

ポリマー系フリーフロー電気泳動デバイスの開発(Ⅱ) Development of polymer-based free-flow electrophoresis device (Ⅱ)

東大院工

久保田涼介, 小林雅, 酒井崇匡, 一木隆範

School of Eng. Univ. Tokyo

Ryosuke Kubota, Masashi Kobayashi, Takamasa Sakai, Takanori Ichiki

E-mail:kubota@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

【緒言】フリーフロー電気泳動法(FFE)は試料を電気泳動度の違いにより分離する技術であり、タンパク質、細胞、細胞内小器官等に適用される。第75回秋季応用物理学会では、量産に適した低コストのポリマーを基材とし、電極槽・分離槽間に Tetra-PEG gel をイオン透過性隔膜として導入した FFE デバイスを開発し、Tetra-PEG gel が液流を遮断するため、分離に影響を及ぼすことなく、電極槽の還流により電気分解で生じる気泡を除去できたことを報告した^[1]。しかし、分離性能評価のため蛍光色素の分離実験を行ったところ、ジュール熱の影響が大きく、完全な分離には至っていなかった。そこで、今回は、抵抗の高い HEPES バッファを用いることでジュール熱の影響を抑制した条件下での、分離性能の向上を検討する。

【実験・結果】作製したデバイスの分離性能評価のため、10 mM PB (pH 7.4)中で 1 mM ロードミン B と 1 mM スルホロードミン B の混合液の分離を行った。サンプル導入口から 4 cm の位置における蛍光強度を測定し、それぞれのピークに分離し、分離度を算出した。0~80 V まで 10 V ずつ変化した際の電圧と分離の関係を図 1 に示す。電圧とともに分離度が線形に増大したが、50V 付近からジュール熱の影響と考えられるピークの広がりが生じ、線形から外れた。そこで、抵抗の高い 10 mM HEPES バッファを用いて電圧・電流関係測定を行い、10 mM PB と比較したところ、10 mM PB 中では、50 V 以降線形関係から外れる領域が見られるのに対し、10 mM HEPES バッファ中では 500 V まで電圧を安定に印加できた(図 2)。この結果を基に、HEPES バッファを用いた際の分離度の理論的予測を行う予定である。分離度は、吐出・拡散・流体力学の影響の 3 つに分けて以下の式により計算できる^[2]。

$$R_s = \frac{d_1 - d_2}{(w_1 + w_2)/2} = \frac{(\mu_{\text{total},1} - \mu_{\text{total},2})Et}{2 \left(\sqrt{\frac{w_{\text{inj}}^2}{12} + \frac{2D_1L}{v} + \frac{h^2d_1^2v}{105D_1L}} + \sqrt{\frac{w_{\text{inj}}^2}{12} + \frac{2D_2L}{v} + \frac{h^2d_2^2v}{105D_2L}} \right)}$$

μ は電気泳動度、 E は電界強度、 t は時間、 w_{inj} はサンプル導入流路幅、 D は拡散係数、 L は測定位置までの距離、 v は流速を示す。

【参考】

[1] 久保田 涼介, 第 75 回秋季応用物理学会 (2014)

[2] BR Fonslow, *et al.*, *Anal. Chem.* **78** (2006) 8236-8244

【謝辞】本研究は、独立行政法人科学技術振興機構(JST)の研究成果展開事業「センター・オブ・イノベーション(COI)プログラム」の支援によって行われた。

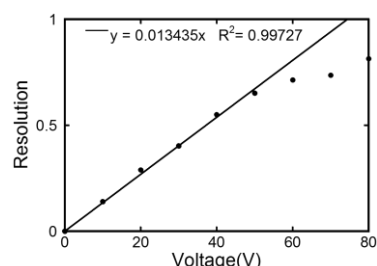


Fig 1. Resolution vs voltage using 10 mM PB

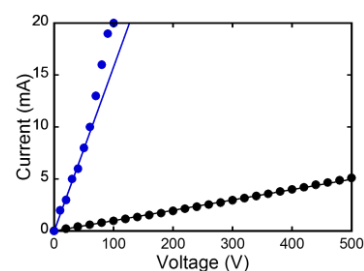


Fig 2. Current vs voltage 10 mM PB(blue) & 10 mM HEPES buffer (black)