calcul du composant de la protéine dans les groupes **Dye labels** et **Proteins direct UV**. Ici, le composant de la protéine est sélectionné dans les paramètres (voir *Paramètres des méthodes* à la page 39). Le composant de la protéine est lié à un facteur qui est saisi dans la fonction **General Method Parameter/Proteins** pour chaque protéine. Au lieu du facteur, vous pouvez également saisir soit $A_{0,1\%}$ soit le coefficient d'extinction plus la masse molaire de la protéine. Dans ce cas, le facteur est calculé de la manière suivante :

$$F_P = \frac{1}{A_{0,1\%}}$$

F = facteur de la protéine ; unité : g/L.

$A_{0,1\%}$ = extinction de la protéine à une concentration de 0,1 % (1 g/L).

Le coefficient d'extinction molaire et la masse molaire relative de la protéine serviront au calcul de, $A_{0,1\%}$:

$$A_{0,1\%} = \frac{\varepsilon_P}{MM_P}$$

ε_P = coefficient d'extinction de la protéine ; unité : $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$.

MM_P = masse molaire relative de la protéine ; unité : Da (saisie dans **General Method Parameter** en kDa).

12.7 Procédures d'évaluation spéciales pour méthodes Dye

12.7.1 Calcul du facteur pour le colorant du coefficient d'extinction

Pour les méthodes Dye, la concentration du colorant est calculée avec un facteur issu de l'extinction mesurée (voir *Évaluation avec facteur ou standard* à la page 105). Le facteur est saisi pour chaque colorant dans la fonction **General Method Parameter/Dyes**. Au lieu de saisir le facteur, il est possible de saisir le coefficient d'extinction. Dans ce cas, le facteur est calculé de la manière suivante :

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

F = facteur pour le colorant ; unité : pmol/ μL .

ε = coefficient d'extinction pour le colorant ; unité : $\text{cm}^{-1}\text{Mol}^{-1}\text{L}$.

12.7.2 Calcul de la FOI

Dans les méthodes Dye, la fréquence d'incorporation (FOI = Frequency of Incorporation) est calculée et affichée comme valeur du rapport entre les molécules de colorant et la quantité de nucléotides dans l'acide nucléique. Le calcul peut être sélectionné pour deux unités de résultats différentes :

Unité MOLÉCULE dye/kb

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

Unité pmol/µg ADN (ou ARN)

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

A_{YYY} = extinction du colorant.

A_{XXX} = extinction de l'acide nucléique.

MM_{nt} = masse molaire moyenne du nucléotide : 330 g/mol.

F_{NA} = facteur de calcul de l'acide nucléique

ϵ_{Dye} = coefficient d'extinction pour le colorant ; unité : $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

12.7.3 Calcul des quantités de colorant

Le calcul de la quantité (masse) de colorant dans le volume total de l'échantillon est effectué à l'étape **process results/More calculations** de la méthode.

$$M = C \times V_{P, total}$$

M = quantité totale calculée (masse) du colorant dans le récipient de réaction. Unité : pmol.

C = concentration du colorant calculée à partir de la mesure. Unité : pmol/µL.

$V_{P, gesamt}$ = volume total de l'échantillon dans le récipient de réaction ; saisi par l'utilisateur dans **More calculations**. Unité : µL.

12.8 Dual wavelength

Pour les méthodes du groupe **Dual Wavelength**, les extinctions qui ont été mesurées sur deux longueurs d'onde peuvent être déduites l'une de l'autre avant que l'extinction calculée ne soit intégrée à l'évaluation ultérieure avec facteur ou standard.

Pour déterminer l'extinction calculée, on peut définir dans les paramètres une évaluation par division ou par soustraction :

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

$$A_{calc} = [(a \times A_1) - (b \times A_2)] \times c + d$$

A_1, A_2 = extinctions mesurées.

a, b, c, d = facteurs saisis dans les paramètres. Il est également possible de saisir des valeurs négatives.

12.9 Fluorimétrie

12.9.1 Valeurs RFU

Relative Fluorescence Unit : les valeurs RFU sont une mesure pour la fluorescence mesurée. Contrairement aux valeurs d'extinction en photométrie, les valeurs RFU ne sont pas comparables d'appareil en appareil mais doivent toujours être basées sur les standards de la fluorescence ou concentration connue.

12.9.2 Blanc

Toutes les valeurs RFU sont toujours basées sur le dernier blanc mesuré (valeur à blanc).

Une mesure à blanc est donc obligatoire au début de chaque série de mesures et est également possible pendant une série de mesures. La mesure à blanc devrait idéalement pouvoir compenser toutes les possibilités d'influence sur la valeur RFU de la solution de mesure. Le blanc devrait donc être mesuré avec le tampon également utilisé pour la mesure des échantillons et dans la même cuve que la valeur de l'échantillon - à moins que les cuves utilisées pour la mesure à blanc et des échantillons soient ajustées visuellement l'une par rapport à l'autre, possèdent donc la même valeur RFU que pour la longueur d'onde de mesure.

12.9.3 Évaluation avec le standard et la courbe/droite standard, dilution

L'évaluation avec un standard ou avec une courbe/droite standard est analogue à l'évaluation des méthodes photométriques (voir *Évaluation avec facteur ou standard à la page 105*).

Si l'évaluation est réalisée avec plus d'un standard, il est possible de sélectionner avec la [Curve fit] dans l'étape de mesure **measure standards/new** différents procédés d'évaluation pour la courbe/droite standard (voir *Évaluation avec courbe / droite de standards à la page 106*).

Le calcul du résultat de la dilution s'effectue comme pour les méthodes photométriques (voir *Dilution à la page 107*).

Procédés d'évaluation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

13 Nomenclature de commande

Réf. (International)	Réf. (Amérique du Nord)	Description
6135 000.009 6135 000.017	– 6135000017	Eppendorf BioSpectrometer basic 230 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Europe 120 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Amérique du Nord
6137 000.006 6137 000.014	– 6137000014	Eppendorf BioSpectrometer fluorescence 230 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Europe 120 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Amérique du Nord
6137 928.009	6137928009	Ensemble de filtres référence pour BioSpectrometer fluorescence ensemble de filtres servant à vérifier la précision photométrique et les erreurs systématiques sur une longueur d'onde (certifié par le NIST) et la vérification de la fidélité fluorimétrique (erreur isolée) ainsi que la linéarité
6135 011.000 6135 010.004 6135 012.007	6135010004	Thermal Printer DPU-S445 avec câble d'alimentation et câble d'imprimante 230 V, EU 115 V/110V, USA, JP 230 V, UK
0013 021.566	952010409	Papier thermique 5 rouleaux
0030 106.300	952010051	Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm Original Eppendorf cuvette en plastique, PCR clean, Protein-free 50 - 2 000 µL, 80 pièces, emballées individuellement
0030 106.318	952010069	Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm Eppendorf Quality 50 - 2 000 µL, 200 pièces, boîte refermable
0030 079.345	0030079345	Eppendorf macro Vis Cuvettes 10 × 100 pièces
0030 079.353	0030079353	Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes 10 × 100 pièces
0030 119.851	0030119851	Eppendorf Cuvette Rack 36 emplacements, pour de cuves en verre et en plastique, emplacements numérotés 2 unités, polypropylène, autoclavable

Nomenclature de commande

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Français (FR)

Declaration of Conformity

The product named below fulfills the requirements of directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

Product name:

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Product type:

Photometer

Relevant directives / standards:

2014/35/EU: EN 61010-1

UL 61010-1, CAN/CSA C22.2 No. 61010-1

2014/30/EU: EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU: EN 50581

Date: December 28, 2015



Management Board



Portfolio Management

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.
U.S. Design Patents are listed on www.eppendorf.com/ip.
All rights reserved, incl. graphics and pictures. Copyright 2015 © by Eppendorf AG.

www.eppendorf.com

ISO 9001
Certified

ISO
13485
Certified

ISO
14001
Certified

Evaluate Your Manual

Give us your feedback.

www.eppendorf.com/manualfeedback

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact

Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22339 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com · www.eppendorf.com