

# HPLCとDNAの 定量の応用分野を拡大するUV-C LED

ハリ・ヴェヌゴパラン

新しいUV-C LED光源は、生命科学分野の計測器設計にサイズの縮小とコストの削減をもたらす技術革新を促進している。これによって、性能を犠牲にすることなく、生産性と信頼性を向上させることができる。

生命科学分野に取り組む多くの研究施設が、対象分野に対する高速で正確で信頼できる計測を拠り所としている。高速液体クロマトグラフィー（HPLC：high-performance liquid chromatography）とDNAの濃度と純度の測定には特にこれがあてはまり、吸光分析法による定量分析が必須である。このような分野を対象とする主要な計測器メーカーは、エンドユーザーの新しいニーズを満たすための手段として、UV-C（100～280nmの範囲のC帯における紫外線LED）などの代替光源を検討している。UV-C LEDを使用すれば、小型化やコストの削減といったメリットが得られ、それによってメーカーは他社との差別化を図った製品を提供し、市場シェアを拡大できる可能性がある。

他の帯域のUV LEDは既に、いくつかの重要な分野で広く利用されている。例えば本誌では2014年3月号で、硬化用途に利用されるUV-A（315～400nm）のLEDに関する記事を掲載した（<http://bit.ly/1gKfIPU>、日本語版6月号「UV LEDの進歩で広がる硬化技術の可能性」）。Strategies in Lightの講演を紹介した記事（<http://bit.ly/1kXzh1e>）で説明したように、UV-C LEDの用途はこれまで、LEDの効率によって制約されていた。しかし米クリスタルIS社（Crystal IS）は、特に帯域の高域側のUV-C LEDについて、著しい進歩を遂げている（[\[bit.ly/1sVubbc\]\(http://bit.ly/1sVubbc\)）。](http://</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

高域側のUV-C LEDは、テストと計測を軸とする多くの生命科学分野で有用である。研究施設では、生産性と実験性能の改善に向けて、現在使用する大型の計測器よりも安価でコンパクトな計測器が求められている。いくつかの新しい技術によって計測器の小型化が可能になっており、それがコストの削減だけでなく、研究施設における使用可能なスペースの拡大にもつながっている。LEDを搭載する安価でコンパクトな計測器が利用できれば、研究者は作業台の上に計測器を置いて定型的な測定を行うことができる。それと並行して、スペクトル全体の測定が必要な場合は、施設内の中央の場所に設置された、UVランプを搭載するより高価なフルスペクトル計測器を利用することができる。そうすることによって研究施設内のボトルネックが解消され、生産性が高まる。

つい最近まで、商用提供されているUV-C LEDは前述のとおり性能が低く、それが計測器メーカーによる開発の妨げとなっていた。しかし、より性能の高い部品が提供されるようになったことで、LEDの能力を最大限に活用してこれまでの問題を克服する、新しい計測器モデルが開発できるようになっている。以下では、UV-C LEDが現在利用されている、いくつかの応用分野に

ついて説明する。

## UV-C LEDが固定波長検出にもたらすメリット

HPLCは、カラムに注入された試料混合物を分離するための手法である。さまざまな物質と混合比からなる混合物が、移動相と固定相でパーティション動作が異なることに起因してさまざまな速度でカラムを通過する。その成分の検出は主に、UV分光光度計を用いた吸収分光法によって分析される。HPLCは一般的に、タンパク質の精製に使用される。タンパク質の精製は、薬品や飲料の製造、品質管理、バイオ技術研究などの分野における、定型的なプロセス監視工程である。

現行のHPLC検出器では、主要な光源として重水素（ジウテリウム）ランプが一般的に用いられる。重水素ランプが採用されるのは、測定の継続時間を通して安定性に優れた光出力が得られるためである。HPLCに光出力の安定性が高いUV光源を採用すれば、さらに濃度の低い混合物でも確実に検出できるようになる。分光器部品を製造する浜松ホトニクスが行ったUVランプの比較からは、キセノンフラッシュランプや水銀ランプといった他のUVランプと比べて重水素ランプは、安定性が2桁高いことが明らかになっている（<http://bit.ly/1pgE91C>）。

## LEDによる、安定性要件のクリア

新たに提供されている高性能なUV LEDは、ピーク間変動が0.005%未満

というハイエンドの重水素ランプに匹敵する安定性を誇る。UV-C LEDは同等の感度を備えつつ、固定波長検出用計測器の全体的なコストの削減とサイズの縮小に貢献する。これを採用することでメーカーは、単一または少数の固定波長のみを必要とするエンドユーザが、よりコンパクトな機器を使用することによって研究施設内のスペースを有効に活用できるように支援することができる。加えてLEDは寿命が長く、瞬時に点灯するため、重水素ランプのように、耐用年数がウォームアップ時間によって消費されるということがない。さらに、LEDからの照射は簡単にファイバ結合可能で、フローセルの隔離が必要な用途においては好都合である。以上からメーカーは、固定波長検出器の代替光源としてUV-C LEDを採用することによって、より費用対効果の高いシステムを構築できる可能性がある。

固定波長HPLCシステムにおいて、一般的にコストを左右する最大の要素は、初期設定費用である。これには、光源と補助装置の両方が含まれるためだ。LED検出器を採用するHPLCシステムの場合、電源、フォトダイオード、そしてビームスプリッタが必要である。LEDを搭載するHPLC検出器システムの一般的な総コストは、およそ750ドルとなる。一方、重水素光源を採用するHPLCシステムの場合、その構築にかかるコストはさらに高額である。必要となる電源は格段に価格が高く、ランプを格納する筐体も必要だ。また、重水素ランプは広帯域光源であり、UV帯域の多数の波長にわたる光を放射する。そのため、固定波長HPLC検出において、高価なフィルタとモノクロメーターを用いる必要が生じる。その結果、一般的なシステムコストは4000

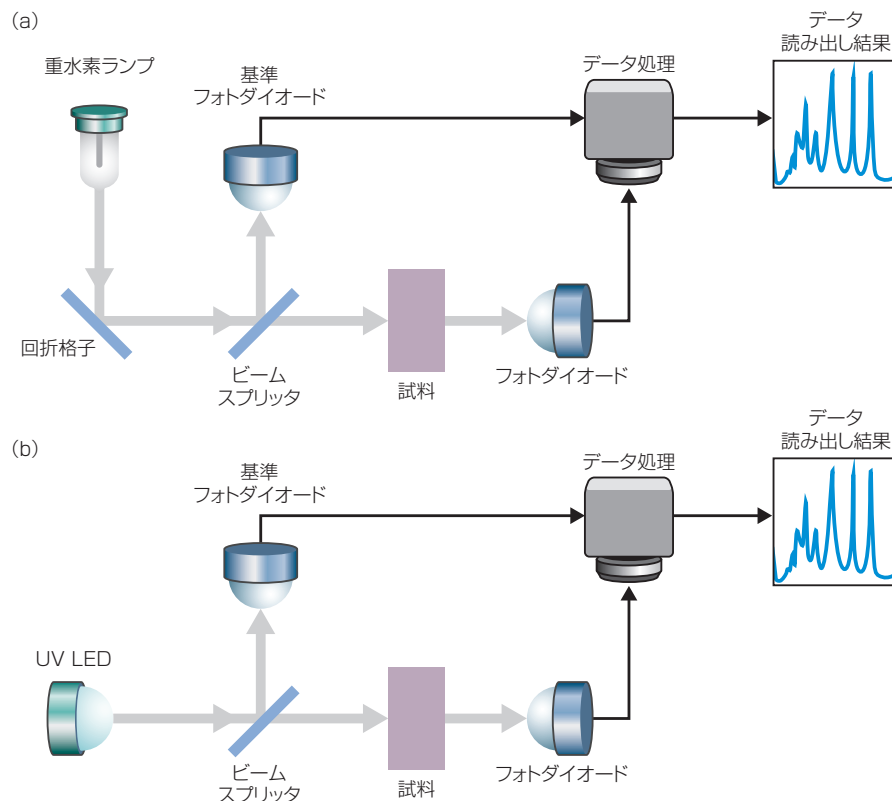


図1 重水素ランプを光源として使用する固定波長HPLC検出器(a)の光学経路は、UV-C LEDを採用する固定波長HPLC検出器(b)の光学経路よりもやや複雑である。

ドル近くになると見積られる。図1に、重水素ランプを採用する計測器(a)とUV-C LEDを搭載する計測器(b)の一般的な構成を示す。

### DNA純度測定のコストの削減

UV-C LEDが利用される別の応用例として、DNAの濃度と純度の測定について説明する。これは、多くの生命科学分野における分析の最初の工程であり、吸光分析法が用いられる。DNA抽出は、生物学研究の完全性を確保するものであり、バイオテクノロジー、科学捜査、ゲノム研究、製薬などの分野に影響を与える。これには、遺伝性疾患の検出、DNA指紋の生成、そして、インシュリンといった有効成分を生成可能な遺伝子組み換え作物の作成などが含まれる。

このような応用分野において、生産

性の向上とコストの削減につながる最大の要素は、測定の手速と精度である。DNAとタンパク質はそれぞれ、260nmと280nmの波長で吸光度が最大となるため、それらの波長における吸光度によってDNAとタンパク質のそれぞれの濃度がわかり、吸光度の比によってDNA試料の純度がわかる。DNAの濃度と純度を測定するための分光器には、キセノンフラッシュランプが使用される。キセノンフラッシュランプは瞬時に点灯/消灯でき、広範囲にわたる濃度範囲に対して、高い直線性を備えた測定によるすばやい評価が可能である。

キセノンフラッシュランプのような広帯域のUVランプは、複数の波長にわたって豊富な光を生成するが(光エネルギーの大部分は可視帯域に存在する)、任意の単一パラメータ測定において有効なのは、ある特定波長の光だけであ

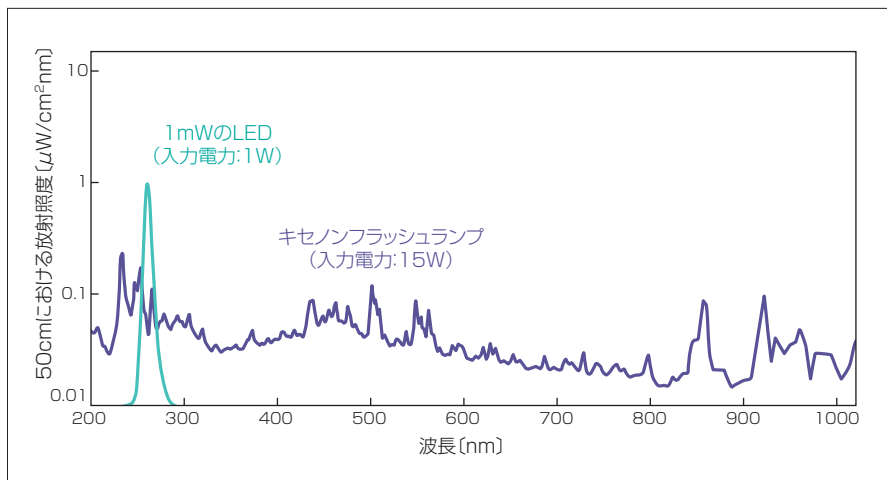


図2 キセノンフラッシュランプと、260nmを中心出力とするUV-C LEDのスペクトルを比較した様子。キセノンランプでエネルギーが無駄になっていることと、LED光源の方がピーク出力が高いことがわかる。

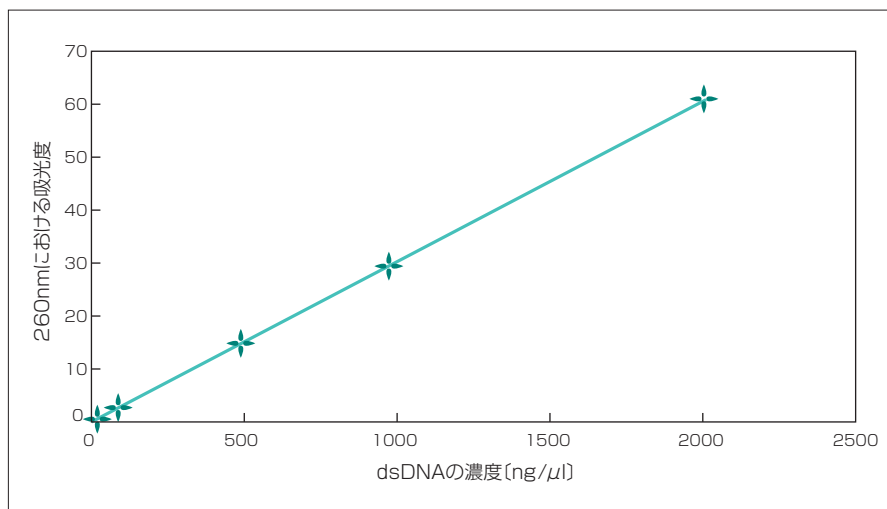


図3 260nmにおける2本鎖DNA (dsDNA)の濃度測定に対し、UV-C LEDは、広範囲にわたる濃度レベルにおいてほぼ完璧な直線性を示す。

表1 DNA純度測定用システムの比較

	キセノンフラッシュランプシステム	UV-C LEDシステム
光源	600ドル	600ドル
電源とトリガソケット*	1000ドル	50ドル
260nm用の励起フィルタ	350ドル	0ドル
280nm用の励起フィルタ	350ドル	0ドル
シリコンフォトダイオード (UV強化)	100ドル	100ドル
合計	2400ドル	750ドル

\*キセノンフラッシュランプを採用するシステムには、電源に加えてトリガソケットが必要。LED採用システムの場合は不要。

る。DNA純度は、260nmと280nmにおける吸光度を測定することによって判定されるため、フィルタやミラーなどの追加要素によって、広帯域ランプからの光が試料に到達する前に不要な波長を除去することが行われる。また、キセノンフラッシュランプを使用するには、ランプ点火時に高電圧が必要で、電子部品に対するシールドも強化しなければならない。このような高価な電子部品に加えて、追加の光学部品が必要であることから、計測器の全体的なコストは瞬く間に膨れ上がってしまう。

### LEDとUVランプのスペクトル

DNAまたはタンパク質の吸光度測定に関連する、狭い波長範囲内において、UV-C LEDはキセノンフラッシュランプに匹敵する計測性能を提供する。図2は、1mW、260nmのUV-C LEDと15Wのキセノンフラッシュランプの分光放射照度を比較したものである。

LEDは光出力が高いことから、最小で0.5ng/μlまでというより低い濃度の2本鎖DNA (dsDNA: double-stranded DNA) が検出可能である。また、スペクトル品質も優れていることから、0.5~2000ng/μlという3桁もの範囲の濃度にわたる測定において直線性を実現する(図3)。

LEDの高い性能と単色性によって、キセノンフラッシュランプを採用する場合よりもシンプルな構成の計測器を設計することができる。必要な光学部品が少ないため、システムコストが抑えられる。また、UV-C LED用の電源も、よりシンプルで低コストなものとなる。部品コストが抑えられることで、性能を犠牲にすることなく、DNA純度を測定するためのより費用対効果の高い計測器を製造することができる。260nmと280nmで測定を行うための固定波

長検出器の一般的な光学部品のコストを、表に比較して示した。キセノンフラッシュランプシステムでは、これらの波長を実現するために2つのフィルタを使用していると仮定し、UV-C LEDシステムは、それぞれの波長に1個ずつ、合計2個のLEDを搭載するとした。

## LEDの搭載による効率の向上

部品コストによって、初期システムコストは大きく左右される。しかし、システム効率も、全般的なコストを左右する要素の1つである。本稿に示したシステム例の場合で、UV-C LEDシステムの消費電力は、約2W(LED1個につき1W)である。一般的なキセノンフラッシュランプの平均消費電力は、

2W～60Wである。固定波長測定に対し、UV-C LEDシステムの方が効率の高い光源であることは明らかである。キセノンフラッシュランプからの光出力のかなりの部分が、不要な波長としてフィルタ除去されるため、図2に示したように、対象波長における光出力はLEDの方が高い。

以上で説明したとおり、UV-C LED搭載システムは、UVランプを使用するシステムと同等か、場合によってはそれを上回る性能を提供しつつ、固定波長測定効率を高め、コストを引き下げることができる。同等の性能が達成

できることから、このような複雑な作業に対して製品性能を犠牲にすることなく、コストやサイズといったUV-C LEDのその他のメリットを最大限に生かした計測器設計が可能になる。UV-C LEDは、計測器寿命を延長し、信頼性を高め、生産性を向上させつつ、エンドユーザが負担する全般的なコストを低減することができる。このような新しいデバイスによって、生産性、コストの削減、小型化といった市場の主要なトレンドに対応するための、生命科学分野の計測器設計における技術革新が促進されている。

### 著者紹介

ハリ・ヴェヌゴパラン (HARI VENUGOPALAN) は、米クリスタルIS社 (Crystal IS) のグローバル製品管理担当ディレクター。

LEDJ

# 今までにない「高出力」「寿命」「信頼性」を実現した 深紫外LED (250-280nm)



**Optan™**  
by Crystal IS

Optan™ シリーズは独自の低欠陥 AlN 基板によって開発された TO-39パッケージの深紫外(UVC)LEDです。優れた光出力、スペクトラル品質を有しており、ピーク波長は 250 nm ～ 280 nm、出力は 0.5 mW ～ 4 mW まで各種ラインアップしています。本製品は分析における分光用途やライフサイエンス分野の計測器にとって理想的な光源です。

- > 高いスペクトラル品質
- > 業界最高レベルの信頼性
- > 平均寿命 3000時間 @100mA

- > 視野角 15°
- > ハーメチックシール
- > RoHS 対応



株式会社 オプトサイエンス

160-0014  
東京都新宿区内藤町1番地  
内藤町ビルディング

www.optoscience.com  
03-3356-1064  
info@optoscience.com