

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-74694
(P2001-74694A)

(43) 公開日 平成13年3月23日 (2001.3.23)

(51) Int.Cl.⁷
G 0 1 N 27/447

識別記号

F I
G 0 1 N 27/26

テマコード* (参考)

3 3 1 E

審査請求 有 請求項の数 3 OL (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平11-251604
(22) 出願日 平成11年9月6日 (1999.9.6)

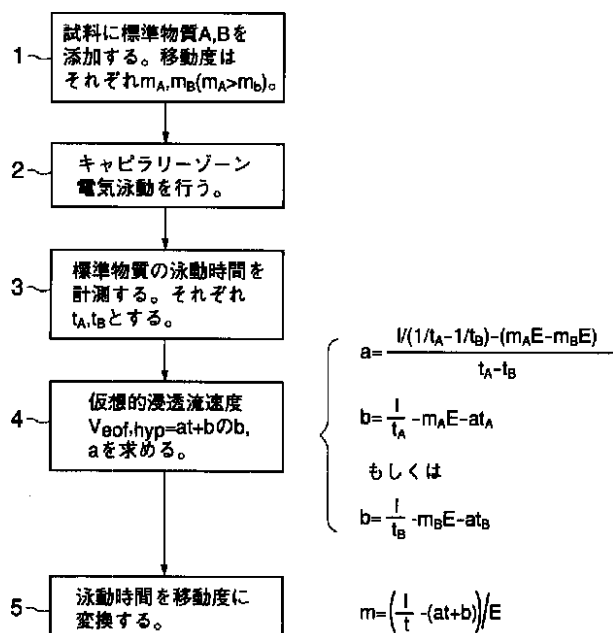
(71) 出願人 391012648
広島大学長
広島県東広島市鏡山1丁目3番2号
(72) 発明者 育田 夏樹
広島県広島市南区東雲2丁目19-26-306
(72) 発明者 廣川 健
広島県東広島市鏡山2丁目365 広大かが
ら第一職員宿舎3-304
(74) 代理人 100058479
弁理士 鈴江 武彦 (外5名)

(54) 【発明の名称】 キャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換法

(57) 【要約】

【課題】ジュール熱による移動度増加を除去し、再現性のよい定性指標を得る。

【解決手段】キャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法が提案されている。未知試料に標準物質を添加してキャピラリーゾーン電気泳動を実行し、標準物質の泳動時間を求める。次に、浸透流の速度が時間に直線的に依存していると仮定して、前記標準物質の泳動時間から実効移動度に変換する。結果として、この新しい変換法では印加電圧の違いによらずほとんど同じフェログラムを得ることができる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】未知試料に標準物質を添加してキャピラリーゾーン電気泳動を実行し、標準物質の泳動時間を求めるステップと、

浸透流の速度が時間に直線的に依存していると仮定して、前記標準物質の泳動時間から実効移動度に変換するステップと、

を具備することを特徴とするキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法。

【請求項2】移動度が m_A 、 m_B である2つの標準物質の泳動時間 t_A 、 t_B から、仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ を時間の一次関数 $v_{eof, hyp} = at + b$ として求めるステップと、未知試料の泳動時間 t から未知試料の速度を求めて、前記仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ との差を求めるステップと、

前記差をキャピラリーの平均電位勾配 E で割るステップと、

を具備することを特徴とするキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法。

【請求項3】遅延時間を導入して、移動度が m_A 、 m_B 、 m_C の3つの標準物質の泳動時間 t_A 、 t_B 、 t_C から、仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ を時間の一次関数 $v_{eof, hyp} = a(t -) + b$ として求めるステップと、

未知試料の泳動時間 t と遅延時間 から未知試料の速度を求めて、前記仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ との差を求めるステップと、

前記差をキャピラリーの平均電位勾配 E で割るステップと、

を具備することを特徴とするキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実行移動度変換法に関し、特に、キャピラリーゾーン電気泳動法の再現性を向上させる計算法に関する。

【0002】

【従来の技術】キャピラリーゾーン電気泳動が広く普及するには、ピークポジションの再現性が高いことが必要である。なぜなら、それは直接定性指標として用いられるからである。横軸として時間を用いたとき、再現性の良い横軸を得るために最も重要となるファクターは泳動電圧（電流）、分離チャンバーの温度、および、電気浸透流のコントロールである。しかしながら、同じ条件下で、前者2つを完全にコントロールしても、セパレーションチューブの温度上昇はジュール熱によって避けられず、電気浸透流の制御は容易ではない。これらの理由に

より時間軸を持つ通常のCZEフェログラムの分析再現性はHPLCほど高くない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】最も困難な問題は電気浸透流がキャピラリー内部の状態や履歴により変化することである。分離キャピラリーの内壁をコーティングすることは、電気浸透流が変化するという問題を解決する。しかしながら、カチオン分析ではEOFの欠如は泳動時間を長引かせる。そこで、実際に迅速分析を行うには、内壁のコートは行わず、何らかの方法で浸透流の速度を測定し、その値を用いて試料イオンの速度を補正する方が有効であると考えられる。

【0004】短い時間で十分に物質を分離させるには高い印加電圧が必要なので、ジュール熱によるキャピラリー内部の温度上昇は避けられない。Grushkaと共同研究者らは、キャピラリー中の温度分布の解析解を導いた。彼らはキャピラリーの中心と外側の温度差は2～10Kにも達することがあることを証明した。移動度の温度係数は約2%なので、4%～20%も泳動速度が変化する。その結果、泳動時間の再現性は測定条件の微妙な変化により損なわれる。

【0005】さらに、我々はコンピューターシミュレーションプログラムを使って電位勾配の緩和（RPG）を発見した。これは異常に高い電位勾配を持つゾーンが注入プラグ付近に発生・消滅するために、定電圧モードではすべてのサンプルイオンがある一定時間遅延する現象である。従って、泳動時間を横軸として持つエレクトロフェログラムは再現性がない。

【0006】EOFの利用と高電圧の印加は迅速分析には必要である。さらに、多くの場合CZEは定電圧で行われる。この条件下では再現性を低下させる上述の3つの原因を何らかの方法で取り除かなければならない。冷却の有無に関わらず、たとえ大電流であっても、泳動速度は泳動電流に対してリニアであることが多数報告された。Hjertenは定電流では物質の泳動速度はほとんど温度に依らないことを確認した。そこで、LeeとYeungは電流の時間積分をキャピラリー長で割った値を泳動指標（migration index, MI）とし、さらに浸透流の影響を補正した値である調節泳動指標（adjusted migration index, AMI）を定性指標として用いることにより、再現性を低下させる上述の前者2つの原因を取り除くことに成功している。さらに、RPGの影響も、その発生メカニズムから考えて、除去できていると考えられる。しかしながら、得られた値の意味が不明瞭な点が問題である。

【0007】このように、従来技術によれば、印加電圧を上昇させると、ジュール熱によりキャピラリー内温度が上昇するため、実効移動度が大きく見積られる。従って、印加電圧を変えたときには、未知試料の同定が困難になる。即ち、未知試料に含まれていると思われる物

質を含んだ溶液を精密に測定するために印加電圧を5 kVでキャピラリーゾーン電気泳動を行い、未知試料は迅速分析のために30 kVでキャピラリー電気泳動を行ったとすると、未知試料に含まれるイオンの移動度が大きくなるために誤同定してしまう問題がある。

【0008】そこで本発明は、キャピラリーゾーン電気泳動法において、ジュール熱による温度上昇に伴う移動度の増加を除去し、再現性の高い定性指標を得る手法を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成する第1のキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法は、未知試料に標準物質を添加してキャピラリーゾーン電気泳動を実行し、標準物質の泳動時間を求めるステップと、浸透流の速度が時間に直線的に依存していると仮定して、前記標準物質の泳動時間から実効移動度に変換するステップと、を具備することを特徴とする。

【0010】上記目的を達成する第2のキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法は、移動度が m_A 、 m_B である2つの標準物質の泳動時間 t_A 、 t_B から、仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ を時間の一次関数 $v_{eof, hyp} = at + b$ として求めるステップと、未知試料の泳動時間 t から未知試料の速度を求めて、前記仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ との差を求めるステップと、前記差をキャピラリーの平均電位勾配 E で割るステップと、を具備することを特徴とする。

【0011】上記目的を達成する第3のキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法は、遅延時間を導入して、移動度が m_A 、 m_B 、 m_C の3つの標準物質の泳動時間 t_A 、 t_B 、 t_C から、仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ を時間の一次関数 $v_{eof, hyp} = a(t - \tau) + b$ として求めるステップと、未知試料の泳動時間 t と遅延時間 τ から未知試料の速度を求めて、前記仮想的浸透流の速度 $v_{eof, hyp}$ との差を求めるステップと、前記差をキャピラリーの平均電位勾配 E で割るステップと、を具備することを特徴とする。

【0012】上記の本発明に係るキャピラリーゾーン電気泳動法における仮想的浸透流を用いた電気泳動時間-実効移動度変換方法は、得られた泳動時間からある参照温度での実効移動度を得る方法である。

【0013】参照温度、たとえば25度、での実効移動度が得られれば、系のpHやイオン強度を変えて測定することによって、その温度での絶対移動度の測定が可能になり、すでに報告されたテーブルから未知物質の定性を行うことすら可能になる。

【0014】従来の泳動時間-移動度変換法では、キャピラリーの内部温度に応じた移動度しか得られなかつ

た。そのため、移動度はキャピラリーの長さや太さおよび熱的特性、及び印加電圧（駆動電流）によって変化する。また、電位勾配を簡単に得るためには、定電圧で実験を行わなくてはならない。そのため、RPGの影響も考慮する必要があった。

【0015】そこで、我々は泳動時間から実効移動度に変換するのに簡単なモデル、時間により速度が変化する仮想的浸透流、を導入した。このモデルでは試料の移動度を決定するのにいくつかのパラメーターが必要である。これらのパラメーターの決定のために、実効移動度が既知の物質を用いる、HEOF法とHEDT法を提案する。

【0016】(1)泳動時間から実効移動度への変換法（従来法）

浸透流についてのみ考慮した従来の方法について簡単に記述する。

【0017】イオンの泳動速度 v はイオンの電気泳動速度 v_{ion} と電気浸透流 v_{eof} の和で表される。

【0018】

【数1】

$$v = v_{ion} + v_{eof} \quad (1)$$

【0019】したがって泳動時間 t は

【0020】

【数2】

$$t = l/v \\ = \frac{l}{v_{ion} + v_{eof}} \quad (2)$$

【0021】となる。ここで、 l はキャピラリー有効長である。従って、平均電位勾配 $E = V/L$ を用いて、実効移動度 m は以下のようにして求められる。

【0022】

【数3】

$$m = v_{ion}/E \\ = \frac{l/t - v_{eof}}{V/L} \quad (3)$$

【0023】ここで V は印加電圧、 L はキャピラリー全長である。

【0024】また、 v_{eof} は移動度0の物質のピークもしくはシステムピークの泳動時間 t_{eof} を用いて以下の式から得られる。

【0025】

【数4】

$$v_{eof} = l/t_0 \quad (4)$$

【0026】さらに、電位勾配の緩和効果を考慮するとこれらの式は以下のように誘導される。

【0027】

【数5】

$$m = \frac{1/(t - \tau) - v_{eof}}{v/L} \quad (5)$$

$$v_{eof} = 1/(t_0 - \tau) \quad (6)$$

【0028】ここで、は電位勾配の緩和効果による泳動時間の遅れを示す。

【0029】(2)時間により流速の変化する仮想的浸透流を導入した変換法(Hypothetical Electro osmotic flow (HEOF)法)

水溶液系でのイオンの移動度は温度に依存する。そこで、図1に示すように、この温度上昇による移動度の変化を除去する方法として「時間により流速の変化する仮想的浸透流」を考えた。この方法では、温度上昇による実効移動度の変化を浸透流の時間変化として見積もり、その評価を用いて補正する。ここでは、電気浸透流の速さが泳動時間の一次の関数で表されると仮定したうえで、実効移動度を算出する。

【0030】今、仮に電気浸透流の速さが時間tに対して、 $v_{eof, hyp} = a \times t + b$ という1次式で表されるものとする。このとき、

【0031】

【数6】

$$a = \frac{v_{eof, 0} - v_{eof, s}}{t_0 - t_s} \quad (7)$$

$$b = v_{eof, 0} - a \cdot t_0 = v_{eof, 0} - \frac{v_{eof, 0} - v_{eof, s}}{t_0 - t_s} \cdot t_0 \quad (8)$$

【0032】ここで、 $v_{eof, s}$ 、 $v_{eof, 0}$ はそれぞれ標準物質の泳動時間における浸透流速と移動度0の物質(もしくはシステムピーク)の泳動時間から得られる浸透流速、 t_s 、 t_0 はそれぞれ既知の移動度を持つ標準物質の泳動時間と移動度0の物質(もしくはシステムピーク)の泳動時間である。

【0033】 $v_{eof, 0}$ は、(4)式を用いて求められる。

【0034】 $v_{eof, s}$ は泳動時間と基準温度での標準物質の実効移動度 $m_{0, s}$ を用いて、以下のように表される。

【0035】

【数7】

$$v_{eof, s} = \frac{1}{t_s} - m_{0, s} E \quad (9)$$

【0036】式(1)で見たように、サンプルイオンの泳動速度は電気泳動による速度vと電気浸透流速の代数和で表されるから、サンプルの泳動時間tは、

【0037】

【数8】

$$t = \frac{1}{v_{ion} + v_{eof, hyp}} = \frac{1}{mE + a \cdot t + b} \quad (10)$$

【0038】となり、ゆえにサンプルの実効移動度は次のようになる。

【0039】

【数9】

$$m = \frac{\frac{1}{t} - (a \cdot t + b)}{E} \quad (11)$$

【0040】この計算の過程で t_s 、 t_0 およびtは実験により求まる値であり、 $m_{0, s}$ は既知であるものとして、サンプルの実効移動度を求める。これを仮想的浸透流による補正(Hypothetical Electro osmotic flow method (HEOF)法)と呼ぶ。

【0041】(3)仮想的浸透流と遅延時間による補正法(Hypothetical Electro osmotic flow and delay time (HEDT)法)

HEOF法に加えて、電位勾配の緩和効果を考慮することでより再現性を向上させることが期待できる。この方法では、式(11)の泳動時間tから遅延時間を減ずることで以下のような補正式を得ることができる。

【0042】

【数10】

$$m = \frac{\frac{1}{(t - \tau)} - \{a \cdot (t - \tau) + b\}}{E} \quad (12)$$

【0043】となる。(この補正式では高濃度試料に含まれる大きな移動度を持つイオンの移動度の評価に特に有効である。)この式には未知数が3個(a、b、 τ)含まれるため、浸透流の指標と既知の移動度を持つ2つの標準イオンが試料中に含まれている必要がある。また、これらのパラメーターを解析的に得ることは困難なため、コンピューターを用いて最適なパラメーターを求める必要がある。

【0044】

【発明の実施の形態】本発明の一実施形態を図2に示す。図2は、HEOF法を示している。

【0045】キャピラリーゾーン電気泳動法において、実効移動度が m_A 、 m_B で、かつ $m_A > m_B$ として既知である2つの標準物質A、Bをステップ1において試料に添加して、キャピラリー内に導入する。そしてステップ2において、キャピラリーゾーン電気泳動を実行する。

【0046】次にステップ3において、キャピラリーゾーン電気泳動で得られたフェログラムから、標準物質の泳動時間を計測し、それぞれの泳動時間を t_A 、 t_B とする。

【0047】更に、ステップ4において、浸透流の速度が仮想的に下記の時間の一次関数

【0048】

【数11】

$$v_{eof, hyp} = at + b$$

【0049】で表されるとして、その時間の係数aを下

記の式

【0050】

【数12】

$$a = \frac{I / (1/t_A - 1/t_B) - (m_A E = m_B E)}{t_A - t_B}$$

【0051】より求め、係数bを

【0052】

【数13】

$$b = \frac{I}{t_A} - m_A E - a t_A$$

【0053】又は

【0054】

【数14】

$$b = \frac{I}{t_B} - m_B E - a t_B$$

【0055】から求める。

【0056】そして、ステップ5において、下記の式を用いて試料の泳動時間を実効移動時間に変換する。

【0057】

【数15】

$$m = \left(\frac{I}{t} - (a t + b) \right) / E$$

【0058】次にHEDT法の実施形態を説明する。

【0059】このHEDT法を実行するには、図2のtをt'に置き換えればよい。なお、未知数がa, b, の3つになるので、上記に加えて、第3の移動度mCを有する標準物質の泳動時間を用いる。

【0060】

【実施例】キャピラリー電気泳動装置はCAPI-3100S (Otsuka electric Co., Osaka, Japan)を用いた。試料は14種希土類イオン(La-Lu)40ppmに標準物質としてK, Liを添加した。支持電解液はクレアチニン30mM、錯形成剤としてHIBA 4m

M、酢酸を用いてpH4.8に調節した。

【0061】印加電圧は30, 25, 20, 15, 10, 5kVと変化させた。キャピラリーは内径75μm全長70cm(有効長57.7cm)であった。設定温度は25℃、注入は落差法(2cm 60sec)で行った。検出は波長220nmのクレアチニンの吸収を測定する間接吸収法により行った。パラメーターを求めするにはMicrosoft Excel (Microsoft, USA)を用いた。

【0062】以下のようにしてコンピューターによるHEDTパラメーターを決定した。(1)はじめにaを0と仮定して、Kの泳動時間とシステムピーク(移動度0のピークとして利用する)の泳動時間の2点を用いてaとbを計算し、(2)この結果得られるLiの移動度とLiの移動度の理論値(35.6x10⁻⁵cm²/Vs)との差を求める。

【0063】(3)この差が小さくなるようにaをわずかに変化させ、もう一度aとbを計算する。

【0064】(4)Liの移動度が理論値と等しくなるまで(3)を繰り返した。

【0065】なお、HEOF法のパラメータは上記(1)の段階で得られる。

【0066】図3に各印加電圧における試料のエレクトロフェログラムを示す。それぞれのフェログラム中の最初の二つのピークは標準物質であるKとLiであり、最後の最も大きなピークはシステムピークである。試料は、本発明の変換法を比較するのに十分よく分離されていた。

【0067】図から明らかなように泳動時間は単純に印加電圧には比例しなかった。表1にそれぞれの泳動時間を示す。

【0068】

【表1】

サンプルとシステムピークの泳動時間

V	30kV	25kV	20kV	15kV	10kV	5kV
K	104.20	131.81	171.19	236.26	364.50	742.95
Li	153.26	193.81	254.01	351.28	542.33	1106.78
La	161.79	204.42	268.10	370.76	572.78	1170.19
Ce	168.40	213.12	279.42	386.95	597.66	1223.99
Pr	173.10	219.04	287.42	398.08	615.06	1258.69
Nd	176.23	223.21	292.81	405.74	626.89	1283.22
Sm	184.06	233.13	306.04	424.01	655.43	1342.21
Eu	187.20	237.13	311.26	431.49	667.09	1366.74
Gd	188.93	239.22	313.87	435.49	673.35	1380.31
Tb	195.20	247.40	325.18	450.98	697.71	1430.43
Dy	200.42	254.19	334.23	463.85	717.72	1472.71
Ho	204.59	259.58	341.53	474.30	734.43	1507.16
Er	209.64	266.19	350.41	486.82	754.09	1547.87
Tm	214.86	273.15	359.63	499.87	774.62	1591.20
Yb	220.78	280.81	370.24	514.84	798.11	1639.75
Lu	225.65	287.24	378.77	527.02	817.42	1680.46
System	304.82	387.64	511.18	712.67	1106.78	2283.89

【0069】図4は古典的な変換法によって得られた移動度を横軸とするエレクトロフェログラムである。予想されたように、印加電圧が高いほどキャピラリー内温度が高く、移動度が大きくなっていった。

【0070】図5と図6にそれぞれLiを標準物質とするHEOF法およびLiとKを標準物質とする仮想的浸透流と遅延時間を考慮した補正HEDT法による変換後のフェログラムを示す。

【0071】図5, 6におけるSmの移動度を見ると、HEOFでは15kV以上では移動度がやや遅く見積も

られたが、このフェログラムを用いれば印加電圧を変化させても物質の同定に問題がない程度であった。さらに詳細に比較するために表2、表3にそれぞれの方法で計算した移動度とそのばらつき及び補正に用いられたパラメーターを示す。期待されたとおり、どちらの変換法も古典的な変換法と比較して、移動度のばらつきが大きく改善された。

【0072】

【表2】

サンプルの実効移動度 (HEOF法) と係数 a,b

V	30kV	25kV	20kV	15kV	10kV	5kV	Ave.	S.D.
K	74.35	72.86	72.65	71.88	71.18	70.72	72.27	1.31
Li	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	0.00
La	31.42	31.61	31.66	31.75	31.77	31.71	31.65	0.13
Ce	28.51	28.65	28.80	28.86	28.94	28.85	28.77	0.16
Pr	26.59	26.79	26.93	27.01	27.10	27.05	26.91	0.19
Nd	25.37	25.54	25.73	25.80	25.91	25.87	25.70	0.21
Sm	22.54	22.77	22.97	23.11	23.23	23.20	22.97	0.27
Eu	21.48	21.73	21.96	22.08	22.20	22.16	21.93	0.28
Gd	20.92	21.20	21.46	21.54	21.66	21.61	21.40	0.29
Tb	18.96	19.22	19.42	19.56	19.67	19.64	19.41	0.27
Dy	17.44	17.69	17.89	18.02	18.14	18.09	17.88	0.27
Ho	16.30	16.54	16.72	16.83	16.93	16.90	16.70	0.24
Er	14.98	15.20	15.38	15.48	15.58	15.56	15.36	0.23
Tm	13.70	13.88	14.06	14.16	14.25	14.21	14.04	0.21
Yb	12.33	12.50	12.63	12.73	12.81	12.79	12.63	0.19
Lu	11.28	11.42	11.55	11.63	11.70	11.67	11.54	0.16
a[10 ⁻⁶ cm/s ²]	-230	-110	-49	-19	-6.0	-1.2	-	-
b[10 ⁻² cm/s]	26	19	14	9.5	5.9	2.8	-	-

【0073】

【表3】

サンプルイオンの実効移動度 (HEDT法) と係数 a,b

V	30kV	25kV	20kV	15kV	10kV	5kV	Ave.	S.D.
K	70.90	70.90	72.65	70.90	70.90	70.90	70.90	0.00
Li	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	35.60	0.00
La	31.65	31.74	31.77	31.81	31.79	31.70	31.74	0.06
Ce	28.88	28.86	28.99	28.96	28.97	28.83	28.92	0.06
Pr	27.04	27.05	27.15	27.14	27.14	27.03	27.09	0.06
Nd	25.87	25.83	25.97	25.94	25.95	25.84	25.90	0.06
Sm	23.13	23.11	23.27	23.27	23.27	23.17	23.20	0.07
Eu	22.10	22.09	22.26	22.25	22.25	22.13	22.18	0.08
Gd	21.55	21.56	21.77	21.72	21.71	21.57	21.65	0.10
Tb	19.64	19.61	19.75	19.74	19.72	19.61	19.68	0.07
Dy	18.14	18.09	18.24	18.21	18.20	18.06	18.16	0.07
Ho	17.01	16.95	17.07	17.03	16.99	16.86	16.98	0.07
Er	15.70	15.61	15.73	15.68	15.64	15.52	15.65	0.08
Tm	14.42	14.29	14.41	14.36	14.30	14.17	14.32	0.09
Yb	13.04	12.91	12.98	12.92	12.87	12.75	12.91	0.10
Lu	11.97	11.81	11.89	11.82	11.75	11.63	11.81	0.12
t[s]	-7.2	-5.2	-6.1	-4.7	-2.1	2.8	-	-
a[10 ⁻⁶ cm/s ²]	-150	-82	-33	-15	-5.5	-1.3	-	-
b[10 ⁻² cm/s]	23	18	13	9.1	5.8	2.8	-	-

【0074】ここで、各変換法の中で印加電圧5kVの時の値がもっとも確からしいと仮定する。前述のように従来法では印加電圧が上昇するに従って、キャピラリー内温度が上昇するため、移動度は大きく見積もられる。

【0075】前述のようにHEOF法では、ほとんどが小さく見積もられる傾向がみられた。特に高電圧印加時にはその影響が強くみられた。これは、仮想的浸透流が大きく見積もられたためであると考えられる。一方Kの移動度が大きく見積もられていることから、Kの泳動時間では仮想的浸透流は実際の浸透流よりも小さく見積もられている。すなわち、式(11)のbを大きく、aを小さく見積もりすぎていると考えられる。

【0076】HEDT法では遅延時間が負になった。電位勾配の緩和効果のメカニズムから考えて、本来、遅延時間は正になるはずである。しかしながら、仮想的浸透流が実際よりも大きく見積もられるため、それを和らげるように遅延時間を負に見積もる必要が生じたと考えられる。その結果、HEDT法ではHEOF法からさらに

25%~74%ばらつきが減少した。

【0077】

【発明の効果】このように、本発明のHEOF法及びHEDT法によれば、容易にキャピラリー内温度上昇の影響を除去し、再現性を向上させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の仮想的浸透流を説明する図である。

【図2】本発明の第1の実施形態を説明するフローチャートである。

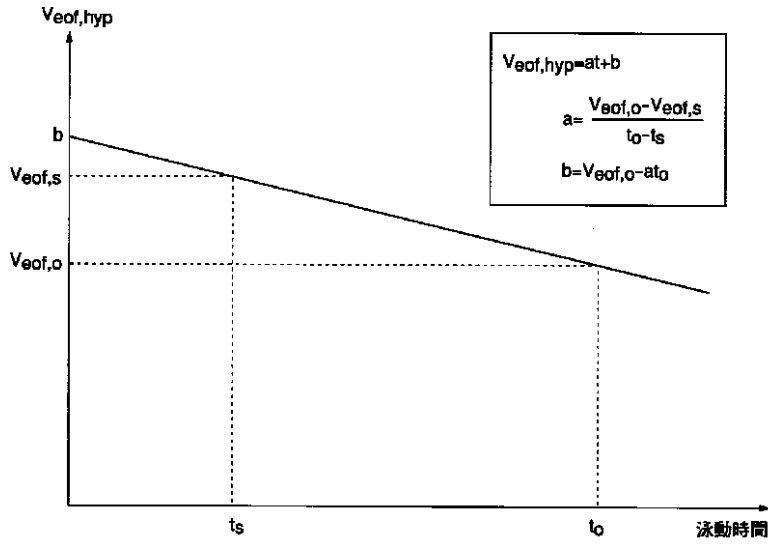
【図3】エレクトロフェログラムの印加電圧依存性を説明する図である。

【図4】従来の変換法により得られたエレクトロフェログラムを示す図である。

【図5】本発明のHEOF法により選ばれた変換後のエレクトロフェログラムを示す図である。

【図6】本発明のHEDT法により選ばれた変換後のエレクトロフェログラムを示す図である。

【図1】



【図2】

- 1 試料に標準物質A,Bを添加する。移動度はそれぞれ $m_A, m_B (m_A > m_B)$ 。
- 2 キャピラリーゾーン電気泳動を行う。
- 3 標準物質の泳動時間を計測する。それぞれ t_A, t_B とする。
- 4 仮想的浸透流速速度 $V_{eof,hyp} = at + b$ の b, a を求める。
- 5 泳動時間を移動度に変換する。

$$a = \frac{V(1/t_A - 1/t_B) - (m_A E - m_B E)}{t_A - t_B}$$

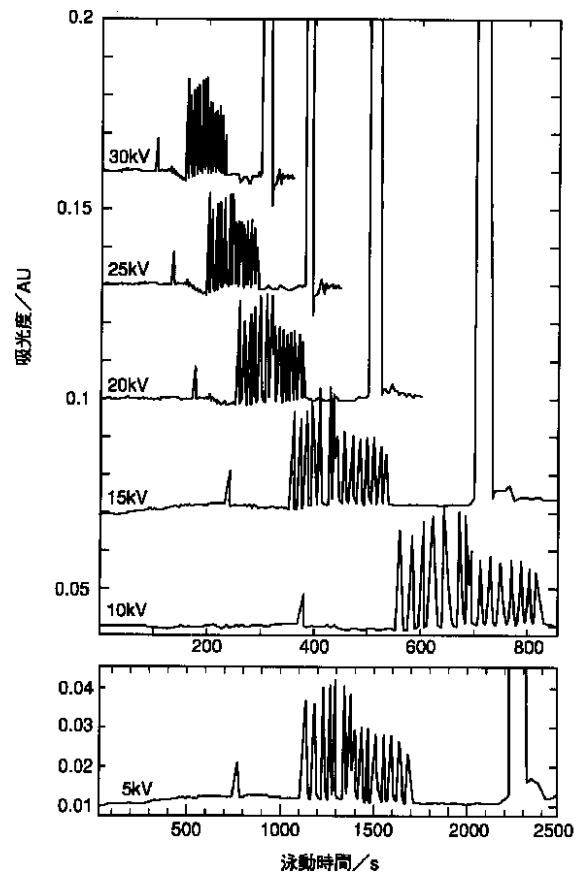
$$b = \frac{1}{t_A} - m_A E - at_A$$

もしくは

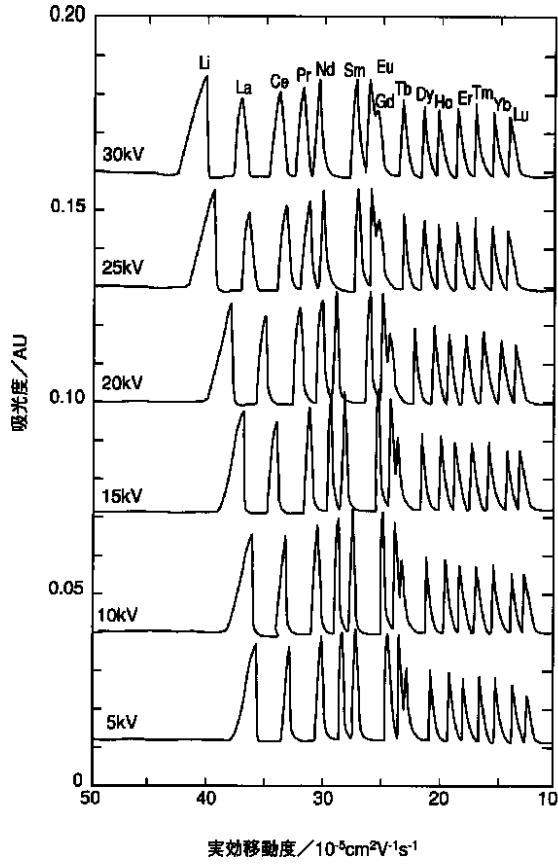
$$b = \frac{1}{t_B} - m_B E - at_B$$

$$m = \left(\frac{1}{t} - (at + b) \right) / E$$

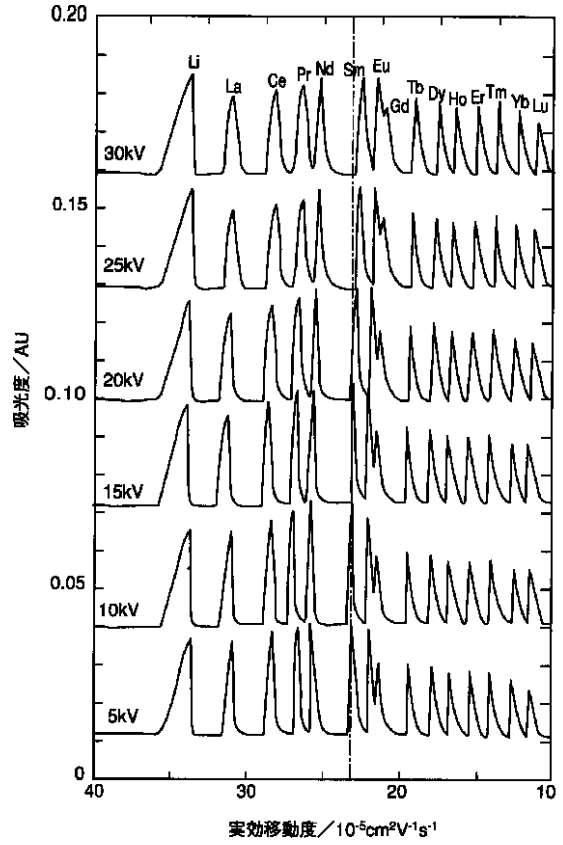
【図3】



【図 4】



【図 5】



【図 6】

