

製品仕様			
Description	Big Lunatic Specifications	IQOQ 21CFR part 11	Little Lunatic Specifications
サンプル量	2 µL		2 µL
サンプル数	96 per Lunatic Plate		16 per Lunatic Chip
Sample run time	5 minutes per Lunatic Plate		2 minutes per Lunatic Chip
IgG 測定レンジ	Lunatic Plate: 0.02–29 mg/mL High Lunatic Plate: 0.02–200 mg/mL		Lunatic Chip: 0.02–29 mg/mL High Lunatic Chip: 0.02–200 mg/mL
dsDNA 測定レンジ	Lunatic Plate: 1.5–2,000 ng/µL High Lunatic Plate: 1.5–13,750 ng/µL		Lunatic Chip: 1.5–2,000 ng/µL High Lunatic Chip: 1.5–13,750 ng/µL
光路長	Lunatic Plate: 0.5 mm High Lunatic Plate: 0.1 and 0.7 mm		Lunatic Chip: 0.5 mm High Lunatic Chip: 0.1 and 0.7 mm
光源	Xenon flash lamp		Xenon flash lamp
検出	UV/Vis polychromatic spectrophotometer		UV/Vis polychromatic spectrophotometer
波長範囲	230–750 nm		230–750 nm
本体サイズ、重量	37 cm W x 46 cm D x 33 cm H, 21 kg		23 cm W x 30 cm D x 28 cm H, 9 kg
電源	Universal input, voltage 100–240 V AC, 50–60 Hz		Universal input, voltage 100–240 V AC, 50–60 Hz
コントロールPC	製品付属PC		Preinstalled software, 7" full-color touch screen

消耗品			
	Product name	Description	希望小売価格
Big Lunatic用	10 High Luna Plates	Box of 10 High Lunatic Plates, 0.03-275 OD. 96 samples per plate. For use with Big Lunatic, DropSense96 or DropSense96 Classic.	¥53,700
	10 Luna Plates	Box of 10 Lunatic Plates, 0.03-40 OD. For use with Big Lunatic, DropSense96 or DropSense96 Classic.	¥45,900
Little Lunatic用	25 High Luna Chips	Box of 25 Lunatic Chips, 0.03-275 OD. 16 samples per chip. For use with Little Lunatic or DropSense16.	¥22,400
	25 Luna Chips	Box of 25 Lunatic Chips, 0.03-40 OD. 16 samples per chip. For use with Little Lunatic or DropSense16.	¥19,000

掲載されている価格は2019年4月現在の希望小売価格です（消費税は含まれておりません）。
希望小売価格は単なる参考価格であり、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。
掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。
掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。
掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

次世代のハイスループット微量分光光度計

LUNATIC

測定の度に希釈の必要はありません
マイクロ流路による高い再現性とハイスループット測定
夾雑物をラベルフリーで定量可能



16サンプルを 2分



96サンプルを 5分



Unchained Labs 株式会社
東京都千代田区神田須田町 2-9-2 PMO 神田岩本町 3 階
TEL : 03-3526-2811 E-MAIL : info@unchainedlabs.com
https://www.unchainedlabsjp.com/



Lunaticは次世代の分析レベルを提供する

高濃度の生物製剤を希釈なしにハイスループットな方法で正確に計測する方法を知りたくありませんか？

Lunaticプラットフォームは、0.02～150 mg / mL (mAb) のダイナミックレンジでカバーする、ユニークな方法により、これまでより正確な定量化のための濁度補正機能を持っています。

Big/Little Lunaticは、次世代のUV/Visリーダーを搭載し、最大96個の2μLの末希釈サンプルを5minで計測します。(Figure 1).

高濃度サンプル計測の際の落とし穴

Spectrometryではsampleの濃度を迅速に測定できませんが、一方で高精度かつ高濃度sampleの定量化のためには3つのポイントがあります。

・Path length: Path lengthを縮小する必要があり(標準10mm)、再現性が重要です。

・Background補正: このようなサンプルは、有意な濁度をもたらす凝集体を形成することがあるので、適切な補正が必要です

・Detection: 濃度が高い場合、より多くの光量がサンプルに吸収され僅かな光量しか検出されません。

したがって、これらに対処するのに適した光学システムおよび処理アルゴリズムが必要とされます。

Lunatic次世代のソリューション

Lunaticは、0.03～200 ODのsampleを測定する独自のシステムを提供します。

Lunaticシリーズの精密度は、経路長が固定された2種類のLunatic Chips/Lunatic Plateを使用して保証しています。

Lunatic Chip/Lunatic Plateの経路長は0.5mmで、最大40 ODの測定が可能です。さらにHigh Lunatic Chip/High Lunatic Plateには、ダイナミックレンジを200 ODに拡張する2つのマイクロキュベット(0.1と0.7 mm)を持ちます。

濁度の高い高濃度sampleの定量化は厄介であり、最も濁度補正が必要となります。

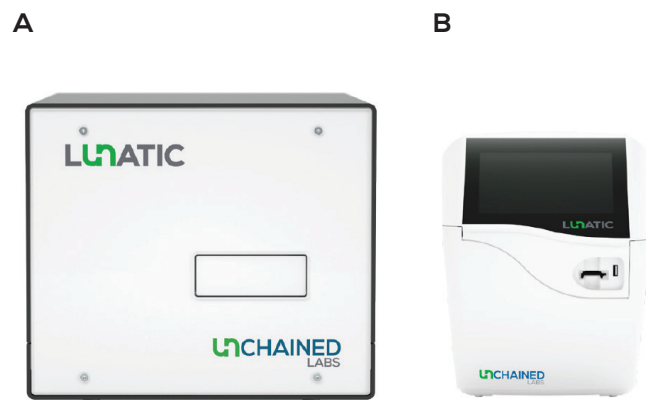


Figure 1: (A) Big Lunatic: 5分間で96サンプルを分析するプレート(チップ)フォーマットのリーダー。手動またはロボットによるサンプル処理に適しています。(B) Little Lunatic: 手動操作のリーダー。

従来のUV / Visによる定量測定においては、分子の特異的な吸光度でのバックグラウンド補正を行わない場合、予想される波長(例えば、340または405nm)を選択します。

これは、各波長での光の散乱が同じである場合に当てはまるかもしれませんが、実際のサンプルにおいてはそうではありません(Figure2)。

Lunaticでは、波長依存の散乱プロファイルを考慮した濁度プロファイルが作成されており、これにより最適なバックグラウンド補正が可能になりました。一方で、従来通りの340nmで単一点のバックグラウンド補正を実行するアプリケーションも、Lunaticでは利用可能です。

Pure sampleの場合であれば、A280タンパク質とプロテインA280-bg(340)アプリケーションの両方で非常によく似た結果となります。しかしながら、実際のより様々なものが入り混じったサンプルは、正確な濃度決定のためにA280タンパク質に適用の精微な濁度補正が必要となります。

低タンパクと高タンパク質の濃度を測定できることの次に、精密さと正確さについてご紹介します。そのために、我々は、2台のBig Lunatics、2台のLittle Lunatics、3台のNanoDrop2000およびNanoDrop One UV/Vis分光光度計で0.02mg/mLから160mg/mLまでのIgG希釈系列を定量し、比較を行いました。測定前に各機器は、製造業者の推奨に従って重クロム酸カリウム(K₂Cr₂O₇)溶液によるバリデーション試験を実施しています。350nmでのOD

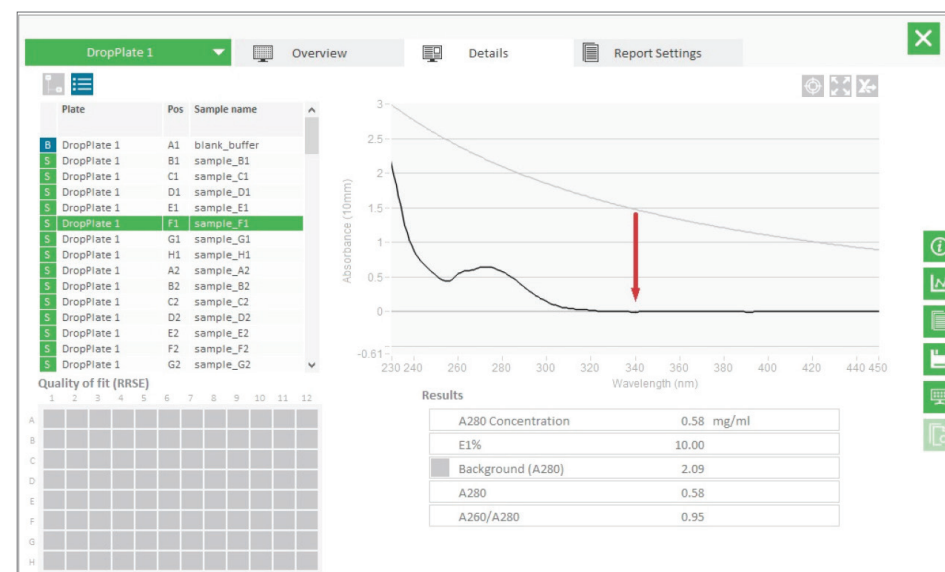


Figure2: 濁度補正。Lunaticプラットフォームは、特定の特定波長(例えば、340nm)での吸光度を選択してUV / Visスペクトル全体を補正するのではなく、波長依存散乱プロファイル(グラフ上の灰色線)を考慮に入れた濁度補正を行います。

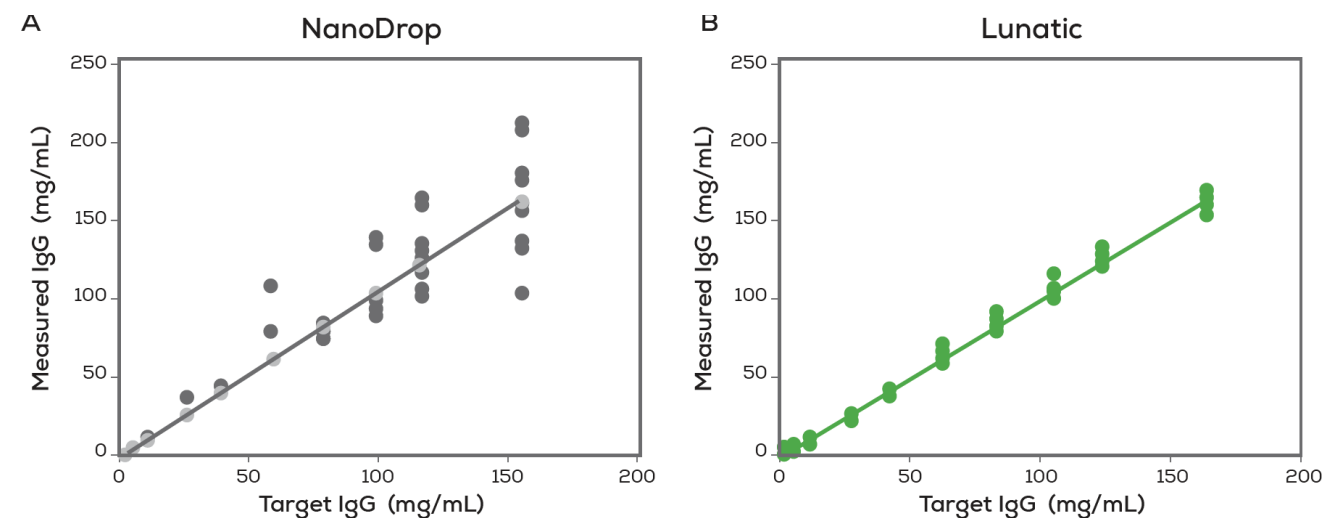


Figure 3: 4台のNanoDrop (A) と 4台Lunatic (B) によるIgG希釈系列の結果比較

値をモニターし、0.657±0.011のOD値を可能にしました。すべての機器はこの仕様に準拠しています。

続けて、重量測定用IgG希釈系列をBig LunaticおよびすべてのNanodrop装置で8回測定しました。Little Lunaticではそれぞれ5回測定を行いました。

mAbは、pH5.0の5mMのNaSuccinateおよび60mMのTrehalose溶液保存です。Figure3では、評価されたすべての機器の個々の測定値をすべて示しています。

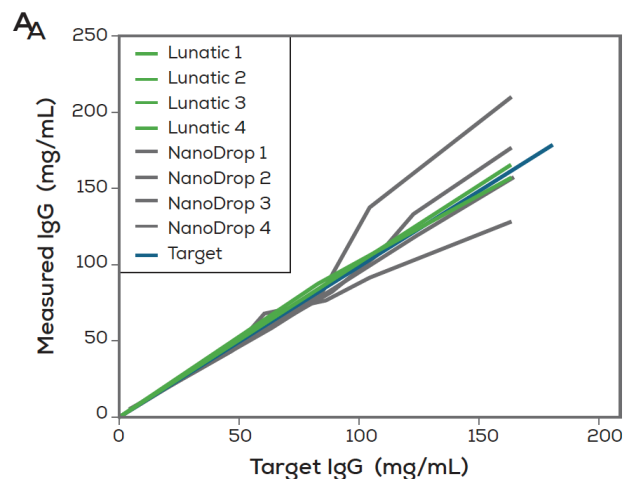
NanoDropの標準偏差は、低濃度sampleの場合は0.01 mg/mLであり、最も高い濃度の場合においては、29.81 mg/mLものレンジとなりました。

Lunaticでは、低濃度測定から高濃度測定に至るまでに0.01～4.10 mg/mLの標準偏差となっています。

さらに、観察された標準偏差が機器固有であるかランダムであるかを調べるために、すべての機器の平均吸光度を比較しました(Figure4)

Lunaticの0.1 mg/mLの試料を測定する標準偏差は0.005-0.009 mg/mLで変動していました。

一方、NanoDropでの同一機器での測定値は、類似の標準偏差範囲(0.003-0.011 mg/mL)となり、NanoDropの反復測定値は再現性があり、異なる機器間の相関性は低い



B

IgG (mg/mL)	Lunatic	NanoDrop
0.1	3.70%	7.00%
0.4	1.42%	9.57%
1.0	0.38%	2.95%
4.0	0.37%	1.07%
10.0	0.20%	3.12%
25.3	0.14%	3.49%
40.4	0.42%	3.85%
60.9	1.30%	7.35%
81.2	1.68%	3.59%
103.3	1.22%	19.06%
121.8	0.60%	19.02%
162.2	2.69%	20.31%

Figure 4: (A) 2台間の測定結果(平均値)の比較。NanoDropは灰色、Lunaticは緑色、ターゲットは青色で示す (B) 2台間のデータのばらつき割合

結果となりました。Table 1は、Figure 3で観測された機器間変動を示しています。

評価した全ての濃度において、LunaticはNanoDropの結果より高い相関性がありました。特にテストサンプルの希釈の上限と下限において、ナノドロップでは大きく装置間において変動が観察されました。

例えば、複数のLunaticで162.2 mg/mLのサンプルを分析した場合では、2.69%の変動率でしたが、複数のNanoDropでは20.31%の変動率がみられました。計測器間のばらつきの割合に加えて、バイアスのパーセンテージ $(\frac{[\text{measured}] - [\text{target}]}{[\text{target}]})$ として計算)も評価しました。

機器間変動分析と同様に、NanoDrop機器間において大きな差異(%バイアスは-20.4%から最大33.5%まで)が計測されましたが、Lunaticはすべて目標濃度に近い値で計測されました(%バイアスは-2.4%～7%)

Conclusion

Lunaticは、高精度かつ高速、ハイスループットに低～高濃度サンプルの定量化を可能にします。



Unchained Labs
6870 Koll Center Parkway
Pleasanton, CA 94566
Phone: 1.925.587.9800
Toll-free: 1.800.815.6384
Email: info@unchainedlabs.com

© 2018 Unchained Labs. All rights reserved. Lunatic is a trademark and Unchained Labs is a registered trademark of Unchained Labs. All other brands or product names mentioned are trademarks owned by their respective organizations.

Rev B



哺乳動物由来サンプルのdsDNA, RNAの濃度測定

はじめに

Lunatic独自のDNA mammalian applicationでは、夾雑物を除いたdsDNA, RNA, タンパク質の濃度測定ができます。吸光波形データから成分特異的な定量が可能です。夾雑物、残留buffer成分が残っているか評価ができます。様々な哺乳動物由来のサンプル(ヒト又は動物の血液、唾液、組織又は細胞株など)において、様々な抽出方法又は市販のDNA単離用キットを使用して抽出されるゲノムDNA (gDNA) に対して実施できます。

アプリケーションの選択

Big Lunaticでの測定方法は、ソフト上で、Sample Typeを「DNA」と選択し「Unmix」, 「DNA mammalian application」を選択します(図1)。Little Lunaticでは、アプリケーション画面より(図2) 選択します。なお、Unmixアプリケーションでは、ブランクとして常にH2Oを使用します。

結果の表示

Unmixアプリでは、測定されたUV/Visスペクトルを分析して、以下に示す特定成分を見分けます(図3および図4)。

- dsDNA (緑色): dsDNAの量を示します。なお、この測定を行うには、次の条件が必要です。gDNA (GC 含量 40～45%) であること。このプロファイルのA260ピーク値にdsDNAの濃縮係数 (= 50) を乗じて濃度を算出する。
- 不純物 (青色): 夾雑物の量を示します。RNA (ng/μL), チオシアネート塩 (mM), 緩衝液成分 (OD230), フェノール (mM) の濃度、不純物の詳細情報が別途表示されます。
- バックグラウンド (灰色): サンプルの濁度を示します。ビーズのキャリアオーバーやヘモグロビン/ヘム (405 nmで最大吸光度) の濃度として、バックグラウンドの詳細情報が別途表示されます。バックグラウンドのスペクトルを測定スペクトルから差し引くと、内容物のスペクトルが得られます (Big Lunaticでは黒い曲線, Little Lunaticでは白い曲線で表されます)。

Residue又は「Quality of fit」として表示される値 (RRSE) は、特定できなかった測定スペクトルの割合を表しています。このパラメータは、黄色い曲線だけでなく、グラフの下に割合としても表示されます。(1) サンプルの濁度が高い

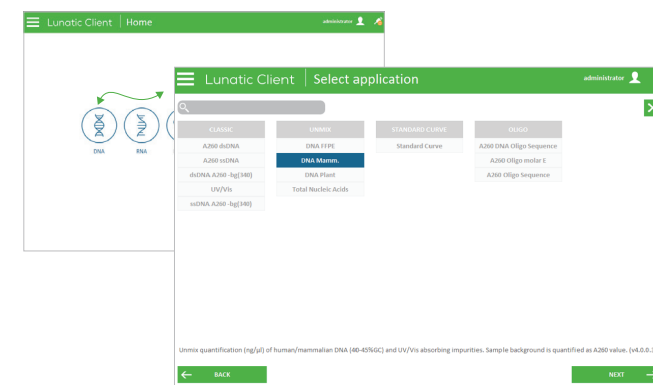


Figure 1: Big Lunaticの「Select application (アプリケーションの選択)」表示画面。測定するSample Typeを選択すると、利用できるアプリケーションが表示される。

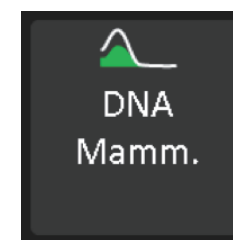


Figure 2: Little Lunaticのアプリケーション選択画面のボタン。

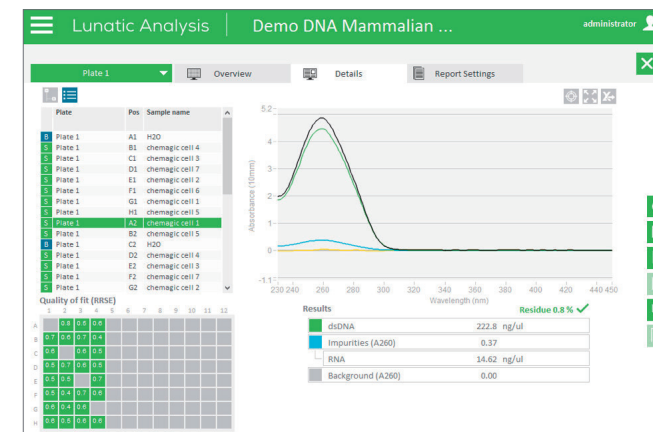


Figure 3: Big Lunaticの結果表示画面。DNA mammalian applicationの結果は、スペクトル形状だけでなく、算出された値も表示される。可能な場合、不純物及び/バックグラウンドの詳細情報が別途表示される。

場合、(2) 未知の化学物質が存在する、(3) サンプル濃度が低いため、Residueの値が2.5%を超えるサンプルの場合などは、警告サインが現れます。この警告サインが現れた場合や、サンプルのA260のODが0.5未満の場合、UnmixアプリではDNA固有のプロファイルを表示することはできません。その代わりに、すべての核酸をまとめて定量し、結果は紫色の「トータル核酸」スペクトルとして表示します。このプロファイルのA260ピーク値にdsDNAの濃縮係数(= 50) を乗じて、核酸濃度を算出します。

レポート

測定結果は、HTML、XML、TXT、CSVのファイルが得られます。さらにBig Lunaticでは、XLSXやPDFのレポートファイルも作成され、レポートに必要な結果項目は、ユーザー側で選択することができます。

ケーススタディ

様々なサンプル種を複数のDNA精製キットを用いて、DNA mammalian applicationで測定した結果を示します。Quant-It PicoGreen(Thermo Fisher Scientific) アッセイと比較しました。この蛍光ベースのアッセイは、dsDNA含量を特異的に測定できます。

まずは、QiagenのQIASymphony DNAキットを用いて、血液サンプルからDNA精製した場合、溶出液中に塩が存在するため230 nm付近に高い吸収ピークが観察されました(図6)。続いて、Perkin Elmerのchemagen chemagic DNA細胞キットを用いて培養細胞からDNA精製した結果、培養細胞サンプルには、通常、RNAが多量に含まれるため(図7)、A260の値だけでは、DNA以外のものを見積もった値となってしまいます。

いずれの例も、Unmix のプロファイリングでは、UV/VISを吸収する可能性のある不純物について測定スペクトルが補正されるため、より正確なDNA濃度の測定が可能です。実際、UnmixのDNA値は、PicoGreenと相関性の取れた結果が得られます(図5及び図7)。



Figure 4: Little Lunaticの結果表示画面。DNA mammalian applicationの結果は、スペクトル形状だけでなく、算出された値も表示される。可能な場合、不純物及び/バックグラウンドの詳細情報が別途表示される。

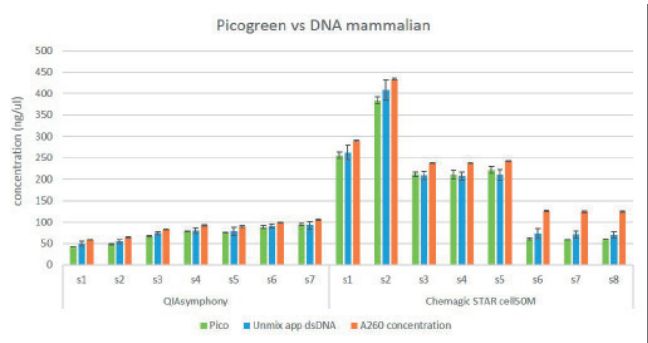


Figure 5: DNA mammalian applicationにて、dsDNAを測定した結果と、典型的なA260測定法および、PicoGreenアッセイとの比較。3回の測定結果の平均値を示し、エラーバーは標準偏差を示す。A260の結果はPicoGreenの結果より、多く見積もられている傾向を示すが、DNA mammalian applicationはPicoGreenと近い結果を示した。

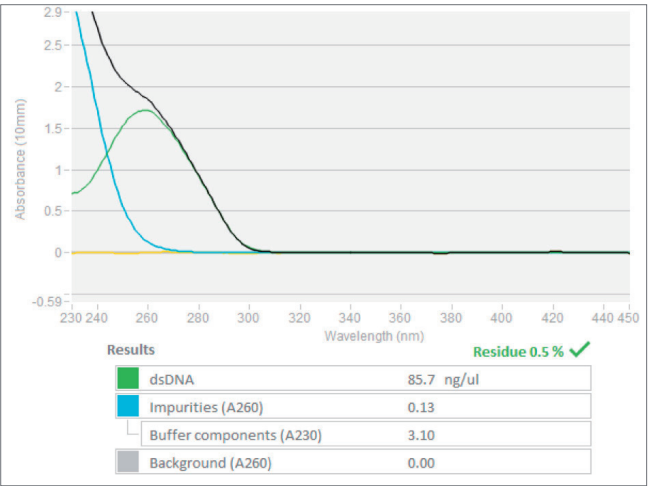


Figure 6: QIASymphonyの精製キットを用いて、血液サンプルからDNA濃度測定をした結果。防腐剤として溶出液に塩が含まれているためA230での吸収を検出した。

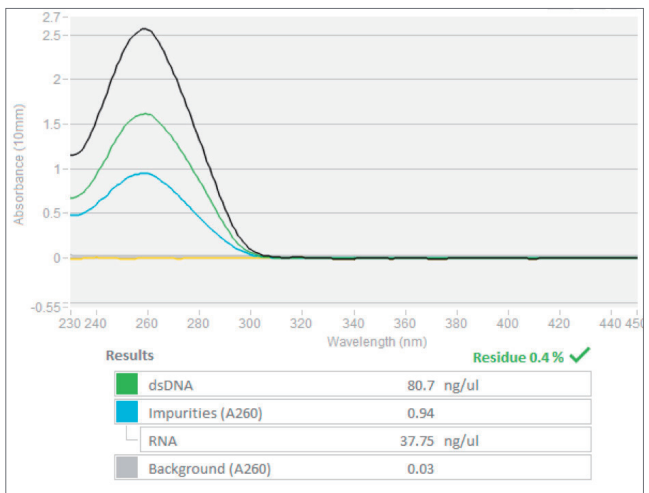


Figure 7: chemagenの精製キットを用いて、細胞ペレットからDNA濃度測定をした結果。DNAと残余RNAを区別することができる。



Unchained Labs
6870 Koll Center Parkway
Pleasanton, CA 94566
Phone: 1.925.587.9800
Toll-free: 1.800.815.6384
Email: info@unchainedlabs.com

© 2018 Unchained Labs. All rights reserved. The Unchained Labs logo, Lunatic and the Lunatic logo are trademarks and/or registered trademarks of Unchained Labs. All other brands or product names mentioned are trademarks owned by their respective organizations.