Thermo
SCIENTIFIC

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計

V1.0 取扱説明書

本文中に記載されている情報は、あくまでも参考のためのものとなっております。本文に含まれるすべての情報は正確で完全なものであるように万全を期しております。本文中に含まれる誤り、および本機器の導入、操作もしくは使用に起因する、偶発的もしくは必然的なダメージに関して Thermo Fisher Scientific は一切の責任を負いません。本文に記載された情報、および商品の仕様は、予告なしに変更される場合があります。

本文には、著作権もしくは商標によって保護されている情報および製品名の記述、またはそれらを参考とした表現の含まれる場合があります。また、本文書は弊社の所有する商標権もしくはその他の権利下のいかなるライセンスも譲渡するものではありません。第三者の商標もしくはその他の権利の侵害により発生する責任を弊社が負うことはありません。

弊社は本製品に関するいかなる種類の保証 (商品性および特定目的への適合性に関する黙示的な保証を含むがこれに限らず) も提供しておりません。最終的に、お客様が本システムの評価責任を負うこととなります。

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

弊社の事前の許可なく、本文書のあらゆる箇所に関して、検索システムへの登録、転送、もしくはあらゆる手段での複製 (写真複写、写真撮影、磁気式またはその他の記録を含むがこれに限らず) を行うことはできません。

技術的なサポートに関しては、弊社 スクラムまでお問い合せください。

Microsoft、Windows、Windows NT および Excel は 米国 および/もしくは各国の Microsoft Corporation の商標または登録商標です。

Adobe および Acrobat は Adobe Systems, Incorporated の商標です。

その他のすべての商標は Thermo Fisher Scientific もしくはその子会社の所有となっております。

NanoDrop は Thermo Fisher Scientific の商標です。

2009 年 3 月 改訂

目次

1. イントロダクション 1-1

本体について 1-1
本体仕様 1-1
特許 1-1
Pedestal モードでの測定 1-2
Pedestal モードの基本的な使用法 1-2
Cuvette モード での測定 1-3
Cuvette モードの基本的な使用法 1-3
Blank と吸光度の算出 1-4
蛍光 Dye 1-5

2. ソフトウェア 2-1

コンピューターの必要条件 2-1
ソフトウェアのインストール 2-1
ユーザー登録 2-3
ソフトウェアの特徴 2-3
左パネル 2-3
右パネル 2-6
データとアカウントの管理 2-7
My Data 2-7
Report 2-7
Autosave ファイル 2-9
Options 2-9

3. アプリケーション 3-1

概要 3-1
クイックスタート 3-1
測定範囲 3-2
Nucleic Acid 3-3
概要 3-3
核酸の算出 3-3
結果表示画面 3-4
Nucleic Acid アプリケーションでの測定 3-6
Oligo Calc 3-6
Micro Array 3-8
概要 3-8
Dye/Chromophore Editor 3-8
結果表示画面 3-8
Micro Array アプリケーションでの測定 3-9
Oligo Calc 3-10
UV-Vis 3-13
概要 3-13
結果表示画面 3-13
UV/Vis アプリケーションでの測定 3-14
Protein A280 3-17
概要 3-17
結果表示画面 3-18
Protein A280 アプリケーションでの測定 3-19
Proteins & Labels 3-21
概要 3-21
Dye/Chromophore Editor 3-21
結果表示画面 3-22
Protein & Labels アプリケーションでの測定 3-23
Protein BCA 3-25
概要 3-25
結果表示画面 3-26
BCA アプリケーションでの測定 3-27
Protein Lowry 3-29

概要 3-29
結果表示画面 3-30
Lowry アプリケーションでの測定 3-31
Protein Bradford 3-33
概要 3-33
結果表示画面 3-34
Bradford アプリケーションでの測定 3-35
Protein Pierce 660 nm 3-37
概要 3-37
結果表示画面 3-38
Protein Pierce 660 nm アプリケーションでの測定 3-40
Cell Culture 3-42
概要 3-42
結果表示画面 3-43
Cell Culture アプリケーションでの測定 3-43
4. Method Editor 4-1
Editor Options 4-1
Method Editor の機能 4-1
左パネル 4-1
右パネル 4-2
カスタムメソッドでの測定 4-6
5. Kinetics 5-1
Kinetics Editor の機能 5-1
左パネル 5-1
右パネル 5-2
結果表示画面 5-3
Rate の算出 5-3
Kinetic メソッドでの測定 5-4
6. 保証 ..... エラー! ブックマークが定義されていません。
保証 ..... エラー! ブックマークが定義されていません。
部品の交換 ..... エラー! ブックマークが定義されていません。
安全性 ..... エラー! ブックマークが定義されていません。
WEEE 基準 ..... エラー! ブックマークが定義されていません。

1. イントロダクション

本体について

Thermo Scientific NanoDrop™ 2000/2000c 分光光度計は 0.5 – 2 µL サンプルを高い精度と再現性で測定します。NanoDrop 2000c モデルでは、NanoDrop サンプル保持システム (特許取得) を使用する測定と、キュベットを使用する従来の測定の両方を実行することができます。

サンプル保持システム は、表面張力を利用して光ファイバー間にサンプルを円柱状に牽引形成することで、希釈せずに高濃度のサンプルを測定することができます。サンプル保持システムにより、フルスペクトル (190 - 840 nm) NanoDrop 2000/2000c 分光光度計は、標準的なキュベットを使用する測定法に比べ、200 倍までの濃度のサンプルを測定することができます。

本体仕様

NanoDrop 2000/2000c – Pedestal モード

機器の種類:	分光光度計
最少サンプルボリューム:	0.5 µL
光路長:	0.05 mm - 1 mm
光源:	キセノンフラッシュランプ
検出器:	2048 素子リニアシリコン CCD アレイ
波長範囲:	190 – 840 nm
波長精度:	± 1 nm
波長解像度:	≦1.8 nm (FWHM at Hg 253.7 nm)
吸光度誤差:	0.002（1 mm path）
吸光度精度:	± 2% (at 0.76 at 257 nm)
吸光度範囲:	0.02 – 300 (10 mm Path 相当)
検出下限:	2 ng/µL (dsDNA)
検出上限:	15,000 ng/µL (dsDNA)
測定時間:	＜ 5 秒
寸法 (WxD):	14 cm x 20 cm
重量:	2.0 kg
サンプル測定部の材質:	SUS303 ステンレスと石英
電圧:	12 VDC
消費電力:	12 – 18 W (最大 30 W)
ソフトウェアの互換性:	Windows® XP および Vista (32 bit)

NanoDrop 2000c – Cuvette モード

Beam height:	8.5 mm
温度調整	37 ± 0.5℃
スターラーの回転数調整	150 - 850 rpm
光路長	10、5、2、1 mm
検出下限	0.4 ng/µL (dsDNA)（10 mm Path のキュベットを使用した場合）
検出上限	750 ng/µL (dsDNA)（1 mmPath のキュベットをしようした場合）
測定時間	＜ 3 秒
重量	2.1 kg

NanoDrop 製品はすべて CE および UL/CSA 規格を満たしております。

特許

NanoDrop 2000/2000c に使用されているサンプル保持システムは US patent 6,628,382 および 6,809,826 で保護されています。その他の特許についても申請中です。

Pedestal モードでの測定

1 – 2 µL サンプルを直接ピペットで測定部表面に添加します。高濃度の Nucleic Acid もしくは Protein A280 サンプルであれば、より少量の 0.5 µL でも測定することができます。光ファイバー端末間に溶液を円柱状に牽引形成することで、測定光路を確立します。光源側の光ファイバーがキセノンフラッシュランプに接続され、受光側の光ファイバーがリニア CCD アレイを利用した分光測定部に接続されています。本体はソフトウェアで制御され、データは PC のワークブックファイル (*.twbk) に書き込まれます。

Pedestal モードでの測定に必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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、DNA、RNA、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。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 に増やす必要があります。

サンプルの液柱形成を確実にするために、以下の量で測定することを推奨します。

- 核酸: 1 µL
- 精製タンパク質: 2 µL
- Bradford 法、BCA 法、Lowry 法、または Pierce 660 nm アッセイ溶液: 2 µL
- 濁度測定液: 2 µL

1～2 µL の分注を確実に行なうには、極細チップのついた高精度ピペッター (0～2 µL 用) の利用が最適です。サンプルの特性、またはピペッターの精度が不明な場合のサンプル量は 2 µL が推奨されます。

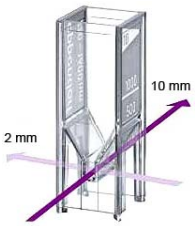
Pedestal モードの基本的な使用法

1. 上部アームを上げて、サンプルを下部測定面にピペットで乗せます。

2. 上部アームを閉じ、パソコンのソフトウェアを使って、スペクトルの測定を開始します。上下の測定面間にサンプルの液柱が形成されスペクトルの測定が実行されます。
3. 測定が終わったら、上部アームを開けて、乾いた、リントフリーのラボペーパー (キムワイプなど) を使って、上下の測定面のサンプルをふき取ります。簡単な拭き取り操作で、次の測定でのキャリーオーバーは 1/1000 以下になります。

Cuvette モード での測定

NanoDrop 2000c では高さ 48 mm までの 10 mm キュベットを使用することができます。マイクロ、セミマイクロ、もしくはウルトラマイクロキュベットを使用して、サンプルを測定する場合はブラックセルの使用を推奨します。ブラックセルであれば、検出器にあたる光が全てサンプルを通過したものとなります。スタンダードセルの場合、サンプルを通過していない光が検出器にあたる可能性があります。こうしたスタンダードセル間で生じる誤差は、特に低濃度のサンプルでは、重大な測定エラーに繋がる可能性があります。



Eppendorf Uvette®

Starna ブラックセル

サンプルを UV (< 340 nm) で測定する場合、UV 波長を透過する石英製のキュベットをご使用ください。一部のメーカーから “UV 透過” プラスチックセルが提供されていますが、それらの最高性能のものであっても、220 nm 以下の波長は通しません。また、大半のプラスチックおよびガラスセルは UV 波長を完全にブロックしてしまいます。

シングルビームの分光光度計ではキュベットのマッチングが推奨されますが、多くのキュベットメーカーでは製造工程を十分に管理し、マッチングやサーティフィケーションを必要としないキュベット間の精度を実現しています。そうしたキュベットであれば、NanoDrop 2000c で差し支えなく測定を行うことができます。

Cuvette モードに必要なサンプル量

測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

Cuvette モードの基本的な使用法

1. サンプルをキュベットにとり、光路を十分にカバーするボリュームか確認します。
2. 上部アームを開き、キュベットを本体に設置します。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入してください。

3. 上部アームを閉じます。
4. PC のソフトウェアを使用して波長の測定を開始します。
5. 測定が終了したら、キュベットを取り出し、サンプル毎に洗浄と乾燥を行います。

Blank と吸光度の算出

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計は、一旦リファレンス液を使って "Blank" 測定するとベースラインの光度としてそれをメモリーします。サンプルを測定するとサンプルを透過した光度が記録されます。サンプルの吸光度は Blank の光度とサンプルの光度を用いて以下の計算式で求められます。

$$Absorbance = -\log\left[\frac{Intensity_{sample}}{Intensity_{blank}}\right]$$

よって、特定の波長における吸光度を算出するためには、対象の波長の Blank とサンプル両方の光度が必要となります。

算出された吸光度から濃度を割り出すためにランバート-ベールの法則を使用します。

A = ε * b * c

A = 測定対象の吸光度
ε = 特定波長でのモル吸光係数 (liter/mol-cm)
b = 光路長 (cm)
c = 測定対象液のモル濃度

一般に、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーをリファレンスまたは Blank 溶液とします。これらの溶液はサンプルと同じ pH 、同様のイオン強度で用意します。

Pedestal モードでの Blank 測定

Blank 液はサンプルと同じ手順で測定することを推奨します。Blank の測定により、本体が問題なく作動していること、およびサンプル台に汚れの付いていないことを確認することができます。Blank サイクルの実行は以下の手順に従ってください。

1. 必要なアプリケーションを開きます。Blank 液をサンプル台に直接ピペッティングし、上部アームを閉じます。
2. Blank をクリックし、リファレンス波長を測定、記録します。
3. 新しい **Blank** サンプルに乗せかえ、**Measure** を選択します。結果は、0.04 A 以下の変化 (10 mm 光路相当) でスペクトルが得られるはずです。
4. 乾いたラボペーパーを用いて、上下の測定面からサンプルを拭き取り、10 mm 光路相当で 0.04 A 以内のスペクトルとなるまで測定を繰り返します。

サンプル毎に Blank を測定する必要はありませんが、多数のサンプルを連続測定する場合は 30 分毎に新規の Blank を測定することをお奨めします。30 分経過すると、最後の Blank 測定からの経過時間が下部ツールバーに表示されます。

取扱説明の補足チャプター "クイックスタートガイド" に Blank 測定の手順が記載されています。クイックスタートガイドはプリントアウトして、本体の傍に掲示しておくことをお奨めします。

蛍光 Dye

ソフトウェアの Micro Array および Proteins & Labels アプリケーションでは、ランバート-ベールの方程式を使用して蛍光 Dye の濃度を算出します。Dye/Chromophore Editor を使用して新規の Dye を入力することも、既に入力されている Dye を使用することもできます。入力済 Dye の吸光係数の一覧は以下の通りとなります。

Dye list

Show	Dye	Unit	Coeff. (l/mole-cm)	Analysis Wavelength (nm)	260nm Correction	280nm Correction
☑	None		0	0	0	0
☑	Cy3	µM	1.5E+5	550	0.04	0.05
☑	Cy5	µM	2.5E+5	650	0.00	0.05
☑	Alexa Fluor 488	µM	7.1E+4	495	0.30	0.11
☑	Alexa Fluor 546	µM	1.04E+5	556	0.21	0.12
☑	Alexa Fluor 555	µM	1.5E+5	555	0.04	0.08
☑	Alexa Fluor 594	µM	7.3E+4	590	0.43	0.56
☑	Alexa Fluor 647	µM	2.39E+5	650	0.00	0.03
☑	Alexa Fluor 660	µM	1.32E+5	663	0.00	0.10
☑	Cy3.5	µM	1.5E+5	581	0.08	0.24
☑	Cy5.5	µM	2.5E+5	675	0.05	0.18
☐						

2. ソフトウェア

コンピューターの必要条件

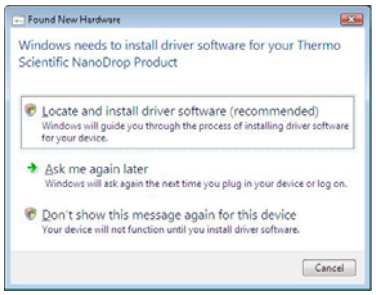
- Microsoft Windows XP または Vista (32 bit)
- 1.5 GHz またはそれ以上の周波数で作動するプロセッサ
- CD ROM ドライブ
- 1 GB またはそれ以上の RAM (Vista 使用の場合は 2 GB)
- 40 MB 以上のハードディスク容量
- USB ポート (本体は USB ポート専用です)

ソフトウェアのインストール

USB ケーブルを用いて PC と接続する前に、システムソフトウェアをコンピューターにインストールする必要があります。ソフトウェアのインストールには、PC への Administrator によるアクセスが必要です。ソフトウェアを適切にインストールするため、以下の手順に従ってください。

1. すべてのソフトウェアを終了し、USB ケーブルを抜いてください。
2. ソフトウェア CD をコンピューターのドライブに挿入すると、自動的にインストール画面が立ち上がります。インストールが開始されない場合は、**スタート**をクリックし、**ファイル名を指定して実行**を選択してください。Run ダイアログボックスで **x:\Set-up** と入力したら **OK** をクリックしてください。x はご使用のコンピューターの CD-Rom ドライブを示しています。
3. 画面上のプロンプトに従って、ソフトウェアをインストールしたら、USB ケーブルをつないでください。Found New Hardware Wizard ダイアログが表示される場合があります。Windows XP SP2 では下図のように適切なソフトウェアを参照するためのインターネット検索の実行について尋ねられます。"No, not this time" を選択してください。プロンプトに従うと、ソフトウェアのインストールが自動的に進行します。

イントロページ: Windows XP-SP2



Vista

以上でインストールは終了です。ソフトが適切に起動しない場合は、 "Diagnostics and Troubleshooting" を参照してください。

ソフトウェアは定期的にアップグレードされ、ダウンロード可能です。最新版のソフトウェアについては、スクラム Web サイト、もしくは www.nanodrop.com をご参照ください。

Thermo Software IQ の概要

Thermo Software IQ プログラムは、NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアのインストール時的確性評価 (Installation Qualification: IQ) を行います。IQ によって、適切なソフトウェアファイルがインストールされたか、確認できます。また、ファイルのインストール後に、削除や上書き等の変更が加えられていないか、確認することもできます。

Thermo Software IQ プログラムの開始は以下の手順に従ってください。

1. デスクトップの**スタート**をクリックし、スタートメニューを開きます。[1]
2. **プログラム**＞**Thermo**＞**Thermo Software IQ** を選択します。
3. 画面上のプロンプトに従い、ソフトウェアのインストールを評価します。

---

[1]

4. **Help** メニューから *Thermo IQ User Guide* (PDF) にアクセスすることができます。

接続

本体と PC は USB で接続します。12 V 電源は本体背面に接続します。

本体の使用中でなくても、電源を接続したままにしておけます。本体がスタンバイ状態の場合、フラッシュランプは作動しておらず、待機電力は 約 5 W となります。

ユーザー登録

定期的にソフトウェアのアップデートおよび新機能の追加を行っております。購入後、ユーザー登録を行ってください。アップデートのお知らせを送付させていただきます。提供された個人情報が公開されることはありません。

ソフトウェアの特徴

NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアインターフェイスは左パネルと右パネルに分かれています。タスクバーとアクションボタンは左パネルに、メインメニューや測定結果画面は右パネルに表示されます。取扱説明の補足チャプター "クイックスタートガイド" にソフトウェアの概要が記載されています。

左パネル

タスクバー

ソフトウェア起動時に表示されるタスクバーは以下の通りとなります。

- Home – メインメニューを表示します。メインメニューにはグループ毎に分類されたアプリケーションが表示されます。デフォルトのグループは Classic となっています。
- My Data – 保存データの管理および検索を行います。サンプルデータはワークブックに保存されます。詳細については "データとアカウントの管理" をご覧ください。
- Diagnostics – Intensity Check および Calibration Check 画面にアクセスします。詳細については "Diagnostics and Troubleshooting" をご覧ください。
- Options – "データとアカウントの管理" に記載されている 4 つのタブで構成されています。

特定のアプリケーションを起動した際に表示されるタスクバーは以下の通りとなります。

- Measure (アプリケーション名) – 選択したアプリケーションが表示されます。
- Reports – 以下の 3 つのタブで構成されています。
  - Report – 累積サンプルデータの表と、選択したサンプルのスペクトルが表示されます。
  - Configuration –サンプルデータの表示する列と、列の並び順を選択します。
  - Print – プリントするレポートに含む情報の選択、ページ設定とグラフの表示形式の決定を行います。
- Oligo Calc (Nucleic Acid および Micro Array アプリケーションのみ) – 特定の核酸配列の分子量、吸光係数、濃縮係数、および融点を算出します。詳細については "Nucleic Acid" および "Micro Array" の "Oligo Calc" をご覧ください。
- Dye/Chrom. Editor (Micro Array および Proteins & Labels アプリケーションのみ) – 入力済の Dye に加えて、新規の Dye を入力・編集できます。詳細については "Micro Array" および "Proteins & Labels" の "Dye/Chromophore Editor" をご覧ください。
- Editor Options (Method Editor 内) – メソッドを編集する際に利用可能なオプションを設定します。詳細については "Method Editor" をご覧ください。

アクションボタン

アプリケーション開始時、以下の 4 つのアクションアイコンが左パネル上部に表示されます。

- Measure – サンプルの測定を開始します。アプリケーションの開始時、Measure ボタンは灰色で表示され、使用不可となっています。Blank の測定後、使用可能となります。

- **Print Screen –** スペクトルと関連する情報をデフォルトのプリンターで印刷します。
- **Blank –** サンプルを入れるバッファーもしくは Carrier Liquid の測定を開始します。サンプルを測定する前に Blank の測定および保存を行う必要があります。詳細については "概要" をご覧ください。
- **Re-Blank –** その後のサンプルの吸光度算出に使用する新規のリファレンス (Blank) を測定します。Re-Blank 機能では、直近のサンプル濃度を再計算し、修正したスペクトルを表示します。

以下の 4 つのアクションボタンは、Method Editor もしくは Kinetic Editor を選択した際に表示されます。

- **New** – カスタムメソッドを段階的に作成する New Method Wizard を開始します。
- **Save** – 新規のメソッドを現在選択されているグループ化に保存します。
- **Measure** – 新規作成したメソッドを開きます。
- **Delete** – メソッドを削除します。

その他の左パネルの機能

メニューバーオプション

- **File** – クリックすると、以下の項目がドロップダウン表示されます。
  - **New Workbook** – 新規のワークブックを開きます。現行のワークブックは自動的に保存され、終了されます。
  - **Close Workbook and go Home** – 現行のワークブックを終了し、Home ページに戻ります。ワークブックを終了する際は自動的に保存されます。
  - **Close All Workbooks and go Home** – 開いている全てのワークブック(全てのアプリケーションおよびメソッド) を終了し、Home ページに戻ります。
  - **Print Report –** 現行のレポートをデフォルトのプリンターで印刷します。
  - **Use current settings as default –** 使用中のアプリケーションの全設定 (Sample Type、Unit Type、baseline correction wavelength および pedestal/cuvette モードの選択) を対象のアプリケーションで新規のワークブックを開いた際にデフォルトとして移用できるように設定します。本項目を選択すると、現行のレポートの設定もデフォルトとして設定されます。各アプリケーションもしくはメソッドで、個別にユーザー別環境設定を使用したい場合に有用です。
  - **E-mail current workbook –** 新規の E-mail に現行のワークブックを自動的に添付します。データを NanoDrop products technical support に送る場合は、まず、My Data タスクバーより適切な Autosave データファイルを選択してください。NanoDrop 2000/2000c ソフトウェア上で対象のファイルを開き、Technical Support まで送信してください。

    Note: Autosave ファイルを開いても、レポートの全てのフィールドは表示されない場合がありますが、Technical Support チームで全てのフィールドを復旧することができます。
- **Help –** 任意の画面で [Ctrl]-m、[Ctrl]-h、もしくは F1 キーを押すと、検索型の Help ファイルにアクセスすることができます。ショートカットキーの詳細については "データとアカウントの管理" の "Preferences" をご覧ください。

Help メニューの About オプションから、本体とソフトウェのバージョンに関する情報にアクセスすることができます。

左パネルでの本体の設定

- **Add to Report –** 現在開いているレポートへの最新サンプルデータの追加を指定します。全てのデータは Autosave ファイルに保存され、後日開くことができますが、対象のデータを簡単に検索するために、習慣的に **Add to Report** を選択してください。サンプルをレポートおよびワークブックに保存するには、測定前に Add to Report を選択してください。
- **Overlay spectra –** 複数のスペクトルを重ね書きで表示します。表示の十字カーソルは最も新しい測定サンプルに連動しています。Overlay Spectra を選択した場合、十字カーソルを連動させるスペクトルをクリッ

クしてください。

- Overlay Spectra 設定での Sample ID はグラフ表示の左上に一覧表示されます。新しく測定されたサンプルは一番上に赤字で表示されます。異なるスペクトルをクリックすると、対応する Sample ID が赤字で表示されます。
- **Overlay Spectra** のチェックを外し、新規の測定を実行すると、すべてのスペクトル表示が消去されます。

- **Small sample volume** (Nucleic Acid および Protein A280 アプリケーションのみ) – 10 mm 光路長相当での吸光度が 3.0 以上の場合 (例えば > 150 ng/µL dsDNA)、0.5 µL での測定を可能とします。
- **Use Cuvette** (NanoDrop 2000c モデルのみ) – キュベットでの測定を可能とします。キュベットでの測定で設定可能なオプションは以下の通りです。
  - Pathlength – 10、5、2、1 mm から選択します。
  - Stir speed – 1 - 10 の範囲でスターラーのスピードを設定します。デフォルトの設定は Off です。
  - Heat to 37℃ - キュベットホルダーを 37 ±5℃に加熱します。選択すると、ソフトウェア画面の下部にキュベットの現在温度が表示されます。キュベットホルダーの温度が 37℃に達するまでに 1 - 10 分かかります。液体の元々の温度により、所要時間は変化します。デフォルトの設定ではヒーターは作動していません。

> **Note:** 異なるアプリケーションに移動すると、ヒーターの電源が切られます。しかし、同じアプリケーションで Pedestal モードによる測定を続けた場合、ヒーターの電源は入ったままとなります。

右パネル

右パネルには以下を含むメインメニューが表示されます。

- **Group ドロップダウンボックス** – 必要なメインメニュー表示および関連アプリケーションを選択します。デフォルトの設定では Classic NanoDrop アプリケーショングループとなっています。
- **アプリケーションボタン**
- **カスタムメソッドのリスト** – カスタムのメソッドもしくは Kinetic メソッドが作成されるまでは、空欄となっています。作成すると、メソッドの左横には天秤アイコンが、Kinetic メソッドの左横には時計アイコンが表示されます。

アプリケーションを開くと、右パネルにはサンプルスペクトル、および各アプリケーションに関連したドロップダウンリストとデータフィールドが表示されます。グラフ上部のユーザーガイドテキストボックスには、サンプル保持システムアイコン、またはキュベットアイコンが表示されます。アイコンは次の測定で使用される測定モードを示しています。

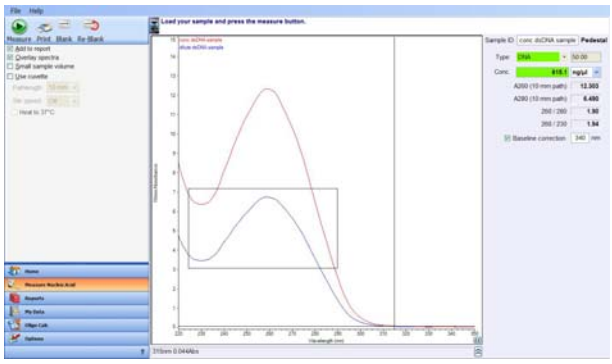
グラフ表示

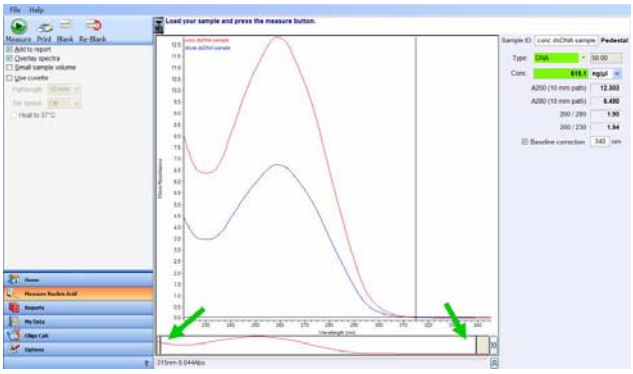
グラフパネルには最新のサンプルスペクトルが表示されます。Overlay Spectra が選択されている場合、複数サンプルのデータが表示されます。Sample ID の一覧はグラフの左上に表示されます。最新のサンプルデータはリストの一番上に表示され、対応するスペクトルは赤線で描画されます。

Note: 重ね書きされたサンプルをクリックすると、Sample ID のテキストと対応するスペクトルが赤で表示されますが、ページ下部のレポートビューで特定のサンプルをハイライトすることはありません。

表示可能なサンプルスペクトル数に実質的な限界はありませんが、左上のリストに表示できる Sample ID の数は全画面表示で約 28 個となります。表示限界に達すると、リストはドロップダウンボックスへと変化し、グラフの左上に黒い矢印で表示されます。Sample ID を表示するには矢印をクリックしてください。グラフ表示上で右クリックすると、メニューボックスが表示され、リスト表示の On/Off を切り替えることができます。

興味のあるエリア周辺をマウスドラッグして長方形で区切り、ボックス内でクリックすると拡大することができます。また、グラフの下の >> をクリックすると、単独のサンプルスペクトルを表示したビューファインダーが表示されます。ビューファインダーの両端の太線は移動させることができる (クリック&ドラッグ) ので、グラフ上に表示する波長を決定します。





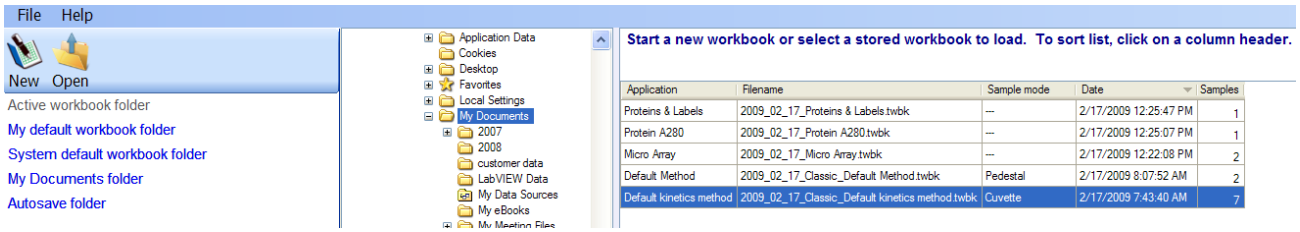
縮小する場合は、グラフ上でライトクリックして、マルチオプションメニューを開きます。

- **Autoscale all samples** – 表示された全スペクトルの吸光度の最高値に Y 軸の上限を、吸光度の最低値に Y 軸の下限を設定します。
- **Full Display all samples** – 全てのサンプルをフルスペクトルで表示します。
- **Set Scale** – Y 軸の上限と下限をマニュアルで入力します。
- **Sample labels** (UV/Vis のみ) – 最新のサンプル測定に関して、特定波長の吸光度をグラフ上に表示するか選択します。
- **Sample legend** – グラフ左上の Sample ID リストの表示/非表示を設定します。

データとアカウントの管理

My Data

サンプルの測定データはワークブック (ユーザー任意の場所に保存) に記録されます。左パネルの My Data タスクバーから保存したワークブックにアクセスします。Navigator パネルを使用して必要なワークブックの保存されたフォルダを指定します。



My Data タスクバーを選択すると、左パネル上部にアイコンが 2 つ表示されます。**New** を選択すると、右パネルでハイライトされたアプリケーションについて、新しいワークブックを開きます。**Open** を選択すると、選択したワークブックを開き、関連したアプリケーションを開始します。開いたワークブックに新しい測定を追加することも可能です。

New と Open アイコンの下の 4 つのクイックリンクは、ワークブックへのショートカットを右パネルに表示します。ワークブックをダブルクリックすると、ファイルを開き、追加の測定を行うことができます。

Note: ワークブックへ追加するサンプルの測定を開始する前に Add to Report を選択しておいてください。

Report

レポートはサンプルデータを表示する表 (ユーザーによる設定変更が可能) となっています。カスタムメソッドもしくはアプリケーションを選択すると表示される Report タスクバーをクリックすることで、レポートにアクセスすることができます。

Report タスクバーを選択すると、右パネルに 3 つのタブが表示されます。

- **Report** – 開いているワークブックに保存されているサンプルデータを表示します。表でハイライトされたサンプルのスペクトルがページ下部にグラフ表示されます。サンプルがハイライトされていない場合、表の一番上のサンプルのスペクトルが表示されます。複数のスペクトルを表示することも可能です。
- **Configuration** – 表示する表の列と列の表示順を設定します。エクスポートファイルには、選択した列フィールドに関連する情報だけを含みます。エクスポートするレポートに含まれる情報については下記をご覧ください。
- **Print** – レポートのタイトルとサブタイトルを追加します。表に従って、メソッドの情報とスペクトルグラフが印刷されます。

Note: グラフ下の<<をクリックすると、現行のレポートの読み取り専用コピーにアクセスすることができます。

Report タスクバーを選択した場合の左パネル上部に 3 つのアイコンが表示されます。

- **Preview** – 印刷前にレポートを確認することができます。Preview には、Options タスクバーもしくは Print アイコンで設定したヘッダーとフッターが表示されます。詳細については "データとアカウントの管理" の "Options" をご覧ください。
- **Print** – デフォルトのプリンターでレポートを印刷します。
- **Export** - .xml、.tsv、または .twbk ファイルでレポートを保存します。
  - **Report, Excel XML Spreadsheet (*. xml)** – Excel で開くことのできるフォーマットでレポートを保存します。本形式では、レポート中に表示されている情報列のみが保存されます。エクスポートする前に必要な情報がレポートに表示されるように設定する必要があります。
  - **Report, Tab Separated Values (*.tsv)** – メモ帳もしくは Excel で開くことのできるフォーマットでレポートを保存します。本形式では、レポート中に表示されている情報列のみが保存されます。エクスポートする前に必要な情報がレポートに表示されるように設定する必要があります。

- **Spectrum, Excel XML Spreadsheet（*.xml）-** ハイライトされたサンプルの吸光値を対応する波長と一緒に保存します。複数のサンプルがハイライトされている場合、Excel ファイルの異なるワークシートに各波長に対応する吸光度が保存されます。
- **Spectrum, Tab Separated Values (*.tsv) -** ハイライトされたサンプルの吸光値を対応する波長と一緒に、メモ帳もしくは Excel で開くことのできるフォーマットで保存します。複数のサンプルは一つの列に順番に保存されます。
- **Spectra, New Workbook (*.twbk) –** 選択したサンプルデータを NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアで再開することのできる、新規のワークブックに保存します。
- **ND Legacy (*.tsv) –** Report で設定した特定のフィールドと一緒に、対応する波長についての吸光度を保存します。本オプションでは、メモ帳もしくは Excel で開いた場合に、1 つのワークシートに複数のサンプルデータが表示されます。エクスポートする前に必要な情報がレポートに表示されるように設定する必要があります。

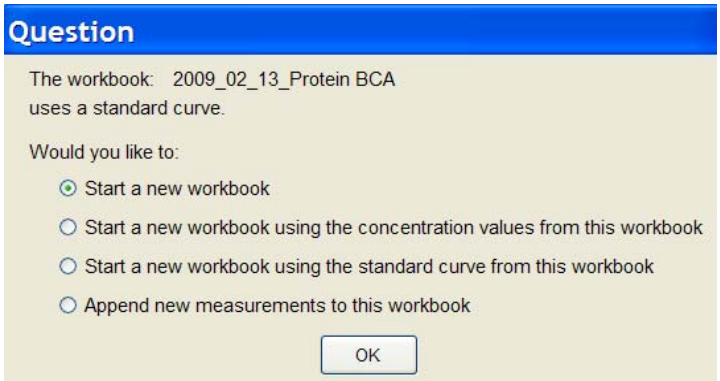
> **Note:** Kinetic 測定では、Spectra, New Workbook (*.twbk) および ND Legacy (*.tsv) オプションを使用できません。

PC が自動的に .xml を Excel で開かない場合は、エクスポートしたファイルを Excel から開く必要があります。

既存のワークブックへのデータの追加

ワークブックを開いている時にソフトウェアを終了すると、次に同じアプリケーションを開いた際、ワークブックにデータを追加するか尋ねるメッセージが表示されます。開いていないワークブックにデータを追加する場合は、My Data タスクバーから必要なワークブックを選択してください。

比色定量のアプリケーションでは、サンプルデータを既存のワークブックに追加する際、検量線の使用に関するオプションが用意されています。比色定量のワークブックを開いた際に表示されるメッセージの例は以下となります。



ワークブックに新規のデータを加える前に検量線を作成する際は、試薬メーカーのガイドラインに従うことをお奨めします。

Reprocess

アプリケーションによっては Report ページの左パネル上部から Reprocess 機能を使用することができます。本機能は異なる Baseline Correction Wavelength、Concentration Unit、および/または Sample Type で、サンプル濃度を再計算します。本機能を使用してのサンプル名の変更はできません。Report Configuration の表示列の設定で Reprocess フィールドを選択することができます。

Note: Reprocess したサンプルデータは、現行のレポートでは新規データ入力と同様に表示されます。Reprocess したデータは Autosave ワークブックに保存されません。

サンプル名の変更

レポート上で対象のサンプルをハイライトし、Sample ID を上書きすると、いつでも Sample ID を修正することができます。

Note: Autosave ファイルにはサンプル名の変更は反映されません。

Autosave ファイル

カイネティクス測定を除く全てのデータは自動的に Autosave ファイル (*.twbk) に保存されます。Autosave ファイルは、PC の OS によって異なりますが、以下の場所に保存されます。

Vista: *C:\Users\Public Documents\Thermo\Autosave\(アプリケーション名)*
XP: *C:\Documents and Settings\All Users\Shared Documents\Thermo\NanoDrop2000\Autosave\（アプリケーション名）*

Autosave ファイルには測定された全てのサンプルのデータが 24 時間単位で保存され、アプリケーションおよびメソッドごとに分けられます。Autosave ファイルはワークブックとは異なり、ユーザーによる修正は行えません。ワークブックであれば新規データの追加ができるので、ワークブックと対応する Autosave ファイルが必ずしも一致しない場合があります。

ワークブックに保存していないデータの修正が必要となった場合は、関連する Autosave ファイルを NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアで開き、対象のサンプルをハイライトし、Spectra, New Workbook (*.twbk) オプションでエクスポートします。作成した新しいワークブックは My Data タスクバーを使用して開きます。

Autosave ファイルを開いた場合、そのアプリケーションで新規の測定を行う前に、一度終了させる必要があります。

Options

Options タスクバーは 4 つのタブで構成されます。

- **Applications –** 各グループに共通するアプリケーションやメソッドで構成される新規グループの追加を行います。新規のグループを追加するには、希望するグループ名を入力し、**Add** をクリックします。空欄となっているボタンにアプリケーションをドラッグし、グループの表示画面をカスタマイズします。

Classic 以外のグループでカスタムメソッドを表示するには、以下の 2 通りの方法があります。

  - 特定のメニューボタンにカスタムメソッドをドラッグします。
  - メニューボタンオプションに List of Method を加えます。実際のメソッドは Options 画面には表示されないのですが、対象のグループの Home ページには表示されます。ボックスサイズの都合上、List of Method をドラッグできるのは、9 つのメニューボタンの内、1 つだけとなります。

Delete group ボタンを使用すると、グループ全体を削除することができます。ページ下部の **Clear App Buttons** を使用すると、グループを削除することなく、アプリケーションボタンのリセットができます。

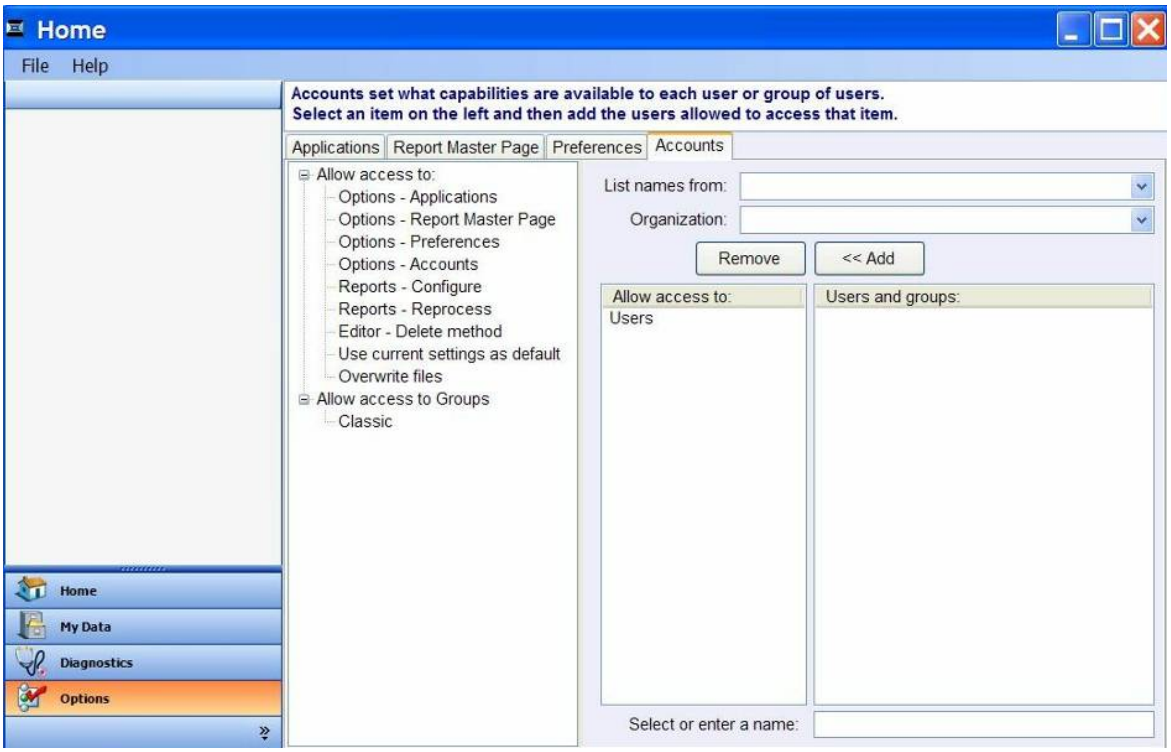
- **Report Master Page –** 印刷ページのヘッダーとフッターのレイアウトおよび外観を設定します。本タブを使用して、団体名、ロゴ、日付および/または時間等のパラメーターをヘッダーに含むか、選択します。フッターオプションでは、ページ番号とテキストを追加することができます。設定は全てのアプリケーションおよびメソッドの印刷レポートに反映されます。Page Setup アイコンから印刷用紙やページ余白を設定するウィンドウを呼び出すことができます。

- **Preference –** アプリケーションおよびレポートについて、各ユーザー用のデフォルトの設定を使用するか、全てのユーザーで共有するか、を設定します。Support Dymo Label printer を有効にすると、レポートの印刷にスタンドアローンデバイスを使用できるようになります。本タブで Keyboard Shortcut についても設定できます。2 つのオプションに関するショートカットキーの一覧については、下記の表をご覧ください。デフォルトは NanoDrop Classic ショートカットキーとなっています。

コマンド	NanoDrop Classic	Standard
Exit	[Ctrl]-q	[Alt]-F4
Help	[Ctrl]-m, [Ctrl]-h	F1
Blank	F3	F3, [Ctrl]-b
Measure	F1	F5, [Ctrl]-m
Re-Blank	F2	F2, [Ctrl]-r
Print Screen	F4	F4, [Ctrl]-p
Print Report	F5, [Ctrl]-r	[Shift]-F4
Show Report	F7	F7
New Workbook	[Ctrl]-n	[Ctrl]-n
Reset (Calibration check)	-	F11
Home	-	[Ctrl]-h
Close Workbook	[Ctrl]-e	[Ctrl]-e
Close All Workbooks	-	[Ctrl]-q
Configure Report	[Ctrl]-f	[Ctrl]-f
Layout Report	[Ctrl]-l	[Ctrl]-l

Kinetic メソッドでは、Re-Blank が Stop に入れ替わります。

- **Accounts –** レポートの設定、デフォルト設定の決定、および検量線の修正を行うことのできるユーザーまたはユーザーグループを設定します。また、ファイルの上書きまたはファイルの保存されているディレクトリの変更等の可否についても、Account タブから設定します。



Account ページの左側にはアクセスコントロールカテゴリーが表示されます。特定のユーザーもしくはユーザーグループに対して、カテゴリーに含まれているソフトウェアの機能へのアクセス権限を与えることができます。2 つのカテゴリーに含まれるアクセス権は以下の通りとなります。

- **Allow access to:**
  - **Options –** ユーザーもしくはユーザーグループに Applications、Report Master Page、Preferences、および Accounts へのアクセス権を与えます。

  - **Reports –** ユーザーもしくはユーザーグループに Configuration タブ および Report 画面の Reprocess ボタンへのアクセス権を与えます。
  - **Editor –** ユーザーもしくはユーザーグループがカスタムメソッドおよび保存した Kinetic メソッドを削除できるようにします。
  - **Use Current Settings as default –** ユーザーもしくはユーザーグループがアプリケーションで現在使用している設定をデフォルトとして設定できるようにします。
  - **Overwrite files** – ユーザーが既存のワークブックと同名のワークブックを新規作成できるようにします。
- **Allow access to Groups:**
  - ユーザーに Groups へのアクセス、追加、削除および設定の権限を与えます。

上述のアクセス権を与えるためには以下の手順に従ってください。

1. (右パネル) 左側のボックスから必要な機能をハイライトしてください。アクセス権は各サブカテゴリーについて、それぞれ設定します。
2. **List names from** および **Organization** ドロップダウンを使用して、特定の Users and groups を選択します。
3. Users and groups ボックスから、対象のユーザーもしくはユーザーグループをハイライトし、Add をクリックして、中央のボックスに追加します。中央のボックスに追加されたユーザーもしくはユーザーグループだけが、左側のボックスでハイライトされた機能にアクセスすることができます。デフォルトでは、Users グループがすべての機能にアクセスできるようになっています。

ドロップダウンおよびリストボックスについては以下の通りとなります。

- **List names from –** 選択可能なユーザーおよびユーザーグループのドメインがリスト表示されます。
- **Organization –** 選択したドメインに含まれる団体名のリストが表示されます (ローカルドメインを指定した場合、本リストは表示されません。)。
- **Allow access to –** 特定のソフトウェアの機能に対するアクセス権を与えられたユーザーおよびユーザーグループのリストです。
  - Users and groups リストに表示されていないユーザーもしくはユーザーグループを追加するには、ページ下部の **Select or enter a name** フィールドに有効なユーザーもしくはユーザーグループ名を入力し、**<< Add** ボタンをクリックします。
  - 有効なユーザーにはドメイン名も含まれています。ユーザー名が有効であれば、Allow access to リストに表示されます。ユーザー名が無効の場合は、有効なユーザーアカウントもしくはユーザーグループでない旨のメッセージが表示されます。
- **Users and groups –** 選択したドメインに含まれる有効なユーザー名のリストです。

3. アプリケーション

概要

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計を使用して、マイクロボリュームのサンプルを測定すると、従来の UV/VIS 分光光度計と同じ結果を容易に得ることが出来ます。NanoDrop 2000/2000c は下記のような測定に最適です。

- DNA サンプルを希釈せずに測定 (上限: dsDNA で 15,000 ng/µL)
- 一般的な UV/VIS 分光光度計として
- 精製タンパク質の測定 (A280)
- 蛍光色素でラベリングしたマイクロアレイサンプルの測定
- 蛍光標識されたタンパク質、化合物、および金属タンパク質の測定
- BCA 法によるタンパク質の濃度測定
- ブラッドフォード法によるタンパク質の濃度測定
- Lowry 法によるタンパク質の濃度測定
- Pierce 660 nm Assay によるタンパク質の濃度測定
- 細胞などの濁度測定
- Kinetic メソッド
- カスタムメソッド

クイックスタート

1. ソフトウェアアイコンをクリックし、右パネルより必要なソフトウェアアプリケーションを選択します。
   - ワークブックにサンプルデータを保存するために、測定の前に **Add to Report** を選択してください。
2. 適切なバッファーを使って、Blank を測定します。
   - Pedestal モード: 1-2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ): **Use Cuvette** を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

   Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

3. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。適切なフィールドに Sample ID を入力します。 1 µL サンプルをピペッティング (Cuvette モードではキュベットを設置) し、**Measure** をクリックします。

   Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

サンプル毎に Blank を測定する必要はありませんが、多数のサンプルを連続測定する場合は 30 分毎に新規の Blank を測定することをお奨めします。30 分経過すると、最後の Blank 測定からの経過時間が下部ツールバーに表示されます。

取扱説明の補足チャプター “クイックスタートガイド” に Blank 測定の手順が記載されています。クイックスタートガイドはプリントアウトして、本体の傍に掲示しておくことをお奨めします。

測定範囲

Sample Type	検出下限	検出上限	一般的な再現性 (5 replicates, SD = ng/µL; CV = %)
Nucleic Acids	2 ng/µL (pedestal) 0.4 ng/µL (cuvette)	≦ 15,000 ng/µL (dsDNA)	2 - 100 ng/µL: ± 2 ng/µL >100 ng/µL: ± 2%
Microarray	2 ng/µL (pedestal) 0.4 ng/µL (cuvette)	750 ng/µL (dsDNA)	2 - 100 ng/µL: ± 2 ng/µL >100 ng/µL: ± 2%
Protein A280	0.10 mg/mL (精製 BSA - pedestal) 0.010 mg/mL (精製 BSA - cuvette)	400 mg/mL (精製 BSA)	0.10 - 10 mg/mL: ± 0.10 mg/mL >10 mg/mL: ± 2%
Proteins & Labels	0.10 mg/mL (精製 BSA - pedestal) 0.010 mg/mL (精製 BSA - cuvette)	20 mg/mL (精製 BSA)	0.10 – 10 mg/mL: ± 0.10 mg/mL
BCA	0.2 mg/mL (20:1 試薬:サンプル) .01 mg/mL (1:1 試薬:サンプル)	8.0 mg/mL 0.20 mg/mL	2% over entire range 0.01 mg/mL over entire range
Modified Lowry	0.2 mg/mL	4.0 mg/mL	2% over entire range
Bradford	100 µg/mL (50:1 試薬:サンプル) 15 µg/mL (1:1 試薬:サンプル)	8000 µg/mL 100 µg/µL	100-500 µg/mL: ± 25 µg/mL 500-8000 µg/mL: ± 5% 15 – 50 µg/mL: ± 4 µg/mL 50 – 125 µg/mL: ± 5%
Pierce 660 nm	50 µg/ml (15:1 試薬:サンプル) 25 µg/ml (7.5:1 試薬:サンプル)	50-125 µg/ml > 125 µg/ml 25-125 µg/ml > 125 µg/ml	50-125 µg/mL: ± 3 µg/ml >125 µg/mL: 2% 25-125 µg/mL: ± 3 µg /ml >12 µg/mL: 2%

Cy3, Cy3.5, Alexa Fluor 555 および Alexa Fluor 660	0.2	100	サンプル量 0.20-4.0 pmol/µL: ± 0.20 pmol/µL サンプル量 >4.0 pmol/µL: ± 2%
Cy5, Cy5.5 および Alexa Fluor 647	0.12	60	サンプル量 0.12-2.4 pmol/µL: ± 0.12 pmol/µL サンプル量 >2.4 pmol/µL: 2%
Alexa Fluor 488 および Alexa Fluor 594	0.4	215	サンプル量 0.40-8.0 pmol/µL: ± 0.40 pmol/µL サンプル量 >8.0 pmol/µL: ± 2%
Alexa Fluor 546	0.3	145	サンプル量 0.30-6.0 pmol/µL: ± 0.30 pmol/µL サンプル量 >6.0 pmol/µL: ± 2%

Note: 上記の Dye に関する測定範囲は、Pedestal モードについての値です。

Nucleic Acid

概要

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計を使って、核酸サンプルの濃度や純度が容易に確認できます。
核酸サンプルを測定する場合は、Home ページより Nucleic Acid アプリケーションを選択します。

核酸の算出

核酸の定量では、ランバート-ベールの方程式を ng-cm/µL の単位となるように修正して使用します。核酸の算出に使用する公式は以下の通りとなります。

$c = (A * \varepsilon)/b$

c = 核酸濃度 (ng/µL)
A = 測定対象の吸光度
ε = 特定波長でのモル吸光係数 (ng-cm/µL)
b = 光路長 (cm)

核酸測定で一般に使用される吸光係数は下記となります。

- Double-stranded DNA: 50 ng-cm/µL
- Single-stranded DNA: 33 ng-cm/µL
- RNA: 40 ng-cm/µL

Pedestal モードを選択した場合、濃度の高いサンプルを希釈なしで測定するために、NanoDrop 2000/2000c 分光光度計は短い光路長を使用します。

Note: Report の吸光値はソフトウェア画面上の表示と同じ状態で保存されます。Pedestal モード および Cuvette モードの両方で、Nucleic Acid アプリケーションの吸光度は 1.0 cm (10.0 mm) 光路長にノーマライズされます。

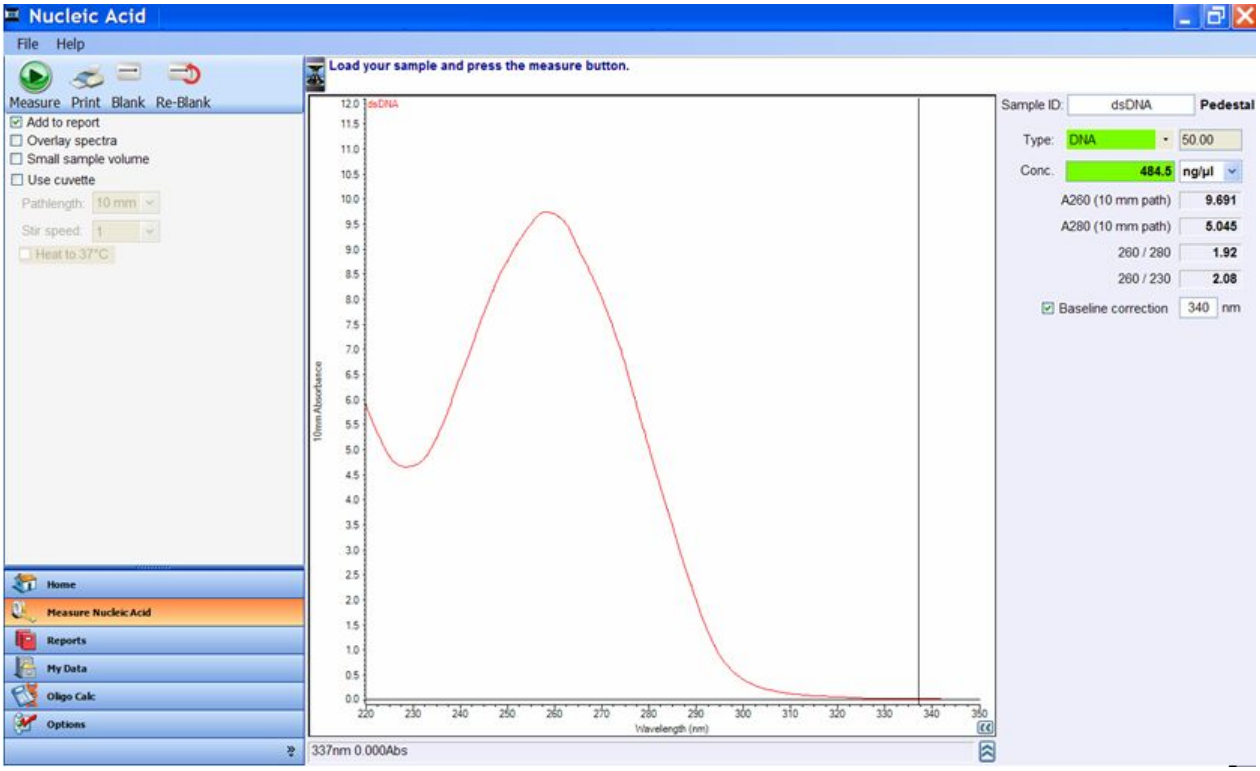
測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c は、精製 dsDNA サンプルを最大 15,000 ng/µL まで希釈しないで正確に測定します。ソフトウェアが自動的に各サンプルの吸光度を測定するのに最適な光路長を選択します。詳細については “測定範囲” をご覧ください。

10 mm 光路長相当での吸光度が 3.0 以上のサンプルの場合 (例えば > 150 ng/µL dsDNA)、Small sample volume オプションを使用することができます。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Nucleic Acid アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、10 mm 光路長でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。Cuvette モードで測定された場合も、同様にノーマライズされます。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- **Sample ID** – Sample ID を入力するフィールドです。各測定を実行する前に適切な Sample ID を入力してください。
- **Type** – 測定する核酸の種類 (色分けされています。) をドロップダウンリストから選択します。dsDNA 用の “DNA-50”、RNA 用の “RNA-40”、ssDNA 用の “ssDNA-33” から選択することができます。また、Oligo DNA および Oligo RNA では、塩基配列を入力することで、適切な吸光係数を使用することができます。デフォルトの設定は、DNA-50 です。”Custum” を選択すると、15-150 間の吸光係数を入力できます。
- **Conc** – 260 nm での吸光度とデフォルトもしくはユーザー任意の吸光係数から算出した濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。詳細については “核酸の算出” をご覧ください。
- **A260** – 260 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。
- **A280** – 280 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。
- **260/280** – 260 nm と 280 nm におけるサンプルの吸光度比です。本数値は DNA と RNA の純度を表します。DNA では吸光度比 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、比率が低いと認められる場合、タンパク質、フェノール、または 280 nm 付近で強く吸収される他の不純物がある可能性を示します。本比率に影響を及ぼす可能性のある要素について、詳しくは “Diagnostics and Troubleshooting” の “260/280 吸光度比” を参照してください。
- **260/230** – 260 nm と 230 nm におけるサンプルの吸光度比です。本値は核酸純度の補足的な測定値です。多くの場合、高純度な核酸の 260/230 の値は 260/280 の値を上回り、一般に 1.8～2.2 の範囲にあります。比率が範囲外の場合には、不純物がある可能性を示します。
- **Baseline correction** – 選択すると、340 nm をニクロム酸カリウムでのノーマライズのデフォルト波長とします。異なる波長を入力することもできます。どちらの場合も選択した波長におけるサンプルの吸光度がベースラインとして自動的に設定されます。全波長データはベースラインを基準とします。

Note: Baseline correction を選択しなかった場合、スペクトルがベースラインから相殺される場合があります。それに応じて、算出された濃度も変化します。

Nucleic Acid アプリケーションでの測定

1. メインメニューから **Nucleic Acid** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. **Type** ドロップダウンリストより測定するサンプルの種類を選択します。デフォルトの設定では、DNA-50 となっています。
3. Conc. ボックスの右側のドロップダウンリストから濃度の単位を選択してください。デフォルトの単位は ng/µL となっています。
4. デフォルトでは、340 nm が二クロム酸カリウムによるノーマライズの波長として使用されます。異なる波長を選択することも、**Baseline Correction** ボックスのチェックを外してスペクトルのノーマライズを無効にすることもできます。
   – 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、**File** ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
5. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
6. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
7. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   – Pedestal モード: 1-2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   – Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

   Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

8. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

   Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

– 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
– Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Oligo Calc

Oligo Calc は特定の核酸配列の分子量、吸光係数、濃縮係数、および融点の算出に使用します。Oligo Calc タスクバーを選択すると、以下の 2 つのタブが表示されます。

- **Oligo Calc** – 対象の配列を入力し、適切なサンプルの種類を選択するのに使用します。
- **Melting Points** – DNA 鎖の融点を表示します。本タブは DNA 配列の場合のみ使用できます。

Oligo Calc の使用:

1. 以下のオプションのいずれかで、塩基配列を入力します。
   – Base Sequence ディスプレイ下のボタン

- キーボード (A、C、G、T、および U キーのみ使用可能)
- 他のアプリケーションから Base Sequence ディスプレイへの塩基配列の直接コピー＆ペースト (A、C、G、T、および U の文字のみディスプレイへのペースト可能)
- 入力した塩基配列を消去したい場合は、ディスプレイ右側の **Clear** をクリックしてください。各塩基はマニュアルで削除します。

2. 該当する場合 (DNA については Mono-phosphate、RNA では Mono もしくは Tri-phosphate)、リン酸化の度合を選択します。
3. 該当する場合は、**Double-Stranded** を選択します。
4. Nucleic Acid ドロップダウンリストより、分析する核酸の種類を選択します。デフォルトは **DNA** になっています。
5. 塩基配列への付加については、**Modification** を選択して付加の分子量を入力します。

Oligo Calc の結果フィールドに含まれる項目:

- **Molecular Weight –** 塩基配列の分子量が表示されます。
- **Extinction Coefficient** – 260 nm 波長での吸光係数を ng-cm/µL で表示します。
- **Concentration Factor –** 塩基配列の濃度を算出するのに用いられる吸光係数に基づく定数です。
- **Number of bases –** 入力した塩基の数を表示します。
- **% GC –** グアニンとシトシンの総数のパーセンテージを示しています。

DNA 配列の融点の算出:

1. 前述に従い、塩基配列を入力します。Oligo Calc タブで既に塩基配列を入力している場合、Melting Points タブの Base Sequence ボックスにも自動的に同じ配列が入力されています。
2. 下記に従い、各ボックスに適切な値を入力します。
   - **Oligo Molarity –** サンプルのオリゴヌクレオチドのモル濃度を入力します。デフォルトの値は 10 uM と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。
   - **Cation Molarity** – サンプル中の陽イオンの濃度を入力します。デフォルトの値は 10 mM と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。
   - **% Formamide** – サンプル中のホルムアミドの % 濃度を入力します。デフォルトの値は 0.00 % と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。

Melting Point の結果フィールドに含まれる項目

- **Salt-Adjusted –** 隣接する塩基間の相互作用の影響を考慮せずに算出した、塩基配列の融点です。
- **Nearest-Neighbor –** 隣接する塩基間の相互作用の影響を考慮して算出した、塩基配列の融点です。

Micro Array

概要

DNA マイクロアレイで使われる蛍光標識されたプローブを測定することにより、標識効率をかんたんに測定することが出来ます。NanoDrop 2000/2000c では、DNA 濃度と色素ラベリング効率の測定が容易に行なえます。また 1 µL 当たり 約 0.2 pmol の色素濃度での検出が可能です。

測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計では、蛍光色素や核酸の濃度をそれぞれ最大 100 pmols/µL (Cy3) と 750 ng/µL (DNA) まで、希釈しないで測定出来ます。詳細については "測定範囲" をご覧ください。

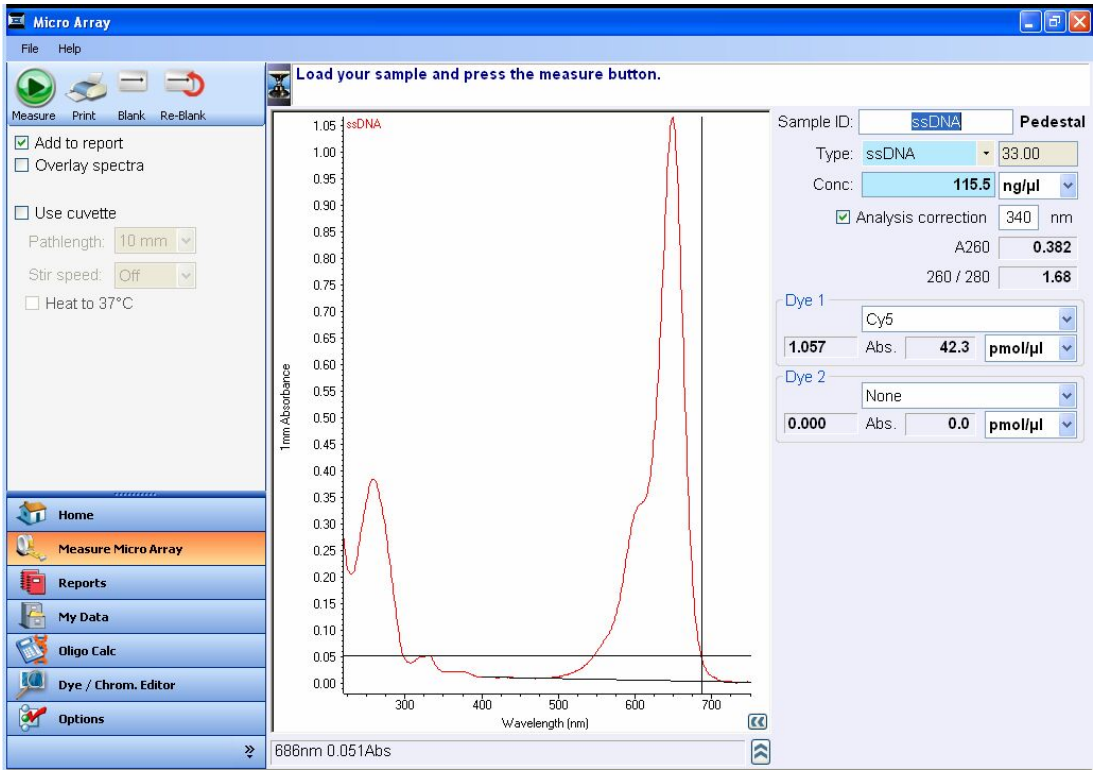
Dye/Chromophore Editor

NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアでは、入力済の Dye に加えて、Dye/Chromophore Editor を用いて新規の Dye を入力することができます。新規の Dye を入力する場合は、Dye/Chromophore Editor タスクバーを選択し、一番下の行の Show 列を選択します。すると、各フィールドに適切な情報をマニュアル入力できるようになります。入力した Dye の適切な補正ファクター (correction factor) については、Dye メーカーにお問い合せください。260 nm corrections は核酸サンプルの濃度算出に自動的に使用されます。入力した情報は保存されます。

入力した Dye を削除するには、(+) アイコン左の灰色のボックスをクリックして、対象の行をハイライトし、キーボードの Delete キーを使用するか、右クリックで Delete オプションを呼び出します。錠前アイコンで示されている既存の Dye は編集も削除もできません。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Micro Array アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは "ソフトウェアの特徴" に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- **Sample ID** – Sample ID を入力するフィールドです。各測定を実行する前に適切な Sample ID を入力してください。

- **Type –** 測定する核酸の種類（色分けされています。）をドロップダウンリストから選択します。dsDNA 用の "DNA-50"、RNA 用の "RNA-40"、ssDNA 用の "ssDNA-33" から選択することができます。また、Oligo DNA および Oligo RNA では、塩基配列を入力することで、適切な吸光係数を使用することができます。デフォルトの設定は、DNA-50 です。"Custum" を選択すると、15-150 間の吸光係数を入力できます。
- **Conc –** 260 nm での吸光度とデフォルトもしくはユーザー任意の吸光係数から算出した濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。詳細については "核酸の算出" をご覧ください。
- **A260 –** 260 nm におけるサンプルの吸光度（10 mm の光路長に換算して表示）です。

> **Note:** 表示の A260 の値は、750 nm でのサンプル吸光度をベースラインとした 260 nm でのサンプル吸光度となっています。核酸濃度の算出に使用される A260 の値は、750 nm ベースラインだけでなく、Dye のあらゆる適切な補正ファクター、つまり選択した Analysis correction による吸光度の補正も考慮に入れています。故に、表示された A260 は核酸濃度の算出に使用される値とは異なる場合があります。

- **260/280 –** 260 nm と 280 nm におけるサンプルの吸光度比です。本数値は DNA と RNA の純度を表します。DNA では吸光度比 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、比率が低いと認められる場合、タンパク質、フェノール、または 280 nm 付近で強く吸収される他の不純物がある可能性を示します。本比率に影響を及ぼす可能性のある要素について、詳しくは "Diagnostics and Troubleshooting" の "260/280 吸光度比" を参照してください。
- **Dye 1 (または 2):** ユーザーの選択した Dye です。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。
  - **Abs –** 1 mm 光路長での Dye のノーマライズされた吸光度です。
  - **pmol/µL –** Dye の吸光係数に基づく濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。
- **Analysis correction –** 濃度を計算する前に吸光度は Analysis correction で設定した波長の吸光度でノーマライズされます。本数値は核酸濃度のみに反映されます。デフォルトの設定では 340 nm となっています。

> **Note:** ソフトウェアは表示のスペクトルはすべて 750 nm でノーマライズし、Dye 濃度の算出には 400 nm から 750 nm の間で自動的にベースラインをとります。

Micro Array アプリケーションでの測定

1. メインメニューから **Micro Array** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. **Type** ドロップダウンリストより測定するサンプルの種類を選択します。デフォルトの設定では、DNA-33 となっています。
3. Conc. ボックスの右側のドロップダウンリストから濃度の単位を選択してください。デフォルトの単位は ng/µL となっています。
4. Dye 1 または Dye 2 のドロップダウンリストから、適切な Dye を選択します。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。タンパク質に標識された Dye が一種類の場合は、Dye 2 に **None** を選択してください。
5. デフォルトでは、340 nm が二クロム酸カリウムによるノーマライズの波長として使用されます。異なる波長を選択することも、**Analysis correction** ボックスのチェックを外してスペクトルのノーマライズを無効にすることもできます。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、**File** ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
6. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
7. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
8. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを

Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。

- Pedestal モード: 1-2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
- Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

> **Note:** キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

9. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

> **Note:** 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Oligo Calc

Oligo Calc は特定の核酸配列の分子量、吸光係数、濃縮係数、および融点の算出に使用します。Oligo Calc タスクバーを選択すると、以下の 2 つのタブが表示されます。

- **Oligo Calc** – 対象の配列を入力し、適切なサンプルの種類を選択するのに使用します。
- **Melting Points** – DNA 鎖の融点を表示します。本タブは DNA 配列の場合のみ使用できます。

Oligo Calc の使用:

1. 以下のオプションのいずれかで、塩基配列を入力します。
   - Base Sequence ディスプレイ下のボタン
   - キーボード (A、C、G、T、および U キーのみ使用可能)
   - 他のアプリケーションから Base Sequence ディスプレイへの塩基配列の直接コピー＆ペースト (A、C、G、T、および U の文字のみディスプレイへのペースト可能)
   - 入力した塩基配列を消去したい場合は、ディスプレイ右側の **Clear** をクリックしてください。各塩基はマニュアルで削除します。
2. 該当する場合 (DNA については Mono-phosphate、RNA では Mono もしくは Tri-phosphate)、リン酸化の度合を選択します。
3. 該当する場合は、**Double-Stranded** を選択します。相補的な塩基配列が分析に含まれます。
4. Nucleic Acid ドロップダウンリストより、分析する核酸の種類を選択します。デフォルトは **DNA** になっています。
5. 塩基配列への付加については、**Modification** を選択して付加の分子量を入力します。

Oligo Calc の結果フィールドに含まれる項目:

- **Molecular Weight** – 塩基配列の分子量が表示されます。
- **Extinction Coefficient** – 260 nm 波長での吸光係数を ng-cm/µL で表示します。

- Concentration Factor – 塩基配列の濃度を算出するのに用いられる吸光係数に基づく定数です。
- Number of bases – 入力した塩基の数を表示します。
- % GC – グアニンとシトシンの総数のパーセンテージを示しています。

DNA 配列の融点の算出:

1. 前述に従い、塩基配列を入力します。Oligo Calc タブで既に塩基配列を入力している場合、Melting Points タブの Base Sequence ボックスにも自動的に同じ配列が入力されています。
2. 下記に従い、各ボックスに適切な値を入力します。
   - Oligo Molarity – サンプルのオリゴヌクレオチドのモル濃度を入力します。デフォルトの値は 10 uM と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。
   - Cation Molarity – サンプル中の陽イオンの濃度を入力します。デフォルトの値は 10 mM と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。
   - % Formamide – サンプル中のホルムアミドの % 濃度を入力します。デフォルトの値は 0.00 % と表示されますが、より適切な値に変更することも可能です。

Melting Point の結果フィールドに含まれる項目

- Salt-Adjusted – 隣接する塩基間の相互作用の影響を考慮せずに算出した、塩基配列の融点です。
- Nearest-Neighbor – 隣接する塩基間の相互作用の影響を考慮して算出した、塩基配列の融点です。

UV-Vis

概要

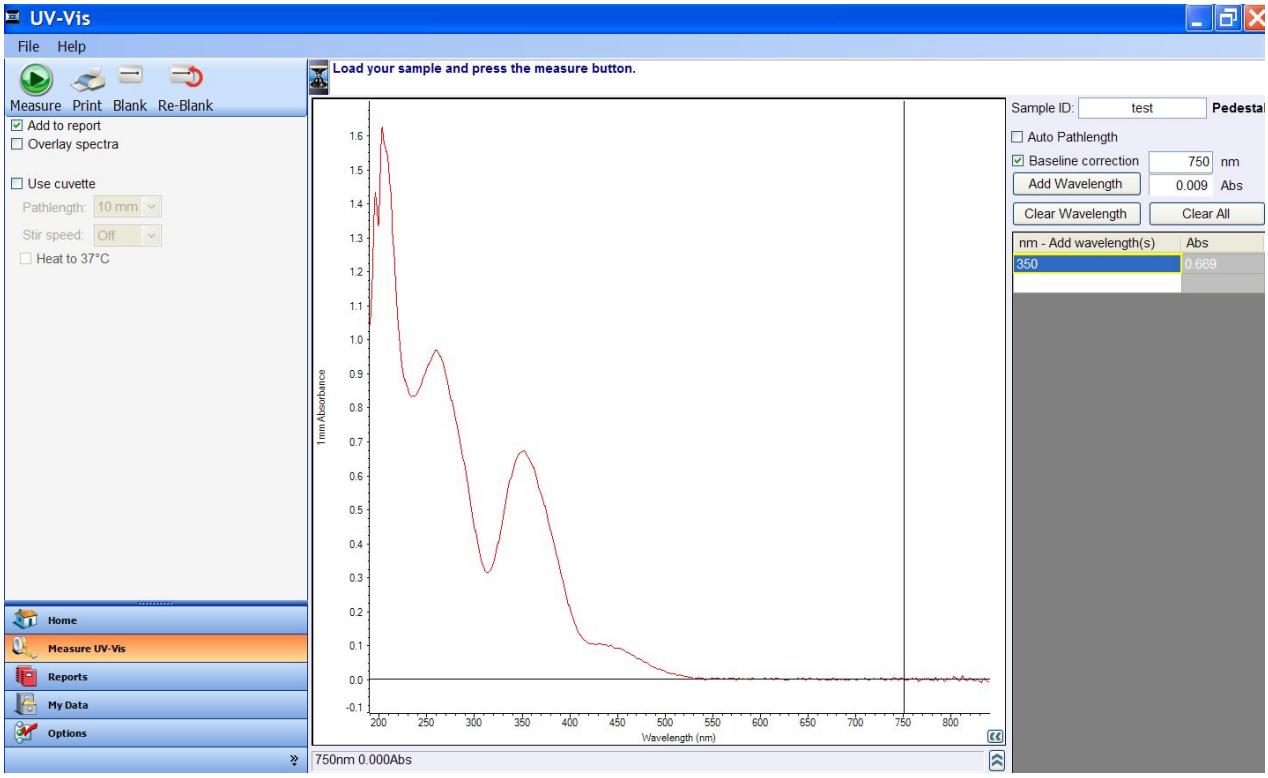
UV/VIS アプリケーションでは、NanoDrop 2000/2000c を、190 nm～840 nm の全波長間での分光光度計として利用できます。吸光度の確認に 40 までの波長を設定し、Report に反映できます。

測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c では、Auto Pathlength 機能を使用して、10 mm 光路長換算で 300 A. 相当の吸光度まで測定できます。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は UV-Vis アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは "ソフトウェアの特徴" に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- **Sample ID** – Sample ID を入力するフィールドです。各測定を実行する前に適切な Sample ID を入力してください。
- **Auto Pathlength** – ソフトウェアが自動的に高濃度サンプルの吸光度を測定するのに最適な光路長を使用します。本オプションを選択した場合、220 nm から 840 nm のあらゆる波長で 1 mm 光路長換算の吸光度が 1.25 以上の場合、短い光路長を使用します。190 nm から 219 nm の波長については、1 mm 光路長換算の吸光度が 1.0 以上で短い光路長が使用されます。
  - 短い光路長は高濃度のサンプルの検出に有効です。他のアプリケーションでは Auto Pathlength は自動機能となりますが、UV/Vis アプリケーションでは、Auto Pathlength の機能を使用するか、1 mm 光路長で固定するかをユーザーが選択できます。どちらの場合でも、1 mm 光路長相当に換算された吸光度が表示されます。

- **Baseline correction –** 選択すると、750 nm をニクロム酸カリウムでのノーマライズのデフォルト波長とします。異なる波長を入力することもできます。どちらの場合も選択した波長におけるサンプルの吸光度がベースラインとして自動的に設定されます。全波長データはベースラインを基準とします。

  Note: Baseline correction を選択しなかった場合、スペクトルがベースラインから相殺される場合があります。それに応じて、算出された濃度も変化します。

- **Add Wavelength** – カーソルの波長と吸光度を Add Wavelength の表に追加します。サンプル測定後、十字カーソルを対象の波長に移動し、**Add Wavelength** をクリックします。また、ハイライトされたフィールドに波長を直接入力することもできます。
- **Clear Wavelength –** Add Wavelength 表の入力値を 1 つ削除します。
- **Clear All –** Add Wavelength 表の入力値を全て削除します。

他のアプリケーションと同様に表示グラフ上で右クリックをすると、マルチオプションメニューボックスが表示されます。UV/Vis アプリケーションでは、Sample labels オプションの ON/OFF が追加されています。Sample labels オプションで、選択した波長の吸光度の表示/非表示を切り替えることができます。表示された吸光度を右クリックすると、編集、文字色/フォントの変更、水平/垂直表示の切り替え、前面/背面表示の切り替え、および消去を行うことができます。

UV/Vis アプリケーションでの測定

1. メインメニューから **UV/Vis** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. デフォルトでは、750 nm がニクロム酸カリウムによるノーマライズの波長として使用されます。異なる波長を選択することも、**Baseline Correction** ボックスのチェックを外してスペクトルのノーマライズを無効にすることもできます。
3. **nm – Add wavelength(s)** ボックスに 40 個までの波長を入力することができます。空欄の行を選択し、波長を入力、**Enter** キーを押すと波長を入力できます。入力すると、次の行がハイライトされ、同じ手順で波長を追加することができます。また、希望の波長に十字カーソルを合わせて、**Add Wavelength** をクリックすることで、波長を追加することもできます。単独もしくは全ての波長を削除することもできます。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、**File** ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
4. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
5. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
6. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   - Pedestal モード: 1-2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

7. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Protein A280

概要

タンパク質は、核酸とは異なり、著しい多様性を示します。Protein A280 アプリケーションでは、Trp、Tyr 残基もしくは Cys-Cys ジスルフィド結合を含む精製タンパク質の 280 nm における吸光度を示します。検量線の作成は必要なく、そのままタンパク質サンプル濃度の測定ができます。未知のタンパク質やセルライセートには、BCA や Pierce 660 nm アッセイ、ブラッドフォード法、ローリー法等の比色定量法がより一般的に使用されます。現在、タンパク質の測定に比色定量法を使用しているのであれば、NanoDrop 2000/2000c に入力済の比色定量法メソッドのいずれかのご使用をお奨めします。

Protein A280 アプリケーションでは UV スペクトルを表示し 280 nm (A280) におけるタンパク質の吸光度を測定、濃度 (mg/ml) を算出します。Nucleic Acid と同様に Protein A280 では、画面や保存ワークブックに 10 mm (1 cm) 相当のデータを表示し保存します。

測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c は、タンパク質サンプルを最大 400 mg/mL (BSA) まで希釈しないで正確に測定します。ソフトウェアが自動的に各サンプルの吸光度を測定するのに最適な光路長を選択します。詳細については “測定範囲” をご覧ください。

10 mm 光路長相当での吸光度が 3.0 以上のサンプルの場合 (例えば > 4.5 mg/mL BSA)、**Small sample volume** オプションを使用することができます。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

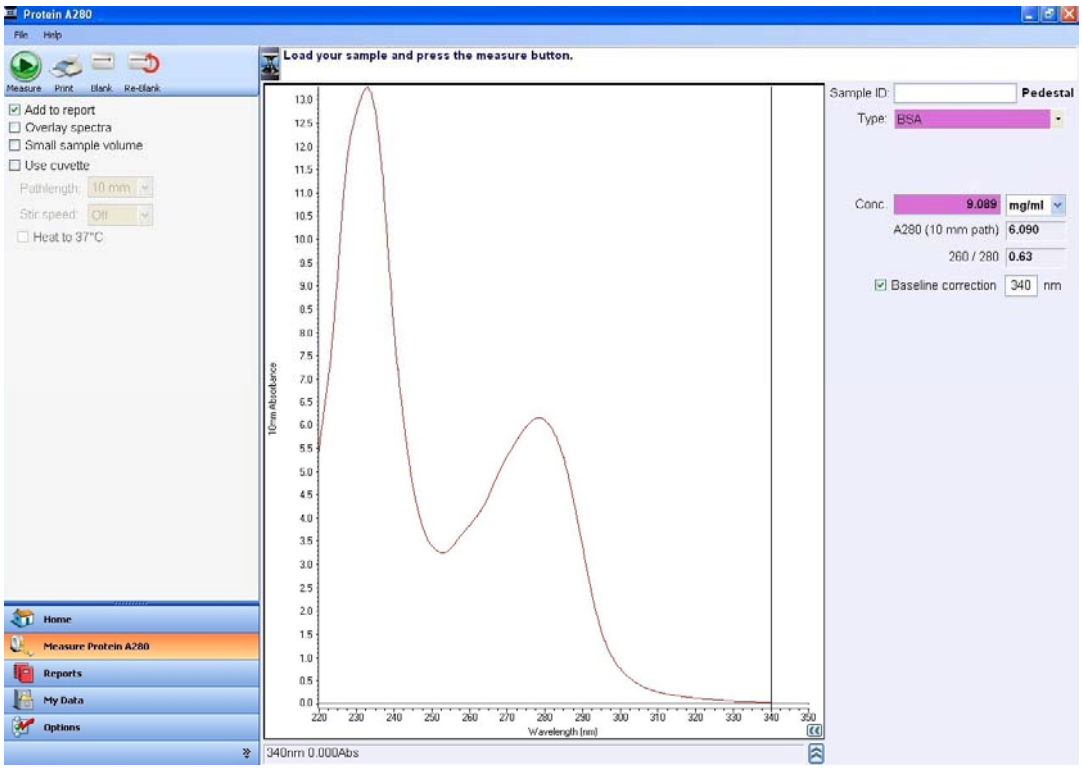
Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Protein A280 アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、10 mm 光路長でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。Cuvette モードで測定された場合も、同様にノーマライズされます。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- **Sample ID** – Sample ID を入力するフィールドです。各測定を実行する前に適切な Sample ID を入力してください。
- **Type** – 精製タンパク質の分析と濃度測定には、6 つのサンプルタイプから選択します。サンプルタイプは **Type** ボックスのドロップダウンリストから必要なオプションをハイライトすることによって選びます。各サンプルタイプの内容については、以下に示します。デフォルトでは 1 Abs = 1 mg/mL となっています。

1 Abs = 1 mg / mL	280 nm の吸光度が 1.0 A (光路長 10 mm) となる.1% (1 mg/ml) タンパク質溶液をベースに設定した標準的な基準。
BSA	Bovine Serum Albumin (牛血清アルブミン) 基準。1% (10 mg/ml) の BSA 溶液の 280 nm での吸光係数 6.7 を用いて、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
IgG	IgG 基準。1% (10 mg/ml) の IgG 溶液の 280 nm での吸光係数 13.7 を用いて、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
Lysozyme	Lysozyme (リゾチーム) 基準。1% (10 mg/ml) のリゾチーム溶液の 280 nm での吸光係数 26.4 を用いて、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
Type: Other protein (E & MW) e / 1000 0.00 M.W. (kDa) 0.00	ユーザー入力のモル吸光係数 (M^{-1} cm^{-1}) とキロダルトンでの分子量 (MW) からタンパク質濃度を算出します。
Type: Other protein (E 1%) Ext. Coeff, E 1% L/gm-cm 0.00	1% (10 mg/ml) 溶液の吸光係数 (L $gm^{-1}cm^{-1}$) をユーザーが入力し、タンパク質濃度を算出します。

- **Ext. Coeff, E1% L/gm-cm** – Other Protein (E1%) を選択すると、表示されます。測定前に適切な吸光係数を入力する必要があります。

- **ε/1000 および M.W. (KDa)** – Other protein (E & MW) を選択すると、表示されます。測定前に適切な e/1000 および M.W. (kDa) を入力する必要があります。

- **Conc** – 280 nm での吸光度とユーザー任意の吸光係数から算出した濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。デフォルトの単位は mg/mL となっています。
- **A280 (10mm path)** – 280 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。
- **260/280** – 260 nm と 280 nm におけるサンプルの吸光度比です。
- **Baseline correction** – 選択すると、340 nm をニクロム酸カリウムでのノーマライズのデフォルト波長とします。異なる波長を入力することもできます。どちらの場合も選択した波長におけるサンプルの吸光度がベースラインとして自動的に設定されます。全波長データはベースラインを基準とします。

> **Note:** Baseline correction を選択しなかった場合、スペクトルがベースラインから相殺される場合があります。それに応じて、算出された濃度も変化します。

Protein A280 アプリケーションでの測定

1. メインメニューから **Protein A280** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. **Type** ドロップダウンリストより測定するサンプルの種類を選択します。デフォルトの設定では、1Abs = 1 mg/mL となっています。
3. Conc. ボックスの右側のドロップダウンリストから濃度の単位を選択してください。デフォルトの単位は mg/mL となっています。
4. デフォルトでは、340 nm がニクロム酸カリウムによるノーマライズの波長として使用されます。異なる波長を選択することも、**Baseline Correction** ボックスのチェックを外してスペクトルのノーマライズを無効にすることもできます。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、**File** ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
5. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
6. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
7. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   - Pedestal モード: 1-2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

   > **Note:** キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

8. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

> **Note:** 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Proteins & Labels

概要

本測定モードは波長比を用いて、タンパク質濃度 (A280 nm)、プロテインアレイに結合した蛍光色素の標識効率、もしくは metalloprotein (ヘモグロビン等) の純度を測定します。

測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c 分光光度計では、蛍光色素やタンパク質の濃度をそれぞれ最大 100 pmols/µL (Cy3) と 20 mg/mL (BSA) まで、希釈しないで測定出来ます。詳細については "測定範囲" をご覧ください。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

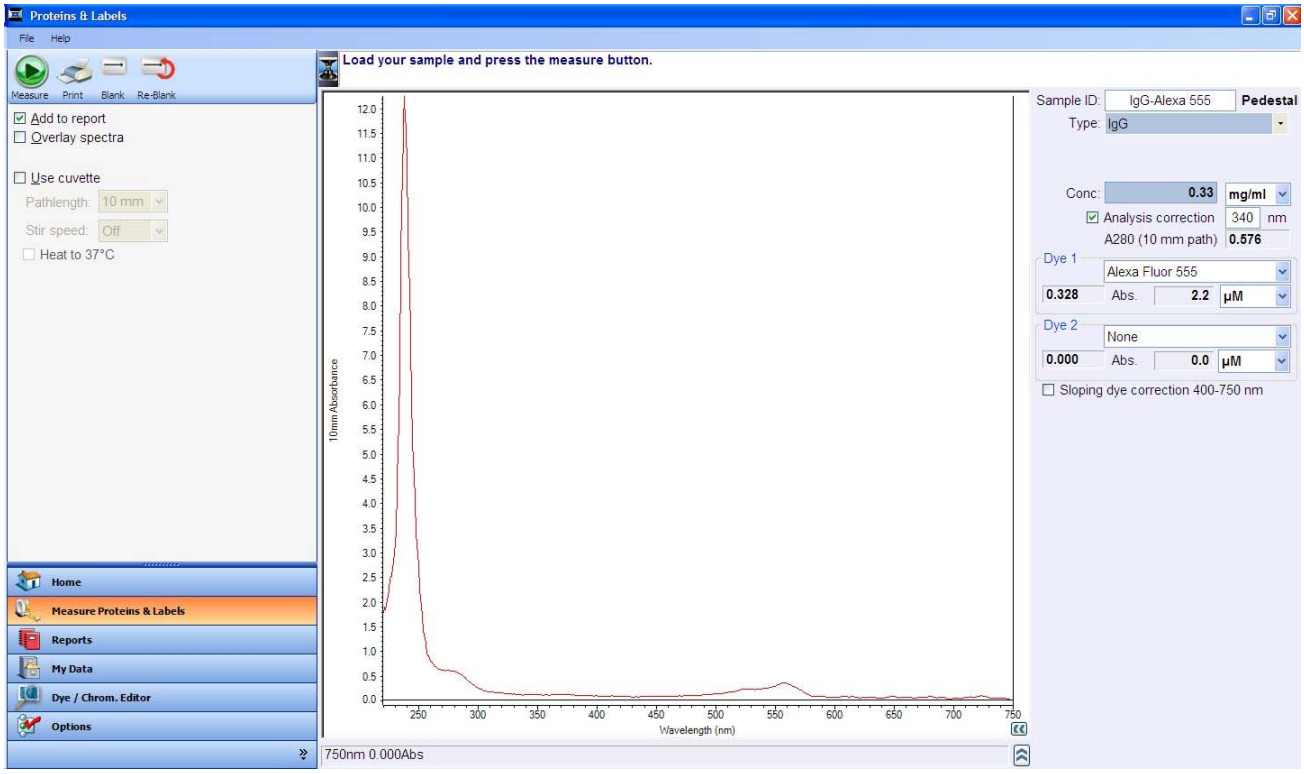
Dye/Chromophore Editor

NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアでは、入力済の Dye に加えて、Dye/Chromophore Editor を用いて新規の Dye を入力することができます。新規の Dye を入力する場合は、Dye/Chromophore Editor タスクバーを選択し、一番下の行の Show 列を選択します。すると、各フィールドに適切な情報をマニュアル入力できるようになります。入力した Dye の適切な補正ファクター (correction factor) については、Dye メーカーにお問い合せください。280 nm corrections はタンパク質サンプルの濃度算出に自動的に使用されます。入力した情報は保存されます。

入力した Dye を削除するには、(+) アイコン左の灰色のボックスをクリックして、対象の行をハイライトし、キーボードの Delete キーを使用するか、右クリックで Delete オプションを呼び出します。錠前アイコンで示されている既存の Dye は編集も削除もできません。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Proteins & Labels アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、10 mm 光路長でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。Cuvette モードで測定された場合も、同様にノーマライズされます。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- **Sample ID** – Sample ID を入力するフィールドです。各測定を実行する前に適切な Sample ID を入力してください。
- **Type** – 精製タンパク質の分析と濃度測定には、6 つのサンプルタイプから選択します。サンプルタイプは Type ボックスのドロップダウンリストから必要なオプションをハイライトすることによって選びます。各サンプルタイプの内容については、Protein A280 アプリケーションの記述を参照してください。デフォルトでは 1 Abs = 1 mg/mL となっています。
- **Ext. Coeff, E1% L/gm-cm** – Other protein (E1%) を選択すると、表示されます。測定前に適切な吸光係数を入力する必要があります。
- **Ɛ/1000 および M.W. (KDa)** – Other protein (E & MW) を選択すると、表示されます。測定前に適切な e/1000 および M.W. (kDa) を入力する必要があります。
- **Conc** – 280 nm での吸光度とユーザー任意の吸光係数から算出した濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。デフォルトの単位は mg/mL となっています。
- **Dye 1 (または 2)** – ユーザー任意の Dye です。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。Abs. は各 Dye のノーマライズされた吸光度 (1 mm 光路長相当) です。
  - **Abs -** Dye のノーマライズされた吸光度 (1 mm 光路長相当) です。
  - **uM** – 各 Dye の吸光係数から算出された濃度です。濃度の単位はドロップダウンリストから選択できます。
- **A280 (10mm path)** – 280 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。

> **Note:** 表示の A280 の値は、750 nm でのサンプル吸光度をベースラインとした 280 nm でのサンプル吸光度となっています。核酸濃度の算出に使用される A280 の値は、750 nm ベースラインだけでなく、Dye のあらゆる適切な補正ファクター、つまり選択した Analysis correction による吸光度の補正も考慮に入れています。故に、表示された A280 は核酸濃度の算出に使用される値とは異なる場合があり

ます。

- **Analysis correction –** 濃度を計算する前に吸光度は Analysis correction で設定した波長の吸光度でノーマライズされます。本数値はタンパク質濃度のみに反映されます。
- **Sloping Dye Correction –** 選択すると、400 nm から 750 nm の間で自動的にスロープ状のベースラインをとります。本数値は Dye のピーク吸光度と濃度のみに反映されます。

Protein & Labels アプリケーションでの測定

1. メインメニューから **Proteins & Labels** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. **Type** ドロップダウンリストより測定するサンプルの種類を選択します。デフォルトの設定では、1 Abs = 1 mg/mL となっています。
3. Conc. ボックスの右側のドロップダウンリストから濃度の単位を選択してください。デフォルトの単位は mg/mL となっています。
4. Dye 1 または Dye 2 のドロップダウンリストから、適切な Dye を選択します。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3 に、Dye 2 は Cy5 になっています。タンパク質に標識された Dye が一種類の場合は、Dye 2 に **None** を選択してください。
5. デフォルトでは、340 nm がニクロム酸カリウムによるノーマライズの波長として使用されます。異なる波長を選択することも、**Analysis correction** ボックスのチェックを外してスペクトルのノーマライズを無効にすることもできます。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、**File** ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
6. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
7. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
8. 必要に応じて、**Sloping Dye Correction** を選択してください。
9. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   - Pedestal モード: 2 µL の dH_2O を測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

10. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Protein BCA

概要

BCA (Bicinchoninic Acid) アッセイは、タンパク質濃度を測定する比色定量法の一つです。希釈タンパク質溶液や UV (280 nm) 吸光度の高い物質がある場合によく利用されます。タンパク質 A280 法とは異なり、BCA 定量法では、タンパク質サンプルを測定する前に、検量線の作成が必要になります。

本定量法では、Bicinchoninic Acid (BCA) を使用して、アルカリ溶液中のタンパク質によって、Cu+2 が還元されます。その時形成された Cu+1 を検出します。2 分子 BCA と 1 銅イオンがキレート化すると、紫色の反応産物を形成します。Cu-BCA キレートは、562 nm の波長で吸光度が測定され、750 nm でノーマライズされます。定量に使用される、予め調整された BCA や $CuSO_4$ の試薬は、Thermo Fisher Scientific 社からキットの形で入手できます。

測定濃度範囲

市販の BCA タンパク質測定キットのメーカーは、通常、以下の 2 種類のタンパク質濃度範囲について手順を説明しています。

- 通常のアッセイでは、約 0.20 mg/mL ～ 8.0 mg/mL (BSA) の濃度範囲での検出に、20:1 の試薬/サンプル容量比率を使用します。Pedestal モードで測定を行う場合は、BCA 試薬 80 µL に対して、最小値 4 µL のサンプルの使用を推奨します。
- ミニアッセイでは、0.10 mg/mL ～ 0.20 mg/mL (BSA) の濃度範囲での検出に、1:1 の試薬/サンプル容量比率を使用します。Pedestal モードで測定を行う場合は、10 µL のサンプルと 10 µL の BCA 試薬 (PCR チューブ) の使用を推奨します。

すべての Standard およびサンプルに関しては試薬メーカーの推奨に従ってください。それぞれの反応時間や温度に関しては、アッセイを通じて、同じ条件にしてください。

Note: 60℃ でアッセイを実行する場合は、容量を 2 倍にすることで、蒸発/濃縮による検出結果への影響を避けることができます。

検量線を作成するためのタンパク質 Standard (BSA) も、各メーカーによって提供されています加えて、対象の分析範囲 (mg/ml) をカバーする Standard (BSA や IgG) で希釈系列サンプルを準備します。NanoDrop 2000/2000c ではより高濃度のタンパク質を測定することができます。メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質 Standard を用意する必要があります。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

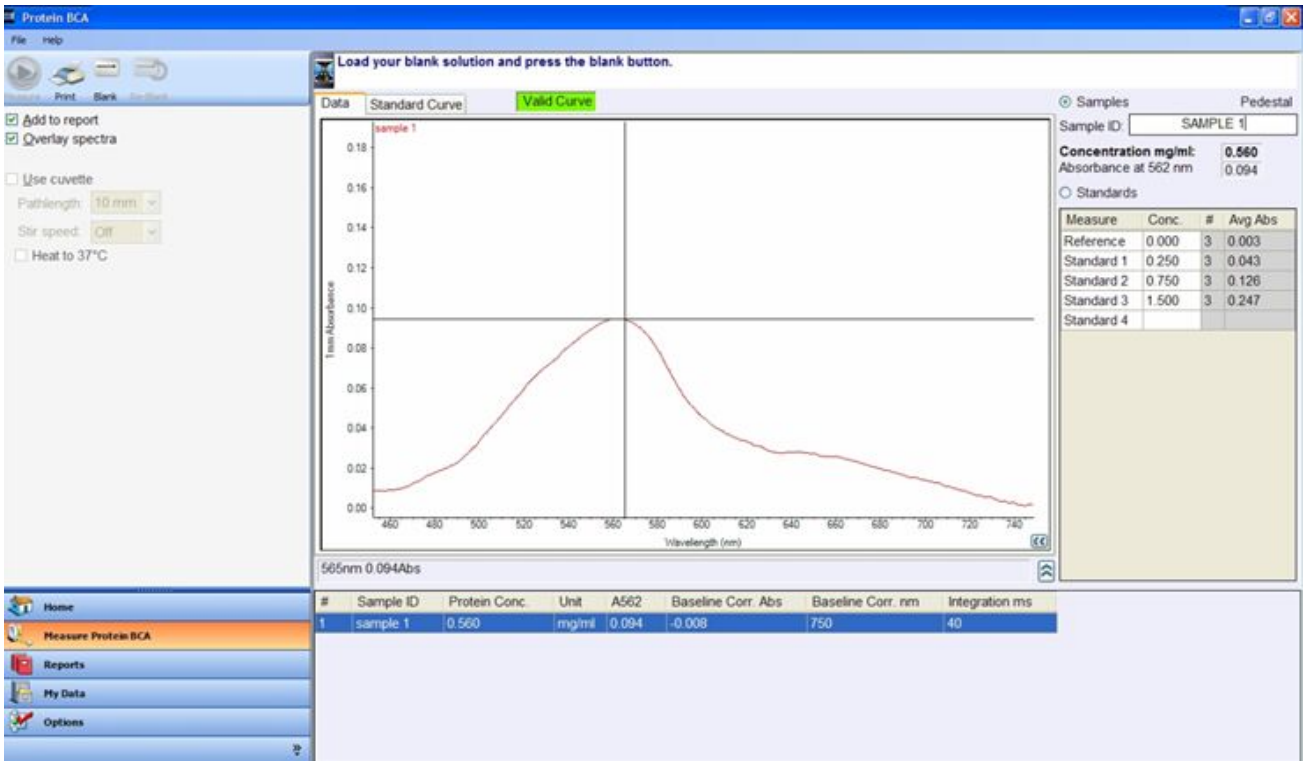
Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は BCA Protein アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

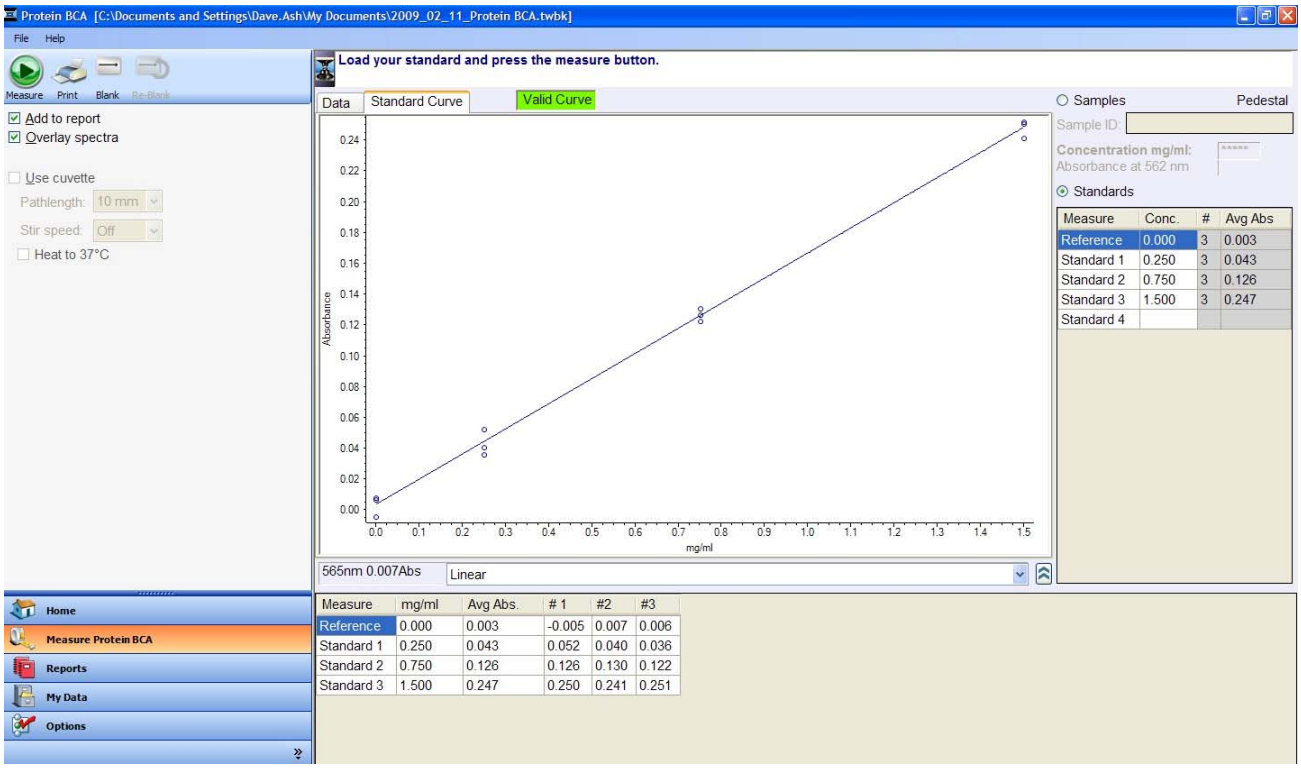
- **Data タブ** – 現行の測定データを表示します。
- **Standard Curve タブ** – 検量線、R^2 値、検量線のタイプを表示します。検量線のタイプには、Interpolation、Linear、および Polynomials があります。デフォルトの設定では Linear となっています。
- **Valid/Invalid Currve** – 最小限必要な数の Standard が測定されたかを示します。基準を満たすと、Invalid Curve (赤) から Valid Curve (緑) へ変化します。

> **Note:** 本表示は選択したタイプの検量線を作成するのに最低限必要なポイントが揃ったかを示しています。検量線の整合性は評価していません。アッセイの濃度範囲をカバーするために追加の Standard が必要となる場合もあります。

- **Samples ボタン** – Valid Curve の基準を満たした上で、選択すると、Sample ID フィールドへの入力が可能となります。Sample ID は測定の前に入力してください。
- **Standard ボタン** – 選択すると、ボタン下の表に Standard 名と濃度を入力することができます。
- **Concentration mg/mL** – 現行サンプルの濃度（mg/mL）です。
- **Absorbance at 562 nm** – 562 nm での Cu-BCA 錯体の吸光度です。

BCA 検量線

BCA アッセイには検量線が必要となります。



- 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬/バッファー) と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。
- マルチポイントの検量線では、7 つまでの Standard について複数の Replicate を測定することができます。Standard を実行する決まった順番はありません。
- Standard の追加は未知サンプルの測定前であれば、可能です。一番目のサンプルを測定すると、追加の Standard もしくは Replicate は入力できません。
- サンプルの測定前であれば、いつでも Standard を削除できます。Standard ボタン下の表を右クリックして、1 つの Standard もしくは表全体を削除してください。グラフ下の表で右クリックすると、各ポイントを削除することができます。
- 新規の検量線を作成するには、新しいワークブックを作成する必要があります。保存しておいたワークブックにサンプルデータを追加する際に、以前作成した検量線を使用することに関してはいくつかのオプションがあります。ワークブックに新規データを追加する前の検量線の作成に関しては、試薬メーカーのガイドラインに従うことをお奨めします。

> **Note:** 保存していたワークブックを選択すると、新しく測定したサンプルの濃度算出はワークブックに保存された Standard の吸光度をベースにします。各ワークブックには保存される検量線は 1 つだけとなります。

BCA アプリケーションでの測定

- サンプルの調整に関しては、メーカーのガイドラインおよび推奨に従ってください。
- Reference 液は、他の Standard およびサンプルとおなじバッファー/Dye 試薬を使用し、タンパク質を加えないでください。
- Standards と未知サンプルは同じ条件で調整してください。あらゆる Standard、Blank、未知サンプルには、同じ pH およびイオン強度の希釈液を使用してください。
- ストックから希釈した Standard は未知サンプルの濃度範囲をカバーします。測定した Standard の濃度間にサンプルのタンパク質濃度が外挿されることはありません。

手順

1. メインメニューから **Protein BCA** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. 右パネルの表に Standard 濃度を入力します。ソフトウェアでは Reference と 7 つまでの Standard を測定することができます。Reference および/または Standard は反復して測定することができます。

   Note: 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。アッセイの濃度範囲をカバーする必要に応じて、追加の Standard を測定することをお奨めします。

3. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、File ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
4. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
5. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、比色定量法では dH_2O を Blank 液として使用します。
   - Pedestal モード: 2 µL の dH_2O を測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

6. Standard タブで、Standard をハイライトし、上記の Blank と同様の手順で、Standard 液を本体にのせてください。**Measure** をクリックすると測定を開始します。サンプルの測定前に、必ずすべての Standard を測定してください。
7. すべての Standard を測定したら、Samples ボタンをクリックしてください。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力します。Pedestal モードでは下部測定面に 2 µL のサンプルをピペッティング、Cuvette モードではサンプルの入ったキュベットを挿入してください。**Measure** をクリックすると測定を開始します。Standard と未知サンプルの測定間に Blank を測定する必要はありません。

   Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Protein Lowry

概要

Lowry 改良法は、広く用いられている Lowry 法に替わるタンパク質濃度の測定法です。他の比色定量法と同様に、Lowry 法も未知濃度のタンパク質測定の際には検量線の作成が必要となります。

Lowry 法の手順には、アルカリ溶液中でのタンパク質と 硫酸銅 の反応による、銅ータンパク質錯体の生成を含みます。Folin-Ciocalteu 試薬はキレートされた銅錯体と反応し、650 nm で測定され、405 nm でノーマライズされる青い親水性の産物を生成します。アッセイで使用する試薬は多くのメーカーからキットの形で入手できます。

測定濃度範囲

適切に Standard を調整するために、最少 20 µL のサンプルと 100 µL の Lowry 試薬を使用します。NanoDrop 2000/2000c の Lowry アプリケーションでは、約 0.20 mg/mL から 4 mg/mL の範囲で測定できます。

すべての Standard およびサンプルに関しては試薬メーカーの推奨に従ってください。それぞれの反応時間や温度に関しては、アッセイを通じて、同じ条件にしてください。

検量線を作成するためのタンパク質 Standard (BSA) も、各メーカーによって提供されています。NanoDrop 2000/2000c ではより高濃度のタンパク質を測定することができます。メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質 Standard を用意する必要があります。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

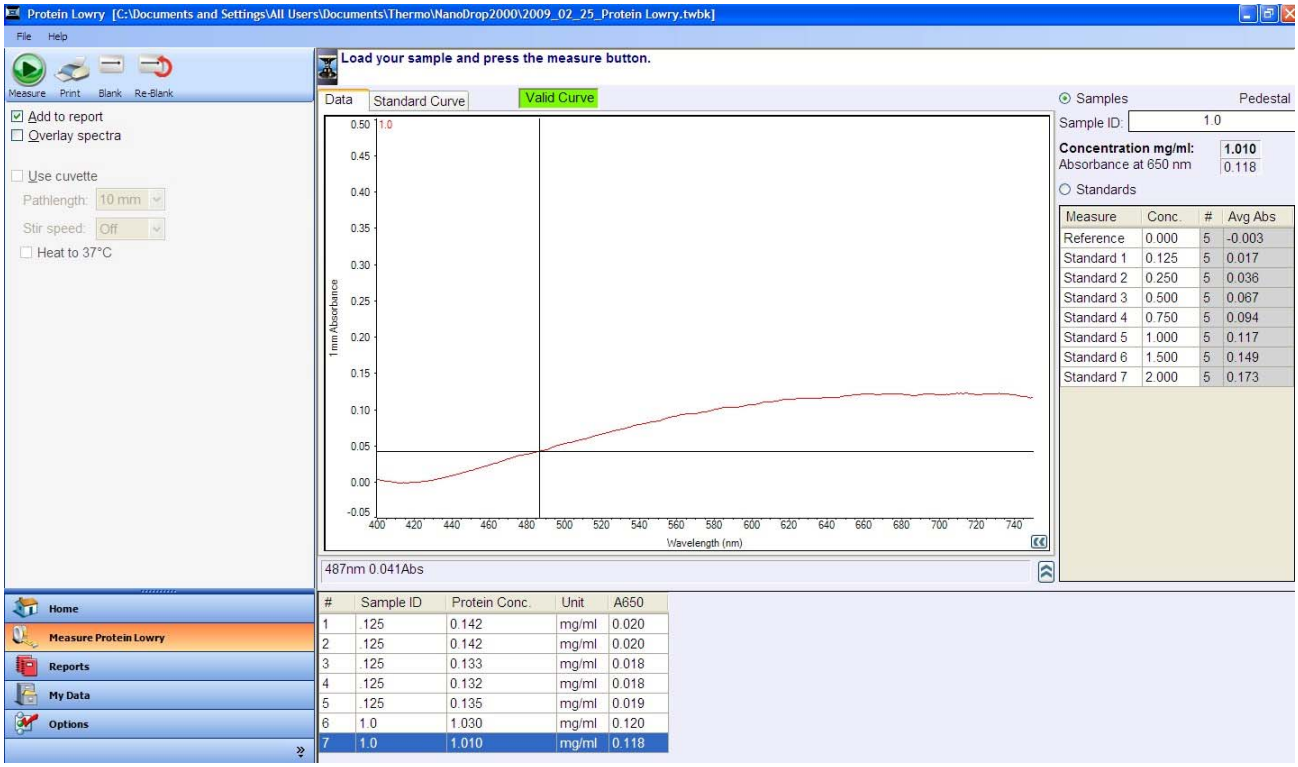
Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Protein Bradford アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

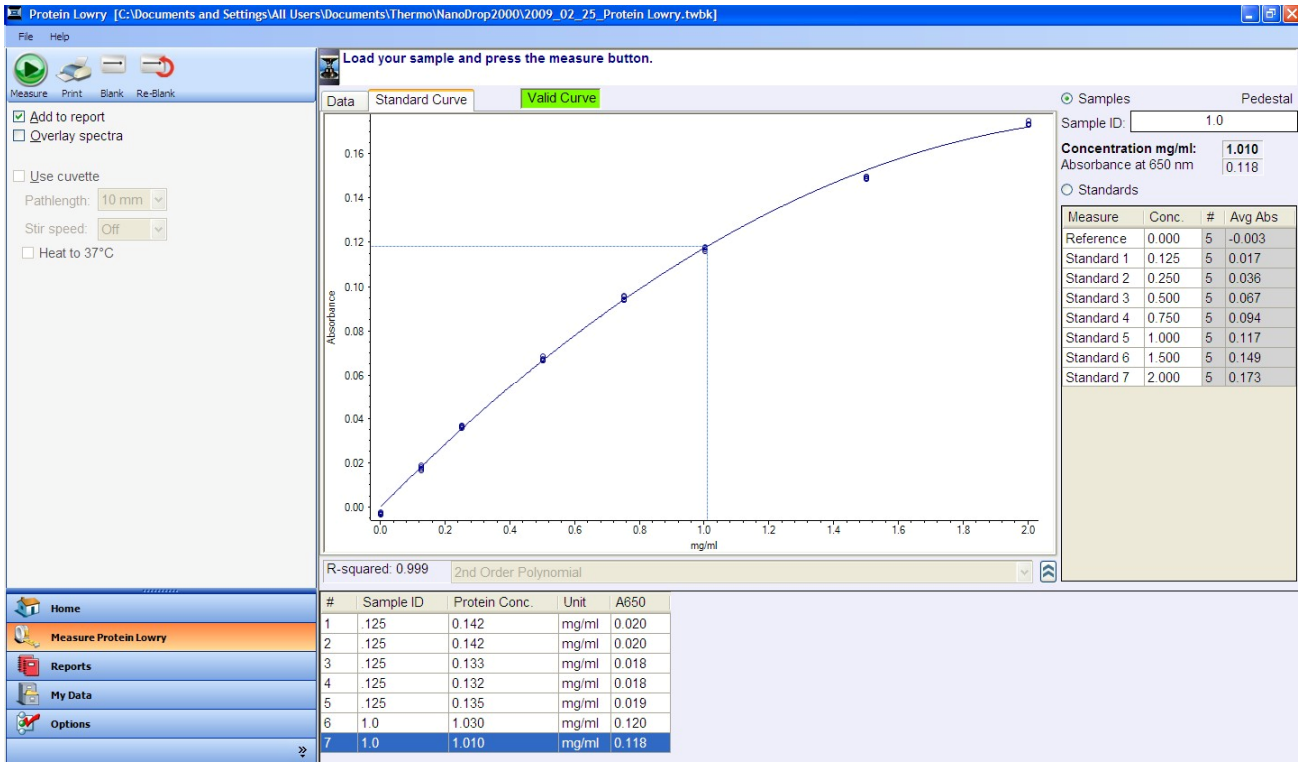
- **Data タブ** – 現行の測定データを表示します。
- **Standard Curve タブ** – 検量線、R^2 値、検量線のタイプを表示します。検量線のタイプには、Interpolation、Linear、および Polynomials があります。デフォルトの設定では Linear となっています。
- **Valid/Invalid Currve** – 最小限必要な数の Standard が測定されたかを示します。基準を満たすと、Invalid Curve (赤) から Valid Curve (緑) へ変化します。

> **Note:** 本表示は選択したタイプの検量線を作成するのに最低限必要なポイントが揃ったかを示しています。検量線の整合性は評価していません。アッセイの濃度範囲をカバーするために追加の Standard が必要となる場合もあります。

- **Samples ボタン** – Valid Curve の基準を満たした上で、選択すると、Sample ID フィールドへの入力が可能となります。Sample ID は測定の前に入力してください。
- **Standard ボタン** – 選択すると、ボタン下の表に Standard 名と濃度を入力することができます。
- **Concentration mg/mL** – 現行サンプルの濃度（mg/mL）です。
- **Absorbance at 650 nm** – 650 nm での銅-タンパク質錯体の吸光度です。

Lowry 検量線

Lowry アッセイには検量線が必要となります。



- 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬/バッファー) と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。
- マルチポイントの検量線では、7 つまでの Standard について複数の Replicate を測定することができます。Standard を実行する決まった順番はありません。
- Standard の追加は、未知サンプルの測定前であれば可能です。一番目のサンプルを測定すると、追加の Standard もしくは Replicate は入力できません。
- サンプルの測定前であれば、いつでも Standard を削除できます。Standard ボタン下の表を右クリックして、1 つの Standard もしくは表全体を削除してください。グラフ下の表で右クリックすると、各ポイントを削除することができます。
- サンプルを測定してしまうと、削除した Standard の再追加もしくは再測定はできません。
- 新規の検量線を作成するには、新しいワークブックを作成する必要があります。保存しておいたワークブックにサンプルデータを追加する際に、以前作成した検量線を使用することに関してはいくつかのオプションがあります。ワークブックに新規データを追加する前の検量線の作成に関しては、試薬メーカーのガイドラインに従うことをお奨めします。

> **Note:** 保存していたワークブックを選択すると、新しく測定したサンプルの濃度算出はワークブックに保存された Standard の吸光度をベースにします。各ワークブックには保存される検量線は 1 つだけとなります。

Lowry アプリケーションでの測定

- サンプルの調整に関しては、メーカーのガイドラインおよび推奨に従ってください。
- Reference 液は、他の Standard およびサンプルとおなじバッファー/Dye 試薬を使用し、タンパク質を加えないでください。
- Standards と未知サンプルは同じ条件で調整してください。あらゆる Standard、Blank、未知サンプルには、同じ pH およびイオン強度の希釈液を使用してください。
- ストックから希釈した Standard は未知サンプルの濃度範囲をカバーします。測定した Standard の濃度

間にサンプルのタンパク質濃度が外挿されることはありません。

手順

1. メインメニューから **Protein Lowry** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. 右パネルの表に Standard 濃度を入力します。ソフトウェアでは Reference と 7 つまでの Standard を測定することができます。Reference および/または Standard は反復して測定することができます。

> **Note:** 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。アッセイの濃度範囲をカバーする必要に応じて、追加の Standard を測定することをお奨めします。

3. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、File ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
4. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
5. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、比色定量法では dH_2O を Blank 液として使用します。
   - Pedestal モード: 2 µL の dH_2O を測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

> **Note:** キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

6. Standard タブで、Standard をハイライトし、上記の Blank と同様の手順で、Standard 液を本体にのせてください。**Measure** をクリックすると測定を開始します。サンプルの測定前に、必ずすべての Standard を測定してください。
7. すべての Standard を測定したら、Samples ボタンをクリックしてください。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力します。Pedestal モードでは下部測定面に 2 µL のサンプルをピペッティング、Cuvette モードではサンプルの入ったキュベットを挿入してください。**Measure** をクリックすると、測定を開始します。Standard と未知サンプルの測定間に Blank を測定する必要はありません。

> **Note:** 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Protein Bradford

概要

Bradford アッセイも、タンパク質濃度の測定によく利用される方法の一つです。低検出感度が要求される低濃度タンパク質溶液や UV (280 nm) 吸光度の高い物質がある場合に、よく利用されます。他の比色定量法と同じように、Bradford 法では、未知濃度のタンパク質を測定する前に、検量線の作成が必要になります。

Bradford 法では、タンパク質が誘発する吸光度による 595 nm へのクマシーブルー色素のシフトが、タンパク質濃度の尺度として使用されます。タンパク質-色素錯体は 595 nm で測定され、750 nm でノーマライズされます。クマシーブルー試薬、アルコール、および界面活性剤を含有する安定化試薬混合液が、数多くのメーカーからキットの形で入手できます。

測定濃度範囲

市販の Bradford タンパク質測定キットのメーカーは、通常、以下の 2 種類のタンパク質濃度範囲について手順を説明しています。

- 通常のアッセイでは、約 0.1 mg/mL ～ 8.0 mg/mL (BSA) の濃度範囲での検出に、50:1 の試薬/サンプル容量比率を使用します。最も高い直線性は 0.01 ～ 1 mg/mL の範囲で得られます。Pedestal モードで測定を行う場合は、Bradford 試薬 200 µL に対して、最小値 4 µL のサンプルの使用を推奨します。
- ミニアッセイでは、15 µg/mL ～ 125 µg/mL (BSA) の濃度範囲での検出に、1:1 の試薬/サンプル容量比率を使用します。Pedestal モードで測定を行う場合は、10 µL のサンプルと 10 µL の Bradford 試薬 (PCR チューブ) の使用を推奨します。

すべての Standard およびサンプルに関しては試薬メーカーの推奨に従ってください。それぞれの反応時間や温度に関しては、アッセイを通じて、同じ条件にしてください。

Bradford アッセイの検量線を作成するタンパク質 Standard (BSA) も多数のメーカーより市販されています。

Note: NanoDrop 2000/2000c ではより高濃度のタンパク質を測定することができます。メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質 Standard を用意する必要があります。

クマシー色素ベースのタンパク質検定では、クマシー色素-色素、およびクマシー色素-タンパク質のアグリゲートがしばしば観察されます。時間が経過すると、吸光度の表示に大きな揺らぎを引き起こす可能性がある、微粒子が形成されます。また、本体の 1.0 mm 光路長、Bradford (Coomassie 色素) 試薬の濃度、そして酸性 pH の結果として、595 nm における全検体 (タンパク質-色素) のシグナルが約 0.150 A に限られる点にも注意してください。Bradford アッセイで限られたアッセイシグナルを得たい場合は、Standard と未知サンプルの測定を 3 回繰り返すことをお勧めします。NanoDrop 2000c の Cuvette モードではシグナルが大きくなります。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

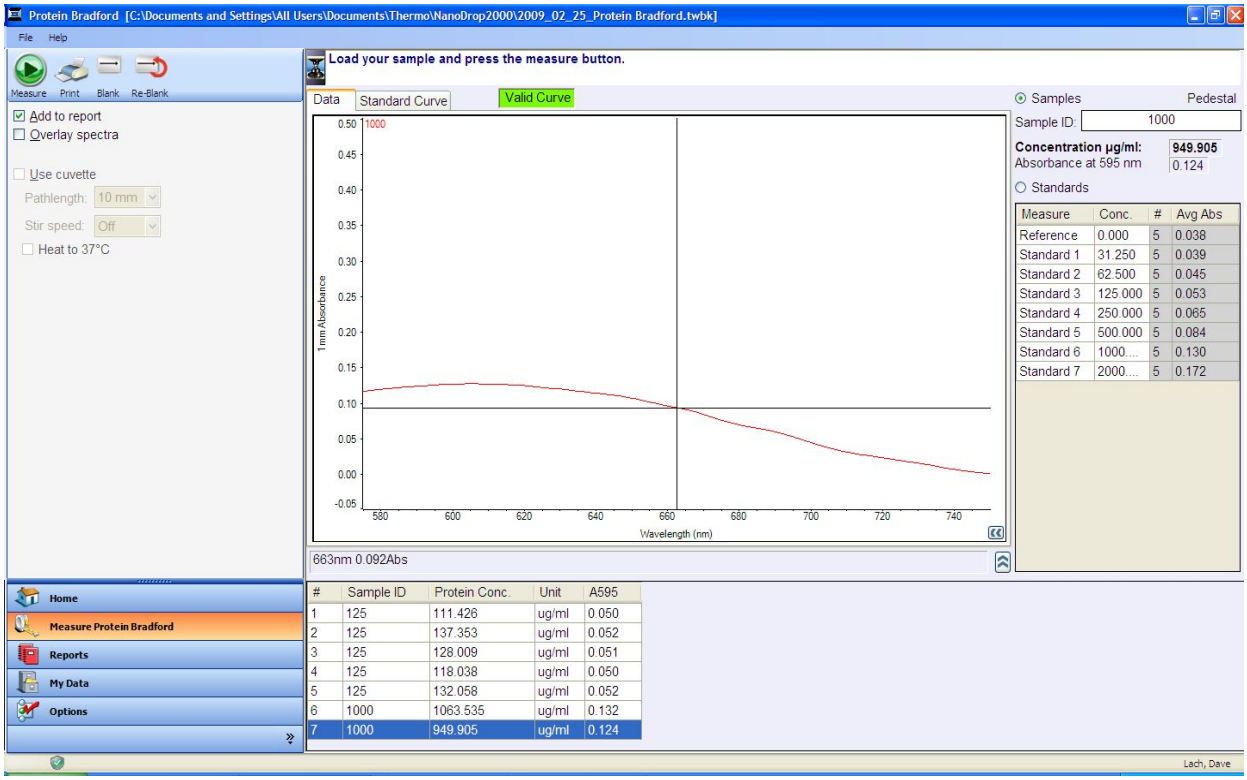
Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Protein Bradford アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

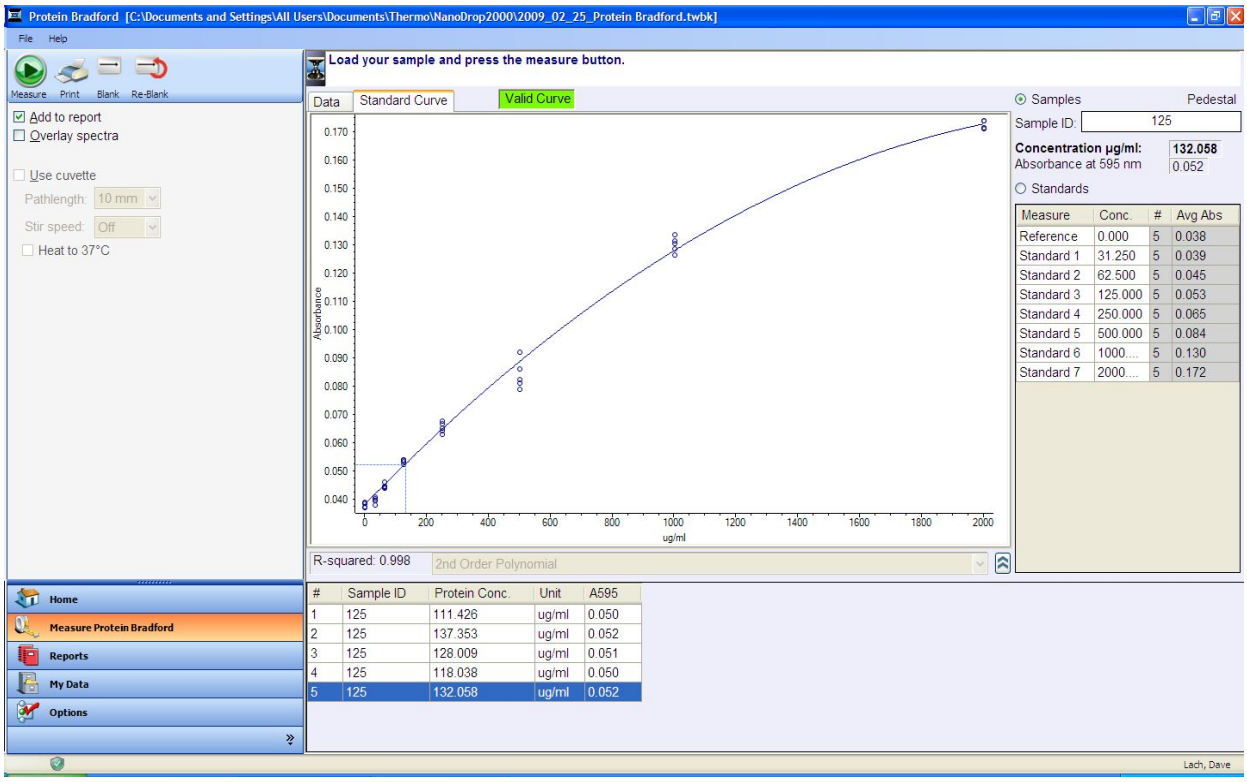
- **Data タブ** – 現行の測定データを表示します。
- **Standard Curve タブ** – 検量線、R^2 値、検量線のタイプを表示します。検量線のタイプには、Interpolation、Linear、および Polynomials があります。デフォルトの設定では Linear となっています。
- **Valid/Invalid Currve** – 最小限必要な数の Standard が測定されたかを示します。基準を満たすと、Invalid Curve (赤) から Valid Curve (緑) へ変化します。

> **Note:** 本表示は選択したタイプの検量線を作成するのに最低限必要なポイントが揃ったかを示しています。検量線の整合性は評価していません。アッセイの濃度範囲をカバーするために追加の Standard が必要となる場合もあります。

- **Samples ボタン** – Valid Curve の基準を満たした上で、選択すると、Sample ID フィールドへの入力が可能となります。Sample ID は測定の前に入力してください。
- **Standard ボタン** – 選択すると、ボタン下の表に Standard 名と濃度を入力することができます。
- **Concentration µg/mL** – 現行サンプルの濃度（µg/mL）です。
- **Absorbance at 595 nm** – 650 nm でのクマシー色素錯体の吸光度です。

Bradford 検量線

Bradford アッセイには検量線が必要となります。



- 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬/バッファー) と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。
- マルチポイントの検量線では、7 つまでの Standard について複数の Replicate を測定することができます。Standard を実行する決まった順番はありません。
- Standard の追加は未知サンプルの測定前であれば、可能です。一番目のサンプルを測定すると、追加の Standard もしくは Replicate は入力できません。
- サンプルの測定前であれば、いつでも Standard を削除できます。Standard ボタン下の表を右クリックして、1 つの Standard もしくは表全体を削除してください。グラフ下の表で右クリックすると、各ポイントを削除することができます。
- サンプルを測定してしまうと、削除した Standard の再追加もしくは再測定はできません。
- 新規の検量線を作成するには、新しいワークブックを作成する必要があります。保存しておいたワークブックにサンプルデータを追加する際に、以前作成した検量線を使用することに関してはいくつかのオプションがあります。ワークブックに新規データを追加する前の検量線の作成に関しては、試薬メーカーのガイドラインに従うことをお奨めします。

> **Note:** 保存していたワークブックを選択すると、新しく測定したサンプルの濃度算出はワークブックに保存された Standard の吸光度をベースにします。各ワークブックには保存される検量線は 1 つだけとなります。

Bradford アプリケーションでの測定

- サンプルの調整に関しては、メーカーのガイドラインおよび推奨に従ってください。
- Reference 液は、他の Standard およびサンプルとおなじバッファー/Dye 試薬を使用し、タンパク質を加えないでください。
- Standard と未知サンプルは同じ条件で調整してください。あらゆる Standard、Blank、未知サンプルには、同じ pH およびイオン強度の希釈液を使用してください。
- ストックから希釈した Standard は未知サンプルの濃度範囲をカバーします。測定した Standard の濃度

間にサンプルのタンパク質濃度が外挿されることはありません。

手順

1. メインメニューから **Protein Bradford** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. 右パネルの表に Standard 濃度を入力します。ソフトウェアでは Reference と 7 つまでの Standard を測定することができます。Reference および/または Standard は反復して測定することができます。

   Note: 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。アッセイの濃度範囲をカバーする必要に応じて、追加の Standard を測定することをお奨めします。

3. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、File ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
4. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
5. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、比色定量法では dH_2O を Blank 液として使用します。
   - Pedestal モード: 2 µL の dH_2O を測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

6. Standard タブで、Standard をハイライトし、上記の Blank と同様の手順で、Standard 液を本体にのせてください。**Measure** をクリックすると測定を開始します。サンプルの測定前に、必ずすべての Standard を測定してください。
7. すべての Standard を測定したら、Samples ボタンをクリックしてください。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力します。Pedestal モードでは下部測定面に 2 µL のサンプルをピペッティング、Cuvette モードではサンプルの入ったキュベットを挿入してください。**Measure** をクリックすると、測定を開始します。Standard と未知サンプルの測定間に Blank を測定する必要はありません。

   Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Protein Pierce 660 nm

概要

Thermo Scientific Pierce 660 nm Protein Assay 試薬は溶液中の微量タンパク質について、迅速、正確、かつ再現性のある比色定量を実現する試薬キットです。本試薬は、還元剤および界面活性剤を含むサンプル中の総タンパク質濃度の測定に最適となっております。

定濃度範囲

Pierce 660 nm アッセイでは、15:1 の試薬/サンプル容量比率を使用します。Pedestal モードで測定を行う場合は、試薬 60 µL に対して、最小値 4 µL のサンプルの使用を推奨します。

すべての Standard およびサンプルに関しては試薬メーカーの推奨に従ってください。それぞれの反応時間や温度に関しては、アッセイを通じて、同じ条件にしてください。

検量線を作成するためのタンパク質 Standard (BSA) も、各メーカーによって提供されています。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、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。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 に増やす必要があります。

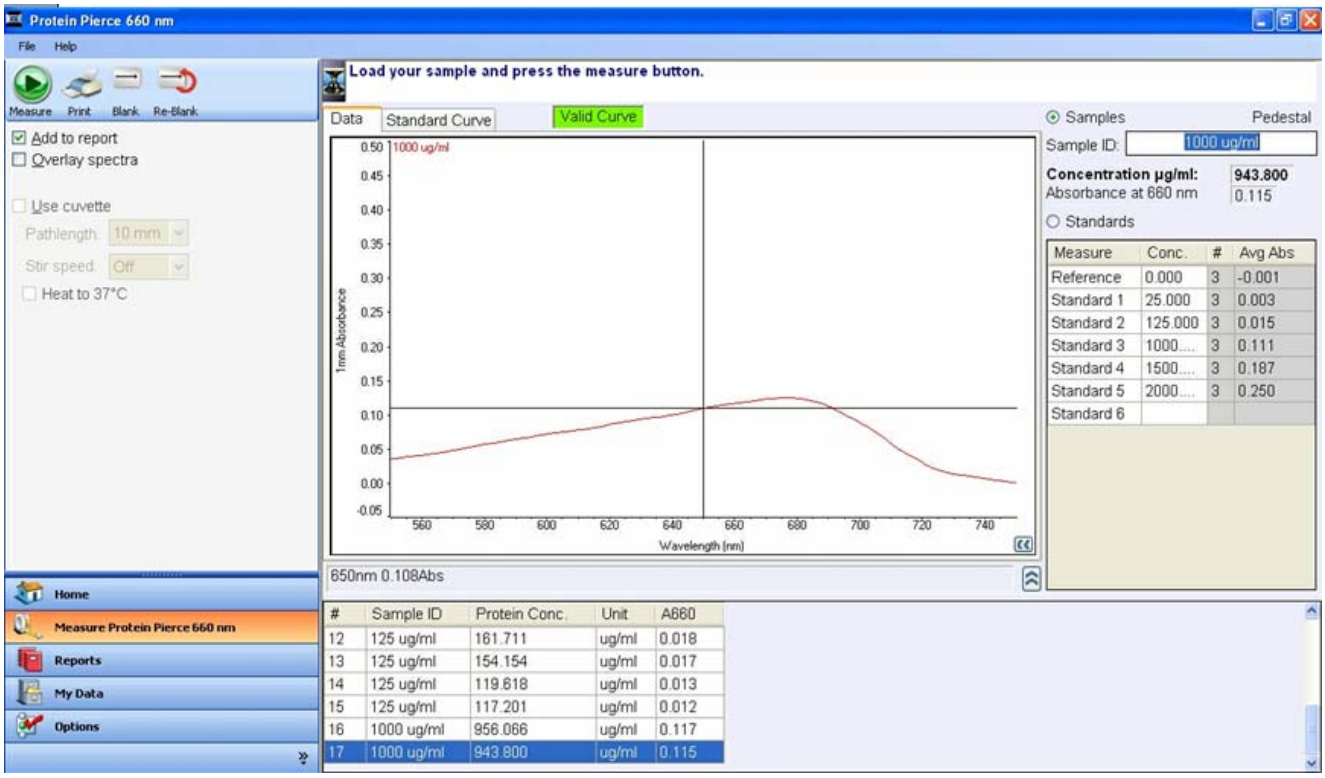
Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。光学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

測定面の状態改善

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化し、測定時の液柱の形成が困難となった場合は、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を測定面改善の迅速な手段としてご使用ください。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Protein Pierce 660 nm アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

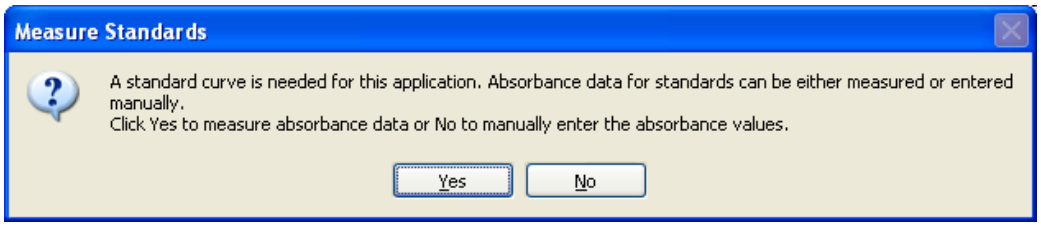
- **Data タブ** – 現行の測定データを表示します。
- **Standard Curve タブ** – 検量線、R^2 値、検量線のタイプを表示します。検量線のタイプには、Interpolation、Linear、および Polynomials があります。デフォルトの設定では Linear となっています。
- **Valid/Invalid Currve** – 最小限必要な数の Standard が測定されたかを示します。基準を満たすと、Invalid Curve (赤) から Valid Curve (緑) へ変化します。

> **Note:** 本表示は選択したタイプの検量線を作成するのに最低限必要なポイントが揃ったかを示しています。検量線の整合性は評価していません。アッセイの濃度範囲をカバーするために追加の Standard が必要となる場合もあります。

- **Samples ボタン** – Valid Curve の基準を満たした上で、選択すると、Sample ID フィールドへの入力が可能となります。Sample ID は測定の前に入力してください。
- **Standard ボタン** – 選択すると、ボタン下の表に Standard 名と濃度を入力することができます。
- **Concentration mg/mL** – 現行サンプルの濃度（mg/mL）です。
- **Absorbance at 660 nm** – 650 nm でのクマシー色素錯体の吸光度 (1mm 光路長相当) です。

Protein Pierce 660 nm ワークブック

メインメニューから Protein Pierce 660 nm アプリケーションを選択すると、以下のメッセージが表示されます。

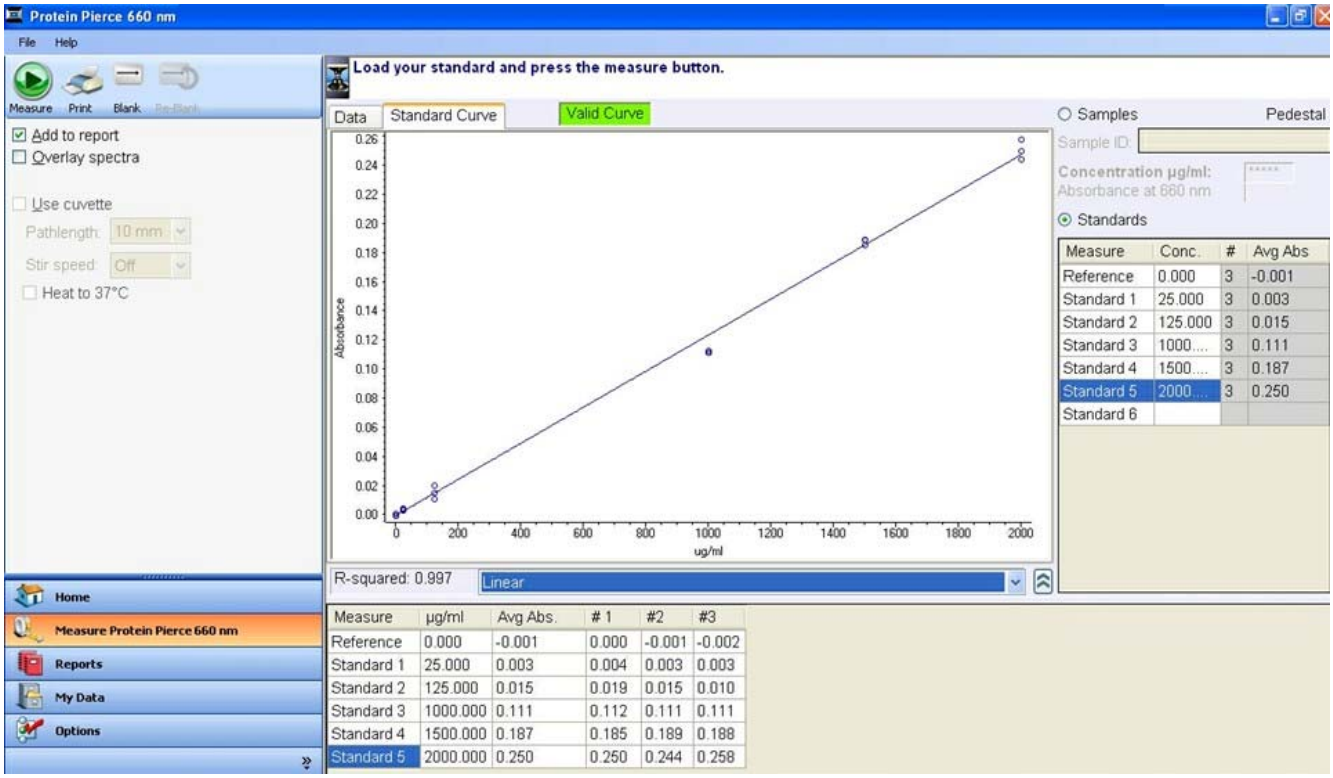


検量線の吸光度はマニュアル入力することもできますが、各アッセイでの検量線の新規作成に関しては、試薬メーカーの推奨に従ってください。

検量線を新規作成するために、新規のワークブックを作成する必要があります。保存していたワークブックを選択すると、新しく測定したサンプルの濃度算出はワークブックに保存された Standard の吸光度をベースにします。

Note:各ワークブックには保存される検量線は 1 つだけとなります。

検量線



Protein Pierce 660 nm アッセイには検量線が必要となります。NanoDrop 2000/2000c ソフトウェアでは、検量線の保存およびリロードが可能ですが、本アッセイ実行時の検量線の使用に関しては、メーカーのガイドラインに従ってください。

検量線を作成する前に Blank を測定する必要があります。タンパク質を加えていない Dye 試薬を Blank および Reference 液として使用するのが望ましいです。

Note: 他の比色定量法とは異なり、Blank 液として水の使用を推奨されません。

- 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬/バッファー) と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。
- マルチポイントの検量線では、7 つまでの Standard について複数の Replicate を測定することができます。Standard を実行する決まった順番はありません。
- Standard の追加は未知サンプルの測定前であれば、可能です。一番目のサンプルを測定すると、追加

の Standard もしくは Replicate は入力できません。

- サンプルの測定前であれば、いつでも Standard を削除できます。Standard ボタン下の表を右クリックして、1 つの Standard もしくは表全体を削除してください。グラフ下の表で右クリックすると、各ポイントを削除することができます。
- サンプルを測定してしまうと、削除した Standard の再追加もしくは再測定はできません。
- 新規の検量線を作成するには、新しいワークブックを作成する必要があります。保存しておいたワークブックにサンプルデータを追加する際に、以前作成した検量線を使用することに関してはいくつかのオプションがあります。ワークブックに新規データを追加する前の検量線の作成に関しては、試薬メーカーのガイドラインに従うことをお奨めします。

> **Note:** 保存していたワークブックを選択すると、新しく測定したサンプルの濃度算出はワークブックに保存された Standard の吸光度をベースにします。各ワークブックには保存される検量線は 1 つだけとなります。

Protein Pierce 660 nm アプリケーションでの測定

- サンプルの調整に関しては、メーカーのガイドラインおよび推奨に従ってください。
- Reference 液は、他の Standard およびサンプルとおなじバッファー/Dye 試薬を使用し、タンパク質を加えないでください。
- Standards と未知サンプルは同じ条件で調整してください。あらゆる Standard、Blank、未知サンプルには、同じ pH およびイオン強度の希釈液を使用してください。
- ストックから希釈した Standard は未知サンプルの濃度範囲をカバーします。測定した Standard の濃度間にサンプルのタンパク質濃度が外挿されることはありません。

手順

1. メインメニューから **Protein Pierce 660 nm** アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、**OK** をクリックしてください。
2. 右パネルの表に Standard 濃度を入力します。ソフトウェアでは Reference と 7 つまでの Standard を測定することができます。Reference および/または Standard は反復して測定することができます。

> **Note:** 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。アッセイの濃度範囲をカバーする必要に応じて、追加の Standard を測定することをお奨めします。

3. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
   - 新規のワークブックを作成する際のセットアップ時間を短縮するためには、File ドロップダウンリストより **Use current settings as default** オプションを使用すると便利です。
4. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
5. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。タンパク質を加えていない Dye 試薬およびバッファーを Blank 液および Reference 液として使用します。
   - Pedestal モード: 2 µL の Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

> **Note:** キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨

めします。

6. Standard タブで、Standard をハイライトし、上記の Blank と同様の手順で、Standard 液を本体にのせてください。**Measure** をクリックすると測定を開始します。サンプルの測定前に、必ずすべての Standard を測定してください。
7. すべての Standard を測定したら、Samples ボタンをクリックしてください。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力します。Pedestal モードでは下部測定面に 2 µL のサンプルをピペッティング、Cuvette モードではサンプルの入ったキュベットを挿入してください。**Measure** をクリックすると、測定を開始します。Standard と未知サンプルの測定間に Blank を測定する必要はありません。

Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

– 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
– Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

Cell Culture

概要

分光光度計を使った非吸収性浮遊細胞の測定は、濁度計などの代わりに良く使われる方法です。分光光度計を扱うメーカーによって測定法に違いがあるようです。

NanoDrop 2000/2000c の Pedestal モードでの Cell Culture アプリケーションの吸光値と、キュベットを使用するシステムでの同様の吸光値の大きな相違は、光路長の短さ (1 mm と 1 cm) となります。10 mm 光路長のキュベットを使用した測定と比べ、Pedestal モードによる測定では 約 1/10 となります。使用する分光光度計の光学系と懸濁液中の細胞型の両方に検出結果が左右されるので、NanoDrop 2000c と他社のキュベットタイプの分光光度計の吸光値が正確に同じ値とならない場合があります。

Cell Culture アプリケーションでは、サンプルスペクトルが 250 ～ 700 nm まで表示されます。

必要なサンプルボリューム

上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、サンプル量が結果に影響することはありません。細胞懸濁液の場合、細胞が沈殿せずに、液滴に均一に細胞が混ざっている必要があります。細胞懸濁液の測定には、2 µL のサンプル量を使用することをお奨めします。

Cuvette モードでは、測定時、サンプル液中を光が通り抜けるのに十分な量のサンプルをキュベット内に入れておきます。工学ビーム (2 mm) はキュベット底部の 8.5 mm 上を通過します。推奨ボリュームについては、キュベットメーカーにお問い合せください。

サンプルの均一性

吸光度を測定する場合、細胞が均一に浮遊していることを確認してください。Pedestal モードで高濃度サンプルを測定する前に、よく混ぜておいてください。Cuvette モードで細胞懸濁液を測定する場合は、スターラー機能をご使用下さい。

測定濃度範囲

NanoDrop 2000/2000c は光路長が短いので、高濃度の細胞懸濁液を直接測定することができます。スペクトル全体を表示するので、600 nm で低い吸光度を示す低濃度サンプルは、低い波長 (例: 400 nm) で確認することができます。または、低濃度の細胞懸濁液には 2000c モデルの Cuvette モードをご使用下さい。

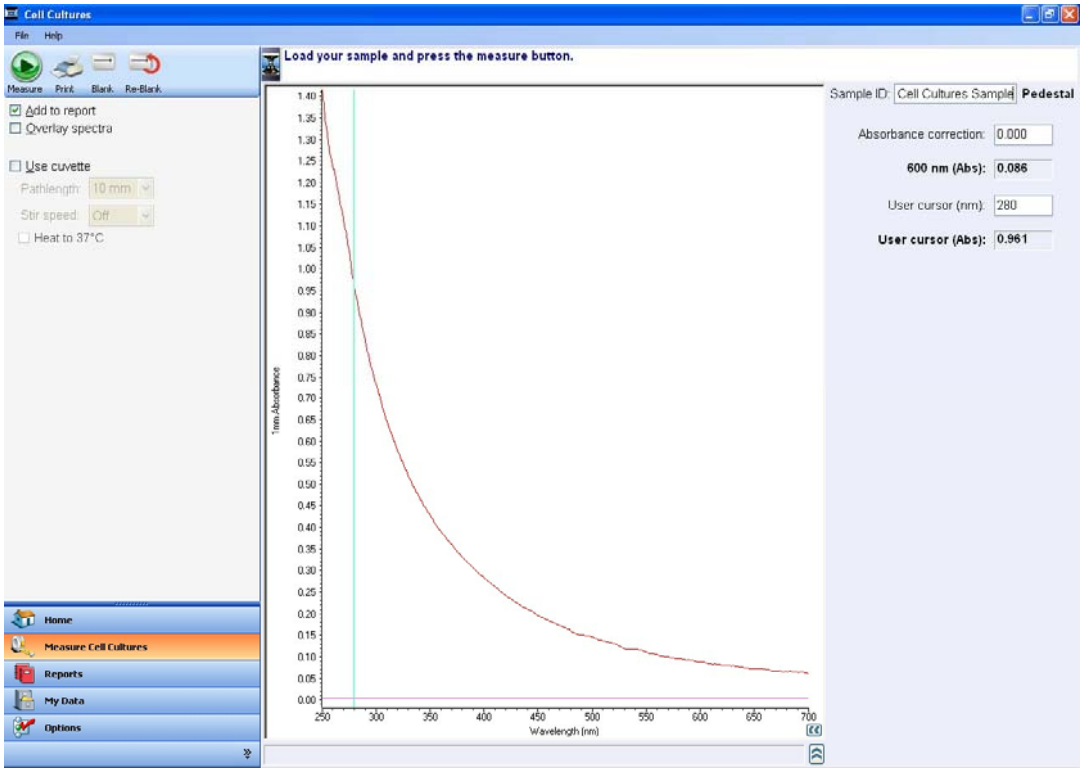
サンプル測定面の汚染除去

汚染除去の必要な場合は、次亜塩素酸ナトリウムの 0.5 % 溶液 (市販の漂白剤を 1:10 希釈 – 使用の都度用意) 等の消毒液を使用し、上下測定面の生理活性物質を除去してください。

Note: 希釈漂白剤を滴下する際は、噴霧ボトルを使用しないでください。通常は、ラボペーパーを漂白剤に浸して、本体表面および上下測定面を拭いてください。その後、水に浸したラボペーパーで漂白剤を拭き取ってください。液体が本体内部に侵入する場合がありますので、洗浄液をキュベット部分に噴射しないでください。

結果表示画面

右パネルに表示される項目は Cell Culture アプリケーションに特有の項目となります。左パネルのタスクバーで、以下に記述されていないものは “ソフトウェアの特徴” に記述されています。



表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

スペクトルの右に表示される項目は以下の通りとなります。

- Absorbance correction – ユーザー任意のベースラインカーソルの値です。ベースラインを選択し、別の場所へ垂直にドラッグするか、特定の値を入力することで、ベースラインを調整することができます。
- 660 nm (Abs) – ユーザー任意のベースラインから検出される 600 nm における吸光度です。
- User cursor (nm) – ユーザー任意のカーソル位置です。ベースラインを選択し、別の場所へ水平にドラッグするか、希望の波長を入力することで、カーソルを調整することができます。
- User cursor (Abs) – 設定した波長における吸光度です。ユーザー任意のベースラインに基づいています。

Cell Culture アプリケーションでの測定

1. メインメニューから Cell Culture アプリケーションを選択します。Wavelength verification ウィンドウが表示されたら、上部アームを閉じて、OK をクリックしてください。
2. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために Add to Report を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に Add to Report ボックスにチェックを入れる必要があります。
3. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、Overlay Spectra を選択してください。

4. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   - Pedestal モード: 2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

   Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

5. 乾いた、リントフリーのラボペーパーを使用して、上下測定面より Blank 液を拭き取ります。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure** をクリックしてください。

   Note: 測定用の液滴を採取する前に、サンプルが沈殿していないことを確かめてください。測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

4. Method Editor

メインメニューの Method Editor アプリケーションおよびカスタムメソッドボックスのリストから、カスタムメソッドの作成、編集、保存、および確認ができます。Method Editor アプリケーションを選択すると、Editor Options タスクバーが表示されるので、Method Editor を使用する前に、オプションを設定することができます。

Editor Options

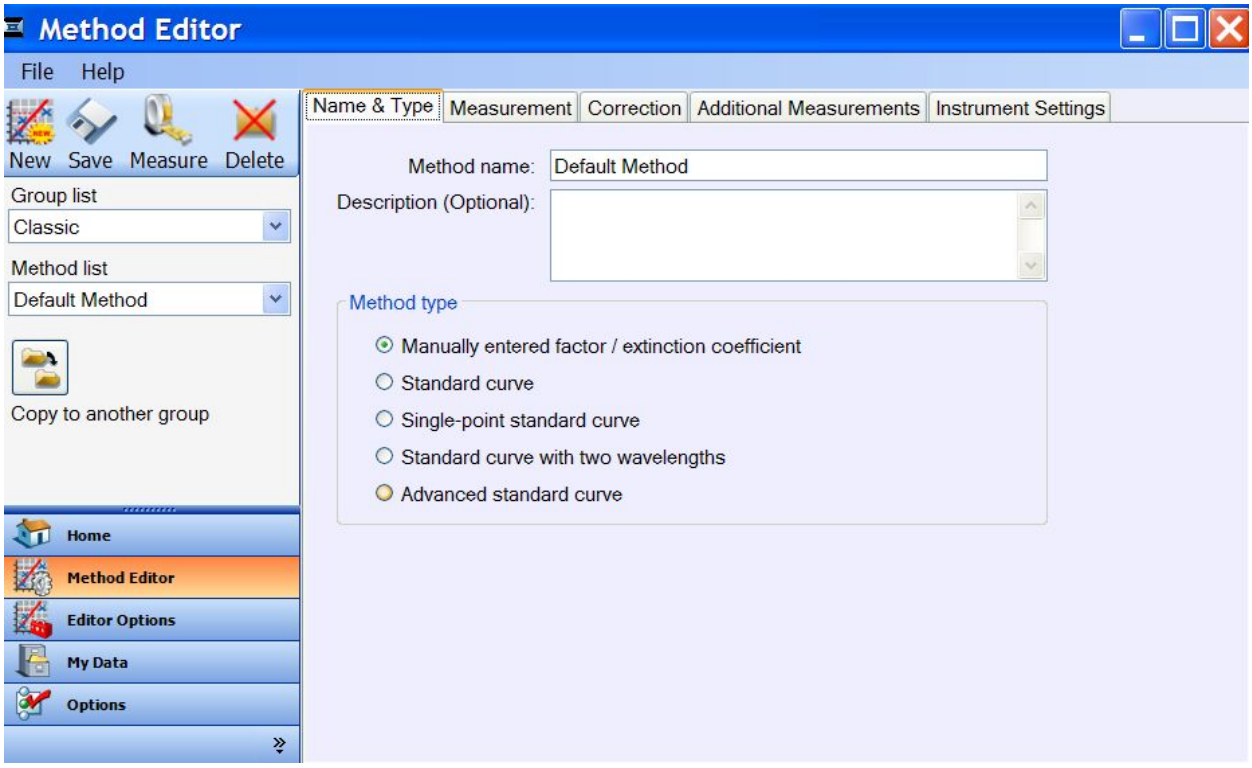
以下の 3 つのタブから、Method Editor 内で選択可能なオプションを設定します。

- **Formula –** 入力済の公式のリストに加えて、ユーザー任意の公式を入力・編集することができます。Formula タブで選択された公式は Method Editor 内での使用が可能となります。錠前アイコンで示された入力済の公式は、編集も削除もできません。

> **Note:** Reset アイコンをクリックすると、ユーザーの入力・保存した公式をすべて削除し、リストをデフォルトの状態に戻します。

- **Units –** カスタムメソッドで使用可能な、デフォルトおよびユーザー任意の単位です。錠前アイコンで示された入力済の単位は、編集も削除もできません。
- **Advanced –** カスタムメソッドで使用可能な検量線の方程式のリストです。入力済の方程式に加えて、ユーザー任意の方程式を入力することができます。錠前アイコンで示された入力済の方程式は、編集も削除もできません。

Method Editor の機能



左パネル

Method Editor タスクバーを選択すると、左パネル上部に以下のアイコンが表示されます。

- **New –** 新規のカスタムメソッドを作成します。
- **Save –** 新規のカスタムメソッドを保存します。新規メソッドに最低限必要な設定が入力されるまで、Save アイコンは灰色で表示され、使用不可となっております。Method list ドロップダウンボックスの下の **Copy to another group** アイコンを選択すると、新規のカスタムメソッドを Classic 以外のグループに保存することができます。
- **Measure –** グループに保存された新規のカスタムメソッドを開きます。新規メソッドに最低限必要な設定が

入力されるまで、Measure アイコンは灰色で表示され、使用不可となっております。

- **Delete –** 選択したグループに含まれる Method list ボックスのハイライトされたメソッドを削除します。

アイコンの下には 2 つのドロップダウンリストが表示されています。

- **Group list –** 新規メソッドを保存するグループを選択します。デフォルトのグループは Classic となっています。
- **Method list –** 選択したグループに含まれる使用可能なメソッドを表示します。

右パネル

- **Name & Type –** カスタムメソッドの名前とタイプを設定します。タイプはサンプル濃度の算出方法を表し、因数/吸光係数による吸光度からの算出、もしくは検量線の使用から選択します。

  メソッドタイプは以下の通りとなります。

  – **Manually entered factor/extinction coefficient –** 検出結果の単位およびユーザーの選択した因数/吸光係数の単位が、重量ベースでもモル濃度ベースでもない場合は、分子量が必要となります。詳細については Method Editor 内の **Information** アイコンをクリックしてください。

  – **Standard Curve –** Standard (複数) の特定波長での吸光度をベースに作成した検量線を使用して、サンプル濃度を算出します。

  – **Single Point Standard Curve –** Standard 濃度の比率としてサンプル濃度を算出するために、単一の Standard の吸光度の平均値で割ったサンプル吸光度を使用します。

  – **Standard Curve with two wavelength –** 設定した 2 つの波長についての検量線から割り出した平均値を使用してサンプル濃度を求めます。

  – **Advanced Standard Curve –** ユーザーの設定した方程式から作成された検量線からサンプル濃度を算出します。

- **Measurement –** 分析波長、および検出結果に使用する単位を設定します。測定結果もしくは濃度は、選択したメソッドタイプ (因数または検量線) に照らし合わせ、分析波長の吸光度を使用して算出されます。

  – 表示されたスペクトルは、1 mm 光路長 (Pedestal モード) もしくは任意の光路長 (Cuvette モード: 2000c モデルのみ) でノーマライズされた現行のサンプルのデータとなります。光路長については Y 軸に表示されています。

- **Correction –** スペクトルの Baseline correction および入力した分析波長に対する補正値 (3 つの選択肢から選択) について設定します。分析波長での吸光度から、None、Single point、もしくは Sloping baseline の Analysis correction が差し引かれます。Baseline correction では、設定した波長における吸光度がスペクトル全体から差し引かれるように、スペクトルを補正します。

- **Additional Measurement –** データの追加処理にユーザー入力またはユーザー選択の公式を加えます。カスタムの公式の詳細については、下記の "公式の新規作成" をご覧ください。

- **Instrument settings –** カスタムメソッドの表示スペクトルの波長範囲を設定します。Auto Pathlength オプションでは高濃度サンプルに最適な光路長を使用します (Pedestal モード)。大半のサンプル測定では、Auto Pathlength 機能の選択をお奨めします。

  – Auto Pathlength オプションを選択した場合、1 mm 光路長換算の吸光度が 1.25 以上の場合、短い光路長を使用します（190 nm から 219 nm の波長については、1 mm 光路長換算の吸光度が 1.0 以上で短い光路長が使用されます。）。

  – Auto Pathlength オプションを選択しなかった場合、1 mm 光路長のみを使用します。高濃度サンプルでは検出器が飽和を起こし、ピークがギザギザになります。

- **Standard –** メソッドタイプで Standard curve オプションを選択した場合、Standard タブが追加表示されます。カスタムメソッドで開始時に表示される Standard 名と濃度、および メソッドで使用される検量線のタイプを設定します。検量線のタイプには、Linear、Linear through zero、Interpolation、2nd または 3rd Interpolation が選択肢として用意されています。

  – Standard タブで、一連の Standard 濃度の設定、保存もしくは再生が可能です。本ページでメソッドの Standard 濃度を入力することもできますが、測定時にメソッドを開いた際に入力および修正することも

可能です。一連の Standard に関する吸光度データは本機能では入力も再生もできません。

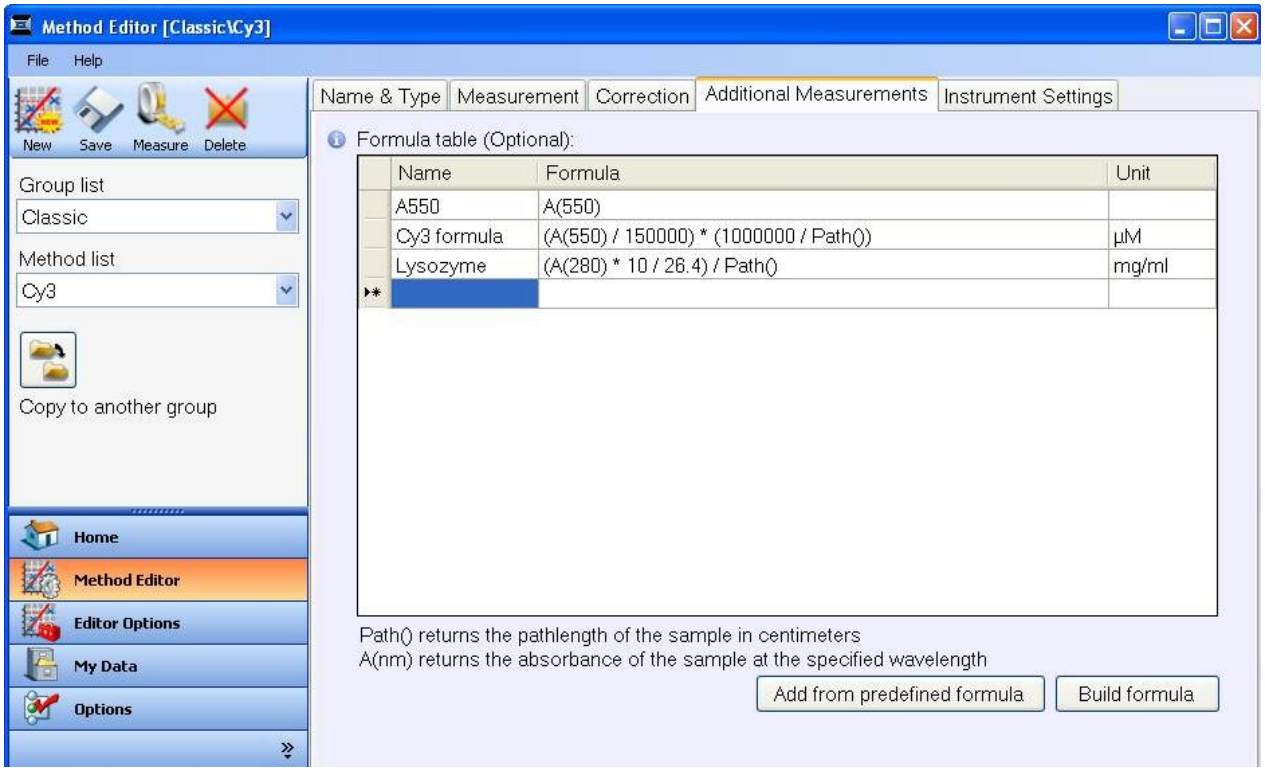
- 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬/バッファー) と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。
- マルチポイントの検量線では、7 つまでの Standard について複数の Replicate を測定することができます。Standard を実行する決まった順番はありません。
- Standard の追加は未知サンプルの測定前であれば、可能です。一番目のサンプルを測定すると、追加の Standard もしくは Replicate は入力できません。
- サンプルの測定前であれば、いつでも Standard を削除できます。Standard ボタン下の表を右クリックして、1 つの Standard もしくは表全体を削除してください。グラフ下の表で右クリックすると、各ポイントを削除することができます。
- サンプルを測定してしまうと、削除した Standard の再追加もしくは再測定はできません。
- 新規の検量線を作成するには、新しいワークブックを作成する必要があります。

公式の新規作成

Additional Measurement タブでは、メソッドの Measurement タブで設定した濃度セットアップに加えて、Report に含まれる測定を設定します。

新規の測定値はその測定値の名前、値を算出するのに使用する公式、および測定単位を入力することで設定します。公式はキーボード入力、入力済の公式からの選択、または "Build formula" ボタンを使用しての方程式テンプレートによる構築のいずれかで設定することができます。

公式を構成する数式は、コンピューター言語もしくはコマンドスクリプト言語で使用される形式と同様の形式で書かれます。定数、算術演算、数学的関数、およびサンプルの補正データから値を引き出す関数で構成されます。



例: Lysozyme (A(280)* 10/26.4) / Path() mg/ml

上記の例では、Report に "Lysozyme" が追加されています。280 nm の吸光度に調整値 10 を掛けて、定数 26.4 で割った値を、光路長 (cm) で割ります。

Note: E1% 吸光係数を 0.1% の値に適用するために、10 倍の因数を使用します。調整により、タンパク質濃度の単位は mg/mL となります。

Cuvette モードではユーザーの選択した光路長となりますが、Pedestal モードでの測定では光路長に 0.1 を使用

します。Lysozyme の単位は “mg/mL” となっています。

すべての関数は大文字と小文字を区別します。関数と “(“ の間にスペースは入れないでください。例えば、A(280) は正しいのですが、A (280) では不正確となります。

関数	内容
Min(x, y)	x と y の最小値
Max(x, y)	x と y の最大値
abs(x)	x の絶対値
Ceiling(x)	x の端数切り上げ
Floor(x)	x の端数切り捨て
Round(x)	近似の整数への x の小数点以下四捨五入
Sqrt(x)	x の平方根
Area(x, y)	波長 x から y への曲線下の領域
Path()	濃度算出に使用する光路長 (cm)
A(x)	波長 x における吸光度
R(x)	波長 x における反射率
T(x)	波長 x における透過率
C(x)	特定の成分 x の濃度
Ln(x)	x の自然対数
exp(x)	e を 2.718 として、底数 e を指数 x でべき乗した値
Log(x) or log10(x)	x の底 10 に対する対数
Pow(x, y)	x の y 乗

カスタムメソッドの共有

必要なメソッドを適切なフォルダに貼り付けるだけで共有することができます。メソッドフォルダは下記に保存されています。

XP: *C:\Documents and Settings\All Users\Shared Documents\Thermo\NanoDrop2000\Custom Methods*
Vista: *C:\Users\Public\Documents\Thermo\NanoDrop2000\Custom Methods\Classic*

カスタムメソッドでの測定

1. メインメニューのカスタムメソッドボックスから必要なカスタムメソッドを選択します。または、**Method Editor** で Measure を選択します。
2. 全ての測定を現行の Report に自動保存するために **Add to Report** を選択してください。デフォルトの設定では選択されています。サンプルデータをワークブックに保存するには、測定前に **Add to Report** ボックスにチェックを入れる必要があります。
3. 複数のスペクトルを同時に表示したい場合は、**Overlay Spectra** を選択してください。
4. 検量線を使用するメソッドを実行する場合は、右パネルの表に Standard 濃度を入力します。ソフトウェアでは Reference と 7 つまでの Standard を測定することができます。Reference および/または Standard は反復して測定することができます。

   Note: 2 つの Standard 、もしくは 1 つの Reference と 1 つの Standard による 2 ポイントがあれば、検量線を作成することができます。アッセイの濃度範囲をカバーする必要に応じて、追加の Standard を測定することをお奨めします。Standard の値は測定前であれば修正できます。

5. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。通常、対象の分子を懸濁もしくは溶解するバッファーを Blank 液として使用します。Blank 液はサンプル液と同じ pH、同様のイオン強度でなくてはなりません。
   - Pedestal モード: 2 µL の適切な Blank 液を下部測定面にピペッティングし、上部アームを閉じて、**Blank** をクリックしてください。
   - Cuvette モード (モデル 2000c のみ) – Use Cuvette を選択してください。矢印で示された光路の方向に注意して、キュベットを挿入します。光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。上部アームが適切な開始ポジションに移動できるように、Pedestal モードでの測定の前にキュベットを取り出しておくことをお奨めします。

6. 検量線を使用するメソッドでは、すべての Standard を測定し終わったら、Samples ボタンをクリックします。**Sample ID** フィールドにサンプル名を入力します。Pedestal モードでは下部測定面に 1-2 µL のサンプルをピペッティング、Cuvette モードではサンプルの入ったキュベットを挿入してください。
7. **Measure** をクリックすると測定を開始します。Standard と未知サンプルの測定間に Blank を測定する必要はありません。

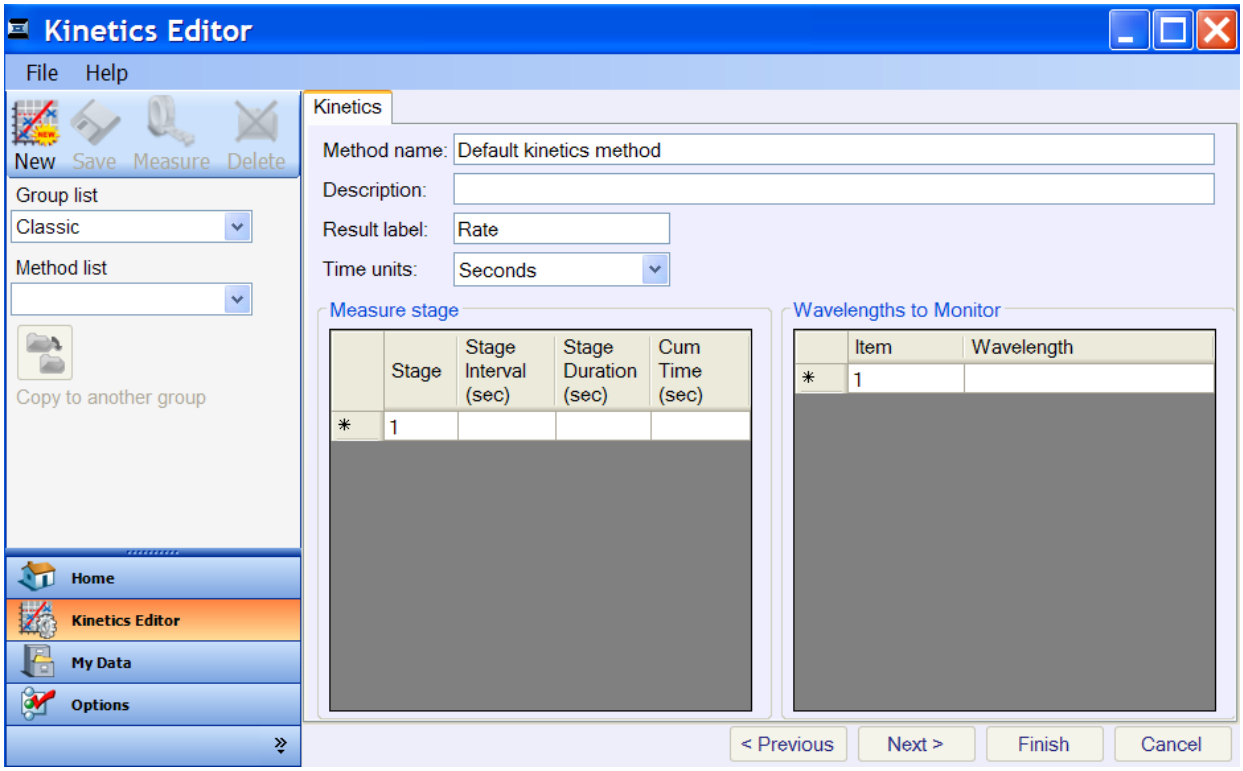
   Note: 測定毎に新しいサンプル液を用意してください。

測定後

- 上下測定面をラボペーパーで拭くだけで、次の測定に移ることができます。
- Cuvette モードを使用した場合は、キュベットを取り出し、洗浄して乾かしてから次の測定を行ってください。

5. Kinetics

NanoDrop 2000c は経時的な Kinetic 測定に使用することができます。Kinetics Editor から、カスタム Kinetic メソッドの作成、編集、保存、および確認ができます。メソッドを保存することなく、測定することも可能です。Pedestal モードでの Kinetic 測定は実行できません。



Kinetics Editor の機能

左パネル

Kinetics Editor を選択すると、左パネル上部に以下のアイコンが表示されます。

- **New** – 新規のカスタムメソッドを作成します。
- **Save** – 新規のカスタムメソッドを保存します。新規メソッドに最低限必要な設定が入力されるまで、Save アイコンは灰色で表示され、使用不可となっております。

> **Note:** Method list ドロップダウンボックスの下の **Copy to another group** アイコンを選択すると、新規のカスタムメソッドを Classic 以外のグループに保存することができます。

- **Measure** – Kinetic メソッドでの測定を開始します。Kinetic メソッドを実行する前に、保存する必要はありません。新規メソッドに最低限必要な設定が入力されるまで、Measure アイコンは灰色で表示され、使用不可となっております。
- **Delete** – Kinetic メソッドを削除します。新規メソッドに最低限必要な設定が入力されるまで、 Delete アイコンは灰色で表示され、使用不可となっております。

アイコンの下には 2 つのドロップダウンリストが表示されています。

- **Group list** – 新規メソッドを保存するグループを選択します。デフォルトのグループは Classic となっています。
- **Method list** – 編集の際には、必要なメソッドを選択します。

右パネル

Kinetics Editor で、上部左端の **New** アイコンをクリックすると、新規メソッドを作成することができます。右パネル下部に 2-ステップウィザードスタイルのインターフェイスが表示されます。インターフェイスの下部には、**Previous**、**Next**、**Finish**、および **Cancel** ボタンが表示されています。

右パネルに含まれる機能は以下の通りです。

- Kinetic Tab – メソッド名 (Method name)、説明 (Description)、結果表示 (Result label)、および時間単位 (Time unit) を設定します。時間単位のデフォルト設定は、Seconds (秒) です。

メソッドの設定には 2 つのスクリーンパネルを使用します。

- **Measure stage –** 測定ステージの間隔および各ステージの継続時間を設定します。新規のステージを追加するには、**Stage Interval** フィールドをハイライトし、希望するステージ間隔を入力します。次に、**Stage Duration** フィールドをクリックしてハイライトし、継続時間を入力します。Enter キーを押すと、累積時間が自動的に算出され、次の行への入力が可能となります。入力可能なステージ間隔の最小値は 2.0 となっています。
- **Wavelength to Monitor –** 反応時、複数の波長をモニターします。波長の追加には、空欄のフィールドをハイライトし、希望の波長を入力します。波長を入力すると、次の行への入力が可能となります。
  - 設定した波長位置に、色分けされた垂直のカーソルが表示されます。カーソルをドラッグして移動させることができます。カーソルを移動させると、Rate 表示に反映されます。
  - 測定後に、黒い十字カーソルを対象の波長まで移動させて、**Add** をクリックすることで、波長を追加することができます。
  - 対応する垂直カーソルを選択し、**Remove** をクリックすると、波長を削除することができます。
  - 測定を開始すると、各波長についてのトレースが上部パネルに表示されます。
- **Instrument settings –** スペクトル表示の波長範囲を UV、Visible、UV-Vis、または Custom から選択します。

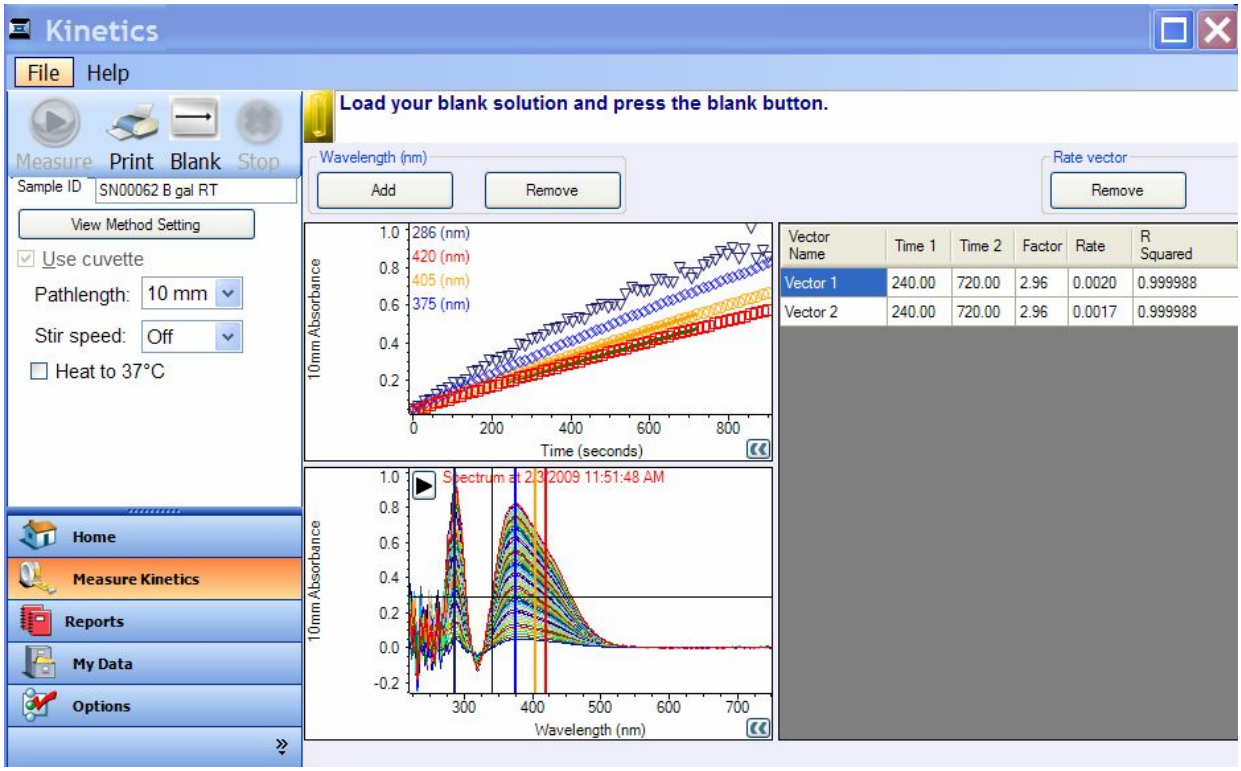
Kinetic メソッドは保存することも、保存せずに即実行することも可能です。Kinetic メソッドを保存するには、左パネル上部の **Save** アイコンをクリックしてください。

Kinetic 測定を開始するには、左パネル上部の **Measure** アイコンをクリックしてください。

Note: メソッドを保存せずに測定を開始すると、メソッドの設定の再確認および再利用ができなくなります。同じ条件下で実行する他のサンプルについてはメソッドを再作成する必要があります。各 Kinetic ワークブックに保存できるのは、1 サンプルだけとなります。Autosave ファイルには Kinetic データは保存されません。

“Home” 画面のカスタムメソッドリスト内のメソッド名をハイライトし、**Kinetics Editor** をクリックすることで、事前に保存しておいた Kinetic メソッドを編集することができます。カスタムメソッドリスト内のメソッド名をダブルクリックすると、メソッドを実行することができます。また、Option ページを使用して、Home 画面に対象のメソッドのボタンを追加することもできます。

結果表示画面



Kinetics 画面の右パネルには、2 種類のグラフが表示されます。

- ディスプレイ右側の波長の表では、モニターしているすべての波長に関して、測定の各ステージでの吸光度が表示されています。
  - ディスプレイ下部のスペクトル表示は各ステージで実行された各測定のトレースとなります。垂直軸に吸光度が、水平軸に波長が表示されます。各スペクトルは色分けされて表示されます。各スペクトルの日時については、スペクトルに対応した色で、グラフの左上にリスト表示されます。色分けされた垂直カーソルは、最初にメソッドで設定した波長に対応しています。他の波長について分析するために、カーソルの移動、追加が可能となっています。
- 上部の Rate ディスプレイでは、データ曲線の選択した部分について Rate ベクターを適用することができます。データ曲線は、スペクトル表示エリアで選択した波長における各測定ステージの吸光度の時系列変化となります。垂直軸に吸光度が、水平軸に時間が表示されます。データ曲線上で右クリックすると、クリップボードにデータをコピーできます。

Rate の算出

1. 下部のスペクトル表示で対象の波長にカーソルがない場合は、十字カーソルを対象の波長に移動させてから、**Add** をクリックしてください。
   - カーソルは 6 つまで設定および表示することができます。
2. 上部のデータ曲線で必要なタイムポイント (始点) にマウスカーソルを合わせます。そのままクリック&ドラッグして、終点まで線を引きます。ベクターの色は、下部スペクトル表示の波長カーソルの主要色に一致します。波長がアクティブになっている場合は、カーソルおよび上部パネルの波長 ID は主要色ではなく、赤色で表示されています。

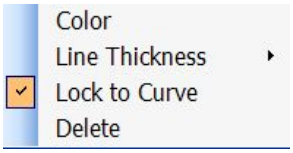
> **Note:** デフォルトの設定では、Rate ベクターはデータ曲線に吸着するので、選択したタイムポイントに最も適合したデータを表示します。ベクターをハイライトし、右クリックすることで **Lock to curve** 機能を無効にすることができます。

Rate 表示の右側の表に、Rate ベクターのデータが表示されます。

- **Vector Name** – Rate ベクターの名前です。
- **Time 1** – Rate ベクターの始点の時間です。
- **Time 2** – Rate ベクターの終点の時間です。
- **Factor** – ユーザー入力可能な変換係数です。
- **Rate** – 2 つのタイムポイントに関する Rate もしくは勾配です。
- **R Squared** – Rate ベクターがデータ曲線のポイントにどれだけ適合しているかを示します。

Rate ベクターの使用

- 特定の Rate ベクターを削除する場合は、対象の Rate ベクターラインをハイライトし、パネル右上の Rate vector ボックスの **Remove** をクリックしてください。
- Rate ベクターを移動するには、データ曲線状の希望の位置までドラッグしてください。
- Rate ベクターの始点もしくは終点を変更するには、各点をクリックしてベクターのサイズを変更してください。または、Rate 表の対象の時間をハイライトして、希望の時間を上書き入力してください。
- Rate ベクターの属性を変更するには、ベクターを右クリックして、以下のメニューを開いてください。



  - **Color** – Rate ベクターの色を変更します。
  - **Line Thickness** – Rate ベクターの線の太さを変更します。
  - **Lock to Curve** – 曲線への吸着を設定します。本オプションを無効にすると、ベクターをマニュアルで移動させることとなります。
  - **Delete** – Rate ベクターを削除します。

Kinetic メソッドでの測定

1. メインメニューのカスタムメソッドボックスから必要な Kinetic メソッドを選択します。または、**Kinetic Editor** で **Measure** を選択します。
2. キュベットの光路長を選択します。デフォルトの設定では、10 mm となっています。
3. 必要に応じて、**Heat to 37℃** を選択します。キュベットホルダーが設定温度に達したら、作業を進行します。**Heat to 37℃** ボックスを選択すると、キュベットホルダーの現在の温度が下部ステータスバーに表示されます。
   - キュベットホルダーが 37℃に達するまでに、1～10 分必要です。
   - 他のワークブック、アプリケーション、またはメソッドを開くと、ヒーターは加熱を停止します。
4. 適切なバッファーを使用して、Blank を測定します。矢印で示された光路の方向に注意して、Blank 液を入れたキュベットを挿入し、**Blank** を選択します。
5. ワークブック名とワークブックの保存位置について記述したプロンプトが表示されます。ワークブック名の一部にサンプル名を加えることをお奨めします。各ワークブックには 1 サンプル分のデータしか保存できません。
   - 光学ビーム (2 mm) はキュベット底から 8.5 mm の高さを通ります。推奨サンプル量については、キュベットメーカーにお問い合せください。

     Note: キュベットを使用する場合でも、上部アームを閉じる必要があります。

6. **Sample ID** フィールドにサンプル名を入力し、上記 (Blank) と同様にサンプルを本体にのせ、**Measure**

をクリックしてください。

7. キュベットを取り出します。キュベットの洗浄とメンテナンスに関しては、キュベットメーカーの推奨に従ってください。

Note: Kinetic メソッドでは、Sample ID フィールドは左パネルに表示されます。

Kinetic 測定のワークブックには保存できるデータは 1 サンプルのみなので、Report Configuration タブ下で Sample ID は選択できません。**Report** タスクバーの **Print** タブで **Method Info** を選択すると、Sample ID とメソッド情報が印刷に含まれます

輸入元

株式会社 スクラム

本　　社 〒130-0021　東京都墨田区緑1-8-9 A&Y ビル
TEL.(03)5625-9711　FAX.(03)3634-6333
大阪営業所 〒532-0003　大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル 702
TEL.(06)6394-1300
E-mail webmaster@scrum-net.co.jp
Internet www.scrum-net.co.jp