

ルシパックワイドの応用例

内視鏡(胃カメラ)付着体液の検出

測定方法

使用直後の内視鏡(胃カメラ)外壁に付着した体液をぬぐいとり、回収した。採取した体液を超純水にて1,000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の各希釈体液に、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)による体液測定における発光量

被験者		A	B	C	D	平均
バックグラウンド (RLU)		5				
発光量 (RLU)	1,000倍希釈	1,992	316	2,041	56	1,101
	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)		2.1×10^4	3.3×10^3	2.1×10^4	5.4×10^2	1.1×10^4
検出可能希釈率 (blank+3SDより算出)		3.6×10^5	5.7×10^4	3.7×10^5	9.5×10^3	2.0×10^5

※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 タンパク法による体液測定における吸光度

被験者		A	B	C	D	平均
バックグラウンド		0.417				
Δ 吸光度 (吸光度 - blank)	1,000倍希釈	0.232	0.033	0.221	0.046	0.133
	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)		4.6×10^3	8.7×10^2	4.4×10^3	1.1×10^3	2.8×10^3
検出可能希釈率 (blank+3SDより算出)		8.4×10^3	1.6×10^3	8.0×10^3	2.0×10^3	5.0×10^3

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

ルシパックワイドの応用例
内視鏡(胃カメラ)付着体液の検出

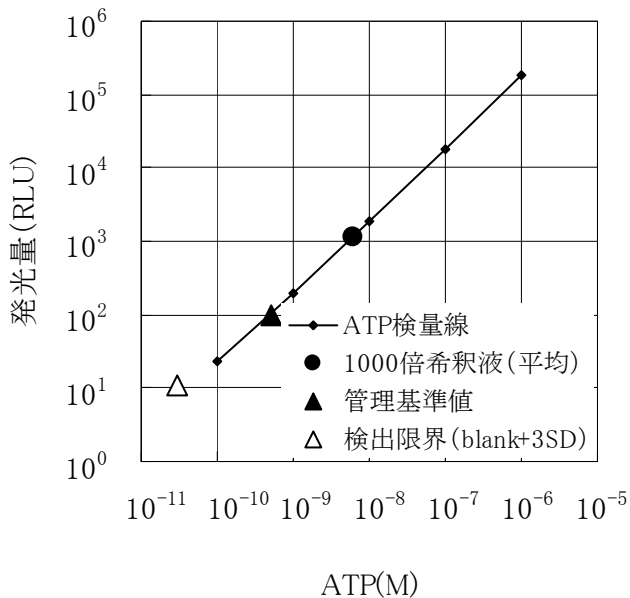


Fig.1 ATP 検量線と体液中 ATP 量

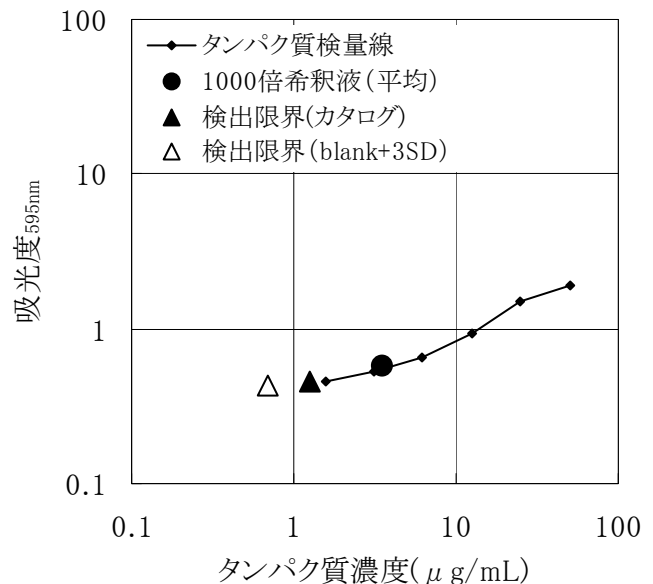


Fig.2 タンパク質検量線と体液中タンパク質量

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。より幅広い濃度の体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 (5.2×10^{-10} 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、体液(原液)を 1.1×10^4 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 (3.0×10^{-11} M)を検出限界とすると、体液(原液)を 2.0×10^5 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 2.8×10^3 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、 5.0×10^3 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} (5.2×10^{-10} 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、4.2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、40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。