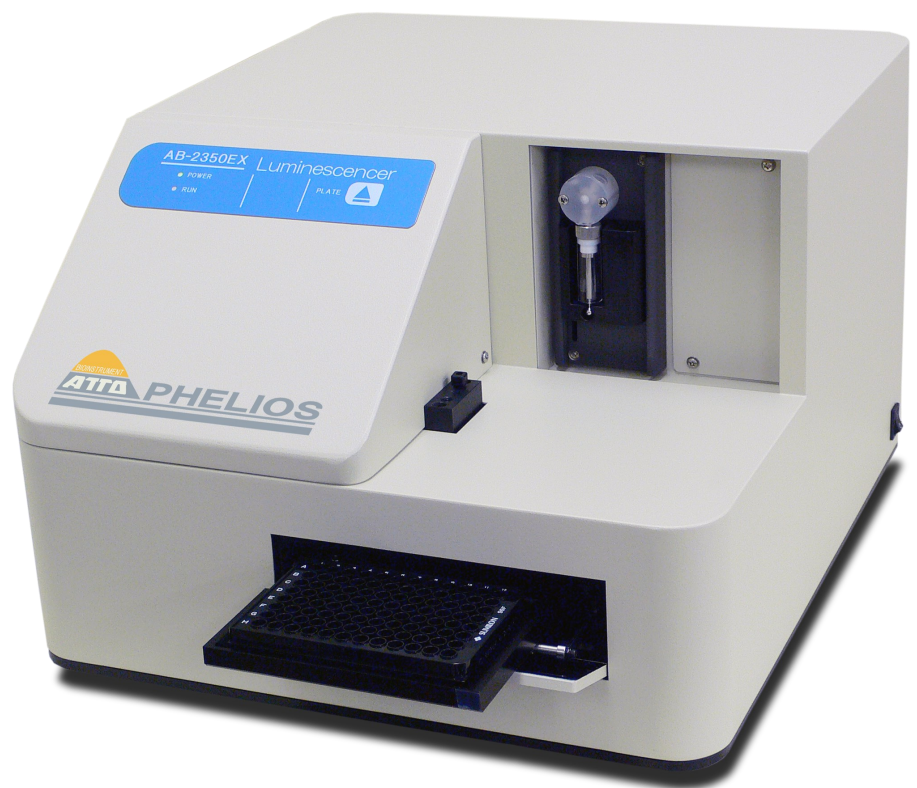


Luminometer for 96/384 well plate

AB-2350 PHELIOS



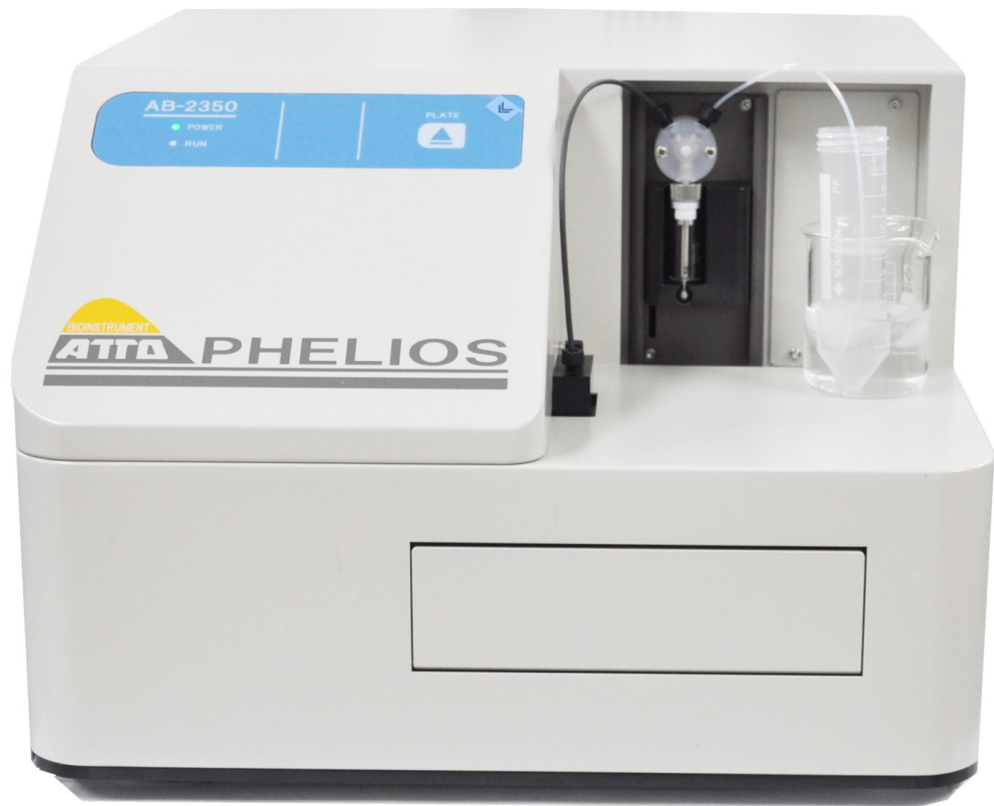
ATTO Luminometers

アトー株式会社は1980年にHPLC用の発光検出器を製品化したのを最初に、1991年には化学発光を利用した培養細胞活性測定法の装置開発を分担し、発光を自動計測できるマイクロプレートリーダー“Luminescencer”を1994年に製品化しました。その後、1997年に汎用小型ルミノマイクロプレートリーダー“Luminescencer JNR”、2001年には、試験管用の“Luminescencer PSN”を製品化し、発光計測メーカーとして品揃えを進めてきました。

1991年以降は、発光イメージングシステム、活性酸素測定法、発光スペクトル測定法、多色同時発光の分離解析法、ホタルLuciferase反応機構、分泌型Luciferaseとその発光基質、発光計測の標準化に向けた光子数計測法、近赤外発光測定技術など、応用技術だけでなく基礎技術の開発にも注力してきました。

このような背景から開発された“ATTO Phelios”は、これまでに蓄積した技術が盛り込まれていて、ELISAからセルベースアッセイまで様々な用途に対応できる高性能な装置に仕上がっています。





概要

Phelios は多サンプルの自動計測を目的に開発された、高感度多目的発光測定装置です。96、384 ウェルのマイクロプレートを用いて、400~670nmまでの様々な発光を計測できます。低ノイズのフォトンカウンティング技術に、発光の測定効率を極限まで追求した光学系を加えることによって高感度化を実現し、繰り返し分注精度の高いポンプと装置内の温調機能によって再現性の高い測定が行えるようになりました。さらに、色違いの発光が混在する場合であっても、その計測に対応する独自のフィルタリング機能によって、それぞれの発光を分離計測することができます。

本装置は中小企業産業技術研究開発事業において産業技術総合研究所の支援を受け製品化されました。

特長

- 400~670nmの広い発光波長計測範囲
→赤色の発光を感度良く測定できます。
- 幅広いダイナミックレンジ(8桁)
- 高感度
→ルシフェラーゼでは1zmol(10^{-21} moles)まで検出することができます。
- 室温+5℃~40℃の加温機能
→細胞、組織などを最適な温度条件下で測定することができます。
- 分注ポンプ内蔵
→発光試薬や刺激剤などを試料に自動添加することができます。
- 三色発光の自動解析機構
→フィルター(560LP、600LP)の自動切換により最大3色まで発光波長成分を分離解析できます。
- 瞬時発光から長時間計測
→20msecの計測分解能があり、最長168時間(7日)の長時間計測にも対応しました。

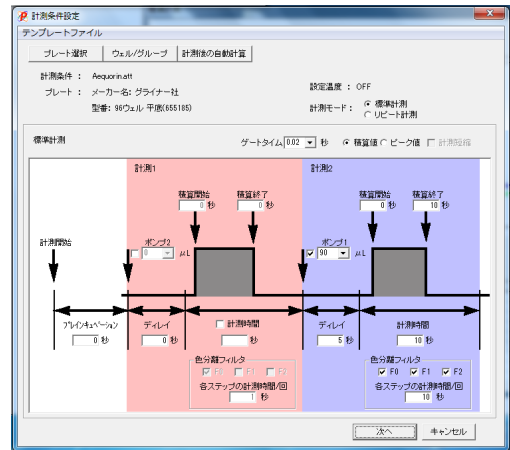
Simple Operation

1. 発光試薬の送液準備をします



送液用ラインを洗浄し、試薬をプライミングします。デッドボリュームは約340 μ Lです。

2. 計測条件を設定します



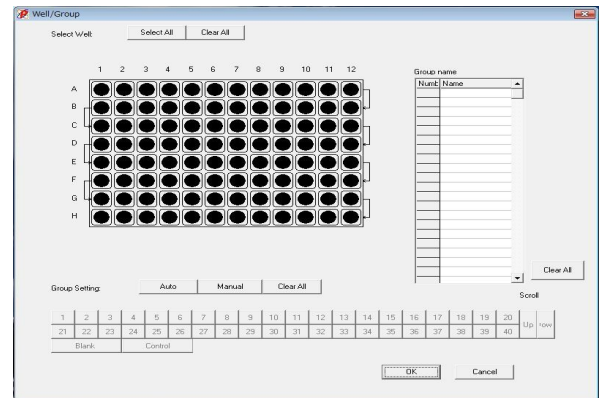
96/384ウェルプレートを選択し、試薬の分注量、計測のタイミングを設定します。最大2台（標準1台）のポンプを制御できますので、2種類の発光試薬を用いた計測の自動化が可能です。

3. プレートをセットします



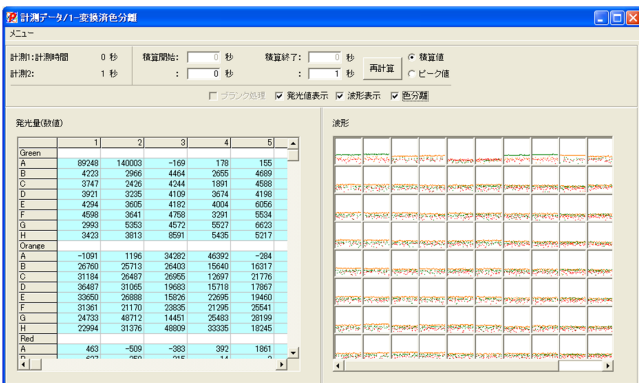
PheliosのPlateキーを押して、プレートをセットします。もう一度Plateキーを押すと計測準備完了です。

4. 計測を開始します

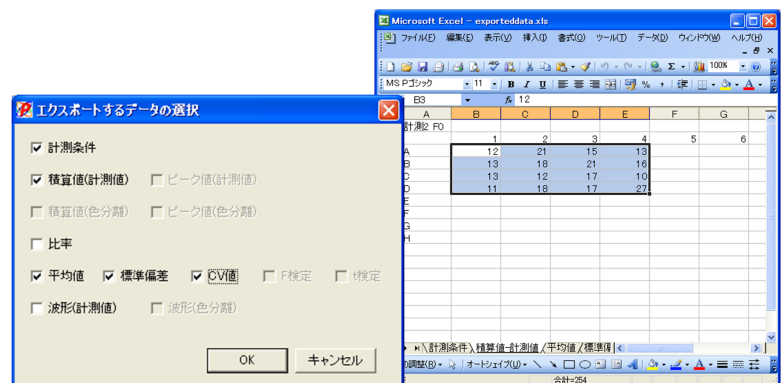


計測対象ウェルを選択し、計測開始をクリックします。

5. 測定データを解析します



20msec毎に発光値が計測され、この計測値が順次プロットされています。

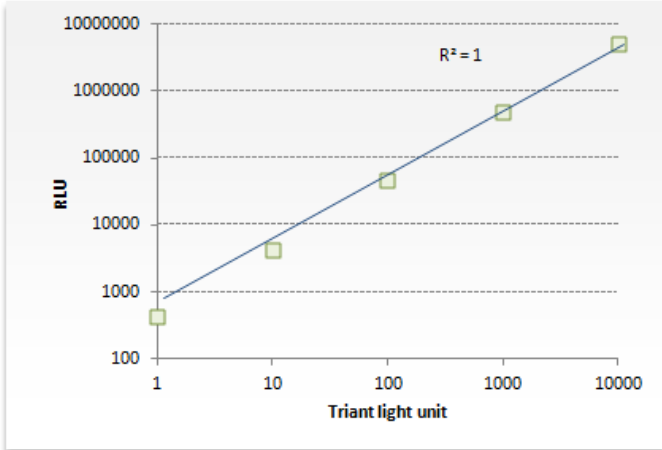


検量線作成、デュアルレポーターアッセイで使われる比率計算などの解析メニューが標準装備されています。計測値および解析値はExcelファイル形式で出力できます。

本装置のご使用にはPCが必要です。

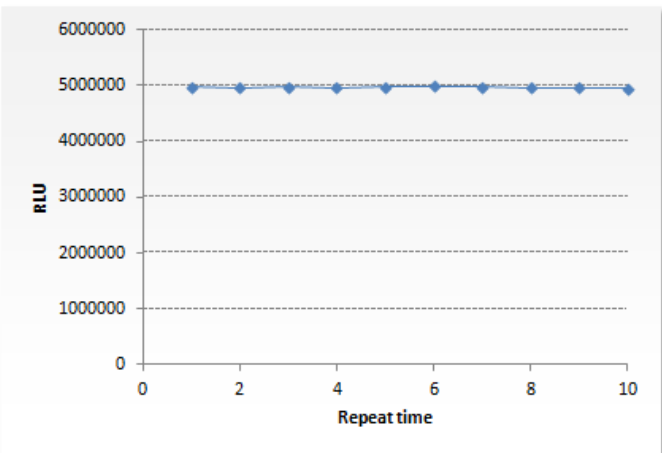
直線性

基準光源TRIANの緑色LEDのPMTモードで光量を変え、それぞれ光量で5秒間の発光量を計測しました。その結果から1~10000の範囲（TRIANの光量可変範囲）で良好な直線性が確認できました。



再現性

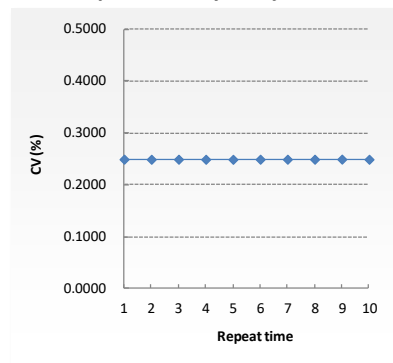
Pheliosの繰り返し測定時の再現性を確認しました。基準光源TRIANの緑色LEDで5秒間の発光量を10回計測した結果では、CV値が0.21%と低く、再現性が高いことが示されました。この時のダークカウント値は約50でした。



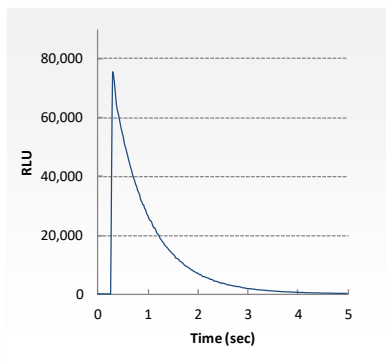
試薬分注

試薬分注用のポンプには繰り返し分注精度と適切な分注スピードが求められます。Pheliosに使用しているポンプは、250 μ L \times 10回の分注実験ではCV値0.05%、30 μ L \times 10回ではCV値0.5%の結果が得られており、精度良く分注できることが確認できています。また、ポンプ分注スピードを確認するために、Ca²⁺イオンを分注した際のAequorinの発光を測定すると、ポンプ分注後速やかに発光のピークが検出され、数秒のうちに発光が終わる様子が確認できます。このように、瞬時の発光反応で使用するポンプとして十分な性能を備えています。

Reproducibility of injector

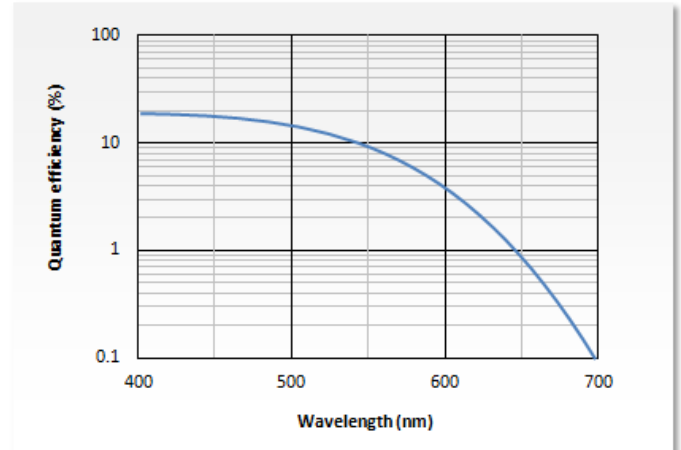


Flash by Aequorin reaction



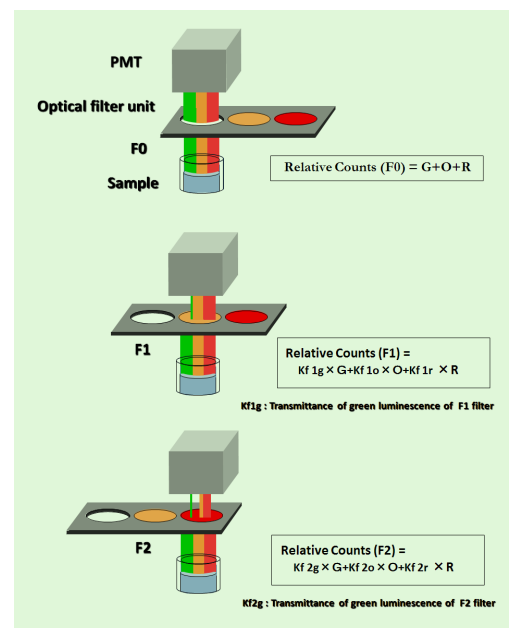
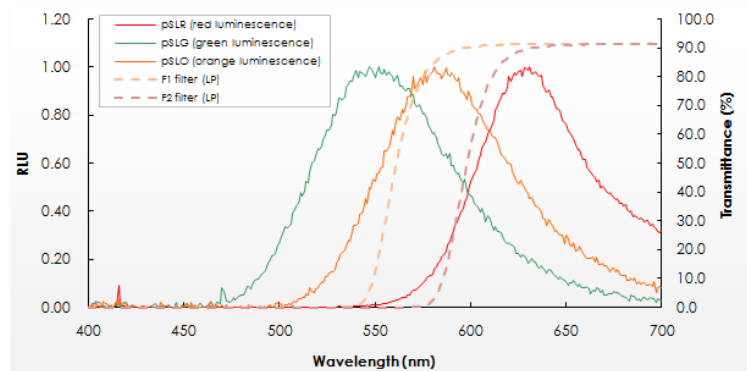
波長感度特性

Pheliosで発光検出に使用している光電子増倍管（PMT）の波長感度特性を示しています。Pheliosでは長波長側での検出効率の低下が最も少ない低ノイズPMTを採用しています。近赤外発光測定用のPMTを採用した機種も準備していますのでお問合せ下さい。



3色発光の自動解析機能

2種類のフィルターを透過する発光量を計測して3種類のLuciferase発光量を求める色分離機構が搭載されています。この技術とTripluc (TOYOBO) により1種類の基質で、同時に3種類の遺伝子の転写活性を測定できます。（特許 第4052389号）

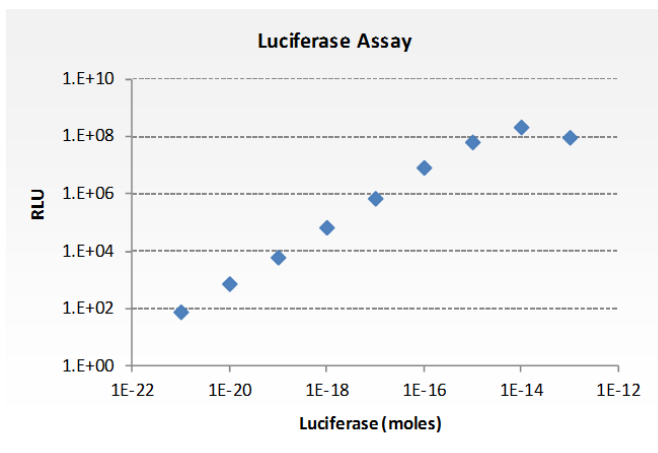


ルシフェラーゼアッセイ

Luciferaseの検出感度を計測した結果です。Pheliosを使用するとLuciferaseは少なくとも1zmoles(10^{-21} moles)まで検出することが可能です。また直線性ダイナミックレンジはlog7と幅広い濃度のサンプルを定量的に計測できます。

【実験方法】

Luciferase希釈溶液をスミロン社製96ウェルプレートに20 μ Lずつ添加し (Triplet)、Pheliosにセットしました。ルシフェラーゼ基質液をPheliosのポンプ分注を使用して80 μ Lずつ自動分注し、2秒後から10秒間の発光積算値を計測しました。

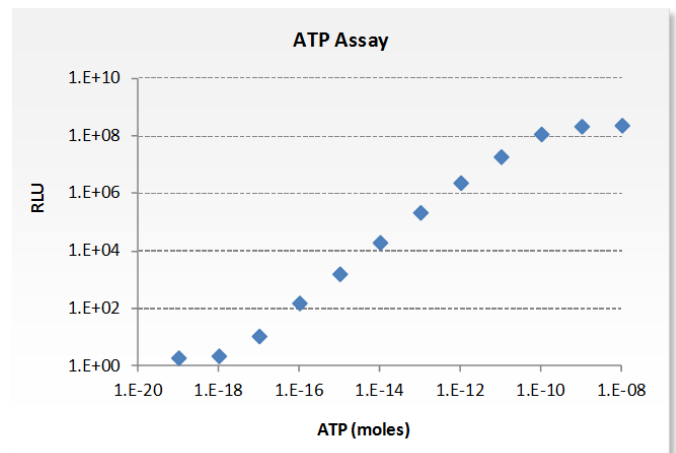


ATPアッセイ

ATPの検出感度を計測した結果です。Pheliosを使用するとATPは少なくとも1 amoles(10^{-18} moles)まで検出することが可能です。また直線性ダイナミックレンジはlog8と幅広い濃度のサンプルを定量的に計測できます。

【実験方法】

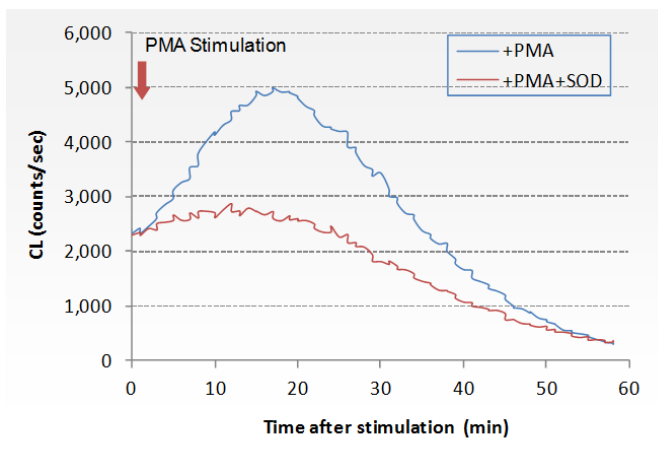
ATP希釈溶液をスミロン社製96ウェルプレートに10 μ Lずつ添加し (Triplet)、Pheliosにセットしました。ATP検出用ルシフェラーゼ反応液をPheliosのポンプ分注を使用して90 μ Lずつ自動分注し、2秒後から10秒間の発光積算値を計測しました。



オートファジー

オートファジーに関連するミトコンドリアの酸化ストレス、PKCシグナルパスウェイなどの研究が進められています。Pheliosの温調機能を使って、細胞の活性酸素生成量の変化を簡単に見ることが可能です。

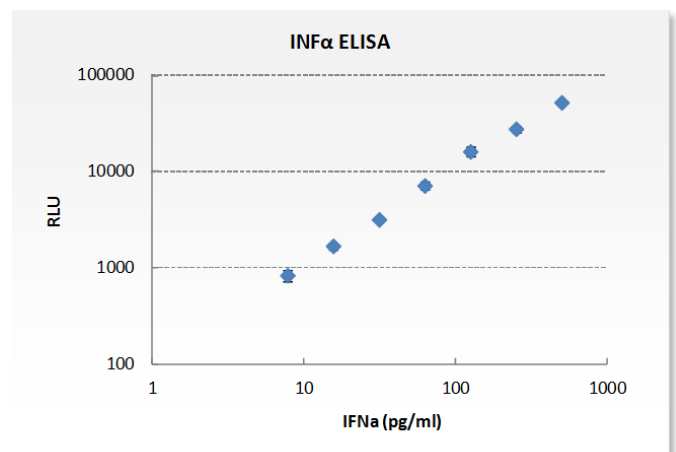
【実験方法】 1.8×10^5 個のHL60/PBSに100ngのPMAを添加し、活性酸素の生成量の変化を発光試薬 (MCLA) を利用して測定しました。SODを添加すると相対発光強度が低下するので、PMA刺激により、活性酸素が生成されていることがわかります。



高感度イムノアッセイ

ビオチン化したウミホタルルシフェラーゼとビオチン化インターフェロン α 抗体を用いて、サンドイッチ・イムノアッセイ法で従来法よりも感度よく微量なインターフェロン α が検出できることを示しました。

C. Wu, K. Kawasaki, Y. Ogawa, Y. Yoshida, S. Ohgiya, Y. Ohmiya : Anal. Chem., 79, 1634 (2007).

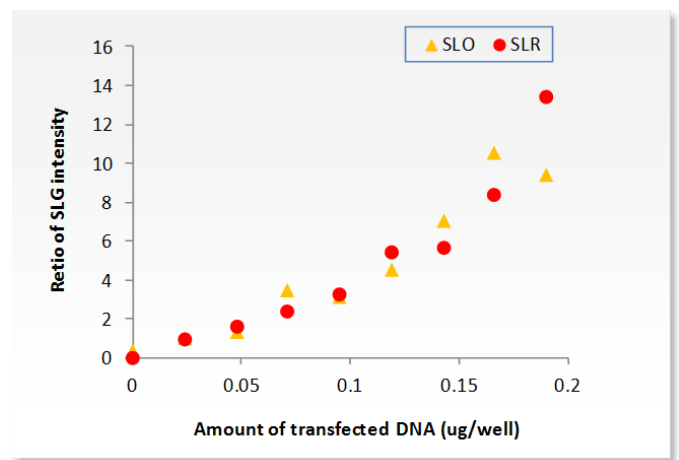
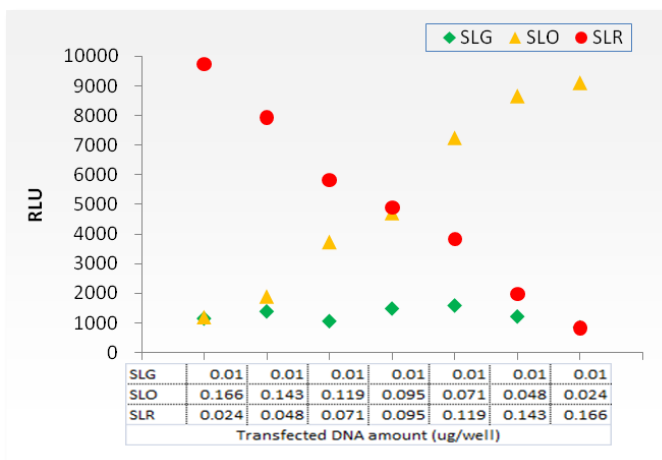


3色のレポーターアッセイ

AB-2350 PheliosによりNIH3T3細胞で発現している3色のルシフェラーゼの発光を測定した結果です。Pheliosを使用すると、同一の細胞で発光している3色のルシフェラーゼを測定および色分離解析し、トランスフェクトしたDNA量に応じた発光測定値を得ることが可能です。

【実験方法】

96ウェルプレートに播種したNIH3T3細胞にTriplucのSV40コントロールベクター、pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control、pSLR-SV40 control (TOYOBO社製)をそれぞれ記載したDNA量をリポフェクション法によりトランスフェクトしました。翌日、0.2mMルシフェリン含有培地に交換し、PheliosでF0、F1、F2のフィルターを用いて10秒間の発光積算値を測定しました。

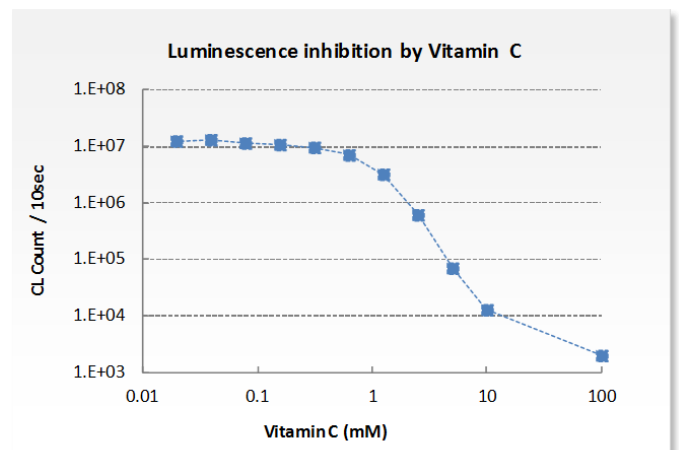
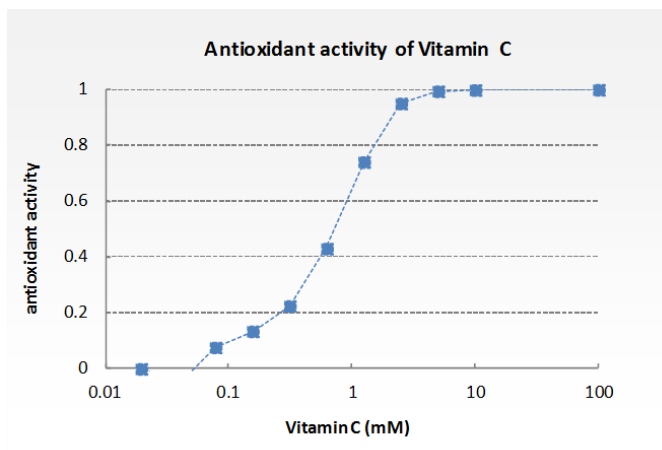


抗酸化能の測定

活性酸素と反応する発光試薬を利用して食品成分の抗酸化能を比較することができます。抗酸化能は、一定の活性酸素量を生成させる系に抗酸化能成分を添加したときの発光量と無添加状態の発光量の比較から求めます。抗酸化能の評価は、抗酸化物質を添加したときの発光量が50%となる抗酸化物質濃度を求め、この濃度を水溶性VitaminEの濃度と比較するのが一般的です。

【実験方法】

AB-2970 CRETA-Sを用いてVitaminCの抗酸化能測定を行いました。VitaminCを40μM~100mMの濃度に調製し、相対発光強度が50%になる濃度を求める実験を行った結果です。VitaminC濃度が約1mMのとき、発光強度が50%になりました。



型式・名称	AB-2350 フェリオス(PHELIOS) (Code No.3511140)
測定容器	96、384 ウェルマイクロタイタープレート
検出器	光電子増倍管
計測方法	光電子増倍管によるフォトンカウンティング方式
感度	10 ⁻⁷ M H ₂ O ₂ 10 ⁻¹⁸ mole ATP, 10 ⁻²¹ mole Luciferase
ダイナミックレンジ	>8桁(ATP測定時)
測定波長	350~670nm
フィルター	F0:なし(全光) F1:LP560 F2:LP600
色分離機構	フィルター自動切換機構により、最大3色まで分離可
分注ポンプ(標準付属)	シリンジ型 1台 96ウェル 20~250 μL(10 μLステップ) 384ウェル 20~100 μL(10 μLステップ)
分注ポンプ(オプション)	シリンジ型1台増設可(AB-2020M型) 96ウェル 20~250 μL(10 μLステップ) 384ウェル 増設不可
分注再現性	CV<1%(250 μL分注時)
デッドボリウム	360 μL(配管等の容量)、600 μL (プライム操作時の容量)
温調機能	室温+5~40°C
温度精度	プレートA1,H1, A12, H12の温度差±0.5°C以内(37°C設定時)
計測時間	96ウェル 1~1200秒 384ウェル 1~600秒 波長分離測定時 1~200秒/フィルター
計測時間分解能	20msec
リピート機能	0.1~60秒/ウェル 最大168時間または1000回
ブレイクキューベーション	0~9999秒
ディレイタイム	0~3600秒
操作	コントロールソフトウェアによる条件設定、計測、データ保存、解析
保護機能	プレート検知/扉開閉検知/フォトマル保護機能
寸法・重量	398(W)×460(D)×286(H)mm・16.5kg
電源	AC100V 300W
価格	3,880,000円

関連製品

AB-2270 Luminescenser OCTA
試験管用ルミノメーター



AB-2550 KronosDio
CO₂インキュベーター機能付
35mmディッシュ用ルミノメーター



WSL-1565 Kronos HT
培養細胞多検体リアルタイム発光計測システム



ご利用は下記販売店へ

お問い合わせは下記まで



アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器 開発/生産/販売/サービス
(東京都許可 医療用具製造業)

■本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2 TEL (03) 5827-4861 (大代表) FAX (03) 5827-6647
■大阪支店 〒530-0054 大阪市北区東天満2-8-1 5階 TEL (06) 6136-1421 (代表) FAX (06) 6365-3625

■URL <https://www.atto.co.jp/>