〔テクニカルノート〕

電気浸透のない新しいセルローズ アセテート膜(Celaphore)

橋本寿美子 ・ 河野均也*

はじめに

血清蛋白の分画には取り扱いが簡便なことから、セルローズアセテート膜（以下セ・ア膜）を支持体とする電気泳動法が広く実施されている¹⁻⁴⁾。電気泳動用支持体としてのセ・ア膜は数多くのものが市販されているが、いずれも電気浸透現象により塗布原点は α ~ γ 分画の間に存在するために、さまざまな問題が起こることが指摘されてきた。

今回、この問題を解決し、電気浸透の全くない新しいセ・ア膜（Celaphore）が開発され、使用する機会をえたので、従来から使用してきた Separax-S と比較検討した結果を紹介する。

1. 材料ならびに方法

1. 血清：正常ヒト血清，M-蛋白血清ならびに pool 血清
2. セ・ア膜：Celaphore（Shandon 製，コスモ扱）
Separax-S（富士フイルム社製）
3. 電気泳動法：電気泳動学会の標準操作法に準じて行った²⁾。但し塗布位置は Celaphore は陰極側より 1 cm，Separax-S は陰極側より 2.5 cm とした。緩衝液は pH8.6， $\mu=0.07$ のバルビタール緩衝液を用い，通電は 0.7 mA/cm で 45 分間泳動した。染色はボンソー 3 R（C.I. 16155）にて行った。

II. 結 果

1. Celaphore を用いた蛋白分画像

Celaphore を用いた電気泳動像は Fig. 1 に示した通

りであり，原点は γ 分画より陰極側に位置した。

Fig. 1. Origin of each menbrans.

2. 正常者血清蛋白分画

輸血の供血者104例の血清を用い Separax-S と比較検討した結果は Table 1 に示したように，アルブミンと α_1 分画および β 分画には有意差を認めなかったが， α_2 分画と γ 分画には有意の差 ($p < 0.05$) を認めた。

Table 1. Normal range

Membran	Celaphore			Separax-S		
	N	$\bar{x}$	SD	N	$\bar{x}$	SD
Alb.	104	67.8	2.43	104	68.0	2.48
α_1 -F	"	2.3	0.34	"	2.4	0.38
α_2 -F	"	6.3	0.95	"	6.9	1.19
β -F	"	9.6	1.11	"	9.7	1.19
γ -F	"	13.8	2.20	"	12.8	2.28

Studies on new cellulose acetate membrane (Celaphore) which shows no electroosmosis

* Sumiko Hashimoto and Kinya Kawano, 日本大学医学部臨床病理,
Correspondence address: Sumiko Hashimoto, Nihon University school of Medicine, Itabashi-ku Tokyo 173, Japan.

3. 同時再現性

M-蛋白を含む血清を用いて20回同時に泳動し、同時再現性について検討した結果は Table 2 に示した。Table 2 からわかるように、 γ 分画以外の各分画は Celaphore の方が変動係数が小さく、再現性がよいという結果をえた。 γ 分画についてもその C. V. は 3% 台であり、満足すべき結果であった。

Table 2. Reproducibility of each membrans.
N=20

Membran	Celaphore			Separax-S		
	$\bar{x}$	SD	CV	$\bar{x}$	SD	CV
Alb.	63.3	0.55	0.87	64.0	0.72	1.13
α_1 -F	2.9	0.15	5.10	2.8	0.17	5.95
α_2 -F	7.4	0.17	2.30	8.3	0.43	5.15
β -F	9.4	0.18	1.94	9.6	0.35	3.61
γ_1 -F	3.9	0.14	3.54	4.2	0.18	4.29
γ_2 -F	13.0	0.42	3.23	11.1	0.23	2.03

4. 日差変動

Pool 血清を 6 日間連続して泳動し、日差変動の検討を行った。Celaphore と () 内に示す Separax-S の各分画における変動係数はそれぞれアルブミンが 1.14% (1.12%)、 α_1 分画が 2.94% (3.13%)、 α_2 分画が 12.63% (13.14%)、 β 分画が 11.27% (13.24%)、 γ 分画が 3.42% (4.04%) であり、 α_2 および β 分画が大きな変動を示したが、いずれの分画も Separax-S よりその変動は小さかった。 α_2 および β 分画については、 β リポ蛋白がいずれに分画されるかにより大きな変動

Table 3. Correlation between Celaphore and Separax-S

Fraction	Correlation Coefficient	Regression formula
Alb.	0.969	$y=0.94x+3.95$
α_1 -F	0.850	$y=0.70x+0.66$
α_2 -F	0.941	$y=1 \quad x-0.48$
β -F	0.854	$y=0.73x+2.30$
γ -F	0.976	$y=0.98x+1.36$

x=Separax-S y=Celaphore

となったものと考えられた。

5. Celaphore と Sephadex-S の関連

204例の患者検体について検討した結果は Table 3 に示したようにいずれも良好な相関が得られた。

6. M-蛋白の泳動像

多量の M-蛋白が存在する場合、Separax-S ではしばしば波状帯を示すが⁶⁾、Celaphore では波状帯を示すことはなく、デンストメトリー上も良好な再現性を示した。

7. セ・ア膜の泳動前処理

Separax-S は泳動前処理として、原点を β 分画に位置させるため、約30分間泳動用緩衝液に浸漬させる⁶⁾。しかし、Celaphore では浸漬直後と浸漬30分後の間に、原点位置、および分画成績に差を認めず、泳動前処理は必要ないと考えられた。

ま と め

新しい電気浸透のない泳動用セ・ア膜、Celaphore について検討し、次のような結論をえた。

1. Celaphore は多量の M-蛋白が存在しても波状帯を示さないことから、均質な多孔膜であると考えられた。

2. 従来より用いられている Sephadex-S と比較し、正常値に差を認めず、優れた再現性を示し、相関も良好であった。

3. Celaphore は pH8.6 の緩衝液中で電気泳動することにより、負に荷電した蛋白分子をすべて陽極側に移動させる電気浸透のないセ・ア膜であり、さまざまな分野に応用の期待される支持体であると思われる。

文 献

- 1) 河合 忠, 青木紀生: 血清蛋白分画, 宇宙堂八木書店, 1972.
- 2) 電気泳動実験法: 文光堂, 1968.
- 3) 橋本寿美子: 臨床病理, 特集30号, 18, 1977.
- 4) 橋本寿美子: 電気泳動法のすべて, 医歯薬出版, 41, 1979.
- 5) 河合 忠: 生物物理化学, 13, 307, 1968.
- 6) 飯島耕子 他: 生物物理化学, 25, 193, 1981.