

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4814216号
(P4814216)

(45) 発行日 平成23年11月16日(2011.11.16)

(24) 登録日 平成23年9月2日(2011.9.2)

(51) Int.Cl. F 1
GO 1 N 27/447 (2006.01) GO 1 N 27/26 3 1 1 C

請求項の数 13 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2007-506058 (P2007-506058)	(73) 特許権者	000126757 株式会社アドバンス 東京都中央区日本橋小舟町5番7号
(86) (22) 出願日	平成18年3月3日(2006.3.3)	(72) 発明者	相澤 克則 東京都中央区日本橋小舟町5番7号 株式 会社アドバンス内
(86) 国際出願番号	PCT/JP2006/304661	審査官	柏木 一浩
(87) 国際公開番号	W02006/093343	(56) 参考文献	国際公開第03/018614 (WO, A 1) 特開平11-505325 (JP, A)
(87) 国際公開日	平成18年9月8日(2006.9.8)	(58) 調査した分野(Int.Cl., DB名)	GO1N 27/447
審査請求日	平成21年2月3日(2009.2.3)		
(31) 優先権主張番号	特願2005-59786 (P2005-59786)		
(32) 優先日	平成17年3月4日(2005.3.4)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		

(54) 【発明の名称】 電気泳動用バリアー構造体及び電気泳動装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

陽極及び陰極からなる電極を備えた電気泳動装置において前記電極と泳動槽内の緩衝液との直接接触を防止するために用いられる電気泳動用バリアー構造体であって、

電極近傍の電気分解反応により生成する酸性及び(又は)アルカリ性物質を中和可能な化合物からなるかもしくは電気分解産物と反応するか、又はこれを吸収し、電気分解産物の量を減少可能な化合物からなる電気泳動用バリアー物質と、

それぞれ、前記電極のいずれか一方と前記バリアー物質とを接触させた状態で前記バリアー物質を保持した2つのバリアー室と、

前記バリアー室をそれぞれ規定する少なくとも1個の隔壁とを含んでなることを特徴とする電気泳動用バリアー構造体。 10

【請求項2】

前記バリアー物質は、溶液、糊またはゲルの形態を有していることを特徴とする請求項1に記載の電気泳動用バリアー構造体。

【請求項3】

前記バリアー物質は、前記バリアー物質の機能を安定化可能な物質及び(又は)前記バリアー物質の機能が安定化された状態を表示可能な物質をさらに含むことを特徴とする請求項1又は2に記載の電気泳動用バリアー構造体。

【請求項4】

前記バリアー室において、前記隔壁から露出した前記バリアー物質は、前記泳動槽内の 20

緩衝液と接触していることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載の電気泳動用バリアー構造体。

【請求項 5】

前記隔壁は、電気泳動中に電極の近傍で引き起こされる電気分解反応で生み出されるガスによる緩衝液の対流を防止もしくは抑止する位置に配置されていることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の電気泳動用バリアー構造体。

【請求項 6】

前記隔壁は、電極に近い位置に梁の形で垂直に配置されかつ前記バリアー物質が移動可能な開口を下端部に備えた第 1 の隔壁と、該第 1 の隔壁よりも電極から離れた位置に敷居の形で垂直に配置されかつ前記バリアー物質と前記緩衝液とが接触可能に上端部が緩衝液中で終端している第 2 の隔壁とからなることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の電気泳動用バリアー構造体。

10

【請求項 7】

前記第 1 の隔壁と前記第 2 の隔壁との間に、電気伝導性を有する弾性パッキング部材をさらに有していることを特徴とする請求項 6 に記載の電気泳動用バリアー構造体。

【請求項 8】

泳動槽と、それぞれ泳動槽の所定の位置に配置された陽極及び陰極からなる電極と、泳動槽内に収容された緩衝液とを含む電気泳動装置であって、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の電気泳動用バリアー構造体をさらに備えることを特徴とする電気泳動装置。

20

【請求項 9】

縦型電気泳動法、横型電気泳動法、サブマリン型電気泳動法、円柱型電気泳動法、キャピラリー型電気泳動法、チップ型電気泳動法、分取用電気泳動法、電気クロマトグラフィー法、パルスフィールド電気泳動法又は等電点電気泳動法に基づくことを特徴とする請求項 8 に記載の電気泳動装置。

【請求項 10】

サブマリン型電気泳動法に基づくものであり、前記泳動槽が単一の泳動槽からなり、その泳動槽内の緩衝液に試料もしくは試料含有媒体を浸漬することを特徴とする請求項 8 又は 9 に記載の電気泳動装置。

【請求項 11】

縦型電気泳動法、円柱型電気泳動法又はキャピラリー型電気泳動法に基づくものであり、前記泳動槽が上下に離間して配置された 2 個の泳動槽からなり、それぞれの泳動槽に緩衝液が入れられ、かつそれらの泳動槽を連通した連通部材に試料もしくは試料含有媒体が含まれることを特徴とする請求項 8 から 9 のいずれか1項に記載の電気泳動装置。

30

【請求項 12】

試料を電気泳動法によって分離もしくは分析する方法であって、請求項 8 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の電気泳動装置を使用することを特徴とする試料分析方法。

【請求項 13】

前記試料は、生体分子、色素及びカーボンナノチューブからなる群から選ばれる粉体であることを特徴とする請求項 12 に記載の試料分析方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は電気泳動技術に関し、さらに詳しく述べると、電気泳動装置において電極の近傍で発生する電気分解反応の電気泳動結果に対する影響を最小にする技術に関する。本発明は、特に、電気泳動用バリアー構造体ならびに電気泳動装置に関する。本発明はまた、かかる電気泳動技術を利用して生体試料やその他の試料を分離及び分析する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

50

電気泳動法は、例えば、生体分子（主にDNA、RNA、蛋白質等）の混合試料を分子サイズや各分子の荷電状態の違いに応じて分離する方法であり、また、この方法を実施するため、いろいろな方式を採用した電気泳動装置が市販されている。電気泳動装置は、例えば、生命科学、医学、薬学、農学、環境科学などの分野で用いられている。

ところで、電気泳動装置では、その電極において電気分解反応が起こり得る。また、電極の素材や電極が接している溶液の組成によって、電極部分や、その周辺ではさまざまな反応が起こる。さらに、最近の電気泳動装置においては、耐久性や操作性が優れていることから、白金線や白金をめっきした素材が電極の素材として用いられることが多いが、この場合、電極液として用いられている緩衝液の下では、電気分解でオキシニウムイオン、水酸化物イオンや、酸素ガス、水素ガスなどが発生する。また、用いられている溶液の種類によっては、塩素ガス、ヨウ素などが生成する。特にクロライドイオンを多く含む溶液を電気泳動に用いると、pHが3以上で、この電気分解で発生した塩素ガスの一部が、蛋白質や核酸にダメージを与える次亜塩素酸（HClO）などの強力な酸化物質にまで変換される。さらに、各種のイオン性物質が電極へ吸着され、電極周辺での電気抵抗が変化する場合もある。

10

【0003】

電気分解時に生成するこれらの副生成物の多くは、電気泳動の結果に悪影響を及ぼす。例えば、陽極に近い部分では、電気分解で生成したオキシニウムイオンにより溶液が酸性pHになり、陰極に近い部分では、水酸化物イオンによりアルカリ性pHになる。ところで、電気泳動にて分離、分析されるサンプルの多くはそれらのサンプルに固有のpKa値や等電点を有するものが多いので、電気泳動中に生成する副生成物に原因して電解液のpHが予定外の変化をすると、期待される移動度をもたらしなすことになる。また、伝導率（導電率）が変化すると、その部位における電位勾配が変化するので、この場合も、期待される移動度をもたらしなすことになる。さらに、電気分解にて生成される酸素ガスや水素ガスといったガス類は、電気泳動中には、緩衝液中で気泡となって緩衝液の表面上昇し、その際、これら気泡の移動に起因する対流の発生につながる。かかる対流は、緩衝液を攪拌する作用につながるが、必ずしも均一に溶液を攪拌するとも限らないので、電気泳動が行われている各部位のpHを一定にする作用にまでは至らない。むしろ、いくつかの条件や、泳動装置によっては、各電極近傍における溶液のpHや伝導率が不均一となり、ひいては電気泳動部位のpHや伝導率も不均一となる。

20

30

【0004】

また、電気泳動に用いる緩衝液や界面活性剤、試料（サンプル）にハロゲン化物イオンを含むものを用いると、塩素ガスやヨウ素の生成も起こる。特に塩素ガスが発生すると、これのガスなどの一部は、緩衝液に溶けて、塩酸のほか、次亜塩素酸など酸化力の強い有害物質を生成する。これは、当然、電気泳動自体の不安定性につながるのみならず、分離すべき試料の劣化、変性を起こすおそれさえある。実際、HClOなどは、10ppmという低濃度でもある種の蛋白質を変性させることが知られている。電気泳動に対する電気分解の影響を少なくする手法は、これまで数種類ほど提唱され、実用化されてきた。最初に用いられたものは、電気分解が起こる電極部位と電気泳動部位との距離を長くする方法であり、この条件を満たす電気泳動装置の設計は比較的容易である。しかしながら、電極部位と電気泳動部位との距離が短い電気泳動装置に比べると、一定の移動度を確保するには電圧を高くする必要が生じる。その結果、ジュール熱の過剰発生、高電圧による漏電の危険の増大といった不都合が生じる。また、電気分解の副生成物の一部が、電気泳動が行われている部位に短時間のうちに到達するので、長い時間の電気泳動実験には不向きであった。

40

【0005】

次に、電気泳動中に電気分解で生成される酸（オキシニウムイオン）、アルカリ（水酸化物イオン）を中和するために、電極付近の電極液として大量の緩衝液を利用する方法がある。しかしながら、この方法の場合、電気分解で生成される酸素ガスや、水素ガス、塩素ガスの発生やヨウ素の生成、各種イオン性物質の電極への吸着、金属イオンの電極からの

50

溶解などからの影響を排除することはできない。また、電極部位と電気泳動部位との間に、イオン交換膜やイオン交換樹脂などのイオン交換体の層を形成し、これらに電気分解で発生するイオン類を結合させ、同時にこれらイオン交換体に結合させておいたイオンを電気泳動部位に供給させる方法も提唱されている。しかしながら、一部実用化されているこの方法にも欠点がある。例えば、イオン交換容量が比較的小さいこと（0.3モル/L以下が多い）、すなわち長時間の電気泳動を維持できる電解質の確保が困難なことや、実験のたびごとにこれらのイオン交換膜やイオン交換樹脂の交換あるいは再生の必要があることなどが典型的な欠点である。

【0006】

なお、以上に述べた電気泳動技術は、例えば、米国特許第5,582,702号明細書 米国特許第5,868,974号明細書 特表平11-505325号公報 J. Am. Chem. Soc.、45巻、954頁、1923年などに記載されている。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】

米国特許第5,582,702号

【特許文献2】

特表平11-505325号公報

【非特許文献】

20

【0008】

【非特許文献1】

J. Am. Chem. Soc.、45巻、954頁、1923年

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は、電気泳動技術における上記した問題点を解決することを目的としたものである。すなわち、本発明の目的は、高電圧や、大量の緩衝液、イオン交換膜やイオン交換樹脂を使用せずに、電気泳動中に起こる電気分解反応で生み出されるガスによって生じる対流を防止し、電気泳動中に生成する酸性及びアルカリ性物質を中和し、また、場合に応じて、電気分解で生じる酸化力や還元力の強い産物を除去し、更には電気泳動部位に支持電解質を安定して供給することが可能であり、構造も簡単な電気泳動装置と、かかる電気泳動装置の構成に有利に使用できる構成要素を提供することにある。また、本発明の目的は、各種の試料を電気泳動を利用して分離及び分析する際に、電気泳動結果に悪影響を及ぼすことなく、正確にかつ簡単に実施することのできる試料分析方法を提供することにある。

30

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者は、これらの目的を達成するために鋭意検討を行った結果、電気泳動が行われる部位（以下、「電気泳動部位」ともいう）の陰極側と陽極側に、バリアー構造を有する部位を形成し、そこに緩衝作用のある溶液ないしは電気分解産物と反応するか、これを吸収する溶液、あるいは電気泳動の支持電解質の濃縮液を安定して存在させることで、1) 電気泳動中に生成する酸性物質及びアルカリ性物質を中和し、2) 必要に応じ、電気分解産物と反応するか、又はこれを吸収し、3) さらには電気泳動部位に支持電解質を安定して供給する仕組みを提供できることを見出し、同時に、このバリアー構造が電気泳動槽内において安定して同一部位にとどまるように電気泳動槽の形状を工夫することで、4) 電気分解反応で生み出されるガスによって生じる対流も同時に防止できることを見出し、本発明を完成するに至った。

40

【0011】

本発明は、1つの面において、電気泳動中に電極の近傍で引き起こされる電気分解反応

50

の影響を抑制するために用いられるバリアー物質であって、多くの場合、数種類の溶質や溶媒の混合体である。この物質は、電極近傍の電気分解反応により生成する酸性及び（又は）アルカリ性物質を中和可能な化合物からなること、あるいは電気分解産物と反応するか、又はこれを吸収し、電気分解産物の量を減少可能な化合物であることを特徴とする。

バリアー物質は、電気泳動部位に支持電解質を安定して供給する機能をさらに有していることが好ましい。また、バリアー物質は任意の形態で使用することができるが、溶液、糊またはゲルの形態で使用することが好ましい。さらに、バリアー物質は、それのみで使用してもよいが、さらなる効果を与えるため、任意の添加剤を併用することができる。適当な添加剤として、例えば、バリアー物質の機能を安定化可能な物質や、バリアー物質の機能が安定化された状態を表示可能な物質などを挙げるができる。

10

【0012】

本発明は、そのもう1つの面において、陽極及び陰極からなる電極を備えた電気泳動装置において前記電極と泳動槽内の緩衝液との直接接触を防止するために用いられる電気泳動用バリアー構造体であって、主に物理的な障壁を形成するものである。本発明による電気泳動用バリアー構造体は、本発明の電気泳動用バリアー物質と、それぞれ、前記電極のいずれか一方と前記バリアー物質とを接触させた状態で前記バリアー物質を保持した2つのバリアー室と、前記バリアー室をそれぞれ規定する少なくとも1個の隔壁とを含んでなることを特徴とする。バリアー室では、隔壁から露出したバリアー物質は、泳動槽内の緩衝液と接触している。バリアー構造体は、本発明の範囲内で、いろいろな形態、サイズなどで構成することができる。例えば、バリアー室を規定する隔壁は、電気泳動中に電極の近傍で引き起こされる電気分解反応で生み出されるガスによる緩衝液の対流を防止もしくは抑止できることが好ましい。よって、隔壁は、かかる作用を導きうる形状等で、それに適当な位置に配置されていることが好ましい。

20

【0013】

隔壁は、特に、電極に近い位置に梁（ビーム）の形で垂直もしくは垂直に近く配置されかつバリアー物質が移動可能な開口を下端部に備えた第1の隔壁（梁構造）と、この第1の隔壁よりも電極から離れた位置に敷居（シル）の形で垂直に配置されかつバリアー物質と緩衝液とが接触可能に上端部が緩衝液中で終端している第2の隔壁（敷居構造）とからなることが好ましい。また、かかるバリアー構造体において、第1の隔壁と第2の隔壁とは単に組み合わせて配置してもよいが、第1の隔壁と第2の隔壁との間に、電気伝導性を有する弾性パッキング部材をさらに配置してもよい。本発明は、さらにもう1つの面において、泳動槽と、それぞれ泳動槽の所定の位置に配置された陽極及び陰極からなる電極と、泳動槽内に収容された緩衝液とを含む電気泳動装置であって、本発明による電気泳動用バリアー構造体をさらに備えることを特徴とする電気泳動装置にある。

30

【0014】

本発明の電気泳動装置は、この技術分野で知られたいろいろな電気泳動技術に基づいて構成することができる。好適な電気泳動技術として、例えば、縦型電気泳動法、横型電気泳動法、サブマリン型電気泳動法、円柱（ディスク）型電気泳動法、キャピラリー型電気泳動法、チップ型電気泳動法、分取用電気泳動法、電気クロマトグラフィー法、パルスフィールド電気泳動法、等電点電気泳動法などを挙げるができる。例えば電気泳動技術がサブマリン型電気泳動法に基づくものである場合には、電気泳動装置は、泳動槽が単一の泳動槽からなり、その泳動槽内の緩衝液に試料もしくは試料含有媒体を浸漬するように構成することが好ましい。また、電気泳動技術が縦型電気泳動法、円柱型電気泳動法、キャピラリー型電気泳動法などに基づくものである場合には、泳動槽が上下に離間して配置された2個の泳動槽からなり、それぞれの泳動槽に緩衝液が含まれ、そしてそれらの2つの泳動槽を連通した連通部材、例えば毛细管や中空チューブなどに試料もしくは試料含有媒体が含まれるように構成することが好ましい。

40

【0015】

本発明は、さらにもう1つの面において、試料を電気泳動法によって分離もしくは分析、さらには分取する方法であって、本発明による電気泳動装置を使用することを特徴とす

50

る試料分析方法にある。本発明方法の実施において、試料の種類や分析条件の詳細は、特に限定されるものではなく、本発明の範囲において任意に変更することができる。例えば、分離及び分析されるべき試料は、好ましくは生体試料であり、具体的には、例えばDNA、RNA、タンパク質等の生体分子を挙げることができる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

第1図は、サブマリン型の電気泳動装置に適用される泳動槽を模式的に示した断面図であり、第2図は、縦型の電気泳動装置に適用される泳動槽を模式的に示した断面図であり、第3図は、円柱型やキャピラリー型の電気泳動装置に適用される泳動槽を模式的に示した断面図であり、第4A図は、実施例で用いた梁構造型隔壁と敷居構造型隔壁とを有する泳動槽の形状を示した上面図であり、第4B図は、第4A図に示した泳動槽を横から見た断面図であり、そして第5図は、実施例で用いた梁構造型隔壁と敷居構造型隔壁とを有する泳動槽の形状を示した断面図である。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0017】

本発明は、いろいろな形態で有利に実施することができる。以下、本発明の好ましい実施の形態を特にいくつかの電気泳動装置を参照して説明するが、本発明は、これらの実施形態に限定されるものではない。本発明による電気泳動装置は、その必須の構成要素として、常用の電気泳動装置と同様な構成要素を有することができる。すなわち、本発明の電気泳動装置は、1基もしくはそれ以上の泳動槽と、泳動槽内に配置された陽極及び陰極からなる一対の電極あるいは陽極及び陰極のいずれか一方（泳動槽ごとに電極を使い分ける場合）と、泳動槽内に収容された緩衝液とを含んで構成される。なお、本発明の電気泳動装置は、これらの構成要素の他に、追加の構成要素、例えばパルス出力又は直流出力用の電源、緩衝液排出口、泳動カバー、ゲルトレー、コームなどを備えることができる。以下、主たる構成要素について説明する。

20

【0018】

泳動槽

泳動槽は、任意の形状を有することができるが、通常、ボックス型、円筒型、円柱型などである。取扱い性や他の構成要素の取付け、コンパクト化などを考慮した場合、ボックス型の泳動槽の使用が推奨される。泳動槽のサイズは特に限定されないが、本発明の泳動槽は、その特定の構成に由来して小型化することができる。例えば、コンパクトな電気泳動装置の一例を示すと、幅130mm前後、長さ120mm前後及び深さ50mm前後、緩衝液容量250mL前後のボックス型泳動槽を挙げることができる。また、泳動槽の材料は、電解液などに対して耐性があり、長期間にわたって安定に使用することができる限りにおいて特に限定されるものではない。泳動槽は、例えばポリカーボネート、ポリスチレン、プロピレン共重合体、ポリメチルペンテン、ポリサルフォン、ポリフェニレンオキサイド、アクリルなどのプラスチック材料の成形や各部材の接着加工によって製造することができる。場合によっては、FRPを材料に使用してもよい。

30

【0019】

泳動槽は、1基で使用してもよく、必要に応じて2基もしくはそれ以上の泳動槽を連結して使用してもよい。例えば、サブマリン型の電気泳動装置では1基の泳動槽を使用するのが一般的であるが、縦型の電気泳動装置や円柱型、キャピラリー型等の電気泳動装置では2基の泳動槽を組み合わせて使用するのが一般的である。2基以上の泳動槽を使用する場合には、それぞれの泳動槽を任意の連通部材で接続し、緩衝液の移動を図ることができる。連通部材としては、例えば、毛細管、中空チューブなどを挙げることができる。なお、複数の泳動槽を使用する場合、それぞれの泳動槽の形状、サイズなどは同一であってもよく、異なってもよい。

40

【0020】

電極

電極は、電気泳動装置において一般的に使用されている電極であってよく、その材質、

50

形状、サイズなどが特に限定されるものではない。例えば、陽極は、緩衝液などに対して耐性を有する導電性の材料、例えば白金、白金めっき材料、カーボンなどから細線、ロッド、薄膜、薄板などの形で形成することができる。陽極のサイズは、上記したサイズのボックス型泳動槽に細線（白金）からなる陽極を取付けた場合を例にとると、長さ122mm前後×直径0.25mm前後である。

陽極と同様に、陰極も、その材質、形状、サイズなどが特に限定されるものではない。陽極と同様な材料から、同様な形状及び同様なサイズで形成することができる。

【0021】

緩衝液

泳動槽で用いられる緩衝液は、電気泳動装置で一般的に使用されている緩衝液であってよい。緩衝液は、通常、電解質と、電解質を溶解した溶媒とを含んで構成され、必要に応じて任意の添加剤が併用される。特に本発明では、以下に詳細に説明するように、この緩衝液が電極に直接的に接触しないようにするため、それぞれに電極の近傍においてバリアー物質が用いられる。

【0022】

〔電解質〕

電解質は、電気泳動装置の緩衝液で一般的に使用されている化合物であってよい。適当な電解質は、例えば、以下に列挙するような化合物を包含するが、これらに限定されない。なお、下記の化合物名において、その後に括弧で括って示す文字又は略号は、該当する化合物の通称名である。なお、下記の化合物は、単独で使用してもよく、2種類もしくはそれ以上の化合物を組み合わせて使用してもよい。N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸(ACES)、N-(2-アセトアミド)イミノ二酢酸(ADA)、酢酸、N-(2-アミノエチル)トリメチルアンモニウムクロライド(CHOLAMINE)、アスコルビン酸、アンモニア溶液、バルピツール酸、ベンゼンケキサカルボン酸(mellitic)、ベンゼンペンタカルボン酸、ベンゼン-1,2,4,5-テトラカルボン酸(pyromellitic)、ベンゼン-1,2,3-トリカルボン酸(hemimellitic)、

【0023】

ベンゼン-1,3,5-トリカルボン酸(trimestic)、安息香酸、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸(BES)、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン(BICINE)、ビス(2-ヒドロキシエチル)イミノ-トリス(ヒドロキシメチル)メタン(BIS-TRIS)、ホウ酸、ブルシントラヒドレート、ブタン-1,2,3,4-テトラカルボン酸、n-酪酸、炭酸、クエン酸、シクロヘキサニ二酢酸、3-シクロヘキシルアミノ-1-プロパンスルホン酸(CAPS)、シクロペンタン二酢酸、シクロペンタン二酢酸(3,3-テトラメチレングルタル酸)、シクロペンタンテトラ-1,2,3,4-カルボン酸、ジエチルアミン、ジメチルアミン、2,2-ジメチルグルタル酸、3,3-ジメチルグルタル酸、ジメチルマロン酸、2,2-ジメチルコハク酸、2,2-ジエチルコハク酸、3,6-エンドメチレン-1,2,3,6-テトラヒドロフタル酸(EMTA)、エタノールアミン、エチルアミン、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、

【0024】

蟻酸、フマル酸、グリセロリン酸、グリシナミド、グリシン、N-グリシルグリシン、馬尿酸、ヒスチジン、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(HEPES)、ヒドロキシルアミン、2-ヒドロキシエチルイミノ-トリス(ヒドロキシメチル)メタン(MONO-TRIS)、4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンプロパンスルホン酸(EPPS)、イミダゾール、イタコン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マロン酸、マンデル酸、メチルアミン、2-メチルプロパン-1,2,3-トリスカルボン酸、2-(N-モルホリノ)-エタンスルホン酸(MES)、2-(N-モルホリノ)-プロパンスルホン酸(MOPS)、硝酸、蔞酸、プロパン-1,2,3-トリカルボン酸(tricarballic)、ピロリン酸、リン酸、フタル酸

10

20

30

40

50

、1,4-ピペラジンビス(エタンスルホン酸)(PIPES)、プロピオン酸、ピリジン、サリチル酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、トリエチルアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(TRIS)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノエタンスルホン酸(TES)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチルグリシン(TRICINE)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-2-アミノプロパンスルホン酸(TAPS)、トリメチルアミン、その他。

【0025】

また、これらの化合物において、その化合物が酸である場合は、酸としての使用のほか、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、バリウム、亜鉛、モリブデン、マンガン、鉄、ニッケル、銅、錫、アルミニウム等の金属イオンとの複合された化合物としての使用も包含する。また、塩基である場合は、以下の任意の酸との複合された化合物としての使用も包含する。

10

【0026】

〔溶媒〕

電解質は、緩衝液を調製するため、任意の溶媒に溶解して用いられる。適当な溶媒としては、以下に列挙するものに限定されないが、例えば、水、重水あるいは水溶性の有機溶媒、例えば一価アルコール、二価アルコール、三価アルコールあるいは多価アルコール、第一級アルコール、第二級アルコール、第三級アルコールあるいは高級アルコール、アセトニトリル、アセトン、アセチルアセトン、ジメチルホルムアミド、エチレングリコール、N-エチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、1,4-ジオキサン、エチレングリ

20

【0027】

〔バリアー成分〕

本発明の電気泳動装置では、その泳動槽に含まれる電極と緩衝液に間にバリアー物質を介在させることを必須とする。バリアー物質は、電気泳動中に生成する酸性物質及びアルカリ性物質を中和し、また、酸化力や還元力の強い電気分解産物を除去し、電気泳動部位に支持電解質を安定して供給し、さらには電気分解反応で生み出されるガスによって生じる対流を防止することを特に主目的に用いられるものであり、通常、泳動槽内の電気泳動が行われる部位の陰極側と陽極側に、バリアー物質を含有するバリアー区画あるいはバリアー室の形態で用いられる。本発明の実施に用いられるバリアー物質は、上記のような作用効果を示し、かつ所望とする電気泳動特性等に悪影響を及ぼさない限り、特に限定されるものではない。適当なバリアー成分は、以下に列挙するものに限定されるわけではないが、グリセロール、重水などのような比重を高める溶液などの他に、濃縮緩衝液、亜硫酸やチオ硫酸などの還元物質、又は酸化物質あるいは鉄粉などの金属、キレート物質、その他である。これらのバリアー物質は、単独で使用してもよく、2種類以上を組み合わせ

30

【0028】

バリアー物質は、泳動槽内の電極近傍において、緩衝液から電極を隔離する形で用いられる。バリアー物質は、いろいろな状態で用いることができるが、好ましくは、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーの形で用いられる。いずれの状態のバリアーも、容易に調製することができる。溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーには、それに接する緩衝液が浸透していてもよく、さもなければ含まれていてもよい。これらのバリアーに含まれる緩衝液の濃度は、広い範囲で変化することができるが、電解質の濃度で規定して、使用時のモラー濃度によって表して、通常、1 nM ~ 1 M程度であり、好ましくは1 mM ~ 500 mM程度である。ただし、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーにおいて、その内部に電解質が完全に解離している必要はなく、条件によっては電解質に解離できる固体やミセルの状態、錯体が存在して

40

【0029】

50

また、陰極側のバリアーにおいて、それに含まれるものは、上記の陰イオン型電解質のいずれか1種類、あるいは時に2種類以上の陰イオン型電解質、あるいは解離して陰イオン型電解質を形成する組成であることが必要である。電極に吸着などをして電極周囲の電気抵抗を顕著に変える陽イオン型電解質でなければ、陰極側のバリアーに添加する電解質の種類が制限されることはない。一方、陽極側のバリアーにおいて、それに含まれるものは、上記の陽イオン型電解質のいずれか1種類、あるいは時に2種類以上の陽イオン型電解質、あるいは解離して陽イオン型電解質を形成する組成であることが必要である。電極に吸着などをして電極周囲の電気抵抗を顕著に変える陰イオン型電解質でなければ、陽極側のバリアーに添加する電解質の種類が制限されることはない。

【0030】

さらに、バリアーにおける伝導率の調整又は、水溶液からなるバリアー層とは別の電気伝導相を電極近傍の任意の位置に形成させるため、バリアー物質及び電解質に追加するかもしくは別に添加してイオン性溶液を用いることもできる。伝導率の調整に好適なイオン性液体は、例えば、イミダゾリウム塩誘導体、ピリジニウム塩誘導体、ホスホニウム塩、テトラアルキルアンモニウム塩などである。本発明の実施において、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアー中の電解質の平衡状態を移動させ、バリアーの部分が高すぎる伝導率にならないように解離状態を調整することが好ましい場合もある。そういう場合、本発明者は、バリアーにおける解離状態を調整するためには、さらに水溶性有機溶媒を含有させることが好ましいということを見出した。

【0031】

好適な水溶性有機溶媒として、例えば、一価アルコール、二価アルコール、三価アルコールあるいは多価アルコール、第一級アルコール、第二級アルコール、第三級アルコールあるいは高級アルコール、アセトニトリル、アセトン、アセチルアセトン、ジメチルホルムアミド、エチレングリコール、N-エチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、1,4-ジオキサン、エチレングリコール、N-メチルアミド、ピリジン、テトラヒドロフランなどを挙げることができる。これらの有機溶媒は、溶液の調製のため、単独で使用してもよく、2種類以上の溶媒を組み合わせ使用してもよい。得られるバリアー溶液において、バリアー物質の濃度は、特に限定されないが、使用時の濃度として、0.1~99重量%程度であり、好ましくは1~80重量%程度である。また、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーの調製において、それぞれのバリアーの形態に応じて、異なる目的のために追加の添加剤を含めることが望ましい。

【0032】

例えば、サッカロースなどの各種糖類、澱粉などの多糖類、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、デキストラン、Ficoll(登録商標)、Percoll(登録商標)などの高比重物質を上記バリアー成分の他にも溶液バリアーに添加するか、さもなければ粘性を高める物質を溶液バリアーに添加して糊状のバリアーを形成することによって、これらのバリアーと、バリアーに接触する電気泳動部位の緩衝液との混合を妨げる働きをもたせることが望ましい。得られる溶液状のバリアーあるいは糊状のバリアーにおいて、バリアー物質の濃度は、特に限定されないが、使用時の濃度として、2~99重量%程度であり、好ましくは5~80重量%程度である。また、ゲル状のバリアーを調製する場合には、例えば、以下に列挙するものに限定されないが、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、複合ゲル、蛋白質核酸酵素、43巻、15号、2191頁、1998年に記載されている弾性ゲル、Polymers for advanced Technologies vol.11, p.481(2000)に記載されているエラストマーゲルなどを使用することができる。これらのゲルに電解質を含めることができる。含める電解質の組成は、電気泳動部位の電解質の組成と同一であってもよく、異なってもよく、さもなければ他の組成をもった電解質で調整してもよい。

【0033】

さらに、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーにおける安定化状態やpH値の状態を目視で観察できるようにする添加成分、換言すると、その状態を目視で

10

20

30

40

50

示すことのできる添加剤を使用することもできる。かかる添加剤として、例えば、各種の pH 指示薬が効果的である。pH 指示薬を添加した場合、バリアー物質と電気泳動部位の緩衝液との混合の状況の一部が、pH 指示薬の色の移動で可視化できる利点がある。適当な pH 指示薬として、例えば、アリザリンレッド S、アリザリンイエロー R、ベンゾパーブリン 48、ブリリアントクレシルブルー、ブリリアントイエロー、プロモクレゾールグリーン、プロモクレゾールパープル、プロモフェノールブルー、プロモフェノールレッド、プロモチモールブルー、クロロフェノールレッド、クレイトンイエロー、コンゴレッド、クレゾールレッド、o-クレゾールフタレイン、m-クレゾールパープル、クルクミン、2,4-ジニトロフェノール、2,6-ジニトロフェノール、エリオクロームブラック、エリスロシン、エチルオレンジ、インジゴカーミン、インジゴスルホン酸、ラクモイド、マラカイトグリーン、メタニルイエロー、メチルオレンジ、メチルレッド、メチルバイオレット、メチルイエロー、ナフトールベンゼン、ニュートラルレッド、ニトラミン、m-ニトロフェノール、p-ニトロフェノール、フェノールフタレイン、フェノールレッド、キナルジンレッド、レサズリン、チアゾールイエロー G、チモールブルー、チモルフタレイン、1,3,5-トリニトロベンゼン、2,4,6-トリニトロトルエン、トロペオリンなどを挙げることができる。

10

【0034】

〔バリアー構造体〕

本発明の電気泳動装置において、上記したバリアー物質は、好ましくは、バリアー物質をその内部に組み込んだバリアー構造体の形で用いられる。バリアー構造体は、好ましくは、本発明の電気泳動用バリアー物質と、そのバリアー物質を電極を構成する陽極及び陰極のいずれか一方と接触させた状態で保持したバリアー室と、そのバリアー室を規定する少なくとも 1 個の隔壁とを含むことを特徴とする。なお、バリアー室は、通常、隔壁を泳動槽の側壁及び底壁と組み合わせることによって形成するのが有利である。バリアー構造体は、電気分解反応で生み出されるガスによって生じる対流が電気泳動が行われる部位に達することを防止し、同時に本発明のバリアー物質を安定して存在させることができる。バリアー構造体の典型的な例は、それを含む泳動槽の形で、第 1 図、第 2 図及び第 3 図に示した通りである。

20

【0035】

第 1 図、第 2 図及び第 3 図に示した泳動槽は、それぞれ、異なる電気泳動法に適用することができる。例えば第 1 図の泳動槽は、例えばサブマリン型電気泳動法、パルスフィールド電気泳動法などに利用できる。また、第 2 図の泳動槽は、DNA シークエンサーや、蛋白質の分離、分析に汎用されている縦型電気泳動法などに利用できる。さらに、第 3 図の泳動槽は、円柱型やキャピラリー型の電気泳動法などに利用できる。以下、それぞれの泳動槽について、さらに詳しく説明する。第 1 図の泳動槽は、サブマリン型電気泳動法、パルスフィールド電気泳動法に利用できる構造であり、また、この構造を多少変形し、ゲルなどの分離媒体をガラス板で上下を挟み、その上下には伝導性のある緩衝液が存在しない構造にすると、横型電気泳動法に適用可能なものになる。

30

【0036】

第 1 図の泳動槽 10 は、サブマリン型の電気泳動装置の泳動槽の断面図である。この泳動槽 10 の場合、側壁と底壁が接する部位に、それぞれ、白金線からなる陽極 14 (1) 及び白金線からなる陰極 14 (2) が配置されている。また、陽極 14 (1) と陰極 14 (2) は出力電源 19 が接続されている。泳動槽 10 の内部には、レベル 1 L まで緩衝液 1 が収容されている。また、泳動槽 10 の内部では、梁構造 (ビーム) をもった第 1 の隔壁 11 と、敷居構造 (シル) をもった第 2 の隔壁 13 と、泳動槽 10 の側壁及び底壁とでバリアー室が形成されている。ここで、泳動槽 10 の上面から下向きに伸びた第 1 の隔壁 11 は、泳動槽 10 の下部で開口し、また、泳動槽 10 の下面から上向きに伸びた第 2 の隔壁 13 は、緩衝液 1 の途中で終端している。また、形成されたバリアー室では、第 2 の隔壁 13 の上端まで、すなわち、レベル 1 2 L まで、陽極 14 (1) 及び陰極 14 (2) をそれぞれ取り囲むように溶液状または糊状のバリアー物質 12 が保持されている。

40

50

【 0 0 3 7 】

泳動槽 1 0 のほぼ中央の部分には、試料を載置するためのプラットフォーム 1 6 が設けられている。また、プラットフォーム 1 6 の上に試料である、ゲルなどの分離媒体 1 5 が載置されている。なお、図示の例の場合、分離媒体 1 5 は横に長い矩形の形をとっているが、その他の形態であってもよい。また、溶液または糊状のバリアー物質の組成は、陽極側及び陰極側で同一であってもよく、異なってもよい。同様に、泳動槽 1 0 のその他の構成要素は、左右対称であってもよく、左右非対称であってもよい。第 2 図は、縦型電気泳動装置の泳動槽の断面図である。この泳動槽は、図示される通り、それぞれ陽極 2 4 (1) 及び陰極 2 4 (2) が取付けられた 2 個の泳動槽 2 0 (1) 及び 2 0 (2) を備えている。陽極 2 4 (1) 及び陰極 2 4 (2) は、どちらも白金線から形成されており、かつ出力電源 2 9 が接続されている。泳動槽 2 0 (1) 及び 2 0 (2) には、それぞれ緩衝液 1 が収容されている。

10

【 0 0 3 8 】

また、2つの泳動槽 2 0 (1) 及び 2 0 (2) の内部では、それぞれ、梁構造 (ビーム) をもった第 1 の隔壁 2 1 と、敷居構造 (シル) をもった第 2 の隔壁 2 3 と、泳動槽 2 0 の側壁及び底壁とでバリアー室が形成されている。それぞれの泳動槽では、第 1 図の泳動槽 1 0 の場合と同様に、第 1 の隔壁 2 1 は泳動槽 1 0 の下部で開口し、また、第 2 の隔壁 2 3 は、緩衝液 1 の途中で終端している。また、形成されたバリアー室では、レベル 2 2 L まで、陽極 2 4 (1) 又は陰極 2 4 (2) を取り囲むように溶液状または糊状のバリアー物質 2 2 が保持されている。さらに、図示の泳動槽 2 0 (1) 及び 2 0 (2) では、それぞれ、離間した第 1 の隔壁 2 1 と第 2 の隔壁 2 3 によって形成された空間を塞ぐようにパッキング部材 2 6 が嵌め込まれている。パッキング部材 2 6 は、溶液バリアー、糊状のバリアーあるいはゲル状のバリアーと、電気泳動部位の緩衝液との不必要な混合を防止するのに有効である。パッキング部材 2 6 としては、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、複合ゲル、弾性化ゲル、エラストマーゲルなどを使用できる。また、ろ紙やスポンジ類などの各種の多孔質の材料も、それらの多孔質材料の内部や表面に電極で発生するガスが付着する場合は少ないときに限り、パッキング部材 2 6 として使用することができる。

20

【 0 0 3 9 】

上下に配置された泳動槽 2 0 (1) 及び 2 0 (2) は、ガラス板 (図示せず) を組み合わせることによって形成された導管によって連通されており、また、その導管の内部には、ゲルなどの分離媒体 2 5 が充填されている。第 3 図は、円柱型電気泳動装置の泳動槽の断面図である。この泳動槽は、図示される通り、ゲルなどの分離媒体 3 5 を充填する連通部材をガラス管 (キャピラリー管などでもよい) から構成するとともに、その取付け位置を変更した違いを除いて、第 2 図に示した泳動槽と同様な構成を有している。重複を避けるために簡単に説明すると、第 3 図の泳動槽は、それぞれ陽極 3 4 (1) 及び陰極 3 4 (2) が取付けられた 2 個の泳動槽 3 0 (1) 及び 3 0 (2) を備えている。また、泳動槽 3 0 (1) 及び 3 0 (2) には、それぞれ緩衝液 1 が収容されている。

30

【 0 0 4 0 】

また、2つの泳動槽 3 0 (1) 及び 3 0 (2) の内部では、それぞれ、第 1 の隔壁 3 1 と、第 2 の隔壁 3 3 と、泳動槽 3 0 の側壁及び底壁とでバリアー室が形成されている。バリアー室では、陽極 3 4 (1) 又は陰極 3 4 (2) を取り囲むように溶液状または糊状のバリアー物質 3 2 が保持されている。また、第 1 の隔壁 3 1 と第 2 の隔壁 3 3 によって形成された空間を塞ぐようにパッキング部材 3 6 が嵌め込まれている。以上、第 1 図 ~ 第 3 図を参照して 3 種類の泳動槽について説明したが、図示の構成要素の組み合わせは、チップ型電気泳動法、分取用電気泳動法、電気クロマトグラフィー法、等電点電気泳動法にも有利に適用できる。本発明はまた、電気泳動法を使用した試料分析方法にある。本発明の試料分析方法は、上記したような構成を有する本発明の電気泳動装置を使用することを特徴とする。分析方法の対象となる試料 (被分析物、被検試料などともいう) は、電気泳動法によってその分離、分析、同定などが可能となる限り、特に限定されるものではない。

40

50

い。適当な試料として、例えば、生体試料、例えばDNA、RNA、蛋白質等の生体分子を挙げることができる。また、例えばDNAと蛋白質の複合体、人工及び天然の色素、粉体の懸濁サンプル、カーボンナノチューブなども試料の一例として挙げることができる。

【0041】

本発明の試料分析方法の具体的な例は、以下に列挙するものに限定されないが、DNA（プラスミドやPCR産物）のサイズ特定や分取、DNAシーケンシング、蛋白質の分離及び分析や分取などを包含する。これらの分析方法は、常法に従って行うことができるので、分析方法の詳細は、技術書、特許文献などの詳細な説明を参照されたい。以上に詳細に説明し、かつ下記の実施例において具体的に説明した事項から容易に理解できるように、本発明によれば、電気泳動が行われる部位の陰極側と陽極側に、バリアー物質を含有するバリアー室を備えたバリアー構造体を配置し、そこに緩衝作用のある溶液あるいは電気泳動の支持電解質の濃縮液を安定して存在させることで、電気泳動中に生成する酸性及びアルカリ性物質を中和し、または、酸化力や還元力の強い電気分解産物を除去し、さらには電気泳動部位に支持電解質を安定して供給する仕組みを提供できる。同時に、バリアー物質が安定して同一部位にとどまるように泳動槽の構成及び形状を工夫したことで、電気分解反応で生み出されるガスによって生じる緩衝液の対流も同時に防止できる。

【実施例】

【0042】

以下、本発明をその実施例及び比較例を参照して説明するが、本発明は下記の実施例によって限定されるものでない。下記の例では、先に第1図を参照して説明した電気泳動装置と同様な構成を有する、第4A図及び第4B図あるいは第5図に模式的に示すサブマリン型電気泳動装置を、必要に応じて変更を加えた後に使用した。すなわち、図示の電気泳動装置は、基本的に、次のような構成を有している。第4A図及び第4B図の電気泳動装置は、泳動槽40を備え、また、泳動槽40の底部の両端には、それぞれ白金線からなる陽極44(1)及び陰極44(2)が取り付けられている。陽極44(1)及び陰極44(2)は、泳動槽40の底から多少高くなった電極設置部48の上に、縦方向に平行に対向するように配置されている。また、陽極44(1)と陰極44(2)は出力電源(図示せず)が接続されている。泳動槽40の内部には、本発明のバリアー室を形成するため、梁(ビーム)構造をもった第1の隔壁41と、敷居(シル)構造をもった第2の隔壁43とが取り付けられている。泳動槽10の側壁及び底壁とでバリアー室が形成されている。バリアー室に、バリアー物質(図示せず)が添加される。ここで、泳動槽10の上面から下向きに伸びた第1の隔壁11は、泳動槽10の下部で開口し、また、泳動槽40のほぼ中央の部分には、試料であるゲル状分離媒体45を載置するためのプラットホーム46が設けられている。

【0043】

第5図の電気泳動装置も第4A図及び第4B図の装置と同様な構成を有するが、陰極側に梁(ビーム)がない構造である。図示の電気泳動装置を使用して、常温で、かつ一定電圧(例1~例5:100ボルト;例6~例7:42ボルト)の通電条件によって実験を実施した。例1~例5で使用したゲル45は、2%アガロースであり、ゲルの厚さは6mm、長さは6cmであった。図示されるように、プラットホーム46の上にゲル45を静置した。例6及び例7では、泳動用の緩衝液を満たした直径1cm×長さ1cmの透析チューブ内に細片化したポリアクリルアミドゲルが約0.2g入ったゲル小片を懸濁した状態の媒体55をプラットホーム56の上に静置した。電気泳動のための緩衝液は、その液面がプラットホーム46の上、1.1cmのところまで達する容量まで注加し、固定した。実験中、電気泳動装置が水平に置かれていることを水準器によって確認した。

【0044】

例1~例5では、電気泳動実験の開始前及び開始後の予め決められた時間に、プラットホーム46の両端から陽極44(1)及び陰極44(2)側にそれぞれ5mm離れ、かつ液面からの深さも5mmのところから、容量0.5mLの緩衝液(供試溶液)を分取した。例6及び例7では、プラットホーム56の中央で緩衝液1の表面より5mmの深度、

又は陽極側の第2の隔壁（シル）53の直上の液面より5mmの深度、ないしは例1～例5の場合と同一の陽極側及び陰極側の位置から、容量0.5mLの緩衝液を分取した。それぞれの位置で分取した供試溶液を25の同一条件で保温したうえで、そのpH値と伝導率（mS/cm）を測定した。

【0045】

例1（比較例） 本例では、比較のため、バリアー室及びバリアー物質の使用を省略して電気泳動実験を実施した。すなわち、本例で使用した電気泳動装置は、第4A図及び第4B図に示した装置から、隔壁41及び43を取り外したものである。電気泳動装置の寸法は、次の通りであった。泳動槽40の長さa：136.6mm、長さb：152.8mm、第1の隔壁（梁構造）41の高さc：45mm、対向する第1の隔壁41間の距離d：127mm、第1の隔壁41の、泳動槽40の側壁からの距離e：12.6mm、プラットホーム46の高さg：24mm及び幅f：60mm。本例で使用した緩衝液は、通称「1xTAE」であり、その組成は、トリス-アセテート：40mM及びEDTA：1mMであった。0～60分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第1表に記載する実験結果が得られた。本例の場合、電気泳動に要する時間の増加とともに、陰極側と、陽極側でのpHと伝導率の差が顕著になる様子が観察された。

【表1】

第1表

時間(分)	陰極側		陽極側	
	pH	伝導率(mS/cm)	pH	伝導率(mS/cm)
0	8.0	1.40	8.0	1.40
10	8.0	1.35	7.9	1.40
20	8.0	1.31	7.7	1.56
30	8.2	1.21	7.5	1.67
60	8.2	1.22	7.5	1.72

【0046】

例2 本例では、バリアー室及びバリアー物質を使用して電気泳動実験を実施した。すなわち、本例で使用した電気泳動装置は、第4A図及び第4B図に示した装置そのものであり、サイズ等に変更はない。本例で使用した緩衝液は、例1で使用したものに同じであり、その組成は、トリス-アセテート：40mM及びEDTA：1mMであった。バリアー室に入れたバリアー物質は、溶液の形で使用し、その組成は、トリス-アセテート：932mM、EDTA：23.3mM及びグリセロール：53%（v/v）であった。陽極側及び陰極側のバリアー室に、この溶液バリアーをそれぞれ8mLずつ注加した。0～180分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第2表に記載する実験結果が得られた。本例の場合、例1に比べると、より長く1時間までは安定して、陰極側と陽極側でのpHと伝導率の差が少ないことが観察された。

【表2】

第2表

時間(分)	陰極側		陽極側	
	pH	伝導率(mS/cm)	pH	伝導率(mS/cm)
0	8.0	1.40	8.0	1.40
10	8.0	1.405	8.0	1.40
20	8.0	1.40	8.0	1.41
30	8.1	1.41	8.0	1.41
60	8.2	1.37	8.0	1.50
90	8.2	1.34	7.7	1.66
120	8.3	1.30	7.6	1.81
150	8.5	0.69	7.7	1.88
180	8.7	0.65	7.6	1.88

10

20

【0047】

例3 前記例2に記載の手法を繰り返したが、本例の場合、バリアー物質の組成を下記のように変更した。本例で使用した緩衝液は、例1で使用したものに同じであり、その組成は、トリス - アセテート：40 mM及びEDTA：1 mMであった。バリアー室に入れたバリアー物質は、溶液の形で使用し、その組成は、トリス - アセテート：770 mM、EDTA：19.2 mM、グリセロール：38.5% (v/v)及び1,3 - ブタンジオール：14.4% (v/v)であった。陽極側及び陰極側のバリアー室に、この溶液バリアーをそれぞれ8 mLずつ注加した。0 ~ 180分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第3表に記載する実験結果が得られた。本例の場合、例1や例2に比べると、さらに長く2時間までは安定して陰極側と陽極側でのpHと伝導率の差が少ないことが観察された。

30

【表3】

第3表

時間(分)	陰極側		陽極側	
	pH	伝導率(mS/cm)	pH	伝導率(mS/cm)
0	8.0	1.40	8.0	1.40
10	8.0	1.40	8.0	1.40
20	8.0	1.40	8.0	1.40
30	8.0	1.40	8.0	1.42
60	8.0	1.36	8.0	1.37
90	8.0	1.36	8.1	1.35
120	8.1	1.23	8.1	1.24
150	8.4	1.04	8.2	1.19
180	8.4	0.95	8.2	1.18

10

20

【0048】

例4(比較例) 本例では、比較のため、バリアー室及びバリアー物質の使用を省略して電気泳動実験を実施した。すなわち、本例で使用した電気泳動装置は、第4A図及び第4B図に示した装置から、隔壁41及び43を取り外したものである。電気泳動装置の寸法は、例1に記載の通りである。本例で使用した緩衝液は、通称「0.5×TBE」であり、その組成は、トリス・ボレート：44.5mM及びEDTA：1mMであった。0～180分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第4表に記載する実験結果が得られた。本例の場合、電気泳動に要する時間の増加とともに、陰極側と陽極側での、特にpHの差が顕著になる様子が観察された。

【表4】

30

第4表

時間(分)	陰極側		陽極側	
	pH	伝導率(mS/cm)	pH	伝導率(mS/cm)
0	8.0	0.50	8.0	0.50
30	8.1	0.54	8.0	0.58
60	8.2	0.56	7.9	0.61
90	8.2	0.55	7.8	0.63
120	8.2	0.56	7.8	0.64
150	8.3	0.57	7.7	0.63
180	8.3	0.61	7.6	0.65

40

【0049】

50

例 5

本例では、バリアー室及びバリアー物質を使用して電気泳動実験を実施した。すなわち、本例で使用した電気泳動装置は、第 4 A 図及び第 4 B 図に示した装置そのものであり、サイズ等に変更はない。本例で使用した緩衝液は、例 4 で使用したものに同じであり、その組成は、トリス - ボレート：44.5 mM 及び EDTA：1 mM であった。バリアー室に入れたバリアー物質は、溶液の形で使用し、その組成は、トリス - ボレート：178 mM、EDTA：4 mM、グリセロール：40% (v/v) 及び 1,3 - ブタンジオール：15% (v/v) であった。陽極側及び陰極側のバリアー室に、この溶液バリアーをそれぞれ 8 mL ずつ注加した。0 ~ 180 分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第 5 表に記載する実験結果が得られた。本例の場合、およそ 3 時間まで安定して陰極側と陽極側での伝導率の差が少ないことが観察された。pH にいたっては、変化が全く観察されなかった。

10

【表 5】

第 5 表

時間(分)	陰極側		陽極側	
	pH	伝導率(mS/cm)	pH	伝導率(mS/cm)
0	8.0	0.50	8.0	0.50
30	8.0	0.47	8.0	0.50
60	8.0	0.48	8.0	0.48
90	8.0	0.45	8.0	0.49
120	8.0	0.42	8.0	0.44
150	8.0	0.42	8.0	0.44
180	8.0	0.40	8.0	0.43

20

30

【0050】

例 6 (比較例)

本例では、比較のため、バリアー物質の使用を省略して、電気泳動の一種である電気溶出実験を実施した。すなわち、本例は、第 5 図において、陽極にはなんらバリアー物質を添加しない状態での結果である。電気泳動装置の寸法は、例 1 に記載の通りである。本例で使用した緩衝液は、トリス - 塩酸であり、その組成は、トリス：375 mM であり、pH が 8.9 になるように塩酸で滴定した。0 から 60 分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第 6 表に記載する結果が得られた。本例の場合、電気溶出に要する時間の増加とともに、プラットホームの中央や陽極側の隔壁(シル)の上部において、酸化力の強い次亜塩素酸の増加が観察された。

40

【表 6】

第6表

時間 (分)	サンプリングした部位					
	プラットホーム 中央 HClO濃度 (ppm)	陽極シル の上部 HClO濃度 (ppm)	陰極側		陽極側	
			pH	伝導率 (mS/cm)	pH	伝導率 (mS/cm)
0	0	0	8.8	7.4	8.8	7.4
20	微量	20	8.9	7.0	8.8	8.0
40	5	40	8.9	6.6	8.8	8.0
60	7.5	45	9.0	6.3	8.7	8.0

【0051】

例7

本例では、バリアー物質を使用して、電気泳動の一種である電気溶出実験を実施した。すなわち、本例は、第5図において、陽極にバリアー物質を添加した状態での結果である。電気泳動装置の寸法は、例1に記載の通りである。本例で使用した緩衝液は、トリス-塩酸であり、その組成は、トリス：375mMであり、pHが8.9になるように塩酸で滴定した。陽極のバリアー室に、次亜塩素酸を還元できる亜硫酸1.25% (w/w) 含んだ、75% (w/w) グリセロール溶液（蒸留水にて作成）を、8ml注加した。0から60分間にわたって実験を繰り返したところ、下記の第7表に記載する結果が得られた。本例の場合、一時間まで、プラットホームの中央や陽極側の隔壁（シル）の上部において、酸化力の強い次亜塩素酸が全く観察されなかった。また、亜硫酸のバリアー室からの漏れも、電気溶出がされるべきプラットホームにては一切観察されなかった。

【表7】

第7表

時間 (分)	サンプリングした部位					
	プラットホーム 中央 HClO濃度 (ppm)	陽極シル の上部 HClO濃度 (ppm)	陰極側		陽極側	
			pH	伝導率 (mS/cm)	pH	伝導率 (mS/cm)
0	0	0	8.8	7.4	8.9	7.4
20	0	0	8.9	7.0	8.9	7.6
40	0	0	8.9	6.6	8.9	7.3
60	0	0	9.1	6.0	9.0	6.3

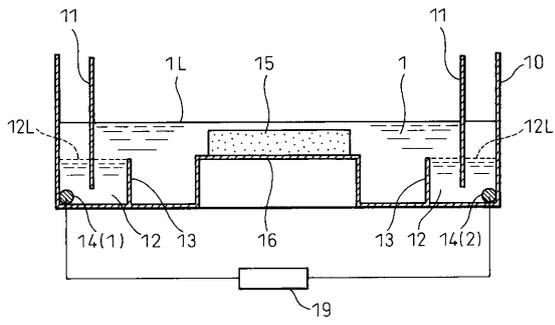
【産業上の利用可能性】

【0052】

電位泳動法は、電位勾配を形成し、その駆動力により観察対象を分離、分析する手法である。したがって、本発明により保持される電気泳動部位での安定した伝導率は、分析結果の安定性と再現性につながる。また、本発明により保持される電気泳動部位での安定したpH環境ないしは酸化力や還元力の強い電気分解産物を除去することにより、観察対象の荷電状態を一定にでき、観察対象の安定性も保持できる場合もあるため、この場合も分析結果の安定性と再現性につながる。このような注目すべき作用効果があるので、本発明は、各種の試料の分離、分析から分取に至るまでに広く、かつ有利に使用することができる。

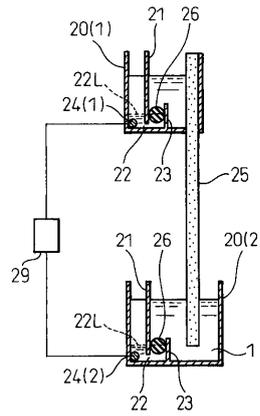
【 図 1 】

Fig.1



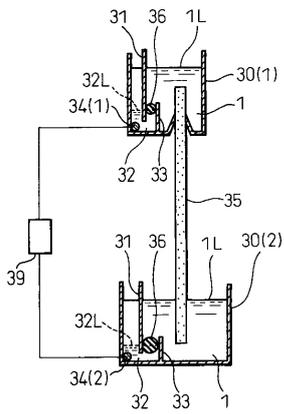
【 図 2 】

Fig.2



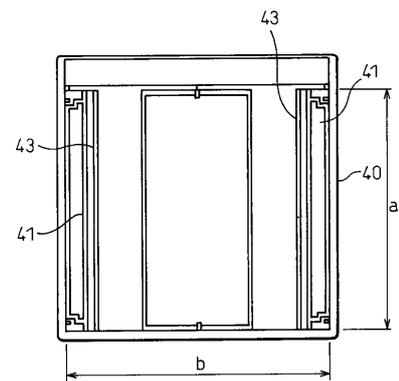
【 図 3 】

Fig.3



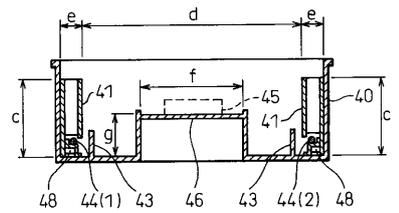
【 図 4 A 】

Fig.4A



【 図 4 B 】

Fig.4B



【 図 5 】

Fig.5

