

#3 ブランクコントロール

序 文

吸光度測定最初のステップであるブランク測定は、正確で再現性のあるサンプル測定のために最も重要なステップです。

このテクニカルノートでは、NPOS ソフトウェア独自のブランクコントロール機能について、ブランク溶液および品質に関する有用な情報を提供します。

ブランク測定

ブランク測定では、サンプルに使用しているバッファーのみを測定します。最も良いのはバッファーが全く吸収を示さない場合です。260 nm の核酸測定、280nm の蛋白質測定のように、少なくともサンプル測定に使用する波長に吸収を示さないバッファーを選ぶ必要があります。ブランク測定を行い、ブランク測定値が記録されたことを確認し（ユーザーは意識することはありません）、測定値を 0 に設定します。サンプル測定時は、記録されたブランク測定値を差し引いた吸光度が出ます。

したがって、ブランク測定値が正確でない場合、サンプル測定に影響を与えます。サンプル測定結果が低く、もしくは高く出る可能性があります。

ブランク溶液とブランクの品質

ブランク溶液の品質を簡単かつ迅速にチェックできるオプションがあります。例えば RIPA のような蛋白質バッファーは 280nm に吸収を示します。（図 1）。

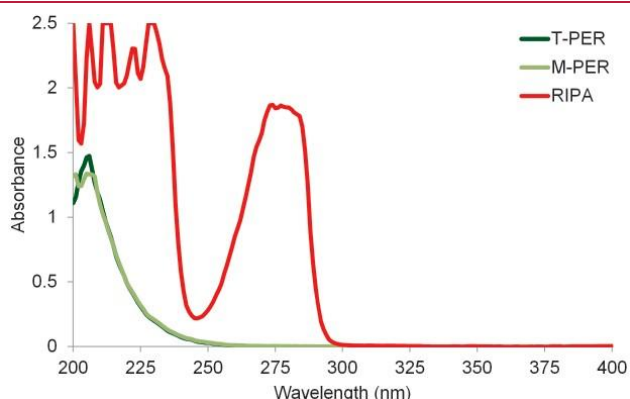


図 1 : 異なる蛋白質バッファーの吸光スペクトル (ブランク = dH₂O)

T-PER または M-PER などの他の蛋白質バッファーは、280nm では吸収を示しません（図 1）。もし使用するバッファーに疑問がある場合は蒸留水を用いてブランク測定を行います。その後サンプルとしてバッファーの吸収スペクトルを確認します。

確認のために、ブランク溶液（バッファー/蒸留水）を再度測定することをお勧めします。測定では、平坦な線が表示されるはずですが。

自動ブランクコントロール

NPOS ソフトウェアは、250~700 nm の広い波長域でブランク測定の分析を行います（~2.3A 10mm 光路長）。吸収が検出された場合はエラーメッセージが出ます（図 2）。250~700nm の波長域は 7 つのセクション（250~280 nm、280~340 nm、340~400 nm、400~475nm、475~550nm、550~625 nm、625~700 nm）に分割され、どの範囲で吸収が検出されたかを示します。

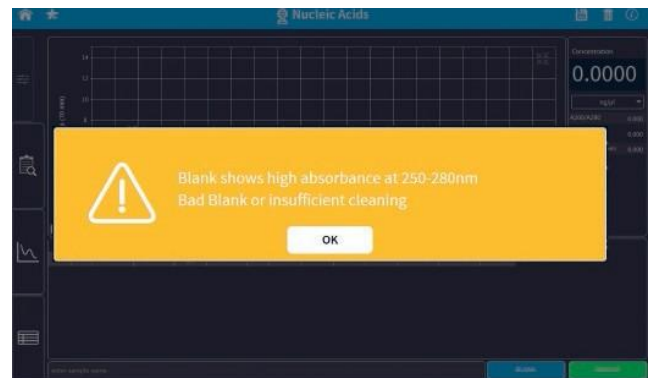


図 2 : 250~280 nm の範囲で高い吸収が検出された場合のエラーメッセージ

ブランク測定で高い吸収がある場合、2つの原因が考えられます。1つはブランク溶液またはバッファーのいずれかがこの波長域で吸収を示すこと、もう1つは前回の測定後、測定部およびミラー部が適切に洗浄されていないことです。

結論

Implen 社独自のブランクコントロールは、高いバックグラウンドまたは洗浄不足による不正確な表示に、時間と貴重なサンプルを消費してしまう無駄を省く効果があります。