

毛 細 管



随 筆

高 木 俊 夫*

Capillary

Key Words : Capillary ; Electrophoresis

は じ め に

蛋白質研究所を定年で辞めてから、閑中に時々の忙を作るために、ある企業で科学計測機器の開発・応用の相談に与っている。そこでの主要課題の一つが、キャピラリー電気泳動の開発・応用である。片仮名表記が“カッコ好い”ので、“キャピラリー”の名称が定着したが、一昔前までは、それを“毛細管”と呼んでいた。大学に入って化学の実験でガラス細工ができるようになった時に、まず毛細管を作って赤インクが上昇するのを見て楽しんだ記憶がある。この“スッと”吸い込んで、安定に保持する機能、これは毛細管が示す特異な現象である。重力から逃れられない地球上において、液体を納めた容器、さらには底に孔が空いていても、それを逆さにして液が漏れないということは、普通は経験できないことである。

電気泳動は溶液中の荷電した溶質が、そこに電圧を印加した場合に、反対符号の電極に向かって、移動して行く現象である。伝導性のある液体の中で、荷電物質を移動させる最も容易な方式であるので、分析や分離に広く活用されている。特に、生化学や分子生物学といった研究分野は、電気泳動なしでは存在し得ない。電気泳動の方式は、大別すると二つある。高速道路を上空から監視するように、溶液自体の中の溶質を観察して、あれの速度は、これの速度はと、決定する方法がある。顕微鏡下では、それが可能であろうとは、誰も考えるであろう。肉眼

で見えない場合でも、散乱光のドップラー効果に着目すると、タンパク質ぐらい迄は、このアプローチが可能である。でも、この様な方式では、速度は判定できても、異なる速度のものを分離して捉えることはできない。多くの研究者は、“速度”も判るに越したことはないが、“分離”を電気泳動に期待している。彼らが期待するのは、いわば“マラソン方式”である。最初は速度の異なる走者をまとめておいて、一斉にスタートさせて、違う速度で走るものを相互に分離させたいのである。この方式を“ゾーン電気泳動”と呼んでいる。この場合、分離が達成されるには、〈- 溶媒 - 溶液 - 溶媒 - 溶液 -〉と云った具合の配列が生ずることになる。高速道路タイプの測定は、これに対して“自由溶液電気泳動”とでも呼んだらよいのであるが、少数派であって、まともに命名もされていないのが実状である。両方式、いずれにおいても対流が起これば、観測は阻害されるが、場所によって密度の変化がある前者、ゾーン電気泳動においては、明らかに対流が生じやすい。

ゲル電気泳動

狭い隙間を満たしている、つまり“毛細管状態”にある液体においては、対流が発生しがたいことは、随分と昔から日常的な経験を通じて知られていたようである。この様な場では、壁の影響下で拘束されている液体が、粘性を介して中心部の液体までもを、錨のように移動を抑制する。今世紀の始め頃には、既にシリカや寒天のゲルが電気泳動の媒体として試用されていた。しかし、分離しようとしたタンパク質などが、ゲルを形成している繊維や粒子に吸着する、あるいは上記のマトリックス表面の荷電に起因する電気浸透流が発生して分離能力が低下するといった難点があって、実用の段階には至らなかった。

1960年代になって、ポリアクリルアミドあるいはアガロースゲルといった優れた素材が導入されて、



*Toshio TAKAGI
1933年10月27日生
1956年大阪大学理学部化学科修了
理学博士、蛋白質物理化学；生体
高分子分離科学
TEL 0726-26-3843(自宅)
E-Mail BYH7641@nifty.ne.jp

ようやく今日のゲル電気泳動全盛時代を迎えることができた。それに先立つ30年間ほど、チセリウスの電気泳動装置と呼ばれるものが、愛用された期間があった。そこでは、高分子の水溶液を、両端を上に向けた“コ”の字型のセルの底部に置き、その上に重層した溶媒との境目が電流を通した場合に、どのように移動するかを観察して、高分子の電気泳動移動度を決定したり、混合物の分析を行っていた。この方式は、密度の低い溶媒を、密度がより高い溶液の上に重層することによって、対流の発生を抑制していた。分離が仮に起こると、この前提が成立しない、つまり分離を目的とすることは、原理的に無理であった。それでも、この方法が少なくとも一時期は広く利用されたということは、当時においては、ゲル電気泳動が如何に低い評価を与えられていたかの反映であった。そして、それが捨て去られたのは、新たに出現したゲルが電気泳動の媒体として、非常に優れていたからである。

ゲル電気泳動は、生化学・分子生物学の進展を力強く支えることによって、極めて安定な地位を確立した。これらの分野の若い研究者にとっては、電気泳動と言えばゲル電気泳動であるといっても、決して過言ではない状況が続いている。しかし、ここで見過ごしてはならないのは、ゲル電気泳動はタンパク質そして核酸という生体高分子群に対して有効であったこと、そしてそれらを相手としていけば、上記の世界では十分に勝負できたことである。対象となった生体高分子は、それらの高分子性の故に拡散が速やかでないし、電気泳動終了後に吸着現象を利用して固定化することが容易である。このために、折角に達成された分離が拡散によって劣化するに先立って、状況を固定化することができた。

金属イオンを始めとする低モル質量のイオンについては、上記のような対応はできない。したがって、ゲル電気泳動によって、低モル質量イオンの分離は可能であったが、検出の困難性の故に、それらは対象外とされた。例外は、核分裂産物の金属イオンであった。それらは、濾(ろ)紙電気泳動の時代から、放射能による速やかなフィルムの感光を利用して、検出が行われていた。ゲル電気泳動の時代においても、その分野は例外であったと推定される。生化学・分子生物学において、比較的に低モル質量のイオン種がゲル電気泳動の対象となったのは、核酸の塩基配列決定においてであったろう。そこでは、オリゴ

ヌクレオチドにはじまって、幅広いモル質量のフラグメントが分析の対象となった。蛍光に着目したオンライン検出という、クロマトグラフィーにおいては、永らく日常のこととなっているものが、この局面で初めてゲル電気泳動の世界で活用されるようになった。

円筒型毛細管：キャピラリー電気泳動

毛細管の利用によって、対流の発生を抑止することは、上述のように早期から行われていた。しかし、それは濾紙あるいはゲルのように複雑に入り組んだ毛細管群の利用であった。真っ直ぐの円筒状の毛細管が勝っていることは明かであった。ただし、容量の減少ということには目を閉ざさざるを得ない。この中空円筒を用いることには、物理学者が早くから注目していたようである。内径がミリメートルのオーダーの場合には、円筒を軸の廻りに回転させて、対流の発生を防ぐという、涙ぐましい努力が一部で行われていた。内径を狭くすれば、より好ましいことは判っていたが、そのようなものを作ることは、少なくともある時点までは、望めないことであった。この問題は光ファイバー製造技術の進展によって解決された。また、クロマトグラフィーの進歩は内径10 μm オーダーの円筒内の吸光度測定を可能にした。

キャピラリー電気泳動の最大の利点は、何といたっても〈自由溶液中〉での電気泳動測定を可能にしたことである。従来、ゲル濃度ゼロへの外挿によって自由溶液中の電気泳動移動度が求められていたが、隔靴搔痒の感があったことは否めない。ともかく、〈自由溶液中〉の挙動を知った上で、その他の条件下の検討に進むことができるということは、極めて重要なことである。さらに重要なことは、オンライン検出が容易であるので、小は低モル質量のイオンから、大は細胞やラテックスまで、幅広い対象に電気泳動の門戸が開かれたことである。

内径が狭くなると比表面積の増大のために、吸着それから電気浸透流の問題が浮上してくるが、解消あるいは積極的活用の道が考えられている。現在のキャピラリー電気泳動は、このような幾つかの技術上のブレークスルーによって支えられて、展開が可能となった実験技術である。さらに付け加えるべきは、内径数10 μm 以下のキャピラリーからは、最初に述べたように、水溶液が抜け落ちがたい。キャピラリー電気泳動は、この単純な事実大きく依存し

ている。つまり、このことの故に、キャピラリーの先端を、ある液から他の液に、内部の液体の状態を攪乱することなく移動させることができるのである。これは、電気泳動の在り方に革命的な変化をもたらした。つまり、コンピュータ制御による高度の自動化の達成であった。キャピラリー内部は詰め替えの効く空間である。単一の管を何度も用いて電気泳動が実施できる。しかし、測定の実現性は、開始時における管の内壁の状況が常に更新されることによって、保証される。つまり、再現性は出発時の状況を同一にし、同一状況下で電気泳動を行う条件を設定できなければならない。それは自動化を強力に求める動機となった。

ブラックボックス化

ゲル電気泳動は、生物化学と分子生物学の分野で実に様々な思いつき・工夫を生み出して、多彩な発展を遂げてきた。そこでは、いわゆる分析化学者の寄与は少なかった。そこでの進歩は、ゲル電気泳動が、実験をする人の身近なものとして存在したことに負うところが大きであった。キャピラリー電気泳動も、最初のうちは手作りの実に単純な装置から始まったが、自動化への適合性と必要性から、極めて急速に自動化、そして高級化が進行した。そこでは、多くの分析化学者からの新規な方法の提示があった。

しかし、ゲル電気泳動の場合のような、草の根からの提案といった方法論の展開は見出しがたい。これは、キャピラリー電気泳動にとって不幸なことであると思える。生化学・分子生物学へのキャピラリー

電気泳動の展開は決して順調とは云えない。ゲル電気泳動に匹敵する魅力に欠けているとすれば、“身近さ”の欠如ということに尽きるのではなかろうか。キャピラリー電気泳動が、抱える問題点の最大のもののように思える。キャピラリー電気泳動を、身近なものとして自らサイエンスするという姿勢が必要と考えられる。

最近、キャピラリー電気泳動を、シリコンあるいはプラスチックの小さな基盤に形成した毛細管中で行おうとする試みが盛んに行われている。それらは、チップ電気泳動と呼ばれている。対象とする試料が限定されていて、しかも使用頻度が高い分野では、この種の特殊なキャピラリー電気泳動の利用が、定着して行くと思われる。そこでは、ますますブラックボックス化が進行するであろう。“身近さ”の取り戻しは、容易なことではない。

おわりに

キャピラリー電気泳動も、そう遠くない将来には生化学・分子生物学の分野に、ゲル電気泳動を相補する手法として定着して行くであろう。既に、遺伝子の塩基配列決定の高速化を目指して採用され始めている。毛細管の活用を軸に展開してきた電気泳動法を、技術史的な観点から眺めるのも面白そうであると、私は考えている。電気泳動の歴史についての私のこれまでの考察は、とりまとめて、小冊子として刊行してある：高木俊夫、「電気泳動の歴史」、アトー(株)、1997(出版物の正規のルートでは流通していないが、発行社に連絡されたら入手できる。)

