

Technical Data

FastGene™ NanoSpec/NanoView フォトメーターの性能評価

評価製品

FastGene™ NanoSpec フォトメーター
(FastGene, Cat.No. FG-NP01)

FastGene™ NanoView フォトメーター
(FastGene, Cat.No. FG-NP02)



NanoSpec



NanoView

目的

NanoSpecとNanoViewの定量性・測定精度を他社製品Aと比較検証する。

概要

FastGene™ NanoSpec フォトメーター (以下NanoSpec) と FastGene™ NanoView フォトメーター (以下NanoView) は、サンプル量わずか1-2 μL で計測可能な、超微量分光光度計です。

本テクニカルノートでは、NanoSpecとNanoView、比較対象機種として他社製品Aを用いて、検量線の直線性と測定誤差を評価しました。また、ゲノムDNA、PCR産物、プラスミドDNAを用いた測定も行いました。

その結果、NanoSpecとNanoViewは、メーカーの定める2-100 $\text{ng}/\mu\text{L}$ の範囲において、他社製品Aと遜色ない精度で、定量的に評価できることが確認できました。

実験条件

実験1. 検量線の作成

- 標準的な二本鎖DNAとしてdsDNAスタンダードサンプルを使用し、DNase Free waterで希釈することで、希釈系列 (50, 20, 10, 5, 2 $\text{ng}/\mu\text{L}$) を作成した。
- 希釈系列の測定を行い、検量線を作成した。(n=10)
- 測定誤差を確認するため、各希釈系列における変動係数を求めた。

実験2. 様々なDNAの測定

- NanoSpec, NanoViewを用いて、下記のDNAの測定を行った。(n=3)
- dsDNA同様に定量評価されることを確認するために、取得した吸光度、DNA濃度を検量線に重ねてプロットし、機器が表示するDNA濃度と、検量線に基づき算出されるDNA濃度を比較した。

【測定サンプル】
1. 濃度既知サンプル

- dsDNA スタンダードサンプル
使用製品：Qubit dsDNA BR Kit, 100 $\text{ng}/\mu\text{L}$ BR Standard #2 (Thermo Fisher Scientific, Cat.No. Q32850)
- ゲノムDNA
使用製品：200 $\text{ng}/\mu\text{L}$ Human Genomic DNA (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社, Cat.No. 11691112001)

2. 濃度未知サンプル

- 精製PCR産物 (295 bp)
PCR：KAPATaq Extra Hot Start ReadyMix with dye (KAPA BIOSYSTEMS, Cat.No. KK3606, KK3607)
精製：アンピュア XP (BECKMAN COULTER (Agencourt), Cat.No. A63880, A63881, A63882) を使用
- プラスミドDNA (pBR322)
精製：QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN, Cat.No. 27104, 27106) を使用

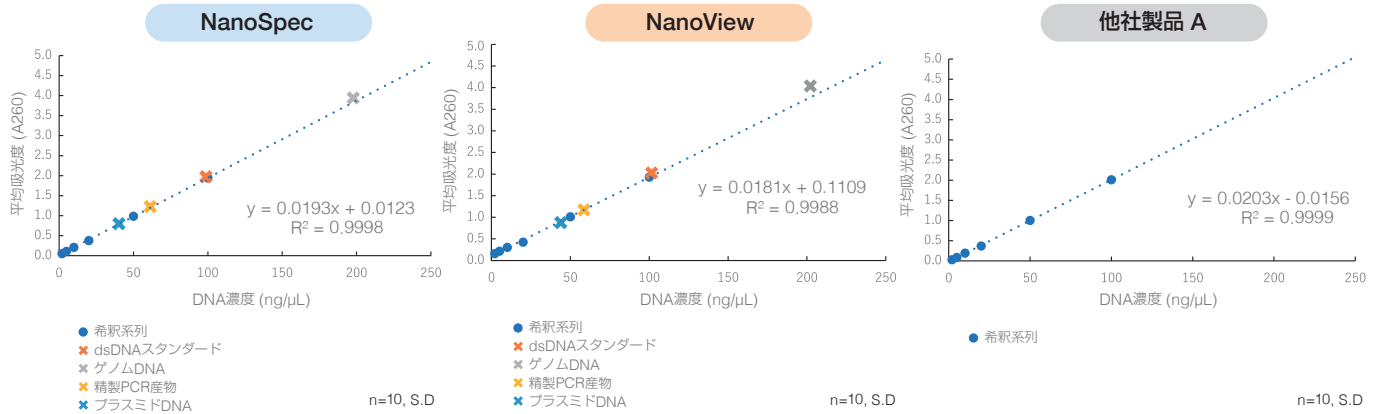
【参考：NanoSpec、NanoView、他社製品Aの主な機能の違い】

	NanoSpec	NanoView	他社製品A
測定可能波長	190~850 nm	260, 280, 600 nm ※固定波長 ※600 nmはキュベットのみ	190~850 nm
スペクトル波長の取得	○	×	○
A260/A230比の取得	○	×	○
測定モード数	20種類以上	10種類	20種類以上
最小サンプル量 (台座使用時)	1 μL	2 μL	1 μL
測光範囲 (台座使用時)	0.02-330Abs	0-40Abs	0-550Abs
核酸濃度測定範囲 (台座使用時)	2-16,500 $\text{ng}/\mu\text{L}$	2-2,000 $\text{ng}/\mu\text{L}$	2-27,500 $\text{ng}/\mu\text{L}$
光源	キセノンフラッシュランプ	LED	キセノンフラッシュランプ
検出器	CMOS linear image sensor (2048 pixels)	Silicon photodiode	2048 element CMOS Linear Image Sensor

実験結果

各DNA濃度に対するDNA量と吸光度の関係

図1：各機器の検量線

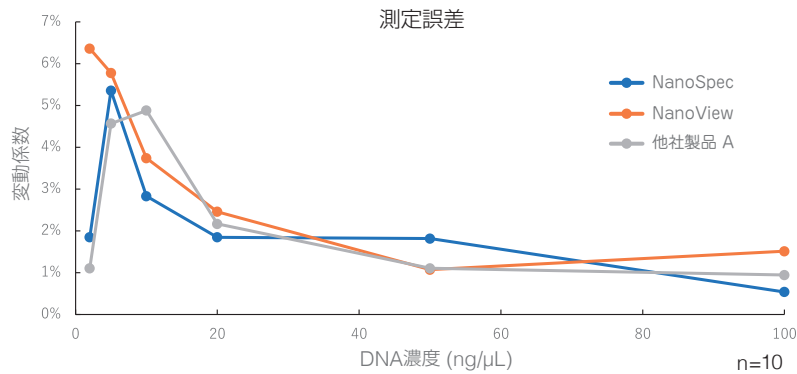


結果

各機種で2-100 ng/μLの範囲で、検量線の直線性が得られた(図1、青ドット)。

各DNA濃度に対する誤差の評価

図2：各機器の測定誤差



測定誤差						
DNA濃度 (ng/μL)	2	5	10	20	50	100
NanoSpec	1.85%	5.36%	2.83%	1.85%	1.82%	0.54%
NanoView	6.36%	5.78%	3.74%	2.46%	1.07%	1.51%
他社製品 A	1.11%	4.57%	4.88%	2.17%	1.11%	0.94%

結果

20-100 ng/μLの範囲では、測定誤差は3%以下であった。一方、2-10 ng/μLの範囲では、7%以下の測定誤差であった。この誤差の大きさは、他社製品 Aと比較して同程度であった(図2)。

様々なDNAの測定

[表1-1：測定結果]

1. dsDNA スタンダードサンプル

NanoSpec								NanoView							
測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D	測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D
97.6	98.7	1.1	1.820	1.950	1.070	1.9733	0.0205	99.55	101.5	1.5	2.172	1.991	0.917	2.0290	0.0295
100.2			1.820	2.000	1.100			101.65			2.175	2.033	0.935		
98.3			1.820	1.970	1.080			103.2			2.224	2.063	0.927		

2. ゲノムDNA

NanoSpec								NanoView							
測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D	測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D
199.7	197.7	2.5	1.980	3.990	2.020	3.9520	0.0404	201.3	202.1	1.4	2.231	4.026	1.805	4.0413	0.0191
198.5			1.990	3.970	2.000			200.9			2.224	4.018	1.806		
194.8			1.909	3.896	2.040			204.0			2.210	4.080	1.846		

3. 精製PCR産物

NanoSpec								NanoView							
測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D	測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D
62.3	61.4	0.6	1.810	1.246	0.690	1.2273	0.0132	58.8	58.7	0.3	2.281	1.176	0.516	1.1733	0.0060
60.9			1.820	1.218	0.670			58.3			2.246	1.165	0.519		
60.9			1.810	1.218	0.670			59.0			2.247	1.179	0.525		

4. プラスミドDNA

NanoSpec								NanoView							
測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D	測定濃度 (ng/μL)	平均測定濃度 (ng/μL)	S.D	A260/A280	A260	A280	A260の平均値	S.D
40.1	40.3	0.2	1.900	0.800	0.420	0.8033	0.0082	42.6	43.9	1.3	2.053	0.852	0.415	0.8783	0.0267
40.2			1.860	0.800	0.430			43.4			2.084	0.868	0.416		
40.5			1.840	0.810	0.440			45.8			2.114	0.915	0.433		

[表1-2：検量線からの濃度差]

	NanoSpec				NanoView			
	平均吸光度 (A260)	平均測定濃度 (ng/μL)	検量線に基づく濃度 (ng/μL)	濃度差 (%)	平均吸光度 (A260)	平均測定濃度 (ng/μL)	検量線に基づく濃度 (ng/μL)	濃度差 (%)
1. dsDNA スタンダードサンプル	1.973	98.7	101.6	2.86%	2.029	101.5	106.0	4.27%
2. ゲノムDNA	3.952	197.7	203.5	2.87%	4.041	202.1	217.2	6.95%
3. 精製PCR産物	1.227	61.4	63.0	2.54%	1.173	58.7	58.7	0.05%
4. プラスミドDNA	0.803	40.3	41.0	1.77%	0.878	43.9	42.4	3.58%

結果

機器の表示DNA濃度は、検量線に基づく濃度と近似しており、dsDNAスタンダードサンプルと同一検量線上で評価できることが確認できた (図1、表1-2)。

結論

NanoSpecとNanoViewは、2-100 ng/μLの範囲のDNAを他社製品Aと同程度の精度で、定量評価できる機器である。