

◎結果

	優勝	準優勝	3位
Basic	0.203 (3.50%)	0.211 (1.21%)	0.214 (1.31%)
Advance	27321 (3.86%)	11899 (5.04%)	10480 (1.20%)

特別賞： 14,036 (CV=2.55%)

ユニーク賞： 21,168 (CV=55.62%)

※ユニーク賞は、希釈作製の際にカウントにグラデーションをかけて見事数値的には1位を獲得されたアイデアを表して選ばせていただきました。

● Basicコース

問題

96 ウェルに 100 μ L 分注すると Abs 0.2 になる溶液を元ストックとして、384 ウェルで Abs 0.2 になるよう調製する。(調製法、体積は任意)

【解説】

波長 λ における吸光度 A_λ は、 $A_\lambda = \alpha L C$ で表されます(ランベルト・ベールの法則)。つまり、試料の光路長と濃度 C に比例するので、濃度変えずそのままの溶液を用いる場合には、384 ウェルと 96 ウェルで液面の高さを同じにすればいいのです。

★ Corning カタログより

		Well Bottom Area (cm ²)
96 well	#3370	0.3165
384 well	#3702	0.0619

コーニングのプレートは、384 ウェルはウェルの下に行くほど少し面積が小さくなる三角錐の先を切ったような形状になっているのをご存知でしたか？1/4より小さいのです。

理論的には、96 ウェルに 100 μ L 分注した時と同じ高さにするためには、384 ウェルには $100 \times (0.0619 / 0.3165) = 19.56 \mu$ L を分注すればいいということになります。

ただし、当然分注後のウェル内の液にはメニスカスが生じます。プレートを下にトントンと軽く打ちついたり、側面から軽く叩いたり、ある方は腕をぶんぶんと回して遠心機のように、さまざまな工夫で液面を均す様子が見られました。

● Advanceコース

問題

黒384ウェルに 50 μ L 分注すると 20000 カウントになる溶液を元ストックとして、
白384ウェルで 20000 カウントになるよう調製する。

(調製法、体積は任意、Gain は一定とする)

【解説】

今回、Eu HTRF キット利用を利用して、620nm の蛍光を測定しました。一般的な蛍光色素 (Fluorescein、GFP、rhodamine、Texas Red、coumarin など) を用いた測定では、自家蛍光による影響が大きくバックグラウンドが高くなるため白プレートを使用することはできません。Eu の長寿命を利用することで、バックグラウンドへの影響回避しつつ、プレートの色による Raw data(Count)の変動を感じていただこうと思いました。

コンテストの測定には CLARIOstar(キセノンフラッシュ光源)を使用しました。今回のコンテストの条件では、黒から白にプレートを変更することで約 3.5 倍カウントが増加します。実は、この増幅の度合いですが、光源によっても異なります。事前検討に用いた PHERAstar(レーザー光源)では、7 倍程度のカウントの差が観察されており、レーザー光源では、プレートを使い分けることでより高いカウントを得られる可能性があるのです。

HTRF での反応液量低減の際のプレート選択にはご利用いただける Tips かと思います。

Ratio で計算する反応系では、ともすれば Raw data(count)の把握を怠り勝ちです。化合物評価にふさわしいクオリティーが担保されるデータとなっているか、しっかりと実測値をモニターしながらプレートを検討すると、もしかしたら試薬をぐっと節約できるかもしれませんね！

なお、コンテスト開催にあたっては、**BMG LABTECH JAPAN(測定、解析:CLARIOstar)**、**シスバイオ株式会社**、**サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)**、**キコーテック(株)**、**(株)グライナー・ジャパン**、**コーニングインターナショナル(株)**にご協力いただきました(敬称略)。ありがとうございました！

写真は、お手伝いいただいたスタッフの方たち



コンテストに華を添えるスタッフ



結果は？ふむふむ・・・

