

SCIENCE IMAGING SYSTEMS

Application Note No. 7

基礎編：化学発光検出におけるフィルム法とCCD法

LAS-1000 / LAS-1000plus / LAS-1000C

はじめに

化学発光法は、プロット後のメンブレンフィルタにおける核酸・タンパク質の検出方法として用いられています。一方、冷却CCDカメラは、近年飛躍的な技術改良が進みました。化学発光の検出に従来から用いられてきたX線フィルムは徐々に高感度冷却CCDカメラシステムに置き換えられています。

光を検出するという同じ目的で使用しますが、フィルム法とCCD法の受光原理は、フィルム法では化学反応であるのに対し、CCD法では光を電気信号に変換しておりこの原理の違いによって特性が異なります。CCDで撮影した画像の特長としては、フィルム画像に比べてダイナミックレンジが広く、リニアリティが良いので定量解析に優れている点、またデジタル画像なので、プレゼンテーション画像の作成が容易な点が挙げられます。

今回は化学発光の検出におけるフィルム法とCCD法の受光原理とデジタル画像が得られるまでのプロセスをまとめました。

Contents

1. 受光原理と画像化プロセス
2. フィルム法とCCD法の特性比較

Summary

- ・化学発光のイメージングにはフィルムやCCDで検出する方法が一般的です。
- ・CCD法は、画像の定量解析に適したデジタル画像を作ります。
- ・CCD法は、画像化が簡単で最適条件の設定も容易です。
- ・LAS-1000でURF20L(F0.85)レンズを使用したとき、フィルム法と比較して同等以上の感度を得ることが出来ます。

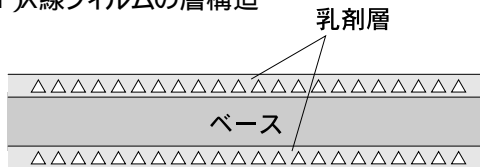
1 受光原理と画像化プロセス

フィルム法とCCD法はそれぞれ光を検出できますが、受光原理は大きく異なります。

■ フィルム法

フィルムでは、光が乳剤層のハロゲン化銀結晶で受光され、銀の還元反応により画像化されます

(1) X線フィルムの層構造



X線フィルムではベースの両面に、ハロゲン化銀結晶の乳剤が塗布されています。

Fig.1-1

(2) フィルムの画像化プロセス

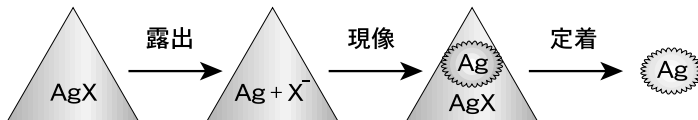


Fig.1-2

現像では、露出で生成した現像核を中心にハロゲン化銀を還元し、金属銀を析出させます。

■ CCD 法

CCDカメラでは光が受光部で電子として蓄積され、さらに電気信号への変換により画像化されます。

(1) CCDの受光部

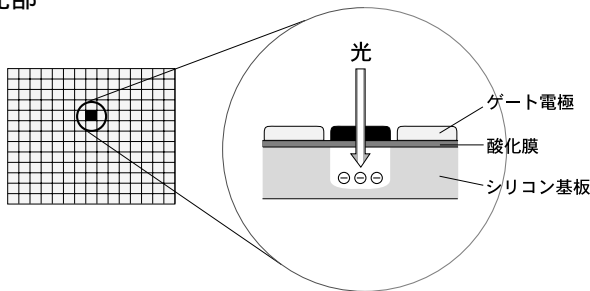


Fig.1-3

CCDには多数の受光部があります。受光部に光が当たると電子が発生し、蓄積されます。

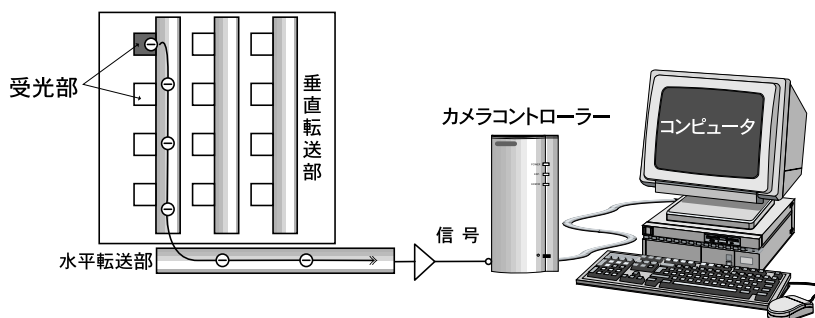


Fig.1-4

ハロゲン化銀

AgCl, AgBr, AgIなどのことで、AgXと表記します。

乳剤

写真乳剤(Photographic emulsion)のことを言い、感光性ハロゲン化銀粒子がゼラチン水溶液中に懸濁されたものです。

Fig.1-1 X線フィルムの層構造の概念図

現像

アルカリ性でフェニドン、ハイドロキノンなどの還元剤によりハロゲン化銀を金属銀に還元します。

定着

弱酸性でチオ硫酸ナトリウムなどにより未現像のハロゲン化銀結晶を錯塩として溶解します。

Fig.1-2 フィルムの画像化プロセスの概念図

ゲート電極

電圧を印加し、蓄積した電荷を転送させるための電極

酸化膜

シリコンと酸素を反応させて形成した透明な絶縁膜

シリコン基板

CCDを製造する元になる最も一般的な基板結晶

Fig.1-3 CCD受光部の概念図
この図は簡略化されたものです。

Fig.1-4 CCDの画像化プロセス
CCDの受光部に蓄積した電子は、転送部を通して出力部へと移動します。さらに外部に取り出され、画像データとなります。

2 フィルム法と CCD 法の特長比較

■ 画像の取り込みと光量

フィルム法は、サンプルと密着させて露出します。そのため光をフィルム内に多く取り込みますが、取り込まれた光が全て銀の還元反応に使われるわけではなく、例えば現像核が形成されるためには数個の光子が必要とされます。

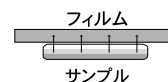
一方CCD法は、レンズを通して光を集光させて取り込みます。このため、CCDに到達する光量は減少しますが、取り込まれた光はそのほとんどが電子に変換され蓄積することが出来ます。

CCD法では用いるレンズにより 検出感度が大きく左右されます。LASシリーズでは、URF20L(F0.85)高感度レンズが用意されています。

■ 感度

5×10^5 photons/sec・cm²程度(5fgに相当)の非常に微弱光である化学発光を計測できました。フィルム法と比較して、同等以上の感度を得ることができます。

フィルム法の露出



CCD法の露出

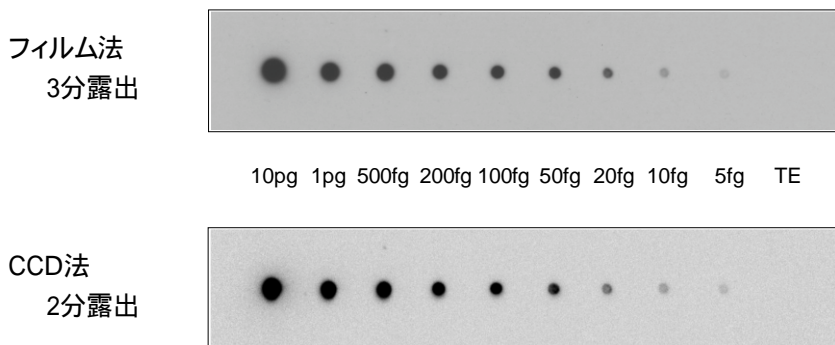
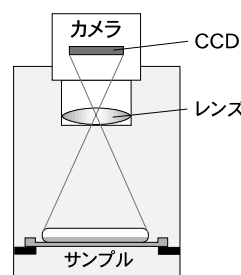


Fig.2-1

Fig.2-1 化学発光のフィルム法とCCD法による検出

サンプル : pBR328のドットプロット
 発光基質 : CDP-Star®
 フィルム : FUJI newRX
 検出システム : LAS-1000
 レンズ : URF20L(F0.85)

■ 画像化工程

(1) フィルム法



Fig.2-2

フィルム法は、暗室内で露出から現像処理までを行います。

Fig.2-2 X線フィルムの画像化工程

(2) CCD法

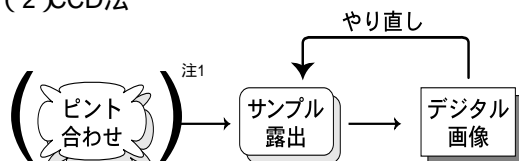


Fig.2-3

CCD法は、LASシリーズのような専用の光漏れの無い暗箱を用いて露出を行うことにより、明室でデジタル画像が得られます。

注1

LAS-1000plusはピント合わせを自動化しています

Fig.2-3 CCDの画像化工程

■ 画像定量

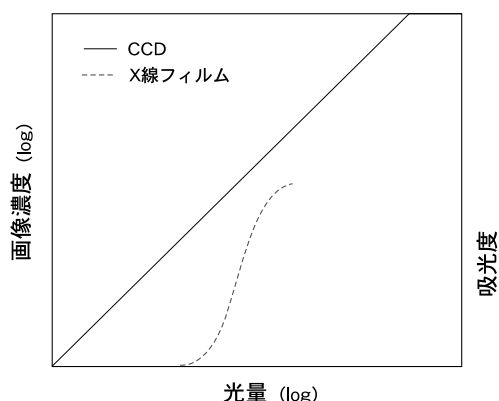


Fig.2-4

Fig.2-4 X線フィルムとCCDの
光量と画像濃度

フィルム法では、画像濃度は光量に正比例しません。直線に近似できるのは一部分です。

CCD法では、画像濃度は光量に正比例するので、定量解析が容易にできます。

■ サンプルサイズ

LASシリーズは、トレーの位置によって撮影できるサンプル最大サイズが決まります。有効画素数1384×922のCCDを用いているため、実用上十分なレベルでのメンブレン上の隣接したバンドの分離を認識することができます。

LASシリーズのトレー位置とサンプル最大サイズ

トレー位置	サンプル最大サイズ(cm)
1	7 × 11
2	9 × 14
3	12 × 18
4	14 × 21
5	17 × 25
6	20 × 25
7	25 × 25

トレー位置

LASシリーズでは、サンプルトレーの位置は7段階に設定されています。

■ 研究発表用の画像作成

研究発表用資料を作成する際、画像の切り出し・拡大・縮小、文字の挿入、画像のレイアウトなど様々な作業が必要となります。CCD法では、画像がデジタル化されているので、このような作業が簡単に行えバリエーションが広がります。一方フィルム法では、画像をデジタル化するためにスキャナーなどを用いた種々の作業が加わり、作業量が増えてしまいます。

著者・編集

三浦 研二

土谷 徹

長島 真喜子

今井 千織

(富士写真フィルム)

1997年10月発行

1998年12月改訂2版第1刷発行

CDP-Star は、Tropix社の登録商標です。

FUJIFILM

富士写真フィルム株式会社

●本書についてのお問い合わせは

東京本社 ■ 機器事業部 サイエンス・システム

〒106-8620 東京都港区西麻布2-26-30 TEL (03)3406-2201

FAX (03)3406-2158

E-mail : sginfo@tokyo.fujifilm.co.jp