電気泳動法のトリロジー

中 村 和 行*

山口大学大学院医学系研究科プロテオーム・蛋白機能制御学分野

(受付 2012 年 3 月 15 日, 受理 2012 年 4 月 13 日)

SUMMARY

I had the honor of giving a plenary lecture entitled “Electrophoresis: Past, Present, and Future” for the 60th Anniversary of Japanese Electrophoresis Society (JES) in 2010. In this 62nd General Meeting of JES I had the honor of giving an educational lecture entitled “Trilogy of Electrophoresis” in which the short history of development of electrophoresis was started from the first report on phenomena of electrophoresis and electro-osmosis by Reuss in Russia. And the innovation of technology of moving boundary electrophoresis by Tiselius in Sweden for successful applications to separate serum proteins, especially the discovery of antibodies in gamma-fraction was awarded to Nobel prize in 1948. The development of Tiselius electrophoresis apparatus by Hirai and Shimao in Japan triggered the clinical applications for serum protein fractionation specific for diseases to establish JES in 1950 and the publication of a journal of *Seibutsu-butsuri-kagaku*. The promotion of electrophoresis techniques by JES also triggered the innovation of many types of electrophoresis successively using new support media in Japan. A unique electrophoresis technique was reported by Nakamura in Japan so called “Cross electrophoresis”. The technique has been developed to be affinity electrophoresis which enabled us to separate proteins by bio-specific interactions with other proteins, nucleic acids, carbohydrates, and a wide-variety of substances. Those innovations of electrophoresis technique have much contributed to the development of bioscience and biotechnology in the world.

Key words: Electrophoresis, Tiselius, Japanese Electrophoresis Society, Journal of Electrophoresis, Affinity Electrophoresis

第 60 回日本電気泳動学会総会で「電気泳動法の過去・現在・未来」と題して電気泳動法の三部作を特別講演する機会を得た。第 62 回総会では「電気泳動法のトリロジー」と題して教育講演する機会を得た。ここでは、我が国における「電気泳動を発見し・育み・かたちにする」の三部作を述べるが、電気泳動実験法については成書¹⁻³⁾を参照されたい。

電気泳動は、“粒子が動電力に従い動く。この種の現象を電気泳動 Cataphoresis と云う”と、片山正夫が 1915 年に出版された『化学本論』で述べている。この現象は、1807 年 Reuss が最初に報告したとされているが、湿った粘土の塊に 2 本のガラス管を立て、それぞれの管に水（無イオンでは上手く泳動できないが、水道水では上手くゆくとのことである）を満たして直流電流を流すと、陽極側のガラス管

中を粘土粒子が電極に向かって上昇し（電気泳動：cataphoresis と呼ぶ）、陰極側では水位が上昇する（電気浸透：electroosmosis と呼ぶ）。この原理は、無機コロイド分析など工学分野での研究に用いられ、1897 年には Kohlrausch による等速電気泳動理論の発表など電気泳動法の理論的な基礎研究が始まった。続いて、有機コロイドとして蛋白質など生体物質の研究に電気泳動法が応用され、1892 年には Picton と Linder によるヘモグロビンの電気泳動や Hardy によるグロブリンの電気泳動と等電点の発見につながった。1909 年には Michaelis が酵素などの等電点の測定を行い、電気泳動を cataphoresis から electrophoresis と呼ぶようになった。日本でも 1910 年に池田と鈴木が蛋白質加水分解物処理法の中で等電点電気泳動法を「電気分解法」として報告している⁴⁾。

Trilogy of Electrophoresis

Kazuyuki Nakamura

Department of Biochemistry and Functional Proteomics, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

*Corresponding author: Kazuyuki Nakamura; Department of Biochemistry and Functional Proteomics, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami-kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

E-mail: nakamura@yamaguchi-u.ac.jp

第 62 回日本電気泳動学会総会・教育講演 II

そして、1937年にTiselius（図1）が、U字管を用いた自由溶液中での電気泳動（Moving Boundary Method）による溶液中の蛋白質の分離定量装置を開発した（図2）^{5,6}。Tiseliusは血清蛋白質をアルブミン、 $\alpha 1$ -、 $\alpha 2$ -、 β -、 γ -グロブリンに分離し、Kabatと血清中の γ -グロブリンが抗体から成ることを証明した（図3）^{7,8}。これらの功績に対して1948年にはノーベル化学賞が授与された。

日本では、1947年に平井や島尾らがTiselius電気泳動装置の国産第1号機を組み立てに成功し、日本最初のTiselius電気泳動法による血清蛋白質の分離が報告された^{9,10}。こ

図1. Arne Tiselius 博士と記念碑

図2 Tiselius 装置の図と血清蛋白分離像

a：中央下部の番号1～5がU字管の構成部分
U字管内を移動する蛋白の境界面をSchlieren法の光学系でビントガラス上に投射して写真撮影する。
(Tiselius A.: Electrophoresis, Past, Present and Future. *Physico-Chemical Biol.*, 15: 21~34, 1970)

b：Schlieren法によるヒト血清蛋白の分離像
0.1 M ベロナル・ソーダ-HCl 緩衝液、pH 8.6 を用いる。
(島尾和男：Tiselius 電気泳動法、電気泳動実験法、第4版、文光堂、1967、p. 26~42)

図2. チゼリウス電気泳動法の原理と血清蛋白分離

図3 家兎抗卵白アルブミン抗血清のTiselius 電気泳動図¹¹

a：卵白アルブミンで感作された家兎血清の分離図
b：抗卵白アルブミン抗体を吸収除去した家兎血清の分離図
aとbとを比較すると γ -グロブリンが抗卵白アルブミン抗体吸収除去で減少している。
(Kabat, E. A.: Antibody heterogeneity—The clue to a unique genetic mechanism. *Physico-Chemical Biol.*, 34: 107~120, 1990)

図3. チゼリウス電気泳動法による抗体の分離

れを機に、日本での蛋白質研究が盛んとなり、1950年に児玉桂三を初代会長（図4）に迎えて電気泳動研究会が創立された。翌年には機関誌『生物物理化学』（*Physico-Chemical Biology*）が発刊された（図5）。以来、電気泳動研究会は62年にわたり、国内外で電気泳動法の開発や普及に大きな役割を果たし、日本電気泳動学会（*Japanese Electrophoresis Society*）として現在に至っている。機関誌『生物物理化学』は和誌および英文誌 *Journal of Electrophoresis* が電子化され、いつでも・どこでも閲覧できるようになっている（図6）。

さて、日本でも新しい電気泳動法の技術開発が行われた。1958年に中村らが開発した交叉電気泳動法（*Cross Electrophoresis*）は、酵素・基質や抗原・抗体さらに核酸・蛋白質などの複合体の検出に応用された¹¹。交叉電気泳動法は定性的な生物特異反応の分析法として極めて画期的であった。その後、生物特異結合反応の定量的分析法として

図4. 日本電気泳動学会初代会長の児玉桂三博士の生誕百年記念カード

図5. 日本電気泳動学会機関誌「生物物理化学」の発刊

図 6. 日本電気泳動学会機関誌電子版のアクセスサイト

生物物理化学 (<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/sbk-char/ja/>), Journal of Electrophoresis (<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/jelectroph/>)

親和電気泳動法 (Affinity Electrophoresis) に発展している¹²⁾。1975 年に O'Farrell が報告した二次元電気泳動法¹³⁾は、等電点電気泳動 (Isoelectric Focusing) と SDS 電気泳動法 (SDS-PAGE) の組み合わせによって一度に多くの蛋白質を詳細かつ総合的に分析することを可能にし、その後のゲノム解読技術と田中や Fenn らが開発した質量分析法 (Mass Spectrometry) とともに蛋白質の網羅的な研究 (プロテオーム研究) の基盤技術となっている。1989 年に関谷らが開発した SSCP (single-strand conformation polymorphism) 法¹⁴⁾は、遺伝子変異の検出に有用な技術として汎用されている。さらに、林崎らが開発した Restriction Landmark Genome Scanning は、二次元電気泳動の原理を用いて遺伝子変異の総合的な解析を可能にした¹⁵⁾。また、Hjerten らが報告したキャピラリー電気泳動法¹⁶⁾やマイクロチップ電気泳動法の開発が進み、迅速で超微量の蛋白質分析が可能になっている¹⁷⁾。現在、電気泳動法は、蛋白質のみならず核酸 (ゲノム研究) や代謝産物 (メタボローム研究) の分析に優れた技術として医学、理学、工学、農学、薬学など幅広い分野の研究に応用され、生命科学分野の研究で必須の技術となっている。蛋白質や核酸などの生体内高分子を電気泳動法で分離してプロットング法などで同定する技術は、今後も簡便化・高性能化されると期待される。しかし、生命の単位である 1 つの細胞を構成するすべての遺伝子やその産物である蛋白質の機能発現を動的に解析して生命システムを理解するには、蛋白質分子の機能や局在の変化を分子個数レベルで検討する必要がある。そのために、zepto モルレベルでの蛋白質の翻訳後修飾や蛋白質と生体構成分子との分子間相互作用をリアルタイムで解析する技術が必要になる。細胞内の蛋白質の動的変化を解析する上で、可視化技術は重要であり、その局在や構造と機能の発

現の連関を時空間的に明らかにする必要がある。そして、電気泳動法と質量分析法の更なる技術開発とコラボレーションが、新たな医療技術の開発につながると期待される。

文 献

- 1) 平井秀松, 島尾和男. 第 1 章 電気泳動法概論『電気泳動実験法』電気泳動学会編. 東京: 文光堂; 1963 年. 1-29 頁.
- 2) 井上勤. 電気泳動論法概論『新版電気泳動実験法』電気泳動学会編. 東京: 文光堂; 1989 年. 1-20 頁.
- 3) 中村和行. 第 1 章 電気泳動法小史『最新電気泳動実験法』日本電気泳動学会編. 東京: 医歯薬出版; 1999 年. 1-4 頁.
- 4) 池田菊苗, 鈴木三郎助. 蛋白質加水分解処理法 (特許出願書: 特許第 19375 号). 1910 年.
- 5) Tiselius A. Electrophoresis of serum globulin—Electrophoretic analysis of normal and immune sera. *Biochem J.* 1937;31:1464-1477.
- 6) Tiselius A. Electrophoresis, Past, Present and Future. *Seibutsu Butsuri Kagaku.* 1979;15:21-34.
- 7) Tiselius A, Kabat EA. An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. *J Exp Med.* 1939; 69:119-131.
- 8) Kabat EA. Antibody heterogeneity—The clue to a unique genetic mechanism. *Seibutsu Butsuri Kagaku.* 1990;34:107-120.
- 9) 平井秀松, 島尾和男. 生化学. 1949;21:54.
- 10) 島尾和男. 第 2 章 Tiselius 電気泳動法『電気泳動実験法』電気泳動学会編. 東京: 文光堂; 1963 年. 35-44 頁.
- 11) Nakamura S, Takeo K, Sasaki I, Murata M. Proof of the formation of Enzyme-substrate complex by crossing-paper electrophoresis. *Nature (London).* 1959;184:638-639.
- 12) Takeo K. Affinity Electrophoresis. In: Chrambach A, Dunn MJ, Radola BJ, editors. *Advances in Electrophoresis.* Weinheim: VCH, 1987: 229-279.
- 13) O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem.* 1975;250:4007-4021.
- 14) Orita M, Iwahama H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T: Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:2766-2770.
- 15) Okuizumi H, Takamiya T, Okazaki Y, Hayashizaki Y. Restriction landmark genomic scanning. *Methods Mol Biol.* 1995;791:101-112.
- 16) Hjerten S, Elenbring K, Kilar F, Liao JL, Chen AJ, Siebert CJ, Zhu MD. Carrier-free zone electrophoresis, displacement electrophoresis and isoelectric focusing in a high-performance electrophoresis apparatus. *J Chromatogr.* 1987;403: 47-61.
- 17) Tabuchi M, Kuramitsu Y, Nakamura K, Baba Y: Rapid subpicogram protein detection on a microchip without denaturing. *J Proteome Res.* 2003;2:431-435.