

VersaWave Spectroscopy Redefined

Expedeon 2014

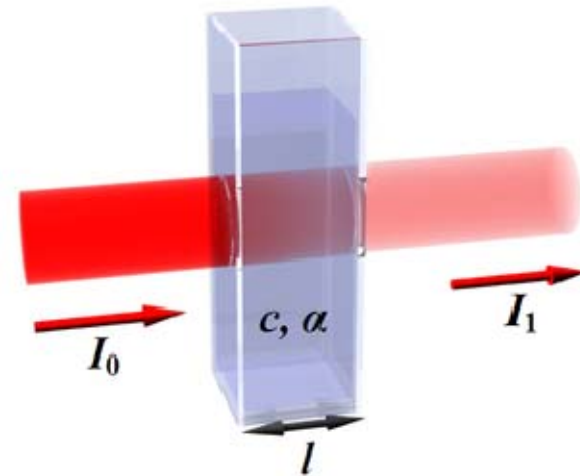
Spectroscopy Introduction

- * UV-VISの範囲におけるスペクトロフォトメトリーは吸収種によって定量的に定義され、発色団と呼ばれています。
- * 発色団には通常、非常に特異的波長の光の吸収領域があります。例: DNAは260nm、タンパク質は280nm
- * ランベルト-ベールの法則
- * 吸収された光量(吸光度)は発色団(溶質)の分子の量数(濃度)に比例します。

Light transmission

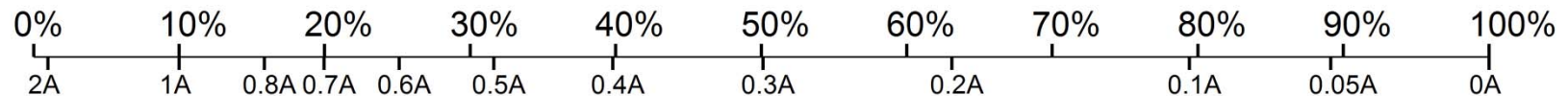
$$\text{Transmission } T = \frac{I_1}{I_0}$$

発色団の濃度は透過率(T)に関して線形(比例)ではありません。



Absorbance

$$\text{Absorbance } A = \text{Log}_{10}\left(\frac{1}{T}\right)$$

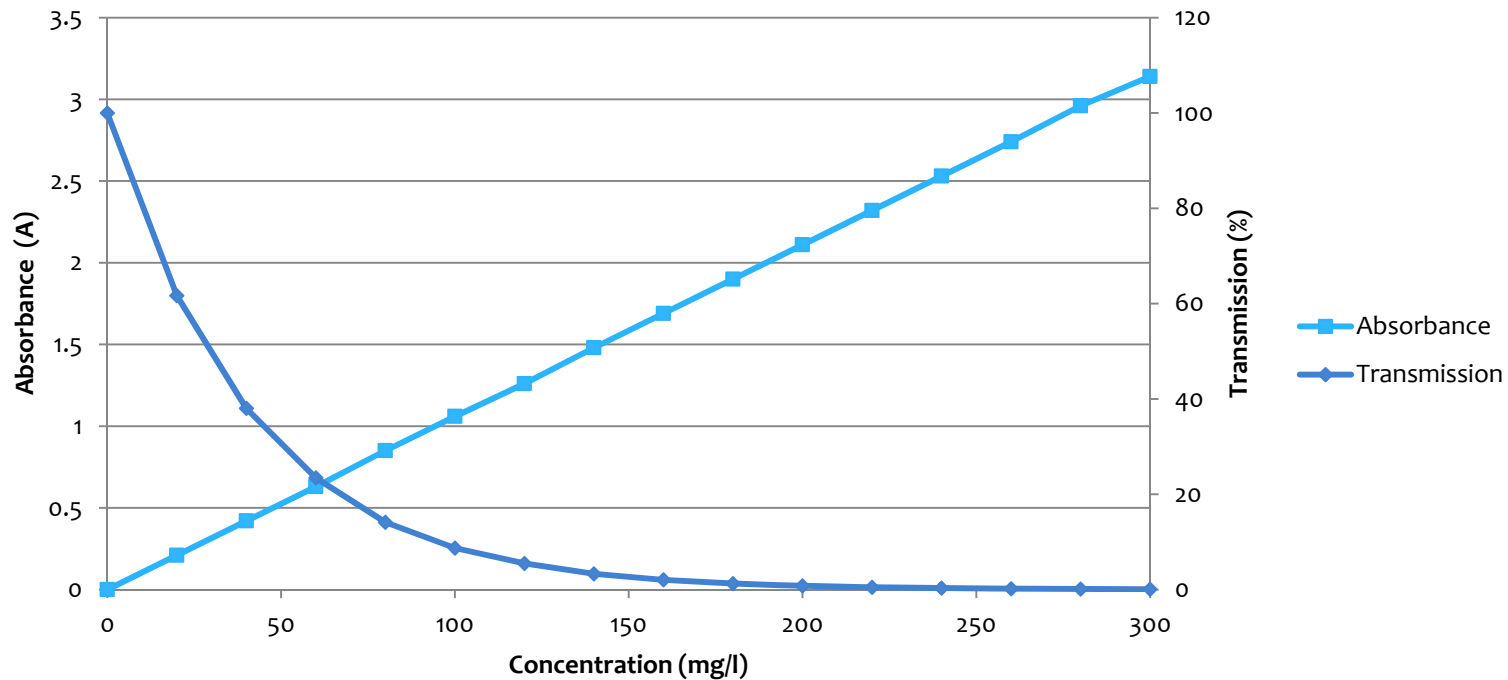


吸光度は濃度に直線的相関性を持っています。

- an Absorbance value of 1A corresponds to 10%T
- an Absorbance value of 2A corresponds to 1%T
- an Absorbance value of 3A corresponds to 0.1%T

Absorbance & Transmission

3A(吸光度3)は通常、分光光度計で測定できる物理的限界とされています。



Beer-Lambert Law

$$\textit{Absorbance } A = \epsilon c l$$

発色団は全て1cmの光路長のセルで1%溶液を吸光度の値を基にした吸光係数 ϵ を持っています。
タンパク質を含む多数の発色団の吸光係数は公表されています。

[c] = the concentration of the chromophore and [l] = the path length.

ベールの法則の式より、発色団または測定対象の濃度cは次の方程式で計算できることがわかります。

$$\textit{Concentration } c = \frac{\textit{Absorbance}}{\epsilon} \times \textit{path length}$$

Path length and dynamic range

- * 物理的限界として直線範囲は0-3A
- * 吸光係数 ϵ イプシロンは不変(定数)だが化合物に特有の値です。
- * 光路長により任意の化合物に対しダイナミックレンジが決まります
- * 吸光性の物質のコンタミまたはバッファ成分によっては対象物質のダイナミックレンジを低下させます。

Path length and dynamic range

Pathlength	DS-DNA $\epsilon = 0.020 \mu\text{l}/(\text{ng}\cdot\text{cm})$		BSA $\epsilon = 0.667 \text{ ml}/(\text{mg}\cdot\text{cm})$	
	Concentration in ng/ μl		Concentration in mg/ml	
	Lower	Upper	Lower	Upper
1 cm	0.75	150	0.02	2
0.1 cm	7.5	1,500	0.2	20
0.01 cm	75	15,000	2	200

対象となる発色団の波長において吸光性のあるコンタミあるいはバッファー組成は、対象物のダイナミックレンジを下限レンジ(S/Nを低下)と上限レンジ(直線レンジを低下)の両方を低下させる可能性があります。

Versawave Key Features

- * 汎用性－豊富なオプション
 - * ピペットチップ
 - * キュベットとマイクロキュベット
 - * プローブ
 - * フローセル
- * アプリケーションの多様性
 - * DNA/RNA/**タンパク**質定量
 - * 細胞培養、発酵
 - * 動力学的研究
 - * 酵素・代謝研究
- * 堅牢性と信頼性
 - * 作動パーツはありません
 - * キャリブレーションを必要としません
- * 操作の簡易性
 - * 予めプログラムされたアプリケーション
 - * ユーザーフレンドリーなソフトウェア
- * 高度な技術規格
 - * 光学ファイバーによる結合
 - * ワイドな波長レンジ
 - * 高いダイナミックレンジ
 - * 高感度

VersaTip



●VersaTipならピペットのまま直接測定が可能。だからサンプルをロスせず回収可能です。

1. VersaTip

STEP.1



☆ピペッターでサンプリング

STEP.2



☆ピペットのまま直接測定

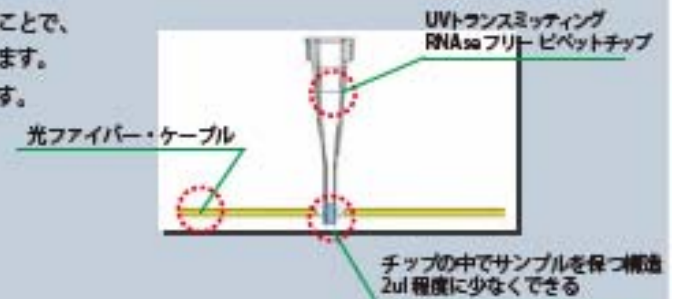
STEP.3



☆測定終了後に、チップ内のサンプルを完全に回収可能

VersaTip (2.5ul, ピペットチップ型のセル) を利用することで、チップ内にサンプルを保持したまま測定することができます。測定終了後は、貴重なサンプルを回収することが可能です。

VersaTip 仕様	
総身長	1m
サンプルボリューム	2.5ul
実長範囲	220mm - 1050mm
検出限界 (DNA)	3ng/ul
検出上限 (DNA)	1000 ng/ul
検出限界 (BSA)	0.1ng/ul



VersaTip Features & Benefits

特徴	利点
チップで測定後サンプルを全量回収できる	貴重なサンプルを保存できる
短い光路長	必要な希釈の回数の低減
ディスポーサブル滅菌チップも用意	RNAseフリーチップ
ディスポなのでサンプル間でチップのクリーニングが不要	スループットの改善、生産性向上、コンタミがない
高いレベルのピペッティング技術は不要	異なるユーザー間でも高い再現性
チップ内にサンプルをホールドする	蒸発のロスなし→より高精度
チップは鋳型形成	光路長のばらつきなく一定

VersaCell



VersaCell Features & Benefits

特徴	利点
少ないサンプル容量	貴重なサンプルを微量で測定できる
短い光路長	必要な希釈の回数の低減
光路長の範囲は0.125-0.5mm	測定レンジの拡大
良好な透過率	再現性の向上

VersaTray



VersaCell Features & Benefits

特徴	利点
少ないサンプル容量	貴重なサンプルを微量で測定できる
短い光路長	必要な希釈の回数の低減
光路長の範囲は0.125-0.5mm	測定レンジの拡大
キャップの交換によって光路長を変更	使い勝手よく感度の変更が可能
ホルダーとサンプルの間からセルを除く必要がない	VersaCellによる比較が迅速に操作可能

VersaProbe



VersaProbe Features & Benefits

Feature	Benefit
In situ 測定	サンプルロスがない
有効な光路長は20mm	非常に光感度(～2ug/ml)
光路長の範囲は1-20mm	測定レンジの拡大
狭いプローブの直径	マイクロタイタープレート、エッペンドルフチューブ、または大きなビーカーの使用に適している
化学的耐性素材から製造	全てのタイプのバッファーや溶媒に適している

Applications for Versawave

* 推奨のアクセサリーはタンパク質の濃度に拠ります。

Concentration Range	Recommended Accessory	Notes
1 - 40 mg/ml	VersaTip	迅速、簡単、ハイスループット
2 - 80 mg/ml	VersaCell with 0.5mm path	希釈の必要性を低減
> 80 mg/ml	VersaCell / VersaTray with 0.125 mm path	測定レンジの拡大
0.01 to 4 mg/ml Higher sample	VersaProbe with 1cm path	必要なサンプル量は0.75ml
0.005 to 2.0 mg/ml	VersaProbe with 2cm path	サンプル量は1ml以上必要

Centrifugal Concentration

遠心による濃縮

- * スタート濃度: 0.1 mg/ ml - 1 mg/ml
 - * スタートVolume 500 ul
 - * 濃縮係数 25
 - * 濃縮Volume 20 ul
 - * 推定最終濃度: 2.5 - 25 mg/ml
-
- * 貴重なサンプル20 ulのみ使用可: VERSATIP
 - * サンプルを失わずに回収して、効率的に濃度計算可能!

VersaTip Applications: Concentration Dilute samples

- * スタート濃度: 5 $\mu\text{g/ml}$ - 50 $\mu\text{g/ml}$
- * スタートVolume 500 μl
- * 濃縮係数 25
- * 濃縮Volume 20 μl
- * 推定最終濃度: 0.125 - 1.25 mg/ml

- * 貴重なサンプル20 μl のみ使用可能
 - * Bradford Ultra試薬 + VERSATIP
 - * 0.1 μl サンプルでBradfordサンプルを調製可能
 - * 濃度とタンパク質回収率をを効率的に計算

- * Expedeon社のBradford Ultraは界面活性剤、UV吸収物、還元剤、キレート剤が含まれていても測定に支障がない！

Sample Prep for electrophoresis

2次元電気泳動、SDS-PAGE、IEFに際してのloading蛋白量の測定

- * 細胞からLaemli Bufferによりタンパクを抽出
- * 未知タンパク質濃度→Gelにロードする量はどのくらい??
- * Bradford Ultra+VersaTip
 - * Bradford UltraはLaemli Bufferに含まれているSDSに互換性があります(界面活性剤、UV吸収物、還元剤、キレート剤が含まれていても測定に支障がない)
 - * 0.3ul Lysateの使用のみで、VersaTipの分析用4.5ulサンプルが調製可能。
- * その結果、ゲルへのオーバーロードもアンダーロードも回避できます

Analysis of Batch Chromatography

様々なクロマトグラフィを行う前後の蛋白質定量

- * タンパク質溶解液
 - * Bradford MX+VersaTip→たんぱく質濃度
- * より正確な樹脂量をアプライ: 高い費用対効果
- * 洗浄中のタンパク質濃度を測定します
 - * 結合効率を測定⇒ロス回避
 - * Versaprobe
 - * Versatip (Bradford解析ありorなし)
- * 溶出液中のタンパク質濃度を測定します。
 - * 回収率と精製収量を測定

Analysis of chromatography fractions

- * AKTAによる1 mlの分画精製
- * UV traceは信頼性に欠ける
 - * コンタミネーション
 - * チューブに拡散するピーク
 - * 分画中の濃度の実測値を与えるものではありません。
- * 分画の確認
 - * VersaProbe/Versatip: たんぱく質ロード量に応じて
 - * サンプルロスなく、迅速かつ簡単に
 - * Bradford MX+VersaTip
 - * サンプル使用量は0.1ml
 - * UVベースの測定ではなく-UVトレースによるコントロール