

Q1 Nanoflow cytometry 만의 장점은 무엇인가요?

Nanoflow cytometry는 나노 입자 분석에 최적화된 장비입니다. 직경 40 ~ 1,000 nm 범위의 나노 입자를 단일 입자 수준에서 정밀하게 검출할 수 있습니다. 특히, 형광 검출을 통해 특정 표지(labeling)된 입자 집단(population)을 명확히 구분하여 분석할 수 있다는 점이 큰 장점입니다. 예를 들어, 특정 항체로 염색된 EV 집단을 세밀하게 분석할 수 있습니다.

Q2 사용 가능 파장이 어떻게 되나요?

488 nm (50 mW) 레이저를 기본 광원으로 사용하여 사이드 스캐터 (side scatter) 측정 및 형광 여기(excitation)에 활용합니다.

추가적으로 638 nm (100 mW) 레이저도 형광 여기용으로 사용 가능합니다.

형광 검출 파장은 다음의 광학 필터들을 통해 설정됩니다: 488 nm (± 5 nm), 525 nm (± 20 nm), 580 nm (± 20 nm), 670 nm (± 15 nm), 710 nm (± 20 nm)

Q3 동시 측정이 가능한 형광은 어떻게 되나요?

두 개의 검출 채널을 통해 두 가지 형광을 동시에 분석할 수 있습니다.

다만, 두 형광 간의 간섭을 보정하는 기능은 지원되지 않으니, 의뢰 시 이 점을 참고하여 형광 선택에 유의해 주시기 바랍니다.

Q4 측정된 입자의 크기와 농도가 NTA 결과와 다른 이유는 무엇인가요?

nFCM과 NTA는 측정 방식의 차이로 인해 입자의 크기 및 농도 결과에 차이가 발생할 수 있습니다.

NTA는 입자의 브라운 운동을 기반으로 크기와 농도를 계산하는 반면, nFCM은 사이드 스캐터(side scatter)를 통해 입자 크기를 측정합니다.

크기 차이

nFCM은 표준 입자의 사이드 스캐터를 기준으로 시료의 크기를 계산하며, 그 결과는 전자현미경으로 측정된 크기와 유사한 경향을 보입니다.

반면, NTA는 hydrodynamic diameter를 측정하므로, nFCM 결과 대비 더 크게 측정되는 경향이 있습니다.

농도 차이

nFCM은 NTA보다 입자 농도를 다소 낮게 측정하는 경향이 있습니다.

이는 시료의 특성 및 불순물이 두 기기의 측정 방식에 다르게 영향을 미치기 때문으로 추정됩니다.

카루스바이오에서는 입자 크기 및 농도 분석의 기준으로 NTA 결과를 활용하고 있습니다.



| DYNAMIC LIGHT SACTTERING

Q1 다분산지수(PDI)와 제타 전위(Zeta potential)의 측정을 위한 별도의 장비 구분이 있나요?

다분산지수(PDI)와 제타 전위(Zeta potential) 측정은 동일한 DLS 장비 내에서 가능하며, 별도의 장비 구분이 필요 없습니다.

다만, 측정 방식에 따라 사용되는 큐벳에 차이가 있습니다.

다분산지수 측정 시에는 일반 큐벳이 사용되고, 제타 전위 측정 시에는 금속이 포함된 특수 큐벳이 사용됩니다.

Q2 EV가 분산되어 있는 용매에 따라 분석 결과가 달라질 수 있나요?

네, EV가 분산되어 있는 용매의 물리적 특성은 DLS 분석 결과에 영향을 줄 수 있습니다. DLS는 입자에 레이저를 조사하여 발생하는 브라운 운동에 따른 빛의 산란 정보를 기반으로 입자의 크기, 다분산지수, 제타 전위를 계산합니다.

이때, 분산 용매의 점도, 밀도 등 물리적 특성은 입자의 브라운 운동에 직접적인 영향을 미치므로, 측정값에 변화를 야기할 수 있습니다.

카루스바이오에서는 이러한 분산 용매의 영향을 최소화하고 정확한 측정값을 얻기 위해, 용매의 물리적 정보를 확인하여 측정값을 보정하고 있습니다.

따라서, 의뢰 시 EV에 사용하시는 분산 용매의 상세 정보를 알려주시면 더욱 정확한 분석 결과를 제공해 드릴 수 있습니다.

NANOPARTICLE TRACKING ANALYSIS

Q1 NTA와 DLS 분석으로 입자의 크기 분포를 측정했을 때 다른 결과가 나오는 이유는 무엇인가요?

NTA와 DLS는 모두 입자의 브라운 운동 정보를 기반으로 크기를 측정하지만, 크기 분포를 도출하는 방식에서 차이가 있습니다.

- NTA: 개별 입자의 움직임을 추적하여 입자의 개수를 바탕으로 크기 분포를 계산합니다.
- DLS: 입자로부터 산란되는 빛의 검출 신호 강도를 바탕으로 크기 분포 데이터를 획득합니다.

Q2 NTA 분석에서는 EV 입자 분산 용매의 영향은 어떤가요?

NTA 분석에 사용되는 ZetaView 장비는 PBS (Phosphate buffered saline)에 최적화되어 있습니다.

대부분의 시료는 분석 전에 PBS로 희석하여 측정하게 되므로, 시료의 원래 분산 용매가 다르더라도 그 영향을 최소화하여 일관된 분석 결과를 제공할 수 있습니다.

QUBIT ASSAY

Q1 EV 안과 밖의 PROTEIN, DNA, RNA 농도를 측정할 수 있나요?

Qubit assay에 사용되는 정량분석 시약은 protein, DNA, RNA와 반응하여 형광을 발현합니다. Qubit 4 fluorometer 장비는 이 형광의 강도를 측정하여 각 물질의 농도를 계산합니다. 분석에 사용되는 시약은 EV의 막을 투과하는 특성을 가지고 있어, EV 내부와 외부의 protein, DNA, RNA 농도를 동시에 측정하게 됩니다.

따라서, 내부와 외부를 분리하여 각각의 농도를 측정하는 것은 어렵습니다.



CARUS Bio

in vivo CAR-X Therapeutics

