

ATTO Cooled CCD Camera System Light - Capture (Chemiluminescent Detection)

[1] 조작이 간편한 Hardware

Light - Capture 상부에 위치한 조작 패널에서 모든 촬영 조건을 설정 및 실행할 수 있어 초보자도 간단하게 사용이 가능하다 (그림 1).

촬영은 Single, Repeat, Sum, AutoSum, Live 의 5개 촬영모드가 있으며 Exposure Time은 1/30초 ~ 90분까지 선택이 가능하다 (표 1).

■ 감도 3배, high mode 를 이용한 촬영방법 (본체제어)

Light-capture로 발광검출 샘플을 측정할 때 exposure time이 중요하다. 감도 3배의 High-mode로 촬영을 하면 본 촬영의 exposure time을 추정할 수 있다. 단번에 본 촬영의 시간을 결정할 수 있기에 ECL 등 발광시간이 짧은 발광기질을 가진 실험에도 적용이 가능하다(그림 2).

■ AUTO Exposure 기능 (PC 제어)

Light-Capture의 분석 S/W인 CS Analyzer의 AutoExposure 기능을 이용하면 자동으로 exposure time을 결정하여 촬영 한다.

[2] 고감도 Zoom lens

■ 고감도 lens (18mm F0.95 Light Capture 전용개발) AE-6982/6982C/6982FC

고감도 lens는 화각 (viewing angel) 100x75 ~200x150mm로 촬영가능하며 zoom lens에 비해 감도를 2배 이상 높일 수 있도록 개발된 Light Capture 전용 Lens 이다.

- 고감도가 요구되는 western blot이나 northern blot 촬영
- 형광촬영 대응

■ 6배 Zoom lens (8-48mm F1.0) AE-6981/6981C/6981FC

Zoom lens는 화각 (viewing angel) 40x30mm ~220x170mm로 자유로운 화각 조정이 가능하여 agarose gel 의 형광 촬영 등에 좋다. 일반적인 chemiluminescence 검출에는 zoom lens로도 촬영이 가능하지만 보다 높은 감도가 필요한 western blot이나 northern blot의 촬영에는 AE-6982식의 고감도 렌즈의 사양을 권장한다.

- 자유로운 촬영사이즈 설정 (형광gel 촬영에 최적)
- 발광(luminescence)촬영 및 형광(fluorescence) 촬영 모두 가능



그림 1. Light - Capture 본체.

표 1. 촬영모드에 따른 시스템 사양

Image Mode	Image Time	Exposure Time	Image Sum	Main Unit Control	PC Control
Single	1	1/6sec ~90min	Nothing	O	O
Repeat	1 ~ STOP	1/6sec ~ 90min	Nothing	O	O
Sum	1 ~ STOP	1/6sec ~ 90min	Auto	O	O
AutoSum	1 ~ saturation, auto Stop	1/6sec ~ 90min	Auto	O	O
Live	Live image	1/30sec	Nothing	O	O
AutoExpose	1	1/6sec ~ 90min	Nothing	X	O
SemiAuto	3	1/6sec ~ 90min	Nothing	X	O
DarkImage	maintenance	1/6sec ~ 90min	Nothing	O	X

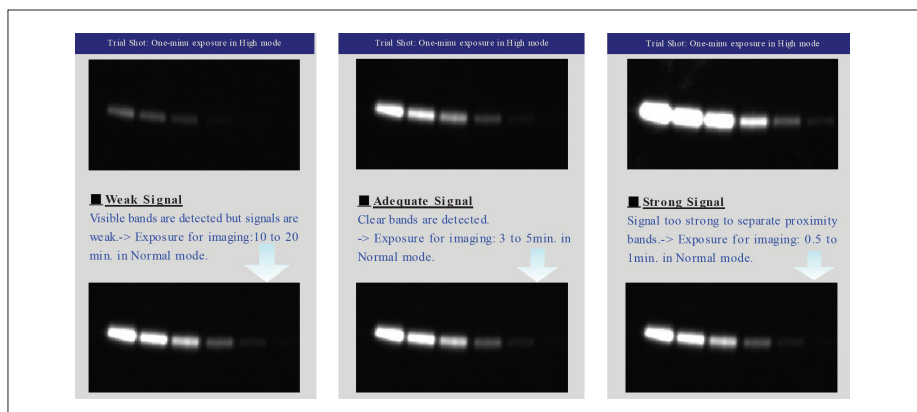


그림 2. Exposure time에 따른 촬영

ATTO Cooled CCD Camera System Light – Capture (Chemiluminescent Detection)

continued...

[3] 고감도 냉각CCD 카메라

- 고감도를 위해 안정된 냉각 기능
- 고감도 냉각 CCD 카메라 시스템 (강제 공랭식 2단 Peltier 냉각 방식)

Light-Capture의 카메라는 장시간의 exposure에 noise를 저감 할 수 있는 냉각 CCD 카메라 시스템을 채용하고 있다(그림 3). 이론적으로는 냉각 온도를 낮게 하는 것으로 noise 레벨을 낮게 할 수 있지만 일정 온도를 유지하는 것이 장시간 exposure 에는 중요한 factor가 된다. Light Capture는 연구를 거듭해 안정된 냉각을 할 수 있도록 카메라가 개발되었다.

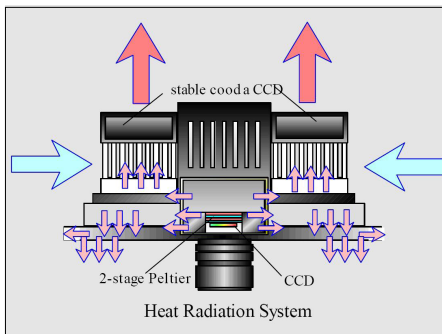


그림 3. Light-Capture의 냉각 CCD 카메라 시스템

[4] 발광 (luminescences)에 최적인 CCD

발광 검출 시약은 425 nm~550nm의 파장대에서 가장 강하다. gel 촬영 장치에 채용되고 있는 CCD에서는 이 파장대에는 대응할 수 없기 때문에 500 nm이하의 감도 높은 CCD가 요구된다.

Light capture는 감도의 좋은 CCD를 채용해 발광 촬영에 대응하고 있다(그림 4).

[5] 화상보존, 14bit (16384 grayscale), CF 보존

Light-Capture의 화상 보존 미디어는 Compact Flash (CF)이다(표 2). 1매의 CF에 최대 50매까지 보존하는 것이 가능하며, 화상은 14 bit (16384grayscale)로 보존파일 용량은 약 600 KB이다. PC에 접속할 경우 CS Analyzer 또는 chain 파일로 보존이 가능하다. 16bit TIFF나 8bit TIFF/BMP/JPEG 파일 등으로 변환보존이 가능하다.

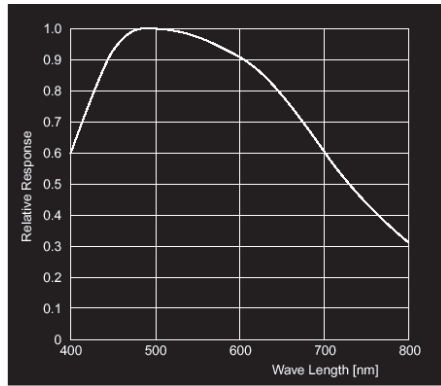


그림 4. 파장대에 따른 Light capture의 luminescence 검출 정도

[6] 공간절약형 Cabinet

- Cabinet size : 32cm W x 34.5cm D x 62cm H, 21kg
- AE-6981FC : 56cm W x 40cm D x 74.5cm H, 38kg.

- Bottom lid 를 열고 transmission type 을 넣어 사용가능
- Lens 부분과 sample chamber 가 분리
- filter 교환이 간단
- 소비전력도 경제적인 장비 (LightCapture : 80 VA , AE-6981FC system Max : 290VA)



그림 5. Light capture의 내부 구조

표 2. Light-Capture의 화상 보존 미디어의 종류 및 형식

Saving format	Resolution	File format	Saved place
CS file	14bit (16384 grayscale)	.ccd	Main unit
CS file	14bit (16384 grayscale)	.ccd	PC
Chain file	14bit (16384 grayscale)	.cha	
TIFF file	16bit (65536 grayscale)	.tif	PC transfer
TIFF file	8bit (256 grayscale)	.tif	
BMP file	8bit (256 grayscale)	.bmp	
JPEG file	8bit (256 grayscale)	.jpg	

continued...

[7] 사용용도

- 화학발광(chemiluminescent) 샘플의 촬영

■ Western blotting 의 발광검출

Western blotting은 단백질의 특이적 검출법이다. 전기영동으로 분리한 단백질을 membrane 에 transfer 한 후, 특이 검출을 하는 단백질의 항체(1차 항체)를 반응시켜 효소 표지를 한 2 차 항체를 반응시키고 나서 발광 검출한다(그림 6, A).

발광 검출의 시약은 「ECL (GE Healthcare Bio-science KK)」나 「SuperSignal (Pierce Biotechnology, Inc.)」등이 주로 사용되고 있다. Light-Capture 는 Western blotting을 실험실 내에서 간단하게 진행할 수 있다. 런닝코스트도 낮고(프린터 용지) 현상에 의한 폐수등도 생기지 않는 장점이 있다.

■ Southern Blotting 의 발광검출

Southern Blotting 은 DNA의 특이적 검출법이다. Dot blotting 이나 전기 영동 후 blotting 의해서 Membrane 상에 고정된 DNA를 그 서열에 특이적으로 검출하는 방법이다.

Probe의 표식 효소는 ALP (Alkaline phosphatase)를 사용해, CSPD나 CDP-star라고 하는 발광 시약을 이용한다. Light-Capture는 기존의 방법에서 얻은 X선 필름보다 뛰어난 감도를 실현하고 있다(그림 6, B).

■ Northern Blotting의 발광검출

Northern Blotting은 RNA의 특이적 검출법이다. 유전자 발현의 지표로서 많이 이용되며 실험 방법으로서 Southern Blotting 과 비슷하지만 RNA의 추출이 실험의 성패를 좌우한다.

Light-Capture는 기존의 방법에서 얻은 X선 필름보다 뛰어난 감도를 실현하고 있다 (그림 6, C).

■ Luciferase Assay 의 발광검출

Luciferase Assay 는 발광 단백질을 리포터로 한 유전자 발현 검출법이다. 측정하고 싶은 유전자의 프로모터 영역과 발광 단백질 유전자를 연결해 세포에 유전자를 도입한 후 발광 단백질의 기질인 Luciferin을 첨가하면 발광한다.

Light-Capture는 식물체나 동물 미생물등의 Luciferase 유전자 도입 샘플의 촬영이 가능하다(발현량에 따라서 검출이 불가능한 경우도 있다)(그림 7). 유전자 발현량이 적은 경우는 Luminometer의 사용을 권장한다.

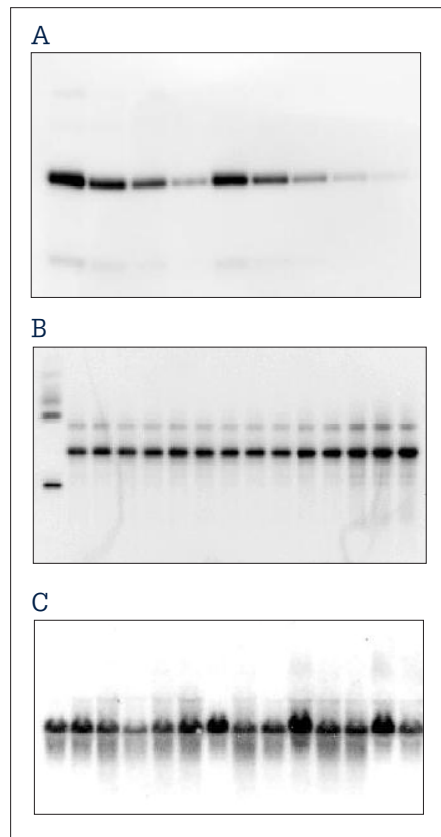


그림 6. Light capture의 발광검출. A: Western blotting 의 발광검출, B: Southern Blotting 의 발광검출, C: Northern Blotting의 발광검출

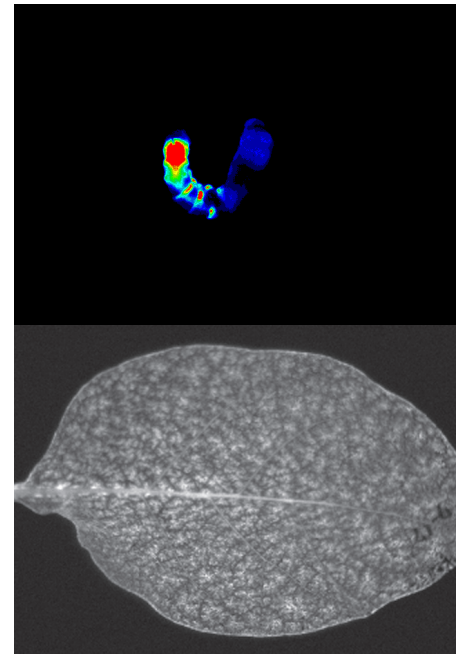


그림 7. Light capture를 이용한 luciferase assay

