

### 電気泳動の原理

$F_c$  (静電力) =  $qE$      $E$  = 電場の強さ (電位)

$q$  = 電荷

$F_f$  (摩擦力) =  $vf$      $v$  = イオンの速度

$f$  = 摩擦係数

一定の電場では2つの力が釣り合うことになる。

$qE = vf$      $\mu$  (移動度) =  $\frac{v}{E} = \frac{q}{f}$

$v/E$  は電場の強さに対するイオンの速度を表す。理論的な状態での話、蛋白質溶液の現実とは離れている。

### 電気泳動の実際 I

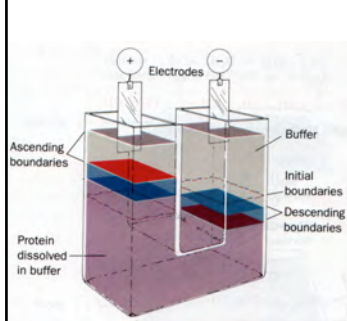
♥**界面移動法**: 管に蛋白質溶液を含む緩衝液を入れ、直流電圧をかけて分離する。

⇨キャピラリー電気泳動法として発展

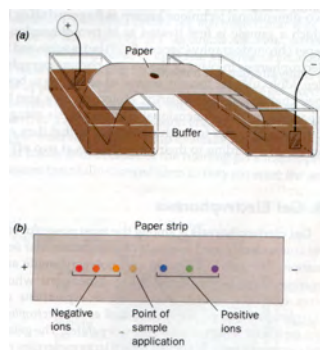
◆**ゾーン電気泳動法**: 濾紙、ゲルなどの支持体の中で試料を移動する。

- 1) 濾紙電気泳動法
- 2) ゲル電気泳動法: ポリアクリルアミド・アガロース電気泳動
- 3) SDS-ポリアクリルアミド電気泳動
- 4) 等電点電気泳動法

### 電気泳動の実際 II

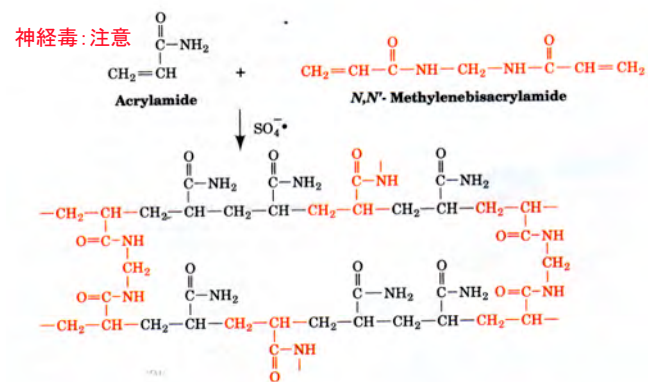


界面移動法

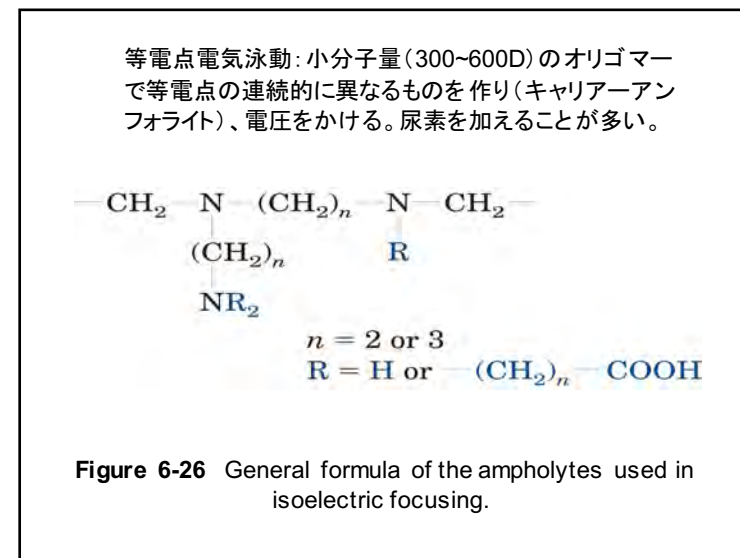
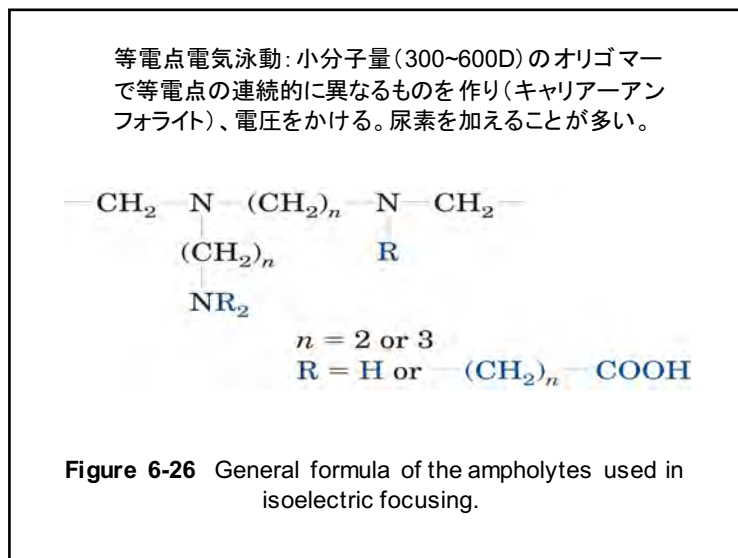
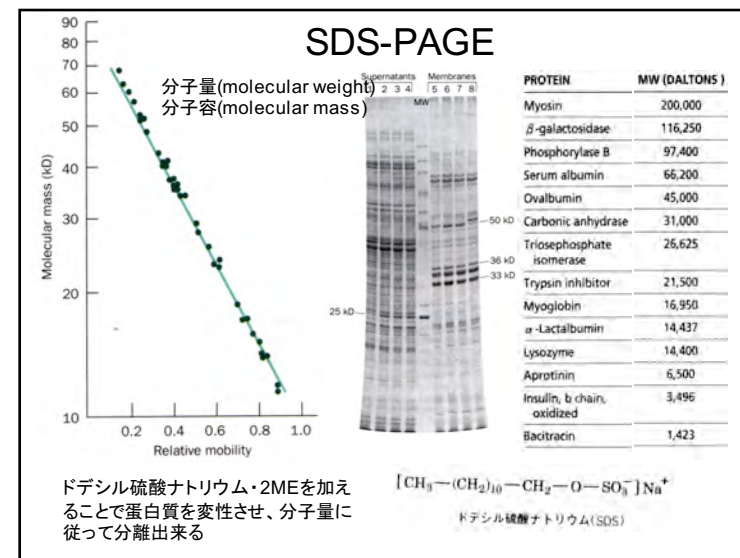
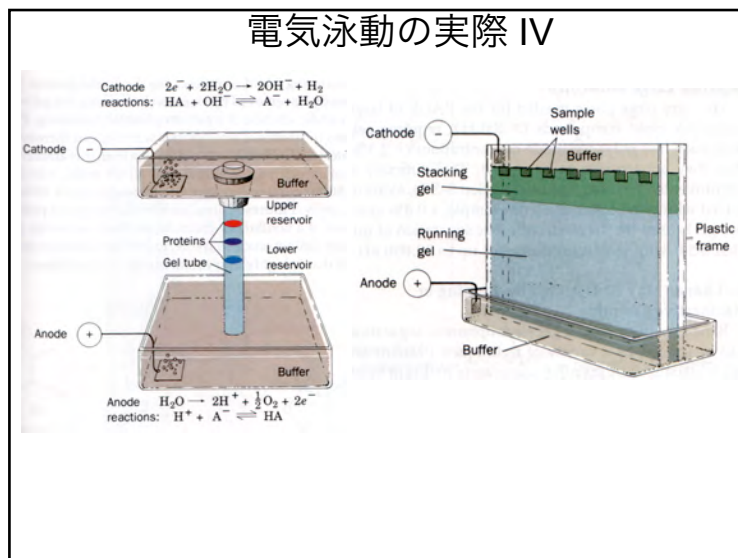


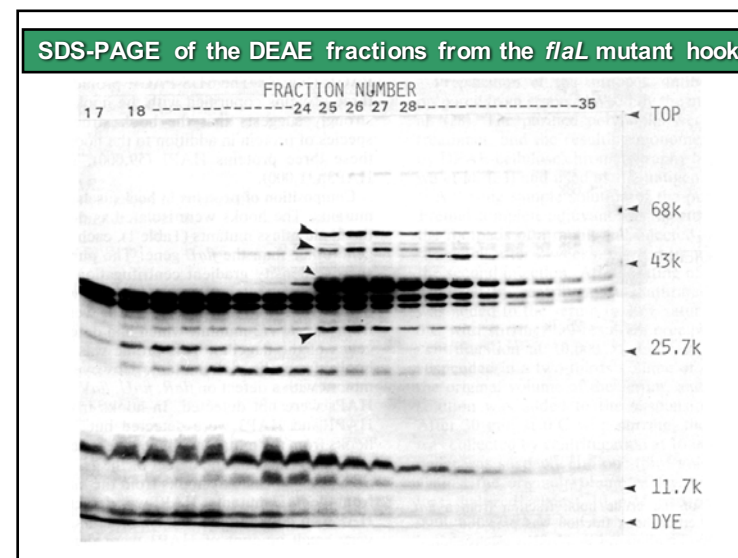
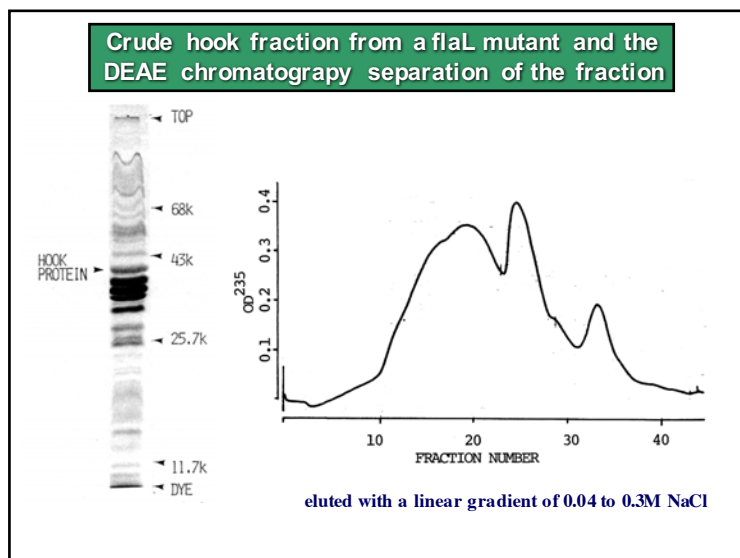
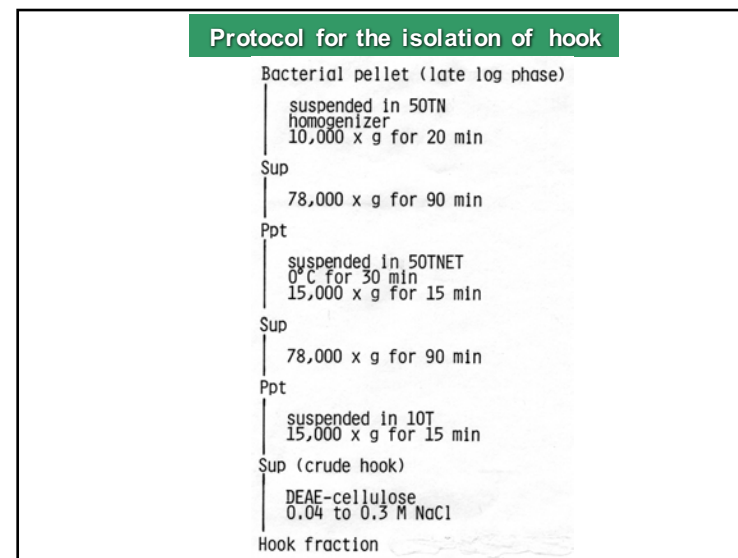
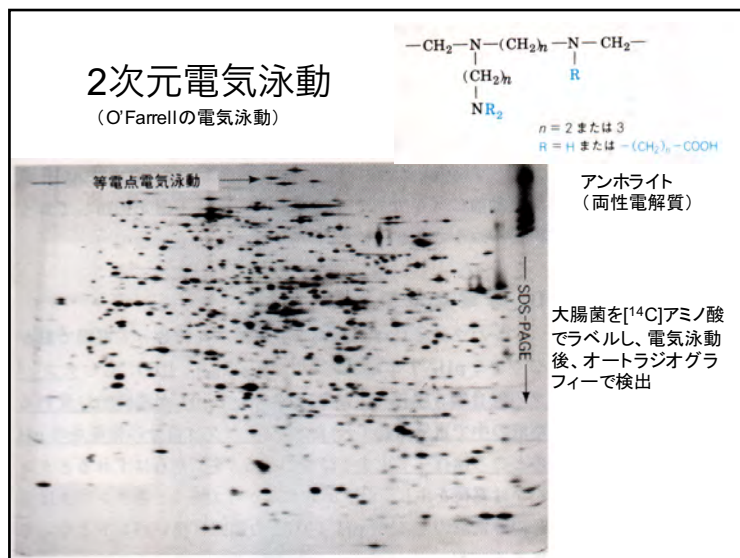
濾紙電気泳動法

### 電気泳動の実際 III

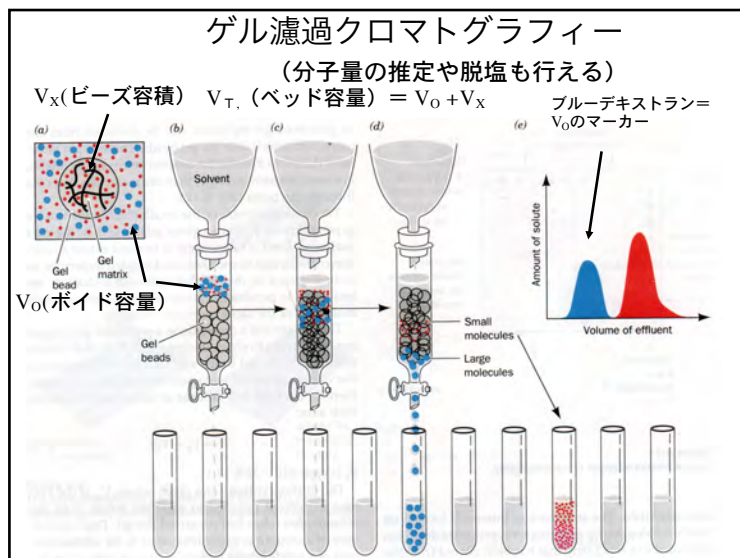


Ammonium persulfate ( $\text{S}_2\text{O}_8^{2-} \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{\cdot-}$ ) + N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine  
 によって遊離ラジカルで重合反応開始





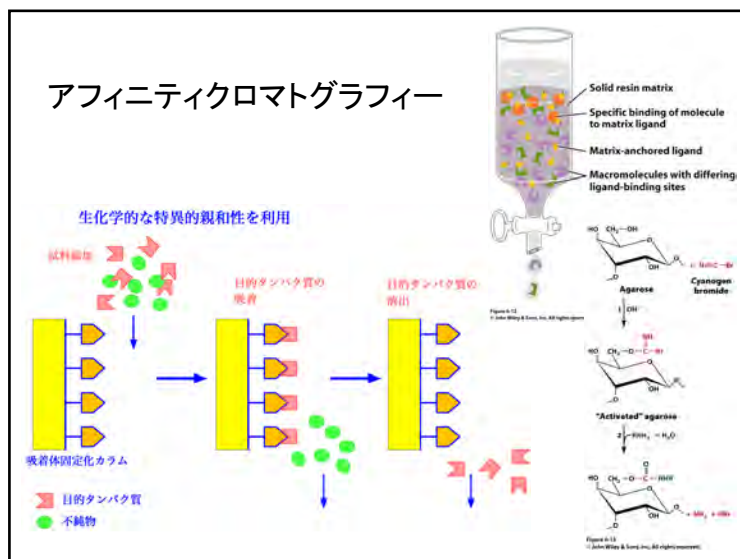




### よく使われるゲル濾過剤

ゲル濾過剤†	型	濾過範囲 (kD)
Sephadex G-10	デキストラン	0.05~0.7
Sephadex G-25	デキストラン	1~5
Sephadex G-50	デキストラン	1~30
Sephadex G-100	デキストラン	4~150
Sephadex G-200	デキストラン	5~600
Bio-Gel P-2	ポリアクリルアミド	0.1~1.8
Bio-Gel P-6	ポリアクリルアミド	1~6
Bio-Gel P-10	ポリアクリルアミド	1.5~20
Bio-Gel P-30	ポリアクリルアミド	2.4~40
Bio-Gel P-100	ポリアクリルアミド	5~100
Bio-Gel P-300	ポリアクリルアミド	60~400
Sepharose 6B	アガロース	10~4,000
Sepharose 4B	アガロース	60~20,000
Sepharose 2B	アガロース	70~40,000

† Sephadex, Sepharose は Pharmacia Fine Chemicals AB の商品名; Bio-Gel は BioRad Laboratories の商品名.



### R<sub>f</sub>値と色素の判別

$R_f \text{ 値} = \frac{\text{原点から各色素の中心までの距離 } b}{\text{原点から溶媒前線までの距離 } a}$

色素が濾紙に吸着される強さと、展開溶媒がその色素を溶かし出そうとする強さの差によってR<sub>f</sub>値が決まる。  
濾紙・展開溶媒・温度など条件が同一であれば、色素のR<sub>f</sub>値は一定の値となる。

#### R<sub>f</sub>値の例

展開溶媒：トルエン

色素(色)	R <sub>f</sub> 値
β-カロテン(橙黄)	0.9~1.0
ルテイン(黄)	0.7~0.8
キサントフィル	0.5~0.6
クロロフィルa(青緑)	0.2
クロロフィルb(黄緑)	0.1

**【展開のしくみ】**

溶媒前線  
溶媒と親和性の強い色素ほど速く進む。

原点

濾紙

毛管現象によって、展開溶媒が濾紙を上がっていく。

濾紙には水が吸着しているため、親水性の色素はゆっくり進む。

蒸発

展開溶媒

ペーパークロマトグラフィー2

### 向流分配法 (分配クロマトグラフィーの原理)

最初は液層Aに化合物の全てが解けている。分配係数  $K_d = \frac{\text{下層の濃度}}{\text{上層の濃度}} = 1$  の場合

数値: 化合物の分配割合

液層A: 1.000

液層B: 0.000

液層A: 1.000

液層B: 0.000

分液&静置

液層A: 0.500

液層B: 0.500

試験管または分液ロートの番号

試料(1.000 mg)	No.0	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
操作回数							
1回	0.500	0.500					
2回	0.250	0.250	0.250				
3回	0.125	0.125	0.125	0.125			
6回	0.016	0.094	0.234	0.313	0.234	0.094	0.016

★: 上層の溶液のみを新たに加える。

### 向流分配法 (分配クロマトグラフィーの原理)

$K_d = 2$     $K_d = 1$     $K_d = 0.5$

10回

100回

1000回

分液ロートの数(段数)が増えるほど、全ロット数に対する相対的ピーク幅が細くなる

= 分離がよくなる

分離がよいカラムでは、仮想的な分液ロートの段数 (= 理論段数) が多いと考える