

# Macro Mass Photometry 法微粒子分布測定装置

# **Karitro**<sup>MP</sup>



# 微粒子のサイズと密度分布を算出

# MMP (Macro Mass Photometry) 法を搭載した 微粒子のサイズおよび質量分布を算出

# 100 nm 前後の粒子の迅速な 個数基準測定

- ・LVV(レンチウイルス)や AdV (アデノウイルス) など 大きなウイルス様粒子の Full/Empty 比率
- ・粒子サイズと分子量に比例したコントラスト値を算出
- ・サンプルの純度、均一性を算出
- ・質量(密度)違いによる粒子のキャラクタリゼーション

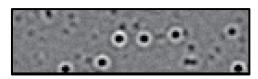
# 完全溶液系、非ラベルでの計測

- ・分離媒体を必要としない
- ・分析装置とサンプルは完全非接触
- ・フロー系を一切使用しないバッチ式

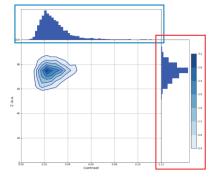
### 超微量、短時間、セミオートを実現

- ・極微量の至適濃度・容量(10°個/mL、5 µL)
- ・6 分以内に結果を算出
- ・1 度のセッティングで最大 14 サンプルの試料を搭載し(キャリブレーション試料含む)、セミオートでの分析を実現
- ・サンプルセッティング後、サンプルウエルを指定し た後自動で測定

### Karitro<sup>MP</sup> (MMP) によるアウトプット



iSCAT によるコントラスト分布 →**粒子**質量依存パラメータ



droplet Z A A axis

particles

ステージ移動および 散乱強度→**粒子径(Rg)** 

**粒子質量**および**粒子サイズ**の分布を 関連して観察する **Contour Plot** 

### 原理: MMP (Macro Mass Photometry)

MMP (Macro Mass Photometry) は次の2つの原理・手技より構成されています。

- ①Mass photometry (コントラスト分布)→Two<sup>MP</sup> のカタログをご参照ください。
- ②ステージ移動および散乱強度計測(Z軸方向のサイズ計測)

### Z 軸方向のサイズ計測

- ・カバースリップ上に固定化 (吸着) した粒子を計測 (Original Mass Photometry は スライドガラスに近寄った際の屈折率変化によるもので、その点が最も大きな違い)
- ・Mie theory(ミー理論)による計算(Original mass photometry は Rayleigh theory)
- ・下方部より光源が照射
- ・散乱と反射光の干渉波解析: 質量算出

### スライドガラスに対し垂直方向の位相成分による散乱光を計算し、光学的 質量中心までの距離(= 粒子半径:Rg)を算出

- ・機械的にスライドガラスに合わせておいた焦点を徐々にずらしていき、シグナル強度を 計測する
- ・予めサイズ既知試料(シリカ粒子混合品:図1参照)の散乱強度計測をサイズキャリブレーションに使用
- ・シグナル強度が最大になった時の移動距離が各粒子の半径(Rg)となる

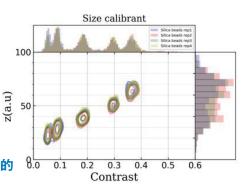
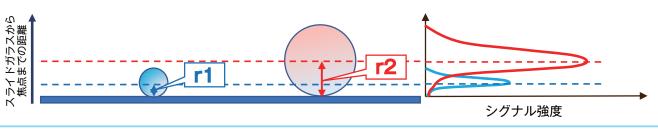


図 1 シリカ粒子 Mixture の計測事例 (50 nm, 60 nm, 80 nm, 100 nm and 120 nm)



# Macro Mass Photometry 法によるアプリケーション

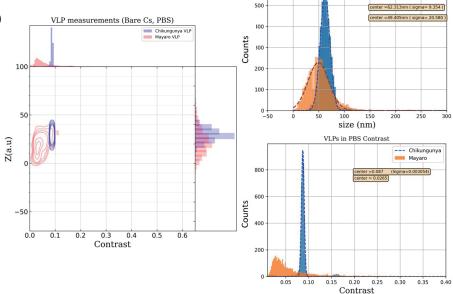
# VLP の測定 - Chikungunya vs. Mayaro -

#### Chikungunya VLPs

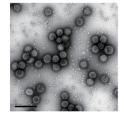
- > 非常にそろった contrast/size 分布
- > 粒子径:約62 nm (calibrated using SNS)
- > 文献値と一致

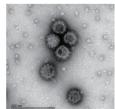
#### Mayaro VLPs

>Contrast, Size 共にブロードなピーク >TEM による凝集体の存在結果と一致



VLPs in PBS Size





Sample	Size (nm)	CV/Size	Mean Contrast	CV Contrast
Chikungunya	62.3	15.0%	0.0870	3.5%
Nayaro	49.4	41.7%	0.0265	ND

### アデノウイルス(AdV)の Full/Empty 比率解析

#### サイズ分布 (赤)

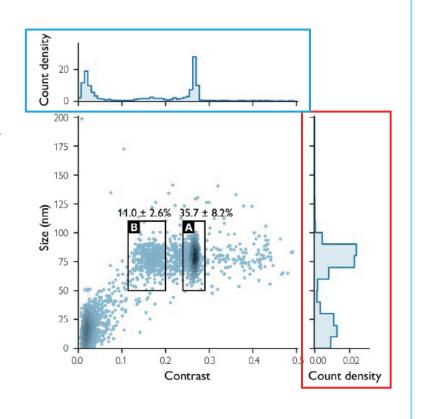
- >75 nm を中心としたピークおよび 30 nm 付近の ピークの 2 つが観察される
- >75 nm のピークは AdV のピーク、30 nm のピー クはコンタミナントと思われる

#### コントラスト分布 (青)

- >0.1 を切るコントラスト(コンタミナント)に加え、 0.1 - 0.2 の領域の集団(エリア B)、0.25 - 0.3 の 領域の集団(エリア A) を検出した
- >エリアAが Full、エリアBが Empty と思われる
- > また、それぞれの存在比率が次のように算出された

Full: 35.7±8.2% Empty: 11.0±2.6%

MMP は粒子サイズ (赤) に加えコントラスト (粒子密度を反映;青)の2次元展開が可能です。そのため、粒子径だけでは判断できない粒子特性解析が可能になります。その特徴を利用し、アデノウイルスやレンチウイルスの Full/Empty 解析が可能になります。



### Karitro<sup>MP</sup> 用サンプルホルダー

Karitro<sup>MP</sup> ではアデノウイルスやレンチウイルスなど BSL-2 レベルのサンプルを扱うことが多くなります。 そのため、サンプルの封じ込めが必要になります。

一方で、Karitro<sup>MP</sup> のプロトコルは、予めサンプルをアプライし(キャリブレーション除く最大 13 個)、 その後測定へと進めます。そのため、次のようなプロトコルによって省スペースでの作業が可能になります。

Karitro<sup>MP</sup> 用サンプルホルダーはサンプルの封じ込めや、超微量サンプルの蒸発によるサンプルロス防止に活用します。



サンプルアプライ

ホルダー装着

Karitro<sup>MP</sup>へ設置

測定/解析

ドラフト内

ドラフト外

### 仕様

サイズレンジ	40 - 150 nm (直径換算)
指摘濃度	10 <sup>8</sup> - 10 <sup>9</sup> particles/mL
必要サンプル量	5 μL
測定時間	6 分以内 / サンプル
1度にロード可能なサンプル数	13
分解能: Contrast / Size	5% / 30 nm
測定精度:Contrast / Size	2% / 5 nm

# 諸元

装置サイズ	本体: 502.5 x 312.5 x 153.25 mm (W x D x H)
レーザ波長	450nm
装置重量	本体:約25 kg
必要電源小口	100 V, 3 口 (PC, モニタ含む)

仕様・諸元は予告なく変更することがあります。



レフェイン・ジャパン株式会社

〒657-0036 神戸市灘区桜口町 1-1-14 1F TEL.078-600-2380

sales.japan@refeyn.com https://refeyn.co.jp