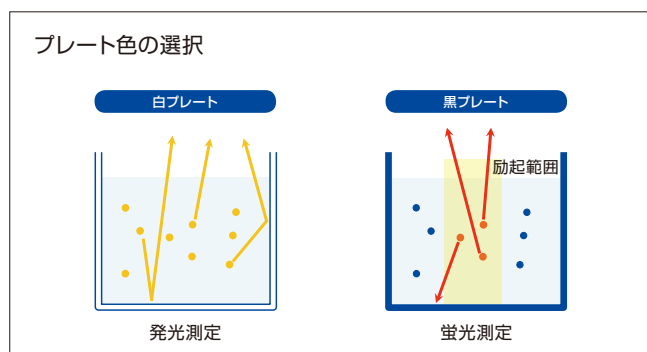


これから創薬を始める方へ [Vol. 2] ～ セルベースアッセイを始めるまえに ～

創薬中の High Throughput Screening (HTS) というプロセスにおいては、大量のサンプルの生理活性を調べるためにマイクロプレートを使ったアッセイが必須となってきました。さらに、さまざまなプレートが開発、発売されています。またプレートの高密度化が 384 ウェル、1,536 ウェルへと進み、そもそもサンプルが混ざるのかどうか、それどころかどうやって分注するのか、といった問題も生まれてきますが、現在では専用の装置も開発、販売されています。

マイクロプレートには、透明、白、黒と色の工夫、また滅菌、細胞の接着しやすい加工、最近では細胞を接着しにくくすることにより細胞にスフェロイドを形成させるものなどが開発されています。プロメガでは、ルシフェラーゼを応用した発光法を主体として、蛍光、吸光度を用いた試薬をご提供していますが、試薬を使用する上でときどきお問合せいただくのが、**プレートの色の選択**です。発光、蛍光それぞれのメカニズムを考えると悩む必要がありません。



基本的に発光は白、蛍光は黒プレートを用います。発光は酵素反応あるいは化学発光反応を利用しており、すべてのエネルギー源はサンプル中にあります。またサンプル中には発光する物質、バックグラウンドを上げるものは含まれていないため極力すべての光を検出器に回収するために、光を反射する白プレートを用います。本来は鏡のプレートがあればよいのかもしれません。一方、蛍光は外部から与える励起光の量をコントロールすることにより、蛍光量をコントロールすることができるので、光量に困ることはあまりありません。したがってバックグラウンドの上がない黒プレートを用いるわけです。よって、**一般的には発光法は白、蛍光法では黒を第一選択とします**。しかしながら、発光法において十分な発光量がある場合は黒プレートの方がよい

結果が得られることがありますし、蛍光法においても、蛍光量が得られないときなどは、白プレートを用いた方がよいこともあります。ただしこの場合は S/B ではなくて、前回 (Vol. 1) 記述しました Z' で評価することが重要になります。

プレートの色が決まり、プレートの表面処理が決まると、プレートが決まります。

次に 96 ウェル以上の密度のプレートを用いたセルベースアッセイになると、ぶつかる問題として、**エッジエフェクト**というものがあります。外側のウェルのシグナルが低いといった類の問題です。これを非常に気にされる方は、外側のウェルをすべて使わないということもあります。となるとせっかくの 96 ウェルプレートも、60 ウェルプレートになってしまいます。さて、これを何とかできないかと、プレートがインキュベーター中の金属の棚に直接触れないようにするという話も聞いたことがあります。

エッジエフェクト:

⊗ 外側のウェルシグナルが低い



そんな中、いまから 12 年も前ですが [A Simple Technique for Reducing Edge Effect in Cell-Based Assays](#) というタイトルで、ユニークな報告がありました。エッジエフェクトを除く方法は至ってシンプル。細胞を播種したあと、CO₂ インキュベーターに入れるまえに室温に 1 時間放置するだけです。さらにこのレポートでは、このエッジのウェル内での細胞の生え方まで調べていて、ウェル内にもエッジエフェクトは起きていることを報告しています。

これはあくまでも報告ですが、もしもプロメガのセルベースアッセイをご利用いただいていた(いただいなくても)、エッジエフェクトが気になる方がいらっしゃいましたら、この報告 (*J. Biomol. Screen.* 2003; 8: 566-570) をご一読いただき、お試しください。

プロメガ株式会社

本社 〒103-0011
東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル
Tel. 03-3669-7981/Fax. 03-3669-7982

テクニカルサービス

Tel. 03-3669-7980/Fax. 03-3669-7982
E-Mail : promotec@jp.promega.com