

発光のプロメガが教える！

ルミノメーターの原理、使用目的、選び方のポイント

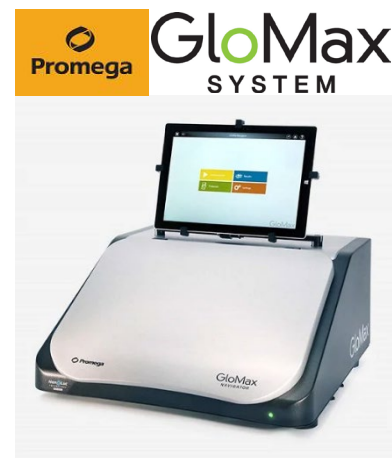
ルミノメーターとは？

ルミノメーターは、励起光を必要とせず、サンプル自体が発する光（発光）を測定する装置です。主に生化学実験や検査分野で、「発光法」と呼ばれる試薬やキットの検出に使用されます。

発光法には主に 2 種類があり、いずれも酵素反応を利用して光を発するのが特徴です。

- ケミルミネッセンス（例：発光 ELISA、ルミノール反応）
- バイオルミネッセンス（例：ルシフェラーゼアッセイ、**ATP 検出、発光バイオアッセイ、等**）

これらは、タンパク質や細胞活性の高感度検出、**また各種検査や品質管理試験**に広く利用されています。



■ 検出器（ディテクター）

ルミノメーターには以下のような光検出器が搭載されています：

- 光電子増倍管（PMT：Photomultiplier Tube）：非常に高感度で、わずかな発光も検出可能です。多くの高感度モデルに採用されており、ほとんどの発光試薬の検出に対応します。**また PMT にも品質に違いがあり、高品質のものは高感度、低ノイズで安定した結果が得られます。**
- フォトダイオード（例：CCD カメラ）：感度は PMT に劣るものの、コストパフォーマンスに優れた検出方式で、比較的安価なモデルに搭載されています。感度が必要な実験系では、検出力が不足する場合があります。

■ 検出結果（出力単位）

測定結果は、主に以下の単位で表示されます：

- RLU（Relative Luminescence Unit：相対発光量）：装置が検出した光の強さを表す相対値です。装置や設定によって数値が変わるため、同じ機器・条件での比較に適しています。
- CPM（Counts Per Minute：光子カウント数）：発光した光子（フォトン）を 1 つずつ数える「フォトンカウント方式」で得られる数値です。RLU よりも再現性や装置間の比

較性に優れていますが、完全な「絶対値」ではなく、機器の性能に多少依存します。

■ 測定形式（フォーマット）

ルミノメーターには、以下の 2 つのタイプがあります：

- シングルチューブタイプ： サンプルチューブを 1 本ずつ測定するタイプで、かつては一般的でしたが、現在は市販されているモデルは非常に限られています。
- マイクロプレートタイプ（プレートリーダー）： 96 ウェルプレートなどを一度に測定できるハイスループット対応型で、現在の主流です。多検体の同時測定が可能で、作業効率に優れています。

ルミノメーターを使う代表的な実験法、アプリケーション

- **ルシフェラーゼアッセイ**： 遺伝子発現の評価に広く使われる代表的な発光アッセイです。プロモーター活性やシグナル伝達の解析など、様々な遺伝子機能解析に利用されます。**使用するルシフェラーゼやアッセイデザインにより、非常に強いシグナルから微弱なシグナルまで、発光強度の幅が広いのが特徴です。**
- **発光 ELISA**： ケミルミネッセンスを用いた高感度な ELISA 法です。従来の比色 ELISA に比べて感度が高く、微量のタンパク質や抗体の検出に適しています。研究用途に加え診断・検査分野でも活用されています。**一般的なルミノメーターで測定可能ですが、サンプル中の検体濃度が低い場合は高感度モデルが必要です。**
- **ATP アッセイ**： ルシフェラーゼ反応を利用して ATP を検出するアッセイです。細胞の生存性や代謝活性の測定、微生物由来 ATP の検出、キナーゼ活性測定など幅広いアプリケーションに応用されています。**比較的強い発光シグナルが得られるため一般的なルミノメーターで測定可能です。稀に非常に強いシグナルが出るサンプルで検出器が飽和することがあります。**
- **ルシフェラーゼ融合タンパク質の定量**： 目的タンパク質にルシフェラーゼを融合させ、発光強度によって発現量を定量するアッセイです。従来のウェスタンブロットと比較して、高感度かつ迅速に評価でき、細胞内での動態や分泌量の解析にも活用されています。**検出対象のタンパク質量により、非常に幅広いレンジの発光シグナルが得られます。**

ルミノメーターの選び方

ルミノメーターを選ぶ際は、アプリケーションに応じて以下のポイントを確認することが重要です。（マルチモードプレートリーダーの発光測定機能を含む）

- **検出感度（検出下限）**： 最小検出レベルは、ATP をルシフェリン・ルシフェラーゼ反応で検出した場合の最低 ATP 量または濃度で示されるのが一般的です。ただし、実際の感度は使用する検出試薬にも大きく影響されるため、あくまで目安の数値となります。

最高感度のルミノメーターでは検出下限が 1 アトモル (1×10^{-18} moles) ATP です。

- **ダイナミックレンジ**： 発光信号を正確に測定できる強度の範囲を指し、多くの装置は 6 ログ (10⁶倍) 程度のダイナミックレンジを備えています。複数の発光アッセイ系を並行して使っている場合、一部のシグナルが検出下限を下回ったり、上限を超えて飽和することがあります。そのような場合には、自動で感度を調整するオートゲイン機能付きのモデルや、7 ログ (10⁷ 倍) 以上の広いダイナミックレンジを持つモデルが有用です。

プロメガでは 9 ログ (10⁹ 倍) の非常に広いダイナミックレンジを持つモデルを提供しています。

- **クロストーク (隣接ウェル干渉)**： 強く発光するウェルから隣のウェルに光が漏れる現象です。これにより、実際よりも高い発光値が記録され、
 - バックグラウンドの上昇
 - シグナル／バックグラウンド比 (S/B 比) の低下

などの問題が発生します。クロストークを低減する光学設計を採用したモデルも存在するため、感度が重要なアッセイでは確認が必要です。プロメガでは独自のクロストーク低減機構により、業界最高水準のクロストークカットオフを実現しています。

- **フィルター機能の有無**： BRET や 2 波長発光測定など、特定波長の光を分離・検出する必要があるアプリケーションには、発光フィルターによる波長選択機能が必要です。この機能は多くの場合、上位モデルに搭載されています。プロメガでは最上位モデル GloMax Discover に BRET 測定機能が搭載されています。
- **インジェクターの有無**： フラッシュタイプの発光試薬 (発光半減期が短いもの) を使用する場合には、自動インジェクターが必須です。この機能により、各ウェルに試薬を分注した直後にすばやく測定が行え、シグナルの変動を最小限に抑えることができます。目安として、発光半減期が 30 分未満の試薬を使用する場合、インジェクター機能が搭載されたモデルが推奨されます。プロメガではインジェクター 2 本を搭載したモデルを提供しています。

(文責 プロメガ株式会社 営業推進部)

参考資料

- ルミノメーターってなにになーに？

https://www.promega.co.jp/wp/wp-content/uploads/2021/05/naninani_luminometer_vol6.pdf