

Quantus™ Fluorometer を用いた QuantiFluor® ONE dsDNA System の測定

【QuantiFluor® ONE dsDNA System の測定には、ver. 2.22 以上のファームウェアが必要です。】

準備するもの

- P2 のマイクロピペッターの専用のチップ (微量の分注を行うため、これらの使用が望ましい)
- P20、P200 のマイクロピペッターおよびそれらのディスプレイ

製品内容

カタログ番号	E4871	E4870
サイズ	100 回分	500 回分
QuantiFluor® ONE dsDNA Dye	20ml	5×20ml
Lambda DNA Standatrd, 400µg/ml	80µg	400µg
1× TE Buffer(pH 7.5)	10ml	25ml

保存温度： 4 °C

測定チューブ： 製品に測定チューブは含まれておりません。下記製品をご購入ください。

製品名	個数	カタログ番号
0.5ml PCR Tubes	50 個入	E4941
	200 個入	E4942

Quantus™ Fluorometer



決定キー

原理と概要

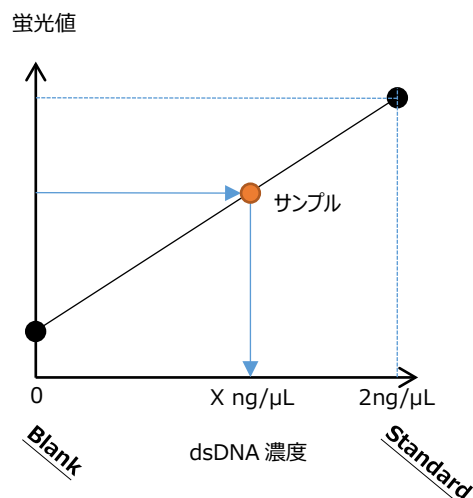
QuantiFluor® ONE dsDNA Dye は dsDNA 特異的な蛍光試薬です。

また、Quantus™ Fluorometer は、小型の蛍光光度計です。

蛍光試薬のバックグラウンド(Blank)と 2ng/µL の DNA 溶液の蛍光値 (Standard)を Quantus™ Fluorometer で測定します。

これらの蛍光値からスタンダードカーブが、Quantus™ Fluorometer に自動的に生成されます。

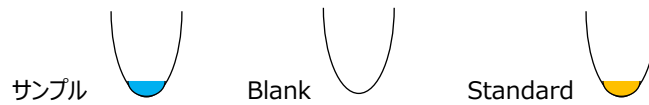
サンプルも同様に、QuantiFluor® ONE dsDNA System の蛍光試薬と混合し、Quantus™ Fluorometer で測定します。測定結果の蛍光値から、このスタンダードカーブよりサンプルに含まれる dsDNA の濃度を自動的に算出し、表示します。



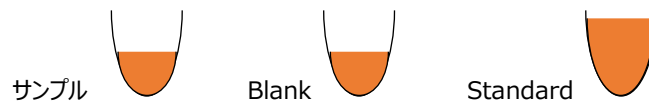
QuantiFluor® ONE dsDNA Dye およびサンプルの調製

1. “サンプル”、“Blank”、“Standard”、の測定チューブを準備する。
“サンプル”の測定チューブの数は、サンプル数に応じて、準備してください。
それぞれのチューブに下記のように、溶液を加える。

- サンプル : 2 μ L のサンプル (最大 20 μ L まで可)
- Blank : なにも加えない
- Standard : 2 μ L の Lambda DNA Standard (400ng/ μ L)

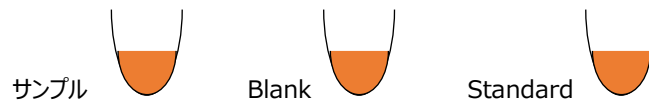


2. “Blank”と“サンプル”の測定チューブに、200 μ L の QuantiFluor® ONE dsDNA Dye を加える。
“Standard”の測定チューブに、**400 μ L** の QuantiFluor® ONE dsDNA Dye を加える。



3. 3 回以上のピペティングまたはボルテックスにより、十分に攪拌する(攪拌が不十分な場合、蛍光値が低くなります)。
4. “Standard”の測定チューブから、200 μ L を取り除き、約 200 μ L を残す。

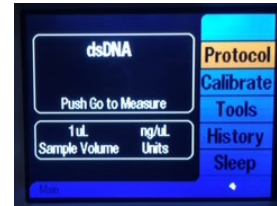
※ 正式な英文プロトコルでは、Lambda DNA Standard 1 μ L + QuantiFluor® ONE dsDNA Dye 199 μ L となっています。本紙では、正確な定量性の確保のため、Lambda DNA Standard 2 μ L + QuantiFluor® ONE dsDNA Dye 398 μ L の混合液(合計 400 μ L)から半量(200 μ L)の使用にて記載しております。



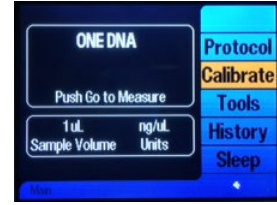
5. 遮光して、室温で 5 分間インキュベートする。

Quantus™ Fluorometer を使った dsDNA 濃度の測定

1. 電源を差し込み、ホーム画面から“Protocol”を選択し、決定キーを押す。
※この機器には、電源ボタンはありません。



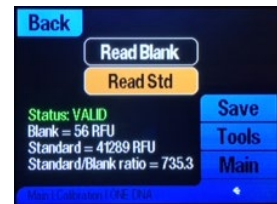
2. “ONE DNA”を選択し、決定キーを押す。
“Calibrate”を選択し、決定キーを押す。



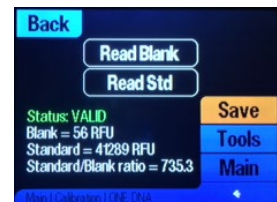
3. Quantus™ Fluorometer のフタを開け、チューブホルダーに“Blank”の測定チューブをセットし、フタを閉める。
“Read Blank”を選択し、決定キーを押して、“Blank”を測定する。



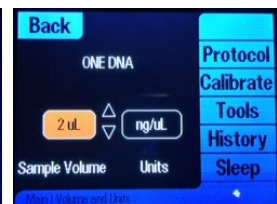
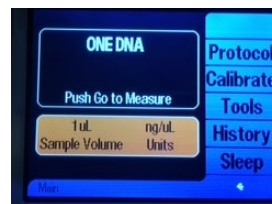
4. フタを開け、“Blank”の測定チューブを取り出し、“Standard”の測定チューブをセットし、フタを閉める。“Read Std”を選択し、決定キーを押して、“Standard”を測定する。



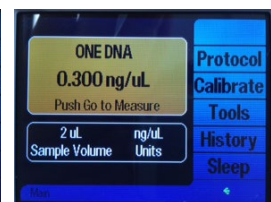
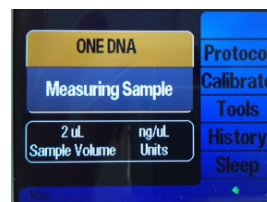
5. 次に、画面上に Status : VALID と表示されていれば、“Save”を選択する。
※ INVALID の場合、Standard : Blank ratio の値を確認してください。
※ このキャリブレーションデータが機器に保存され、以降の測定結果を濃度表示するときに利用されます。



6. ホーム画面の下段において、Sample Volume を“2μL”、Unit を“ng/μL”に設定する。
※ 詳細は、本紙 4 ページの“その他の機能”の“サンプル量および単位の設定”をご覧ください。



7. “サンプル”の測定チューブをチューブホルダーにセットし、フタを閉める。
自動的に測定が始まり、測定後に自動計算された濃度が画面に表示される。



8. 以降、サンプルを連続して測定できる。
※ 測定したデータは最大 50 個まで、Quantus™ Fluorometer 内のメモリに保存されます。

その他の機能

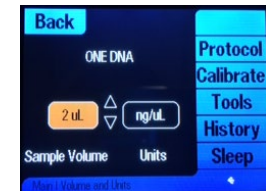
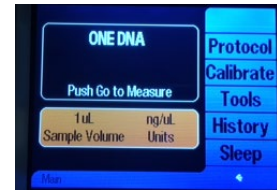
● サンプル量および単位の設定

画面の下段を、決定キーで選択することにより、Sample VolumeとUnitを設定できます。本プロトコルでは、サンプル量は2 μ L、単位はng/ μ Lで使用しています。

この設定に基づいて、Quantus™ Fluorometerは希釈倍率を自動計算し、希釈前のサンプルの濃度を表示します。

サンプル量は、1~10(1 μ L刻み)、15、20、25、50、100、150、200 μ Lから選択できます。

また、単位はng/ μ L、ng/mL、 μ g/mL、mg/mL、Autoから選択できます。



● PCへの出力

Quantus™ SoftwareをインストールしたPCとQuantus™ FluorometerがUSBケーブルで接続していると、測定結果をPCのQuantus™ Softwareに表示することができます。Quantus™ SoftwareでPCに取り込んだデータはcsvファイルとして、Exportすることができます。

Sample ID	Protocol	Concentration	Unit	Status	Raw Data	Blank	Standard
0	ONE DNA	-0.0071	ng/uL	LOW	-89	56	41289
0	ONE DNA	1.37	ng/uL	OK	197	56	41289
0	ONE DNA	-0.0054	ng/uL	LOW	-55	56	41289
0	ONE DNA	0.387	ng/uL	OK	96	56	41289

● Raw Measurementモード

BlankやStandardを設定せずに、Rawデータを測定するモードです。

1. “Tool”を選択し、続いて、“Raw Measurement”を選択する。
2. 使用するモード(QuantiFluor® ONE dsDNA System (は“Blue”が対応))を選択し、決定キーを押す。

