

和光純薬工業株式会社

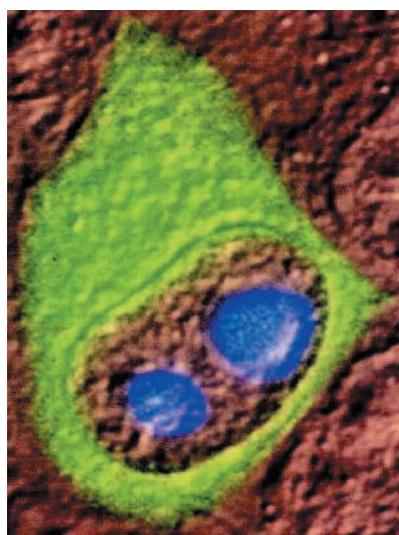


写真: HeLa 細胞中での HIVgag-GFP (Cytoplasmic fusion protein) と HIVrev-BFP (Nucleolar fusion protein) の発現

レポーターアッセイ用

GFP (Green Fluorescent Protein), BFP (Blue Fluorescent Protein) 発現ベクター・モノクローナル抗体

特長

生細胞中でのタンパク質の発現や局在を経時的かつ可視的に検出

GFPとBFPの励起/蛍光波長は異なるため、二重染色が可能

(GFP: Ex. 474nm, Em. 509nm)

BFP: Ex. 384nm, Em. 450nm)

野生型 GFP よりも蛍光強度が強い

発現タンパク質の蛍光タグとして有用。抗体を用いて発現の確認及び精製が可能

詳しくは、P.25 をご参照下さい。

目次

化学大家	_____
「ハーンとマイトナー」	_____
島尾 永康.....	2
総説	_____
「マイクロカプセル化触媒～固定化にマイクロカプセル化法を用いる高分子触媒～」	_____
小林 修.....	6
「内分泌攪乱作用が疑われるスチレン2量体及びスチレン3量体の分析」	_____
川田 邦明、茨木 剛.....	10
シリーズ	_____
< Talking of LAL >	_____
「第35話 抗生物質のエンドトキシン試験」	_____
土谷 正和.....	16
< How to アポトーシス >	_____
「第6話 アポトーシス制御分子: Bcl-2ファミリーの機能」	_____
本山 昇.....	18
< 脳科学ーロメモ >	_____
「脳の NO: 産生と機能」	_____
野村 靖幸.....	22
テクニカルレポート	_____
「カラムスイッチング法による生体試料直接分析(カラムライフ改善検討)」	_____
上森 仁志.....	14
新製品フラッシュ	_____
GFP, BFP 発現ベクター・モノクローナル抗体.....	1,25
D 化合物、セブタムラパー.....	5
酸化オスミウム(), マイクロカプセル化... 9	
環境分析用試薬、QCB 社 Synthaloid ドラッグスクリーニングプレート.....	13
小包装エタノール、高純度過酸化水素、ヒドロキシアパタイト.....	15
SPECTRUM 社 スペクトラポアマイクロディスプレイダイアライザー他.....	17
抗ヒト Bcl-x, モノクローナル抗体、抗 sGC, モノクローナル抗体.....	20
粉末 PBS(-), ホルマリン液.....	21
(株)ニッポンジーン DAC-30™、クリアステイン Ag.....	24
RNA サイズ標準マーカー (0.5kb ~ 9kb)、粉末緩衝液他.....	26
消泡剤.....	27
mtDNA エキストラクター CT キット.....	28

ハーン(1879.3.8-1968.7.28)とマイトナー(1878.11.7-1968.10.27)

科学史家 島尾 永康

オットー・ハーンは1879年3月8日にフランクフルト・アム・マインで生まれた。その6日後にアインシュタインが、そしてさらに7ヶ月後にラウエが生まれている。リーゼ・マイトナーはハーンより4ヶ月前の11月7日にウィーンで生まれている。ドイツ科学の最盛期の頂点に立つこれらの人々が、いずれもドイツが統一国家となってまもなく、1879年に生まれている。



図1. ベルリン大学化学教室の木工作业室のハーンとマイトナー、30歳(1909)

英国留学

マールブルク大学の有機化学の助手だったハーンが、ロンドン大学に留学し放射化学を生涯の研究テーマとするようになったのは全くの偶然による。ハーンは産業界に進むつもりだった。ところがある会社から英語ができて海外に出張できる若い化学者が欲しいという依頼があり、教授はハーンを推薦した。そこで英語習得のため自費で半年ほどロンドンに行くことにした。教授はハーンをロンドン大学のラムゼー教授に紹介した。ラムゼーはドイツのテュービンゲン大学で有機化学を研究したことがあるが、空気中からアルゴンその他の希ガスを発見して有名になり、この年ノーベル賞を受賞した。ラムゼーは放射能に興味を持ち始めていたので、ハーンがもらったテーマは100グラムのバリウム塩から数ミリのラジウムを抽出するというものだった。自分はラジウムについて無知であるというハーンに、何も知らない白紙の状態こそ最も良い研究の前提だとラムゼーは励ました。

精密な実験家であるハーンは、この試料から未知の放射性元素を発見し、ラジオ・トリウムと命名した。さらに、それまで論争の種だったアクチニウムとエマニウムが同一の物質であることをつきと

め、論争にけりを付けた。滞在は一年に延びた。この成果を見たラムゼーは、産業界に入るよりも大学で研究を続けるようにと、ベルリン大学のエミール・フィッシャーに推薦した。ハーンはさらに放射能の権威に師事したいと考えて、カナダのマギル大学のラザフォードの研究室へ行った。ラザフォードはラムゼーの放射能研究を評価していなかったため、はじめはハーンの見解をも認めようとしなかったが、ハーンはラザフォードを納得させた。ここでも放射性アクチニウムを発見した。

こうしてドイツでは全く知られていなかった放射化学という新分野を生涯の専攻とすることになり、始めはベルリン大学の化学教室で、のちにベルリンの郊外ダーレムに新設されたカイザー・ヴィルヘルム化学研究所に、小さな、独立の放射化学研究室をもった。そればかりではない。ハーンと同世代のドイツの作家、トーマス・マンは、「大きなドイツから小さなスイスへいくたびに、田舎から世界へ出る思いがした。ドイツ人は世間知らずの田舎者である」と辛口のドイツ批判をしているが(マン「ドイツとドイツ人」1945)この言葉にいくぶんかの真実があるとすれば、ハーンはドイツという田舎から出て、ロンドン、そしてアメリカ、

カナダという世界を体験したことになる。

ドイツとイギリスの教授の違いも分かってきた。ドイツの正教授はゲハイムラート(枢密顧問官)という高級官僚の称号を持ち、「教授は小さな神様であったから、非常に用心深く接しなければならず、反発することはおろか、批判も差し控えなければならなかった。これに対してイギリスでも教授は尊敬されてはいるが、われわれとの距離は小さく、仲間の一人という感じだった」とい

う(ハーン、『自伝』1968)。ラムゼーは学生ともよく話し、「親切であれ」をモットーにしていた人物である。いつも大声でしゃべり、「わに」というニックネームで親しまれていたラザフォードは、気さくで、豪放磊落な人柄だった。

このようなイギリスの学者に接し、世界を見た体験が、のちにナチス全盛時代のドイツでナチスへの入党を拒否し、協力しなかったこと、さらには、ナチスの意向にあえて逆らってまで大化学者フリッツ・ハーバーの追悼式を主宰したこと(1935)などと無関係でないであろう。そして戦時中の政治的潔白さと、カイザー・ヴィルヘルム研究所の創立以来の古参研究員ということから、戦後のドイツ科学を代表する地位、カイザー・ヴィルヘルム協会の後継機関であるマックス・プランク協会の会長となり、81歳で自らの意志でやめるまでその職にあった(1948~1960)。

女性科学者

科学的には最盛期だったが、女性の研究者を認めることでは遅れていたドイツで、マイトナーははなはだしい差別を受けた。プロイセンで女性に教授資格を認める法令が出て初めて、同年輩の男

性よりも十数年も遅れて教授資格を得た(1920)。ノーベル賞候補にも挙げられるほどの業績がありながら、ナチスのユダヤ人排除の政策により教授資格を剥奪された(1933)。そして生涯の最大の業績となる研究の途中でドイツ国外への亡命を余儀なくされた(1938)。

オーストリアで公式に女性が大学入学を許可されたのはドイツより早く1899年で、マイトナーはその2年後、大学入学資格試験に合格し、ウィーン大学に登録した。小さい時から数学と物理が好きだったので物理学を志望し、ボルツマンの講義をその就任講義から自殺で亡くなるまで(1902~1906)心を躍らせて聴いた。1906年、ウィーン大学で物理学で博士学位を取得した二人目の女性となった。ポストドクトラル研究の希望をベルリン大学のブランクのところへ出した。ベルリン大学はまだ女性の入学を認めておらず、ブランクから、あなたはすでに理学博士なのに、それ以上何をお望みですかといわれた。しかし例外的に聴講を許可してくれた。ウィーンの講義には出てこなかった量子論を初めて聴くことができた。プランク、アインシュタイン、ネルンスト、ヘルツ、シュレーディンガーらが出席していた水曜コロキウムにも欠かさず出た。内気なマイトナーは全く発言しなかったが、アインシュタインはマイトナーを「ドイツのキュリー」と呼んだ。

マイトナーは実験研究をも希望した。このときウィーンでのマイトナーの放射能の研究を知っていたハーンから、物理学者として共同研究者になって欲しいという申し込みがあった。しかしハーンは所属の上司フィッシャーの同意を得なければならなかった。フィッシャーは女性の受け入れを認めない人であった。交渉の結果、半地下の木作業室なら入ってもよいが、その上の化学教室には立ち入らないと言う条件で認められた(図1)。こうして30年に及ぶ両者の、始めは木作業室で、後にはカイザー・ヴィルヘルム化学研究所での、新元素の発見を目

指した化学者と放射線に関心をもつ物理学者の多い共同研究、そして1968年に3ヶ月違いで二人が亡くなるまで60年もつづく友情関係が始まった。ウィーンの良い家の子として育ったマイトナーは、控え目でシャイで、不倫のスキヤンダルにまみれたマリー・キュリーとは異なり、独身で物理学一筋の生涯だった(図2)。

核分裂

イタリアのフェルミがウランを中性子で照射して、原子番号93の超ウラン元素を創り出したという発表は、マイトナーの助手だったマックス・デルブリュック(1937年にアメリカに渡り、後に分子生物学の権威となる)に非常な刺激を与え、その追試をせずには夜もゆっくり眠れないほどの気持ちにさせた。マイトナーは、その実験を成功させるにはハーンのような優れた放射化学者の協力が必要と考え、そのハーンを説得するのに数週間かかった。遅い中性子をウランに照射して、かれらは最初、原子番号93から96までの超ウラン元素を創り出したと思ったが、それは間違いだった。途中から化学者シュトラスマンが参加した。1938年にドイツがオーストリアを併合したため、マイトナーは外国人として保護されなくなり、さりとして出国も許可されなかったため、ハーンは秘密裏にマイトナーを国外に脱出させた(6月)。

4年間の研究の結果、中性子の照射で原子番号92のウランから原子番号56のバリウムが生成するという、それまでの核物理学のいかなる経験にも反する結論しか出てこなかった。しかしハーンは自らの実験の正確さには自信を持っていた。スウェーデンに落ち着いていたマイトナーに、ハーンがウランが破裂してバリウムが生じるという信じられない事実を知らせ、意見を求めたのはクリスマス前である(12

月19日、28日)。マイトナーは、クリスマス休暇でマイトナーに会いにきていた甥の物理学者



図2. リーゼ・マイトナー(30歳代)

オットー・フリッシュとこの問題を討論した。マイトナーは、抜群の実験家であるハーンの放射化学者としての多年の経験にもとづく主張は重視しなければならぬと考え、ボーアの提唱した原子核の液滴模型を使って、ウラン(原子番号92)の原子核が二つに割れて、その一つがバリウム(原子番号56)なら他はクリプトン(原子番号36)である筈だと結論した。その際おびただしいエネルギーが放出されることも計算した。これをただちにハーンに伝えた(1月1日)。ハーンはクリプトンが生成していることを確認したうえで、確信をもって報告を出した(2月)。原子力科学というビッグ・サイエンスを生み出すことになるハーンの研究が、現在、「ハーンの実験机」としてミュンヘンのドイツ博物館に展示されている、きわめてささやかな装置でおこなわれたリトル・サイエンスだったのに深い感銘を覚える(図3)。

フリッシュがコペンハーゲンの研究所に帰って、渡米直前のボーアにウランの核分裂の発見を伝えたとき、ボーアは驚きのあまり茫然となり汽車に乗り遅れか



図3. 「ハーンの実験机」(ミュンヘン、ドイツ博物館)

けた。ワシントンでの国際核物理学会で、ボーアがハーンとシュトラスマンの発見と、マイトナーとフリッシュの解釈を告げたとき、学会出席者の中には追試をするために学会を抜け出して、それぞれの研究所へ飛んで帰ったものが多かった(1月26日)。マイトナーとフリッシュは、生物学で細胞が分かれることを分裂と呼んでいることを知り、「核分裂」という用語を創り出し、その題名で最初の論文を発表した(2月11日)。(フィッシャーとリプソン『分子生物学の誕生』1988)。

1944年度のノーベル化学賞が、核分裂の発見に対してハーン単独に与えられた(図4)。マイトナーは含まれなかった。しかもハーンは研究生活についてのどのインタビューでもマイトナーに言及しなかった(ケルナー『核分裂を発見した人』1986)。しかし1946年、アメリカの女性ジャーナリストたちはマイトナーを「今年の女性」に選び、1959年、ベルリンの原子核研究所は「ハーン・マイトナー研究所」と命名され(図5)。1966年、アメリカ原子力委員会は、ハーン、マイトナー、シュトラスマンの三人にエンリコ・フェルミ賞を贈った。マイトナーも十分世界的に認められた。それでもなお「この発見に最初の解釈を与えたのはフリッシュと私である」と晩年に述べている(マイトナー「私の回想記」1964)。

戦争と科学者

第一次大戦中、ハーンはカイザー・ヴィルヘルム物理化学研究所所長ハーバーの率いる毒ガス研究に全面的に参加し、毒ガス戦の攻撃と防御、製造と研究に従事した(1915~1918)。マイトナーは志願してオーストリア軍の野戦病院のレントゲン技師になった。初めてハーバーに呼び出されたとき、ハーンは毒ガスはハーグ条約に違反するのではないかと反論したが、フランス軍のほうが先に使っていること、またこの新兵器が、多くの犠牲者を出さず、戦争を早く終結させるであろうという、第二次大戦の原

爆の使用と同じ論拠で説得された。カイザー・ヴィルヘルム化学研究所のほとんどすべての施設が毒ガス研究で占められた。ただハーン

の小さい放射化学の研究室だけがそととしておかれた。ジェームズ・フランク、グスターフ・ヘルツ、ヴィルシュテッター、ヴィーラントといった、後にノーベル賞を受賞した著名な科学者たちも動員された。戦争に反対していたヴィルシュテッター教授も、ヘキサメチレンテトラミンを用いてガスマスクを開発した。新しく製造されたガスマスクが濃密度の、きわめて毒性の強いフォスゲンの中で、どれだけ長くもちこたえられるかを、自ら志願して実験用モルモットとなったのはハーンとフランクだけだった。

ハーンはガス部隊の指揮官として東部戦線で、塩素とフォスゲンとの混合ガスを用い、その効果を最前線で調査した。苦しんで死んでいくロシア兵と目が合ったとき、こういふことをしている「自らを深く恥じ、心の中は動揺した(『自伝』)。しかしハーンはベルリンの研究所とレバークーゼンの工場では「ガスの専門家」として有名になっていった。ジフォスゲンとフォスゲンの混合物の製造の指導もした。毒ガスの実戦と研究では味方の被害も免れなかった。ヘルツは東部戦線で重い被害を受け、フロイントリッヒは研究所で生命も危ぶまれるほどの被害を受けた。ハーンも研究中フォスゲンの中で中毒で卒倒した。驚くべきは、このような毒ガス戦の軍務の合間を縫って研究室に戻り、マイトナーとともに、アクチニウム系列の母体をピッチブレンドの不溶性の残差から発見し、プロトアクチニウムと命名したことである。ノーベル化学賞



図4. オットー・ハーン(46歳)



図5. ベルリンのハーン・マイトナー原子核研究所におけるハーンとマイトナー、80歳

の候補にも上がった研究である。

第一次大戦で毒ガスと深くかかわったハーンは、第二次大戦では原爆を導き出すウランの核分裂を発見した。戦後世界の人々が注目したのは原爆とのかかわりである。しかしハーンは原子兵器の仕事をしたこともないし、ハイゼンベルクらのように原子炉研究にも関係しなかったと述べている。かれは化学者としてひたすらウランの分裂生成物だけを研究していたという。たしかに戦争末期では100ほどの同位元素の形で約25種類の元素を発見していた。ウランの中性子照射で余分の中性子が放出されることも知らなかったし、連鎖反応もまだ発見されていなかった。ハーンは放出されるエネルギーには関心がなかった。しかし敗戦後のイギリスでの抑留中、広島原爆投下のニュースに接したとき、「名状しがたいほどのショックを受け、打ちのめされた。一晩中つづいた長い討論と自己嫌悪の後、私はすっかり興奮してしまい、ラウエその他の人々は私の自殺を真剣に心配したほどだった(『自伝』)。

人類の歴史は核時代に突入した。その後の核兵器の発展は全人類を絶滅させて余りあるものになっている。ハーンは純粋科学にかかわった科学者といえども、その帰結に対する責任は免れないと考えるようになり、1957年4月12日、18人の科学者の連盟で、猛反対する国防相を抑えて、ドイツ連邦共和国はいかなる種類の核兵器も断念するというゲッティンゲン宣言をおこなった。

D 化合物追加のご案内

当社の重水素化合物がさらに充実しました。

今回はさらに品目を追加するとともに、汎用の溶媒類についても

[1] 0.05% TMS (内標) 含有品の充実

[2] 1ml × 5 (アンプル品) 包装の追加

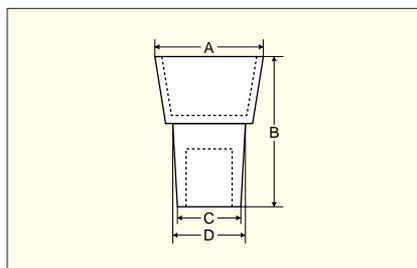
に重点を置いています。

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
019-17161	Acetone-d ₆ , 99.9%, with 0.05% TMS	10g	6,500
015-17163	Acetone-d ₆ , 99.9%	50g	24,000
011-17361	Acetone-d ₆ , 99.8%	1ml × 5	8,500
018-17371	Acetone-d ₆ , 99.8%, with 0.05% TMS	1ml × 5	8,500
011-17001	Acetonitrile-d ₃ , 100%(min. 99.95%)	1ml	4,500
017-17003	Acetonitrile-d ₃ , 100%(min. 99.95%)	1ml × 5	17,000
016-17311	Acetonitrile-d ₃ , 99.8%	10g	11,000
012-17313	Acetonitrile-d ₃ , 99.8%	50g	34,000
024-13511	Benzene-d ₆ , 99.8%	1ml × 5	12,000
021-13521	Benzene-d ₆ , 99.8%, with 0.05% TMS	1ml × 5	12,000
034-17211	Chloroform-d, 99.7%, with 0.05% TMS	100g	7,100
032-17131	Cyclohexane-d ₁₂ , 99.5%	1ml	4,500
038-17133	Cyclohexane-d ₁₂ , 99.5%	1ml × 5	17,000
043-26413	20% Deuterium Chloride Soln. in D ₂ O, 99.5%	50g	照 会
040-26423	35% Deuterium Chloride Soln. in D ₂ O, 99.5%	50g	照 会
046-26361	Dimethylsulfoxide-d ₆ , 99.9%, with 0.05% TMS	10g	7,200
044-26362	Dimethylsulfoxide-d ₆ , 99.9%	25g	14,400
049-26471	Dimethylsulfoxide-d ₆ , 99.8%	1ml × 5	7,500
046-26481	Dimethylsulfoxide-d ₆ , 99.8%, with 0.05% TMS	1ml × 5	7,500
041-26291	1,4-Dioxane-d ₈ , 99.5%	1ml	9,000
135-12951	Methanol-d ₄ , 99.8%, with 0.05% TMS	10g	15,000
136-13101	Methanol-d ₄ , 99.8%, with 0.05% TMS	1ml × 5	11,500
133-13091	Methanol-d ₄ , 99.8%	1ml × 5	11,500
160-19023	Pyridine-d ₅ , 99.5%, with 0.05% TMS	1ml × 5	12,000
190-11601	40% Sodium Deuterioxide Soln. in D ₂ O, 99.5%	10ml	照 会
196-11603	40% Sodium Deuterioxide Soln. in D ₂ O, 99.5%	50ml	照 会
200-14271	Toluene-d ₈ , 99.6%	10g	14,500
208-14272	Toluene-d ₈ , 99.6%	25g	26,000
204-14213	Trifluoroacetic Acid-d, 99.3%	1ml × 5	6,000

セプタムラバー

試験管などの密栓用として下記のセプタムラバーを在庫しました。

材質は天然ゴムとシリコンの2種類で適用試験管の大きさはつぎの通りです。



コード No.	品 名	材 質	適用試験管	包 装	希望納入価格 (円)	[サイズ (mm)]			
						A	B	C	D
190-11721	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	5mm 径用	100 個	7,500	7.6	11.5	4.5	4.5
197-11731	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	7mm 径用	100 個	7,500	9.0	18.0	5.4	6.8
194-11741	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	8mm 径用	100 個	7,500	11.8	20.0	6.5	7.7
191-11751	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	10mm 径用	100 個	8,000	13.0	19.5	9.0	10.7
192-11781	セプタムラバー(白色)	シリコンゴム	10mm 径用	100 個	13,000	13.0	19.5	9.0	10.7
198-11761	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	15mm 径用	100 個	12,000	17.0	28.0	12.5	14.0
199-11791	セプタムラバー(白色)	シリコンゴム	15mm 径用	100 個	20,000	17.0	28.0	12.5	14.0
195-11771	セプタムラバー(白色)	天然ゴム	18mm 径用	100 個	15,000	21.0	35.0	14.0	16.5
192-11801	セプタムラバー(白色)	シリコンゴム	18mm 径用	100 個	26,000	21.0	35.0	14.0	16.5

マイクロカプセル化触媒

～ 固定化にマイクロカプセル化法を用いる高分子触媒 ～

東京大学大学院 薬学系研究科 小林 修

1. はじめに

高分子固定化触媒(高分子触媒)を用いるプロセスは、生成物と触媒をろ過だけで分離でき、反応の後処理が簡便で触媒の再使用も容易であるなどの利点を有し、経済性にも優れるため、工業レベルでの化成品、医薬品合成への展開も広く期待される。触媒化学の中で重要な位置を占める高分子触媒のアイデア自体は比較的古くから知られていたが、その成功例は意外と少ない。例えば、現代有機合成の中でも中心的役割を果たしているルイス酸を高分子上へ固定化した成功例は皆無に近い。通常触媒を高分子上へ固定化する際、共有結合を用いるが、しばしば複雑な操作を必要とする上、共有結合で高分子に結ばれた触媒は立体障害などにより高分子に固定化する前の触媒より活性が低下してしまう場合が多い。筆者らは、比較的古い歴史を有する高分子触媒が期待される程実用化されていないのは、この点に問題があると考え、共有結合を用いない新たな高分子触媒の調製法を模索した。その結果、これまで全く例のない新しい高分子触媒として「マイクロカプセル化触媒」を開発することができた。なお筆者らはこの新触媒を「マイクロカプセル化触媒」と呼び、従って本稿のタイトルにも用いたが、実際の触媒は固定化される触媒の大きさによって必ずしも形の整った「マイクロカプセル」を生成しない場合も多い。形の崩れたものも学術上は「マイクロカプセル」で正しいのだが、読者の誤解を避けるため副題をつけた。

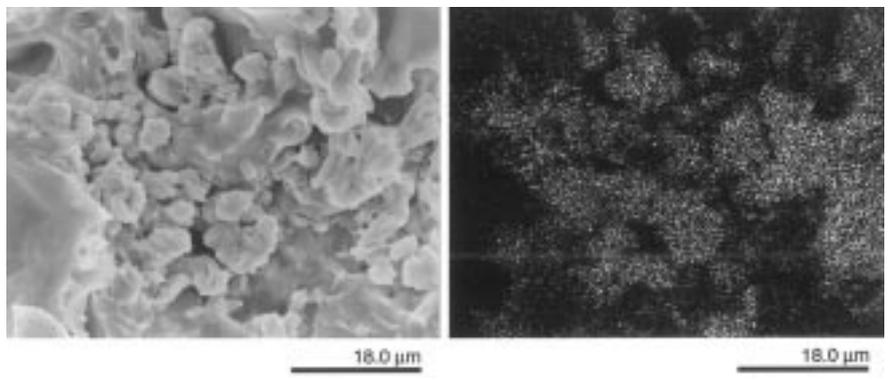
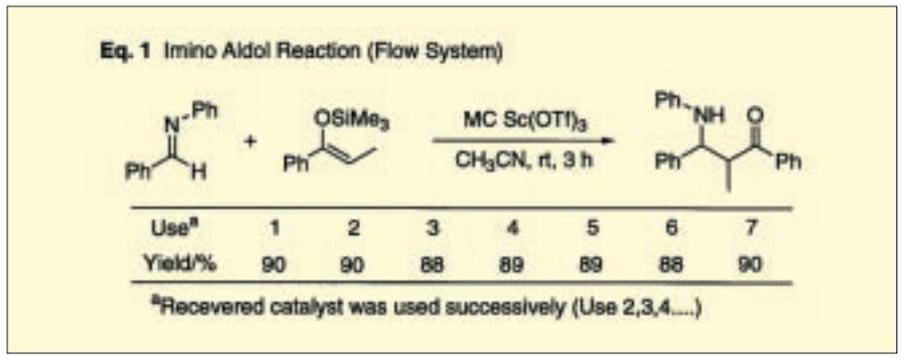


Fig.1. Scanning electron microscopy (SEM) micrograph (left) and scandium energy dispersive X-ray (EDX) map of MC Sc(OTf)₃

2. マイクロカプセル化スンジウムトリフラート (MCSc(OTf)₃)¹

マイクロカプセル化は、食品や医薬品を保護するのにしばしば使われている技術である。筆者らはこの技術をまず、ルイス酸であるスンジウムトリフラート (Sc(OTf)₃)² の固定化に用いようと考えた。ルイス酸を用いる有機合成は上述したように繁用されているが、筆者らは特に水中で安定でしかも高活性を有し様々な合成反応へ展開されている Sc(OTf)₃ に注目し、このマイクロカプセル化を検討した。筆者らの基本的な固定化の考え方は、すでに述べたように従来法のような共有結合によらず、ポリマー鎖の物理的な相互作用による取り込みと、高分子担体として用いるポリスチレンのベンゼン環の電子と Sc(OTf)₃ の空軌道の電子

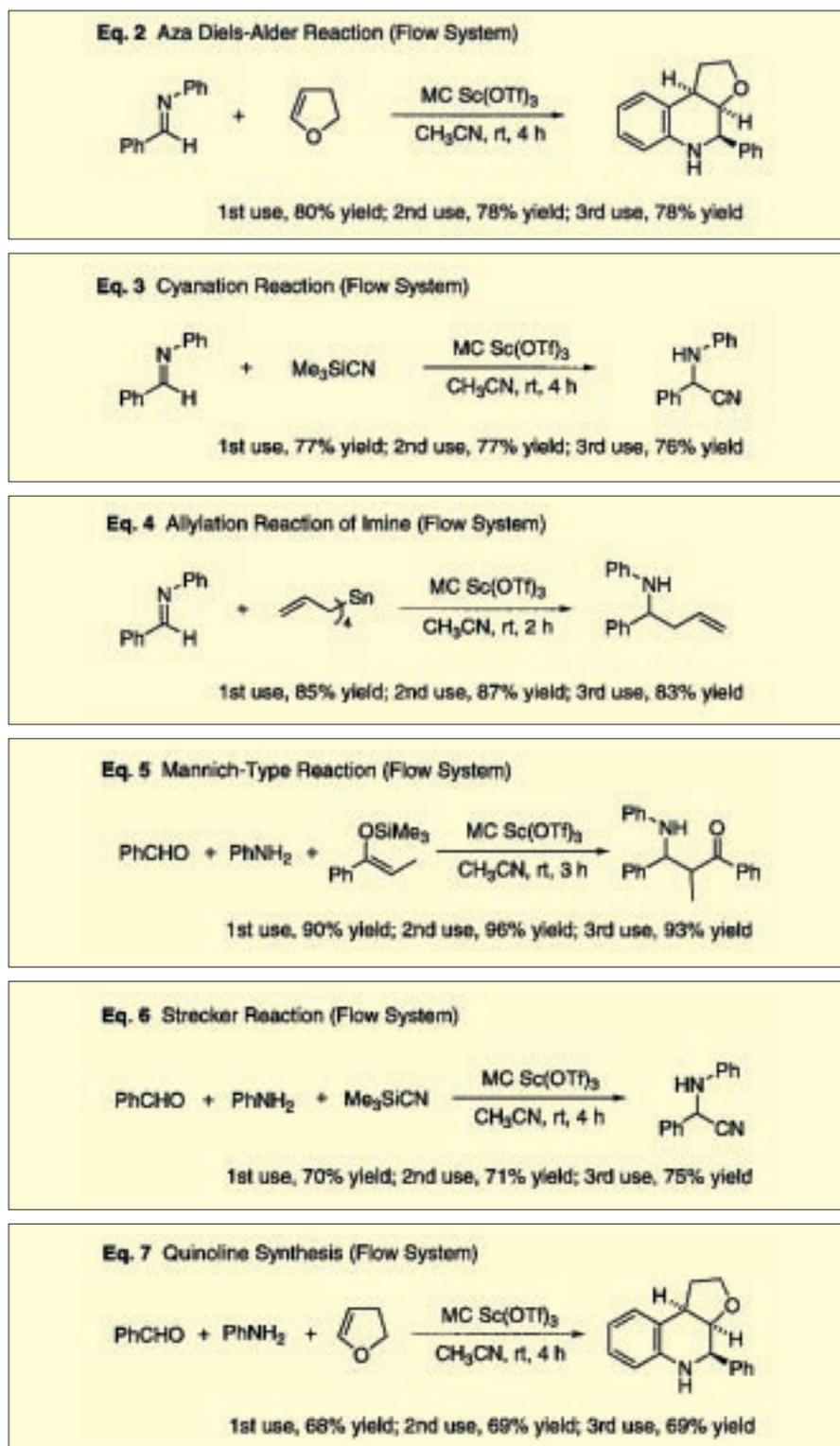
的相互作用を利用しようというものである。この方法によれば、固定化後も触媒の高活性が期待され、またいわゆる「高分子効果」による反応の加速効果も望める。実際の高分子触媒の合成は、以下に示す標準的なマイクロカプセル化法に従って行った。すなわち、ポリスチレン(分子量 28,000)1g を 40 ml でシクロヘキサン 20ml に溶解し、この溶液に Sc(OTf)₃(粉末)0.200g を加える。同温度で1時間攪拌した後、ゆっくりと 0 ℃ へ冷却する。この段階でコアセルベート化が起り、Sc(OTf)₃ を芯物質とするマイクロカプセルが生成する。ヘキサン(30ml)を加えてカプセルを固めた後、ろ過してアセトニトリルで洗浄後、50 ℃ で乾燥する。こうして得られたマイクロカプセル化スンジウムトリフラート (MCSc(OTf)₃) は 0.120g の Sc(OTf)₃ を含み、外見は塊



状だが適当な大きさに砕いて用いることもできる。

図1に $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ の Scanning electron microscopy (SEM) 写真とスカンジウムEDXマップを示した。SEM写真から、生成した $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ は芯物質である $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ が小さいため互いに凝集して形がかなり崩れている様子が伺える。一方、スカンジウムEDXマップからは、形が崩れることによりカプセル内の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ が表面に出てきて、ほぼ触媒の表面に均一に分散している様子が見られる。筆者らはこの2枚の写真を見て、合成した $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ の高活性を確信した。実際、 $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ はいくつかの基本的かつ重要な炭素-炭素結合生成反応に有効であることがわかった。まずイミン類を有効に活性化し、イミナルドール反応(式1)、アザ Diels-Alder 反応(式2)、シアノ化反応(式3)、アリル化反応(式4)などが円滑に進行し、目的とする付加体が高収率で得られた。反応は通常の反応容器を用いるバッチシステム、あるいは循環式カラムを用いるフローシステムどちらでも行うことができる。バッチシステムの場合は通常の際によって触媒を定量的に回収でき、2回、3回と使用しても活性は低下しない。一方、フローシステムでは、次々に原料を加えることにより連続使用が可能で、生成物は単にカラムの下からぬき取ればよい。さらに $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ はいわゆる化合物ライブラリー構築に威力を発揮する3成分縮合反応である Mannich 型反応(式5)、Strecker 反応(式6)、キノリン生成反応(式7)の触媒としても有効であることがわかった³。これらの反応によれば、興味深い生物活性の期待される含窒素化合物のライブラリーを、多種類かつ1つ1つ純粋な形で、それぞれの化合物の量も数百ミリグラムを超える量で合成することができる。

さらに $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ は、イミンばか



りでなくカルボニル化合物の活性化にも有効であることがわかった。アルドール反応(式8)、Michael 反応(式9)、シアノ化反応(式10)、アリル化反応(式11)、Diels-Alder 反応(式12)、Friedel-Crafts アシル化反応(式13)などが、 $\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ 存在下円滑に

進行することも明らかとなった。

$\text{MCSc}(\text{OTf})_3$ の触媒活性は、ほとんどの反応で担持前の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ の活性に匹敵する。中には、イミナルドール反応のように、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ よりもマイクロカプセル化した触媒 ($\text{MCSc}(\text{OTf})_3$) の方が高活性を示す場合も見

い出されており、共有結合を用いずに高分子上に担持している点、およびいわゆる「高分子効果」によってイミンを活性化する遷移状態が安定化されている点、が高活性に結びついているものと考えられる。

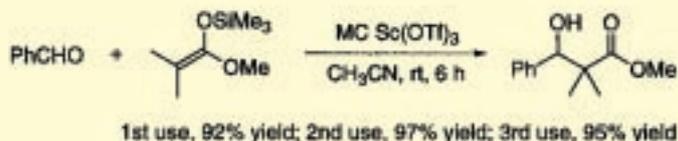
3. マイクロカプセル化四酸化オスmium (MCOsO₄)⁵

次に、四酸化オスmium (OsO₄)を同様の「マイクロカプセル化法」によって高分子上へ担持することを検討した。OsO₄は、オレフィンをジオールへ変換する最も優れた試薬の一つであり様々な需要があるものの、実際の工業プロセスとしての成功例はほとんど知られていない。これは1つには、OsO₄が毒性が高く、高価で揮発性のため、回収、再使用が難しいためであると考えられる。これらの問題を解決するために、高分子上にOsO₄を固定化しようとする試みはこれまでに2、3あったが、触媒の回収、再使用の観点から必ずしも満足できる結果を与えていないのが現状であった。

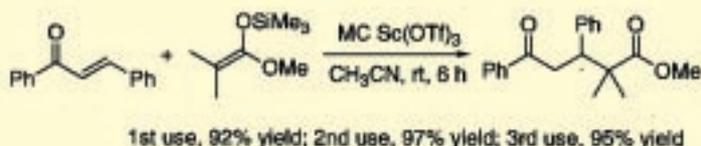
筆者らは、先に Sc(OTf)₃ を高分子上に固定化した「マイクロカプセル化」法を、OsO₄の固定化にも適用しようと考えた。但し、OsO₄は Sc(OTf)₃ に比べてルイス酸性が低いため、ポリスチレンのベンゼン環上の電子と空軌道の相互作用は弱くなるものと予想され、研究の開始当初は OsO₄の導入率および反応後の回収率が低いのではないかと危惧された。しかしながら幸いなことに、MCS(OTf)₃の調製法とほぼ同様の方法で MCOsO₄を合成することができ、導入率もほぼ同程度、また反応後の回収率は定量的で再使用しても触媒の活性も低下しないことがわかった。

まずモデル化合物としてシクロヘキサンのジヒドロキシル化について検討した。溶媒としては水-アセトン-アセトニトリル(1:1:1)が最適で、また共

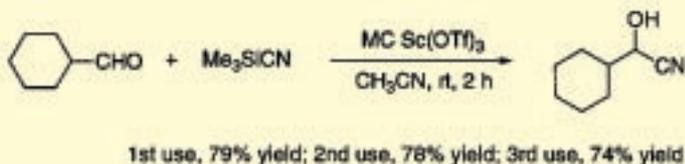
Eq. 8 Aldol Reaction (Batch System)



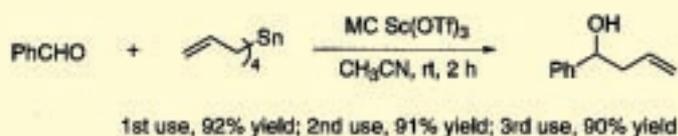
Eq. 9 Michael Reaction (Batch System)



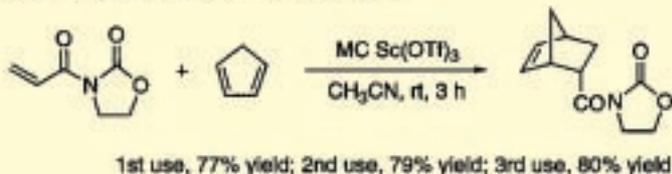
Eq. 10 Cyanation Reaction of Aldehyde (Batch System)



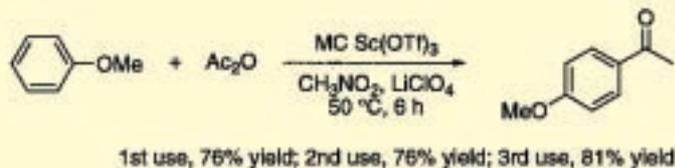
Eq. 11 Allylation Reaction of Aldehyde (Batch System)



Eq. 12 Diels-Alder Reaction (Batch System)



Eq. 13 Friedel-Crafts Acylation (Batch System)



酸化剤としては *N*-メチルモルホリン-*N*-オキsid (NMO) が好結果を与えた。他の共酸化剤としてトリメチルアミン-*N*-オキsid、過酸化水素、*t*-ブチルヒドロパーオキsid、フェロシアン化カリウムなどを検討したが、収率は低下することがわかった。また、反応終

了後、MCOsO₄はろ過によって定量的に回収され、回収した触媒を数回用いてもいずれも活性は全く低下しないことがわかった(表1)。さらに生成物へのOsO₄の混入を定性分析によって調べたところ、検出誤差範囲内でOsO₄は検出されず、生成物への混入はな

Table 1. Recovery and reuse of MC OsO₄

Run	1 2 3 4 5
Yield of Product (%)	84 84 83 84 83
Recovery of Catalyst (%)	quant. quant. quant. quant. quant.

Table 2. Dihydroxylation of olefins using MC OsO₄^a

Olefin	Product	Yield (%)
		84
		81
		89
		68
		83
		84
		78
		74
		76
		63
		83 ^b

^aAll reactions were carried out using MC OsO₄ (5 mol%) and NMO in H₂O-acetone-CH₃CN (1/1/1) at rt for 6-48 h. ^bCarried out at 60 °C.

いこともわかった。

種々のオレフィンの MCOsO₄ を用いるジヒドロキシル化反応の結果を表2に示す。環状オレフィン、末端オレフィン、トランスオレフィン、さらに三置換オレフィンのいずれを用いた場合も反応は円滑に進行し、目的とするジオールを高収率をもって得ることができた。これらの反応ではいずれの場合も反応終了後ろ過によって触媒と生成物を分離することができ、触媒は定量的に回収、再使用できる。

4. おわりに

「マイクロカプセル化」法という全く新しい触媒の高分子上への固定化法について、Sc(OTf)₃ および OsO₄ を例にとってその固定化法およびそれぞれのマイクロカプセル化触媒の特性について概説した。これらの触媒は従来から用いられてきた共有結合を用いず配位結合によって触媒を固定化しているため、これまで知られている高分子触媒に比べて高活性な上、回収、再使用も可能な点が特徴である。今後、本「マイクロカプセル化」法は、種々の触媒や反応試剤の高分子上への固定化に広く応用されるものと期待される。

[参考文献]

1. S. Kobayashi, S. Nagayama, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 2985-2986 (1998).
2. S. Kobayashi, *Eur. J. Org. Chem.*, 1999, 15-27.
3. S. Kobayashi, *Chem. Soc. Rev.*, 28, 1-6 (1999).
4. S. Kobayashi, S. Nagayama, *Synlett*, 1997, 653-654.
5. S. Nagayama, M. Endo, S. Kobayashi, *J. Org. Chem.*, 63, 6094-6095 (1998).

◆New Products◆◆◆

揮発性を抑えたりリサイクル可能な酸化オスmium()

Osmium()Oxide,

Microencapsulated

有機合成用

153-02081

1g

15,000 円

内分泌攪乱作用が疑われるスチレン2量体及びスチレン3量体の分析

新潟県保健環境科学研究所 川田 邦明、 茨木 剛

1. はじめに

スチレン2量体及びスチレン3量体は、ポリスチレン樹脂の製造工程において、熱重合の副反応生成物として生成することが知られている。1991年6月に内分泌攪乱化学物質問題に関する専門家会議がウイングスプレッド(米国)で開催された。この際に発表された合意声明において、スチレン2量体及びスチレン3量体は、DDTやフタル酸ジエチルヘキシル、アルキルフェノール類などとともに、内分泌攪乱化学物質として示された¹⁾²⁾。また、環境庁が作成した報告書(1997年)でも、内分泌攪乱作用が疑われている化合物のひとつとしてリストされている²⁾。しかし、その毒性などに関しては不明な点が多い。

2. 環境中などにおける存在

建設省が1998年7～8月に、全国5ヶ所で開催した河川水調査では、対象としたスチレン2量体(2,4-diphenyl-1-butene及び1,3-diphenylpropane)及びスチレン3量体(2,4,6-triphenyl-1-hexene)はいずれも検出下限未満($<0.01\mu\text{g}/\text{l}$)であった³⁾。環境庁が1998年8～9月に実施した全国環境水調査(河川100地点、海域

17地点、湖沼5地点、地下水8地点)では⁴⁾、スチレン2量体は全地点で検出下限未満($<0.05\mu\text{g}/\text{l}$)であった。一方、スチレン3量体は、河川の6地点($0.07\sim 0.30\mu\text{g}/\text{l}$)及び海域の1地点($0.07\mu\text{g}/\text{l}$)で検出されたが、その他の地点では検出下限未満($<0.05\mu\text{g}/\text{l}$)であった。

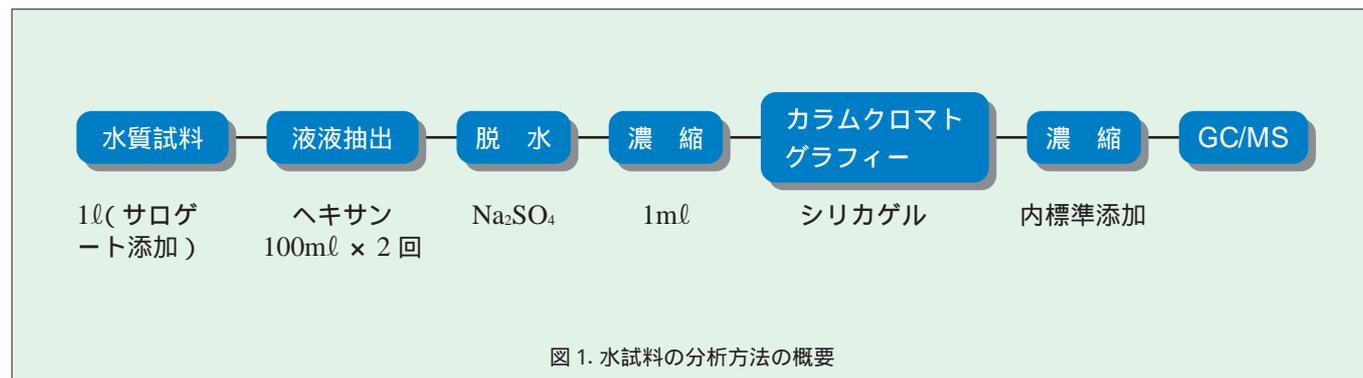
Bayonaらは⁵⁾⁶⁾、底質中の有機化合物をジクロロメタン-メタノール(2:1)で超音波抽出後、中性アルミナ及びシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーで得られたフラクションをGC及びGC/MS分析する方法を用いることにより、Sesos川(バルセロナ、スペイン)の河口付近及びその沖合いなどで採取した底質から、スチレン2量体の一種を 1.5 及び $0.1\mu\text{g}/\text{g}$ 、また、スチレン3量体の一種を $1.5\mu\text{g}/\text{g}$ 検出したと報告している⁵⁾。しかし、スチレン2量体及びスチレン3量体の構造の推定などは行っておらず、用いた分析方法については、添加回収試験等による評価は記述されていない。

スチレン2量体及びスチレン3量体は、ポリスチレン製品に残存していることが河村らにより報告されている⁷⁾。河村らは、ポリスチレンを細片化してシクロヘキサン-2-プロパノール(1:1)に浸せきし、得られた抽出液中から、4種のスチレン2量体と8種のス

チレン3量体を検出し、このうち、4種のスチレン2量体と6種のスチレン3量体の構造を確定または推定している⁷⁾。さらに、河村らは、ポリスチレン製品25種中のスチレン2量体及びスチレン3量体の含有量をGC-FIDにより定量し、スチレン2量体4種を $90\sim 1,030\mu\text{g}/\text{g}$ 、また、スチレン3量体7種を $650\sim 20,770\mu\text{g}/\text{g}$ 検出している。そして、その大部分をスチレン3量体がしめ、また、スチレン3量体の2/3が1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralinであったと報告している⁸⁾。なお、オクタデシル基(ODS)を化学結合したシリカゲルを固定相とし、アセトニトリル-水系を移動相とするHPLCによる分離も試みられている⁷⁾。

3. 環境試料の分析方法

環境庁では、内分泌攪乱物質の調査法暫定マニュアルをいち早く示している⁹⁾¹⁰⁾。それによれば、水試料については、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン及びベンゾ[a]ピレンとの同時分析法として、ヘキサンで溶媒抽出し、必要に応じてシリカゲルカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップ後、GC/MSで定量する方法が示されている(図1)。また、溶媒抽出に代わる方法として、ODSを化学結合したシリカ



ゲルやポリマーゲル等を充填または成型した固相カラムや固相ディスク等を使用した固液抽出も示されている。底質試料及び生物試料については、ベンゾ[a]ピレンとの同時分析法として、試料をアルカリ分解後、ヘキサンで溶媒抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ後、GC/MSで定量する方法が示されている(図2及び図3)。

なお、水及び底質試料中のスチレン2量体及びスチレン3量体の分析法として、著者らは、精油定量器を用いた連続蒸留¹¹⁾により溶媒抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップし、GC/MSで定量する方法を検討してお

り、概ね良好な結果を得ている¹²⁾。この方法は、操作が極めて簡便であること、クリーンアップが容易であることなどがその特徴としてあげられる。

4. GC分離カラムの選定

スチレン2量体及びスチレン3量体は、相互に極めて類似したマススペクトルを有するため、これらの個別定量においてはカラムによる分離が不可欠である。従って、スチレン2量体及びスチレン3量体のGC及びGC/MS分析においては、カラムの選定は極めて重要となる。河村らは⁷⁾⁸⁾、スチレン2量体及び3量体を分離するために無極性のジメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカラムを用いている。しかし、4種の1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin類の分離が不十分であるため、これらの化合物の分離には強極性のポリエチレングリコールを液相とするキャピラリーカラムを用

いている⁷⁾。Bayonaらは⁵⁾⁶⁾、微極性の5%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカラムを用いているが、分離状況については不明である。環境庁の暫定マニュアルでは、50%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカラムが例示されている⁹⁾¹⁰⁾。

著者らは、スチレン2量体及びスチレン3量体を、内分泌攪乱作用が疑われるベンゾフェノンや4-ニトロトルエン等と同時にGC/MS分析するために、種々の条件を検討した。その結果、微極性の5%フェニルメチルポリシロキサン(HP-5等)又は中極性の50%フェニルメチルポリシロキサン(DB-17等)を液相とするキャピラリーカラムを用いることにより良好な分離結果が得られることがわかった¹²⁾¹³⁾。GC/MS条件を表1に、各化合物の定量イオン及び検討した2種のカラムにおける保持時間を表2に例示する⁹⁾¹⁰⁾。なお、スチレン2量体及びスチレン3量

体の標準は市販標準品を用いて作成した。このうち、表1の条件(1)で作成したスチレン2量体及びスチレン3量体の検量線を図4に例示する。

〔参考文献〕

- 1) T. Colborn, D. Dumanoski, J. P. Myers: "Our Stolen Future: Are We Threatening Our Fertility, Intelligence, and Survival? - A Scientific Detective Story"(邦訳:長尾力訳:"奪われし未来", 翔泳社, 東京, 1997)
- 2) 環境庁リスク対策検討会: "環境ホルモン", 環境新聞社(1997)
- 3) 建設省河川局: 河川における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査結果(前期調査)(1997)
- 4) 環境庁水質保全局水質管理課: 水環境中の内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)実態概況調査(夏季)結果速報(1998)
- 5) M. Grifoll, A. M. Solanas, J. M. Bayona: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 175(1990)
- 6) P. Fernández, M. Grifoll, A. M. Solanas, J. M. Bayona, J. Albalgès: *Environ. Sci. Technol.*, 26, 817(1992)

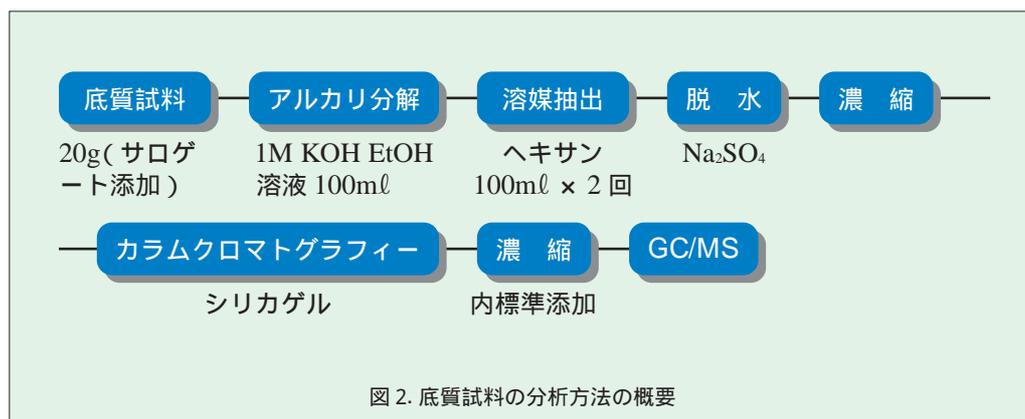


図2. 底質試料の分析方法の概要

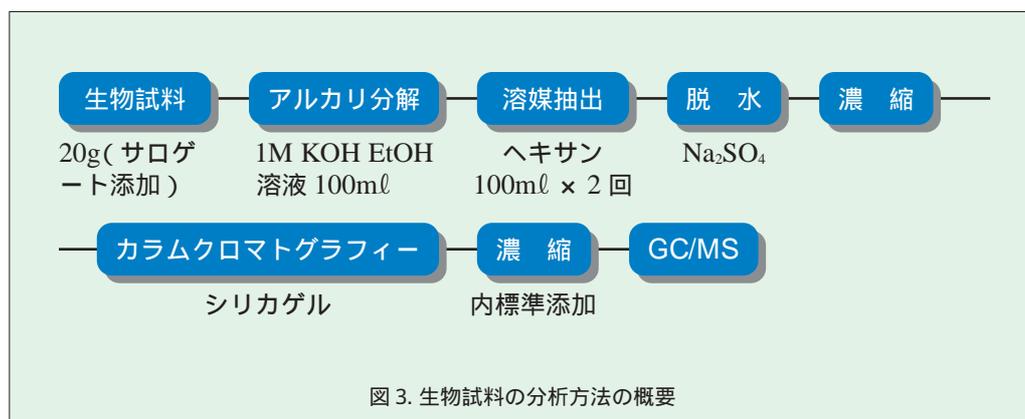


図3. 生物試料の分析方法の概要

- 7) 河村葉子, 杉本直樹, 武田由比子, 山田 隆: 食品衛生学雑誌, 39, 110 (1998).
- 8) 河村葉子, 河村麻衣子, 武田由比子, 山田 隆: 食品衛生学雑誌, 39, 199 (1998).
- 9) 環境庁水質保全局水質管理課: " 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル (水質, 底質, 水生生物)", p.VI-I (1998).
- 10) 川田邦明: 第 26 回日本環境化学会講演会予稿集, p.89 (1996).
- 11) 川田邦明, 尾崎邦雄, 横山ひろみ: 衛生化学, 32, 128 (1986).
- 12) 茨木 剛, 川田邦明, 雅楽川恵子, 坂井正昭, 貴船育英, 森田昌敏: 分析化学 (投稿中).
- 13) 川田邦明ほか (未発表).
- 14) 和光純薬工業株式会社 (私信).

表-1. GC/MS 測定条件

Apparatus: Shimadzu GCMS QP5050A
 Injection temperature: 280
 Interface temperature: 280
 Ionization current: 350 μ A
 Ionization energy: 70 eV
 GC conditions:
 (1) Column: HP-5 trace analysis (0.25 μ m film thickness, 30 m long, 0.25 mm i.d.)
 Column temperature: Programmed from 60 (held for 1 min) to 280 at a rate of 10 /min (held for 2 min).
 Carrier gas pressure: programmed from 6 kPa to 70 kPa (held for 0.5 min) at a rate of 200 kPa/min, then back to 6 kPa at the same rate and to 50 kPa at a rate of 2 kPa/min (held for 2 min).
 (2) Column: DB-17 (0.25 μ m film thickness, 30 m long, 0.25 mm i.d.)
 Column temperature: Programmed from 60 (held for 1 min) to 220 at a rate of 15 /min (held for 2 min), then to 300 at a rate of 10 /min (held for 7 min).
 Carrier gas pressure: programmed from 6 kPa to 70 kPa (held for 0.5 min) at a rate of 200 kPa/min, then back to 6 kPa at the same rate and to 39 kPa at a rate of 3 kPa/min (held for 0 min), then to 54 kPa at a rate of 2 kPa/min (held for 7 min).

表-2. スチレン 2 量体及びスチレン 3 量体の GC/MS 測定イオンと保持時間^{9), 10)}

化合物名	略号	m/z				保持時間 (min)		
		Q	I			HP-5	DB-17	
D	2,4-Diphenyl-1-butene	DPB	91	115	130	208	16.15	14.10
D	cis-1,2-Diphenylcyclopropane	cis-DPCP	104	208			15.89	14.27
D	trans-1,2-Diphenylcyclopropane	trans-DPCP	104	208			16.49	14.63
D	1,3-Diphenylpropane	DPP	92	91	196	197	15.40	13.43
T	1e,3e,5a-Triphenylcyclohexane ¹⁴⁾	eea-TPCH	91	104	312		25.79	24.55
T	1e,3e,5e-Triphenylcyclohexane ¹⁴⁾	eee-TPCH	91	104	312		26.33	25.01
T	1a-Phenyl-4a-(1'-phenylethyl)tetralin	aa-PPET	91	129	207	208	24.09	23.05
T	1a-Phenyl-4e-(1'-phenylethyl)tetralin	ae-PPET	91	129	207	208	24.02	22.70
T	1e-Phenyl-4a-(1'-phenylethyl)tetralin	ea-PPET	91	129	207	208	24.18	22.93
T	1e-Phenyl-4e-(1'-phenylethyl)tetralin	ee-PPET	91	129	207	208	23.89	22.78
T	2,4,6-Triphenyl-1-hexene	TPH	91	117	207	208	23.06	20.95
Sur	1,2-Diphenylethane-d ₁₄	DPE-d ₁₄	196				13.72	12.23
IS	Chrysene-d ₁₂	Chr-d ₁₂	240				23.39	22.98

Q: 定量イオン、I: 確認イオン、D: スチレン 2 量体、T: スチレン 3 量体、Sur: サロゲート、IS: 内標準

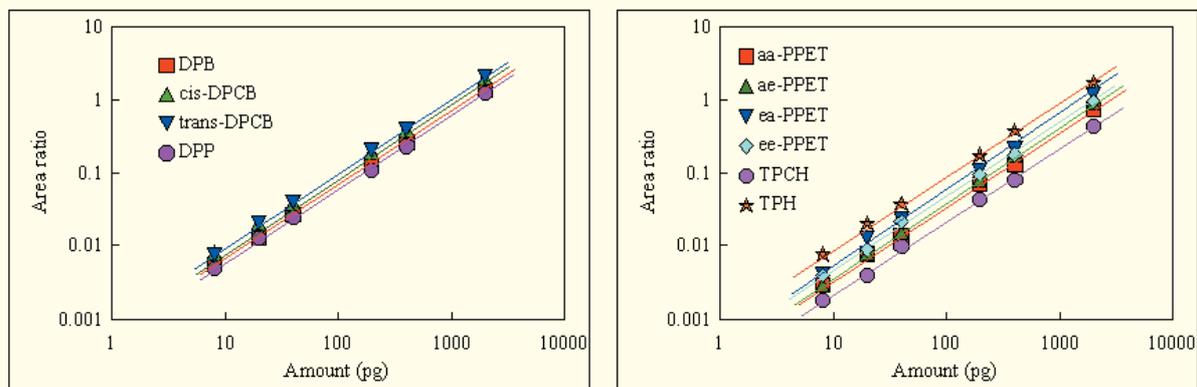


図 4. スチレン 2 量体及びスチレン 3 量体の検量線の例

環境分析用試薬 新製品一覧

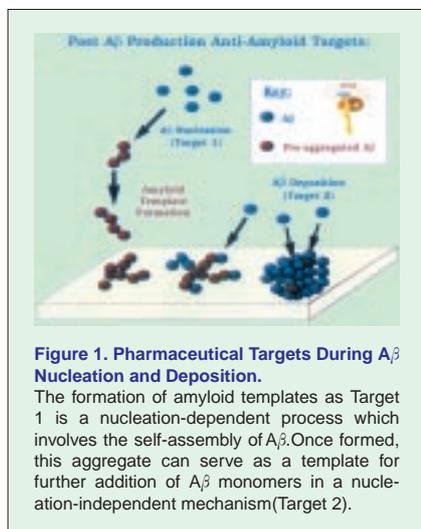
No.	コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)	
<ステレンダイマー>						
1	048-26561	1,3-Diphenylpropane Std.	環境分析用	500mg	8,000	
2	044-26541	2,4-Diphenyl-1-butene Std.	環境分析用	10mg	40,000	
3	040-26521	<i>cis</i> -1,2-Diphenylcyclobutane Std.	環境分析用	10mg	40,000	
4	047-26531	<i>trans</i> -1,2-Diphenylcyclobutane Std.	環境分析用	10mg	40,000	
<ステレントリマー>						
1	168-19281	1a-Phenyl-4a-(1'-Phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene Std.	環境分析用	10mg	35,000	
2	161-19271	1a-Phenyl-4e-(1'-Phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene Std.	環境分析用	10mg	35,000	
3	165-19291	1e-Phenyl-4a-(1'-Phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene Std.	環境分析用	10mg	35,000	
4	168-19301	1e-Phenyl-4e-(1'-Phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene Std.	環境分析用	10mg	35,000	
5	203-14381	1,3,5-Triphenylcyclohexane Std.	環境分析用	10mg	35,000	
6	206-14371	2,4,6-Triphenyl-1-hexene Std.	環境分析用	10mg	35,000	
<ステレンダイマー・トリマー重水素化合物>						
NEW	1	048-26821	<i>cis</i> -1,2-Diphenylcyclobutane- <i>d</i> ₅ Std.	環境分析用	5mg	近日発売
NEW	2	045-26831	<i>trans</i> -1,2-Diphenylcyclobutane- <i>d</i> ₅ Std.	環境分析用	5mg	近日発売
NEW	3	041-26811	2,4-Diphenyl-1-butene- <i>d</i> ₅ Std.	環境分析用	5mg	近日発売
NEW	4	202-14591	2,4,6-Triphenyl-1-hexene- <i>d</i> ₅ Std.	環境分析用	5mg	近日発売
NEW	5	205-14581	1,3,5-Triphenylcyclohexane- <i>d</i> ₅ Std.	環境分析用	5mg	近日発売
<フタル酸エステル類>						
1	046-26621	Dicyclohexyl Phthalate Std.	フタル酸エステル試験用	1g	3,000	
2	048-26701	Di- <i>n</i> -hexyl Phthalate Std.	フタル酸エステル試験用	1g	10,000	
3	047-26651	Di- <i>n</i> -pentyl Phthalate Std.	フタル酸エステル試験用	1g	5,000	
4	045-26571	Di- <i>n</i> -propyl Phthalate Std.	フタル酸エステル試験用	1g	8,000	
<アルキルフェノール類>						
1	028-13531	<i>p</i> - <i>t</i> -Butylphenol Std.	環境分析用	500mg	4,500	
2	164-19381	<i>p</i> - <i>n</i> -Pentylphenol Std.	環境分析用	500mg	5,000	
3	089-07511	<i>p</i> - <i>n</i> -Hexylphenol Std.	環境分析用	500mg	5,000	
4	082-07501	<i>p</i> - <i>n</i> -Heptylphenol Std.	環境分析用	500mg	5,000	
5	146-06791	<i>p</i> - <i>n</i> -Nonylphenol Std.	環境分析用	500mg	10,000	
6	159-02061	<i>p</i> - <i>n</i> -Octylphenol Std.	環境分析用	500mg	8,000	
7	208-14451	<i>p</i> -(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol(<i>p</i> - <i>t</i> -Octylphenol) Std.	環境分析用	500mg	5,000	
<その他>						
1	026-13571	Benzophenone Std.	環境分析用	500mg	5,000	
2	025-13541	Bisphenol A Std.	環境分析用	500mg	4,500	
3	029-13561	<i>n</i> -Bthylbenzene Std.	環境分析用	500mg	5,000	
4	049-26611	2,4-Dichlorophenol Std.	環境分析用	500mg	5,000	
5	152-02051	Octachlorostyrene Std.	環境分析用	25mg	12,000	
6	146-06811	<i>p</i> -Nitrotoluene Std.	環境分析用	500mg	2,000	

* 上記以外の標準品試薬類につきましては、別途パンフレットをご請求下さい。



アルツハイマー病の研究に！

Synthaloid Drug Screening Plate



アルツハイマー病では、まず β アミロイドの沈着が引き金となり、神経原繊維変化と神経細胞死がもたらされるものと考えられています。

本品は、核となる β アミロイド凝集原繊維をポリマーマトリックスに固定したものが、96穴プレートにコートされています。

β アミロイド沈着の阻害剤の力価測定やスクリーニングに有用です。

〔参考文献〕

William, P. E. *et al.*: *Nature Biotechnology*, 15, 258(1997)



532-67011 1プレート 40,000円

カラムスイッチング法による生体試料直接分析(カラムライフ改善検討)

和光純薬工業株式会社 大阪研究所 上森 仁志

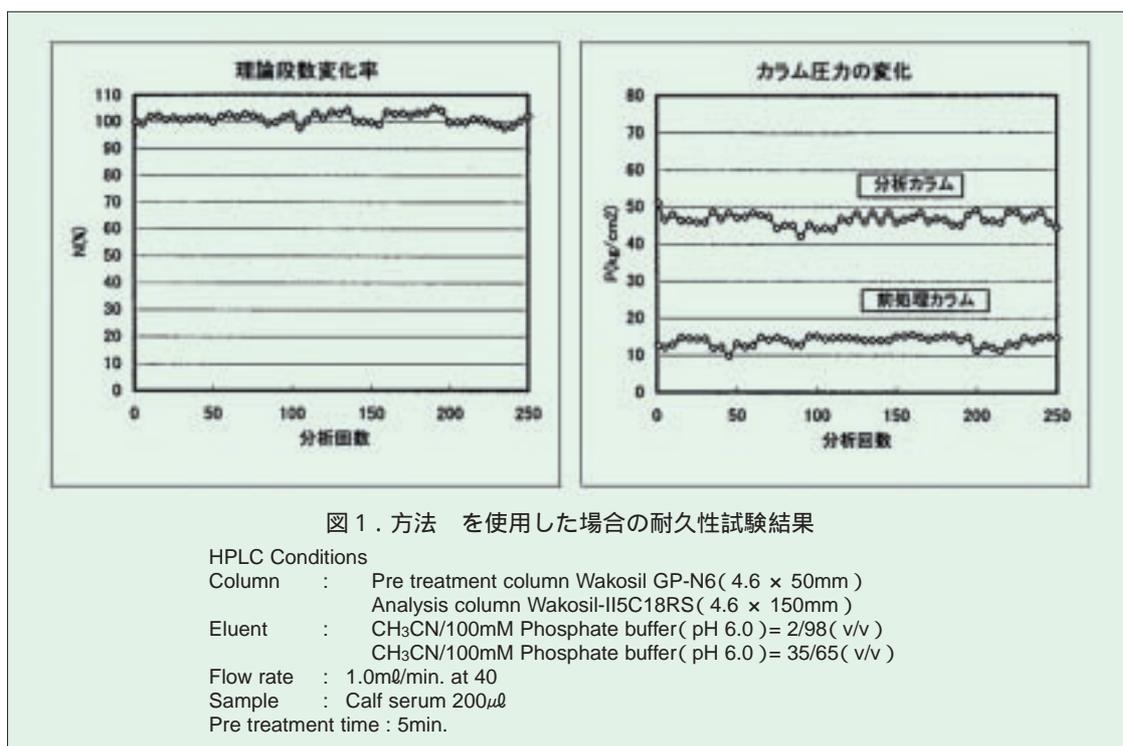
近年開発された生体試料直接分析用充填剤は、従来 ODS 充填剤を用いた場合に必要となった除タンパクや抽出、濃縮などの前処理操作が不要であり、分析時間の短縮や測定精度、および再現性の面からも優位であることが報告されている。しかし、除タンパクと生体成分の分離を同一担体上で行うという充填剤の設計上の理由から、分離性能的には ODS 充填剤に比べ劣るところがあり、本充填剤を前処理カラムとして使用するカラムスイッチング法が主流となっている。筆者らは、先に本目的に使用できる充填剤として Wakosil GP-N6 を開発しその有用性を報告してきた。しかし、一度に 200 μ l 程度の血清試料を注入分析する場合には、前処理カラムの圧力上昇、分析カラムの性能低下などカラムライフに問題が残っていた。そこで、カラムライフの改善を目的に、1) カラムスイッチング方法、2) 有機溶媒比率、3) 注入量とカラムライフの関係について検討した。高圧六方バルブ付カラムスイッチングシステムを持つ HPLC 装置を使用し、前処理用カラムに Wakosil GP-N6、4.6mm I. D. \times 50mm を、分析カラムに Wakosil-II 5C18 RS、4.6 mm I. D. \times 150 mm を使用し、アセトニトリルとリン酸緩衝液を用いた移動相条件下に牛血清を直接注入して検討した。

1) カラムスイッチングの際、前処理カラムから分析カラムへ目的物を導入する方法において、分析用移動相を用いて逆方向に導入する方法、順方向に導入する方法、前処理用移動相を用いて順方向に導入する方法の 3 法を比較した結果、このシステムでは前処理用カラムのみならず分析カラムへの影響も大きかったが、この方法は前処理用移動相条件を適正に設定することにより分析カラムへの影響を回避しカラムライフの改善が可能であった。そこで本方法を採用し、2) 前処理用移動相にアセトニトリル/0.1M リン酸緩衝液(pH6.0)を用いて有機溶媒比率の影響について検討した結果、有機溶媒濃度 10% までは安定に使用可能であった。3) 最大注入量 200 μ l までの検討において、連続 200 回以上の分析後も分析カラムの劣化は認められず、注入量 100 μ l では連続 400 回以上の使用が可能であっ

た。以上の検討結果から、200 μ l 程度の大量の血清試料を安定的に注入分析するためには、1) 前処理カラムから分析カラムへの目的物の導入方法は、前処理用移動相で導入すること、2) 前処理カラムに使用する有機溶媒濃度は 10% までとすること、の 2 点が必須項目と考えられた。本方法によりカラムライフは飛躍的に改善されたが、保持の差の大きい成分を同時分析する場合には、分析時間が方法 1) に比べ長くなるなどの問題もあり、分析時間の短縮検討と高感度検出系の確立に向け継続検討中である。詳細は WAKO HPLC INFORMATION(No.7)「生体試料直接分析用充填剤の開発と応用」にて紹介しているが、方法 1) を使用した場合の耐久性試験結果を図 1. に示した。

〔参考文献〕

- 1) 分析化学会第 44 年会講演要旨集 p78-79(1995)
- 2) 和光純薬時報 p14, Vol. 64, No2 (1996)



エタノール小包装追加

ご好評いただいております、インフィニティピュアシリーズ・有機合成用脱水溶媒シリーズにエタノール 100ml 包装を追加しました。既存品と併せてご利用下さい。

Infinity Pure シリーズ

高純度溶媒でいつもフレッシュな状態でご利用いただけるパーソナルユース試薬です。また、1本毎に試験成績書を添付していますので、安心してご利用いただけます。

試験項目	規格値	実測値例 (ロット ACG8970)	塩基 (NH ₃ として)	0.5ppm 以下	0.1ppm 以下
外観	無色澄明の液体	無色澄明の液体	銅 (Cu)	5ppb 以下	1ppb 以下
含量 (cGCによる)	99.8% 以上	100.0%	鉛 (Pb)	5ppb 以下	1ppb 以下
水溶状	澄明	澄明	鉄 (Fe)	10ppb 以下	1ppb 以下
密度 (20 °C)	0.789 ~ 0.791g/ml	0.790g/ml	アセトン及びアルデヒド (CH ₃ COCH ₃ として)	5ppm 以下	5ppm 以下
屈折率 n_D^{20}	1.360 ~ 1.363	1.362	メタノール (CH ₃ OHとして)	0.02% 以下	0.01% 以下
吸光度 255nm	0.02 以下	0.011	過酸化水素 (H ₂ O ₂ として)	5ppm 以下	1ppm 以下
水分	0.3% 以下	0.066%	硫酸着色物質	試験適合	試験適合
不揮発分	2ppm 以下	1.0ppm	過マンガン酸還元性物質 (Oとして)	3ppm 以下	1ppm 以下
酸 (CH ₃ COOHとして)	0.002% 以下	0.0002%	蛍光試験	試験適合	試験適合

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
053-06531	Ethanol (99.5)	インフィニティピュア	100ml	1,800

有機合成用脱水溶媒

水分を最小限まで抑えた溶媒です。

100ml 包装は 500ml 包装同様、シリンジで溶媒を抜き取れるような特殊なキャップを使用しています。

コード No.	品名	水分含量	規格	容量	希望納入価格 (円)
055-06133	Ethanol, Dehydrated (99.5)	50ppm 以下	有機合成用	100ml	2,100
051-06135				500ml	4,200
059-06131				3l	15,700

高純度 過酸化水素(過酸化水素水) 精密分析用

[規格]

濃度: 30.0 ~ 35.5%
 蒸発残分: 10ppm 以下
 塩化物 (Cl): 1ppm 以下
 リン酸塩 (PO₄): 1ppm 以下
 硫酸塩 (SO₄): 1ppm 以下
 ナトリウム (Na): 0.3ppm 以下
 カリウム (K): 0.3ppm 以下
 銅 (Cu): 0.003ppm 以下
 カルシウム (Ca): 0.05ppm 以下
 亜鉛 (Zn): 0.01ppm 以下
 カドミウム (Cd): 0.001ppm 以下
 水銀 (Hg): 0.003ppm 以下
 鉛 (Pb): 0.05ppm 以下
 砒素 (As): 0.005ppm 以下
 クロム (Cr): 0.01ppm 以下
 マンガン (Mn): 0.05ppm 以下
 鉄 (Fe): 0.05ppm 以下
 コバルト (Co): 0.003ppm 以下
 ニッケル (Ni): 0.003ppm 以下
 安定剤: 不含有

086-07445 500ml 1,600 円



カラムクロマトグラフ用ヒドロキシアパタイト

ヒドロキシアパタイトは他のクロマトグラフィー担体にはない特異的な分離挙動を示すため、高度なタンパク質分離精製に用いられています。しかし従来のヒドロキシアパタイトは、板状晶のために耐圧性が悪い、目づまりしやすい、もろい等の欠点があり、大量精製の充てん剤として用いられていません。本品はこれらの欠点を改善したクロマトグラフィー用充てん剤です。

HAP-C-BEADS(分取用球状アパタイト)

大量精製用大型カラムに適しています。

- [特長] 平均粒子径を 40 μ m にそろえた球状アパタイトです。
 球状なので取扱いが簡単です。
 高流速が得られます。
 耐久性に優れています。

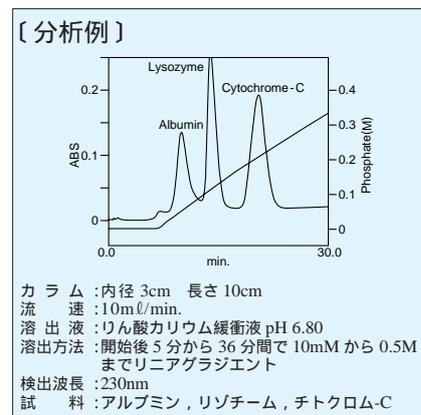
[諸物性] 分子式: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂
 分子量: 1004.64
 使用可能 pH: 5.5 ~ 14

使用可能線流速: 1,000cm/hour
 使用可能変性剤: 尿素、塩酸グアニジンなど

HAP-A-BRIKS(分析用アパタイト)

針状アパタイトを 5 μ m のブロック状に粒子化したアパタイトです。分析用カラムに適しています。

[特長] HPLC に匹敵する分離能です。
 高流速が得られます。



[仕様] 使用可能 pH: 5.5 ~ 14
 使用可能線流速: 400cm/hour

コード No.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格 (円)
305-06861	HCB11	HAP-C-BEADS	100g	60,000
308-06851	HAB01	HAP-A-BRIKS	20g	10,000
304-06853	HAB02		100g	40,000

第 35 話 抗生物質のエンドトキシン試験

1998 年、日本抗生物質医薬品基準に一般試験法として「エンドトキシン試験法」が記載されました。今回は、抗生物質のエンドトキシン試験について考えてみましょう。

今回の改正で、収載薬剤中 118 製剤のエンドトキシン規格値が定められました。試験法としては、「日本薬局方一般試験法エンドトキシン試験法を準用する」ことになっています¹⁾。日本薬局方のエンドトキシン試験法には、ゲル化法と光学的方法が記載されており、「その結果に疑いのある場合は、別に規定するもののほか、ゲル化法によって最終の判定を行う」ことになっています²⁾。日本における実状としては、定量性に優れた光学的方法が好まれており、抗生物質の工程検査にもこれらの方法が多く使われているようです。

抗生物質のエンドトキシン試験における注意点について考えてみましょう。抗生物質の場合も、これまで考えてきたリムルス試験における注意点と基本的に同じです。筆者らは、エンドトキシンと β -グルカンの両方に反応する従来のリムルス試薬による抗生物質の測定で、 β -グルカンと思われる反応を経験しております。この β -グルカンの由来は不明ですが、製造工程で使用

されるフィルターや原料からの混入が疑われます。このように、 β -グルカンが混入した抗生物質製剤がかなりあると思われますから、抗生物質のエンドトキシン試験には、エンドトキシン特異的のリムルス試薬を用いる必要があるでしょう。また、希釈や pH 調整によって測定しやすい条件にする

ことも同様です。反応干渉因子試験を行う場合の注意点として、抗生物質のエンドトキシンに対する影響が挙げられます。すなわち、抗生物質の中には、鉄イオンやアルミニウムイオンのように、エンドトキシン活性を低下させるものがあります。当研究所でも、硫酸ゲンタマイシンでこの現象を経験しています。すなわち、硫酸ゲンタマイシン溶液 (10 mg/ml) をエンドトキシン溶液と混合後、活性を測定すると、そのエンドトキシン活性は 40% まで減少しました。しかし、リムルス試薬に硫酸ゲンタマイシン溶液、エンドトキシン溶液の順で添加すると、そのエンド

トキシン活性はほとんど変化しませんでした。このあたりの実験方法については、これまでにもご紹介してきています (Talking of LAL 第 10 話³⁾、第 33 話⁴⁾)。また、硫酸ゲンタマイシン溶液とエンドトキシン溶液をあらかじめ混合した溶液では、エンドトキシン活性は経時的に低下し、24 時間後には 10% となりました (図 1)。このような現象は、自然界に存在するエンド

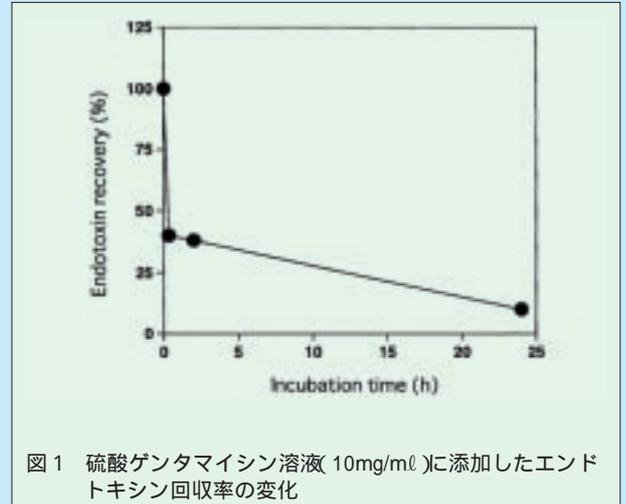


図 1 硫酸ゲンタマイシン溶液 (10mg/ml) に添加したエンドトキシン回収率の変化

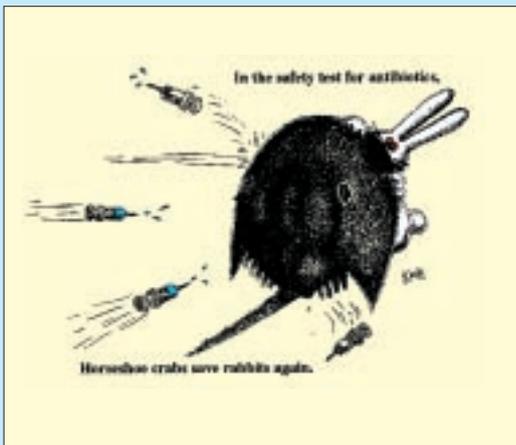
トキシンでも起こっているかどうかは不明であり、反応干渉因子試験への影響だけでなく、抗生物質中のエンドトキシンの存在状態と活性測定の意義にも関わっていると思います。

抗生物質のエンドトキシン試験は、基本的に他の医薬品を試験する場合と変わりありません。従って、ふだん気をつけている点に注意すれば、問題なくエンドトキシン試験が行えるでしょう。これまで通り、エンドトキシンの活性変化には注意が必要ですが……。

〔参考文献〕

- 1) 日本抗生物質医薬品基準解説 1998, p.490(薬事時報社 1998)
- 2) 第十三改正日本薬局方解説書, p. B-53(廣川書店 1996)
- 3) 和光純薬時報 Vol.61 No.1, p. 12(和光純薬工業株式会社 1993)
- 4) 和光純薬時報 Vol.66 No.4, p. 18(和光純薬工業株式会社 1998)

今回は「第 36 話 エンドトキシンと電子線」の予定です。





10 μ l ~ 100 μ l の少量サンプルの透析に便利!!

Spectra/Por Micro DispoDialyzer

新しくデザインされたスペクトラポアマイクロディスポダイライザーは少量サンプル用の透析ツールです。マイクロピペットで、サンプルの添加回収が行えるようにデザインされていますので、取扱いが簡単です。10 μ l、50 μ l、100 μ l の3種類の容量がそろっており、また、分画分子量は 3.5kD ~ 60kD の間で 5 種類ありますので脱塩

や、低分子の不純物の除去などに大変便利です。

〔特 色〕

膜の種類：バイオテック再生セル
コース

pH 範囲：2 ~ 12

温度限界：60

保存剤：0.1% アジ化ナトリウム

キャップ材質：ポリプロピレン



コード No.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
535-70291	1356001	Spectra/Por Micro DispoDialyzer MWCO3.5kD	10 μ l × 12 コ	18,000
538-70301	1356011		50 μ l × 12 コ	18,000
535-70311	1356021		100 μ l × 12 コ	18,000
532-70321	1356002	Spectra/Por Micro DispoDialyzer MWCO8kD	10 μ l × 12 コ	18,000
539-70331	1356012		50 μ l × 12 コ	18,000
536-70341	1356022		100 μ l × 12 コ	18,000
533-70351	1356003	Spectra/Por Micro DispoDialyzer MWCO15kD	10 μ l × 12 コ	18,000
530-70361	1356013		50 μ l × 12 コ	18,000
537-70371	1356023		100 μ l × 12 コ	18,000
534-70381	1356004	Spectra/Por Micro DispoDialyzer MWCO25kD	10 μ l × 12 コ	18,000
531-70391	1356014		50 μ l × 12 コ	18,000
534-70401	1356024		100 μ l × 12 コ	18,000
531-70411	1356005	Spectra/Por Micro DispoDialyzer MWCO60kD	10 μ l × 12 コ	18,000
538-70421	1356015		50 μ l × 12 コ	18,000
535-70431	1356025		100 μ l × 12 コ	18,000



— 洗浄剤 —

Heavy Metal Cleaning Solution

スペクトラポア膜を使用する前に、膜に付着している重金属の洗浄に用います。

通常の実験では脱塩水での洗浄で

十分ですが、精密な実験を行う場合に使用されます。

〔組 成〕

EDTA 溶液

鉛 0.004%

鉄 0.01%

Nitritotriacetic Acid 0.1%

539-70451 8 oz (約 230ml) 12,600 円

Sulfide Removal Kit

スペクトラポア 1 ~ 6 は 0.1% の硫黄が製造工程で含まれます。その硫黄や硫化物を除去するための洗浄剤です。

通常の実験では脱塩水での洗浄で十分ですが、精密な実験を行う場合に使用されます。

〔キット内容〕

溶液 A : 8 oz (約 230ml) 1% 亜硫酸
ナトリウム水溶液

溶液 B : 8 oz (約 230ml) 0.4% 硫酸
溶液

532-70441 1Kit 12,600 円



Angiostatin Endostatin

アンジオスタチンとエンドスタチンは血管新生を抑制する物質として単離されました。マウスを用いた実験では、腫瘍血管の形成が抑制され、がん細胞はアポトーシス像が多く、増殖が著しく阻害されたことが報告されています。

腫瘍血管を標的とした制がん剤の研究に役立つツールです。

〔参考文献〕

Claesson W. L. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 5579 (1998)

コード No.	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
538-84571	Angiostatin, Human	500 μ g	106,300
531-84561	Endostatin, Mouse, Recombinant	250 μ g	72,100
535-84581	Endostatin, Human, Recombinanat	250 μ g	72,100

近日発売

第6話 アポトーシス制御分子:Bcl-2 ファミリーの機能

アポトーシスは、胚発生・神経および免疫系の分化・ウイルス感染細胞の除去・組織の恒常性の維持など生物学的に重要な現象であり、多細胞生物にとっては不可欠な機構である。過剰なアポトーシスにより形成不全が生じ奇形、神経変性疾患および免疫不全などが誘導される。一方アポトーシスの減少により過形成などが生じ、また、がん化が誘導される。

Vauxらによって、Bcl-2の過剰発現がリンパ球系の細胞に誘導されるアポトーシスを抑制することが示されて以来、Bcl-2はアポトーシスのメカニズム研究の中心となった。

1. Bcl-2 サブファミリーと構造

構造の類似性とBcl-2蛋白質に結合する因子の同定を通して、現在までに多数のファミリー遺伝子が単離されている¹⁾。構造と機能から3種類のサブファミリーに分類される(図1)。Bcl-2サブファミリーにはBcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、A1、Mcl-1などが含まれ、アポトーシス抑制活性を有している。構造上の特徴としては、Bcl-2ファミリー間で高く保存されているBH1(Bcl-2 homology region 1)、BH2、BH3、BH4ドメインとよばれている領域を有している。Baxサブファミリーには、Bax、Bak、Bokが含まれ、アポトーシスを促進する機能を有している。このファミリーの分子は、BH1、BH2とBH3ドメインが保存されているが、BH4ドメインは存在

しないことが特徴的である。これら二つのサブファミリーの分子には、C末端に疎水性領域をもっておりこの領域を介して、核外膜、小胞体膜およびミトコンドリア膜に結合している。BH3サブファミリーには、Bik、Blk、Hrk、Bid、Bim、BadおよびBNIP3などが含まれ、アポトーシスを促進する。この分子は、BH3ドメインのみにBcl-2遺伝子ファミリーと相同性を持っており、その他の領域は、サブファミリー間でも相同性はない。

2. Bcl-2 ファミリーによるアポトーシス制御メカニズム

いったん細胞がアポトーシスを起こすというアポトーシスシグナルを受けると最終的にはメインマシナリーに集約され、染色体DNAのヌクレオソーム単位への断片化、クロマチンの凝縮、断片化、細胞質の凝縮、細胞表面の湾曲などが起こり、最終的に細胞が断片化し死滅していく。このようなメインマ

シナリーのアポトーシス実行因子としてCaspaseファミリーが知られている²⁾。Bcl-2ファミリーは、Caspaseファミリーの活性化を抑制することによってアポトーシスを制御していることが示されている(図2)。

アポトーシスが誘導されるとミトコンドリアの膜電位が低下し、ミトコンドリア内のCaspase活性化因子AIFやシトクロムcなどが細胞質内へ流出する。Bcl-2サブファミリーは、それらを抑制する。一方、Baxサブファミリーは、膜電位低下およびAIFやシトクロムcなどのミトコンドリアからの流出を誘導する³⁾。Fasを介したアポトーシスでは、BH3サブファミリーのBidの局在が細胞質からミトコンドリアに移行し、Bcl-2サブファミリーとヘテロ二量体を形成し、Bcl-2サブファミリーの機能を阻害することによって、Baxサブファミリーによるミトコンドリアの変化を誘導することが示されている¹⁾。また、Bcl-2サブファミリーは、Apaf-1を介して

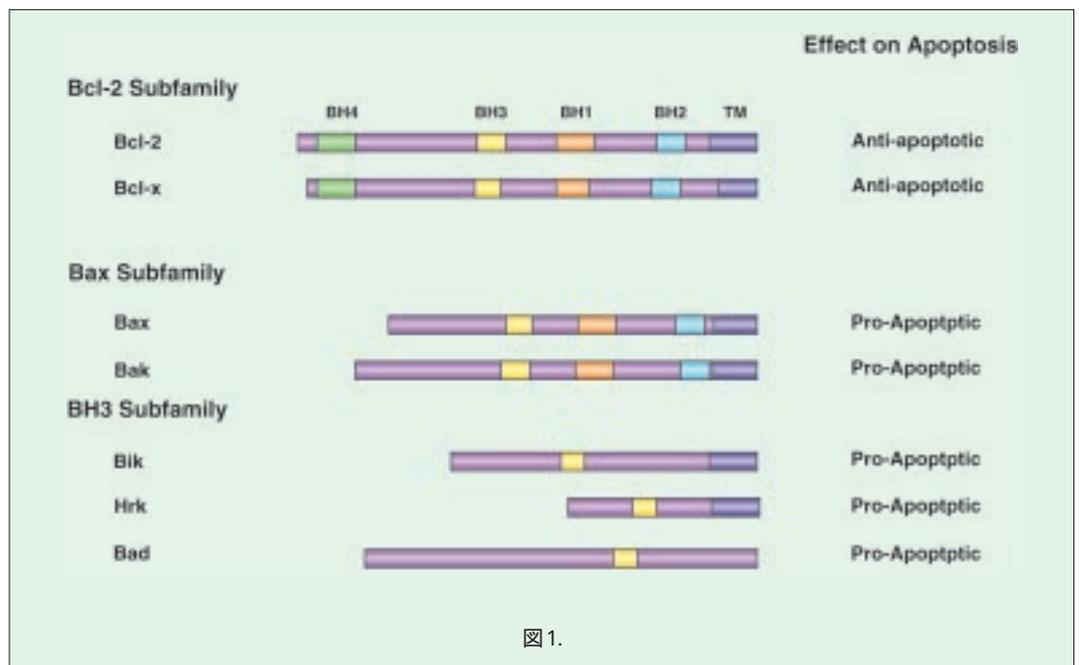


図1.

Caspase-9とも複合体を形成することができ、アポトーシスを制御している可能性が考えられるが、この詳細なメカニズムは、今後の解析に期待される¹⁾。

3. Bcl-2 ファミリーの生理学的機能

Bcl-2、Bcl-x、Bcl-w、Bax、ノックアウトマウスが作製されて生理機能が解析されている。

Bcl-2 ノックアウトマウス^{4,5)}は、胚発生は正常に進み一見正常なマウスが生まれるが、成長は極端に遅延し、大部分が5～6週齢までに死亡してしま

う。末梢のリンパ球は顕著に減少し、最終的にはほぼ消滅してしまう。メラノサイトの死滅により、毛の生え変わり時に毛が白色化してしまう。多嚢胞性腎症様の異常が腎臓に生じ、これが原因で早期に死亡してしまうと考えられている。Bcl-x ノックアウトマウス⁶⁾は、胎仔肝における造血細胞のアポトーシスの増加による赤血球形成不全によって胎生期13日ごろに死亡してしまう。また、中枢および末梢神経系で未成熟神経細胞のアポトーシスが增加していた。Bcl-w ノックアウトマウスは、正常に発育し健常であるが、精巣が萎縮

しており精子の形成異常により不妊である^{7,8)}。Bax ノックアウトマウスも正常に発育し健常であるが、精巣が萎縮しており精子の形成異常により不妊である。また、卵巣において顆粒細胞の増加を呈しているが、生殖能を有している⁹⁾。Bcl-x ノックアウトマウスにみられたような未成熟神経細胞の過剰なアポトーシスは、Bcl-x/Bax ノックアウトマウスでは生じない。

4. 終わりに

bcl-2 遺伝子は、濾胞性リンパ腫において染色体転座による過剰発現により発ガンに関与している。また、*bax* 遺伝子欠損や変異によるアポトーシスの低下は発ガンに関与している。また、過剰のアポトーシス誘導は、神経変性疾患や免疫不全などを導くことが明らかになってきている。すなわち、アポトーシス制御メカニズムがわかれば、アポトーシス異常により引き起こされる発ガンや変性疾患の病因の解明に役立つだけでなく、これらの疾患の治療にも新しい道が開けることが期待される。

[参考文献]

1. Adams, J. M. and Cory, S. (1998) Science 281, 1322-1326
2. Thornberry, N. A. and Lazebnik, Y. (1998) Science, 281, 1312-1316
3. Green, D. R. and Reed, J. C. (1998) Science 281, 1309-1312
4. Veis, D. J., Sorenson, C. M., Shutter, J. R. et al (1993) Cell, 75, 229-240
5. Nakayama, K., Nakayama, K.-i., Negishi, I. et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 3700-3704
6. Motoyama, N., Wang, F., Roth, K. A. et al (1995) Science, 267, 1506-1510.
7. Print, C. G., Loveland, K. L., Gibson, L. et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 12323-12431
8. Ross, A. J., Waymire, K. G., Moss, J. E. et al (1998) Nat. Genet. 18, 251-256
9. Knudson, C. M., Tung, K., Tourtellotte, W. G. et al. (1995) Science 270, 96-99

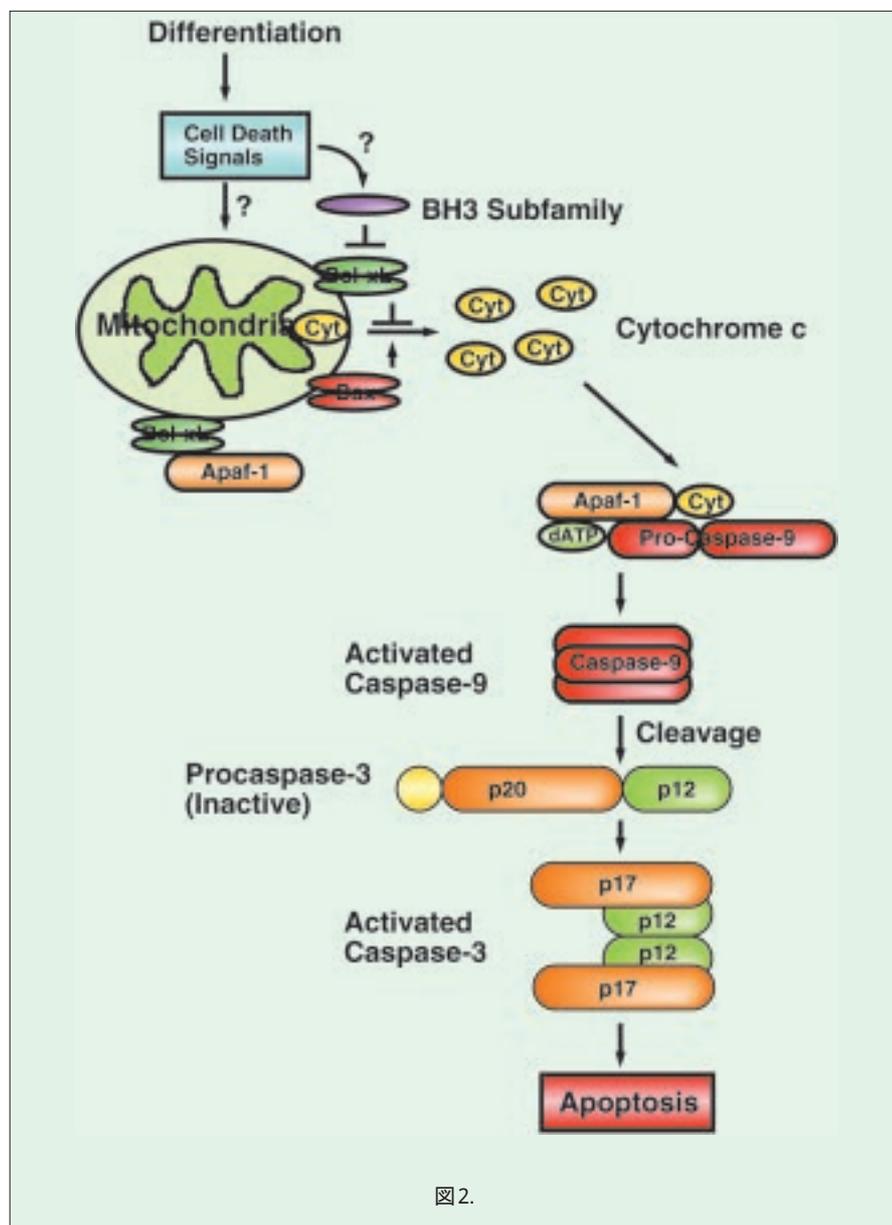


図2.

パラフィン切片染色用 Bcl-x 抗体

Anti Human Bcl-x, Monoclonal Antibody

免疫組織染色用

bcl-x 遺伝子は、選択的スプライシングにより少なくとも4種類の遺伝子産物が知られています。233アミノ酸からなるBcl-xLはBcl-2よりも強力にアポトーシスを抑制するのに対し、170アミノ酸からなるBcl-xSはアポトーシスを促進することが知られています。本抗体は、(His)6-ヒトBcl-xL融合タンパク質に対するモノクローナル抗体で、特にホルマリン固定パラフィン包埋切片の免疫組織染色に優れており、細胞レベルでのBcl-xの発現、局在の研究にご利用頂けます。

免疫原:(His)6-ヒトBcl-xL融合タンパク質

形状:PBS凍結品(0.5mg/ml)

精製法:Protein Gアフィニティ精製

クローンNo.:HBx-B5

サブクラス:IgG₁

特異性:ヒト、ラットのBcl-xL、Bcl-xS、Bcl-βと反応する

実用希釈倍数:

免疫組織染色(パラフィン切片) 1:50
フローサイトメトリー 1:50 ~ 1:500

[参考文献]

Boise, L. H. *et al.*: *Cell*, 74, 597(1994).

014-17591 100μg 35,000円



ラット大脳



ヒト小脳

[関連商品]

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
010-16851	抗ヒト Bcl-xL,モノクローナル抗体(HBx-2F3) ウエスタンブロット、免疫沈降でヒト、ラット、マウス Bcl-x と反応	100μg	35,000
013-16101	抗ヒト Bcl-2,モノクローナル抗体(Bcl-2/100) ウエスタンブロット、免疫沈降、免疫組織染色でヒト Bcl-2 と反応	100μg	32,000
017-16481	抗ラット Bcl-2,モノクローナル抗体(B248) ウエスタンブロットでラット、マウス Bcl-2 と反応	100μg	30,000

NOによる立体構造変化を認識できる sGC 抗体

Anti-soluble Guanylate Cyclase (sGC), Monoclonal Antibody

免疫化学用

血管内皮由来弛緩因子(EDRF)の本体である事が見出されたNO(nitric oxide)の生理作用は多様多岐に渡る事が知られています。その作用標的分子として知られているsGC(可溶性グアニル酸シクラーゼ)は、NOがsGCのへムに結合すると立体構造が変わり、酵素活性が100倍以上に増強され、cGMPの合成を促進します。その結果生じたcGMPが、血管系では血管弛緩をもたらす、神経系では逆行性の神経情報を伝達し、また脳虚血時の神経細胞死を引き起こすことが示唆されています。このように、NOにより活性化され、cGMPの産生を促進するsGCの局在及び作用機序を知ることは生理機能や疾患の病因の解明に必須であると考えられます。

本抗体は、NOにより活性化されたsGCを強く認識するものであり、NO研究伸展の手段としてご利用下さい。

免疫原:ウシ肺由来の精製sGC

形状:0.1mol/l Glycine-Tris(pH 7.4)

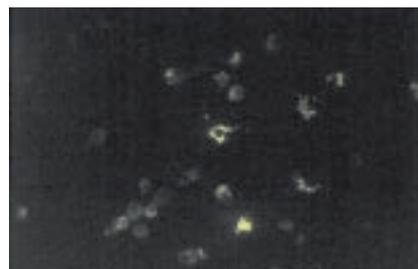
濃度:500μg/ml

精製法:硫酸分画及びプロテインGアフィニティクロマトグラフィにて精製

クローンNo.:mAb 3221

サブクラス:IgG₁

特異性:sGCと特異的に反応するだけでなく、NOによるsGCの立体構造変化により抗原抗体反応が増強する。sGCのαとβサブユニットの両方を認識する。膜結合型のGCとは反応しない。



ラット小脳初代培養細胞の免疫蛍光染色

種交叉反応性:ラット、ウシ、ヒトと反応する

実用希釈倍数:

ウエスタンブロット 1:5,000
(ALPによる検出)
蛍光抗体法 1:250

019-17801 20μg 近日発売

免疫組織染色の洗浄用 PBS(-)

Phosphate Buffered Saline Powder 0.01mol/l pH 7.2 ~ 7.4

便利な 10 用個別包装

〔組成 1 包中〕

pH は調整済みですので、1ℓ の水に
溶かすだけですぐにご使用頂けます。

NaH₂PO₄ 0.35g
Na₂HPO₄ 1.28g
NaCl 8g

* pH 7.2 ~ 7.4(25) 162-19321 1ℓ 用 × 20 包 4,000 円

各種緩衝剤

PBS 関連

コード No.	品 名	組 成	規 格	容 量	希望納入価格(円)
164-18541 162-18547	0.01mol/l PBS(-)	1ℓ 中: NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O..... 0.45g Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O..... 3.2g NaCl..... 8g	組織洗浄用	1ℓ 20ℓ	3,300 13,000
041-20211	Dulbecco's PBS(-)	1包中: NaCl..... 4.0g Na ₂ HPO ₄ 0.6g KCl..... 0.1g KH ₂ PO ₄ 0.1g	生化学用	500ml 用 × 20 包	4,200



PB 関連

コード No.	品 名	組 成(1 包中)		規 格	容 量	希望納入価格(円)
		Na ₂ HPO ₄ (無水)	KH ₂ PO ₄			
166-14461	Phosphate Buffer Powder 1/15mol/l, pH 6.4	2.5g	6.7g	生化学用	1ℓ 用 × 20 包	3,700
163-14471	Phosphate Buffer Powder 1/15mol/l, pH 6.8	4.7g	4.5g	生化学用	1ℓ 用 × 20 包	3,700
161-12191	Phosphate Buffer Powder 1/15mol/l, pH 7.0	5.7g	3.6g	生化学用	1ℓ 用 × 20 包	3,700
160-14481	Phosphate Buffer Powder 1/15mol/l, pH 7.2	6.6g	2.7g	生化学用	1ℓ 用 × 20 包	3,700
167-14491	Phosphate Buffer Powder 1/15mol/l, pH 7.4	7.6g	1.8g	生化学用	1ℓ 用 × 20 包	3,700

汎用固定液の 10, 15, 20%ホルマリン液を商品化!

10、15、20%ホルマリン液

組織固定用

病理組織の固定液にはホルマリン系、アルコール系、ピクリン酸系など多種類ありますが、その中でもホルマリンは使用方法も簡便で、浸透性に優れていることから最も良く用いられています。

長所・一般染色に使用、鍍銀法に最適である

短所・ホルマリン色素の出現

・凍結切片による脂肪、神経組織染色に良い

・グリコーゲン、酵素類の固定には不適である

コード No.	品 名	ホルムアルデヒド含量	規 格	容 量	希望納入価格(円)
060-03845	10% Formalin Solution	4%	組織固定用	500ml	1,200
068-03841				1ℓ	2,400
066-03847				20ℓ	12,000
067-03855	15% Formalin Solution	6%	組織固定用	500ml	1,200
065-03851				1ℓ	2,400
063-03857				20ℓ	12,000
064-03865	20% Formalin Solution	8%	組織固定用	500ml	1,200
062-03861				1ℓ	2,400
060-03867				20ℓ	12,000

各種固定液

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
133-10311 131-10317	Mildform 10N ホルムアルデヒド含量: 4%	病理研究用	1ℓ 20ℓ	2,300 11,500
132-10521	Mildform 10NM NMは浸透・固定力をパワーアップしたタイプ	病理研究用	1ℓ	2,500
136-10041 134-10047	Mildform 20N ホルムアルデヒド含量: 8%	病理研究用	1ℓ 20ℓ	2,300 11,500
139-10531 137-10537	Mildform 20NM NMは浸透・固定力をパワーアップしたタイプ	病理研究用	1ℓ 20ℓ	2,800 13,400
062-01661 060-01667	10% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ 20ℓ	2,100 10,000
069-02391 067-02397	15% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ 20ℓ	2,100 10,000
060-01721 068-01727	20% Formalin Neutral Buffer Solution	組織固定用	1ℓ 20ℓ	2,000 10,000

Mildform: リリー処方に従って調製された 10%, 20% 中性緩衝ホルマリン液にホルマリン臭のマイルド剤(ワインエキス)を微量添加した固定液

脳の NO : 産生と機能

北海道大学大学院 薬学研究科 野村 靖幸

生命科学の近年の進歩は著しいものがある。とくに最近10~20年間は、遺伝子、分子、細胞レベルの研究が大きく進展した。このダイナミックに展開した生命諸科学の中で最後に残された最大のフロンティアの一つが脳科学であろう。「21世紀は脳科学の世紀」といわれる所似である。欧米と米国に続いて日本でも、各省庁により脳の解明をめざした大型プロジェクトが計画・実行されつつあることは喜ばしいことである。21世紀を控えこれから本格的に脳機能の解明に向けた学際的、総合的研究が、医学、薬学、生物学などの分野のみでなく、工学、農学、さらには心理学などの人文科学系も含め活発に展開されると考えられる。脳神経系を本質的に理解するのに、個体レベル(個体の生命活動を統御する脳末梢相関など)で脳機能を巨視的、総合的に認識する研究方向と、細胞レベル(神経細胞(ニューロン)やグリア細胞における細胞間、細胞内コミュニケーション)および分子・遺伝子レベル(神経細胞内の遺伝子・分子の実体とその機能)で微視的、解析的に認識する研究方向とが相互に影響し合いつつ、研究が展開しよう。

この「脳科学一口メモ」では、脳科学における主要な事項の最近の進歩について、行動科学、心理学的アプローチを含め、生理学、生化学、分子生物学、薬理学から、さらに臨床医学(神経内科、精神医学など)の分野で活発に研究する研究者の執筆によるわかりやすい解説を連載することにしたい。第1回の今回は、脳における各種の主要な機能分子のうち一酸化窒素(NO)をとりあげ、その脳組織における生成とその機能の基本的な点を記す。

さて、昨年(1998年)のノーベル生理学賞は米国のNO研究者の3博士、

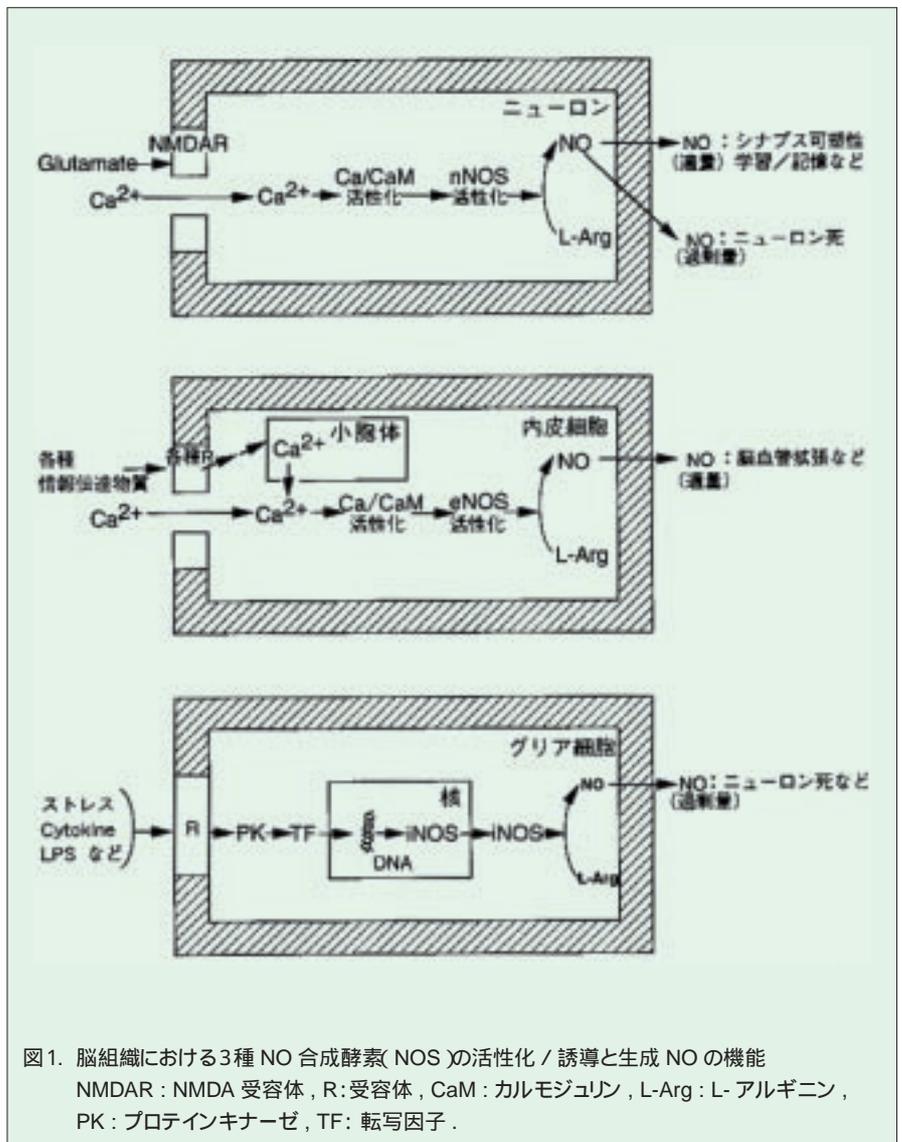


図1. 脳組織における3種 NO 合成酵素(NOS)の活性化 / 誘導と生成 NO の機能
 NMDAR : NMDA 受容体, R: 受容体, CaM : カルモジュリン, L-Arg : L- アルギニン, PK : プロテインキナーゼ, TF : 転写因子.

すなわち Robert F. Furchgott (New York 州立大学)、Louis Ignarro (California 大学) および Ferid Murad(Texas 大学) の3教授に与えられた。これら3教授は、それぞれ NO の発見、同定、作用機序の解明などに関する卓越した業績を挙げ、それが高く評価されたものである。一方、生体内 NO の研究範囲を脳にまで拡大し、脳 NO の役割に関し先導的研究をした S. H. Snyder 教授(Johns Hopkins 大学)らの果たした大きな貢献も忘れて

ならない。この研究グループは脳 NO の神経生理学的機能と細胞毒性学的機能についてブレークスルーとなる業績を挙げたからである。

NO は、2種の NO 合成酵素 (NO synthase, NOS) によって L-arginine より生成される。NOS には、細胞内に常に存在する (constitutive) NOS (cNOS) と、ある刺激に伴って発現する (inducible) NOS (iNOS) がある。図 1 に示すように、脳組織において、cNOS としてはニューロンに存在する

nNOSと血管内皮細胞に存在するeNOSが、一方、グリア細胞で誘導されるiNOSが知られている。nNOSやeNOSは、各種の刺激に伴って上昇する細胞内Ca²⁺がカルモジュリン(CaM)を活性化、Ca²⁺/CaMによって活性化され、その結果NOを生成し種々の生理機能を発現する。たとえばnNOSによって生成されたNO(適量)は、逆行性シナプス伝達物質として神経可塑性(長期増強や長期抑圧)に関わる。一方、各種ストレスにより過度に活性化されたnNOS、ならびに細菌感染に伴うLPSや脳内グリア細胞で生成されたサイトカインなどにより、グリア細胞内に誘導されたiNOSによって過剰に生成されたNOは、ニューロン死など細胞障害を引き起こす。このように脳NOは、一方で神経生理学的に重要な機能を有するのに対し、他方、

ニューロン死惹起など神経病態生理学的、細胞毒性学的機能をも併せ有している点は注意すべきである。NOのこの二面的作用は神経系におけるのみでなく、他の組織、細胞においても一般にあてはまる。この点、脳ばかりか生体の一般組織においても、NO作用の制御が医療においてもきわめて重要といえる。このためにNOとその(活性)代謝物質(たとえばONOO⁻など)の細胞機能、NOの生成と代謝の機構の基礎的解明も重要な課題となっている。これらに関する基礎的新知見は、脳科学をはじめ生命科学の進展への寄与とともに、新規治療薬の開発などを通して医療に大きく貢献するはずである。

NO研究者にノーベル賞が授与され、生体内NOとその研究の重要性が強く、且つ広く認識されたが、これらの脳

NOに関する今後に残された課題に対し、さらなる研究の進展が期待されている。本シリーズの第1回では、脳における主要な機能分子NOについて、生成と機能を紹介したが、今回は、脳NOのニューロン死惹起に関わるグリア細胞の機能について解説を試みることにしたい。

〔参考文献〕

1. 野村靖幸：Clinical Neuroscience, 16, 762 (1998)
2. 野村靖幸：心血管病態とNO, p.33-42 (金芳堂)(1998)
3. 上原 孝, 野村靖幸：神経研究の進歩, 印刷中。

NO 試薬

阻害剤

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
096-04021	L-N ⁶ -(1-Iminoethyl)lysine・HCl 【L-NIL・HCl】	生化学用	10mg	3,600
090-03681 096-03683	N ⁶ -(1-Iminoethyl)-L-ornirhine・HCl 【L-NIO・HCl】	生化学用	5mg 50mg	5,200 31,500
138-11221	N ⁶ -Monomethyl-L-arginine Monoacetate 【L-NMMA】	生化学用	100mg	12,600
144-06091	N ⁶ -Nitro-L-arginine 【L-NNA】	生化学用	100mg	2,100
147-06101 143-06103 145-06102	N ⁶ -Nitro-L-arginine Methyl Ester・HCl 【L-NAME】	生化学用	100mg 10g 25g	1,600 13,800 31,500

抗体

コード No.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
013-15981	Anti Rat bNOS, Rabbit	免疫化学用	100μl	50,000
010-15991	Anti Bovine eNOS, Rabbit	免疫化学用	100μl	48,000
017-16001	Anti Mouse iNOS, Rabbit	免疫化学用	100μl	50,000
015-17141	Anti Human bNOS Antibody Set { Anti Human bNOS, Rabbit 100μl bNOS Control Peptide 25μg	免疫化学用	1 セット	86,000

トランスフェクション用試薬

DAC-30™

製造元 EUROGENTEC Bel s.a.

輸入元 株式会社ニッポンジーン

DAC-30™ は、正に荷電したリポソームで、細胞毒性が低く、高い効率で再現性良くトランスフェクションできる製品です。

DNA 溶液を DAC-30™ (凍結乾燥品)に加えると、DNA との多重薄層複合体が形成され、この複合体のかなりの割合が細胞に取込まれます。トランスフェクションに用いる量では毒性はないので、トランスフェクション後の細胞を洗浄する必要はありません。したがって、初代培養細胞のトランスフェクションや常時血清が必要な場合にも応用できます。

DAC-30™ は、*in vivo*での脳腫瘍の遺伝子治療用としても研究されています。極めて低い毒性と高いトランスフェクション効率のため、グリオーマ細胞や神経芽腫細胞への自殺遺伝子やアンチセンスオリゴヌクレ

表 1. DAC-30™ を用いてトランスフェクションに成功した細胞の例

293	293 HEK	745-A	A-431	Atrial myocytes	BxPC3	
C5N	Caco-2	Capan-1	CC531	CFPAC	CHO	
CHO K1	COS-1	COS-7	CV-1	EAHY	EAHY 926	
F98	GH3	GP&envAM12	H-295 R	H-4- II -E	HACAT	
HACAT A131	HEK	HEL	HeLa	Hep G2	High Five	Hs 766T
HT29	HUV-EC R24	HUV-EC-C	IEC 17	IEC 18	Jurkat	
K 562	KARPAS-299	L 929	LIN 175	MAt-LYLU	MCF-7	MNEL
MRC-5	MT4	N64	NCTC 2544	NDCK II	Neuro 2A	
NIH 3T3	NT2/D1	P19	primary neuronal cells			
primary dendritic cells		primary human myoblasts		primary keratinocytes		
SF9	SK-UT-1	ST	SW 480	SW 979	U-2 OS	U-373
U-937	Y-1					

オチドのトランスフェクション試薬として使われています。

化学名: 3β[*N,N,N'*-dimethylaminoethane]-carbamoyl]cholesterol

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
317-80001	DAC-30™	2 × 0.5mg	45,000



核酸銀染色キット

CLEAR STAIN Ag

CLEAR STAIN Ag は、ポリアクリルアミドゲル中の核酸を低バックグラウンドで高感度に検出できる銀染色キットです。

低バックグラウンド

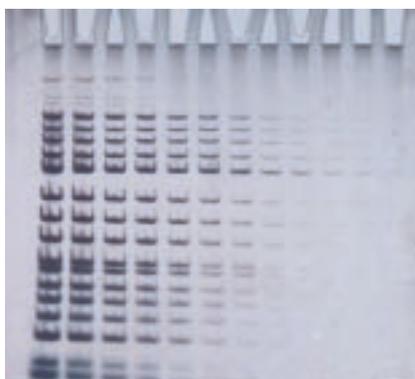
高感度: 臭化エチジウム染色の約 100 倍、SYBR Green 染色の約 20 倍高感度で、20 ~ 50pg/band の DNA が検出可能

安全: TCA(トリクロロ酢酸)を使用しない

〔キット内容〕

1. 固定液 (× 20) 200ml
2. アンモニア溶液 (× 20) 200ml
3. 染色液 A (× 20) 200ml
4. 染色液 B (× 20) 200ml
5. 現像液 A (× 10) 200ml × 2
6. 現像液 B (× 20) 200ml
7. 保存液 (× 20) 200ml

〔使用例〕



サンプル: Marker9(X174/*Hinf* digest) ニッポンジーン社製

サンプル量: Lane 左より 500、250、125、63、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25ng/lane

140 × 140 × 1mm 6% ポリアクリルアミドゲル

TBE バッファー

〔参考文献〕

Tegalstrom, H. : *Electrophoresis*, 7, 226(1986).

コード No.	品名	容量	希望納入価格(円)
311-03961	CLEAR STAIN Ag	1ki(20 枚分)	35,000

Green Fluorescent Protein(GFP), Blue Fluorescent Protein(BFP)

発現ベクター・モノクローナル抗体

■ GFP, BFP 発現ベクター ■

本品は、オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) 由来の蛍光タンパク質である GFP の遺伝子を改変して作った蛍光強度の強い GFP です。細胞内における、タンパク質の発現や局在を経時的、かつ可視的に検出 できるレポーターとして有用です。

(GFP : Ex. 474 nm Em. 509 nm BFP : Ex. 384 nm Em. 405 nm)

GFP pQBI 25

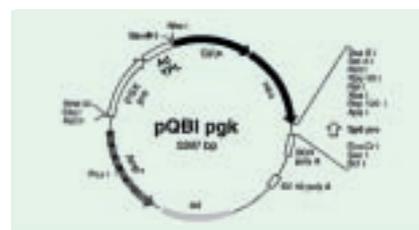
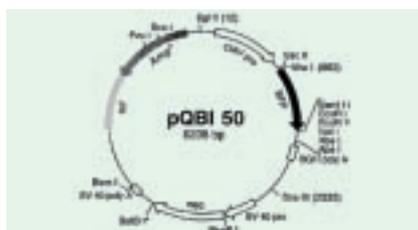
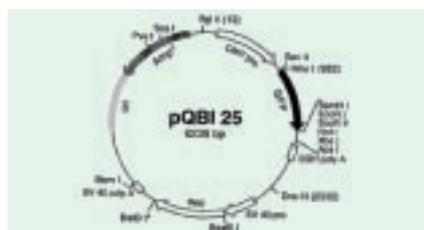
CMV-IE プロモーター / エンハンサーにより、Nhe I サイトを用いて GFP とのフュージョンタンパクができます。動物細胞中での GFP 高発現に用いられます。

BFP pQBI 50

CMV-IE プロモーター / エンハンサーにより、Nhe I サイトを用いて BFP とのフュージョンタンパクができます。動物細胞中での BFP 高発現に用いられます。

GFP pQBI-pgk

pgk プロモーターにより、ES 細胞や初代培養細胞を含む幅広い種の細胞で安定に発現できます。また、Neomycin 耐性遺伝子を組み込んでいるため、蛍光及び薬剤による二重選択が可能です。



GFP pQBI-pol II

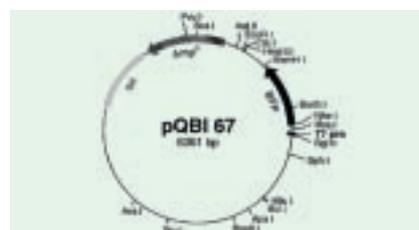
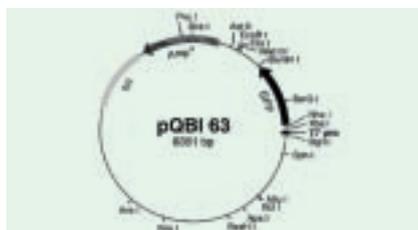
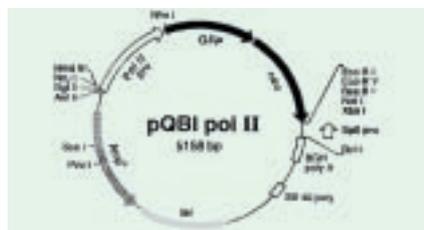
pol- II プロモーターにより、ES 細胞や初代培養細胞を含む幅広い種の細胞で安定に発現できます。また、Neomycin 耐性遺伝子を組み込んでいるため、蛍光及び薬剤による二重選択が可能です。

GFP pQBI 63

強力な T7 バクテリオファージのプロモーターを持ち、大腸菌において高感度の GFP を発現します。

BFP pQBI 67

強力な T7 バクテリオファージのプロモーターを持ち、大腸菌において高感度の BFP を発現します。



■ GFP モノクローナル抗体 ■

本抗体は、微量の発現タンパク質の検出に有効です。固定化することによりタンパク質の精製にも用いることができます。

クローン : 3E6
 サブクラス : IgG_{2a}
 特異性 : 天然型 GFP、GFP 変異体、GFP 結合タンパク質を認識
 実用希釈倍数 : 免疫沈降 1:100 ~ 1:500
 イムノサイトメトリー 1:100 ~ 1:500
 ELISA 1:1,000 ~ 1:2,000

クローン : 11E5
 サブクラス : IgG₁
 特異性 : 変性 GFP、GFP 変異体、GFP 結合タンパク質を認識
 実用希釈倍数 : ウェスタンブロット 1:1,000

ベクター

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
546-00811	Green Fluorescent Protein Vector pQBI 25 【GFP pQBI 25】	遺伝子研究用	20µg	33,000
546-00791	Blue Fluorescent Protein Vector pQBI 50 【BFP pQBI 50】	遺伝子研究用	20µg	33,000
540-00831	Green Fluorescent Protein Vector pQBI-pgk 【GFP pQBI-pgk】	遺伝子研究用	20µg	33,000
547-00841	Green Fluorescent Protein Vector pQBI-pol II 【GFP pQBI-pol II】	遺伝子研究用	20µg	33,000
543-00821	Green Fluorescent Protein Vector pQBI 63 【GFP pQBI 63】	遺伝子研究用	20µg	33,000
549-00801	Blue Fluorescent Protein Vector pQBI 67 【BFP pQBI 67】	遺伝子研究用	20µg	33,000

抗体

542-00771	Anti-Auto Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody (Clone : 3E6)	免疫化学用	150µg	26,000
549-00781	Anti-Auto Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody (Clone :11E5)	免疫化学用	150µg	26,000

近日発売

組換え体 GFP, BFP(オワンクラゲの蛍光タンパク質に由来した GFP の発色団遺伝子を改変し大腸菌を用いて発現させた組換えタンパク質です。)

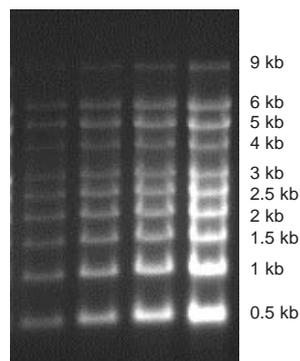
コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
545-00901	Green Fluorescent Protein, <i>Aequorea victoria</i> , recombinant, Soln.	生化学用	25µg	照会
542-00891	Blue Fluorescent Protein, <i>Aequorea victoria</i> , recombinant, Soln.	生化学用	25µg	照会

RNA Size Standard Marker (0.5kb ~ 9kb)

遺伝子研究用

本品は、ノーザンブロットにおけるRNAサイズスタンダードとして用いるためにデザインされた、0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6と9kbの10種類のRNA転写産物です。エチジウムブロミド染色により検出できます。

性状：0.1mmol/l EDTA, 二炭酸ジエチル処理済み水溶液



542-00651 50μg 24,000円

使いやすいジェネティシン溶液

Geneticin® Disulfate Solution

生化学用

neo 遺伝子を持つベクターでトランスフェクションした細胞について、目的の遺伝子が発現した細胞を選択するために培地中に添加して用いられます。溶液状態のため直ちに使用することができます(滅菌済み)。

[濃度] 50mg/ml

078-04501 20 ml 26,000円
074-04503 100 ml 90,000円

Geneticin®は、Life Technologies Inc. の GIBCO Division の登録商標です。

緩衝液 粉末タイプ 4 品目新発売しました

10 × TBE, 20 × SSC, 20 × TBS, 25 × TAE

緩衝液は生命科学分野での実験を行うに際し、必須の試薬群です。DNAの電気泳動用、*in situ* ハイブリダイゼーションでの洗浄用、ウエスタン、サザンブロットングなどの手法にこれらの緩衝液は欠かすことができません。この様に頻繁に使う、しかも重要な緩衝液の調整に時間を取られがちですが、本試薬は1ℓの水に溶かせば即使用可能な粉末タイプの緩衝液です。

〔特長〕

粉末タイプ4品目すべてに以下の特長が挙げられます。
1ℓの水に溶かすだけで指定濃度のStock Solutionができます。
粉末タイプですので、容器からの不純物の溶出はほとんどなく常にフレッシュな状態でご使用できます。
面倒な試薬秤量の必要がありません。
面倒なpH調整の必要がありません。

	組成
10 × TBE 粉末	0.9 M トリス-ほう酸、15.6 mM EDTA・2Na
20 × SSC 粉末	3 M 塩化ナトリウム、0.3 M ぐえん酸ナトリウム
20 × TBS 粉末	75mM トリス、0.425M トリス塩酸塩、2.8M 塩化ナトリウム、60mM 塩化カリウム
25 × TAE 粉末	0.5M トリス、0.5M トリス酢酸塩、25mM EDTA・2Na

コード No.	品名	規格	容量	pH	希望納入価格(円)
203-13781	10 × TBE Powder	遺伝子研究用	4 × 1ℓ用	8.0~8.5	13,500
199-11291	20 × SSC Powder	遺伝子研究用	4 × 1ℓ用	7.5~8.2	10,000
200-13791	20 × TBS Powder	生化学用	4 × 1ℓ用	7.2~7.7	14,000
206-13771	25 × TAE Powder	遺伝子研究用	4 × 1ℓ用	7.9~8.3	16,000

pHはそれぞれ1 × TBE, SSC, TBS, TAE 時の値です。

近日発売

コード No.	品名	規格	容量
191-11871	20 × SSPE Powder	遺伝子研究用	4 × 1ℓ用
138-13281	10 × MESA Powder	遺伝子研究用	4 × 1ℓ用

培養系に有効な消泡剤 新発売

消泡剤 SI

本品は、シリコン(Silicone)系消泡剤で、破泡性、抑泡性共に非常に優れた消泡剤です。そのため、低濃度で消泡効果が得られます。また、培地に添加したときの濁りが少ないのが特長です。

[添加量]

細胞培養における本品の添加量は、2000-4000倍希釈(1lの培地に0.25ml-0.5ml)が適量ですが、各々の系で確認の上ご使用下さい。

[データ]

1. 消泡効果と濁りの測定

方法：小試験管に培地を5ml分注し、激しく振とう後、さまざまな希釈倍率の消泡剤を添加する。添加後、10秒、5分、15分と泡の高さを測定する。また、そのときの濁りも測定する。

1) BHIB(細菌培養用培地)+0.04%Tween20

消泡剤添加後の泡の高さ 単位(mm)

消泡剤	時間	希釈倍率							
		1 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³	8 × 10 ³	1 × 10 ⁴	1 × 10 ⁵	control
SI	添加後10秒	0	0	3	5	8	14	19	24
	5分	0	0	0	0	0	0	3	20
	15分	0	0	0	0	0	0	2	13
	濁り	有	無	無	無	無	無	無	無
S社品	添加後10秒	0	2	8	11	13	17	18	22
	5分	0	0	0	1	8	9	13	16
	15分	0	0	0	0	8	9	13	13
	濁り	有	有	有	有	有	無	無	無

2) MEM(細胞培養用培地)+10%FCS(ウシ胎児血清)

消泡剤添加後の泡の高さ 単位(mm)

消泡剤	時間	希釈倍率							
		1 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³	8 × 10 ³	1 × 10 ⁴	1 × 10 ⁵	control
SI	添加後10秒	0	0	0	2	5	10	31	40
	5分	0	0	0	0	0	0	0	34
	15分	0	0	0	0	0	0	0	33
	濁り	有	無	無	無	無	無	無	無
S社品	添加後10秒	0	1	2	4	6	11	19	40
	5分	0	0	0	0	2	3	19	31
	15分	0	0	0	0	1	2	17	24
	濁り	有	有	有	有	有	有	無	無

消泡剤添加後の泡の高さ 単位(mm)

消泡剤	時間	希釈倍率							
		1 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³	8 × 10 ³	1 × 10 ⁴	1 × 10 ⁵	control
PE-M	添加後10秒	1	1.5	3	3	3	9	25	47
	5分	0	0	1	1	2	3	20	41
	15分	0	0	0	0	1	1	2.5	41
	濁り	有	少有	無	無	無	無	無	無
S社品	添加後10秒	0	1	2	4	6	11	19	40
	5分	0	0	0	0	2	3	19	31
	15分	0	0	0	0	1	2	17	24
	濁り	有	有	有	有	有	有	無	無

[参考文献]

Pagé B., Paggé M. and Noel, C. : *Int. J. Oncol.*, 3, 473(1993)

消泡剤 PE-H、PE-M、PE-L

本品は、ポリエーテル系消泡剤です。ワックス類や硫黄等を全く含んでおりませんので、濁りや析出物が発生することがありません。粘度の違いにより、PE-H (Poly-Ether-High), PE-M (Poly-Ether-Medium), PE-L (Poly-Ether-Low) の3種類があります。一般に粘度が低いほど分散性が良くなります。

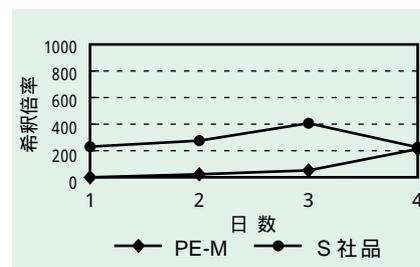
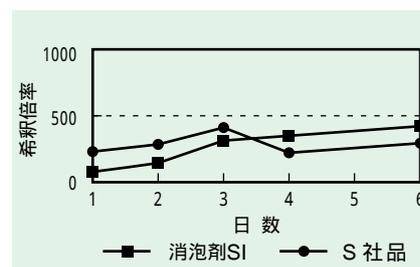
20における粘度(cP): PE-H約980 PE-M約325 PE-L約160

2. 細胞毒性試験

細胞: Vero細胞のsubclone (O78株)

viabilityの判定: Alamar Blue¹⁾

方法: Alamar Blueを添加し、LD₅₀を測定する。下記のデータはLD₅₀値を示す時の希釈倍率と添加後の日数の関係のグラフです。



注意: 細胞毒性は非常に低く、細胞培養に用いても問題ないと思われませんが、各々の系で確認の上ご使用下さい。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
016-17431	SI	生化学用	100ml	3,000
018-17435			500ml	9,000
010-17191	PE-H	生化学用	100ml	2,700
012-17195			500ml	6,000
010-17211	PE-M	生化学用	100ml	2,700
012-17215			500ml	6,000
013-17201	PE-L	生化学用	100ml	2,700
015-17205			500ml	6,000

細胞 (Cell)・組織 (Tissue) ミトコンドリア DNA 抽出専用キット

mtDNA Extractor CT kit

近年、糖尿病やアルツハイマー病とミトコンドリア DNA (mtDNA) 変異との関連を示唆する報告がなされ始め、mtDNA の解析が盛んに行われるようになってきました¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。特に神経や筋組織に症状をあらわす多くの疾患にも深く関わっている事が知られるようになり、血液中の白血球からでなく、疾患に関わる様々な組織からも mtDNA を抽出する必要性が指摘されています⁵⁾。しかし、高純度の mtDNA を調製するには、煩雑な操作と多くの時間が必要であり、多検体処理を目的とした研究には適していません。現在の mtDNA 分析は、細胞から total DNA を抽出する際に含まれる微量の mtDNA を用いて、多量のゲノム DNA の混在下で行われています。

mtDNA エキストラクター CT キットは、細胞や組織から短時間かつ容易に高純度の mtDNA を抽出することができます。

特長

- ・簡単な操作で短時間に組織や細胞中の mtDNA を抽出できます。また回収された mtDNA はゲノムの混入が少ないため、組織片約 50mg (骨格筋は 250mg) からの抽出でアガロース電気泳動により mtDNA の確認ができます。
- ・調製された mtDNA は高純度であり、制限酵素処理等に使用できます。
- ・少量の組織 (5mg) からでも PCR 反応に適用できる mtDNA が回収できます。
- ・新鮮な組織だけでなく、凍結組織からも mtDNA の回収が可能です。
- ・フェノールやクロロホルムなどの有害な劇物溶剤を使用しません。

キット内容

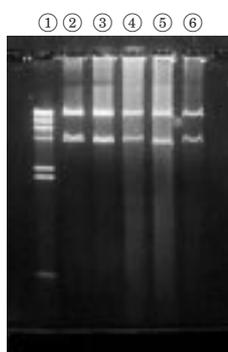
Buffer for Homogenate	25.0 ml
DNA Extraction Solution	1.3 ml
DNA Extraction Solution (A)	(A)
	1.3 ml
DNA Extraction Solution (B)	(B)
	1.3 ml
DNA Extraction Solution	1.9 ml
Sodium Iodide Solution	7.5 ml
Washing Solution	50.0 ml

実用例

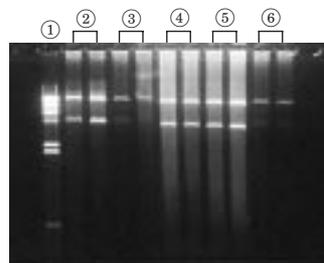
mtDNA エキストラクター CT キットにより各組織から抽出した mtDNA の電気泳動結果

(1) マウスの各組織 50mg (骨格筋 250mg) から抽出した mtDNA 半分量を Pst で約 1 時間消化し、アガロース電気泳動で mtDNA 回収の有無を調べた。
全ての組織から抽出 mtDNA の 2 本の Pst 消化断片が観察できた。

(2) マウスの凍結 (- 20 で 1 日保存) した各組織 50mg (骨格筋 250mg) から抽出した mtDNA の半分量を Pst で約 1 時間消化し、アガロース電気泳動で mtDNA 回収の有無を調べた。
全ての組織から mtDNA が回収できた。



① λ/Hind III マーカー
② 脳
③ 心臓
④ 肝臓
⑤ 腎臓
⑥ 骨格筋



① λ/Hind III マーカー
② 脳
③ 心臓
④ 肝臓
⑤ 腎臓
⑥ 骨格筋

【参考文献】

- 1) 安田和基: 医学のあゆみ, 174, 420 (1995)
- 2) Davis, R. E. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 452 (1997)
- 3) Poulton, J. *et al.*: *Prenatal Diagnosis*, 16, 1247 (1996)
- 4) Jazin, E. E. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 12382 (1996)
- 5) 田中雅嗣、小澤高将: 日本臨床, 47, 307 (1989)

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
291-55301	mtDNA Extractor CT Kit	組織・細胞 mtDNA 抽出用	25 回用	23,000

コード No.	品名	容量	希望納入価格 (円)	用途
293-54401	mtDNA Extractor WB Kit	25 回用	23,000	全血中のミトコンドリア DNA 抽出
291-50502	DNA Extractor WB Kit	50 回用	26,000	全血中のヒトゲノム抽出
295-50201	DNA Extractor Kit	50 回用	16,000	生物製剤中の DNA 抽出
295-52401	DNA Isolator PS Kit	100 回用	20,000	パラフィン切片中の DNA 分離

関連商品

記載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用等の用途には用いられません。

希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

発行所 和光純薬工業株式会社
〒 540-8605
大阪市中央区道修町三丁目 1 番 2 号
TEL. 06-6203-3741 (代)

発行日 1999 年 4 月 15 日
発行責任者 岸井松司
編集責任者 大西礼子
印刷所 共進社印刷株