

Nivo™ マルチモードプレートリーダー

Table of contents



推奨技術を含む数値波長リスト	2
ダイクロイックミラー	3
蛍光または蛍光偏光用色素リスト（アルファベット順）.....	4
吸光度用アッセイリスト（アルファベット順）	5
時間分解蛍光 (TRF) 用色素リスト	6
発光色素リスト（アルファベット順）	6
カスタムオプティクスサービス	6
最適なフィルター組み合わせの選択	7
ステップ 1：蛍光色素について	7
ステップ 2：フィルターについて	7
ステップ 3：蛍光色素と励起・蛍光フィルターの組み合わせ	7
ステップ 4：使用可能なフィルターのリスト	8

このリストの使い方

波長 ("Numerical Wavelength List")、蛍光色素 ("Alphabetical Dye List")、またはアッセイラベルをいずれかのリストで検索し、推奨されるフィルターとダイクロイックミラーの組み合わせをお探し下さい。

フィルターの中心波長が最初の数字で示され、その後に "/"、フィルター帯域幅が半値全幅 (FWHM) と "nm" で示されます。例えば、"480/30 nm (HH35000902)" は、中心波長 480 nm、帯域幅 30 nm (FWHM) のフィルターを示します。

ダイクロイックミラーはカットオン波長で表します。D500 (HH35000973) の場合、カットオン波長は 500nm となります。230 nm からカットオン波長以下の励起光は試料に反射され、カットオン波長から 850 nm までの試料から発せられる蛍光が検出器に向けて透過されます。蛍光、時間分解蛍光および蛍光偏向測定に専用のダイクロイックミラーを使用することはオプションですが、標準の 50/50 ビームスプリッタよりも良好な結果が得られます。

フィルターの中心波長と蛍光色素のピーク波長を同一にする必要はありません。ご使用の蛍光色素に適したフィルターの組み合わせについて、より詳しい情報が必要な場合は、本書の最後、7 ページをご覧ください。

Nivo 用フィルター情報リスト

Name	Part number	CWL ⁱ / nm	BW ⁱⁱ / nm	Pref. tech.	Application examples
EMPTY	HH35000900				Empty Filter Holder for custom optics
260/10nm	HH35000910	260	10	ABS	Nucleotides (intrinsic absorbance)
280/10nm	HH35000911	280	10	ABS, FI	Protein (intrinsic absorbance), Trp
320/75nm	HH35000947	320	75	TRF	General TRF Excitation filter
340/20nm	HH35000912	340	20	FI, FP	Fura-2
355/40nm	HH35000913	355	40	FI, FP	Alexa 350, AMC, BFP, DAPI, Hoechst 33342, Trp
380/20nm	HH35000914	380	20	FI, FP	Fura-2
390/20nm	HH35000915	390	20	FI	Fluorescamine
405/10nm	HH35000901 ⁱⁱⁱ	405	10	ABS	ELISA (PNPP, ABTS)
410/80nm	HH35000916	410	80	LUM	BRET2
420/10nm	HH35000917	420	10	ABS	ELISA (ABTS)
435/20nm	HH35000918	435	20	FI, FP	CFP, Citrine, Cerulean
450/10nm	HH35000919	450	10	ABS	ELISA (TMB)
460/30nm	HH35000921	460	30	FI, FP	Alexa 350, AMC, BFP, DAPI, Hoechst 33342, BRET, Fluorescamine
460/80nm	HH35000920	460	80	LUM	NanoBRET
480/30nm	HH35000902 ⁱⁱⁱ	480	30	FI, FP	FITC, Alexa 488, Calcein, DyLight 488, Fluo-4, GFP, PicoGreen, SybrGreen
492/10nm	HH35000948	492	10	ABS	ELISA (OPD), LDH Activity Assay (Formazan based)
495/20nm	HH35000922	495	20	FI, FP, TRF	Venus, YFP, HTRF Assays, LanthaScreen
510/30nm	HH35000923	510	30	FI, FP	Fura-2
510/60nm	HH35000924	510	60	LUM	Chroma-Glo
515/30nm	HH35000925	515	30	LUM	BRET
520/25nm	HH35000949	520	25	TRF	HTRF Assays, LanthaScreen
530/30nm	HH35000903 ⁱⁱⁱ	530	30	FI, FP	FITC, Alexa 488, Calcein, DyLight 488, Fluo-4, GFP, PicoGreen, SybrGreen, 5-TAMRA, Alamar Blue, Alexa 555, Amplex red, Bodipy-TMR, Cy3, dsRed, mOrange, RFP, Resorufin, TRITC
540/10nm	HH35000930	540	10	FI	Alamar Blue
540/30nm	HH35000926	540	30	FI, FP	Venus, YFP
546/11nm	HH35000927	546	11	TRF, ALPHA	DELFIA (Tb Assays), AlphaPlex
560/10nm	HH35000928	560	10	ABS	BCA Protein
570/10nm	HH35000929	570	10	ABS	MTT
575/110nm	HH35000950	575	110	ALPHA	AlphaLISA, AlphaScreen, Alpha Surefire
580/10nm	HH35000931	580	10	ABS	Methyl-resorufin, starch-iodine, Copper(DiBr-PAESA)
580/20nm	HH35000932	580	20	FI	5-TAMRA, Alamar Blue, mOrange
595/10nm	HH35000933	595	10	ABS	Bradford Assay
600/10nm	HH35000934	600	10	ABS	Bacteria, cells (intrinsic)
615/8nm	HH35000935	615	8	TRF, ALPHA	DELFIA, LANCE, Europium Assays, LanthaScreen, AlphaPlex

推奨技術を含む数値波長リスト (続き)

Name	Part number	CWL ⁱ / nm	BW ⁱⁱ / nm	Pref. tech.	Application examples
620/10nm	HH35000936	620	10	TRF, ABS	HTRF Assays, ELISA (reference)
625/30nm	HH35000937	625	30	FI, FP	Alexa 568, Alexa 594, mCherry, Texas Red
640/30nm	HH35000938	640	30	FI, FP	Alexa 647, APC, Cy5
644/10nm	HH35000939	644	10	TRF, ALPHA	DELFIA (Samarium Assays), AlphaPlex
645/75nm	HH35000940	645	75	LUM	NanoBRET
650/10nm	HH35000941	650	10	ABS	ELISA (ABTS), Lowry Protein Assay
660/10nm	HH35000942	660	10	ABS	Pierce Protein Assay, Chlorophyll
665/8nm	HH35000943	665	8	TRF	LANCE, HTRF Assays, LanthaScreen
685/30nm	HH35000944	685	30	FI, FP	Alexa 647, APC, Cy5
690/10nm	HH35000945	690	10	ABS	MTT (reference), Phosphate
700nm sp	HH35000904 ⁱⁱⁱ	700	short pass	LUM	Generic Luminescence filter
740/40nm	HH35000951	740	40	FI	Alexa 750, Alexa 790, Cy7, IRDye 800, DyLight 800, Indocyanine green (ICG)
750/10nm	HH35000946	750	10	ABS	Lowry Protein Assay, Pierce Protein Assay (reference)
780nm lp	HH35000952	780	long pass	FI	Alexa 750, Alexa 790, Cy7, IRDye 800, DyLight 800, Indocyanine green (ICG)

ダイクロイックミラー

Name	Part number	Cut-on wavelength /nm	Example applications
BS50/50	HH35000970 ⁱⁱⁱ	50/50	all FI, FP, and TRF
D400	HH35000971	400	Alexa 350, AMC, BFP, DAPI, Hoechst 33342, DELFIA, LANCE, HTRF Assays, LanthaScreen
D455	HH35000972	455	CFP, Cerulean
D500	HH35000973	500	FITC, Alexa 488, Calcein, Cy2, DyLight 488, Fluo- 4, GFP, PicoGreen, SybrGreen, Venus, YFP
D565	HH35000974	565	5-TAMRA, Amplex Red, Alamar Blue, Alexa 555, Bodipy-TMR, Cy3, dsRed, mOrange, RFP, Resorufin, TRITC
D590	HH35000975	590	Alexa 568, Alexa 594, mCherry, Texas Red
D660	HH35000976	660	Alexa 647, APC, Cy5
D660A	HH35000977	660	Alpha (not applicable for other technologies!), e.g. AlphaLISA, AlphaScreen, Alpha Surefire, AlphaPlex
D770	HH35000978	770	Alexa 750, Alexa 790, Cy7, IRDye 800, DyLight 800, Indocyanine green (ICG)

蛍光または蛍光偏光用色素リスト (アルファベット順)

Fluorophore	Excitation filter	Emission filter	Dichroic mirror
5-TAMRA	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Alamar Blue	530/30nm (HH35000903) or 540/10nm (HH35000030)*	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Alexa 350	355/40nm (HH35000913)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
Alexa 488	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Alexa 555	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Alexa 568	580/20nm (HH35000932)	625/30nm (HH35000937)	D590 (HH35000975)
Alexa 594	580/20nm (HH35000932)	625/30nm (HH35000937)	D590 (HH35000975)
Alexa 647	640/30nm (HH35000938)	685/30nm (HH35000944)	D660 (HH35000976)
Alexa 750	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
Alexa 790	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
AMC (7-Amino-4- Methylcoumarin)	355/40nm (HH35000913)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
Amplex Red	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
APC (Allophycocyanin)	640/30nm (HH35000938)	685/30nm (HH35000944)	D660 (HH35000976)
Blue Fluorescent Protein (BFP)	355/40nm (HH35000913)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
Bodipy-TMR	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Calcein	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Cerulean	435/20nm (HH35000918)	480/30nm (HH35000902)	D455 (HH35000972)
Cyan Fluorescent Protein (CFP)	435/20nm (HH35000918)	480/30nm (HH35000902)	D455 (HH35000972)
Citrine	435/20nm (HH35000918)	480/30nm (HH35000902)	D455 (HH35000972)
Cy3	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Cy5	640/30nm (HH35000938)	685/30nm (HH35000944)	D660 (HH35000976)
Cy7	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
DAPI	355/40nm (HH35000913)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
dsRED	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
DyLight 488	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
DyLight 800	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
FITC	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Fluo-4	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Fluorescamine	390/20nm (HH35000915)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
Fura-2	340/20nm (HH35000912) 380/20nm (HH35000914)	510/30nm (HH35000923)	D400 (HH35000971)
(e)GFP: (enhanced) Green Fluorescent Protein	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Hoechst 33342	355/40nm (HH35000913)	460/30nm (HH35000921)	D400 (HH35000971)
Indocyanine green (ICG)	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
IRDye 800	740/40nm (HH35000951)	780nm lp (HH35000952)	D770 (HH35000978)
mCherry	580/20nm (HH35000932)	625/30nm (HH35000937)	D590 (HH35000975)

蛍光または蛍光偏光用色素リスト (アルファベット順) (続き)

Fluorophore	Excitation filter	Emission filter	Dichroic mirror
mOrange	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
PicoGreen	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Red Fluorescent Protein (RFP)	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Resorufin	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
SYBR Green	480/30nm (HH35000902)	530/30nm (HH35000903)	D500 (HH35000973)
Texas Red	580/20nm (HH35000932)	625/30nm (HH35000937)	D590 (HH35000975)
TRITC	530/30nm (HH35000903)	580/20nm (HH35000932)	D565 (HH35000974)
Tryptophan (Trp)	280/10nm (HH35000911)	355/40nm (HH35000913)	BS50/50 (HH35000970)
Venus	495/20nm (HH35000922)	540/30nm (HH35000926)	D500 (HH35000973)
Yellow Fluorescent Protein (YFP)	495/20nm (HH35000922)	540/30nm (HH35000926)	D500 (HH35000973)

* 蛍光色素の濃度によっては、アッセイでテストする必要があります。

ここに記載されていない色素でも、使用可能なフィルターで測定できる可能性があります。蛍光色素を探すには、蛍光色素データベースを利用するか、アッセイキットメーカーに問い合わせ、ここに掲載されているスペクトルアナログを探してください。

より詳細な情報やカスタマイズされたソリューションについては、お問い合わせください。

吸光度用アッセイリスト (アルファベット順)

Chromophore	Filter (or spectrometer setting)
Bacteria (intrinsic)	600/10nm (HH35000934)
BCA	560/10nm (HH35000928)
Bradford	595/10nm (HH35000933)
Cells (intrinsic)	600/10nm (HH35000934)
ELISA: ABTS	405/10nm (HH35000901)
ELISA: OPD	492/10nm (HH35000948)
ELISA: PNPP	405/10nm (HH35000901)
ELISA: TMB	450/10nm (HH35000919)
LDH Activity Assay (Formazan based)	492/10nm (HH35000948)
Nucleic Acids (unlabeled)	260/10nm (HH35000910)
Pierce Protein Assay	660/10nm (HH35000942)
Protein (unlabeled)	280/10nm (HH35000911)
Lowry Protein Assay	750/10nm (HH35000946) or 650/10nm (HH35000941)
Methyl-resorufin	580/10nm (HH35000931)
MTT Assay	570/10nm (HH35000929)

推奨フィルターは、ご使用のアッセイの説明書を参照してください。通常、中心波長が記載されています。吸光度測定には、幅広い蛍光測定用フィルターを使用しないでください。不確かな結果や装置のエラー発生の原因となります。

時間分解蛍光 (TRF) 用蛍光色素リスト

Assay Type	Excitation filter	1st emission filter	2nd emission filter	Dichroic mirror
DELFIA	320/75nm (HH35000947)	615/8nm (HH35000935)	-	D400 (HH35000971)
LANCE	320/75nm (HH35000947)	615/8nm (HH35000935)	665/8nm (HH35000943)	D400 (HH35000971)
HTRF (Eu or Tb/Red)	320/75nm (HH35000947)	620/10nm (HH35000936)	665/8nm (HH35000943)	D400 (HH35000971)
HTRF (Tb/Green)	320/75nm (HH35000947)	*495/20nm (HH35000922)	520/25nm (HH35000949)	D400 (HH35000971)
LanthaScreen (Eu or Tb/FITC or GFP)	320/75nm (HH35000947)	495/20nm (HH35000922)	520/25nm (HH35000949)	D400 (HH35000971)
LanthaScreen (Eu/Alexa647)	320/75nm (HH35000947)	615/8nm (HH35000935)	665/8nm (HH35000943)	D400 (HH35000971)

*620/10nm (HH35000936) も使用できます。

発光用アッセイリスト (アルファベット順)

Assay Type	1st emission filter	2nd emission filter
BRET	460/30nm (HH35000921)	515/30nm (HH35000925)
BRET2	410/80nm (HH35000916)	515/30nm (HH35000925)
Chroma-Glo	510/60nm (HH35000924)	645/75nm (HH35000940)
FireFly Luciferase	700nm sp (HH35000904)	-
NanoBRET	460/80nm (HH35000920)	645/75nm (HH35000940)
Renilla Luciferase	700nm sp (HH35000904)	-
Tiwnlite Glo	700nm sp (HH35000904)	-

カスタムオプティクスサービス

お客様のアッセイに合わせたカスタムソリューションについては、弊社担当者までお問い合わせください。

i CWL = バンドパスフィルターの中心波長

ii BW = フィルターの帯域幅

iii すべての Nivo リーダーに標準搭載されています。

最適なフィルター組み合わせの選択

ステップ 1：蛍光測定について

多くの蛍光測定の場合、蛍光分子のスペクトルのピーク励起波長と蛍光波長のみが注目されますが、実際には、Figure 1 に示すように、スペクトルはさらに広範囲になります。ここで示した形状は典型的な表現にすぎず、実際の蛍光のスペクトルはより複雑になる可能性があります。

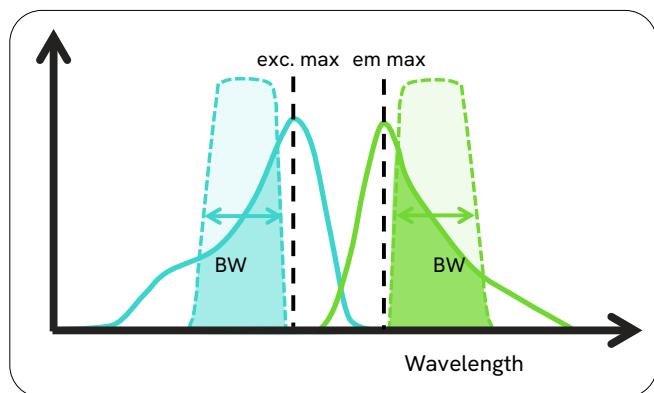


Figure 1:励起と蛍光のスペクトル概略図。蛍光分子のスペクトル（それぞれ青：励起と緑：蛍光の実線）、励起フィルターと蛍光フィルターの透過スペクトル（それぞれ青と緑の破線）。BW はフィルター帯域幅を示します。

ピーク波長だけでなく、蛍光分子に関するより多くの情報を見つけるようにしてください。励起 / 蛍光スペクトルを取得するのが最善です。

ステップ 2：フィルターについて

光学フィルターも中心波長の情報だけで特徴付けられるわけではありません。少なくともフィルターの帯域幅 (BW) を考慮する必要があります。フィルターの光を通す幅であり、いわゆる最大半值全幅 (FWHM) と呼ばれます。大きいほどより広い波長範囲の光を透過させることができます。欠点は、帯域幅が広いと測定目的外物質の波長の光も透過されることです。

ステップ 3：励起フィルターと蛍光フィルターの選択について

特定の蛍光色素に対する適切なフィルターは、蛍光色素のスペクトルの領域とフィルターの透過範囲が最も大きく重なるように選択します。これは、Figure 1 の青色の領域として示されています。スペクトル曲線の高い帯域をカバーすると領域は大きくなります。したがって、明白なアプローチは、蛍光色素分子のスペクトル全体をカバーするフィルターを選択することですが、なぜこれが通常行われないのでしょうか？その理由は、フィルターには光を透過するだけではなく、不要な光をブロッキングするという別の目的も果たさなければならないからです。励起フィルターには、光源からの励起光がサンプルに到達できるように、蛍光色素の励起範囲で大きな透過能力が必要です。ただし、この範囲外の励起光はサンプル表面などで反射して検出器に到達する可能性があるため、透過させるべきではありません。同時に、蛍光フィルターは、蛍光色素の蛍光範囲において大きな透過値を持つ必要がありますが、実際の励起光はブロックする必要があります。

これは Figure 2 に視覚化されており、フィルターのブロッキングが蛍光色素のスペクトルとともに描かれています。ブロッキング範囲と透過範囲の間の遷移は長方形ではありません (Figure 2 のグレー部分のように)。

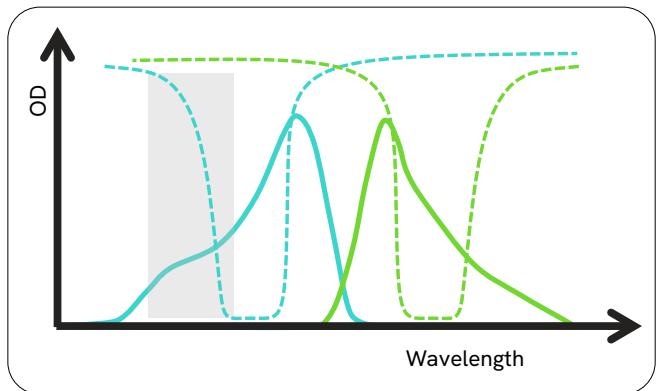


Figure 2：蛍光色素の励起および蛍光スペクトル（実線）と Figure 1 のフィルターの光学密度（破線）の概略図。

励起フィルターは、蛍光色素の励起範囲においては光学密度が低く透過率が高いものの、蛍光範囲付近の長波長においてはブロッキングが増加します。蛍光フィルターは、励起範囲においては高いOD値と良好なブロッキングを示し、蛍光範囲においては低いブロッキング（＝高い透過率）をします。フィルターのOD曲線が交差する点では、十分なブロッキングのために両方のフィルターのOD値が高い必要があることに注意してください。蛍光フィルターの場合、現時点では5以上のODが推奨されます。フィルターのOD曲線の傾きが急であればあるほど、2つのフィルターを相互に近づけることができます。

ステップ4：使用可能なフィルターのリストの活用

多くのフィルターはすでにカタログ フィルターとして利用可能です。フィルターの透過曲線についての正確な知識が不足している場合、適合するフィルターの組み合わせを見つけるのが困難になる可能性があります。ただし、経験則として、励起フィルターの中心波長 + 励起フィルターの帯域幅は、蛍光フィルターの中心波長 - 蛍光フィルターの帯域幅より小さくなければなりません。多くの蛍光測定アプリケーションでは、15～30 nmのフィルター帯域幅が適切です。より広範囲な透過域を持つフィルターは、自家蛍光などによって引き起こされる、より高レベルの潜在的なバックグラウンドシグナルも検出するため、特別なアプリケーションで使用する場合にのみ優れています。一般的には、帯域幅の狭いフィルターと比較すると、帯域幅の広いフィルターはシグナル値対ノイズ値の比が向上し、感度も向上しますが、シグナル値対バックグラウンド値の比が低くなる可能性があります。

For more information:
株式会社レビティジャパン
www.revivity.co.jp/contact-us

revvity