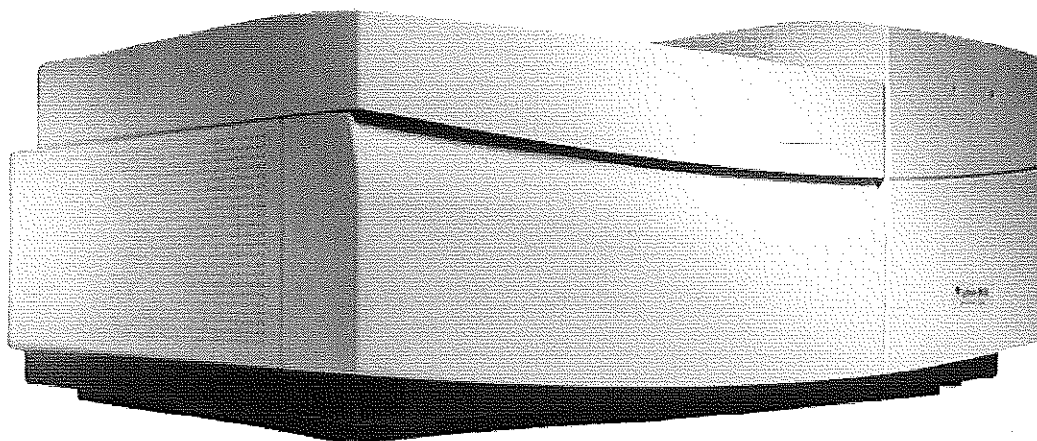


GE Healthcare



## Typhoon9000series 簡易マニュアル



GE imagination at work



## 目次

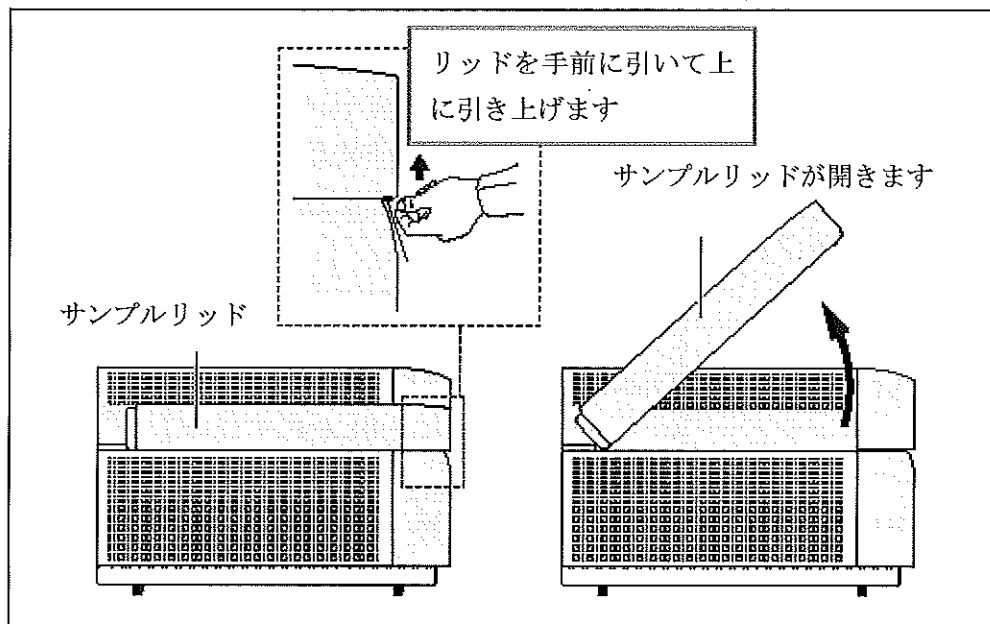
1. Typhoon の起動.....	2
各アイコン(ソフトウェア)の説明.....	3
2. サンプルのスキャン .....	4
2-1) サンプルのセッティング .....	4
2-2) Scanner Control .....	5
Storage Phosphor モード .....	6
Chemiluminescence モード .....	6
Fluorescence モード .....	7
各モード共通のオプションの設定 .....	7
Fluorescence モードでの PMT 最適化法 .....	11
マイクロアレイスライドのスキャン(9210、9410のみ) .....	14
その他の表示について .....	15
スキャンエリアテンプレートの作成のしかた .....	16
Typhoon システムの設定条件例 .....	19
蛍光フィルターリスト .....	19
サンプル形状 .....	22
2-3) Scanner Control ソフトウェアの終了 .....	23
3. Typhoon の終了 .....	23
4. メンテナンスについて .....	23
Typhoon システムでの検出関連製品について .....	24
ストレージフォスファースクリーン & エクスポージャーカセット .....	25
バイオクラフト社製低蛍光ガラスプレート .....	25
ストレージフォスファースクリーンについての FAQ .....	26
蛍光スキャンについての FAQ .....	30



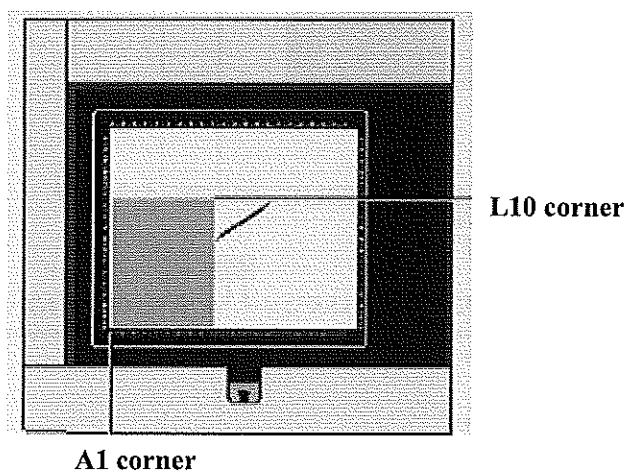
2. サンプルのスキヤン

① サンプルのセッティング

1.) Typhoon のサンプルリッドを開きます。



2.) ガラスプレートの上にサンプルをまっすぐに乗せます。



3.) ガラスプレートの座標から、スキヤンすべきエリアの数字とアルファベットを確認してください。(例えば上図では A1 から L10 までがスキヤンすべきエリアになります。)

② Typhoon Scanner Control ソフトウェアの起動

1.) Typhoon Scanner Control アイコンをダブルクリックします。



Typhoon Scanner Control ウィンドウが開きます。

Typhoon Scanner Control ウィンドウのメニューについては、以下の説明を参照してください。スキャン条件を設定する際に各項目ごとに記載されています。

Typhoon Scanner Control ウィンドウ メニュー

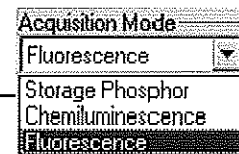
The screenshot shows the Typhoon Scanner Control software interface with several callout boxes pointing to specific features:

- スリープモードの選択** (Sleep mode selection): Points to the 'Sleep Mode' checkbox.
- スキャンモードの切り替え** (Scan mode switching): Points to the 'Acquisition Mode' dropdown menu.
- サンプルの表裏と方向性** (Sample front/back and orientation): Points to the 'Orientation' dropdown menu.
- Pixel sizeの選択** (Pixel size selection): Points to the 'Pixel size' dropdown menu.
- スキャンエリアの指定** (Scan area specification): Points to the grid area.
- 現在のスキャンコンディション** (Current scan conditions): Points to the 'Scan Information' section at the bottom.
- スキャンコンディションの設定** (Scan condition setting): Points to the 'Storage Phosphor' dropdown.
- フォスファモードのコンディション設定** (Phosphor mode condition setting): Points to the 'Phosphor Mode' radio buttons.
- サンプルプレスの選択** (Sample plate selection): Points to the 'Focal Plane' dropdown.
- フォーカス位置選択** (Focus position selection): Points to the 'User Select' dropdown.
- ソフトウェア選択** (Software selection): Points to the 'Image Analysis' dropdown.
- スキャン開始ボタン** (Scan start button): Points to the 'SCAN' button.

2.) スキャンするエリアをマウスで指定します。(スキャンの開始位置の座標をマウスの左ボタンで左下をクリックしそのままスキャンするエリアをドラッグします。)

The diagram shows a grid with columns labeled 1-22 and rows labeled A-R. A white rectangular area is highlighted, indicating the scan area. Callouts include:

- クリック & ドラッグします。** (Click & drag): Points to the white area.
- この白く標示されている領域がスキャンされるエリアです。** (This white area is the area to be scanned): Points to the white area.



3.) スキャンモードを選択します。 *Acquisition Mode*Storage Phosphorモード:

Storage Phosphor スクリーンを用いた RI 検出時に選択します。

Chemiluminescenceモード:

ケミルミネッセンス検出時に選択します。

Fluorescenceモード:

蛍光・ケミフローレッセンス検出時に選択します。

## ③ 各モードでの設定

## 1.) Storage Phosphor モード:

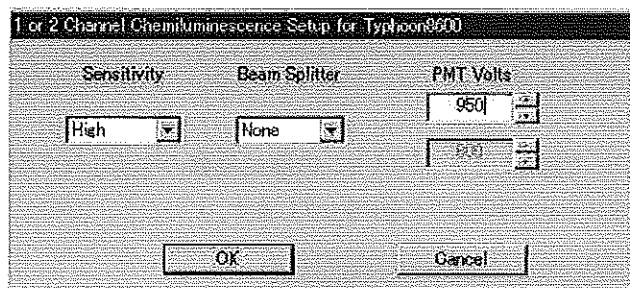
PMT ボルテージ/Emission Filter は設定する必要はありません。自動で選択されます。その他に Phosphor Mode の選択をします。感度 (Best Sensitivity) と解像度 (Best Resolution) の選択を行ないます。通常は Best Sensitivity を選択します。



④へ進みその他の Option を設定してください。

## 2.) Chemiluminescence モード:

Sensitivity は High に PMT ボルテージは 950V に設定します。



④へ進みその他の Option を設定してください。

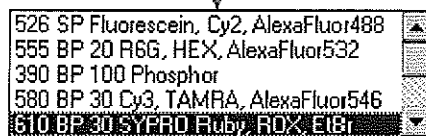
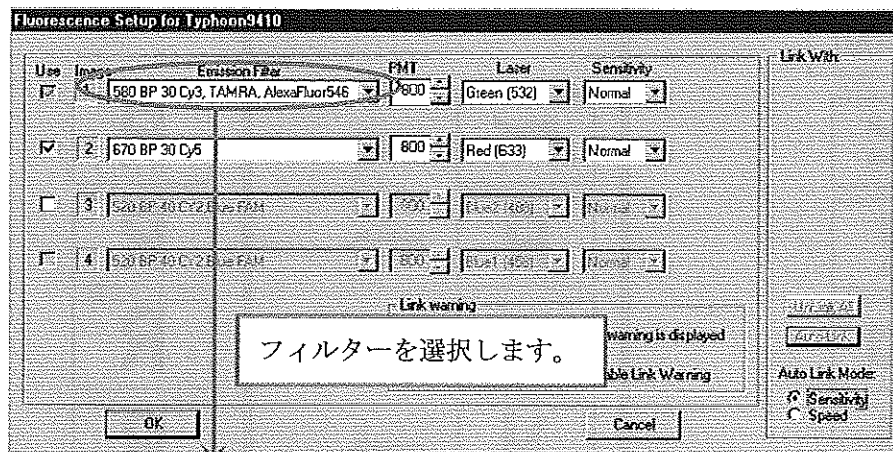


3.) Fluorescence モード:

使用する蛍光試薬に適切な Emission Filter/PMT ボルテージ/レーザーの設定を行います。通常蛍光フィルターを選択すると、自動的に適切と考えられるレーザーが選択されます(フィルターリストは 16 ページを参照して下さい)。レーザーは 532nm、633nm、457nm、488nm から選択します(457nm と 488nm は Typhoon94xx のみです)。

設定値はサンプル形状、使用する蛍光試薬により異なります。

主な蛍光試薬の設定値につきましては 19 ページをご参照ください。

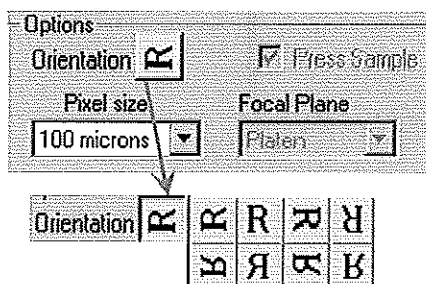


④へ進みその他の Option を設定してください。

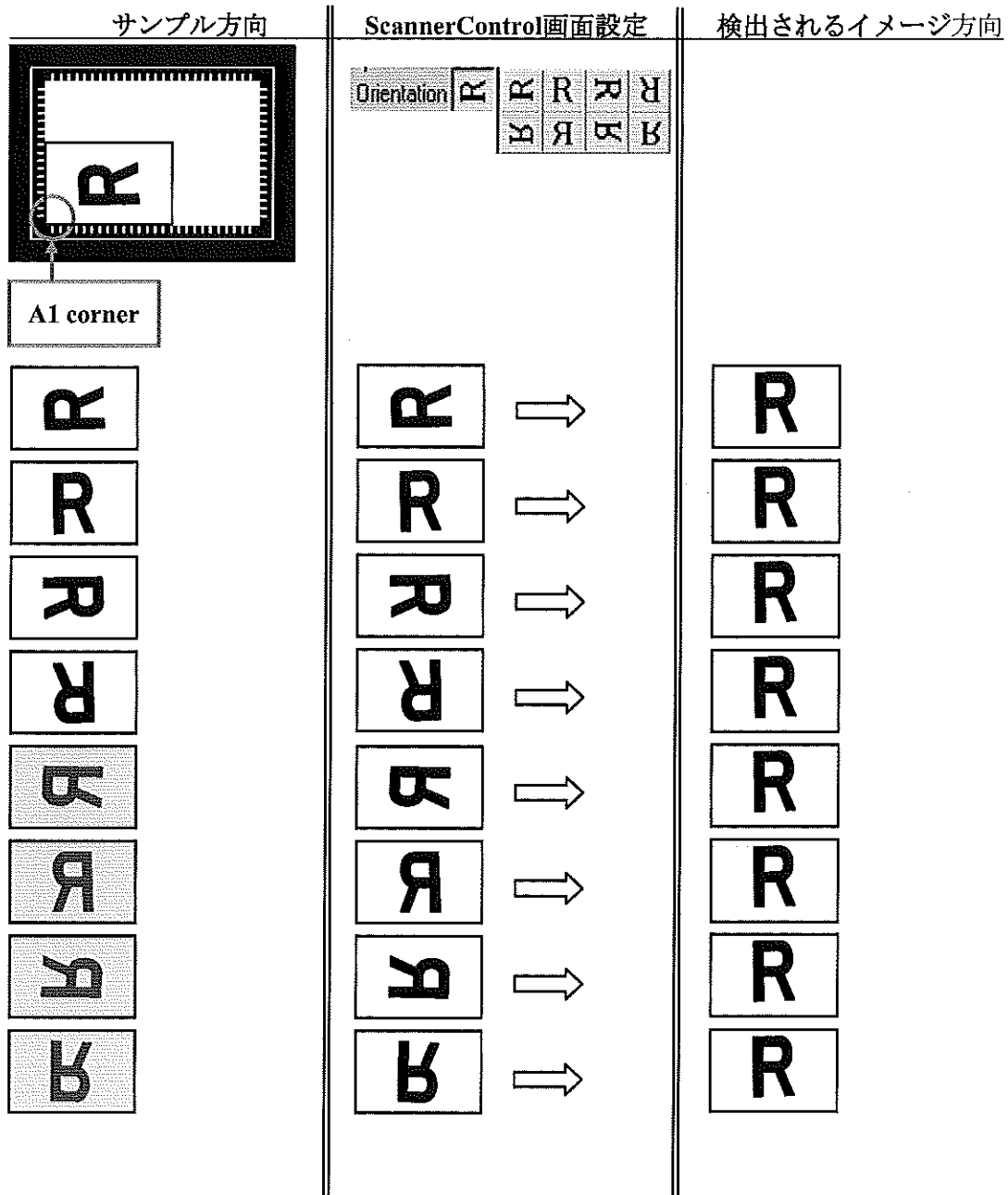
④ その他の各モード共通 Options の設定を行います。

Orientation:

サンプルの表裏と方向を決定し選択します。



・Scanning 時のサンプル方向について

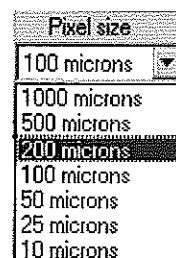


<table border="1"> <tr><td>R</td></tr> </table>	R	アクリルアミドゲル、マイクロタイタープレート アガロースゲル 等
R		
<table border="1"> <tr><td>R</td></tr> </table>	R	メンブレン、ストレージフォスファースクリーン、TLC プレート (アガロースゲル) 等
R		



**Pixel Size:**

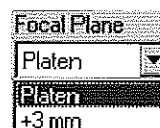
ピクセルサイズを決定します。10  $\mu$  m/25  $\mu$  m/50  $\mu$  m/100  $\mu$  m/200  $\mu$  m/500  $\mu$  m/1000  $\mu$  mから選択します(10  $\mu$  mはTyphoon9x10のみです)。500  $\mu$  m、1000  $\mu$  mはPMTの設定値を決定するためのプレスキャンとして使用します。



**注意!** Storage Phosphor モードではプレスキャンを行うとシグナルが消失してしまいます。

**Focal Plane:**

フォーカス位置を決定します。アガロースゲルやガラスサンドイッチのゲルなど厚みのあるサンプルは+3mmを選択します。



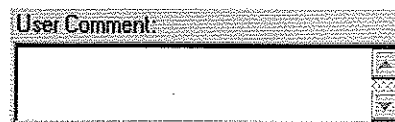
**Press Sample:**

メンブレンやストレージフォスファスクリーンなど厚みのないサンプルはガラスプレートに密着させるためプレスすることができます。必要な場合はチェックします。



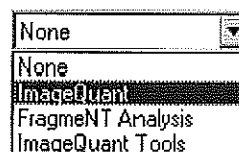
**User Comment:**

サンプル条件・スキャン条件など自由にコメントを記入することができます。コメントはスキャン終了後ImageQuant上でFile→Scan Informationで見ることができます。



**Image Analysis:**

スキャン終了後自動でソフトウェアが立ち上がりイメージを表示します。通常はImageQuantを選択します。Fragment Analysisはフラグメント解析専用のソフトウェアです。分子量、等電点の測定を行いません。FluorSepは多重染色されたサンプル専用の蛍光分離用ユーティリティソフトウェアです。ImageQuant Toolsはイメージの回転などの操作を行なうことができます。

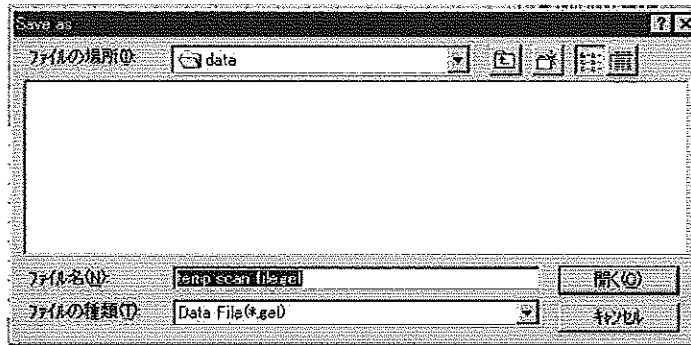


※ 入力されたスキャン条件や、スキャン後に作製されるファイルサイズはスキャナーコントロール画面の一番下に表示されます。



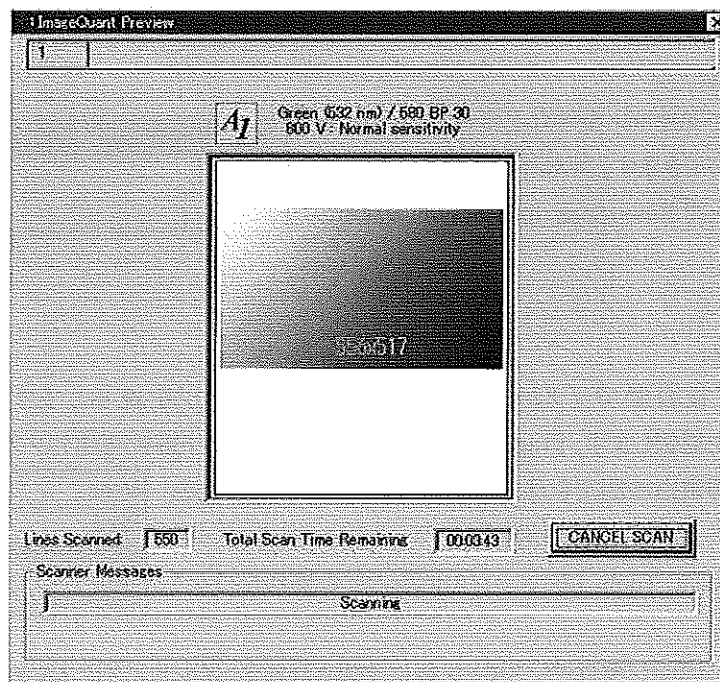
- ⑤ Scan を行ないます。 **SCAN...** ボタンをクリックします。

画面に Save As ウィンドウが表示されるので、サンプルのイメージデータに名前を付けます。Open をクリックします。



保存されるファイルには、.gel や .ds の拡張子がつきます。.ds は Data Set ファイルを指し、多重蛍光スキャンを行なった場合に付きます。それ以外は、.gel が付きます。ファイル名はアルファベットと数字と\_(アンダーバー)が使用できます。

- 1.) スキャンが始まります。スキャン時には、プレビュー画面が表示されます。



- 2.) スキャンが終了すると、自動的にファイルは保存されます。  
Image Analysis でソフトウェアを選択しておくとも自動的にスキャンした画像が表示されます。




## ⑥ Fluorescence モードでの PMT 電圧最適化法

Typhoon の PMT 電圧は、300～1,000 V で設定できますが、直線性を得るためには 400～900 V の範囲でスキャンすることをおすすめします。電圧は、標識試薬や色素の種類と量に応じて設定します。解像度 500 または 1,000 microns での高速のプレスキャンを行って、適切な電圧を確認する必要があります。プレスキャンは定量解析には使用しない比較的低い解像度で、高速でスキャンで行います。これによって、必要な PMT 電圧を求める際の目安となる、おおよその予想シグナル値が得られます。なお、実際の解析に用いるイメージの取得には、解像度を 100 microns に設定してスキャンします。DeCyder によるデータ解析にはこの解像度が必要です。

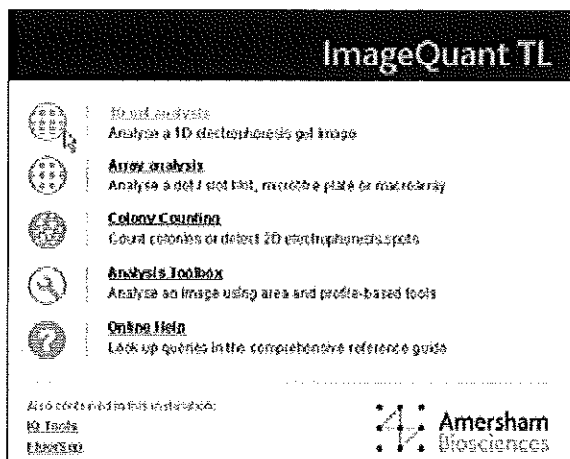
弊社で使用した大腸菌モデルシステムでは、タンパク質 50  $\mu$  g を 400 pmol の CyDye DIGE Fluor minimal dye で標識し、24 cm の pH 3-10 NL Immobiline DryStrips を使用して Ettan DALT ゲルで泳動したとき、通常以下の PMT 電圧で適した最大ピクセル値 (50,000～80,000) が得られます。




表紙標識試薬	PMT 電圧
CyDye DIGE Fluor minimal dyes	500 ~ 550
SYPRO Ruby	450 ~ 500

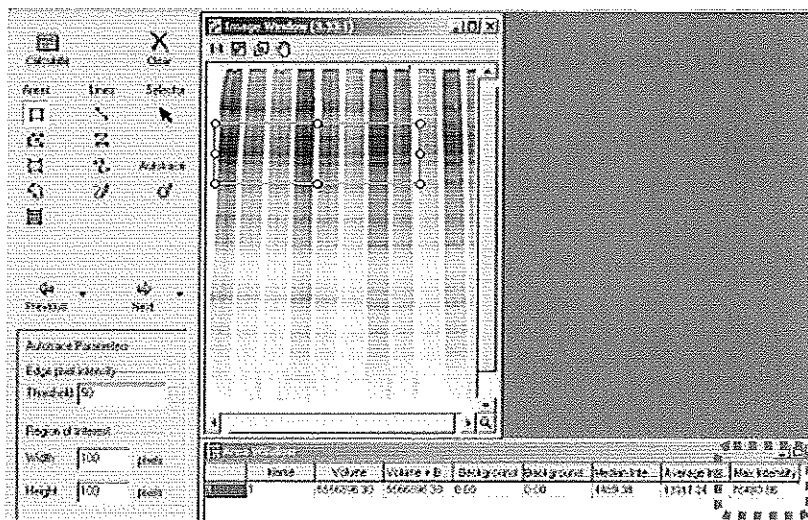
最大ピクセル値 (max intensity) が 50,000～80,000 になるように PMT 電圧を調整します。最大ピクセル値 (max intensity) がこの範囲をはずれた場合、10～50 V 程度で比較的少しずつ調節することをおすすめします。

- 1) Typhoon でプレスキャンを行います。プレスキャンは 1,000 microns の解像度で行ってください。
- 2) デスクトップのアイコン  をクリックして ImageQuant TL を起動します。
- 3) ImageQuant TL Control Center (タイトル画面) が表示されます。





- 4) Analysis Toolbox  をクリックして起動します。
- 5) Open ボタンまたは File/Open メニューでプレスキャンイメージファイルを選び **Open** ボタンを押します。
- 6) イメージが開かれます。
- 7) ウィンドウ左のナビゲーターにある Shape Definition ボタン  を押します。  
ナビゲーターに各種ツールボタンが表示されます。
- 8) Rectangle ツール  を使用してイメージ上の解析対象範囲で最もシグナルの強いと思われる部分を枠で囲みます。このとき枠は泳動先端、スペーサー、ゲル先端などの解析対象外の部分を除いて設定します。



- 9) Area window に設定した枠内の Max Intensity が表示されます。囲んだ領域の Max intensity が 50,000～80,000 の範囲に入らない場合には、PMT 電圧を増減調整してプレスキャンをやり直し、再度同じ手順で確認します。
- 10) 至適 PMT 電圧を設定したら 100～500  $\mu\text{m}$  の解像度で解析用イメージをスキャンします。



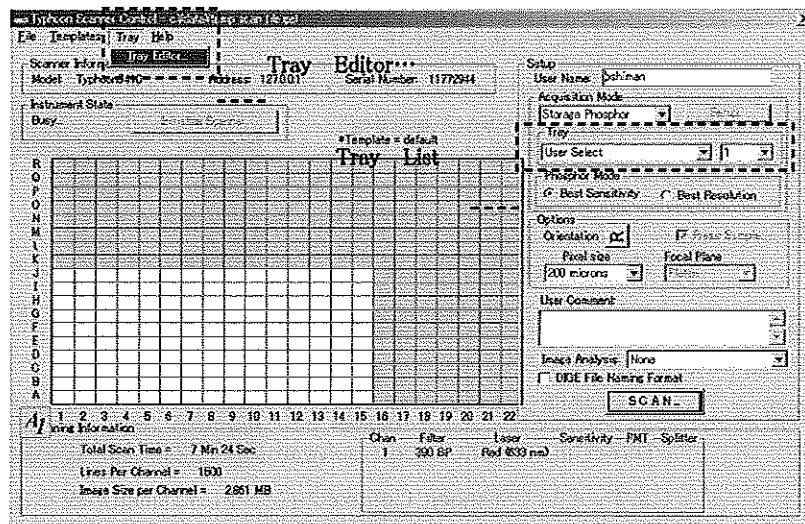
## 2. 固定スキャンエリアテンプレートの利用について

複数のサンプルを一度にスキャンする場合(例、DIGE gel等)、Tray Editorウィンドウを使用してサンプル毎にスキャンエリアを分離設定することができます。

Scanner ControlウィンドウのTray listから予め作成しておいた設定を選択します。

スキャンボタンをクリックした際にMultiple sample naming ウィンドウが表示されます。Edit sample file name…ボタンをクリックし、それぞれのファイル名を変更することができます。

Base file nameに入力すると同じサンプル名に数字が付いて個々に保存されます。



Scanner Controlには、tray listが予め入っています。

User Select— Scanner Control ウィンドウから1箇所スキャンエリアを設定できます。

DIGE Ettan DALT— DIGE Ettan DALT ゲルアライメントガイドに則った形で2箇所のスキャンエリア設定を行うことができます。

DIGE SE600— DIGE SE600 ゲルアライメントガイド に則った形で4箇所のスキャンエリア設定を行うことができます。

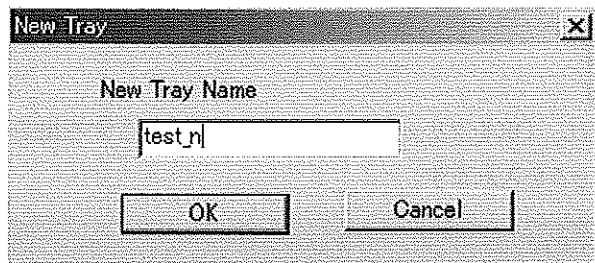
MicroArray 2 Slides—マイクロアレイスライドホルダーに則った形で2箇所のスキャンエリア設定を行うことができます。



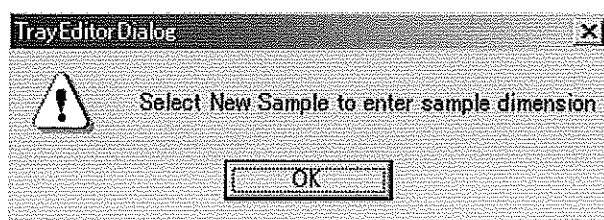
### 3. Tray list (固定スキャンエリアテンプレート) の新規作成方法

3-1. Tray listを作成することができます。Tray メニューからTray Editor を選択します。Tray Editor ウィンドウが表示されます。

3-2. New Trayをクリックします。New Tray ウィンドウが表示されます。

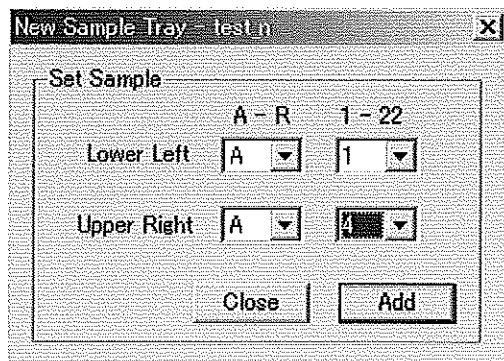


3-3. Tray nameを入力し、OKをクリックします。サンプル位置を設定してくださいというダイアログが表示されます。



OKをクリックします。

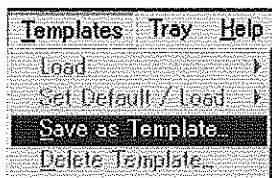
3-4. New sampleボタンをクリックし、サンプル位置を入力していきます。



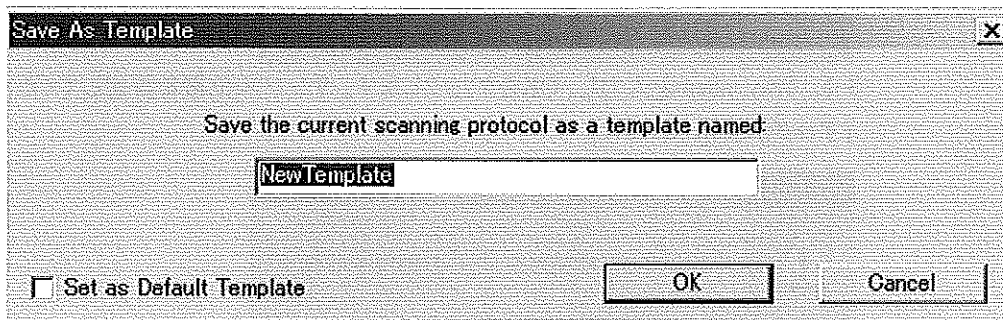
サンプル座標を入力したらAddをクリックし、必要なサンプル位置を決定していきます。サンプル位置の設定が終了したら、Current TrayをクリックしCloseをクリックします。Tray listの中に作成したsample trayが表示されます。



3-5. すべての設定が終わったら、TemplatesメニューからSave as Template…を選択します。



3-6. Template名を入力し、OKをクリックします。Default設定にする場合は、Set as Default Templateにチェックを入れます。





## Typhoonシステムの設定条件例

それぞれの蛍光試薬/検出方法/サンプル形状に応じて、最適なレーザー、フィルター、PMT ボルテージ（フォトマルの設定電圧）を選択してください。PMT ボルテージは下記の値を参考として最適な電圧値を設定してください。

	Extation(nm)	Emission(nm)	PMT voltage
ECL plus(94xx のみ)	457	520BP40	400 to 600
Cy2	488	520BP40	400 to 600
Fluorescein	532	526SP	400 to 600
Vistra Green	532	526SP	400 to 600
SYBR Green I	532	526SP	400 to 600
Ethidium Bromide	532	610BP30	400 to 600
SYBR Gold	532	526SP	400 to 600
Fluorescence5' Oligolabelling kit	532	526SP	400 to 700
Pico Green	532	526SP	400 to 600
ECFRandomPrime Labelling and Signal Amplification Kit	488/532	555BP20/560LP	400 to 600
ECFSubstrate (AttoPhos)	488/532	555BP20/560LP	400 to 600
HEX	532	555BP30	400 to 600
Cy3	532	580BP30	400 to 600
SYPRO Orange	532	580BP30	400 to 600
SYPRO Red	532	610BP30	400 to 600
SYPRO Ruby	532	610BP30	400 to 600
Cy5	633	670BP30	400 to 600
DDAO Phosphate	633	670BP30	400 to 600

## 蛍光フィルターリスト

フィルター	カットオフポイント	使用蛍光試薬例
390BP100	340nm-440nm	Phosphor
520BP40(94xx のみ)	500nm-540nm	Cy2,BlueFAM,ECL plus
526SP	<526nm	Fluorescein,VistraGreen,ECF,FAM,PicoGreen
555BP20	545nm-565nm	HEX,R6G,TET,AlexaFluor546
560LP	>560nm	TRITC
580BP30	565nm-595nm	Cy3,TAMRA,HEX,SYPRO Orange
610BP30	595nm-625nm	EtBr,ROX,SYPRO Ruby/Red,
670BP30	655nm-685nm	Cy5



## 核酸のゲル染色

Stain	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	Application
Ethidium bromide	526	605	Red	一般核酸染色
SYBR Gold	495	537	Orange-green	ssDNA、dsDNA、RNA
SYBR Green I	497	520	Green	dsDNA、オリゴヌクレオチド
SYBR Green II and ssDNA	497	520	Green	RNA、ssDNA
Vistra Green	495	520	Green	dsDNA、オリゴヌクレオチド

## タンパク質の蛍光ゲル染色

Stain	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	Application
SYPRO Orange	300、470	570	Orange	SDS-PAGE
SYPRO Red	300、550	630	Red	SDS-PAGE
SYPRO Ruby	280、450	610	Red	2-Dゲル、SDS-PAGE
SYPRO Ruby IEF	280、450	610	Red	IEFゲル
SYPRO Tangerine	300、490	640	Red	SDS-PAGE抗体検出もしくは ザイモグラフィー

## 核酸溶液定量のための蛍光試薬

Dye	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	Application
OliGreen	500	523	Green	ssDNAおよびオリゴヌクレオチド
PicoGreen	502	523	Green	dsDNA
RiboGreen	500	523	Green	RNA

## タンパク質溶液定量のための蛍光試薬

Dye	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	Application
CBQCA	465	550	Orange	アミノ酸残基数によるタンパク質 定量
NanoOrange	470	570	Orange	タンパク質定量

## 蛍光基質を用いたサザン・ノーザンブロッティング

基質	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	酵素
DDAO phosphate	646	660	Red	アルカリフォスファターゼ
ECF	440	560	Green	アルカリフォスファターゼ



## 蛍光基質を用いたウェスタンブロットティング

基質	Excitation	Emission	Fluorescence	
	max (nm)	max (nm)	emission colour	酵素
DDAO phosphate	646	660	Red	アルカリフォスファターゼ
ECF	440	560	Green	アルカリフォスファターゼ
ECL Plus	430	503	Blue	HRP

## ウェスタンブロットティングの蛍光試薬

Stain	Excitation	Emission	Fluorescence	
	max (nm)	max (nm)	emission colour	Application
SYPRO Rose Plus	~350	610	Red	ブロットティング染色 (PVDFまたはニトロセルロース)
SYPRO Ruby blot	280、450	618	Red	ブロットティング染色 (PVDFまたはニトロセルロース)

## 一般的蛍光標識

Fluorophore	Colour of Fluorescence	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Extinction coefficient ( $M^{-1}cm^{-1}$ )	Quantum yield for protein conjugates	Formula weight (g/mo)	
						Mono-reactive	Bis-reactive
FluorX	Green	494	520	68000	0.30	586.60	-
Cy2	Green	489	506	~150000	>0.12	713.78	896.95
Cy3	Orange	550	570	150000	>0.15	765.95	949.11
Cy3.5	Scarlet	581	596	150000	>0.15	1102.37	1285.54
Cy5	Far-Red	649	670	250000	>0.28	791.99	975.15
Cy5.5	Near IR	675	694	250000	>0.28	1128.41	1311.58
Cy7	Near IR	743	767	~250000	~0.28	818.02	1001.19

## GFPとGFP変異体

Protein	Excitation max (nm)	Emission max (nm)	Fluorescence emission colour	Extinction coefficient ( $M^{-1}cm^{-1}$ )	Quantum yield	Approximate
						relative brightness
EBFP	380	440	Blue	31000	0.18	1×
ECFP	434	477	Blue	26000	0.40	-
GFP (wt)	395、470	508	Green	-	-	1×
GFP-S65T	488	511	Green	-	-	4-6×
EGFP	489	508	Green	55000	0.60	35×
EYFP	514	527	Yellow-green	84000	0.61	35×
DsRed	558	583	Red	22500	0.23	6×



## サンプル形状

Typhoon でスキャンすることが可能なサンプルとバックグラウンドを下げるための注意点です。

### アガロースゲル

厚み、濃度ともにバックグラウンドに比例するため、厚みは 5mm 程度までのものが望ましいです。SeaKem GTG が比較的安価でバックグラウンドが低くなります。加熱時に完全に溶解させないとアガロースの粒子が点状のバックグラウンドとして検出されます。BPB、XC 等の色素マーカは検出されますので、特に定量実験の際に目的のバンドにかかったりすると定量値に影響を与えるためにサンプルには色素マーカは加えない方がよいです。3mm 上に焦点を合わせて検出を行います。

### アクリルアミドゲル

厚み、濃度ともにバックグラウンドにほとんど影響しません。ガラスプレートに支持したゲルをスキャンする場合には、無蛍光ガラスプレートの厚みが 3mm のものを使用してください。3mm 上に焦点を合わせて検出を行います。BPB、XC 等の色素マーカは検出されますので、特に定量実験の際に目的のバンドにかかったりすると定量値に影響を与えるためにサンプルには色素マーカは加えない方がよいです。

### マイクロタイタープレート

市販の蛍光のマイクロタイタープレートリーダー用の平底のもの (ex.Nunc#168055, CORNING#25801) を使用します。3mm 上まで液量があるようにサンプルを入れ、3mm 上に焦点を合わせて検出を行います。

### TLC プレート

ガラスで支持されているものを使用します。(アルミのものは使用不可。プラスチックのものはバックグラウンドが高くなります。)



**メンブレン**

ナイロン、ニトロセルロース共にバックグラウンドは高いです。(530nm 付近にバックグラウンドのピークがあります。)ナイロンではアマシヤムバイオサイエンス社製の Hybond-N+が比較的バックグラウンドが低くなります。PVDF は比較的バックグラウンドが低くなります。また、ハイブリバックはバックグラウンドが高くなるので、低蛍光性ラップフィルム(材質:ポリメチルペンテン樹脂)を使用することをお勧めいたします。

**マイクロアレイスライド**

特に制限はありませんが、スライド表面が乱反射してしまうものは使用できません。スキャンする前には表面のゴミやほこりを吹き飛ばします(こすったり、拭き取ったりはできません)。

(注意:スライドの大きさに注意して下さい。大きさによってはホラダーに入らないことがあります。)

## 2-3) Scanner Control ソフトウェアの終了

Scanner Control のメニューバーから、File の Exit を選択します。

**3. Typhoon の終了**

- ① コンピュータを終了します。

Windows の Start ボタンをクリックし、Shut Down を選択します。Shut Down を選択し、OK をクリックします。

- ② テーブルタップの電源スイッチを OFF にします。コンピュータ・モニター・Typhoon 本体・プリンターの電源が落ちます。
- ③ 94xx では、外部レーザーユニットのファンが止まってから、200V の電源を切ります。

**4. メンテナンスについて**

スキャン終了後ガラスプレート上のサンプルは速やかに回収して下さい。蛍光染色したゲルなどを長時間放置しますと、ガラス上に蛍光色素が付着し次回スキャンした際にバックグラウンドとして検出されることがあります。

スキャン終了後、サンプルを回収しましたらガラスプレート上に超純水をかけ、ケイドライなどほこりのでにくいもので拭き取って下さい。

汚れが落ちにくい場合は 70%エタノールをケイドライなどに染み込ませ、拭き取ってから超純水で拭き取ってください。



## Typhoon システムでの検出関連製品について

製品名	コード番号	価格
PlusOne エチジウムブロマイド水溶液 (10mg/ml)	17-1328-01	¥7,200
Vistra Green Nucleic Acid Stain (500 $\mu$ l)	RPN5786	¥21,000
Vistra Green Nucleic Acid Stain (50 $\mu$ l x 20)	RPN5787	¥40,000
SYPRO Orange Protein Gel Stain	RPN5801	¥27,000
SYPRO Red Protein Gel Stain	RPN5804	¥27,000
SYPRO Tangerine Protein Gel Stain	RPN5805	¥27,000
ECF Random-Prime Labelling and Detection System Set for RPN5751 and RPN5750	RPN5752	¥79,000
ECF Random-Prime Labelling Module	RPN5751	¥36,000
ECF Detection Module	RPN5750	¥52,000
5'Oligo labeling Kit for Fluorescence	RPN5755	¥45,000
ECF Western Blotting Kit Sufficient reagents for detection of 2500cm <sup>2</sup>	RPN5780	¥68,000
ECF Western Blotting Regent Pack for mouse antibody Sufficient reagents for detection of 2500cm <sup>2</sup>	RPN5781	¥43,000
ECF Western Blotting Regent Pack for rabbit antibody Sufficient reagents for detection of 2500cm <sup>2</sup>	RPN5783	¥43,000
ECF substrate	RPN5785	¥20,000
Cy3 mono-Reactive Dye Pack	PA23001	¥30,500
Cy5 mono-Reactive Dye Pack	PA25001	¥30,500
ECL-Plus Western Blotting Detection Reagents RPN2132 For 1000cm <sup>2</sup> membrane detection		¥33,000
ECL-Plus Western Blotting Detection Reagents RPN2133 For 3000cm <sup>2</sup> membrane detection		¥70,000
Hybond-N+ (20 x 20cm,10sheets)	RPN2020B	¥21,000
Hybond-P(20 x 20cm,10sheets)	RPN2020F	¥19,000
Low Fluor G.P. 16 x 18cm,3mm thick	80-6442-14	¥9,000



## ストレージフォスファースクリーン &amp; エクスポージャーカセット

コード番号	製品名	価格
63-0034-89	Mounted, GP, 20 x 25 cm, Screen and cassette	¥166,000
63-0034-88	Mounted, GP, 20 x 25 cm, Screen only	¥140,000
63-0034-82	Mounted, GP, 35 x 43 cm, Screen and cassette	¥332,500
63-0034-81	Mounted, GP, 35 x 43 cm, Screen only	¥300,000
63-0034-85	Mounted, GP, 17.5 x 43 cm, Screen and cassette	¥199,500
63-0033-58	Mounted, LE, 20 x 25 cm, Screen and cassette	¥171,000
63-0033-59	Mounted, LE, 20 x 25 cm, Screen only	¥145,000
63-0033-51	Mounted, LE, 35 x 43 cm, Screen and cassette	¥356,000
63-0033-52	Mounted, LE, 35 x 43 cm, Screen only	¥325,000
63-0034-86	Unmounted, GP, 20 x 25 cm, Screen and cassette	¥152,000
63-0034-87	Unmounted, GP, 20 x 25 cm, Screen only	¥130,000
63-0034-79	Unmounted, GP, 35 x 43 cm, Screen and cassette	¥313,000
63-0034-80	Unmounted, GP, 35 x 43 cm, Screen only	¥290,000
63-0034-84	Unmounted, GP, 17.5 x 43 cm, Screen and cassette	¥175,000
63-0034-83	Unmounted, GP, 17.5 x 43 cm, Screen only	¥145,000
63-0034-90	Unmounted, GP, Macroarray(24 x 30 cm), Screen only	¥140,000
63-0033-57	Unmounted, LE, 20 x 25 cm, Screen and cassette	¥156,000
63-0033-56	Unmounted, LE, 20 x 25cm, Screen only	¥135,000
63-0033-55	Unmounted, LE, 35 x 43 cm, Screen and cassette	¥332,000
63-0033-54	Unmounted, LE, 35 x 43 cm, Screen only	¥310,000
63-0033-53	Unmounted, LE, Microarray(24 x 30 cm), Screen only	¥155,000
63-0035-50	Tritium Screen(19 x 24 cm), Mounted, screen only	¥75,000
63-0035-49	Tritium Screen(19 x 24 cm), Unmounted, screen only	¥70,000
63-0035-51	Tritium Screen(19 x 24 cm), Screen kit(1mounted, 4unmounted)	¥337,000
63-0035-48	Tritium Screen(19 x 24 cm), Backing plate	¥15,000
63-0035-46	Exposure Cassettes, for mounted screens, 20 x 25 cm	¥35,000
63-0035-47	Exposure Cassettes, for mounted screens, 35 x 43 cm	¥50,000
63-0035-44	Exposure Cassettes, for unmounted screens, 20 x 25 cm	¥30,000
63-0035-45	Exposure Cassettes, for unmounted screens, 35 x 43 cm	¥40,000

## バイオクラフト社製低蛍光ガラスプレート

コード番号	製品名	サイズ (mm)	価格
6180	無蛍光プレート	200×360×3 切込	¥15,000
6181	無蛍光プレート	200×360×3 平板	¥12,000
6182	無蛍光プレート	200×330×3 切込	¥14,000
6183	無蛍光プレート	200×330×3 平板	¥10,000



## Typhoon システム ストレージフォスファモード FAQs

## 1. ストレージフォスファスクリーンの原理について

## 1-1. サンプル画像をストレージフォスファスクリーンに写す方法は？

ストレージフォスファスクリーンの表面には BaFBr:Eu<sup>2+</sup> という物質の結晶格子が薄層コーティングされています。放射線同位体サンプルから発せられた放射線のエネルギーは Eu<sup>2+</sup> 電子を励起させこの電子が蛍光体に移行します。露光過程の間、Eu<sup>2+</sup> は酸化されて Eu<sup>3+</sup> に、BaFBr は還元されて BaFBr<sup>-</sup> になります。これらのイオンエネルギーはスクリーンをサンプルから外してもスクリーン上に残ります。この方法により、蛍光体は電離放射線からエネルギーを補完することができます。

## 1-2. ストレージフォスファスクリーンから Typhoon へのシグナル移行はどのように行われますか？

ストレージフォスファスクリーンに蓄積されたエネルギーは至適波長の光が当たると放出されます。Typhoon ではスクリーンを red(633nm)laser を使用してスキャンします。スクリーン上の BaFBr-複合体はこのレンジの光に刺激を受け (図 4-1)、Eu<sup>3+</sup> から電子エネルギーを 390nm の光エネルギーに変えて放出して Eu<sup>2+</sup> の基底状態に戻ります。Typhoon システムはこの光を集光し検出します。

## 2. ストレージフォスファスクリーンの利点

## 2-1. ストレージフォスファスクリーンと X 線フィルムではどのような違いがありますか？

通常使用されている X 線フィルムと比較した場合のストレージフォスファスクリーンオートラジオグラフィの利点は以下の通りです。

- ・露光時間は X 線フィルムより同等から 10 倍速くなります。(使用している X 線フィルムの性能や使用する放射性同位体により異なります。)
- ・直線性を示すダイナミックレンジは X 線フィルムの  $10^{2.5}$  に対し  $10^5$  です。
- ・トリチウム専用プレート以外のストレージフォスファスクリーンは再利用可能です。
- ・画像のデジタル化を行い、ソフトウェアによる解析を行うことが出来ます。

## 3. ストレージフォスファスクリーンのタイプについて

## 3-1. ストレージフォスファスクリーンのタイプはどのようなものがありますか？

ストレージフォスファスクリーンはほとんどの放射性同位体から放出される  $\beta$  線や  $\gamma$  線といった電離放射線を検出することができます。ストレージフォスファスクリーンには 3 つのタイプがあります。

- ・ General-purpose (GP) ストレージフォスファスクリーン
- ・ Low-energy (LE) ストレージフォスファスクリーン
- ・ Tritium (TR) ストレージフォスファスクリーン

TRスクリーンのサイズ: 19 cm × 24 cm のみ

GP and LE スクリーンのサイズ (mounted = アルミニウムバックングあり、または unmounted = アルミニウムバックングなし): 20 cm × 25 cm・ 17.5 cm × 43 cm・ 35 cm × 43 cm・ マクロアレイスクリーン 24 cm × 30 cm (unmounted のみ販売)

通常、露光はエクスポージャーカセット内で行います。





エクスポージャーカセットのサイズ: 20 cm × 25 cmのmountedおよびunmounted用・ 35 cm × 43 cmのmountedおよびunmounted用

3-2. GP (General-purpose) ストレージファスファスクリーンの取り扱い方法について教えてください。

プレート表面上に傷等をつけると保護層コーティングが剥れてしまう恐れがあります。GPスクリーンの取り扱いには充分注意してください。

一般的なサンプルに対してTyphoonシステムを使用する場合、GPスクリーンを選択します。GPスクリーンは、BaFBr:Eu+2結晶層をコーティングする永続性の酢酸セルロース保護層によって放射能汚染から保護されています。GPスクリーンの結晶層は、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{P}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ および $^{14}\text{C}$ のみならずほとんどの放射性同位体からのエネルギーを検出することができます。GPスクリーンに露光することができる一般的なサンプルは $^{32}\text{P}$ 標識によるノーザンブロット、 $^{32}\text{P}$ 標識によるサザンブロット、 $^{125}\text{I}$ 標識によるウェスタンブロット及び様々なゲル等があります。

3-3. LE (Low-Energy) ストレージファスファスクリーンの取り扱い方法について教えてください。

プレート表面上に傷等をつけると保護層コーティングが剥れてしまう恐れがあります。LEスクリーンの取り扱いには充分注意してください。また、露光時に濡れているサンプルや湿っているサンプルを使用するとスクリーンに支障をきたす場合があります。LEスクリーンで露光する場合はサンプルを必ず乾燥させてから露光してください。

$^{33}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ の検出等、より感度を要する実験系の場合LEスクリーンを選択します。LEスクリーンは酢酸セルロース保護層がGPスクリーンより薄く、スクリーンから放出エネルギーを増感させる為少量のヨウ化物を含んでいます。 $^{35}\text{S}$ 標識によるシーケンズゲルや $^{35}\text{S}$ 標識によるタンパク質電気泳動ゲルや $^{33}\text{P}$ 標識マクロアレイの検出等に使用します。

3-4. TR (Tritium) ストレージファスファスクリーンの取り扱い方法について教えてください。

TRスクリーンの取り扱いには充分注意してください。TRスクリーンで露光する場合はサンプルを必ず乾燥させてから露光してください。TRスクリーンは基本的に再利用できません。

$^3\text{H}$ を記録するためにTRスクリーンを使用します。このスクリーンは酢酸セルロース保護層で覆われないので、 $^3\text{H}$ によって放射された微弱なエネルギーを検出することができます。ホールボディの組織サンプル等の検出に用いられます。

#### 4. サンプル準備について

サンプルを準備する際、次のガイドラインを参照してください:

- ・ 使用する放射性同位体、サンプルについては各研究施設の手続き、規則に従ってください。
- ・ 薄層クロマトグラフィー (TLC) プレートはスクリーンに露光する前に完全に乾燥させてからご使用ください。スクリーンを汚れから守るためにラップフィルムなどで乾燥したTLCプレートを包んでください。
- ・ Typhoonを蛍光でも使用する場合は特にパウダーフリーの手袋をご使用ください。埃やゴミがガラス表面に無いように気をつけてください。
- ・ アルカリ性の変性ゲルは中和し、酢酸および有機溶媒がない状態にしてください。これらの試薬に浸された状態のサンプルはラップフィルムなどに浸透し、スクリーンを破損する恐れがあります。
- ・ PPO や Amplify™などの増感剤は使用しないでください。これらはスクリーンの機能を阻害します。



#### 4-1. ウェットゲルを使用した露光は可能ですか？

スクリーンによって使用可能か否かが決定します。以下を参照ください。

- ・ラップフィルム等を使用してGPスクリーンを保護してください。これにより、放射性同位体によるプレートの汚染も防ぐことができます。
- ・エクスポージャーカセット内でウェットゲルの露光を行うことはできます。但し、カセットのクランプは閉じないように注意してください。可能であれば、ろ紙をカセット内に敷いてご使用ください。
- ・ゲルの厚みがある場合はエクスポージャーカセットでは露光できないので、引き出しやボックス内で露光を行いません。
- ・LEスクリーンは溶液に非常に弱く破損する場合がありますので、ウェットゲルを露光しないでください。LEスクリーンにゲルを露光する前に乾燥していることを確認してください。
- ・TRスクリーンは溶液に非常に弱く破損する場合がありますので、ウェットゲルを露光しないでください。

#### 注意！

有機溶媒を始めどのような試薬でも直接スクリーンにコンタクトしないでください。有機溶媒はラップに浸透してスクリーンを破損する恐れがありますので、使用しないでください。

### 5. ストレージフォスファスクリーンのクリーニングについて

#### 5-1. ストレージフォスファスクリーンのクリーニング方法を教えてください。

使用するストレージフォスファスクリーンのタイプによって、適切なクリーニング方法を選択します。

- ・GP及びLEスクリーン: 柔軟な綿布およびKodak™ Intensifying Screen Cleaner (V1064930)を使用してください。使用方法はボトルに記載された指示に従ってください。少量のアルコールまたは蒸留水を使用してください。粉末洗剤を使用しないでください。溶解しきれなかった粒子によりスクリーンを傷つけることがあります。このクリーニングを行うことにより、埃、指紋、静電気および放射性同位体サンプルのある程度の汚染を取り除くことができます。
- ・TR スクリーン: 直接放射性同位体サンプルを付けて露光を行った場合はディスプレイザブルになります。表面は保護コーティングされていませんので、緩やかにガスを吹きかけるかまたは柔軟なブラシを使用してください。

### 6. サンプル露光について

#### 6-1. サンプルの露光時間の目安は？

核種やサンプル濃度により露光時間は異なります。

ストレージフォスファスクリーンは、通常使用しているX線フィルムの同程度から10分の1程度の露光時間で検出を行うことができます。ストレージフォスファスクリーンは広いダイナミック・レンジを持っているので、露光時間が超過してしまってもサチュレーションを起こすことはほとんどありません。

#### 6-2. サチュレーションすると、どのような現象がおきますか？

ストレージフォスファスクリーンはダイナミックレンジが非常に広いので、サチュレーションを起こすことは稀ですが、シグナル飽和を起こした場合、gray/color adjust のレンジが最大値(100,000 Counts)を示します。この場合は、スクリーンのイレースを行い、露光時間を短くして再度取り込み直します。



## 6-3. "Count"とはどのような単位ですか？

Typhoon でスキャンする際にストレージフォスファスクリーンから放出された光子エネルギーの強度を任意の相対的なユニットに変換した単位です。この数値は最小値0から最大値100,000まで直線性を示します。

## 6-4. 放射性同位体標準サンプルの使用について

放射性同位体標準サンプルと目的サンプルを同時に露光することにより、Typhoonシステムで得られるCountという数値を計算して任意のユニットに変換することができます。標準サンプルを使用する場合は下記を参照ください。

標準サンプルのレンジは、サンプル中の予想濃度レベルを含む必要があります。

標準サンプルのレンジ内でステップ数を増やせば、変換時の正確性を上げることができます。

正確な定量については、内部標準サンプルが必要です。

もし標準サンプルをサンプルと一緒に置くことが出来ない場合、少なくともサンプルと同じ支持体に置く必要があります。例えば、10%アクリルアミドゲルを支持体としたサンプルの標準を作製する場合、同じ10%アクリルアミドゲルを使用し、同じ位の乾燥状態にする必要があります。

放射性同位体標準サンプルは、いくつかのメーカーから販売されています。詳細は各メーカーにお問い合わせください。

## 6-5. -70℃で露光可能ですか？

フォスファスクリーンおよびカセットは長時間低温で使用するようには設計されていません。低温で露光することで感度は改善されません。低温での露光は、ウェットゲルを用いた場合、サンプルの拡散を防ぐために用いられます。この場合は、フォスファスクリーンを破損する恐れのない-20℃で使用します。この際、結露などによってスクリーンに水滴がつかないように注意してください。冷凍庫に入れる前にジップロックバックに入れます(乾燥剤も入れると効果的です)。開封する前に必ず室温に戻すようにしてください。



## Typhoon システム フローレッセンスモード FAQs

ガラスステージはどのように洗えばよいですか？

ガラスステージは蒸留水で濡れた不織紙などの糸くずのでない紙や布を用いて表面を拭いてください。75%エタノールを用いて同様に拭き洗いすることも有効ですが、この場合は、必ず再度蒸留水で拭き洗いしてください。実験室などで用いられるアルコール類は蛍光性を有する場合があります。必ずアルコールで洗浄した後は蒸留水で再度洗ってください。

Fluoresceinなどの蛍光色素を532 nmのレーザーで励起できるのは何故？

蛍光分子は異なる回転、振動、電気エネルギー準位を持っています。励起スペクトルが単一波長ではない理由は基底状態と励起状態の間にこの複数のエネルギー準位が存在し、それらの間で電子が遷移しているためです。蛍光は励起状態から基底状態に遷移する間に熱エネルギーと蛍光エネルギーを放出します。この熱エネルギーがストークシフトと呼ばれる励起光と蛍光の差になります。しかしエネルギーが低い状態で励起した場合、電子は大きな準位移動はせず、したがってそのほとんどは熱エネルギーにはならず(ストークシフトは起こさず)すべて蛍光エネルギーとして放出されます。Typhoonはこのように発生した微弱な蛍光シグナルを優れた光路で効率よくPMTまで送り、優れたPMTで効率よくエネルギー変換を行うため、検出できるのです。

画像に虚像が写り込むのは？

ガラストレイ、ステージ上にサンプルを置いた位置からスキャン中に動いてしまった可能性があります。また、蛍光物質がガラストレイを汚してしまっている可能性があります。この場合はサンプルを除いてトレイを洗浄してください。洗浄後、ステージまたはガラストレイ上にサンプルを置き、そのままスキャンしていただけます。

スキャン中にサンプルが動いてしまうのは？

ガラストレイ、ステージ上のゲルサンプルの下に溜まっている余分な水分を取り除いてください。また、メンブランは無蛍光ガラス板を上に乗せて押さえることも効果的です。

感度が低いイメージしかとれないのは？

画像の階調調整を行いシグナル強度を確認してください。シグナル強度が低い場合は励起光源とエミッションフィルターの選択が誤っている可能性があります。

サンプルや蛍光色素に適合した励起光、フィルターを選ぶ必要があります。正しい組合せの光源、フィルターが選ばれているか確認してください。

そのほかの可能性として、PMT電圧が低い場合があります。この場合は電圧を調整して再度スキャンしてください。

バックグラウンドが高かったり、画像にムラがあるのは何故？



バックグラウンドは試薬やサンプルに起因する場合とシステムに起因する場合があります。

蛍光スキャンの場合、液状のサンプルや試薬が蛍光を持つ不純物を含む場合があります。このような場合はフィルトレーションや遠心により取り除いてからご使用ください。電気泳動板などのサンプルの支持体が強い蛍光を持つ場合もあります。この様なときは低蛍光の物をご使用ください。またシステムのウォームアップが足りない可能性があります。この場合、30分程度ウォーミングアップした後にご使用ください。

それでも、改善しない場合はレーザーの出力が落ちている、または機器の故障の可能性有ります。

このような場合は、弊社技術にお問い合わせください。ゴミや指紋その他の理由で、スクリーンや、サンプル、ガラストレイ、ステージが汚れている場合があります。この場合はトレイなどを洗浄する必要があります。

さらに、誤った光源、フィルターを使用している可能性もあります。ご確認ください。

画像に線や影が出るのは何故？

システムのウォームアップが足りない可能性があります。この場合、30分程度ウォーミングアップした後にご使用ください。

縞模様の線が入る場合、スキャン中の光漏れの可能性があります。この様な場合、弊社技術にお問い合わせください。

万一ガラストレイやステージが傷ついている場合、交換する必要があります。この場合、弊社技術にお問い合わせください。

画像に指紋が写り込んでいる場合、ガラストレイ、またはステージを洗浄する必要があります。もし、ゲルに指紋が付いている場合、0.1% Tween™もしくはSDSで洗浄後、蒸留水で洗い再度スキャンすることも可能です。(ゲルを作り直し、再度泳動することをおすすめします。)

埃などによるシミが写り込む様な場合、スキャンする前にガラストレイなどを蒸留水で濡らした不織紙などを用いて拭き取ってください。また、ゲルやバッファーにはフィルトレーションや遠心により不純物を取り除いた試薬を使うことをおすすめします。アガロースゲルの場合、完全にアガロースが溶けていることを確認してからゲルを作成してください。

蛍光シグナルが強すぎて、周りに影響することがあります。この場合、このサンプルだけ離してスキャンするか、サンプルを希釈してスキャンすることをおすすめします。

(もし、すべてのサンプルのシグナルが高い場合、PMT電圧を下げ感度自体を下げることもできます。)

サンプルが均一に染色されてない場合は染色液が十分混ぜられているか、十分な液量で行っているか確認してください。

ガラス板の回折模様の出現を抑えるには？

回折模様は主に異なるガラス同士の接触面により起こります。サンドイッチゲルの場合、発生を抑えるためにはkaptonテープを2枚使用します。(kaptonテープはTyphoonの付属品に含まれています。)電気泳動板のスペーサーの部分にkaptonテープを貼り、ステージから泳動板を少しだけ浮かせます。浮かせた部分にはD Wを満たしてく



ださい。

DWを使う場合、ゲル板とステージの間に気泡が入らないようにしてください。

定量に適したイメージがとれたか？

ImageQuantソフトウェア上でGray/color adjuster, Pixel LocatorやCreateGraph を用いて画像上のシグナル値を表示させます。もし画像上のシグナル値が飽和している(100,000counts以上ある)ようであれば、PMTの電圧設定を下げ再度スキャンすることをおすすめします。







禁止

同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない

故障・火災・感電の原因になります。



禁止

同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社

本社 〒169-0073

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@ge.com



ISO 9001:2000 認証取得

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。