

電気泳動実験法

電気泳動学会 編

電気泳動実験法

電気泳動学会編

(内部交流)



東京文光堂本郷

Ly161

11124

本書の内容の一部あるいは全部を無断で
(複写機等いかなる方法によっても)複写
複製すると、著作権および出版権侵害と
なることがありますので御注意下さい。

検印省略

電気泳動実験法

7500 円

昭和 38 年 8 月 25 日 第 1 版 発行

昭和 42 年 10 月 25 日 改訂第 4 版 発行

昭和 51 年 2 月 20 日 改訂第 5 版 発行

編 者 電 気 泳 動 学 会

発行者 浅 井 宏 祐

発行所 株式会社 文 光 堂

113 東京都文京区本郷7-2-7

電話 東京 (03) 813-5411(代)

振替口座 東京 578 番

© 電気泳動学会, 1976

公和印刷・仲村製本

乱丁・落丁の際はお取替いたします。

3047-00107-7386

児玉桂三先生と電気泳動学会

児玉桂三先生は明治24年6月17日滋賀県彦根に生誕、大正7年3月東京帝国大学医学部医学科を卒業後、同生化学教室に入室、生化学、特に蛋白質の物理化学的研究に従事された後 L. Michaelis 教授の後任として愛知医学専門学校生化学教授に転任された。

大正13年より英国 London 大学および Cambridge 大学に留学、F. Donnan について物理化学を、F. G. Hopkins についてとくに生体における酸化還元を学ばれた。

Michaelis が pH の概念の創設者であるとともに、電気泳動を生化学に応用した最初の一人であること、Donnan が浸透圧その他の物理化学の専門家であり、ノーベル賞受賞者の Hopkins が Warburg と並んで近代生化学、特に生体酸化還元系の organizer であることは周知のことであるが、児玉先生もまたわが国医学の領域において pH、酸化還元電位など生物物理化学の pioneer の一人である。先生が電気泳動法に異常な興味をよせておられるのは上記のような先生の研究歴からよく理解できるであろう。

英国から帰られた先生は九州帝国大学の医化学講座を担当され、およそ15年の在職の後昭和19年東大医学部に帰られた。東大における先生は生化学の教授として、また東大医学部長として終戦と終戦後の最も困難な時代を過ごされたことになる。一面の焼野原と化した東京にぼつりと残されたような東京大学にふみとどまって、まさに切断されたかと思われた研究の歴史の糸を見事につなぎ通された功績はまことに大きい。

昭和22年東大生化学教室において Tiselius の電気泳動装置が組み立てられた。この業績は全てが荒廃していた戦後の医学会に一つの息吹きを与えたものといえる。そして、これを機とし、先生を会長として昭和24年電気泳動学会が誕生する。

昭和26年満60才を迎えられた先生は東大を辞するとともに徳島大学学長の要職につかれ、今日に至っている。

一昨年6月17日をもって先生は満70年の誕生日を迎えられ、これを機に先生の御寄附を基金として電気泳動学会賞が設定された。また電気泳動学会は来年をもって創立15周年を迎えることになる。電気泳動学会はこの機を記念し、本書を上梓、先生ならびに本会会員に心からなる祝意を表する次第である。

昭和38年7月

電 気 泳 動 学 会

改訂第5版の序

電気泳動法の発達とその利用の増加は誠に目をみはるばかりである。私共は昭和24年、Tiseliusの電気泳動法を唯一の方法として電気泳動学会を発足せしめたのであるが、当初今日の隆盛を予見したものは誰一人いなかった。その後支持体を用いる電気泳動法の導入により、爆発的な発展を遂げ、今や津々浦々、医学に、生物学に、生化学に、驚く程の広域にわたって本法が活躍する事となった。

本書は昭和38年初版発行の後、昭和42年大幅な改訂を行ったが、爾後8年の間に本法は更に著明な発達を遂げたのである。

今回、この間に案出された新法、新知見を極力網羅して第5版を出版する運びとなった。改訂の要点は、たとえばポリアクリルアミドゲル電気泳動法においてはSDS電気泳動法が、免疫電気泳動においては、electrosyneresis、ロケット法などが追加されたし、又、新しい章を設けて等電点分画法、プレパラティブ電気泳動法など、主として分離用の電気泳動法の詳細が掲載されている。細胞電気泳動法も一章として加えられた。一方、付録には、電気泳動法に頻用される種々の緩衝液の、作り方、pH、イオン強度が表示され、実験者の便宜に供せられている。

各執筆者はいずれも第一線で、自らの手で実験を行っているものばかりであり、極めて多忙な実験の合間を縫って執筆の労をとられた。誠に感謝に耐えない。

本改訂版の編集に当っては電気泳動学会常任幹事、東京医科歯科大学物理学教室の島尾和男教授に一方ならぬ御尽力を頂いた。特に記して満腔の謝意を表したい。又出版に当っては株式会社文光堂の献身的な御協力を賜った。併せて感謝の意を表する。

本書は2年余の歳月を費し、出来うる限りの改訂を行ったものであるが、なお完璧とはいえぬ点多々あるものと思う。読者諸子の叱責を仰いで今後の改訂に備えたいと思う。

昭和50年も正に終らんとしている。半世紀の経過である。電気泳動学会も又生まれてから四半世紀を経た事になる。今日迄の順調な成長になお鞭打って、研究の、学会の益々の発展を祈って序としたいと思う。

昭和50年12月25日

電気泳動学会会長

平井秀松 記す

序 文



電気泳動法の普及発展は誠にめざましいものがあり、数多くの業績を挙げているが、特に本法の医学の領域における利用度は年々高まるばかりであり、今日臨床検査室を有するところで電気泳動装置を備えていないところはまずないほどである。このことは本法がいかに有効にして重要であるかを物語るが、同時にその濫用が厳にいましめられなければならないことを意味している。電気泳動法の分析結果が疾患の診断に、また医学の研究に重大な資料を与えることを考えれば、本法の利用者は慎重にして厳格な態度で本法に立ち向かうことが必要である。

本法を過信してもまた過少評価してもいけない。どのようにすれば正しい電気泳動を行なうことができるか？ 本法の信頼限界はどの辺にあるか？ を常に考えつつ本法を駆使すれば他法では得られぬ貴重なデータが集積されるのである。

電気泳動法の利用者がいちじるしく増加しているにかかわらず、わが国においてもまた外国においても本法に関する総合的な実験書は一冊も出版されていないのが現状である。

電気泳動学会は、従来研究者相互の研究データの比較を容易ならしめるため、方法の改善とその標準化につとめてきたが、今回本書を発刊した意味はこれから電気泳動を行なおうとする人達が、本書を読めば直ちに正しい方法で実験に着手できることを念願したからである。したがって本書の執筆者は全て日常自分自らの手で実験を行なっている人達のみに限っており、記述はきわめて具体的である。

本書にはまた製作会社とその製品名を極力多く挙げてあるが、器械購入その他に便利なようにと願ったからに他ならない。

方法は日進月歩である。したがって本書に記載もれとなった方法もないではない。また方法は常に創意と工夫による改善が行なわれているので、絶対的標準的方法などありえようはгүйが、実験者の各自が自らの標準を定めるべきである。がしかし、本書は現今における大凡の standard を与えるものと考えている。

分担執筆であるため、用語、見出しなどで多少全体的な一貫性を欠く点がないわけではないが、これは編集者の責任である。

本書は優秀な新法または改良法などがあればそれを加えて改訂版を出してゆきたいと考えているので、読者諸氏におかれては本書を読んで気づかれた点をどしどし学会宛にお申し越しいただきたい。読者の全部と、学会員の全部がこぞって本書をより一層完璧なものにするための努力を払っていただきたいと思うのである。

あたかも電気泳動学会創立 15 周年を来年に控えて本書を出版する運びとなったが、電気泳動法使用者の研究が益々進展することを心から願って序に代えたい。

なお最後に本書の編集、校正にあたって熱心な協力をいただいた電気泳動学会編集委員多賀弘子氏、文光堂の石崎早多夫氏、またいろいろな資料を提供していただいたメーカー各社に厚く御礼申し上げるとともに、本書の刊行を快く引受けられた文光堂社長浅井忠晴氏ならびに同社の白尾董氏に謝意を表する。

本書の編集は主として東大平井秀松、慈恵医大阿部正和の両者がこれに当たった。編集責任の所在を明らかにしておく次第である。

昭和 38 年 7 月

電 気 泳 動 学 会

目 次

第3章 セルロースアセテート電気泳動法

小 川 恕 人

I. まえおき	45	III. その他の実験法	66
II. 血清蛋白分画定量法	46	A. ボンソー3 R以外による蛋白染色法	67
A. 標準操作法	46	1. ボンソーS	67
B. 装置・器具・試薬など	47	2. クマシーブリリアントブルーG-250	67
1. 定電流装置	47	3. ニグロシン	67
2. 泳動箱	47	B. 脂質(脂蛋白質)染色法	67
3. 容器	48	1. オゾン化シッフ法による血清リポ	
4. 試料塗布用定量ピペット	48	蛋白分画分析法	68
5. ピンセット	48	2. スダンブラック染色法	68
6. 駒込ピペット	49	3. オイルレッドO染色法	68
7. カッター	49	4. プレステイニング法(予染法)	68
8. デンシトメーター	49	C. 糖質(糖蛋白質)染色法	69
9. 分画別抽出定量のための器具	49	D. 乳酸脱水素酵素(LDH)活性染色法	69
10. 消耗品	49	E. アルカリフォスファターゼ活性	
C. 実験法	50	染色法	69
1. 準備	50	F. ヘモグロビンの分画法	70
2. 試料の塗布	53	G. 血清セルロプラスミンのオキシダーゼ	
3. 通電	54	活性染色法	70
4. 染色	55	H. ^{131}I 標識蛋白質の分析	70
5. 脱色	56	I. 無機イオンの分析	70
6. 定量法	58	J. その他	71
7. 分析成績の再現性	60	IV. 市販のセルロースアセテート膜の	
8. 正常ヒト血清ならびに血漿の		種類と性質	71
蛋白分画値	61	V. むすび	77
9. 標本の観察と保存	62		
10. 失敗とその対策	62		

第5章 高圧滲紙電気泳動法

赤井 貞彦

I. まえおき	103	3. イサチン反応	115
II. 装 置	104	4. Ehrlich 反応	115
A. 装置の種類	104	5. Pauly 反応	115
B. 液体冷却法	104	6. 坂口反応	116
C. 固体冷却法または冷却板法	107	7. 塩化白金反応	116
D. 液体冷却法と固体冷却法の比較, 装置の選定	109	F. アミノ酸の同定と相対移動度測定	116
E. 電 源	110	1. 同定法	116
III. 実験法	110	2. 相対移動度の測定法	116
A. 装置および試料の準備	110	3. 電極の種類によるアミノ酸移動順序 の変化	117
1. 泳動装置	110	G. 全アミノ酸の分離	118
2. 冷却溶媒	110	H. デンシトメトリーによるアミノ酸 定量法	119
3. 緩衝液	111	1. デンシトメーター	119
4. 滲 紙	111	2. アミノ酸の標準曲線	119
5. 試 料	111	3. 呈色比	119
B. 滲紙を貼るまで	112	IV. 応用例	121
C. 泳 動	112	A. 臨床面での応用	121
D. 乾 燥	114	B. その他の応用	125
E. 呈 色	114	V. 二次元法	125
1. ニンヒドリン反応	114	A. フィンガー・プリント法	125
2. 紫外線蛍光反応	115	B. ペプチド・マップ法	129

第6章 連続滲紙電気泳動および無担体連続電気泳動法

右田 俊介・平山 千里

I. まえおき	133	B. 電 極	136
II. 連続滲紙電気泳動装置	134	C. 緩衝液	137
A. 滲 紙	134	D. 試料の供給	138
		III. 実験法	138
		IV. 応用例	140
		V. 無担体連続電気泳動	143

第8章 ポリアクリルアミドゲル電気泳動法

萩田 善一・中村 正二郎

I. まえおき	167	1. アミドブラック10Bによる染色	187
II. ポリアクリルアミドゲルについて	167	2. 蛍光試薬による検出法	187
A. アクリルアミド	168	B. 酵素活性の染色法	187
B. アクリルアミドの重合反応	168	1. エステラーゼの染色法	188
1. 架橋剤	169	2. フォスファターゼの検出法	189
2. 重合法	169	3. ハプトグロビンの検出法	191
C. ポリアクリルアミドゲルの性状	171	4. セルロプラスミンの検出法	193
III. ポリアクリルアミドゲル薄層電気		5. アミラーゼの検出法	194
泳動法	173	6. カタラーゼの検出	195
A. まえおき	173	7. 乳酸脱水素酵素 (LDH) の検出法	195
B. 泳動条件の決定法	174	VI. DISC 電気泳動法	196
1. ゲル濃度	174	A. DISC 電気泳動法の原理と概要	196
2. 緩衝液と泳動条件	174	B. DISC 電気泳動法の操作法	198
3. ゲル薄層の厚さ	175	1. 装置	198
C. 電気泳動装置	175	2. 試薬	198
D. ゲル薄層調製用器具	177	3. 操作法	199
1. 枠の作り方	177	4. Davis の変法	202
2. 蓋の作り方	178	5. 酸性の緩衝液を使用する方法	202
E. 実験操作法	178	6. 簡便法	203
1. 器具類	178	7. 濃度勾配ゲル泳動法	204
2. 試薬	179	8. 微量 DISC 泳動法	204
3. ゲル調製試薬の処方	179	C. DISC 泳動用血清の取り扱い方,	
4. ゲル薄層の調製法	180	蛋白分画の濃度測定, その他	204
5. 蓋, 枠のとりはずし操作	182	1. 血清の採取, 保存	204
6. 試料の添加	182	2. 濃度測定	205
7. 電気泳動	182	3. 蛋白以外の物質の染色法	205
8. ゲル薄層の保存法	183	4. 直接観察用色素	205
IV. SDS-ゲル薄層電気泳動法	184	D. DISC 電気泳動法の応用例	206
A. 原理	184	1. 血清の DISC 泳動法による分析	206
B. 実験法	184	2. 脳脊髄液の DISC 泳動法による分析	206
1. 緩衝液	184	3. その他の体液	206
2. ゲル薄層調製液	185	4. 核酸の DISC 泳動法による分析	207
3. 単体-触媒混合溶液	185	5. 酵素	208
4. ゲル薄層の調製法	185	VII. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気	
5. 試料の調製	185	泳動法	208
6. 電気泳動条件	185	A. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳	
7. 分子量の推定法	186	動法の原理	208
V. 蛋白染色ならびに酵素活性の検出法	186	B. 実験操作法	208
A. 蛋白質の染色	187	C. 蛋白質の分子量の算出	210

1. 相対泳動速度 (易動度) の計算 210
2. 蛋白質の分子量の算出 216

第9章 殿粉ゲル電気泳動法

菅 野 浩

I. まえおき 219 II. 加水分解殿粉および装置 219 A. 加水分解殿粉の調製法 219 B. ゲルの作製 220 C. 泳動装置 221 1. 電 源 221 2. 垂直式泳動装置 221 3. 水平式泳動装置 222 D. 緩衝液 225 III. 実験法 226 A. 通電まで 226 1. 泳動ゲルの作製 226 2. 試料の載せ方 226 3. 装置の組み立て 227 4. 通 電 227 B. 通電を終わってから 228 1. ゲルを2枚あるいは3枚の薄片に切る 228 2. 染色法 229	3. 発色法 230 4. 酵素活性の検出 230 5. 放射能の検出 230 6. 染色ゲルの写真撮影 231 C. 定量法 231 1. 抽出法 231 2. デンシトメトリー 231 D. 血清蛋白の泳動図 233 E. 分子の大きさと移動速度 236 F. 殿粉ゲル免疫電気泳動法 236 G. 二次元電気泳動法 238 IV. 応用例 241 A. 血清蛋白質 241 B. ヘモグロビン 241 C. γ-グロブリン 241 D. 遺伝型の研究 244 E. その他の蛋白質 244 V. 終わりに 245
---	---

第10章 等 電 点 分 離 法

宮 崎 香・室 屋 紀 之・堀 尾 武 一

I. はじめに 247 A. 等電点分離の原理と特徴 247 B. 両性担体と pH 勾配 249 1. 日本人による等電点分離法の考案と応用 249 2. それ以後の等電点分離法の歴史 250 3. 合成両性担体の性質 251 C. 分離能 252 D. 等電点と等イオン点 253 II. 装 置 254 A. 等電点分離用カラム 254 B. 電力供給装置 255	C. 冷却水循環装置 255 D. pH メーター 255 E. その他の装置 256 1. 密度勾配作製装置 256 2. 定緩速一送水用ポンプ 256 3. フラクションコレクター 256 III. 実験方法 256 A. 両性担体の選択と使用濃度 256 B. 密度勾配 258 C. 電極の選択と電極溶液 258 D. 試料溶液 259 1. 純度と塩の存在 259
--	---

2. 量	259	VI. ゲル等電点分離法	271
E. 電力と通電時間	260	A. 特徴	271
F. 操作法	261	B. 概要	271
1. 充填液の調製	261	1. 装置	271
2. カラムへの充填	262	2. ポリアクリルアミドゲル	272
3. 通電	263	3. その他の実験条件	272
4. 分画	263	C. pH 勾配の安定性	274
5. 両性担体の除去	264	D. 操作法	274
IV. 応用例—ラットのビルビン酸キナーゼ		1. 装置と試薬	274
の等電点アイソザイムについて	265	2. 重合, 試料の添加, 通電	275
V. 特別な問題点	268	3. 分離料の検出と pH の測定	276
A. 難溶性試料と等電点沈殿	268	VII. 新しい等電点分離法と今後の展望	277
B. 酵素の失活と蛋白質の電気分解	269	A. 多室等電点分離用装置	277
C. 通電温度	269	B. 今後の展望	278

第11章 免疫拡散法と電気泳動法を組み合わせた実験法

松橋 直・臼井美津子

I. まえおき	283	1. 記号を書き入れ, 膜を適當の大きさに切る	298
II. 免疫電気泳動法	285	2. 膜の緩衝液化	299
A. 概説	285	3. 泳動	300
B. 装置	287	4. 抗血清の染色	300
1. 電源	287	5. 反応	300
2. 泳動槽	287	6. 染色	301
3. 水平台	290	7. 透明化	301
4. スライドおよびガラス板	290	F. ヒト血清の免疫電気泳動分析	303
5. 反応用および染色用器具	290	1. まえおき	303
6. 観察箱	291	2. 免疫電気泳動法用抗血清の作り方	303
C. 試薬および材料	291	3. 抗原および抗体の検定	304
1. 緩衝液	291	4. 免疫電気泳動法で検出できるヒト血清成分	308
2. 精製寒天またはアガロース	292	5. 血清蛋白異常の検出	312
3. セルロースアセテート膜	292	G. 終わりに	314
4. 試料, 標準の抗原および抗血清類	292	III. 免疫電気向流法	314
D. 寒天免疫電気泳動法	292	A. 概説	314
1. 反応板の作り方	292	B. 装置, 試薬など	316
2. 泳動	294	C. 実施法	316
3. 反応	295	D. 蛍光免疫電気向流法	316
4. 観察	296	IV. 免疫電気拡散法	317
5. 写真の撮り方	296	A. 概説	317
6. 染色	296	B. 実験法	317
E. セルロースアセテート免疫電気泳動実験法	298		

6 目 次

1. 予備実験	317	D. 実施上の注意	321
2. 実施法	318	VI. 直線状免疫電気泳動法	321
V. 交叉免疫電気泳動法	319	A. 概 説	321
A. 概 説	319	B. 装置, 試薬など	322
B. 装置, 試薬など	319	C. 実施法	322
C. 実施法	320		

第12章 交 叉 泳 動 法

中 村 正二郎

I. 交叉泳動法の原理	327	3. 対照の使用	331
II. 一次元交叉河紙泳動法	328	III. 二次元交叉河紙泳動法	332
A. 一次元交叉河紙泳動法の操作法	328	A. 二次元交叉泳動の予定線の設計	332
1. 交叉泳動予定線の設計	328	B. 二次元交叉泳動法の装置と使用法	333
2. 試料の塗布	328	1. 平型装置	333
B. 局所的な電場のゆがみおよび粘性 の増大による泳動線の変化	329	2. 平型装置の使用法	333
1. 泳動速度に影響する諸因子	329	C. 交叉図形	334
2. 泳動線の人為的变化	329	IV. 交叉泳動法による定量	335
C. 試料溶液作製に関する注意および 対照の使用	331	A. 交叉図形の理論	335
1. 試料溶液の作製に関する注意	331	B. 交叉図形の囲む面積および追い越 し法による定量	336
2. 試料の塗布, 鉛筆の描線に関する注意	331	V. 応用例	337

第13章 デ ン シ ト メ ト リ ー

島 尾 和 男

I. まえおき	345	A. 正しいデンスitomーター	351
II. デンシトメトリーの原理	345	B. スリットの照明の一樣さの検定	352
III. デンシトメーター	347	C. O. D. 日盛の検定	352
A. 構 成	347	D. 電気泳動図の測定のための総合的 な性能の検定	355
B. 光学系	348	E. O. D. の積分の検定	357
C. 泳動図送り装置	349	VI. 膜状の支持体における濃度と O. D. の関係	357
D. 受光増幅部	349	A. Beer の法則が成り立つための条件	357
E. 記録部	349	B. Beer の法則が成り立つかどうか を確かめる方法	359
F. その他の機構	350	VII. デンシトメトリーに適した泳動図	360
IV. デンシトメトリーを正しく行なう 方法	351		
V. デンシトメーターの検定法	351		

VII. デンシトメトリーの諸条件	362	C. 泳動図および記録紙の送りの速度 と面積の記録	364
A. 波 長	362	IX. むすび	365
B. スリットの幅と長さ	363		

第15章 プレパラティブ電気泳動法

粉末支持体を用いる電気泳動法	413
--------------------------	-----

中 村 弘

I. まえおき	413	B. 泳動装置	416
II. 支持体の種類と性質	413	1. 水平型	417
III. 泳動装置	415	2. 垂直型	425
A. 電源装置	415	IV. 分離例	430

プレパラティブ・ポリアクリルアミドゲル電気泳動法	442
------------------------------------	-----

和 田 博・中 村 裕 行・高 尾 弘

I. はじめに	442	II. 和田らの装置	448
II. プレパラティブ電気泳動法の問題点	442	1. 泳動槽	449
A. 分離試料の量とパターン	442	2. 電源ならびにプログラマー	450
B. 収量と変性	443	3. 緩衝液槽と冷却装置	451
C. 泳動時間と緩衝液	444	4. 各種ポンプ、バルブ	451
D. 試料とり出しの工夫	445	IV. 実際上の取り扱いについて	451
III. 各種プレパラティブ用電気泳動装置 について	446	A. ゲルの作	452
A. 概 説	446	B. セット・アップ	453
B. 最も簡単な装置	446	C. 予備通電	453
C. Hochstrasser らの装置	446	D. 試料の添加	453
D. Duesberg の装置	447	E. プログラミングと泳動の開始	454
E. Goldon の装置	447	F. 試料の分取	454
F. Schenbein らの装置	447	V. 二、三の実験例	454
G. Brownstone の 装置	448	A. 血清蛋白の分離	454
		B. 酵素精製への適用例	455
		C. 不溶性ペプチドの精製	456

プレパラティブ寒天電気泳動	459
---------------	-----

右田 俊介

I. 支持体としての寒天	459	1. 支持体寒天板	462
II. 3 ml 以下の試料の分離	460	2. 試料の添加	462
A. 装置 (分析用とプレパラティブの兼用装置)	460	3. 電気泳動	463
1. 冷却電気泳動槽	460	4. 各分画の切り出し	463
2. ガラス板, 水平板	461	5. 分画の抽出	464
3. 炊飯用電気釜	461	C. 分離の実例	464
4. 寒天	461	III. 5~20 ml の試料の分離	465
5. 緩衝液	462	A. 基本方針	465
6. 寒天ゲル切断用物指およびカッター	462	B. 装置	465
B. 操作法	462	C. 操作	466
		D. 分離の実例	467

第16章 細胞電気泳動法

山 田 喬

I. 細胞電気泳動法	469	B. 機械の機能	478
A. 静止面	470	C. 操作上の注意	480
B. 測定機械の種類と選択	470	1. メジウムの調製	480
C. 操作上の問題点と電気泳動度の計算	472	2. 泳動メジウムの流出速度	481
D. 細菌, 哺乳動物細胞 (細胞構成成分を含む) の電気泳動値	473	3. 泳動メジウムの洗浄	482
II. 細胞電気泳動法による細胞 (粒子) の分離法	477	4. 電極チャンバーメジウム	482
A. 細胞分離の原理	477	5. 試料の注入	482
		6. 細胞分離条件	482
		III. 終わりに	484

〔付録1〕 電気泳動法による血清蛋白分画定量法の標準操作法 486

〔付録2〕 緩衝液 489

索引 495

第 3 章

セルロースアセテート 電 気 泳 動 法

小 川 恕 人

I. ま え お き

セルロースアセテート電気泳動法とは、緩衝液の支持体としてセルロースアセテート膜を用いた電気泳動法のことであり、汙紙電気泳動法の改良法として発表された。この泳動法の特色は、全くセルロースアセテート膜自体の特殊性による。

本章では、セルロースアセテート膜の特徴をどのように活用するかを血清蛋白の分析を中心に述べる。

セルロースアセテートとはセルロースの水酸基をアセチル化したものである。電気泳動用膜の主成分はセルロースジアセテートで、アセトンやメチレンクロライドのような有機溶媒を利用して、均一な薄い膜としたもので汙紙に比べて次のようなすぐれた数々の性質を具えている。

検体や色素の吸着が少ない。試料の吸着がわずかなので、試料の損失が少なく、微量の検体でも分析できる。泳動のとき尾を引く現象（テーリング）が軽微なので、分離は明瞭で定量に有利である。血清ではアルブミン分画と α_1 -グロブリン分画とは明らかに分離され、A/G値を出し易い。分離能がよいから、短い泳動距離でも分析の目的が果たせ、泳動時間は短縮され、標本は小さい。それゆえ泳動箱は小型化でき、多数の検体を同時に処理できる（図3-1）。

膜が薄いので脱色処理が簡単で標本を迅速に仕上げられる。膜を構成するセルロースジアセテートの屈折率は1.47~1.48なので、屈折率がこれとほぼ等しいデカリン、流動パラフィン、グリセリンなどをしみこませると全体の屈折率が一樣になり透明化されるのは最も大きな特徴である（58頁）。

これらの諸性質は臨床検査に利用してきわめて都合のよいことはいうまでもない¹⁾。専用の泳動装置の開発²⁾、普及に伴いセルロースアセテート膜が臨床検査に利用され、実績が積み重ねられるにつれて、ミエローマ（IgG型）にみられる特有な泳動像（図3-2）が診断の有力な手がかりとなる²⁾ことや、二峰性アルブミン（図3-3）の発見³⁻⁶⁾に役立つことが判明するなど、今日では臨床検査に欠かせぬ分析法の一つとなっている。

セルロースアセテート膜の短所は、膜が薄いため用いる試料の量が限られること（これはその長所と裏がえしである）、および脂溶性色素に対する親和性が強いので脂染色が困難なことである

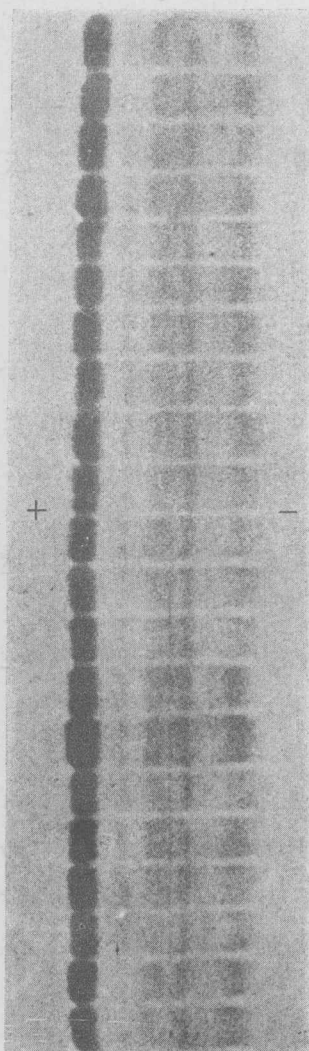


図 3-1 多検体の同時分析例

セルロースアセテート膜（セパラックス）の大きさ：6×21 cm. 血清塗布量：0.6 μ l を 0.8 cm の長さに帯状に塗布。塗布間隔：0.2 cm. 泳動条件：0.8 mA/cm, 33 分（室温 28°C）。その他は図 3-31 と同じ条件。膜の両側に幅 1 cm の補助膜を使用。

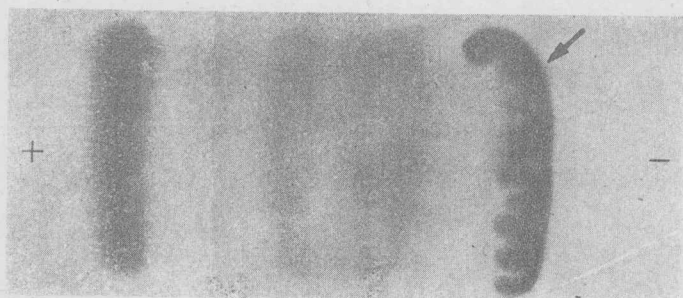


図 3-2 ミエローマ（IgG 型）の泳動像
 γ -グロブリン分画が特有な波形帯を示す（矢印）。この所見は IgG 型のミエローマ（骨髄腫）の血清に見られる。

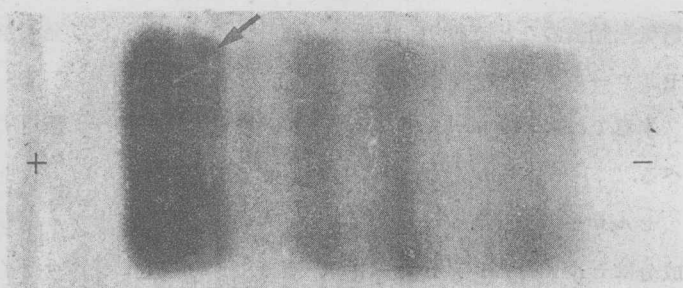


図 3-3 アロアルブミネミア（NS 型）の泳動像
正常のアルブミン分画の陰極寄りにアロアルブミン（矢印）が認められる（65 頁参照）。

が後述するようにこれらを補う実験法が工夫されてきている。

II. 血清蛋白分画定量法

A. 標準操作法

電気泳動学会ではセルロースアセテート電気泳動法の普及にかんがみ、1965 年セルロースアセテート電気泳動法による血清蛋白分画定量法の標準操作法を公表した（488 頁）⁸⁾。その意図するところは、全国の研究者が各自の成績を持ち寄って比較検討する場合、分析条件の違いによる混乱をさけることにあり、かつて同学会がチセリウス電気泳動法やワ紙電気泳動法について標準操作法を制定したのと全く同じ趣旨による。

標準操作法では、これを利用する人々の便宜を考え、現在市販されている各種の膜の特性を充分