

16. Walden CC, Hegele RA. Apolipoprotein E in hyperlipidemia. *Ann Intern Med* 1994; 120: 1026-36.
17. Garry PJ, Baumgartner RN, Brodie SG, Montoya GD, Liang HC, Lindeman RD, et al. Estrogen replacement therapy, serum lipids, and polymorphism of the apolipoprotein E gene. *Clin Chem* 1999; 45: 1214-23.
18. Lambert JC, Brousseau T, Defosse V, Evans A, Arveiler D, Ruidavets JB, et al. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations: the ECTIM study. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 57-61.
19. O'Donnell HC, Rosand J, Knudsen KA, Furie KL, Segal AZ, Chiu RI, et al. Apolipoprotein E genotype and the risk of recurrent lobar intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med* 2000; 342: 240-5.
20. Knijff P de, Maagdenberg AM van den, Stalenhoef AF, Leuven JA, Demacker PN, Kuyt LP, et al. Familial dysbetalipoproteinemia associated with apolipoprotein E3-Leiden in an extended multigeneration pedigree. *J Clin Invest* 1991; 88: 643-55.
21. Huang Y, Schwendner SW, Rall SC, Jr., Sanan DA, Mahley RW. Apolipoprotein E2 transgenic rabbits. Modulation of the type III hyperlipoproteinemic phenotype by estrogen and occurrence of spontaneous atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 22685-94.
22. Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E: the Alzheimer's disease connection. *Faseb J* 1996; 10: 1485-94.
23. Mayeux R, Saunders AM, Shea S, Mirra S, Evans D, Roses AD, et al. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 1998; 338: 506-11.
24. Poirier J, Delisle MC, Quirion R, Aubert I, Farlow M, Lahiri D, et al. Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 12260-4.
25. Gezondheidsraad: Commissie DNA-diagnostiek. DNA-diagnostiek. Rijswijk: Gezondheidsraad, 1998; publicatie nr 1998/11.

Summary

ApoE genotyping with capillary gel electrophoresis. ApoE isotype more than a risk factor. Vries JE de, Wijnen PAHM, Dieijen-Visser MP van and Bekers O. Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 243-250.

Capillary gel electrophoresis (CGE) has been added recently to the arsenal of molecular biological techniques. This article describes the application of CGE to analyse DNA fragments obtained after amplifying a part of the apoE gene with PCR. Compared to conventional slab gel electrophoresis (AGE) is CGE the method of choice with regard to the resolution of, and the sensitivity for, DNA fragments. Especially discrimination between the apoE2/E2 and apoE2/E3 genotypes is more reliable with CGE than with AGE. This is clinically very important to diagnose familial dysbetalipoproteinemia. With ongoing unraveling of the role that different apoE isotypes have in various syndromes, such as cardiovascular diseases and Alzheimer's disease, it is assumed that the use of apoE may shift from being merely "just another" risk factor to become a predictor of response to therapy.

Key-words: CGE; apoE; PCR; familial dysbetalipoproteinemia; Alzheimer's disease; hormone replacement therapy

Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 250-254

Ontwikkelingen in de capillaire elektroforese

H. A.M.VOORBIJ¹, P.G. MUIJSELAAR² en C.E. SÄNGER-van de GRIEND³

In dit artikel wordt aandacht besteed aan de ontwikkelingen binnen de capillaire elektroforese (CE). Ofschon de toepasbaarheid van CE in de klinische chemie beperkt is, zijn er ook recente ontwikkelingen die al gebruikt worden. Het vergroten van de detectiegevoeligheid is een belangrijk onderzoeksveld. Diverse strategieën zoals stacking en de verschillende detectoren worden besproken. De miniaturisering van CE-apparatuur tot de grootte van een chip is één van de meest fascinerende ontwikkelingen. Dergelijke chips worden gebruikt in combinatie met allerlei denkbare detectoren en scheidingssystemen waaronder biosensoren. De Micellaire Elektro-Kinetische Chromato-

grafie techniek combineert chromatografie met elektroforetische principes en biedt grote flexibiliteit. Chirale CE vindt zijn toepassing in o.a. farmaceutische analyse, stereoselectief metaboliseringsonderzoek en de forensische analyse.

In deze bijdrage over capillaire elektroforese (CE) willen we ingaan op een aantal ontwikkelingen en toekomstige mogelijkheden van de capillaire elektroforese. Omdat capillaire elektroforese een jonge loot is aan de tak van elektroforese (1,2) is het begrijpelijk, dat nieuwe ontwikkelingen met grote belangstelling geïntroduceerd worden in het veld van analytische technieken. Vanzelfsprekend duurt het dan nog een tijd, voordat deze ontwikkelingen zodanig uitontwikkeld zijn, dat ze bruikbaar zijn in de routine analyse van een laboratorium. Dit geldt ook voor de ontwikkelingen, die toepasbaar zouden kunnen zijn voor de diagnostiek van de klinische chemie. Een ontwikkeling die met enthousiasme werd ontvangen en veelbelovend leek voor de klinische chemie is de lipoproteïenscheiding met behulp van capillaire isotachografie door Schmitz e.a. beschreven in 1994 (3).

Department of Clinical Chemistry, UMC-Utrecht, Utrecht¹; Pharmaceutical Analysis Department, Solvay Pharmaceuticals, Weesp²; Analytical Development, AstraZeneca R&D Södertälje, Södertälje, Zweden³

Correspondentie: Dr. H.A.M. Voorbij, UMC Utrecht locatie AZU, huispostnr. G03.647, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht.
E-mail: rvoorbij@lab.azu.nl

Op een CE gebruikersdag in 1996 voor de klinische chemie werd de techniek geïntroduceerd. Hun uitgebreide ervaringen met isotachoforese werden toegepast op de capillaire elektroforese met stackings-technieken. Het bleek mogelijk te zijn om 14 goed gekarakteriseerde subfracties van lipoproteïnen te onderscheiden met CE en daarmee zou de langdurige ultracentrifugatie met gradient niet meer nodig zijn. De techniek was gebaseerd op een pré-staining van de lipiden in het serum met behulp van Sudan Black en vervolgens de elektroforetische scheiding in de capillair. Zeldzame ziektebeelden in de lipoproteïnenhuishouding zouden eenvoudig door middel van deze techniek kunnen worden aangetoond, evenals het effect van therapie. De praktijk leert ons 6 jaar later, dat het nog veel energie heeft gekost voor andere onderzoekers, zoals in dit themanummer beschreven door van Heijst e.a., om deze methode te reproduceren. Ontwikkelingen kunnen ook een bron van inspiratie zijn voor onderzoekers en een praktische toepassing van de ontwikkeling is niet altijd voor de hand liggend. Soms zijn er goedkopere of technisch eenvoudigere manieren om hetzelfde doel te bereiken. Voorbeelden binnen het aandachtsgebied van de klinische chemie zijn de kreatinine, urinezuur, thyroxine en elektrolytenbepaling met behulp van de CE. Diverse firma's (Beckman Coulter, Bio-Rad, Perkin Elmer) ontwikkelen CE apparatuur inclusief reagentia, die het analytische leven moeten vereenvoudigen. Zeven parallel opgestelde glazen capillairen met UV detectie maken het mogelijk om 42 eiwitscheidingen per uur te verrichten met minimale inspanning. In Nederland zijn er maar weinig laboratoria, die daar vruchtbaar gebruik van zullen maken. De moleculaire biologie heeft zeker wel geprofiteerd van de ontwikkelingen binnen de capillaire elektroforese en de voordelen ontdekt van de CE voor DNA-werkzaamheden; de farmacie gebruikt de CE voor chirale scheidingen en de biochemie kijkt uit naar de voordelen van miniaturisering. In dit hoofdstuk worden enkele ontwikkelingen besproken, zoals de diverse soorten detectoren, de miniaturisering en de praktische toepassing van micellaire capillaire elektroforese en chirale scheiding.

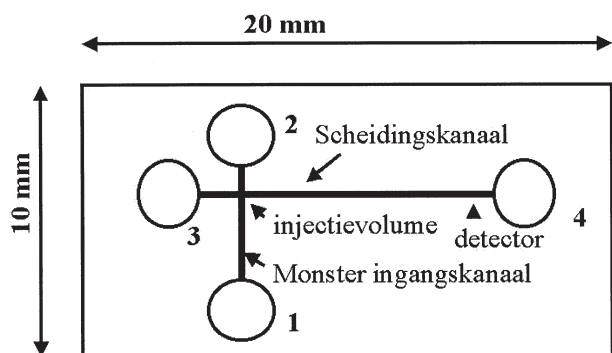
Detectiegevoeligheid

Capillaire Elektroforese is een techniek met elementen uit de conventionele (gel)-elektroforese, de isotachoforese, en de chromatografie, zoals de HPLC, met daaraan gekoppeld diverse detectoren. Deze kenmerken zijn de basis voor een goede toekomst van de capillaire elektroforese. De gevoeligheid in de detectie bij CE was altijd een beperking toen alleen gebruik werd gemaakt van UV-Vis-detectoren, vanwege de zeer kleine lichtweg op de plaats waar de gescheiden analyten moeten worden gemeten. De inwendige diameter van de capillair is in deze situatie de weglengte van de lichtabsorptiemeting en die varieert afhankelijk van de gekozen capillair. Bij eiwitelektroforese ligt de diameter ongeveer rond de 50 µm. Nieuwe ontwikkelingen van de laatste jaren zijn daarom vooral gericht op het vergroten van de gevoeligheid (4). Verschillende strategieën worden daarvoor toege-

past, zoals de wijze van injecteren, het gebruik van 'stacking' en pakkingsmaterialen in de capillair, en de toepassing van membranen als pre-concentratie hulpmiddelen. Hoe langer wordt geïnjecteerd hoe meer nanoliters monster wordt geïnjecteerd. Door stacking (zie hoofdstuk over de theorie van CE) wordt piekverbreeding tegengegaan, waardoor smalle pieken met hoge concentraties voorbij de detector komen. Pré-concentratie is een chromatografische techniek, die in combinatie met de CE wordt toegepast. Door de ingang van de capillair te vullen met pakkingsmateriaal (C₈ of C₁₈) gefixeerd in een grit, of via een T-stuk aan het begin van de capillair wordt een on-line concentratie bewerkstelligd. Bij deze procedure wordt hydrodynamisch geïnjecteerd. Op deze manier kan de gevoeligheid met een factor 200 worden vergroot. Aan de ingang van de capillair kunnen ook 'on-line' microreacties uitgevoerd worden en derivatiseringstechnieken worden toegepast met bijvoorbeeld fluorochromen. Fluorescentiedetectie is gevoeliger dan UV-Vis detectie. Aan de detectorkant zijn daarom ook diverse variaties mogelijk. Naast de conventionele UV-Vis spectrometrie wordt fluorescentie, massa spectrometrie, elektrochemische detectie, chemoluminescentie, refractiemeting, thermo-optische absorptie detectie en zelfs NMR gebruikt en verder ontwikkeld. Met name de fluorescentiedetectoren en de derivatisering hebben er voor gezorgd, dat de CE een grote vlucht kreeg en gebruikt wordt in de wereld van de biochemie, farmacie en moleculaire diagnostiek. Deze techniek, die nog verder in ontwikkeling is, zal in staat zijn om een detectielimiet van 10⁻¹² M te bereiken. Praktisch probleem bij deze ontwikkeling is de derivatisering en scheiding in de capillair. Verdunningseffecten werken de gevoeligheid tegen. Een bijzondere vorm van detectoren zijn de biosensoren, die toegepast worden in combinatie met de miniaturisering van de CE techniek. In de volgende paragraaf wordt hier dieper op in gegaan.

Miniaturisering

De miniaturisering is een relatief eenvoudige doch spectaculaire ontwikkeling in de CE, omdat de CE maar picoliters of nog minder nodig heeft als injectievolume. In situaties waarbij nanoliters veel zijn, heeft miniaturisering in de CE een voordeel. Vanzelfsprekend gaat dit ten koste van de gevoeligheid als gebruik wordt gemaakt van bijvoorbeeld spectrometrie door de verkleining van de weglengte. Aan de detectorkant moet daar dus rekening mee worden gehouden. Dat gebeurt ook met behulp van biosensoren. Nieuwe ontwikkelingen op dit gebied van microinjectietechnieken en biosensoren zijn zeer boeiend en bijna science fiction. In 1995 beschreven Shear e.a. in *Science* (5) een microsysteem voor de CE. Acetylcholine scheiding door CE werd gedetecteerd door de uitgang van de capillair te laten 'druppelen' op een objectglaasje met levende cellen, die gevoelig zijn voor acetylcholine. In de cellen wordt gebruik gemaakt van een calciumindicator, fluo-3. Veranderingen in de calciumconcentratie door de inwerking van acetylcholine veroorzaakt fluorescentie, die waargenomen kan worden door een epi-illuminated fluor-



Figuur 1. Schematische voorstelling van de microchip kanalen (naar D.J. Harrison)

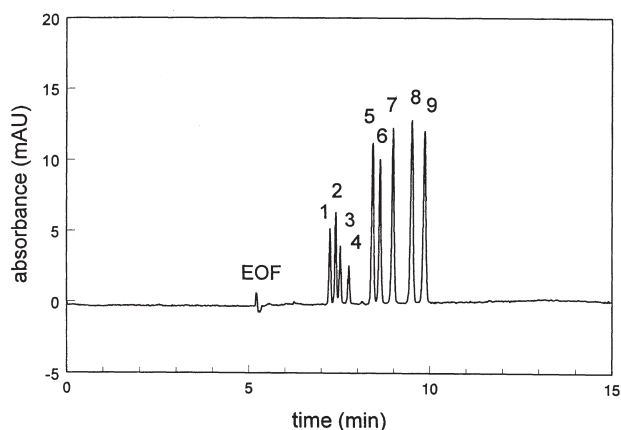
essentie microscoop. Voor elke gescheiden fractie uit de capillair wordt een nieuwe levende cel onder de uitgang van de capillaire geschoven en op de bovenkant van het objectief van de microscoop. De ontwikkeling in de miniaturisering gaat nog verder. Een variant hiervan is de CE-microchip technologie. Deze techniek is in opzet redelijk eenvoudig (zie figuur 1). Op een glasplaatje van 20 bij 10 mm worden twee kanaaltjes geëtst, die loodrecht op elkaar staan met aan het uiteinde van de kanaaltjes kleine reservoirtjes. Het ene kanaaltje zorgt voor de aanvoer van het te scheiden monster. Op het snijpunt met het andere kanaaltje komt het monster in de vloeistofstroom van dit kanaaltje van 15 mm, waar het monster gescheiden wordt door middel van een spanning van 500 V/cm. Detectie vindt plaats met behulp van een fluorescentie-microscoop. Dit microsysteem is sneller dan 'conventionele' CE scheiding door de geringere capillaire lengte (15 mm) en heeft een hogere efficiëntie met theoretische schotelgetallen van ongeveer 50.000 voor verschillende aminozuren (6). Dergelijke microsysteemen zijn vergelijkbaar met kleine fabriekjes op een objectglaasje waar reacties plaatsvinden en waarmee binnen enkele seconden een analyse mogelijk is. Ook nu blijkt het nog mogelijk om verschillende combinaties van CE scheidingstechnieken en detectoren toe te passen. Koppeling van een micro PCR reactor aan een CE-chip is mogelijk en de toekomst zal nog meer ontwikkelingen laten zien. De groep van Harrison (7) beschrijft in diverse artikelen de klinische mogelijkheden van dit 'lab-on-a-chip' concept. De ontwikkelingen op dit gebied zijn voor biomedische studies veelbelovend waar subpicoliters van een cytoplasma inhoud worden geanalyseerd, zoals de inhoud van een enkele erythrocyt (8). Terugverwijzend naar de inleiding van dit hoofdstuk komt de vraag weer boven wat de relevantie is om in een enkele erythrocyt het hemoglobine te karakteriseren. Intrigerend is het wel. Een indrukwekkende analyse methode, alleen al vanwege de naam, die gebruikt wordt voor dergelijke studies heet electrospray ionisation-fourier transform ion-cyclotron resonance-mass spectrometrie (ESI-FTICR-MS).

Micellaire Elektro-Kinetische Chromatografie

Micellaire Elektrokinetische Chromatografie (MEKC) is een veelbelovende uitvoeringsvorm van CE, die zich bevindt op het grensvlak van elektroforese en

chromatografie. MEKC werd in 1984 geïntroduceerd door Terabe (9) en is vooral geschikt voor de scheiding van elektrisch neutrale moleculen (10). Kenmerkend voor MEKC is de toevoeging van een geladen surfactant aan het buffer systeem. Boven de kritische micelconcentratie van het surfactant worden micellen gevormd, waardoor er sprake is van een waterfase en een micellaire fase. Het scheidingsmechanisme is gebaseerd op verschillen in verdelingsevenwicht van de monstercomponenten tussen de waterfase en de micellaire fase (*chromatografisch principe*). Deze twee fasen bewegen in het capillair met verschillende snelheden. De waterfase wordt voortbewogen door elektro-osmose. De micellen zijn geladen en worden voortbewogen door een combinatie van elektro-osmose en elektroforese (*elektroforetisch principe*). Op deze manier is het mogelijk om neutrale componenten of mengsels van geladen en neutrale verbindingen te scheiden.

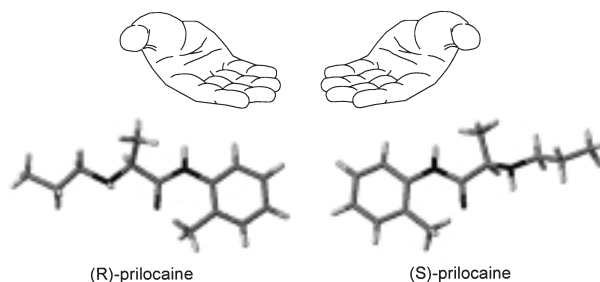
Een belangrijk voordeel van MEKC is de flexibiliteit. De samenstelling van het elektrolietsysteem kan eenvoudig worden aangepast om de selectiviteit te optimaliseren. Met name de micellaire fase speelt hierbij een belangrijke rol. Naast micellen kunnen ook andere macromoleculaire structuren worden toegepast zoals oligomeren, micro-emulsies of dendrimeren (sterk vertakte macromoleculen). Met chirale micellen, zoals galzouten is het mogelijk om enantiomeerscheidingen uit te voeren (zie later). Momenteel wordt MEKC voornamelijk toegepast voor farmaceutische, biotechnologische en klinische analysemethoden. Belangrijke toepassingsgebieden van MEKC binnen de farmaceutische industrie zijn de gehalte-bepaling van de actieve ingrediënt in een formulering en de bepaling van synthetische onzuiverheden en/of afbraakproducten. Door het combineren van de resultaten van verschillende analysetechnieken zoals HPLC, CZE en MEKC is het mogelijk een zo compleet mogelijk beeld te krijgen van het onzuiverheidsprofiel van een nieuw geneesmiddel. Daarnaast kan MEKC ook toegepast worden in farmacokinetiek studies. Hierbij is de geringe monsterhoeveelheid een belangrijk voordeel. Binnen de klinische analyse kan MEKC o.a. worden toegepast voor 'therapeutic drug monitoring' en toxicologische analyses (11). Door de aanwezigheid van de surfactant in het elektrolietsysteem is het mogelijk om serummonsters direct te injecteren, zonder vooraf de aanwezige eiwitten te verwijderen. Het concentratieniveau van de drug dient echter wel voldoende hoog te zijn vanwege de matige concentratiegevoeligheid van CE-technieken. Voor verschillende typen geneesmiddelen (anti-epileptica, pijnstillers, antidepressiva, benzodiazepines en antibiotica) zijn MEKC-methoden beschreven, die kunnen worden toegepast voor therapeutic drug monitoring (12). Figuur 2 toont de analyse van een mengsel van 9 benzodiazepines. De snelle analysetijd en het grote scheidend vermogen maken MEKC een aantrekkelijke screeningstechniek voor het monitoren van intoxicaties. Een overzicht van een efficiënte toxicologische drug screening in serum en urine is beschreven door Thormann e.a. (13). Hierbij wordt veelal gebruik gemaakt van solid phase extractie om voldoende lage concentratieniveaus te kunnen detecteren.



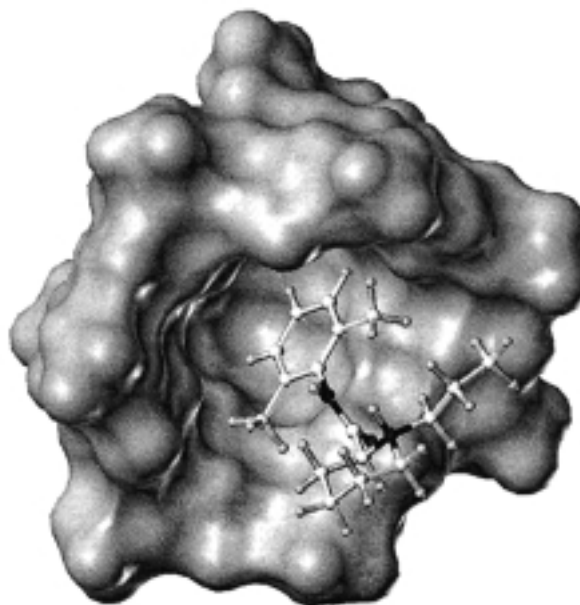
Figuur 2. MEKC analyse van 9 verschillende benzodiazepines: (1) desmethylflunitrazepam, (2) nitrazepam, (3) flunitrazepam, (4) clonazepam, (5) temazepam, (6) oxazepam, (7) desalkylflurazepam, (8) desmethyldiazepam en (9) diazepam. Sample concentratie: 10µg/ml. Elektroliet systeem: 20 mM tris (hydroxymethyl)aminomethaan/boorzuur pH 9,0, 25 mM sodium dodecylsulfate (SDS), 20% acetonitril.

Enantiomere scheiding

Een gebied waarin de CE zich een sterke positie heeft verworven is de scheiding van enantiomeren. Enantiomeren zijn moleculen, die elkaars spiegelbeeld zijn en die niet met elkaar tot dekking te brengen zijn. Het woord is afgeleid van het Griekse woord voor tegenovergesteld, (εναντίος) (Figuur 3). Een chiraal molecuul is een molecuul met tenminste een enantiomeerpaar (χεῖρ = hand). Vandaag de dag is het algemeen bekend, dat enantiomeren verschillende biologische interacties en daardoor verschillende farmacokinetische, farmacologische of toxicologische effecten kunnen hebben. Enantiomeren moeten in principe dus als twee verschillende verbindingen worden beschouwd (14). In de richtlijnen voor nieuwe geneesmiddelen staat, dat een chirale verontreiniging op dezelfde manier behandeld moet worden als een niet-chirale verontreiniging. Een enantioselectieve bepaling moet deel uitmaken van de specificatie, en de identiteitsbepaling moet onderscheid kunnen maken tussen de enantiomeren. De eerste publicaties over het gebruik van CE voor chirale scheiding dateren van eind jaren '80 (15). Daarna zijn er diverse overzichtsartikelen verschenen in de literatuur. De belangrijkste voordelen van CE ten opzichte van de chromatografische technieken zijn de hoge piekefficiënties, flexibiliteit en lage kosten. In de meest eenvoudige vorm van chirale CE wordt een zogenaamde chirale selector aan de elektroforeseoplossing toegevoegd. Indien de enantiomeren een verschil in affiniteit vertonen met deze chirale selector, kunnen ze gescheiden worden. Er zijn veel verschillende selectoren in gebruik voor CE. De meest bekende groep is die van de cyclodextrines. Dit zijn cyclische oligosacchariden, die 3 dimensionaal een mandvorm hebben, waarbij de binnenkant van de mand hydrofobisch is en de buitenkant hydrofiel. Een voorbeeld van het complex tussen een cyclodextrine en een S-ropivacaine molecuul is geschetst in figuur 4. Andere soorten selectoren, die toegepast zijn in CE, zijn bijvoorbeeld chirale detergenten, macrocy-

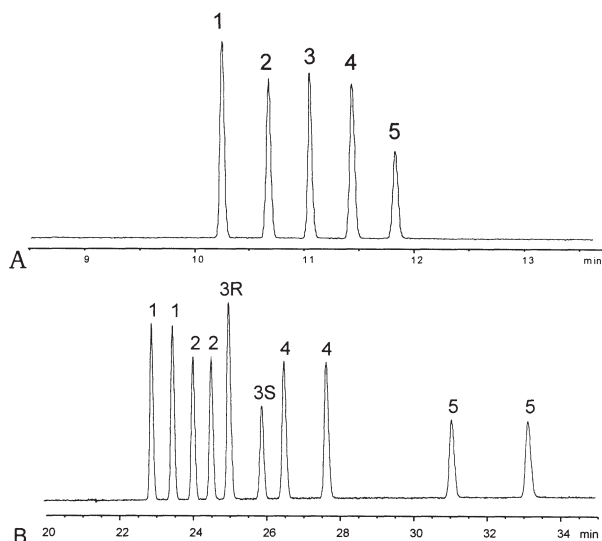


Figuur 3. Een chiraal molecuul is een molecuul met tenminste een enantiomeerpaar (uit ref. 16, Sängner)



Figuur 4. Globaal energie minimum van het complex tussen geprotoneerd (S)-ropivacaine en heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrin. Het cyclodextrin molecuul is afgebeeld met een Conolly surface (water-accessible surface) (uit ref. 16, Sängner).

clische antibiotica, chirale kroonethers, eiwitten en non-cyclische oligosacchariden (16). Figuur 5 toont een voorbeeld van chirale scheiding met behulp van CE. In figuur 5A is de achirale elektroforetische scheiding te zien van een groep lokale anaesthetica. De enantiomeren kunnen van elkaar gescheiden worden na toevoeging van een chirale selector aan de elektroforeseoplossing, in dit geval heptakis (2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrine (figuur 5B). Deze methode is gevalideerd voor de bepaling van de enantiomeren zuiverheid van (S)-ropivacaine substantie en product. De methode is robuust en heeft een hoge precisie en kan accuraat tot 0,05% (R)-enantiomeer in substantie en product bepalen (17, 18). Chirale capillaire elektroforese vindt zijn toepassing in de bepaling van de enantiomere zuiverheid van geneesmiddelen en hun (actieve) ingrediënten, stabiliteitsstudies van geneesmiddelen, stereoselectiviteitsonderzoek naar de metabolisering en excretie van chirale verbindingen, bepaling van enantioselectiviteit van eiwitbinding, forensische analyse etc. Overzichten van toepassingen staan in Chankvetadze's boek over chirale CE (19) en in de meer recente reviews.



Figuur 5. Achirale en chirale scheiding van lokale anaesthetica, (1) mepivacaine, (2) ethyl-PPX, (3) ropivacaine, (4) bupivacaine en (5) pentyl-PPX. A: 0,100 mol/l fosforzuur en 0,088 mol/l triethanolamine (pH 3,0). PVA-gecoat capillair, 64,5 (56,0) cm x 50 μ m. V = 30 kV, T = 30°C, UV detectie bij 206 nm. B: 10 mmol/l DM- β -CD in 0,100 mol/l fosforzuur en 0,088 mol/l triethanolamine (pH 3,0). Capillair: 80,5 (72,0) cm x 50 μ m. V = 30 kV, T = 30°C, UV detectie bij 206 nm (uit ref. 16, Sanger).

Beschouwing

Het is duidelijk dat de CE een welkome aanvulling is in de analytische chemie en zijn weg heeft gevonden binnen diverse laboratoria. Ook in de laboratoriumdiagnostiek van de klinische chemie zal het zijn sterke kanten laten zien. Ofschoon de eerste ontdekkingen van een nieuwe techniek en analyse niet altijd gemakkelijk reproduceerbaar zijn, zoals de lipoproteïnscheidingen, hebben in de klinische-chemische praktijk de eiwitscheiding, de moleculaire diagnostiek, de analyse van metabolieten en de drugsmonitoring met behulp van CE al duidelijk hun voordelen bewezen ten opzichte van conventionele scheidingstechnieken. Dat de ontwikkeling van de CE nog in de kinderschoenen staat, is evident. Wat betreft de hardware zijn er gunstige ontwikkelingen. Een goede selectie van de scheidings- en detectiecomponenten zal het in de toekomst mogelijk maken miniatur analyses (lab-on-a-chip) te introduceren ten behoeve van PCR- en sequentieproducten, die naar verwachting een steeds groter deel van de analysetijd op het laboratorium gaan opeisen. De lab-on-a-chip-analyse, de PCR- en sequencing technieken, de koppeling aan allerlei soorten detectoren zijn ontwikkelingen, die voor de nabije toekomst erg interessant zijn en zeker nog van zich zullen laten horen.

Literatuur

- Hjerten S. Free Zone Electrophoresis, *Chromatog Rev* 1967; 9: 122-219.
- Jorgenson JW, Lukacs KD. Zone electrophoresis in open tubular glass capillaries 1981; 53: 298-1302.
- Schmitz G, Mollers C. Analysis of lipoproteins with analytical capillary isotachoforesis. *Electrophoresis* 1994; 15: 31-39.
- Boone CM, Waterval JC, Lingeman H, Ensing K, Underberg WJ. Capillary electrophoresis as a versatile tool for the bioanalysis of drugs—a review. *J Pharm Biomed Anal* 1999; 20 (6): 831-63.

- Shear JB, Fishman HA, Allbritton NL, Garigan D, Zare RN, Scheller RH. Single cells as biosensors for chemical separations. *Science* 1995; Jan 6; 267(5194): 74-7.
- Harrison DJ, Fluri K, Seiler K, Fan ZH, Effenhauser CS, Manz A. Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical analysis system on chip. *Science* 1993; 261: 895-97.
- Colyer CL, Tang T, Chiem N, Harrison DJ. Clinical potential of microchip capillary electrophoresis systems. *Electrophoresis* 1997 Sep; 18(10): 1733-41.
- Hofstadler SA, Severs JC, Smith RD, Swanek FD, Ewing AG. Analysis of single cells with capillary electrophoresis electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1996; 10(8): 919-22.
- Terabe S, Otsuka K, Ichikawa K, Tsuchiya A, Ando T. Electrokinetic separations with micellar solution and open tubular capillaries. *Anal Chem* 1984; 56: 111-113.
- Muijselaar PG, Otsuka K, Terabe S. Micelles as pseudo-stationary phases in micellar electrokinetic chromatography. *Chromatogr A* 1997; Sep 12; 780(1-2): 41-61.
- Lehmann R, Voelter W, Liebich HM. Capillary electrophoresis in clinical chemistry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997 Sep 12; 697(1-2): 3-35.
- Oda RP, Roche ME, Landers JP, Shihabi ZK. In: 'Handbook of Capillary Electrophoresis, 2nd edition, edited by JP Landers, CRC Press, 1997.
- Steinmann L, Thormann W. Characterization of competitive binding, fluorescent drug immunoassays based on micellar electrokinetic capillary chromatography. *Electrophoresis*. 1996 Aug; 17(8): 1348-56.
- Ariens EJ. Nonchiral, homochiral and composite chiral drugs. *Trends Pharmacol Sci* 1993 Feb; 14(2): 68-75.
- Snopek J, Soini H, Novotny M, Smolkova-Keulemansova E, Jelinek I. Selected applications of cyclodextrin selectors in capillary electrophoresis. *J Chromatogr* 1991 Oct 18; 559 (1-2): 215-22.
- Sanger-van de Griend CE. Enantiomeric separations by capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis, *Acta Universitatis Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy* 214, Uppsala 1999.
- Sanger-van de Griend CE, Groningsson K. Validation of a capillary electrophoresis method for the enantiomeric purity testing of ropivacaine, a new local anaesthetic compound. *J Pharm Biomed Anal* 1996; 14: 295-304
- Sanger-van de Griend CE, Wahlstrom H, Groningsson K, Widahl-Nasman M. A chiral capillary electrophoresis method for ropivacaine hydrochloride in pharmaceutical formulations: validation and comparison with chiral liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 1997; 15: 1051-1061
- Chankvetadze B. *Capillary electrophoresis in chiral analysis*. John Wiley & Sons, Chichester, 1997.

Summary

Developments in capillary electrophoresis. Voorbij HAM, Muijselaar PG and Sanger-van de Griend CE. Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 250-254.

This article highlights some developments in the field of capillary electrophoresis (CE). Although the utilisation of CE in clinical chemistry is limited, some applications are already used in practice. Sensitivity is an important research area and several strategies such as stacking and different detection principles are discussed. Miniaturisation of CE hardware to chip size is one of the most fascinating developments. These chips are used in combination with all kinds of detectors and separation systems, including biosensors. The Micellar Electrokinetic Chromatography technique combines chromatographic with electrophoretic principles and offers great flexibility. Chiral CE is used within e.g. pharmaceutical analysis, research on stereoselective metabolism and forensic analysis.

Key-words: capillary electrophoresis; development; detector; miniaturization; MEKC; chiral