

チ セ リ ウ ス 装 置

黒 羽 逸 平*

Tiselius Apparatus

By Ippei Kuroha

Taga Works, Hitachi, Ltd.

Abstract

A number of chemists and physicians have participated in the effort of developing the Tiselius electrophoresis apparatus into the present marvellous stage of completion since its original model was given out by A. Tiselius in 1937. The top reason that had stimulated their endeavour for its development was high adaptability of the instrument to the study of body proteins which is a nuclear problem in the medical as well as the biochemical field.

Now, the instrument is widely used not only in medical research but also in routine analysis in clinical studies, the portable type of simple but highly efficient construction being developed.

Further, the adoption of Schlieren analytical method has remarkably added to the accuracy of analysis thereby making this instrument a most powerful means for the pursue of behaviour of plasma or serum proteins which is essential to know about the anagenesis and immunization of those proteins.

〔I〕 緒 言

最近十数年に於ける医学及び生物化学の研究の急速な進歩は物理的乃至物理化学的研究方法の採用に負うところが極めて多い。チセリウス装置はその代表的な一例であつて、本装置の考案者 A. Tiselius が 1948 年度のノーベル賞によつて報いられたことはその重要性を物語るものといえよう。チセリウス装置は既に古くから知られていた電気泳動法を実用に適するように改良したものであるが、その実用性を数段増加した理由はこれにシュリーレン法という光学的観測法を応用したことにある。本装置は現在では純研究手段としてのみならず、特に医学方面では臨床用にも利用されるまでに器械が改良され、生物化学的解明に貢献している。以下チセリウス装置の概要をのべ、応用の一端を紹介する。

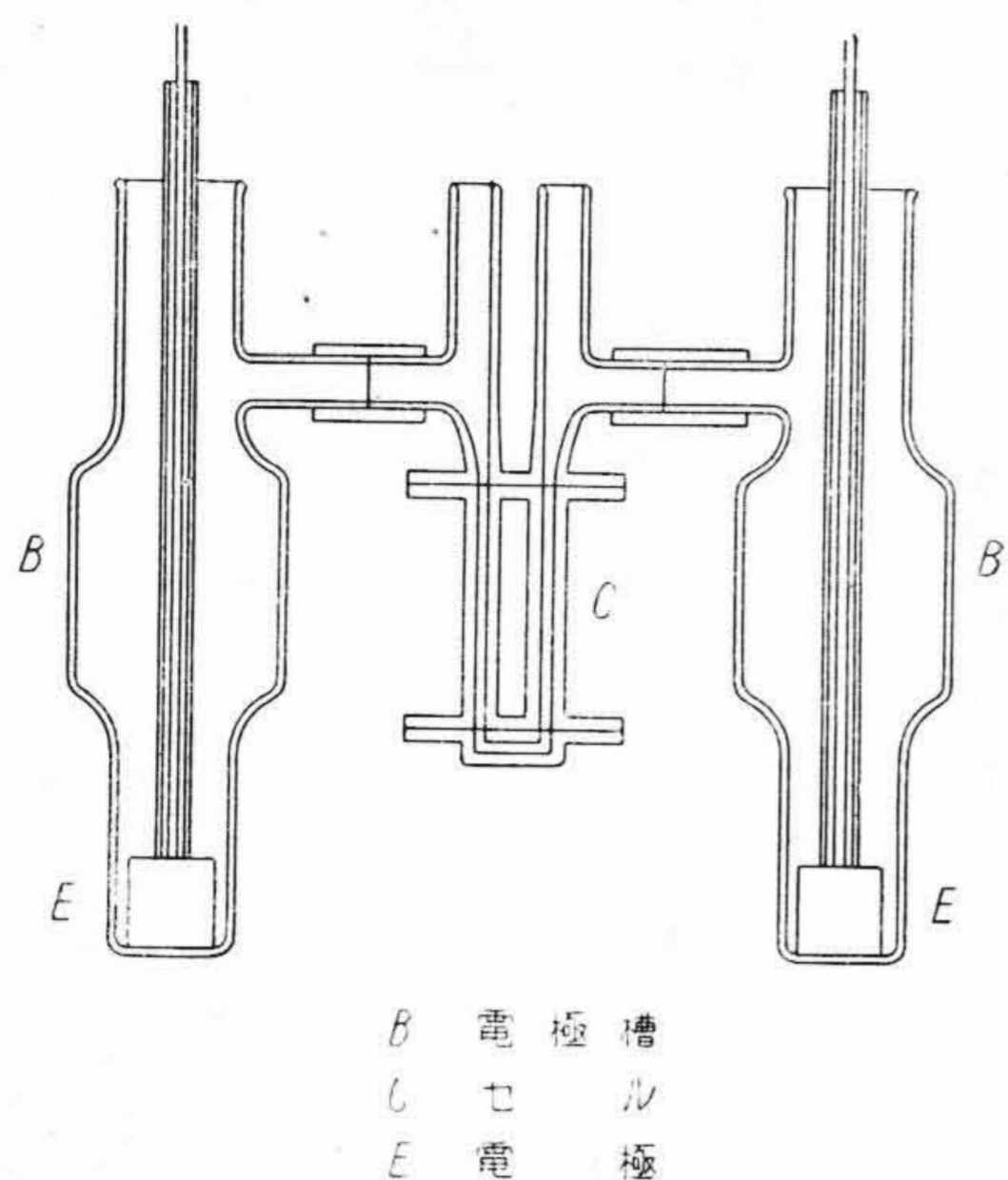
* 日立製作所多賀工場

〔II〕 電 気 泳 動 法

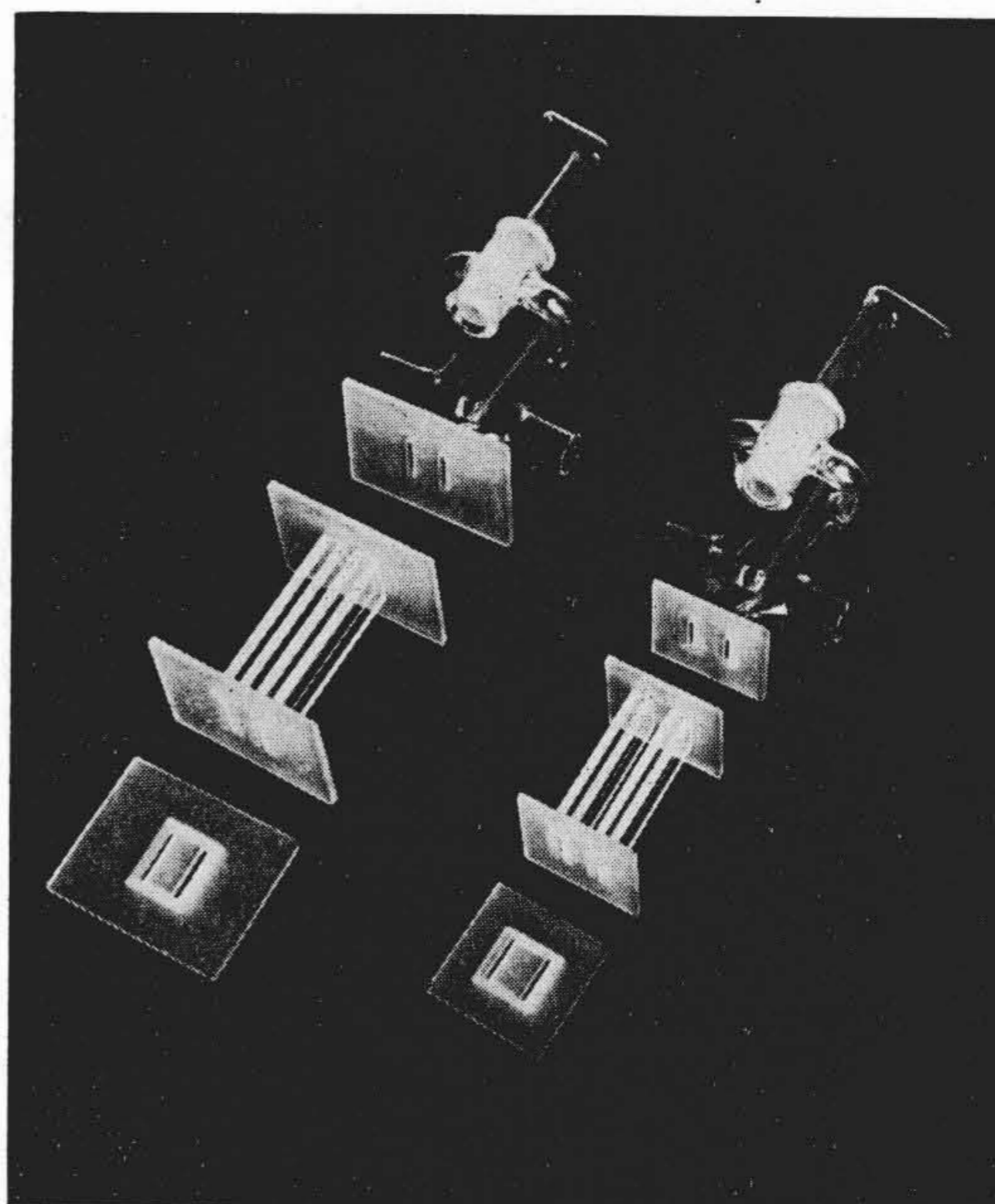
溶媒中に溶解した溶質に電流を通ずると、溶質粒子はその荷電量と形状によつて定まる溶質特有の速度をもつて電極に向つて移動する。従つてある時間の後にはその移動速度の差によつて分離される。単位電界における移動速度をその溶質の易動度と称し、易動度の差により分離する方法を電気泳動法とゆう。電気泳動法の対象としては高分子の溶質即ちコロイドが多く撰ばれる。

電気泳動装置は第 1 図(次頁参照)に示すように試料を入れるセルと電極槽とよりなる。セルは三分節乃至四分節よりなり、各節の接合面はワセリンを塗つて液の漏らぬ状態で互に摺り動くことができるようになつている。

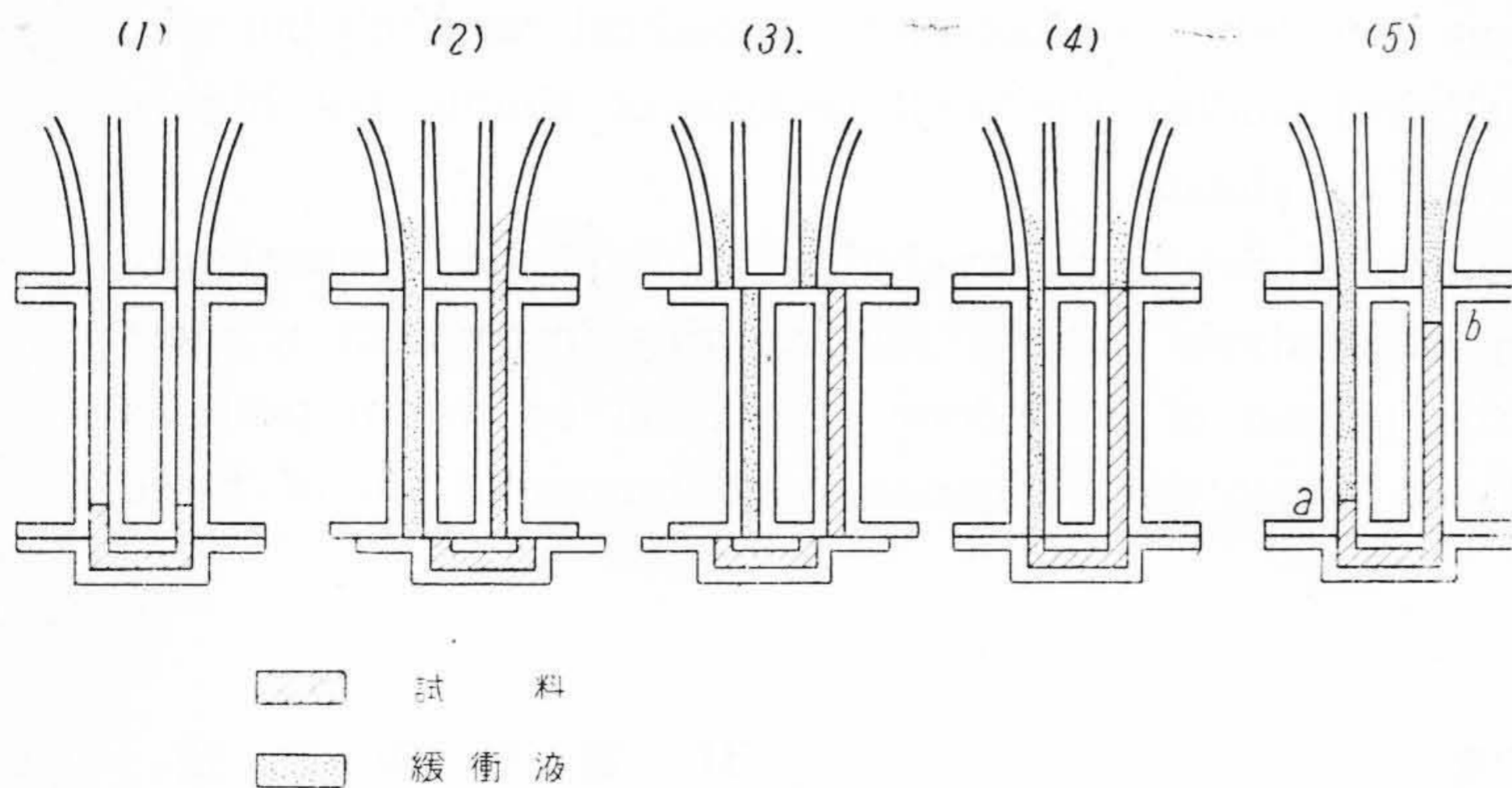
セルはジュール熱の放散に便利なように扁平な矩形断面をもち、その断面積は一様で、且つ光の通る方向のガラス板はシュリーレンのない平行平板を用いてある。



第1図 電気泳動セル部
Fig. 1. Electrophoresis Cell Assembly



第2図 電気泳動セル (2cc 及び 1cc)
Fig. 2. Electrophoresis Cells (2cc and 1cc)

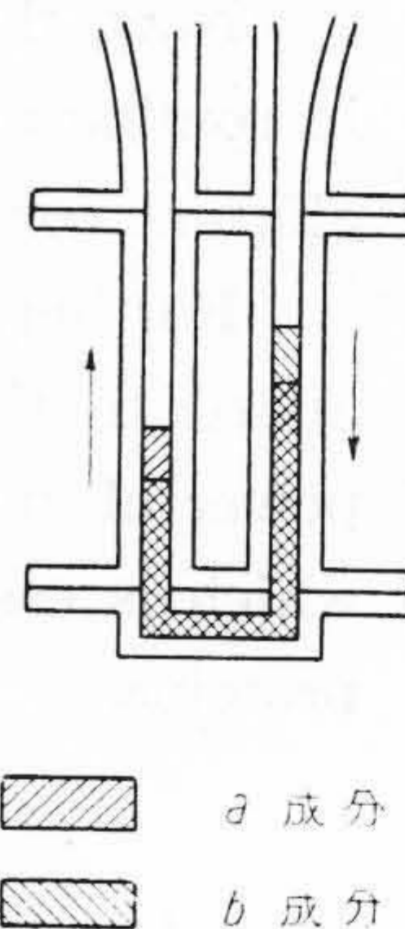


第3図 試料填入順序
Fig. 3. Process of Filling Specimen

セルはこのような要求を満すために数箇のガラス片を綿密な操作によつて接着して構成されたものである。第2図はこのようにして作られたセルの一例である。

溶媒としては分離を容易ならしめるために磷酸、醋酸等の緩衝液が用いられ、セルの両端に接続した電極槽内に満されている。電極は水素や水酸イオンの発生を防ぐため銀—塩化銀を用いて試料からなるべく遠ざけて置く。対流によりセル内が乱れぬように泳動装置全体は恒温槽中に浸し、温度は密度変化の最も少い 4°C 附近に保つことが最も有効である。

実験を行うには第3図に示すような順序によつて a,



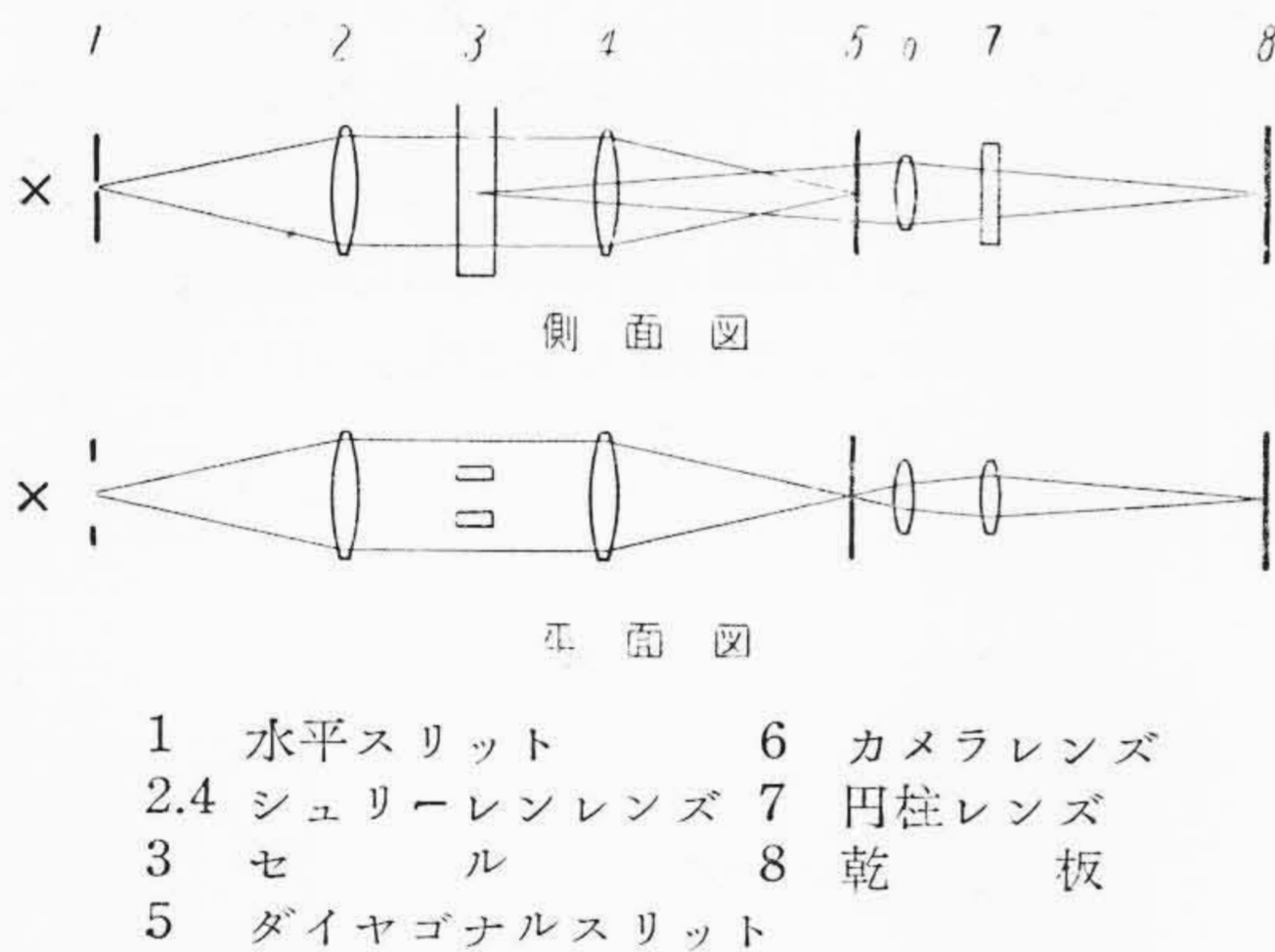
第4図 電気泳動による界面の生成
Fig. 4. Boundaries Formed by Electrophoresis

b 二箇所に試料と緩衝液の明瞭な境界面をつくる。図は三分節セルの例を示したもので、(1) 試料を下段分節より僅か上まで注入し、(2) 下段分節をずらして、摺動面より上に残つた試料を洗い去り、中段及び上段分節の左脚及び右脚にそれぞれ緩衝液及び試料を注入する。(3) 中段分節をずらして、上段分節に残つた試料を洗い去り、緩衝液を注入する。(4) 中段分節をずらして戻し、三分節を連通すれば下段分節と中段分節及び中段分節と上段分節との間に試料と緩衝液との境界面ができる。この境界面を外部から観察できるように、緩衝液を一方の脚に

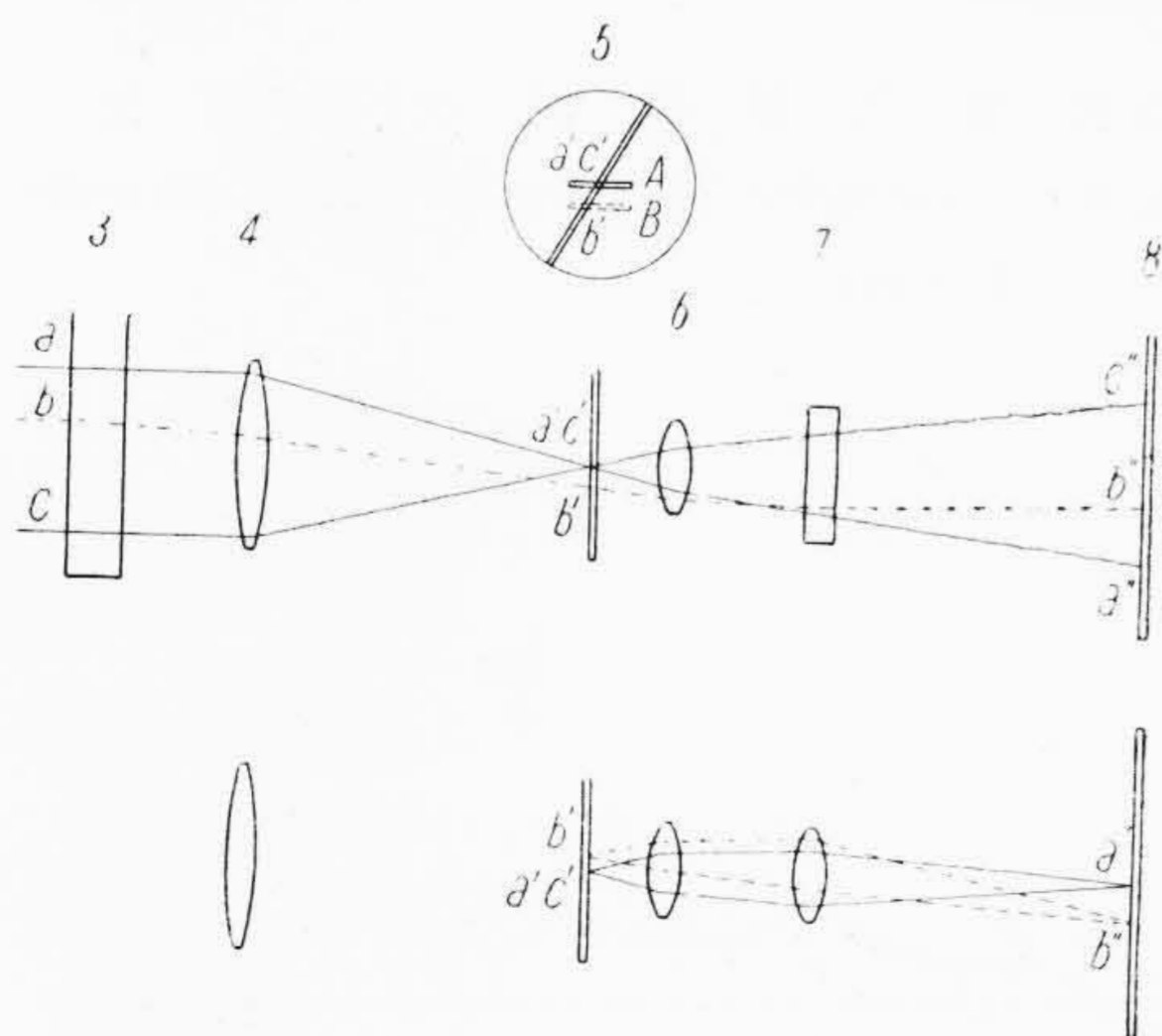
追加するか吸取つて(5)の位置まで移動する。これに電流を通ずれば易動度の差によつてある時間の後には各成分は第4図に示したような位置に移動する。図は a, b 二成分の混合液を例にとつたもので a 成分が b 成分より易動度が大である場合を示すものである。この場合には上昇脚及び下降脚に新しい二つの境界面が生ずる。この境界面の位置の濃度変化を観測するためにシュリーレン法という光学的方法が採用される。一般に生物体液のような濃度の小さい溶液では濃度と屈折率とは直線的な関係にあり、且つ各成分についてこの比例定数は等しいため、セル内の各位置の屈折率を求めればその濃度を知ることができる。

〔III〕 シュリーレン法

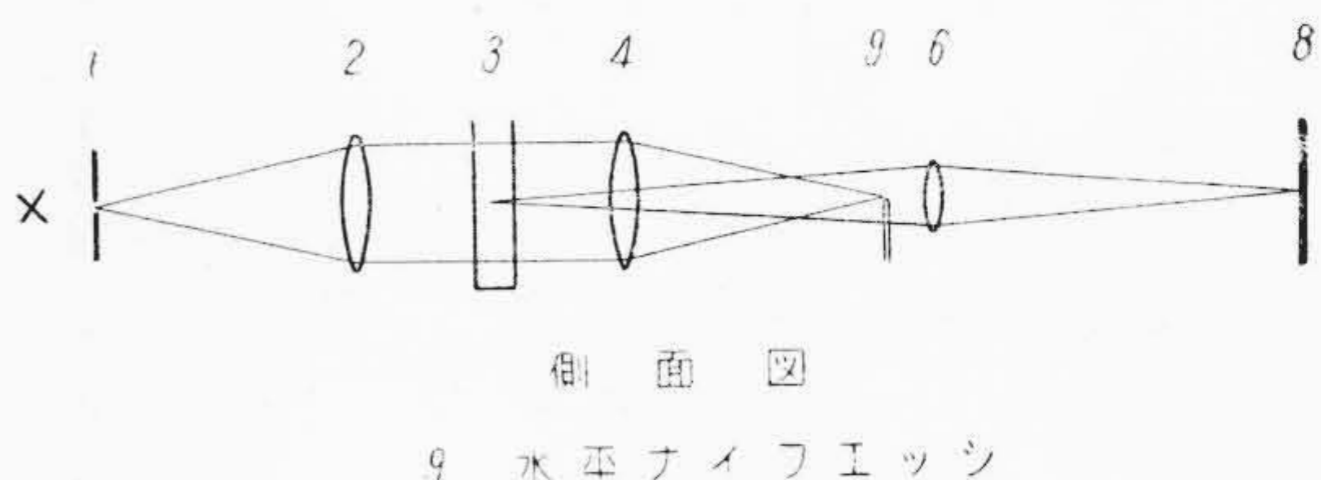
物質の屈折率の分布状況を観測する方法としてシュリー



第5図 シュリーレンダイアゴナル法の光学系
Fig. 5. Optical System of Schlieren Diagonal Method



第6図 ダイアゴナル法における屈折率勾配曲線の説明図
Fig. 6. Illustrative Diagram of Diagonal Method for Recording Dradients of Refractive Index

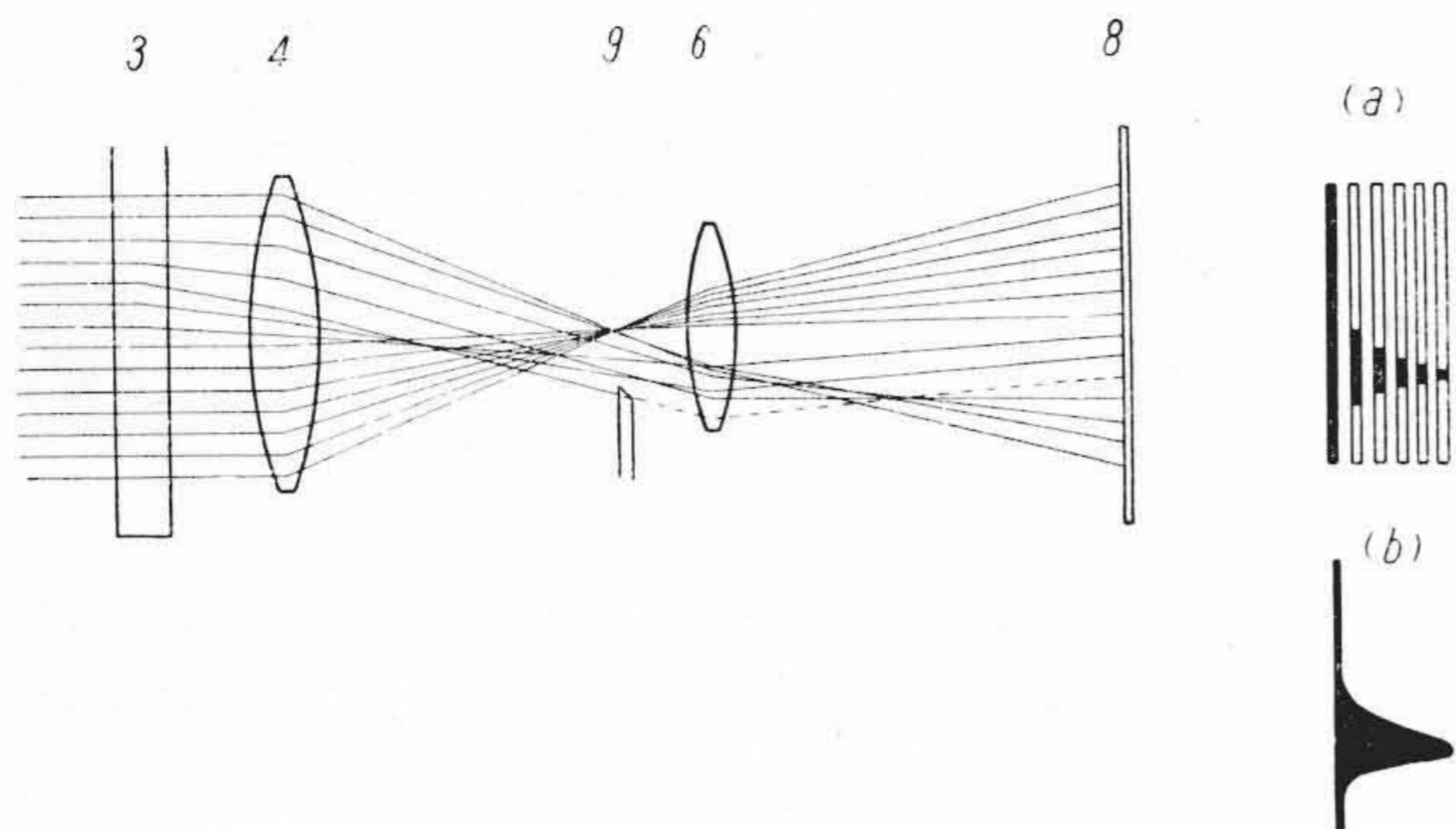


第7図 シュリーレンスキャンニング法の光学系
Fig. 7. Optical System of Schlieren Scanning Method

レン法が知られているが、各位置の屈折率を定量的に指示するためにシュリーレンダイアゴナル法、シュリーレンスキャンニング法が考案された。シュリーレン法は屈折率勾配の存在によつて光が屈折される現象を利用して、光の屈折する状況から屈折率勾配を測定するものである。上記の二つの方法は屈折率勾配を線図として写真に撮影できるようにしたもので、第5図及び第7図にその光学系統を示した。

第5図に於て光源から出た光は水平スリット1を通つて、第1のシュリーレンレンズ2によつて完全な平行光線になる。3は測定しようとする試料の入つたセルで、セルはシュリーレンレンズによつてつくられる平行光線の中におかれる。試料に屈折率勾配がないときは第2のシュリーレンレンズ4によつて一点に集められるが、屈折率勾配があるときはその部分で平行光線が乱され、一点に収斂せずに偏位する。5は水平に対して傾斜しておかれたスリットで、このスリットを通過した光は6,7によつて再び乾板8上に集められる。7は円柱レンズで円壘面の側面をもち、水平面上ではレンズの作用をするが、垂直面上では単なる平板と考えられる。しかして平

面図ではレンズ6と合成して、ダイアゴナルスリットの像を乾板上に結ぶように配列され、又側面図ではレンズ4,6が合成してセル3の像を乾板上に結ぶように配列されている。次に第6図によつて屈折率勾配曲線の生成される原理を説明する。水平スリットは水平方向にはある長さをもつているので、ダイアゴナルスリット上に集められた光は同じようにある長さをもつて直線像Aとなる。今仮りに試料のb点に濃度勾配があるとすれば、その部分を通る光は偏位してBのような像をつくる。従つてこの光のうち、スリットとの交点b'のように左方に偏つた点の光のみが通過し、図の点線で示したように乾板上では中心より右方b''に結像する。次に側面図について見ると、4,6はセルの像を乾板上に結ぶように配列されているため、セルを通過した光は如何なる方向に進んでも



第8図 スキャンニング法における屈折率勾配曲線の説明図
Fig. 8. Illustrative Diagram of Scanning Method for Recording of Gradients Refractive Index

はすべて同じ位置に結ぶので、屈折率勾配の有無にかかわらず b 点は常に b' に結像する。従つてセルの各位置を通つた光は乾板上においては濃度勾配に応じて水平方向に偏位し、垂直方向には濃度勾配に関係なくセル中の垂直位置を示す。試料の濃度勾配が連続的であれば、これ等の点は連続して第6図右肩に示すような峯形の線図を画き、その水平方向の高さは試料の各位置における屈折率勾配に比例する。

次に第7図に示すスキャンニング法はダイヤゴナル法における円柱レンズを省き、ダイヤゴナルスリットの代りに上下に移動するナイフエッジを置いて、ナイフエッジと乾板を連動して移動することによつて、同様の曲線をつくることができる。円柱レンズがないために乾板上にはセルの像がそのまま結ぶ筈であるが、ナイフエッジがあり光を遮るため、セルの像はすぐさま乾板上に結ばずに、ナイフエッジが移動して、セルの各位置からの光を次々に通過するにつれて、各位置の像が現われる。その有様を第8図に示している。同図(a)の右端の像ではナイフエッジが点線で示す光を遮ぎり、その部分に光の欠損を生じている。更にナイフエッジが上の位置に移動するとこの欠損は拡大して、遂にナイフエッジがすべての光を遮つて、同図(a)の左端の像になる。乾板をナイフエッジに連動して水平方向に移動しながら露出すれば、同図(b)のような単一の像が得られる。ナイフエッジと乾板の運動速比が各瞬間について一定であれば、この像の水平方向の高さは屈折率勾配に比例することはダイヤゴナル法と同様である。

スキャンニング法は円柱レンズを省略するため、それによる収差を免れることができるが、泳動像をピントガラス上に直視できない欠点がある。

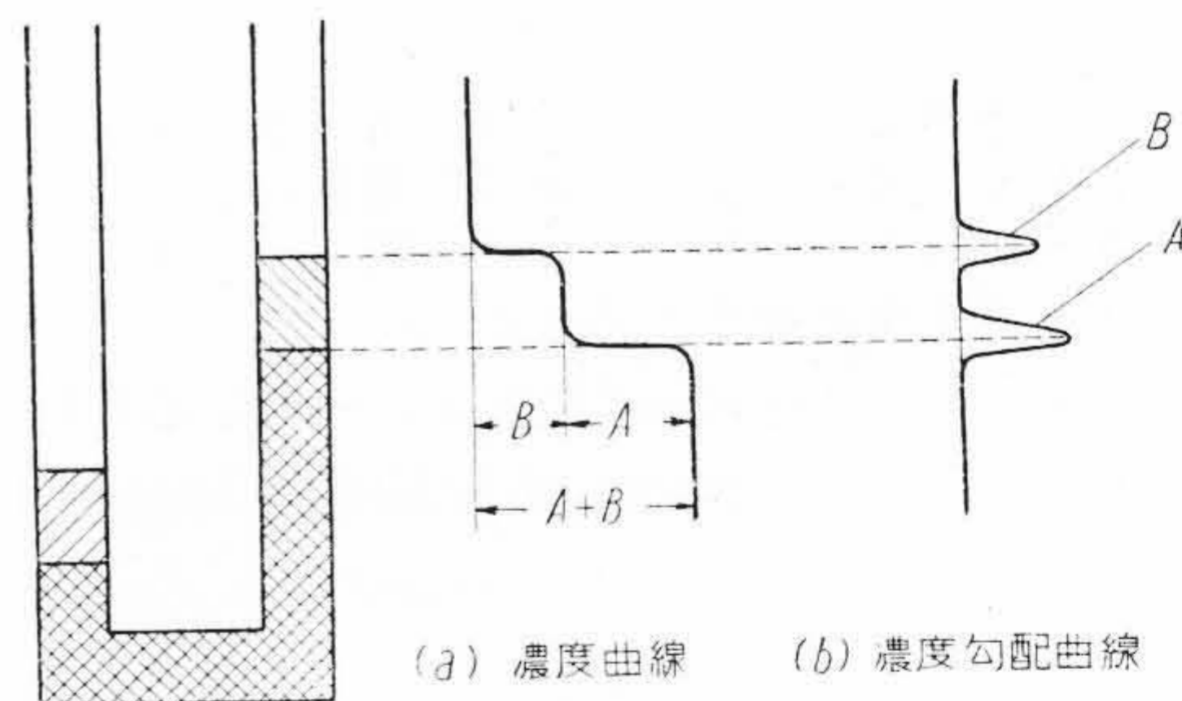
〔IV〕 泳動像の解析

上記のようにして得られた屈折率勾配曲線はある定数

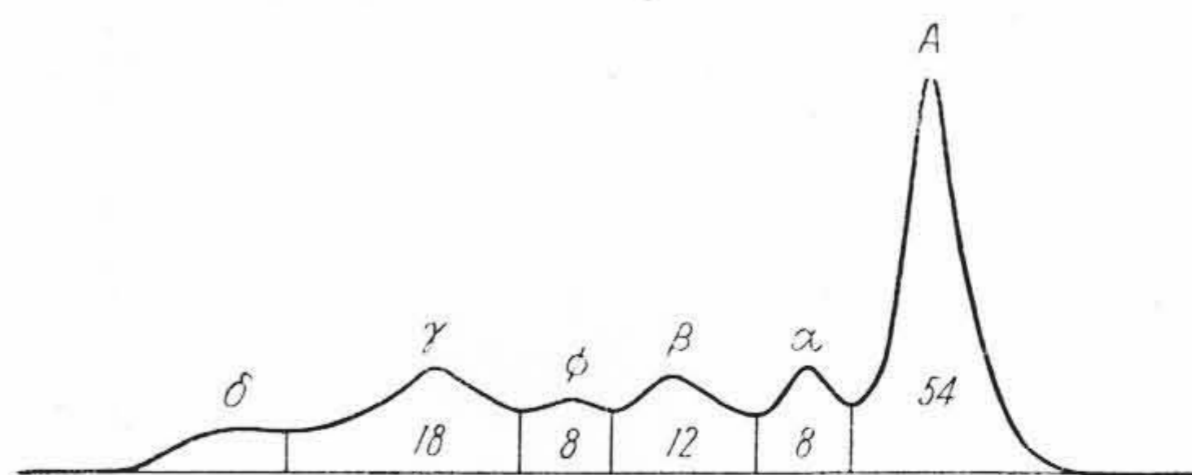
を乗ずれば濃度勾配曲線と考えることができるが、好都合なことにこの曲線に囲まれた面積がそれぞれの成分の濃度を示している。即ち第9図のように分離された試料があるとするれば、その濃度勾配は同図(a)のようになる。シュリーレン法によつて得られる線図(b)は濃度勾配即ち(a)の微分値を示す故、(b)における面積 A は(a)における濃度 A を、面積 B は濃度 B を示すことは明らかである。数成分の混合にも全く同様のことがいえる。

一般には各組成々分の濃度の絶対値を知る必要は少く、各組成々分の濃度比が必要な場合が多い。従つて全体の面積と各組成々分に相当する面積を求めて、その比を求めればよく、定数は一切無視できる。

然し実際の場合にはこのように各峯が明瞭に分離することは稀で、多くは第10図のようになることが多い。このような場合には各成分の面積は正確に求めることはできないが、図に示すように屈折率勾配最小の点から分割してその面積を用いれば、実用上誤差は無視できることが確かめられ、統一した方法として採用されている。



第9図 電気泳動図の説明図
Fig. 9. Illustrative Diagram of Electrophoresis Pattern

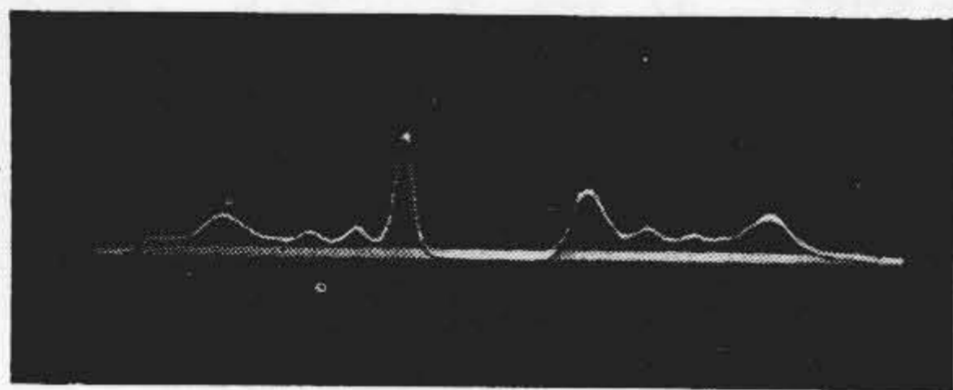


第10図 正常人血漿電気泳動図の解析
Fig. 10. Analysis of Pattern of Normal Human Blood Serum

〔V〕 チセリウス装置の応用

チセリウス装置は本来生物体液の解明のために作られたものであるが、その本質上一般物理化学的実験に利用しうる筈であり、現に合成樹脂、合成繊維等の研究にも用いられ始めている。

然し現在最も多く用いられているのはやはり生体蛋白質特に血漿蛋白質又は血清蛋白質の研究であつて、電気泳動による分離によつて新しい蛋白質が分離され命名されている。pH 8.0, イオン強度 0.10 の磷酸緩衝液を用いると、哺乳類の血漿蛋白質はアルブミン、及び α , β , γ の三種のグロブリン及びフィブリノーゲンよりなり、これ等のグロブリンは更に α_1 , α_2 , β_1 , β_2 に分れることがある。正常人血漿では第11図に見られるような電気泳動像を示し、その組成は第10図の通りである。



第11図 人血漿電気泳動図
Fig. 11. Electrophoresis Patterns of Human Blood Serum

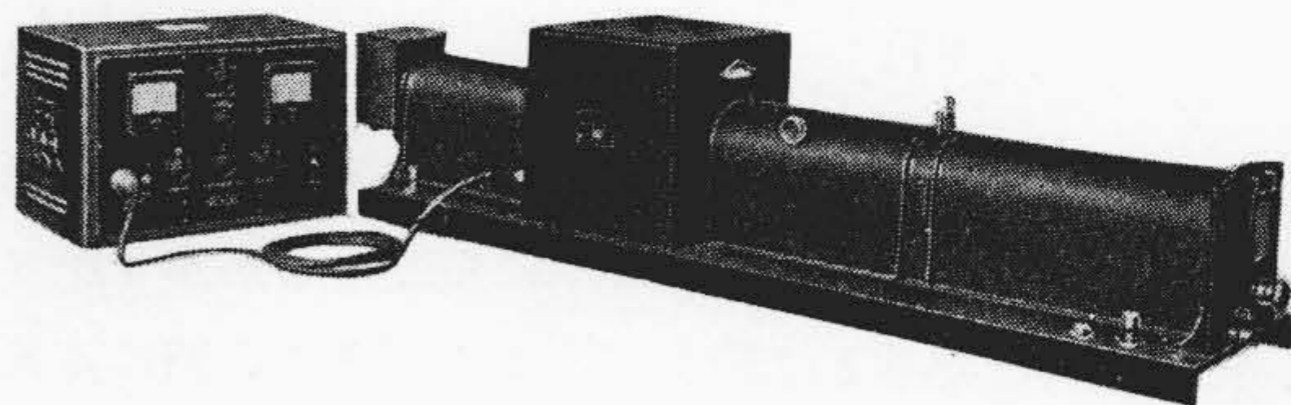
電気泳動を応用すれば、動物に種々の操作を加えたときの血漿蛋白質成分の変動が明かとなり、その結果から各成分の作用、生成場所、代謝の速度についての知見が得られる。免疫の実験においては、毒素で免疫した血清又は細菌性疾病における血清の電気泳動像において γ グロブリンが異常に増加することが認められることから、抗体は γ グロブリン中に含まれていると信ぜられるようになった。

肝臓の疾患では肝臓におけるアルブミンの生成が阻害され、またネフローゼでは腎臓の障害から、尿中に多量のアルブミンが排泄されるが、何れの場合にも血漿中のアルブミンが著しく減少することが認められる。

その他各種疾病における血漿蛋白質の変動についても実験が行われ、多くの予見発見が行われている。又薬学方面においてはワクチンの精製、検定に利用し、医薬品の作用、効果を追求するのに利用されている。

〔VI〕 チセリウス装置進歩の状況

Adam Hilger 社 (英)、Klett 社 (米)、LKB 社 (瑞典) が Tiselius⁽¹⁾, Longsworth⁽²⁾, Svensson⁽³⁾ 等の研究を基礎として製品を発表しその先鞭をつけたが、これ等は何れも全長 4~5m に及ぶ老大な装置で、種々の改



第12図 HT-B 型日立チセリウス装置
Fig. 12. Type HT-B Hitachi Tiselius Electrophoresis Apparatus

良案が未消化のまま取入れられたため、かえつて煩雑に過ぎる嫌があつた。1949年頃 Perkin Elmer 社 (米) が在来のものに比し格段と小型の装置を発表し臨床方面への利用の途をひらいた。本邦においては 1948年東大医学部平井博士、及び東大理工研渡辺教授等の実験が嚆矢となり、その研究が活発化した。日立製作所では両氏の指導により、本邦に於て初めて製品化し、その普及をはかっている。

装置改良の主眼は試料の所要量を少なくすること、取扱を簡便にすること並びに測定精度を向上することにあるが、試料所要量は前記三社の 8cc に対し Perkin Elmer 社は 2cc のものを実用化した。対象とする試料が小動物の体液である場合等は更に少量であることが望まれる。

セルに試料を満すためにセルを摺り動かす在来の方法は圧搾空気、ラックピニオン等を用いた複雑な構造であつたが、簡単なレバーですむように改良されている。実験を行うための恒温槽は当初理想的な 4°C を目標として冷却して行われたが、近時は 20°C 以下であれば常温でも十分に対流が防止されている。

光学系では Longsworth 式の全長の長くなる装置は一般に用いられなくなり、二枚のシュリーレンレンズを用いて平行光線法 (第5図及び第7図) が採用され、その結果全長が急激に短縮された。又スキヤンニング法に於けるナイフエッジはスリットに置換えて、廻折による誤差を消去する方法がとられている。

電気泳動の電源としては安定した直流電源を必要とするが、溶媒及び溶液の電気伝導度は實際上時間的に変化するもので、単位時間に溶質の運ぶ電流量を一定とするには定電流電源を必要とする。本定電流電源は日立製作所に於て初めて採用し好結果を収めている。

取扱を一層簡便にしたものとして AMINCO 社の如く透析、写真引伸の設備をそなえた装置も現われている。又試料の所要量を一層軽減し、且つ精度を向上するためにシュリーレン法に光干渉法を併用するか⁽⁵⁾、光干渉法のみを用いた⁽⁶⁾ものが作られている。

〔VII〕 結 言

電気泳動法による血漿蛋白質の分析は医学、生物化学の最大関心事である蛋白質の解明に重要な手がかりを与え、その期待と熱意とは驚くべきものがあり、特に本邦においては全世界に先がけて、電気泳動研究会が誕生して、活潑に研究が行われ、幾多の成果を収めている。

本装置に光学的観測法を採用したことは取扱が簡便でしかも精度を保持することゝ、更にその成績を写真として保存できるという点において大なる成功を収めたものと言わなければならない。然し峯形生成の光学的原理がかなり複雑であるにもかかわらず、よく医学家に使いこなされていることは、その熱意によるものと考えられる。今や電気泳動像によつて臨床診断に重要な資料を与

えうるまでに研究が進められ、本装置を臨床に活用すべき時期に到達した。器械もこの要望に応え得るよう一層簡便に改良が加えられなければならない。

参 考 文 献

- (1) A. Tiselius: Trans. Faraday Soc., **33**, 524 (1937)
- (2) L. G. Longworth: Ind. Eng. Chem., **18**, 219 (1946)
- (3) H. Svensson: Ark. Kemi. Min. Geol., **22**, 10 (1946)
- (4) (R. H. Muller): Anal. Chem., **22**, 17A (1950)
- (5) (LKB-prod. Mfg. Co.): J. Opt. Soc. Am., **41**, 648 (1951)
- (6) W. Lotman: Rev. Sci. Inst., **22**, 12 (1951)

測定に関する日立評論既刊論文集

(その2)

創刊号(大正7年1月) ~ 第34巻第12号(昭和27年12月)

531.788.6 真空計(熱式)

- 1) 水銀整流器用ピラニー真空計
榎本藤太郎、木村鐘治: 日立評論 **31** 4 (昭24.9) 156~161
- 2) 差動式抵抗真空計を用いた真空漏洩発見器
山本徳太郎: 日立評論 **34** 2 (昭27.2) 391~395

531.788.7 真空計(電気式)

- マジックアイ電離真空計
橋本一二、高野静夫: 日立評論 **26** 3 (昭18.3) 142~144

532.13.08 粘度測定

- 1) 日立新型コイルワニス W-250, W-280 の二三の特性
松島喬、井上利夫、歳川日出夫: 日立評論 **34** 8 (昭27.8) 999~1007
- 2) 高圧ケーブル用混和物の低温度に於ける適性粘度の判定法
下山田富保、遅塚信夫: 日立評論 **34** 10 (昭27.10) 1219~1224

532.137 粘度計

- 鉍油の粘度及び比重試験報告
試験係: 日立評論 **1** 1 (大7.1) 48

532.522.083.1 オリフィスを通しての流の直接測定

- ダイカストシルミンの研究
南波栄吉、小村英敏、武谷良明: 日立評論 **34** 7 (昭27.7) 911~918

532.57 速度及び水量の測定

- 1) 模型水車による Index Test 法の一実験
山崎卓弥、手島友亮: 日立評論 **34** 10 (昭27.10) 1178~1181
- 2) 塩水法及びギブソン法による水車の性能試験
山崎卓弥: 日立評論 **32** 5 (昭25.6) 261~272

534.08 振動測定

- 1) 振動計測器に関する日立評論既刊の論文集
日立評論 **33** 5 (昭26.6) 318
- 2) 刷子の欠損と新型電鉄用刷子保持器
武政隆一、桑原繁太郎: 日立評論 **34** 12 (昭27.12) 1475~1481

534.1.08 物体の振動測定

- 電気機関車の振動試験結果について
高橋忠太、小泉富士夫: 日立評論 **34** 11 (昭27.11) 1311~1318

534.113.08 棒の振動測定

- 1) 紡機スピンドルの振動に関する研究
日立評論 **32** 6 (昭25.7) 513~514
- 2) 精紡機用スピンドルの振動測定
井上実、市川忠男: 日立評論 **33** 5 (昭26.6) 355~360

534.121.2.08 膜の振動測定

- 炭素送話器の温度に依る異常現象の研究
西山静男: 日立評論 **34** 10 (昭27.10) 1201~1209