

GloMax®-Multi Detection System: Luminescence, Fluorescence and Absorbance in One Instrument

GloMax® -Multi Detection System : 1台で発光、蛍光、吸光を測定するマルチプレートリーダー

Kevin Kopish, Promega Corporation



図 1. GloMax®-Multi Detection System

アブストラクト

GloMax® -Multi Detection Systemは、GloMax®シリーズに新たに加わった次世代のマルチプレートリーダーです。従来のGloMax®ルミノメーターの優れた発光測定パフォーマンスはそのまま受け継がれ、加えて蛍光測定および吸光測定の機能が追加されました。

GloMax® -Multi Detection Systemの簡便な操作性と高いパフォーマンスにより、研究室における柔軟性が向上し、良質で、生物学的に関連性の高いデータをより簡便に取得することができます。

イントロダクション

生物学分野の研究はますます複雑化しており、新たな発見を続けるには高性能のツールがこれまでも増して不可欠となってきています。実験で生成されるデータの種類にもっとも大きな役割を果たすのはアッセイの選択であるとされる一方で、装置が果たす役割はしばしば見過ごされてきました。実験の結果を忠実に反映することができるアッセイを用いることは、質の高いデータを得るうえで極めて重要です。アッセイシグナル値の測定に用いる装置も同様にきわめて重要です。

生物発光を利用するアッセイ技術は、高い感度と広いダイナミックレンジで知られています。ルシフェラーゼは発光基質に依存するので、異なる種類のルシフェラーゼを1つのアッセイで同時に用いることができ、アッセイ系を工夫することでそれぞれのルシフェラーゼ活性を独立して測定することができます。このような複合的なアッセイにはDual-Luciferase® AssayやChroma-Glo™ Luciferase Assayなどがあります。また、蛍光アッセイ試薬を使用した後に発光アッセイを行って1つのサンプルから独立した2つのデータポイントを得るというマルチプレックスな分析を行うこともできます(1)。このような方法は、生成されたデータの一貫性を高め、研究対象とした生物学的プロセスの理解をより深めます。

GloMax® シリーズの各装置は、生物発光アッセイで得られたシグナルを最適に測定できるよう設計されています。GloMax®-Multi Detection System (図1)は GloMax® シリーズの次世代ルミノメーターです。96ウェルフォーマットのアッセイにおいて、すぐれた発光測定能を発揮するだけでなく、吸光度や蛍光の検出モジュールも利用することができます。操作性にすぐれた1台の装置にさまざまな機能が搭載されていますので、特にマルチプレックスに分析を行う場合に、質の高いデータの取得を可能にする理想的なプラットフォームとなります。

最適な結果を得るための独立した検出モジュール

GloMax®-Multi Detection Systemは、完全独立型の発光、蛍光、吸光度検出モジュール方式を採用しています(図2)。各モジュールは最良のパフォーマンスを発揮できるよう光路と検出器が最適化されています。

一般的なルミノメーターでは、遮光構造となっている筐体内に光に対して鋭敏なフォトマルチプライヤーチューブ (PMT) が設置されています。PMTは最大感度が発揮できるよう、また光の全波長をシグナルとして捉えられるよう、光を発生するサンプルに近い位置に取り付けられています。吸光度、蛍光、発光を測定できる多機能な測定装置は柔軟性に富んではいるものの、多くの装置では発光の測定が最適に行える設計になっていません。さまざまなシグナルを測定するために必要なフィルターホイールや、光ファイバーケーブル、その他の部品などが設置されているため、光路長が長くなり、感度やダイナミックレンジが犠牲にされている例が多く見られます。その結果、非常に明るいサンプルや逆に暗いサンプルでは適切に測定できない場合があり、データの質が低下します。その点、GloMax®-Multi Detection Systemは、高品位の独立型ルミノメーターと同等の発光検出性能を備えた設計となっています。



図2. GloMax®-Multi Detection Instrumentの内部

GloMax®-Multi Absorbance Module (カタログ番号 E7061) はLEDベースの光源と6ポジションのフィルターホイールを搭載しています。フィルターホイールには、代表的な研究用途 (ELISA、タンパク定量など) に適したフィルターが予め4枚取り付けられています。残る2つのポジションには、研究用途に応じてその他のフィルターを取り付けることができます。CellTiter 96® AQueous Cell Viability Assayのシグナル測定に最適な490 nmフィルターは別売りとなっています。

GloMax®-Multi Fluorescence Module (カタログ番号 E7051) では、最適な光源と励起・蛍光フィルターの組み合わせで構成されるOptical Kitを使用します。様々なOptical Kitが用意されていますので汎用される多様な蛍光物質 (フルオレセイン、ローダミン、Cy®3、Cy®5、Hoechstなど) をGloMax®-Multi Detection Systemで使用することができます。LEDベースの励起光と高品質フィルターのセットを慎重に選ぶことにより、広スペクトル光源で励起するランプベースの測定システムと同等以上の蛍光測定システムを実現できます。

適切なOptical Kitをセットしてサンプルを測定するだけで理想的なアッセイ性能が得られるよう、各Optical Kitは特定の用途を念頭において設計されています。

容易な操作

GloMax®-Multi Detection System はすべての操作をタッチスクリーン・インターフェイスで行うことができます。一般的な実験アッセイのプロトコルはもちろん、さまざまなプロメガのアッセイプロトコルも予めインストールされています。このシステムは、プロトコルを修正したり新しい方法を作成したりできる柔軟性も兼ね備えています。データを装置に保存することができ、付属のUSBフラッシュドライブを使ってデータを移動させることもできますので、研究室内で独立したワークステーションとして使用することができます。これにより計算リソースをデータ収集から開放することもできるので、より多くのリソースを分析にまわすことができます。

装置とアッセイを組み合わせた設計

GloMax®-Multi Detection Systemのアッセイのために計算されたデザインの有効性は、MultiTox-Glo Assay (カタログ番号 G9270) で実証されています。このアッセイでは蛍光物質AFCで標識した生細胞由来プロテアーゼ基質が用いられます。この生細胞由来基質をインキュベーションした後、AFC Optical Kitをセットした GloMax®-Multi Detection Systemで蛍光を測定します。生細胞の測定が完了した後、同じサンプルを用いて発光性の死細胞由来プロテアーゼ基質で死細胞の相対数を測定することができます。この2つのシグナルをマルチプレックスに測定することにより、試薬を逐次添加した1ウェルのサンプルから細胞生存率と細胞毒性の両方について正確な測定値を得ることができます (図3)。GloMax® Systemの性能を最適化することで、両方のシグナルから質の高いデータを収集することができます。

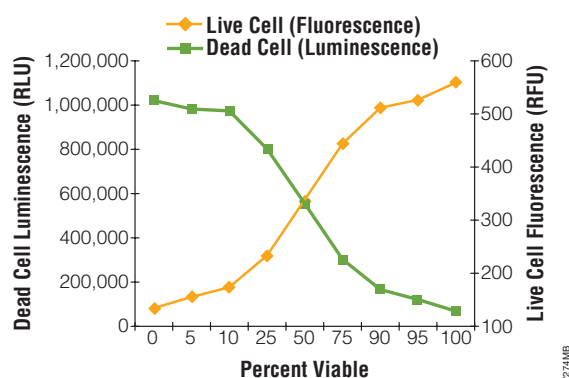


図3. GloMax®-Multi Detection Systemを用いたMultiTox-Glo Assayの結果

Jurkat細胞を10% FBS含有RPMI 1640で1 mlあたり100,000個の細胞密度に調整した。細胞プールを2つのフラクションに分割し、一方には弱い超音波処理を行って細胞毒性を100%誘導し、もう一方には処理を施さなかった。次いで、細胞生存率が0~100%となるように2つのフラクションを様々な割合で混合し、プレートに100 µlずつ播種した (1ウェルあたり細胞約10,000個)。10% FBS含有RPMI 1640をバックグラウンドコントロールとして使用した。各ウェルにGF-AFC Reagent (50 µl) を添加し、37℃で30分間インキュベーションした後、AFC Optical Kit をセットしたGloMax®-Multi Detection Systemで蛍光を測定した。AAF-Glo™ Reagentを1ウェルあたり50 µl添加し、室温で15分間インキュベーションした後、GloMax®-Multi Detection Systemで発光を測定した。無細胞バックグラウンドの蛍光量と発光量をデータセットから差し引いた値を図示した。

結論

GloMax®-Multi Detection System は各種のアッセイ (プロメガのアッセイを含む) を組み合わせることができる高性能システムですので、研究の自由度が高まり、生物学的に重要な質の高いデータを容易に生成できるようになります。また、GloMax®-Multi Detection System が持つ多機能性により、マルチプレックスなアッセイを容易に行うことができます。これは、1つのサンプルから得られるデータが増えることを意味しています

参考文献

1. Niles, A. (2006) *Cell Notes* **16**, 12 5.

プロトコル

- ◆ GloMax®-Multi Detection System Technical Manual #TM297
www.promega.com/tbs/tm297/tm297.html
- ◆ MultiTox-Glo Multiplex Cytotoxicity Assay Technical Bulletin #TB358
www.promega.com/tbs/tb358/tb358.html

製品案内

製品名	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
GloMax®-Multi Luminescence System			3,000,000
構成:			
・ GloMax®-Multi Base Unit (筐体)	1台	E7031	
・ GloMax®-Multi Luminescence Module (発光ユニット)	1セット	E7041	

※GloMax®-Multi Luminescence Systemは、E7031 + E7041で構成されるルミノメーターです。

オプション

検出モジュール

・ GloMax®-Multi Fluorescence Module (蛍光ユニット)	1セット	E7051	850,000
・ E7051には、GloMax®-Multi Optical Kit UV, Blue, Green, Redの4種類が含まれます。			

GloMax®-Multi Absorbance Module (吸光ユニット)	1セット	E7061	350,000
--	------	-------	---------

インジェクター

GloMax®-Multi Single Injector System	1セット	E7071	500,000
GloMax®-Multi Dual Injector System	1セット	E7081	850,000

アクセサリ

GloMax®-Multi Optical Kit AFC	1セット	E8917	130,000
-------------------------------	------	-------	---------