

Date importanti

9 Marzo - Congresso telethon

RECUPERI:

17 Marzo (2 ore) - Elettroforesi 2D.

24 Marzo (2 ore) - Purificazioni proteiche.

ESCLUSI BIOLOGI LT

**30 Marzo (3 ore) - Fast Blot e Ab
Fluorescenti.**

**31 Marzo (2 ore) - Termine del WB con e
rivelazione al Pharos.**

Esercitazioni pratiche

Lab. Biotecnologie
Dipartimento di Biochimica, 3° piano

**Tecnologie Agro-Alimentari e
biotrasformazioni industriali:
solamente il mercoledì mattina**

OBBLIGATORIO



Appelli ufficiali del 2011

7 Aprile (solo triennale) Aula ex macello

26 Aprile (solo triennale) Aula ex macello

16 Giugno Aula D5

7 Luglio Aula D5

22 Settembre Aula ex macello

L'aula ex macello è in via Fossato di Mortara 74

Testi consigliati

NO AI REGISTRATORI !

- Carlo De Marco e Chiara Cini – Principi di metodologia Biochimica – PICCIN.
- Wilson K, Walker J - Biochimica e Biologia Molecolare. Principi e tecniche – Zanichelli.
- Walker J - The Protein protocols Handbook (2^a ed.).
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L - Biochimica (dalla 5^a ed. in poi).
- Wilson K, Goulding KH - Biochimica Applicata (dalla 3^a ed. in poi).
- Selinsky BS - Membrane Protein Protocols.
- Reed R, Holmes D, Weyers J, Jones A - Metodologie di base per le scienze biomolecolari.

METODO SCIENTIFICO

Ricerca del PERCHE', con consapevolezza della **fallibilità** delle ipotesi sperimentali.

INDAGINE BIOCHIMICA

- Valutazione conoscenze nel settore di indagine (letteratura).
- Formulazioni ipotesi sperimentali.
- Selezione del sistema biologico.
- Scelta della variabile da studiare.
- Progettazione ed esecuzione dell'esperimento.
- Replicazione dell'esperimento e calcolo della variabilità.
- Formulazione delle conclusioni e nuove ipotesi.

PRINCIPALI METODOLOGIE BIOCHIMICHE

1. TECNICHE CENTRIFUGATIVE
2. TECNICHE ENZIMATICHE
3. TECNICHE IMMUNOCHEMICHE
4. TECNICHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE
5. TECNICHE CROMATOGRAFICHE
6. TECNICHE ELETTROFORETICHE
7. TECNICHE SPETTROSCOPICHE
8. TECNICHE RADIOISOTOPICHE
9. TECNICHE DI SPETTROSCOPIA DI MASSA
10. TECNICHE ELETTROCHIMICHE


UNITA' DI MISURA

Prefissi del Sistema Internazionale

10^n	Prefisso	Simbolo	Nome	Equivalente <u>decimale</u>
10^{24}	<u>yotta</u>	Y	<u>Quadrilione</u>	1 000 000 000 000 000 000 000 000
10^{21}	<u>zetta</u>	Z	<u>Triliardo</u>	1 000 000 000 000 000 000 000
10^{18}	<u>exa</u>	E	<u>Trilione</u>	1 000 000 000 000 000 000
10^{15}	<u>peta</u>	P	<u>Biliardo</u>	1 000 000 000 000 000
10^{12}	<u>tera</u>	T	<u>Bilione</u>	1 000 000 000 000
10^9	<u>giga</u>	G	<u>Miliardo</u>	1 000 000 000
10^6	<u>mega</u>	M	<u>Milione</u>	1 000 000
10^3	<u>kilo</u> o <u>chilo</u>	k	<u>Mille</u>	1 000
10^2	<u>etto</u>	h	<u>Cento</u>	100
10^1	<u>deca</u>	da	<u>Dieci</u>	10
10^{-1}	<u>deci</u>	d	Decimo	0,1
10^{-2}	<u>centi</u>	c	Centesimo	0,01
10^{-3}	<u>milli</u>	m	Millesimo	0,001
10^{-6}	<u>micro</u>	μ	Milionesimo	0,000 001
10^{-9}	<u>nano</u>	n	Miliardesimo	0,000 000 001
10^{-12}	<u>pico</u>	p	Bilionesimo	0,000 000 000 001
10^{-15}	<u>femto</u>	f	Biliardesimo	0,000 000 000 000 001
10^{-18}	<u>atto</u>	a	Trilionesimo	0,000 000 000 000 000 001
10^{-21}	<u>zepto</u>	z	Triliardesimo	0,000 000 000 000 000 000 001
10^{-24}	<u>yocto</u>	y	Quadrilionesimo	0,000 000 000 000 000 000 000 001

TAMPONI

Singole cellule od organismi complessi resistono generalmente a grandi variazioni di pH dell' **ambiente esterno**.

Al contrario, forte sensibilità dei **processi endocellulari** al pH  proprietà finemente regolata (generalmente mantenuto vicino alla neutralità) mediante **sistemi tampone**.

SELEZIONE DEI TAMPONI

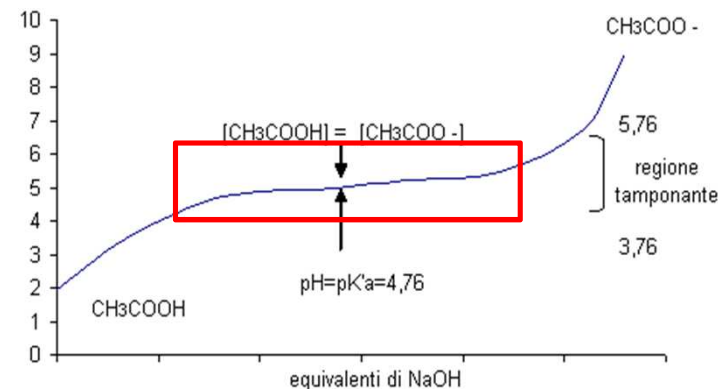
Utilizzare un tampone con pK_a vicina al pH richiesto.

- Henderson-Hasselbalch -

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

Esprime la variazione dello stato di ionizzazione di un elettrolita debole in funzione del pH.

Oltre l'intervallo di $pH = pK_a \pm 1$ la capacità tamponante è scarsa.



SELEZIONE DEL TAMPONE SULLA BASE DELLA pKa

	pH	6	7	8	9	10	11	Useful pH Range	pKa (at 20°)	pKa (at 25°)	pKa (at 37°)
MES		6.0-6.5						5.5-6.7	6.16	6.10	5.97
BIS-TRIS		6.0-7.0						5.8-7.2	-	6.50	6.36
ADA		6.0-7.0						6.0-7.2	6.65	6.59	6.46
ACES		6.0-7.5						6.1-7.5	6.88	6.78	6.54
PIPES		6.0-7.5						6.1-7.5	6.80	6.76	6.66
MOPSO		6.0-8.0						6.2-7.6	-	6.90	6.75
BIS-TRIS PROPANE		6.0-9.5						6.3-9.5	-	6.8,9.0	-
BES		6.0-8.0						6.4-7.8	7.17	7.09	6.90
MOPS		6.0-8.0						6.5-7.9	7.28	7.20	7.02
TES		6.0-8.0						6.8-8.2	7.50	7.40	7.16
HEPES		6.0-8.0						6.8-8.2	7.55	7.48	7.31
DIPSO		6.0-8.0						7.0-8.2	-	7.60	7.35
MOBS		6.0-8.0						6.9-8.3	-	7.60	-
TAPSO		6.0-8.0						7.0-8.2	-	7.60	7.39
TRIZMA		6.0-9.0						7.0-9.0	8.20	8.06	7.72
HEPPSO		6.0-8.5						7.1-8.5	-	7.80	6.66
POPSO		6.0-8.5						7.2-8.5	-	7.80	7.63
TEA		6.0-8.0						7.3-8.3	-	7.80	-
EPPS		6.0-8.0						7.3-8.7	-	8.00	-
TRICINE		6.0-8.0						7.4-8.8	8.16	8.05	7.80
GLYCYLGLYCINE		6.0-8.0						7.5-8.9	-	8.20	-
BICINE		6.0-8.0						7.6-9.0	8.35	8.26	8.04
HEPBS		6.0-8.0						7.6-9.0	-	8.30	-
TAPS		6.0-8.0						7.7-9.1	8.49	8.40	8.18
AMPD		6.0-8.0						7.8-9.7	-	8.80	-
TABS		6.0-8.0						8.2-9.6	-	8.90	-
AMPSO		6.0-8.0						8.3-9.7	-	9.00	9.10
CHES		6.0-8.0						8.6-10.0	9.55	9.49	9.36
CAPSO		6.0-8.0						8.9-10.3	-	9.60	9.43
AMP		6.0-8.0						9.0-10.5	-	9.70	-
CAPS		6.0-8.0						9.7-11.1	10.56	10.40	10.02
CABS		6.0-8.0						10.0-11.4	-	10.70	-

SELEZIONE DEI TAMPONI

Assicurarsi che il tampone non causi **precipitazioni** indesiderate (citrati e fosfati).



Per certi enzimi il fosfato di alcuni tamponi è substrato, attivatore o inibitore.

Il tris 2-idrossimetil-amminometano cloridrato o **TRIS** (pKa = 8.06 a 20 °C, range pH: 7.0-9.2) è spesso **tossico** in sistemi biologici, per la sua solubilità in lipidi.

GOOD'S BUFFERS

Sono 12 tamponi descritti da Norman Good (1966), basati su **molecole zwitterioniche**, portate al pH di “lavoro” con un acido forte o una base forte.

- Scelti per aver PK_a fra 6 e 8.
- Bassa solubilità in solventi non polari.
- Chimicamente **stabili**.
- **Non attraversano** le membrane cellulari.
- **Non assorbono** nell'UV-visibile.

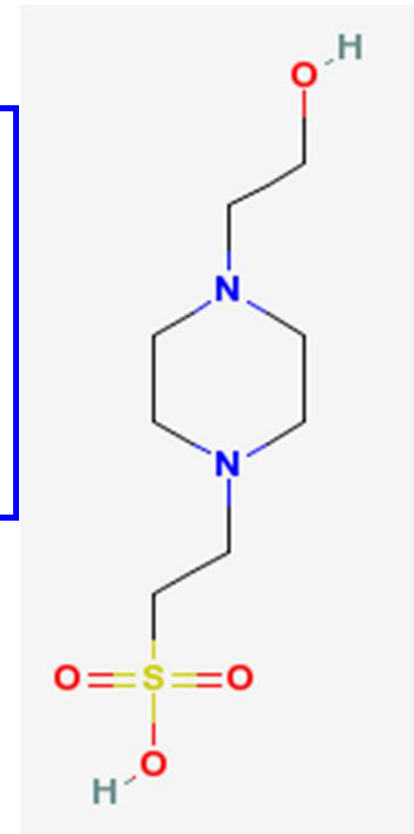
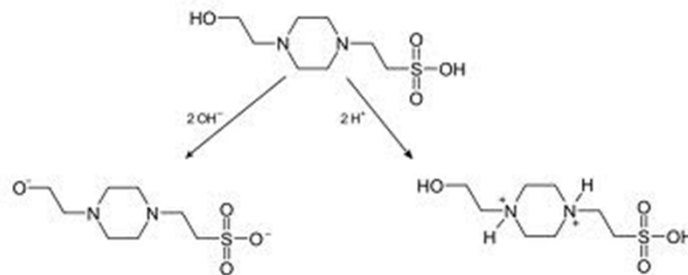
Buffer	pK_a at 20°C	$\Delta\text{pK}_a/^\circ\text{C}$
<u>MES</u>	6.15	-0.011
ADA	6.6	-0.011
<u>PIPES</u>	6.8	-0.0085
<u>ACES</u>	6.9	-0.020
Cholamine chloride	7.1	-0.027
BES	7.15	-0.016
TES	7.5	-0.020
<u>HEPES</u>	7.55	-0.014
Acetamidoglycine	7.7	-
<u>Tricine</u>	8.15	-0.021
Glycinamide	8.2	-0.029
Bicine	8.35	-0.018

HEPES

N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid

Normalmente neutralizzato con NaOH

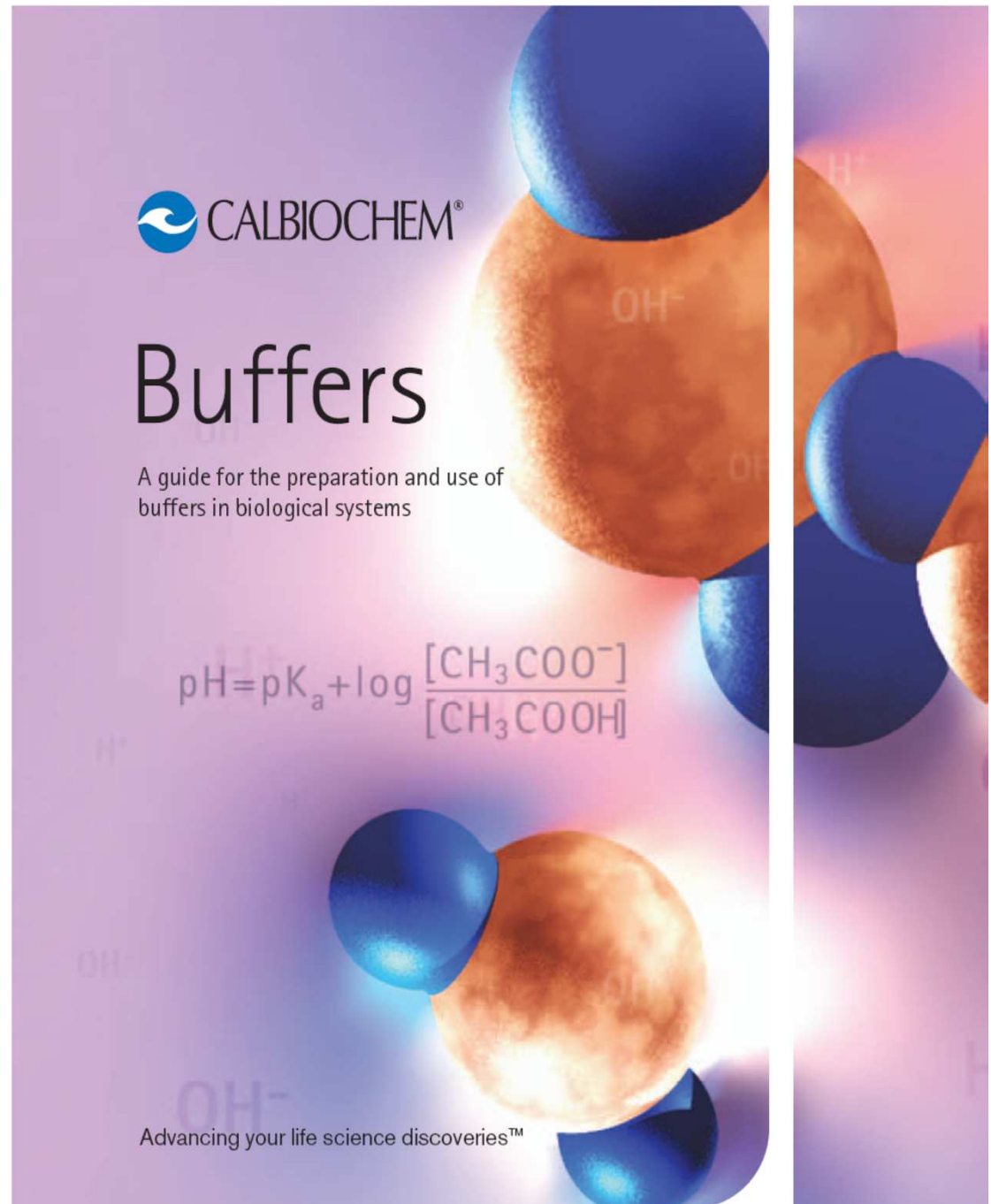
- pK_a at 25°C of **7.55** (7.31 at 37°C)
- a second pK_a at pH 3 is not of interest
- usable buffering **range of 6.8 to 8.2**
- molecular weight 238.3
- HEPES contains tertiary amines, which are reactive under certain conditions. Chemical formula: $C_8H_{18}N_2O_4S$



Fototossico: produzione di perossido di idrogeno se esposto a luce solare (**riproducibilità a rischio!**).

Preparazione di un tampone

- pesare
- H₂O (~ l'80%)
- miscelare
- pH
- portare a volume



CALBIOCHEM®

Buffers

A guide for the preparation and use of buffers in biological systems

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

Advancing your life science discoveries™

FORZA IONICA

$$\mu = \frac{1}{2} \sum cz^2$$

c = concentrazione specie ionica

z = carica dello ione

L'unità di misura di μ è la **molarità**.

Calcolo della forza ionica di 2 soluzioni:

1) 0.5 M KCl

2) 0.2 M NaCl + 0.5 M Na₂SO₄

FORZA IONICA

$$\mu = \frac{1}{2} \sum cz^2$$

c = concentrazione specie ionica
z = carica dello ione

Risultati:

1) **TOT= 0.5 M**

2) Na= 0.2 (+1)²+1 (+1)²= 1.2 M

Cl= 0.2 (-1)²= 0.2 M

SO₄= 0.5 (-2)²= 2 M

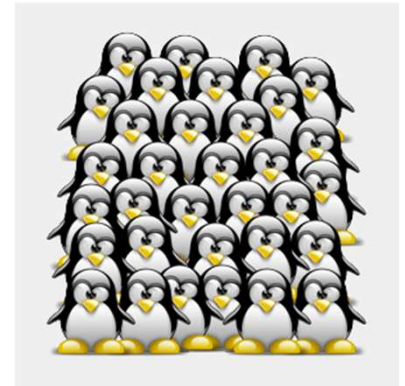
TOT= 1.7 M

DETERGENTI

I **detergenti** sono molecole **ANFIPATICHE**, contengono cioè sia gruppi **polari** (idrofili), sia **apolari** (idrofobici, lipofili).

Alcuni sono naturali, la > parte di sintesi (dal 1836).

Proteine transmembrana, se isolate dalle membrane, espongono regioni idrofobiche, causando **aggregazione**.

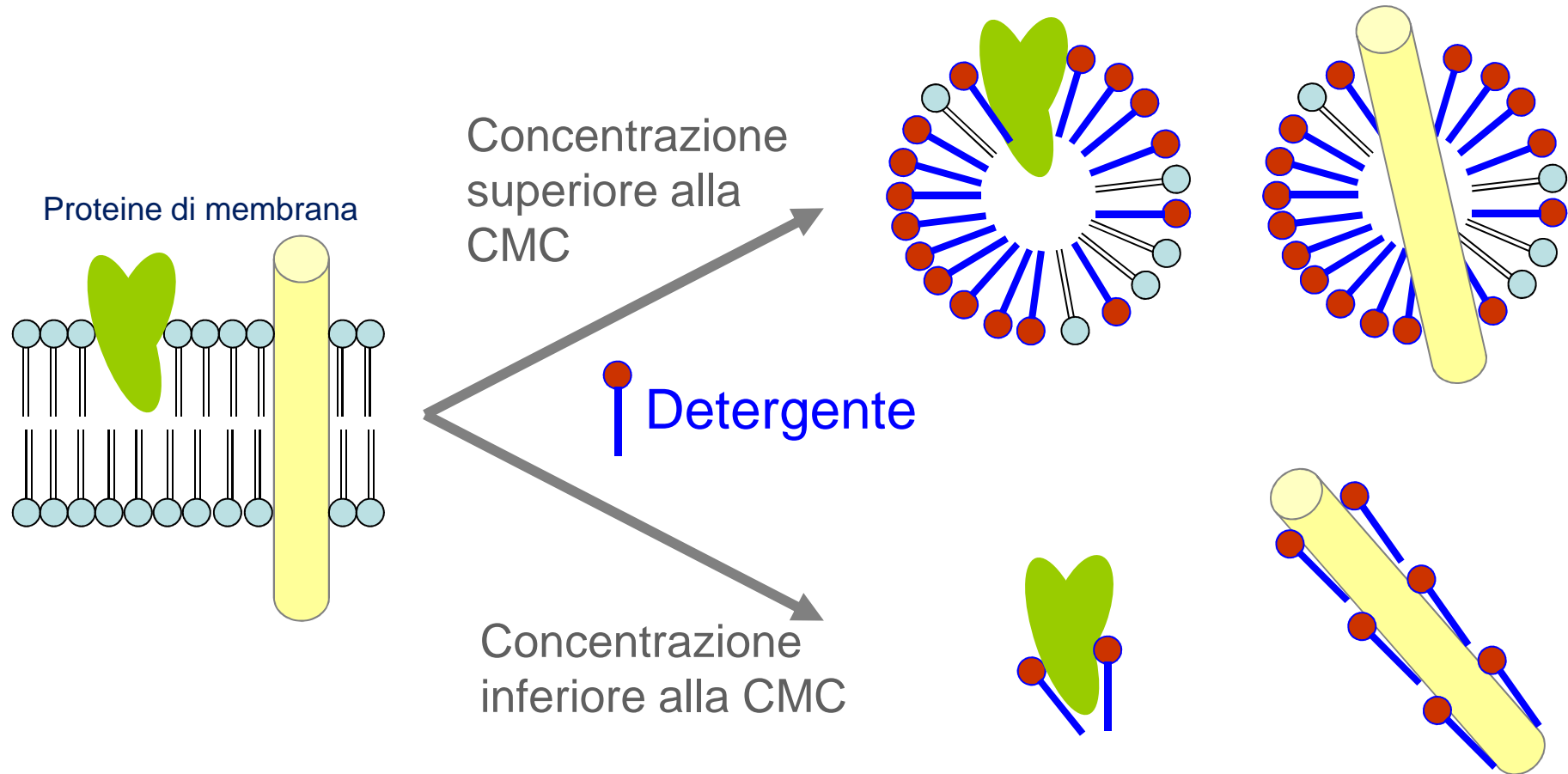


I **detergenti** possono **solubilizzare** tali proteine avendo affinità per i gruppi idrofobici/idrofilici presenti in esse.

CONCENTRAZIONE MICELLARE CRITICA (CMC)

Basse [Detergente] = in H₂O come molecola isolata.

Alte [Detergente] = forma micelle.



La **CMC** è **caratteristica di ogni detergente**; dipende dalla propria struttura chimica.

TIPI DI DETERGENTI

NON IONICI: gruppo idrofilo **non** carico (alchiloamidi, esteri del glucosio e del saccarosio, alchilaminossidi, derivati etossilati).

ANIONICI: gruppo idrofilo **carico -** (alchilsolfati, alcoilсарcoinati, alchilsemisolfuccinati, condensati tra acidi grassi ed aminoacidi).

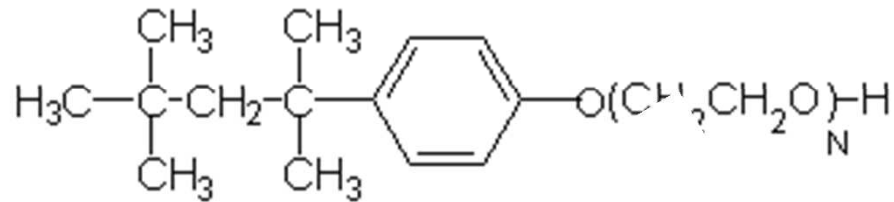
CATIONICI: gruppo idrofilo **carico +** (sali quaternari di ammonio, sali di piridinio quaternario, sali di isochinolinio quaternario).

ANFOTERI: contengono sia un gruppo carico - positivamente sia uno carico + (imidazoline e le betaine).
Comportamento diverso a seconda del pH.

DETERGENTI

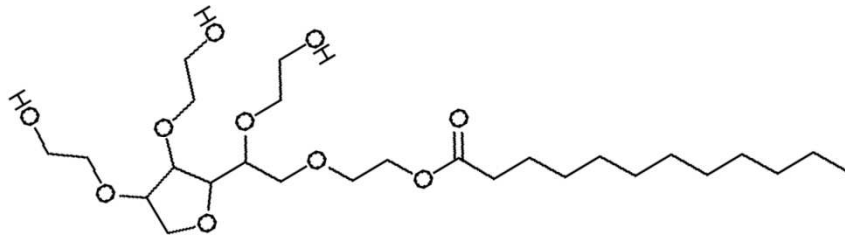
Non ionici:

Triton X-100 (estrazione DNA)



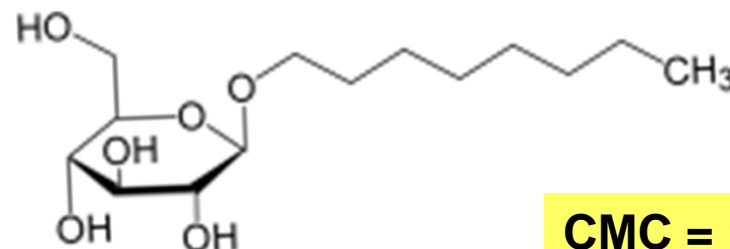
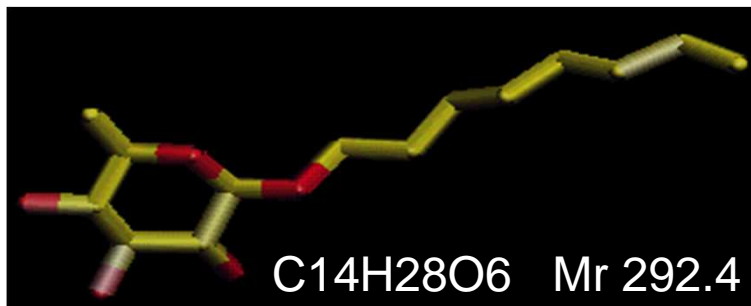
CMC = ~0,2 mM

Tween 20 (studi di interazione e funzione)



CMC = 0,06 mM

Octilglucoside (elettroforesi 2D)



CMC = 14.5 mM

DETERGENTI

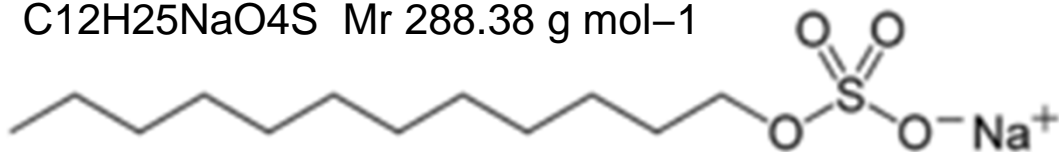
I **detergenti ionici**, a causa della propria carica, distruggono legami ionici e ponti idrogeno, portando anche alla completa **denaturazione** una proteina.

Anionici:

Sodio dodecil solfato (SDS) o sodio laurilsolfato (SLS)

CMC = 8.3 mM

C₁₂H₂₅NaO₄S Mr 288.38 g mol⁻¹



Usato in prodotti, come dentifricio, shampoo, schiuma da barba e saponi liquidi.

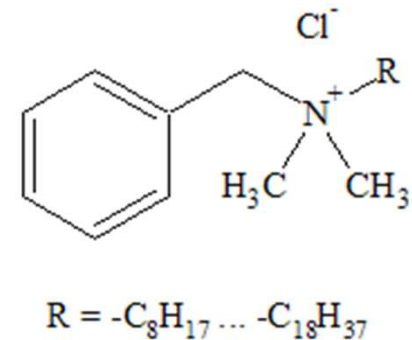
La **polvere di SDS** è molto volatile, irritante per occhi, cute e vie respiratorie. Contatti ripetuti o prolungati possono causare dermatiti. Alla combustione, forma gas tossici.

DETERGENTI

Cationici:

Medio/Alto potere disinfettante, per la capacità di agire sulla membrana esterna dei batteri gram -

Cloruro di benzalconio: miscela di cloruri di alchil-benzil-dimetilammonio (largamente presente in colliri e colluttori)



Trovano scarsa o nessuna applicazione nei comuni laboratori di biochimica e biologia molecolare.

DETERMINAZIONE DELLA QUANTITA' DI PROTEINE

Vi sono numerosi metodi.

Alcuni forniscono **valori relativi**, altri **assoluti**;

in tal caso lo standard esterno più comune è la **BSA**.

Metodi colorimetrici

Vs

**Determinazione
spettrofotometrica
diretta**

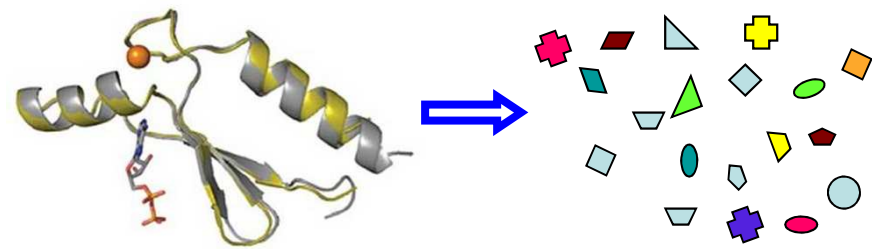
DETERMINAZIONE DELLA QUANTITA' DI PROTEINE

COLORAZIONI

Svantaggio: il campione non si può recuperare.

Metodo di Lowry

- Idrolisi del campione con 2M NaOH a 100°C.



- Tamb + **CuSO₄** (riduzione).



- Aggiunta del reattivo di Folin, **giallo** (sali di Na⁺ degli acidi fosforico, molibdicco e tungstico).



- Viraggio al colore **blu**; dopo 30-60' lettura assorbimento a **660 nm**.

Metodo di Lowry

Difetti:

- 1) tempo di incubazione critico per la riproducibilità;
- 2) proteine ricche in **Tyr** sembreranno + presenti;
- 3) poco sensibile; 10000 ng di proteina;
- 4) soggetto a interferenze.

Meccanismo d'azione

Formation of a complex between Cu^{2+} and protein amide (peptide) bonds in an alkaline solution causing a reduction of copper to Cu^+



Cu^+ and radical groups of **tyrosine**, tryptophan and cysteine reduce a **yellow** phosphomolybdate-phosphotungstate complex (**Folin reagent**: $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{Na}_2\text{WO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4$) to a **deep blue color**



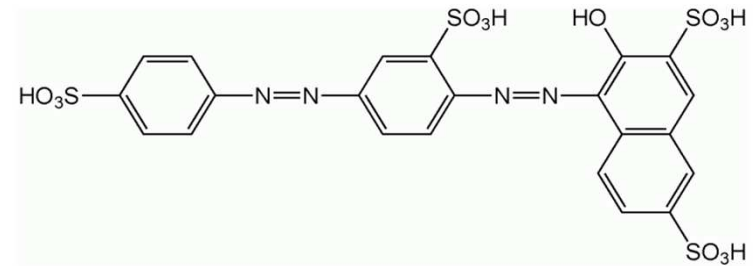
COLORAZIONI

Ponceau S

Si lega ai gruppi basici degli aa.

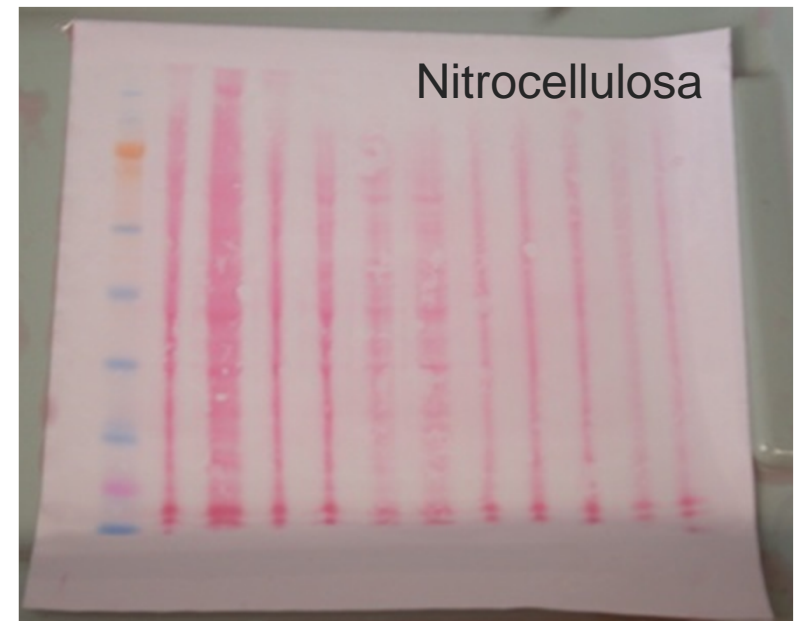
Produce un vivido color **rosso**.

Colorazione semplice, **reversibile**, molto rapida ed economica. Frequente uso su nitrocellulosa.



Sensibilità superiore al **metodo Lowry**, fino a 50 ng di proteina.

Pochi secondi di incubazione, poi rimozione con tampone o H₂O distillata.

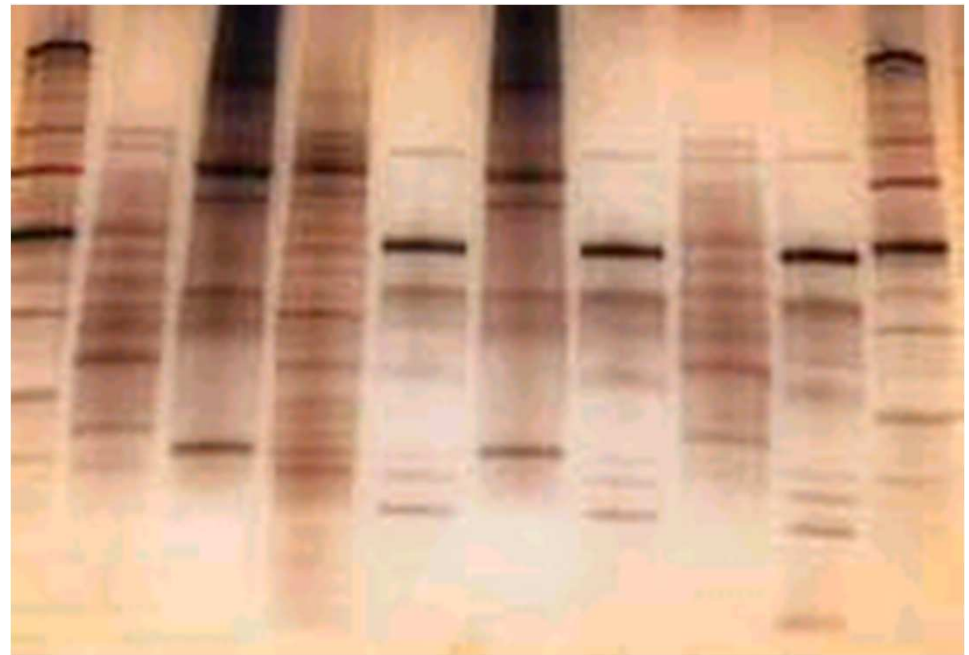


Colorazione argantica

Sensibilità 1 - 0.5 ng di proteina.

Presenza nel colorante di **ioni Ag^+** che reagiscono in presenza di formaldeide con i **gruppi -SH** delle proteine. Si forma Ag metallico ben visibile.

- **Costoso**
- **Risposta non lineare.**



Gel di PAA

COLORAZIONI

Blue Coomassie

Sensibilità 50-200 ng di proteina.

Usato tipicamente su gel.

- Colorante anionico + H₂O + acido acetico e metanolo.
- Per **decolorare** H₂O + etanolo.

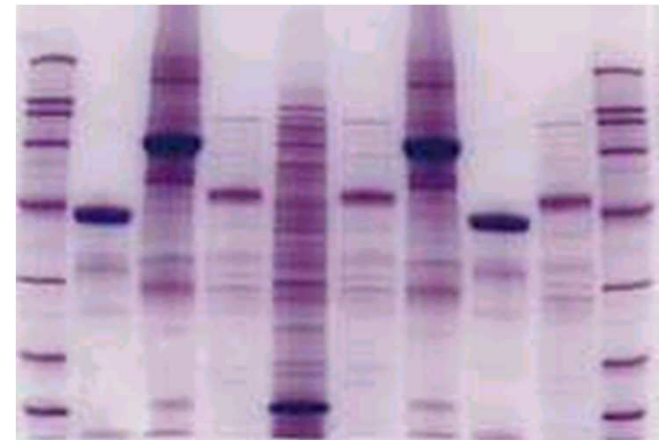
Pregi: facilità, rapidità, stabilità.

Difetti: metodo condizionato dalla presenza di **residui basici**.

Gel: colorazione



Decolorazione



PROBLEMA: E LE PROTEINE IN SOLUZIONE?

COLORAZIONI

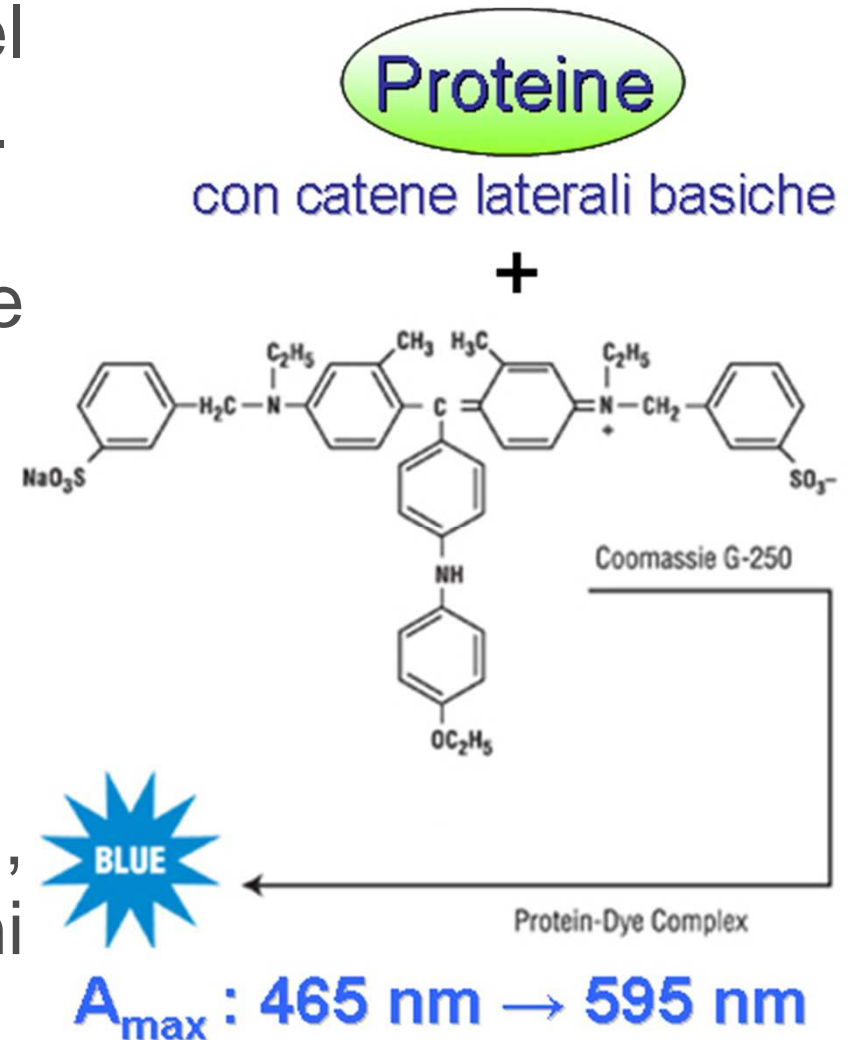
METODO BRADFORD (1976)

Si basa sul legame del **coomassie G-250** alle proteine.

Utilizzabile **su micropiastra** e solo su peptidi superiori a 3 kDa.

Veloce, facile e sensibile.

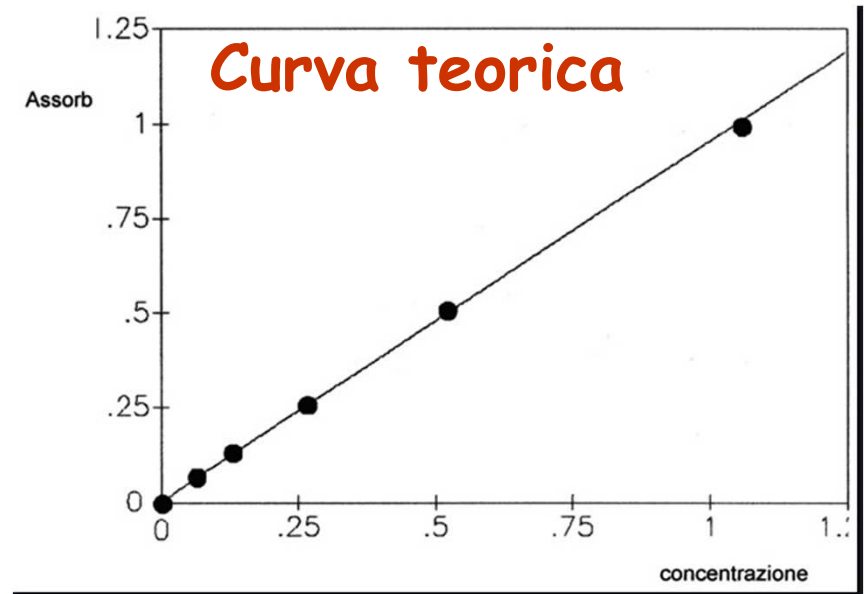
Compatibile con moltissimi sali, buffers, chelanti...tranne alcuni **detergenti**.



CURVA DI TARATURA

Occorrono **numerosi punti** di misurazione, almeno 4-5 e misure ripetute in doppio o triplo.

La **sensibilità** è massima al **picco di estinzione del cromoforo**.

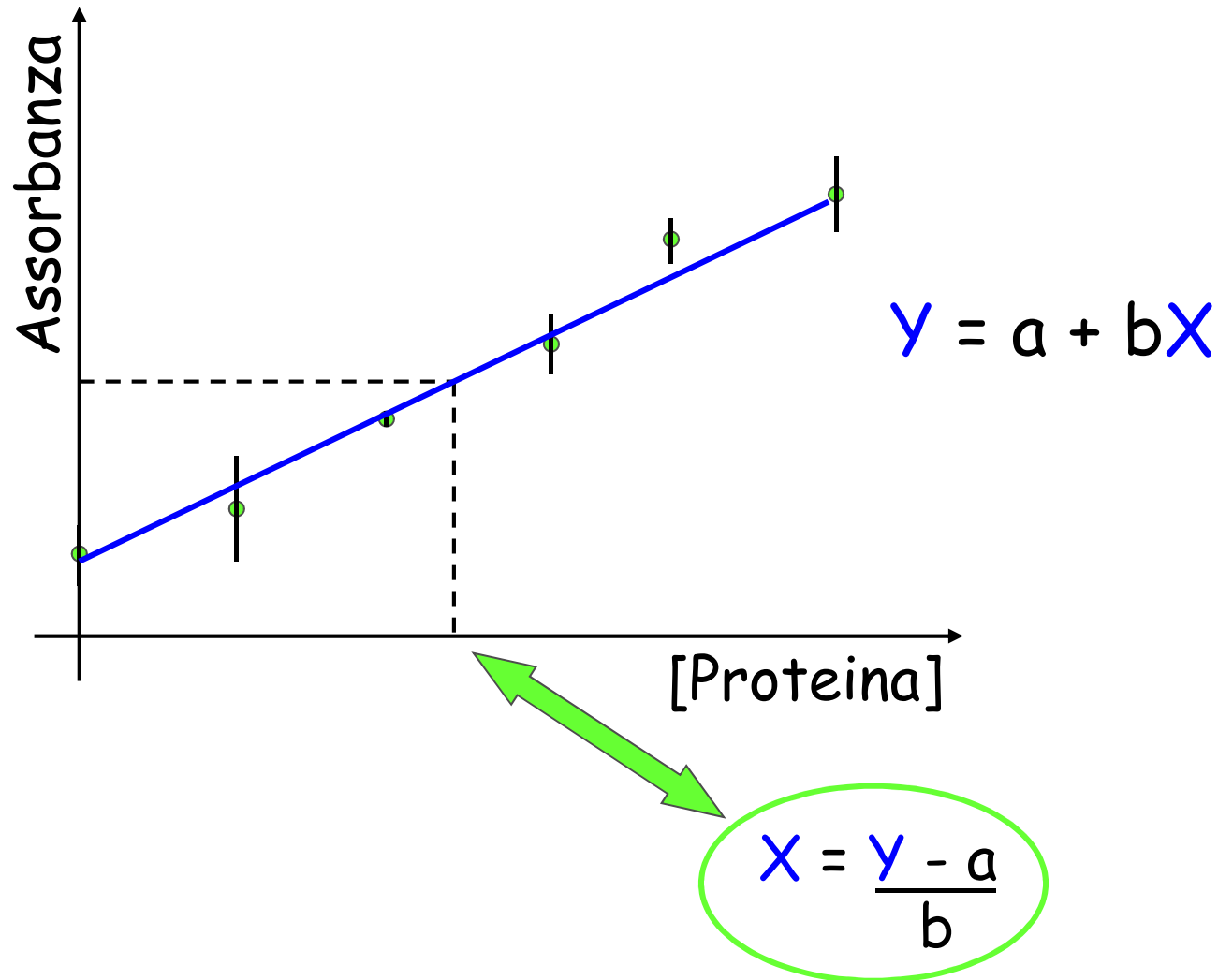


Il "**bianco**" deve contenere tutti i reagenti, tranne la sostanza da determinare.

Non si deve **estrapolare** la curva oltre il valore più alto determinato.

DETERMINAZIONE DELLA QUANTITA' DI PROTEINE

Curva di taratura (standard curve) di BSA: albumina da siero bovino



SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO

La spettrofotometria è il processo che determina la quantità di luce assorbita da composti disciolti **in soluzione**.

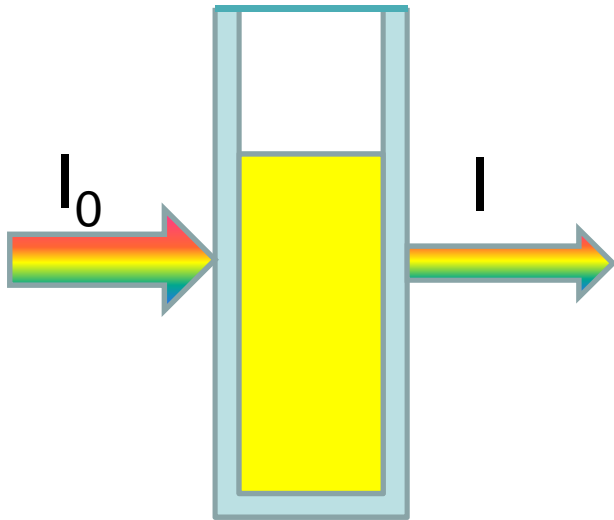
Ogni molecola ha precisi livelli energetici associati alla propria natura e legami chimici, perciò assorbirà la luce di λ (E) specifiche, fornendo spettri di assorbimento **unici**.

$$E = h \nu$$

$$\lambda = c/n\nu$$

Tramite essa è possibile uno studio **qualitativo** e **quantitativo**.

L'ASSORBIMENTO DI UNA SOLUZIONE



$$\text{Trasmittanza (T)} = \frac{I}{I_0}$$

Frazione di luce incidente trasmessa dalla soluzione.

$$\text{Assorbanza (A)} = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$$

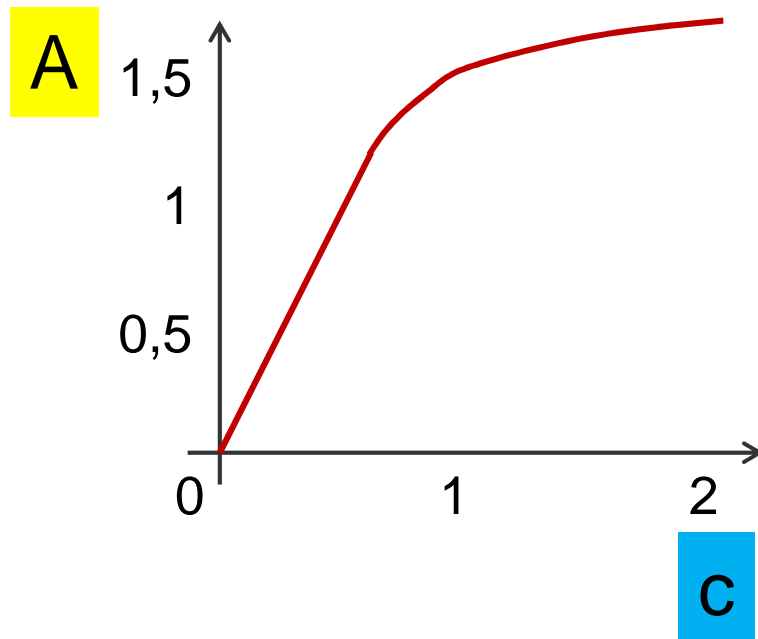
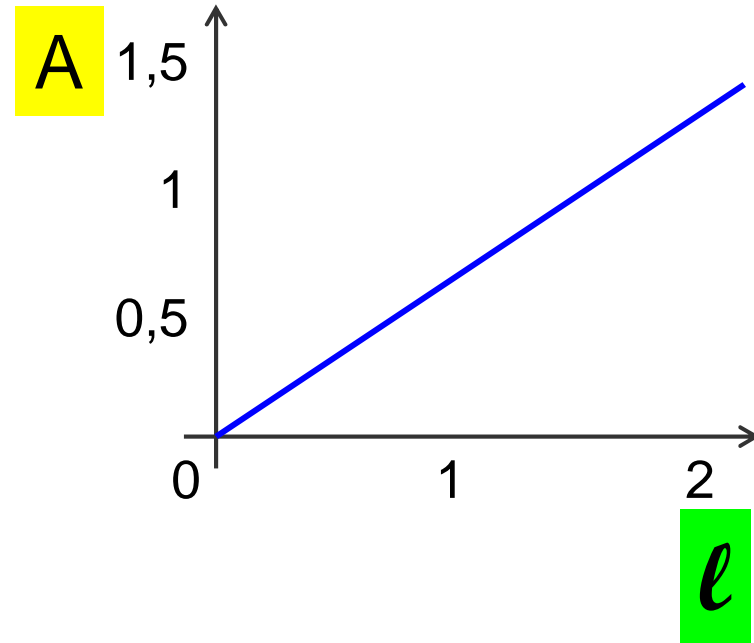
L'assorbimento di radiazioni elettromagnetiche è descritto dalla legge (sperimentale) di **Lambert-Beer**:

$$A = \epsilon l c$$

La radiazione assorbita dipende dalla **concentrazione** delle molecole che assorbono e dal cammino ottico nel quale avviene l'assorbimento.

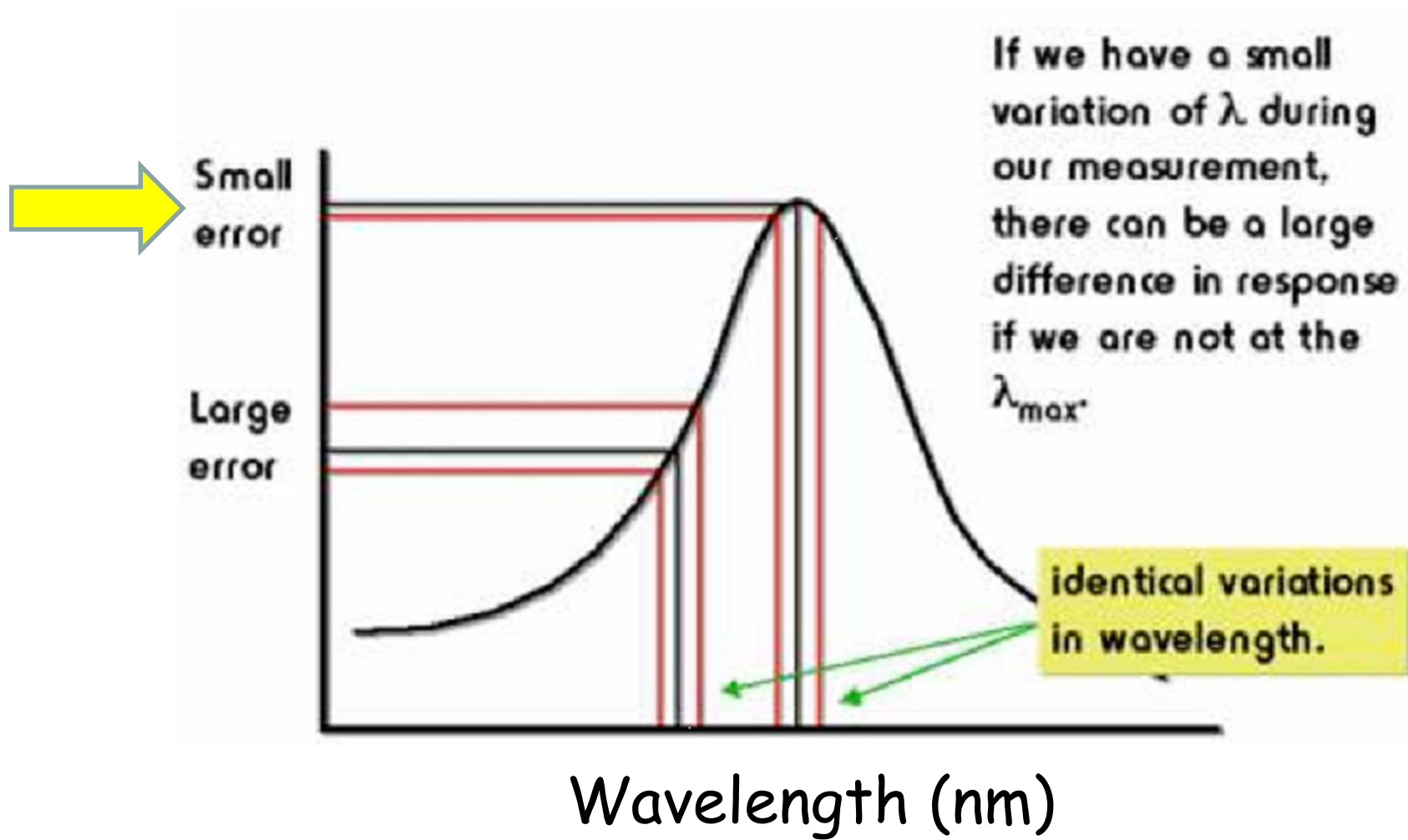
L'ASSORBIMENTO IN SPETTROFOTOMETRIA

Se si riporta l'assorbanza in funzione della lunghezza del cammino ottico:



La risposta dell'assorbanza in funzione della concentrazione è **lineare** solo entro un determinato intervallo di valori.

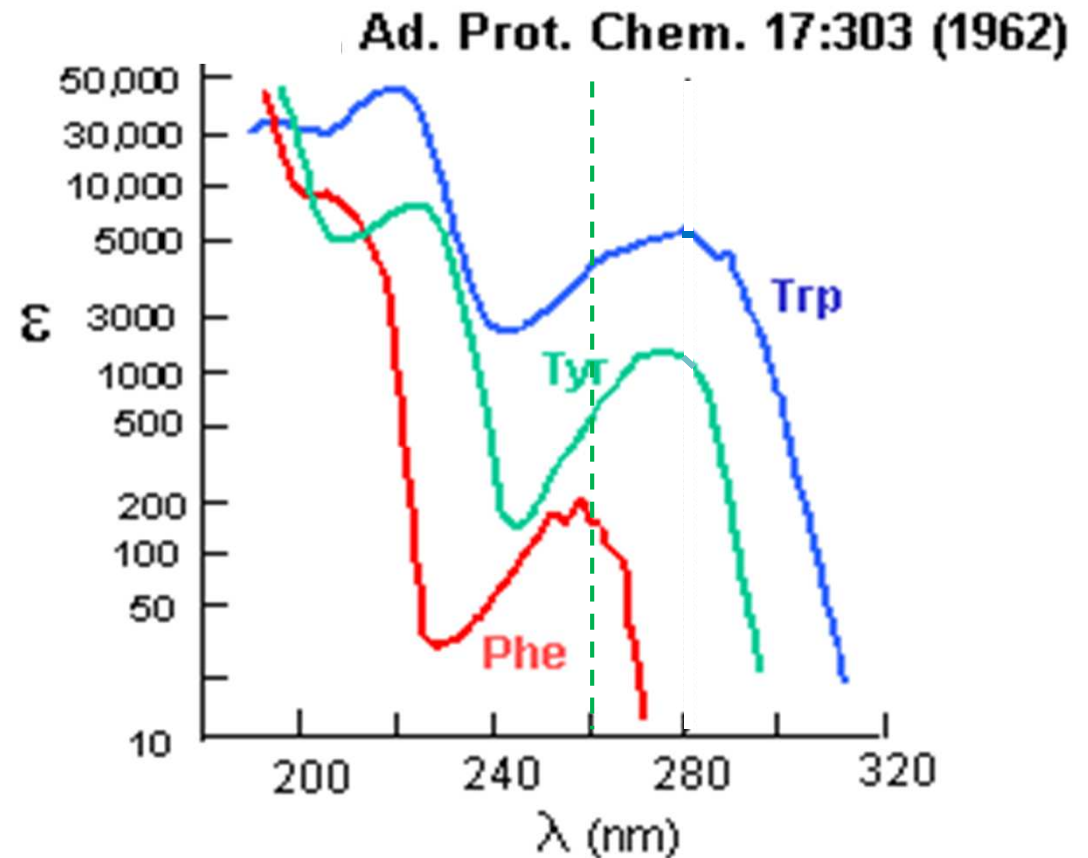
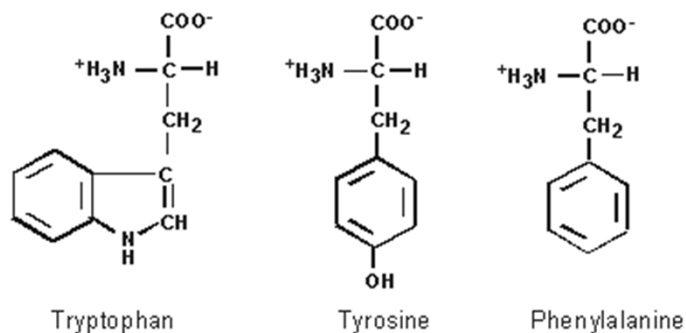
SCelta DEL PICCO DI ASSORBIMENTO PER LA LETTURA SPETTROFOTOMETRICA



DETERMINAZIONE DELLA QUANTITA' DI PROTEINE

Alcuni residui aromatici
assorbono nel vicino
UV (**275-280 nm**)

Misura solamente le
proteine totali



I residui assorbono diversamente e possono essere presenti in quantità diverse da proteina a proteina.

PROBLEMI NELLA QUANTIFICAZIONE SPETTROFOTOMETRICA DI PROTEINE

- Dipendenza dai residui di W, Y ed F.
- Possibile interferenza da parte di corpuscoli e solventi organici, eliminabile misurando l'assorbimento a **320 nm**.
- Possibile interferenza da parte di acidi nucleici, eliminabile misurando il loro assorbimento a **260 nm**.

$$\text{Protein (mg/mL)} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$$

Eq. di
Stoscheck
(1990)

Nel dosaggio di acidi nucleici, possibile interferenza dovuta a carboidrati, fenoli, composti aromatici... eliminabile con lettura a **230 nm**.

SCELTA DEL SOLVENTE

Un solvente dovrebbe:

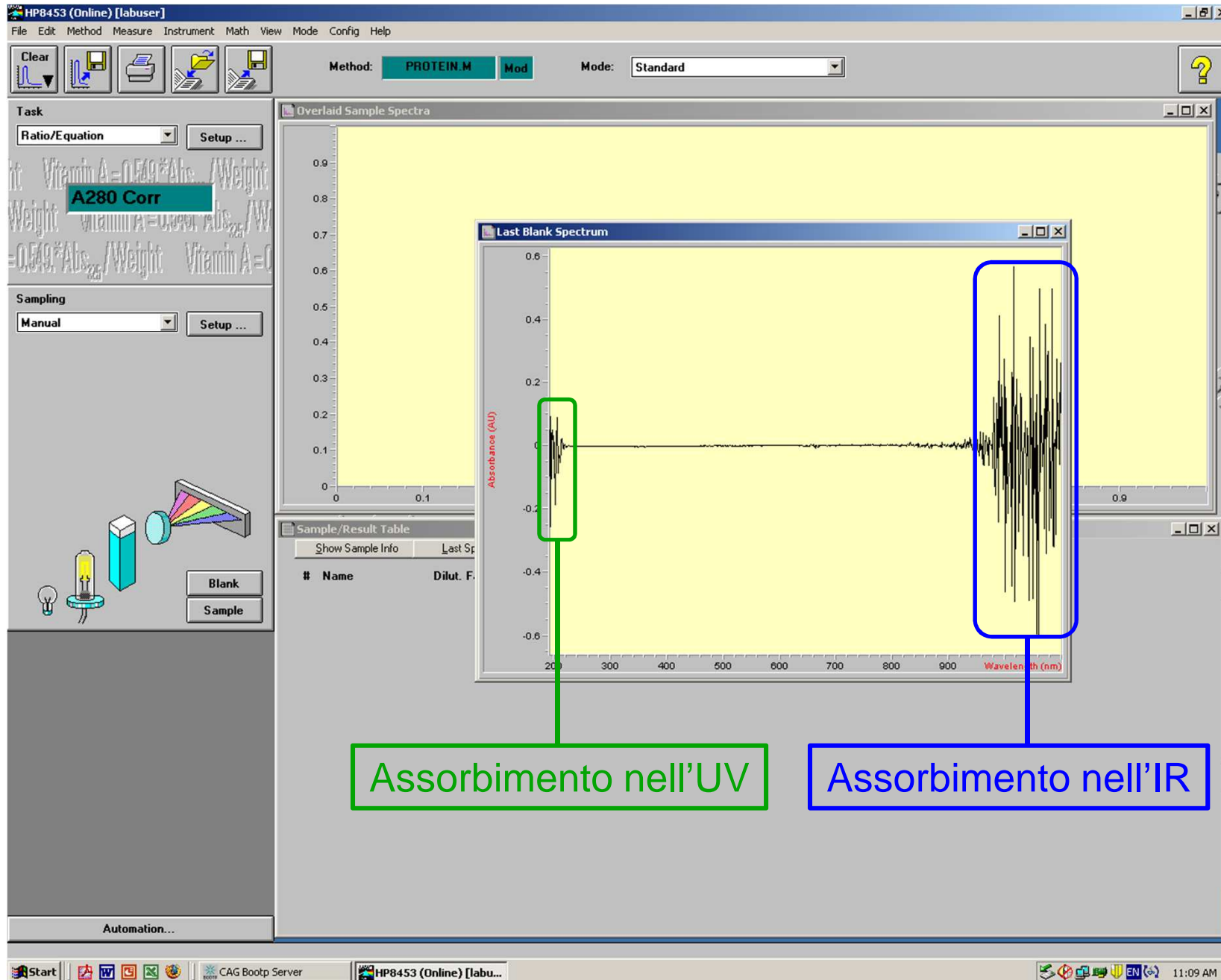
- sciogliere tutti i composti presenti nel campione,
- trasparente a tutte le λ ,
- non infiammabile e non tossico.



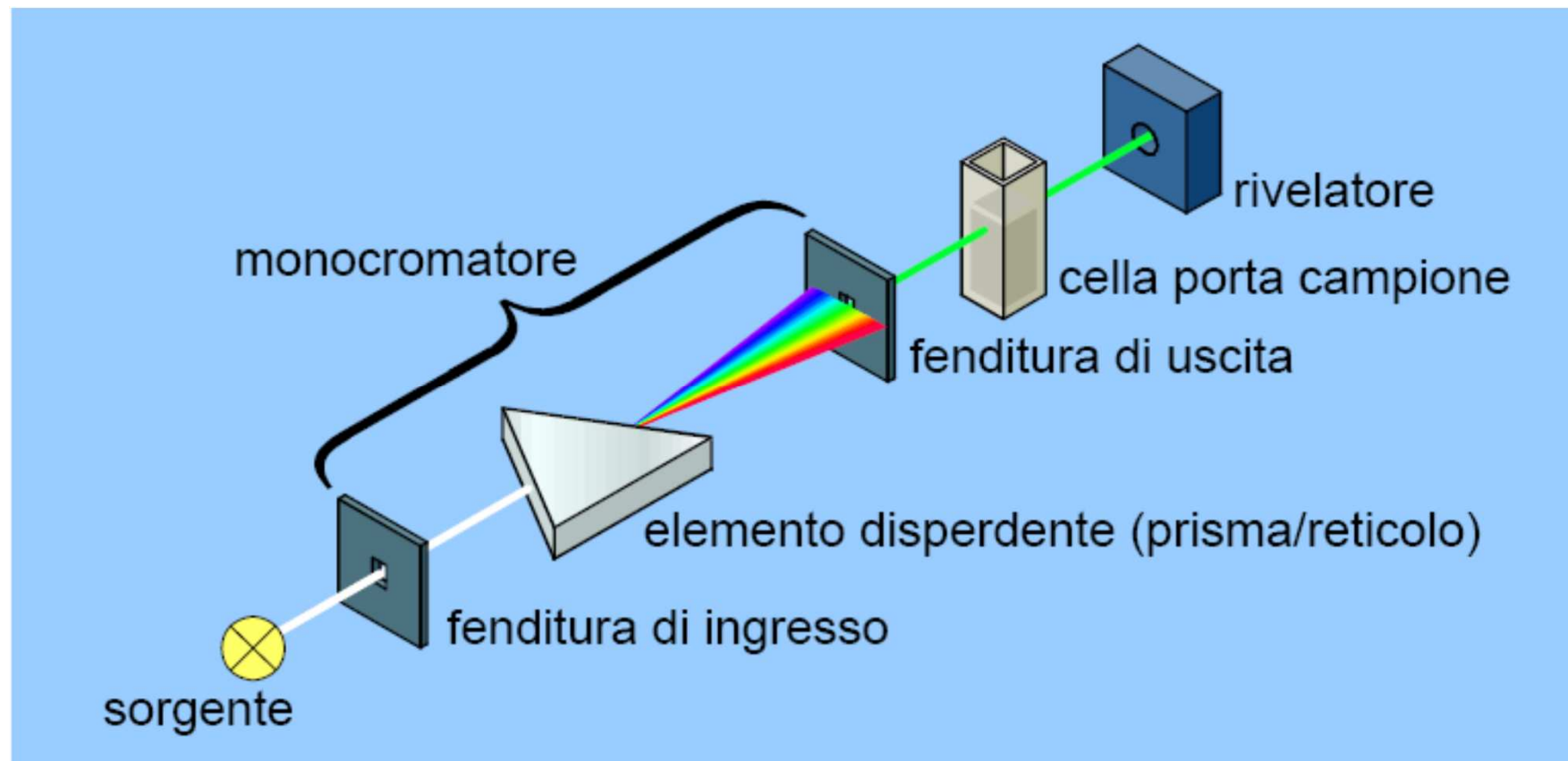
L'**acqua** distillata si avvicina a questa condizione, ma è inadatta a composti organici apolari.

La > parte dei solventi mostra una regione nell'UV, sotto la quale assorbono troppo per consentire misure sul campione (λ critica).

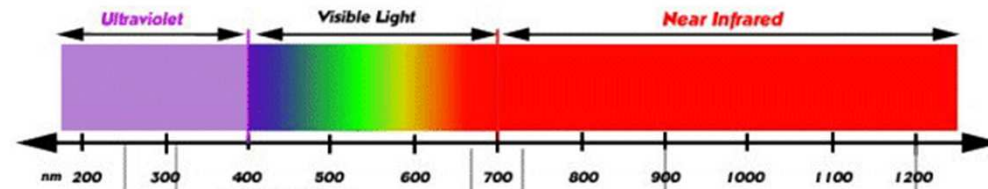
LETTURA DEL BIANCO (HBS)



SPETTROFOTOMETRI A SINGOLO RAGGIO



SORGENTE



La sorgente luminosa è costituita da una lampada a:



- **deuterio** per la zona dell'UV
emissione: $\approx 160-375$ nm



- **tungsteno** per la regione visibile
emissione: $\approx 350-2500$ nm



- **xenon** per entrambe le zone
emissione: $\approx 190-1100$ nm

MONOCROMATORE

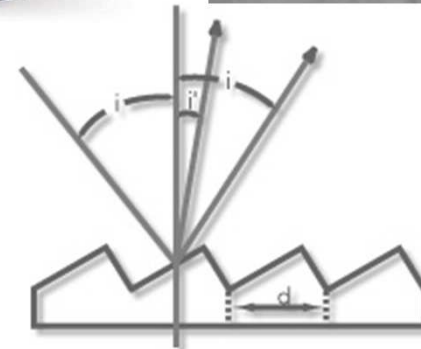
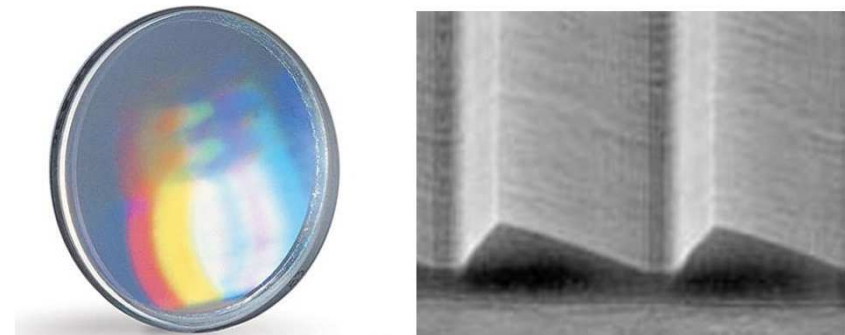
Il monocromatore scinde la luce nelle sue lunghezze d'onda costituenti. La λ d'interesse verrà selezionata da una fenditura successiva.

Prismi

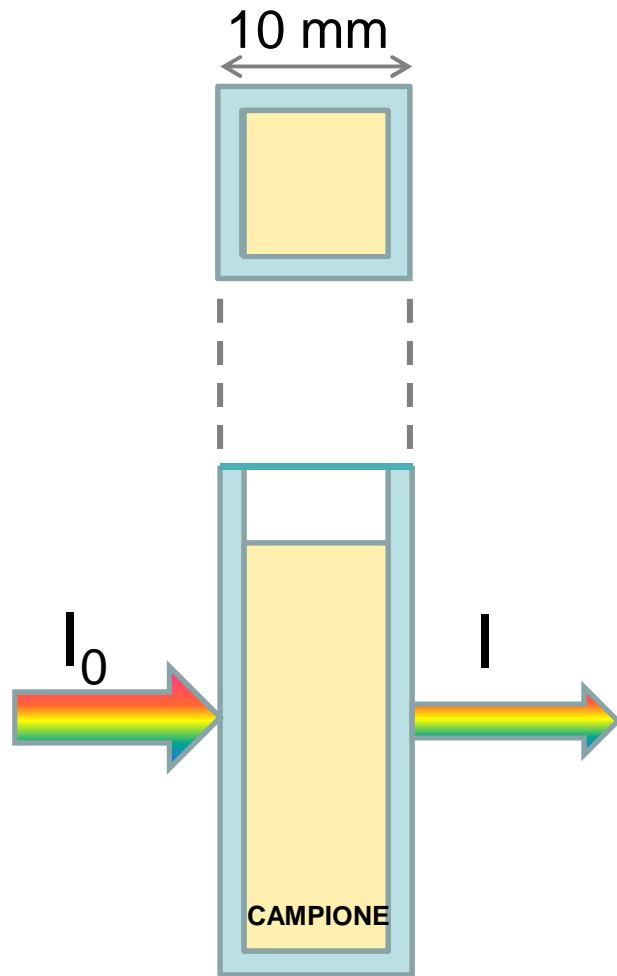


Reticoli di:

- trasmissione
- riflessione
- diffrazione

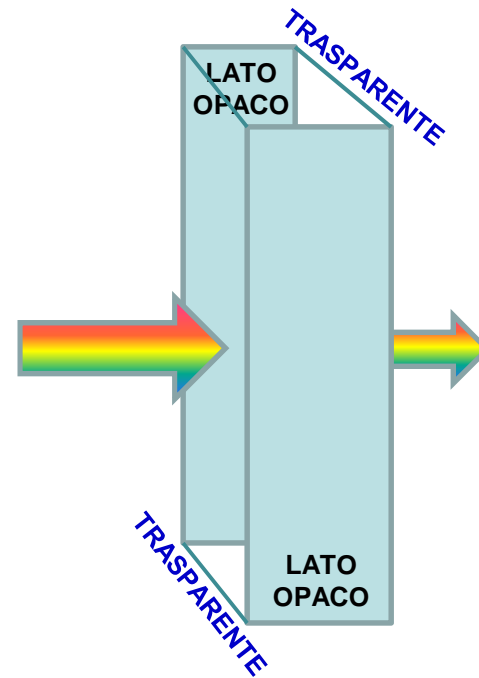


CELLA O CUVETTA



TRASPARENZA

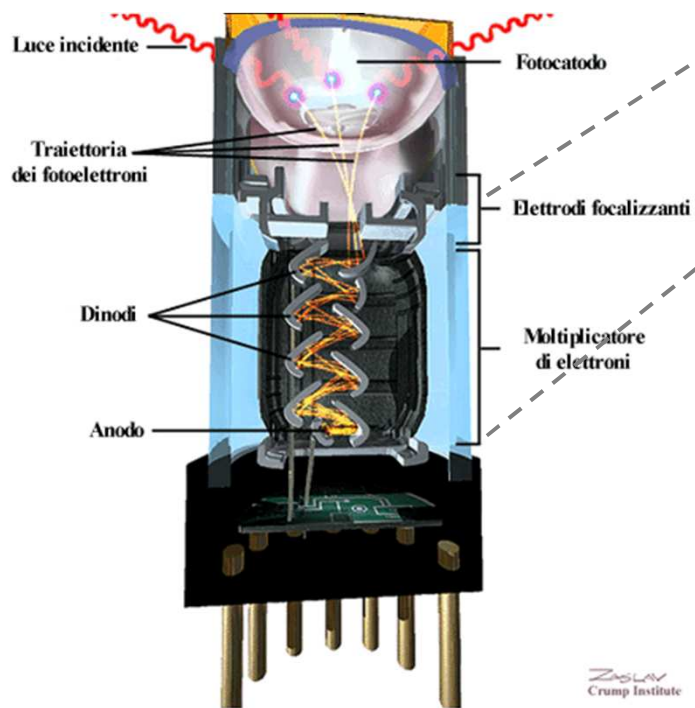
Quarzo	165-2600 nm
Std. silice	220-2500 nm
Vetro	360-1000 nm
Polistirene	360-800 nm
Metacrilato	320-800 nm



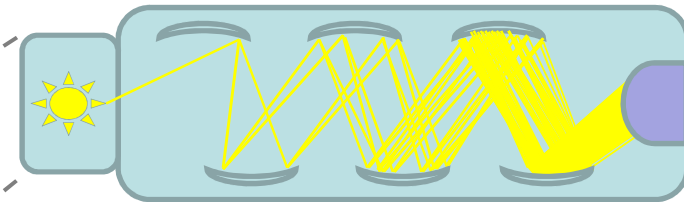
RIVELATORE

Converte l'intensità luminosa in un segnale elettrico.
Possono essere:

Fototubi

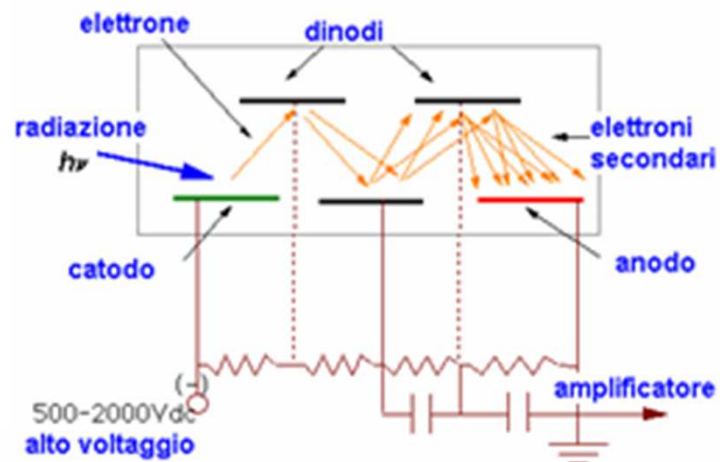


ZSLV
Crump Institute



Fotomoltiplicatore

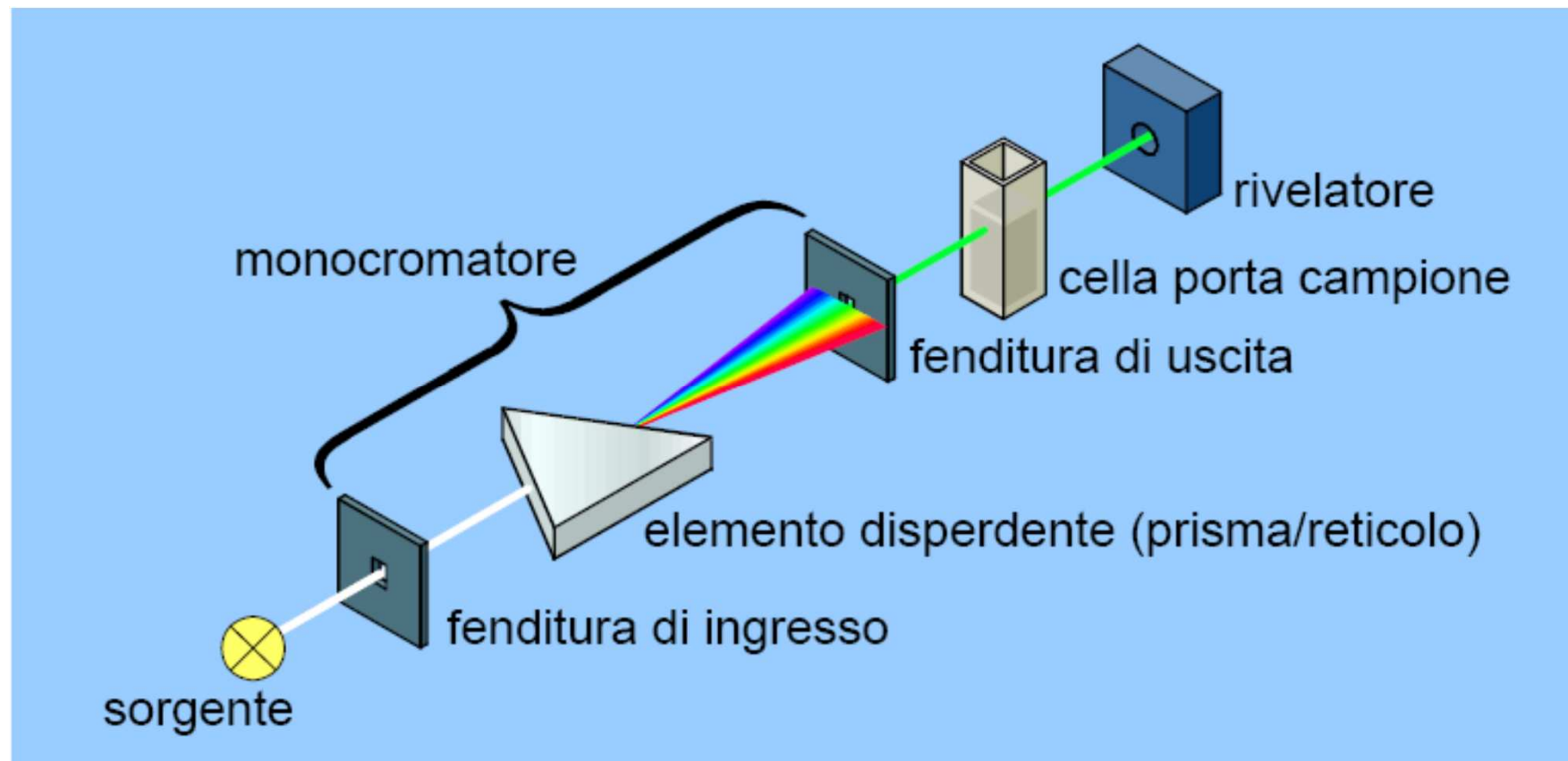
Fotodiodi



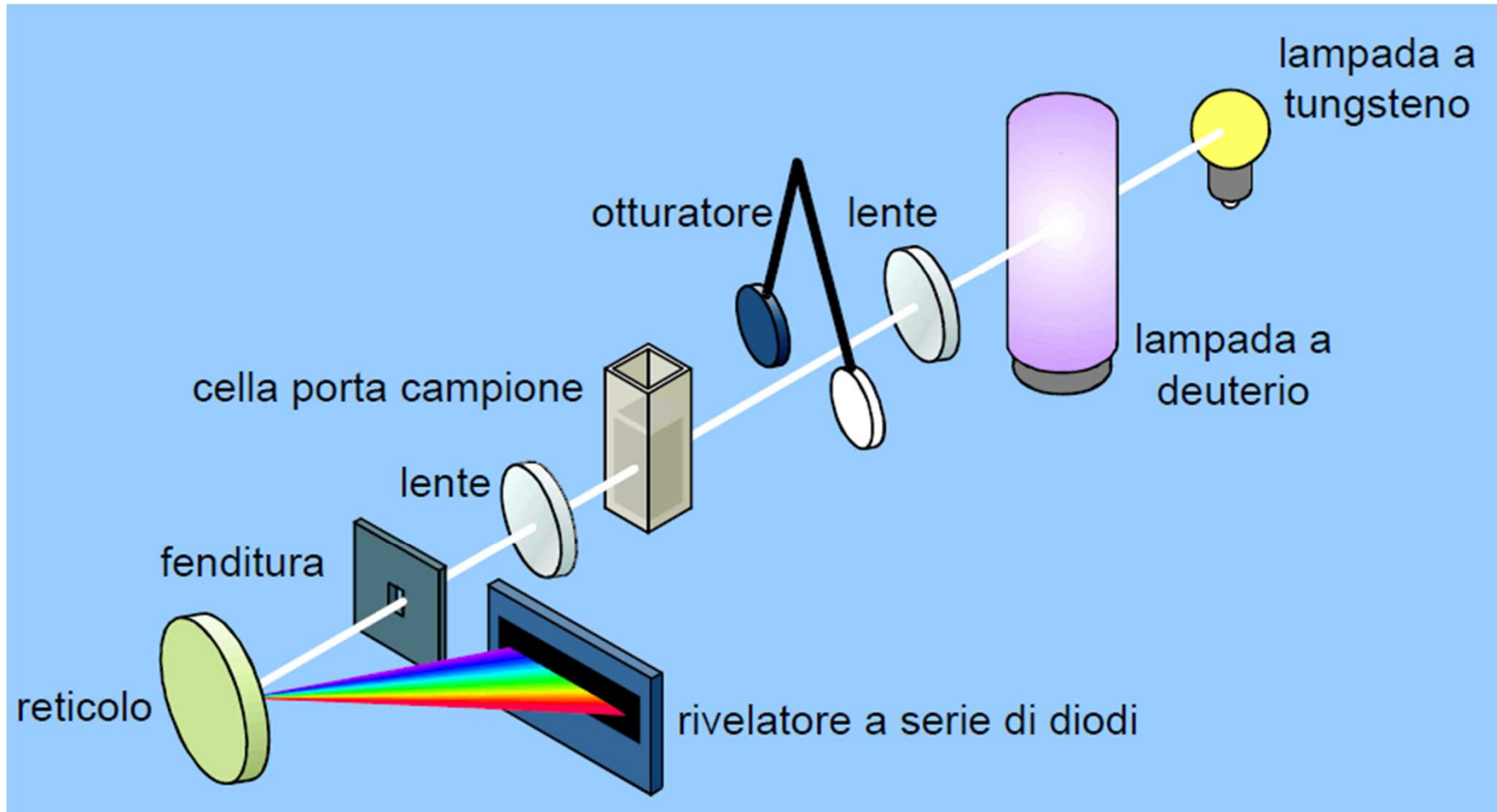
Fotocellule



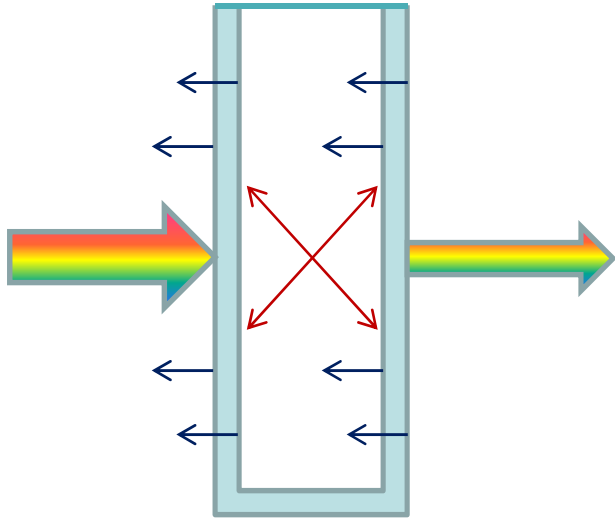
SPETTROFOTOMETRI A SINGOLO RAGGIO



SPETTROFOTOMETRI A SINGOLO RAGGIO A SERIE DI DIODI



SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO

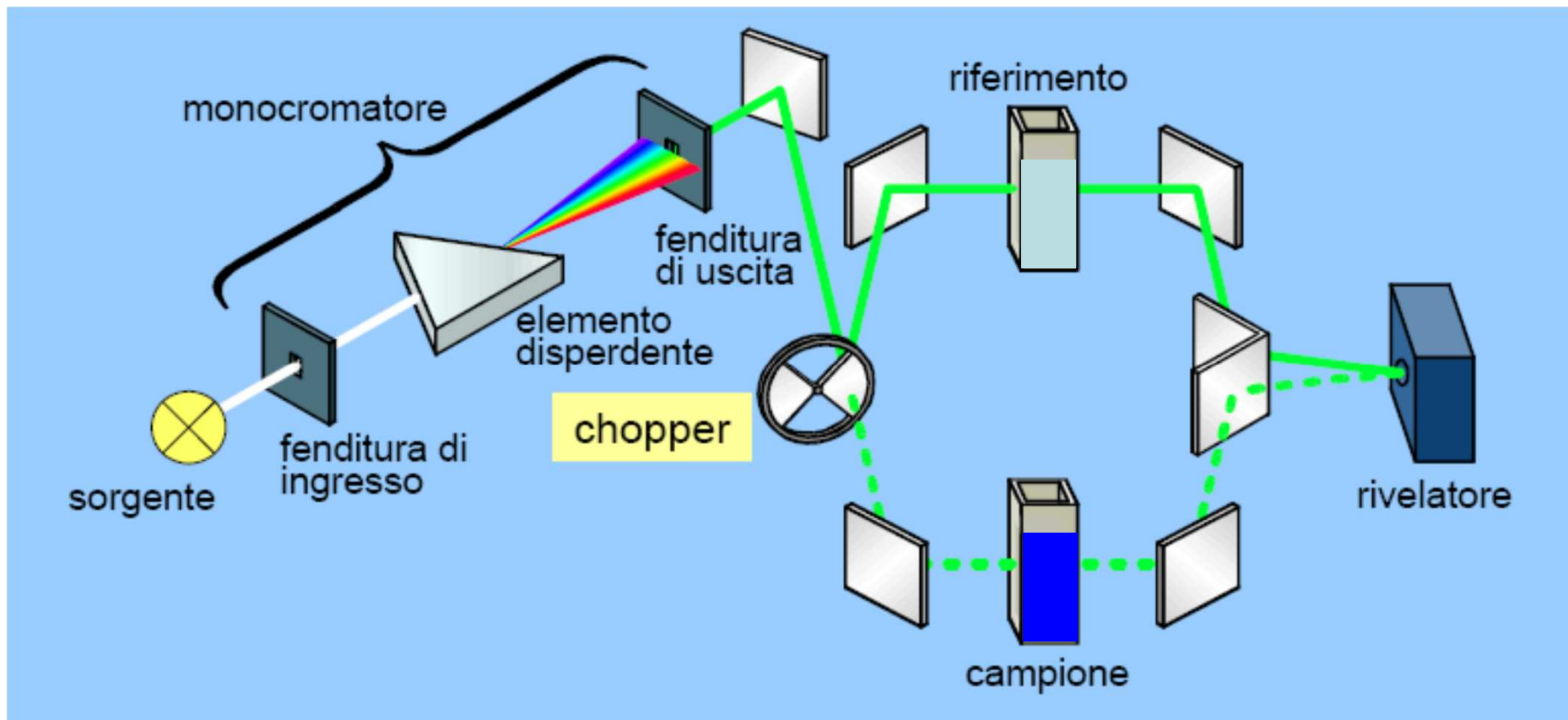


Alle due interfacce aria/parete che a quelle parete/soluzione si verifica riflessione.

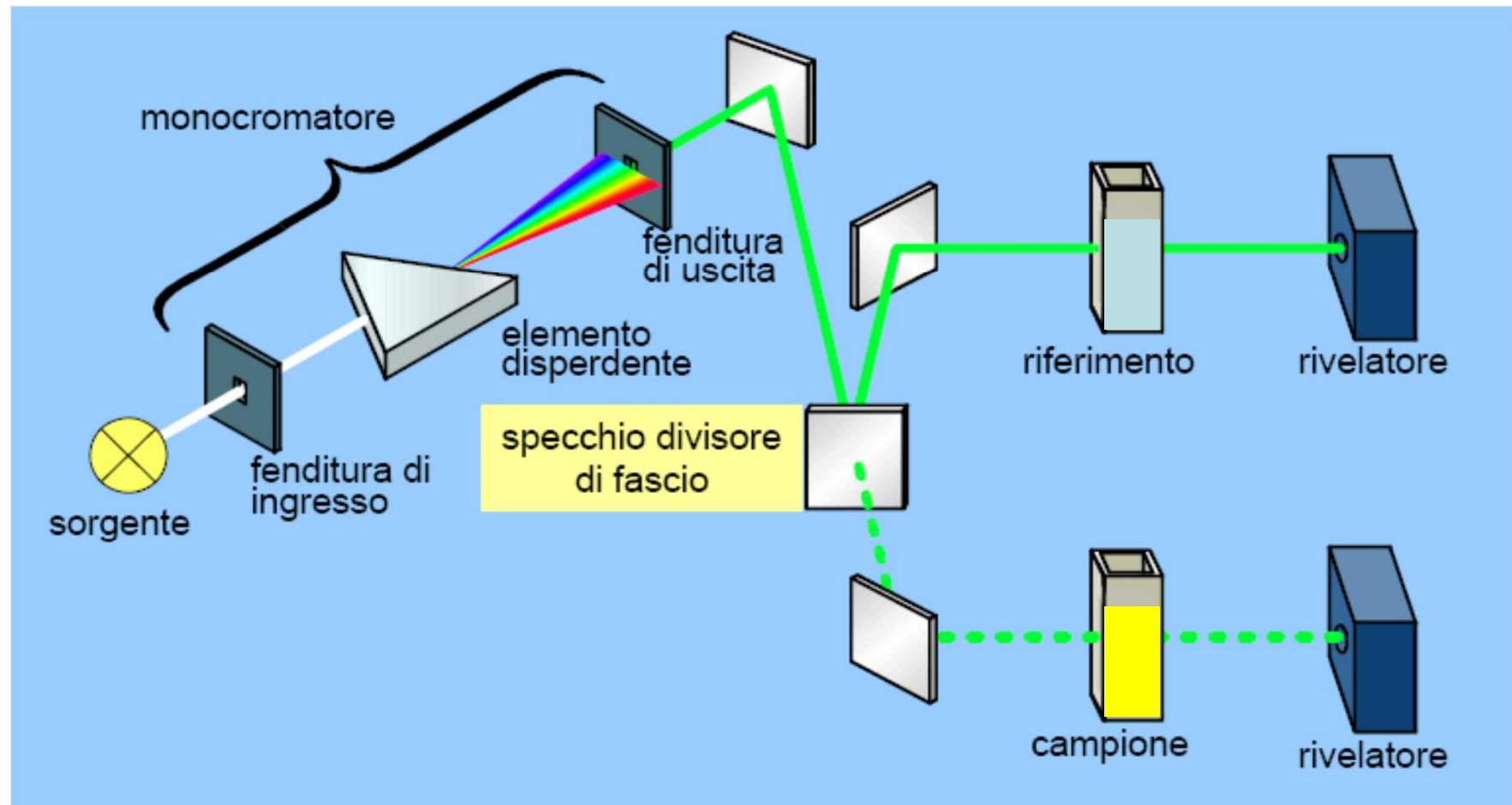
L'attenuazione del fascio è notevole e può esser anche causata da grosse molecole presenti in soluzione.

Per considerare tali effetti la potenza del raggio trasmesso dalla soluzione campione è può essere confrontata con quella del fascio trasmesso da una cella identica contenente **solo solvente**

SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO NEL TEMPO



SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO NELLO SPAZIO



NANODROP

Thermo
SCIENTIFIC



Utilizzo di **microlitri** di campione (da 1 a 1,5 μL), senza costose cuvette.

Analisi in 30 secondi, perché senza la necessità di diluire i campioni.



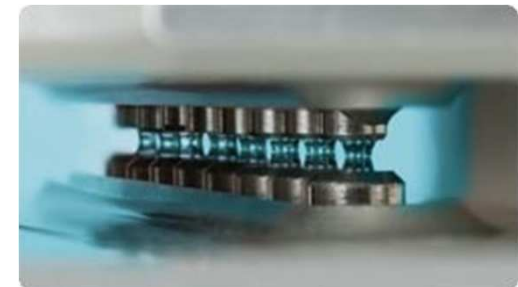
NANODROP

Thermo
SCIENTIFIC



Utilizzabile anche su **micropiastre** per analisi multiple di 8 campioni (versione 8000).

96 campioni in 6 minuti!



NANOPHOTOMETER



PICCOLO E VELOCE
Stampante integrata opzionale
Memorizzazione dati via SD card, Bluetooth,

TUTTO IN UNO
Possibilità di leggere nanovolumi o di
Inserire una cuvetta standard

FACILE IMPIEGO
Tastiera e display grafico per un
immediato dialogo con l'operatore

PRONTO ALL'USO
Microprocessore e software integrati
Indipendenza da PC esterno

VOLUME ULTRA BASSO
con il sistema a fibre ottiche
LabelGuard™, nessuna evaporazione
ne problemi di tensione superficiale del campione

**Solamente
0.3 µl di campione!**

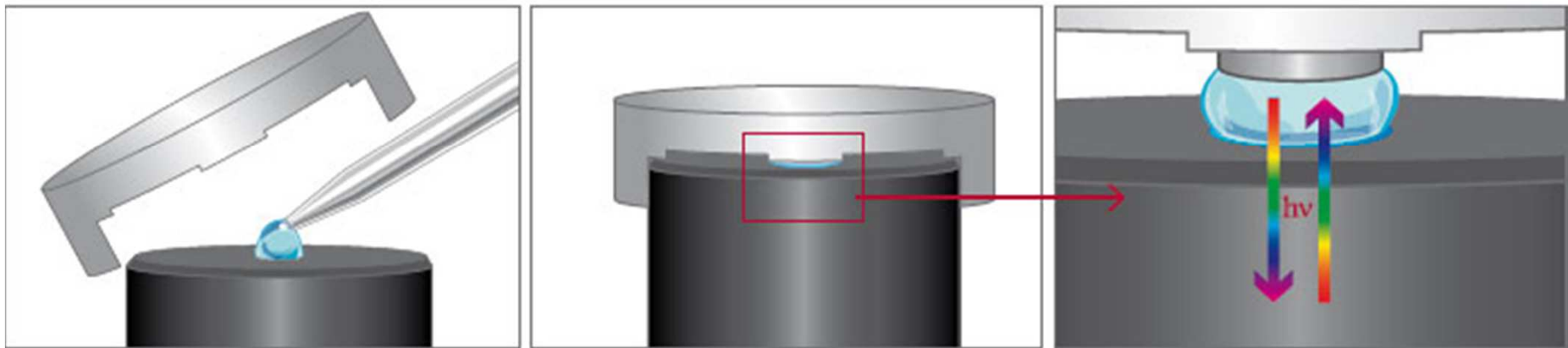
Pearl Design Edition!



NANOPHOTOMETER

Funzionamento e caratteristiche

SAMPLE COMPRESSION TECHNOLOGY™



DETECTION RANGE: 2 ng/ μ l to 18,750 ng/ μ l (DNA)

NANOPHOTOMETER

Fasi manuali

Caricamento



Chiusura



**Letture e
pulizia**

