# 生物教育実験におけるマイクロプレートリーダーの可能性

西川 洋史

埼玉県立進修館高等学校　nishikawa.hirofumi.01@st.spec.ed.jp

**キーワード：吸光度測定，マイクロスケール実験，マイクロプレートリーダー**
（受付：2024 年 8 月 27 日）

## Ⅰ．はじめに

生物教育における実験では結果の判定に主観的・印象的な基準を持ち込むことがある。例えば湖沼の水質について「汚れている・やや汚れている・きれい・大変きれい」という区分である。これは数値化が難しいことに起因するのだろう。しかし，サンプル中の分析対象物を化学反応によって呈色し，吸光度測定によって検量線をつくり，目的の物質の濃度を数値化することは実際の研究現場だけではなく企業における通常業務においてもごく普通に行われている。多くの高校生が理科の学びが高校で終えることを踏まえると，学校の理科の授業で機器分析を体験したほうがよいと思われる。また，数値化することで実験結果がグラフや表になり，例えば濃度依存性や温度依存性を視覚的に理解したり，予測を数学的に立てやすくなったりする。つまり数値化することが生徒の深い考察を可能とし，より本質的な科学の営みの体験的な理解につながる。従って学校現場での吸光度測定は，科学教育として重要な実験手法と位置付けてよいだろう。

## Ⅱ．分光光度計による作業効率性

吸光度測定の多くは分光光度計を使用する。分光光度計による吸光度測定ではキュベット（測定する溶液を入れる容器）に溶液を入れてから測定を行う。1 クールの作業は通常，図 1 のようになる。1〜9 まで 2 分かかるとする。40 人クラスの生徒が一人一試料の測定を行うと，それだけで 80 分を超える。つまり授業内に測定すら終わることができない。さらに言えば，光軸を安定させるために 1 時間以上ランプを点けた状態にする必要もあり，学校現場としては大がかりな実験ともいえる。授業時間内に終わらせるという時間的制約をクリアするには短時間で大量の吸光度測定を行わなければならない。これを実現する機器としてマクロプレートリーダーを挙げることができる。

| 手順 | 作業 |
|---|---|
| 1 | キュベットにサンプルを入れる。 |
| 2 | 分光光度計の蓋を開ける。 |
| 3 | キュベットを機器内のホルダーにセットする。 |
| 4 | 分光光度計の蓋を閉める。 |
| 5 | 測定する。 |
| 6 | 分光光度計の蓋を開けて、キュベットを取り出す。 |
| 7 | キュベット内のサンプルを捨てる。 |
| 8 | キュベットを蒸留水で3回以上ゆすぐ。 |
| 9 | キムワイプで拭く。 |

**図 1 分光光度計測定のフロー**

## Ⅲ．マイクロプレートリーダーについて

マイクロプレートリーダーとは，マイクロプレートに入れたすべての溶液の吸光度（機種によっては蛍光や発光強度も測定可能）を短時間で一括測定する機器である（図2）。一括測定可能なサンプルの数は，マイクロプレートのウェル数にもよるが通常は96 個までである（96 well plate 使用）。従って，マイクロプレートリーダーは，タンパク質の定量や酵素活性測定など，測定条件の多い実験系では作業効率の向上に大きく寄与する。そのため多くの研究機関に設置されている。

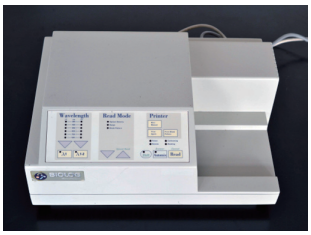



**図 2 マイクロプレートリーダーの全体像**
**BIOLOG 社のマイクロプレートリーダーE Max。サイズは中高生の生徒机に収まる程度。本機はかなり古く 10 年以上前に販売終了されているが，堅牢なので現役で使用しているところもあるようだ。**

この実験機器の多くは 100～500 万円であるが，そこは顕微鏡のグレードと同じく簡易型であれば数十万円程度のものがある。例えば MPR-A100（45 万円前後，アズワン株式会社，大阪）や ChroMate4300（48 万円前後，株式会社プラクティカル，千葉）のように，学校における教師用顕微鏡と同程度の価格帯で販売されている機種もある。近年は海外製ではあるが 15～20 万円の機種も出されているが，今後の海外におけるライフサイエンスの発展を見越せばさらに価格が下がる可能性もある。以上のようにマイクロプレートリーダーの学校への設置は，価格的に絶対不可能というわけではない。後述するが，クラス人数の倍以上のサンプル数（96 個）をわずか数分で吸光度測定できることから，むしろ費用対効果は高いと言えよう。

## Ⅳ．マイクロプレートリーダーによる測定の実際

マイクロプレートリーダーによる吸光度測定について全体の流れをイメージしやすいよう，図をもって説明する。マイクロプレートリーダーの電源を入れるとマイクロプレートを載せるトレーが排出される（図 3A，2～4 秒要する）。次にマイクロプレートの底面を 70%程度のアルコールを染み込ませたキムワイプで拭く。この作業は光の透過面のクリーニングが目的である。マイクロプレートリーダーでは，バンドパスフィルターを通った特定の波長の光が，光ファイバーケーブルを伝って 96 か所に分散し，マイクロマイクロプレートの各ウェル上から入射する。溶液を通過した光はプレートの底面を通過し，下にあるセンサーで測定される。従ってマイクロプレート底面の汚れは誤測定の原因になるため，測定前に清浄にしなければならない。マイクロプレートをトレーに搭載後（図 3B），PC 側で測定アイコンをクリックまたは本体の「READ」ボタンを押すと，トレーが入り測定される（10 秒程度）。測定が終わるとすぐにトレーが出てくるので（図 3A と同じ状態になる），サンプルの入ったマイクロプレートを回収する。測定後すぐに PC 画面に測定結果が映し出される（図 3C）。これをプリンターで印刷してもよいが，筆者は生徒らに自前のスマートフォンで撮影させている。

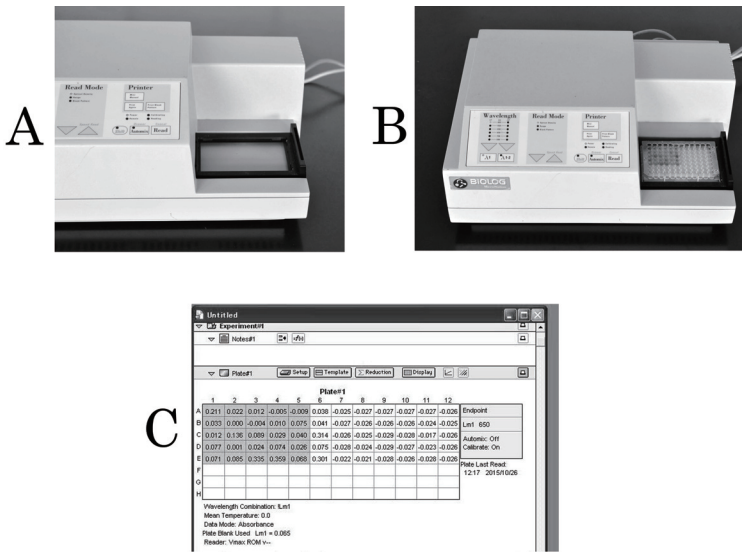



図 3 マイクロプレートリーダーの操作

A：プレートを搭載するためのトレーが排出された様子，B：測定する試料が入ったマイクロプレートをトレーに搭載した様子，C：PC のアプリケーション上に表示された測定結果の全体像

## Ⅴ．大量測定の効率化をサポートする器具・機器

マイクロプレートリーダーによる測定をスムーズに行うためには，多種類の溶液を短時間で移動できる器具・機器があるとよい。例えばマルチチャンネルピペット（8 連あるいは 12 連）は，マイクロプレート間での溶液移動時間の短縮に大いに役立つ（図 4A）。従来，1 本あたり 10 万円を超えるものがほとんどであったが，現在は 3 万円台の機種もあるようだ。また，反応液中に生じた残渣を沈殿させ，上清を回収するにはマイクロプレート遠心機がお勧めである。マイクロプレート自体を遠心するには通常，遠心機のローターをマイクロプレート遠心対応のローターに交換してから使用する。しかし，近年はマイクロプレートの遠心だけに特化した安価な遠心機（8 万円程度）が販売されている（図 4B）。これらの器具・機器は必需品ではないが，あると大変便利である。

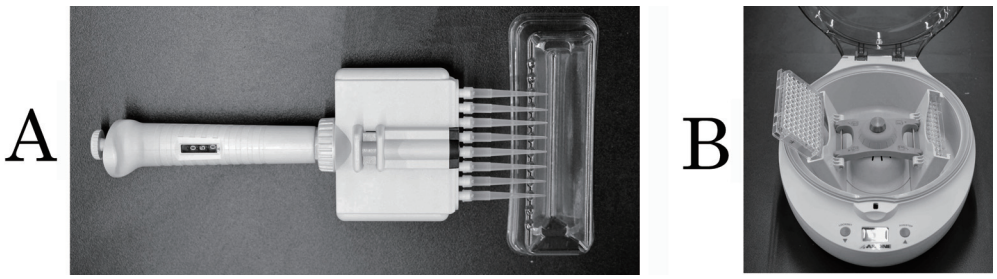



図 4 作業を効率化する周辺実験機器・器具

A：8 連型マルチチャンネルピペットとマルチチャンネルピペット対応試薬リザーバー

B：マイクロプレート遠心機

## Ⅵ．測定事例

理科実験で馴染みのある生物の測定についてマイクロプレートリーダーを使った例を紹介する。ボルボックスを 300，600，900，1200 個となるように遠心管に入れ，最終濃度が約 10%となるようにエタノールを加えて動きを止めたのち，遠沈した。上清をデカンテーションで廃棄後，250 μL ジメチルスルホキシドに分散・溶解した（浦山勝，1995)。この溶液を 96 well plate に 200 μL ずつ分注し，吸光波長 650 nm で測定した（N=8, total sample 32)。その結果，300～1200 個の間ではボルボックスの数に依存した吸光度の上昇が見られ，検量線として使えるレベルの相関係数 0.99 を得た（図 5)。

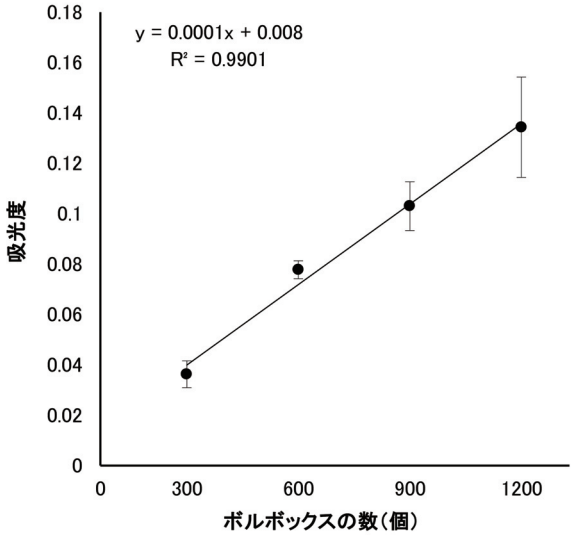



図 5 ボルボックスの数と吸光度の関係

## Ⅶ．さらに活用するために

マイクロプレートリーダーによる測定は短時間で大量の数値が得られるところに利点がある。例えば，各グループで 1 つのマイクロプレートを準備したとしても，6 枚のプレート測定は 10 分程度で終わる（交換時間や数字の記録時間を含めると 20 分程度)。授業の半分も使わずに，96×6 個の吸光度を求められるのだ。この数値を手計算で処理するのは大変だが，現在は一人 1 台の PC がある。従って Excel などで平均値や標準偏差を求めたり，棒グラフや折れ線グラフを作成したりすることは容易である。これにより結果のばらつきが小さくなったり視覚化されたりすることで，より妥当な結果の解釈や深い読み取りが可能になるだろう。とくに回帰直線から濃度を数値で求めることは，客観的な比較を可能にする。つまり，大量データの取得と PC による数値処理は，生物実験におけるデータの読み方や考え方のレベルを一歩高め，情報活用の場面を多くすることにつながる。通常の授業で，そのような学習活動ができると全ての生徒が現代社会（企業や試験場など）で実施されている基本的な機器分析の原理

を体験的に学んだことになるだろう。しかし，その反面，統計解析という「障壁」が浮き上がってくるのも事実である。なぜなら，PC にデフォルトでインストールされているアプリケーションでは，回帰直線の作成や相関係数程度にとどまり，複数の標本間の有意差を求められる多重比較や主要因を洗い出す重回帰分析はできない。生物について興味関心のある生徒や数学が好きな生徒は，そのようなレベルまで進めてもよいだろう。そのためには相応の統計ソフトが必要である。マイクロプレートリーダーで得られた多数のデータを最も効果的に活用するためには，統計解析ソフトが必要になるが，これについては別稿で紹介したい。

## 文献

文部科学省　2018. 高等学校学習指導要領（平成 30 年告知）解説　理科編　理数編. 第 1 章 第 2 節. Retrieved from https://www.mext.go.jp/content/20211102-mxt_kyoiku02-100002620_06.pdf (2024 年 8 月 21 日閲覧)

浦山勝　1995. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) を用いたクロロフィル抽出法の検討. 北海道大学農学部技術部研究・技術報告, 2, 12-15.