

機器紹介

「蛍光・吸光度・発光の測定が可能なマイクロプレートリーダー (Varioskan LUX, Thermo Scientific 社製)」

コミュニケーション科学領域 河野 良平

マイクロプレートリーダー (Microplate reader) は医学、薬学、化学、生物学、工学など様々な分野で利用されており、マイクロプレートと呼ばれる専用のプレート内の試料を光学的手法により測定する機器である。例えば、血液、尿、唾液などに含まれる様々なタンパク質や脂質などの生体成分の定量、食品の抗酸化活性、細胞の増殖、細胞内タンパク質発現、酵素反応、化学反応など多様な測定が可能である。マイクロプレート (Microplate) とは多数の穴 (ウェル) が設置された平型のプレートであり、本機では 96 個の穴がある 96 ウェルプレートや 386 個の穴がある 386 ウェルプレートを使用でき、一度に多量の検体を同時かつ迅速に測定できる。

マイクロプレートリーダーを用いた測定ではマイクロプレートの各ウェルの吸光、蛍光、発光といった光学的情報の検出を行う。最も一般的な測定方法である吸光は吸光度法という原理に基づく。測定対象物に光を当てると一部の波長の光は吸収され、吸収された光とは相補的な波長の光である補色を我々ヒトは目で認識する。例えば、植物の葉にはクロロフィルという色素が含まれ、これに光を当てるとヒトが認識できる可視光線のうち赤や青の光を吸収し緑色の光を反射するため、植物の葉は緑色に見えるのである。つまり色を持つ物質は、特定の波長の光を吸収していることになる。測定対象が溶液であり光が通過する光路長が一定の場合、ランベルト・ベールの法則が成り立ち、光の吸収の程度は色の濃さ、つまり濃度に比例するので、目的物質や関連物質に何らかの方法で色をつけてやれば、光を当てたときの光の吸収の程度 (吸光度) からその目的物質の濃度が分かることになる。

目的物質に色を付ける方法は様々であり、ELISA 法 (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) では抗原抗体反応を利用し、検出したい目的物質に適する酵素標識抗体とその酵素により切断されることで色がつく基質を組み合わせることで、目的物質に結合した酵素標識抗体に応じて呈色させる。これと同時に濃度が明らかな目的物質と同じ標準試料を段階希釈したものを用意することで検量線を作成し、未知試料中の目的物質の濃度を算出する。細胞の反応を見る場合には細胞に代謝されて色が付く物質を用いることで発色させたり、細胞内外のタンパク質に特異的な抗体と発色方法を用いたりすることで測定する。

本学の Varioskan LUX には吸光測定以外にも、蛍光、発光の測定が可能である。蛍光はある特定の波長の光 (励起光) を当てることで、別の波長の光 (蛍光) を発する発光現象の一つである。1つのウェルに含まれる複数の物質を測定したいときなどに蛍光波長の異なる物質を採用することで対応可能である。発光はその名の通り化学反応による光の発生であり、幅広いレンジでの測定が必要な場合に採用される。Varioskan LUX は任意な波長で励起光と蛍光、吸光度の設定が可能であり、ほとんどの市販のキットに対応できる。以上のように吸光、蛍光、発光という現在主流の光学検出モードすべてに対応しているため、測定キットが市販されていれば簡単に目的物質の検出・測定が可能であるし、市販キットがなくとも自身で ELISA 法などを構築することが可能なので、ぜひご利用いただければと思う。

