

ルシパックワイドの応用例 血液の検出

測定方法

採血管(EDTA-2Na)にて採取した血液を超純水にて 10,000、100,000 倍に希釈し、ATP 法とタンパク法(CBB 法)を用いて測定した。

ATP 法ではルシパックワイド(キッコーマン社)を使用した。100 μ L の希釈サンプルをルシパックワイドの綿棒に添加し、ルミテスターPD-10N(キッコーマン社)にて測定した。タンパク法は、プロテインアッセイ(Bio-Rad 社)の試験管によるマイクロアッセイ法を用いた。すなわち、800 μ L の各希釈血液に、200 μ L のプロテインアッセイ染色液(原液)を添加し、5分放置後、595nm における吸光度を、SpectraMax PLUS³⁸⁴(Molecular Devices 社)にて測定した。

結果

Table 1 ルシパックワイド(ATP 法)による血液希釈液測定における発光量

被験者		A	B	C	平均
blank (RLU)		5			
発光量 (RLU)	10,000 倍希釈	10,060	11,310	12,221	11,225
	100,000 倍希釈	1,053	1,191	1,160	1,135
	管理基準値	100 ^{*1}			
	検出限界 (blank+3SD より算出)	10.6			
検出可能希釈率(管理基準値より算出)		1.0×10^6	1.2×10^6	1.3×10^6	1.2×10^6
検出可能希釈率 (blank+3SD より算出)		1.8×10^7	2.1×10^7	2.2×10^7	2.0×10^7

※1 高い清浄度が要求される測定ポイントの管理基準値の例として

Table 2 タンパク法による血液希釈液測定における吸光度

被験者		A	B	C	平均
blank		0.417			
Δ 吸光度 (吸光度-blank)	10,000 倍希釈	0.814	0.898	0.863	0.859
	100,000 倍希釈	0.099	0.094	0.079	0.091
	検出限界 (カタログより算出)	0.039 ^{*2}			
	検出限界 (blank+3SD より算出)	0.016			
検出可能希釈率(カタログより算出)		1.6×10^5	1.7×10^5	1.7×10^5	1.6×10^5
検出可能希釈率 (blank+3SD より算出)		2.8×10^5	3.1×10^5	3.0×10^5	3.0×10^5

ルシパックワイドの応用例
血液の検出

※2 カタログに示された検出限界 1.25 $\mu\text{g/mL}$ に相当する吸光度を、検量線から算出した。

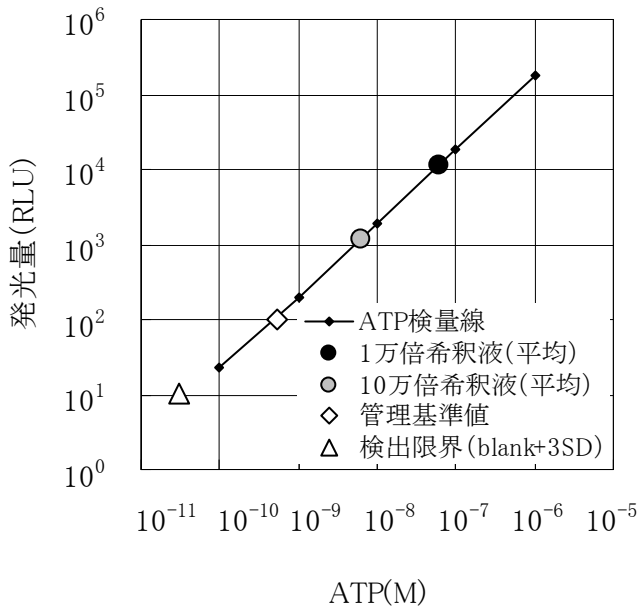


Fig.1 ATP 検量線と血液中 ATP 量

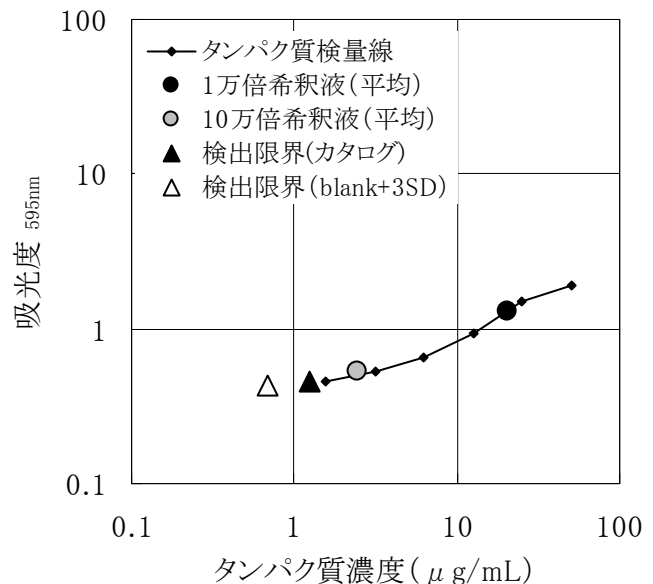


Fig.2 タンパク質検量線と血液中タンパク質量

検量線を比較すると、ATP 法は直線性に優れ、測定レンジが広いことがわかる。より幅広い濃度の血液サンプルを希釈することなく、測定することが可能である。

ATP 法では、高い清浄度が要求される測定ポイントの管理基準値を、100RLU ($5.2 \times 10^{-10}\text{M}$)としている場合があるが、100RLU^{※3}を検出限界と仮定した場合、血液(原液)を 1.2×10^6 倍希釈したサンプルまで検出できると言える。また、blank+3SDより求めた 10.6RLU ($3.0 \times 10^{-11}\text{M}$)を検出限界とすると、血液(原液)を 2.0×10^7 倍希釈したサンプルまで検出できると言える。

一方、タンパク法では、検出限界をカタログ記載の $1.25 \mu\text{g/mL}$ とすると、 1.6×10^5 倍希釈したサンプル、blank+3SDより求めた $0.688 \mu\text{g/mL}$ とすると、 3.0×10^5 倍希釈したサンプルまでしか検出ができないことになる。

すなわち、ATP 法における 100RLU^{※4} ($5.2 \times 10^{-10}\text{M}$)と、タンパク法における検出限界 $1.25 \mu\text{g/mL}$ で比較すると、7.1 倍 ATP 法の方が高感度であると言える。また、それぞれ blank+3SD から求めた検出限界で比較すると、69 倍 ATP 法の方が高感度であると言える。

※3、※4 あくまでタンパク法と比較するために引用、仮定した数字であり、実際には ATP 法で 100RLU 以下の測定も可能である。