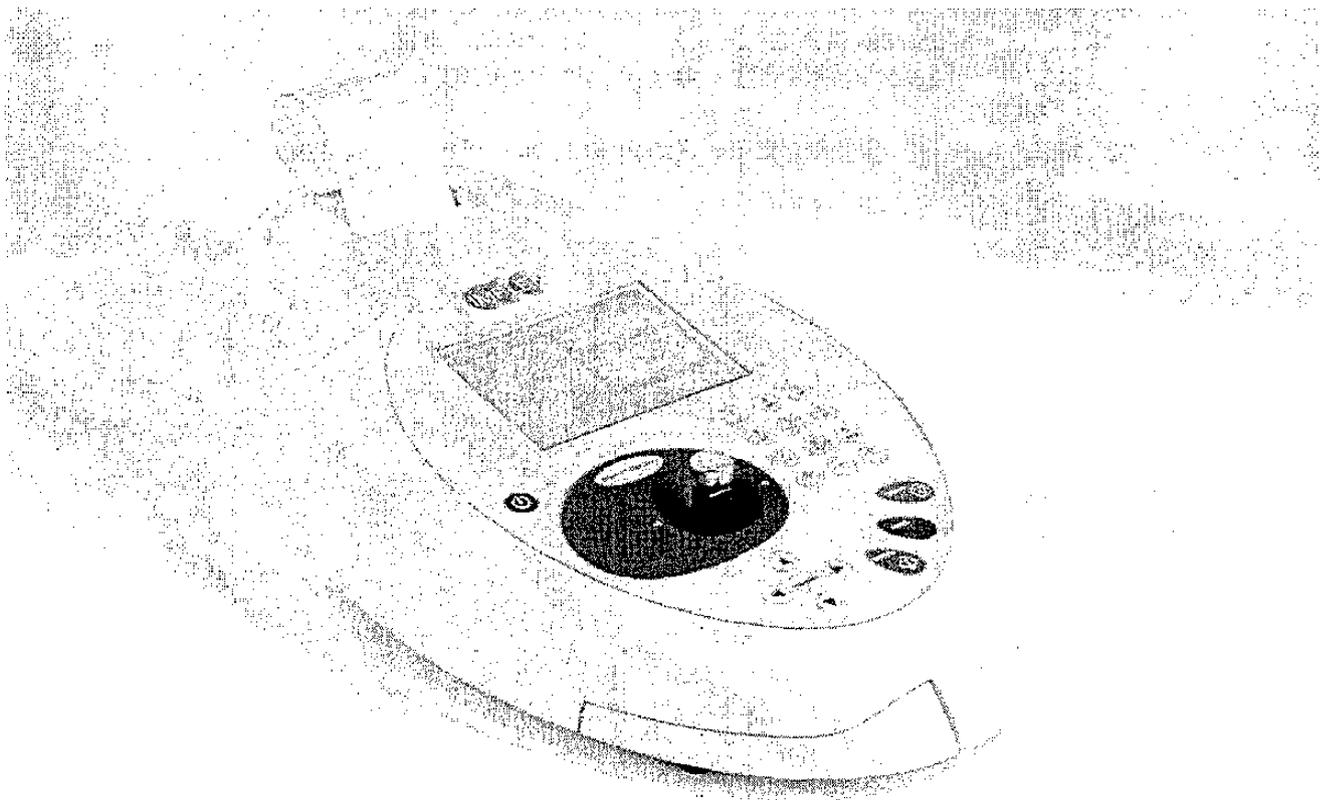


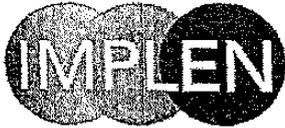
NanoPhotometer™

取扱説明書

品番 1-9469-01



 **アズワン株式会社**



Implen GmbH · Wehrlestrasse 33 · D-81679 Germany

NanoPhotometer™ のEC適合宣言書

Implen NanoPhotometer™ は、以下のEC指令に適合していることを証明致します。

73/23/EEC & 89/336/EEC

適合している規格は以下の通りです。

- EN 61010-1: 2001 計測、制御及び試験所用の電気機器に関する安全要求事項
- EN 61326-2.3: 1998電磁両立性 - 共通エミッション規格 - 計測、制御及び試験所用の電気機器
- EN 61000-4-6: 1992 電磁両立性 - 共通イミュニティ第1部 - 住宅、商業及び軽工業

本製品の開封、位置合わせ、設置などについての詳細は、ユーザーマニュアルをご参照ください。

2006年6月1日

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Th. Sahiri".

Dr. Thomas Sahiri
Managing Director
Implen GmbH

目次

1.	安全上のご注意	4
2.	はじめに	5
	2.1 本製品について	5
	2.2 サンプル取扱上のヒント	5
	2.3 キーパッドとディスプレイ	6
3.	LABELGUARD TM マイクロリッダーセル	8
	3.1 装置の使用法	8
	3.2 ソフトウェアの使用法	9
4.	LABELGUARD APPLICATIONS と CUVETTE APPLICATIONS	10
	4.1 DNA, RNA およびオリゴヌクレオチドの特性評価	10
	4.1.1 dsDNA, ssDNA, RNA解析	12
	4.1.2 オリゴヌクレオチド解析	13
	4.1.3 dsDNA, ssDNA, RNAおよびオリゴヌクレオチドの色素取込み	15
	4.2 タンパク質測定	17
	4.2.1 UV法	18
	4.2.2 BCA法	19
	4.2.3 ブラッドフォード法	22
	4.2.4 ローリー法	25
	4.2.5 ビューレット法	28
	4.3 菌培養液の測定 (OD600)	31
5.	ファンクション	33
	5.1 単一波長 - Absと%T	34
	5.2 濃度測定	36
	5.3 波長スキャン	38
	5.4 Kinetics	41
	5.5 標準曲線	43
	5.6 多波長測定	46
	5.7 吸光度比	48
6.	ユーザーメソッド	50
7.	ユーティリティ	51
	7.1 日付と時刻	52
	7.2 数値	52
	7.3 プリンター	52
	7.4 お気に入り	53
	7.5 コントラスト	53
	7.6 フォルダ名	53
	7.7 本装置について	54
	7.8 ゲーム	54
	7.8.1 Spectroblocks	54
	7.8.2 Sudoku	55
8.	アクセサリ	56
	8.1 アフターサポート	56
	8.2 ランプの交換	56
	8.3 装置のクリーニングと一般的なメンテナンス	56
9.	仕様と保証	57
10.	付録	58
	10.1 核酸の定量	58
	10.2 蛍光色素の取込み	58

1. 安全上のご注意

本製品上には多くの警告ラベルや絵表示がついています。これらは危険性のある箇所や、特別な注意が必要な箇所を表示しています。設置前に、これらの絵表示とその意味をよく理解した上で、本製品を設置してください。



注意(添付文書を参照ください)
背景:黄色、絵表示と黒い外枠

1.1. 開封、位置合わせおよび設置

- 箱の中身と内容明細書を照合します。足りないものがあれば、すみやかに販売店にご連絡ください。
- 輸送中に破損が生じた形跡がないか本製品を点検します。破損が見つかった場合は、すみやかに販売店にご連絡ください。
- 設置予定場所が安全にご使用いただくための環境条件に適合しているか確認します。
屋内でのみ使用してください。
温度範囲:5°C～35°C 日中に急激な温度変化のある部屋でのご使用に際しては、熱平衡到達後(2～3時間)、再度キャリブレーション(一旦スイッチを切ってから再度入れなおす)が必要となる場合があります。
最大相対湿度:31°Cまでは80%。それ以上では40°Cで50%まで直線的に減少します。
- 本製品は、必ず装置の重さ(< 4.5 kg)を支えられるような安定した水平な作業台または机の上に、機器の周囲に空気が自由に循環できるように設置してください。
- 必ず付属の電源コードを使用して本製品を電源に接続してください。使用可能な電源は90 – 240 V, 50-60 Hzです。
- 本製品の開封直後または低温環境下での保管後は、熱平衡に達するまで実験室内に2～3時間置いてから、スイッチを入れてください。内部結露によるキャリブレーションエラーを防止できます。
- コンセントに接続後、()キーを押してスイッチを入れます。一連の自己診断テストが実行されます。
- ご使用前に本書を最後までお読みください。
- 技術上またはサンプル取扱上何らかの問題がございましたら、販売店にご連絡ください。

本装置を定められた以外の方法で使用したり、安全な操作上適切でない設置環境で使用した場合には、装置の安全機構が損なわれ、装置の保証をしかねる場合があります。

2. はじめに

2.1 本製品について

本製品は、簡単にご使用頂ける CCD アレイ検出装置 (1024 ピクセル) 付き UV/可視分光光度計です。高速スキャン装置の基本として、可動部を持たない構造になっています。ユーザーインターフェイスは、電源投入後メインメニュー上に表示されるフォルダを中心に構築されています。各フォルダには番号が付けられていて、その数字のキーを押すことにより開くことができます。電源投入およびキャリブレーション後、初期設定のメインメニューは以下の選択肢を表示している "NanoPhotometer" になります。

NanoPhotometer™	
キーパッド 数字	説明
① LabelGuard Applications	LabelGuard™ マイクロリッターセルによる核酸分析やタンパク質分析などのライフサイエンス用
② Cuvette Applications	核酸分析、タンパク質分析、細胞密度などのライフサイエンス用
③ Functions	一般的な分光法
④ User Methods	ユーザーが採用したメソッドを保存できる9つのフォルダを含む
⑤ Utilities	機器の設定(日、時間、数字書式)およびプリンター設定

本製品は標準的なUSBポートを備えています。NanoPhotometer™をPCに接続するには、オプションの NanoPhotometer™ソフトウェアパッケージ (NP-SW100) が必要です。このソフトウェアにより、PCの内容をすべて接続されているプリンターに直接出力することができます。データは、Excel、EMFグラフィック、CSV、テキスト形式で保管することもできますし、後でアクセスするときのために元のNanoPhotometer™ソフトウェア形式で保管することもできます。

また、Bluetoothアクセサリを使用して、結果をPCに送信することも可能です。本製品の設置後必要になったときにオプション品として導入することもできます。いずれの場合も、NanoPhotometer™ソフトウェアの動作は同じです。

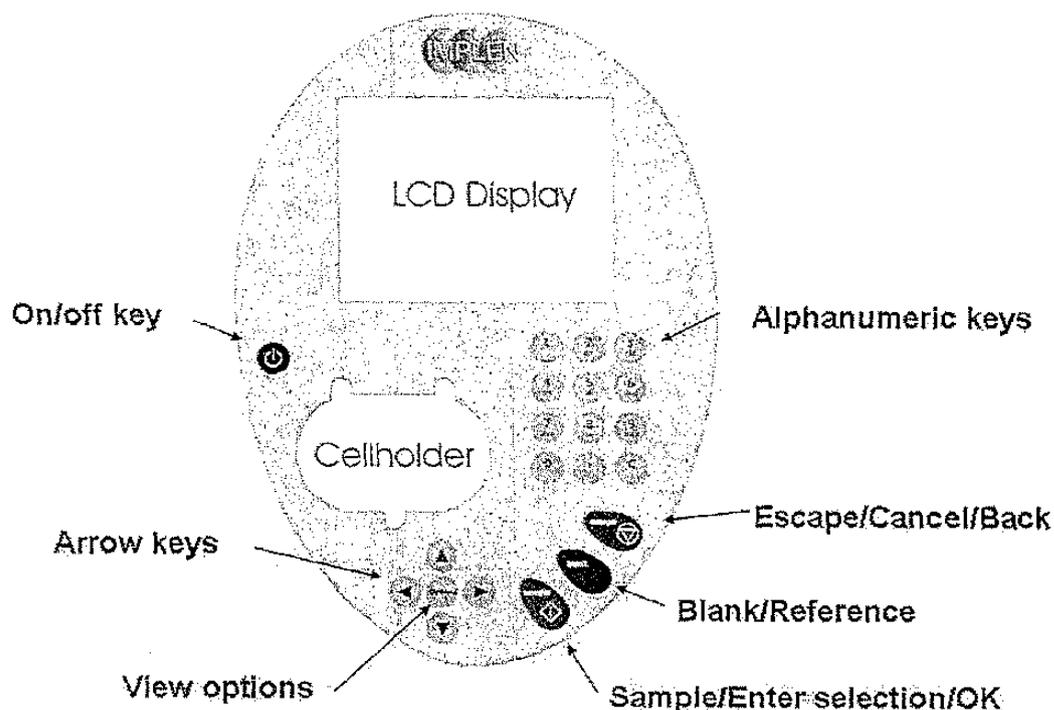
本製品用のプリンターもご用意しています。本製品の設置後必要になったときにオプション品として導入することもできます。

2.2 サンプル取扱上のヒント

- 光はセルチャンバーを経由して右から左に照射されます。セルが正しい配置で挿入されているか確認してください。
- 装備されているセルホルダーには、LabelGuard™ マイクロリッターセル、または標準的な10 mm 光路長の石英、ガラス、プラスチック製セルをご使用頂けます。
- 光はセル底面から15 mmの高さを通過します。
- LabelGuard™ マイクロリッターセルでご使用頂ける最低容量は0.7 µlです。
- 12 mm試験管もご使用頂けますが(培地用など)、分析用使い捨てキューベットをご使用頂いた方がより高品質のデータが得られますので、推奨していません。試験管をご使用になる場合は、指示線と同じ方向に合わせて、再現性のある位置に試験管が必ず配置されるようにしてください。試験管の耐久性には限界があります。繰り返し使用することによって、表面に傷や汚れがついてきます。そのような状態になったら、試験管を交換してください。

2.3 キーボードとディスプレイ

バックライト付き液晶ディスプレイは、耐摩耗性防水メンブレンキーボード上の英数入力キーと矢印キーを使って、簡単に操作することができます。



キー	機能
On/off キー	機器の電源on/off
矢印キー	4つの矢印キーで、カーソル上を移動させて実行可能なオプション(ハイライト表示された)から必要な設定を選択します。
オプション表示	各アプリケーションモードのオプションを表示します。一部はすべてのアプリケーションに共通で、以下に説明しています。各アプリケーションに特定のオプションは、それぞれの関連した項で説明しています。
英数キー	必要に応じてパラメータ入力およびテキスト入力に使用します。キーを繰り返し押し続けると、順に小文字、数字、大文字モードになります。次の文字を入力する前に1秒間空けてください。バックスペースにはCのボタンを、スペース入力には1のボタンを使用します。
Escape/Cancel/Back: 	選択からエスケープし、前のフォルダに戻ります。選択を取り消します。測定を中止します。
Blank/Reference	選択したモード/波長で、リファレンス溶液の吸光度と透過率を0.000 Aまたは100%Tに設定します。スキャンモードでは、リファレンススキャンを行います。
Sample/Enter selection/Back: 	選択を入力、確認します。測定を行います。

Options (キーパッドの数字で選択)

1	Parameters...
2	Print
3	Graph
4	Print Data Only
7	Sample Number...
8	Save Method...
9	Auto-Print

Options (キーパッドの数字で選択)

1. 実験用パラメータを表示する。
2. 結果を印刷する。
- 3., 4. 各用途で説明しています。
7. 測定を始めるサンプル番号を指定します。
8. 指定フォルダへのメソッドとして、パラメータを指定のメソッド名を付けて保存する。
9. キーを押すたびに自動印刷の on/off が切り替わります。初期設定は off です。

Escape  キーを押してオプションメニューを終了するか、そのまま終了するのを待ちます。

使い慣れてきたら、オプションメニューを入力せずに、数字キーを使用して必要なオプションへショートカットできます。

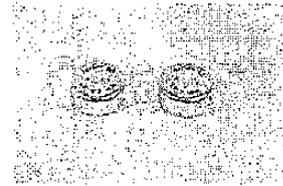
3. LABELGUARD™ マイクロリッターセル

本セルは、面期的な光路長を使用することにより、0.7 µl~5 µlの超微量サンプルを希釈することなく測定を最適化するように設計されています。0.2 mmおよび1 mmの光路長により、本セルは、標準的なキューベットの測定に対して、1/50、1/10の自動換算を行います。未希釈サンプルで測定を行いますので、結果の再現性は非常に高くなります。サンプルは測定後に別の処理用に回収することができます。LabelGuard™ マイクロリッターセルは、190 ~ 1100 nmの波長レンジを利用したあらゆる紫外・可視分光分析に使用可能です。

LabelGuard™ マイクロリッターセルには、0.2 mmおよび1 mmの光路長用に2つのリッドが付属していますので、ほとんどの用途にご使用頂けます。希釈ファクター(リッドファクター)はリッド上に印字されています。必ずお使いのサンプルに合ったリッドをご使用ください。

注:

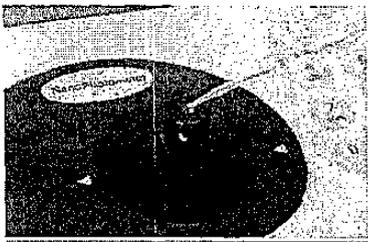
測定を始める前に、LabelGuard™ 用の中央部高さが分光光度計の設定に正しく調整されているか確認してください！ほとんどの場合、値は 15 mm です！



3.1 装置の使用法



Step 1 Insert the LabelGuard™ マイクロリッターセルを、セルウインドウが光源に向くようにしながら、セルホルダーに挿入します。



Step 2 ピペットで 0.7~4 µl (0.2 mm のリッド用) または 3~5 µl (1 mm のリッド用) のサンプルを測定窓の中央部に注入します。注意!! ウェルへ入れすぎないようにしてください。



Step 3 測定用のリッドを装着します。リッドがセル本体の位置決め支持部上にぴったり装着されているか確認してください。測定を行います。(ソフトに入力した希釈ファクターを忘れずに考慮してください。)



Step 4 リッドを外して、ピペットでサンプルを回収します。糸くずの出ない綿棒かキムワイプでウェルを拭き取ってください。水、エタノールまたはイソプロパノールを使用して、ウェルおよびセル本体を洗浄します。いかなる時も、強酸、強塩基、有機溶媒などの腐食性溶剤は使用しないでください。
重要: 最適な動作を実現するために、残っている糸くずがあれば必ず取り除いてください。必要であれば、圧縮エアースプレー(オイルフリー)を使用してください。



Step 5 糸くずの出ない綿棒かキムワイプを使用して、ミラー部に残っているサンプルがあれば取り除きます。必要であれば、圧縮エアースプレーで残っている糸くずを取り除いてください。以上の作業が終了したら、次のサンプルを注入します。

操作上の制限事項: 本装置をオートクレーブにかけないでください! 超音波槽での洗浄は行わないでください! 水浴槽

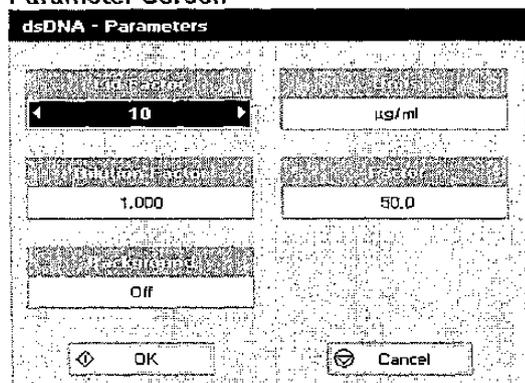
や溶媒浴槽に浸さないでください。本装置は耐水性ですが、防水ではありません！

3.2 ソフトウェアの使用方法

dsDNA、ssDNA、RNA、オリゴヌクレオチド、色素取込み、および、タンパク質解析に関しては、**LabelGuard Applications**と**Cuvette Applications**はほとんど同じです。本節では、LabelGuard™マイクロリッターセルを使用する際に注意しなければならない特有の機能について説明しています。一般的な情報については、**LabelGuard Applications**と**Cuvette Applications**に記載の詳しい説明をお読みください。

手順は以下の通りです。

Parameter Screen



Parameter Screen

- Step 1 1を押して **LabelGuard Applications** フォルダを選択します。
- Step 2 1を押して **Nucleic Acids** フォルダを選択するか、2を押して **Protein** フォルダを選択します。
- Step 3 該当する番号を押して使用するメソッドを選択します。
- Step 4 左右の矢印キーを押して **Lid Factor** を選択します。

リッドファクター	サンプル量	光路長	希釈率
50	0.7 – 4 µl	0.2 mm	1:50
10	3 – 5 µl	1 mm	1:10

- Step 5 **LabelGuard Applications**と**Cuvette Applications**に記載している通り、次のパラメータと仕様を選択します。

4. LABELGUARD APPLICATIONS と CUVETTE APPLICATIONS

NanoPhotometerは、超微量および標準量アプリケーションのためのソリューションを提供します。LabelGuard™ マイクロリッターセルに必要なサンプル量は、0.7 µlから最大5 µlまでです。標準量アプリケーションは、10 mm光路長の石英、ガラス、またはプラスチック製キュベットを使用して実行できます。

注:

Utilitiesフォルダ内では、データ出力指定用に様々なオプションを選択する可能性があります。実験を始める前に、プリンターオプションが正しく設定されているか確認することをお勧めします。

LabelGuard Applicationsフォルダと**Cuvette Applications**フォルダには、様々なサブフォルダが含まれています：**Nucleic Acids**、**Protein**、および**OD 600** (細胞濃度) これらのサブフォルダの内容は以下の通りです。

Nucleic Acids		
DNA	DNAサンプルの濃度、純度チェック、色素取込み	LabelGuard / キュベット
RNA	RNAサンプルの濃度、純度チェック、色素取込み	LabelGuard / キュベット
オリゴ	オリゴサンプルの濃度、純度チェック、色素取込み	LabelGuard / キュベット
Protein		
UV法 (Christian Warburg)	280 nmでのタンパク質測定	LabelGuard / キュベット
BCA法	562 nmでのタンパク質測定	LabelGuard / キュベット
Bradford法	595 nmでのタンパク質測定	LabelGuard / キュベット
Lowry法	750 nmでのタンパク質測定	LabelGuard / キュベット
Biuret法	546 nmでのタンパク質測定	キュベット
Cell Count		
OD600	補正ファクター付き濁度(OD600)測定	キュベット

4.1 DNA, RNA およびオリゴヌクレオチドの特性評価

核酸の定量

- 光路長10 mmのセル、光学密度1.0にて測定した時、dsDNA溶液は50 µg/ml、ssDNA溶液は37 µg/ml、RNA溶液は40 µg/mlであることが確認されているため、核酸は260 nmにて定量できます。オリゴヌクレオチドについては、同様に33 µg/mlとされていますが、塩基組成によって異なります。塩基組成が既知の場合は、この値を計算することができます。詳細については、10.1 核酸の定量をご参照ください。
- 本装置では、dsDNA、ssDNA、RNA、およびオリゴヌクレオチドには、各々50、37、40、および33のファクターを初期設定値として使用し、サンプルを希釈したり、光路長10 mm以外のセルを使用する場合は、補正ファクターを使用しています。希釈ファクターおよびセル光路長は入力可能です。

核酸の純度分析

- 細胞から抽出した核酸にはタンパク質が混入していますので、不純物であるタンパク質を分離するために十分な精製が必要です。吸光度比260/280は純度の指標となります。これはあくまでも指標であって、確定的な評価ではありません。純粋なDNAおよびRNAサンプルの予想比率は、各々 ≥ 1.8 および ≥ 2.0 です。この値からのずれは、サンプル中の不純物混在を示唆していますが、結果の解釈には注意が必要です。
- 核酸の吸光スペクトルでは、260 nmの測定値は緩やかなピーク近くに位置するのに対し、280 nmの測定値は急な勾配上(すなわち、波長のわずかな変化で、吸光度は大きく変化する)に位置します。したがって、280 nmにおける波長のわずかな変異は、260 nmにおける変異よりも大きな影響を吸光度比260/280に与えます。このため、タイプが同じであっても、異なっている、装置が違えば、波長精度の変異により、吸光度比がわずかに違う場合がありますが、各装置内においては、一貫した結果が得られます。
- 濃度もまた吸光度比260/280の測定値に影響します。薄すぎる溶液の場合、測定限界点で測定されることになり、260のピークと280の勾配はバックグラウンド吸光とほとんど差がなくなるため、結果が変動することがあります。正確な測定のためにAbs260値を0.1より高くしなければならぬのは、ひとつにはこのためです。
- 同様に、230 nmにおける吸光度の上昇も、不純物の存在を示唆しています。230 nmは、ペプチド結合の吸収極大に

近く、また、Tris、EDTA、その他のバッファーもこの波長に吸収があるため、バッファーのコンタミを示唆しています。RNAサンプルを測定した場合には、吸光度比260/230が>2.0になります。この値より低い場合は、RNA精製に一般的に使用され、230~260 nmに吸収のあるグアニジンチオシアネートの混入が示唆されます。核酸の波長スキャンが、RNAサンプルには特に有用です。

- 本装置では吸光度比260/280、260/230を表示できます。また、サンプルを希釈したり、光路長10 mm以外のセルを使用する場合は、補正することができます。希釈ファクターおよびセル光路長は入力可能です。

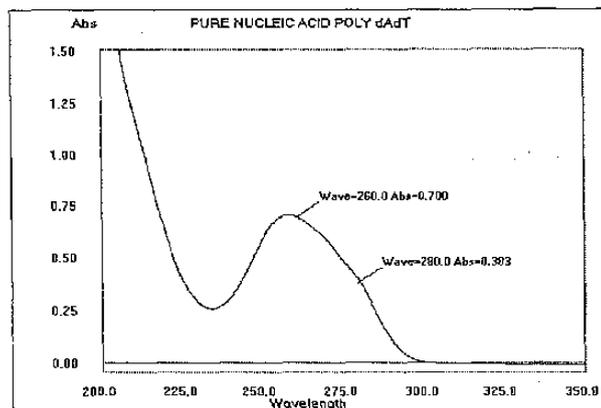
バックグラウンド補正

- 核酸やタンパク質の吸収ピーク(260および280 nm)から完全に離れた波長におけるバックグラウンド補正を用いて、バックグラウンド吸収の補正を行うことがあります。使用する波長は320 nmで、溶液の濁り、バッファーに強い吸収がある場合、あるいは微量セルの使用などによる影響を補正することができます。本装置では、バックグラウンド補正を使用できます。
- バックグラウンド補正を使用した場合、下記の式にしたがってAbs260およびAbs280からAbs320の値が差し引かれますので、補正を行わなかった場合と異なる結果になります。

$$\begin{aligned} \text{濃度} &= (\text{Abs } 260 - \text{Abs } 320) \times \text{ファクター} \\ \text{吸光度比} &= (\text{Abs } 260 - \text{Abs } 320) / (\text{Abs } 280 - \text{Abs } 320) \\ \text{吸光度比} &= (\text{Abs } 260 - \text{Abs } 320) / (\text{Abs } 230 - \text{Abs } 320) \end{aligned}$$

- バックグラウンド補正をこれまで行っていない場合には、このオプションをNOに設定してください。
- バックグラウンド補正を行うと、低容量ディスプレイセルを使用した際の測定値のばらつきを抑えることができます。

核酸の波長スキャン



注:

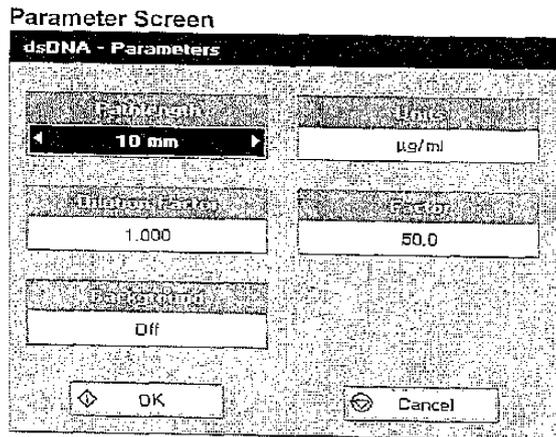
- 吸収極大は260 nm付近、吸収極小は230 nm付近にあります。
- 260 nm付近は緩やかなピークで、280 nm付近は急な勾配になっています。
- 320 nm ではほとんど吸収はありません。

核酸の測定を行うための操作法は、次の節で説明しています。

DNAおよびRNAについては、ほとんど同じです。オリゴの場合は、4塩基の割合を入力することによって、ファクターを計算することができます。

4.1.1 dsDNA、ssDNA、RNA 解析

手順は以下の通りです。



Results Screen

dsDNA	
A230	0.089 A
A260	0.258 A
A280	0.167 A
A320	0.010 A
A260/A280	
1.545	
A260/A230	
2.899	
Sample	1
Concentration	12.9
Units	µg/ml

Options (キーパッドの数字で選択)

1	Parameters...
2	Print
3	Graph
4	Print Data Only
7	Sample Number...
8	Save Method...
9	Auto-Print

Parameter Screen

- Step 1 **LabelGuard** フォルダの場合は1を、**Cuvette** フォルダの場合は2を押します。
- Step 2 1を押して **Nucleic Acids** フォルダを選択します。
- Step 3 **dsDNA** モードの場合は1を、**ssDNA** モードの場合は2を、**RNA** モードの場合は3を押します。
- Step 4 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。LabelGuard™ マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り **Lid Factor** を選択します。
- Step 5 キーパッドの数字を使って、**Dilution Factor** を選択します。範囲: 1.00~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去するか、**Options** を押して希釈ファクタースクリーンに入力します。キーパッドの数字を使ってサンプル容量を入力します。範囲: 0.01~9999 \diamond を押して希釈ファクターを計算し、Parameter Screen に戻るか、Cancel \odot を押して選択をキャンセルして Parameter Screen に戻ります。
- Step 6 左右の矢印キーを使って、320 nm での **Background** 補正を使用するか否かを選択します。
- Step 7 左右の矢印キーを使って、測定の **Units** を選択します。オプション: µg/ml, ng/µl, µg/µl
- Step 8 キーパッドの数字を使って、**Factor** を入力します。デフォルト値は、dsDNA の場合は 50、ssDNA の場合は 37、RNA の場合は 40 で、範囲は 0.01~9999 です。
- Step 9 OK \diamond を押して Results screen の入力を行うか、Cancel \odot を押して **Nucleic Acids** フォルダに戻ります。

Results Screen

- Step 10 リファレンスを挿入します。**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 11 サンプルを挿入して \diamond を押します。選択した波長での測定が行われて、結果が表示されます。サンプル濃度、吸光度比 A260/A280 が算出されます(バックグラウンド波長による補正を選択した場合は、補正後の値が表示されます)。
- Step 12 すべてのサンプルに対しこの手順を繰り返します。
- Step 13 **Options** を押して、以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 14 \odot を押して、**Nucleic Acids** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) データ表のみの出力の on と off を切り替えます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。 \odot を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.1.2 オリゴヌクレオチド解析

手順は以下の通りです。

Parameter Screen

Oligo - Parameters

Pathlength	10 mm
Units	pmol/μl
Dilution Factor	1.000
Background	Off

Buttons: OK, Cancel

- Parameter Screen**
- Step 1** *LabelGuard* フォルダの場合は1を、*Cuvette* フォルダの場合は2を押します。
- Step 2** 1を押して *Nucleic Acids* フォルダを選択します。
- Step 3** 4を押して *Oligo* モードを選択します。
- Step 4** 左右の矢印キーを使って、*Pathlength* を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。
*LabelGuard*TM マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り *Lid Factor* を選択します。
- Step 5** キーパッドの数字を使って、*Dilution Factor* を選択します。範囲: 1.00~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去するか、*Options* を押して希釈ファクター画面に入力します。キーパッドの数字を使ってサンプル容量を入力します。範囲: 0.01~9999 ◀を押して希釈ファクターを計算し、Parameter Screen に戻るか、Cancel▶を押して選択をキャンセルして Parameter Screen に戻ります。
- Step 6** 左右の矢印キーを使って、320 nm での *Background* 補正を使用するか否かを選択します。
- Step 7** 左右の矢印キーを使って、測定の *Units* を選択します。オプション: μg/ml, ng/μl, μg/μl, pmol/μl pmol/μl を選択すると、*Factor* は 4 塩基の割合を表示した選択表に変わります。
- Step 8** キーパッドの数字を使って、*Factor* を入力します。デフォルト値は 33 で、範囲は 0.01~9999 です。または、キーパッドの数字と上下の矢印キーでボックス内を移動しながら、塩基配列の割合を入力します。デフォルト値は 10 で、範囲は 0~9999 です。
- Step 9** OK▶を押して Results screen の入力を行うか、Cancel▶を押して *Nucleic Acids* フォルダに戻ります。

Results Screen

Oligo

A230	0.089 A
A260	0.258 A
A280	0.167 A
A320	0.010 A

A260/A280: 1.545

A260/A230: 2.999

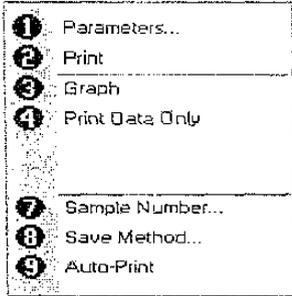
Sample: 1

Concentration: **8.514**

Units: μg/ml

- Results Screen**
- Step 10** リファレンスを挿入します。Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 11** サンプルを挿入して ▶を押します。選択した波長での測定が行われて、結果が表示されます。サンプル濃度、吸光度比 A260/A280 が算出されます(バックグラウンド波長による補正を選択した場合は、補正後の値が表示されます)。
- Step 12** すべてのサンプルに対しこの手順を繰り返します。
- Step 13** *Options* を押して、以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 14** ▶を押して、*Nucleic Acids* フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)



Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm～750 nm 間のスペクトルがプロットされます。
- 4) データ表のみの出力の on と off を切り替えます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。ⓧを押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.1.3 dsDNA、ssDNA、RNA およびオリゴヌクレオチドの色素取込み

色素取込み率測定は、dsDNA、ssDNA、RNA およびオリゴヌクレオチド測定と類似しています。本節では、色素取込み量測定に関する特有の機能を説明しています。一般的な情報については、dsDNA、ssDNA、RNA 解析、または、オリゴヌクレオチド解析に記載の詳しい説明をお読みください。

色素取込み率を測定するには、蛍光色素の極大吸収波長での吸光度を使用します。詳細については 10.2 蛍光色素の取込みを参照してください。

手順は以下の通りです。

Parameter Screen

dsDNA-Dye - Parameters	
Pathlength	10 mm
Concentration	1.000
Dilution Factor	50.0
Dye Correction	Off
Dye Type	Alexa Fluor 350
<input type="button" value="OK"/> <input type="button" value="Cancel"/>	

Parameter Screen

- Step 1 LabelGuard フォルダの場合は1を、Cuvette フォルダの場合は2を押します。
- Step 2 1を押して Nucleic Acids フォルダを選択します。
- Step 3 5、6、7、または 8 を押して色素取込み方法のいずれかを選択します。
- Step 4 4.1.1、4.1.2 に記載の通り、Pathlength、Dilution Factor、Units、Factor を選択します。LabelGuard™ マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り Lid Factor を選択します。
- Step 5 左右の矢印キーを使って、260 nm における吸光度測定で色素の寄与率について Dye Correction を使用するかどうかを選択します。
- Step 6 適当な Dye Type を選択します。10 種類の Alexa 色素、4 種類の Cy5 色素、6 種類の Oyster 色素と Texas Red が、各々に該当する係数、極大吸収波長、バックグラウンド補正ファクターと共にプログラムされています。詳細については、10. Appendix を参照してください。

Results Screen

dsDNA-Dye	
A230	0.089 A
A260	0.258 A
A280	0.166 A
A320	0.010 A
A550	0.269 A
A650	0.148 A
ADye[550]	0.289 A
A260/A280	1.554
A260/A230	2.895
Sample	1
Concentration	12.50 µg/ml
FOI (Cy3)	46.2
Dye Concentration	1.79 pmol/µl

Results Screen

- Step 7 リファレンスを挿入します。Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 8 サンプルを挿入して を押します。選択した波長での測定が行われて、結果が表示されます。サンプルおよび色素の濃度、色素取込み率、吸光度比 A260/A280 および A260/A230 が算出されます(バックグラウンド波長による補正を選択した場合は、補正後の値が表示されます)。
- Step 9 すべてのサンプルに対しこの手順を繰り返します。
- Step 10 Options を押して、以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 11 を押して、Nucleic Acids フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

1	Parameters...
2	Print
3	Graph
4	Print Data Only
7	Sample Number...
8	Save Method...
9	Auto-Print

Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) データ表のみの出力の on と off を切り替えます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。ⓧを押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.2 タンパク質測定

280 nmにおけるタンパク質測定

- タンパク質の測定は、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニンの吸収により、280 nmの紫外域付近で行うことができます。Abs 280の値はアミノ酸組成によってタンパク質間でかなり異なるため、特定のタンパク質を定量するには、そのタンパク質の吸収特性を決定しておく必要があります。
- タンパク質溶液に核酸が混入している場合は、核酸の280 nmにおける強い吸収が、測定値にかなり影響を及ぼす可能性があります。この影響は、260 nmの吸光度を測定し、さらにタンパク質結晶化酵母エノラーゼを用いたChristian-Warbergの式 (Biochemische Zeitung 310, 384 (1941)) を適用することによって補正することができます。

$$\text{タンパク質濃度(mg/ml)} = 1.55 \times \text{Abs 280} - 0.76 \times \text{Abs 260}$$

$$\text{または、タンパク質濃度} = (\text{ファクター 1} \times \text{Abs 280}) - (\text{ファクター 2} \times \text{Abs 260})$$

- この計算式は、対応するファクターの値がわかっている場合には、他のタンパク質にも適用することができます(本装置に使用されているファクターはタンパク質の吸光係数の逆数です)。本装置では、280 nmにおけるタンパク質濃度を測定することができ、上記の計算式をデフォルト値として使用しています。ファクターの値は変更することができ、320 nmにおけるバックグラウンド補正の使用も選択できます。
- 特定のタンパク質に対して計算式をカスタマイズするには、濃度の明らかなタンパク質溶液で260、280 nmにおける吸光度を決定して、この2つの係数を導く簡単な連立方程式を作る必要があります。ファクター 2が負の値の場合は、260 nmにおける吸収がタンパク質濃度に寄与しないということですので、0に設定します。
- 280 nmにおける吸光度から直接タンパク質濃度を求める場合には、ファクター2 = 0.00に設定します。ファクター 1はそのタンパク質の吸光係数とします。BSA (ウシ血清アルブミン) を許容基準として利用する場合、ファクター 1 = 1.115に設定することで、タンパク質濃度 0~0.8 mg/mlの間で直線性のある定量結果が得られます。

$$\text{タンパク質濃度(mg/ml)} = 1.115 \times \text{Abs 280}$$

- このようなAbs 280を利用した迅速測定は、スピナラムで遠心分離したり、HiTrapカラムで滴下して分離したタンパク質やペプチドの定量に、特に便利です。

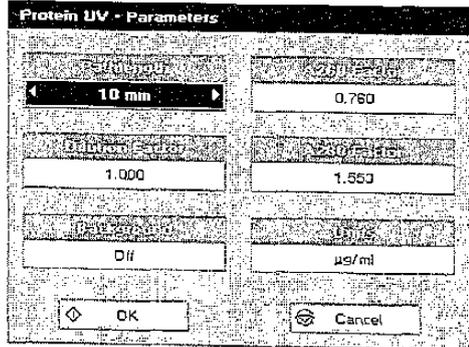
595、546、562、750 nmでのタンパク質の定量

- ブラッドフォード法では、未知のタンパク質とクマシーブリアントブルー色素との結合を定量化し、595 nmにおける濃度既知の標準タンパク質の結合と比較することによって測定を行います。標準タンパク質としては、一般的にウシ血清アルブミン (BSA) が用いられます。
- ビューレット法では、アルカリ溶液中で銅イオンとペプチド結合とを反応させ、546nmに吸収がある錯体を形成させることによって測定を行います。
- BCA法では、ビューレット法と同様に銅イオンとペプチド結合との反応によって測定しますが、さらにこの反応に、bicinchoninic acid (BCA) を用いた銅イオンの検出を利用し、最大吸収は562nmになります。BCAによる測定は、細胞壁の破壊に使用する界面活性剤などの影響をあまり受けません。
- ローリー法では、Folin-Ciocalteuフェノール試薬と未知のタンパク質チロシン残基との、反応呈色量を、標準タンパク質の標準曲線から算出した呈色値と比較して750 nmで測定します。標準タンパク質としては、一般的に通常ウシ血清アルブミン (BSA) が用いられます。
- 280 nmでのタンパク質測定、BCA法、ブラッドフォード法、ローリー法では、LabelGuard™ マイクロリッターセルによる微量サンプルと標準量サンプルの測定が可能です。ビューレット法の場合、LabelGuard™ マイクロリッターセルの使用はお勧めしません。ゼロ濃度の標準を用いる場合は、入力する標準溶液の数にこれを含めて、濃度は0.00と入力してください。標準溶液 1 を入力するときこれをします。
- キャリブレーション標準点に対する回帰直線が計算され、その相関係数とともに結果を出力することができます。相関係数が 0.95 - 1.00 の間であれば、良好な直線であると判断できます。

4.2.1 UV 法

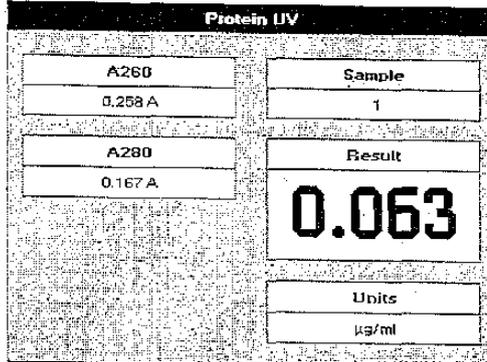
これは、先に説明した Warburg-Christian 法による解析方法です。
手順は以下の通りです。

Parameter Screen



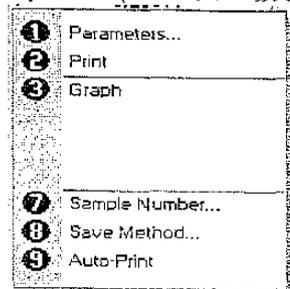
- Parameter Screen**
- Step 1** *LabelGuard* フォルダの場合は1を、*Cuvette* フォルダの場合は2を押します。
- Step 2** 2を押して *Protein* フォルダを選択します。
- Step 3** 1を押して *Protein UV* モードを選択します。
- Step 4** 左右の矢印キーを使って、*Pathlength* を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。*LabelGuard*™ マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り *Lid Factor* を選択します。
- Step 5** キーパッドの数字を使って、*Dilution Factor* を選択します。範囲: 1.00~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去するか、*Options* を押して希釈ファクター画面に入力します。キーパッドの数字を使ってサンプル容量を入力します。範囲: 0.01~9999 \diamond を押して希釈ファクターを計算し、Parameter Screen に戻るか、Cancel ∇ を押して選択をキャンセルして Parameter Screen に戻ります。
- Step 6** 左右の矢印キーを使って、320 nm での *Background* 補正を使用するか否かを選択します。
- Step 7** キーパッドの数字を使って、*A260 Factor* を入力します。デフォルト値は 0.76 で、範囲は 1.00~9999 です。
- Step 8** キーパッドの数字を使って、*A280 Factor* を入力します。デフォルト値は 1.55 で、範囲は 1.00~9999 です。
- Step 9** 左右の矢印キーを使って、測定の *Units* を選択します。オプション: mg/ml, µg/ml, ng/µl, µg/µl
- Step 10** OK \diamond を押して Results screen の入力を行うか、Cancel ∇ を押して *Protein* フォルダに戻ります。

Results Screen



- Results Screen**
- Step 11** リファレンスを挿入します。Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 12** サンプルを挿入して \diamond を押します。選択した波長での測定が行われて、結果が表示されます。サンプルおよび色素の濃度、色素取込み率、吸光度比 A260/A280 および A260/A230 が算出されます(バックグラウンド波長による補正を選択した場合は、補正後の値が表示されます)。
- Step 13** すべてのサンプルに対しこの手順を繰り返します。
- Step 14** *Options* を押して、以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 15** ∇ を押して、*Protein* フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)



Options (キーパッドの数字で選択)

- parameters screen に戻ります。
- 選択したメソッドで結果を印刷します。
- グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- データ表のみの出力の on と off を切り替えます。
- サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。 ∇ を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.2.2 BCA 法

手順は以下の通りです。

Parameter Screen

BCA - Parameters

Wavelength: 562 nm

Pathlength: 10 mm

Standards: 6

Units: ug/ml

Next Cancel

BCA - Parameters

Units

Auto

OK Cancel

BCA - Parameters

Curve Fit

Regression

Calibration

Standards

Off

Next Cancel

Standards Screen

BCA - Standards

Std: 0.200

0.400

0.600

0.800

1.000

1.400

Next Back

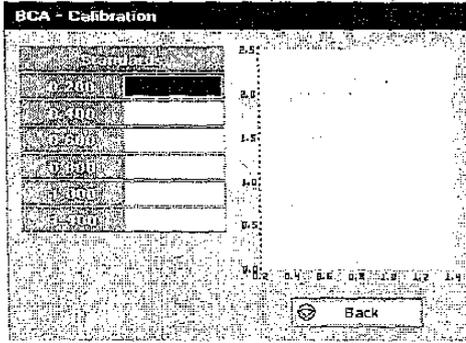
Parameter Screen

- Step 1** **LabelGuard** フォルダの場合は1を、**Cuvette** フォルダの場合は2を押します。
- Step 2** 2を押して **Protein** フォルダを選択します。
- Step 3** 2を押して **BCA** モードを選択します。
- Step 4** **Wavelength** のデフォルト設定は 562 nm です。
- Step 5** キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、曲線で使用する **Standard** の濃度点の数(1-9)を入力します。
- Step 6** 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。LabelGuard™ マイクロリッシャーセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り **Lid Factor** を選択します。最小の 2 μ l のサンプル容量をお勧めします。
- Step 7** **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(ug/ml, ug/ μ l, pmol/ μ l, mg/dl, mmol/l, μ mol/l, g/l, mg/l, μ g/l, U/l, %, ppm, ppb, conc, または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示 (**DP**)の桁を 0~2まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK \blacklozenge を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel \odot を押します。
- Step 8** Next \blacklozenge を押して次の画面の入力を行います。
- Step 9** standards (調整済みの標準溶液の測定)、manual(キーパッドでのデータ入力)、new standards(保存したメソッドを使用すると、前回の値が消去されて、新しい標準溶液を測定できます。)の中から **Calibration** モードを選択します。
- Step 10** (standards を選択した場合)左右の矢印キーを使用して、**Replicates** の数を選択します。これにより、測定する標準溶液の数が決定され、各標準溶液の濃度が平均化されます。OFF (1), 2, または 3 が選択できます。
- Step 11** Next \blacklozenge を押して Standards screen の入力を行うか、Cancel \odot を押して選択を取り消して、**Protein** フォルダに戻ります。

Standards Screen

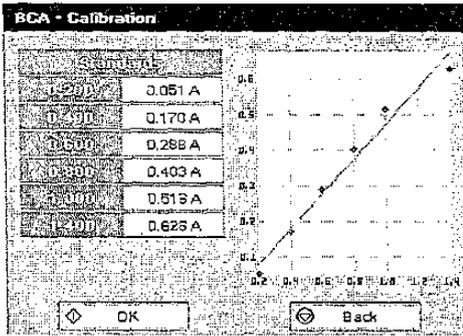
- Step 12** キーパッドの数字と上下の矢印キーを使って、各標準溶液のボックス間を移動しながら、濃度を入力します。範囲: 0.001~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去します。
- Step 13** Next \blacklozenge を押して Calibration screen の入力を行います。重複している値または非単調な(増加していない)値を入力した場合は、警告音が鳴り、間違った入力箇所がハイライト表示されます。入力を行わない場合は、Back \odot を押して Parameter screen に戻ります。

Calibration Screen (replicates off)



Calibration Screen (replicates off)

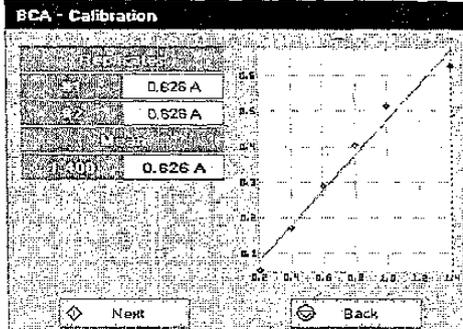
- Step 14** この画面では、キャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 15** 標準溶液を挿入します(測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去してください。) **◊** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。



- Step 16** すべての標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。

- Step 17** すべての標準溶液の測定が終わったら、**◊** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **⊖** を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

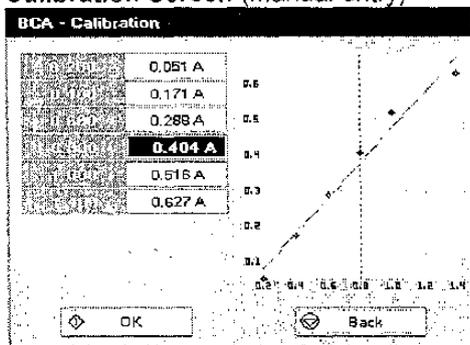
Calibration Screen (replicates on)



1. Calibration Screen (replicates on)

- Step 18** この画面ではキャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 19** **◊** キーを押して、replicate 入力ボックスを表示します。測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去します
- Step 20** 標準溶液を挿入します。**◊** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。
- Step 21** すべての replicate と標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。
- Step 22** **◊** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **⊖** を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Calibration Screen (manual entry)



Calibration Screen (manual entry)

この画面では、前回入力したキャリブレーション値が表示され、キーボードで値を入力することができます。ハイライト表示されたボックスは編集可能で、キーボードの数字を使って任意の濃度に相当する吸光値を入力できます。範囲:0.001 to 9999 Cキーで後退しながら入力されている直前の数字を消去し、上下の矢印キーでボックス間を移動します。

OK を押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back を押して、選択を取り消して Standards screenに戻ります。

Results screen

The screenshot shows the Results screen titled "BCA". It displays the following information:

Wavelength	562 nm	Sample	1
Absorbance	0.289 A	Units	ug/ml
Curve Fit	Regression	Concentration	0.622
Standard Pathlength	10 mm	Sample Pathlength	10 mm

Results screen

Step 23 リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

Step 24 サンプルを挿入して キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。

Step 25 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。

Step 26 Options を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。

Step 27 キーを押して Protein フォルダに戻ります。

Options (キーボードの数字で選択)

The screenshot shows the Options menu with the following numbered choices:

- 1 Parameters...
- 2 Print
- 3 Graph
- 4 Edit Sample Pathlength
- 7 Sample Number...
- 8 Save Method...
- 9 Auto-Print

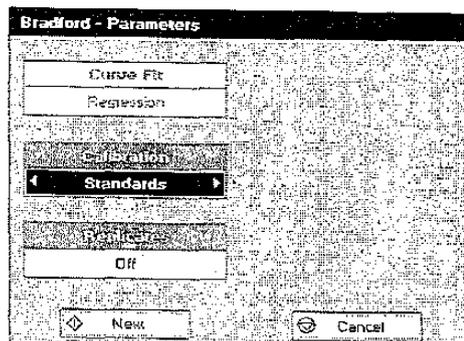
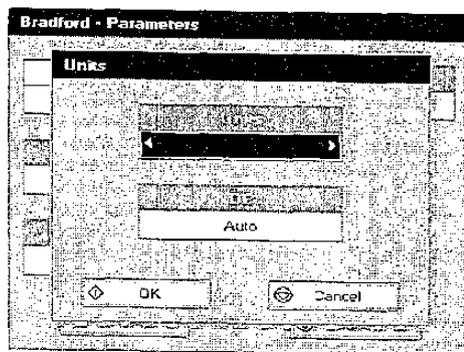
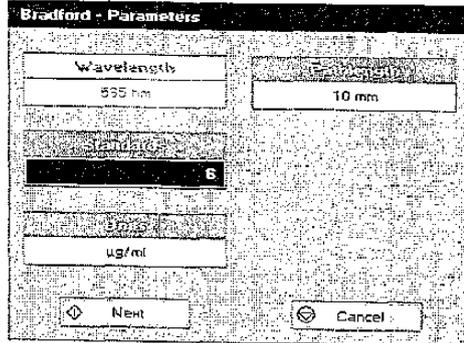
Options (キーボードの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) サンプルの光路長を編集できます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。 を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

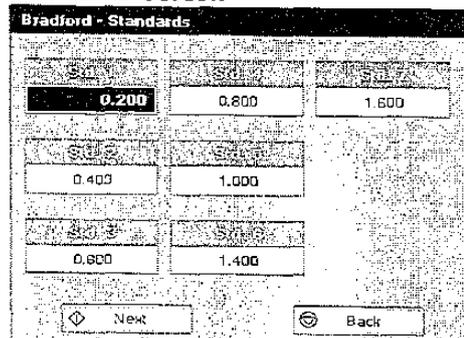
4.2.3 ブラッドフォード法

手順は以下の通りです。

Parameter Screen



Standards Screen



Parameter Screen

- Step 1 **LabelGuard** フォルダの場合は1を、**Cuvette** フォルダの場合は2を押します。
- Step 2 2を押して **Protein** フォルダを選択します。
- Step 3 3を押して **Bradford** モードを選択します。
- Step 4 **Wavelength** のデフォルト設定は 595 nm です。
- Step 5 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、曲線で使用する **Standard** の濃度点の数(1-9)を入力します。
- Step 6 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。**LabelGuard™** マイクロリッジャーセルを使用する場合は、3.2に記載の通り **Lid Factor** を選択します。最小の 2 μ l のサンプル容量をお勧めします。

- Step 7 **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(ug/ml, ug/ μ l, pmol/ μ l, mg/dl, mmol/l, μ mol/l, g/l, mg/l, μ g/l, U/l, %, ppm, ppb, conc, または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示(DP)の桁を 0~2まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK \blacklozenge を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel \textcircled{X} を押します。Next \blacklozenge を押して次の画面の入力を行います。

- Step 8 standards (調整済みの標準溶液の測定)、manual(キーパッドでのデータ入力)、new standards(保存したメソッドを使用すると、前回の値が消去されて、新しい標準溶液を測定できます。)の中から **Calibration** モードを選択します。

- Step 9 (standards を選択した場合)左右の矢印キーを使用して、**Replicates** の数を選択します。これにより、測定する標準溶液の数が決定され、各標準溶液の濃度が平均化されます。OFF (1)、2、または 3 が選択できます。

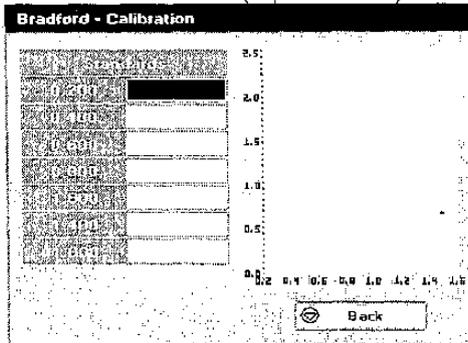
- Step 10 Next \blacklozenge を押して Standards screen の入力を行うか、Cancel \textcircled{X} を押して選択を取り消して、**Protein** フォルダに戻ります。

Standards Screen

- Step 11 キーパッドの数字と上下の矢印キーを使って、各標準溶液のボックス間を移動しながら、濃度を入力します。範囲: 0.001~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去します。

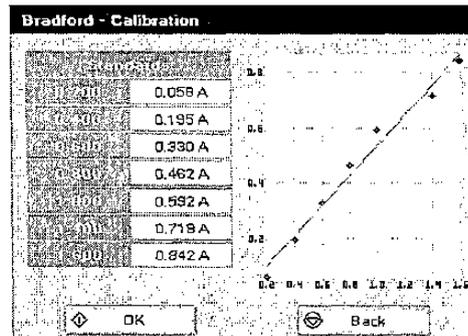
- Step 12 Next \blacklozenge を押して Calibration screen の入力を行います。重複している値または非単調な(増加していない)値を入力した場合は、警告音が鳴り、間違っただ入力箇所がハイライト表示されます。入力を行わない場合は、Back \textcircled{X} を押して Parameter screen に戻ります。

Calibration Screen (replicates off)



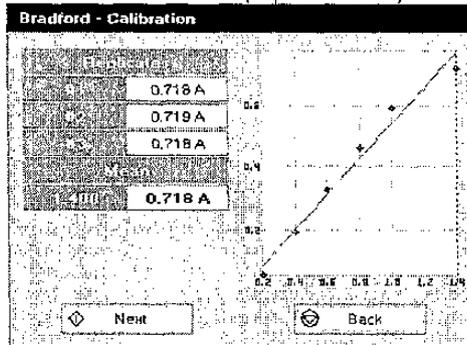
Calibration Screen (replicates off)

- Step 13** この画面では、キャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 14** 標準溶液を挿入します(測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去してください。) **◆** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。



- Step 15** すべての標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。
- Step 16** すべての標準溶液の測定が終わったら、**◆** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **Ⓢ**を押して、選択を取り消して Standards screenに戻ります。

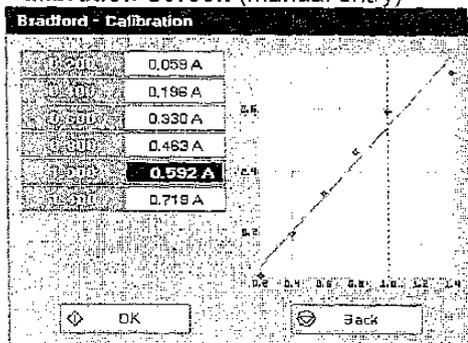
Calibration Screen (replicates on)



Calibration Screen (replicates on)

- Step 17** この画面ではキャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 18** **◆** キーを押して、replicate 入力ボックスを表示します。測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去します
- Step 19** 標準溶液を挿入します。**◆** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。
- Step 20** すべての replicate と標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。
- Step 21** **◆** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **Ⓢ**を押して、選択を取り消して Standards screenに戻ります。

Calibration Screen (manual entry)

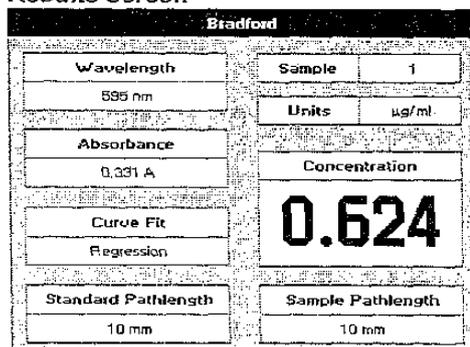


Calibration Screen (manual entry)

この画面では、前回入力したキャリブレーション値が表示され、キーボードで値を入力することができます。ハイライト表示されたボックスは編集可能で、キーボードの数字を使って任意の濃度に相当する吸光値を入力できます。範囲:0.001 to 9999 Cキーで後退しながら入力されている直前の数字を消去し、上下の矢印キーでボックス間を移動します。

- Step 26** OK を押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

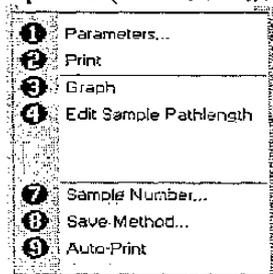
Results screen



Results screen

- Step 23** リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 24** サンプルを挿入して キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。
- Step 25** すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。
- Step 26** Options を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 27** キーを押して Protein フォルダに戻ります。

Options (キーボードの数字で選択)



Options (キーボードの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) サンプルの光路長を編集できます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。 を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.2.4 ローリー法

手順は以下の通りです。

Parameter Screen

Lowry - Parameters

Wavelength	595 nm	Pathlength	10 mm
Standard	6	Units	ug/ml

Next Cancel

Lowry - Parameters

Units

ug/ml

Auto

OK Cancel

Lowry - Parameters

Curve Fit

Regression

Standards

Replicate

Off

Next Cancel

Standards Screen

Lowry - Standards

0.200	0.800
0.400	1.000
0.600	1.400

Next Back

Parameter Screen

- Step 1** **LabelGuard** フォルダの場合は1を、**Cuvette** フォルダの場合は2を押します。
- Step 2** 2を押して **Protein** フォルダを選択します。
- Step 3** 4を押して **Lowry** モードを選択します。
- Step 4** **Wavelength** のデフォルト設定は 595 nm です。
- Step 5** キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、曲線で使用する **Standard** の濃度点の数(1-9)を入力します。
- Step 6** 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。**LabelGuard**TM マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2に記載の通り **Lid Factor** を選択します。最小の 2 μ l のサンプル容量をお勧めします。

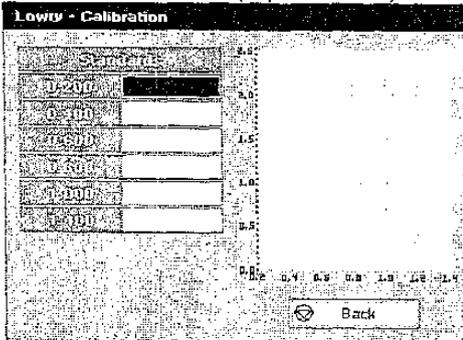
- Step 7** **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(ug/ml, ug/ μ l, pmol/ μ l, mg/dl, mmol/l, μ mol/l, g/l, mg/l, μ g/l, U/l, %, ppm, ppb, conc, または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示 (**DP**)の桁を 0~2まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK \blacklozenge を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel \odot を押します。Next \blacklozenge を押して次の画面の入力を行います。

- Step 8** standards (調整済みの標準溶液の測定)、manual(キーパッドでのデータ入力)、new standards(保存したメソッドを使用すると、前回の値が消去されて、新しい標準溶液を測定できます。)
の中から **Calibration** モードを選択します。
- Step 9** (standards を選択した場合)左右の矢印キーを使用して、**Replicates** の数を選択します。これにより、測定する標準溶液の数が決定され、各標準溶液の濃度が平均化されます。OFF (1)、2、または 3 が選択できます。
- Step 10** Next \blacklozenge を押して Standards screen の入力を行うか、Cancel \odot を押して選択を取り消して、**Protein** フォルダに戻ります。

Standards Screen

- Step 11** キーパッドの数字と上下の矢印キーを使って、各標準溶液のボックス間を移動しながら、濃度を入力します。範囲:0.001~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去します。
- Step 12** Next \blacklozenge を押して Calibration screen の入力を行います。重複している値または非単調な(増加していない)値を入力した場合は、警告音が鳴り、間違った入力箇所がハイライト表示されます。入力を行わない場合は、Back \odot を押して Parameter screen に戻ります。

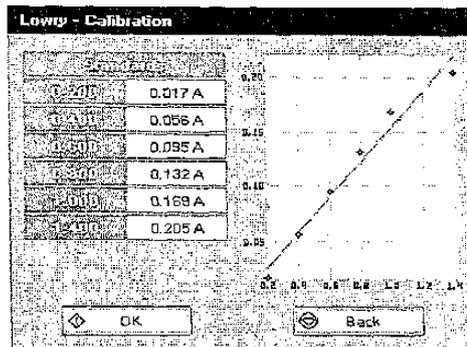
Calibration Screen (replicates off)



Calibration Screen (replicates off)

Step 13 この画面では、キャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

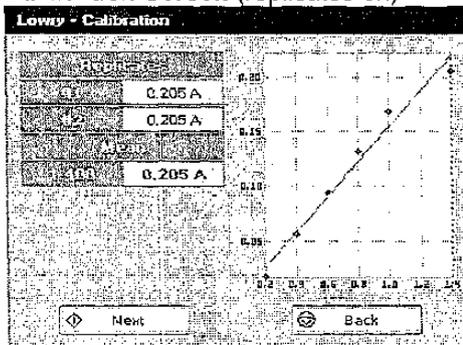
Step 14 標準溶液を挿入します(測定を行う前に、C キーを使用して前回保存した結果を消去してください。) \blacklozenge キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。



Step 15 すべての標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。C キーで前回の測定値を消去します。

Step 16 すべての標準溶液の測定が終わったら、 \blacklozenge キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back \blacklozenge を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Calibration Screen (replicates on)



Calibration Screen (replicates on)

Step 17 この画面ではキャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

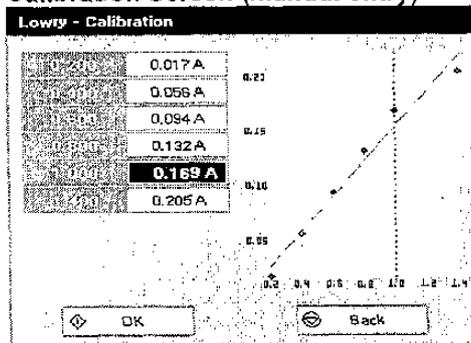
Step 18 \blacklozenge キーを押して、replicate 入力ボックスを表示します。測定を行う前に、C キーを使用して前回保存した結果を消去します

Step 19 標準溶液を挿入します。 \blacklozenge キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。

Step 20 すべての replicate と標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。C キーで前回の測定値を消去します。

Step 21 \blacklozenge キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back \blacklozenge を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Calibration Screen (manual entry)



Calibration Screen (manual entry)

この画面では、前回入力したキャリブレーション値が表示され、キーボードで値を入力することができます。ハイライト表示されたボックスは編集可能で、キーボードの数字を使って任意の濃度に相当する吸光値を入力できます。範囲: 0.001 to 9999 C キーで後退しながら入力されている直前の数字を消去し、上下の矢印キーでボックス間を移動します。

OK (F1) を押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照) に進むか、Back (F2) を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Results screen

The Results screen displays the following information:

Wavelength		Sample	1
750 nm		Units	µg/ml
Absorbance		Concentration	
0.095 A		0.627	
Curve Fit		Standard Pathlength	
Regression		10 mm	
Sample Pathlength		10 mm	

Results screen

- Step 22** リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 23** サンプルを挿入して (F1) キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。
- Step 24** すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。
- Step 25** Options を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 26** (F2) キーを押して Protein フォルダに戻ります。

Options (キーボードの数字で選択)

The Options menu lists the following choices:

- 1 Parameters...
- 2 Print
- 3 Graph
- 4 Edit Sample Pathlength
- 7 Sample Number...
- 8 Save Method...
- 9 Auto-Print

Options (キーボードの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) サンプルの光路長を編集できます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。(F2) を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

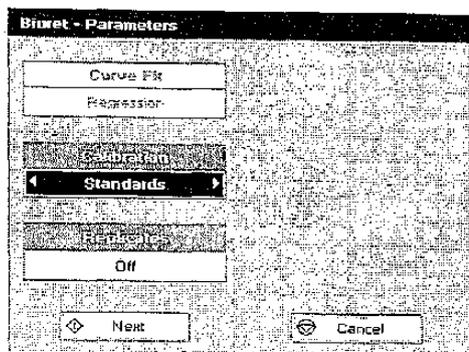
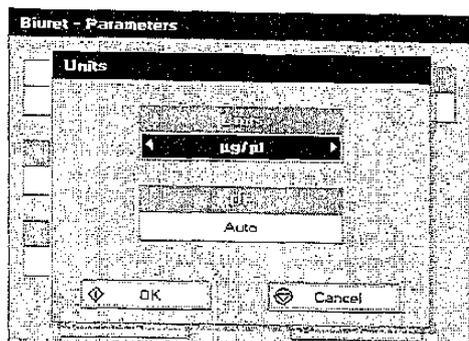
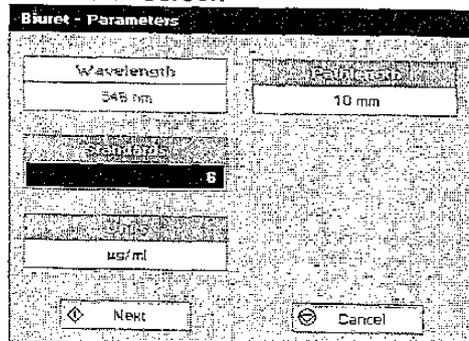
4.2.5 ビューレット法



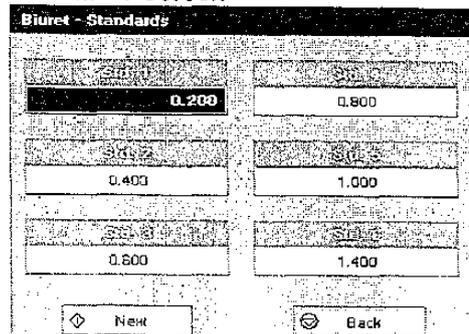
ビューレット法には LabelGuard™ マイクロリッターセルを使用できません。この方法で使用する高濃度の水酸化ナトリウム溶液によって、LabelGuard™ の石英表面が損傷を受けます。標準のキューベットを使用して下さい。

手順は以下の通りです。

Parameter Screen



Standards Screen



Parameter Screen

- Step 1 LabelGuard フォルダの場合は1を、Cuvette フォルダの場合は2を押します。
- Step 2 2を押して Protein フォルダを選択します。
- Step 3 4を押して Lowry モードを選択します。
- Step 4 Wavelength のデフォルト設定は 595 nm です。
- Step 5 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、曲線で使用使用する Standard の濃度点の数(1-9)を入力します。
- Step 6 左右の矢印キーを使って、Pathlength を選択します。オプションは、5 mm または 10 mm です。LabelGuard™ マイクロリッターセルを使用する場合は、3.2 に記載の通り Lid Factor を選択します。最小の 2 µl のサンプル容量をお勧めします。

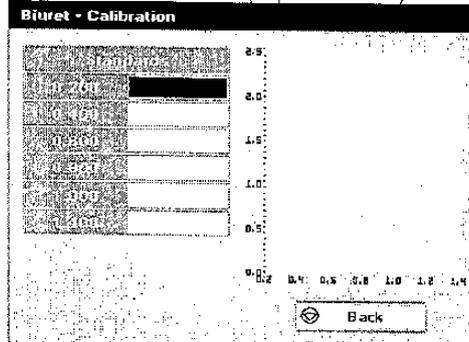
- Step 7 Units: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、Options キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(µg/ml、µg/µl、pmol/µl、mg/dl、mmol/l、µmol/l、g/l、mg/l、µg/l、U/l、%、ppm、ppb、conc、または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示(DP)の桁を 0~2 まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel を押します。Next を押して次の画面の入力を行います。

- Step 8 standards (調整済みの標準溶液の測定)、manual(キーパッドでのデータ入力)、new standards(保存したメソッドを使用すると、前回の値が消去されて、新しい標準溶液を測定できます。)の中から Calibration モードを選択します。
- Step 9 (standards を選択した場合)左右の矢印キーを使用して、Replicates の数を選択します。これにより、測定する標準溶液の数が決定され、各標準溶液の濃度が平均化されます。OFF (1)、2、または 3 が選択できます。
- Step 10 Next を押して Standards screen の入力を行うか、Cancel を押して選択を取り消して、Protein フォルダに戻ります。

Standards Screen

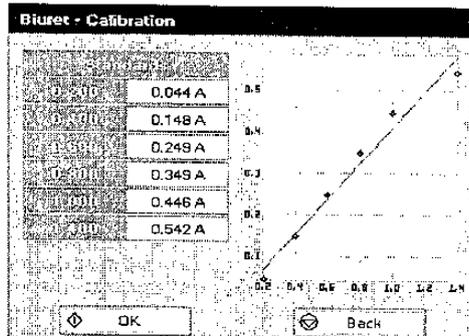
- Step 11 キーパッドの数字と上下の矢印キーを使って、各標準溶液のボックス間を移動しながら、濃度を入力します。範囲: 0.001~9999 C キーを押して後退しながら、入力されている直前の数字を消去します。
- Step 12 Next を押して Calibration screen の入力を行います。重複している値または非単調な(増加していない)値を入力した場合は、警告音が鳴り、間違った入力箇所がハイライト表示されます。入力を行わない場合は、Back を押して Parameter screen に戻ります。

Calibration Screen (replicates off)



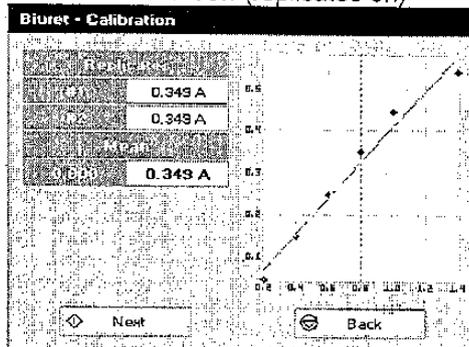
Calibration Screen (replicates off)

- Step 13** この画面では、キャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 14** 標準溶液を挿入します(測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去してください。) **◆** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。



- Step 15** すべての標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。
- Step 16** すべての標準溶液の測定が終わったら、**◆** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **⊖** を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

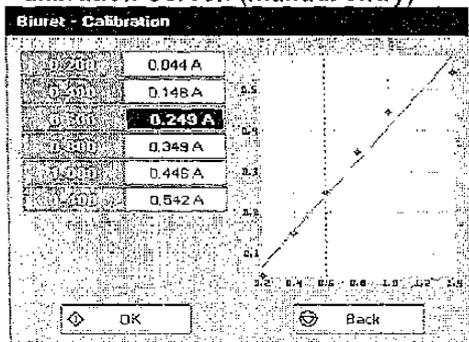
Calibration Screen (replicates on)



① Calibration Screen (replicates on)

- Step 17** この画面ではキャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 18** **◆** キーを押して、replicate 入力ボックスを表示します。(測定を行う前に、**C** キーを使用して前回保存した結果を消去します)
- Step 19** 標準溶液を挿入します。**◆** キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。
- Step 20** すべての replicate と標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。**C** キーで前回の測定値を消去します。
- Step 21** **◆** キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、**Back** **⊖** を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Calibration Screen (manual entry)



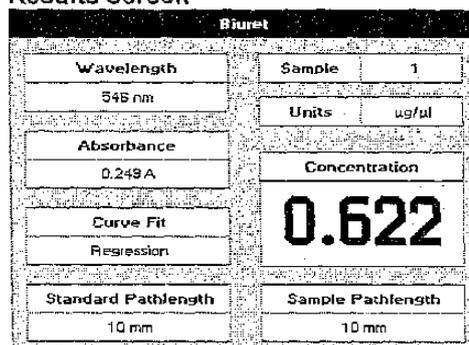
Calibration Screen (manual entry)

この画面では、前回入力したキャリブレーション値が表示され、キーボードで値を入力することができます。

ハイライト表示されたボックスは編集可能で、キーボードの数字を使って任意の濃度に相当する吸光値を入力できます。範囲:0.001 to 9999 C キーで後退しながら入力されている直前の数字を消去し、上下の矢印キーでボックス間を移動します。

OK を押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Results screen



Results screen

Step 22 リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

Step 23 サンプルを挿入して キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。

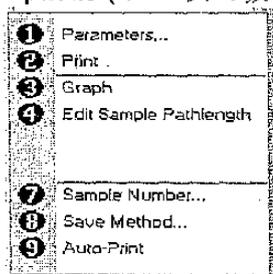
Step 24 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。

Step 25 Options を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。

Step 26 キーを押して Protein フォルダに戻ります。

Step 27

Options (キーボードの数字で選択)



Options (キーボードの数字で選択)

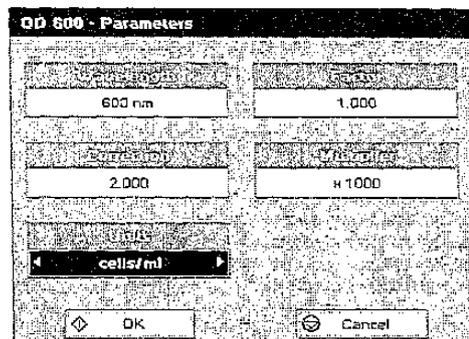
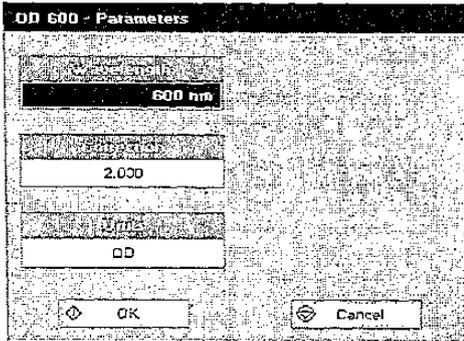
- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) グラフの on と off を切り替えます。グラフには、230、260、280 および(バックグラウンド補正を設定した場合は) 320 nm をカーソルで示しながら、220 nm~750 nm 間の波長スキャンがプロットされます。
- 4) サンプルの光路長を編集できます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。 を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

4.3 菌培養液の測定 (OD600)

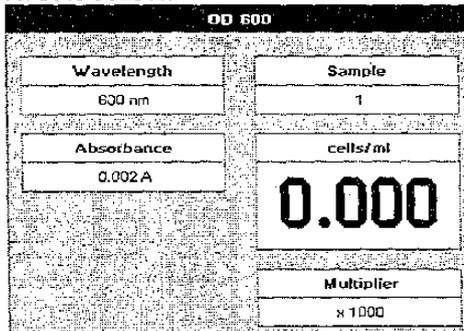
- 菌培養液は、細菌に誘導をかけた後集菌する前に、通常 600 nm における吸光度(OD600)が約 0.4 になるまで培養を行います。菌体数と OD600 の間には、約 0.600 OD まで直線的な関係があります。
- 培養液のような濁ったサンプルの場合、測定された吸光度は、散乱光によるもので、分子の吸光によるものではありません。散乱光量は、装置の光学特性(セルホルダーと装置の出口スリットとの間の距離、スリットの形状、モノクロメーターの光学特性)に左右されます。したがって、タイプの異なる装置で測定した場合には、同じ懸濁サンプルであっても異なる結果になります。結果を比較する場合には、検量線により標準化する必要があります。
- 検量線は、測定した OD 値と期待される OD 値を比較することで作成することができます。期待される OD 値は、別の方法(例えば、顕微鏡スライド法など)により菌体数をカウントし、大よその換算式 $1 \text{ OD } 600 = 8 \times 10^8 \text{ cells/ml}$ (大腸菌の場合)により求めることができます。
- 本装置には、通常の分光光度計と比べてはるかに小型の光学系が採用されており、より多くの光が検出器に入ってくるため、期待される OD 値よりも小さくなります。測定した OD 値と期待される OD 値(上記参照)を比較した結果は、大型装置と比較できるデータを得るためには、2.0 の補正ファクターが必要であることを示しています。このファクター値はセットアップのデフォルト値として含まれています。
- 培養液の光学密度測定には、光路長 10 mm のディスパーザブルセルの使用をお勧めします。サンプルにグリセロールを加えると、懸濁物の速すぎる沈降による OD の経時変化を防ぐことができます。
- 培養液の光学密度測定には、LabelGuard™ マイクロリッターセルのご使用はお勧めしません。

手順は以下の通りです。

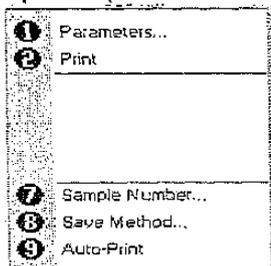
Parameter Screen



Result Screen



Options (キーパッドの数字で選択)



Parameter Screen

- Step 1 2を押して、**Cuvette Applications** を選択します。
- Step 2 3を押して **OD 600** を選択します。
- Step 3 **Wavelength** を選択します。デフォルト値は 600 nm です。
- Step 4 **Correction** にファクターを入力して、本装置と他の装置との光学構成の違いを補正します。デフォルト値は 2 です。
- Step 5 **Units** を選択します。オプションは OD または cells/ml です。cells/ml を選択した場合は、さらに2つのパラメータが表示されます。

- Step 6 (cells/ml を選択した場合) キーパッドの数字で **Factor** を入力します。範囲:0.001 to 9999 Cキーで後退しながら入力されている直前の数字を消去します。
- Step 7 (cells/ml を選択した場合)左右の矢印キーで **Multiplier** を選択します。オプションは 1000 または 1,000,000 です。
- Step 8 OK を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel を押して選択を取り消して **Cuvette Applications** フォルダに戻ります。

Results Screen

- Step 7 リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 8 サンプルを挿入して キーを押します。波長、吸光度、OD600 値が表示されます。
- Step 9 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。
- Step 10 **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 11 キーを押して **Cuvette Applications** フォルダに戻ります。

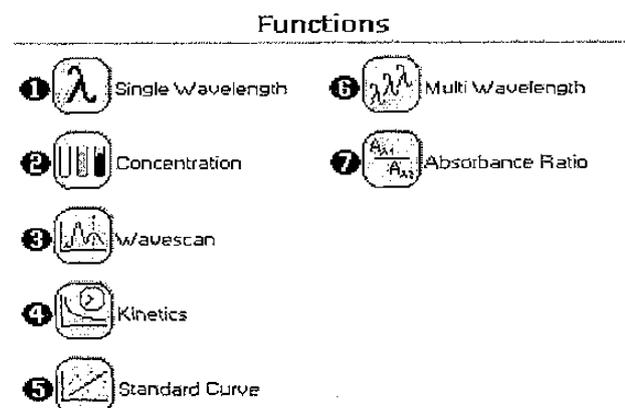
Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。

を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

5. ファンクション

使用可能なファンクションを検索します。



キーボードの数字	説明
1	単一のユーザー定義波長における吸光度はまたは %T (透過率)
2	入力または単一の標準溶液からの計算による単純係数に基づく単一波長における比色試験
3	2つのユーザー定義波長間のスペクトル表示 範囲:200-950 nm (ユーザー設定可能なピーク検出機能付き)
4	速度または終了値に基づくカイネティック比色試験
5	ユーザーがプログラムしたカーブに基づく単一波長における比色試験
6	最大5つのユーザー定義波長における吸光度はまたは %T (透過率)
7	2つのユーザー指定波長における吸光度比

オプション

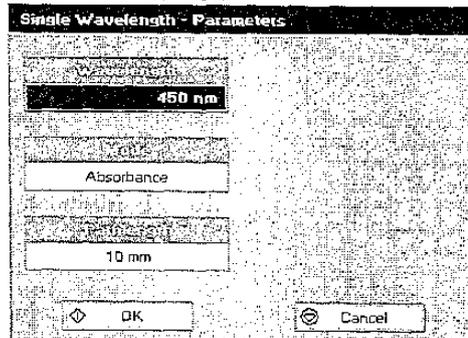
各ファンクションにおいて、ユーザーは結果の処理方法を定義するために様々なオプションを選択することができます。保存したメソッドを使用しない場合は、これらのオプションがご希望の実験に適切な設定になっているかどうか確認することをお勧めします。「履歴」パラメータを on に設定していると、前回の設定が装置に保存されています。「履歴」パラメータを off にすると、各アプリケーションの終了後、すべてのパラメータと設定は(メソッドとして保存しない限り)デフォルト値に戻ります。

5.1 単一波長 - Abs と %T

サンプルを通過した光の量をリファレンス(空気でも可)と比較測定して、サンプルの吸光度(A)と透過率(%T)の簡易測定を行います。

手順は以下の通りです。

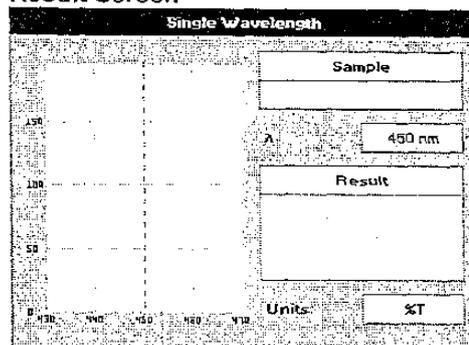
Parameter Screen



Parameter Screen

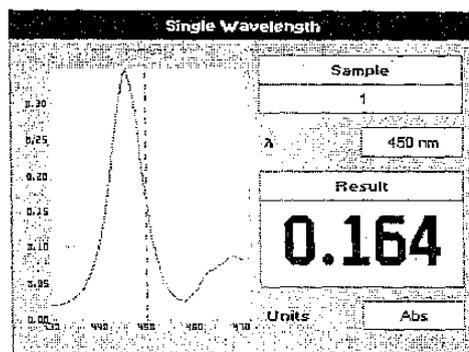
- Step 1 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2 1を押して **Single Wavelength** を選択します。
- Step 3 キーボードの数字または左右の矢印キーを使って、**Wavelength** を設定します。
- Step 4 左右の矢印キーを使って、**Absorbance** または **%Transmission** のいずれかの **Mode** を選択します。
- Step 10 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 11 OK を押して選択したパラメータで results screen を入力するか、Cancel を押して選択を取り消して **Functions** フォルダに戻ります。

Result Screen



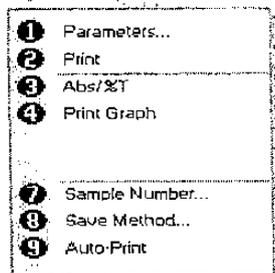
Result Screen

- Step 7 リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 8 サンプルを挿入して キーを押します。
- Step 9 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。



- Step 10 選択した波長における結果が画面に表示されます。
- Step 11 左右の矢印キーを使ってカーソルを移動させて、カーソル位置の値を表示します。(設定した波長から +/- 15nm)
- Step 10 **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 11 Escape キーを押して **Functions** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)



Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) Absorbance と %T モードを切り替えます。
- 4) グラフを印刷します。データがない場合は灰色表示されます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

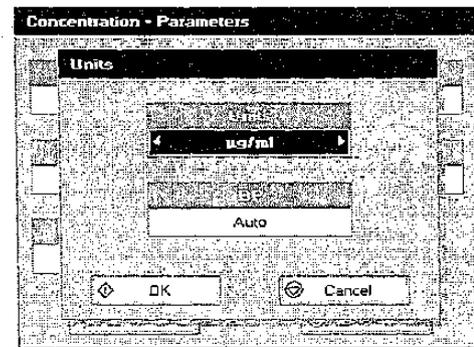
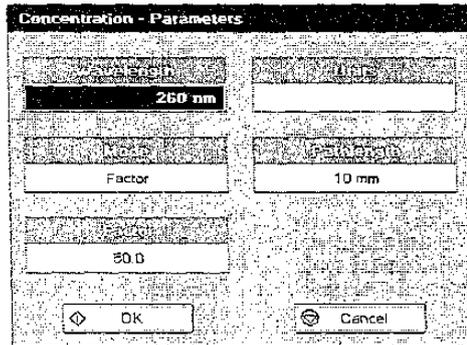
0 を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

5.2 濃度測定

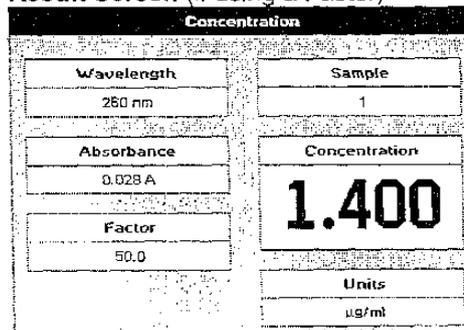
サンプルを通過した光の量をリファレンス(空気でも可)と比較測定して、サンプル濃度の簡易測定を行ないます。特定の波長で測定した吸光度にファクターを乗算すると、濃度が得られます。ファクターが事前にわかっていない場合は、既知の濃度の標準溶液を測定することによって、装置で計算することができます。

The procedure is as follows:

Parameter Screen



Result Screen (if using a Factor)



Parameter Screen

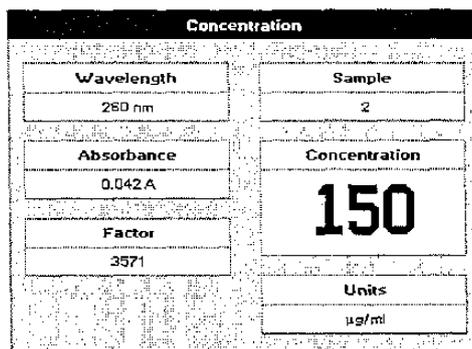
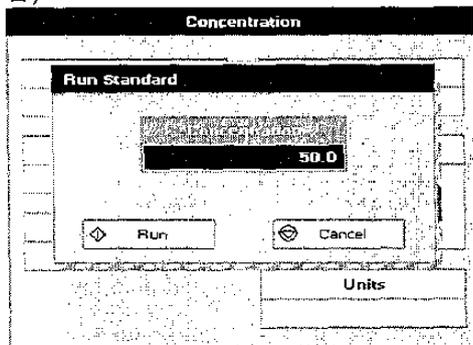
- Step 1 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2 2を押して **Concentration** を選択します。
- Step 3 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、**Wavelength** を設定します。
- Step 4 左右の矢印キーを使って、Factor(ユーザー入力)または Standard(キャリブレーションサンプルからファクターを計算する)のいずれかの **Mode** を選択します。
- Step 5 (Factor を選択した場合)キーパッドの数字を使って、**Factor** を入力します。範囲:0.001~9999 C キーを押して、入力されている前回の数字を消去します。
- Step 6 (Standard を選択した場合)キーパッドの数字を使って、濃度を入力します。範囲:0.01~9999 C キーを押して、入力されている前回の数字を消去します。

- Step 7 **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(ug/ml、ug/ul、pmol/ul、mg/dl、mmol/l、umol/l、g/l、mg/l、ug/l、U/l、%、ppm、ppb、conc、または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示 (DP)の桁を 0~2まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel を押します。
- Step 8 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 9 OK を押して選択したパラメータで results screen を入力するか、Cancel を押して選択を取り消して **Functions** フォルダに戻ります。

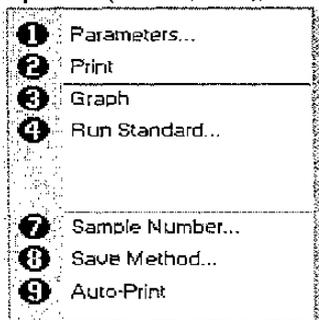
Result Screen (Factor を使用する場合)

- Step 10 リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 11 サンプルを挿入して キーを押します。

Result Screen (standard モードを使用する場合)



Options (キーパッドの数字で選択)



Result Screen (standard モードを使用する場合)

Step 12 リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

Step 13 を押して Run Standard screen を表示します。

Step 14 を押して standard を実行するか、Cancel を押して measure screen. に戻ります。

Step 15 サンプルを挿入して キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。

Step 16 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。

Step 17 **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。

Step 18 キーを押して **Functions** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

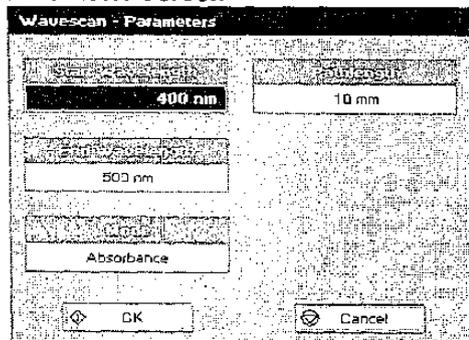
- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) 選択した波長から +/- 20nm の波長のグラフ表示の on と off を切り替えます。
- 4) Run Standard screen に戻ります。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

5.3 波長スキャン

本装置では、吸光スペクトルを測定し、ピークの高さと位置を同定することができます。手順は以下の通りです。:

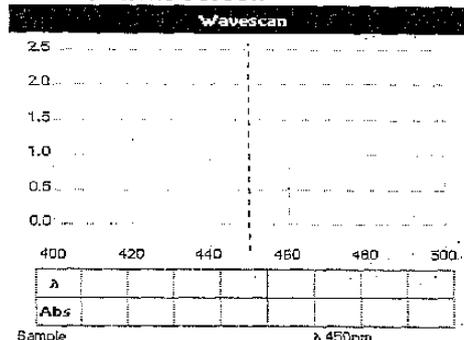
Parameter Screen



Parameter Screen

- Step 1 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2 3を押して **Wavescan** を選択します。
- Step 3 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、**Start Wavelength** を設定します。
- Step 4 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、**End Wavelength** を設定します。
- Step 5 左右の矢印キーを使って、**Absorbance** または **%Transmission** のいずれかの **Mode** を選択します。
- Step 6 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 7 OK を押して選択したパラメータで measurements screen を入力するか、Cancel を押して選択を取り消して **Functions** フォルダに戻ります。

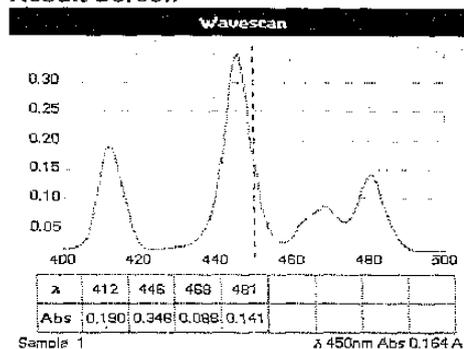
Measurement Screen



Measurement Screen

- Step 8 リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 9 サンプルを挿入して キーを押します。
- Step 10 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。

Result Screen



Result Screen

波長スキャンのグラフが、各ピークにおける吸光度%T の表と共に表示されます。左右の矢印キーでカーソルをグラフに沿って移動させます。カーソルがピークに到達すると、ピークの高さと幅が画面の上に表示されます。波長軸上でズームインするには、上向きキーを使用します。これにより、Absorbance/%T 軸上で自動スケールが行なわれ (グラフ軸のオプション設定による)、この状態はその後の測定においても維持されます。元の表示に戻るには、下向きキーを使用します。

- Step 11 **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 12 **Escape** キーを押して **Functions** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

- ① Parameters...
- ② Print
- ③ Abs/%T
- ④ Peak Detection...
- ⑤ Add Peak...
- ⑥ Graph Scale...
- ⑦ Sample Number...
- ⑧ Save Method...
- ⑨ Auto-Print

Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) Absorbance と%T モードを切り替えます。
- 4) Peak Detection Parameter Screen を表示します。以下の説明を参照。
- 5) カーソルで設定した位置で、results screen のピーク表にマニュアルでピーク位置を追加します。カーソルがこの位置に戻ったとき、スキャンの上部に“User Defined Peak”というレジェンドが表示され、このオプションの表示は Delete Peak... に変わります。
- 6) Graph Scale Parameter Screen を表示します。以下の説明を参照。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

ⓧを押して options を終了するか、そのまま待ちます。

Peak Detection (Shortcut button 4)

Peak Detection

<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> Yes
<input type="text" value="0.01"/>	<input type="text" value="Wavelength"/>
<input type="text" value="5 nm"/>	<input type="checkbox"/> No
<input type="button" value="OK"/>	<input type="button" value="Cancel"/>

Peak Detection (ショートカットキー 4)

Auto Detect Peaks: 自動ピーク検出の on と off を切り替えます。以下のオプションでピークの検出方法を決定します。

Minimum Peak Height: 2つの隣り合う極小値の高い方の値より、検出するピークが上回らなければならない最小の高さ

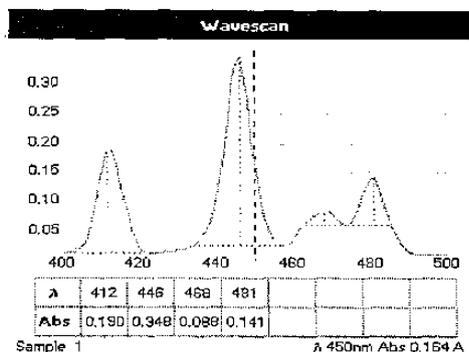
Minimum Peak Width: 2つの隣り合う極小値の高い方の値と、その値の水平線が反対側でピーク曲線と交る点との間の波長差で決定されるピークの最小幅(以下の表示画面を参照)

Peak Detect on Zoom: ユーザーが波長スキャンの領域にズームインしたとき、ピークを再評価してグラフ化するかどうかを決定します。off にした場合、ピーク検出は、非ズーム表示で指定した通りのままになります。

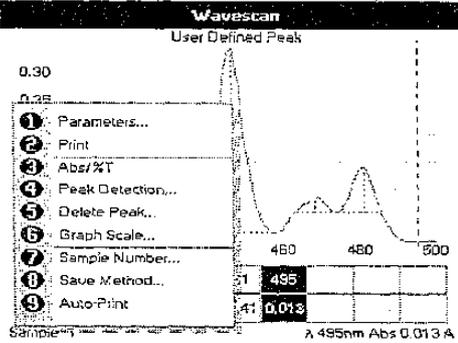
Sort Peaks by...: ピーク報告の基本とする系列を決定します。波長、ピーク高さ、ピーク幅のいずれかを選択できます。

Draw Peaks: ピークカーソル表示の on と off を切り替えます。このカーソルは、測定されたピーク高さを表す垂直の破線とピーク幅を表す水平の破線を表示します。

Cancel ⓧを押すと、選択が取り消され、ⓧを押すと選択が確定されます。



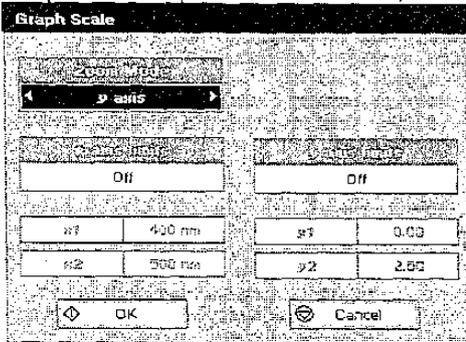
Add Peak... (Shortcut button 5)



Add Peak... (ショートカットキー 5)

現在のカーソル位置にユーザーが定義したピークを追加します。ユーザー定義ピークと自動検出ピークとを区別するために、入力値は反転表示されます。カーソルがユーザー定義ピーク上になると、グラフ上部に“User Defined Peak”というレジェンドが表示されます。オプションの表示は Delete Peak... に変わり、ユーザーがピークを消すことができます。

Graph Scale...(Shortcut button 6)



Graph Scale...(ショートカットキー 6)

x 軸、y 軸のいずれか、または両方の限界値を定義することができます。

Zoom mode:

ズームキー(上下の矢印キー)の操作を設定します。“x & y axis”に設定すると、カーソル測定地点周辺の表示が拡大されます。その他のオプションとしては、吸光度軸または波長軸のいずれかを選択します。x軸またはy軸の limits を on に設定した場合、ズームアウトできるのは、設定した限界値だけになります。

x/y axis limits:

“x (または y) axis limits” を“On”に設定すると、グラフの開始点および終了点をユーザーが定義した波長や吸光度に設定することができます。

Cancel (⊗) を押すと、選択が取り消され、⬠ を押すと選択が確定され、ご希望のグラフが表示されます。

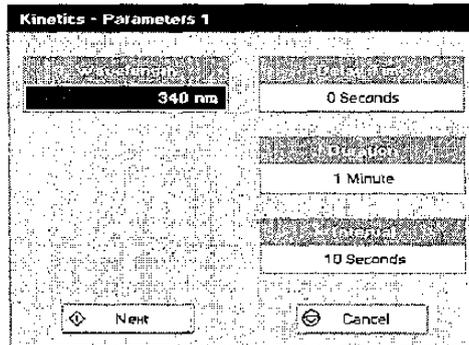
5.4 Kinetics

簡易カイネティクス解析では、一定の波長において、時間を関数とする吸光度変化を測定することが必要ですが、これを容易に行なうことができます。

食品・飲料あるいは臨床系の研究室では、340 nm での NAD/NADH 変換を測定することによって混合物を酵素的に定量するために、試薬検査キットが日常的に使用されています。一定時間内の吸光度変化に、試薬キットの説明書に記載されている適切な係数をあてはめることで、有用な情報が得られます。吸光度差そのものではなく、単位時間当たりの吸光度差が考慮されたファクターを用いた場合に、反応速度や酵素活性の測定が可能になります。したがって、1分当たりの吸光度変化($\Delta A/\text{min}$)、濃度($\Delta A/\text{min} \times \text{ファクター}$)、および相関係数(データポイントの最適直線から換算)が表示されます。これらの値は簡易カイネティクス測定には関係ない場合があります。

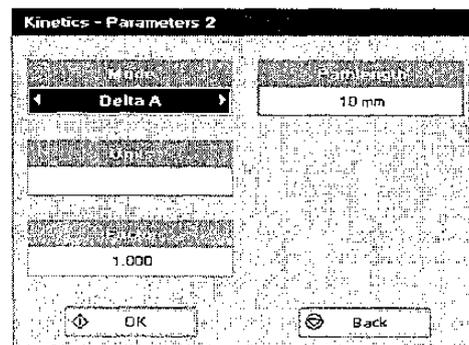
新規にメソッドを定義する方法は次の通りです。

Parameter Screen

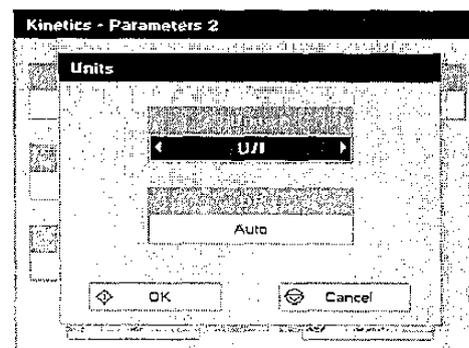


Parameter Screen

- Step 1 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2 4を押して **Kinetics** を選択します。
- Step 3 **Wavelength**: キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、すべての数値を入力します。
- Step 4 **Delay time**: 測定を行う前に遅延時間を秒単位で入力します。最大値は 600 秒(10 分)です。
- Step 5 **Duration**: 測定継続時間を分単位で入力します。最大値は 60 分です。
- Step 6 **Interval**: 左右の矢印キーを使って、測定時間間隔を秒単位で入力します。オプションは 5、10、20、30、または 60 秒です。
- Step 7 Next を押して次の parameters screen に進むか、Cancel を押して **Functions** フォルダに戻ります。

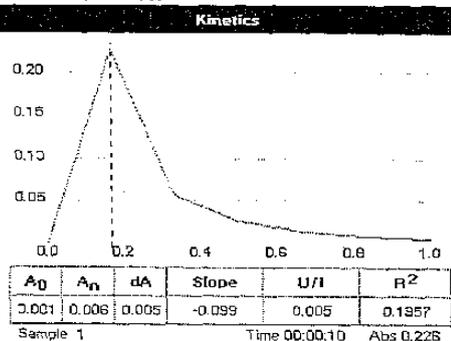


- Step 8 左右の矢印キーを使って、測定 **Mode** を選択します。
Delta A: 測定時間(または希望の時間)中の吸光度変化
Final A: 測定時間(または希望の時間) 終了時の吸光度
Slope: 測定時間(または希望の時間)中の吸光度変化率。
- Step 9 **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(μg/ml、μg/μl、pmol/μl、mg/dl、mmol/l、μmol/l、g/l、mg/l、μg/l、U/l、%、ppm、ppb、conc、または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示(**DP**)の桁を 0~2 まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel を押します。



- Step 10 左右の矢印キーを使って、選択範囲内に値を換算するための **Factor** を設定します。設定値は 0.01~9999 です。
- Step 11 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または 2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または 2 mm です。
- Step 12 Next を押して results screen を入力するか、Cancel を押して選択を取り消して Parameters screen に戻ります。

Result Screen



Results Screen

- Step 13** リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。
- Step 14** サンプルを挿入して \diamond キーを押し、測定を開始します。時間(分)が画面下に表示され、測定が進むにつれて吸光度データがグラフ上にプロットされていきます。グラフ下の表に表示される値: A_0 (計算開始)、 A_n (計算終了)における吸光度、dA(吸光度変化)、スロープ、計算されたスロープの回帰パラメータ(R^2)、および選択されたパラメータから計算された結果。
- Step 15** 左右の矢印キーでカーソルを移動させて、測定されたデータポイントの時間と吸光度を表示します。ズームイン、ズームアウトには、上下矢印キーを使用します。
- Step 16** **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 17** **Escape** \odot キーを押して **Functions** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

1	Parameters...
2	Print
3	Print Data
4	Set t_0 At Cursor
5	Set t_n At Cursor
6	Slope
7	Sample Number...
8	Save Method...
9	Auto-Print

Options (キーパッドの数字で選択)

- parameters screen に戻ります。
- 選択したメソッドで結果を印刷します。
- すべてのデータを印刷します。
- 現在のカーソル位置に t_0 位置(スロープおよび dA 計算の開始点)を設定します。この値は、残りのサンプル測定時も保持されます。
- 現在のカーソル位置に t_n 位置(スロープおよび dA 計算の終了点)を設定します。この値は、残りのサンプル測定時も保持されます。
- 計算されたスロープ線の on と off を切り替えます。
注: t_0 と t_n で囲まれたデータポイントが装置の表示範囲 ($>2.5A$ or $<0.3A$) を超える場合は、このオプションはグレー表示になります。
- サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ (User Methods 1-9) を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

\odot を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

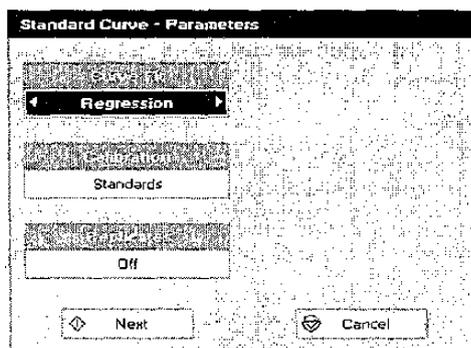
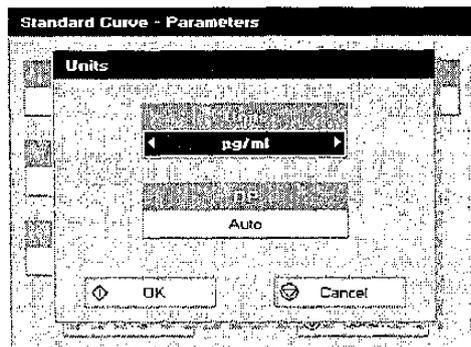
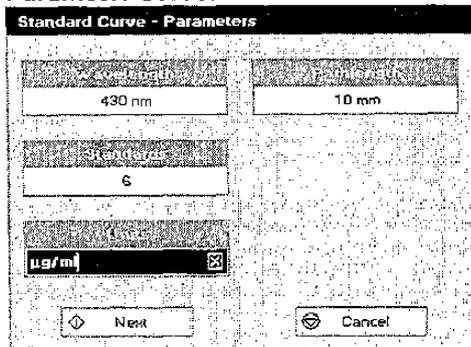
5.5 標準曲線

濃度未知のサンプルの濃度を求めるために濃度既知の標準溶液から多点検量線を作成することは、分光光度計の基本的な用途です。本装置では、最大9つの標準溶液を用いた標準曲線をメソッドとして保存することができるという利点があります。

ゼロ濃度の標準を用いる場合は、それをスタンダードの数に含めて、濃度は 0.00 と入力します。ゼロ標準の入力指示が表示されたら、試薬ブランクを使用してください。

手順は以下の通りです。

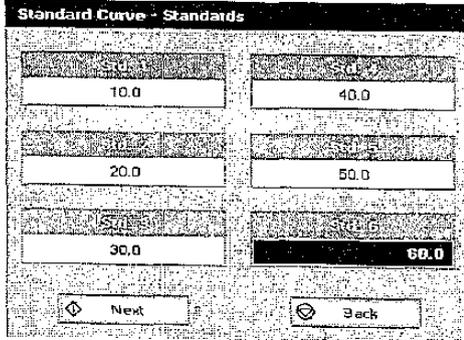
Parameter Screen



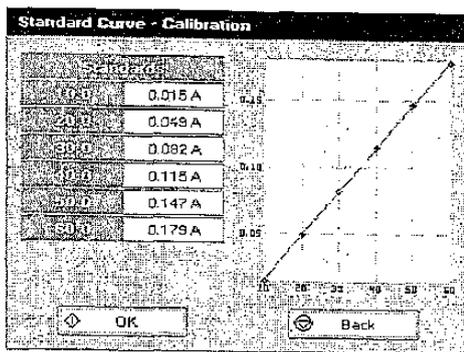
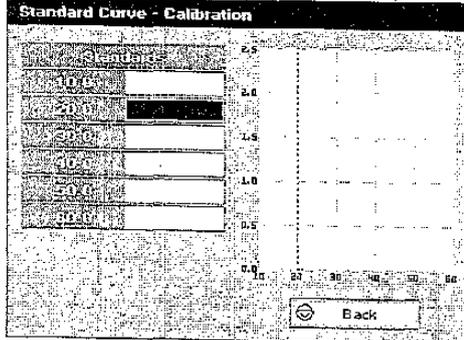
Parameter Screen

- Step 1** 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2** 5を押して **Standard Curve** を選択します。
- Step 3** キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、**Wavelength** を設定します。
- Step 4** 曲線(1-9)に使用する **Standard** の濃度点の数を入力します。
- Step 5** 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 6** **Units**: 最長 8 文字までテキスト入力できます。予め設定された単位を選択するには、**Options** キーを押した後、左右の矢印キーを使います。(µg/ml、µg/µl、pmol/µl、mg/dl、mmol/l、µmol/l、g/l、mg/l、µg/l、U/l、%、ppm、ppb、conc、または無し)これらの単位は、OK を押すと編集することもできます。このスクリーンでは、少数表示 (**DP**)の桁を 0~2まで選択することもできます。何桁の小数点を選択しても、結果の有効桁数は常に 5 桁に固定されています。(小数点 1 桁を選択しても、98768.2 は 98768 と表示されます。) OK を押して選択したパラメータを保存するか、Cancel を押します。
- Step 7** 左右の矢印キーを使用して、**Curve Fit** のタイプを選択します。オプション: 直線回帰、ゼロ回帰(直線が原点を通るようにします)、補間、3次スプライン
- Step 8** **Calibration** モードを選択します。standards (調整済みの標準溶液の測定)、manual(キーパッドでのデータ入力)、new standards(保存したメソッドを使用すると、前回の値が消去されて、新しい標準溶液を測定できます。)のいずれかを選択できます。
- Step 9** (standards を選択した場合)測定を行って濃度を軽金貨する標準溶液の数を選択します。OFF (1)、2、または3が選択できます。
- Step 10** Next を押して Standards screen の入力を行うか、Cancel を押して選択を取り消して、**Functions** フォルダに戻ります。

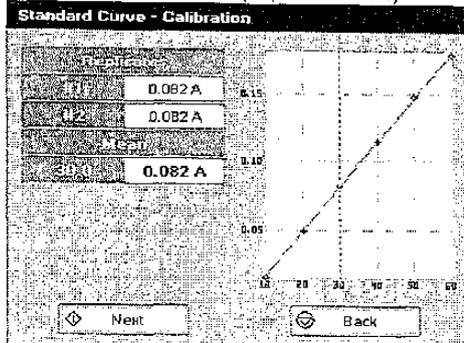
Standard Screen



Calibration Screen (replicates off)



Calibration Screen (replicates on)



Standards screen

- Step 11** キーパッドの数字と上下の矢印キーを使って、各標準溶液のボックス間を移動しながら、濃度を入力します。範囲:0.001~9999
- Step 12** Next \blacktriangleleft を押して Calibration screen の入力を行います。重複している値または非単調な(増加していない)値を入力した場合は、警告音が鳴り、間違った入力箇所がハイライト表示されます。入力を行わない場合は、Back \blacktriangleright を押して Parameter screen に戻ります

Calibration Screen (replicates off)

- Step 13** この画面では、キャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。
- Step 14** リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 15** 標準溶液を挿入します(測定を行う前に、C キーを使用して前回保存した結果を消去してください。) \blacktriangleleft キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。

Step 16 すべての標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。

Step 17 良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。C キーで前回の測定値を消去します。

OK \blacktriangleleft キーを押してキャリブレーションを確定し、Results screen (以下参照)に進むか、Back \blacktriangleright を押して、Standards screen に戻ります。

Calibration Screen (replicates on)

この画面ではキャリブレーション値が表示され、標準溶液の測定ができます。

Step 18 リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。

Step 19 \blacktriangleleft キーを押して、replicate 入力ボックスを表示します。測定を行う前に、C キーを使用して前回保存した結果を消去します

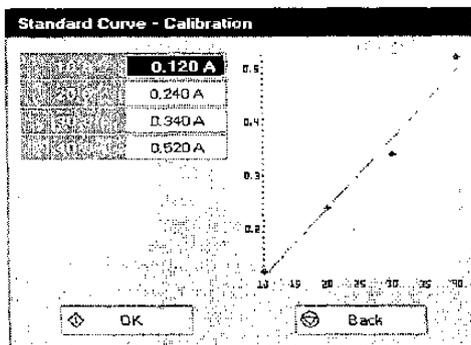
Step 20 標準溶液を挿入します。 \blacktriangleleft キーを押して標準溶液の測定を行い、結果を保存します。

Step 21 すべての replicate と標準溶液に対し、同じ手順を繰り返します。測定が行われると、グラフに結果とそれに合致する曲線が表示されます。

Step 22 良好な結果が得られない場合は、上下の矢印キーを使って、測定を繰り返す標準溶液を選択します。C キーで前回の測定値を消去します。

Step 23 \blacktriangleleft キーを押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back \blacktriangleright を押して、Standards screen に戻ります。

Calibration (Manual entry)



Calibration (Manual entry)

- Step 24** この画面では、前回入力したキャリブレーション値が表示され、キーボードで値を入力することができます。
- Step 25** ハイライト表示されたボックスは編集可能で、キーボードの数字を使って任意の濃度に相当する吸光値を入力できます。範囲:0.001 to 9999 C キーで後退しながら入力されている直前の数字を消去し、上下の矢印キーでボックス間を移動します。
- Step 26** OK を押してキャリブレーションを確定し Results screen (以下参照)に進むか、Back を押して、選択を取り消して Standards screen に戻ります。

Results screen

Standard Curve	
Wavelength 430 nm	Sample 2
Absorbance 0.115 A	Units ug/ml
Curve Fit Regression	Concentration 0.799
Standard Pathlength 10 mm	Sample Pathlength 10 mm

Results screen

- Step 27** リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 28** サンプルを挿入して キーを押します。サンプルの濃度が測定されて表示されます。
- Step 29** すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。
- Step 30** Options を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 31** キーを押して **Functions** フォルダに戻ります

Options (select using key pad numbers)

1	Parameters...
2	Print
3	Graph
4	Edit Sample Pathlength
7	Sample Number...
8	Save Method...
9	Auto-Print

Options (キーボードの数字で選択)

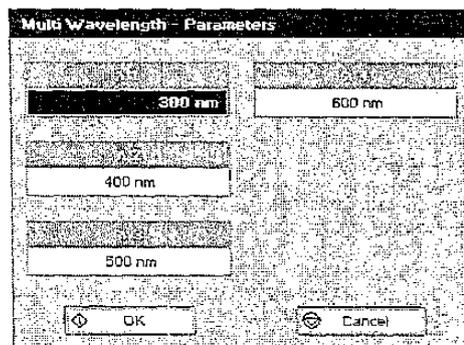
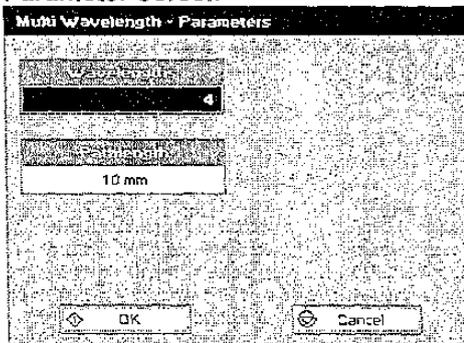
- parameters screen に戻ります。
- 選択したメソッドで結果を印刷します。
- グラフの on と off を切り替えます。検量グラフが表示され、カーソルが最後に測定したサンプルの値を示します。
- サンプルの光路長を編集できます。
- サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- Auto-print -auto-print の on と off を切り替えます。

を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

5.6 多波長測定

同一のサンプルに対し最大5波長の吸光度測定を行うことができます。
手順は以下の通りです。

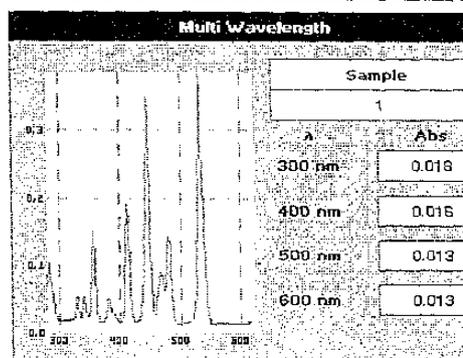
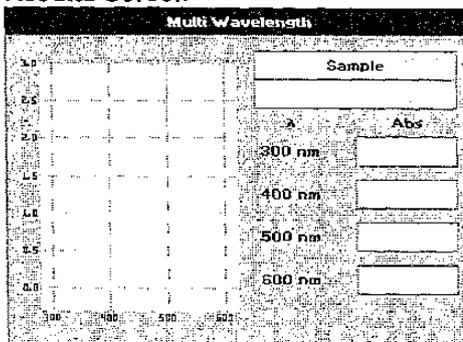
Parameter Screen



Parameter Screen

- Step 1 3を押して *Functions* を選択します。
- Step 2 6を押して *Multi Wavelength* を選択します。
- Step 3 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、*Wavelength* の数を設定します。
- Step 4 左右の矢印キーを使って、*Pathlength* を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 5 OK \blacklozenge を押して次の画面の入力を行います。
- Step 6 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、*first Wavelength* を入力します。
- Step 7 上記と同様に *second Wavelength* を入力します。以下、選択した波長の数だけ同じ手順を繰り返します。
- Step 8 OK \blacklozenge を押して results screen を入力するか、Cancel \odot を押して *Functions* フォルダに戻ります。

Results Screen



Results Screen

- Step 9 リファレンスサンプルを挿入して、Blank キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 10 サンプルを挿入して \blacklozenge キーを押します。
- Step 11 すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。選択した波長の範囲に対し、波長スキャンのグラフ(関連する波長をカーソル表示)と数値の表が表示されます。
- Step 12 *Options* を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 13 \odot キーを押して *Functions* フォルダに戻ります。

Options (select using key pad numbers)

- ① Parameters...
- ② Print

- ④ Print Graph

- ⑦ Sample Number...
- ⑧ Save Method...
- ⑨ Auto-Print

Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) 選択したメソッドでグラフを印刷します。データがない場合は、グラフ表示されません。
- 8) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 9) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 10) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

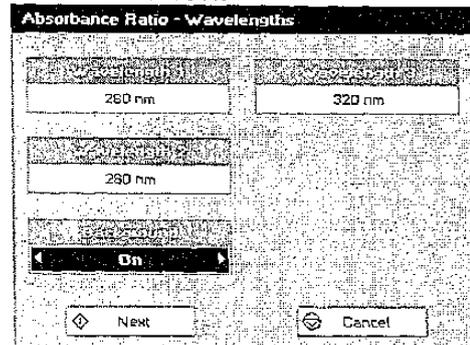
⑦を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

5.7 吸光度比

サンプルを透過した光の量をブランク(空気でも可)と 2 波長において比較測定して、サンプルの簡易吸光度比測定を行います。

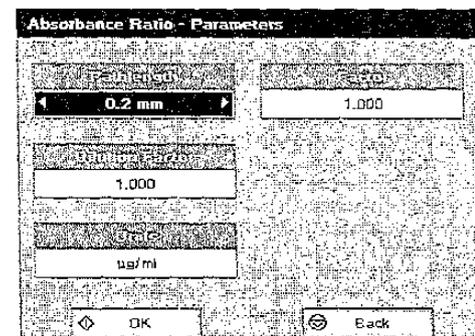
手順は以下の通りです。

Parameter Screen

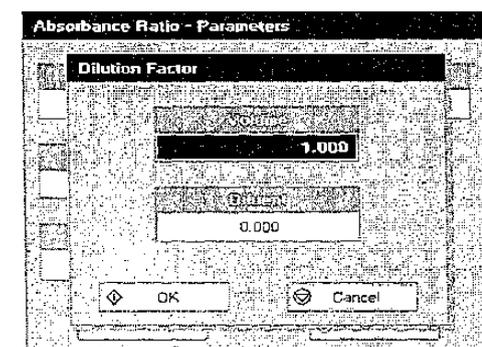


Parameter Screen

- Step 1 3を押して **Functions** を選択します。
- Step 2 7を押して **Absorbance Ratio** を選択します。
- Step 3 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使って、**first Wavelength** を入力します。
- Step 4 上記と同様に **second Wavelength** を入力します。
- Step 5 左右の矢印キーを使って、1および2の波長の両方に **Background** 補正を適用するかどうかを選択します。
- Step 6 (バックグラウンド補正を On にした場合)バックグラウンド補正に使用する **third Wavelength** を入力します。
- Step 7 Next を押して次の画面を入力するか、Cancel を押して **Functions** フォルダに戻ります。

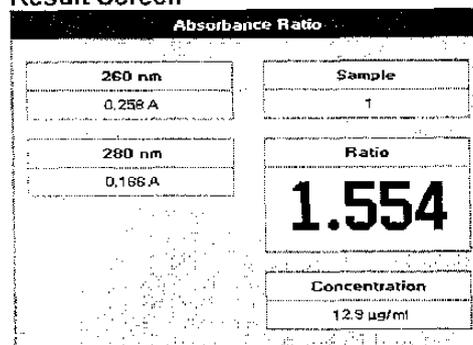


- Step 8 左右の矢印キーを使って、**Pathlength** を選択します。オプションは、LabelGuard applications の場合は、0.2、1、または2 mm、cuvette applications の場合は、5 mm または2 mm です。
- Step 9 (希釈ファクターが既知の場合)キーパッドの数字を使って、**Dilution factor** を 1.00~9999 の範囲で入力します。または、

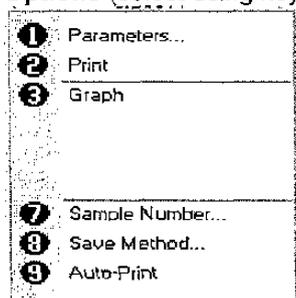


- Step 10 (希釈ファクターを計算する場合) **Options** キー を押します。キーパッドの数字を使って、サンプルの **Volume**(範囲:0.01~9999)を入力します。キーパッドの数字を使って、**Diluent** の量(範囲:0.01~9999)を入力します。
- Step 11 OK を押して、希釈ファクターを計算して、Parameters screen に戻るか、Cancel を押して選択を取り消します。
- Step 12 左右の矢印キーを使って、測定単位を選択します。オプション: $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $\text{ng}/\mu\text{l}$ 、 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
- Step 13 キーパッドの数字を使って、ファクターを入力します(範囲:0.001~9999)
- Step 14 OK を押して results screen を入力するか、Cancel を押して **Functions** フォルダに戻ります。

Result Screen



Options (select using key pad numbers)



Results Screen

- Step 15** リファレンスサンプルを挿入して、**Blank** キーを押します。この値は、再設定されるまで、次のサンプルすべてに適用されます。
- Step 16** サンプルを挿入して \diamond キーを押します。
- Step 17** すべてのサンプルに対し、同じ手順を繰り返します。選択した波長における吸光度が測定されて、波長1と2の比が計算されます(バックグラウンド補正を選択している場合は、どちらもバックグラウンド波長値によって補正済み)。
- Step 18** **Options** を押して以下に記載の使用可能オプションを表示します。
- Step 19** \odot キーを押して **Functions** フォルダに戻ります。

Options (キーパッドの数字で選択)

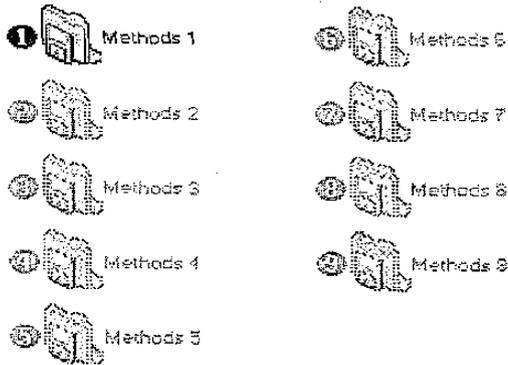
- 1) parameters screen に戻ります。
- 2) 選択したメソッドで結果を印刷します。
- 3) 選択したメソッドでグラフを印刷します。データがない場合は、グレー表示されます。
- 7) サンプル番号 - サンプル番号に前置番号を追加し、増分値をご希望の値に再設定できます。
- 8) 保存方法 - 左右の矢印キーを使用して保存先のフォルダ(User Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。
- 9) Auto-print - auto-print の on と off を切り替えます。

\odot を押して options を終了するか、そのまま待ちます。

6. ユーザーメソッド

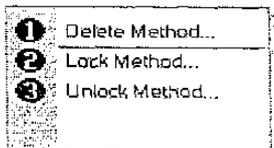
これらのフォルダは、ユーザーが何らかの修正を加えてオプション Options メニューで保存したアプリケーション(メソッド)の保存場所です。ホームのフォルダページから選択できます。このフォルダによって、よく使用するメソッドを素早く選択することができます。最大9つのメソッドをフォルダ内に保存できます。

User Methods



保存したメソッドは、Options メニューでロック、ロック解除、削除することができます。該当するキーパッドの数字を押して、メソッドを選択し、次に **Options** キーを押します。フォルダ名は、整理しやすいように編集可能です。この機能は、6) **Folder Names** 内の **Utilities** で使用できます。

Methods - Methods 1



Delete Method

1を押して delete method を選択します。

左右の矢印キーを使用して削除するメソッドを選択します。

◊を押してメソッドを削除するか、⑦を押して **User Methods** フォルダに戻ります。

Lock Method

2を押して lock method を選択します。

キーパッドの数字または左右の矢印キーを使用して、パスワードを選択します。

◊を押してメソッドをロックするか、⑦を押して **User Methods** フォルダに戻ります。

Unlock Method

3を押して lock unlock method を選択します。

左右の矢印キーを使用して、ロック解除するメソッドを選択します。キーパッドの数字または左右の矢印キーを使用して、パスワードを入力します。

◊を押してメソッドをロック解除するか、⑦を押して **User Methods** フォルダに戻ります。

7. ユーティリティ

使用可能なユーティリティの検索

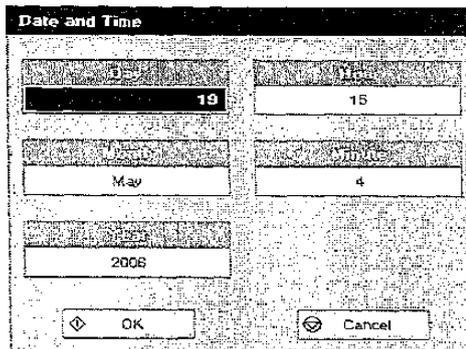
Utilities

- | | |
|---|--|
|  1 Date and Time |  6 Folder Names |
|  2 Regional |  7 About |
|  3 Printer |  8 Games |
|  4 Preferences | |
|  5 Contrast | |

キーボードの数字	説明
1	正確な日付と時刻の設定
2	お好みの数字書式の選択
3	プリンター/出力オプション
4	スクリーンレイアウト(Theme)および履歴の選択
5	画面のコントラストと明るさの調整
6	フォルダ名変更
7	シリアル番号とソフトウェアのバージョン
8	Spectro Blocks/Sudoku

7.1 日付と時刻

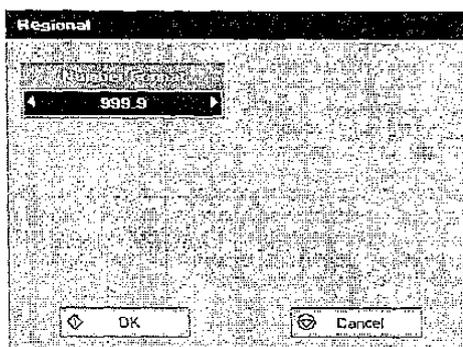
手順は以下の通りです。



- Step 1 キーパッドの数字または左右の矢印キーを使用して、**Day**を入力します。
- Step 2 上記と同様に **Month**を入力します。
- Step 3 **Year**を入力します。
- Step 4 **Hou**を入力します。
- Step 5 **Minute**を入力します。OK を押すと秒はゼロになります。
- Step 6 OK を押して、設定を保存し、**Utilities** フォルダに戻るか、Cancel を押して日時を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

7.2 数値

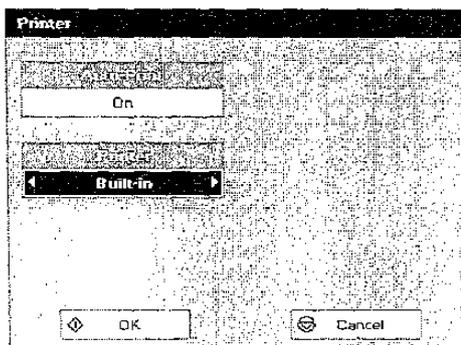
数字の書式を設定します。
手順は以下の通りです。



- Step 1 **Number Format** (小数点スタイル)を設定します。オプションは、"." または "," です。
- Step 2 OK を押して、設定を保存し、**Utilities** フォルダに戻るか、Cancel を押して設定を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

7.3 プリンター

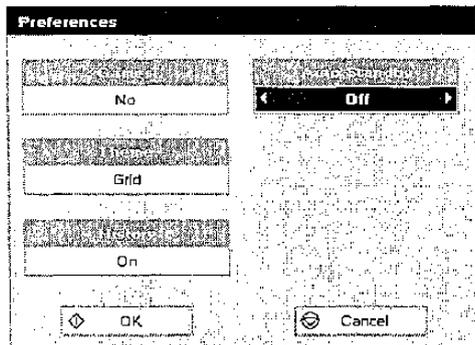
プリンターオプションを設定します。
手順は以下の通りです。



- Step 1 左右の矢印キーで、**Auto-print** を on にするか off にするかを選択します。**Auto-print** を on にすると、結果は測定終了後に自動的に印刷されます。off にすると、印刷は手動で開始する必要があります。各アプリケーションまたはメソッドにおいて、**Options** キーを使って設定することもできます。デフォルト値は OFF です。
- Step 2 データの送信方法を選択します。オプションは、**Built in** (内部プリンター)、または **USB** ポートか **Bluetooth** 経由でコンピュータに送信します。
- Step 3 OK を押して設定を保存し **Utilities** フォルダに戻るか、Cancel を押して設定を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

7.4 お気に入り

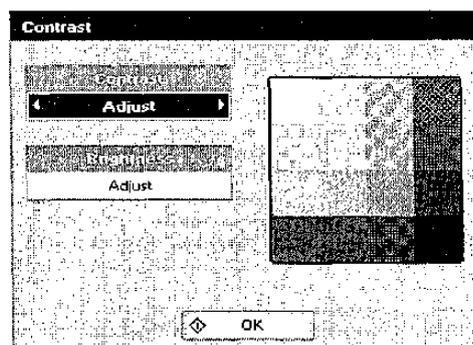
お気に入りを設定します。
手順は以下の通りです。



- Step 1 **Games** 機能を選択して、games フォルダを表示するかどうかを決定します。オプションは yes または no です。
- Step 2 フォルダの **Screen layout (Theme)** を定義します。オプションは、grid フォーマットまたは list です。
- Step 3 前回入力したパラメータを使用するかどうか(メモリー機能)を選択するか、デフォルト設定に戻ります。
- Step 4 指定時間後に **Standby** モードを使用するかどうかを選択します。オプションは 1 時間、2 時間、夜間、または off です。
- Step 5 OK  を押して、設定を保存し、**Utilities** フォルダに戻るか、Cancel  を押して設定を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

7.5 コントラスト

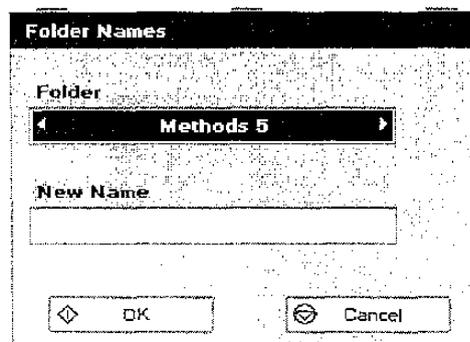
周囲温度は表示に影響することがあります。本機能は、使用場所の条件に合わせて、表示を最適化します。
手順は以下の通りです。



- Step 1 左右の矢印キーを使用して、**Contrast** を調整します。
- Step 2 左右の矢印キーを使用して、**Brightness** を調整します。
- Step 3 OK  を押して、設定を保存し、**Utilities** フォルダに戻ります。

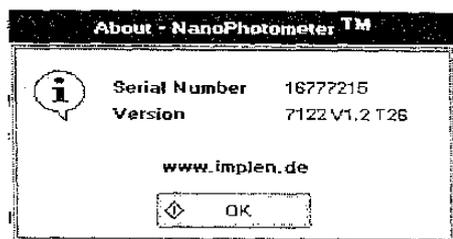
7.6 フォルダ名

このフォルダでは、**Method** フォルダの名前を変更できます。
手順は以下の通りです。



- Step 1 左右の矢印キーを使用して、名前を変更したい **Folder** を選択します。
- Step 2 フォルダの **New name** を入力します。
- Step 3 OK  を押して、設定を保存し、**Utilities** フォルダに戻るか、Cancel  を押して設定を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

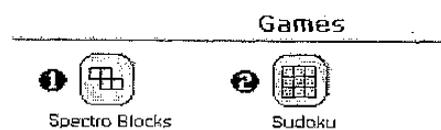
7.7 本装置について



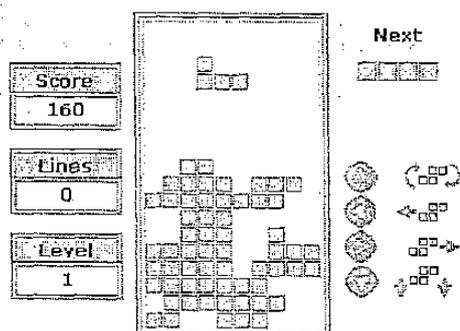
装置のシリアル番号とソフトウェアのバージョンを表示します。

OK  を押してウィンドウを閉じ、**Utilities** フォルダに戻ります。

7.8 ゲーム



7.8.1 Spectroblocks



古典的なブロック落としゲームです。説明にしたがってご使用ください。

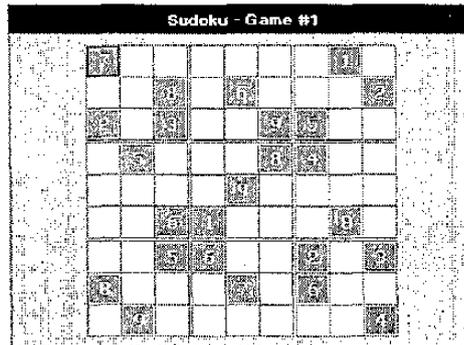
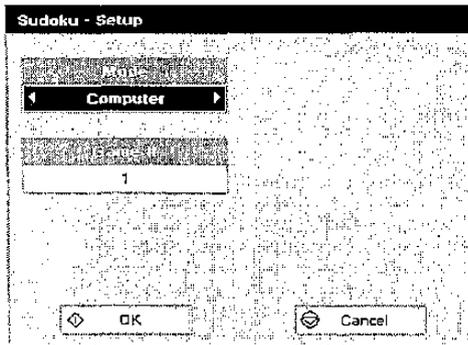
Escape  を押して設定を保存せずに **Utilities** フォルダに戻ります。

7.8.2 Sudoku

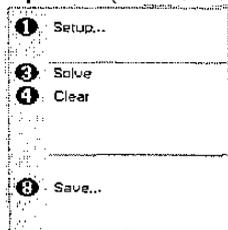
Computer mode (50 種類 のゲーム設定済み) または User mode (自分のパターンを入力)を設定できます。

カーソルでマスを選択して、キーパッドで数字を入力します。有効でない数字は入力できません。少数点を使用して、セルをロック(またはロック解除)できます。ロック解除したセルは C キー(以下のオプションキーも参照)でクリアできます。

user mode にすると、開始画面には空白の枠線が表示されます。



Options (select using key pad numbers)



Options (キーパッドの数字で選択)

- 1) set-up 画面に戻ります。
- 3) 装置がゲームを解読します。
- 4) すべての入力を消去します。
- 8) ゲームを保存します。左右の矢印キーで保存するフォルダ (Methods 1-9)を選択し、下向きキーを押して名前を入力します。

Escape (0) を押して **Utilities** フォルダに戻ります。

8. アクセサリー

• 測光精度および波長制御テスト用 Didymium グラスフィルター	NP-HDF100
• NanoPhotometer™ ソフトウェアパッケージ	NP-SW100
• NanoPhotometer™ 用感熱紙プリンタモジュール	B-80-3003-84
• 取替え用感熱紙プリンタ用紙ロール(5 本パック)	VI-G1D-04712
• Bluetooth 接続モジュール	B-80-3003-96
• NanoPhotometer™ 用ダストカバー	B-80-3004-02

メンテナンス

8.1 アフターサポート

弊社では、お客様が GLP/GMP に関する規約のガイドラインを満たすためのサポート契約をご用意しています。

- キャリブレーション、国際標準に準じたフィルターによる評価
- 有資格エンジニア、キャリブレーション済みテスト機器
- ISO 9001 標準に適合

故障時の補償とは別に、以下の項目を選択することができます。

- 予防的メンテナンス
- 証明書

キャリブレーションスタンダードフィルターを使用する際は、フィルターの滑らかな面がセルホルダーのバネが取り付けられている側の反対に向くよう、ホルダーに挿入してください。

危険なサンプルもしくは溶剤を扱う場合は、必要な予備措置を必ずとってください。

8.2 ランプの交換

キセノンランプは、ご使用後数年間は交換の必要がありません。万一交換が必要になった場合は、販売店のサービスエンジニアにご連絡ください。

8.3 装置のクリーニングと一般的なメンテナンス

外部のクリーニング

装置の電源を切り、電源コードを抜きます。

湿らせた柔らかい布をご使用ください。

すべての外部表面を拭きます。

落ちにくい汚れは液体中性洗剤を使って落としてください。

セルホルダーの交換・クリーニングのための取り外し

セルホルダーは、装置の底面にあるネジを外すと取り外せます。

9. 仕様と保証

技術仕様:

波長レンジ	190 - 1100 nm (full scan range 200-950 nm)
サンプル量	0,7 to 5 µl with LabelGuard™ Microliter Cell, with cuvettes up to 3,5 ml (quartz or plastic)
モノクロメーター	Flat grating
波長キャリブレーション	Automatic upon switch on
スペクトルバンド幅	5 nm
波長精度	±2 nm
波長再現性	±1 nm
光源	Pulsed xenon lamp
ディテクター	1024 element CCD array
測光レンジ	- 0.300 to 2.500A, 0 to 199%T
測光直線性	±0.005 Abs or 1% of the reading, whichever is the greater @ 546 nm
測光再現性	±0.003 Abs (0 to 0.5 Abs), ±0.007 Abs (0.5-1.0 Abs)
迷光	<1% at 220 nm and 340 nm using NaNO ₂
安定性	±0.01 Abs/hour after 20 min warm up @ 340 nm
ノイズ	0.005 pk to pk 0.002 pms
デジタル出力	USB port standard, Bluetooth option
サイズ	260 x 390 x 100 mm
重量	<4.5 kg
電源	90-250 V, 50/60 Hz, Max 30 VA

上記仕様上の測定値は、装置をウォームアップさせた後に一定の温度条件で測定した典型的な値です。弊社の継続的な製品開発の一環として、予告なしに仕様を変更することがあります。

注意: 仕様は予告なしに変更することがあります。

保証

- 製品は、明示した仕様に適合していることを確認するため、十分な検査が行われたことを保証します。製品の保証期間は、取扱説明書にしたがって使用した場合に限り、12ヶ月です。本製品の誤った使用により生じた損失や故障については、弊社および販売店は一切の責任を負いかねます。

10. 付録

10.1 核酸の定量

溶液中の核酸濃度の測定には 260 nm における吸光度を使用します。濃度と吸光度の関係式は Lambert- Beer の式を変形したものです。

$$C_{nuc} = A_{260} * Factor_{nuc} * Lid Factor$$

C_{nuc}	核酸濃度 (ng/ μ l)
A_{260}	核酸の吸光度 (AU)
$Factor_{nuc}$	核酸の物質固有ファクター (ng * cm/ μ l) (ds DNA 50, ssDNA 37, RNA 40, Oligo 33)

10.2 蛍光色素の取込み

プローブ標識後の核酸濃度と色素濃度の測定には、Lambert- Beer の式を変形したものをを用います。

- 260 nm における吸光度 測定への色素寄与を補正した核酸濃度 の計算.

$$C_{nuc} = [A_{260} - (C_{f260} * A_{max})] * Factor_{nuc} * Lid factor$$

C_{nuc}	核酸濃度 (ng/ μ l)
A_{260}	核酸の吸光度 (AU)
C_{f260}	260 nm における補正ファクター (%)
A_{max}	色素の吸収極大における吸光度 (AU)
$Factor_{nuc}$	核酸の物質固有ファクター (ng * cm/ μ l) (ds DNA 50, ssDNA 37, RNA 40, Oligo 33)

- 色素濃度の計算

$$C_{dye} = (A_{max} * Lid factor) / (\epsilon_{dye} * 10^{exp-6})$$

C_{dye}	色素濃度 (pmol/ μ l)
A_{max}	色素の吸収極大における吸光度 (AU)
ϵ_{dye}	色素の吸光係数 (μ l/pmol * cm)

- 色素の 1,000 塩基当たり取込み率 (FOI) の計算

$$\text{Formula for dsDNA:} \quad FOI = (6,49 * A_{max}) / (\epsilon_{dye} * 10^{exp-6} * A_{260,corrected})$$

$$\text{Formula for ssDNA:} \quad FOI = (8,77 * A_{max}) / (\epsilon_{dye} * 10^{exp-6} * A_{260,corrected})$$

$$\text{Formula for RNA:} \quad FOI = (8,11 * A_{max}) / (\epsilon_{dye} * 10^{exp-6} * A_{260,corrected})$$

$$\text{Formula for Oligonucleotides:} \quad FOI = (9,83 * A_{max}) / (\epsilon_{dye} * 10^{exp-6} * A_{260,corrected})$$

A_{max}	色素の吸収極大における吸光度 (AU)
ϵ_{dye}	色素の吸光係数 (μ l/pmol * cm)
$A_{260, corrected}$	$A_{260} - (C_{f260} * A_{max})$

本装置には以下の色素タイプとパラメータが予めプログラムされています。

Dye Type	Absorption max. Dyes (nm)	Ext. Coeff. ϵ	Correction factors 260 nm % (Nucleic Acid)
Alexa Fluor 350	345	18400	0,25
Alexa Fluor 488	492	62000	0,30
Alexa Fluor 532	525	82300	0,24
Alexa Fluor 546	555	104000	0,21
Alexa Fluor 555	555	150000	0,04
Alexa Fluor 568	576	93000	0,45
Alexa Fluor 594	588	80400	0,43
Alexa Fluor 647	650	239000	0,00
Alexa Fluor 660	660	107000	0,00
Alexa Fluor 680	680	164000	0,00
Cy3	550	150000	0,08
Cy3.5	581	150000	0,08
Cy5	649	250000	0,05
Cy5.5	675	250000	0,05
Oyster-500	503	78000	0,29
Oyster-550	553	150000	0,05
Oyster-556	560	155000	0,03
Oyster-645	649	220000	0,05
Oyster-650	653	200000	0,04
Oyster-656	660	200000	0,04
Texas Red	593	85000	0,23

Average Detection Range and Required Sample Volumes for Undiluted Nucleic Acid Samples in the NanoPhotometer™

	Factor	1 mm Lid (Factor 10) [ng/ μ l]	0.2 mm Lid (Factor 50) [ng/ μ l]	Total Detection Range [ng/ μ l]
dsDNA	50	15 - 800	100 - 4.000	15 - 4.000
ssDNA	37	12 - 600	80 - 3.950	12 - 3.950
RNA	40	12 - 640	85 - 3.200	12 - 3.200
Oligo	30	10 - 480	65 - 2.400	10 - 2.400
Corresponding Absorbance Value Limits for A 260		0,025 to 1,6 Abs	0,025 to 1,6 Abs	
Required Sample Volume		3-5 μ l	0,7 to 4 μ l	

【お問い合わせ先】

アズワン株式会社 バイオサイエンスグループ

大阪 〒550-8527 大阪市西区江戸堀 2-1-27

TEL 06-6447-8633 FAX 06-6447-8683

東京 〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町 2-6-4

TEL 03-3249-2072 FAX 03-3249-2100

Mail bio@so.as-1.co.jp

URL <http://www.bio-lab.jp>