

NanoDrop Lite Plus分光光度計

FAQ

製品番号 NDLPUSGL

マニュアル番号 A66375JP Rev. A



研究用にのみ使用できます。診断用には使用いただけません。



The information in this guide is subject to change without notice.

DISCLAIMER: TO THE EXTENT ALLOWED BY LAW, THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. AND/OR ITS AFFILIATE(S) WILL NOT BE LIABLE FOR SPECIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, PUNITIVE, MULTIPLE, OR CONSEQUENTIAL DAMAGES IN CONNECTION WITH OR ARISING FROM THIS DOCUMENT, INCLUDING YOUR USE OF IT.

Important Licensing Information: This product may be covered by one or more Limited Use Label Licenses. By use of this product, you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

改訂履歴: A66375JP

改訂	日付	説明
A	2024年2月1日	新規文書

目次

NanoDrop 全機種共通.....	2
Q01, 使用できる溶液に制限はありますか？	2
Q02, アセトンやホルマリンなど揮発性の高い溶媒も測定できますか？	2
Q03, 拭き取るだけでキャリーオーバーの心配はありませんか？	2
Q04, ウォームアップの時間は必要ですか？	2
Q05, 核酸を測定する前に、精製が必要ですか？	2
Q06, タンパク質を測定する前に精製が必要ですか？	2
Q07, タンパク質測定で特に注意することはありますか？	2
Q08, ブランク測定に適切な溶液は何ですか？	2
Q09, マイナスの吸光度が得られてしまう原因は？	2
Q10, 測定結果が想定される値ではない、または再現性が得られないときにはどうすればよいですか？	3
Q11, 必要なサンプル量は？	3
Q12, サンプル量は、測定値(濃度)に影響しますか？	4
Q13, Purity ratio が基準以下のときの、対応方法は？	4
Q14, NanoDrop 関連ソフトウェアのダウンロード先と PC の対応 OS について教えてください.....	4
Q15, 特別なメンテナンスや調整は必要ですか？	4
Q16, 台座の拭き方はどのように行えば良いですか？	4
Q17, アームを降ろしたときに台座に傷が付きませんか？	4

NanoDrop 全機種共通

Q01, 使用できる溶液に制限はありますか？

A. 生化学のラボで使われる通常の試薬はほとんど大丈夫です。
(メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、アセトン、エーテル、クロロホルム、四塩化炭素、DMSO、DMF、アセトニトリル、TFA、トルエン、ヘキサン、ベンゼン、水酸化ナトリウム、次亜塩素酸ナトリウム、希塩酸、希硝酸、希酢酸など)
酸の使用後はすぐに拭き取り、測定部にサンプルを長く置かないように注意してください。
フッ酸は、フッ化物イオンが石英ファイバーを溶かしてしまうので、使用できません。

Q02, アセトンやホルマリンなど揮発性の高い溶媒も測定できますか？

A. はい。ただし、揮発の程度により測定誤差が生じる可能性がありますので、台座にアプライした後、すぐに測定してください。揮発性の高い液、酸などの溶媒は、ピペット操作中に蒸発する恐れがあります。揮発性の高い溶媒は液量を2~3 µLに増やして測定いただくことも有効です。
揮発性が高いサンプルでは、キュベットによる測定も有効です。

Q03, 拭き取るだけでキャリーオーバーの心配はありませんか？

A. ありません。
Thermo Scientific™ NanoDrop™の台座は非常にサンプルが残りにくい処理が施されています。一般的なサンプルは(DNA、RNAなど)ラポペーパーで拭き取るだけで十分です。ただし、使用する試薬によっては、例えばブラッドフォード試薬を使ったタンパク質定量では、測定により台座に汚れが残ることがあります。汚れが残ってしまうと、液柱形成が不十分になることがあり、測定値がばらつく原因になります。その場合には、"Buffing"という拭き取り操作を行ってください。

<Buffingの手順>

1. ラポペーパーが厚くなるように何度か折り重ねます。
2. サンプル台座の表面にラポペーパーを均等に押し付け、50回以上強く拭きます。
3. 上部アームの台座についても同様の手順を施しますが、力を入れすぎるとアームを破損する場合があります。片方の手でアームを支えて実施してください。
4. 台座およびその周囲(ダイアフラム)に存在するラポペーパーの繊維やホコリをエアダスターで取り除いてください。

Q04, ウォームアップの時間は必要ですか？

A. いいえ。
電源を入れてすぐに測定できます。

Q05, 核酸を測定する前に、精製が必要ですか？

A. はい。
吸光度測定法は、核酸を特異的に測定するものではありません。
260 nmに吸収を持つヌクレオチドや他の分子の影響を受けてしまいます。

Q06, タンパク質を測定する前に精製が必要ですか？

A. はい。
タンパク質 A280モードを使用して測定する場合、吸光度の値は、280 nmに吸収波長を持つタンパク質以外の物質の影響も受けます。
精製されていないタンパク質の測定を行う場合は、比色定量モード(BCA法、Bradford法、Lowry法およびPierce 660 nm法)を使用してください。

Q07, タンパク質測定で特に注意することはありますか？

A. タンパク質溶液の場合、表面張力が低い場合があります。通常の場合、1 µLのサンプルで大半の測定を行うことができますが、表面張力の低下したサンプルでは確実に液柱を形成するために、サンプル量を2 µLに増やすことをお奨めいたします。サンプル量は測定濃度に影響しません。
また、タンパク質は台座に残りやすいので、測定ごとに、2~3回、拭き取り操作を行ってください。

Q08, ブランク測定に適切な溶液は何ですか？

A. ブランク溶液は常にサンプルと同じ溶媒(特にpH やイオン強度がサンプルと同じ溶液)を使用してください。

Q09, マイナスの吸光度が得られてしまう原因は？

A. ブランク溶液が、サンプル溶解液よりも吸光度の高い溶液か、もしくは台座が汚れている可能性があります。上下の台座をきれいにし、新しい適切なブランク溶液を使用してください。

Q10, 測定結果が想定される値ではない、または再現性が得られないときにはどうすればよいですか？

A. 以下の点を確認してください。

サンプルの均一性を確認してください

不均一な溶液からサンプリングすることは、特に超微量での測定に明らかな測定誤差を引き起こします。特に高濃度なゲノムDNAやラムダDNAなどの大きな分子を含むサンプルおよび粘度の高いサンプルを測定する場合は、サンプリングする前に十分注意して撹拌してください。変性、沈殿、凝集などを起こしているタンパク質も同様に、サンプリング前に注意して撹拌してください。

気泡の混入を確認してください

ゲノムDNAや高濃度サンプルでは、粘性が影響してサンプル溶液に気泡が含まれる場合があります。界面活性剤を含むサンプルも同様です。サンプルに気泡が含まれている場合、気泡が光を回折し正確な定量値が得られません。ポルテックスは静かにかつ十分に行い、ピペット操作時の気泡の混入に気をつけてください。

DNA サンプルを55℃に温め、測定前に静かに(十分に)撹拌してみてください

NanoDropシリーズでは微量のサンプルで測定するため、サンプル溶液の均一性が非常に重要です。ゲノムDNAやラムダDNAのような大きな分子を含むサンプルの場合は特に影響します。キュベットを使用する分光光度計ではサンプル量が多いためこの影響は少なくなります。

上下の台座の汚れを確認してください

測定時に測定台座が汚れている(メンテナンス不足によるサンプルの乾固など)と、吸光度エラーやシグナルの飽和を引き起こします。測定前に台座のクリーニングおよびリコンディショニングを実施してください。

改善しない場合は、装置がスペック内で正常に動作しているかの確認のため、パフォーマンス検証を実施してください。実施方法は、「NanoDrop Lite Plusメンテナンスガイド」の「パフォーマンス検証」をご参照ください。ウェブサイト(www.nanodrop.com/)の「リソース」のタブにある動画資料も併せてご参照ください。

蒸発の影響と溶媒

各測定時は新しいサンプルを用いてください。測定中のサンプルの蒸発は吸光度に少なからず影響がありますので、アブライ後は直ちに測定してください。

また、揮発性の高い溶媒やエアコンの風が直接当たるような環境の場合も蒸発に配慮してください。特に揮発性の高い液酸などの溶媒は、蒸発する恐れがあります。揮発しにくいDMSOなどの溶媒は問題ありません。

サンプル量を確認してください

正確にサンプルをアブライするには、校正された精密ピペット(0~2 µL容量)を、低吸着の精密チップ(ローリテンションチップ)とともに使用してください。低品質のピペットやチップは、意図したサンプル量がアブライできていない可能性があります。

液柱形成を確実にするために、必要に応じてサンプル量を2 µLに増やしてください。

タンパク質や界面活性剤を含む溶液の測定では、液柱が形成しにくい場合があります。その場合は、乾いたラポペーパーで15~20回、測定面を拭くか、PR-1リコンディショニングキットでサンプル台座をリコンディショニングしてください。実施方法は「NanoDrop Lite Plusメンテナンスガイド」の「台座のクリーニング・リコンディショニング」を参照してください。ウェブサイト(www.nanodrop.com/)の「リソース」のタブにある動画資料も併せてご参照ください。

ブランクに使用した溶媒の吸光度を確認してください

測定間のキャリーオーバーがないかを確認するため、ブランクに使用した溶媒をサンプルとして吸光度を測定してください。測定波長域で吸光度が確認された場合、キャリーオーバーが発生している可能性があります。台座をクリーニングして再度ブランクに使用した溶媒を測定して問題が改善されたことを確認します。10サンプル以上を連続して測定する場合など、10サンプルごとに確認することで測定精度が向上します。

サンプル濃度を確認してください

NanoDropは広い検出範囲を持っていますが、検出限界に近いレベルの薄いサンプルの測定は、吸光度が不安定です。各装置の測定濃度範囲の検出下限を参照してください。

コンタミネーションを確認してください

DNAでは260 nmと280 nmの吸光度比が1.8付近、RNAでは2.0付近を高純度とみなします。どちらの場合も比率が低い時には、280 nmに吸光を有するタンパク質もしくは270 nmに吸光を有するフェノールのコンタミネーション、あるいは280 nm付近に吸光を有する他のコンタミネーションの存在が考えられます。サンプルの抽出精製をやり直すかどうかを判断してください。

Q11, 必要なサンプル量は？

A. 通常1 µLですが、表面張力が弱いサンプルを測定する場合は、確実に液柱を形成させるためサンプル量を2 µLに増やしてみてください。

上下台座の間にサンプルの液柱が形成されることが重要であり、サンプル量が結果に影響することはありません。液滴の表面張力を決定する重要なファクターは溶液中の水分子の水素結合です。一般に、あらゆる添加物(タンパク質、緩衝塩、および界面活性分子を含む)は水分子間の水素結合に干渉することにより、表面張力を低減する場合があります。

Q12, サンプル量は、測定値(濃度)に影響しますか？

A. 測定値(濃度)は、サンプル量に依存しません。
吸光係数や換算係数を用い、吸光度と濃度の関係からランベルトベールの式によって算出されています。

Q13, Purity ratio が基準以下のときの、対応方法は？

A. A260 nmとA280 nmの吸光度の比は、DNAとRNAの純度を評価するのに用いられます。DNAでは吸光度比が1.8付近、RNAでは2.0付近を高純度とみなします。どちらの場合も比率が低い時には、280 nmに吸光を有するタンパク質もしくは270 nmに吸光を有するフェノールのコンタミネーション、あるいは280 nm付近に吸光を有する他のコンタミネーションの存在を示唆しています。これらのコンタミネーションが次の実験でどのように影響するかを考察した上で、抽出精製をやり直すかどうかを判断してください。また、純度比は以下のようなファクターが影響する可能性もあります。

サンプルの酸性度による変動

溶液のpHが260/280に影響を与えます*。酸性溶液は、260/280比が0.2~0.3低くなり、塩基性溶液では、比が0.2~0.3高くなります。キュベットや他の分光光度計の測定値と比較する場合、希釈時のpH変動を考慮して、pHを同じにする必要があります。

* William W. Wilfinger et al., Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity
Biotechniques. 1997 Mar;22(3):474-6, 478-81. doi: 10.2144/97223st01.

分光光度計の波長の正確性

260 nmでの核酸の吸光度は、一般的には平坦ですが、280 nmでの吸光度曲線は急な傾きを示すため、波長精度のずれが260/280比に大きく影響します。例えば、波長精度の +/- 1nmのずれは、260/280比で +/- 0.2の違いが生じます。

ヌクレオチド比

DNAとRNAを構成する5つのヌクレオチドは、260/280比**がかなり異なります。以下は単独で測定した場合の、各ヌクレオチドの推定260:280比です。

グアニン: 1.15
アデニン: 4.50
シトシン: 1.51
ウラシル: 4.00
チミン: 1.47

研究されている核酸の260/280比は、現行の4種のヌクレオチドの260/280比の加重平均とほぼ等しくなります。DNAとRNAそれぞれの推奨260/280比(1.8と2.0)は一般的な指標であり、実際にはそれぞれ構成されるヌクレオチドに依存します。

** Leninger, A. L. Biochemistry, 2nd ed., Worth Publishers, New York, 1975

メモ: RNAでは、ウラシルの比率がチミンと比較して高いため、通常260/280比が高くなります。

Q14, NanoDrop 関連ソフトウェアのダウンロード先とPCの対応OSについて教えてください

A. ソフトウェアと対応OSについてはウェブサイト(www.nanodrop.com/)の「ソフトウェアアップデート」のタブより最新の情報をご確認ください。

Q15, 特別なメンテナンスや調整は必要ですか？

A. いいえ。

測定時の台座のクリーニングだけで大丈夫です。

装置がスベック内で正常に動作しているかの確認のため、6ヶ月毎のパフォーマンス検証を推奨しています。クリーニングの方法は、「NanoDrop Lite Plusメンテナンスガイド」の「クリーニング」および「パフォーマンス検証」をご参照ください。ウェブサイト(www.nanodrop.com/)の「リソース」のタブにある動画資料も併せてご参照ください。

Q16, 台座の拭き方はどのように行えば良いですか？

A. リントフリーの乾いたラボーパーで上下の台座からサンプルを拭き取ります。タンパク質サンプルを測定した場合拭き取りが悪いとタンパク質が乾いて台座に固着してしまう可能性がありますので、しっかりと拭き取ってください。NanoDropの台座は堅牢なので強く拭きとっても問題ありません。

Q17, アームを降ろしたときに台座に傷が付きませんか？

A. はい。

アームを降ろしても上下の台座が触れることはありません。

お問い合わせ

テクニカルサポート：技術的なお問い合わせ、トレーニング

 0120-477-392

受付時間：9:00 ～ 17:30 土日祝日・年末年始を除く

 jpotech@thermofisher.com

フィールドサービス：保守契約、点検

 0120-203-885 FAX：03-6832-9588

受付時間：9:00 ～ 12:00、13:00 ～ 17:30 土日祝日・年末年始を除く

Limited product warranty

Life Technologies Corporation and/or its affiliate(s) warrant their products as set forth in the Life Technologies' General Terms and Conditions of Sale found on Life Technologies' website at www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html.

If you have any questions, please contact.

研究用にもみ使用できます。診断用には使用いただけません。


©2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc

サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート  0120-477-392  jpotech@thermofisher.com

オーダーサポート TEL：03-6832-6980 FAX：03-6832-9584

営業部 TEL：03-6832-9300 FAX：03-6832-9580

 facebook.com/ThermoFisherJapan

 @ThermoFisherJP

thermofisher.com

thermo scientific