

# 극미량(마이크로볼륨) 분광광도계 NanoQ 시리즈 시스템을 사용한 단백질 측정의 분석 성능

## 요약

이 테크니컬 노트에서는 바이오 관련 단백질 실험에서 사용될 수 있도록 극미량 분광광도계인 NanoQ 시리즈(NanoQ Plus, NanoQ)의 단백질 분석 성능을 보여줍니다.

NanoQ 시스템에서 Protein UV 탭의 BSA 측정 모드에서의 측정에 대한 정확성, 선형성, 반복 재현성을 확인합니다. 극미량 분광광도계 NanoQ 시리즈와 NanoDrop One의 비교 자료를 기반으로 성능이 동등함을 보였습니다.

## 개요

바이오 관련 실험에서는 단백질 농도 확인이 빈번하게 진행되며 단백질 농도는 매우 중요한 변수입니다. 이전에는 Bradford 분석, Lowry 분석 등과 같이 단백질과 반응하는 시약과 혼합하여 발색 반응 후 흡광도와 농도와의 상관관계를 이용해 농도를 정량하는 방법이 많이 사용되었지만 이 경우 많은 노력과 샘플량이 요구되는 등의 문제가 있었습니다.

이 테크니컬 노트에서는 극미량 분광광도계 NanoQ 시리즈의 분석 성능을 입증하기 위해 상대적으로 정확한 측정 결과를 제시하는 NanoDrop One 제품과의 성능 비교를 실시하였습니다.

극미량 분광광도계 기술이 개발과 함께 단백질이 280 nm에서 농도에 비례해 특징적인 흡광도를 갖는다는 사실이 확인되었고 BSA 기준 Factor 값 1.5를 이용해 280 nm의 흡광도를 연산해 단백질 샘플의 농도를 정량화할 수 있게 되었습니다.

이 테크니컬 노트에서는 NanoQ 시리즈를 이용하여 1 ~ 2 uL와 같이 낮은 용량의 샘플로 단백질 및 핵산의 농도 결괏값을 측정할 수 있음을 증명하며, 단백질 측정에 대한 극미량 분광광도계 NanoQ 시리즈의 미량 분석에 대한 정확성, 선형성, 반복 재현성에 대한 분석 성능을 보여줍니다.

## 샘플과 방법

샘플의 \*COA 농도는 204 mg/mL로 이를 기준으로 1/2로 희석하는 과정을 8번 반복하여 9개의 단백질의 농도별 희석 샘플을 준비하였고, 결과적으로 제조된 샘플의 예상 농도는 아래와 같습니다.

초기 샘플: 204 mg/mL
첫 번째 희석: $204 \text{ mg/mL} \times 1/2 = 102 \text{ mg/mL}$
두 번째 희석: $102 \text{ mg/mL} \times 1/2 = 51 \text{ mg/mL}$
세 번째 희석: $51 \text{ mg/mL} \times 1/2 = 25.5 \text{ mg/mL}$
...
여덟 번째 희석: $1.59375 \text{ mg/mL} \times 1/2 = 0.796875 \text{ mg/mL}$

해당 실험에서는 Sigma사의 Protein Standard-analytical standard(Cat: P5369, Lot: SLCQ0935) 200mg/mL의 샘플이 사용되었습니다.

\*COA 농도는 Certificate of Analysis (COA)로부터 얻어진 정보를 나타냅니다. 실험실에서 사용되는 화합물이나 물질의 정확한 농도를 확인하기 위해 제조사나 공급업체에서 제공하는 문서입니다.

위와 같은 희석 과정을 거쳐 204, 102, 51, 25.5, 12.8, 6.4, 3.2, 1.8, 0.8 mg/mL 9개의 단백질 농도별 샘플을 피펫팅의 오차를 줄이고자 같은 피펫을 이용하여 2uL씩 5회씩 반복 측정하였습니다. 또한, 균질성을 보장하기 위하여 측정 이전에 모든 샘플에 대한 볼텍싱을 완료하였습니다.

[표 1] 단백질 농도 측정의 재현성 및 정확성

Expected(mg/mL)	NanoQ			NanoDrop		
	Measured(mg/mL)	%CV	%Error	Measured(mg/mL)	%CV	%Error
204.0	187.2	0.9	8.2	178.6	0.5	12.5
102.0	92.5	0.3	9.3	86.3	0.7	15.4
51.0	47.1	0.6	7.6	48.8	0.5	4.3
25.5	22.4	0.5	12.3	23.8	0.7	6.8
12.8	11.4	0.4	10.3	11.3	0.6	11.3
6.4	5.5	0.5	13.9	5.4	1.4	15.5
3.2	2.7	0.1	14.2	2.6	0.8	17.5
1.6	1.4	0.7	15.3	1.3	1.6	19.4
0.8	0.7	1.0	17.1	0.6	0.6	23.4

해당 테이블에서는 케이랩(주)의 NanoQ Plus 제품과 써모피셔사 이언티픽코리아(주)의 NanoDrop One 제품이 사용되었습니다.

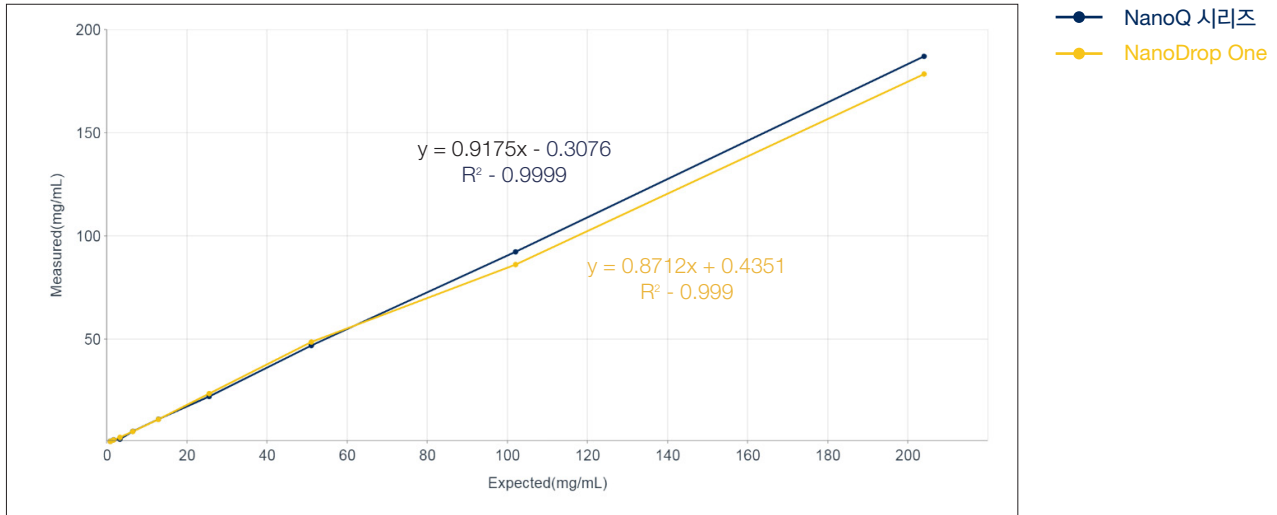
## 재현성 및 정확성 결과

재현성 및 정확성 결과는 [표 1]에서 정확하게 확인할 수 있습니다. 여기서 선형 범위 사양은 장비의 작동 범위를 나타내며, 재현성과 정확성은 장비의 신뢰성을 나타냅니다.

%CV는 장비의 재현성을 평가하기 위한 지표로, 5회 반복한 측정에서의 표준 편차를 평균 농도로 나누어 백분율로 나타냅니다. %CV가 낮을수록 재현성이 우수해짐을 나타냅니다. 단백질 농도가 약 0.8 ~ 200 mg/mL 범위에서 NanoQ 시리즈는 1 % 미만의 %CV 값을 보입니다. 이 값은 NanoDrop One의 것과 유사함을 나타냅니다.

%Error는 장비의 정확성을 평가하기 위한 지표로 사용되며, 예상 농도와 측정 농도 사이의 차이를 예상 농도로 나눈 후 절댓값을 취해 백분율로 표시합니다. 낮은 %Error 값은 뛰어난 정확성을 나타냅니다. 단백질 농도가 약 0.8 ~ 200 mg/mL 범위에서, NanoQ 시리즈의 %Error 값은 NanoDrop One의 %Error 값과 유사합니다. NanoQ 시리즈의 %Error 값은 25.5 mg/mL 및 51 mg/mL를 제외한 대부분의 측정값에 NanoDrop One의 %Error 값보다 낮은 값을 보이며, 두 측정 장비 모두에서 6.4 mg/mL 이하의 낮은 농도 범위에서 %Error가 증가합니다.

[그림 1] 단백질 농도 측정의 선형성



**선형성 결과**

준비된 단백질 샘플의 예상 농도(mg/mL)와 NanoQ 시리즈 측정 농도(mg/mL) 간의 선형성은 [그림 1]에서 정확하게 확인할 수 있습니다. 단백질 농도 약 0.8 ~ 200 mg/mL 범위에서 NanoQ 시리즈는 0.9999의 결정 계수( $R^2$ )를 가지며 샘플의 예상 농도와 측정 농도 간의 밀접한 상관관계를 보임을 확인하였습니다. NanoDrop One의 예상 농도와 측정 농도간의 0.999의 결정 계수와 비교 하여도 NanoQ 시리즈의 선형성을 입증할 수 있습니다.

## 결론

극미량 분광광도계 NanoQ 시리즈의 미량 분석에 대한 정확성, 선형성, 반복 재현성에 대한 분석 성능을 통해 많은 생물 실험 중에서 단백질 농도 정량 실험에서 NanoQ 시리즈의 사용 가능성을 입증합니다. 이러한 우수한 선형성과 정확성은 단순히 단백질 농도 정량 실험뿐만 아니라 다양한 응용 가능성을 나타내는 중요한 지표입니다. BSA 모드의 Protein UV 탭에서 극미량 분광광도계 NanoQ 시리즈와 NanoDrop One 간의 성능 동등성을 입증하기 위해 비교 자료를 기반으로 하였습니다.

[klabkis.com/english/0604](http://klabkis.com/english/0604)

해당 테크니컬 노트는 연구용으로만 사용 가능합니다.  
본 자료는 예고없이 내용이 변경될 수 있습니다.

테크니컬 노트 문의 및 제안  
[rnd@klabkis.com](mailto:rnd@klabkis.com) / 042-932-7586

T230002082  
© K LAB Co.,Ltd. 2017, 2023