濾紙電気泳動法の応用 (第1報)*

濾紙電気泳動装置の試作とその検討

九州大学医学部三宅外科教室

香 月 武 人

Application of Filterpaper-Electrophoresis (I)
Apparatus devised on trial and evaluation thereof.

Taketo Katsuki

(1st Surgical Clinic, Faculty of Medicine, Kyushu University)

Director; Prof. H. Miyake

The apparatus devised consists of two buffer vessels, two $\text{Ag}(\text{AgCl})\text{KCl}$ -electrodes, two electrode vessels, a horizontal plate, a cover, and a supporter frame-work for filterpaper.

A few basic experiments were performed by means of this apparatus.

The buffer used was veronal-acetate buffer at pH 8.6.

Results:

- 1) Veronal-buffer was found incomparably best adapted for filterpaper-electrophoretic analysis of blood serum.
- 2) 15 hours' electrophoresis under the current of 2 mA or so was found to be most appropriate.
- 3) 0.02 cc of serum was sufficient for the purpose.
- 4) The same buffer could be used 5 times in succession without any practical disadvantage.
- 5) The result obtained was approximately identical with that obtained by the use of the classical Tiselius apparatus.
- 6) The serum values obtained in 10 normal persons averaged Alb. 59.0%, α_1 -Glob. 3.7%, α_2 -Glob. 5.9%, β -Glob. 10.8% and γ -Glob. 20.6%.

緒 論

最近 10 数年間における医学生物学の目覚ましい発達、物理学的或いは化学的測定法の進歩に負うところ甚だ大きい。蛋白質化学もまた、電気泳動法、超速心法等が完成されるに及んで飛躍的發展を遂げた。

この間、Paperchromatography が著しく進歩し、向流分配の Medium としての濾紙への認識が深められてきた。この Paperchromatography の輝かしい成功に刺

戟されて、多くの生化学者は、Amino-酸、Peptide 等よりさらに高分子物質である蛋白質を、同様の方法で分離しようと試みてきた。しかしながら、その努力は長い間報いられることができなかった。

しかるに、1948 年 Wieland¹⁾ が濾紙上の電気泳動法を始めて報告して以来、この方法は急速に發展し、1950 年には Wieland²⁾, Turba und Enenkel³⁾, および Durrum⁴⁾ によって蛋白質に応用され一応の成功を収めるに至った。

* 指導 教授 三 宅 博

しかしながら、彼等による濾紙電気泳動法は泳動後濾紙を横に細く切断し、その各々の濾紙片から蛋白質に結合せしめた色素を溶出して比色するという面倒な操作を伴う上に、曲線としての表示がうまくゆかぬ難点を持っていた。以上のような難点を持っていながらも Tiselius & Kunkel⁶⁾ は、1951 年略々同様の方法で研究を進め、血清蛋白質濾紙電気泳動分析法、易動度測定法等を詳述し、二次元濾紙電気泳動法にまで言及している。

しかるに、1951 年 Grassmann⁶⁾ が泳動後の濾紙において、そのまま所謂 Tiselius 曲線を得る方法を完成して以来、Grassmann 法はドイツにおいて驚くべき速さで普及し、Grassmann 装置を備えない臨床検査室はない程だと佐野氏⁷⁾は報告している。さらに 1952 年 Griffiths⁹⁾ 等も類似の方法で所謂 Tiselius 曲線を得る装置を考案し、また最近 Weicker⁹⁾ は、E.K.G.-装置の助けをかりて全く自動的に所謂 Tiselius 曲線を得る方法を報告している。

この他、連続濾紙電気泳動法¹⁰⁾、高圧濾紙電気泳動法¹¹⁾、Michl-Westphal 法^{12, 13)}、Paperchromatography と濾紙電気泳動法との組合せ¹⁴⁾ 等、多くの改良考案が続々と報告されつつある。

筆者も特殊目的に応用するため、簡単な濾紙電気泳動装置を試作したのでこれを紹介すると共に、濾紙電気泳動法を検討して得た 2~3 の結果を報告する。

1. 濾紙電気泳動装置

濾紙電気泳動装置は、Wieland¹⁾ の簡単なものから複雑な構造のものまで、種々雑多な装置が報告されてきた。これらはその構造上、殊に電気泳動部の濾紙の状態から大別して、1) 懸垂法 (Durrum⁴⁾, Flynn & De Mayo¹⁵⁾, Levin & Oberholzer¹⁶⁾), 2) ガラス板法 (Cremer & Tiselius¹⁷⁾, Kunkel & Tiselius⁵⁾), 3) 水平法 (小林¹⁸⁾, Grassmann⁶⁾) の 3 種類に分類できる (ただし、これらの名称は筆者が便宜上命名したものである)。いまこれらの優劣を俄かに論ずることはできぬが、装置の試作に当って、一応の批判が必要である。

濾紙電気泳動装置の構造はつぎのような諸点によって決定されると考えられる。

- i) 発熱 (ジュール熱)
- ii) 蒸発による緩衝液の濃縮その他の変化
- iii) 電気滲透
- iv) 電極の種類
- v) 緩衝液量
- vi) 泳動結果の再現性
- vii) 操作の難易
- viii) 使用目的 等々

これらの諸点から考えて各型式共種々の改良が施されてきた。筆者は、発熱に対してはガラス板法のごとく直接有効な手段を講ずることはできないが、蒸発は泳動部を密閉することによって最少にとどめ、電気滲透に関しては、濾紙を使用する本法が不可避免的に受ける以外の影響を受けず (ガラス板法は水またはクロロベンゼン等でガラス板を直接冷却することによって濾紙の発熱を防止できるが、濾紙をガラス板ではさむことにより、濾紙とガラス板との間の毛細管現象と電気滲透が加わり、分離が余り良くない欠点を持っている)、しかも濾紙を支持枠に固定するために操作が容易であり、さらに濾紙を水平に張るため、試料は電場において全く同一の条件で移動し、結果の再現性が良好である (懸垂法は泳動部分の濾紙が上下に懸垂されているために、緩衝液面からの距離が相異し、緩衝液の分布が異なることが考えられる。従って理論的な問題の研究には不適當である¹⁸⁾)、水平法即ち Grassmann 法⁶⁾、小林法¹⁸⁾ と同型式にすることに決定した。

装置は、図 1 に図解した。図から判る様に、2 個の緩衝液槽、2 個の電極および電極槽、水平板、「おおいぶた」および濾紙支持枠から成っている。

図 1. Filter paper Electrophoresis Apparatus

電極は、日立製 Tiselius 電気泳動装置 HT-B 型と全く同型式の Ag(AgCl)-不分解電極とし、緩衝液は 500 cc を要するよう設計した。濾紙支持枠は小林式濾紙保持枠¹⁸⁾を改良したものである。又水平に張った濾紙面と緩衝液面との高さの差は 5 cm 内外に設計した。「おおいぶた」は、図のように屋根状とし、泳動経過中に附着する水滴が濾紙上に滴下するのを防ぎ、水平板と共に、泳動部を密閉するようにした。2 個の緩衝液槽はゴム管で連絡して水準を合せるように設計した。勿論泳動時にはこのゴム管はコックで閉鎖する。

装置の内、電極、電極槽および濾紙支持枠以外は厚さ 3 mm の合成樹脂板を加工して製作した。

2. 濾紙電気泳動装置および濾紙電気泳動法の検討

1) 緩衝液の検討

緩衝液は試料の種類、実験方法等によって異なるが、血清蛋白質の濾紙電気泳動法には専ら Veronal-Buffer が使用されている。しかしながら、veronal および veronal 塩は高価である難点を持っている。従って筆者は 2~3 他の緩衝液を試験的に使用して見た。

$1/20$ mol. 磷酸緩衝液 pH 7.8, pH 9.2 グリシン緩衝液, pH 9.2 炭酸緩衝液を使用した実験では、全く分離しないか、分離が不充分であった。これに反して、種々の veronal-buffer を使用した実験においては、いずれも良好な結果が得られた。

しかしながら、pH 8.6 $\mu=0.0615$, pH 8.6 $\mu=0.045^{11)}$ の veronal-acetate buffer における実験では、泳動電流値の如何にかかわらず、 γ -Glob. は陰極側に移動した。これに反し、pH 8.6 $\mu=0.1$ の veronal-HCl buffer¹⁹⁾ では、かかる現象は殆んど見られなかった。

以上要するに、数少い実験の結果から断言することは危険ではあるが、血清蛋白質の濾紙電気泳動には、veronal buffer が最も優秀であると結論して差支えないと考える。

2) 泳動条件の検討

泳動条件の検討に当って筆者の実験法の概略を記しておく。

緩衝液は、veronal-soda の使用量少く、分離能優秀な veronal-acetate buffer pH 8.6 $\mu=0.0615$ を使用した。濾紙は東洋濾紙 No. 50, 4×30 cm を 2 枚同時に使用した。まず濾紙を緩衝液に浸し、濾紙支持枠に固定した後、支持枠の nut A をゆるめて濾紙を緊張せしめる。あらかじめ記した原点に、血清の適量をマイクロピペット(筆者は血色素用ピペットを使用した)にて、試料が濾紙の両端に達せぬように線状に塗布する。この際微量の

bromphenol blue (B.P.B.) 粉末を加えて置くと、泳動経過中、Alb. の移動が観察できて便利である。準備完了後泳動部を「おおいぶた」で密閉し、定電流装置で得られる直流で一定時間泳動する。

泳動終了後、濾紙を支持枠から離し、約 30 分間室温で風乾し、さらに加熱乾燥せしめる。乾燥に先立って、緩衝液に浸っていた部分の濾紙を切断し、乾燥経過中この部分に含まれている過剰の緩衝液が流れて分別帯を移動させるのを防止することが必要である。

染色は、1% B.P.B. 昇汞飽和 ethanol 溶液を充分噴霧して約 10 分間放置した後、0.5% 醋酸水で蛋白質の存在しない部分が白く脱色されるまで洗滌し、乾燥する方法を採用した。乾燥後濾紙を ammonia-gas にて処理すると B.P.B. が美しい紫色の帯として出現する。

以上大体において、Grassmann⁶⁾ および Kunkel-Tiselius⁷⁾ の変法である。

a) 泳動時間の検討

Griffiths 等⁸⁾ は自作の装置を用いて実験を行い、各成分の分離状態を観察してつぎのように報告している。即ち『泳動開始後 7 時間で分離は完全に行われ、さらに泳動を続けると不明瞭となる』という。従って試みようとする条件に適当な泳動時間を知ることが、良好な結果を得るに必要なこととなる。以上の目的から筆者はつぎの実験を試みた。

泳動 16 時間におよぶ経過中の各成分の分離状態および移動距離を 2 時間毎に記録したのが図 2 である。試料

図 2. 泳動時間と泳動距離との関係

は健康人血清で、4×30 cm の濾紙 1 枚につき 0.03 cc を用いた。電流は濾紙 2 枚で 2 mA, 160 V であった。尚

緩衝液は 2 枚泳動する毎に (即ち 1 回毎に) 交換した。

図から判るように、泳動時間と各成分の移動距離とは略々比例して直線関係を成している。しかしながら、蛋白質の或る成分、殊に γ -Glob. は著明な陰極側移動を示している。このことは緩衝液の検討でも簡単に述べて置いたが、原因は未だ詳かでない。Kunkel & Tiselius⁵⁾ は電気浸透によるといい、Holt¹¹⁾ 等は Docht-Effekt と呼んでいる。また Antweiler²⁰⁾ も電気浸透によるものだと言明している。

泳動開始後 2 時間で原点の両側に 2 つの著明な band が現われ、4 時間で原点附近に β -Glob. らしき band が分離してくる。6 時間で、Alb., α_2 -, β -, γ -Glob. が分離し、8 時間で α_1 -Glob. の band の 1 部が Alb. の陰極側に出現してくる。10 時間で α_1 -Glob. は著明になり、12 乃至 14 時間で略々完全に Alb. より分離する。結局ここに使用した条件では 15 時間前後の泳動が必要にして充分な泳動時間であることを確認した。

b) 血清使用量の検討

血清使用量を文献に求めると、0.01 cc~0.04 cc が多く用いられている。しかしながら濾紙の巾がそれぞれ異り一定の目標とは成り難い。また血清蛋白質濃度や定量法によっても加減すべきではないかと考え、つぎの実験を行った。即ち、血清蛋白質濃度 8.0, 7.5, 6.5, 4.0, 2.0 g/dl の各血清を 0.02, 0.03, 0.04 cc 宛使用し、一定条件で 15 時間泳動した後の濾紙の状態を図 3 に示す。ただし 6.5 g/dl 以下の血清は、健康人血清を希釈して調製したものである。蛋白質濃度は、日立蛋白計で計測した。こ

図 3. 血清蛋白質濃度と使用量 g/dl

の実験において、蛋白質量は、濾紙 1 枚につき 0.4 mg から 3.2 mg (3×30 cm の濾紙を使用) までの種々な量となる。図から判るように 0.8 mg 以上を使用したものでは良好な結果が得られる。以上の結果から判断して濾紙巾単位 cm 当り約 0.3 mg. 即ち 4 cm 巾の濾紙を使用すれば通常遭遇する血清では 0.01 cc~0.02 cc で充分であるとの結論を得た。また 2.0 g/dl という低濃度試料でも使用量を多くすれば (この実験では 0.04 cc) 良好な結果が得られることも確認した。勿論、脳脊髄液、尿等極端に蛋白濃度の低い試料では濃縮が必要である。

さらに筆者は上述濾紙の Alb. の陽極先端から、 γ -Glob. の陰極先端までの距離を計測してこれを展開距離と名付けた。蛋白質濃度が低くなるにつれてこの展開距離は減少してくる。これは Tiselius 型電気泳動法における泳動距離と蛋白質濃度との関係²¹⁾ と関連した結果であると考えられる。

c) 泳動電流値の検討

泳動電流値を高くすることによって通常蛋白質の移動を早くすることができる²²⁾。しかしながら、不適当に高

図 4. 泳動電流値と泳動経過

くするとジュール熱による蛋白質の変性その他の原因で不都合が生じる可能性が考えられる。従って使用する緩衝液に適合した泳動電流値を追求することが必要である。筆者は前記緩衝液を用いて 2 mA, 4 mA, 6 mA で実験を行い、Alb. の移動を観察した。図 4 の実線で示し VA なる記号で表わしたのがその結果である。2 mA

の場合は、略々時間に比例して移動し、前述したごとく 16 時間後まで直線をなし、満足すべき電気泳動が行われているものと考え。4 mA, 6 mA と電流値が大きくなるにつれて移動速度は増大するが、これらの場合 Alb. の移動は曲線をなす。しかし移動が急激に減少することではなく、また結果も 2 mA の場合と殆んど異らぬ分離を示した。また図の点線で示し VA-H と記したのは所謂高圧用 veronal-acetate buffer pH 8.5 ($\mu=0.045^{11}$) を用いて著しい高圧 (5.5 mA, 700 V) で実験した場合の Alb. の移動を示し、点線 V は Michaelis の $1/10$ mol. veronal-HCl buffer pH 8.6 ($\mu=0.1^{19}$) を用いて 4 mA 160 V で実験したもので、いずれも曲線を成している。殊に後者においてカーブが急峻であるのは泳動電氣値が過度に高いためではないかと考えるが、緩衝液の種類、量と関連してさらに検討すべき問題である。

3) 同一緩衝液使用回数の検討

同一緩衝液が繰り返し使用できるとすれば、実験操作が簡単になるのみならず高価な veronal buffer が節約できて経済的にも有利となる。筆者は同一緩衝液を、電流の方向を交互に変えることによって、連続 5 回の泳動を試みた。試料は同一血清を使用した。図 5 は 15 時間泳動後の濾紙の状態である。図から判るように展開距離が多少短縮するが、分離状態はいずれも良好である。なお、これらの濾紙から得られた蛋白分層値は、表 1 のごとく略々一致している。

これを要するに同一緩衝液を電流の方向を交互に変えて使用すれば、連続 5 回使用しても實際上全く差支えないことを確認した。

表 1. Buffer 使用回数の検討

回数	Alb.	α_1	α_2	$\alpha \left(\begin{smallmatrix} \alpha_1 \\ + \\ \beta_2 \end{smallmatrix} \right)$	β	γ
1	5.59	4.4	6.2	10.6	9.2	20.7
2	59.3	4.3	6.7	11.0	10.2	19.5
3	60.2	3.8	5.0	8.8	10.4	20.6
4	58.0	4.0	6.7	10.7	11.3	20.1
5	58.7	4.2	6.6	10.8	10.1	20.4

4) Tiselius 型電気泳動法による分析値と濾紙電気泳動法による分析値との比較検討

a) 定量法

濾紙電気泳動法は幾つかの点において古典的電気泳動法 (Classical Tiselius Electrophoresis) より優れている。即ち

i) 高価な装置を必要としない。

ii) 操作が簡単である。

iii) 試料が微量で実験できる。

iv) 試料中の各成分はその易動度に従って絶對的に分離され、各成分を抽出することが可能である。

v) 着色高度の試料においても可能である。

等々。しかしながら本法の欠点或いは誤が生じるとすれば、それは泳動操作および定量操作において可能性が

Paper 4×30 cm 2 枚

2 mA 160 V 15 hrs.

図 5. 緩衝液使用回数の検討

有る。前者は、使用電流、濾紙、緩衝液を含めて、物理化学的条件を充分吟味することにより一応満足すべき状態に達することができる。ただ、定量法にはなお不完全の誹はまぬがれない。周知のごとく濾紙上の蛋白質を染色して定量する方法は、蛋白質の各分層の色素結合力が等しいという仮定の上に立っている。若し色素結合力が相異すれば、それに相当した補正係数を使用すべきである。最近、Pezold und Peiser²³⁾ は蛋白質分層と色素結合力との関係を詳細に検討してつぎのごとく報告している。『分離した純 Alb. および γ -Glob. は変性状態 (濾紙上の蛋白質を染色する時の状態と同様であるが) において、Amidoschwarz 10B, Azocarmin B, B.P.B. にそれぞれ異った親和性を有し、Alb. に対する γ -Glob. の補正係数として Amidoschwarz 10B では 1.6, Azocarmin B では 1.8, B.P.B. では 1.1 を得た。しかしこの値は γ -Glob. のみにあって価値を有する』と。これを要するに定量法は、濾紙上の蛋白質を直接定量^{6, 8, 9, 18)} するという、方法論的改良が行われても、本質的には完成されていないと結論できる。筆者は以上の事実を考慮に入れて本項にかかげた検討を行った。

色素を用いた定量法としては、1) 蛋白質に結合せしめた色素を溶出して比色する方法⁵⁾ (dye elution method 一色素溶出法)、2) 濾紙上の蛋白質に結合した色素を直接比色定量^{6, 8, 9, 18)} する方法 (直接定量法) に大別できる。後者に用いる比色計は、本邦においても数種市販されている。ここでは筆者が現在実施中の定量法を簡単に記して置く。

前述の方法で染色した泳動後の濾紙を、泳動方向に直角に 5 mm 巾に切断し、それぞれの試験管に入れ、0.01 N NaOH 溶液で色素を溶出した後、この色素液を光电光度計で比色する。B.P.B. は 593~594 m μ で最高の吸光度を呈するので、筆者は島津光电管光度計に、S-57 の Filter を用いて比色定量した。吸光度を縦軸に、濾紙上の位置を横軸としたグラフに、それぞれの吸光度をプロットしてこれを結ぶと、図 6 最上段のごとき曲線が得られる。この曲線から classical Tiselius electrophoresis と同様の方法で各分層値を計算した。

図 6. Paper E. と Tiselius E.

b) 正常人血清蛋白分層像

正常人血清 10 例の濾紙電気泳動法による分析値を表 2 に示す。これらの定量値は補正しない値である。

c) 濾紙電気泳動法による分析値と Tiselius 型電気泳動法による分析値との比較検討

条件を等しくするために、両方法共 veronal-veronal-soda buffer pH 8.6 $\mu=0.1$ を使用した。結果は表 2 に示す。

10 例の平均値において、濾紙電気泳動法の Alb. は

2.0% 低く、 α -Glob. は 2.4% 高い。また β -Glob. は 0.9% 低く、 γ -Glob. 0.6% 高い結果を得た。

Alb. および α -Glob. の差は、Tiselius 泳動分析において α_1 -Glob. を分離し得なかったためではないかと考える。 β -Glob. における差は、Pezold und Peiser²³⁾ も指摘したごとく、classical Tiselius electrophoresis においては蛋白質に結合している Lipoid がその結合している蛋白質分層即ち β -Glob. 分層の屈折率増大の作用をしているのに反し、濾紙電気泳動法においては、この Lipoid は定量上に大した意味を持つ作用をおよぼさぬと考えられることから了解できる。

濾紙電気泳動法において γ -Glob. が大きいのは、前述したように、色素結合力が Alb. より γ -Glob. が小であるという事実と矛盾する。この点に関しては Levin & Oberholzer¹⁶⁾ は『蛋白質の一部が、始めに塗布した原点附近に残り電場で移動せず、 γ -Glob. 附近に残存するためだ』とした。筆者も彼の主張を支持できるような band を全例に見たがさらに検討すべき点と考える。図 6 中央の写真の β -Glob. と γ -Glob. との間の band がそれである。 β -Glob. は鮮鋭な band を形成しており、 β -Glob. と γ -Glob. との間の band は、 β -Glob. と鋭く分離している点からして本論文の分析値においては、これを γ -Glob. に加えた。

さらに以上の考察は平均値について行ったものであり、表 2 に示すごとく、個々の例については相当の差を有する例もあった。

これを要するに、なお幾多の疑問は存在するが、両方法は略々一致し、臨床検査法として使用し得るものと考ええる。

しかしながら筆者は、本法が血清以外の分野に試みられつつある傾向に多大の興味を持つものであることを附記して置く。その一部として、筆者は共同研究者と共に、脳脊髄液蛋白質の分析を行っているので他稿で発表する。

結 論

以上、筆者の試作した簡単な濾紙電気泳動装置を紹介すると共に、試作装置の機能および濾紙電気泳動法の基礎条件並びに価値を検討する目的から種々の基礎実験を行いつぎの結論を得た。

- i) 血清の濾紙電気泳動法による分析には veronal buffer の使用が絶対的に有利である。
- ii) 泳動条件は、緩衝液の種類、濾紙の種類および長さ、巾、使用枚数等により一定し難いが、筆者の行った実験では 2 mA 15 時間前後の泳動が適当である。

表 2. Paper-E. と Tiselius-E. の比較

No.	Sex	g/dl	Method	Alb.	α_1	α_2	tot. α	β	γ
1	♂	8.27	P T	58.9 60.5	4.5	4.2	8.7 6.4	14.1 13.2	18.2 19.9
2	♂	7.47	P T	61.6 59.6	4.1	5.3	9.5 6.6	8.3 13.2	20.6 18.3
3	♂	7.37	P T	54.7 62.9	4.5	6.9	11.4 7.6	11.6 11.3	22.4 18.3
4	♂	7.97	P T	60.5 58.3	2.7	5.7	8.4 6.8	10.7 10.8	20.3 24.0
5	♂	8.47	P T	53.8 62.0	3.7	7.1	10.8 9.7	12.8 12.1	22.6 16.1
6	♂	7.27	P T	56.5 57.4	4.3	6.1	10.4 7.2	10.1 13.3	23.0 22.1
7	♂	7.70	P T	55.6 59.1	5.0	7.7	12.7 7.6	9.0 11.6	22.8 21.7
8	♀	7.53	P T	65.3 64.6	2.5	5.0	7.5 6.0	8.9 10.6	18.3 18.8
9	♀	8.23	P T	62.5 61.8	2.3	5.1	7.4 6.5	10.3 11.5	19.8 20.3
10	♀	8.07	P T	60.3 64.2	3.6	5.8	9.4 8.0	12.4 9.6	17.9 18.2
平均		7.84	P T	59.0 61.0	3.7	5.9	9.6 7.2	10.8 11.7	20.6 20.0

iii) 血清使用量は、通常遭遇する血清では、0.02 cc 以下で充分であり、2 g/dl という低濃度試料でも、使用量を多くすることによって良好な結果が得られる。

iv) 同一緩衝液を電流の方向を交互に変えて使用すれば、連続5回まで使用しても實際上全く差支えない。

v) Tiselius 型電気泳動分析値と略々一致した値が得られる。

vi) 以上の結果および泳動経過の観察から、筆者の試作装置が充分使用に耐えることを確認した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な指導を賜りました恩師三宅教授および農学部生物化学教室船津助教授に深甚の謝意を表しますと共に、教室山崎講師はじめ教室員諸兄の御援助を感謝します。さらに本実験に必要な電源の製作を快諾された農学部生物化学教室飯塚氏並びに試作装置の製作に御努力下さった『おたふく化学株式会社』豊島技師長に感謝の意を表します。最後に種々助言を頂いた東京医科歯科大学生化学教室小林助教授にお礼を申し上げます。

(本論文の要旨は、昭和28年11月電気泳動研究会総会

および昭和28年12月同研究会西部地方会、並びに昭和29年4月日本消化器病学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Wieland T. und Fischer E.; *Naturwissenschaften*, **35**, 29 (1948)
- 2) Wieland T.; *Angew. Chem.*, **62**, 31 (1950)
- 3) Turba F. und Enenkel H.J.; *Naturwissenschaften*, **37**, 93 (1950)
- 4) Durrum E.L.; *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2943 (1950)
- 5) H.G. Kunkel & A. Tiselius; *J. General Physiology*, **35**, 89 (1951)
- 6) W. Grassmann, K. Hannig und M. Knedel; *Deut. Med. Wschr.*, **76**, 333, (1951)
- 7) 佐野 勇; 日本医事新報, No. 1531, 26 (1953)
No. 1533, 64 (1953)
- 8) L.L. Griffiths; *J. Clin. Pathology*, **5**, 294 (1952)
- 9) H. Weicker; *Klin. Wschr.*, **31**, 161, (1953)
- 10) W. Grassmann; *Naturwissenschaften*, **37**, 397 (1950) *Z. Angew. Chem.*, **62**, 170 (1950)

(37 頁へ)

- 13) M.L. Petermann & A.M. Pappenheimer; *J. Phys. Chem.* **45**, 1 (1941).
- 14) J. Kleinschmidt & P.D. Boyer; *J. Immunol.* **69**, 257 (1952).
- 15) A.C. Woods & E.L. Burky; *J.A.M.A.* **89**, 102-110 (1927).
- 16) M. Colm, L. Wetter, H.F. Deutsch; *J. Immunol.* **61**, 281 (1949).
- 17) E. Fredericq & H.F. Deutsch; *J. Biol. Chem.*, **181**, 499 (1949).
- 18) W.C. Boyd; *J. Exp. Med.* **74**, 369 (1941).
- 19) W.C. Boyd & M. Purnell; *J. Exp. Med.* **80**, 289 (1944).
- 20) 緒方富雄; 東京医学会誌 **54**, 71 昭和 15 年
- 21) H.R. Dean & R.A. Webb; *J. Pat. & Bact.* **29**, 473 (1926).
- 22) G. Ramon; *Compt. rend. soc. biol.* **86**, 661, 711, 813, (1922).
- 23) Neisser u. Wachsberg; *Münch med. Woch. Nr.* **48**, S 697 (1901).
- 24) 緒方益雄; 第 1 回衛生微生物寄生虫学連合学会 (1927).

20 頁より)

- 11) C.V. Holt, K.D. Voigt und K. Gaede; *Bioch. Z.*, **323**, 345 (1952)
- 12) H. Michl; *Mh. Chem.*, **82**, 489 (1951)
- 13) B. Kickhöfen und O. Westphal; *Z. Naturforschung*, Bd. 7b, H. 12, 655 (1952)
- 14) B. Kickhöfen und O. Westphal; *Z. Naturforschung*, Bd. 7b, H. 12, 659 (1952)
- 15) Flynn, F.V. & DeMayo, P.; *Lancet*, **261**, 235 (1951)
- 16) Levin, B., & Oberholzer, V.G.; *Am. J. Clin. Pathol.*, **23**, 205 (1953)
- 17) Cremer, H. & Tiselius A; *Biochem. Z.*, **320**, 273 (1950)
- 18) 小林茂三郎; 本誌 **2**, 3 (1954)
- 19) 吉村寿人; pH の理論と測定法, 丸善, 東京 (昭和 23 年)
- 20) Antweiler, H. J.; *Die quantitative Elektrophorese in der Medizin* (1952)
- 21) 有山 登; 血液討論会報告, **1**, 165, 最新医学社, 大阪 (昭和 23 年 7 月)
- 22) 深井孝之助; 化学実験学, 第 1 巻, 409, 河出書房, 東京 (昭和 26 年 9 月)
- 23) F.A. Pezold und U. Peiser; *Klin. Wschr.*, **31**, 982 (1953)

電気泳動研究会からのお知らせ

○昨秋京都で開かれた第 5 回総会で次の諸事項が決定されました。

1. 会計報告の承認
2. 委員および常任委員改選結果の承認
3. 会則および投稿規定の 1 部改正
4. 来年度総会開催地 (慶応義塾大学医学部内科教室) およびシンポジウム演題 (血清反応と血漿蛋白質) の決定

新委員および常任委員は 61 頁の通りです。

会則および投稿規定の改正部分にはアンダーラインを付してありますから御承知おき下さい。

○本誌の次号は 5 月に発行の予定です。

○次々号, 第 2 巻第 4 号は 8 月に発行の予定ですがこれに掲載する原著の手持ちが編集部には全然ありませんので, 4 月末日までに投稿の原稿中から先着順に 5~6 篇を掲載したく存じておりますので奮って御投稿下さい。

○第 2 巻第 1 号の頁肩の通巻通し頁は手違いのため第 1 巻からの通し頁となっておりますが, これは頁下中央の頁数と一致すべきものです。従って今後文献御引用の場合は頁下中央の頁数を御使用下さい。